

第58回 広島大学研究科発表会（医学）

（平成 27 年 2 月 5 日）

1. Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate is enriched in granulovacuolar degeneration bodies and neurofibrillary tangles
（ホスファチジルイノシトール -4,5- ニリン酸は顆粒空胞変性や神経原線維変化内に豊富に存在する）

西川 智和
創生医科学専攻（脳神経内科学）

神経原線維変化（NFT）はタウオパチーの診断根拠となる病理学的所見であり、残存神経細胞には NFT に付随して顆粒空胞変性（GVD）も観察される。ヒト剖検脳海馬を用いた病理組織学的検討により、ラフトの主要な脂質成分であるホスファチジルイノシトール -4,5- ニリン酸（PtdIns [4,5] P2）が NFT ならびに GVD において選択的かつ高密度に存在していることが確認された。また PtdIns (4,5) P2 はラフト関連蛋白とも NFT, GVD において共局在していた。さらに NFT における PtdIns (4,5) P2 は GVD と相同な小型顆粒空胞の集簇としてリン酸化タウ蛋白の近傍に観察された。以上の結果から、NFT と GVD がラフト由来の相互に関連した構造であること、ならびに両者がタウ蛋白のリン酸化に関与していることが示唆された。

2. Exosomes from IL-1 β stimulated synovial fibroblasts induce osteoarthritic changes in articular chondrocytes
（IL-1 β 刺激滑膜細胞由来のエクソソームは軟骨細胞に関節症性変化を引き起こす）

加藤 智弘
展開医科学専攻（整形外科）

【はじめに】変形性関節症（OA）では軟骨変性、滑膜炎、血管新生など生じる。エクソソーム（EXO）は異なる組織間伝達に関与すると報告されている。OA 発症における EXO の関節組織間伝達機構について調べた。

【方法】滑膜細胞（SFB）から EXO を採取し大きさ、数、マーカーを調べた。正常軟骨細胞（Cho）に SFB 由来 EXO を加え、また IL-1 で刺激した SFB 由来

EXO を別の Cho に加えて OA 関連遺伝子の発現を PCR 法で調べた。関節軟骨への影響を調べるために glycosaminoglycan assay を行い、血管新生能を調べるために migration assay と formation assay を行った。EXO 内のサイトカインと microRNA を調べた。

【結果】IL-1 刺激 SFB 由来 EXO は有意に Cho 内の OA 関連遺伝子に影響した。関節軟骨から有意に glycosaminoglycan を放出させ、有意な血管新生能を示した。EXO 内には炎症性サイトカインはほぼ認めず、刺激しない SFB 由来 EXO に比べ 50 の microRNA が上昇していた。

【結論】IL-1 刺激 SFB 由来 EXO は *in vitro*, *ex vivo* ともに有意に OA 様変化を誘導した。OA 発症における重要な組織間伝達因子である可能性が示された。

3. Aberrant DNA methylation of *DLX4* and *SIM1* is a predictive marker for disease progression of uterine cervical Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion
（*DLX4* 及び *SIM1* の DNA メチル化異常は子宮頸部重層扁平上皮内低異型度病変の疾患進行予測マーカーである）

坂根 潤一
創生医科学専攻（分子病理学）

子宮頸癌の早期発見及び予防は重要な課題である。我々は *DLX4* と *SIM1* のメチル化に注目し、液状細胞診検体を用いて子宮頸部重層扁平上皮内低異型度病変（LSIL）のメチル化異常と病巣進行の関連性を検討した。細胞診検体は、1 群；腫瘍性変化なし 40 例、2 群；非進行性 LSIL 21 例、3 群；進行性 LSIL 12 例、4 群；扁平上皮癌 40 例。*DLX4/SIM1* メチル化頻度は、1 群；22.5/2.5%，2 群；14.3/4.8%，3 群；50.0/50.0%，4 群；85.0/77.5% であり 2 群より 3 群で高頻度であった。組織の *DLX4* 蛋白発現はメチル化異常症例で低下を示していた。CaSki 細胞の *DLX4*-mRNA 発現回復実験において、メチル化との関連を明らかにした。両遺伝子共に、あるいは *SIM1* のメチル化異常は、速い進行を示した。以上から *DLX4* と *SIM1* は、LSIL の新たな進行予測マーカーと考えた。

4. RAD18 activates the G2/M checkpoint through DNA damage signaling to maintain genome integrity after ionizing radiation exposure (RAD18 は、放射線照射後誘導される DNA 損傷シグナルを維持させることで、G2/M チェックポイントの活性化に関与し、ゲノムの恒常性を維持する)

徐 衍賓

創生医科学専攻 (分子発がん制御研究分野)

In this study, we describe that RAD18 can function as a mediator that translates DNA damage response signals to activate the G2/M checkpoint, in order to maintain genome integrity and promote cell survival after IR exposure.

5. Cerebral and peripheral vascular reactivity in cerebral small vessel disease (脳小血管病における脳血管および末梢血管反応性)

祢津 智久

創生医科学専攻 (脳神経内科学)

<第一報>慢性ラクナ梗塞患者 18 例を対象とし、PET 検査で脳血流量 (CBF)、脳血液量 (CBV)、酸素摂取率 (OEF)、酸素代謝量 (CMRO₂)、アセタゾラミド (ACZ) 静注後の CBF の増加率 (ACZ 反応性) を評価し脳白質病変の重症度との関連を検討した。半卵円中心部で CBF と CMRO₂ は白質病変体積と負に相関し、OEF は正に相関した。一方、ACZ 反応性は白質病変体積と関連はなく、半卵円中心部における OEF と ACZ 反応性の関連も認めなかった。

<第二報>心血管リスク因子を有する患者 102 例を対象とし、FMD 検査で評価した血管内皮機能と脳白質病変の関連を検討した。重症白質病変を有する患者は FMD が有意に低値であり、FMD 低値は患者背景因子で補正後も独立して大脳白質病変の重症度に関連した。

以上の事から白質病変の病態を反映する指標として ACZ 反応性は適しておらず FMD が有効であることが示唆された。

6. Mechanical and substrate abnormalities of left atrium assessed by three-dimensional speckle-tracking echocardiography and electroanatomical mapping system in patients with paroxysmal atrial

fibrillation

(3次元ストレーンエコーと電気解剖学的マッピングシステムを用いた、発作性心房細動患者における左房壁運動・基質異常の評価)

渡邊 義和

展開医科学専攻 (循環器内科学)

【背景】左房リモデリングは電气的リモデリングから収縮障害を経て構造的リモデリングへと進展する。本研究では PAF 患者において左房電气的リモデリングと壁運動異常の関係を明らかにする事を目的とした。

【方法】PAF に対して拡大肺静脈隔離術 (PVI) 施行予定の PAF 患者 52 人 (男性: 41 人, 平均年齢: 61 ± 11 歳) を対象とした。

術前洞調律時に左房の 3D-STE を施行した。

各 strain curve の peak までの時間の標準偏差を % SD-TPS と定義し、左房 dyssynchrony の指標とした。PVI 前に CARTO を用いた左房全体の bipolar contact mapping を施行し、局所電位が 0.5 mV 未満の部分 LVZ と定義した。PAF 患者は LVZ の有無によって 2 群 (LVZ 群, non-LVZ 群) に分類した。

【結果】LVZ は 23 人 (44.2%) の患者で認めた。3D-STE 解析では % SD-TPS が LVZ 群で有意に高く (14.1 ± 5.7 vs 8.0 ± 5.1, P=0.0002), LVZ 群で左房 dyssynchrony の存在が示唆された。

【結語】左房 dyssynchrony はリモデリング初期の PAF 患者でも存在しており 3D-STE を用いることで非侵襲的に早期の左房リモデリングを評価することが可能である。

7. Revision single-bundle anterior cruciate ligament reconstruction with over-the-top route procedure (Over the top route を用いた前十字靭帯再建術)

Muhammad Andry Usman

展開医科学専攻 (整形外科学)

【Purpose】The purpose of this study is to evaluate the clinical results of revision single-bundle ACL reconstruction using OTTR procedure and to compare the clinical results of OTTR procedure with those of anatomical single bundle revision reconstruction (SBR).

【Methods】21 knees which underwent surgery with SBR and 22 knees with OTTR using hamstring

tendon. The clinical results were evaluated by the Lysholm score and the knee stability was assessed by the Lachman test, pivot-shift test and side-to-side difference of anterior-posterior translation of the tibia (ATT) by KT-2000 pre-operatively and after 1 year post-operatively.

【Results】 There was no statistically significant difference between the OTTR and SBR regarding all tested that we have done.

【Conclusions】 The clinical results of OTTR are almost equivalent to SBR. For the cases in which it is impossible to create the femoral tunnel in an anatomical position, OTTR presents as a valuable revision ACL reconstruction method.

8. Antibiotic prophylaxis for endoscopic retrograde cholangiopancreatography increases the detection rate of drug-resistant bacteria in bile

(内視鏡的逆行性胆管膵管造影検査における予防的抗菌薬投与は胆汁中薬剤耐性菌の検出率を増加させる)

南 智之

創生医科学専攻 (分子病態制御内科学)

【背景】 内視鏡的逆行性胆管膵管造影検査 (ERCP) における予防的抗菌薬投与の有用性は明らかではない。一方で、抗菌薬投与による有害事象についてはほとんど議論されていない。今回、予防的抗菌薬投与が胆汁培養における陽性率および耐性菌検出率に与える影響を検討した。

【方法】 ERCP 施行後に外科手術を行い術中胆汁採取を行った患者を、2009年までの予防的抗菌薬投与を行った群 (antibiotic prophylaxis 群: AP) とそれ以降の予防投与を行わなかった群 (no antibiotic prophylaxis 群: NAP) とに分け、胆汁培養陽性率と薬剤耐性菌検出率を比較した。治療目的で抗菌薬を使用した例は除外した。また、耐性菌検出の危険因子について多変量解析を行った。

【結果】 NAP 35例, AP 58例, 胆汁培養陽性率は NAP 37.1%, AP 55.2%であった ($P = 0.09$)。耐性菌検出率は NAP 5.7%, AP 29.3%であった ($P = 0.006$)。また、胆道ドレナージと予防的抗菌薬が耐性菌検出の危険因子であった。

【結論】 ERCP 時の予防的抗菌薬投与は術中胆汁培養での耐性菌検出の危険因子となりうる。

9. Long-term continuous entecavir therapy in nucleos(t)ide-naive chronic hepatitis B patients

(核酸アナログ製剤の治療歴のないB型慢性肝疾患に対するエンテカビル長期治療成績)

大野 敦司

創生医科学専攻 (消化器・代謝内科学)

ETV は、核酸アナログ製剤の治療歴のないB型慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤の第一選択として推奨されているが、その長期投与についての検討は少ない。そこで、核酸アナログの投与歴があるもの、内服期間が半年未満のものを除外した474例を対象とし、中央値2.4年(0.5-7.2年)の投与期間中の血清HBV-DNA量の推移、HBe抗原の陰性化、ALTの正常化について検討した。ALT値の正常化(<31 IU/L)率は、1年72.0%、2年77.9%、3年77.0%、4年83.6%であった。HBV-DNA量は治療開始後よりすみやかに低下し、HBV-DNA陰性(<2.6 log copies/mL)となった症例の割合は1年87.8%、2年93.2%、3年94.5%、4年95.9%であった。1年目にHBV-DNAが陰性化しなかった症例は49例で、多変量解析の結果、開始時のHBV-DNA>7.6 log copies/mL ($P<0.001$)、HBe抗原陽性 ($P=0.001$) が独立した因子として抽出された。HBe抗原の陰性化率は、1年15.9%、2年24.4%、3年36.8%、4年42.1%、5年51.3%であった。治療開始後、ALT、HBV-DNAが一旦改善後、再度増悪を認めた症例(viral breakthrough)は5例あり、いずれも開始時HBe抗原陽性で高ウイルス量であった。

10. Association between the postprandial glucose levels and arterial stiffness measured according to the cardio-ankle vascular index in non-diabetic subjects

(非糖尿病患者における食後血糖値とCAVIを用いて測定した動脈スティフネスとの関連)

坪井 敦子

展開医科学専攻 (循環器内科学)

【背景】 CAVIは動脈スティフネスを測定し、動脈硬化性変化の程度を反映する。また食後高血糖はOGTTで診断され、動脈スティフネスとの関連についても報告されている。しかし我々が日常的に食事をした後の血糖値と動脈スティフネスとの関連は明らかでない。

【目的】健診を受けた非糖尿病患者 1291 人を対象に、600 kcal の和食を摂取した 1 時間後の血糖値と CAVI との関連を調べた。

【結果】男性では食後 1 時間血糖値 ($P=0.003$)、年齢、BMI、SBP、HDL-C、女性では年齢、BMI、TG および HOMA-IR が CAVI の決定因子であった。高齢女性 (50 歳以上) では食後 1 時間血糖値も CAVI の決定因子であった ($P=0.003$)

【結論】非糖尿病の男性および高齢女性の食後 1 時間血糖値は、CAVI 値と関連を認めた。この結果から、非糖尿病患者において、日常的な食後高血糖が動脈硬化の程度と重要な関連性を持つことが示唆された。

11. Administration of microRNA-210 promotes spinal cord regeneration in mice

(マイクロ RNA-210 投与によるマウス脊髄損傷モデルにおける脊髄再生)

宇治郷 諭

展開医科学専攻 (整形外科学)

【目的】マイクロ RNA-210 (miR-210) 投与による脊髄再生効果について検討した。

【方法】マウスに胸髄損傷を作製し、24 時間後に miR-210 を損傷部に注入した。対照群には無機能 siRNA を投与した。1) 血管新生、グリオシス、アポトーシスの評価として損傷部組織で CD31、GFAP、F4/80、TUNEL 染色を行った。2) 脊髄機能評価として、Basso Mouse Scale (BMS)、運動誘発電位を測定した。3) miR-210 の標的遺伝子の探索のため、real-time PCR、Western blot を行った。

【結果】1) miR-210 群では、CD31 陽性血管を多く認め、GFAP 陰性かつ F4/80 陽性の領域が小さく、TUNEL 陽性細胞が少なかった。2) miR-210 群では、BMS、運動誘発電位ともに siRNA 群と比べて有意に改善されていた。3) miR-210 群では、PTP1B、EFNA3 の発現が抑制されていた。

【考察】miR210 の投与は損傷脊髄における血管新生と脊髄の組織学的・機能的修復を促進した。

12. Expression of age-related factors during the development of renal damage in patients with IgA nephropathy

(IgA 腎症患者の腎生検組織における老化関連因子の発現に関する検討)

山田 敬子

展開医科学専攻 (腎臓内科学)

【背景】腎の線維化は加齢腎と慢性腎臓病 (CKD) の経過に共通してみられる病理像であり、腎の老化と CKD の進行に同一の病態の関与が推測される。

【目的】老化関連因子の中で、酸化ストレスによる DNA 障害のマーカーとして 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)、細胞周期の停止のマーカーとして p16、抗老化蛋白の Klotho 蛋白の発現と IgA 腎症の進展との関連を検討する。

【方法】IgA 腎症の患者 71 人について、8-OHdG、p16、Klotho 蛋白の免疫染色を行い、病理学的分類との関連を検討した。さらに予後関連因子と老化関連因子を説明変数に用いて、腎線維化との関連を重回帰分析で検討した。

【結果】IgA 腎症の進行とともに 8-OHdG、p16 の発現は増加し、Klotho 蛋白の発現は減少した。重回帰分析では年齢、p16 の発現の増加、Klotho 蛋白の発現の低下は独立して腎線維化と相関した。

【結論】IgA 腎症の進展にともなって、8-OHdG、p16 の発現は増加し Klotho 蛋白の発現は減少した。老化関連因子の発現の変化は、腎疾患の進展に関与している可能性がある。

13. Predictors of incomplete resection and perforation associated with endoscopic submucosal dissection for colorectal tumors

(大腸腫瘍に対する ESD の不完全摘除、穿孔の予測因子に関する検討)

林 奈那

創生医科学専攻 (消化器・代謝内科学)

【目的】大腸 ESD は手技的難易度が高いが、その具体的な要因を不完全摘除および穿孔予測因子を介して明らかにすること。

【対象・方法】先進医療導入となった 2010 年 5 月以降に当科で施行した大腸 ESD267 例に対して不完全摘除因子、穿孔因子について検討した。大きさ、部位、病型、深達度、線維化、術中止血頻度、生検歴、前治療歴、スコープ操作性について検討した。なお、完全摘除は病理組織学的にも切除断端が陰性の完全一括摘除と定義した。

【結果】完全一括摘除率は 95.9%、穿孔率は 5.6% であった。不完全摘除症例では、スコープ操作性不良と

SM 深部浸潤，穿孔症例では，スコープ操作性不良と高度線維化が独立した危険因子であった。

【結語】大腸 ESD においてスコープ操作性が不良な場合や SM 深部浸潤，高度線維化が予測される場合は不完全摘除や穿孔の危険が相対的に高いため，手技の工夫や適した術者の選択が必要である。

14. Reduced brain activation during imitation and observation of others in children with pervasive developmental disorder: a pilot study

(広汎性発達障害児における動作の観察・模倣時の脳血流変化の抑制)

梶梅 あい子

医歯薬学専攻 (小児科学)

広汎性発達障害 (Pervasive developmental disorder; PDD) 児における模倣の苦手さに関連して，PDD の病態としてミラーニューロンシステム (Mirror Neuron Systems; MNS) の異常が示唆されている。本研究では，近赤外分光法 (Near infra-red spectroscopy; NIRS) を用い，PDD 児における動作の観察・模倣の際の MNS 機能異常について検討した。対象は，PDD 男児 6 名と，年齢・性別のマッチした定型発達男児 6 名で，測定には 24 チャンネルの NIRS 装置を用い，測定プローブを両側頭部に装着した。結果，定型発達児群は PDD 群よりも有意に酸素化ヘモグロビン変化量が増加しており，動作の観察課題の方が動作の模倣課題よりもはっきりと 2 群間の差が認められた。また一部のチャンネルと社会的スキル尺度のスコアとの間に相関を認めた。有意差を認めたチャンネルは，MNS の一部に当たると考えられる。PDD 児では MNS が定型発達児と同様には機能していないと言う結果であり，PDD 児における模倣の苦手さについて，脳機能画像的に PDD の病態の一部を明らかとした。

15. Monitoring of progression of nonsurgically treated rotator cuff tears by magnetic resonance imaging

(MRI にて評価した保存治療を行った腱板断裂の断裂サイズ・部位の変化)

中邑 祥博

展開医科学専攻 (整形外科)

保存治療を行った腱板断裂の断裂サイズ・部位の変化について調査した。MRI にて腱板断裂と診断した

71 例 80 肩に対して保存治療を行い，1 年以上経過して MRI を再検した。断裂サイズは MRI 斜位冠状断における大結節最外側から腱板断端までの最大径を計測し，断裂部位は 4 群に分類した (AS: 大結節上面の前方に限局，PS: 大結節上面の後方に限局，S: 大結節上面全体，SM: 大結節上面から中面に及ぶ)。初回断裂サイズ 1 cm 以上 3 cm 未満は 1 cm 未満と 4 cm 以上と比べて有意に断裂サイズが拡大した。AS は 9 肩中 8 肩 (88.9%) が AS のままであり，PS は 16 肩中 10 肩 (62.5%) が前方に広がることで S へと変化した。S は 30 肩中 7 肩 (23.3%) が後方に広がることで SM へと変化した。小断裂は拡大しにくい，中断裂は拡大しやすかった。また，腱板断裂は大結節上面後方に始まり前方へと拡大するものが多い可能性が示唆された。

16. Validation of automated quantification of myocardial perfusion single-photon emission computed tomography using Heart Score View in patients with known or suspected coronary artery disease

(心筋血流量解析ソフト Heart Score View と Quantitative Perfusion SPECT のスコアリング精度の比較検討)

岩崎 年高

展開医科学専攻 (循環器内科学)

Heart Score View (HSV) は日本で開発されたフリーソフトであるが，その診断精度についてはいまだ明確にされていない。本研究では，読影者による視覚的評価およびすでに有用性の確立している解析ソフト QPS とスコアリングを比較することにより，HSV の有用性を検討した。

対象は虚血性心疾患の疑いで SPECT 検査を施行した連続 75 症例。HSV により算出した SSS は，QPS，視覚的評価に比べて有意に高かった。それぞれのスコアリングを心基部，心室中部，心尖部の部位別に比較検討したところ，HSV のスコアリングは他の方法と比較して特に心基部で過大評価していた。これは HSV の左室輪郭抽出アルゴリズムが特に心基部領域において不適切であることが示唆され，HSV の関心領域設定をマニュアルで行い再度スコアリングしたところ，HSV により算出した SSS，SRS および SDS はいずれも QPS，視覚的評価と良好な一致性が示され，他の方法と同様に高い診断精度があるものと考えられた。

17. Time-domain T-wave alternans is strongly associated with a history of ventricular fibrillation in patients with Brugada syndrome

(ブルガダ症候群の心室細動リスクの層別化におけるタイムドメイン法を用いたT波交互現象の有用性)

内村 祐子

展開医科学専攻 (循環器内科学)

【背景】ブルガダ症候群における心室細動リスクの層別化については一定の見解が得られていない。T波交互現象 (TWA) は心室再分極異常の指標であり、心筋梗塞や心筋症などにおいて心臓突然死の予測に有用とされてきた。

【目的】ブルガダ症候群における心室細動と TWA との関連について検討した。

【方法・結果】ブルガダ症候群患者 45 例において失神歴、家族歴、type 1 心電図、心室遅延電位、心室細動の誘発、TWA 陽性と心室細動の有無について比較検討した。心室細動のある症例では、TWA 陽性率が有意に高く、type 1 心電図を示す症例が有意に多かった。多変量解析では TWA 陽性、type 1 心電図は心室細動の独立した予測因子であったが、type 1 心電図は感度が高いものの特異度が低く、TWA 陽性は感度特異度ともに高い有用な因子であった。

【結論】TWA はブルガダ症候群における心室細動リスクの非侵襲的な予測因子となりうる。

18. Effect of aldosterone-producing adenoma on endothelial function and Rho-associated kinase activity in patients with primary aldosteronism

(原発性アルドステロン症患者におけるアルドステロン産生腺腫の血管内皮機能および ROCK 活性に与える影響について)

松本 武史

展開医科学専攻 (循環器内科学)

【背景】原発性アルドステロン症 (PA) は本態性高血圧症 (EHT) に比し心血管イベントが多い事が報告されているが、PA のサブタイプと動脈硬化の関連についての報告は少なく、タイプ別での血管内皮機能、白血球 ROCK 活性を検討した。

【方法】対象は、PA と診断された腺腫群 21 例 (51 ± 14 歳) と特発性群 23 例 (56 ± 10 歳)、EHT 40 例 (53 ± 11 歳) とした。3 群において、血流依存性血管拡張反応 (FMD) を測定し、ROCK 活性は、Western blot 法を用い検討した。

【結果】FMD は、腺腫群において、特発性群や EHT に比し有意に低値であった。ROCK 活性は腺腫群において特発性群や EHT 群に比し有意に高値であった。

【結語】腺腫群では、特発性群に比し ROCK 活性が上昇し、血管内皮機能が障害されており、心血管イベント発症リスクが高い可能性が考えられた。

19. Antimicrobial action from a novel porphyrin derivative in photodynamic antimicrobial chemotherapy in vitro

(光線力学的抗微生物化学療法における新規ポルフィリン誘導体の in vitro での有用性)

Miftahul Akhyar Latief

創生医科学専攻 (視覚病態学)

【背景】新規ポルフィリン誘導体である TONS504 と新しく作成した照射装置を用いた PACT のグラム陽性菌、陰性菌、ウイルス (HSV-1) に対する効果を検討した。

【方法】各種病原体に対して、種々の濃度の TONS504 存在下で 660 nm 単一波長の LED 照射装置を用いて 10-30J/cm² の照射を行った。照射後 30 分と 24 時間後に、細菌および真菌については寒天培地上のコロニー数の計測、ウイルスについては免疫蛍光法を用いて各種病原体の生存率を検討した。

【結果】PACT 施行後 24 時間では、全ての病原体が完全に抑制が達成できた。TONS504 のみで LED 照射を行わない状態では各種病原体の増殖に影響を与えなかった。

【結論】この研究結果は、TONS504 と LED 照射の組み合わせによる細菌、真菌、ウイルスに対する in vitro PACT の有効性を示している。この研究結果は、われわれのシステムが新しい角膜感染症の治療法になりうる可能性を秘めていることを示していると同時に、今後の展開に必要な基礎データである。