

第90回 広島大学研究科発表会（医学）

（2021 年 8 月 5 日）

1. Effect of Wnt5a on drug resistance in estrogen receptor-positive breast cancer

（エストロゲン受容体陽性乳癌における，Wnt5a の薬剤耐性への影響）

網岡 愛
医歯薬学専攻（腫瘍外科学）

背景：Wnt5a 陽性乳癌は，エストロゲン受容体(ER)陽性乳癌に分類され，その予後は Wnt5a 陰性よりも不良である。

方法：当院で手術を受けた 151 人の ER 陽性乳癌患者が登録された。Wnt5a を恒常的に発現する MCF-7 細胞 [MCF-7/Wnt5a (+)] を樹立し，遺伝子発現解析を行った。次に細胞培養および乳癌組織を使用して，薬剤感受性試験および突然変異分析を行った。

結果：Wnt5a 陽性乳癌患者の 8 年無再発生存率は，Wnt5a 陰性よりも低かった ($P = 0.047$)。DNA マイクロアレイとパスウェイ解析では，チトクローム P450 (CYP) 経路のみが MCF-7/Wnt5a (+) で発現亢進した ($P = 0.044$)。更に MCF-7/Wnt5a (+) は，タモキシフェン，パクリタキセル，およびシクロホスファミドに対する感受性の低下を示した (いずれも $P < 0.001$)。一方，PIK3CA 変異は，Wnt5a 発現と相関していなかった。

結論：ER 陽性乳癌では，Wnt5a は CYP 代謝経路を亢進させ，その代謝基質のタモキシフェン，パクリタキセル，シクロホスファミドへの感受性を低下させることで，Wnt5a 陽性乳癌の予後不良に関与する可能性がある。

3. Utility of the inside stent as a preoperative biliary drainage method for patients with malignant perihilar biliary stricture

（悪性肝門部領域胆管狭窄に対する術前胆道ドレナージにおける inside stent の有用性）

中村 真也
医歯薬学専攻（消化器・代謝内科学）

【目的】悪性肝門部領域胆管狭窄の術前胆道ドレナ

ジ (PBD) における inside stent の有用性について検討した。

【方法】悪性肝門部領域胆道狭窄 81 例を対象とし後方視的に解析を行った。手術までの待機期間中 41 例に inside stent, 20 例に conventional stent が留置され 20 例は ENBD を継続された。PBD 期間中の有害事象，術後合併症を 3 群間で比較検討した。

【結果】手術待機期間中の re-intervention (RI) 施行率は inside stent 群が conventional stent 群および ENBD 群に比べて有意に低く (9.8% vs. 40%, 35%, $P = 0.01, 0.030$)，RI までの期間も長かった (log-rank: $P = 0.004, 0.041$)。

【結語】Inside stent 留置は悪性肝門部領域胆道狭窄における有用な PBD 法となりうる。

4. Clinical Analysis of Early-Stage Pancreatic Cancer and Proposal for a New Diagnostic Algorithm: A Multicenter Observational Study

（膵癌早期診断例の臨床学的分析と新しい診断アルゴリズムの提案：多施設共同観察研究）

池本 珠莉
医歯薬学専攻（消化器・代謝内科学）

【背景】膵癌早期診断例の多施設共同研究を行った。

【方法】広島大学病院および関連 12 施設で診断された膵癌早期診断例 (Stage 0 : 40 例, Stage IA : 56 例) を対象とし，分析を行った。【結果】受診契機は無症状例が 70% で健診異常と他科疾患フォロー中の膵異常所見の指摘が大半であった。画像検査では腫瘍の直接描出より間接所見の指摘が多く，特に Stage 0 では MRCP で膵管狭窄を 86% に認めた。Stage IA における腫瘍の描出は CT や MRI と比較して EUS で有意に描出率が高かった。術前病理診断では ERCP 関連膵液細胞診の感度は 84%，Stage IA に対する EUS-FNA の感度は 93% であった。【結語】膵癌早期診断には無症状例の効率的な囲い込み，MRCP による膵管スクリーニング，EUS による膵精査，膵管異常に対して ERCP 関連膵液細胞診を行うアルゴリズムが有用と考える。

5. Management of refractory ascites attenuates muscle mass reduction and improves survival in patients with decompensated cirrhosis

(肝硬変患者における難治性腹水の制御はサルコペニアの進行を抑え予後を改善させる)

難波 麻衣子

医歯薬学専攻 (消化器・代謝内科学)

サルコペニアを有する肝硬変患者の予後は不良であるが、難治性腹水は腹満感による食欲不振、活動量の低下を招きサルコペニアを進行させることが予想される。本研究では、難治性腹水に対して当院でトルバプタンを初回導入した42例を対象に、その奏功別の筋肉量の変化を検討した。筋肉量の評価はCTの骨格筋断面積で行い、トルバプタン導入前後での筋肉量の変化率を求めた。トルバプタン導入後のCTで腹水が消失した症例を奏功例と定義した。多変量解析により、筋肉量増加 (オッズ比 20.364, $p=0.006$), 予後良好 (ハザード比 3.884, $p=0.018$) の独立した因子としてトルバプタン奏功例が抽出された。さらに、トルバプタン奏功群においてはアルブミン値が有意に上昇した。腹水のコントロールにより腹満感が軽減し、食欲や運動量が改善することにより、サルコペニアの進行を抑制できる可能性が示唆された。

6. Enhanced osteoclastogenesis in patients with MSMD due to impaired response to IFN- γ

(MSMD 患者では IFN- γ の反応障害により破骨細胞形成が増強する)

三木 瑞香

医歯薬学専攻 (小児科学)

メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症 (MSMD) は細胞内寄生菌による感染症を繰り返す稀な遺伝性免疫疾患である。食細胞, T 細胞, NK 細胞における IL-12 シグナル伝達障害や IFN- γ 反応不良により MSMD を発症する。IFN- γ 反応不良な MSMD で多発性骨髄炎が好発するため IFN- γ のシグナル伝達障害と骨髄炎について研究を行った。患者の骨髄炎組織では破骨細胞が増加していた。健常者と患者の骨髄由来顆粒球マクロファージコロニー形成細胞から破骨細胞を分化誘導し IFN- γ を添加しその影響を検討した。IFN- γ は破骨細胞の形成や骨吸収作用を強力に阻害するが、患者では破骨細胞への分化抑制と骨吸収の

抑制に高濃度の IFN- γ が必要であった。IRF8 mRNA 発現低下と RANK mRNA 増加を認めた。IFN- γ 反応不良な MSMD では IFN- γ による破骨細胞の形成や骨吸収の抑制が不十分であった。

7. Determinants of Exercise-Induced Mitral Regurgitation Using Three-Dimensional Transesophageal Echocardiography Combined With Isometric Handgrip Exercise

(運動誘発性僧帽弁逆流の規定因子— 3次元経食道心臓超音波とハンドグリップ負荷を用いた検討—)

原田 侑

医歯薬学専攻 (循環器内科学)

【背景】僧帽弁閉鎖不全症 (MR) を有する心不全患者において、運動負荷による逆流増悪が大きい群 (Exercise-induced) は予後不良とされている。我々は3次元経食道心臓超音波とハンドグリップ (HG) 負荷を組み合わせることで Exercise-induced MR の規定因子を検討することが出来ると仮定した。

【方法・結果】76名 (機能性 MR40名, 器質性 MR36名) の MR を有する心不全患者が前向きに登録された。HG 負荷は機能性 MR 群, 器質性 MR 群それぞれの僧帽弁形態を変化させ、3D-VCA を有意に増加させた (機能性 MR : $36.7 \pm 17.5\text{mm}^2 \rightarrow 52.6 \pm 24.0\text{mm}^2$, 器質性 MR : $46.4 \pm 19.0\text{mm}^2 \rightarrow 53.8 \pm 21.1\text{mm}^2$, いずれも $P<0.001$)。多変量解析の結果、機能性 MR では安静時 3D-VCA と Tenting height が、器質性 MR では Flail width が独立した規定因子として選択された。

【結論】HG 負荷 3D-TEE は Exercise-induced MR のメカニズム評価や診断を行うにあたり、新たな診断ツールとなりうる可能性がある。また Exercise-induced MR の規定因子は MR 機序によって異なっている可能性が示唆された。

8. Minor allele of *GJA1* gene polymorphism is associated with higher heart rate during atrial fibrillation
(*GJA1* 遺伝子多型マイナーアレルは心房細動中の高心拍数に関与している)

岡村 祥央
医歯薬学専攻 (循環器内科学)

心房細動中の心拍数に関する遺伝的要因について検討した。

【方法】

当院で持続性心房細動のアブレーションを行った 311 例を対象とし、ホルター心電図による 24 時間心拍数とゲノム関連解析で報告された洞調律中の心拍数との関連を認めた 21 の遺伝子多型のタイピングを行った。

【結果】

GJA1 遺伝子多型 (rs1015451) と心房細動における心拍数が関連を認め、*GJA1* 遺伝子多型マイナーアレルを有する症例で 24 時間総心拍数が多いことがわかった。その他 *GJA1* 遺伝子多型マイナーアレルを有する症例において心房内伝導速度が速く、心房細動の周期長の短縮を認めた。多変量解析においても心房細動における心拍数上昇因子として *GJA1* 遺伝子多型マイナーアレルは独立した因子であった。

【結語】

GJA1 遺伝子 rs1015451 は難治性頻脈性心房細動を予測する、新たな遺伝子マーカーとなる可能性がある。

9. Localization and Maintenance of Engrafted Mesenchymal Stem Cells Administered via Renal Artery in Kidneys with Ischemia-Reperfusion Injury (腎虚血再灌流障害に対する腎動脈を介した骨髄間葉系幹細胞移植による線維化抑制効果)

山田 有美
医歯薬学専攻 (腎臓内科学)

急性腎障害: acute kidney injury (AKI) の発症は将来的な慢性腎臓病: chronic kidney disease (CKD) 発症のリスクとなるが、AKI に対する根本的な治療はなく、原因となる病態や疾患に対する治療が中心となる。ラット腎虚血再灌流障害: ischemia-reperfusion injury (IRI) モデルでヒト間葉系幹細胞: mesenchymal stem cell (MSC) 移植による AKI に伴う抗炎症作用や腎線

維化抑制効果が報告されているが、MSC の生着期間により治療効果が得られる条件は明らかでない。

我々は、AKI から CKD への移行が観察できる一側 IRI のラットモデルを用いてヒト MSC のラット腎への生着を、選択的に腎動脈から投与する経路と下大静脈より全身投与する経路と比較するとともに、それぞれの投与方法で IRI により誘導される腎線維化に対する抑制効果を検討した。静脈投与と比較して、MSC を腎動脈から投与することで、IRI で生じる腎線維化に対する強い抑制効果と MSC の長期生着が確認できた。障害臓器へ直接 MSC を投与することは、MSC を用いた臓器障害を軽減する治療法として有用であると考ええる。

10. Nasal nitric oxide in the inferior turbinate surface decreases with intranasal steroids in allergic rhinitis: A prospective study
(アレルギー性鼻炎において、下鼻甲介表面の一酸化窒素は点鼻ステロイドにより減少した。前向き試験。)

高原 大輔
医歯薬学専攻 (耳鼻咽喉科学・頭頸部外科学)

【背景】

アレルギー性鼻炎 (AR) の患者では、下鼻甲介で NO の増強された活性を示す。

【目的】

AR 患者で鼻腔 NO 値が治療効果の指標になるか検討した。

【方法】

通年性 AR 患者 25 人に対して経鼻・経口呼気 NO (FeNO)、鼻腔 NO を測定した。対照群として鼻症状のない 10 人とした。

AR 群にのみ点鼻ステロイド (fluticasone furoate) を 1 日 1 回で使用した。治療前、治療後 2 週間と 2 か月の時点での鼻症状スコア (TNSS)、FeNO、鼻腔 NO (中鼻道 [MM 領域] と下鼻甲介表面 [IT 領域]) を測定した。

【結果】

健常群ではいずれも変化は認められなかった。

AR 群では経鼻 FeNO と IT 領域の鼻腔 NO 値は健常者より高かったが、治療後には差がない程度まで低下し、TNSS も改善した。MM 領域は 2 カ月で低下した。

MM/IT 比を設定し、AR 群は健常群より低かった

が、2カ月の時点では差は消失した。

【結論】

点鼻ステロイドで下鼻甲介 NO の産生を抑制でき、鼻の NO 分布を正常化できる可能性がある。また鼻腔 NO 値は AR の状態を評価する客観的な指標となりうる。

11. Accuracy of thin-slice model-based iterative reconstruction designed for brain CT to diagnose acute ischemic stroke in the middle cerebral artery territory: a multicenter study

(急性期中大脳動脈梗塞における頭部 CT の thin-slice 逐次近似画像再構成法を用いた診断能：他施設研究)

三谷 英範

医歯薬学専攻 (放射線診断学)

【目的】急性期中大脳動脈梗塞における頭部 CT の thin-slice モデルベース逐次近似画像再構成法 (model-based iterative reconstruction: MBIR) を用いた臨床的有用性の検討。

【方法】急性期中大脳動脈梗塞患者 41 症例を対象に、2mm 厚のハイブリッド逐次近似画像再構成法 (hybrid iterative reconstruction: hybrid IR) および 2mm 厚の MBIR 画像において、画像ノイズ、病変のコントラストノイズ比 (contrast-noise ratio: CNR) を比較した。dataset 1 を 5mm 厚の hybrid IR と thin-slice hybrid IR (2mm 厚) の組み合わせ、dataset 2 を 5mm 厚の hybrid IR と thin-slice MBIR (2mm 厚) の組み合わせとし、急性期脳梗塞の検出に関して読影実験を行った。読影実験は、上記 41 症例に急性期梗塞のない 39 症例を加え合計 80 例とし、8 人の放射線診断医が参加し ROC 解析を行った。

【結果】画像ノイズは MBIR 画像で低く、コントラストノイズ比は MBIR 画像で高かった。MBIR 画像を用いた thin-slice MBIR を併用した方が area under curve の平均値は高かった。

【結論】MBIR 画像は thin-slice の条件下で画質を定量的に改善させ、中大脳動脈領域の急性期脳梗塞の診断能を改善することができる。

13. Untying relaxed circular DNA of hepatitis B virus by polymerase reaction provides a new option for accurate quantification and visualization of covalently closed circular DNA

(ポリメラーゼ反応による B 型肝炎ウイルスの非結紮環状 DNA の直鎖化による共有結合結紮型環状 DNA の正確な定量と可視化の新たな手法)

神谷 直洋

医歯薬学専攻 (消化器・移植外科学)

B 型肝炎ウイルス (HBV) は RNA 中間体から非結紮環状 DNA (rcDNA) ゲノムを複製する。rcDNA を含む HBV カプシドは核移行し、HBV 転写物の鋳型となる共有結合結紮型環状 DNA (cccDNA) を形成する。細胞内の cccDNA は rcDNA と比べ非常に少なく、rcDNA を選択的に分解するヌクレアーゼ前処理法が cccDNA 定量 PCR に使われる一方で、cccDNA 可視化は未だサザンブロットが標準法である。本研究で DNA ポリメラーゼを用いて rcDNA を直鎖状に構造変化する手法を確立し、精密 PCR 定量のみならず、新たな rc/ccc の分離可視化法に応用した。本法を従来の前処理法と組み合わせて検討した結果、T5 エキソヌクレアーゼ処理は cccDNA の熱安定性を向上させることが判明し、PCR 前の制限酵素切断が精密定量に必須であった。更に同検体中の cccDNA 断片を 2 色、直鎖化した rcDNA 断片を 1 色スポットとして、二次元で可視化する digital PCR 系を構築し、高純度の cccDNA 単離を確認した。本法を、初代ヒト肝細胞培養 HBV 感染系やゲノムコピー数との相対定量などに用いた結果からも、rcDNA 直鎖化から始まる一連の反応が、微量検体の cccDNA 解析に有用と考えられた。

14. Kynurenic acid is a potential overlapped biomarker between diagnosis and treatment response for depression from metabolome analysis (キヌレン酸はうつ病の診断と治療効果予測に有用なバイオマーカーである ～メタボローム解析～)

撰 尚之

医歯薬学専攻 (精神神経医科学)

【目的】

メタボローム解析を用いてうつ病と健常者を判別し、同時にエスシタロプラムの治療効果を予測する血漿代謝物を探索する。

【方法】

うつ病患者 88 人及び健常者 88 人の血漿を採取し、メタボローム解析を用いてうつ病診断に有用な代謝物

を検出した。次にエスシタロプラムによる約6週間の治療を終えた患者62人の治療前後のハミルトンうつ病評価尺度を測定し、治療反応に関与する代謝物を同定するための回帰モデルを作成した。

【結果】

うつ病患者と健常者を区別する20種類の代謝物と、エスシタロプラムの治療反応予測に影響する2種類の代謝物を検出した。測定した73種類の代謝物の中でキヌレン酸のみが重複した。キヌレン酸はうつ病で低く、低値であるほどエスシタロプラムに対する良好な治療反応を示した。

【結論】

キヌレン酸の低下がうつ病の病態生理に関与している可能性を示すとともに、治療薬選択の最適化にもつながる重要な知見と考えられた。

15. Effect of the glucono- δ -lactone concentration on the sensitivity and stability of PVA-GTA-I radiochromic gel dosimeter"

(PVA-GTA-I 色素ゲル線量計の感度と安定性に及ぼすグルコノデルタラクトン濃度の影響)

Jolan Taño

医菌薬学専攻 (線量測定・評価研究分野)

The present study demonstrates the fundamental dose-response characteristics and potential reusability of the polyvinyl alcohol-glutaraldehyde-iodide (PVA-GTA-I) gel dosimeter with varying concentrations of glucono- δ -lactone (GDL) using ^{137}Cs gamma rays. The PVA-GTA-I gel showed linear dose-response up to 10 Gy with sensitivities

3-9 times higher than other radiochromic gel dosimeters. Higher GDL concentrations increased the rate of auto-oxidation. Our study suggests potential applications of the PVA-GTA-I gel in clinical 3D dosimetry for radiotherapy.

17. Signal Activation of Hepatitis B Virus-Related Hepatocarcinogenesis by Up-regulation of SUV39h1]

(SUV39h1 発現亢進によるB型肝炎ウイルス関連肝発癌の信号活性化)

竹内 泰江

医菌薬学専攻 (消化器・代謝内科学)

B型肝炎ウイルス(HBV)関連蛋白質であるHBx蛋白質は、小胞体ストレスやヒストン修飾などを介し、肝発癌に関与すると考えられているが、その機序については十分に解析されていない。本研究にて、HBV持続感染ヒト肝細胞キメラマウスの肝組織を用いた遺伝子発現解析により、HBVの感染に伴いヒストンメチル化酵素 SUV39h1 の発現が亢進することを見いだした。さらに、HBx と SUV39h1 は各蛋白質の機能ドメイン付近で interaction すること、HBx を介した肝発癌への寄与が報告されている4遺伝子(ATF6, AFP, GADD45a, DUSP1)が SUV39h1 共存下で発現増強すること、HBx が SUV39h1 のヒストンメチル化活性を増強することを明らかにした。これらは、新たなHBxを介した肝発癌機構を示しており、HBx と SUV39h1 の相互作用制御は、新たな肝癌治療標的となる可能性を示すものと思われる。