

十全医学会総会・学術集会報告

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/29638

十全医学会総会・学術集会報告

平成23年度 十全医学会総会次第

日 時 平成23年6月15日(水) 12:40~13:00

場 所 金沢大学十全講堂

I・会長挨拶
II・庶務報告
平成22-23年 事業計画および報告
III・会計報告
1. 平成22年 決算報告
2. 平成23年 予算計画
IV・編集報告

I. 会長挨拶

井上正樹会長から、十全医学賞受賞式及び学術集会開催に先立って総会議事を行う旨の挨拶があり、会長が議長となって議事が進行された。

II. 庶務報告

中村裕之庶務担当理事が、資料に基づき平成22-23年度事業計画等について報告した。

1. 十全医学会会員数について

会員数は平成23年6月現在で、約1,930名(昨年より26名増) (学外1,670名、学内260名)である。

2. 人事について

1) 役員について

役員については全員、留任となった。

2) 新評議員について

昨年(平成22年7月9日)に開催された総会でのご報告以降に就任された評議員は、学外から近藤稔和教授(和歌山県立医科大学)、津川浩一郎教授(聖マリアンナ医科大学)、徳山研一教授(埼玉医科大学)、中本安成教授(福井大学)、学内から川島博子教授(保健学系 量子医療技術学)が就任された。

3) 定年評議員について

評議員の入江宏先生、岡澤孝雄先生、勝田省吾先生、木田厚瑞先生、久保田紀彦、小山善子先生、高山輝彦先生、立野勝彦先生、富田勝郎先生、中村忍先生、中村信一先生、古川仰先生、山本悦秀先生が定年となられ、うち中村信一先生が名誉会員に就かれた。

また、学外の寺田忠志先生(清水市立病院)、野々村昭孝先生(奈良県立医科大学)、矢作直樹先生(東京大学)、鈴木正行先生(保健学 平成22年4月3日 逝去)は退会される事になった。

3. 会議開催日について

総会・学術集会は平成22年7月9日(詳細は十全医学会雑誌119巻3号に掲載)に開催され、定例の理事会は平成22年2月8日、11月15日、及び評議員会は平成22年3月3日、12月6日に開催された。

以上、報告の通り承認された。

III. 会計報告

太田哲生会計担当理事により、平成22年度決算報告(細、小出両監事による監査報告添付)が説明され、承認された。また、引き続き平成23年度予算計画が提案、説明され、同様に承認された。

IV. 編集報告

井関尚一編集担当理事から、平成22年度の十全医学会雑誌の発行状況についての説明があった。すなわち、119巻1号~4号が発行され、発行回数は4回であり、内容は原著論文数5編、総説12編(うち高安賞受賞3編、十全医学賞2編)、研究紹介5編、修士課程優秀論文要約2編、見聞記4編、学会開催報告17編であった。

(文責: 中村裕之)

1. 第7回 十全医学賞受賞式および記念講演

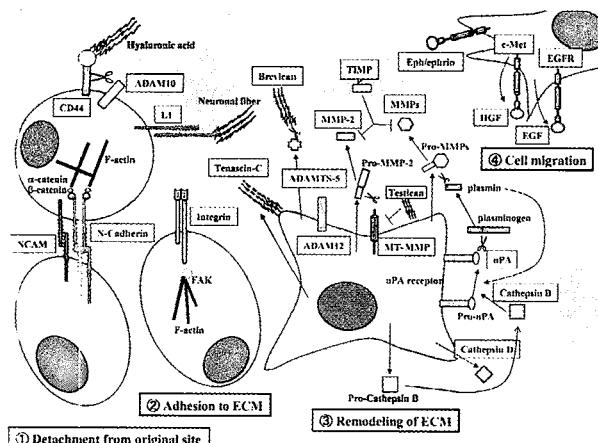


中田光俊先生

脳原発の悪性腫瘍である悪性グリオーマは日本での発生が年間2,500人に過ぎず、がんによる死亡が年間34.3万人(平成20年)であることを考えると稀少悪性腫瘍であると言える。しかしながら、最悪性の膠芽腫を放置した場合の生存期間は半年以内とされ、開頭手術による腫瘍摘出術に加え放射線化学療法を行って多くの場合その生存期間は2年を越えないこと、さらに医療技術の進歩によりがんの予後が劇的に改善している今日にあって、膠芽腫の治療成績はこの30年間でほとんど変わらないことを鑑みると、悪性グリオーマは人類に残されたもっとも悪性の腫瘍の一つであり本疾患の克服は医学上の重要課題である。悪性グリオーマの治療を難しくしている最大の要因は腫瘍の持つ高い浸潤能にあり、本疾患を攻略する上でグリオーマ浸潤の分子機構の理解は必須である。

I. 浸潤現象の成り立ち

これまでの研究結果から腫瘍細胞の正常脳への浸潤はマルチステップからなると考えられている¹⁾。すなわち①腫瘍細胞の原発巣からの離脱、②腫瘍細胞の細胞外基質への接着と離脱、③腫瘍細胞の周囲に存在する細胞外基質のリモデリング、④腫瘍細胞の遊走である。各々のステップで複数の分子が関与していることが知られている(図)。①でグリオーマ細胞は、細胞-細胞間および細胞-細胞外基質間で細胞の固定に働く接着因子群の機能



が低下し周囲構造から遊離する、②で腫瘍細胞は伸展した遊走先端部で細胞外基質に接着、細胞の後方で離脱、これを繰り返し移動を容易にする。③で細胞周囲に密に存在し移動の妨げとなる細胞外基質を分解し、移動するためのスペースを確保する。また同時に浸潤を促進させる細胞外基質を放出し、浸潤に都合の良い微小環境を整える。④ではグリオーマ細胞が放出する細胞遊走因子がオートクライイン、パラクライインにグリオーマ細胞膜上の受容体に作用し、遊走シグナルが活性化されることで、細胞骨格が再構築され、細胞は移動しやすい形態へと変化する。臨床上グリオーマ細胞は脳内では高浸潤性の性質を有しながら、他臓器には転移しないことから浸潤は脳に起る特異な現象と考えられる。

II. 細胞外微小環境(ステップ①-③)

グリオーマ細胞周囲は脳固有の細胞外基質で満たされており、細胞外基質の種々の構成成分は浸潤に大きく関わっている²⁾。

グリオーマ細胞は種々のタンパク分解酵素を分泌し多岐にわたる脳細胞外基質を分解しうる。一方グリオーマ細胞は浸潤亢進作用を有する細胞外基質を放出し、微小環境を整える。細胞外基質分解酵素として機能するのはMMP(matrix metalloproteinase)やuPA(urokinase-type plasminogen activator), cathepsinである。いずれも発現量と活性はグリオーマの悪性度と相関し、浸潤先進部で発現が高いとされている。これらの酵素は不活性体で放出され異種分子間で相互に活性化を受けることから、共同作用により大きな活性化カスケードが働き、その結果ダイナミックに腫瘍細胞周囲の基質分解が引き起こされると考えられる。特にMMP-2がMT-MMPにより細胞膜周囲で特異的に活性化されるシステムは腫瘍細胞の浸潤を考える上で合理的であることから広く知られている。実際にグリオーマ細胞から分泌されるMMP-2は活性化されており *in situ*でも細胞外基質を分解する能力を有する³⁾。活性化をうけたMMPの酵素活性は、特異的抑制分子であるTIMP(tissue inhibitor of metalloproteinase)によって調節を受ける。したがって、MMPが細胞外基質破壊に作用するためには、腫瘍組織局所でのMMPとTIMP間の量的不均衡が必要である。実際、悪性グリオーマ組織ではMMP優位となっている。

III. チロシンキナーゼ(ステップ④)

細胞膜に存在し細胞外の情報を細胞内に伝達する分子として主要なものはチロシンキナーゼである。チロシンキナーゼは、特定のアミノ酸『チロシン』にリン酸を付加する機能を持った酵素で細胞の分化、増殖、接着、遊走などに関わるシグナル伝達を誘起する。これまでにヒトに存在する90種類のチロシンキナーゼ(受容体型58種類、非受容体型32種類)が同定された。受容体型チロシンキナーゼは、細胞外領域に特定の分子(リガンド)が

結合することによりリン酸化活性の調節を受け、細胞内シグナル伝達分子へ情報を伝える。浸潤現象を促進する受容体型チロシンキナーゼ/リガンドとして古くから知られるEGFR(epidermal growth factor receptor)/EGF, c-Met/HGF(hepatocyte growth factor)のシグナルに加え、複数のチロシンキナーゼが浸潤を促進することが明らかとなっている。浸潤グリオーマ細胞は下流のシグナル経路を同一とする複数の受容体型チロシンキナーゼを同時に活性化させることによって、1つの受容体型チロシンキナーゼに対する依存性を減少させ、浸潤シグナルを持続させていると考えられる。胎児期脳形成の際に中心的な役割を担うEph(エフ)受容体/ephrin(エフリン)リガンドはともに膜型タンパクで双方向性のシグナル伝達を有する点でユニークなチロシンキナーゼ分子群である。22種類存在するEph/ephrin分子のうちEphB2受容体/ephrin-B2, B3リガンドのシグナルがグリオーマの浸潤を促進し、これらの阻害により浸潤が抑制されることが明らかとなった^{4,5)}。この結果は、細胞-細胞コンタクトを契機としたEph/ephrinシグナルによる細胞同士の反発作用がグリオーマの浸潤に寄与することを示唆した。

IV. 抗浸潤療法

近年蓄積する基礎研究の成果を基盤として臨床応用への志向が高まっている。浸潤関連分子をターゲットとした悪性グリオーマに対する分子標的療法が試みられるようになってきた。

GSK3 β 阻害療法：GSK3 β (Glycogen synthase kinase 3 β)は糖代謝のインスリン経路で発見されたセリン・スレオニンリン酸化酵素である。GSK3 β は細胞周期、増殖・分化、アポトーシスや細胞運動能など多彩な生理的細胞機能を調節していることが明らかとなる一方、消化器(大腸、胃、肺、肝)がんにおいてGSK3 β の過剰発現や酵素活性の調節異常ががん細胞の生存、増殖や浸潤を促進することが示され、がんを含めた病的な状態でも重要な機能を果たす分子であることが明らかとなった⁶⁾。近年著者らを含めた複数の異なる施設からGSK3 β がグリオーマの悪性化に関係していることが相次いで報告された。実際にGSK3 β は膠芽腫において活性化されており、腫瘍細胞に局在している。また、躁うつ病の治療薬として頻用されているリチウムがGSK3 β 阻害作用を介してグリオーマの浸潤を強力に抑制することが、*ex vivo*で示されている。著者らは、いち早く、学内倫理委員会の承認を得て「GSK3 β 阻害作用を有する薬品を使用した悪性グリオーマの化学療法」と題する小規模第I/II相臨床試験を開始し、その臨床上の安全性と有効性を確認している(倫理委員会課題番号774、特願2010-185691)。本臨床試験は自身の基礎実験に基づいたトランスレイショナルリサーチであり、GSK3 β 阻害を狙う分子標的療法である。摘出腫瘍組織内のGSK3 β の産生、活性化を自研究室内で検出することで対象症例を選択する点でテーラーメイド治療と言

える。また、既存の薬剤を使用するため安全性確認試験を必要としない点に特長がある。今後は多施設第II相臨床試験を実施し、並行して本治療法の他臓器癌への臨床応用の可能性を追究したいと考えている。

参考文献

- 1) Nakada M, Nakada S, Demuth T, Tran NL, Hoelzinger DB, Berens ME. Molecular targets of glioma invasion. *Cell Mol Life Sci.* 64: 458-478, 2007
- 2) Nakada M, Yamada A, Takino T, Miyamori H, Takahashi T, Yamashita J, Sato H. Suppression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase (MMP)-mediated MMP-2 activation and tumor invasion by testican 3 and its splicing variant gene product, NTes. *Cancer Res.* 61: 8896-8902, 2001
- 3) Nakada M, Nakamura H, Ikeda E, Fujimoto N, Yamashita J, Sato H, Seiki M, Okada Y. Expression and tissue localization of membrane-type 1, 2, and 3 matrix metalloproteinases in human astrocytic tumors. *Am J Pathol.* 154: 417-428, 1999
- 4) Nakada M, Niska JA, Miyamori H, McDonough WS, Wu J, Sato H, Berens ME. The phosphorylation of EphB2 receptor regulates migration and invasion of human glioma cells. *Cancer Res.* 64: 3179-3185, 2004
- 5) Nakada M, Drake KL, Nakada S, Niska JA, Berens ME. Eprin-B3 Ligand Promotes Glioma Invasion through Activation of Rac1. *Cancer Res.* 66: 8492-8500, 2006
- 6) Nakada M, Minamoto T, Pyko IV, Hayashi Y, Hamada JI. The pivotal role of GSK3 β in glioma biology. InTech book "Brain Tumor". 2011



小林 顕先生

共焦点顕微鏡の生体角膜への応用は1990年代から始められ、角膜を構成する細胞層や神経線維が前額断面で、短時間に、しかも非侵襲的に、くり返して生体観察できるようになり、研究のみならず臨床にも応用されてきた。我々は当初、白色光(ハロゲンランプ)を光源とする角膜専用生体共焦点顕微鏡を用いた角膜研究を行い、粉状角膜(cornea farinata)やFrancois角膜ジストロフィなど、病理組織学的報告が極めて少ない疾患を解析し、特徴的な生体病理組織所見を報告してきた。

近年、レーザーを光源とする角膜専用レーザー生体共焦点顕微鏡(HRT II ロストック角膜モジュール、ハイデルベルグ社、ドイツ)が開発され、散乱光が少なく高解

像度の生体画像（ピクセルあたり横方向 $1\mu\text{m}$ 、深さ方向 $2\mu\text{m}$ 、画像サイズは約 $400\times 400\mu\text{m}$ ）が得られるようになった。当院では本邦で初めてこの装置を導入し、2005年より研究を行ってきた。今回、我々がこれまでの約5年間にレーザー生体共焦点顕微鏡を使用して行った研究を中心解説し、その臨床的有用性と新たに得た知見について紹介する。

角膜感染症（アカントアメーバ角膜炎、角膜真菌症）における生体解析

アカントアメーバ角膜炎はコンタクトレンズ服用者に多く見られる難治性の角膜炎であり、近年若年者を中心に大変な増加傾向が認められる。本症はしばしばヘルペス角膜炎と誤診され、抗生物質やアシクロビル、ステロイドなどの治療に抵抗するためいくつかの眼科を転医し、経過が長いことが多い。発症初期での診断・治療開始は視力予後に関係するため、早期発見が何よりも重要である。レーザー生体共焦点顕微鏡を用いることにより、アカントアメーバのシストは直径 $10\text{--}20\mu\text{m}$ の円形高輝度物質として上皮内に観察される。我々は本装置を用いて、培養したアカントアメーバシストを観察し、詳細なレーザー生体共焦点顕微鏡所見を初めて報告した¹⁾。従来は、アカントアメーバ角膜炎の疑いが濃厚である場合に初めて、上皮の搔破や鏡検などの侵襲的な検査を実施するため、早期診断の機会を逃す場合も見られた。その点、生体共焦点顕微鏡は非侵襲的な検査であるため、本症の疑い例には躊躇なく直ちに施行できる利点があり、発症初期での診断・治療開始を可能とした。当院では本装置を用いることにより、多くのアカントアメーバ角膜炎の初期患者の発見が可能となり、視力の温存に成功している。

角膜ジストロフィの生体解析

1. ボウマン層ジストロフィ

代表的なボウマン層ジストロフィとして、シールベンケ（Thiel-Behnke）角膜ジストロフィ（図1A）とライスピュックリー（Reis-Bückler）角膜ジストロフィ（図1C）があげられる。これらの疾患は、角膜所見が類似しており非常に稀なジストロフィであるため、しばしば鑑別診断が難しく混同されることが多かった。

シールベンケ角膜ジストロフィは、1967年にThielとBehnkeにより、小児期から角膜上皮びらんを繰り返し、ボウマン層レベルの蜂巣状角膜混濁を来たす角膜ジストロフィ（図1A）として報告された疾患であり、Transforming Growth Factor Beta-Induced遺伝子（TGFBI）のR555Q変異が原因である。レーザー生体共焦点顕微鏡を用いた観察では、上皮基底層とボウマン層レベルに、低輝度のハロを伴う中輝度・非顆粒状陰影を認めた。（図1B）²⁾。一方、ライスピュックリー角膜ジストロフィ（表在型顆粒状角膜ジストロフィ）は5歳頃から

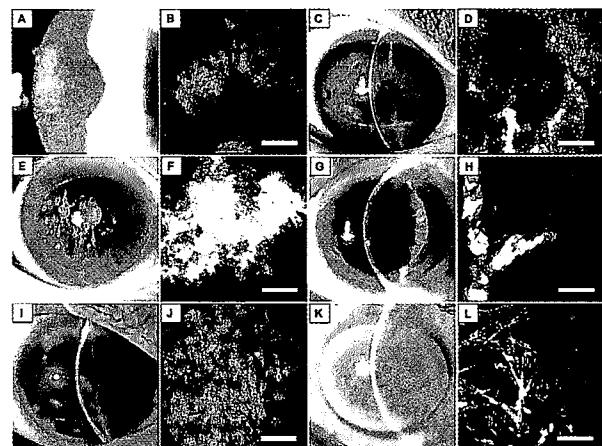


図1. A: Thiel-Behnke角膜ジストロフィ (TGFBI R555Q). B: ボウマン層レベルに認める中輝度・非顆粒状陰影. C: Reis-Bückler角膜ジストロフィ (TGFBI R124L). D: ボウマン層レベルに認める高輝度・顆粒状陰影. E: アベリノ角膜ジストロフィ (TGFBI R124H). F: 実質に散在する様々な大きさの、辺縁不整な高輝度陰影. G: 格子状角膜ジストロフィ (TGFBI R124C). H: 実質浅層・中層に枝分かれした線状・糸状・サンゴ礁様の高輝度陰影. I: 斑状角膜ジストロフィ (CHST6 A217T). J: 均一に高輝度を呈した実質と低輝度のストリエ様陰影. K: シュナイダー角膜ジストロフィ (UBIAD1 N233H). L: 上皮下に沈着する高輝度の結晶状物質.

再発性の角膜びらんを生じ、地図状に細かい角膜混濁を来たすボウマン層ジストロフィであり（図1C），TGFBI遺伝子のR124L変異が原因である。レーザー生体共焦点顕微鏡所見は前述したシールベンケ角膜ジストロフィと全く異なり、上皮基底層とボウマン層レベルに、ハロを伴わない高輝度・顆粒状陰影を認めた（図1D）。このように、本装置を用いることにより、両ジストロフィの鑑別診断が外来で瞬時に可能であることを我々は発見した²⁾。

2. 角膜実質ジストロフィ

本装置を用いることにより、代表的な角膜実質ジストロフィであるアベリノ角膜ジストロフィ（TGFBI遺伝子のR124H変異）、格子状角膜ジストロフィ（TGFBI遺伝子のR124C変異など）、斑状角膜ジストロフィ（硫酸转移酵素：carbohydrate sulfotransferase 6, CHST6の遺伝子変異により生じる）、シュナイダー角膜ジストロフィ（UBIAD1遺伝子（UbiA prenyltransferase domain-containing protein 1の遺伝子変異）において、それぞれの病理組織に対応する特徴的な生体組織所見が得られたことを報告した^{3,4)}。

ボウマン層の解剖とK-structureの発見

ボウマン層は角膜上皮の下に位置しており、約 $10\mu\text{m}$ の厚さを有している。電子顕微鏡による観察では、ボウマン層は無細胞性であり、様々な方向性を持つ直線状のコラーゲン線維となる。ボウマン層の前面は、角膜上皮の基底膜のlamina densaによって明瞭に境界されているが、後面はその直下の角膜実質表層からのコラーゲン線維と融合している。時として、大きな実質線維（ラメラ）が斜め方向に走行し、ボウマン層に融合する。

従来の白色光源生体共焦点顕微鏡では角膜上皮の下には、ボウマン層内を走行する上皮下神経が観察され、その下には直ちに角膜実質が観察される。しかし、レーザー共焦点顕微鏡を用いて正常角膜を観察すると、ボウマン層と角膜実質の境界面領域に、角膜上皮下神経より若干輝度の低い線維状の不定形構造物が認められた。この構造物は上皮下神経叢よりわずかに実質側に位置しており、幅は5 to 15 μm程度であった。本構造物は、我々が調べた全ての健常人(n=19)において観察され、角膜中央部と同様に、周辺部角膜でも確認できた⁵⁾。この構造物は、従来の白色光源生体共焦点顕微鏡では同定が不可能であり、レーザー生体共焦点顕微鏡にて初めて可視化が可能であった。これまでに報告のない構造物のため、我々はKobayashi-structure(K-structure)と命名し、角膜実質最前面を走行するコラーゲン線維束がその本体であると推測した⁵⁾。なお、K-structureの広範囲マッピングを使用したその後の研究では、K-structureは角膜フルオレセインモザイク(フルオレセイン色素点眼後に角膜をまぶたの上からマッサージすることにより生じる網目状のフルオレセインパターン)発生の解剖学的原因であることを強く示唆するデータを得ている。

角膜内皮移植術(DSAEK)後角膜の生体解析

近年、角膜内皮細胞層の障害によって生じる水疱性角膜症に対する新しい外科的治療法として、角膜内皮移植術(DSAEK: Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty)が注目されている。本術式では、マイクロケラトームを使用して作成した薄いドナー角膜内皮組織を、強角膜切開層から前房内へ挿入し、デスマ膜と内皮を除去したホスト角膜裏面に空気を用いて接着させる。角膜上が無縫合であるため乱視がほとんど生じず、縫合糸に関連した感染も生じない。

レーザー生体共焦点顕微鏡を用いたDSAEK後の生体組織解析を行った結果、DSAEK後には上皮下混濁、ドナーレシピエント角膜層間における高輝度点状沈着物と層間混濁、ホスト角膜の微小な針状高輝度陰影が特徴的に見られ、これらの病的所見は時間の経過とともに減少することを見出した⁶⁾。また、デスマ膜と内皮を剥離除去しないより単純な術式を開発し(nDSAEK: non-Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplastyと命名)、DSAEK後には見られないnDSAEK後に特徴的なレーザー生体共焦点顕微鏡所見として、ドナーレシピエント角膜層間に直径20 μm以上の高輝度巨大構造物が認められることを報告した。これはnDSAEKにおいては、ホストのデスマ膜と内皮細胞層を除去せずに、ドナー角膜でこれらを押しつぶすようにして角膜裏面に接着させるため、壊死して凝集したホスト角膜内皮細胞の残骸が高輝度巨大構造物として観察されるのではないかと考えている⁷⁾。

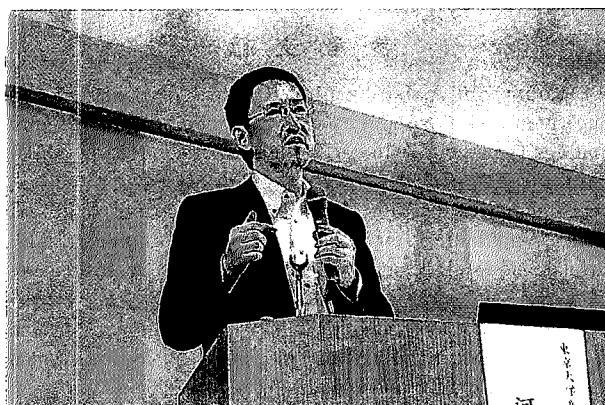
参考文献

- 1) Kobayashi A, Ishibashi Y, Oikawa Y, Yokogawa H, Sugiyama K. In vivo and ex vivo laser confocal microscopy findings in patients with early-stage Acanthamoeba keratitis. Cornea 27: 439-445, 2008.
- 2) Kobayashi A, Sugiyama K : In vivo laser confocal microscopy findings for Bowman's layer dystrophies (Thiel-Behnke and Reis-Bücklers corneal dystrophies). Ophthalmology 114: 69-75, 2007.
- 3) Kobayashi A, Fujiki K, Fujimaki T, Murakami A, Sugiyama K. In vivo laser confocal microscopic findings of corneal stromal dystrophies. Arch Ophthalmol 125: 1168-1173, 2007.
- 4) Kobayashi A, Fujiki K, Murakami A, Sugiyama K. In vivo laser confocal microscopy findings and mutational analysis for Schnyder's crystalline corneal dystrophy. Ophthalmology 116: 1029-1037, 2009.
- 5) Kobayashi A, Yokogawa H, Sugiyama K : In vivo laser confocal microscopy of Bowman's layer of the cornea. Ophthalmology 113: 2203-2208, 2006.
- 6) Kobayashi A, Mawatari Y, Yokogawa H, Sugiyama K. In vivo laser confocal microscopy after descemet stripping with automated endothelial keratoplasty. Am J Ophthalmol 145: 977-985, 2008.
- 7) Kobayashi A, Yokogawa H, Sugiyama K. In vivo laser confocal microscopy after non-Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty. Ophthalmology 116: 1306-1313, 2009.

2. 学術集会報告

十全医学賞授賞式および記念講演に続いて、平成23年度十全医学会学術集会が開催された。今年度は、『感染症研究の最前線—ウイルス、最近、寄生虫との闘い—』と題して、学外4名と学内1名の講師の講演が行われた。最初に、東京大学医科学研究所感染・免疫部門感染症国際研究センター長の河岡義裕教授による「パンデミックインフルエンザ」、次いで本学医薬保健研究域薬学系の吉田栄人教授による「昆虫ウイルスベクターを用いた新規マラリアワクチンの開発」と大阪大学微生物病研究所・難治感染症対策研究センター長の堀井俊宏教授による「マラリア原虫のアキレス腱を標的とするSE36マラリアワクチン開発」に関する講演が行われた。続いて、国立国際医療研究センターエイズ治療・研究センター長の岡慎一先生により「HIV感染症：治療の進歩とウイルスの進化」、最後に、東京大学大学院新領域創成科学研究科／オーミクス情報センター長の服部正平教授により「腸内マイクロバイオームのゲノム研究」に関する講演が行われた。今回も昨年同様、十全講堂での開催となり、198名の来場者があった。感染症研究の基礎から臨床まで最新の知見が発表され、本学感染症研究の発展に大きく寄与する学術集会であった。講演の要旨は以下のとおりであった。

(文責：市村 宏)



河岡義裕先生

2009年、ブタ由来のインフルエンザウイルスがメキシコで現れ、瞬く間に世界中に広がった。このウイルスが出現した当初、メキシコでは通常の季節性インフルエンザでは認められないウイルス性肺炎が多くの重症患者で認められた。そこで、このウイルスの病原性を動物モデルで調べたところ、季節性のインフルエンザウイルスよりも肺で良く増殖するため、ウイルス性肺炎を引き起こしやすいうことが分かった。今後、このウイルスがどのように変異していくかは予測できないが、注意深く観察する必要がある。本講演では、新型インフルエンザウイルスの性状について紹介するとともに、今後どのようなことが問題となり得るかについて、考察したい。



吉田栄人先生

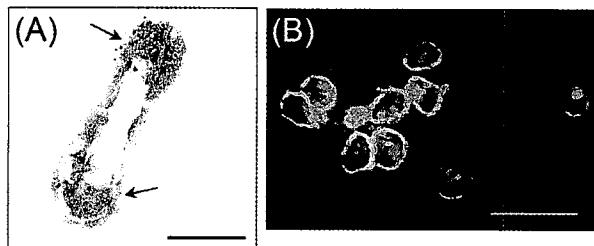
マラリア原虫はヒトと蚊という全く異なる宿主の中で多彩な増殖ステージを持ち、薬剤に対しても速やかに耐性を獲得する能力をもっている。マラリアワクチン開発は人類の悲願であり、グラクソ・スミスクライン社をはじめとする製薬メーカーが研究開発を行っているが未だ暗中模索状態である。本学術集会では、我々が研究中のバキュロウイルスベクターを用いた新規マラリアワクチン¹⁻⁵⁾を紹介する。バキュロウイルスはカイコに感染する昆虫DNAウイルスで、日本の長い養蚕業の歴史からその駆除法(生物学)のノウハウを蓄積してきた。また、タンパクの高発現ベクターとして広く世界中で使用され

ている組換えバキュロウイルスのバイオテクノロジーも、日本人研究者の大きな貢献によってなされた。バキュロウイルスはヒトには感染性がないため安全性が高く、ワクチンベクターとして接種したときに内在性の抗体により中和されることはないという哺乳類ウイルスベクターにはない利点に着目した。

我々の作製したバキュロウイルスワクチン(AcNPV-PyMSP1₁₉surf)¹⁾には、ネズミマラリア原虫*Plasmodium yoelii* MSP1分子C末端領域19 kDaをコードする遺伝子

ymsp1₁₉

が導入されており、精製ウイルス粒子にはPyMSP1₁₉分子が提示されている(図A)。これをマウスに接種すると、メロゾイドと強く反応する抗体が誘導される(図B)。これはウイルス粒子上に提示されているPyMSP1₁₉分子がマラリア原虫のPyMSP1₁₉分子と非常に類似した構造を保持していることを示している。



AcNPV-PyMSP1₁₉surfをマウスに2種類の方法(筋注、点鼻)で接種後、*P. yoelii*をチャレンジ感染すると、感染防御率(生存率)は筋注47%、点鼻100%という接種方法の違いで感染防御効果が大きく異なることを見出した。点鼻接種では粘膜免疫特有のIgG2b抗体価が高く、マラリア感染防御効果と関わりがあることが考えられる。また、チャレンジ感染後の抗PyMSP1₁₉抗体価の推移を調べると、筋注、点鼻両接種では感染による抗体産生の二次応答が起こるが、その応答は点鼻接種がより強い。メモリーB細胞の質的な違いが感染防御効果に大きな影響を与えると考えられる。MSP1抗体価(量的)と感染防御は密接な関連があることは多くの研究で明らかとなっているが、IgGサブクラスを含めた質的な違いについてはほとんど解明されていない。一方、PyMSP1₁₉タンパクを接種しただけでは、チャレンジ感染による抗体産生の二次応答は起こらず、生存しても重い症状を呈した(生存率47%)。

最近のマウスモデルでの研究で、マラリア感染時には抗体産生メモリーB細胞がアポトーシスに陥り、感染防御に必要な抗体産生二次応答が誘導されないということが報告され、同様の現象がマラリア感染地域住民にも観察されている。我々は、このマラリア原虫が誘導するアポトーシスが臨床治験におけるワクチン効果低減の大きな理由であると推測している。本研究では、新規バキュロウイルスベクターを用いたマラリアワクチンが、i) 注射器を用いない点鼻接種により

100%の完全な感染防御免疫を誘導すること, ii)今まで報告されているワクチンとは異なり, チャレンジ感染に対して抗PyMSP_{1,19}抗体の二次応答が誘導され, ワクチン効果を発揮することを明らかにした。点鼻接種が誘導する免疫応答のメカニズム解析は今後の大いな研究テーマである。その一端として, 本研究ではTLR-9欠損マウスの抗PyMSP-1₁₉抗体価が正常マウスに比べて低く, 特にIgG2a, 2b産生が著しく抑制されており, 結果として, TLR-9欠損マウスに対する感染防御効果が消失することを見出している。我々は, AcNPV-PyMSP_{1,19}surfがB細胞に存在するTLR-9を刺激して活性化し, 抗体関与の感染防御(オプソニン化, 補体活性, FcRを介したマクロファージ・NK細胞活性化等々)に大きな役割を演じているIgG2a, 2bサブクラスへのクラススイッ칭を促進していると考えている。鼻の粘膜には多くのDC, マクロファージ等々の免疫担当細胞が存在し, AcNPV-PyMSP_{1,19}surfの有効なアジュバント効果により, これら細胞が効率のよい抗原提示を行い, 免疫系を活性化すると予想される。今後はマウスからヒトへの臨床応用に向けて, 感染防御メカニズムを解明し, 安全性を検証する実験が必要となる。

参考文献

- 1) Yoshida S, Nagumo H, Yokomine T, Araki H, Suzuki A, Matsuoka H.: *Plasmodium berghei* circumvents immune responses induced by merozoite surface protein 1- and apical membrane antigen 1-based vaccines. *PLoS ONE* (2010) 5: e13727.
- 2) Mlambo G, Kumar N, Yoshida S.: Functional immunogenicity of baculovirus expressing Pfs25, a human malaria transmission blocking vaccine candidate antigen. *Vaccine* (2010) 28: 7025-9.
- 3) Blagborough AM, Yoshida S, Sattabongkot J, Tsuboi T, Sinden RE.: Intranasal and intramuscular immunization with Baculovirus Dual Expression System-based Pvs25 vaccine substantially blocks *Plasmodium vivax* transmission. *Vaccine* (2010) 28: 6014-20.
- 4) Yoshida S, Araki H, Yokomine T.: Baculovirus-based nasal drop vaccine confers complete protection against malaria by natural boosting of vaccine-induced antibodies in mice. *Infect Immun* (2010) 78: 595-602.
- 5) Yoshida S, Kawasaki M, Hariguchi N, Hirota K, Matsumoto M.: A Baculovirus Dual Expression System-based malaria vaccine induces strong protection against *Plasmodium berghei* sporozoite challenge in mice. *Infect Immun* (2009) 77: 1782-9.



堀井俊宏先生

マラリアは熱帯・亜熱帯地域を中心に流行し, その犠牲者は年間100~300万人にのぼる。種々の薬剤耐性マラリア原虫の出現により有効な抗マラリア薬が枯渇しつつあり, 抜本的な対策としてマラリアワクチンの開発が期待されている。一度の自然感染によって防御免疫が成立する天然痘や麻疹等に対しては, 効果が長期間持続するワクチンが開発されているが, 高度に寄生適応したマラリア原虫に対しては防御免疫の獲得が自然感染ですら容易ではなく, 従って, ワクチン開発も困難である。マラリア流行地域住民は幼児期に幾度も感染を繰り返し, ようやく重症化を免れる程度の免疫を獲得し慢性感染の経過となる。幼児期を過ぎてもなお多くの住民はマラリア原虫を体内に宿し, また, 成人してからもマラリア発症することは稀ではない。一度の感染で防御免疫を獲得できる麻疹や天然痘との大きな違いは, マラリア原虫の遺伝子がヒトの免疫防御を回避する方向に寄生適応してきたことである。

我々はこれまでに熱帯熱マラリア原虫のSERA(Serine Repeat Antigen, 120kD)という抗原分子に着目してワクチン開発を進めてきた。種々の動物実験の結果, SERA分子の中でもそのN-末端ドメイン(47kd)に対する抗体がマラリア原虫の増殖を阻害することを見出した¹⁾。マラリア防御免疫を獲得することは容易ではないが, 感染を繰り返した後に防御免疫が確立することは知られている。SERAがこのような防御免疫の標的抗原であるかどうかを調べるために, アフリカ中央部に位置するウガンダのマラリア高度流行地域に住む児童を対象として疫学調査を行った。その結果, SERAのN-末端ドメインに対する抗体価を持つ児童は全く発熱をしておらず, 児童の血中マラリア原虫率と抗SERA-IgG抗体価に極めて明瞭な負の相関関係が認められた^{2,3)}。しかし, 流行地域住民におけるSERAのN-末端ドメインに対する抗体価の陽性率を年齢別に比較してみたところ, 10歳以下の年齢層では抗体保有者が10%以下であり, 成人を見ても50%に満たない。疫学調査を実施した地域では, 住民は例外なく乳幼児の時期からマラリア感染にさらされている。この調査ではマラリアワクチン候補抗原のひとつであるMSP1タンパク質を対照として用いたが, MSP1

に対しては10歳以下の群においても80%程度の抗体陽転を示し、防御免疫との相関は極めて弱い。これらの結果から、SERA抗原のN-末端ドメインがマラリア原虫の「アキレス腱」ともいべき隠された重要な標的抗原であることを強く示唆する⁴⁾。

我々は SERA抗原のN-末端ドメインを若干改変した組換 SE36蛋白質を大腸菌で発現させたSE36マラリアワクチン臨床治験製剤を(財)阪大微生物病研究会と協力して生産した。本治験製剤を用いて行ったリスザルによるワクチン試験において、ワクチン接種によって抗体価が十分に上昇したリスザルでは対照群のリスザルに比べて80%程度の原虫抑制効果が認められた⁴⁾。平成18年に国内においてヒトに対する安全性を調べる第I相臨床試験が終了した。その結果、安全性とともにワクチン接種者で100%の抗体陽転が認められた⁴⁾。さらに2010年から2011年にかけてウガンダにおいて132名の被験者が参加した第Ib相臨床試験を実施した。

多くのワクチン抗原で十分な防御効果が得られていないことから、自然免疫アジュバントを添加することでさらに免疫を活性化する試みがなされている。特に非メチル化CpG配列を持つ一本鎖オリゴDNA(CpG DNA)アジュバントはTLR9を介して自然免疫を活性化することで効果が期待されている。SE36ワクチンにおいても、動物実験においてより高い有効性が示され、旅行者用マラリアワクチンとなる可能性が期待される。

参考文献

- 1) Sugiyama T., Suzue K., Okamoto M., Inselburg J., Tai K. and Horii T. Production of recombinant SERA proteins of *Plasmodium falciparum* in *E. coli* by using synthetic genes. *Vaccine* 14: 1069-1076, 1996
- 2) Okech BA, Nalunkuma A, Okello D, et al : Natural human immunoglobulin G subclass responses to *Plasmodium falciparum* serine repeat antigen in Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 65: 912-917, 2001
- 3) Aoki S, Li J, Itagaki S, et al: Serine repeat antigen (SERA5) is predominantly expressed among the SERA multigene family of *Plasmodium falciparum*, and the acquired antibody titers correlate with serum inhibition of the parasite growth. *J Biol Chem* 277: 47533-47540, 2002
- 4) Horii T, Shirai H, Jie L, et al: Evidences of protection against blood-stage infection of *Plasmodium falciparum* by the novel protein vaccine SE36. *Parasitol Int* 59: 380-386, 2010



岡 慎一先生

治療の進歩

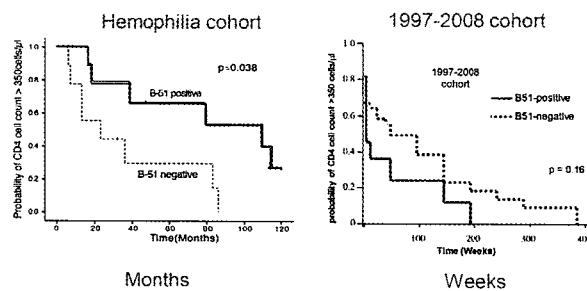
HIV感染症に対する治療法がこの10年格段に進歩したことは周知の事実である。私がエイズ診療を始めた1986年当時には、「エイズ=死」であった。治療薬など何もなかった。IFNをHIV感染症の治療に用いたこともあった¹⁾が、効果は無かった。自分自身のHIV感染症に対する研究は、治療より病態や合併する日和見感染症に向けられ、当時新しい技術であったPCRを用いて、ウイルス量が正確に定量できること²⁾やカリニ肺炎の診断法³⁾などを検討していた。しかしこの間、治療薬の開発と病態の理解が進み、10年後の1996年には劇的な治療効果をもたらす治療法が開発されHighly Active Anti-Retroviral Therapy (HAART)と呼ばれるようになった。そして次の10年にも治療薬の開発はどんどん進み HAARTは進歩した。デンマークコホートでの解析では、25歳でHIVに感染していると診断された患者の平均余命は、HAART導入前は数年であったのが、2000年以降のHAARTを受けている患者の予後は40年近くまで延びたという報告がなされた。正確なコホートではないが、HAARTを受けている日本人感染者の生存曲線によるデータでもそれを上回る結果が得られている。今では、HIV感染者を長期的に治療していく時の注意点は、エイズ関連疾患ではなく生活習慣病などの合併症、あるいは高齢化が問題となるまでになった。さらに、今でもHIV感染症に対する治療法は進歩を続けている。間違いなく、HIV感染症は適切な治療によりコントロールできる慢性のウイルス疾患になったといえる。たった20年で隔世の感がある。HIV感染症を専門とすることにより、医学の進歩を凝縮して体験できる幸運に恵まれ、その進歩にはんの少し参加できたのではないかと思っている。しかし、まだエイズとの闘いが終わったわけではない。いまだ、HIV感染症は治らないのである。治療法が進歩を続けるということは、治療法が完成されていないことの証拠でもある。しかも、この20年でこの病気は世界中に広がり、感染者の多い途上国では国の存亡にかかる瀬戸際まで来ている。先進国と途上国との格差が大きく広がり、いわゆる医療の南北格差がクローズアップされている。世界では、人類最大の敵とみなされ、その対策に多くの人たちが知恵と汗を流している中、日本におけるこの病気に対する関心の低さには寂しさを感じている。

今後も治療法の進歩を止めてはならないのであり、若手の医師や研究者が、どんどんこの分野に入ってきてくれることを期待している。途上国におけるHIV感染症の蔓延を抑えるには、ワクチン開発が必要であるが、後で述べるように現在の免疫学ではワクチン開発のめどは全く立っていない。

ウイルスの進化

一方、ウイルスはどうなったのかというと、人類にとってはますます厄介な敵としての進化を遂げHIV感染症の病態は変化してきている。治療法の進歩により病態がマスクされてしまっているが、感染からエイズ発病までの期間すなわち病状の進行は、間違いなく早まっている⁴⁾。「感染から発病まで10年前後の無症候性キャリアの時期があり」と教科書には書かれているが、我々の施設の解析では、おそらく3~5年程度にまで短縮されている。日本では、今のHIV感染症は、海外から入ってくる感染症ではなく、日本人から日本人に感染している。HIVが、日本に入ってきた80年代初めは、このウイルスに対する免疫が働いていた。その中で、重要な免疫としてHLA拘束性の細胞性免疫が知られている。80年代初めに日本人として初めてHIVに感染した血友病患者ではHLA-B51が、病状の進行に抵抗性を示していた⁵⁾。しかし、この10年間にHIVに感染した日本人を見ると、HLA-B51の人はむしろ病状の進行が早まっている(図)。

HLA B51保有者の病状の進行は早まっている



HIVが同一人種を経ている間にHLA-B51に抵抗性を示す免疫逃避ウイルスが日本人の中に蓄積してしまったのである⁶⁾。この様なことは、他のHLAでも起こっているはずであり、結果として今の日本人には、日本で流行っているウイルスに対する免疫が期待できないという可能性があり、病状の進行が早まったと推定される。多施設によるコホート研究で、この結果を確認する必要がある。また、HLA-B51がHIVを認識し強力に排除するimmunodominant epitopeは逆転写酵素の中に存在するが、HLA-B51からescapeしたウイルスは、逆転写酵素内にアミノ酸変異を有し、非核酸系逆転写酵素阻害薬に対する全く新しい薬剤耐性パターンを示すことも明らかになった⁷⁾。このことは、免疫逃避が新しい薬剤耐性を生み出すという全く新しい知見である。治療の進歩とウイルスの進化の戦いはまだ続きそうである。

HIV検査の重要性

もし治療法が間に合っていなかったら、恐ろしいことになっていたと思われる。エイズ発病前に発見されればエイズを発病することなく生活できるまでに治療法が進歩したが、エイズを発病してしまってからでは死の危険があることに変わりはない。発病までの期間が短いということは、HIV検査の重要性が高まっているということである。しかし、保健所に行けば無料、匿名で誰でも検査が受けられるはずの日本において、一向に一般の人のHIV検査の受検率は進んでいない。新規に発見されるHIV感染者の中で、保健所等での自発検査による発見率は30%前後に留まっている。一方、保健所での検査件数はかなり飽和状態にあり、今後それほど増える見込みが無いことも明らかになってきた。保健所の不足分を補うのは医療機関での検査ということになるが、医療機関におけるHIV検査の一番の障壁は、HIV感染症は特別扱いをしなければならないという逆差別にある。米国でもHIV検査が増加しない現状があったが、2006年米国疾病予防センター(CDC)はHIV検査のガイドラインを大きく改訂した。それまでは、医療機関のHIV検査においても特別に文書同意を取ることやカウンセリングをしなければならないとされてきたが、改訂版では特別扱いをしてはならない、と180度方向転換した。WHOからも、感染率の高い国では、国民皆検査をして陽性者全員に治療を行った場合の経済未来予測の試算まで出している。世界は、間違いなく検査の敷居を下げる方向に向かっている。検査をして感染者を発見することは、その患者の命を救うことであり、かつ、感染拡大を防ぎ国々の将来をも救うことになるのである。一般医療機関でのHIV検査の敷居がもっと下がることを期待している。

参考文献

- Oka, S., et al. α -interferon and early stage HIV infection. *JAIDS* 2: 125-128, 1989.
- Oka, S., et al. Quantitative analysis of human immunodeficiency virus type-1 DNA in asymptomatic carriers using the polymerase chain reaction. *Biochem Biophys Res Commun* 167: 1-8, 1990.
- Kitada, K., Oka, S. et al. Detection of *Pneumocystis carinii* sequences by polymerase chain reaction: Animal models and clinical application to noninvasive specimens. *J Clin Microbiol* 29: 1985-1990, 1991.
- Nakamura H, Oka S et al. Clinical symptoms and courses of primary HIV-1 infection in recent years in Japan. *Intern Med* 50: 95-101, 2011.
- Kawashima Y, Oka S, Takiguchi M, et al. Long-term control of HIV-1 by HIV-1 pol-specific CTLs in hemophiliacs carrying slow-progressing allele HLA-B*5101. *J Virol* 84: 7151-7160, 2010.
- Kawashima Y, Oka S, Takiguchi M, et al. Adaptation of HIV-1 to HLA I. *Nature* 458: 641-645, 2009.
- Gatanaga H, Oka S et al. Impact of HLA-B*51-restricted CTL Pressure on Mutation Patterns of Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor Resistance. *AIDS (Fast Track)* 24: F15-22, 2010.



服部正平先生

宿主ヒトへの腸内細菌叢の生理機能として、食事成分の代謝による宿主細胞の栄養成分やエネルギー源の生産、免疫系の成熟化と恒常性維持、病原細菌に対する感染防御等の有益な機能が知られている。一方、腸内細菌叢はクローン病・潰瘍性大腸炎で知られる炎症性腸疾患、大腸がん、肥満等の様々な疾病的有害要因でもある。免疫不全を導入した動物モデルにおいては、腸内細菌叢はその有無によって炎症反応の亢進と抑制という相反した効果を示す。さらに最近では、遺伝子欠損肥満マウスやメタボリック症モデルマウスの腸内細菌叢を遺伝的に健常な無菌マウスに移植すると、それらが肥満及びメタボリック症マウスになるという腸内細菌叢が疾病発症の直接要因になることや、多発性硬化症や自己免疫性糖尿病等の消化管以外の遠隔臓器を冒す疾病的発症につながることが明らかになってきており、腸内細菌叢の異常が全身における疾患発症の根幹に存在し、腸内細菌叢が宿主の恒常性の維持と破綻に大きく関与する考えが浸透して来ている。

この恒常性の維持と破綻の相反する機能は、腸管内での腸内細菌叢と宿主細胞間の相互作用に依るところが大きい。このことから、ヒトの生理状態（健康と病気）はヒト自身と常在細菌叢の両方から影響を受け、ヒトはヒトゲノムと常在菌ゲノム（マイクロバイオーム）から成り立つ‘超有機体’であるという概念が提唱された（Lederberg, J.: *Science* 288, 287, 2000.）（図）。

しかしながら、腸内細菌叢の実体やそれが有する有益・有害機能に関わる分子種や分子機構のほとんどはわかっていない。その理由として、腸内細菌叢が1,000菌種以上からなるきわめて複雑な細菌叢であること、個人間での多様性が大きいこと、多くの菌種が難培養性であること等を挙げることができる。

ヒト常在菌叢の実体やその機能を包括的に解明することをめざしたHuman Microbiome Projectが2008年から国際協力のもと始動した（International Human Microbiome Consortium: IHMC <http://www.human-microbiome.org/>）。この計画では、数百名の健康及び疾患患者の消化器系、鼻腔、口腔、皮膚、泌尿器系常在菌叢のメタゲノム解析（遺伝子情報の取得）、16SリボソームRNA遺伝子（16S）解析（菌種及び菌種組成の取得）、合計約1,000菌種のヒト常在菌の個別ゲノム解析（referenceゲノム配列の取得）を行う。これらの網羅的な情報リソースは、常在菌叢研究を著しく加速とともに常在菌叢をターゲットとした新たな創薬戦略や疾病予防法の開発につながると期待される。

私たちのグループは13名の健康な日本人の腸内細菌叢のメタゲノム解析を行い、その結果を2007年に発表した。この研究では、合計で約479Mbのユニーク配列を決定し、その中に約66万個の遺伝子を同定した。また、315種類のヒト腸内細菌叢に高頻度な存在する（特徴的な）遺伝子及び647種類のヒト腸内細菌叢に特異的で新規な遺伝子ファミリーを見出した。

現在、次世代シーケンサー（おもにロシュ社の454 GS-FLX Ti）を用いて健康と様々な疾病患者の腸内細菌叢の16Sとメタゲノム解析、ならびに分離したヒト常在細菌株の個別ゲノム解析を進めている。次世代シーケンサーを用いることにより、従来のサンガー法よりも1桁多いデータを20倍のスピードと1/10のコストで取得できる。現在進行中のプロジェクトの一つは、プロバイオティクス摂取と非摂取時における腸内細菌叢の経時的变化を16Sとメタゲノム解析を行い、腸内細菌叢におよぼすプロバイオティクスの効果を調べている。この研究では、プロバイオティクス摂取時に有意に増減する菌種と全体構造の変化をこれまでにない網羅性と定量性をもって解析した。このほか、ビフィドバクテリウムのプロバイオティクス機能に関係する分子種と細菌遺伝子の特定、及びその宿主への作用機序の解明に世界で初めて成功した。本研究会では、次世代シーケンサーを用いた細菌叢マイクロバイオーム研究を紹介する。

参考文献

- 1) Arumugam M et al.: Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, in press (2011).
- 2) Fukuda S et al.: Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature*, 469, 543-547 (2011).
- 3) Hattori M and Taylor TD: The human intestinal microbiome: A new frontier of human biology. *DNA Res.* 16, 1-12 (2009).
- 4) Kurokawa K et al.: Comparative metagenomics revealed commonly enriched gene sets in human gut microbiomes. *DNA Res.* 14, 169-181 (2007).
- 5) 服部正平: ヒト腸内マイクロバイオームのゲノム科学 細胞工学, 30 (4), 399-403 (細胞工学 2011).
- 6) 服部正平監修: メタゲノム解析技術の最前線 (シーエムシー出版 2010)

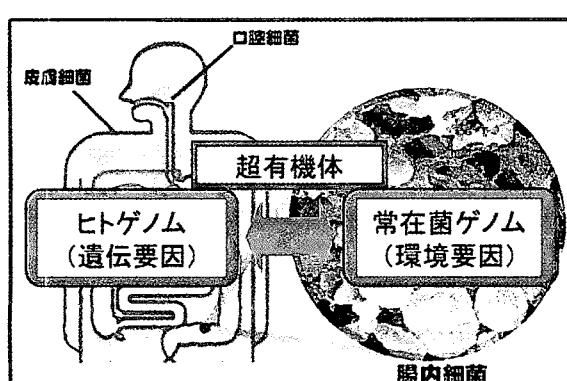


図. ヒトはヒトゲノムと常在菌ゲノムからなる超有機体である。