

第96回 広島大学研究科発表会（医学）

（2022年11月2日）

1. Basophils activation of patients with chronic spontaneous urticaria in response to C5a despite failure to respond to IgE-mediated stimuli
 (IgEを介する刺激に反応しない慢性特発性蕁麻疹患者の好塩基球でもC5aによる刺激応答は維持されている)

松原 大樹
 医歯薬学専攻 皮膚科学

【背景】慢性特発性蕁麻疹（CSU）の病態では好塩基球の活性化が重要だが、多くのCSU患者では高親和性IgE受容体（FcεRI）刺激による好塩基球のヒスタミン放出が抑制されている。我々の先行研究では、血液凝固因子により産生されたC5aも好塩基球を活性化することを示した。【目的・方法】FcεRI刺激によるヒスタミン遊離能が低下しているCSU患者群（non/low-responder）においては、どのように好塩基球が活性化されているか不明だった。そこで、健康人、CSU患者の好塩基球がC5aによって活性化されるか検討した。【結果】CSU患者では健康者と比較してIgE受容体を介した刺激に反応しないnon responder/low responderの割合が多い傾向にあった。一方、IgE受容体刺激に反応しない好塩基球でも、C5aによる刺激に対するヒスタミン遊離能は保持されていることが示された。【まとめ】IgE-FcεRI経路が抑制されているCSUでは、血液凝固因子の活性化によって産生されるC5aによる好塩基球活性化が重要である可能性がある。

2. Immunological Changes of Basophil Hyperreactivity to Sweat in Patients With Well-Controlled Atopic Dermatitis
 (良好に病勢コントロールされたアトピー性皮膚炎患者における末梢血好塩基球の汗に対する過敏性の免疫学的変化)

沼田 智史
 医歯薬学専攻 皮膚科学

【目的】アトピー性皮膚炎（AD）患者の多くは汗

抗原に対するI型アレルギーを有するが、一旦獲得された汗アレルギーの予後は不明である。

【方法】皮疹を良好に制御したADを対象に、精製汗抗原に対する末梢血好塩基球からのヒスタミン遊離（HR）、汗抗原MGL₁₃₀₄及びダニ抗原Der f 1特異的血清IgE値を治療介入の前後で検討した。

【結果】汗アレルギーを有する患者14例を組入れ、53～96週間、IGAスコア2以下を維持した。その間、MGL₁₃₀₄特異的IgE値は有意に減少したが、精製汗抗原に対する好塩基球からのHRは増加した。Der f 1特異的IgE値に有意な変化はなかった。

【結論】1年以上症状の改善を維持しても汗に対する好塩基球の過敏性は低下しない。汗同様に経皮感作を生じる食物抗原に比べて、汗抗原は脱感作しにくい可能性があり、症状の軽快後も汗によるADの悪化を防ぐ為に汗の対処を継続する必要がある。

3. Progesterone Suppresses Uterine Contraction by Reducing Odontogenic *Porphyromonas gingivalis* Induced Chronic Inflammation in Mice
 (プロゲステロンは歯周病原菌である*Porphyromonas gingivalis*を用いた慢性炎症モデルマウスにおいて抗炎症作用を発揮することにより子宮収縮を抑制する)

寺岡 有子
 医歯薬学専攻 産婦人科学

背景：慢性炎症モデルにおけるプロゲステロン（P4）の早産予防効果についてはこれまで報告がない。

方法：早産様の表現系を呈する歯周病モデルマウス（*P.g.*マウス）を用いて、子宮や卵膜で亢進した炎症ならびに子宮収縮に対するP4の効果を検討し、P4による早産抑制機序の解明を試みた。

結果：*P.g.*マウスに1mgのP4を3日間投与したところ妊娠期間は延長し早産は認めなかった。*P.g.*マウスでは、子宮平滑筋において収縮関連タンパクの遺伝子発現が亢進し子宮収縮が増強していたが、P4投与により子宮収縮は抑制された。また*P.g.*マウスの卵膜においてNF-κB及びMAPK経路が活性化され、炎症性サイトカインの遺伝子発現が亢進していたが、

P4 投与によりいずれも抑制された。

結論: プロゲステロンは *P.g.* マウスにおいて、卵膜での炎症を制御することにより、子宮収縮を抑制し早産を予防した可能性が示唆された。

4. The role of substance P on maintaining ligament homeostasis by inhibiting endochondral ossification during osteoarthritis progression (変形性関節症進行に伴う内軟骨性骨化の抑制による靭帯の恒常性維持に対するサブスタンス P の役割)

徳本 真矢

医歯薬学専攻 整形外科

【目的】 変形性関節症 (OA) では靭帯を含む様々な組織の変性が特徴であり、神経ペプチドである Substance P (SP) との関連性が示唆されている。本研究では、OA 靭帯における SP の発現と機能、および SP の治療効果を解析することを目的とした。

【方法】 ヒトおよびマウスの後十字靭帯 (PCL) の組織学的評価を行った。ヒト靭帯細胞を用いた Real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) とペレット培養により SP の影響を評価した。また、destabilized medial meniscus (DMM) マウスに SP を腹腔内投与し PCL を組織学的に評価した。

【結果】 ヒトおよびマウスにおいて、SP、SOX9、MMP13 の発現は OA の進行に伴い上昇し、その後低下した。靭帯細胞に SP を投与すると SOX9、RUNX2、COL10A1 の発現が抑制された。ペレット培養では、SP 投与によりペレット径が減少し、SOX9、COL2A1 の発現が低下した。また、DMM マウスに SP を投与すると PCL の変性が抑制された。

【結論】 SP は OA の内軟骨性骨化を抑制することにより、靭帯の恒常性を維持する重要な役割を担っている。

5. The presence of vessels encapsulating tumor clusters is associated with an immunosuppressive tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma

(肝細胞癌周囲の類洞様血管構造 (vessels that encapsulated tumor clusters; VETC) の腫瘍免疫抑制環境との関連)

張 佩燦

医歯薬学専攻 消化器内科学

Any potential stratification of patients could facilitate development of the most effective treatment option for hepatocellular carcinoma (HCC). By integrating transcriptomic, genetic, and IHC data from tumors from HCC patients, we determined that the presence of vessels encapsulating tumor-forming clusters (VETC), a distinct HCC phenotype with a different molecular etiology, might influence the outcome of HCC treatment and contribute to the selection of the most appropriate treatment.

The VETC+ HCC group showed significantly lower overall survival (OS) and higher cumulative incidence of extrahepatic metastasis after curative hepatic resection than the VETC- HCC group.

GSEA results indicate that VETC+ is associated with lower activation of immune status. Therefore, VETC characterized by low immune activation may derive reduced benefit from immunomodulatory strategies.

On the other hand, gene expression levels of fibroblast growth factor receptors (FGFR) were upregulated in VETC+ HCC, combination with our report that tumor *FGFR4* level can predict the efficacy of lenvatinib treatment in patients with advanced HCC, suggesting that VETC+ HCC might benefit from lenvatinib treatment.

Our results revealed that the molecular characteristics of VETC are associated with suppression of the tumor immune system and highlight the importance of assessing VETC status for more effective treatment of HCC.

6. Usefulness of serum amyloid A as an inflammatory biomarker in ulcerative colitis and its expression mechanism in intestinal epithelium

(血清アミロイド A の潰瘍性大腸炎における炎症性バイオマーカーとしての有用性とその腸管上皮における発現機構の解析)

若井 雅貴

医歯薬学専攻 消化器内科学

UC における SAA のバイオマーカーとしての有用

性とその腸管上皮における発現機構を検討した。

Study1: 寛解期 UC 患者 108 名, 内視鏡 199 件を対象とした。結果は SAA が CRP と比較し内視鏡所見との強い相関があり, 粘膜炎症を予測する優れたバイオマーカーであった。

Study2: SAA の発現はマウス腸管で認められる。マウス正常腸管上皮において IL-6, TNF- α , IL-22 は SAA1 発現を促進し, また, フラジェリンによる TLR 刺激は NF- κ B 経路を介し SAA1 を誘導する一方で, 5-ASA はこの経路を阻害し, その発現を抑制する。

SAA は CRP と異なり腸管で発現が認められ, CRP と比較し様々なサイトカインで発現誘導される。このことが CRP と比べ感度が高い理由の 1 つと考えられる。また, NF- κ B を介した 5-ASA による SAA1 の抑制は, 5-ASA の薬理作用の一つである可能性がある。

7. Hepatic Arterial Infusion Chemotherapy Combined with Radiation Therapy for Advanced Hepatocellular Carcinoma with Tumor Thrombosis of the Main Trunk or Bilobar of the Portal Vein (門脈本幹または両枝の腫瘍栓を合併する進行肝細胞癌に対する肝動注化学療法と放射線治療併用療法)

小坂 祐未

医歯薬学専攻 消化器内科学

門脈本幹または両枝の腫瘍栓 (Vp4) 合併進行肝細胞癌 (肝癌) に対する標準治療は Atezolizumab-Bevacizumab とされているが, その予後は極めて不良 (全生存期間中央値 MST 7 ヶ月) であり, 新たな治療法の開発が必要である。本研究では, Vp4 合併肝癌に対する新たな治療選択肢としての肝動注療法と放射線治療併用療法の有効性と安全性の評価を目的とし, 当院で本治療を行った Vp4 合併肝癌 51 例について, MST, 無増悪生存期間 (PFS), 奏効率 (ORR), 有害事象について, 後方視的に解析した。MST 12.1 ヶ月, PFS 4.1 ヶ月であり, MST に関連する独立因子は, 肝内占拠率 50% 以上, 肝外転移が抽出された。ORR は 19.6%, 門脈腫瘍栓の ORR 51.0% であり, いずれも奏効例の予後は有意に良好であった (19.6 ヶ月, 19.8 ヶ月)。56.9% で後治療が可能であり, 重篤な有害事象は認めなかった。本研究結果から, Vp4 合併進行肝癌に対する肝動注化学療法と放射線治療併用療法の, 新たな治療選択肢としての可能性を示した。

8. The usefulness of body composition measurement in lenvatinib treatment for unresectable advanced hepatocellular carcinoma (切除不能進行肝細胞癌に対するレンバチニブ治療における体組成測定の有用性)

1) Extracellular water to total body water ratio obtained by bioelectrical impedance analysis determines the dose intensity of lenvatinib for the treatment of patients with advanced hepatocellular carcinoma

(切除不能進行肝細胞癌患者に対するレンバチニブの内服率は生体電気インピーダンス分析で得られた細胞外水/全身水比で決定する)

Journal of Gastroenterology and Hepatology, 36 (6) :1685-1693, 2021.

2) The importance of body composition assessment for patients with advanced hepatocellular carcinoma by bioelectrical impedance analysis in lenvatinib treatment

(切除不能進行肝細胞癌患者に対するレンバチニブ治療における生体電気インピーダンス分析による体組成評価の重要性)

山岡 賢治

医歯薬学専攻 消化器内科学

【背景】 切除不能進行肝細胞癌の治療法の選択肢が増加している一方で, 骨格筋量低下合併症例の予後は不良である。

【目的】 生体電気インピーダンス分析で体組成評価を行い, レンバチニブの予後予測因子を検討する。

【方法】 切除不能進行肝細胞癌患者に対し, 生体電気インピーダンス分析をレンバチニブ治療開始と治療中に行い予後評価を行う。

【結果】 レンバチニブ治療前の細胞外水/全身水比である浮腫値が高値の場合, 内服率の維持ができず, 初回休薬減量までの期間が短く予後も不良であった。骨格筋量においては, 上肢骨格筋量が無増悪生存期間に寄与していた。レンバチニブ治療による体組成変化率では, 治療前の浮腫値が正常の場合, 上肢骨格筋の低下率が予後予測因子として有用であった。

【結論】 切除不能進行肝細胞癌患者のレンバチニブ治療における生体電気インピーダンス分析での体組成評価, 特に浮腫値と上肢骨格筋量の評価が有用であることを示した。

9. Risk of metastasis and recurrence after endoscopic resection for T1 colorectal cancer (大腸 T1 癌に対する内視鏡切除後の転移・再発リスクの検討)

西村 朋之
医歯薬学専攻 消化器内科学

内視鏡切除 (ER) 施行大腸 T1b 癌の垂直断端距離と追加外科手術後の転移再発および予後の関連について検討し、大腸 T1 癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) 後の免疫染色による脈管侵襲評価の臨床的意義について検討した。大腸 T1b 癌に対する ER において、垂直断端距離 500 μ m 以上含めた完全一括切除は垂直断端距離 500 μ m 未満や垂直断端陽性と比較して追加外科手術後の転移再発リスクは有意に低かった。大腸 T1 癌に対する ESD 後の病理学的評価のうち、免疫染色による脈管侵襲評価が最も有用な転移再発リスク因子であった。以上、大腸 T1b 癌の ER に際して、粘膜下層を十分に含めた完全一括切除を行うことで、追加外科手術後の転移・再発リスクが低減した。また、大腸 T1 癌の ESD 後の根治度判定において免疫染色による脈管侵襲を評価することで転移再発リスクをより正確に予測可能である。

10. Morphological study of the phrenic nerve to determine a reference value for the myelinated fiber density in elderly individuals (高齢者における横隔神経有髄線維密度の基準値の検討)

元田 敦子
医歯薬学専攻 脳神経内科学

呼吸不全をきたす神経疾患の病態解明において横隔神経の形態評価は重要である。本検討では、基準となる高齢者非疾患群の横隔神経の有髄線維密度の算出を目的とした。方法は、連続開頭剖検例にて横隔神経遠位部を採取し、グルタルアルデヒド固定トルイジンブルー染色準超薄切片を作製して、有髄線維の短径と密度を測定した。結果は、剖検例 36 例のうち、神経採取困難例、下位運動ニューロン障害をきたしうる神経変性疾患、末梢神経に明らかに病理学的変化を認めた症例を除外し、8 例 (男性 5 例, 女性 3 例, 年齢 77.0 \pm 7.0 歳) の横隔神経 9 本を評価対象とした。高齢者非疾患群の横隔神経では、総有髄線維密度 6908 \pm

1132 fibers/mm², 大径有髄線維密度 4095 \pm 586 fibers/mm² (短径 \geq 7 μ m), 小径有髄線維密度 2813 \pm 629 fibers/mm² (短径 < 7 μ m) であった。

11. Association of DNA methylation with steroidogenic enzymes in Cushing's adenoma (クッシング症候群副腎腺腫におけるステロイド合成酵素 DNA メチル化の解析)

児玉 亮也
医歯薬学専攻 分子内科学

【背景】コルチゾール産生腺腫 (CPA) における副腎ステロイド合成酵素の DNA メチル化によるコルチゾール合成機構は分かっていない。CPA におけるステロイド合成酵素の DNA メチル化レベルを同定し、遺伝子発現との関連を明らかにすることを目的とした。

【方法】CPA25 例と非機能性副腎皮質腺腫 (NFA) 6 例を対象に、DNA メチル化ビーズアレイ解析と RNA シークエンス解析を行った。

【結果】*CYP17A1* 遺伝子は、NFA に比べ CPA で低メチル化を示し、転写領域 2 箇所のメチル化レベルが有意に低かった。また、*CYP17A1* 遺伝子の 3 領域でメチル化レベルと mRNA 発現量が逆相関した。*PRKACA* 変異 CPA では、*GNAS* 変異 CPA と比較し、*CYP17A1* 遺伝子の低メチル化傾向を認めた。*CYP17A1* 遺伝子のメチル化レベルと mRNA 発現量を用いたクラスタリング解析で、*PRKACA* 変異 CPA は NFA および *GNAS* 変異 CPA と明確に区別された。

【考察】CPA では、*CYP17A1* 遺伝子の低メチル化が *CYP17A1* 転写を制御し、特に、*PRKACA* 変異 CPA で、その関連が強かった。

12. p53 status modifies cytotoxic activity of lactoferrin under hypoxic conditions (p53 は低酸素環境下でのラクトフェリン細胞傷害活性を修飾する)

Maryami Yuliana Kosim
医歯薬学専攻 放射線災害医療開発

Lactoferrin (LF) is an iron binding glycoprotein with potential anti-cancer activity. I have clarified the cytotoxic functions of LF on various cell lines under hypoxic conditions and elucidated those

molecular mechanisms. Cytotoxic activity of LF on cell lines was found to have a range of sensitivities. Hypoxia decreased sensitivity to LF in KD but increased that in HSC2. Expression analyses further revealed that LF treatments increased hypoxic HIF-1 α , -2 α and p53 proteins in KD but attenuated them in HSC2 cells, and decreased HIF-1 target gene, DEC2, in KD but increased it in HSC2, suggesting a possible relationship between LF-modified DEC2 expression and HIF- α protein. MTT assay demonstrated that cells expressing mutant-type p53 (MT5) were more sensitive to LF, while knock-down of TP53 interestingly reduced sensitivity to LF in HepG2, suggesting that p53 may be a target of LF cytotoxic activity. Ferroptosis promoter or inhibitor analysis demonstrated that LF increased ACSL4 in hypoxic MT5, suggesting LF-induced ferroptosis in cells expressing mutant-type p53. In conclusion, hypoxia was found to regulate LF sensitivity differently among different cell lines, possibly through the p53 signaling pathway including DEC2 and N-cadherin, and also regulate ferroptosis through expression of ACSL4, depending on p53 status.

13. Xanthine Oxidase Inhibitor Febuxostat Exerts an Anti-Inflammatory Action and Protects against Diabetic Nephropathy Development in KK-Ay Obese Diabetic Mice
(KK-Ay 肥満糖尿病マウスモデルにおける Xanthine Oxidase 阻害剤 Febuxostat の抗炎症作用と糖尿病性腎症発症抑制作用について)

水野 優
医歯薬学専攻 医化学

糖尿病性腎症は末期腎不全の主要な原疾患であり、高尿酸血症は糖尿病腎症の進行に関する独立した危険因子である。本研究では、2型糖尿病モデルマウスである KK-Ay マウスを用いて、Xanthine Oxidase 阻害薬 Febuxostat による糖尿病性腎症への効果を検討した。

KK-Ay マウスに Febuxostat を投与した KK-Ay Feb 群 と Febuxostat 非投与の KK-Ay cont 群、C57BL/6 マウスを用いた対照群 (Cont 群) を作成し腎機能の解析をした。

KK-Ay マウスでは Cont 群と比較して高血糖、尿中アルブミン値高値、顕著な腎糸球体障害や腎線維化、腎組織中での炎症性サイトカインの mRNA 量発現増加が見られたが、KK-Ay Feb 群では KK-Ay cont 群と比較し、血糖値を除き、有意にその改善が見られた。

Febuxostat を投与することで糖尿病性腎症の進行を抑制する可能性が推測された。

14. Downregulation of thrombomodulin contributes to ischemia - reperfusion injury in mice with steatotic liver

(トロンボモジュリンの発現低下は脂肪肝マウスにおける虚血再灌流障害増悪の一因となる)

山口 恵美
医歯薬学専攻 消化器・移植外科学

【はじめに】脂肪肝でトロンボモジュリン (TM) の発現が低下していることが虚血再灌流障害 (IRI) 増悪の一因と仮定し、脂肪肝マウスと TM の機能活性が約 50% に減少した TM ヘテロノックアウトマウス (TM-KO) を使用し、TM 発現低下が肝 IRI を増悪させるか、rTM が肝障害を軽減しうるか検討した。

【方法】コリン欠乏食 (4 週間) によるマウス脂肪肝モデル (SL) を用いて 70% 部分肝虚血 60 分モデルを作製して、肝障害を検討した。rTM 治療群では、手術 60 分前に、rTM (6 mg/kg) を尾静脈注射した。

【結果と考察】SL は活性化 Protein C 産生能力が約 20% に低下しており、正常肝マウス (NL) と比較し IRI による肝傷害及び炎症が遷延した。rTM 投与により IRI を軽減できた。TM-KO では IRI は増悪し、rTM 投与で改善した。rTM の D1 ドメイン薬剤 (rTMD1) を投与したところ、SL で優位に IRI を改善した。

【結語】SL では TM 発現低下が IRI の増悪に寄与し、TM はその D1 ドメイン (抗炎症効果) を介して IRI を減弱することが示唆された。

15. Depletion of hepatic stellate cells inhibits hepatic steatosis in mice

(肝星細胞のアポトーシス誘導による肝脂肪化進展抑制効果の検討)

河原 章浩
医歯薬学専攻 総合診療医学

[背景] 肝星細胞:HSCは肝線維化において中心的な役割を果たす。肝線維化の進展は非アルコール性脂肪肝炎:NASH 予後予測因子であり、HSCを標的とした治療法が検討されている。しかし、HSCの肝脂肪化に与える影響についての報告はほぼない。[目的] 活性化HSCが肝脂肪化に与える影響を検証する。[方

法] 8週齢C57BL/6Jマウスを3群に分け、①通常食、②コリン欠乏高脂肪食:CDAHFD、③CDAHFD+GTXを4週間投与し、肝脂肪化・線維化を評価し、解析を行った。[成績] CDAHFD群では肝組織のHSCは増加したが、GTX併用群では減少した。組織学的に検討したところ、CDAHFDによる脂肪化は、GTX投与にて抑制された。肝脂質代謝関連遺伝子の発現を検討した結果、GTX投与群ではPPAR α とその標的遺伝子CD36、FATPの発現の低下あり、肝臓への脂質取込みが抑制されていた。肝線維化も組織学的に抑制されていた。[結論] 活性化HSCは肝線維化、肝脂肪化にも関与しており、NASH治療戦略を考える上で治療標的になりうると考えられた。