

# 共同研究

## 目 次

### ① 医学部

1. 高度肥満患者由来内臓脂肪組織特異的に発現する転写因子の機能解析
2. 赤外線照射による埋込型補助人工心臓ドライブライン感染の制御
3. インスリン極性分泌のメカニズム解明と糖尿病治療への応用
4. 宿主免疫機構の発達に必要な腸管微生物叢曝露の時機・内容と炎症性腸疾患病態への関与
5. マウスモデルを用いた炎症性皮膚疾患の機序の解明
6. ヨウ素特異的取込み制御蛋白の発現調節と結節性甲状腺腫の発病機序の関係
7. がんゲノム医療に資する迅速な変異機能解析法の開発
8. 高齢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
9. 膀胱がんにおけるアミノ酸トランスポーターの役割
10. 尿酸代謝異常におけるトランスポーター機能解析
11. 熱傷創のデジタル写真画像を用いた領域抽出技術による面積及び深達度評価手法の高精度化研究
12. 顔認識アプリケーションによる顔面神経麻痺の評価システムの臨床研究
13. ヒト iPS 細胞を用いた皮膚付属器再生
14. しびれ感覚を引き起こす感覚神経興奮メカニズム
15. 心臓手術用低侵襲凝固治療装置に関する評価手法に関する研究
16. 糖尿病合併症新規マーカーの探索
17. ヒト唾液由来エキソソームの機能解析に関する研究
18. 近赤外光を用いたアブレーション装置の研究
19. 抗マラリア活性化合物の評価研究
20. 抗マラリア活性化合物の in vivo 評価
21. 多発生嚢胞腎に対する抗アミノ酸トランスポーター療法の検討
22. ヒト脊髄内の代替神経システムを強化する新しい運動機能回復戦略
23. 脂肪組織を基軸とした新たな妊娠マラリア病態発症機構の解明
24. (ラット/カイコ)-ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup>親和性
25. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase・四量体分子への強心ステロイド (ウアバイン) の結合
26. 依存症治療における天然化合物の効果に関する研究
27. Helicobacter pylori 感染に関する基礎的研究
28. 創薬のための統合オミックス解析による難治性ネフローゼの病因・病態探索
29. 大脳皮質視覚野に可塑性を促す新しい視覚機能回復法
30. 百日咳菌 BipA のバイオフィルム形成における機能の解析
31. N アセチル化転移酵素 2 (NAT2) の遺伝子多型が及ぼす JPH203 の安全性と有効性に関する研究

32. 包括的腸管細菌叢解析に基づく 5-アミノサリチル酸の抗炎症作用機序の解明
33. 真皮毛根鞘細胞の機能評価法の開発に関する研究
34. 自己免疫疾患における眼表面の血管異常の病態解明と新規治療法の開発
35. 胆管プラスチックステントのドレナージ効率の検証と新形状の模索
36. ヒト汗腺オルガノイドの開発に関する研究
37. 卵巣癌診断のための新たなコンビネーションアッセイの確立
38. Heads up 手術での HDR のタイミングの人工知能による検討
39. 網膜細動脈瘤破裂に伴う網膜下出血の臨床共同研究
40. 新規プロバイオティクス候補細菌の培養法の検討
41. 原発性上皮性卵巣癌における DNA ミスマッチ修復異常の検討
42. 炎症性腸疾患における便中カルプロテクチン, 便中ヘモグロビンの有用性
43. 膵癌におけるエピゲノムの不均一性と可塑性

## ② 保健学部

44. キチンに対する生体応答機構の解明
45. MRI の形態・機能情報取得機能に基づく心臓を中心とした全身の高速・高精細撮像法の研究
46. 機械学習を用いた MRI の撮像時間短縮技術に関する研究
47. 糖尿病に起因する横隔神経障害と運動単位の活動性の変化
48. 糖尿病性皮質脊髄路障害の病態解明
49. 血液型 D 抗原の発現制御メカニズムの解明
50. 医用テレメータ使用環境下における院内電磁波環境の評価方法の検討
51. 院内デイケアの活動による入院患者の日中活動係数, 睡眠状態への影響
52. 超高磁場 fMRI による身体バランスの危機認知に応答する神経機構の同定
53. 姿勢保持および日常的動作の安定性に関わる頭部および体幹部評価法の構築
54. ヨード造影剤が<sup>1</sup>H-MRS に及ぼす影響の検討
55. 坑悪性中皮腫抗体の作製と広範な抗腫瘍効果の解析
56. ヒトてんかん原性脳組織における酸化損傷タンパク質の網羅的探索
57. 腫瘍形成 HPV のゲノム網羅解析による上皮内腫瘍の進展予測に関する研究
58. 体外循環回路接続部段差部位における血液流れに関する研究
59. 高脂肪摂食モデル動物を用いた腸管粘膜内血清蛋白の免疫組織化学的解析
60. MRI 環境下における CO<sub>2</sub> センサモジュールの影響に関する研究
61. 世界トップレベルのバドミントン競技における試合特性の変化に関する評価
62. 全身性炎症による脳内炎症性環境が誘発する生体分子変化のイメージング質量分析
63. 微細加工技術を応用した放射線検出器の開発
64. 高周波を用いた人工心肺装置の静脈リザーバー内貯液量連続モニタリング装置の研究開発

65. 乳腺小葉癌に対する新規抗体作製及びその解析

① 医学部

## 1. 高度肥満患者由来内臓脂肪組織特異的に発現する転写因子の機能解析

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
宇田川 陽秀	医学部細胞生化学	助教（任期）	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
植木 浩二郎	国立国際医療研究センター研究所 糖尿病研究センター	センター長	遺伝子改変マウスの作成
安田 和基	医学部 糖尿病・内分泌・代謝内科学	教授	遺伝子改変マウスの遺伝的解析
今泉 美佳	医学部細胞生化学	教授	遺伝子改変マウスの生化学解析

### キーワード

高度肥満、内臓脂肪組織、皮下脂肪組織、Gata 転写因子

### 研究分野

肥満・糖尿病学

#### 1. 共同研究の目的

国立国際医療研究センター研究所 糖尿病研究センター、本学糖尿病・内分泌・代謝学教室と細胞生化学教室の共同研究により内臓脂肪組織優位に発現する転写因子 Gata5 の遺伝子改変マウスを作成し、解析することを目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

申請者はこれまでに、高度肥満患者由来内臓脂肪組織と皮下脂肪組織のトランスクリプトーム解析から内臓脂肪特異的に発現する転写因子 Gata5 を同定した。脂肪組織において転写因子 Gata5 の発現に関する報告は少なく、脂肪細胞における機能は不明である。そこで本研究では、脂肪組織に存在する細胞特異的な遺伝子改変マウスを作成し、Gata5 の局在や機能を解析する。

#### 3. 研究成果（経過）

申請者らは、これまでに高度肥満患者由来内臓脂肪組織と皮下脂肪組織のトランスクリプトーム解析から内臓脂肪特異的に発現する転写因子 Gata5 を同定した。しかし脂肪組織において転写因子 Gata5 の発現に関する報告は少なく、脂肪細胞における機能は不明である。そこで本研究では、Gata5 遺伝子欠損マウスを作成し、肥満および糖尿病に及ぼす影響を検討した。

Gata5 遺伝子欠損(KO)マウスは、CRISPR/Cas9 システムを用いてエクソン 2 が欠損するように作成した。Gata5KO マウスは既報の通り、正常に産まれた。野生型マウスと Gata5KO マウスの脂肪組織から RNA を抽出し、Gata5 の mRNA 発現量を測定した結果、野生型マウスに比較して Gata5KO マウスの Gata5 mRNA 量は検出限界以下であった。12 週までの体重増加率は WT と KO マウス間に顕著な差は認められなかった。経口ブドウ糖負荷試験、インスリン負荷試験の結果、耐糖能やインスリン感受性に差は認められなかった。現在、高脂肪食負荷を行い、表現型の解析を進めている。

## 2. 赤外線照射による埋込型補助人工心臓ドライブライン感染の制御

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
窪田 博	医学部心臓血管外科学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
齋木 佳克	東北大学 心臓血管外科	教授	凝固システム、及び感染制御の検討
吉岡 一郎	東北大学 心臓血管外科	助教	凝固システム、及び感染制御の検討

### キーワード

赤外線焼灼、感染制御、埋込型補助人工心臓

### 研究分野

心臓血管外科

#### 1. 共同研究の目的

重症心不全に対する埋込型補助人工心臓治療が確立されているが、合併症としてカニューレからのドライブライン感染がある。その結果脳梗塞の併発や敗血症をきたし、長期間の入院を余儀される。これらを防ぐために赤外線を利用した熱凝固アブレーション装置の焼灼により、感染の局所制御が可能と考えられる。本研究では生体工学的基礎実験と動物実験による組織学的な検討を行いながら、将来的な臨床導入への道筋を立てることを目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

1. 実験小動物における皮膚欠損・皮下組織露出モデルの形成
2. 皮下組織への赤外線照射モデルの検討
3. ドライブラインに対する赤外線照射の直接的影響の検討
4. 今後は大実験動物における補助人工心臓用ドライブライン皮膚貫通モデルの形成と赤外線照射モデルの検討

#### 3. 研究成果（経過）

重症心不全に対する植込型補助人工心臓治療が確立されているが、再入院の原因として最も頻度が高い合併症はドライブライン感染であり、2年以内に約40%の患者に発症しており臨床管理上の大きな課題となっている。人工物であるドライブラインに感染が生じると、細菌が生成するバイオフィームによって治療抵抗性となる。この問題を解決するために、新しいエネルギーデバイスである赤外線を利用した光アブレーション装置を用いて、不良肉芽を形成し難治性となったドライブライン周囲軟部組織とドライブラインそのものに照射することで、バイオフィームとともにコロニーを形成した細菌群を直接的に凝固壊死させ、感染を局所制御する方法の確立に取り組んでいる。これまでの研究経過としては、生体工学的基礎実験と組織学的な検討のための動物実験の準備を進めた。上述の目的達成のため試作された赤外線照射器のデバイスとしての改良と使用条件最適化のための準備を進めた。さらに、各種補助人工心臓のドライブラインを構成している材料を取り寄せ実体顕微鏡による表面損傷程度の評価体制を整えた。さらに、生体組織への赤外線照射効果を判定するための準備として、皮下組織欠損モデルを考案し、正常皮下組織への赤外線照射モデルと創部感染モデル作製のための小動物実験系の立ち上げを計画し、動物実験計画書を完成させ、学内動物実験倫理申請を行い承認を得ることができた。次の段階としては、赤外線照射条件の最適化を図る実験を実施する。

### 3. インスリン極性分泌のメカニズム解明と糖尿病治療への応用

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
今泉 美佳	医学部細胞生化学	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
大塚 稔久	山梨大学医学部 生化学第一	教授	アクティブゾーンタンパク質複合体の生化学実験、ノックアウトマウスの作製
安田 和基	医学部 糖尿病内分泌・代謝内科学	教授	糖代謝解析および糖尿病の 予防法・治療法の確立
青柳 共太	医学部細胞生化学	講師	インスリン極性分泌のイメージング解析、 組織化学実験、分子生物学実験

#### キーワード

インスリン分泌、開口放出、アクティブゾーンタンパク質、極性分泌
---------------------------------

#### 研究分野

細胞生物学
-------

#### 1. 共同研究の目的

本研究は膵β細胞におけるアクティブゾーン(AZ)タンパク質複合体の形成機構とAZタンパク質複合体による毛細血管方向へのインスリン極性分泌制御の分子基盤を解明することを目的とする。さらにこれらの成果を2型糖尿病モデルマウスから調製した膵島を用いて検証し、AZタンパク質複合体の発現低下によるインスリン極性分泌の破綻と2型糖尿病発症との関連を明らかにし、2型糖尿病の新規治療法を検討する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

膵β細胞からのインスリン分泌は毛細血管方向へ極性分泌されることが示唆されているがその分子機構は未だ不明である。最近私達は神経終末のAZに局在して神経伝達物質の極性分泌への関与が示唆されているAZタンパク質複合体がβ細胞にも発現しており、β細胞膜の毛細血管に面した領域に偏って局在していること、またAZタンパク質の一つであるELKSが毛細血管方向へのインスリン極性分泌に関与していることを発見した。本研究ではβ細胞におけるAZタンパク質複合体の形成機構とAZタンパク質複合体によるインスリン極性分泌制御の分子基盤を明らかにすることでインスリン極性分泌機構の全容解明を目指す。そのためAZタンパク質ノックアウト、ノックダウンした膵島を主に用いて、血管方向へのインスリン開口放出のイメージング解析、組織化学実験、生化学実験、電気生理学実験等を行う。また、2型糖尿病モデル動物を用いて膵島におけるAZタンパク質複合体の発現とインスリン分泌不全との関連を調べ、インスリン極性分泌の破綻と2型糖尿病発症のメカニズムを明らかにする。

#### 3. 研究成果(経過)

膵β細胞からのインスリン分泌は2相性であり、グルコース刺激直後に一過性の第1相分泌が観察された後、次いで持続的な第2相分泌が観察される。加えてβ細胞からのインスリン分泌は毛細血管方向へ極性分泌されることが報告されている。しかし、この2相性インスリン極性分泌の分子機構は未だ不明な点が多く、インスリン分泌不全を呈する2型糖尿病の病態を明らかにするためにも解明が急がれている。本研究は毛細血管方向への2相性極性分泌制御の分子基盤を解明することを目的とした。β細胞特異的遺伝子ノックアウトマウスから調製した膵島及び膵β細胞を主に用いて血管方向へのインスリン顆粒開口放出のイメージング解析、組織化学実験、生化学実験を行った結果、第1相インスリン極性分泌についてはβ細胞膜の毛細血管に面した領域に偏って局在しているアクティブゾーンタンパク質ELKSがプラットフォームとなって他のアクティブゾーンタンパク質とタ



に偏って局在しているアクティブゾーンタンパク質 ELKS がプラットフォームとなって他のアクティブゾーンタンパク質とタンパク質複合体を形成し、電位依存性カルシウムチャンネルへの制御を介して、細胞膜に予めドッキングしているインスリン顆粒の開口放出を促進することで第1相極性分泌を調節していることを示唆した。また、細胞骨格系タンパク質であるセブチン7を中心とするセブチン重合体がB細胞膜の毛細血管に面した領域に偏って局在することを発見し、アクチン、ミオシンと協同して細胞内から細胞膜へ供給されるインスリン顆粒を促進性に調節することにより、第2相インスリン極性分泌をコントロールしていることを明らかにした。現在インスリン極性分泌の破綻と2型糖尿病発症のメカニズムを明らかにするため、2型糖尿病モデル動物を用いて膵島におけるアクティブゾーンタンパク質複合体、ならびにセブチン重合体の発現とインスリン分泌不全との関連を検討している。

#### 4. 宿主免疫機構の発達に必要な腸管微生物叢曝露の時機・内容と炎症性腸疾患病態への関与

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
三好 潤	医学部消化器内科学	学内講師	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
久松 理一	医学部消化器内科学	教授	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析、研究総括補助
和田 晴香	医学部消化器内科学	大学院生	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析
日比 紀文	北里大学北里研究所病院炎症性腸疾患先進治療センター	センター長・特任教授	SPF および無菌動物飼育・実験
小林 拓	北里大学北里研究所病院炎症性腸疾患先進治療センター	副センター長・特任准教授	SPF および無菌動物飼育・実験
竹内 修	北里大学北里研究所病院研究部	部長補佐	SPF および無菌動物飼育・実験

##### キーワード

腸管微生物叢、免疫発達、炎症性腸疾患

##### 研究分野

消化器内科学

#### 1. 共同研究の目的

IBD 発症には遺伝的背景、環境因子により生じる免疫異常が関与していると考えられている。環境因子の一つとして腸管 microbiota が大きな役割を果たしていることが示唆されている。近年、妊娠中や小児期の抗菌薬使用により児の IBD 発症リスクが上昇することが報告されている。我々はこれまでに、周産期に母体に抗菌薬を投与することにより、仔において、長期にわたる腸管微生物叢の乱れ (dysbiosis)、小児期の免疫発達異常 (リンパ球分化、サイトカインプロファイル)、および腸炎発症リスク上昇を認めた。本研究では、腸管微生物叢への曝露タイミング・内容が宿主免疫発達に与える影響(目的1)および腸管 dysbiosis は正時期による腸炎発症リスク軽減効果の違い(目的2)について検討する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

無菌マウスの免疫機構は SPF マウスと異なることが知られている。目的1について、3、7または11週齢の無菌マウスに週齢・性別が一致する SPF マウスの腸管微生物を移入し、レシピエントの免疫状態がドナー類似に変化するかを検討する。さらに、3週齢の無菌マウスに、性別が一致する3週齢または11週齢 SPF マウスの腸管微生物を移入し、各々の免疫発達を評価する。ドナー、レシピエントの腸管微生物叢は糞便 DNA を用いて解析する。

目的2について、周産期抗菌薬投与 IBD マウスモデル (Miyoshi et al. Cell Rep. 2017) の抗菌薬投与群の仔に3または11週齢時に無治療群より腸管 microbiota の移入を行い、自然発症腸炎の発症率・重症度およびデキストラン硫酸ナトリウム誘導性腸炎への感受性の変化を検討する。

#### 3. 研究成果(経過)

性別、週齢を一致させた SPF マウス 5 匹、無菌 (Germ free) マウス 10 匹を用意し、無菌マウスの半数は動物施設搬入後に速やかに SPF 環境に移動させた。これにより、SPF マウス (SPF 群)、元・無菌マウス (exGF 群)、無菌マウス (GF 群) の 3

群を用意し、これらのマウスを4週間それぞれの環境下で飼育した。SPF群は0週、2週、4週時点の糞便を回収し、exGF群は2週、4週の糞便を回収し、GF群は4週の糞便を回収した。これらの糞便から抽出したDNAについては、細菌叢解析のための16S rRNA gene amplicon sequencingを行っている段階である。また4週時点で免疫学的発達を評価するために全てのマウスから組織検体を採取した。脾臓と腸間膜リンパ節については、フローサイトメトリーによりT細胞分画を評価した。4週齢でSPF化されたexGF群のT細胞分画はSPF群に類似しており、一方で、10週齢でSPF化されたexGFのT細胞分画はGF群に類似していた。SPF環境に曝露されるタイミングが免疫発達の方向性を決定する要因となることを示唆する結果と考えられた。

## 5. マウスモデルを用いた炎症性皮膚疾患の機序の解明

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
水川 良子	医学部皮膚科学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
土肥 孝彰	マルホ株式会社	研究員	水分量や発汗の評価

### キーワード

炎症性皮膚疾患、角質水分量、発汗、ステロイド外用剤、保湿剤

### 研究分野

皮膚免疫学

#### 1. 共同研究の目的

我々の教室では、以前からハブテン塗布による接触過敏症モデルを作成し、様々な観点から接触皮膚炎およびアトピー性皮膚炎(AD)の機序の解明を行ってきた。高湿度環境は接触過敏反応を減弱させるが、生体の湿度感知の機序は未だ明らかではない。本共同研究は、今までの知見をもとに、接触皮膚炎およびADに代表される炎症性皮膚疾患の機序のさらなる解明を目指し、最終的には治療への応用を目指す。

#### 2. 共同研究の内容・計画

高湿度環境はハブテンの皮表からの吸収を抑制し、接触過敏反応を減弱させることをすでに明らかにしている。しかし、生体の湿度感知の機序は未だ明らかではない。また、一般的に治療として使用されている薬剤(ステロイド剤)が発汗や皮膚バリアに与える影響には不明な点が多い。そこで本年度は、湿度環境による接触過敏反応の変化を、各種遺伝子改変マウスを用いて検討し、湿度感知の機序の一端を明らかにすることを目標とする。角質水分量(SSH)や接触過敏反応の測定はもちろん、免疫担当細胞および神経系の関与の有無を含めて検討する予定である。

#### 3. 研究成果(経過)

本年度は湿度環境による接触過敏反応の変化を、バリア機能が破綻しているだけでなく、発汗機能も低下している flaky tail mouse (ft/ft)を用いて検討した。湿度環境によるバリア機能への影響は角質水分量(SSH)を測定することで、接触過敏反応はTNCBを耳翼に塗布しその反応を測定した。また、発汗能は足蹠のSSHおよび鋳型法にて検討した。

結果を下記に示す。

1. ft/ft マウスの発汗低下は環境変化に依存しない。
2. 発汗のない ft/ft マウス足蹠を用いた CHS は発汗を有するマウスよりも強い反応を示す。
3. ft/ft マウス耳翼を用いたハブテン繰り返しによる慢性 CHS モデルでは、神経反応性が通常と異なる可能性が示唆されているが、本年度の実験では再現性に乏しく再度の確認を要する。

## 6. ヨウ素特異的取込み制御蛋白の発現調節と結節性甲状腺腫の発病機序の関係

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
菅間 博	医学部病理学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
矢澤 卓也	独協医科大学病理学	教授	分子病理学的解析、免疫組織化学的解析
石井 順	独協医科大学病理学	助教	分子病理学的解析、免疫組織化学的解析
藤原 正親	医学部病理学	准教授	分子病理学的解析、免疫組織化学的解析

### キーワード

甲状腺、ヨウ素トランスポーター、SLC26A7、SLC 26A4、結節性甲状腺腫

### 研究分野

病理学

#### 1. 共同研究の目的

新たなヨウ素トランスポーターである SLC26A7 と SLC 26A4 (Pendrin) の甲状腺濾胞のヨウ素輸送、貯蔵における役割と機能調節機構を明らかにし、結節性甲状腺腫の発病機序の解明につなげる。

#### 2. 共同研究の内容・計画

- 1) SLC26A7 と Pendrin のヨウ素輸送能を培養細胞を用いて遺伝子工学的に比較解析する。
- 2) SLC26A7 と Pendrin 遺伝子の発現調節機構をプロモーターのリポーターアッセイ等により解析する。
- 3) SLC26A7 と Pendrin のノックアウトおよびトランスジェニックマウス相互交配を行い、甲状腺機能および病理形態像を解析する。
- 4) 結節性甲状腺腫の臨床病理検体を用いて、SLC26A7 と Pendrin の遺伝子発現および蛋白レベルの局所的变化等を解析し、一般の結節性甲状腺腫の発病機構に迫る。

#### 3. 研究成果（経過）

新規 SLC26A7 と SLC 26A4 の甲状腺濾胞のヨウ素輸送、貯蔵における役割の違いと機能調節機構を明らかにし、結節性甲状腺腫の発病機序の解明につなげることを目的として、以下の検討を行った。

- 1) SLC26A7 と Pendrin のヨウ素輸送能を、遺伝子細胞工学的に比較解析した結果、SLC26A7 は SLC 26A4 と同様にヨウ素輸送するが、SLC 26A4 の輸送機能を補完、代償する可能性が示唆された。
- 2) SLC26A7 のプロモーター配列、転写因子モチーフを DataBase から解析した結果、FOX E1 (TTF2) コンセンサス配列が認められるが、NKX2-1(TTF1)、PAX8、CREB1、CREM 配列はなかった
- 3) 遺伝子発現 DataBase を基に、ヒトおよびマウス甲状腺初代培養細胞で、それぞれ FOX E1 (TTF2) と PAX8 の作用を siRNA で抑制した際の影響を解析した。ヒト TTF2 は SLC26A7 と SLC26A4 発現に影響はないが、マウス PAX8 は両者の発現を減弱した。
- 4) 蛋白レベルでの解析のため、SLC26A7 特異抗体の作成した。SLC26A7 特異的のアミノ酸配列からなるペプチドを合成した。ウサギを免疫し得られた抗血清の特異性を検討した結果、SLC26A7 の細胞膜外領域を認識する特異抗体を得ることができた。今後、得られた SLC26A7 抗体と市販の SLC 26A4 抗体を用いた、両蛋白の生体組織における発現と局在を検討する予

定である。

## 7. がんゲノム医療に資する迅速な変異機能解析法の開発

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大西 宏明	医学部臨床検査医学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
堤 修一	東京大学先端科学技術研究センター ゲノムサイエンス部門	特任准教授	ゲノムデータ解析

### キーワード

がんゲノム医療, 生殖細胞系遺伝子変異, 発がん実験

### 研究分野

分子生物学

#### 1. 共同研究の目的

本研究の目的は、Germline 変異の発がん性など機能的意義を最新のソフトウェアを用いて迅速かつ正確に判定すること、および、判定不能の変異については、ゲノム編集技術で変異を導入した動物の発がんを観察する動物実験を行うことにより、発がん性を簡便に検証可能であることを示すことである。本研究により、がんゲノム医療で見られる Germline 変異の発がん性などの機能的意義を、迅速かつ簡便に判定でき、患者および親族にがんの治療や予防・早期発見の一助となる変異情報を速やかに提供することができるようになると思われる。

#### 2. 共同研究の内容・計画

- ① がんゲノム医療の過程で、全ゲノムシーケンスで見られた Germline 変異について、発がん性など機能的意義を最新のソフトウェアを用いて判定する。全ゲノムシーケンスで Germline 変異が発見された患者から同意を取得し、変異データをソフトウェア VarSeq (Golden Helix 社) を用いて解析し、変異の機能的意義について判定する。
- ② 解析の結果、意義が判定不能であった変異については、マウス、メダカ等の動物に CRISPR/Cas9 システムのゲノム編集技術により当該変異を導入し、交配の後、発がんの有無を病理組織学的に検討する。

#### 3. 研究成果 (経過)

本研究は、新規 Germline 変異を発見し、その発がん性を最新のソフトウェアを用いて判定し、判定不能の変異についてはメダカ発がん実験で発がん性を検証する研究である。2020年度は、新規次世代シーケンサーの NextSeq2000 (イルミナ社) および最新のソフトウェア VarSeq (Golden Helix 社) を導入することにより、消化管の重複癌症例、および病理学的に adenoma-carcinoma sequence が疑われる十二指腸癌症例にて、発がんリスクとなりうる新規 Germline 変異を発見した。また判定不能の変異については、ゲノム編集技術で変異を導入したメダカの発がんを観察する動物実験によって発がん性を検証するシステムも構築し、RAD50 遺伝子修復遺伝子の判定不能変異に関してメダカ発がん実験を行った。ゲノム編集にて、メダカに RAD50 ヘテロ変異を導入すると、複数の臓器に過形成異常を発生したが、がんの発生を認めなかった。そこでホモ変異を導入したところ、成長が悪く、早期死亡した。これらの結果より本変異は生物学的機能を障害する変異であることが考えられたため、ヘテロ変異を導入したメダカに遺伝子を損傷させる UVA および発がん物質を暴露させる発がん実験を行っている。

## 8. 高齢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	役割分担
長谷川 浩	医学部総合医療学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
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、フレイル、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フレイル高齢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

杏林大学高齢医学・もの忘れセンターを受診し、フレイル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）

本年度は新型コロナウイルス感染症流行の影響を多大に受けたため、杏林大学および交通安全環境研究所において本研究参加可能な対象者1名であった。交通安全環境研究所において運転シミュレーターに乗っていただき運転の能力を分析した。また昨年までのデータを加味し解析を行った。

高齢ドライバーにより事故予防のためにいくつかのハザードに対する運転特性を調査した。歩行者の急な飛び出しに対する反射的なブレーキ操作に関しては、健常高齢者は問題がなかったが、飛び出しの予測ができない軽度認知機能低下ドライバーも存在し、潜在的なハザードが存在し、これらに対する支援法が必要と考えられた。また同様にこれらの対象者では、前方に自転車走行、横断歩道付近に歩行者が存在するハザードでは、走行中全体にアクセル操作とブレーキ操作を頻回に繰り返しており、踏み間違えのリスクの上昇が疑われた。本年度は以前のデータを含め全般的に解析を行った。



## 9. 膀胱がんにおけるアミノ酸トランスポーターの役割

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
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	役割分担
澤崎 晴武	多摩北部医療センター泌尿器科	医長	細胞培養、生化学実験

### キーワード

膀胱がん、アミノ酸トランスポーター、LAT1

### 研究分野

薬理学

#### 1. 共同研究の目的

これまでに、様々な悪性腫瘍において腫瘍細胞の増殖や転移に重要な役割を果たしていると報告されているアミノ酸トランスポーターLAT1の膀胱がんにおける役割を解析する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

膀胱がん、正常膀胱上皮からの細胞株は入手済みである。これらの細胞でのLAT1の発現を免疫染色やウエスタンブロットで調べる。また、LAT1の阻害による増殖への影響を特異的阻害薬JPH203の存在下でのMTTアッセイで調べる。JPH203感受性と細胞株の悪性度、浸潤能の関連について解析する。

#### 3. 研究成果（経過）

膀胱がん、正常膀胱上皮からの細胞株でのLAT1の発現を免疫染色やウエスタンブロットで調べ、LAT1の阻害による増殖への影響を特異的阻害薬JPH203の存在下でのMTTアッセイで評価した。

LAT1の発現と悪性度の関連を検討中である。

## 10. 尿酸代謝異常におけるトランスポーター機能解析

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
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	役割分担
市田 公美	東京薬科大	教授	研究統括
藤田 恭子	東京薬科大	講師	変異体の作製、輸送実験
木村 徹	医学部薬理学	学内講師	トランスポーター遺伝子解析、
田中 弦	医学部薬理学	助教	卵母細胞での発現、輸送実験

### キーワード

尿酸、SLC2A9、URAT1、遺伝子変異

### 研究分野

薬理学

#### 1. 共同研究の目的

腎での尿酸トランスポーターはほぼ同定されているが、尿酸代謝異常において、どのトランスポーターが重要か、また、治療標的として有用なのはどれか、といった課題が残っている。本共同研究はこの課題に取り組む。

#### 2. 共同研究の内容・計画

高尿酸血症での変異体を解析し、トランスポーター機能にどのような変化があるかを卵母細胞に発現させて調べる。腎性低尿酸血症の症例でも同様の解析を行う。また、尿酸低下作用のある薬物を尿酸トランスポーター（GLUT9 や URAT1）を発現させた卵母細胞での尿酸取り込みを評価することで、トランスポーターへの作用を調べる。

#### 3. 研究成果（経過）

尿酸代謝異常の疑われる症例での尿酸トランスポーター変異体を作製し、その mRNA をアフリカツメガエル卵母細胞に注入し、強制発現させてその機能を評価した。

## 11. 熱傷創のデジタル写真画像を用いた領域抽出技術による面積及び深達度評価手法の高精度化研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
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	役割分担
加藤 聡一郎	医学部救急医学	助教（任期）	研究全般（研究責任者）
海田 賢彦	医学部救急医学	助教	画像と臨床情報のリンク等
田中 敏幸	慶應義塾大学理工学部 物理情報工学科	教授	画像解析全般

### キーワード

写真画像、熱傷面積、熱傷深達度、診療
--------------------

### 研究分野

熱傷、医用工学
---------

#### 1. 共同研究の目的

デジタル写真画像を用いて、正確な熱傷面積および熱傷深達度を評価する手法を確立し、重症度や局所所見の正確なデータに基づき適切な熱傷診療を支援するためのツールを開発する。得られた画像の調査・解析・検討には、臨床医学領域と医用工学領域の共同研究体制が必要となるため、杏林大学医学部救急医学と慶應義塾大学理工学部物理情報工学科信号・画像処理研究室で協力して行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

後向きに収集したデジタル写真画像を基に、熱傷重症度（受傷面積・深達度等）の自動評価技術の確立を目指して、以下の2項目を主体とした研究を遂行する。

研究①：全身の熱傷面積率や深達度別割合の自動解析算出手法の検討・検証

研究②：経時変化から熱傷皮膚面積／健常皮膚面積差を抽出する手法の検討・検証

必要条件を満たした熱傷創の広範囲画像および局所画像、計30症例分を収集し、先行研究（平成28年度杏林大学医学部倫理委員会申請研究：H28-089）の30症例と合わせて60症例分を解析対象とし、撮影から解析までを含む一連の前向き調査用プロトタイプの完成を目指す。

#### 3. 研究成果（経過）

解析に必要な条件を満たした熱傷創のデジタル写真画像（後向きに収集）を元に、解析対象とする症例を選定し、当該画像と、熱傷専門医およびそれに準ずる医師によって熱傷面と植皮面を識別した正答例をもとに、比較的狭い範囲を対象とした局所画像解析を実施した。

これまでの研究では、熱傷面の定量的な評価指標である Burn Ratio の導出を、サポートベクターマシンの二値画像の出力で実施するシステムを開発してきた。しかし、これにはユーザーが1枚の画像毎に100～200点ほどの学習データを入力する必要があり、精度と易操作性に乖離が生じていた。そこで、分析精度を保ちながらも、学習データの取得プロセスを自動化する研究を行った。

一定の研究成果は得られたが、コロナ禍により臨床関連業務の負荷が増大し、また共同研究の機会が損なわれたことにより、研究の進捗状況には大幅な遅れが生じた。全身を対象とした広範囲の熱傷面写真についても研究を予定していたが、こちらにつ

いては実施できていない。予定の進捗を得られていないことから、研究を継続予定である。

## 12. 顔認識アプリケーションによる顔面神経麻痺の評価システムの臨床研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
多久嶋 亮彦	医学部形成外科学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
雨宮 俊一	株式会社 NTT データ	研究員	ソフトウェア作成統括
成田 圭吾	医学部形成外科学	助教	データ分析 統括
木村 武一郎	付属病院 形成外科	医員	データ分析

### キーワード

顔面神経麻痺,臨床検査,artificial intelligence

### 研究分野

形成外科

#### 1. 共同研究の目的

現在顔面神経麻痺患者に対する評価法として Sunnybrook 法、House-Brackmann 法などがあるが、評価者の主観が強く反映されることが多く顔面神経麻痺発症後の症状のフォローアップや手術前後の評価を正確に行うことは難しいのが現状である。そこで、顔面神経麻痺患者の病状を客観的に捉えるため、様々な用途に応用されている顔認識アプリケーションを用いて静的・動的に顔面の運動機能の評価したいと考えた。関連学会からのコンセンサスを得て、検者間での誤差のない標準的な評価方法を確立することが本研究の目的である。

#### 2. 共同研究の内容・計画

顔認識アプリケーションを使用して杏林大学において収集された顔面神経麻痺患者の動画データを解析し、顔面神経麻痺患者の病状の客観的評価方法を構築する。

現在顔面を認識するソフトウェアは多様な用途で使用されているが、現在の技術ではほぼリアルタイムに顔面の主たるパーツ(眉毛、瞼裂、口唇など)を facial keypoint として正確に捕捉、解析することが可能となっていることから、本研究の着想に至った。

各データは杏林大学形成外科におき顔面神経麻痺患者の手術前後の状態を記録・評価するためにこれまで収集されたものであり、現在本研究は倫理委員会に申請中である。

#### 3. 研究成果(経過)

顔認識アプリケーションを使用して杏林大学において収集された顔面神経麻痺患者の動画データを解析し、顔面神経麻痺患者の病状の客観的評価方法を構築する、というのが本研究の目的である。

2020年10月に倫理委員会の承認を得て、共同研究を開始した。VPN 接続による NTT 側からの遠隔操作環境を構築した上で、当初の予定通り予め当科で保管していた顔面神経麻痺患者の診察時の動画(顔面の表情筋の機能がわかりやすいように、眉毛挙上・閉瞼・イー・ウーの表情を撮影したもの)を使用して、解析にあたっている。

現状の学習データでは、非対称な顔面神経麻痺患者の表情を十分に捕捉できていないため、現在 annotation による AI の学習を進めている。

経過としては、遅滞なく研究を進めていると考えられる。

### 13. ヒト iPS 細胞を用いた皮膚付属器再生

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大山 学	医学部皮膚科学	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
岡野 栄之	慶應義塾大学 医学部生理学教室	教授	ヒト iPS 細胞の供給・分化誘導法指導

#### キーワード

再生医学、ヒト iPS 細胞、分化誘導、皮膚、付属器

#### 研究分野

再生医学・皮膚科学

#### 1. 共同研究の目的

本研究では癬痕性脱毛症などの難治性皮膚疾患の再生医療実現に向けた技術的基盤としてヒト iPS 細胞を活用した皮膚付属器の再生法の開発を目的とする。共同研究者の施設はヒト iPS 細胞研究の本邦における代表的拠点であり、申請者は既に共同研究を続けている。共同研究者からヒト iPS 細胞の維持、分化誘導に関する技術的アドバイスを受けることで効率的な実験計画の遂行が期待できる。共同研究者には本学で確立された技術を還元する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

共同研究者から既に提供を受けたライン化され多施設にて研究に用いられているヒト iPS 細胞を利用する（本計画では新規 iPS 細胞新規樹立は行わない）。本学では、フィーダーフリー化したヒト iPS 細胞を用いて共同研究者の指導を受けつつ組織特異的マーカーの発現をモニタリングし上皮系細胞（ケラチノサイト）と間葉系細胞（間葉系幹細胞・毛乳頭細胞・線維芽細胞など）に分化誘導する。得られた上皮・間葉系両方の細胞を3次元培養による組織再構築系あるいは *in vivo* の環境に導入・移植することで毛包など皮膚付属器の器官再生を試みる。再生された構造体の形態的・分子生物学的・機能解析は本学の施設で行う。

#### 3. 研究成果（経過）

本研究では共同研究者の施設または、商業的研究施設にて確立されフィーダーフリーの条件で維持されるヒト iPS 細胞を用いて毛包に代表される皮膚付属器の *in vitro* での再生を試みている。本年度は昨年度に確立したコラーゲンゲルに間葉系細胞塊を埋没し、そこに予め付属器を模倣した形状に直接ケラチノサイトを射出する新たな組織再構築法を用いて作製した毛包類似構造体のヒト毛包への類似性について、遺伝子発現解析、免疫組織化学的手法を用いて検討した。作成して得た構造物では毛包特異的ケラチンや毛乳頭マーカーなどの発現がみられ、完全ではないが毛包の特徴をある程度再現していることが明らかとなった。また、ヒト iPS 細胞から間葉系細胞を誘導し、さらに毛乳頭細胞へと分化させた細胞で毛乳頭類似構造を作成し、同様の手法で作製した毛包類似構造にも同様の検討を加えたところ、毛包特異的ケラチンの一部の発現は iPS 細胞由来の毛乳頭類似構造を用いた方が高く、ヒト iPS 細胞由来細胞からなる構造体で毛乳頭を置換できる可能性が示唆された。

#### 14. しびれ感覚を引き起こす感覚神経興奮メカニズム

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
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	役割分担
小林 靖	防衛医科大学校 解剖学講座	教授	神経細胞の免疫組織学的解析

##### キーワード

異常感覚、末梢神経、虚血、酸感受性イオンチャンネル、パッチクランプ法

##### 研究分野

神経科学

#### 1. 共同研究の目的

しびれ感覚は、末梢神経の障害、あるいは組織の虚血と再灌流などで発生し、痛みとは独立した難治性の異常感覚である。しかし、しびれ感覚を引き起こす神経機構は未だ解明されていない。本申請者は、新規の記録法を開発し、組織の虚血状態で痛みの神経とは異なる「中閾値-触覚型神経」が放電することを見出した。2020年度は、電気生理学的手法と免疫組織学的手法を併用して、虚血状態でしびれ感覚を引き起こす神経機構の解明を目指す。

#### 2. 共同研究の内容・計画

実験には独自に開発した「麻酔下ラット標本-感覚神経パッチクランプ法」を用い、ラットの足首をマンシェットで圧迫し虚血性のしびれを実験的に再現して、その時の感覚神経の放電活動を記録する。この放電活動については、虚血による組織酸性化によって引き起こされるとの仮説を立てた。これまで、酸性液、酸感受性イオンチャンネルの遮断薬等を用い、しびれに関連する神経活動を再現あるいは抑制することで神経興奮のメカニズムを解析してきた。2020年度は本計画の最終年度として、これまでの集積したデータ元に上記の仮説を検証し、論文としてまとめる。

#### 3. 研究成果（経過）

しびれ感覚は、末梢神経の障害、あるいは組織の虚血と再灌流などで発生し、痛みとは独立した難治性の異常感覚である。しかし、しびれ感覚を引き起こす神経機構は未だ解明されていない。本申請者は、独自に開発した「麻酔下ラット標本-脊髄後根神経節(DRG)ニューロンパッチクランプ法」を用い、ラットの足首をマンシェットで圧迫し虚血性のしびれを実験的に再現して、その時の感覚神経の放電活動を記録した。その結果、組織の軽度虚血状態で痛みの神経（Class I DRG ニューロン）とは異なる「中閾値-触覚型（Class II）DRG ニューロン」が放電することを見出した。Class II DRG ニューロンは、電気生理学的特徴として、神経の興奮性を抑える働きを持つ「一過性 K<sup>+</sup>チャンネル」を高密度に発現し、酸性液の刺激により酸感受性イオンチャンネル(ASIC)様の電流を発生した。虚血下の組織酸性化が ASIC チャンネルを活性化し、さらに一過性 K<sup>+</sup>チャンネル電流(A 電流)の減弱を起こして神経の興奮を促すことが示唆された。本共同研究は、本年度をもって終了とする。成果発表については、今年度中に論文発表することはできなかったが、来年度中に論文発表する予定である。

## 15. 心臓手術用低侵襲凝固治療装置に関する評価手法に関する研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
窪田 博	医学部心臓血管外科学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
清水 一夫	東北大学 医学工学研究科	特任教授	凝固システム及び評価システムの検討
太田 信	東北大学 流体科学研究所	准教授	評価システムの全体設計
于 凱鴻	東北大学 流体科学研究所	研究員	評価システム設計

### キーワード

赤外線、心房細動、生体組織モデル、生体流動工学

### 研究分野

心臓外科学

#### 1. 共同研究の目的

東北大学流体研究所等の研究者（光と熱が生体に及ぼす影響やシミュレーションを研究している生体医工学の研究者）との共同研究を実施することにより、開発中の赤外線凝固器による組織凝固に到る照射出力、照射時間、断続照射間隔等の基礎実験による客観的なデータを収集し、凝固治療における機序を明確にし、装置の性能を評価しうる指標を得ることを目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

- ① 凝固治療のための基盤となる温度分布測定を評価するための環境を構築する。
- ② 構築した評価環境と生体内での凝固性能を比較（動物実験等）し評価性能の最適化を図る。
- ③ 様々な凝固治療法との比較を行い、本研究方式の優位性、安全性を明確にする。

#### 3. 研究成果（経過）

様々な臓器の焼灼を近赤外光により焼灼するにあたり、その条件を明確にする必要がある。in vitro 実験を基礎データとし、In vitro で臓器の焼灼を行う n 数を増やした。

本装置で約 7 mm の深さを持つ条件が得られた。これらの条件を基に、生体動物実験を実施した。拍動心臓で左心房に貫壁性の熱凝固変性壊死を作成し、慢性期においても不可逆変化で穿孔もきたさないことが判明した。この条件を臨床応用することにより、より効果的な心房細動の心拍動下低侵襲手術が実現可能となり、臨床応用を既に開始して進めている。



## 16. 糖尿病合併症新規マーカーの探索

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
秋元 義弘	医学部顕微解剖学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
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
新井 富生	東京都健康長寿医療センター 病理診断科	部長	剖検例の検索と剖検及び臨床データの確認
千葉 優子	東京都健康長寿医療センター 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、細胞質の糖修飾 (O-GlcNAc 化) 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、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 化蛋白質をプロテオミクスと免疫組織化学法により網羅的に解析し、糖尿病の診断、治療に役立つ新規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腎臓、神経、網膜、脾臓、血液 並びにヒトの組織と血液を用いて、O-GlcNAc の修飾が変化する蛋白質を調べる。さらに変動の認められたタンパク質について局在の変化を免疫組織化学的に検討する。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)

本年度は、GK ラット腎組織のプロテオーム解析を行い、糖尿病腎症の病態の一つである腎組織線維化のメカニズムを明らかにすることを目的に検討を行った。

正常対照群には、Wistar ラットを用いた。ラットは各群 3 匹ずつ用い、蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動法を用いたプロテオーム解析を行った。また、GK ラットにおいて発現変動したタンパク質についてパスイェイ解析を行った。さらに、腎線維化に関与する因子(hypoxia inducible factor-1alpha;HIF-1alpha, transforming growth factor-beta1; TGF-beta1, alpha-smooth muscle actin; alpha-actin)の変動やアザン染色による腎線維化について調べた。プロテオーム解析により、GK ラット腎組織において 88 種類のタンパク質が発現変化することが明らかになった。さらに、HIF-1alpha、TGF-beta1、alpha-actin の変動から、TCA 回路の酵素の発現変動を端緒とする GK ラットの腎組織線維化のメカニズムを明らかにした。

## 17. ヒト唾液由来エクソソームの機能解析に関する研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
秋元 義弘	医学部顕微解剖学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
矢ノ下 良平	帝京平成大学薬学部 膜機能研究ユニット	教授	研究の統括
小川 祐子	帝京平成大学薬学部 膜機能研究ユニット	准教授	エクソソームの単離、成分解析
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	プロテオーム解析

### キーワード

唾液、エクソソーム、生体防御機構、電子顕微鏡解析
--------------------------

### 研究分野

組織化学
------

#### 1. 共同研究の目的

エクソソームは細胞から分泌される直径 30-100 nm の小胞である。これまで申請者らはヒト唾液にエクソソームが大量に存在することを見出し、プロテオーム解析およびトランスクリプトーム解析により、その性状を明らかにしてきた。唾液は単に食物消化に必要なだけでなく、外界から細菌などの異物が体内に侵入するのを防ぎ口腔内衛生環境を保つための重要な生体防御成分である。本研究の目的は、唾液エクソソームの生体防御機能について免疫系細胞に対する生物学的作用を明らかにすることである。

#### 2. 共同研究の内容・計画

- ① 唾液エクソソーム中に含まれる RNA を蛍光標識し、各種培養細胞への取り込みを蛍光顕微鏡や FACS 等で観察する。  
エクソソームの RNA 由来のタンパク質の発現はウェスタンブロットティングや、免疫蛍光染色で確認する。
- ② 野生型のマウスの口腔に蛍光標識したエクソソームを取り込ませ、一定時間経過後にマウスを無苦痛処理により殺処分し、消化管等から蛍光を指標にエクソソームの分布を検出する。エクソソームが集積している臓器、組織については組織切片を作成して、細胞内での局在を検討する。

#### 3. 研究成果（経過）

研究成果（経過）：細胞が分泌する細胞外小胞(EVs)は、新しい細胞間情報伝達的手段として注目されている。我々はヒト唾液中の exosome 様 EVs の安定性を調べ、これまで本 EVs が人工的な消化液、すなわち胃内条件(ペプシン添加、37℃、pH3.0、3 時間)、又は腸内条件(膵液酵素混合物パンクレアチン添加、37℃、pH7.4、又はコール酸添加、37℃、1 時間)で構造は安定していることを明らかにした。今年度は、胃内条件と腸内条件で連続的に本 EVs を処理して安定性を検討した。

はじめに、パンクレアチンおよびコール酸でヒト唾液 EVs を処理したところ、EVs 表面の CD9 およびその周囲に存在していると考えられる mucin 5B は分解されたが、DPP IV の分解は認められず、EVs 内部の Alix および TSG101 は高濃度のパンクレアチン存在下で分解された。一方、形態に変化は見られず、処理後の DPP IV 活性は保たれていた。次に、胃内条件で処理した後 pH を中和して、連続して腸内条件で処理したところ、低濃度の酵素存在下でも DPP IV および IgA 以外の構成成分は分解し、形態も崩れていた。

## 18. 近赤外光を用いたアブレーション装置の研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
窪田 博	医学部心臓血管外科学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
清水 一夫	(株)ニューロシューティカルズ (株)ニューロライテック	開発部長 代表取締役	アブレーション装置の開発
三池 信也	(株)ニューロシューティカルズ	代表取締役	アブレーション装置の開発
中島 章夫	保健学部臨床工学科	准教授	アブレーション装置を使って、治療効果等の検証を行い、かつ、安全性に対する評価を行う。

### キーワード

赤外線、心房細動、生体組織モデル、生体流動工学

### 研究分野

心臓外科学

#### 1. 共同研究の目的

近赤外光を用いたアブレーション装置の研究開発を実施することを目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

ハロゲンランプを使用し、近赤外光による組織の焼灼を行うことで筋組織深部まで焼灼が可能になるという研究代表者のこれまでの研究成果を基にニューロライテック社が医療機器の開発を担当し、研究代表者等は、杏林大学において、治療効果等の検証と安全性に対する評価を行う。

#### 3. 研究成果（経過）

近赤外光を用いた光アブレーションを内視鏡手技で行うことを目指し、新しい装置構成により、共同研究先企業で開発を行っていたが、焼灼温度が上がらず、光源の不正確性から、タングステンハロゲン光源は製品化に適さない可能性が示唆された。

現在は、タングステンハロゲン光源に代わる光源としてLEDを用いて研究を重ね、良好な結果を得たため、耳鼻科領域、婦人科領域に応用可能な上市に向けた製品化を具体化しており、その先に心臓手術応用を考慮した装置への改善を考慮している。

## 19. 抗マラリア活性化化合物の評価研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
新倉 保	医学部感染症学	講師	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
渡邊 信元	理化学研究所 環境資源科学研究センター	ユニットリーダー	抗マラリア活性化化合物の合成

### キーワード

抗マラリア活性、化合物、作用機序、薬剤開発

### 研究分野

寄生虫感染症

#### 1. 共同研究の目的

マウスマラリア原虫を用いた化合物の抗マラリア活性等の評価

#### 2. 共同研究の内容・計画

理化学研究所環境資源科学研究センターが独自に開発した化合物 XYZ ならびにそのアナログを、マウスマラリア原虫を感染させたマウスに投与し、化合物 XYZ ならびにそのアナログのマラリア原虫に対する増殖阻害活性及びマラリア感染マウスに対する延命効果等を評価する。さらに、マラリア原虫に対する増殖阻害活性が認められた化合物の作用機序を解明する。

#### 3. 研究成果（経過）

これまでに本学で実施した *in vivo* 評価によって、理化学研究所環境資源科学研究センターが独自に開発した化合物 XYZ は抗マラリア活性を有すること、さらにマラリア原虫の殺滅に効果的な投与プロトコールを見出した。また、本学との共同研究を通じて、化合物 XYZ の標的分子を同定するに至った。

## 20. 抗マラリア活性化化合物の in vivo 評価

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
新倉 保	医学部感染症学	講師	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
和田 章	理化学研究所 ライフサイエンス技術 基盤研究センター 非天然型アミノ酸技術 研究チーム(横浜)	専任 研究員	抗マラリア活性化化合物の合成

### キーワード

抗マラリア活性、化合物、作用機序、薬剤開発

### 研究分野

寄生虫感染症

#### 1. 共同研究の目的

マラリアのマウスモデルを用いた化合物の抗マラリア活性等の評価

#### 2. 共同研究の内容・計画

理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センターで開発された化合物 XL に抗マラリア活性があることが示唆されている。そこで、マラリアのマウスモデルを用いて、この化合物 XL ならびにそのアナログの抗マラリア活性をさらに詳細に解析し、マラリア原虫に対する増殖阻害機構を解明する。

#### 3. 研究成果（経過）

理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センターで開発された化合物 XL に抗マラリア活性があることが示唆されている。本学で実施した in vivo 評価によって、マラリア原虫の殺滅に効果的な化合物 XL の投与プロトコルを見出した。また、化合物 XL のマラリア原虫に対する増殖阻害機序の一端を明らかにした。

## 21. 多発性嚢胞腎に対する抗アミノ酸トランスポーター療法の検討

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
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	役割分担
西尾 沙織	北海道大学医学部	講師	モデルマウスの解析
木村 徹	医学部薬理学	学内講師	細胞実験、薬物スクリーニング

### キーワード

多発性嚢胞腎、LAT1

### 研究分野

薬理学

#### 1. 共同研究の目的

遺伝性腎疾患のなかで最多の末期腎不全の原因となる多発性嚢胞腎に対して、がんに対しての有効性が報告されている L 型アミノ酸トランスポーター阻害薬 JPH203 が有効であるかを検証する

#### 2. 共同研究の内容・計画

北大西尾氏の所有する多発性嚢胞腎モデルマウスに JPH203 を投与して疾患の進行を抑制できるか評価する。現在臨床使用されている薬物との併用の検討も行う。また、肝のう胞の進展に重要なトランスポーターの同定とその治療法の基礎的検討を行う。

#### 3. 研究成果（経過）

遺伝性腎疾患のなかで最多の末期腎不全の原因となる多発性嚢胞腎に対して、がんに対しての有効性が報告されている L 型アミノ酸トランスポーター阻害薬 JPH203 が有効であるかを検証することを目的とした。PKD 遺伝子に変異のある、多発性嚢胞腎を発症するマウスにおいて LAT1 阻害薬 JPH203 の投与は腎嚢胞の増大を抑制する傾向が見られた。モデル細胞の増殖も抑制した。

## 22. ヒト脊髄内の代替神経システムを強化する新しい運動機能回復戦略

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中島 剛	医学部統合生理学	学内講師	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小宮山 伴与志	千葉大学教育学部	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
大木 紫	医学部統合生理学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
市村 正一	医学部整形外科学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
小西 一斉	医学部整形外科学	専修医	実験実施・データ解析等
渋谷 賢	医学部統合生理学	講師	実験実施・データ解析等

### キーワード

錐体路、脊髄介在ニューロン、可塑性誘導、脊髄障害、神経リハビリテーション

### 研究分野

臨床神経生理学

#### 1. 共同研究の目的

脊髄障害後、脳から脊髄への運動系下行路の再建は、運動機能の回復を促す重要な神経基盤となる。本研究は、ヒト脊髄内に代替神経システムを再構築する、新たな神経リハビリテーション法を開発する。特に、代替経路の主役となりうる、介在ニューロン系を介した運動経路を外部刺激等により強化し、障害脊髄を神経バイパスする運動機能回復法の確立を目指す。本課題では、我々が今まで培ってきた健常成人での脊髄賦活化研究をベースに、1. 脊髄障害患者における適応可能性と、2. 上肢巧緻運動の機能回復について詳細に検討する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

現在、我々は、健常者を対象に、介在ニューロン系にシナプス増強効果（LTP）促す非侵襲的脊髄刺激法（錐体路と末梢神経への組み合わせ刺激の繰り返し）を開発している。これは海馬等で知られている LTP 効果を脊髄に応用したものがある。今回は、これに他の手法を組み合わせ、簡略で更に長期的に増強効果が得られる、ハイブリッド型神経リハビリテーション法の開発を目指す。具体的には、脊髄介在ニューロンに持続的に入力を与えることが知られている 1. 筋への感覚入力（筋への振動刺激等）や 2. 身体の傾く感覚を誘導する前庭感覚刺激、さらには、3. 麻痺筋への運動イメージ・随意努力などを駆使するものである。まず、健常者で本手法の増強効果と最適な刺激パラメータ等を検討し、その後脊髄障害患者への応用可能性を探る。そして、本研究で開発した介入手法が、当該患者の上肢運動機能改善に有効かどうかについて検討をおこなう。この効果判定には、運動機能評価や電気生理学検査、さらには上肢巧緻運動（物体に腕を伸ばす運動や物体把持運動）の運動解析等も行う。

#### 3. 研究成果（経過）

脊髄障害後、脳から脊髄への運動系下行路の再建は、運動機能の回復を促す重要な神経基盤となる。本研究は、ヒト脊髄内に代替神経システムを再構築する、新たな神経リハビリテーション法を開発する。特に、代替経路の主役となりうる、介在ニュー

ロン系 (INs) を介した運動経路を外部刺激等により強化し、障害脊髄を神経バイパスする運動機能回復法の確立を目指す。

我々は、今までに、ヒト頸髄 INs にシナプス増強効果 (LTP) 促す非侵襲的脊髄刺激法 (錐体路と末梢神経への組み合わせ刺激の繰り返し, RCS) を開発した。

ただし、この増強効果の持続時間は1時間程度と短く、臨床応用を目指すにはさらにその効果を持続させる必要があった。そこで、本年度は、RCS の刺激条件、特に、身体の傾く感覚を誘導する前庭感覚刺激を組み合わせることにより、研究および実験を行う予定であった。

しかしながら、昨今の新型コロナウイルス感染症拡大に伴い、当該研究における被験者を募集することが極めて困難な状況にあった。これに伴い、実験および研究の進捗は極めて悪かった。よって、まとまった研究成果を挙げることができず、現在に至る。しかしながら、関連する研究成果を論文としてまとめ、受理された。

今後は、研究が再開できるよう感染状況を見極めながら、遅れている実験等を準備していきたいと考えている。



## 23. 脂肪組織を基軸とした新たな妊娠マラリア病態発症機構の解明

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
新倉 保	医学部感染症学	講師	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
福富 俊之	医学部薬理学	助教(任期)	タンパク質解析
峯尾 松一郎	東京医科大学 分子病理学講座	実験助手	組織標本の作成

### キーワード

マラリア、妊娠、重症化、脂肪組織

### 研究分野

寄生虫感染症

#### 1. 共同研究の目的

我々が独自に確立した妊娠中のマウスマラリアモデルを用いて、妊娠中のマラリアの病態重症化機序を明らかにする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

脂肪組織は、妊娠時にホルモンやアディポカインを分泌することで妊娠維持に関わる重要な内分泌組織である。極めて最近、申請者は、妊娠マウスの脂肪組織には非妊娠マウスの脂肪組織と比較して 7~8 倍ものマラリア原虫感染赤血球が蓄積することを生体イメージング解析により見出した。妊娠中にマラリアに罹患すると流産や死産が多発することが報告されているが、脂肪組織と病態形成との関係は未だに多くの謎に包まれている。そこで本研究では、遺伝子改変マラリア原虫や遺伝子改変マウス、比較プロテオームなどを駆使して、脂肪組織を基軸とした新たな妊娠マラリア病態発症機構の解明を目指す。

#### 3. 研究成果（経過）

授乳期のマラリア病態はほとんど明らかにされていない。そこで本研究では、マラリアのマウスモデルを用いて、授乳期のマラリアの病態を明らかにすることを目的とした。網羅的な表現型解析の結果、マラリア原虫を感染させた授乳期のマウスにおいて、乳腺組織の異常が認められた。次に、マラリア原虫を感染させた授乳期のマウスの乳腺組織と非感染マウスの乳腺組織からタンパク質を抽出し、比較プロテオーム解析を行った。その結果、マラリア原虫を感染させた妊娠マウスの乳腺組織において、IFN- $\gamma$  によって発現が誘導される分子が著しく増加していることが明らかになった。これらの結果から、授乳期のマラリアでは、IFN- $\gamma$  誘導性の乳腺炎によって乳汁の分泌不全が起こることが示唆された。

## 24. (ラット/カイコ)・ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup>親和性

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
丑丸 真	医学部化学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
誉田 晴夫	医学部化学	非常勤講師	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase の生化学的性質の分析
原 諭吉	東京医科歯科大学	客員教授	カイコ及びラット Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase の培養細胞内発現

### キーワード

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase カイコ、ラット、培養細胞

### 研究分野

生化学

#### 1. 共同研究の目的

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase は動物細胞膜に存在する膜たんぱく質であり、その構成サブユニットα及びβ鎖を介して細胞内 Na<sup>+</sup>を細胞外へ、細胞外 K<sup>+</sup>を細胞内へ能動輸送している。これまでの研究によって、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup>親和性をコントロールしているのはα鎖ではなくβ鎖であることを示してきた。平成 30 年度は、ラット Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase とカイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase のハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を用いて、われわれの仮説をさらに補強する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup>親和性をコントロールしているのはα鎖ではなく、β鎖であるとの仮説を直接実証するため、哺乳類よりも親和性が著しく K<sup>+</sup>親和性が低いカイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase と、ラット Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase のα鎖、β鎖を用い、内因性 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を持たないカイコ卵巣由来培養細胞に (ラット/カイコ) ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を発現させ、その K<sup>+</sup>に対する親和性を比較定量する。令和 2 年度は、さらにβ鎖がα鎖のコンホメーション変化に影響を与えて、K<sup>+</sup>親和性を調節している可能性を探る。

#### 3. 研究成果 (経過)

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup>親和性をコントロールしているのはα鎖ではなくβ鎖である、との仮説を実証するため、K<sup>+</sup>親和性が哺乳類よりも著しく低いカイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase のα鎖と、哺乳類 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase に共通の K<sup>+</sup>親和性を持つラット Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase β鎖からなる (ラット/カイコ) ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を、内因性 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を持たないカイコ卵巣由来培養細胞に発現させた。

ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase のα鎖分子量は、カイコ、ラットのそれと同じく約 100k だった。しかし、β鎖分子量はラットβ鎖の 50k にならず、カイコβ鎖の 35k になった。糖タンパク質であるβ鎖の糖鎖を切断すると、ハイブリッド、ラット、カイコのβ鎖分子量は全て約 30k になった。したがって、ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase β鎖の分子量低下は、カイコ由来培養細胞の持つ糖付加酵素が哺乳類細胞の持つそれとは異なっているために生じた、と考えられた。こうした違いはあったが、ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup>親和性は、カイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の約 4 倍増大した。この結果は、ラット及びカイコの Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup>親和性の差と一致した。すなわち、我々の仮説が裏付けられた。今後、β鎖がどのような仕組みで K<sup>+</sup>親和性をコントロールしているのか明らかにすることが必要である。

## 25. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase・四量体分子への強心ステロイド（ウアバイン）の結合

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
丑丸 真	医学部化学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
林 雄太郎	千葉科学大学 危機管理学部	非常勤講師	四量体標品の単離とウアバイン結合量測定
原 諭吉	東京医科歯科大学医学部	名誉教授	結果の解析・評価
誉田 晴夫	医学部化学	非常勤講師	酵素反応と基質結合の解析

### キーワード

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase、四量体、強心ステロイド、ウアバイン、協同性

### 研究分野

生化学

#### 1. 共同研究の目的

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaseは「細胞の発電所」の機能を持つ、典型的な膜タンパク質である。この発見の60年後の昨年、その機能単位の四次構造は、林らにより「四量体」であることが示された。この膜タンパク質とウアバインは、非常に特異的に、強力に結合し、完全にATPase活性を阻害する。最近の研究により、体内で作られた「ウアバイン様ホルモン物質」が、本態性高血圧症の原因物質とされている。この研究では、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase四量体とウアバインとの結合の、強さ（結合定数）、協同性、可逆性を測定し、従来の知見を再吟味する。それにより、このステロイド結合の生理作用の分子機構解明を目指すものである。

#### 2. 共同研究の内容・計画

新規な方法（レクチン親和性クロマトグラフィー法）で、ブタ腎からNa<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase四量体を単離する。四量体を、種々な溶液、温度などの条件で、種々な濃度の3H-ウアバインとインキュベーションした後、ゲルろ過クロマトグラフィーに負荷し、四量体とともに溶出する放射能をラジオクロマト検出器で測定して、ウアバイン結合量を測定する。Scatchard plot解析により、結合量のストイキオメトリー、結合定数、協同性を測定・評価する。

#### 3. 研究成果（経過）

この10年をかけて、新規精製法により単離したNa<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase(NaK)分子を用い、分子量測定と原子間力顕微鏡観測で、その機能単位の四次構造を追究した。その結果、NaKの機能単位は、4分子のProtomer(P, Mw:1.62x10<sup>5</sup>)から成る、四量体(Tetraprotomer、T, 6.48 x 10<sup>5</sup>)であるとの結論に至った(林ら、2021)。さらに、P分子のX線結晶構造解析データ(東大・豊島ら)を用いて、T分子の三次元分子像を3D-Printing法で組み立てた。その結果、E1状態のP分子から構築したT分子では、細胞外に突き出た部位に存在するOuabain(oub)結合部位は、塞がれた状態とみなせた。一方、E2状態のP分子から構築したT分子では、oub結合部位は分子の外側に位置し、oubが結合できる開いた状態とみなせた。この四量体像からは、E1状態ではoubはNaK分子に結合せず、E2状態では容易に結合するとの、従来のNaK研究の重要な結論と整合した。一方この四量体像は、E2状態のT分子には4分子のoubが結合することを示唆するので、旧精製標品のT分子には、2分子のoubしか結合しない(林ら、未発表)との実験結果と矛盾する。ATPase反応機構の研究では、NaK分子のE1・E2状態は、同期して変わっていくと考えられてきたからである。従って、oubの1分子T体への結合量が4分子(化学量論的か、否(非化学量論的)かは、今後の重要な課題である。

## 26. 依存症治療における天然化合物の効果に関する研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中山 高宏	医学部病態生理学	助教	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
濱田 博喜	岡山理科大学 食品予防医学研究室	教授	有機化合物の合成・修飾

### キーワード

syntaxin1A、 KAT3 阻害剤、中脳報酬系、依存症
--------------------------------

### 研究分野

神経科学
------

#### 1. 共同研究の目的

我が国で 2000 万人の罹患者を抱える依存症は、中脳ドーパミン(DA)神経の報酬系亢進によって引き起こされ、DA 機能阻害により症状が緩和される。我々はこれまでにモノアミン伝達に関わる syntaxin1A (stx1A)遺伝子の発現低下が中脳 DA 分泌抑制を起こすと共にその発現はヒストンアセチル化酵素により神経特異的に促進性制御されていることを発見してきた。本計画ではその阻害剤である 3 種の食品成分を用いて stx1A 低下に伴う中脳 DA 抑制と依存症の治癒効果の検証を行い、食品成分による依存症抑制効果の検証とその作用機序の検討を行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

##### (1) 配糖化 KAT3 阻害剤によるアルコール依存症に対する治癒効果の検証

アルコール依存症モデルマウスを作製し、BBB 透過性を高めた配糖化 KAT3 阻害剤の投与による依存性の低下を検証する。予めアルコール依存に陥らせたマウスを 2 群に分け、配糖化 KAT3 阻害剤の投与によりアルコール依存への効果を明らかにする。

##### (2) 配糖化 KAT3 阻害剤によるニコチン・薬物依存症に対する治癒効果の検証

2 群に分けたマウスに対し、ニコチン、コカインによる場所嗜好性(CPP)試験を行い配糖化 KAT3 阻害剤によるニコチン・薬物依存の低下と stx1A の関与を検証する。

#### 3. 研究成果(経過)

これまでに神経細胞でのみ stx1A プロモーター領域に結合する転写因子を精製し、質量分析、スーパーシフトアッセイ及び ChIP 解析を行ったところ、エピゲノム因子として知られるヒストンアセチル化酵素 KAT3 の存在を同定してきた。この KAT3 に対する阻害剤である curcumin および C646 を作用させた結果、逆にそれらが抑制されることを発見してきた。更に in vivo における STX1A 発現抑制効果を確認する為にマウス腹腔内投与を 3 週間行ったところ、脳における STX1A タンパク質の発現量が抑えられることを確認した。また ECD-HPLC 解析により中脳におけるドーパミン濃度と分泌後代謝物 HVA との比率を求めることによるドーパミン合成・分泌機能を調べたところ、いずれも低下を示すことも見出してきた。そこで curcumin 配糖体を事前投与した際のアルコール嗜好性に与える影響を自由選択試験により検証したところ、アルコールに対する嗜好性が低下することを発見した。また場所依存性行動試験により stx1A -KO マウスにおいてニコチン依存性が低下していることも明らかになってきた。これらの結果は KAT3 阻害による STX1A 発現低下にはアルコール・ニコチン依存症に対する抑制効果があることを意味しており、依存症治療における天然化合物を用いた解析は本年度をもって一区切りとする。

## 27. Helicobacter pylori 感染に関する基礎的研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大崎 敬子	医学部感染症学	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
米澤 英雄	医学部感染症学	講師	メタゲノム解析
高橋 志達	ミヤリサン製薬株式会社 東京研究所	所長	データ解析
岡 健太郎	ミヤリサン製薬株式会社 東京研究所	副部長	データ解析

### キーワード

Helicobacter pylori、萎縮性胃炎、胃内細菌叢

### 研究分野

細菌学

#### 1. 共同研究の目的

*H. pylori* 感染動物の胃内および腸内細菌叢の解析を実施し、感染症の病態における細菌叢の役割について考察する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

持続感染モデルに使用する動物をスナネズミから新たに MPS マウスに変更し、*H. pylori* 感染マウス、非感染マウスの胃粘膜、小腸粘膜、大腸内容物を採取する。*H. pylori* の存在を培養および PCR により判定するとともに、組織から総 DNA を抽出して、次世代シーケンサーによる 16S メタゲノム解析法にて各部位ごとに細菌叢の構成を調べる。各群の細菌叢を比較することにより *H. pylori* 胃炎の進行と胃内細菌叢の関連等を明らかにする。

#### 3. 研究成果（経過）

Helicobacter pylori 感染宿主における細菌生態学的研究を行った。本研究期間内には MPS マウスに *H. pylori* を経口投与し、感染 5 週間から 57 週間まで、培養法で *H. pylori* が確認できた。しかし、*H. pylori* の胃内細菌叢における占有比は、感染経過とともに低下した。*H. pylori* 感染マウスの胃、小腸および盲腸内細菌叢の解析を実施した。感染 8 週間には、感染群では対照群と比較して、胃内細菌叢の構成比のうち Firmicutes 門の高い占有率と、Bacteroidetes 門の低い占有率が観察された。

本研究の一部について学会発表を行った。

第 94 回日本細菌学会総会、令和 3 年 3 月 23 日、オンライン開催

MPS マウス Helicobacter pylori 感染モデルを用いた腸内細菌叢の解析、大崎敬子、他、8 名

## 28. 創薬のための統合オミックス解析による難治性ネフローゼの病因・病態探索

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
楊 國昌	医学部小児科学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
清水 章	日本医科大学大学院 医学研究科病理学	教授	形態観察 病理学的解析

### キーワード

ネフローゼ、創薬、オミックス

### 研究分野

腎臓学

#### 1. 共同研究の目的

難治性ネフローゼ症候群の終末像は、慢性透析や腎移植を要する末期腎不全である。難治性ネフローゼの病変の主座は、腎糸球体上皮（ポドサイト）障害である。従来のネフローゼ動物モデルは生理的基盤に立ったモデルではないため、創薬研究に使用できない。我々は、昨年度の本共同研究により、ポドサイト特異的細胞膜蛋白分子である *crumbs2* (CRB2) 機能異常を介した後天性ネフローゼモデルを世界に先駆けて樹立した。本モデルにおけるネフローゼの病態は、ポドサイト内の CRB2-ezrin-actin 経路の破綻であることを明らかにした。今年度の研究により、ezrin の活性化に関与するリン酸化経路を同定し、本モデルにおけるキナーゼ阻害薬の効果を検証する。さらに、CRB2 に結合する血中液性因子を同定し、ネフローゼ症候群の病因を明らかにする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

##### (1) ポドサイト内の CRB2-ezrin-actin 系のシグナリングネットワークの解析

Ezrin リン酸化系とアクチン構築系とのクロストークに関与する仲介分子を探索する。野生型 CRB2 細胞株と変異型 CRB2 細胞株における ezrin, cofilin, cofilin 上流キナーゼである Rho キナーゼ、LIM キナーゼの活性化の変容を解析する。

##### (2) CRB2 マウス腎症と CRB2 刺激系培養ポドサイトへの各種キナーゼ阻害薬投与

Cofilin リン酸化、LIM キナーゼ、Rho キナーゼ、PI3K に対する阻害薬を本マウスモデルに投与し、尿蛋白の減少効果を評価する。さらに、培養ポドサイトの系を用いて、上記のシグナリングを主体とするパスウェイの検討を、プロテオームとメタボローム融合解析にて行う。

##### (3) CRB2 結合液性分子の探索

生体における CRB2 の細胞外結合物を探索する。すでに、酵母-2-ハイブリット法により、ある chemokine が候補として同定された。同 chemokine の安定発現細胞株を作成後、分泌される同分子を精製し、正常マウスに投与することで、ネフローゼの発症の有無を検討する。

#### 3. 研究成果（経過）

腎糸球体上皮細胞（ポドサイト）の膜上に発現する *Crb2* に対する抗体をマウスに産生させ、*Crb2* を足場とした *out-side in signaling* を惹起させた。本マウスは臨床的にネフローゼを発症し、ヒトの特発性ネフローゼの病理学像を示した。この蛋白尿の病態は、リガンド（抗体）結合による CRB2 のオリゴマー形成とそれに引き続くポドサイト細胞膜上での CRB2 の偏倚、それに結合する actin 偏倚によるポドサイト足突起癒合によることが判明した。この CRB2 を介する signaling と actin 偏倚の過程には、cofilin のリン酸化による actin の再構成過程の変容が関与することが明らかになった。生体における生理的液性分子のうち、胸腺由来の chemokineX が、CRB2 のリガンドであることが判明した。この chemokineX は、CRB2 のシアル酸に結合することが見出された。さらに、リコンビナント chemokineX を *in vitro* において CRB2 発現細胞に導入すると、細胞内の ezrin と cofilin

のリン酸化亢進が確認された。以上のことから、特発性ネフローゼの病因として胸腺由来の chemokine などの液性分子が推測され、またその病態として、この液性分子によるポドサイト膜上の CRB を足場とした actin signaling 系の偏倚が考えられた。なお、本マウスモデルは、ヒトの特発性ネフローゼの 2 つの病理像を示したが、その重症度の違いは、ポドサイト障害の程度に起因することが明らかになった。

## 29. 大脳皮質視覚野に可塑性を促す新しい視覚機能回復法

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中島 剛	医学部統合生理学	学内講師	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小宮山 伴与志	千葉大学教育学部	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
大木 紫	医学部統合生理学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
寺尾 安生	医学部細胞生理学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
有安 諒平	医学部統合生理学	大学院生	実験実施・データ解析等
寺田 さとみ	医学部細胞生理学	助教(任期)	実験実施・データ解析等

### キーワード

大脳皮質視覚野、可塑性誘導、視覚障害、神経リハビリ

### 研究分野

臨床神経生理学

#### 1. 共同研究の目的

本共同研究の目的は、ヒト非侵襲的脳刺激法を用い、新しいコンセプトの視覚機能回復法を開発する。特に本課題では、① 視覚情報を受け取る脳領域（大脳皮質視覚野）の活動を、外部刺激（視覚刺激および経頭蓋的磁気刺激法）によって励起・長期増強させ、② 障害によって減衰した視覚入力を脳内で“増幅・強化”しようとするものである。今回は、視覚要素の中でも、とりわけ色覚の機能回復に焦点を絞る。具体的な研究内容は、我々が今まで培ってきた健常晴眼者での視覚野賦活法の基礎研究をベースに千葉大学と連携し、視覚障害患者への適応可能性と視機能回復について詳細な検討を行うものである。

#### 2. 共同研究の内容・計画

本研究内容と計画は、視覚要素の中でも、とりわけ色覚能を標的に研究を進める予定である。今回は、各種色彩刺激と視覚野への経頭蓋的磁気刺激を組み合わせる“連合性刺激”を繰り返すことにより、視覚野に可塑性誘導（シナプス増強）できるのか、について検討する。一般的なシナプスの性質から、ニューロンが強く活性化している時に入力が入ると、入力が入ったシナプスで効率増強が生じる。本研究課題では、視覚刺激による入力により視覚野ニューロンを活性化させ、その最中、タイミングよく、皮質視覚野直上へ経頭蓋的磁気刺激を行う。そして、その連合性刺激を繰り返すこと(1Hz, 5・20分程度)で、標的とする視覚経路の選択的増強が観察され、その効果がどの程度継続するのか確認する。これらの検討ののち、本介入手法が視機能改善に貢献するかを検討する。主に、賦活化した色彩視に関連する視覚機能を定量的に評価する。

#### 3. 研究成果（経過）

本研究は、ヒト非侵襲的脳刺激法を用い、新しいコンセプトの視覚機能回復法を開発する。特に本課題では、① 視覚情報を受け取る脳領域（大脳皮質視覚野）の活動を、外部刺激（視覚刺激および経頭蓋的磁気刺激法）によって励起・長期増強させ、② 障害によって減衰した視覚入力を脳内で“増幅・強化”しようとするものである。特に、視覚要素の中でも、とりわけ色覚の機



能回復に焦点を絞る。

そこで、今年度は、各種色彩刺激と視覚野への経頭蓋的磁気刺激を組み合わせる“連合性刺激”を繰り返すことにより、色覚に関わる視覚機能が改善されるのか、について検討を行う予定であった。

しかしながら、昨今の新型コロナウイルス感染症拡大に伴い、当該研究における被験者を募集することが極めて困難な状況であった。これに伴い、実験および研究の進捗は極めて悪かった。よって、まとまった研究成果を挙げるができず、現在に至る。

今後は、研究が再開できるよう感染状況を見極めながら、遅れている研究および実験等を準備していきたいと考えている。

### 30. 百日咳菌 BipA のバイオフィーム形成における機能の解析

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
花輪 智子	医学部感染症学	准教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
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 <i>bipA</i> 遺伝子の解析
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 BipA 欠損株の作成とその解析

#### キーワード

百日咳菌、バイオフィーム、定着因子、臨床分離株、外膜ベシクル

#### 研究分野

細菌学

#### 1. 共同研究の目的

百日咳菌臨床分離株は宿主内でバイオフィームを形成することから本菌の病原性発現に重要であると考えられている。申請者らはこれまで百日咳菌のバイオフィーム形成過程で *bipA* の転写が顕著に亢進することを見出している。*BipA* は外膜に局在するタンパク質であり、本菌感染後に抗体が産生されることから宿主内で発現することが確認されているが、その機能は明らかとなっていない。そこで *bipA* 欠損変異株を用いてバイオフィーム形成における影響や外膜ヴェシクル (OMV) との関連について検討を行い、*BipA* の機能を明らかにする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

百日咳菌臨床分離株では病原遺伝子の保有状況が異なり、多数の百日咳菌臨床分離株を保有している感染症研究所との共同研究により *bipA* 遺伝子の保有状況を調査する。また蒲地博士らは既にワクチンの製造に使用されている Tohama 株で *bipA* 変異株を作成していることから臨床分離株の変異株と合わせて解析を進める。

本共同研究により、百日咳菌の病原因子、*BipA* の機能を明らかにすることで、本菌の感染防御に向けた基礎的解析を行う。

#### 3. 研究成果（経過）

百日咳菌は小児のみならず、近年は成人の呼吸器感染症原因菌としても知られているが、一方で本菌の病原性発現機序現については不明な点が多い。

*BipA* は百日咳菌の外膜タンパク質の1つであり、百日咳の患者血清中に *BipA* に対する抗体が検出されることから、宿主内で発現され、感染伝播などに関与しているものと考えられている。しかしながら *bipA* の機能については明らかとなっていない。そこで本研究で *BipA* の病原性発現における役割を明らかにする。

昨年度までの研究により、*BipA* の遺伝子欠損株は固相表面上へのバイオフィーム形成能が低下するものの、液相表面に形成されるバイオフィーム（ベリクル）の形成には影響せず、また、外膜ベシクルの産生量にも影響しないことを明らかにしている。2020年度はバイオフィーム中で *bipA* の mRNA 量が高発現していること、外膜ベシクルよりも菌体の表面に多く検出されることを明らかにした。以上の結果より、*BipA* は他の病原因子の様に分泌されるのではなく、菌体表面に局在することで何らかの役割を果たしている可能性が考えられた。

### 31. N アセチル化転移酵素 2 (NAT2) の遺伝子多型が及ぼす JPH203 の安全性と有効性に関する研究

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
古瀬 純司	医学部腫瘍内科学	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
吉武 益広	ジェイファーマ株式会社	代表取締役社長	共同研究責任者
榭井 章憲	ジェイファーマ株式会社	臨床開発部長	本研究で得られた記録・情報の保存
馬場 祐了	ジェイファーマ株式会社	プロジェクトマネージャー	NAT2 遺伝子多型検査解析機関の監督
日下 春樹	ジェイファーマ株式会社	プロジェクトリーダー	研究計画書の作成及び改訂 本研究のデータマネジメントに関する業務 本研究の統計解析に関する業務 被験者登録の受付 適格性の再確認 研究総括報告書の作成
花 樹代美	ジェイファーマ株式会社	研究員	既存検体の保存 NAT2 遺伝子多型検査解析機関への検体の送付

#### キーワード

N アセチル化転移酵素 2、遺伝子多型、LAT1、JPH203、抗悪性腫瘍薬

#### 研究分野

腫瘍学

#### 1. 共同研究の目的

N アセチル化転移酵素 2 (NAT2) 遺伝子多型の違いが JPH203 の人体に及ぼす安全性及び有効性を評価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、インフォームドコンセントが得られた後（原則被験者又は代諾者からの文書同意を必要とするが、困難な場合はオプトアウトによる拒否機会を設ける）、国内第 I 相試験（治験実施計画書番号：JPH203-SBEC-D-PI）で得られた検体（既存血液検体）と国内第 I 相試験で得られた安全性と有効性データを後ろ向きに解析する。JPH203 が投与された患者の NAT2 遺伝子多型の解析を通じ、NAT2 遺伝子多型の違いが JPH203 の人体に及ぼす安全性及び有効性を評価する。

#### 3. 研究成果（経過）

NAT2 は遺伝子多型により rapid, intermediate, slow と 3 つの表現型に分類される。Intermediate と slow を non-rapid タイプとして、JPH203 の安全性と有効性を解析した。JPH203 で治療された 16 人の固形がん患者のうち rapid タイプ、non-rapid タイプが 8 人ずつであった。2 人が Grade 3 の肝機能障害によって治療中止となったが、いずれの患者も rapid タイプであった。病勢制御が得られた患者は non-rapid タイプで 50%、rapid タイプで 12.5% と non-rapid タイプで有効性が高いことが示唆された。NAT2 の遺伝子多型は JPH203 の安全性と有効性を予測する因子になり得る。

### 32. 包括的腸管細菌叢解析に基づく 5-アミノサリチル酸の抗炎症作用機序の解明

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
久松 理一	医学部消化器内科学	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
三好 潤	医学部消化器内科学	学内講師	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析
和田 晴香	医学部消化器内科学	大学院生	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析
日比 紀文	北里大学北里研究所病院炎症性腸疾患先進治療センター	センター長・特任教授	SPF および無菌動物飼育・実験
小林 拓	北里大学北里研究所病院炎症性腸疾患先進治療センター	副センター長・特任准教授	SPF および無菌動物飼育・実験
竹内 修	北里大学北里研究所病院研究部	部長補佐	SPF および無菌動物飼育・実験共同研究責任者

#### キーワード

腸管細菌叢、5-アミノサリチル酸、炎症性腸疾患

#### 研究分野

消化器内科学

#### 1. 共同研究の目的

炎症性腸疾患(IBD)患者数は増加傾向にあり、安全、有効かつ経済的な治療法の開発はきわめて重要な医学的、社会的課題である。その病態はまだ解明されていないが、腸管微生物叢(microbiota)が大きな役割を果たしていると考えられている。また、5-アミノサリチル酸(5-ASA)はIBDに対する治療薬として広く用いられているが、その作用機序は明らかではない。本共同研究では、5-ASAによる腸管 microbiota の変化を解析し(目的1)、その抗炎症効果を in vivo で評価する(目的2)とともに、その作用機序を探求する(目的3)ことを目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

目的1について、5-ASAによる腸管 microbiota の変化を解析するために、SPF環境下マウスに5-ASAを経口摂取させて糞便中DNAを経時的に解析する。目的2について、5-ASAにより変化した腸管 microbiota を SPF環境下のデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘導性腸炎マウスモデルに移入することにより、治療効果を検討する。さらに、無菌マウスに5-ASAにより変化した腸管 microbiota を移入・定着させた後に、DSS感受性を評価することにより、腸炎に対する予防効果も評価する。目的3については、目的1で得られた結果をもとに有効性に関与する微生物、代謝物の同定を目指すとともに、マウスの免疫状態の変化も解析する。

#### 3. 研究成果(経過)

4週齢のSPF環境飼育マウス(野生型C57BL6)を雌雄各10匹用意し、腸管微生物叢の均一化を図るため床敷を8週齢までの4週間にわたって週2回混合した。8週齢に至ったマウスを雌雄それぞれ2群に分け、5-ASA投与群、無投与群(NT群)とした。5-ASA投与群には、粉状通常餌に5-ASAを0.4%(重量)を加えた。NT群では、粉状通常餌のみを与えた。4週間の観

察期間において、毎週、各マウスの体重測定を含む健康状態の確認および糞便回収を行った。観察期間内で5-ASA群に特記すべき有害事象は認められなかった。観察終了時点で全てのマウスを解剖し、組織試料を採取した。全てのマウスの観察期間0週(5-ASA投与開始時)、2週および4週の糞便検体について、DNA抽出を行い、16S rRNA gene amplicon sequencingを行った。雌マウスでは0週時点での腸内細菌叢が均一化されており、5-ASA投与により腸内細菌構成が経時的に変化することが明らかとなった。5-ASA群とNT群の雌マウスの4週時点の糞便を、性別が一致するデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)腸炎モデルマウスに投与したところ、5-ASA群では腸炎が優位に改善傾向を示した。このことは、5-ASAにより変化した腸内細菌叢が抗炎症効果を有することを示唆すると考えられた。

### 33. 真皮毛根鞘細胞の機能評価法の開発に関する研究

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大山 学	医学部皮膚科学	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
尾郷正志	資生堂 FS イノベーションセンター再生医療開発室	室長	共同研究の進捗管理
高木雅哉	資生堂 FS イノベーションセンター再生医療開発室	室員	毛成長評価技術の検証
岸本治郎	資生堂 FS イノベーションセンター再生医療開発室	主幹研究員	毛成長評価技術の検証

#### キーワード

再生医学・真皮毛根鞘細胞・分化誘導・毛成長・計測技術

#### 研究分野

再生医学・皮膚科学

#### 1. 共同研究の目的

毛誘導能を有する真皮毛根鞘細胞(DSCC)は脱毛症の罹患部への注入により症状の改善が期待されるため再生医療で注目されている。本研究の目的は、再生治療における本細胞の機能評価法の確立を目的とする。具体的には実際に DSCC を用いた臨床研究が実施された際にその移植効果を評価する技術を確認するとともに、DSCC から毛乳頭細胞への分化誘導能を *in vitro* で評価する系の確立も試みる。

#### 2. 共同研究の内容・計画

毛成長評価技術に関しては共同研究者が開発中の臨床的な脱毛症状の改善評価法や顕微鏡的な毛密度の解析技術に関して、研究代表者が臨床医学の見地からその有用性、実現可能性、改善法などにつきアドバイスをを行う。DSCC から毛乳頭細胞への分化を評価する方法については共同研究者から提供を受けた毛乳頭細胞を皮膚科学教室にて培養し、毛包発生関連シグナル活性化因子を種々の濃度・組合せで添加し、毛包発生関連マーカー (WNT、SHH、NOG など) の発強度が高まる条件を共同研究者にフィードバックする。共同研究者は DSCC をその条件で培養し、毛乳頭細胞のバイオマーカーの発現を評価し機能評価に活用する。

#### 3. 研究成果(経過)

本研究では、発毛促進作用から再生医療への応用が注目されている真皮毛根鞘細胞(DSCC)の臨床・基礎両面における機能評価法の確立を目的としている。2020年度は、実際に DSCC を用いた毛髪再生治療が行われた際の臨床における有効性評価技術の確立、移植前の DSCC 培養時の *in vitro* での機能評価法の基盤技術の開発を行った。前者として DSCC 移植治療効果の簡易かつ定量的評価法として、毛髪カット不要の毛髪量測定方法を開発した。ヒト試験の頭皮拡大写真を二値化解析することにより、毛髪量と高い相関性 ( $R^2=0.93$ ) を示す測定方法を確立した。(2020年12月の毛髪科学研究会にて共同発表済み)

また DSCC 細胞から DPC への分化誘導を検討するため、我々の開発した DPC 分化誘導培地で DSCC を培養したところ、DSCC における DPC マーカー群の遺伝子発現が亢進し、DP 細胞への分化傾向が示された。さらに探索的臨床研究で用いた DSCC の DPC への分化能と治療効果の相関性を検証したが、今回の解析ではその相関性は明確ではなかった。

### 34. 自己免疫疾患における眼表面の血管異常の病態解明と新規治療法の開発

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
林 勇海	医学部眼科学	助教（任期）	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小川 葉子	慶應義塾大学医学部眼科学	特任准教授	臨床研究や実験手法などの指導 後方支援
平形 明人	医学部眼科学	教授	臨床上の指導
慶野 博	医学部眼科学	准教授	臨床上の指導

#### キーワード

移植片対宿主病、自己免疫疾患、眼表面血管異常、生体顕微鏡、エクソソーム

#### 研究分野

眼科学、免疫学

#### 1. 共同研究の目的

自己免疫疾患および造血幹細胞移植後の移植片対宿主病(GVHD)におけるドライアイやマイボーム腺機能不全といった眼表面障害をきたす症例で眼瞼の血管走行異常を伴う場合が高頻度に認められることに注目した。本研究では、眼表面の血管病変という観点から臨床と基礎の両面にアプローチし、病態の解明と新規治療法の開発に繋げることを目的とする。

申請者は現在杏林アイセンターにて主に眼炎症を中心に臨床を行っており、将来的には免疫学の観点から本研究を眼炎症のテーマに広げ基礎と臨床の橋渡しを行い医学の発展に貢献する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

臨床研究では、GVHD 症例およびその他の自己免疫疾患におけるドライアイの重症度の評価を慶應ドライアイ外来にて行う。症例の血清あるいは涙液中のエクソソームの濃度解析を慶應大学にて行い、臨床データとの相関性などの解析を杏林大学と慶應大学にて共同で行い、論文投稿を行う。

基礎研究では、自己免疫疾患病態を示すマウス GVHD モデルの作成と検体採取を慶應大学にて行い、眼瞼を中心に、涙腺、結膜での血管病的変化の解明、および血管内皮細胞前駆細胞であるファイブロサイトの細胞源、血管内皮細胞と免疫担当細胞との相互作用とエクソソームとの関連分泌因子の解明を行う。データ解析および自己免疫疾患に関する病態解明を杏林大学と慶應大学にて共同で行い、主に病態に関連する現在、様々な疾患の病態に関連するとされ注目されているエクソソーム関連分子に注目し病態に基づいた新規治療法の開発につなげる。

#### 3. 研究成果（経過）

慶應義塾大学では主に基礎研究を中心とした活動を実施したが、新型コロナウイルス感染拡大の影響により研究活動に制限が生じ、進捗は遅れている。慢性移植片対宿主病(以下 cGVHD : chronic graft-versus-host disease)モデルマウスおよびコントロールにおける涙腺の培養上清を用いて専用キットによるエクソソームの抽出を施行、その濃度およびサイズの解析結果を比較検討した。cGVHD モデルマウスの培養上清でサイズが若干大きい結果が得られたが、両検体とも濃度が薄く測定下限値に近い値となっており、培養上清でエクソソームに関する研究を行う場合は抽出前に濃縮操作を行うなどの工夫が必要と考えられた。同研究に関連して cGVHD モデルマウスにおける血管やマイボーム腺の病理組織学的検討を行った実験の結果について、ZOOM 会議を利用して研究チーム間で discussion し、論文投稿の準備を進めている。

杏林大学では平形教授、慶野准教授の指導のもと臨床上の知見を広めた。上記実験成果についても今後情報共有し、データ解析および自己免疫疾患に関する病態解明を共同で行う予定である。



### 35. 胆管プラスチックステントのドレナージ効率の検証と新形状の模索

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
土岐真朗	医学部消化器内科学	学内講師	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
久松理一	医学部消化器内科学	教授	研究指導
嶋田真也	ゼオンメディカル(株) 営業統括部	社員	実験遂行の調整と立案。ゼオンメディカルと日本ゼオン、杏林大学医学部の調整
品川裕希	日本ゼオン(株) 総合開発センター メディカル研究所	研究員	実験内容の立案と実行

#### キーワード

胆管、プラスチックステント、ドレナージ効率、開存期間、ステント形状

#### 研究分野

胆道

#### 1. 共同研究の目的

近年、悪性胆道狭窄症例の増加に伴い、胆管プラスチックステントを使用する頻度は増加傾向にある。内視鏡的胆道ドレナージに使用する胆管プラスチックステント(以下PS)は、様々なニーズにより製造メーカー各社から様々な形状が発売されているものの、ドレナージ効率等の明確な検証に基づいた使い分けがされていない現状がある。金属ステントと比較して十分な開存期間が得られているとはいえないものの、高価であり、開存期間の長い安価なプラスチックステントを開発することは、患者の負担を軽減し、医療費削減にも寄与すると考えられる。

#### 2. 共同研究の内容・計画

<検討1>ドレナージ効率の高いPSの形状の法則性を模索する(机上実験)、<検討2>胆道閉塞部位によるPSの形状によるドレナージ効率の検証(机上実験)、<検討3>新形状のPSの試作品を作成し短期、長期ドレナージ効率の検証(机上実験)、<検討4>製品化に向けてPSの素材、コーティングの検討(机上実験)。日本ゼオン総合開発センターメディカル研究所にて行う。机上実験では模擬胆汁(成分:胆汁酸5%、オレイン酸5%、エコーガム/ケトロール0.5%、温度約40℃に調整)、プラスチックステント(素材:ペバックス、径:7.5Fr、ステント長:10cm)を用いて行う。ストレートかpig tailタイプ、側孔の場所、個数、形状による違いを検証し、ドレナージ効率のより良いステントの形状、側孔について検証する。

#### 3. 研究成果(経過)

<検討1>ドレナージ効率の高いPSの形状の法則性を模索する(机上実験):机上実験済み  
日本ゼオン総合開発センターメディカル研究所にて行い、形状による違いを検証した。ドレナージ効率のより良いステントの形状、側孔についてサンプルを作成した。  
<検討2>胆道閉塞部位によるPSの形状によるドレナージ効率の検証(机上実験)  
検討1で作成したサンプルを使用して、中下部胆管、肝門部胆管の模擬閉塞を仮定してステントの形状、側孔の位置の改良を加え、試作品を作成した。  
<検討3>新形状のPSの試作品を作成し短期、長期ドレナージ効率の検証(机上実験)  
試作品による短期ドレナージ効率を既存のPSの形状と比較し、有意差をもって効率が良いことを証明できた。

<検討 4>製品化に向けて PS の素材、コーティングの検討（机上実験）。  
現在検討 4 施行の準備中である

### 36. ヒト汗腺オルガノイドの開発に関する研究

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大山 学	医学部皮膚科学	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
相馬 勤	資生堂アドバンストリサーチセンター	マネージャー	ヒト汗腺の分離・培養、オルガノイド作成技術の開発

#### キーワード

再生医学・汗腺・培養・オルガノイド・機能解析

#### 研究分野

再生医学・皮膚科学

#### 1. 共同研究の目的

ヒト汗腺は発汗による体温調節・皮膚保湿を担う皮膚付属器である。一方、多汗も日常生活を制限しうる。しかし、汗腺、特にヒト汗腺の機能解析は適した *in vitro* モデルがなく大きく立ち遅れている。そこで本研究では、共同でヒト皮膚組織から汗腺を分離し、培養する技術を確立するとともに、培養細胞を用いてオルガノイドを作成し、本学では発汗異常の病態解明・治療法の開発、共同研究施設では制汗のための技術開発を行うことを目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

両施設で並行し、情報を共有しつつ、ヒト皮膚より実体顕微鏡下でのマイクロダイセクションと、コラゲナーゼ、ディスパーゼなどの酵素処理を併用し効率的な汗腺の分離方法を確立する。次いで細胞外基質のコーティング処理などした培養ディッシュでの培養により初代培養細胞を樹立・継代培養法の確立を試みる。得た細胞をコラーゲンゲルに封入することでオルガノイドの作成法を確立する。本学ではオルガノイドに副腎皮質ステロイドを作用させ分泌能に与える影響などを評価し特発性無汗症に対するステロイドパルス療法機序の解明などに役立てる。両施設ともヒト皮膚の利用に関する倫理申請は既に取得済である。

#### 3. 研究成果（経過）

本研究では、ヒト皮膚組織から汗腺を分離し、培養する技術を確立し、さらに培養細胞を用いてヒト汗腺オルガノイドを作成することを目的としている。昨年度はヒト皮膚からの汗腺の分離と、分離した組織からの初代培養の確立を試み比較的安定した樹立が可能となった。今年度は継代培養法の確立を試みた。継代先の条件として、様々な培地に加えてコラーゲンコーティングしたディッシュやフィーダー細胞を使用の有無などを検討した。その結果、フィーダー細胞を使用し、特殊培地を調整することにより数代の安定した継代が可能となった。また、初代細胞と継代細胞との間で汗腺特異的特性が維持されているか否かについて検討した。現在の培養条件では継代にて汗腺特異的な遺伝子発現は低下傾向があり、さらなる培養条件の工夫が必要であることが明らかとなった。今後、皮膚付属器発生に関与するシグナル活性化因子の培地への添加の必要性などが示唆された。

### 37. 卵巣癌診断のための新たなコンビネーションアッセイの確立

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
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	役割分担
三上 幹男	東海大学産婦人科	教授	研究の総括

#### キーワード

卵巣癌、早期診断、バイオマーカー、コンビネーションアッセイ
-------------------------------

#### 研究分野

婦人科腫瘍学
--------

#### 1. 共同研究の目的

卵巣癌の血清診断としては CA125 が汎用されているが、CA125 は偽陽性が多いという欠点がある。また早期発見につながるマーカーはない。これらを克服するために卵巣癌診断の新たなコンビネーションアッセイを確立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、我々が既に候補として選別した新たなバイオマーカーの候補と、東海大学において検討中の卵巣癌の新たな診断法において、その両者の併用による有用性を検討するため、当院で得られた血液検体を東海大学でも解析を行い、コンビネーションアッセイとしての有用性を検討する

#### 3. 研究成果（経過）

現在、当院からの検体を含めて解析を行っているところである。

### 38. Heads up 手術でのHDRのタイミングの人工知能による検討

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
井上 真	医学部眼科学	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
田淵仁志	ツカザキ病院眼科	主任部長	データ総括

#### キーワード

ヘッズアップ手術、硝子体手術、high dynamic range,人工知能

#### 研究分野

網膜

#### 1. 共同研究の目的

手術顕微鏡を覗かずに手術顕微鏡に掲載されたビデオカメラと 3D モニターを観察しながら手術を行う heads-up 手術が眼科手術でも始まっている。眼内を照明する光量は網膜障害を予防するため限られており、カメラから映し出された像を有効に HDR (high dynamic range) 技術が用いられている。実際にモニターで観察中に場面によって画面が明るくなったり暗くなったりしているが、独自のアルゴリズムで使用されるため HDR をどのようにうまく活用するかについての検討はなされていない。人工知能 (AI) による判定を用いてどのような場面で HDR が活用され、また最適に HDR を使用するのに良いかを検討する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

当院で施行された heads-up 手術で行った硝子体手術の手術ビデオを、個人情報を抹消した後にツカザキ病院へ送付する。ビデオから HDR がオンになったときと off になった時を人工知能に学習させ、どのような場面で HDR の切り替えが行われるか、HDR を off にしないように手術を行うにはどのようにしたらよいかを検討する。

#### 3. 研究成果 (経過)

当院で施行された heads-up 手術で行った硝子体手術の手術ビデオを、個人情報を抹消した後にツカザキ病院へ送付した。ビデオから HDR がオンになったときと off になった時を人工知能に学習させ、どのような場面で HDR の切り替えが行われるか、HDR を off にしないように手術を行うにはどのようにしたらよいかを検討した。検討を行ったが有意な結果が得られず研究を終了した。

### 39. 網膜細動脈瘤破裂に伴う網膜下出血の臨床共同研究

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
井上 真	医学部眼科学	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
森實祐基	岡山大学眼科	准教授	データ分析、総括
土居真一郎	岡山大学眼科	助教	データ収集、分析
齋藤翔子	医学部付属病院眼科	専攻医	データ収集

#### キーワード

黄斑下出血、網膜下出血、網膜細動脈瘤、硝子体手術、組織プラスミノゲンアクチベーター

#### 研究分野

網膜

#### 1. 共同研究の目的

網膜細動脈破裂に合併して網膜下出血を生じることがある。黄斑部に出血がかかった場合には視力低下を伴い硝子体手術が必要になる。内境界膜下出血のみであれば術後の視力予後は良好であるが網膜内出血や網膜下出血を伴う場合には予後不良になると報告されている。しかしこれらの出血の所在が術前所見ではわかりにくいことが多い。そこで岡山大学を含めた多施設共同研究で多数例の検討を行い、術前の検査所見から出血の所在や術後の予後が推測できるか検討する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

網膜細動脈破裂に合併して網膜下出血を発症し硝子体手術もしくは硝子体内ガス注入を行った症例で術前の光干渉断層計 (Spectralis, Heidelberg もしくは Triton, Topcon) の所見と術中の出血の所見、もしくは術後の光干渉断層計の所見を比較して治療後の最終視力を推測する因子を検討する。

#### 3. 研究成果 (経過)

網膜細動脈破裂に合併して網膜下出血を発症し硝子体手術もしくは硝子体内ガス注入を行った症例で術前の光干渉断層計 (Spectralis, Heidelberg もしくは Triton, Topcon) の所見と術中の出血の所見、もしくは術後の光干渉断層計の所見を比較して治療後の最終視力を推測する因子を検討した。網膜内出血を伴った症例の視力予後が不良で 2020 年 11 月の日本網膜硝子体学会で共同研究者が発表した。

#### 40. 新規プロバイオティクス候補細菌の培養法の検討

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大崎 敬子	医学部感染症学	准教授	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
島田 和典	マイクロバイオータ	取締役	総括細菌の同定
蔵田 訓	保健学部	准教授	細菌培養

##### キーワード

プロバイオティクス、アッカーマンシア、フェカリバクテリウム
-------------------------------

##### 研究分野

細菌学
-----

#### 1. 共同研究の目的

腸内常在細菌叢はヒトの健康の維持に密接に関わることが近年の研究から明らかとなっている。一方、抗菌薬の使用や、生活環境の変化、加齢により変動することが知られている。地域ごとにそこで生活するヒトの腸内細菌叢構成にある程度の共通性は示されているものの、個人間で比較した場合にはその構成に明らかな違いが存在している。本研究では腸内常在細菌叢が攪乱された際にその修復を速やかに促す機能を有する、個々のヒトの腸内細菌叢に合わせた、いわゆるテーラーメイド型プロバイオティクスの実用化へ向けて、その方法を検討する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

1. フェカリバクテリウム属細菌、アッカーマンシア属細菌の、ヒト糞便からの最適な分離培養方法について検討する。培養後の菌種同定は、16SrRNA 遺伝子のシーケンスによって行う。
2. 上記細菌が高い生存率を維持できる長期保存方法について検討する。
3. 上記細菌のプロバイオティクスとしての使用に向けた、効率の高い大量培養法について検討を行う。

#### 3. 研究成果（経過）

1. ヒト糞便からのビフィドバクテリウム属細菌の最適な分離培養方法について検討した。分離培養は既存の TOS プロピオン酸培地で効率よく分離することに成功した。乳酸菌 *Lactobacillus* 属菌の分離培養法について検討した。
2. フェカリバクテリウム属細菌のヒト糞便からの最適な分離培養方法について標準菌株を購入して検討している

#### 41. 原発性上皮性卵巣癌における DNA ミスマッチ修復異常の検討

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
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	役割分担
渡部 洋	東北医科薬科大学 産婦人科	教授	研究の計画・総括
柴原 純二	医学部病理学	教授	検体の準備・提供

##### キーワード

上皮性卵巣癌、DNA ミスマッチ修復異常、抗 PD-1 抗体薬、個別化癌治療

##### 研究分野

婦人科腫瘍学

#### 1. 共同研究の目的

卵巣癌の新たな治療戦略を確立するため、DNA ミスマッチ修復 (MMR) 機能異常を有する卵巣癌に対する有効な化学療法の適用による患者長期予後改善、および MMR 関連遺伝子情報に基づく将来的な化学療法の個別化を目的とする

#### 2. 共同研究の内容・計画

原発性上皮性卵巣癌 200 例の手術摘出組織を対象として、現在 MSI の判定に用いられているベセスダパネルに採用されるマイクロサテライトマーカーを用いて、正常組織との比較からの MSI の解析を行う。なお MSI-H および EMAST と判定された症例では、免疫組織染色による hMLH1, hMSH2, MSH6, PMS2 および MSH3 蛋白の組織内発現を検討し、卵巣癌における MMR 機能異常の頻度および初回化学療法の有効性との関連性について検討を行う。

#### 3. 研究成果 (経過)

現在、当院からの検体を含め解析を行っているところである。



#### 42. 炎症性腸疾患における便中カルプロテクチン、便中ヘモグロビンの有用性

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
久松 理一	医学部消化器内科学	教授	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
松山 直人	アルフレッサファーマ株式会社 診断薬研究開発部	部長	企業側責任者 便検査試薬提供 便検査測定機器貸与
相澤 菜穂	アルフレッサファーマ株式会社 診断薬研究開発部	専任部長	研究計画の策定 臨床事項問い合わせ 便検査試薬提供 便検査測定機器貸与

##### キーワード

炎症性腸疾患, 便中カルプロテクチン, 便中ヘモグロビン

##### 研究分野

臨床研究

#### 1. 共同研究の目的

アルフレッサファーマ株式会社は金コロイド凝集法を用いて、従来の免疫学的便潜血（便中ヘモグロビン）検査の測定原理、測定機器、採便容器を応用し便中カルプロテクチン測定試薬を開発した。便中カルプロテクチン及び便中ヘモグロビンを同時測定することにより、炎症性腸疾患の活動性評価、治療効果判定や再燃予測に有用であることを示すエビデンスを本邦で構築することを目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

金コロイド凝集法便中カルプロテクチン測定試薬、便中ヘモグロビン測定試薬を用いて、炎症性腸疾患の治療効果予測ならびに再燃予測のバイオマーカーとしての便中カルプロテクチン、便中ヘモグロビンの有用性について単施設における前向き観察研究を行う。研究期間は3年間とする。

#### 3. 研究成果（経過）

金コロイド凝集法便中カルプロテクチン測定試薬、便中ヘモグロビン測定試薬を用いて、炎症性腸疾患の治療効果予測ならびに再燃予測のバイオマーカーとしての便中カルプロテクチン、便中ヘモグロビンの有用性について単施設における前向き観察研究を行う。

現在、目標症例数の潰瘍性大腸炎 450 名、クローン病 180 名、腸管ペーチェット病 10 名に対し、それぞれ 102 名、26 名、3 名の症例が登録されている。登録の遅れが見られており、目下登録を推進している状況である。

#### 43. 膵癌におけるエピゲノムの不均一性と可塑性

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
林 玲匡	医学部病理学	講師	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
Christine A. Iacobuzio-Donahue	メモリアル・スロンケタリングがんセンター	膵癌研究センター	膵癌のクローン進展解析およびメチル化解析

##### キーワード

膵癌、クローン進展、DNA メチル化
--------------------

##### 研究分野

膵癌、橋渡し研究
----------

#### 1. 共同研究の目的

本研究では、時間的・空間的に不均一な膵癌サンプルを用いてゲノム・エピゲノムの網羅的解析を行うことで、膵癌における DNA メチル化を主とするエピゲノムプロファイルの不均一性を明らかにし、クローン進展を背景としたその可塑性を探索する。本研究は、①メモリアル・スロンケタリングがんセンター（米国）、②杏林大学の2つの研究機関で解析を行い、結果を統合する予定である。なお、原データからの解析は、各々の機関で行われ、各機関の解析結果に基づく仮説を、相互に補完、検証する予定である。なお、メモリアル・スロンケタリングがんセンターには、令和2年3月まで3年間申請者が留学しており、継続的かつ緊密な連携が可能である。

#### 2. 共同研究の内容・計画

①メモリアル・スロンケタリングがんセンターでは、研究解剖で複数領域から採取された凍結組織検体を用いて（8症例 50サンプル）、網羅的な体細胞変異解析（全エクソン解析、全ゲノム解析）と DNA メチル化解析（EPIC-seq）を行う予定である。体細胞変異解析からクローン進展モデル解析を行い、腫瘍内における DNA メチル化プロファイルの不均一性のみならず、クローン進展におけるその可塑性を探索する。

②杏林大学では、主として外科手術材料のホルマリン固定パラフィン包埋組織検体（FFPE 検体）を用いて、形態学的に不均一で偏在傾向のある膵癌症例を用いて、各々の形態像を示す領域の DNA メチル化プロファイルを解析する（8症例 40サンプル）。これにより、膵癌における組織形態像とエピゲノムの不均一性と偏在性を探索する。

なお、上述の通り、メモリアル・スロンケタリングがんセンターと原データのやり取りは行わない。

#### 3. 研究成果（経過）

最近5年以内に杏林大学医学部附属病院で実施された膵癌の外科手術材料の標本を全てレビューした。その後、形態学的に多彩な6症例を選び、90サンプルより DNA を抽出した。抽出された DNA は全て、マクロジェン社に提出し、現在 Quality Check 中である。今後は、Quality Check をパスした症例、サンプルについて、網羅的 DNA メチル化解析を予定している。

メモリアル・スロンケタリングがんセンターで網羅的 DNA メチル化解析をされた膵癌症例、サンプルについては、シーケンス後の一次解析が終了、現在二次解析中である。今年度中には、杏林大学、メモリアル・スロンケタリングがんセンターとも DNA の網羅的メチル化解析が二次解析まで終了する予定であり、可能ならば今年度中にデータの相互検証を目指している。

② 保健学部

#### 44. キチンに対する生体応答機構の解明

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
新江 賢	臨床検査技術学科	講師	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
中江 進	東大医科学研究所	准教授	遺伝子改変マウスの作製・提供
松本 健治	成育医療研究センター	研究部長	実験機器等の研究支援

##### キーワード

キチン、アレルギー、キチナーゼ様タンパク質

##### 研究分野

免疫・アレルギー

#### 1. 共同研究の目的

申請者は、ダニ外殻の主要な構成成分であるキチンが、新規のダニアレルギー誘発物質であることを明らかにしている。さらに、キチナーゼ様タンパク質 Chill が、キチンによる免疫細胞の活性化に関与することを明らかにしており、キチンによるダニアレルギーの誘発に関与している可能性がある。そこで、本申請では、新規のダニアレルギー発症機構の解明を目的として、Chill1 を中心とするキチンシグナル伝達機構の解明を目指す。

#### 2. 共同研究の内容・計画

Chill1 を中心とするキチンシグナルの伝達経路を解明するため、以下の検討を実施する。

##### 1) Chill1 産生細胞の道程

Chill1 は、マウスの肺胞洗浄液中に一定量存在するが、その産生機構は不明である。そこで、肺組織細胞中の Chill1 産生・分泌細胞を FACS にて同定する。

##### 2) キチン/Chill1 複合体に対する細胞膜型受容体の探索

His 標識リコンビナント Chill1 と、抗 His マグネットビーズを用いて、肺組織の溶解液からキチン/Chill1 複合体に結合する分子を同定する。

#### 3. 研究成果（経過）

ダニの外殻を構成する多糖類「キチン」による、自然免疫応答を介した気道炎症の誘発機構について検討した。その結果、キチンは、その容量だけでなく粒子の大きさ（ $\sim 100 \mu\text{m}$ ）に依存して、キチン吸入マウスに好中球と好酸球の浸潤を主徴とする気道炎症を誘発することが明らかとなった。また、各種サイトカイン遺伝子欠損マウスを用いた検討により、キチン吸入による好酸球浸潤には、上皮細胞に由来するサイトカインの内 Thymic stromal lymphopoietin(TSLP)および IL-33 は主に肺胞上皮細胞から産生されることが明らかとなった。一方で、キチン吸入による好酸球浸潤に関与する免疫細胞として 2 型自然リンパ球を明らかにしており、TSLP および IL-33 により活性化された自然リンパ球から産生された IL-5 が好酸球浸潤の誘導に必須であることが明らかとなった。

#### 45. MRI の形態・機能情報取得機能に基づく心臓を中心とした全身の高速・高精細撮像法の研究

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
久原重英	保健学部	教授	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
市之瀬 伸保	キャノンメディカルシステムズ(株) MRI 事業部	主幹	共同研究者 (パルスシーケンス改良等)

##### キーワード

MRI,高速撮像,高精細撮像,心臓 MRI,T1 Mapping
----------------------------------

##### 研究分野

MRI
-----

#### 1. 共同研究の目的

MRI の形態・機能等の情報取得機能を、臨床的観点及び定量的観点から最大限に生かすための、より効果的な撮像手法ならびに画像処理・解析手法に関する研究を行う。

今年度は特に、心臓 MRI 分野で注目されている心筋 T1 Mapping に関し、現在のスタンダードな手法である MOLLI(Modified Look Locker Imaging)法と提案手法である PC TI-Prep 法との精度比較、ならびに両手法に対する不整脈補正法等に関する研究を行う(継続)。

#### 2. 共同研究の内容・計画

心筋 T1 Mapping では、MOLLI 法が多く用いられているが、心拍 (RR) 変動の影響を受け易いこと、また ssfp ベースであるため T2 の影響を受ける等の報告がなされている。そこで FFE 法をベースとし RR 変動の補正を可能とした PC TI-Prep 法を提案し、両手法の精度比較を行なっている(継続)が、今年度はさらに、MOLLI 法における不整脈の影響に関し、MRI シミュレータも併用した定量的な精度評価を行うと共に、MOLLI 法に対する不整脈補正法・精度向上法についても検討する。パルスシーケンス側の改良等は、主にキャノンメディカルシステムズ(株)にて行い、得られた画像ならびに精度評価等を本学にて行う。

#### 3. 研究成果(経過)

心筋 T1 Mapping では、MOLLI(Modified Look Locker Imaging)法が多く用いられているが、心拍 (RR) 変動の影響を受け易いこと、また ssfp(Steady State Free Precession)ベースであるため T2 の影響を受ける等の報告がなされている。そこで FFE(Fast Field Echo)法をベースとし RR 変動の補正を可能とした PC TI-Prep(Polarity Corrected TI-Prep T1 Mapping)法を提案、MOLLI 法との精度比較を行なっている(継続)(\*)。今年度は、特に MOLLI 法に関し、MRI シミュレータも併用して不整脈の T1 計測精度に及ぼす影響について定量的な評価を行うと共に、その補正法に関する提案を行い、評価を行った。その成果の一部は ISMRM(International Society for Magnetic Resonance in Medicine)(パリ、フランス ⇒ web 開催に変更,8月)にて 1 件発表した。

今後、さらに MRI シミュレータを併用した定量的な精度評価を継続すると共に、より精度の高い不整脈補正法・精度向上法について検討を進める。

(\*) MRI 実機上のパルスシーケンスの改良等については主にキャノンメディカルシステムズ(株)にて行い、取得される画像の画質ならびに精度の評価等を本学にて行っている

#### 46. 機械学習を用いた MRI の撮像時間短縮技術に関する研究

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
久原重英	保健学部	教授	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
竹内 純一	九州大学 システム情報科学研究院	教授	共同研究者(機械学習/圧縮センシング技術)
川喜田 雅則	名古屋大学 情報学研究科	協力研究員	共同研究者(機械学習技術)

##### キーワード

MRI,高速撮像,機械学習,圧縮センシング,画像再構成

##### 研究分野

MRI

#### 1. 共同研究の目的

MRI (磁気共鳴映像装置) は放射線の被曝が無く、軟部組織の描出能に優れる等の特徴があるが、検査時間が長いことが問題であり、さらなる撮像時間の短縮化が求められている。撮像時間の短縮技術の一つとして、圧縮センシング技術の適用が試みられているが、基本的に繰り返し演算を用いるため再構成時間が長く、臨床適用は始まっているが、必要な画質を満たした上での撮像時間の短縮化にはまだ課題が残る。本研究の目的は、この問題点を解決するための新しいデータ収集・再構成手法を提案する事にある。

#### 2. 共同研究の内容・計画

一般に圧縮センシングでは、ランダムサンプリングによる収集データに対して、基本的に繰り返し演算による画像再構成を行うため再構成時間が長い。本研究では、機械学習を用いたアプローチを行う。機械学習に基づく手法は、学習に時間がかかる反面、学習後の処理は比較的短時間で可能なため、一般的な圧縮センシングに比べて再構成時間を短縮できる可能性がある。具体的には、MRI で得られた完全なデータならびに画像を正解値(教師データ)として持ちつつ、今年度は機械学習(ニューラルネットワーク)の他の構造での検討ならびに他のサンプリングパターンでの検討等を行う。機械学習に基づく再構成アルゴリズムの検討は、主に九大・システム情報科学研究院にて行い、得られた画像の評価等を本学にて行う。

#### 3. 研究成果(経過)

MRI の撮像時間短縮法の一つに、通常の画像再構成に必要なデータ数よりも少ないデータを収集する方法があるが、得られる画像は低解像度の画像、もしくはアーチファクトを含んだ画像となる。圧縮センシング法ではアーチファクトを含んだ画像から所定のアルゴリズムと繰り返し演算にて元画像を復元するが、必要な画質を満たした上での撮像・画像再構成時間の短縮化にはまだ課題が残る。本研究では、機械学習を用いた方法により撮像・画像再構成時間の短縮化を図る技術について検討を行っている(\*)。今年度は、主に頭部 MRI 画像を対象とし、高速化によって得られる低解像度画像データから、機械学習を用いて元画像を復元すると共に、画質以外の復元精度評価法も用いた研究開発を行い、その効果を確認すると共に、ESMRMB(European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology)(バルセロナ、スペイン ⇒ web 開催に変更、10 月)にて連名にて 1 件発表した。今後は、MRI シミュレータも併用し、引き続き機械学習(ニューラルネットワーク)の他の構造での検討、ならびに MRI のサンプリングパターンとの関係等について検討を行う。

(\*) 機械学習に基づく再構成アルゴリズムの検討は、主に九大・システム情報科学研究院にて行い、得られた画像の評価等を本学が分担している

#### 47. 糖尿病に起因する横隔神経障害と運動単位の活動性の変化

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
村松 憲	理学療法学科	准教授	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
生友 聖子	東京医療学院大学	助教	Single motor unit potential の解析
丹羽 正利	作業療法学科	教授	Single motor unit potential の解析

##### キーワード

糖尿病、横隔神経、運動耐用能

##### 研究分野

総合領域

#### 1. 共同研究の目的

糖尿病患者において観察される運動耐用能低下は運動療法実施の障害となることが知られている。運動耐用能低下は筋力、代謝機能、呼吸機能などの様々な要因によって生じることが知られているが、糖尿病ではミトコンドリア機能異常に起因する筋の代謝障害が主因であると考えられてきた。しかし、最近、我々は糖尿病モデル動物の横隔神経運動ニューロンが減少することを見出し、横隔神経の損傷による運動時の換気量低下も耐用能低下の一因ではないかと考えるに至った。本共同研究では横隔膜の運動制御の基盤となる運動単位が糖尿病によってどのような影響を受けているのか明らかにすることを目的に行う。

#### 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1型糖尿病を発症したWister系ラット（糖尿病群）と健常なラット（対照群）を用いる。イソフルレン麻酔下で維持したラットの左頸部を切開し、腕神経叢から分枝する横隔神経に刺激用のカフ電極を設置する。次いで、腹部を切開し、横隔膜の筋電図を記録するための針電極を刺入する。以上の実験準備を終えたら、次に述べる3つの方法で運動単位の電気生理学的解析を行う。1) 横隔神経伝導速度の算出：横隔神経を電気刺激し、横隔膜から記録されるM波の潜時から伝導速度を算出する。2) 単一運動単位電位の記録（誘発電位）：横隔神経を最小強度で電気刺激することによって横隔膜から記録される単一運動単位電位を記録する。3) 単一運動単位電位の記録（自発発射）：横隔神経に刺入した記録電極から自発呼吸に関連して生じる筋活動電位を記録、単一運動単位電位を単離して運動単位の発火頻度とスパイク高の関係を明らかにする。以上のパラメーターを指標に、糖尿病によって横隔膜の運動単位がどのような影響を受け、また、横隔神経運動ニューロン減少をどのように補償しているのか明らかにする予定である。

#### 3. 研究成果（経過）

我々は最近、糖尿病モデルラットにおける横隔神経障害とそれに伴う単一運動単位電位の増大を報告してきた。単一運動単位電位の増大は横隔神経運動ニューロン障害に伴う、除神経と再神経支配に伴う神経支配比の増加を反映するものと思われるが、その形態学的裏付けが取れていなかった。そこで、本年度は糖尿病モデルラットの神経筋接合部（NMJ）の形態学的な変化について免疫組織化学法を用いて調べた。その結果、糖尿病ラットの横隔膜のNMJはその密度が減少し、NMJの大きさも小さくなることがわかった。また、運動神経終末では軸索側枝の発芽が認められ、先に述べた再神経支配に伴う神経支配比の増加の様子を観察できた。

#### 48. 糖尿病性皮質脊髄路障害の病態解明

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
村松 憲	理学療法学科	准教授	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
志茂 聡	健康科学大学	准教授	皮質脊髄路軸索の超微形態の解析
丹羽 正利	作業療法学科	教授	皮質脊髄路軸索の電気生理学的解析

##### キーワード

糖尿病、運動野、皮質脊髄路
---------------

##### 研究分野

総合領域
------

### 1. 共同研究の目的

最近、我々は糖尿病モデルラットの皮質脊髄路軸索の損傷とそれに伴う運動野の萎縮を発見し、末梢神経だけでなく中枢神経もまた糖尿病性神経障害の標的となることを示した (Muramatsu et al. 2018)。しかしながら、中枢神経内で生じる軸索損傷の詳細は不明であったため、電気生理学的手法を用いた単一軸索レベルでの興奮伝導と電子顕微鏡を用いた皮質脊髄路軸索の超微形態を調べることによって、糖尿病に起因して生じる皮質脊髄路軸索障害の詳細を明らかにすることを本共同研究の目的とする。

### 2. 共同研究の内容・計画

[糖尿病ラット]実験にはストレプトゾトシンの腹腔内投与によって1型糖尿病を発症した13週齢のWistarラット(STZラット)12頭とその健常対照群である同週齢のWistarラット12頭を用いる。両群の動物は10週間もしくは20週間の通常飼育期間の後に実験に使用する。[実験]ケタミン(70 mg/kg)、キシラジン(5 mg/kg)麻酔下で維持したラットの頭髄、腰髄に刺激用のタングステン微小電極を刺入する。次に大脳皮質運動野に記録用のタングステン微小電極を刺入し、脊髄の電気刺激によって逆行性に発火する単一皮質脊髄路細胞のスパイクを記録して、皮質脊髄路軸索の伝導速度などを求める。実験終了後はペントバルビタールを腹腔内投与(50 mg/kg)し、深麻酔下で脱血後、灌流固定し、脳と脊髄を摘出する。摘出した脳と脊髄から切片を作成し、電子顕微鏡を用いて皮質脊髄路軸索の超微形態を観察する。電子顕微鏡は生理学研究所のものを利用する予定である。

### 3. 研究成果(経過)

我々は最近、糖尿病ラットの大脳皮質から腰髄に投射する皮質脊髄路(CST-L)に機能障害が生じ、大脳から腰髄への運動指令の伝達障害によって運動野が萎縮することを示した(Muramatsu et al. 2018)。本年度はその伝達障害の病態解明を目指し、糖尿病ラットのCST-L軸索の伝導速度計測と超微形態を調べた。その結果、糖尿病ラットではCST-L軸索の伝導速度が減少し、特に、腰髄レベル以下のCST-L軸索遠位部の伝導速度低下が認められた。また、形態学的解析からCST-L軸索の断面積が皮質脊髄路の全長にわたって減少し、これに加えて、腰髄レベルではミエリン厚の減少、g-ratio(神経線維の直径に対する軸索径の比)の増加、脱髄が観察された。以上の結果から、大脳から腰髄への運動指令の伝達障害はCST-L軸索遠位部における軸索萎縮とミエリン異常が重複した結果であることが示唆された。



#### 49. 血液型 D 抗原の発現制御メカニズムの解明

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
三島由祐子	臨床検査技術学科	学内講師	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
池田 敏之	東京大学医学部附属病院 輸血部	助教	研究責任者

##### キーワード

RhD 抗原、発現制御メカニズム、相互作用分子

##### 研究分野

輸血

#### 1. 共同研究の目的

輸血療法において RhD 抗原（以下 D 抗原）は ABO とならぶ主要血液型抗原である。D 抗原の発現は赤血球特異的であり、D 抗原関連分子群が正常に働かなくなると赤血球は正常な形態を保てなくなる。したがって D 抗原の発現制御メカニズムを解明することは、赤血球が正常な形態や機能を保ったりするメカニズムを解明する上でもきわめて重要である。本研究は RhD 抗原の発現制御メカニズムをこれら相互作用分子とスプライシング制御機構に着目して検討、その分子間ネットワークを明らかにすることを目的として実施する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

RhD の既知の相互作用分子、候補分子について蛋白・蛋白間相互作用が具体的にどの蛋白間で起きているのか検討する。まず RhD の各アイソフォームを組み込んだ N 末端 Myc, Flag-tag 付の強制発現ベクターを作成、これと相互作用分子の全長・各機能ドメインの強制発現ベクターを 293 細胞に同時導入する。抗 Flag 抗体、抗 Myc 抗体を用いた免疫沈降で RhD 蛋白と直接相互作用するキー分子を絞り込む。得られた直接相互作用分子については D 抗原の強制発現系と赤芽球系細胞株 K562 に同時導入し、正常 D 抗原発現細胞モデルの作成を試みる。

#### 3. 研究成果（経過）

RhD 抗原の相互作用分子を検索していたが、これまでの研究で ANK1, RHAG は直接作用するキー分子ではないことがわかった。次の候補として球状赤血球症原因遺伝子として知られる spectrinA, spectrinB, band3 を選択し、これらの Myc-tag, HA-tag, Flag-tag あるいは GFP-tag を付けた強制発現ベクターを作製し、RhD の Myc-tag, HA-tag, Flag-tag あるいは GFP-tag をつけた各アイソフォームと様々な組み合わせで 293 細胞への同時導入、免疫沈降を検討した。その結果 BND3 との同時導入で RhD 蛋白の発現が確認されたことから、BND3 が RhD 蛋白に直接作用するキー分子であることが示唆された。現在はこれを確認するため、内在性蛋白の発現を特異抗体で確認することを試みている。

## 50. 医用テレメータ使用環境下における院内電磁波環境の評価方法の検討

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中島章夫	臨床工学科	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
木南伸一	金沢医科大学氷見市民病院 (一般・消化器外科)	教授 (ME 部部長)	研究全体の立案
余川 絢音	金沢医科大学氷見市民病院	臨床工学技士	データ収集、及び分析、アンケート調査
鈴木 哲治	臨床工学科	助教	測定環境モデル・評価方法の確立

### キーワード

医用テレメータ、電磁波ノイズ、LED 照明器具、無線チャンネル管理、スペクトラムアナライザ

### 研究分野

医療電磁環境

#### 1. 共同研究の目的

近年、携帯電話や無線 LAN 等の普及に加え、LED 照明器具の導入により、医療機関における医用テレメータの電波利用に伴うトラブル事例が生じるケースが顕在化している。総務省や電波環境協議会によれば、医用テレメータにおける電波障害に関して多くの事例が報告されており、また無線チャンネル管理も、48.1%に留まっている(☆)。そこで、医用テレメータ使用環境下にて、院内設置の照明器具や通信機器、エネルギーを発する医療機器等から放射される電磁波を定量的に測定(電磁波干渉等の影響を調査)し、院内電磁波環境の新たな評価方法を検討することを目的とする。

(☆電波環境協議会、医療機関において安心・安全に電波を利用するための手引き、電波環境協議会、2016.p12-25.)

#### 2. 共同研究の内容・計画

本研究は、電磁波を測定するアンテナシステムと電磁波の電力・電界強度を周波数成分で計測・解析可能なスペクトラムアナライザを用いて、院内医用テレメータ使用状況下における電磁波環境の測定を定量的に行う。過去 2 年間にわたり金沢医科大学氷見市民病院院内病棟にて、使用されている医用テレメータのアンテナ方式・チャンネル範囲、CN 比等について複数病棟で調査を行い、その結果の一部を昨年度の第 94 回日本医療機器学会にて発表した。今後、これらの結果を踏まえ、医用テレメータ使用環境下において、照明器具や通信機器、他医療機器からの電磁干渉の事例について、病棟看護師、臨床工学技士を対象にアンケート調査を行う。また、アンテナシステム、スペクトラムアナライザを用いて、アンケート調査から電磁干渉が生じた病棟や、照明器具などを交換した病棟、新規に導入した高出力エネルギーを持つ医療機器の使用場所等を中心に、院内医用テレメータ使用環境下での電磁波の電力・電界強度の測定・分析を行い、電磁波環境の新たな評価方法の確立を検討する。杏林大学では、測定環境モデルの確立、データ分析、院内電磁波環境の評価方法の分析を行う。

#### 3. 研究成果(経過)

本研究は、電磁波を測定するアンテナシステムと電磁波の電力・電界強度を周波数成分で計測・解析可能なスペクトラムアナライザ(以下、スペアナ)を用いて、院内医用テレメータ使用状況下における電磁波環境の測定・解析による定量評価を目的としている。

2020 年度は、3 月に金沢医科大学氷見市民病院内で医用テレメータの電波障害が発生したこと(病院施行時の

医用テレメータ用漏洩同軸ケーブルの配線ミスにより、テレメータ信号電波が規定通りに送受信されない電磁障害が生じていること)に伴い、該当する病棟のスペアナ等を用いた電波環境の調査を行い、原因を究明し対策を立てることができた。具体的な研究成果については、第49回日本医療福祉設備学会(2020年11月11・12日、及びOn Demand配信)にて一般演題23「院内医療用テレメータ電波環境改善の試み」として発表した。また、2021年3月24日付けで日本医療機器学会の学会誌、医科器械学へ(医用テレメータ用漏洩同軸ケーブル再敷設前後における電磁波環境の定量的評価、筆頭著者:余川絢音)として論文を投稿した。

2021年度の計画としては、第96回日本医療機器学会(2021年5月27~29日、大阪)にて上記研究結果を発表し、3/24投稿論文の査読者からの対応を行うと共に、氷見市民病院内での電磁波干渉が生じた病棟や他病棟含めて、施行時の医用テレメータ用漏洩同軸ケーブルの配線を再度チェックし直すと共に、院内医用テレメータ使用環境下での電磁波の電力・電界強度の測定・分析を行い、不具合を生じさせない電磁波環境の評価方法の確立を検討する。杏林大学チームでは、引き続き測定環境モデルの確立、データ分析、院内電磁波環境の評価方法の分析を行う。

なお、2020年度はCOVID-19の影響にて、氷見市民病院への出張測定などができなかつたため、Onlineで打合せ等を行い、測定方法の指導等を行った。

## 51. 院内デイケアの活動による入院患者の日中活動係数，睡眠状態への影響

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
門馬 博	理学療法学科	講師	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
佐藤 雅晃	南多摩病院	副主任	介入研究の責任者
八並 光信	理学療法学科	教授	データ解析、研究遂行支援

### キーワード

院内デイケア，活動量，睡眠覚醒リズム
--------------------

### 研究分野

リハビリテーション
-----------

#### 1. 共同研究の目的

廃用症候群による影響は運動器，循環器，呼吸器，内分泌，代謝など多様に現れ，日常生活自立度を低下させる原因の一つである。長時間の離床と良好な日常生活動作能力とは密接に関連していると考えられている。

そこで今回，入院患者の入院生活中における活動量をアクチグラフにより計測し，院内デイケアへの参加が活動量，睡眠状態にどのように影響しているのかを検証することとした

#### 2. 共同研究の内容・計画

##### 【対象】

1. 腰椎圧迫骨折の診断にて保存的加療中の入院患者。
2. 75歳以上で院内デイケア活動への参加に同意した者。
3. 研究への参加を承諾した者。

##### 【方法】

1. 入院中の2週間においてアクチグラフを非利き手に装着する。
2. 上記により睡眠時間，日中活動量（活動指数）のデータを得て分析する。
3. 平日（院内デイケアあり）と土日祝日（院内デイケアなし）を比較する。

#### 3. 研究成果（経過）

入院患者の院内デイケアへの参加の有無により入院生活中における活動量，および睡眠状態へ与える影響を検証することとして本研究を計画した。

しかし2020年初頭より流行した新型コロナウイルス感染症の影響により，現時点においても院内デイケア再開の目途はたっていない状況である。中断前に1例のデータを計測しているが，1年以上中断している状況を踏まえ，本研究を一度中断することとした。

## 52. 超高磁場 fMRI による身体バランスの危機認知に応答する神経機構の同定

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
跡見友章	保健学部	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
菊池 吉晃	首都大学東京	教授	MRI の計測と高次脳機能解析
久原 重英	保健学部	教授	MRI の計測と解析
小林 邦典	保健学部	特任教授	MRI の計測と解析

### キーワード

fMRI・身体バランス・危機認知

### 研究分野

総合領域

#### 1. 共同研究の目的

近年社会的問題となっている高齢者の転倒恐怖感のように、身体バランス制御の破綻はヒトの高次な認知機能や行動にも影響を与える。一方で身体バランス制御と高次脳機能との関係性に関する研究は方法論的制限により少ない。申請者らは fMRI による先行研究にて、実際に不安定なバランス課題を経験した場合に、身体バランスが不安定な動画の提示によって、身体の危機認知に関する脳領域が活動することを示した (Atomi T, Kikuchi Y, 2014)。本研究では、バランス課題未経験の被験者に対して、先行研究同様の刺激動画を用いて運動イメージを行う条件で脳活動を計測し、先行研究の結果と比較する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

##### 1. 研究の概要

本研究では、身体バランスの不安定性を表す刺激動画に対して、「動作観察課題と運動イメージ課題の併用」により能動的に自己投影する条件で活動する脳領域を確認する。

##### 2. 対象者：健常な右利き成人男性 30 名

3. 課題：身体バランスの安定性に関する 2 種類の刺激動画を提示した際の脳活動を含み生理反応および主観的データを計測する。

##### 4. 計測項目：①脳活動 (fMRI)、②生理データ (心電図・呼吸)、③主観評価

##### 5. 解析：

①fMRI：解析ソフト SPM10 を用いて脳活動の解析および相関解析などを実施する。

②生理データ：呼吸リズム・心拍のパターンについて解析を実施する。

③主観的評価：各アンケート結果に対して ANOVA や多重比較などの統計解析を行う。

④脳活動と主観評価との関係：各データと脳活動との相関解析などを実施する

#### 3. 研究成果 (経過)

2020 年度は新型コロナウイルス感染症による影響で、予定していた本実験を実施することができなかったため、2019 年度に計測した予備実験のデータを用いて解析方法の検討を行った。

2021 年度の方向性：

本実験を実施する予定である。

### 53. 姿勢保持および日常的動作の安定性に関わる頭部および体幹部評価法の構築

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
跡見友章	理学療法学科	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
田中 和哉	帝京科学大学	講師	実験の計画、計測、解析、考察
藤木 聡一郎	獨協医科大学	助教	実験の計画、解析、考察
跡見 順子	東京農工大学	特任教授	実験の計画、解析、考察
清水 美穂	東京農工大学	特任准教授	実験の計画、考察
畠山 望	東京農工大学	大学院生	実験の計画、計測、解析、考察
高田 勇	東京農工大学	大学院生	実験の計画、計測、解析、考察

#### キーワード

身体バランス、動作解析、加速度センサ、動画解析

#### 研究分野

総合領域

#### 1. 共同研究の目的

近年、ロコモティブシンドローム（運動器症候群）の概念が提唱され、身体バランスや歩き方など、運動の質的側面に着目した評価系の確立が必要となっている。

人体において頭部を含めた体幹部の質量比は、身体全体における60%を占めるとされており、歩行動作や坐位での日常生活動作における効率性や安定性に大きな影響を与える。従って、姿勢・動作制御戦略における頭部・体幹部の評価は動作安定性および効率性の指標に含む必要がある。一方で、現在のバランス能力の評価系にはそれらの評価は含まれていない。

本研究は、汎用性の高い計測機器によって、立位姿勢や歩行における身体部位の偏位の質的な評価が可能となることを目的として実施する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

各種の姿勢保持および動作遂行課題を実施時の安定性について検討する。

1. 計測機器：4K ビデオカメラ 2 台・9 軸加速度センサ 5 個（センサ貼付部位：頭部・体幹部・骨盤・両足部）
2. 動画解析：動画解析ソフトを用い、矢状面および前額面における頭部・体幹部・骨盤・下肢の平面座標を算出し、空間的位置偏位を検討
3. 加速度解析：頭部・胸郭・骨盤に生じる 3 軸加速度・3 軸角加速度変化を算出
4. 評価：課題実施時の各体節における垂直性および加速度・角加速度変化を検討する。

なお、本申請研究は杏林大学倫理審査委員会の承認を得ており（2019-5）、研究を開始している。

### 3. 研究成果（経過）

2020年度は、2019年度に実施した計測データについて解析を実施した。対象は健康成人男性20名、課題は左右方向への重心移動課題として、3段階の異なるテンポを用いたステップ動作とした。テンポはBeats Per Minutes（以下BPM）にて規定し、40、80、120の各BPMとした。計測は、多機能小型センサを頭部、胸郭部、骨盤部、両下腿部に貼付し、課題遂行時において各部位に生じる3軸方向の加速度の総量を動揺量と定義し、をBluetooth接続によって記録した。また、課題遂行時におけるマーカの空間座標の移動量を光学式3次元動作解析システムにて計測した。解析区間は課題実施時の1分間として、1BPMあたりに身体各部位に生じる動揺量およびを算出した。その他、課題遂行時の床反力データを床反力計によって計測した。

本研究の結果から、異なるテンポでの左右方向への重心動揺課題においては、健康者の場合では頭部に生じる加速度を最小化する一方、質量比の高い胸部にてテンポ応答的に動作を制御している可能性が考えられた。

本研究の成果は、日本生理人類学会第81回大会（2020.10.23-25. Web.）にて発表した。



#### 54. ヨード造影剤が<sup>1</sup>H-MRS に及ぼす影響の検討

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
只野喜一	診療放射線技術学科	学内講師	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
磯辺 智範	筑波大学	教授	共同研究助言・統括
佐藤 英介	順天堂大学	講師	ファントム作成

##### キーワード

ヨード造影剤, <sup>1</sup>H-MRS, ファントム

##### 研究分野

放射線技術学

#### 1. 共同研究の目的

脳腫瘍の診断においては造影 CT を用いるが、そこに<sup>1</sup>H-MRS (Proton Magnetic Resonance Spectroscopy) を追加することで腫瘍の代謝物情報を得ることができ、より詳細な診断を行うことが可能となる。しかし、造影 CT 後の<sup>1</sup>H-MRS では腫瘍内に造影剤が残留しており、<sup>1</sup>H-MRS のスペクトルに影響を与えることが知られている。そこで本研究ではヨード造影剤の濃度によってスペクトルにどのような影響が現れるかを評価し、造影 CT と<sup>1</sup>H-MRS を連続施行する際に必要な検査インターバル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

脳を対象とした<sup>1</sup>H-MRS において代表的な代謝物である NAA (n-acetyl aspartate), Cho (choline), Cr (creatine) と濃度を変化させたヨード造影剤を含む<sup>1</sup>H-MRS ファントムを作成し、ヨード造影剤濃度によるスペクトルの変化を観察し、診断に影響を及ぼさない上限のヨード造影剤濃度を検討する。

昨年度の実験結果から、当初の想定よりも低濃度の造影剤でもスペクトルに影響を与えることが明らかとなったため、本年度は低濃度における詳細な検討を行う。

<sup>1</sup>H-MRS 取得には本学の最新型 3T MRI を用いる。

#### 3. 研究成果 (経過)

本研究では昨年度までに造影 CT で用いられるヨード造影剤が<sup>1</sup>H-MRS に及ぼす影響を明らかにした。そこで本年度は造影 MRI で用いられるガドリニウム (Gd) 造影剤の影響について検討を行った。代表的な脳内代謝物 (n-acetyl aspartate, choline, creatine) と造影剤投与後 0, 15, 30, 60, 120 分後の血中濃度となる Gd 造影剤を含んだファントムを調製し<sup>1</sup>H-MRS を取得した。その結果、各代謝物の信号強度は、Gd 濃度が 0.4 mM 以下のときに増加傾向が見られ、0.4 mM~1.2 mM では減少傾向にあった。これは、前者が Gd のピーク自体が代謝物のピークと重なるためであり、後者は Gd の持つ T2 緩和時間短縮効果によるものであると考えられる。また、TE が長いほど 0.4 mM~1.2 mM での減少傾向が強いことがわかった。これは TE が長いほど T2 緩和時間短縮効果の影響が強いためであると考えられる。そしてこの 2 つの因子は造影剤濃度と TE によってバランスが変わるため、実際の検査においては造影剤投与量、投与後経過時間、TE によって測定される代謝物濃度は複雑に変化する。以上より Gd 造影剤が存在する場合の<sup>1</sup>H-MRS は推奨されず、もし施行する場合には十分に注意する必要があると結論づけられる。

## 55. 抗悪性中皮腫抗体の作製と広範な抗腫瘍効果の解析

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
水谷奈津子	臨床検査技術学科	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
松岡周二	順天堂大学医学部免疫診断学	特任准教授	抗原（抗体標的分子）の同定
阿部雅明	順天堂大学医学部病理腫瘍学	主任研究員	抗腫瘍効果の判定

### キーワード

分子標的薬、モノクローナル抗体、抗腫瘍活性、悪性中皮腫、細胞増殖抑制

### 研究分野

病理腫瘍学

#### 1. 共同研究の目的

- 1、樹立した抗体の抗原分子の確認（証明）：免疫沈降、ガスクロマトグラフィーなどによる解析により CD10 分子との結合が示唆された JMAM-1 抗体について、CD10transfectant 細胞を作成し、抗体との結合を確認し、抗原が CD10 であることを順天堂大学のスタッフとの協業により証明する。
- 2、抗体の他の腫瘍との結合性および抗腫瘍効果の解析：抗原が CD10 であることが示唆されたので、CD10 分子を発現する悪性中皮腫以外の腫瘍に対する抗腫瘍効果を判定する。これにあたり順天堂大学保有の腫瘍細胞株も利用する。
- 3、in vivo 治療効果の解析：担癌マウスモデルを用いて順天堂大学の動物舎で行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

- 1、第1報で報告した4つの抗体(JMAM-1~4)のうち最も抗腫瘍活性の強い JMAM-1 抗体が CD10 と結合することが判明したので、CD10 transfectant 細胞を作成し、標的分子が CD10 であることを FACS 解析により証明する。また担癌マウスを用いた治療実験において、延命効果が認められたため、抗体によるがん細胞の細胞周期への影響を解析するなどして抗腫瘍活性の機序を解明する。（過去に CD10 が細胞周期に介入するという文献が存在する。）
- 2、CD10 分子を発現している悪性リンパ腫や肺癌についての抗腫瘍活性の解析も、すでに他施設にて臨床試験中の抗 CD 26 抗体との比較などを交えて行う。
- 3、抗悪性中皮腫抗体の第2報の投稿を急ぎ、今年度中の publication を必達目標とする。

#### 3. 研究成果（経過）

- 1、JMAM-1 抗体についてトランスフェクタントを用いて再度 FACS を行い、抗原分子は抗 CD10 である事を確認した。
- 2、先行して行なった担癌マウスを用いての治療実験を裏付けるためにセルサイクルアッセイを行った。Control mouse IgG に比し、JMAM-1 抗体で反応させた細胞の方が、G1 期の割合が多く見られた。
- 3、ERC-mesotherin 及び抗 CD26 抗体を用いて JMAM-1 抗体との薬剤効果の比較を行なったところ、それぞれ同様に悪性中皮腫細胞の増殖抑制効果を示していた。
- 4、有効なデータをまとめて論文執筆を行い、2020 年 12 月に MONOCLONAL ANTIBODIES IN IMMUNODIAGNOSIS AND IMMUNOTHERAPY に採択された。  
A New CD10 Antibody Inhibits the Growth of Malignant Mesothelioma. MONOCLONAL ANTIBODIES IN IMMUNODIAGNOSIS AND IMMUNOTHERAPY Volume 40, Number 1, 2021. Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10. 1089/mab.

2020. 0033

## 56. ヒトてんかん原性脳組織における酸化損傷タンパク質の網羅的探索

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
島田厚良	臨床検査技術学科	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
柿田 明美	新潟大学脳研究所	教授	ヒト内側側頭葉組織の提供
古川 絢子	鈴鹿医療科学大学	助教	酸化損傷タンパク質の検出と同定

### キーワード

てんかん、脳、酸化ストレス、プロテオミクス質量分析

### 研究分野

病理学

#### 1. 共同研究の目的

興奮毒性による神経細胞死に酸化ストレスが関与する事が知られているが、酸化ストレスがどのような機序で神経細胞死に関わるかは明らかでない。本研究では、慢性的な興奮毒性に曝されていると考えられるヒトてんかん外科切除脳組織を用いて、酸化損傷タンパク質を網羅的に検出し定量解析する。てんかん焦点において特異的に酸化傷害を受けるタンパク質を同定することによって、酸化ストレスが神経細胞死に果たす役割の解明と、てんかんの治療標的分子の探索に貢献したい。

#### 2. 共同研究の内容・計画

本研究課題は2014年度に新潟大学脳研究所が募集した「共同利用・共同研究」の「プロジェクト型研究—脳神経病理標本資源に関する共同研究」に、同研究所の柿田教授を「脳研共同研究者」とし、島田が研究代表者として採択されたことにより開始した。新潟大学に保存されている「ヒト固定標本・ヒト凍結死後脳」を利用することは採択時の審査で承認され、島田が2016年度まで在籍した愛知県医療療育総合センター倫理審査委員会においても承認された。古川助教は本課題開始当初から上記役割を担い、新潟大学のサンプルを使用して2018年度中にプロテオミクス実験は完了した。2019年度にデータ解析を完了し、論文投稿を開始したが、「accept」までには至っていない。2020年度は追加実験は行わないが、国際学術雑誌への投稿を継続し、「accept」までをめざす。

#### 3. 研究成果（経過）

難治性内側側頭葉てんかん(MTLE)の病理像にはばらつきがあり、海馬硬化の程度は Grade 0/I から Grade IV まで幅がある。海馬硬化に伴う組織内タンパク質変化を明らかにするため、プロテオミクスにより、MTLE 患者で海馬硬化 Grade IV を示した 15 例と、MTLE 患者で Grade 0/I の 13 例を比較検討した。また、酸化ストレスによる変化としてカルボニル化を受けるタンパク質を同定した。海馬 CA1 領域と、隣接する側頭葉新皮質領域からそれぞれ抽出したタンパク質を蛍光標識し二次元電気泳動を行った。領域間でタンパク質スポットの発現量を定量的に比較し、差があるスポットについて MALDI-TOF/TOF MS により同定した。その結果、Grade IV で発現量が増減するタンパク質を 16 種同定した。また、カルボニル化を受けるタンパク質を 1 種同定した。海馬硬化はニューロンの脱落と反応性アストロサイトの増加を伴うため、ニューロン関連タンパク質の減少とアストロサイト関連タンパク質の増加は単なる結果と考えられる。しかし、それでは説明できない変化として、GHPDH の減少と stathmin 1 の増加は海馬硬化を特徴づけるタンパク質発現変動であることが明らかとなった。また、CRMP2 のカルボニル化が海馬硬化における酸化ストレスを特徴づけるタンパク質変化であることが判明した。従って、これら 3 種類のタンパク質変化は、海馬硬化の病態を解明していくにあたり重要であると結論づけた。本成果は *Epilepsy Research* 168 (2020) 106502 に publish

出来たため、当共同研究課題は本年度をもって終了する。

## 57. 腫瘍形成 HPV のゲノム網羅解析による上皮内腫瘍の進展予測に関する研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大河戸光章	臨床検査技術学科	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小林 陽一	医学部産婦人科	主任教授	細胞擦過・組織生検・コルポ診
笹川 寿之	金沢医科大学	主任教授	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*	診療部長	細胞擦過・組織生検・コルポ診

### 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

ヒト乳頭腫ウイルス (HPV) ワクチン接種が滞っている状況で、子宮頸がんを減少するためには、前癌病変である子宮頸部上皮内腫瘍を早期発見し、癌進展前に治療することが重要である。現在、進展予測の指標として 8 種の HPV 型が示されている。しかし 8 種の型陽性例を経過観察してもほとんどは消退するため、新たな指標の発見が熱望されている。本研究課題の目的は、上皮内腫瘍の進展と HPV ゲノム網羅解析の関連性を調査することにより、腫瘍を形成する特定の HPV 型 (腫瘍形成 HPV) が進展に関与することを明らかにすることである。腫瘍形成 HPV と進展との関連性が明らかになることで、的確な治療が可能となり、多くの女性がもつ上皮内腫瘍に対する不安・恐怖心が払拭され、さらに子宮頸がん減少に貢献できることが期待される。

#### 2. 共同研究の内容・計画

上皮内腫瘍細胞から、HPV を検出し、次世代シーケンズを用いて網羅的に解析することで、腫瘍形成に関与する HPV を同定する。そのために擦過細胞および組織標本上から異型細胞のみをマイクロダイセクションする。サンプルは uniplex E6/E7 PCR 法を行い、電気泳動法によって HPV 型を決定し、次世代シーケンサーによるゲノム網羅解析を実施し、腫瘍形成 HPV を継続的に解析する。昨年度の成果として、Single-cell genotyping of human papillomavirus from cervical cytology specimens with simple manual microdissection (投稿予定)、Koilocytic changes are not elicited by HPV genotypes with oncogenic potential (in review)、Correlation between HPV detection profiles and cervical intraepithelial neoplasia in Japanese women (in review) の原著論文を作成済みである。

#### 3. 研究成果 (経過)

子宮頸部上皮内腫瘍において HPV のゲノム解析を実施して新たな事実は 2 点発見した。

1. 我々の開発した uniplex E6/E7 PCR assay (J Med Virol, 2018) によって、上皮内腫瘍組織から HPV を検出した結果、従来ハイリスク型 HPV と定義された遺伝子型だけでなく、多種の遺伝子型が上皮内腫瘍の形成に関与することが明らかになりました。特に高異型度の上皮内腫瘍症例において、HPV34 (ハイリスク型ではない) が検出され、新たなハイリスク型に相当すると考えられました。この研究結果は以下の論文で公表しました。Correlation between Human Papillomavirus Codetection Profiles and Cervical Intraepithelial Neoplasia in Japanese Women. Microorganisms 2020, 8(12), 1863;

<https://doi.org/10.3390/microorganisms8121863>

2.子宮頸部上皮内腫瘍において多重 HPV 感染症例を多々認められるが、剥離した子宮頸部細胞の細胞と多重 HPV 感染との関係は調査されていません。そのため我々は単純な手動顕微解剖 (MMD) 法を開発し、多重感染症例の細胞診標本から分離された単一の上皮内腫瘍細胞の HPV 感染状態を調査した。その結果、考案した MMD 法は、細胞診標本から分離された単一細胞を使用して HPV 遺伝子型を特定することに成功した。また単一の上皮内腫瘍細胞の 96.1%は、1 つの遺伝子型のみを含むことが判明しました。これによって多重感染症例の細胞診標本上の異型細胞は1つの遺伝子型による形態学的変化である可能性が高まりました。よって遺伝子検査で複数の遺伝子型が陽性となったとしても、どの遺伝子型が病変形成に関与しているのかが、細胞診検査で判明する可能性があり、腫瘍の進展予測が期待される。この研究結果は以下の論文で公表しました。

Human papillomavirus infection status of single cells isolated from cervical cytology specimens by simple manual microdissection. *J Med Virol*, 2021, <https://doi.org/10.1002/jmv.26888>

## 58. 体外循環回路接続部段差部位における血液流れに関する研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
福長一義	保健学部	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
桑名 克之	泉工医科工業(株)	部長補佐	共同研究助言・統括

### キーワード

心臓手術、体外循環、血液回路、人工心肺装置、人工心臓

### 研究分野

臨床工学

#### 1. 共同研究の目的

人工心肺などの体外循環回路の接続部(チューブとコネクタなど)にはわずかな段差が生じる。この段差により、血流が乱れ、血液適合性が低下することが指摘されているが、根本的な解決策は未だ存在しない。そこで本研究では、体外循環回路の接続部周辺の流れを、流体解析ソフトウェアや流れの可視化によって調査し、構造や流れの違いを系統的に分類、分析することで、血液適合性の観点から製品改善の可能性について検討を行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

昨年は、本研究のために新たに油膜洗い流し法を開発し、チューブ・コネクタ接続部の流れの基礎的な観察を行ってきた。今年度は、この油膜法を応用して、連続流、脈動流などの流れの違いによるチューブ・コネクタ接続部の洗い流しの比較を実施する予定である。また、コネクタ前後のチューブの屈曲状態を変化させ、段差部位の洗い流しの変化も調査する。得られた結果と段差部位の血液適合性との関係を、過去の事例などから検討し、製品改善に向けた足がかりを探っていく。

#### 3. 研究成果(経過)

体外循環回路では、血液ポンプやチューブ同士を接続するためにチューブコネクタが用いられている。構造上、接続部に生じる段差において血栓が形成されやすい。本年度は昨年度に引き続き、油膜法を用いた段差部の流れの解析を行った。油膜法は、油膜を内壁に塗り、流れによる油膜の洗い流し具合を評価する手法である。実験に適した粘性や着色となるように、油(流動パラフィン)と顔料(油煙)、添加剤(オレイン酸)を組成とした油を調合した。人工心肺用の3/8インチチューブと硬質性コネクタ(MERA)、血液ポンプを使用し、3分間の洗い流し実験を5回ずつ行った。洗い流しの評価のため、段差部を撮影した後、画像処理ソフトを用いて、付着した油膜の視認面積を算出し、実験開始時を基準とした油膜の残存率を算出した。流量6L/minにおける油膜の残存率は、コネクタ流入部段差で11.2%、流出部段差で95.7%となり、流入部は流出部よりも洗い流しが良好であることが確認できた。昨年度とは別の実験者による測定であったが、昨年度と同様の結果を得られたことから、本手法の再現性を確認できた。次年度以降は、コネクタ形状などを変更して実験を継続していく予定である。



## 59. 高脂肪摂食モデル動物を用いた腸管粘膜内血清蛋白の免疫組織化学的解析

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
丹羽正利	保健学部	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
坂本 祐太	健康科学大学	助手	形態学的構造、免疫組織化学的所見の解析
志茂 聡	健康科学大学	准教授	形態学的構造、免疫組織化学的所見の解析
村松 憲	保健学部	准教授	糖尿病による所見の解析

### キーワード

高脂肪摂食、急速凍結、腸管免疫、可溶性血清蛋白

### 研究分野

総合領域

#### 1. 共同研究の目的

一般的に生命を構成する細胞や組織の機能は、動物生体内臓器の構造に依存しており、それを標的とする形態学的アプローチは重要である。肥満や高血糖による腸管免疫機能の低下はいくつか報告されているが、腸管粘膜における可溶性血清蛋白の局在は試料作製過程の脱水や包埋により、組織切片上での詳細な解析は困難であった。本研究では、麻酔下動物の血行動態を保ったまま急速凍結する生体内凍結技法により、高脂肪摂食下での腸管粘膜における免疫グロブリン(Ig)Aなどの可溶性血清蛋白の局在を免疫組織化学的に明らかにすることで、肥満や糖尿病における腸管免疫機能低下のメカニズムを解明することである。

#### 2. 共同研究の内容・計画

動物モデルは、高脂肪食(60kcal%fat, Research Diets, inc)で16週間飼育された食事誘導性肥満・糖尿病モデルマウスと通常食(16kcal%fat, Lab Diet®)で飼育された同週齢マウスをコントロールとして用いる。麻酔下(三種混合薬;ドミツール、ミタゾラム、ベトルフェール)にて小腸を露出し、イソペンタンプロパン混合寒材(-193℃)を腸管粘膜に直接かけ、正常な血行動態下で急速凍結を行う。凍結した腸管試料は凍結置換後にパラフィン包埋する。形態学的解析では、ヘマトキシリンエオジン染色を用いて粘膜上皮、粘膜固有層、陰窩、筋層の各組織構造を比較する。免疫組織化学的解析では、腸管組織内のIgA、IgM、IgG1などの可溶性血清蛋白に対する免疫染色を行う。発色にはDAB(diaminobenzidine)反応もしくは蛍光標識抗体を用いて、陽性部位を比較する。さらに、粘膜固有層内の陽性部位の面積および陽性細胞数、粘膜上皮の染色感度や腸絨毛内の陽性細胞の分布などは統計学的手法を用いて解析する。

#### 3. 研究成果(経過)

肥満者や糖尿病患者では腸管免疫機能の低下が知られるが、従来の固定法では可溶性血清蛋白は流失するため、腸管液性免疫で機能するImmunoglobulin(Ig)Aの分布や保有細胞を組織切片上で観察することは困難であった。本研究では、生体に直接凍結寒剤をかけることで物質の移動と流失が起こればならず臓器組織の局所に可溶性血清蛋白が保存される「生体内凍結技法」を用いてIgの分布を観察し、高脂肪食摂取マウスの腸管におけるIgA、IgM、IgG1局在を免疫組織化学的に解析した。本年では、12週齢マウスの高脂肪摂食群(以下、HFD群)と通常食摂食群(以下、SCD群)のパラフィン包埋試料を作製し、20週齢マウスと比較した。体重および血糖値は、どの週齢においてもHFDが有意に高値を示した。量的解析では、高脂肪食を投与したマウスの空腸絨毛粘膜固有層においてIgA陽性細胞数を検証し、通常食を投与したマウスと比較してIgA陽性細胞数の減少や分布が

変化することが明らかとなった。この研究成果は国際紙に掲載済みである(Int J Mol Sci. 2021,22,1165)。今後の方針として、CD19 や CD22 に対する免疫染色によって、IgA 産生細胞を同定し、蛍光標識抗体を用いて陽性部位や共染色細胞を比較する。さらに、ELISA による糞便中の IgA 定量値を測定することにより、高脂肪食投与による腸管 IgA 分泌細胞の局在変化と、IgA 分泌機能の関連性について検証する。

## 60. MRI 環境下における CO2 センサモジュールの影響に関する研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
山本智朗	診療放射線技術学科	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小林 邦典	診療放射線技術学科	特任教授	実験実施
青木 利樹	日本光電工業株式会社 バイタルセンサ事業部	開発担当	ログ解析

### キーワード

MRI CO2 センサ 静磁場 アーチファクト

### 研究分野

診療放射線学

#### 1. 共同研究の目的

検査の目的で小児に鎮静剤を使用する場合など、呼吸管理として SPO2 の評価は行われているが、CO2 管理は普及していない。そこで、MRI 環境下（3TMRI 装置の静磁場中）における CO2 センサモジュールの影響はこれまで評価されていないため、長期間繰り返し静磁場下にモジュールをさらし、その影響が動作に現れるかの継続のために申請する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

①4 台の CO2 モジュールを充電したのち、3TMRI 装置の中心部に設置し、電源を投入し放電終了まで放置する。既に 3 か月後のデータ収集を終えたので、引き続き、6 か月後、1 年後、2 年後までのデータ収集のため、静磁場による影響を調査する。

②CO2 モジュールが画質に影響を与えるのかを評価するため。円柱ファントム近傍にモジュールを置き、様々なパラメータで MRI 撮像を行い、ファントムの画質評価を行う。この評価には①とは異なるモジュールを使用する。

#### 3. 研究成果（経過）

承認後の令和 1 年 10 月 1 日から 4 台の CO2 センサーモジュールを静磁場にさらし、その影響を調べるためのデータ取得を継続している。これまでは予定通りの計画で進んでおり、途中経過として分解しログを解析した結果は、曝露前と有差はない。

傾斜磁場の欠けた実験では、一部のシーケンスで信号に有意差がみられたが、この原因を追究するために新たなデータ取得する計画をしている。

引き続き静磁場での影響調査のデータ取得と、傾斜磁場をかけた場合の画像への影響再調査を 4 月以降に行う予定である。これには別のモジュールを使用する。

## 61. 世界トップレベルのバドミントン競技における試合特性の変化に関する評価

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
跡見友章	理学療法学科	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
渡邊 敏行	東京農工大学	教授	考察
飯塚 太郎	東京農工大学	大学院生	実験の計画、計測、解析、考察
跡見 順子	東京農工大学	特任教授	実験の計画、考察
清水 美穂	東京農工大学	特任准教授	解析、考察

### キーワード

バドミントン、プレー強度、試合特性

### 研究分野

総合領域

#### 1. 共同研究の目的

世界トップレベルのバドミントン競技において、近年、選手の競技レベルや用具の機能性向上により、同じルールの中でも試合の特性が変化し、試合時間が長くなるなど、選手への負荷が増加してきている。その中で、試合中における大きな障害発生が増え、競技現場において問題となっている。こうした試合特性の変化に関して、データから客観的に検証し、研究を行うことは、選手の障害予防や実際の試合に即した効果的なトレーニングの立案に向けて重要である。本研究では、世界のトップレベルのバドミントン競技における試合特性の変化について定量的に検討することを目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

2007年から2017年までの期間、世界バドミントン連盟によってスーパーシリーズという年間12大会の国際ツアー大会が設置された。本研究では、世界トップレベルにおけるバドミントン競技の試合特性の変化について、スーパーシリーズ創設年の2007年と最終年の2017年との比較を通じて評価を行う。スーパーシリーズの各試合における試合時間やスコアの記録は、世界バドミントン連盟の公式パートナーである [tournamentsoftware.com](http://tournamentsoftware.com) というウェブサイトを集約されており、本研究では、[tournamentsoftware.com](http://tournamentsoftware.com) のデータから、2007年と2017年に行われたスーパーシリーズ各12大会で行われた全試合の試合時間およびスコアを検索し、比較する。対象はスーパーシリーズ2007の男女シングルの各372試合、2017の男女シングルの各372試合とする。主たる解析項目は、試合時間、ラリー回数、総ストローク数などとして、各項目とも、大会、種目（男子シングル、女子シングル）、トーナメントのステージ（1～2回戦、準々決勝～決勝）ごとに平均値を算出し、変数として用いる。

#### 3. 研究成果（経過）

本研究では、世界トップレベルにおけるバドミントン競技の試合特性の変化について、スーパーシリーズ各12大会で行われた全試合の試合時間およびスコアを検索し、創設年の2007年と最終年の2017年との比較を通じて評価した。結果として、男子シングル、女子シングルともに、ラリー時間と休憩時間が長くなるにつれて、試合時間の延長が認められた。また女子シン

グレスでは、1秒あたりのショット数が増えたために身体的負荷がさらに高まり、ラリー時間に比例して休息時間が長くなった可能性が示唆された。この傾向は、緒戦（ラウンド1、ラウンド2）よりもベスト8（準々決勝、準決勝、決勝）で顕著であった。以上より、近年、世界のトップレベルのバドミントンの試合の特性が変化していることが確認され、エリート女子シングル選手に頻繁に見られる急性期の負傷の増加の原因である可能性が示唆された。

なお、本研究の成果は以下に報告した。

Iizuka T, Hirano K, Atomi T, Shimizu M, Atomi Y: Changes in Duration and Intensity of the World's Top-Level Badminton Matches: A Consideration of the Increased Acute Injuries among Elite Women's Singles Players. *Sports (Basel)*. 2020.

## 62. 全身性炎症による脳内炎症性環境が誘発する生体分子変化のイメージング質量分析

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
島田厚良	臨床検査技術学科	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
袴田 秀樹	東京薬科大学	教授	イメージング質量分析計の操作
小谷 明	東京薬科大学	准教授	イメージング質量分析計の操作
小原 映	杏林大学保健学部	助教	試料とする切片の作製

### キーワード

イメージング質量分析、敗血症、神経炎症、化学修飾

### 研究分野

病理学

#### 1. 共同研究の目的

新生児敗血症モデルマウスでは、全身性炎症に伴って、脳組織が炎症性微小環境に偏向する。この脳内炎症性環境は脳に器質的变化こそもたらさないが、生体分子の化学修飾を誘発して、形成期の脳にこれまで知られていない悪影響を与える可能性は高い。本研究では、敗血症に起因して脳のどの部位でどの分子がいかなる化学修飾を受けるのかを、Mass Spectrometry(MS; 質量分析)の先端技術である Mass Spectrometry imaging(MSI)を用いて網羅的にスクリーニングする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

内毒素を用いて全身性炎症を惹起した新生仔マウスから新鮮脳を摘出し、凍結切片を作製して特殊なスライドガラスに貼り付けて真空乾燥する。東京薬科大学に新たに導入された autoflex maX(Bruker 社)を用いて、Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization(MALDI)によって種々の物質をイオン化し、質量電荷比 $m/z$  値の違いでイオンの time-of-flight(TOF)が異なることを利用した MS を組織切片上で行って、組織上に存在する物質の分布を二次元的イメージング(MSI)する。この MALDI-TOF-MSI は幅広い生体分子に生じた変化を高感度に検出するため、脳のどの部位でどの分子がいかなる化学修飾を受けるのか、網羅的にスクリーニングできる。次いで、脳から標的物質を抽出し、本学の TSQ Quantum Ultra LC/MS/MS system を用いて、定量分析に進む。生体分子の化学修飾という面から、新生児敗血症に起因する脳症の解明に貢献したい。

#### 3. 研究成果(経過)

ヒトにあてはめると妊娠 30 週齢の胎児脳に相当する生後 7 日齢(P7)の C57BL/6 マウスを用いて、lipopolysaccharide (LPS ; 大腸菌由来)を 0.75 mg/kg 体重の用量で(対照群には等量の saline を)腹腔内投与し、敗血症モデルとした。腹腔内投与の 24 時間後に、新鮮凍結脳切片を作製して ITO コーティングスライドガラスにマウントした。これを東京薬科大学に搬入し、Image prep および autoflex maX (Bruker Daltonics)を用いてマトリックスを噴霧、結晶化し、マトリックス支援レーザー脱離イオン化 (Matrix-assisted laser desorption ionization ; MALDI) により切片上の分子をイオン化した。質量電荷比( $m/z$ )の違いに応じて time-of-flight (TOF)が異なることを利用した mass spectrometry (MS)を、二次元座標に imaging(MSI)した。その結果、MALDI-TOF-MSI のマトリックスとして 2,5-ジヒドロキシ安息香酸 (30 g/L) が有効で、 $m/z$  300~2000 で良好なスペクトルが得られること、100  $\mu$ m 解像度で画像化できることを確認した。さらに、Phosphatidylcholine [3 : 8 : 6](PC)に相当する  $m/z$  = 844 におけるピーク高に基づきヒートマップ表示したところ、正常成体脳と違って、新生仔の未熟脳では PC は脳に一樣に分布

することが分かってきた。この分布パターンが LPS によって如何に変化するかを明らかにすることが今後の課題である。

## 63. 微細加工技術を応用した放射線検出器の開発

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
小池貴久	保健学部	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
宇野 彰二	高エネルギー加速器研究機構 (KEK)	教授	共同研究者 (検出器設計・開発)

### キーワード

放射線検出器、MPGD、GEM、X線、 $\gamma$ 線、中性子線

### 研究分野

総合領域

#### 1. 共同研究の目的

マイクロバターンガス検出器(MPGD)の一つであるガス電子増幅装置(GEM)の開発、およびこの技術を用いた種々の放射線検出器の開発・性能評価を行う。この検出器の特徴として、放射線信号変換材料を変えることで、測定対象放射線を変えることが可能であり、用途に応じた検出感度の設定、エネルギー弁別画像の取得が可能である。特に、新しい放射線治療として脚光を浴びている中性子捕捉療法 (BNCT) に用いる加速器ベース中性子源、および、原子炉ベースの中性子源のビーム評価が可能な検出器の開発を目指す。

#### 2. 共同研究の内容・計画

GEM は、基板に多数の細孔が開けられたもので、細孔内に形成される高電場を利用してガス増幅を行い、放射線の検出を行う。多数の孔が基盤上に一様に広がっている特徴から、それぞれの孔がガス放射線検出器として働くため、既存の検出器に比べ高計数率に耐えられ、2次元的に様な性能が得られることから、放射線の2次元分布情報を得ることが可能である。本研究では昨年度より新たに開発した LTCC-GEM (低温焼結セラミックス) の評価・開発を含めた検出器に関する基本パラメーターの測定や測定器の電子回路設計を含めた検出器システムの研究・開発と新たに開発した水素分子含有の極めて少ない HTCC-GEM (高温焼結セラミックス) の評価を行う。検出器の開発は主に KEK で行い、装置の性能・特性評価等について本学の放射線機器を用いて行う。

#### 3. 研究成果 (経過)

本研究では微細加工技術を応用した放射線検出器(MPGD)の一つであるガス電子増幅装置(GEM)の開発、およびこの技術要素を用いた種々の放射線検出器の開発・性能評価、検出器基本パラメーターの最適化や、検出器信号処理電子回路設計を含めた検出器システムの研究・開発を行っている。

今年度も、コロナ禍により予定されていた実験を実施することができなかつたため、これまでの成果の途中経過をまとめ、学術誌への投稿を行った。

次年度は予定された実験を行い、研究開発を進めたい。



## 64. 高周波を用いた人工心肺装置の静脈リザーバ内貯液量連続モニタリング装置の研究開発

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中村淳史	保健学部	講師	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
桑名克之	泉工医科工業(株)	部長補佐	共同研究助言・統括
井上 将	泉工医科工業(株)	課長	医療市場情報収集
山本好宏	泉工医科工業(株)	部長	泉工医科工業(株)の統括

### キーワード

心臓手術、人工心肺装置、静脈リザーバ
--------------------

### 研究分野

臨床工学
------

#### 1. 共同研究の目的

人工心肺（CPB：cardiopulmonary bypass）を用いた心臓血管手術時の患者循環血液量は心筋保護液や輸液、患者尿量、脱血流量などで変化する。現在、CPB中の循環血液量は静脈リザーバ（VR：venous reservoir）内の血液量（貯血量）を目視で監視を行い調節が行われている。VR内貯血量は患者水分バランスの調整、血行動態把握、輸血量の決定、CPB装置の安全性や自動化に重要な項目である。しかし、貯血量を連続的に数値化・モニタリングを行う装置は実用化されていない。そこで、本研究ではVR貯血量の連続的モニタリング装置の開発を行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

2020年4月～2020年10月

VR内の液体積に対しての電気的特性より測定方法を確立し、プロトタイプの測定装置を作成する。次に、測定装置を使用してVR貯血量が実用範囲内の精度で測定が可能か評価を行う。

2020年11月～2021年3月

測定用電極の検討を行い、実用的な電極の作成を行う。

#### 3. 研究成果（経過）

2019年度の共同研究より、静脈リザーバ（VR）内の血液と非接触状態において電気的に静電容量値の変化を利用したVRレベルの連続的レベルモニタの可能性が見込まれ、測定周波数が800kHz～1MHzにおいてHct値の変化による影響が少ないことが確認された。しかし、測定に用いた電極は布電極（ニッケル銅メッキ製）のため導電性は非常に優れているが、VR内部の視認性が低下した。そこで、本年度（2020年度）は積水化成工業株式会社の協力を得て、透明導電性ゲルシート（厚さ：0.3mm）を電極として使用できるか検討した。

VRを模擬した円筒（材質：ポリカーボネート、外径：76mm、厚さ：3mm）内を生理食塩水で充填させ、①従来の布電極（ニッケル銅メッキ製）、②導電性ゲルシート、③導電性ゲルシートに電極テープ（幅：5mm）を2本追加したもの、④コンデンサ（100pF）を③に並列に接続したもので、各液面レベルにおける静電容量Cs[pF]を測定し、その傾き(pF/cm)を求めた。また、③と④の電極では牛血液(Hct30%)を充填し測定を行った。

生理食塩水を充填した場合、傾きはそれぞれ、①1.28(pF/cm)、②-0.0281(pF/cm)、③1.22(pF/cm)、④1.19(pF/cm)であった。

③、④の導電性ゲルシートでは①布電極と近い傾きが得られた。また、牛血液を充填した場合、③では 1.16(pF/cm)、④では 1.17(pF/cm)となり、生理食塩水と牛血液では測定値に大きな差はなかった。

導電性ゲルシート電極に電極テープを貼り付けた③、④では、電流が電極全体に流れるようになり Cs 値の直線的な増加が得られ、布電極（ニッケル銅メッキ製）と同等の傾きが得られた。また、透明導電性ゲルシートにより VR 内部の視認性を確保することが可能となった。

## 65. 乳腺小葉癌に対する新規抗体作製及びその解析

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
水谷奈津子	臨床検査技術学科	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
松岡周二	順天堂大学医学部免疫診断学	特任准教授	抗原分子同定
堀本義哉	順天堂大学医学部 乳腺科・病理腫瘍学併任	准教授	臨床例選択・病理組織症例判定

### キーワード

モノクローナル抗体、乳腺小葉癌、特異性、抗腫瘍活性

### 研究分野

免疫診断学

#### 1. 共同研究の目的

1. 乳腺小葉癌に対する新規診断抗体を樹立する。

免疫組織化学染色にて特異性を示す抗体がなく、E-cadherin,  $\beta$ -catenin に陰性を示すのが小葉癌であるとの現状に着目し、特異的に陽性を示す診断抗体を樹立する。可能であれば治療目的の抗体の樹立も次年度以降検討する。

2. 抗体の他の腫瘍との結合性の解析

原発不明癌の症例へも使用可能である抗体の確認目的で、FACS等を用いて検証する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

1. BALB/cマウスへの乳腺小葉癌の培養細胞の免疫・細胞融合・スクリーニングにより、抗体産生ハイブリドーマを選択し、クローニング、腹水生成、抗体精製を行う。
2. 乳癌の他の組織型培養細胞および他臓器癌の培養細胞を用いてFACSを行い結合性の有無を確認する。またすでに病理診断が終了している過去の臨床例のパラフィン切片での特異性の確認を行う。順天堂大学医学部倫理委員会承認済み（承認番号：順大医倫第2019040号）

#### 3. 研究成果（経過）

1. 乳腺小葉癌に対する新規診断抗体を樹立について

現在5抗体得られている。そのうち4つは、一般的な乳癌（乳管癌）の培養細胞であるMCF-7とFACSにて結合性を示した。1抗体についてはさらに別の乳管癌の培養細胞とFACSを行なったところ結合する細胞が見られた。従って臨床例を用いてのテスト染色までは至っていない。今年度は細胞融合をさらに2、3回行う予定である。

2、1にて最も有力な候補の抗体について他臓器由来の腫瘍性の培養細胞とのFACSを行なったところ、調べた範囲では、結合する腫瘍はなかった。原発不明癌の解析には有効であると思われる。今年度は、いくつか有効な抗体を選択して抗原解析等へと進める予定である。