2021 Issue

Science Translational Medicine

Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2020

トランスレーショナルメディシンに載った
日本人研究者

COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science

Science Translational Medicine
AAAS

このJapanese Scientists in *Science Translational Medicine*（STM）2020では、2020年の1年間にトランスレーショナルメディシンに論文が掲載された日本人研究者・グループを紹介しています。誌面の都合上、または著者本人のご意向により、すべての日本人著者を紹介しているわけではありませんが、その旨ご了承ください。

所属名、共著者名、本文から図表の選定まで、すべて著者の皆様からご提供いただいたものです。特に、掲載論文については、日本語で分かりやすくご解説いただいておりますので、トランスレーショナルメディシンに掲載された図表とは異なるものを使用している場合があります。また、記載の所属先やメールアドレス、URLなど一切の情報は、2021年1月時点のものになります。

内容については細心の注意を払っていますが、情報の正確性、専門性について発行者はいかなる責任を負うものではありません。正確な情報は、必ず原文にてご確認ください。

発行元
American Association for the Advancement of Science (AAAS)
1200 New York Avenue, NW
Washington, DC 20005
USA

協　賛
コスモ・バイオ株式会社
〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
TEL：03-5632-9610　FAX：03-5632-9619
http://www.cosmobio.co.jp

企画・翻訳・編集
株式会社アスカコーポレーション（Science Japan Customer Service Office）
〒541-0046 大阪市中央区平野町 1 丁目 8-13 平野町八千代ビル
TEL：06-6202-6272　FAX：06-6202-6271
http://www.asca-co.com

表紙デザイン
株式会社 大伸社コミュニケーションデザイン
〒151-0051 東京都渋谷区千駄ヶ谷 2 丁目 9-9
TEL：03-3405-0603　FAX：03-3405-0653
https://www.daishinsha-cd.jp/

発行日
2021年3月

© 2021 American Association for the Advancement of Science (AAAS). All Rights Reserved.

Science Translational Medicine

Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2020

トランスレーショナルメディシンに載った日本人研究者

ご挨拶

米国科学振興協会（AAAS）の公式刊行物である*Science Translational Medicine*（*STM*）は、世界的な科学学術誌*Science*の姉妹誌として、トランスレーショナル医療に関する先進的な研究成果を毎週発信しています。Translational research（トランスレーショナル・リサーチ）は日本では「橋渡し研究」とよばれ、基礎研究と応用研究とをつなぐための、実用化を見据えたメカニズム・現象解明の研究を指します。同誌では、疾患に関する研究室ベースの生物学的知見から医薬品などの開発による医療応用を目的とした研究を2009年の創刊以来取り上げています。

「サイエンス トランスレーショナルメディシンに載った日本人研究者」は、「サイエンス誌に載った日本人研究者」の姉妹冊子として2016年に刊行され、本年の冊子は第6号にあたります。今回は、2020年に*Science Translational Medicine*で発表された7件の研究を紹介し、翻訳したアブストラクトと、さらに各論文の著者の方々より寄稿いただき、研究の論点をわかりやすく記した解説文を掲載しています。トピックは多様ですが、基礎研究からアンメットニーズを抱えた疾患の治療になるべく早く繋げようとするアプローチは、*Science Translational Medicine*の目指すゴールでもあります。

本誌は未来の日本の科学界を担う学生・生徒の教育にも活用していただく目的で、大学等研究機関図書館のほか、国内のスーパーサイエンスハイスクールに配布されています。今後もトランスレーショナル・リサーチ、そして*Science Translational Medicine*にぜひご注目いただければ幸いです。

最後に、本誌の制作にあたり、ご多忙の中、ご協力いただきました日本人研究者の皆様に心より御礼申し上げます。そして、多大なるご支援を賜りましたコスモ・バイオ株式会社様に深く感謝を申し上げます。

2021年3月
編集チーム一同

Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2020

トランスレーショナルメディシンに載った日本人研究者

Science Translational Medicine 投稿について …… 3

1月15日号 Research Article
腫瘍溶解性ウイルスによるIL-7およびIL-12の腫瘍内発現は免疫チェックポイント阻害薬に対する全身感受性を高める …… 4
Intratumoral expression of IL-7 and IL-12 using an oncolytic virus increases systemic sensitivity to immune checkpoint blockade
アステラス製薬株式会社 研究本部 キャンディデートディスカバリー研究所 第2研究室 主管研究員 中尾 慎典
鳥取大学 医学部 医学科 ゲノム再生医学講座 分子医学分野 准教授 中村 貴史

4月1日号 Research Article
ティッシュエンジニアリング人工血管における狭窄の自然可逆性 …… 6
Spontaneous reversal of stenosis in tissue-engineered vascular grafts
東京女子医科大学 医学部 心臓血管外科 助教 宮本 真嘉
東京女子医科大学 医学部 心臓血管外科 准教授 松村 剛毅
Professor, Department of Surgery, Ohio State University
Director, Cardiovascular Tissue Engineering Program, Department of Cardiothoracic Surgery,
Nationwide Children's Hospital 新岡 俊治

4月22日号 Research Article
単一遺伝子糖尿病患者由来ヒト幹細胞から作製した遺伝子改変β細胞は、マウスモデルにおける糖尿病症状を改善する …… 8
Gene-edited human stem cell–derived β cells from a patient with monogenic diabetes reverse preexisting diabetes in mice
Samuel E. Schechter Professor of Medicine, Professor, Departments of Medicine and Pathology & Immunology,
Washington University School of Medicine 浦野 文彦
Postdoctoral Research Scholar, Division of Endocrinology, Metabolism, and Lipid Research,
Washington University School of Medicine 浅田 梨絵
Postdoctoral Research Scholar, Division of Endocrinology, Metabolism, and Lipid Research,
Washington University School of Medicine 森川 俊太郎

7月1日号 Research Article
大腸杯細胞はLypd8を介して同種造血幹細胞移植後のGVHDを防ぐ …… 10
Intestinal goblet cells protect against GVHD after allogeneic stem cell transplantation via Lypd8
北海道大学大学院 医学研究院 内科学系部門 内科学分野 血液内科学教室 助教 荒 隆英
北海道大学大学院 医学研究院 内科学系部門 内科学分野 血液内科学教室 准教授 橋本 大吾
北海道大学大学院 医学研究院 内科学系部門 内科学分野 血液内科学教室 教授 豊嶋 崇徳

7月8日号 Research Article
黄色ブドウ球菌 Agr病原性は表皮定着において不可欠であり、アトピー性皮膚炎の発症と関連する …… 12
Staphylococcus Agr virulence is critical for epidermal colonization and associates with atopic dermatitis development
大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 特任准教授 松岡 悠美
千葉大学 真菌医学研究センター 准教授 高橋 弘喜
千葉大学 大学院薬学研究院 准教授 高屋 明子

10月14日号 Research Article
シヌクレイノパチーのげっ歯類モデルにおいてLRRK2はNFATc2を介してミクログリア神経毒性を仲介する …… 14
LRRK2 mediates microglial neurotoxicity via NFATc2 in rodent models of synucleinopathies
Contractor Scientist, Molecular Neuropathology Section, Laboratory of Neurogenetics,
National Institute on Aging, National Institutes of Health 射場 美智代

12月9日号 Research Article
心臓内幹細胞由来の細胞外小胞による小児拡張型心筋症の組織修復 …… 16
Cardiosphere-derived exosomal microRNAs for myocardial repair in pediatric dilated cardiomyopathy
岡山大学病院 新医療研究開発センター 教授 王 英正
岡山大学病院 小児科 医員 平井 健太

Science Translational Medicine 投稿について

*Science Translational Medicine*は、トランスレーショナル医療（Translational Medicine）を対象とした最先端の研究成果を取り上げる週刊の科学専門誌です。

以下に、*Science Translational Medicine*のInformation for Authors（投稿規定）の簡易日本語版を掲載します。
あくまでこの記事は抜粋版であり、すべての規定を網羅しているわけではないことをご了承ください。投稿前には、後述のウェブサイトで、最新の完全版を必ずご確認ください。

ポリシー

*Science Translational Medicine*に論文を投稿する著者は、著者資格、事前出版、研究デザインなどについて定めた論文の要件を満たすと同時に、資金提供を含む利益相反、著作権の所在、アクセスポリシー、報道解禁など著者の権利と責任に関するポリシーに合意する必要があります。詳細を投稿前にご確認ください。
https://stm.sciencemag.org/content/science-translational-medicine-general-policies

掲載される論文・記事の種類

Research Article：トランスレーショナル・リサーチに関する画期的な研究成果を発表する原著論文。構成はタイトル、アブストラクト、本文（Introduction、Results、Discussion、Materials and Methods、References、Figures and Figure Legends、Tables and Table Legends、Supplementary Materials）。
10,000語以内、図表は8点まで。論文の理解に不可欠ではない場合のみSupplementary Materialとして別途添付可。
Editorの采配により図表の数を減らした短いResearch ArticleをReportsとして投稿可能。

Research Resources：新しい評価手法や技術、データベース、またはトランスレーショナル医療に直接関連するデータセット等を提示する仮説駆動型ではない研究。
Research ResourcesのフォーマットはResearch Articlesのものと同じです。

Technical Comments：*Science Translational Medicine*に掲載された記事に関する新しい情報や洞察を提供するもの。1,500語未満、References 10点以内、図表2点以内。

Reviews：トランスレーショナル・リサーチの仮説や知見についての総説。8,000語以内で、簡潔なタイトル、アブストラクト100語以内、 本文、References 100点以内、 図表4点以内、および図表の説明文を含めること。

Editorials：トランスレーショナル・リサーチに関する依頼原稿。1,500語未満。アブストラクトはなしで、References 5点以内、図表は掲載不可。

Focus：*Science Translational Medicine*やその他のジャーナルで発表された最近の論文に関連した短報。
2,000語以内で、簡潔なタイトル、1文のアブストラクト、本文、References 10点以内、図表（1点のみ）および図表の説明文を含めること。

Perspectives：最新のトランスレーショナル・リサーチの進展について第三者の視点から分析する記事。基礎研究、臨床研究の両者からの視点を含める。3,500語以内で、簡潔なタイトル、アブストラクト50語以内、本文、References 30点以内、図表2点以内、および図表の説明文を含めること。

Science Translational Medicine 投稿規定

執筆に関する規程は原稿の種類によって異なります。個別のInformation for Authorsのページを必ずご覧ください。
Information for Authors
https://stm.sciencemag.org/content/information-authors

Research Article（初回投稿）：
https://stm.sciencemag.org/content/instructions-authors-new-research-articles

Research Article（査読後修正原稿）：
https://stm.sciencemag.org/content/instructions-authors-revised-research-articles

オンライン投稿システム

https://cts.sciencemag.org

論文投稿に関する問い合わせ先

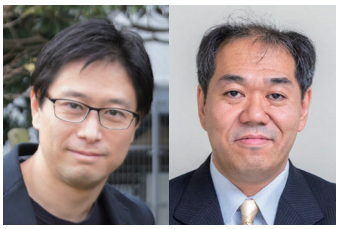
E-mail: scitranslmededitors@aaas.org
https://stm.sciencemag.org/feedback

Science Translational Medicine 1月15日号 Research Article
Science Translational Medicine 15 Jan 2020: Vol. 12, Issue 526, eaax7992
DOI: 10.1126/scitranslmed.aax7992

腫瘍溶解性ウイルスによるIL-7およびIL-12の腫瘍内発現は免疫チェックポイント阻害薬に対する全身感受性を高める

Intratumoral expression of IL-7 and IL-12 using an oncolytic virus increases systemic sensitivity to immune checkpoint blockade

Shinsuke Nakao[1] Yukinori Arai[1] Mamoru Tasaki[1] Midori Yamashita[1] Ryuji Murakami[1] Tatsuya Kawase[1]
Nobuaki Amino[1] Motomu Nakatake[2] Hajime Kurosaki[2] Masamichi Mori[1] Masahiro Takeuchi[1] Takafumi Nakamura[2]
[1] Drug Discovery Research, Astellas Pharma Inc.
[2] Department of Biomedical Science, Graduate School of Medical Sciences, Tottori University
全著者リスト：https://stm.sciencemag.org/content/12/526/eaax7992.full



左から中尾 慎典、中村 貴史

中尾 慎典 *Shinsuke Nakao*
アステラス製薬株式会社 研究本部 キャンディデートディスカバリー研究所 第2研究室 主管研究員

中村 貴史 *Takafumi Nakamura*
鳥取大学 医学部 医学科 ゲノム再生医学講座 分子医学分野 准教授

Contact
中尾 慎典 **E-mail**：shinsuke.nakao@astellas.com
所在地：305-8585 茨城県つくば市御幸が丘21
中村 貴史 **E-mail**：taka@tottori-u.ac.jp
所在地：683-8503 鳥取県米子市西町86

Abstract

腫瘍微小環境の免疫状態は、がん免疫療法の効果を評価するための重要な指標である。腫瘍浸潤リンパ球（TIL）の活性化および増殖が、固形腫瘍患者において免疫療法の効果を高める役割を果たすことが示されている。われわれは、インターロイキン-7（IL-7）およびIL-12をコードする遺伝子を搭載した腫瘍選択的腫瘍溶解性ワクシニアウイルスを担がんマウスに腫瘍内投与することで、最初は免疫原性が低かった腫瘍の炎症免疫状態が活性化され、結果として遠隔残存腫瘍にまで完全腫瘍退縮が得られた。完全腫瘍退縮を達成したマウスでは、同じ腫瘍細胞の再注射に対して抵抗性が認められ、このことから長期にわたる腫瘍特異的免疫記憶が確立されたことが示唆される。抗PD-1抗体または抗CTLA4抗体のいずれによっても効果が認められなかった腫瘍モデルにおいて、これらの免疫チェックポイント阻害薬にこのウイルス療法を併用したところ、単独の場合と比較して抗腫瘍効果が高まった。これらの結果から、IL-7およびIL-12をコードする遺伝子を搭載した腫瘍溶解性ワクシニアウイルスの投与は、直接注射された腫瘍と注射を受けていない遠隔腫瘍の両方で免疫状態の変化を引き起こし、免疫チェックポイント阻害薬に対する感受性が腫瘍に付与された。IL-7およびIL-12の腫瘍内発現による抗腫瘍効果は、ヒト腫瘍細胞を有するヒト化マウスでも認められた。これらのデータは、免疫原性の低い固形腫瘍患者におけるさらなる研究の実施を支持している。

Figure and Note

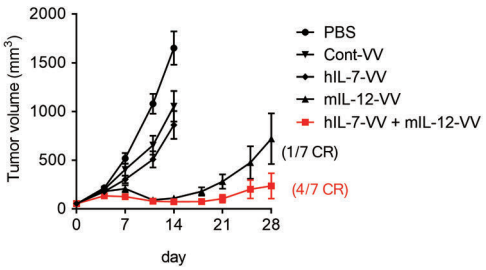


図1：IL-7搭載ウイルスとIL-12搭載ウイルスとの組み合わせによる腫瘍退縮作用

免疫チェックポイント阻害薬に抵抗性の腫瘍（Lewis lung carcinoma）にIL-7搭載ウイルスとIL-12搭載ウイルスを注射したところ、7匹中4匹で腫瘍が消失した。

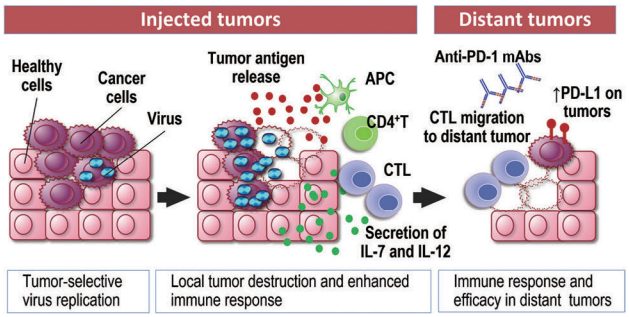


図2：IL-7およびIL-12搭載ウイルスの作用メカニズム

IL-7およびIL-12搭載ウイルスは、直接注射された腫瘍と注射を受けていない遠隔腫瘍の両方で免疫状態の変化を引き起こし、免疫チェックポイント阻害薬に対して感受性にする。

IL-7およびIL-12搭載腫瘍溶解性ワクシニアウイルスの発明

2010年代前半に免疫チェックポイント阻害薬が承認されて以降、がん治療体系は大いに変遷を遂げつつあります。免疫チェックポイント阻害薬は標準療法では治癒できないような難治性の進行がんに対しても優れた効果を示し、完全寛解をも達成することができますが、その恩恵を受けることができる患者さんはごく限られています。複雑ながん微小環境の免疫抑制においては単一の免疫チェックポイント阻害だけでは十分に効果的な腫瘍内環境の改善が難しく、異なる薬剤の組み合わせ治療、例えば抗PD-1抗体と抗CTLA-4抗体との組み合わせは、高い奏効率が期待されるものの全身性の過度な自己免疫反応が課題となることが知られています。そこでわれわれは、腫瘍局所において限定的に免疫活性化させることでより安全かつ効果的な治療方法の確立を目指し、遺伝子組換え腫瘍溶解性ウイルスの創薬研究を進めてきました。腫瘍溶解性ウイルスはがん細胞を直接殺傷するだけでなく、その結果放出されるがん抗原と自然免疫の活性化によって生体内ワクチン効果を生じさせることができます。さらに、ウイルスゲノムに免疫制御分子をコードする遺伝子を挿入すれば、腫瘍内でがん免疫をより活性化させることができます。例えば2015年に米国で上市された「T-VEC」は顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）を搭載したヒトヘルペスウイルスです。われわれはウイルスに搭載する分子を工夫することでより効果的な免疫活性化と薬効向上が期待できると考え、試行錯誤の末、IL-7とIL-12の組み合わせが有望であることを見出しました。IL-7はT細胞のホメオスタシス（恒常性維持）に重要な分子です。IL-12は自然免疫と獲得免疫との両方の活性化に寄与します。

本研究においてわれわれはIL-7およびIL-12搭載ウイルス（以下、本ウイルス）について次の知見を得ました。1）免疫チェックポイント阻害薬に抵抗性の腫瘍（Lewis lung carcinoma, LLC）を完全退縮させる。GM-CSF単独搭載ウイルス、IL-7単独搭載ウイルス、GM-CSFおよびIL-12搭載ウイルスでは完全退縮しない。2）LLC腫瘍において、IL-7あるいはIL-12単独搭載ウイルスよりも多くの腫瘍内リンパ球浸潤を示す。3）左右の横腹に担がんしたモデルマウスにおいて、本ウイルスを片側の腫瘍にのみ注射すると、処置した腫瘍と処置していない腫瘍の両方にリンパ球浸潤が認められ、両方の腫瘍で退縮が得られる。4）本ウイルスの投与により腫瘍内免疫環境が改善し、免疫チェックポイント阻害薬抵抗性の腫瘍が応答性に変化する。本ウイルスと免疫チェックポイント阻害薬の併用は腫瘍を完全退縮させる。5）本ウイルスはヒトがん細胞を担がんさせたヒト化マウスにおいても腫瘍退縮効果を示す。

今後われわれはIL-7およびIL-12による腫瘍内免疫環境変化についてさらに深く追究するとともに、本ウイルスのトランスレーショナルリサーチを進めていきます。

基礎研究からの産学連携の成果

独創性の高いワクシニアウイルス研究を進めていた鳥取大学とアステラス製薬とで、研究のごく初期段階からタッグを組み、互いの英知を集結させ、このような大きな研究成果に発展させることができました。免疫賦活遺伝子搭載腫瘍溶解性ウイルスは革新的ながん免疫治療につながることが期待されます。われわれは世界の人びとの健康に貢献するため、これからも研究を進めていきます。

Science Translational Medicine 4月1日号 Research Article
Science Translational Medicine 01 Apr 2020: Vol. 12, Issue 537, eaax6919
DOI: 10.1126/scitranslmed.aax6919

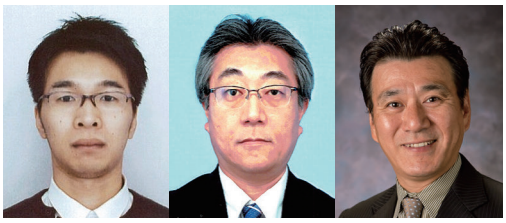
テイッシュエンジニアリング人工血管における狭窄の自然可逆性

Spontaneous reversal of stenosis in tissue-engineered vascular grafts

Joseph D. Drews[1,2] Victoria K. Pepper[1] Cameron A. Best[1,3] Jason M. Szafron[4] John P. Cheatham[5] Andrew R. Yates[5,6] Kan N. Hor[5,6] Jacob C. Zbinden[1,7] Yu-Chun Chang[1,3] Gabriel J. M. Mirhaidari[1,3] Abhay B. Ramachandra[4] Shinka Miyamoto[1] Kevin M. Blum[1,7] Ekene A. Onwuka[1,2] Jason Zakko[1,2] John Kelly[1,5] Sharon L. Cheatham[5] Nakesha King[1,2] James W. Reinhardt[1] Tadahisa Sugiura[1] Hideki Miyachi[1] Yuichi Matsuzaki[1] Julie Breuer[1] Eric D. Heuer[1] T. Aaron West[1] Toshihiro Shoji[1] Darren Berman[5] Brian A. Boe[5] Jeremy Asnes[8] Mark Galantowicz[5,9] Goki Matsumura[10] Narutoshi Hibino[11] Alison L. Marsden[12] Jordan S. Pober[13] Jay D. Humphrey[4] Toshiharu Shinoka[1,5,9] Christopher K. Breuer[1,2,14]

[1] Center for Regenerative Medicine, Abigail Wexner Research Institute at Nationwide Children's Hospital
[2] Department of Surgery, The Ohio State University Wexner Medical Center
[3] Biomedical Sciences Graduate Program, The Ohio State University College of Medicine
[4] Department of Biomedical Engineering, Yale University
[5] The Heart Center, Nationwide Children's Hospital
[6] Department of Pediatrics, The Ohio State University College of Medicine
[7] Department of Biomedical Engineering, The Ohio State University
[8] Department of Pediatrics, Yale School of Medicine
[9] Department of Cardiothoracic Surgery, Nationwide Children's Hospital
[10] Department of Cardiovascular Surgery, Tokyo Women's Medical University
[11] Department of Surgery, University of Chicago/Advocate Children's Hospital
[12] Departments of Pediatrics and Bioengineering, Stanford University
[13] Department of Immunobiology, Yale University
[14] Department of Surgery, Nationwide Children's Hospital

全著者リスト：https://stm.sciencemag.org/content/12/537/eaax6919



左から宮本 真嘉、松村 剛毅、新岡 俊治

宮本 真嘉 *Shinka Miyamoto*
東京女子医科大学 医学部 心臓血管外科 助教

松村 剛毅 *Goki Matsumura*
東京女子医科大学 医学部 心臓血管外科 准教授

新岡 俊治 *Toshiharu Shinoka*
Professor, Department of Surgery, Ohio State University
Director, Cardiovascular Tissue Engineering Program,
Department of Cardiothoracic Surgery, Nationwide Children's Hospital

Contact
宮本 真嘉 **E-mail**：miyamoto.shinka@twmu.ac.jp
所在地：162-8666 東京都新宿区河田町8-1

松村 剛毅 **E-mail**：matsumura.goki@twmu.ac.jp
所在地：162-8666 東京都新宿区河田町8-1

Abstract

われわれは小児用の再生血管（TEVG）を開発し、単心室の心疾患患者に対してこのTEVGを植え込む臨床試験を行うことを米国食品医薬品局（FDA）は承認した。このTEVGを、下大静脈と肺動脈をつなぐ心外導管型フォンタン手術用の導管として使用したが、術後6ヵ月以内にTEVGの狭小化が高率に認められ、血管形成術により治療を行った。このような移植後早期の血管の狭小化に関するメカニズムを解明するために、再生血管の分化における様々なデータを収集し、媒介変数に基づいた計算モデルを構築し解析した。その結果、われわれの臨床研究で観察されたTEVGの狭小化はこの計算モデルにおいても予測可能であったが、炎症反応や物理的作用によりTEVGの狭小化が自然に回復するという結果もまた示された。そこで、この予想外のモデルの結果を検証するために羊の下大静脈をTEVGにて置換する動物実験を行ったところ、計算モデルと同様にTEVGの狭小化が自然に回復する、という結果が示された。この結果は、無症候性の 移植後早期のTEVGの 狭小化は、適切な 術後の経過観察を必要とするにせよ血管形成術は避けられるという点で、われわれの臨床研究において重要な意味合いを持つ。さらにシミュレーションの結果、生体吸収性素材の設計を変更して炎症反応を軽減し、メカノセンシングを増強させることにより、TEVGの自然可逆性の狭小化を改善できるという結果が示され、次世代のTEVGの最適化を図るうえでも新たなパラダイムが示唆された。トランスレーショナルリサーチにおいて、このようにコンピューターモデルによるシミュレーションを組み合わせることは最先端技術の導入やその臨床上の管理を行ううえで重要であると考える。

Figure and Note

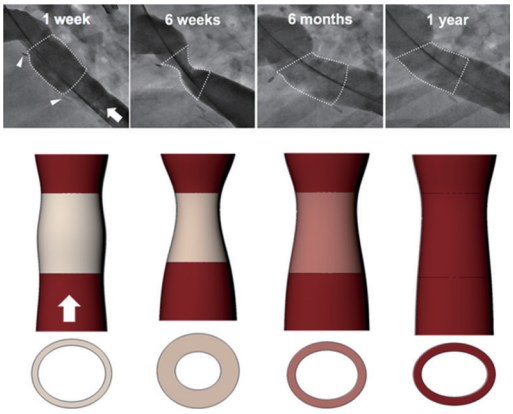


図1：羊下大静脈モデルにおけるTEVG

（上）術後の血管造影。
（中）血管造影のデータを基にしたイメージング。
（下）血管内超音波のデータを基にした模式図。
術後6週目に最もTEVGの狭小化を認めるが、6ヵ月以降は自然に改善している。

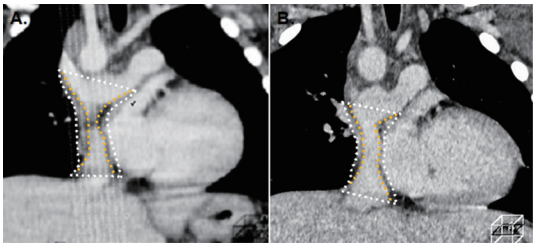


図2：実臨床におけるTEVGの狭小化が改善した一治験例
(A)TEVGの壁肥厚、内腔の狭小化が認められる。
(B)数ヵ月後には狭小化は自然に改善している。
白点線：TEVG外面、黄点線：内腔面

再生血管の狭小化現象のリモデリング

先天性心疾患の構造的欠損を修復するためにしばしば人工医療材料を使用します。しかし、人工物には生物学的特徴・成長能がないため子供が成長するのにしたがって様々な合併症を起こします。より生体に近い医療材料を提供できれば、これらの合併症を減らすことが可能となります。そこで、われわれはティッシュエンジニアリングの技法を応用し、生体吸収性素材と自己細胞から体内にて新組織（再生血管：TEVG）を作るストラテジーで組織学的優位性のみならず、成長能が期待できる医材を開発しました。TEVGは移植後に完全自己組織となることがこれまでの動物実験にて証明されています。そこで、本邦において機能的単心室を有する患者にTEVGの植え込みを行う臨床研究を2000年代前半に行いました。急性グラフト不全やグラフト関連死を認めませんでしたが、移植後3年までの間に全25例のうち1例（4％）に高度のグラフトの狭窄を認め、血管形成術を必要としました。その後、米国において米国食品医薬品局（FDA）の指導・管理下で同様の臨床試験を行いました。期せずして、初期のグラフト狭窄の発生率が予想外に高く、治験は一時保留となりました。しかし、TEVGは人工物と違い自己組織であるためにバルーン拡大術により狭窄を解除することができ、その後は良好な経過を辿り3年間の治験を終了することができました。しかし、日米での治験を通じてTEVGの弱点である狭小化の経時的変化を解明すべく、今回開発した計算モデルを用いてTEVGの解析・評価を行いました。

まずマウスの下大静脈に作成したTEVGの形態学的、生力学的データを開発した計算モデルに代入してシミュレーションを行いました。結果、TEVGの組織形成の初期段階において内腔の狭小化を認めるものの、その後は狭小化が自然に解消されるという仮説を得ました。この結果をさらに検証するために子羊を用いてTEVGを作成し同様の解析を行いました。このモデルでは、さらにTEVGの形態を血管造影と血管内超音波を用いて評価したところ、移植したTEVGの中央部付近が植え込み後6週目頃に最狭小化しており、同時期のTEVGの免疫組織学的評価ではα平滑筋アクチン陽性細胞数、マクロファージの浸潤もこの時期がピークでした。炎症や狭窄に関連する計算モデルにて解析したところ、モデルの予測値と動物実験の現象が一致していました。さらに遠隔で摘出したTEVGの生力学的試験の結果と計算モデルの予測値は近似値を示していました。これをもとに米国での臨床試験の結果を計算モデルにて評価したところ、血管形成術を行わなくとも狭小化は改善されたであろう、という結果が示されました。無症候性の移植後初期のTEVGの狭窄に関する可逆性が証明できたことにより、血管形成術の要否が再検証され、さらに中断していた臨床研究が再開されることとなりました。然るに、TEVGでの本計算モデルによる評価の意義は大きいと考えられます。

TEVGは移植される前は生体吸収性素材に細胞が播種された未完の状態であり、体内に移植された後は血管としての機能は保ちつつも組織・形態・物性・炎症反応・生体吸収性素材の分解などが劇的に変化していきます。TEVGの狭小化と自己回復を含め、これら複雑な組織形成のメカニズムにより完全自己組織化していく過程を本研究の計算モデルは予測することができました。様々な動物実験の蓄積されたデータにより構築されたこの計算モデルは、今回のわれわれの米国での臨床試験のシミュレーションの結果から、考察と今後の再生血管療法の周術期・遠隔期における治療方針の決定に寄与するものと期待されます。このようにトランスレーショナルリサーチにおいて、高度な計算モデルを組み合わせることは、臨床試験の設計、評価、適応基準を検証することのみならず、新技術に対する新たな評価方法としても有用と考えられます。さらには、新技術や新素材をより安全に、早期に臨床応用するための評価手段となりうるとも考えられます。

Basic ScienceからTranslational ResearchそしてReal Academic Surgeonへ

当研究室は、オハイオ州コロンバスにあり、臨床研究意義に基づいた研究アプローチを行っています。多様な共同研究者や10名以上のラボメンバーに支えられて、大動物を使用した基礎研究およびTranslational Researchを行っています。Bioengineering分野でTissue Engineeringに特化した研究を継続しています。今後、血管以外の他の臓器の開発も期待されます。

Science Translational Medicine 4月22日号 Research Article
Science Translational Medicine 22 Apr 2020: Vol. 12, Issue 540, eaax9106
DOI: 10.1126/scitranslmed.aax9106

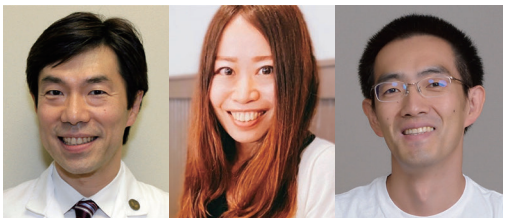
単一遺伝子糖尿病患者由来ヒト幹細胞から作製した遺伝子改変β細胞は、マウスモデルにおける糖尿病症状を改善する

Gene-edited human stem cell-derived β cells from a patient with monogenic diabetes reverse preexisting diabetes in mice

Kristina G. Maxwell[1,2] Punn Augsornworawat[1,2] Leonardo Velazco-Cruz[1] Michelle H. Kim[1] Rie Asada[1]
Nathaniel J. Hogrebe[1] Shuntaro Morikawa[1] Fumihiko Urano[1,3] Jeffrey R. Millman[1,2]

[1] Division of Endocrinology, Metabolism, and Lipid Research, Washington University School of Medicine
[2] Department of Biomedical Engineering, Washington University in St. Louis
[3] Department of Pathology and Immunology, Washington University School of Medicine

全著者リスト：https://stm.sciencemag.org/content/12/540/eaax9106



左から浦野 文彦、浅田 梨絵、森川 俊太郎

浦野 文彦 *Fumihiko Urano*
Samuel E. Schechter Professor of Medicine, Professor,
Departments of Medicine and Pathology & Immunology,
Washington University School of Medicine

浅田 梨絵 *Rie Asada*
Postdoctoral Research Scholar, Division of Endocrinology, Metabolism,
and Lipid Research, Washington University School of Medicine

森川 俊太郎 *Shuntaro Morikawa*
Postdoctoral Research Scholar, Division of Endocrinology, Metabolism,
and Lipid Research, Washington University School of Medicine

Contact

浦野 文彦 **E-mail**：urano@wustl.edu
所在地：660 South Euclid Ave, Campus Box 8127, St. Louis, MO 63110, USA
U R L：https://wolframsyndrome.wustl.edu/

浅田 梨絵 **E-mail**：rieasada@wustl.edu
所在地：660 South Euclid Ave, Campus Box 8127, St. Louis, MO 63110, USA

森川 俊太郎 **E-mail**：ikaring88@hotmail.co.jp
所在地：660 South Euclid Ave, Campus Box 8127, St. Louis, MO 63110, USA

Abstract

患者由来の人工多能性幹細胞（iPSC）から作製されたインスリン産生膵β細胞は糖尿病に対する自己細胞補充療法を有望なものとする。しかし、現在のアプローチは、in vitroおよびin vivoで十分に機能しない自己iPSC由来β（SC-β）細胞の作製にとどまっている。本研究では、若年性糖尿病発症を伴う遺伝性疾患ウォルフラム症候群（WS）患者から樹立したiPSCにおいて、CRISPR-Cas9により原因遺伝子であるWolfram syndrome 1（*WFS1*）の変異を修正した。筆者らが最近開発した6段階からなる分化プロトコールによりβ細胞を作製すると、変異を修正したSC-β細胞はグルコース刺激に応答して大量のインスリンを分泌し、またストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルマウスに移植すると症状が改善した。またシングルセル・トランスクリプトミクス解析により、変異を修正したSC-β細胞ではインスリン遺伝子の発現が増加し、小胞体ストレスマーカー遺伝子の発現が抑制されていることが明らかとなった。以上より、CRISPR-Cas9による糖尿病誘発性の変異遺伝子の修正は、疾患モデルマウスにおける重度糖尿病症状を改善させるような自己SC-β細胞への分化を可能にすることが示された。

Figure and Note

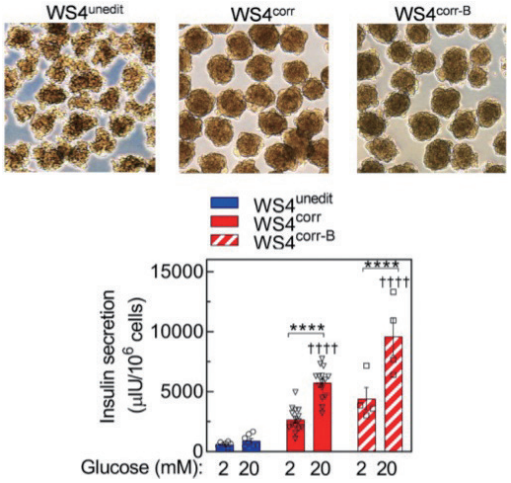


図1：ウォルフラム症候群患者由来iPSCから作製したSC-β細胞
*WFS1*変異未修正（WS4^{unedit}）および修正（WS4^{corr}、WS4^{corr-B}）iPSCから作製したSC-β細胞の明視野像（上）とグルコース応答性インスリン分泌能の評価（下）。

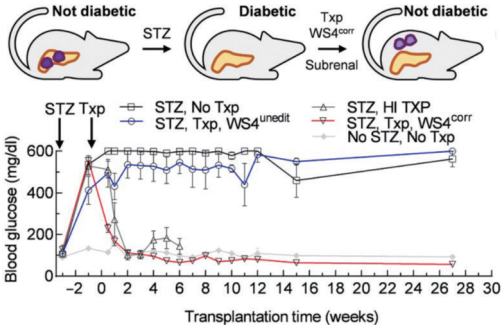


図2：ストレプトゾトシン（STZ）誘発糖尿病マウスへのSC-β細胞移植

STZによる糖尿病マウス作製およびSC-β細胞移植の概要（上）と血糖値測定結果（下）。WS4^{corr} SC-β細胞を移植したマウスの血糖値が大きく低下する。

遺伝子変異を修正した患者由来膵β細胞は糖尿病症状を改善する

糖尿病はインスリン産生膵β細胞の機能不全や細胞死によって引き起こされます。失われたβ細胞機能の補填としてインスリン療法がしばしば行われますが、長期間のインスリン注射には合併症のリスクが伴います。その他に治療法として膵島移植がありますが、ドナー不足や免疫抑制剤の必要性などから、移植を受けられる患者数は限られています。一方、患者由来の人工多能性幹細胞（iPSC）から作製されたβ細胞（SC-β）細胞は、自己細胞補充療法という新たな治療法を提供することができます。しかし、これまでに作製されたSC-β細胞には血糖値を正常に戻すほどの十分なインスリン産生・分泌機能がありませんでした。このような制限を打破すべく、筆者らは細胞骨格リモデリングを制御することで従来よりも高機能なβ細胞を作製する改良型分化プロトコールを開発しました。

ウォルフラム症候群（WS）は若年性糖尿病発症を伴う遺伝性疾患です。Wolfram Syndrome 1（*WFS1*）遺伝子の変異によって持続的な小胞体ストレスが発生し、β細胞が死ぬことが発症機序と考えられています。このような単一遺伝子変異は、CRISPR-Cas9技術によって修正することができます。そこで筆者らは、改良型分化プロトコールと組み合わせて*WFS1*の変異を修正したWS患者由来SC-β細胞を作製し、治療応用への可能性について検討しました。

作製されたSC-β細胞はグルコースに応答してインスリンを分泌しますが、変異を修正したSC-β（修正SC-β）細胞のみが生体内のβ細胞と同様にインスリンの大量かつ二相性分泌を示しました。細胞の特徴を詳細に解析すると、変異修正によって*WFS1*およびβ細胞マーカー遺伝子の発現が大きく増加していました。次にストレプトゾトシン（STZ）注射によってβ細胞を破壊し、糖尿病を発症したマウスにこれらのSC-β細胞を移植しました。その結果、修正SC-β細胞を移植したマウスは耐糖能が回復し、STZ未注射マウスと同程度まで血糖値が低下しました。また低血糖時および高血糖時の血清インスリン濃度が増加しており、糖尿病症状が大きく改善していました。シングルセル・トランスクリプトミクス解析によって、作製したSC-β細胞集団における個々の細胞を評価すると、変異修正によってインスリン遺伝子を強発現する細胞数が圧倒的に増加していました。また、インスリン陽性細胞における小胞体ストレスマーカー遺伝子の発現が低下し、その結果としてミトコンドリアストレスやアポトーシス関連遺伝子の発現が低下していました。

本研究で筆者らが作製したSC-β細胞は高いインスリン産生・分泌能を有し、移植によって糖尿病症状を大きく改善しました。このようなSC-β細胞作製技術とCRISPR-Cas9による遺伝子編集技術の組合せは、単一遺伝子異常による糖尿病だけでなく、I型およびII型糖尿病に代表される多因子遺伝性疾患の治療開発への応用が期待できます。またWSは糖尿病の他に視神経萎縮や神経変性を発症しますが、変異を修正したiPSCから網膜細胞や神経系細胞を作製・移植することでWS患者が抱える様々な問題の解決に繋がっていく可能性があります。

患者さんの気持ちをラボメンバーに伝え、幸運に感謝する

私たちの研究室は、小胞体病という概念を確立し、それに相当する疾患の診断法、治療法を開発することをミッションとしています。現在のフォーカスは、Wolfram syndromeの遺伝子治療を開発することです。遺伝病の研究をし、患者さんの登録制度、クリニックをしている関係で、多くの患者さんの診断、診療にあたり、患者さんのご家族とも毎日のようにお会いします。彼ら/彼女らの抱えている臨床的な問題、患者さんたちの悲しみ、ご家族の悲しみを、機会を見つけてはラボメンバーに話すようにしています。自分たちの研究がいかに多くの人びとを救うことになるか、みんなが理解し一致団結して研究を進めることは、何にも増して重要ではないでしょうか？ 私は、研究を続けられること、素晴らしいメンバーに恵まれていること、論文を発表し講演をする機会が訪れていること、すべては幸運だからだと思っています。この幸運に、いつも心から感謝しています。必ず、新しい治療法、診断法を開発し、多くの患者さんを救うことを心に誓っています。

Science Translational Medicine 7月1日号 Research Article
Science Translational Medicine 01 Jul 2020: Vol. 12, Issue 550, eaaw0720
DOI: 10.1126/scitranslmed.aaw0720

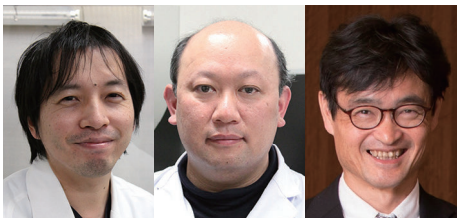
大腸杯細胞はLypd8を介して同種造血幹細胞移植後のGVHDを防ぐ

Intestinal goblet cells protect against GVHD after allogeneic stem cell transplantation via Lypd8

Takahide Ara[1] Daigo Hashimoto[1] Eiko Hayase[1] Clara Noizat[1] Ryo Kikuchi[1] Yuta Hasegawa[1] Kana Matsuda[2] Shoko Ono[2] Yoshihiro Matsuno[3] Ko Ebata[1] Reiki Ogasawara[1] Shuichiro Takahashi[1] Hiroyuki Ohigashi[1] Emi Yokoyama[1] Keitaro Matsuo[4,5] Junichi Sugita[1] Masahiro Onozawa[1] Ryu Okumura[6] Kiyoshi Takeda[6] Takanori Teshima[1]

[1] Department of Hematology, Hokkaido University Faculty of Medicine and Graduate School of Medicine
[2] Department of Gastroenterology and Hepatology, Hokkaido University Graduate School of Medicine
[3] Department of Surgical Pathology, Hokkaido University Hospital
[4] Division of Cancer Epidemiology and Prevention, Aichi Cancer Center Research Institute
[5] Department of Cancer Epidemiology, Nagoya University Graduate School of Medicine
[6] Department of Microbiology and Immunology, Graduate School of Medicine, WPI Immunology Frontier Research Center, Osaka University

全著者リスト：https://stm.sciencemag.org/content/12/550/eaaw0720



左から荒 隆英、橋本 大吾、豊嶋 崇徳

荒 隆英 *Takahide Ara*
北海道大学大学院 医学研究院 内科学系部門 内科学分野 血液内科学教室 助教

橋本 大吾 *Daigo Hashimoto*
北海道大学大学院 医学研究院 内科学系部門 内科学分野 血液内科学教室 准教授

豊嶋 崇徳 *Takanori Teshima*
北海道大学大学院 医学研究院 内科学系部門 内科学分野 血液内科学教室 教授

Contact
荒 隆英 **E-mail**：bloodflower2010@gmail.com
所在地：060-8638 北海道札幌市北区北15条西7丁目
U R L：http://www.hokudai-hematology.jp/
橋本 大吾 **E-mail**：D5hash@pop.med.hokudai.ac.jp
豊嶋 崇徳 **E-mail**：teshima@med.hokudai.ac.jp

Abstract

移植片対宿主病（GVHD）および感染症は、同種造血幹細胞移植（HSCT）における重大な致死的合併症である。大腸杯細胞は粘液層を形成し、腸内細菌叢と宿主の腸上皮とを空間的に分離している。大腸杯細胞の喪失は、GVHDにみられる組織学的特徴の1つであるが、その喪失がGVHDの病態生理に及ぼす影響については明らかでなかった。同種HSCTのマウスモデルでは、大腸杯細胞の持続的減少がみられ、その結果、大腸の粘液内層に破綻が生じ、腸上皮下への細菌侵入の増悪を認めた。杯細胞の増殖因子であるインターロイキン-25（IL-25）を移植前に投与したところ、大腸杯細胞がGVHDから保護され、細菌の上皮下への侵入が抑制され、インターフェロン-γおよびIL-6といった炎症性サイトカインが低下し、GVHDの改善がもたらされた。IL-25によるGVHD軽減作用は、大腸上皮細胞によって産生され、有鞭毛細菌の運動性を抑制することで抗菌活性を示す分子、Lypd8に依存していた。同種HSCT患者における大腸生検の解析では、大腸杯細胞の傷害度が、腸管GVHDの重症度、移植関連死亡の増加、全生存率の低下と相関した。大腸杯細胞の喪失は、移植転帰と関連し、IL-25の投与による杯細胞保護は、GVHDに対する新たな予防・治療戦略となりうる。

Figure and Note

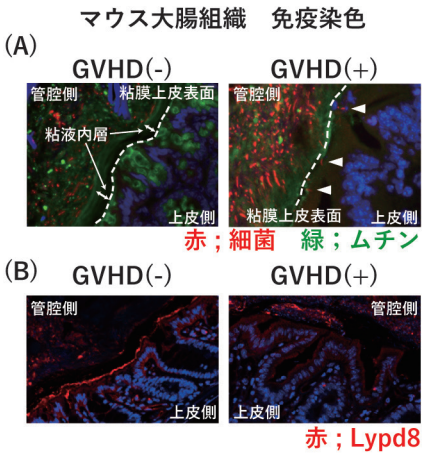


図1：GVHDによって大腸杯細胞と粘液層が形成する腸管バリア機構は破綻する

(A) GVHD(-)では大腸粘液層は2層構造が保たれるが、GVHD(+)では2層構造が破綻し、腸上皮下へ細菌（白矢頭）が侵入する。

(B) GVHD(+)では大腸上皮表面のLypd8が減少する。

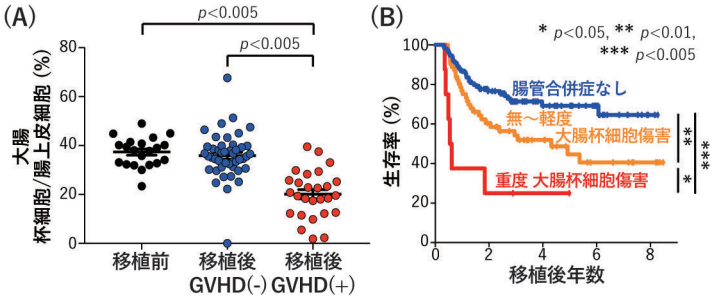


図2：大腸杯細胞の減少は腸管GVHDに特異的であり、その傷害度が生命予後と相関する

(A)患者大腸生検標本における杯細胞数。移植前検体に比較して、GVHD発症群で特異的に杯細胞数が減少している。

(B)大腸杯細胞の傷害度ごとの移植後生存曲線。杯細胞の傷害度が移植後の生命予後と相関する。

同種造血幹細胞移植の安全性と有効性の向上を目指して

同種造血幹細胞移植は白血病などの血液悪性腫瘍の根治的治療法ですが、感染症や移植片対宿主病（GVHD）のため、いまだ移植関連死亡が根絶できていません。GVHD予防や治療のために使用される免疫抑制剤は、腫瘍や感染に対する免疫も減弱させて、白血病の再発や感染症の発症を招く可能性があります。より安全なGVHD対策を開発するため、GVHDの病態生理のより詳細な検討が必要とされています。近年、腸内細菌の乱れがGVHDや移植予後と関連することが報告されています。移植後に腸内細菌叢が乱れると、有益な共生菌が減少し有害な病原菌が増殖しますが、杯細胞が分泌するムチンは、粘液層を構成して生体を防御する最後の砦となっています。多数の細菌が存在する大腸では、粘液層は2層構造をとっており、緻密な内層は腸内細菌に対する物理的バリアとしてだけでなく抗菌物質を内包することで化学的バリアとしても機能しています。以前からGVHDの主たる標的臓器である腸管ではGVHD発症時に杯細胞が減少することが知られていましたが、その意義については不明でした。そこでわれわれは、マウスモデルとヒト臨床検体を用いて、大腸杯細胞や粘液層によって形成される粘膜バリアが腸管GVHDの病態生理に及ぼす影響について検討しました。

本研究により、マウス同種骨髄移植後に大腸杯細胞が傷害されることで粘液2層構造が破綻し、腸上皮下へ細菌が侵入して炎症反応を増幅してGVHDを悪化させていることが判明しました。杯細胞増殖因子インターロイキン-25（IL-25）を投与して大腸杯細胞を保護すると、GVHDが軽減しました。抗菌物質Lypd8は、大腸の粘膜上皮細胞から分泌されて粘液層に集積し、細菌の運動性を低下させて生体内への侵入を防いでいますが、腸管GVHDによる粘液層の破綻のため、腸管粘膜上皮表面のLypd8集積が消失していました。IL-25を用いた杯細胞保護によるGVHD軽減効果は、Lypd8ノックアウトマウスでは認められず、大腸粘液層はLypd8と協働して、腸内細菌の侵入を防ぎ、GVHDの重症化を抑制していることがわかりました。

同種移植後の患者大腸生検検体を用いた検討では、腸管GVHDで特異的に大腸杯細胞が減少し、その傷害度はGVHDの重症度やその後の治療反応性と相関していました。さらに、杯細胞傷害が重度である患者では、死亡率が高いことがわかりました。

本研究により、大腸杯細胞傷害やそれに伴う粘液層の破綻によって生じる物理的かつ化学的な粘膜バリア機能の低下が、さらなるGVHDの悪化につながることが明らかになり、大腸杯細胞がGVHDの新規治療標的となりえます。今まで腸管GVHDは病理学上ではリンパ球浸潤を伴う陰窩上皮のアポトーシス像として捉えられていましたが、今回のわれわれの臨床検体の解析からは、大腸杯細胞が新しい腸管GVHDの診断・治療モニター・予後予測のバイオマーカーとなることが期待されます。

基礎と臨床が一体化し、地域と世界とを結ぶ血液診療を目指して

北海道大学医学研究院血液内科学教室では、移植免疫・抗腫瘍免疫・リンパ腫/白血病の治療に関する研究を行っています。マウスモデル・種々の培養系・患者検体を駆使して、トランスレーショナルリサーチから臨床応用に向けた研究を数多く行っています。研究室は現在拡張期となっており、たくさんの大学院生が在籍し、研究室も増設が計画されています。将来の血液内科の診療を変革するような結果を求めて研究を続けています。

Science Translational Medicine 7月8日号 Research Article
Science Translational Medicine 08 Jul 2020: Vol. 12, Issue 551, eaay4068
DOI: 10.1126/scitranslmed.aay4068

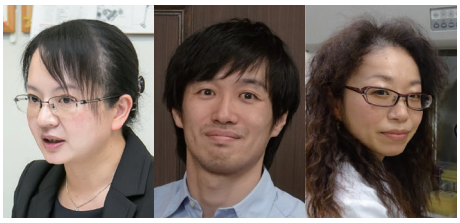
黄色ブドウ球菌 Agr 病原性は表皮定着において不可欠であり、アトピー性皮膚炎の発症と関連する

Staphylococcus Agr virulence is critical for epidermal colonization and associates with atopic dermatitis development

Yuumi Nakamura[1,2] Hiroki Takahashi[3,4] Akiko Takaya[5] Yuzaburo Inoue[6] Yuki Katayama[1] Yoko Kusuya[3] Tatsuma Shoji[5] Sanami Takada[1] Seitaro Nakagawa[1] Rena Oguma[1] Nobuko Saito[1] Naoko Ozawa[6] Taiji Nakano[6] Fumiya Yamaide[6] Eishika Dissanayake[6] Shuichi Suzuki[7] Amer Villaruz[8] Saranyaraajan Varadarajan[9] Masanori Matsumoto[9] Tomoko Kobayashi[10] Michihiro Kono[10] Yasunori Sato[11] Masashi Akiyama[10] Michael Otto[8] Hiroyuki Matsue[1,3] Gabriel Núñez[9] Naoki Shimojo[6]

[1] Department of Dermatology, Chiba University Graduate School of Medicine
[2] Cutaneous Immunology, Immunology Frontier Research Center, Osaka University
[3] Medical Mycology Research Center, Chiba University
[4] Molecular Chirality Research Center, Chiba University
[5] Laboratory of Microbiology and Immunology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University
[6] Department of Pediatrics, Chiba University Graduate School of Medicine
[7] Department of Pediatrics, Shimoshizu National Hospital
[8] Pathogen Molecular Genetics Section, Laboratory of Human Bacterial Pathogenesis, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health
[9] Department of Pathology and Rogel Cancer Center, University of Michigan Medical School
[10] Department of Dermatology, Nagoya University Graduate School of Medicine
[11] Department of Global Clinical Research, Chiba University Graduate School of Medicine

全著者リスト：https://stm.sciencemag.org/content/12/551/eaay4068



左から松岡 悠美、高橋 弘喜、高屋 明子

松岡 悠美 *Yuumi Matsuoka*
大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 特任准教授

高橋 弘喜 *Hiroki Takahashi*
千葉大学 真菌医学研究センター 准教授

高屋 明子 *Akiko Takaya*
千葉大学 大学院薬学研究院 准教授

Contact

松岡 悠美 **E-mail**：ymatsuoka@derma.med.osaka-u.ac.jp
所在地：565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2

高橋 弘喜 **E-mail**：hiroki.takahashi@chiba-u.jp
所在地：260-8675 千葉市中央区亥鼻1-8-1

高屋 明子 **E-mail**：akiko@faculty.chiba-u.jp
所在地：260-8675 千葉市中央区亥鼻1-8-1
U R L：https://www.p.chiba-u.jp/lab/kassei/index.html

Abstract

アトピー性皮膚炎（AD）は、罹患した皮膚における黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）の定着と関連することが多い。AD発症における黄色ブドウ球菌の役割を明らかにするため、われわれは生後1～6ヵ月の日本人乳児268例を対象に、頬の皮膚から得られた黄色ブドウ球菌分離株に全ゲノムシークエンシングを実施した。生後1ヵ月の乳児の約45％に、AD発症の有無にかかわらず黄色ブドウ球菌の定着が認められた。対照的に、生後6ヵ月では黄色ブドウ球菌の皮膚定着が認められると、AD発症のリスクが高くなった。黄色ブドウ球菌Agrクオラムセンシング（QS）システムにおける機能喪失変異の獲得が、ADを発症しなかった6ヵ月児の分離株の多くで認められた。マウスにおいて、黄色ブドウ球菌の表皮定着およびAD様炎症の誘発には、機能的Agr QSシステムの発現が必要であった。したがって、乳児期において機能的黄色ブドウ球菌Agrによる病原性が保持されることは、黄色ブドウ球菌の皮膚定着およびAD発症と関連する。

Figure and Note

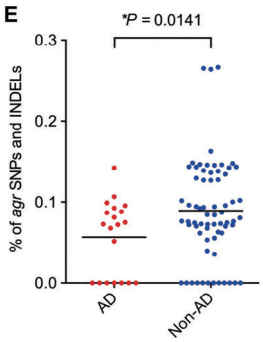


図1：*S. aureus*（乳児皮膚に 生着中）における、全ゲノムに生じた変異に対して*agr*領域に生じた変異の割合

アトピー性皮膚炎を発症した乳児の皮膚から単離された菌株（AD）より、発症しなかった乳児の皮膚から単離された菌株（Non-AD）のほうが*agr*遺伝子領域に変異を高頻度に生じる。

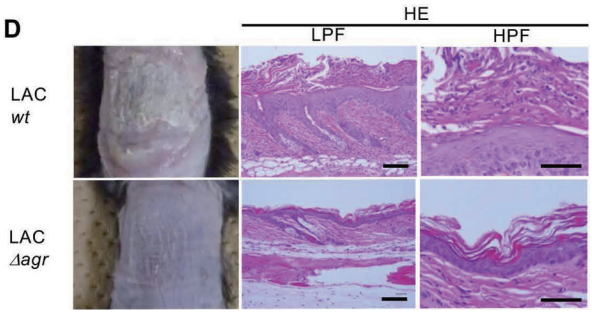


図2：マウスモデルにおける野生型および*agr*欠損株での皮膚生着比較

マウス経表皮的に野生型（LAC*wt*）を感染させると炎症が起こるが、Agrを発現できない変異株（LACΔ*agr*）は皮膚への菌の定着が阻害され炎症もおこらない。HE染色病理（HE）、弱拡（LPF）、強拡（HPF）。

黄色ブドウ球菌クオラムセンシングとアトピー性皮膚炎

アメリカミシガン大学留学中に所属した研究室で、黄色ブドウ球菌クオラムセンシングとアトピー性皮膚炎の研究を開始しました。その後、Agrクオラムセンシング依存性に発現するδ-toxinおよびPhenol-soluble modulin αがアトピー性皮膚炎様の皮膚炎をマウスモデルにおいて惹起することを相次いで報告しました。しかしながら、毒素の動物モデルにおける役割を解析する手法では、なぜアトピー性皮膚炎という疾患特異的に黄色ブドウ球菌が定着していて、健常皮膚にはほとんど定着しないのかはアプローチできませんでした。帰国後、千葉大学小児病態学のアトピー性皮膚炎に関するコホート研究で得られた黄色ブドウ球菌の菌株が保存されていました。学内の同世代の共同筆頭著者らと出会い、ディスカッションしていく中で、黄色ブドウ球菌のゲノム解析から、アトピー性皮膚炎になぜこの病原細菌が定着するのかを明らかにできないかと着想しました。

出生コホート研究で乳児皮膚から得られた菌株の全ゲノム解析を行い、乳児期に長期間生着し続ける菌のクローンを抽出し、乳児皮膚への生着期間中に黄色ブドウ球菌が獲得したゲノム変異に注目しました。すると、アトピー性皮膚炎を発症する乳児の群での*agr*領域の変異はほとんどみられないのに対して、発症しない群においての*agr*領域の変異頻度が高いことを見つけました(図1)。これらの変異は機能喪失型の変異であり、マウスモデルを用いて検証することで、皮膚での病原性発揮の前段階となる生着を阻害していることがわかりました(図2)。これらの結果から、Agrクオラムセンシングの機能保存がアトピー性皮膚炎の発症と関連があり、一方、健常な皮膚には何らかの病原細菌の生存に不利な変異を誘導するメカニズムが存在することが示唆されました。

Agrクオラムセンシング領域の制御は、特に健常人皮膚での黄色ブドウ球菌感染症やアトピー性皮膚炎の治療ターゲットとして注目されています。一方で、院内感染症においては、Agrクオラムセンシングの負の制御が菌の生存に逆に有利に働いているとの報告もあることから、この領域の実用化にはさらなる基礎的な研究の積み重ねが重要であると考えています。

異分野の若手研究者の協力で新しい研究テーマの発掘を

研究チームは、千葉大学グローバルプロミネントプロジェクトの一環として発足したグループの一部です。皮膚免疫学、バイオインフォマティクス、病原細菌学の異分野の研究者がアイデアを持ち寄り、小児病態学のコホート研究を解析しました。「三人寄れば文殊の知恵」と言っては共著の先生方に怒られそうですが、よりよい研究を生み出すには大学のこのようなサポートが、研究資金と同じくらい大事ではないかと感じております。

Science Translational Medicine 10月14日号 Research Article
Science Translational Medicine 14 Oct 2020: Vol. 12, Issue 565, eaay0399
DOI: 10.1126/scitranslmed.aay0399

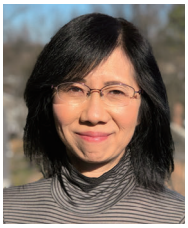
シヌクレイノパチーのげっ歯類モデルにおいてLRRK2はNFATc2を介してミクログリア神経毒性を仲介する

LRRK2 mediates microglial neurotoxicity via NFATc2 in rodent models of synucleinopathies

Changyoun Kim[1] Alexandria Beilina[2] Nathan Smith[2,3] Yan Li[4] Minhyung Kim[5] Ravindran Kumaran[2] Alice Kaganovich[2] Adamantios Mamais[2] Anthony Adame[6] Michiyo Iba[1] Somin Kwon[1] Won-Jae Lee[7] Soo-Jean Shin[7] Robert A. Rissman[6] Sungyong You[5,8] Seung-Jae Lee[7] Andrew B. Singleton[9] Mark R. Cookson[2] Eliezer Masliah[1]

[1] Molecular Neuropathology Section, Laboratory of Neurogenetics, National Institute on Aging, National Institutes of Health
[2] Cell Biology and Gene Expression Section, Laboratory of Neurogenetics, National Institute on Aging, National Institutes of Health
[3] Department of Biochemistry and Redox Biology Center, University of Nebraska
[4] Protein/Peptide Sequencing Facility, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health
[5] Departments of Surgery and Biomedical Sciences, Cedars-Sinai Medical Center
[6] Department of Neurosciences, School of Medicine, University of California, San Diego
[7] Department of Biomedical Sciences, Neuroscience Research Institute, and Department of Medicine, Seoul National University College of Medicine
[8] Samuel Oschin Comprehensive Cancer Institute, Cedars–Sinai Medical Center
[9] Molecular Genetics Section, Laboratory of Neurogenetics, National Institute on Aging, National Institutes of Health

全著者リスト：https://stm.sciencemag.org/content/12/565/eaay0399



射場 美智代 *Michiyo Iba*
Contractor Scientist, Molecular Neuropathology Section, Laboratory of Neurogenetics, National Institute on Aging, National Institutes of Health

Contact
E-mail：michiyo.iba@nih.gov
所在地：35 Convent Drive Bldg 35, Rm 1A1015, Bethesda, MD 20892. USA
ＵＲＬ：https://www.nia.nih.gov/research/labs/lng/molecular-neuropathology-unit

Abstract

シヌクレイノパチーはα-シヌクレインが異常に沈着することを特徴とし、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症などを含む神経変性疾患である。これらの疾患の病態生理として、神経細胞脱落や神経炎症などがあげられる。神経細胞から放出されるα-シヌクレインは、Toll様受容体2（TLR2）を介してミクログリアの神経毒性や、炎症促進性の反応を誘導することが示されているが、その分子機序は十分に理解されていない。本研究でわれわれは、細胞外α-シヌクレインによるミクログリアの活性化において、ロイシンリッチリピートキナーゼ2（LRRK2）が極めて重要な役割を果たすことを示した。マウス初代ミクログリア細胞をα-シヌクレインへ曝露するとLRRK2のリン酸化および活性を増強することがわかった。さらに、マウス神経細胞培養において、LRRK2の遺伝学的および薬理学的阻害により、腫瘍壊死因子α（TNFα）およびインターロイキン-6（IL-6）の発現を低下させることで、α-シヌクレイン介在性のミクログリア神経毒性が顕著に低減した。われわれは、選択的なリン酸化と、免疫転写因子であるnuclear factor of activated T cells, cytoplasmic 2（NFATc2）の核内移行の誘導により、LRRK2が神経炎症カスケードを促進することを明らかにした。NFATc2の活性化は、シヌクレイノパチーを呈する患者およびシヌクレイノパチーのマウスモデルにおいても観察され、マウスモデルではLRRK2の薬理学的阻害剤の投与により運動行動障害の回復が認められた。これらの結果は、LRRK2、およびその下流のシグナル伝達メディエーターであるNFATc2の調節が、シヌクレイノパチーの治療標的となる可能性を示唆している。

Figure and Note

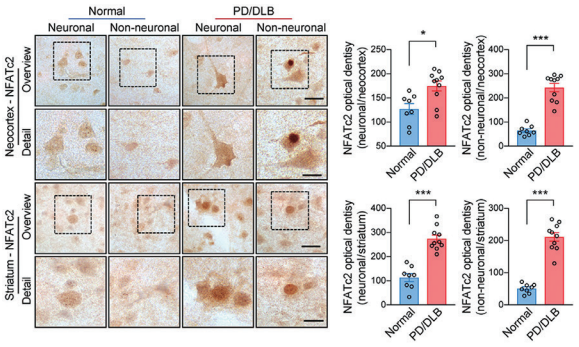


図1：パーキンソン病患者でNFATc2の沈着が見られる

大脳新皮質と線条体のNFATc2抗体による免疫染色を健常者とパーキンソン病／レビー小体型認知症患者のサンプルに対して行なった結果、後者では神経細胞内にNFATc2の沈着が見られた。

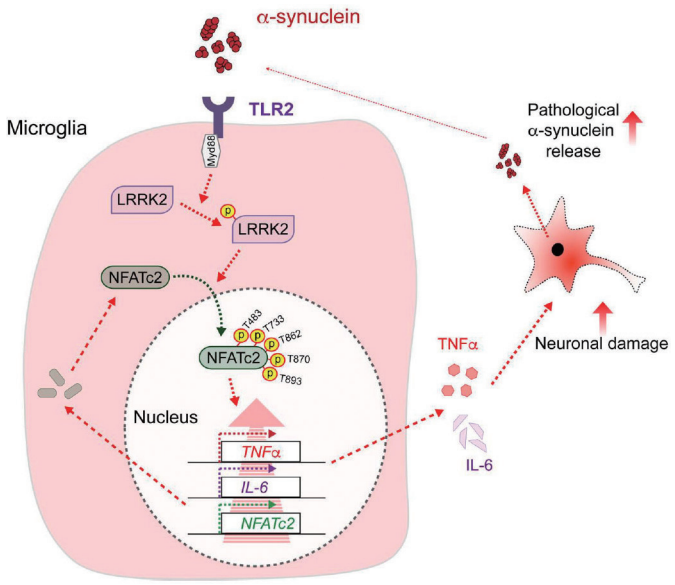


図2：シヌクレイノパチーにおけるミクログリアを介した神経毒性のモデル

ニューロンから放出されたα-シヌクレインはミクログリア表面のTLR2で検出され、LRRK2がミクログリア内で活性化する。活性化したLRRK2はNFATc2をリン酸化し、核内への移行を促進する。核内に移行したNFATc2はTNFαとIL-6を増加させる。

シヌクレイノパチーの神経炎症にLRRK2が関与する

われわれの研究室ではパーキンソン病、レビー小体型認知症をはじめとするシヌクレイノパチーにおいてミクログリアの神経炎症がどのように関与しているかを体系的に調べています。ミクログリアの炎症促進性がシヌクレイノパチーに関与することはわかっていますが、その分子的メカニズムはまだわかっていません。一方、LRRK2はその変異がパーキンソン病疾患の最も重要な遺伝子変異の一つであることがわかっており、LRRK2がミクログリアを仲介する神経炎症に重要な役割を担うこともわかっていますが、LRRK2がミクログリア神経炎症にどのように関与するのかはわかっていません。今回はLRRK2がミクログリアの活性化にどのように関与し、神経細胞から放出されたα-シヌクレインにどのように反応するのかを体系的に調べました。

最初に、マウスの培養細胞を用いて、神経細胞から放出されたα-シヌクレインがTLR2などのレセプターを通じてLRRK2を活性化し、その結果、NFATc2が核内に転移することを示しました。それに伴って、TNFαやIL-6といったサイトカインの発現が修飾されることもわかりました。さらに、液体クロマトグラフィー／質量分析法や3D構造解析を行い、NFATc2がLRRK2のキナーゼ基質（kinase substrate）であることを示しました。最後に、パーキンソン病／レビー小体型認知症患者、あるいはシヌクレイノパチーのマウスモデルの脳標本を用いて、NFATc2の核内移行が起こっているのかを免疫染色で調べた結果、実際にNFATc2の沈着が見られました。

今回の研究で、シヌクレイノパチーにおけるミクログリアの神経炎症の新しい経路が見つかりました。シヌクレイノパチーではα-シヌクレインの凝縮が起こる前にミクログリアの活性化が起こることがわかっており、今回見つかった、LRRK2–NFATc2のシグナル伝達系がシヌクレイノパチーの治療ターゲットになる可能性が示唆されます。まずはNFATc2の抑制剤、またはLRRK2とNFATc2の抑制剤の両方をシヌクレイノパチーのマウスモデルに投与することにより得られる知見に基づいて実際の臨床試験に進んでいくことが期待されます。

神経変性疾患の治療薬を探して

私の所属するラボのセクションはDr. Masliahの異動に伴い2016年10月から新しく発足しました。ラボ自体は日本でいう大講座制で、数人のPIと、サイエンティスト、バイオロジスト、ポスドク、ポスバクがいて、総勢50～60名で構成されています。遺伝学、分子生物学、病理学、統計学、コンピュータサイエンス、AI、マシーンラーニングなど多岐に渡ったスペシャリストがパーキンソン病をはじめとする神経変性疾患の解明と治療の開発に向けて日々研究をしています。

Science Translational Medicine 12月9日号 Research Article
Science Translational Medicine 09 Dec 2020: Vol. 12, Issue 573, eabb3336
DOI: 10.1126/scitranslmed.abb3336

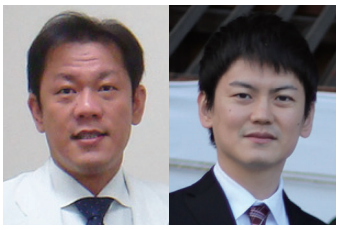
心臓内幹細胞由来の細胞外小胞による小児拡張型心筋症の組織修復

Cardiosphere-derived exosomal microRNAs for myocardial repair in pediatric dilated cardiomyopathy

Kenta Hirai[1] Daiki Ousaka[2] Yosuke Fukushima[1] Maiko Kondo[1] Takahiro Eitoku[1] Yusuke Shigemitsu[1]
Mayuko Hara[1] Kenji Baba[1] Tatsuo Iwasaki[3] Shingo Kasahara[2] Shinichi Ohtsuki[1] Hidemasa Oh[4]

[1] Department of Pediatric Cardiology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences
[2] Department of Cardiovascular Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences
[3] Department of Anesthesiology and Resuscitology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences
[4] Department of Regenerative Medicine, Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital

全著者リスト：https://stm.sciencemag.org/content/12/573/eabb3336



左から王 英正、平井 健太

王 英正 *Hidemasa Oh*
岡山大学病院 新医療研究開発センター 教授

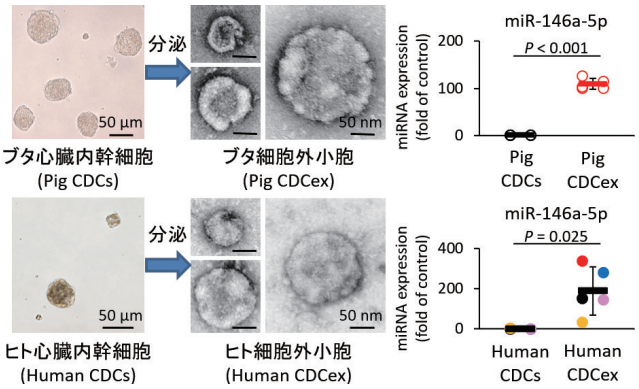
平井 健太 *Kenta Hirai*
岡山大学病院 小児科 医員

Contact
王 英正 **E-mail**：hidemasa@okayama-u.ac.jp
所在地：700-8558 岡山県岡山市北区鹿田町2-5-1
U R L：http://shin-iryo.hospital.okayama-u.ac.jp/center/index3.html

Abstract

心臓内幹細胞（CDCs）は単心室症患者において心臓の機能および転帰を改善させるが、小児拡張型心筋症（DCM）の小児におけるその安全性および有効性についてはほとんど知られていない。われわれは、DCMのブタモデルにおいてCDCsの安全性と有効性を明らかにし、前臨床研究で得られた結果を患者に適用することを目的とした。微粒子を冠動脈内注入して心機能を低下させることで、DCMのブタモデルを作製した。ブタ40頭を用いて、CDCsの投与法および用量に関する前臨床バリデーション無作為化研究を行い、CDCsが分泌する細胞外小胞であるエクソソーム（CDCex）が介在する心筋修復について分析した。第1相安全性コホートでは、駆出率が低下したDCM患児5例を組み入れて、CDCs注入を行った。主要転帰評価項目は安全性の評価、副次的転帰評価項目は心機能の変化とした。CDCsを投与したブタでは、プラセボ投与と比較して心機能が改善し、心筋線維化領域の縮小を認めた。こうした心機能上の有効性は、血管新生促進作用および心保護作用を有するマイクロRNA（miRNA）を豊富に含むCDCexを介することが示唆されたが、分離したCDCexを冠動脈から投与しても、同様の修復作用は認められなかった。ヒト第1相安全性評価の1年間の追跡調査終了時には、良好なプロファイルと有効性の予備的結果が認められた。心筋線維化抑制の機序として、CDCex由来miR-146a-5pの発現亢進により炎症性サイトカインおよび転写物が抑制されることを確認した。DCMのブタモデルにおいて、CDCsの冠動脈内投与は安全であり、CDCexを介した心機能の改善を認めた。患児を対象とした安全性評価の結果から、将来的に無作為化試験を実施するための枠組みが得られ、CDCex由来miRNAはこの治療戦略の基礎となるパラクラインメディエータである可能性が示唆された。

Figure and Note



図：心臓内幹細胞が分泌する細胞外小胞とマイクロRNA

ブタ、ヒト由来の心臓内幹細胞が分泌する細胞外小胞（エクソソーム）には、心筋保護や血管新生に関わるマイクロRNAが豊富に含まれている。

小児拡張型心筋症に対する心臓内幹細胞による組織修復の機序解明

岡山大学病院の小児循環器科と心臓血管外科では、新医療研究開発センター再生医療部とともに、2010年から重篤な先天性心疾患である単心室症に対する心臓内幹細胞（CDCs）移植の第1/2相臨床研究を行い、CDCsの安全性や心機能向上、予後改善効果を確認してきました。一方、拡張型心筋症（DCM）は最も多い小児心筋症疾患であり、臨床診断後5年以内に心臓死や心臓移植を回避できる頻度は約50～60％と極めて予後不良な心臓病です。2010年7月に家族の承諾による脳死臓器移植や15歳未満の小児の臓器提供を可能にした改正臓器移植法が施行されましたが、移植待機期間は平均691日と長く、臓器提供者不足により海外渡航心臓移植を要する症例も依然として多いのが現状です。臓器移植以外に細胞移植も期待されている治療法の一つですが、これまで有用な大型動物の実験モデルがなく、研究開発があまり進んでいませんでした。

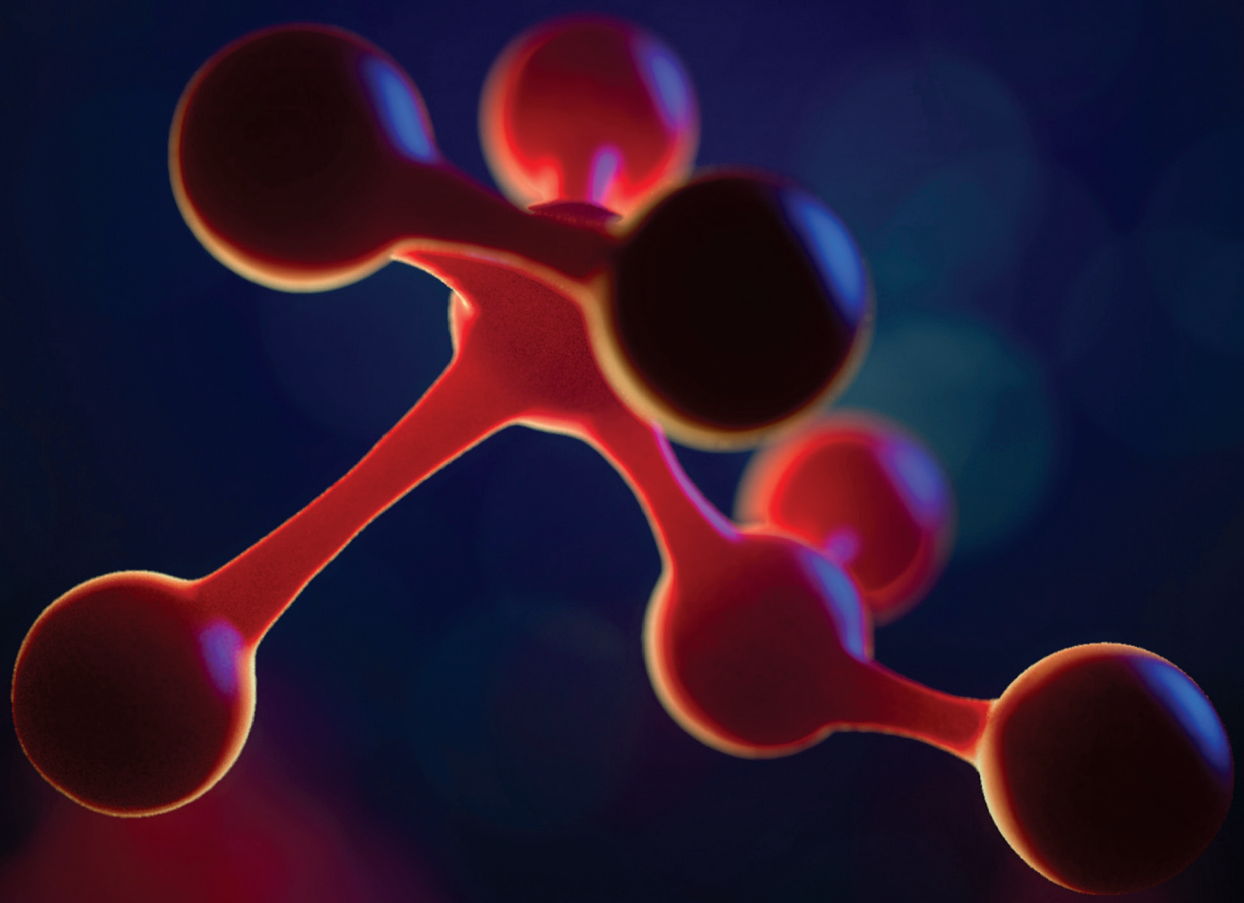
本研究では、小児DCMに対するCDCs移植の前臨床研究を行うにあたり、まず再現性が高く臨床病態像を反映した大型動物のDCMモデルの開発に取り組みました。心臓表面を走る冠動脈内に100～300ミクロンの微粒子を注入することで、びまん性に心臓の動きが低下した新規のブタDCMモデルの開発に世界で初めて成功しました。上記のモデルを用いてCDCs移植法の検討を行い、従来の冠動脈血流を一時的に遮断する方法ではなく、より安全性が高い冠血流を遮断しない移植法を採用しました。冠動脈内にCDCsを注入することで、低下した心機能が改善し、病理組織学的に心筋や血管細胞の再生とともに、障害を受けた組織の線維化領域が縮小することを確認しました。さらに、移植したCDCsが分泌する細胞外小胞であるエクソソームには心筋保護や血管新生に関わるマイクロRNAが豊富に含まれていることを確認し、エクソソーム分泌抑制物質で前処置したCDCsをブタに移植すると同様の治療効果を示さないことから、CDCsが分泌するエクソソームが治療効果に寄与することが示唆されました。

一連の前臨床研究成果を踏まえ、2017年より岡山大学病院で小児DCMに対するCDCs移植の第1相臨床研究を開始しました。心臓の駆出率が40％以下に低下した小児DCMの連続5症例において、心筋生検組織をもとに大量培養したCDCsの自家移植を実施しました。1症例において有害事象を認めたものの、それ以外の4症例では安全に移植を実施でき、かつ心機能改善や心筋線維化領域の縮小といった有効性を示唆する結果が得られました。患者由来のCDCsが分泌するエクソソーム内にも、ブタCDCsと同様のマイクロRNAが豊富に含まれており、特にmiR-146a-5pの発現量と細胞移植後の線維化抑制度との間に有意な相関があることを明らかにしました。この臨床的事象は、ヒト心筋培養細胞にmiR-146a-5pを実験的に過剰発現させることにより、炎症性サイトカイン産生や細胞死を有意に抑制できたことで確認しております。

上記の研究成果をふまえた今後の展開として、CDCs移植の保険適応を目指して小児DCMに対する第2相臨床研究へと進めていくとともに、CDCs由来のエクソソームやマイクロRNAによるcell free therapyを含めた新たな技術開発についても研究を進めていきたいと考えています。

「臨床につながる研究」の継続を

岡山大学病院は、中四国で唯一の臨床研究中核病院に指定されています。治験や臨床研究を戦略的に推進するための中央施設として、当院では2010年に新医療研究開発センターを発足し、再生医療部では心臓内幹細胞移植の保険適応を目指して、複数の臨床研究を実施してきました。今後も基礎と臨床とを結びつけ、患者様の利益につながることを目標に、研究を続けていきたいと考えています。



Publish your research in the *Science* family of journals

The *Science* family of journals (*Science, Science Advances, Science Immunology, Science Robotics, Science Signaling*, and *Science Translational Medicine)* are among the most highly-regarded journals in the world for quality and selectivity. Our peer-reviewed journals are committed to publishing cutting-edge research, incisive scientific commentary, and insights on what's important to the scientific world at the highest standards.

Submit your research today!
Learn more at **ScienceMag.org/journals**

Science
JOURNALS AAAS

SOMETIMES THE GRASS REALLY IS GREENER SOMEPLACE NEW.

Find your next job at ScienceCareers.org

There's scientific proof that when you're happy with what you do, you're better at what you do. Access career opportunities, see who's hiring and take advantage of our proprietary career-search tools. Get tailored job alerts, post your resume and manage your applications all in one place. Start here: sciencecareers.org

ScienceCareers

FROM THE JOURNAL SCIENCE AAAS

受託革命！ リーズナブル！

Humanizing Genomics macrogen JAPAN

マイクロアレイ受託解析サービス

リーズナブルな価格設定で 最高水準のデータをお届けします！

マクロジェンは Agilent、illumina および Affymetrix の Chip を用いてマイクロアレイ解析サービスを提供しています。
マクロジェンは、illumina 公式サービス指定会社のため、illumina から認定された正確なデータをお伝えできます。
また、バイオインフォマティクスを基盤とした全般的な解析相談も承ります。

Agilent Technologies　illumina CSPro CERTIFIED SERVICE PROVIDER　affymetrix Biology for a better world

他社と比べてください！

プラットフォーム			サンプル数 / スライド	参考価格 / スライド 【解析含む】
Agilent Gene Expression	Human	SurePrint G3 Human Gene Expression 8 x 60k Microarray	8	¥497,000
	Mouse	SurePrint G3 Mouse GE 8 x 60k Microarray	8	¥497,000

標準納期

サンプルが Macrogen 社に到着しサンプル QC 完了後の標準納期は下記になります。

メーカー	標準納期	
	解析含む	解析含まない
Agilent 社	約 4 週間	約 3 週間
illumina 社	約 4 週間	約 3 週間
Affymetrix 社	約 4 週間	約 3 週間

＊繁忙期にチップの在庫がない場合は上記よりも長く納期がかかります。

サービスメニュー

- 遺伝子発現解析
- microRNA 発現解析
- SNP ジェノタイピング
- CGH 法による解析
- メチル化解析

株式会社マクロジェン・ジャパン　メーカー略号：MAG

詳しい情報は、コスモ・バイオ Web サイト「記事 ID 検索」で。 15696 クリック！

人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

お問い合わせ
創薬・受託サービス部　TEL: (03)5632-9616
URL : https://www.cosmobio.co.jp/

Oligo Ribo Nucleotide

特定遺伝子変異の新規検出ツールとなる ORNi-PCR® 法を開発！

Epigeneron

標的 DNA の PCR 増幅阻害用 カスタムオリゴリボヌクレオチド（ORN） 作製サービス

Epigeneron 社では、点突然変異のような微小な遺伝子変異も**高感度**に検出することができる手法として、短い RNA (ORN) を用いたブロッキング PCR 法である oligoribonucleotide (ORN) interference-PCR (ORNi-PCR®) 法を開発しました。

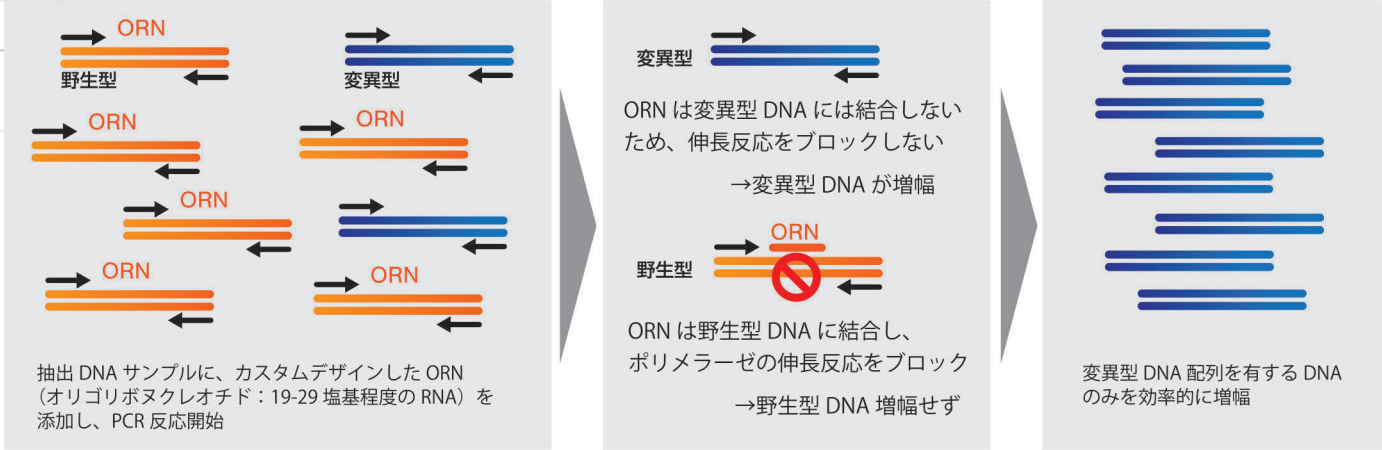
簡便な操作で遺伝子の変化を広範囲かつ簡便に検出可能な ORNi-PCR®

応用例

- 点突然変異などの微小な遺伝子変異の検出
- ゲノム編集細胞の検出
- メチル化 DNA 修飾の検出
- NGS による細菌叢解析における多様な細菌叢の検出

原理とアッセイフロー

ORNi-PCR® 法では、カスタムデザインした短い RNA とハイブリッド形成する野生型（鋳型）DNA の増幅を阻害することにより、ミスマッチを持つ変異型 DNA のみを増幅する。



PCR 増幅に使用する DNA ポリメラーゼは、KOD、Pfu 等のプルーフリーディング活性を有する酵素を使用可能です。
なお、使用を検討されている酵素の使用可否については、見積もり時にご確認ください。また、ORN は、RPA 法や LAMP 法等の DNA 増幅法でも使用可能です。

ご要望にあわせて ORN をデザインします。詳細はお問合せください。

記事 ID 検索 37037

詳しい情報は コスモ・バイオ Web サイトへ

コスモ・バイオ Web サイトトップページ「記事 ID 検索」に、記事 ID で示された数字を入力して検索してください。ダイレクトにページへ行くことができます。

関連商品：デザイン済み ORN 詳細は… 記事 ID 検索 38983

各種遺伝子の変異検出用にデザインされた ORN を販売しております。SARS-CoV-2 の変異の種類を判別できる ORN もございます。

人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

お問い合わせ
創薬・受託サービス部　TEL: (03)5632-9615
URL : https://www.cosmobio.co.jp/

Kg スケールでも対応が可能です。

鶏卵バイオリアクターを用いた
組換えタンパク質大量生産受託サービス

※本事業は、国立研究開発法人 産業技術総合研究所、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構、C4U 株式会社からライセンスを受けて実施しております。

人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

お問い合わせ
事業開発部　E-mail: tamago@cosmobio.co.jp
URL : https://www.cosmobio.co.jp/