

第60回 広島大学研究科発表会（医学）

（平成 27 年 8 月 6 日）

1. The xanthine oxidase inhibitor febuxostat suppress development of nonalcoholic steatohepatitis in a rodent model
（キサンチンオキシダーゼ阻害薬フェブキソスタットがマウスの非アルコール性脂肪肝の発展を抑制する）

瀬野 康之
創生医科学専攻（医化学）

本研究では、尿酸産生の律速酵素であるキサンチンオキシターゼ (XO) の阻害薬である Febuxostat を、2つのタイプの NASH モデルマウスに投与し、その効果を検討した。

マウスの NASH 発症は高尿酸血漿を伴うトランスアミノ酸含有高脂肪食 (HFDT) 負荷、または高尿酸血漿を伴わないメチオニン欠損食 (MCD) 負荷を 8 週間行うことにより誘導した。Febuxostat 投与は飲水内に溶解し、自由摂取とした。

Febuxostat 投与により期待通り肝 XO 活性、血清尿酸値の軽減が認められた。HFDT 負荷による、肝脂肪蓄積、肝線維化、酸化ストレス等は Febuxostat 投与により軽減したが、MCD 負荷による NASH 症状は Febuxostat により改善されなかった。

以上の結果より、高尿酸血漿は NASH 悪化の一因であると考えられ、XO 阻害剤による血清尿酸値の是正は、NASH 症状の改善に寄与すると考えられる。

2. fMRI study of social anxiety during social ostracism with and without emotional support
（社会的排斥時の苦痛および情動的サポートの有無と社交不安の関連 — fMRI 研究 —）

西山 佳子
創生医科学専攻（精神神経医科学）

社交不安障害は他者から注視される顕著な恐れを中核とし、社交場面を著しく恐怖し、他者からの否定的評価を恐れる障害である。また、高い社交不安は健常と社交不安障害の間に位置し、連続するスペクトラムであると考えられている。社交不安の程度が、情動的

サポートの有無により、社会的苦痛と関連する脳活動にいかなる影響を与えるかを検討するため、社会的排斥や情動的サポートに対する反応をみるサイバーボール課題を用いて脳機能画像手法により検討した。その結果、情動的サポートを受けた時、背外側前頭前野の賦活が社交不安の程度と正の相関を示した。また、同じ領域の賦活は、主観的社会的苦痛と負の相関を示した。これらのことは、高い社交不安が情動的サポート時の社会的苦痛の軽減に関連していること、社交不安が高い者は他者からの否定的評価に敏感であるが肯定的なメッセージへの感受性も高いことを示唆していると考えられた。

3. Intra-articular injection of synthetic microRNA-210 accelerates avascular meniscal healing in rat medial meniscal injured model
（MicroRNA-210 の関節内投与による半月板損傷に対する治癒促進効果）

川西 啓生
医歯薬学専攻（整形外科学）

【目的】血管新生等への関与が明らかにされている miRNA-210 に注目し、関節内投与による無血管領域の半月板損傷に対する治癒促進効果を検討。

【方法】*in vivo* でラット半月板無血管領域に断裂を作成、miR-210 を関節内注射し、評価。*in vitro* でラット膝関節から無血管領域の半月板細胞と滑膜細胞を採取・培養し、miR-210 を強制導入し評価。

【結果】miR-210 群では、*in vivo* で 4 週間後、損傷部は修復組織で満たされ、Col2a1、VEGF、FGF2 の発現が高く、12 週間後、治癒傾向は良好で、また、関節軟骨変性も軽度であった。*In vitro* で半月板内側細胞の Col2a1 発現と滑膜細胞の VEGF と FGF2 発現を促進した。

【考察】半月板細胞からの 2 型コラーゲン産生促進、そして、滑膜細胞からの VEGF・FGF2 の発現を促進して、損傷した無血管領域半月板の修復が促進されることがわかった。

4. Exposure to Atomic Bomb Radiation and Age-related Macular Degeneration in Later Life: The Hiroshima-Nagasaki Atomic Bomb Survivor Study (原爆放射線被曝と長期経過後の加齢黄斑変性症：広島・長崎原爆被爆者調査)

板倉 勝昌
創生医科学専攻 (視覚病態学)

【背景】加齢黄斑変性症 (AMD) の危険因子は加齢、喫煙、高血圧などがあり、原爆被爆者の高齢化により AMD の発症リスクが増加する可能性があるが、AMD と放射線被曝の関連はこれまで明らかにされていない。

【目的】AMD の有病率と原爆放射線被曝との関連を調査する。

【対象】放射線影響研究所が追跡調査を行っている広島・長崎の原爆被爆者で、2006～8年に眼科調査に参加した1,824人。

【方法】無散瞳眼底カメラで眼底写真を撮影し、早期AMDと後期AMDに分類した。放射線量は、DS02線量システムに基づく眼線量を用いた。交絡因子を調整し、多変量解析を行った。

【結果】平均眼線量は0.45 Gyで、早期・後期AMDの有病率は、10.5%と0.3%だった。年齢、性別、被爆地、喫煙習慣を考慮した解析で、眼線量1 Gyあたりのオッズ比 (95%信頼区間) が早期AMDで0.93 (0.75-1.15)、後期AMDで0.79 (0.21-2.94) だった。AMDの有病率と放射線被曝との有意な関連はなかった。

【考察】AMD発生率や進行をみるためには、更なる追跡が必要である。

5. Pin1 Inhibitor Juglone Exerts Anti-Oncogenic Effects on LNCaP and DU145 Cells despite the Patterns of Gene Regulation by Pin1 Differing between These Cell Lines

(Pin1 阻害剤 Juglone は LNCaP, DU145 細胞株において制御機構が異なるにも関わらず制癌効果を示す)

金岡 隆平
創生医科学専攻 (医化学)

今回我々はプロリン異性化酵素 Pin1 に着目し、アンドロゲン依存性、非依存性前立腺癌細胞株における Pin1 制御機構をマイクロアレイにて比較検討し、また

Pin1 阻害剤 Juglone の制癌効果を検討した。2種類の前立腺癌細胞株 LNCaP (アンドロゲン依存性) と DU145 (非依存性) にて Pin1 発現を抑制しマイクロアレイにて網羅的遺伝子発現解析を行い、加えて Pin1 阻害剤 Juglone の治療効果を *in vitro*, *in vivo* にて評価したところ、両細胞で Pin1 阻害にて細胞増殖が抑制されたが、マイクロアレイ解析で細胞増殖抑制に関与した遺伝子発現は両細胞で大きく異なる結果であった。これらより Pin1 阻害剤はアンドロゲン依存性の有無で制御機構は異なるが、前立腺癌における新たな分子標的治療となり得る可能性が示唆され、またこれら解析の結果から今後更なる新規標的遺伝子探索が期待できる。

6. Histological Quantification of Gene Silencing by Intratracheal Administration of Dry Powdered Small-Interfering RNA/Chitosan Complexes in the Murine Lung

(マウス肺への siRNA / キトサン複合体乾燥微粒子製剤の経気道投与による遺伝子抑制効果の組織学的評価)

井原 大輔
展開医科学専攻 (分子内科学)

RNA 干渉を応用した核酸医薬の開発には siRNA を標的臓器や細胞まで送達する手段が重要となる。そこで呼吸器疾患に対する siRNA の応用手段として、安定性が高く扱いが容易な乾燥微粒子製剤の経気道投与方法が検討されている。

今回、キトサンをベクターとして作製した Enhanced green fluorescence protein (EGFP) siRNA / キトサン複合体乾燥微粒子製剤を、EGFP トランスジェニックマウスや EGFP 導入癌細胞肺転移モデルマウスに経気道投与し、肺組織蛍光の抑制を定量化することで遺伝子抑制機能の評価をおこなった。

その結果、本製剤の経気道投与によりマウス気道上皮・肺胞・転移性肺腫瘍における遺伝子発現が抑制されることが示された。

以上より、本製剤の経気道投与方法は気管支喘息などの気道疾患のみならず、間質性肺炎などの肺実質疾患や腫瘍性疾患に対しても有用である可能性が示された。

7. Differences in serum microRNA profiles in hepatitis B and C virus infection

(B型およびC型肝炎ウイルス感染における血清マイクロRNA特性の違い)

赤松 さくら
医歯薬学専攻 (消化器・代謝内科学)

【背景・目的】B型肝炎ウイルス (HBV) とC型肝炎ウイルス (HCV) による慢性感染やそれによる肝細胞障害の有用なバイオマーカーの探索をするため、今回著者は肝炎ウイルス感染患者の血清から得られたmiRNAのプロファイリングを行い、バイオマーカーとしての意義の検討を行った。

【方法】血清miRNAを用いてマイクロアレイ解析および定量RT-PCRを行った。

【結果】マイクロアレイ解析結果より、HBVおよびHCVともに健常者に比べて血清中miRNAの発現量が増減したものが多数認められ、増加したものが多数認められた。

【考察】HCVやHBV感染により特異的変動する血清miRNAの存在は、ウイルスの産生、宿主による抗ウイルス防御や病態形成に関与していることを示唆する。今回の研究結果より、血清miRNA発現レベルがウイルス肝炎の原因やHBeAgの陽性、陰性による違いを反映していることがわかった。

8. Acquired Deficiency of A20 Results in Rapid Apoptosis, Systemic Inflammation, and Abnormal Hematopoietic Stem Cell Function

(脱ユビキチン化酵素A20の後天的な欠損はアポトーシス、全身性炎症、造血幹細胞の機能異常を誘導する)

中田 雄一郎
医歯薬学専攻 (疾患モデル解析)

最近、悪性リンパ腫において脱ユビキチン化酵素をコードする遺伝子A20が両アレルで欠損していることが報告された。我々は後天的にA20の欠損を誘導可能にしたコンディショナルノックアウト (cKO) マウスを作製し、生体造血におけるA20欠損の生物学的機能及び疾患発症への意義について解析を行った。後天性A20の欠損はサイトカイン産生の脱制御による炎症の持続を誘導し、その結果マウスは貧血、骨髓球系の過増殖、B細胞アポトーシス、および炎症細胞の全身浸潤により死亡することを明らかとした。また、A20を欠損した造血幹細胞では転写因子NF- κ Bの恒常的な活性化、細胞周期の亢進を認め、その結果として骨髓再構築能の低下を呈することも併せて示した。これらの結果は、A20が炎症およびアポトーシスを

制御することにより生体恒常性に必須の役割を果たしていることを証明したものである。

9. Persistence and Epidemic Propagation of a *Pseudomonas aeruginosa* Sequence Type 235 Clone Harboring an IS26 Composite Transposon Carrying the *bla*_{IMP-1} Integron in Hiroshima, Japan, 2005 to 2012.

(2005年～2012年の広島における bla_{IMP-1} インテグロンを含むIS26複合トランスポゾン保有緑膿菌 (ST235クローン)の持続的流行伝播)

清水 亘
展開医科学専攻 (外科学)

2004年から2012年までの広島地区における耐性緑膿菌の分子疫学調査にて、耐性緑膿菌数や多剤耐性緑膿菌及びメタロ- β -ラクタマーゼ遺伝子を保有する比率は減少傾向を示していたが、インテグロントイプFと分類した bla_{IMP-1} インテグロンを含むIS26複合トランスポゾン保有緑膿菌が持続的かつ高頻度で、しかも広範囲に渡って伝播していた。このタイプF株は、宮城県でアウトブレイクを起こしたクラス1インテグロン (In113)を保有する緑膿菌株と、インテグロン構造が大変似ており、また両株はゲノムレベルでも酷似していた。よって両株は同じ祖先に由来したと仮説を立て検証した結果、IS26を介したリアレンジメントによりタイプF株に変化することが理論上説明可能であった。In113株はポーリタンパクの $oprD$ 遺伝子が破壊されているのに対し、タイプF株は $oprD$ 遺伝子を保存しているため、栄養の取り込みが十分行える。このことが広島地区で生き残り続けている要素の一つではないかと考察された。

10. Model mice for 15q11-13 duplication syndrome exhibit late-onset obesity and altered lipid metabolism

(15q11-q13領域重複マウスは遅発性肥満を呈し脂質代謝を変える)

岸本 瑠衣
展開医科学専攻 (分子内科学)

父性由来の15q11-q13重複マウス (pat Dp/+) は肥満を呈する。原因解明のため食事量やエネルギー代謝を検討したが、両群間で差を認めなかった。体組成

で脂肪の重量に差を認めため、脂肪細胞の組織学的検討を行うと、pat Dp/+ではWTと体重差を認めない頃から肥大化した脂肪細胞を認めた。そのため、肥満に脂肪細胞に発現している遺伝子が関与している可能性が示唆された。そこで脂肪細胞での遺伝子発現を網羅的に検討したところ、pat Dp/+では脂肪細胞でsfrp5の発現が増加していることが示された。sfrp5ではpat Dp/+と逆の発現系を示すことからsfrp5の関与が示唆された。また、母性由来の重複マウスでは遅発性の肥満を示さないことより15q11-q13領域の父性由来の遺伝子の関与が示唆されたため、重複領域をより狭くしたマウスを作製し、体重について検討したが、pat Dp/+と同様の傾向を示した。

11. Results of sequential chemoradiotherapy for intracranial germinoma

(逐次化学放射線療法による頭蓋内胚細胞腫瘍の治療結果)

権丈 雅浩
医歯薬学専攻 (放射線腫瘍学)

MRIで脊髄腔に播種がない頭蓋内胚細胞腫瘍に対して逐次化学療法を併用し、放射線治療の線量を24 Gyに低減した治療方法について連続した23例の長期成績を遡及的に評価した。3コースの導入化学療法にはプラチナ製剤とエトポシドが用いられ、放射線治療は主として全脳室を臨床的標的体積に設定した3次元原体照射が実施された。脊髄腔の照射は行われなかった全例が予定の治療を完遂し、治療に導入された。観察期間中央値11.8年で、全生存率は5年100%、10年100%、無再発生存率は5年96%、10年89%であった。3例で頭蓋内に再発を認めたが、いずれも全脳全脊髄照射を含む追加の化学放射線療法によって救済された。最終経過観察時点で全例無病生存中である。重篤な急性期および晩期有害事象は生じていない。本治療は良好な生存率と晩期障害の低減が期待される有用と考える。

12. Effect of plasma fibrinogen, high sensitive C reactive protein, and cigarette smoking on carotid atherosclerosis: The Suita Study

(頸動脈硬化における血漿フィブリノゲン、高感度C反応性蛋白質、および喫煙の影響：吹田研究)

石原 佳代子
創生医科学専攻 (脳神経内科学)

フィブリノゲンや高感度CRPのいずれかが動脈硬化と関連するとの報告はあるが、両者を合わせて検討したものは少ない。一般住民健診参加者に頸動脈超音波検査を行い、フィブリノゲンと高感度CRPが頸動脈内中膜複合体厚(IMT)にもたらす影響を喫煙状態別に検討した。

心血管イベントの既往および禁煙者を除外し、2502名(男性805名、年齢中央値64歳、喫煙者566名)を解析した。多変量調整IMTはフィブリノゲンと高感度CRPが高値であると厚く、非喫煙者よりも喫煙者で厚かった(max-IMT男性 1.37 ± 0.07 vs 1.54 ± 0.08 mm, 女性 1.18 ± 0.08 vs 1.32 ± 0.07 mm, $p < 0.0125$)。また、男性では喫煙とIMTに容量依存性が認められた($p < 0.01$)。60歳、65歳、70歳のいずれの年齢も同様の結果であった。

日本の都市部一般住民において、フィブリノゲン、高感度CRP、および喫煙が頸動脈硬化と関連することを示した。フィブリノゲンや高感度CRPが動脈硬化リスクの層別化に有効である可能性が示された。

13. hCAS/CSE1L regulates RAD51 distribution and focus formation for homologous recombinational repair

(hCAS/CSE1LはRAD51細胞内分布と核内RAD51 focus形成を制御し相同組換え修復に関与している)

沖本 聡志
創生医科学専攻 (細胞修復制御)

DNA二本鎖切断の主な修復機構の一つにhomologous recombinational repair (HR)があり、RAD51はHRで中心的な役割を果たす蛋白質である。ゲノムの恒常性の維持には、核内のRAD51濃度が一定のレベルに制御される必要がある。我々は核外輸送因子の一つであるhCAS/CSE1Lが、RAD51複合体に含まれていることを見だし、hCAS/CSE1LがRAD51の機能制御に関与している可能性を検討した。U2OS細胞ではhCAS/CSE1Lの発現抑制により核内RAD51量が増加し、放射線照射後のRAD51フォーカス形成が増加した。さらにhCAS/CSE1L発現抑制によりHR活性が有意に上昇した。これらの知見から、hCAS/CSE1LはRAD51の核内濃度の増加を抑え、さらにRAD51フォーカス形成を抑制することでHR活性を抑制していることが示唆された。

14. Promotion of cancer cell proliferation by cleaved and secreted luminal domains of ER stress transducer BBF2H7

(小胞体ストレストランスデューサー BBF2H7 の分泌断片による癌細胞増殖促進機構)

岩本 秀雄
創生医科学専攻 (分子細胞情報学)

BBF2H7 は小胞体ストレスにตอบสนองして膜内切断を受け活性化される。切断された C 末端断片は細胞外に分泌され、ヘッジホッグシグナルに作用して発生段階のマウス軟骨細胞を増殖させることが知られている。本研究はヒト BBF2H7 C 末端断片がヒト癌細胞に対し増殖作用を示すかを検討した。膠芽腫は、BBF2H7 を過剰発現しておりヘッジホッグシグナルも活性化していた。膠芽腫由来 U251MG 細胞の培養上清を抗 BBF2H7 C 末抗体を用いて免疫沈降を行うと、培養上清から C 末端断片が検出され、BBF2H7 C 末端断片が細胞外へ分泌されることがわかった。BBF2H7 C 末端断片を含む培養上清を U251MG 細胞に添加すると、ヘッジホッグシグナル関連遺伝子の発現および細胞増殖が促進した。逆に siRNA で BBF2H7 をノックダウンすると、ヘッジホッグシグナルの減弱を伴って細胞増殖は抑制された。以上より、細胞外に分泌されたヒト BBF2H7 C 末端断片は、ヘッジホッグシグナルの活性化を介して癌細胞の増殖に寄与している可能性が示唆された。

15. High glucose promotes TGF- β 1 production by inducing FOS expression in human peritoneal mesothelial cells

(ヒト腹膜中皮細胞における高グルコース刺激による TGF- β 1 産生は FOS 発現により誘導される)

心石 敬子
展開医科学専攻 (腎臓内科学)

ヒト腹膜中皮細胞 (HPMC) で高グルコース (HG) 刺激による TGF- β 1 産生に関連する遺伝子を明らかにすることを目的とし、3 人のドナーから採取した HPMC を HG 刺激液で 3 時間培養して DNA マイクロ

アレイ解析を行った。HG 刺激で 3 検体に共通して発現量が 3 倍以上に増加し、遺伝子オンロジーで生物学的プロセスの regulation of transcription, DNA-dependent に分類される 13 遺伝子を選定した。そのうち RNA 干渉により HG 刺激後の TGF- β 1 産生増加が抑制されたのは FOS のみであった。またマウスの HG 腹腔内投与により腹膜中皮細胞の FOS と TGF- β 1 発現が増加することを確認した。

FOS は AP-1 の構成蛋白の一つであり、HPMC の HG 刺激による TGF- β 1 産生増加に AP-1 が関与していることが示唆され、FOS 発現を阻害することが腹膜線維化の治療目標となりうると考えた。

16. MT95-4, a fully humanized antibody against aminopeptidase N, reduces tumor progression in a mouse model

(完全ヒト型抗アミノペプチダーゼ N 抗体である MT95-4 は、マウスモデルにおいて腫瘍の進展を抑制する)

秋田 慎
展開医科学専攻 (分子内科学)

【背景】アミノペプチダーゼ N (APN) は、腫瘍細胞の浸潤や血管新生を介して腫瘍の進展に関与している。

【目的】APN に対する完全ヒト型抗体を作成し、抗腫瘍効果を検討する。

【方法】KM マウスを用いて抗 APN 抗体 (MT95-4) を樹立し、APN 活性や、腫瘍細胞の浸潤能への影響を検討した。次に、APN を導入した B16 (APN-B16) 細胞を用いたマウス腫瘍モデルに抗体の投与を行い、抗腫瘍効果を評価した。APN 高・低発現の肺癌細胞株を用いたマウスモデルでも同様の検討を行った。

【結果】MT95-4 は APN 活性、腫瘍細胞の浸潤を抑制した。APN-B16 および APN 高発現肺癌細胞株によるマウスモデルでは腫瘍の進展、血管新生を抑制したが、APN 低発現株によるモデルでは抑制していなかった。

【結論】MT95-4 は APN 活性を中和することにより、腫瘍細胞の浸潤や血管新生を抑制し、APN 高発現腫瘍の進展を抑制する。