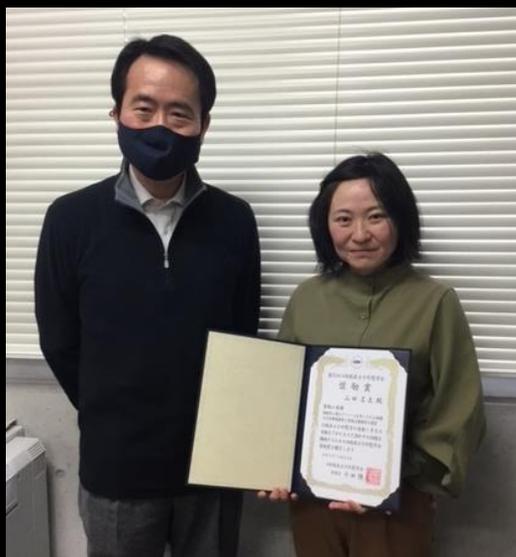


- P.1 奨励賞受賞者紹介
- P.5 論文賞受賞者紹介
- P.8 最多査読賞受賞者紹介

奨励賞受賞者紹介



岐阜大学大学院
医学系研究科解剖学分野
山田名美

このたびは日本臨床分子形態学会奨励賞という大変栄誉ある賞を賜りまして、學術委員の先生方をはじめ、学会関係者各位に厚く御礼申し上げます。そして、これまでご指導いただきました先生方や共同研究者の先生方にこの場をお借りして深謝いたします。今回、賞を賜りました私の研究内容であります「細胞外小胞エクソソームを用いたがん細胞の生存戦略解明と新規治療標的の探索」につきまして、簡単にご紹介させていただきます。

はじめに

細胞外小胞(Extracellular vesicles, EVs)は、細胞から分泌される脂質二重膜構造を持つ小胞の総称です。EVsの内部にはmRNA, microRNA, タンパク質などの情報伝達物質が含まれており、細胞はこのEVsを互いにやり取りをすること

でCell-cell communicationをおこなっているとして、注目されています。EVsは、その起源となる細胞の種類や小胞の大きさ、生成機序、構成成分などに基づいて、exosomesやshedding-microvesicles、microparticlesなどと呼ばれてきました。しかしその定義は曖昧で、それぞれの単離方法もまだ統一されているとは言えません。そこで細胞外小胞に特化した国際学会International Society for Extracellular Vesicles (ISEV)は、細胞から分泌される小胞の総称として"Extracellular vesicles"を用いることを推奨しています。当初EVsは細胞の単なる老廃物、もしくは試料作成時のアーティファクトと考えられていましたが、近年、EVs内包物には機能性があることが確認されたことから、情報伝達物質のキャリアとして、またEVs内包物は各種疾患のバイオマーカーとして注目を浴びています。その中で私は、特に大腸がん由来EVsの内包分子に着目し、その機能を1つ1つ明らかにすることで、大腸がんがEVsを分泌する意義を考えてまいりました。そしてその成果をまとめまして、「EVsを用いたがん細胞の生存戦略」とし、がんの新規治療標的として提案してまいりました。以下、3つにわけまして、EVsを用いたがん細胞の生存戦略を概説いたします。

EVsを用いたがん細胞の生存戦略その1：有害分子を細胞外へ排出

はじめに、抗がん剤5-FUを大腸がん細胞株のDLD-1へ投与すると、anti-oncogenic microRNAであるmicroRNA-145とmicroRNA-34aの細胞内レベルが上昇し、抗腫瘍効果を示すことを明らかにしました。次に5-FUに耐性を持つDLD-1を用いてその耐性機序を解析しました。その結果、5-FU耐性DLD-1はmicroRNA-145とmicroRNA-34aをEVsに内包して細胞外へ排出し、細胞内レベルの上昇を抑えていることがわかりました。すなわち、がん細胞は自身にとって有害な分子を細胞外へ排出する手段の1つとして、EVsを用いていることがわかりました(Akao Y et al., Int J Mol Sci 2014)。

EVsを用いたがん細胞の生存戦略その2：血管新生の誘導
大腸がん患者血中および、大腸がん細胞株の培地中に存在するEVsには、microRNA-92a-3pとmicroRNA-1246が豊富に内包されており、大腸がんはこれらmicroRNAsを積極的に分泌していることを明らかにしました。さらにmicroRNA-92a-3p、microRNA-1246の新規標的遺伝子 *Dkk-3*, *CLDN-11*, *PML*を同定し、これら標的遺伝子の発現抑制を介したmicroRNAの機能を明らかにしました。また、これらmicroRNAsを内包したEVsが血管内皮細胞へ取り込まれると、上記の標的遺伝子の発現が抑制され、その結果、血管内皮細胞の増殖、運動、管腔構造形成が促進されることがわかりました。すなわち、大腸がん細胞は、血管新生を誘導するために、microRNA-92a-3p、microRNA-1246をEVsに内包して分泌していることが明らかになりました(Yamada N et al., *Transl Oncol* 2013; Yamada N et al., *Biochim Biophys Acta* 2014; Yamada NO et al., *Int J Mol Sci* 2019)。

EVsを用いたがん細胞の生存戦略その3：免疫寛容の誘導
大腸がん細胞が分泌するEVsには、TGF- β も豊富に含まれていることがわかりました。さらにこのEVsをCD4陽性T細胞に与えますと、制御性T細胞(Treg)への分化誘導が起こることを明らかにしました。すなわち、大腸がん細胞はEVsを分泌することによって、免疫寛容を誘導し、免疫系からの攻撃から逃れようとしていることがわかりました(Yamada N et al., *Oncotarget* 2016)。

一連の過程におきまして、大腸がん由来EVsを取り込む細胞が限定される現象（これを「EVsの細胞指向性」といたしました）が確認されましたが、その分子メカニズムはまだわかっておりません。そこで、EVsの表面にはレシピエントを指定する宛先タンパクがついているのではないか、という仮説を立て、現在解析を続けております。今後の展望として、この「EVsの細胞指向性」と「がん転移の臓器指向性」との共通点に注目し、EVsの細胞指向性を決定する分子メカニズ

ムを解明することにより、“seed and soil説”、すなわち、なぜがんは特定の臓器にのみ転移するのか、という未だ解明されていないがん転移研究の命題に対する挑戦的研究へと発展させ、seed and soil説をEVs介在性細胞間コミュニケーションの観点より解き明かしてまいりたいと考えております。

がん研究者を志して約10年、多くの先生方のご指導により今回このような栄誉ある賞をいただけるようになりました。まだまだ若輩者ではありますが、引き続き研究そして教育に尽力してまいります。今後ともご指導ご鞭撻のほど何卒よろしくお願い申し上げます。

改めまして、このたびは誠にありがとうございました。

論文賞受賞者紹介

『Mechanism of atopic cataract caused by eosinophil granule major basic protein』

藤田医科大学 研究支援推進本部
治験・臨床研究支援センター
国際再生医療センター(兼任)
特任教授 山本 直樹



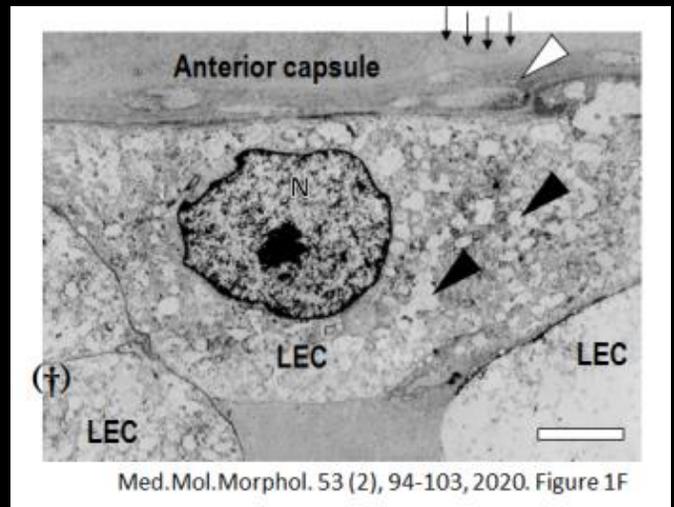
この度は第53回日本臨床分子形態学会におきまして栄誉ある論文賞を賜り、学会関係の諸先生方に心より厚く御礼申し上げます。誠にありがとうございました。

この論文では、アトピー性皮膚炎に合併して発症する白内障の原因物質および発症メカニズムの探求について研究成果をまとめました。アトピー白内障の発症年齢は40歳以下、症例によっては10代で発症するため、加齢白内障とは発症年齢が異なります。水晶体の混濁による視力低下を患者さんが認識し始めてから、数ヵ月で水晶体の混濁が顕著となるため、アトピー白内障に特有な原因物質およびメカニズムがあるのではないかと考え、研究を始めました。

まず、事前の情報収集としてアトピー白内障と加齢白内障の臨床所見を比較するため、過去の症例をレトロスペクティブに調査しました。血液房水柵の役割を果たす無色素毛様体上皮細胞で産生される房水は、無血管組織である水晶体などに栄養などを供給します。前房水中のタンパク質濃度は、レーザーフレアセルメーターで非侵襲的にフレア値として測定できます。アトピー白内障症例の前房水フレア値は、加齢白内障と比べて有意に高値であったことから、何らかのタンパク質の含有量がアトピー白内障の前房水では増加していることが示唆されました。

一方、アトピー性皮膚炎を生後もしくは幼少期に発症し、思春期以降になってもアトピー性皮膚炎が軽快せず、特に顔面の皮膚病変が重篤な状態で、末梢血好酸球数が多い状態が長く持続している患者にアトピー白内障を合併して発症するリスクが高いことがわかりました。さらに既報論文では、眼科領域におけるアレルギー疾患（結膜炎や角膜障害）の組織において、好酸球性タンパク質が検出されたとの報告がありました。

これらの事前調査の情報を基に、まず白内障手術時に切除される前嚢片を用いて、アトピー白内障と加齢白内障の水晶体上皮細胞における病理組織学的検討を行いました。前嚢片伸展標本の光学顕微鏡および電子顕微鏡による観察では、アトピー白内障の水晶体上皮細胞の細胞質にのみ空胞化が観察されました。透過型電子顕微鏡による観察では、細胞の重層化、前嚢の異常な層構造および混濁部位における水晶体上皮細胞の水晶体嚢への浸潤などの所見がアトピー白内障の水晶体上皮細胞で観察され、細胞傷害性を示唆する所見がありました。これらの所見は加齢白内障では観察されなかったことから、アトピー白内障の水晶体上皮細胞に対して細胞傷害を誘導する特異的発症因子があると考えました。



次にアトピー白内障を発症した患者の末梢血好酸球数が高値であることに注目し、好酸球顆粒蛋白で細胞傷害性の強いmajor basic protein (MBP) について検討しました。ヒト末梢血からの好酸球を精製し、MBPをカラムクロマトグラフィーで精製したhuman MBP (h-MBP)、さらにMBP cDNAから組み換え体を強制発現させた大腸菌を用いて作製したhuman recombinant MBP (hr-MBP) の2種類の精製MBPを準備しました。まず、h-MBPの精製MBPを

準備しました。まず、h-MBPを標準物質としてMBPのELISA法を自作し、前房水におけるMBPの濃度を測定したところ、アトピー白内障の前房水からMBPが検出されました（加齢白内障前房水におけるMBPは検出感度以下）。そこで、アトピー白内障と加齢白内障の前囊片伸展標本と薄切標本を作成し、MBPの免疫組織化学染色を行ったところ、アトピー白内障の水晶体上皮細胞で特異的にMBPが検出されました。しかし、アトピー白内障の水晶体上皮細胞からtotal RNAを抽出してMBPのPCRを行ったところ、MBPのm-RNAは検出されませんでした。つまり、水晶体上皮細胞においてMBPは合成していないという結果となりました。

さらにMBPの水晶体上皮細胞に対する影響を*in vitro*で検討を行うために、h-MBPとhr-MBPを用いてアトピー白内障と加齢白内障の水晶体上皮細胞を培養し、細胞傷害作用を検討した結果、h-MBPとhr-MBPはいずれの水晶体上皮細胞に対して細胞傷害作用があることがわかりました。また、MBPの受容体はアトピー白内障の水晶体上皮細胞にのみ発現しているのではないこと、さらにMBP抗体を加えることで中和反応が起こりMBPによる細胞傷害作用が抑えられることもわかりました。MBPには細胞膜構造を破壊する細胞傷害作用があるといわれており、水晶体上皮細胞に対しても同様の細胞傷害作用があると考えました。

以上の結果から、アトピー性皮膚炎の患者では痒みによってまぶた（眼球）を擦ったり、まぶたの上から叩いたりする物理的な負荷によって血液房水柵が傷害され、血液中の好酸球顆粒蛋白の1つであるMBPが房水に流入（フレア値が上昇）、水晶体嚢を透過して水晶体上皮細胞に付着し、水晶体上皮細胞が傷害され、その結果水晶体上皮細胞の細胞生理活性が低下して水晶体が混濁する、ということがアトピー白内障の発症メカニズムの1つであることを報告させていただきました。

末筆となりますが、日本臨床分子形態学会に入会させていただく機会をお与えいただいた千田隆夫先生をはじめ、これまで

にご指導賜りました多くの先生方に改めて厚く御礼申し上げます。この論文賞受賞を励みとして、今後とも引き続きMed Mol Morpholに論文を投稿させていただきたく存じます。

今後ともご指導、ご鞭撻のほど、宜しくお願いいたします。

最多査読賞を受賞して

藤田医科大学 研究支援推進本部
治験・臨床研究支援センター
国際再生医療センター(兼任)
特任教授 山本 直樹

この度は、2021年度より新しい学会賞として設立されました、最多査読賞を授与していただき、身に余る光栄に存じます。誠にありがとうございました。

ご周知のとおりMed Mol Morpholは、日本国内は勿論でございますが、外国からも多数の論文原著が投稿されております。学会会員の1人として、学会から出版される学術誌は、学会活動において非常に重要であることを認識しており、基本的に私が査読できる内容であれば、査読をお受けすることにしています。他学会の和文誌の編集委員長を昨年まで拝命しておりましたので、査読者を選出して査読をご依頼し、査読をお引き受けいただくことの大変さを存じていましたので、前任の編集委員長の千田先生、現在の編集委員長の森谷先生に微力ながらもお役にたてればと思ひ、査読をお引き受けさせていただきました。結果として最多査読賞を賜り、大変光栄に存じ上げます。

現在は、Associate editorを拝命させていただいておりますが、引き続き査読者としても学会誌Med Mol Morpholの更なる発展に、少しでも貢献させていただきことができればと思っております。今後とも宜しくお願い申し上げます。

事務局からのお知らせ

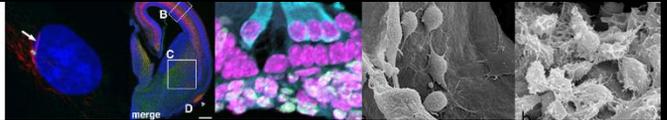
・HP を随時更新しています

学会 HP を更新していますので、ぜひご高覧ください。また、イベント情報や、学会情報、相互リンク などのご要望がありましたら、事務局までお知らせください。



日本臨床分子形態学会

The Japanese Society for Clinical Molecular Morphology



URL <http://jscmm.main.jp/index.html/>