

広島大学学術情報リポジトリ

Hiroshima University Institutional Repository

Title	第84回 広島大学研究科発表会（医学）〈広島大学研究科発表会（医学）記録〉
Author(s)	広島大学医学出版会,
Citation	広島大学医学雑誌 , 68 (1-6) : 17 - 22
Issue Date	2020-12
DOI	
Self DOI	
URL	https://ir.lib.hiroshima-u.ac.jp/00050154
Right	Copyright (c) 2020 広島大学医学出版会
Relation	



第84回 広島大学研究科発表会（医学）

（2020年5月7日）

1. Primary functional brain connections associated with melancholic major depressive disorder and modulation by antidepressants
（メランコリー型うつ病に関わる脳機能結合と抗うつ薬による変化）

市川 奈穂

脳・こころ・感性科学研究センター

うつ病の判別について、安静状態のfMRIによる脳機能結合という生物学的な指標を用いて検討した研究は未だ少なく、特に全脳データから少数の疾患特異的な機能結合を同定し、うつ病のバイオマーカーとして開発した研究は行われていない。そこで本研究では、安静時脳機能結合データに機械学習を適用し、安静時脳機能結合によるメランコリー型うつ病バイオマーカーを作成すること、さらに抗うつ薬治療によるこのバイオマーカーの変化について検討することを目的とした。その結果、うつ病全体を対象とした場合には低い判別率に留まったのに対し、うつ病の中核群とされるメランコリー型うつ病に限定した場合には、判別率の向上と外部独立データへの汎化が確認された。また、判別に寄与した10個の脳機能結合には抗うつ薬治療により健常側に変化するものとならないものがあり、変化がみられない脳機能結合を標的とした新しいうつ病の治療法開発が期待される。

2. Deep learning reconstruction improves image quality of abdominal ultra-high-resolution CT
（腹部超高精細CTにおける深層学習を使用した画質改善の検討）

赤木 元紀

医歯薬学専攻 放射線診断学

【目的】 腹部超高精細CT (Ultra-high-resolution computed tomography: U-HRCT) 画像における深層学習を応用した画像再構成法 (Deep learning based reconstruction: DLR) の有用性を検討した。

【方法】 対象は当院でU-HRCTにて肝ダイナミックCTが撮影された46症例。動脈相と平衡相を超高精

細モードで撮影し、ハイブリッド型逐次近似画像再構成法 (hybrid type iterative reconstruction: Hybrid-IR), モデルベース逐次近似画像再構成 (Model-based iterative reconstruction: MBIR), DLRの三通りの再構成を行った。大動脈, 門脈, 肝実質, 脊柱起立筋に関心領域を設定し, 平均CT値を測定した。脊柱起立筋は標準偏差もあわせて測定し, これを画像ノイズと定義した。次に大動脈, 門脈, 肝実質コントラスト雑音比 (CNR: contrast-to-noise ratio) を算出した。また, 動脈相・平衡相における全体的な画質について5段階スコアを用いて定性的に評価した。

【結果】 動脈相・平衡相ともに, 画像ノイズはDLRで最も低く, 大動脈・門脈・肝実質のCNRはDLRで最も高かった。定性的な全体的な画質評価スコアは動脈相・平衡相ともにDLRで最も高かった。

【結語】 DLRは腹部U-HRCTの画質を改善することができると考えられた。

3. *Kdm6a* deficiency activates inflammatory pathways, promotes M2 macrophage polarization and causes bladder cancer in cooperation with *p53* dysfunction

(*Kdm6a* 欠失は炎症経路を活性化し, M2マクロファージ極性変化を誘導し, *p53* 機能不全と協調して膀胱癌を発症する)

小島 浩平

医歯薬学専攻 疾患モデル解析

Our purpose was to clarify the contribution of KDM6A (Lysine (K)-specific demethylase 6A), a histone modifier, in bladder cancer (BC). *Kdm6a* deficiency induced activation of inflammatory pathways and developed BC in cooperation of *p53* dysfunction, which was accelerated by BBN, a cigarette smoke-like mutagen. Of note, dual inhibition of interleukin-6 and chemokine (C-C motif) ligand 2 efficiently suppressed *Kdm6a*-deficient BC cell growth. Our findings propose the possibility of novel molecular targeted therapy against BC.

4. Nicotine-induced upregulation of miR-132-5p enhances cell survival in PC12 cells by targeting the anti-apoptotic protein Bcl-2

(ニコチンにより誘導される miR-132-5p は抗アポトーシス分子 Bcl-2 を標的とすることにより PC12 細胞の生存率を向上させる)

Tejashwi Shrestha
医歯薬学専攻 脳神経内科学

Objective: Neuronal apoptosis plays a major role in neurodegenerative disorders. Herein, we aimed to investigate the effect of nAChR stimulation with nicotine on the regulation of miRNA expression and identify the molecular pathway involved in neuroprotection.

Materials and methods: A microarray was conducted to identify the miRNAs regulated by nicotine. The expression of miR-132-5p was validated by RT-qPCR analysis. Cell viability was assessed following treatment with nicotine, miR-132-5p mimic or its inhibitor. The protein expression of CREB, Bcl-2, Bax and cleaved caspase-3 was determined by western blotting analysis.

Results: The microarray and the RT-qPCR results showed a 1.67-fold and a 1.5-fold increase in miR-132-5p, respectively, upon nicotine treatment. Immunoblotting revealed >2-fold increase in the phosphorylation of CREB, peaking at 4 h. Cell viability increased from 35% to 54%, and the Bcl-2 immunoreactivity increased by 1.4-fold. Overexpression of miR-132-5p increased cell viability from 38% to 70% whereas its inhibition decreased cell viability to 25%. A 3.9-fold increase in Bcl-2 and a 1.25-fold decrease in cleaved caspase-3 was seen with miR-132-5p overexpression.

Conclusions: Our results suggest that nAChR activation facilitates cell survival by upregulating miR-132-5p. These results present miR-132-5p as a potential novel therapeutic target to achieve neuroprotection via stimulation of nAChR.

5. Downregulation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and endothelin-1 (ET-1) in a co culture system with human stimulated X-linked CGD neutrophils

(X連鎖慢性肉芽腫症好中球による血管内皮細胞 endothelial nitric oxide synthase と endothelin-1 の発現低下)

宇都宮 朱里
小児科学

X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)は、*CYBB* 遺伝子異常による食細胞 NADPH oxidase を構成する gp91^{phox} 欠損での活性酸素産生障害を示す原発性免疫不全症である。患者では NO 高値で血管内皮機能が高いと報告されたが、詳細は明らかとなっていない。今回の研究では X-CGD 患者好中球を用い共培養した血管内皮培養細胞(HUVECs)における eNOS, ET-1 発現を解析した。X-CGD と共培養させた HUVECs では正常に比して有意に eNOS, ET-1 の mRNA, 蛋白発現が低下した。また上清中 H₂O₂ 低下, NO 上昇を認めた。試薬による HUVEC 発現解析で *NOS3*, *EDN1* 発現は細胞外 H₂O₂ に対して濃度依存性に発現増加, NO に対しては濃度依存性に発現低下した。これより gp91^{phox} 欠損好中球に派生する H₂O₂ 低下 NO 上昇が HUVECs の eNOS, ET-1 発現低下に至ったことが明らかとなった。

6. Prognostic Impact of Programmed Death-ligand 1 and Surrounding Immune Status on Stage I Lung Cancer

(PD-L1 発現と周囲免疫状態が I 期肺癌の予後に与える影響)

半田 良憲
医歯薬学専攻 腫瘍外科

近年、肺癌治療の領域において、免疫療法の効果に注目が集まっているが、その適応は未だ限定的である。一般に癌細胞を取り巻く免疫環境は非常に複雑で、PD-1/PD-L1 経路のみならず腫瘍内あるいは間質内の helper T 細胞 (CD4), 細胞障害性 T 細胞 (CD8), 制御性 T 細胞 (Foxp3) といった、多くの T 細胞が複合的に関与している。しかし、PD-1/PD-L1 経路とその他の免疫細胞との関連、予後との相関に関しては、未だ不明な点が多い。そこで本研究は、肺癌切除検体を用い、PD-1/PD-L1 経路に加え、周囲微小免疫環境も併せて評価することで免疫プロファイルの網羅的解析を行った。その結果、PD-1/PD-L1 経路の予後に与える影響は腫瘍内 CD8 の多寡に依存したものである

可能性が示された。本研究の結果に基づき、今後、免疫療法のさらなる適応拡大を模索していく予定としている。

7. Predicting the presence of breast cancer using circulating small RNAs, including those in the extracellular vesicles

(細胞外小胞体由来血清中循環小分子 RNA を使用した乳癌診断バイオマーカーの開発)

厚井 裕三子
医歯薬学専攻 腫瘍外科

microRNA や transfer RNA fragment (tRF) を含む小分子 RNA は、遺伝子の発現調節に重要な役割を担っている。小分子 RNA は疾患形成に関与し、多くの腫瘍で発現プロファイルの変化が報告されている。小分子 RNA が細胞外小胞体 (extracellular vesicle; EV) に内包またはタンパク質や脂質に結合する形で血中を安定して循環することを利用し、本研究では乳癌患者と非乳がん女性の血清から抽出した循環小分子 RNA のプロファイルを比較解析することで乳癌の新規診断バイオマーカー検索を行った。その結果、isomiR-21-5p (3' addition C), miR-23a-3p, tRF-Lys (TTT) の3つをバイオマーカーとして同定した。これらを組み合わせて作成したモデルの診断能は AUC 0.92 と高精度であった。次に、これらが乳癌細胞から分泌された可能性を検討する目的で、患者血清および乳癌細胞培養上清より EV を抽出し EV に内包された小分子 RNA のプロファイルを確認した。2つの小分子 RNA は循環型と同様に EV 内に豊富に含まれており、今回同定した循環型小分子 RNA を乳癌診断バイオマーカーとする頑健性を高める結果であった。

8. Differential Expression Levels of Plasma microRNAs in Neuroblastoma Patients Identified by Next-Generation Sequencing

(次世代シーケンスを用いた神経芽腫の血漿マイクロ RNA 解析)

Ahmad Arfan
医歯薬学専攻 生命科学

To find out suitable biomarkers for evaluating malignant grade of neuroblastoma (NB) in peripheral blood, we analyzed plasma exosomal

miRNAs in NB patients. We isolated exosomal miRNAs from 31 plasma and 37 tissue samples and sequenced them using next generation sequencer. We analyzed the correlation between expression levels of miRNAs between plasma and tissue samples, in regard to International Neuroblastoma Risk Group Staging System (INRGSS), outcome and *MYCN* status. We combined statistically significant miRNAs in each of 3 analyses groups. The most significant combination of miRNAs may have potential as biomarker. In correlation to outcomes, miRNA-92a-3p was significantly upregulated in deceased cases ($p = 0.017$). In correlation to INRGSS staging, miR-375 was upregulated in M stage ($p = 0.002$). In relation to *MYCN* status, plasma miRNA-92a-3p & miR-99a-5p were upregulated in *MYCN* amplified cases ($p = 0.007$ & 0.006). Combination of miR-92a-3p, miR-375 & miR-99a-5p showed to be statistically significant (AUC = 0.726, $p = 0.001$, 95 % CI = 0.612-0.841, sensitivity = 77 %, specificity = 56.7 %). We concluded that combination of miR-92a3p, miR-375 & miR-99a-5p may be used as biomarker for unfavorable NB. Further validation step needs to be done on larger number of samples.

9. SPC18 expression is an independent prognostic indicator of patients with esophageal squamous cell carcinoma

(SPC18 の発現は、食道癌患者において独立した予後不良因子である)

山本 悠司
医歯薬学専攻 分子病理学

食道癌は予後不良の癌種であり、新規診断・治療標的分子の同定は急務である。以前当研究室において行われた網羅的遺伝子発現解析において、胃癌においては発現が亢進している遺伝子として *SEC11A* を同定した。*SEC11A* は signal peptidase complex 18 (SPC18) をコードしている遺伝子である。本研究では食道癌における SPC18 の発現と予後との関連を解析し、SPC18 の機能についても細胞株を用いて検討した。

切除組織を用いた免疫染色では腫瘍部で 92 例中 46 例 (50%) に SPC18 の発現が認められ、多変量解析で SPC18 の発現は独立した予後不良因子であった ($p = 0.027$)。また細胞株を用いた機能解析で、SPC18 は

腫瘍増殖に関し促進的に機能し、その機序として EGFR, ERK-MAPK 経路, PI3K-AKT 経路を活性化していると考えられた。

これらの結果より、SPC18は食道癌において新規診断・治療標の分子となる可能性が示唆された。

10. T2-FLAIR mismatch sign in dysembryoplastic neuroepithelial tumor

(胚芽異形成性神経上皮腫瘍における T2-FLAIR ミスマッチサイン)

大西 俊平

医歯薬学専攻 脳神経外科学

WHO 脳腫瘍分類は 2016 年にアップデートされ、分子遺伝学的な特徴が脳腫瘍の診断において重要な役割を担うこととなった。そのうち、diffuse astrocytoma, IDH-mutant & 1p/19q non-codeleted に MRI における “T2-FLAIR mismatch sign” が特異的に出現するため、鑑別診断に有用な指標として報告された。本研究では、胚芽異形成性神経上皮腫瘍 (DNET) に着目し、T2-FLAIR mismatch sign の有無と DNET の放射線学的特徴について検討した。

対象は、テント上 DNET 11 例。MRI, CT, 病理学的検査を含め検討した。DNET 11 例中 8 例 (72.7%) で T2-FLAIR mismatch sign を認めた。全症例で造影効果は認められなかった。CT では、腫瘍の石灰化を 11 例中 3 例 (27.3%) でみとめ、石灰化のある症例では T2-FLAIR mismatch sign は陰性であった。また、頭蓋冠に接する病変が全例で骨の菲薄化を認めた。病理組織所見において、T2-FLAIR mismatch sign が陽性例と陰性例で、組織形態に差異は認められなかった。

本研究により、T2-FLAIR mismatch sign が、diffuse astrocytoma, IDH-mutant & 1p/19q non-codeleted だけでなく、DNET にも認められることが示された。DNET においては頭蓋骨の菲薄化が鑑別に有用である可能性が示唆された。

11. Hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells prevent renal fibrosis and inflammation in ischemia-reperfusion rats

(腎虚血再灌流障害に対する、低酸素下で培養した骨髄間葉系幹細胞移植の線維化抑制効果)

石内 直樹

医歯薬学専攻 腎臓内科学

低酸素下で培養した間葉系幹細胞: Mesenchymal Stem Cell (MSC) は抗炎症作用や抗線維化作用が増強すると報告されている。我々は低酸素下で培養した MSC をラット腎虚血再灌流 (IRI) モデルへ投与し、腎線維化に対する効果を検討した。

低酸素下で培養した MSC (1%O₂ MSC) の投与は、虚血再灌流障害により誘導された腎臓の炎症細胞浸潤および線維化を通常酸素下で培養した MSC と比較して、より強く抑制した。また 1%O₂ MSC より作製した馴化培地には VEGF や HGF が高発現し、HK-2 cell において TGF-β1 の添加で誘導された線維化因子を有意に抑制した。一方で VEGF をノックダウンした 1%O₂ MSC は、HGF の分泌が低下し、TGF-β1 を添加した HK-2 cell や IRI モデルに対する線維化抑制効果が減弱した。

これらの結果より、低酸素下で培養した MSC は腎線維化を抑制する治療法として有用と考える。

12. Neuronal activity-dependent local activation of dendritic unfolded protein response promotes expression of brain-derived neurotrophic factor in cell soma

(樹状突起における神経活動依存的な小胞体ストレス応答の活性化は細胞体における brain-derived neurotrophic factor の発現を誘導する)

蔡 龍杰

医歯薬学専攻 分子細胞情報学

Unfolded protein response (UPR) has roles not only in resolving the accumulation of unfolded proteins owing to endoplasmic reticulum (ER) stress, but also in regulation of cellular physiological functions. ER stress transducer inositol-requiring kinase 1 (IRE1) is found at dendritic ER. However, the role of dendritic IRE1 is unclear. Here, we demonstrated that synaptic activity and brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-dependent local activation of IRE1 could be associated with dendritic functions through retrograde signal propagation. IRE1 was activated at postsynapses in response to excitatory synaptic activation. Activated dendritic IRE1 accelerated accumulation of the downstream transcription factor, x-box-binding protein 1 (XBP1),

in the nucleus. Interestingly, excitatory synaptic activation-dependent up-regulation of XBP1 directly facilitated transcriptional activation of BDNF. BDNF in turn drove its own expression via IRE1-XBP1 pathway in a protein kinase A-dependent manner. Exogenous treatment with BDNF promoted extension and branching of dendrites through the protein kinase A-IRE1-XBP1 cascade. Taken together, our findings indicate novel mechanisms for communication between soma and distal sites of polarized neurons that are coordinated by local activation of IRE1-XBP1 signaling. Synaptic activity- and BDNF-dependent distinct activation of dendritic IRE1-XBP1 cascade drives BDNF expression in cell soma and may be involved in dendritic extension.

13. TGF β 1 Regulates Human RANKL-Induced Osteoclastogenesis via Suppression of NFATc1 Expression

(TGF β 1 は NFATc1 発現の抑制を介して RANKL によるヒト破骨細胞の分化・誘導を制御する)

徳永 忠浩

医歯薬学専攻 リウマチ・膠原病学

Osteoclasts are multinucleated giant cells responsible for bone resorption. Various mediators involved in osteoclast differentiation have been investigated as possible therapeutic targets for osteoporosis and rheumatoid arthritis (RA). Although transforming growth factor beta1 (TGF β 1) has been described as one such multifunctional cytokine essential for bone remodeling, its effect on osteoclastogenesis remains controversial. Therefore, we sought to examine the effect of TGF β 1 on osteoclast generation induced by receptor activator of nuclear factor (NF)- κ B ligand (RANKL) in humans. Peripheral blood monocytes, isolated using magnetic bead sorting, were cultured with macrophage-colony stimulating factor (M-CSF) or RANKL with or without TGF β 1. Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) staining, as well as bone resorption assays, revealed that TGF β 1 suppressed RANKL-mediated human osteoclast development. Real-time reverse transcription PCR and Western blotting revealed that TGF β 1 reduced

the gene and protein expression of nuclear factor of activated T cells, cytoplasmic 1 (NFATc1), the master regulator of osteoclast differentiation, respectively. Luciferase assays indicated that TGF β 1 inhibited the NF- κ B p65-stimulated promoter activity of NFATc1. Immunofluorescence analysis demonstrated that TGF β 1 abrogated RANKL-induced nuclear translocation of p65. Thus, TGF β 1 regulates human RANKL-induced osteoclastogenesis via downregulation of NFATc1 by blocking nuclear translocation of NF- κ B, suggesting that TGF β 1 may be a potential therapeutic target for RA.

14. Activin A expressed in rheumatoid synovial cells downregulates TNF α -induced CXCL10 expression and osteoclastogenesis

(関節リウマチ滑膜細胞に発現する Activin A は TNF α による CXCL10 発現と RANKL によるヒト破骨細胞分化誘導を抑制する)

倉信 達臣

医歯薬学専攻 リウマチ・膠原病学

【目的】

関節リウマチ (RA) 滑膜において高発現することが知られている activin A の産生に炎症性サイトカインが及ぼす影響と、activin A の RA における病態生理学的役割を明らかにすること。

【方法】

RA 患者から滑膜細胞を採取し複数のサイトカインで刺激した。刺激 24 時間後に回収し定量的 PCR 法により遺伝子発現を測定した。また、刺激 48 時間後に回収した蛋白を ELISA 法により測定した。RANKL 刺激により単球から分化した破骨細胞を、TRAP 染色、osteoclast assay を用い同定し、破骨細胞形成に重要な NFATc1 と cathepsin K の発現を WB 法により評価した。

【結果】

TGF- β 1 と TNF α , IL-1 β , IL-6 との相乗効果により、activin A の発現が亢進した。また activin A は T 細胞や単球の遊走に関わる CXCL10 の発現を阻害した。さらに activin A は NFATc1, cathepsin K の発現を抑制し、破骨細胞分化を抑制した。

【結論】

本研究では、RA の炎症関節における activin A の発現に TGF- β 1 が強く関与していることを示唆した。

activin A は抗炎症作用を示し, CXCL10 や破骨細胞形成を制御することで関節損傷を予防しうる。