

## 第535回 広島大学医学集談会

## 第46回 広島大学大学院医歯薬保健学研究科発表会（医学）

（平成24年11月1日）

1. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  polymorphisms are associated with genetic aberrations in lung cancer (肺癌においてHIF-1 $\alpha$ 多型は遺伝子異常と関連する)

Andika Chandra Putra  
創生医科学専攻（放射線医療開発）

Transcription factor hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) is a master regulator in hypoxia including repression of DNA repair systems resulting in genomic instability in cancer cells. We evaluated the role of polymorphic HIF-1 $\alpha$  variants, *C1772T* (P582S) and *G1790A* (A588T), which are known to enhance the transcriptional activity, in lung cancers. HIF-1 $\alpha$  polymorphisms were determined by direct sequencing in total 83 lung cancer patients (42 adeno-, 30 squamous cell, 4 adenosquamous cell, and 7 small cell lung carcinomas) and 110 healthy controls, then compared with frequently observed genetic and/or epigenetic aberrations, *TP53* LOH, 1p34 LOH, *RB1* LOH, p16 inactivation, and *EGFR* aberrations. There were no significant differences in genotype frequencies of either *C1772T* or *G1790A* between lung cancer patients and healthy controls. However, the frequency of *HIF1A C/T* genotype was significantly higher in patients with *TP53* LOH among overall lung cancer patients ( $p=0.015$ ) as well as adenocarcinoma patients ( $p=0.047$ ). The frequency of *HIF1A G/A* genotype was significantly higher in patients with 1p34 LOH in adenocarcinoma ( $p=0.009$ ). Thus, adenocarcinoma with *TP53* and/or 1p34 LOH were associated with *HIF1A* variants ( $p=0.008$ ). *In vitro* transcriptional activity of these *HIF1A* variants in A549 lung cancer cells revealed to be significantly higher than the wild type under either normoxic or hypoxic conditions, especially for P582S with mutant p53 ( $p < 0.005$ ). These findings indicate that the HIF-1 $\alpha$  function-related polymorphisms may have an important impact on lung

carcinogenesis, especially in adenocarcinoma, possibly through increasing genomic instability.

2. IL28B polymorphism is associated with fatty change in the liver of chronic hepatitis C patients (IL28B 遺伝子多型は、C型慢性肝炎患者における肝組織の脂肪化と関連する)

大西 真由  
創生医科学専攻（消化器・代謝内科学）

C型慢性肝炎の治療に関しては、ウイルス量・ウイルスの genotype 等のウイルス因子や、年齢・性別・肝脂肪化・ヒトゲノムの遺伝子多型等の宿主因子の関与が報告されている。本研究では、インターフェロン治療効果との関連が報告されている IL28B 遺伝子多型と、肝脂肪化の関連性について、肝組織の脂肪化を客観的に評価する方法を構築し検討した。その結果、肝組織の脂肪滴変化 (vesicular change) は、IL28B 遺伝子多型、BMI、肝線維化の程度と強い相関が認められた。一方、肝組織の明細胞化 (clear cell change) に関しては IL28B 遺伝子多型のみと強い相関が認められた。また、非肥満症例に絞った解析において、IL28B 遺伝子多型は、上記の脂肪性変化のいずれにも相関を認め、IL28B 遺伝子発現や HCV の増加が C 型慢性肝炎患者における脂質代謝異常に関与する可能性が示唆された。

3. Impaired glucose metabolism in non-alcoholic steatohepatitis

(NASH における糖代謝異常について)

1. Postprandial insulin secretion pattern is associated with histological severity in non-alcoholic fatty liver disease patients without prior known diabetes mellitus.

(食後インスリン過分泌は、NASH における組織学的重症度に関連する)

2. Atorvastatin decreases serum levels of advanced glycation endproducts (AGEs) in

nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients with dyslipidemia: clinical usefulness of AGEs as a biomarker for the attenuation of NASH

(NASHにおける酸化ストレスの指標として血清AGEsは有用である)

木村 友希

創生医科学専攻 (消化器・代謝内科学)

(検討1) NASHにおける糖代謝異常について検討した。

【対象と方法】糖尿病未診断のNASH 173例に糖負荷試験 (75gOGTT) を行い、血糖・インスリン分泌と組織学的所見の関連性を検討した。

【結果】糖尿病未診断のNASHにおいても高頻度に糖代謝異常 (IGT 37%、DM 23%) を認めた。また、肝線維化とインスリン過分泌は正相関した。

(検討2) NASHにおける血清AGEsの有用性を探求する目的で、NASH治療前後での変化について検討した。

【対象と方法】脂質異常症合併NASH症例43例にatorvastatinによる治療を行い、投与前後での血清AGEs値、75gOGTT、組織学的変化について検討した。

【結果】治療により糖代謝異常に有意な変化は認めなかった。血清AGEs値は優位に減少し、酸化ストレスの指標となりうることが示唆された。

4. Human equilibrative nucleoside transporter 1 expression predicts survival of advanced cholangiocarcinoma patients treated with gemcitabine-based adjuvant chemotherapy after surgical resection

(進行胆管癌のhENT1発現とgemcitabineを用いた術後補助化学療法による治療効果の相関についての検討)

小林 弘典

展開医科学専攻 (外科学)

【目的】進行胆管癌におけるhENT1発現によりGEMによる術後補助化学療法の抗腫瘍効果が予測可能かどうかを後ろ向きに検討した。

【対象】1989年から2010年まで当科において手術を施行した肝内および肝外進行胆管癌症例105例を対象とした。術後補助化学療法としてGEMを用いた症例は51例で、術後補助化学療法非施行例は54例であった。

【方法】術後パラフィン切片を用いhENT1の免疫

組織染色を行い癌組織での発現を高発現と低発現に分類し臨床病理学的因子との関係と生存率を統計的に検討した。

【結果】hENT1高発現は74例、低発現は31例であり、高発現群と低発現群の間に臨床病理学的因子の差は認めなかった。GEM投与例のうち高発現群は低発現群に比べ有意に全生存率 ( $p=0.008$ ) および無病生存率 ( $p=0.024$ ) が良好であった。

【結語】進行胆管癌における腫瘍内hENT1発現はGEMを用いた術後補助化学療法の予後予測に有用である可能性があると考えられた。

5. Inhibition of virus-like particle release of Sendai virus and Nipah virus, but not that of mumps virus, by tetherin/CD317/BST-2

(センダイウイルス、ニパウイルスのウイルス様粒子のテザリン (CD317/BST-2) による放出阻害：ムンプスウイルスのウイルス様粒子放出は阻害されない)

KONG WENG SHENG

創生医科学専攻 (ウイルス学)

テザリン (BST-2, CD317とも呼ばれる) は、細胞表面でウイルスの出芽を阻害するインターフェロン誘導性の宿主蛋白質であり、感染細胞からのレトロウイルス、フィロウイルス、アレナウイルスなどのエンベロープウイルスの出芽を阻害することが報告されている。本研究では、センダイウイルスのM蛋白質発現によるウイルス様粒子の出芽もテザリンで阻害されることを示した。ニパウイルスの出芽も同様に阻害されることから、パラミクソウイルスの出芽もテザリンによって阻害されると考えられる。テザリンは細胞内でニパウイルスのM蛋白と共局在し、ウイルス出芽の部位に集積すると考えられた。一方で、テザリンはムンプスウイルスM蛋白質によるウイルス様粒子の出芽は阻害せず、テザリンによって阻害されないエンベロープウイルスが存在することが示唆された。

6. Depressive symptoms and apathy are associated with psychomotor slowness and frontal activation (抑うつとアパシーは精神運動速度低下及び前頭葉賦活と関連している)

澤 雅世

創生医科学専攻 (精神神経医科学)

1998年以降、我が国の自殺者は3万人超えが続いており、うつ病予防の対策が急がれている。うつ病には、抑うつや意欲低下（アパシー）の二大症状があり、これらはQOL低下と関係することが知られている。また、精神運動速度低下も、抑うつやQOL低下と関係すると報告されている。うつ病における脳機能については、様々な研究がなされているが、まだその詳細は明かかではない。我々は、健常者の抑うつ、意欲低下（アパシー）や、その背景にある脳メカニズムを明らかにすることがうつ病予防の一助になると考え、健常群における抑うつ及び意欲低下（アパシー）とQOL、精神運動速度、前頭葉活動との関係性を、近赤外線スペクトロスコピー（NIRS）を用いて検証した。本研究により、健常者の抑うつと意欲低下（アパシー）はQOL低下と関連しており、抑うつ症状や意欲低下（アパシー）が強いほど、前頭皮質の血流が増加することが示された。

#### 7. *En bloc* transfer of polyubiquitin chains to PCNA *in vitro* is mediated by two different human E2-E3 pairs

(2種類のE2-E3複合体による、ヒトPCNAへのポリユビキチン鎖転移反応の*in vitro*における解析)

鈴木 美紀

創生医科学専攻 (分子発がん制御)

損傷を受けたDNAは、DNA複製において、DNA複製装置の停止の原因となり、細胞に重篤な影響を与える。生物は、この影響を回避するためにDNA damage tolerance (DDT) と呼ばれる機構を有する。DDTには Translesion synthesis (TLS) と Template switch (TS) の二つの分子機序があり、DDTの開始は、複製装置の一つであるPCNAがユビキチン修飾を受けることに依存している。PCNAがモノユビキチン (Mono-Ub) 修飾を受けると、TLSが開始され、ポリユビキチン (Poly-Ub) 修飾を受けると、TSが開始される。PCNAはMono-Ubと結合した後、Poly-Ub修飾を受けると考えられており、そのため、TLSの誘導後にTSが誘導されると言われている。

しかし、ヒトのPCNAのUb修飾反応を*in vitro*で再構成し、解析したところ、PCNAのMono-UbとPoly-Ub修飾間に従来提唱されているような連続的な関係性はなく、PCNAはMono-Ub、Poly-Ubのどちらか一方の修飾しか受けられないことが明らかになった。つまり、PCNA-Mono-UbとPCNA-Poly-Ub反応はそ

れぞれ独立した系であり、そのため、TLSとTSも、それぞれ独立した機構であると考えられる。

#### 8. Virtual reality training followed by box training improves the laparoscopic skills of novice surgeons

(外科初心者の腹腔鏡下手術技術はバーチャルリアリティトレーニング後にボックストレーニングを行うことにより改善する)

住谷 大輔

創生医科学専攻 (消化器・移植外科学)

【背景】腹腔鏡下手術技術習得のための最も効率的なカリキュラム構築を目的とした。Virtual reality training (以下、VRT) と Box training (以下、BT) を併用する場合の、最適なトレーニング順序の決定を試みた。

【対象と方法】腹腔鏡下手術経験のない40人の外科初心者を対象とし、無作為にVRT-BT群とBT-VRT群の2群に分類した。VRT-BT群は、VRT施行後、BT施行し、BT-VRT群は、BT施行後、VRT施行した。トレーニング前後に技術評価を行いトレーニング効果を判定した。

【結果】トレーニング前の腹腔鏡下手術技術は両群に差を認めなかった。トレーニング後の両群を比較すると、VRT-BT群がBT-VRT群より良好な腹腔鏡下手術技術を獲得していた。

【結語】外科初心者の腹腔鏡下手術技術は、VRT後にBTを行うことでより効率的に改善する。

#### 9. Ocular volumetry using fast high-resolution MRI during visual fixation

(固視点を用いた高速高分解能MRIによる眼部容積測定法)

谷為 恵三

展開医科学専攻 (放射線診断学)

【目的】眼病変の容積測定は、治療効果判定や予後予測に有用と考えられた。固視点を用いた高速高分解能MRIによる眼部容積測定法を考案し、ファントム、健常ボランティア、眼内腫瘍の患者でその実現可能性を検討した。

【方法】ファントム研究では、1.5T MR装置および径76 mm表面コイルを用いた高速RAREとFSPGRによる容積測定の正確性を比較した。また健常人15

人の右眼を2回撮像, 2名の測定者がそれぞれ全球, 前房の体積を測定して, 画像再現性, 同一観察者内および観察者間の信頼性を検討した。患者研究では, 6病眼を加療中に2回撮像, 体積測定し, その有用性を評価した。

【結果】ファントム研究では, 高速 RARE の方が FSPGR より誤差が少なかった。健常人の検討では, 良好な画像再現性と測定信頼性が認められた。眼内腫瘍の体積測定は, 経過観察に有用であった。

【結論】MRI 連続画像による眼部体積測定法は実現可能と考えられた。

## 10. Involvement of microRNA-224 in cell proliferation, migration, invasion and anti-apoptosis in hepatocellular carcinoma

(microRNA-224 が肝細胞癌の増殖, 転移, 侵襲と抗アポトーシスに関連する)

張 奕宙

創生医科学専攻 (消化器・代謝内科学)

【新しい知見】 miR-224 は標的遺伝子と直接結合することによって, 肝細胞癌の細胞増殖, 細胞遊走, 侵襲および抗アポトーシスと関与し, 肝細胞癌の進展および進行に重要な役割を持つことが示唆された。

【要約】 miR-224 を過剰発現させてマイクロアレイ分析および miRNA 目標予測解析を行ったところ, 発現量が著明に変化する 68 個の遺伝子が同定された。上位にランクされた遺伝子 CDC42, CDH1, PAK2, BCL-2 および MAPK1 は, miR-224 の重要な標的遺伝子であることが確認され, 肝発癌に関与することが示唆された。Hek293 と Huh7 細胞における miR-224 の過剰発現は, mRNA レベルおよびタンパク質レベルで CDC42, CDH1, PAK2, BCL-2 の発現量を変化させた。肝細胞癌組織でも, 上記の遺伝子は同様な発現量の変化を認めた。機能解析により, miR-224 の発現は細胞増殖, 細胞遊走能, 抗アポトーシスの作用に影響を与えることが証明された。

## 11. Clinical features, prognosis and risk factors for the exacerbation of esophageal varices or portosystemic encephalopathy after hepatitis C virus eradication with interferon therapy

(C 型肝炎 IFN 治療 SVR 後の臨床的特徴や予後, 食道静脈瘤やシャント脳症増悪の危険因子について)

1) Clinical features and prognosis in patients with

hepatocellular carcinoma that developed after hepatitis C virus eradication with interferon therapy

(C 型肝炎に対する IFN 治療 SVR 後の肝癌の臨床的特徴と予後について)

2) Risk factors for the exacerbation of esophageal varices or portosystemic encephalopathy after sustained virological response with IFN therapy for HCV-related compensated cirrhosis

(C 型肝炎に対する IFN 治療 SVR 後の食道静脈瘤, シャント脳症増悪の危険因子について)

長沖 祐子

創生医科学専攻 (消化器・代謝内科学)

<論文1> C 型肝炎 IFN 治療 SVR 後肝発癌例を対象に臨床的背景を検討した。SVR 後 5 年未満発癌危険因子は高齢, 多飲者であった。5 年生存率は 64% で生存寄与因子は, 根治的治療選択であった。根治治療選択患者における 5 年生存率は 91%。根治治療選択に寄与する因子は, 定期的肝癌サーベイランスが抽出された。根治治療後の 3 年再発率 18%。SVR 後, 定期 follow up 例の予後は良好であるが, 10 年以降の発癌例も稀ではなく長期的なサーベイランスが必要である。

<論文2> C 型肝炎 IFN 治療 SVR 後症例を対象に, 臨床的背景を検討した。SVR 後, 食道胃静脈瘤増悪 19 例, シャント脳症出現 7 例を認め, 食道静脈瘤増悪率は, 3 年 13%, 5 年 49% で増悪寄与因子は, SVR 時にすでに遠肝性側副血行路が発達している事であった。シャント脳症出現率は 1 年 6%, 3 年 21%, 5 年 34%。肝発癌歴のない 26 例の SVR 後肝発癌率は, 3 年 6%, 5 年 34%。SVR 後 5 年生存率は 81%。ただし, 肝硬変合併症治療後の予後は良好であった。

## 12. Single nucleotide polymorphisms in GALNT8 are associated with response to interferon therapy for chronic hepatitis C

(GALNT8 の一塩基多型は C 型肝炎のインターフェロン療法の治療効果と関連する)

中野 力太

創生医科学専攻 (消化器・代謝内科学)

大規模 SNP 関連解析で日本人の C 型肝炎の IFN 単独療法治療効果に関連する SNP を探索した。

1088 症例による 2 段階スクリーニングで第 12 染色体 GALNT8 遺伝子領域の rs2286580 が有意な関連性を示した。この関連性は別の 328 症例のセットでも再現された。(統合 P 値  $5.3 \times 10^{-8}$ , OR 1.56) 周辺 SNP 探索を行った結果, イントロン 6 の rs10849138 が治療効果と最も強い関連性を示した。層別解析では SNP と治療効果の傾向に HCV 遺伝子型間で相違は認められなかった。多変量解析では SNP は治療効果を規定する独立因子であった。アレル特異的発現解析では GALNT8 遺伝子発現量が非著効アレル側で有意に高く, Huh7 細胞に GALNT8 を一過性過剰発現させると IFN 応答配列を介した転写誘導が有意に抑制され, GALNT8 がインターフェロンシグナルに抑制的に作用する可能性が示唆された。

13. Methylation of breast cancer susceptibility gene 1 (*BRCA1*) predicts recurrence in patients with curatively resected stage I non-small cell lung cancer (*BRCA1* メチル化異常は完全切除された I 期非小細胞肺癌における再発リスク因子である)

原田 洋明  
創生医科学専攻 (腫瘍外科学)

【背景】DNA メチル化異常は, 生物学的悪性度や治療法開発に関する分子生物学的マーカーとしても注目される。

【対象と方法】完全切除された pStage I 非小細胞肺癌手術検体 70 例の肺腫瘍部から DNA を抽出し, *BRCA1* メチル化異常と予後について検討した。

【結果】*BRCA1* メチル化異常は, 13 例 (18.6%) に認められ, 独立した再発危険因子であった ( $p = 0.0197$ )。 *BRCA1* メチル化異常の有無による 2 群間で, 無再発生存率に有意差を認めた ( $p = 0.0139$ )。Cox 比例ハザードモデルにおいても *BRCA1* メチル化異常は独立した予後因子であった ( $p = 0.0155$ )。

【結論と展望】*BRCA1* メチル化異常は, pStage I 非小細胞肺癌完全切除症例において再発予測因子となりうる。*BRCA1* は肺癌領域の Key drug であるシスプラチン感受性と関連が深く, 個別化治療に繋がるマーカーとしても注目される。

14. Different *MUC1* gene polymorphisms in German and Japanese ethnicities affect serum KL-6 levels (ドイツ人と日本人における *MUC1* 遺伝子多型が血清 KL-6 値に与える影響について)

堀益 靖  
展開医科学専攻 (分子内科学)

【背景】血清 KL-6 は間質性肺疾患 (ILDs) の診断マーカーとして本邦で臨床応用されているが, 欧米人における検討は限られている。血清 KL-6 値は *MUC1* 遺伝子多型 rs4072037 と関連するとされており, われわれはドイツ人および日本人の ILDs 患者および健常者を対象に, 血清 KL-6 値と *MUC1* 遺伝子多型との関連について調べた。

【結果】ドイツ人においても日本人と同様に ILDs 患者の血清 KL-6 値は健常者と比較し有意に高値であり ( $p < 0.001$ ), ドイツ人健常者の血清 KL-6 値は日本人健常者より有意に高値であった ( $p < 0.001$ )。rs4072037 多型の頻度はドイツ人で G/G を, 日本人で A/A を多く認めた。血清 KL-6 値は A/A, A/G, G/G の順に高値となる傾向を認め, 多変量解析によって *MUC1* 遺伝子多型が他因子とは独立して血清 KL-6 値と相関することが示された ( $p = 0.009$ )。

15. Expression of Trefoil factor family peptides in the nasal allergic mucosa (アレルギー性鼻炎粘膜における Trefoil factor family peptides の発現について)

宮原 伸之  
展開医科学専攻 (耳鼻咽喉科・頭頸部外科学)

Trefoil factor family peptides (TFF) は, 粘液産生上皮に発現し, ムチンと関連を持ち粘膜の創傷治癒に重要な役割を果たすとされる。我々は鼻粘膜の TFF とムチンに関して検討を行った。

【方法】対象は下鼻甲介切除した 28 例。アレルギーの有無に分け, TFF1/3, MUC5AC/5B の局在を免疫染色にて検討した。また, real-time PCR にて定量的比較検討を行った。

【結果】TFF1/3 は粘膜上皮細胞と粘膜下腺細胞に発現していた。TFF1/3 は粘膜上皮にて MUC5AC, 粘膜上皮と腺細胞にて MUC5B と局在が一致していた。TFF1/3 と MUC5B はアレルギー群で優位な上昇を認め, これらの上昇には相関性を認めた。

【結論】TFF1/3 と MUC5AC/5B は鼻粘膜で関連を持ち, さらに TFF1/3 と MUC5B の上昇はアレルギー性鼻炎の病態に影響を及ぼしている可能性が考えられた。