

海外共同研究報告書

(WEB サイト公開用)

2024 年 1 月 28 日

氏 名	河島大智
所 属	信州大学医学部
研 究 先	Pharmacogenomics and Molecura Pharmacology Laboratory, Department of Medicine, Surgery and Health Sciences, University of Trieste
期 間	2023 年 9 月 4 日～2023 年 11 月 17 日
研 究 課 題	IBD 小児患者由来の iPS 細胞および iPS 細胞由来膵外分泌細胞を使用した、チオプリン製剤誘発性膵炎に関する研究

内 容

海外共同研究への動機

新型コロナウイルス感染症の影響で、基礎研究を行う機会を失ったため、「信州大学医学部海外実習・研修等派遣プログラム 2023 年秋・クリニカルクラークシップ II における海外実習(基礎研究)」を通じて基礎研究に取り組み、基礎研究への理解を深めたいと考えていました。イタリアトリエステ大学のストッコ教授の研究室では、以前から興味があった iPS 細胞を使った研究をしていると聞き、イタリアに留学することにしました。

研究室での実習について

研究室では主に研究を行うための下準備に時間を割きました。マトリゲルの調製、細胞の継代、培地の交換、iPS 細胞の分化、パレットの収集、iPS 細胞と分化させた iPS 細胞の凍結および解凍などを行いました。以下に私たちの研究の背景、方法と結果について抜粋して記載します。

背景

チオプリン製剤は免疫抑制性代謝拮抗薬であり、炎症性腸疾患(inflammatory bowel disease ;IBD)、特にクローン病に使用されます。チオプリン製剤で治療されたクローン病患者の約 5%に膵炎が発症しますが、チオプリン製剤誘発性膵炎(thiopurine induced pancreatitis ;TIP)の分子機構は未だ不明であり、臨床医がこの有害事象を予防するのに役立つ検証済みのバイオマーカーは未だありません。

患者由来の人工多能性幹細胞(induced pluripotent cells ;iPSC)は、再生医療への応用だけでなく、個々の患者や、患者から容易に入手できない種類の細胞における薬物副作用のメカニズムを研究するための非常に有用な方法としても知られています。私たちは、IBD 小

児患者由来 iPS 細胞および、それらを膵外分泌細胞に分化させた細胞を使用して、この臨床的に関連のある副作用の分子メカニズムの解明を試みました。本研究に登録された患者のコホートは小児 IBD 患者 10 人で構成されており、そのうちの 5 人は TIP を発症しており、他の 5 人はこの副作用を発症していません。

方法と結果

初めに、使用する 2 つの細胞株の多能性を確認するために、幹細胞マーカー (OCT4、SOX2、および C-MYC) の発現を real time PCR によって確認しました。全ての細胞株の多能性が 4~5 か月ごとに確認されており、他の 8 つの細胞株の多能性はすでに確認されていたため、今回は 2 つの細胞株のみを対象としました。陽性対照として多能性が既に確認されている細胞株を使用し、陰性対照として不死化肝細胞株 (immortalized human hepatic cell line ;IHH) を使用しました。結果として、OCT4 および SOX2 の存在が 2 つの iPS 細胞株と陽性対照に確認されました。これら 2 つのマーカーは陰性対照には確認されませんでした。C-MYC の存在が、2 つの iPS 細胞株、陽性対照、陰性対照に確認されました。これは、C-MYC が幹細胞マーカーであると同時に癌原遺伝子であり、陰性対照として使用された IHH 細胞株が腫瘍の特徴を持つ不死化細胞株であるためです。以上のことから、分析した 2 つの細胞株の多能性を確認することが出来ました。以前、研究室で行われた RNA シーケンスで、カテコール-O-メチル基転移酵素 (catechol-O-methyltransferase ;COMT) の発現が TIP 発症の IBD 小児患者由来の膵外分泌細胞 (以下、TIP 由来外分泌膵細胞) と TIP 未発症の IBD 小児患者由来の膵外分泌細胞 (以下、非 TIP 由来外分泌膵細胞) 間では、TIP 由来外分泌膵細胞で有意に高いことが判明しました。COMT はカテコール、特にドーパミンの分解に重要な役割を果たす酵素であり、ドーパミンが急性膵炎に対して保護的な役割を果たす可能性があるという報告があったため、私たちはドーパミン作動系が TIP に関係しているのではないかと推測しました。この点に関して、全ての TIP 由来外分泌膵細胞および非 TIP iPSC 由来外分泌膵細胞の COMT の遺伝子発現を real time PCR によって分析しました。結果として、TIP 由来外分泌膵細胞と非 TIP iPSC 由来外分泌膵細胞間においては、TIP 由来外分泌膵細胞で COMT の遺伝子発現が有意に高いこと ($p=0.0061$, t 検定) が確認されました。この結果は、ドーパミンが TIP に対して保護的な役割を果たす可能性を示しています。

研究室での交流について

研究室では挨拶が大事にされていました。朝に Buongiorno (おはよう) と挨拶をすることは勿論のことながら、ラボメイトが研究室のみんなに Ciao (さようなら) と挨拶してから帰ることが印象的でした。研究室では、家からお弁当を持ってきて、ランチをみんなで食べていました。研究室に新たなラボメイトが増えると、ランチにピザを注文しました。また、大学院の卒業など、誰かが記念すべき日を迎えると、その人がワインや料理を

持ってきて一緒に祝う文化もありました。ランチ後には、研究室や、時には太陽の下で一緒にコーヒーを飲みました。このような時間を通じて、ラボメイトと仲良くなることができたと感じております。研究室に滞在する期間が限られているにも関わらず、私たちと一緒に過ごすラボメイトとして受け入れてくれた、彼らの寛容さに感謝しています。

プログラムで得たもの

3ヶ月間基礎研究に携わり、基礎研究への理解が深まったと同時に、医学をより論理的に考えられるようになったと感じています。今回の留学では、日本人と異なる価値観を持つ人々と交流し、日本での当たり前が海外での当たり前ではないことを実感しました。そのため、日本の常識にとらわれず、自分が将来何をしたいのかを考え直す機会を得られたと感じています。留学前は医師になることに漠然とした不安を感じていましたが、留学から帰ってきてからは自分の心がワクワクすることを大切に、自分がなりたい医師像を目指していけばいいと思えるようになりました。また、様々な国を訪れ、日本を他国との比較の中で見られるようになりました。日本経済の衰退と近隣諸国の発展を肌身で感じることもありましたが、日本の短所と長所を理解し、各々が各々の持ち場をより良くしていくことで、明るい未来が待っているのではないかと希望を持てるようにもなりました。奨学金の支援をいただいたバイオメディカルセンターを始め、本当に多くの方々に支えしてもらったおかげで、貴重な経験をすることが出来ました。この場を借りて、皆様に感謝申し上げます。

