

data. The 3rd Workshop for Asian Wildcat Conservation. Taipei, Dec.

- 6) Suzuki N, Hattori A. (Keynote Lecture) Development of a robot camera suitable for the environment of Iriomote island and analysis of the evolution of Iriomote wildcat behavior. The 3rd Workshop for Asian Wildcat Conservation. Taipei, Dec.

## 臨床医学研究所

教授：大橋 十也 小児科学，遺伝子治療，先天性代謝異常

教授：渡部 文子 神経科学，神経生理学

講師：河野 緑 臨床微生物学

(臨床検査医学講座より出向中)

### 教育・研究概要

2019年度は大橋十也（所長，兼任）および渡部文子（専任）のもとに研究・教育が行われた。教員としては永瀬将志（助教），河野 緑（講師，臨床検査医学講座より出向）と吉澤幸夫教員（臨床医学研究所），技術員としては湯本陽子研究技術員（臨床医学研究所）と青木正隆研究技術員（実験動物研究施設），さらに事務員として吉澤麻貴らが研究所の業務に携わった。この体制のもと，本研究独自の研究と診療部の研究に対する支援を主たる業務とするとともに，医学部ならびに大学院における学生教育にあたった。コース研究室配属では医学科3年生2名を得て，行動学的手法を用いた研究活動を指導した。またMD-PhDコースに進む可能性のある医学科生を1名指導した。さらに柏病院診療部の研究への支援活動として消化器・肝臓内科（ヒト進行膵臓癌に対するWT1ワクチン療法ほか），臨床検査医学（動脈硬化性疾患リスクとリポ蛋白ほか），糖尿病・代謝・内分泌内科，産婦人科，呼吸器内科，眼科等から登録された教員が一般研究員として存分に活動できるよう支援を行い，それぞれの研究テーマに進捗があった。

### I. 情動価値の生成と変容を支える神経回路メカニズムの解明

糖尿病やCOPD，リウマチや炎症性腸疾患など，一見脳とは直接関係しないような様々な慢性疾患において，うつ，不安障害，味覚障害，快情動の欠落（アンヘドニア）などの情動制御破綻が知られ，患者のQOLを大きく損なっている。このような快・不快や好き・嫌いといった情動の制御は，進化的には「毒や危険を避け，安全な食べ物や巣を選ぶ」という生存にとって大切な意義を有し，精緻に制御されている。その制御メカニズムのどこかに破綻が生じることで様々な疾患に繋がると考えられるが，今だ発症機序やそのタイムコースについては不明な点が多い。本研究では，このような情動制御の中核として，五感を通じた感覚情報とストレスや飢餓など

の内的情報が集約する脳幹から扁桃体の神経回路に着目した。これまでの研究で、腕傍核から扁桃体中心核への直接経路が恐怖記憶の形成に必要であることを見出している。今年度は、腕傍核が痛みのみならず飢餓や味覚情報、温度や代謝制御など多様な感覚情報の統合の部位となり、経路特異的なシナプス可塑性が異なる感覚情報に伴う情動価値の可塑的変容に関与することを総説にまとめた (Nagase M, et al. *Curr Opin Behav Sci* 2019; 26: 18-24)。さらに、味覚情動の生成と変容の回路メカニズム研究として、離乳前および離乳後における味覚体験依存的な味覚嗜好性の亢進と異なる味質によって活性化する中枢神経核群を fos-FISH 法を用いて定量化した (投稿準備中)。さらに、光遺伝学的手法に広く用いられるチャンネルロドプシンをはじめとするオプシン類に遺伝子改変を導入することで、細胞内局在を操作するための技術を開発し生理的機能評価を行った (投稿準備中)。また共同研究として、遺伝子改変マウスを用いた自閉症モデルを作出し、皮質発生異常とシナプス活動および情動行動の制御破綻、さらに患者由来 iPSC 細胞における同様の遺伝子変異を見出した (Matsumura K, et al. *Nat Commun* 2020; 11(1): 859)。学内の共同研究としては、遺伝子治療研究部においてライソゾーム病モデルマウスにおける高次脳機能の解析、および遺伝子治療によるその介入の研究を展開している。当該モデルマウスでは、運動能力および不安様行動には障害が無い一方で、恐怖記憶形成や想起に顕著な障害があることを見出した。さらに遺伝子治療への試みとして、造血幹細胞に対して強いプレコンディショニングを行った治療群では、記憶学習行動の障害に対して優位な治療効果を認めた一方、マイルドなプレコンディショニングでは有意な治療効果は認められなかった (投稿準備中)。また生化学講座および神経科学研究部に細胞特異的 Cre ドライバーマウスの確認を目的として Ai14 マウスを供与した。Ai14 マウスは Cre リコンビナーゼ依存的に tdTomato を発現するレポーターマウスであり、個体レベルでの可視化への貢献が期待できる。以上の研究は、渡部文子が研究代表を務める基盤研究 (B)、新学術研究、AMED、および研究分担者を務める CREST、ならびに大橋十也センター長が研究代表を務める AMED、基盤研究 (B) などの支援により行われた。

## II. WT1 樹状細胞ワクチンを投与した進行膵癌に対する治療効果因子の解明

WT1 を標的とするがん免疫療法の基盤的および

臨床的研究の成果より、WT1 は最も有望ながん抗原の 1 つと考えられる。われわれは、進行膵癌に対し、ゲムシタビン併用 WT1 を標的とした樹状細胞ワクチンを実施してきた。今回、血漿中の matrix metalloproteinase-9 (MMP-9)、myeloperoxidase (MPO)、transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) が生命予後因子となりうるか検討した。MHC class I と class II 拘束性の WT1 ペプチドをパルスした成熟樹状細胞 (WT1 樹状細胞ワクチン) を用いた免疫化学療法を実施した切除不能進行膵癌 7 人を対照とした。血漿中の MMP-9、MPO、TGF- $\beta$ 1 は ELISA 法にて測定し、生命予後との関連を検討した。全生存期間が 1 年以上の症例 (n=3/7) は、1 年未満の症例 (n=4/7) と比較し、治療前から血漿中の MMP-9 は有意に低下していた。更に、この免疫化学療法にて病状が安定している期間は長期にわたり、血漿中の MMP-9 が低値を維持していた。以上より、切除不能進行膵癌における血漿中の MMP-9 は、WT1 を標的とした免疫化学療法の生命予後因子となる可能性が示唆された。本研究は小井戸薫雄が研究代表を務める基盤研究 (C) などの支援によって行われた。

## III. 動脈硬化疾患リスクとリポ蛋白

HDL のコレステロール濃度などの量的評価ではなく、HDL の抗動脈硬化作用の中心的な機能である Cellular cholesterol efflux (コレステロール引き抜き能) の評価方法として安定同位体を用いたメソッドを確立した (Shimizu T, et al. *J Lipid Res* 2019; 60(11): 1959-67)。さらに臨床研究としては、2 型糖尿病患者において尿酸、ホモシステインが eGFR と関連を示し、血管ないし障害の推定に有用である可能性を見出し、現在さらなる検討が続いている。また基礎研究としては、抗酸化・抗解毒酵素の誘導に関与する転写因子 Nrf2 が関連する分子が糖尿病性腎症診療における重要なマーカーとして役割を果たす可能性について検討中である。これらの研究は吉田 博が研究代表を務める基盤研究 (C) などの支援によって行われた。

## IV. 生体ガス (呼気) 中の揮発性有機化合物 (VOCs) の分析と先制医療への応用

ヒトの呼気には VOCs 由来の物質が 400 種類以上の揮発性成分として検出され、それらの多くは生体内における物質代謝に起因している。疲労や消耗状態を含む種々の病態ごとに存在する VOCs の種類が異なることが予想され、この変位の検出は無侵

襲の早期診断、先制医療への応用が期待される。本年度は炎症性疾患、特に関節リウマチなどの炎症性疾患を対象として、根本昌実教授(葛飾医療センター総合内科)との共同研究により本学倫理委員会の承認のもと、炎症性病態を持つ患者の呼気 VOCs の分析を行った。ガス分析は岩本武夫教授(基盤研究施設)との共同研究にて GC-MS により行い、量的、質的に健常者とは異なる VOCs の探索を行った。検出された VOCs の同定は NIST (National Institute of Standards and Technology) によって編集された質量スペクトルデータベースを用い、疾患との関連分析は多変量解析を用いた。本手法はどのような診療場面でも簡単に試料を採取可能であり、巨大なガスクロマトグラフィー機器のある場所に患者さんが移動することなしに分析できる大きなメリットが判明した。これにて 2,000 種以上の揮発性物質が明らかとなったが、その種類と多寡、ならびに各臨床情報を照らし合わせ PCA 主成分分析で 3 次元までデータを圧縮した成分パターンを検討すると、炎症の無い状態と炎症のある治療前の状態とが明確に「判別」されることを見出した。さらにそのうち数個の物質が赤血球沈降速度などの臨床情報と相関関係の強いことが判明した。今後は、このガスの物質としての同定も質量分析との組み合わせにより今後行う予定である。

## V. 膵島の構造・機能連関に関する研究

膵島  $\beta$  細胞は細胞周囲のグルコース濃度に依存してインスリンを分泌する機能 (Glucose-Stimulated Insulin Secretion: GSIS) を持つ。生体内においては、この機能は神経性、微小循環系、ホルモンならびに代謝物質により fine に調節されているが、この機能の失調は 2 型糖尿病の原因となる。また神経内分泌腫瘍であるヒトに発生するインスリノーマでは、GSIS に観るような恒常性維持調節機能は失われて不適切な過剰分泌を起こす。我々は倫理委員会の承認のもと手術材料のインスリノーマからゲノム DNA, total RNA およびタンパク質成分を抽出した。これと対比させながら、同一患者の germline のゲノムを反映すると考えられる末梢血の有核細胞からのゲノムと比較した。国際標準 UCSC hg19 と比較した変異としては血球とインスリノーマ合計で 130 万箇所、シークエンスの精度の高いリードに限ると 54 万箇所 (PASS) があり、このうち、インスリノーマでのみ変異があるものは 67 遺伝子、インスリノーマで変異が無く血球で標準と比較して変異があるものが 92 遺伝子であった。さらにこの PASS のうち、

エクソン部分の変異は 90,787 箇所、うち Pathogenic 41 箇所、Likely Pathogenic 7 箇所であることが判明した。今後はエクソン部分の 48 箇所の variation と変位した GSIS との関連性を明らかにすることで、膵島の自己組織化と生体恒常性維持のメカニズムが明らかにできると考えられる。

## 「点検・評価」

渡部研究グループにおける情動研究では、特定の神経核の特定の細胞種を操作・介入する技術開発が期待される。さらに遺伝子治療研究部との共同研究のさらなる推進、および東京大学、大阪大学、東京理科大学との共同研究など学内外研究室との連携を介した新たな研究拠点の構築と発展が期待される。また各診療部への研究支援については、研究部としての活動だけではなく附属病院診療部における研究の発展に重要であると考えられ、今後も使命感を持って進めるものである。

## 研 究 業 績

### I. 原著論文

- 1) Matsumura K, Seiriki K, Okada S, Nagase M, Ayaabe S, Yamada I, Furuse T, Shibuya H, Yasuda Y, Yamamori H, Fujimoto M, Nagayasu K, Yamamoto K, Kitagawa K, Miura H, Gotoda-Nishimura N, Igarashi H, Hayashida M, Baba M, Kondo M, Hasebe S, Ueshima K, Kasai A, Ago Y, Hayata-Takano A, Shintani N, Iguchi T, Sato M, Yamaguchi S, Tamura M, Wakana S, Yoshiki A, Watabe AM, Okano H, Takuma K, Hashimoto R, Hashimoto H, Nakazawa T. Pathogenic POGZ mutation causes impaired cortical development and reversible autism-like phenotypes. *Nat Commun* 2020; 11(1): 859.
- 2) Hirowatari Y, Yoshida H. Innovatively established analysis method for lipoprotein profiles based on high-performance anion-exchange liquid chromatography. *J Atheroscler Thromb* 2019; 26(12): 1027-40.
- 3) Yoshida S, Ito Z, Suka M, Bito T, Kan S, Akasu T, Saruta M, Okamoto M, Kitamura H, Fujioka S, Misawa T, Akiba T, Yanagisawa H, Sugiyama H, Koido S. Clinical significance of tumor-infiltrating T cells and programmed death ligand-1 in patients with pancreatic cancer. *Cancer Invest* 2019; 37(9): 463-77.
- 4) Yoshida H, Tada H, Ito K, Kishimoto Y, Yanai H, Okamura T, Ikewaki K, Inagaki K, Shoji T, Bujo H, Miida T, Yoshida M, Kuzuya M, Yamashita S. Reference intervals of serum non-cholesterol sterols by gender in healthy Japanese individuals. *J Atheroscler*

- Thromb 2020; 27(5): 409-17. Epub 2019 Sep 5.
- 5) Shimizu T, Miyazaki O, Iwamoto T, Usui T, Sato R, Hiraishi C, Yoshida H. A new method for measuring cholesterol efflux capacity uses stable isotope-labeled, not radioactive-labeled, cholesterol. *J Lipid Res* 2019; 60(11): 1959-67.
  - 6) Yanai H, Yoshida H. Beneficial effects of adiponectin on glucose and lipid metabolism and atherosclerotic progression: mechanisms and perspectives. *Int J Mol Sci* 2019; 20(5): 1190.
  - 7) Yoshida H. Clinical impact and significance of serum lipoprotein (a) levels on cardiovascular risk in patients with coronary artery disease. *Circ J* 2019; 83(5): 967-8.
  - 8) Ito Z, Kan S, Bito T, Horiuchi S, Akasu T, Yoshida S, Kajihara M, Hokari A, Saruta M, Yoshida N, Kobayashi M, Ohkusa T, Shimodaira S, Okamoto M, Sugiyama H, Koido S. Predicted markers of overall survival in pancreatic cancer patients receiving dendritic cell vaccinations targeting WT1. *Oncology* 2019; 97(3): 135-48.
  - 9) 伊藤栄作, 戸谷直樹, 西江亮祐, 村上友梨, 福島宗一郎, 吉田 博, 三澤健之, 大木隆生. 下肢静脈うっ滞と血管内皮機能についての検討 前向きパイロット研究. *脈管学* 2019; 59(5): 29-32.
  - 10) 古田 耕, 大西宏明, 東條尚子, 菱沼 昭, 吉田 博. ICD-11 の和訳における日本臨床検査医学会の貢献について. *臨病理* 2020; 68(1): 31-27.
  - 11) 吉田 博, 越智小枝. 【診療に活かす臨床検査活用術！知っていますか こんなこと, あんなこと】治す高 Lp(a) 血症の診断の問題点と治療の展望. *Heart View* 2019; 23(8): 774-80.
- ## II. 総 説
- 1) 吉田 博. 【動脈硬化診療のすべて】(IV 章) 動脈硬化と心血管疾患の予防 薬物療法 陰イオン交換樹脂. *日医師会誌* 2019; 148(特別 2): S233-4.
- ## III. 学会発表
- 1) Matsumura K, Seiriki K, Nagase M, Ayabe S, Yamada I, Furuse T, Yamamoto K, Kitagawa K, Baba M, Kasai A, Ago Y, Takano AH, Shintani N, Iguchi T, Sato M, Yamaguchi S, Tamura M, Wakana s, Yoshiaki A, Watabe AM, Okano H, Takuma K, Hashimoto R, Hashimoto H, Nakazawa T. ASD-associated de novo POGZ mutations disrupt cortical development. *Neuroscience* 2019. Chicago, Oct.
  - 2) 吉田 博. (ランチョンセミナー24) 動脈硬化予防のための高中性脂肪血症治療の新展開～SPPARMaへの期待～. 日本薬学会第 139 年会. 千葉, 3 月.
  - 3) 遠井優華, 三上香織, 永瀬将志, 永嶋 宇, 渡部文子, 藤野歌穂. 味覚情動の生成と変容を支える神経回路メカニズム. 第 60 回成医学会支部例会. 柏, 7 月.
  - 4) 吉田 博. (シンポジウム 2: 積極的脂質低下療法の新たなエビデンス) LDL コレステロールの次なる治療ターゲットと残余リスクの評価. 第 51 回日本動脈硬化学会総会・学術集会. 京都, 7 月.
  - 5) 吉田 博. (スポンサードシンポジウム 1: ハイリスク患者に対する脂質管理のあり方) 残余リスクと Lp(a). 第 51 回日本動脈硬化学会総会・学術集会. 京都, 7 月.
  - 6) 吉田 博. (ランチョンセミナー 6) 高トリグリセライド血症の診断と治療の現況. 第 51 回日本動脈硬化学会総会・学術集会. 京都, 7 月.
  - 7) 松村憲佑, 勢力 薫, 永瀬将志, 綾部信哉, 山田郁子, 古瀬民生, 山本果奈, 北川航平, 猪口徳一, 佐藤真, 山口 瞬, 田村 勝, 若菜茂晴, 吉木 淳, 渡部文子, 岡野栄之, 田熊一敏, 橋本亮太, 橋本 均, 中澤敬信. ASD-related de novo POGZ mutations disrupt cortical neuronal differentiation. *NEURO2019* (第 42 回日本神経科学大会, 第 62 回日本神経化学大会). 新潟, 7 月.
  - 8) 平石千佳, 松井貞子, 小島貴衣, 佐藤 亮, 藤本 啓, 吉田 博. 高齢 2 型糖尿病患者における尿・血液バイオマーカーと腎機能障害の関連性. 第 70 回日本老年医学会関東甲信越地方会. 東京, 8 月.
  - 9) 清水 知, 宮崎 修, 吉田 博. 安定同位体を用いたコレステロール引き抜き能評価系の検討 第 2 報. 第 59 回日本臨床化学会年次学術集会. 仙台, 9 月.
  - 10) 渡部文子. 正と負の情動を生み出す神経回路メカニズム. 第 5 回東京慈恵会医科大学・東京理科大学合同シンポジウム. 東京, 10 月.
  - 11) 吉田 博. (教育講演 9) 脂質異常症患者の栄養管理のポイント. 第 41 回日本臨床栄養学会総会・第 40 回日本臨床栄養協会総会第 17 回大連合大会. 名古屋, 10 月.
  - 12) 佐藤 亮, 山川奈菜子, 堀口久孝, 齊藤正二, 長谷川智子, 吉田 博. アスタキサンチン処理によるマウス・マクロファージ株細胞における Nr2f 関連酸化ストレス防衛機構の影響. 第 66 回日本臨床検査医学会学術集会. 岡山, 11 月.
  - 13) 平石千佳, 松井貞子, 小島貴衣, 佐藤 亮, 藤本 啓, 吉田 博. 高齢 2 型糖尿病患者における腎機能障害評価因子の検討. 第 26 回日本未病システム学会学術総会. 名古屋, 11 月.
  - 14) 河野 緑, 佐藤貴子, 吉澤幸夫, 湯本陽子, 根本昌実, 筒井健介, 中川 良, 中川高志, 岩本武夫, 和田浩志, 佐々木敬. 生体ガス分析による炎症性疾患への

アプローチ. 第 61 回成医会柏支部例会. 柏, 12 月.

- 15) 吉澤幸夫, 山田麻以, 河野 緑, 湯本陽子, 松浦和知, 和田浩志, 佐々木敬. Wistar fatty rat における腸内細菌叢の分析 - CDAA 食による腸内細菌叢への影響 -. 第 61 回成医会柏支部例会. 柏, 12 月.

#### IV. 著 書

- 1) 松井貞子, 吉田 博. I. 脂質と脂質代謝 1. 脂肪酸とは. 伊藤 浩編. そうだったんだ! 脂質異常症: 治療の新潮流を探る. 第 2 版. 東京: 文光堂, 2020. p.2-12.