

第57回 広島大学研究科発表会（医学）

（平成 27 年 1 月 8 日）

1. Direct effect of radiation on the peripheral nerve in a rat model

（放射線照射による末梢神経への直接的な影響）

奥原 裕佳子

展開医科学専攻（整形外科）

放射線末梢神経障害は周囲軟部組織の瘢痕を介した絞扼性神経障害が主体であると考えられているが、その治療法である神経剥離術の効果は安定していない。本研究の目的は新たな治療法を確立するための動物モデルを確立することである。ラット坐骨神経に対し周囲組織を鉛の板で被覆し、露出させた神経 1 cm に 90 Gy の X 線を照射した（照射群）。Sham 群に対しては同様の手術手技を行った後、照射せず 15 分間放置した。両群に対し歩行機能評価、電気生理学的検査、病理組織学的評価を行った。歩行機能評価では両群間に有意差を認めなかった。肉眼的には神経のみに照射したにも関わらず、周囲の瘢痕形成を認めた。電気生理学的検査では Sham 群に対して照射群で有意な振幅の低下を認め、病理組織学的検査では照射部だけでなく照射部よりも中枢と末梢にも変性を認めた。以上より逆行性にも変性を来していることが分かった。本モデルを用いることで新たな手術療法の開発が期待できる。

2. The dorsolateral prefrontal network is involved in pain perception in knee osteoarthritis patients

（前頭前野背外側部の脳内ネットワークは、変形性膝関節症患者の疼痛認知に関与する）

平松 武

展開医科学専攻（整形外科）

変形性膝関節症（膝 OA）の疼痛は、安静時痛がほとんどなく、急性痛の繰り返しと考えられ、他の慢性疼痛疾患の疼痛と相違がある。

本研究の目的は、膝 OA 患者と健常人の疼痛認知の違いを、fMRI を用いて検証すること。

変形性膝関節症患者 12 人、健常人 11 人を対象とし、表皮内刺激電極を用いた急性疼痛タスクで、fMRI を

撮像した。膝 OA 患者で有意に活動した領域を特定し、PPI 解析にて膝 OA 患者で有意に活動した領域と相関して活動するペインマトリックス領域を解析した。

膝 OA 患者で有意に両側 DLPFC が賦活していたが、健常人で認める DLPFC とペインマトリックスの活動の相関は消失していた。

DLPFC とペインマトリックスのネットワークは疼痛抑制に関与し、DLPFC の活動がペインマトリックスと関連を持たず増加していることは、DLPFC が正常に機能せず、慢性疼痛の病態に影響を及ぼしている可能性がある。

3. The USP21 short variant (USP21SV) lacking NES, located mostly in the nucleus *in vivo*, activates transcription by deubiquitylating ubH2A *in vitro*

（USP21 の短い変異体は NES が欠失しており、*in vivo* では核内に多く存在し、*in vitro* で ubH2A を脱ユビキチン化することによって転写を活性化する）

奥田 浩

創生医科学専攻（消化器・移植外科学）

USP21 はユビキチンとヒストン H2A とのイソペプチド結合加水分解を触媒する脱ユビキチン化酵素である。ユビキチン化 H2A (ubH2A) は転写を抑制する、ゆえに USP21 は転写を活性化する。一方、USP21 の局在は USP21 が細胞質において別の機能を持っていることを示唆する。我々は NES が欠失した USP21 short variant (USP21SV) を同定した。USP21SV は核内において USP21 long variant と異なる局在を示し、別の役割があることを示唆している。双方の USP21 変異体は異なる部位で発現するが、共に核内での ubH2A を減少させる。組み換え USP21 変異体を用いた *in vitro* でも共に ubH2A を脱ユビキチン化し、転写を活性化する。これらのデータは USP21 が細胞でのユビキチン化、脱ユビキチン化のネットワークにおいて複数の役割をもつことを示唆している。

4. The endoplasmic reticulum stress transducer BBF2H7 suppresses apoptosis by activating the

ATF5-MCL1 pathway in growth plate cartilage

(小胞体ストレスセンサー BBF2H7 は成長軟骨において ATF5-MCL1 経路を活性化させアポトーシスを抑制する)

泉 聡太郎

展開医科学専攻 (整形外科)

小胞体ストレスセンサー BBF2H7 はマウス成長軟骨の増殖軟骨細胞層に高く発現している。*Bbf2h7* 欠損マウスでは、骨軟骨形成不全を呈し、骨端部では軟骨細胞数が有意に減少し、TUNEL 陽性細胞が増加していることが分かった。今回、我々はこの軟骨細胞のアポトーシス亢進の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

我々は、BBF2H7 の転写ターゲットとして、抗アポトーシス作用を持つことが報告されている ATF5 を見出した。*Bbf2h7* 欠損マウス由来の初代培養軟骨細胞を用いたレポーター・アッセイで、BBF2H7 が直接 ATF5-MCL1 経路を活性化していることを確認した。さらに、この BBF2H7-ATF5-MCL1 経路が小胞体ストレス特異的な反応であることを示した。

これらのことより、マウス成長軟骨での軟骨細胞分化において大量の細胞外基質を分泌する際生じる小胞体ストレスに対し、下流である ATF5-MCL1 経路を活性化させることで、小胞体ストレス誘発性アポトーシスを抑制していることが示唆された。

5. Rho-Associated Kinase Activity Is a Predictor of Cardiovascular Outcomes

(新規心血管イベント発症予測因子としての Rho-associated kinase (ROCK) 活性)

梶川 正人

展開医科学専攻 (循環器内科学)

【背景】Rho-ROCK 経路の活性化は、動脈硬化性疾患の進展に関与すると考えられている。動脈硬化危険因子や冠動脈疾患を有する患者で ROCK 活性が上昇している事が報告されている。ROCK 活性の評価は、心血管疾患における新規バイオマーカーとなりえる可能性、冠危険因子や心血管疾患に対して治療標的になり得ることが期待される。

【方法】広島大学病院を受診した 633 例に対し、白血球 ROCK 活性を測定し心血管イベント発症との関連について検討を行った。

【結果】平均 42 か月の観察期間中、10 例に心血管死、2 例に心筋梗塞、15 例に脳梗塞、20 例に血行再建、17 例に心不全入院を認めた。年齢、性別、冠危険因子により補正した解析では、白血球 ROCK 活性は、心血管イベント (HR: 2.19, CI: 1.35-3.70, P=0.002)、心血管死 (HR: 2.57, CI: 1.18-6.60, P=0.002)、脳梗塞 (HR: 2.14, CI: 1.24-3.86, P=0.006)、血行再建 (HR: 2.68, CI: 1.60-4.66, P<0.001) と関連していた。

【結語】白血球 ROCK 活性は、心血管疾患発症予測因子である可能性が示唆された。

6. Quantitative effect of natural killer cell licensing on hepatocellular carcinoma recurrence after curative hepatectomy

(ナチュラルキラー細胞 Licensing の定量的効果が肝細胞癌治療切除後再発に与える影響)

谷峰 直樹

創生医科学専攻 (消化器・移植外科学)

NK 細胞が自己の HLA を認識する抑制性 Killer immunoglobulin-like receptor (KIR) の表出 (自己認識能獲得) と共に、潜在的活性強化を受ける機構を「License」と呼ぶ。KIR, HLA 遺伝子型の多様性が肝細胞癌 (HCC) 術後再発に与える影響を検討した。HCC 初回肝切除症例 170 例を対象とし、rSSO-PCR 法を用いた KIR, HLA 遺伝子タイピングを行った。患者・腫瘍因子、計 9 項目を、傾向スコアマッチング法で調整し、再発予後解析を行った。

【結果】KIR-HLA ペア保有数により累積再発曲線は階層化され、有効な KIR-HLA ペア ≥ 3 個の群は、 ≤ 2 個の群に比べ有意に術後再発予後が良好であった ($P = 0.018$, 調整ハザード比 0.57)。KIR-HLA 遺伝型による再発高リスク群が存在し、NK 細胞の潜在活性が HCC 術後予後に強く関与することが示唆された。

7. Pulverized konjac glucomannan ameliorates oxazolone-induced colitis in mice

(粉碎コンニャクグルコマンナンはマウスオキサゾロン大腸炎を改善する)

鬼武 敏子

創生医科学専攻 (消化器・代謝内科学)

【背景・目的】Pulverized konjac glucomannan (PKGM) はコンニャクグルコマンナンを微粉砕したもので、ア

トピー性皮膚炎への改善効果が示されている。今回我々は、マウス大腸炎モデルにおける PKGM の有効性を検討した。

【方法】 C57BL/6 マウスと J α 281-deficient マウス (NKTKO) に PKGM 混合餌を 2 週間与えた。コントロールとして通常餌, PKGM と異なる粒子径の粉碎コンニャク (PA) 混合餌を使用した。3% オキサゾン (OXA) で前感作し, 5 日後に 1% OXA を注腸投与してハプテン誘発大腸炎を起こした後, 各群の炎症制御効果および大腸粘膜内サイトカイン産生について検討した。

【結果】 PKGM 投与群はコントロール群や PA 群と比べて有意にマウス腸炎が抑制された。大腸由来 IL-13 や IL-4 発現は PKGM により減少したが IFN- γ の発現には影響しなかった。また PKGM 群では肝由来の NK1.1 陽性 T 細胞が有意に減少していた。PKGM の腸炎抑制効果は NKTKO マウスでは認めなかった。

【結語】 PKGM の経口投与はマウス OXA 大腸炎を抑制し, その機序として iNKT 細胞の抑制が示唆された。

8. Matrix metalloproteinase and cytokine expression in Tenon fibroblasts during scar formation after glaucoma filtration or implant surgery in rats (ラットを用いた緑内障濾過, 及びインプラント手術後の癒痕形成におけるテノン線維芽細胞内の MMP, サイトカイン発現)

柴崎 桃子
創生医科学専攻 (視覚病態学)

ラットをモデル動物として緑内障濾過手術, およびインプラント手術を行い, 術後 10 日の時点で結膜下の組織から細胞を分離培養した。培養された細胞を用いて RT-PCR 法にて MMP-1,2,3,9,13 の RNA 量, 蛋白発現量を定量化した。マルチプレックスを用いて培養上清中に分泌されたサイトカインを調べ, 両群間で比較した。さらに IL-6 siRNA を用いて, 濾過手術群の線維芽細胞内の IL-6 をノックダウンし, MMP1,3 の蛋白発現量を調べた。細胞中の MMP では, 濾過手術群と比較してインプラント群の MMP-1 と MMP-3 の発現量が mRNA および蛋白量ともに多かった。培養上清中に分泌されたサイトカインでは, インプラント群と比較して濾過手術群の IL-6 が有意に多かった。IL-6 siRNA を用いて濾過手術群の線維芽細胞内の

IL-6 をノックダウンした結果, MMP1,3 の蛋白発現量が有意に増加していることが確認できた。濾過手術とインプラント手術では, 術野における MMP1 および MMP-3 の発現量が異なっていた。IL-6 が MMP 発現を抑制することで創傷治癒過程の違いが起こることが示唆された。

9. p16 gene transfer induces centrosome amplification and abnormal nucleation associated with survivin down-regulation in glioma cells

(グリオーマ細胞への p16 遺伝子導入は survivin の発現低下を伴った中心体増幅と核形態異常をもたらす)

高安 武志
創生医科学専攻 (脳神経外科学)

グリオーマ細胞に p16 遺伝子を導入すると, G1/S 期停止を起こし, 核の形態異常を伴って放射線感受性が増強する。核の形態異常は染色体不安定性を示す所見で, これに中心体増幅が関与しているかどうか検討した。

グリオーマ細胞株にアデノウイルスベクターで p16 遺伝子を導入した。放射線照射および非照射の条件でも比較した。蛍光免疫染色で評価すると, p16 導入細胞で中心体増幅を生じた細胞が増加し, 放射線照射群でより顕著であった。Western blot 法で, DNA 複製ライセンス化因子の CDT1 と, その阻害因子 geminin の発現を観察すると, geminin は不変で, CDT1 が p16 導入細胞で低下していた。ライセンス化が終了しながら, 細胞周期進行が停止した不安定状態と考えられた。また, 染色体配分に関与する survivin は, p16 導入細胞で低下しており, 染色体不安定性への関連が示唆された。

10. Influence of clinical experience of the Macintosh laryngoscope on performance with the Pentax-AWS Airway Scope[®], a rigid video-laryngoscope, by paramedics in Japan

(救急救命士におけるマッキントッシュ型喉頭鏡の臨床経験がビデオ喉頭鏡を用いた気管挿管技能に及ぼす影響)

太田 浩平
展開医科学専攻 (救急医学)

【目的】救急救命士の気管挿管におけるエアウェイスコープ（以下AWS）の有用性を確立し、またマッキントッシュ型喉頭鏡（以下ML）の臨床経験がAWSの技能習得に及ぼす影響を評価する。

【方法】20名の救急救命士が6時間の講習後、手術室で全身麻酔下の患者を各5名ずつAWSで気管挿管した。20名のうち10名はMLの経験が無く（A群）、10名は経験を有していた（B群）。全体の成功率、手技回数及び所要時間、合併症を記録し、各群で比較した。

【結果】100例の挿管で全体の成功率は99% (99/100)

であった。初回の手技での成功率はA群で有意に高く（A群：96% vs. B群：64%, $p = 0.0001$ ）、所要時間もA群で有意に短かった（A群： 37 ± 24 秒 vs. B群： 48 ± 21 秒, $p = 0.002$ ）。1例目から5例目で所要時間は短縮しなかった。両群で重篤な合併症は認めなかった。

【結論】マッキントッシュ型喉頭鏡の習熟度によらず、救急救命士によるAWSを用いた気管挿管は高い成功率であった。MLの臨床経験の無い救急救命士の方が、AWSでの手技は優れていた。