

臨床医学研究塾記録集

No. **2**
2013

臨床医学研究の すすめ

認定NPO法人 日本ホルモステーション
若手臨床研究者の支援活動

開催にあたり

臨床医学研究塾 代表
住友病院 院長

松澤佑次



本塾は、国内における臨床医学研究の基盤を構築することと、若手臨床医学研究者の育成を主たる目的としております。21世紀になって臨床医学研究がすすんできたかと問われれば、論文数は増えているものの、基礎研究的な内容に偏りがちであったり、原因別の治療指針などができていない、診療ガイドラインが対症療法のようなものばかりであるなど、さまざまな懸念もございます。そこで、臨床医学研究を推進する環境をつくり、患者分析によって疾患の原因を究明し、その困難ややりがいをわかちあうために、

本塾の発足に至りました。

臨床医学研究の目的は、患者さんを診療するなかで浮上した疑問や課題を解決し、その成果を治療につなげることにあります。本塾をととして日本の臨床医学研究を発展させ、疾患の解決や創薬の開発につなげることで、そして1人でも多くの若手臨床医学研究者を育てることを期待して、開会の挨拶とさせていただきます。



CIA受賞者(前列5名)には副賞として、各30万円の奨学金と記念の盾が松澤佑次研究塾代表から授与された

「第3回臨床医学研究塾」を2012年10月27日(土)に大阪大学医学部銀杏会館の阪急電鉄・三和銀行ホールで開催しました。松澤佑次代表の開会挨拶につづき、名古屋大

学の室原豊明教授と奈良県立医科大学の斎藤能彦教授による教育講演、CIA (Clinical Investigator Award) の受賞者5名の発表と受賞講演を行ないました。

第3回 臨床医学研究塾 開催レポート

2012年10月27日(土) 大阪大学医学部 銀杏会館

教育講演 1 血管再生医療に関する当科の研究

名古屋大学大学院医学系研究科循環器内科学 教授 室原豊明



基礎医学研究で明らかにしたことを臨床医学研究に応用し、臨床医学研究で生じた疑問を基礎医学研究で解明する。その繰り返しは終わることはなく、両者は互いに補完しあう関係にあります。このような理念のもとに、我われは再生医療の研究に取り組んでいます。

1997年に血管内皮前駆細胞が発見され、この細胞が血管再生を起こすことが報告されました。そこで、この概念を血管再生療法に応用しました。下肢虚血患者の骨髓単核球細胞を分離して虚血部位に移植すると、血流が改善し、自覚症状や他覚症状が改善しました。

大阪大学の澤芳樹先生は、シート状に加工した細胞を心筋梗塞の部位に移植する方法を考案されました。我われは磁気ナノ粒子を用いて何層にも重なる細胞のシートを作成しました。このシートを使えば、針による細胞移植よりも移植部にまんべんなく拡がり、血管再生度は良好でした。現在は iPS細胞由来の Flk-1 陽性細胞に注目していま

す。この細胞をヌードマウスの下肢虚血部に移植すると血流の再生が認められました。今後はブタの心筋虚血モデルで iPS細胞由来の前臨床試験をめざします。

また、これまで、皮下脂肪由来の細胞がさまざまな機序で血管を再生することが報告されています。大阪大学の森下竜一先生らは、この細胞を移植すると、血管内皮細胞増殖因子 VEGF や線維芽細胞増殖因子 HGF が分泌され、血管が再生することを報告しました。移植によって SDF-1 や VEGF が供給され、内皮前駆細胞が動員されて血管再生につながると考えています。年度内にはヒトに応用する予定です。

皮下脂肪組織由来の再生細胞はリンパ管の再生にも役立ちます。マウスの尾のリンパ浮腫モデルに VEGF-C を投与すると、リンパ管が再生して浮腫が改善します。さらに、皮下脂肪由来の幹細胞や骨髓単核球細胞を移植すれば、VEGF-C と同様に改善することがわかりました。将来的には大動物を使った前臨床試験をへて、臨床への応用を考えています。

教育講演 2 奈良医大での臨床研究のこころみ

奈良県立医科大学第1内科 教授 斎藤能彦



私は2002年に奈良県立医科大学第1内科に赴任しましたが、奈良医大の奈良県の医療に於ける役割、第1内科の規模を考えると、私の内科の研究スタイルは臨床的命題を忘れず、臨床活動と研究活動を上手く融合させることが必須と考えました。そして、熊本大学医学部循環器内科をお手本にすることにいたしました。

2002年当時、循環器内科学のトピックは、急性心筋梗塞(AMI)時に骨髓から心筋細胞や血管内皮細胞前駆細胞が動員されることでした。そこで我々は、奈良医大には多くの AMI 症例が搬送される利点を利用して、AMI 時に骨髓細胞に働き得る多くのサイトカインを調べ、AMI 組織で胎盤由来増殖因子(PIGF)発現が著しく亢進することを世界で初めて発見しました。マウスの AMI モデルでリコンビナント PIGF を投与すると、PIGF は内皮細胞前駆細胞の骨髓からの動員は亢進させるものの、その効果より心臓局所で血管新生を促して AMI の梗塞サイズを減少させることを確認しました。

PIGF 研究をさらに発展させ、PIGF の内因性拮抗物質である可溶性 flt-1 (sFlt-1) を同時に測定することにしました。その結果、腎機能低下症例では sFlt-1 の産生が減少していることを発見しました。PIGF は AMI では創傷治癒に対して促進的に働いていますが、慢性疾患である動脈硬化は促進的に働くことが報告されていました。従って、腎

機能低下症例で sFlt-1 産生が低下することにより、PIGF の上昇が僅かであっても相対的に PIGF の作用が増強し、その結果腎機能低下症例で観察される動脈硬化の増悪に PIGF 系が一部は関与している可能性を提唱しました。

この他、AMI に対する次世代型血栓溶解療法の開発を試みました。t-PA とゼラチンを Zn^{2+} の存在下で混合することにより、流血中では t-PA 活性を抑制し、血栓に親和性を有し、超音波を照射することにより局所で t-PA を遊離して、その活性を再活性化させる DDS の作製に成功しました。この DDS の効果はブタ AMI モデルで確認しました。将来的には救急車内でこの DDS が利用されることを夢見ています。

さらに、臨床的に最も治療に難渋する重症右心不全の病態機序を解明する目的で、モノクローリン誘発肺高血圧-右心不全モデルを用いて、右心不全発症の鍵分子を網羅的に探索し、機能が未知である TMEM100 がこの候補遺伝子であることを発見しました。TMEM100 は、肺高血圧症の発症に関連している BMP9/10-ALK1 の下流に存在し、発生段階では動脈形成に必須であることを証明しました。今後は TMEM100 の当初の目的である、肺高血圧-右心不全発症への意義を解明したいと考えています。

2012年度 CIA(Clinical Investigator Award) 受賞者

臨床医学研究塾では、若手臨床研究者の育成事業の一環として、「Clinical Investigator Award」の授与を年度に1回行なっています。助成の対象となる主な研究テーマは、①基礎理論から臨床研究・臨床への橋渡しに関する研究、②患者・疾患の分析から病

因や病態メカニズムの解明に関する研究。申請条件は、会員施設の各理事から推薦を受けた、40歳未満(毎年7月31日時点)の研究者1名です。厳正な審査の結果、2012年度の受賞者は下記の5名(五十音順)に決定しました。

青谷大介 京都大学医学部附属病院探索医療センター 特定助教



Functional Magnetic Imaging Analysis of Food-Related Brain Activity in Patients with Lipodystrophy Undergoing Leptin Replacement Therapy

J Clin Endocrinol Metab. 2012 Oct 97(10): 3663-71.

脂肪細胞由来ホルモンであるレプチンは、摂食抑制やエネルギー消費亢進をもたらすことが知られている。脂肪萎縮症は、脂肪組織の消失による血中レプチン濃度の著明な低下と過食などを呈する疾患である。本研究では、ヒトの食欲制御におけるレプチンの意義を解明する目的で、脂肪萎縮症(患者)と健常者各

10人を対象に、機能的磁気共鳴画像検査(fMRI)を用いて食欲関連神経活動を評価し、また Visual Analog Scale (VAS) を用いて食欲を定量化した。患者と健常者では、空腹時の fMRI および VAS の結果に明らかな差は認めなかった。食後は、患者では健常者に比べて fMRI での神経活動が亢進しており、

また VAS が高値(食欲亢進)であった。患者ではレプチン補充治療により、食後の fMRI での神経活動の抑制および VAS の低下が認められた。

本研究は、ヒトの食欲制御におけるレプチンの生理的意義の解明に貢献するものである。

伊藤美智子 東京医科歯科大学大学院臓器代謝ネットワーク講座 特任助教



Melanocortin 4 Receptor-deficient Mice as a Novel Mouse Model of Nonalcoholic Steatohepatitis

Am J Pathol. 2011 Nov 179(5): 2454-63.

非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)は慢性炎症と線維化を特徴とし、その一部は肝硬変や肝細胞癌に進展することが知られている。しかしながら、従来、肥満を背景に NASH から肝細胞癌を発症する動物モデルが存在しないことが NASH 研究の大きな障壁となってきた。申請者らは、摂食調節に重要なメラノコルチン4型受容体を欠損するマウス

(MC4R-KO)が高脂肪食負荷により、ヒト肥満症患者と同様の糖脂質代謝障害に加え、20週間で NASH の臨床診断基準に合致する病理学的所見を呈し、さらに1年後には肝細胞癌を発症することを明らかにした。また、MC4R-KO では肝病変の形成に先立って脂肪組織における慢性炎症と線維化の亢進が観察され、脂肪組織の脂肪蓄積力低下に伴う肝異

所性脂肪蓄積亢進が認められた。

今後、本モデルを用いた多面的解析により、臓器局所における細胞間相互作用と全身の臓器間相互作用により発症する NASH の分子機構の解明、新規バイオマーカーの同定や新しい治療戦略の開発が期待される。

清水一亘 大阪大学大学院医学研究科内科系臨床医学血液・腫瘍内科学



Recognition of highly restricted regions in the β -propeller domain of α IIb by platelet-associated anti- α IIb β 3 autoantibodies in primary immune thrombocytopenia

Blood. 2012 Aug 120(7): 1499-509.

特発性血小板減少性紫斑病において、血小板関連 IgG は病態に中心的役割を果たしていることが知られている。我々はこの抗体の自己抗原として重要であるインテグリン α IIb β 3 に対する血小板関連 IgG がマウス α IIb β 3 にはほとんど結合しないことを見出し、この特性を利用してヒト-マウスキメラ α IIb β 3 発現

細胞を使用して血小板関連抗 α IIb β 3 抗体のエピトープを解析した。

15名の患者抗体を解析し、本抗体が α IIb の N 端に位置する β プロペラドメインの N-terminal half(L1-W235)を主に認識することが明らかとなった。さらに自己抗原として3つの主要な部位を同定し、結合に必須となるアミノ酸残基

についても同定した。また本抗体の大部分において、 κ/λ 鎖の偏位が観察された。

以上の結果から、特発性血小板減少性紫斑病患者の血小板関連抗 α IIb β 3 抗体は α IIb の極めて限定された領域を認識しているものが多く、一部の症例では強い clonality が示唆された。

堤 千春 大阪医科大学内科学 I 助教

**Class II HLA Genotype in Fulminant Type 1 Diabetes:
A nationwide Survey with Reference to
Glutamic Acid Decarboxylase Antibodies**

Journal of Diabetes Investigation. 2012 Feb 3(1): 62-9.

劇症1型糖尿病は、環境因子と遺伝因子の両者の関与により、極めて短期間に膵β細胞破壊が生じ発症すると推察されている。われわれは、全国規模で調査を行い、本疾患における Class II HLA 遺伝子型の特徴を検討した。

劇症1型糖尿病患者207名において、

DRB1*04:05-DQB1*04:01 (以下 DR4-DQ4)およびDRB1*09:01-DQB1*03:03 (以下 DR9-DQ3) が健常対照者に比べ有意に高頻度であるという特徴が明らかとなった。さらに、本疾患の大多数を占める GAD抗体陰性群では、DR4-DQ4 との関係が強く、少数の GAD抗体陽性

群では、DR9-DQ3 との関係が強いことが明らかとなり、本疾患の疾患感受性に対する遺伝因子の関与が、GAD抗体の有無によって異なることが示された。

Class II HLA と GAD抗体の両者の観点から、劇症1型糖尿病には2つのサブタイプが存在することが示唆された。



中辻秀朗 大阪大学大学院医学系研究科内分泌・代謝内科学
現 名古屋大学大学院医学系研究科神経内科学

**Binding of Adiponectin and C1q in Human Serum,
and Clinical Significance of the Measurement of
C1q-Adiponectin/Total Adiponectin Ratio**

Metabolism. 2013 Jan 62(1): 109-20.

アディポネクチン (APN) は抗動脈硬化作用や抗炎症作用を有し、in vitro で様々な分子と結合することが示されてきたが、血液中における存在様式については十分に解明されていない。

本研究では APN と類似した構造をもつ補体 C1q に注目した。in vitro およびヒト血清において、Far western blotting

法、共免疫沈降法により APN が補体 C1q と直接結合することを明らかにした。次にヒト血清 C1q-APN 複合体の測定系を確立し、健康診断を受診した男性 329 例を対象にその臨床的意義を調べた。ROC 曲線解析において C1q-APN / 総 APN 比は総 APN を凌ぐメタボリックシンドロームの診断力を有していた。

また C1q-APN / 総 APN 比は内臓脂肪蓄積群における心血管病危険因子集積数と正相関を示し、多変量解析の結果、最も強い規定因子であった。

以上のことから、C1q-APN はメタボリックシンドロームの中の更なるハイリスク集団を抽出するバイオマーカーである可能性が示唆された。



選考を終えて

臨床医学研究塾 理事長

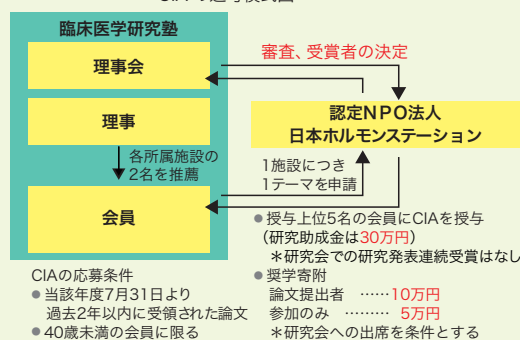
京都大学大学院医学研究科 内分泌・代謝内科学 教授

認定 NPO 法人 日本ホルモンステーション 理事長

中尾一和

受賞者の皆さん、まことにありがとうございます。また、候補者の皆さんには、きわめて僅差であったことをお知らせしたいと思います。審査員はさまざまな要素を配慮して判断しておりますが、審査員が判断を誤ることもございます。今回の審査結果がその方の研究や人生の最終評価ではないことを理解していただき、今後の「臨床医学研究」即ち、疾患の病因・病態・診断・治療などの研究活動に打ち込んでいただきたいと思います。志のある若手臨床医学研究者の応募を心より期待しています。

CIA の選考模式図



第4回 臨床医学研究塾 開催のご案内

日時：2013年11月2日(土) 13:00～17:30 場所：メルパルク京都 6階宴会会議場 C「貴船」

参加および研究助成の応募締め切り：2013年7月31日(水)

当番理事：大阪医科大学内科学 I 花房俊昭 東京慈恵会医科大学循環器内科 吉村道博

●発行：認定 NPO 法人 日本ホルモンステーション

〒606-0805 京都市左京区下鴨森本町15番地 財団法人生産開発科学研究所内

TEL: 075-708-1080 FAX: 075-708-1088

E-mail: npo-hsj@nifty.com URL: <http://www.npo-hsj.jp/>

●発行日：2013年○月○日