

多発性硬化症と心筋炎のウイルスモデル

角田 郁生

近畿大学医学部微生物学講座

多発性硬化症 (multiple sclerosis, MS) は炎症, 脱髄, 軸索障害が病変の主体である中枢神経系疾患であり, 全世界では200万人以上, 日本では約1万人のMS患者が存在する。MS発症の原因としてはウイルス感染説と自己免疫説が提唱されている¹。その動物実験モデルとして, ウイルス説に対してはピコornaウイルス科カルジオウイルス属に所属するタイラーウイルス Theiler's murine encephalomyelitis virus (TMEV) をマウスに脳内接種することによって誘導されるタイラーウイルス誘導性脱髄病 TMEV-induced demyelinating disease (TMEV-IDD) が最も汎用されている²。一方, 自己免疫説に対しては髄鞘抗原で動物を感作することによって誘導される実験的自己免疫性 (アレルギー性) 脳脊髄炎 experimental autoimmune (allergic) encephalomyelitis (EAE) が頻用されている^{3,4}。両者ともT細胞を中心とする免疫細胞が病変形成に関与するが, TMEV-IDDはウイルスの脊髄での持続感染が必須であり免疫細胞のみでは脱髄病変を生じないのに対し, EAEは免疫細胞の移入のみによっても脱髄病変の形成がみられるなど, 両者の病態は異なる^{5,6}。

MS類似の病理像が末梢神経にみられるギラン・バレー Guillain-Barré 症候群では, 脱髄病変を主体とする脱髄型と軸索病変を主体とする軸索型に分けられることができることから, 我々は, これまでMSでも主要病変である中枢神経系の脱髄と軸索変性の進展形式は, 理論的には次の二つであることを提唱してきた⁷⁻⁹。即ち, 一つ目は, 病変がまず最初に神

経線維の内側 (インサイド) の軸索障害の誘導ではじまり, 引き続いて外側 (アウトサイド) の髄鞘障害 (=脱髄) へと進展する形式で, これは“インサイドアウト”モデル Inside-Out model と呼ばれる。二つ目は, 神経線維の外側の髄鞘障害が先行し, 続いて内側の軸索障害が生じる“アウトサイドイン”モデル Outside-In model の進展様式である。これまで我々は, MS病変に類似する脱髄と軸索変性を, TMEV-IDDとEAEによりマウスに誘導し, 病因・病態の違いにより主要病変である脱髄と軸索変性がどのように進展するかを比較対照してきた。その結果, TMEV-IDDでは軸索障害が脱髄に先行するインサイドアウトモデルの病変進展様式であること, 一方でEAEでは脱髄が先行するアウトサイドインモデルの病変進展様式であることを証明してきた¹⁰⁻¹²。

MSはその病態が個々の症例によって異なることが提唱されていることから^{13,14}, 理論的には, ヒトMSにおいても, 症例によっては, インサイドアウトモデルとアウトサイドインモデルのいずれか一方の様式が当てはまる場合と, 二つの病変進行様式が同一の症例の中で共存することで悪循環を形成し病態進行に寄与する場合が考えられる。後者の場合では, この悪循環のいずれのステップに介入する治療方法でも, 悪循環を断つことで結果として病態進行を抑制することができるが, その代表的なものとして1) 炎症抑制, 2) 軸索保護, 3) ウイルス増殖抑制 (ウイルス感染の場合) の三つの方法が考えられる。ここで注意しておきたいのは, MS病変が“インサイド



(左) 第75回近畿大学医学会講演中の著者。(右) 2016年4月の近畿大学医学部微生物学講座発足時のメンバー。左から角田郁生教授, 佐藤文孝助教, 尾村誠一助教, 朴雅美講師, 藤田貢准教授, 崎山奈美江実験助手。

アウト”と“アウトサイドイン”の悪循環として進展している場合、病因・病態が根本的に異なるMS患者間においても、いずれのステップに対する薬物でも、病気の進行をストップさせるので、どこに真の薬物の作用点があって病気の進行が抑制されたかについて、薬物治療の効果を判定する際には慎重である必要がある。我々はこれまで、上記のMSの悪循環を抑制する三作用を併せ持つとされるポリフェノール“レスベラトロール”の投与すると、予想に反して、TMEV-IDDとEAEの両者が増悪することを見出している¹⁵。これは、薬物理論と実際の治療効果が著しく異なりうることを示しており、新薬効果判定には注意が必要であるということを如実に示す警鐘となるものである。

上記の実験のようにタイラーウイルスは、これまでMSのウイルスモデルとして頻用されてきたが、我々は、最近、タイラーウイルスは、宿主であるマウスの株を変更することで、中枢神経病変ではなく、心筋炎を誘導することを見出し、新しい心筋炎ウイルスモデルの作成に成功した¹⁶⁻¹⁸。このことは、一つのウイルスが、感染宿主の遺伝背景によっては、まったく異なる病気を誘導することを証明したものである^{19,20}。

参考文献

1. Sato F, Omura S, Martinez NE, Tsunoda I. Animal models of multiple sclerosis. In: Minagar A, editor. *Neuroinflammation*. London: Elsevier; 2011. p. 55-79
2. Tsunoda I, Fujinami RS. Theiler's murine encephalomyelitis virus. In: Ahmed R, Chen ISY, editors. *Persistent viral infections*. New York: John Wiley & Sons; 1999. p. 517-536
3. Tsunoda I, Fujinami RS. Two models for multiple sclerosis: experimental allergic encephalomyelitis and Theiler's murine encephalomyelitis virus. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1996; 55(6): 673-686. Epub 1996/06/01
4. Sato F, Omura S, Jaffe SL, Tsunoda I. Role of CD4⁺ T lymphocytes in pathophysiology of multiple sclerosis. In: Minagar A, editor. *Multiple sclerosis: a mechanistic view*. London, UK: Elsevier Inc.; 2016. p. 41-69
5. Tsunoda I, Fujinami RS. TMEV and neuroantigens: Myelin genes and proteins, molecular mimicry, epitope spreading and autoantibody-mediated remyelination. In: Lavi E, Constantinescu C, editors. *Experimental Models of Multiple Sclerosis*. New York, NY: Springer; 2005. p. 593-616
6. Tsunoda I, Libbey JE, Fujinami RS. Theiler's murine encephalomyelitis virus attachment to the gastrointestinal tract is associated with sialic acid binding. *J Neurovirol*. 2009; 15(1): 81-89. Epub 2008/12/31
7. Tsunoda I, Fujinami RS. Inside-Out versus Outside-In models for virus induced demyelination: axonal damage triggering demyelination. *Springer Semin Immunopathol*. 2002; 24(2): 105-125. Epub 2002/12/28
8. Sato F, Martinez NE, Stewart EC, Omura S, Alexander JS, Tsunoda I. "Microglial nodules" and "newly forming lesions" may be a Janus face of early MS lesions; implications from virus-induced demyelination, the Inside-Out model. *BMC Neurol*. 2015; 15: 219. Epub 2015/10/27
9. Sato F, Tanaka H, Hasanovic F, Tsunoda I. Theiler's virus infection: pathophysiology of demyelination and neurodegeneration. *Pathophysiology*. 2011; 18(1): 31-41. Epub 2010/06/12
10. Tsunoda I, Kuang LQ, Libbey JE, Fujinami RS. Axonal injury heralds virus-induced demyelination. *Am J Pathol*. 2003; 162(4): 1259-1269
11. Tsunoda I, Tanaka T, Saijoh Y, Fujinami RS. Targeting inflammatory demyelinating lesions to sites of Wallerian degeneration. *Am J Pathol*. 2007; 171(5): 1563-1575. Epub 2007/09/08
12. Tsunoda I, Tanaka T, Terry EJ, Fujinami RS. Contrasting roles for axonal degeneration in an autoimmune versus viral model of multiple sclerosis: When can axonal injury be beneficial? *Am J Pathol*. 2007; 170(1): 214-226. Epub 2007/01/04
13. Sato F, Martinez NE, Omura S, Tsunoda I. Heterogeneity versus homogeneity of multiple sclerosis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2011; 7(2): 165-167. Epub 2011/03/24
14. Martinez NE, Sato F, Omura S, Minagar A, Alexander JS, Tsunoda I. Immunopathological patterns from EAE and Theiler's virus infection: Is multiple sclerosis a

- homogenous 1-stage or heterogenous 2-stage disease? *Pathophysiology*. 2013; 20(1) : 71-84. Epub 2012/05/29
15. Sato F, Martinez NE, Shahid M, Rose JW, Carlson NG, Tsunoda I. Resveratrol exacerbates both autoimmune and viral models of multiple sclerosis. *Am J Pathol*. 2013; 183(5) : 1390-1396. Epub2013/10/05
 16. Sato F, Omura S, Kawai E, Martinez NE, Acharya MM, Reddy PC, et al. Distinct kinetics of viral replication, T cell infiltration, and fibrosis in three phases of myocarditis following Theiler's virus infection. *Cell Immunol*. 2014; 292(1-2) : 85-93. Epub 2014/12/03
 17. Omura S, Kawai E, Sato F, Martinez NE, Chaitanya GV, Rollyson PA, et al. Bioinformatics multivariate analysis determined a set of phase-specific biomarker candidates in a novel mouse model for viral myocarditis. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014; 7(4) : 444-454. Epub 2014/07/18
 18. Kawai E, Sato F, Omura S, Martinez NE, Reddy PC, Taniguchi M, et al. Organ-specific protective role of NKT cells in virus-induced inflammatory demyelination and myocarditis depends on mouse strain. *J Neuroimmunol*. 2015; 278 : 174-184. Epub 2014/12/01
 19. Martinez NE, Sato F, Kawai E, Omura S, Chervenak RP, Tsunoda I. Regulatory T cells and Th17 cells in viral infections: implications for multiple sclerosis and myocarditis. *Future Virol*. 2012; 7(6) : 593-608. Epub 2012/10/02
 20. Tsunoda I, Sato F, Omura S, Fujita M, Sakiyama N, Park AM. Three immune-mediated disease models induced by Theiler's virus: multiple sclerosis, seizures, and myocarditis. *Clin Exp Neuroimmunol*. 2016; 9 : in press.

IASLC/ATS/ERS 分類に基づいた肺腺癌組織亜型の分子生物学的特徴 —既知の予後予測マーカーとの関連—

佐藤 克明

〔緒言〕 肺腺癌における IASLC/ATS/ERS 分類が2011年に発表され、従来より詳細な組織亜型分類が可能となり、その予後予測因子としての役割や分子病理学的特徴が報告されつつある。

〔方法〕 原発性肺癌切除例161名を対象とし、IASLC/ATS/ERS 分類を用いて組織型およびその役割を決定し、免疫染色を行った。

〔結果〕 患者の内訳は、男性74名(46%)、年齢中央値68歳、喫煙者78名(52%)、CEA 高値54名(34%)、病理病期 I : 111名, II : 25名, III : 23名, IV : 2名であった。病理学的には、微小浸潤線癌 1 名、浸潤性粘液産生性腺癌 9 名、浸潤腺癌151名であった。浸

潤腺癌は low grade 129名, high grade 22名に分類した。浸潤性粘液産生性腺癌は臨床的背景は浸潤腺癌と差はなかったが、TTP-1 陽性率は有意に低く、全例が癌幹細胞関連マーカー陽性であった。浸潤腺癌では、high grade の症例で若年、喫煙者、CEA 高値例、進行例、Mib-1 index 高値例、TTP-1 陰性例、E-cadherin 発現低下例、vimentin 発現例、P-glycoprotein 発現例が有意に多く、その予後は不良な傾向にあった。

〔結論〕 IASLC/ATS/ERS 分類による組織形態と様々な分子マーカーとの間に関連を認めた。

1. ヒストン脱メチル化酵素による白血病発症機構と分子治療標的の可能性

上田 健 古室 暁義 太田 一成 岡田 斉
医学部 生化学教室

Fbx110 (F-box and leucine-rich repeat protein 10) は、ヒストン H3 の36番目のリジン残基 (H3 K36) のジメチル化をモノメチル化し、転写制御に機能するとされるヒストン脱メチル化酵素である。臨床的には急性骨髄性、リンパ性白血病で Fbx110 遺伝子の高発現が認められる。Fbx110 の白血病発症への関与を個体レベルで検討する目的で、Sca-1 プロモーターを用いて造血幹細胞で Fbx110 が高発現するトランスジェニック (Tg) マウスを作製し解析を行った。その結果 Fbx110 Tg マウスは造血幹細胞の増殖能亢進を伴い、生後約1年半までに全例が骨髄性白血病またはB細胞性白血病を発症して致死となる

ことを見出だした。一方、Fbx110 のヒストン脱メチル化酵素ドメインを欠失した変異マウス由来の細胞に白血病がん遺伝子 MLL-AF9 を導入し、放射線照射マウスに移植したところ、移植マウスでは白血病の発症が遅延するという結果が得られた。以上のことは、Fbx110 が白血病原因遺伝子であるとともに、Fbx110 のヒストン脱メチル化酵素活性がヒストン修飾を介して白血病の病態に促進的に機能することを示す。Fbx110 が白血病の治療標的となる可能性が示唆される。造血器腫瘍における Fbx110 の役割に関する知見について紹介したい。

2. ヒストン脱メチル化酵素 UTX による脂肪細胞制御メカニズムの解明

太田 一成 古室 暁義 上田 健 岡田 斉
生化学教室

肥満、糖尿病の罹患率は増加をたどる一方であり、その病態解明および治療が求められている。DNA 配列に加えて、DNA のメチル化やヒストン翻訳後修飾といったエピジェネティクスによる肥満、糖尿病への関与が指摘されているが、その詳細なメカニズムは不明である。

ヒストン脱メチル化酵素 UTX は、ヒストン H3 の27番目のリジンのメチル基を取り除き、転写を活性化する。近年、線虫において UTX はインスリン伝達経路を活性化することで、寿命を負に制御することと示された (Jin C, Li J et al, Cell Metab. 2011)。

インスリン伝達経路は糖、脂質代謝、加齢を司る経路であることより、ヒトやマウスにおいても、UTX は代謝疾患に関連することが推測される。そこで、UTX による脂肪細胞の制御メカニズムに着目し、肥満や糖尿病の未知のメカニズムを明らかにすることを目指す。

これまでに胚性幹細胞 (ES 細胞)、脂肪前駆細胞 (3T3L1 細胞)、マウスを用いて UTX の機能解析を行った。UTX は分化段階により機能が異なるという結果をもとに、UTX の脂肪細胞における役割、代謝疾患への関連性について検証し、議論する。

3. Angiotensin II type 1 receptor は関節軟骨細胞において mechanoreceptor として機能する

中村文久 墳本一郎 井上紳司 赤木将男

整形外科科学教室

【目的】

近年、臓器及び組織局所で機能する local renin-angiotensin system (local RAS) が注目されており、整形外科領域では、骨折修復過程の仮骨や破骨細胞、関節軟骨において、その発現が報告されている。一般的に local RAS の特異的 ligand は Angiotensin II であるが、無血性の器官である関節軟骨においては、local RAS の ligand について依然詳細が不明である。

一方で、循環器科領域などにおける諸家の報告では、stretching や share stress 等の機械的刺激が AT1 レセプターに対する ligand となり得ることが示されている。

我々は、関節軟骨に発現する local RAS について、関節内の最も主要な機械的刺激である圧迫負荷刺激が、その ligand となり得るかどうかを明らかにすることを目的とし、in vitro で検討を行った。

【方法】

ウシ前足部 MTP 関節軟骨から初代培養軟骨細胞を樹立し、アガロースから成るスキャホールド内で、次元培養した。8 日間の培養後、Flexercell Compression Plus System (FX-4000) を用いて 30 分間の周期的圧迫負荷を加えた。その後、Bio Plex sys-

tem を用いて、AT1 レセプター下流のシグナリングタンパクの変化を定量した。

【結果】

AT1 レセプター下流の G タンパク依存性シグナル蛋白である JNK, 同非依存性シグナル蛋白である Src 及び STAT-1 のリン酸化は、コントロールと比較し、圧迫負荷群で約 2 倍、Angiotensin II 添加群で約 2 倍に有意に増加した。また、圧迫負荷群及び Angiotensin II 投与群の両群で、AT1 レセプターの選択的阻害薬である Olmesartan の投与により、JNK, Src のリン酸化が抑制されたが、STAT-1 のリン酸化は抑制されなかった。

【考察】

関節軟骨細胞において、圧迫負荷刺激は ligand 非依存的に AT1 レセプターを活性化することが示された。この活性化は G タンパク依存性及び非依存性の両経路を介して得られており、また ARB である Olmesartan の投与で圧迫負荷刺激によるこれらの経路の活性化が抑制可能であった。すなわち関節軟骨細胞において、圧迫負荷刺激は angiotensin II と同様に AT1 レセプターの ligand となり得ることが示された。

4. 頸動脈内膜剝離術における到達可能な内頸動脈遠位端の MRA による術前評価

久保田 尚 真田 皓寧 田崎 貴之 宮内 正晴 谷川 緑野 大槻 俊輔

加藤 天美

近畿大学医学部脳神経外科

頸動脈内膜剝離術 (Carotid endarterectomy: CEA) においてプラークの高位診断は、術中に内頸動脈 (internal carotid artery: ICA) 遠位端の処理を円滑に行うために重要である。ICA 遠位端の評価はこれまで椎体もしくは乳様突起と下顎角を結ぶラインで行われている。どちらも骨の描出が必要であり、血管との関係をみるためには造影剤を使用した CT angiography (CTA) や血管造影検査が必要である。しかし造影剤使用が禁忌の場合、そのような検査は施行できない。さらに治療である頸動脈ステント留置術も適応が困難である。MR angiography (MRA) は造影剤を使用せず血管を描出できる。一方 MRA は骨との関係が描出できず CEA 術前の高位診断には用いられていない。CEA を選択するひとつの利点は造影剤を使用しないことであり、術前 MRA で到達可能な ICA 遠位端を評価することは安全な手術に役立つと考えられる。今回の研究の目

標は MRA で到達可能な ICA 遠位端の評価法を定めることである。

我々は以前に第 1 頸椎横突起と舌骨大角を結ぶライン (C1-H line) を定義し報告した (Kubota H et al. Acta Neurochir 157, 2015)。MRA 元画像で第 1 頸椎横突起と舌骨大角をマークし C1-H ラインを作製した。ICA との交点と頸動脈分岐部からの距離を測定し CTA, 術中測定と比較した。

頸動脈分岐部から C1-H ラインと ICA の交点までの距離は MRA, CTA, 術中計測がそれぞれ 27.5 ± 9.4 mm, 28 ± 10.1 mm, 28.7 ± 10.7 mm とほぼ一致した。

CTA と同様に MRA で測定した術前評価は術中に到達可能な ICA 遠位端の指標として有用であった。特に造影剤が使用できない場合、簡便に行える MRA での評価は確実に CEA を行うのに役立つ術前評価方法と考えられた。

5. 糖化最終産物によるマクロファージの分化と受容体の変化

濱崎 真一 小堀 宅郎 北浦 淳寛 西中 崇 丹羽 淳子 中尾 慎一
高橋 英夫

近畿大学医学部 麻酔科学教室, 薬理学教室

マクロファージの分化により組織障害や再生に関与することが分かってきている。M1 マクロファージは組織障害に関与し, M2 マクロファージは組織再生, 修復に関与している。このマクロファージの分化は Th1, Th2 環境を反映すると考えられている。Th1/Th2 環境に関連するメディエーターであるサイトカイン, オータコイドやエンドトキシンで刺激すると, M1/M2 を表現する膜抗原 (M1/M2 マーカー) 発現パターンがメディエーターによりそれぞれ異なっている。また, 刺激濃度, 時間依存性に関しても M1/M2 マーカー発現パターンは様々である。病巣周囲の微小環境におけるマクロファージの分化により免疫応答への関与の仕方が異なり, 病態生理機序における中心的役割を果たすと考えられている。

生活習慣病である糖尿病や高脂血症を基礎疾患としてもつ患者の管理は難しい。糖尿病による高血糖は細胞・組織障害を起こし, 虚血等により細胞・組織障害を増悪させる。その理由として, 高血糖状態

は酸化ストレス亢進状態であることがあげられる。そのメカニズムの一つとして, タンパクが糖化されて生じる糖化最終産物 (advanced glycation end products: AGEs) とその受容体 (receptor for AGEs: RAGE) の関与が示唆されている。おそらく AGEs がマクロファージの分化を調節して免疫応答に関与していると考えられる。さらに, AGEs の作用はその受容体である RAGE 以外にも Toll Like Receptor (TLR)-2, TLR-4 刺激によることが知られていて, M1/M2 分化に関与するものと考えられる。

今回, AGEs によるマクロファージの M1/M2 抗原や受容体の発現について検討した。AGEs 刺激によりマクロファージ M1/M2 マーカーともに発現が増加していた。一方, AGEs 刺激により RAGE 発現は低下し, TLR-2, TLR-4 の発現が増加していた。これらのレセプターがマクロファージの分化に関連があると考察している。

6. 肺癌に於ける次世代シーケンサーを用いた変異解析に基づく分子標的薬適応決定

武田 真幸¹ 坂井 和子² 林 秀敏¹ 田中 薫¹ 吉田 健史¹ 岩 朝 勤¹
高濱 隆幸¹ 野長瀬 祥兼¹ 西尾 和人² 中川 和彦¹

¹近畿大学医学部内科学腫瘍内科部門

²近畿大学医学部ゲノム生物学

非小細胞肺癌において, EGFR 遺伝子変異, ALK 融合遺伝子の活性型遺伝子変異の発見後, EGFR 阻害薬, ALK 阻害薬の臨床導入により, 従来の殺細胞性抗がん剤の治療効果を遥かに凌駕する治療成績を示すようになった。それに引き続き, 肺癌に於いては ROS1 や RET 等の希少体細胞遺伝子変異を標的集団とする分子標的薬の開発が進んでおり, 附随するコンパニオン診断薬の開発が必須の状況である。一方で, ターゲットとなるドライバー遺伝子異常が増えるほど, 一般的にこれらの遺伝子変異は排他的であると報告されているため, 複数の体細胞変異を, 変異頻度の高い遺伝子から順次検査する必要に迫られる。気管支鏡生検等の限られた検体量, 測定費用, 時間面を考えると, 複数の遺伝子異常を同時に測定可能な Multiplex 体細胞変異診断薬の体外診断用医薬品の実用化が喫緊の課題である。

本研究では, ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 腫瘍検体から抽出された DNA, RNA を用い, 肺癌で活性型遺伝子変異が同定されている22遺伝子及び ALK, RET, ROS1, NTRK1 融合遺伝子の72バリエーションを解析遺伝子に含んだ次世代シーク

エンサーを用いたマルチプレックス遺伝子解析を行い, 活性型遺伝子変異の検出頻度や, 変異に基づいて分子標的治療薬が導入された症例割合, 全生存期間について前向きに検討した (UMIN000014782)。2013年7月～2015年3月に診断された肺癌110例を解析対象に, FFPE から DNA, RNA 抽出後遺伝子変異解析実施可能例は, それぞれ95%, 96%であった。少なくとも1つ以上のアミノ酸置換を生じる遺伝子変異は, 69%の症例に認められ, 検出された主な遺伝子変異は, TP53 (38%), EGFR (23%), STK11 (11%), KRAS (9%), MET (6%) 等であり, Fusion 遺伝子としては, EML4-ALK (1%), CCDC6-RET (1%), KIF5B-RET (1%), SLC34A2-ROS1 (1%) に認められた。活性型遺伝子変異は全体の44例 (40%) に同定され, 内訳は腺癌 (50%), 扁平上皮癌 (14%), 小細胞肺癌 (0%) に示した。全生存期間は, 活性型遺伝子変異を有し, 分子標的薬を導入した症例群は, 変異の無い症例群, および, 活性型変異を有するが, 分子標的薬の導入に至らなかった症例と比較し, 有意に延長を示した。

7. 非小細胞肺癌における受容体型チロシンキナーゼ遺伝子変異の機能解析

寺嶋雅人¹ 富樫庸介² 佐藤克明³ 水内 寛³ 坂井和子² 須田健一³
 中村 雄² 坂野恵里² 林 秀敏² デベラスコ・マルコ² 藤田至彦²
 富田秀太² 光富徹哉³ 西尾和人¹

¹ライフサイエンス研究所ゲノムセンター (ゲノム生物学教室) ²ゲノム生物学教室 ³外科学教室

【目的】

次世代シーケンサー (NGS) により検出された受容体型チロシンキナーゼ (RTK) の遺伝子変異について治療標的となり得るか検討することを目的とした。

【方法】

近畿大学医学部附属病院にて外科的切除された、非小細胞肺癌 (NSCLC) 50症例について NGS を用いて遺伝子解析を行った。そこで見出された RTK 遺伝子変異の強制発現株を作製し *in vitro* で機能解析を実施した。

【結果】

RTK 遺伝子変異は20症例 (*EGFR*=15例, *ERBB4*=1例, *ALK*=1例, *DDR2*=2例, *FGFR1*=1例)で検出された。これらの変異のうち、4つの変異 (*ERBB4* D245G, *DDR2* H246R, *DDR2* E655K, *FGFR1* A263V) については機能不明であった。これらの遺伝子変異について形質転換能を検

討したが、いずれも示さなかった。また, *ERBB4* D245G, *DDR2* H246R, *FGFR1* A263V のそれぞれの強制発現株でのリン酸化や発現量についても変化は見られなかった。一方で, E655K 変異型 *DDR2* タンパク質の発現量が極めて低かった。*DDR2* 野生型を強制発現させた細胞株に *DDR2* のリガンドであるコラーゲンを暴露すると, p38の活性化を介して細胞増殖が低下することが示されたが, *DDR2* E655K 変異強制発現株ではその増殖抑制効果が減少していた。さらに, *DDR2* E655K タンパク質はユビキチンリガーゼ E3 である Cbl-b との結合を介してプロテアソーム分解系により発現量が低下することが示された。

【結論】

以上の結果から, RTK 遺伝子変異は必ずしも治療標的になり得えないことが示された。また, *DDR2* E655K 変異がコラーゲンによる細胞増殖抑制を減少させて, がんの進展に寄与することが示唆された。

8. 膠芽腫における新規融合遺伝子 HMGA2-EGFR の同定

古室 暁義 太田 一成 上田 健 岡田 斉
 医学部 生化学教室

膠芽腫は最も悪性度の高い脳腫瘍の一つである。しかし、これまでのところ効果的な治療方法は確立されていない。近年, NIH の The Cancer Genome Atlas (TCGA) において膠芽腫における多数の融合遺伝子の報告がなされたが, その多くについては機能的に不明な部分が残されている。

今回, 我々はヒト膠芽腫検体から樹立された TGS-01細胞の RNA-Seq によって, HMGA2-EGFR というこれまで報告がなかった新規融合遺伝子を発見した。この融合遺伝子のN端側は High Mobility Group A 2 (HMGA2) とC端側は膜貫通ドメインとキナーゼドメインを含む Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) の融合遺伝子となっていた。大変興味深いことに, この融合遺伝子を強制発

現させると NIH3T3 細胞をトランスフォームさせ, ノードマウスの皮下において腫瘍を形成することが分かった。さらに, ヒト膠芽腫細胞株である U87細胞に強制発現すると, Stat5b を恒常的に活性化することが分かった。また, 頭蓋内同所移植モデルでは腫瘍増殖を促進した。TGS-01細胞の頭蓋内同所移植モデルにおいて EGFR のキナーゼ阻害剤である Erlotinib を投与すると, 腫瘍増殖を抑制しマウスの生存期間を優位に延長した。

本研究は膠芽腫における新規融合遺伝子 HMGA2-EGFR の発見とがん発生のメカニズム, および, この新規融合遺伝子に対しては Erlotinib を用いることによって治療効果があることが明らかになった。

9. IPF 急性増悪症例における急性期 DIC スコアの有用性

山崎 亮 西山 理 山縣 俊之 佐野 博幸 岩永 賢司 東本 有司
久米 裕昭 東田 有智
呼吸器・アレルギー内科

【目的】 特発性肺線維症急性増悪 (IPF-AE) は予後不要である。当科にて入院加療を行った IPF-AE 患者において入院死亡の予測因子を評価し、特に急性期 DIC スコアの有用性を検討した。

【対象と方法】 2008年1月から2014年12月の間に当科で入院を要した IPF-AE 患者27例 (31エピソード) について、入院前の肺機能検査、入院時のデータ等と予後との関係を調査した。

【結果】 平均年齢は72.4±6.0歳、男性25名、女性2名、入院前の肺機能はFVC2.2±0.9L、%FVC69.3±26.1%であった。入院中死亡、30日死亡、90日死亡はそれぞれ29.0%、16.1%、32.2%であっ

た。入院中死亡との各因子の関連をロジスティック解析で検討したところ、FEV1/FVC (OR=1.19, p=0.03), PLT (OR=0.85, p=0.02), P/F ratio (OR=0.98, p=0.02), SOFA score (OR=2.42, p=0.03), 急性期 DIC score (OR=5.61, p=0.02) が有意に予後と関連を示した。生存群の入院時の急性期 DIC スコアは0.3±0.6であったのに対し、死亡群では1.5±1.1であった。

【結語】 IPF-AE 患者において急性期 DIC スコアは入院死亡と有意に関連を示し、より早期の DIC 治療開始の有用性が示唆された。