

臨床医学研究塾記録集

No. **3**  
2014

# 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

現在の日本の医学研究は基礎研究主導で評価がなされ、ゲノム解析やタンパク質の発見に研究戦略の重点がおかれています。しかし、その結果、日本ですばらしい治療薬が生まれたでしょうか。山のように発見されたタンパク質もゲノムも基本的に病気の本質を捉えるものではありませんでした。これらの基礎研究が社会に還元されるためにはそれらの上流にある臨床研究、つまり疾患研究、患者研究が必要なのです。画期的な新薬が開発されないのは、病気をきめ細かく分析し、原因究明や治療方法に焦点を当てたうえで、基礎研究の新しいテクノロジーを駆使することが欠け

ているからです。

近年、国レベルでも日本版NIH構想など、臨床研究をサポートしようという風潮がきわめて強くなっています。本塾はそれにさきがけた先進的な研究会です。情報化社会が進み、臨床研究では、雑誌の知名度にかかわらず優秀な論文であれば引用される時代ですから、自分の患者研究および臨床研究を存分に発表していただきたいと思います。本塾でしっかりと切磋琢磨されることを期待して、開会の挨拶とさせていただきます。



CIA受賞者(前列5名)には記念の盾と、副賞として各30万円の奨学金が松澤佑次研究塾代表と中尾一和研究塾理事長から授与された

「第4回臨床医学研究塾」を2013年11月2日(土)にメルパルク京都の6階会議場で開催しました。松澤佑次代表の開会挨拶につづき、大阪医科大学の花房俊昭

教授と東京慈恵会医科大学の吉村道博主任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いました。

# 第4回 臨床医学研究塾 開催レポート

2013年11月2日(土) メルパルク京都 6階会議場

## 教育講演 1

### 臨床医学研究はおもしろい——劇症1型糖尿病の発見と発展

大阪医科大学内科学 I 教授 花房俊昭



1型糖尿病では、自己免疫で破壊されつつある膵臓のβ細胞を直接観察することは困難でした。そこで、腹腔鏡下膵生検で膵組織を得て観察することを思い立ち、リンパ球がβ細胞を破壊するさまを目の当たりにしました。しかし、30名のうち13名には膵島炎が認められませんでした。がっかりしましたが、その13名のうちの3名には膵外分泌組織にリンパ球の浸潤がみられ、超急性発症といってもよいほどの激烈な進行をした患者さんだと気づきました。

典型的な1型糖尿病であるが自己抗体が陰性の患者さんとの出会いをきっかけに、GAD抗体の有無で2群に分け、発症時のHbA1cを分析すると、陰性者ではHbA1cがおよそ12%と6~7%の2群に分かれました。後者は新しいタイプだと確信し、さらに研究した結果、次の特徴を見つけました。①ケトアシドーシスを伴う急性発症、②血糖は著明高値だがHbA1cは正常~軽度上昇、③膵外分泌酵素が上昇、④膵島関連自己抗体陰性、⑤尿中CPR<10μg/day、⑥膵外分泌組織へのリンパ球浸潤あり。これを「劇症1型糖尿病」と名づけ、2000年に発表しました。

劇症1型糖尿病で亡くなられた方の剖検膵では多数のリンパ球とマクロファージがみられます。発症直後には華々しい膵島炎があるが、時間とともにおさまるため膵生検では見つからなかったと理解しています。

劇症1型糖尿病の成因はウイルス感染だと推測しています。劇症1型糖尿病では自己免疫性の1型糖尿病よりもエンテロウイルスに対する抗体価が高いことがわかりました。そこで、HLAやCTLA-4の遺伝子にあるタイプを持つ方がウイルスに感染して抗ウイルス免疫反応を起こすと、制御性T細胞やエフェクターT細胞でCTLA-4の発現が低下しているため、マクロファージやT細胞の浸潤が著明に起こり、β細胞やα細胞を破壊するという仮説を立てています。

自分たちが発見した新しい疾患概念が教科書に載り、医師国家試験に出たことは、若い頃の目標でもありました。劇症1型糖尿病の研究は多くの人との出会いに恵まれて進歩しました。みなさんも、患者さんとの出会いを大切に、「いっしょにいて楽しい」指導者を選んでください。楽しんでこそその人生、楽しんでこそその研究です。

## 教育講演 2

### 私の循環器病研究——日常の臨床の小さな糸口から発見へ

東京慈恵会医科大学 内科学講座循環器内科 主任教授 吉村道博



私は狭心症と心不全の二つをターゲットに柔軟に手法を変えながら研究してきたつもりです。冠攣縮性狭心症に関しては恩師の泰江弘文先生のご指導のもと、その病態解析を始めました。幸運にもeNOSの遺伝子変異を発見することができました。冠攣縮の遺伝的要因の存在を示した意義ある研究とっております。

冠攣縮の治療でスタチンの研究を始めた理由ですが、ある患者さんとの出会いがきっかけでした。その方が言われるには、高脂血症のために処方されていたスタチンが胸痛にも少し効くということでした。スタチンには、当時、NOを上げる作用があるとの報告がありましたのですぐに基礎研究から始めました。確かにスタチンは一般的にNOを上げますが、特にフルバスタチンはeNOS遺伝子の転写活性を上げることを見出しました。その後、泰江先生のご指導で、実際の冠攣縮の治療でもある程度の効果があることを確認しました。

心不全の研究では、中尾一和先生に大変お世話になり、BNPの研究に打ち込みました。ヒトの前室間静脈(AIV)までカテーテルを入れて採血をして心室からのBNP分泌を確認しました。実はこの方法を使って、のちに心臓からのアルドステロンの分泌も証明しました。

アルドステロンに関してはその後も積極的に研究を進めました。剖検心で合成酵素を調べると心臓からCYP11A、3β-HSD、CYP21など副腎で出る酵素が見事に検出され、驚きました。問題は律速段階といわれているアルドステロン合成酵素CYP11B2でした。これは軽症な心不全症例ではなかなか検出することができませんでしたが、重症の急性心筋梗塞症例で検出できたのです。その後、研究を進めるうえではやはりラットの心臓を用いてアルドステロンの合成を表現する実験系が必要だと考え、約10年かかりましたがやっとその培養条件の設定に成功しました。

最近、アルドステロンの違った側面も探究しております。アルドステロンは細胞内にごく僅かにナトリウムを流入させ、生理的な状態ではかなり心保護作用があることを示しました。もちろん長期の細胞内ナトリウム流入は心肥大を引き起こしますが、短期的には保護的です。そこにはイオントランスポーターNHE1が重要であることがわかり、現在我々はこれに大変興味を抱いております。

私が心がけてきたことは、臨床医として「患者さんに学べ」です。症状や病状の中には探究すべき謎が数多く潜んでいるようです。

# 2013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、2013年度の受賞者は下記の5名(五十音順)に決定しました。

**園山拓洋** 京都大学大学院医学研究科 メディカルイノベーションセンター 特定助教

## Differentiation of Human Embryonic Stem Cells and Human Induced Pluripotent Stem Cells into Steroid-Producing Cells *Endocrinology*. 2012 Sep. 153(9): 4336-45.

古典的内分泌臓器は小さい組織であり複雑な組織構築を必要としないことから、細胞治療のターゲットとなりうる。

今回、我々はヒトES/iPS細胞を用いたステロイド産生細胞への分化誘導法の開発を目的として研究を行なった。

最初、胚葉体への分化誘導を介した方法を試みたが、副腎・性腺系細胞への

分化は確認できなかった。そこで、次にヒトES/iPS細胞をまずGSK-3β阻害薬を用いて分化誘導したところ、中胚葉系の細胞が得られた。この中胚葉系の細胞に、ステロイド産生細胞分化のmaster regulatorであるSF-1を遺伝子導入し、更にcAMPを添加して培養したところ、ヒト副腎皮質束状層に近いステロイド

合成酵素の発

現プロファイル  
を有し、培養上清中にコルチゾールを分泌する細胞が得られた。

今回の研究成果は、副腎不全患者の細胞治療に結びつくものであり、副腎皮質分化の研究にも応用可能であると考えられる。



**蝶名林和久** 京都大学 iPS細胞研究所 初期化機構研究部門 特定研究員

## Direct Binding of Grb2 Has an Important Role in the Development of Myeloproliferative Disease Induced by ETV6/FLT3. *Leukemia*. 2013 Jun. 27(6): 1433-6.

血液腫瘍で高頻度に変異が認められる受容体チロシンキナーゼFLT3分子を標的とした阻害薬の開発がすすめられているが、獲得耐性等の問題により臨床応用には至っていない。我々はTリンパ芽球性リンパ腫(T-LBL)を合併した骨髓増殖性疾患(MPD)患者検体からETV6/FLT3融合遺伝子を単離し、活性型FLT3

の造腫瘍性を分子レベルで解析した。

マウス骨髓移植モデルでは、ETV6/FLT3はMPDを誘発し、二次移植にて高率にT-LBLに転化した。Grb2結合部位5か所全ての変異体(5F)を導入した細胞株ではGab2リン酸化が見られず、その下流のSTAT5, Erk1/2, Aktのリン酸化が低下した。5Fを導入した野生型マウス骨髓

細胞、E/F-1を

導入したGab2  
ノックアウトマウス骨髓細胞では、移植マウスの白血球増多及び肝脾腫が軽減し生存期間の延長を認めた。以上の結果より、Grb2-Gab2経路がETV6/FLT3によるMPD発症に重要であることが明らかとなった。



**長谷田文孝** 大阪医科大学 内科学 I

## CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>FoxP3<sup>high</sup> Activated Regulatory T-Cells are Functionally Impaired and Related to Residual Insulin-secreting Capacity in Patients with Type 1 Diabetes *Clinical & Experimental Immunology*. 2013 Aug. 173(2): 207-16.

近年、免疫寛容において中枢的な役割を担う制御性T細胞(CD45RA<sup>+</sup>FoxP3<sup>high</sup> activated Treg: a-Treg)の概念が確立され、自己免疫性1型糖尿病(T1AD)においても、この抑制機能の低下がeffector T細胞の活性化・増殖を促進させ、膵β細胞傷害に関与するという機序が考えられている。そこで私どもは、1型糖尿病におけるa-Tregの量的・質的異常について検討した。

その結果、インスリン分泌能の残存し

ているT1ADにおいて、インスリン分泌能の残存していないT1AD、劇症1型糖尿病(FT1D)、2型糖尿病(T2D)、健常対照者(HC)と比較して有意なa-Tregの比率の増加を認めた。さらに、a-Tregの抑制機能を評価したところ、T1ADとFT1Dの両者においてHCと比較して有意な抑制機能低下を認めた。これらの事実から、インスリン分泌能の残存しているT1ADにおいては、a-Tregの抑制機能が低下しているが、比率は増加していることが明

かになった。  
その理由とし

て、標的抗原である膵β細胞に対する免疫反応を抑制するa-Tregの機能低下を、a-Tregの数を増加させることで代償している可能性が示唆された。

本研究は、1型糖尿病の発症機序の解明に寄与し、さらには、制御性T細胞を用いた新たな治療法の開発にも貢献し得るものと考えられる。



松本 専 大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学

### Circulating p53-Responsive MicroRNAs Are Predictive Indicators of Heart Failure After Acute Myocardial Infarction *Circ Res.* 2013 Jul. 113(3): 322-6.

近年の治療の進歩に伴い急性心筋梗塞(AMI)の院内死亡率は減少傾向を認めるが、AMI後の心不全発症率はむしろ増加傾向を認めている。

本研究では、循環血液中でも安定かつ標的メッセンジャーRNAの翻訳抑制など機能が明らかなマイクロRNA(miRNA)に注目し、AMI後の心不全発症を予測するmiRNAの同定を目的とした。大阪急性冠症候群研究会(OACIS)に登録された

AMI症例の慢性期血清検体を用いて、心不全発症群と対照群の2群を抽出し血清miRNAの差異を検討した。一次スクリーニングから14種のmiRNAを候補とし、二次スクリーニングにおいて検証を行なった。

その結果、p53関連miRNAであるmiRNA-192が対照群と比較して有意に高値であった。既知のp53関連miRNAであるmiRNA-194とmiRNA-34aについても心不全発症

群において高値を認めた。

これら3つのmiRNAは互いに相関関係にあり、退院約1年後の左室径とも相関を示した。基礎的検討では細胞死との関係性を認めた。

以上より、AMI生存退院時の血清p53関連miRNA値は心不全発症予測に有用である可能性が示唆された。



山岡 正弥 大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科学

### A Pilot Investigation of Visceral Fat Adiposity and Gene Expression Profile in Peripheral Blood Cells *PLoS ONE.* 2012 Oct. 7(10): e47377.

肥満脂肪組織では単球・マクロファージなど血球細胞の浸潤を認め、炎症状態が慢性的に持続していることが示されている。しかし、循環血液中の血球細胞と内臓脂肪蓄積との関連性は明らかではない。本研究では内臓脂肪蓄積が末梢血遺伝子発現プロファイルに及ぼす影響を肥満症例(57例)を対象としマイ

クロアレイ解析を用いて検討を行なった。

Gene Ontology解析の結果、サーカディアンリズム関連遺伝子群が最も高頻度に推定内臓脂肪面積(eVFA)と相関を示した。なかでもPeriod homolog 1(PER1)がeVFAと最も有意な相関を示し、eVFAがPER1遺伝子発現レベルの強い説明因子であった。さらに炎症関連遺伝子

群でも同様の

変化を同定した(BBRC. 2013 433: 450-455)。

以上のことから内臓脂肪蓄積は末梢血遺伝子発現プロファイルに影響を及ぼすことが明らかになった。



## 若き臨床医学研究者へ 中尾一和

臨床医学研究塾 理事長

京都大学大学院医学研究科 メディカルイノベーションセンター 特任教授  
認定NPO法人 日本ホルモンステーション 理事長



症例との出会いは、その時しかない貴重な発見のチャンスです。患者さんから学ぶことはとても多いので、検査データや組織所見から得られるイメージを大切にしてください。新しい機器や技術は発見と診断の好機です。食わず嫌いせずにさまざまなことにチャレンジすることが必要です。

素朴な疑問や仮説を保持し続けることもきわめて重要です。これは花房・吉村両教授の教育講演からも伝わ

てきました。くわえて、一定の研究時間や実験量は必須です。それも独りで実験するのではなく、研究室で先生や仲間と議論しながら研究を進めることが大切です。一方で、予期せぬ結果、説明困難な結果が得られた時は発見のチャンスです。無理な解釈をしたらかならず破綻しますので、予想外の結果、再現性があるが説明が困難な結果を大事にしてください。

第4回を迎えて臨床医学研究塾の意義がどんどん進化していると感じています。ぜひ、楽しく、日々考えながら、高く大きな目標に向かって努力してください。

## 第5回 臨床医学研究塾 開催のご案内

日時：2014年11月1日(土) 13:00~17:30 場所：グランフロント大阪

参加および研究助成の応募締め切り：2014年7月31日(木)

当番理事：慶應義塾大学医学部 腎臓内分泌代謝内科 教授 伊藤 裕 大阪大学大学院医学系研究科 整形外科 教授 吉川秀樹

●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：2014年2月1日