

福岡大学医学会第 88 回例会および第 46 回総会

日時：令和 5 年 9 月 27 日（水）17:30～19:15

場所：医学部講義棟 3F RI 大講堂

I. 第 88 回福岡大学医学会例会

【進行】集会幹事 川浪 大治

1) 開会の辞 集会幹事 川浪 大治

2) 会長挨拶 医学部長 小玉 正太

3) 第 25 回福岡大学医学会賞受賞論文講演（講演 15 分 質疑応答含む）

① 講演者… 平川 豊文（産婦人科） 座長… 四元 房典（17:35～17:50）

「Trophic and immunomodulatory effects of adipose tissue derived stem cells in a preclinical murine model of endometriosis」

② 講演者… 橋口 志保（歯科口腔外科） 座長… 近藤 誠二（17:50～18:05）

「CCN2-induced lymphangiogenesis is mediated by the integrin α v β 5-ERK pathway and regulated by DUSP6」

③ 講演者… 眞野 亮介（歯科口腔外科） 座長… 近藤 誠二（18:05～18:20）

「Induction of potassium channel regulator KCNE4 in a submandibular lymph node metastasis model」

4) 第 25 回福岡大学医学会賞金賞論文投票（18:20～18:30）

5) 新任教授講演（講演 25 分，質疑 5 分）

講演者…佐藤 寿彦（呼吸器・乳腺内分泌・小児外科学） 座長… 小玉 正太（18:30～19:00）

「肺癌治療の進歩」

II. 第 46 回福岡大学医学会総会

1) 議事

【進行】庶務幹事 鍋島 茂樹

① 報告事項

② 令和 4 年度会計報告および令和 5 年度予算案

③ その他

2) 第 25 回福岡大学医学会賞授賞式

【進行】集会幹事 川浪 大治

① 開票結果発表

② 授賞式

3) 閉会の辞 集会幹事 川浪 大治

個人評価自己申告書認定講演会

第 25 回福岡大学医学会賞 受賞論文講演要旨

① 医学部産科婦人科学
平川 豊文

Trophic and immunomodulatory effects of adipose tissue derived stem cells in a preclinical murine model of endometriosis

Sci Rep. 2022 May 16;12(1):8031. doi: 10.1038/s41598-022-11891-5.

本論文は、子宮内膜症に対する脂肪組織由来間葉系幹細胞による細胞療法の有効性とその機序について、モデルマウスを用いて評価した研究である。

【目的】子宮内膜症は月経困難症、生殖能の喪失、癌の発症を誘起し、女性の QOL を著しく損なう重篤な疾患であるが、既存の内分泌療法や手術療法では根治は望めない。子宮内膜症の病態は、月経周期に伴う異所性子宮内膜からの出血による慢性炎症と、それに引き続いて起こる強い線維化であり、現在多くの線維化改善を期待した治療薬の開発が試みられているが、十分な成果をえていないのが現状である。子宮内膜症の病態の中心である炎症と線維化を同時に改善できる脂肪組織由来間葉系幹細胞（ASCs：Adipose derived Mesenchymal Stem Cells）による細胞治療は、同疾患への治療応用の可能性があるかと着想した。本研究は、子宮内膜症モデルマウスを作成し、ASCs 投与による抗子宮内膜症効果の検討と病変縮小のメカニズムについて解明することを目的とした。

【対象と方法】Balb/c ドナーマウスの子宮内膜組織をレシピエントマウスの腹腔内に移植し、子宮内膜組織移植説を基にした子宮内膜症モデルマウスを作成した。Balb/c マウスの脂肪組織から ASCs を分離し、モデルマウスに静脈内投与した。ASCs の抗子宮内膜症効果は、子宮内膜症性病変の肉眼的検討（総重量、個数、総表面積）、組織学的検討（HE 染色、マッソントリクリム染色、Ki67 免疫染色）、遺伝子学的検討（炎症促進遺伝子、線維化促進遺伝子、抗炎症遺伝子、血管新生関連遺伝子、マトリックスメタプロテアーゼ遺伝子、ホルモンレセプター遺伝子）を行った。また、赤色蛍光蛋白遺伝子導入のクサビラオレンジ遺伝子組み換えマウスの ASCs を用いて、ホーミング能力の検討を行った。

【結果と考察】本研究では、モデルマウスに投与された ASCs は主に子宮内膜症様病変に集積し、炎症促進遺伝子および線維化促進遺伝子の発現を有意に抑制し、間質線維化反応を減弱することで内膜症病変の増大を抑制することが示唆された。

過去の報告では、IL-6 および TGF β -1 レベルの増加が子宮内膜症様病変の発症に起因することが報告されている。この炎症部位での IL-6 および TGF β -1 レベルの上昇は、間葉系幹細胞の vascular cell adhesion molecule (VCAM) -1 を介した同部位への集積に寄与する。これらの作用を利用して、ASCs をはじめとした間葉系幹細胞は、さまざまな炎症性疾患や

線維形成性疾患の治療に利用されている。また ASCs の投与は、エストロゲンおよびプロゲステロン受容体の発現に影響を及ぼさなかったため、既存のホルモン療法との併用療法が相乗的な作用によって子宮内膜症を改善する可能性がある。

【結論】 ASCs はホーミング能力によって子宮内膜症病変に集積し、組織保護および免疫調節効果によって、子宮内膜症様病変の増大を抑制することが示された。ASCs による細胞治療は、子宮内膜症患者の革新的な治療法となり得ると考えられる。

② 福岡大学病院歯科口腔外科
橋口 志保

CCN2-induced lymphangiogenesis is mediated by the integrin $\alpha v \beta 5$ -ERK pathway and regulated by DUSP6

Sci Rep. 2022 Jan 18;12(1):926. doi: 10.1038/s41598-022-04988-4.

【背景・目的】

リンパ管は体液の恒常性維持や免疫機能など重要な機能を有し、リンパ管新生はこれらの機能を維持するためのプロセスである。リンパ管新生に関与する分子や制御機構を明らかにすることは、関連する病態への理解を深めるために重要である。

Cellular communication network factor 2(CCN2)は複数の既知受容体や生理活性因子と相互作用し、多様な生物学的効果を示すが、正常組織における CCN2 のリンパ管新生作用は不明である。本研究では、新規リンパ管新生因子として CCN2 に着目し、CCN2 の正常リンパ管内皮細胞に対する作用とシグナル経路を明らかにすることを目的に研究を行った。

【対象と方法】

C57BL/6 マウス皮下に CCN2 添加または非添加のマトリゲルを移植し免疫組織学的に解析して CCN2 のリンパ管新生作用を評価した (*in vivo* Matrigel plug assay)。マウスリンパ管内皮細胞(LEC)を用いて、CCN2 による培養細胞刺激実験を行い、CCN2 の細胞内シグナル伝達経路、受容体を探索した。CCN2 リンパ管新生シグナルの負の調節因子として、Dual specificity phosphatase 6(DUSP6) に着目し、免疫沈降実験や、*Dusp6* 遺伝子発現抑制実験を通して CCN2 シグナルへの影響を解析した。CCN2 添加ゲル内で LEC を三次元培養し、CCN2 の管腔形成能を評価した(Tube formation assay)。*Dusp6* をノックダウンして同様の実験を行い、CCN2 リンパ管新生における DUSP6 の作用を評価した。

【結果】

in vivo Matrigel plug assay の結果、CCN2 ゲルではリンパ管マーカーである Podoplanin 陽性管腔数、Podoplanin 陽性面積が有意に増加した。

LEC を CCN2 添加培養するとリンパ管マーカーである *Pdpm*、*Prox1*、*Lyve1*、*Vegfc*、*Vegfd*、*Vegfr3* の mRNA 発現量が増加した。また、CCN2 は ERK のリン酸化を増加させた。LEC ではインテグリン $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ が優位に発現しており、中和抗体を用いてそれぞれをブロックすると、CCN2 による ERK のリン酸化が抑制された。

免疫沈降実験の結果、CCN2 は、ERK の脱リン酸化酵素である DUSP6 と ERK の結合を増強した。*Dusp6* ノックダウンにより、CCN2 による ERK の活性化が増強し、長時間持続した。

Tube formation assay では、CCN2 非添加では管腔形成が起こらないのに対し、CCN2 添加により管腔形成が生じ、*Dusp6* ノックダウンにより分岐点と管腔長が増加した。

【結論】

CCN2 はリンパ管新生を誘導し、そのシグナル経路としてインテグリン $\alpha v\beta 5$ 、 $\alpha v\beta 3$ を介して ERK 経路を活性化することを見出した。また、CCN2 は DUSP6 と ERK の結合を増強することで、CCN2 による ERK の活性化を負に制御しており、DUSP6 が CCN2 リンパ管新生シグナルの負の調節因子であることを見出した。

③ 福岡大学病院歯科口腔外科
眞野 亮介

Induction of potassium channel regulator KCNE4 in a submandibular lymph node metastasis model

Sci Rep. 2022 Aug 1;12(1):13208. doi: 10.1038/s41598-022-15926-9.

【目的】

メラノーマなどの癌細胞は、しばしば所属リンパ節 (LN) に転移した後、血行性に遠隔転移をきたす。癌患者における LN 転移の有無は予後と相関しており、治療戦略を決定する上での重要な要因となる。そのため、LN 転移のメカニズムを理解するために、多くの動物モデルや臨床研究が行われてきた。癌細胞は、原発巣および転移部位で免疫細胞や間質細胞とコミュニケーションをとり、腫瘍細胞が二次臓器に到達する前から転移を支持する環境へ作り変えていることが報告されている。また、LN に転移するメカニズムとして、センチネル LN にリンパ管新生の亢進や免疫抑制環境の誘導などの変化が起こることが報告されている。これまでの臨床研究や動物モデル研究によると、原発巣から遠隔部位への癌細胞の播種は、原発巣の診断よりも早期に起こることが多いとされている。転移播種前の LN における変化を理解することは、LN 転移を予防する治療法を開発するために非常に重要である。本研究では、メラノーマ細胞がマウス舌から顎下リンパ節 (SLN) に転移するモデルを作製し、SLN における遺伝子発現の初期変化について解析した。

【対象と方法】

C57BL/6 マウスの舌(右側)に B6 由来メラノーマ細胞株 B16-F10 を移植し、移植細胞数及び移植後原発巣の変化、SLN への転移率を解析した。次に、B16-F10 移植後 3 日目の SLN より total RNA を抽出し、qPCR にてメラノーママーカーの発現量を解析した後に、マイクロアレイ解析を行い、対照群 (PBS 投与群) の SLN と比較検討した。発現増加した遺伝子のうち、Potassium voltage-gated channel, Isk-related subfamily, gene 4 (*Kcne4*)、Solute carrier family 7 member 11 (*Slc7a11*)、Fascin actin-bundling protein 1 (*Fscn1*)、Growth arrest and DNA-damage-inducible 45 β (*Gadd45b*)に着目し、qRT-PCR による検証を行った。次に、上記因子と CD45 (汎白血球マーカー) または Podoplanin (リンパ管内皮マーカー) の発現について免疫組織染色を行い、タンパクレベルでの発現誘導やリンパ節内の局在について解析した。初代培養リンパ管内皮細胞(LEC)における電位依存性カリウムチャンネル subfamily Q (KCNQ) member 1-5 の発現量を qRT-PCR にて解析し、KCNQ1 と KCNE4 とのリンパ節における局在について免疫組織学的解析で検討した。また、LEC における KCNE4 の役割を調べるため、siRNA または発現ベクターを用いて KCNE4 を発現抑制または過剰発現させ、ケモカイン *Ccl17* やマトリックスメタロプロテアーゼ *Mmp3*、細胞接着

因子 *Fn1* の発現量に及ぼす影響を qRT-PCR にて解析した。最後に、ヒト正常リンパ節組織とメラノーマ転移リンパ節組織における KCNE4 の発現について免疫組織染色にて解析した。

【結果と考察】

我々は、メラノーマ細胞が舌から SLN に短期間で高確率に転移する頭頸部癌転移モデルを構築した。B16-F10 移植後、転移成立前の SLN における遺伝子発現変化を解析したところ、転移初期の段階で *Kcne4* と *Slc7a11* が発現増加していたが、*Fscn1* と *Gadd45b* は有意な増加は見られなかった。また、免疫組織染色で KCNE4 と SLC7A11 が LEC に発現誘導されることが明らかになった。LEC において、*Kcne4* を発現阻害すると、*Ccl17* と *Mmp3* が減少し、*Fn1* が増加した。逆に、*Kcne4* の過剰発現は *Ccl17* と *Mmp3* を増加させ、*Fn1* を減少させたことから、KCNE4 は転移に関連するサイトカイン産生とリンパ管内皮透過性を増加させることで転移を促進する可能性が示唆された。また、SLC7A11 は、グルタミン酸を排出しシスチンを取り込むアミノ酸交換輸送体である。シスチンはグルタチオンの原料となり活性酸素の除去に働くことから、SLC7A11 はメラノーマ細胞によって発現誘導されて LEC の酸化ストレス軽減に働く可能性が示唆された。

【結語】

同種同系メラノーマの SLN 転移モデルを確立し、転移前の SLN においてカリウムチャネルの調節因子である KCNE4 が発現誘導されることを明らかにした。