





この Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2022では、2022年の1年間に *Science Translational Medicine* 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、Science Translational Medicine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、2023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 https://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 Office 〒541-0046 大阪市中央区平野町1-8-13 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 〒150-0001 東京都渋谷区神宮前 2-4-11 Daiwa 神宮前ビル 1F・2F TEL: 03-6863-3500 FAX: 03-6682-4375 https://www.daishinsha-cd.jp/



発行日

2023年3月

Science Translational Medicine

Japanese Scientists in Science Translational Medicine 2022

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

Science Translational Medicineは、患者の生活を改善するという目標に向けた進歩に関する研究を報告する査読済みの科学誌であり、2009年、米国科学振興協会(AAAS)の公式刊行物、週刊のオンラインジャーナルとして創刊されました。

Science Translational Medicineの目標は、医学に関連するすべての確立された分野 および新興分野における生物医学、トランスレーショナル、および臨床研究者からの最新 の研究の進歩を伝える場所を提供し、人間の健康を促進することです。

扱う領域は、心血管疾患、免疫学/ワクチン、代謝/糖尿病/肥満、神経科学/神経学/精神医学、がん、感染症、政策、行動、生物工学、化学ゲノミクス/創薬、イメージング、応用物理科学、医療ナノテクノロジー、薬物送達、バイオマーカー、遺伝子治療/再生医療、毒物学および薬物動態学、データマイニング、細胞培養、動物およびヒト研究、医療情報学などです。

この冊子には、2022年にScience Translational Medicine で発表された17件の研究を紹介させていただきました。日本語によるアブストラクトと、各論文の著者の方々より寄稿いただいた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。

本誌は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。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ことを目的としています。

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。

> 2023年3月 編集チーム一同



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 **Science.org/journals**



Japanese Scientists in Science Translational Medicine 2022 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

1月19日号 RESEARCH ARTICLE	シャペロンBAG5の機能喪失型バリアントが	j 6
	Loss-of-function mutations in the co-chaperone protein latransplantation	
	大阪大学大学院 医学系研究科 循環器内科学 特任研究員	伯井 秀行
	大阪大学大学院 医学系研究科 循環器内科学 助教	木岡 秀隆
	大阪大学大学院 医学系研究科 循環器内科学 教授	坂田 泰史
	国立循環器病研究センター ゲノム医療部門 同バイオバンク長、同メディカルゲノムセンター 副センター長 大阪大学大学院 医学系研究科 循環器内科学 特任准教授(常勤)	朝野 仁裕
2月16日号 RESEARCH ARTICLE	新規抗CD98重鎖抗体は広汎に発現する蛋 多発性骨髄腫細胞上のCD98重鎖にのみ特	白を認識するにもかかわらず 異的に結合する8
	Selective targeting of multiple myeloma cells with a mo CD98 heavy chain	onoclonal antibody recognizing the ubiquitous protein
	大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫細胞治療学 特任	助教 長谷川 加奈
	大阪大学大学院 医学系研究科 血液・腫瘍内科学 教授 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫細胞治療学 教授	保仙 直毅
3月2日号 RESEARCH ARTICLE	腎臓オルガノイドにおける損傷および修復モラ	
	相回組換えか肯尿細官の内因性修復を文質 Modeling injury and repair in kidney organoids reveals intrinsic repair	ピレていることが明らかに
	Assistant Professor, Nephrology Division, Department of	Medicine, Massachusetts General Hospital 森實 隆司
5月11日号 RESEARCH ARTICLE	ステムループを標的とするアンチセンスオリゴン Rognoso 1発用の推論により条定性症患を集	ヌクレオチドを用いた 引御する12
	Enhancement of Regnase-1 expression with stem loop-inflammatory diseases	
	京都大学大学院 医学研究科 医学専攻分子生体統御学講座 医化学	学分野 教授 竹内 理
5月18日号	TSLP受容体陽性制御性T細胞がヒトとマウ	7スの大腸がん進行に関与する14
RESEARCH ARTICLE	Emerging role for thymic stromal lymphopoietin-respo progression in humans and mice	
	Staff Scientist, Center for Fundamental Immunology, Bena	aroya Research Institute 二宮(小畑) 一茂
5月25日号 RESEARCH ARTICLE	皮下脂肪組織内のシュワン細胞は神経幹細 再生医療に用いることができる	胞様の性質を有し、 16
	Schwann cells in the subcutaneous adipose tissue have therapies	
	Assistant Professor, Department of Pediatric Surgery, Ma Harvard Medical School 堀田 亮	
	Instructor, Department of Pediatric Surgery, Massachuset	ts General Hospital,

Harvard Medical School Rhian Stavely

5月25日号	共通のCDRH3配列モチーフを持ち、			
RESEARCH ARTICLE	サルベコウイルスを広範囲に中和できる抗体			
	An antibody class with a common CDRH3 motif broadly neutralizes sarbecoviruses			
	Postdoctoral Research Scientist, Aaron Diamond AIDS Research C			
	Columbia University Vagelos College of Physicians and Surgeons	心台 翔		
	Professor, Aaron Diamond AIDS Research Center, Columbia University Vagelos College of Physicians and Surgeons	计 守哉		
		<i>~</i> 3 <i>~</i> 4		
6月1日号	機械受容イオンチャネルPIEZO1は腱で発現し			
RESEARCH ARTICLE	運動能力を制御している		20	
	The mechanosensitive ion channel PIEZO1 is expressed in tendons and regulates physical performance			
	岡山大学大学院 医歯薬総合研究科 整形外科 医員			
	東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 非常勤講師 Professional Scientific Collaborator, Department of Molecular Medicine, Scripps Research 中道 亮			
		野々山 貴行	lesearch 中足力	
		福典之		
	東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 教授			
	来示医科图科人子人子院 医图子检口侧九科 教育 Professor, Department of Molecular Medicine, Scripps Research	淺原 弘嗣		
6月22日号	高親和性 ACE2デコイは免疫逃避性を示す			
RESEARCH ARTICLE	オミクロン株に対しても治療有効性を有する		22	
	An engineered ACE2 decoy neutralizes the SARS-CoV-2 Omicro infection in vivo	on variant and	confers protection against	
	京都府立医科大学大学院 医学研究科 循環器内科学 博士課程 池村 奈	利子		
	京都府立医科大学大学院 医学研究科 循環器内科学 講師 星野 温	1.3.3		
6月22日号	非アルコール性脂肪性肝疾患における			
RESEARCH ARTICLE	肝細胞がんリスク予測のための分子シグネチャー …		24	
	Molecular signatures of long-term hepatocellular carcinoma risk	in nonalcoholic	fatty liver disease	
	Research Scientist, Division of Digestive and Liver Diseases,			
	Department of Internal Medicine, University of Texas Southwester	n Medical Cent	er 藤原 直人	
	(現 三重大学医学部附属病院 消化器病センター 助教)		旅床 巨八	
	東京大学医学部附属病院 消化器内科 特任講師 (現 三重大学医学部附属病院 消化器病センター 教授)		中川 勇人	
	Professor, Division of Digestive and Liver Diseases,			
	Department of Internal Medicine, University of Texas Southwester	n Medical Cent	er 星田 有人	
7月27日号 RESEARCH ARTICLE	マウスでは腸内細菌叢によるヒスタミン産生により	1月. 18三千36 6	1. 7	
RESEARCHARTICLE	ヒスタミン4受容体シグナル伝達を介して内臓痛覚過			
	Histamine production by the gut microbiota induces visceral hyp signaling in mice	peralgesia thro	ugh histamine 4 receptor	
	Research Associate, Farncombe Family Digestive Health Research	Institute McM:	aster University	
			新堀 智子	
	Assistant Professor, Farncombe Family Digestive Health Research	Institute, McMa	The state of the s	
			Giada De Palma	
	Assistant Professor, Gastrointestinal Diseases Research Unit, Quee	en's University	David E. Reed	

8月10日号 RESEARCH ARTICLE	Neuroblastoma suppressor of tumorigenicity 1(NBL1)は糖尿病患者における末期腎不全への進行と関連した循環血中		っる	28
	Neuroblastoma suppressor of tumorigenicity 1 is a circulating protein associate kidney disease in diabetes	ted with progre	ession to end-stage	
	日本学術振興会 海外特別研究員, Section on Genetics and Epidemiology, Research Joslin Diabetes Center, Harvard Medical School (現日本大学医学部内科学系腎臓高血圧内分泌内科学分野助教) 小林 洋輝	Division,		
9月28日号 RESEARCH ARTICLE	マウスにおいて新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)感染は線維伴う慢性的な肺上皮および免疫細胞の機能障害を引き起こす			30
	SARS-CoV-2 infection produces chronic pulmonary epithelial and immune cell	dysfunction w	ith fibrosis in mice	
	Assistant Professor, Marsico Lung Institute, University of North Carolina at Chap	el Hill 奥田 i	兼一	
	Postdoctoral Research Associate, Marsico Lung Institute, University of North Car (現 北里大学 薬学部臨床医学 生体制御学 講師)	rolina at Chapel 朝倉 爿		
11月23日号	RBM20の病原性変異をゲノム編集することで拡張型心筋症を	と治療する		32
RESEARCH ARTICLE	Precise genomic editing of pathogenic mutations in RBM20 rescues dilated ca	ardiomyopathy		
	Postdoctoral fellow, Department of Molecular Biology, University of Texas South	nwestern Medic		
	Professor, Department of Molecular Biology, University of Texas Southwestern A	Medical Center	西山 崇比古 Eric N. Olson	
11月30日号 RESEARCHARTICLE	スプライスネオ抗原の化学誘導は 大腸がんの動物モデルにおいて腫瘍増殖を抑制する			34
	Chemical induction of splice-neoantigens attenuates tumor growth in a preclin	nical model of c	olorectal cancer	
	京都大学大学院 医学研究科 形態形成機構学教室 教授 萩原 正敏			
	京都大学大学院 医学研究科 創薬医学講座 特定講師 網代 将彦			
	京都大学大学院 医学研究科 形態形成機構学教室/創薬医学講座 博士課程 杏林製薬株式会社 わたらせ創薬センター 副主任研究員 松島 慎吾			
12月14日号 RESEARCH ARTICLE	多発性硬化症の発症に関連するヒストンデアセチラーゼ7(HD) 遺伝子変異は制御性T細胞の恒常性維持を介して作用する			36
	\boldsymbol{A} multiple sclerosis–protective coding variant reveals an essential role for $\boldsymbol{H}\boldsymbol{I}$	OAC7 in regula	tory T cells	
	Assistant Professor, Department of Neurology, Yale School of Medicine	住田 智	_	
	PhD Candidate, Department of Immunobiology, Yale School of Medicine	吉田朋	美	
	Post Doc, Department of Neurology, Yale School of Medicine		Paul Axisa	
	Professor, Departments of Neurology and Immunobiology, Yale School of Medic	tine David A	A. Hafler	
12月14日号 RESEARCH ARTICLE	進行非小細胞肺がん患者に対する ベザフィブラートとニボルマブによる併用療法			38
	Combination bezafibrate and nivolumab treatment of patients with advanced	non-small cell	lung cancer	
	九州大学大学院 医学研究院 呼吸器内科学分野 准教授	田中 謙太郎		
	京都大学大学院 医学研究科附属がん免疫総合研究センター 免疫ゲノル医学 特定准教授 マ	茶本 健司		

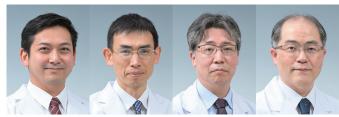
H. Hakui *et al.*, *SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE* 19 Jan 2022: Vol 14, Issue 628 DOI: 10.1126/scitransImed.abf3274

オンライン版URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abf3274



シャペロンBAG5の機能喪失型バリアントが 心臓移植を要する拡張型心筋症を引き起こす

Loss-of-function mutations in the co-chaperone protein BAG5 cause dilated cardiomyopathy requiring heart transplantation



左から伯井 秀行、木岡 秀隆、坂田 泰史、朝野 仁裕

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

伯井 秀行 Hideyuki Hakui

大阪大学大学院 医学系研究科 循環器内科学 特任研究員

木岡 秀隆 Hidetaka Kioka

大阪大学大学院 医学系研究科 循環器内科学 助教

坂田 泰史 Yasushi Sakata

大阪大学大学院 医学系研究科 循環器内科学 教授

朝野 仁裕 Yoshihiro Asano

国立循環器病研究センター ゲノム医療部門 同バイオバンク長、同メディカルゲノムセンター 副センター長 大阪大学大学院 医学系研究科 循環器内科学 特任准教授(常勤)

朝野 仁裕 E-mail:asano.yoshihiro@ncvc.go.jp 所在地:564-8565 大阪府吹田市岸部新町6-1



木岡 秀隆 E-mail: kioka@cardiology.med.osaka-u.ac.jp 所在地:565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2 U R L: http://www.cardiology.med.osaka-u.ac.jp/

Abstract

拡張型心筋症(DCM)は心臓移植を要する心不全の主な原因であり、左心室の拡張と収縮機能障害を特徴とする。現在まで家族性DCMの遺伝解析から50を超える遺伝子が原因遺伝子として報告されており、遺伝情報に基づく精密な疾患層別化が必要である。しかし、依然として60~80%の家族性DCM症例の原因遺伝子は不明である。今回、血縁関係のない4家系・5症例において、Bcl-2-associated athanogene (BAG) co-chaperone 5遺伝子(BAG5)のホモ接合型トランケーションバリアントが、完全浸透により遺伝性DCMを引き起こすことを特定した。BAG5は熱ショックタンパク質であるHeat shock cognate 71 kDa protein (HSC70)のヌクレオチド交換因子として作用し、アデノシンニリン酸の放出を促進することでHSC70介在性のタンパク質フォールディングを活性化させる。Bag5バリアントノックイン(KI)マウスはカテコラミン刺激下で左心室の拡張、催不整脈性、生命予後の悪化を示し、ヒトDCM表現型を再現し、アデノ随伴ウイルスベクターを用いた野生型BAG5遺伝子の補充により、これらのDCM表現型を十分に改善することができた。免疫染色により、BAG5はカルシウムハンドリングの形成に重要な細胞内マイクロドメインであるJunctional membrane complexes(JMC)に局在することが明らかになった。Bag5バリアントKIマウスの心筋細胞は、カテコラミン刺激下で機能的JMCタンパク質の発現量減少、JMC構造の破綻、カルシウムハンドリングの異常を示した。さらに、カルシウムハンドリング異常が関連する可逆性DCMサブタイプである頻拍誘発性心筋症3症例において、BAG5のヘテロ接合型トランケーションバリアントも同定された。本研究により、BAG5の機能喪失型バリアントはDCMを引き起こすこと、BAG5はDCMの個別化医療に向けた遺伝子検査の標的となり、遺伝子治療が本疾患の有効な治療法となりうることが示唆される。



難治性心筋症に挑む!

大阪大学医学部附属病院は心臓移植実施認定施 設であり、軽症から最重症まで、すべての心筋症 患者さんの診療をさせていただいています。この 研究は、阪大病院で心臓移植を受けられた患者 さんのご協力を得て行われました。心筋症の診療 に取り組み続けてきた基盤があり、さらにベッド サイドの医師とベンチの研究者の距離が近いとい う土壌があったからこそ、「大阪から世界へ」と発 信できた研究と言えます。私たちは、「大阪発の 新しい循環器医療を世界の患者さんに届ける」を 合言葉とし、心臓移植に代わる新しい治療を提供 することを目指して、引き続き心筋症の分子病態 解明とトランスレーショナル研究に取り組んで参 ります。ベッドサイドからベンチまでを一貫して高 いレベルで経験できるチームで、難治性心筋症に 挑もうとする熱意を持つPhysician Scientist 仲 間をお待ちしています。

心臓移植を要する拡張型心筋症の新規原因遺伝子を発見 ~心筋症の精密医療への臨床応用に期待~

治療抵抗性の重症心不全を引き起こす拡張型心筋症は、国内における心臓移植の主因を占める指定難病です。これまでに発症原因として遺伝素因が関わることが知られていましたが、その病態分子機序は充分に解明されておらず、現代の医療において根治的な治療法は存在しません。

今回私たちは、学童期に心臓移植を受けた拡張型心筋症の家系に対して全エクソーム解析を用いた網羅的ゲノム解析を行い、新規の疾患原因遺伝子であるBcl-2-associated athanogene (BAG) co-chaperone 5遺伝子(BAG5)のホモ接合型トランケーションバリアントを複数同定しました。同遺伝子バリアントを有する5名の拡張型心筋症患者さんたちは、全員が若年のうちに心臓移植を必要とする重篤な心不全を発症しました。BAG5は、分子シャペロンであるHeat shock cognate 71 kDa protein(HSC70)に対して、ヌクレオチド交換因子として作用することで基質タンパク質のフォールディング活性を上昇させる、いわゆるコシャペロンとして機能することが知られており、本研究で同定したBAG5遺伝子バリアントによってBAG5のコシャペロン機能が喪失することを明らかにしました。次に、心筋細胞内においてBAG5が、横行小管や筋小胞体などから構成されるJunctional membrane complex (JMC)に局在することを示し、心臓におけるBAG5/HSC70シャペロン複合体の基質タンパク質として、興奮収縮連関に重要な役割を担うJMCタンパク質群を同定しました。さらに、BAG5機能喪失型バリアントによってJMCタンパク質群に対する恒常性維持機構が障害されることで、心筋細胞の横行小管構造の破綻とカルシウムハンドリングの異常をきたすことを明らかにしました。最後に、CRISPR-Cas9システムを用いて、マウスの内在性BAG5遺伝子にヒトと同一の機能喪失型バリアントを導入して作成したノックインマウスは、心拡大ならびにカテコラミン刺激下における生存率の低下や催不整脈性などの疾患表現型を呈し、正常BAG5遺伝子を搭載したアデノ随伴ウイルスベクターを投与することでノックインマウスの疾患表現型を改善できることを明らかにしました。

本研究によって、拡張型心筋症の新規原因遺伝子が同定され、JMCタンパク質恒常性維持機構の障害という病態メカニズムが心不全の発症につながるという新たな疾患概念が提唱されました。また、BAG5遺伝子の機能喪失型バリアントを対象とした遺伝解析を行うことは、拡張型心筋症に対する早期診断・治療介入における臨床的有用性が考えられます。最後に、遺伝子治療を含めた今後のさらなる研究によって、重症心不全を引き起こす難治性心筋症の新規治療法が開発されることが望まれるとともに、ゲノム解析による心筋症に対する精密医療への臨床応用につながることが期待されます。

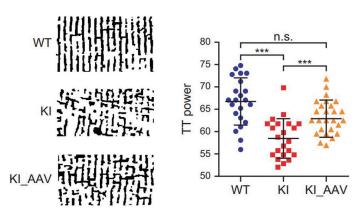


図1:成獣マウス単離心筋細胞の横行小管イメージング

BAG5遺伝子バリアントノックインマウス(KI)では心筋横行小管(T管)構造破綻を認め、AAVによる正常BAG5遺伝子補充(KI_AAV)により回復した。生細胞染色によるT管ライントレース(左)とT管規則性の定量評価(右)。

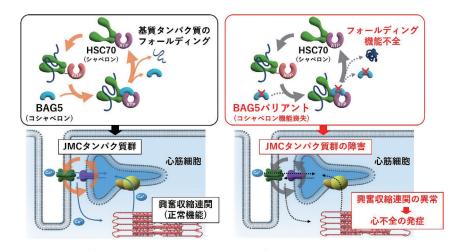


図2:BAG5遺伝子バリアントによる心不全発症の病態メカニズム

BAG5機能喪失型バリアントはコシャペロン機能を喪失しており、基質タンパク質である心筋細胞内のJMCタンパク質群が障害されることで興奮収縮連関の異常をきたし心不全が発症する。

K. Hasegawa et al., SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE 16 Feb 2022: Vol 14, Issue 632 DOI: 10.1126/scitransImed.aax7706

オンライン版 URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.aax7706



新規抗CD98重鎖抗体は広汎に発現する蛋白を認識するにもかかわらず 多発性骨髄腫細胞上のCD98重鎖にのみ特異的に結合する

Selective targeting of multiple myeloma cells with a monoclonal antibody recognizing the ubiquitous protein CD98 heavy chain



左から長谷川 加奈、保仙 直毅

長谷川 加奈 Kana Hasegawa

大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫細胞治療学 特任助教

保仙 直毅 Naoki Hosen

大阪大学大学院 医学系研究科 血液・腫瘍内科学 教授 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫細胞治療学 教授

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

長谷川 加奈

E-mail: hasegawa@bldon.med.osaka-u.ac.jp 所在地: 565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2 保仙 直毅

E-mail:hnaoki@bldon.med.osaka-u.ac.jp 所在地:565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2

U R L: http://www.ifrec.osaka-u.ac.jp/jpn/laboratory/naoki_hosen/

Abstract

モノクローナル抗体(mAb)をベースにしたがん免疫療法の開発のためには、がん特異的な細胞表面抗原の同定が必要である。本稿でわれわれは、新たに単離したmAbが、広汎に発現する蛋白であるCD98重鎖(hc)(別名、SLC3A2)を認識するにもかかわらず、いまだに治癒が困難な造血器腫瘍である多発性骨髄腫(MM)に特異的に結合することを報告する。われわれはMM細胞に対するmAbを10,000クローン以上作製し、MM細胞に結合するが正常造血細胞および非造血細胞には結合しないmAbとしてR8H283を同定した。また、R8H283はCD98重鎖を抗原とすることを明らかにした。R8H283は単量体のCD98重鎖とは反応しなかったが、CD98軽鎖(CD98lc)とヘテロ二量体を形成したCD98重鎖とは結合した。このCD98軽鎖とCD98重鎖の複合体は、アミノ酸トランスポーターとして機能し、免疫グロブリンの恒常的産生のために必要なアミノ酸を取り込むためにMM細胞上に豊富に存在する。一方、正常な白血球上にもCD98ヘテロ二量体は存在するが、R8H283はそれらと反応しなかった。MM細胞と正常白血球に発現するCD98重鎖のN型糖鎖修飾には違いがあり、このことが、R8H283が正常白血球とは反応しない原因と考えられた。骨髄腫細胞を移植した免疫不全マウスにR8H283を投与すると、正常な造血細胞は傷害されることなくMM細胞は完全に排除された。これらの結果は、R8H283が抗体医薬としてはもちろん、mAbをベースにした治療に応用可能であることを示唆しているのみならず、ヒト腫瘍検体を用いた広範なスクリーニングを行うことで、従来の解析法では同定できないような、がん特異的ではない蛋白の翻訳後変化によって生じるがん特異的抗原構造を同定することが可能であることを示している。



日本発の新しいがん治療の 開発を目指して

私たちの研究室では、がん細胞に結合するモノクローナル抗体を自作し、がん細胞に発現するユニークな抗原を探索するプロジェクトを長年行ってきました。多発性骨髄腫に特異的に発現する活性化型インテグリンβ7を認識する独自の抗体を取得し、それを元に開発されたキメラ抗原受容体(CAR)-T細胞療法は、臨床応用に向けて治験が行われています。現在研究室には血液内科医だけでなく、各種のがんを専門とする科の大学院生や、PhD、そして企業からの研究者など、多様な人々が集い、わが国発のがんに対する新しい遺伝子細胞治療の開発を目指して、楽しく頑張っております。

多発性骨髄腫に対する新規治療用抗体

多発性骨髄腫は抗体を産生する形質細胞が腫瘍化した血液がんで、最も頻度の高い血液がんの一つです。新規治療の導入により患者の予後は大幅に改善したものの、いまだに治癒は極めて困難な疾患です。中でも、骨髄腫細胞表面に発現する抗原を標的としたモノクローナル抗体を用いた抗体医薬や、抗体を元に作製されたキメラ抗原受容体(CAR)-T細胞療法は、骨髄腫患者の予後を大幅に改善しました。しかしながら、治癒は極めて難しいのが現状です。その原因として、それらの治療の標的となる抗原が失われることがあげられます。したがって、複数の抗原を標的とした治療が必要であり、さらなる多発性骨髄腫特異的細胞表面抗原の同定が必要とされています。しかしながら、トランスクリプトーム・プロテオーム解析などの網羅的解析法を用いた骨髄腫特異的蛋白や遺伝子の探索は世界中で盛んに行われており、従来の解析法で同定できる抗原は同定し尽くされていると考えられました。

私たちは、骨髄腫細胞に結合するモノクローナル抗体を10,000クローン以上自作し、骨髄腫細胞には結合する一方で、正常血液細胞には結合しない抗体R8H283を単離しました。R8H283の抗原を同定したところCD98重鎖であることがわかりました。不思議なことに、CD98重鎖は正常の血液細胞などで広汎に発現している蛋白であるにもかかわらず、R8H283は骨髄腫細胞にのみ特異的に結合しました。詳細な解析により、骨髄腫細胞と正常血液細胞の間で、CD98重鎖に付着するN型糖鎖修飾が異なることがわかり、さらにR8H283の結合はCD98重鎖に付着するN型糖鎖の変化により大きく影響を受けることがわかりました。R8H283を、骨髄腫細胞を移植した免疫不全マウスに投与したところ、正常造血細胞は傷害されることなく骨髄腫細胞が選択的に排除されました。

これらの結果は、R8H283が抗体医薬としてはもちろん、CAR-T細胞などの派生物などにも応用できる可能性を示したのみならず、 発現自体はがん特異的ではない蛋白が、翻訳後の変化によりがん特異的抗原になりうることを示しています。このような抗原は従来 の網羅的解析法では同定できないので、同様の患者がん検体を用いたがん特異的抗体のスクリーニングの手法を用いれば、他のが ん種においても新たながん特異的抗原構造が見つかる可能性があります。

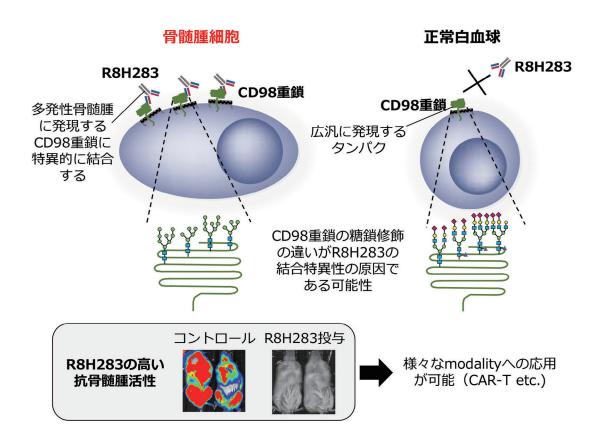


図: 新規抗CD98重鎖抗体R8H283は骨髄腫を選択的に標的とし傷害する

広汎に発現するCD98重鎖蛋白を認識する抗体でありながら骨髄腫に特異的に結合するR8H283は、抗体医薬やCAR-T細胞などの抗体の派生物を利用した治療に応用できる可能性がある。

N. Gupta et al., SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE 2 Mar 2022: Vol 14, Issue 634 DOI: 10.1126/scitransImed.abj4772

オンライン版 URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abj4772

腎臓オルガノイドにおける損傷および修復モデルの解析から、 相同組換えが腎尿細管の内因性修復を支配していることが明らかに

Modeling injury and repair in kidney organoids reveals that homologous recombination governs tubular intrinsic repair



森實 隆司 Ryuji Morizane

Assistant Professor, Nephrology Division, Department of Medicine, Massachusetts General Hospital

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

E-mail:rmorizane@mgh.harvard.edu

所在地: 149 13th street, Charlestown, MA 021291, USA

U R L:https://connects.catalyst.harvard.edu/Profiles/display/Person/114178

Abstract

腎臓は内因性修復能を有し、尿細管損傷後にも元の状態に回復し腎臓の構築を維持することができる。ただし、損傷が重大であったり繰り返したりすることでその修復能を超え、修復が不完全となった場合、正常な腎実質に代わって線維化組織が蓄積されることになる。ネフロンの喪失は腎機能の低下と関連する。これが慢性腎臓病(CKD)であり、世界中の人々の罹病と死亡の大きな原因となっている。内因性修復に関する経路はいくつか同定されているものの、CKDの治療法は限られている。これは一部には、動物試験では疾患再現性が低く、そこから予測されるものも限られるためである。今回われわれは、ヒト腎臓オルガノイドによって内因性修復から不完全修復までの移行をモデル化できることを明らかにした。腎臓オルガノイドをシスプラチン処理した後Single-nuclear RNA sequencingを行い、内因性修復中の尿細管細胞において差次的に発現する159の遺伝子と29のシグナル経路を同定した。Fanconi anemia complementation group D2(FANCD2)およびRAD51リコンビナーゼ(RAD51)をはじめとする相同組換え修復(HDR)遺伝子は、内因性修復の間は一過性にアップレギュレートされていたが、不完全修復時にはダウンレギュレートされていた。閉塞性および血行動態的な腎損傷マウスモデル、ならびに免疫性損傷が認められるヒト腎検体を用いたシングルセルRNA-seq解析から、尿細管修復の間はHDRがアップレギュレートされていることが確認された。一方、尿細管損傷と様々な程度の線維化が認められる腎生検検体から、不完全修復においてはFANCD2が欠失していることが確認された。最後にわれわれは、シスプラチン誘導性のオルガノイド損傷モデルを用いて選択的薬物スクリーニングを行い、FANCD2/RAD51を介した修復を回復させCKDの進行を防ぐ治療薬候補として、DNAリガーゼIV阻害物質SCR7を同定した。これらの知見から、病理学的経路および治療薬候補を同定するうえで、腎臓オルガノイドのトランスレーショナル研究が有用であることが立証された。



MGHラボ

Massachusetts General Hospitalは、米国ボストンにある、Harvard大学医学部の教育病院です。腎臓オルガノイドの研究に興味がある方は、ぜひ遊びに来てください。

ヒト腎臓オルガノイドを用いて腎臓修復能を初めて解析

慢性腎臓病(CKD)は、成人の10%以上が患う慢性疾患で、腎機能の継続的な低下から末期腎不全に至ります。末期腎不全では、血液透析を主体とした腎代替療法が必要となり、患者さんのQuality of life(QOL)を著しく損います。現在、CKDに対する治療は対症療法が主体となっており、腎臓障害に対する根治的な治療法は存在しません。2015年に、私たちはヒト腎臓オルガノイドという新しい研究モデルを開発し、CKDの研究への応用を目指しました。

腎臓オルガノイドが開発された当初は、腎臓の発生段階と類似した未分化な状態であると考えられていました。本研究では、2ヵ月にわたる長期の培養で、細胞分裂が終了している腎ネフロン上皮へと分化が進むことを確認しました。これは、機能性を持った後腎への分化を模倣した結果に起因していると考えられました。このように成熟が進んだ段階から尿細管障害を惹起することで、細胞が再分裂を開始し障害を修復するという過程を模倣することに成功しました。この細胞修復過程は、シスプラチンの反復投与の後、細胞の分裂による修復ができない不完全修復へと移行し、CKDの特徴である線維化、G2/M cell cycle arrestといった所見を伴いました。細胞修復に必要な遺伝子を同定するため、修復過程にある尿細管細胞と不完全修復の状態にある細胞を、Single cell RNA-seqで解析しました。その結果、FANCD2やRAD51といったDNAの相同組み換えによる修復を行う遺伝子が、細胞修復過程において有意に発現しており、不完全修復の際には低下していることが明らかとなりました。これらの結果に基づき、RAD51を介した相同組み換えを促進するDNA ligase IV阻害薬を使用したところ、腎オルガノイドにおいて尿細管細胞の修復能の改善がみられ、線維化の進行が抑制されました。とトCKD患者さんの腎臓組織においても、CKDの進行とともにFANCD2の発現が減少しており、DNA修復能をサポートする薬剤が新たなCKDの治療薬となりうることを示唆しました。

本知見に基づいて、ヒト腎臓オルガノイドが今後 CKDの研究に応用され、動物モデルとは違った新規の病態解明ツールとして実用 化されることが期待されます。また、DNA の修復をサポートする薬剤が CKD 新規治療薬となる可能性があります。

DAPI CDH1 CD31 PODXL LTL DAPI PDGFRß CD31 CDH1 LTL

図:ヒト腎臓オルガノイド

ヒト多能性幹細胞から分化誘導した腎臓オルガノイドの組織像。足細胞(PODXL)、近位尿細管(LTL)、遠位尿細管(CDH1)、血管内皮細胞(CD31)、間質細胞(PDGFR β)など、複数の細胞を含む。

K. M. Tse et al., SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE 11 May 2022: Vol 14, Issue 644 DOI: 10.1126/scitransImed.abo2137



オンライン版URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abo2137

ステムループを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いた Regnase-1発現の増強により炎症性疾患を制御する

Enhancement of Regnase-1 expression with stem loop-targeting antisense oligonucleotides alleviates inflammatory diseases



竹内 理 Osamu Takeuchi 京都大学大学院 医学研究科 医学専攻分子生体統御学講座 医化学分野 教授

べての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

E-mail: otake@mfour.med.kvoto-u.ac.ip 所在地:606-8501 京都府京都市左京区吉田近衛町 URL: https://mc.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/

Abstract

Regnase-1は、3'非翻訳領域(3'UTR)のステムループ(SL)構造を認識することで免疫応答に関わるメッセンジャー RNA(mRNA)を 分解する、炎症制御に必須の役割を担うRNA分解酵素である。マウスおよびヒトにおいて、Regnase-1の発現制御の異常が炎症性 疾患および自己免疫疾患の病態形成に関わっている。今回われわれは、Regnase-1の自己制御を阻害することにより炎症反応を抑 制するという治療戦略を開発した。Regnase-1の自己制御の阻害には、2つのアンチセンス・ホスホロジアミデートモルホリノオリ ゴヌクレオチド(MO)を併用し、その3'UTRのSL構造に対するRegnase-1の結合状態を変化させた。Regnase-1を標的とする MOは、mRNAを安定化させることでRegnase-1の発現を増強するだけでなく、マクロファージでRegnase-1により制御されてい る複数の炎症性遺伝子の発現も効果的に低下させた。Regnase-1を標的とするMOを気管内投与したところ、炎症カスケードの抑 制を介して急性呼吸窮迫症候群および線維性慢性疾患が改善した。加えて、Regnase-1を標的とするMOの頭蓋内投与により、ミ クログリアおよび制御性T細胞集団の増殖を促進することで、実験的自己免疫性脳脊髄炎の病態が抑制された。多発性硬化症の患 者においてRegnase-1の発現は疾患重症度と逆相関を示し、ヒトRegnase-1のSL構造を標的とするMOは、ヒト免疫細胞におけ るサイトカイン産生の抑制に有効であった。以上より、MOを介したRegnase-1自己制御経路の阻害は、Regnase-1の存在量を増 大させ、ひいては免疫を抑制することで炎症性疾患に治療効果をもつ、一つの治療戦略候補である。



RNA制御による免疫疾患の 治療法開発に向けて

RNAを標的とした転写後制御は、これま で免疫領域であまり着目されてきませんで したが、最近になりその重要性が明らかと なってきています。私たちの研究室では、 RNAを通じた新たな免疫制御機構の解明 を進めるとともに、その機構を利用した新 たな治療法開発にも挑戦していきたいと 考えています。興味のある方がおられまし たら気軽にご連絡ください。

Regnase-1のmRNA構造標的オリゴ核酸による炎症制御法の開発

免疫細胞は、感染に対して活性化し、サイトカインなどを産生して炎症を起こします。適度な免疫活性化は病原体の排除に重要ですが、過剰な炎症は様々な炎症性疾患の発症につながります。免疫細胞の活性化は、普段は緻密に制御され、過剰な活性化は防がれており、その抑制機構の一つとして、mRNAの量の調節があります。Regnase-1はサイトカインなどのmRNAを分解する酵素であり、免疫応答のブレーキとして機能します。Regnase-1は、mRNAの3'非翻訳領域に存在するステムループ構造を認識し分解します。マウスでRegnase-1が欠損すると免疫系が過剰に活性化し自己免疫疾患を発症しますが、ヒトでも潰瘍性大腸炎や特発性肺線維症などにRegnase-1制御が重要であることが明らかとなっています。

したがって、Regnase-1は、炎症性疾患の新たな疾患治療標的となると考えられますが、これまでRegnase-1を標的とした治療法は開発されていませんでした。

そこで、Regnase-1の働きを高めることで免疫応答にブレーキをかける手法の開発に取り組みました。そのため、Regnase-1のmRNA 自身がステムループ構造を持ちRegnase-1により分解されるという、Regnase-1発現の自己制御機構を利用することにしました。ステムループ構造を壊すことでRegnase-1の自己制御を阻害し、増加したmRNAから多くのRegnase-1タンパク質を作らせることを目的として、2ヵ所のステムループ構造に相補的に結合するモルフォリノ修飾オリゴ核酸(MO)を設計しました。このRegnase-1標的MO核酸をマクロファージなどの細胞に導入すると、Regnase-1のmRNAやタンパク質量が増加し、病原体成分による刺激に対するIL-6などの炎症性サイトカイン産生を抑制しました。

また、Regnase-1標的MO核酸をマウスの急性呼吸窮迫症候群モデルや、肺線維症モデル、自己免疫疾患である多発性硬化症モデルに対し投与したところ、いずれのモデルにも改善効果を示しました。

Regnase-1の自己制御を標的としたMO核酸は、マウスにおいてRegnase-1の発現を上昇させて免疫応答を抑制し、炎症性疾患を改善することを見出しました。ヒト細胞でも、ヒト用に設計したRegnase-1標的MO核酸が効果を示しており、将来的には、ヒトの難治性の炎症性疾患の治療に発展させていきたいと考えています。

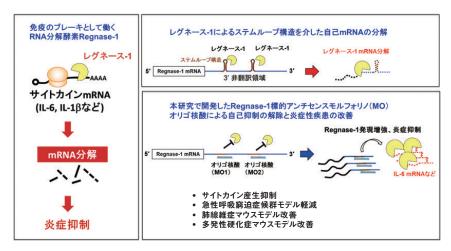


図1: Regnase-1 を標的とした炎症制御法の開発

Regnase-1によるRNA分解を通じた炎症抑制メカニズム(左)と、Regnase-1による自己mRNA分解を標的にしたアンチセンスオリゴ核酸による新たな炎症制御法の開発(右)を示す。

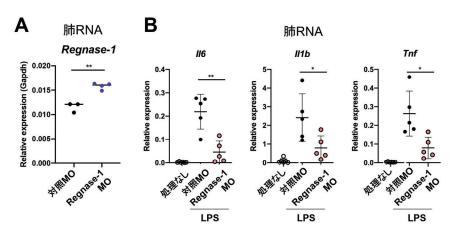


図2: Regnase-1 標的MO核酸の急性呼吸窮迫症候群に対する効果

(A) Regnase-1 構造標的MO 核酸をマウスに経気道的に投与後、肺におけるRegnase-1 発現を定量した。 (B) MO 核酸投与後 LPS を散布し、肺組織における各サイトカイン発現を定量した。

K. Obata-Ninomiya et al., SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE 18 May 2022: Vol 14, Issue 645 DOI: 10.1126/scitransImed.abl6960

カンライン版URL:https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abl6960



TSLP 受容体陽性制御性 T 細胞が ヒトとマウスの大腸がん進行に関与する

Emerging role for thymic stromal lymphopoietin-responsive regulatory T cells in colorectal cancer progression in humans and mice



二宮(小畑) 一茂 Kazushige Obata-Ninomiya

Staff Scientist, Center for Fundamental Immunology, Benaroya Research Institute

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

E-mail: KNinomiya@benaroyaresearch.org

所在地: 201 Ninth Avenue, Seattle, WA 98101-2795, USA

URL: https://www.benaroyaresearch.org/what-is-bri/scientists-and-laboratories/principal-scientist-labs/ziegler-laboratory

Abstract

制御性 T細胞(Treg) の浸潤は、がんの悪化の重要な因子の一つである。本研究では、サイトカインであるthymic stromal lymphopoietin(TSLP)が大腸がんから産生され、腫瘍におけるTregの機能に影響を及ぼすことを見出した。われわれは、ヒトとマウスの大腸がんで増加し、隣接する正常な大腸にはほとんど認められない、TSLPの受容体を発現するTreg (TSLP受容体陽性 Treg)のサブセットを同定した。このTreg サブセットは大腸がん患者の末梢血にも認められたが、健常者の末梢血にはほとんど認められなかった。また、このTreg サブセットはインターロイキン33(IL-33)受容体(腫瘍形成抑制因子2[ST2])も同時に発現し、プログラム細胞死1(PD-1)と細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4(CTLA-4)を高発現していることが明らかになった。さらなる解析により、このTreg サブセットは、特異的に発現する転写因子Mef2c がマスターレギュレーターとなることも明らかになった。マウス大腸がんモデルにおいて、TSLP受容体のTreg 特異的な欠損は、腫瘍の数と大きさの減少またそれに伴う腫瘍におけるTh1 細胞の増加に関連していた。ST2のTreg 特異的な欠損は、腫瘍の数と大きさの減少には大きく関与しなかった。また、同マウスモデルにおいて、TSLP特異的モノクローナル抗体投与は、大腸がんの進行を抑制し、治療効果を示した。以上のことから、TSLPは腫瘍特異的Treg機能の調節を介して大腸がんの進行をコントロールしていることが示された。さらに、TSLPおよびTSLP受容体陽性ST2陽性腫瘍特異的Tregは、大腸がんの新たな治療標的となり得ることが示唆された。



シアトル便り

私はアメリカ合衆国、ワシントン州シアトルのダウンタウンにあるBenaroya Research Instituteという研究所のCenter of Fundamental Immunology に所属しております。当研究所は免疫学に特化した研究所で、自己免疫疾患、 アレルギー、がんといった、免疫が関わる疾患の解決に向けて、基礎系と臨 床系の両方の研究室が協力し合いながら研究を進めています。また、Virginia Mason Franciscan Health病院の関連施設になっていることから、臨床検 体を使った研究も盛んです。研究施設内には徹底的に管理の行き届いた動 物施設、複数のCoreラボもあり、研究の質、量だけでなく、倫理面でのバッ クアップも手堅いです。その甲斐あって、当研究所は研究室の数は19と少 ないものの、責任著者として毎年複数の論文がCNSや姉妹紙に掲載されて います。また、シアトルの土地柄として全米で7位のワシントン大学や、がん に特化したFred Hutchinsonがん研究センター、シアトル小児病院研究 所、アレン脳科学研究所を始め、多くの研究所や製薬企業の研究所があり、 講演会、リトリートなど交流も盛んで、研究のレベルアップや共同研究のよう な研究コミュニティの強化に一役買っています。シアトルは、夏は涼しく冬は 雪が少なくそれほど寒くないため、過ごしやすいです。

大腸がんの新規バイオマーカーおよび新規治療ターゲットとなる 大腸がん特異的新規制御性T細胞(Treg)サブセットの発見

大腸がんは、男女ともにおいて世界的に罹患率や死因などの項目で全がんの第3位に入る深刻ながんの一つです。がんを根治するには早期発見、早期治療が欠かせませんが、大腸がんの診断として検討されている便潜血、遺伝情報およびエピジェネティクス、ミトコンドリアDNAなどは、いずれも疫学的に大腸がんを減少させる効果がありません。また、唯一疫学的に大腸がんの発症の抑制効果がある内視鏡法は、簡便性や被験者へのダメージなど課題が多くあります。さらに、大腸がんの治療は主に手術が行われますが、術後のQOLに問題がある上に、代替となる治療薬として近年着目されている免疫チェックポイント阻害剤も全大腸がん患者の4%程度にしか適用がありません。大腸がんの罹患率や死亡率の改善には、より良い簡便な診断法と治療法の確立が必須です。

私たちは、大腸がんの予後に関わる因子としてサイトカインTSLPを見出し、TSLP依存性に全ステージの大腸がん特異的に出現する新規の制御性T細胞(Treg)サブセット、TSLPR陽性ST2陽性Tregを発見しました(図1左)。TSLPR陽性ST2陽性Tregは、免疫抑制活性を示すのに重要なCTLA-4などの分子をその他のTregに比べて強く発現し、大腸がんの増悪に関わる微小環境の形成に最も重要なTregサブセットであることがわかりました。TSLPは、このTSLPR陽性ST2陽性Tregに作用し、がん組織における抗腫瘍免疫細胞Th1細胞の浸潤を抑制し、大腸がんの増殖を促進します。また私たちは、TSLPR陽性ST2陽性Treg特異的に発現する転写因子Mef2Cを発見しました。Mef2Cは、TSLPR陽性ST2陽性Tregの増殖および抑制活性を制御するCTLA-4などの分子の発現に関与します。これらのことは、2種類の大腸がんモデルマウスおよびヒトの大腸がん患者でも確認されました。さらに、トランスレーショナル研究の足がかりとして、TSLPの中和抗体投与が大腸がんモデルマウスに治療効果があるかについて検討しました。その結果、TSLPの中和抗体投与は体重減少のような著明な有害作用を示すことなく、TSLPR陽性ST2陽性Tregの数を減少させ、2種類の大腸がんマウスモデルにおいて治療効果を示しました(図1右)。

以上のことから、TSLPおよび私たちが新規に見出したTSLPR陽性ST2陽性Tregが、大腸がんの新規バイオマーカーとしても大腸がんの全ステージに適用できる、新規治療ターゲットとして有効であることが明らかになりました(図2)。

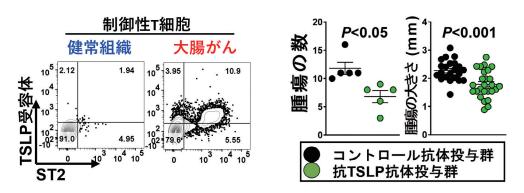


図1:(左)TSLPR陽性ST2陽性Tregは大腸がん組織特異的に増加する (右)TSLPの中和抗体投与は大腸がんマウスモデルに治療効果を示す

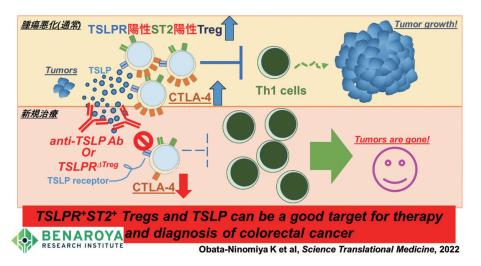


図2:TSLPおよび新規制御性T細胞(Treg)サブセットTSLPR陽性ST2陽性は、大腸がんの新規バイオマーカーおよび新規治療ターゲットとして有効である。

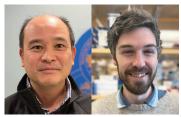
R. Stavely et al., SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE 25 May 2022: Vol 14, Issue 646 DOI: 10.1126/scitransImed.abl8753

オンライン版URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abl8753



皮下脂肪組織内のシュワン細胞は神経幹細胞様の性質を有し、再生医療に用いることができる

Schwann cells in the subcutaneous adipose tissue have neurogenic potential and can be used for regenerative therapies



左から堀田 亮、Rhian Stavely

堀田 亮 Ryo Hotta

Assistant Professor, Department of Pediatric Surgery, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School

Rhian Stavely

Instructor, Department of Pediatric Surgery, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

堀田 亮

E-mail: rhotta@mgh.harvard.edu

所在地: 185 Cambridge St. CPZN 6.215, Boston, MA 02114, USA

U R L:https://goldsteinlab.mgh.harvard.edu/

Rhian Stavely

E-mail:rstavely@mgh.harvard.edu

所在地: 185 Cambridge St. CPZN 6.100, Boston, MA 02114, USA

Abstract

神経系疾患に対する幹細胞治療は、臨床的に利用可能な神経幹細胞(NSC)の自家細胞源がないことにより遅れている。本研究では、神経堤由来シュワン細胞が、マウスとヒトの皮下脂肪組織(SAT)に存在する神経線維束(NFB)に群生していることを見出した。シュワン細胞を含むNFBをマウスとヒトのSATから回収し、in vitroで培養した。in vitro培養中、SAT由来シュワン細胞はNFBを再構築してニューロスフェアを形成し、神経系への分化能を示した。転写プロファイリングにより、これらのNSC特性の獲得は培養シュワン細胞の脱分化過程に起因している可能性が明らかになった。今回同定された細胞集団は、in vivoにて存在する内因性シュワン細胞と比較して遺伝子発現プロファイル、細胞マーカー、分化能が大きく異なるため、SAT-NSCと名付けた。SAT-NSCをマウス消化管に移植したところ、筋層内を縦方向や円周方向に移動し、ニューロンとグリアに分化し、正常腸管神経と相違ない神経タンパク発現とカルシウムシグナル伝達特性を示した。これらの細胞は、無神経節結腸および胃排出不全モデルマウスにおける消化管運動機能を改善させたことから、消化管運動異常症における新たな細胞ソースとして利用できる可能性が示された。SATは皮下から容易に回収が可能で、SAT-NSCは自家由来神経幹細胞のソースとしてかつてないほどの利用可能性を有する。本研究のエビデンスから、SAT-NSCは間葉系幹細胞由来ではなく、NFB内のシュワン細胞由来であることが示された。本研究のデータは、マウスとヒトのSAT-NSCの効率的な単離手順を示すとともに、これらの細胞が消化管運動障害の治療に応用できる可能性を示唆する。



Surgeon scientistとPhD scientistとの 合同チームによるTranslational research at MGH

私はマサチューセッツ総合病院(MGH)小児外科でチーフを務める Allan Goldstein 教授が主宰する研究室で働いています。Goldstein 先生(写真最前列左)は約20年にわたり、小児外科臨床を行いつつ 腸管神経の発生に関する基礎研究も続けてこられた、文字通りの Surgeon scientistです。私が加入した2012年からは腸管神経不全症に対する再生医療的アプローチへと研究テーマが発展したように、多くのプロジェクトの原点は臨床におけるアンメットニーズであり、PhD scientistたちと協力しながらTranslational researchを推進していくことが当研究室の特徴です。臨床医と基礎研究者とがお互いの強みを活かしつつ弱点を補い合う良好なチームワークこそが、医学研究の成功の鍵と信じています。本研究室にご興味のある方はいつでも堀田(写真最前列右)までご連絡下さい。

神経幹細胞移植による腸管神経不全症の新規治療の開発

ヒルシュスプルング病は、消化管に固有の腸管神経叢が先天的に欠如することにより、主に大腸の腸管蠕動運動を欠くために新生児期にひどい便秘で見つかる難治性疾患です。治療として、病的腸管が下部結腸に限局する軽症例に対しては病的腸管の外科的切除によって便秘症状の改善、経口栄養による成長が期待できますが、全結腸型、小腸型などの重症例では手術によって病的腸管を取り切ることは困難で、中心静脈からの点滴栄養のみに生命維持を頼ることになります。私は小児外科病棟で最重症型のヒルシュスプルング病の患者さんを担当したことがあり、この難病の患者さんとの出会いが、私を研究の道に進ませるきっかけになりました。大学院時代も含めて15年余り、私が一貫して取り組んできたのは、「ヒルシュスプルング病に対する神経幹細胞移植治療の開発」です。主にマウスを用いたこれまでの研究で、腸管神経幹細胞の抽出と培養、腸管壁への細胞移植は技術的に可能であり、移植神経幹細胞はマウス腸壁内で神経に分化し、腸管平滑筋との機能的接合を果たすことは確認できましたが、ヒルシュモデルマウスの排便機能回復や表現系の正常化は示されていません。神経幹細胞移植術の臨床応用を考えた場合、なるべく侵襲の少ない方法で神経幹細胞を採取することは特に重要と考えられました。

本プロジェクトを一貫してリードしてくれたRhian Stavely 博士は、脂肪組織由来間葉系幹細胞(AT-MSCs)抽出時にフィルター除去していた組織塊中に、末梢神経束(NFB)が含まれていることに気づきました。博士は遺伝子改変マウスを巧みに利用して、マウス皮下脂肪(SAT)中のNFBに含まれるシュワン細胞(図 1)が神経幹細胞様の性質を有することを見出し、これを皮下脂肪由来神経幹細胞(SAT-NSC)と名付けました。RNA sequencingを用いた詳細な検討により、SAT-NSCは細胞培養中にリプログラミング過程を経て神経幹細胞様の性質を獲得することが示されました。さらには、腸管神経不全症の一つである胃不全麻痺(gastroparesis)モデルマウスの胃幽門部にSAT-NSCを移植したところ、胃排出能が改善(図 2)したことから、SAT-NSCはヒルシュスプルング病を初めとする腸管神経不全症、ならびにその他の神経不全症に対する再生医療にも応用できる可能性が示されました。

今回の研究では、SAT-NSCはマウスだけでなくヒト皮下脂肪組織からも抽出・培養できることも示されたことから、SAT-NSCの臨床応用の可能性が広がっただけでなく、この細胞ソースが腸管神経の機能不全に起因する様々な疾患の治療に適用できる可能性が示唆されました。しかしながら、従来法で抽出した腸管神経幹細胞との比較検討は不十分であり、SAT-NSCの優位性が完全に示されたとは言えません。また、SAT-NSCは皮下脂肪という比較的低侵襲に採取できる組織からの抽出が可能である反面、得られる細胞数自体が非常に少ないため、治療に必要な細胞数を確保するための培養条件の最適化は必須の課題と言えます。現在は、SAT-NSCの適用を腸管神経不全症だけでなく、末梢神経損傷やさらには中枢神経障害などに対する細胞治療にまで拡大するべく、各種疾患モデルマウスを用いた移植実験を繰り返しているところです。

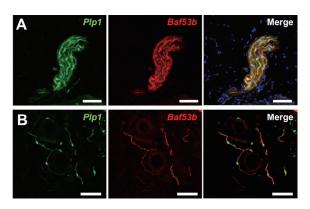


図1:マウス皮下脂肪組織内神経束(NFB)に局在するシュワン細胞

Plp1GFP;Baf53btdTマウス皮下脂肪に含まれるNFBの蛍光顕微鏡写真を示す(A)。同マウスではシュワン細胞がGFP、ニューロンがtdT(omato)により蛍光標識される。より末梢の孤立した神経線維において、シュワン細胞核がよりはっきりと観察できる(B)。

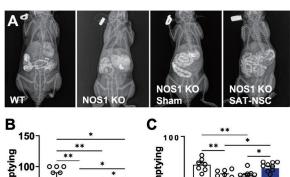


図2:マウス皮下脂肪由来神経幹細胞(SAT-NSC)移植は胃不全麻痺 モデルマウスの胃排出能を改善した

SAT-NSCを胃不全麻痺モデル(NOS1 KO)マウスの胃幽門壁に移植し、10週間後にパリウムおよびビーズ強制経口投与後のX線撮影による胃排出能測定を施行した(A)。NOS1 KOマウスで有意に低下していた胃排出能が、細胞移植により改善した(B、C)。

L. Liu *et al.*, *SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE* 19 Apr 2022: Vol 14, Issue 646 DOI: 10.1126/scitranslmed.abn6859

が、17.1120/36/translined.abn10039
オンライン版URL:https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abn6859



共通のCDRH3配列モチーフを持ち、 サルベコウイルスを広範囲に中和できる抗体

An antibody class with a common CDRH3 motif broadly neutralizes sarbecoviruses



左から池谷 翔、辻 守哉

池谷翔 Sho Iketani

Postdoctoral Research Scientist, Aaron Diamond AIDS Research Center, Columbia University Vagelos College of Physicians and Surgeons

辻 守哉 Moriya Tsuji

Professor, Aaron Diamond AIDS Research Center, Columbia University Vagelos College of Physicians and Surgeons

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

池谷翔 E-mail:si2323@cumc.columbia.edu 所在地:701 W 168th St, New York, NY 10032, USA U R L:https://www.adarc.cuimc.columbia.edu/

辻 守哉 E-mail: mt3432@cumc.columbia.edu 所在地: 701 W 168th St, New York, NY 10032, USA

URL: https://www.adarc.cuimc.columbia.edu/

Abstract

重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2)によって引き起こされた惨状は、パンデミックへの備えがいかに重要かを明らかにした。将来的に発生するかもしれない、サルベコウイルス亜属に分類される関連ウイルスによる人畜共通感染症のアウトブレイクに対応するため、in vitro であらゆるサルベコウイルスに結合して中和活性を示し、in vivo でSARS-CoV-2 および SARS-CoV による感染を防御するヒトモノクローナル抗体 [10-40]を同定した。他の受容体結合ドメイン (RBD) を標的とする抗体との比較試験から、10-40 はサルベコウイルスに対する中和活性の強さと広範囲さが最大であることが示され、パンデミックへの備えとして10-40 が有望な薬剤であることが示唆された。さらに、10-40 および類似抗体の構造解析から、サルベコウイルス間で広く保存されている、受容体結合ドメインの内側表面にあるエピトープ群が決定されたのみならず、共通の CDRH3 配列モチーフを有する個別の抗体クラスも明らかとなった。また今回の解析から、この抗体クラスの誘導がさほど困難でない可能性も示唆され、この知見は、サルベコウイルス全般に対するワクチンの開発にとって良いニュースといえる。

ウイルスの解明と治療の探求

2020年にコロンビア大学に移籍したアーロンダイアモンドエイズ研究所では、30年以上ウイルスの研究が行われており、特にHIV-1に関しては数々の成果を上げています。近年では新型コロナウイルス感染症の研究に取り組み、Natureなどを含み60本以上の論文を発表しています。お互いを支え合う暖かい環境にある研究所の一員として、毎日楽しく働いています。今後もウイルスの基礎研究とtranslational researchを続けていきますので、私たちの研究に興味を持たれた方は気軽にご連絡下さい。

10-40は将来的に発生するサルベコウイルスに対しての薬剤

重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) の発生後、私たちはその基礎研究とtranslational research にいち早く取りかかりました。主に、モノクローナル抗体の確立および解析、変異株の中和抗体に対しての阻害性、3CL プロテーゼを標的とする薬物の発見や耐性、T細胞の殺傷効果、NKT細胞を誘導する糖脂質の治療薬としての開発など、様々な分野に携わりました。このような研究を行っている最中で、SARS-CoV-2 だけではなく、将来的に人へ移行する恐れを持つサルベコウイルスも中和できるモノクローナル抗体が確立できれば、将来のコロナウイルスによるパンデミックを抑制できると考えられます。

この研究では、SARS-CoV-2のオリジナル株と変異株を幅広く中和できるモノクローナル抗体[10-40]をSARS-CoV-2感染者のB細胞から取得しました(図1)。10-40はSARS-CoV-2以外のサルベコウイルスにも結合し中和できることを示しました(図1)。さらに、この抗体の中和活性が広範囲に及ぶそのメカニズムを探るために、クライオ電子顕微鏡を利用して詳細な構造を決定し、受容体結合ドメインの内側表面にサルベコウイルス間で広く保存されているエピトープがあることを解明しました(図2A)。最後に、10-40をSARS-CoV-2とSARS-CoVの感染マウスモデルで試験することで両ウイルスの感染を阻止できることを確認し、in vivoでも実用性のあることが判明しました(図2B、C)。

今回確立した10-40は、SARS-CoV-2および他のサルベコウイルスに幅広く中和活性を持つので、今後発生する変異したコロナウイルスにも対応できる可能性が考えられます。さらに、このような抗体を誘導するワクチンの開発も期待できます。将来的に起こりうるコロナウイルスによるパンデミックを少しでも防いだり抑制したりできるように、これからも研究に邁進していきたいと思っています。

Pseudoviruses IC ₅₀ (µg/mL)	10-40
D614G	0.029
B.1.1.7	0.050
B.1.351	0.092
P.1	0.084
B.1.617.2	0.088
C.37	0.095
B.1.621	0.232
B.1.429	0.048
B.1.526	0.126
B.1.617.1	0.099
R.1	0.094

Pseudoviruses IC₅₀ (µg/mL)	10-40
GD-Pangolin	0.011
GX-Pangolin	0.090
RaTG13	0.006
SARS-CoV	0.046
WIV1	0.013
SHC014	0.008
LYRa11	0.005
Rs7327	0.004
Rs4231	0.236
Rs4084	0.006

RBD ELISA EC ₅₀ (µg/mL)	10-40
BM-4831	0.003
BtKY72	0.004
Rf1	0.004
RmYN02	0.010
Rs4081	0.009
Yunnan2011	0.037

Cell surface staining Positive %	10-40
RmYN02	95
As6526	74
Rs4237	76

図1:10-40によるサルベコウイルスへの結合性、あるいは中和活性

SARS-CoV-2とサルベコウイルスのpseudovirusの中和、そしてサルベコウイルスの結合をELISAとFACSで認めた。

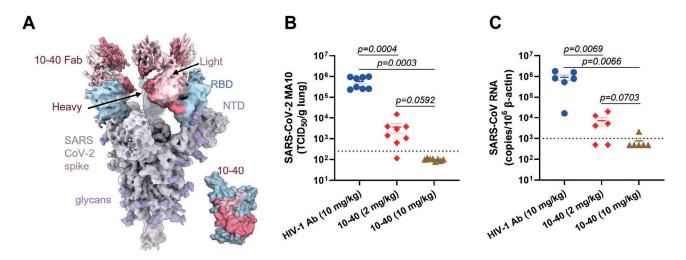


図2:10-40の構造(A)、in vivoでのSARS-CoV-2(B)とSARS-CoV(C)の感染阻害

クライオ電子顕微鏡による 10-40 と SARS-CoV-2 との構造解析 (A)。 10-40 を感染マウスモデルに投与すると SARS-CoV-2 (B) と SARS-CoV (C) の感染を抑制した。

R. Nakamichi *et al.*, *SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE* 1 Jun 2022: Vol 14, Issue 647 DOI: 10.1126/scitransImed.abj5557

オンライン版URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abj5557

機械受容イオンチャネルPIEZO1は腱で発現し 運動能力を制御している

The mechanosensitive ion channel PIEZO1 is expressed in tendons and regulates physical performance



上段左から中道 亮、野々山 貴行、 下段左から福 典之、淺原 弘嗣

中道 亮 Ryo Nakamichi

岡山大学大学院 医歯薬総合研究科 整形外科 医員東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 非常勤講師 Professional Scientific Collaborator, Department of Molecular Medicine, Scripps Research

野々山 貴行 Takayuki Nonoyama 北海道大学大学院 先端生命科学研究院 准教授

福 典之 Noriyuki Fuku 順天堂大学大学院 スポーツ健康科学研究科 先任准教授

淺原 弘嗣 Hiroshi Asahara

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 教授 Professor, Department of Molecular Medicine, Scripps Research

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

淺原 弘嗣 E-mail: asahara.syst@tmd.ac.jp 所在地: 113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45 U R L: https://www.tmdusystemsbiomedicine.com/home

Abstract

機械的ストレスが腱を介して運動能力にどのような影響を及ぼすかは、十分には明らかになっていない。Piezo1は機械受容イオンチャンネルであり、最近、アフリカ系の人によくみられる機能獲得型変異体としてE756del PIEZO1が発見された。今回、マウスの機能獲得型変異体であるR2482H Piezo1を用いて腱特異的ノックインマウスを作製したところ、野生型または筋特異的ノックインマウスよりもジャンプ能力が高く、走行速度が速いことがわかった。これらの表現型は、腱特異的転写因子であるMohawkとScleraxisの増加による腱の同化作用の亢進に関連したが、筋肉の変化は観察されなかった。生体力学解析により、R2482H Piezo1マウスの腱は伸長性がより高く、弾性エネルギーをより多く貯蔵することが明らかになり、これはジャンプ能力の増強の原因の一端と考えられた。これらの表現型は、腱成熟後に腱特異的R2482H Piezo1 置換を有するマウスでも確認されたことから、PIEZO1は成熟した腱の機能を増強することから運動能力促進の標的となりうることが示された。小規模なジャマイカ人コホートにおいて、瞬発系競技選手のE756del PIEZO1の発現頻度は集団マッチングを行った非運動選手(対照)よりも高く、ヒトでも類似した機能を有することが示唆された。まとめると、これらヒトとマウスの遺伝的および生理学的エビデンスにより、運動能力における腱の重要な機能が明らかになり、この機能は腱細胞において PIEZO1により厳密かつ強固に制御されている。



運動機能の探求によるWell Agingの実現

平均寿命が延伸し、2040年には100歳以上の人口が30万人になると予想される中、健康不安なく社会で活躍できる健康寿命を延伸する新しい社会の創生が急務とされています。運動機能を発現する筋・骨格・神経からなる「運動器」という複合組織は、全身の各臓器に綿密なネットワークを紡ぎ、その生理学的な活性の維持は、健康寿命・健康社会の促進に繋がる可能性があります。また、体内に位置する内臓器と異なり「運動器」では、体表面に現れる四肢・関節は、骨系統疾患、骨軟部腫瘍や四肢の傷害は小児期において生じるものも多く、その場合、キャリーオーバーとして生涯にわたって、その障害を抱えることになります。新しい分子生物学を切り口に、「運動器・運動機能」を疾病から守り、恒常性を維持し、さらには、失われた「運動器・運動機能」を取り戻す医療の開発の実現にむけて、大学生・大学院生の参加をお待ちしています。

腱のPIEZO1 恒常活性は個体の運動能力を向上させる

運動能力には遺伝的素因が関与することが示唆されています。例えば、オリンピックの競技記録からは、瞬発系競技と持久系競技、それぞれに強い地域があります。また、最近の遺伝学的研究の発展で、ACTN3やACEの多型と運動能力の関係が徐々に明らかになってきました。しかし、運動能力に関与するヒトの遺伝要因の大部分は長らく不明でした。

2010年にArdem Patapoutian博士らは、機械刺激応答性カルシウムチャネルレセプター、PIEZO1を報告し、その後 PIEZO1は体の様々な組織で機能することが明らかになってきています。そして近年、マラリア抵抗性を獲得するヒト遺伝子多型として、PIEZO1の機能獲得変異であるE756 delが報告されました。この多型は西アフリカを起源とする人種で保有率が高く、私たちはPIEZO1の機能獲得変異と運動能力の関係性について研究を行いました。

マウス Piezo 1 機能獲得変異である R2482Hを Cre 依存性に遺伝子導入可能なマウスを用い、 CMV-Cre マウスと掛け合わせた全身型 Piezo 1 機能獲得変異 (全身型) マウスに複数の運動試験を行いました。するとジャンプ試験で、全身型は野生型の約 1.6 倍の距離を跳躍できることが明らかになりました。さらに、この跳躍力を生み出す組織を特定するため、 Myf5-Cre マウスを使った筋特異型、 Scx-Cre マウスを使った腱特異型を作製しました。すると筋特異型は野生型と同様の跳躍力でしたが、 腱特異型では全身型と同様に跳躍力向上がみられました。全身型と腱特異型マウスの腱は、 形態学的解析ではコラーゲン細繊維径の拡大、 トランスクリプトーム解析ではマスター転写因子である Scx や Mkx を含む腱関連遺伝子の発現上昇がみられ、 さらにバイオメカニカル解析では伸長性がより高くジャンプ動作時に弾性エネルギーをより多く蓄積できることがわかり、 腱の構造変化が跳躍距離に関与していると考えられました。

さらに私たちは、約200人と小規模ですがジャマイカ人集団でのゲノム解析を行った結果、瞬発系競技選手のE756del PIEZO1 の発現頻度が集団マッチングを行った非運動選手よりも高いことがわかり、E756 delが瞬発系運動能力と関連する可能性を見出しました。

本研究で、腱の機械応答が運動制御に関わるメカニズムの一端が明らかになりました。特に、腱におけるPIEZO1を介し発現制御されるSCXとMKXは、生後の腱の成長や恒常性維持において重要な因子であることがわかっています。よって、PIEZO1の活性制御は、腱障害関連疾患やヒトの身体能力の向上・維持に対する新たな戦略や予防・治療医学の発展に貢献することが期待されます。

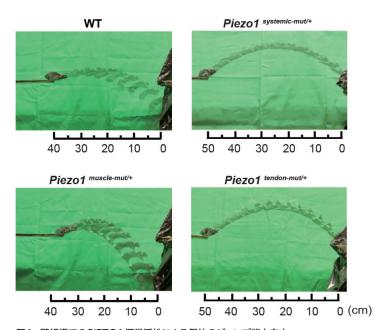


図1: 腱組織でのPIEZO1 恒常活性による個体のジャンプ能力向上

4つの遺伝子型の代表的なロングジャンプテストの結果を示す。

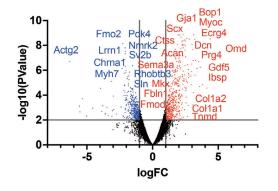


図2: 腱特異型 Piezo1 恒常活性マウスのトランスクリプトーム解析

野生型マウスと腱特異型マウスの腱で発現量の異なる遺伝子を示した Volcanoプロット。腱特異型で有意に発現が増加した遺伝子は赤色、 有意に発現が減少した遺伝子は青色、有意でない遺伝子は黒色で表さ れている。

N. Ikemura et al., SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE 26 Apr 2022: Vol 14, Issue 650

DOI: 10.1126/scitransImed.abn7737

オンライン版URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abn7737



高親和性 ACE2 デコイは免疫逃避性を示す オミクロン株に対しても治療有効性を有する

An engineered ACE2 decoy neutralizes the SARS-CoV-2 Omicron variant and confers protection against infection in vivo



左から池村 奈利子、星野 温

池村 奈利子 Nariko Ikemura

京都府立医科大学大学院 医学研究科 循環器内科学 博士課程

星野温 Atsushi Hoshino

京都府立医科大学大学院 医学研究科 循環器内科学 講師

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

星野 温 E-mail:a-hoshi@koto.kpu-m.ac.jp 所在地:602-8566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町465

URL: http://www.f.kpu-m.ac.jp/k/med2/index.html

Abstract

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)のオミクロン株(B.1.1.529)にはスパイクタンパク質に異常に多くの変異が含まれているため、 ワクチン、回復患者血清および治療薬に対する逃避性の懸念が生じている。今回、まず初めにオミクロン株の疑似ウイルスを用いて 血清または治療用抗体に対する逃避性を解析した。BNT162b2ワクチン2回接種3ヵ月後に採取した血清検体において、オミクロ ン株に対する中和抗体価は親ウイルスと比較して18倍低かった。アルファ株およびデルタ株感染患者の回復期の血清検体において も、オミクロン株に対しては同等の中和活性の低下が認められた。キメラスパイクタンパク質を用いたドメイン解析により、オミクロ ン株で認められる逃避は主に受容体結合ドメイン(RBD)の変異クラスターによりもたらされていたが、N 末端ドメインにおける複数 の変異も部分的に関与していることが明らかになった。治療用抗体薬であるイムデビマブとカシリビマブの抗体カクテル療法はオミ クロン株に対して中和活性を失ったが、サルベコウイルス亜属で高率に保存されているRBD領域の糖鎖を標的としたソトロビマブは 依然として有効であった。次に、われわれが開発に取り組んでいる高親和性アンジオテンシン変換酵素 2(ACE2) デコイの中和活性 を評価した。ACE2デコイから逃避する変異ウイルスは、細胞表面のACE2との結合力も失うため完全な逃避が生じないと考えられ る。まず、RBD領域の全1アミノ酸置換スパイクタンパク質ライブラリによる詳細な変異解析(Deep Mutational Scanning)にて、 高親和性 ACE2 デコイに対してはワクチン血清と同様に、RBD 領域の単一アミノ酸残基変異では逃避性を呈さないことが網羅的に 示された。また高親和性ACE2デコイはオミクロン株を武漢株と同等に中和し、ハムスターおよびヒトACE2発現マウスにおいても オミクロン株感染に対する治療効果を示した。さらに、これまでの主要なSARS-CoV-2変異株に加え、一部のサルベコウイルスにも 高親和性ACE2デコイに対して高い感受性が確認され、高親和性ACE2デコイは将来の変異株や新たなコロナウイルス感染症に対 して有効な治療薬となることが期待される。



タンパク質の網羅的機能評価と 機能改変研究を展開しています

私の研究室では、高親和性ACE2デコイの開発に用いた ランダム変異導入による分子進化法や、全1アミノ酸変異 ライブラリを用いたスクリーニング(Deep Mutational Scanning: DMS)によるタンパク質の機能評価や機能改 変研究を行っています。現在はCOVID-19研究からゲノ ム編集ツール開発に移行しつつあり、塩基編集ツールの 改変や小型Casタンパク質の編集活性をSpCas9レベル まで向上させることにも成功しています。臨床医局です ので、今後も具体的な疾患を念頭に治療につながるシー ズ開発に取り組んでいきます。このような網羅的解析や タンパク質ベースのバイオエンジニアリングに興味のあ る方は、共同研究だけでなくポスドク・研究員も募集して いますので、ぜひともご連絡ください!

新型コロナウイルス変異株を克服する高親和性ACE2デコイの開発

私たちは、COVID-19発生当初よりSARS-CoV-2感染受容体であるACE2に着目し、タンパク質工学的手法によりウイルスへの結合力を約100倍高めた高親和性ACE2変異体の作製に成功しました。そして、この変異体に抗体Fcを結合したタンパク質をおとり(デコイ)として用いる高親和性ACE2デコイの開発に取り組んでいます。ウイルス中和タンパク質製剤としてはモノクローナル抗体が治療薬として臨床で使用されていますが、ウイルス変異による逃避性が問題となります。高親和性ACE2デコイでは、ウイルス変異によりデコイから逃避するものは細胞表面のACE2との結合力も低下し、感染力を失うため、実質的に逃避変異株が出現しない大きな競争的優位性があります。

今回の論文では、スパイクタンパク質に約30個もの変異を有するオミクロン株に対して、いち早く日本人におけるその免疫逃避性をワクチンや回復期患者血清サンプルを用いて確認するとともに、高親和性ACE2デコイが期待通り、オミクロン株に対しても高い中和活性を維持し、マウスやハムスターのオミクロン株感染モデルにおいて治療有効性を有することを確認しました。また、逃避変異が出現しないという概念に対して、スパイクタンパク質の受容体結合ドメインにおける全1アミノ酸置換ライブラリを用いたDeep Mutational Scanningという最新の網羅的手法を用いて、モノクローナル抗体で認めるような逃避変異が1アミノ酸変異では出現しないことを証明しました。さらに、将来の新たなコロナウイルス感染症の原因となりうるサルベコウイルス亜属に関してもSARS-CoV-1を含む多くのウイルスに対して高い中和活性を確認し、オミクロン株発生後約1ヵ月でこれらの結果をbioRxivに投稿するとともに、本論文の投稿を行いました。

2023年1月現在で、オミクロンの亜変異株であるXBBが世界各国で主要変異株となり、ワクチン逃避性を示すとともに、ついにすべての治療抗体薬に対して感受性を失うに至っています。この強い免疫逃避性を有するXBBに対しても、高親和性ACE2デコイは中和活性を維持しています(bioRxiv投稿済)。このように、変異株を克服する高親和性ACE2デコイは、今後も変異を続け、再度強毒化する可能性もゼロではないSARS-CoV-2に対して、治療選択肢の一つとして国家安全保障の観点からも治療薬としての実用化が期待されています。

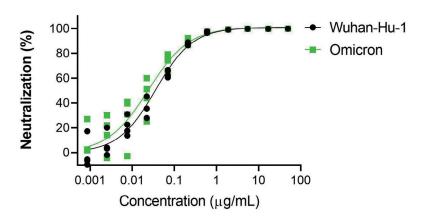


図1: 高親和性ACE2デコイ(3N39v4)の中和活性

疑似ウイルスを用いて、高親和性 ACE2 デコイの武漢株とオミクロン株に対する中和活性を評価したところ、オミクロン株に対する活性が維持されていることがわかった。

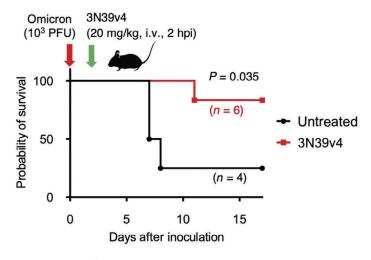


図2:オミクロン株感染モデルマウスの生存曲線

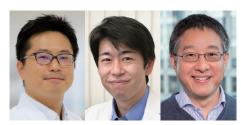
ヒトACE2発現マウスのオミクロン株致死性感染モデルにおいて、ウイルス感染後2時間での高親和性ACE2デコイ20mg/kg経静脈投与は有意に死亡率を改善した。

N. Fujiwara et al., SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE 22 Jun 2022: Vol 14, Issue 650 DOI: 10.1126/scitransImed.abo4474

オンライン版URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abo4474

非アルコール性脂肪性肝疾患における 肝細胞がんリスク予測のための分子シグネチャー

Molecular signatures of long-term hepatocellular carcinoma risk in nonalcoholic fatty liver disease



左から藤原 直人、中川 勇人、星田 有人

藤原 直人 Naoto Fujiwara

Research Scientist, Division of Digestive and Liver Diseases, Department of Internal Medicine, University of Texas Southwestern Medical Center (現 三重大学医学部附属病院 消化器病センター 助教)

中川 勇人 Hayato Nakagawa

東京大学医学部附属病院 消化器内科 特任講師 (現 三重大学医学部附属病院 消化器病センター 教授)

星田 有人 Yujin Hoshida

Professor, Division of Digestive and Liver Diseases, Department of Internal Medicine, University of Texas Southwestern Medical Center

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

藤原 直人 E-mail: naoto-fujiwara@med.mie-u.ac.jp 所在地: 514-8507 三重県津市江戸橋 2-174

U R L:https://www.sv.hosp.mie-u.ac.jp/gastro/

中川 勇人 E-mail: nakagawah@med.mie-u.ac.jp 所在地:514-8507 三重県津市江戸橋2-174 U R L: https://www.sv.hosp.mie-u.ac.jp/gastro/

星田 有人 E-mail: Yujin.Hoshida@UTSouthwestern.edu 所在地:5323 Harry Hines Blvd Dallas, TX 75390, USA

U R L:http://www.hoshida-lab.org/

Abstract

非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)患者において、肝細胞がん(HCC)のリスク予測法の確立は喫緊の臨床的課題である。 全世界の複数の地域か ら収集されたNAFLD患者409例から成るコホートにおいて、NAFLD患者の長期HCCリスクを予測する肝トランスクリプトームシグネチャーと血清 セクレトームシグネチャーを定義し検証した。133遺伝子からなる肝遺伝子発現シグネチャー Prognostic Liver Signature(PLS)-NAFLDは、最長 15年間の長期的観察でHCCの新規発生を予測することができた。 高リスクPLS-NAFLDは、線維性門脈域におけるIDO1[†]樹状細胞および機能障害 性CD8 $^+$ T細胞の集簇、ならびに肝における代謝調節異常などと関連していた。PLS-NAFLDは、HCC罹患歴のないNAFLDコホート(15年時点の HCC発生率は高リスク患者、低リスク患者でそれぞれ22.7%、0%)、およびHCC罹患歴のあるNALFDコホート(5年時点のde novo HCC再発率 は高リスク患者、低リスク患者でそれぞれ71.8%、42.9%)の2つの独立したコホートにおいて、HCCのリスク層別化が可能であった。 さらに、PLS-NAFLDは生物情報学的手法に基づき、4つの血清タンパク質からなるprognostic liver secretome signature (PLSec)-NAFLDに変換され、 HCC罹患歴のないNAFLD肝硬変患者からなる外部コホートで、その層別化能が実証された(15年時点のHCC発生率は高リスク患者、低リスク患 者でそれぞれ37.6%、0%)。 加えて、PLSec-NAFLDを、以前にわれわれが同定した血清タンパクシグネチャー PLSec-AFPと組み合わせることで、 HCCリスクの層別化能が改善した。PLS-NAFLDにより測定されたHCCリスクの程度は、肥満外科手術、脂溶性スタチン、IDO1阻害薬などの肝発 がん抑止効果が期待できる治療により低減されたことから、このシグネチャーを肝発癌予防薬の探索や臨床試験における代替エンドポイントとして使 用できることが示唆された。以上、PLS/PLSec-NAFLDはNAFLD特異的なHCCリスク予測を可能にし、NAFLD患者における肝発がん予防法の臨 床開発に寄与すると考えられる。



バイオインフォマティックス手法と オミクス解析を用いたトランスレーショナル研究で 肝臓臨床に貢献する

私はPIの星田有人先生とともに、ニューヨーク州Icahn School of Medicine at Mount Sinaiで2年間、テキサス州University of Texas Southwestern Medical Centerで4年間の計6年間、バイ オインフォマティックス手法とオミクス解析を用いて、主に肝発癌リス クを予測するバイオマーカーを同定するトランスレーショナル研究を 行ってきました。同じ分野の専門家だけでなく、基礎実験を行っている ラボや臨床家が一緒になって、臨床で"本当に"インパクトのある研究 をしよう、病気で苦しむ患者さんに貢献できる研究をしよう、と世界中 の共同研究者とディスカッションしたことは大変有意義な経験でした。 この場を借りて厚く御礼申し上げます。(藤原)

PLS-NAFLD は肝発癌高リスク NAFLD 患者を同定する

非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)は、肥満人口やメタボリックシンドローム罹患率上昇に伴い全世界で増加しており、すでに全世界人口の25%、日本人の30%が罹患している、世界で最も多い慢性肝疾患です。NAFLDの多くは無症状・無進行のまま経過しますが、その20%で肝線維化・炎症細胞浸潤を呈する非アルコール性脂肪肝炎に進行し、さらにその一部が予後不良な肝硬変や肝細胞癌(HCC)にまで進行することが知られています。HCCは早期発見できれば根治的治療が可能ですが、進行例では大変予後の悪い疾患であるため、NAFLD患者は定期的なスクリーニング検査を行うことが推奨されています。しかし、罹患者数が膨大であり、発がん率も高くはないため、肝発癌の高リスク群を同定し、限りある医療資源をそれらの患者に効果的に分配する方法の確立は、喫緊の臨床的ニーズです。

今回私たちはRNAシークエンス (RNA-Seq) を用いてヒトNAFLD肝組織の遺伝子発現を網羅的に解析し、NAFLD由来発癌のリスク層別化遺伝子発現シグネチャーとしてPrognostic Liver Signature for NAFLD (PLS-NAFLD) を同定しました。PLS-NAFLDは、肝生検から最長 15 年先まで発癌しない症例を同定することができ、どの患者が定期的なスクリーニング検査をしなくて済むのかという臨床判断のサポートに使える可能性が示されました。さらに、より低侵襲で発癌リスクを予測できるように、私たちが以前開発したバイオインフォマティックス手法 TexSEC を用いて、PLS-NAFLD を血清タンパクパネル PLSec-NAFLD に変換しました。肝組織 PLS-NAFLD 同様、PLSec-NAFLDも発癌しない症例を同定するために有用であることを外部コホートで証明し、さらに臨床応用の可能性が広がったといえます。加えて PLS-NAFLDは、発癌予防効果が期待できる治療(肥満手術、スタチンなど)により改善することがわかっており、今後新たな発癌予防治療の臨床試験における代替アウトカムとしての利用も可能かもしれません。単細胞 RNA-Seq や空間遺伝子発現プロファイリングを用いて PLS-NAFLD に含まれる分子生物学的な情報を読み解くことで、線維化を認める肝門脈域周囲に集簇した Exhausted CD8 T細胞と IDO1 陽性樹状細胞が相互作用し、発癌しやすい肝微小環境を形成していることを同定しました。

PLS-/PLSec-NAFLDにより、NAFLD発癌に対する高リスク・低リスク患者を同定することで、高リスク患者ではより強度の高いスクリーニング検査を行い、HCCを早期発見する尤度を高めることができるとともに、低リスク患者では不要なスクリーニング検査を回避することができ、患者の経済的・心理的負担を軽減できるものと考えます。総じて患者予後を改善し、医療経済にも貢献することが期待されます。臨床で実装されるために、さらに大規模なコホートでの検証を行う予定です。

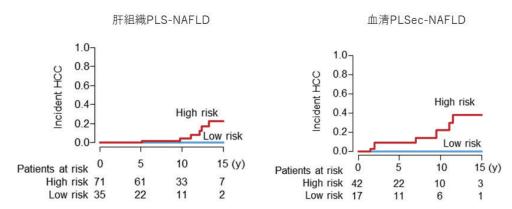


図1: PLS-NAFLDによる NAFLDからの発癌予測

PLS-NAFLDは、NAFLDコホートにおいて新規発癌予測に有用であった。

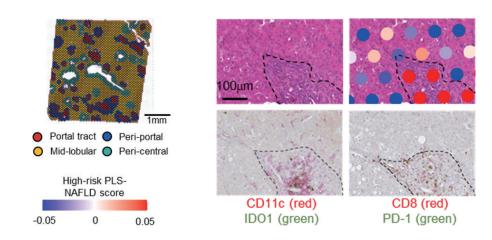


図2:門脈域で近接するExhausted CD8 T細胞とIDO1 陽性樹状細胞

Single-cell RNA sequence解析とSpatial transcriptome解析を用いてPLS-NAFLDを詳細に解析することで、門脈域に 集簇するExhausted CD8 T細胞とIDO1 陽性樹状細胞が発癌に関連する微小環境を形成する可能性が示唆された。

G. De Palma *et al.*, *SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE* 27 Jul 2022: Vol 14, Issue 655 DOI: 10.1126/scitransImed.abj1895

オンライン版 URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abj1895



マウスでは腸内細菌叢によるヒスタミン産生により ヒスタミン4受容体シグナル伝達を介して内臓痛覚過敏が誘発される

Histamine production by the gut microbiota induces visceral hyperalgesia through histamine 4 receptor signaling in mice



左から新堀 智子、Giada De Palma、David E. Reed

新堀 智子 Chiko Shimbori

Research Associate, Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University

Giada De Palma

Assistant Professor, Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University

David E. Reed

Assistant Professor, Gastrointestinal Diseases Research Unit, Queen's University

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

新堀 智子 E-mail: shimbor@mcmaster.ca

所在地: McMaster University Health Sciences Centre Room 3N4-9, 1280 Main Street West, Hamilton, ON L8S 4K1, Canada

Giada De Palma E-mail: depalma@mcmaster.ca

所在地: McMaster University Health Sciences Centre Room 3N4-9, 1280 Main Street West, Hamilton, ON L8S 4K1. Canada

Abstract

腸内細菌叢は、過敏性腸症候群(IBS)などの慢性痛疾患との関係が示唆されているが、その具体的な病態生理学的機構は依然として不明である。われわれは以前の研究で、IBS患者では発酵性糖質の摂取を控えることで腹痛を改善できること、またそれに伴って腸内細菌叢が変化して尿中ヒスタミン値が低下することを明らかにした。そこで今回は、内臓過敏症における腸内細菌と神経活性メディエーターであるヒスタミンの役割を検討するため、IBS患者から採取した糞便細菌叢を無菌マウスに定着させた。尿中ヒスタミン値が高いIBS患者の糞便細菌叢を定着させた無菌マウスでは、内臓痛覚過敏が生じ肥満細胞の活性化が認められた。一方、尿中ヒスタミン値が低いIBS患者の糞便細菌叢を定着させたマウスでは、これらの変化は認められなかった。これらのマウスに低発酵性糖質食を給餌したところ、内臓過敏症および結腸中の肥満細胞の集積は軽減した。尿中ヒスタミン値の高いIBS患者の糞便細菌叢ではin vitroで大量のヒスタミンが産生されたが、尿中ヒスタミン値の低いIBS患者の糞便細菌叢ではこのような産生はみられなかった。このヒスタミンが産生されたが、尿中ヒスタミン値の低いIBS患者の糞便細菌叢ではこのような産生はみられなかった。このヒスタミンを産生している主要細菌として、ヒスチジン脱炭酸酵素遺伝子パリアントを保有するクレブシエラ・アエロゲネス(Klebsiella aerogenes)を同定した。この菌種は、独立した3コホートにおいてIBS患者の糞便細菌叢で健康者と比べて豊富に認められた。高ヒスタミン産生性のIBSの糞便細菌叢を定着させた無菌マウスの結腸において、ヒスタミン4受容体を薬理学的に阻害すると、内臓過敏症が抑制され、肥満細胞の集積が減少した。これらの結果は、慢性腹痛を有する一部のIBS患者の内臓痛覚過敏の治療には、細菌性ヒスタミンに対する治療戦略が役立つ可能性を示唆している。



Gut-Microbiota-Brain Axis Research

McMaster Universityは、ちょうどトロントとナイアガラの滝の中間ほどにあるハミルトンという都市にあります。Bercik-CollinsラボではIBSやうつ病などを中心にGut-Microbiota-Brain Axisの研究を行っています。生体内でのダイナミックなGut-Microbiota-Brainの相関関係は非常に複雑ですが、さまざまな疾患に関与しており、現在とても注目されている分野でもあります。ラボのPIであるDr. BercikとDr. Collinsは消化器科医でもあり、私の所属する基礎研究チームと臨床研究チームとが協力し合って、様々な画期的なトランスレーショナルリサーチのプロジェクトに取り組んでいます。今回のプロジェクトはQueens大学との共同研究であり、このように活発に国内外のチームとも共同研究がなされています。ラボには世界各国から研究者が集まっており、とても国際色豊かです。興味のある方はぜひご連絡ください。

細菌由来のヒスタミンが過敏性大腸炎における痛みを引き起こす

過敏性大腸炎(IBS)は、腹痛や排便異常などの症状が特徴的な機能性消化管障害です。これまでに、IBSの腸内で肥満細胞の数が上昇することが知られています。また近年、腸内細菌がIBSの病態に関係していることが示されてきていますが、その具体的な役割についてはよくわかっていませんでした。私たちは以前の臨床研究で、一部のIBS患者において発酵性糖質の食事を控えることで腸内細菌の変化と尿のヒスタミン値の低下を伴って腹痛が改善されることを報告しました。そこでIBSの病態にどのように腸内細菌とヒスタミンが関係しているのかを明らかにするために、私たちが以前確立した無菌マウスにヒトの糞便腸内細菌叢を移植したIBSモデルを用いて解析を行いました。

まず、無菌マウスに高尿中ヒスタミンのIBS患者、低尿中ヒスタミンのIBS患者、そして健康者の糞便腸内細菌叢をそれぞれ移植しました(図1)。健康者あるいは低ヒスタミンIBS患者の腸内細菌叢を移植されたマウスと比べて、高ヒスタミンIBS患者の腸内細菌叢を移植されたマウスは内臓痛覚過敏になっており、結腸内の肥満細胞が増加し、さらに腸内細菌のヒスタミン産生量が大幅に上昇していました。そこで、どのような細菌がヒスタミンを産生しているか解析を行ったところ、Klebsiella aerogenesが高ヒスタミンIBS患者においてヒスタミンの主な産生細菌として同定され、Klebsiella aerogenes由来のヒスタミンが結腸内肥満細胞の増加に関与していることがわかりました。また面白いことに、高ヒスタミンIBSマウスに低発酵性糖質食を与えると、内臓痛覚過敏、結腸内の肥満細胞の集積、そして腸内細菌からのヒスタミン産生も抑えられました。さらに、高ヒスタミンIBS患者が低発酵性糖質食を摂ることで、腸内細菌叢内のKlebsiella aerogenesが有意に減少していました。次に、どのヒスタミン受容体が関与しているか調べたところ、高ヒスタミンIBS患者の腸内細菌叢を移植されたマウスの腸内ではヒスタミン4受容体(H4R)の発現が上昇しており、H4Rを介して肥満細胞を引きつけていることがわかりました。さらに、H4R阻害薬は高ヒスタミンIBSマウスにおける内臓痛覚過敏ならびに肥満細胞の増加を改善しました。これまでIBSにおけるヒスタミンの主な出所は肥満細胞であると考えられていましたが、今回の結果から、腸内細菌由来のヒスタミンがH4Rを介して肥満細胞を腸内に呼び込み、さらなるヒスタミンや別の痛み物質を産生することで神経を刺激し、内臓痛覚過敏をもたらすものと考えられました(図2)。

今回の研究の結果は、Klebsiella aerogenes あるいはH4Rを標的とした新たなIBSの治療薬の開発につながると考えています。 また、尿中のヒスタミン値が、H4R阻害薬あるいは低発酵性糖質食が個々のIBS患者に有効かどうかのスクリーニングの指標となる可能性も示しています。

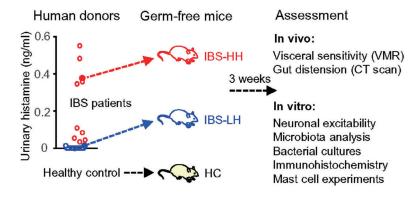


図1:IBS患者の腸内細菌叢を移植されたマウスモデル

無菌マウスに高尿中ヒスタミンのIBS患者、低尿中ヒスタミンのIBS患者、そして健康者の糞便腸内細菌叢をそれぞれ移植し、3週間後に解析を行った。

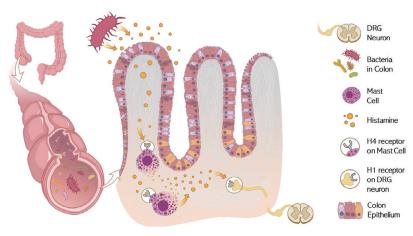


図2:IBSにおける細菌性ヒスタミンによる内臓痛覚過 敏の誘発

IBSでは腸内細菌叢が変化し、細菌性ヒスタミン産生が上昇することで、腸内の肥満細胞がH4Rを介して誘導・活性化され、内臓痛覚過敏が誘発されると考えられる。この図はQueen's UniversityのNicole Protopapas、Dr. Kaede Takami、Dr. Stephen Vannerから提供いただいた。

H. Kobayashi et al., SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE 10 Aug 2022: Vol 14, Issue 657 DOI: 10.1126/scitranslmed.abj2109



オンライン版URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abj2109

Neuroblastoma suppressor of tumorigenicity 1(NBL1)は 糖尿病患者における末期腎不全への進行と関連した 循環血中蛋白質である

Neuroblastoma suppressor of tumorigenicity 1 is a circulating protein associated with progression to end-stage kidney disease in diabetes



小林 洋輝 Hiroki Kobayashi

日本学術振興会 海外特別研究員, Section on Genetics and Epidemiology, Research Division, Joslin Diabetes Center, Harvard Medical School (現 日本大学医学部 内科学系 腎臓高血圧内分泌内科学分野 助教)

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

E-mail: kobayashi.hiroki@nihon-u.ac.jp kobayashihiroki2@gmail.com 所在地: 173-8610 東京都板橋区大谷口上町 30-1

U R L:https://www.med.nihon-u.ac.jp/gaiyou/policy.html

Abstract

糖尿病性腎症(DN)の進展速度が患者によって異なる機序は未解明で、末期腎不全(ESKD)の発症を予測するバイオマーカーも確 立していない。そこで本研究では、DN患者の血液検体を用いた蛋白測定から将来のESKD発症を予測するバイオマーカーを同定 し、さらに同定蛋白のDN進展における役割を明らかにすることを目的とした。ジョスリン糖尿病センターのコホート(①1型糖尿病: CKD stage 1、2、②1型糖尿病: CKD stage 3、③2型糖尿病: CKD stage 3)と、ピマインディアンコホート(④2型糖尿病: CKD stage 1、2) の計4コホート(計754人) について、ベースラインでのTGF- β シグナル関連蛋白質の血漿中濃度を SOMAscan platformを用いて網羅的に測定し、10年以内の新規ESKD発症をアウトカムとしたロジスティック回帰分析を行った。 測定した25種類の循環血中蛋白質のうち、Neuroblastoma suppressor of tumorigenicity 1(NBL1)が、全コホートにおいて ESKDへの進行と最も強く関連していることが確認された。NBL1は新規性が高く、腎障害との関連を示す既報はない一方で、腎保 護作用を示すBone morphogenetic protein(BMP)7に対してのantagonistとしての作用が過去のin vitroの研究で報告され ている。さらに、本研究において腎生検で形態学的に評価した足細胞やその他の糸球体構造の損傷の程度は血中NBL1濃度と強く 相関しており、in vitroの実験ではNBL1への添加が足細胞のアポトーシスを誘導した。以上、結論としてNBL1が将来のESKDを 予測する強力な血中バイオマーカーになることが示され、さらに糖尿病性腎症の進展を抑制する。



糖尿病性腎症の進展抑制を目指して

本研究は筆者が留学中に実施していた研究であり、帰国後も 継続して研究を発展させております。われわれ、日本大学医 学部 内科学系腎臓高血圧内分泌内科学分野(主任教授 阿部 雅紀)では、透析患者を含めた慢性腎臓病のバイオマーカー の探索や、基礎研究による慢性腎臓病の病態解明について 精力的に研究に取り組んでおります。今後は、私の留学先で あったジョスリン糖尿病センターともコラボレーションしなが ら研究を大きく発展させていきたいと考えております。

NBL1 は糖尿病性腎症の進展に関与する

腎臓には、①血液を濾過して老廃物を尿として排出、②体の水分量の調節、③血液中の電解質濃度を一定に保つ、という主に3つの働きがあります。糖尿病により高血糖の状態が持続するとこれらの腎臓の機能が障害され(糖尿病性腎症)、水分や老廃物がスムーズに排出されにくくなり、最終的にはむくみや倦怠感などの全身症状が現れて自分の腎臓だけでは生命が維持できなくなります。これが末期腎不全と呼ばれる状態で、腎移植、または人工透析が必要になります。現在、日本の人工透析医療費は年間総額1.5兆円を超えており、その原疾患として糖尿病性腎症が40%以上を占め、糖尿病性腎症の病態解明、および治療法の開発が喫緊の課題になっております。こうした医学的、社会的背景を危惧し、私は糖尿病性腎症の研究に取り組むようになりました。私が所属していたハーバード大学医学校附属ジョスリン糖尿病センター(Prof. Krolewski)では、同施設に通院中のおよそ3,500名の糖尿病患者(1型2,000名、2型1,500名)を対象にJoslin Kidney Study(JKS)を実施し、糖尿病性腎症に関するバイオマーカーや治療標的蛋白の探索を長年行っておりました。

腎機能が低下していく過程では、腎臓の組織では「線維化」と呼ばれる現象が観察されます。その「線維化」に関連するシグナルとして、以前からTGF-βシグナルの関与が報告されておりました。しかしながら、このTGF-βシグナルに関連する蛋白群について、糖尿病患者の血中で測定して腎機能との関連を報告した研究はありませんでした。そこで本研究では、ジョスリン糖尿病センターに通院する糖尿病患者、および米国アリゾナ州に住むピマインディアンの糖尿病患者の合計 754人を対象に、腎機能が保たれている段階での患者の血液検体を使用してTGF-βシグナルに関連する25種類の蛋白質を測定しました。その結果、10年以内に末期腎不全に至っていた患者では、同期間で末期腎不全に至らなかった患者群と比較して、血中NBL1 (Neuroblastoma suppressor of tumorigenicity 1)が上昇していることが明らかになりました(図1)。さらに、糖尿病性腎症患者の血中NBL1 濃度と腎組織の障害の程度との相関関係について解析したところ、血中NBL1 濃度とポドサイトの障害や腎線維化の程度との間に強い相関関係を認め、NBL1 の発現量が腎組織障害の程度に影響を与えている可能性が示唆されました。続いて行った細胞実験では、ポドサイトや尿細管細胞にNBL1 を添加することで、それぞれの細胞のアポトーシス (細胞死)が誘導されることが明らかになりました(図2)。以上、本研究で同定したNBL1は、糖尿病性腎症患者において将来の末期腎不全の発症を予測するバイオマーカーになるだけでなく、治療標的になる可能性も示唆されました。

本研究結果に基づき、すでにわれわれ日本大学医学部の研究グループはNBL1と腎障害の進行に関する動物、細胞実験を開始し、現時点で良好な結果が得られております。将来的には、NBL1を標的とした糖尿病性腎症の治療薬が開発され、人工透析患者数の抑制につながることが期待されます。また、糖尿病を代表とする種々の生体ストレスは、様々な組織に損傷を与え、糖尿病性腎症、非アルコール性脂肪肝炎、心筋線維化などの慢性炎症性疾患を引き起こします。このような臓器を超えた共通の線維化は、いまだ治療に有力な標的細胞・分子が明らかではなく、線維化の発症進展機構の解明と治療法開発は、世界が注目する喫緊の国際的課題となっております。本研究は腎線維化機序の解明を通して、世界が注目する線維化研究に波及し得る重要な意味を持つ研究でもあります。

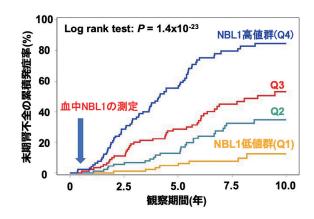


図1: Baseline での血中NBL1値と末期腎不全の累積発症率との関係 Baseline での血中NBL1の濃度を四分位(Q1~Q4)で分けると、その 濃度が高値の群ほど将来の末期腎不全の発症率が高くなる。

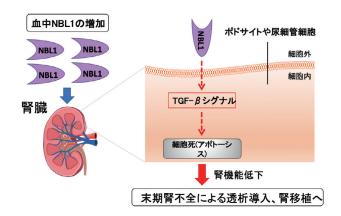


図2:血中NBL1が腎組織に障害を与える概念図

血中で上昇したNBL1は、ポドサイトや近位尿細管細胞に対してTGF- β シグナルを介して障害を与える可能性がある。

K. H. Dinnon III et al., SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE 7 Jul 2022: Vol 14, Issue 664

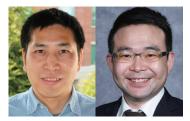
DOI: 10.1126/scitransImed.abo5070

オンライン版URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abo5070



マウスにおいて新型コロナウイルス(SARS-CoV-2) 感染は線維化を伴う慢性的な肺上皮および免疫細胞の機能障害を引き起こす

SARS-CoV-2 infection produces chronic pulmonary epithelial and immune cell dysfunction with fibrosis in mice



左から奥田 謙一、朝倉 崇徳

奥田 謙一 Kenichi Okuda

Assistant Professor, Marsico Lung Institute, University of North Carolina at Chapel Hill

朝倉 崇徳 Takanori Asakura

Postdoctoral Research Associate, Marsico Lung Institute, University of North Carolina at Chapel Hill (現 北里大学 薬学部臨床医学 生体制御学 講師)

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

奥田謙一 E-mail:ken_okuda@med.unc.edu 所在地:125 Mason Farm Road, Chapel Hill, NC 27599, USA U R L:https://www.med.unc.edu/marsicolunginstitute/directory/kenichi-okuda-md-phd/

崇徳 E-mail:asakura.takanori@kitasato-u.ac.jp 所在地:108-8642 東京都港区白金5-9-1

U R L:https://researchmap.jp/tasakura

Abstract

一部の新型コロナウイルス感染症(COVID-19)からの回復者は新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)急性感染後症候群(PASC)を発症するが、PASCに関連する肺疾患の病態メカニズムの解明は、経時的な組織検体の不足もあるため進んでいない。マウス適応 SARS-CoV-2株MA10は、マウスにおいてヒトと同様の急性呼吸促拍症候群を引き起こす。PASCの発症機序を検討するため、MA10感染マウスを用いた研究を感染急性期から回復期に拡大して行った。ウイルス感染後 15~120日において、肺の組織学的所見として、膠原線維の沈着、増殖性線維芽細胞、および三次リンパ節様構造を含む慢性炎症から成る胸膜下病変が認められた。感染後の経時的な空間的遺伝子発現プロファイリングにより、ヒトCOVID-19と同様に、病変領域に異常な組織修復および線維化に関連する遺伝子発現経路が特定された。病変領域では、肺線維化マーカーの局所的な発現増加とともに、肺胞上皮中間細胞の増殖が同定された。抗ウイルス薬EIDD-2801による早期介入により慢性肺病変は軽減し、抗線維化薬(ニンテダニブ)による介入により早期の重症度が改善した。本マウスモデルは、遷延性のSARS-CoV-2肺疾患に関連する遺伝子発現経路を特定し、PASCを改善するための対策を検討する機会を提供する。



COVID-19パンデミック下の コラボレーション研究

COVID-19による世界的なパンデミックが起こった2020年春、私は現所属先であるノースカロライナ大学チャペルヒル校(UNC)のMarsico Lung Instituteで、気道粘液線毛クリアランスの研究に従事していました。COVID-19の感染拡大防止のため大学がシャットダウンし、ほとんどのラボが活動中止せざるを得ない状況の中、私たちは、長期にわたり世界的にコロナウイルス研究をリードしてきたUNCのDr. Baric ラボとの共同研究を開始し、パンデミックの間も継続して研究を続けました。それぞれの研究者が少しでもパンデミックの収束に貢献したいとの思いから、自分たちの専門知識や技術をお互いに出し合って、スピード感を持ってプロジェクトを進めていくという大変貴重な経験をしました。また、パンデミック以後、国家レベルでのCOVID-19研究に関する支援の急速な拡大、ならびに続々と出版される大量の最新論文など、サイエンスによってパンデミックを克服するという気概を肌で感じることができ、この経験を今後の研究生活に生かしていければと思います。

マウスモデルを用いたPASC関連肺病変の解析

2019年以降、世界中で猛威を振るってきた新型コロナウイルス感染症(COVID-19)による死亡率は、ワクチンの普及、抗ウイルス薬、抗炎症治療、集中治療領域における支持療法の充実などにより減少しました。しかし、COVID-19感染からの回復者の約40%が倦怠感、呼吸苦、認知機能低下などの症状を伴う急性感染後症候群(PASC)を発症し、特に慢性的な肺機能の低下が問題となっています。現在までに世界中で6億人を超えるCOVID-19感染者数がいることを鑑みると、PASC関連肺疾患の病態生理の解明、早期バイオマーカーの同定、および治療法の開発は公衆衛生上、喫緊の課題です。COVID-19感染者の剖検肺を対象とした研究によって、PASC関連肺疾患における分子生物学的、病理学的な解析が進められていますが、剖検肺から得られる情報はその性質上、終末期のものに限られるため、SARS-CoV-2感染初期から回復期へと経時的にPASC関連肺疾患の病態生理を解析するための動物モデルが求められています。そこで私たちは、マウス適応SARS-CoV-2株(MA10)を感染させたマウスモデルを用い、多角的な手法を組み合わせてPASC関連肺疾患の病態生理を明らかにしました。

まず私たちは、MA10感染マウスモデルが、ヒトPASC患者と同様に慢性肺病変をきたすかどうかを検討しました。MA10を気道より肺に感染させたBALB/cマウス(1年齢)は、感染から7日後までに体重減少および肺組織内ウイルス量がピークとなり、25%が死亡しましたが、生存したマウスではその後に体重は回復し、ウイルス量は検出感度以下となりました。一方で、生存したマウスでは、感染15日後、胸膜下を中心として多様に分布する炎症細胞浸潤、膠原線維の蓄積、線維芽細胞増殖などの肺病変が認められ、感染120日後まで遷延していました。これらの胸膜下病変はCTでスリガラス陰影として認められ、ヒトPASCにおける肺CT所見と合致しました。次に、組織学的に同定された慢性線維化病変における遺伝子発現解析のため、GeoMx空間的遺伝子発現プロファイリングを行いました。その結果、感染15、30日後に認められた慢性肺線維化病変では、細胞外基質の増殖、細胞老化、p53シグナリング、TGF-βシグナリングなどの遺伝子発現経路が亢進していました。また、慢性肺線維化病変では、線維化マーカーの発現とともにKrt8陽性肺胞上皮中間細胞が増殖し、これはヒトCOVID-19剖検肺での報告と合致する所見でした。最後に、抗ウイルス薬(EIDD-2801)および抗線維化薬(ニンテダニブ)が、MA10感染後の慢性肺線維化病変を改善するかどうかを検討しました。感染12時間後から投与開始したEIDD-2801により、急性期の肺損傷および感染30日後の慢性肺線維化病変が改善し、またニンテダニブ投与により感染15日後の肺病変が改善しました。

今回の研究で、SARS-CoV-2感染急性期および回復期におけるPASCの疾患モデルとしてのMA10感染マウスの有用性が示されました。今後、MA10感染マウスモデルを用いたPASC関連肺疾患に対する新規治療薬の開発、ならびに肺以外の臓器におけるPASCの病態解明の進展が期待されます。

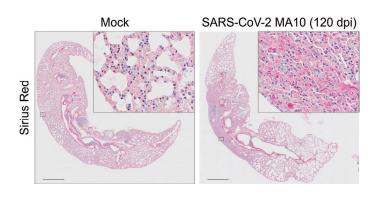


図1: SARS-CoV-2 MA10 感染120日後の肺組織所見

MA10感染マウスでは、胸膜下に感染120日後まで遷延する細胞成分増殖を伴うSirius Red染色陽性の膠原線維の沈着を認めた。スケールバー:1mm。

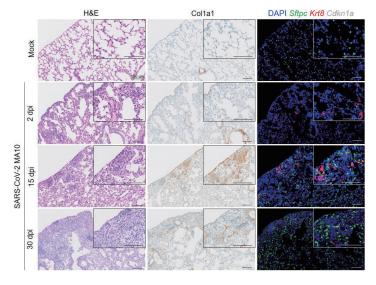


図2:SARS-CoV-2 MA10感染後の慢性肺病変とKrt8陽性肺胞 上皮中間細胞の関連

MA10感染マウスでは、感染2日後、Sftpc陽性細胞の急激な減少およびKrt8陽性細胞の出現を認めた。感染15日以後は、胸膜下の膠原線維(Col1a1)沈着を伴う線維化病変に一致して、Krt8陽性細胞の蓄積が認められた。スケールバー:100μm。

T. Nishiyama *et al.*, *SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE* 23 Nov 2022: Vol 14, Issue 672 DOI: 10.1126/scitransImed.ade1633

オンライン版URL: https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.ade1633

RBM20の病原性変異をゲノム編集することで拡張型心筋症を治療する

Precise genomic editing of pathogenic mutations in *RBM20* rescues dilated cardiomyopathy



西山 崇比古 Takahiko Nishiyama

Postdoctoral fellow, Department of Molecular Biology, University of Texas Southwestern Medical Center

Eric N. Olson

Professor, Department of Molecular Biology, University of Texas Southwestern Medical Center

写真は西山 崇比古

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。



西山 崇比古 E-mail:Takahiko.Nishiyama@UTSouthwestern.edu 所在地:6000 Harry Hines Blvd. Dallas, TX 75390-9148, USA

U R L: https://labs.utsouthwestern.edu/olson-lab

Eric N. Olson E-mail: eric.olson@utsouthwestern.edu 所在地: 6000 Harry Hines Blvd. Dallas, TX 75390-9148, USA

U R L: https://labs.utsouthwestern.edu/olson-lab

Abstract

RNA 結合モチーフタンパク質 20 (RBM20) の変異は、家族性拡張型心筋症 (DCM) の一般的な原因である。多くの RBM20 変異は、核内局在を仲介するアルギニン/セリンリッチ (RSリッチ)ドメイン内に集積している。これらの変異は RBM20 の局在異常を引き起こし、心筋細胞の細胞質内で異常なリボ核タンパク質 (RNP) 顆粒を形成して、心臓遺伝子の選択的スプライシング異常を引き起こし、DCMの一因となる。われわれは、ヒト人工多能性幹細胞 (iPSC) 由来心筋細胞において、アデニン塩基編集 (adenine base editing: ABE) とプライム編集 (prime editing: PE) を用いて、RSリッチドメインの病原性 p.R634Q および p.R636S 変異を修復した。ABE を用いて RBM20 R634Q ヒト iPS 細胞を修復したところ、A-to-G編集効率は 92%に達した。これにより、心臓遺伝子の選択的スプライシングが正常化し、RBM20 の核内局在が回復し、RNP 顆粒形成が排除された。さらに、ヒト iPS 細胞において RBM20 R636S 変異を修復する PE 法を開発し、A-to-C編集効率は 40%であった。さらに、Rbm20 R636G 変異マウスを作製し、DCM治療としてのABE の可能性を評価した。ホモ接合体 (R636Q/R636Q) 変異マウスでは、重度の心機能障害、心不全、早期死亡が認められた。これらのマウスに、ABE max-VRQR-Sp Cas9 とシングルガイド RNA を含む ABE 構成要素をアデノ随伴ウイルス血清型 9 によって全身投与すると、心エコーにより評価した心機能が回復し、生存期間が延長した。RNA 配列解析では、ABE による遺伝子編集によって、変異マウスで認められた異常な遺伝子発現が正常化した。これらの結果は、遺伝子変異の正確な修復が、DCMに対する有望な治療法となる可能性を示している。



Olson Laboratory. Department of Molecular Biology, University of Texas Southwestern Medical Center

Olson Labはテキサス州ダラスのサウスウェスタンメディカルセンターにあり、30年以上の歴史をもつ研究室です。世界中から研究者が集まり、骨格筋、心筋の研究を行っています。特に、Duchenne型筋ジストロフィー症の遺伝子治療を世界で初めて報告し、遺伝子編集を用いた筋疾患治療の最前線にある研究室です。私は、優秀なラボの仲間に支えられて本研究を行うことができました。PIのオルソン教授ならびにラボメンバーに感謝するとともに、今後は留学中に学んだ知識や経験を活かして仕事に従事していきたいと思います。留学を少しでも考えている若い方がおられたら、ぜひ世界に飛び出してみてください。研究だけではなく、海外での様々な経験が人生を豊かにすると思います。

遺伝子編集治療による拡張型心筋症の新たな治療戦略の構築

拡張型心筋症(DCM)は、心機能低下や致死性不整脈を引き起こし、心不全の主要な原因となる疾患の一つです。DCMの原因遺伝子であるRNA結合タンパク質(RNA binding motif protein 20: RBM20)の変異は家族性DCMの2~6%に認められます。しかし現時点では、遺伝子変異を同定しても治療対象とすることは困難であり、心臓移植のみが唯一の治療法です。RBM20はスプライシング制御因子をコードしており、遺伝子変異による機能喪失の結果、心臓関連遺伝子のスプライシング異常を引き起こします。最近の報告では、RSRSP配列の遺伝子変異では、RBM20タンパク質が核内に移行できなくなり、細胞質内に異常顆粒の蓄積を引き起こすことで心不全を重症化させることがわかってきました。

CRISPR(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat)の発見以降、技術の飛躍的な発展により、遺伝子編集治療は様々な疾患に対する新規治療として期待されています。今回、私たちはAdenine base editing(ABE)と呼ばれる一塩基置換(A:T→G:C)を可能にした遺伝子編集技術を用いることで、RSRSP配列内の遺伝子変異の一つであるRBM20 R634Q変異(c.1901 G>A)の修復を、ヒト細胞およびマウスモデルを用いて行いました。ABE構成要素の運搬にはアデノ随伴ウィルス(AAV)を使用し、遺伝子変異を有するiPS細胞由来心筋細胞において、異常顆粒の除去、心筋細胞の機能回復を確認しました。ヒトR634Q変異と同義であるRbm20 R636Q マウスを作製したところ、DCMと類似した重度の心機能低下を示し、早期心不全死が確認されました。生後5日のRbm20 マウスにAAVを用いて遺伝子編集治療を試みたところ、治療マウス群では心機能の回復と生存期間の延長が認められました。また、心筋細胞内のRBM20 タンパク質の分布にも正常な核内への移行が認められ、遺伝子発現パターンも正常化することが確認されました。次に、遺伝子編集による副作用が惹き起こされないか確認したところ、明らかな細胞死、炎症、免疫細胞の増加といった有害事象は確認されませんでした。さらに、Base editingでは修復できないR636S変異(c.1906 C>A)に対して、Prime editing(PE)と呼ばれる遺伝子編集技術を試みました。PEは、DNAの標的部位に、設計した遺伝情報を直接書き込むことが可能な技術です。PEによってR636S変異を正常な配列に修復することができ、修復心筋細胞では異常な顆粒蓄積も改善されていました。

本研究では、新規の遺伝子編集治療を用いて、RBM20関連心筋症の遺伝子変異を修復する技術を構築しました。これらの治療は、従来の薬物療法や補助デバイスとは異なり、心筋症の原因である遺伝子変異自体に介入する新規の治療方法となります。遺伝子編集技術を用いることにより家族性心筋症の新たな治療展開、さらには心疾患だけではなく、多くの遺伝子疾患の治療への発展が今後期待されます。

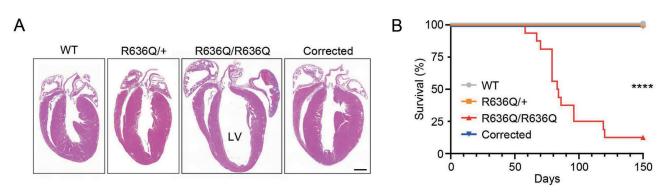


図1: Adenine base editingによる Rbm20 R636Q マウスの心機能および生存率の改善

Adenine base editingによる遺伝子編集治療によって、拡張型心筋症の特徴を示す変異マウスの心機能が改善し、生存期間も有意に延長する。

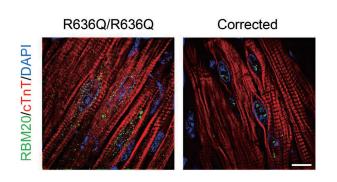


図2: RBM20 タンパク質の心筋細胞内分布の改善

遺伝子編集治療により、正常な核内分布への移行が確認される。

S. Matsushima *et al.*, *SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE* 30 Nov 2022: Vol 14, Issue 673

DOI: 10.1126/scitranslmed.abn6056



オンライン版URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abn6056

スプライスネオ抗原の化学誘導は 大腸がんの動物モデルにおいて腫瘍増殖を抑制する

Chemical induction of splice-neoantigens attenuates tumor growth in a preclinical model of colorectal cancer



左から萩原 正敏、網代 将彦、松島 慎吾

萩原 正敏 Masatoshi Hagiwara

京都大学大学院 医学研究科 形態形成機構学教室 教授

網代 将彦 Masahiko Ajiro

京都大学大学院 医学研究科 創薬医学講座 特定講師

松島 慎吾 Shingo Matsushima

京都大学大学院 医学研究科 形態形成機構学教室/創薬医学講座 博士課程 杏林製薬株式会社 わたらせ創薬センター 副主任研究員

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

萩原 正敏 E-mail:hagiwara.masatoshi.8c@kyoto-u.ac.jp 所在地:606-8501 京都府京都市左京区吉田近衛町

U R L:https://www.anat1dadb.med.kyoto-u.ac.jp/

網代 将彦 E-mail:ajiro.masahiko.6e@kyoto-u.ac.jp 所在地:606-8501 京都府京都市左京区吉田近衛町

URL: http://www.mic.med.kyoto-u.ac.jp/dddm/members/ajiro.html

Abstract

ネオ抗原の産生はがん免疫療法の効果を決定する因子である。しかし、効果的ながん治療のためにネオ抗原量を増大させることは技術的に困難である。今回われわれは、合成化合物 RECTAS が、抗腫瘍免疫応答の増強に資する可能性のあるスプライスネオ抗原の産生を誘導できることを報告する。RECTAS は、CD8 陽性 T細胞および腫瘍主要組織適合遺伝子複合体クラス I 依存的に腫瘍増殖を抑制し、免疫チェックポイント阻害効果を増強した。その後のトランスクリプトーム解析と免疫原性の検証実験により、RECTAS 投与によって発現が誘導される6つのスプライスネオ抗原候補が同定された。同定されたネオエピトープのワクチン接種により、in vitroでがん細胞を殺傷する能力をもつ T細胞応答が誘導され、RECTAS による感作によって in vivoで腫瘍増殖がさらに抑制された。これらの結果は、スプライスバリアントを誘導してがん免疫療法の効果を高める治療法開発の可能性を支持するものである。



魔法の弾丸を求めて

京都大学医学研究科の萩原研究室では、RNAスプライス制御化合物が、難病を治す"魔法の弾丸"になり得ると考え、基礎研究から臨床試験に至るまで、ワンストップでの創薬を目指しています。

RNAスプライシング制御化合物によるがん免疫療法不応答性の克服

T細胞は、自己の正常細胞を攻撃しないように、T細胞の賦活化を抑制するPD-1やCTLA-4といった「がん免疫チェックポイント」分子もT細胞表面に発現しています。本庶佑教授らが確立したがん免疫チェックポイント阻害療法は、このPD-1やCTLA-4の働きを抗体で抑えることによって、がん細胞に対するT細胞の攻撃を活性化し、末期癌患者をも救済する画期的な治療法です。それゆえ、PD-1阻害抗体を中心としたがん免疫チェックポイント阻害療法が、がん治療戦略の中心的存在となりつつありますが、いまだ半数以上の患者は不応答性であり、がん免疫療法の効果を改善するためには、不応答性の原因を克服することが課題です。とりわけ、T細胞が認識するがん抗原が、がん細胞に十分発現していない場合は、がん免疫チェックポイント阻害療法不応答性になると考えられます。萩原研では、これまで遺伝性疾患の治療を目指して独自のRNAスプライシング制御化合物を研究開発してきました。

スプライシング制御化合物でがん細胞内のRNAスプライシング環境にバイアスを与えることによって、スプライスネオ抗原を人工的に産生誘導することが可能で、これによりがん免疫療法の不応答性を克服できると考え、今回の研究を実施しました。大腸がん細胞を移殖したマウスにスプライシング制御化合物を投与したところ、少なくとも6種のスプライスネオ抗原免疫が誘導され、大腸がんの増殖が抑制され、担がんマウスの延命効果が観察されました。興味深いことに、同定されたスプライスネオ抗原は各種のマウス腫瘍に共通に誘導されるため、さまざまな癌腫に対して、誘導チェックポイント阻害剤の増強効果が期待できます。

スプライシング制御化合物は遺伝病患者に投与することを前提に開発されており、副作用がほとんどないことが確認されています。 今後は、ヒトがん細胞において、スプライシング制御化合物で誘導されるスプライスネオ抗原を同定する必要があります。様々なヒトがん細胞においてスプライシング制御化合物の有効性が確認できれば、スプライスネオ抗原誘導剤によって種々の悪性腫瘍に対して、免疫チェックポイント阻害療法の効果を飛躍的に増強できると期待されます。また、がんスプライスネオ抗原をベースとした、世界初の薬剤誘導性癌ワクチンを開発できる可能性があります。

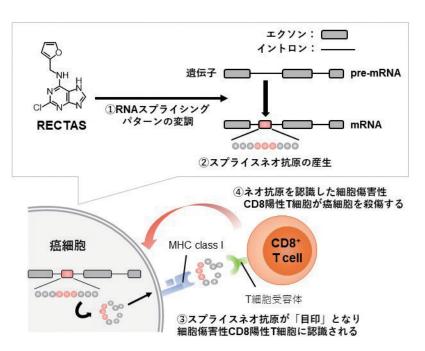


図1:スプライシング制御化合物によるネオ抗原の誘導 スプライシング制御化合物でがん細胞内のRNAスプラ イシング環境にバイアスを与えることによって、スプラ イスネオ抗原を人工的に産生誘導することができます。

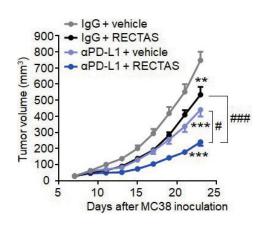


図2:スプライシング制御化合物 RECTAS による PD-1 阻害剤の効果増強

スプライシング制御化合物RECTASとPD-L1 抗体を併用すると、マウスに移植した大腸がんの増殖が顕著に抑制されました。

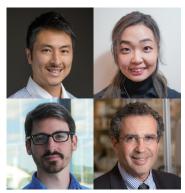
RESEARCH ARTICLE

P-P. Axisa *et al.*, *SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE* 14 Dec 2022: Vol 14, Issue 675 DOI: 10.1126/scitransImed.abl3651

オンライン版URL: https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abl3651

多発性硬化症の発症に関連するヒストンデアセチラーゼ7(HDAC7)の遺伝子変異は制御性T細胞の恒常性維持を介して作用する

A multiple sclerosis-protective coding variant reveals an essential role for HDAC7 in regulatory T cells



上段左から住田 智一、吉田 朋美、 下段左から Pierre-Paul Axisa、 David A. Hafler

住田 智一 Tomokazu S. Sumida

Assistant Professor, Department of Neurology, Yale School of Medicine

吉田 朋美 Tomomi Yoshida

PhD Candidate, Department of Immunobiology, Yale School of Medicine

Pierre-Paul Axisa

Post Doc, Department of Neurology, Yale School of Medicine

David A. Hafler

Professor, Departments of Neurology and Immunobiology, Yale School of Medicine

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

住田 智一 E-mail:tomokazu.sumida@yale.edu 所在地:300 George Street, New Haven, CT 06511, USA

U R L:https://medicine.yale.edu/lab/sumida/ https://medicine.yale.edu/lab/hafler/

Abstract

自己免疫疾患における疾患感受性遺伝子座を同定するゲノムワイド関連解析(genome-wide association study: GWAS)から、免疫細胞で活性化される遺伝子が主に疾患発症リスクに寄与することが示唆されている。しかし、多因子疾患である自己免疫疾患において、疾患感受性遺伝子変異の機能的解析は依然として困難である。今回われわれは、エピジェネティクスを制御する因子の1つであるヒストンデアセチラーゼ7(HDAC7)の保護的バリアントの免疫調節作用に注目した。この遺伝子変異(rs148755202、HDAC7.p.R166H)は、多発性硬化症(MS)におけるコーディングレアバリアントの解析において同定された。ヒトおよびマウスの検討から野生型HDAC7は、Foxp3⁺制御性T細胞(Treg)の機能維持に不可欠な遺伝子であることが示された。さらに、HDAC7のTreg特異的欠損マウスでは、MSのマウスモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)が増悪することを確認した。一方、保護的バリアントHDAC7 R166Hを誘導したヒトTregは、in vitroにおいてより高い抑制能力を示し、また、同変異のノックインマウスを用いることでin vivoにおいてもEAEに対して抑制的に働くことが明らかになった。本研究は、疾患リスクに関連するエピジェネティック修飾因子の調節不全がMSの発症に影響を及ぼす可能性を示唆している。また、ヒトとマウス両方の実験系を用い、in vitroおよびin vivoモデリングを駆使することで、遺伝的感受性遺伝子座の詳細な機能解析を遂行したモデルケースとしての意義が高い研究である。



ヒトの免疫細胞学を軸としたトランスレーショナルリサーチを展開する

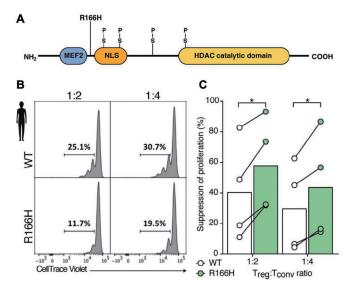
Dr. Haflerの研究チームは、MSのトランスレーショナルな研究に長年携わっています。ヒトとマウスの違いを常に念頭に入れつつ、主にヒトの疾患に根差した観察結果を重視して問題解決に取り組んでいます。ヒトのプライマリー細胞を積極的に用いた実験を通して、最終的にはヒトの疾病、患者さんに還元できるサイエンスを心がけています。最近では、MSの枠を超えてアルツハイマー病やパーキンソン病における免疫細胞の寄与が注目されるようになり、当研究室も最新のシングルセル解析、空間的遺伝子発現解析などを組み合わせたトランスレーショナル研究に力を入れて取り組んでいます。

ヒトおよびマウスモデルを用いたMS疾患感受性レアバリアントの機能解析

自己免疫疾患を始めとして、多くの疾患でゲノムワイド関連解析が広く行われてきた結果、疾患の発症リスクに関与する疾患感受性遺伝子座の同定に成功しています。しかし、個々の遺伝子多型(SNP)が表現型に寄与する程度は大きくなく、また多くのSNPが遺伝子をコードする領域に存在していないため、その機能解析には困難が伴うことが多いのが現状の課題です。一方で、希少な疾患感受性遺伝子多型(レアバリアント)はその検出にはより大きな母集団を必要とすることから、近年まで解析が進んでいませんでした。多発性硬化症のGWASは、国際的なゲノム解析を目的とするコンソーシアムであるInternational Multiple Sclerosis Genetics Consortium(IMSGC)を中心に近年進められてきました。200を超える高頻度SNPの検出のみならず、いくつかのレアバリアントの存在が明らかになっていましたが、その機能は依然不明でした。

私たちは、MSの発症リスクに寄与するレアバリアントのうち、保護的バリアントとして見出されていたHDAC7の遺伝子変異(rs148755202、HDAC7.p.R166H)の免疫調節作用の解明に取り組みました。まずはHDAC7の発現パターンからTregにおけるその役割に注目し、Tregの機能維持においてHDAC7が重要な役割を果たすことを、ヒト末梢血Tregにおける遺伝子ノックダウンおよびTreg特異的HDAC7欠損マウスの両者を用いて証明しました。次に、HDAC7.p.R166Hの機能を解析するために、ヒトTregにおけるHDAC7.p.R166H変異体蛋白の強制発現モデルと、マウスにおけるHDAC7.p.R166Hのオルソログ(直系遺伝子)をノックインした遺伝子改変マウスを作成しました。両モデルにおいてHDAC7.p.R166Hは、Tregの機能を増進させる方向に作用し、実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)が抑制されることが示されました。これらの結果から、HDAC7のTregにおける新たな作用が明らかになったのみならず、MSの発症リスクを低下させる遺伝子変異が、Tregの機能を増強することによりMSの発症に抑制的に作用していることが強く示唆されました。

本研究はヒトの疾患の発症に関わる、genotype to phenotype (遺伝子型から表現型)という、生物学の根幹のメカニズムの一端の解明に取り組みました。次世代シーケンサーの劇的な進化によりゲノムの解析は飛躍的に進み、多くの疾患感受性遺伝子座および責任遺伝子変異が見出されてきました。しかし、その個々の遺伝子変異がどのようにして疾患の発症に寄与しているかという分子細胞学的メカニズムは、多くのケースにおいて依然解明されていません。ヒトの末梢血由来の細胞を用いたin vitroの解析と、マウスオルソログをノックインした遺伝子改変マウスを用いたin vivoの解析を組み合わせることで、相互に補完し合う形でヒトの疾患感受性遺伝子の作用メカニズムの一端を明らかにしており、functional genomics (機能ゲノミクス)におけるオーソドックスなプラットフォームの一例を提示しています。ハイスループットではないものの、ターゲットとなる疾患感受性遺伝子に対して、モデル動物とヒトプライマリー細胞を用いた検討を組み合わせる本研究のような手法を用いることで、今後個々の疾患感受性遺伝子の機能メカニズムが解明されていくことが期待されます。





A:HDAC7遺伝子におけるR166Hの存在箇所

B、C:ヒトTregの抑制作用に対するHDAC7.p.R166Hの影響をin vitro suppression assayにて解析。HDAC7.p.R166HをコードしたHDAC7を発現させたTregでは、抑制能が増幅される。

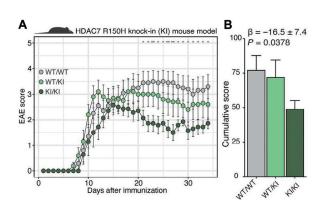


図2: HDAC7 R150Hノックインマウスを用いたin vivoでの機能解析

A、B:HDAC7.p.R166HのマウスオルソログであるHDAC7 R150Hのノックインマウスを作成し、EAEモデルを用いてin vivoの機能解析を行った。

HDAC7 R150Hのノックインホモマウスでは、EAEの病態スコアの有意な改善が認められた。

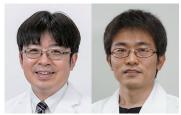
RESEARCH ARTICLE

K. Tanaka *et al.*, *SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE* 14 Dec 2022: Vol 14, Issue 675 DOI: 10.1126/scitransImed.abq0021

オンライン版URL: https://www.science.org/doi/abs/10.1126/scitranslmed.abq0021

進行非小細胞肺がん患者に対する ベザフィブラートとニボルマブによる併用療法

Combination bezafibrate and nivolumab treatment of patients with advanced non-small cell lung cancer



左から田中 謙太郎、茶本 健司

田中 謙太郎 Kentaro Tanaka

九州大学大学院 医学研究院 呼吸器内科学分野 准教授

茶本 健司 Kenji Chamoto

京都大学大学院 医学研究科附属がん免疫総合研究センター 免疫ゲノム医学 特定准教授

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

田中 謙太郎

E-mail: tanaka.kentaro.983@m.kyushu-u.ac.jp 所在地: 812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1 URL: http://www.kokyu.med.kyushu-u.ac.jp/ 茶本 健司

E-mail: chamoto.kenji.4w@kyoto-u.ac.jp 所在地:606-8501 京都府京都市左京区吉田近衛町

U R L: https://www2.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/pd-1_project.html

Abstract

Programmed cell deth-1 (PD-1)阻害薬やPD-1リガンド1 (PD-L1)阻害薬などのがん免疫療法は奏効しているが、患者はしばしば耐性を獲得する。この問題を克服するためには、PD-1/PD-L1阻害薬を中心とした新たな併用療法が必要である。Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1α /peroxisome proliferator-activated receptor 複合体のリガンドである ベザフィブラートは、マウスにおいて、T細胞のミトコンドリアの活性化を介し、PD-1阻害と相乗的な抗腫瘍効果を示した。そこでわれ われは今回、治療歴のある進行非小細胞肺がん患者を対象に、ベザフィブラートとニボルマブ併用の第1相試験(UMIN000029854)を実施した。主要評価項目は用量制限毒性を発現した患者の割合とし、この併用レジメンは忍容性が良好であることが示された。事前 に計画された、血漿中の代謝産物および末梢血における細胞傷害性 T細胞(CD8+キラー T細胞) の包括的な遺伝子発現解析から、ベザフィブラートは脂肪酸酸化を含むミトコンドリア代謝を向上させることで T細胞機能を促進し、それによって奏効期間を延長させ た可能性が示された。したがって、T細胞代謝を標的とするこの併用治療戦略は、免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍活性を長期間 持続させる可能性がある。さらなる検証が必要である。



がん免疫治療の夜明け

臨床におけるがん治療は戦後著しく発展しました。外科、放射線治療、化学治療および分子標的治療の開発・発展により、がん患者の生存も大幅に延長しました。2014年に初めてPD-1阻害によるがん免疫チェックポイント阻害治療が免疫治療として認可され、すでに20種類以上のがん腫が適応とされています。しかし、がん治療の歴史を鑑みますと、まだ誕生したばかりの未熟な治療法と言えます。がん治療分野では現在、免疫治療を中心として様々な治療法との複合的な組み合わせが試される時代に突入しました。がん免疫治療の基礎研究、臨床研究がうまく連携し、がん免疫治療の課題を解決していくことが望まれており、今後著しく発展すると期待される新しい分野です。

九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野では、トランスレーショナルリサーチの国内 有数の拠点として、基礎・臨床研究の一体的な推進を実践しています。

また京都大学では、PD-1 抗体治療を開発しノーベル生理学・医学賞を受賞した本庶佑センター長を中心に、がん免疫治療の発展を目的とした「がん免疫総合研究センター(CCII)」が発足しました。様々な設備と、幅広い分野からの若手研究者を拡充しています。ご興味のある方はぜひお尋ねください。

(九州大学 http://www.kokyu.med.kyushu-u.ac.jp/) (京都大学 https://www.ccii.med.kyoto-u.ac.jp/)

ベザフィブラートとPD-1 抗体のがん免疫併用治験による 安全性確認と有効性の解析

PD-1 阻害抗体治療は様々ながん腫が適応とされていますが、約半数以上のがん患者は不応答であり、いったん奏効を示した患者 も多くは耐性を獲得し、治療の変更が必要となります。これまで私たちは、がん患者における $CD8^+$ キラーT細胞のミトコンドリアの 機能不全が、不応答性の一つの原因であることを実証してきました。これらの問題を解決するため、ミトコンドリア機能を改善する薬 剤をスクリーニングしたところ、高脂血症薬であるベザフィブラートがCD8⁺ T細胞のミトコンドリア脂肪酸酸化を改善し、T細胞エ フェクター機能を向上させること、またベザフィブラートを併用するとPD-1 阻害抗体によるがん抑制効果を改善することをマウスモ デルにて示してきました。そこで、これらの基礎研究で得られた結果ががん患者でも認められるか確認するため、進行非小細胞肺が ん患者にベザフィブラートとニボルマブを併用した第1相医師主導治験を、九州大学、京都大学、熊本大学および近畿大学の国内4 施設にて行いました。

進行非小細胞肺がん患者(n=18)に対し、ニボルマブ治療(2週間間隔)を行う際にベザフィブラートを週2日、計4日経口投与し、 これを1コースとしました。合計3コース治療を実施し、主要評価項目として安全性を、副次評価項目として無増悪生存期間(PFS)等 の有効性を評価するとともに、探索的な解析として有効性のメカニズム解析を行いました。治療の結果、同併用治療は安全であるこ とが確認されました。生存期間中央値(mPFS)は全体として2.7ヵ月であり、既報とあまり変わりませんでしたが、EGFR変異陰性の 患者(n=11)に注目するとmPFSは7.5ヵ月となり、既報の2.3ヵ月と比較し3倍程度延長しました。治療が奏効した患者血漿を用い てメタボライト解析を行ったところ、脂肪酸酸化と酸化的リン酸化関連のメタボライトが、ニボルマブ単独治療患者と比べて併用治 療患者で高いことがわかりました(図 1)。また、同じ患者の末梢血中 $CD8^+$ T細胞の遺伝子発現を解析したところ、ニボルマブ単独 治療患者と比較し併用治療患者で様々な代謝経路と、生合成経路に関連する遺伝子群が上昇していました(図2)。さらに、併用治療 における治療奏効患者のCD8⁺ T細胞では、細胞の長期生存に関わるEOMES タンパクの発現が上昇することを確認しました。

以前のマウスの結果から得られたことは、ベザフィブラートを併用することで腫瘍内におけるCD8⁺ T細胞のアポトーシスが抑制さ れ長期生存するため、エフェクター T細胞の数を維持でき、治療効果の向上に寄与するということでした。今回ベザフィブラートとの 併用治験により、ヒトのがん患者においてもミトコンドリアの脂肪酸酸化の上昇とそれに伴うCD8⁺ T細胞の細胞代謝・生合成活性 が確認されました。EGFR変異陰性の患者はニボルマブが比較的有効な患者群であり、このような患者群に対して、ベザフィブラー ト・ニボルマブ併用治療はmPFSの延長を期待できる結果でした。今後は第2相以降の臨床試験実施を通して、有効性の確認・検 証を行いたいと思います。

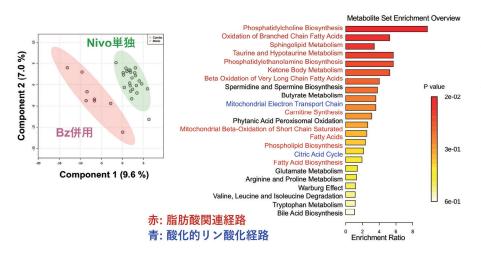
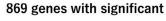


図1:ベザフィブラート併用は全身性の脂肪 酸酸化と酸化的リン酸化を示した

治療が有効であった患者について、ニボル マブ単独とベザフィブラート併用治療患者 の血漿中メタボライトを比較した(左:主成 分解析)。併用治療で有意に高いメタボライ トについて pathway 解析を行った(右)。



Primary metabolic process Biosynthetic process Organic substance biosynthetic process Regulation of metabolic process Organic cyclic compound metabolic process Cellular biosynthetic process Regulation of cellular metabolic process Regulation of primary metabolic process Macromolecule biosynthetic process RNA metabolic process Regulation of nitrogen compound metabolic.

First 15 pathways

among 170 pathways

Bz併用 Nivo 単独

Regulation of gene expression Regulation of biosynthetic process Regulation of cellular biosynthetic process Regulation of macromolecule biosynthetic. 500 Goterm Gene numbers

図2: ベザフィブラート併用は末梢 CD8⁺ T細胞の代謝・ 生合成経路を向上させた

治療が有効であった患者について、ニボルマブ単独とべ ザフィブラート併用治療患者の末梢血CD8⁺ T細胞を単 離し遺伝子発現を比較した(左: heatmap/cluster解析)。 併用治療で有意に高い遺伝子群について gene ontology pathway解析を行った(右)。

Science および姉妹誌の投稿規定

サイエンス誌(*Science*) および姉妹誌に投稿する前には必ず各誌のInformation for Authors (投稿規定)をご確認ください。投稿された著者は、われわれの使命の核となっている一連の編集/出版の方針に同意したものと見なされます。

Science の投稿規定は、ライセンス、利益相反、オーサーシップ、出版前の機密保持、データと資料の可用性、研究の完全性などのトピックをカバーしています。投稿規定のほとんどは全ジャーナルに共通のものですが、ジャーナルごとに独自の追加規定を設けている場合があります。

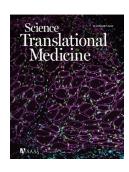
各誌に独自の方針と使命/範囲、ならびに投稿時の原稿の準備と提出および/またはレビューの指示に関する具体的な情報については、以下に掲げる各誌のQRコードでご確認ください。

























AAASのオープンアクセス

米国科学振興協会(AAAS)とAAASが刊行するScience各誌は、著者に選択の権利を認めるべきだと考えています。科学界から情報(論文)を受け取り、公開する科学論文を正確に記録することに貢献し、その論文の全体的な公正性を保護するといったオープンアクセス(OA)に関する選択肢を提供すること(OAオプション)を、私たちは支持しています。

詳細は以下のURLまたはQRコードで確認ください。 https://www.science.org/content/page/open-access-aaas





Pushing the Boundaries of Knowledge

As AAAS's first multidisciplinary, open access journal, *Science Advances* publishes research that reflects the selectivity of high impact, innovative research you expect from the *Science* family of journals, published in an open access format to serve a vast and growing global audience. Check out the latest findings or learn how to submit your research: **Science.org/journal/sciadv**

Science Advances MAAAS

GOLD OPEN ACCESS, DIGITAL, AND FREE TO ALL READERS

COSMO BIO

抗体作製 ペプチド合成

コスモ・バイオの受託サービス コスモ・バイオ札幌事業部のラボで製造しています

エピトープデザイン ポリクローナル抗体作製 モノクローナル抗体作製 エピトープマッピング (リニューアル) ペプチド合成

最先端の研究を応援します! NEW

糖鎖ペプチド合成サービス

近年、注目されている糖鎖を使った研究を支援するため、 コスモ・バイオでは糖鎖ペプチド合成サービスを開始致しました。





人と科学のステキな未来へ **コスモ・バイオ株式会社**

E-mail: peptide-ab@cosmobio.co.jp URL: https://www.cosmobio.co.jp/

ターゲットベース スクリーニング

- GPCR
- キナーゼ
- イオンチャネル
- 核内受容体

コスモ・バイオの **創薬支援サービス**

コスモ・バイオでは創薬研究に関連した 幅広い商品・サービスを提供しています。

詳しくは Web サイトをご覧ください。 TV 会議にて複数の商品の説明や ご相談を個別に承ります。



Q コスモ・バイオ 創薬

フェノタイプ スクリーニング

- iPS 細胞由来分化細胞
- ハイコンテントスクリーニング

バイオマーカー 解析

- ◆ 次世代シークエンス / マイクロアレイ
- RNA *in situ* Hybridization /マルチプレックス 免疫組織染色

アッセイ系構築

- タンパク質合成 / 抗体作製
- 安定発現細胞株/ 不死化細胞株作製サービス
- ウイルス作製サービス

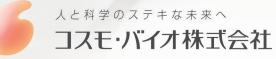


お問い合わせ TEL: (03)5632-9616 E-MAIL: dds_info@cosmobio.co.jp

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





お問い合わせ

事業開発部 E-mail: tamago@cosmobio.co.jp

URL : https://www.cosmobio.co.jp/