

2022 Issue

Science Translational Medicine

Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2021

トランスレーショナルメデイシンに載った
日本人研究者



COSMO BIO Co., LTD.
Inspiration for Life Science

Science
Translational
Medicine
ATAAS

Science Translational Medicine

Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2021

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7号にあたります。今回は、2021年に *Science Translational Medicine* で発表された14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。海外での研究成果も多く、日本人研究者が海外で活躍している様子が伝わってきます。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ご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。

2022年3月
編集チーム一同

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://www.science.org/content/page/stm-editorial-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、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 : トランスレーショナル医療に直接関連する仮説駆動型ではない研究 (検証済みの新たな手法や技術、データベース、データセットの紹介等)。

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 : 特定の疾患やトランスレーショナル・リサーチの新領域、トランスレーショナル医療に有益な新しい手法・技術についての総説。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) および図の説明文を含めること。

Viewpoints : 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。生物医学研究 (biomedical research)、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、および図の説明文を含めること。

Science Translational Medicine 投稿規定

執筆に関する規定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://www.science.org/content/page/stm-information-authors#ContentTop>

Research Article (初回投稿):

<https://www.science.org/content/page/stm-instructions-research-articles-initial-submission>

Research Article (査読後修正原稿):

<https://www.science.org/content/page/stm-instructions-revised-research-articles-after-invited-revision>

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

Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2021

トランスレーショナルメディスンに載った日本人研究者

Science Translational Medicine 投稿について 1

1月27日号 Research Article	全エクソームシーケンシングにより小細胞がん患者における生殖細胞系列遺伝子変異およびDNA修復を標的とした治療法が効果的な患者群を明らかに 4 Whole-exome sequencing reveals germline-mutated small cell lung cancer subtype with favorable response to DNA repair-targeted therapies Clinical Fellow, Developmental Therapeutics Branch, National Cancer Institute (現 国立研究開発法人 国立国際医療研究センター病院 腫瘍内科) 高橋 信行
2月17日号 Research Article	野生型メラノサイト系列抗原へのエピトープ拡大により免疫チェックポイント阻害薬の奏効不良が改善する 6 Epitope spreading toward wild-type melanocyte-lineage antigens rescues suboptimal immune checkpoint blockade responses Instructor, Cutaneous Biology Research Center, Department of Dermatology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School 川久保 雅祥
3月24日号 Research Article	リポジショニングされた薬剤は、黄色ブドウ球菌毒素による肝臓のAshwell-Morell受容体を介した血小板除去を抑制して菌血症を改善する 8 Repurposed drugs block toxin-driven platelet clearance by the hepatic Ashwell-Morell receptor to clear <i>Staphylococcus aureus</i> bacteremia Associate Project Scientist, Department of Pediatrics, University of California San Diego School of Medicine 内山 聡
3月31日号 Research Article	プロテオグリカンTsukushiの機能不全はマウス脳室下帯におけるニューロン新生を乱して水頭症を引き起こす 10 Dysfunction of the proteoglycan Tsukushi causes hydrocephalus through altered neurogenesis in the subventricular zone in mice 九州大学 基幹教育院 幹細胞生物学分野 教授 太田 訓正 熊本大学大学院 生命科学研究部 研究員 伊藤 尚文 UQ Developmental Fellow, University of Queensland Md Asrafuzzaman Riyadh 熊本大学 IRCMS 研究員 Shah Adil Ishtiyah Ahmad
3月31日号 Research Article	クッパー細胞によるペグインターフェロンの除去はB型慢性肝炎患者におけるNK細胞の活性化および治療反応を抑制する 12 Clearance of pegylated interferon by Kupffer cells limits NK cell activation and therapy response of patients with HBV infection Postdoctoral Fellow, Immunology Section, Liver Diseases Branch, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health(現 大阪大学大学院 医学系研究科 消化器内科学 特任助教) 西尾 啓 Section Chief, Immunology Section, Liver Diseases Branch, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health Barbara Rehermann
4月14日号 Research Article	中皮腫モデルマウスにおいて免疫療法を併用した局所放射線療法後の手術療法は抗腫瘍免疫応答を最大化する 14 Triple-modality therapy maximizes antitumor immune responses in a mouse model of mesothelioma Postdoctoral Research Fellow, Latner Thoracic Surgery Research Laboratories, Toronto General Hospital Research Institute, University Health Network (現 山口大学大学院 器官病態外科学[第1外科] 助教) 村上 順一 Postdoctoral Research Fellow and Clinical Fellow, Latner Thoracic Surgery Research Laboratories, Toronto General Hospital Research Institute, University Health Network (現 九州大学大学院 消化器・総合外科[第2外科] 臨床助教) 河野 幹寛

<div style="background-color: #004a99; color: white; padding: 2px;">4月28日号</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Research Article</div>	<p><i>BCL11A</i> 干渉と短縮型エリスロポエチン受容体の共発現により in vivoでの胎児型ヘモグロビンの持続的誘導が達成された 16</p> <p>Sustained fetal hemoglobin induction in vivo is achieved by <i>BCL11A</i> interference and coexpressed truncated erythropoietin receptor</p> <p>東京大学医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野 准教授 (兼任 米国国立衛生研究所 心肺血液部門 細胞分子治療分野 スタッフサイエンティスト) 内田 直也</p>
<div style="background-color: #004a99; color: white; padding: 2px;">5月5日号</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Research Article</div>	<p>RNAアプタマーによってFGFR3関連骨異形成症モデルマウスの骨成長障害が回復する 18</p> <p>An RNA aptamer restores defective bone growth in FGFR3-related skeletal dysplasia in mice</p> <p>大阪大学大学院 医学系研究科 小児科学 特任助教 木村 武司 株式会社リボミック 臨床開発部 主席 野中 洋介</p>
<div style="background-color: #004a99; color: white; padding: 2px;">5月12日号</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Research Article</div>	<p>サイログロブリン免疫マウスにおいて CD4⁺ T細胞は抗PD-1抗体誘発破壊性甲状腺炎の発症に必須の役割を果たす 20</p> <p>CD4⁺ T cells are essential for the development of destructive thyroiditis induced by anti-PD-1 antibody in thyroglobulin-immunized mice</p> <p>名古屋大学医学部附属病院 糖尿病・内分泌内科 講師 岩間 信太郎</p>
<div style="background-color: #004a99; color: white; padding: 2px;">6月30日号</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Research Article</div>	<p>好中球はスティーヴンス・ジョンソン症候群および 中毒性表皮壊死症の発症および増悪をもたらす 22</p> <p>Neutrophils initiate and exacerbate Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis</p> <p>山梨大学 皮膚科学講座 講師 小川 陽一 山梨大学 皮膚科学講座 助教 (現 Postdoctoral Fellow, Cutaneous Leukocyte Biology Section, Dermatology Branch, National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases, National Institutes of Health) 木下 真直 山梨大学 皮膚科学講座 教授 川村 龍吉</p>
<div style="background-color: #004a99; color: white; padding: 2px;">6月30日号</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Research Article</div>	<p>糖尿病患者における腎機能低下および末期腎不全への進行に対する 循環血中保護蛋白質の同定 24</p> <p>Circulating proteins protect against renal decline and progression to end-stage renal disease in patients with diabetes</p> <p>Research Fellow, Genetics and Epidemiology, Joslin Diabetes Center 佐竹 栄一郎</p>
<div style="background-color: #004a99; color: white; padding: 2px;">7月7日号</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Research Article</div>	<p>iPS細胞とマイクロ流体気道チップ技術を組み合わせた 線毛病の多細胞性モデルの構築 26</p> <p>Multicellular modeling of ciliopathy by combining iPS cells and microfluidic airway-on-a-chip technology</p> <p>京都大学大学院 医学研究科 呼吸器内科学 医員 曾根 尚之 京都大学大学院 医学研究科 呼吸器内科学 京都大学大学院 医学研究科 呼吸器疾患創薬講座 特定准教授 後藤 慎平</p>
<div style="background-color: #004a99; color: white; padding: 2px;">10月20日号</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Research Article</div>	<p>マクロファージ遊走阻害因子は 脊椎関節炎マウスモデルにおいて発症を引き起こし、ヒト疾患と関連する 28</p> <p>Macrophage migration inhibitory factor drives pathology in a mouse model of spondyloarthritis and is associated with human disease</p> <p>Spondylitis Senior Clinical Fellow and PhD Candidate, Spondylitis Program, Schroeder Arthritis Institute, University Health Network 中村 彰宏</p>
<div style="background-color: #004a99; color: white; padding: 2px;">11月24日号</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Research Article</div>	<p>酸化的損傷と複製の遅延により生存する結核菌 (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>) が 検出されなくなる 30</p> <p>Oxidative damage and delayed replication allow viable <i>Mycobacterium tuberculosis</i> to go undetected</p> <p>Assistant Professor, Department of Medicine, Weill Cornell Medicine 斎藤 厚太 Research Associate, Department of Microbiology and Immunology, Weill Cornell Medical College Saurabh Mishra Instructor, Department of Microbiology and Immunology, Weill Cornell Medicine (現 Research Scientist, Broad Institute of MIT and Harvard) Thulasi Warriar</p>

全エクソームシーケンシングにより小細胞がん患者における生殖細胞系列遺伝子変異およびDNA修復を標的とした治療法が効果的な患者群を明らかに

Whole-exome sequencing reveals germline-mutated small cell lung cancer subtype with favorable response to DNA repair-targeted therapies

Camille Tlemsani¹ Nobuyuki Takahashi¹ Lorinc Pongor¹ Vinodh N. Rajapakse¹ Manoj Tyagi² Xinyu Wen² Grace-Ann Fasaye² Keith T. Schmidt³ Parth Desai¹ Chul Kim⁴ Arun Rajan⁵ Shannon Swift⁵ Linda Sciuto¹ Rasa Vilimas¹ Santhana Webb¹ Samantha Nichols¹ William Douglas Figg³ Yves Pommier¹ Kathleen Calzone² Seth M. Steinberg⁶ Jun S. Wei² Udayan Guha⁵ Clessen E. Turner⁷ Javed Khan² Anish Thomas¹

¹ Developmental Therapeutics Branch, Center for Cancer Research, NCI ² Thoracic and GI Malignancies Branch, Center for Cancer Research, NCI
³ Genetics Branch, Center for Cancer Research, NCI ⁴ Biostatistics and Data Management Section, Center for Cancer Research, NCI
⁵ Genitourinary Malignancies Branch, Center for Cancer Research, NCI ⁶ Walter Reed National Military Medical Center
⁷ Georgetown University

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.abc7488>



高橋 信行 *Nobuyuki Takahashi*

Clinical Fellow, Developmental Therapeutics Branch, National Cancer Institute
(現 国立研究開発法人 国立国際医療研究センター病院 腫瘍内科)

Contact

E-mail: nnobtakahashi@hosp.ncgm.go.jp
所在地: 162-8655 東京都新宿区戸山1-21-1
URL: <https://www.ncgm.go.jp/>

Abstract

肺がんの原因として、タバコが目されるあまり、それ以外の遺伝的な発がんの原因に対する認識は低いことが多い。特に、喫煙との関連が最も強く、予後が不良である小細胞肺がん(SCLC)患者での遺伝的感受性を評価した研究はこれまでにない。われわれは、患者87例(SCLC患者77例、肺外小細胞がん患者10例)の生殖細胞系列遺伝子についてエクソームシーケンシングを行った。遺伝性腫瘍症候群・小細胞がんに関連した607の遺伝子を検討した結果、患者の43.7%で病的生殖細胞系列遺伝子変異を発見した。この結果の妥当性はSCLC患者79例の独立したコホートで確認された。ヘテロ接合性の消失は検体を得ることができた腫瘍14例のうち3例(21.4%)で認められた。9例(10.3%)では既知の遺伝性腫瘍症候群に關する病的生殖細胞系列遺伝子変異が認められ、患者本人とその家族に遺伝カウンセリングが行われた。SCLC患者では、健康対照者と比較して、RAD51 paralog D(*RAD51D*)、checkpoint kinase 1(*CHEK1*)、breast cancer 2(*BRCA2*)およびmutY DNA glycosylase (*MUTYH*)を有する割合が有意に高かった。病的生殖細胞系列遺伝子変異を持つSCLC症例では、がん家族歴、肺がん家族歴をより高頻度に認め(それぞれオッズ比1.82、 $P=0.008$; オッズ比2.60、 $P=0.028$)、なおかつプラチナ製剤を主体とした化学療法の無再発生存期間の延長($P=0.002$)にも有意に關与していた。これらの結果を踏まえて、相同組換え修復に關する遺伝子である*BRCA1* interacting protein C-terminal helicase 1(*BRIP1*)に病的変異を有するSCLC患者に対して、DNA修復を標的とする治療を行い、顕著な抗腫瘍効果を得た。本研究は、一元的にタバコが原因と考えられているSCLCにも遺伝的素因が關与している可能性を示唆し、こうした遺伝学的特徴を標的とする治療法の開発に繋がるものである。

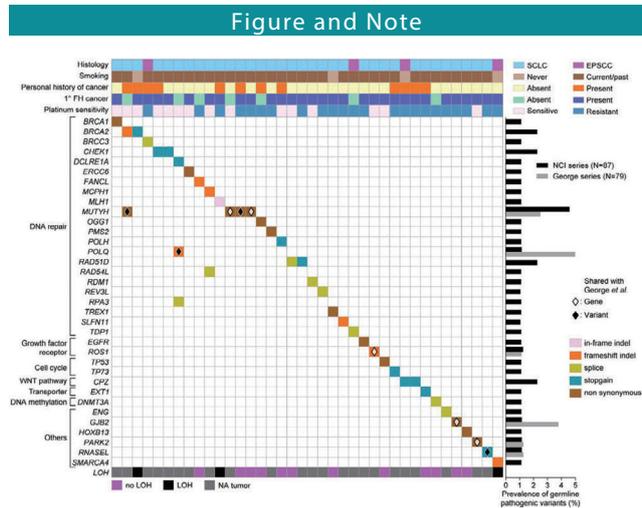


図1: 小細胞がん患者の生殖細胞系列遺伝子変異
小細胞がん87例のうち、38例(43.7%)に病的生殖細胞系列遺伝子変異を認めた。

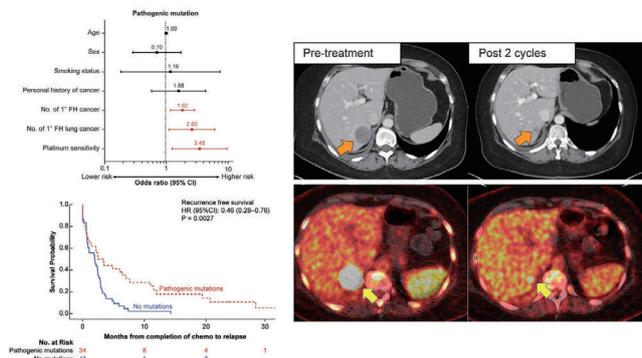
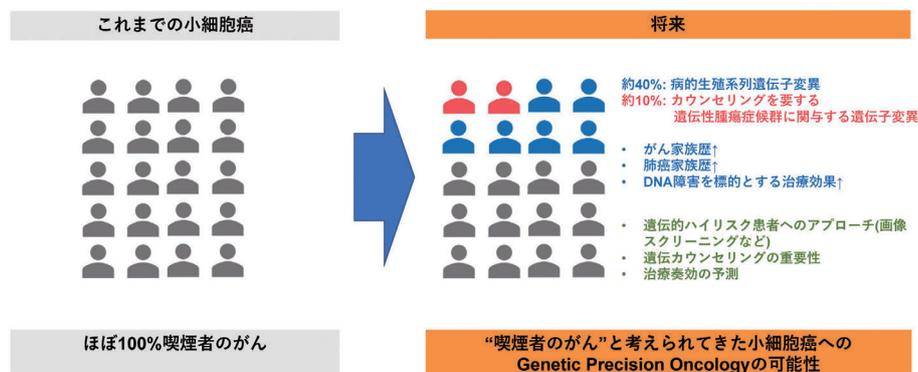


図2: 病的生殖細胞系列遺伝子変異を持つ小細胞肺がん患者の臨床的特徴および治療効果予測
左上: 病的生殖細胞系列遺伝子変異のある小細胞肺がん患者では、がん家族歴、肺がん家族歴をより高頻度に認め、プラチナ製剤に対する感受性がより高かった。
左下: 病的生殖細胞系列遺伝子変異を有する小細胞肺がん患者では、そうでない症例と比較して、標準治療であるプラチナ製剤を主体とした化学療法に対して、より長期の無再発生存期間が得られた。
右: *BRIP1* 遺伝子の病的生殖細胞系列変異を持つ小細胞肺がん症例に対して、DNA修復を標的とした併用療法(PARP阻害薬+トポイソメラーゼ1阻害薬)が奏効した。

小細胞肺がんでの 生殖細胞系列遺伝子変異の臨床・治療標的としての意義

肺がんは、全世界でのがん死因の最上位であり、その中でも小細胞肺がん(肺がん全体の約13%を占める)はとりわけ予後が不良とされています(生存期間中央値:約7ヵ月)。小細胞肺がんは肺がんの中でも特に喫煙との関連性が強いことが知られています(小細胞肺がん患者の約98%が重度喫煙者)。昨今では、遺伝性乳がん卵巣症候群をはじめとした遺伝性腫瘍症候群が注目されています。こうしたがんは、相同組換え修復欠損などを特徴とし、poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) 阻害薬が特異的な抗腫瘍効果をもたらすことが注目され、全世界で複数のがん種に対して承認されています。しかし、小細胞肺がん患者においては、その喫煙との強力な関連のため、生殖細胞系列の遺伝子変異と疾患との関連はこれまで研究されていませんでした。また、様々な抗がん治療の発展にもかかわらず、小細胞肺がんの予後はここ20年でまったく改善していません。小細胞肺がんと同様の病理学的特徴を持ち、原発が肺以外にある、いわゆる肺外小細胞がんに関しても、その予後が小細胞肺がん同様に悪く、その希少性から生殖細胞系列遺伝子変異は評価されていませんでした。

そこでわれわれは、小細胞がん患者87名(小細胞肺がん77名、肺外小細胞肺がん10名)の生殖細胞系列遺伝子の全エクソーム解析を行い、病的生殖細胞系列遺伝子変異の頻度と、家族歴、治療効果や予後を含めた臨床的特徴との関連を調査しました。その結果、実に38名(43.7%)に病的生殖細胞系列遺伝子変異があることが分かり、さらにそのうちの9名(10.3%)では、遺伝カウンセリングを必要とする既知の遺伝性腫瘍症候群の変異を発見しました。病的生殖細胞系列遺伝子変異のある患者群では、がん家族歴・肺がん家族歴がより高頻度に認められ、その変異が遺伝的な発がんに関与している可能性が示唆されました。当コホートは標準治療後に再発・増悪を認めた症例が大半を占めていましたが、外科的に切除された早期小細胞肺がん患者の独立した遺伝学的データを同様に評価したところ、その頻度を含めてほぼ同じ結果が得られました。これは、生殖細胞系列遺伝子変異が小細胞がんに対する治療などによって変化せず、普遍的であることを示唆しています。特に重要なのは、確認された生殖細胞系列遺伝子変異の66.7%がDNA修復に関与しており、そうした患者群では、小細胞がんの第1選択治療であるプラチナ製剤を主体とした化学療法が無再発生存期間が、生殖細胞系列遺伝子変異のない患者群と比較して有意に良好であったことです。またこの結果を元に、相同組換え修復に関与する*BRIP1* 遺伝子の変異を有する小細胞肺がん症例に対して、PARP阻害薬とトポイソメラーゼ1阻害薬の併用療法を臨床試験下で行ったところ、肝転移腫瘍の著明な縮小を得ることができました。



これらの結果は、喫煙との関連が強力な小細胞がん患者においても、生殖細胞系列遺伝子変異を評価することが、家族や患者自身を含めた集団単位での遺伝学的探索の意味でも、臨床的に治療効果を予測する意味でも、重要であることを示唆しています。今後この研究結果が再現性を持って確認できれば、遺伝的ハイリスク症例に対する介入(CTなどのスクリーニング、禁煙指導の強化など)や小細胞がん患者でも遺伝カウンセリングが重要であることの周知、さらには標準治療であるプラチナ製剤をはじめとしたDNA修復を標的とした治療法の奏効予測にもつながると考えています。

米国 National Cancer Institute での Medical Oncology Fellow としての留学

私は米国国立がん研究所(National Cancer Institute, NCI)に約3年半留学し、mentorのAnish Thomasの指導の下、上記の研究をはじめとした様々な研究に携わらせていただきました。小細胞がんの予後は、分子標的薬、免疫療法などの抗がん治療の目覚ましい進化にもかかわらず、ここ20年程度でまったくといっていいほど改善していません。2012年には膀胱がんと並び、“recalcitrant disease”としてNCIに指定されています。こうした unmet need の大きい疾患に関して、現在リモート会議などでNCIの研究に参加させていただいており、とても貴重な経験をさせていただいています。この場を借りて、厚く御礼申し上げます。



野生型メラノサイト系列抗原へのエピトープ拡大により免疫チェックポイント阻害薬の奏効不良が改善する

Epitope spreading toward wild-type melanocyte-lineage antigens rescues suboptimal immune checkpoint blockade responses

Jennifer A. Lo^{1,2} Masayoshi Kawakubo¹ Vikram R. Juneja^{3,4} Mack Y. Su^{1,2} Tal H. Erlich^{1,2} Martin W. LaFleur^{3,4,5} Lajos V. Kemeny^{1,2} Mamunur Rashid⁶ Mohsen Malehmir⁷ S. Alireza Rabi⁷ Rumya Raghavan^{8,9} Jennifer Allouche^{1,2} Gyulnara Kasumova⁷ Dennie T. Frederick⁷ Kristen E. Pauken^{3,4} Qing Yu Weng^{1,2} Marcelo Pereira da Silva¹ Yu Xu¹⁰ Anita A. J. van der Sande^{1,2} Whitney Silkworth^{1,2} Elisabeth Roeder^{1,2,11,12,13} Edward P. Browne¹⁴ David J. Lieb⁸ Belinda Wang^{8,15} Levi A. Garraway^{8,15} Catherine J. Wu^{8,15} Keith T. Flaherty² Constance E. Brinckerhoff¹⁶ David W. Mullins¹⁷ David J. Adams⁶ et al.

¹ Cutaneous Biology Research Center, Department of Dermatology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School

² Massachusetts General Hospital Cancer Center

³ Department of Immunology, Blavatnik Institute, Harvard Medical School

⁴ Evergrande Center for Immunologic Diseases, Harvard Medical School and Brigham and Women's Hospital

⁵ Division of Medical Sciences, Harvard Medical School

⁶ Experimental Cancer Genetics, Wellcome Trust Genome Campus

⁷ Division of Surgical Oncology, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School

⁸ Broad Institute of MIT and Harvard

⁹ Harvard-MIT Health Sciences and Technology Program

¹⁰ Department of Bioengineering, Stanford University

¹¹ Department of Dermatology and Allergology, University of Szeged

¹² Department of Dermatology, Venerology, and Allergology, Kantonsspital St. Gallen

¹³ University of Zurich

¹⁴ Department of Medicine, UNC-Chapel Hill

¹⁵ Department of Medical Oncology, Dana-Farber Cancer Institute

¹⁶ Departments of Medicine and Biochemistry, Geisel School of Medicine at Dartmouth

¹⁷ Departments of Medical Education and Microbiology/Immunology, Geisel School of Medicine at Dartmouth

全著者リスト : <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.abd8636>



川久保 雅祥 Masayoshi Kawakubo

Instructor, Cutaneous Biology Research Center, Department of Dermatology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School

Contact

E-mail : mkawakubo@mgh.harvard.edu

所在地 : 149 13th Street, Charlestown, MA 02129, USA

Abstract

抗プログラム細胞死蛋白質-1 (PD-1) 抗体などの免疫チェックポイント阻害薬 (ICI) は効果的な抗腫瘍効果を惹起することができるが、ほとんどの患者においては効果的ではない。最近の研究において、ICIの有効性は、メラノーマ患者における腫瘍特異的新生抗原 (ネオアンチゲン) 量の高値および白斑の発現と関連することが示唆されている。本研究でわれわれは、メラノーマのネオアンチゲン量が低く、ICIが奏効した患者では、色素沈着に関連する遺伝子の発現が高かったことを報告する。加えて、メラノサイト抗原に特異的な末梢血 CD8⁺ T 細胞集団の増殖が、抗PD-1療法の奏効した患者でのみ認められ、このことからICIは腫瘍系列の自己抗原に対する免疫寛容の低下を促進する可能性が示唆される。免疫原性が低いメラノーママウスモデルにおいて、野生型メラノサイト抗原へのエピトープ認識の拡大は、次の2種類のアプローチにおいて抗PD-1療法の有効性が顕著に改善したと関係があった: 紫外線 (UV) B波を用いた放射線誘発突然変異によるネオアンチゲンの誘導、ならびにablative fractional photothermolysis + イミキモドの併用療法。UVによってネオアンチゲンを誘導した腫瘍に対する抗PD-1療法の完全奏効は、共通のネオアンチゲンを有さないメラノーマ、ならびにメラノサイト系列抗原を過剰発現させた隣腺がんの再接種試験における生着を抑制した。本研究のデータは、体細胞変異 (ネオアンチゲン) はチェックポイント阻害薬による強い抗腫瘍効果を引き起こすのに十分であるが、長期においては推定されるこれらのネオアンチゲンのみに限定されるわけではないことを示している。T細胞による野生型腫瘍系列自己抗原の認識へのエピトープの拡散は、ICIが奏効するための共通経路となっており、これはネオアンチゲン欠乏腫瘍においてablative fractional photothermolysis + イミキモドの併用療法により惹起される。

Figure and Note

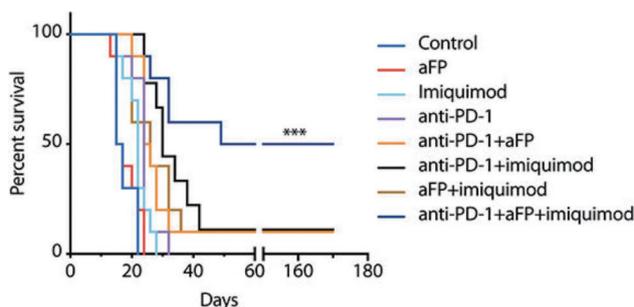


図1: マウス悪性黒色腫接種後生存曲線

免疫原性の低い悪性黒色腫 (親株) を両側大腿部に接種し、片側の腫瘍にレーザー照射、イミキモドの塗布、抗PD-1抗体の腹腔投与を行った。三重療法において有意に両側の腫瘍が消退し、半数のマウスが長期生存した。

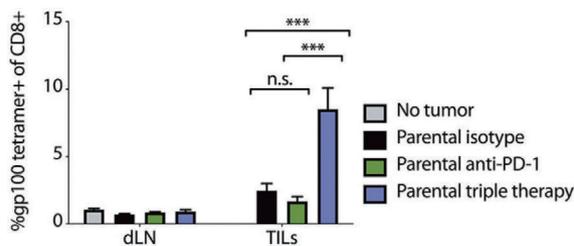


図2：マウス腫瘍内浸潤 gp100 特異的 CD8 T 細胞

治療開始5日目に腫瘍(親株)を切除し、フローサイトメリーにてメラノサイト抗原(glycoprotein 100、gp100)特異的 CD8 T細胞を計測した。三重療法において有意にgp100特異的 CD8 T細胞が増加していた。

悪性黒色腫に対する新たな治療法の確立

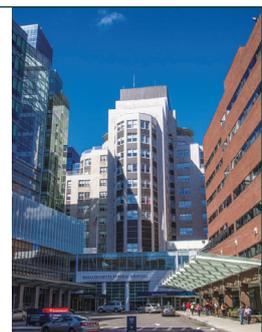
悪性黒色腫を患う患者さんにおいて、PD-1 阻害薬投与後4人に1人の割合で白斑すなわちメラノサイトの色素脱失が認められ、治療の効果と相関するという報告があります。そこで、私たちはメラノサイト抗原が抗PD-1療法の効果に関連しているのではないかと考え研究を始めることとしました。

まず初めに、悪性黒色腫に罹患した患者さんを抗PD-1療法の効果が有った群となかった群に分け、末梢血内のメラノサイト抗原であるMART-1に特異的に反応するCD8 T細胞を調べたところ、効果の有った群では多くのMART-1特異的CD8 T細胞が認められました。そこで次にこの抗原が抗PD-1療法の効果と関係があるか調べるためにマウスモデルで実験検討することとしました。まずTyr::CreER;Braf^{CA};Pten^{lox/lox}マウスから免疫原性の低い細胞株(親株)とそれに紫外線を照射し遺伝子変異をより多く持つ免疫原性の高い細胞株(子株)を作り出し、マウスに接種し抗PD-1療法を行ったところ、親株の接種ではすべてのマウスが死んでしまいましたが、子株では半数以上で生存し、メラノサイト抗原のglycoprotein 100(gp100)に特異的なCD8 T細胞が腫瘍内に多く認められました。子株の接種生存試験で生き残ったマウスに親株を接種した再接種試験では75%のマウスの生存が認められました。このことから紫外線照射による遺伝子変異は悪性黒色腫に対する免疫反応を惹起し、それによって引き起こされた長期的免疫反応は紫外線照射によって生じたネオアンチゲンだけに限定されず、メラノサイト抗原に対しても反応していることがわかりました。次に、未治療の子株の腫瘍内浸潤細胞を調べると炎症細胞が多く認められ、親株の腫瘍より炎症状態であることがわかりました。そこで人為的に腫瘍に炎症を作り出せば抗PD-1療法後のメラノサイト抗原に対する免疫反応がより惹起されるのではと考え、抗PD-1療法に加えフラクショナルレーザーの照射とTLR7 agonistであるイミキモドを塗布し、生存実験することとしました。その結果親株の接種生存試験において抗PD-1療法単独では生存率は0%でしたが、抗PD-1抗体にレーザーとイミキモドを加えた三重療法では生存率は50%となり、gp100に対する特異的CD8 T細胞が三重療法で多く認められました。親株と共通する変異を持たないB16-F10マウス悪性黒色腫を使って三重療法で生存したマウスで再接種試験を行ったところ、38%のマウスが生存し三重治療により生じたメラノサイト抗原に対する免疫が関与していることが示唆されました。これらのデータより、メラノサイト抗原をターゲットにした免疫は悪性黒色腫に対する抗PD-1療法にとって重要ではないかと考えられました。

今回の研究では、抗PD-1療法に加えレーザーとイミキモドを併用することにより人為的に炎症を惹起し、抗腫瘍作用のある免疫細胞を抗PD-1単独療法より効果的に誘導することができました。今後はこの三重療法をチェックポイント阻害薬の効果の認められなかった患者さんの治療法の1つの選択肢として確立すべく、さらなる研究を進めていきたいと思っています。

国際的、学際的な環境における研究の素晴らしさ。

今回このプロジェクトはマサチューセッツ総合病院(MGH)にあるCutaneous Biology Research Center (CBRC)のManstein LabとFisher Labとの共同研究として始まりました。Manstein Labではレーザーを使った治療やイメージングの研究をしており、私はそのがん治療部門のチームリーダーを務めています。ある日Fisher Labと悪性黒色腫について話し合ったのがこのプロジェクトの始動のきっかけです。そしてその後、このプロジェクトに多くのラボが参加し、このような成果を上げることができました。MGHは世界中からやる気、才能のある様々な専門を持った研究者が集まり、気軽に自分の専門を超えた出会いができ、そこから生じる共同研究が盛んに行われています。このような素敵な環境に身を置ける喜びを日々感じています。



リポジショニングされた薬剤は、黄色ブドウ球菌毒素による肝臓の Ashwell-Morell 受容体を介した血小板除去を抑制して菌血症を改善する

Repurposed drugs block toxin-driven platelet clearance by the hepatic Ashwell-Morell receptor to clear *Staphylococcus aureus* bacteremia

Josh Sun^{1,2,3} Satoshi Uchiyama¹ Joshua Olson¹ Yosuke Morodomi⁴ Ingrid Cornax¹ Nao Ando¹ Yohei Kohno¹
May M. T. Kyaw¹ Bernice Aguilar¹ Nina M. Haste^{1,2,3} Sachiko Kanaji⁴ Taisuke Kanaji⁴ Warren E. Rose⁵ George Sakoulas²
Jamey D. Marth^{6,7} Victor Nizet^{1,2,3}

¹ Biomedical Sciences Graduate Program, UC San Diego

² Department of Pediatrics, UC San Diego

³ Skaggs School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, UC San Diego

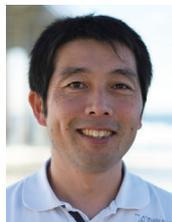
⁴ Department of Molecular Medicine, MERU-Roon Research Center on Vascular Biology, Scripps Research

⁵ School of Pharmacy, University of Wisconsin

⁶ Center for Nanomedicine, UC Santa Barbara

⁷ Sanford Burnham Prebys Medical Discovery Institute, UC Santa Barbara

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.abd6737>



内山 聡 Satoshi Uchiyama

Associate Project Scientist, Department of Pediatrics, University of California San Diego School of Medicine

Contact

E-mail: sauchiyama@health.ucsd.edu

所在地: 9500 Gilman Drive, La Jolla, CA 92093, USA

URL: <http://nizetlab.ucsd.edu/>

Abstract

黄色ブドウ球菌(SA)血流感染症は、現在利用できる支持療法にかかわらず、重篤な症状と高い死亡率(20~30%)をもたらす。われわれは、ヒト菌血症コホートにおいて、血小板減少症の発症が死亡率の上昇およびSAによるα毒素産生の増加と相関することを見出した。血小板由来の抗菌ペプチドはSA敗血症に対する生体防御において重要な役割を果たすが、α毒素は血小板の生存力を弱め、血小板シアリダーゼを誘導して血小板糖蛋白の脱シアル化を引き起こし、肝臓のAshwell-Morell受容体(AMR)による血小板除去を加速化する。チカグレロル(Ticagrelor: 商品名プリリント)は、心筋梗塞後に用いられるP2Y12受容体拮抗薬として一般的に処方されるが、α毒素による血小板障害とその結果生じる血小板減少症を抑制することにより、静脈内感染マウスモデルにおいて、致死性SA感染症に対する保護作用を示した。AMRの遺伝子欠失または薬理的阻害により、血小板数が安定して、SA感染症に対する抵抗性が高まった。また、インフルエンザの治療に用いる抗シアリダーゼ阻害薬であるオセルタミビル(商品名タミフル)でも同様の治療効果が得られた。以上の結果から、「毒素・血小板-AMR」調節経路は、SA血流感染症の病理発生において極めて重要な役割を果たしており、その解明によって、一般的に処方されている2つの薬剤のリポジショニングが患者転帰を改善するための追加療法となること概念実証が得られる。

Figure and Note

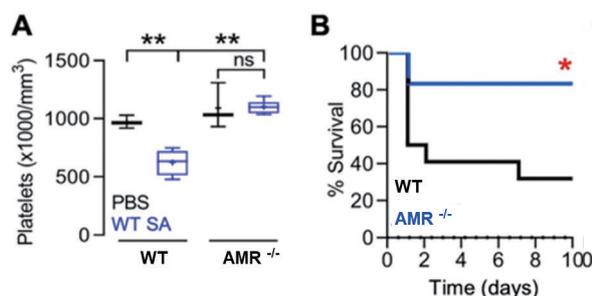


図1: AMRノックアウトマウスにおけるSA敗血症モデル

SA敗血症による血小板減少は、AMRを介した血小板除去による。AMR受容体ノックアウトマウスでは、SA敗血症モデルでの血小板減少(A)や、致死率(B)が有意に改善される。

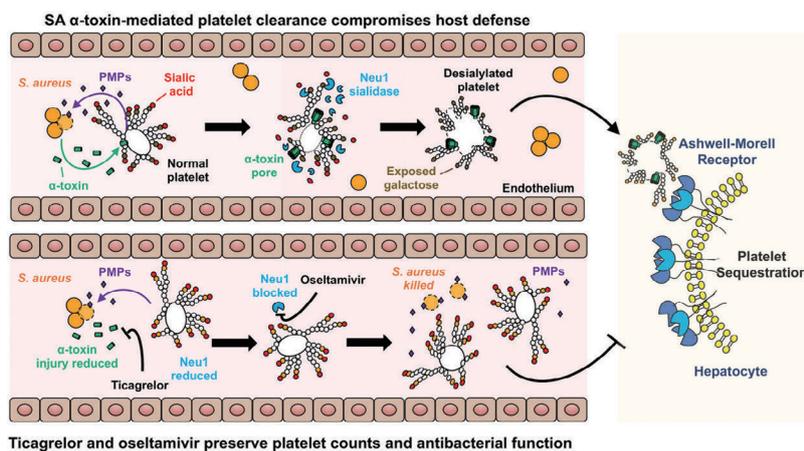


図2：SA敗血症時の血小板減少および薬剤による阻害モデル

SA敗血症時には血小板シアリダーゼ活性化、細胞表面脱シアル化が起こる。それに続くAMRによる血小板除去が血小板数、血小板免疫の低下をもたらす。この一連の流れを阻害する薬剤がSA敗血症を改善させる。

血小板は殺菌機能をもつ免疫細胞である

当研究室では、細菌感染症に対する宿主免疫反応、細菌病原因子による宿主免疫回避メカニズムのベーシックリサーチ、トランスレーショナルリサーチなどを行っています。数年前に血小板が黄色ブドウ球菌(SA)を殺菌することを確認して以来、私はこのプロジェクトに関わってきました。100年以上研究されており、どの教科書にも出血を止める役割があると記されている血小板が免疫細胞としての機能を持つことを明らかにして、実際に様々な実験でそれを証明することができたのはまさに研究者としての醍醐味でした。SA敗血症時には、血小板がAMRを介して除去され、血小板数が減少します。実は、2008年にAMRを介した血小板除去のメカニズムを解明したプロジェクトにも関わっており、10年以上を経て再会した研究テーマに運命的なものを感じました。

SA敗血症時には、「SA α毒素により血小板シアリダーゼ活性化→血小板表面脱シアル化→AMRを介した血小板除去、血小板数減少→血小板免疫の低下によるSA敗血症の悪化」という一連の流れにより、SA敗血症に対する免疫低下が生じます。今回の研究では、このメカニズムを明らかにしたうえで、この一連の流れを遮断することでSA敗血症が改善することをマウスモデルで確認しました。具体的には、ヒト血小板を使ったin vitroおよびマウスを使ったin vivo実験で、1)抗血小板薬チカグレロルがSA α毒素による血小板障害を阻害、2)シアリダーゼ阻害薬(オセルタミビル)による血小板シアリダーゼ活性の抑制、3)AMRの拮抗薬剤やAMRノックアウトによる血小板除去の阻害を確認しました。

新たな抗生剤を開発しても細菌はすぐに耐性を獲得してしまいます。研究開発費もかかり新たな薬の高価な薬価による医療費の増大も問題になっています。このようなことから今まで使われてきた薬剤のリポジショニングが注目されています。今回のプロジェクトは現在医療現場で必要とされている状況と基礎研究をしっかりとつなぐことができたと思います。

これまで、血小板は凝固系で機能する細胞片という認識しかありませんでした。しかし、近年、免疫細胞として重要な働きを持っていることが明らかにされてきて、世界的に注目されるhotな研究分野になっています。今回の研究で、SA敗血症において、血小板が血中SAの増悪や改善に重要な役割を果たしていることは明らかになりましたが、実際に体内のどこで、そして、どのようなメカニズムで血小板がSAを殺菌しているのかは、まったくわかっていません。今後、血小板によるSA殺菌メカニズムを解明することができれば、将来の敗血症治療薬のターゲットを見つけることができると考えています。

University of California San Diego (UCSD) Nizet lab

UCSD医学部小児科のNizet labは、世界中から25人ほどの研究者が集まり、細菌と宿主免疫反応を細菌側因子、宿主側因子の両方から研究しています。PIのProf. Nizetはラボの研究者にプロジェクトを押し付けず、各自が楽しいと思うプロジェクトを進める方針をとっており、寄生虫や真菌を研究している人もいます。サンディエゴは製薬企業がたくさん集まっており、企業との共同研究も活発に行われています。



プロテオグリカン Tsukushi の機能不全は マウス脳室下帯におけるニューロン新生を乱して 水頭症を引き起こす

Dysfunction of the proteoglycan Tsukushi causes hydrocephalus through altered neurogenesis in the subventricular zone in mice

Naofumi Ito^{1,2} M. Asrafuzzaman Riyadh^{1,2,3} Shah Adil Ishtiyahq Ahmad^{1,2,4} Satoko Hattori⁵ Yonehiro Kanemura⁶ Hiroshi Kiyonari⁷ Takaya Abe⁷ Yasuhide Furuta^{7,8} Yohei Shinmyo^{1,2,9} Naoko Kaneko¹⁰ Yuki Hirota^{10,11} Giuseppe Lupo¹² Jun Hatakeyama¹³ Felemban Athary Abdhaleem M.^{1,2,14} Mohammad Badrul Anam^{1,2,15} Masahiro Yamaguchi¹⁶ Toru Takeo¹⁷ Hirohide Takebayashi¹⁸ Minoru Takebayashi¹⁹ Yuichi Oike²⁰ Naomi Nakagata¹⁷ Kenji Shimamura¹³ Michael J. Holtzman²¹ Yoshiko Takahashi^{22,23} Francois Guillemot²⁴ Tsuyoshi Miyakawa⁵ Kazunobu Sawamoto^{10,25} Kunimasa Ohta^{1,2,15,23,26}

¹ Department of Developmental Neurobiology, Graduate School of Life Sciences, Kumamoto University

² Stem Cell-Based Tissue Regeneration Research and Education Unit, Kumamoto University

³ Clem Jones Centre for Ageing Dementia Research, Queensland Brain Institute, The University of Queensland

⁴ Department of Biotechnology and Genetic Engineering, Mawlana Bhashani Science and Technology University

⁵ Division of System Medical Science, Institute for Comprehensive Medical Science, Fujita Health University

⁶ Department of Biomedical Research and Innovation, Institute for Clinical Research, National Hospital Organization Osaka National Hospital

⁷ Laboratory for Animal Resources and Genetic Engineering, RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research

⁸ Mouse Genetics Core Facility, Memorial Sloan Kettering Cancer Center

⁹ Department of Medical Neuroscience, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University

¹⁰ Department of Developmental and Regenerative Neurobiology, Institute of Brain Science, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

¹¹ Keio University School of Medicine

¹² Department of Biology and Biotechnology "C. Darwin", Sapienza University of Rome

¹³ Department of Brain Morphogenesis, Institute of Molecular Embryology and Genetics, Kumamoto University

¹⁴ Department of Biology, Faculty of Applied Science, Umm Al-Qura University

¹⁵ Program for Leading Graduate Schools "HIGO Program", Kumamoto University

¹⁶ Department of Physiology, Kochi Medical School, Kochi University

¹⁷ Division of Reproductive Engineering, Center for Animal Resources and Development (CARD), Kumamoto University

¹⁸ Division of Neurobiology and Anatomy, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University

¹⁹ Department of Neuropsychiatry, Faculty of Life Science, Kumamoto University

²⁰ Department of Molecular Genetics, Graduate School of Life Sciences, Kumamoto University

²¹ Pulmonary and Critical Care Medicine, Department of Medicine, Washington University School of Medicine

²² Department of Zoology, Graduate School of Science, Kyoto University,

²³ AMED Core Research for Evolutional Science and Technology (AMED-CREST), Japan Agency for Medical Research and Development (AMED)

²⁴ The Francis Crick Institute

²⁵ Division of Neural Development and Regeneration, National Institute for Physiological Sciences

²⁶ Department of Stem Cell Biology, Faculty of Arts and Science, Kyushu University

全著者リスト : <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.aay7896>



左から太田 訓正、伊藤 尚文、M. Asrafuzzaman Riyadh、Shah Adil Ishtiyahq Ahmad

Contact

太田 訓正 E-mail : ohta9203@artsci.kyushu-u.ac.jp

所在地 : 819-0395 福岡市西区元岡 744

U R L : <https://kyushu-stemcellbiology.com/ja/>

伊藤 尚文 E-mail : mikan03orange@gmail.com

所在地 : 860-8556 熊本市中央区本荘 1-1-1

M. Asrafuzzaman Riyadh E-mail : rydh99@gmail.com

所在地 : Brisbane, Queensland, Australia

Shah Adil Ishtiyahq Ahmad E-mail : shahadil_07@yahoo.com

所在地 : 860-0811 熊本市中央区本荘 2-2-1

太田 訓正 *Kunimasa Ohta*

九州大学 基幹教育院 幹細胞生物学分野 教授

伊藤 尚文 *Naofumi Ito*

熊本大学大学院 生命科学研究部 研究員

Md Asrafuzzaman Riyadh

UQ Developmental Fellow, University of Queensland

Shah Adil Ishtiyahq Ahmad

熊本大学 IRCMS 研究員

Abstract

側脳室 (LV) に面して神経幹細胞 (NSC) のニッチである脳室下帯 (SVZ) があり、そこには NSC の維持、増殖、およびニューロン分化を調節する外因性成長因子が豊富に存在している。SVZ ニッチの機能不全は LV 拡大を引き起こし、これは水頭症として知られる病態であるが、その基礎にある病態生理は明らかになっていない。われわれはマウスにおいて、プロテオグリカンである Tsukushi (TSK) の LV 表面の上皮細胞および脳脊髄液内における欠乏が、水頭症ならびに神経発達障害に類似した症状を引き起こすことを明らかにした。これらの症状に伴って、NSC 系列細胞の分化や生存の異常、および Wnt シグナル伝達の調節不全が認められた。水頭症患者から採取された複数の TSK バリエントは、マウスの *in vivo* および *in vitro* 実験により生理活性の低下を示した。TSK ノックアウトマウス LV への野生型 TSK タンパク質または Wnt 拮抗物質の投与により水頭症が予防され、SVZ におけるニューロン新生が保護されたが、水頭症患者由来の TSK バリエントを投与しても同じ効果は得られなかった。以上の観察結果から、TSK は SVZ における NSC の運命を調節するニッチ分子として重要な役割を担っており、水頭症の診断および治療の標的候補となることが示唆された。

Figure and Note



図 1 : TSK タンパク質による側脳室拡大の抑制

生後 1 日目の TSK KO マウス側脳室の片側に、TSK タンパク質を投与すると側脳室の拡大が抑制されるが、生理食塩水や変異型 TSK タンパク質を投与しても、側脳室の拡大を抑制することができなかった。

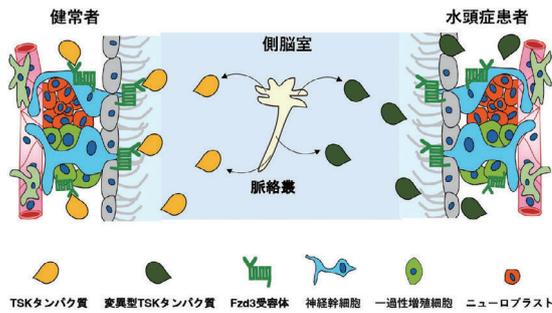


図2: TSKタンパク質による脳神経幹細胞ニッチ制御

健常者では、側脳室内に分泌されたTSKタンパク質が受容体に結合し、脳神経幹細胞ニッチを制御するが、水頭症患者では、変異型TSKタンパク質が受容体に結合することができず、側脳室が拡大する。

Tsukushiは特発性正常圧水頭症の発症に関与する

先天性水頭症は、脳室拡大を伴う脳室内での髄液停滞・頭蓋内圧亢進により発症する、難病指定の特定疾患です。特に、特発性正常圧水頭症 (iNPH) は、歩行障害・認知症・尿失禁などの症状を呈し、高齢化社会を迎える日本における患者数増加が懸念されていますが、その詳細な病態発症機構はいまだ不明です。iNPHの治療は、脳室-腹腔シャントによる外科的手術治療がこれまでに実施されてきましたが、約30%のiNPH患者では治療効果は認められず、また、永続的なシャントの機能不全や感染症の危険性があります。ゆえに、iNPH患者の症状改善・QOLの観点から、iNPHの詳細な分子病態解析を基盤とした、より低侵襲な新規治療戦略の開発が強く求められています。

Tsukushi (TSK) は、われわれの研究グループが世界に先駆けて単離・命名した分子量43kDaの分泌型タンパク質で、血液中 (Wang et al., *Nature Metabolism* 2019)、そして脳脊髄液中 (Ito et al., *Science Translational Medicine*) に豊富に存在することが明らかになっています。これまでの脳神経発生関連の基礎研究の成果として、TSK ノックアウト (KO) マウスをiNPH患者の臨床病態を呈する疾患モデルマウスとして確立することに成功しました。

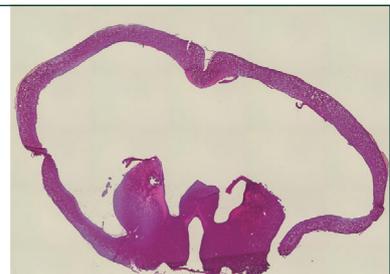
TSK KOマウスを基盤とした病態解析結果から、われわれはさらに、iNPHの新規治療開発の鍵となる以下の5つの知見を得ています。

- 1) TSK KOマウス脳において、脳神経ニッチを構成する細胞の制御が乱れ、iNPHの臨床所見である側脳室拡大を呈しました。
- 2) TSK KOマウスの側脳室拡大は、神経幹細胞ニッチでのTSKタンパク質の過剰発現およびTSKタンパク質の脳室への直接注入により抑制できました。
- 3) 網羅的行動テストバッテリーを行ったところ、TSK KOマウスは歩行困難や不安様行動等のiNPHの臨床症状を呈する事実を見出しました。
- 4) 原因不明の水頭症患者のTSK配列をシーケンスした結果、TSKの多重バリエーションが見つかりました。遺伝子編集によって、マウスにヒト水頭症型多重バリエーションを導入したところ、TSK KOマウスと同じく、脳室拡大を示しました。
- 5) TSKタンパク質はWntアンタゴニストとしてFrizzled3受容体に結合することができますが、ヒト水頭症バリエーション型TSKタンパク質は、Frizzled3受容体への結合能を失っていました。

本研究で提示した基礎的知見から、これまで不明であったiNPHの病態発症メカニズムとして、TSKが制御している脳神経ニッチの細胞構成の破綻が、髄液滞留・側脳室拡大を誘発している可能性が示唆されました。今後は、iNPH疾患モデルおよびiNPH患者の臨床検体を最大限に活用し、TSKタンパク質のiNPH新規治療薬としての有用性検証、iNPH病態進展における髄液中のTSK機能解明および新規治療標的としての可能性検証、iNPH患者検体を用いた臨床病理学的解析・新規診断マーカーの開発を実施して、基礎・臨床の両面からiNPHの根治療法開発に従来にない道を切り開くことを目的とします。

神経変性疾患の原因解明を目指して

われわれは、Tsukushiと同時期に単離・命名した分泌型タンパク質Akhirin (Akiはベンガル語で眼を意味します) の解析を行ってきました (Kudo et al., 2021)。Akhirin KOマウスは、脳室の拡大を伴いますが、約3%の割合で右図のような異常な脳が観察されました。今後は、Akhirinの作用機序を解析して、Akhirinが原因となる脳疾患を見つけ出すことにより、新たな脳疾患の発症機構を解明していきたいと考えています。



クッパー細胞によるペグインターフェロンの除去はB型慢性肝炎患者におけるNK細胞の活性化および治療反応を抑制する

Clearance of pegylated interferon by Kupffer cells limits NK cell activation and therapy response of patients with HBV infection

Akira Nishio¹ Fabian J Bolte¹ Kazuyo Takeda² Nana Park¹ Zu-Xi Yu² Heiyoung Park¹ Kristin Valdez³ Marc G. Ghany³ Barbara Rehermann¹

¹ Immunology Section, Liver Diseases Branch, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health, DHHS

² Pathology Core, National Heart, Lung and Blood Institute, National Institutes of Health, DHHS

³ Clinical Research Section, Liver Diseases Branch, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health, DHHS

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.aba6322>



左から西尾 啓、Barbara Rehermann

西尾 啓 Akira Nishio

Postdoctoral Fellow, Immunology Section, Liver Diseases Branch, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health (現 大阪大学大学院 医学系研究科 消化器内科学 特任助教)

Barbara Rehermann

Section Chief, Immunology Section, Liver Diseases Branch, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health

Contact
西尾 啓
E-mail: a-nishio@gh.med.osaka-u.ac.jp
所在地: 565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2
URL: <https://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/gh/>

Barbara Rehermann
E-mail: Rehermann@nih.gov
所在地: Bldg 10, Room 9B16, 10 Center Drive, Bethesda, MD 20892-1800, USA
URL: <https://www.niddk.nih.gov/research-funding/at-niddk/labs-branches/liver-diseases-branch/immunology-section>

Abstract

B型肝炎ウイルス(HBV)は世界で2億5,700万人以上が持続感染し、肝硬変・肝不全・肝細胞がんに進展し肝関連死をきたす慢性感染症である。ペグインターフェロンアルファ(PEG-IFN-α)は、IFN-αをポリエチレングリコール(PEG)で修飾したもので、慢性B型肝炎の治療薬として承認されている。しかし、なぜ少数の限られた患者でしかPEG-IFN-αが奏効しないのかに関してはいまだに明らかでない。PEG-IFN-α治療を受けるB型慢性肝炎患者の、治療前、治療中、および治療後に継時的に採取された血液および肝生検サンプルを用いて、PEG-IFN-α治療による宿主免疫応答を検討した。PEG-IFN-α投与後早期にナチュラルキラー(NK)細胞の活性化がみられた患者ではそうでない患者と比べて、肝炎、HBV感染肝細胞の破壊、および血中B型肝炎ウイルス表面抗原(HBsAg)値の低下が高度にみられた。治療後のNK細胞の活性化は、インターフェロン誘導遺伝子の発現と相関しており、これはPEG-IFN-αの薬物動態に依存的であった。PEG-IFN-α濃度の上昇が遅れた患者では、早期にPEG-IFN-α濃度上昇がみられた患者と比べて、血中免疫複合体内のPEG特異的免疫グロブリンM(IgM)の量が多く、また肝臓におけるPEGおよびIgMの検出量が多く、NK細胞活性化の低下と関連していた。これらの結果は、PEG-IFN-αの免疫調節作用、特にNK細胞活性化の作用が、治療効果において重要な役割を担っていることを示唆しており、さらにこれらの機能がPEG-IFN-αの薬物動態により左右されることを示している。さらに、抗体と複合体を形成したペグ化薬物のクッパー細胞による迅速な除去という知見は、HBV治療薬という視点を超えて重要な可能性があり、他の慢性疾患や各種がんに対して現在開発中のペグ化薬物の効果を高めるうえでも有用となる可能性がある。

Figure and Note

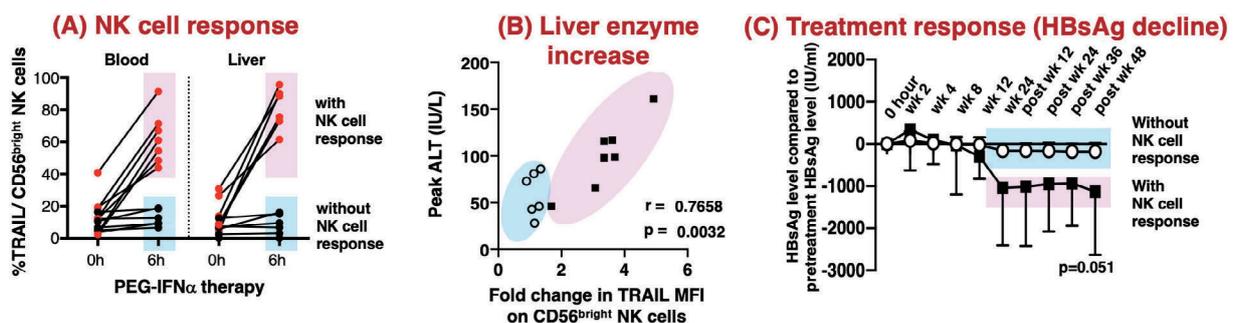


図1: PEG-IFN-α投与後の宿主免疫応答および治療反応

PEG-IFN-α投与前および初回投与6時間後の血中、肝内NK細胞活性を調べたところ、NK細胞上の細胞傷害関連分子TRAIL高発現群(NK活性化群)と低発現群(非NK活性化群)の2群を認めた(A)。NK活性の有無はALT活性(B)および治療効果(C)とも相関を認めた。

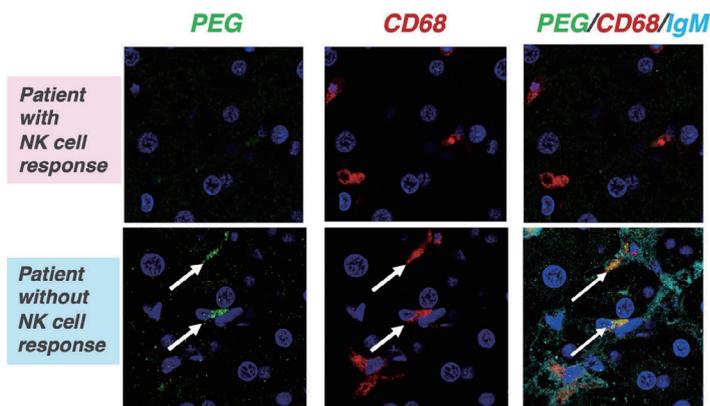
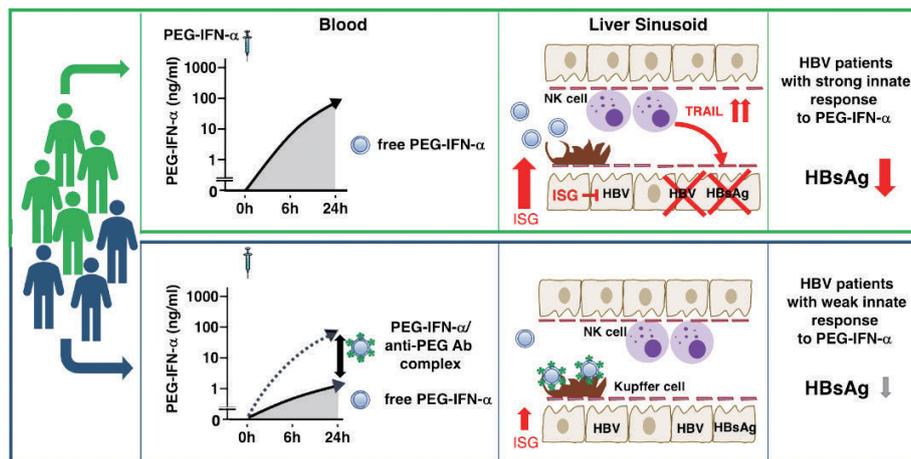


図2: クッパー細胞による抗PEG抗体/PEG-IFN- α 免疫複合体の貪食は血中PEG-IFN- α 濃度の上昇を妨げる
PEG-IFN- α 初回投与6時間後の肝生検サンプルにおけるPEG/CD68/IgMによる蛍光多重免疫染色(上段: NK活性化群、下段: 非NK活性化群)。非NK活性化群患者ではPEG陽性細胞、CD68(クッパー細胞)陽性細胞、IgMの共局在を認める(矢印)。(NHLBI 竹田和代先生との共同研究)

B型慢性肝炎におけるPEG-IFN- α 治療時の宿主免疫応答

B型慢性肝炎治療ではHBs抗原の陰性化、すなわち機能的治癒が治療目標とされています。抗ウイルス治療薬として核酸アナログ製剤とPEG-IFN- α がありますが、ウイルスの複製を抑制する核酸アナログ製剤での治癒達成は困難です。なぜならHBVは核内で完全閉環二本鎖DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA)を形成し、HBV持続感染の基盤となり、またHBVは宿主DNAに組み込まれるためです。一方、PEG-IFN- α の一部の例でHBs抗原の陰性化を達成できるものの、なぜ治療奏効例が限定的なのかはまだよくわかっていません。またPEG-IFN- α の抗ウイルス作用はこれまで広く研究されてきましたが、PEG-IFN- α の免疫賦活化作用についての詳細は明らかになっていませんでした。そこでわれわれはPEG-IFN- α の免疫賦活化作用が治療効果にどのような影響を及ぼすのか調べるために、NK細胞に着目しました。NK細胞はIFN- α に感受性の高い細胞集団であり、またNK細胞上に発現するTNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)はインターフェロン誘導遺伝子であるとともに、肝細胞傷害に関わる細胞傷害関連分子であり、さらにこれらはフローサイトメトリーで容易に検出可能だからです。これらのことから、われわれは末梢血中NK細胞をPEG-IFN- α 治療時の宿主免疫応答のバイオマーカーとして利用しました。

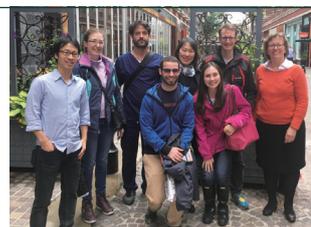


今回われわれは核酸アナログ製剤を4年以上内服しているB型慢性肝炎患者にPEG-IFN- α 治療をadd-onしたときの免疫応答、抗ウイルス作用を検討しました。驚くことに、初回投与6時間後、NK活性が見られる患者群とそうでない群を認めました。その後の検討から、このNK活性の違いは、血中PEG-IFN- α 濃度によって規定されることを見出しました。すなわち、血中PEG-IFN- α 値の早期上昇群(上段)は非早期上昇群(下段)に比しNK細胞の活性化・ISG発現の上昇を認め、血中HBs抗原量は低下しました。非早期上昇群ではPEG免疫複合体の形成、およびクッパー細胞によるPEG免疫複合体の貪食を認め、PEG-IFN- α の薬物動態に関わることも明らかとなりました。

今回の検討より、B型慢性肝炎治療目標である機能的治癒(HBs抗原陰性化)を達成するには、NK細胞を中心とした自然免疫の活性化が重要である可能性が示唆されました。NK細胞はHBV特異的T細胞と違い、疲弊や細胞除去などが見られず、また急性肝炎時においてもNK細胞の活性化はウイルス排除において重要であることが示されています。今後、PEG-IFN- α の薬物動態の改善やNK細胞の活性化を目指した治療戦略が有効であると考えられます。また近年、PEG化薬物は慢性疾患、がん領域を含め様々な分野において開発が進められています。従来、PEGは抗原性を有さない分子と考えられてきましたが、おそらく医薬品に加え市販品(シャンプー、化粧品など)にも広くPEGが使われていることから、健康人も抗PEG抗体を有することが明らかになりつつあります。抗PEG抗体はPEG化薬物の治療効果を阻害する可能性があり、新規PEG化薬物の治療効果判定の際にはPEG化薬物のクリアランスも十分に評価される必要があることが示唆されました。

米国立衛生研究所(NIH)での研究留学

本研究は、筆者の留学先である米国立衛生研究所(NIH)のLiver Diseases Branchにおいて、Barbara Rehermann博士のもとに行われました。NIHでは多数の臨床研究が行われていますが、それぞれの臨床研究に多様な職種、大勢の人が関わっており、そのチーム力には驚かされました。また一人の患者さんから深く学ぼうとする精神、そしてそれを実現するための丁寧な検体採取・保管・システムには感銘を受けました。さらに、共同研究も盛んに行われており、それぞれの強みを活かした最先端の研究が可能です。機会があれば是非積極的に海外留学をして、海外の文化およびScienceに触れられることをお勧めいたします。



中皮腫モデルマウスにおいて 免疫療法を併用した局所放射線療法後の 手術療法は抗腫瘍免疫応答を最大化する

Triple-modality therapy maximizes antitumor immune responses in a mouse model of mesothelioma

Junichi Murakami^{1,2} Licun Wu¹ Mikihiro Kohno^{1,3} Mei-Lin Chan¹ Yidan Zhao¹ Zhihong Yun¹ B. C. John Cho⁴ Marc de Perrot^{1,3,5}

¹ Latner Thoracic Surgery Research Laboratories, Toronto General Hospital Research Institute, University Health Network

² Department of Surgery and Clinical Science, Division of Chest Surgery, Yamaguchi University Graduate School of Medicine

³ Division of Thoracic Surgery, Princess Margaret Cancer Centre, University Health Network

⁴ Department of Radiation Oncology, Princess Margaret Cancer Centre, University Health Network

⁵ Department of Immunology, University of Toronto

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.abd9882>



左から村上 順一、河野 幹寛

村上 順一 *Junichi Murakami*

Postdoctoral Research Fellow, Latner Thoracic Surgery Research Laboratories,
Toronto General Hospital Research Institute, University Health Network
(現 山口大学大学院 器官病態外科学[第1外科] 助教)

河野 幹寛 *Mikihiro Kohno*

Postdoctoral Research Fellow and Clinical Fellow,
Latner Thoracic Surgery Research Laboratories,
Toronto General Hospital Research Institute, University Health Network
(現 九州大学大学院 消化器・総合外科[第2外科] 臨床助教)

Contact

村上 順一 E-mail: murajun@yamaguchi-u.ac.jp

所在地: 755-8505 山口県宇部市南小串 1-1-1

U R L: <http://ds.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~surg-1/>

河野 幹寛 E-mail: kouno@med.kyushu-u.ac.jp

所在地: 812-8512 福岡県東区馬出 3-1-1

U R L: <http://www.kyudai2geka.com/>

Abstract

悪性胸膜中皮腫(MPM)は外科療法、放射線治療、化学療法による積極的な治療にもかかわらず、予後が非常に悪い難治性の疾患で、新しい治療アプローチが必要である。トロント総合病院で開発された局所放射線療法(LRT)後の根治的手術を行う臨床プロトコルは他の集学的治療と比較して生存期間を延長させたが、依然として遠隔再発を多く認め、MPMの根治は非常に難しい。LRTは抗腫瘍免疫応答を誘発するが、制御性T(T_{reg})細胞によって作られる免疫抑制性微小環境でその抗腫瘍効果が制限される。MPMに対するLRT後における抗腫瘍免疫の活性化と抑制を同時に調節する免疫療法の効果は明らかではない。われわれは中皮腫モデルマウス(皮下腫瘍モデル、胸腔播種モデル)において、インターロイキン-15スーパーアゴニストであるIL-15SAと糖質コルチコイド誘発性腫瘍壊死因子受容体関連タンパク質(GITR)アゴニストであるDTA-1をLRTと組み合わせ、その抗腫瘍効果を検討した。IL-15SAはLRTによって誘導された腫瘍特異的記憶CD8陽性T細胞の増殖を全身と腫瘍局所で促進し、抗腫瘍効果を発揮した。しかし、放射線が照射された腫瘍の微小環境において T_{reg} 細胞が機能向上、活性化し、この効果を制限していることがわかった。そこでDTA-1が腫瘍内の T_{reg} 細胞を選択的に枯渇させることができることを確認し、IL-15SAを併用したLRTに対するDTA-1の腫瘍制御に関する上乗せ効果を確認した。さらにIL-15SAおよびDTA-1を組み合わせたLRT後の照射腫瘍切除はLRTの抗腫瘍効果を最大化し、遠隔中皮腫モデルマウスでアブスコパル効果を証明した。これらの成果はMPMに対する免疫療法併用LRTの臨床導入へ向けた研究を、また難治性局所進行腫瘍または転移性腫瘍(切除不能肺癌)患者に対する新規治療オプションの検証を支持している。

Figure and Note

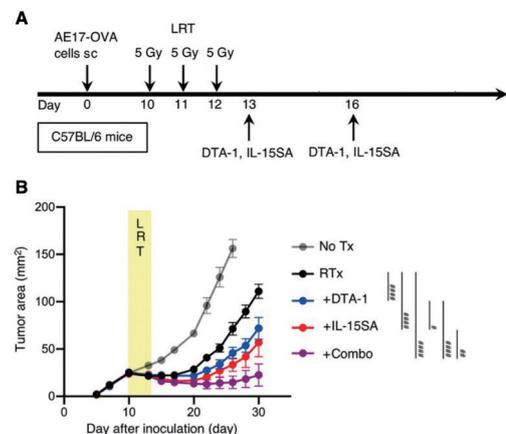


図1: 局所放射線療法に対する免疫調整薬の上乗せ効果

A: 皮下中皮腫モデルに対する治療スケジュール。B: 皮下腫瘍サイズの経過。IL-15SA、DTA-1はそれぞれ単独投与で腫瘍成長を抑制したが、併用投与により放射線療法後の腫瘍成長をさらに抑制させた。

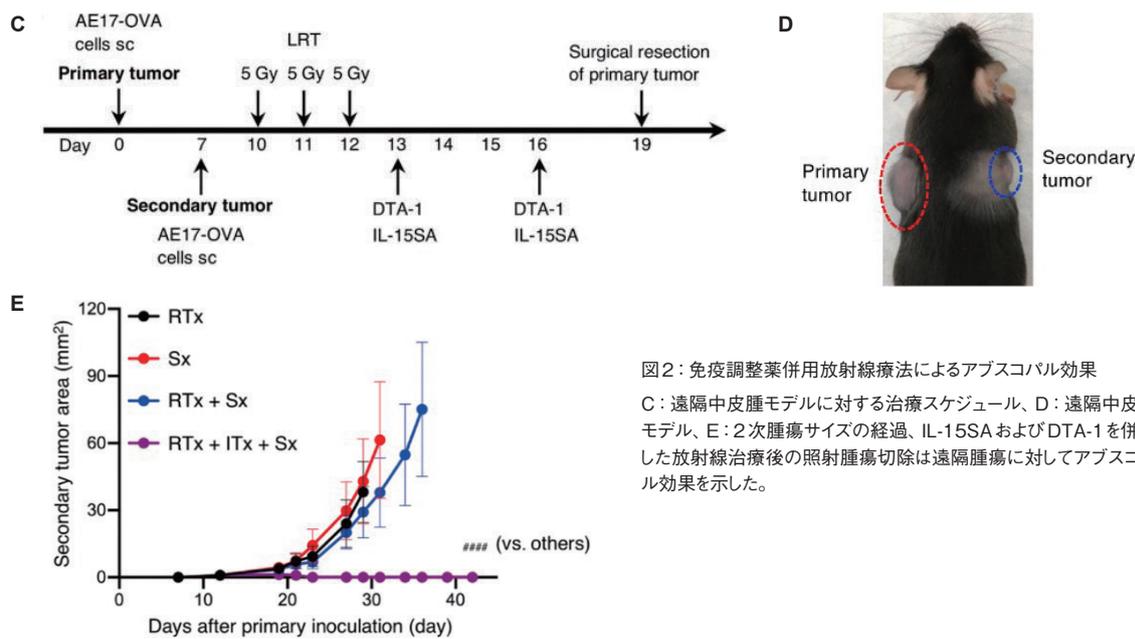


図2: 免疫調整薬併用放射線療法によるアブスコパル効果
 C: 遠隔中皮腫モデルに対する治療スケジュール, D: 遠隔中皮腫モデル, E: 2次腫瘍サイズの経過, IL-15SAおよびDTA-1を併用した放射線治療後の照射腫瘍切除は遠隔腫瘍に対してアブスコパル効果を示した。

悪性胸膜中皮腫に対する根治を目指した新規集学的治療の開発

悪性胸膜中皮腫(MPM)の主な原因は石綿(アスベスト)曝露です。日本で中皮腫の発生は2017年をピークに減少傾向となっている一方、世界ではアジア・中東を中心に石綿がまだまだ使用されており、世界的被害の拡大が予想されます。MPMは難治で、生存期間中央値は12~18ヵ月で、5年生存率は5%程度です。現時点では単独療法の効果は期待できず、手術療法、化学療法、放射線療法などを組み合わせた集学的治療が標準的に行われていますが、ブレイクスルーをもたらす新規治療法の開発は進んでいないのが現状です。

私が留学していたトロント総合病院では、MPMに対する非常に斬新なSMART(surgery for mesothelioma after radiotherapy)プロトコルを開発しました。腫瘍病変部を含む胸膜に強度変調放射線照射(Intensity Modulated Radiation Therapy, IMRT)を行い、手術療法(胸膜肺全摘出)を施行する治療で、良好な成績を取っています。それでもなお、遠隔転移(対側胸腔や腹腔)が多く、MPMの全身制御や根治は依然として難しい状況です。基礎研究でMPMに対する放射線照射が全身の抗腫瘍免疫応答を引き起こし、in situ vaccination効果をきたすが、局所微小環境で制御性T細胞が活性化し、その抗腫瘍効果を減弱させることが実証されました。ゆえに腫瘍免疫反応を調整可能な免疫療法が放射線治療を含むSMARTプロトコルと相乗効果を発揮し、治療成績を向上させる可能性が示唆されました。本研究ではIL-15SAおよびDTA-1を組み合わせた局所放射線後の照射腫瘍切除によって抗腫瘍効果を最大化させること、さらに遠隔中皮腫モデルマウスでアブスコパル効果(放射線照射によって放射線照射野以外の病変の縮小効果が認められること)を証明しました。

免疫放射線療法は放射線療法による腫瘍局所制御と免疫療法併用による遠隔制御が期待され、肺がんをはじめとする悪性腫瘍に対する臨床研究が進められ、その有効性が報告されつつあります。トロント総合病院では免疫放射線療法を含む新規手術プロトコルが検討され、臨床研究の準備中です。その安全性が懸念される非常に挑戦的な治療法ですが、現状では根治困難な切除不能肺がんやその他高悪性度の腫瘍に対する新規治療プラットフォームとして大いに囁望されます。

Academic surgeonの元で Translational researchを意識した基礎研究

私はToronto General Hospitalの胸部外科が運営するLatner Thoracic Surgery LaboratoriesのMarc de Perrotラボに留学していました。Latner Thoracic Surgery Laboratoriesは主に胸部外科医が主催する複数のラボで構成されていました。どのラボも臨床現場におけるresearch questionを元に、常にtranslational researchを意識した基礎研究を行っていました。日本をはじめ世界各国から若い胸部外科医が留学しており、熱気に満ち溢れた環境で仕事ことができました。さらに他のラボやトロント大学の様々な講座と容易にコラボレーションできる状況が私の研究を大きく成長させてくれました。



BCL11A 干渉と短縮型エリスロポエチン受容体の共発現により in vivo での胎児型ヘモグロビンの持続的誘導が達成された

Sustained fetal hemoglobin induction in vivo is achieved by *BCL11A* interference and coexpressed truncated erythropoietin receptor

Naoya Uchida^{1,2} Francesca Ferrara³ Claire M. Drysdale¹ Morgan Yapundich¹ Jackson Gamer¹ Tina Nassehi¹ Julia DiNicola¹ Yoshitaka Shibata¹ Matthew Wielgosz³ Yoon-Sang Kim³ Matthew Bauler⁴ Robert E. Throm⁴ Juan J. Haro-Mora¹ Selami Demirci¹ Aylin C. Bonifacino⁵ Allen E. Krouse⁵ N. Seth Linde⁵ Robert E. Donahue¹ Byoung Ryu^{3,6} John F. Tisdale¹

¹ Cellular and Molecular Therapeutics Branch, National Heart Lung and Blood Institutes (NHLBI)/National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK), National Institutes of Health (NIH)

⁴ Vector Development and Production Laboratory, SJCRH

⁵ Translational Stem Cell Biology Branch, NHLBI, NIH

⁶ Umoja Biopharma

² Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

³ Department of Hematology, St. Jude Children's Research Hospital (SJCRH)

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.abb0411>



内田 直也 Naoya Uchida

東京大学医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野 准教授
(兼任 米国国立衛生研究所 心肺血液部門 細胞分子治療分野 スタッフサイエンティスト)

Contact

E-mail : uchidan@ims.u-tokyo.ac.jp

所在地 : 108-8639 東京都港区白金台4-6-1

U R L : <https://www.dmmg-u-tokyo.org/>

Abstract

鎌状赤血球貧血症などのヘモグロビン異常症に対する造血幹細胞遺伝子治療には、レンチウイルスベクターによる高効率な遺伝子導入と、赤血球における治療グロビンの高発現が必要である。エリスロポエチンは、赤血球の増殖と分化(赤血球造血)に重要なサイトカインである。家族性赤血球増加症の原因として様々な短縮型エリスロポエチン受容体(thEpoR)による機能亢進が報告されているため、C末端から40アミノ酸を削除することにより活性型thEpoRを設計した。これをレンチウイルスベクターで遺伝子導入することで、エリスロポエチン存在下の赤血球増殖・分化が選択的に増強されることを示した。次に、thEpoRと胎児型ヘモグロビン(HbF)誘導配列(B cell lymphoma/leukemia 11A-targeting microRNA-adapted short hairpin RNA, shmiR-BCL11A)を赤血球特異的に発現する治療用レンチウイルスベクターを作製し、遺伝子導入したCD34⁺造血幹細胞を移植し、shmiR-BCL11Aのみを発現するコントロールベクターと比較した。ヒト化マウスとアカゲザルの遺伝子治療モデルにおいて、shmiR-BCL11AのみによるHbF誘導は強力であるが一過性であったのに対し、thEpoRがshmiR-BCL11AによるHbF誘導を増強し、アカゲザルにおいては20~25%のHbF誘導を4~8ヵ月継続させた。これにより、thEpoRの共発現が遺伝子導入した赤血球増殖・分化を増強し、持続的なHbF誘導を可能とすることが示された。thEpoRによる治療効果増強が、ヘモグロビン異常症に対する有効な遺伝子治療戦略となる可能性がある。

Figure and Note

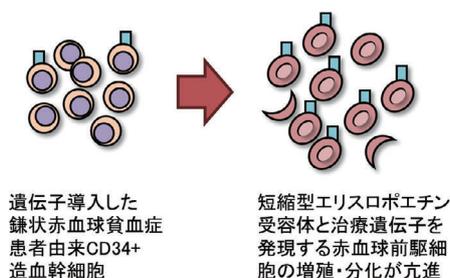


図1: 短縮型エリスロポエチン受容体(thEpoR)により遺伝子治療した赤血球を選択的に増殖・分化させる
thEpoRの共発現により、治療遺伝子を導入した赤血球増殖・分化を選択的に増強し、鎌状赤血球貧血症に対する遺伝子治療の有効性を向上することが可能となる。

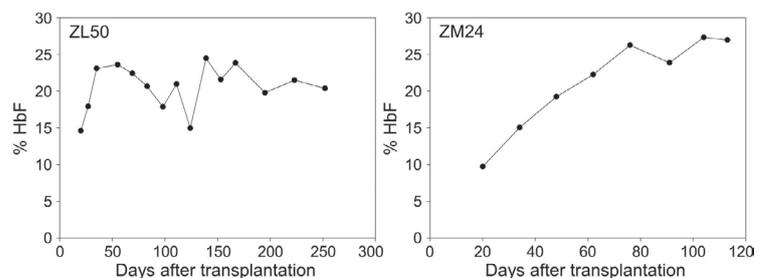


図2: アカゲザル遺伝子治療モデルにおける胎児型ヘモグロビン(HbF)の持続的誘導
thEpoRとshmiR-BCL11Aを共発現する治療用レンチウイルスベクターを使用して、アカゲザルCD34⁺造血幹細胞に遺伝子導入し、同一個体に自家移植した後、赤血球におけるHbF発現量を評価した。

鎌状赤血球貧血症に対する 造血幹細胞遺伝子治療の開発研究

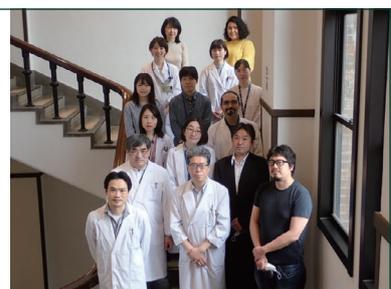
造血幹細胞(HSC)を対象とした遺伝子治療により、免疫不全症、ヘモグロビン異常症、代謝異常を含め、様々な先天性疾患が治療可能となっています。その中でも鎌状赤血球貧血症(SCD)が歴史的に最も重要で難しいと言われており、SCDを治癒することが最初のゴールと考えられています。SCDはβグロビン遺伝子の点変異によって、貧血、疼痛、臓器障害、早期死亡を生じる病気です。正常HSCを移植すれば半永久的に治癒することが可能ですが、適格なドナーは10%くらいしか見つかりません。そこで、レンチウイルスベクターを利用して、患者自身のHSCに正常βグロビン遺伝子、あるいは胎児型ヘモグロビン(HbF)誘導配列を遺伝子導入する遺伝子治療が開発されており、臨床試験で有効性が示されています。HSC遺伝子治療は、一回の治療で生涯にわたって治癒することを可能とし、ほぼすべての患者に適応可能であるため、治療適応の拡大が期待されています。

SCDに対する遺伝子治療の適応拡大には、HSCレベルでの高効率な遺伝子導入と、赤血球における治療遺伝子の高発現が重要です。この研究では、短縮型エリスロポエチン受容体(thEpoR)を赤血球特異的に共発現させることで、治療遺伝子を含む赤血球を選択的に増殖・分化させ、治療効果を増強することを可能としました。エリスロポエチンは、赤血球造血に重要なサイトカインです。家族性赤血球増加症の原因として様々なthEpoRが報告されており、40アミノ酸を削除した活性化型thEpoRを設計し、それを遺伝子導入することで、赤血球増殖・分化が選択的に増強されることを示しました(図1)。次に、thEpoRとHbF誘導配列(shmiR-BCL11A)の両方を赤血球特異的に発現する治療用レンチウイルスベクターと、shmiR-BCL11Aのみを発現するコントロールベクターを作製し、遺伝子導入したCD34⁺ HSCを移植しました。ヒト化マウスとアカゲザルの遺伝子治療モデルで、shmiR-BCL11AのみによるHbF誘導は強力ですが一過性であったのに対し、thEpoRがshmiR-BCL11AによるHbF誘導を増強し、アカゲザルにおいて20~25%のHbF誘導が4~8ヵ月継続しました(図2)。これにより、thEpoRが赤血球系細胞の増殖・分化を高め、持続的にHbFを誘導することを可能とし、SCDに対して有効な遺伝子治療法となり得ることを示しました。

SCDに対するHSC遺伝子付加治療の有効性がヒトで証明され、様々な先天性疾患に対するHSC遺伝子治療の臨床試験が進んでいます。以前懸念されていた白血病の合併も、新世代のレンチウイルスベクターを使用することで安全性が改善され、その後のHSC遺伝子付加治療(300例以上)で造血器悪性腫瘍の合併は1%程度に抑えられており、ベクター挿入が直接原因になっているものは報告されていません。また近年、遺伝子編集技術が実用化され、ベクター配列の挿入なく病因遺伝子の変異を直す遺伝子編集治療が開発されており、遺伝子編集治療の臨床応用にも期待が高まっています。これまでのHSC遺伝子付加・編集治療の研究の経験を活かし、HSCを遺伝子レベルで修復する新しい治療を実用化できるようにしたいと考えています。

造血幹細胞遺伝子付加・編集治療の開発研究

米国国立衛生研究所で研究リーダーとして鎌状赤血球貧血症に対する造血幹細胞遺伝子治療の開発研究に10年以上携わり、現行の臨床試験の成功にも貢献しました。昨年末、東京大学医科学研究所に移籍し、日本において造血幹細胞遺伝子治療を広めるために尽力しております。遺伝子治療や遺伝子編集に興味を持たれている方がありましたら、お気軽にご連絡下さい。



RNA アプタマーによってFGFR3関連骨異形成症モデルマウスの骨成長障害が回復する

An RNA aptamer restores defective bone growth in FGFR3-related skeletal dysplasia in mice

Takeshi Kimura¹ Michaela Bosakova^{2,3,4} Yosuke Nonaka⁵ Eva Hrubá⁴ Kie Yasuda¹ Satoshi Futakawa⁵ Takuo Kubota¹ Bohumil Fafílek^{2,3,4} Tomas Gregor^{2,3} Sara P. Abraham² Regina Gomolkova^{2,4} Silvie Belaskova³ Martin Pesl^{2,3,6} Fabiana Csukasi^{7,8} Ivan Duran^{7,8} Masatoshi Fujiwara⁵ Michaela Kavkova⁹ Tomas Zikmund⁹ Josef Kaiser⁹ Marcela Buchtova^{4,10} Deborah Krakow⁷ Yoshikazu Nakamura^{5,11} Keiichi Ozono¹ Pavel Krejci^{2,3,4}

¹ Department of Pediatrics, Osaka University Graduate School of Medicine

² Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University

³ International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital

⁴ Institute of Animal Physiology and Genetics, Czech Academy of Sciences

⁵ RIBOMIC Inc.

⁶ First Department of Internal Medicine-Cardioangiology,

St. Anne's University Hospital, Masaryk University

⁷ Department of Orthopaedic Surgery, University of California Los Angeles

⁸ Networking Research Center on Bioengineering, Biomaterials,

and Nanomedicine (CIBER-BBN)-LABRET, University of Málaga, IBIMA-BIONAND

⁹ Central European Institute of Technology, Brno University of Technology

¹⁰ Department of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University

¹¹ Institute of Medical Science, The University of Tokyo

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.aba4226>



左から木村 武司、野中 洋介

木村 武司 Takeshi Kimura

大阪大学大学院 医学系研究科 小児科学 特任助教

野中 洋介 Yosuke Nonaka

株式会社リボミック 臨床開発部 主席

Contact

木村 武司 E-mail: tkimura@ped.med.osaka-u.ac.jp

所在地: 565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2

U R L : <https://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/ped/www/index.html>

野中 洋介 E-mail: y.nonaka@ribomic.com

所在地: 108-0071 東京都港区白金台 3-16-13

U R L : <http://www.ribomic.com>

Abstract

軟骨無形成症は四肢短縮型低身長をきたす最も頻度の高い骨系統疾患であり、線維芽細胞増殖因子受容体3(FGFR3) 遺伝子の機能獲得型変異によって発症する。軟骨無形成症に対する根治療法は現在でも存在せず、FGFR3の安全かつ効果的な阻害薬が求められていた。今回われわれは、FGFR3のリガンドであるFGF2を中和するRNA アプタマー(RBM-007)を開発し、軟骨無形成症の治療薬としての評価を行った。培養ラット軟骨細胞またはマウス胎仔脛骨器官培養系において、RBM-007は、FGFR3シグナルによって引き起こされる細胞増殖障害、軟骨細胞外マトリックス分解、早期老化、および肥大軟骨分化異常を回復させた。軟骨無形成症患者に由来する人工多能性幹細胞を用いた実験系において、RBM-007はin vitroでの軟骨分化を回復し、異種移植片における内軟骨性骨化の改善効果を示した。軟骨無形成症モデルマウスへの皮下投与と実験においても、RBM-007は骨成長障害を回復させた。これらの結果から、われわれはFGFR3を標的としたリガンド抑制による治療効果を明らかにし、軟骨無形成症やその他のFGFR3関連骨異形成症に対する新規治療法となる可能性を示した。

Figure and Note

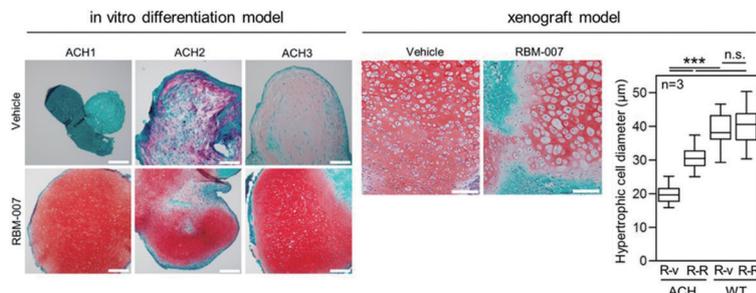


図1: 疾患特異的iPS細胞を用いたRBM-007の効果の検討

(左)in vitroでの軟骨分化誘導。ACH-iPS細胞はvehicle群では軟骨組織を形成できないが、RBM-007群ではサフランin O染色で赤く染色される軟骨組織が形成される。(右)異種移植モデルでの軟骨細胞肥大化。RBM-007によって細胞径が増加する。

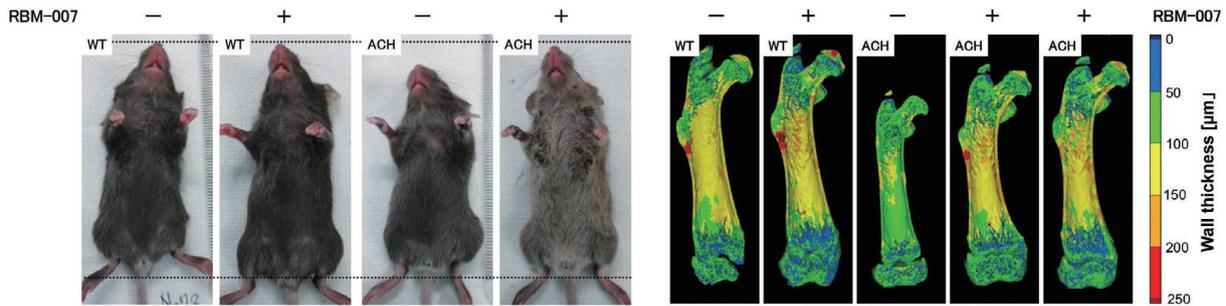


図2: 軟骨無形成症 (ACH) モデルマウスの体長と大腿骨長に対するRBM-007皮下投与の効果
 (左) RBM-007投与によって、野生型 (WT) マウスでは変化が見られないが、ACHモデルマウスでは体長を伸ばす効果が認められる。
 (右) 大腿骨の3D-CT画像。RBM-007投与によってACHモデルマウスでの大腿骨の成長障害が回復する。

核酸アプタマーを用いた軟骨無形成症治療薬の開発

軟骨無形成症 (achondroplasia, ACH) は新生児約 25,000 人に対して 1 人の頻度で発生する、四肢短縮型低身長症の原因として最も頻度の高い骨系統疾患です。線維芽細胞増殖因子受容体 3 型 (FGFR3) の機能獲得型変異が原因となって発症することが分かっていますが、現在まで根本治療法の確立には至っていません。今回、われわれは FGFR3 に結合するリガンドのうち FGF2 に着目し、FGF2 阻害剤である RBM-007 の治療効果についての研究を行いました。RBM-007 はアプタマーと呼ばれる核酸医薬であり、37 鎖長の RNA 分子から構成されています。相補配列によって 3 次元構造を取った核酸分子が FGF2 を特異的に捕捉することで、FGFR3 への結合を完全に阻害することができる薬剤です。

まず、MCF7 細胞に野生型 / 変異型それぞれの FGFR3 を発現させ、FGF2 添加によって FGFR3 のリン酸化が亢進すること、RBM-007 を添加することでそれが低下することを示しました。この結果から、ACH において変異 FGFR3 がリガンド依存性に活性化されること、FGF2 がリガンドとして活性を持つことが示唆されました。さらに、培養軟骨細胞と胎生 18 日のマウス脛骨を用いた実験系で、FGF2 を添加すると増殖成長障害を呈すること、RBM-007 を添加することによってそれが回復することを明らかにし、実際に軟骨細胞 / 組織でも RBM-007 が効果を発揮することを示しました。

次に、ACH への治療効果を検討するため、患児由来の疾患特異的 iPS 細胞 (ACH-iPS) を用いた分化誘導とモデルマウスへの投与実験を行いました。ACH-iPS は軟骨細胞への分化誘導が障害されることがすでに報告されていますが、RBM-007 を添加することで軟骨分化を回復させることができました。さらに、ACH-iPS から作成した軟骨組織を免疫不全マウスへ異種移植することで内軟骨性骨化を観察するモデルでも、RBM-007 をマウスの皮下へ注射することによって、ACH-iPS 由来の成長板軟骨における肥大軟骨細胞径を増大する効果が認められました。最後に、著明な骨成長障害をきたす変異 FGFR3 を発現させた ACH モデルマウスと、ヒト FGF2 過剰発現マウスへの投与実験を行いました。RBM-007 はいずれのモデルマウスに対しても、骨成長障害を改善させることができました。

核酸アプタマーは抗体医薬に比べると、試験管内で合成可能で免疫原性が非常に低いという利点があることから、次世代分子標的医薬として様々な分野で開発が進められています。今回のわれわれの研究によって、RBM-007 は成長板軟骨において FGF2 を特異的に捕捉することで FGFR3 シグナルを直接抑制し、ACH の病態を改善させることを示すことができました。すでに RBM-007 は本邦で ACH に対する第 1 相試験が完了し、また米国において加齢黄斑変性症に対する第 2 相臨床試験が進行中であり、早期の臨床応用が期待されます。

ベンチから難病で苦しむ子供たちのベッドサイドへ

大阪大学大学院医学系研究科小児科学教室では、難病・希少疾患の子供たちへの先進医療へ取り組む一方で、患者さんから樹立した疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態解析や、治療薬開発を目的とした translational research にも力を入れています。

本研究では、アプタマー創薬の分野で日本のトップランナーであるリポミック社、FGF の基礎研究の専門家である Masaryk 大学医学部の Pavel Krejci 教授、そしてわれわれによる研究チームで、それぞれの得意分野をつなげて大きな成果を得ることができました。



サイログロブリン免疫マウスにおいて CD4⁺ T細胞は抗PD-1抗体誘発破壊性甲状腺炎の 発症に必須の役割を果たす

CD4⁺ T cells are essential for the development of destructive thyroiditis induced by anti-PD-1 antibody in thyroglobulin-immunized mice

Yoshinori Yasuda¹ Shintaro Iwama¹ Daisuke Sugiyama² Takayuki Okuji¹ Tomoko Kobayashi¹ Masaaki Ito¹ Norio Okada¹
Atsushi Enomoto³ Sachiko Ito² Yue Yan² Mariko Sugiyama¹ Takeshi Onoue¹ Taku Tsunekawa¹ Yoshihiro Ito^{1,4}
Hiroshi Takagi¹ Daisuke Hagiwara¹ Motomitsu Goto¹ Hidetaka Suga¹ Ryoichi Banno^{1,5} Masahide Takahashi³
Hiroyoshi Nishikawa^{2,6} Hiroshi Arima¹

¹ Department of Endocrinology and Diabetes, Nagoya University Graduate School of Medicine

² Department of Immunology, Nagoya University Graduate School of Medicine

³ Department of Pathology, Nagoya University Graduate School of Medicine

⁴ Department of CKD Initiatives/Nephrology, Nagoya University Graduate School of Medicine

⁵ Research Center of Health, Physical Fitness and Sports, Nagoya University

⁶ Division of Cancer Immunology, Research Institute/Exploratory Oncology Research and Clinical Trial Center (EPOC), National Cancer Center

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.abb7495>



岩間 信太郎 *Shintaro Iwama*

名古屋大学医学部附属病院 糖尿病・内分泌内科 講師

Contact

E-mail: siwama@med.nagoya-u.ac.jp

所在地: 466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65

URL: <https://www.med.nagoya-u.ac.jp/endodm/index.html>

Abstract

抗PD-1抗体(PD-1-Ab)療法で認められる免疫関連有害事象(irAE)、例えば破壊性甲状腺炎(甲状腺irAE)は、活性化されたT細胞によって引き起こされると考えられている。しかし、自己器官の傷害に直接関与するT細胞サブセットについては不明であった。甲状腺irAEの発症に関与するT細胞サブセットを明らかにするため、甲状腺irAEマウスモデルによる解析を行った。サイログロブリン免疫の2.5ヵ月後にPD-1-Abを投与した結果、破壊性甲状腺炎が惹起された。あらかじめCD4⁺T細胞を除去した結果、破壊性甲状腺炎の発症は完全に抑制され、CD8⁺T細胞を除去した結果、部分的に抑制された。頸部リンパ節におけるセントラルおよびエフェクターメモリーCD4⁺T細胞サブセットの割合は、甲状腺irAEマウスで対照群と比し有意な増加が認められた。また、頸部リンパ節のCD4⁺T細胞におけるサイログロブリン刺激後のインターフェロン- γ の分泌は甲状腺irAEマウスにおいて対照群と比し増加が認められた。病理組織学的分析から甲状腺irAEマウスでは、グランザイムBを発現するCD4⁺T細胞の甲状腺への浸潤、ならびに主要組織適合複合体クラスIIの甲状腺濾胞細胞での発現が認められた。甲状腺irAEマウスの頸部リンパ節から採取したCD4⁺T細胞を養子移入したところ、放射線照射レシピエントマウスにおいて甲状腺濾胞細胞の破壊が惹起された。さらに、フローサイトメトリーにおいて、細胞傷害性マーカーであるCD27を発現するセントラルおよびエフェクターメモリーCD4⁺T細胞の割合が、PD-1-Abによる甲状腺irAE発症者から採取した末梢血単核細胞では対照者と比し有意に高値であった。以上より、PD-1-Abにより活性化された細胞傷害作用を有するメモリーCD4⁺T細胞サブセットが甲状腺irAEの発症に重要な役割を果たすことが示唆された。

好中球はスティーヴンス・ジョンソン症候群および中毒性表皮壊死症の発症および増悪をもたらす

Neutrophils initiate and exacerbate Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis

Manao Kinoshita¹ Youichi Ogawa¹ Natsumi Hama² Inkin Ujiie³ Akito Hasegawa² Saeko Nakajima⁴ Takashi Nomura⁴ Jun Adachi^{5,6} Takuya Sato¹ Schuichi Koizumi⁷ Shinji Shimada¹ Yasuyuki Fujita³ Hayato Takahashi⁸ Yoshiko Mizukawa⁹ Takeshi Tomonaga^{5,6} Keisuke Nagao¹⁰ Riichiro Abe² Tatsuyoshi Kawamura¹

¹ Department of Dermatology, Faculty of Medicine, University of Yamanashi

² Division of Dermatology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

³ Department of Dermatology, Hokkaido University Graduate School of Medicine

⁴ Department of Dermatology, Kyoto University Graduate School of Medicine

⁵ Laboratory of Proteome Research, National Institute of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

⁶ Laboratory of Proteomics for Drug Discovery, Center for Drug Design Research, National Institute of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

⁷ Department of Neuropharmacology, Interdisciplinary Graduate School of Medicine, University of Yamanashi

⁸ Department of Dermatology, Keio University School of Medicine

⁹ Department of Dermatology, Kyorin University School of Medicine

¹⁰ Cutaneous Leukocyte Biology Section, Dermatology Branch, National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases (NIAMS), National Institutes of Health

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.aax2398>



左から小川 陽一、木下 真直、川村 龍吉

小川 陽一 *Youichi Ogawa*

山梨大学 皮膚科学講座 講師

木下 真直 *Manao Kinoshita*

山梨大学 皮膚科学講座 助教

(現 Postdoctoral Fellow, Cutaneous Leukocyte Biology Section, Dermatology Branch, National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases, National Institutes of Health)

川村 龍吉 *Tatsuyoshi Kawamura*

山梨大学 皮膚科学講座 教授

Contact

小川 陽一 E-mail: yogawa@yamanashi.ac.jp

所在地: 409-3898 山梨県中央市下河東 1110

川村 龍吉 E-mail: tkawa@yamanashi.ac.jp

所在地: 409-3898 山梨県中央市下河東 1110

木下 真直 E-mail: mkinoshita@yamanashi.ac.jp

所在地: 409-3898 山梨県中央市下河東 1110

Abstract

スティーヴンス・ジョンソン症候群(SJS)および中毒性表皮壊死症(TEN)は、致死性重症薬疹であり皮膚・粘膜上皮の細胞死とそれに引き続く上皮剥脱を特徴とする。薬剤特異的細胞傷害性T細胞とその関連エフェクター分子が上皮細胞死を誘導することが知られているが、自然免疫細胞の関与については検討されていない。われわれは、好中球がSJS/TENの発症を誘導する新規メカニズムを見出した。皮膚に浸潤した薬剤特異的CD8⁺T細胞はlipocalin-2を産生し、同様に皮膚に浸潤した好中球にneutrophil extracellular trap(NET)の形成を誘導する。NETを形成する好中球からは抗菌ペプチドLL-37が放出され、ケラチノサイトにホルミルペプチド受容体1(FPR1)の発現を誘導する。FPR1発現ケラチノサイトは細胞死(necroptosis)に陥り、さらにLL-37が放出され周囲のケラチノサイトに継続的にFPR1の発現が誘導され、細胞死のループが形成される。NET-necroptosis軸は、SJS/TEN以外の薬疹型、自己免疫疾患、あるいは好中球性皮膚症では認められなかったことから、SJS/TENに特異的であることが示唆された。SJS/TENを特徴づけるケラチノサイトのnecroptosisが、自然免疫系および獲得免疫系の相互作用により誘導されることが示され、これらのメカニズムを検討することはSJS/TENの早期診断マーカーや治療標的を明らかにするうえで有用となる可能性がある。

Figure and Note

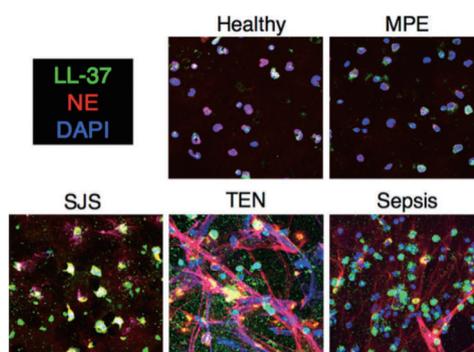


図1: SJS/TEN患者末梢血好中球はNETを形成する
健康人、通常薬疹ではNETの形成は見られないが、SJSや敗血症患者ではNETの形成が見られる。TENではさらに強いNET形成が認められる。

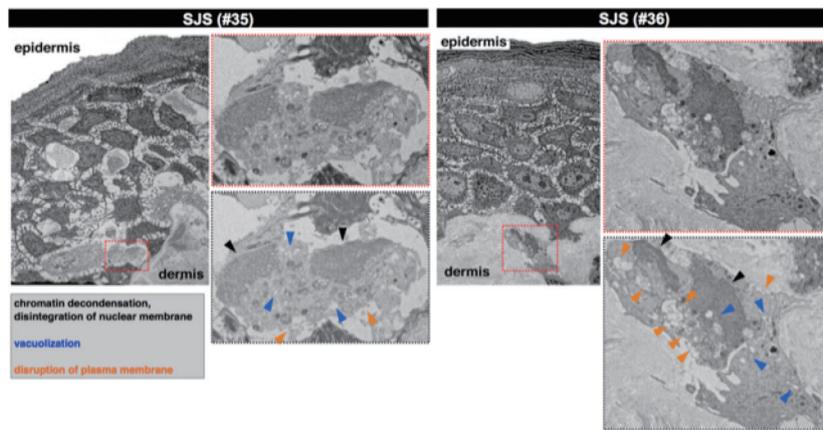


図2: SJS/TEN皮膚好中球はNETを形成する

SJS/TEN患者の表皮・真皮に浸潤する好中球はクロマチン脱凝集などNETに特徴的な所見を示す。

Neutrophil extracellular trapとSJS/TEN

SJS/TENは薬剤特異的細胞傷害性CD8陽性(CD8⁺)T細胞が皮膚に浸潤し、種々の細胞傷害分子を産生することで惹起されるという概念が確立されています。したがって、好中球のような自然免疫細胞の関与は想定されていませんでした。一方で、SJS/TEN患者、特にTEN患者においては発症初期に末梢血好中球数が減少することが報告されており、SJS/TENの末梢血好中球に何らかの異常が存在することを示唆しています。SJS/TENの皮膚においては、H&E染色標本で好中球が確認し難いことから「好中球が存在しない」と成書にも記載され、SJS/TENの1つの定義のように考えられてきました。このようにSJS/TENにおいて好中球の関与を検討することはchallengingでしたが、まずSJS/TEN患者の末梢血好中球の観察から始めてみました。

SJS/TENでは末梢血好中球、および皮膚浸潤好中球にNETの形成が認められました。これは薬剤特異的CD8⁺T細胞の産生するlipocalin-2によって惹起されること、そしてNETからはLL-37が放出されケラチノサイトにFPR1の発現を誘導すること、が明らかとなりました。SJS/TENでは、FPR1を発現するケラチノサイトが単球由来のannexin-A1と結合することでネクロプトーシスに陥ることが知られています。したがって、SJS/TENを特徴付けるケラチノサイトのネクロプトーシスは、好中球のNET形成に端を発するということになります。また、NET形成は様々な薬疹型でSJS/TENに特異的でした。さらに、NETは全身性エリテマトーデス(SLE)や乾癬などでも確認されることが知られていますが、その強度は圧倒的にSJS/TENで強いことも重要であると考えます。

SJS/TENの新規発症メカニズムが明らかとなったことで、新規バイオマーカー候補(lipocalin-2やLL-37)が判明しました。SJS/TENの初期像は通常薬疹との判別が非常に困難であり、迅速診断キットの開発は救命率向上のため非常に重要です。また、好中球やlipocalin-2、LL-37といった細胞や分子をターゲットとする新規治療法の開発を現在検討しています。

臨床も研究も!

山梨大学皮膚科学講座は典型的な地方大学の一医局であり、慢性的に医局員も不足していますが、継続的に皮膚免疫に関する重要な知見を発表し続けています。これからも高度な医療を提供しつつ、研究マインドをもった教室として努力を続けます。



糖尿病患者における 腎機能低下および末期腎不全への進行に対する 循環血中保護蛋白質の同定

Circulating proteins protect against renal decline and progression to end-stage renal disease in patients with diabetes

Zaipul I. Md Dom^{1,2} Eiichiro Satake^{1,2} Jan Skupien³ Bozena Krolewski^{1,2} Kristina O'Neil¹ Jill A. Willency⁴ Simon T. Dillon^{2,5} Jonathan M. Wilson⁴ Hiroki Kobayashi^{1,2} Katsuhito Ihara^{1,2} Towia A. Libermann^{2,5} Marlon Pragnell⁶ Kevin L. Duffin⁴ Andrzej S. Krolewski^{1,2}

¹ Research Division, Joslin Diabetes Center

² Department of Medicine, Harvard Medical School

³ Department of Metabolic Diseases, Jagiellonian University Medical College

⁴ Diabetes and Complication Department, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company

⁵ Genomics, Proteomics, Bioinformatics and Systems Biology Center, Beth Israel Deaconess Medical Center

⁶ JDRF International

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.abd2699>



佐竹 栄一郎 *Eiichiro Satake*

Research Fellow, Genetics and Epidemiology, Joslin Diabetes Center

Contact

E-mail: Eiichiro.satake@joslin.harvard.edu

所在地: One Joslin Pl, Boston, MA 02215, USA

Abstract

糖尿病性腎臓病(DKD)は、糖尿病患者において進行性の腎機能低下をきたし、最終的に末期腎不全(ESRD)に至る重大な合併症である。進行性の腎機能低下からESRDに至る疾患プロセスには、リスクを高める因子とともに、腎機能低下に対して保護作用を持つ因子も含まれている。われわれはJoslin kidney studyに参加したCKDステージ3の1型および2型糖尿病患者群の2つのコホートに対して7~15年の追跡調査を行い、調査開始時(ベースライン)の血漿を用いて、循環血中蛋白質のプロテオミクス・プロファイリングを行った。その結果、進行性腎機能低下およびESRDへの進行に対して保護的作用を有する3種類の血漿蛋白質、すなわち線維芽細胞成長因子20(FGF20; オッズ比[OR]0.69、95%信頼区間[CI]0.54~0.88)、アンジオポエチン1(ANGPT1; OR 0.72、95%CI 0.57~0.91)、およびTNFスーパーファミリーメンバー12(TNFSF12[TWEAK]; OR 0.75、95%CI 0.59~0.95)を同定した。さらにこれら3種類の保護蛋白質を統合して検討したところ、これらすべての蛋白質のベースライン濃度が中央値を超えていた患者では、その後に進行性の腎機能低下もしくは10年以内にESRDを発症する累積リスクが極めて低く、逆にこれらの蛋白質のベースライン濃度が中央値未満であった患者では累積リスクが高かった。この保護的作用は、他の循環血中炎症性蛋白質またはHbA1cなどの臨床変数とは独立しており、さらに腎機能正常の糖尿病患者から成る第3のコホートでも再現性が確認された。腎機能低下に対して保護作用を有すると考えられるこれら3種類の蛋白質は、糖尿病患者におけるESRDへの進行を予測するためのバイオマーカー、およびESRDの発症を遅延または予防するための治療ターゲットの候補として有用と考えられる。

Figure and Note

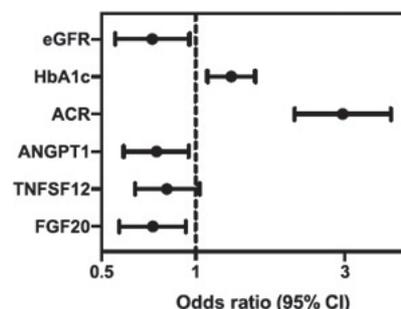


図1: 保護的作用を持つ3種類の蛋白質(FGF20、ANGPT1、TNFSF12)の進行性腎機能低下に対する影響

1型および2型糖尿病患者群を合わせたコホートにおける、それぞれの蛋白質および臨床変数のオッズ比(OR)と95%信頼区間を示す。蛋白質濃度は四分位で検討した。

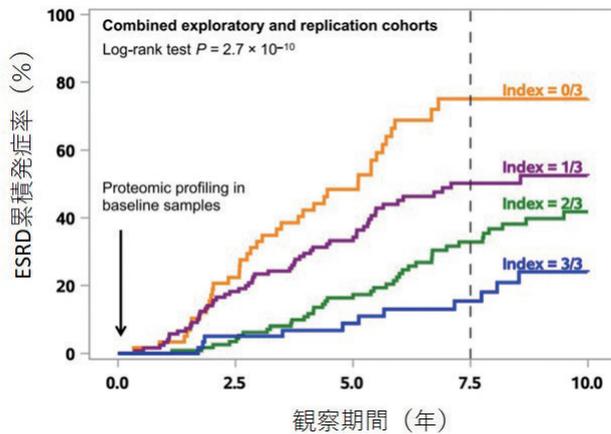


図2：3種類の蛋白質を組み合わせた保護Indexと10年以内のESRD累積発症リスク

ベースラインでの蛋白質濃度が中央値以上である場合は1点、中央値未満である場合は0点とし、その合計を保護インデックス(Index)として検討した。観察期間と保護Index値ごとのESRD累積発症リスクを示す。

糖尿病性腎臓病におけるESRDの進展に対する保護蛋白質の同定

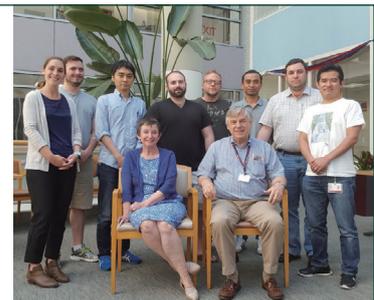
2018年のUSRDSの統計によると米国の新規末期腎不全(ESRD)発症患者数は年間13万人を超え、その主な原因は糖尿病です。糖尿病の診断、治療法はここ数十年で目覚ましい進歩を遂げているにもかかわらず、新規透析患者数は増加の一途をたどっています。そのため糖尿病性腎臓病の新たな治療法や予後予測する新規バイオマーカーが切望されています。ハーバード大学付属ジョスリン糖尿病センター・Genetics and EpidemiologyのProf. Krolewskiは、ジョスリン糖尿病センターに受診中のおよそ3,500名の糖尿病患者(1型2,000名、2型1,500名)を対象にJoslin Kidney Study(JKS)を実施し、糖尿病性腎臓病に関するバイオマーカーおよび予後因子の探索を長年行ってきました。近年われわれはJKSのコホートをを用いて、血漿中のKidney Risk Inflammatory Signature(KRIS)蛋白質およびAxon Guidance Pathway(AGP)蛋白質が腎機能低下の進行およびESRDへの進展のリスク蛋白質であることを報告しましたが(Niewczas M, et al., *Nat Med* 2019, Satake E, et al., *J Am Soc Nephrol* 2021)、保護因子に関する探索はこれまで十分検討されていませんでした。

本研究ではJKSに参加した糖尿病患者さんを対象に、7~15年の経過観察を実施し、その後の腎機能低下の進行とESRDの進展を評価しました。さらに研究参加時(ベースライン)の保存血漿を用いてプロテオミクス解析を行い、腎機能低下の進行とESRD発症に対して保護的作用を持つ3種類の血漿中蛋白質を同定しました。異なるタイプの糖尿病(1型および2型)、また異なるCKDステージを持つ独立した3つのコホートで結果の再現性を確認できたことは、これら3種類の蛋白質が糖尿病性腎臓病のバイオマーカーとして一般化できる可能性を示唆しています。またこれらの3種類の蛋白質を統合した保護インデックスがESRD発症リスクの予測に有用であることも示すことができました。

今回われわれが同定した蛋白質は、糖尿病性腎臓病の腎機能低下の進行に対して保護作用を持つと考えられますが、具体的なメカニズムはまだ分かっていません。その病態生理学的検討のため、マウスモデルを用いた実験、ヒトの腎臓組織のシングルセルRNAシーケンス、GWAS、メチル化解析、ノンコーディングRNA解析などを多くの共同研究者と一緒に現在進めているところです。糖尿病性腎臓病に対する新たなバイオマーカーおよび新規創薬への礎となるよう今後も研究を継続してゆきます。

Cure Diabetes and its Complications

ハーバード大学付属ジョスリン糖尿病センターは、米国マサチューセッツ州のボストンに位置する世界有数の糖尿病研究施設です。私が所属するKrolewskiラボ(Genetics and Epidemiology)では、主にJoslin Kidney Studyで収集された膨大な数の臨床検体(血液、尿)をもとに、糖尿病の合併症に関わるバイオマーカーおよび予後因子の探索を行っています。もともと日本で小児内分泌を専門としていた私は糖尿病の合併症に興味を持ち、2013年からラボに参加して現在に至ります。苦勞することも多々ありますが、日々新しい学びがあり、素晴らしいポストと優秀な仲間たち、そして家族と一緒にエキサイティングな毎日を過ごしています。まだまだ未熟な研究者ではありますが、当センターの目的である「Cure Diabetes and its Complications」を目指して、これからも挑戦を続けてまいります。



iPS細胞とマイクロ流体気道チップ技術を 組み合わせた線毛病の多細胞性モデルの構築

Multicellular modeling of ciliopathy by combining iPS cells and microfluidic airway-on-a-chip technology

Naoyuki Sone¹ Satoshi Konishi^{1,2} Koichi Igura¹ Koji Tamai¹ Satoshi Ikeo¹ Yohei Korogi¹ Shuhei Kanagaki³
Toshinori Namba⁴ Yuki Yamamoto³ Yifei Xu⁵ Kazuhiko Takeuchi⁵ Yuichi Adachi⁶ Toyofumi F. Chen-Yoshikawa^{7,8}
Hiroshi Date⁷ Masatoshi Hagiwara⁹ Sachiko Tsukita^{2,10} Toyohiro Hirai¹ Yu-Suke Torisawa^{11,12} Shimpei Gotoh^{1,3}

¹ Department of Respiratory Medicine, Graduate School of Medicine, Kyoto University

² Laboratory of Biological Science, Graduate School of Frontier Biosciences and Graduate School of Medicine, Osaka University

³ Department of Drug Discovery for Lung Diseases, Graduate School of Medicine, Kyoto University

⁴ Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo

⁵ Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, Mie University Graduate School of Medicine

⁶ Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, University of Toyama

⁷ Department of Thoracic Surgery, Graduate School of Medicine, Kyoto University

⁸ Department of Thoracic Surgery, Nagoya University Graduate School of Medicine

⁹ Department of Anatomy and Developmental Biology, Graduate School of Medicine, Kyoto University

¹⁰ Strategic Innovation and Research Center, Teikyo University

¹¹ Hakubi Center for Advanced Research, Kyoto University

¹² Department of Micro Engineering, Graduate School of Engineering, Kyoto University

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.abb1298>



左から曾根 尚之、後藤 慎平

曾根 尚之 Naoyuki Sone

京都大学大学院 医学研究科 呼吸器内科学 医員

後藤 慎平 Shimpei Gotoh

京都大学大学院 医学研究科 呼吸器内科学

京都大学大学院 医学研究科 呼吸器疾患創薬講座 特定准教授

Contact

曾根 尚之 E-mail : n.sone@kuhp.kyoto-u.ac.jp

所在地 : 606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町 54

U R L : <http://kukonai.com/>

後藤 慎平 E-mail : a0009650@kuhp.kyoto-u.ac.jp

所在地 : 606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町 54

U R L : <http://kukonai.com/>

Abstract

粘液線毛クリアランスは、上気道・下気道に侵入した病原体や異物を一方方向性に除去するという肺の重要な機能を担っており、その機能を発揮するためには線毛上皮細胞間での線毛協調運動が必要となる。この線毛機能が障害されると気道内から適切に病原体や異物を除去することができなくなり、気道の閉塞や繰り返す肺炎をきたす原因となる。しかし、ヒト多能性幹(iPS)細胞を用いて *in vitro* で一方方向性の粘液線毛運動を再現することは難しく、この運動を調節するメカニズムはいまだ明らかにされていないため、適切なヒト気道疾患モデルの作製が妨げられている。今回われわれは、iPS細胞と気道チップ技術を組み合わせて液流刺激を用いることで、多細胞間の平面内細胞極性(planar cell polarity, PCP)を液流の向きに揃えたり、線毛上皮細胞への分化を促進させたりすることを示した。さらに、われわれはその技術を粘液線毛クリアランスの障害を特徴とする遺伝性疾患である線毛機能不全症候群(primary ciliary dyskinesia, PCD)の疾患モデルに応用した。患者由来iPS細胞から作製した気道上皮細胞シートではPCDの原因遺伝子をノックアウトしたiPS細胞から作製した気道上皮細胞と同様の線毛異常が再現され、ゲノム編集技術を用いてPCDの原因候補と考えられる遺伝子変異を修復したiPS細胞由来の気道上皮細胞シートは線毛の様々な異常から回復することを確認した。また、気道チップ上では多細胞間のPCPを生体内と同様に一方方向性に揃えた状態で異常な線毛運動を再現できた。これらの結果は、本研究で開発したPCDの疾患モデルが、診断や治療標的の同定を行うためのプラットフォームとなる可能性や、液流刺激により多細胞間のPCPを制御した気道上皮細胞シートを用いた気道再建術といった治療法に応用できる可能性を示唆している。

Figure and Note

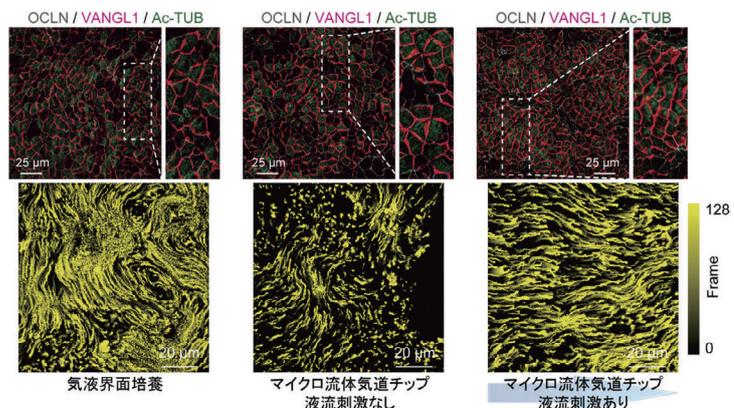


図1: 液流刺激の有無による細胞間の平面内細胞極性と線毛協調運動の変化(左: 従来法、中央: 液流刺激なし、右: 液流刺激あり)

マイクロ流体気道チップ上で液流刺激を行うと、代表的な平面内細胞極性のマーカーであるVANGL1(赤色)の発現方向の揃いや(上図)、蛍光ビーズ(黄色の軌跡)の一方方向性の粘液流が確認できた(下図)。

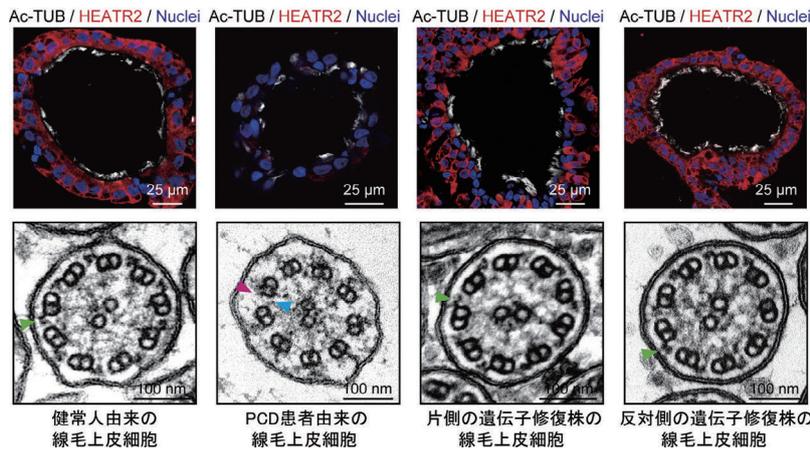


図2：疾患特異的iPS細胞と遺伝子編集技術を用いて作成した修復株から分化誘導した気道上皮細胞(上段：免疫染色像、下段：電子顕微鏡像)

候補となる原因遺伝子変異を修復したiPS細胞を気道上皮細胞に分化誘導したところ、臨床情報と整合した線毛の様々な異常がすべて正常化した。(緑矢印は外腕ダイニン、赤と青矢印は内腕・外腕ダイニンの欠損を示す)

難治性気道疾患のメカニズム解明と創薬に向けた疾患モデリング

PCDは線毛運動の減弱や協調運動の消失といった様々な線毛機能異常に基づく遺伝性疾患ですが、原因遺伝子は多彩であり診断は一般的に困難です。遺伝子検査などの様々な検査を組み合わせる診断を行いますが、ゴールドスタンダードとなる診断法はなく約30%の症例が未診断のままとされています。また、この疾患には有効な治療薬がなく新規の診断法の開発だけでなく創薬の観点からも適切な病態を繰り返し再現できる疾患モデルが必要であると考えられています。これまでヒトiPS細胞や基底細胞から気道上皮細胞への分化誘導法は報告されてきましたが、線毛上皮細胞の単細胞レベルでの機能は再現できても、生体内で観察されるような多細胞間の線毛協調運動を再現することは困難で、適切な疾患モデルを作成することができていませんでした。そこでヒトの生体内により近い状態での培養が可能なマイクロ流体気道チップを用いることで、多細胞間のPCPと線毛協調運動の制御が可能かどうかを検討しました。

本研究の結果、マイクロ流体気道チップ上で液流刺激を与えながら分化誘導することで、液流刺激を行った方向と反対側の細胞境界にVANGL1が局在することや、液流刺激の方向と一致して粘液に見立てた蛍光ビーズが一方方向性の軌跡を描くことが確認できました。また、線毛上皮細胞への分化誘導方法は空気と接しながら培養する気液界面培養が従来から採用されていますが、液流刺激を与え続けながら気道上皮細胞へ分化誘導を行うと、空気と接しない培地に浸かった状態でも効率的に線毛上皮細胞が分化誘導できることを見出しました。このことから胎児の呼吸様運動が液流刺激となり、線毛上皮細胞への分化促進にも役立っているという、今まで指摘されていなかった発生の新しい仕組みが考えられました。また、PCD患者から樹立したiPS細胞やその修復株、代表的なPCDの原因遺伝子を欠損させたiPS細胞株を作製して、それぞれの株から気道上皮細胞に分化誘導し比較解析することで、原因遺伝子ごとに報告されてきた様々な線毛運動の異常が培養皿内でも精密に再現できました。そこで私たちはこれらの技術を組み合わせた結果、線毛協調運動の形成には線毛運動そのものが重要と考えられてきましたが、線毛運動が消失している疾患特異的iPS細胞由来の気道上皮細胞シートでも、液流刺激により線毛上皮細胞への分化が促進されただけでなく、PCPも形成されることを発見しました。これは線毛運動がなくても気道上皮細胞が物理刺激を感知することができたことを示しており、細胞同士を協調させるメカニズムの解明と生体内により近い疾患モデルの開発に役立つ可能性があります。

今回得られた知見は、これまで未解明であった胎児期の線毛上皮細胞への分化の仕組みや多細胞が協調するメカニズム解明の重要な知見になると考えます。また今回の成果は、診断が困難であったPCDの正確な診断や新規治療法の開発に加えて、より生体内に近い成熟した気道上皮細胞シートによる再生医療にも役立つことが期待されます。

ヒト多能性幹細胞を用いた 難治性呼吸器疾患の再生医療に向けて

当研究チームでは大学院生やポスドク、テクニシャンに加えて製薬会社の研究者も受け入れ、個々のバックグラウンドを活かして日々研究を続けています。呼吸器専門医が在籍する研究室であることの強みを生かして、iPS細胞以外にも、臨床検体やマウスモデルなど様々な方法で患者さんのニーズに応えられることを目指したトランスレーショナルリサーチを進めており、難治性呼吸器疾患の創薬や移植医療の発展に貢献していきたいと思っております。



マクロファージ遊走阻害因子は脊椎関節炎マウスモデルにおいて発症を引き起こし、ヒト疾患と関連する

Macrophage migration inhibitory factor drives pathology in a mouse model of spondyloarthritis and is associated with human disease

Akihiro Nakamura^{1,2,3,4} Fanxing Zeng^{1,2} Sayaka Nakamura^{1,2} Kyle T. Reid^{5,6} Eric Gracey^{7,8} Melissa Lim^{1,2} Lin Leng⁹ Sungsin Jo¹⁰ Ye-Soo Park¹¹ Masaki Kusuda^{1,2} Rohan Machhar^{1,2} Shaghayegh F. Boroojeni^{1,2,4} Brian Wu^{1,2} Evgeny Rossomacha^{1,2} Tae-Hwan Kim¹⁰ Francesco Ciccia¹² Jason S. Rockel^{1,2} Mohit Kapoor^{1,2} Robert D. Inman^{1,2,3,5} Igor Jurisica^{1,2,13,14} Sarah Q. Crome^{5,6} Richard Bucala⁹ Nigil Haroon^{1,2,3,4}

¹ Schroeder Arthritis Institute, University Health Network

² Krembil Research Institute, University Health Network

³ Division of Rheumatology, Toronto Western Hospital, University Health Network

⁴ Institute of Medical Science, Temerty Faculty of Medicine, University of Toronto

⁵ Department of Immunology, Temerty Faculty of Medicine, University of Toronto

⁶ Toronto General Hospital Research Institute, Ajmera Transplant Centre, University Health Network, University of Toronto

⁷ Unit Molecular Immunology and Inflammation, Inflammation Research Institute, VIB-Ghent University

⁸ Department of Rheumatology, Universitair Ziekenhuis Ghent, University of Gent

⁹ Section of Rheumatology, Allergy and Immunology, Yale School of Medicine

¹⁰ Department of Rheumatology,

Hanyang University Hospital for Rheumatic Diseases

¹¹ Department of Orthopaedic Surgery, Guri Hospital,

Hanyang University College of Medicine

¹² Department of Precision Medicine, University della Campania L. Vanvitelli

¹³ Departments of Medical Biophysics and Computer Science, University of Toronto

¹⁴ Institute of Neuroimmunology, Slovak Academy of Sciences

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.abg1210>



中村 彰宏 Akihiro Nakamura

Spondylitis Senior Clinical Fellow and PhD Candidate, Spondylitis Program, Schroeder Arthritis Institute, University Health Network

Contact

E-mail: akihiro.nakamura@uhnresearch.ca

所在地: 60 Leonard Avenue, Toronto, Ontario, M5T2S8, Canada

URL: <https://www.uhn.ca/Arthritis>

Abstract

3型免疫応答関連の炎症性関節炎である脊椎関節炎 (SpA) は、主として関節、脊椎、腸管、皮膚、眼を侵す全身性リウマチ疾患である。マクロファージ遊走阻害因子 (MIF) は炎症性サイトカインであるが、SpA の発症における MIF の役割は明らかでない。本研究でわれわれは、MIF およびその受容体である CD74 の発現が、SpA マウスモデルであるカードラン (β-グルカン) 処置 SKG マウスの血中および組織内で上昇していることを見出した。われわれはまた、カードラン処置 SKG マウスにおいて好中球が大幅に増殖して MIF を産生していること、また SpA 患者由来のヒト好中球が、健康者と比較して高濃度の MIF を分泌していることを見出した。Mif 欠損 (Mif^{-/-}) により SpA 様症状の重症度が低減したが、カードラン処置 Mif^{-/-} SKG マウスに炎症性好中球を養子移入したところ SpA 様症状が誘導された。対照的に、抗 Gr-1 抗体により好中球機能を阻害したところ、カードランで誘導された SpA 様表現型が抑制された。われわれはさらに、全身性の MIF 過剰発現により SKG マウスにおいて SpA 様臨床症状が誘導されて 3 型免疫応答が増強された一方、MIF 阻害剤を投与した SKG マウスではカードランで誘導された SpA 様症状が予防または軽減されたことを確認した。機序に関しては、MIF は、ヒトおよびマウス制御性 T (T_{reg}) 細胞によるヘルパー T (T_H) 17 細胞様表現型の獲得を促進することで 3 型免疫応答を増強することが明らかになった。この機序には、in vitro でのインターロイキン-17 (IL-17) および IL-22 の発現亢進などが含まれた。SpA 患者由来の血液および滑液中 T_{reg} 細胞には、病的な T_H17 表現型が認められた。これらの結果は、MIF は 3 型免疫応答関連関節炎における重要な調節因子であり、治療標的となる可能性があることを示唆している。

Figure and Note

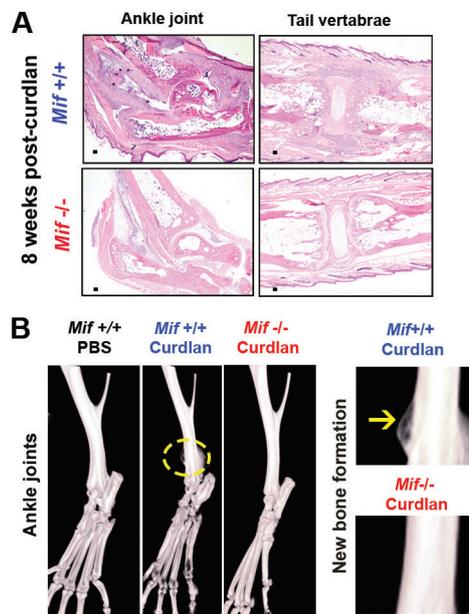


図 1: マウスモデルにおける野生型および Mif 欠損型での炎症および異常骨新生の比較

野生型および Mif 欠損型 SKG マウスにおけるカードラン投与後の炎症性細胞浸潤を示す病理所見 (A) および異常骨新生を示すマイクロCT 所見 (B)。Mif 欠損型では野生型と比較して著明な炎症所見や骨新生は認めなかった。

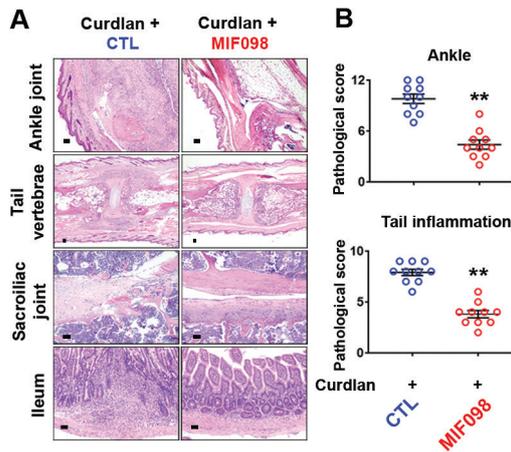


図2: SpA マウスモデルにおけるMIF 阻害薬 (MIF098) の効果
MIF 阻害薬 (MIF098) を投与された野生型カードラン処置 SKG マウスでは、コントロール薬と比較し軽度な炎症反応を認めた。
(A) 代表的な足関節炎、脊椎炎、仙腸関節炎、腸炎の病理所見。
(B) 足関節および脊椎の病理重症度スコア。

MIFを標的とした治療薬は 新規の脊椎関節炎治療薬になりうる

脊椎関節炎 (spondyloarthritis, SpA) は激しい腰痛を引き起こす最も頻度の高い脊椎の炎症性関節炎であり、炎症性腸炎、結膜・ブドウ膜炎、乾癬病変を伴う全身性の疾患です。2010年以降、国際SpA評価機構 (ASAS) による診断分類基準が作成されたことを受け、日本をはじめ世界各国で疾患への認知度が高まっています。HLA-B27をはじめとする遺伝的要因の関与、腸内細菌の微小腸内環境の関与など様々な方面から病態解明に向けたアプローチがなされていますが、いまだはっきりとした原因は不明です。現在、大きく分けて2種類 (TNF 阻害薬およびIL-17 阻害薬) の生物学的製剤が治療薬として承認され、以前に比べると疾患活動性を抑制することが比較的容易になりました。しかし、約半数のSpA患者さんではこれらの生物学的製剤を用いても治療効果が不十分であると報告されています。また、SpAの大きな特徴の一つとして、仙腸関節や椎間板周囲の炎症に続いて起こる異常骨新生があります。関節以外にも、靭帯や腱等の軟部組織が骨化するため、SpA患者さんの生活の質を著しく低下させます。しかし、炎症から骨新生が起こる詳細な病態はいまだ解明されておらず、炎症および異常骨新生の両方を治療する薬はいまだ存在しません。このような理由で、SpAでは新規治療標的となりうる分子の発見が急務となっています。

われわれはまず、炎症性サイトカインであるマクロファージ遊走阻害因子 (MIF) の発現がSpA患者さんおよびSpAマウスの血清および組織にて有意に増加していることを同定しました。血中の免疫細胞を詳しく調べたところ、特に好中球におけるMIFの産生がSpAの病態では著明に増加していることが分かりました。興味深いことに、MIF過剰発現の好中球をMIF欠損型マウスに養子細胞移植するとSpA症状が誘発されることを証明しました。さらにSpAマウスモデルにおいてMIFの過剰発現のみで炎症および異常骨新生を含めたSpA症状を誘発できることが分かり、MIFがSpAの病態において非常に重要な役割を果たしていることを示しました。さらに重要なことは、SpAマウスモデルにMIF阻害薬 (MIF098) を投与すると、炎症および異常骨新生が有意に抑制できることが分かりました。SpAの病態におけるさらに詳しい機序として、MIFはFOXP3陽性制御性T細胞を T_H17 様の病的Tリンパ球へと分化を促すことをSpA患者さんおよびSpAマウスにて証明しました。このように、私たちの論文は初めてMIFがSpAの新規治療標的になりうることを裏付けました。

この発見にて私たちはアメリカ合衆国の特許を取得し、現在臨床試験に向けて準備を進めています。まず最初に、現在、他の疾患で承認されている数種類のMIF阻害薬を用いてSpA患者さんへの効果および安全性を検証する予定です。さらに私たちは今までにない新規MIF治療薬の開発にも力を注いでいます。近い将来、MIFを標的とした治療薬が一人でも多くのSpAおよび他のリウマチ性疾患で苦しむ患者さん方の治療の選択肢の一つになればと期待しています。

求められている医療・研究とは何かを常に考えて

北米カナダの最大都市トロントに位置するSchroeder Arthritis Instituteは長い歴史を持つ世界有数の関節炎研究機関の一つです。これまでに数多くの臨床および基礎研究において現在のスタンダードとなるエビデンスやガイドラインを発信してきました。特に大事にしていることは、何が必要とされているかを常に考えながら臨床および基礎研究を行っていることです。日々活発な議論が病院および隣接する研究機関のあちこちで行われており、それこそが世界をリードする原動力となっています。



酸化損傷と複製の遅延により 生存する結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) が 検出されなくなる

Oxidative damage and delayed replication allow viable *Mycobacterium tuberculosis* to go undetected

Kohta Saito¹ Saurabh Mishra² Thulasi Warriar² Nico Cicchetti² Jianjie Mi² Elaina Weber² Xiuju Jiang² Julia Roberts²
Alexandre Gouzy² Ellen Kaplan² Christopher D. Brown¹ Ben Gold² Carl Nathan²

¹ Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Weill Cornell Medicine

² Department of Microbiology and Immunology, Weill Cornell Medicine

全著者リスト: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.abg2612>



左から齋藤 厚太、Saurabh Mishra、Thulasi Warriar

齋藤 厚太 Kohta Saito

Assistant Professor, Department of Medicine, Weill Cornell Medicine

Saurabh Mishra

Research Associate, Department of Microbiology and Immunology,
Weill Cornell Medical College

Thulasi Warriar

Instructor, Department of Microbiology and Immunology,
Weill Cornell Medicine

(現 Research Scientist, Broad Institute of MIT and Harvard)

Contact

齋藤 厚太

E-mail: kos9010@med.cornell.edu

所在地: 1305 York Ave, 4th Floor, New York, NY 10021

U R L: <http://www.nathanlab.org/>

Saurabh Mishra

E-mail: sam2784@med.cornell.edu

所在地: 413 E 69th St, New York, NY 10021

U R L: <http://www.nathanlab.org/>

Abstract

細菌の「生存可能だが培養不可能な」状態は、環境および臨床微生物学にとって課題となるが、その生物学的機構は不明なままである。2019年の新型コロナウイルス感染症のパンデミックまで感染による死亡の主要な原因であったヒト型結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, Mtb) が、この表現型の顕著な例となる。Mtbは、表現型抗菌薬耐性に関連した「差別的に検出可能な」(differentially detectable, DD)状態に入る可能性がある。この状態では、Mtb細胞は生存可能であるが、コロニー形成単位としては検出できない。Mtb細胞は、DNA、タンパク質、脂質に損傷を与える重致死的な酸化ストレスを受けるとDD状態に移行することが明らかになった。さらに、それらの複製過程が遅延し、修復の時間が与えられた。*Mycobacterium bovis*とその誘導体であるBCGは、同様の条件下でDD状態に移行しない。これらの知見は、結核の潜伏、検出、再発、治療のモニタリング、そして表現型抗菌薬耐性を克服するレジメンの開発に影響を及ぼす。

Figure and Note

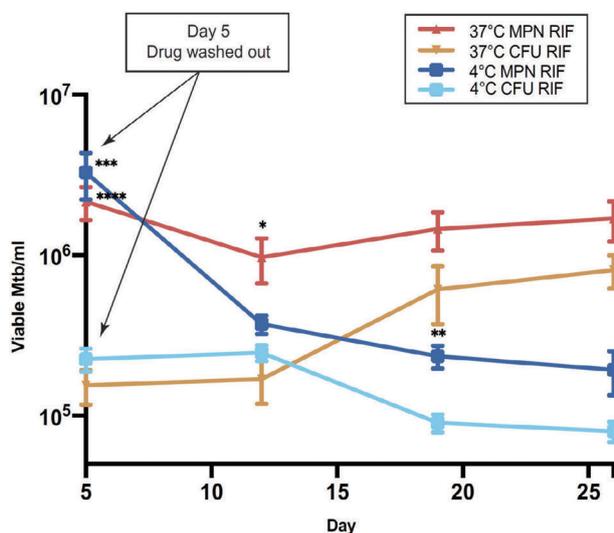


図1: Growth delay allows recovery of DD Mtb's ability to grow as CFU

DD Mtb formed in vitro recover the ability to grow as CFU after washing out the drug rifampin (RIF) and incubating in phosphate-buffered saline at 37°C for at least 2 weeks, but not at 4°C. MPN = "most probable number"—an estimate of viable cell number from the liquid limiting dilution assay. *** $P_{adj} < 0.001$, 37°C; **** $P_{adj} < 0.0001$, 4°C; * $P_{adj} < 0.05$, only 37°C; and ** $P_{adj} < 0.01$, only 4°C

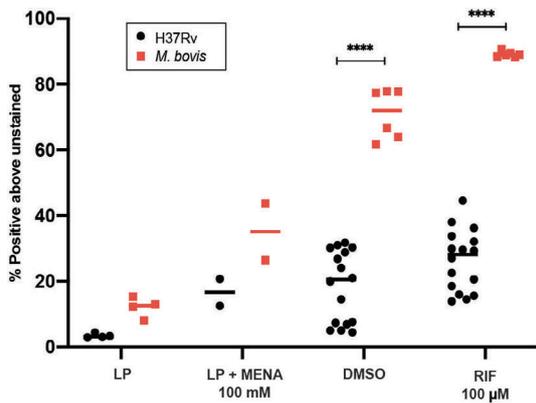


Figure 2: DD formation is correlated with intermediate degrees of oxidative stress.

Flow cytometry analysis of the CellroxB assay, which detects superoxide. Lab strain Mtb (H37Rv) demonstrates oxidative stress during starvation (DMSO, vehicle control) and starvation followed by rifampin exposure (RIF) as compared to unstressed, log phase (LP) cells. *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) demonstrates greater signal than H37Rv. H37Rv enters the DD state in the RIF condition, *M. bovis* does not. MENA = menadione, a positive control. **** $P_{adj} < 0.0001$

Mycobacterium tuberculosis survives moderate oxidative stress undetected

Mycobacterium tuberculosis (Mtb) is a bacterium that affects the health of millions of people each year by causing the disease tuberculosis (TB). Months of treatment with multiple medications is required to cure active infection and reduce the risk of relapse. One likely reason for this is that subgroups of bacteria during infection are able to survive the treatment for longer than their genetically identical brethren. One subpopulation, which we term differentially detectable (DD) Mtb, are unable to grow on standard agar-based culture plates and are therefore invisible to the traditional colony forming unit (CFU) counts of viable bacteria. These DD Mtb have been found in the sputum of patients with TB, both before and during treatment, by using a liquid culture limiting dilution assay to estimate viable Mtb counts. We previously created an in vitro model of DD Mtb where the stress of nutrient starvation followed by exposure to the TB drug rifampin caused most of a culture to enter the DD state. Using this model, we sought to understand how the Mtb enter and recover from the DD state.

We found that DD Mtb formation was associated with oxidative stress, and found evidence of widespread oxidative damage to DNA, proteins, and lipids. Transcriptomic and transposon-sequencing experiments showed an upregulation of and reliance on DNA repair and anti-oxidant genes among DD Mtb. *Mycobacterium bovis*—a closely related organism from which the TB vaccine BCG is derived—was unable to survive in the DD state when using the same model and showed evidence of greater oxidative stress than Mtb. We also found that delaying the replication of DD Mtb by placing the culture in saline eventually allowed the Mtb to exit from the DD state and grow again as CFU on agar-based culture plates. Finally, we showed that dilution in liquid culture delayed growth of DD Mtb, and that DD Mtb found in patients with TB demonstrated slower growth or growth delay.

Our work has implications for the treatment of both latent and active TB. For example, the search for treatments that can more quickly cure patients of Mtb may be facilitated by finding new drugs or drug combinations that rapidly kill DD Mtb. Further investigation is needed to determine the utility of detecting DD Mtb in patients, as it may inform clinicians regarding optimal treatment duration, the individual risk of relapse, and the clinical response of patients receiving experimental TB therapy. In sum, the DD Mtb subpopulation has been overall understudied due to the difficulty in detecting it, yet it may be key to rapidly curing individuals and diminishing the large reservoir of Mtb among the population.

Fighting against the TB pandemic, through the COVID-19 pandemic

The Nathan lab strives to understand one of mankind's oldest and deadliest pandemic diseases by examining how *Mycobacterium tuberculosis* interacts with humans and can survive our antibiotics. As a translational and collaborative research group, beyond the discovery of fundamental biology, there is always an eye toward how the work might help prevent and treat tuberculosis worldwide. Maintaining this perspective energizes the work in TB even as another infection, COVID-19, actively demonstrates the power of basic science to combat infectious diseases.



このJapanese Scientists in *Science Translational Medicine* (STM) 2021では、2021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、2022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 大阪府中央区平野町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>



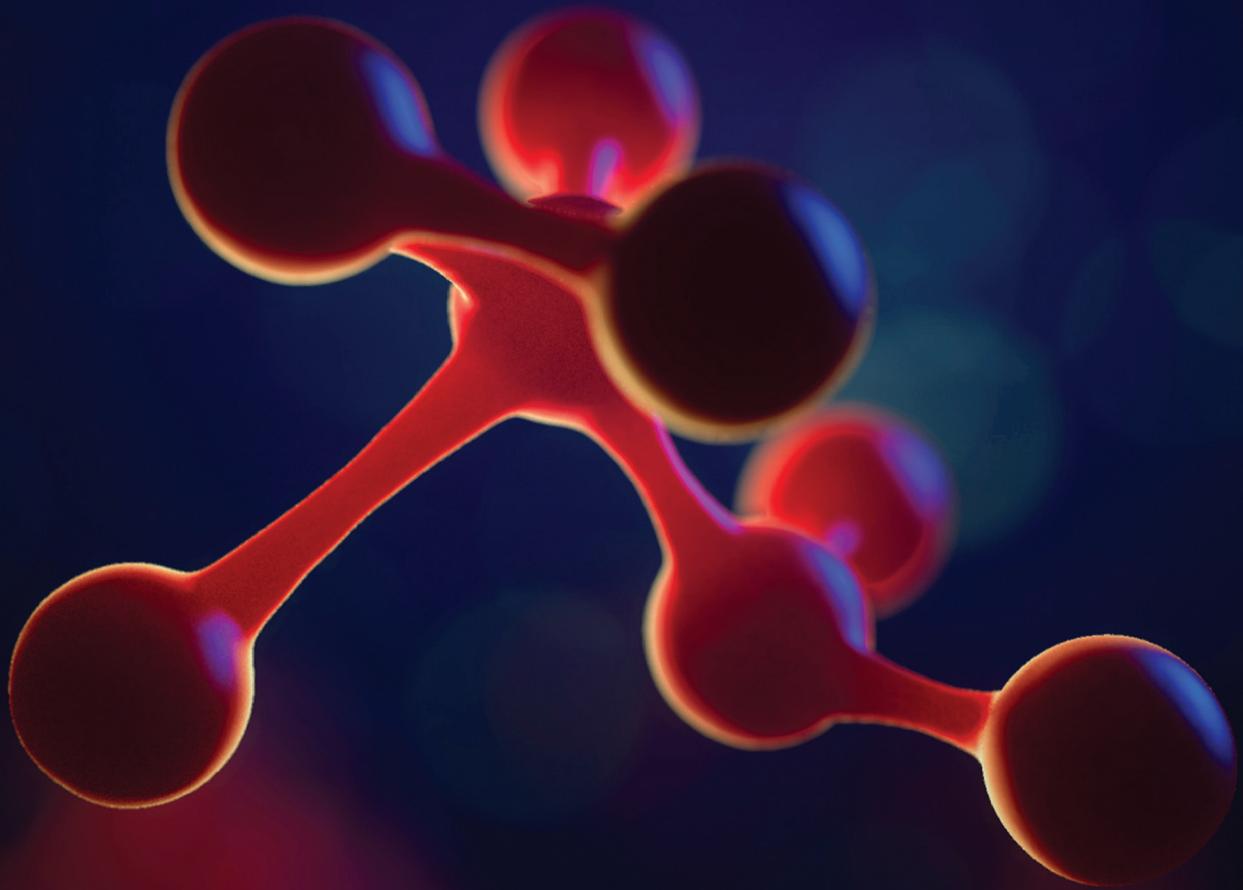
表紙デザイン

株式会社 大伸社コミュニケーションデザイン
〒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

2022年3月



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](https://www.science.org/journals)

Science
JOURNALS 

SOMETIMES THE GRASS REALLY IS GREENER SOMEPLACE NEW.

 Find your next job at [ScienceCareers.org](https://www.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](https://www.sciencecareers.org)

ScienceCareers

FROM THE JOURNAL SCIENCE  AAAS



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

🔍 コスモ・バイオ ペプチド合成

🔍 コスモ・バイオ 抗体作製

エピトープデザイン

- コスモ・バイオにお任せデザイン
- コンサルティングデザイン

ポリクローナル抗体作製

- ファースト抗体
- ファースト抗体プラス
- カスタマイズ抗体
 - ▶ 異種動物免疫プラン
 - ▶ 翻訳後修飾抗体作製

モノクローナル抗体作製 リニューアル

- レギュラープラン
- ギャランティープラン
 - ー マウス・ラット抗体 / 成果保証 & 成功報酬制
- アドバンスドプラン
 - ー ウサギ・ヒト抗体 / 迅速クローニング

エピトープマッピング

ペプチド合成

- ペプチド合成
 - ー 修飾品・合成難易度の高いペプチド合成にも対応
- AQUA グレードペプチド合成
 - ー タンパク質絶対定量用途の
安定同位体標識ペプチド合成

抗体カタログ品 / AQUA グレードペプチドカタログ品



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

受託革命！ リーズナブル！

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



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 ジェノタイプピング
- 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！

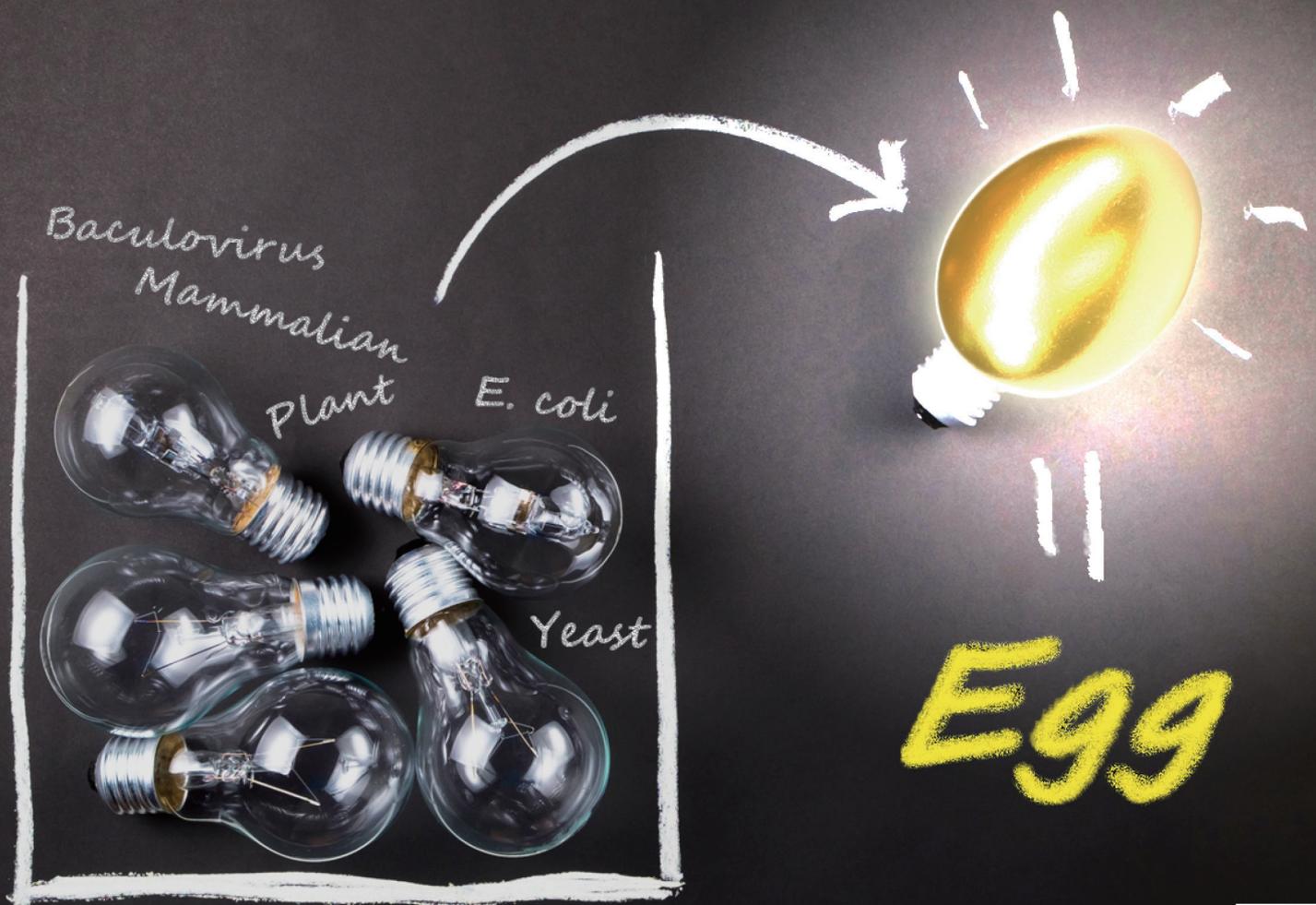


人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

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/>

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/>