

第516回 広島大学医学集談会：発表なし

第27回 広島大学大学院医歯薬学総合研究科発表会（医学）

（平成21年1月8日）

1. Suplatast tosilate prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice

（トシル酸スプラタストはブレオマイシン肺線維症モデルにおける肺線維化を抑制する）

風呂中 誠
 展開医科学専攻病態制御医科学講座
 （分子内科学）

特発性肺線維症の病態として線維化の進行に伴い Th 細胞が Th1 から Th2 へのシフトが認められる。ブレオマイシン（BLM）肺線維症モデルに対して Th2 サイトカイン抑制薬であるトシル酸スプラタスト（ST）を投与することで、肺内の Th1/2 バランスが是正され、肺の線維化が抑制されるかを検討した。BLM マウス肺線維症モデルを作成し、ST もしくは蒸留水（対照群）の投与を行った。ST 投与群では対照群と比較し、線維化の指標となるハイドロキシプロリンが低値であり、気管支肺胞洗浄液中の MCP-1 が低値であった。更に肺胞マクロファージ（AMs）に対する ST の効果を検討したところ、AMs よりの MCP-1 産生が抑制された。ST は、BLM 肺線維症モデルに対して、肺胞マクロファージからの MCP-1 の産生を抑制することにより線維化を制限することが示された。今後、肺の線維化疾患に対する治療薬となり得る可能性が示唆された。

2. IL-12p40 is essential for the down-regulation of airway hyperresponsiveness in a mouse model of bronchial asthma with prolonged antigen exposure

（長期抗原曝露による喘息モデルマウスの気道過敏性の抑制には IL-12p40 が必須である）

大成洋二郎
 展開医科学専攻病態制御医科学講座
 （分子内科学）

気管支喘息は好酸球性炎症と気道過敏性の亢進が特

徴である。しかし好酸球性炎症と気道過敏性に乖離を認める患者が存在する。我々の検討では、マウスの長期抗原曝露の喘息モデルでは好酸球性炎症と気道過敏性が抑制され、IL-12 の発現が亢進していた。Wild type と IL-12 KO マウスを用いて、長期抗原曝露の喘息マウスにおける IL-12 について検討した。マウスを OVA（卵白アルブミン）で感作した後に5週間の OVA 吸入を行う慢性喘息モデルを作成し好酸球性炎症、気道過敏性、リモデリングの検討を行った。Wild type と IL-12 KO の間に好酸球性炎症、サイトカインに差は認めなかった。しかし、気道過敏性は wild type では抑制したが、IL-12 KO では亢進した。リモデリングは IL-12 KO が wild type より増強していた。長期抗原曝露による気道過敏性の抑制には IL-12 が関与していることが推察された。

3. Anti-inflammatory effects and clinical efficacy of theophylline and tulobuterol in mild-to-moderate chronic obstructive pulmonary disease (軽症、中等症慢性閉塞性肺疾患におけるテオフィリンおよびツロブテロールの抗炎症効果と臨床効果に関する検討)

金原 正志
 展開医科学専攻病態制御医科学講座
 （分子内科学）

【背景】安定期慢性閉塞性肺疾患（COPD）患者に対する薬物治療は副作用の観点から吸入気管支拡張剤が推奨されるが、吸入手技困難な高齢者には貼付剤や経口気管支拡張剤投与を検討する必要がある。

【目的】軽症、中等症 COPD 患者を対象とし、テオフィリンとツロブテロールの呼吸機能、気道炎症、QOL における治療効果、安全性を検討すること。

【方法】軽症、中等症 COPD 患者 26 例を対象とし無作為クロスオーバー試験でテオフィリン 400 mg/day、ツロブテロール 2 mg/day を 8 週間投与し、治療前後で呼吸機能、誘発喀痰、QOL、血清高感度 CRP を評価した。

【結果】テオフィリン投与後、呼吸機能改善、気道抗炎症効果を認めましたが、ツロブテロールでは認められなかった。両薬剤投与にて QOL 改善効果は認められなかった。

【結語】吸入手技が困難な高齢安定期 COPD 管理において低用量テオフィリンは有用である可能性が示唆された。

4. PPAR- γ agonist attenuates renal interstitial fibrosis and inflammation through reduction of TGF- β

(PPAR- γ アゴニストは TGF- β 産生の抑制により腎線維化及び炎症を改善させる)

川合 徹
展開医科学専攻病態制御医学講座
(分子内科学)

【目的】今回、マウス片腎尿管結紮（以下 UUO）モデルを用い、PPAR- γ アゴニストの抗腎間質線維化及び抗炎症作用について検討した。

【方法】PPAR- γ アゴニストである Troglitazone を経口投与した。同マウスを用いて day3, day7 の UUO モデルを作成し (N=8), 検討した。腎間質の線維化、炎症、細胞増殖は免疫染色法にて評価した。TGF β 1 の発現を RT-PCR 法にて評価した。また、TGF β 1 のレセプター (TGF β R-I) の発現を RT-PCR 法、ウエスタンブロッティング法にて評価した。

【結果】Troglitazone は用量依存性に腎間質の線維化、炎症、細胞増殖を抑制するとともに、TGF β 1 及び TGF β R-I の mRNA, TGF β R-I の蛋白の発現も用量依存性に抑制した。

【結語】PPAR- γ アゴニストは TGF- β 産生の抑制により腎線維化及び炎症を改善させる。

5. Airflow limitation in smokers is associated with subclinical atherosclerosis.

(気流制限を有する喫煙者の潜在性動脈硬化の検討)

岩本 博志
展開医科学専攻病態制御医学講座
(分子内科学)

【背景】慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者において心血管疾患の合併は死因の 25-50% を占めると報告さ

れている。

【目的】気流制限を有する喫煙者の潜在性動脈硬化について検討すること。

【方法】対象は 45-60 歳の男性。喫煙歴を有し 1 秒率が 70% 未満の喫煙気流制限群 (n=61), 年齢をマッチさせた肺機能正常な非喫煙対照群 (n=122), 喫煙対照群 (n=122) の 3 群について背景因子, 血液検査, 肺機能検査, 頸動脈超音波所見 (IMT・プラーク) を検討した。

【結果】IMT は喫煙気流制限群で喫煙・非喫煙対照群と比較して有意に高値であった。プラークは喫煙気流制限群で非喫煙対照群と比較して有意に高値であった。多変量解析では IMT は %1 秒量と、プラークは CRP と独立した有意な相関を認めた。

【結語】気流制限を呈する喫煙者では潜在性動脈硬化を認め、COPD と動脈硬化が非常に早期より関連していることが示唆された。

6. A novel cell delivery system using magnetically labeled mesenchymal stem cells and an external magnetic device for clinical cartilage repair

(臨床での軟骨修復を目的とした磁気標識した骨髄間葉系幹細胞と外磁場発生装置を利用した新しいセルデリバリーシステム)

小林 孝明
展開医科学専攻病態制御医学講座
(整形外科学)

外磁場発生装置で関節外から磁場をかけることにより、家兎および豚の膝蓋骨に作成した軟骨欠損部に、磁気標識したヒト骨髄間葉系幹細胞を誘導することが可能か実験を行った。

ヒト骨髄間葉系幹細胞の培養液に MRI 造影剤である Ferumoxides を加え、一晚培養することにより幹細胞を磁気標識した。外磁場発生装置には我々が独自に開発した単ポール型電磁石を使用した。家兎および豚の膝蓋骨に軟骨欠損を作製した後、磁気標識した骨髄間葉系幹細胞を関節内注入した後、評価を行った。

家兎を使用した実験では、磁気標識した幹細胞は関節内でも誘導可能であることが肉眼的、組織学的に確認された。また豚膝を使用した実験では、関節鏡視下でも幹細胞の誘導が可能であることが確認された。

我々の磁気標識した骨髄間葉系幹細胞と外磁場発生装置を利用した新しいセルデリバリーシステムはヒト軟骨欠損の関節鏡視下治療に応用できる可能性が明ら

かとなった。

7. Modulation of the secondary injury process after spinal cord injury in Bach1-deficient mice by heme oxygenase-1

(Bach1 ノックアウトマウスにおける heme oxygenase-1 による脊髄損傷後の二次損傷過程の調節)

山田 清貴

展開医科学専攻病態制御医科学講座
(整形外科科学)

【目的】脊髄損傷の二次損傷過程では、酸化ストレスにより脊髄障害が増悪し、生体反応として Heme oxygenase-1 (HO-1) が抗酸化物質を産生する。HO-1 を高発現する Bach1^{-/-} マウスを用いて、HO-1 による脊髄損傷後の脊髄機能保護効果を検討した。

【方法】8週齢雄 wild-type マウス (WT 群), Bach1^{-/-} マウス (KO群) に胸髄損傷を加え、行動学的評価、電気生理学的評価、組織学的評価、HO-1 mRNA の定量を行った。

【結果】行動学的評価に有意差はなかったが、電気生理学的評価では損傷翌日から KO 群で有意に改善した。HO-1 mRNA は損傷翌日から KO 群で有意に高発現し、損傷面積は損傷翌日で KO 群が有意に小さかった。

【結論】高発現した HO-1 による抗酸化作用により二次損傷の伸張が抑制された。HO-1 による脊髄機能保護効果は損傷後1日以内に発現した。

8. Administration of human peripheral blood derived positive cells accelerates functional recovery in a rat spinal cord injury model

(ラット脊髄損傷モデルに対するヒト末梢血由来 CD133 陽性細胞移植は運動機能の回復を促進する)

佐々木浩文

展開医科学専攻病態制御医科学講座
(整形外科科学)

ヒト末梢血由来 CD133 陽性細胞をラット脊髄損傷モデルに移植し、その治療効果について検討した。成体ヌードラットを用い脊髄損傷モデルを作成した。移植細胞にはヒト末梢血由来 CD133 陽性細胞を用い

た。対照群には PBS を注入し、実験群には CD133 陽性細胞 1×10^6 個を経静脈的に移植した。実験群において有意な運動機能の回復を認め、組織学的にも有意な再生効果を認めた。我々が用いた CD133 陽性細胞は末梢血から採取可能で、培養も不要であり倫理面および自己の細胞を利用することを考えると今後の臨床応用への実現性が高いと考える。

9. Characterization of colorectal tumors using narrow band imaging (NBI) magnification.

(NBI 拡大内視鏡観察を用いた大腸腫瘍の質的診断)

1) Magnifying endoscopy with narrow band imaging for diagnosis of colorectal tumors.

(大腸腫瘍の診断に対する NBI を用いた拡大内視鏡観察)

2) Evaluation of microvessels in colorectal tumors by narrow band imaging magnification.

(NBI 拡大内視鏡観察を用いた大腸腫瘍の微小血管診断)

平田 真由子

創生医科学専攻先進医療開発科学講座
(分子病態制御内科学)

【目的】NBI とは消化管粘膜の微小血管を詳細に描出させる内視鏡技術である。大腸腫瘍の質的診断に対する NBI の有用性を検討した。

【対象・方法】(検討1) NBI 拡大観察による pit pattern 診断を行い、従来法との比較検討を行った。(検討2) NBI 拡大観察にて病変の微小血管の太さ(不明瞭/細/太)および血管模様(不明瞭/整/軽度不整/高度不整)を評価し病理診断との関係について検討した。

【結果】(検討1) NBI では整な pit (II, III, IV 型) を伴う病変であれば色素を用いなくても従来法と同様の pit pattern 診断が容易に可能であった。(検討2) NBI にて血管不明瞭な病変は hyperplasia, 血管模様整な病変は腺腫が有意に高率であった。また血管が大きくかつ血管模様高度不整な病変では全例が SM 1,000 μm 以深癌であった。

【結語】NBI 拡大観察は大腸病変の質的診断に有用であると考えられた。

10. Novel diagnostic examinations for small-bowel lesions

(小腸病変に対する新しい診断法)

1) Comparison of detectability of small-bowel lesions between capsule endoscopy and double balloon endoscopy for patients with suspected small-bowel disease

(小腸疾患が疑われる患者におけるカプセル内視鏡検査とダブルバルーン内視鏡検査の小腸病変の検出能の比較)

2) Usefulness and limitations of transabdominal ultrasonography for detecting small-bowel tumors

(小腸腫瘍の検出における体外式腹部超音波検査の有用性と限界)

福本 晃

創生医科学専攻先進医療開発科学講座
(分子病態制御内科学)

【はじめに】小腸の検査法として新たに開発されたカプセル内視鏡検査 (CE) とダブルバルーン内視鏡検査 (DBE) の検出能の比較と以前よりある体外式腹部超音波検査 (TUS) の小腸病変に対する応用について検討した。

【検討 1】小腸疾患が疑われる患者における CE と DBE の小腸病変の検出能の比較

CE と DBE の両方を行った症例において病変の検出能の比較を行った。全例中で両者間に検出率に有意差はみとめず、さらに両検査ともに全小腸を観察できた症例ではかなりの一致がみられ、ほぼ同等の小腸病変検出能を示した。

【検討 2】小腸腫瘍の検出における TUS の有用性と限界

対象は CE もしくは DBE を施行された症例で全例検査前に TUS を行った。TUS は腫瘍径の小さいものや大きくても薄い病変は検出率が低いが体積の大きな病変では検出率は高かった。

【結語】CE と DBE は特に全小腸を観察できればほぼ同等の病変検出能を示し、また TUS は体積の大きな腫瘍に対して有用であった。

11. Expression of multidrug resistance-associated protein 2 is involved in chemotherapy resistance in human pancreatic cancer

(ヒト膵癌における多剤耐性蛋白 MRP2 発現による抗癌剤耐性の制御)

野間文次郎

創生医科学専攻先進医療開発科学講座
(分子病態制御内科学)

膵癌の抗癌剤耐性の機序について、多剤耐性蛋白である MRP2 に着目し、Cisplatin 耐性との関係について検討を行った。対象は膵癌切除検体 40 例と膵癌細胞株 5 種類、さらに膵癌細胞株 (SUIT-2) から作成した Cisplatin 耐性株とした。今回の検討では、MRP1 と MRP2mRNA は 5 種類全ての細胞株で発現していたが、MRP3mRNA は 2 種類の細胞株のみ発現を認めた。一方、切除検体では MRP2mRNA だけが発現していた。MRP2 蛋白の検討では、癌部だけに発現を認め (77.5%)、正常膵組織では発現を認めなかった。次に Cisplatin 耐性株での検討では、MRP2mRNA は親株と比べ発現量が増加していた。しかし耐性株に抗 MRP2 抗体あるいは MRP2 阻害剤を投与し Cisplatin による増殖抑制試験を行った結果、耐性が軽減し、膵癌の Cisplatin 耐性に MRP2 が関与している事が示唆された。

12. Effects of menopause and hormone therapy on erythrocyte deformability

(閉経およびホルモン療法が赤血球変形能におよぼす影響)

坂下 知久

展開医科学専攻病態制御医学講座
(産科婦人科学)

【目的】閉経後エストロゲン (E) が低下し更年期障害がおこる。治療には女性ホルモン補充療法 (HT) がある。HT には E の単独投与と E に黄体ホルモン (P) を併用する方法がある。更年期障害には微小循環の悪化による症状を認めるため、E による赤血球変形能 (ED) の変化を検討した。

【対象と方法】未閉経女性 10 名 (未閉経群)、閉経女性 25 名 (閉経群)、E 補充療法中の 20 名 (ET 群)、EP 補充療法中の 20 名 (EPT 群) を対象とした。末梢血を採取し、血漿に赤血球を加え Ht. 20% の赤血球浮遊液および血漿の 2 種類を用い Micro Channel Array Flow Analyzer で ED を測定した。

【結果】ED は閉経群では未閉経群に比べ有意に低かった。また、ET 群では閉経群に対して有意に高く EPT 群は ET 群と同等であった。

【結語】ED は E 欠乏により低下し、ET や EPT

により回復する。P は E による作用を阻害しない。

13. The pharmacokinetics and pharmacodynamic exposure of meropenem in the cerebrospinal fluid of neurosurgical patients

(脳神経外科患者における meropenem の髄液移行と薬力学的検討)

津村 龍

展開医科学専攻病態薬物治療学講座
(救急医学)

Meropenem (MEPM) の髄液への移行性について脳神経外科患者 6 名を用いて検討した。MEPM を点滴静注し、脳脊髄液および静脈血を経時的に採取して MEPM 濃度を測定した。薬物動態はノンコンパートメント解析およびコンパートメント解析で評価した。薬物動態パラメータと日本の臨床株の MIC データ分布を用いてモンテカルロシミュレーションを行った。血漿に対する脳脊髄液の AUC 比は 0.10, 脳脊髄液中で最高濃度に達するまでの時間は血漿に平均 2.3 – 3.0 時間遅れ, 8 時間間隔の繰り返し投与で脳脊髄液中にわずかに蓄積がみられた。50% の T>MIC を目標とした場合, 肺炎球菌, 髄膜炎菌, インフルエンザ菌, 大腸菌に対しては 8 時間毎 0.5 g で 90% 以上の PTA (目標達成確率) 期待値が達成できた。100% の T>MIC を目標とした場合は 8 時間毎 1 g の投与が必要であった。緑膿菌では 8 時間毎 2 g でも低い PTA 期待値しか得られなかった。

14. Oncolytic virus therapy for pancreatic cancer using the adenovirus library displaying random peptides on the fiber knob

(ランダムペプチド・ディスプレイ・アデノウイルス・ライブラリーを用いた膵がん細胞標的ベクターの開発とその制限増殖型ウイルス治療)

西本 武史

創生医科学専攻先進医療開発科学講座
(脳神経外科学)

腫瘍内でのみ増殖して腫瘍を融解せしめる制限増殖型ウイルスは, 悪性腫瘍治療において極めて有用である。そこで, アデノウイルスのファイバーをコードする部分に種々のランダムペプチドを挿入したアデノウイルスライブラリーを作成し, スクリーニングか

ら腫瘍特異的アデノウイルスを同定し, 腫瘍標的制限増殖型ウイルスとして治療実験を行った。結果は, 1) アデノウイルスライブラリーを用いて AsPC-1 細胞でスクリーニングすることができた。2) 得られたベクターは, AsPC-1 において感染効率を上昇させ, 正常組織では上昇させなかった。3) *in vitro*, *in vivo* において, 高い殺細胞効果, 抗腫瘍効果が得られた。4) 治療腫瘍内ではアデノウイルスが GFP で確認でき, ウイルスの複製により抗腫瘍効果が得られていることを確認した。

以上から, 本治療法が感染効率による新しい CRAd 治療となりえることを示した。

15. DNA methylation of the *RIZ1* gene is associated with nuclear accumulation of p53 in prostate cancer

(前立腺癌における RIZ1 遺伝子の DNA メチル化は p53 の核への異常集積と関連する)

長谷川泰久

創生医科学専攻先進医療開発科学講座
(腎泌尿器科学)

癌抑制遺伝子の 1 つ retinoblastoma protein-interacting zinc finger gene (RIZ1) のメチル化と p53 変異ならびに臨床病理学的因子の関係を前立腺癌において検討した。結果, 47 例の前立腺癌組織中 20 例において methylation specific PCR 法で RIZ1 遺伝子のメチル化を認めた。メチル化と臨床病理学的因子に有意な関連はなかった。p53 の核内集積は免疫染色法で 4 例に認め, それらはすべて RIZ1 の DNA メチル化を伴っていた。核内集積のなかった 43 例では RIZ1 のメチル化は 16 例 (37%) にすぎなかった ($P=0.0272$)。前立腺癌細胞株 PC3 において DNA メチル化による RIZ1 の喪失と脱メチル化剤による発現回復が観察された。以上から, 前立腺癌では RIZ1 の発現がメチル化によって抑制されており, 前立腺癌の発生に関与していることが示唆された。

16. Body wall morphogenesis: limb-genesis interferes with body wall-genesis via its influence on the abaxial somite derivatives

(体壁形態形成: 四肢形成は体節の側軸派生物の発生に影響を与え体壁形成を阻害する)

Isabella Kurnia Liem

創生医科学専攻病態探求医科学講座
(解剖学及び発生生物学)

ほ乳類や鳥類において、その頸部や腰仙部に肋骨が形成されないのは四肢の形成による阻害のためではないかと考え、実験的に過剰肢を形成させ、体節中胚葉に由来する肋骨や体壁筋の発生への影響を調べた。ニワトリ胚の胸部に、ウズラ胚の将来四肢骨を形成する壁側側板中胚葉を移植することによって、胸部に過剰肢を形成させた胚では、遠位肋骨胸骨部とその肋間筋などの腹側体壁が欠損していた。このとき、正常発生では肋骨や体壁筋に分化する胸体節細胞は、過剰肢に移動して筋になっていた。一方、背側体壁、すなわち近位肋骨と遠位肋骨椎骨部、近位肋間筋の形成には有意な変化が見られなかった。体節派生物を主軸 Primaxial- 側軸 abaxial 派生物に分類すると、四肢の筋ならびに腹側体壁の骨と筋は側軸派生物であり、一方、背側体壁の骨と筋は主軸派生物となる。本研究の結果は、四肢の形成が、四肢筋と同じ範疇に分類される側軸派生物の形成を抑制することを示唆している。

17. Evaluation of noncalcified coronary plaque characteristics using 64-slice computed tomography

(64 列型マルチスライス CT を用いた非石灰化冠動脈プラークの性状評価)

- 1) Comprehensive evaluation of noncalcified coronary plaque characteristics detected using 64-slice computed tomography in patients with proven or suspected coronary artery disease (冠動脈疾患を有する、もしくは有する疑いのある患者における、64 列型マルチスライス CT を用いた非石灰化冠動脈プラークの包括的性状評価)
- 2) Characterization of noncalcified coronary plaques and identification of culprit lesions in patients with acute coronary syndrome by 64-slice computed tomography (急性冠症候群を有する患者における、64 列型マルチスライス CT を用いた非石灰化冠動脈プラークの性状評価および責任病変の特定)

北川 知郎

展開医科学専攻病態情報医科学講座
(循環器内科学)

急性冠症候群 (ACS) 発症に重要な意義を持つ非石灰化冠動脈プラーク性状に関し、近年臨床導入されたマルチスライス CT (MSCT) を用いた非侵襲的評価を試みた。病変部の脆弱性を規定するとされる豊富な脂質成分 (低い CT 値)、血管断面積増大 (陽性リモデリング)、近接する血管壁点状石灰化は共存する傾向があることから、相互に関連性があることが示され、これらは相乗効果的に ACS 発症のリスクを高めている可能性が考えられた。また、血管内エコーとの比較検討においては CT 所見の高い信頼性が確認された。ACS 患者群と非 ACS 患者群の比較検討においては、より脆弱な特徴を備える非石灰化冠動脈プラークが ACS 患者群にて高頻度に検出され、さらに ACS 責任病変の予測因子として、より進行した陽性リモデリングが最も有用であった。以上より、MSCT が ACS 発症の危険性を有する症例および病変の検出に有用である可能性が示唆された。

18. Localization of transient receptor potential vanilloid (TRPV) in the larynx
(喉頭における TRPV の局在)

濱本 隆夫

展開医科学専攻病態制御医科学講座
(耳鼻咽喉科・頭頸部外科)

TRPV 受容体は多くの組織に発現を認め、温度以外にも多くの物理的・化学的刺激に対して感受性を持つ侵害受容器として機能していると考えられている。今回基礎実験としてマウス喉頭において TRPV1-4 の発現の有無を確認し、その局在を検討した。また、ヒト喉頭において TRPV の発現は確認されておらず、追加研究としてヒト喉頭における TRPV1-4 の発現の有無を明らかにし、TRPV の生理的機能について検討した。組織は喉頭全摘術を施行した臨床症例より採取したことより、術前の放射線化学療法などで起こりうる粘膜障害などとの関連性についても検討した。

ヒト喉頭において TRPV1-4 は粘膜上皮や腺組織、粘膜下層神経、血管内皮細胞に発現し、その局在はマウス喉頭と同等であった。TRPV 受容体温度感受器のみではなく、侵害受容器として機能し生態防御に関わる受容体として機能していると考えられた。