

第 63 回研究所セミナー 抄録

日 時

平成 25 年 9 月 18 日 (水)

17 : 45 ~ 19 : 30

場 所

北野病院 5 F きたのホール

研究発表

総合司会

研究所副所長 武曾恵理

発 表

第 1・2 研究部

第1研究部

～ 座長 山内清明～

演題Ⅰ

「免疫システムにおけるガレクチン-9機能の多面性」

～腫瘍免疫の増進と自己免疫反応の抑制～

山内清明

演題Ⅱ

肝虚血再灌流障害におけるガレクチン-9の新しい機能の発見

内田洋一郎

第2研究部

～ 座長 有馬靖佳～

演題Ⅲ

「慢性閉塞性肺疾患において肺高血圧症に寄与する因子～間欠的低酸素の影響～」

丸毛聡

演題Ⅳ

内科的治療を中心に見た大動脈弁狭窄症の予後調査

演題 I

「免疫システムにおけるガレクチン-9 機能の多面性」

～腫瘍免疫の増進と自己免疫反応の抑制～

乳腺外科 山内清明

【はじめに】我々はこれまでに糖鎖結合蛋白ガレクチン9 (Gal-9) が乳癌転移抑制作用を有する予後因子である可能性を報告した。このテーマ以外にもガレクチン9 研究の結果、ガレクチン9 は多様な機能を有していることが示された。そこで今回は腫瘍免疫増進と自己免疫抑制に焦点を絞り、細胞外ガレクチン9 の機能を分析する。

【結果】ガレクチン9 は細胞内・細胞外により異なる。細胞内ではガレクチン9 はおもに細胞質に存在し、がんの転移を抑制する E-カドヘリンの発現を増強するためガレクチン9 はがん転移抑制因子と考えている。今回発表する細胞外ガレクチン9 の機能解析には安定したガレクチン9 の供給が不可欠であった。ガレクチン9 の分子構造は2個の糖鎖結合ドメインとそれをつなぐ一本鎖アミノ酸のリンカーから構成されている。リンカー部分はたやすく分解されるため野生型ガレクチン9 は実験には使いにくい。そのため我々は遺伝子操作でリンカー部分のない安定化ガレクチン9 を作成した。その機能は野生型と同等あるいはそれ以上であった。この安定化ガレクチン9 を用いて種々の解析を行い、①腫瘍免疫の増強、②自己免疫疾患の発症や症状のコントロール、③敗血症などの高度感染症モデルにおける生存率の改善、④癌細胞の血管内皮細胞への着床抑制、⑤腫瘍細胞のアポトーシス、⑥異常活性化免疫担当細胞のアポトーシスなどの機能を明らかにした。今回は一見矛盾する①腫瘍免疫の増強作用と②自己免疫疾患の発症や症状のコントロールについて、ガレクチン9 の効果発現機構の詳細を、サイトカインバランス改善の観点から報告する。

【まとめ】ガレクチン9 は多機能を有するため、その機能の全解明は困難である。しかし Tim-3 分子との結合など、新しい視点からの解析により、ガレクチン9 の新機能も発見される可能性もあり、今後の展開が期待される。

演題 II

肝虚血再灌流障害におけるガレクチン-9の新しい機能の発見

消化器センター外科 内田洋一郎

【背景】肝臓外科領域においては、虚血再灌流障害（一時的に血行を遮断された肝臓に血流が再開すると発症する肝障害）の予防・軽減は安全に手術を行うために重要である。特に肝硬変や脂肪肝の肝切除時の血流遮断と再灌流は、術後に高度の炎症や肝障害を惹起し再発・転移を促進するため、担癌患者の肝切除や移植手術においてその治療法の開発が必要である。血流減少による低酸素血症に加え、クッパー細胞（肝マクロファージ）・好中球・類洞内皮細胞の相互作用、活性酸素・サイトカインによる微小循環障害がその主体とされるが、T細胞も大きく関与している。“T細胞が自然免疫支配下の肝虚血再灌流障害をTIM (T cell Immunoglobulin Mucin) signal を介して制御する”ことを発見し、その制御は“TIM-1/TIM-4 pathway (免疫賦活)とTIM-3/Galectin-9 (Gal-9) pathway (免疫寛容)の折衝である”ことを報告した(1,2)。中でもTIM-3がkey factorとなり、TIM-3 ligandであるGal-9はマスト細胞やマクロファージが保有し肝臓に豊富に存在することから、制御機能を有する可能性が十分にあると考えられる。【目的】TIM-3/Gal-9 pathwayの活性化が肝虚血再灌流障害の軽減を導くと考え、Gal-9による肝虚血再灌流障害の軽減の可能性を検討する。【方法】C57BL/6マウスで70%部分肝虚血再灌流障害モデルを作成し、安定化Gal-9を投与し、その効果ならびに至適濃度・投与タイミングを検討した。得られたサンプル(血液・肝組織)より、肝機能検査・免疫染色によるGal-9発現・炎症性サイトカイン(TNF α /IL-1 β /IL-6など)／ケモカイン(CXCL-1/2)の発現量をRT-PCRを用いて測定した。さらにマウス脾臓T細胞およびマクロファージを用いて、Concanavalin A刺激(T細胞活性化)によるin vitro実験を行い、抗TIM-3抗体 or 抗Gal-9抗体 or 安定化Gal-9存在下でのサイトカインの産生を検討した。【結果】安定化Gal-9投与により虚血再灌流による肝障害が、非投与群(PBS投与)に比べて血清ALT値ならびに肝組織像において有意に改善され、炎症性サイトカイン／ケモカインの発現量も安定化Gal-9投与で有意に抑制された。免疫染色ではGal-9は障害肝で有意に発現していた。in vitro実験では、抗TIM-3抗体 or 抗Gal-9抗体の存在下でサイトカイン産生は促進し、安定化Gal-9存在

下で抑制される傾向であった。【考察】Gal-9 には肝虚血再還流障害を抑制する作用がある。Gal-9 の重要性を証明するために Gal-9 knock out マウスを用いての検証を行い、共培養による in vitro 実験を行う予定である。

1, Uchida Y, et al. T-Cell Immunoglobulin Mucin-3 Dictates Severity of Liver Ischemia/Reperfusion Injury in Mice in a TLR4-Dependent Manner. *Gastroenterology*. 139:2195-2206, 2010

2, Uchida Y, et al. The emerging role of T cell immunoglobulin mucin-1 in the mechanism of liver ischemia a reperfusion injury in the mouse *Hepatology*. 51:1363-1372, 2010

演題Ⅲ

「慢性閉塞性肺疾患において肺高血圧症に寄与する因子～間欠的低酸素の影響～」

呼吸器センター内科 丸毛聡

【背景】

肺高血圧症は慢性閉塞性肺疾患（COPD）の予後に影響する重要な合併症の 1 つである。COPD における肺高血圧症の病態は完全な解明がされているわけではないが、低酸素血症や赤血球増多や肺過膨張や喫煙自体による血管障害など様々な病態が示唆されている。中でも低酸素血症は肺動脈リモデリングを来たす中心的な病態と考えられている。本研究では COPD 患者における肺高血圧症に寄与する因子、特に間欠的低酸素の影響の検討を行った。

【方法】

対象は 2012 年 1 月から 4 月の間に市立岸和田市民病院を受診した安定期 COPD 患者。気管支喘息・気管支拡張症・肺癌・活動性感染症を有する患者は除外した。また、既に COPD 以外に肺高血圧症の原因となる疾患を有している患者も除外した。肺高血圧症は心臓超音波検査にて推定肺動脈圧を評価した。肺機能検査（スパイロメトリー、フローボリューム曲線、肺拡散能力）、動脈血液ガス分析、高感度 CRP および赤血球数を測定した。また、24 時間パルスオキシメーターにて 24 時間のトータルおよび夜間の Oxygen Desaturation Index (ODI) および平均 SpO₂ を測定した。これら測定項目の相関関係を調べ、推定肺動脈圧に寄与する因子を重回帰分析で評価した。

【結果】

88人のCOPD患者が期間中に外来受診した。このうち研究の同意が得られ、全ての検査を施行できた62人を最終解析対象とした。患者背景は、年齢 70.8 ± 8.6 才、男性76.8%、BMI 20.4 ± 3.4 、GOLD気流制限病期（I期16.1%、II期41.9%、III期30.6%、IV期11.3%）であった。推定肺動脈圧は、1秒量・%DLco/VA・PaO₂・平均SpO₂と弱い相関を示し（各 $r = -0.21, -0.13, -0.25$ and -0.34 ）、3% ODIと中等度の相関を示した（ $r = 0.43$ ）。推定肺動脈圧は1秒率・高感度CRP・赤血球数とは相関を示さなかった。また、重回帰分析の結果3% ODIが推定肺動脈圧に寄与する独立因子と判明した。

【結語】

本研究から間欠的低酸素がCOPDの肺高血圧症における重要な寄与因子であることが示唆された。24時間パルスオキシメーターを用いた間欠的低酸素の早期発見および治療介入がCOPDには有効である可能性がある。更なる検討を要する。

演題IV

内科的治療を中心に見た大動脈弁狭窄症の予後調査

南野恵里 1、加藤貴雄 1、多田英司 2、長央和也 3、植山浩二 1、春名徹也 1、猪子森明 1、

1：公益財団法人田附興風会医学研究所北野病院 心臓センター

2：関西電力病院 循環器内科

3：大阪赤十字病院 循環器内科

【背景】退行性変性の大動脈弁狭窄症 (AS) は増加している。重症 AS は大動脈置換術 (AVR) が標準治療であるが、高齢者は手術リスクが高く内科的治療を選択することも少なくない。その中では比較的長期にわたり内科的治療で管理できている症例も認められる。文献的な AS の平均余命は心不全発症から 1~2 年といわれているが、外科的手術が広く行われる以前のデータ (historical control) であり、心不全治療の進歩した現在の臨床では改善されていると予想される。AS の自然予後の再検討により、高齢 AS 患者、特に経カテーテル的大動脈弁留置術 (TAVI) 適応となる患者において患者/家族/医療者の治療方針の決定に重要な情報を提供しうると考えられる。【目的】近年の大動脈弁狭窄症における内科的治療の予後を明らかにする。【方法】2001 年から 2012 年に 3 施設で 3 年以上フォローされた AS 患者 139 人の初診時症状別、および初診時心エコー重症度別で各 3 分類し、後ろ向きに調査した。初診時症状は、心不全症状を呈する心不全群を Group A、狭心症もしくは失神を呈する群を Group B、無症状群を Group C に分類した。経胸壁心エコーでの重症度は、連続波ドプラ法による最高血流速度で分類し、4m/s 以上を重度、3~4m/s を中等度、3m/s 未満を軽度とした。一次エンドポイントは全死亡で、イベントは主要心血管イベント、入院、死亡とした。3 年間の生存率とイベントフリー率を症状別および重症度別で各々評価した。【結果】139 人 (男性 87 人、女性 52 人) の平均年齢は 76 ± 8.4 歳で、80 歳以上は 53 人、最高血流速度の平均は 3.6 ± 2.4 m/s だった。3 年生存率は Group A:67%、Group B:93%、Group C:93% であり、心不全群は無症状群や狭心症・失神群と比較して有意に生存率が低かった ($p < 0.001$)。3 年イベントフリー率も Group A:50%、Group B:92%、Group C:90% であり、心不全群は非心不全群に比し有意にイベント発生率が高かった ($p < 0.001$)。心エコーでの重症度別では、3 年生存率は重症群が軽症群や中等度群に比し不良な傾向にあったが有意差は認めなかった。イベントフリー率も 3 群で有意差は認めなかった。初診時無症状で死亡した症例は 7 人で、心不全死は 5 人例であった。5 例の内、重度 AS 3 例、軽度 AS 2

例であり、5 例中 2 例は透析患者、1 例は糖尿病患者であった。【考察・結論】心不全発症から平均余命 1~2 年と言われるのに対し、本結果は心不全群の 3 年生存率 67%であり、内科的治療の予後が改善していることが示唆された。しかし心エコーの重症度に関係なく心不全を呈した場合、内科的治療では 3 年生存率は不良であった。

