

第109回 岡山医学会総会

日 時：平成22年 6 月 5 日（土）

場 所：岡山プラザホテル

（平成22年 6 月 7 日受稿）

受賞講演

結城賞

Dynamic instability of microtubules requires dynamin 2 and is impaired in a Charcot-Marie-Tooth mutant

生化学

田邊賢司

変性性末梢神経疾患の一つである Charcot-Marie-Tooth 病 (CMT) は様々な原因遺伝子が同定されている。CMT の原因遺伝子の一つとして2005年に報告されたダイナミン 2 は、細胞内輸送に重要な役割を果たす遺伝子として世界中で研究されてきた。しかし、CMT でみつかるとダイナミン変異体には既知のダイナミンの機能が障害されておらず、その病態との関連性、メカニズムは不明のままであった。本研究では、ダイナミン 2 が *in vivo* で細胞骨格の一つである微小管に結合し、その動態を制御している事を世界で初めて示した。さらに、CMT 変異体では微小管の制御機構が破綻している事を見出し、異常な微小管重合の誘導や微小管に依存した細胞内輸送が破綻している事を発見した。本研究はダイナミンによる細胞骨格制御を見出すと同時に、CMT の病態解明につながるものとして非常に重要といえる。

Smad3 activates the Sox9-dependent transcription on chromatin

整形外科

古松毅之

軟骨細胞分化において、転写因子 Sry-type high-mobility-group box (Sox) 9 を中心とした転写制御機構は重要な役割を持つ。また、成長因子 transforming growth factor (TGF)- β の存在も、軟骨細胞分化に必須とされる。これまでに受賞者 (古松医師) は、TGF- β の細胞内シグナル伝達因子である Smad3 が転写共役因子 p300 とともに、Sox9 による転写活性を増強させることを報告した。また、クロマチン上での Sox9 と p300 による転写調節機構を明らかにした。しかし、TGF- β シグナルによるエピジェネ

ティックな転写制御については不明であった。本研究は、*in vitro* クロマチン再構成モデルを用いて、TGF- β により活性化された Smad3 が、Sox9 を介した転写発現をクロマチンレベルで制御していることを証明したものである。また、本研究は、軟骨細胞分化に必須とされる TGF- β が実際にエピジェネティックな転写発現を調節していることをはじめて明らかにしたものであり、受賞者による複数の研究成果の集大成であると同時に、最も重要な位置を占める論文であると考えられる。

林原賞

Delivery of sodium borocaptate to glioma cells using immunoliposome conjugated with anti-EGFR antibodies by ZZ-His

細胞生理学

Bin Feng

神経膠芽腫に対してホウ素中性子捕捉療法の臨床研究が実施されている。本治療法が奏功するには、ホウ素を腫瘍細胞に特異的かつ高効率に導入することが重要である。現在臨床研究で使用されているホウ素剤は腫瘍特異性が無い。本研究では、神経膠芽腫細胞に高発現している EGFR のバリエーションを認識する抗体を付加したイムノリポソームを開発した。このリポソーム内にホウ素製剤 BSH を封入し、腫瘍細胞ならびに脳腫瘍モデルマウスに投与した。その結果、ホウ素を脳腫瘍に特異的に導入することに成功した。

Analysis of fecal DNA methylation to detect gastrointestinal neoplasia

消化管外科

永坂岳司

便中のヒト由来メチル化 DNA を検出することにより、簡便に大腸癌をスクリーニングする技術の開発を行った。このスクリーニング方法を用い、様々な疾患患者から得られた便を解析したところ、大腸癌、大腸腺腫のみでなく、胃癌も検出可能であることが示された。また、メチル化の

パターンを検出することによって、大腸癌、胃癌の進行度を推測することも可能であった。この便中のヒト由来メチル化DNAを検出する新しいスクリーニング方法は、大腸癌だけでなく、その他の消化器癌をもスクリーニングできる可能性を示した。

砂田 賞

Vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis, ameliorates renal alterations in a mouse model of diabetic nephropathy

腎臓・糖尿病・内分泌科 那須達世

本邦にて慢性腎臓病の進展により末期腎不全から血液透析・腹膜透析に至る患者数は増加の一途をたどっており、2008年末には28万人超に至る。さらに、透析導入の原疾患では糖尿病性腎症が第1位となっており、同症進展抑制のための有効な治療法の開発が急務である。

糖尿病性腎症では、早期に糸球体過剰濾過/肥大、メサンギウム基質増加や微量アルブミン尿を呈し、最終的に糸球体硬化から末期腎不全に到る。その早期の段階で、糸球体係蹄数の増加等の「血管新生」様現象が認められ、血管新生促進因子 vascular endothelial growth factor (VEGF) の関与が報告され、網膜症との類似点が指摘されている。

今回、1型糖尿病マウスモデルを用い内在性血管新生抑制因子 Vasohibin-1 (VASH-1) による早期腎症進展抑制効果について検討した。Streptozotocin (STZ) 投与により1型糖尿病モデルを作成し、高血糖を確認後、VASH-1 発現アデノウイルスベクター (AdhVASH-1) もしくは対照として AdLacZ を尾静脈内投与 (2週後に再投与) した。AdhVASH-1 投与後2週間の時点でも、血清中及び肝組織における hVASH-1 発現が、AdLacZ 投与群に比して有意に増加していた。4週後の時点で STZ 投与による高血糖・体重減少は AdhVASH-1 投与群にて対象群と有意差を認めなかったが、腎肥大・アルブミン尿増加が有意に抑制された。さらに、糸球体肥大・メサンギウム基質増加・単球浸潤・糸球体内皮細胞領域増加が AdhVASH-1 投与群にて有意に抑制された。一方、線維化促進因子 TGF- β 、ケモカイン MCP-1、終末糖化産物 AGE 受容体 RAGE の発現増加が、AdhVASH-1 投与群にて有意に抑制された。高糖濃度条件下での培養マウスメサンギウム細胞における上記因子の発現増加が VASH-1 蛋白添加により濃度依存性に抑制され、VEGF もしくは高糖濃度刺激下での培養糸球体内皮細胞における VEGFR-2 リン酸化が VASH-1 蛋白添加により濃度依存性に抑制された。

血管新生制御因子 Vasohibin-1 による、内皮細胞・メサ

ンギウム細胞への直接作用を介する早期糖尿病性腎症の進展制御効果が示唆された。

Intravenous administration of nicorandil immediately before percutaneous coronary intervention can prevent slow coronary flow phenomenon

循環器内科

河合勇介

経皮的冠動脈形成術 (PCI) 後にしばしば発生する冠動脈 slow flow 現象 (SCF) により様々な合併症が起こりうるが、それを予防するための方法として確立されたものはない。今回 PCI 前のニコランジル経静脈的ボラス投与が PCI 施行後の SCF を抑制しうるか否かを検討した。まず12人の安定狭心症患者に対して、1 mg, 3 mg, 6 mg のニコランジルを経静脈的にボラス投与し、ドプラガイドワイヤを用いてそれぞれの場合の平均最大血流速度 (APV) を計測したところ、6 mg で有意な APV 上昇を認めた。そこで、408人の PCI 施行患者を 6 mg のニコランジル投与群と非投与群に振り分け、SCF 発症率と予後を検討した。結果、急性冠症候群 (ACS), non-ACS いずれにおいても、ニコランジル投与群において SCF 発生率が有意に低下した。ACS においては、ニコランジル投与群において再血行再建施行率が有意に減少した。

新見賞

Dynamic interaction of amphiphysin with N-WASP regulates actin assembly

生化学

山田浩司

アンフィファイジン1 (以下 Amph1 と略す) は、神経シナプスに高濃度に発現し、シナプス小胞エンドサイトーシスに機能する。さらに Amph1 はシナプスにおいてアクチンを制御することが示唆されてきているが、決定的な証拠はこれまで得られていなかった。

本研究では、Amph1 がアクチン重合核形成タンパクである N-WASP に結合し Arp2/3 依存性アクチン重合を促進することを見だし、その機能ドメイン (BAR ドメイン, SH3 ドメイン) を同定した。Amph1 ノックアウトマウスの脳細胞質では、N-WASP-Arp2/3 依存性のアクチン重合が顕著に減少しており、この減少は Amph1 タンパクを添加することにより回復した。Amph1 タンパクを内在性に発現している細胞を用いて、アクチンが集積する細胞辺縁部やラッフル膜に Amph1 と N-WASP が共局在することを明らかにした。さらに、細胞内での Amph1 と N-WASP の結合を FRET-FLIM (蛍光共鳴エネルギー移動) 法で調べた。細胞膜に存在するホスファチジルセリン

受容体を刺激するとアクチン重合を伴った細胞膜の伸展及びラッフル膜の形成がおこる。この条件下、Amph1は、細胞辺縁部のラッフル膜直下で刺激に応じてN-WASPと結合することが判明した。

これらの結果は、Amph1の重要な働きがアクチン制御であることを強く示している。Amph1によるアクチン制御は、これまでに知られていた2つの役割、エンドサイトーシスにおけるアダプタータンパクとしての役割、そして細胞膜変形と細胞膜曲率の感知という役割と共同して、エンドサイトーシスを制御しているものと考えられる。

Dissociation and protection of the neurovascular unit after thrombolysis and reperfusion in ischemic rat brain

神経内科

山下 徹

近年、日本でも脳梗塞急性期において tissue plasminogen activator (tPA) 静注による血栓溶解療法が行われるようになり一定の効果が得られてきている。しかしながらその合併症である出血性脳梗塞が約5%の確率で出現することから、tPAの適応は厳しく制限されているのが現状である。そこで我々は出血性脳梗塞ラットモデルを用いて、tPA投与による脳血流再灌流後どのようなメカニズムで血管が破綻するのか、またフリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンが血管の破綻を抑制しうるかを検討した。

自然発症高血圧ラットの13週齢オスに2週間の塩分負荷をかけた上で、シリコンコートした4-0ナイロン挿入により4.5時間の中大脳動脈閉塞を行った。tPA投与群では血栓栓子を引き抜く直前にtPA (10mg/kg) 静注を行うことで出血性脳梗塞が再現性よく確認できた。

今回の実験では、4.5時間虚血という非常に強い虚血負荷をかけたのにも関わらず、vehicle群の24時間後生存率は100%であった。これがtPA単独投与群では66%まで低下し、エダラボン+tPA投与群では100%に改善した。脳表面を観察すると、tPA単独投与群では明らかな脳内出血を認め、鉄染色で出血量を定量したところエダラボン投与群で有意に出血量が減少していることを確認した。以上のことからエダラボンはtPA投与後の出血性脳梗塞を抑制する効果があると考えられた。次に血管周囲のフリーラジカルの量を推定するために、脂質過酸化物質である4-HNEとHELを免疫組織学的に評価したところ、tPA投与により血管周囲の4-HNE発現量は大幅に増加し、エダラボン併用投与はその発現を抑制していることが確認された。またMultiple ELISA法で血清中の様々な炎症サイトカインやケモカイン、matrix metalloproteinases (MMPs) を測定したところ本実験ではMMP-9がtPA単独投与群で有意

に誘導されていることが明らかになった。次に防御側である血管構造はどのように破壊され出血がおきているのかを調べるために血管を構成する血管内皮細胞、tight junction protein、基底膜をそれぞれ免疫組織学的に染色し検討したところ基底膜のマーカーであるCollagen IV染色では、tPA単独投与群で明らかな発現量の低下を認めた。またエダラボン併用投与によりその発現量の低下は抑制されることも確認できた。さらに普通電顕を用いて詳細な構造変化の検討を行ったところ、tPA単独投与群では血管内皮細胞はまだ保たれているものの、基底膜は明らかに菲薄化し、アストロサイトエンドフットも基底膜側から解離していることが観察された。エダラボン併用群ではアストロサイトの浮腫は目立つものの、解離は目立たないという結果であった。以上の結果から血管壁に対する主要な攻撃因子としては少なくともフリーラジカルとその下流で働きうるMMP-9が重要であると考えられた。また防御側の血管壁としては特に基底膜が、tPA投与による虚血再灌流傷害に対して脆弱であると考えられた。

本研究により、出血性脳梗塞動物ラットモデルにおいて、フリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンは出血性脳梗塞を軽減し運動機能と生存率を改善させることが示された。さらにエダラボン投与群において血管周囲の脂質過酸化やMMP-9の発現が抑制され、基底膜の破壊ならびにvascular unitの解離が抑制されることが示され、出血性脳梗塞出現のメカニズムの一端が明らかにされた。エダラボンは既に臨床応用されている薬品であり、今後臨床治験でヒトにおいても出血性脳梗塞出現を抑制しうるか、その結果が待たれるところである。

Pericentrin, a centrosomal protein related to microcephalic primordial dwarfism, is required for olfactory cilia assembly in mice

神経情報学

三好 耕

哺乳類の中心体タンパクpericentrinは、その遺伝子の変異が小頭症を伴う低身長症の一種Majewski osteodysplastic primordial dwarfism type II (MOPD II)を惹起することが最近明らかになった。ショウジョウバエのpericentrin相同遺伝子d-plpの変異体では、感覚神経細胞の感覚繊毛の形成が阻害されることが以前より指摘されていたが、哺乳類におけるpericentrinの機能に関しては不明な点が多い。pericentrinが哺乳類において繊毛形成に必要なかを明らかにするため、著者らはpericentrinにhypomorphicな変異を持つマウスを作成して解析した。ホモでpericentrinに変異を持つマウスは、胎生期から成獣期まで小頭症および低身長を示した。免疫染色および走査型電顕

による観察で、ホモ変異マウスでは嗅粘膜の嗅覚受容神経細胞の嗅繊毛の形成が阻害されていた。行動試験では変異マウスは嗅覚の低下を示し、また嗅繊毛の形成不全は生直後から認められた。一方、脳室上衣細胞や気道上皮細胞の可動性繊毛、尿細管上皮細胞の1次繊毛、および精子の鞭毛の形成は pericentrin の変異による影響を受けなかった。また繊毛・鞭毛の形成異常・運動障害に関連するとされる脳室拡大、多嚢胞性腎症、網膜変性、不妊などの所見は、pericentrin 変異マウスには認められなかった。これらの知見により、嗅覚受容神経細胞の嗅繊毛の形成に pericentrin は必要であるが、哺乳類の繊毛形成全般には必要ではないことが示唆された。

山田 賞

Effects of vandetanib on lung adenocarcinoma cells harboring epidermal growth factor receptor T790M mutation in vivo

血液・腫瘍・呼吸器内科学

市原 英基

選択的な上皮成長因子受容体 (EGFR) チロシリン酸化阻害薬 (TKI) であるゲフィチニブやエルロチニブは、活性化 EGFR 遺伝子変異 (exon 19 frame deletion, exon 21 L858R など) を持つ非小細胞肺癌に著効するが、そのほとんどが一年程度で再増悪 (獲得耐性) をきたすため臨床で大きな問題となっている。獲得耐性の主要な原因として EGFR 遺伝子変異 (exon 20 T790M) の獲得や MET 遺伝子増幅などが明らかにされている。その中でも EGFR T790M 遺伝子変異による獲得耐性が最も多く原因の約半数を占めており、一度 T790M 遺伝子変異が出現すると EGFR-TKI は全く無効となる。この T790M 遺伝子変異による薬剤耐性を克服することは、活性化 EGFR 遺伝子変異陽性肺癌の約半数を高血圧や糖尿病と同様に慢性疾患として長期管理を可能とすることにつながり、臨床的にも極めて重要な研究課題である。

バンデタニブは EGFR と血管内皮成長因子受容体 (VEGFR) を同時阻害する経口の新規 TKI であり、非小細胞肺癌に対する臨床試験において優れた効果を示している。我々は、*in vitro* において活性化 EGFR 遺伝子変異 (exon 19 frame deletion) を有する肺腺癌細胞株 PC-9 にバンデタニブを長期暴露することで細胞株 PC-9/VanR を樹立した。PC-9/VanR は、EGFR T790M 遺伝子変異を獲得 (ダイレクトシーケンシング法) しており、MTT ア

ッセイ法による *in vitro* の検討では親株である PC-9 に比べバンデタニブに対する感受性が低下していた。次に皮下腫瘍マウスモデルを用い *in vivo* におけるバンデタニブの効果を検証した。PC-9/VanR 皮下腫瘍は T790M 遺伝子変異を有するにも関わらず、バンデタニブによりその増殖が有意に抑制されていた。バンデタニブ投与を行った皮下腫瘍では VEGFR の活性が阻害され (ウエスタンブロットイング法)、抗 CD31 抗体を用いた蛍光免疫染色法の検討では腫瘍内血管新生が著明に抑制されていた。これらからの結果から、バンデタニブによる PC-9/VanR 皮下腫瘍の抑制効果は、VEGFR 阻害効果に伴う腫瘍内血管新生阻害が大きな役割を果たすと考えられた。さらに EGFR T790M 遺伝子変異を有する細胞株 H1975 および RPC-9 (教室の荻野らが樹立し、Cancer Res. 2007 に報告) の皮下腫瘍モデルでもバンデタニブの効果を検討したが、いずれの皮下腫瘍においてもバンデタニブはその増殖を抑制していた。

以上の結果から、バンデタニブの長期暴露は選択的 EGFR-TKI であるゲフィチニブやエルロチニブと同様に EGFR T790M 遺伝子変異の出現をきたすが、T790M 遺伝子獲得後も抗腫瘍効果を示す可能性があると考えられた。

A simple biological imaging system for detecting viable human circulating tumor cells

消化器・腫瘍外科学

児島 亨

末梢血中の浮遊癌細胞の存在は、その疾患の予後が短いことを示唆する。血中浮遊癌細胞を検出することはその予後予測因子として、また治療効果を判定する因子として、臨床的に意義があると考えられている。しかし、生存している浮遊癌細胞を特異的に検出する鋭敏なアッセイはいまだ確立されていない。ここで私たちは、GFP 発現テロメラーゼ特異的制限増殖型アデノウイルス製剤 (OBP-401, TelomeScan) を使用して末梢血中のヒト生存浮遊癌細胞を可視化し検出するという、新たな検出法を報告する。この検出法でははじめに赤血球を溶血させ、沈殿した細胞成分に OBP-401 をくわえ、そして蛍光顕微鏡を用いて自動的に蛍光発現画像を取得する。生存している腫瘍細胞でのウイルス感染、複製により GFP 蛍光発現が起きるため、OBP-401 の感染は腫瘍細胞に特異的な標識となる。GFP を発現するウイルスを用いたこの方法は、血中浮遊癌細胞の非常に簡単に正確な検出法である。

就任教授講演

がん患者のうつ病対策：多様性と対話

精神神経病態学

内 富 庸 介

20世紀は、患者も医療者も共にがんの治療を最優先に目指してきた。その結果、社会に復帰する長期生存者は増加し、機能温存療法に代表されるように生活の質、quality of life (QOL) も目指すべき目標となった。

がんの進行や再発により治療が望めない場合、医学的治療目標は延命となる。インフォームド・コンセントやQOLの概念導入以降、患者の意向を全く無視して延命治療が行われることは明らかに減っているだろう。しかし不幸なことに、医療者は医学的な治療目標以外の、患者、家族の本来の目標（価値観や生活信条など）を聞き出す問診の基本というべきコミュニケーション技術を学習する機会が少なく、患者・家族の置かれた状況に応じて意向を尊重したががん医療が適切に実践されているとは言い難い。

現在、がんの情報（検査結果、診断、再発、抗がん治療の中止など）開示により、人はそれぞれのLife（生命、生活、人生、寿命、生き方、活動、活力など）の危機に直面する。医療者は悪い知らせを伝えた後に生じる落胆、孤立感、疎外感、絶望などの通常の心理学的反応への対応から、急性ストレス反応、適応障害、PTSD やうつ病などへの精神医学的対応まで、幅広く積極的な対応が必要とされる。

今回、我々が行ってきたがん患者のうつ病対策に関連する研究開発の一端について紹介する。

最近話題の拡張不全：その病態と治療

循環器内科学

伊 藤 浩

人口の高齢化とともに慢性心不全が増加している。慢性

心不全の中でも、拡張障害に起因する心不全（拡張不全）に対する関心が高まっている。拡張不全は高齢、女性、高血圧症例に多い。心肥大が多いが、高齢者では心肥大がなくても拡張不全を合併している可能性が高い。臨床症状で多いのが労作時の息切れである。このような症例で、COPDや貧血が否定できれば、拡張不全を疑うべきである。運動などで頻脈になると左室充満圧が上昇し、肺うっ血を生じて息切れの原因となる。また、全身倦怠感、夜間多尿も高齢者では良く認められる症状であり、見逃してはならない。診断には脳性Na利尿ホルモン（BNP）の計測が勧められている。62pg/mlをカットオフ値とすることにより、診断精度85%で拡張不全の診断ができる。病態の評価、治療方針の決定に必須な検査が心エコー図法である。僧帽弁血流速波形の解析から、左室拡張障害の診断とその重症度評価が可能である。また、左室充満圧（左房圧）も推定することができる。

治療としては130/80mmHg未満を目指した降圧療法が推奨されている。慢性心不全によりレニン-アンジオテンシン（RA）系が活性化していることから、RA系阻害薬がまずは選択される。十分な降圧が得られない場合にはカルシウム拮抗薬の投与も選択肢の一つである。適切な利尿も推奨されている。RA系阻害薬に加えてサイアザイド、アルドステロン拮抗薬を追加投与すると良い。心房細動や頻拍は心不全を発症する契機となる。そのような症例にはβ遮断薬の使用が推奨される。これらの薬物療法を施行しても、残念ながら心不全イベント、予後の改善が得られるというデータは得られていない。拡張不全の治療戦略に関しては今後の課題も多いのが現状である。