第79回 広島大学研究科発表会（医学）

（2019 年 5 月 9 日）

1．Vitamin A-coupled liposomal Rho-kinase inhibitor ameliorates liver fibrosis without systemic adverse effects
（Rho キナーゼ阻害剤含有ビタミン A 付加リポソーム製剤は全身性の副作用を引き起こすことなく肝線維化を改善する）

沖本　将
医歯薬学専攻　消化器・移植外科学

われわれが開発した Drug Delivery System；Rho キナーゼ阻害剤含有ビタミン A 付加リポソーム製剤は肝星細胞に対して選択的に Rho キナーゼ阻害剤を輸送し，肝星細胞の活性化を抑制することで，全身性の副作用を引き起こすことなくラットの肝線維化を改善させた。

2．Co-transplantation of pre-activated mesenchymal stem cells improves intraportal engraftment of islets by inhibiting liver natural killer cells in mice
（経門脈的膵島移植における活性化間葉系幹細胞の同時移植は肝臓内ナチュラルキラー細胞を抑制し，グラフト生着率を改善する）

石田　伸樹
医歯薬学専攻　消化器・移植外科学

【目的】我々は，膵島移植後のグラフト傷害に肝臓内 NK 細胞が関与していることを証明してきた。間葉系幹細胞（mesenchymal stem cells: MSCs）は prostaglandin E2 を介して NK 細胞を抑制することが報告されている。そこで MSCs の経門脈的投与が膵島移植後の肝臓内 NK 細胞活性に対して抑制効果があるか，膵島移植マウスモデルで検討した。

【方法】無処置の MSCs（naive MSCs），あるいは移植前に炎症性サイトカインで刺激を行なった活性化 MSCs と膵島の経門脈的投与による肝臓内 NK 細胞への効果と糖尿病マウスに行ける血糖改善効果について検討を行った。

【結果】naive MSC ではなく，活性化 MSCs との経門脈的同時投与において肝臓内 NK 細胞の有意な活性化抑制効果を認めた。また，糖尿病化マウスに投与した場合も血糖改善効果が認められた。

3．Morphological Pattern and Classification of the Superficial Middle Cerebral Vein by Cadaver Dissections: An Embryological Viewpoint
（屍体標本を用いた浅中大脳静脈の形態的パターン分類～発生学的観点から～）

今田　裕尊
医療法人明清会　山田記念病院　脳神経外科

Cadaver 標本の観察から Superficial middle cerebral vein（SMCV）の形態的特徴を分析し，遠位部における SMCV の本数，走行・吻合形態に着目した形態分類を試みた。The frontosylvian trunk（FST）：frontosylvian vein（FSV）群が合流して形成された SMCV，The temporosylvian trunk（TST）：temporosylvian vein（TSV）群が合流して形成された SMCV，The superficial middle cerebral common trunk（SMCCT）：superior cerebral vein（SCV）群と inferior cerebral vein（ICV）群が SF の遠位部で合流して 1 本に集約した SMCV と定義すると，SMCV は 5 つの Type に分類された。Type A（40%）は SMCCT を形成し，FSV と吻合を有するもの，Type B（11.1%）は SMCCT を形成し，FSV と吻合を有しないもの，Type C（28.9%）は SCV と ICV とが SF の遠位部では合流せず，SF に沿って併走するもの，Type D（17.8%）は SCV と ICV とが SF の遠位部で合流し，再び中枢側に向けて FST と TST に分離するもの，Type E（2.2%）は SMCV が未発達なものと分類されたが，発生学的には胎生期の superficial telencephalic vein が SCV や ICV とどのように吻合を形成するかによって決定される。また，trans-sylvian approach において，Type 毎での静脈間吻合が少ない部分を優先的に剥離することで静脈を温存しつつ広い術野を得るための SMCV の剥離方法が示された。

4．Comparative Evaluation of Angioscopy and

Intravascular Ultrasound for Assessing Plaque Protrusion During Carotid Artery Stenting Procedures
(頚動脈ステント留置中のステント内プラーク突出の評価における血管内視鏡と血管内超音波検査の比較)

近藤　浩
医歯薬学専攻　脳神経外科学

【背景】頚動脈ステント留置術（CAS）において，プラーク評価は周術期の虚血合併症を予測するうえで重要と考えられる。血管内超音波検査（IVUS）と異なり，血管内視鏡は内腔を直接観察できる利点がある。今回CAS中に血管内視鏡とIVUSを施行し比較検討を行った。【対象と方法】2015年2月から9月にCASを施行した連続11症例，13病変に対しステント留置時にIVUSと血管内視鏡を行い，ステント内プラーク突出の評価を行った。【結果】すべての症例で血管内視鏡にて鮮明な所見が得られた。ステント内プラーク突出は血管内視鏡で8例，IVUSにて1例指摘された。血管内視鏡では術後MRIでの虚血性変化と関連の可能性がある，不安定プラークと考えらえる黄色プラークも指摘された。【結論】血管内視鏡はIVUSと比較し，ステント内プラーク評価において術前に不安定プラークが予測される病変に対して有用な可能性が考えられた。

5．Breast cancer cell motility is promoted by 14-3-3γ
(乳癌細胞の運動能亢進における14-3-3γの重要性)

平岡　恵美子
医歯薬学専攻　腫瘍外科

Pseudopodia（偽足突起）は細胞運動に関与する*in vitro*の構造である。本研究では，これまでに我々が同定したpseudopodia特異的候補分子の中から，がん悪性化進展との関連が報告されている14-3-3γを選択し，乳癌細胞の運動能および浸潤能との関連を解析した。

まず，MDA-MB-231ヒト乳癌細胞株を多孔（φ3μm）PET膜上で培養してpseudopodia形成を促す実験系を用いた。14-3-3γの強制発現はpseudopodiaを増加・伸長，その発現抑制は減少・短縮させ，14-3-3γのpseudopodia形成における重要性が明らかとなった。次にmigration assay，wound healing assay，proliferation assayを施行し，14-3-3γは乳癌細胞運動能を亢進させるものの増殖能への影響は乏しいことが示された。さらにヒト乳癌手術切除検体のうち，高度リンパ管侵襲（ly3+）を認めた10例において14-3-3γに対する免疫組織学的染色を行った。腫瘍中心部と比較して腫瘍辺縁，リンパ管侵襲部位においてより強染色を示し，14-3-3γの浸潤への強い関与が予想された。

以上より，乳癌において14-3-3γは細胞運動能亢進により浸潤を促進させる可能性が考えられた。

6．Single-Cell Screening of Tamoxifen Abundance and Effect Using Mass Spectrometry and Raman-Spectroscopy
(質量分析とラマン分光法によるタモキシフェンの量と効果の一細胞スクリーニング)

Ahmed Ali
医歯薬学専攻　生命科学

Monitoring drug uptake, its metabolism, and response on the single-cell level is invaluable for sustaining drug discovery efforts. In this study, we show the possibility of accessing the information about the aforementioned processes at the single-cell level by monitoring the anticancer drug tamoxifen using live single-cell mass spectrometry (LSC－MS) and Raman spectroscopy. First, we explored whether Raman spectroscopy could be used as a label-free and nondestructive screening technique to identify and predict the drug response at the single-cell level. Then, a subset of the screened cells was isolated and analyzed by LSC－MS to measure tamoxifen and its metabolite, 4-Hydroxytamoxifen (4-OHT) in a highly selective, sensitive, and semiquantitative manner. Our results show the Raman spectral signature changed in response to tamoxifen treatment which allowed us to identify and predict the drug response. Tamoxifen and 4-OHT abundances quantified by LSC－MS suggested some heterogeneity among single-cells. A similar phenomenon was observed in the ratio of metabolized to unmetabolized tamoxifen across single-cells. Moreover, a correlation was found between tamoxifen and its metabolite, suggesting that the drug was up taken and metabolized by the cell. Finally, we found some potential correlations

between Raman spectral intensities and tamoxifen abundance, or its metabolism, suggesting a possible relationship between the two signals. This study demonstrates for the first time the potential of usingbRaman spectroscopy and LSC－MS to investigate pharmacokinetics at the single-cell level.

7．Comparison of three video laryngoscopes and direct laryngoscopy for emergency endotracheal intubation : a retrospective cohort study
（緊急気管挿管における３種のビデオ喉頭鏡及び直達喉頭鏡の比較：後ろ向きコホート研究）

鈴木　慶
医歯薬学専攻　救急集中治療医学

Objective: Video laryngoscopes are used for managing difficult airways. This study compared three video laryngoscopes'（Pentax-Airway Scope™ [Pentax], King Vision® [King], and McGrath® MAC [McGrath]） performances with the Macintosh laryngoscope [Macintosh] as emergency tracheal intubations（TIs） reference.
Design: Retrospective cohort study.
Setting: The emergency department and the intensive care unit of two Japanese tertiary-level hospitals.
Participants: Consecutive video-recorded emergency TI cases between December 2013 and June 2015.
Outcome: The first-pass intubation success.
Results: A total of 287 emergency TIs were included. The first-pass intubation success rates were 78%, 58%, 78%, and 58% for the Pentax, King, McGrath, and Macintosh, respectively（P=0.004）. The non-expert operators' success rates were significantly higher（P<0.001）for the Pentax（87%）and McGrath（78%）than that for the King（50%）and Macintosh（46%）, unlike that of the experts（P=0.556）. After adjusting for confounding factors, the Pentax（odds ratio = 3.422, 95% confidence interval 1.551-7.550） and McGrath（3.758, 1.640-8.612）showed significantly higher first-pass intubation success odds when compared to the Macintosh（reference）. The King, however,（1.056, 0.487-2.289）failed to show any significant superiority.
Conclusion: The Pentax and McGrath laryngoscopes showed significantly higher emergency TI first-pass intubation success rates when compared to the Macintosh laryngoscope.

8．Suplatast tosilate reduces radiation-induced lung injury in mice through suppression of oxidative stress
（スプラタストトシル酸塩は，酸化ストレスを抑えることでマウス放射線肺障害を軽減する）

泉　祐介
医歯薬学専攻　分子内科学

放射線は胸部悪性腫瘍の治療に有用であるが，抗腫瘍効果と同時に正常組織への傷害性も有する。我々は過去の研究で抗アレルギー薬であるスプラタストトシル酸塩が活性酸素種（reactive oxygen species: ROS）消去作用を有することを見出しており，放射線肺障害にはROSによる酸化ストレスが関与していることから，同薬剤が放射線肺障害を軽減するという仮説を立てた。まず培地中にスプラタストトシル酸塩を添加したマウス肺胞上皮様細胞に放射線を照射し，細胞保護効果を示すか検証したところ，同薬剤は放射線照射に伴う細胞内ROSとDNA損傷を抑え細胞増殖能の低下を濃度依存性に抑制した。さらに，C57BL/6マウスの放射線肺障害モデルにおいては，スプラタストトシル酸塩は照射肺の酸化ストレスと炎症性サイトカインの上昇を抑え，線維化を軽減することで生存率を向上させた。以上からスプラタストトシル酸塩は，胸部放射線治療において有用な肺保護剤となりうることが示された。

9．Associations of nutrient intakes with obesity and diabetes mellitus in the longitudinal medical surveys of Japanese Americans
（日系米人医学調査における栄養摂取と肥満，糖尿病発症との関連）

杉廣　貴史
市立三次中央病院　糖尿病・代謝内分泌内科

【背景・目的】1986年から2010年の日系米人医学調査で各栄養素と肥満や糖尿病発症との関連を検討した。
【対象と方法】1986年，1989年のロサンゼルス，1988年，1992年のハワイでの健診でNGT765名を対象とし，BMIによりlean群とobese群に分け，各栄

養素の摂取割合と，lean 群では肥満発症あるいは糖尿病発症，obese 群では糖尿病発症との関連を解析した。

【結果】lean 群では各栄養素と糖尿病発症に関連がなかった。obese 群では総蛋白質，動物性蛋白質，動物性脂質，飽和脂肪酸が糖尿病発症の正の関連因子だった。lean 群では総炭水化物，単純糖質，砂糖，果糖が肥満発症の正の関連因子で，総蛋白質，植物性蛋白質，複合糖質が負の関連因子だった。

【結論】日系米人において，肥満発症と糖尿病発症とに関連する栄養素は異なり，糖尿病発症への栄養素の影響は肥満の有無により異なることが判明した。

10. Ser96Ala genetic variant of the human histidine-rich calcium-binding protein is a genetic predictor of recurrence after catheter ablation in patients with paroxysmal atrial fibrillation
（HRC 遺伝子変異は発作性心房細動患者におけるカテーテルアブレーション後の再発の遺伝的予測因子となる）

網岡　道孝
医歯薬学専攻　循環器内科学

Ca ハンドリングの異常は心房細動アブレーション治療後の再発と関与することが報告されている。HRC（Histidine-rich calcium-binding protein）の遺伝子多型（rs3745297, Ser96Ala）は筋小胞体内からの Ca イオン放出を引き起こす。

今回我々は HRC 遺伝子 SNP と心房細動の再発の関係性について検討を行った。当院でアブレーション治療を行なった 334 名を対象とし HRC の遺伝子解析を行なった。HRC SNP は TT（179），TG（120），GG（35）であった。平均年齢は G アレル群で有意に低く，高血圧，糖尿病，CHADS2 スコアの割合は G アレル群で有意に低い結果であった。平均追跡期間は 19 ヶ月で 57 名 16.6%）に再発を認めた。Minor G allele の比率は，心房細動再発群で有意に高かった（P = 0.006）。カプランマイヤー曲線を用いた 3 群での再発率はフォローアップ期間中 GG 群で有意に高かった（P = 0.0004, log-rank test）。多変量解析では，心房細動罹病期間，洞機能不全および Ser96Ala が独立した心房細動再発の危険因子であった。

今回の研究より Ser96Ala が独立した心房細動の再発の危険因子であることが明らかになった。

11. Reduced Serum and Cerebrospinal Fluid Levels of Autotaxin in Major Depressive Disorder
（うつ病患者における血清および脳脊髄液中のオートタキシン濃度の減少）

板垣　圭
医歯薬学専攻　精神神経医科学

オートタキシン（ATX）はリゾホスファチジン酸（LPA）の主要な産生酵素蛋白質でうつ病との関連が指摘されているが，患者臨床サンプルを用いた検討はなされていない。本研究では電気けいれん療法（ECT）を行うこととなったうつ病群（N = 37）および健常対照群（N = 47）から血液を採取し，うつ病群では ECT 後に再度血液を採取し，ATX 濃度を測定した。また，別施設から提供された脳脊髄液でもうつ病群（N = 26）および健常対照群（N = 27）の ATX 濃度を測定した。うつ病患者の血清および脳脊髄液 ATX 濃度は有意に低下しており，血清 ATX 濃度はうつ病重症度と関連を示し，ECT により血清 ATX 濃度は有意に増加した。本研究は臨床患者サンプルを用いて ATX/LPA 系リゾリン脂質とうつ病の病態および治療との関連性をはじめて示した研究で，うつ病の病態理解や新規抗うつ薬開発につながる重要な知見と考えられた。