

第533回 広島大学医学集談会

第44回 広島大学大学院医歯薬学総合研究科発表会（医学）

（平成24年5月10日）

1. Vorinostat, a histone deacetylase inhibitor, facilitates fear extinction and enhances expression of the hippocampal NR2 B-containing NMDA receptor gene

（ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤である Vorinostat は、恐怖記憶の消去を促進し、海馬の NR2B を有する NMDA 受容体遺伝子の発現を上昇させる）

藤田 洋輔

創生医科学専攻（精神神経医学）

外傷後ストレス障害（posttraumatic stress disorder: PTSD）の病態メカニズムに、恐怖記憶の消去障害が密接に関与していることが明らかとなり、恐怖記憶の消去を促進する薬剤が新規 PTSD 治療薬として注目されている。恐怖記憶の消去とは恐怖体験による記憶が、恐怖を伴わない類似の状況を体験することによって、安全な記憶に置き換わる過程である。この意味で消去も新たな記憶の形成による機能であり、記憶形成にはヒストン・アセチル化の亢進の関与が示されていることから、安全な環境の暴露時にヒストン・アセチルを亢進させることによって、恐怖記憶の消去が促進される可能性が考えられる。このため本研究では PTSD の新規治療法開発を目的に、ヒストン脱アセチル酵素（HDAC）阻害薬である Vorinostat を用いて、恐怖記憶の消去促進に対する効果とその分子メカニズムについて検討した。

2. A methyl-deficient diet modifies early B cell development

（メチル欠乏食投与における初期 B 細胞分化の異常）

黒木 利知

創生医科学専攻（免疫学）

DNA メチル化とヒストン修飾（メチル化）はエピジェネティック制御機構において大きな役割を占めている。それには、体外からのメチル基ドナーが必要である。今までに C57BL/6J マウスにメチル基

ドナー欠乏食（MDD）を投与することにより肝臓の損傷を示す報告がある。しかし、MDD 摂取による免疫機構での影響はよく分かっていない。

今回の研究ではメチル基ドナー欠損 MDD 摂取における免疫機構、特にリンパ球分化と DNA メチル化、ヒストンのメチル化修飾への影響を調べた。C57BL/6J マウスにそれぞれメチル正常食（MSD）と MDD の餌を 5 ヶ月間与えた。MDD では骨髄内の B220+IgM⁻（pro/pre-B 細胞）から B220+IgM⁺（未成熟 B 細胞）への分化に異常が見られた。その原因として内因的な状態の変化を解析した。

結果は栄養摂取としてのメチル基ドナー欠損は骨髄で ADA, EBF1, DNMT, Pax5 の発現, H3K4 のメチル化, エピジェネティックなレギュレーターである PcG 遺伝子発現の変化を引き起こし、初期 B 細胞分化に異常を示す事が分かった。

3. Association between aortic valve calcification and myocardial ischemia especially in asymptomatic patients

（大動脈弁石灰化と心筋虚血の関連性、特に無症候性患者において）

山里 亮

展開医科学専攻（循環器内科学）

大動脈弁石灰化（AVC）は全身の動脈硬化性変化の表れと認識されているが、AVC と心筋虚血の関連性は明らかでない。我々は AVC が心筋虚血の存在と関連性を持つのではないかと、この仮説を立て検討した。

アデノシン負荷タリウム心筋シンチグラフィ及び心エコー検査を受けた 669 例を対象とした。虚血については summed difference score (SDS) を用い SDS ≥ 3 を心筋虚血、 ≥ 8 を中等～重症虚血と定義した。心筋虚血及び中等～重症虚血の存在と AVC との関連性について解析した。無症候性患者でも同様の解析を行った。

AVC は心筋虚血の存在と独立した相関を示した (odds ratio [OR] = 1.56; 95% Confidence interval [CI]

= 1.10 ~ 2.23; $p = 0.013$)。中等～重症虚血とも同様の関連性を示した (OR = 2.16; 95% CI = 1.26 ~ 3.80; $p = 0.0061$)。無症候性患者での検討でも同様の結果であった。ただしAVC重症度と虚血重症度に関連性はなかった。

以上の結果から、AVCは心筋虚血、とりわけ無症候性心筋虚血をもつ高リスク患者の選別において有用な情報を提供する可能性が示唆された。

4. Association between plasma high-molecular-weight adiponectin and coronary plaque characteristics assessed by computed tomography angiography in conditions of visceral adipose accumulation

(内臓脂肪蓄積下における血漿高分子量アディポネクチンと冠動脈プラークの特徴との関連性 - 多列検出器型コンピュータ断層装置による評価 -)

國田 英司

展開医科学専攻 (循環器内科学)

【目的】血漿アディポカイン濃度と多列検出器型コンピュータ断層装置 (MDCT) を用いて評価した冠動脈粥状硬化病変との関連性を検討した。

【方法・結果】MDCTにて冠動脈および内臓脂肪面積 (VFA) を評価した394症例 (男: 56%) を対象とした。血漿総アディポネクチン濃度 (T-AN)、高分子量アディポネクチン濃度 (HMW-AN)、レプチン濃度を測定した。冠動脈プラークについてはその広がり性を評価した。さらに非石灰化プラーク (NCP) については、低CT値プラーク、陽性リモデリング、点状石灰化の付着、これら3つの要素を脆弱性プラークの特徴として評価した。多変量解析において、HMW-AN低下は、男女ともに冠動脈プラークの広がり (男: $p = 0.001$, 女: $p = 0.003$)、さらには3つの脆弱性因子を有するNCPの存在 (男: $p = 0.019$, 女: $p = 0.016$) と有意な関連性を認めた。また、VFA増加についても同様の関連性を認めたが、T-ANおよびレプチンとは有意な関連性は認めなかった。

【結語】HMW-ANは、男女ともに冠動脈硬化および冠動脈脆弱性プラークの存在と関連する。

5. Mid-term results of the box pulmonary vein isolation and the cryo-maze procedure for chronic atrial fibrillation associated with mitral valve disease

(僧帽弁疾患に合併した慢性心房細動に対する、肺静脈ボックスアイソレーションと cryo-maze 法の中期成績)

高崎 泰一

展開医科学専攻 (外科学)

1999年～2004年に、僧帽弁疾患に合併した心房細動に対して、肺静脈ボックスアイソレーション (PVBI) と、冷凍凝固を用いたメイズ変法 (cryo-maze) を行った。

5年以上のフォローで、この2つの手技の心房細動消失率と、術後の新たな心房性頻脈の出現率を比較した。

【方法】全75人に対し、40人にPVBIを僧帽弁手術と併施した。35人に僧帽弁・三尖弁手術とともに cryo-maze を行った。

【結果】5年間、622.5年間にわたるフォロー期間で、心房細動消失率は、PVBI群が26/40 (65%)、cryo-maze 群で26/35 (74%) であった。cryo-maze 群のほうが良い傾向にはあったが、統計学的有意差はなかった。

PVBI群では、右心房へのアブレーションを行わなかったにもかかわらず、2/40例 (5%) にしか通常型の心房粗動を認めなかった。

cryo-maze 群では1例 (2.9%) に左房性頻脈を、もう1例 (2.9%) で右房性頻脈を認めた。

【結論】cryo-maze は、僧帽弁、三尖弁疾患のある心房細動にかなり効果的であった。しかし、新たな心房性頻脈を数例認めた。PVBIは僧帽弁単独疾患例には有用であった。

6. Mechanistic analysis of the antitumor efficacy of human natural killer cells against breast cancer cells

(乳癌細胞に対するヒト natural killer 細胞の抗腫瘍効果のメカニズム解析)

梶谷 桂子

創生医科学専攻 (外科学)

乳癌細胞に対する免疫制御機構として、ヒト末梢血及び肝natural killer (NK) 細胞が果たす役割を検証した。肝単核球中のCD56⁺CD3⁻ NK細胞の割合は末梢血単核球より著明に高く、IL-2で刺激をすると tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) を強く表出した。また、4種類の

乳癌細胞株はいずれも TRAIL 受容体 (DR4) の表出が高く、デコイ受容体 (DcR1, DcR2) の表出は認めず、TRAIL を介したアポトーシスが誘導されやすいと考えられた。これらの乳癌細胞株に対する末梢血と肝 NK 細胞の細胞傷害活性は、抗 TRAIL 抗体添加により部分的に減弱し、抗パーフォリン剤併用によりさらに抑制されたため、TRAIL 経路とパーフォリン経路の関与が示唆された。また、NK 細胞から産生された IFN- γ は、乳癌細胞からの CXCL10 分泌を促進し、さらにこれが CXCR3 を表出する NK 細胞を腫瘍部位へと遊走させるということが確認された。これらの結果から、内因性の末梢血及び肝 NK 細胞の活性化や *in vitro* で活性化した自己 NK 細胞の養子移行による治療アプローチの可能性が期待された。

7. Preventive effect of G-CSF on acute lung injury via alveolar macrophage regulation (肺胞マクロファージ制御を介した顆粒球刺激因子による急性肺傷害予防効果)

山口 剛
創生医科学専攻 (外科学)

急性肺障害 (ALI), 急性呼吸促進症候群 (ARDS) は、敗血症、高侵襲手術等により引き起こされる合併症で、びまん性肺水腫とそれに伴う肺機能障害を特徴とし、死亡率の高い臨床症候群である。本実験では rhG-CSF の抗炎症作用に注目し、rhG-CSF による LPS 誘導 ALI/ARDS の抑制効果及びそのメカニズムを解析した。rhG-CSF 投与により LPS 誘導 ALI/ARDS マウスの生存率が有意に延長し、肺組織における炎症惹起性サイトカイン (IL1 β , TNF α) の抑制と抗炎症性サイトカイン (IL10) の亢進、肺胞構築の破壊抑制を認めた。免疫染色により rhG-CSF 投与による ALI/ARDS 予防機序は肺胞マクロファージによる IL1 β , TNF α 産生抑制であった。ALI/ARDS 発症の危険を伴う高侵襲手術等では、rhG-CSF の予防的投与により ALI/ARDS を防ぐ可能性があると考えられた。

8. Histamine release-neutralization assay for sera of patients with atopic dermatitis and/or cholinergic urticaria is useful to screen type I hypersensitivity against sweat antigens (アトピー性皮膚炎及びコリン性蕁麻疹患者の血清によるヒスタミン遊離中和アッセイは汗抗原に対

する即時型アレルギーのスクリーニングに有用である)

信藤 肇
創生医科学専攻 (皮膚科学)

【背景】アトピー性皮膚炎及びコリン性蕁麻疹は汗に対する即時型アレルギーを有するが、現在その評価法は自己汗による皮内テスト、または精製汗抗原によるヒスタミン遊離試験に限られる。一方、血液中にはマスト細胞および好塩基球の表面と同じ種類の抗体が存在する。

【目的】時間的、身体的な拘束を受けない汗アレルギー診断のため、患者血清を用いる汗アレルギーの検出法を考案した。

【方法】血清で処理した精製汗抗原、および処理していない精製汗抗原による好塩基球からのヒスタミン遊離率の差を血清のヒスタミン遊離中和活性 (HRN) とし、62例の患者血清を解析した。

【結果】HRN の感度、特異度はそれぞれ 0.872, 0.522 で、各血清より IgG あるいは IgE 抗体を除去すると、多くの血清で HRN 活性が消失した。

【結論】汗抗原に対する血清の中和活性を利用した HRN は、即時型アレルギーのスクリーニング手段として有用である。

9. Hypoxic stress activates chaperone-mediated autophagy and modulates neuronal cell survival (低酸素負荷によりシャペロン介在性オートファジーは活性化され、神経細胞の生存に寄与する)

土肥 栄祐
創生医科学専攻 (脳神経内科学)

脳虚血における神経細胞死へのマクロオートファジーの関与は報告されているが、シャペロン介在性オートファジー (CMA) の関与は明らかでない。今回我々は、脳虚血における CMA の活性化と細胞死への保護効果を検討した。Neuro2A 細胞へ 1% 低酸素にて培養したところ、LAMP-2A の発現は 48 時間をピークに上昇し、LAMP-2A 陽性リソソームは核周囲へ集積し、新規開発した GAPDH-HT の LAMP-2A 陽性リソソームへの移行も増加した。さらに低酸素による細胞死は LAMP-2A siRNA により増強され、CMA 活性化薬である MPA により減少した。ラット中大脳動脈閉塞モデルの検討では、LAMP-2A は虚血 7 日目の梗塞周辺部の神経細胞での発現上昇が観察

された。低酸素により活性化され、保護的に作用するCMAは、虚血性脳障害の新たな治療ターゲットになる可能性がある。

10. Long-term outcomes of hepatic arterial port implantation using a coaxial microcatheter system in 176 patients with hepatocellular carcinoma (176人の肝細胞癌患者に対して留置されたcoaxial法を用いた肝動注用ポートの長期成績)

石川 雅基

展開医科学専攻 (放射線診断学)

持続肝動注療法は進行肝細胞癌に対する重要な治療法で、完遂するには技術的成功率が高く、合併症の少ない肝動注用ポート留置術が必要。当院で行われてきた投げ込み法によるmicrocatheter留置の長期成績を報告する。対象は2004年1月から2009年7月、肝細胞癌患者176名。技術成功率は99.4% (175/176)、手技時間は平均 121 ± 27分。合併症はカテーテル逸脱 8.6% (n = 15)、ポート部周囲の血腫/感染 8.0% (n = 14)、肝動脈損傷 5.7% (n = 10)、ポートカテーテル閉塞 5.7% (n = 10) などであった。使用可能期間は6ヶ月、1年、2年で75.1%、60.9%、44.6%であった。結論として先端固定法でtapering catheterを留置する方法と比較しカテーテル逸脱と閉塞が多いため、先端固定法を優先し、先端固定法で対応できない血管解剖では本法が有用と考えられた。

11. Therapeutic potential of ex vivo expanded CD133 positive cells derived from human peripheral blood for peripheral nerve injuries (末梢血由来体外増幅CD133陽性細胞移植による末梢神経再生)

大坪 晋

展開医科学専攻 (整形外科学)

体外増幅させたCD133陽性細胞をラット坐骨神経欠損モデルに移植し、その末梢神経再生効果を検討した。

CD133陽性細胞を5つのサイトカインの入った無血清培地にて1週間培養し増幅させた。ヌードラットの左坐骨神経の15 mm欠損をシリコンチューブにて架橋し、PBS、CD133陽性細胞を 1×10^5 個、CD133陽性細胞を体外増幅させた細胞を 1×10^5 個、CD133陽性細胞を 1×10^4 個充填したものをPBS群、fresh群、expansion群、low dose群とし各群10例ずつ作成した。

増幅培養法にて細胞数は約10倍になったがpurityは1/3に減少していた。再生組織の連続性はPBS群では2例のみで、fresh群、expansion群では共に全例に認められた。組織学的にはPBS群ではミエリン形成はほとんど無いがfresh群、expansion群では共に全例にミエリン形成を認めた。CMAPはPBS群で検出されたものはなかったが、fresh群及びexpansion群では全例で検出された。Low dose群では神経再生効果は安定していなかった。

体外増幅させた細胞がCD133陽性細胞と同等の末梢神経再生効果を維持していることを示し、増幅培養法が臨床応用に向けて重要なツールとなる可能性が考えられる。