

第49回 広島大学大学院医歯薬保健学研究科発表会（医学）

（平成 25 年 5 月 2 日）

1. Influence of ocular stiffness on intraocular pressure estimation using Goldmann Applanation Tonometry
（ゴールドマン圧平眼圧計による眼内圧推定への眼剛性の影響）

白根 雅子
創生医科学専攻（視覚病態学）

緑内障において唯一エビデンスのある治療は眼圧下降である。我々はゴールドマン眼圧計と高解像度カメラを用いて眼剛性（K）を実測し、真の眼圧値と測定眼圧値の関係を考察した。眼剛性を角膜への加圧力（f）とそれによる角膜頂点変位量（x）の回帰直線の傾きと定義した（ $K = \Delta f / \Delta x$ ）。対象は 59 名、59 眼。眼剛性、角膜曲率半径、測定眼圧値（ IOP_{GAT} ）、眼軸長、前房深度、角膜中央厚、年齢、性別の 8 項目のデータを収集した。眼剛性を目的変数、その他を説明変数とする重回帰モデルを設定して Akaike information criteria による変数選択を行った結果、 $K \propto (IOP_{GAT})^{0.66}$ という関係式を得た。眼剛性の変動は真の眼圧値に連動すると考えられるため、真の眼圧値の変化率は IOP_{GAT} が低くなるほど大きいと推測された。本研究はゴールドマン眼圧計による低眼圧域の測定値の解釈に注意を要することを示した。

2. Simulated microgravity facilitates cell migration and neuroprotection after bone marrow stromal cell transplantation in spinal cord injury
（微小重力環境は脊髄損傷における骨髄間質細胞移植において細胞の遊走と神経保護を促進する）

光原 崇文
創生医科学専攻（脳神経外科学）

【目的】 模擬微小重力環境による神経再生能の検討のために、間葉系幹細胞である骨髄間質細胞（BMSC）を模擬微小重力下増殖培養し、モデルラットに移植して組織学的解析や運動機能評価を行った。

【方法】 3D-クリノスタットを使用した模擬微小重力環境下にて 7 日間培養を行った BMSC 群（CL 群）と 1G 下に培養した BMSC 群を作成した。各群で BMSC

を分子生物学的に比較検討し、それらをラット脊髄損傷モデルに移植した。移植後 3 週間運動機能評価を行い、組織学的検討を行った。

【結果】 CL 群では未分化マーカーが強く発現しており、脊髄損傷モデルでは CL 群で移植細胞が多く損傷局所に遊走し、損傷に伴う脊髄空洞の面積は有意に縮小していた。また CL 群では損傷局所のアポトーシスが抑制されていた。運動機能も CL 群で有意な回復がみられた。

【結論】 模擬微小重力環境下で培養した BMSC の中枢神経系疾患に対する有用性が示唆された。

3. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental peritoneal fibrosis by suppressing inflammation and inhibiting TGF- β 1 signaling
（間葉系幹細胞は炎症抑制および TGF- β 1 シグナルの抑制を介し腹膜線維化を改善させる）

上野 敏憲
展開医科学専攻（腎臓内科学）

【目的】 間葉系幹細胞（MSC）の腹膜線維化に対する抑制効果を検討する。

【方法】 (1) 0.1% chlorhexidine gluconate をラットの腹腔内に投与した後、MSC（ 1×10^7 個）を腹腔内投与し経時的な組織学的評価および腹膜平衡試験を行った。(2) GFP 陽性 MSC を用い、腹膜への生着の有無を経時的に検討した。(3) ヒト MSC と 4% ブドウ糖刺激を行ったヒト中皮細胞（HPMC）をトランスウェルでの共培養を行い mRNA 発現量を検討した。(4) HPMC に対し MSC-conditioned medium (CM) によるプレインキュベーション後 TGF- β 1 刺激を行い、蛋白発現を評価した。HGF 中和抗体を用い Smad2 リン酸化への影響を検討した。

【結果】 GFP 陽性 MSC の腹膜への生着は投与後 3 日目までしか確認できなかったが、MSC の投与により腹膜線維化の組織学的、機能的改善を得た。HPMC へのブドウ糖刺激により TGF- β 1, fibronectin の発現が上昇したが、MSC との共培養により有意に抑制された。さらに MSC-CM 処理により Smad2 リン酸化および上皮間葉移行の反応が抑制された。MSC は

HGF の分泌能を有し Smad2 リン酸化の抑制に関与していた。

4. Four-dimensional geometric assessment of tricuspid annulus movement in early functional tricuspid regurgitation patients indicates decreased longitudinal flexibility

(機能的三尖弁逆流症例における三尖弁輪の4次元解析)

前場 覚
展開医科学専攻 (外科学)

【はじめに】機能的三尖弁逆流 (以下 FTR) は、三尖弁輪 (以下、TA) の拡大と右室拡大にともなう腱索の tethering が主な原因であると考えられている。早期 FTR 症例における TA を 4D に解析した。

【方法】心疾患のない 20 名を健常群、右室拡大を認めず中等度以上の FTR を有する 19 例を TR 群とした。MRI を用い、TA 上の 4 点 (A, P, S, L 点) の flexibility を解析。同時に TA 面積 (TAA), tethering 高, TA 移動体積を算出。

【結果】TAA, LS 間, AP 間距離の変化は有意差なし。4 点の長軸方向の移動距離, TA 移動体積は TR 群で有意に低下。Tethering 高は TR 群で有意に増大。

【結論】TR 群では、TA の長軸方向の移動距離が有意に短縮しており、その結果弁尖の tethering が強まる。MRI は、technical bias も少なく、tracing が正確で、弁輪解析に有用と考えた。

5. A novel metallo- β -lactamase, IMP-34, in *Klebsiella* isolates with decreased resistance to imipenem (イミペネムに対する感受性が低下したクレブシエラ属が保有する新規メタロ β ラクタマーゼ, IMP-34)

繁本 憲文
展開医科学専攻 (外科学)

【目的】IPM に感受性を示すメタロ β -ラクタマーゼ (MBL) 産生菌の出現が問題となっている。広島では bla_{IMP-6} 保有株が検出されている。近畿地区においても同様の MBL 産生菌が検出されているので検討した。

【方法】近畿地区で検出された MBL 産生菌のうち IPM に感受性ないし中間耐性と判定された *K. pneumoniae* 13 株, *K. oxytoca* 4 株, *E. coli* 4 株, 計 21 株を対象とした。 bla_{IMP-1} , bla_{IMP-6} の検出は PCR

法を用い、 bla_{IMP-1} と判定された株について塩基配列を決定した。

【成績】21 株中 15 株は bla_{IMP-6} 保有株であり、1 株は bla_{IMP-1} 保有株であった。5 株が同一の新規 MBL bla_{IMP-34} 保有株であった。

【結論】IPM に感受性 (中間耐性) を示す腸内細菌株の持つ MBL 遺伝子として、 bla_{IMP-1} , bla_{IMP-6} に加え bla_{IMP-34} が存在していた。これらの株は MBL 産生株であっても IPM 単独では MBL 産生を十分に検出できないため注意が必要である。

6. 欠 番

7. Expression of recipient CD47 on rat insulinoma cell xenografts prevents macrophage-mediated rejection through SIRP α inhibitory signaling in mice

(異種移植におけるマクロファージ性拒絶抑制効果に対するレシピエント種 CD47 遺伝子導入の有効性)

寺岡 義布史
創生医科学専攻 (消化器・移植外科学)

当研究室では異種間 CD47-SIRP α シグナル不応性によりマクロファージ性傷害が働き、このシグナル誘導により傷害が回避できることを *in vitro* で証明してきた。本研究ではこの研究成果を *in vivo* 異種細胞移植モデルで解析した。

まずマウス CD47 を発現したラットインスリノーマ (INS-1E) を作製し、マウスマクロファージの SIRP α にシグナルが誘導できることを確認した。次に INS-1E を Rag2 $^{-/-}$ γ chain $^{-/-}$ マウス (DKO マウス) の腹腔内に投与し、腹腔内マクロファージによる貪食を解析したところ、マウス CD47 を発現した INS-1E (mCD47-INS-1E) ではコントロール群に比べ有意な貪食抑制を認めた。また糖尿病化した DKO マウスの腹腔内に INS-1E を投与し、血糖値モニタリングしたところ、コントロール群とは対照的に mCD47-INS-1E 群では持続的な血糖降下を認めた。さらに CD47-SIRP α シグナルを遮断した条件下で同様の実験を行うと、両群には差を認めなかった。

以上より、マクロファージによる異種細胞貪食機構には種特異的な CD47-SIRP α シグナルが関与し、これを回避するにはレシピエント種 CD47 の遺伝子導入が有効であることを *in vivo* で証明した。

8. Involvement of ribonucleotide reductase-M1 in 5-fluorouracil-induced DNA damage in esophageal cancer cell lines

(食道癌細胞株における 5-フルオロウラシルにより誘導される DNA 障害へのリボヌクレオチドリダクターゼ M1 の関与)

青木 義朗

創生医科学専攻 (腫瘍外科学)

DNA 損傷修復機構に着目し、食道癌細胞株に対する 5-fluorouracil (5-FU) と cisplatin (CDDP) の作用機序および感受性相乗効果における Ribonucleotide reductase-M1 (RRM-1) の役割を検討した。DNA 損傷の指標として γ -H2AX のフォーカス形成を、DNA 損傷修復の指標として相同組換え修復の中心的役割を果たす RAD51 のフォーカス形成の経時的変化を用いた。5-FU 単剤処理では感受性が同等な細胞株においても、DNA 損傷が優位な細胞株と RNA 障害が優位なものがあること、RRM-1 は 5-FU による DNA 損傷誘導に関与していることを見出した。2 剤併用時には、RAD51 フォーカス形成が著明に上昇しかつ長時間にわたって上昇していることを見出した。また、RRM-1 を抑制した細胞では、2 剤併用時の感受性が低下し、RAD51 フォーカス形成が減少した。以上の知見から、食道癌細胞株の 5-FU と CDDP 併用による障害感受性相乗効果には、DNA 損傷部位の修復の遅延が関与していること、RRM-1 は食道癌細胞株に対する 2 剤併用効果を規定する因子の一つであると考えられた。

9. Combination therapy with NS5A, NS3 and NS5B inhibitor on different genotype of Hepatitis C Virus in human hepatocyte chimeric mice HCV

(感染マウスを用いた NS5A, NS3 または NS5B 阻害剤併用療法の genotype 間での抗ウイルス効果の検討)

時 牛

創生医科学専攻 (消化器・代謝内科学)

近年、C 型慢性肝炎患者に対する治療薬として標的とした治療薬 Direct-acting Anti-viral Agent (DAA) の開発および臨床試験が進行している。これらの薬剤は genotype 1b に対して強力な抗ウイルス作用を有する反面、genotype 2 患者に対しての抗ウイルス効果の評価は十分に行われていない。

今回、HCV レプリコン細胞および C 型肝炎ウイル

ス感染ヒト肝細胞キメラマウスを用いて、各種 DAA 併用投与における genotype 別での抗ウイルス効果について検討した。

レプリコン細胞において、NS3 プロテアーゼ阻害剤、NS5B ポリメラーゼ阻害剤の単独投与による genotype 1 は genotype 2 に比べより強い抗ウイルス効果を認めた。

1b 感染キメラマウスにおける各種 DAA 単独投与では早期に耐性ウイルスの出現を認めたが、併用投与では耐性ウイルスの出現が予防され、より強い抗ウイルス効果を認めた。2a 染キメラマウスにおける併用投与では耐性ウイルスの出現が投与前に認められた。各種 DAA の併用投与により HCV 1b の完全排除が可能であった。

10. Bile acid promotes intestinal metaplasia and gastric carcinogenesis

(胃液胆汁酸の腸上皮化生と胃発癌に及ぼす影響について)

辰上 雅名

創生医科学専攻 (消化器・内科代謝学)

【目的・方法】胃発癌における胃液胆汁酸の関与を明らかにする目的で、上部消化管内視鏡を実施した 767 例について、胃液胆汁酸濃度と組織学的胃炎・発癌との関連を検討した。さらにラット胃粘膜細胞株 (RGM1) に *H. pylori* 共培養下で各種胆汁酸を添加し、腸上皮化生に関わる転写因子 (*CDX2*) と炎症性サイトカイン (*CINC1*) の発現を RT-PCR 法で検討した。

【結果・考察】*H. pylori* 陽性患者において、胃液胆汁酸濃度と組織学的萎縮・腸上皮化生は正の相関を、胃液胆汁酸濃度と単核球・好中球浸潤は負の相関を示した。コホート研究では、胃内胆汁酸高値例で、胃腫瘍が有意に高率に発生した。RGM1 に胆汁酸を負荷したところ、*CDX2* の発現亢進、*CINC1* の発現抑制を認めた。

【まとめ】胃内胆汁酸は *H. pylori* 陽性患者において炎症細胞浸潤を介さず、萎縮・腸上皮化生を進展させ、胃癌の発生に関与する。

11. Heterozygosity for the Y701C *STAT1* mutation in a multiplex kindred with multifocal osteomyelitis (多発性骨髄炎母子例で同定した *STAT1* 新規ヘテロ接合性遺伝子変異 Y701C とその機能解析)

平田 修

展開医科学専攻 (小児科学)

多発性骨髄炎を認める母子例に *STAT1* 新規ヘテロ接合性遺伝子変異 (2102 A>G : Y701C) を同定し、既報の変異との比較ならびに末梢血 CD14 陽性細胞における IFN 誘導遺伝子群の発現を解析し、MSMD 発症への関与を検討した。本変異は、*STAT1* 遺伝子のリン酸化が完全に障害される変異であり、チロシン脱リン酸化阻害薬を用いてもリン酸化を認めなかった。この完全なリン酸化の障害により、IFN- γ 誘導性 GAS 転写活性が優性的に阻害されマイコバクテリウムに対する易感染性を示すことが示唆された。また、IFN- γ 刺激で誘導される CXCL9 の発現は、患者由来のいずれの細胞においても著明に障害されていた。さらに、本症例を含む既報の症例の検討から、AD-STAT1 異常症では多発性骨髄炎が特徴的臨床所見であり、原因不明の多発性骨髄炎の症例では、*STAT1* を含む MSMD 関連遺伝子の検索も考慮されるべきである。

12. Clinical significance of combined diagnosis with both surface pattern and vascular pattern, and its characteristics in each growth type of colorectal tumor

(NBI 拡大観察における大腸腫瘍の表面模様と血管所見の総合評価の臨床的重要性と発育様式別の特徴)

高田 さやか

創生医科学専攻 (消化器・代謝内科学)

【目的】大腸腫瘍の NBI 拡大所見と病理組織学的背景の関連、surface pattern の重要性を検討するとともに、発育様式別の vascular (V) pattern と surface (S) pattern の特徴を検討した。

【対象・方法】(検討1) 大腸腫瘍の NBI 拡大所見として V, S pattern を総合的に評価した場合の診断能、病理組織学的背景、その客観性について解析した。(検討2) 大腸腫瘍の発育様式別に NBI 拡大観察所見の特徴について検討した。

【結果】(検討1) NBI 拡大観察所見は病理組織構築と関連しており、深達度診断には V, S pattern の総合的評価が有用で、その客観性は良好であった。(検討2) 発育様式別に大腸腫瘍の NBI 拡大所見は異なった特徴を有していた。

【結語】大腸腫瘍の NBI 拡大観察では V, S pattern の総合評価が重要であり、さらに発育様式別も考慮する必要がある。

13. Electrocorticographic-histopathologic correlations implying epileptogenicity of dysembryoplastic neuroepithelial tumor (DNT)

(胚芽異形成性神経上皮腫瘍におけるてんかん原性領域を意味する頭蓋内脳波所見と組織所見の相関性)

香川 幸太

創生医科学専攻 (脳神経外科学)

胚芽異形成性神経上皮腫瘍 (dysembryoplastic neuroepithelial tumor: DNT) 5 症例に関して、頭蓋内脳波におけるてんかん活動領域の広がり、対応する病理組織所見の相関性について検討した。全例に慢性頭蓋内脳波記録を行い、発作起始領域 (ictal onset zone: IOZ) および発作間欠期てんかん活動領域 (irritative zone: IZ) を同定した。4 例では MRI 可視病変の辺縁に IOZ を認め、IZ はさらに周辺皮質領域まで広がっていた。MRI 可視病変に対応する組織所見は specific glioneuronal elements (以下、SGNE)、IOZ に対応する組織所見は SGNE 部分から連続性に oligodendroglia-like cells (以下、OLC) を伴った異形成性皮質、すなわち SGNE から正常脳への移行型として特徴づけられた。1 例では MRI 可視病変そのものが IOZ に対応し、組織所見は OLC が混在する皮質形成異常であった。MRI 可視病変に加えて IOZ および IZ を追加切除した 3 例では術後発作消失が得られた。MRI 可視病変外まで広がるてんかん原性領域に、詳細な頭蓋内脳波検査を行うことが DNT における難治性てんかんの術後成績向上のために重要と考えられた。

14. Monitoring of oral and nasal exhaled nitric oxide in eosinophilic chronic rhinosinusitis: a prospective study

(好酸球性副鼻腔炎における呼気中一酸化窒素 (NO) 濃度のモニタリングについての検討)

野田 礼彰

展開医科学専攻 (耳鼻咽喉科学・頭頸部外科学)

一酸化窒素 (NO) は一酸化窒素合成酵素 (NOS) の働きにより気道で豊富に産生されている。

今回我々は、好酸球副鼻腔炎症例における、保存的治療と外科的治療を行った前後での口呼気 FeNO と鼻呼気 FeNO の変化を測定し、FeNO の客観的指標としての価値を検討した。また、それに加えて手術時

に抽出した組織を用いて分子学的な分析も合わせて行った。

治療前の比較では、好酸球性副鼻腔炎群の口呼吸 FeNO が正常群よりも有意に高かった。また、治療後の FeNO の変化については、手術治療群のみ口呼吸 FeNO が上昇し、鼻呼吸 FeNO が減少していた。

免疫染色では iNOS のみ粘膜下の炎症細胞で陽性反応を認め、リアルタイム RT-PCR では iNOS と IL5 の mRNA 発現が増加していた。

好酸球性副鼻腔炎症例は手術後に再発を防ぐために投薬治療の継続がしばしば必要になる。それゆえ、経時的に FeNO を測定することは、好酸球性副鼻腔炎症例に対する治療後の経過を評価する客観的な指標になる可能性が示唆された。

15. Vorinostat ameliorates impaired fear extinction possibly via the hippocampal NMDA-CaMKII pathway in an animal model of posttraumatic stress disorder

(Vorinostat は外傷後ストレス障害の動物モデルにおいて、おそらく海馬の NMDA-CaMKII 経路を介して、恐怖記憶の消去障害を改善する)

外傷後ストレス障害 (PTSD) の動物モデルである Single prolonged stress ラットを用いて、PTSD の新規治療法の開発を目的にヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害薬である vorinostat (VS) を用い恐怖記憶の消去障害に対する効果を検討した。フットショック (FS) による文脈的恐怖条件付けを施行後、暴露 24, 48 時間後に同じチャンパーに FS なしで 20 分間暴露した。VS は 2 回目の文脈的暴露直後に投与し、投与 24 時間後にすくみ行動の時間を計測した。結果 VS 投与群ですくみ行動の減少を認め、Western blotting 法でヒストン H3・H4 のアセチル化の亢進と、NR2B と CaMKII の発現亢進を認めた。この結果から、恐怖記憶消去訓練中の VS の投与は、海馬ヒストン・アセチル化の促進による NR2B や CaMKII の増加を導き、恐怖記憶の消去障害を回復させる事が示唆された。