

第53回 広島大学大学院医歯薬保健学研究科発表会（医学）

（平成 26 年 2 月 6 日）

1. Proprioceptive function after isolated single-bundle posterior cruciate ligament reconstruction with remnant preservation for chronic posterior cruciate ligament injuries

（後十字靭帯損傷に対するレムナント温存 1 重束後十字靭帯再建術後の固有感覚）

江口 明生
展開医科学専攻（整形外科学）

これまでに遺残靭帯（レムナント）を温存した後十字靭帯（PCL）再建術の報告は散見されるが、術前後の固有感覚能を評価した研究はない。

慢性期 PCL 単独損傷に対してレムナント温存 1 束単独 PCL 再建術を施行した 19 患者を 2 年以上経過観察した。臨床成績（Lysholm 膝スコア）、単純 X 線 gravity sag view、ストレス撮影、および KT-2000 膝動揺性計測は、何れも術後有意に改善を認めた。固有感覚能は他動運動を覚知するまでのしきい値として計測し、膝屈曲角度や屈伸動作方向に関わらず、術前と何れの経過観察時とを比較しても変化は認めなかった。

レムナント温存が固有感覚能の維持に有利に働いていた可能性がある。更に力学的強度の改善、移植腱の再血管化を促すことも期待される。レムナントに含まれる神経終末や毛細血管を温存することにもっと注意が払われるべきである。

2. Human platelet-rich plasma promotes axon growth in brain-spinal cord coculture

（脳脊髄器官共培養においてヒト多血小板血漿は軸索成長を促進する）

竹内 実知子
展開医科学専攻（整形外科学）

脳脊髄共存培養を用い PRP が脊髄軸索再生に与える影響を検討した。ヒト末梢血から作成した PRP の PDGF-AB、VEGF、IGF-1、TGF-β1 を測定した。脳脊髄共存培養は培地に PRP をまぜた PRP 5% 群と PRP 10% 群とを作製し脳皮質と脊髄の境界部から一定の距

離をこえる軸索を数えた。また PRP の各成長因子に対する中和抗体を加え同様に培養評価した。PRP の血小板数は 2670000、PDGF-AB 138.7ng/ml、VEGF 2.82ng/ml、IGF-1 90.2ng/ml、TGF-β1 202ng/ml。軸索伸長数は PRP 5% 群、PRP 10% 群とも対照群より有意に多かった。PRP に各中和抗体を加えた軸索伸長数は VEGF 抗体群と IGF-1 抗体群は有意に少なく、TGF-β1 抗体群は有意に多かった。PRP が皮質脊髄路の軸索再生を促進し、VEGF、IGF-1 は促進的に TGF-β1 は抑制的に作用した。

3. Evaluation of magnetic resonance imaging and clinical outcome after tissue-engineered cartilage implantation: prospective 6-year follow-up study

（アテロコラーゲンゲル包埋自家培養軟骨細胞移植後の MRI 評価と臨床成績術後 6 年の追跡研究）

高沢 皓文
展開医科学専攻（整形外科学）

【目的】アテロコラーゲンゲル包埋自家培養軟骨移植術後約 6 年での臨床評価、MRI 評価を報告すること。

【方法】先に施行した多施設研究に参加した患者のうち、2 つの医療機関で 5 年以上経過観察可能であった 14 例を対象とした。臨床評価として Lysholm スコア、original 膝機能スコアを、MRI 評価として modified MOCART スコアを用いて、術前、術後 1 年および術後約 6 年の最終経過観察時に評価した。

【結果】Lysholm スコア、original 膝機能スコア、MOCART スコアいずれにおいても術前と術後 1 年で有意に改善し、術後 1 年と術後 6 年では有意差はなく、術後 1 年の成績が術後約 6 年まで維持されていることを示した。追加手術を要した症例はなく、関連する自覚症状も認めなかった。

【考察】本検討により、アテロコラーゲンゲル包埋自家培養軟骨移植の術後成績は、術後 1 年時に有意に改善し、術後約 6 年まで維持されることが明らかとなった。また、MRI 評価においても軟骨修復部は良好に維持されていると考えられた。

4. Is the association between smoking and the retinal venular diameter reversible following smoking cessation?

(喫煙と眼底血管径の関連は禁煙後にも残るか)

柳 昌秀

創生医科学専攻 (視覚病態学)

放射線影響研究所の成人健康調査 (AHS) に 2006 年から 2008 年に参加した 2699 人を対象として、喫煙習慣と網膜血管径の関連について検討した。米国ウィスコンシン大学で開発された画像解析ソフトを用いて眼底写真から網膜中心動脈径推定値 (CRAE)、網膜中心静脈径推定値 (CRVE) を求めた。禁煙情報については問診あるいは郵送による質問の結果から、一日当たりの平均喫煙数と禁煙期間を推定した。

結果として女性の CRVE と喫煙は用量依存的な関係にあり、CRVE は 10 本喫煙する毎に非喫煙群より 6.9 μm ずつ太くなることが分かった ($P = 0.001$)。禁煙期間が長くなるほど網膜静脈径は細くなり、10 年以上禁煙している群では非喫煙群と有意な差がなくなった ($P = 0.23$)。男性では統計的に有意な変動は検出できなかった。

今回の結果で女性において喫煙の網膜血管に対する影響が用量依存性に現れた。また十分な禁煙期間をとると喫煙の網膜血管径に与える影響が軽減されることがわかった。

5. Transcriptional regulation of VEGFA by the endoplasmic reticulum stress transducer OASIS in ARPE-19 cells

(ヒト網膜色素上皮細胞 ARPE-19 における小胞体ストレストランスデューサー OASIS による血管内皮増殖因子 VEGFA の転写制御)

宮城 秀考

創生医科学専攻 (視覚病態学)

血管内皮増殖因子 VEGFA は、血管新生の鍵となる分子であり、VEGFA の転写制御機構を解明することは、VEGFA が関与する疾患の治療法開発に重要である。最近、小胞体ストレス応答が VEGFA の転写制御に関わっていることがわかってきた。

ヒト網膜色素上皮細胞株である ARPE-19 に薬剤で小胞体ストレスをかけると、VEGFA が転写誘導された。同時に転写因子である XBP1, ATF4, ATF6,

OASIS が発現していた。ヒト VEGFA 遺伝子のプロモーター解析を行うと、OASIS が VEGFA 遺伝子の上流 500bp 付近にある cyclic AMP-responsive element (CRE) 様配列に作用することがわかった。さらに、OASIS はその CRE 様配列を含むプロモーター領域に直接結合することを、クロマチン免疫沈降法で確認した。

OASIS を制御することが、VEGFA 関連疾患に対する新たな治療法となり得る。

6. Identification and Characterization of a Novel *aac(6')*-Iag Associated with the *bla*_{IMP-1}-integron in a Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* (多剤耐性緑膿菌の *bla*_{IMP-1} インテグロンに存在する新規アミノグリコシドアセチルトランスフェラーゼ 6'-Iag の同定と解析)

小林 加直

創生医科学専攻 (腎泌尿器科学)

広島大学病院の同一病棟入院患者 4 名から多剤耐性緑膿菌が検出された。本事例は、単一クローンによる院内感染事例であることが示唆された。起因となった株は *bla*_{IMP-1} 陽性で、新規クラス 1 インテグロン *In124* を保有していた。*In124* 内の耐性遺伝子カセットの中から、新規アミノグリコシドアセチル化酵素遺伝子を見出し、*aac(6')*-Iag と名付けた。TLC 及び質量分析にて、組換え体 AAC(6')-Iag によるアミノグリコシド (AG) のアセチル化を、また、ESI-MS/MS 解析にて、AG の 6' 位のアミノ基へのアセチル化を確認した。これまで AAC(6')-I 群の酵素は、アルペカシン (ABK) 耐性に寄与しないとされているが、AAC(6')-Iag は ABK に低感受性を示した。本酵素の速度論的解析から、ABK に対する高い代謝能が ABK 低感受性の性状をもたらしたものと推測された。

7. Rat cavernous nerve reconstruction with CD133+ cells derived from human bone marrow

(ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞を用いたラット陰莖海綿体神経の再生)

宮本 克利

創生医科学専攻 (腎泌尿器科学)

【目的】ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞を用いた陰莖海綿体神経再生の可能性を追求する。

【方法】ヌードラットの陰茎海綿体神経を切除し、アルギン酸ゲルシートを足場に細胞を移植した。移植12週後に切除部位の中樞側にある major pelvic ganglion を電気刺激して勃起機能を評価、その後、前立腺を摘出し、組織学的評価を行った。さらにシート近傍の再生組織内における増殖因子群の発現を real time PCR にて解析した。

【結果】CD133 陽性細胞移植によって組織学的に神経の再生を認め、電気刺激による勃起が確認された。再生組織内では nerve growth factor (NGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) の発現増強を認めた。

【結論】CD133 陽性細胞移植による陰茎海綿体神経再生が確認され、NGF, VEGF の関与が示唆された。

8. Long-term administration of fluvoxamine attenuates neuropathic pain and involvement of spinal serotonin receptors in diabetic model rats (糖尿病モデルラットに対するフルボキサミンの長期投与は神経障害性疼痛を軽減するとともに脊髄におけるセロトニン受容体の関与を変化させる)

加藤 貴大
展開医科学専攻 (麻醉蘇生学)

本研究では、streptozotocin (STZ) 誘発性糖尿病ラットに対し fluvoxamine (Flu) を長期間投与し、その抗アロディニア効果の推移を検討した。また、serotonin (5-HT) 受容体拮抗薬を糖尿病ラットの髄腔内に投与し、Flu を長期間投与した際の脊髄における 5-HT 受容体の関与を検討した。STZ 投与後3週より Flu (10, 30, 100mg/kg) を5週間に亘って連日経口投与した糖尿病ラットでは、濃度依存性に抗アロディニア効果を認めた。Flu (100mg/kg) を5週間に亘って連日経口投与し、5-HT_{1A} 受容体拮抗薬を Flu 投与後 1, 3, 5 週に髄腔内投与した糖尿病ラットでは、Flu 投与後1週のみで有意な抗アロディニア効果の減弱を認めた。同様の実験を 5-HT_{2A/2C} 受容体拮抗薬と 5-HT₃ 受容体拮抗薬で行うと、ともに Flu 投与後 1, 3 週にて有意な抗アロディニア効果の減弱を認めた。以上のことから、糖尿病ラットに対する Flu の長期間投与は安定した抗アロディニア効果を持続させ、Flu の長期間投与時の脊髄における 5-HT 受容体の関与は経時的に変化すると結論した。

9. Deterioration of the circadian variation of heart rate variability in Brugada syndrome may contribute to the pathogenesis of ventricular fibrillation

(ブルガダ症候群における心拍変動の日内変動の低下が心室細動発生機序に寄与している可能性がある)

徳山 丈仁
展開医科学専攻 (循環器内科学)

【目的】心室細動のトリガーで自律神経異常の関与が報告されている。我々はブルガダ症候群の心室細動既往患者で自律神経の日内変動を解析し、リスク因子としての関連を検討した。

【方法】心室細動既往があるブルガダ症候群患者 (Brs-S 群, 平均年齢 42 ± 4 歳) 12 人, 心室細動既往がないブルガダ症候群患者 (Brs-N 群, 平均年齢 48 ± 4 歳) 17 人, 年齢と性別をマッチさせた健常人 (control 群) 16 人で臨床所見, 12 誘導心電図, 心室遅延電位, 電気生理学的検査, 24 時間ホルター心電図による心拍変動を比較した。

【結果】Brs-S 群 と Brs-N 群 の low frequency components (LF) と Brs-S 群 の high frequency components (HF) は control 群に比較して低下 (409.8 ± 128.6 ms², 329.5 ± 108 ms² vs. 945.3 ± 111.3 ms²; 135.1 ± 73.8 ms² vs. 391.8 ± 63.9 ms²)。LF/HF の標準偏差 (< 2.5) と LF の標準偏差 (< 400 ms²) で Brs 患者を感度 96.6%, 特異度 92.9% で判別し, LF と HF の変動係数の検討で, Brs-S 群 (83.3%) では Brs-N 群より LF の変動が増加していた。

【結論】ブルガダ症候群は自律神経機能の日内変動低下が心室細動原因に寄与している可能性が示唆された。

10. Association between serum levels of n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary plaque detected by coronary computed tomography angiography in patients receiving statin therapy (スタチン治療患者における血清 n-3 系多価不飽和脂肪酸濃度と冠動脈プラークとの関連性 — 冠動脈 CT 血管造影による評価 —)

卜部 洋司
展開医科学専攻 (循環器内科学)

スタチンによる脂質低下療法は、心血管イベントを抑制するが、発症リスクは残存している。また疫学調査により n-3 系多価不飽和脂肪酸は、心血管イベントと関連がある。

スタチン治療中の 172 例に、冠動脈 CT を用い、病変の有無や進展、さらには病変性状を評価し、血清 n-3 系多価不飽和脂肪酸 (EPA, DHA) 値との関連を検討した。

EPA 低値群は高値群と比べ、主要 3 枝に病変の存在する頻度 (62% vs. 43%), 非石灰化病変の存在 (74% vs. 52%), 冠動脈 CT で評価される高リスク病変を高率に認めた (43% vs. 22%)。また多変量解析を行っても EPA 低値は、これらの所見と関連があったが、DHA 低値は有意な関連を認めなかった。

EPA 低値は冠動脈病変の形成や進展と関連があり、さらに性状とも関連があった。スタチン治療中の EPA 低値患者では、冠動脈疾患の進行やイベント発症リスクが残存している可能性が示唆された。

11. Prediction of atrial fibrillation after off-pump coronary artery bypass grafting using preoperative total atrial conduction time determined on tissue doppler imaging
(組織ドップラー法を用いた体外循環非使用冠動脈バイパス手術の術後心房細動の発症予測)

藤原 舞
展開医科学専攻 (循環器内科学)

術後心房細動 (POAF) は心臓外科術後に頻発する不整脈で、入院期間延長や医療費増大の原因となり重要視されている。本研究は、組織ドップラー法を用いて総心房伝導時間を近似した指標である PA-TDI duration を計測し体外循環非使用冠動脈バイパス術 (OPCAB) の POAF 発症を検討した。方法は、当院にて OPCAB をうけた洞調律の患者 88 例を対象とし、術前に施行した組織ドップラー法にて評価を行い、術後より 7 日間 24 時間心電図モニターリングを行い評価したところ、全体の 39.8% が POAF を発症し、POAF 発症群は非発症群に比べ入院期間の延長をみると、多変量解析では、PA-TDI duration の延長、左房容積係数は POAF の独立した予測因子であり、さらに ROC 曲線によると PA-TDI duration の延長は、左房容積係数よりも更に信頼出来る OPCAB 後の POAF 発症の独立した予測因子であった。

12. NRD1, which encodes nardilysin protein, promotes esophageal cancer cell invasion through induction of MMP2 and MMP3 expression (nardilysin をコードする NRD1 は、MMP2 および MMP3 を介して食道がんの浸潤を促進させる)

浦岡 直礼
創生医科学専攻 (分子病理学)

SAGE 法は定量性・再現性に優れた網羅的遺伝子発現解析法の一つである。本研究では食道扁平上皮癌で発現が亢進している遺伝子の中から、NRD1 に着目して解析を行った。NRD1 は mRNA レベル、蛋白レベルのいずれにおいても食道扁平上皮癌で高頻度に発現の亢進が認められ、免疫組織学的検討では、食道癌組織 109 例中 43 例 (39%) に NRD1 の発現が見られた。NRD1 の発現は、腫瘍の T grade, N grade, Stage の進行と有意な相関があり、NRD1 の発現は独立した予後不良因子であった。食道癌細胞株で NRD1 をノックダウンすると浸潤能が低下し、定量的 RT-PCR では matrix metalloproteinase 2 (MMP2) および MMP3 の発現減弱が認められた。以上から NRD1 は MMP2, MMP3 を介して食道扁平上皮癌の進展に関与しており、独立した予後予測因子となることが示された。

13. Identification of novel transmembrane proteins in scirrhous type gastric cancer by *Escherichia coli* ampicillin secretion trap (CAST) method: TM9SF3 participates in tumor invasion and serves as a prognostic factor
(CAST 法を用いた新規スキルス胃癌特異的膜蛋白質の同定: TM9SF3 は癌の浸潤に関与し、予後因子となる)

Htoo Zarni Oo
創生医科学専攻 (分子病理学)

スキルス胃癌は極めて進行が早く、予後不良である。本研究では、CAST 法を用いて、スキルス胃癌特異的に発現する遺伝子の同定を試みた。2 種類のスキルス胃癌組織と正常胃粘膜組織から作製された CAST library を比較した結果、スキルス胃癌組織で高発現する遺伝子として Transmembrane 9 superfamily member 3 (TM9SF3) を同定した。胃癌組織を用いた免疫染色では、TM9SF3 の発現は 91 症例中 46 例で認められた。TM9SF3 の発現と臨床病理学的因子

との相関を検討したところ、未分化型の胃癌、スキルス胃癌や TNM ステージとの間に有意な相関が認められた。胃癌細胞株を用いた検討では、TM9SF3 のノックダウンにより浸潤能が有意に抑制された。結論とし

て、TM9SF3 はスキルス胃癌で発現しており、癌細胞の浸潤に関与していることが示唆され、胃癌の予後不良因子であることが示された。