

# 共同研究 研究報告



# 目 次

## I 研究報告

### ①医学研究科

- 1 稀な甲状腺腫瘍の臨床病理学的ならびに分子病理学的研究 209
- 2 マラリア原虫感染における自然免疫リンパ球による造血調整機構の解明 210
- 3 マラリア原虫感染における造血系変動の組織学的解析 212
- 4 *Pregnancy-associated malaria* の病態に関わる新たな宿主因子の探索 214
- 5 ローデントマラリア原虫のマラリア薬剤耐性遺伝子の同定 216
- 6 尿酸トランスポーター変異体の機能解析 217
- 7 急性肺損傷発症機序の解明と、治療戦略の確立に向けた多角的アプローチ 218
- 8 肺神経内分泌肺癌における分化形質獲得・転移メカニズムの全容解明と治療への応用 219
- 9 腸管神経系異常マウス (Ncx KO マウス) における腸内細菌叢の解析 221
- 10 インフラマソームの構造と機能 I : ヒト野生型・疾患変異型 NLRP 3 の発現と構造解析 223
- 11 *Helicobacter pylori* 感染経路の解明のための家族分離菌株の遺伝子タイピング 224
- 12 めまい外来診療教育における診療指標の効果判定に関する研究 226

### ②医学部

- 1 関東地域に現存する湧水と雑木林に生息・生育する動植物の遺伝的変異 229
- 2 熱帯、亜熱帯種ショウジョウバエの北上と温暖化 231
- 3 日本産タケ・ササ類数種の成立に関する遺伝資源学的研究 233
- 4 プロバイオティクスによる下部消化管手術後の感染予防効果の検討 234
- 5 マイコプラズマ感染症と糖転移酵素発現の検討 235
- 6 重症薬疹におけるヘルペスウイルスの関与の解明 236
- 7 糖尿病に伴う赤血球における O-GlcNAc 修飾タンパク質の変化の解析 238
- 8 糖質ステロイド代替薬の創薬 240
- 9 かゆみを伝える末梢感覚神経の同定と機能解析 241
- 10 自閉性障害患者の syntaxin 1 A、1 B 遺伝子解析と臨床病態との関連性の検討 242
- 11 肺高血圧症における代謝・炎症解析 243
- 12 放射線被ばくや放射性核種による汚染を伴う外傷・熱傷の基礎診断と治療研究 244
- 13 染色体異常のある子どもの保育 —心疾患の影響— 245
- 14 悪性脳腫瘍に対する分子標的治療の開発に向けた分子病理学的研究 246
- 15 透析液を用いた藻類バイオマスの生産・利用に関する研究 248

16	呼吸ガス分析装置を用いた、慢性腎臓病 CKD 症例のエネルギー代謝に関する研究	249
17	慢性腎臓病のエピジェネティック異常の解明	250
18	ヒト胎児頭蓋の形成過程 - CT 画像による経時的解析と免疫組織学的観察	251
19	アリールスルファターゼ遺伝子疾患の分子機構に関する組織化学的研究	252
20	角質水分量および発汗の炎症性皮膚疾患発症への関与を明らかにする	254
21	概日リズムと免疫機能のクロストークに対する運動効果	256
22	JAK 2 遺伝子異常をもつ先天異常症候群の発症メカニズムの解明	259
23	ELKS ノックアウトマウス、及び妊娠マウスを用いたインスリン開口放出機構の解明	260
24	内在性の糖鎖認識分子およびその結合糖鎖に関する組織細胞化学的並びに糖鎖工学的	262
25	救急外来における効率的鑑別診断・トリアージ法の研究	264
26	脂肪組織由来間質細胞を用いた難治性肺動脈性肺高血圧症治療の安全性および有効性に対する研究	265
27	剖検例を用いた冠動脈プラークの平滑筋の免疫組織化学的検討	267
28	血管新生研究のための in vitro 血管ネットワークモデルの開発	268
29	経頭蓋磁気刺激による治療抵抗性うつ病の治療と治療反応性の予測因子に関する研究	269
30	腎がん臨床サンプルを用いたメタボローム解析	271
31	前立腺癌患者を対象としたワイヤレス制御マイクロ流路チップ・セルソーターを用いた 循環がん細胞の臨床応用評価	272
<b>③保健学部</b>		
1	重度心身障害児の治療的乗馬に用いる座位保持装置付き鞍の開発	275
2	LC-MS/MS による免疫抑制剤の定量法の開発	276
3	FTIR を用いた脳組織赤外吸収特性の測定	277
4	マルチプレックスアッセイを用いた季節性インフルエンザの感染合併に関する臨床的検討	278
5	皮膚消毒液が及ぼす CR-BSI 起因菌への影響についての検討	279
<b>④総合政策学部</b>		
1	北タイにおける HIV 陽性者への保健医療福祉サービス提供のあり方に関する研究	283
2	女性農民工の権利保護制度及びその実施に関する研究	284
<b>II</b>	<b>キーワード索引</b>	287
<b>III</b>	<b>研究分野索引</b>	293

# ①医学研究科



## 1. 希な甲状腺腫瘍の臨床病理学的ならびに分子病理学的研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
菅間 博	病理学教室	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
廣川 満良	医療法人神甲会隈病院	病理細胞診断部長	免疫組織化学的解析
藤原 正親	病理学教室	講師	遺伝子工学的解析
宮内 昭	医療法人神甲会隈病院	院長	臨床病理学的解析

## キーワード

①甲状腺 ②低分化癌 ③未分化癌 ④若年者甲状腺癌 ⑤乳頭癌充実型

## 研究分野

医科学

## 1. 共同研究の目的

甲状腺の腫瘍は、他臓器に比較して分子病理学的に特殊なものが多い。甲状腺専門病院である隈病院と共同して、頻度の少ない甲状腺腫瘍（低分化癌、未分化癌、乳頭癌充実型等）の症例、標本を集積し、その特徴を臨床病理学的ならびに分子病理学的に明らかにする。

## 2. 共同研究の内容・計画

## 1. 希な甲状腺腫瘍の臨床病理学的ならびに病理組織学的検討

杏林大学付属病院ならびに隈病院で手術された低分化癌、未分化癌、乳頭癌充実型等の希な腫瘍症例の、臨床病理学的ならびに病理組織学的なデータを解析する。

## 2. 希な甲状腺腫瘍の分子生物学的解析

各腫瘍の病理組織標本を対象として、免疫組織化学、生化学ならびに Gene チップを用いて蛋白、RNA、DNA レベルの解析をおこなう。さらに甲状腺腫瘍由来の培養細胞株を用いて遺伝子工学的ならびに生物学的な解析をおこなう。

## 3. 研究成果（経過）

甲状腺専門病院である隈病院と共同して、頻度の少ない甲状腺腫瘍の症例を集積し、その特徴を明らかにすることを目的として、継続して研究を行っている。

今年度は、組織像が類似する甲状腺の低分化癌と充実型乳頭癌を対象とした病理組織学的研究をおこなうとともに、予後調査をおこなった。その結果、以下の点が明らかとなった。1) 充実型乳頭癌は、頻度は低いが小児のみでなく成人にもみられる。一

方、2) 低分化癌は小児ではみられない。3) 成人例に於ける充実型乳頭癌の予後は、低分化癌に比較して良好である。

以上から、甲状腺の低分化癌と充実型乳頭癌を明瞭に区別する必要があると結論された。

## 4. 当該研究に係る研究発表について

## (1) 学会誌等

① 菅間博：小児甲状腺癌. 病理と臨床：31(1). 25-30. 2013.

② 菅間博：小児甲状腺癌の病理組織学的特徴、特にびまん性硬化型乳頭癌に着目して. 内分泌甲状腺外科学会誌30(4):281-286,2013

## (2) 口頭発表

① 藤原正親, 矢澤卓也, 宍戸-原由紀子, 中里陽子, 近藤晴彦, 菅間博: 乳頭癌の部分成分として発生し肺転移を来した甲状腺粘表皮癌の1例. 第59回日本病理学会秋期特別総会, 甲府, 2013年11月21-22

## 2. マラリア原虫感染における自然免疫リンパ球による造血調整機構の解明

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 富美恵	杏林大学医学部感染症学教室	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
井上 信一	杏林大学医学部感染症学教室	助教	細胞調製、宿主応答解析
内田 明彦	ヤマザキ学園大学	教授	原虫感染動態
川上 泰	麻布大学生命環境科学部	准教授	原虫感染動態

### キーワード

①マラリア ②防御免疫 ③幹細胞 ④前駆細胞 ⑤サイトカイン

### 研究分野

寄生虫免疫学、分子細胞生物学

#### 1. 共同研究の目的

マラリアが発症したヒト体内では、マラリア原虫という侵入者を駆逐するために造血幹細胞が免疫細胞を大量生産している。したがって、造血機能調節はマラリアに対する生体防御に非常に重要である。本研究の目的は、自然免疫細胞の1つである $\gamma\delta$  T細胞が、造血幹細胞による血液細胞の産生能を調節することによってマラリアに対する生体防御をおこなっているのを証明することにある。

#### 2. 共同研究の内容・計画

自然免疫リンパ球のうち、まず、 $\gamma\delta$  T細胞がない遺伝子改変マウスと正常マウスにマラリア原虫を感染させ、造血幹細胞による免疫細胞の産生とその機能変化を詳細に比較解析する。また、非感染マウスを用いて、正常状態においても造血幹細胞の造血能力に変化があるのか解析する。

#### 3. 研究成果（経過）

マラリアが発症したヒト体内では、マラリア原虫を駆逐するために、造血幹細胞を頂点とする造血系が多くの免疫細胞を生産増強してマラリア防御免疫を機能させている。しかし、感染時の造血系の増強にどのような細胞や因子が関連しているのかについては未解明な部分が多い。我々は、自然免疫細胞の1つである $\gamma\delta$  T細胞に注目し、 $\gamma\delta$  T細胞におけるマラリア原虫感染時の造血系への影響の解明を目標としている。

通常、大部分が骨髄に存在する造血幹細胞や前駆細胞が脾臓に動員されている事、つまり髄外造血がマラリア原虫感染させた野生型マウスでは促進されている事がこれまでにわかった。さらに、これらの造

血誘導は、 $\gamma\delta$  T細胞の存在により強く誘導されることがわかった。 $\gamma\delta$  T細胞の有無により造血幹細胞の造血機能が変化するのかを調べるため、造血幹細胞移植実験の解析をおこなっている。さらに、マイクロアレイ解析により、 $\gamma\delta$  T細胞はマラリア原虫感染によって種々のケモカインを産生する様になる事を示すデータを得た。今後は、どの分子が造血細胞を脾臓に引き寄せているのかを特定する予定である。

#### 4. 当該研究に係る研究発表について

##### (1) 学会誌等

- ① Mineo S, Niikura M, Inoue S-I, Kuroda M, Kobayashi F: Development of severe pathology in immunized pregnant mice challenged with lethal malaria parasites. *Infect Immun*, 81(10): 3865-3871, 2013.
- ② Inoue S-I, Niikura M, Mineo S, Kobayashi F: Roles of IFN- $\gamma$  and  $\gamma\delta$  T cells in protective immunity against blood-stage malaria. *Front Immunol*, 4(258):1-9, 2013. (doi: 10.3389/fimmu.2013.00258)
- ③ 井上信一（総説）：マラリア原虫感染防御における $\gamma\delta$ （ガンマデルタ）T細胞の役割。杏林医学会雑誌 44 (4), s47-s48, 2013.

##### (2) 口頭発表

- ① 井上信一, 新倉保, 井上愛美, 峯尾松一郎, 小林富美恵：マラリア原虫感染防御に働く脾臓 $\gamma\delta$  T細胞のレパトア解析。第24回日本生体防御学会学術総会, 熊本, 平成25年7月10-12日。

- ② 井上信一（平成25年度生体防御学会奨励賞受賞講演）：マラリア原虫感染防御における  $\gamma$   $\delta$  T細胞の役割の解明. 第24回日本生体防御学会学術総会, 熊本, 平成25年7月10-12日.
- ③ Shin-Ichi Inoue, Mamoru Niikura, Megumi Inoue, Shoichiro Mineo, Fumie Kobayashi:  $\gamma$   $\delta$  T cells are the major subset of  $\gamma$   $\delta$  T cells for protection against *Plasmodium berghei* XAT. Forum Cheju 16, Seoul, August 30th-September 1st, 2013.
- ④ Mamoru Niikura, Shin-Ichi Inoue, Shoichiro Mineo, Megumi Inoue, Fumie Kobayashi: Roles of NT1 and PNP in the blood stages of *Plasmodium berghei* ANKA. Forum Cheju 16, Seoul, August 30th-September 1st, 2013.
- ⑤ 井上信一, 新倉保, 井上愛美, 峯尾松一郎, 小林富美恵: *Plasmodium berghei* XAT 感染における  $\gamma$   $\delta$  T細胞サブセットの機能解析. 第11回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム, 長崎, 平成25年10月2-3日.
- ⑥ 峯尾松一郎, 新倉保, 井上信一, 井上愛美, 黒田雅彦<sup>1</sup>, 小林富美恵: 妊娠マラリアの病態に関わる新たな宿主因子の探索. Development of liver dysfunction in immunized pregnant mice challenged with lethal malaria parasites. 第54回日本熱帯医学会大会, 長崎, 平成25年10月4-5日.
- ⑦ 石井明, 柴田清, 岩永史朗, 油田正夫, 新倉保, 小林富美恵: ネズミマラリア原虫2種混合感染での感染動態. 第73回日本寄生虫学会東日本支部大会, 東京, 平成25年10月12日.
- ⑧ 井上信一, 新倉保, 大西宏明, 渡邊卓, 小林富美恵, (平成25年度杏林大学医学部共同研究プロジェクト中間報告): マラリア防御免疫における  $\gamma$   $\delta$  T細胞の役割. 第42回杏林医学会総会, 東京, 平成25年11月16日.
- ⑨ 井上信一, 新倉保, 井上愛美, 峯尾松一郎, 小林富美恵: マラリア原虫感染に対する宿主防御免疫を促進する  $\gamma$   $\delta$  T細胞サブセットの機能解析. Characterization of  $\gamma$   $\delta$  T-cell subsets during *Plasmodium berghei* XAT infection. 第36回日本分子生物学会年会, 神戸, 平成25年12月3-6日.
- ⑩ Shin-Ichi Inoue, Mamoru Niikura, Megumi Inoue, Fumie Kobayashi: Protective effect of agonistic anti-CD40 monoclonal antibody is limited in the early phase of *Plasmodium berghei* XAT infection. 第42回日本免疫学会学術集会, 幕張, 平成25年12月11-13日.
- ⑪ Shin-Ichi Inoue, Mamoru Niikura, Megumi Inoue, Shoichiro Mineo, Fumie Kobayashi: The protective effect of CD40 ligand-CD40 signaling is limited during the early phase of *Plasmodium infection*. 第7回寄生虫感染免疫研究会, 高山, 平成26年3月11-13日.
- ⑫ 井上信一, 新倉保, 井上愛美, 峯尾松一郎, 川上泰, 内田明彦, 小林富美恵: マラリア防御免疫に必要な CD40シグナルを介した樹状細胞の活性化は原虫感染初期で重要である. 第83回日本寄生虫学会大会, 愛媛, 平成26年3月27-28日.
- ⑬ 田邊將信, 嘉陽啓之, 朝日博子, 木村 徳宏, 下田耕治, 小林富美恵, 岩田敏, 深尾 太郎: microRNA 欠損マウスを用いた実験的脳マラリアの病原機構解析. 第83回日本寄生虫学会大会, 愛媛, 平成26年3月27-28日.
- ⑭ 新倉保, 峯尾松一郎, 井上信一, 井上愛美, 小林富美恵: 妊娠によるマラリアの病態重症化機構の解明. Studies on pathogenesis in immunized pregnant mice challenged with lethal malaria parasites. 第83回日本寄生虫学会大会, 愛媛, 平成26年3月27-28日.
- ⑮ 石井明, 柴田清, 岩永史朗, 油田正夫, 新倉保, 小林富美恵: ネズミマラリア原虫2種混合感染での感染動態. 第83回日本寄生虫学会大会, 愛媛, 平成26年3月27-28日.

### 3. マラリア原虫感染における造血系変動の組織学的解析

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 富美恵	感染症学教室	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
井上 信一	杏林大学医学部	助教	細胞調製、宿主応答解析
川本 忠文	鶴見大学歯学部	講師	切片作製、免疫染色

#### キーワード

①マラリア ②造血幹細胞 ③造血前駆細胞 ④防御免疫 ⑤造血系

#### 研究分野

寄生虫免疫学、分子細胞生物学

#### 1. 共同研究の目的

マラリアが発症したヒト体内では、マラリア原虫を駆逐するために、造血幹細胞を頂点とする造血系が多くの免疫細胞を生産増強してマラリア防御免疫を機能させている。しかし、感染時の造血系の増強にどのような細胞や因子が関連しているのかについては未解明な部分が多い。我々は、自然免疫細胞の1つである $\gamma\delta$  T細胞が造血系における各種免疫細胞の産生を調節する可能性を示唆するデータを得ており、 $\gamma\delta$  T細胞が造血系の調節によりマラリアに対する生体防御をおこなっていることの証明を本研究の目標としている。

#### 2. 共同研究の内容・計画

$\gamma\delta$  T細胞を欠損した遺伝子改変マウスと野生型マウスにマラリア原虫を感染させたものを用いて、造血幹細胞・造血前駆細胞による樹状細胞などの免疫細胞の産生能などの機能変化、さらには遺伝子発現変化を詳細に比較解析する（井上）。それと平行して、骨髄中に存在する造血幹細胞がマラリア原虫感染によってどのような変動をみせるのか、骨髄新鮮凍結切片からの免疫染色による解析をおこない、組織学的な知見を得る（井上 & 鶴見大学・川本氏：硬組織の新鮮凍結切片技術の世界的スペシャリスト）。

#### 3. 研究成果（経過）

マラリアが発症したヒト体内では、マラリア原虫を駆逐するために、造血幹細胞を頂点とする造血系が多くの免疫細胞を生産増強してマラリア防御免疫を機能させている。しかし、感染時の造血系の増強にどのような細胞や因子が関連しているのかについては未解明な部分が多い。我々は、自然免疫細胞の1つである $\gamma\delta$  T細胞が造血系における各種免疫細胞

の産生を調節する可能性を示唆するデータを得ている。そこで、 $\gamma\delta$  T細胞が造血系の調節によりマラリアに対する生体防御をおこなっていることを組織学的解析から明らかにすることを本研究の目標とする。

鶴見大学の川本先生により、未脱灰新鮮凍結切片技術を用いて骨髄組織における造血細胞の検出をしたところ、骨髄の骨組織周辺に比較的多くの造血細胞が存在していることがこれまでにわかっている。さらに、マウスマラリアモデルを用いた実験と細胞移植実験により、マラリア原虫感染後、宿主体内の脾臓に造血細胞が集積することが分かった。また、その脾臓への造血細胞の集積は $\gamma\delta$  T細胞によって促進されていることが分かった。そこで、脾臓組織の造血細胞集積の主要因子であるSDF1免疫染色をおこなったところ、SDF1は $\gamma\delta$  T細胞以外の細胞で発現していた。すなわち、 $\gamma\delta$  T細胞は間接的に造血細胞を脾臓に引き寄せていることが示唆された。

#### 4. 当該研究に係る研究発表について

##### (1) 学会誌等

- ① Mineo S, Niikura M, Inoue S-I, Kuroda M, Kobayashi F: Development of severe pathology in immunized pregnant mice challenged with lethal malaria parasites. *Infect Immun*, 81(10): 3865-3871, 2013.
- ② Inoue S-I, Niikura M, Mineo S, Kobayashi F: Roles of IFN- $\gamma$  and  $\gamma\delta$  T cells in protective immunity against blood-stage malaria. *Front Immunol*, 4(258):1-9, 2013. (doi: 10.3389/fimmu.2013.00258)
- ③ 井上信一（総説）：マラリア原虫感染防御に

- における  $\gamma\delta$  (ガンマデルタ) T 細胞の役割. 杏林医学会雑誌 44 (4), s47-s48, 2013.
- (2) 口頭発表
- ① 井上信一, 新倉保, 井上愛美, 峯尾松一郎, 小林富美恵: マラリア原虫感染防御に働く脾臓  $\gamma\delta$  T 細胞のレパトア解析. 第24回日本生体防御学会学術総会, 熊本, 平成25年7月10-12日.
  - ② 井上信一 (平成25年度生体防御学会奨励賞受賞講演): マラリア原虫感染防御における  $\gamma\delta$  T 細胞の役割の解明. 第24回日本生体防御学会学術総会, 熊本, 平成25年7月10-12日.
  - ③ Shin-Ichi Inoue, Mamoru Niikura, Megumi Inoue, Shoichiro Mineo, Fumie Kobayashi:  $V\gamma 1+$  cells are the major subset of  $\gamma\delta$  T cells for protection against Plasmodium berghei XAT. Forum Cheju 16, Seoul, August 30th-September 1st, 2013.
  - ④ Mamoru Niikura, Shin-Ichi Inoue, Shoichiro Mineo, Megumi Inoue, Fumie Kobayashi: Roles of NT1 and PNP in the blood stages of Plasmodium berghei ANKA. Forum Cheju 16, Seoul, August 30th-September 1st, 2013.
  - ⑤ 井上信一, 新倉保, 井上愛美, 峯尾松一郎, 小林富美恵: Plasmodium berghei XAT 感染における  $\gamma\delta$  T 細胞サブセットの機能解析. 第11回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム, 長崎, 平成25年10月2-3日.
  - ⑥ 峯尾松一郎, 新倉保, 井上信一, 井上愛美, 黒田雅彦, 小林富美恵: 妊娠マラリアの病態に関わる新たな宿主因子の探索. Development of liver dysfunction in immunized pregnant mice challenged with lethal malaria parasites. 第54回日本熱帯医学会大会, 長崎, 平成25年10月4-5日.
  - ⑦ 石井明, 柴田清, 岩永史朗, 油田正夫, 新倉保, 小林富美恵: ネズミマラリア原虫2種混合感染での感染動態. 第73回日本寄生虫学会東日本支部大会, 東京, 平成25年10月12日.
  - ⑧ 井上信一, 新倉保, 大西宏明, 渡邊卓, 小林富美恵, (平成25年度杏林大学医学部共同研究プロジェクト中間報告): マラリア防御免疫における  $\gamma\delta$  T 細胞の役割. 第42回杏林医学会総会, 東京, 平成25年11月16日.
  - ⑨ 井上信一, 新倉保, 井上愛美, 峯尾松一郎, 小林富美恵: マラリア原虫感染に対する宿主防御免疫を促進する  $\gamma\delta$  T 細胞サブセットの機能解析. Characterization of  $\gamma\delta$  T-cell subsets during Plasmodium berghei XAT infection. 第36回日本分子生物学会年会, 神戸, 平成25年12月3-6日.
  - ⑩ Shin-Ichi Inoue, Mamoru Niikura, Megumi Inoue, Fumie Kobayashi: Protective effect of agonistic anti-CD40 monoclonal antibody is limited in the early phase of Plasmodium berghei XAT infection. 第42回日本免疫学会学術集会, 幕張, 平成25年12月11-13日.
  - ⑪ Shin-Ichi Inoue, Mamoru Niikura, Megumi Inoue, Shoichiro Mineo, Fumie Kobayashi: The protective effect of CD40 ligand-CD40 signaling is limited during the early phase of Plasmodium infection. 第7回寄生虫感染免疫研究会, 高山, 平成26年3月11-13日.
  - ⑫ 井上信一, 新倉保, 井上愛美, 峯尾松一郎, 川上泰, 内田明彦, 小林富美恵: マラリア防御免疫に必要な CD40 シグナルを介した樹状細胞の活性化は原虫感染初期で重要である. 第83回日本寄生虫学会大会, 愛媛, 平成26年3月27-28日.
  - ⑬ 田邊將信, 嘉陽啓之, 朝日博子, 木村徳宏, 下田耕治, 小林富美恵, 岩田敏, 深尾 太郎: microRNA 欠損マウスを用いた実験的脳マラリアの病原機構解析. 第83回日本寄生虫学会大会, 愛媛, 平成26年3月27-28日.
  - ⑭ 新倉保, 峯尾松一郎, 井上信一, 井上愛美, 小林富美恵: 妊娠によるマラリアの病態重症化機構の解明. Studies on pathogenesis in immunized pregnant mice challenged with lethal malaria parasites. 第83回日本寄生虫学会大会, 愛媛, 平成26年3月27-28日.
  - ⑮ 石井明, 柴田清, 岩永史朗, 油田正夫, 新倉保, 小林富美恵: ネズミマラリア原虫2種混合感染での感染動態. 第83回日本寄生虫学会大会, 愛媛, 平成26年3月27-28日.

#### 4. Pregnancy-associated malaria の病態に関わる新たな宿主因子の探索

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 富美恵	杏林大学医学部感染症学教室	教授	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
新倉 保	杏林大学医学部感染症学教室	助教	原虫感染動態、宿主応答解析
峯尾 松一郎	杏林大学医学部感染症学教室	大学院生	原虫感染動態、胎盤病理の解析
黒田 雅彦	東京医科大学分子病理学	教授	胎盤病理の解析

##### キーワード

①重症マラリア ②制御性T細胞 ③サイトカイン ④複合感染

##### 研究分野

寄生虫免疫学

##### 1. 共同研究の目的

Pregnancy-associated malaria (PAM) は、妊婦の重症マラリアや胎児の生存率の低下、子宮内胎児発育遅延、低体重、乳児の高い死亡率を呈する重篤な合併症である。PAMの病態生理や発症機構をヒトの系で精査することは困難であることから、それらについては未解明な部分が多い。本研究では、妊婦における重症マラリアの典型的な病理学的・臨床的な特徴を再現するマウスモデルを用いて、妊娠マラリアの病態に関わる新たな宿主因子を明らかにすることを目指す。

##### 2. 共同研究の内容・計画

以下の項目について解析を順次行う。

- 1) 妊娠中のマラリア原虫感染における母子マウスの病態と胎盤病理の解析
- 2) 妊娠中のマラリア原虫感染における免疫担当細胞とサイトカイン応答の解析
- 3) 妊娠マラリア発症に関与するサイトカインなど液性因子の探索
- 4) 妊娠マラリア発症に関与する細胞性因子の探索
- 5) 各種マラリア原虫複合感染における妊娠マラリアの病態とその発症機構の解析

##### 3. 研究成果（経過）

これまでの研究成果によって、マラリア流行地に居住する女性が妊娠し、マラリア原虫に感染した場合の症状を反映するマウスモデルの作出に成功した。作出した妊娠中のマラリアモデルの病態解析の結果、妊娠中期からマラリア原虫に対する防御免疫が強く抑制されることで、宿主体内でマラリア原虫が急激に増殖することが明らかとなった。さらに、

マラリア原虫を感染させた妊娠マウスは妊娠後期に肝細胞内への脂肪蓄積を伴う重度の肝障害を発症することを見出した。そこで、本年度は、作出した妊娠マラリアモデルで認められた肝障害と宿主免疫応答との関係を明らかにするために、血漿中のIFN- $\gamma$ 、およびIFN- $\gamma$ によって誘導される一酸化窒素(NO)について解析を行った。その結果、妊娠マラリアモデルの血漿中IFN- $\gamma$ およびNOの有意な増加が認められた。NOの産生増加と肝障害との関係を明らかにするために、一酸化窒素合成酵素(iNOS)欠損マウスを用いて解析を行った。その結果、野生型マウスと比較して、iNOS欠損マウスを用いたモデルでは、肝細胞の壊死と肝細胞内への脂肪蓄積が抑制された。これらの結果から、妊娠中のマラリアにおける肝障害にはNOが重要な役割を担っていることが示唆された。一方で、iNOS欠損マウスを用いたモデルの胎盤および胎児は、野生型マウスを用いたモデルと同様に、胎盤構造の異常、胎児の体重および胎児数の減少が認められた。この結果から、NOは胎盤組織の破壊には関与しないことが示唆された。

##### 4. 当該研究に係る研究発表について

###### (1) 学会誌等

- ① Mineo S, Niikura M, Inoue S-I, Kuroda M, Kobayashi F: Development of severe pathology in immunized pregnant mice challenged with lethal malaria parasites. *Inf Immun*, 81(10): 3865-3871, 2013.

###### (2) 口頭発表

- ① 峯尾松一郎, 新倉保, 井上信一, 井上愛美, 黒

田雅彦, 小林富美恵: 妊娠マラリアの病態に関わる新たな宿主因子の探索. Development of liver dysfunction in immunized pregnant mice challenged with lethal malaria parasites. 第54回日本熱帯医学会大会, 長崎, 平成25年10月4-5日.

- ② 新倉保, 峯尾松一郎, 井上信一, 井上愛美, 小林富美恵: 妊娠によるマラリアの病態重症化機構の解明. Studies on pathogenesis in immunized pregnant mice challenged with lethal malaria parasites. 第83回日本寄生虫学会大会, 愛媛, 平成26年3月27-28日.

## 5. ローデントマラリア原虫のマラリア薬剤耐性遺伝子の同定

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 富美恵	杏林大学医学部感染症学教室	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
新倉 保	杏林大学医学部感染症学教室	助教	宿主免疫応答解析
井上 信一	杏林大学医学部感染症学教室	助教	宿主免疫応答解析
本間 一	東京女子医科大学国際環境・熱帯医学	助教	原虫感染動態、薬剤耐性原虫確立
遠藤 弘良	東京女子医科大学国際環境・熱帯医学	教授	原虫感染動態

### キーワード

①マラリア ②遺伝子改変原虫 ③DNA 変異

### 研究分野

分子寄生虫学

- 共同研究の目的  
遺伝子改変により DNA 変異頻度を高めたローデントマラリア原虫 (*Plasmodium berghei*) が突然変異率をどの程度高めているかを調べる。また、この原虫を用いて薬剤耐性株を確立し、マラリア薬剤耐性の機構を解明することを目的とする。
- 共同研究の内容・計画  
遺伝子改変により DNA 変異頻度を高めた *P. berghei* を、腹腔内あるいは静脈内接種によるマウス継代を長期にわたり行い、その後の解析に用いる。また、この原虫を用いて薬剤耐性株を確立するために、*P. berghei* を接種したマウスについて各種薬剤投与下での経過の観察を行う。マウスは感染動物飼育室で飼養される。ローデントマラリア原虫は *in vitro* 培養が不可能でありマウスを使用せざるを得ない。心採血時にはエーテルあるいはイソフルランによる麻酔を行う。心採血後のマウス、あるいは人道的エンドポイントに至ったマウスに対しては頸椎脱臼による安楽死処置を行う。
- 研究成果 (経過)  
本研究では、DNA ポリメラーゼ  $\delta$  への変異導入によりゲノムへの変異蓄積速度を高めたローデントマラリア原虫 *Plasmodium berghei* (ミューテーターマラリア原虫) の突然変異率や生じる塩基置換の傾向を明らかにする。本年度は、ミューテーター原虫、野生型の DNA ポリメラーゼ  $\delta$  を遺伝子導入したコントロール原虫、そしてそれらの親株である *P. berghei* ANKA について、それぞれ3系列でのマウ

ス継代を約半年間にわたり行った。半年の継代の後、限外希釈によるクローニングを行い、ミューテーター原虫、コントロール原虫、*P. berghei* ANKA それぞれについて3クローンずつ (計9クローン) を得た。これらのクローンについて Illumina の次世代シーケンサーによるシーケンシングを行うために DNA を採取した。今後、HiSeq2000による大規模シーケンシングを行い、継代の間に蓄積した変異 (塩基置換、挿入・欠失) をゲノムワイドに解明する。

## 6. 尿酸トランスポーター変異体の機能解析

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
櫻井 裕之	薬理学教室	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
市田 公美	東京薬科大学	教授	研究取りまとめ
中村 真希子	東京薬科大学	助教	変異体作製、発現
塚田 愛	東京薬科大学	研究生	マウスの解析
木村 徹	薬理学教室	助教	輸送実験

## キーワード

①尿酸トランスポーター ②腎臓 ③低尿酸血症 ④高尿酸血症

## 研究分野

薬理学

## 1. 共同研究の目的

近年同定されたurate transporter 1(URAT1)およびglucose transporter 9(GLUT9)を中心とした尿酸トランスポーターは腎臓の尿細管に発現し、糸球体でろ過された尿酸を再吸収または分泌する。これらのトランスポーター遺伝子に変異が生じた場合、血清尿酸値が著しい異常値となることが推定される。よって本研究では血清尿酸値の異常値を示した症例の遺伝子解析から得られた情報を基にトランスポーターの変異体を作成、機能解析を行い、血清尿酸値の調節機構を明らかとすることを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

変異を含むトランスポーター DNA は東京薬科大学薬学部病態生理学教室において RNA へと転写反応を行う。杏林大学においては、作製された RNA をアフリカツメガエル卵母細胞にマイクロインジェクションし、細胞表面に発現させる。トランスポーターを発現した卵母細胞に<sup>14</sup>C 標識尿酸を添加し、一定時間後に細胞内に取り込まれた尿酸量をシンチレーションカウンターにて放射定量する。また、URAT1や URATv1を過剰発現させたマウスを用いて、尿酸の体内動態を解析する。

## 3. 研究成果（経過）

尿酸トランスポーター URAT1は、腎近位尿細管の管腔側に発現し、糸球体でろ過された尿酸を頂膜側から再吸収する。また電位依存性尿酸トランスポーター URATv1は、同部位の血管側に発現し、細胞内に取り込まれた尿酸の血流への排出に関与す

る。これらトランスポーター遺伝子に変異が生じた場合、血清尿酸値が著しい低値となり、腎性低尿酸血症を発症することが知られている。本研究では、血清尿酸値の異常値を示した症例の遺伝子解析から得られた情報を基に、トランスポーターの変異体を作成、機能解析を行い、血清尿酸値の調節機構の検討を行った。

腎性低尿酸血症の患者解析から、URAT1および URATv1の変異がいくつか見つかった。そこで、それら変異体遺伝子を作製し、その RNA をアフリカツメガエル卵母細胞にマイクロインジェクションすることによって発現させた。トランスポーターを発現した卵母細胞に<sup>14</sup>C 標識尿酸を添加し、一定時間後に細胞内に取り込まれた尿酸量をシンチレーションカウンターにて測定した。その結果、変異型尿酸トランスポーターは、尿酸輸送能を完全に消失しているものや活性が低下しているものが存在することが分かった。

7. 急性肺損傷発症機序の解明と、治療戦略の確立に向けた多角的アプローチ

**研究代表者**

氏名	所属	職名	研究分野
矢澤 卓也	病理学教室	准教授	統括

**共同研究者**

氏名	所属	職名	研究分野
倉橋 清泰	横浜市立大学附属 市民総合医療センター	麻酔科部長	実験動物の呼吸生理機能解析
馬場 靖子	横浜市立大学附属 市民総合医療センター	手術部部長	実験動物の呼吸生理機能解析
下山田 博明	病理学教室	学内講師	病理組織学的解析、 分子病理学的解析
菅間 博	病理学教室	教授	病理組織学的解析、 分子病理学的解析

**キーワード**

①肺損傷 ②サイトカインネットワーク ③ VEGFs ④ VEGFRs

**研究分野**

呼吸器病学

1. 共同研究の目的

急性肺損傷時に惹起されるサイトカインネットワークを明らかにし、得られた知見を基に新たな治療戦略を確立していく。解析には呼吸機能解析、病理組織学的解析、分子病理学的解析が必要不可欠であり、呼吸生理機能解析を主に横浜市立大学で、病理組織学的解析、分子病理学的解析を主に杏林大学病理学教室で行う。

2. 共同研究の内容・計画

ラット左肺を人工呼吸、右肺を虚脱させた分離肺換気モデルを作成し、両肺を人工呼吸する動物と比較検討すると、虚脱させた右肺のケモカインが上昇し、炎症が惹起されることが明らかとなった。惹起された炎症が、虚脱肺内の局所低酸素環境により誘導される HIF を介している可能性が想定されたため、病理組織学的検索とともに、HIF の産生・局在、VEGF、EPO、GLUT-1をはじめとする各種サイトカインの産生について、免疫組織化学法、realtime PCR 法等を用い解析を行う。また、炎症に伴う肺血管透過性亢進に対する治療として、血管内皮細胞増殖因子分泌型レセプターが有用であるかについて、マウス実験系を用いて解析する。

3. 研究成果（経過）

SD ラットに対して片肺換気を行い、肺ホモジネート中の炎症性メディエーターの測定、Hypoxia Inducible Factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) およびその下流遺伝子 Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGF-A), Glucose Transporter 1 (GLUT-1)

の定量的 RT-PCR を行った。

その結果、肺ホモジネート中の Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、CINC-1が増加し、HIF-1 $\alpha$ , VEGF-A, GLUT-1の発現量も増加する傾向が見られた。

現在学術論文として投稿中である。

## 8. 肺神経内分泌肺癌における分化形質獲得・転移メカニズムの全容解明と治療への応用

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
矢澤 卓也	病理学教室	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
佐藤 華子	聖マリアンナ医科大学解剖学	助教	分子病理学的解析
下山田 博明	病理学教室	学内講師	分子病理学的・病理組織学的解析
藤原 正親	病理学教室	講師	病理組織学的解析、 分子病理学的解析
原 由紀子	病理学教室	講師	免疫蛍光解析、 超高解像度免疫蛍光解析
菅間 博	病理学教室	教授	超微形態的・分子病理学的解析

## キーワード

①肺癌 ②神経内分泌癌 ③分化形質 ④転移

## 研究分野

分子病理学

- 共同研究の目的  
肺神経内分泌癌細胞における神経内分泌分化形質獲得メカニズム、転移メカニズムを分子病理学的に明らかにする。
- 共同研究の内容・計画  
本研究では肺神経内分泌癌における神経内分泌分化形質獲得メカニズムの全容を解明すること、神経内分泌分化形質に密接にリンクしている神経内分泌細胞特異的発現分子の転移への関与を解明すること、および得られた知見を基盤とした神経内分泌肺癌に対する新規治療法を探索していくことを目的として、bHLH転写因子、REST、ホメオボックス遺伝子に着目し、これらの遺伝子を非神経内分泌肺癌細胞に導入することによる神経内分泌形質転換を試み、形質転換に伴う転移性の変化について、実験動物を用いた病理組織学的、免疫組織化学的、分子病理学的解析を行う。神経内分泌分化形質獲得メカニズム解析については主に本学において行い、転移メカニズム解析については主に共同研究先で行う。得られたデータを融合することにより、肺神経内分泌癌細胞が有する生物学的特徴を総合的に解明していく。
- 研究成果（経過）  
種々の組織型に由来する肺癌培養細胞を用い、神経系細胞に特異的に高発現している class III, class IV POU 遺伝子の発現状態を網羅的に検索した。その

結果、class III POU (POU3F1, POU3F2, POU3F3, POU3F4)、class IV POU (POU4F1, POU4F2, POU4F3) はいずれも小細胞癌株で高発現していることが判明した。次にこれら7種の class III/IV POU 転写因子が他の class III/IV POU 転写因子の発現に関与しているか否かについて検討した。その結果、class III/IV POU 転写因子は他の class III/IV POU 転写因子を upregulate することが判明し、その発現誘導能は POU3F4 および POU4F2 において顕著であった。

次に、class III/IV POU 転写因子がどの程度神経内分泌マーカー分子および幼若な神経細胞に特異的に発現される転写因子の発現誘導に寄与しているかについて検討した。その結果、class III/IV POU 転写因子は、神経内分泌マーカーである CD56 (NCAM1)、synaptophysin、chromogranin A、および ASCL1、ND1、TTF1 いずれの発現亢進にも関与していることが明らかになった。

## 4. 当該研究に係る研究発表について

## (1) 学会誌等

- Sakaeda M, Sato H, Ishii J, Miyata C, Kamma H, Shishido-Hara Y, Shimoyamada H, Fujiwara M, Endo T, Tanaka R, Kondo H, Goya T, Aoki I, Yazawa T (corresponding author). Neural lineage-specific homeoprotein BRN2 is directly involved in TTF1

expression in small-cell lung cancer. Lab Invest 93: 408-421, 2013.

- ② Ishii J, Sato H, Sakaeda M, Shishido-Hara Y, Hiramatsu C, Kamma H, Shimoyamada H, Fujiwara M, Endo T, Aoki I, Yazawa T. POU domain transcription factor BRN2 is crucial for expression of ASCL1, NDI, and neuroendocrine marker molecules and cell growth in small cell lung cancer. Pathol Int 63: 158-168, 2013.

(2) 口頭発表

- ① 遠藤哲哉, 石井順, 榮田昌史, 藤原正親, 宍戸-原由紀子, 下山田博明, 平野和彦, 寺戸雄一, 菅間博, 矢澤卓也. 肺神経内分泌腫瘍における BRN2、ASCL1、TTF1 の発現性の検討. 第102回日本病理学会総会, 札幌, 2013. 06. 07
- ② 石井順, 佐藤華子, 榮田昌史, 原由紀子, 平松千恵, 菅間博, 下山田博明, 藤原正親, 遠藤哲哉, 青木一郎, 矢澤卓也. POU 型転写因子 BRN2 は肺小細胞癌細胞の神経 / 神経内分泌形質発現および増殖活性に関与する. 第102回日本病理学会総会, 札幌, 2013. 06. 07.
- ③ 榮田昌史, 佐藤華子, 石井順, 菅間博, 原由紀子, 平松千恵, 下山田博明, 藤原正親, 遠藤哲哉, 矢澤卓也. 肺小細胞癌における TTF-1 発現は POU ドメイン転写因子 BRN2 により直接的に制御されている. 第102回日本病理学会総会, 札幌, 2013. 06. 07.
- ④ 斉藤しおり, 田川祐未, 對馬可菜, 矢澤卓也, 菅間博. Cytokeratin 7、CEA 発現性から見た肺神経内分泌腫瘍群の不均一性の検討. 第102回日本病理学会総会, 札幌, 2013. 06. 08.
- ⑤ 藤原正親, 矢澤卓也, 遠藤哲哉, 下山田博明, 石井順, 榮田昌史, 有益優, 大森嘉彦, 氣賀澤秀明, 平野和彦, 寺戸雄一, 宍戸-原由紀子, 望月眞, 大倉康男, 菅間博. 肺神経内分泌腫瘍における REST 発現の免疫組織化学的検討. 第102回日本病理学会総会, 札幌, 2013.06. 08.
- ⑥ 矢澤卓也. 小細胞肺癌の細胞形質を制御する転写因子の機能解析から見えてくるもの. 第59回日本病理学会秋期特別総会, 甲府, 2013.11.22. (A 演説, 日本病理学会学術研究賞受賞)

## 9. 腸管神経系異常マウス (Ncx KO マウス) における腸内細菌叢の解析

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
神谷 茂	感染症学教室	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
幡野 雅彦	千葉大学バイオメディカル研究センター	教授	Ncx KO マウス系統維持と解析
藤村 理紗	千葉大学バイオメディカル研究センター	助教	Ncx KO マウス腸管細菌等試料の調整と提供
大崎 敬子	感染症学教室	講師	腸内細菌叢の解析

## キーワード

①腸管神経 ②一酸化窒素 ③粘膜傷害 ④腸内細菌叢

## 研究分野

生理学、細胞生物学、細菌学

## 1. 共同研究の目的

共同研究者らにより作製された Ncx KO マウスは腸管神経細胞の増加と機能異常を認める (Hatano et al. J Clin Invest, 1997)。今回共同研究者は Ncx KO マウスに腸管炎症が自然発症すること、DSS 投与による実験的腸炎に対する感受性が高いこと、腸管神経細胞由来の一酸化窒素が腸管において増加していることを新たに見出した。本研究では Ncx KO の腸内細菌叢を細菌学的・分子生物学的に解析することにより腸管神経・一酸化窒素増加による腸内細菌叢への影響と腸炎発症機序への関与について明らかにすることを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

Ncx KO マウスおよび野生型マウスの腸内細菌叢について量的・質的な差が認められるかを検討する。また、Ncx KO マウス及び野生型マウスに nNOS 阻害剤を投与し腸内細菌叢について同様に検討する。腸内細菌叢解析は細菌属特異的な 16S rRNA 遺伝子をターゲットとした定量的リアルタイム PCR により行う。これまで、培養法によってマウスの腸内細菌叢構成菌種を分離し、菌種を同定して、腸内細菌科の菌および Lactobacillus 属菌、Enterococcus 属菌等の存在が明らかになった。これらの菌属または菌群特異的プライマーを用いて、定量的リアルタイム PCR を実施して、各実験動物群の腸内細菌叢の量的な比較を行う。

## 3. 研究成果 (経過)

共同研究者らにより作製された Ncx KO マウスは腸管神経細胞の増加と機能異常を認めることが報告されている (Hatano et al. J Clin Invest, 1997)。今

回共同研究者は Ncx KO マウスに腸管炎症が自然発症すること、DSS 投与による実験的腸炎に対する感受性が高いこと、腸管神経細胞由来の一酸化窒素が腸管において増加していることを新たに見出した。本共同研究においては、Ncx KO の腸内細菌叢を細菌学的・分子生物学的に解析することにより腸管神経・一酸化窒素増加による腸内細菌叢への影響と腸炎発症機序への関与について明らかにすることを目的として、Ncx KO マウスおよび野生型マウスの腸内細菌叢について量的・質的な差が認められるかを検討した。また、Ncx KO マウス及び野生型マウスに nNOS 阻害剤を投与し腸内細菌叢について同様に検討した。腸内細菌叢解析は培養法によってマウスの腸内細菌叢構成菌種を分離し、分子生物学的手法による菌種同定を実施して、腸内細菌科の菌および Lactobacillus 属菌、Enterococcus 属菌等の存在が明らかになった。現在、これらの菌属または菌群特異的プライマーを用いて、定量的リアルタイム PCR を実施して、各実験動物群の腸内細菌叢の量的な比較を実施している。今後は、それらのデータをふまえて、次世代シーケンサーを用いた、細菌叢のメタゲノム解析を実施予定である。

## 4. 当該研究に係る研究発表について

## (1) 学会誌等

- ① Osaki T, Okuda M, Ueda J, Konno M, Yonezawa H, Hojo F, Yagyu K, Lin Y, Fukuda Y, Kikuchi S, Kamiya S: Multi locus sequence typing for the analysis of intra-familial transmission of Helicobacter pylori by using fecal specimens. J Med

Microbiol. 62(5):761-765, 2013.

- ② Zaman C, Osaki T, Hanawa T, Yonezawa H, Kurata S, Kamiya S: Analysis for microbial ecology between *Helicobacter pylori* and gastric microbiota of Mongolian gerbil. J Med Microbiol 63:129-137, 2014.

(2) 口頭発表

- ① 大崎敬子, 今野武津子, 奥田真珠美, 蔵田訓, 神谷茂 (<sup>1</sup>札幌厚生病院小児科, <sup>2</sup>兵庫医大・地域医療学) 家族由来サンプル中の *Helicobacter pylori* 遺伝子の Multi Locus Sequence Typing 法による解析, 第87回日本感染症学会学術講演会, 平成25年6月5日, 6日, 横浜.
- ② 大崎敬子, 今野武津子, 奥田真珠美, 上田純子, 米澤英雄, 北条史, 柳生聖子, 林櫻松, 福田能啓, 菊地正悟, 神谷茂. MLST による *Helicobacter pylori* の家族内感染の状況解析第19回日本ヘリコバクター学会学術集会, 2013年6月28, 29日, 長崎.
- ③ Osaki T, Konno M, Yonezawa H, Hojo F, Ueda J, Okuda M, Fukuda Y, Kikuchi S, Kamiya S. The analysis of intra-familial transmission using multilocus sequence typing of *Helicobacter pylori*, *Campylobacter*, *Helicobacter* and related organisms (CHRO) 2013, 15-19, September, 2013, Aberdeen, Scotland
- ④ Lisa Fujimura, Yukiko Ohara, Akemi Sakamoto, Masafumi Arima, Takeshi Tokuhisa, Masahiko Hatano. Department of Developmental Genetics, Graduate school of Medicine, Chiba University, Possible role of enteric neurons in regulation of intestinal microbiota. 第42回日本免疫学会学術集会, 2013年12月11 - 13日, 千葉.

## 10. インフラマソームの構造と機能 I : ヒト野生型・疾患変異型 NLRP3 の発現と構造解析

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
田原 義和	生化学教室	講師	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
原 諭吉	東京医科歯科大学 杏林大学医学部	名誉教授 / 非常勤講師	NLRP3 タンパク質の抽出・精製
今泉 美佳	生化学教室	准教授	大腸菌遺伝子組み換え
宍道 暢子	生化学教室	実験助手	NLRP3 タンパク質の抽出・精製

## キーワード

①インフラマソーム ② NLRP3(NALP3) ③カラムクロマトグラフィー ④電子顕微鏡 ⑤単粒子解析

## 研究分野

生化学

## 1. 共同研究の目的

インフラマソームは細胞内で自然免疫応答に関わる分子複合体で、炎症反応のプラットフォームと考えられている。NLRP3、ASC、プロカスペーゼ-1 が 700 K ダルトンもの巨大な分子複合体を形成すると考えられるが立体構造の詳細は未だ不明である。また NLRP3 の点変異は自己炎症性疾患 CAPS を引き起こすことも知られている。疾患変異型 NLRP3 インフラマソームの構造を野生型と比較することにより、インフラマソームにおけるシグナル伝達に伴う構造変化を検出し、構造-機能相関を理解することを目的とする。併せて構造主導型の薬剤開発を最終的な目的とし、医療に貢献することも視野に入れて共同研究を行う。

## 2. 共同研究の内容・計画

共同研究として申請する 1 年間に、まず、医科歯科大学で既に確立されたヒト野生型および疾患型 NLRP3 大腸菌発現系を、杏林大学にて蛋白質構造解析のための大量培養系として確立することを目指す。そしてカラムクロマトグラフィーを用いた高度精製法と構造解析に耐える長期間の安定保存法を確立し、電子顕微鏡による低～中分解能 (10 Å 程度分解能) の構造解析を行う。

## 3. 研究成果 (経過)

まず設備面において、従来使用してきた島津 HPLC システムが老朽化したため、システム不具合の修理とコンピュータシステムの入れ替えを行い、発現タンパク質の高純度精製のための環境を整備した。ただし本システムは当該研究に特化したものではなく、生化学教室内の他の研究にも供するため、その

費用の一部を当研究の「教育研究経費」に計上した範囲で負担した。

東京医科歯科大学において大腸菌発現系を用いてヒト NLRP3 タンパク質を発現させ、菌 Lysate として NLRP3 を含む分画を得た。SDS-PAGE 解析から、この分画中には NLRP3 が含まれるが、NLRP3 の性質に基づくと考えられる凝集が激しく、大部分が不溶性のインクルージョンボディとして得られた。これを尿素処理によってアンフォールディングさせ、Ni アフィニティカラム精製後リフォールディングを試みた。こうして得た部分精製 NLRP3 は、活性測定には充分であるものの、電子顕微鏡による観察には量的に不十分であった。また CARD8 による NLRP3 の安定化を見いだした。以上の 25 年度の結果に基づき、26 年度の共同研究においては新たにホストを真核生物とした発現系を構築する。これにより機能を保持した NLRP3 が充分量発現でき、様々な機能解析と共に電子顕微鏡での観察が可能となると期待できる。また、CARD8-NLRP3 複合体として精製を行うことも検討する。

## 4. 当該研究に係る研究発表について

## (1) 学会誌等

Ito S, Hara Y, Kubota T, CARD8 is a negative regulator for NLRP3 inflammasome, but mutant NLRP3 in cryopyrin-associated periodic syndromes escapes the restriction. *Arthritis Res. & Ther.* 2014, 16(1):R52

## 11. *Helicobacter pylori* 感染経路の解明のための家族分離菌株の遺伝子タイピング

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
神谷 茂	感染症学教室	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
今野 武津子	札幌厚生病院小児科	医師	菌株の分離培養と提供
小林 一三	東京大学大学院	教授	シーケンスならびにデータ解析
大崎 敬子	感染症学教室	准教授	MLST 解析
米澤 英雄	感染症学教室	学内講師	MLST 解析

### キーワード

① *Helicobacter pylori* ②全ゲノム解読 ③家庭内感染

### 研究分野

細菌学、遺伝学

#### 1. 共同研究の目的

*Helicobacter pylori* は WHO により胃がんの definite carcinogen group1として認定されている。しかし、わが国の *H.pylori* 感染源に関する研究は少なく、感染の実態は明らかにされていない。*H.pylori* 感染小児がいる家族で、感染調査を行って得た菌株の、全ゲノム解読を実施して、家庭内感染状況の実態を明らかにする。また、ゲノムの解読により、家族内の *H.pylori* 菌株間で行われた遺伝子の伝達等の現象について詳細な解析を実施する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

本研究課題は、郷里大学医学部倫理委員会（No.537）および札幌厚生病院倫理委員会（No.215）の承認を受けて既に実施している。家族内からの菌株は札幌厚生病院にえ5家族分、19株を培養にて分離し、保存している。これらの菌株は杏林大学に分与。DNA抽出を行って、MLST（Multi Locus Sequence Typing）解析を実施する。さらに抽出されたDNAは、東京大学医科学研究所において全ゲノム解析に使用される。得られた結果については杏林大学と、東京大学においてデータ解析を実施し、3施設共同での研究発表を予定している。

#### 3. 研究成果（経過）

*Helicobacter pylori* 感染陽性の子供とその家族から *H. pylori* を分離し、5家族19菌株の遺伝子タイピングを決定した。5家族に対して共同研究者の今野武津子医師より口頭および書面での説明を行い同意が得られ、検査についても全て安全に実施された。

集めた菌株からDNAを抽出し、遺伝子のタイプをMLST解析で決定し、MLSTデータベースと照合して、新しい菌種型（ST）を決定した。本研究で分離されたすべての菌株がこれまでデータベースに登録されていない新しいタイプであった。

さらに、MLST解析の結果、家族内では1菌株の由来と考えられる母子感染、親子感染、同胞感染が認められた。また、親子感染と考えられた2例は、同時に夫婦間感染が示唆される症例であった。

今後は各菌株の宿主感染性を既定する因子について家族感染の菌株の比較解析を実施していくとともに、共同研究者の小林らとともに、全19菌株の全ゲノム解析を実施する予定である。

#### 4. 当該研究に係る研究発表について

##### (1) 学会誌等

- ① Osaki T, Okuda M, Ueda J, Konno M, Yonezawa H, Hojo F, Yagyu K, Lin Y, Fukuda Y, Kikuchi S, Kamiya S : Multi locus sequence typing for the analysis of intra-familial transmission of *Helicobacter pylori* by using fecal specimens. J Med Microbiol. 62(5):761-765, 2013.
- ② Yonezawa H, Osaki T, Hanawa T, Kurata S, Ochiai K, Kamiya S : Impact of *Helicobacter pylori* biofilm formation on clarithromycin susceptibility and generation of resistance mutations. PLOS One. 8(9):1-9, 2013.
- ③ Flahou B, Haesebrouck F, Smet A,

- Yonezawa H, Osaki T, Kamiya S: Gastric and enterohepatic non-H. pylori helicobacters. *Helicobacter* 18(Suppl S1):66-72, 2013.
- ④ Zaman C, Osaki T, Hanawa T, Yonezawa H, Kurata S, Kamiya S: Analysis for microbial ecology between *Helicobacter pylori* and gastric microbiota of Mongolian gerbil. *J Med Microbiol* 63:129-137, 2014.
- (2) 口頭発表
- ① 大崎敬子, 今野武津子, 奥田真珠美, 蔵田訓, 神谷茂 家族由来サンプル中の *Helicobacter pylori* 遺伝子の Multi Locus Sequence Typing 法による解析, 第 87 回日本感染症学会学術講演会, 平成 25 年 6 月 5 日, 6 日, 横浜
- ② Kamiya S, Yonezawa H, Osaki T, Sugisaki K, Hanawa T: Biofilm formation and bacterial pathogenesis in *Helicobacter pylori* and *Bordetella pertussis*. The 28<sup>th</sup> International Congress of Chemotherapy and Infection, 5-8<sup>th</sup> June, 2013, Yokohama, Japan (Symposium)
- ③ 大崎敬子, 今野武津子, 奥田真珠美, 上田純子, 米澤英雄, 北条史, 柳生聖子, 林櫻松, 福田能啓, 菊地正悟, 神谷茂 MLST による *Helicobacter pylori* の家族内感染の状況解析 第 19 回日本ヘリコバクター学会学術集会, 2013 年 6 月 28, 29 日, 長崎
- ④ 米澤英雄, Cynthia Zaman, 大崎敬子, 神谷茂: *Helicobacter pylori* 持続感染を調節する胃内細菌叢の解析 第 19 回日本ヘリコバクター学会学術集会, 平成 25 年 6 月 28, 29 日, 長崎
- ⑤ 神谷茂: プロバイオティクスの生体への作用と医学への応用, 第 12 回東海感染対策セミナー, 特別講演, 平成 25 年 9 月 4 日
- ⑥ 神谷茂: ナノテクノロジーと感染対策～感染症から身を守るために～ Hospex Japan 2013, 講演会, 平成 25 年 10 月 25 日, 東京ウェブサイト
- ⑦ Yonezawa H, Osaki T, Kamiya S. Impact of biofilm formation by *Helicobacter pylori* on antibiotics susceptibility, *Campylobacter*, *Helicobacter* and related organisms (CHRO)2013, September, 15-19, 2013, Aberdeen, Scotland
- ⑧ Osaki T, Konno M, Yonezawa H, Hojo F, Ueda J, Okuda M, Fukuda Y, Kikuchi S, Kamiya S. The analysis of intra-familial transmission using multilocus sequence typing of *Helicobacter pylori*, *Campylobacter*, *Helicobacter* and related organisms (CHRO) 2013, 15-19, September, 2013, Aberdeen, Scotland
- ⑨ 米澤英雄, 大崎敬子, 神谷茂, *Helicobacter pylori* のバイオフィーム形成, 第 47 回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会, 2014 年 1 月 31 日 2 月 1 日, 東京
- ⑩ 神谷茂: 腸内細菌叢 (フローラ) と免疫, 第 29 回日本環境感染学会総会・学術集会, 教育講演, 平成 26 年 2 月 15 日, 東京
- ⑪ 大崎敬子, 北条史, Cynthia Zaman, 米澤英雄, 蔵田訓, 花輪智子, 神谷茂, 鉄制限スナネズミにおけるヘリコバクター・ピロリ感染, 第 87 回日本細菌学会総会, 2014 年 3 月 26 - 28 日, 東京
- ⑫ 米澤英雄, 大崎敬子, 花輪智子, 蔵田訓, 神谷茂, CsrA could play a central role for the regulation of gene expression in *Helicobacter pylori* biofilm. 第 87 回日本細菌学会総会, 2014 年 3 月 26 - 28 日, 東京

## 12. めまい外来診療教育における診療指標の効果判定に関する研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
野村 英樹	総合医療学教室	臨床教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
清水 貴子	聖霊浜松病院	副院長	聖霊浜松病院における調査
船崎 俊一	済生会川口病院循環器内科	主任部長	済生会川口病院における調査

### キーワード

①診療指標 ②医学教育

### 研究分野

救急総合内科学

#### 1. 共同研究の目的

診療の質指標を用いた外来教育が、わが国の外来においてどのように実際の診療の質を改善させるかを明らかにする。とりわけ、外来診療を開始したばかりの研修医に具体的な室指標を提示することによっていかに診療の質が改善するか、その効果を判定する。

をピックアップした。

#### 2. 共同研究の内容・計画

研究対象：調査協力に同意が行われた、臨床研修指定病院に所属している卒後2年目研修医による「めまい」患者の診療録の連続サンプリング

- ①事前に研修医には「めまい」診療については事後評価を行うことを説明し、同意書を取得
- ②調査期間中に2年次研修医が担当しためまい患者の診療録を事後に抽出
- ③診療指標のチェックリストを用いてそれぞれの施設内において評価
- ④2013年には診療指標を研修医には示さず評価し、2014年には事前に評価に用いられる診療指標ならびに学習資料（DVDなどを予定している）を配布した上で評価
- ⑤各指標における達成率を算出し、2013年と2014年の間を比較する。

#### 3. 研究成果（経過）

研究対象：調査協力に同意が行われた、臨床研修指定病院に所属している卒後2年目研修医による「めまい」患者の診療録の連続サンプリング

- ①2013年11月～2014年1月の3か月間にATT科をローテートした2年目研修医に対し、事前に研修医には「めまい」診療については事後評価を行うことを説明し、文書で同意を取得
- ②調査期間中に2年次研修医が担当しためまい患者

## ②医学部



## 1. 関東地域に現存する湧水と雑木林に生息・生育する動植物の遺伝的変異

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
松田 宗男	医学部生物学教室	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
大塚 ちか子	生物学教室 自由学園最高学部	研究生 教諭	採集指導
藤 秀実	自由学園最高学部	4年	多型の解析
森 大樹	自由学園最高学部	4年	外部形態の計測
山口 諒	自由学園最高学部	4年	採集と栽培、飼育
佐藤 玄	生物学教室	講師	多型検出法の指導

## キーワード

①イネ目 ②核外DNA ③雑木林 ④湧水 ⑤宅地化

## 研究分野

自然史・保全遺伝学

## 1. 共同研究の目的

関東地域は、宅地化が急激に進んでいるにもかかわらず、湧水が多く残されている。湧水起源の河川には、水生植物であるイネ目ミクラ科の植物が自生し、タカハヤなどのハヤ類が生息している。周辺の雑木林では、イネ目のササ類が、旺盛に生育し、水系による遺伝的変異も観察されている。生息・生育地域の環境変化に上記の生物が遺伝的に多様化しどの様に新たな環境に適応しているのかを、生態遺伝学的手法を用いて豊かな自然環境の基礎データを24年度に引き続き集積する。

## 2. 共同研究の内容・計画

東京近郊関東地域の多摩川水系と荒川水系の河川に注目し、イネ目ササ類と水生植物のイネ目ミクラ科の種、及びハヤ類の採集を行い、遺伝的多様性の指標として外部形態の計測、生息域の生態の質的な記録する。これらの生物に関して、近縁種で報告されているゲノム情報をもとに、プライマーを設計し、ミトコンドリアDNAと葉緑体DNA及び核遺伝子の遺伝子多型をPCRで増殖し塩基配列を決定し比較する。種間雑種形成の有無、ササ類に関しては、開花との関連に注目し、湧水、二次林で生息・生育している生物種の自然史を理解し、地域の自然の実体を市民にも報告していきたい。

## 3. 研究成果（経過）

今年度は、分子レベルの解析の前に、武蔵野の自然

をどのように残すかが中心課題となり、現状の把握を行い、野生植物と人のかかわりを重点的に研究対象とした。武蔵野台地には多様な自然環境が存在し、一定の範囲の中に異なる植生の組合せを見ることができる。しかし近年は人の影響で野生植物の生育範囲が狭まりつつある。本研究では武蔵野台地の中央に位置する東久留米を中心として、野生植物であるアカシデ・イヌシデ・セキショウ・サイハイランについて継続的に観察・調査を行った。またこれらの植物を通して自然と人の関わりを考察した。今回調査を行ったシデ類・セキショウ・サイハイランは古くから人の影響を大きく受けてきた野生植物である。イヌシデ・アカシデは平地では有用性の少なから他の植物に置き換えられる。セキショウは人口増加に伴う地下水のくみ上げによって武蔵野台地の湧水量が減ったことによって生育分布が減少した。サイハイランは近代的に開発された土地に生育することが難しく、また希少性やラン科植物であることから観賞のために盗掘されることがあり、激減したと考えられる。湧水が多くある東久留米市は、野生植物が生育するに最適の環境であると考えられる。人の手をほどよく加えることで、その土地にあった自然保護ができ、野生植物も増えると考えられる。本研究は、一つの自然保護の指標、基礎資料となり、東久留米市等の協力でシンポジウムを開催するまでに至った。

#### 4. 当該研究に係る研究発表について

##### (1) 口頭発表

- ① 須藤秀実, 森大樹, 山口諒: 自然と人のかかわりー武蔵野の野生植物, 自由学園卒業論文発表会, 東久留米市, 平成26年1月29日.
- ② 矢野淳子, 大塚ちか子: 地域と共に学ぶ: 向山緑地・立野川から始める教育研究, 向山緑地・立野川から始める地域学シンポジウム, 自由学園主催, 東久留米市・関東地域づくり協会・日本生態系協会(後援) 東久留米市, 平成26年3月30日.

## 2. 熱帯、亜熱帯種ショウジョウバエの北上と温暖化

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
松田 宗男	生物学教室	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
澤村 京一	筑波大学大学院	講師	DNA 多型の解析
平井 和之	生物学教室	講師	DNA 多型の解析
富村 義彦	芝学園	元教諭	染色体多型の解析
戸張 よし子	NPO 科学教育研究所	理事	雑種の妊性確認

## キーワード

①染色体多型 ②核遺伝子多型 ③核外遺伝子多型 ④ショウジョウバエ近縁種

## 研究分野

進化遺伝学

## 1. 共同研究の目的

2000年以降、従来生息の記載がない熱帯種のショウジョウバエが、亜熱帯の沖縄諸島だけでなく鹿児島でも採集されるようになった。温暖化の影響か、温度感受性などの遺伝的変異により生息域を拡大しているのかは不明である。熱帯種で同胞種でもある、*D.parapallidosa*、*D.aananassae*、*D.parabipectinata* の日本で採集された系統と熱帯で採集された系統の遺伝的変異を調べ、雑種形成の可能性と侵入種の特徴を明らかにすることを目的としている。

## 2. 共同研究の内容・計画

既に維持されている系統及び、2012年に採集した沖縄、マレーシア（アルコール標本）の系統を中心に上記3種とその近縁種系統について、以下の遺伝的変異について調査をする。1) mtDNA の *COI* 領域、2) Y-染色体上の *kl-1* 領域、第4染色体上の偽遺伝子3) 唾腺染色体、4) 寄生している細菌 *Wolbachia* の有無、5) 生殖的隔離、6) 外部形態。これらの遺伝的変異と、遺伝子頻度と遺伝子型頻度を推定し、種の分布域拡大化と、雑種形成、種間の遺伝子移入の結果などから種分化の萌芽について研究を行う。

## 3. 研究成果（経過）

近縁種間の分子系統解析では、対象とする遺伝子座によって異なった系統樹が得られ「系統樹不一致問題」に直面する。1つの解釈は、祖先多型が現世の集団に維持されている場合（incomplete lineage sorting）で。もう1つの解釈は、過去に起きた雑種を介しての遺伝子の移入（interspecific gene flow）

である。今回、東南アジア起源の *D. ananassae* と近縁種 *D. parapallidosa* がマレーシア、ペナン島で共存している集団の解析をする機会を得た。約500個体のアルコール標本から第4染色体の偽遺伝子(*φCOI*)、Y染色体の遺伝子 (*kl5*) をPCRで増殖しRFLPで解析した。外部形態として雄の性櫛(sec comb)の数の比較を行った。従来の分子レベルだけの解析から導き出された仮説「ペナン島集団の大部分は、*D. ananassae* であるが、一部に *D. parapallidosa* との雑種あるいはその子孫が混ざっている」を検証を、染色体多型、妊性、形態のデータに加えて行った。結果は、「ペナン島集団の大部分は、*D. ananassae* の第4染色体とY染色体を持った *D. parapallidosa* で一部 *D. ananassae* の個体が混じっている」ことを示唆した。外部形態、染色体逆位、妊性の研究結果を加えることにより、分子レベルだけの研究の不備な点を明確に知ることが出来た。

## 4. 当該研究に係る研究発表について

## (1) 学会誌等

- ① 澤村京一, 佐藤玄, 李昭揚, 上村佳孝, 松田宗男てん: アナナスショウジョウバエ類に置ける種間浸透の分子生物学的証拠: ペナン島(マレーシア): 集団の事例. 昆虫DNA研究会ニュースレター 20巻. 41-44, 2014.

## (2) 口頭発表

- ① 澤村京一, 松田宗男: アナナスショウジョウバエ類を用いた種分化の研究. 日本遺伝学会大84回大会ワークショップ, (招待講演)福岡,

平成25年9月24日 -26日.

- ② 澤村京一, 佐藤玄, 李昭揚, 上村佳孝, 松田宗男: アナナスショウジョウバエ類野外集団における種間浸透—ペナン島 (マレーシア) の事例, ショウジョウバエ多様性研究会 (招待講演), 静岡・三島 (国立遺伝学研究所), 平成25年9月28日 -30日.

## 3. 日本産タケ・ササ類数種の成立に関する遺伝資源学的研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
松田 宗男	生物学教室	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
村松 幹夫	岡山大学	名誉教授	形態的解析
大塚 ちか子	自由学園最高学部 生物学教室	教員 研究生	ネザサの保全について
佐藤 玄	生物学教室	講師	統計手法の指導

## キーワード

①イネ科 ②周期的開花 ③葉緑体遺伝子 ④パーオキシダーゼ ⑤日本産タケ・ササ類

## 研究分野

保全生物学

## 1. 共同研究の目的

イネのゲノム解析の進展によりゲノム情報の適用が近縁のタケ・ササ類に可能になった。タケ類は、開花周期など特異的な形質が多く、詳細な解明が待たれている。さらに、食材、生薬、林業素材、繊維原料、バイオエタノール原料の潜在性など、遺伝資源としての重要性が高い。しかし、種の成立や、生態遺伝学的解析は進んでいない。本研究は、タケ・ササ類を専門とする村松博士の協力により、日本産のタケ・ササ類の分布、開花現象、自然雑種などを形態形質とゲノム解析に依って明らかにすることにある。

## 2. 共同研究の内容・計画

供試各種が混生または隔離状態で分布する地域において、又、播種実生植物について、地域間の開花状況、稈長、葉数、生育密度などの学部形質の調査・測定し比較解析を行う。核遺伝子においては、種属間差異がみられるパーオキシダーゼ同位酵素の等電点電気泳動による集団解析、葉緑体 DNA の PCR 産物における塩基配列を比較解析を行う。供試植物の採集と解析は村松と大塚が、分子レベルの解析は、杏林大学にて行う。野外観察・調査は、神奈川県入生田、奥多摩、名栗地域に加え、自由学園敷地の植生、農場もフィールドとして利用する。

## 3. 研究成果（経過）

大塚を中心とした自由学園では、散発的に集団中に開花穂が見られるアズマネザサの土壤保全の役割に関する調査は、更なる実験観察が必要ではあるが、冬季にササの葉を植被として地表を裸地でなく落葉等を適度に残す役割を担い、土壤を形成し保全する

方向にある可能性を示した。

村松は、イネ科植物の中で照葉樹林帯と関連のある草本植物から進化し樹木形態に変わっていったタケの仲間について、50年にわたる観察結果のまとめの作業を進められた。自然誌の視点から、いくつかの提案を提示した。1) 大型タケ類は、渡来した栽培種であるあるが、栽培から逸出した野生化し里山に適応し生育している。2) 分類学上類縁関係が遠い属間でも高い交雑親和性があり、自然雑種が中間型を示している。従って、日本のタケ連は、土着系統間の自然雑種群、渡来種を親とする雑種群、種分化した属との3つのカテゴリーに分けることを提案した。出雲風土記に伊邪那美之尊との伝承で出てくる島根県東部のインヨウチクは、渡来したマダケが土着の固有種ササ属と交雑してできた自然雑種属であることが判明し、タケ笹の多様性は、自然私的側面に加え文化史的側面と合わせて総合し体系的に考察する興味ある材料であることが分った。

## 4. 当該研究に係る研究発表について

## (1) 口頭発表

村松幹夫：日本産タケ連植物の遺伝育種学的研究 XXXIV. 古代における大型タケ類の渡来とインヨウチクの起原, 日本育種学会 第124回講演会, 鹿児島 平成25年10月13日.

## (2) 著書

村松幹夫：日本列島のタケ連植物の自然誌 籐と笹. 大型タケ類や自然雑種. 栽培植物の自然誌 II (山口裕文 編著) 北海道大学出版, 2013. pp59-93

#### 4. プロバイオティクスによる下部消化管手術後の感染予防効果の検討

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 敬明	消化器一般外科	助教（任期制）	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
正木 忠彦	消化器一般外科	教授	総括
松岡 弘芳	消化器一般外科	准教授	データ処理
朝原 崇	ヤクルト本社中央研究所	主任研究員	便・細菌類の検査

##### キーワード

①プロバイオティクス ②下部消化管手術 ③ SSI

##### 研究分野

外科感染症

- 共同研究の目的  
下部消化管手術は、他消化管手術よりも術後に創感染をはじめとする SSI (surgical site infection) が高率に発生し、患者の術後 QOL を著しく低下させている。よってプロバイオティクスによる SSI 予防効果を検討することを本研究の目的とし、副次的検査項目としての便の変化（細菌および有機酸など）をヤクルト中研究所により解析して頂くことが共同研究の目的である。
- 共同研究の内容・計画  
直腸癌手術、もしくは人工肛門閉鎖術予定患者を対象とし、服用有り群、服用無し群の2群に分け、服用有り群患者には手術前7日間、及び手術翌日から7日間乳酸菌飲料（ヤクルト65®）を服用して頂く。術後の SSI 発生率、および便・血液検査の変化を比較検討する。
- 研究成果（経過）  
下部消化管手術は、他消化管手術よりも術後に創感染をはじめとする SSI (surgical site infection) が高率に発生するため、プロバイオティクスによる SSI 予防効果を検討することを本研究の目的としている。直腸癌手術、もしくは人工肛門閉鎖術予定患者を対象とし、服用有り群、服用無し群の2群に分け、服用有り群患者には手術前7日間、及び手術翌日から7日間乳酸菌飲料を服用して頂く。  
試験の経過としては、現在までに目標症例42例に対して19例登録されており、うち1例が実施中である。

## 5. マイコプラズマ感染症と糖転移酵素発現の検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
塩原 哲夫	皮膚科学教室	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
水川 良子	皮膚科学教室	講師	皮膚局在での発現の検討
高橋 良	皮膚科学教室	助教	末梢血を用いた検討
古谷 安希子	協和発酵キリン株式会社	主任研究員	糖転移酵素抗体作成

## キーワード

①マイコプラズマ感染 ②糖転移酵素 ③ホーミング ④制御性 T 細胞

## 研究分野

免疫学

## 1. 共同研究の目的

マイコプラズマ感染症は、様々な皮膚疾患の発症に関与している可能性が示唆されている。炎症局所には炎症を惹起する effector 細胞と炎症を抑制する regulatory 細胞の相互関係が重要な役割を果たしている。マイコプラズマ感染がこれらの各種細胞の機能や発現に様々な影響を起している可能性を考え、マイコプラズマ感染が契機と考えられる皮膚疾患の末梢血および皮膚局所浸潤細胞の同定および機能の検討を行い、マイコプラズマ感染が皮膚疾患の発症に関与する機序を明らかにする。

## 2. 共同研究の内容・計画

我々は各種皮膚疾患の末梢血を経時的に採取し、組織検体も適宜採取している。経時的に採取しているマイコプラズマ感染症のある皮膚疾患患者末梢血の effector 細胞 (CD8) と regulatory 細胞 (Foxp3+) の発現と局所での発現、それら細胞の皮膚へのホーミングレセプターおよび糖転移酵素の発現を検討する。さらに、各細胞のサイトカイン産生能や、抑制実験も皮膚へのホーミングレセプターおよび糖転移酵素の発現との関係も明らかにする予定にしている。

## 3. 研究成果 (経過)

マイコプラズマ感染症が引き起こす免疫学的な変化が、様々な皮膚疾患の発症および重症化に関与している可能性を考え、その機序を明らかにすることを目的としている。昨年度はマイコプラズマ感染症により CCR6陽性の Treg 細胞が減少している傾向が確認された。そこで本年度は、マイコプラズマ感染は Treg の機能を抑制するのか、糖転移酵素への影響はあるのかを明らかにしたいと考えた。

マイコプラズマ感染から得られた末梢血リンパ球を用いて Treg の機能を検討した。対照として健常人および帯状疱疹などのウイルス感染症の検体を用いた。急性期では、マイコプラズマ感染のみでなく帯状疱疹などのウイルス感染においても、Treg の機能は著明に低下していた。

一方、慢性期 (発症から3ヶ月以降) では、マイコプラズマ感染のみにおいて Treg の機能の抑制が確認された。以上よりマイコプラズマ感染では長期にわたり Treg の機能が低下し、このことが様々な疾患の誘因として重要な役割を果たしているのではないかと考えられた。

## 4. 当該研究に係る研究発表について

## (1) 学会誌等

- ① 倉田麻衣子, 平原和久, 五味方樹, 狩野葉子, 塩原哲夫: 粘膜症状が強く認められたマイコプラズマ感染による Stevens-Johnson 症候群 (SJS) の1例. 日皮会誌 123: 318, 2013.

## (2) 口頭発表

- ① 佐藤典子, 勝田倫江, 加藤峰幸, 塩原哲夫: マイコプラズマ感染後にアナフィラクトイド紫斑と結節性紅斑を生じた1例. 日本皮膚科学会 第853回東京地方会, 東京, 平成26年1月18日.

6. 重症薬疹におけるヘルペスウイルスの関与の解明

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
塩原 哲夫	皮膚科学教室	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
小原 道法	東京都医学総合研究所	室長	In-situ PCR、PCR
水川 良子	皮膚科学教室	講師	In-situ PCR、免疫組織染色など全般

キーワード

①ヘルペスウイルス ②再活性化 ③薬剤アレルギー ④ PILR ⑤単球

研究分野

皮膚免疫学

1. 共同研究の目的

我々は以前より、抗癌薬などによって生じる重症薬疹（薬剤過敏症候群：DIHS）ではその発症にヘルペスウイルス（HHV-6）の再活性化が関与していることを明らかにしてきた。さらに DIHS では経過中に HHV-6 以外のヘルペスウイルスが連続的に再活性化することが判明している。本年度は DIHS に加え、重症薬疹である Stevens-Johnson 症候群（SJS）や中毒性表皮壊死症（TEN）においてもヘルペスウイルスの再活性化が病態に関与していることを明らかにするために、単純ヘルペス（HSV）を認識するレセプターとして注目されている PILR の単球での発現を中心に検討し、病態への関与を明らかにしたい。

2. 共同研究の内容・計画

我々は DIHS はもちろんのこと、SJS および TEN の末梢血および組織検体を経時的に採取している。ヘルペスウイルスの再活性化がこれらの重症薬疹の病態に関与していることを明らかにするために、各種ヘルペス DNA ウイルスの検出を経時的に行うのはもちろんのこと、組織検体での HSV タンパクおよび DNA の発現の検討を行う。また、HSV を認識する PILR の発現が単球に認められることを予備実験で確認しており、この発現が病態によりどのように変化するのかも検討する予定である。PILR の発現を組織学的に検討する手法も既に確立済みであり、末梢血の検討と合わせて確認する予定にしている。これらにより、HSV が重症薬疹にどのように関わっているのかを明らかにしたいと考えている。

3. 研究成果（経過）

重症薬疹として薬剤過敏症候群（DIHS）および Stevens-Johnson 症候群（SJS）や中毒性表皮壊死

症（TEN）が挙げられる。DIHS では薬剤のみでなく HHV-6 の再活性化が発症に関与していることは既にコンセンサスを得ているが、SJS/TEN においても薬剤のみでなくヘルペスウイルスを中心としたウイルスの再活性化が関与している可能性を考え検討を行った。本年度は HSV を中心にして検討を行った。HSV DNA ウイルスの検出を末梢血および唾液にて経時的に行うのはもちろんのこと、組織検体での HSV タンパクおよび DNA の発現の検討を行った。HSV DNA は末梢血で確認できた薬疹症例はいなかったが、急性期から唾液中に HSV DNA が陽性になった DIHS 症例があり、病態の初期に HSV DNA が関与している可能性が示唆された。組織の検討でも HSV タンパク抗原が浸潤細胞に確認された症例があり、HSV が従来考えられていた以上に薬疹に関与している可能性が示唆された。

4. 当該研究に係る研究発表について

(1) 学会誌等

- ① Ushigome Y, Kano Y, Ishida T, Hirahara K, Shiohara T: Short-and long-term outcomes of 34 patients with drug-induced hypersensitivity syndrome in a single institution. J Am Acad Dermatol 68: 721-728, 2013.
- ② Hayakawa J, Mizukawa Y, Kurata M, Shiohara T: A syringotropic variant of cutaneous sarcoidosis -Presentation of 3 cases exhibiting defective sweating responses. J Am Acad Dermatol 68: 1016-1021, 2013.
- ③ Shiohara T: The role of viral infection in the development of severe drug eruptions.

- Dermatologica Sinica 31: 205-210, 2013.
- ④ 小川浩平, 森戸啓統, 長谷川文子, 宮川史, 小林信彦, 渡辺秀晃, 末木博彦, 藤山幹子, 橋本公二, 狩野葉子, 塩原哲夫, 伊藤香世子, 藤田浩之, 相原道子, 浅田秀夫: 薬剤性過敏症症候群 (DIHS) における血清 TARC 値の上昇とヒトヘルペスウイルス 6 との関連. J Environ Dermatol Cutan Allergol 7: 444, 2013.
  - ⑤ Ishida T, Kano Y, Mizukawa Y, Shiohara T: The dynamics of herpesvirus reactivations during and after severe drug eruptions: their relation to the clinical phenotype and therapeutic outcome. Allergy 69: 798-805, 2014.
- (2) 口頭発表
- ① Takahashi R, Shiohara T: Suppressive CD14dimCD16+ monocytes contribute defective anti-viral immune responses in eczema herpeticum. International Investigative Dermatology 2013, Scotland, May 8-11, 2013.
  - ② Ushigome Y, Takahashi R, Shiohara T: CD16+patrolling monocytes(pMO)sensing HSV negatively control regulatory T cell (Treg) responses in severe drug eruptions. The 8th Meeting of International Investigative Dermatology 2013, Scotland, May 8-11, 2013.
  - ③ 平原和久, 佐藤洋平, 堀江千穂, 五味方樹, 狩野葉子, 塩原哲夫: SJS/TEN の治療経過中のサイトメガロウイルスの検討. 第112回日本皮膚科学会総会, 横浜, 平成25年6月14-16日.
  - ④ Mizukawa Y, Shiohara T: Mechanisms insuring regulatory T cell recruitment in fixed drug eruption lesions. 8th International Congress on Cutaneous Adverse Drug Reactions. Taoyuan, Taiwan, Nov 17th, 2013.
  - ⑤ Shiohara T: The role of virus in drug hypersensitivity syndrome. 8th International Congress on Cutaneous Adverse Drug Reactions Meeting, Taiwan, Nov 16-17, 2013.
  - ⑥ 平原和久, 佐藤洋平, 倉田麻衣子, 堀江千穂, 五味方樹, 狩野葉子, 塩原哲夫: 重症薬疹 (DIHS/SJS/TEN) における治療経過中のサイトメガロウイルスの検討. 第43回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会, 金沢, 平成25年11月29日-12月1日.

## 7. 糖尿病に伴う赤血球における O-GlcNAc 修飾タンパク質の変化の解析

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
秋元 義弘	解剖学教室	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
川上 速人	解剖学教室	教授	研究の立案、指導
遠藤 玉夫	東京都健康長寿医療センター研究所	副所長	研究の立案、指導
戸田 年総	横浜市立大学 先端医科学研究センター	教授	研究の指導
三浦 ゆり	東京都健康長寿医療センター研究所 老化ゲノム機能研究チーム	研究副部長	プロテオーム研究の指導、遂行

### キーワード

①糖尿病 ② O-GlcNAc ③複合糖質 ④糖鎖生物学 ⑤グライコプロテオミクス

### 研究分野

組織化学

#### 1. 共同研究の目的

これまで我々は、細胞質の O-GlcNAc 修飾異常タンパク質の解析を行い、糖尿病に伴い腎臓において細胞骨格タンパク質であるアクチン、チューブリン、ミオシン、アクチニンなどに顕著な O-GlcNAc 修飾の変化が生ずることを明らかにしてきた。さらに本研究では、糖尿病により発現変動する赤血球の O-GlcNAc 化タンパク質をグライコプロテオミクス法により網羅的に解析し、糖尿病の診断、治療に役立つマーカーとなるタンパク質を明らかにする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

糖尿病モデル動物 (GK ラット) から採血後、赤血球を分離し、ソニケーターで破碎し、ヘモグロビンを除去する。O-GlcNAc に対するモノクローナル抗体により免疫沈降後、質量分析にかけ、O-GlcNAc の修飾が変化するタンパク質を調べる。この際、東京都健康長寿医療センター研究所プロテオミクス共同センターに設置されている機器 (Protean IEF/PSrotean II, PDQest/Molecular Imager FX, Spot Cutter) および本学の共同研究施設の LC-MS (LTQ-Orbitrap Velos) を使用してプロテオーム解析を行う。

#### 3. 研究成果 (経過)

O 結合型 N-アセチルグルコサミン (O-GlcNAc) 化はタンパク質のセリンおよびスレオニン残基に対する翻訳後修飾の一つであり、タンパク質のシグナル伝達、相互作用、分解、転写などの機能制御に関わる。様々な疾患とも深く関わっており、糖尿病ではヘキ

ソサミン合成経路の亢進から O-GlcNAc 化タンパク質の増加が予想され、糖尿病バイオマーカーとしての可能性が示唆されている。今年度は、糖尿病患者赤血球中の O-GlcNAc 化プロテオーム解析及び O-GlcNAc 代謝酵素の変動解析を行い、糖尿病バイオマーカー候補となるタンパク質を探索した。

糖尿病患者および健常者から血液を採取して赤血球を分離し、超音波処理と遠心分離により赤血球タンパク質の可溶化と抽出を行った。その後、脱ヘモグロビン処理とアセトン沈殿により得られたタンパク質をサンプルとして用いた。タンパク質を二次元電気泳動により分離した後、抗 O-GlcNAc 抗体を用いてウエスタンブロッティングを行い、赤血球中の O-GlcNAc 化タンパク質について糖尿病による変動解析を行った。

その結果、糖尿病患者サンプルにおいて O-GlcNAc 化タンパク質が増加することが明らかになった。現在、二次元電気泳動とウエスタンブロッティングを用いて O-GlcNAc 化プロテオーム解析を行い、バイオマーカー候補となるタンパク質を探索している。

#### 4. 当該研究に係る研究発表について

##### (1) 学会誌等

- ① Nikzad H, Kashani HH, Kabir-Salmani M, Akimoto Y, Iwashita M: Expression of galectin-8 on human endometrium: Molecular and cellular aspects. Iran J Reprod Med 11: 65-70, 2013.
- ② 秋元義弘, 三浦ゆり, 戸田年総, Gerald W

Hart, 遠藤玉夫, 川上速人: 糖鎖と疾患 4. 蛋白質の O-GlcNAc 修飾と糖尿病 病理と臨床 31 (8): 847-851, 2013.

- ③ 秋元義弘, 平野 寛: 人体の構造と生命機能. A. 人体の構造. 「健康・栄養科学シリーズ. 人体の構造と機能及び疾病の成り立ち・総論 (香川靖雄, 近藤和雄, 石田 均, 門脇 孝編)」第2版, 南江堂, 東京, 1-15, 2013.

(2) 口頭発表

- ① Akimoto Y, Miura Y, Toda T, Fukutomi T, Sugahara D, Wolfert MA, Wells L, Boons G-J, Hart GW, Endo T, Kawakami H: Changes of the O-GlcNAc modification of proteins accompanied with diabetic nephropathy. 12th HUPO World Congress, Yokohama, Sept. 14-18, 2013.
- ② 秋元義弘: O-GlcNAc 修飾と糖尿病. 第11回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム, 仙台, 平成25年10月25-26日.
- ③ 秋元義弘, 福富俊之, 菅原大介, 西堀由紀野, 楊 國昌, 川上速人: (H25年度 医学部共同研究プロジェクト中間報告) 糖尿病新規マーカーの探索. 第42回杏林医学会総会, 三鷹, 平成25年11月16日.
- ④ Akimoto Y, Miura Y, Toda T, Fukutomi T, Sugahara D, Wolfert MA, Wells L, Boons G-J, Hart GW, Endo T, Kawakami H: Morphological changes in diabetic kidney are associated with increased O-GlcNAc modification of cytoskeletal proteins. World Diabetes Congress 2013, Melbourne, Dec 2-6, 2013.
- ⑤ 秋元義弘, 三浦ゆり, 戸田年総, 福富俊之, 菅原大介, Gerald W Hart, 遠藤玉夫, 川上速人: 糖尿病性腎症に伴う糸球体タンパク質の糖修飾異常の解析. 第119回日本解剖学会総会・全国学術集会 下野, 平成26年3月27-29日.
- ⑥ 津元裕樹, 岩本真知子, 千葉優子, 秋元義弘, 森澤 拓, 遠藤玉夫, 三浦ゆり: 糖尿病患者赤血球中の O-GlcNAc 化プロテオーム解析. 日本薬学会第134年会, 熊本, 平成26年3月27-30日.

8. 糖質ステロイド代替薬の創薬

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
楊 國昌	小児科学教室	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
竹松 弘	京都大学	准教授	低分子化合物の探索

キーワード

①糖質ステロイド ②創薬 ③リード化合物

研究分野

免疫アレルギー

1. 共同研究の目的

糖質ステロイドは多彩な疾患の治療薬の柱として使用されているが、その副作用は甚大である。本研究では、我々が行ってきた糖質ステロイドにより誘導される新規産物分子 glucocorticoid induced transcript1 (Glccil) のタンパク機能解析を更にする。合わせて、リード化合物ライブラリーから、Glccil類似構造分子およびその結合タンパク候補を探索し、糖質ステロイド代替薬の創薬を行う。

2. 共同研究の内容・計画

平成24年度の本共同研究により、研究対象分子である GLCCIIは、1) 糖質ステロイドのみに誘導されるマルチキナーゼ阻害物質である、2) PAK1キナーゼを優位的に阻害することでT細胞殺作用を発揮する、3) 後天性ネフローゼ患者の解析から、GLCCIIのエキソン8の一塩基多型が糖質ステロイド感受性に関連する可能性がある、ことが判明した。本研究により、更なる症例での GLCCIIとその対応キナーゼの多型解析を行い、その対応キナーゼ阻害を発揮するリード化合物をステロイド代替薬候補として、ケミカルゲノミクス情報により探索する。

3. 研究成果（経過）

種々の免疫異常の原因であるT細胞機能に、研究対象分子である Glucocorticoid induced transcript-1 (Glccil) が如何なる機序にて抑制的に働くかを、以下にてさらに詳細に解析した。

糖質ステロイドの抗T細胞殺作用に、Glccilが直接的に作用することを証明するために、マウスT細胞に、エレクトロポーションにて GlccilcDNA を直接導入した。その結果、mutant-Glccilと比較して、明かなアポトーシスの誘導作用が観察された。

さらに、Glccil conditional transgenic mouse を樹立し、胸腺T細胞のアポトーシスにおける Glccilの直接作用の促進効果の解析を試みた。しかし、本遺

伝子改変マウスの Cre-Lox-p システムは、薬剤で誘導する以前に生下時から徐々に内因性に活性化していることが判明し、Glccilの直接効果を断定するには至らなかった。

ステロイド使用中のネフローゼ患者からの検体解析については、Glccilとその相互作用分子：LC8とPAK1について症例を増やし、計250例について一塩基多型を解析した。その結果、現時点では、ステロイド感受性の違いにおける Glccilのエキソン8多型の有意差はないと考える。

LC8とPAK1については、有意なエキソン部位の多型は観察されなかった。

4. 当該研究に係る研究発表について

(1) 口頭発表

- ① Kiuchi Z, Ito Y, Nishibori Y, Yan K: GLCCII executes glucocorticoid action in thymocyte apoptosis. The ASN Kidney Week 2013 Annual Meeting, Atlanta, Nov. 7-10, 2013.

## 9. かゆみを伝える末梢感覚神経の同定と機能解析

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
八木 淳一	統合生理学教室	講師	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 靖	防衛医科大学校解剖学第二講座	教授	神経細胞の免疫組織学的解析

## キーワード

①皮膚感覚 ②掻痒 ③後根神経節ニューロン ④パッチクランプ ⑤起痒物質

## 研究分野

神経科学

## 1. 共同研究の目的

様々な疾患に付随して堪え難い「かゆみ」が起こる場合がある。一方、体性感覚情報の受容を司る後根神経節（DRG）ニューロンは、様々な刺激に反応できるよう多種多様に分化しているが、このうち「かゆみ」を伝える DRG ニューロンは未だに同定されていない。本研究は、まず電気生理学的解析から「かゆみ」を伝える末梢感覚神経を同定し、さらに免疫組織学的な解析を合わせて「かゆみ」の受容機構を明らかにすることを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

独自に開発した「麻酔下全動物標本によるパッチクランプ法」を用い、ラットの後足にかゆみ誘発物質を注入して、かゆみを人工的に誘発した状態で、DRG ニューロンからパッチクランプ記録を行う。初年度は、かゆみ誘発物質クロロキンの皮下注射により侵害受容性 DRG ニューロンの一部が興奮することを見出した。今後、かゆみ受容のメカニズムを電気生理学的に解析し、防衛医科大学校解剖学第二講座小林靖教授との共同研究では、記録した DRG ニューロンに免疫染色を施し、かゆみを感知する受容体の同定を目指す。

## 3. 研究成果（経過）

多様な感覚種を伝える脊髄後根神経節ニューロン（DRG ニューロン）の中で、「かゆみ」を伝える DRG ニューロンは未だに同定されておらず、難治性掻痒を抑える治療法の開発を妨げている。本申請者は、独自に開発した「麻酔下全動物標本によるパッチクランプ法」により、熱受容-侵害受容性 DRG ニューロン（Type I）の一部が、かゆみ誘発物質クロロキンの皮内投与により興奮することを見出した。この結果から、クロロキン受容体 MrgprA3 の活性化が熱センサー TRP チャンネルの活性化を介してかゆみを起こす可能性が示唆された。今後、かゆ

み受容の電気生理学的性質を詳細に解析し、かゆみの受容機構の解明を目指す。

## 4. 当該研究に係る研究発表について

## (1) 口頭発表

- ① 八木淳一, 小林靖, 大木紫, 平井直樹: Warm 刺激、Cool 刺激は侵害刺激か、非侵害刺激か? In Vivo パッチクランプ法による温度感受性 DRG ニューロンの分類と解析, 温熱生理研究会2013, 岡崎, 平成25年9月5-6日.
- ② 八木淳一: 痛みに関連するイオンチャネルの性質, バイオを論じる会(防衛医科大), 埼玉, 平成25年10月29日.

## 10. 自閉性障害患者の syntaxin1A、1B 遺伝子解析と臨床病態との関連性の検討

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
赤川 公朗	細胞生理学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
田丸 政夫	県立広島大学保健福祉学部	教授	患者試料収集
林 優子	県立広島大学保健福祉学部	教授	臨床診断・患者試料収集
藤原 智徳	細胞生理学	准教授	遺伝子発現調節機構の解析
小藤 剛史	放射性同位元素部門	助教	遺伝子発現の解析
楊 國昌	小児科学	教授	患者試料収集

### キーワード

①自閉性障害 ②モノアミン ③シタキシン1 ④遺伝子発現異常

### 研究分野

神経科学

#### 1. 共同研究の目的

syntaxin1 遺伝子群 (sy1) の欠失によりマウスでは情動行動異常が誘起されることが知られている。我々は人間のアスペルガー症候群 (ASP) 患者の一部では sy1A、及びそのアイソフォームである sy1B 遺伝子の変異は無いが、血球細胞において sy1A の発現量が有意に低いことを見出し、sy1A の遺伝子発現調節に異常がある可能性を見出した。本研究は ASP を含む広範な自閉性障害患者 (ASD) における血液試料での sy1A 遺伝子発現異常を詳細に検討して、これがその精神・神経症状の発症に関与する可能性について検討する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

インフォームドコンセントを得た ASD から末梢血液試料を採取し、白血球分画を得た後、mRNA 及びゲノム DNA を抽出する。この試料の遺伝子に関して定量的 PCR 法により sy1A mRNA 発現量を検討する。発現異常が推定される試料について遺伝子ゲノム構造配列を読み、bisulfate 法により発現調節領域及びイントロン内の異常メチル化の有無を調べる。また血球内のヒストン脱アセチル化酵素活性や sy1A 遺伝子に関与する既知の遺伝子発現調節因子群の発現量等を調べ、想定される sy1A の発現異常の原因を検討する。これらの結果に基づいて sy1A 遺伝子の発現制御系の異常と自閉性障害の臨床症状との関連を明らかにする。

#### 3. 研究成果 (経過)

自閉性患者の末梢血液試料からのゲノム DNA を用いたシタキシン 1 A (sy1A) 遺伝子の遺伝子多型 (SNPs) 解析および定量的 PCR 法による mRNA の発現量解析を行った。その結果、SNPs 解析ではコントロール群と患者群に違いは見られなかった。しかし、sy1A mRNA 発現量は、コントロール群と比べて、患者群で変動を示すものが多かった。さらに、患者群全体の平均発現量は有意に高く、アスペルガー症候群 (ASP) 患者でも有意に高かった。一方、高機能自閉症 (HFAD) 患者の 1/2 で発現量の低下が認められた。その他の患者 (カナー型自閉症や特定不能の PDDNOS 等) では mRNA 発現量はコントロール群とほぼ変わりがなかった。さらに、ASP 患者では mRNA 発現量が低いほどコミュニケーション障害度が高く、mRNA 発現量が高いほど多動性があることが明らかになった。また、HFAD 患者では発現量が低いほど多動性を示す傾向があった。現在、sy1A 発現異常の原因について、ゲノム DNA の発現調節領域およびイントロン内の異常メチル化の有無や sy1A 遺伝子のコピー数について検討を行っており、コピー数が半減したハプロイドの患者がいることを明らかにしている。さらに、発現量調整に関与する既知の遺伝子発現調節因子群の発現量等も調べ、sy1A 遺伝子の発現制御系の異常と自閉性障害の臨床症状との関連を明らかにする予定である。

## 11. 肺高血圧症における代謝・炎症解析

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
佐藤 徹	内科学(Ⅱ)	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
柳澤 聊爾	内科学(Ⅱ)	大学院生	解析・統計学的処理
竹鼻 健司	味の素製薬株式会社	主任研究員	解析
今泉 明	味の素株式会社	研究員	解析

## キーワード

①肺高血圧症 ②代謝 ③炎症 ④アミノ酸

## 研究分野

肺高血圧症

- 共同研究の目的  
本研究は肺高血圧症に対してアミノ酸分析等の代謝解析を行い、肺血管リモデリングや低酸素環境での代謝システムを解明することを目的とする。また、得られた知見により、新規治療薬の開発や疾患バイオマーカーの発見へつなげることも目的とする。
- 共同研究の内容・計画  
心臓カテーテル検査時、血液検体（血漿・血清）を採取し、遠心分離後、 $-80^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫へ保存する。また、必要に応じて保存血液検体より、追加検査を行う。
- 研究成果（経過）  
本研究は肺高血圧症に対してアミノ酸分析等の代謝解析を行い、肺血管リモデリングや低酸素環境での代謝システムを解明することを目的とする。本研究によりアミノ酸の統合的指標であるフィッシャー比が肺高血圧症の重症度と関連していることを解明し報告を行った。今後さらなる知見を蓄積し、新規治療薬の開発や疾患バイオマーカーの発見へつなげることを目的とする。
- 当該研究に係る研究発表について  
(1) 口頭発表
  - Ryoji Yanagisawa, Masaharu Kataoka, Takumi Inami, Takashi Kawakami, Motoaki Sano, Keiichi Fukuda, Hideaki Yoshino, Toru Satoh: Plasma Amino Acid Concentrations (Aminograms) Have Ability to Predict Disease Severity in Patients with Pulmonary Arterial Hypertension. The 78th Annual Scientific Meeting of the Japanese

Circulation Society, Mar 21-23, 2014, Tokyo.

## 12. 放射線被ばくや放射性核種による汚染を伴う外傷・熱傷の基礎診断と治療研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
山口 芳裕	救急医学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
宮内 洋	救急医学	助教	情報の収集、基礎研究
山田 賢治	救急医学	准教授	情報の収集、基礎研究
田嶋 克史	緊急被ばく医療研究センター	被ばく医療部長	情報の収集、基礎研究

### キーワード

①緊急被ばく医療 ②放射線障害 ③放射線障害の治療

### 研究分野

緊急被ばく医療

- 共同研究の目的  
「放射線被ばくや放射性核種による汚染を伴う外傷・熱傷の診断と治療のための基礎診断と治療研究」を共同研究課題とし、「放射線障害の高度な治療法の確立」を研究目的とする。
- 共同研究の内容・計画  
通常の医療機関で経験することの少ない多発外傷や広範囲熱傷などとの比較、特に皮膚障害の実際の症例との比較や重症の各臓器不全の治療との比較を基盤に、放射線障害の治療法についての高度化にむけた、より多くの情報収集と基礎的研究を行う。
- 研究成果（経過）  
研究代表者は、「放射線障害の高度な治療法の確立」に向けて、損傷皮膚への幹細胞移植治療分野の先進研究機関に所属する私の研究者のもとへ教室人員を研修に派遣すべく学術的交流を図り、多くの情報収集と受け入れ交渉を行った。この結果、平成26年度初頭に派遣が決定した。共同研究者は、平成24年度、通常の医療機関で経験することの少ない重症多発外傷（Max AIS が3以上又は緊急手術施行例）100例や、重症熱傷（Artz の基準に基づく）18例、重症敗血症（感染性 SIRS で臓器不全、組織低灌流又は低血圧を呈する例）65例、その他の重症例の集中治療を通じて、放射線障害の治療法についての高度化にむけた、多くの情報収集を行った。広範囲熱傷における各種創傷被覆材の適応について、創部（植皮部、採皮部）の陰圧閉鎖療法の有用性について、また手熱傷の有効な治療法について、それぞれ独自に検討を行った。特に広範囲熱傷における手熱傷の治療について、ある程度方針を固めることが出来た（平成26年度第57回手外科学会にて報告予定）。
- 当該研究に係る研究発表について
  - 学会誌等
    - 山口芳裕：国家安全保障に「命」の視点を－安全保障医療創生の提言－. 安全保障と危機管理 Vol.26：40-43, 2013.
  - 口頭発表
    - 「日本における災害医療体制」, 日仏医学コロック2013, 2013年6月28日.

## 13. 染色体異常のある子どもの保育 ―心疾患の影響―

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
赤木 美智男	医学教育学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
高野 貴子	東京家政大学	教授	研究責任者
高木 晴良	帝京大学	講師	研究協力者

## キーワード

①染色体異常 ②ダウン症候群 ③先天性心疾患 ④心臓手術

## 研究分野

小児科

## 1. 共同研究の目的

本研究は平成23～27年度の科学研究費（基盤研究一般C課題番号23500893）を受けて行う研究[染色体異常のある子どもの保育―心疾患の影響―、研究代表者東京家政大学高野貴子]の一環としての調査である。染色体異常児の心疾患の合併（種類、重症度）、治療、転帰、死亡等に関して、大学付属病院の小児循環器専門医にアンケート調査を行うため、本学との共同研究が必要である。同様に帝京大学付属病院との共同研究も実施する。

## 2. 共同研究の内容・計画

1. 研究協力の得られる小児循環器専門医の所属する大学付属病院の倫理委員会に本研究の申請を行い、カルテ情報閲覧の許可を得る。
2. 小児循環器専門医に調査票を郵送し、記入後、返送によるアンケート調査を行う。
3. 調査票の結果の統計解析を行う。
4. 合併する心疾患の種類、重症度や治療方法の予後に与える影響を分析し、公表する。

研究の実施期間は本学共同研究規定では原則3年間であるが、科学研究費（基盤研究一般C課題番号23500893）は平成23～27年度の5年間で予定されているため、上記研究期間として計画している。

## 3. 研究成果（経過）

染色体異常児の中でダウン症候群患者に絞り、外来カルテ調査と保護者へのアンケート調査を実施し、先天性心疾患の有無および心臓手術の有無を指標とした先天性心疾患の重症度の性差を検討した。平成24年度に引き続き、新たに協力病院（D）を得た結果、調査対象は(A)「ダウン症療育相談外来」255人、(B) 大学病院188人、(C) 大学病院47人、(D) 大学病院186人、(S) S県の親の会アンケー

ト129人、(T) 都内幼児教室卒園者アンケート128人の6種類となった。病院4施設（A、B、C、D）の総数667人（男341人、女326人）の中では、先天性心疾患のある男は168人（49%）、女191人（59%）であり、女の方が心疾患のある割合が有意に多かった（ $p=0.019$ ）。さらに「手術が必要な心疾患あり、手術が必要でない心疾患あり、心疾患なし」の3段階にして検討すると、「心疾患なし」では、男173人（51%）、女135人（41%）と男が多いのに対して、「手術が必要でない心疾患あり」では、男77人（23%）、女70人（21%）と男女がほぼ等しくなり、「心臓手術が必要な心疾患あり」では、男91人（27%）、女121人（37%）と、女の方が有意に多くなっていた（Mantel-Haenszelのカイ二乗検定で $p=0.003$ ）。このことから女の方が重症な傾向があることが分かった。アンケートを含めた6種全ての有効データ総数は923人（男487人、女436人）となり、その中で先天性心疾患のある男は237人（49%）、女252人（58%）であり、やはり女の方が心疾患のある割合が有意に多かった（ $p=0.007$ ）。さらにその中を3段階に分けると、「心臓手術が必要な心疾患あり」の男は126人（26%）、女は157人（36%）で、やはり女では重症な心疾患が有意に多かった（M-Hのカイ二乗検定で $p=0.001$ ）。

14. 悪性脳腫瘍に対する分子標的治療の開発に向けた分子病理学的研究

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
永根 基雄	脳神経外科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
宍戸原 由紀子	病理学	講師	腫瘍病理学
菅間 博	病理学	教授	腫瘍病理学
李 政勲	脳神経外科	大学院生	悪性脳腫瘍の治療と解析

キーワード

①悪性脳腫瘍 ②分子標的治療 ③遺伝子異常 ④遺伝子発現異常 ⑤免疫組織化学

研究分野

脳腫瘍学

1. 共同研究の目的

現在の標準治療では治療が未だ見込めない原発性悪性脳腫瘍、特に神経膠腫（膠芽腫など）や悪性リンパ腫に対する新規治療法を開発することを目的として、担腫瘍動物モデルを用いて、腫瘍特異的な遺伝子異常に着目し、その分子病理学的研究を行う。

2. 共同研究の内容・計画

神経膠腫をはじめとした悪性脳腫瘍には、腫瘍型や悪性度に特異的な遺伝子異常が高頻度で認められることが近年の分子遺伝子学の発展に伴い明らかとなってきた。それらの遺伝子異常は正常細胞では認められないことから、新たな腫瘍特異的な分子標的治療への発展が期待されている。前臨床研究として、より臨床に近い担腫瘍動物モデルを用いた研究を行う。具体的には、主にマウス脳腫瘍モデルを対象として、腫瘍特異的な遺伝子異常に着目した治療を行い、腫瘍の組織標本を作製し、免疫組織化学染色等を行い、治療効果判定ならびに感受性規定因子等について分子病理学的に解析する。

主要な研究補助者：清水、鈴木（脳神経外科）、海野（病理学）

3. 研究成果（経過）

神経膠腫や中枢神経系原発悪性リンパ腫（PCNSL）をはじめとした原発性悪性脳腫瘍には、腫瘍型や悪性度に特異的な遺伝子異常やがん関連蛋白の高発現が高頻度で認められることが近年の分子遺伝子学の発展に伴い明らかとなってきた。それらの遺伝子・分子異常は正常細胞では認められないことから、新たな腫瘍特異的な分子標的治療への発展が期待されている。今年度の本共同研究においては、

PCNSLにおける腫瘍発生や治療感受性に関連する遺伝子・因子の解析を目的として、腫瘍標本の免疫組織化学染色法を施行し、予後因子の抽出を検討した。その結果、年齢及びKernofsky performance status (KPS) は過去の報告同様有意に予後と相関した。Methotrexate (MTX) 基盤療法により高い完全奏効割合（83%）を認め、予後改善に強い影響を認めた。MTXの排出・分布にかかわるLRPの発現は予後と負の相関を示した。Germinal center B細胞分化に関与するBcl6の低発現例、及びがん遺伝子c-myc高発現例では予後が不良であった。Mismatch repair機構のMLH、MSH2、MSH6の発現低下は増殖能の高いPCNSLにおいて有意な予後不良因子であった。これらの結果より、PCNSLにおける免疫組織化学染色法による解析は、予後を予測する有用な方法となる可能性が示唆された。

4. 当該研究に係る研究発表について

(1) 学会誌等

- ① 小林啓一, 永根基雄, 河合拓也, 野口明男, 塩川芳昭: 高齢者中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する大量methotrexate基盤初期治療の成績と展望. Geriatric Neurosurgery 26, 63-70, 2014.
- ② Nagane M, Kobayashi K, Takayama N, Shiokawa S: Multidrug immunochemotherapy (R-MPV-A) for newly diagnosed and recurrent primary central nervous system lymphomas (abstr NO-097). Neuro-Oncology 15 Supplement 3: iii122, 2013.

- ③ Nagane M, Nitta Y, Shimizu S, Shishido-Hara Y, Shiokawa Y. Combination treatment with the anti-EGFR monoclonal antibody, nimotuzumab, and temozolomide causes synergistic growth suppression of mutant EGFR expressing glioma xenografts. Proceedings of 104th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research 54 (April). nr 5473, 2013.
- ④ 永根基雄：脳神経外科医が解説する血液腫瘍：悪性リンパ腫（Primary central nervous system lymphoma）。脳神経外科速報 in press, 2014.

(2) 口頭発表

- ① 李政勲, 宍戸原由紀子, 鈴木香, 清水早紀, 海野みちる, 塩川芳昭, 永根基雄：原発性中枢神経系悪性リンパ腫の予後規定因子の検討。第31回日本脳腫瘍学会学術総会, 宮崎, 2013. 12.8.
- ② Motoo Nagane, Keiichi Kobayashi, Nobuyuki Takayama, Yoshiaki Shiokawa: Multidrug immunochemotherapy (R-MPV-A) for newly diagnosed and recurrent primary central nervous system lymphomas. 2013 The 4th Quadrennial Meeting of the World Federation of Neuro-Oncology, The18th Annual Meeting of the Society for Neuro-Oncology. San Francisco, CA, U.S.A. 2013. 11. 22.
- ③ 永根基雄, 小林啓一, 高山信之, 塩川芳昭：初発中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する多剤併用免疫化学療法(R-MPV-A)の治療効果。第51回 日本癌治療学会, 京都, 2013. 10. 26
- ④ 李政勲, 宍戸原由紀子, 塩川芳昭, 永根基雄：原発性中枢神経系悪性リンパ腫の予後規定因子の検討。第72回 日本脳神経外科学会学術総会, 横浜, 2013. 10.18.
- ⑤ Nagane M, Nitta Y, Shimizu S, Shishido-Hara Y, Shiokawa Y. Combination treatment with the anti-EGFR monoclonal antibody, nimotuzumab, and temozolomide causes synergistic growth suppression of mutant EGFR expressing glioma xenografts. 104th Annual Meeting of American Association for Cancer Research 2013, Washington D.C., U.S.A., 2013. 4. 10.

15. 透析液を用いた藻類バイオマスの生産・利用に関する研究

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
福岡 利仁	内科学 (I)	学内講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
渡邊 信	筑波大学生命環境科学研究科	教授	研究全般にわたる指導
米澤 夏岐	筑波大学生命環境科学研究科	研究生	藻類の培養と結果の解析

キーワード

①藻類 ②透析液 ③バイオマス
-----------------

研究分野

医学生物学
-------

- 共同研究の目的  
 当院では、臨床材料は入手可能であるが、藻類の培養・藻類を用いた研究施設、技術、専門の研究者が少ないため。共同研究先の筑波大学生命環境科学科は藻類研究の世界的権威である。
- 共同研究の内容・計画  
 当院通院中の腹膜透析、血液透析をうけている慢性腎不全患者から、透析の排液を回収し、生化学的に成分の分析を行ったのち、解析の終わった透析液を筑波大学生命科学環境研究科に発送し、複数の藻類の培養に供していただく。藻類は重油の主原料であるスクアレンやDHA、種々のデンプンなど多くのバイオマスを生成するが、これら人類にとって有用な新たな物質を低コストで効率的に生産することを目指す研究である。これまでに二十リットル以上の腹膜透析液を成分分析し、つくば大学へ提供した。藻類の培養には成功し、平成24年12月初旬には結果の一部を特許申請した。今後も更に研究を継続してゆきたい。
- 研究成果（経過）  
 当院で得られた腹膜透析・血液透析の排液によって、藻類バイオマスをを用いて燃料・医薬品その他の有益な化学物質を抽出することをこころみている。当院では藻類を培養する技術・施設はないが、腹膜透析液の成分をアミノ酸分析を含めた詳細な検討に供し、共同研究先のつくば大学の生物学教室にて種々の藻類の培養を行い、培養に適した藻類の選別と適正培養条件について検討を行っている。現在、航空燃料・重油などの主成分として応用可能な四塩化炭素（スクアレン）を中心とした有機物の抽出が可能なミドリムシを中心に、ボツリオコッカス、オーランチオキトリウム等の藻類の培養を行っている。

これらのアイデアによる特許出願し、現在審査結果待ちの状態となっているが、この間に、藻類は主に腹膜透析液中のリン、カリウム、糖類を中心に吸収を行い、生育に用いていることが明らかとなった。また、アンモニアなどの窒素成分も活用していることがわかり、この点についても窒素代謝産物による有効活用として、特許申請に補完として追加を試みた。また、血液透析液では、これら電解質・有機物の濃度が低下しているが、総量としては、かなり得られることが期待される。しかし、輸送に莫大な費用と労働力の確保、特殊施設の設置が必要となるため、個々の医療機関において、透析装置から廃液経路に至るまでの間で、施設内で有機物・電解質を確保することができるデバイスの開発に関しての検討を行っている。また、腹膜透析液のデータに関しては、次年度の国際腹膜透析学会での発表を視野に検討を続けている。

## 16. 呼気ガス分析装置を用いた、慢性腎臓病 CKD 症例のエネルギー代謝に関する研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
福岡 利仁	内科学 (I)	学内講師	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
伊藤 拳	国士舘大学体育学部	教授	研究全般にわたる指導
永吉 英記	国士舘大学体育学部	講師	呼気ガス分析測定と結果の解析
吉岡 耕一	国士舘大学体育学部	講師	呼気ガス分析測定と結果の解析

## キーワード

①慢性腎臓病 (CKD) ②栄養 ③呼気ガス分析 ④血液透析 ⑤エネルギー代謝

## 研究分野

医学生物学

## 1. 共同研究の目的

当院の腎臓内科に通院中の患者さんに対し、呼気ガス分析で代謝測定を行うが、当院には呼気ガス分析装置を有しておらず、使用経験もない。共同研究先の国士舘大学体育学部は、運動生理の専門であり、呼気ガス分析装置と測定ノウハウをもっており、測定機器の借り入れと、実際の測定部分を依頼し、結果の解析は共同でおこなうこととした。

## 2. 共同研究の内容・計画

当院に通院中の保存期 CKD の症例および血液透析中の CKD 症例に対して、国士舘大学体育学部より借り受けた、呼気ガス分析装置を用いて、エネルギー代謝を測定する。装置の調整・運搬・実際の測定業務は、当科の医員と研究代表者、国士舘大学体育学部講師が行い、消耗品にかかる費用については、国士舘大学の研究費を用いて補填する。現在 CKD 症例 8 名、健常ボランティア 2 名の測定を行った。更にデータの解析についてすすめてゆきたいと考えている。

## 3. 研究成果（経過）

正式な測定条件決定のためのプレマリーな検討を行った。一昨年測定したデータの検証を行ったところ、データ間のばらつきが大きく、このため現在、分析装置の担当者と分担研究者との間で装置の設定、測定条件の検討（採血データは当日、窒素成分の総量には採血データのみではなく、蓄尿データも採取するなど）をすすめている。また、学内の管理栄養士にも相談し、食事メニューの解析による、三大栄養素の摂取状況をいかにして明らかにするかについて、検討をおこなっている。プレリミナリーで

はあるが、これまでに糖尿病性腎症の保存期症例 2 例、CGN 症例 5 例（CKDG4）、血液透析症例 2 例、ネフローゼ症候群 3 例、健常者コントロール 4 名の測定を行った。

## 17. 慢性腎臓病のエピジェネティック異常の解明

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
櫻井 裕之	薬理学教室	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
丸茂 丈史	東京大学先端科学技術研究センター	特任講師	メチル化の解析

### キーワード

①エピジェネティクス ②慢性腎臓病 ③糖尿病性腎症

### 研究分野

腎臓病学

#### 1. 共同研究の目的

慢性腎臓病は根本的な治療がなく、進行して腎不全、透析に至ると、患者の苦痛、社会的負担の面で大きな問題となっている。研究代表者は、慢性腎臓病の成因、増悪にエピジェネティックな要因が働いており、これを明らかにすることが、新規腎臓病治療薬の開発につながると考えている。本研究では、慢性腎臓病モデル動物のエピジェネティック異常の解析を行うことを目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

慢性腎臓病での腎臓エピジェネティック異常を各種腎障害モデルで解析する。アルブミン尿や腎臓の組織学的変化に伴ってエピジェネティック異常が生じるかどうか、経時的に検討する。DNAメチル化は、COBRA法、バイサルファイトシーケンス法などを用いて解析し、ヒストン修飾はChIP法にて明らかにする。

#### 3. 研究成果（経過）

慢性腎臓病での腎臓エピジェネティック異常を各種腎障害モデルで解析した。アルブミン尿や腎臓の組織学的変化に伴ってエピジェネティック異常が生じるかどうか、経時的に検討した。DNAメチル化は、COBRA法、バイサルファイトシーケンス法などを用いて解析し、ヒストン修飾はChIP法を用いた。

#### 4. 当該研究に係る研究発表について

##### (1) 口頭発表

丸茂丈史, 河原崎和歌子, 西本光宏, 渡邊隆史, 櫻井裕之, 藤田敏郎: 腎障害にかかわる細胞特異的なエピジェネティック異常 第56回日本腎臓学会総会, 東京, 東京国際フォーラム, 平成25年5月10-12日.

## 18. ヒト胎児頭蓋の形成過程－C T画像による経時的解析と免疫組織学的観察

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
松村 譲児	解剖学教室	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
三川 信之	千葉大学大学院	准教授	C T撮像・画像データ解析
天野 カオリ	解剖学教室	講師	C T撮像・画像データ解析

## キーワード

①ト胎児 ②骨格 ③マイクロCT ④画像解析

## 研究分野

解剖学

## 1. 共同研究の目的

杏林大学ならびに昭和大学に所蔵されている胎児標本ならびに胎児頭蓋晒骨標本(約1,000例)を用い、マイクロCT撮影装置によって精細3次元画像データとし、このデータをもとに、ヒト胎児骨格の発生過程における形態学的変化をコンピュータ上における計測を含めた画像解析手法によって追究、発生学研究の基礎資料とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

杏林大学ならびに昭和大学所蔵の胎児標本・胎児頭蓋晒骨標本を、マイクロCT撮影装置を用いて精細画像データとし、ヒト胎児骨格発生過程における経時的形態変化を画像解析する。撮影資料には、胎生3カ月以降の胎児骨格標本を使用する。胎生期には副鼻腔に相当する構造は認められないが、生後の上顎洞形成部位である眼窩下部領域について前後左右径の画像計測を行い、上顎洞の形成過程における経時的観察を行う。さらに胎児頭蓋縫合部領域の形成過程における形態解析と組織構造の解明を目的にマイクロCTにて観察し、同胎齢期の胎児標本から縫合部試料を採取し、FGFなど発育因子を使用し免疫組織学的観察を進行する。

## 3. 研究成果(経過)

杏林大学医学部・胎児頭蓋晒骨標本についてマイクロCT装置を用いて撮影し、ヒト胎児骨格発生過程における経時的形態変化について画像を基に解析することを目的とし、観察している。

本研究の一環として、胎児頭蓋顔面領域の筋群における発達・発育過程についても同時に観察を行い一部の報告をした。今回、上眼瞼筋の構造と発達状態を5-10カ月胎児においてH.Eならびにワンギーソン染色にて観察したところ、眼瞼部を閉眼している

胎生期において筋線維の発達は未熟ながらも、横紋筋(上眼瞼挙筋、眼輪筋)の筋線維の走行を観察することができた。また5カ月胎児と10カ月胎児間で筋の発達具合に著しい差異は認められなかった。眼瞼部を開閉するようになり筋の運動を開始してから筋線維の発達が急速に進行することが考えられ、今後新生時期胎児眼瞼部も含めさらに同様追加観察を継続する意向である。

また頭蓋縫合部の発育過程と構造についてのマイクロCTによる観察ならびに縫合部の免疫組織学的観察も加えて研究を続行する。

## 4. 当該研究に係る研究発表について

## (1) 口頭発表

- ① ヒト胎児の上眼瞼の局所解剖および組織学的研究：三川信之、天野カオリ、内田悠記、長谷川正和、窪田吉孝、松村譲児、佐藤兼重. 第22回日本形成外科学会基礎学術集会. 2013年11月7-8日新潟

19. アリールスルファターゼ遺伝子疾患の分子機構に関する組織化学的研究

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
川上速人	解剖学教室	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
秋元義弘	解剖学教室	准教授	解剖学, 細胞生物学, 組織細胞化学
赤坂甲治	東京大学大学院理学系研究科附属臨海実験所	教授・所長	分子発生学
近藤真理子	東京大学大学院理学系研究科附属臨海実験所	准教授	再生生物学
光永・中坪敬子	広島大学大学院理学研究科数理分子生命理学専攻分子遺伝学研究室	助教	分子遺伝学

キーワード

①アリールスルファターゼ ②抗体 ③細胞外基質 ④形態形成 ⑤免疫電顕
-------------------------------------

研究分野

組織化学
------

1. 共同研究の目的

ヒト・アリールスルファターゼの抗体を作製し、アリールスルファターゼ遺伝子疾患組織におけるアリールスルファターゼの量的変化と局在の変化を免疫組織化学的方法により解析することにより、アリールスルファターゼの機能と遺伝子疾患の分子機構について解析する。

2. 共同研究の内容・計画

アリールスルファターゼはムコ多糖症をはじめとするさまざまな疾患に伴い、活性量と活性局在が変化することが知られている。しかし、多くの研究の蓄積があるにもかかわらず、機能と生体内の基質がいまだに明らかになっていない。最近、我々のグループは、アリールスルファターゼは酵素としてではなく、細胞外基質として形態形成運動にかかわることを見出した。本研究では、特異抗体を用いてヒト組織におけるアリールスルファターゼを検出することにより、従来は可視化できなかった非酵素型のアリールスルファターゼの局在を検討し、長年不明であったアリールスルファターゼ遺伝子疾患の分子機構および、さまざまな疾患、再生過程におけるアリールスルファターゼの機能の解明を目指す。

3. 研究成果（経過）

アリールスルファターゼの欠損はムコ多糖症や異染性白質変性症などのリソソーム病を引き起こすことが知られている。ラットとマウスの肝臓を用いその局在を免疫組織化学的に検討したところ、アリールスルファターゼ (ArsA、ArsB) はいずれも肝細胞

のリソソームのみならず、毛細血管（類洞）の内皮細胞、肝細胞、クッパー細胞の表面に存在し、ヘパラン硫酸プロテオグリカンやコラーゲン等の細胞外基質と共局在していることが明らかになった。さらに、アリールスルファターゼ欠損モデルラット（VI型ムコ多糖症を発症）を用いて電子顕微鏡観察したところ、血管内皮細胞と軟骨細胞の細胞質に多数の空胞が認められ、おそらく小胞体ストレスによる細胞障害が惹起されている可能性が示唆された。さらに、アリールスルファターゼBの欠損したメダカを用いて検討したところ、頭部形成不全を含む成長遅延を招くことが確認された。

4. 当該研究に係る研究発表について

(1) 学会誌等

- ① Mitsunaga-Nakatsubo K, Akimoto Y, Kusunoki S, Kawakami H: Novel structure of hepatic extracellular matrices containing arylsulfatase A. Okajimas Folia Anat Jpn 90: 17-22, 2013.

(2) 口頭発表

- ① 光永敬子, 秋元義弘, 安井金也, 楠慎一郎, 山下一郎, 川上速人, 安増茂樹: アリールスルファターゼ B (ArsB) のメダカ脳における免疫組織化学的解析. 日本動物学会第84回大会, 岡山, 平成25年9月26-28日.
- ② 光永敬子, 秋元義弘, 安井金也, 楠慎一郎, 山下一郎, 川上速人, 安増茂樹: メダカアリールスルファターゼ B (ArsB) の脳におけ

る分子環境の解析．日本動物学会中国四国支部広島県例会，東広島，平成26年3月27日．

20. 角質水分量および発汗の炎症性皮膚疾患発症への関与を明らかにする

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
塩原 哲夫	皮膚科学教室	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
水川 良子	皮膚科学教室	講師	発汗の評価、組織検討
小松 由莉江	皮膚科学教室	院生	水分量など汗の測定・評価
土肥 孝彰	マルホ株式会社	研究員	水分量など汗の評価

キーワード

①アトピー性皮膚炎 ②角質水分量 ③発汗 ④汗腺

研究分野

皮膚免疫学

1. 共同研究の目的

アトピー性皮膚炎（AD）では skin barrier の破綻が病態に大きな役割を果たしていることが次々と明らかにされ、遺伝的要因に加え環境要因の重要性が再認識されてきている。我々は以前より発汗には皮膚水分量を規定する役割があると考え、マウスを用いて検討を行ってきた。その結果、角質水分量が skin barrier に直接的に影響を与えていることを明らかにした。

今回、AD を代表とする各種皮膚疾患における角質水分量と発汗能の障害を系統的に調べることにより、今まで漠然としていた発汗の意義を炎症の側面から明らかにする。

2. 共同研究の内容・計画

AD および扁平苔癬、痒疹や帯状疱疹など発汗異常が病態に関与していると臨床的に推察される疾患を対象に検討を行う。発汗を定量的に検討する方法（鋳型法）は既に確立されている。各種皮膚疾患での定常状態の角質水分量を測定するとともに、運動や温熱などの負荷による発汗を鋳型法にて定量的に検討する。単位面積あたりの活動汗腺の数や直径などの検討に加え、非活動汗腺の局在などの検討を行う。アクアポリンやアセチルコリンレセプターの発現を組織で行い汗腺の機能を免疫組織学的に評価する。これらの検討により、発汗異常が炎症性皮膚疾患の発症にどのように関わっているのかを明らかにできると考えている。

3. 研究成果（経過）

アトピー性皮膚炎（AD）では skin barrier の破綻が病態に大きな役割を果たしていることが次々と明

らかにされ、遺伝的要因に加え環境要因の重要性が再認識されてきている。我々は以前より発汗には皮膚水分量を規定する役割があると考え、マウスを用いて検討を行ってきた。その結果、角質水分量が skin barrier に直接的に影響を与えていることを明らかにした。

今回、AD を代表とする各種皮膚疾患における角質水分量と発汗能の障害を系統的に調べることにより、今まで漠然としていた発汗の意義を炎症の側面から明らかにしたいと考えた。

本年度は AD および扁平苔癬、痒疹や帯状疱疹など発汗異常が病態に関与していると臨床的に推察される疾患のうち、AD を中心として検討を行った。発汗の測定は皮膚角質水分量および鋳型法を用いた。発汗は温浴負荷で誘導した。AD では温熱負荷による皮膚角質水分量の増加は少なくまた、鋳型法にても発汗滴の増加は健常コントロールに比較して有意に低下していた。さらにこのような発汗の異常は皮疹のない部位でも顕著であった。また AD では発汗滴数のみでなく発汗の直径も小さいものが多いのみでなく、逆に径の大きい発汗滴が多く認められた。このような代償性と考えられる発汗は皮膚悪化から5年以内の症例で多く、5年以降では代償性発汗は認められなかった。

4. 当該研究に係る研究発表について

(1) 学会誌等

- ① Hayakawa J, Mizukawa Y, Kurata M, Shiohara T: A syringotropic variant of cutaneous sarcoidosis -Presentation of 3 cases exhibiting defective sweating

responses. J Am Acad Dermatol 68: 1016-1021, 2013

- ② 水川良子：発汗異常が教えてくれる皮膚疾患の新たな側面．日皮会誌 123: 2447-2448, 2013.
- ③ 塩原哲夫：汗の生理と関連疾患 汗とアレルギー．日皮会誌 123: 2500-2502, 2013.
- ④ 塩原哲夫：アトピー性皮膚炎 バリア障害による表皮と免疫のクロストーク 外用治療によるバリア機能の回復．日皮会誌 123: 2711-2713, 2013.
- ⑤ 塩原哲夫：汗とアレルギー．日皮会誌 123: 2500-2502, 2014.

(2) 口頭発表

- ① 塩原哲夫：教育講演8. 汗の生理と関連疾患．汗とアレルギー．第112回日本皮膚科学会総会，横浜，平成25年6月14-16日．
- ② 水川良子：教育講演．臨床医にとっての研究．発汗異常が教えてくれる皮膚疾患の新たな側面．第112回日本皮膚科学会総会，横浜，平成25年6月14日．
- ③ 塩原哲夫：教育講演23. アトピー性皮膚炎（バリア機能を含めて）．外用治療によるバリア機能の回復．第112回日本皮膚科学会総会，横浜，平成25年6月14-16日．
- ④ 小松由莉江，牛込悠紀子，佐藤洋平，水川良子，塩原哲夫：アミロイド苔癬における発汗障害の関与．第3回汗と皮膚の勉強会，東京，平成25年8月7日．
- ⑤ 水川良子，土肥孝彰，塩原哲夫：角質水分量は皮膚アレルギー反応の強さを決めている．第9回日 TAP 研究会，東京，平成25年12月7日．

## 21. 概日リズムと免疫機能のクロストークに対する運動効果

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
木崎 節子	衛生学公衆衛生学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
大野 秀樹	衛生学公衆衛生学	教授	概日リズムと炎症反応の解析
櫻井 拓也	衛生学公衆衛生学	講師	マクロファージ細胞株の解析
小笠原 準悦	衛生学公衆衛生学	助教	サイトカイン、情報伝達系の解析
井澤 鉄也	同志社大学・スポーツ健康科学	教授	運動トレーニング効果の解析

### キーワード

①時計遺伝子 ②概日リズム ③マクロファージ ④免疫機能 ⑤運動トレーニング

### 研究分野

予防医学

#### 1. 共同研究の目的

時計遺伝子により刻まれる概日リズムは、細胞レベルで備わっている生物時計システムであり、さまざまな生理機能の調節や維持に関与している。特に、不規則な生活習慣による概日リズムの乱れは免疫機能異常を惹起し、慢性炎症やがんなどの引き金になることが示唆されている。しかし、その分子メカニズムはほとんど解明されていない。一方、日常的な適度の運動は生体防御能を充進することから、運動が概日リズムの乱れによる免疫機能異常を改善することが期待される。本研究では、感染防御や炎症反応で重要な役割を担うマクロファージに注目し、現代社会で問題となっている不規則な生活習慣による健康被害のメカニズムと運動効果の解明を目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

申請者らは、すでにマクロファージに発現する時計遺伝子 *Rev-erb a* が、炎症反応に関与するサイトカインの発現を調節していることや、運動トレーニングが炎症反応を抑制するなどを見出している。本研究では、マウスをコントロール群（12時間明暗サイクル）と概日リズムを乱す群（10時間明暗サイクル）に分け、両軍の半数に回転かご付きケージによる自由運動を行わせる。各群のマウスから腹腔マクロファージを採取し、時計遺伝子 (*Bmal*、*Clock*、*Rev-erba*、*Rora*) やサイトカイン (*Il6*、*Tnfa*) などの発現を解析し、概日リズムの乱れと運動の影響を検討する。さらに、マクロファージ細胞株を用い

て、時計遺伝子の発現量を調節し、運動と免疫機能のクロストークに関する時計遺伝子の役割を分子レベルで解明する。

#### 3. 研究成果（経過）

不規則な生活習慣による概日リズムの乱れは免疫機能異常を惹起し、慢性炎症やがんなどの引き金になることが示唆されている。そこで本研究では、マクロファージにおける免疫制御機能に対する時計遺伝子 *Rev-erb a* の役割について検討した。マウス腹腔マクロファージ及びマウスマクロファージ細胞株 (RAW264) に *Rev-erb a* 作動薬の GSK4112 または Hemin を添加すると、炎症反応を促進する単球走化性因子 (CCL2) の遺伝子発現は低下した。さらに、RAW264を用いて樹立した *Rev-erb a* の過剰発現細胞株 (RAWrev) では、LPS 刺激による CCL2 の発現誘導、及びその分泌が抑制され、CCL2 の下流シグナルの p38 や ERK のリン酸化が減弱した。その結果、CCL2 が活性化する細胞の走化性や接着能、*integrin β1* の発現が低下した。以上から、*Rev-erb a* は *Ccl2* 遺伝子の発現を抑制し、マクロファージの炎症反応を制御していることが示唆された。

一方、老化マウスや高脂肪食による食事性肥満マウス、遺伝的肥満 (*ob/ob*) マウスの腹腔マクロファージでは、明期において *Rev-erb a* の遺伝子発現の低下が認められた。我々は既に、運動トレーニングは老化や肥満に伴う炎症反応を抑制することを明らかにしている。そこで、今後、運動トレーニングが時

計遺伝子 Rev-erb  $\alpha$  発現をどのように修飾するかを検討し、運動による炎症制御機構への Rev-erb  $\alpha$  の関与を明らかにし、老化や肥満関連慢性炎症性疾患の治療のための効果的運動療法の解明に繋げたい。

#### 4. 当該研究に係る研究発表について

##### (1) 学会誌等

- ① Sato, S., Sakurai, T., Ogasawara, J., Takahashi, M., Izawa, T., Imaizumi, K., Taniguchi, N., Ohno, H. and Kizaki, T.: A circadian clock gene, Rev-erb  $\alpha$ , modulates the inflammatory function of macrophages through the negative regulation of Ccl2 expression. *J. Immunol.* 192: 407-417, 2014.
- ② Ogasawara, J., Ito, T., Wakame, K., Kitadate, K., Sakurai, T., Sato, S., Ishibashi, Y., Izawa, T., Takahashi, K., Ishida, H., Takabatake, I., Kizaki, T. and Ohno, H.: ETAS, an enzyme-treated asparagus extract, attenuates amyloid  $\beta$ -induced cellular disorder in PC12 cells. *Nat. Prod. Commun.* 9: 561-564, 2014.
- ③ Haga, S., Sakurai, T., Sato, S., Sasahara, M., Aita, F., Esaki, K., Toshinai, K., Ueya, E., Hashimoto, N., Ogasawara, J., Kizaki, T., Yoshinaga, I., Sakurai, T., Oh-ishi, S., Ohno, H. and Takakuwa, E.: The effects of long-term exercise on cerebral function and the maintenance of concentration in the elderly. *J. Exer. Sports Orthop.* 1: 6-11, 2014. 査読有り  
doi: なし
- ④ Sakurai, T., Ito, T., Wakame, K., Kitadate, K., Arai, T., Ogasawara, J., Kizaki, T., Sato, S., Ishibashi, Y., Fujiwara, T., Akagawa, K., Ishida, H. and Ohno, H.: Enzyme-treated Asparagus officinalis extract shows neuroprotective effects and attenuates cognitive impairment in senescence-accelerated mice. *Nat. Prod. Commun.* 9: 101-106, 2014.
- ⑤ Sato, S., Shirato, K., Mitsunashi, R., Inoue, D., Kizaki, T., Ohno, H., Tachiyashiki, K. and Imaizumi, K.: Intracellular  $\beta$ 2-adrenergic receptor signaling specificity in mouse skeletal muscle in response to single-dose  $\beta$ 2-agonist clenbuterol treatment and acute exercise. *J. Physiol. Sci.* 63: 211-218, 2013.
- ⑥ Sakurai, T., Kitadate, K., Nishioka, H., Fujii, H., Ogasawara, J., Kizaki, T., Sato, S., Fujiwara, T., Akagawa, K., Izawa, T. and Ohno, H.: Oligomerised lychee fruit-derived polyphenol attenuates cognitive impairment in senescence-accelerated mice and endoplasmic reticulum stress in neuronal cells. *Br. J. Nutr.* 110: 1549-1558, 2013.

- ⑦ Haga, S., Kizaki, T., Sato, S., Takemasa, T., Ezaki, K., Ueya, K., Aita, F., Hashimoto, N., Ogasawara, J., Sakurai, T., Hamaoka, T., Katsumura, T., Sakurai, T. and Ohno, H.: Skeletal muscle oxygenation during the nagewaza kakari exercise in Judo. *Sport Sci. Res.* 10: 233-241, 2013.
- ⑧ Sakurai, T., Ogasawara, J., Kizaki, T., Sato, S., Ishibashi, Y., Takahashi, M., Kobayashi, O., Oh-ishi, S., Nagasawa, J., Takahashi, K., Ishida, H., Izawa, T. and Ohno, H.: The Effects of Exercise Training on Obesity-Induced Dysregulated Expression of Adipokines in White Adipose Tissue. *Int. J. Endocrinol.* 2013: 801743, 2013.
- ⑨ Aita, F., Haga, S., Sato, S., Sakurai, T., Esaki, K., Hamaoka, T., Mizuno, M., Toshinai, K., Miyazaki, H., Takamasa, T., Hashimoto, N., Ogasawara, J., Katsumura, T., Kizaki, T. and Ohno, H.: Effects of resistance exercise on intramuscular oxygenation and muscle fiber composition. *J. Sports Med. Doping Stud.* 3: 3-9, 2013.
- ⑩ Nagasawa, J., Kizaki, T. and Ohno, H.: Exercise and oxidative stress in hypoxia. *J. Phys. Fit. Sports Med.*, 2: 481-486, 2013.

##### (2) 口頭発表

- ① 小笠原準悦, 櫻井拓也, 石橋義永, 木崎節子, 白土 健, 今泉和彦, 井澤鉄也, 大野秀樹: シンポジウム“脂肪蓄積と代謝異常に対する運動の効果—動物実験で得られた知見のヒトへの応用—”: 運動と脂肪細胞の働き. 第160回日本体力医学会関東地方会, 調布, 2014年3月8日.
- ② Kizaki, T., Sato, S. and Ohno, H.: A circadian clock gene Rev-erb  $\alpha$  modulates inflammatory functions of macrophages through negative regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression. 第42回日本免疫学会学術総会, 幕張, 2013年12月11日.
- ③ 小笠原準悦, 櫻井拓也, 木本紀代子, 木崎節子, 高橋和人, 住谷由計, 石田 均, 大野秀樹: 運動は骨格筋前駆細胞から褐色脂肪細胞への分化を誘導するか: 肥満予防・治療への応用. 第42回杏林医学会総会, 三鷹, 2013年11月16日.
- ④ 長澤純一, 野口いづみ, 笹尾真美, 佐藤章悟, 小笠原準悦, 櫻井拓也, 石橋義永, 木崎節子, 芳賀脩光, 大野秀樹: 登山時の低酸素ストレス応答. 第68回日本体力医学会大会, 東京, 2013年9月22日.
- ⑤ 佐藤章悟, 木崎節子, 櫻井拓也, 小笠原準悦, 石橋義永, 長澤純一, 桜井智野風, 井澤鉄也,

- 今泉和彦, 芳賀脩光, 大野秀樹: 時計遺伝子 Rev-erb  $\alpha$  は MCP1 遺伝子の発現を抑制しマクロファージ免疫機能を制御する. 第68回日本体力医学会大会, 東京, 2013年9月21日.
- ⑥ 小笠原準悦, 櫻井拓也, 木崎節子, 佐藤章悟, 石橋義永, 井澤鉄也, 宮崎裕美, 斎藤大蔵, 十枝内厚次, 大石修司, 芳賀脩光, 大野秀樹: 水泳運動は前駆細胞からの褐色脂肪細胞化を促す. 第68回日本体力医学会大会, 東京, 2013年9月21日.
- ⑦ 加藤久詞, 増田慎也, 高倉久志, 佐藤章悟, 小笠原準悦, 櫻井拓也, 木崎節子, 桜井智野風, 大野秀樹, 井澤鉄也: 脂肪組織および骨格筋組織における時計遺伝子と脂質代謝関連遺伝子の関連性. 第68回日本体力医学会大会, 東京, 2013年9月21日.
- ⑧ Nagasawa, J., Noguchi, I., Sasao, M., Sato, S., Sakurai, T., Ogasawara, J., Ishibashi, Y., Kizaki, T. and Ohno, H.: Effect of frequent antioxidant supplementation on oxidative stress when climbing Mt Fuji. 21st International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, Sapporo, Jul 28, 2013.
- ⑨ Ogasawara, J., Ito, T., Takanari, J., Sakurai, T., Kizaki, T., Sato, S., Ishibashi, Y., Nagasawa, J., Saito, D., Nakano, N., Izawa, T. and Ohno, H.: Inhibitory effect of ETAS against amyloid beta-induced cellular disorder in PC12 cells. 21st International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, Sapporo, Jul 27, 2013.
- ⑩ 櫻井拓也, 小笠原準悦, 木崎節子, 長澤純一, 芳賀脩光, 大野秀樹: 運動は肥満による脂肪組織の線維化関連因子の発現増加を減弱させる. 第21回日本運動生理学会大会, 川越, 2013年7月27日.
- ⑪ 小笠原準悦, 櫻井拓也, 佐藤章悟, 石橋義永, 長澤純一, 大石修司, 芳賀脩光, 井澤鉄也, 木崎節子, 大野秀樹: 持久性走トレーニングによる白色脂肪細胞の脂肪分解反応の亢進には ATGL の発現変化が関与する. 第158回日本体力医学会関東地方会, 新座, 2013年7月13日.

## 22. JAK2 遺伝子異常をもつ先天異常症候群の発症メカニズムの解明

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
渡邊 卓	臨床検査医学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
滝田 順子	東京大学医学部無菌治療部	講師	遺伝子の網羅的解析
大西 宏明	臨床検査医学教室	准教授	変異遺伝子の機能解析

## キーワード

① JAK2 ② 先天異常 ③ 骨髄増殖性腫瘍 ④ スプライシング異常

## 研究分野

分子生物学

## 1. 共同研究の目的

我々は、骨髄増殖性腫瘍 (MPN) に心血管系、生殖器系の先天異常を合併した先天異常症候群の兄弟例を経験し、両症例において共通の新たな JAK2 のスプライシング変異を見いだした。本症例では別の遺伝子においてもスプライシングの異常を認めており、我々は本疾患においてスプライシング機構に異常がある可能性を検討している。本研究では、東京大学と共同で、本家族に見られる DNA 異常を遺伝子の網羅的解析により明らかにし、異常が認められた遺伝子について病態との関連について検討することを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

本研究では、上記目的の達成のため以下のような項目の実験を遂行する予定である。

- (1) 患者および家族の遺伝子異常の網羅的解析が、現在進行中であるが、これを進めて異常遺伝子の候補を抽出する。
- (2) 異常が認められた遺伝子について、細胞への導入実験等を行って JAK2 その他の遺伝子のスプライシング異常との関連について検討する。
- (3) 候補となる異常遺伝子をマウスに導入し、患者と同様の病態が再現できるかについて検討する。

## 3. 研究成果 (経過)

我々は、骨髄増殖性腫瘍 (MPN) に心血管系、生殖器系の先天異常を合併した先天異常症候群の兄弟例を経験し、両症例において JAK2 を含む複数の遺伝子のスプライシング変異を見いだした。我々は東京大学と共同で、両患者および両親・兄弟の血液から DNA を抽出し、エクソーム解析により患者のみ

に症状が生ずることに矛盾しない遺伝子異常が複数認められた。具体的には、意味のある変異がみられた遺伝子は常染色体上に座位する遺伝子が10個、およびX染色体上に座位する遺伝子が4個であった。この中から、発現の部位や機能等から本症候群に関連する可能性のある遺伝子を2個選び、これについてベクターに組み込んで現在 HeLa 細胞への遺伝子導入を進めている。今後は、変異を導入した細胞を作成し、RNA スプライシングアレイや RNA シークエンシング等の手法を用いて RNA の異常について解析し、これらの遺伝子異常がスプライシング異常に関係している可能性を検討する予定である。

23. ELKS ノックアウトマウス、及び妊娠マウスを用いたインスリン開口放出機構の解明

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
永松 信哉	生化学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
今泉 美佳	生化学	准教授	$\beta$ 細胞のイメージング解析
青柳 共太	生化学	学内講師	ノックアウトマウスの生化学的解析
大塚 稔久	山梨大・医・生化学	教授	ノックアウトマウスの作製

キーワード

①インスリン ②開口放出 ③ ELKS ④ TIRF
----------------------------

研究分野

分子細胞生物学
---------

- 共同研究の目的  
神経伝達物質の放出は、active zone と呼ばれる限定部位で行われている。ELKS は active zone 形成に関わる重要な蛋白質の1つであり、我々は、ELKS が  $\beta$  細胞において発現、インスリン開口放出に関わっていることを発見したが、その詳細な役割は明らかではない。今回、ELKS の conditional knock out mouse を用いて、開口放出のみならず、糖尿病との関連を明らかにする。
- 共同研究の内容・計画  
我が国における糖尿病の主な成因は、インスリン分泌不全にあるが、インスリン分泌の開口放出機構、及び糖尿病における分泌障害のメカニズムの詳細は未だ解明されていない。今回の共同研究に於いては以下の事を行うことにより、インスリン開口放出のメカニズムを明らかにする。我々は、 $\beta$  細胞において、CAZ 蛋白質の一員である ELKS が発現しており、TIRF イメージングシステムを用いた解析から、ELKS がインスリン分泌における細胞極性と密接に関連した役割を果たしていることを報告した。そこで、ELKS をクローニングした山梨大・医・生化学・大塚教授より、RIP-Cre を用いた conditional knockout mouse を供与して頂き、これを用いて、ELKS の開口放出における詳細な検討を行う。すなわち、TIRF、v-TIRF を用いたインスリン顆粒の細胞内動態解析、電気生理学的手法による ATP チャネル解析、更に生化学的解析、免疫電顕によるノックアウトマウス  $\beta$  細胞の機能解析を行う。
- 研究成果（経過）  
膵  $\beta$  細胞特異的 ELKS 欠損マウス（KO マウス）に

まず経口ブドウ糖負荷試験を行ったところ、WT マウスに比べて糖負荷後の有意な血糖上昇が見られ、耐糖能異常が認められた。KO マウスの膵灌流実験および単離膵島でのインスリン分泌実験では、WT マウスに比べてグルコース応答性インスリン分泌第1相が選択的に抑制されていた。全反射蛍光顕微鏡を用いた KO マウス  $\beta$  細胞の TIRF イメージングでは、インスリン分泌第1相を担う predocked インスリン顆粒に焦点を当てて解析したところ、刺激前の顆粒のドッキング数は WT マウス  $\beta$  細胞と変わらなかったが、グルコース刺激後の形質膜とのフュージョンイベント数は WT マウス  $\beta$  細胞に比べて KO マウス  $\beta$  細胞では大きく低下していた。以上の結果より、ELKS はインスリン顆粒のドッキング後に起こるプライミング過程を促進させることによりインスリン分泌第1相のインスリン開口放出をコントロールしていることがわかった。来年度は更にその分子機構を検討するため、生化学的解析、電気生理学的手法を用いた解析を進める予定である。

- 当該研究に係る研究発表について
  - 学会誌等
    - Ohara-Imaizumi M, Kim H, Yoshida M, Fujiwara T, Aoyagi K, Toyofuku Y, Nakamichi Y, Nishiwaki C, Okamura T, Uchida T, Fujitani Y, Akagawa K, Kakei M, Watada H, German MS, Nagamatsu S. Serotonin regulates glucose-stimulated insulin secretion from pancreatic  $\beta$  cells during pregnancy. Proc Natl Acad Sci U S A. 110: 19420-5, 2013

(2) 口頭発表

- ① 今泉美佳 ホルモン開口分泌の分子イメージング (教育講演) 第86回日本内分泌学会学術総会 仙台 平成25年4月25-27日
- ② Ohara-Imaizumi M, Kim H, Yoshida M, Fujiwara T, Aoyagi K, Toyofuku Y, Nakamichi Y, Nishiwaki C, Okamura T, Uchida T, Fujitani Y, Akagawa K, Kakei M, Watada H, German MS and Nagamatsu S, Serotonin regulates glucose stimulated insulin secretion from pancreatic  $\beta$  cells during pregnancy. 73th Scientific Session of American Diabetes Association, Chicago, USA, June 21-25, 2013
- ③ 永松信哉 インスリン分泌分子機構 - 妊娠・糖尿病・新規タンパク質 - 第10回糖尿病病診連携懇話会 東京 平成25年11月5日

24. 内在性の糖鎖認識分子およびその結合糖鎖に関する組織細胞化学的並びに糖鎖工学的研究

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
川上 速人	解剖学教室	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
秋元 義弘	解剖学教室	教授	解剖学, 細胞生物学, 組織細胞化学
菅原 大介	解剖学教室	准教授	糖鎖生物学, 組織細胞化学
入村 達郎	聖路加国際医療センター・医療イノベーション部	部長	生化学, 免疫学, 腫瘍学
周尾 卓也	聖路加国際医療センター・医療イノベーション部	研究員	生化学, 免疫学, 腫瘍学
東 伸昭	東京大・薬・生体異物学	准教授	生化学, 免疫学, 腫瘍学
伝田 香里	東京大・薬・生体異物学	助教	生化学, 免疫学, 腫瘍学
田 園	東京大・薬・生体異物学	大学院生	生化学, 免疫学, 腫瘍学
久井 智子	東京大・薬・生体異物学	大学院生	生化学, 免疫学, 腫瘍学
難波 愛理	東京大・薬・生体異物学	学部学生	生化学, 免疫学, 腫瘍学

キーワード

①レクチン ②ムチン ③グリコシレーション ④免疫組織化学 ⑤免疫制御

研究分野

組織化学

1. 共同研究の目的

内在性の糖鎖認識分子の組織特異性、組織内局在、炎症病態、組織リモデリングにおける変化等を、マウス及びヒト組織を材料に組織化学的に解析する。さらに、ムチンやウイルス表層糖蛋白質等の新規に同定した糖鎖認識分子のリガンド分子の組織内局在と病態における変化等についてもマウスを材料に組織化学的に解析する。これらの分子を強制発現した細胞の挙動を解析する。

2. 共同研究の内容・計画

内在性レクチンの研究においては、それらの蛋白質レベル及び mRNA レベルにおいて組織化学的に検出方法を確立し、正常マウス、マウス胚、病態マウス、ヒト組織等を対象に解析する。さらにレクチン遺伝子破壊マウス及びムチン遺伝子破壊マウスにおける変化に関して、同分子の分布との関連を解析する。レクチンに対するリガンド分子に関しては、新規のムチンやウイルス表層糖蛋白質の組織化学的観

察を行う。またグリコシレーションを異にするムチンの動態を明らかにする。さらに、これらのレクチンやムチンを強制発現または発現阻害した場合の細胞の変化及びノックアウトマウスにおける病態について解析する。

3. 研究成果（経過）

O-グリコシド結合型糖鎖の一種である O-GlcNAc 糖鎖とこれを合成する O-GlcNAc 転移酵素の機能に関し、糖尿病との関連について検討を行なった。糖尿病モデルラットでは、糖尿病合併症を発症する組織（神経、腎臓、眼など）において、O-GlcNAc 修飾異常が顕著に生ずることが明らかになった。さらに、腎臓全体を試料にしたプロテオミクスにより、O-GlcNAc 化タンパク質の解析を行ないアクチン、 $\alpha$ -アクチニン4など細胞骨格タンパク質や、ATP synthase などミトコンドリアタンパク質に O-GlcNAc 化の有意な増加が生ずることを見出した。この中で顕著に変化の認められた  $\alpha$ -アクチニ

ン4は糸球体上皮細胞および尿細管刷子縁に局在し、糖尿病では発現が増加し、かつ局在が乱れることが明らかになった。さらに糸球体構成タンパク質へのO-GlcNAc化の変化を調べるため、糸球体を単離し、プロテオミクスによりO-GlcNAc化タンパク質の解析を行なった。その結果、上記の細胞骨格やミトコンドリアのタンパク質に加えて糸球体上皮細胞に特異的に発現するシナプトポディンにO-GlcNAc化が起こることが明らかになった。

#### 4. 当該研究に係る研究発表について

##### (1) 学会誌等

- ① Murakami R, Denda-Nagai K, Hashimoto S, Nagai S, Hattori M, Irimura T: A unique dermal dendritic cell subset that skews the immune response toward Th2. *PLoS One* 8(9): e73270, 2013.
- ② Goudarzi H, Iizasa H, Furuhashi M, Nakazawa S, Nakane R, Liang S, Hida Y, Yanagihara K, Kubo T, Nakagawa K, Kobayashi M, Irimura T, Hamada J: Enhancement of in vitro cell motility and invasiveness of human malignant pleural mesothelioma cells through the HIF-1  $\alpha$ -MUC1 pathway. *Cancer Lett* 1 339: 82-92, 2013.
- ③ 秋元義弘, 三浦ゆり, 戸田年総, Hart GW, 遠藤玉夫, 川上速人: 特集「糖鎖と疾患」. タンパク質のO-GlcNAc修飾と糖尿病. *病理と臨床・別冊31*: 847-851, 2013.

##### (2) 口頭発表

- ① Akimoto Y, Miura Y, Toda T, Fukutomi T, Sugahara D, Wolfert MA, Wells L, Boons G-J, Hart GW, Endo T, Kawakami H: Change of the O-GlcNAc modification of proteins accompanied with diabetic nephropathy. The 12th Human Proteome Organization World Congress, Yokohama, September 14-18, 2013.
- ② 秋元義弘: O-GlcNAc修飾と糖尿病. 第11回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム, 仙台, 平成25年10月25-26日.

## 25. 救急外来における効率的鑑別診断・トリアージ法の研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
松田 剛明	救急医学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
和田 貴子	保健学部	教授	データ解析
神山 麻由子	保健学部	助教	データ入力・解析

### キーワード

①救急医療 ②鑑別診断 ③トリアージ

### 研究分野

救急医療

1. 共同研究の目的  
1、2次救急外来に係る情報は膨大なため、共同研究により効率的な鑑別診断・トリアージを行う方法を検討する。
2. 共同研究の内容・計画  
過去6年間に蓄積されたATT (Advanced triage Team) 科の電子情報を統計処理し、鑑別診断・トリアージの精度向上にむけた情報収集および研究を行う。
3. 研究成果 (経過)  
ATT には年間約15000人の患者が受診しているが、過去6年間の受診歴データのうち、現在7000件の入力作業が完了している。今後、入力作業を継続し、完了後に効率的トリアージのデータ解析を行う予定である。

## 26. 脂肪組織由来間質細胞を用いた難治性肺動脈性肺高血圧症治療の安全性および有効性に対する研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
佐藤 徹	内科学 (II) 教室	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
吉野 秀朗	内科学 (II) 教室	教授	研究指導者
松下 健一	内科学 (II) 教室	講師	研究指導者
片岡 雅晴	内科学 (II) 教室	助教	研究実施者
伊波 巧	内科学 (II) 教室	助教	研究実施者
柳津 亮爾	内科学 (II) 教室	医員	研究実施者
百瀬 裕一	内科学 (II) 教室	医員	研究実施者
上杉 陽一郎	内科学 (II) 教室	医員	研究実施者
大谷 伸久	自由が丘 MC クリニック	院長	研究指導者
前村 浩二	長崎大学病院循環器内科	教授	研究指導者
江口 正倫	長崎大学病院循環器内科	医員	研究実施者

## キーワード

①脂肪組織由来間質細胞 ②肺動脈性肺高血圧症

## 研究分野

循環器

## 1. 共同研究の目的

肺動脈性肺高血圧症は、肺細動脈の平滑筋細胞や内皮細胞の異常増殖により、肺細動脈が閉塞・狭窄することで肺血管抵抗が上昇する難病指定疾患である。肺血管抵抗の上昇は肺動脈圧の上昇を引き起こし、過度の右心負荷は右心不全を引き起こして、進行すると死に至る。従来は5年生存率が約30%以下とされており、近年では肺動脈を拡張する作用のある治療薬が開発されてきたことで生命予後は5年生存率で70%近くに改善しつつあるとされるものの、依然として根治は不可能であり、使用可能な治療薬を全て用いても反応不良な症例も多く、生命予後が極めて不良の難治性疾患である。

そこで、難治性疾患である肺高血圧症に対する新しい治療法開発の試みとして、幹細胞移植治療が期待されつつある。本疾患に対する幹細胞移植のヒト臨

床研究は未だ行われていないものの、前臨床研究の結果およびその他の血管疾患に対する幹細胞を用いた臨床研究の結果を見ても、幹細胞移植治療が安全かつ有効である可能性が高いと考える。

本臨床研究では、幹細胞を含む間質細胞を潤沢に含み、かつ分化・増殖・遊走能やサイトカイン放出能に優れていることが報告されている脂肪組織由来間質細胞 (Adipose Derived Regenerative Cells : ADRCs) を移植治療に用いて、その安全性を評価し、有効性を検証することを目的とする。

本臨床研究は既に本学臨床疫学研究審査委員会の承諾を得て、現在厚生労働省のヒト幹細胞臨床研究審査を受ける準備を整えている状況にある。共同研究施設として新たに申請する長崎大学病院循環器内科では小動物の肺高血圧症モデルに対して、脂肪組織由来間質細胞の投与による実際の効果を既に学術集

会で発表しており知見を重ねている。このため同じ研究目標を有する相互施設がこれまでの知見と、今後の課題を共有し研鑽を重ねることは本研究の臨床応用までの過程に大いに寄与するものと考え。

## 2. 共同研究の内容・目的

今回申請する肺動脈性肺高血圧症に対する ADRCs の肺動脈内注入治療では、骨髄採取と比較しでも有意に低侵襲な脂肪吸引法により細胞を採取し、かつ培養工程を必要としないため、短時間でより安全に採取から移植までを行うことができ、心筋梗塞後、或は狭心症患者に対しては冠動脈投与が安全に行われ有効性も示されている。肺動脈性肺高血圧症に対する幹細胞移植療法は、海外に於いてもいまだ数例のみで、本邦では初の試みとなる。今回、本治療法の安全性と有効性を検証することにより、現在の治療法で不応性又は難治性の患者に対して生命予後を改善する画期的な治療法となる可能性が高い。

本治療実施のためには、厚生労働省のヒト幹細胞臨床研究審査を受ける必要がある。共同研究施設として新たに申請する長崎大学病院循環器内科では小動物の肺高血圧症モデルに対して、脂肪組織由来間質細胞の投与による実際の効果を既に学術集会で発表しており知見を重ねている。今後大動物での臨床試験を行い安全性の実証を得る必要があり、相互施設間での情報交換や技術提供などにより多くの実証と多角度からの安全性の評価が行われるものと考え。

## 3. 研究成果（経過）

本治療実施のためには、厚生労働省のヒト幹細胞臨床研究審査会での承認を受ける必要があるため、ヒト幹細胞臨床研究審査会での審査を受け、ブタに対しての肺動脈内脂肪幹細胞投与による安全性評価実験を行うように指示があり、平成25年度にブタ計4匹に対しての実験を施行した。現在、結果解析中である。また、共同研究施設である長崎大学病院循環器内科では小動物の肺高血圧症モデルに対して、脂肪組織由来間質細胞の投与による実際の効果を論文文化に向けて取り組んでいるところであり、杏林大学医学部内科学（Ⅱ）としても学術的協力を行いながら取り組んでいる。平成26年度には、厚生労働省のヒト幹細胞臨床研究審査会での最終承認を目標に first-in-human の実現に向けて、引き続き取り組んでいく。

## 27. 剖検例を用いた冠動脈プラークの平滑筋の免疫組織化学的検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
菅間 博	病理学教室	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
倉田 厚	東京医科大学分子病理学講座	准教授	肉眼・組織形態解析
堀田 綾子	国立病院機構相模原病院	医師	冠動脈内膜肥厚部の解析
下山田 博明	病理学教室	講師	超微形態解析
平野 和彦	病理学教室	助教	免疫組織化学的解析

## キーワード

①動脈硬化 ②不安定プラーク ③免疫組織化学 ④平滑筋

## 研究分野

病理学

## 1. 共同研究の目的

急性冠症候群の発症に関与する冠動脈の不安定プラークを病理組織学的に評価し、その肥厚内膜の平滑筋の特徴を安定プラークと対比して浮き彫りにする。不安定プラークは安定プラークとは異なり、同様の冠動脈狭窄率であっても fibrin cap が導く lipid core が厚いことが知られているが、内膜剥離術検体では両者の違いが明確ではない。そこで、剖検例を用いて、プラーク内に出現する平滑筋の分化度に関して検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

杏林大学医学部病理学教室の剖検検体を用いて、東京医科大学分子病理学講座において各種平滑筋マーカーの免疫組織化学的検索を施行する。急性心筋梗塞の責任血管となる不安定プラークと考えられる冠動脈内膜肥厚部と、急性冠動脈症候群以外で死亡した剖検例の冠動脈内膜肥厚部とを対比する。前者では不安定プラークの特徴がみられ、後者では安定プラークの特徴がみられることが予測される。さらに、前者と後者の平滑筋の分化度を免疫組織化学的検索で明らかにする。平滑筋の分化に関しては、Horita A, Kurita A, et al. Int J Gynecol Pathol. 2011;30:64-70を参照。

## 3. 研究成果（経過）

杏林大学医学部病理学教室および東京医科大学分子病理学講座の剖検検体を用いて、東京医科大学分子病理学講座において各種平滑筋マーカーの免疫組織化学的検索を施行した。急性心筋梗塞の責任血管と

なる不安定プラークと考えられる冠動脈内膜肥厚部（A群）と、心筋梗塞の既往があるものの心筋梗塞以外で死亡した剖検例の心筋梗塞の責任血管と考えられる冠動脈内膜肥厚部（B群）と、心筋梗塞以外で死亡した剖検例の冠動脈内膜肥厚部（C群）とを対比した。いずれの群においても、冠動脈内膜肥厚部には  $\alpha$ -smooth muscle 陽性の平滑筋が多く出現していた。しかしながら、h-caldesmon 陽性の平滑筋は、C群に比してB群で、またB群に比してA群で有意に減少していた。h-caldesmon は平滑筋分化の途中から陽性になると報告されていることを考えると、不安定プラークには平滑筋の未分化性が関与することが示唆された。これらの結果は第18回血管病理研究会（平成25年10月19日・札幌）にて発表し、Cardiovascular Pathology 誌に投稿中である（リバイス中）。

## 4. 当該研究に係る研究発表について

## (1) 口頭発表

- ① 堀田綾子, 倉田厚, 下山田博明, 菅間博, 斎藤生朗, 黒田雅彦, 剖検症例の冠動脈を用いた肥厚内膜平滑筋細胞の免疫組織化学的検討, 第18回血管病理研究会, 平成25年10月19日・札幌.

28. 血管新生研究のための in vitro 血管ネットワークモデルの開発

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
櫻井 裕之	薬理学教室	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
末弘 淳一	薬理学教室	助教	細胞培養、血管ネットワーク構築
松永 行子	東京大学生産技術研究所	特任講師	In vitro モデル、装置作製

キーワード

① HTS 技術 ②末梢血管障害 ③腫瘍血管新生

研究分野

薬理学

1. 共同研究の目的

東京大学生産技術研究所松永行子博士が開発した三次元コラーゲンゲルマイクロ流路デバイスを発展させ、血管新生研究に特化した①ネットワーク上の微小血管モデルの作製、②安定化構造の構築を行う。最終的には癌細胞との共培養、及び抗血管新生薬剤などによる環境応答テストを行い、作製した微小血管システムの血管新生研究利用への有効性を評価する。

2. 共同研究の内容・計画

平成25年度：安定化した微小血管モデルの作製

- (1) 微小血管ネットワークモデル構築用のデバイスの作製
- (2) 微小血管安定性に関する検討  
血管内皮細胞を用いて、微小血管を模倣した管腔状3次元培養系を構築する(1)。安定かつ機能的な血管であるかを angiogenic sprouting, permeability を指標にして検討し、薬剤大規模スクリーニングに応用可能かどうか有効性を評価していく(2)。本学薬理学教室 末弘淳一が細胞培養・血管ネットワーク構築を、東大生産研松永行子が装置作製・改良を担当する。

3. 研究成果（経過）

平成25年度は以下の2テーマについて検討を行った。

- (1) 微小血管ネットワークモデル構築用のデバイス作成  
東京大学生産技術研究所松永行子博士が開発した三次元コラーゲンゲルマイクロ流路デバイスを発展させ、微小血管モデルの構築を行った。臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を  $1.25 \cdot 2.5 \times 10^6 / \text{mL}$  の密度で Type I コラーゲ

ン（新田ゼラチン）で作成したマイクロ流路（径 $100 \mu \text{m}$ ）に導入し、血管内皮用培地 EGM-2 (Lonza) で培養した。細胞導入後、数時間以内に管腔構造を形成し、24時間では一部の細胞がスプラウティングする様子が観察された。

(2) 微小血管安定性に関する検討

作製した微小血管モデルの管腔に FITC-dextran（分子量：70kDa 程度）を導入し、管腔外への漏出を計測することで血管透過性を検討した。EGM-2培養下で HUVEC を導入した管腔では、導入していないものと比較してコラーゲンゲル中への FITC-dextran の漏出が減少した。一方、本モデルに血管透過性を亢進させる因子として Thrombin を作用させると、漏出が有意に増加することが観察され、本血管モデルが周囲環境に应答し、血管安定性を変化させることが明らかになった。

4. 当該研究に係る研究発表について

(1) 口頭発表

- ① S. Arai, Y. T. Matsunaga, J. Suehiro, G. Tanaka, K. Aihara: "Primary phenomenon in the network formation of endothelial cells: Effect of charge" (poster) The 3rd International Symposium on Innovative Mathematical Modeling, The Univ. of Tokyo Japan, Nov. 11-15, 2013.
- ② 松田勇, 末弘淳一, 梅津光生, 松永行子, "細胞集積マイクロゲル流路デバイスによる in vitro 血管新生モデルの構築", 第35回日本バイオマテリアル学会大会, 船堀, 東京, 2013. 12. 05.

## 29. 経頭蓋磁気刺激による治療抵抗性うつ病の治療と治療反応性の予測因子に関する研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
鬼頭 伸輔	杏林大学医学部精神神経科学教室	講師	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
野田 隆政	(独) 国立精神・神経医療研究センター病院第一精神診療部第二精神科	医長	同意取得、TMS および各種検査の実施、精神科的診断面接および症状評価、解析
中込 和幸	(独) 国立精神・神経医療研究センター病院 TMC 臨床研究支援部部長	部長	研究統括、各種検査の実施
樋口 輝彦	(独) 国立精神・神経医療研究センター病院	理事長	研究統括
山田 麻紀	(独) 国立精神・神経医療研究センター病院第一精神診療部	医員	同意取得、TMS および各種検査の実施、精神科的診断面接および症状評価
竹田 和良	(独) 国立精神・神経医療研究センター病院第一精神診療部	レジデント	同意取得、TMS および各種検査の実施、精神科的診断面接および症状評価
船田 大輔	(独) 国立精神・神経医療研究センター病院第一精神診療部	レジデント	同意取得、TMS および各種検査の実施、精神科的診断面接および症状評価
柴岡 三智	(独) 国立精神・神経医療研究センター病院第一精神診療部	レジデント	同意取得、TMS および各種検査の実施、精神科的診断面接および症状評価
大橋 文平	(独) 国立精神・神経医療研究センター病院第一精神診療部	レジデント	同意取得、TMS および各種検査の実施、精神科的診断面接および症状評価
長谷川 崇	杏林大学医学部精神神経科学教室	助教	TMS および各種検査の実施、精神科的診断面接および症状評価
田巻 龍生	杏林大学医学部精神神経科学教室	助教	TMS および各種検査の実施、精神科的診断面接および症状評価
古賀 良彦	杏林大学医学部精神神経科学教室	教授	研究統括

## キーワード

①治療抵抗性うつ病 ②経頭蓋磁気刺激 ③ high-density EFG

## 研究分野

うつ病の治療

## 1. 共同研究の目的

この研究の目的は、治療抵抗性うつ病患者を対象とし、経頭蓋磁気刺激を行い、1. 有効性・安全性の評価、2. 神経生物学的・神経生理学的・神経画像学的アプローチから治療反応性の予測因子の探索・同定を行うことである。

## 2. 共同研究の内容・計画

研究のデザインは、非盲検試験であり、有効性・安全性を評価する。

研究に組み入れられた患者は、4週間の経頭蓋磁気刺激を受ける。寛解した患者は、維持療法に移行し、抗うつ薬の単剤治療を行う。寛解しなかった患者は、さらに2週間から4週間の経頭蓋磁気刺激を受け、その内、寛解した患者は維持療法に移行し、抗うつ薬

の単剤療法を行う。

研究の説明および同意取得後に、血液検査、胸部・腹部レントゲン、心電図、頭部CTあるいはMRI、脳波などの routine 検査を行う。うつ症状の評価には HAMD17, HAMD24, MADRS, CGI を使用し、week 0 から week 12 まで 2 週間おきに評価する。神経生物学的検査として ACTH, Cortisol, TSH, free T3, free T4, BDNF を week 0 から week 8 まで 4 週間おきに行う。神経生理学的検査として high-density EEG, PSG を week 0 から week 8 まで 2 週間おきに行う。神経画像学的検査項目として SPECT を week 0 から week 8 まで 4 週間おきに行う。頭部 MRI は 50 歳以上の患者さんに対して CT の代わりに実施する。目標症例数は、60 例であり、杏林大学付属病院が 40

例、国立精神・神経医療研究センター病院が20例である。

3. 研究成果（経過）

研究開始から13名終了。その内2名は、本人の同意による研究中断となった。現在、2名を実施中である。現時点でけいれん等の重篤な有害事象は認めていない。

4. 当該研究に係る研究発表について

(1) 学会誌等

- ① Kito S, Pascual-Marqui RD, Hasegawa T, Koga Y: High-frequency left prefrontal transcranial magnetic stimulation modulates resting EEG functional connectivity for gamma band between the left dorsolateral prefrontal cortex and precuneus in depression. *Brain Stimul* 7: 145-146, 2014.

(2) 口頭発表

- ① Kito S: Cortical activity and functional connectivity in depression: a TMS-EEG study. 11th World Congress of Biological Psychiatry, Kyoto, June 23-27, 2013.
- ② 鬼頭伸輔：経頭蓋磁気刺激（TMS）による大うつ病の治療と機能的結合性（functional connectivity）：TMS-EEG 研究. 第16回日本薬物脳波学会, 那須, 平成25年7月12-13日.
- ③ 鬼頭伸輔, 長谷川崇, Pascual-Marqui RD1, 古賀良彦：経頭蓋磁気刺激（TMS）による治療抵抗性うつ病の治療と神経生理学的機序：TMS-EEG 研究. 第10回日本うつ病学会総会, 北九州, 平成25年7月19-20日.
- ④ 鬼頭伸輔：経頭蓋磁気刺激による治療抵抗性うつ病の治療. 第43回日本臨床神経生理学会学術大会, 高知, 平成25年11月7-9日.
- ⑤ 鬼頭伸輔, 長谷川崇, Pascual-Marqui RD1, 古賀良彦：経頭蓋磁気刺激（TMS）によるうつ病治療と機能的結合性の変化：TMS-EEG 研究. 第30回日本脳電磁図トポグラフィ研究会, 博多, 平成26年1月11-12日.

## 30. 腎がん臨床サンプルを用いたメタボローム解析

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
桶川 隆嗣	泌尿器科	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
原 隆人	武田薬品創薬第二研究所	主席研究員	臨床-in vivo 実験系-in vitro 系をつなぐ薬物評価実験系の確立および臨床癌における代謝パターンの解析
山岡 万寿夫	武田薬品創薬第二研究所	主席研究員	臨床-in vivo 実験系-in vitro 系をつなぐ薬物評価実験系の確立および臨床癌における代謝パターンの解析
森本 恵	武田薬品創薬第二研究所	主任研究員	臨床-in vivo 実験系-in vitro 系をつなぐ薬物評価実験系の確立および臨床癌における代謝パターンの解析

## キーワード

①腎がん ②メタボローム解析

## 研究分野

臨床腫瘍

- 共同研究の目的  
腎がんにおける癌代謝領域における臨床-in vivo 実験系-in vitro 系をつなぐ薬物評価実験系の確立、および臨床癌における代謝パターンの解析情報の取得
- 共同研究の内容・計画
  - 代謝パターンの解析  
Metabolomics 解析および Lipidomics 解析を行う。
  - 病理組織像  
ヒト腎癌組織あるいは、近傍正常組織および免疫不全動物から採取した腫瘍塊からパラフィン切片を作成し、HE 染色あるいは、必要に応じて、適した染色を実施する。
  - 代謝酵素あるいは遺伝子変異の有無  
癌代謝に関係する蛋白の遺伝子について、増幅を検討する。
- 研究成果（経過）
  - 腎癌の血液および腫瘍代謝パターンの解析、病理組織像、代謝酵素発現量、遺伝子変異の有無を調べ、正常組織と比較する
  - 免疫不全動物に腎癌あるいは、樹立した株化細胞を生着させ、その血液および腫瘍代謝パターンの解析、病理組織像、代謝酵素発現量、遺伝子変異の有無を調べ、腎癌と比較する
  - 腎癌から直接あるいは、免疫不全動物に移植した腎癌から樹立した培養細胞の代謝パターンの解析、代謝酵素発現量、遺伝子変異の有無を調べ、腎癌と比較する
  - Metabolomics 解析（Metabolon 社あるいは HMT 社に外注）および Lipidomics 解析を行う  
現在、解析中にて結果を公表するデータはない。

31. 前立腺癌患者を対象としたワイヤレス制御マイクロ流路チップ・セルソーターを用いた循環がん細胞の臨床応用評価

**研究代表者**

氏名	所属	職名	研究分野
桶川 隆嗣	泌尿器科	准教授	統括

**共同研究者**

氏名	所属	職名	研究分野
小林 雅之	(株)オンチップ・バイオテクノロジーズ	代表取締役社長	試作 On-chip Sort Wi-Fi の改良

**キーワード**

①前立腺癌 ②循環がん細胞 ③セルソーター
-----------------------

**研究分野**

腫瘍学
-----

1. 共同研究の目的  
マイクロ流路チップを用いたセルローターの特長である無菌・ダメージレス細胞分離の優位性を示すアプリケーションの開発を実施する。
2. 共同研究の内容・計画  
前立腺癌の患者において、血液中循環している癌細胞がどの程度あるか、検出と、その分離を本開発装置で試みる。その後、取得したがん細胞の遺伝子異常解析を行い、現在及び将来の前立腺癌の分子標的抗癌剤の選択に有益な情報が得られるかどうかの検討を行う。
3. 研究成果（経過）  
株式会社オンチップ・バイオテクノロジーズで開発した血中循環がん細胞測定技術である On-chip Sort の細胞分離は交換型チップ内にマイクロ流路を形成し、約0.1気圧以下の圧力で流す細胞にレーザー照射により散乱光と蛍光で目的細胞を検出する。3種類の前立腺癌細胞株において現在唯一 FDA 承認されている CellSearch システムと比較した。ほぼ同等な検出率であった。  
現在、臨床検体を用いて検討している。少数ではあるが CellSearch システム検出できない血中循環前立腺癌細胞を検出可能な症例があった。

### ③保健学部



## 1. 重度心身障害児の治療的乗馬に用いる座位保持装置付き鞍の開発

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
森田 千晶	保健学部作業療法学科運動器障害作業療法学研究室	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
望月 秀樹	保健学部作業療法学科運動器障害作業療法学研究室	准教授	対象児の機能評価、騎乗姿勢評価
太田 光明	麻布大学獣医学部動物応用科学科介在動物学研究室	教授	乗馬療育の指導、セラピー・ホースの選択・管理指導
要 武志	相模原市役所南こども家庭相談課	理学療法士	対象児の機能評価、騎乗姿勢評価
松田 靖史	川村義肢（株） 大阪大学大学院工学研究科	首席技師 准教授	ハードの開発、試作機製作

## キーワード

①治療的乗馬 ②座位保持装置 ③重度心身障害児

## 研究分野

福祉機器・装具の開発

## 1. 共同研究の目的

欧米諸国では作業療法士、理学療法士が治療的乗馬に関わっており、近年、我が国でも関心が高まっている。対象は一般的に重度心身障害児が主で、そのほとんどが自力での座位保持が困難な脳性麻痺時である。実際の騎乗時にはサイドウォーカーとして馬の両脇から2名のセラピストが支えることで安全かつ望ましい座位姿勢を保つ。この時に座位を保持しつつ、治療的なハンドリングを同時に行うが、側弯や異常筋緊張のあるケースではハンドリングのみでは十分にコントロールすることが難しい。また、治療的乗馬1セッションは馬の疲労を考慮して概ね20分で行われるが、この間、セラピストは動く馬の背にいる児を支え続けることになり身体的に負担が大きい。これらのことを解決するために、鞍に座位保持機能をもたせることが必要と考えた。今回は様々な障害像に対応できる座位保持装置付きの鞍を開発することを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

(内容) 麻布大学獣医学部動物応用科学科介在動物学研究室の協力の下で行われている、心身障害児を対象とした乗馬会の参加児に対して、それぞれの障害に合わせることでできる座位保持装置アタッチメント（体幹、骨盤、大腿、持ち手）の開発をする。

(計画) 4月から7月、毎月4~5回行われる乗馬会において、参加した児の乗馬時の座位能力および姿勢、筋緊張の状態、股関節可動域の評価とサイドウォーカー役のセラピストのハンドリングの評価および心

拍・呼吸の観察から、各児、各障害、身体各部位ごとに必要なサポートを抽出しベースとなる鞍（ウェスタン鞍の使用を予定）へのアタッチメントの設計を行う。8月の暑さによる乗馬会休止期間中に試作機の製作。10月の乗馬会再開後に試作機を利用した試乗と問題点抽出、および修正を行い、3月に試作1号機の完成予定。平成25年度には試作機を利用した試乗と修正を重ね、最終的な完成を目指す。

## 3. 研究成果（経過）

平成24年度に作製したプロトタイプの体幹保持具と改造鞍を実際の対象児に試用した。

結果、体幹保持具と鞍との接合部分の固定性が不十分であること、および体幹保持の素材の強度が不十分であることが判明したため、材料の再選定と設計の見直しをすることとした。



## 2. LC-MS/MSによる免疫抑制剤の定量法の開発

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
石井 和夫	保健学部臨床薬理学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
細田 香織	保健学部臨床薬理学	助教	LC-MS/MSによるタクロリムスの定量法の開発
古田 隆	東京薬科大学薬学部医療薬学科臨床薬学	教授	LC-MS/MSによるシクロスポリンの定量法の開発
柴崎 浩美	東京薬科大学薬学部医療薬学科臨床薬学	准教授	LC-MS/MSによるシクロスポリンの定量法の開発
横川 彰朋	東京薬科大学薬学部医療薬学科臨床薬学	助教	LC-MS/MSによるタクロリムスの定量法の開発

### キーワード

① LC-MS/MS ②免疫抑制剤 ③体内動態解析 ④バイオマーカー

### 研究分野

臨床薬理学

#### 1. 共同研究の目的

シクロスポリンやタクロリムスなどの免疫抑制剤は、自己免疫疾患患者や移植後の拒絶反応を抑制する目的で使用されている。しかし、これらの薬物の有効治療域は極めて狭い上に、呼吸過程を含む薬物動態に大きな個人差が認められるため、一人ひとりに適した安全で有効な個別化投薬法の確立が求められている。本研究では、免疫抑制剤の個別化投与法のバイオマーカーとして、*MDR1* 遺伝子多型や代謝酵素 CYP3 フェノタイプングの可能性を明らかにすることを旨とし、体内動態解析に必要となる LC-MS/MS による血漿中シクロスポリンやタクロリムスの定量法を開発することを旨とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

免疫抑制剤の体内動態を正確に解析するためには、低濃度までの性格な血中濃度測定が必要となる。特に、免疫抑制剤では全血中の濃度が測定されることから、適切な抽出法、精度および感度の良い分析法の確立が必須となる。

前年度は、LC 分析カラム、移動相および内標準物質の選択を中心に検討した。ODS カラムを選択し、移動相はメタノールと酢酸アンモニウムを主体としたグラジエントモードとし、全血中濃度を感度・精度よく測定するための至適条件を検討した。

平成25年度は、MS/MS 分析の至適条件の検討を中心に行う。

マスマスペクトル分析にはポジティブイオンモードを、測定モードには MRM モードを用いて、最適

なプレカーサーイオン、プロダクトイオンが得られる条件を確立する。

#### 3. 研究成果（経過）

シクロスポリンやタクロリムスなどの免疫抑制剤の有効治療域は極めて狭く、その薬物動態の個人差は大きい。さらに血中濃度が有効治療域を超えると重篤な腎障害リスクが高まる。本研究では、免疫抑制剤の個別化投与法のバイオマーカーとして、*MDR1* 遺伝子多型や代謝酵素 CYP3A フェノタイプングの可能性を明らかにすることを旨とし、体内動態解析に必要となる LC-MS/MS による血中シクロスポリンとタクロリムスの定量法を開発を目的としている。平成24年に確立した LC-MS/MS 測定条件のもとで、平成25年度は、全血中濃度を正確に定量するための生体成分からの抽出法を検討した。血液に0.1 M 硫酸亜鉛、アセトニトリル、酢酸エチルを添加した後、攪拌して細胞を溶解させた上清を LC-MS/MS に注入することにより簡便に定量できることを確認した。さらに、グラジエントを生体由来の妨害物質の影響を避け、良好なピークが得られるよう改良した。測定精度・再現性と試料の安定性については、現在検討中である。

## 3. FTIR を用いた脳組織赤外吸収特性の測定

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
中島 章夫	保健学部臨床工学科 先端臨床工学研究室	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
荒井 恒憲	慶應義塾大学理工学部	教授	共同研究者

## キーワード

① FTIR ② 赤外分光 ③ 吸収スペクトル

## 研究分野

医用工学

## 1. 共同研究の目的

現在、近赤外分光法による脳血流計測の原理が応用され、脳活動に伴う脳内の血行動態変化を画像化する近赤外光トポグラフィ法 (NIRS: near infrared light spectroscopy)、神経性発作の部位の検査など臨床医療へ応用されている。また、脳腫瘍に対するレーザー治療として、腫瘍の位置を正確に特定するために5-ALA などの色素を経口投与し蛍光スペクトルの計測とレーザー照射を組合せる研究なども行われている。一方、赤外領域や紫外～可視領域における脳組織の吸収スペクトルについては、定量的なデータが存在していないため、今後、近赤外光やレーザーを用いた脳領域への計測治療を行うにあたり、脳組織の吸収スペクトルを把握しておくことは、今後の研究上重要である。

## 2. 共同研究の内容・計画

赤外光の吸収スペクトル測定には、赤外分光光度計である FTIR 装置によるスペクトル解析が必須であり、慶應義塾大学理工学部物理情報学科荒井研究室にて所有している FTIR 装置を用いて、ブタ脳組織に対して、 $1\mu\text{m}$  から  $10\mu\text{m}$  における赤外吸収スペクトルを測定する。

対象組織は、食肉センターより購入したブタ脳組織 (4℃ 保存) を凍結マイクロームにて薄切にし、赤外分光用窓材を用いて FTIR 装置にて分光を行う。測定は、脳組織の灰白質と白質について複数回行い、得られた吸光度のデータより、脳組織に含まれるタンパク質等の吸収ピークについて解析を行う。

## 3. 研究成果 (経過)

本研究では、共同研究者が所有する FTIR 装置を用い、豚脳 (開頭後保冷保存) の灰白質及び白質を包埋処理し、凍結及び薄切処理後、吸光度を測定し、 $1.14\sim 12.5\mu\text{m}$  までの連続した吸収スペクトルを求めた。

既存の脳組織の赤外域における吸収スペクトルは、離散的なデータしか存在していないが、現有するデータを本測定データと比較した結果、ピーク値の波長がほぼ一致し、有機化合物データベースと比較してもピーク値での波長とほぼ一致した。また中赤外域の吸収スペクトルから  $3.42\mu\text{m}$ 、 $3.51\mu\text{m}$  では水の吸収係数に近い値を示したことから、今後、これら波長を用いた脳組織を対象とした光治療・計測への応用できる可能性が示唆された。

#### 4. マルチプレックスアッセイを用いた季節性インフルエンザの感染合併に関する臨床的検討

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 治	保健学部看護学科	教授	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
野村 英樹	医学部総合医療学	臨床教授	臨床データ解析
松田 剛明	医学部救急医学	教授	臨床データ解析
神谷 茂	医学部感染症学	教授	ウイルス解析

##### キーワード

① seasonable influenza ② milliplex ③ prospective study

##### 研究分野

感染症学

##### 1. 共同研究の目的

インフルエンザは冬季に流行するが、その罹患率は小児などの若年層に高いものの重症化率や死亡率は高齢者に高いことが知られている。季節性インフルエンザの重症化要因には、糖尿病や腎疾患、慢性閉塞性肺疾患などの基礎疾患がある事に加え、細胞感染の合併が知られている。本研究では、インフルエンザ患者に合併した感染症が、症状、理学および検査所見、呼吸障害などに及ぼす影響について検討することを目的としている。

##### 2. 共同研究の内容・計画

方法：

- 1) インフルエンザ迅速キット陽性者のうち、同意を得られた者を対象とする。
- 2) 症状出現から来院までの時間、来院時の体温およびSpO<sub>2</sub>値、来院時の咳、咽喉蓋痛、鼻症状、頭痛、筋肉痛、発汗の7項目の有無についての聞き取り調査を行う。
- 3) 息切れの訴えがあるものや室内気でSpO<sub>2</sub>96%以下の者には胸部エックス線調査を行う。
- 4) 採取した咽頭ぬぐい液をマルチプレックスアッセイにて解析する。

##### 3. 研究成果（経過）

2012年11月1日から2013年3月31日までの期間に高熱を主訴として当院を受診された成人を対象とした。得られた鼻腔ぬぐい液検体から核酸を溶出し、RVP FAST キットとLuminex 200 system を用いて8種類のウイルス検出を行った。

【成績】263例中のインフルエンザウイルス149例（H1pdm09,H1,B が1例ずつ、H3, が121例）、RSV が

5例、コロナウイルス33例（229E 0例、HKU1例、NL63 31例うち18例がH3と共に検出）エンテロウイルス7例（H1が1例、H3が3例、コロナNL63が1例共に検出）、メタニューモウイルス、アデノウイルスがそれぞれ1例ずつ検出されたが、パラインフルエンザウイルスとボカウイルスは検出されなかった。

##### 【結論】

当該期間の成人高熱症例からはH3インフルエンザが多く検出された。また、インフルエンザにはコロナウイルスとの感染合併もみられたが臨床像に特徴は見いだせなかった。

本研究成果は2013年ICAACなどで報告し、とくに2013年秋の日本感染症学会東日本地方会で最優秀賞を受賞した。更に、英文学術誌に投稿準備中である。

##### 4. 当該研究に係る研究発表について

##### (2) 口頭発表

- ① Osamu Kobayashi, Osaki T, Kurita S, Nomura H, Kamiya S and Matsuda T. Detection of viral and bacterial pathogen from the patients with influenza like illness in 2012/13. 2013 ICAAC. Sept. 13th. 2013, Denver.
- ② 小林治、大崎敬子、蔵田訓、神谷茂. 冬季に高熱を訴える成人を対象としたxTAG RVP FAST によるウイルス検出状況. 第62回日本感染症学会東日本地方会. 2013年11月1日、東京.
- ③ 小林治、蔵田訓、大崎敬子、神谷茂. 冬季に高熱を訴える成人を対象としたxTAG RVP FAST による病原体検出状況. 第25回日本臨床微生物学会総会, 2014年2月1日、名古屋.

## 5. 皮膚消毒液が及ぼす CR-BSI 起因菌への影響についての検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 治	保健学部	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
西 圭史	医学部付属病院医療安全管理室	係長技師	統計処理
萬 知子	医学部麻酔科	教授	統計処理
塩川 芳昭	医学部脳外科	教授	統計処理

## キーワード

① Central venous catheter (CVC) ② Catheter related blood stream infection (CR-BSI) ③ povidone-iodine ④ chlorhexidine-alcohol

## 研究分野

感染症学

## 1. 共同研究の目的

本学医学部付属病院では、Central venous catheter、CVCの安全な挿入と管理の為に杏林CVCプロジェクトを推進している。ここでは、チェックシートを用いた施行医と、看護師との医療安全の相互確認と、シートを用いた医療安全情報の集計とフィードバックが業務の中心となる。

本研究は、CDCガイドラインに従いCVC挿入時の皮膚消毒液がポビドンヨードからクロルヘキシジンに変更となった2012年4月前後のカテーテル関連血流感染 catheter related blood stream infection、CR-BSIの検出菌の推移を比較検討することを目的としている。

## 2. 共同研究の内容・計画

方法：

- 1) 本学医学部付属病院で2011年4月から2013年3月までにCVCを挿入された症例のうち、CVCチェックシートが提出された例を対象とする。
- 2) 対象群をポビドンヨード(PI)群とクロルヘキシジン(CH)群に分け、カテーテルおよび血液培養双方から共通した菌が検出されたものを difinitive CR-BSI と定義する。
- 3) PI群とCH群とのCR-BSI発生率、菌種、とくに治療反応性が悪く予後が悪化するMRSAなどの耐性菌検出率を統計的に比較検討する。

## 3. 研究成果（経過）

2011年4月から2013年3月までに本学医学部付属病院でCVCを挿入された症例のうち2011年6月から2011年10月末までの期間に10%ポビドンヨード消毒(PI)によって皮膚消毒を行われたものをPI群、

消毒液が0.5%クロルヘキシジナルコール(CH)に入れ替わった2012年6月から2012年10月末までのものをCH群とし、血液培養ならびにカテーテル先端培養で共通して得られたものを difinitive CR-BSI と定義し菌種および発生率について検討を行った。

【結果】PI群654例、CH群666例の比較で患者の性別、年齢、CVC挿入部位比率に統計的有意差は認めなかったが、CR-BSI発生率はPI群7.0%(46/654)、CH群3.0%(20/666)と有意にCH群の発生率が低かった。菌種は両群ともに *Staphylococcus* 群、*Enterococcus* 群などの陽性球菌が多かったが、MRSA、MRSE および *E.faecium* の耐性菌検出率は有意差が無かった。

以上の研究成果は2013年に開催された第28回日本環境感染学会総会で報告し、座長推薦により現在論文文化の最中である。

## 4. 当該研究に係る研究発表について

## (2) 口頭発表

- ①小林治、西圭史.皮膚消毒薬が及ぼすCR-BSI起因菌への影響についての検討.第28回日本環境感染学会総会,平成25年3月2日、横浜



## ④総合政策学部



## 1. 北タイにおける HIV 陽性者への保健医療福祉サービス提供のあり方に関する研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
北島 勉	総合政策学部	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
野山 修	総合政策学部	教授	質的研究の指導
岡村 裕	総合政策学部	准教授	高齢患者のニーズ分析
Saiyud Mooiphate	Chiang Mai Rajabhat University	講師	データ収集・分析
Myo Nyein Aung	Chiang Mai Rajabhat University	講師	統計解析

## キーワード

①タイ ②HIV ③抗 HIV 多剤併用療法 ④医療システム

## 研究分野

国際保健

## 1. 共同研究の目的

途上国においても、抗 HIV 多剤併用療法 (antiretroviral therapy、以下 ART) の普及により、HIV 陽性者の平均寿命が延びている。本研究は、今後更に増加し、高齢化が進展していくことが予想される HIV 陽性者に対して、保健医療福祉サービス提供のあり方について検討することを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

調査対象地域：タイ国チェンマイサンパトン郡

調査対象施設：サンパトン地域病院（1カ所）と保健センター（18ヶ所）

調査対象者：上記施設において、ART を利用している患者で、サンパトン郡在住の者。

調査方法：面接調査と質問票による調査。

対象者の中から任意で抽出した者から、ART 利用の状況について面接調査を行う。この調査で得られた情報を踏まえ質問票を作成し、無作為に抽出された ART 利用患者を対象に、ART 提供方法に関する意識、高齢患者の福祉ニーズの実態を把握する。

## 3. 研究成果（経過）

タイ国チェンマイ県サンパトン郡の Health Center (HC) において抗 HIV 多剤併用療法 (antiretroviral therapy、以下 ART) を利用している60人(男性20人、女性40人)を対象に、ART 利用状況について面接

調査を行った。対象者の平均年齢は47.7歳(±6.3)、主観的健康感は、「とても良い」13人(21.7%)、「良い」41人(68.3%)、「あまり良くない」6人(10.0%)であった。HCでARTを利用するようになってからの平均期間は23.9ヶ月(±25.1)であった。HCでARTを利用するようになったきっかけは、同郡においてART提供の中心的な役割をになっているサンパトン病院のスタッフによる紹介が59人、不明が1名であった。HCでARTを利用する主な理由としては、「家から近い」と回答したものが最も多かった(47人)。HCでのサービスに関する満足度をPSQ-18で測定したところ68.2±8.6であった。また、知覚的スティグマの値については、38.3±13.0であった。今後は、サンパトン病院でARTを利用している患者にも同様の調査を実施し、両群の差を比較するとともに、HCとサンパトン病院におけるART提供にかかる費用を推計し、HCでARTを提供することの費用対効果を明らかにしていきたい。

2. 女性農民工の権利保護制度及びその実施に関する研究

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
劉迪	総合政策学部	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
林紅	アモイ大学（中国）	准教授	中国の女性農民工についての知識を提供する

キーワード

①女性農民工 ②権利保護 ③高度成長 ④比較研究
--------------------------

研究分野

比較政治学
-------

1. 共同研究の目的

今現在中国には2億人以上の農民工（農村戸籍の出稼ぎ労働者）が存在する。そのうち女性が30%以上を占めている。彼女たちは男性の農民工以上に過酷な生活環境・労働条件を強いられている。この研究は中国女性農民工の権利保護の諸制度を調査・整理したうえで、その実施状況を明らかにする。さらに、諸外国の女性労働者保護の精度を参照しながら中国女性農民工の権利保護制度のありかたをめぐって考察する。

2. 共同研究の内容・計画

本研究は以下の3つの内容をめぐって展開する。

- 1 中国の女性農民工関係の制度を研究する。
- 2 中国の女性農民工の権利保護の実態を調査する。
- 3 日本高度成長期の女性労働者の権利保護に関する調査、研究を行う。

研究代表者及び共同研究者はそれぞれ以下の役割を分担しながら研究を進める。

- 1 林氏は中国の女性農民工保護関係制度の知識を提供する。
- 2 林氏は中国の女性農民工保護関係制度の実態を調査する。
- 3 劉は比較政治学の視点から日本の女性権利保護関係制度の知識を提供する。
- 4 二人は日本の女性問題の実務者にインタビューする。
- 5 二人は日本の女性問題の研究者との意見交換を行う。
- 6 劉は最終的なまとめを担当する。

3. 研究成果（経過）

この研究は中国女性農民工の権利保護の諸制度を調査・整理したうえで、その実施の現状を明らかにしたい。

上記の期間中、研究代表者は主に以下のことを中心

に作業を進めていた。

- ・日本を含めて先進国の女性権利保護関係の関係資料を収集したうえ解説を行った。
- ・林紅氏と毎週1回ほどメールをやりとりし研究の進捗状況を互いに報告を行った。
- ・林紅氏と意見を介して意見交換を行った。
- ・林紅氏から中国女性農民工の権利保護関係の資料を一部提供してもらった。
- ・劉が比較政治学の視点から林紅氏にアドバイスをを行った。

4. 研究成果

(1) 学会誌等

- ① 「两会代表委員的国籍応透明」『環球時報』2014年2月28日14面
- ② 「120年の共和国理想」『日本新華僑報』2014年2月28日21面
- ③ 「怎樣滿足人民的巨大物質需要？」『中文導報』2014年3月13日3面

# キーワード索引



	キーワード	掲載場所			
あ	悪性脳腫瘍	医学部	14		
	後根神経節ニューロン	医学部	9		
	アトピー性皮膚炎	医学部	21		
	アミノ酸	医学部	11		
	アリアルスルファターゼ	医学部	19		
	医学教育	医学研究科	12		
	一酸化窒素	医学研究科	9		
	遺伝子異常	医学部	14		
	遺伝子改変原虫	医学研究科	5		
	遺伝子発現異常	医学部	10.14		
	イネ科	医学部	3		
	イネ目	医学部	1		
	医療システム	総合政策学部	1		
	インスリン	医学部	23		
	インフラマソーム	医学研究科	10		
	う	運動トレーニング	医学部	20	
		え	栄養	医学部	16
			エネルギー代謝	医学部	16
	エピジェネティックス	医学部	17		
か	炎症	医学部	11		
	開口放出	医学部	23		
	概日リズム	医学部	20		
	核遺伝子多型	医学部	2		
	核外 DNA	医学部	1		
	核外遺伝子多型	医学部	2		
	角質水分量	医学部	21		
	画像解析	医学部	18		
	家庭内感染	医学研究科	11		
	下部消化管手術	医学部	4		
	カラムクロマトグラフィー	医学研究科	10		
	幹細胞	医学研究科	2		

	キーワード	掲載場所		
き	汗腺	医学部	21	
	鑑別診断	医学部	25	
	救急医療	医学部	25	
	吸収スペクトル	保健学部	3	
	起痒物質	医学部	9	
	緊急被ばく医療	医学部	12	
	く	グライコプロテオミクス	医学部	7
		グリコシレーション	医学部	24
	け	経頭蓋磁気刺激	医学部	29
		形態形成	医学部	19
血液透析		医学部	16	
こ	権利保護	総合政策学部	2	
	抗 HIV 多剤併用療法	総合政策学部	1	
	甲状腺	医学研究科	1	
	抗体	医学部	19	
	高度成長	総合政策学部	2	
	高尿酸血症	医学研究科	6	
	呼気ガス分析	医学部	16	
さ	骨格	医学部	18	
	骨髄増殖性腫瘍	医学部	22	
	再活性化	医学部	6	
	サイトカイン	医学研究科	2.4	
	サイトカインネットワーク	医学研究科	7	
	細胞外基質	医学部	19	
	座位保持装置	保健学部	1	
	し	自閉性障害	医学部	10
		脂肪組織由来間質細胞	医学部	26
		若年者甲状腺癌	医学研究科	1
周期的開花		医学部	3	
重症マラリア		医学研究科	4	
重度心身障害児	保健学部	1		

	キーワード	掲載場所	
	腫瘍血管新生	医学部	28
	循環がん細胞	医学部	31
	ショウジョウバエ近縁種	医学部	2
	女性農民工	総合政策学部	2
	神経内分泌癌	医学研究科	8
	腎臓	医学研究科	6
	心臓手術	医学部	13
	シタキシム1	医学部	10
	診療指標	医学研究科	12
す	スプライシング異常	医学部	22
せ	制御性T細胞	医学研究科 医学部	4.5
	赤外分光	保健学部	3
	セルソーター	医学部	31
	前駆細胞	医学研究科	2
	染色体異常	医学部	13
	染色体多型	医学部	2
	全ゲノム解読	医学研究科	11
	先天異常	医学部	22
	先天性心疾患	医学部	13
	前立腺癌	医学部	31
そ	雑木林	医学部	1
	造血幹細胞	医学研究科	3
	造血系	医学研究科	3
	造血前駆細胞	医学研究科	3
	創薬	医学部	8
	掻痒	医学部	9
	藻類	医学部	5
た	タイ	総合政策学部	1
	代謝	医学部	11
	体内動態解析	保健学部	2
	ダウン症候群	医学部	13

	キーワード	掲載場所	
	宅地化	医学部	1
	単球	医学部	6
	単粒子解析	医学研究科	10
ち	腸管神経	医学研究科	9
	腸内細菌叢	医学研究科	9
	治療抵抗性うつ病	医学部	29
	治療の乗馬	保健学部	1
て	低尿酸血症	医学研究科	6
	低分化癌	医学研究科	1
	転移	医学研究科	8
	電子顕微鏡	医学研究科	10
と	糖鎖生物学	医学部	7
	糖質ステロイド	医学部	8
	透析液	医学部	15
	糖転移酵素	医学部	5
	糖尿病	医学部	7
	糖尿病性腎症	医学部	17
	動脈硬化	医学部	27
	時計遺伝子	医学部	20
	トリアージ	医学部	25
に	日本産タケ・ササ類	医学部	3
	乳頭癌充実型	医学研究科	1
	尿酸トランスポーター	医学研究科	6
ね	粘膜傷害	医学研究科	9
は	パーオキシダーゼ	医学部	3
	バイオマーカー	保健学部	2
	バイオマス	医学部	15
	肺癌	医学研究科	8
	肺高血圧症	医学部	11
	肺損傷	医学研究科	7
	肺動脈性肺高血圧症	医学部	26

	キーワード	掲載場所	
	発汗	医学部	21
	パッチクランプ	医学部	9
ひ	比較研究	総合政策学部	2
	ヒト胎児	医学部	18
	皮膚感覚	医学部	9
ふ	不安定プラーク	医学部	27
	複合感染	医学研究科	4
	複合糖質	医学部	7
	プロバイオティクス	医学部	4
	分化形質	医学研究科	8
	分子標的治療	医学部	14
へ	平滑筋	医学部	27
	ヘルペスウイルス	医学部	6
ほ	防御免疫	医学研究科	2.3
	放射線障害	医学部	12
	放射線障害の治療	医学部	12
	ホーミング	医学部	5
ま	マイクロCT	医学部	18
	マイコプラズマ感染	医学部	5
	マクロファージ	医学部	20
	末梢血管障害	医学部	28
	メタボローム解析	医学部	30
	マラリア	医学研究科	2.3.5
	慢性腎臓病	医学部	17
	慢性腎臓病 (CKD)	医学部	16
み	未分化癌	医学研究科	1
む	ムチン	医学部	24
め	免疫機能	医学部	20
	免疫組織化学	医学部	14.24.27
	免疫制御	医学部	24
	免疫抑制剤	保健学部	2

	キーワード	掲載場所	
	免疫電顕	医学部	19
も	モノアミン	医学部	10
や	薬剤アレルギー	医学部	6
ゆ	湧水	医学部	1
よ	葉緑体遺伝子	医学部	3
り	リード化合物	医学部	8
れ	レクチン	医学部	24
C	Catheter related blood stream infection (CR-BSI)	保健学部	5
	Central venous catheter (CVC)	保健学部	5
	chlorhexidine-alcohol	保健学部	5
D	DNA 変異	医学研究科	5
E	ELKS	医学部	23
F	FTIR	保健学部	3
H	Helicobacter pylori	医学研究科	11
	high-density EFG	医学部	29
	HIV	総合政策学部	1
	HTS 技術	医学部	28
J	JAK2	医学部	22
L	LC-MS/MS	保健学部	2
M	milliplex	保健学部	4
N	NLRP3(NALP3)	医学研究科	10
O	O-GlcNAc	医学部	7
P	PILR	医学部	6
	povione-ionide	保健学部	5
	prospective study	保健学部	4
S	seasonable influenza	保健学部	4
	SSI	医学部	4
T	TIRF	医学部	23
V	VEGFRs	医学研究科	7
	VEGFs	医学研究科	7



# 研究分野索引



研究分野	共同研究課題	掲載頁
医科学	稀な甲状腺腫瘍の臨床病理学的ならびに分子病理学的研究	209
医学生物学	透析液を用いた藻類バイオマスの生産・利用に関する研究	248
	呼気ガス分析装置を用いた、慢性腎臓病 CKD 症例のエネルギー代謝に関する研究	249
医用工学	FTIR を用いた脳組織赤外吸収特性の測定	277
うつ病の治療	経頭蓋磁気刺激による治療抵抗性うつ病の治療と治療反応性の予測因子に関する研究	269
解剖学	ヒト胎児頭蓋の形成過程 - C T 画像による経時的解析と免疫組織学的観察	251
感染症学	マルチプレックスアッセイを用いた季節性インフルエンザの感染合併に関する臨床的検討	278
	皮膚消毒液が及ぼす CR-BSI 起因菌への影響についての検討	279
寄生虫免疫学、分子細胞生物学	マラリア原虫感染における自然免疫リンパ球による造血調整機構の解明	210
	マラリア原虫感染における造血系変動の組織学的解析	212
寄生虫免疫学	<i>Pregnancy-associated malaria</i> の病態に関わる新たな宿主因子の探索	214
救急医療	救急外来における効率的鑑別診断・トリアージ法の研究	264
救急総合内科学	めまい外来診療教育における診療指標の効果判定に関する研究	226
緊急被ばく医療	放射線被ばくや放射性核種による汚染を伴う外傷・熱傷の基礎診断と治療研究	244
外科感染症	プロバイオティクスによる下部消化管手術後の感染予防効果の検討	234
呼吸器病学	急性肺損傷発症機序の解明と、治療戦略の確立に向けた多角的アプローチ	218
国際保健	北タイにおける HIV 陽性者への保健医療福祉サービス提供のあり方に関する研究	283
細菌学、遺伝学	<i>Helicobacter pylori</i> 感染経路の解明のための家族分離菌株の遺伝子タイピング	224
自然史・保全遺伝学	関東地域に現存する湧水と雑木林に生息・生育する動植物の遺伝的変異	229
循環器	脂肪組織由来間質細胞を用いた難治性肺動脈性肺高血圧症治療の安全性および有効性に対する研究	265
腫瘍学	前立腺癌患者を対象としたワイヤレス制御マイクロ流路チップ・セルソーターを用いた循環がん細胞の臨床応用評価	272
小児科	染色体異常のある子どもの保育 ー心疾患の影響ー	245
進化遺伝学	熱帯、亜熱帯種ショウジョウバエの北上と温暖化	231
神経科学	自閉性障害患者の <i>syntaxin1A</i> 、 <i>1B</i> 遺伝子解析と臨床病態との関連性の検討	242
	かゆみを伝える末梢感覚神経の同定と機能解析	241
腎臓病学	慢性腎臓病のエピジェネティック異常の解明	250
生理学、細胞生物学、細菌学	腸管神経系異常マウス (Ncx KO マウス) における腸内細菌叢の解析	221
生化学	インフラマソームの構造と機能 I : ヒト野生型・疾患変異型 NLRP3 の発現と構造解析	223

研究分野	共同研究課題	掲載頁
組織化学	糖尿病に伴う赤血球における O-GlcNAc 修飾タンパク質の変化の解析	238
	アリアルスルファターゼ遺伝子疾患の分子機構に関する組織化学的研究	252
	内在性の糖鎖認識分子およびその結合糖鎖に関する組織細胞化学的並びに糖鎖工学的	262
脳腫瘍学	悪性脳腫瘍に対する分子標的治療の開発に向けた分子病理学的研究	246
肺高血圧症	肺高血圧症における代謝・炎症解析	243
比較政治学	女性農民工の権利保護制度及びその実施に関する研究	284
皮膚免疫学	重症薬疹におけるヘルペスウィルスの関与の解明	236
	角質水分量および発汗の炎症性皮膚疾患発症への関与を明らかにする	254
病理学	剖検例を用いた冠動脈プラークの平滑筋の免疫組織化学的検討	264
福祉機器・装具の開発	重度心身障害児の治療的乗馬に用いる座位保持装置付き鞍の開発	275
分子寄生虫学	ローデントマラリア原虫のマラリア薬剤耐性遺伝子の同定	216
分子細胞生物学	ELKS ノックアウトマウス、及び妊娠マウスを用いたインスリン開口放出機構の解明	260
分子生物学	JAK2 遺伝子異常をもつ先天異常症候群の発症メカニズムの解明	259
分子病理学	肺神経内分泌肺癌における分化形質獲得・転移メカニズムの全容解明と治療への応用	219
保全生物学	日本産タケ・ササ類数種の成立に関する遺伝資源学的研究	233
免疫アレルギー	糖質ステロイド代替薬の創薬	240
免疫学	マイコプラズマ感染症と糖転移酵素発現の検討	235
薬理学	尿酸トランスポーター変異体の機能解析 血管新生研究のための in vitro 血管ネットワークモデルの開発	217
予防医学	概日リズムと免疫機能のクロストークに対する運動効果	256
臨床腫瘍	腎がん臨床サンプルを用いたメタボローム解析	271
臨床薬理学	LC-MS/MS による免疫抑制剤の定量法の開発	276