第 10 回 内科学専攻大学院生セミナー

開催日時：2024 年 2 月 10 日（土） 13:00 ～ 15:45
場所：入院棟 A 15 階 大会議室

==========

13:00 ～ 13:05 開会の辞　　黒川 峰夫

==========

13:05 ～ 13:35 基調講演
座長：岡崎 仁

「臨床研究を取り巻く環境の変化と推進への取り組み」
森豊 隆志 (東京大学医学部附属病院臨床研究推進センター)

==========

13:35 ～ 14:05 研究発表：口演 1-3（発表 7 分＋質疑応答 3 分）
座長：武田 憲彦・北條 宏徳
口演-1）「皮膚ガスによる慢性腎臓病患者の尿毒症臭の網羅的解析」
羽柴 豊大 (腎臓内科学)
口演-2）「自己免疫疾患病態形成における新規加齢関連 CD4 陽性 T 細胞を介した液性免疫応答制御機構の解明」
後藤 愛佳 (アレルギー・リウマチ学)
口演-3）「食行動に対する認知行動療法の治療補助システムの実施可能性の検証」
栗栖 健 (ストレス防御・心療医学)

==========

14:10 ～ 14:50 研究発表：口演 4-7（発表 7 分＋質疑応答 3 分）
座長：吉内 一浩・合山 進
口演-4）「心不全患者の心筋組織における DNA 損傷の病的意義に関する原疾患横断的検討」
戴 哲皓 (循環器内科学)
口演-5）「Erdheim-Chester 病の新規治療標的の探索」
藤澤 晴菜 (血液・腫瘍病態学)
口演-6）「血清酸化型アルブミンは、糖尿病合併症進展の予測マーカーとなり得る」
川口 智也 (代謝・栄養病態学)
口演-7）「老化に伴う骨修復能力低下に関わる遺伝子制御機構の解析」
林 桜子 (臨床医工学)

==========

==========

14:55 ～ 15:35 研究発表：口演 8-11（発表 7 分＋質疑応答 3 分）

座長：朴 成和・蔵野 信

口演-8）「合成洗剤吸入による好酸球性炎症惹起メカニズムの解明」

長野 直子 (呼吸器内科学)

口演-9）「膵癌における CDK12 の機能解明と治療標的化」

岩立 堂佑 (消化器内科学)

口演-10）「SETDB1 suppresses interferon responses and NK cell-mediated immunosurveillance specifically in monocytic AML」

張 育瑄 (血液・腫瘍病態学/先進分子腫瘍学)

口演-11）「A novel zinc-chelating compound has antifungal activity against a wide range of *Candida* species, including multidrug-resistant *Candida auris*」

篠原 孝幸 (生体防御感染症学)

==========

15:35 ～ 15:45 閉会の辞　　南学 正臣

口演－1)

皮膚ガスによる慢性腎臓病患者の尿毒症臭の網羅的解析

羽柴 豊大（腎臓内科学）

【背景】生体ガスの一種である皮膚ガスは、血液、皮脂腺及び表皮常在菌叢の代謝物から放散される揮発性物質で、体臭などと関連すると報告がある。皮膚ガスは、血液や尿検査よりも連続的かつ無意識に採取でき、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)の進歩によって網羅的解析が可能となった。慢性腎臓病(CKD) stage G5、すなわち末期腎不全(ESKD)患者は、特徴的な尿毒症臭があり、血液透析(HD)開始後に臭いが薄まることが知られているが、尿毒症臭の原因物質はほとんど明らかでない。また、皮膚ガスによる尿毒症臭の物質的評価も今まで調べられていない。

【目的】尿毒症臭と関連する皮膚由来の揮発性物質を同定するために、初回 HD 前後及び CKD の有無による皮膚ガスの違いを調査した。

【方法】被験者の前腕に passive flux sampler を 20 分間装着して皮膚ガスを採取し、急速加熱脱離装置で加熱して GC/MS でピーク強度、保持時間を測定した。また、データベースによる予測候補物質を入手可能な標準試薬で同定した。HD 群の初回 HD 前後で得られた皮膚ガスの変化を調べ、HD 群と非 HD 群を合わせた ESKD 群と非 CKD 群で比較した。

【結果】HD 群(n=5)から全 137 種類の揮発性物質が得られ、全患者から検出された 16 種類の物質に注目した。揮発性物質としてアルデヒド類、アルカン類が多く検出され、ヒトの皮膚から特異的に放出されることが知られている 6-methyl-5-hepten-2-one など 4 種類の物質が、ESKD 群(n=11)、非 CKD 群(n=7)を含む全員から検出された。さらに、体臭の原因物質である benzaldehyde (p=0.004)、undecanal (p=0.026)が非 CKD 群よりも ESKD 群で有意に検出された。Undecanal は食品香料としても知られており、食事の影響も考慮されたが、今まで腎機能障害との関連の報告はない。また、benzaldehyde は HD 患者の便内に多く検出された報告もあり、特に ESKD と関連する物質である可能性が示唆された。一方、血液中の揮発性尿毒症性物質として報告されている nonanal、decanal も揮発性物質として検出されたが、ESKD 群と非 CKD 群で差はなかった。これは、皮脂腺や表皮常在菌叢の代謝の影響が、血中濃度の影響を凌駕したためと考えられた。また、5 種類の未同定揮発性物質は、HD 後に大半の患者で消失し、尿毒症臭との関連が示唆された。

【結語】皮膚ガスは個人差があるが、尿毒症患者においても、皮膚ガスの網羅的解析により、尿毒症臭や ESKD と関連する物質を同定することができた。皮膚ガスは個人毎に異なる性質を持つが、個人内および個人間の比較に有用であり、今後の疾患スマートセンシングに有用であると考えられた。

口演－2)

自己免疫疾患病態形成における新規加齢関連 CD4 陽性 T 細胞を介した液性免疫応答制御機構の解明

後藤 愛佳（アレルギー・リウマチ学）

【背景】近年、免疫担当細胞の加齢性変化と自己免疫疾患病態の関連が注目されている。特に T 細胞は加齢による胸腺退縮に伴う細胞老化の影響を受けやすいが、自己免疫疾患発症機序に対する影響については不明な点が多い。当科では、免疫担当細胞に関する機能ゲノムデータベース ImmuNexUT (Immune cell gene expression atlas from the University of Tokyo) を構築し、その際に加齢により増加する $CD4^+$ T 細胞、age-associated helper T cells (ThA 細胞) を同定している (論文投稿中) 。ThA 細胞は老化細胞に特徴的な細胞傷害性分子を発現しつつ、特に関節リウマチ (RA) 患者では B 細胞の抗体産生を誘導する機能を持つという知見が得られている。しかし、その詳細なメカニズムや自己免疫疾患病態との関与は不明であった。

【目的】本研究では、末梢血由来の $CD4^+$ T 細胞サブセットの疾患横断的な bulk RNA-seq 解析と、ThA 細胞の *in vitro* 実験により、ThA 細胞の液性免疫誘導能の分子学的メカニズムを検証し、自己免疫病態形成への関与を解明することを目的とした。

【方法】ImmuNexUT データベースにおける既知の 8 の $CD4^+$ T 細胞サブセットに ThA 細胞を加え、flow cytometric 解析、bulk RNA-seq 解析を実施した。また、flow cytometry で末梢血リンパ球より ThA 細胞を分取し、*in vitro* の刺激培養や T-B 共培養を行い、サイトカイン産生能や抗体産生誘導能を検証した。さらに、特に全身性エリテマトーデス (SLE) 患者の bulk RNA-seq データについて、臨床情報との統合解析を実施した。

【結果】ThA 細胞は SLE 患者末梢血において増加を認め、RA 患者と同様に健常人と比較して *CXCL13* や *Il21* の遺伝子発現の上昇を認めた。そして、ThA 細胞は、SLE 患者での産生亢進が知られる I 型インターフェロン (IFN) の存在下において CXCL13 タンパクを高度に産生することが判明した。また、ThA 細胞は IL-21 および CD84 を介して B 細胞の成熟と抗体産生を誘導し、B 細胞との cell-to-cell interaction が ThA 細胞の抗体産生誘導能の発揮に必須であることを明らかとした。SLE 患者の bulk RNA-seq データと臨床情報の統合解析の結果、大変興味深いことに、他の T 細胞と比して、ThA 細胞の遺伝子発現変動が SLE 疾患活動性を最も強く反映し、腎炎や関節炎といった臓器病変とも関連するという知見を得た。さらに、ThA 細胞の *CXCL13* 発現は $CD4^+$ T 細胞サブセット中で疾患活動性と最も強く相関し、特定の自己抗体価との関連が示唆されたほか、特定のカルシニューリン阻害剤の使用が ThA 細胞の遺伝子発現変動に影響を与えた。

【結語】ThA 細胞は SLE の病態形成に重要で、特に液性免疫応答を介した自己抗体産生に関与することが示唆された。ThA 細胞の制御機構や機能を更に解析することで、新たな疾患層別化や新規治療法開発に繋がる可能性が期待される。

口演－3)

食行動に対する認知行動療法の治療補助システムの実施可能性の検証

栗栖 健（ストレス防御・心身医学）

【背景】摂食障害、肥満症に対するエビデンスのある治療法として認知行動療法があるが、治療にかかる時間や頻度などから、通常診療の中では十分な実施が困難な場合も多い。また、日常生活下において治療に関連する要因についても十分に調査されていない。

【目的】摂食障害、肥満症の認知行動療法を補助するためのスマートフォンアプリケーションを開発し、実施可能性を検証すること、また、その使用下で収集されたデータを分析し、日常生活下で治療に影響する要因を検討することを目的とした。

【方法】

研究 1: 摂食障害の過食症状に対する代替行動法を補助するスマートフォンアプリケーションを開発した。患者ごとに最適な代替行動を提示するため、強化学習による最適化機能を実装した。過食症状のある摂食障害の患者 20 名に 4 週間使用して貰い、記録率を基に実施可能性を評価し、研究期間中の過食回数の変化を測定した。また、期間中に収集されたデータに混合ロジスティック回帰モデルを適用し、過食衝動のコントロールの成否に関連する因子を検討した。

研究 2: 減量のための目標行動の設定を補助するスマートフォンアプリケーションを開発した。患者ごとに最適な目標行動を提示するため、強化学習による最適化機能を実装した。肥満症の患者 20 名に 4 週間使用して貰い、記録率を基に実施可能性を評価し、研究期間中の体重の変化を測定した。また、期間中に収集されたデータに線形混合効果モデルを適用し、目標行動の実施数に関連する因子を検討した。

【結果】

研究 1: 20 名全員が 4 週間の研究期間を完遂し、期間中のアプリケーションの使用率の中央値は 92.5%であった。研究開始から終了までに、1 週間当たりの過食回数は有意に減少した（開始時: 中央値 5 回、終了時: 中央値 2.5 回、P=0.002）。また、先行する不安が大きいほど、過食衝動がコントロールできなくなる傾向が見られた。

研究 2: 20 名全員が 4 週間の研究期間を完遂し、期間中のアプリケーションの使用率の中央値は 98.3%であった。研究開始から終了までに、BMI は有意に減少した（開始時: 中央値 34.9 kg/m2、終了時: 中央値 34.1 kg/m2、P=0.011）。先行する抑うつ症状が大きいほど、目標行動の実施数が少なくなる傾向が見られた。

【結語】本研究で開発した摂食障害、肥満症に対する治療補助スマートフォンアプリケーションの実施可能性はいずれも十分であり、治療における有効性も期待された。また、日常生活において治療に影響する心理的因子についても明らかになり、通常診療へ応用できる可能性が示唆された。

口演－4)

心不全患者の心筋組織における DNA 損傷の病的意義に関する原疾患横断的検討

戴 哲皓（循環器内科学）

【背景】心不全には幅広い原疾患があり，かつ治療反応性も個体差が大きい．原疾患横断的に応用可能な，予測能の高い予後予測因子が期待されている．

【目的】心筋組織における DNA 損傷と心不全の治療反応性および予後との関係を明らかにする．

【方法】原疾患を問わず左室駆出率の低下した心不全（HFrEF）の診断を受け，心内膜心筋生検を受けた患者を組み入れ，心筋生検検体に対して DNA 損傷マーカーである poly(ADP-ribose) (PAR)と γ-H2A.X の免疫蛍光染色を行い定量評価した．主要評価項目は 1 年後の左室リバースリモデリング（LVRR）とし，副次評価項目は心臓死，心臓移植，補助人工心臓植込みからなった複合エンドポイントとした．また，一次性心筋症の同意の得られた患者に対して全エクソームシーケンス解析も実施し，心筋症関連遺伝子における病原性変異の有無・種類と DNA 損傷の相関も調べた．

【結果】対象患者 175 例（平均年齢 56 歳，追跡期間中央値 1,213 日）のうち，72%が男性で，55%が 1 年後 LVRR を達成した．DNA 損傷マーカー陽性率が低いほど，LVRR を達成する確率が高く，複合エンドポイントのイベント発生も少なかった．幅広い原疾患において，平均の DNA 損傷の程度と LVRR 達成率の間には負の相関がみられた．全エクソームシーケンスに同意した DCM 患者 69 人のうち，非サルコメア関連遺伝子変異（*LMNA* など ; 11 人）を有する患者は，サルコメア関連遺伝子変異（*TTN*tv など ; 9 人）を有する患者よりも DNA 損傷の程度が高かった．

【結語】心筋組織における DNA 損傷の程度は心不全の進展を決定する．DNA 損傷の評価は，幅広い原疾患による HFrEF 患者の治療反応性および予後を予測するのに有用である．

口演－5)

Erdheim-Chester 病の新規治療標的の探索

藤澤 晴菜（血液・腫瘍病態学）

【背景】エルドハイム・チェスター病（ECD）は、骨・中枢神経・腎臓・心臓・肺・皮膚などの様々な臓器が障害される希少疾患である。発熱・倦怠感・骨痛・めまい・視力低下・呼吸困難感・腎機能異常などの様々な症状により生活の質が低下し、生命予後不良な難治性疾患である。ECD に対する有効な治療法はまだ開発されていない。最近では BRAF 遺伝子変異が原因のひとつであることが分かり、BRAF 阻害薬が治療に使用されているが根治には至っておらず、新規治療の開発が望まれている。

【目的】今回の研究では、ECD の新しい治療ターゲットを見出し、完治を目指せる新しい治療法を開発することを目標としている。

【方法】

１． ECD の発症に関わる遺伝子異常を解明する

ECD 患者検体を活用して遺伝子解析を行い、新たな遺伝子異常を探索する。

２． ECD 細胞から ECD-iPS 細胞を作成し治療薬開発の基盤とする

一人の ECD 患者の細胞から iPS 細胞を作成することに成功した。この iPS 細胞が治療薬開発に利用可能か検証を進めている。

【結果】24 症例分の患者検体を用いて全ゲノム/エクソームシークエンスを実施し、ドライバー変異と共存する Recurrent mutation として RBMX Y214*の同部位変異を 7 症例で同定した。同変異が ECD の病態に与える役割について機能的解析を試みている。一人の ECD 患者の細胞から iPS 細胞を作成することに成功し、樹立した iPS 細胞からドライバー変異の NRAS Q61R 変異が確認された。この ECD 疾患由来 iPS 細胞を用いて血球分化誘導を試みたところ、目的とするマクロファージまでの分化に成功した。

【結語】RBMX Y214*は mRNA のスプライシングを担当する RNA 結合タンパク質であり、その機能異常は mRNA のスプライシング異常を誘発することで ECD の疾患形成に広く関与していることが示唆される。RBMX Y214*を有するマウスの造血幹細胞に BRAF 変異などのドライバー変異を過剰発現させ同系移植を行うことで、RBMX Y214*変異がどのように既知の ECD のドライバー変異と協調して疾患の形成に寄与しているか今後解析し、ECD の新規治療薬開発を目指す。また、NSG マウスに疾患由来 iPS 細胞の皮下移植を行い、テラトーマの作製による ECD の疾患形質の再現を試みており、疾患形質が再現できた段階で薬剤スクリーニングによる治療標的探索を行う予定である。

口演－6)

血清酸化型アルブミンは、糖尿病合併症進展の予測マーカーとなり得る

川口 智也 (代謝・栄養病態学)

【背景】糖尿病の治療目的は、血糖を良好に管理することで、病気の進行や特有の合併症の発症・進展を予防することである。特に臨床的に重要な合併症として、3 大合併症と呼ばれる「神経障害」「網膜症」「腎症」が挙げられる。

糖尿病合併症の進展には、酸化ストレスが寄与することが知られている。しかし糖尿病合併症を評価し得る酸化マーカーは知られていなかった。これまで当教室では、酸化型アルブミン(HNA%)が糖尿病合併症と横断的に相関することを報告してきた。しかしながら、HNA%が将来的な糖尿病合併症の発症・進展を予測し得るかは不明であり、今回検討した。

【目的】酸化型アルブミン(HNA%)が糖尿病合併症の発症・進展を予測するか検討する。

【方法】単施設の後ろ向き観察研究を行った。

研究対象者は、2016 年～17 年にかけて上述の横断的研究に参加し HNA%を測定した 164 名のうち、現在も当科に通院しており、参加同意が得られた 77 名(男性 45 名、女性 32 名、年齢 71 歳、BMI 25.0 kg/m^2、罹病期間 19 年、HbA1c 7.6% [各々中央値])である。追跡期間中央値は 4.8 年であった。

第一に、HNA%が約 5 年間の糖尿病網膜症の発症・進展を予測するかについて調べた。すなわち「網膜症が増悪もしくは改善した」群と、「網膜症に変化がなかった」群の 2 群について、HNA%を比較した。第二に、HNA%高低によりカットオフ値で 2 群に分け、腎機能増悪をエンドポイントとする生存時間解析を行った。全症例 77 名での分析に加え、ベースラインの腎機能で揃えるため、ステージ G2 群のみの分析も行った。

なお腎機能増悪の定義として、外来受診時の血液検査にて、ベースライン時の CKD ステージよりも進行したステージを 2 回連続で認めることと設定した。また CKD ステージ進展を予測する HNA%の最適カットオフ値を ROC 解析にて求めた。

【結果】ベースライン時に単純網膜症を認めた患者について、HNA%は「5 年後に網膜症が改善した群」で 25.46±3.88%、「改善しなかった群」で 33.71±8.50%と、後者で有意に高値であった ($p = 0.02$)。

次に、CKD ステージ進展を予測する HNA%の最適カットオフ値は、「全症例」「G2 のみ」ともに 23.22%であった。このカットオフ値で 2 群に分けた生存時間解析について、ログランク検定にて高値群に腎機能増悪の傾向を認め (全症例：$p = 0.12$, G2 のみ：$p = 0.11$)、観察期間終了時点での生存率は全症例で「36.7% vs. 60.7%」、G2 のみで「33.3% vs. 63.6%」であり、臨床的に有意義な差を認めた。

【結語】酸化型アルブミン(HNA%)は、単純網膜症の改善有無や腎機能増悪を予測し、糖尿病合併症進展を予測するマーカーとなり得ることが示唆された。

口演－7)

老化に伴う骨修復能力低下に関わる遺伝子制御機構の解析

林 桜子（臨床医工学）

【背景】骨は一定の修復能力を有するため、骨折後も適切な処置を行えば、骨は癒合し治る。その一方で、年を重ねると骨の修復能力が低下する。そのため、高齢者の骨修復能力を高める方法が求められている。骨の修復過程においては、免疫細胞が多く集まる炎症期、骨格系前駆細胞が分化し軟骨細胞や骨芽細胞により構成されるカルスを形成する骨修復期、余剰な骨を吸収するリモデリング期を経て骨が癒合する。老化に伴い増加する老化細胞は Senescence-Associated Secretory Phenotype(SASP)と呼ばれる炎症性タンパク質をコードする遺伝子の発現が亢進する。近年では、この SASP の遺伝子セットをヒトとマウスの老化した骨代謝モデルで解析し、その中でも Macrophage migration Inhibitory Factor (MIF/Mif)が重要であるとの報告がなされた。しかし、骨修復の老化においてはどの遺伝子が重要であるのか不明な点が多い。

【目的】老化に伴う骨修復能力低下のメカニズムを、遺伝子発現制御機構の観点から明らかにする。

【方法】まずはマウス橈骨を用いて骨欠損モデルの検証を行った。マウス橈骨の臨界骨欠損長は 2.5 mm と報告されていたため、若齢において骨修復モデルとして既に確立した 1 mm 骨欠損を用いた。1 mm 骨欠損を 8 週齢と 90 週齢のマウスに作成し、骨修復を μCT にて経時的に確認した。次に、カルスが形成される骨欠損後 2 週目で組織採取を行い、HE 染色と SafraninO 染色で組織学的解析を行った。そのサンプルを用いてカルスのサイズを imageJ で測定した。最後に、骨欠損後 2 週目の骨修復部及びその周辺組織を採取し、若齢と老齢において scRNA-seq+ATAC マルチオーム解析を行った。scRNA-seq 解析では細胞間相互作用を CellChat にて確認した。CellChat で上がった候補遺伝子について scATAC 解析を用いてクロマチンアクセシビリティの確認を行った。

【結果】骨欠損モデルの検証のため、橈骨 1 mm 骨欠損において、若齢マウスでは骨欠損後 4 週目で骨が癒合するのに対して、老齢マウスでは骨欠損後 4 週目では骨の癒合が見られず、更に骨欠損後 7 週目でも骨の癒合は見られなかった。組織学的解析により、骨欠損後 2 週目に認められる骨カルスの大きさは若齢マウスモデルで大きかった。最後に scRNA-seq 解析で細胞間相互作用を検出した。その結果、MIF シグナルの細胞間相互作用関連遺伝子が多く発現し、尚且つ老齢の軟骨細胞で発現量が多かった。クロマチンアクセシビリティを確認した結果、老齢の軟骨細胞の Mif 遺伝子領域に新たにオープンクロマチン領域が見られた。

【結語】本研究では老化に伴う骨修復能力低下に関わるマウスモデルを確立した。また、骨修復に関わる細胞集団を一細胞レベルで確認し、その中で骨修復能の老化に関わる候補遺伝子を見つけ、そのクロマチンアクセシビリティの変化を捉えた。

口演－8)

合成洗剤吸入による好酸球性炎症惹起メカニズムの解明

長野 直子（呼吸器内科学）

【背景】気管支喘息の病態には、抗原非特異的に作用する自然免疫と、抗原特異的に作用する獲得免疫が関与している。近年、外界と接する臓器の上皮細胞が、近代化に伴い使用されるようになった化学物質等で傷害を受けることで、免疫応答が惹起され、アレルギー疾患の発症や悪化につながるという概念が新たに提唱された（上皮バリア仮説）。合成洗剤とその主成分である界面活性剤は、*in vitro* の実験で気道上皮細胞を傷害し、バリア機能を低下させる可能性が示唆されている。しかし、生体内において合成洗剤吸入がどのようなメカニズムで気道炎症を惹起するかは未解明である。

【目的】自然免疫・獲得免疫を活性化するそれぞれの気管支喘息モデルマウスを用いて、合成洗剤の吸入が気道炎症を惹起するかどうかを検討し、その分子メカニズムを明らかにする。

【方法】自然免疫惹起モデルとして、マウスに市販の合成洗剤を 4 日連続吸入させた。獲得免疫惹起モデルとして、マウスに合成洗剤の存在下でオボアルブミン（OVA）を 4 回吸入させ（感作相）、一定期間経たのち、OVA を 3 日連続吸入させた（惹起相）。採取した肺をフローサイトメトリー・ELISA で解析した。家庭内の塵中に含まれる界面活性剤を、臨界ミセル濃度(CMC)を算出することで測定した。

【結果】自然免疫惹起モデルでは、合成洗剤吸入によって好酸球性気道炎症が誘導された。合成洗剤吸入後の肺ホモジネート中の IL-33 が上昇し、IL-33 によって活性化された 2 型自然リンパ球（ILC2）が好酸球性気道炎症を惹起していることを見出した。IL-33$^{-/-}$マウスでは合成洗剤吸入によって惹起された好酸球性気道炎症の減弱がみられた。さらに、獲得免疫惹起モデルでは、合成洗剤の存在下で OVA を吸入感作させたマウスにおいて、惹起相での OVA 吸入後に好酸球性気道炎症が生じ、OVA-specific IgE が産生されることが示された。合成洗剤の存在下で OVA を吸入感作させ、惹起相で OVA を吸入させたマウスにおいては、肺ホモジネート中の IL-33 が上昇しており、IL-33$^{-/-}$マウスでは好酸球性気道炎症の減弱と OVA-specific IgE 産生低下がみられた。最後に、ボランティアを募り(n=23)、家庭内のベッド・ソファー・洗面所・リビングそれぞれの場所から収集した塵抽出物中の CMC を測定したところ、すべてのサンプルから CMC が算出された。CMC は家庭ごとにばらつきがあり、最も高い CMC が測定された場所も家庭ごとに異なっていた。

【結語】合成洗剤の吸入によって、肺で IL-33 が産生され、ILC2 を活性化する直接的なメカニズムと、IL-33 をアジュバントとした抗原感作を介するメカニズムによって、好酸球性気道炎症を惹起することが示された。界面活性剤は生活環境中に存在し、塵と共に吸入されている可能性がある。

口演－9)

膵癌における CDK12 の機能解明と治療標的化

岩立 堂佑（消化器内科学）

【背景】膵癌は遺伝子発現プロファイルに基づき、Classical 型（通常型）と予後不良な Basal 型に分けられる。Basal 型膵癌は標準化学療法に抵抗性であり、有効な治療法の開発が求められている。そこで本研究では、膵癌患者検体由来オルガノイドを用いて薬剤スクリーニングを行い、Basal 型膵癌の新規治療標的を探索した。その中で、サイクリン依存性キナーゼ(cyclin-dependent kinase; CDK)の一つである CDK12 に着目した。CDK12 は RNA ポリメラーゼ II の C 末端領域 Ser2 をリン酸化することで、特に DNA 損傷修復遺伝子の転写を制御している。がん治療の標的として有望であるという報告はあるものの、その抗腫瘍効果の機序は不明な点が多い。また、細胞周期ごとの役割や局在部による機能の違いなどもほとんど分かっておらず、未だに不明な点が多い分子である。

【目的】膵癌における CDK12 の分子基盤および抗腫瘍効果の解明を本研究の目的とした。特に、細胞周期に応じた役割や局在による機能の違いの解明を目指した。

【方法】CRISPR-Cas9 を用いた遺伝子編集により CDK12 遺伝子にデグロンタグ(dTAG)をノックインし、このタグに対するタンパク分解誘導剤を用いることで、内因性 CDK12 を急速に分解できる系を樹立した。さらに細胞周期同期法やタイムラプスイメージングを組み合わせることで、時間的・空間的解像度の高い機能解析を行った。

【結果】CDK12 の阻害や急速分解により、Basal 型膵癌では DNA 損傷とアポトーシスが惹起された。これらの感受性細胞では細胞周期が M 期で停止しており(Mitotic arrest)、その後に分裂期崩壊を来たして細胞死に至る(Mitotic death)ことが抗腫瘍効果の本態と判明した。さらに、細胞周期を同期した後に、G1, S, G2, M 期のそれぞれで CDK12 を急速分解したところ、S 期における CDK12 の機能喪失が抗腫瘍効果に必須であることが明らかとなった。その機序として、S 期に CDK12 機能が喪失すると、DNA 複製速度の低下や M 期関連遺伝子の発現低下が生じることを発見、これらがその後の M 期崩壊の原因となることが示唆された。重要なことに、M 期で細胞死に至らず分裂し得た細胞では、細胞質中に Micronuclei の増加を認め、cGAS-STING 経路を介して I 型インターフェロン経路を活性化しており、抗腫瘍免疫応答を増強する可能性が示唆された。

【結語】CDK12 が、Basal 型膵癌の新規治療標的となることを見出した。CDK12 阻害により、分裂期崩壊による細胞自律的な抗腫瘍効果に加え、宿主免疫応答を介した抗腫瘍効果も期待できる可能性がある。臨床応用を目指し、マウスモデルを含めた検討を進めていく。

口演－10)

SETDB1 suppresses interferon responses and NK cell-mediated immunosurveillance specifically in monocytic AML

張 育瑄 (血液・腫瘍病態学/先進分子腫瘍学)

【Introduction】

Acute myeloid leukemia (AML) arises from the accumulation of genetic alterations in hematopoietic stem and progenitor cells. The prognosis of AML is generally poor and chemo-resistance and recurrence have been major challenges for the treatment of AML. Especially, AML with monocytic differentiation (monocytic AML) responds poorly to current treatments, including venetoclax-based therapy. Therefore, there is an urgent need to develop improved therapeutic approaches for the patients with monocytic AML.

【Purpose】

Identify key genes that promote AML progression particularly *in vivo* by performing CRISPR/Cas9 screens using a mouse monocytic AML model driven by *SETBP1* and *ASXL1* mutations.

【Methods】

Based on *in vivo* and *in vitro* CRISPR/Cas9 screens, I firstly identified SETDB1 and its cofactors regulated leukemic cell growth particularly *in vivo*. To determine whether the growth-inhibitory effect upon *Setdb1* depletion was a result of immune cells targeting *Setdb1*-depleted cells *in vivo*, I conducted transplantation experiments to assess leukemic cell growth with the mice harboring different immune systems: immunodeficient NSG mice, immune-intact C57BL/6 mice, and *Rag2*$^{-/-}$ mice lacking mature T and B cells. I further performed transcriptome analysis, ChIP-seq, and functional assays to elucidate the underlying mechanism of *Setdb1*-depleted leukemic cells.

【Results】

The CRISPR/Cas9 screens identified the H3K9 methyltransferase SETDB1 and its cofactors (ATF7IP and TRIM33) are tumor promoters *in vivo*. Mechanistically, *Setdb1* depletion in monocytic AML cells upregulated endogenous retrovirus (ERV) elements, interferon-stimulated genes (ISGs) and NKG2D ligands, while downregulating MHC class I in mouse AML cells, thereby increasing their immunogenicity to NK cells. I also found that loss of *SETDB1* in human monocytic AML cells induced intrinsic apoptosis and increased their sensitivity to NK cell-mediated cytotoxicity, whereas it showed only modest effect in other subtypes of AML. Furthermore, I identified MNDA, a known ISG in monocytes, as a biomarker to predict the sensitivity of each subtype of AML to *SETDB1* depletion.

【Conclusion】

In summary, this study reveals the critical and selective role of SETDB1 in monocytic AML. SETDB1 mediates H3K9me3 at the monocyte-specific ERV enhancers to repress the expression of NK cell-activating ligands and ISGs, thereby suppressing immunogenicity and apoptosis in monocytic AML. Therefore, SETDB1 and its binding partners are potential therapeutic targets for monocytic AML which is relatively resistant to the current standard treatments.

口演－11)

A novel zinc-chelating compound has antifungal activity against a wide range of *Candida* species, including multidrug-resistant *Candida auris*

篠原 孝幸（生体防御感染症学）

【Introduction】

In recent years, the incidence of invasive fungal infections has increased, resulting in considerable morbidity and mortality, particularly among immunocompromised individuals. Potential challenges in treating these infections with the few existing antifungal agents highlight the urgency of developing new ones.

【Purpose】

Here, we evaluated six alkyl polyamine compounds (APCs), not previously reported as antifungal drugs to our knowledge, that could deprive fungi of essential transition metals.

【Methods】

The APC with confirmed antifungal activity against *Candida spp.* was analyzed by using transcriptomics, followed by metal-addition experiments, mass spectrometric analyses, and intracellular zinc quantification with a fluorescent probe.

【Results】

A cyclic APC with three pyridylmethyl groups, APC6, had high antifungal activity against a wide range of *Candida* species, including multidrug-resistant *C. auris*. We conclusively demonstrated that APC6 was able to capture zinc within fungal cells. APC6 not only exhibited activity against *C. auris* as a single agent but also enhanced the efficacy of an azole antifungal agent, voriconazole, in vitro and in vivo. APC6 disrupted the biofilms formed by *Candida* species.

【Conclusion】

This zinc-chelating compound has potential as an antifungal agent, and the control of zinc levels in *Candida* species could be a powerful approach to treating drug-resistant candidiasis.