3 教育・研究・診療の特色

研究における特色①

琉球諸島の公衆衛生学的課題を背景とした、アルコール多飲に伴うペラグラとカポジ肉腫

ペラグラなど栄養障害による皮膚病とは：

現在の日本では、壊血病、ペラグラ、亜鉛欠乏症などが、貧困による栄養不良として発症することはありませんが、アルコール依存症等で十分な食事がとれずに発症する患者が散見されます。ペラグラはナイアシン酸やトリプトファンの欠乏によって遷延化する露光部の皮膚炎、下痢、認知症の3徴候を発症し、重症例では死にいたります。特定の栄養素の欠損により、なぜ、慢性に経過する特徴的な皮膚症状を呈するのかは、今だ不明でした。

沖縄県内外のペラグラの7症例を軽症、中等症、重症の3群に分け、各群におけるランゲルハンス細胞を含む樹状細胞の変動を評価しました。ペラグラの病変部の表皮ランゲルハンス細胞は著明に低下し、重症のペラグラの症例では、表皮ランゲルハンス細胞が完全に消失していました。一方、真皮樹状細胞や肥満細胞は正常皮膚との差異はみられませんでした。正常皮膚では、紫外線照射などの刺激後、活性化された表皮ランゲルハンス細胞が、表皮直下のリンパ管を通り近傍の所属リンパ節へ遊走します。その際、新たなランゲルハンス細胞が、真皮樹状細胞などから直ちに、毛包上皮を介して表皮へ供給される手筈になっています。ペラグラでは、各種の樹状細胞の中でランゲルハンス細胞の供給のみが著しく傷害され、結果的に表皮のランゲルハンス細胞が消失していました。このため、ランゲルハンス細胞の炎症後期の機能でもある消炎作用が働かず、一度生じた日光皮膚炎など刺激性皮膚炎が遷延化し、表皮の壊死などの激しい皮膚症状が生じると理解できました。

ペラグラに類似した栄養障害性の皮膚疾患である、亜鉛欠乏やビオチン欠乏でも、病変部位において表皮細胞の空胞変性や壊死を主体とした変化が共通して生じ、近年、これらでもランゲルハンス細胞が消失していることが明らかになっており、我々の結果と合致しました。

カポジ肉腫：

日本を含め先進国で発症するカポジ肉腫の大部分は、治療の遅れたエイズ患者に生じ、エイズには関連しない古典型カポジ肉腫の発症は極めて稀です。沖縄県、中でも宮古諸島では古典型カポジ肉腫患者が多いことが知られています。そこで、沖縄県および宮古諸島における古典型カポジ肉腫の高発症の原因を探求しました。

カポジ肉腫の発症にはヒトヘルペスウイルス8型（HHV8）の感染が必須ですが、その感染率は20%程のイタリアから東京や那覇市の1.4%と非常に低い地域まで世界各地でも大きな地域差があります。過去31年間に60例の沖縄県出身の古典型カポジ肉腫症例が確認され、うち30症例は宮古諸島出身者でありました。一方、同じ期間内に日本本土からは79例のみが報告されていました。宮古諸島の年齢調整発症率は10万人当たり年間0.87で、HHV8の感染率は15.4%であります。この発症率は世界的好発地域である地中海沿岸地域に匹敵し、HHV8感染率は日本本土および那覇市に比べ約11倍高い結果でした。HHV8キャリアでの発症率は、宮古諸島や沖縄諸島は、日本本土に比べ男性で約100倍、女性では60倍高い事になります。HHV8全塩基配列をもとにした系統樹によると、沖縄に流布するHHV8ゲノムは、欧米やアフリカ由来HHV8とは異なるクラスターを形成しています。宮古・沖縄地方に流布するHHV8には、日本本土由来のHHV8にはない変異が存在し、その中には世界的にも未同定の9つの変異が含まれています。HHV8感染者のうちカポジ肉腫を発症する患者はごく一部であり、発症には患者の免疫能や遺伝的な疾患感受性などが影響すると考えられます。宮古島出身のカポジ肉腫患者の全エクソン解析からは、疾患感受性遺伝子は特定できませんでしたが、沖縄・琉球諸島の人々の民俗学的背景もこの高発症に影響している可能性を考えます。

図1：長年のアルコール多飲の女性に生じたペラグラの皮疹

図2：高齢男性の手掌のカポジ肉腫

研究における特色②

麻酔科的視点の神経科学の新たな展開

麻酔科学講座（麻酔科）では、1996年から虚血性脊髄障害の基礎研究ならびに臨床研究（臨床経験も含む）を推し進めています。特に基礎研究では、ラット脊髄虚血モデル（Taira Y and Marsala M. Stroke 1996）を開発し、数多くの論文を発表してきました。さらに2011年には、マウス脊髄虚血モデル（Kakinohana M, et al. Stroke 2011）をハーバード大学麻酔科との共同研究で開発し、虚血性脊髄障害の研究領域に遺伝子改変マウスを用いる新たな研究の発展に貢献しています。

また、琉球大学大学院医学研究科の分子細胞生理学講座と薬理学講座とともに生体内ガス分子である一酸化窒素(Nitric Oxide : NO)と硫化水素（Hydrogen sulfide : H2S）の生理学的役割、病態生理との関わりさらに治療薬の可能性（創薬）についても研究を進めています。特に麻酔科学講座では、本邦唯一のH2Sガス吸入装置を用いマウス脊髄虚血性障害モデルでH2Sの脊髄運動神経細胞保護効果を検討しています。その結果、H2Sガス吸入により虚血後の脊髄運動神経細胞保護効果を示し（図2）、その機序としてNFκBのSulfhydrationが関与している可能性も明らかになってきました。今後、H2Sによる様々な臓器保護効果について検討し、創薬も含めた研究につなげていきたいと考えています。

麻酔科学講座は、1995年からカリフォルニア大学サンディエゴ校麻酔科と共同研究を行っており、虚血性脊髄障害の病態生理解明研究（1995年～1998年）、対麻痺に対する細胞移植療法（1999年～現在）、痙性麻痺に対する除痙性療法（2003年～2012年）、神経変性疾患に対する遺伝子治療（2008年～現在）など数多くのプロジェクトに関わっています。また、世界初の脊髄軟膜下薬物投与法を開発し、従来よりも効率よく遺伝子導入が出来ることを明らかにし（図3）、今後の遺伝子療法の発展に貢献できると考えています。

図1.マウス脊髄虚血モデル

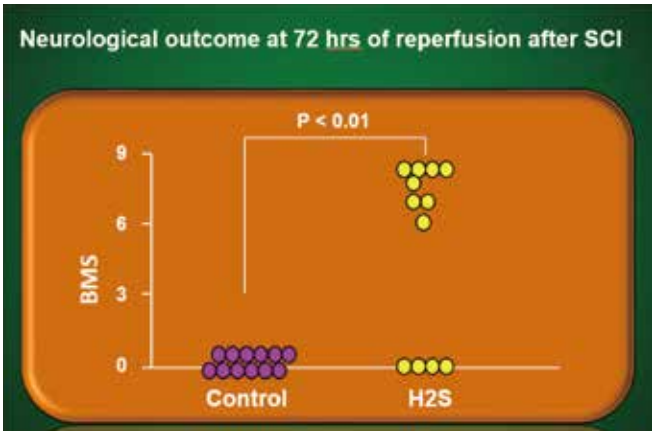


図2. H2Sガス吸入による虚血後の脊髄運動神経細胞保護効果

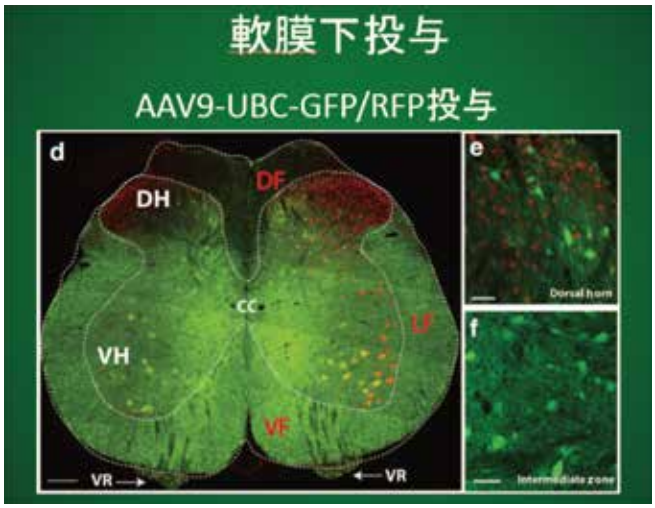


図3. 脊髄軟膜下投与による脊髄神経細胞への遺伝子導入

3 教育・研究・診療の特色

研究における特色③

沖縄県HTLV-1キャリアの実態解明とATL/HTLV-1バイオバンク試料を用いた研究

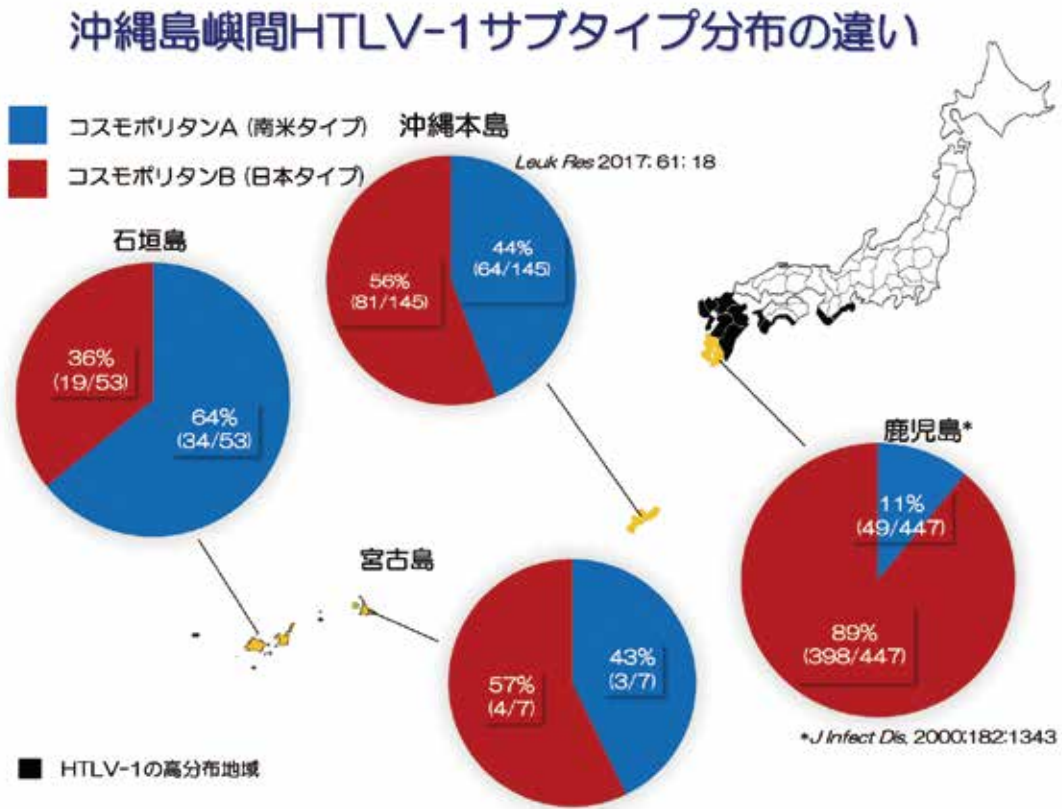
ヒトT細胞白血病ウイルスI型（HTLV-1）は、成人T細胞白血病・リンパ腫（ATL）およびHTLV-1関連脊髄症の病因ウイルスです。九州・沖縄を中心とする西南日本は世界最大のHTLV-1キャリア分布地域であり、HTLV-1関連疾患の多発地域です。いずれの疾患も治療難反応性で予後不良の疾患であり、疾患の発症予防としてHTLV-1キャリアの実態解明と感染予防対策の確立は重要な課題となっています。しかし、これまで沖縄県のHTLV-1感染の現状は十分に解明されていませんでした。

保健学科血液免疫検査学分野は、医学研究科内分泌代謝・血液・膠原病内科学講座（第二内科）、免疫学講座により設立された沖縄ATL/HTLV-1研究ネットワークに参加し、ATL/HTLV-1バイオバンクの構築に参画するとともに、沖縄県HTLV-1キャリアの実態解明とバイオバンク試料を用いた分子生物学的研究を行ってきました。

HTLV-1は大きくコスモポリタン、中央アフリカ、メラニシアの3タイプに分けられ、さらにコスモポリタンタイプはA～Dの4サブタイプに分類されます。本土ではコスモポリタンBが90%を占めることが報告されていますが、沖縄本島では南米タイプであるコスモポリタンAが44%、コスモポリタンBは56%と、分布のパターンが異なっていました。そしてATL患者についてサブタイプ別に治療成績を比較したところ、コスモポリタンAの患者の予後が不良でした（Sakihama et al. Leuk Res 2017）。沖縄県のATL患者の治療成績は、本土と比べて不良であることが明らかとなっており（Nishi et al. Int J Hematol 2016）、サブタイプの相違が要因の一つである可能性を示しました。

沖縄県内でも島嶼部の実態解明が遅れていたため、石垣島においてHTLV-1キャリアのスクリーニング調査を行い、抗HTLV-1抗体陽性割合が約5.5%であることを明らかにしました。そしてHTLV-1サブタイプ解析を行ったところ、コスモポリタンAが64%を占めており、本土だけでなく沖縄本島とも分布パターンが異なっている事が判明しました。

沖縄のHTLV-1サブタイプの分布パターンが本土と異なり、さらに島嶼間においても相違が見られることは、明らかになっていないHTLV-1の伝播経路の解明に繋がる可能性があります。沖縄県のHTLV-1感染予防対策の確立に向けて、キャリアの実態解明とフォローアップを行うとともに、HTLV-1伝播の謎の解明に向けてアジア・太平洋地域にフィールドを拡大して研究を行っています。



研究における特色④

分子生物学的手法を用いた迅速かつ安価な医療用抗体の作製技術開発

抗体は特定の異物（抗原）に「特異的」に「結合」して、その異物を体内から除去する糖タンパク質です。この性質を利用して医療用検査やがん治療などに使用されています。一般的に抗体は、抗原をマウスなどの動物に複数回投与して、抗原に結合する抗体を産生する細胞（B細胞）を骨髄腫細胞と細胞融合させ、自律増殖能を持つ抗体産生細胞（ハイブリドーマ）を樹立して作製します。この方法は、数か月と言う長い期間と高いコストが掛かりますし、動物愛護の観点からもこのハイブリドーマ法に代わる抗体作製技術の開発が進められてきました。遺伝子操作をはじめとする分子生物学的な手法が確立され、細菌にのみ感染するウィルスであるバクテリオファージの表面に、任意のタンパク質を提示する方法が開発され、このファージ提示法を応用した抗体作製技術が広く使用されるようになっています。現在使用されている治療用抗体もこのファージ提示法で作製された抗体が多くあります。しかし、その抗体を生産する際にも多額の費用が掛かり、今後改善すべき抗体医薬の大きな課題は、極めて高額な薬剤費の低減と、新しい標的抗原を探索して確実に抗体を作製する技術の開発であり、私たちはこの課題を解決する研究に取り組んでいます。

抗体はそれぞれ複数のドメインで構成される2本の重鎖と2本の軽鎖が結合したY字型をしており、重鎖と軽鎖の先端のドメインが協調して抗原と結合します（図１-A）。一方、ラクダ科動物は、2本の重鎖のみで構成される抗体を有しており、この重鎖の先端にある単ドメインで抗原と結合することができ、この抗原結合部位をVHH抗体と呼びます（図1-B）。VHH抗体は比較的低分子（≦15KDa）の単ドメインであることから、大腸菌や酵母を使用して安価に大量生産することが可能です。そこで私たちは、このVHH抗体を迅速かつ安価に作製する方法を開発しました。11頭のアルパカの血液からVHH遺伝子を増幅し、これを元にして独自に考案した分子生物学的な方法で、200億以上もの多様性を持つVHH抗体提示ファージライブラリーを作りました（図2）。このライブラリーから任意の抗原に特異的に結合するVHH抗体提示ファージを分離・単離することができ、約10日間でVHH抗体を作製することが出来ます。また、VHH抗体を大腸菌発現・精製系で安価かつ大量に生産する方法も開発しました。

現在、検査薬や治療薬に使用する目的で、インフルエンザウィルス（図3）、エボラウィルス、ノロウィルスなどの感染症原因ウィルスに対する抗体や、がん抗原に対する抗体など、多種多様な抗原に対するVHH抗体の開発を進めています。

図2：半人工合成アルパカVHH抗体ライブラリーの作製

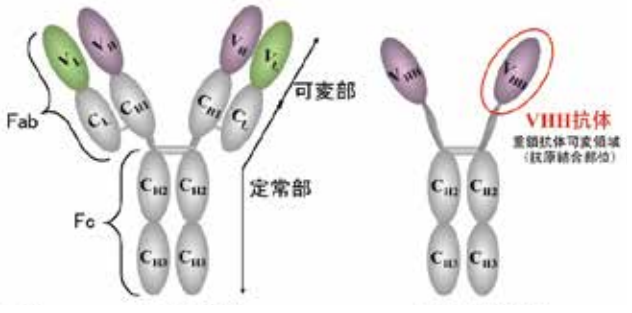


図1：　A.一般的な抗体　B.ラクダ科重鎖抗体

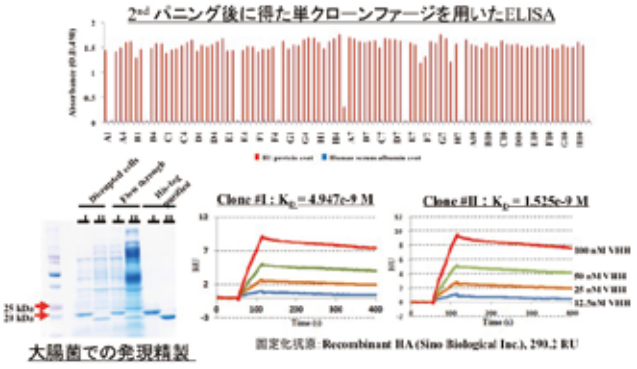


図3：ライブラリーから単離したインフルエンザHAに対するVHH抗体