

第61回 広島大学研究科発表会（医学）

（平成 27年 11月 5日）

1. Inhibition of H3K9 histone methyltransferase G9a attenuates renal fibrosis and retains klotho expression

（ヒストン H3K9 メチル化酵素 G9a の阻害は腎線維化を抑制し、かつ klotho 蛋白を保持する）

入福 泰介
医歯薬学専攻（腎臓内科学）

本邦における透析患者は増加の一途を辿っている。原疾患の如何に関わらず、最終的には腎尿細管間質の線維化という共通の病態を経て末期腎不全へと至るため、腎線維化に至る経路はすべての慢性腎臓病の共通した治療ターゲットとなりうる。本研究において、Transforming growth factor (TGF) β 1/Smad2/3 の刺激によるヒストン H3K9 メチル化酵素 G9a の発現亢進が H3K9 モノメチル化を介して腎線維化および klotho 蛋白発現に関与していることが明らかとなった。また G9a 阻害薬である BIX01294 の投与により腎線維化が抑制され、かつ klotho 蛋白の保持が認められることも証明された。さらにマウスモデルのみならず、ヒトの腎生検標本においても G9a 発現と腎線維化および klotho 蛋白は相関関係が認められ、G9a の阻害が慢性腎臓病に対する新たな治療の選択肢となる可能性が示された。

2. The characteristics of human cranial bone marrow mesenchymal stem cells

（ヒト頭蓋骨骨髓間葉系幹細胞の特性）

品川 勝弘
創生医科学専攻（脳神経外科学）

【目的】我々は神経系と同じ外胚葉由来である頭蓋骨に着目し、開頭術の際に得られる骨屑を用いて頭蓋骨骨髓間葉系幹細胞（cranial bone marrow mesenchymal stem cells: cBMSCs）の樹立を試みた。

【方法】骨屑から cBMSCs を分離し、PCR 法、FACS、骨・脂肪分化誘導により評価した。神経分化誘導後の神経細胞マーカー発現を評価し、腸骨の BMSCs（iBMSCs）と比較した。

【結果】cBMSCs は間葉系幹細胞マーカーの発現、骨・脂肪への分化、神経堤関連マーカーの発現を示した。神経分化誘導後の cBMSCs 群は iBMSCs 群と比較して神経細胞マーカー（NF-L, NF-M）を強く発現し、免疫染色で NF-M 陽性細胞の割合も有意に高かった。

【結語】頭蓋骨の骨屑から樹立した cBMSCs は高い神経分化能を有する可能性があり、中枢神経の再生医療研究への貢献が期待できる。

3. Stochastic resonance enhanced tactile feedback in laparoscopic surgery

（確率共鳴理論を応用した腹腔鏡下手術における触覚向上の取り組み）

澤田 紘幸
医歯薬学専攻（消化器移植外科）

腹腔鏡下手術の欠点として触覚の低下が挙げられている。確率共鳴理論は、微弱な振動を加えることで触覚が向上するものと報告されており、これを用いて触覚を向上させることでより安全な腹腔鏡下手術の確立を試みた。微弱な振動を加えることで触覚が向上すると仮定し実験を行った。対象は、腹腔鏡下手術経験症例 50 例以上の外科医 10 人とした。素手、医療用手袋装着、腹腔鏡下手術鉗子の条件にて触覚測定し、技術評価としてドライボックス、動物モデルにて腹腔鏡下縫合結紮を行った。結果は、振動を加えることでいずれの条件においても触覚は向上し、縫合結紮技術も向上した。この結果から、腹腔鏡下手術の欠点のひとつである触覚の低下を克服しうる可能性があると考えられる。また、ドライボックスにて、針を把持するという微細で触覚が最も反映される手技が向上したことから、腹腔鏡下手術手技向上に関しても大きな可能性があることが示唆された。

4. Hepatitis E virus in Cambodia: Prevalence among the general population and complete genome sequence of genotype 4

（カンボジア王国における E 型肝炎ウイルス感染に関する血清疫学的研究：一般住民における有病率および HEV RNA genotype 4 の初めての検出と全塩基配列の決定）

山田 裕子
医菌薬学専攻 (疫学・疾病制御学)

カンボジア王国における E 型肝炎ウイルス (HEV) 感染状況を明らかにするため、シェムリアップ州内 4 地域の一般住民を対象とした血清疫学調査を 2010 ~ 14 年に実施した。サンプルサイズは 800 例とした (HEV IgG 抗体見込み陽性率 15%, 相対精度 15%)。

解析対象者 868 名の HEV IgG 抗体陽性率は 18.4% (95% CI: 15.9-21.0%), HEV RNA は 2 名から検出され, genotype 4 と 3 と同定した。同国初の報告となる genotype 4 の 1 例について, 7,222 塩基の全配列を決定したところ (CVS-Sie10), 中国のブタ由来株と高い一致率を示した。RNA の検出期間を 4 週間とすると, HEV 新規感染の頻度は, 3.00/100 person-years と算出された。HEV 感染と関連のある因子をロジスティック回帰分析により検討した結果, 男性, 高年齢集団, 主婦が, IgG 抗体陽性と有意に関係した。

同国から初めて, 重症化例の多い HEV genotype 4 の感染例を見だし, かつ, 高頻度に HEV 感染が起こっている可能性が示唆された。感染症の発生動向を把握するシステムの整備等, 公衆衛生の向上が必要である。

5. Association between [18F]-fluoro-2-deoxyglucose uptake and expressions of hypoxia-induced factor 1 α and glucose transporter 1 in non-small cell lung cancer

(非小細胞肺癌における, フルオロデオキシグルコースの取り込みと低酸素誘導因子 1 α , 糖輸送体 1 発現との関連性)

古川 高意
創生医科学専攻 (腫瘍外科学)

非小細胞肺癌において, [18F]-Fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) は, 病期診断や再発の検出に有用な画像検査となっている。原発巣の maximal standardized uptake values (SUVmax) は, 腫瘍の増殖能と相関し, 予後をも反映する。われわれは増殖能の高い腫瘍内に生じる低酸素環境が FDG 取り込みに重要な役割を果たしていると仮定し, 低酸素応答因子 HIF1 α の発現と, 癌細胞における糖輸送体 GLUT1 の発現について解析した。

腺癌において, HIF1 α , GLUT1 の発現, SUVmax は悪性度に関連する臨床病理学的因子と有意な相関を

認めた。GLUT1 の発現, SUVmax は予後と相関し, HIF1 α , GLUT1 の発現, SUVmax との間には有意な相関関係が認められた。肺腺癌において, HIF1 α , GLUT1 の発現を介した FDG の取り込みが腫瘍の増殖能, 予後に関与していると考えられた。

扁平上皮癌では, HIF1 α , GLUT1 の発現, SUVmax と腫瘍の悪性度との関連はなく, 予後との相関も認めなかった。

肺腺癌における HIF1 α , GLUT1 の発現と腫瘍の悪性度との関連は, 今後新たな治療戦略の開発に寄与するものと考えられる。

6. Characteristic epithelium with low-grade atypia appears on the surface of gastric cancer after successful *Helicobacter pylori* eradication therapy (*Helicobacter pylori* 除菌後発見胃癌にみられる表層低異型度上皮の特性について)

北村 陽子
医菌薬学専攻 (消化器・代謝内科学)

【背景】*Helicobacter pylori* (Hp) 除菌治療後に発見される胃癌 (以下, 除菌後胃癌) は近年増加傾向にある。以前, 当教室では, 既存の胃腫瘍症例に Hp 除菌治療を行うと胃腫瘍が不明瞭化し, また腫瘍表層に特徴的な異型度の低い上皮 (以下, 低異型度上皮) が出現することを報告した (Ito et al. AP&T 2005)。今回, 除菌後発見胃癌における低異型度上皮の臨床病理学的特徴特性を解析し, 内視鏡診断に及ぼす影響について解析した。

【対象】1998 年から 2012 年までに当院で経験した除菌後胃癌 27 例を対象に, 低異型度上皮の出現頻度を通常胃癌と比較した。次に低異型度上皮の特性を免疫組織化学的に検討した。さらに低異型度上皮が出現した症例の特性を解析し, 除菌後観察期間との関連性を検討した。

【結果】低異型度上皮は全 27 例中 22 例 (81%) に観察され, 通常胃癌と比べ有意に高い頻度で出現していた。低異型度上皮は高頻度に胃型の粘液形質を発現し, p53 および Ki-67 は陰性で細胞増殖能は低下していた。低異型度上皮出現比率と, 除菌後の胃癌診断までの期間との間には正の相関が認められた。

【結論】除菌後胃癌の腫瘍表層部には低異型度上皮が高頻度に出現し, 除菌後症例の内視鏡的胃癌診断に影響を及ぼす。

7. Repair mechanism of osteochondral defect promoted by bioengineered chondrocyte sheet

(組織工学的手法により作製した軟骨細胞シートによる骨軟骨損傷の修復メカニズム)

清水 良
医歯薬学専攻 (整形外科学)

【背景】軟骨細胞シートによる関節軟骨損傷治療の臨床研究が開始されている。しかし、薄いシートを貼ることで軟骨全層欠損が修復される機序は明らかになっていない。

【目的】ラットの骨軟骨損傷モデルに細胞シートを移植し、軟骨修復機序を検討すること。

【方法】SD ラット由来の軟骨および滑膜細胞シートを骨軟骨欠損部に移植し、軟骨修復を評価した。各細胞シートおよび移植後1週の組織を採取し遺伝子発現を比較した。GFP ラットを使用し、再生した組織の由来を蛍光顕微鏡で評価した。

【結果】3層の軟骨細胞シート移植群で他の群よりも有意な軟骨修復を認めた。移植後1週の組織において軟骨細胞シート移植群ではTGFβ1の高い発現を認めた。蛍光顕微鏡の結果より、修復組織中の大部分の細胞は細胞シート由来であった。

【結論】軟骨細胞シートによる軟骨修復の機序は、TGFβ1を介したパラクライン効果および修復組織への細胞の供給源となることが考えられた。

8. Combination therapy with intra-articular injection of mesenchymal stem cells and articulated joint distraction for repair of a chronic osteochondral defect in the rabbit

(ウサギの陳旧性骨軟骨損傷に対する骨髄間葉系幹細胞の関節内注射を併用した distraction arthroplasty)

原田 洋平
医歯薬学専攻 (整形外科学)

荷重部の軟骨損傷に対して、荷重負荷を取り除く distraction arthroplasty と骨髄間葉系幹細胞 (MSC) を併用した治療の有効性を検討した。日本家兎の大腿骨荷重部に陳旧性骨軟骨欠損を作製し、骨髄刺激法のみを行った control 群と MSC の関節内注射を行った MSC 群、distraction を行った distraction 群、両者を併用した distraction + MSC 群を4, 8, 12週で評価した。また4週間のみ distraction を行いその後8週

間荷重をかけた temporary distraction 群と temporary distraction + MSC 群を作製した。4週と8週では distraction + MSC 群が最も良好であったが経時的に改善は見られず、12週では temporary distraction + MSC 群が最も良好であった。MSC の関節内注射と distraction arthroplasty を行うことで早期の軟骨修復が促されたが、持続的な免荷では修復組織の成熟は得られず、一定期間免荷を行った後に荷重負荷をかけることで良好な軟骨修復が得られた。

9. Mouse model of proximal colon-specific tumorigenesis driven by microsatellite instability-induced Cre-mediated inactivation of Apc and activation of Kras

(マイクロサテライト不安定性発現誘導型 Cre を介した Apc 不活化および Kras 活性化による近位大腸癌マウスモデルの確立)

川口 康夫
創生医科学専攻 (外科学)

【目的】変異型 KRAS の機能や多段階発癌における役割は十分に解明されていない。この点を検証するため、Apc 欠損 + Kras^{G12D} 挿入による複合的遺伝子改変マウスを作製し、Apc 欠損単独マウスと比較することで変異型 Kras の標的分子を解析した。

【方法】Cre/lox システムで制御される変異型 Kras マウス、Apc^{fllox/fllox} マウスおよび、マイクロサテライト不安定性により大腸上皮で Cre が発現誘導される CDX2P9.5-G22Cre マウスから、CDX2P9.5-G22Cre; Apc^{fllox/fllox}; LSL-Kras^{G12D} マウス (G22Cre; Apc^{fllox/fllox}; Kras^{G12D}) と、CDX2P9.5-G22Cre; Apc^{fllox/fllox}; Kras^{WT} マウス (G22Cre; Apc^{fllox/fllox}; Kras^{WT}) を作製・比較解析を行った。

【結果】G22Cre; Apc^{fllox/fllox}; Kras^{WT} 腫瘍と比較して G22Cre; Apc^{fllox/fllox}; Kras^{G12D} 腫瘍で Glut1 転写産物とタンパク発現が増加しており、これまでに報告されている KRAS/BRAF 変異大腸癌細胞株による in vitro の研究結果と一致した。またヒト大腸癌の免疫染色で GLUT1 を解析、KRAS 変異と有意に相関した。マイクロアレイおよび定量的 PCR では、Kras 変異の標的候補4遺伝子が確認された。

【結論】G22Cre; Apc^{fllox/fllox}; Kras^{G12D} マウスの、新しい変異型 Kras モデルとしての妥当性を示した。KRAS 変異型ヒト大腸癌の機序解明に寄与すると考えている。

10. Chlorinated Water Modulates the Development of Colorectal Tumors with Chromosomal Instability and Gut Microbiota in Apc-Deficient Mice

(Apc 遺伝子欠損マウスにおいて、塩素水は遺伝子不安定性と腸内細菌環境を介して結腸直腸腫瘍の発育を調節する。)

佐々田 達成
創生医科学専攻 (外科学)

【背景】飲用水に含まれる塩素や、その他の化学物質によって消化管内の腸内細菌環境が変化し、ヒト結腸直腸癌の発生に影響を与えることがわかってきた。しかし、腸内細菌環境は複雑であるため、消化管上皮に腫瘍が発生する正確なメカニズムは依然として解明されていない。

【方法】2種類の adenomatous polyposis coli (*Apc*) ノックアウトマウスモデル (結腸直腸腫瘍自然発生モデル) を用いて、飲用水への塩素添加が結腸直腸の腫瘍発生に与える影響を調べた。染色体不安定性による腫瘍が発生するモデルと、マイクロサテライト不安定性により腫瘍が発生するモデルを用いた。

【結果】結腸直腸腫瘍自然発生マウスモデルにおいて、塩素水は、嫌気性菌の *Clostridium perfringens* の分布を有意に変化させており、これらの細菌環境の変化が染色体不安定性を介して、結腸直腸の腫瘍発生に関与していることが示唆された。

11. The frozen elephant trunk technique for retrograde acute type A aortic dissection

(逆行性 A 型急性大動脈解離に対するフローゼンエレファントトランク法)

田村 健太郎
応用生命科学部門 (外科学)

【目的】遠位弓部大動脈に遠にエントリーを有する逆行性急性 A 型大動脈解離では、フローゼンエレファントトランク法を用いることによりエントリーのカバーが可能となる。今回我々は逆行性 A 型解離に対するフローゼンエレファントトランク法の有用性について報告する。

【対象および方法】逆行性 A 型解離に対しフローゼンエレファントトランク法を用いた 25 例を対象とした。術前下半身の臓器虚血例が 14 例 (56%) と高率であった。脳虚血 2 例、冠虚血 3 例、心タンポナーデ 3 例を合併していた。

【結果】病院死亡は 0 で、術後合併症は 2 例 (8% : 脳梗塞・縦隔炎) であった。10 年生存率は 87.5% で、大動脈関連イベント回避率は 10 年で 88.9% であった。

【結語】逆行性 A 型解離は術前高率に臓器虚血を合併していたにも関わらず、フローゼンエレファントトランク法を用いた手術により急性期・遠隔期ともに良好な結果が得られた。

12. mTOR and PDGF Pathway Blockade Inhibits Liver Metastasis of Colorectal Cancer by Modulating the Tumor Microenvironment

(mTOR 及び PDGF 経路の阻害による大腸癌浸潤、肝転移の抑制)

弓削 亮
医歯薬学専攻 (消化器・代謝内科学)

二種類の分子標的薬を併用することにより癌細胞と腫瘍間質を同時に抑制し、浸潤や転移に対する治療効果を検討した。ヒト大腸癌細胞株を用いて同所 (盲腸壁) 移植モデル及び実験的肝転移モデルを作成し、無治療群、ニロチニブ (PDGF-R 阻害剤) 単剤投与群、エベロリムス (mTOR 阻害剤) 単剤投与群、両薬剤併用群の 4 群に分け、28 日間経口投与を行った後、腫瘍を評価した。腫瘍重量及び体積は、同所移植モデル、実験的肝転移モデルともに併用群において最も減少していた。また、腫瘍の組織学的な検討では、両モデルにおいて無治療群は間質反応が強い浸潤性の腫瘍を形成していたのに対して、ニロチニブ単剤投与群では間質反応が有意に抑制され腫瘍辺縁が膨張性の発育に変化していた。併用群では両モデルにおいて、腫瘍における間質反応の抑制、浸潤形態の変化、血管新生の抑制がいずれも見られ、細胞増殖能やアポトーシスの評価においても最も有効な治療効果が得られた。