

## 米子医学会賞

米子医学会では、鳥取大学医学部の大学院生に対し将来の発展を期待し、優秀な研究論文に米子医学会賞を授与することになっています。応募資格は、米子医学会会員で1) 医学専攻博士課程、2) 機能再生医科学専攻博士後期課程・生命科学専攻博士後期課程、3) 保健学専攻博士後期課程・臨床心理学専攻修士課程を当該年度に修了若しくは修了見込の大学院生です。被表彰者は賞状ならびに副賞を授与され、米子医学雑誌に論文要旨を公表することになっております。

第14回授賞者ならびに授賞論文は以下のとおりです。

### 第14回米子医学会賞受賞者（令和2年度）

医学専攻博士課程

- 1) 森本昌樹（鳥取大学医学部器官制御外科学講座 消化器外科学分野）

機能再生医科学専攻博士後期課程

- 2) 中武大夢（鳥取大学大学院医学系研究科 機能再生医科学専攻 分子医学部門）

保健学専攻博士後期課程

- 3) 和田 崇（鳥取大学医学部附属病院リハビリテーション部）

### 抄 録

#### 1) Oncogenic role of TYRO3 receptor tyrosine kinase in the progression of pancreatic cancer

（膵癌の進行におけるTYRO3受容体チロシンキナーゼの発癌性の役割）

Morimoto M, Horikoshi Y, Nakaso K, Kurashiki T, Kitagawa Y, Hanaki T, Sakamoto T, Honjo S, Umekita Y, Fujiwara Y, Matsuura T.

令和2年 Cancer Letters 470巻 149頁-160頁

TYRO3はチロシンキナーゼ受容体であるTAM familyに属するが、膵癌における発現と機能は明らかとなっていない。本研究では、5種類のヒト膵癌細胞株を用いて、TYRO3のタンパク発現を確認した。TYRO3のノックダウン、または過剰発現実験により、phosphorylation of protein kinase B (Akt) とextracellular signal-regulated kinase (ERK) を介してTYRO3が膵癌の増殖能、浸潤能を促進することが明らかとなった。マウスの異種移植実験において、TYRO3のノックダウンによる腫瘍増殖の抑制効果が確認された。さらに、浸潤性膵管癌に対して膵切除を行った106人の患者の切除検体において、膵癌組織中のTYRO3の発現と予後との関連を検討した。結果として、切除検体中のTYRO3の発現は膵癌患者の独立した予後規

定因子であることがわかった。

本研究によってAktとERKを介したTYRO3の膵癌進展機構が明らかとなり、膵癌の新たな治療標的としての可能性が示された。

### 方 法

5種類のヒト膵癌細胞株 (PANC-1, MIA PaCa-2, BxPC-3, AsPC-1およびPK-9) とヒト膵管上皮不死化細胞HPDE H6c7株を用いて、TYRO3のタンパク発現の有無を検討した。RNAiを用いたTYRO3のノックダウン、またはプラスミドベクターを用いた過剰発現実験により、TYRO3の下流シグナル因子の候補であるphosphorylation of protein kinase B (Akt) とextracellular signal-regulated kinase (ERK) の挙動について検討した。ヌードマウスを用いた異種移植実験において、TYRO3のノックダウンによる腫瘍増殖への影響について検討した。浸潤性膵管癌に対して2006年5月から2018年3月の期間に鳥取大学医学部附属病院 消化器外科で膵切除を行った106人の患者の切除検体において、膵癌組織中のTYRO3の発現と予後との関連を検討した。

### 結 果

用いた細胞株すべてにおいて、TYRO3のタンパ

ク発現が確認された。PANC-1細胞株およびMIA PaCa-2細胞株におけるTYRO3 siRNAを用いたノックダウン実験により、TYRO3タンパク質発現の有意な低下を示すとともに増殖能、浸潤能について有意な低下を示した。さらにTYRO3 siRNAにより、AktおよびERKのリン酸化タンパクが有意に減少することが示された。TYRO3の発現プラスミドを作製し、PANC-1細胞においてTYRO3の過剰発現株を作製した。同細胞での共焦点レーザー顕微鏡を用いた観察により、TYRO3の過剰発現が、形質膜へのリン酸化Aktの動員および核内へのリン酸化ERKの移行を著しく増加させることが明らかとなった。TYRO3過剰発現株においては、増殖能、浸潤能のいずれもが上昇したが、これらの上昇はPI3K阻害剤であるLY294002およびMEK阻害剤であるPD98059によってキャンセルされた。レンチウイルスを用いてshRNAを安定発現させたTYRO3 ノックダウンPANC-1クローンsh #Cおよびsh #Dを使用してマウス異種移植モデルを確立し、in vivoでの膀胱腫瘍形成におけるTYRO3の役割を評価した。結果として、移植5週間後におけるTYRO3 ノックダウンPANC-1クローン移植マウスの腫瘍重量と体積は、著しく減少が認められた。

浸潤性膀胱癌術後検体を用いた免疫組織化学による検討により、TYRO3発現は30.2%で陽性と判定された。単変量解析とその後の多変量解析によりTYRO3発現が膀胱癌患者の全生存期間における独立した規定因子であることが判明した。

## 抄 録

### 2) Partial deletion of glycoprotein B5R enhances vaccinia virus neutralization escape while preserving oncolytic function

(糖タンパク質B5Rの部分的欠失は、腫瘍溶解機能を維持しつつワクシニアウイルスの中和回避を強化する)

Motomu N, Hajime K, Nozomi K, Kosuke H, Mai I, Hiromichi K, Tomotaka O, Kosei H, Yasuhiro Y, and Takafumi N.

令和元年 Molecular Therapy: Oncolytics Vol.14 September 2019 159頁-171頁

## 考 察

本研究は、膀胱癌細胞におけるTYRO3発現を報告した最初の報告となった。評価に用いたすべてのヒト膀胱癌細胞株 (PANC-1, MIA PaCa-2, BxPC-3, AsPC-1およびPK-9) でTYRO3タンパクの発現が検出された。この研究で使用した膀胱癌細胞は、K-RAS, CDKN2A, TP53, およびSMAD4いずれかの変異を有しているが、TAM familyのメンバーには、癌の発生に寄与する突然変異は報告されていない。このため、TAM familyの発癌性は、TAM受容体シグナル伝達経路の調節異常に関連することが予想される。本研究では、膀胱癌細胞におけるTYRO抑制は細胞増殖および浸潤を抑制した一方で、TYRO3過剰発現はそれらを増強した。さらにTYRO3過剰発現により細胞膜へのリン酸化Aktの動員、およびの核へのリン酸化ERKの移行が示されたことから、TYRO3の膀胱癌進展における分子機構としてPI3K/AktおよびMEK/ERKシグナル伝達などの成長シグナル伝達経路が強く関与することが示された。患者検体を用いた検討においては、TYRO3の発現が膀胱癌患者予後を規定することが示された。以上より、TYRO3またはその下流シグナルを治療標的とすることで新たな膀胱癌治療法の開発につながると考えられた。

## 結 論

チロシンキナーゼ受容体TYRO3は膀胱癌進展に関わる増悪因子であることが示され、膀胱癌の新規治療標的となり得る。

腫瘍溶解性ウイルス療法はウイルスによる腫瘍組織の直接的な破壊と、破壊された腫瘍への抗腫瘍免疫誘導という2つの作用をあわせ持つ新たながん治療戦略である。この治療法ではウイルスを用いるという特性上、ウイルスに対しての免疫応答がその治療効果を損なう障害となりうる。事実、現状のウイルス療法は腫瘍への直接投与が前提とされ、抗ウイルス抗体陽性の患者に対しては特に全身への治療用ウイルスのアプローチが難しいと考えられている。

この問題を解決すべく、治療用ウイルスの1つとして知られるワクシニアウイルスの持つ免疫回避

形態の応用を試みた。ワクシニアウイルスは通常の細胞内成熟ウイルス (IMV) と免疫回避能を持つ細胞外被覆ウイルス (EEV) という2種類の感染形態を持つ。EEVは通常のIMVが宿主由来の外膜を鎧のようにまとった構造を持ち、宿主抗原に覆われることで免疫の認識を逃れる。この特性は腫瘍溶解性ウイルスへの免疫応答という問題に対する解決策となりうるが、EEVの持つ免疫回避能は完全ではない。EEV外膜上には数種類のウイルス由来抗原が依然提示されており、中でもB5Rという膜タンパク質が宿主免疫の標的となる。B5Rはウイルスの形態形成に重要であるが、B5Rに対する抗体 (抗B5R抗体) は宿主抗原に隠れたEEVを中和する不活化因子となる。

本研究では抗B5R抗体の認識領域であるSCRドメインを欠損したウイルス ( $\Delta$ SCR) を作製し、EEVの免疫回避能を最大化することで免疫存在下でも投与可能な治療用ウイルスの構築を行った。

## 方法

EEV免疫回避能を最大化すべく、B5R内の抗原 (SCR) 領域を欠損した $\Delta$ SCRウイルスを作製し正常なB5Rを持つ親ウイルスとの比較を行った。基本的な形質の差異をウイルスプラーク像やウイルス産生量により確認した後、20種類の癌細胞株に感染させてEEV・IMVの産生や抗腫瘍効果に差が出るかを検討した。

また $\Delta$ SCRの免疫回避能を評価すべく、ヒト患者血清および免疫済サル血清の使用を検討した。B5R抗原を用いたELISAにより抗B5R抗体価を検出し、抗体価が顕著に出たサル血清を親ウイルスおよび $\Delta$ SCR由来のEEV・IMVと混合し中和させた。その後中和を逃れたウイルスをヒト卵巣癌RMG-1細胞株へ感染させ、その増殖・伝播を観察した。さらに血清中のEEV中和因子を特定すべく、ウサギ由来の抗ワクシニアウイルス抗体と補体とをそれぞれ分量を振ってEEV等と混合し、上記と同様の手順で中和を逃れたウイルスの観察を行った。

さらに、抗体存在下での腫瘍治療効果を検討するため、腹膜播種モデルへ人工的に抗ウイルス抗体を投与し、検討した。ヒト卵巣癌A2780細胞株をヌードマウス腹腔内へ移植し、事前にウサギ抗ウイルス抗体を投与した後に親由来EEV、あるいは

$\Delta$ SCR由来EEVを投与してその後の腫瘍退縮や生存期間を比較した。

## 結果

$\Delta$ SCRウイルスは親ウイルスと比較しプラークサイズの縮小は見られたが、多くの癌細胞でEEV・IMVの産生量や抗腫瘍効果を損なうことはなかった。むしろヒト卵巣癌細胞や肺癌細胞ではEEV産生が増加する傾向が見られた。

一方、ウイルスの中和回避試験のためにヒトおよびサル血清中の抗B5R抗体価を測定したところ、ワクシニアウイルスを免疫したサル血清において抗B5R抗体を確認した。免疫済サル血清への各ウイルスの中和回避を比較したところ、 $\Delta$ SCR由来EEVは親ウイルス由来EEVより高い回避能を有していた。一方、IMVは両方のウイルス由来とも回避能は持たなかった。さらにウサギ由来の抗ウイルス抗体・補体による中和試験により、抗B5R抗体によるEEVの中和は補体依存的であり、 $\Delta$ SCR由来EEVはそれら中和因子への回避能が高まることがわかった。

腫瘍腹膜播種マウスでの検討では抗体無しでの治療効果は親由来EEVと $\Delta$ SCR由来EEVとで差はなかったものの、抗体存在下では親由来EEVは治療効果が抑えられた。 $\Delta$ SCR由来EEVは抗体存在下でもその増殖を維持し、抗体非存在時と同程度の抗腫瘍効果および生存延長効果を示した。

## 考察

EEVの抗原分子B5Rは全域を欠損させるとウイルスの増殖やEEV産生能を大きく損なうが、B5R内の抗原領域SCRのみの欠損はそれらウイルスの特性は損なわず中和因子への回避能を増大させた。ウイルスを治療因子として用いる腫瘍溶解性ウイルス療法においては、本研究のSCR欠損はワクシニアウイルスの治療効果と中和回避能を最適化させる改変であると考えられる。

## 結論

B5R内の抗原領域を欠損させた $\Delta$ SCRウイルスは自身の増殖、子孫ウイルス産生、腫瘍溶解能を損なうことなくEEV中和抗体回避能を高めた。 $\Delta$ SCRウイルスは、特にウイルスへの抗体を有する患者に対しての新たな治療手段となることが期待できる。

## 抄 録

### 3) Customized exercise programs implemented by physical therapists improve exercise-related self-efficacy and promote behavioral changes in elderly individuals without regular exercise: a randomized controlled trial

(理学療法士によって行われるカスタマイズされた運動プログラムは、定期的な運動のない高齢者の運動関係の自己効力感を改善し、行動変容を促進する：ランダム化比較試験)

Wada T, Matsumoto H, Hagino H

令和元年 BMC Public Health DOI:10.1186/s12889-019-7270-7

高齢者における運動は、身体活動の維持につながり健康寿命の延長や生活習慣病の予防にとって重要である。近年では自己効力感を高めることが運動習慣を獲得する行動へと導くことが注目されている。そのため、自己効力感を高める専門的な個別の運動プログラムが、運動習慣の獲得および維持に不可欠と考えられる。しかし、一般的に提案される運動プログラムは万人に共通しており、魅力的でない傾向がある。個別性を無視した運動プログラムでは自己効力感を得ることが難しく、運動の開始や継続が不十分となることが推測される。したがって、運動習慣の獲得のためには、個体差を考慮した運動プログラムが有効と考えられる。しかしながら、実際に個体差を考慮したオーダーメイド型の運動プログラムが高齢者の自己効力感を高め、運動習慣につながる行動変容を促進するかどうかは定かでない。

本研究は、理学療法士によって実施されるオーダーメイド型の運動プログラムが一般的な運動処方と比較し、運動習慣のない高齢者の運動の自己効力感と行動変容に有用であるかを調査することを目的とする。

## 方 法

本研究は非盲検のランダム化比較試験である。2017年に鳥取県日野町の特定健診および後期高齢者健診を受診したもののうち、研究に参加同意した運動習慣のない50名(男性：20名、女性：30名、平均年齢：69.0±2.5歳)を対象とした。乱数表を使用してオーダーメイド型運動処方群(介入群)と一般的な運動処方群(対照群)にランダム割付を

行った。介入群には本学が開発したオーダーメイド型運動処方プログラムによる運動を、対照群は一般的なスクワット、片足立ちからなる運動を、双方とも理学療法士が指導した。運動処方時、運動処方後3、6、9、12カ月に運動に対する自己効力感および行動変容段階、運動実施率、膝と腰の痛み(visual analogue scale)を評価した。

## 結 果

介入群は26名(男性：11名、女性：15名、平均年齢：69.1±2.9歳)、対照群は24名(男性：9名、女性：15名、平均年齢：68.9±2.2歳)であった。運動処方時の群間比較では各変数に有意な差を認めなかった。3カ月時点の追跡調査が可能であったのは介入群25名、対照群23名、6カ月時点では介入群26名、対照群23名、9カ月時点では介入群26名、対照群23名、12カ月時点では介入群25名、対照群23名であった。各評価時点の群間比較では各変数に有意な差を認めなかったが、運動に対する自己効力感は追跡期間中の介入群では維持されたが、対照群では運動処方時と比べて9、12カ月時点で有意に低下した。介入群では運動処方時に比べ3カ月時点で行動変容段階が有意に向上した。一方、対照群では運動処方時に比べ6カ月時点で行動変容段階が有意に向上した。また、対照群では運動処方時に比べ3カ月時点で膝痛が有意に悪化した。介入群では膝痛の悪化はなかった。

## 考 察

介入群は運動に対する自己効力感が低下することはなかったが、対照群は運動処方時に比べ9、12カ月で有意に低下した。運動自己効力感は運動を実施する動機づけと関連することが報告されており、介入群の運動プログラムは運動に対する関心を向上させ運動開始の動機づけに貢献した可能性がある。さらに介入群では、運動処方後3カ月で行動変容段階が有意に向上した。行動変容は、自己効力感やトレーニングの阻害要因(例：トレーニングは施設に行かなければできない)の認知と関連することが報告されている。オーダーメイド型運動処方プログラムは、個々の運動機能に応じた自宅で実施可能な運動が処方されるため、阻害要因の軽減につながった可能性がある。加えて、対照群では膝痛が悪化した一方で、介入群では膝および腰の痛みの悪化がなかった。介入群で処方

された運動プログラムは痛みを有する対象者に対しては、痛みの部位に負荷がかからない運動を処方する。そのため、膝および腰の痛みの悪化がなかったと考えられる。

## 結 論

運動習慣のない高齢者において、オーダーメイド運動処方プログラムを用いた運動指導は、運動

に対する自己効力感の維持に貢献し、3カ月時点における有意な行動変容に寄与した。さらに対照群は膝痛が有意に悪化したが、介入群は膝や腰の痛みの悪化がみられなかった。個人の体力や痛みを考慮した運動プログラムは運動習慣のない地域在住高齢者の運動習慣を改善させることが示唆された。