



進行肝門部胆管癌に対する動門脈合併切除の成績及び血管内皮保護を目的とした超音波モニタリング術後管理法の有用性

The endothelial cells preserving technique for advanced perihilar cholangiocarcinoma with arterial and portal resection

宮 城 重 人

総合外科

背 景

進行肝門部胆管癌に対する動門脈合併切除再建術は従来切除不能とされてきた進行癌を根治する唯一の方法である。しかし本術式では重大な術後合併症も稀ではない。特に血栓症は致命的となる。血栓予防の鍵は血管内皮細胞の保護にある。我々は2008年より、micro 両端針による内外運針動脈吻合（後壁支持吻合）と、内皮細胞保護効果のある Nafamostat Mesilate (NM) 術後持続投与療法を導入した。さらに近年は、術後の再建血管血流管理として、水平方向の微量血流測定が可能となる超音波 (US) 低速血流測定装置 = Superb microvascular imaging® (SMI) も導入した。ここで肝門部胆管癌の術後成績・合併症率を示すとともに、我々の術後管理の工夫、特に acceleration time や SMI を利用した US ガイドによる NM 投与量調整法 (NM 持続投与療法) の効果について、血行再建手技と共に報告する。

対象・方法

2003 年以降の肝門部胆管癌・脈管非切除術施行例 221 例、動脈合併切除再建術施行例 20 例（うち動門脈合併切除再建 8 例）を対象とし術式別に成績及び合

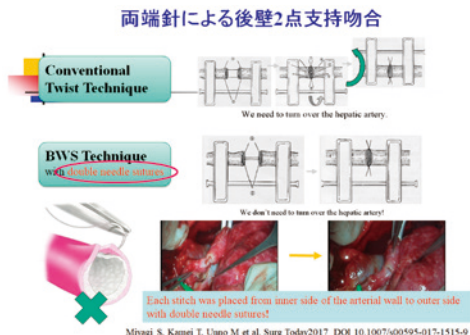
併症発生率を比較検討した。また術後 7 日間 12 時間毎に US で測定した PI, RI, acceleration time 値の変化を検証し、血栓症危険因子を単変量解析にて検討した。更に US 測定値に応じた NM 投与量管理法や SMI の効果も検証した。

結 果

動脈、門脈各々 1 例ずつ血栓例と認めたが抗凝固治療が奏功し在院死亡は認めなかった。脈管非切除例 (n=221)、動脈合併切除例 (n=12)、動門脈合併切除例 (n=8) の、出血量、手術時間、Clavien-Dindo 3a 以上合併症発生率、5 年生存率は各々 1,483 ml/2,397 ml/2,234 ml, 625 分/676 分/649 分, 55.9%/30%/37.5%, 39.5%/50.2%/54.7% であり、有意差を認めなかった。血栓危険因子の単変量解析では、血栓例 (有害事象発生例) が少なく参考データとなるが術後 7 日目の acceleration time の延長が危険因子となる傾向を認めた (p=0.02)。NM 持続投与療法群では血栓閉塞例を認めず、また SMI は門脈微小血栓の検出に有用であり早期抗凝固療法が有効であった。

結 論

肝門部領域胆管癌に対する動脈合併切除再建は安全に施行されていた。術後超音波検査による早期診断早期治療は血行再建例で非常に有効であり、SMI も有用と考えられた。



	動脈非切除例 (n=221)	動脈切除再建例 (n=12)	動門脈再建例 (n=8)	p
出血量 (ml)	1,483.0	2,397.0	2,234	0.727
手術時間 (min)	625	676	649	0.628
Clavien-Dindo 3a 以上合併症 (%)	55.9	30.0	37.5	0.574
5 年生存率 (%)	39.5	50.2	54.7	0.460



4D-CBCT ventilation image-based VMAT plans are comparable to 4DCT ventilation image-based plans : evaluating 4D-CBCT ventilation images

根 本 光

東北大学大学院医学系研究科医科 放射線腫瘍学分野

本研究は第 117 回日本医学物理学会学術大会 (2019 年 4 月) にて発表させていただいたものです。

肺がんの放射線治療では、有害反応である放射線肺臓炎の発生が問題となっており、その肺臓炎を低減する試みとして、患者の機能肺を温存するように放射線を照射する肺機能温存放射線治療が開発されています。その新たな放射線治療法として 4D-CT (4 次元 CT) 画像から肺機能画像を作成し、その情報に基づいて肺機能を温存する放射線治療法が報告されており¹⁾、その有効性についてもすでに報告されています²⁾。具体的には、放射線治療計画作成のために事前に撮影される 4D-CT 画像から肺機能画像 (4D-CT ventilation) を作成し、その情報をもとに高機能肺領域を避けるように照射を行うことで肺機能を温存する手法です。しかし Yuan らの先行研究では、腫瘍への放射線照射により局所的な高機能肺領域が治療開始前と比較して変化することが報告されています³⁾。肺の放射線治療では数十 Gy の処方線量を通常 1.8~2.0 Gy 程度に分割して照射を行うため、治療開始前の情報である 4D-CT ventilation に基づく治療法は、治療期間中に変化する局所的な高機能肺領域を正確に避けることができない可能性があると考えました。そこで我々は、放射線治療装置を用いて治療毎に撮影される 4D-CBCT 画像に着目しました。4D-CBCT 画像は、患者の位置合わせのために毎回の照射直前に撮影されます。4D-CBCT 画像から肺機能画像 (4D-CBCT ventilation) を作成することができれば、① 治療毎に変化する肺機能情報を取得することができるため、治療計画を修正することで正確な肺機能温存治療を行うことができる、② 4D-CBCT は位置合わせ用の画像であるため追加の撮影が必要ない、③ 4D-CT と比較して 1 撮影あたりの被ばく線量が少ない、といった利点があります。

本研究では、その初期検討として肺を模擬した模型

(動体可変肺ファントム) を用いて複数のパラメータで撮影した 4D-CBCT から ventilation 画像を作成し、その精度評価を行いました。4D-CT ventilation と 4D-CBCT ventilation の一致度を示すスピアマンの順位相関係数は最も一致したケースにおいて 0.68 と中程度の一致を示しました。また、4D-CT、4D-CBCT それぞれの ventilation 画像を使用して治療計画を作成し、高機能肺領域に照射される線量指標を比較すると最も一致したケースにおいて 1.28% の差異を示しました。本研究の結果は、4D-CBCT ventilation に基づく肺機能温存放射線治療の実現を示唆していると考えられます。今後は ventilation 画像のさらなる精度向上に向けて検討を続けていきたいと思えます。

最後に、このような名誉ある賞を与えてくださいました第 117 回日本医学物理学会学術大会大会長の蓑原伸一先生、お忙しい中査読をしていただいた先生方に深く感謝いたします。また、今回このような機会を与えていただいた皆様、並びに日頃ご指導いただいている東北大学神宮啓一教授、角谷倫之助教、勝田義之助教、共同研究者の皆様、研究室の皆様にも厚く謝意を申し述べます。

文 献

- 1) Thomas, G., Kevin, S., Edward, C., et al. (2006) Dynamic ventilation imaging from four-dimensional computed tomography. *Phys. Med. Biol.*, **51**, 777-791.
- 2) Yamamoto, T., Kabus, S., Bal, M., et al. (2016) The first patient treatment of computed tomography ventilation functional image-guided radiotherapy for lung cancer. *Radiotherapy and oncology*, **118**, 227-231.
- 3) Yuan, S., Frey, K., Gross, M., et al. (2012) Changes in global function and regional ventilation and perfusion on SPECT during the course of radiotherapy in patients with non-small-cell lung cancer. *IJROBP*, **82**, e631-e638.



Homology as novel radiomic features for prediction of the prognosis of lung cancer based on CT-based radiomics

田 中 祥 平
放射線腫瘍学分野

この度、2019年4月13日に開催された日本医学物理学会第117回学術大会において、Cypos賞 Silver Awardを受賞しましたので、その発表内容の要旨をご報告致します。

背景

近年レディオミクスと呼ばれる、医療画像から数千個に及ぶ腫瘍の特徴を数値化し、解析することにより、患者の予後を予測する新しい技術の研究が行われている。例えば腫瘍サイズなどが予後の予測指標となるが、その予後予測精度は改善の余地があり、臨床に取り入れるためにはさらなる高精度化が必要である。そこで我々は接触度を定量化できる数学的な概念であるホモロジーに注目した。これは図形の接触度を定量化することが可能であり、癌細胞の接触度の違いを定量化することができる。本研究では、非小細胞肺癌 (NSCLC) 患者をホモロジー特徴量を用いて予測し、その精度を評価した。

方法

ホモロジー特徴量はベッチ数というものを計測するが、2次元の場合、ベッチ数は2つの値で構成される： b_0 (0次元ベッチ数) は孤立成分の数であり、 b_1 (1次元ベッチ数) は穴の数である (図1)。



図1. ベッチ数の計算例

本研究の概要図を図2に示す。ホモロジー特徴量の計測には、CT画像を2値化画像に変換する必要がある。腫瘍内の上中下の3スライスのCT画像を使用して、2値化のしきい値を変更しながら腫瘍内のベッチ数を計測することによって、 b_0 , b_1 , b_1/b_0 のホモロジーヒストグラムを作成した。このヒストグラムから合計5個のホモロジー特徴量を抽出した。このホモロジー特徴量の予後予測精度を比較するために、従来から予後予測に提案されている画像特徴量である5個のレディオミクス特徴量を抽出した。

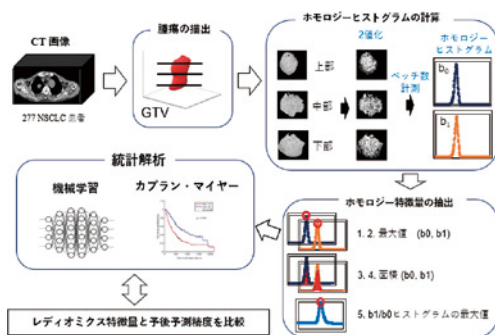


図2. 本研究の概要図

予後予測解析には、放射線治療が施行された非小細胞肺癌患者287人のCT画像データセットが使用された。機械学習の1種であるランダムフォレストとカプラン・マイヤー法を使用し、レディオミクスとホモロジー特徴量の予後予測精度を比較した。評価にはArea under the curve (AUC) とログランク検定を使用した。

結果

カプラン・マイヤー法において、ホモロジー特徴量の値で高リスクグループと低リスクグループに階層化した結果、2つのグループの全生存率は有意に異なった (図3)。

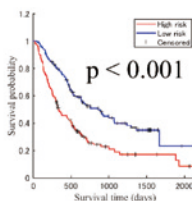


図3. ホモロジー特徴量の中央値で2群に分けた時のカプラン・マイヤー曲線

またホモロジー特徴量、レディオミクス特徴量のAUCは、それぞれ0.69, 0.66だった。この結果から、治療前のCT画像からホモロジー特徴量を用いて、予後を正確に予測できる診断法を確立できる可能性を示唆することができたと考える。



膵臓腫瘍の発生進展機構の解明

古 川 徹

病態病理学分野

令和元年5月11日に第108回日本病理学会総会において宿題報告「膵臓腫瘍の発生進展機構の解明」を行い、日本病理学賞を受賞した。日本病理学賞は日本病理学会における最高峰の褒賞である。以下にその講演内容を示す。

膵臓癌（膵癌）は極めて予後の悪い癌腫であるが、その発生進展過程を解明することで予防、早期診断、効果的治療に有用な情報を得る事ができると考え研究を進めてきた。これまでの成果を示す。

膵癌は膵上皮内腫瘍性病変（PanIN）における段階的異型の変化を経て発生し、*KRAS* 変異を起点とする分子異常の蓄積がそれに寄与している。膵癌ではリン酸化ERKが強発現しており、それにはERK特異的脱リン酸化酵素DUSP6の不活化が*KRAS* 変異と相乗的に寄与する。DUSP6の発現はPanINで亢進、浸潤癌で減弱しており、膵癌細胞にDUSP6を強制発現するとERKが不活化し細胞死が誘導される事から、活性化ERKは膵癌細胞の生存増殖に必須であり、それに拮抗するDUSP6は腫瘍抑制分子として機能していると考えられる。DUSP6の発現はERKとのnegative feedbackにより調節されており、膵癌では異常メチル化により発現低下している。活性化ERKはDNA複製、細胞回転、酵素合成、信号伝達関連分子を主としてプロモートしており、それらERK下流遺伝子群から治療標的に有用な分子としてAURKA, SONを同定した。AURKA/Aurora kinase Aの発現抑制は微小管障害薬であるtaxan剤の効果を増強する。SONは核内speckle構成分子で、その発現は正常上皮、PanINでは低いが浸潤性膵管癌では高く、発現抑制によりG2停止と細胞死が誘導される。ERK活性化はmicroRNA発現に

も関与し、ERK特異的microRNAは診断マーカーおよび治療標的として有用である。

膵腺房細胞癌には*BRCA2*, *FAT* 遺伝子変異が関与しており、*BRCA2* 変異は化学療法感受性に関与する。

粘液を入れた拡張膵管を主徴とする特異な膵腫瘍である膵管内乳頭粘液性腫瘍（IPMN）は上皮異型の段階的变化を経て発生進展し、特徴的乳頭構造から胃型、腸型、膵胆道型、好酸性細胞型の4亜型に分けられ、この亜型分類は診断上有用で独立した予後因子となる。IPMNでは*GNAS* 変異、*RNF43* 変異が特徴的に認められる。*GNAS* 変異は膵管細胞に大規模な遺伝子発現異常をもたらす。IPMNの特徴である粘液遺伝子高発現と関連する。変異*GNAS* をコンディショナルに発現する遺伝子改変マウスモデルにおいて、変異*Kras* と変異*GNAS* を同時に発現させるとIPMN様腫瘍が実際に発生する事から、*GNAS* 変異はIPMNの原因となるとみなされる。

膵管内管状乳頭腫瘍（ITPN）は膵管内に鑄型栓様に発生する特異な膵管内腫瘍であり、IPMN、PanINとは異なる膵管内腫瘍として認識され、WHO2010分類に新規収載されている。ITPNでは*KRAS* 変異は稀で、PI3K経路の活性化が主体的に、また、融合遺伝子も関与している。

以上、膵管癌ではRAS-MAPK/ERK経路異常が、腺房細胞癌ではBRCA経路異常が、IPMNではG蛋白信号異常が、ITPNではPI3K経路異常が主体的に関与しており、これらの分子病理機構解明により膵腫瘍の予防、診断、治療に有用な分子を同定することができた。



糖質応答性転写因子を標的とした 糖尿病性腎症の新規治療薬の開発

鈴木 歩

東北大学大学院医学系研究科 分子内分泌学分野

糖尿病性腎症 (diabetic nephropathy: DN) は長期糖尿病に伴う腎機能障害であり, 本邦における透析導入原因疾患の第 1 位であることは広く知られている。一方で, 原因疾患である糖尿病治療の発展にもかかわらず過去 30 年にわたる DN の有病率は変わっておらず新規治療薬の開発が求められている。

本研究では近年 DN の発症・進展への関与が報告されている炭水化物応答配列結合蛋白質 (carbohydrate response element-binding protein: ChREBP) に着目した。ChREBP は腎臓内で標的遺伝子の過剰発現を介して腎機能障害を引き起こすとされている^{1,2)}。そこで我々は ChREBP の標的遺伝子プロモーター上に存在する ChREBP 結合配列である ChoRE の下流にルシフェラーゼ遺伝子を含むレポータープラスミドを作製し, マウス腎メサンギウム由来培養細胞 SV40 MES13 に導入することで ChREBP 活性を鋭敏に検出できるハイスループットスクリーニング (HTS) 系を確立した。

同細胞系を用いて東北大学が所有する化合物ライブラリーの HTS を実施したところ, ChREBP 活性を特異的に阻害する新規化合物 X の選別に成功した。さらに, 得られた化合物 X を DN 発症モデルマウスである iNOS-TG マウス³⁾ へ投与し, DN への有効性を検討した。DN では一般に尿中アルブミン排泄量の増加や血中クレアチニン値の倍化などが診断マーカーとして用いられているが, 我々がスクリーニングにより得た化合物 X を投与したマウス群では対照マウス群に対してそれらが有意に低値を示し, 野生型マウスと

同程度まで抑えられていた。また, 各群マウスの腎臓を用いた組織学的解析においても DN 患者で観察される腎メサンギウム領域の拡大・びまん性病変の進行が化合物 X 投与により著明に抑制されていることが確認された。

以上のことより, 我々がスクリーニングにより得た ChREBP 活性阻害能を有する化合物 X には DN に対する有効性があることが示唆された。一方で, 本研究では化合物 X の直接的な結合因子を含めてその詳細な作用機序は不明である。今後は化合物 X の作用機序の解明に加え, 各組織への影響の確認を含めた体内動態等を明らかにすることで早期の臨床応用を目指す。

文 献

- 1) Isoe, T., Makino, Y., Mizumoto, K., et al. (2010) High glucose activates HIF-1-mediated signal transduction in glomerular mesangial cells through a carbohydrate response element binding protein. *Kidney Int.*, **78**, 48-59.
- 2) Suzuki, S., Yokoyama, A., Noro, E., et al. (2019) Expression and pathophysiological significance of carbohydrate response element binding protein (ChREBP) in the renal tubules of diabetic kidney. *Endocr. J.*, **EJ19-0133**.
- 3) Takamura, T., Kato, I., Kimura, N., et al. (1998) Transgenic mice overexpressing type 2 nitric-oxide synthase in pancreatic β cells develop insulin-dependent diabetes without insulinitis. *J. Biol. Chem.*, **273**, 2493-2496.

—— 第 62 回 日本糖尿病学会 若手研究奨励賞 ——
—— 第 31 回 分子糖尿病学シンポジウム 研究奨励賞 ——



光遺伝学的迷走神経刺激は膵β細胞増殖を誘導し streptozotocin 誘発糖尿病の血糖上昇を抑制する

川 名 洋 平

東北大学大学院医学系研究科 糖尿病代謝内科学分野

肥満でインスリン抵抗性が高まると生体は代償性に膵β細胞量を増加させインスリン分泌を亢進させて高血糖を防ぐ。この機構を制御することでβ細胞量減少を伴う糖尿病においてβ細胞を増やす治療への応用が期待される。以前に我々は、肥満において肝臓でのERK活性化を端緒として神経ネットワークを介し代償性にβ細胞が増殖すること、膵臓迷走神経を切断するとβ細胞の細胞周期回転が阻害され増殖が抑制されることを示した^{1,2)}。これらの結果は迷走神経シグナルが代償性β細胞増殖の誘導に必要であることを示すが、迷走神経を活性化するだけでβ細胞増殖が誘導されるかは不明であった。そこで、自由行動下マウスの遠心性迷走神経を刺激するために、光遺伝学的迷走神経刺激 (optogenetic vagal nerve stimulation, oVNS) 法を新たに開発し、*in vivo* で oVNS を行い、迷走神経を活性化した際のβ細胞増殖効果、さらにβ細胞量減少を伴う糖尿病に対する迷走神経刺激の有効性を検討した。*in vivo* で安定的な oVNS を行うため、迷走神経特異的に光受容体 Channel rhodopsin 2 (ChR2) を発現するマウスを作成し、横隔膜下食道迷走神経幹に面し光ファイバーを留置する手術法を開発した。この方法を用いて *in vivo* で急性の oVNS を行ったところグルコース応答性インスリン分泌の増強が示された。更に、慢性の oVNS を 2 週間行ったところβ細胞の増殖誘導とβ細胞量増加が認められた。本手法の oVNS では膵以

外の腹腔内臓器に分布する迷走神経も刺激される。そこで、発光ナノ粒子を膵内に留置し、体外より近赤外光を照射することで、更に選択的に膵内の迷走神経を刺激する手法を開発した。この手法でも *in vivo* での迷走神経刺激でグルコース応答性インスリン分泌の増強やβ細胞増殖誘導が起こることが明らかになった。以上より、膵臓迷走神経の選択的な活性化はβ細胞の増殖及び細胞量増加に対する十分条件であることが示された。更に、β細胞量減少を伴う糖尿病に対する迷走神経刺激の有効性を評価するため、streptozotocin を投与したマウスに持続的な迷走神経刺激を行ったところ、血糖上昇の抑制と残存β細胞量の増加が示された。この結果から膵臓迷走神経の選択的な活性化はインスリン欠乏を伴う糖尿病の有効な治療法になりうることを示唆された。

文 献

- 1) Imai, J., Katagiri, H., Yamada, T., et al. (2008) Regulation of pancreatic beta cell mass by neuronal signals from the liver. *Science*, **322**, 1250-1254.
- 2) Yamamoto, J., Imai, J., Izumi, T., et al. (2017) Neuronal signals regulate obesity induced beta-cell proliferation by FoxM1 dependent mechanism. *Nature communications*, **8**, 1930.



抗がん剤による可溶性プロレニン受容体発現への影響

横 田 柚 梨 菜

東北大学大学院医学系研究科 内分泌応用医科学分野

はじめに

(プロ)レニン受容体 ((P)RR) は、レニンとその前駆体であるプロレニンに対する受容体として発見された一回膜貫通型蛋白であり、様々な臓器や癌に発現している。(P)RR には全長型、可溶性、V-ATPase との複合体形成型 (P)RR の 3 形態が存在し、全長型 (P)RR が蛋白質分解酵素である furin や site-1 protease, ADAM19 により切断されると、可溶性 (P)RR が産生される。また、乳癌培養細胞においては酸化ストレスを加えると可溶性 (P)RR の発現が増加する。しかし、可溶性 (P)RR の発現がどのようなメカニズムで制御されているのかは不明である。本研究の目的は、全長型 (P)RR と可溶性 (P)RR、及び可溶性 (P)RR 生成酵素である蛋白質分解酵素の発現への抗がん剤の影響を明らかにすることである。

方 法

乳癌培養細胞である MCF-7 及び肺癌培養細胞である A549 を用いて、抗がん剤を添加したときの (P)RR のタンパク質の発現量の変化及び、蛋白質分解酵素である furin, site-1 protease の発現量の変化をウェスタンブロット法にて分析した。また、細胞培養液中への可溶性 (P)RR の分泌量は ELISA 法にて分析した。細胞外ドメインを認識部位とし、全長型と可溶性 (P)RR を双方検出する (P)RR 抗体 (Hirose et al. *Peptides* 2009) を用いた。抗がん剤は carboplatin 及び paclitaxel, fulvestrant を用い、その添加量は WST-8 assay により決定した。

結 果

MCF-7 細胞及び A549 細胞に carboplatin あるいは

paclitaxel を添加後 72 時間、MCF-7 細胞に fulvestrant を添加後 96 時間培養し、可溶性 (P)RR の発現の変化を検討した。いずれの抗がん剤においても可溶性 (P)RR のタンパク質の発現量が増加した。蛋白質分解酵素では、furin の発現量に変化は見られなかったが、site-1 protease の発現量は増加した。細胞培養液中の可溶性 (P)RR の濃度を WST-8 法で求めた細胞数で除した相対値で評価すると、抗がん剤の濃度依存的に可溶性 (P)RR の分泌が増加した。

考 察

乳癌培養細胞及び肺癌培養細胞に作用機序の異なる 3 種類の抗がん剤を添加すると、いずれの抗がん剤でも細胞内の可溶性 (P)RR 含有量及び細胞外への可溶性 (P)RR の分泌が増加した。また、蛋白質分解酵素である furin の発現量には変化は見られなかったが、site-1 protease の発現は増加したことから、培養癌細胞に抗がん剤を添加すること、全長型 (P)RR が増加し、site-1 protease によるプロセッシングが増加し、site-1 protease 由来可溶性 (P)RR が増加したと考えられる。site-1 protease の発現量が増加した機序については今後の検討課題である。

作用機序によらず、抗がん剤添加により可溶性 (P)RR が増加したことから、可溶性 (P)RR が抗がん剤の治療効果判定のマーカーとなりうる可能性が示唆された。

文 献

- 1) Hirose, T., Mori, N., Totsune, K., et al. (2009) Gene expression of (pro) renin receptor is upregulated in hearts and kidneys of rats with congestive heart failure. *Peptides*, 30, 2316-2322.



染色体整列の遅延により引き起こされる 染色体分配異常の機構

國 安 絹 枝

東北大学加齢医学研究所 分子腫瘍学研究分野

ヒトの多くの体細胞では、染色体数が46本であるのに対し、大部分の固形がんでは染色体数の異常（異数性）が見られ、その背景には高頻度な染色体分配異常（染色体不安定性）が存在する。ヒトの染色体均等分配では、核膜の消失後、微小管により紡錘体が形成され複製された姉妹染色分体はキネトコアを介して紡錘体微小管と結合し、紡錘体微小管上を滑るようにして赤道面へと運ばれる。赤道面では、姉妹染色分体のそれぞれのキネトコアが双方向の紡錘体極から伸びる微小管と双方向性のキネトコア-微小管結合を形成し、全ての染色体が双方向性結合を形成すると、染色体は娘細胞へと分配される。この時、一つのキネトコアが双方向の極から伸びる微小管と結合する誤った結合が生じることで、分配時に染色体に双方向への力が加わり、染色体の分配異常を呈する。染色体分配異常の原因として、双方向性結合の形成に必須の分子の異常は、染色体の整列不全や紡錘体チェックポイントの破綻により細胞周期の停止をまねき、細胞にとって致命的となる。そのため、異数性細胞の蓄積を引き起こす染色体分配異常の要因には、細胞の生存を許容する範囲の僅かな異常が関連するのではないかと考えられた。近年、我々の研究室より染色体腕部に結合するクロモキネシン Kid が染色体をより速やかに赤道面へ運ぶ機能が明らかにされた¹⁾。染色体整列時には Kid 以外にも様々なモーター分子が機能している。そこで我々は、Kid を含めた染色体整列時に機能するモーター分子関連タンパク質の発現量の変化による染色体整列の効率性と染色体分配異常の関係性を調べた。染色体数が安定的な HCT116 細胞（ヒト結腸腺癌）を用いて、モーター分子関連タンパク質を発現抑制したところ、全ての染色体が赤道面へ整列したが、染色体が整列するまでの時間が僅かに延長した²⁾。また、高頻度な染色体分配異常や異数性細胞の増加が認められた²⁾。これらの分子の過剰発現系においても同様に高頻度な染色体分配異常が見られた。染色体数が増加することで、全ての染色体が整列するまでの時間が延長するという仮説のもと、HCT116 細胞を用いて四倍体細胞を作製したところ、四倍体細胞においても染色体整列の時間の延長が起こり、高頻度な染色体分配異常が見られた。染色体整列の遅延と染色体分配異常の増加とのより詳細な

関係を調べるために、染色体整列時に遅れて赤道面へ整列する染色体のキネトコア-微小管結合を調べたところ、高頻度に誤った結合が形成されていることがわかった。そこで、遅れて整列する染色体を特異的に追跡する手法を確立し解析を進めた結果、遅れて整列する染色体は速やかに整列した染色体よりも高頻度に染色体分配異常を起こしやすいことが明らかとなった²⁾。さらに、染色体分配異常を呈した細胞では、染色体が整列する前中期の時間が延長する一方で、キネトコア-微小管結合の結合修正が行われる中期の時間が短縮していたことより²⁾、分裂期の各段階の所要時間と染色体分配異常との関係性を調べた。Kid を発現抑制した細胞にて、薬剤処理により中期の時間を人為的に延長した細胞では、染色体分配異常の頻度が減少した²⁾。

以上の結果より、本研究では、染色体が速やかに整列しない状況下では高頻度にキネトコア-微小管結合の誤った結合が形成され、さらに結合修正を行う時間の短縮により、高頻度な染色体分配異常が引き起こされることが明らかになった。染色体整列の遅延という、分裂期の進行の停止を誘発しない僅かな異常が、染色体分配異常の増加に繋がることを明らかにすることで、がんで見られる染色体不安定性の実態の一端が明らかとなった。

最後に、本研究は加齢医学研究所分子腫瘍学研究分野 田中耕三教授、家村顕助教による、たいへん熱心なご指導を承り遂行することができました。この場をお借りして、御礼を申し上げます。

文 献

- 1) Iemura, K. and Tanaka, K. (2015) Chromokinesin Kid and kinetochore kinesin CENP-E differentially support chromosome congression without end-on attachment to microtubules. *Nature Communications*, **6**, 6447.
- 2) Kuniyasu, K., Iemura, K. and Tanaka, K. (2019) Delayed chromosome alignment to the spindle equator increases the rate of chromosome missegregation in cancer cells. *Biomolecules*, **9**(1), 10(1-17).



抗脈管療法と DR5 を介した抗腫瘍免疫療法との併用療法についての検討

突 田 容 子

東北大学大学院医学系研究科 呼吸器内科学分野

背 景

近年、様々な癌種に対する免疫療法の有用性が相次いで報告されており、その中でマウスの death receptor (DR) 5 のモノクローナルアゴニスト抗体である MD5-1 は腫瘍細胞のアポトーシスと細胞傷害性 T 細胞を誘導し、マウスモデルにおいて抗腫瘍効果を示した。抗腫瘍免疫の機序において腫瘍抗原を貪食した樹状細胞が、リンパ管を通過して所属リンパ節へ移動し、T 細胞に抗原を提示する。そこで活性化した T 細胞は血管を介して腫瘍へ浸潤し腫瘍を攻撃する。つまり免疫療法において血管とリンパ管は重要な役割を担っているが、腫瘍微小環境では血管新生とリンパ管新生によって異常な腫瘍血管・腫瘍リンパ管が増生して免疫細胞の浸潤を阻害している。血管新生においては、血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)-A とその受容体である血管内皮増殖因子受容体 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)-2 が中心的役割を果たし、リンパ管新生においては、VEGF-C とその受容体である VEGFR-3 が中心的役割を果たしている。癌治療においては、複数の作用メカニズムの異なる薬剤を組み合わせることにより相乗的な抗腫瘍効果がもたらされ、治療抵抗性を改善する可能性があると考えられているが、抗血管療法と抗リンパ管療法 (抗脈管療法) が免疫療法へ与える影響についてはほとんど知られていない。

目 的

本研究では VEGFR1-3 と血小板増殖因子受容体 (platelet derived growth factor receptor, PDGFR) の阻害剤であるスニチニブを抗脈管療法として、抗 DR5 抗体である MD5-1 を免疫療法として用い、両者の併用療法の有効性とその機序を明らかにすることを目的とした。

方 法

マウス乳癌細胞 4T1 とマウス大腸癌細胞 Colon-26 (CT26) を BALB/c マウスの背部に移植し (背部腫瘍モデル)、スニチニブと MD5-1 投与による経時的な抗腫瘍効果を解析した。また、4T1 を足底に移植し (足底腫瘍モデル)、腫瘍と所属リンパ節である膝窩リンパ節を採取し、腫瘍内の血管・リンパ管の形状、リンパ流、腫瘍内低酸素、腫瘍・リンパ節の免疫細胞の数と活性化について免疫染色やフローサイトメトリーにて解析した。

結 果

いずれの背部腫瘍モデルにおいても、スニチニブもしくは MD5-1 単独群に比べて併用療法群の抗腫瘍効果が増強した。足底腫瘍モデルにおいて、スニチニブ投与群では異常な血管新生の抑制、ペリサイトによる血管内皮被覆率の改善がみられ、腫瘍血管の正常化が示唆された。また、腫瘍から所属リンパ節、さらにその上流のリンパ節へ向かうリンパ流が改善し、腫瘍免疫環境を抑制性へ導く腫瘍内低酸素領域は減少した。スニチニブ群と併用療法群では腫瘍内の CD8⁺T 細胞と CD4⁺Foxp3⁻である攻撃性 CD4⁺T 細胞が増加し、CD4⁺Foxp3⁺である制御性 CD4⁺T 細胞は減少した。MD5-1 群と併用療法群では所属リンパ節における樹状細胞と CD8⁺T 細胞の活性化が増強した。これらの結果から、併用療法では MD5-1 投与により所属リンパ節で活性化された攻撃性 T 細胞が、スニチニブ投与により低酸素が改善した腫瘍内へ効率的に浸潤して機能することで、相乗的な抗腫瘍効果をもたらす可能性が考えられた。実際、CD8⁺T 細胞を抗体により消去すると、併用療法の抗腫瘍効果は減弱した。

結 語

抗脈管療法による血管とリンパ管の機能的改善は腫瘍微小環境を改善し、免疫療法の効果を高める可能性が示唆された。



Effect Before Cause

樋田 浩 一

東北大学 加齢医学研究所

脳は、同時多発的に入力される様々な感覚情報を並列的に処理している。これらを、特定のイベントに由来する感覚情報ごとに対応付けることで、一体感のある世界を知覚することが可能となる。しかし、現実には、光速や音速などの刺激の物理特性に起因した遅延や（光速は音速の約 88 万倍）、感覚器官における受容器から神経信号への変換に要する遅延（蝸牛の基底膜は網膜よりも神経変換プロセスが速い）など、イベントによって発生した感覚刺激が脳に届くまでのタイムコースは、その感覚によって異なる。果たして脳は、どのようにしてこれらの時差を含有した感覚情報群の統合処理を行うのであろうか。

呈示された複数の感覚情報間に時間ずれが存在する場合、そのずれに順応することが知られている^{1,2)}。この現象は *temporal recalibration* と呼ばれる。視聴覚刺激の場合、両刺激が呈示された時刻が主観的に同時だと感じる点 (*point of subjective simultaneity*: PSS) は、時間ずれを伴う刺激に数分程度晒された後に計測を行うと、ずれ方向に約 10% シフトすることが報告されている¹⁾。これは、複数の感覚情報の統合処理は、柔軟なメカニズムによって支えられていることを示唆する。

同様の現象は、身体運動とそれに伴う遅延感覚フィードバック間の知覚においても生じる³⁾。押下運動（キー押し）に伴いフラッシュ光が遅延して呈示されていると、身体運動と視覚刺激の PSS は、遅延方向へとシフトし順応する。この際、順応後にその遅延を取り除くと、あたかも「運動よりも『先に』フラッシュ光が生じた」という、因果性が逆転した錯覚現象が知覚される。この現象は感覚モダリティに依存するものなのかを検討するため、筆者らの研究グループにおいても類似する実験を試みた。その結果、遅延した聴覚フィードバックを実験刺激として用いた場合にも、同様の錯覚現象がみられることを確認した⁴⁾。この錯覚現象は、身体運動と感覚フィードバック間の時間的整合性判断基準が遅延方向にシフトしたことに起因した順応の残効現象だと考えられる。

一連の研究から、我々は感覚情報間の時間ずれや、フィードバックの遅延を考慮して感覚統合処理を行う

能力を有していることが示されているが、果たしてこれはどのような神経基盤に支えられているのであろうか。そこで、脳活動の指標として、身体運動に伴う遅延聴覚フィードバックの検出時にみられる事象関連電位である遅延検出成分⁵⁾に着目した。遅延検出成分の振る舞いについて、遅延に対する順応前後で比較した結果、順応後には脳活動が抑制され見られるなくなることが示唆された⁶⁾。

このメカニズムについて運動制御の内部モデルを援用すると、遅延に順応することでフォワードモデル⁷⁾の再学習が生じ、身体運動と感覚フィードバックとを対応付ける時間的整合性判断基準が自動的に調整されると考えられる。現実世界で道具を使用する場合など、外部システムに内在する遅延時間は未知数である。脳は遅延に応じて適応的に対処することで、実際には様々な時間ずれをとまなう情報群を統合し、一体感のある知覚世界を実現していると考えられる。

文 献

- 1) Fujisaki, W., et al. (2004) Recalibration of audio-visual simultaneity. *Nat. Neurosci.*, **7**(7), 773-778.
- 2) Vroomen, J., et al. (2004) Recalibration of temporal order perception by exposure to audio-visual asynchrony. *Cogn. Brain Res.*, **22**(1), 32-35.
- 3) Stetson, C., et al. (2006) Motor-sensory recalibration leads to an illusory reversal of action and sensation. *Neuron*, **51**(5), 651-659.
- 4) 樋田浩一, 上野佳奈子, 嶋田総太郎 (2012) 聴覚刺激と身体運動の同時性判断における順応に関する研究, 日本音響学会講演論文集 (春), 627-628.
- 5) Toida, K., Ueno, K. and Shinada, S. (2016) Neural basis of the time window for subjective motor-auditory integration. *Front. Hum. Neurosci.*, **9**(688), 1-12.
- 6) 樋田浩一, 上野佳奈子, 嶋田総太郎 (2014) 身体運動に伴う遅延聴覚フィードバックの temporal recalibration —事象関連電位を用いた検討—, 日本音響学会聴覚研究会資料, **44**(7), 433-438.
- 7) Miall, R.C. and Wolpert, D.M. (1996) Forward models for physiological motor control. *Neural Netw.*, **9**(8), 1265-1279.



The decrease of mitochondrial biogenesis contributes to airway epithelial barrier dysfunction in asthma

市川 朋 宏

呼吸器内科

受賞のあらまし

2019年6月14日に開催されました第68回日本アレルギー学会のEnglish sessionにおいて発表した演題がBest Presentation Awardに選ばれました。日本語の演題発表が基本ですが、本学会では英語による口頭発表のセッションであるEnglish sessionも設けられています。そこでは、一つのセッションで5-8題程度の演題発表があり、日本人以外の研究者も発表します。日本人の座長と海外から招聘した座長の2人で審査し、セッションごとに最も優秀であった演題に対して、Best Presentation Awardが贈られます。受賞演題の概要を以下に報告します。

研究背景と目的

気道上皮はハウスダストや花粉、粉塵、ウイルスなどの外的な環境因子に対してバリアとして働くことで、下気道における防御の最前線として重要な役割を果たしている。このバリア機能は、隣接する気道上皮細胞同志が、各々の細胞膜の内外に有する結合蛋白を介して密着結合することで形成される。気管支喘息の気道上皮では、バリア機能が破綻しており、様々な外的因子が容易に粘膜下に侵入することで、アレルギーとして免疫応答を惹起し、気管支喘息の発症や進行に関与していると考えられている。バリアの破綻は、ハウスダストや花粉などのアレルギーが有するプロテアーゼなどにより、直接あるいは各種受容体を介して、気道上皮細胞が傷害される結果生じると考えられている。気管支喘息の治療は吸入ステロイドによる抗炎症が主体であり、さらに近年IgE、好酸球などのシグナルを抑制する抗体製剤も上市されているが、高用量の吸入ステロイドや抗体製剤を使用しても症状を制御できない難治性喘息患者が存在し、気道炎症のさらに上流を制御することが重要であると考えられる。以上の点で上皮のバリア機能をターゲットとした治療戦略が非常に有望であると考えられるが、バリア機能の回復に有効な治療薬はまだ存在しない。

ミトコンドリアは細胞における主要なエネルギー源であるとともに、活性酸素の産生源でもあり、過剰な活性酸素によるミトコンドリア機能不全が様々な病態と関連することが明らかになっている。ミトコンドリアの機能維持はミトコンドリア新生と、機能不全に陥ったミトコンドリアの除去(マイトファジー)のバランスの元に成り立っている

が、このミトコンドリア品質管理機構の障害と気管支喘息の病態との関連が近年示唆されている。そこで、本研究では気管支喘息における気道上皮のバリア機能低下のメカニズムを、ミトコンドリア機能に着目して細胞レベルで解明することを目的とする。

方 法

喘息および非喘息患者由来の気道上皮細胞におけるミトコンドリア新生のマーカー(Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha: PGC1 α , nuclear respiratory factor: NRF-1, Mitochondrial transcription factor A: TFAM)の発現レベルをウエスタンブロッティング(WB)法で測定した。ダニ抗原抽出液(house dust mite: HDM)をマウスに経鼻的に投与し気道におけるPGC1 α , TFAMの発現を免疫染色法で評価した。またHDMを気道上皮細胞株であるBEAS-2B細胞に投与し、PGC1 α , TFAMと結合蛋白であるE-cadherinの発現の変化をWB法と免疫染色法で測定、評価した。PGC1 α 活性化剤であるSRT1720をHDM投与前に前処理し、HDMによる上記タンパク変化に及ぼす影響を検討した。バリア機能としては経上皮電気抵抗(TEER)を測定し評価した。

結果と考察

喘息由来の気道上皮細胞では、PGC1 α , NRF1, TFAMの発現が、健常者の細胞より減少していた。HDMをBEAS-2Bに投与すると、E-cadherinおよびPGC1 α , TFAMの発現が低下した。HDMを投与されたマウス肺では、PGC1 α , TFAMおよびE-cadherinの気道上皮における発現がvehicle群に比べて低下した。SRT1720をBEAS-2Bに前処理しておく、HDMによるE-cadherinやミトコンドリア量の減少が抑制された。PGC1 α の阻害剤であるSR-18292を投与するとHDMによるE-cadherinの減少がさらに悪化した。HDMによりヒト気道上皮細胞におけるTEERが減少したが、SRT-1720により抑制された。以上より、HDMがPGC1 α を介した経路により結合蛋白が減少し、気道上皮のバリア機能が低下することが示された。本研究の結果により、PGC1 α やミトコンドリア新生をターゲットにした治療戦略が、気管支喘息の新たな治療法の開発に結びつく可能性が示唆された。



重症喘息における炎症制御メカニズムの解明

板 倉 康 司

東北大学大学院医学系研究科 内科病態学講座呼吸器内科学分野

気管支喘息（以下、喘息）は成人の約 10% が罹患する国民病の一つである¹⁾。喘息のうち 5-15% は既存の治療薬を使用しても症状のコントロールが不十分な重症喘息であることが知られている²⁾。重症喘息では、喘息の増悪抑制におけるキードラッグであるステロイドに抵抗性の炎症が遷延していることが多い³⁾。喘息の増悪時に頻回に使用される全身性ステロイドは、高血圧症、糖尿病、骨粗鬆症など種々の全身性副作用を引き起こす恐れがある。したがって、重症喘息のステロイド抵抗性を改善する新規治療法開発が急務である。

喘息はアレルギー性疾患であることが長年知られてきた。好酸球やマスト細胞の活性化を介したアレルギー性の 2 型炎症は、喘息の主要な炎症病態の一つである⁴⁾。近年、主に 2 型リンパ球の活性化を介した、非アレルギー性の好酸球性炎症を伴う 2 型炎症も喘息の炎症病態に重要であることが明らかとなっている⁴⁾。更に、2 型炎症以外にも、好中球性炎症主体の喘息や、好酸球、好中球いずれの炎症細胞も気道組織中で増加していない顆粒球寡少型炎症の喘息も存在することが報告されている⁵⁾。喘息ではこれらの種々の炎症病態が互いに影響し合っており、その複雑な炎症メカニズムはまだ完全に解明されていないのが現状である⁶⁾。

いずれの炎症病態においても気道上皮細胞が炎症カスケードの起点となることから、気道上皮細胞を介した炎症制御機構の解明が喘息の新規治療法開発にとって重要である。気道内に細菌、真菌、ウイルスなどの病的抗原、異物、アレルゲンなどが侵入すると、気道上皮細胞はパターン認識受容体を介してこれらの抗原、異物、アレルゲンを認識する⁷⁾。パターン認識受容体にリガンドが結合すると、細胞内シグナルが活性化されることで Interleukin (IL)-33, IL-25, thymic stromal lymphopoietin (TSLP), granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) など種々の炎症性サイトカイン、ケモカインが気道上皮細胞から産生、放出され、炎症カスケードが惹起される^{7,8)}。しかしながら、気道上皮細胞による炎症性サイトカイン、ケモカイン産生を抑制するメカニズムについては未だに不明な点が多い。2019 年に、2 型自然リンパ球や type 2 helper T (Th2) 細胞によって産生される IL-13 刺激によって気道上皮細胞がレチノイン酸を産生することにより、2 型自然リンパ球が IL-10 産生性の抑制性のサブセットに変化することが報告された⁹⁾。これは、気道上皮細胞が 2 型炎症のカスケードを抑制する物質を産生、放出することを示した貴重な報告

である。

気道上皮は基底細胞、クラブ細胞、線毛細胞、杯細胞から構成され、これらのうち基底細胞は 2 型炎症反応を強力に誘導する IL-33 の産生細胞であるとともに、幹細胞として組織修復を担うことが知られている^{10,11)}。我々の研究グループでは、基底細胞が気道上皮細胞を介した喘息の炎症制御において特に重要であると考え、現在研究を進めている。喘息の気道上皮における炎症制御メカニズムを解明することで、新たな喘息病態の理解に寄与し、重症喘息のステロイド抵抗性を改善するための薬剤開発を目指したい。

文 献

- 1) 「喘息予防・管理ガイドライン 2018」作成委員 (2018) 喘息予防・管理ガイドライン 2018. 協和企画, 東京, pp. 26-28.
- 2) Chastek, B., Korrer, S., Nagar, S.P., et al. (2016) Economic Burden of Illness Among Patients with Severe Asthma in a Managed Care Setting. *J. Manag. Care Spec. Pharm.*, **22**, 848-861.
- 3) Corrigan, C.J., Brown, P.H., Barnes, N.C., et al. (1991) Glucocorticoid resistance in chronic asthma. Glucocorticoid pharmacokinetics, glucocorticoid receptor characteristics, and inhibition of peripheral blood T cell proliferation by glucocorticoids in vitro. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **144**, 1016-1025.
- 4) Israel, E. and Reddel, H.K. (2017) Severe and Difficult-to-Treat Asthma in Adults. *N. Engl. J. Med.*, **377**, 965-976.
- 5) Muraro, A., Lemanske, R.F. Jr, Hellings, P.W., et al. (2016) Precision medicine in patients with allergic diseases: Airway diseases and atopic dermatitis-PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **137**, 1347-1358.
- 6) Polak, D., Hafner, C., Briza, P., et al. (2019) A novel role for neutrophils in IgE-mediated allergy: Evidence for antigen presentation in late-phase reactions. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **143**, 1143-1152.
- 7) Whittsett, J.A. and Alenqhat, T. (2015) Respiratory epithelial cells orchestrate pulmonary innate immunity. *Nat. Immunol.*, **16**, 27-35.
- 8) Lambrecht, B.N.,ammad, H. and Fahy, J.V. (2019) The Cytokines of Asthma. *Immunity*, **50**, 975-991.
- 9) Morita, H., Kubo, T., Rückert, B., et al. (2019) Induction of human regulatory innate lymphoid cells from group 2 innate lymphoid cells by retinoic acid. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **143**, 2190-2201.
- 10) Vieira Braga, F.A., Kar, G., Berg, M., et al. (2019) A cellular census of human lungs identifies novel cell states in health and in asthma. *Nat. Med.*, **25**, 1153-1163.
- 11) Rock, J.R., Onaitis, M.W., Rawlins, E.L., et al. (2009) Basal cells as stem cells of the mouse trachea and human airway epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 12771-12775.



小児外科腹部手術における遷延性術後痛の発症率と その関連因子の検証

高 橋 和 博

東北大学病院 麻酔科 (研究時: 宮城県立こども病院 麻酔科)

背 景

遷延性術後痛 (chronic postsurgical pain : CPSP) は、術後 3 か月以上持続する痛みと定義され、患者の QOL を損なう手術合併症である。CPSP は成人手術患者の 10-50% に発症するとされ、海外では小児においても同様の報告がある。しかし本邦における小児の CPSP 発症率に関する研究はほとんどない。今回我々は、当院における小児の CPSP 発症率やその関連因子を明らかにするため、小児外科腹部手術患者 (非悪性腫瘍) を対象として後ろ向き観察研究を行った。

方 法

本研究は当院倫理委員会の承認を受け実施された (宮: 倫理第 455 号)。2016 年 4 月~2019 年 3 月の 3 年間に当院で行った小児外科腹部手術 155 症例 (6-18 歳) のうち、本人から疼痛の有無を確認でき、術後 3 か月以降の CPSP 評価が可能であった 59 症例を対象とした。カルテ記載から CPSP 発症の有無を判断し発症率を求めた。また過去に報告されたりリスク因子 (① 性別、② 開腹手術、③ 術後 24 時間の疼痛、④ 術前の炎症反応、⑤ 術前の疼痛、⑥ 不登校や発達障害などの心理社会的因子) と、⑦ 対象手術の過去 1 年以内の手術歴、を調査し、各項目と CPSP 発症に有意な関連があるかを Pearson のカイ二乗検定または Fisher の正確確率検定を用いて解析した。さらに、⑦ に該当した 13 症例 (9 人) に対して、1 回目の手術および 2 回目以降の手術における CPSP 発症率を求めた。す

べての統計解析で $P < 0.05$ を有意とした。

結 果

59 症例中 15 症例 (25%) で CPSP を認めた。上記の項目のうち、②③⑤⑥⑦ に CPSP 発症との有意な関連を認めた。⑦ に該当した 13 症例 (9 人) に関して、1 回目の手術後の CPSP 発症率は 0/9 症例 (0%)、2 回目以降の手術では 5/13 症例 (38%) であり、繰り返し手術を行った症例では CPSP 発症率が高くなる傾向があった。

結 論

本研究で得られた CPSP 発症率は過去の報告と同様に 25% であった。ただし本研究は後ろ向き観察研究であり、CPSP 発症率を過小評価している可能性がある。

また、本研究の結果から繰り返し手術を受ける児は CPSP を発症する確率が高いことが示唆されたが、実際に複数の疾患や炎症性腸疾患のために繰り返しの手術が必要な児は少なくない。こうした児の中には、手術のために登校が制限され、不登校になる者もいる。

麻酔科医が周術期に患者と接する時間は限られていることが多いが、遷延性術後痛の関連因子を認識し、術前から CPSP 発症に注意を払い、術後 24 時間の疼痛コントロールに積極的に関与すべきであると考えられた。小児における遷延性術後痛の知見は限られており、今後更なる研究が望まれる。

— AOCC2019 トラベルグラント・優秀演題賞 —



Long-term incidence and characteristics of intestinal failure in Crohn's disease : 50-year experience

渡 辺 和 宏

東北大学 消化器外科学

このたび、第7回アジア炎症性腸疾患学会 (The 8th Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's & Colitis (AOCC2019). 2019.6.14-16. 台北) においてトラベルグラントならびに優秀演題賞を受賞しましたので報告させていただきます。今回の発表では、1961年から2017年の間にクローン病の診断で当科で初回手術を施行した473症例の長期予後、とくに短腸症候群 (腸管不全) に焦点をあてて分析しております。

クローン病は1932年にニューヨーク大学のマウントサイナイ病院の内科医ブリル、バーナード、クローンらによって初めて報告された疾患であり、主として10代後半から20代の若年者に発症し、小腸・大腸を中心に浮腫や潰瘍を認め、腸管狭窄や瘻孔など特徴的な病態が生じる疾患です。非連続性の慢性肉芽腫性炎症を全消化管に生じうる原因不明の炎症性疾患であり、厚生労働省より特定疾患に指定されております。もともと欧米に多い疾患でしたが、生活パターンの欧米化のためか、日本での罹患者数は著増しており現在は約4万人以上となっています。10年前と比べて倍増しております。

クローン病では腸管狭窄などで腸管切除術を要することが多く、炎症の再燃により再狭窄をきたし再手術を要することも少なくありません。そのため、複数回の手術によって短腸症候群 (腸管不全) の病態を呈することがあります。短腸症候群 (腸管不全) は、経口摂取のみでは生活に必要な水分・栄養素などを吸収・維持できない状態であり、在宅中心静脈栄養などでの管理が必要となります (ちなみに、腸管の慢性炎症を伴うクローン病では、残存腸管の長さだけでなく吸収能も重要であり、一般的に知られている「短腸症候群」という表現ではなく、より包括的な意味を持つ「腸管

不全 (Intestinal failure)」がより適切な表現と考えております)。

以前、厚生省「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班の外科系プロジェクト研究として、国内12専門施設を対象にクローン病術後の腸管不全症例の実態調査を行いました (Watanabe, K., Fukushima, K., Sasaki, I., et al. (2014) Long-term incidence and characteristics of intestinal failure in Crohn's disease : a multicenter study. *J. Gastroenterol.*, 49(2), 231-238). その結果、1970年から2009年の期間に初回手術が行われたクローン病1703症例の腸管不全の累積発生率は、初回手術後5年では0.8%とまれであったものの、10年で3.6%、15年で6.1%、20年で8.5%と長期的には決してまれな病態ではないことが明らかとなりました。また、腸管不全101症例中79例が経過中に何らかの合併症を生じており、なかでもカテーテル関連血流感染症が58例、肝機能異常が32例と多くなっており、とくにカテーテル関連血流感染症は4例が死亡の原因となっており十分に気をつける必要のある合併症でありました。

今回のAOCC2019では、上記の多施設データをふまえ、当科での腸管不全症例の臨床的特徴や、安全なカテーテル管理を行うための取り組みなどについて提示しました。クローン病の術後長期経過症例が増えており、今後、クローン病の腸管不全症例も増加していくことが予想されます。腸管不全例に対しては、内科治療・外科治療 (小腸移植も含む)・栄養管理・カテーテル管理・ストーマ管理・社会的サポートなど、様々な視点での多角的な管理が必要であり、標準となる適切な管理方法の確立が重要と考えております。



補助人工心臓患者における 後天性フォンウィルブランド症候群

坂 爪 公

東北大学 心臓血管外科

近年の循環器領域における左室補助人工心臓 (left ventricular assist device ; LVAD) 治療の進歩は目覚ましく、多くのデバイスが登場し、重症心不全の治療成績の向上に貢献している。しかし、補助人工心臓治療は、感染や血栓塞栓症、そして出血といった合併症のリスクを伴っている。中でも出血は、頻度が高く、さらに時に致命的になるほど重症な合併症である。抗凝固療法の強度が治療域であっても、出血は抗凝固療法に起因すると考えられてきた。近年、LVAD 患者における出血の背景として、後天性フォンウィルブランド症候群 (acquired von Willebrand syndrome ; AVWS) の重大な関与が注目されている。AVWS はフォンウィルブランド因子 (von Willebrand factor : VWF) 高分子多量体の欠損によって診断されるが、その重症度に関しては明確な基準は定まっておらず、出血合併症と AVWS とが真に関連するかどうかは、明らかにされてこなかった。以上を解決するために、今回我々は、VWF large multimer Index という定量方法を用いて、LVAD 患者の AVWS と出血合併症の関連を評価した¹⁾。

2011 年 7 月～2017 年 6 月までの期間で東北大学病院にて植込型 LVAD の装着が施行された 47 例の患者に対して検討を行った。その内、6 例に関しては、本解析を行う前に心臓移植や死亡に到っており、本研究からは除外した。41 例の対象患者に対して、VWF 多量体解析を行い、2017 年 6 月まで臨床経過をフォローアップした。全 41 例が PT-INR 2.0-3.0 を目標にワーファリンによる抗凝固療法が施行されていた。VWF 高分子多量体は、非出血時かつ感染症に罹患していない、状態が安定している時に解析され、解析時までの観察期間は術後 200 日 (中央値) であった。消化管出血は、臨床的に疑われる場合、もしくは、ヘモグロビン値の新規下落があり、かつ下血、吐血、血便や便潜血陽性を認めるという様に、消化管からの出血があったと疑わしい場合と定義した。

観察期間中に脳梗塞、上腸間膜動脈塞栓症、ポンプ血栓が 7 例に、デバイス感染が 3 例に認められた一方、

消化管出血は 12 例 (29%) に発症しており、LVAD の装着期間は 179 日 (中央値) であった。出血急性期のヘモグロビン値は 7.8 ± 1.7 g/dl であり、PT-INR と APTT の値は治療域の範囲内であった。消化管出血の術後 6 ヶ月の回避率は 85.3%、1 年で 77%、2 年で 73% であった。全ての LVAD 植込み後の患者は VWF 高分子多量体の著明な減少を示しており、Index の値は $33.8 \pm 16.8\%$ であった。消化管出血した群 ($25.0 \pm 10.3\%$) と非出血の群 ($37.5 \pm 17.8\%$) での比較では、出血群で Index は有意に低値であった ($p=0.008$)。さらに消化管出血を来した全ての患者の Index は 40% 以下であった。

今回われわれが得た結果は、AVWS の血液学的重症度と LVAD 患者における消化管出血との密接な関連を示し、また VWF large multimer Index のある閾値を伴った形で示される重篤な AVWS が消化管出血のリスクとなり得ることを示している。

出血合併症は非常に多くの因子が関わって発症するものであり、単一因子のみをリスクとするのは非常に難しい。また本研究は単一施設の少ない症例数の後ろ向き研究であるから、VWF large multimer index $\leq 40\%$ という基準については、より大規模な前向きの臨床研究を行うことによって、検証を行う必要がある。今後臨床研究より得られるエビデンスと本研究結果を併せて検討することで、LVAD 装着後の出血性合併症の予知指標を確立し、予防策 (抗凝固療法や抗血小板療法の適正化) を構築して診療指針に反映させることが期待される。

文 献

- 1) Sakatsume, K., Saito, K., Akiyama, M., et al. (2018) Association between the severity of acquired von Willebrand syndrome and gastrointestinal bleeding after continuous-flow left ventricular assist device implantation. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, 54(5), 841-846.

— 第 42 回日本神経科学大会 若手道場 優秀発表賞 —



視床の灰白質体積に対する FK506 結合タンパク質遺伝子の一塩基多型と 母親の受容性の交互作用効果

松 平 泉

東北大学 スマート・エイジング学際重点研究センター

紙面にて初めてご挨拶を申し上げます。松平泉と申します。今春より東北大学スマート・エイジング学際重点研究センターの助教として採用して頂きました。昨年度までは医学系研究科の大学院生として研究に励んで参りました。去る 2019 年 7 月、第 42 回日本神経科学大会にて博士課程での研究成果を発表し、瀧靖之教授をはじめ多くの先生方のご指導のもと優秀発表賞を賜りましたので、発表内容の要約をご報告致します。

日本における精神障害の生涯有病率は 22.7% であり、国民の約五人に一人が生涯のどこかで何らかの精神障害に苦しんでいると考えられます¹⁾。精神障害の発症を未然に防ぐことが重要であるものの、効果的な予防方法の確立には至っておりません。その理由として、精神障害発症危険度の個体差が生じる理由、すなわち個体の精神障害発症危険度が構築される生物学的なメカニズムが明らかにされていないことが挙げられます。

先行知見により、行動の適応的調整を担う大脳皮質-大脳基底核-視床-大脳皮質回路の機能と構造に対する遺伝要因、環境要因、そして両者の交互作用の影響が、精神障害発症危険度の基盤を形成すると考えられています²⁾。特に、FK506 結合タンパク質 51 (FK506-binding protein 51; FKBP51) をコードする *FKBP5* 遺伝子の一塩基多型 rs1360780 と小児期の虐待被害経験の交互作用がこれらの神経回路に含まれる領域の発達に関与すると言われています³⁾。FKBP51 は糖質コルチコイド受容体に結合し、視床下部-下垂体-副腎系における糖質コルチコイド受容体の機能を制御するタンパク質です。rs1360780 は FKBP51 の発現に関与する一塩基多型であり、マイナーアレルでは FKBP51 の発現量が多く、視床下部-下垂体-副腎系のネガティブフィードバック機能が損なわれやすいと言われています³⁾。

rs1360780 と虐待被害経験の交互作用が脳の構造的発達への影響を介して精神障害発症危険度に関与する

ことは多くの先行研究によって示唆されてきました³⁾。しかしながら虐待は極端に不適切な養育環境であり、虐待被害者を対象とした研究知見が、虐待を受けずに育った層の精神障害発症危険度を説明するとは言えません。そこで本研究では、虐待被害経験のない定型発達児 202 名を対象とし、rs1360780 と母親の受容性(母親が我が子を好んでいる程度)の交互作用が脳構造に与える効果を検討しました。

MRI による脳構造画像を用いた画像解析の結果、左視床を中心とする領域の灰白質体積に rs1360780 と母親の受容性の有意な交互作用効果が確認されました。下位検定により、メジャーアレルホモ接合群では母親の受容性の得点が高いほど当該領域の灰白質体積が小さいのに対し、マイナーアレルキャリア群では母親の受容性の得点が高いほど灰白質体積が大きいたことが明らかとなりました。視床と大脳基底核は大脳皮質-大脳基底核-視床-大脳皮質回路の中核として精神障害発症危険度に関わる領域であると言われております²⁾。本研究の結果は、精神障害発症危険度や脳の機能・構造に対する遺伝要因と環境要因の交互作用の研究において、虐待のような過度な逆境以外の環境要因に着目することの重要性を示唆すると考えられます。今後、本研究を発展させることで、精神障害の発症予防実現に貢献する成果を示していく所存です。

文 献

- 1) 川上憲人 (2016) 精神疾患の有病率等に関する大規模疫学調査研究: 世界精神保険日本調査セカンド総合研究報告書 38.
- 2) Bogdan, R., Hyde, L.W. and Hariri, A.R. (2013) A neurogenetics approach to understanding individual differences in brain, behavior, and risk for psychopathology. *Mol. Psychiatry*, **18**, 288-299.
- 3) Klengel, T., Mehta, D., Anacker, C., et al. (2013) Allele-specific FKBP5 DNA demethylation mediates gene-childhood trauma interactions. *Nat. Neurosci.*, **16**, 33-41.

—— 日本遺伝子細胞治療学会 第10回タカラバイオ賞 ——



Retained Plasticity and Substantial Recovery of Rod-Mediated Visual Acuity at the Visual Cortex in Blind Adult Mice with Retinal Dystrophy

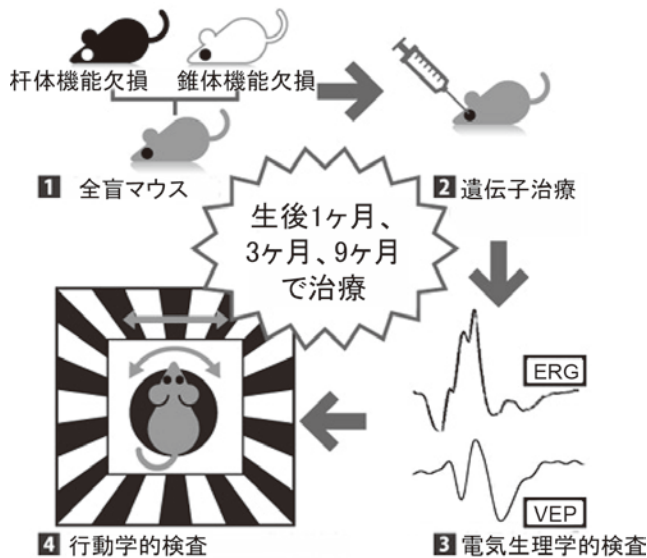
西 口 康 二

東北大学大学院医学系研究科 視覚先端医療学寄附講座

欧米では、先天的に重度の視覚障害を持つ網膜ジストロフィ患者を対象とした遺伝子治療が、主に4歳以上の患者を対象に行われ始めている。この治療は、病的な遺伝子に対して正常遺伝子コピーを網膜細胞に遺伝子導入するものである。治療により、暗所での網膜感度が上昇する半面、大脳視覚野で高度な視覚情報処理を要する視力に関しては、はっきりとした治療効果が得られていない。一方で、同じく先天性の視覚障害をきたす先天性白内障では、良好な視力再建が可能な「感受性期」が幼少期に存在し、それを超えると視覚の可塑性が失われることが知られている。しかし、網膜ジストロフィに対する治療の時期と視力回復の関連

性は不明である。

そこで、我々は、「ほぼ全盲の網膜変性マウスでは、網膜機能再建時期の遅れにより、回復視力が低下する」という仮説を検証した(下図)。先天的にほぼ全盲であるマウスに対して、遺伝子治療を行い、杆体系視覚の再建時期と回復視力の関係を調べた。その結果、予測どおり、治療時期(生後1ヶ月、3ヶ月、9ヶ月)によって、回復可能な網膜機能は変わらなかった。しかし、予測に反して、再建可能な視力も変わらないことが脳波の測定(VEP)により明らかになった。このことは、先天性網膜変性マウスでは、治療時期に関わらず良好な視力回復が可能であることを示している。



—— 第 33 回独創性を拓く先端技術大賞 フジテレビジョン賞 ——



不均一な放射線被ばく後の精子形成能の検討 ～原子力災害後の環境放射線被ばくリスクの 解明を目指して～

福 永 久 典

東北大学加齢医学研究所 機能画像医学研究分野

放射線の作用は、エネルギー付与の時間的・空間的離散性に依存する。しかし、一般的に放射線による生物学的影響の評価は、特定の細胞集団（組織）をターゲットとして、その全体に吸収されたエネルギーを、その総質量で割った「平均値」をもとに行われる。このようにして求められたマクロな吸収線量には、微視的なエネルギー付与と分布の違いが反映されない。例えば、環境放射線のような低線量域では「実際には放射線トラックが通過する細胞（ヒットした細胞）と通過していない細胞が混在しているにもかかわらず、全細胞が放射線に均等に当たったと仮定して平均値で評価する」という状況が生じうる。

本研究では、マウス精巣器官培養法と X 線マイクロビーム照射技術を組み合わせた実験系を確立して¹⁾、空間的に不均一な放射線被ばく条件下における精子形成効率について詳細に検討した。2011 年に開発されたマウス精巣器官培養法を用いると、蛍光顕微鏡下でリアルタイムに精子形成過程を観察することができる。今回、このように培養された組織片にマイクロビームを不均一に照射して、その後の精子形成を評価した。そして、精巣組織の 50% に照射される 200 μm スリット条件では（図 1）、組織代償効果

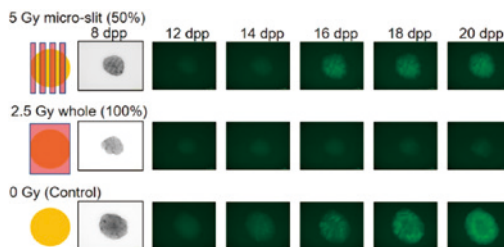


図 2. スリット照射後の精子形成（文献 2 より）

（Tissue-sparing effect ; TSE）が生じ、「精子形成障害が生じるはずの線量を照射しても、精子形成が維持される」という現象を発見した（図 2）²⁾。さらにスリット幅を 50, 12.5 μm に変えて、この TSE が生じるには「非照射野の精子幹細胞の存在が必須である」ことも実験的に示した²⁾。

最近、TSE は一般的な X 線照射装置を用いても再現できることが示された³⁾。環境放射線被ばく後の被ばくリスクの解明に迫るだけでなく、放射線不妊を克服するための臨床応用への期待も含めて、現在、本研究の成果が注目を集めている。

文 献

- 1) Fukunaga, H., Kaminaga, K., Sato, T., et al. (2018) Application of an Ex Vivo Tissue Model to Investigate Radiobiological Effects on Spermatogenesis. *Radiat. Res.*, **189**, 661-667.
- 2) Fukunaga, H., Kaminaga, K., Sato, T., et al. (2019) High-precision microbeam radiotherapy reveals testicular tissue-sparing effects for male fertility preservation. *Sci. Rep.*, **9**, 12618.
- 3) Fukunaga, H., Kaminaga, K., Sato, T., et al. (2020) The Tissue-Sparing Effect of Spatially Fractionated X-rays for Maintaining Spermatogenesis: A Radiobiological Approach for the Preservation of Male Fertility after Radiotherapy. *J. Clin. Med.*, **9**, 1089.

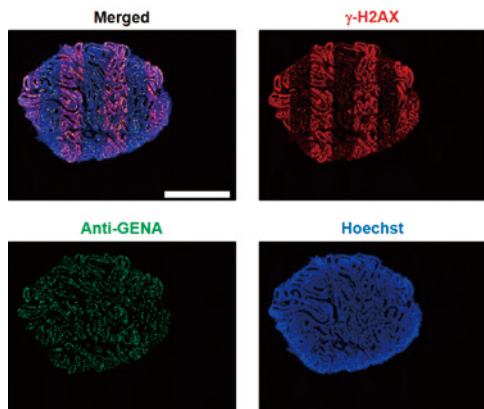


図 1. 200 μm スリット照射後の精巣片（文献 2 より）



iPS 細胞を用いた *fused in sarcoma* (*FUS*) 変異筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 運動ニューロンの軸索病態解明

秋 山 徹 也

東北大学東北メディカル・メガバンク機構 神経内科学分野

背 景

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、選択的な運動ニューロン障害により発症から 3 年程度で呼吸不全を呈する難病である。ALS のうち約 10% が家族性 (遺伝性) で 20 以上の原因遺伝子が発見されているが、病態は未解明で根本的治療法は存在しない。ALS では神経細胞に特徴的な構造である「軸索」(遠位) から近位に変性が進むため、軸索病態は、ALS の初期病態解明の糸口として注目されてきた。しかし、患者の病変組織の生検 (神経生検) は困難で、培養細胞による実験も困難であった。近年の人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の発見は、患者由来の目的細胞 (運動ニューロンなど) を大量に培養することを可能とし、ALS などの神経変性疾患研究のブレークスルーとなった。さらに、工学技術の発展から、マイクロ流体デバイスと呼ばれる軸索のみを分離可能なデバイスの発達も合わせ、軸索に特化した解析も可能となりつつある。

目 的

iPS 細胞とマイクロ流体デバイスを組み合わせ、ヒト運動ニューロンの軸索解析手法を確立し、ALS における軸索形態異常を明らかにする。

方 法

家族性 ALS の原因遺伝子の一つで、日本人で 2 番目に多い *Fused in sarcoma* (*FUS*) に注目し、*FUS* 変異を有する家族性 ALS 患者より iPS 細胞を樹立した。また、ゲノム編集技術 (TALEN 法) を組み合わせ、*FUS* 点変異以外は同じ遺伝的背景を有するアイソジェニック iPS 細胞を作成した。iPS 細胞へ小分子を添加し、運動ニューロンを誘導し、軸索束を形成可能なマイクロ流体デバイスを組み合わせ、軸索特異的 RNA プロファイルを分析した。

結 果

健常者、家族性 ALS 患者、及び健常者に患者の変異を導入・及び患者の変異を修復した 2 セットのアイソジェニック iPS 細胞を作成した。各細胞を分化誘導し、70% 程

度の運動ニューロンの誘導効率を確認した。運動ニューロン特異的なプロモーター (Hb9) 下に蛍光蛋白を発現するレンチウイルスを用い、運動ニューロンのみの軸索末端を観察可能な培養系を構築し、軸索末端を観察した。その結果、ALS 患者由来運動ニューロンでは軸索の分岐が増えるという新規細胞表現型を同定した。さらに、Nerve organoid device と呼ばれる、軸索の束を作成できるマイクロ流体デバイスを用いて軸索を回収、RNA シーケンスを組み合わせ、軸索の RNA 変動を解析し、軸索形態異常に関連する因子として *Fos-B* を同定した。*Fos-B* を人工的に発現させると、健常な iPS 細胞由来の運動ニューロンだけでなく、ゼブラフィッシュの運動ニューロン軸索も異常に分岐することから、生体内における *Fos-B* の機能の重要性も示した。また *Fos-B* の抑制により、*FUS* 変異を有する運動ニューロン軸索の形態を改善できることを示した。

考 察

本研究成果により、従来検討が困難であったヒトの運動ニューロンの軸索の解析を可能とした。この技術は ALS 以外の神経変性疾患へも応用可能な技術基盤となりえる。また、運動ニューロン変性は軸索から始まるため、*Fos-B* は ALS の早期治療標的として期待される。さらに、*Fos-B* による軸索形態変化への影響は神経発生・再生メカニズムを解明する上でも重要と考えられる。

謝 辞

多大なご指導を賜りました東北大学神経内科の青木正志教授、鈴木直輝助教、割田仁院内講師、また、iPS 細胞培養・技術指導を行っていただきました慶應義塾大学生理学教室の岡野栄之教授、石川充特任助教、RNA シーケンスを行っていただきました東北大学細胞増殖制御分野の舟山亮助教をはじめ、共同研究者の先生方に厚く感謝申し上げます。

文 献

Akiyama, T., Suzuki, N., Ishikawa, M., et al. (2019) Aberrant axon branching via Fos-B dysregulation in *FUS*-ALS motor neurons. *EBioMedicine*, 45, 362-378.

—— Falling Walls Lab Sendai 2019 最優秀賞 ——



Breaking the wall of Cognitive Brain Mapping

柿 沼 一 雄

東北大学大学院医学系研究科 高次機能障害学分野

難治性てんかんの患者では、治療として脳の部分切除が選択肢となることがある。しかし脳の切除には失語をはじめとした後遺症のリスクも伴う。ゆえに機能領域の正確な予測は、手術適応を決める際の重要な要因となる。

言語の側性を調べる古典的検査として、Wadaテストと呼ばれる検査手技がある。これは一側の内頸動脈から短時間作用型麻酔薬（かつてはアモバルビタル、現在はプロポフォール）を注入し、左右どちら側へ注入した時に言語障害を生じたかによって言語優位側を判定するものである。我々はこの検査手技を発展させ、従来のWadaテストよりも末梢へカテーテル先端を誘導し、中大脳動脈や後大脳動脈、さらにその分枝へと選択的にプロポフォールを投与する選択的Wadaテストを考案した。これにより、ごく限られた領域の脳機能を一時的に抑制し、その症状を詳細に評価することが可能となった。

提示する症例は38歳の左利き男性で、15歳の頃から意識減損を伴う焦点性発作を繰り返していた。発作焦点が左側頭葉の良性腫瘍の近傍であることは以前から指摘されていたが、左側頭葉の広範な切除は言語障害を生じる可能性が高く、外科切除は見送られてきた。しかし、薬剤による治療が困難で認知機能低下も疑われることから、当院で手術適応を再評価することとなった。当院の検査では頭部MRI上で左側頭葉に胚芽異形成性神経上皮腫瘍が認められ（図1-A）、脳波所見も左側頭葉起始の焦点性てんかんを支持するものだった。

選択的Wadaテストでは、右中大脳動脈下行枝（図1-B, C）への注入で、言語理解が不能となり流暢で意味の通らない発話を繰り返す失語（ウェルニッケ失語）が生じ、右中大脳動脈上行枝（図1-B, D）への注入では、言語の聴理解が保たれたまま発話が障害される失語（ブローカ失語）が生じた。一方で、左中大脳動脈領域への注入では軽微な呼称障害・書字障害を生じたのみであった。したがって、本例の言語優位半球は右側で、その言語機能分布は、典型的な健常人の左半球の言語分布の鏡像であることが分かった。また、海馬を灌流する後大脳動脈への注入では、右側のみで明らかな記憶低下を認め、左海馬の記憶への寄与は比較的小さいことが推察された。

選択的Wadaテストの結果から右言語優位が確定し、左側頭葉への頭蓋内電極留置による評価を経て、左側頭葉の

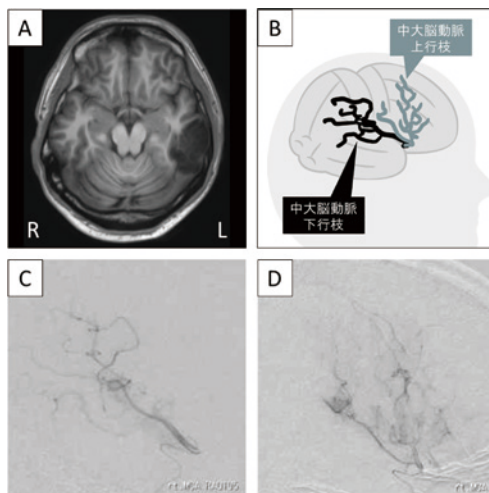


図1. A: T-1 weighted imaging で描出された左側頭葉の胚芽異形成性神経上皮腫瘍. B: 中大脳動脈の上行枝および下行枝のシェーマ. C: 中大脳動脈下行枝を造影した右側面像. D: 中大脳動脈上行枝を造影した右側面像.

てんかん焦点の切除を行った。切除後は1年以上に渡って発作の再発なく経過している。術後1年時点での認知機能は術前に比べて改善し、言語性知能指数は88から99、総知能指数で81から104へと向上していた。記憶検査の各指標も全て改善を示していた。

本症例では、選択的Wadaテストにより、左側頭葉の切除で生じる言語・記憶の機能低下は少ないことを予測して手術に臨むことが出来た。このように選択的Wadaテストは、単なる機能側性化の判定のみでなく、領域選択的な機能評価を可能にする。機能的に重要と考えられる部位に病巣があり、これまで手術困難と判断されてきた例でも、選択的Wada検査で個人毎の機能分布を明らかにすることにより手術が可能になる場合がある。

謝 辞

本研究は脳神経外科、てんかん科との共同研究として行われました。脳神経外科の大沢伸一郎先生をはじめとする関係諸先生方に深謝いたします。

— 長陵医学振興会 医学研究奨励賞 —



赤血球造血因子産生細胞の性状解析による 慢性腎臓病の分子病態解明

鈴木 教 郎

東北大学大学院医学系研究科 附属創生応用医学研究センター酸素医学分野

慢性腎臓病 (CKD) は本邦の成人の 8 人に 1 人という高頻度で罹患する疾患であり、国民医療費高騰の主因となっている。しかし、分子病態が解明されておらず、有効な治療法が確立されていない。CKD の原因や症状は様々であるが、共通して尿細管間質に筋線維芽細胞が充満することにより、腎線維化が進行する。また、腎臓は赤血球造血因子エリスロポエチン (erythropoietin: EPO) の産生臓器でもあるため、CKD は頻繁に EPO 欠乏性の貧血を併発する。筆者らは、腎臓間質で EPO 産生を担う線維芽細胞を「REP 細胞 (Renal EPO-Producing cell)」と命名し^{1,2)}、その性状解析を進めている。これまでに、CKD では REP 細胞が筋線維芽細胞に形質転換し、腎線維化を進行させると同時に EPO 産生能を失うことを見出した³⁾。また、形質転換した REP 細胞は、病態環境の改善により再び本来の性質を取り戻すことを発見した³⁾。したがって、REP 細胞は CKD で問題となる腎線維化と腎性貧血に中心的に関与する細胞であり、REP 細胞の理解は CKD 病態解明に直結する。

適切な REP 細胞のマーカー分子などが同定されていないため、REP 細胞の単離解析には、筆者らが作出した EPO 遺伝子発現のレポーターマウスを利用する必要がある^{4,5)}。しかし、REP 細胞は数が少ないうえに脆弱であり、レポーターマウス腎臓から単離できる REP 細胞が非常に少ないために、分子生物学手法による詳細な性状解析は困難であった。そこで、REP 細胞を効率よく増殖させる培養方法を検討したところ、単離せずに尿管や血管などの腎臓由来の細胞と 1 週間ほど共培養することが生体外での REP 細胞の生存と増殖に有効であることがわかった⁶⁾。また、共培養中の REP 細胞にがん遺伝子である変異型 *HRAS* を強制発現したところ、マウス REP 細胞由来の細胞株「Replic 細胞」の樹立に成功した⁶⁾。

次に、Replic 細胞の解析を進めたところ、REP 細胞と筋線維芽細胞の性質を併せ持っており、EPO 産生能を喪失していることが判明し、Replic 細胞は REP 細胞が培養中に筋線維芽細胞に形質転換した細胞であることがわかった。そこで、Replic 細胞を用いて REP 細胞の形質転換機構を解析した。その結果、Replic 細胞は自身が分泌する TGFβ によって筋線維芽細胞の形質を維持していることが明らかとなった。実際に、TGFβ は臓器線維化を促進させることが知られており、TGFβ シグナル阻害剤が Replic 細胞の線維化関連遺伝子の発現を抑制した⁹⁾。また、EPO 遺伝子転写開始点周囲の DNA がメチル化修飾されていることにより、Replic 細胞では EPO 遺伝子発現が恒常的に抑制されていることを発見した。

REP 細胞における EPO 遺伝子発現制御機構を解析したところ、低酸素誘導性因子 HIF2α が主要な転写活性化因子として同定された^{7,8)}。Replic 細胞では、HIF2α の遺伝子領域も DNA メチル化を受けており、HIF2α 発現は mRNA レベルで検出されなかった⁶⁾。したがって、筋線維芽細胞では、EPO および HIF2α の遺伝子領域が特異的にメチル化されることにより、EPO 産生能が

失われることがわかった。HIF 因子群 (Hypoxia-inducible factors) のタンパク質安定性を増強し、腎 EPO 産生を誘導する薬剤が昨年より腎性貧血治療薬として利用されている。しかし、Replic 細胞では HIF2α の遺伝子発現が消失しているうえに、EPO 遺伝子領域もメチル化により不活性化されているために、HIF 安定化剤が EPO 産生誘導効果を示さなかった⁶⁾。この結果は、HIF 安定化剤が線維化腎からの EPO 産生を誘導するという臨床試験の結果と矛盾する。そこで、マウスを用いた解析を行ったところ、線維化腎には形質転換の進行度が様々な筋線維芽細胞が混在しており、HIF 安定化剤は軽度に形質転換した細胞で効果を発揮することがわかった^{6,9)}。また、Replic 細胞は REP 細胞の筋線維芽細胞への形質転換が比較的進行した細胞に相当することが示された。以上の研究成果により、腎線維化における REP 細胞の筋線維芽細胞への段階的形質転換とそれに伴う EPO 産生能喪失機序が明らかとなった。

文 献

- 1) Suzuki, N. (2015) Erythropoietin gene expression : developmental-stage specificity, cell-type specificity, and hypoxia inducibility. *Tohoku J. Exp. Med.*, **235**, 233-240.
- 2) Suzuki, N. and Yamamoto, M. (2016) Roles of renal erythropoietin-producing (REP) cells in the maintenance of systemic oxygen homeostasis. *Pflugers Arch.*, **468**, 3-12.
- 3) Souma, T, Yamazaki, S., Moriguchi, T., et al. (2013) Plasticity of renal erythropoietin-producing cells governs fibrosis. *J. Am. Soc. Nephrol.*, **24**, 1599-1616.
- 4) Yamazaki, S., Souma, T., Hirano, I., et al. (2013) A mouse model of adult-onset anaemia due to erythropoietin deficiency. *Nat. Commun.*, **4**, 1950.
- 5) Suzuki, N., Hirano, I., Pan, X., et al. (2013) Erythropoietin production in neuroepithelial and neural crest cells during primitive erythropoiesis. *Nat. Commun.*, **4**, 2902.
- 6) Sato, K., Hirano, I., Sekine, H., et al. (2019) An immortalized cell line derived from renal erythropoietin-producing (REP) cells demonstrates their potential to transform into myofibroblasts. *Sci. Rep.*, **9**, 11254.
- 7) Souma, T., Nezu, M., Nakano, D., et al. (2015) Erythropoietin synthesis in renal myofibroblasts is restored by activation of hypoxia signaling. *J. Am. Soc. Nephrol.*, **27**, 428-438.
- 8) Suzuki, N., Matsuo-Tezuka, Y., Sasaki, Y., et al. (2018) Iron attenuates erythropoietin production by decreasing HIF2α concentrations in renal interstitial fibroblasts. *Kidney Int.*, **94**, 900-911.
- 9) Sato, K., Kumagai, N. and Suzuki, N. (2019) Alteration of the DNA methylation signature of renal erythropoietin-producing cells governs the sensitivity to drugs targeting the hypoxia-response pathway in kidney disease progression. *Front. Genet.*, **10**, 1134.

— 第 43 回日本鉄バイオサイエンス学会 学術奨励賞 —



High Resolution Melting 解析による 簡易 *SF3B1* 遺伝子変異スクリーニング法の確立

鈴木 千 恵

東北大学大学院医学系研究科 血液免疫病学分野

背 景

環状鉄芽球を伴う骨髄異形成症候群 (MDS-RS) は、特異的かつ高頻度に *SF3B1* 遺伝子変異を認める¹⁾。WHO 分類第 4 版 2017 年改訂では、環状鉄芽球算定に加えて *SF3B1* 遺伝子変異検査が推奨されているものの、複数 exon の変異検索を要するために臨床検査として普及していないのが現状である。High Resolution Melting (HRM) 解析は、二本鎖特異的な飽和型蛍光色素を用いることで、プライマー間の多様な遺伝子変異をスクリーニングする遺伝子解析技術であり、一般的な定量 PCR 装置と HRM 解析ソフトにより実施可能である。今回我々は、genomicDNA (gDNA) を用いた HRM 解析による *SF3B1* 遺伝子変異の簡易スクリーニング方法を構築したので報告する。

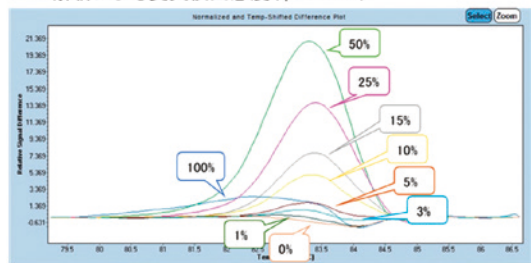
方 法

HRM 解析には、High Resolution Melting Master (Roche) と Light Cycler 480II (Roche) を使用した。既報の *SF3B1* 遺伝子変異の約 80% を網羅する exon14 および exon15 について 3 組のプライマーを設計した。まず、野生型プラスミドと変異型プラスミド (p.E622D, p.R625L, p.K666R, p.K666N, p.H662Q, p.K700E) の混和サンプル (変異 100%, 50%, 25%, 15%, 10%, 5%, 3%, 1%, 0%) を作成し、HRM 解析による変異検出感度を検討した。次に、MDS 16 症例の末梢血、骨髄血、カルノア固定液から抽出した gDNA について、HRM 解析による *SF3B1* 遺伝子変異スクリーニングとダイレクトシーケンス解析を行い、2 法の結果を比較した。

結 果

HRM 解析の検出感度は、いずれの変異プラスミドについても *SF3B1* 遺伝子変異が 5% 以上含まれている場合に変異陽性と判定可能であった。MDS 16 例について HRM 解析を実施した結果、7 例 (MDS-SLD 1 例, MDS-RS-SLD 5 例, MDS-RS-MLD 1 例) が変異スクリーニング陽性であった。シーケンス解析の結果、p.R625L, p.H662Q, p.H662Y, p.K666T が各 1 例, p.K700E は 3 例であった。また、HRM 解析により *SF3B1* 遺伝子変異陰性と判定した症例は、シーケンス解析においても変異を認めず、2 法の結果は一致していた。

HRM解析による変異検出感度 (p.K700E)



考 察

HRM 解析の変異検出感度は良好で、スクリーニングによる変異有無とシーケンス解析結果は一致していた。水田らは、相補的 DNA を用いた HRM 解析が有用であると報告している²⁾。今回、gDNA を使用することでカルノア固定液からの変異検索も可能であり、検査簡略化にも繋がった。臨床検査として *SF3B1* 遺伝子変異検査を行う場合、HRM 解析を用いることでシーケンス解析の対象症例や対象領域を絞り込むことが可能であると示唆された。

謝 辞

大学院生として学ぶ機会を与えて頂き、興味深い研究テーマと丁寧な御指導を賜りました張替秀郎先生、藤原亨先生をはじめとした東北大学大学院医学系研究科・血液免疫病学分野の先生方、本研究にご協力頂いた東北大学病院検査部の皆様へ厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Papaemmanuil, E., Cazzola, M., Boulton, J., et al. (2011) Somatic *SF3B1* mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N. Engl. J. Med.*, **365**(15), 1384-1395.
- 2) Mizuta, S., Yamane, N., Komai, T., et al. (2018) Evaluation of *SF3B1* Mutation Screening by High-Resolution Melting Analysis and its Clinical Utility for Myelodysplastic Syndrome with Ring Sideroblasts at the Point of Diagnosis. *Laboratory Medicine*, **00**, 1-9.



転写因子 BACH1 による フェロトーシス促進ネットワークと フェロトーシス細胞由来抗老化シグナルモデル

西 澤 弘 成

生物化学分野

フェロトーシスは近年、新規に報告されたネクローシス様の制御性細胞死である。フェロトーシスでは、自由鉄を介して細胞膜やオルガネラ膜のリン脂質が酸化され、脂質ヒドロキシラジカルが蓄積することで細胞が死に至る。この脂質過酸化はグルタチオンにより抑制されることが知られている。筆者たちは、転写因子 BACH1 がグルタチオン合成経路と自由鉄の代謝に関わる遺伝子群を転写抑制することでフェロトーシスを促進することを見出した (Nishizawa, H., et al. (2020) *J. Biol. Chem.*, **295**, 69-82)。本稿では、その研究結果と今後の研究展望について報告する。

マウス胎仔線維芽細胞 (MEFs) を用いたトランスクリプトーム解析によって、フェロトーシス時にはグルタチオン合成経路と鉄代謝に関わる一連の遺伝子群の発現が大きく上昇することが分かった。これらの遺伝子群には、グルタチオン合成の材料となるシスチンのトランスポーター (*Slc7a11*)、グルタチオン合成経路の律速酵素 (*Gclm*, *Gclc*)、フェリチン (*Fth1*, *Ftl1*)、自由鉄のトランスポーター (*Slc40a1*) などが含まれる。これらはいずれも転写因子 BACH1 の標的遺伝子であり、フェロトーシス誘導時にはこれらの遺伝子の発現上昇と合わせて、BACH1 が分解されることが分かった。このことから、フェロトーシス誘導時には、BACH1 が分解されることでこれらの防御因子の転写が活性化されると考えられた。逆に、BACH1 はこれらの防御因子の転写を抑制することでフェロトーシスを促進すると考えられた (図 1. BACH1 によるフェロトーシス促進ネットワーク)。

その後、*Bach1* ノックアウトマウス由来の MEFs は野生型マウス由来の MEFs に比べて、フェロトーシスに抵抗性があり、BACH1 がフェロトーシスを促進することが実際に示された。

一方、BACH1 には細胞老化の抑制能があることが分かっており、BACH1 がフェロトーシスを介して細胞老化に影響を及ぼすか調べたところ、フェロトーシス細胞由来の培養上清には他細胞の老化関連 β ガラクトシダーゼ (SA- β -gal) を低下させる性質があること

が分かった。この SA- β -gal の低下が真に細胞老化抑制を示しているかどうかは現在検証中であるが、フェロトーシス細胞由来の培養上清には老化抑制物質が含まれる可能性がある。そこで、筆者たちは、BACH1 が生体内でフェロトーシスを誘導することで老化抑制物質を分泌させ、細胞老化、肥満、短命などの老化関連形質を抑制するのではないかと考えた (図 2. フェロトーシス細胞由来抗老化シグナルモデル)。本研究助成を受け、この検証に取り組んでいる。

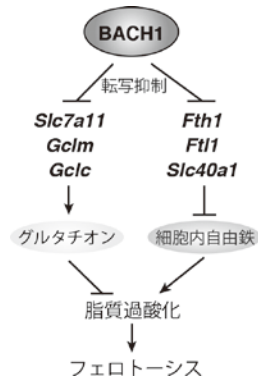
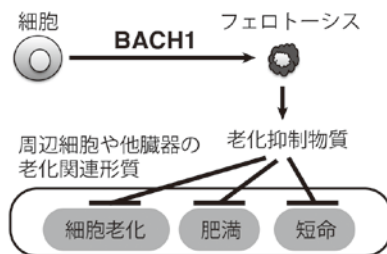


図 1. BACH1 によるフェロトーシス促進ネットワーク



BACH1 が細胞においてフェロトーシスを促進し、老化抑制物質が分泌されることで細胞老化や肥満などの老化関連形質が抑えられる。

図 2. フェロトーシス細胞由来抗老化シグナルモデル



早期胃癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術後 出血リスクスコアリングシステムの 開発に関する研究

A risk-scoring system for predicting bleeding after endoscopic
submucosal dissection for early gastric cancers

八 田 和 久

消化器内科

早期胃癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) は広く行われているが、その最も頻度の高い偶発症の一つとして ESD 後出血が 5% 程度に認められる。その原因としては、抗血栓薬服用、末期腎不全や病変径など様々な因子が関わっており、これらを複合的に評価して出血リスクの重みづけを含めた評価をする必要がある。そこで本研究では、早期胃癌 ESD 後出血リスクスコアリングシステムを開発することを目的とした。

本研究は、2013 年～2016 年に早期胃癌 ESD を行い、28 日以上経過を追えた症例を対象とし、出血リスクスコアリングシステム (出血予測モデル) を作成するための derivation cohort (東北以外の本州、25 施設 8,291 例) とそれを確認する validation cohort (北海道・東北・四国・九州、8 施設 2,029 例) からなる。

derivation cohort となる地域の対象症例に対して、ESD 後出血関連因子として、年齢、性別、基礎疾患、内視鏡的萎縮、抗血栓薬、病変側因子、治療関連因子など 23 因子を多変量ロジスティック回帰分析にて解析する。統計学的に有意となった因子の β 回帰係数を用いて点数の重みづけを行い、出血リスクスコアリングシステム (BEST-J score) を作成する。

本研究は、エビデンスレベルの高い予測モデル作成とするためにいくつか作成方法に特徴があるが、そのうちの 2 つを以下に記載する。第一に、予測モデルを行うための指針である TRIPOD ガイドラインに準拠して行われる。具体的には、モデルの derivation, internal validation, external validation の 3 つのステップを踏んでおり、derivation にて BEST-J score を作成し、そのモデルの internal validation として bootstrap 法を行う。さらに、BEST-J score の真の妥当性を明

らかにするために、derivation cohort とは別の地域の患者群である validation cohort にて external validation を行う。

第二に、良好な予測モデルを作成するための指針にも従い、研究を遂行する。具体的には、識別能、較正 (calibration)、臨床的有用性の解析である。derivation では識別能として *c*-statistics による解析を行い、この値が 0.70 以上であれば良好なモデルと判定する。また、臨床的有用性として decision curve analysis による net benefit の解析を行い、本モデルの臨床的有用性を判定する。さらに validation cohort では *c*-statistics の他に calibration-in-the-large, calibration slope による較正 (予測モデルによる出血率が実際の出血率を反映しているかの指標) を行い、良好なモデルであるかを判定する。

現在上記解析を行い論文投稿中のため結果記載はできないが^(*)、後方視的研究とは言え rigid な方法による予測モデル作成であることから BEST-J score は信頼性の高いモデルであると考えられる。さらに、BEST-J score が完成した際には、これを簡単に計算できるアプリも開発する予定であり、BEST-J score は日常臨床での一助となりうるものと予測している。

さらに同研究では、早期胃癌 ESD 前後での血栓塞栓症の発症頻度、早期出血・後期出血それぞれでの関連因子の解析など様々な副次的解析を行っていく予定であり、大規模コホートから更なる知見が得られることが期待される。

*その後、本論文は Gut 誌に accept された (Hatta W, Tsuji Y, Yoshio T, et al. A prediction model of bleeding after endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer: BESTJ score. Gut 2020 [Epub ahead of print]).



ラット術後悪心嘔吐モデルにおける デクスメトミジンの効果

杉野 繁一

麻酔科学・周術期医学

はじめに

私の研究テーマの1つは、全身麻酔のつらい合併症である術後悪心嘔吐 (PONV) の脳内機序を探ることである。なぜこれが重要なのかというと、PONVの詳しい機序が判れば、麻酔管理や術後管理がより精緻なものになるに違いないし、脳という臓器の謎の深淵に迫れるかもしれないし、なにより新しい制吐薬の開発に繋がると思われるからである。

生来、嘔吐行動を起こさない齧歯類を用いた基礎研究では、陶土 (カオリン) の異食が代替行動として、これまで研究されてきた。今回、われわれはこの異食行動実験と分子生物学的実験を用いて静脈麻酔薬デクスメトミジン (DEX) の制吐作用の可能性に着目した。本研究は論文投稿中のため、一部のデータを文中に公開していない。

方法と結果

実験1) ラットPONV行動モデルの確立

雌性Wister系ラット (N=71, 9-13週齢, 140-180g) を用いた。4% イソフルラン吸入, 下腹部の正中切開・縫合, モルヒネ皮下投与 (3 mg/kg) を行い (ラットPONVモデル), 麻酔覚醒後のカオリンの異食量を12時間測定した。陰性対照を5群, 陽性対照 (シスプラチン投与) を1群設定した。重回帰分析ではモルヒネ投与が異食を対照より2.8 g増加させることが示された (95% 信頼区間 1.4-4.1 g, $p = 0.0002$)。

実験2) 延髄孤束核のトランスクリプトーム解析

次に異食量の測定後のラットから抜脳し, ヒトでは嘔吐中枢である孤束核から全量RNAを抽出した。次世代DNAシーケンサーを用いて全発現遺伝子の解析 (トランスクリプトーム解析) を行った。30,177個の遺伝子発現レベルが明らかになった。遺伝子発現の変動が大きかったトップ8つの遺伝子についてパスウェイ解析で生物学的パスウェイを探索した。異食で発現が減少したTh, Dbh, Slc6a2遺伝子がカテコールアミン合成経路やノルアドレナリンの濃度と強く関連することを突き止めた。

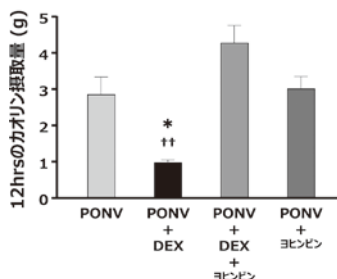
実験3) 孤束核での遺伝子・タンパク発現の検証

ラットPONVモデルでTh, Dbh, Slc6a2遺伝子の発現が孤束核で減少していることを確認した。さらに3遺伝子が翻訳するタンパクの発現はウエスタンブロットではチロシン脱水素酵素 (TH) とドーパミン脱水素酵素 (DBH) の2つがPONVモデルで減少していた。

実験4) DEXを用いたカオリン異食行動実験

THとDBHはカテコールアミン合成経路の酵素であるため, 孤束核ニューロンで, モルヒネなどの嘔吐刺激によりノルアドレナリンの産生が増加すると推論された。そこでわれわれは神経終末でノルアドレナリン放出を抑制するDEXを用いれば, PONVモデルで異食行動を抑制できると予想した。図に結果を示す (N=25)。

静脈麻酔薬DEX (α_2 作動薬)とヨヒンビン (α_2 拮抗薬)の効果



ラットPONVモデルではDEX投与 (25 μ g/kg IP)によりカオリン異食量が減少した。この異食減少はヨヒンビン投与 (2mg/kg IP)で消失した。*, $p < 0.05$ vs. PONV; † †, $p < 0.01$ vs. PONV+DEX+ヨヒンビン

結 語

われわれはカオリン異食を利用したラットPONVモデルを確立した。静脈麻酔薬DEXはカオリン異食を抑制したので, PONVに対する制吐薬として利用できる可能性があると思われる。

謝 辞

一緒に研究を遂行した紺野大輔助教 (集中治療部), 鈴木潤大学院生 (麻酔科), 阿部純子先生 (県南中核病院麻酔科) に深謝する。また, 日夜, 温かくも真摯な指導を頂いている山内正憲教授 (麻酔科学・周術期医学) には, この場を借りて最大の感謝を申し上げたい。



人工胎盤管理下におけるヒツジ胎仔の 心機能メンテナンス

熊谷 祐 作

東北大学 周産母子センター

研究概要

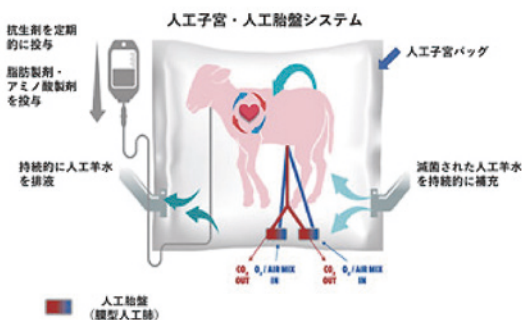
当研究室では人工胎盤研究を行っている。これは、ヒツジ胎仔を帝王切開にて娩出し臍帯動/静脈それぞれにカテーテルを挿入し、ガス交換を行う人工胎盤＝膜型肺を含めた回路全体を胎仔心臓の駆動によってのみ循環させ、子宮外で胎仔を生育させる研究である(下記に参考図)。この研究結果がヒトへ応用可能となれば、現行の新生児管理ではほぼ必発の人工換気による肺損傷を防ぎながら胎児の成長を期することが可能となるため、実現可能な「未来の医療」として期待される。動物実験レベルでも、生来の胎盤を使わずにモニタ管理下で研究を行えるため、新しい胎仔生理学研究の礎となる発展性を有している。本研究は2017年から2018年にかけて、人工胎盤管理下の胎仔に対し、超音波を用いた心機能検査を行ったものであり、その結果を報告する。

目 的

本研究の目的は、人工胎盤接続時に臍帯血管へ留置されたカテーテル径を拡大することが、胎児の循環と心機能にどのような影響を与えるかを、超音波検査を用いて評価することである。

方 法

研究には日齢 115 ± 3 日(満期は147日)のヒツジ



参考図. 人工子宮・人工胎盤システムのスキーム

胎仔 ($n=15$) を用いた。胎仔は臍帯動脈に8Frを留置した8Fr群 ($n=5$)、10Frを留置した10Fr群 ($n=5$)、胎仔娩出せず妊娠継続したcontrol ($n=5$)の3群に分けた。手術をした全てのヒツジ胎仔の臍帯静脈には10Frのカテーテルを留置した。胎仔循環(動脈管を通過する血流の方向)と胎仔心機能は超音波検査を用いて手術直後から4日間測定した。またcontrolの母獣胎仔に対しても同日から同様の検査を行った。心機能評価項目は、MV-E/A: Early and late diastolic filling ratio of mitral valve, TV-E/A: Early and late diastolic filling ratio of tricuspid valve, PLI: Pre-load index of inferior vena cava, MPI: Left myocardial performance index (Tei-index), Ao-Vmax: Maximum systolic velocity of descending aortaの5項目とした。一元配置分散分析とテューキーのHSD (honestly significant difference) 検定を用いて解析した。

結 果

動脈管の血流はcontrol群を含めて全てにおいて、右から左の順行性であった。術直後には、MV-E/A, TV-E/A, PLIにおいて、8Fr群は10Fr群及びcontrolより有意に高値だった。MPIにおいて8Fr群と10Fr群は共にcontrolに比べて有意に高く、Ao-Vmaxにおいて有意に低く、両計測項目とも8Fr群の方がより著しかった。これらの有意な変化はTV-E/Aにて3日間、PLIにて4日間遷延した。MV-E/A, MPI, Ao-Vmaxでは手術翌日よりcontrolと有意差を認めなかった。

結 論

人工胎盤管理下では手術当日に心機能に大きな影響を与えたが、術後1日目より心機能の一部に改善が見られた。8Fr群の方が10Fr群より胎仔心に対する前負荷所見と後負荷所見が有意に悪化したことから、カテーテル径を拡大することで心負荷が改善しようと思われた。10Fr群における心機能においても、母獣子宮内の胎仔よりはまだ負荷が大きいいため、ヒトへの応用のために、さらなるシステム改良が必要であると思われた。



大脳皮質発生過程の神経幹細胞内 mRNA 輸送機構の研究

吉 川 貴 子

東北大学大学院医学系研究科 発生発達神経科学分野

背 景

進化の過程でもっとも拡大・複雑化した大脳皮質の形成過程では、放射状グリア (radial glia; RG) 細胞と呼ばれる神経幹細胞が予め決められたタイミングで増殖・分化し、多様な神経細胞が産生される。哺乳類の RG 細胞は脳表面 (基底膜側) まで長い放射状の突起を伸ばしており、基底膜側突起を受け継いだ娘細胞は未分化を維持した神経幹細胞となる。この過程は RG 細胞内の複雑な分子機構によって制御されている¹⁾。我々は、細胞周期の G1 期から S 期への移行を促進する CyclinD2 の mRNA およびタンパク質が、基底膜側突起の先端部に集積することを発見した²⁾。このような特異的な集積を引き起こすためには、核で転写された mRNA が突起の中を基底膜側まで長距離輸送される必要がある。この mRNA 輸送に必要な 3'UTR 領域に存在する認識配列を同定した²⁾。しかしながら、RG 細胞内の CyclinD2 mRNA 輸送が大脳皮質構築に影響を与えているのかは未だ明らかになっていない。

方法・結果

本研究では、CRISPR/Cas9 法により CyclinD2 mRNA の輸送配列を特異的に欠損するマウスを作製した。具体的には、① 輸送配列の様々な部位に sgRNA を設計して、数塩基単位で輸送配列を欠損させた系統 (系統 1, 系統 2) と、② 輸送配列の両端に sgRNA を設計し、輸送配列全体を欠損させた系統 (系統 3) を作製した。まずは、これらの F0 世代の CyclinD2 mRNA 局在を *in situ* hybridization 法により観察し、CyclinD2 mRNA 輸送に影響が認められる系統をスクリーニングした。その結果、輸送配列の一部が欠損した系統 (系統 1, 系統 2) の CyclinD2 mRNA は基底膜側で正常な集積を示すのに対し、輸送配列全長が欠損した系統 (系統 3) では基底膜側における集積が消失していた。この結果から、実験発生的アプロー

チにより同定していた輸送配列全長が、生体の RG 細胞内 CyclinD2 mRNA 輸送に重要であることが明らかとなった。

一般的にゲノム編集後の F0 世代ではモザイク率が高いことから、目的の変異を有する F1 世代以降の系統 3 で CyclinD2 mRNA の局在を詳細に解析したところ、RG 細胞の基底膜突起先端部でその集積が消失していることに加え、RG 細胞の細胞体が存在する脳室帯で発現量が増加することから、CyclinD2 mRNA の輸送が阻害されたと考えられる。さらに、大脳皮質構築が完成する生後のマウスで解析を行い、系統 3 において大脳皮質の厚みが層特異的に減少するという結果を見いだした。この結果から、RG 細胞の CyclinD2 mRNA 輸送が大脳皮質構築に必須である可能性が示唆された。

考 察

胎生期大脳皮質原基の RG 細胞の基底膜突起内 Cyclin D2 mRNA 輸送は、きわめて特異的な 3'UTR 領域に依存し、この mRNA 輸送が胎生期の脳皮質形成に重要である可能性がある。本研究は、独自に見いだした CyclinD2 の mRNA 輸送機構を起点として、これまでに考慮されてこなかった神経幹細胞内の mRNA 細胞内局在制御による機能発現にアプローチできた点で大きな意義がある。

文 献

- 1) Tsunekawa, Y., Kikkawa, T. and Osumi, N. (2014) Asymmetric inheritance of Cyclin D2 maintains proliferative neural stem/progenitor cells: a critical event in brain development and evolution. *Dev. Growth Differ.*, **56**, 349-357.
- 2) Tsunekawa, Y., Britto, J.M., Takahashi, M., et al. (2012) Cyclin D2 in the basal process of neural progenitors is linked to non-equivalent cell fates. *EMBO J.*, **31**, 1879-1892.



Convection-Enhanced Delivery of Nimustine Hydrochloride for Recurrent Spinal Cord High-grade Glioma

遠藤 俊毅

東北大学 脳神経外科

はじめに

退形成性星細胞腫や膠芽腫などの脊髄悪性神経膠腫は、脊髄腫瘍の約10%を占める。しばしば急速な神経症状の増悪を引き起こし、その生命予後は約1から2年と不良である。脊髄悪性神経膠腫に対する現在の治療法は、外科的切除と術後局所放射線および全身化学療法である。しかし、悪性神経膠腫は腫瘍周囲の正常脊髄組織にびまん性に浸潤するため、その外科的切除は技術的に困難である。つまり、境界が不明瞭であるため、より確実な腫瘍摘出を行おうとすると脊髄神経機能温存には不利となり、一方、神経機能温存を優先すると、腫瘍摘出率が低下する。さらに、本疾患の希少性のため、放射線化学療法の標準プロトコルやその効果は確立されていない。

そこで我々は、脊髄腫瘍内に抗腫瘍薬を確実に送達することで治療効果を高めることを想起した。本研究において使用した抗腫瘍薬は塩酸ニムスチン (ACNU) である。ACNUは脳での悪性神経膠腫で使用され、全身投与による臨床効果が確立していた薬剤の一つであったためである。

そして、そのACNUを脊髄腫瘍内に確実に届けるためにConvection Enhanced Delivery法 (以下CED法) を用いた。たとえば薬剤を全身投与する場合、脊髄/血液関門の存在により、標的とする脊髄に十分な薬剤が到達しない可能性がある。しかし、CED法を用いると直接、目的とする脊髄の部位への薬剤送達が可能となり確実である。さらに、CED法は薬剤を長時間かけて圧入することで、逆流することなく、脊髄の間質腔隙を介して薬剤を分布させることができる。薬剤の濃度ならびに総投与量は全身投与の場合に比べ低くおさえられるため、全身合併症のリスクはほとんどない。

我々は、これまでに、正常ラット脊髄におけるCED法を行い、その技術を確立し報告した (文献1)。さらに、実験的脊髄神経膠腫モデルを作成し、ACNUのCEDの効果を確認した。ACNU CED法により脊髄腫瘍の成長が抑制され、脊髄神経機能が温存でき、さらに生存率向上が達成されることを示したのである (文献2)。本報告ではACNU CED法をはじめて臨床応用し、脊髄悪性神経膠腫症例の治療を行った結果をしめすものである (東北大学病院倫理委員会承認)。

症 例

今回報告したのは、ACNU CEDをもちいて最初に治療した、再発脊髄悪性神経膠腫の2症例である。いずれも、手術治療、その後の放射線化学療法を行ったにもかかわらず再発した症例である。一例は退形成性星細胞腫と診断 (後に膠芽腫) された20歳の男性、もう一例は膠芽腫と診断

の54歳男性である。いずれの症例でも有害事象なく、安全確実に薬剤 (ACNU) を脊髄腫瘍の存在する脊髄腫瘍内に送達することができた。その結果、造影MRIにて描出されていた再発脊髄腫瘍の劇的な退縮が達成されたのである (文献3)。さらにその後、症例1はCED後36ヶ月生存、全生存期間は67ヶ月であった。症例2はCED後21ヶ月生存、全生存期間33ヶ月であり、生存期間延長という臨床効果を発揮した。

考察 / 結語

今回我々は脊髄悪性神経膠腫 臨床症例においてはじめてACNU CED法をもちいて治療を行い、その効果を示すことができた。もちろん、本方法は、2例で効果をしめしたにすぎず、今後更なる症例の蓄積が必要である。一方、治療方法のない希少悪性疾患に新規治療方法の適応を提案することができ、一定の評価を得ることができた。特に、手術による根治がのぞめない脊髄悪性神経膠腫をACNU CED法により退縮させ、病期の進行を遅らせることができれば、神経機能温存、生命期間延長に果たす役割は大きい。現在は脊髄神経膠腫の再発症例に限って行っているが、新規症例への応用拡大についても今後検討をすすめていく。もちろん、CED法により投与できる薬剤はACNUに限らない。脊髄腫瘍内への局所薬剤投与治療に一定の効果があることを示すことができれば、今後さらなる応用展開が期待できる。

最後に、脊髄CED法は脊髄腫瘍内の目的とする部位に薬剤を確実に送達させることができる方法である。脊髄腫瘍にかぎらない、多くの脊椎脊髄疾患への応用が期待される。

最後に、ご指導いただきました富永倜二教授、ならびに共同研究者の先生にこの場を借りて感謝申し上げます。

文 献

- 1) Endo, T., Fujii, Y., Sugiyama, S.I., et al. (2016) Properties of convective delivery in spinal cord gray matter : laboratory investigation and computational simulations. *J. Neurosurg. Spine*, **24** (2), 359-366.
- 2) Ogita, S., Endo, T., Sugiyama, S., et al. (2017) Convection-enhanced delivery of a hydrophilic nitrosourea ameliorates deficits and suppresses tumor growth in experimental spinal cord glioma models. *Acta Neurochir. (Wien)*, **159**, 939-946.
- 3) Endo, T., Inoue, T., Sugiyama, S.I., et al. (2020) Regression of recurrent spinal cord high-grade glioma after convection-enhanced delivery of nimustine hydrochloride : Case reports and literature review. *Operative Neurosurgery*, **18** (4), 451-459.

— 第 57 回日本癌治療学会優秀演題賞 —



膵神経内分泌腫瘍同時性肝転移における 外科的介入例の検討

Surgical intervention of synchronous hepatic metastasis in patients
with Pancreatic neuroendocrine neoplasm (PanNEN)

三浦 孝之¹⁾, 青木 豪¹⁾, 川口 桂¹⁾, 益田 邦洋¹⁾, 石田 晶玄¹⁾
水間 正道¹⁾, 大塚 英郎¹⁾, 森川 孝則¹⁾, 林 洋毅¹⁾, 中川 圭¹⁾
元井 冬彦¹⁾, 内藤 剛¹⁾, 亀井 尚¹⁾, 笹野 公伸²⁾, 海野 倫明¹⁾

¹⁾東北大学 消化器外科学, ²⁾東北大学 病理診断学

Abstract : Backgrounds and Aims : Limited data are available for pancreatic neuroendocrine neoplasm (PanNEN) with hepatic metastasis. Our aim was to evaluate the clinicopathologic characteristics, treatment, and prognosis of patients with synchronous hepatic metastasis of PanNEN. Patients and Methods : 139 consecutive cases of PanNEN who had pancreatectomy in Tohoku University Hospital between February 2002 and December 2018. A detailed review of the medical records of the patients was undertaken. Patient characteristics, perioperative factors, pathological findings, and prognosis were investigated. Results : Of the 139 PanNEN patients, 8 patients (5.7%) were diagnosed with synchronous hepatic metastasis at initial pancreatectomy for the primary site. The median age was 51 years old, the pathological findings (2017 WHO criteria) of the primary site were NETG2 ($n = 6$), NETG3 ($n = 2$), respectively. After the initial surgery, Somatostatin analogs was performed in 6 patients, everolimus in 2 and sunitinib in 2. TAE was performed in 2 patients. 5 patients were performed liver resection at the same time with pancreatectomy. 4 patients achieved R0 resection for liver metastasis, the 5 and 10-year OS were 100%. There were 4 patients who had R2 resection, the 5 and 10-year OS of the 4 patients was 100% and 50% respectively. Conclusion : Surgical intervention of synchronous hepatic metastasis of PanNEN seems to be feasible. R0 resection of the liver metastasis may yield better prognosis in PanNEN with synchronous liver metastasis compared to that R2 resection.

背景

膵神経内分泌腫瘍 (PanNEN) は肝転移が予後に影響すると考えられ, その治療選択に関しては議論が続いている. 今回我々は同時性肝転移を有する PanNEN の集学的治療について検討した.

方法

2000年2月~2018年12月に当科で膵切除術を施行した PanNEN 139例のうち, 初回手術時に同時性の肝転移を認めた8例 (5.7%) を対象とした.

結果

初回手術時年齢中央値 51歳, 男:女 5:3例, 術式 PD:DP:TP:核出 3:4:1:0, NET G1:G2:G3:NEC 0:6:2:0, 機能性:非機能性 0:8例, 肝転移単発:多発 1:7例であった. 肝転移単発症例は観察期間中に多発となった. 8例中5例は初回手術で肝切除を並施し, うち4例はR0切除であった. R0肝切除を行った4例は全て再び多発肝転移が出現したが, 再肝切除を施行し2例は現在まで画像上再発を認めていない. R0肝切除から肝転移再出現までの中央値は210 (99-356)日であった. 術後の全身化学療法, 補助療法は6例においてオクトレオチド, 4例にTS1, 2例にエベロリムス, 2例にスニチニブ, 1例にランレオチド, テモゾラミド, ゲムシタピン (重複あり) が行われていた. 肝動脈カテーテル治療は2例に行われた. 全症例の5年/10年生存率はそれぞれ100%/68.6%, R0切除群:R2切除群の10年生存率は100%:50% ($P=0.234$)であった.

考察

PanNEN 肝転移例は多くの症例で多発し, 切除を行っても高率に再発するものの再肝切除が予後延長に寄与する可能性が示唆された. 肝切除は侵襲が大きいため, 全身化学療法, 肝動脈カテーテル療法など行いつつ, 切除のタイミングを計ることが肝要と思われた.

—— 第 11 回国際 DOHaD 学会若手研究者優秀発表賞 ——

出生前母体ステロイド投与により子孫三世代の オス生殖細胞マイクロ RNA 発現が変動する： 父系形質伝達の機序解明に向けて



Prenatal Glucocorticoid Exposure Modifies Germ Cell MicroRNA Expression
in Adult Male Offspring across 3 Generations : Paternal Transmission

濱 田 裕 貴

東北大学医学部 産科学婦人科学教室

トロント大学医学部 生理学教室

はじめに

トロント大学(カナダ)留学中に行っていた研究成果を国際 DOHaD 学会(オーストラリア)にて口頭発表する機会を頂き、幸いにも優秀発表賞を受賞したので、ここに報告する。国際学会参加をトラベルアワードという形で支援いただいたカナダ DOHaD 学会、留学先の Stephen 研究室のメンバー、そして、留学に際し支援いただいた多くの方々に感謝したい。こうした経験を活かし、後輩への研究や留学の支援に努めたい。

背 景

満期前に出生する早産児は、未熟な状態で生まれるため様々なリスクを抱えている。早産率は世界的に増加しており、早産対策は国際的な喫緊課題に位置付けられる。出生前母体ステロイド投与は、児の肺を始め多くの臓器において成熟を促す効果があるとされており、早産の危険性がある妊婦に対し、この治療法は国際的に広く用いられている。一方で、長期的な安全性については不明瞭な部分が多く、脳神経発達学的な予後に影響を与えるという研究が、ヒト・動物モデルの両方で報告されている。以前、当研究室においてモルモットの動物モデルを用いた研究を行った結果、出生前母体ステロイド投与が、子孫三世代に渡りメス仔の神経行動学的な異常と脳前頭前皮質において遺伝子発現変化を引き起こすことが明らかとなった。興味深いことに、こうした変化は父系遺伝の形式で伝達されており、今回、この形質伝達の機序解明に向けた研究を行った。近年、オス生殖細胞に含まれるマイクロ RNA (mi-RNA) が、父系形質伝達に関与しているという報告が相次いでおり、本モデルにおいてもオス生殖細胞 miRNA の発現が三世代に渡って変化している、と仮説を立てた。

方 法

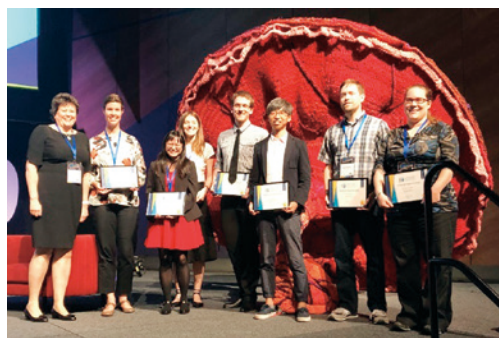
妊娠モルモットに、ヒト臨床で用いられているものと薬力学的に同価・同等量のステロイド剤(ベタメタゾン)または生食を三コース投与した。そのオス仔は、無治療のメスと交配し、以後同様にして三世代のオス仔を得、成体期に安楽死の後、検体採取を行った。冷凍保存された精巣より生殖細胞を精製し、miRNA マイクロアレイにて発現解析を行った。

結 果

生食を投与された系列に比し、出生前母体ステロイド投与された系列のオス子孫において、第一世代で 216、第二世代で 147、第三世代で 232 の miRNA に発現変化を認めた。各世代で発現変化を認めた miRNA 群は異なっており、概ね、第一世代では発現の低下、第二世代では発現の低下・上昇の両方向、第三世代では発現の上昇の傾向を認めた。一方で、三世代に渡り発現変化が同方向である miRNA も少ないながらも存在し、その一つが miR-125b であった。これらの miRNA は、脳神経内分泌的な機能や神経行動学に関与しているものとして知られている。

考 察

出生前母体ステロイド投与により子孫三世代のオス生殖細胞マイクロ RNA 発現が変動した。各世代において発現変化のパターンは異なる一方で、三世代で共通して変化する miRNA 群も存在した。これらの miRNA は、前頭前皮質で発現変化を受けていた遺伝子群の発現を制御していると知られている。出生前母体ステロイドの影響が父系遺伝形式で世代を越えて形質伝達される現象に、こうした miRNA 発現変化が関与していることが示唆された。一方で、miRNA が生殖細胞で発現変化を受け、世代を越えて伝わっていく機序解明については、さらなる研究が必要である。



巨大な胎盤のオブジェの前で授賞記念撮影
(筆者：右から三番目)

— 2019 年度 日本医師会医学研究奨励賞 —



難治性耳管開放症に対する 診断・治療に関する研究

池 田 怜 吉

東北大学 耳鼻咽喉・頭頸部外科

耳管開放症の診断

耳管の開放度は時々刻々に変化しうるデリケートなものであるため、症状が変動することが多く、感度・特異度ともに高い症状・検査所見が存在しない。そのため、世界的にも明確な診断基準案は存在しなかったが、最近、日本耳科学会から耳管開放症診断基準案 2016 が提唱された。この診断基準案の作成には我々のグループも中心的に関与した。さらに精度を向上するために、現時点では診断基準案には未採用ながら、有望な所見・検査について我々は探究してきた。

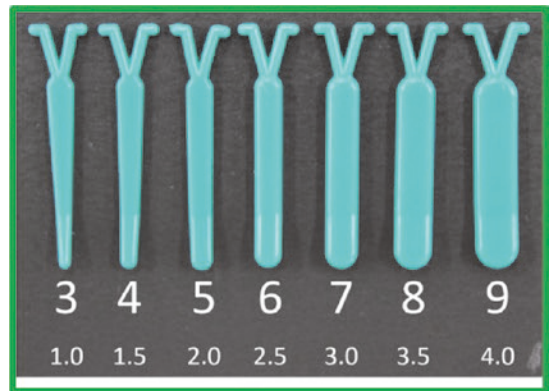
1. 問診票 (PHI-10) (Otol Neurotol. 2017, Acta Otolaryngol. 2018) : 新しい自覚症状のスコアの提案を行った。

2. 座位耳管 CT (Otol Neurotol. 2007, ORL. 2009, Otol Neurotol. 2016, Eur Arch Oto. 2017, Otol Neurotol. 2019) : 耳管の開放程度を把握しやすい、座位での CT 撮影により耳管開放症の形態学的検討を行った。

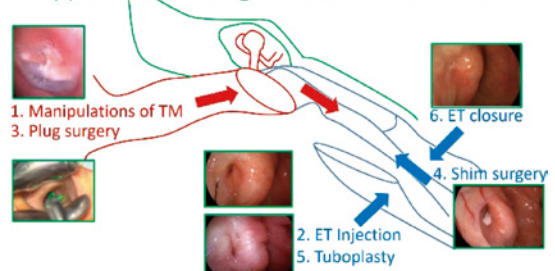
耳管開放症の治療

耳管開放症は、保存的治療法にて治癒することの多い疾患であるが、難治性の場合、手術的治療法にて症状をコントロールする必要な症例が存在する。これまで我々は、経鼓膜的に耳管ピン手術を積極的に行い (Acta Otolaryngol. 2005, Otol Neurotol. 2011, Acta Otolaryngol. 2017, Laryngoscope. 2017), さらに仙塩利府病院が中心となり、日本医師会治験促進センターの研究費により、医師主導治験を行い高い有効性・安全性を証明し、現在薬事申請中である (Laryngoscope. 2019)。

海外では、耳管開放症手術については、2つの systematic review が報告されている (Hussein AA, et al.



Approaches of surgical treatments of PET



Laryngoscope 2015, Luu K, et al. Otol Neurotol 2015). さらに近年、耳管開放症に対する手術治療に関する報告が急激に増加しており、注目される耳科手術であるといえる。そこで我々は新たに systematic review を行った (Otol Neurotol. 2020). 大きく分けて図の6つの手術方法が報告されている。さらに meta-analysis を行うと、耳管ピンを含む plug surgery は最も有効性が高かった。



微細管路系による流体剪断負荷と von Willebrand factor 損傷に関する 特性評価の基礎検討

館崎 祐馬¹⁾, 白石 泰之¹⁾, 井上 雄介¹⁾, 山田 昭博¹⁾

岩元 直樹¹⁾, 盛田 良介¹⁾, Ahmad Faiz Ibadurrahman¹⁾, 橋本真登香¹⁾

早川 正樹²⁾, 萱島 道徳³⁾, 松本 雅則²⁾, 堀内 久徳⁴⁾, 山家 智之¹⁾

¹⁾東北大学加齢医学研究所 心臓病電子医学分野, ²⁾奈良県立医科大学 輸血部

³⁾奈良県立医科大学付属病院 医療技術センター, ⁴⁾東北大学加齢医学研究所 基礎加齢研究分野

重症心不全治療に用いられる補助人工心臓は、血液に剪断負荷を与え、血漿中の高分子多量体である von Willebrand factor (VWF) の ADAMTS13 による切断を誘発する。VWF は血小板の凝固・凝集に大きく関与し、VWF 損傷の結果として引き起こされる出血性疾患 Acquired von Willebrand Syndrome (AVWS) は臨床で問題視されている¹⁻³⁾。本研究では VWF が損傷に至る血行力学条件を解明するため、剪断負荷を可変とする試験系を構築し、流体剪断負荷変化が VWF に及ぼす影響を実験的に調べた。

試験系は相対する 2 つの固定したシリンジ外筒の先端を微細管路でつないだもので、シリンジ内筒はリニアアクチュエータにて機械的に往復動させる。シリンジ内の血液試料が左右に輸送される際に通過する微細管路にて低レイノルズ数高剪断を負荷する。本試験系は血液試料に対し、再現性の高い流体剪断を繰り返し効率よく負荷することができる点で優れている。剪断負荷を変化させるため、基準となる条件 a (往復最大速度 50 mm/s, 管径 0.5 mm, 管路長 18 mm) のほか、駆動系の最大速度を 68 mm/s, 14 mm/s と変えた b, c, 管径を 0.8 mm と大きくした d, 管路長を 9 mm と小さくした e という 5 つの試験系を構築した。

はじめに山羊血を用いて微細管路の両端における圧力較差を計測し、流路形状と併せて以下の式より壁面剪断応力を算出した。

$$\tau_w(t) = \frac{P_A(t) - P_B(t)}{4} \cdot \frac{d}{l}$$

ここで、 $\tau_w(t)$ は壁面剪断応力、 $P_A(t) - P_B(t)$ は圧力較差、 d は微細管径、 l は微細管路長を示す。続いて各系に新鮮山羊血を充填し、剪断負荷回数を 0-10 回と変化させた際の VWF の高分子領域の多量体

の減少変化を調べた。評価には、電気泳動後のバンド画像の濃度分布曲線における高分子多量体の面積率から算出する VWF large multimer index^{1,2)} を指標として用いた。

実験の結果、最大剪断応力は 1,000 Pa 程度の高負荷群 (a, b, e) と 300 Pa 程度の低負荷群 (c, d) に大別された。また、a と b では剪断負荷回数が増加すると、剪断応力の大きさに伴った VWF の損傷がみられたが、c-e ではみられなかった。e で VWF 損傷がみられなかった理由として、微細管路の長さが短く 1 ストローク毎の連続的剪断負荷時間が小さかったことが考えられる。本実験では VWF が損傷に至る剪断応力の閾値が 300 Pa と 1,000 Pa の間に存在する可能性を示唆した。

微細管路を用いた本試験系では駆動系および流路形状により流体剪断負荷変化を実現させ、剪断負荷と VWF の関係を調べる上での系の妥当性を確認した。そして流体剪断負荷変化が VWF 損傷の有無や程度を決定づけたことから、本試験系を用いて VWF が損傷に至る血行力学条件を解明できる可能性を示唆した。

文 献

- 1) Horiuchi, H., Doman, T., Kokame, K., et al. (2019) Acquired von Willebrand Syndrome Associated with Cardiovascular Diseases. *J. Atheroscler. Thromb.*, **26**, 303-314.
- 2) Sakatsume, K., Akiyama, M., Saito, K., et al. (2016) Intractable bleeding tendency due to von Willebrand syndrome after Jarvik 2000 implant. *J. Artif. Organs*, **19**, 289-292.
- 3) Hayakawa, M., Kato, S., Matsui, T., et al. (2019) Blood group antigen A on von Willebrand factor is more protective against ADAMTS13 cleavage than antigen B and H. *J. Thromb. Haemost.*, **17**, 975-983.

— 日本ステロイドホルモン学会 第4回研究奨励賞 —



Protein-protein interaction 検出技術による ステロイドホルモン・シグナルの可視化

三 木 康 宏

災害科学国際研究所 災害産婦人科学分野

Protein-protein interaction (PPI) は様々な細胞シグナルにみられる基本的な現象であり、ステロイドホルモン・シグナルにおいては、受容体の二量体形成や転写共役因子との複合体形成等で PPI が認められる。このステロイドホルモン・シグナルにおける PPI は *in vitro* では共免疫沈降反応や BRET/FRET 法等の評価方法が確立されているが、病理組織標本を用いた解析ではこれら *in vitro* で用いられる手技を用いることはできない。一方で、乳癌や多くの癌では、診断や薬物の選択のためのバイオマーカーの評価に病理組織標本を用いた免疫組織化学が不可欠である。したがって、病理組織切片上で PPI を評価することによって、新たな診断技術や分子治療標的薬の開発につながると期待される。近接ライゲーション法 (PLA: proximity ligation assay) は抗体に結合したプローブのハイブリによって、40 nm 以内に近接する2つのタンパクを検出する方法である。我々はこれまでにステロイドホルモン・シグナルを臨床検体で検討するため、PCR や免疫組織化学による受容体および関連因子の発現解析、LC-MS/MS によるホルモン濃度の測定といった検討を行い、乳癌や子宮内膜癌のホルモン依存性メカニズムを明らかにしてきた。今回、さらに PLA を用いてエストロゲン受容体 (ER) の二量体形成の検出を試みた。乳癌培養細胞を用いた検討ではエストロゲン添加によって、ER の二量体を示すシグナルの増加を認めた (図)。また、超解像顕微鏡を用いた PPI 解析においても PLA と一致する結果が得られた。さらに、乳癌病理組織標本を用い、ER のホモおよびヘテロ二量体を評価することができ、ERβ とのヘテロ二量体の検出にも成功した。子宮内膜癌での病理学的検

討では、ER ホモ二量体陽性症例では LC-MS/MS で測定した estradiol 濃度が有意に高いことを明らかにした。PPI 検出技術を用いることによって、臨床検体を含む組織標本でのステロイドホルモンの活性を評価できると考えられる。我々は実際に HER2 と結合タンパクの PPI を評価し、HER2 阻害剤の効果への影響を報告しており、PPI によるシグナル検出の臨床応用が期待される。

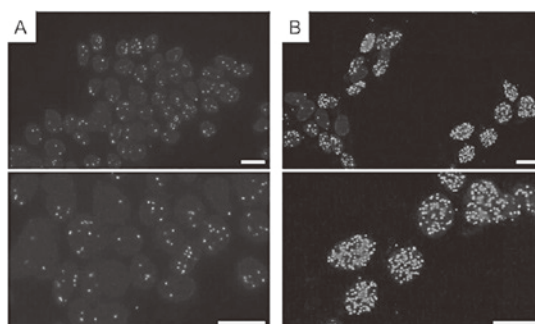


図. 乳癌培養細胞 MCF-7 におけるエストロゲン受容体二量体の検出
未処理の細胞 (A) と比べてエストロゲンを添加した細胞 (B) ではドットの数と大きさが増している (Scale bar, 10 μ m). [Miki Y, et al. Int J Mol Sci. 2018 Oct 15; 19(10) より転載].

謝 辞

病理診断学分野 岩渕 英里奈 助教, 笹野 公伸 教授, 災害産婦人科学分野 伊藤 潔 教授



The significance of bypass surgery in metabolic surgery for Japanese patients

井 本 博 文

総合外科 (胃腸外科)

病的肥満症に対する「減量手術」, または糖尿病などの代謝疾患に対する治療を主目的とした「Metabolic Surgery (代謝改善手術)」は世界中で広く行われており, 劇的な効果が報告されています。我が国で行われている主な術式は, 唯一の保険適応手術であり, 胃の大彎側を切除し胃を縮小, 細径に形成するスリーブ胃切除術 (図 1a), およびそれに十二指腸空腸バイパスを追加したスリーブ・バイパス術 (図 1b) があり, こちらは高度先進医療として行われています。一般に, バイパスを伴った術式は特に 2 型糖尿病に対して有効であると考えられていましたが, その代謝改善メカニズムは依然として不明な点が残されています。

我々はそのメカニズムの解明のため, 肥満 2 型糖尿病ラットに対して十二指腸空腸バイパスを施行したモデルを使用した基礎研究を行ってきました。バイパスモデルにおいて腸管は, 食物が通過するルートである Alimentary limb (A-limb), 胆汁・膵液などの消化液が通過する Biliopancreatic limb (BP-limb), それらが合わさる Common channel (CC) の 3 つのパートに分けられます (図 2)。

その 3 つのパートの長さを変更しながら様々なパターンで検討を行ったところ, 特に BP-limb が長いモデルにおいて糖代謝改善効果が高く, さらにこの改善効果は BP-limb を切除することでキャンセルされることが分かりました。また, 血中胆汁酸値は, BP-limb の長いモデルで高い値をとりました。したがって, 長

い BP-limb と胆汁酸の上昇は, 代謝改善メカニズムにおいて非常に大きな役割を担っていることが明らかとなりました。

一方臨床においては, 当院を基幹施設として多施設共同臨床研究を立ち上げ, 日本人の 2 型糖尿病患者におけるスリーブ状胃切除術とスリーブ・バイパス術との間の改善効果を比較検討しました。12 ヶ月での糖尿病寛解率は, スリーブ状胃切除術で 80.8%, スリーブ・バイパス術で 86.0% と非常に良好な結果が得られました。また, 糖尿病重症度スコアである ABCD スコアが 5 以下あるいはインスリン使用の症例においては, 糖尿病寛解率は術式間に有意差を認めました。したがって, 両術式ともに糖尿病に対して非常に有効であるが, 特に重度の糖尿病患者に対しては, スリーブ・バイパス術がより効果的であることが分かりました。この結果を受けて, 前述のように先進医療 A に承認されるに至りました。

アジア人では比較的低い BMI でも重度の糖尿病を合併しやすいことが分かっており, 今後代謝改善手術のニーズは増えてくるものと思われます。我が国でも減量手術の件数は増加してきているものの, 一方で欧米はもとより他のアジア諸国と比較してもやや立ち遅れており, 今後さらなる発展が望まれています。我々は, 今後も臨床・基礎の両面からのアプローチで, 代謝改善手術の発展, 糖尿病外科の確立に向けて努力していきたいと考えています。

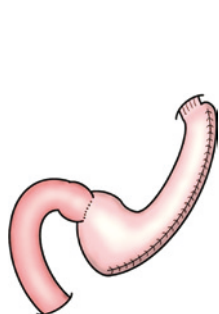


図 1a. スリーブ状胃切除術

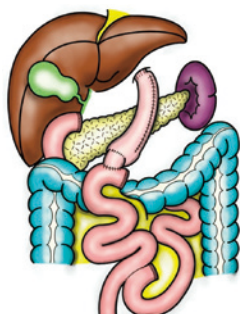


図 1b. スリーブ・バイパス術

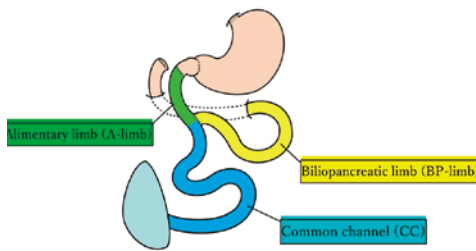


図 2. 十二指腸空腸バイパス術



偏光感受性マイクロ OCT を用いたヒト冠動脈における 尿酸塩結晶の検出

西 宮 健 介

東北大学大学院医学系研究科 循環器内科学分野

背 景

ヒトは生まれながらにウリカーゼを欠失しており、高尿酸血症を来しやすい動物種である。高尿酸血症は、心血管病の発症に深く関わる合併症として知られるが、その一方で尿酸低下療法が心血管病の発症予防に有効かどうかという点は、議論が分かれている。尿酸塩結晶は、関節局所においてインフラマソーム活性化を介して炎症を惹起する¹⁾。一方、ヒト冠動脈内に尿酸塩結晶が蓄積し、血管炎症の火種となるかどうかは明らかになっていない。その理由は、人体内の尿酸塩結晶を視認できる診断装置が存在しないためである。

目 的

「厚さ 5 μm 以下」で且つ「偏光特性」をもつ尿酸塩結晶をヒト冠動脈内で観察できるイメージング技術を開発することである。

方 法

ハーバード大学で開発された Micro-Optical Coherence Tomography (μOCT) は、日常診療で使用している OCT より 10 倍高い 1 μm の解像度を実装する新技術である^{2,3)}。我々は μOCT に、物質の偏光特性を検出できる技術を追加した Cross-Polarized μOCT (CP- μOCT) を開発した。CP- μOCT を用いて、冠動脈疾患を有するヒト剖検心臓で痛風を合併した 9 例と痛風を合併しない 8 例を撮像し、尿酸塩結晶とコレステロール結晶の沈着の程度を評価した。撮像後、組織切片を偏光顕微鏡で観察し画像所見と比較した。

結 果

CP- μOCT を用いることで、痛風群で冠動脈内に集積する多数の微小針状結晶を確認することができた。偏光顕微鏡を用いた観察によって、それらが尿酸塩結晶に近似していることを確認した。実際に、CP- μOCT と偏光顕微鏡における尿酸塩結晶の数はほぼ一致していた。偏光顕微鏡における尿酸塩結晶は、ウリカーゼによって凍結切片に前処理を施すと完全に消失したため、尿酸塩結晶である可能性が高いものと考えられた。CP- μOCT の観察では、痛風群では非痛風群に比して、尿酸塩結晶数は有意に増加しており、興味深いことにコレステロール結晶数も増加していた。尿酸塩結晶の総数と動脈壁厚のあいだに、正の相関を認めた。

考 察

本研究によって、CP- μOCT がヒト冠動脈内の尿酸塩結

晶を検出できること、痛風患者では非痛風患者に比べて、尿酸塩結晶が有意に多く蓄積していることを明らかにした。また、尿酸塩結晶が動脈硬化の形成に関与している可能性を見出すことが出来た。2019 年、我々は μOCT の基本技術を用いた新しいカテーテル技術を発表した⁴⁾。CP- μOCT のカテーテル化は極めて容易であり、臨床応用に優れた技術であるといえる。

結 語

近年、脂質低下に依らない心血管病の新しい治療法として、IL-1 β などを標的とした抗炎症療法に注目が集まってきている^{5,6)}。個々の尿酸塩結晶をヒト生体内で視認することで、炎症度の高い冠動脈を有する患者群を抽出できれば、いわゆるスタチン以降の残余リスクの低減に一定の効果を上げるものと期待できる。

謝 辞

本賞は、筆者がハーバード大学・マサチューセッツ総合病院で行った研究に対して授与されたものです。研究留学の貴重な機会を与えて下さいました。東北大学大学院医学系研究科・循環器内科学、下川宏明教授のご指導とご厚意に、深く感謝を申し上げます。同循環器内科学、松本泰治先生をはじめ教室の先生方には日頃よりご助力を賜り、どうもありがとうございます。最後に、研究の直接的指導者であるハーバード大学 Guillermo Tearney 教授に対して、この場をお借りしまして尊敬と謝意を表したいと思います。

文 献

- 1) Terkeltaub, R. (2010) Update on gout: new therapeutic strategies and options. *Nat. Rev. Rheumatol.*, **6**, 30-38.
- 2) Liu, L., Gardecki, J.A., Nadkarni, S.K., et al. (2011) Imaging the subcellular structure of human coronary atherosclerosis using micro-optical coherence tomography. *Nat. Med.*, **17**, 1010-1014.
- 3) Nishimiya, K., Yin, B., Piao, Z., et al. (2019) Micro-optical coherence tomography for endothelial cell visualization in the coronary arteries. *J. Am. Coll. Cardiol. Cardiovasc. Img.*, **12**, 1878-1880.
- 4) Yin, B., Piao, Z., Nishimiya, K., et al. (2019) 3D cellular-resolution imaging in arteries using few-mode interferometry. *Light Sci. Appl.* doi: 10.1038/s41377-019-0211-5. eCollection.
- 5) Ridker, P.M., Everett, B.M., Thuren, T., et al. (2017) Anti-inflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N. Engl. J. Med.*, **377**, 1119-1131.
- 6) Tardif, J.C., Kouz, S., Waters, D.D., et al. (2019) Efficacy and safety of low-dose colchicine after myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, **381**, 2497-2505.

— 米国血液学会 ASH-JSH Abstract Achievement Award 2019 —



X連鎖性鉄芽球性貧血の分子機構解明および 新規治療法の開発

小野 浩 弥

東北大学大学院医学系研究科 血液免疫病学分野

背 景

遺伝性鉄芽球性貧血は骨髄赤芽球におけるヘム・鉄代謝に関わる遺伝子群の変異により発症し、最も頻度が高いのは5-アミノレブリン酸合成酵素 (*ALAS2*) をコードする遺伝子の変異に起因するX連鎖性鉄芽球性貧血 (XLSA) である。XLSAで同定された約100種類の*ALAS2*変異は、その多くが機能喪失型のミスセンス変異であり、変異の種類により重症度や治療反応性が異なる。およそ半数の患者ではビタミンB6による治療が無効であるため、XLSAの分子病態の解明と新規治療法の開発が求められてきた。

本研究では、XLSAで高頻度に認められる*ALAS2*のエクソン5にある170番目のアルギニンが置換する変異のうち、ビタミンB6に対する反応性が異なる2種類の変異 (*ALAS2* R170L および R170H) をCRISPR/Cas9でヒト赤血球系細胞株に導入し、XLSAの分子機構を解明することを目的とした。

方 法

ALAS2 R170近傍のPAM配列 (NGG) 上流に20塩基のターゲット配列を同定し、それぞれに相補的なガイドRNA・Cas9ヌクレアーゼ・GFPを発現するベクターを作成した。DNA二重鎖切断後の修復鋳型は、*ALAS2* R170L (CGC>CTC) および R170H (CGC>CAC) 変異とその周囲の配列を含み、Cas9切断部位に対して非対称な127塩基の一本鎖オリゴ (ssODN) とした。gRNA/Cas9/GFP発現ベクターおよびssODNをエレクトロポレーションでヒト臍帯血由来赤血球前駆細胞株 (HUDEP)-2に共導入し、48時間後にGFP陽性細胞をソーティングした。集団解析で目的遺伝子変異の頻度を同定した後、限界希釈を行って単細胞クローンを培養し、*ALAS2* R170L および *ALAS2* R170H 変異 HUDEP-2 を樹立した。

結 果

通常の培養条件でXLSAクローン (*ALAS2* R170L/H 変異 HUDEP-2) は野生型コントロールと同様の形態であり、環状鉄芽球は認められなかった。しかし、XLSAクローンを赤芽球に分化させ、さらにクエン酸

第一鉄 (SFC) を添加するとおよそ70%が環状鉄芽球の形態となった。電子顕微鏡観察では核周囲のミトコンドリアに高電子密度集積物がみられ、鉄の異常沈着が示唆された。

また、分化誘導後に野生型 HUDEP-2 のペレットが赤くなるのに対してXLSAクローンはピンク色であり、ヘモグロビン合成の障害が示唆された。色調の変化と一致して、XLSAクローンはヘム濃度とβグロビン遺伝子 (*HBB*) 発現の有意な低下がみられた。

次にマイクロアレイ解析でXLSAクローン (赤芽球分化+SFC) の遺伝子発現を野生型 HUDEP-2 と比較したところ、*ALAS2* R170L と R170H で共通して発現上昇していたのは317遺伝子、発現低下していたのは86遺伝子だった。XLSAクローンでは、ミトコンドリア遺伝子の発現およびミトコンドリア構造に関わる遺伝子群に有意な変動がみられており、ミトコンドリア機能異常がXLSAの病態に関与することが示唆された。

最後に、XLSAに対する5-アミノレブリン酸 (ALA) の効果を検証した。XLSAクローンにALAを添加し分化させたところ、分化後の赤芽球ではヘモグロビン合成の回復がみられた。

考 察

ALAS2 ミスセンス変異を導入した HUDEP-2 はヘム合成の低下・鉄代謝の異常が認められ、XLSA患者の赤芽球と共通する特徴を有していた。また、樹立したXLSAクローンを用いた解析から、ALAはXLSAの新規治療薬となる可能性があると考えられた。今後は、本研究の手法で他の*ALAS2* ミスセンス変異を持つXLSAモデルを樹立し、変異の種類と治療反応性の関連を分子レベルで解明することが課題である。

謝 辞

本研究の機会を与えて頂き、御指導を賜りました張替秀郎先生、藤原亨先生をはじめとした東北大学大学院医学系研究科・血液免疫病学分野の先生方に厚く御礼申し上げます。



クロマトグラフィーを活用した代謝疾患の 新規化学診断法の開発

前 川 正 充

薬剤部

生体膜を構成するコレステロールは、各種代謝過程においても重要な役割を果たす一方で、各種疾患との関連も注目されていた。我々は、コレステロール代謝物の多くが抱合されやすい点に着目したバイオマーカー探索法と化学診断法を開発を進めてきた。中でも、ニーマンピック病 C 型 (NPC) の検査法の開発の重要性から、その新規化学診断法開発に関する研究を進めてきた。

まず、多重抱合型コレステロール代謝物に着目し、その精密分析による NPC 診断法の構築を企てた。3 種の尿中代謝物に対する液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析法 (LC/ESI-MS/MS) を構築した¹⁾。健常人と NPC 患者の尿を分析した結果、3 つの代謝物とも NPC 患者尿において有意に高い値を示した²⁾。一方で、一部の NPC 患者は低値を示し、偽陰性と判定されたため、他のマーカー分子を探索した。尿中での存在が知られる抱合代謝物の特徴的な MS/MS 挙動を利用したフォーカストメタボロミクス法を構築し、尿試料に適用した結果、高い強度を示すいくらかのピークを見出した。そのうち 2 つのピークが、3 β -スルホオキシ-7 β -ヒドロキシ-5-コレン酸、および、その 7-オキソ体であることを見出した。この 2 つの代謝物を一斉分析法に加えて尿検体を測定したところ、それまでに測定していた代謝物を上回る診断性能を示した。特に、3 β -スルホオキシ-7 β -ヒドロキシ-5-コレン酸は、感度・特異度ともに 100% の診断性能を示し、NPC 検査に有用であることが示唆された³⁾。

次いで、血液を用いた検査法も構築すべく、未知バイオマーカーとして報告されていた Lysosphingomyelin-509 の構造決定と、その化学診断への利用を企てた。各種質量分析法と誘導体化反応を駆使して、その構造を *N*-パルミトイル-*O*-ホスホコリン-セリンと推

定した。標品を化学合成して照合した結果、その構造決定に成功した。当該分子はこれまで報告に無い新規クラスの脂質分子であった。同時に、脂肪酸鎖長の異なる分子群も存在することを見出した⁴⁾。現在、臨床検査へ応用するとともに、各バイオマーカーと病態分子機構の関連精査を進めている。

末筆となりましたが、教授・薬剤部長の眞野成康先生をはじめ、ご指導くださいました多くの先生方に感謝申し上げます。また、本研究を進めるにあたり、ご協力を賜りました先生方へ、この場を借りて厚く御礼申し上げます。また、日頃の研究生活を共にする東北大学病院薬剤部、東北大学大学院薬学研究所病態分子薬学分野ならびに東北大学大学院医学系研究科医療薬学分野一同に感謝申し上げます。

文 献

- 1) Maekawa, M., Misawa, Y., Sotoura, A., et al. (2013) LC/ESI-MS/MS analysis of urinary 3 β -sulfooxy-7 β -N-acetylglucosaminyl-5-cholesterol-24-oic acid and its amides: New biomarkers for the detection of Niemann-Pick type C disease. *Steroids*, **78**, 967-972.
- 2) Maekawa, M., Narita, A., Jinnoh, I., et al. (2019) Diagnostic performance evaluation of sulfate-conjugated cholesterol metabolites as urinary biomarkers of Niemann-Pick disease type C. *Clin. Chim. Acta*, **494**, 58-63.
- 3) Maekawa, M., Jinnoh, I., Narita, A., et al. (2019) Investigation of diagnostic performance of five urinary cholesterol metabolites for Niemann-Pick disease type C. *J. Lipid Res.*, **60**, 2074-2081.
- 4) Maekawa, M., Jinnoh, I., Matsumoto, Y., et al. (2019) Structural Determination of Lysosphingomyelin-509 and Discovery of Novel Class Lipids from Patients with Niemann-Pick Disease Type C. *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 5018.

— 令和元年度 東北医学会奨学賞 A —



腎臓エリスロポエチン産生制御機構の解明

平 野 育 生

分子血液学分野

エリスロポエチン (EPO) は主に腎臓で産生され、赤血球の分化・増殖を制御するサイトカインである。そのため、腎障害時には腎臓 EPO 産生細胞 (renal EPO-producing cell, REP 細胞) からの EPO 産生が障害され、腎性貧血となることが知られている。また、EPO 遺伝子は低酸素応答性の遺伝子として注目された初めての遺伝子でもあり、その低酸素応答性遺伝子配列 (hypoxia-response element, HRE) の解析から 2019 年ノーベル生理学・医学賞にも輝いた低酸素誘導因子 HIF (hypoxia-inducible factor) が同定された。しかし、その後の解析からこの HRE を含む制御領域は肝臓におけるエンハンサーであることが明らかとなり、その一方で、REP 細胞における制御領域は不明であった。

これまでに、Epo 遺伝子の転写制御に必要な十分なゲノム上の制御領域の同定を行うために Epo 遺伝子周辺領域を含む大腸菌人工染色体 (bacterial artificial chromosome, BAC) を活用したトランスジェニックマウス (TG) 解析が行われ、Epo 遺伝子転写開始点上流 60 kbp から下流 120 kbp の範囲が Epo 遺伝子の転写制御に十分な領域として報告されていた¹⁾。私はさらに、Epo 遺伝子領域に蛍光タンパク質遺伝子を挿入し、様々な長さ・領域を制御領域として使用した BAC レポーターコンストラクトを作成し、TG 解析を行った。その結果、上流 17 kbp から 3' 領域の HRE を含んだエンハンサー領域までで Epo 遺伝子の制御領域として十分である事を示した²⁾。また、同解析から、REP 細胞が腎皮質領域の線維芽細胞様の細胞であることや、胎生期の神経上皮細胞などの細胞が EPO 産生細胞として一次造血に寄与していることなどを示し報告した^{3,4)}。

一連の BAC-TG 解析から、Epo 遺伝子転写開始点上流 17.4 kbp から 3.6 kbp の領域 (CURE) を欠失すると REP 細胞における貧血刺激誘導的な遺伝子発現が消失することがわかった。さらに CURE 領域内の種間保存性の高い領域と Epo 遺伝子近傍領域を制御領域として用いた TG 解析でも、REP 細胞における貧血誘導的な遺伝子発現が再現され、CURE 領域および Epo 遺伝子近傍領域が REP 細胞における Epo 遺伝子の転写制御を担っていることが明らかとなった²⁾。

興味深い事に、CURE 領域は胎児期の EPO 産生細胞や肝臓における Epo 遺伝子の発現には不必要であった。そこで、同領域を欠失した制御領域下で Epo 遺伝子を発現する BAC トランスジーンを用い、Epo 遺伝子欠損による胎生致死性を回避したマウス系統 (AnRED) を樹立した。このマウスは胎生期には十分な EPO を産生することが可能なため正常に出生したが、生後は腎臓からの EPO 産生が障害され EPO 欠乏性の重度の貧血を示した。このことから AnRED マウスは、腎障害モデルと組み合わせる事により腎性貧血の良いモデルとなると考えている²⁾。

文 献

- 1) Obara, N., Suzuki, N., Kim, K., et al. (2008) *Blood*, **111**(10), 5223-5232.
- 2) Hirano, I., Suzuki, N., Yamazaki, S., et al. (2017) *Mol. Cell. Biol.*, **37**(4). pii: e00451-16. doi: 10.1128/MCB.00451-16.
- 3) Pan, X., Suzuki, N., Hirano, I., et al. (2011) *PLOS One*, **6**(10), e25839.
- 4) Suzuki, N., Hirano, I., Pan, X., et al. (2013) *Nat. Commun.*, **4**, 2902. doi: 10.1038/ncomms3902.



形質細胞様樹状細胞における TRAF5 の機能解析

小林 周 平

免疫学分野

皮膚の創傷治癒は、組織常在性および浸潤細胞などが複合的に作用して進行する¹⁾。近年、皮膚の創傷治癒に、形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid dendritic cells ; pDC) の炎症制御の関与が報告されたが²⁾、詳細なメカニズムは解明されていない。pDCの活性化はエンドソームに存在する Toll-like receptor (TLR) 7 および TLR9 の刺激が必要となる³⁾。一方で、TNF 受容体スーパーファミリーの下流分子として同定された TNF-receptor associated factor 5 (TRAF5) であるが、TLR シグナルを負に制御することが示唆される報告がされている⁴⁾。創傷治癒プロセスを理解する上で、pDC や TRAF シグナルの関与を示唆する知見が存在するものの、リンパ球以外の細胞における TRAF5 の役割を示した報告は多く存在しない。

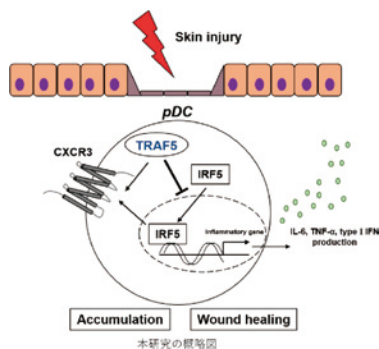
そこで創傷治癒における TRAF5 の役割を調べるために、創傷治癒のマウスモデル実験を行った。その結果、野生型と比較して、TRAF5 欠損マウスでは皮膚の創傷部位への多量の pDC の浸潤を伴った創傷治癒の亢進が認められた。原因細胞の同定のために骨髄キメラマウスを作製して創傷治癒モデルを実施した結果、ドナー骨髄由来 (血球系) の TRAF5 が治癒亢進に関与すること、さらに pDC が重要な細胞種であることを見出した。しかしながら、定常状態の皮膚における pDC の細胞数は両群間で顕著な差は認められないことから、pDC のケモタキシスが亢進したという仮説のもとでケモカイン受容体の発現を評価した。TRAF5 欠損 pDC では皮膚指向性受容体 CXCR3 の発現の有意な亢進が認められた。CXCR3 は、炎症状態にある皮膚への細胞浸潤を担うケモカイン受容体である。CXCR3 に着目した細胞遊走実験では、CXCR3 の発現と相関して TRAF5 欠損 pDC の走化性が有意に亢進し、CXCR3 特異的な阻害剤 AMG487 の存在下では、遺伝子型に関わらず pDC の遊走能が抑制された。さらに、AMG487 を処置したマウス群では、TRAF5 欠損マウスで観察された創傷治癒の亢進が阻害された。この結果は、TRAF5 欠損マウスにおける創傷治癒の亢進が、pDC に発現する CXCR3 依存적であることを示し、創傷治癒における pDC の重要性を強く裏付けた。

一方で、TRAF5 欠損 pDC 上の TLR7 および TLR9 の発現量に野生型 pDC と同程度であるにも関わらず、TLR アゴニスト刺激による炎症関連遺伝子の発現誘導が顕著に亢進した。TLR の下流では転写因子転写因子 Interferon regulatory factor 5 (IRF5) が活性化し、炎症関連遺伝子の発現を制御することが知られるが⁵⁾、TRAF5 欠損 pDC では IRF5 の発現の亢進も認められた。さらに TRAF5 欠損 pDC における IRF5 の遺伝子のノックダウンにより炎症関連遺

伝子および部分的な CXCR3 の発現が正常化されたことから、TRAF5 を介した IRF5 による炎症制御と CXCR3 の発現制御が存在することを明らかにした。

さらに、既に分化した TRAF5 欠損 pDC へ TRAF5 を遺伝子導入しても、IRF5 および CXCR3 は高発現を維持していた。驚くべきことに、TRAF5 欠損マウス由来の骨髄細胞へ TRAF5 の遺伝子導入をしたのち、*in vitro* で分化誘導させた pDC では IRF5 および CXCR3 の発現が完全に正常化された。この結果は、TRAF5 を介した IRF5 依存的な炎症制御と、IRF5 依存的または非依存的な CXCR3 の発現制御が存在することを示唆した。

以上から、本研究により、これまで見落とされていたリンパ球以外の細胞、すなわち pDC における TRAF5 の新たな免疫分子制御機構を解明した。



文 献

- 1) Gurtner, G.C., et al. (2008) Wound repair and regeneration. *Nature*, **453**, 314-321.
- 2) Gregorio, J., et al. (2010) Plasmacytoid dendritic cells sense skin injury and promote wound healing through type I interferons. *J. Exp. Med.*, **207**, 2921-2930.
- 3) Tamura, T., et al. (2008) The IRF family transcription factors in immunity and oncogenesis. *Annu. Rev. Immunol.*, **26**, 535-584.
- 4) Buchta, C.M., et al. (2014) TRAF5 negatively regulates TLR signaling in B lymphocytes. *J. Immunol.*, **192**, 145-150.
- 5) Takaoka, A., et al. (2005) Integral role of IRF-5 in the gene induction programme activated by toll-like receptors. *Nature*, **434**, 243-249.



気管癌に対して舌骨上授動を併用し 気管切除・形成術を施行した1例

熊 田 早 希 子

東北大学加齢医学研究所 呼吸器外科学分野

症 例

33歳男性。気管支肺炎精査のために撮影したCTで気管分岐部直上に腫瘍性病変を認め、気管支鏡では90%以上が閉塞しわずかな開通部を残すのみであった。気管支鏡下生検で腺様嚢胞癌の診断を得た(図1)。

手術所見

7.5 mm スパイラルチューブで気管挿管し、気管支鏡にてチューブ先端が腫瘍の口側にあることを確認した。胸骨正中切開アプローチ。無名静脈、上大静脈と大動脈弓の間に腫瘍性変化を伴う気管を同定した。肉眼的・気管支鏡的に6軟骨輪以上の気管切除となるため授動が必要と考えられ、舌骨上授動を併用することとした。胸部操作では、気管口側は甲状軟骨、末梢側について右は中間幹、左は上葉支まで十分に用指剥離。気管末梢側を竜骨直上で切離し、6 mm スパイラルチューブで左主気管支に術野挿管した。気管支鏡で確認しながら気管口側の切離ラインを決定して切離した。術中迅速診断にて、末梢側断端に顕微鏡的腫瘍遺残あり。気管吻合は3-0 vicryl 1計14針全層単結節縫合で行い、気管前面5針を結紮する前に術野挿管を抜管し、気管内チューブを左主気管支まで進めて換気を維持した。手術時間326分。出血量312 g。

術後経過

術後1日目言語聴覚士介入のもと経口摂取を開始した。術後2日目前縦隔ドレーン、右胸腔ドレーン抜去。術後14日目に自宅退院。術後2ヶ月より気管吻合部に放射線療法を施行(60 Gy/30 Fr)し、術後13ヶ月無再発生存中

である(図2-a)。

病理組織診断

気管腺様嚢胞癌。末梢側断端には顕微鏡的腫瘍遺残を認めた(図2-b)。

考 察

縫合不全や肉芽形成などの気管吻合部合併症は致命的になることがあるため、感染の他にも血流や吻合部過緊張などに細心の注意を払う必要がある。吻合部にかかる張力を減らすために、気管周囲組織、肺門、肺靭帯、喉頭の剥離などで授動する方法が用いられる¹⁾。本症例では6軟骨輪の気管切除のために、気管・気管支の剥離の他に、舌骨口側に付着する靭帯・筋肉(オトガイ舌筋、オトガイ舌骨筋、顎舌骨筋)・舌骨角を切断する舌骨上授動を併用した。喉頭授動には甲状舌骨授動と舌骨上授動があり、後者は嚥下障害・誤嚥、喉頭動脈・神経枝の損傷リスクが少ないため用いられることが多い²⁾(表1)。

結 語

高度気管狭窄を伴う気管腺様嚢胞癌に対して、舌骨上授動を併用し気管切除・形成術を施行した1例を経験した。

文 献

- 1) Grillo, H.C. (2004) *Surgery of the Trachea and Bronchi*, BC Decker Inc, London, pp. 540-547.
- 2) Broussard, B. and Mathisen, D.J. (2018) Tracheal release maneuvers. *Annals of Cardiothoracic Surgery*, 7(2), 293-298.

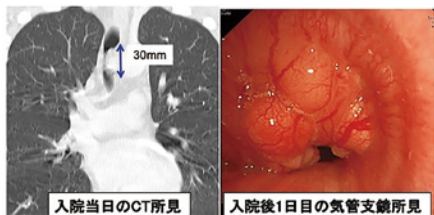


図1.

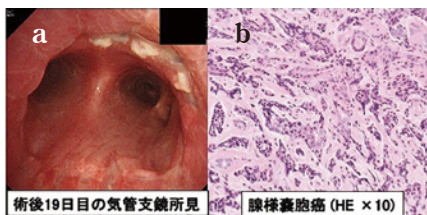


図2.

表1. 喉頭授動

		授動可能な距離	誤嚥の危険性	注意点
舌骨上授動	舌骨付着筋と舌骨角の切断	2-3 cm	+	-
甲状舌骨授動	甲状舌骨筋の切断と喉頭粘膜の切離	2.5 cm	+++	喉頭神経 / 動脈枝の損傷



がん抑制分子 BRCA1 によるゲノム安定性の維持機構の解明

吉 野 優 樹

東北大学加齢医学研究所 腫瘍生物学分野 助教

BRCA1 はがん抑制遺伝子であり、DNA 損傷修復や染色体分配制御を介して、ゲノムの安定性の維持に寄与する。BRCA1 はパートナー分子の BARD1 と結合し、相同組み換えによる DNA 損傷の修復や、染色体の均等な分配に必要な中心体数の維持に働く。これらの異常はいずれもゲノム不安定性の原因になり、発がんにつながる。しかし、BRCA1 の異常が乳腺組織特異的に発がんを引き起こす理由は不明であった。

乳がんでは発がん初期から染色体不安定性や中心体数の異常が見られる。また、BRCA1 の機能障害は乳腺細胞で特異的に中心体数の異常を引き起こす。これらから、我々は BRCA1 の中心体制御活性に着目した。BRCA1 による中心体制御の分子機構を解明するため、BRCA1/BARD1 複合体と相互作用するタンパク質の探索を行い、中心体における BRCA1 の新たな結合タンパク質として OLA1 と RACK1 を同定した¹⁻³⁾。

OLA1, RACK1 は BRCA1 および BARD1 と直接結合し、複合体を形成する¹⁻³⁾。これらのタンパク質の変異は複合体形成を障害し、中心体制御能を障害することが明らかになった²⁾。また、OLA1 の発現量の異常は乳腺由来細胞においてのみ、中心体数の異常を引き起こした^{1,2)}。RACK1 の発現抑制は中心体の複製障害を、過剰発現は中心体数の増加を、いずれも乳腺細胞特異的に引き起こした。また、RACK1 は BRCA1 の中心体における局在制御に重要であることも明らかになった。これらから、BRCA1, BARD1, OLA1, RACK1 からなる BRCA1 複合体が乳腺上皮細胞において特異的に中心体制御に寄与することが明らかになった。

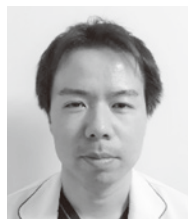
BRCA1 のもう一つの重要な細胞機能として相同組み換え (homologous recombination, HR) による DNA 損傷修復活性が挙げられる。近年臨床応用された Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) 阻害薬は HR 障害との合成致死を利用するため、がんの HR 活性の評価

が重要である。従来の HR 活性評価法は定量性や汎用性、コストなどの問題があった。そこで、我々は HR 活性の定量的測定法の開発を試み、新たな HR 活性測定法、Assay for Site-specific HR activity (ASHRA) を開発した (国内・国際特許出願中)⁴⁾。ASHRA によって多数の BRCA1 変異体の HR 活性を解析したところ、従来法による測定結果よりも PARP 阻害薬への感受性とより高い相関が得られた。また、ASHRA では従来法では不可能であったゲノム内の任意の領域を標的とできる点を利用し、転写活性の高い部分と低い部分で HR 活性の評価を行ったところ、BRCA1 が転写活性の高い領域の HR に特異的に寄与することが示され、転写依存性の HR 制御機構の存在が示唆された。

現在、BRCA1 複合体による組織特異的な中心体複製制御機構のさらなる解析とともに、BRCA1 機能障害による発がんを抑制する薬剤の開発を試みている。また、ASHRA を改良し、遺伝性がんの診断や治療のバイオマーカーへの応用を目指している。

文 献

- 1) Matsuzawa, A., Kanno, S., Nakayama, M., et al. (2014) The BRCA1/BARD1-interacting protein OLA1 functions in centrosome regulation. *Mol. Cell*, **53**, 101-114.
- 2) Yoshino, Y., Qi, H., Fujita, H., et al. (2018) BRCA1-Interacting Protein OLA1 Requires Interaction with BARD1 to Regulate Centrosome Number. *Mol. Cancer Res.*, **16**, 1499-1511.
- 3) Yoshino, Y., Qi, H., Nakazawa, R., et al. (2019) RACK1 regulates centriole duplication by controlling localization of BRCA1 to the centrosome in mammary tissue-derived cells. *Oncogene*, **38**, 3077-3092.
- 4) Yoshino, Y., Endo, S. and Chen, Z. (2019) Evaluation of site-specific homologous recombination activity of BRCA1 by direct quantitation of gene editing efficiency. *Sci. Rep.*, **9**, 1644-1656.



当院における原発性十二指腸癌 15 例 の臨床病理学的検討

三田地 克 昂

東北大学大学院医学系研究科 消化器外科学分野

背 景

原発性十二指腸癌は、全消化管悪性腫瘍の約 0.35% と報告される比較的稀な疾患であり¹⁾、その臨床病理学的特徴、治療成績、予後因子などは明らかにされていない。

対象・方法

2008 年から 2018 年に当院で切除術を施行した原発性十二指腸癌 15 例を対象として検討を行った。

結 果

癌占拠部位は下行脚が 12 例と最も多かった。初発症状は、上腹部痛 4 例、背部痛 1 例、貧血 2 例、黄疸 1 例、黒色便が 2 例であった。4 例は症状を認めず、検診や他の疾患での検査中に偶発的に発見された。術式は、臍頭十二指腸切除術 13 例（うち腹腔鏡補助下 (LAPD) 2 例）、幽門側胃切除 + 十二指腸部分切除が 2 例であった。病理組織学的検討による癌の深達度では、sm までの早期癌 6 例、mp 以深の進行癌は 9 例であった。進行癌の内訳は、mp: 1 例、ss: 3 例、si: 5 例であり、臍浸潤を 5 例に認めた。また、9 例中 5 例にリンパ節転移を認めた。全例で治癒切除を施行したが、3 例で再発を認め（肝転移 2 例、肺転移 1 例）、術後 3 年以内に死亡していた (Table 1)。治療成績について無再発生存期間 (RFS)、全生存期間 (OS) を検討すると、臍浸潤陽性 RFS 13.44 ヶ月、OS 25.31 ヶ月、リンパ節転移陽性 RFS 13.44 ヶ月、OS 26.01 ヶ月で、RFS、OS のいずれも有意に短く予後不良であった。更に発症年齢、既往歴などから 3 例において Lynch 症候群が疑われ、1 例は MSI スクリーニング検査で MSI-H、2 例は MSH2 遺伝子変異を有する Lynch 症候群と診断された。

考 察

腫瘍局在は球部 3 例、下行脚 11 例、下行脚症例 11 例中 9 例で乳頭部より口側に認められ、多くの症例で上部消化管内視鏡検査による発見・診断が可能であると考えられた。その治療成績について、菅原らは 20 例の解析より組織学的分類、臍浸潤、リンパ節転移を予後因子として報告しているが²⁾、本検討でも臍浸潤とリンパ節転移が予後因子である可能性が示唆された。十二指腸癌を含む小腸癌は一般集団の累積発症リスクに比べると Lynch 症候群で頻度が高いとされ、MSH2 または MLH1 遺伝子変異が十二指腸癌を含む小腸癌の発症に大きく関与する³⁾。自験例 15 例中、2 例で MSH2 遺伝子変異を有する Lynch 症候群を認めており、Lynch 症候群を念頭においた詳細な問診の上、MSI スクリーニング検査や MMR 遺伝子検査を検討すべきである。

結 語

原発性十二指腸癌において、臍浸潤、リンパ節転移が予後不良因子である可能性が示唆された。稀な癌腫であり、診断時には Lynch 症候群を念頭におく必要がある。

文 献

- 1) Alwmark, A., et al. (1980) Primary carcinoma of the duodenum. *Ann. Surg.*, **191**(1), 13-18.
- 2) 菅原 元ほか (2001) 原発性十二指腸癌の臨床病理学的検討。日消外会誌, **34**(8), 1283-1288.
- 3) Dawn, P., et al. (2017) *NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal, Version 3.*

Table 1.

年齢	性別	腫瘍局在	組織型	深達度	T	N	M	Stage	術式	再発 (月)	転帰 (月)	Lynch 症候群
51	男	下行脚	高分化	M	Tis	0	0	0	SSPPD	なし	生存 (16.8)	-
67	男	下行脚	高分化	M	1a	0	0	I	LAPD	なし	生存 (19.0)	-
72	女	下行脚	高分化	M	1a	0	0	I	LAPD	なし	生存 (27.5)	-
79	女	球部	高分化	SM	1b	0	0	I	LDG+ 十二指腸部分切除	なし	生存 (47)	-
67	男	球部	高分化	SM	1b	0	0	I	DG+ 開腹十二指腸部分切除	なし	生存 (19)	-
67	男	下行脚	中分化	SM	1b	0	0	I	SSPPD	リンパ節 (36)	生存 (85.6)	-
60	女	下行脚	高分化	MP	2	0	0	I	SSPPD	なし	生存 (139)	-
68	男	下行脚	高分化	SS	3	0	0	IIA	SSPPD	なし	生存 (11)	-
19	女	下行脚	中分化	SS	3	1	0	IIIA	SSPPD	なし	生存 (37)	○ (MSH2)
66	男	水平脚	中分化	SS	3	0	0	IIA	SSPPD	なし	生存 (11)	○ (MSH2)
69	男	下行脚	高分化	SI (臍)	4	0	0	IIB	SSPPD	なし	生存 (16.9)	MSI-H
58	男	下行脚	中分化	SI (臍)	4	1	0	IIIA	SSPPD	なし	生存 (2.8)	-
65	男	下行脚	中分化	SI (臍)	4	1	0	IIIA	SSPPD	肝 (8.9)	原病死 (25.3)	MSS
85	男	下行脚	低分化	SI (臍)	4	1	0	IIIA	SSPPD	肺 (18)	原病死 (26.8)	-
73	男	球部	低分化	SI (臍)	4	2	0	IIB	PD	肝リンパ節 (4.1)	原病死 (9.8)	-



The Self-enhancement Effect at Implicit Perceptual and Explicit Evaluation Levels : Their Independent Relationship

DING Yi

Department of Human Brain Science, Institute of Development, Aging and Cancer
The Graduate School of Medicine Tohoku University

Introduction

The self is a central problem in psychology, which can go back to the early days of psychology. Nowadays, the self is still a hot topic in philosophy, psychology, and neuroscience.

One robust effect in the study of the self is self-enhancement effect : people tend to have a positive self-view. It means that people prefer to believe they are lucky, capable, moral in the western culture¹⁾.

Self-enhancement effect can help individuals improve their self-worth, and obtain positive feedback or appraisal about themselves. It was thought can benefit people's mental health and well-being. Moreover, it helps people overcome frustrations, even recover from disasters²⁾.

It affected several cognitive domains, including attention, perception, and memory. People tend to evaluate themselves better than average and have better memory about positive self than positive other (explicit level). And they react faster and more accurately to the positive word relating to self (implicit level). However, whether self-enhancement effect exists in Eastern culture is still in debate³⁾.

In this study, we examined whether self-enhancement effect exists at implicit level (implicit association task, IAT ; association learning task, ALT) and explicit level (evaluation task and recognition task) in the Chinese culture. We also assessed whether this effect is common or independent across different domains.

Method

We recruited Chinese students to complete the experiment. They were instructed to evaluate trait and complete a memory recognition task about the trait words.

In the IAT, participants were instructed to sort personality trait words and identity words (self vs. others) into groups.

In the ALT, after learning the relationship between four shapes and four identity words (good self, bad self, good other, bad other), they were asked to judge whether the shape is correctly corresponding to the identity word in the learning phase.

Results

We didn't find self-enhancement effect in the evaluation task and recognition task among those Chinese students. Participants didn't think they are better than others. And they didn't remember positive self-related words better than positive others-related words.

However, we found self-enhancement effect exists in implicit tasks, which was identical to the previous studies. In the IAT, participants had a more positive implicit attitude toward themselves than others. In the ALT, participants were easier to associate positive words with self.

We didn't find any correlation of self-enhancement effect between tasks. The self-enhancement effect was independent across cognitive domains, even two of the tasks measured perception.

Conclusion

In sum, we found self-enhancement effect existed at the implicit perceptual level in the Eastern culture but not exist at the explicit level. And the self-enhancement effect across cognitive domains is distinctive.

In the future, we will explore the neural mechanism of self-enhancement effect in the evaluation task to know the reason why we didn't find this effect in the Eastern culture.

Reference

- 1) Alicke, M.D. and Sedikides, C. (2009) Self-enhancement and self-protection : What they are and what they do. *European Review of Social Psychology*, **20** (1), 1-48.
- 2) Bonanno, G.A., Rennie, C. and Dekel, S. (2005) Self-Enhancement Among High-Exposure Survivors of the September 11th Terrorist Attack : Resilience or Social Maladjustment? *Journal of Personality and Social Psychology*, **88** (6), 984-998.
- 3) Dufner, M., Gebauer, J.E., Sedikides, C., et al. (2019) Self-Enhancement and Psychological Adjustment : A Meta-Analytic Review. *Personality and Social Psychology Review*, **23** (1), 48-72.