

# 第97回 広島大学研究科発表会（医学）

（令和5年1月5日）

1. Influence of different air CT numbers for IVDT on the dose distribution in TomoTherapy MVCT (トモセラピー MVCT に使用される IVDT の空気の CT 値の違いが線量分布に与える影響)

常峰 将吾

医歯薬学専攻 放射線腫瘍学

適応放射線治療での、MVCT 用 CT 値 - 密度変換テーブル (IVDT) の空気 CT 値の違いによる頭頸部の線量計算への影響を評価した。MVCT で撮影した IVDT 用ファントムの外側と内側の空気の CT 値を取得し、空気 CT 値の異なる 2 種類の IVDT を作成した。頭頸部ファントムを治療計画用 kVCT で撮影を行い、得られた CT 画像から頭頸部ヘリカル IMRT の kVCT 治療計画を作成した。同一ファントムの MVCT 撮影を行い、2 種類の IVDT を用いて線量再計算を行った結果と kVCT 治療計画を DVH により比較を行った。内側と外側の空気を用いた IVDT は、それぞれ kVCT 治療計画と比べて 1.1 ~ 2.4%, 0.6 ~ 1.9% となり、外側の空気用いた IVDT の方が、0.5% ~ 0.7% kVCT 治療計画に近い値となった。頭頸部症例の MVCT を用いて ART では、外側の空気を用いた IVDT の方が、計算精度の高い結果が得られた。

2. Analysis of efficacy and safety in atezolizumab plus bevacizumab combination therapy for unresectable hepatocellular carcinoma

(切除不能進行肝細胞癌に対するアテゾリズマブ、ベバシズマブ併用療法の有効性と安全性の解析)

安藤 雄和

医歯薬学専攻 消化器内科学

アテゾリズマブ、ベバシズマブ併用療法 (Atezo/Bev) は肝細胞癌に対する初の免疫複合療法であり、本治療を含め 6 レジメンによる多剤薬物逐次療法が可能となった。一方で、蛋白尿は Bev の休薬を要する主要な有害事象である。今回 Atezo/Bev における治療効果予測因子 (Study 1) と、蛋白尿のリスク因子 (Study 2) を明らかにすることを目的とした。

**Study 1:** Atezo/Bev を施行された 40 例において、早期の奏功を予測する因子として治療開始 3 週目の AFP 低下が抽出された。

**Study 2:** Atezo/Bev を施行された 64 例において、治療開始時の eGFR、高血圧の治療歴、収縮期血圧高値がリスク因子であった。また、Bev の休薬を要する尿蛋白/クレアチニン比 >2g/g Cr を高度蛋白尿と定義し、蛋白尿発症例におけるリスク因子を検討した。多変量解析にて治療中の平均収縮期血圧高値が独立した因子として抽出された。

Atezo/Bev において AFP が早期の抗腫瘍効果を予測する因子として有用であり、蛋白尿の管理における治療中の血圧コントロールの重要性を示した。

3. Hepatitis B Virus (HBV) Upregulates TRAIL-R3 Expression in Hepatocytes Resulting in Escape From Both Cell Apoptosis and Suppression of HBV Replication by TRAIL

(B 型肝炎ウイルス (HBV) は肝細胞の TRAIL-R3 発現を上昇させ、TRAIL による細胞のアポトーシスと増殖抑制の両方を回避する)

末廣 洋介

医歯薬学専攻 消化器内科学

**【背景】** B 型肝炎ウイルス (HBV) 持続感染ヒト肝細胞キメラマウスの肝組織を用いた遺伝子発現解析により、HBV 感染に伴い TRAIL-R3 が発現亢進することが明らかとなった。本研究ではこの事象の意義について解析した。

**【方法】** *in vitro*, *in vivo* HBV 感染・複製モデルを作製し、HBV 感染と TRAIL-R3 の関連を解析した。

**【結果】** HBV 発現により細胞内の TRAIL-R3 は転写レベルで発現誘導され、核酸アナログによる HBV 増殖抑制により TRAIL-R3 発現は抑制された。また TRAIL-R3 の転写は HBV 関連蛋白 HBx により転写開始点の上流 -479 ~ -969 塩基の領域で活性化されることが明らかとなった。宿主免疫応答への影響を解析した結果、HBV 複製細胞では HBV 非発現細胞に比して、TRAIL 誘導性アポトーシスが抑制されることが示された。更に TRAIL-R3 の過剰発現により

TRAILによるHBV増殖抑制作用が回避されることも明らかにした。

【結論】HBVはTRAIL-R3発現を亢進させ、感染細胞のTRAIL誘導性アポトーシスを回避しHBV複製を維持しており、宿主免疫回避機構の一つと考えられた。

4. <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography/Computed Tomography Predicts Tumor Immune Microenvironment Function in Early Triple-negative Breast Cancer  
(PET-CTは早期トリプルネガティブ乳癌の腫瘍免疫微小環境の機能性を予測する)

木村 優里  
医歯薬学専攻 腫瘍外科

**Background:** The maximum standardized uptake value (SUVmax) obtained using <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose (FDG) positron emission tomography (PET) /computed tomography (CT) is presumed to indicate tumor and active immune cells in the tumor immune microenvironment (TIME) based on their glycolysis activity. This study investigated whether SUVmax could provide information regarding TIME in triple-negative breast cancer (TNBC).

**Methods:** Fifty-four patients with TNBC underwent FDG PET/CT before neoadjuvant chemotherapy. Expression statuses of CD8, forkhead box P3 (FOXP3), programmed cell death-1 (PD-1), and programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) were assessed by immunohistochemistry using pretreatment biopsy specimens. The relationships between immunological factors and SUVmax or pathological complete response (pCR), were investigated.

**Results:** High expression of TILs was observed in 15 patients (27.8%), and 17 patients (31.5%) achieved a pCR. SUVmax was significantly correlated with tumor size, Ki-67 labeling index, and CD8/FOXP3 ratio. Multiple linear regression analysis indicated that tumor size and the CD8/FOXP3 ratio predicted SUVmax. TILs, the CD8/FOXP3 ratio, PD-1, and PD-L1 were significantly correlated with pCR rate. Multivariate analysis

indicated that the CD8/FOXP3 ratio was the only independent predictive factor for pCR.

**Conclusion:** SUVmax could provide metabolic information regarding TIME and might be beneficial to predict the effects of neoadjuvant chemotherapy in TNBC.

5. 予後良好な神経芽腫で発現の高い遺伝子の細胞株への in vitro 導入

檜山 洋子  
医歯薬学専攻 自然科学研究支援開発センター

マイクロアレイにて予後良好な神経芽腫で高発現していた上位3遺伝子は、*DHRS3*, *NROB1*, *CYP26A1*で、各々を神経芽腫細胞株 (SK-N-SH, NH12, TGW) に導入し、細胞形態、細胞周期、移動、足場非依存性成長、コロニー形成能を検討し、RNA シークエンシングで遺伝子発現を検討した。導入細胞は扁平化し、増殖能は *DHRS3* 導入 TGW 株以外の各導入株で有意低下し、RNA 発現は、*DHRS3* 導入株で老化、分化、細胞接着の、*CYP26A1* 導入株で肝線維化、脂肪形成、増殖能の、*NROB1* 導入株で神経分化、発生の関連遺伝子に変化を認めた。Tet-On 誘導遺伝子発現系でも、同様に顕著な形態変化を認めた。さらに、*DHRS3* 誘導 SK-N-SH と NH12 株を ATRA で処理するとさらに扁平化して細胞増殖を停止した。

以上から、この3つの各遺伝子の過剰発現は神経芽腫細胞の分化と老化が誘導されると考えられた。

6. Association between Carotid Wall Shear Stress-Based Vascular Vector Flow Mapping and Cerebral Small Vessel Disease  
(Vascular Vector Flow Mapping に基づく頸動脈 Wall Shear Stress と脳小血管病との関連)

上村 鉄兵  
医歯薬学専攻 脳神経内科学

Wall shear stress (WSS) は血管壁に沿う高粘性の血流によって生じる摩擦力である。頸動脈 WSS と脳小血管病 (small vessel disease: SVD) の関係については実臨床で十分に検討されていない。vascular vector flow mapping (VFM) は血管壁のスペクトルトラッキングと2方向エコービームによる質量保存則を用いて血流方向と速度を可視化し、頸動脈壁 WSS

を簡便に算出する新しい手法である。VFMによる頸動脈 WSS と SVD の臨床的特徴との関係を明らかにすることを目的とした。

単施設前向き観察研究として同意が得られた発症7日以内の急性期ラクナ梗塞の連続症例を対象とし、WSS 低下に関連する SVD の画像所見、認知機能を検討した。連続 113 名（男性 59%，平均年齢 71.3 歳）の解析で、頸動脈 WSS 低下は SVD スコア増加、特に基底核の血管周囲腔拡大増加と関連した。また WSS 低下は遂行機能障害と関連した。

本研究から、簡便に測定できる VFM による WSS 低下が SVD による早期の画像変化や認知機能低下と関連することが示唆された。

#### 7. Upregulation of mineralocorticoid receptor contributes to development of salt-sensitive hypertension after ischemia-reperfusion injury in rats

（ラットにおける虚血再灌流障害後の食塩感受性高血圧発症には、ミネラルコルチコイド受容体の発現増加が寄与している）

松本 拓視

医歯薬学専攻 腎臓内科学

腎虚血再灌流（ischemia-reperfusion injury : IRI）は急性腎障害モデルとして用いられる。IRI 後のラットでは食塩感受性高血圧が生じ、その発症には遠位ネフロンが重要な役割を果たす。我々はラットの IRI 後の食塩感受性高血圧におけるミネラルコルチコイド受容体（mineralocorticoid receptor : MR）の役割を検討した。右腎摘出 14 日後に左腎動脈をクランプし IRI を誘発した。IRI 後 7 日目に腎での MR の発現が増加した。IRI 後、1.0%NaCl を与えた群（IRI/NaCl）とアルドステロンを投与した群（IRI/Aldo）で有意に血圧上昇、尿蛋白増加、腎組織障害を引き起こした。これらは MR blocker（MRB）を投与すると改善を認めた。また MRB は gamma-epithelial sodium channel（ $\gamma$ -ENaC）の発現増加を抑制した。ENaC 阻害薬投与は MRB 投与時と同様、IRI/NaCl、IRI/Aldo ラットの血圧を改善した。このことから、IRI 後のラットでは MR の発現増加が ENaC を介したナトリウムの取り込みに重要な役割を果たし、塩分負荷やレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系の活性化に反応して食塩感受性高血圧を発症する可能性が示唆された。

#### 8. Relationships of hyperchloremia with hypertension and proteinuria in patients with chronic kidney disease

（慢性腎臓病患者における高クロール血症と高血圧および蛋白尿の関係）

高橋 輝

医歯薬学専攻 腎臓内科学

塩分制限が血圧および尿蛋白を低下させることはよく知られている。しかしながら、その詳細な機序は不明のままである。慢性腎臓病（CKD）患者におけるナトリウム（Na）制限の高血圧および蛋白尿に対する有益性を示す報告はあるが、血圧と尿蛋白の調節におけるクロール（Cl）の役割を示す証拠は極僅かである。本研究では、CKD 患者において高 Cl 血症が高血圧や蛋白尿と関連しているかどうかを調べ、CKD 治療に伴う血清 Cl 濃度の低下と高血圧や蛋白尿の改善との関係を明らかにした。

その結果、高 Cl 血症は CKD 患者の高血圧および蛋白尿の独立した予測因子であることを明らかにし、CKD 治療介入後に血清 Cl 濃度が低下すると収縮期血圧が低下することを示した。これらの関連性は血清 Na 濃度に依存しないことも明らかにした。

#### 9. Genetic deletion of translocator protein exacerbates post-sepsis syndrome with activation of the C1q pathway in septic mouse model

（トランスロケータータンパク質の遺伝子欠損は、敗血症モデルマウスにおいて C1q 経路の活性化を伴って敗血症後症候群を悪化させる）

菊谷 和也

医歯薬学専攻 救急集中治療医学

【背景】敗血症生存者において、精神・認知障害などを呈する敗血症後症候群が問題になっている。トランスロケータータンパク質 18kDa（TSPO）は、炎症、酸化ストレス、ステロイド生成に関与するミトコンドリアタンパク質である。盲腸結紮穿刺（cecal ligation and puncture : CLP）による敗血症モデルマウスを用いて、敗血症後症候群における TSPO の役割を調べた。

【方法】動物を、(i) wild type (WT) + Sham, (ii) WT + CLP, (iii) TSPO knock out (KO) + CLP の 3 群に割り付けた。不安行動、うつ様行動、認知機能、筋力を行動試験で評価した。また海馬組織の RNA-

seqにより遺伝子発現の違いを調べた。

【結果】TSPOKO マウスでは、敗血症後の体重減少、不安行動、うつ様行動、筋力低下が顕著であった。RNA-seq解析では、C1q補体経路の遺伝子(C1qb, C1qc, Tyrobp)の発現上昇が、不安行動と有意に相関していた。これらの遺伝子発現は、うつ様行動や筋力低下とも相関があった。

【結語】C1q経路が敗血症後症候群の精神・認知障害に関与していることが示唆された。

#### 10. Deep Association between Transglutaminase 1 and Tissue Eosinophil Infiltration Leading to Nasal Polyp Formation and/or Maintenance with Fibrin Polymerization in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps

(鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎におけるフィブリン重合反応による鼻茸形成および維持につながるトランスグルタミナーゼ1と組織中好酸球浸潤との密接な関連について)

園山 徹

医菌薬学専攻 耳鼻咽喉科学・頭頸部外科学

トランスグルタミナーゼ(TGM)は基質タンパクの重合反応を触媒する酵素であり、8つのアイソフォーム(T1-7および第XIII A因子)が存在する。第XIII A因子の鼻茸形成および維持へ関与は既知であるため、本研究では鼻茸と対象組織を採取し第XIII A因子を除く各アイソフォームをRT-PCRにより定量化し比較した。また、鼻茸と好酸球の浸潤の重症度には相関があるため、定量化で有意差を認めたものについては組織中好酸球数と相関を検討した。その結果TGM1で有意な発現の亢進に加え好酸球数との相関を認めた。TGM1産生細胞の局在と組織中好酸球とTGM1の関連性について免疫組織化学染色とLSCMを行い検討し、さらにTGM1と第XIII A因子のフィブリン凝固能も比較検討した。これらの結果から、TGM1は鼻茸の粘膜下に存在する好酸球の細胞質に局在しType2炎症において好酸球の脱顆粒により放出されることや第XIII A因子と同様のフィブリン重合能により鼻茸形成および維持に関与していることが示唆された。

#### 11. 日本における結合型肺炎球菌ワクチンの小児の鼓膜チューブ挿入術に対する効果

小川 結衣

医菌薬学専攻 耳鼻咽喉科学・頭頸部外科学

全年齢小児を総括した研究で、結合型肺炎球菌ワクチン(PCV)はcomplex otitis media(ComOM)のmyringotomy with tympanostomy tube insertion(MTTI)頻度を抑制したとの海外報告がある。本研究では、comOMの病態解明のため、以下の解析を行った。【方法】本邦ではPCV7が2010年に発売、2011年公的支援開始、2013年11月PCV13に置換された。日本全国の契約した医療機関全患者レセプト情報があるJMDCデータベースをBig Data解析に使用した。2008～2017年の小児のMTTI頻度を年齢・月齢毎に解析した。PCV導入前、PCV7、13の複数年総計で検討した。【結果】MTTI頻度は1歳児でピークがあり、PCV導入前より導入後全年でMTTI頻度は減少していた。月齢毎の解析では、PCV導入前よりPCV7は15～17ヶ月で、PCV13は12～14、24～26ヶ月で有意に減少していた。【考察】OMEは、要因として小児の未熟な耳管機能が大きいとされており、通常薬物療法などで保存的に治療されるが、3ヶ月以上の遷延症例に対してMTTIが施行される。1歳児において、ComOMのMTTI施頻度低下は、OMEの要因に感染症の関与を示唆する。

#### 12. Effects of Remimazolam and Propofol on Ca<sup>2+</sup> Regulation by Ryanodine Receptor 1 with Malignant Hyperthermia Mutation

(悪性高熱症を引き起こす変異をもつ1型リアノジン受容体のCa<sup>2+</sup>代謝に対するレミマゾラムとプロポフォールの影響)

渡辺 知幸

医菌薬学専攻 麻酔蘇生学

背景：1型リアノジン受容体(RYR1)を発現したヒト胎児腎細胞293(HEK-293)細胞を用い、悪性高熱症(MH)感受性患者におけるレミマゾラムおよびプロポフォールの安全性を調べた。

方法：野生型RYR1およびMH変異型RYR1を発現したHEK-293細胞を用いて、レミマゾラムまたはプロポフォールの還流下でのカフェイン刺激による両群の細胞内カルシウム(Ca)動態を比較した。統計学的検定には対応のないt検定を使用し、p<0.05を有意とした。

結果：野生型およびMH変異型RYR1を発現した

HEK-293 細胞においてレミマゾラムまたはプロポフォールを負荷しても細胞内 Ca 動態に対する応答は促進されなかった。

**結論:** レミマゾラムおよびプロポフォールは、MH 感受性患者において MH を引き起こす誘因となる可能性は低く、MH が発生したときに代替の麻酔薬として安全に使用することができる。

### 13. Effect of COVID - 19 on hepatitis B and C virus countermeasures: Hepatologist responses from nationwide survey in Japan

(COVID-19 パンデミックが B 型・C 型ウイルス肝炎対策に与えた影響に関する実態把握調査－肝臓専門医を対象とした全国調査－)

Hussain Md Razeen Ashraf  
医歯薬学専攻 疫学・疾病制御学

**Aim:** This study assessed the effects of COVID-19 on HBV and HCV related services in Japan and compared Japan's situation with a global survey.

**Methods:** This online cross-sectional questionnaire survey of hepatologists from the Japan Society of Hepatology was conducted from August to October 2021 to address hepatologist impression on the effects of COVID-19 on hepatitis-related services.

**Results:** 196 hepatologists participated from 35 prefectures. Approximately 40% survey participants reported a 1%-25% decline in HBV and HCV screening and confirmatory testing. In addition, 53.6% and 45.4% reported no decline in HBV and HCV treatment initiation, respectively. Comparing with the global survey, the reported decline was observed in Japan for screening (HBV: 51% vs. 56.3%, HCV: 51% vs. 70.9%) and treatment initiation (HBV: 32.7% vs. 52.4%, HCV: 41.8% vs. 66%). However, patient anxiety/fear (67.4%) and loss of staff due to COVID-19 (49.0%) were reported as challenges for resuming services to pre-COVID-19 levels.

**Conclusion:** A decline in HBV and HCV-related services in Japan were lower than in other countries. No decline in treatment initiation showed redirection from testing to treatment, but prolonged anxiety/fear among patients, loss of staff due to COVID-19 response must be addressed to achieve elimination

of hepatitis in Japan.

### 14. BACH1 promotes clear cell renal cell carcinoma progression by upregulating oxidative stress-related tumorigenicity

(BACH1 は、酸化ストレス関連腫瘍原性のアップレギュレーションを介して淡明細胞型腎細胞癌の進展に寄与する)

武本 健士郎  
医歯薬学専攻 腎泌尿器科学

腎細胞癌は炎症に代表される酸化ストレスが発癌因子であることが知られているが、その背景にある分子機構は不明な点が多い。今回、酸化ストレス応答因子 BACH1 の腎細胞癌における役割について解析した。免疫組織学的検討では、腎摘除標本 77 例中 31 例 (40%) で BACH1 陽性であり、有意な予後不良因子であった。*in vitro* 解析では BACH1 は腎癌細胞株の浸潤能・遊走能を制御していた。また、RNA シーケンスでは、上皮間葉系移行 (EMT) との有意な相関を認めた。さらに、BACH1 は抗酸化酵素 HO-1 を抑制することで炎症を惹起することが知られているが、腎癌細胞株においても同様の結果を得た。最後にマウスモデルを用いて生体内における BACH1 の機能解析を行ったところ、BACH1 は酸化ストレス応答と関与し、EMT 関連蛋白の発現を誘導していた。BACH1 は腎細胞癌の腫瘍活性に深く関与することが明らかとなった。

### 15. Establishment of longitudinal transcranial stimulation motor evoked potentials monitoring of the forelimbs and hindlimbs in an ischemic stroke rat model

(虚血性脳卒中モデルラットにおける前肢および後肢の縦断的経頭蓋刺激運動誘発電位モニタリングの確立)

細貝 昌弘  
医歯薬学専攻 脳神経外科学

Evaluation of motor function ischemic stroke rat models includes qualitative assessments such as the modified neurological severity score (mNSS). However, mNSS cannot evaluate the function of forelimbs and hindlimbs separately. We quantitatively assessed motor function in a middle

cerebral artery occlusion (MCAO) rat model of ischemic stroke. We recorded transcranial stimulation motor evoked potentials (tcMEPs) from MCAO rats and measured the changes in onset latency and amplitude at the forelimbs and hindlimbs up to 28 days after stroke. All MCAO subjects showed hemiparesis. The amplitudes of tcMEPs in both fore- and hindlimbs were inversely correlated with mNSS scores, but the amplitudes in the forelimbs improved later than those in the hindlimbs. The onset latency of tcMEPs in the forelimbs and hindlimbs remained almost unchanged during the follow-up period. Our results showed the differences in tcMEPs amplitude recovery times between the forelimbs and hindlimbs after MCAO, which emphasizes the importance of separately evaluating forelimbs and hindlimbs in post-ischemic stroke models. This minimally invasive and longitudinal quantitative method could be useful for further research on diseases and neurogenesis.

#### 16. Functional analysis of Semaphorin 3A in retinal ganglion cells under hypoxia in vitro

(低酸素下における網膜神経節細胞でのセマフォリン 3A の機能解析)

小松 香織  
医歯薬学専攻 視覚病態学

**Purpose:** Glaucoma causes irreversible damage to

retinal ganglion cells (RGCs) and axons. Neuroprotective strategies are necessary to prevent the progression of optic neuropathy in glaucoma. We first analyzed from the viewpoint of hypoxic stimulation because that circulatory failure may occur even in anterior glaucoma before visual field abnormalities appear at recent glaucoma symptoms. Here, we examined the role in RGCs of Semaphorin 3A, which plays an important role in determining axon elongation during development.

**Materials and Methods:** RGC cultures were prepared from the retinas of 4–5-day-old rats and subjected to hypoxia stress (1% O<sub>2</sub>) or normoxia (21% O<sub>2</sub>). Then we examined the expression of class 3 Semaphorins.

**Results:** Semaphorin 3A was increased in RGCs under hypoxia conditions. Western blot and immunofluorescence analyses revealed down-regulation of the RGC differentiation marker TUJ1 under hypoxia. Hypoxia-induced down-regulation of TUJ1 in RGCs was blocked by siRNA-mediated knockdown of Semaphorin 3A. A multi-array cytokine assay revealed that vascular endothelial growth factor expression was increased in RGCs under hypoxic conditions; its expression was suppressed by siRNA knockdown of Semaphorin 3A.

**Conclusions:** These results indicate that Semaphorin 3A exerts an important neuroprotective function that is closely related to interactions with vascular endothelial growth factor.