

広島大学学術情報リポジトリ

Hiroshima University Institutional Repository

Title	第89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 , 69 (1-6) : 12 - 15
Issue Date	2021-12
DOI	
Self DOI	
URL	https://ir.lib.hiroshima-u.ac.jp/00051928
Right	Copyright (c) 2021 広島大学医学出版会
Relation	



第89回 広島大学研究科発表会（医学）

（2021年5月6日）

1. Pediatric fulminant myocarditis in Japan: a retrospective nationwide database study of hospital volume, management practices, and mortality

（日本における小児劇症型心筋炎：医療機関あたり症例数、治療内容、および死亡率に関する後方視的データベース研究）

大木 伸吾

医歯薬学専攻（救急集中治療学）

【目的】本研究の目的は、小児劇症型心筋炎における各種アウトカムの非劇症型心筋炎との比較、治療実態の解明および各種要因（患者背景、病院あたり的小児劇症型心筋炎症例数、治療内容など）が死亡に与える影響の検討である。

【方法】Diagnosis Procedure Combination データベースを用いて、2012年4月からの6年間に対象医療機関を退院した18歳未満の急性心筋炎患者866例を抽出した。このうち382例（44.1%）が劇症型心筋炎群に分類され、その院内死亡率は24.1%と非劇症型心筋炎群と比べ有意に高値であった。劇症型心筋炎群を対象とした多変量ロジスティック回帰分析では、6年間の小児劇症型心筋炎症例数が6例以上（highest tertile 群）の病院での治療が、2例以下（lowest tertile 群）の病院での治療と比較して院内死亡率の低下と有意に関連しており、post-hoc 解析の3つのプロペンシティスコア分析でも同様であった。

【結論】小児劇症型心筋炎患者を地域の拠点病院へ集約化することで、その救命率が向上する可能性がある。

2. Peritoneal lavage with hydrogen-rich saline can be an effective and practical procedure for acute peritonitis

水素含有生理食塩水による腹腔内洗浄は、急性腹膜炎において、効果的かつ実用的な治療法になり得る可能性がある

佐田 春樹

医歯薬学専攻（消化器・移植外科学）

目的：急性腹膜炎は未だ致命的疾患であり、その死因の多くは敗血症が引き起こす多臓器不全である。酸化ストレスは重要な因子であるものの、抗酸化療法は未だ確立されていない。そこで、急性腹膜炎に不可欠な手術の際に、水素含有生理食塩水で腹腔内洗浄を行うことが新たな治療法になり得るか検証する。

方法：実臨床で使用可能な、短時間で高濃度な水素含有生理食塩水の精製器を作成する。また急性腹膜炎に対して、その有効性をラットを用いて、安全性と実用性をミニプタを用いて検証する。

結果：水素含有生理食塩水での腹腔内洗浄は、腹膜炎ラットの予後を改善し、肝腎機能障害を抑制した。さらに抗炎症・抗アポトーシス効果に加え、抗酸化作用を示した。ミニプタを用いた実験では水素含有生理食塩水の腹腔内洗浄による循環動態の変化はなく、安全性を確認した。

結論：水素含有生理食塩水での腹腔内洗浄は急性腹膜炎に対する新たな治療法になり得る。

3. Development of a humanized mouse model to analyze antibodies specific for human leukocyte antigen (HLA)

（ヒト白血球抗原特異的抗体解析ヒト化マウスモデルの作製）

柳川 泉一郎

医歯薬学専攻（消化器・移植外科学）

In organ transplantation, human leukocyte antigen (HLA) -mismatch grafts induce the the development of chronic antibody-mediated rejection due to the donor-specific anti-HLA antibody (DSA) produced by B cells and plasma cells interacting with the graft endothelium. However, mechanism of producing or controlling the DSA remains unclear.

In recent decades, humanized mouse models have been widely used for the basic research of human immune systems, but a humanized mouse model to analyze the mechanism of DSA production has not been established yet.

We aimed to create a humanized mouse using a severe immunodeficiency mouse (NSG mouse) administered with human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs), and mixed PBMCs of various HLA antigenic combinations with or without regulatory T cells and preconditioned them by culturing on feeder cells stably transfected with human CD40 ligand (h-CD40L) alone or with h-CD40L and human B cell activating factor (h-BAFF). They were co-cultured with the corresponding irradiated stimulator PBMCs, and all cells were administered into NSG mice. Although all humanized models had sufficient human total-IgG, allospecific anti-HLA Ab production was prominently suppressed whereas non-specific anti-HLA Abs were sufficiently detected.

This mouse model might be useful for analyzing the mechanism of anti-allogeneic human B cell tolerance induction. (198 words)

4. KIFC1 regulates ZWINT to promote tumor progression and spheroid formation in colorectal cancer

(大腸癌において KIFC1 は ZWINT を制御し、腫瘍進展・スフェロイド形成を促進する)

赤羽 慎太郎
医歯薬学専攻 (分子病理学)

Kinesin Family Member C1 (KIFC1) は細胞質中のモータータンパク質の一種であり、種々の癌で高発現し、Centrosome clustering (中心体クラスタリング) を引き起こして癌の進展に寄与することが報告されている。しかし大腸癌における KIFC1 の臨床病理学的な解析はなされておらず、本研究では KIFC1 の大腸癌における発現・機能解析を行った。免疫組織学的検討では、大腸癌 129 症例中 67 症例 (52%) が KIFC1 陽性であり、癌幹細胞マーカー発現との相関を示し、KIFC1 陽性群は予後不良であった。細胞株に対し siRNA で KIFC1 を knock down すると、細胞増殖能・スフェロイド形成能が低下した。新規 KIFC1 阻害剤として Kolavenic acid analog (KAA) が同定されており、感受性試験により細胞増殖抑制効果を認めた。さらに、薬剤暴露細胞の遺伝子発現解析で、ZW10 interacting kinetochore protein (ZWINT) が低下していた。ZWINT の knock down で細胞増殖能・スフェ

ロイド形成能が低下した。以上より、大腸癌において KIFC1 は癌幹細胞性に関与し、ZWINT を制御することにより、腫瘍進展・スフェロイド形成を促進する可能性が示された。

5. Analysis of genetic risk factors in Japanese patients with Parkinson's disease

(日本人パーキンソン病患者における遺伝的リスク要因の検討)

金谷 雄平
医歯薬学専攻 (脳神経内科学)

【背景】パーキンソン病 (PD) は遺伝的要因と環境要因が関与する神経変性疾患である。先行研究で遺伝的リスク要因は人種や地域により異なることが知られている。本研究では日本人 PD 患者の一塩基多型 (SNV) とコピー数多型 (CNV) を網羅的に解析し、遺伝的リスク要因を検討した。【方法】221 人の PD 患者を発症年齢 (AAO) ごとに 3 つのグループに分類した (グループ E [50 歳未満], グループ M [50 歳以上 70 歳未満], グループ L [70 歳以上])。全ての検体で既知の 15 の PD 関連遺伝子解析を行った。【結果】グループ E はグループ L に比べ有意に遺伝的リスク要因保有率が高かった。遺伝子ごとの AAO の比較では *PRKN* が *LRRK2* に比べて有意に若年発症だった。【考察】日本人 PD 患者では既報告と同様に若年発症患者ほど高率に遺伝的リスク要因を有していた。日本人では *PRKN* や *LRRK2* が最も頻度の高いリスク要因であった。

6. Mesenchymal stem cells induce tumor stroma formation and epithelial-mesenchymal transition through SPARC expression in colorectal cancer

(MSC は大腸癌細胞における SPARC 発現を介して腫瘍間質の形成や EMT を誘導する)

内藤 聡雄
医歯薬学専攻 (消化器・代謝内科学)

本研究では癌細胞と間質の直接接触により癌細胞での発現が上昇する SPARC が、大腸癌の発育進展に与える影響を検討した。ヒト大腸癌外科切除標本を用いて SPARC 発現との関連を解析すると、癌細胞において SPARC 発現した症例で臨床病理学的特徴との関連を認め、有意に予後不良であった。また、KM12SM

ヒト大腸癌細胞株 (WT) を用いて SPARC 発現抑制株 (shSPARC) を作成し, MSC との相互作用による SPARC の腫瘍発育に対する影響を評価した。in vitro では MSC との共培養により shSPARC 株は WT 株に比べ増殖能や遊走能が有意に抑制され, in vivo では大腸癌同所移植マウスモデルにおいて MSC との共移植により shSPARC 株で WT 株に比べ増殖能や血管新生能, 間質反応, EMT が有意に抑制された。RNAseq でも shSPARC 株と MSC の共移植腫瘍で間質反応や血管新生, EMT に関連する遺伝子群やシグナル伝達経路の発現が抑制された。以上から, 癌細胞と間質の直接接触による癌細胞での SPARC 発現が EMT や間質反応を誘導し, 大腸癌が発育進展していることが示唆された。

8. Inherited CARD9 deficiency in a child with invasive disease due to *Exophiala dermatitidis* and two older but asymptomatic siblings

(*Exophiala dermatitidis* による侵襲性真菌感染症を発症した CARD9 欠損症の小児例, 及び無症状の姉妹2例)

今中 雄介

医歯薬学専攻 (小児科学)

常染色体劣性 CARD9 欠損症の本邦初例を同定した。患者は *Exophiala dermatitidis* による侵襲性真菌感染症を発症し, 遺伝子パネル解析で *CARD9* 遺伝子に新規変異 (c.586A>G (p.K196E): 母由来), 及び既知変異 (c.1118G>C (p.R373P): 父由来) を認めた。さらに家系解析で, 真菌感染症を認めない姉妹も同一の複合ヘテロ変異を保有することが判明した。

患者 CD14 陽性単球は, *CARD9* mRNA, タンパク発現は正常レベルに保たれていたが, 真菌成分を用いた刺激実験で TNF- α , IL-6 産生低下を示した。同様の所見が患者の姉妹でも認められ, 真菌感染症の潜在的なリスクが考えられた。一連の結果から, CD14 陽性単球を用いた真菌成分による刺激に対するサイトカイン産生能の検証により, 症状の有無に関わらず, *CARD9* 遺伝子変異の病的意義が評価可能であることを示すことができた。

9. Mesenchymal stem cells cultured in serum-free medium ameliorate experimental peritoneal fibrosis

(無血清培地で培養された間葉系幹細胞は腹膜線維

化を改善する)

長崎 孝平

医歯薬学専攻 (腎臓内科学)

Mesenchymal stem cells (MSCs) provide potential treatments for peritoneal fibrosis. However, MSCs cultured in media containing serum bring risks of infection and other problems. In this study, we compared the effect of human MSCs in serum-free medium (SF-MSCs) on experimental peritoneal fibrosis in rats with that of MSCs cultured in medium containing 10% fetal bovine serum (10%MSCs). Peritoneal fibrosis was induced by intraperitoneally injecting 0.1% chlorhexidine gluconate (CG). SF-MSCs or 10%MSCs were intraperitoneally administered 30 min after the CG injection. Ten days after these injections, we performed histological analyses and peritoneal equilibrium testing. These experiments showed that the SF-MSCs suppressed CG-induced cell accumulation, thickening, mesenchymal cell expression, extracellular matrix protein deposition and inflammatory cell infiltration and reduced the functional impairments of the peritoneal membrane compared with that of the 10%MSCs, significantly. In the in vitro experiments, we used transforming growth factor (TGF) - β 1-stimulated human peritoneal mesothelial cells incubated in conditioned medium from MSCs. The experiments showed that although MSCs suppressed TGF- β 1 signaling, the suppression did not significantly differ between the SF-MSCs and 10%MSCs. Serum-free culture conditions can enhance the antifibrotic abilities of MSCs by suppressing inflammation. Administering ex vivo expanded SF-MSCs may be a potential therapy for preventing peritoneal fibrotic progression.

11. Autologous meniscus fragments embedded in atelocollagen gel enhance meniscus repair in a rabbit model

(ウサギモデルにおけるアテロコラーゲンをを用いた細碎半月板は半月板修復を促進する)

松原 紀昌

医歯薬学専攻 (整形外科学)

Aims: This study evaluated the cell migration and proliferation of minced meniscus and meniscus regeneration following implantation of minced meniscus into massive meniscus defect in rabbit.

Materials and Methods: Meniscus fragments were obtained from rabbits, manually minced, embedded in atelocollagen gel, and cultured for 3 weeks. Cell migration and proliferation were then evaluated. In the rabbit model, the medial meniscus was excised, and minced meniscus embedded in atelocollagen gel was implanted (minced meniscus group). Rabbits with untreated meniscus defect (defect group) and transplanted with atelocollagen gel only (atelocollagen group) were also prepared. Meniscus regeneration was evaluated histologically.

Results: Abundant cells were observed in the gel after 3 weeks of culture, indicating that meniscus cells migrated from the minced meniscus and proliferated in the gel. The regenerated tissue in the minced meniscus group more closely resembled native meniscus histologically than that in the defect and atelocollagen group. Furthermore, the modified Pauli's score was significantly higher in the minced meniscus group than in the defect and atelocollagen group.

Conclusion: Our data show that cells in minced

meniscus can proliferate, and that implantation of the minced meniscus within atelocollagen induces meniscus regeneration, thus suggesting a novel therapeutic alternative for meniscus tears.

12. Smad4 regulates the nuclear translocation of Nkx2-5 in cardiac differentiation

(Smad4 は心筋分化において Nkx2-5 の核移行を制御する)

胡 文字

医歯薬学専攻 (心臓血管生理学)

Bmp has been suggested to play an important role in cardiomyocyte differentiation, but the function of Smad4 in Bmp signaling remains elusive. Here, we show that disruption of the *Smad4* gene in *Sfrp5*-expressing cardiac progenitors led to embryonic lethality with hypoplastic heart formation. Although it has been reported that the expression of *Nkx2-5* is regulated by Bmp signaling, *Nkx2-5* was weakly expressed in the mutant heart. However, the nuclear translocation of Nkx2-5 was impaired. Expression of *CK2* or *PPI*, which could affect the phosphorylation status of the NLS of Nkx2-5, was not affected, but Nkx2-5 was found to bind to Smad4 by co-immunoprecipitation experiments. Introduction of *Smad4* into cells derived from *Smad4* conditional knockout embryonic hearts restored the nuclear localization of Nkx2-5, and exogenous Nkx2-5 failed to translocate into the nucleus of *Smad4*-depleted fibroblasts. Taken together, these results suggest that Smad4 plays an essential role in cardiomyocyte differentiation by controlling not only transcription, but also the nuclear localization of Nkx2-5.