

共同研究

目 次

①医学部

1. 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	173
2. マイコプラズマ感染症と糖転移酵素発現の検討	174
3. 重症薬疹におけるヘルペスウイルスの関与の解明	175
4. かゆみを伝える末梢感覚神経の同定と機能解析	176
5. 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	177
6. 肺高血圧症における代謝・炎症解析	179
7. 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	180
8. 染色体異常のある子どもの保育 —心疾患の影響—	181
9. 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	183
10. 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	184
11. 慢性腎臓病のエピジェネティック異常の解明	185
12. 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	186
13. 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	187
14. <i>JAK2</i> 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	188
15. <i>ELKS</i> 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	189
16. 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	190
17. 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	192
18. 血管新生研究のための <i>in vitro</i> 血管ネットワークモデルの開発	193
19. 経頭蓋磁気刺激による治療抵抗性うつ病治療と治療反応性の予測因子に関する研究	194
20. 腎がん臨床サンプルを用いたメタボローム解析	196
21. 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	197
22. アリールスルファターゼの機能と VI 型ムコ多糖症への関与 — 組織化学的研究	199
23. グライコプロテオミクスによる糖尿病及び関連合併症マーカーの探索	201
24. ショウジョウバエにおける種間浸透	202
25. Na^+/K^+ -ATPase 分子の新たな機能制御機構の探究	203
26. カイコ Na^+/K^+ -ATPase β 鎖の機能	205
27. 不死化子宮内膜症細胞における ROS 生産能およびジェノゲストの影響	206
28. 消化管癌の幹細胞制御転写ネットワークの解明と大腸癌治療への応用	207
29. アミノ酸トランスポーター-LAT1 慢性阻害モデルの作出と解析	208
30. 左右両循環系（心室、動脈）血行力学の情報論的解析	209
31. 高齢ドライバおよび軽度認知症ドライバにおける安全運転支援の評価方法に関する共同研究	210
32. セツキシマブの局所浸潤・遠隔転移の抑制効果についての検討	211
33. 先天性内分泌疾患のメダカモデルの作製と解析	212
34. 心不全、心肥大の慢性病態の分子制御機構の病理組織学的解明	213

目 次

②保健学部

- 35. 子宮頸部における新しいハイリスク型ヒト乳頭腫ウイルスの再考 217
- 36. LC-MS/MS による免疫抑制剤の定量法の開発 218
- 37. 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 219
- 38. 脳障害患者などに関わる腹壁筋低緊張と姿勢障害の病態解明 221
- 39. 糖尿病における運動神経障害の病態生理 222
- 40. デジタル角度計（プロトタイプ）の信頼性と操作性に関する研究 224

③総合政策学部

- 41. 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 227
- 42. 女性農民工の権利保護制度及びその実施に関する研究 229

④医学研究科

- 43. Pregnancy-associated malaria の病態に関わる新たな宿主因子の探索 233
- 44. 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 234
- 45. *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 235
- 46. 上皮細胞における尿酸の paracellular 輸送 236
- 47. 腸管神経系異常腸炎発症モデルマウスにおける腸内細菌叢の役割解析 237
- 48. オクタアルギニンによる高尿酸血症治療ペプチドの細胞内送達 239
- 49. 百日咳菌Ⅲ型分泌機構の臨床分離株における発現 240
- 50. マラリア防御免疫におけるミトコンドリア活性酸素関連性 242
- 51. 蛋白間相互作用阻害化合物による癌治療開発 243

①医学部

1. 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	医学部総合医療学	助教	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
正木 忠彦	医学部外科学	教授	総括
松岡 弘芳	医学部外科学	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

プロバイオティクス、下部消化管手術、SSI

研究分野

基礎研究

1. 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。目標症例数 70 症例に対して、現在登録数は 18 例である。今後も該当患者の登録数の増加に努める。

2. 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 65R)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。

3. 研究成果(経過)

目標症例数 70 症例に対して、現在登録数は 18 例である。今後も該当患者の登録数の増加に努める。

2. 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	医学部皮膚科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
水川 良子	医学部皮膚科学	准教授	皮膚局在での発現の検討
高橋 良	医学部皮膚科学	学内講師	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

マイコプラズマ感染、糖転移酵素、ホーミング、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 T 細胞 (Treg) 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 Treg の機能を抑制していることが昨年度の本研究において明らかになった。そこで本年度の本研究では、どのような機序にマイコプラズマ感染が 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を用いて、Treg の機能の抑制をサイトカイン産生能や糖転移酵素の発現を含めた皮膚局所への遊走能を検討する。

3. 研究成果（経過）

重症薬疹の悪化因子の一つであるマイコプラズマ(MP)感染症が引き起こす免疫学的な変容の機序を明らかにすることを目的として検討を行ってきた。昨年度までの本研究で MP 感染では長期にわたり抑制性の機能を有する regulatory T 細胞(Treg)の機能が低下していることを明らかにした。そこで本年度は、MP 感染が Treg の機能を抑制する機序と糖転移酵素のかかわりを明らかにしようと考えた。

今年度の検討において、

- ①MP では機能を有する Treg(iTreg)の割合が低下していた。
- ②MP 感染では、TLR4 ではなく TLR2 を介した単球からの IL-6 の産生が著明に増加していた。
- ③単球からの IL-6 を抗体により抑制することで、iTreg の回復が認められた。

以上の結果は、MP により単球が刺激されることにより産生される IL-6 が機能的な iTreg を減少させることを示している。単球はフコース糖転移酵素により皮膚へのホーミングレセプターを発現することが知られており、今後、サイトカインによる糖転移酵素の発現が Treg に関与するかを検討する予定である。

3. 重症薬疹におけるヘルペスウィルスの関与の解明

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
塩原 哲夫	医学部皮膚科学	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	医学部皮膚科学	准教授	In-situ PCR、免疫組織染色など

キーワード

ヘルペスウィルス、再活性化、薬剤アレルギー、PILR、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、抗痙攣剤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ィルス(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。DIHS では、免疫反応を抑制する抑制性の T 細胞(regulatory T cell; Treg)が急性期に増加していることを我々は明らかにしているが、この Treg と単純ヘルペス (HSV) を認識するレセプターとして注目されている PILR の単球での発現に相関がある可能性が示唆されている。そこで、本年度は Treg と PILR の相互関係を検討する。

2. 共同研究の内容・計画

炎症を抑制する Treg の数の増減や機能の低下は炎症を抑制するうえで主要な反応を担っている。我々の予備実験においてこの Treg と PILR 陽性の単球に相関関係がある可能性が示唆されており、DIHS の急性期、回復期の末梢血検体を用いて両者の発現を経時的に検討する。さらに Treg は数のみでなく、機能の検討や分画の検討も行う予定にしている。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）

抗痙攣剤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ィルス(HHV-6)の再活性化が関与していることが知られている。さらに DIHS では、免疫反応を制御する抑制性の T 細胞(regulatory T cell; Treg)が急性期に増加している。Treg の発現には単球からのサイトカインが重要であることを我々は明らかにしているが、単球には単純ヘルペス (HSV) を認識する PILR (paired immunoglobulin-like type 2 receptor)が発現しており、単球へのヘルペスウィルス感染が Treg の発現をコントロールしている可能性が示唆されている。そこで、本年度は Treg と単球、PILR の相互関係を検討する。

本年度の研究で、

- ①単球分画のうち、HSV 感染に関与する PILR の発現は、proinflammatory monocyte (pMOs)に一致していた。
- ②DIHS 急性期では、PILR 陽性 pMOs は末梢血中から減少し、回復期には健常コントロールと同程度に回復していた。Stevens-Johnson 症候群や TEN ではその発現に有意な変動は認められなかった。
- ③急性期 DIHS での pMOs 減少は病変部皮膚への浸潤によるものと考えたが、病変部組織には PILR 陽性細胞の浸潤は認められなかった。

④pMOs と Treg は負の相関を示した。

以上の結果から、DIHS ではヘルペスウィルス感染による pMOs の減少が Treg の変動に関与していると考えられた。

4. 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	医学部統合生理学	准教授	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	教授	神経細胞の免疫組織学的解析

キーワード

皮膚感覚、搔痒、後根神経節ニューロン、パッチクランプ、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。これまで、かゆみ誘発物質クロロキンをラットに注入してかゆみを人工的に誘発させ、侵害受容性ニューロンの一部が興奮することを見出した。今後、防衛医科大学校小林靖教授との共同研究では、かゆみ受容体の候補である **Mrgpr** ファミリーの各種サブタイプの発現パターンを免疫染色法にて検討し、かゆみ治療のターゲットと成り得るかゆみ関連受容体の発見を目指す。

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）の電気生理学的性質を独自に開発した「麻酔下全動物標本によるパッチクランプ法」を用いて解析し、熱受容・侵害受容性 DRG ニューロン（Type I と Type II）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。クロロキンは、低濃度では **MrgprA3** 受容体を介して TRP チャネルを活性化してかゆみを起こす一方、高濃度では電位依存型チャネルの活性化を修飾し、逆にかゆみを伝える神経活動を抑制することが示唆された。今後、かゆみの受容機構を解明し、さらにかゆみを抑制する薬物療法の基盤づくりを目指す。

5. 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	医学部細胞生理学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
林 優子	県立広島大学社会福祉学部	教授	患者試料採取
田丸 政男	県立広島大学社会福祉学部	名誉教授	患者試料採取
藤原 智徳	医学部細胞生理学	准教授	遺伝子発現解析
小藤 剛史	医学部 RI 部門	助教	ゲノム解析

キーワード

自閉性障害、モノアミン、シntaxin A、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 (syl) 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一症候群 (ASP) 患者の一部では sylA、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 sylA の発現量が有意に低いことを見出し、sylA 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 sylA 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 sylAmRNA 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 sylA 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 sylA の発現異常の原因を検討する。これらの結果に基づいて sylA 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)

症状の重症度等に関わらず無作為に選んだ自閉性障害患者 (ASD) 血液試料の例数を増やして解析した結果、その約半数にシナプスや分泌系での開口放出過程の制御因子である syntaxin1A (sy1A) の mRNA 発現量に異常があることが確かめられた。昨年度までに血液試料より得たゲノム解析から 69 例中 2 例に sy1A 遺伝子の copy number variation (CNV 遺伝子数変異) があり haploid となっていることが分かっていた。その患者家族を精査した結果、CNV は患者のみに見られる De Novo 異常であった。また唾液試料からゲノムを抽出して CNV を調べる方法を新たに確立したので研究への協力が得やすくなった。その結果、本人の協力が得やすい知的障害の比較的軽い例を多く含む ASD 群においては、ゲノム中に高い頻度で (15 例中 4 例、27%) CNV が認められた。またゲノム内で遺伝子の分断が生じている 1 例が見出された。今後、例数を増して知的障害が比較的軽度の場合、ASD の原因として sy1A 遺伝子の CNV が関与する頻度が高いことを明らかにする。更に ASD の多彩な精神・神経症状 (ADHD、感

覚過敏、パニック、社会性行動異常、言語発達遅延等)の重症度と CNV との相関を精査する。

6. 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	医学部内科学Ⅱ	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
柳澤 亮爾	医学部内科学Ⅱ	医員	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

肺高血圧症、代謝、炎症、アミノ酸

研究分野

肺高血圧症

1. 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。

2. 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°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。

3. 研究成果（経過）

本研究で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し行った。

7. 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	医学部救急医学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
宮内 洋	医学部救急医学	助教	情報の収集、基礎研究
山田 賢治	医学部救急医学	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

緊急被ばく医療、放射線障害、放射線障害の治療

研究分野

緊急被ばく医療

1. 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。

2. 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。

3. 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仏の研究者のもとへ5月から約3カ月間に亘り教室人員を研修に派遣し、学術的交流を図り情報収集を行った。平成26年後半から大学において脂肪由来幹細胞の臨床応用のための委員会が立ち上がり、準備期間を経て平成27年度から他施設と共同の基礎研究に着手した。広域搬送ネットワークを立ち上げ、関東圏から広範囲熱傷患者の受け入れを開始した。共同研究者は、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）106例や、重症熱傷（Artzの基準に基づく）26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）62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。広範囲熱傷に対し自家培養表皮移植を行った症例について病理所見を含めた検討を行った（平成26年度日本熱傷学会にて報告）。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し論文文化済み）。広範囲熱傷における同種皮膚移植、各種創傷被覆材の有用性について継続して検討を行った。

8. 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	医学部医学教育学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
宮内 洋	東京家政大学	教授	研究責任者
高木 晴良	東京医療保健大学	准教授	研究協力者
犬塚 亮	東京大学	講師	研究協力者
萩原 教文	帝京大学	講師	研究協力者
小野 博	国立成育医療センター	医長	研究協力者

キーワード

染色体異常、ダウン症候群、先天性心疾患、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。同様に帝京大学医学部附属病院および東京大学医学部附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）

染色体異常の中で症例数の多いダウン症候群患者についての調査研究を継続した。現在までに解析の終了した 4 施設の病院カルテデータと、2 地域の患者保護者アンケートデータの結果について、平成 27 年 6 月に開催される第 62 回小児保健協会学術集会において発表予定である。有効データ総数は 920 人（男 485 人、女 435 人）、その中で先天性心疾患のある男は 235 人（48%）、女 252 人（58%）であり、女の方が先天性心疾患のある割合が有意に多かった。さらに手術の有無で分けると、「手術あり」の男は 126 人（26%）、女は 157 人（36%）で、女では重症な先天性心疾患が有意に多かった。先天性心疾患の合併頻度が女に多いだ

けでなく、その中で手術が必要となるような重度の先天性心疾患の割合も女に多いことが、ダウン症候群の予後や平均寿命の性差をもたらしている可能性があると考えられた。さらに小児専門病院数は207人（男108人、女99人）である。それを加えた病院5施設（A～E）と2地域のアンケート（S,T）を合わせた総数は現在のところ1127人（男593人、女534人）となった。そのうち先天性心疾患があるのは610人（54%）で、男は302人（51%）、女は308人（58%）であった。平成27年度はこれらの詳細について解析を行う。

9. 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	医学部内科学 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	名誉教授	研究全般の助言等

キーワード

腹膜透析、血液透析、代替エネルギー、藻類、バイオマス

研究分野

医学生物学

1. 共同研究の目的

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る研究である。当院では穂類を培養する技術・施設がないため、共同で研究を行う。

2. 共同研究の内容・計画

当院に通院中の腹膜透析、血液透析患者より得られた排液を、筑波大学生命環境科学研究科の藻類・エネルギー拠点に搬送し、藻類の培養・バイオマスの生産に供していただく。腹膜透析液の送料と成分の分析は当院で負担し、藻類の生育、バイオマスによる化学物質の抽出にかかる費用は筑波大学で負担する。毎月通信による情報交換を行い、2 か月に 1 回程度カンファレンスを行う。

3. 研究成果（経過）

上記共同研究プロジェクトの結果、使用後の腹膜透析液の中でミドリムシ、オーランチオキトリウムなどの藻類バイオマスが透析液中の窒素、リン、カリウムを使用して良好に発育することが明らかとなった。これにより透析液中の環境負荷物質を減少させることができ、さらにこれら藻類により生産された四塩化炭素は極めて純度が高く、化粧品などへの転用や乗用車、航空などの燃料への転用の可能性が示唆された。本研究の成果により、共同研究機関である筑波大学大学院大学院生が修士論文を作成（佐藤万里：透析排水を用いた藻類培養の有効性評価）されたとともに、本共同研究の成果は特許として公開された。

特願 2012-265617、 出願日 2012 年 12 月 4 日、 公開番号特開 2014-108101

公開日 2014 年 5 月 12 日

発明の名称 透析排水を培地として使用する藻類の培養方法

10. 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	医学部内科学 I	学内講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
山口 嘉和	国土舘大学体育学部	教授	呼気ガスデータの解析
永吉 英記	国土舘大学体育学部	准教授	呼気ガスデータの解析

キーワード

慢性腎臓病 (CKD)、栄養、呼気ガス分析、血液透析、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。共同研究先の国土舘大学体育学部は、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、国土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、国土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、国土舘大学の研究費を用いて補填する。得られたデータの解析については、国土舘大学の共同研究者と当院の研究者で行う。

3. 研究成果（経過）

プレリミナリーの結果が、下記へ掲載となった。

A study of energy metabolism in patients with chronic kidney disease based on expired gas analysis. The Annual Reports of health, physical education and sport science
vol.31. 111-112, 2012

11. 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	医学部薬理学	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

エピジェネティクス、慢性腎臓病、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法がなく、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）

腎臓エピジェネティック異常を糖尿病性腎症モデルマウスで解析した。DNAメチル化の異常が、糖代謝や輸送体発現を制御する転写因子の遺伝子のプロモーター領域に見つかった。また、ヒストン修飾とメチル化両方の異常がAGT遺伝子に見つかり、これは糖尿病の治療によっても改善しなかった。糖尿病性腎症の進展にはエピジェネティック異常が関与していることが示唆された。

12. 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

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
松村 譲児	医学部解剖学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
天野 カオリ	医学部解剖学	講師	CT 画像解析・免疫組織学的観察
三川 信之	千葉大学医学部	准教授	CT 画像解析・免疫組織学的観察

キーワード

ヒト胎児、頭蓋部発生、CT 画像、免疫組織学的観察

研究分野

形態構造・免疫組織学的研究

1. 共同研究の目的

杏林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、ヒト胎児頭頸部領域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。

また、骨格標本と同齢の胎児頭頸部組織試料を用いて免疫組織学的染色・観察も同時に行う。

2. 共同研究の内容・計画

杏林大学の胎児標本・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頭蓋部経時的形態変化を画像解析する。試料には、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）

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っている。今回胎生期鰓弓筋（表情筋・咀嚼筋）の構造について成人との比較・検討することを目的に 6 カ月胎児と日本人男性 4 3 - 8 6 歳を使用し、横断面積 1 mm^2 中の筋線維数を計測した。

胎児における頬筋・咬筋と上腕二頭筋の筋線維解析を行ったところ、成人との比較観察から加齢に従い、 1 mm^2 中の筋線維数は減少する傾向が認められた。全ての筋肉において加齢に伴い 1 mm^2 中の筋線維数は減少していた。また減少のピークは筋肉の種類に応じて変化していた。

骨格筋における成長や加齢による変化についての報告はみられるが、鰓弓筋由来である表情筋の報告についての詳細な報告は少ない。表情筋の成長や加齢による筋線維の変化を明らかにすること、発育段階における筋線維構成を明らかにすることは筋肉の発達や筋疾患を理解する上で有意義である。この結果は論文にて報告した。（Morphometric aspects of the facial and skeletal muscles in fetuses, Int J Pediatr Otorhinolaryngol. (15)168-8,2015）

13. 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	医学部皮膚科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
水川 良子	医学部皮膚科学	准教授	発汗の評価、組織検討
小松 由莉江	医学部皮膚科学	院生	水分量などの測定 評価
土肥 孝彰	マルホ株式会社	研究員	水分量など評価

キーワード

アトピー性皮膚炎、角質水分量、発汗、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。我々は発汗が角質水分量を左右し、その結果として skin barrier に直接的に影響を与えていることを明らかにしてきた。本研究は、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で、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ことを目的としている。

2. 共同研究の内容・計画

昨年度の本研究において 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。AD で認められる発汗低下は罹病期間に相関し皮疹悪化から 5 年以降で顕著であった。本年度は治療効果による皮疹の改善が発汗の改善と相関しているのかを検査し、発汗の低下が皮膚病変の悪化の誘因であることを証明する。さらに AD の治療に用いられるステロイドが発汗に影響を及ぼすかについても検討を加える予定にしている。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するだけでなく、どのような治療が適切かを明らかに出来ると考えている。

3. 研究成果(経過)

昨年度の検討において、アトピー性皮膚炎(AD)では皮疹悪化から 5 年以内の急性症例で発汗滴の大きい代償性発汗が認められ、5 年以降の慢性期では代償性発汗は消失している。

本年度は様々な皮膚疾患の病態に関与していると考えられる帯状疱疹(HZ)が発汗に及ぼす影響を検討した。

検討は発症から 10 日以内の急性期とそれ以降の回復期にわけて検討を行った。

①急性期、回復期とも温熱負荷による発汗は HZ では低下し、発汗滴数、発汗径とも健常よりも低下を認めた。

②回復期では発汗滴数と痛みの指標(VAS)は逆相関関係にあった。

③アセチルコリン(Ach)負荷による発汗も、急性期慢性期とも低下していた。

④Ach レセプターの発現は病変部、非病変部とも有意な差は認められなかった。

以上の結果は、HZ は汗腺汗管に感染することにより汗腺の機能を直接的に障害する可能性が考えられた。

14. 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	医学部臨床検査医学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
滝田 順子	東京大学医学部小児科	准教授	遺伝子の網羅的解析
大西 宏明	医学部臨床検査医学	准教授	変異遺伝子の機能解析

キーワード

JAK2、先天異常、骨髄増殖性腫瘍、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、生殖系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

昨年度の本研究では、我々は両症例に十数個の共通の遺伝子変異がみられることをエクソーム解剖析を用いて明らかにした。26 年度は上記の目的の遂行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) 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。
- (2) 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)

骨髄増殖性腫瘍および外性器奇形を持ち、JAK2 スプライシング変異を認める先天性症候群において、患者およびその家族の DNA について次世代シーケンサーを用いてエクソーム解析を行ったところ、原因となる遺伝子異常の候補が複数認められた。具体的には、常染色体上に座位する遺伝子 10 個、および X 染色体上に座位する遺伝子 4 個の異常が候補として挙げられた。このうち、X 染色体上に座位する GATA1 遺伝子については、過去に報告のない G221D 変異を認めた。GATA1 は先天性の貧血患者において変異が見られることが報告されており、本患者の造血器異常に関与している可能性が示唆された。この変異について、ベクターに組み込んで HeLa 細胞への遺伝子導入を行った。現在、本細胞のスプライシング異常について、スプライシングアレイによる解析を実行中である。また、同じく本患者に X 染色体に座位する DGKK 遺伝子の変異を認めた。本遺伝子の変異は尿道下裂に関与することが報告されており、本患者に認められた外性器の奇形に関与している可能性が考えられる。

15. 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	医学部生化学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
今泉 美佳	医学部生化学	教授	β 細胞のイメージング解析
青柳 共太	医学部生化学	学内講師	ノックアウトマウスの生化学的解析
大塚 稔久	山梨大学医学部生化学	教授	ノックアウトマウスの作製

キーワード

インスリン、開口放出、ELKS、TIRF

研究分野

分子細胞生物学

1. 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 β 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。

2. 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。昨年の研究では、山梨大・医・生化学・大塚教授より供与された ELKS の RIP-Cre Condition knockout を用いて、インスリン分泌の TIRF 解析を行ったところ、インスリン顆粒の極性による動態変化が観られた。

本年度は、更にその詳細を検討するため、電気生理学的手法による K^{ATP} チャンネル解析、生化学的解析を行う予定である。

3. 研究成果（経過）

神経終末のアクティブゾーンに局在している ELKS は膵 β 細胞にも局在しており、インスリン開口分泌を増加させる役割を持つことを前年度までの研究で明らかにしている。今年度はその ELKS のインスリン開口分泌増強のメカニズムについて膵 β 細胞特異的 ELKS 欠損マウスを用いて研究を進めた。ELKS 欠損マウスから調製した β 細胞ではグルコースおよび KCl 刺激応答性のインスリン分泌が低下するが、この時、細胞内 Ca^{2+} 上昇反応も大きく低下していた。また、生化学実験解析により ELKS が電位依存性 Ca^{2+} チャンネルのサブユニットに選択的に結合することがわかった。

以上の結果より、ELKS は電位依存性 Ca^{2+} チャンネルに結合することで細胞内 Ca^{2+} 流入を増加させ、インスリン開口分泌を増強していることが示唆された。来年度は ELKS の電位依存性 Ca^{2+} チャンネルへの調節機構を更に検討するため、電気生理学的解析を進める予定である。

16. 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	医学部内科学Ⅱ	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
吉野 秀朗	医学部内科学Ⅱ	教授	研究指導者
松下 健一	医学部内科学Ⅱ	講師	研究指導者
伊波 巧	医学部内科学Ⅱ	助教	研究実施者
柳津 亮爾	医学部内科学Ⅱ	医員	研究実施者
百瀬 裕一	医学部内科学Ⅱ	医員	研究実施者
上杉 陽一郎	医学部内科学Ⅱ	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

脂肪組織由来間質細胞、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られる。

2. 共同研究の内容・計画

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、骨髄採取と比較して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られる。

3. 研究成果（経過）

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化し、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。厚生労働省のヒト幹細胞臨床研究審査会は廃止され、施設ごとの再生医療委員会で審議することとなり、新しい審査体制での認可の準備をしている。

17. 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	医学部病理学	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	講師	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	免疫組織化学的解析
下山田 博明	医学部病理学	講師	超微形解析
平野 和彦	医学部病理学	助教	免疫組織化学的解析

キーワード

動脈硬化、不安定プラーク、免疫組織化学、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 α -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、Cardiovascular Pathology 誌に掲載された。

18. 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	医学部薬理学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
末弘 淳一	医学部薬理学	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

HTS 技術、末梢血管障害、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、薬剤のハイスループットスクリーニング (HTS) への応用を最終目標とし、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。

2. 共同研究の内容・計画

微小血管モデルを HTS に応用へ向け、以下の 2 項目について検討を行う。

1. 二次元培養、微小血管モデルによる三次元培養における透過性の検討
2. 初代マウス大動脈内皮細胞によるスプラウティング観察

血管内皮細胞を用いて、微小血管を模擬した管腔状 3 次元培養系を構築し、安定かつ機能的な血管であるかをスプラウティング、透過性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 (1)。また、マウス初代大動脈内皮細胞を培養して本モデルに適用し、動物モデルでも応用可能か検討を行う (2)。

3. 研究成果 (経過)

平成 26 年度は以下の 2 テーマについて検討を行った。

(1) 三次元微小血管モデルにおける VEGF による内皮透過性亢進の検討

HUVEC を用いて作製した三次元微小血管モデルにおいて、VEGF 刺激下で蛍光物質が管腔内からコラーゲンゲルへ漏出する様子を共焦点レーザー顕微鏡にて観察することで内皮透過性を検討した。2MDa、70kDa の分子量を有する蛍光デキストランを用いたところ、VEGF 刺激後 20 分にて 70kDa デキストランのみ漏出の増加が確認された。一方、2MDa デキストランでは VEGF 刺激による漏出量の変化は観察されなかった。以上より、本微小血管モデルが VEGF 刺激に対し生体内と類似した応答を示すことが明らかとなった。

(2) マウス大動脈内皮細胞を用いた三次元微小血管モデルの作成

C57BL マウスから大動脈を摘出し、コラゲナーゼにて内皮細胞の分離を行った。分離した細胞を三次元微小血管モデルに導入すると、培養後 24 時間にて管腔構造が観察され、一部にスプラウティングする様子が観察された。LIVE/DEAD 染色にて細胞の生存率を検討したところ、管内に接着する多くの細胞が生存していることが確認された。

19. 経頭蓋磁気刺激による治療抵抗性うつ病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	医学部精神神経科学	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	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	TMC 臨床研究支援部部長	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	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	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	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	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	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	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	医学部精神神経科学	専攻医	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
田巻 龍生	医学部精神神経科学	専攻医	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	医学部精神神経科学	教授	研究統括

キーワード

治療抵抗性うつ病、経頭蓋磁気刺激、high-density EEG

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, freeT3, freeT4, 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。

研究期間 平成26年4月1日~平成27年3月31日

成果発表 平成27年3月以降

3. 研究成果（経過）

学術的な成果は、各種関連学会にて口演したほか、Brain Stimulation (2014)、日本薬物脳波学会雑誌(2014)の専門誌に発表した。

現在、専門誌に投稿するため、執筆準備中である。

20. 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	医学部泌尿器学	臨床教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
原 隆人	武田薬品工業株式会社 癌創薬ユニット	主席研究員	研究データ管理、総括
山岡 万寿夫	武田薬品工業株式会社 癌創薬ユニット	主席研究員	代謝酵素あるいは遺伝子変異の有無
森本 恵	武田薬品工業株式会社 癌創薬ユニット	研究員	免疫不全動物への腎がん移植

キーワード

腎がん、Metabolomic 解析

研究分野

臨床研究

1. 共同研究の目的

腎癌における臨床-in vivo 実験系-in vitro 系をつなぐ薬物評価実験系の確立、および腎癌における代謝パターンの解析情報の取得。

2. 共同研究の内容・計画

- 1)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。
- 2) 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。
- 3) 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。
- 4)Metabolomic 解析 (Metabolon 社あるいは HMT 社に外注) および Lipidomics 解析を行う。

3. 研究成果 (経過)

現在、同意を得た 15 名の患者の手術摘出した腎がんを用いて検討している。今年度末には第 1 報を報告する予定である。

21. 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	医学部泌尿器学	臨床教授	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	取締役	On-chip Sort Wi-Fi の機器管理

キーワード

前立腺癌、循環がん細胞

研究分野

臨床研究

1. 共同研究の目的

株式会社オンチップ・バイオテクノロジーズが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。対象を前立腺癌患者とし、検出した CTC と臨床データとを比較する。

2. 共同研究の内容・計画

肘静脈より、がん細胞の同定用（採血管 4.0mL を 2 本）の採血を行ない、常温にてオンチップ・バイオテクノロジーズに輸送する。癌細胞であるマーカーである抗 EpCAM 抗体と抗サイトケラチン抗体ならびに非癌細胞マーカーである抗 CD45 抗体と合わせて用いることができるフローサイトメトリー分析する。オンチップ・バイオテクノロジーズにおいて、採取された血液検体にマイクロ流路チップの検出部にレーザー光を照射して、通過する細胞の大きさや色の情報を光センサーで取得する。

3. 研究成果（経過）

【目的】

末梢循環癌細胞（circulating cancer cell : CTC）クラスター（集合体）は CTC 孤立癌細胞に比較して予後に強く関与しているとの報告がある（Cell, 2014;158(5):1110.）。今回、去勢抵抗性前立腺癌（CRPC）における治療経過において CTC クラスターおよび CTC 遺伝子解析の治療効果判定を検討した。

【対象と方法】

CRPC と診断されてドセタキセル（TXT）治療前の患者 12 例と TXT 治療後の 11 例を対象にセルソーターシステムでの CTC クラスターおよび遺伝子解析を行った。セルソーターシステムは CTC を計量的に分析し、特定の細胞を分離することができるシステムである。

【結果】

1. アビラテロンまたはエンザルタミド治療前の CTC クラスター陽性は 23 症例中 11 症例（47.8%）で全例に PSA の低下を認めなかった。CTC クラスター陽性 11 症例中 androgen-receptor splice variant (ARV)7 陽性は 10 例(90.9%)であった。TXT 前後でみると、2. TXT 前のアビラテロン投与前の 8 症例のうち CTC クラスター陽性は 3 症例で全例 PSA 低下は認めなかった。また 3 症例とも ARV7 陽性であった。CTC クラスター陰性) の 5 症例で PSA 低下 50%以上低下を認めたのは 3 症例であった。CTC クラスター陽性の 2 症例で EGFR 変異および ERBB2 変異を認めた。この 2 症例はその後に肺転移、肝転移を認めた。3. TXT 前のエンザルタミド投与前の 4 症例のうち CTC クラスター陽性の 2 症例は PSA 低下を認めなかった。CTC クラスター陽性 2 症例中 1 例は ARV7 陽性であった。CTC クラスター陰性の 2 症例で PSA 低下 50%、30%をそれぞれ認めた。CTC クラスター陽性 2 症例のうち 1 例で ARV7 陽性であった。4. TXT 後のアビラテロン投与前の 8 症例のうち CTC クラスター陽性は 4 症例で全例

PSA 低下は認めなかった。また 4 症例とも ARV7 陽性であった。CTC クラスター陰性の 4 症例のうち PSA 低下 50%以上低下を認めたのは 2 症例、25%低下 1 症例、低下なしは 1 症例であった。5. TXT 後のエンザルタミド投与前の 3 症例のうち CTC クラスター陽性の 2 症例は PSA 低下を認めなかった。CTC クラスター陽性 2 症例のうち 1 例で ARV7 陽性であった。CTC クラスター陰性の 1 症例で PSA 低下 77%を認めた。

【結論】

CTC クラスターの検出は CRPC 治療における predictive biomarker になる可能性があり、さらに CTC クラスターの ARV7 検出も同様な biomarker の可能性がある。

22. アリールスルファターゼの機能と VI 型ムコ多糖症への関与 — 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	医学部解剖学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
秋元 義弘	(独) 国立精神・神経医療研究センター	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	教授	分子発生学
大森 紹仁	東京大学大学院理学系研究科	特任助教	発生生物学

キーワード

アリールスルファターゼ、細胞外基質、ER ストレス、免疫電顕

研究分野

組織化学

1. 共同研究の目的

硫酸化多糖の硫酸基を加水分解する酵素であるアリールスルファターゼ A, B (ARSA, ARSB) の存在様式を明らかにすることにより、細胞外マトリックスとしてのこれらの機能を解明する。また、ARSB-KO マウス、MPSVI モデルラットを用い、VI 型ムコ多糖症を発症した個体の組織における ARSB の量的変化と局在変化を免疫組織化学的に解析し、VI 型ムコ多糖症発症の分子機構についての解明を目指す。

2. 共同研究の内容・計画

アリールスルファターゼ (ARS) は、コラーゲンにはない ARS 特有の、突起形成などのダイナミックな細胞形態の形成にかかわる細胞外マトリックス機能を有することが示唆されている。これは ARS が細胞外で不溶性マトリックス構成成分として機能することを示している。しかし一般的には、ARSA、ARSB はリソソーム酵素であるとの認識がいまだに根強い。我々は、血管内皮細胞表面に ARSA と ARSB が局在していることを報告しているが、他の組織においても ARS が細胞表面に局在しているかは検証していない。ARSA と ARSB が一般的に細胞表面・細胞外に存在することを確認するため、消化管、腎臓、肺、軟骨組織、中枢神経系など、マウスのさまざまな組織における ARSA、ARSB の存在様式を、特異抗体を用いて免疫蛍光組織学、免疫電顕組織学的に解析する。また、硫酸化ムコ多糖と結合した状態では、人工基質に対する酵素活性を失うことを確認する。さらに ARSB ノックアウトマウスと VI 型ムコ多糖症のモデルである MPSVI ラットを用い、各組織における ARSA、ARSB の存在様式を正常組織と比較することにより、ムコ多糖症発症の分子機構を、臓器特異的变化に留意しつつ明らかにする。

3. 研究成果 (経過)

アリールスルファターゼ (ARS) B タンパク質はラットの血管内皮細胞、肝実質細胞の細胞表面に存在し、特に血管内皮細胞では ARSB の大部分が細胞表面に存在することを、特異抗体を用いた免疫電顕により示した。さらに ARSB 突然変異モデルラット 15 週令のホモ個体組織の電顕観察では、軟骨細胞と血管内皮細胞に多数の空胞が見られることが明らかとなった。劣性遺伝するとされてきた VI 型ムコ多糖症ではあるが、ARSB 変異モデルラットのヘテロ個体においても血管内皮細胞と軟骨細胞の細胞質に空胞が生じていた。これは、変異遺伝子の産物自体が細胞障害を引き起こすことを示している。なお、外見上のヘテロ個体は野生型個体と同じであった。細胞質に充満した空胞の膜表面にはリポソームの存在が認められ、核膜と空胞が融合していることから、粗面小胞体由来と考えられる。空胞はトルイジンブルー染色で陰性であり、ムコ多糖の蓄積は認められない。したがって空胞は、

ゴルジ体やリソソームに由来するのではなく、粗面小胞体の断片が小胞となり、小胞が細胞内に充満することにより細胞障害が引き起こされる可能性が示唆された。

23. グライコプロテオミクスによる糖尿病及び関連合併症マーカーの探索

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
秋元 義弘	医学部解剖学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
川上 速人	医学部解剖学	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 老化ゲノム機能研究チーム	副所長	研究の立案、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
千葉 優子	東京都健康長寿医療センター研究所 糖尿病・代謝・内分泌内科	副部長	プロテオーム研究の指導、遂行

キーワード

糖尿病、O-GlcNAc、複合糖質、糖鎖生物学、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、糖尿病及び合併症により発現変動する O-GlcNAc 化蛋白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蛋白質を明らかにする。

2. 共同研究の内容・計画

糖尿病モデル動物の網膜、腎臓、神経、膵臓、血液並びにヒトの血液を用いて、O-GlcNAc の修飾が変化する蛋白質を調べる。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）

研究代表者らは、これまで腎臓まるごと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いアクチン、 α -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糖尿病腎症で O-GlcNAc 化の有意な増加が生ずることを見出し、O-GlcNAc 化の変化が糖尿病腎症の一因になっていることを明らかにした。本研究では、さらに糖尿病性腎症のマーカータンパク質を探索するため、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った。その結果、上記の細胞骨格やミトコンドリア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。さらに O-GlcNAc 化細胞骨格タンパク質に対する数種類の抗体を作製した。今後、この抗体を用いて O-GlcNAc 化に伴う細胞骨格タンパク質の局在の変化について検討する予定である。

24. ショウジョウバエにおける種間浸透

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
佐藤 玄	医学部生物学	講師	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	准教授	DNA 多型の解析
上村 佳孝	慶應義塾大学	准教授	雑種の形態
戸張 よし子	NPO 科学教育研究所	理事	雑種の妊性
松田 宗男	医学部生物学	客員教授	染色体多型

キーワード

染色体多型、核遺伝子多型、核外遺伝子多型、雑種形成、種間浸透

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、マレー半島に分布を拡げている。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が、雑種を介しての異種由来の遺伝子の流入の事実が明らかになってきた。熱帯種である *D.aananassae* の同胞種で、近年になり分布を拡げた種と従来から生息していた近縁種を用い、両種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 *D.aananassae* の同胞種系統について、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-5* 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(*sex comb*)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）

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した。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) 外部形態の遺伝的変異の調査がほぼ終わり、のこり1) 寄生している細菌 *Wolbachia* の有無、2) 生殖的隔離の調査を行い、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つけて行う。

25. Na⁺/K⁺-ATPase 分子の新たな機能制御機構の探究

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
丑丸 真	医学部化学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
林 雄太郎	理化学研究所糖鎖構造生物学	客員主管研究員	ATPase 分子の単離と機能測定
原 諭吉	東京医科歯科大学医学部	名誉教授	ATPase 分子の制御機構解析
誉田 晴夫	医学部泌尿器科学	非常勤講師	各種組織からの ATPase 分子の単離と活性測定

キーワード

Na⁺/K⁺-ATPase、レクチン親和性クロマトグラフィー、オリゴマー構造、基質結合、酵素機能制御

研究分野

生化学

1. 共同研究の目的

あらゆる動物細胞に存在する Na⁺/K⁺-ATPase は、細胞膜に Na⁺およびK⁺の電気化学勾配を形成し、神経興奮、Na⁺再吸収、栄養素の吸収などの生理機能を担っている。また、本態性高血圧症や癌の発症に関与していることが明らかになりつつある。このことは、この ATPase 活性の制御機構の異常が、疾病に関わる可能性を示している。制御の分子機構の解明には、各種組織からの単離・精製が不可欠である。これまで精製が事実上不可能であった微量の組織から、林らは新しく、当該タンパク質の迅速単離を可能とする方法を開発した。この方法を用いて、各種組織からこの ATPase 分子を単離し、新たな制御因子の探索、新たな制御機構の解明および、それらの結果と疾病との関係を探究する。

2. 共同研究の内容・計画

ブタ腎を用いて整備されたレクチン・アフィニティクロマトグラフィー (LAC) 法を、種々の組織またはそのホモジネートを界面活性剤で可溶化したものに適用する。すなわち、この ATPase が糖タンパク質であることを利用して、LAC 法およびゲルろ過法によって、種々の組織からこの ATPase 分子の単離を可能にする。単離した ATPase 分子を用いて、1) ATPase 活性測定、2) 基質およびその類似体との結合能の測定、3) オリゴマー構造の同定、4) この ATPase 分子と共に単離される、制御分子候補の検出、5) 制御分子による制御機構の解析を行う。さらに、6) 疾病モデル動物の組織や培養細胞からの単離を行い、健康組織から単離された ATPase 分子との、上記の観点からの比較を行う。

3. 研究成果 (経過)

まず、従来のレクチン・アフィニティクロマトグラフィー (LAC) 法で、ブタ腎から四量体 Na⁺/K⁺-ATPase (T) 分子を単離した。T 分子が安定に四次構造を維持できるか否かを調べるため、この四量体標品溶液中およびゲル濾過の溶出緩衝液中の Na⁺と K⁺の濃度比を変えて、ゲル濾過を行った。その結果、K⁺が優勢な場合は比較的良く維持されるが、Na⁺が優勢に、または Na⁺だけ (K⁺が存在しない) 存在する場合には、50%以上の T は解離し、二量体 (D) と単量体 (P) に変化した。この結果から、この T 標品は機能単位としての資格を欠くと判断した。そこで、P-P 間の親和力が最低になる Na⁺だけ存在する条件でも、安定に存在する T を得るため、LAC 法のさらなる改良を試みた。ブタ腎の可溶化およびクロマトグラフィーの条件を、種々検討した結果、ブタ腎髄質外層組織を直接可溶化した後 5 時間以内に、1 個のブタ腎から 4 mg の T 標品が得られた。改良法で得られた標品は最初から 90%以上の純度の T 標品で、Na⁺だけ存在下の条件のゲル濾過でも、ほとんど解離することはなかった。今後は、こうし

て得られた機能単位の T 分子を使い、制御機構の研究を行う。

26. カイコ Na⁺/K⁺-ATPase β 鎖の機能

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
丑丸 真	医学部化学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
誉田 晴夫	医学部泌尿器科学	非常勤講師	ATPase 分子の単離と活性測定
原 諭吉	東京医科歯科大学医学部	客員教授	カイコ Na ⁺ /K ⁺ -ATPase の培養細胞内発現

キーワード

Na⁺/K⁺-ATPase、カイコ、酵素機能制御

研究分野

生化学

1. 共同研究の目的

高等動物細胞膜に存在する Na⁺/K⁺-ATPase は、膜を介して Na⁺ および K⁺ の能動輸送を行う。その結果生じた Na⁺ および K⁺ の電気化学勾配は、神経組織における情報伝達、腸管における栄養素の吸収などの生理機能を担っている。しかし、チョウ目昆虫であるカイコでは Na⁺/K⁺-ATPase は神経組織にしか見られず、また酵素的性質も哺乳類の Na⁺/K⁺-ATPase とは異なっている。その原因は Na⁺/K⁺-ATPase を構成するサブユニット α および β 鎖のうち、哺乳類とのホモロジーが 30% 以下である β 鎖にあるように見える。また β 鎖は、単独で、腸以外の臓器に普遍的に見られる。この研究では、Na⁺/K⁺-ATPase の酵素的性質に与える β 鎖の影響、また α 鎖のパートナー以外の β 鎖の機能について研究する。

2. 共同研究の内容・計画

カイコ神経組織から単離した Na⁺/K⁺-ATPase α および β 鎖 cDNA を、カイコ卵巣由来の培養細胞 BM-N (β 鎖のみ存在、Na⁺/K⁺-ATPase 活性はない) に挿入して発現させる。一方、ラット β 鎖 cDNA あるいはカイコ β 鎖 cDNA から作製した変異体 β 鎖 cDNA をカイコ α 鎖 cDNA と共に BM-N に挿入して発現させる。内因性と区別できるように、外来 β 鎖には Flag タグが付くようにしておく。このようにしてえられた Na⁺/K⁺-ATPase について、その酵素的性質について調べる。また α 鎖のパートナー以外の β 鎖の機能については、まず、発現場所を特定するために免疫組織染色を行う。

3. 研究成果 (経過)

カイコ神経組織から単離した Na⁺/K⁺-ATPase α および β 鎖 cDNA を、カイコ卵巣由来の培養細胞 BM-N (内因性 β 鎖が存在、Na⁺/K⁺-ATPase 活性はない) に挿入して発現させた。その際、α 鎖および内因性 β 鎖と区別できるように、外来性 α 及び β 鎖にはそれぞれ Flag および HA タグを N 末端側に結合させ、それぞれのタグに対する抗体を用いて外来性 α 及び β 鎖の発現を確認した。

実験の結果以下の知見が得られた。

培養細胞に発現させた外来性 β 鎖の分子量は、SDS-PAGE 及びイムノブロッティングによる測定の結果、40K だった。これは内因性 β 鎖の分子量及び哺乳類 β 鎖の分子量、55K よりも明らかに小さかった。β 鎖は糖タンパク質であり、SDS-PAGE 上の分子量は、糖鎖を持つ場合 55K、糖鎖を取り除くと 35K になることが知られている。したがって、外来性 β 鎖には糖鎖が付加していない可能性がある。しかし、外来性 α 及び β 鎖を発現させた細胞から得られたミクロソームは Na⁺/K⁺-ATPase を発現し、その酵素的特徴はカイコ神経組織由来の Na⁺/K⁺-ATPase と同様だった。これらの結果は、Na⁺/K⁺-ATPase 複合体形成、Na⁺/K⁺-ATPase 活性発現に糖鎖は不要であることを示唆している。

27. 不死化子宮内膜症細胞における ROS 生産能およびジェノゲストの影響

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 陽一	医学部産科婦人科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
橋場 雅道	持田製薬株式会社開発研究所	マネージャー	実験の遂行、統括
三田 静香	持田製薬株式会社開発研究所	主任	研究の遂行
市岡 誠之	持田製薬株式会社開発研究所	主任	研究の遂行

キーワード

子宮内膜症、ROS (reactive oxygen species)、酸化ストレス、ジェノゲスト

研究分野

女性医学

1. 共同研究の目的

卵巣子宮内膜症性嚢胞において、嚢胞内酸化ストレスの状態を reactive oxygen species (ROS) 副生能により評価する。また子宮内膜症治療薬であるジェノゲストによる、ROS 生産能への影響を評価し、ジェノゲストが嚢胞内酸化ストレス環境を改善するか否かを評価することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

現在当大学産科婦人科学教室では、倫理委員会の承認の元、卵巣子宮内膜症性嚢胞に関する基礎的・臨床的研究を行っている。今回その一環として、卵巣子宮内膜症性嚢胞の内容液の刺激による不死化子宮内膜症細胞の ROS 生産能を評価し、合わせてジェノゲストが ROS 生産能に及ぼす影響を検討する。また手術前にジェノゲストを投与された症例の嚢胞内容液中の酸化ストレス物質について解析し、術前治療を行わなかった群と比較検討し、ジェノゲストが酸化ストレスを抑制する可能性について検討する。

3. 研究成果（経過）

卵巣子宮内膜症性嚢胞内は繰り返し生じる出血から生じる鉄イオンにより高い酸化ストレスに暴露されていることが示唆されている。今回我々は、嚢胞内の酸化ストレスの1つである ROS 産生の実態を明らかにするため、卵巣子宮内膜症性嚢胞内容液の、不死化内膜症由来培養細胞に対する ROS 生産能を検討した。その結果、嚢胞内容液添加により、不死化内膜症由来培養細胞から高濃度の ROS が産生されることが示された。しかしながら内膜症治療薬であるジェノゲスト同時添加での ROS 産生抑制効果は今回の検討では認められなかった。

また有意差は認めなかったものの、患者年齢が 40 歳以上の症例においては 40 歳未満と比較して ROS 産生能が高い傾向を認めた。また腫瘍径が 5cm 程度でも 5cm 未満の症例と比較して高い ROS 産生能を有することが示された。以上のことから、年齢が 40 歳以上、もしくは腫瘍径が 5cm を超える症例における手術適応の妥当性が示唆された。

28. 消化管癌の幹細胞制御転写ネットワークの解明と大腸癌治療への応用

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
菅間 博	医学部病理学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
永井 良三	自治医科大学	学長	研究指導
仲矢 丈雄	医学部病理学	助教	研究遂行

キーワード

大腸癌、幹細胞、KLF5、転写因子

研究分野

病理学

1. 共同研究の目的

これまで転写因子 KLF5 が、幹細胞の維持・増殖を制御し、Wnt シグナルの活性化による幹細胞からの発癌が、幹細胞で KLF5 を欠損させると全く起こらなくなることを明らかにしてきた。本研究は、この研究成果を基に、どのような細胞内転写制御ネットワークにより、正常腸上皮幹細胞や大腸癌幹細胞の維持・増殖が制御されているかを *in vivo* で解明し、大腸癌幹細胞を標的とした新しい治療法の開発につなげることを目的としている。

2. 共同研究の内容・計画

KLF5、それと腸管上皮で相補的な発現を示す KLF4、c-Myc などの転写因子のダブルタグ付きノックインマウスを作成し、正常時と腫瘍形成時において、これら因子と *in vivo* で結合するタンパクを免疫沈降法により解析するとともに、DNA 結合領域の網羅的な解析を Chromatin IP 法で行う。その結果に基づき、正常幹細胞、癌幹細胞の維持と増殖を制御する転写ネットワークを解明する。解明された結果に基づき、癌幹細胞で活性化されている転写ネットワークを microRNA 等により阻害し大腸癌を幹細胞から抑制・死滅させる手法を開発する。

3. 研究成果（経過）

KLF5、それと腸管上皮で相補的な発現を示す KLF4 の転写因子のダブルタグ付きノックインマウスを作成し、KLF4 に関してはマウスが生まれてきて、腸上皮を採取し、腸上皮でタグ付き蛋白が発現していた。その後、タグに対する抗体を用いた免疫沈降により、組織からの蛋白抽出液から、タグ付き蛋白に対する免疫沈降が行えることを確認した。

現在、KLF5 に対するダブルタグ付きノックインマウスを作成しているところである。これらを、腫瘍形成モデルと組み合わせ、*in vivo* 蛋白複合体解析を行い、消化管・大腸癌の幹細胞制御転写ネットワークの解明とその大腸癌治療応用につなげていく。

29 アミノ酸トランスポーターLAT1 慢性阻害モデルの作出と解析

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
櫻井 裕之	医学部薬理学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
遠藤 仁	ジェイファーマ	社長	研究計画策定、データ分析
木村 徹	医学部薬理学	学内講師	生理学的解析
堅田 智久	医学部薬理学	助教	形態学的解析

キーワード

LAT1、癌、発達

研究分野

薬理学

1. 共同研究の目的

アミノ酸トランスポーターLAT1 特異的阻害薬 JPH203 を長期投与した場合に予測される副作用を、ノックアウトマウスを用いて解析する。

2. 共同研究の内容・計画

LAT1 阻害薬 JPH203 の抗腫瘍効果は、*in vitro*, *in vivo* の系で示されているが、同薬を長期投与して、慢性に LAT1 を阻害したときに生体に起こる変化については未解明である、LAT1 ノックアウトマウスは胎生致死となるため、LAT1 conditional ノックアウトマウスを作出し、生後遺伝子を除去することにより、長期にわたる LAT1 阻害の影響を評価することを計画している。

3. 研究成果（経過）

LAT1 ノックアウトマウスは胎生致死となるため、LAT1 conditional ノックアウトマウスを作出し、生後 LAT1 遺伝子を除去することにより、長期にわたる LAT1 阻害の影響を評価することにした。Cre-loxP システムにより、LAT1 遺伝子の除去を行うため、LAT1-floxed mouse の作出のためのベクターを設計、当該遺伝型のマウス受精卵を得た。

なお、実際の研究は、共同研究契約締結の関係から平成 26 年 7 月 1 日より開始され平成 27 年 2 月 14 日に終了した。

30. 左右両循環系（心室、動脈）血行力学の情報論的解析

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
赤木 美智男	医学部医学教育学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
阿波 彰一	太陽こども病院 (元杏林大学医学部教授)	非常勤講師	研究責任者、動物実験、データ解析、論文執筆
保崎 明	医学部小児科学	講師	動物実験、データ解析
中村 嘉宏	宮内庁	侍医	動物実験、データ解析

キーワード

体・肺各心室圧、大（肺）動脈血流量、周波数領域、伝達関数、線形性

研究分野

循環器力学

1. 共同研究の目的

イヌを用いて、全身麻酔・開胸陽圧呼吸下で、大・肺両循環系の圧・流量・心室容積の関係を異なる心拍数下で実測し、①心室流入量、心室圧、心室流出量、動脈圧等のフーリエ変換を用いた周波数解剖析値からこれらの関係の線形性を確認する。②これらの変数の関係を、周波数領域で定義する。③関係式におけるパラメーターを決定し両循環系の力学的特性を明らかにする。

2. 共同研究の内容・計画

リタイヤビーグル犬をペントバルビタールによる静脈麻酔で麻酔し、気管挿管して陽圧呼吸管理する。心電図および総頸動脈もしくは大腿動脈から挿入したカテーテルにより大動脈圧をモニターする。胸骨正中切開により心臓に至り、圧および流量（または流速）センサーを大動脈と左心室流入部に、左神経の計測終了後は肺動脈と右心室流入部に装着し、それぞれの部位における圧と流量（または流速）を同時記録（紙および AID 変換してコンピューターに）する。一方、thermal dilution 法により心拍出量を計測し、心室容量の変化と動脈への流出量の calibration とする。洞結節部の冷却および心房ペーシングにより、心拍数を変化させて記録する。また、ドブタミン負荷による強心時にも同様の計測を行う。データは自作のソフトウェアによりフーリエ変換し、上記①、②、③の解析を行う。

3. 研究成果（経過）

平成 26 年 5 月から、ポリグラフや計測器機などの点検を開始した。

平成 27 年 3 月 2 日から実験を開始し、3 月末までに 2 回行った。

麻酔・全身管理および大血管（大動脈・肺動脈）への電磁血流計の装着までの手術手技については問題なく実施できたが、心室への流入血流波形の計測がうまくいかないため、流入路へのフローカテーテルの挿入ではなく、心外からドップラー血流計を用いた計測を検討している。

31. 高齢ドライバーおよび軽度認知症ドライバーにおける安全運転支援の評価方法に関する共同研究

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
長谷川 浩	医学部高齢医学	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
関根 道昭	交通安全環境研究所 自動車安全研究領域	主席研究員	運転能力評価・運転支援方法の評価

キーワード

高齢者、認知症、運転能力評価、運転支援方法の評価

研究分野

高齢者安全運転

1. 共同研究の目的

自動車の安全運転支援システム（自動ブレーキ、車間距離維持装置、車線逸脱防止装置など）の開発が進んでいる。これらの技術は、運転が難しくなった高齢者や軽度の認知症患者において事故の予防やモビリティ確保の観点から特に有効であると考えられる。一方で、運転支援技術を利用するドライバーの行動についてはまだ十分に解明されておらず、これらは国際的にも関心が高い現在進行中の議論である。本研究では、高齢ドライバー、特に軽度認知症ドライバーにおける運転支援方法のあり方について解明することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

杏林大学もの忘れセンターを受診し、正常から軽度認知機能低下と診断された患者さんの中で、本人の希望があり協力の得られた方につき、三鷹市内の交通安全環境研究所へ行っていただく。ここで定置型ドライビングシミュレータ用い高齢者や軽度認知症の患者が苦手とする運転場面を再現し、運転の様子を定性的、定量的に解析する。例えば、見通しが悪い交差点における飛び出してくる車両へのブレーキ操作や信号や歩行者など、複数の対象に対して適切に注意を向けなければならない場面などにおける運転行動を観察する。さらに、運転支援システムが導入された場合の運転の様子や支援システムが急に効かなくなった場合の対処方法などを観察する。

3. 研究成果（経過）

本年度は杏林大学において本研究参加可能な対象者候補の選出を行うこと、また、交通安全環境研究所においては、高齢者の運転特性に合わせたシミュレータープログラムの構築を行った。

追記：臨床疫学研究審査委員会承認日の平成 26 年 11 月 27 日から研究を開始した。

32. セツキシマブの局所浸潤・遠隔転移の抑制効果についての検討

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
松本 吉史	医学部耳鼻咽喉科学	助教	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
浅野 正岳	日本大学歯学部病理学	教授	動物実験
塩野目 尚	日本大学歯学部病理学	大学院生	動物実験

キーワード

セツキシマブ、頭頸部癌、局所浸潤、遠隔転移

研究分野

癌の浸潤・転移

1. 共同研究の目的

頭頸部癌におけるセツキシマブは、他の抗癌剤との併用で再発・転移症例に有効なことや、放射線照射に上乗せ効果があることが証明されているが、単剤における有効性は確立されていない。そこでセツキシマブの有効性は、局所浸潤・遠隔転移の抑制によるものではないかと考え、*in vitro* において局所浸潤抑制効果を証明した。さらに *in vivo* において同様の効果や遠隔転移の抑制効果が生じるかどうかを検討することが、本共同研究の目的である。

2. 共同研究の内容・計画

高転移性の細胞株を用いた *in vitro* での実験系は本学で施行する 予定である。同様の細胞株とヌードマウスを用いた *in vivo* の実験は日本大学歯学部病理学教室で施行することとする。本学で施行する実験はセツキシマブの細胞に対する増殖・遊走・浸潤抑制効果を検討する。日本大学で施行する実験は、ヌードマウスの舌に細胞を注射し、同所移植モデルを作成する。その後コントロール群とセツキシマブ、投与群の 2 群に分けて、局所浸潤の程度や遠隔転移について比較し、セツキシマブの浸潤・転移抑制効果を検討する。

3. 研究成果（経過）

頭頸部癌におけるセツキシマブは、他の抗癌剤との併用で再発・転移症例に有効なことや、放射線照射に上乗せ効果があることが証明されているが、単剤における有効性は確認されていない。今回の研究において、セツキシマブの有効性は、局所浸潤・遠隔転移の抑制によるものではないか、という仮説を *in vitro* において証明した。高転移性の細胞株を用いて発癌・転移動物実験モデルを作成した。ヌードマウスの舌の側縁に癌細胞を注射し、同所移植モデルを作成した。PBS 投与群とセツキシマブ群に分けて頸部リンパ節転移の有無を確認したところ、セツキシマブ投与群で有意に頸部リンパ節転移を抑制した。この結果により、セツキシマブ投与によって、遠隔転移の抑制効果があることを *in vivo* で証明できた。

33. 先天性内分泌疾患のメダカモデルの作製と解析

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
谷口 善仁	医学部衛生学公衆衛生学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
長谷川 奉延	慶應義塾大学医学部小児科	教授	臨床病理的研究
石井 智弘	慶應義塾大学医学部小児科	講師	遺伝子工学的研究
天野 直子	慶應義塾大学医学部小児科	共同研究員	遺伝子工学的研究
鳴海 覚志	慶應義塾大学医学部小児科	特任助教	遺伝子工学的研究

キーワード

先天性内分泌疾患、細胞周期、臓器形成、メダカ

研究分野

小児内分泌学

1. 共同研究の目的

慶應義塾大学小児科長谷川研究グループでは先天性内分泌疾患の新規原因遺伝子を単離した。これまでに、臨床症状や *in vitro* での実験結果から当該遺伝子が細胞周期や臓器形成に重要な役割を果たしていることが示唆されている。本研究は、脊椎動物モデルであるメダカを使用し、この遺伝子の *in vivo* での機能を調べることを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

これまでの研究成果として、新規遺伝子をヒートショックプロモーター下に接続したプラスミドを作製し、メダカ卵へ顕微注入した。この系統を用いて、ヒートショックの条件検討、さらに、ウェスタンブロットや蛍光観察などによる発現誘導されたタンパク質の検出法の確立を行う。ゲノムへの安定な遺伝子挿入を確認するとともに、高温下、および、一般的なメダカ飼育、繁殖に関する技術を習得する。最終的に、ヒートインダクションした個体の成長や病理組織像から、導入した遺伝子の *in vivo* での機能を解析する。

3. 研究成果（経過）

慶應義塾大学小児科長谷川研究グループでは先天性内分泌疾患の新規原因遺伝子を単離した。*In vivo* での影響を調べるために、メダカ胚でこの遺伝子を一過性に強制発現させたところ、初期胚の段階で発生に影響を与えたため、コンディショナルな系を構築することとした。新規遺伝子をヒートショックプロモーター下に接続したプラスミドを作製してメダカ卵へ顕微注入し、F1を得た。次世代への安定的な遺伝子の継代は PCR により確認した。遺伝子の発現誘導は IRES に接続した GFP でモニターしたが、数種類のヒートショックの条件下で GFP の発現を蛍光顕微鏡で確認することができなかった。さらに新規遺伝子の誘導を確認するためにウェスタンブロットを行ったが、有意な発現上昇を確認することはできなかった。そのため、より強力に遺伝子発現を誘導するために、 β -actin プロモーターに新規遺伝子を接続し、Cre-loxP によりコンディショナルに遺伝子発現誘導するプラスミドを作製した。今後はこのプラスミドを安定的に保持する系統を単離し、*in vivo* での機能解析を行う予定である。

34. 心不全、心肥大の慢性病態の分子制御機構の病理組織学的解明

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
菅間 博	医学部病理学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
仲矢 道雄	九州大学薬学研究院	准教授	標的因子探索、抗体分与
仲矢 丈雄	医学部病理学	助教	人体病理学的解析

キーワード

心肥大、心不全

研究分野

病理学

1. 共同研究の目的

心不全、心肥大の慢性病態の分子制御機構の多くは、依然未解明である。本研究では、心筋梗塞後、あるいは高血圧による心肥大時などの慢性的な病態に注目する。そして、マウスの心肥大モデル（圧負荷モデル）において、心肥大の病態で発現が上昇、あるいは減少しているか、かつ心臓の病態に重要と予想される候補分子群を選定する。それらが心肥大、心不全等の心臓でどのような変化が起きているのかについて免疫組織染色などを用いて病理組織学的に検討し、心臓の慢性病態の分子制御機構の解明につなげる。

2. 共同研究の内容・計画

マウスの心肥大モデル（圧負荷モデル）において、心肥大の病態で発現が上昇、あるいは減少する分子を DNA マイクロアレイ等により同定する。この結果に基づき、発現に変化の認められる分子の中で心臓の病態に重要と予想される候補分子群を探索し、選定する。選定した分子に関して、ヒトの病理組織検体に対して免疫組織染色が可能な抗体を選定し、それらを用いて、心肥大検体、慢性心臓病態検体と正常対照群を用いて染色を行う。そのことで、これらの分子が心臓の慢性病態でどのように発現が制御されているかについて解析を行う。

3. 研究成果（経過）

マウスの心肥大モデル（圧負荷モデル）において、心肥大の病態で発現が上昇、あるいは減少する分子を DNA マイクロアレイ等により同定した。この結果に基づき、発現に変化の認められる分子の中で心臓の病態に重要と予想される候補分子群を探索し、選定した。選定した分子に関して、ヒトの病理組織検体に対して免疫組織染色が可能な抗体を選定し、それらを用いて、心肥大検体、慢性心臓病態検体と正常対照群を用いて染色を行った。今後、さらに心肥大検体、慢性心臓病態検体、正常対照群を用いて免疫染色等による解析を継続して行う予定である。

②保健学部

35. 子宮頸部における新しいハイリスク型ヒト乳頭腫ウイルスの再考

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
大河戸 光章	保健学部病理学	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
笹川 寿之	金沢医科大学	臨床教授	総括・プライマー・プローブ設計
小田 瑞恵	こころとからだの元気プラザ	婦人科診療部長	検体採取
藤井 雅彦	保健学部病理学	教授	細胞診・組織診判定

キーワード

ハイリスク型 HPV、子宮頸部上皮内腫瘍

研究分野

病理学

1. 共同研究の目的

13 種類のハイリスク型 human papillomavirus(HPV) (HR-HPV13)による持続感染によって子宮頸部上皮内腫瘍 (CIN) が形成され、浸潤癌が生じる。しかし CIN にも関わらず、HR-HPV13 が存在しない症例がある。そこで我々は子宮頸癌および HR-HPV13 陰性 CIN 症例を用いて HR を疑う HPV (26,30,34,66,67,69,70,73,82,85 型等) を検出し、ハイリスク型 HPV を再考する。この研究によって新たなハイリスク型 HPV が加わり、より一層の異型細胞の検出感度向上に寄与すると考える。

2. 共同研究の内容・計画

本研究では共同研究者 (笹川) が子宮頸部から採取した細胞浮遊液を用いる。研究代表者および共同研究者 (岡山、藤井) は細胞診判定を行い、type specific primer による PCR 法を用いて HR-HPV13 を調べ、HR-HPV13 陰性症例に対し、HR を疑う HPV を同様の PCR 法で検出する。さらに、HR を疑う HPV 感染症例における細胞像の調査は行われていないため、細胞診標本をスクリーニングして、特異的な異型細胞の検出を行い、HR-HPV13 感染症例との相違点を調べる。そして、CIN2、3 に進展するかを経過観察する。なお、本研究は平成 26 年度から平成 28 年度 (平成 26 年 4 月 1 日から平成 29 年 3 月 31 日) の研究計画における 1 年目の計画である。

3. 研究成果 (経過)

子宮頸癌および HR-HPV13 陰性の上皮内病変 (SIL) および CIN 症例を用いて HR を疑う HPV (26,30,34,66,67,69,70,73,82,85 型等: HR-susp.9) を検出し、ハイリスク型 HPV を再考する目的で平成 26 年度は HPV genotyping 解析として以下を実施した。

- (1) HPV26、30、34、66、67、69、70、73、82 型を特異的に検出するためのプライマーおよびプローブを設計し、プラスミド HPV を用いて特異的反応であることを確認した。これにより HR-susp.9 に対するプライマーの準備が終了した。
- (2) HR-susp.9 および HR13 の感染率の調査: 約 3,000 件の子宮頸部細胞浮遊液 (NILM、LSIL、HSIL、SCC) を分注して DNA を抽出し、PCR 法によって β アクチンを検出し、HPV30、34、67、69 型を検出した。その結果、3549 件中 3544 件が β アクチン陽性で、HPV30 は 1.4%、HPV34 は 1.9%、HPV67 は 2.2%、HPV69 は 0.4% で検出された。
平成 27 年度は昨年に引き続き上記の (2) を行い、得られたデータに基づき
- (3) HR-susp.9 の型別リスク評価 (4) HR-susp.9 と HR13 の複合感染によるリスク評価解析を行う予定である。

36. 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	講師	LC-MS/MS によるタクロリムスの定量法の開発
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

LC-MS/MS, 免疫抑制剤, 体内動態解析, 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、吸収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与方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方法のバイオマーカーとして、*MDR1* 遺伝子多型や代謝酵素 *CYP3A* フェノタイピングの可能性を明らかにすることを目指し、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目的とする。

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、低濃度までの正確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離分析法の確立が必須となる。

前年度は、MS/MS 分析の至適条件の検討を中心に検討した。ODS カラムと、メタノールおよび酢酸アンモニウムを主体とした移動相を用いて、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 26 年度は、MS/MS 分析条件下にて、測定精度の検討などを行う。

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、測定精度の検討などを行い、分析条件を精査する。

3. 研究成果（経過）

本研究では、免疫抑制剤の個別化投与方法のバイオマーカーとして、*MDR1* 遺伝子多型や代謝酵素 *CYP3A* フェノタイピングの可能性を明らかにすることを目指し、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 年度には、全血液中からの抽出法を開発するとともに、良好なピークが得られるグラジエントを確立した。平成 26 年度は、測定感度を向上し、血液試料を 1 mL から 0.5 mL とすることで、患者負担の軽減を図った。検量線は、ミダゾラムを内標準物質として作成し、体内動態解析に必要となる血中濃度範囲において良好な直性を示した。本法の精度を、タクロリムスでは 10.8 ng/mL と 15.2 ng/mL、シクロスポリンでは 84.56 ng/mL と 11.38 ng/mL において確認した結果、相対誤差と変動係数は、両物質ともに低濃度域では 15% 以内と大きかったが、高濃度側では 4% 以内と良好であった。今後、低濃度での精度を向上することにより、臨床応用が可能となる。

37. 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	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	講師	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	児童発達支援・放課後等 デイサービス すりーびーす	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

治療的乗馬、座位保持装置、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児である。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) 平成24年から25年度は毎月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市販の鞍(ウェスタン鞍の使用を予定)へのアタッチメントの試作を行った。試作機の試用を行った結果、修正と設計変更が必要となったため、現在、川村義肢にて試作2号機を製作中である。2号機完成後、再度、試乗を行う。また、側弯の強い対象児1名について、本人専用の体幹保持具を製作する。すべてが完成後、鞍使用の有無を動作分析を行い、結果をまとめ考察し、発表の準備に入る。

3. 研究成果(経過)

平成24年度に作製した試作1号機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した。結果、試作 2 号機では対象児の側彎矯正と体幹保持を目的に全周囲型の体幹装具を作製し、その装具を鞍に固定するために、鞍後橋部に支柱を設置しベルトで固定した。試作 1 号機に比べると体幹の保持性が向上し安定性もました。しかし、サイドウォーカーによる補助は軽減したものの必要とする。馬の動きへの追随性は不十分であった。試作 3 号機では The SPIDER（身体から外に向かって張られたゴム紐が重力を軽減し姿勢制御を含む環境に適応する経験を用いた治療機器）の概念を利用する新たな発想のもと 3 号機を試作した。馬の動きを軽減することなく、サイドウォーカーのサポート無しでの乗り手の姿勢保持が可能なことを確認した。今後は試作 3 号機の完成と動作分析を行い、非装着との比較を行う。



試作 1 号機



体幹装具



試作 2 号機



試作 3 号機



試作 3 号機

38. 脳障害患者などに関わる腹壁筋低緊張と姿勢障害の病態解明

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
丹羽 正利	保健学部作業療法学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
佐々木 誠一	茨城県立医療大学 医科学センター	教授	共同実験者

キーワード

脳障害、姿勢障害、腹壁筋

研究分野

総合領域

1. 共同研究の目的

脳障害患者などの腹壁筋の障害は、上肢・下肢筋の過緊張状態に比べ、低緊張状態を呈し、その基礎となる脊髄神経機構の相違が予想される。また、座位・立位時の身体の平衡や姿勢の調節に主に関わると考えられる前庭神経核から腹壁筋運動ニューロンへの効果を調べた報告はほとんどない。そこで本研究は、脳障害後に見られる腹壁筋の病態を明らかにするために、その運動制御メカニズムを探究することが目的である。まず、腹壁筋運動ニューロンから細胞内記録をとり、脊髄反射機構の性質を電気生理学的に解析する。さらに、腹壁筋運動ニューロンへの錘体路の入力様式及び前庭入力様式を解析する。

2. 共同研究の内容・計画

実験にはネンブタール麻酔下の成ラットおよび成ネコを用いる。腹壁筋運動ニューロンを細胞内記録により同定し、I 群線維を刺激することにより膜電位を解析する。それにより脊髄神経機構を解明する。

腹壁筋運動ニューロンを同定した後、錘体路を電気刺激し、細胞内記録より膜電位を解析する。それにより腹壁筋運動ニューロンへの運動性の下行路を解明する。

また、腹壁筋運動ニューロンを同定した後、前庭神経核を電気刺激し、細胞内記録より膜電位を解析する。それにより腹壁筋運動ニューロンへの前庭入力様式を解明する。

3. 研究成果（経過）

昨年度、外腹斜筋支配神経（外側枝）、腹直筋・内腹斜筋・腹横筋支配神経（内側枝）を刺激することにより、それぞれ同名筋運動ニューロンを同定した後、後根電位の刺激閾値をもとに I 群線維だけが刺激される刺激強度を確定し、その刺激強度を変えてガラス管微小電極で細胞内記録を行い膜電位を解析した。その結果、後根電位から計測した興奮性シナプス後電位の潜時から、これまでに観察された後肢筋のそれとは若干潜時が遅かった。その点をさらに調べるために、追加実験を行った。さらに、I 群線維から腹壁筋運動ニューロンへの入力単シナプス成果どうかを調べるために、Ia フィールド電位をとり解析した。実験にはネンブタール麻酔下の成ネコを用いた。第 6 胸髄から第 3 腰髄の間で椎弓切除を行い脊髄背面を露出させ、ガラス管微小電極を胸髄・腰髄後索に刺入した。外腹斜筋支配神経（外側枝）、腹直筋・内腹斜筋・腹横筋支配神経（内側枝）を刺激することにより、運動ニューロン近傍から Ia フィールド電位をとり、後根入口からの潜時を解析した。その結果、それらの入力は単シナプス性であることが明らかとなった。

39. 糖尿病における運動神経障害の病態生理

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
丹羽 正利	保健学部作業療法学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
村松 憲	健康科学大学	准教授	共同実験者
齋藤 利恵	保健学部作業療法学	学内講師	共同実験者
大城 直美	保健学部作業療法学	助教	共同実験者

キーワード

糖尿病、運動ニューロン、神経科学、リハビリテーション

研究分野

総合領域

1. 共同研究の目的

糖尿病性神経障害は糖尿病発症直後から観察される障害の一つで、初期の遠心性・求心性線維の伝導速度の低下に始まり、慢性期には神経線維の脱落が生じる事が知られている。筋力低下、筋萎縮などの運動障害は多くの場合慢性期まで観察されないために、運動ニューロンは糖尿病性神経障害に対して強い耐性を持つと考えられてきた。しかし、最近、脊髄運動ニューロンや脳神経細胞にも変性が生じることが報告されている。これらの点を明らかにすることを目的に、糖尿病ラットを用いて糖尿病性神経障害による神経細胞や線維の障害様式を調べる。

2. 共同研究の内容・計画

実験にはストレプトゾドシンの投与によってI型糖尿病を発症したWister系ラット（糖尿病群）と健常なWister系ラット（対照群）を用いる。それぞれにおいて、脊髄運動ニューロンと脳神経細胞の形態を比較する。

運動ニューロンの標識はイソフルレン麻酔下で行う。麻酔下のラット腓腹筋筋枝・腹壁筋筋枝を切断して、その断端を10%Dextran溶液に2時間浸す。その後、Dextranの拡散を防ぐために神経断端をスポンゼルで覆い、術創を縫合する。必要に応じてラットには輸液、消炎鎮痛剤、抗生物質を投与する。2~3週間の生存期間の後、ネンプタール麻酔による深麻酔下において10%パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、脊髄を取り出す。後固定の後、腰髄から仙髄までの脊髄の連続切片（100 μ m）を作成し、蛍光顕微鏡下で標本を観察してDextranによって逆行性に標識された運動ニューロン像をデジタルカメラで撮影し解析する。

脳神経細胞は、ネンプタール麻酔による深麻酔下において10%パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、脳を取り出す。後固定の後、脳の連続切片（100 μ m）を作成し、ニッスル染色を施し、神経細胞像をデジタルカメラで撮影し解析する。

3. 研究成果（経過）

実験にはストレプトゾドシンの投与によってI型糖尿病を発症したWister系ラット（糖尿病群）と健常なコントロールラット（対照群）を用いた。運動ニューロンの標識はイソフルレン麻酔下で行った。麻酔下のラットの腹壁筋筋枝を切断して、その断端を10%Dextran溶液に2時間浸した後、術創を縫合した。2~3週間の生存期間後、ネンプタール麻酔による深麻酔下において10%パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、脊髄及び筋組織を取り出した。後固定の後、腰髄から仙髄までの脊髄の連続切片（100 μ m）を作成し、標識された運動ニューロン像及び筋組織を解析した。その結果、糖尿病発症初期の腹壁筋の運動

ニューロンについて、細胞数と細胞体径はともに健常群より有意に減少していた。今後変化の傾向をみるため、糖尿病発症後長期生存させたラットについても形態の変化を調べていく予定である。

40. デジタル角度計（プロトタイプ）の信頼性と操作性に関する研究

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
八並 光信	保健学部理学療法学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
渡辺 一弘	創価大学工学部	学部長	解析ソフトの開発
佐々木 博幸	コアシステムジャパン	開発部長	解析ソフトの開発
前 錠一	北浦通信	技術部長	電子角度計のプロトタイプ製作

キーワード

角度計、関節可動域、被検者間信頼性

研究分野

複合領域

1. 共同研究の目的

リハビリテーション医学において、筋力と関節可動域の測定は、患者の残存能力を知る上で重要な指標となる。筋力に関しては、様々な定量的測定を可能にする機器が普及している。他方、関節可動域の測定は、30年以上、金属製の東大式角度計で測定している。リハビリテーション医学の進歩にも関わらず、角度計はアナログの域を出ていないし、学生にとっても非常に使用しづらいものである。本研究は、プロトタイプのデジタル角度計を用いて、その信頼性や操作性を検証するものである。なお、利益相反との関わりはない。

承認番号 26・12（倫理審査委員会）

2. 共同研究の内容・計画

(1) 硬化プラスチック製で Bluetooth により、データをスマートフォンへ送信する機能を備えたプロトタイプの角度計を用いて行う。(2) 角度計の操作性および信頼性について、被検者 10 名、検者を 5 名のボランティアをランダムに検者と被検者に振り分ける。(3) 検者は、被検者の手指・体幹・下肢の関節可動域を測定する（角度表示窓はブラインドする）。(4) 1 容週間に 1 度測定して 5 週間行う。操作性に関しては、聞き取り調査を行い、プロトタイプの改良に役立てる。この手順を繰り返す。

3. 研究成果（経過）

(1) プロトタイプのデジタル角度計（電子角度計 Electrogoniometer）の製作は完了した。機器の構成は、基本軸、軸心、移動軸の 3 つのコンポーネントから成る。軸心部分は、CPU、角度検知器、ブルーツース送信器から構成され、角度はブルーツースで、スマートフォンやパソコンへ転送され、表形式の評価表へ転送される。ただし、この部分の開発は終了しておらず、現在も改良中である。

(2) 基礎的実験により、機器の操作性については、東大式角度計より電子角度計の優位性が確認された。特に、電子角度計は、目視する必要がなく、検者は角度計をあてるだけで良い。しかし、軸心部分が若干、大きく違和感があるとの指摘を受けた。この点は、技術的に縮小することは困難である。

(3) 信頼性に関しては、学生ボランティアを検者、被検者に無作為に割り当て、股関節の角度（屈曲、伸展、外転、内旋、外旋）を 3 回繰り返して測定した。その結果、検者間信頼性においては、東大式も電子角度計も低かった。検者内信頼性は、東大式より、電子角度計の方が優位であった。主な原因は、検者が学生であった点と考えられる。さらに検証を行っていく予定である。

③総合政策学部

41. 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
Malcolm Field	総合政策学部	教授	研究計画作成、データ分析
岡村 裕	総合政策学部	准教授	研究計画作成、データ分析
Saiyud Moolphate	チェンマイラチャパット大	講師	研究計画作成、データ収集
Chittima Katanyu	チェンマイラチャパット大	講師	研究計画作成、データ収集

キーワード

HIV、抗 HIV 多剤併用療法、高齢化、タイ

研究分野

国際保健

1. 共同研究の目的

近年、途上国においても抗 HIV 多剤併用療法の普及が進み、HIV 陽性者の余命は延伸され、HIV 陽性者の高齢化への対応が新たな課題となりつつある。しかし、途上国における高齢 HIV 陽性者の医療や介護ニーズに関する研究は少なく、高齢化が進む HIV 陽性者に適切に対応するために必要な情報が不足している。そこで本研究は、タイ国チェンマイ県において、高齢 HIV 陽性者に特徴的な医療及び介護ニーズを把握することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

調査対象地域は、タイ国チェンマイ県サンパトン郡である。調査対象者は、サンパトン病院治療をうけている高齢 HIV 陽性者と同年代の HIV 陰性者である。調査対象者からインフォームドコンセントを得た後、質問票による面接調査を実施し、対象者の人口社会的属性、家族構成、健康状態、慢性疾患、日常動作能力などについて調べる。それらの情報について高齢 HIV 陽性者と陰性者の比較を行い、高齢 HIV 陽性者の医療及び介護ニーズの特徴を明らかにするとともに、今後の対応について検討を行う。

3. 研究成果（経過）

平成 25 年度から継続して、タイ国チェンマイ県のサンパトン郡において、地域病院で抗 HIV 多剤併用療法を受けている患者（病院群、n=132）と保健所で同療法を受けている患者（保健所群、n=66）の満足度や予後の違いについて調査をした。その結果、両群の全体的な満足度には差が無かったが、病院群の方が、医療水準、コミュニケーション、医療者との時間でより満足度が高く、保健所群はアクセスに関する満足度が高かった。CD4 については両群とも上昇しており、有意差はなかった。1 回の受診にかかる費用は、病院群が 8 米ドルだったのに対し、保健所群は 2 米ドルと有意に低かった。これらの結果は、2015 年 2 月に日本国際保健医療学会西日本大会で発表した。また、同年 7 月に開催される国際医療経済学会でも発表する予定である。平成 26 年度の後半は、サンパトン郡で抗 HIV 多剤併用療法を受けている 50 歳以上の患者を対象に、慢性疾患の有病割合、ADL、うつ状態についての調査も行った。これまで回答が得られた 136 人の平均年齢は 55.2 歳（±4.5）、男性 66 人（48.5%）であった。10 人（7.4%）が糖尿病に、36 人（26.5%）が高血圧症に罹っていた。ADL のスコアは高く、部分的に介助が必要な人は 1 名のみであった。また、軽度なうつ状態が疑われるのが 13 人（10.6%）、重度なうつ状態が疑われるのが 1 人であった。今後も、データ収集と分析を

継続する予定である。

42. 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

女性農民工、権利保護、高度成長、フェミニズム、比較政治学

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精度を研究する。
- 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 劉氏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 劉氏は最終的なまとめを担当する。

3. 研究成果（経過）

1 中国の女性農民工関係の制度研究

目下、中国政府が制定されている女性労働権利保護関係の諸法律・政策は実際機能していない。その理由は以下のとおりである。
①性別、社会階層の差別②女性農民工への社会的支援の欠如（婦人連合会、労働組合、コミュニティ、ソーシャルワーク機関から無視されている）③女性農民工の個人能力の不足。以上の要因によって女性農民工の就職方式、職業次元、職業リスク、社会地位からみればますます弱い立場に追いやられてしまう。

2 中国の女性農民工の権利保護の実態調査

中国の都市化の発展につれて、農民工の数は大幅増加している。2006年、女性農民工の数は6000万人に達し農民工総数の36%に占められている。中国女性農民工は男性農民工に比べてより深刻な権利保護の問題を直面している。そのうち特に以下の問題が

突出している。①長時間残業②賃金の未払い③労働環境の劣悪④男女の賃金格差など。更に妊娠、生理期間中、出産期、哺乳期にも重労働が強いられる。彼女たちは被害を受けた後、親族友人に支援を求める人は最も多かった（59.73%）、次は郷・県政府（15.24%）、最後は警察機関（15.24%）である。私的力による救済は主流であり、政府援助及び法律に則って利益を守る人は少なかった。

④医学研究科

43. 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	医学部感染症学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
新倉 保	医学部感染症学	助教	原虫感染動態、宿主免疫応答解析
峯尾 松一郎	医学部	大学院生	原虫感染動態、肝臓病理の解析
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

重症マラリア、制御性T細胞、サイトカイン、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、妊娠中のマラリアにおける肝障害には一酸化窒素（NO）が重要な役割を担っていることが示唆されている。本年度は、妊娠中のマラリアにおける肝障害とNOの関係性を明らかにするために、野生型マウスを用いた妊娠中のマラリアモデルと一酸化窒素合成酵素（iNOS）欠損マウスを用いた妊娠中のマラリアモデルの血液生化学的および免疫学的な解析を行った。血液生化学的解析の結果、野生型マウスを用いた妊娠中のマラリアモデルにおいて血中グルコースの低下および肝機能障害を示すAST、ALTの増加が認められた。一方、iNOS欠損マウスを用いたモデルでは、野生型マウスを用いたモデルと同様血中グルコースの低下が認められたが、AST、ALTの増加は抑制された。次に、炎症性サイトカインIFN- γ と抗炎症性サイトカインIL-10の血中レベルを測定したところ、野生型とiNOS欠損マウスを用いたモデル間で有意な差異は認められなかった。これらの結果から、NOは妊娠中のマラリアにおける肝障害の病態悪化に寄与することが示唆された。一方、妊娠中のマラリアにおける胎盤病理とNOの関係については明らかではない。今後、妊娠中のマラリアにおける胎盤の組織傷害機構の解明を目指し、病理学的・免疫学的解析を進めていく予定である。

44. 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	医学部感染症学	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
新倉 保	医学部感染症学	助教	宿主免疫応答解析
井上 信一	医学部感染症学	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

マラリア、遺伝子改変原虫、DNA 変異

研究分野

分子寄生虫学

1. 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。

2. 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。

3. 研究成果（経過）

本研究では、DNA ポリメラーゼ δ への変異導入によりゲノムに高頻度に突然変異を蓄積する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) について、そ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 δ 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 25 週にわたって行った。約 25 週間の継代の後、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ゲノム DNA を採取し、Illumina HiSeq2000 による大規模シーケンシングを行った。その結果、ミューテーター原虫とその他の原虫とでは、突然変異率が大きく異なっていた。また、ミューテーター原虫の塩基置換は一様に生じるのではなく、C/G>A/T の強い塩基置換バイアスが存在することが明らかとなった。本研究の成果は、ミューテーター原虫の突然変異体創出への利用など今後の応用研究のために重要な基盤的知見となる。

45. *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	医学部感染症学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
大崎 敬子	医学部感染症学	准教授	動物実験
米澤 英雄	医学部感染症学	講師	細胞付着性実験
今野 武津子	札幌厚生病院小児科	主任部長	検体採取
小林 一三	東京大学大学院新領域創成科学研究所	教授	メチローム解析の実施

キーワード

Helicobacter pylori、全ゲノム解読、家族内感染

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、杏林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) の承認をうけて実施している。家族内からの菌株は MLST 解析および全ゲノム解析を終えて、現在はデータ解析にはいつている。さらに、それらの菌株を使った動物実験の実施を計画している。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、札幌厚生病院を加えた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)

H. 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 multi locus sequence typing (MLST) 法により遺伝子型を決定した。その結果、家族内での母子感染、親子感染、同胞感染および夫婦間感染を示した (Osaki et. al., J. Med. Microbiol., 2015)。また次世代シーケンサを用いて、遺伝子の解読を全ゲノム配列に拡大し、MLST 法では近縁株と判定され家族内感染の順番が決定できなかった菌株の一部に、母子感染および同胞間感染を示すことが明らかにされた (Furuta et. al., PLoS One, 2015)。今後、近縁菌のメチローム解析を実施して、病原体のゲノム進化の過程について詳細な解析を予定している。

また、家族内で複数の遺伝子型が存在していた例から分離した菌株を用いて、動物実験等を実施して、感染成立時にみられる宿主病原体関係について検討する。

46. 上皮細胞における尿酸の paracellular 輸送

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
櫻井 裕之	医学部薬理学	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	安定発現細胞の作製、輸送実験
塚田 愛	東京薬科大学	研究生	qPCR、プロテオミクス
木村 徹	医学部薬理学	学内講師	安定発現細胞の作製、輸送実験

キーワード

尿酸輸送、上皮細胞、paracellular 輸送

研究分野

薬理学

1. 共同研究の目的

上皮細胞における有機イオンや電解質の輸送ルートは大きく2つに分類される。1つは、細胞を横切って輸送される transcellular ルートであり、トランスポーターやチャネルを介する輸送である。もう1つが細胞と細胞の間を通る paracellular ルートである。種々の上皮由来細胞を用いた結果、いくつかの細胞で paracellular ルートによる尿酸輸送が見られた。本研究では、上皮細胞における尿酸の paracellular 輸送形式およびそれに関与する分子について検討を行う。

2. 共同研究の内容・計画

東京薬科大学薬学部病態生理学教室において、尿酸の paracellular 輸送を行う候補分子 (claudin 等) の発現解析を qPCR、プロテオミクスにて行う。また、それらによって絞られた候補分子の安定発現細胞の樹立を行う。杏林大学においては、作製された安定細胞を用いて尿酸の paracellular 輸送実験を行う。

3. 研究成果 (経過)

上皮細胞における有機イオンや電解質の輸送ルートは大きく2つに分類される。1つは、細胞を横切って輸送される transcellular ルートであり、トランスポーターやチャネルを介する輸送である。もう1つが細胞と細胞の間を通る paracellular ルートである。本研究では、上皮細胞における尿酸の paracellular 輸送形式およびそれに関与する分子について明らかにすることを目的とする。paracellular 輸送は、タイトジャンクションを形成する claudin の種類によって調節されていることが知られている。そこで、胎盤組織、BeWo 細胞、腸管由来の Caco-2 細胞にどの種の claudin が発現しているのか検討を行った。RT-PCR の結果、尿酸の paracellular 輸送が見られる BeWo、Caco-2 細胞と胎盤において、数種類の claudin mRNA が共通に発現していた。また、LC/MS による proteomics 解析の結果、そのうちいくつかの claudin タンパク質発現を確認した。今後、発現が確認された claudin に関して機能解析を行い、尿酸輸送に関与する claudin の同定を行う予定である。

47. 腸管神経系異常腸炎発症モデルマウスにおける腸内細菌叢の役割解析

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
神谷 茂	医学部感染症学	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	医学部感染症学	准教授	腸内細菌叢の解析

キーワード

腸管神経、一酸化窒素、粘膜傷害、腸内細菌叢、DSS 腸炎

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、さらにはそれらのマウスに nNOS 阻害剤を投与し、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。これまでに実施した腸内細菌叢解析、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 からは、数種類の細菌の小腸内菌数の差を認めている。そこで、腸内フローラの構成の変化を網羅的に解析するために、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析を杏林大学にて実施する。また、データの多面的解析のために、同じサンプルを Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Profiling (T-RFLP) 解析を実施する。得られた結果をデータマインニング法で追加解析することで、炎症の程度に関連する菌種が同定されることが予想される。

3. 研究成果 (経過)

腸管において、腸炎と dysbiosis は密接に関連しており、相互作用によって両者が悪化するといわれている。本研究では、腸管神経が過剰に存在する Ncx-KO マウスを用いて、腸管神経による腸内細菌の恒常性に対する影響および、腸炎との関わりについて明らかにすることを目的としている。

DSS 誘導腸炎モデルにおいて、Ncx-KO マウスは高い致死率と著しい体重減少を認め、高率に血便を呈した。しかし、抗生物質投与によって症状が改善されたことから、Ncx-KO マウスの腸管では、dysbiosis が起きていると考えられた。マウス糞便について、GAM 培地を用いて発育した細菌数は、野生型と Ncx-KO マウスでは差を認めなかった。一方で、MacConkey 培地を用いて発育した細菌数は、Ncx-KO マウスでは、野生型と比較して、10-1000 倍増加した。さらに、Ncx-KO マウスの糞便 DNA では、腸内細菌科の菌が 10-1000 倍増加した。以上から、Ncx-KO マウスの腸管では dysbiosis が起きていると示唆された。一方で、Ncx-KO マウスの大腸組織では、神経系由来 NO 合成酵素 (nNOS) の発現が亢進していることから、NO の腸内細菌叢への影響

が考えられた。NO還元酵素 *norV* をもつ細菌は、脱窒反応を行い、ATPを合成し、嫌気条件において生育する。マクロファージは病原細菌を貪食すると、殺菌のためにNOを産生するが、*norV*を持つ大腸菌は、マクロファージ由来NOによる増殖抑制を受けないことが報告されている。そこで、糞便DNAを用いて、*norV*遺伝子について解析し、Nex-KOマウスでは多くの個体が高い*norV*遺伝子の含有を示した。今後はどの細菌が*norV*遺伝子を有しているかを明らかにするために、16Sメタゲノム解析を実施して検討する予定である。

48. オクタアルギニンによる高尿酸血症治療ペプチドの細胞内送達

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
田中 弦	医学部薬理学	助教	統括、ペプチドの設計、細胞への薬物送達

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
二木 史朗	京都大学化学研究所	教授	ペプチド合成、フォトクロスリンク

キーワード

膜透過ペプチド、ペプチド治療薬、フォトクロスリンク

研究分野

ペプチド医薬

1. 共同研究の目的

本研究では、ヒトの体内で尿酸を産生する酵素であるキサンチンオキシダーゼを選択的に阻害するペプチドの細胞内送達を試み、高尿酸血症の新たな治療薬の創出を目指す。膜透過性アルギニンペプチドであるオクタアルギニン (R8) を薬物キャリアとして利用することで細胞内にペプチドを効率的に送達する。また R8 の細胞内移行を促進する受容体をフォトクロスリンク法で同定しそれを刺激することで、細胞内送達のさらなる高効率化を目指す。

2. 共同研究の内容・計画

- 尿酸産生酵素を阻害するペプチド候補を設計する。(研究代表者)
- 膜透過性ペプチドであるオクタアルギニン (R8) と細胞表面で相互作用する分子をフォトクロスリンク法によって探索し、それが細胞内移行を促進する受容体であることを示す。また受容体の刺激による細胞内移行の高効率化を行う。(共同研究者)
- R8 配列を付加した阻害ペプチドを合成し、細胞内への移行能および細胞内における阻害活性を評価する。この際に 2. で同定された受容体を刺激することで細胞内移行を促進させる。(研究代表者)

3. 研究成果(経過)

本研究では尿酸産生過剰型の高尿酸血症の新たな治療薬の創出を目指し、尿酸産生酵素阻害ペプチドを設計しこれを膜透過性ペプチドであるオクタアルギニン (R8) を用いることで細胞内に送達する。R8 は他の様々な分子と結合することでそれらを細胞内に輸送できる。しかしその輸送効率は結合した目的分子の性質やターゲットとなる細胞種で大きく異なる。そこで始めに詳細が未だ不明である R8 ペプチドの細胞内移行機序の解明を行うこととした。

R8 ペプチドは種々のエンドサイトーシスを誘起することで細胞内に取り込まれることが報告されている。そこで細胞膜表面で R8 と相互作用し細胞内移行を促進する膜タンパク質の探索を行うため、ビオチンタグと切断リンカーを含む新規光反応性 R8 (Photo-R8) を設計、合成した。切断リンカーは還元剤で切断可能なジアゾベンゼンリンカーを用いた。Photo-R8 を細胞に投与、光架橋を行った後、膜分画を行い、質量分析装置を用いてタンパク質の同定を行った。結果、多数のタンパク質が同定された。膜分画を行うことで同定されたタンパク質のうち膜タンパク質の割合は 25%から 45%に上昇した。現在、同定された膜タンパク質が R8 の細胞内移行へ寄与しているか検討中である。

49. 百日咳菌Ⅲ型分泌機構の臨床分離株における発現

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
神谷 茂	医学部感染症学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
蒲地 一成	国立感染症研究所細菌第二部	室長	臨床分離株の提供および細菌学的性状の解析
大塚 奈緒	国立感染症研究所細菌第二部	主任研究官	臨床分離株の提供および遺伝学的性状の解析
花輪 智子	医学部感染症学	講師	Ⅲ型分泌装置の発現解析

キーワード

百日咳菌、Ⅲ型分泌機構、遺伝子発現、臨床分離株、病原性関連因子

研究分野

細菌学

1. 共同研究の目的

細菌のⅢ型分泌機構（TTSS）はニードル状の分泌装置によりエフェクターとよばれる蛋白質を宿主細胞に直接打ち込むものである。注入されたエフェクターは細菌の感染に有利となるよう宿主の生理機能を修飾するが、その作用は多様であり解明されていないものも多い。百日咳菌 TTSS は病原性に関連しており、その発現量は新鮮分離株では高い。しかし継代回数が増加と共に減少するため実験室株では極めて低い。TTSS 発現を制御する因子について詳細が明らかにされていないことから本研究では臨床分離株を用いてその制御機構を解析する。

2. 共同研究の内容・計画

[研究内容]

百日咳菌は炭素源として主にグルタミン酸をエネルギー産生に利用している。これまでグルタミン酸濃度を低下させることによりⅢ型分泌機構の発現が上昇することを見いだした。この応答が菌株特異的であるかについて複数の臨床分離株を用いて検討する。

[計画]

百日咳菌臨床分離株 5 株を通常の培地またはグルタミン酸の濃度を 20%に低下させた培地で培養を行い、菌体の除去および濃縮により培地中のタンパク質を回収する。それらを SDS-PAGE で展開し、特異抗体を用いて TTSS 発現量を比較する。さらに鉄欠乏またはアミノ酸欠乏等グルタミン酸以外の栄養枯渇による TTSS 産生量への影響について調べる。

3. 研究成果（経過）

グラム陰性の病原細菌に保存されているⅢ型分泌系は、宿主に細菌細胞内で合成されたエフェクターとよばれるタンパク質を宿主細胞内に直接打ち込み、その機能を攪乱させることから、宿主-病原体相互作用に深く関わっているとされている。これまで百日咳菌のⅢ型分泌系について、その役割および発現制御についての報告数は少ない。

本研究において、その役割および発現制御機構を明らかにする目的で、臨床分離株を用いた検討を行った。百日咳菌ワクチン株ではその発現が低いことが知られているが、臨床分離株で高いという報告がある。今回、臨床分離株 5 株を用いてその発現を検討した。

その結果、これまでの報告と同様、用いた臨床分離株全てにⅢ分泌装置タンパク質が発現していることが確認された。また、新

たにⅢ分泌装置の発現はグルタミン酸欠乏により顕著に増加すること、また、自己凝集率もグルタミン酸に依存していることが明らかとなった。

百日咳菌はグルタミン酸をエネルギー産生に必要な主たる炭素源として利用しており、栄養欠乏がⅢ分泌装置の発現の誘引となることが示唆された。

50. マラリア防御免疫におけるミトコンドリア活性酸素関連性

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 富美恵	医学部感染症学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
林 純一	筑波大学生命環境科学系	教授	データ解析
中田 和人	筑波大学生命環境科学系	教授	マウス病態解析
井上 信一	医学部感染症学	助教	感染実験、免疫細胞の機能解析

キーワード

マラリア、ミトコンドリア、活性酸素、防御免疫

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

生体が免疫機能を発揮する際に、免疫細胞内のミトコンドリアが産生する活性酸素種（ROS）がどのようにして関与しているのかを解明する。特に、マラリア原虫感染における宿主の免疫応答に注目する。①ミトコンドリア由来の ROS 産生がマラリア原虫感染に与える影響（過剰免疫病態）②ミトコンドリア由来の ROS 産生がマラリア感染防御免疫の獲得に与える影響（防御免疫）等がみられるのかを検討する。

2. 共同研究の内容・計画

筑波大学の林・中田教授より、ミトコンドリア活性酸素が過剰産生しているミトコンドリア DNA 変異マウス（A11 マウス）を譲り受ける。①ミトコンドリア由来の ROS 産生がマラリア原虫感染に与える影響を明らかにするため、A11 マウスと野生型マウスに強毒株マラリア原虫を感染させて、過剰免疫による病態を比較する。次に、②ミトコンドリア由来の ROS 産生がマラリア感染防御免疫の獲得に与える影響を調べるため、A11 マウスと野生型マウスに非致死性マラリア原虫を感染させて末梢血中の感染赤血球の割合を経時的に測定し、比較する。上記の検討によって変化が見られた場合、順次、各種免疫細胞の機能解析（抗体産生・サイトカイン産生）をおこなう。

3. 研究成果（経過）

生体が免疫機能を発揮する際に、免疫細胞内のミトコンドリアが産生する活性酸素種（ROS）がどのようにして関与しているのかを解明することを研究目的とする。特に、マラリア原虫感染における宿主の免疫応答に注目する。

本研究を進めるにあたり、筑波大学の林・中田教授より、ミトコンドリア活性酸素が過剰産生しているミトコンドリア DNA 変異マウス（A11 マウス）を分与された。まず、ミトコンドリア由来 ROS 産生がマラリア原虫感染に与える影響を明らかにするため、A11 マウスと野生型マウスに脳マラリア症状を示す強毒株マラリア原虫を感染させて、過剰免疫による病態を比較した。強毒株マラリア原虫感染によって、野生型マウスと A11 マウスは共に全個体が死亡したが、A11 マウスでの延命がみられた。

また、脳組織では血球細胞の浸潤がみられるが、野生型マウスに比べて A11 マウスでは浸潤する細胞数が低下していることが明らかとなった。今後は、野生型マウスと A11 マウスでのサイトカイン産生能の比較をする予定である。また、抗酸化酵素促進剤や抗酸化酵素阻害剤の投与の影響をみて、今回みられた現象が活性酸素産生によるものなのかを検証していく予定である。

51. 蛋白間相互作用阻害化合物による癌治療開発

研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
菅間 博	医学部病理学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
小路 弘行	PRISM BioLab	社長	化合物提供
仲矢 丈雄	医学部病理学	助教	研究遂行

キーワード

蛋白間相互作用阻害化合物、癌治療開発、癌幹細胞、 α ヘリックス

研究分野

病理学

1. 共同研究の目的

現行の癌の標準化学療法は多くは、正常の増殖細胞も非特異的に攻撃するために副作用が強く、癌幹細胞を維持増殖する分子経路の根幹に作用しないため癌を根治できないという問題がある。本研究では、癌幹細胞の根幹を担う分子経路に直接作用し、癌の維持増殖に重要な蛋白間相互作用を選択的に阻害し、生体の正常機能に重要な蛋白間相互作用を阻害しない化合物を、ペプチドの α ヘリックス構造を模した化合物ライブラリーからスクリーニングし、癌に対する治療効果を検証する。このことで、大腸癌をはじめとする癌を、癌幹細胞から抑制しかつ副作用の少ない新しい癌治療法開発につなげる。

2. 共同研究の内容・計画

癌の維持増殖、特に癌幹細胞の維持と増殖に重要な分子経路・蛋白間相互作用を選ぶ。PRISM BioLab のペプチドの α ヘリックス構造を模した化合物ライブラリーから、それらの蛋白間相互作用を阻害する化合物を選び出し、癌細胞と正常細胞の増殖を比較するなどにより、癌を選択的に抑制する化合物をスクリーニングする。選び出した化合物に対し、腫瘍モデルマウス、腫瘍移植マウスを用いて、腫瘍抑制効果を検証する。また、癌幹細胞に対する効果も検証し、癌幹細胞治療薬の開発につなげる。

3. 研究成果（経過）

PRISM BioLab のペプチドの α ヘリックス構造を模した化合物ライブラリーから、それらの蛋白間相互作用を阻害する化合物を選び出し、癌細胞と正常細胞の増殖を比較するなどにより、癌を選択的に抑制する化合物をスクリーニングする予定であり、準備を進めていた。仲矢の自治医科大学への移籍により、本学における共同研究を終了した。