

第103回 広島大学研究科発表会（医学）

（令和6年2月1日）

1. Oncostatin M suppresses IL31RA expression in dorsal root ganglia and interleukin-31-induced itching.

（オンコスタチンMは後根神経節のIL31RAの発現を抑制しIL-31により惹起される痒みを抑える）

末廣 昌敬
医歯薬学専攻 皮膚科学

アトピー性皮膚炎（AD）のかゆみ治療に抗IL31RA抗体であるネモリズマブが効果を示しているが、IL-31と受容体サブユニットOSMR β を共有するOSMの役割は未解明である。本研究は、OSMがADの病態および症状に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。ヒトとマウスの皮膚組織、DRG、培養細胞のOSMおよびIL-31関連遺伝子の発現を分析し、マウスの掻破行動への影響を調査した。単球のIL-4やGM-CSF刺激によるOSMの過剰発現、OSMによるマウスDRGでの*IL31RA*の抑制、およびIL-31の惹起する掻破行動の抑制が確認された。また、OSMはDRGでIL-4およびIL-13に関連する受容体の発現を増加させた。これらの結果から、OSMがDRGにおいてIL-4とIL-13の作用を促進し、IL-31の作用を抑制することで、ADに伴うかゆみや皮膚症状を調節する可能性がある。

3. Clinical outcomes of common femoral thromboendarterectomy with bovine pericardium patch angioplasty

（ウシ心膜パッチ形成を用いた総大腿動脈内膜摘除術の臨床成績）

岡崎 孝宣
医歯薬学専攻 心臓血管外科学

Background: The purpose of the study is to evaluate the efficacy of thromboendarterectomy (TEA) for common femoral occlusive disease using bovine pericardium patch angioplasty.

Methods: The subjects were patients who underwent TEA for common femoral occlusive

disease with bovine pericardium patch angioplasty from October 2020 to August 2021. The study had a prospective, multicenter, and observational design. The primary end point was primary patency (freedom from restenosis). The secondary end points were secondary patency, amputation-free survival (AFS), postoperative wound complication, hospital death within 30 days, and major adverse cardiovascular events (MACE) within 30 days.

Results: Forty-seven TEA procedures with a bovine patch were performed in 42 patients (34 males; median age, 78 years; diabetes mellitus, 57%; end-stage renal disease with hemodialysis, 19%). Surgical site infection (SSI) occurred in 4 limbs (9%) and lymphatic fistulas in 3 limbs (6%). Hospital death within 30 days occurred in 1 case. There was no MACE within 30 days. The median follow-up period was 10 months [9-13 months]. Primary and secondary patencies were 98% and 100% at 12 months, respectively, and the AFS rate was 90% at 12 months.

Conclusions: Common femoral TEA with bovine pericardium patch angioplasty has satisfactory clinical outcomes.

4. Establishment of a novel overlay culture method that enables immune response assessment using gastric cancer organoids

（免疫応答の評価を可能とする胃癌オルガノイドの新規培養法の確立）

太田 浩志
医歯薬学専攻 消化器・移植外科学

近年、患者の癌を3次的に再現できる癌オルガノイドの研究が発展してきており、免疫細胞との共培養の報告もされてきているが、従来のオルガノイド培養法では免疫細胞と癌オルガノイドが十分に接触できないという問題がある。

我々は免疫細胞が胃癌オルガノイドに自由に接触できる新規培養法を樹立し、この新規培養法をオーバー

レイ培養法と名付け、さらにこのオーバーレイ培養法の胃癌オルガノイドが患者の胃癌と同等の性質を維持していることを証明した。

さらに、胃癌患者の血液由来のNK細胞を同一患者の胃癌オルガノイドとともに共培養し、患者由来NK細胞が胃癌オルガノイドへの組織障害性を呈することも証明し、その組織障害の様子をタイムラプスでも撮影することに成功した。今後はこの共培養モデルを応用することにより、免疫チェックポイント阻害薬などの治療効果予測やバイオマーカーの検索などが可能になる可能性があり、この度報告する。

5. Relapse rate and predictors of relapse after cessation of glucocorticoid maintenance therapy in type 1 autoimmune pancreatitis: a multicenter retrospective study

(1型自己免疫性膵炎におけるステロイド維持療法中止後の再燃率と再発予測因子)

清下 祐介
医歯薬学専攻 消化器内科学

【背景と目的】 1型AIPはグルココルチコイドに良好に反応するが、長期間の治療を中止した後の再燃率については明らかとなっていない。維持療法中止後の再燃率および再燃予測因子を明らかとすることを目的とした。

【方法】 グルココルチコイドによって寛解・維持療法後に治療を中止し、その後経過観察された94例を対象とした。治療期間によって3群に分け、再燃率を比較した。また、臨床因子の再燃予測因子を解析した。

【結果】 43例(45.7%)で再燃が認められ、累積再燃率は治療中止後1年で28.2%、3年で42.1%、5年で47.0%、9年でプラトーの77.6%となった。治療期間別の再燃率および累積再燃率に有意差はなかった。多変量解析では、治療中止時の血清IgG4値上昇が独立した再燃予測因子となった(hazard ratio 4.511, $P < 0.001$)。

【結論】 維持療法期間に関わらず維持療法中止後には高率に再燃がみられたが、長期的な血清IgG4の正常化は維持療法中止を検討するための一つの要因となる可能性がある。

6. Corneal Higher-Order Aberrations after Microhook ab Interno Trabeculotomy and Goniotomy with the Kahook Dual Blade :

Preliminary Early 3-Month Results

(マイクロフックおよびカフックデュアルブレードによる眼内法線維柱帯切開術後の角膜高次収差：術後3か月の予備的結果)

尾上 弘光
医歯薬学専攻 視覚病態学

緑内障は失明の主要な原因であり、治療の目的は眼圧の下降である。線維柱帯切開術は近年低侵襲緑内障手術として発展している。この研究では線維柱帯切開術と白内障手術の同時手術が角膜高次収差へ与える影響を調査した。白内障単独手術では角膜高次収差の有意な変化はなかったが、線維柱帯切開術では術後3ヶ月で角膜高次収差の増加が観察され、広範囲の線維柱帯切開がその危険因子であった。線維柱帯とシュレム管の切開が角膜形状に重要であることが示唆された。

7. Gender difference of geographic distribution of physicians in Japan: three-point analysis of 1994, 2004 and 2014

(1994年から2014年までの本邦における性差に注目した医師分布変化分析)

木村 一紀
医歯薬学専攻 総合診療医学

Japan's medical education system produces 9,000 graduates annually. Despite the government's implementation of several strategies, including increasing the number of doctors trained, the country still struggles with a shortage of physicians in rural areas.

We analyzed the Physician Census from 1994, 2004, and 2014, examining data on physicians' gender and the number of years since licensure. We examined data from each physician (gender and years of medical experience) and analyzed the demographic and geographic distribution trend using the Gini coefficient to evaluate the distribution change of physicians based on gender and years of experience.

The number of physicians increased 1.29-fold over the 20-year observation period (1.23-fold for male physicians and 2.17-fold for female physicians), and the percentage of female physicians increased from

13.4% to 20.4%. The Gini coefficients were lower for veteran physicians of both sexes than for younger physicians. The Gini coefficient for male physicians was 0.311-0.289-0.283 (female 0.394-0.385-0.395). The Gini coefficients for female compared to male physicians were higher in all age groups, showing that the distribution of female physicians was skewed toward urban areas.

This study suggests that unless measures such as work-life balance, physician work systems, and inducement to rural areas are implemented for female physicians, it is highly likely that the quality of local medical care will not be ensured.

8. IQ motif containing GTPase activating protein 3 is associated with cancer stemness and survival in pancreatic ductal adenocarcinoma
(IQ motif containing GTPase activating protein 3 は膵癌のがん幹細胞性と予後に関与する)

城戸 綾

医歯薬学専攻 分子病理学

がん幹細胞を効率よく同定する方法のひとつにスフェロイドコロニー形成法がある。当研究室でのマイクロアレイ解析において、スフェロイド形成した胃癌細胞株で高発現している IQ motif containing GTPase activating protein (IQGAP3) の胃癌における予後不良やがん幹細胞性との関連を報告した。本研究では膵癌における IQGAP3 の免疫組織化学的解析やがん幹細胞性について検討を行った。免疫組織化学的検討では膵癌 81 例中 44 例 (54.3 %) が陽性であり、IQGAP3 の発現は独立した予後不良因子であった。がん幹細胞マーカーと IQGAP3 の発現解析では IQGAP3 は KIFC1 と有意に正の相関をしていた。細胞株を用いた検討では IQGAP3 のノックダウンにより増殖能、スフェロイド形成能が有意に抑制された。IQGAP3 は膵癌における新規治療標的となり得る可能性が示された。

9. $\Delta 3$ -tubulin impairs mitotic spindle morphology and increases nuclear size in pancreatic cancer cells
(チューブリン翻訳後修飾 $\Delta 3$ 化による膵癌細胞の細胞分裂時の紡錘体形態異常と核の増大)

馬場 健太

医歯薬学専攻 外科学

Cancer cell proliferation is affected by post-translational modifications of tubulin. Especially, overexpression or depletion of enzymes for modifications on tubulin C-terminal region perturbs dynamic instability of spindle body. Those modifications include processing of C-terminal amino acids of α -tubulin; detyrosination, and a removal of penultimate glutamic acid ($\Delta 2$). We previously found a further removal of the third last glutamic acid, which generates so-called $\Delta 3$ -tubulin. Effects of $\Delta 3$ -tubulin on spindle integrities and cell proliferation remain to be elucidated. In this study, we investigated impacts of forced expression of $\Delta 3$ -tubulin on the structure of spindle bodies and cell division in a pancreatic cancer cell line, PANC-1. Overexpression of HA-tagged $\Delta 3$ -tubulin impaired the morphology and orientation of spindle bodies during cell division in PANC-1 cells. In particular, spindle bending was most significantly increased. Expression of EGFP-tagged $\Delta 3$ -tubulin driven by the endogenous promoter of human *TUBA1B* also deformed and misoriented spindle bodies. Spindle bending and condensation defects were significantly observed by EGFP- $\Delta 3$ -tubulin expression. Furthermore, EGFP- $\Delta 3$ -tubulin expression increased the nuclear size in a dose-dependent manner of EGFP- $\Delta 3$ -tubulin expression. Expression of EGFP- $\Delta 3$ -tubulin tended to slow down cell proliferation. Taken together, our results demonstrate that $\Delta 3$ -tubulin affects the spindle integrity and cell division.

10. Changes in patient-perceived aggravating factors during the course of atopic dermatitis
(アトピー性皮膚炎の経過中に患者が感じる悪化因子の変化)

柳田 のぞみ

医歯薬学専攻 皮膚科学

アトピー性皮膚炎 (AD) 診療では、抗炎症目的の薬物療法に加えて悪化因子の対策が重要である。しかし、本当の悪化因子の特定は簡単ではなく、不必要な悪化因子対策は患者の QOL を下げることになる。本研究では、日本人 AD 患者が考える悪化因子の現状と、

その傾向を明らかにするために、悪化因子の頻度とそれらの治療経過中での変化について調査をした。当院の AD 患者 115 名を対象に初診時にアンケート調査を行い、そのうち 36 人の患者に 6 ヶ月以上の治療後に再度アンケートを行った。初診時には発汗が悪化因子として最も多く認識されており、再診時では、AD 患者の 47% で悪化因子の数が減少していた。本研究によって、治療中に患者が感じている悪化因子が変化することが明らかとなった。正確な悪化因子の把握のためには、初診時だけでなく一定期間ごとに増悪因子を聴取する必要がある。

11. Relationship Between Duration of Atrial Fibrillation and Right Heart Structure Remodeling as Assessed by 3-Dimensional Transesophageal Echocardiography

(心房細動罹病期間と右心系リモデリングの関係性を 3 次元経食道心エコーを用いて検討した研究)

泉 可奈子

医歯薬学専攻 循環器内科学

背景: 心房細動 (AF) 罹病期間と右心系リモデリングの関係性については不明な点が多い。

方法: 372 例の孤発性 AF 患者を発作性 AF (paroxAF) 234 例と、7 日以上 AF が持続している持続性 AF (persAF) 138 例に分類し、初回 AF 検出日から経食道心エコー施行日までを AF 罹病期間とした。

結果: persAF 群では AF 罹病期間と三尖弁輪面積に相関を認めたのに対し、paroxAF 群では認めなかった。persAF 群では AF 罹病期間自体が弁輪拡大に寄与しており、弁輪拡大に要する AF 罹病期間は 20 ヶ月であった。また将来の三尖弁逆流の発症リスクとされる RA/RVESA ratio > 2.1 に要する期間は 37 ヶ月であった。

考察: 本研究結果はより早期のリズムコントロールによる、心腔リバースリモデリングの重要性を裏付けるものとなり得る。

結論: 持続性 AF においては AF 罹病期間自体が、三尖弁輪拡大に寄与している。

12. Investigating the role of tumor-infiltrating lymphocytes as predictors of lymph node metastasis in deep submucosal invasive colorectal cancer: a retrospective cross-sectional

study

(粘膜下層深部浸潤大腸癌におけるリンパ節転移の予測因子としての腫瘍浸潤リンパ球の役割の検討: 後方視的横断研究)

玉理 太寛

医歯薬学専攻 消化器内科学

大腸癌の腫瘍微小環境中の腫瘍浸潤 T 細胞 (Tumor infiltrating lymphocytes: TILs) は重要な役割を果たしている。しかし、粘膜内癌 (IM)、粘膜下層浸潤癌 (SM) そして進行大腸癌 (AD) と大腸癌の浸潤度に応じた TILs の変化を検討した報告はない。また、大腸 T1b 癌のリンパ節転移リスクと TILs の関連を検討した報告もないため、それらについて CD4, CD8, Foxp3 を用いた蛍光三重免疫染色を行い検討した。

IM は全体的に TILs の数が少なく分布しており、SM と AD は IM より全体的に数が増加し、特に腫瘍浸潤先進部でホットスポットが顕著であった。大腸 T1b 癌は、リンパ節転移陽性例において、腫瘍浸潤先進部における Foxp3+T 細胞の数が有意に多く、また Foxp3/CD4 と Foxp3/CD8 の割合が有意に高かった。

大腸癌の腫瘍浸潤に TILs が関与していると考えられ、T1b においては腫瘍浸潤先進部における Foxp3+T 細胞の数と割合の高さがリンパ節転移の予測因子となりうると考えられた。

13. Clinical Features of Tachycardia-induced Cardiomyopathy in Patients with Atrial Fibrillation (心房細動患者における頻脈誘発性心筋症の臨床的特徴についての検討)

魚谷 悠希未

医歯薬学専攻 循環器内科学

背景: 頻脈誘発性心筋症 (Tachycardia-induced cardiomyopathy: TIC) の原因として、心房細動は最も頻度が高い疾患であるが、TIC の発症機序に関しては明らかではない。

方法: 2009 年 11 月から 2016 年 9 月の期間で、当院にて心房細動のカテーテルアブレーション治療を施行した 722 症例において、治療前の経胸壁心エコー検査での左室駆出率が 40% 未満で、治療後 20% 以上の左室駆出率の改善が認められた患者を TIC と定義し、その臨床的特徴を検討した。

結果：TIC 群では、2 型糖尿病、腎機能障害、高血圧症、持続性心房細動の割合が有意に高く、房室結節不応期が短縮していた。多変量解析では、持続性心房細動、腎機能障害、2 型糖尿病は TIC との独立した関連因子だった。

結語：腎機能障害、2 型糖尿病、持続性心房細動の併存と房室結節不応期の短縮が TIC の発症に関連していることが明らかになった。

14. The Significance of Histopathological Findings on Clinical Outcomes in Endoscopic Papillectomy with Endocut.

(エンドカットモードによる内視鏡的乳頭切除術の臨床成績における病理所見の意義)

宮本 明香
医歯薬学専攻 消化器内科学

2006 年 1 月から 2022 年 6 月までに、当院でエンドカットモードにて EP を施行した 70 例を対象として、患者背景および臨床の結果、切除断端における熱凝固の発生頻度とその関連因子、切除断端別の遺残再発率、遺残再発までの期間を検討した。切除断端は、腫瘍の露出の有無を病理学的に評価し、陰性、陽性、エンドカットモードの熱凝固による評価不明の 3 群に分類した。切除断端はそれぞれ、陰性 27 例 (38.6%)、陽性 15 例 (21.4%)、評価不明 28 例 (40%) であり、各群間の臨床病理学的因子に統計学的有意差は認めなかった。切除断端陽性の 5 例 (33.3%)、評価不明の 5 例 (7.9%) で EP 後 6 ヶ月までに遺残病変を認め、断端陰性で家族性大腸腺腫症 (FAP) の 1 例に長期経過後の異時性再発を認めた。遺残再発は、女性、FAP、断端陽性 / 評価不明に有意に多く認められた ($p = 0.009, 0.044, 0.041$)。

15. Achaete-scute family bHLH transcription factor 2 activation promotes hepatoblastoma progression (Achaete-scute family bHLH transcription factor 2 の活性化は肝芽腫の進行を促進する)

加藤 豊
医歯薬学専攻 小児科学

Introduction : Achaete-scute family bHLH transcription factor 2 (ASCL2) is highly expressed in hepatoblastoma (HB) tissues, but its role remains

unclear. Thus, biological changes in the HB cell line HepG2 in response to induced ASCL2 expression were assessed.

Material and Methods : ASCL2 expression was induced in HepG2 cells using the Tet-On 3G system, which includes doxycycline (Dox). Cell viability, proliferation activity, mobility, and stemness were evaluated using 3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), colony-formation, migration, invasion, and sphere-formation assays. Quantitative reverse-transcription PCR was used to assess the expression of markers for proliferation (CCND1 and MYC), epithelial-mesenchymal transition (EMT; SNAI1, TWIST1, and ZEB1), mesenchymal-epithelial transition (MET and CDH1), and stemness (KLF4, POU5F1, and SOX9).

Results : Compared with the non-induced HepG2 cells, cells with induced ASCL2 expression showed significant increases in viability, colony number, migration area (%), invasion area (%) and sphere number. Furthermore, induction of ASCL2 expression significantly upregulated CCND1, MYC, POU5F1, SOX9, and KLF4 expression, and increased the ratios of SNAI1, TWIST1, and ZEB1 to CDH1.

Discussion : ASCL2 promoted the formation of malignant phenotypes in HepG2 cells, which may be correlated with the upregulation of Wnt signaling pathway-, EMT-, and stemness-related genes. ASCL2 activation may therefore be involved in the progression of HB.

16. Isolated Chronic Mucocutaneous Candidiasis due to a Novel Duplication Variant of IL17RC (IL17RC 遺伝子新規重複変異による孤立性慢性皮膚粘膜カンジダ症)

野間 康輔
医歯薬学専攻 小児科学

Inborn errors of the IL-17A/F-responsive pathway lead to chronic mucocutaneous candidiasis (CMC). Amongst inborn errors affecting IL-17-dependent immunity, autosomal recessive (AR) IL-17RC deficiency is a rare disease with only three kindreds described to date. The lack of an in vitro functional

evaluation system of IL17RC variants renders its diagnosis difficult. We sought to characterize a seven-year-old Japanese girl with CMC carrying a novel homozygous duplication variant of IL17RC and establish an in vitro system to evaluate the impact of this variant. The patient presented with oral and mucocutaneous candidiasis since infancy. Genetic analysis showed that the novel duplication variant (Chr3: 9,971,476-9,971,606 dup (+131bp)) of IL17RC results in a premature stop codon (p.D457Afs*16 or p.D457Afs*17). Our evaluation system revealed this duplication was loss-of-function and enabled discrimination between loss-of-function and neutral IL17RC variants. The lack of response to IL-17A by the patient's SV40-immortalized fibroblasts was restored by introducing WT-IL17RC, suggesting that the genotype identified is responsible for her clinical phenotype. The clinical and cellular phenotype of the current case of AR IL-17RC deficiency supports a previous report on this rare disorder. Our newly established evaluation system will be useful for diagnosis of AR IL-17RC deficiency, providing accurate validation of unknown IL17RC variants.

17. Mitochondrial DNA is a key driver in cigarette smoke extract-induced IL-6 expression (ミトコンドリア DNA は喫煙による IL-6 発現誘導の主要な寄与分子である)

小林 佑輔
医歯薬学専攻 循環器内科学

【目的】 喫煙は動脈硬化の独立した危険因子である。以前我々はタバコ煙抽出物 (CSE) がヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVECs) の細胞質に DNA を蓄積させ炎症を惹起することを示した。今回 CSE による炎症に寄与する細胞質 DNA の起源と、それを惹起する主な原因成分を検討した。

【方法】 基礎培地への低用量 (50ng/mL) エチジウムブロマイド添加による培養でミトコンドリア DNA

(mtDNA) を枯渇させた HUVECs を作成した。

【結果】 CSE の有毒成分のうち Acrolein (ACR), Methyl vinyl ketone (MVK), 2-cyclopenten-1-one (CPO) を混合 (以下 ALL) し, HUVECs に曝露すると細胞質遊離 DNA の蓄積と炎症性サイトカイン (IL-6 と IL-1 α mRNA) 発現が増加した。mtDNA を枯渇させた HUVECs では, ALL または CSE 曝露による IL-6 発現増加が抑制された。

【結論】 ACR, MVK, CPO は CSE 誘導性炎症の原因成分と考えられた。またこれらの成分により細胞質に蓄積したミトコンドリア DNA が主要な寄与分子である可能性が示唆され, 今後下流分子を検討することで心血管疾患の治療ターゲットが明らかになる可能性がある。

18. 加熱式たばこ長期曝露によるアルツハイマー病前駆期モデルマウス中枢神経に対する影響

山田 秀忠
医歯薬学専攻 脳神経内科学

加熱式たばこ (Heated tobacco products : HTPs) は従来型の燃焼式たばこと異なる機序のたばこ製品であり, 販売会社より健康リスク軽減効果が宣伝されているが, その科学的根拠は十分でなく, 中枢神経系 (central nervous system : CNS) への影響に関する情報も少ない。本研究では, HTPs とアルツハイマー病 (Alzheimer's disease : AD) の病態との関連に着目し, 前駆期 AD モデルマウスを用いて HTPs の長期曝露に伴う CNS への影響を明らかにすることを目的とした。ヒト APP ノックインマウスに週 5 日間 16 週間の長期曝露実験の結果, HTPs 群のアミロイドブラークおよび神経炎症は空気群との差は認めなかったが, 遺伝子発現解析では $|\log 2FC| > 1$ および非調整 p 値を用いた解析で, 脳下垂体ホルモン活性, 神経ペプチドホルモン活性, ガラニン受容体活性に関連する遺伝子群の発現亢進が同定された。本研究の結果は HTPs の前駆期 AD モデルマウスに対する非炎症性経路を介した影響を示し, HTPs の CNS への影響に関する包括的な検討の必要性を示していると考えられた。