

雲南懇話会

日 時 2018年9月29日(土) 13時00分～17時00分。

場 所 東京慈恵会医科大学/ 高木2号館地下1階「南講堂」(東京・新橋)

低酸素症／低体温症／熱中症の 分子メカニズムから考える癌予防

— 還暦誕生祝いに登った 劔岳チンネ左稜線 —

国際山岳医、JAC東海支部技術向上委員会委員
至学館大学栄養科学科教授 三 浦 裕

一つの細胞に二つの代謝系がある（嫌氣的・好氣的）



Louis Pasteur 1822– 1895
「近代細菌学の開祖」

パスツール・ポイント

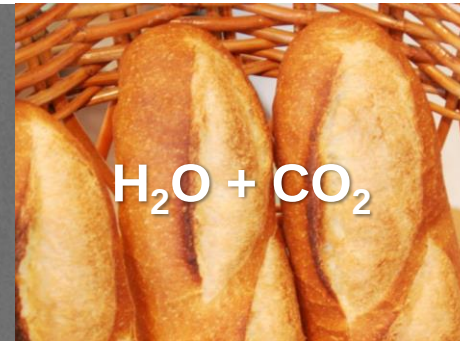
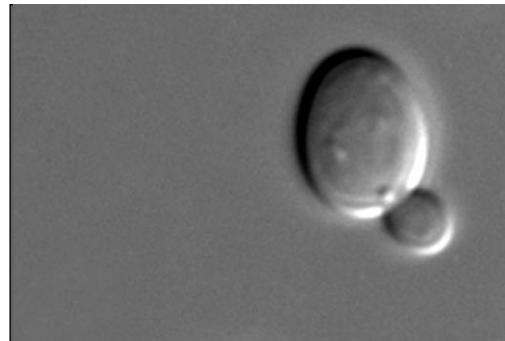


嫌氣的代謝



Lactobacillus

酸素分圧 (気圧)
 10^0
 10^{-1}
 10^{-2}
 10^{-3}
 10^{-4}
 10^{-5}
 10^{-13}

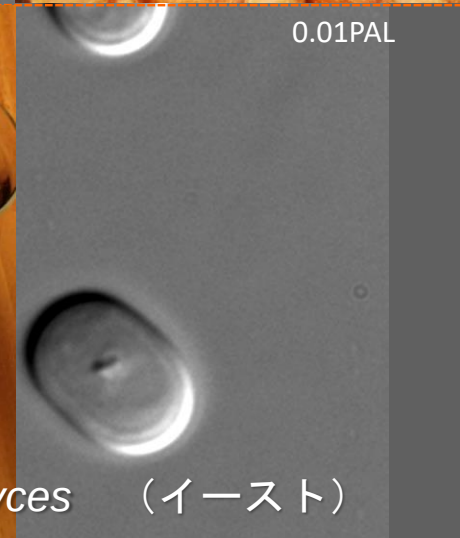


0.21PAL

好氣的代謝



Saccaromyces (イースト)

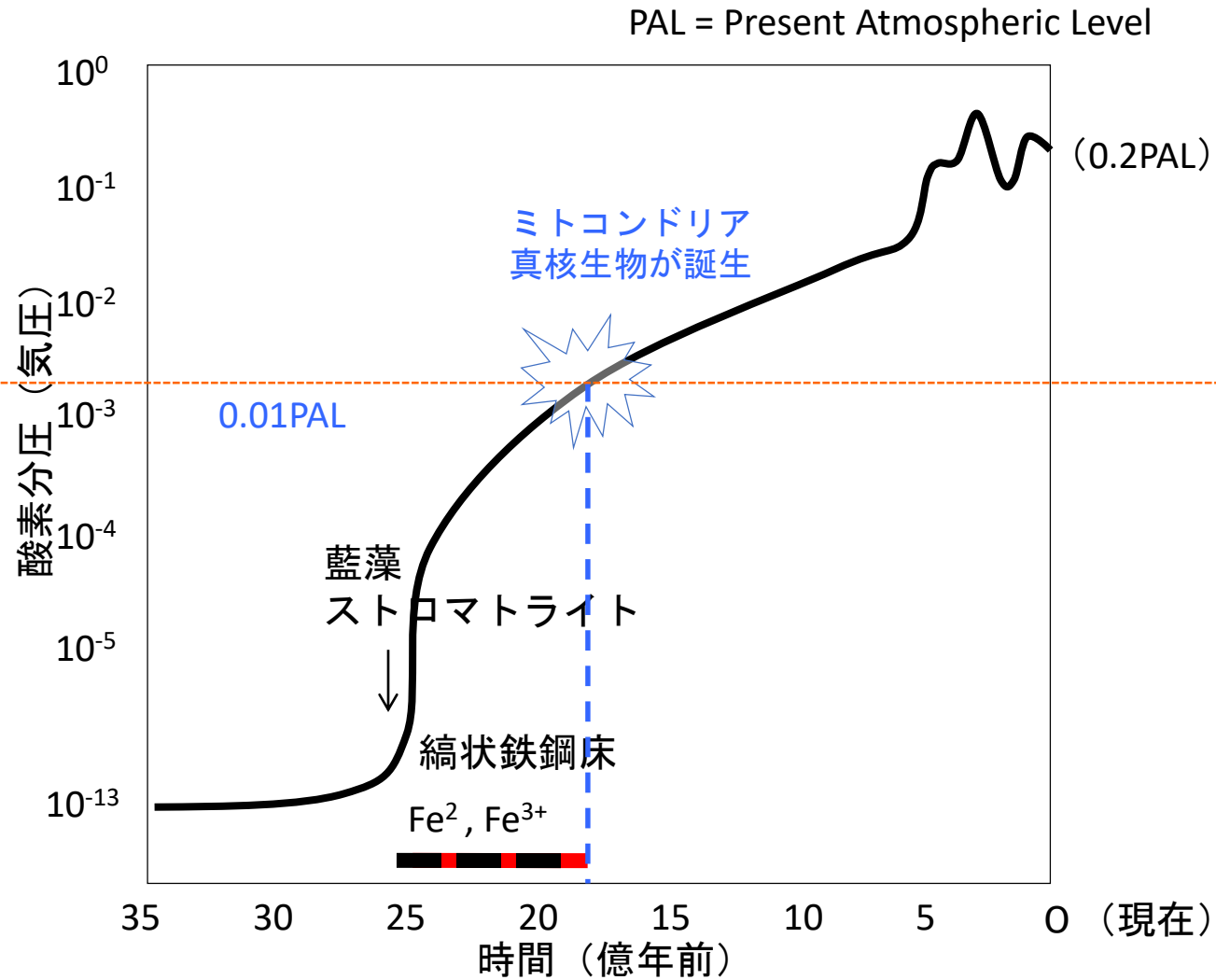


0.01PAL

Saccaromyces (イースト：ミトコンドリアを持つ真核細胞) は21%酸素PAL (Present Atmospheric Level)の1/100の酸素分圧の境に、酸素呼吸から嫌気呼吸に転換する。発見者にちなんでこの酸素分圧をパスツール・ポイントと称する。

低酸素センサーの予言をしている。

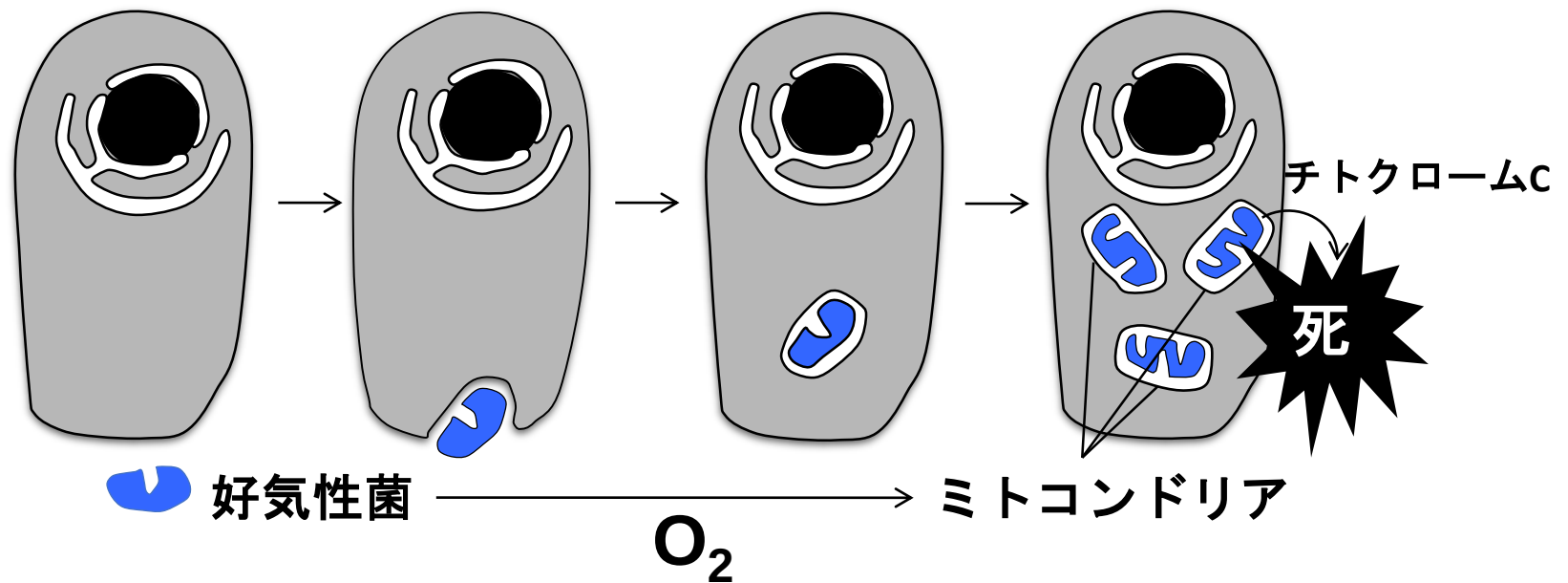
15億年前にミトコンドリアを持つ真核生物が誕生した



一つの細胞に二つの代謝系がある（嫌氣的・好氣的）

ミトコンドリアを持つのメリット
ミトコンドリアを持つのデメリット

嫌氣的代謝 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2 \text{ADP} + 2 \text{phosphate} \rightarrow 2 \text{lactic acid} + 2 \text{ATP}$



$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{O}_2 + 38 \text{ADP} + 38 \text{phosphate} \rightarrow 6 \text{CO}_2 + 6 \text{H}_2\text{O} + 38 \text{ATP}$

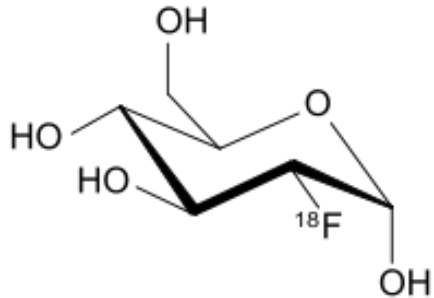
Warburg effect

Otto Heinrich Warburg
1883 –1970

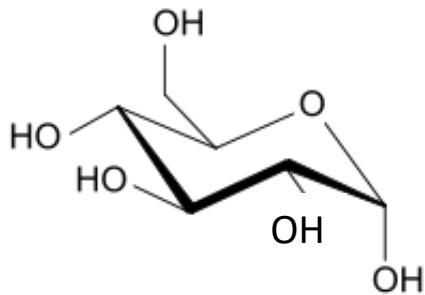


**Nobel Prize in
Physiology or Medicine (1931)**

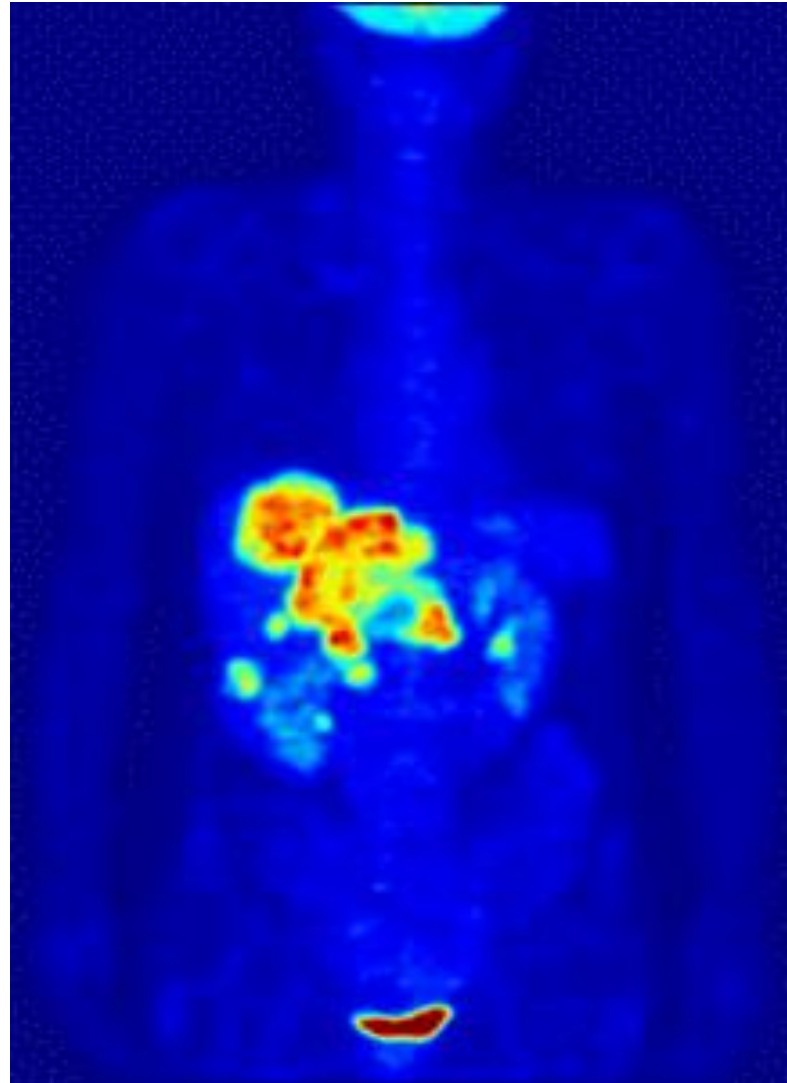
ワールブルクはドイツの生まれの生理学者。カイザー・ヴィルヘルム研究所で（現在のマックス・プランク生物学研究所）の局長。癌細胞の呼吸代謝系の研究で、1931年にノーベル賞を受賞した。彼は低酸素濃度下において腫瘍が発達することを最初の実証した。助手にクレブスが居た。「TCAサイクル＝クレブス回路」の発見者で1953年にノーベル賞受賞。



Fluorodeoxyglucose
 ^{18}F -FDG



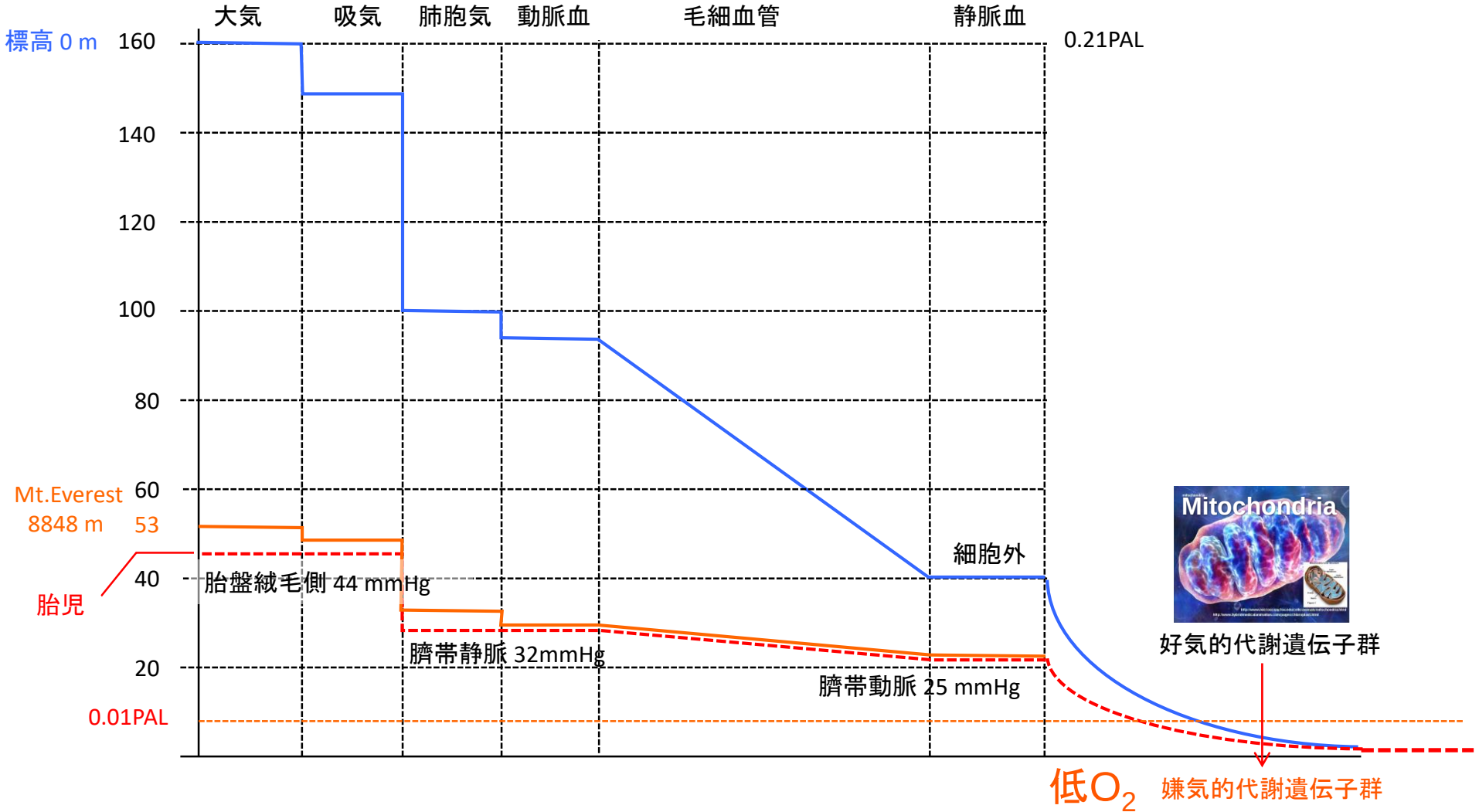
D-Glucose



胎児はエベレスト山頂の低酸素で育つ

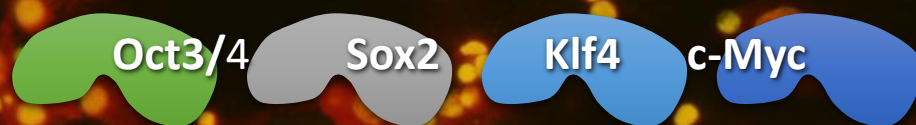
大気圧 $760 \times 0.21 = 160$

PAL = Present Atmospheric Level



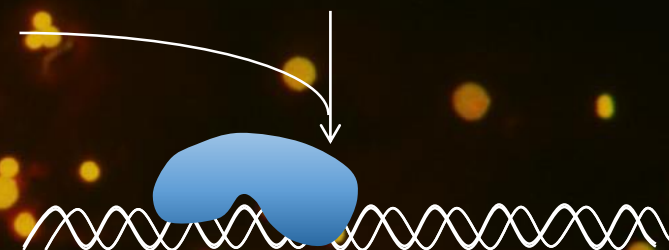
Warburg effect: 癌・増殖系細胞

転写因子が標的を選ぶ



Chromosomes

20,000種類の遺伝子



転写



翻訳

タンパク質

分化



脱分化 iPS細胞

転写因子が標的を選ぶ

4つの転写因子がiPS細胞を誘導する

Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors

Kazutoshi Takahashi^{1,2,3,4,*} and Shinya Yamanaka^{1,2,3,4,*}

¹Department of Stem Cell Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan

²CREST, Japan Science and Technology Agency, Kawaguchi 332-0012, Japan

³Gladstone Institute of Cardiovascular Disease, San Francisco, CA 94158, USA

⁴Institute for Integrated Cell-Material Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan

*Correspondence: yamanaka@frontier.kyoto-u.ac.jp

DOI 10.1016/j.cell.2007.11.019

SUMMARY

Successful reprogramming of differentiated human somatic cells into a pluripotent state would allow creation of patient- and disease-specific stem cells. We previously reported generation of induced pluripotent stem (iPS) cells, capable of germline transmission, from mouse somatic cells by transduction of four defined transcription factors. Here, we demonstrate the generation of iPS cells from adult human dermal fibroblasts with the same four factors: Oct3/4, Sox2, Klf4, and c-Myc. Human iPS cells were similar to human embryonic stem (ES) cells in morphology, proliferation, surface antigens, gene expression, epigenetic status of pluripotent cell-specific genes, and telomerase activity. Furthermore, these cells could differentiate into cell types of the three germ layers in vitro and in teratomas. These findings demonstrate that iPS cells can be generated from adult human fibroblasts.

issues is to induce pluripotent status in somatic cells by direct reprogramming (Yamanaka, 2007).

We showed that induced pluripotent stem (iPS) cells can be generated from mouse embryonic fibroblasts (MEF) and adult mouse tail-tip fibroblasts by the retrovirus-mediated transfection of four transcription factors, namely Oct3/4, Sox2, c-Myc, and Klf4 (Takahashi and Yamanaka, 2006). Mouse iPS cells are indistinguishable from ES cells in morphology, proliferation, gene expression, and teratoma formation. Furthermore, when transplanted into blastocysts, mouse iPS cells can give rise to adult chimeras, which are competent for germline transmission (Maherali et al., 2007; Okita et al., 2007; Wernig et al., 2007). These results are proof of principle that pluripotent stem cells can be generated from somatic cells by the combination of a small number of factors.

In the current study, we sought to generate iPS cells from adult human somatic cells by optimizing retroviral transduction in human fibroblasts and subsequent culture conditions. These efforts have enabled us to generate iPS cells from adult human dermal fibroblasts and other human somatic cells, which are comparable to human ES cells in their differentiation potential in vitro and in teratomas.

Shinya Yamanaka

1967 –



Nobel Prize in
Physiology or Medicine (2012)

基礎研究を諦め、研究医より給料の良い整形外科医へ戻ろうと半ば決意した中、科学雑誌で見つけた奈良先端科学技術大学院大学の公募に「どうせだめだろうから、研究職を辞めるきっかけのために。」と考え、応募したところ、採用に至り、アメリカ時代と似た研究環境の中で再び基礎研究を再開した。

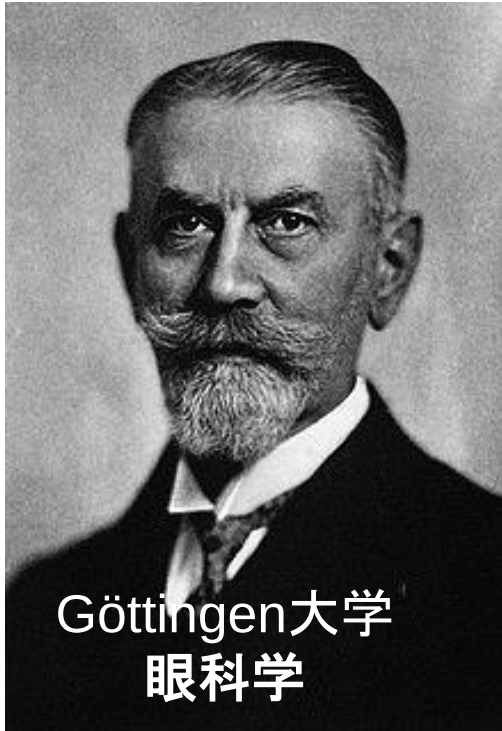
二つの代謝系（嫌氣的・好氣的）

切り替えスイッチが故障した疾患…

Von Hippel-Lindau病

Eugen von Hippel

1867 - 1939



Göttingen大学
眼科学

1904 angiomatosis retinae

Arvid Vilhelm Lindau

1892 - 1958



Arvid Vilhelm Lindau
(23 July 1892 - 1958)

John Forssman
(1868-1947)

Lund大学 病理学

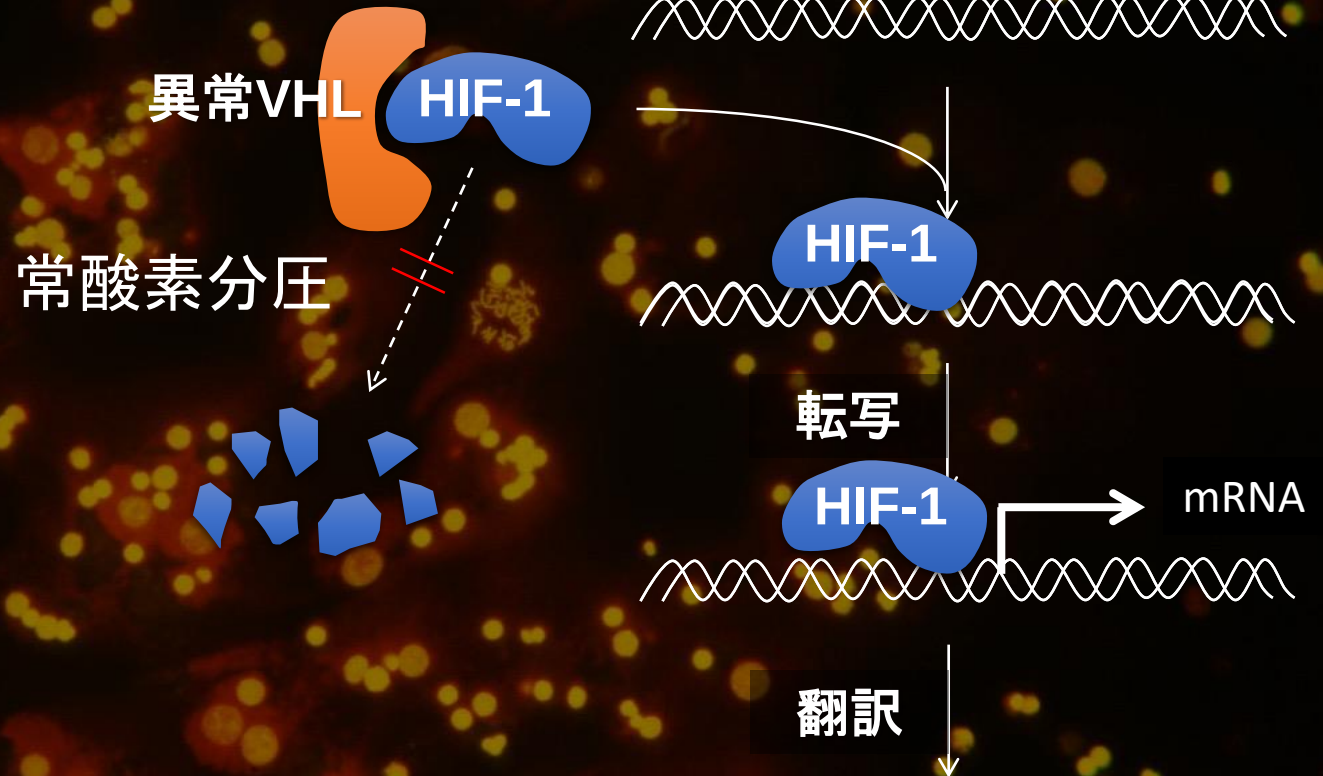


1926 association with
hemangioblastomas of the cerebellum

Von Hippel-Lindau病

Chromosomes

20,000種類の遺伝子

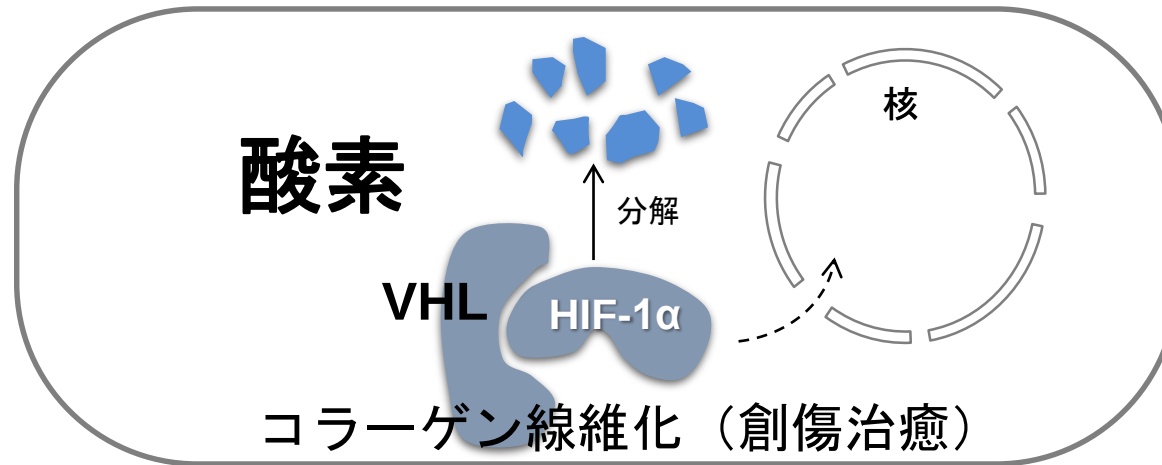


主な症状：
網膜の血管腫、脳や脊髄の血管腫。

低酸素防御反応

VEGF(血管内皮細胞増殖因子)

未熟児の出生：救命救急でO₂投与！



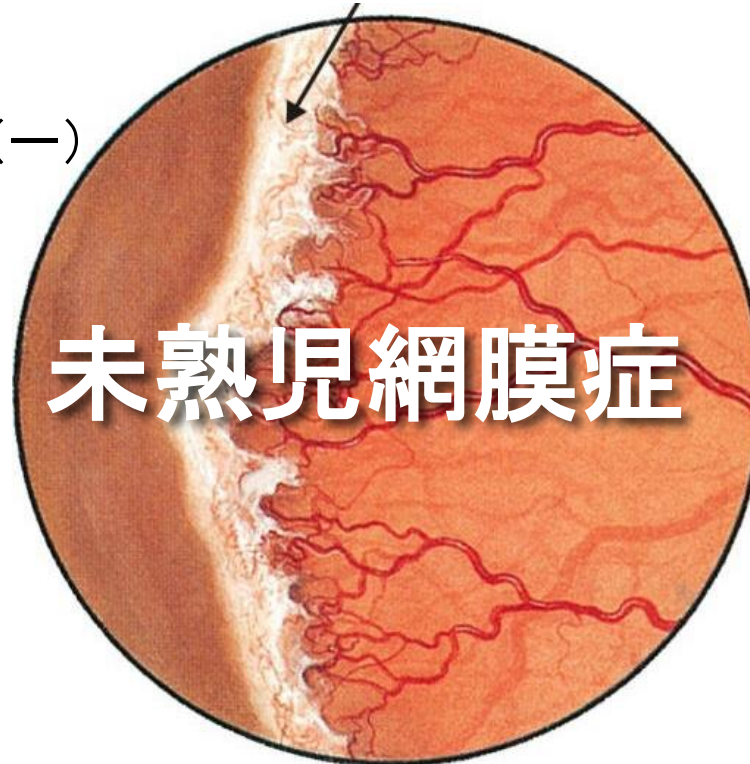
未熟児新生血管（一）



血管増殖停止

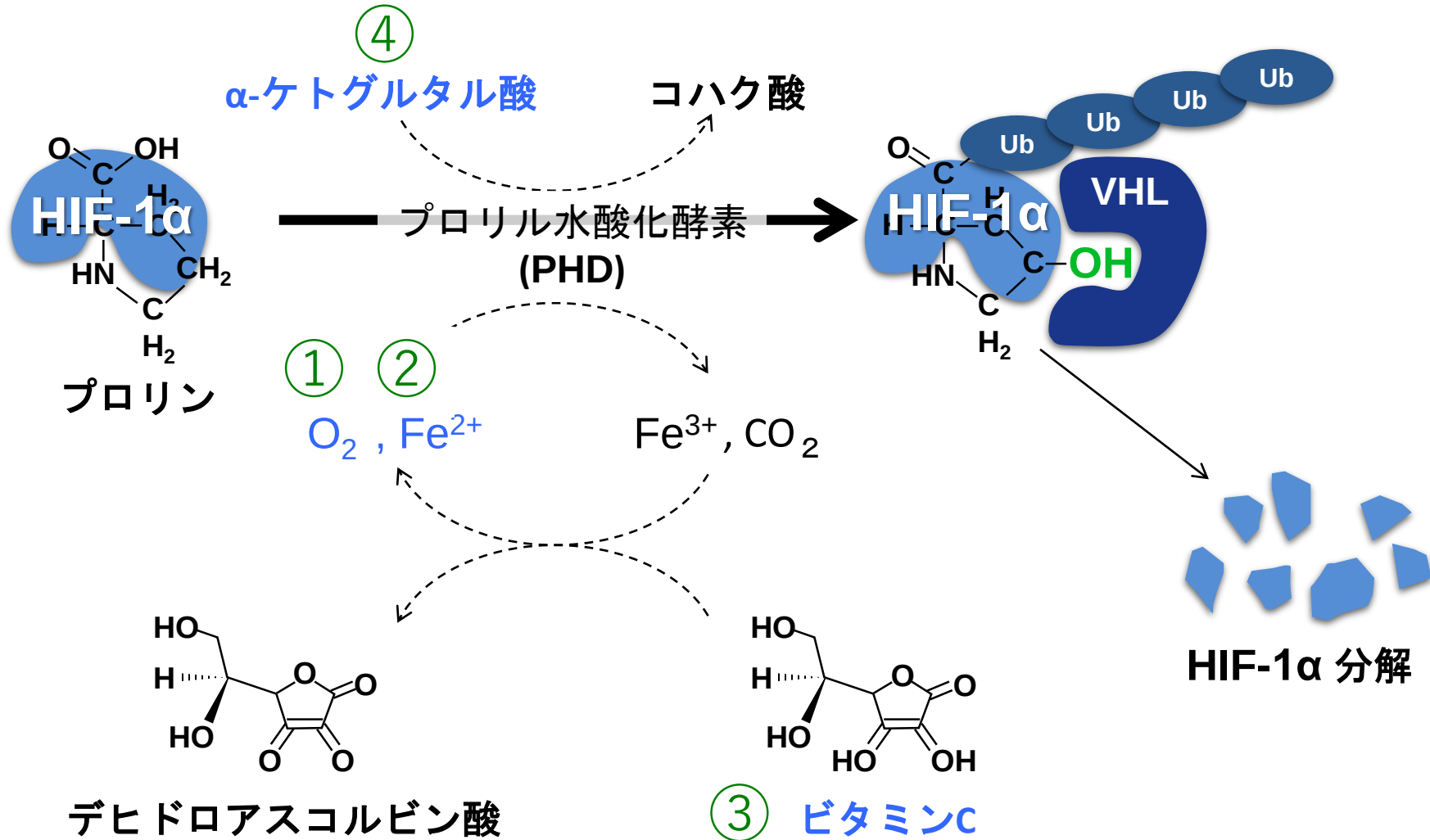


未熟児網膜症

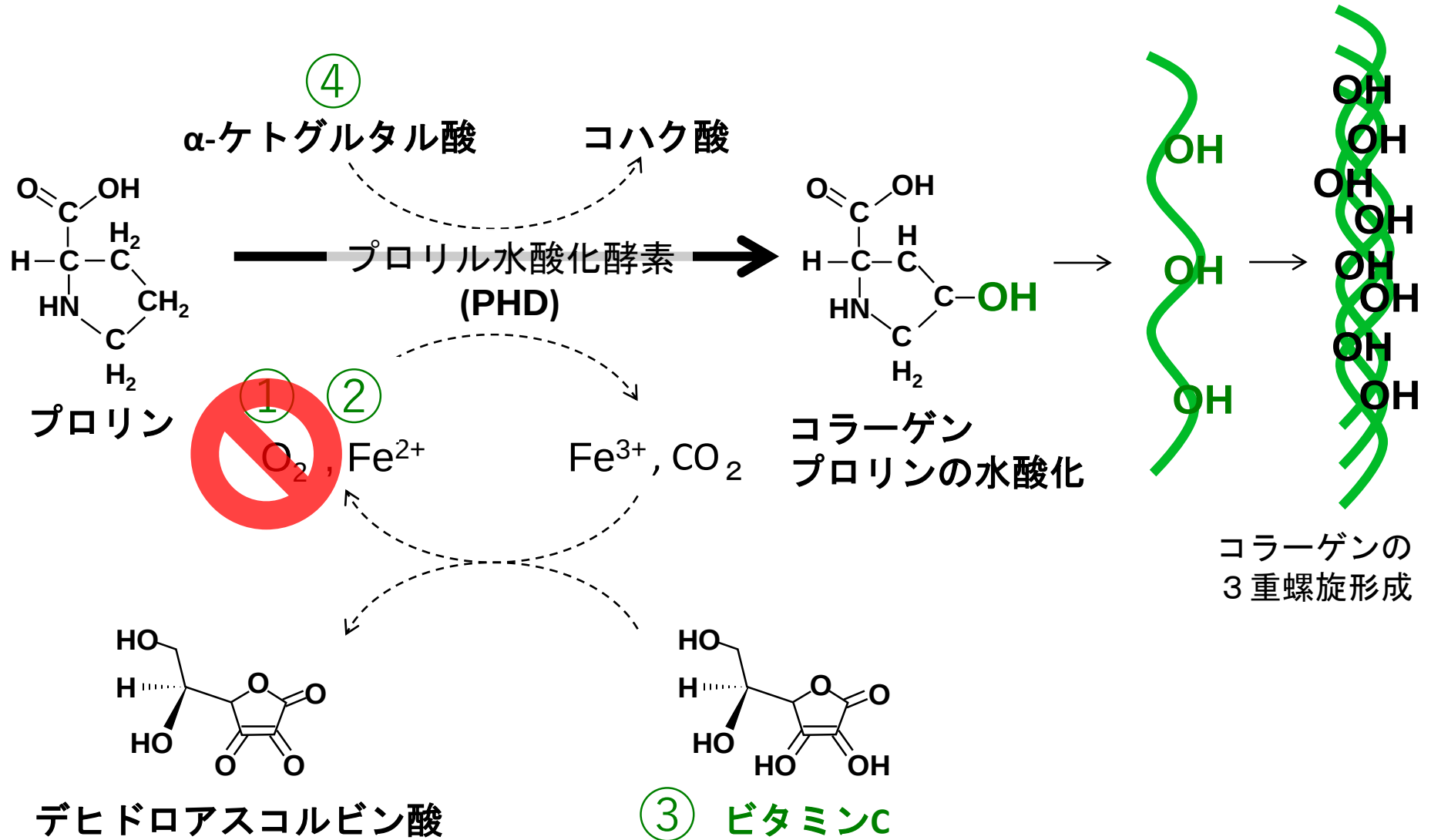


PDHによるプロリン残基の水酸化

HIF-1 α が酸素上昇で分解される生化学反応の本質は？



低酸素で壊血病症状が起こる



MELAS (ミトコンドリア脳筋症)

Mitochondrial myopathy, encephalopathy. Lactic acidosis and stroke-like episodes

	慢性進行性外眼筋麻痺 (CPEO)	MELAS	MERRF
イメージ			
原因	mtDNAの一部欠失 (p.382)	mt-tRNAの点変異 (p.382)	
		(80%はロイシンtRNAの3243番目A→G変異)	(90%はリジンtRNAの8344番目A→G変異)
遺伝形式	ほとんどが孤発例	母系遺伝	
好発時期	10～20歳	5～15歳	小児～60歳代 (半数以上は小児期)
共通症状・所見	- 知能低下 - 感音性難聴 - 低身長 - 筋力低下 - 易疲労性 - 血中・髄液中の乳酸↑, ピルビン酸↑, 乳酸/ピルビン酸比 (L/P比) ↑		
特徴的な症状	- 眼瞼下垂 - 外眼筋麻痺 - 網膜色素変性症 - 心伝導障害 この三徴を合併したものを、Kearns-Sayre症候群 (KSS) という。	- 脳卒中様発作 (頭痛, 嘔吐, けいれん, 意識障害, 一過性の片麻痺・視力障害) - 糖尿病	- ミオクローヌス - けいれん - 小脳失調
特徴的な検査所見	髄液蛋白 ↑	- 脳波: 焦点性周期性てんかん型放電 - 筋生検: コハク酸脱水素酵素染色による血管平滑筋の濃染 (SSV) - 頭部CT, MRI: 後頭部優位の脳梗塞類似病変 (血管支配領域に一致しない)	- 脳波: 焦点性 or 多焦点性の発作波 - 頭部CT, MRI: 脳萎縮, 脳幹や基底核部の異常
治療	根本的な治療薬はないが, ビタミン剤, コエンザイムQ, L-アルギニン, ピルビン酸などが使用されている。		

ライ症候群 (Reye's syndrome)

症状：インフルエンザや水痘などの感染後、特にサリチル酸系製剤を服用している小児に、急性脳症、肝臓の脂肪浸潤をきたす。ウイルス感染症の症状に続いて激しい吐き気、嘔吐、錯乱、反応の鈍化がみられる、ときに昏睡に至る。

発生機序：サリチル酸系製剤は、高アンモニア血症、肝機能異常、低血糖、血液凝固異常などを特徴とするライ症候群の原因となる。サリチル酸はミトコンドリアを膨化させ、代謝機能不全を来たすことによりライ症候群を引き起こす。ジクロフェナクナトリウムおよびメフェナム酸はインフルエンザ脳症の予後を悪化させる。ジクロフェナクナトリウムはシクロオキシゲナーゼの活性を阻害することや炎症性サイトカイン産生を助長することなどによる[血管内皮細胞障害が原因](#)と考えられている（厚生労働省 重篤副作用疾患別対応マニュアル 資料1-3）

Kakita H, Aoyama M, Hussein MH, Kato S, Suzuki S, Ito T, Togari H, Asai K. Diclofenac enhances proinflammatory cytokine-induced nitric oxide production through NF- κ B signaling in cultured astrocytes. Toxicol Appl Pharmacol 2009; 238: 56-63.

血管内皮細胞障害が原因

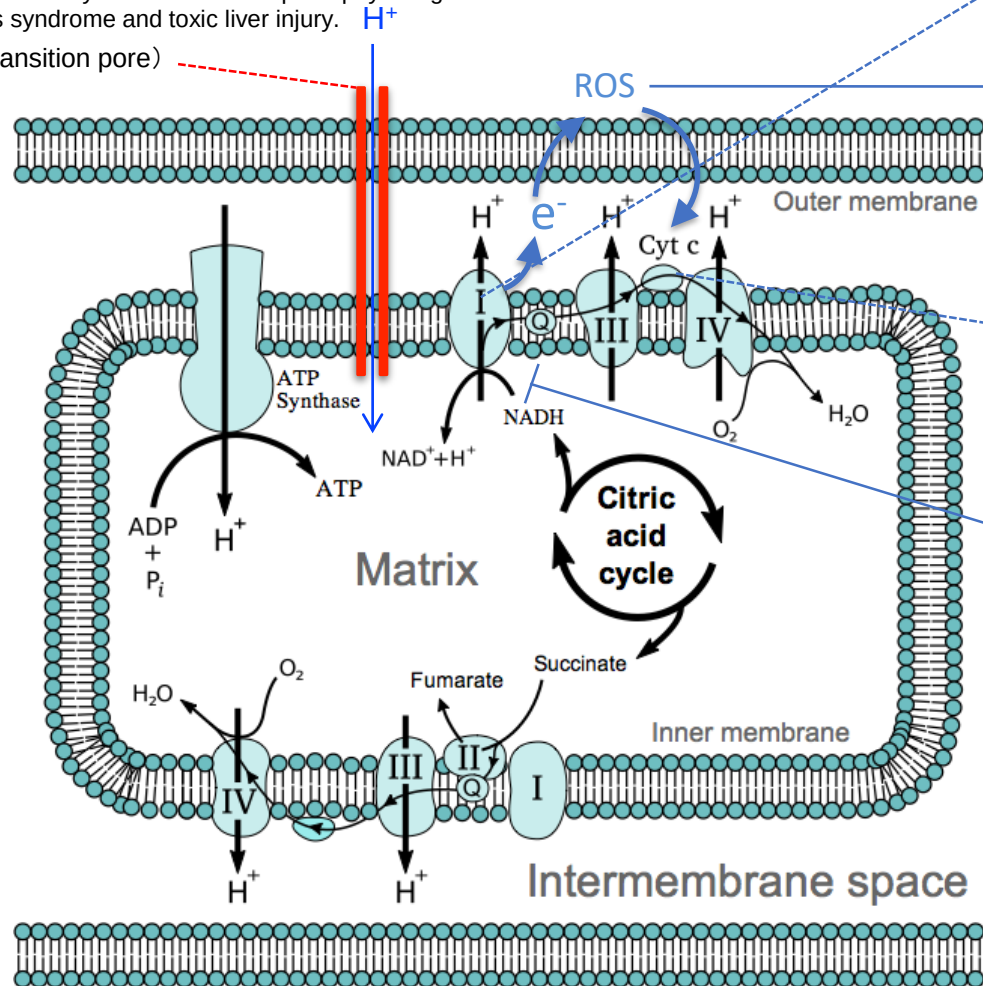
ライ症候群 (Reye's syndrome) の背景

アスピリンは、肝臓でサリチル酸になる。
サリチル酸はミトコンドリアのPTPを開口させ、
膜電位を低下させ、呼吸鎖でのATP生成を低下させる。

J Pharmacol Exp Ther. 1996 Sep;278(3):1000-15.

The mitochondrial permeability transition: a new pathophysiological mechanism for Reye's syndrome and toxic liver injury.

PTP (permeability transition pore)



40種類以上ある複合Iを構成するサブユニットの1つを電子漏出の場所として同定した。Herrero A, Barja G. Localization of the site of oxygen radical generation inside the complex I of heart and nonsynaptic brain mammalian mitochondria.

J Bioenerg Biomembr. 2000 Dec;32(6):609-615.

Free radicalは単に損傷や破壊の原因になるだけでなく、ニーズに合わせて呼吸を微調整し呼吸の不具合を核に知らせるとい重要な役割を演じている。

Nature Chemical Biology 1, 223 - 232 (2005)

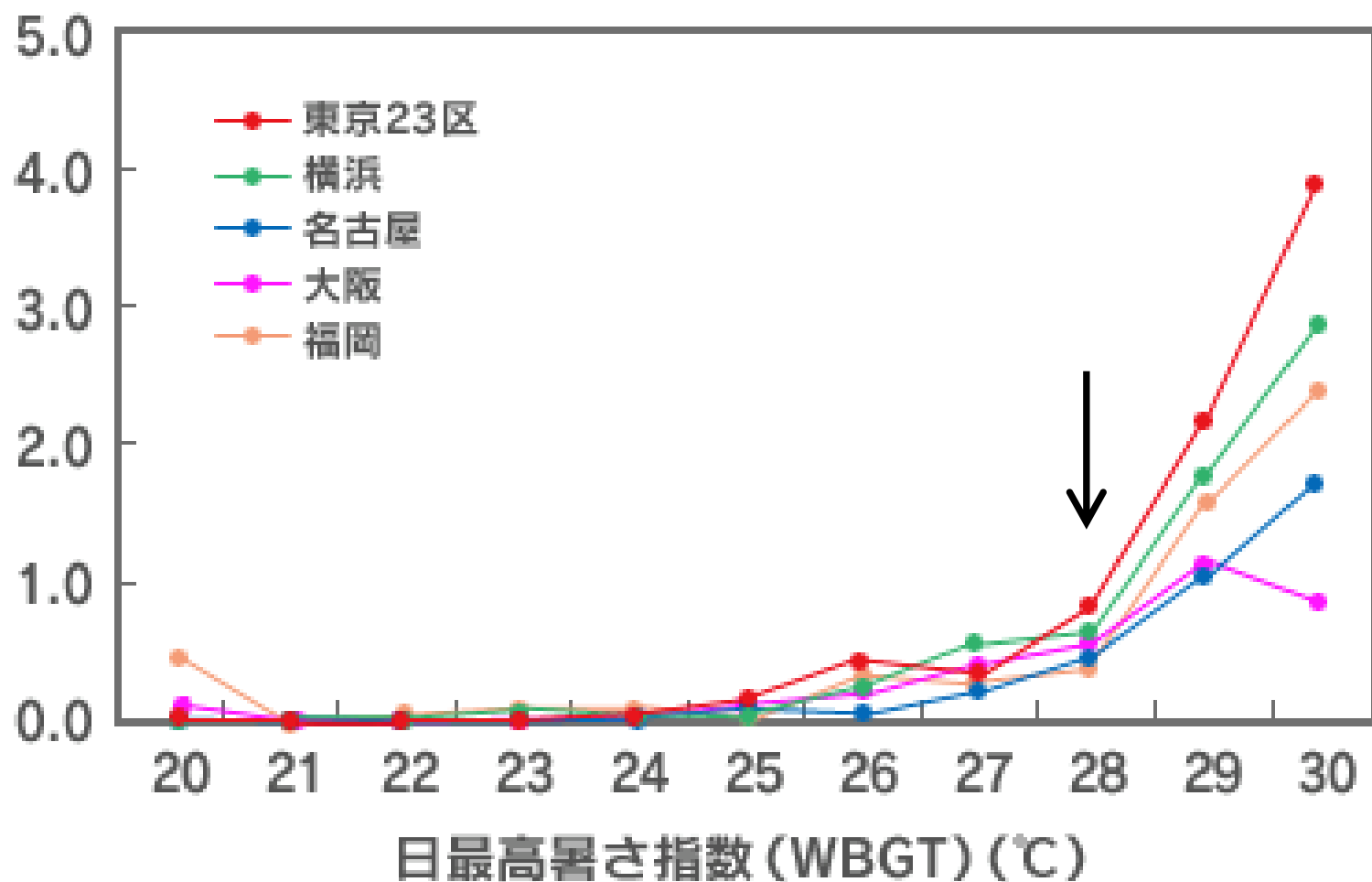
Cytochrome c acts as a cardiolipin oxygenase required for release of proapoptotic factors

Pentobarbital sodiumはNADH dehydrogenase(complex I) 4の可逆的阻害剤である
Barbiturates Induce Mitochondrial Depolarization and Potentiate Excitotoxic Neuronal Death

Journal of Neuroscience,
November 1, 2002, 22(21):9203-9209

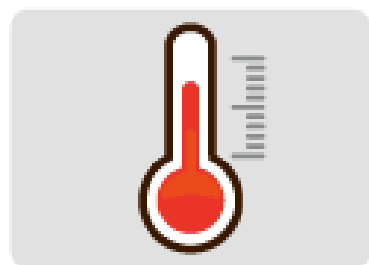
Nick Lane; Power, Sex, Suicide Epilogue
2012 March 15 by Yutaka Miura

熱中症患者発生率
(／日／100万人)



暑さ指数
(WBGT)

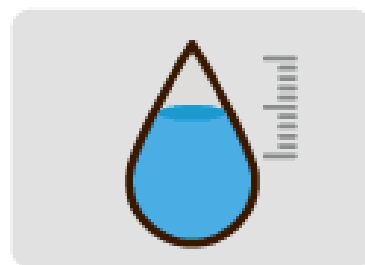
=



1

気温の効果

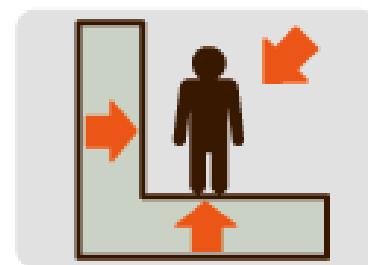
:



7

湿度の効果

:



2

輻射熱の効果



原材料

果汁（グレープフルーツ、レモン）、果糖、食塩、はちみつ、シークワサーピール、うんしゅうみかん、ドライトマトエキス、香料

成分・特性

エネルギー（100mlあたり）	20kcal
たんぱく質（100mlあたり）	0g
脂質（100mlあたり）	0g
炭水化物（100mlあたり）	4.9g
ナトリウム（100mlあたり）	40mg
カリウム（100mlあたり）	7mg
カルシウム（100mlあたり）	0.1～1.0mg
マグネシウム（100mlあたり）	0.1～1.0mg
アミノ酸（100mlあたり）	3～15mg
ぶどう糖（100mlあたり）	160mg
クエン酸（100mlあたり）	80mg
リン（100mlあたり）	1mg未満



オレンジジュース

エネルギー（100mlあたり）	10kcal	42kcal
たんぱく質（100mlあたり）	0g	
脂質（100mlあたり）	0g	
炭水化物（100mlあたり）	2.5g	
ナトリウム（100mlあたり）	115mg	1mg
カリウム（100mlあたり）	78mg	9mg
カルシウム（100mlあたり）	-	
マグネシウム（100mlあたり）	2.4mg	
アミノ酸（100mlあたり）	-	
ぶどう糖（100mlあたり）	1800mg	
クエン酸（100mlあたり）	-	
リン（100mlあたり）	6.2mg	

水中毒

水中毒（water intoxication）とは、過剰の水分摂取によって生じる中毒症状であり、具体的には低ナトリウム血症やけいれんを生じ、重症では死亡に至る。人間の腎臓が持つ最大の利尿速度は、毎分16mlであるため、これを超える速度で水分を摂取すると、体内の水分過剰で細胞が膨化し、希釈性低ナトリウム血症を引き起こす水中毒に陥る。

$16 \times 60 = 960 \text{ ml/時間}$

Hyponatremia among Runners in the Boston Marathon.

N Engl J Med 2005; 352 : 1550-6

熱不安定性CPT2遺伝子多型のアミノ酸変異

日本救急医学会雑誌 JJAAM 2011; 22:350-351

研究速報

熱中症の新しいリスクファクターとしての 熱不安定性フェノタイプ症

1. 東京医科大学救急医学
2. 徳島大学医学部疾患酵素研究センター

織田 順¹ 行岡 哲男¹ 木戸 博² 東 一成¹
太田 祥一¹ Min Yao² 千田 淳司²

背 景

熱中症は時に致死的な転帰をとる。2003年、フランスで多数の死者が発生した¹ことは記憶に新しい。本邦でも近年、熱中症による救急搬送事例が多数発生したことから社会問題化し、日本救急医学会の熱中症に関する委員会により、初めての全国規模の実態調査が行われた²。熱中症は炎天下、あるいは高温環境下において、熱が直接物理的に、あるいは脱水を介して細胞機能を傷害する外因性疾患と考えられてきた。

安定性フェノタイプ症を呈する遺伝子多型と密接に関連していることが発見された^{3,4}。CPT IIの遺伝子多型を伴うインフルエンザ患者では、高熱に伴ってミトコンドリアのATP供給不全を来し、脳症その他の臓器不全を生じるというものである。CPT IIの熱不安定性フェノタイプ症と重症度との間に明らかな相関が指摘されている。我々は、高温環境下における熱中症発症の一部に、上記の遺伝子多型が関わっている可能性があると考え解析を行った。

方 法

熱不安定性CPT2遺伝子多型のアミノ酸変異

FEBS Letters **579** (2005) 2040–2044

Thermolabile phenotype of carnitine palmitoyltransferase II variations as a predisposing factor for influenza-associated encephalopathy

Y. Chen^a, H. Mizuguchi^b, D. Yao^a, M. Ide^a, Y. Kuroda^c, Y. Shigematsu^d, S. Yamaguchi^e,
M. Yamaguchi^a, M. Kinoshita^b, H. Kido^{a,*}

^a Division of Enzyme Chemistry, Institute for Enzyme Research, The University of Tokushima, Tokushima 770-8503, Japan

^b NBC Gene Analysis Center, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Tokushima 771-0195, Japan

^c Department of Pediatrics, School of Medicine, The University of Tokushima, Tokushima 770-8503, Japan

^d Department of Health Science, School of Nursing, Fukui Medical University, Fukui 910-1193, Japan

^e Department of Pediatrics, School of Medicine, Shimane University, Shimane 693-8501, Japan

Received 21 November 2004; revised 5 February 2005; accepted 21 February 2005

Available online 10 March 2005

Edited by Judit Ovádi

Abstract To assess the etiology of influenza-associated encephalopathy (IAE), a surveillance effort was conducted during 2000–2003 in South-West Japan. All fatal and handicapped patients except one (4/34 patients) exhibited a disorder of mitochondrial β -oxidation evoked by the inactivated carnitine palmitoyltransferase II (CPT II) with transiently elevated serum acylcarnitine ratios ($C_{16:0} + C_{18:1}/C_2 > 0.09$ during high-grade fever. Analyses of genotypes and allele compositions of CPT II revealed a thermolabile phenotype of compound heterozygotes for [1055T > G/F352C] and [1102G > A/V368I], which shows a higher frequency in IAE patients than healthy volunteers ($P < 0.025$). The thermolabile phenotype of CPT II variations may be a principal genetic background of IAE in Japanese. © 2005 Federation of European Biochemical Societies. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Carnitine palmitoyltransferase II; DNA sequence variation; Influenza-associated encephalopathy; Thermal inactivation

1. Introduction

backgrounds of enzymes in the long-chain fatty acid metabolism. In the present study, we report thermolabile carnitine palmitoyltransferase II (CPT II) variation, predominantly found in Japanese IAE children, and discuss the etiology of IAE as a ‘thermolabile phenotype of polymorphic variation’.

2. Materials and methods

2.1. Patients

This investigation was approved by the ethics review committee for human genome analysis at our institution. All participants granted their written informed consent. Surveillance for IAE was conducted during the influenza seasons of 2000 through 2003 in South-West Japan, and a total of 34 patients were diagnosed as having IAE. The diagnosis of IAE was made according to the clinical signs of the disease [3]. All 34 patients had viral antigen, the abrupt onset of seizure and coma that occur within 12–48 h after beginning of a high-grade fever, although these patients did not have previous episodes. One patient (patient #21) had ingested dichlophenac sodium at the onset of fever and later died, but fatty degeneration in the liver, a typical pathological finding of Reye’s syndrome [5,6], was not observed. Thirteen IAE patients, four familial relations of patient #21 and 79 healthy volunteers agreed to undergo the genome analyses.

**血管内皮細胞の
エネルギー源は脂肪酸**

熱不安定性CPT2遺伝子多型のアミノ酸変異

- 1) 1055T>G (p.Phe352Cys) (Ref. 6,7,8)
- 2) 1102G>A (p.Val368Ile) (Ref. 6,7,8)
- 3) 1511C>T (p.Pro504Leu) (Ref. 7)
- 4) 1813G>C (p.Val605Leu) (Ref. 7)
- 5) 647A>G (p.Glu216Arg) (Ref.9)

Ref. 6: Y. Chen, H. Mizuguchi, D. Yao, M. Ide, Y. Kuroda, Y. Shigematsu, S. Yamaguchi, M. Yamaguchi, M. Kinoshita, H. Kido. 2005. Thermolabile phenotype of carnitine palmitoyltransferase II variations as a predisposing factor for influenza-associated encephalopathy. FEBS Lett. 579:2040-2044.

Ref. 7: D. Yao, H. Mizuguchi, M. Yamaguchi, H. Yamada, J. Chida, K. Shikata, H. Kido. 2008. Thermal instability of compound variants of carnitine palmitoyltransferase II and impaired mitochondrial fuel utilization in influenza-associated encephalopathy. Hum. Mutat. 29:718-727.

Ref. 8: M. Kubota, J. Chida, H. Hoshino, H. Ozawa, A. Koide, H. Kashii, A. Koyama, Y. Mizuno, A. Hoshino, M. Yamaguchi, D. Yao, M. Yao, H. Kido. 2011. Thermolabile CPT II variants and low blood ATP levels are closely related to severity of acute encephalopathy in Japanese children. Brain Dev. PMID: 21277129

Ref.9: D. Yao, M. Yao, M. Yamaguchi, J. Chida, H. Kido. 2011. Characterization of compound missense mutation and deletion of carnitine palmitoyltransferase II in a patient with adenovirus-associated encephalopathy. J. Med. Invest. 2011 58:210-218.

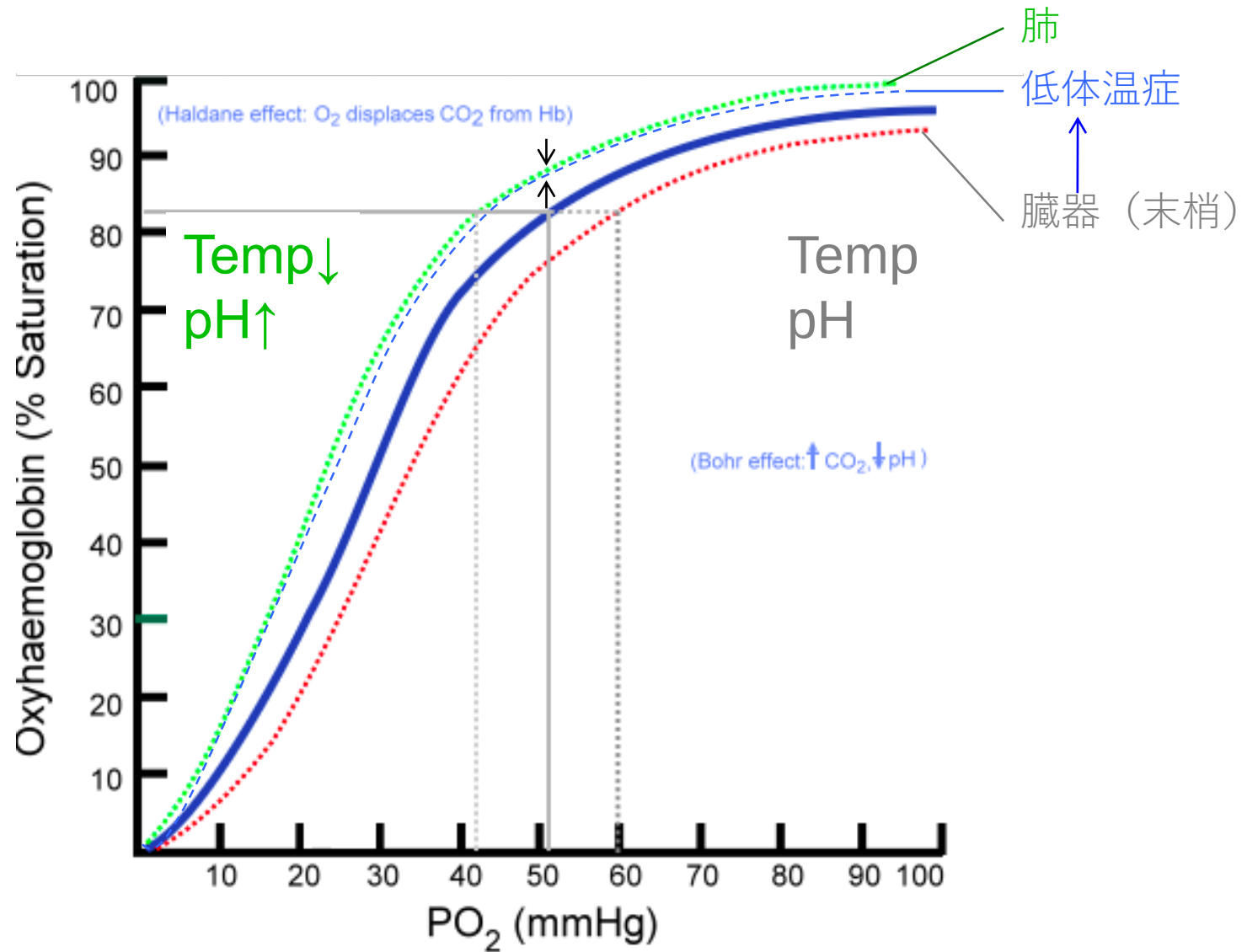
低体温症

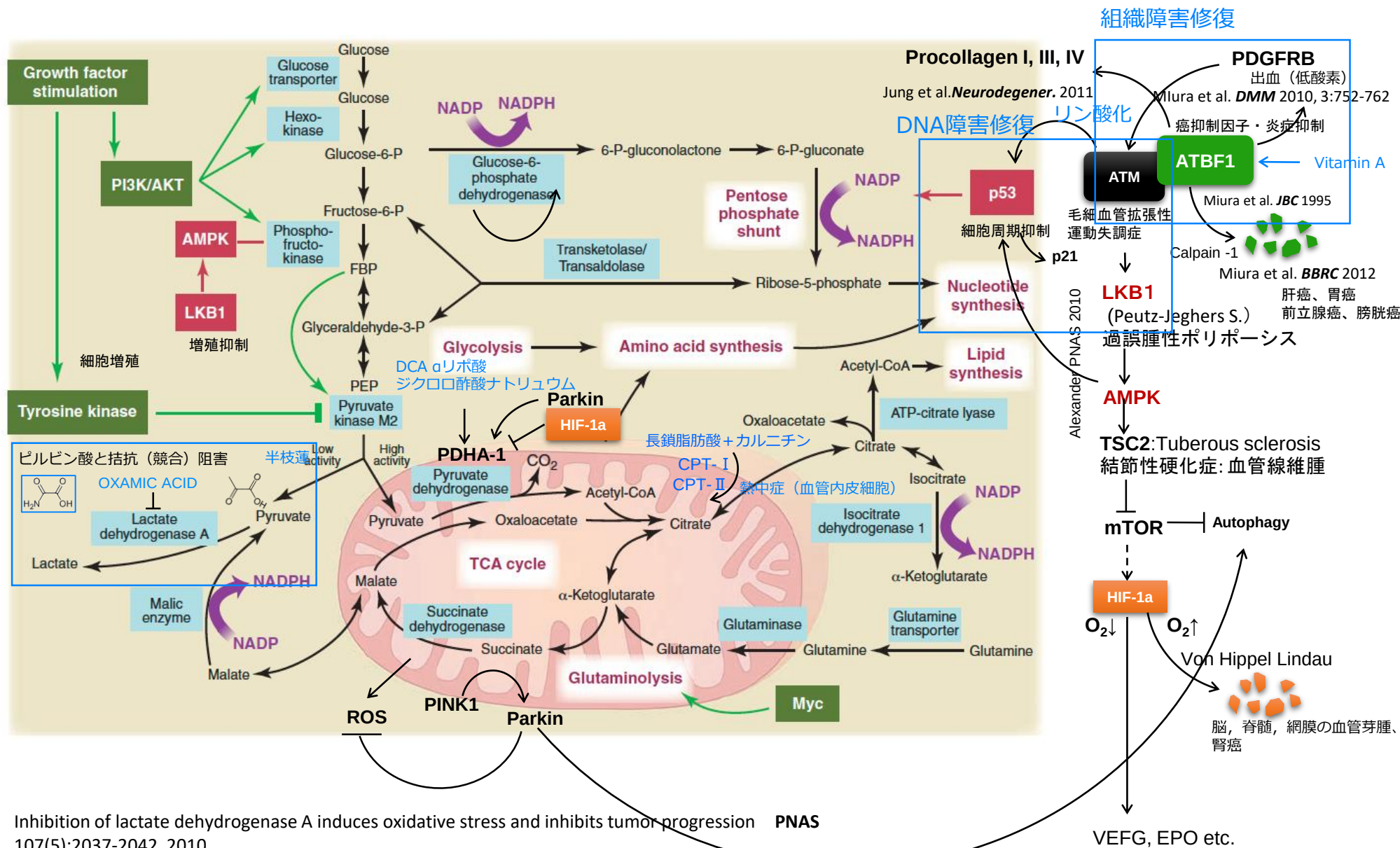
低体温下のヒト脳は 長時間の心肺蘇生法でも回復する

引き続き人工呼吸管理を行いながら、低体温療法として33℃・24時間の低体温と0.5℃/12hrの復温、その後35℃にて2日間の体温管理をした。PCPSは第2病日に離脱できた。経過中に播種性血管内凝固症候群（disseminated intravascular coagulation：DIC）や横紋筋融解症（第5病日にCK:423,200IU/L）による急性腎不全を合併し、持続濾過透析（continuous hemodiafiltration：CHDF）なども行ったが、約1ヶ月で腎機能は改善し透析療法も中止できた。本症例から心拍再開までの急速復温と、引き続き軽度低体温療法は、数時間の心肺停止を経た偶発的低体温症の成人例でも神経学的予後に有効である治療法と考えられた。体温低下様式が、スキーウェア着用のため比較的緩徐であったと推測されたにも関わらず、2時間45分に及ぶCPRにて社会復帰しえた。原因として、

- （1）患者が体格の良い成人男性であり、長時間の心臓マッサージでも適切な心拍量が維持できたこと、
- （2）受傷機転が、窒息ではなく低体温症であったこと、などが挙げられる。

低体温は窒息と同じだ！





Inhibition of lactate dehydrogenase A induces oxidative stress and inhibits tumor progression **PNAS**

107(5):2037-2042, 2010

乳酸脱水素酵素Aの阻害は酸化ストレスを増大し、腫瘍の進展を阻害する

Science. 2009 May 22; 324(5930): 1029-1033を改変

HIF-1は低酸素下において全ゲノム上で約**1,400**箇所に結合しており、その結合配列は**HRE(RCGTG)**の塩基配列、**R=A or G**と一致していた。