

研究室だより

谷口 高平

1. はじめに

本年度は松尾謙太郎先生が消化管神経内分泌癌における DLL3 の発現様式及び機能解析の結果を日本癌学会の機関雑誌である *Cancer Science* (IF: 4.751) に、藤井研介先生が消化管逆蠕動を神経が制御するメカニズムを *HCN4* 遺伝子から解明し *Cell Reports* (IF: 7.815) に報告しました^{1,2}。松尾先生の免疫組織化学染色の画像は *Cancer Science* 誌の 2019 年 10 月号カバー写真に採用され非常に光栄な出来事でした。また、藤井先生は当教室から生理学教室に初めて出向し、一からゼブラフィッシュを用いた実験系を構築しました。取り組みの成果をハイインパクトジャーナルに掲載されるまで昇華させたことは、並大抵の苦勞ではなかったと推測します。また、病理学教室の指導で水野裕太先生の研究成果が、*Oncology Letters* (IF: 1.871) に掲載されました³。大腸癌の budding と glutaminase や lactate dehydrogenase の発現の関連性を検証した内容で、ワールブルグ効果に関する研究を行ってきた自身としても興味深い研究内容でした。革島先生の直腸癌放射線感受性と γ -H2AFX 発現の関連性についての研究は、先日、*Oncology Letters* にリバイスの返答をしたところです。

昨年度から解剖学教室の功労教授であります、伊藤裕子先生が本教室、非常勤教員として電子顕微鏡を中心とした実験のサポートや技術指導を行ってくださり、多くの大学院生がお世話になっています。また、形成外科学教室の李有姫先生がケロイドに関する研究を当研究室で行っています。また学生研究員として学部 1 年生の馬場友樹君が所属してくれています。色々な背景を持った人が出入りすることで相乗効果が生まれることを期待しています。

2019 年度、現在下記の先生方が研究に励んでおりますのでご紹介致します。

4 年生 : 本田浩太郎 先生、寺沢理沙 先生 (市立ひらかた病院)
3 年生 : 猪俣陽介 先生、富永智 先生、島卓史 先生、出原啓介 先生
2 年生 : 高野義章 先生、北田和也 先生、前沢早紀 先生、碓絢菜 先生、庫本達 先生
1 年生 : 太田将仁 先生、有馬純 先生
研究生 : 河野恵美子 先生
学生研究員 : 馬場友樹 君

11. 研究中テーマの紹介

4年生

* 本田浩太郎 先生（食道癌手術における再建距離に関する研究）

本研究では食道手術における合併症の一つの要因である再建経路長に関して、「胸骨後経路と後縦隔経路の経路長を検討し、経路長に寄与する因子を明らかにすること」を目標にしています。造影 CT データからヴォリュームアナライザーVINCENT[®]（富士フィルム）を用いて輪状軟骨から胃十二指腸動脈根部までの距離を測定しています。研究成果が、昨年度開催された、第 57 回 日本癌治療学会学術集会で優秀演題に選出されました。上部班に所属しながらの研究遂行で大変な部分もありますが、本年度中に研究成果を論文化する計画で進めてくれています。

* 寺沢理沙 先生（microRNA によるエリブリン抗腫瘍効果機構の解明）

エリブリンは新規微小管の伸長（重合）阻害剤で、細胞分裂阻害によるアポトーシスによって抗癌作用を示します。本学でも積極的にレジュメンに取り入れています⁴。本研究では「科学的根拠に基づくエリブリンの適正使用」を目標に、エリブリンの作用機序を EMT 中心に microRNA (miRNA) の観点から解析しています。猪俣先生のサポートのもと研究も大詰めで本年度、研究成果をまとめる計画です。

3年生

* 猪俣陽介 先生（がん特異的エネルギー代謝関連遺伝子による NASH 病態の解明）

本研究は nonalcoholic steatohepatitis (NASH) とワールブルグ効果の関連性を検証する研究です。研究結果から、NASH の早期に効果関連遺伝子の発現が亢進していることが明らかになっています。昨年度は、見出した現象のより詳細なメカニズムの解析を行いました。本研究は韓国 Kyung Hee University 及び、岐阜大学連合創薬医療情報研究科赤尾研究室と共同で進行しています。

研究の進行状況から、2017 年度 科学研究費助成事業（がん特異的エネルギー代謝機構調節遺伝子による NASH 病態の解明：基盤 C）の期間を延長して研究を遂行しています。本年度中には成果を論文化しなければならず、猪俣陽介先生には、論文作成とリバイスへの対応過程を学んで頂き、更に飛躍して欲しいと思っています。

* 富永智 先生（乳がん高転移マウス細胞に対する合成 microRNA-145-5p の抗がん効果の検証）

miRNA を含めた核酸医薬が次世代がん治療として期待されていますが、有効な薬剤運搬システムの確立が核酸医薬の律速となっています⁵。そのためには、医学・工学・薬学の知見を集約し課題克服を目指す必要があります。富永先生には、高転移性乳がん

細胞を用いて、その一部の検証を行っています。

本研究は平成28年～令和1年度 大阪医科大学研究拠点育成奨励助成、2018年度 科学研究費助成事業 (microRNA 創薬の実現～医工薬集約による難治性癌の克服～: 基盤 C)、H30年度～令和2年度 研究支援センター共同研究プロジェクト、平成30年度 一般財団法人横山臨床薬理研究助成基金、公益財団法人大阪対がん協会 2019年度がん研究助成奨励金など多数の研究支援を受けており本年度確実な成果の産出が望まれます。

*** 島卓史 先生 (GIST に対するイマチニブ耐性とワールブルグ効果の関連性について)**

島先生の研究は、GIST のイマチニブ耐性とワールブルグ効果の関連性を明らかにする方針で研究が進んでいます。GIST イマチニブ耐性株を作製し、イマチニブ投与による、解糖系分子の反応性の差異からイマチニブ耐性克服に関する知見を産出しています。島先生は当初、色々な研究に着手しておりましたが、自身の実験結果と考察でこの研究テーマに辿り着いています。与えられた実験をこなすのではなく、自分の力で研究テーマに相当する現象を見出してきたことに価値があると考えています。データも確実に蓄積されており、本年度中に論文作成が可能であると推測しています。また昨年、英文で症例報告も積極的に行ってくれました⁶。本年度の成果報告に向け着実に前進していると思います。

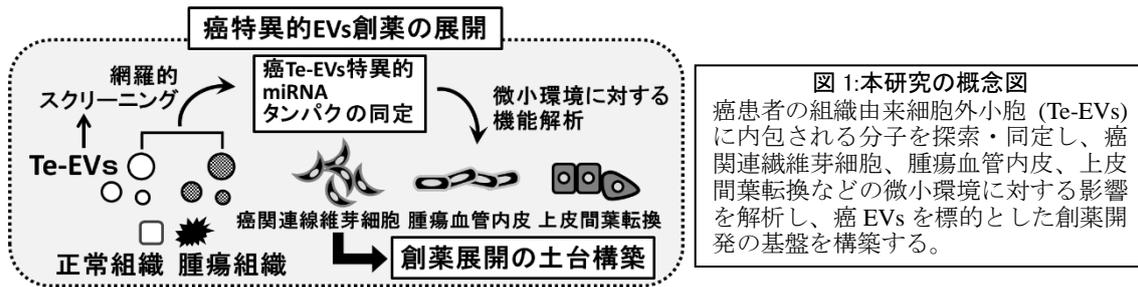
*** 出原啓介 先生 (DNA ミスマッチ修復系酵素群の構造機能解析)**

出原先生は、本学生化学教室、矢野貴人先生の指導下で、ミスマッチ修復遺伝子の中心的酵素である MutL の構造解析に基づいた機能解析を進めており、既に結果をまとめ論文投稿の段階に入っています。指導環境に恵まれていたことに加え、出原先生が実際に努力した結果であると推測されます。リバイスへの対応をきっちりこなし、確実な学位論文のアクセプトが望まれます。

2年生

*** 高野義章 先生 (組織由来細胞外小胞による消化器がんの病態解析)**

近年、がん細胞が周囲に放出する小胞物質として、エクソソームやマイクロベジクルといった細胞外小胞 (Extracellular Vesicles : EVs) の研究が盛んに行われています。一方で、現在の EVs 研究全体における最も大きな課題は「多くの実験が細胞株を用いた実験であり、真に臨床を反映しているか疑問である」という点です。そこで、新たな研究として、同一手術症例のがん部、非がん部組織から EVs を抽出し解析するという研究を開始しました。組織由来 EVs は、Tissue-exudative extracellular vesicles: Te-EVs と命名されています。非常に先駆的な研究でバイオマーカーへの展開や、がん組織由来 Te-EVs の特異的分子を標的とした創薬開発への展開が期待できます⁷ (図 1)。



本プロジェクトは、2020年度 科学研究費助成事業（胃癌組織細胞外小胞の制御による癌微小環境治療のための基盤構築研究：基盤C）、2019年度 公益財団法人 上原記念生命科学財団 研究奨励金、AMED 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業、創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS) からの支援を受けており、研究資金も確保し、研究の遂行に拍車がかかることが期待されます。

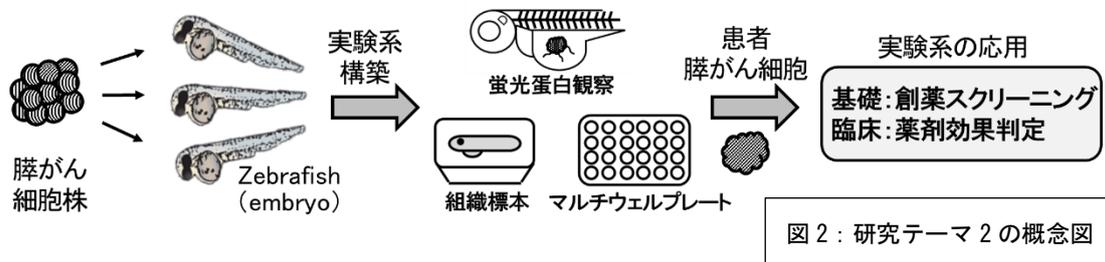
* 北田和也 先生

1：(Zebrafish セロトニン神経の機能解析による消化管運動機構の解明)

2：(Zebrafish がん細胞移植モデルの確立と有用性の検証)

本学生理学教室では Zebrafish を用いた研究が進められています。Zebrafish は哺乳類動物との組織学的類似性も高く、マウス、ラットに次ぐ第3のヒト疾患動物モデルとなっています。本研究は生理学教室、小野富三人先生の指導下で研究を進めており、消化管蠕動機能の解明と、がん研究への応用の二点を軸に研究を進めています。テーマ1は消化器難治性疾患への応用が期待できる研究で、テーマ2はがん研究に新しい展開を付与してくれる内容（図2）であり独創性を有する研究成果を期待しています。

本研究は2018年度科学研究費助成事業（可視化モデルによるセロトニン神経の機能解析と小児腸管蠕動不全症への挑戦：基盤C）、2019年度科学研究費助成事業（がん細胞ゼブラフィッシュ移植モデルによるアッセイ系の構築～膵癌克服への布石～：基盤C）に採択されています。



* 前沢早紀 先生 (microRNA 解析による乳癌 Paclitaxel 耐性機構の解明)

昨年度の研究結果から、先行研究で作製したパクリタキセル耐性乳がん細胞株の miRNA 発現変化に着目し、パクリタキセル耐性機序の解明と不応性の克服に向けた検

証を行うことにしました。着目する miRNA の選定実験も終了し本年度詳細な機序の解明に着手する計画です (図 3)。

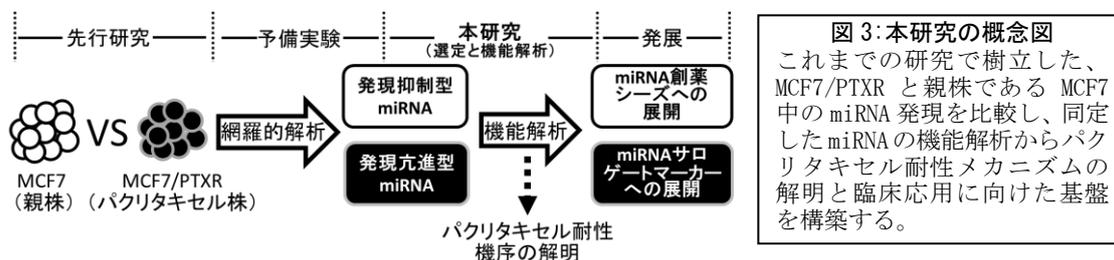


図 3: 本研究の概念図
 これまでの研究で樹立した、MCF7/PTXR と親株である MCF7 中の miRNA 発現を比較し、同定した miRNA の機能解析からパクリタキセル耐性メカニズムの解明と臨床応用に向けた基盤を構築する。

本研究は 2020 年度 科学研究費助成事業 (microRNA 機能解析によるパクリタキセル耐性機序の解明と不応性克服に向けた研究: 基盤 C) に採択されています。

*** 碓絢菜 先生 (細胞外小胞中の情報伝達物質による乳癌転移機構の解明)**

昨年度のテーマから上記内容へと変更し、伊藤先生の御指導のもと研究を進めています。本学で樹立された、同系のマウス由来で転移能の異なる 2 種のマウス乳がん細胞を用いて EVs の遺伝子産物やリンパ管内皮細胞増殖因子の発現に着目し、研究を進めています^{8,9}。

本研究は 2016 年度 科学研究費助成事業 (高転移性乳癌細胞は転移抑制性 miRNAs を exosome に内包して細胞外に捨てる: 基盤 C) の研究期間を延長し、研究を遂行しています。本年度の研究が大きく進行することが望まれます。

*** 庫本達 先生 (急性膵炎におけるキマーゼの病態生理学的役割)**

本学創薬医学教室では様々な疾患モデルに対し、キマーゼの観点から研究を進めてきました¹⁰⁻¹²。庫本先生は高井先生の御指導のもと、急性膵炎に対するキマーゼの機能解析に着手しています (図 4)。



図 4: 本研究の概略図
 Chymase から急性膵炎の病態を明らかにし、Chymase 阻害剤の急性膵炎に対する有効性を検証する。また、microRNA の観点から急性膵炎における Chymase 阻害剤の薬理作用を検証する。急性膵炎モデルとして、予備実験で確立した急性膵炎ハムスターモデルを用いる。

本研究は 2020 年度 科学研究費助成事業 (Chymase による急性膵炎の病態解明と Chymase 阻害剤の急性膵炎に対する創薬化研究: 基盤 C) に採択されています。

1 年生

*** 太田将仁 先生 (医療系データベースを活用した研究)**

基礎医学研究だけが大学院生の研究課題ではありません。第 5 世代移動通信システム

の到来により、学術にも必ず様々な影響が出ます。5Gに関連する技術を「使いこなせる、使いこなせない」の間には大きな隔たりが出来るとさえ考えています。臨床研究も時代と共に形態を変化させていくことが必要で、ビッグデータをマイニングしたり、ニューラルネットワークを用いた解析等がその一つであると考えています。

本研究は平成30年4月に大阪医科大学研究支援センターに開設された医療統計室と連携し、がん登録やDPC、レセプト情報、診療情報などの医療系データベースを活用して、クリニカルクエスションの解決を検証することが目的です。太田先生には、統計学の知識をしっかりと身に付けて貰うと同時に、STATAやRなどの統計解析ソフトを用いた解析を習得して欲しいと考えています。きっと、太田先生自身や教室の今後に役立つスキル、人材となり得ると考えています。

* 有馬純 先生 (miRNA 創薬化に向けた動物実験に関する研究)

有馬先生は、富永智 先生と同様に、miRNA 創薬化に向けた研究を進めます。具体的には、教室の山本先生と開発に着手した大腸がん骨盤内再発モデルに対する化学修飾型 miRNA の抗がん効果を検証する計画です¹³⁻¹⁵。本年度は研究内容の把握に始まり、実験に用いる手技の習得、予備実験による研究方針の決定作業を進めていきます。有馬先生は大学院入学前に、英語論文の作成方法を少しでも学びたいと積極的に論文報告にチャレンジしてくれました¹⁶。研究期間を通じて飛躍してくれることを期待しています。

* 河野恵美子 先生 (女性外科医にも使用し易い手術機器の開発)

昨年度より、研究生として河野先生を教室に受け入れました。河野先生は女性が外科医として働ける環境づくりに関する活動を全国的に展開されています。昨年度は、研究背景を明確にするための、アンケート調査結果を解析し、先日論文が1報受理されました (*Am Surg. in press*)。現在、解析中のデータもいくつかあり、精力的に成果報告に努めておられます。東京大学物性研究所 大平猛先生の継続的サポートのもと、研究も継続しています。本年度、学位論文の作成を目標に進めています。

III. おわりに

研究室だよりを執筆している今、世間では新型コロナウイルス感染による緊急事態宣言が発令されています。本邦は未だ少し耐えている状況が続いていますが、海外の研究室はほとんど閉鎖していると伺っており、研究はあくまでも平時にしか実施できないということを痛感しています。緊急事態時の事業継続計画 (Business Continuity Plan: BCP) を研究に当てはめることはいささか困難である模様です。一方で、研究会、学術集会の開催中止から、少し時間的余裕も生まれた感覚ではあります。医師の働き方改革の方策のヒントはこのような中にあるのかもしれませんが、また、コミュニケーションツールと

して、Zoomなどのウェブサービスを利用した会議形態の普及が加速化しており、今回の事象をきっかけに様々な仕事の環境が急速に変化していくことと思います。良いものは積極的に取り入れていく姿勢で臨みたいと考えています。昨年度の途中から、研究室の運営管理をSlack (<https://slack.com/intl/ja-jp/>) というツールで行っています。非常に便利なツールで仕事の効率が上がっていることを実感しています。

大学院生の先生方には、改めて「なぜ研究し論文を書くのか？」ということ十分に自身に問うて欲しいと思います。「学位取得のため」、「周囲の流れに沿って」、だけでは長く険しい道程を乗り切るのは困難かもしれません。言われたことを実行する「研究のための研究」から脱却し、科学者として微力ながら医学発展への貢献を目指して欲しいと思います。医学の発展はこれまでの多くの先人の研究成果の積み重ねで成り立っています。そのためには、研究結果を最も波及効果の高い論文という形で世界に向けて発信しなければなりません。研究期間を通じて皆さんの医療人マインドが良き変貌を遂げることを願っています。

昨年、大学発行のシーズ・ニーズ集の教室研究テーマを医局の先生方と相談し、以下の内容としました。

「Bench to Bedside ～医療は常に過渡期にある～」

医学は常に進化の過程にあり、継承と創造を軸にパラダイムシフトに対応できる医療人を育成します。豊富な症例と確立した研究体制の基で臨床課題と研究課題を相互変換させ、新たな知を生み出すための研究・教育を行います。「がんの克服」等、共通の目標に向かい分野横断型の融合研究を積極的に展開させます。

研究室一丸となり、このテーマを有言実行していく所存です。おかげ様で研究費に関しては潤沢な状況を維持出来ています。しかし、研究遂行・発展のためには、期間内の確実な成果産出と、新しい技術の習得や先進的な発想が常に求められます。視野狭窄に陥らない様に常に広角かつ客観的な視点を持ちつつ、情報の収集と具現化の作業を継続させる必要があります。

消化器外科研究会を含め、同門の先生方には多大なるご支援を頂き、感謝の念に堪えません。この場を借りて、深謝申し上げます。引き続き、当科研究室を温かく見守って頂くと同時に、ご指導、ご鞭撻のほど宜しくお願い申し上げます。

参考文献

- 1 Matsuo, K., Taniguchi, K., Hamamoto, H. *et al.* Delta-like 3 localizes to neuroendocrine cells and plays a pivotal role in gastrointestinal neuroendocrine malignancy. *Cancer Sci.*, doi:10.1111/cas.14157 (2019).
- 2 Fujii, K., Nakajo, K., Egashira, Y. *et al.* Gastrointestinal Neurons Expressing HCN4 Regulate Retrograde Peristalsis. *Cell Rep* **30**, 2879-2888.e2873, doi:10.1016/j.celrep.2020.02.024 (2020).
- 3 Mizuno, Y., Hattori, K., Taniguchi, K. *et al.* Intratumoral heterogeneity of glutaminase and lactate dehydrogenase A protein expression in colorectal cancer. *Oncol. Lett.* **19**, 2934-2942, doi:10.3892/ol.2020.11390 (2020).
- 4 Kimura, K., Iwamoto, M., Tanaka, S. *et al.* A phase II, multicenter, single-arm trial of eribulin as first- or second-line chemotherapy for HER2-negative advanced or metastatic breast cancer: evaluation of efficacy, safety, and patient-reported outcomes. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **81**, 923-933, doi:10.1007/s00280-018-3567-y (2018).
- 5 Taniguchi, K., Wada, S. I., Ito, Y. *et al.* alpha-Aminoisobutyric Acid-Containing Amphipathic Helical Peptide-Cyclic RGD Conjugation as a Potential Drug Delivery System for MicroRNA Replacement Therapy in Vitro. *Mol. Pharm.* **16**, 4542-4550, doi:10.1021/acs.molpharmaceut.9b00680 (2019).
- 6 Shima, T., Taniguchi, K., Kobayashi, Y. *et al.* Clinical silence of pulmonary lymphoepithelioma-like carcinoma with subcutaneous metastasis: a case report. *World J. Surg. Oncol.* **17**, 128, doi:10.1186/s12957-019-1671-z (2019).
- 7 Jingushi, K., Uemura, M., Ohnishi, N. *et al.* Extracellular vesicles isolated from human renal cell carcinoma tissues disrupt vascular endothelial cell morphology via azurocidin. *Int. J. Cancer* **142**, 607-617, doi:10.1002/ijc.31080 (2018).
- 8 Shibata, M. A., Shibata, E., Morimoto, J. *et al.* An immunocompetent murine model of metastatic mammary cancer accessible to bioluminescence imaging. *Anticancer Res.* **29**, 4389-4395 (2009).
- 9 Shibata, M. A., Shibata, E., Morimoto, J. & Harada-Shiba, M. Therapy with siRNA for Vegf-c but not for Vegf-d suppresses wide-spectrum organ metastasis in an immunocompetent xenograft model of metastatic mammary cancer. *Anticancer Res.* **33**, 4237-4247 (2013).
- 10 Ozeki, M., Jin, D., Miyaoka, Y. *et al.* Comparison of a chymase inhibitor and hyaluronic acid/carboxymethylcellulose (Septrafilm) in a novel peritoneal adhesion model in rats. *PLoS One* **14**, e0211391, doi:10.1371/journal.pone.0211391 (2019).
- 11 Miyaoka, Y., Jin, D., Tashiro, K. *et al.* A novel hamster nonalcoholic steatohepatitis

- model induced by a high-fat and high-cholesterol diet. *Exp. Anim.* **67**, 239-247, doi:10.1538/expanim.17-0126 (2018).
- 12 Imai, Y., Takai, S., Jin, D. *et al.* Chymase inhibition attenuates lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced acute liver failure in hamsters. *Pharmacology* **93**, 47-56, doi:10.1159/000357684 (2014).
- 13 Yamamoto, M., Taniguchi, K., Masubuchi, S. *et al.* An In Vivo Mouse Model of Pelvic Recurrence of Human Colorectal Cancer. *Sci. Rep.* **9**, 19630, doi:10.1038/s41598-019-56152-0 (2019).
- 14 Yoshikawa, Y., Taniguchi, K., Tsujino, T. *et al.* Anti-cancer Effects of a Chemically Modified miR-143 on Bladder Cancer by Either Systemic or Intravesical Treatment. *Molecular therapy. Methods & clinical development* **13**, 290-302, doi:10.1016/j.omtm.2019.02.005 (2019).
- 15 Tsujino, T., Sugito, N., Taniguchi, K. *et al.* MicroRNA-143/Musashi-2/KRAS cascade contributes positively to carcinogenesis in human bladder cancer. *Cancer Sci.* **110**, 2189-2199, doi:10.1111/cas.14035 (2019).
- 16 Arima, J., Hiramatsu, M., Taniguchi, K. *et al.* Multiple gastrointestinal stromal tumors caused by a novel germline KIT gene mutation (Asp820Gly): a case report and literature review. *Gastric Cancer*, doi:10.1007/s10120-020-01055-7 (2020).