

共同研究

① 医学部

1. 核内糖修飾アクチンの解析による糖尿病性腎症の病因・病態探索
2. アミノ酸シグナル阻害によるサイトカインストームの制御
3. KAT3 作用薬及び疾患治療法の開発に関する研究
4. 百日咳菌外膜ベシクルに含まれる病原因子の局在解析
5. ラット脳内に局在する Na^+/K^+ -ATPase α 鎖アイソフォームの免疫組織学的同定
6. 四量体 Na/K -ATPase 分子へのウアバインの非化学量論的結合
7. モルヒネによる侵害受容性末梢神経の興奮修飾作用
8. 糖尿病合併症新規マーカーの探索
9. ヒト唾液由来エキソソームの機能解析に関する研究
10. 近赤外光を用いたアブレーション装置の研究
11. 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
12. 大脳皮質視覚野に可塑性を促す新しい視覚機能回復法
13. 百日咳菌 BipA のバイオフィルム形成における機能の解析
14. 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
15. 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
16. 真皮毛根鞘細胞の機能評価法の開発に関する研究
17. 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
18. 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
19. 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
20. 新規プロバイオティクス候補細菌の培養法の検討
21. 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
22. 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
23. 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
24. 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
25. マウスモデルを用いた炎症性皮膚疾患の機序の解明
26. 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
27. がんゲノム医療に資する迅速な変異機能解析法の開発
28. 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
29. 膀胱がんにおけるアミノ酸トランスポーターの役割
30. 尿酸代謝異常におけるトランスポーター機能解析
31. 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
32. 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
33. 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

34. 膵癌におけるエピゲノムの不均一性と可塑性
35. ヒト iPS 細胞を用いた皮膚付属器再生～ヒト毛包立体構造の再現を中心に
36. Clostridium Butyricum の腸管感染症起因菌に対する増殖抑制効果に関する基礎的研究
37. 患者エクソソーム解析による ANCA 関連血管炎の活動性バイオマーカーの探索
38. 新規 COVID-19 ワクチンに対する組織反応の病理組織学的評価
39. マラリア原虫の抗マラリア活性化化合物に対する耐性獲得機序の解明
40. 新規抗マラリア活性化化合物の作用機序の解明

②保健学部

41. 介護保険施設入所高齢者の入退院連携システムの開発
42. 容量結合型対極板 SAS パッドマトリックスの持つ低周波カット能力の検証
43. 高脂肪食モデルマウスを用いた腸管 IgA 局在と IgA 分泌量の変化の検証
44. 糖尿病によって生じる運動野萎縮の改善に有効なリハビリテーションの開発
45. 血液型 D 抗原の相互作用分子との分子間ネットワークの解明
46. キチンに対する生体応答機構の解明
47. 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
48. 機械学習を用いた MRI の撮影時間短縮技術に関する研究
49. 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
50. 糖尿病性皮質脊髄路障害の病態解明
51. 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
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. 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
55. 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
56. 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
57. 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
58. 微細加工技術を応用した放射線検出器の開発
59. 高周波を用いた人口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
60. 乳腺小葉癌に対する新規抗体作成及びその解析
61. ICT を活用した看護実践能力育成システムの構築ーモチベーションとリフレクションの測定を通じてー
62. 人工肺閉塞アラートシステムの開発
63. MRI ディープラーニング再構成の学習データ量削減
64. 自動血球分析装置を用いた血球形態、造血、炎症の評価法の検討

① 医学部

1. 核内糖修飾アクチンの解析による糖尿病性腎症の病因・病態探索

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
池原 譲	千葉大学	教授	病理学的解析
要 伸也	医学部 腎臓・リウマチ膠原病内科学	教授	腎生検例の検索と臨床データの確認
楊 國昌	医学部小児科学	教授	糸球体足細胞の培養系を用いた解析
木内 善太郎	医学部付属病院小児科	専修医	糸球体足細胞の培養系を用いた解析

キーワード

糖尿病性腎症、細胞骨格タンパク質、糖(O-GlcNAc)修飾、ヘキササミン代謝、免疫組織化学的解析

研究分野

病態医科学

1. 共同研究の目的

我々は、これまで O-グリコシド結合 N-アセチルグルコサミン (O-GlcNAc) とよばれる糖の修飾 (O-GlcNAc 化) の変化を指標にして、糖尿病性腎症に伴いアクチンが O-GlcNAc 化すると核内へ移行する事実を見出した。核内におけるアクチン並びにアクチン関連タンパク質は核内の転写調節などの重要な役割を担っていることが報告されているが、糖修飾アクチンの核内における役割さらに糖尿病合併症との関係についての報告はこれまでにない。本研究の目的は、糖尿病合併症における糖修飾アクチンの核内での役割を解明し、糖尿病合併症の病因・病態の新たな分子機序を明らかにすることである。

2. 共同研究の内容・計画

1) 糖尿病合併症に伴う腎臓における糖修飾アクチンの局在変化の解析：糖尿病モデル動物並びにヒトにおいて糖尿病性腎症の腎臓における糖修飾アクチンの局在の変化を免疫組織化学的に調べる。2) 糖修飾アクチンの核と細胞質との間の移行の解析：アクチンへの糖修飾を増加する、あるいは阻害する条件下で腎糸球体上皮細胞を培養し、糖修飾アクチンの核—細胞質間のシャットリングを検討する。3) 糖修飾の有無によるアクチンの核内での機能の解析：糖修飾アクチン抗体あるいは非修飾アクチン抗体を培養細胞にマイクロインジェクションなどにより導入して、糖修飾の有無による転写調節への関与を解析する。4) 糖修飾アクチンと相互作用する核内タンパク質の同定：糖修飾アクチンの核内における機能を解明するため、糖修飾アクチンと相互作用する核内タンパク質の同定を行う。

3. 研究成果 (経過)

アクチンは細胞骨格成分としての機能がよく知られているのに加えて、近年、核内において転写などの調節に関与することが明らかになっている。アクチンは、リン酸化、糖修飾 (O-GlcNAc 化)、ユビキチン化、SUMO 化、アセチル化など様々な翻訳後修飾を受ける。質量分析により、アクチンの糖修飾 (O-GlcNAc 化) 部位は 6 ヶ所あり、そのうち 3 ヶ所 (Ser 52, 199, 323) はリン酸化部位と一致していることが明らかになっているが、これらの部位の糖修飾が、アクチンの機能の調節にどのように関与しているについては不明である。一方、リン酸化部位は 35 カ所あり、そのうち Tyr53 と Thr201-203 のリン酸化はアクチンフィラメ

ントの伸長の制御に関与することが明らかになっている。核および細胞質タンパク質の多くは、糖修飾（O-GlcNAc 化）を受けている。この糖修飾部位はリン酸化の部位と同一またはその近傍にあるため、この糖修飾（O-GlcNAc 化）はリン酸化を制御することにより、細胞内の重要な機能を調節している。本研究者は、これまで O-GlcNAc 化 Ser199 アクチンが細胞質だけでなく核内にも存在する事実を見出した。今年度は、糖修飾アクチンの核内における役割について調べる目的で、正常 Wistar rat と糖尿病モデル GK rat の腎臓を用いて、糖修飾アクチン抗体により核タンパク質の免疫沈降、電気泳動後、質量分析並びに Western blot を行い、糖修飾アクチンと相互作用するタンパク質の解析を試みた。

2. アミノ酸シグナル阻害によるサイトカインストームの制御

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
和田 洋一郎	東京大学	教授	NGSによる遺伝子発現解析
末弘 淳一	医学部薬理学	助教	内皮細胞培養

キーワード

アミノ酸シグナル、LAT1、サイトカインストーム

研究分野

薬理学

1. 共同研究の目的

本研究はサイトカインストームによる急性肺障害でみられる血管内皮機能不全をアミノ酸トランスポーターLAT1の阻害により制御し、その機序を解明しようとするものである。初代培養内皮細胞や急性肺障害マウスを用いてLAT1と内皮機能を繋ぐ分子機序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

上記目的を達成するために、次世代高速シーケンサー(NGS)でLAT1と内皮機能を繋ぐ分子を探索する計画である。その遂行のため、東京大学アイソトープ総合センター和田洋一郎教授の協力を得ることとした。和田教授はNGSを用いた初代培養内皮細胞の遺伝子発現解析プロジェクトに多く携わっており、特に炎症シグナルに関して経験豊富である。和田教授が有する網羅的解析技術及び炎症シグナルに関する知見を、研究代表者らが進めているアミノ酸トランスポーター研究へ応用することで、LAT1下流にある内皮機能に重要な分子を効率的に探索、同定していく。

3. 研究成果(経過)

本研究はサイトカインストームによる急性肺障害でみられる血管内皮機能不全をアミノ酸トランスポーターLAT1の阻害により制御し、その機序を解明しようとするものである。初代培養内皮細胞や急性肺障害マウスを用いてLAT1と内皮機能を繋ぐ分子機序を明らかにすることを目的とする。培養血管内皮細胞を用いたRNA-seqを行い、LAT1により急性呼吸促進症候群(ARDS)で発現上昇するケモカイン遺伝子が制御されていることを発見した。

3. KAT3 作用薬及び疾患治療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
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
Tapas K. Kundu	Molecular Biology & Genetics Unit	教授	有機化合物の合成・修飾
村岡 貴博	東京農工大学	教授	有機化合物の合成
内田 紀之	東京農工大学	助教	有機化合物の修飾
渡辺 豪	北里大学	講師	AI-MD シミュレーション
濱田 博喜	岡山理科大学	教授	有機化合物の合成・修飾

キーワード

syntaxin1A、SNARE、KAT3、モノアミン伝達、精神疾患

研究分野

神経科学

1. 共同研究の目的

中脳モノアミン異常により発達障害や依存症などの精神疾患を引き起こすことが知られている。我々はこれまでに、神経伝達に関わる syntaxin1A (*stx1A*) 遺伝子の発現量低下が、中脳辺縁系におけるモノアミン分泌抑制を引き起こすと共に、その発現はエピゲノム因子 KAT3 により神経細胞・組織特異的に促進性の発現制御がなされていることを発見してきた。本研究は、モノアミン分泌制御を担う *stx1A* の発現制御因子である KAT3 を分子標的とした新規作用薬及び疾患治療法の開発を行うことを目的としている。

2. 共同研究の内容・計画

本計画では、中脳モノアミン伝達を担う *stx1A* 遺伝子の発現誘導を決定しているエピゲノム因子 KAT3 の作用薬を共同研究により開発し、それを用いた精神疾患治療法の開発を行う。(1)有機合成法や化合物修飾法により BBB 透過型の KAT3 作用薬を合成する。(2)マウスへの生体内投与により脳内 *stx1A* 発現量を変動可能であることを明らかにする。また(3)野生型マウスが示す依存症状や *stx1A* 半減マウスが示す注意欠陥症状に対して、*stx1A* 発現量変化にともなう中脳モノアミン分泌変化により依存症状や注意欠陥症状の治癒効果の検証を行う。

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、スーパーソフトアッセイ及び 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、いずれもが低下を示すことも見出ししてきた。そこで curcumin 並びにアナカルディン酸の配糖

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、引き続き解析を行う予定にしている。

4. 百日咳菌外膜ベシクルに含まれる病原因子の局在解析

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	研究教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
阿部 章夫	北里大学	教授	免疫蛍光染色法による病原因子の局在解析
桑江 朝臣	北里大学	准教授	免疫蛍光染色法による病原因子の局在解析

キーワード

百日咳菌・外膜ベシクル・定着因子・細胞内輸送、病原性

研究分野

感染免疫学

1. 共同研究の目的

病原細菌の分泌する小胞である外膜ベシクル(OMV)は、しばしば病原因子が含まれており、髄膜炎ではワクチンとして使用されている。これまで百日咳菌のOMV中に付着に関わるFHAおよび本菌の重要な病原因子であるACTが含まれていることを明らかにしているが、病原性発現における役割については解析されていない。そこでOMVに含まれる病原因子が宿主細胞内に輸送され、さらに生物活性を発現するか明らかにする。

2. 共同研究の内容・計画

OptiPrep 密度勾配遠心法により精製した百日咳菌OMVを、肺胞上皮細胞であるA₅₄₉およびマクロファージ系培養細胞株であるJ774、THP-1に添加し、パラホルムアルデヒドで固定、TritonX100で処理した後、これらに対する抗体を添加する。さらに蛍光色素で標識した2次抗体を用いて蛍光顕微鏡および共焦点蛍光顕微鏡で観察する、アクチンおよび核を染色し、OMVに含まれている病原因子の細胞内局在を解析し、OMVを介して輸送されるか調べる。さらにこれらの病原因子の生物活性の測定結果と合わせ、OMVにより分泌される病原因子の役割を考察する。

3. 研究成果(経過)

病原細菌の分泌する小胞である外膜ベシクル(OMV)は、しばしば病原因子が含まれており、髄膜炎ではワクチンとして使用されている。これまで百日咳菌のOMV中に付着に関わるFHAおよび本菌の重要な病原因子であるACTが含まれていることを明らかにしているが、病原性発現における役割については解析されていない。そこでOMVに含まれる病原因子が宿主細胞内に輸送され、さらに生物活性を発現するか明らかにする。

OptiPrep 密度勾配遠心法により精製した百日咳菌OMVを、肺胞上皮細胞であるA549およびマクロファージ系培養細胞株であるJ774に添加し、パラホルムアルデヒドで固定、TritonX100で処理した後、これらに対する抗体を添加し、蛍光色素で標識した2次抗体を用いて蛍光顕微鏡および共焦点蛍光顕微鏡で観察した。OMVに含まれている病原因子の細胞内局在を解析した結果、J774およびA549中に移行したことが明らかとなった。OMVを貪食したJ774は、形態の変化と細胞死が観察された。A549は食作用をもたないため、細胞中のMVは何らかの輸送系によって取り込まれた可能性が高い。今後、これらの細胞内局在について詳細に検討を行い、輸送機構を明らかにする予定である。

5. ラット脳内に局在する Na⁺/K⁺-ATPase α 鎖アイソフォームの免疫組織学的同定

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	免疫組織染色・データの解析
須賀 圭	医学部化学	講師	免疫組織染色
原 諭吉	東京医科歯科大学	客員教授	データの解析

キーワード

Na⁺/K⁺-ATPase、アイソフォーム、免疫組織染色、蛍光顕微鏡

研究分野

生化学

1. 共同研究の目的

動物細胞膜に広く分布する Na⁺/K⁺-ATPase は、細胞内の Na⁺を細胞外へ、K⁺をその逆方向へ能動輸送するイ生化学オンポンプであり、脳内では神経刺激伝達に関わっている。このポンプは α および β 鎖から構成されている。主たる機能を持つ α 鎖には4つのアイソフォームがあり、脳内には α1、α2、α3 が存在する。しかしこれらアイソフォームの脳内局在と機能の関係については、十分検討されたとは言い難い。我々は、ラット脳を試料として、免疫組織的分析によって α 鎖アイソフォームの局在を明らかにする。

2. 共同研究の内容・計画

Na⁺/K⁺-ATPase α 鎖アイソフォームの特異的抗体、及び脳内の種々の部位に特異的な抗体（マーカー抗体）を用いてラット脳切片を免疫組織染色し、これを本学に設置されているオールインワン蛍光顕微鏡で撮影する。この顕微鏡は従来の顕微鏡よりも操作性に優れており、これまでよりも詳細な解析が行えるので、Na⁺/K⁺-ATPase α 鎖アイソフォームの局在と脳機能の関連について、新たな知見を得られることが期待される。

3. 研究成果（経過）

Na⁺/K⁺-ATPase は脳内に豊富に存在し、神経伝達を初めとする脳の生理作用に深く関わっている。Na⁺/K⁺-ATPase を構成する α および β 鎖のうち、主な機能を担っている α 鎖については4種類のアイソフォーム、α1～α4、の存在が知られている。このうち、脳神経細胞（ニューロン）にはα1とα3が主に存在するとわれているが、大脳皮質内においてα1、α3がどのように局在するのか、よくわかっていない。大脳皮質は6層に分類されており、どの層に、どのアイソフォームが存在するのか調べるために、ラット脳の輪切り（coronal）切片を作成し、各層に特異的な抗体とα1、α3に特異的な抗体を組み合わせる組織染色し、オールインワン蛍光顕微鏡を用いてそれら局在の脳全体像を観察した。その結果、α1は主に第2～第4層に、α3は主に第6層（最も内側）に帯状に分布することが明らかになった。

また初代培養神経細胞についてもα鎖アイソフォームの局在を調べた。その結果、細胞体にはα1とα3が、軸索には主にα3が存在することが明らかになった。

6. 四量体 Na/K-ATPase 分子へのウアバインの非化学量論的結合

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	非常勤講師	四量体標品単離, ウアバイン結合量測定
原 諭吉	東京医科歯科大学	名誉教授	結果の解析・評価
菅田 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

膜タンパク質、Na/K-ATPase、Tetraprotomer、ウアバイン結合、カチオン能動輸送機構

研究分野

生化学

1. 共同研究の目的

タンパク質分子・Na/K-ATPase (NKA) の発見から 65 年が経過した現在、その機能単位の四次構造は四量体・Tetraprotomer (T) とみなして(林ら)、その作用の分子機構を追究する段階に達した。NAK の研究史においては、既に Post と Albers によって、ATPase 反応における NAK 分子は、性質の対照的な 2 つの状態 (E_1 と E_2) を循環的に変換することによって、ATP の化学的エネルギーの、 Na^+ と K^+ の輸送エネルギーへの転換がなされることが確立している。したがって、この研究目的は、NAK の四量体構造に基づく E_1 と E_2 状態の実体解明により、NAK の分子機構を解明することにある。

2. 共同研究の内容・計画

分子機構解明のカギとして使えるのが、NAK の超特異的阻害剤である強心ステロイド・Ouabain (oub) である。四量体 NAK 分子が解離した状態 (P または D) では、oub はその結合部位の全てに結合し (化学量論的結合)、ATPase 活性も完全に停止させる。一方 oub は、T には部分的にしか結合しない (非化学量論的結合) が、機能は完全に停止させる。また、これまでの T を使わない実験では、oub は E_1 状態では結合しないが、 E_2 状態では結合するとされている。従って、T を用いた場合でも、この oub 結合特性が同じかをまず実験的に確認する。これが確認されたなら、四量体 NAK 分子において、構成単位 (P および D) が独立して動くのではなく、それらの間に繋がりをもつ動きが、作用機構の重要な要素となることが結論できる。

3. 研究成果 (経過)

新規精製法により単離した Na^+/K^+ -ATPase 分子は、分子量測定と原子間力顕微鏡観測から、その機能単位は、4 分子の Protomer (P, Mw:1.62x10⁵) から成る四量体 (Tetraprotomer、T、6.48 x 10⁵) であるとの結論を、我々は既に得た(林ら、2021)。さらに、T 分子の三次元分子像を、3D-Printing 法で組み立てることによって、その結論を確認することができた。X線結晶解析データに基づいて、この ATPase の 2 つの反応中間状態 (E_1 と E_2) での P 分子像が明らかにされている (東大・豊島ら)。 E_1 または E_2 状態のそれぞれの P 分子から、我々は T 分子を構築した。その結果、 E_1 状態の T 分子の P 分子の向きは、 E_2 状態の P 分子の向きとは、P 分子の中心に対して 180 度ほど異なっている、すなわち互いに反対向きであることが判明した。このことは、各 P 分子は反応中に自転していることを強く示唆した。各 P 体の細胞外に突き出た部位に存在する Ouabain (Oub) 結合部位は、P が回転して E_1 から E_2 状態に変わった時のみ、Oub を結合できる状態となる。したがって、4 つの P が完全に同調した自転を呈しない限り、4 つの P が同時に Oub を結合する状態 (化学量論的結合状態) にはならない。隣接した P-P 接触が、

互いの自転を拘束することになれば、Oubの化学論量的結合を達成できないことになる。当研究課題は、4つのP分子の自転が同調するのか、同調しないなどのように拘束し合うのか、という問題と密接に関連してきたことになる。

7. モルヒネによる侵害受容性末梢神経の興奮修飾作用

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	教授	神経細胞の免疫組織学的解析

キーワード

末梢神経、鎮痛薬、イオンチャンネル、パッチクランプ法、線維筋痛症

研究分野

神経科学

1. 共同研究の目的

強力な鎮痛作用を有するモルヒネは、中枢神経のみならず、末梢神経の興奮性を修飾すると考えられている。しかし、モルヒネが侵害受容性末梢神経の興奮性に及ぼす神経メカニズムは明らかになっていない。本研究では、モルヒネが侵害受容性ニューロンの膜電位振動と活動電位の発生に及ぼす作用を解析し、関連するイオンチャンネルのサブタイプを同定することで、末梢神経におけるモルヒネの鎮痛作用機序を明らかにする。

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」を用いる。侵害受容性ニューロンの細胞体から膜電位記録を行い、侵害刺激を与えて膜電位振動と活動電位を発生させる。これら痛みの誘発に関連する神経活動に対して、モルヒネが及ぼす作用を電気生理学的に解析する。また、免疫組織学的手法を併用して、この修飾作用に関与する電位依存型イオンチャンネルの種類を同定する。(免疫染色は、共同研究者の小林教授の元で行う。)

また、この機序を元に、同様の興奮性修飾作用を有する非麻薬性物質を探索し、末梢由来の線維筋痛症や持続性しびれ感覚の治療薬開発につなげる。

3. 研究成果(経過)

強力な鎮痛作用を有するモルヒネは、中枢神経のみならず末梢神経の興奮性を修飾すると考えられているが、その電気生理学的メカニズムは明らかになっていない。本研究は末梢慢性疼痛を引き起こす侵害受容性感覚神経の異常興奮(膜電位振動と自発放電)に対し、モルヒネが及ぼす作用を電気生理学的に解析し、末梢神経におけるモルヒネの鎮痛作用機序を明らかにすることを目的とする。本年度は独自に開発した「麻酔下ラット標本-感覚神経パッチクランプ法」を用いて、骨格筋を支配する侵害受容性ニューロンの細胞体から膜電位記録を行い、骨格筋への酸性液刺激(虚血性疼痛の再現)あるいはカリウムチャンネルブロッカーの投与(線維筋痛症の再現)により、膜電位振動と活動電位を発生させることに成功した。しかしながら、現在、研究用モルヒネを入手することができず、神経の異常興奮に対するモルヒネの作用を解析することはできなかった。来年度は臨床用モルヒネを入手し、モルヒネの侵害受容性ニューロンの異常興奮に対する作用を解析する予定である。その後、免疫組織学的手法を併用して、モルヒネの神経興奮抑制に関わる電位依存型イオンチャンネルの種類を同定する。

8. 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	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	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	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	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

①糖修飾アクチン抗体あるいはリン酸化アクチン抗体を培養細胞に導入して、核の形態変化を検討する。②免疫沈降法とプロテオミクス解析により修飾アクチンと相互作用するタンパク質の検索を行う。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。ゲルから切り出したスポットのインゲル消化では、MS ピークが少ないため、通常のプロテオーム解析でやっている FDR (false discovery rate) の計算ができなかった。そこで、今回はメインスコアを元に FDR を算出し同定の信頼度を定める (Target Decoy PSM Validator)、という方法で検索した。

その結果、Protein FDR が High のものの中から #Unique Peptides が 2 本以上あるものなどで線を引いて、いくつかのタンパク質が同定された。

9. 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	研究教授	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	教授	研究の統括
小川 祐子	帝京平成大学	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	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ニングや、免疫蛍光染色で確認する。②エクソソームをゲルろ過クロマトグラフィーを用いて精製し、安定性の指標として唾液エクソソーム表面に存在する DPP IV 酵素活性、構成成分のウェスタンブロット、粒子径測定、電子顕微鏡での形態観察を行う。

3. 研究成果（経過）

細胞外小胞(extracellular vesicles, EVs)は近年、新しい細胞間情報伝達機構として注目されている。我々はヒト唾液のゲルろ過クロマトグラフィーにより、サイズの異なる 2 種類の EVs (EV-I 画分及び EV-II 画分)が存在することを報告した。今年度は、ヒト全唾液からゲルろ過クロマトグラフィーで精製した EV-I 画分および EV-II 画分をそれぞれ 20,000 xg、その上清をさらに 100,000 xg で段階的に遠心することでより厳密に分画し、20,000 xg 沈殿(20k-ppt)および 100,000 xg 沈殿(100k-ppt)を得た。EV-I 画分の 20k-ppt (EVI-20k)および EV-II 画分の 100 k-ppt (EVII-100k)について、ゼータサイザーにより粒子径を測定し、電顕で粒子の形態を観察し、プロテオーム解析を行った。その結果 EV-I 画分の 20k-ppt (EVI-20k)から平均粒子径 145 nm の EVs、EV-II 画分の 100 k-ppt (EVII-100k)から平均粒子径 66 nm の EVs が検出された。両 EVs をプロテオーム解析した結果、EVI-20k から ezrin、Annexin A1 および APN が、一方、EV-II-100k から Alix、TSG101 および DPP IV が特徴的なタンパク質として検出された。

10. 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)ニューロシェイカス (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)ニューロシェイカス	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

心臓血管外科

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るが、所望の性能が出ず、装置の完成にいたっていない。

プローブに関しては、直射タイプと側射タイプの検討を行っているが、焼灼時の外装温度が60度を超える状況であり、より強固な断熱対策が必要であることが、判ってきた。特に、光源とプローブの接続部分での温度上昇が大きく、出射口に近づくにつれ、下がっていく傾向である。JIS t 0601-1 規格によると、1分以上の焼灼時間では外装温度を48度以下にする必要がある。温度上昇の原因究明と対策を検討中である。次に、光源装置について、ハロゲンランプの光量安定性が得られないため、LED素子へ変更することとした。LED素子であれば、電流フィードバックを行うことで、所望の安定光量を得ることができる。アブレーション装置の開発には大変苦慮している状況であるが、安全かつ安定的な光量を得るためにさらなる開発を進めている。

11. 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	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小宮山 伴与	千葉大学	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	専攻医	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、昨年度同様、RCS の刺激条件、特に、昨年度同様、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。

12. 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	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小宮山 伴与	千葉大学	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	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

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化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し行うこと（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化の基礎研

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。本年度は、色覚障害のある患者を対象に当該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、関連する内容の論文投稿を準備している最中である。今後は、研究が再開できるよう感染状況を見極めながら、遅れている実験等を準備していきたいと考えている。

13. 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	研究教授	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	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	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 株および臨床分離株で *bipA* 変異株を作成しておりそれらの性状の解析を進める。

本共同研究では百日咳ワクチンの開発に向けて百日咳菌の病原因子 *BipA* の役割を明らかにする。

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。

これまで *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。2021年度はバイオフィーム形成菌の菌体表面に局在している病原因子の局在に対する影響を調べた。菌体表面に局在している Vag8 や FHA はベシクルとして放出される。しかし、*BipA* の欠損変異株でもこれらの局在に影響はなかったことから、*BipA* は他の病原因子の分泌にも影響しないことが明らかとなった。

14. 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
榊井 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

ブが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。

15. 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
西成田 悠	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
小栗 典明	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	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	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	部長補佐	SPF および無菌動物飼育・実験

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、その作用機序を探索する (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5-ASA投与群、無投与群（NT群）の2群に分け、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週間の観察期間内で5-ASA群に特記すべき有害事象は認められなかった。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。昨年度の研究では雄マウスにおける0週時点での腸内細菌叢の均一化が不十分であり、雄マウスにおける5-ASA投与が腸内細菌構成に与える影響の評価が困難であったが、今年度の研究では、雄マウスにおける腸内細菌叢の均一化が達成でき、雄マウスにおいても5-ASA投与により腸内細菌叢が経時的に変化することが明らかとなった。さらに無菌マウスを用いた検討により、5-ASA群とNT群の腸内細菌叢は宿主の免疫機構に異なる影響を与えること、5-ASAにより変化した腸内細菌叢は抗炎症効果を有することが示唆された。

16. 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	資生堂新領域価値開発センター	室長	共同研究の進捗管理
高木 雅哉	資生堂新領域価値開発センター	室員	毛成長評価技術の検証
吉田 雄三	資生堂新領域価値開発センター	室員	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)は脱毛症に対する細胞移植による再生医療のリソースとして有用性が期待されている。本研究の目的は、本細胞を用いた再生医療において応用可能な機能評価法の確立を目指す。具体的には実際にDSCCの脱毛部への移植効果を高精度で定量的に評価する技術を確立するとともに、DSCCから発毛に重要な毛乳頭細胞への分化能を*in vitro*で評価するための細胞培養法の改良などの基盤技術の確立を試みる。

2. 共同研究の内容・計画

局所への細胞移植による治療効果評価技術に関しては共同研究者が肉眼的毛量評価法やトリコスコーピーなどを応用した毛密度の解析の技術開発を行う際に、研究代表者が臨床医学的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い最善の方法論の確立を目指す。DSCCから毛乳頭細胞への分化能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・組合せで培養系に添加し、毛包発生関連マーカー(WNT、SHH、BMPなど)の発強度が高まる条件を同定した後、共同研究者にフォードバックする。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DSCCの機能評価に応用する。

3. 研究成果(経過)

本研究の目的は、その発毛促進作用から再生医療での応用が期待される真皮毛根鞘細胞(DSCC)の臨床・基礎医学における機能評価法の確立である。2021年度は、前年度までに確立したDSCCを用いた毛髪再生治療が実際に行われた際の臨床的有効性評価技術のさらなる改良を試みるとともに、DSCC移植による薄毛改善効果と関連するマーカーの探索を行った。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、毛髪カット不要のヒト試験の頭皮拡大写真の二値化解析にImageJ softwareを活用し画像中の輝度値プロファイルから毛髪径を推測するアルゴリズムの試案を作成することができた。また、前年度までの検討では第1相臨床試験の副次評価項目として得られた治療効果と関連するDSCCに発現するマーカーの同定は困難であったが、我々が開発した毛乳頭細胞維持培地で処理したDSCCを用いて検討したところ治療効果と関連するいくつかのマーカー候補を同定することができた。

17. 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	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	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	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、結膜での血管病変の解明、および血管内皮細胞前駆細胞であるファイブサイトの細胞源、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予定していたが、研究代表者の臨床業務による多忙、新型コロナウイルス感染拡大、慶應義塾大学における研究室移動などの影響により実際の研究活動の進捗は遅れていた。慢性移植片対宿主病(以下 cGVHD : chronic graft-versus-host disease)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研究について研究チームのオンライン会議に参加、学術研究雑誌 The Ocular Surface に論文投稿を行い、publish された (Eyelid blood vessel and meibomian gland changes in a sclerodermatous chronic GVHD mouse model)。来年度は研究代表者が慶應義塾大学へ帰室するため共同研究は一旦終了となるが、科研費の延長手続きをとり研究を継続する予定である。

杏林大学では平形教授、慶野教授の指導のもと臨床上の知見をさらに広めた。来年度以降も研究代表者が臨床上の研鑽を積むた

め杏林大学へ非常勤で勤務予定であり、上記研究について情報共有し自己免疫疾患に関する病態解明について連携をとっていく予定である。

18. 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	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式会社	社員	実験遂行の調整と立案。ゼオンメディカルと杏林大学医学部との調整

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、安価であり、より開存期間の長い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）を、日本ゼオン総合開発センター メディカル研究所にて行って来た。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）を用いて行い、ドレナージ効率のより良いステントの形状、側孔について検証した。2021 年 2 月 8 日の時点で、<検討 3> まで研究は進んでおり、今後、製品化に向けて PS の素材、コーティングの検討（机上実験）<検討 4> を進めていく。

3. 研究成果（経過）

<検討 1> ドレナージ効率の高いプラスチックステント（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）

<検討 5> 既存の PS の材質を用いて実際の PS の試作品を作成する。

現在検討 5 まで研究は進んでいます

<検討 6> 試作品ができたら、耐久性、ドレナージ効率含め机上実験を行う予定です。

また、PS 形状に関して特許申請も行っています。

19. 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	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、データの解析を行っているところである。

20. 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	研究教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
島田 和典	Sheep Medical 株式会社 (株式会社マイクロバイオータから社名変更)	チームマネージャー	細菌の同定・シーケンス

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。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。(本研究計画は昨年度、新型コロナウイルス感染拡大の影響により大幅に遅れているために、継続して実施する)。

3. 研究成果(経過)

1. ヒト糞便およびマウス糞便由来のビフィドバクテリウム属細菌および *Lactobacillus* 属細菌およびその類縁菌の分離・同定を行った。
2. アッカーマンシア、フェカリバクテリウムなどの、次世代プロバイオティクス候補細菌な分離培養することができなかったが、標準株を使って培養を実施した。
3. 分離した細菌を培養し、培養液中に産生された短鎖脂肪酸の測定を行った。

21. 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	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, MSH 6, 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)

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 の解析を行った。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, MSH 6, 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っているところである。

22. 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	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	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	研究教授	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。In vitro の解析から、Gata5 は脂肪組織に含まれる細胞に顕著に発現していることを明らかにした。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、Gata5 遺伝子欠損マウスを作成し、Gata5 の局在や細胞における機能を解析することで肥満および糖尿病に及ぼす影響を検討する。

3. 研究成果（経過）

Clostridium butyricum による腸管感染症起因菌の増殖抑制のメカニズムを調べる目的で、赤痢菌に対する増殖抑制効果を観察した。*C. butyricum* の培養上清を赤痢菌の培養に加え、病原性遺伝子発現を観察したところ、著明な病原遺伝子発現の抑制効果と増殖抑制効果が見られた。

この培養上清と新鮮培地の有機成分を HPLC で比較したところ、ギ酸、酢酸、乳酸、酪酸が 5 から 20mM 程度の濃度で産生していた。一方、これらの有機酸のナトリウム塩を同濃度、培地に加えた実験では抑制は見られなかった。*C. butyricum* が産生する成分については限外分子量が明らかな透析膜を用いて培養上清を濃縮することで、およその分子量を予想する予定である。増殖抑制を受けた菌体は増殖速度が 3 倍以上に延長したが、破壊された形態は示さず、致命的とはいえない抑制効果があることが示された。これは毒素産生性細菌に対するプロバイオティクスという視点で考えた場合、菌体の破壊で誘導される毒素放出を伴わない増殖抑制という意味で有用であると考えられる。

23. 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	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	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）

ドライブライン感染は植込型補助人工心臓患者において最も頻度が高い合併症であり、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ル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感染を局所制御する方法の確立に取り組んでいる。まず生体を用いた動物実験に先立ち、Cadaver 実験を行った。ラットの背部にドライブライン貫通部を想定した表皮欠損創部を作成し、複数の条件下で赤外線照射を施行し、病理学的評価を行った。結果、創部周囲の表皮細胞を炭化させることなく、皮下組織に光凝固が生じることを確認した。続いて現在、慢性動物実験を行っている。麻酔下にラットの背部にドライブライン貫通部を想定した表皮欠損創部を作成し、複数の条件下で赤外線照射を施行し、病理学的評価を行う。照射後の生体反応を病理学的に評価することに加え、sacrifice の時期を複数設定することで、照射後の経時的な変化を評価している。今後はさらに慢性動物実験を行い、表皮細胞の炭化や体腔内臓器の障害がなく、皮下組織に十分な光凝固が生じる条件を確認する。次の段階としては感染モデルに対して確認された条件で赤外線照射を施行し、感染組織に対する効果を病理学的に評価する予定である。

24. 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
西成田 悠	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
小栗 典明	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	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	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	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（4週齢および10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 マウスの糞便溶解液を経口投与するとともに 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 を行った。4 週齢、10 週齢で腸内細菌叢、SPF 環境に曝露した exGF マウスにおいて、それぞれ週齢相応の腸内細菌叢が生着した。また 4 週齢で腸内細菌叢を獲得した exGF では免疫状態が SPF 化する一方、10 週齢で腸内細菌叢を獲得した exGF では、そのような変化が明らかではなかった。宿主・腸内細菌叢の相互関係により、週齢に応じた細菌叢が生着する可能性、幼少期のみ免疫発達の可塑性を有している可能性が示唆された。

25. 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	臨床教授	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、以前からハプ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うるが、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、これ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

高湿度環境が皮膚角質水分量 (SSH) を増加させるように、発汗も SSH を増加させる重要な因子である。昨年度の研究で、足蹠からの発汗の少ない *fl/fl* マウスは接触過敏反応 (CHS) が増強することが明らかになった。そこで本年度は、1、本マウス足蹠を用いた CHS を即時型反応も含めて検討する。2、耳翼と足蹠それぞれを用いたハプテン繰り返しによる慢性 CHS モデルを作成し、発汗の影響を検討する。汗には SSH 増強以外の免疫学的な役割を有することから、耳翼、足蹠での反応を湿度環境を変える、発汗を誘導することでの変化を解析することを予定している。これらの検討により、発汗が皮膚炎症に果たす役割の一端を明らかにしたい。

3. 研究成果 (経過)

今までの研究で、足蹠からの発汗の少ない *fl/fl* マウスは接触過敏反応 (CHS) が増強することが明らかになった。そこで本年度は、発汗低下による角質水分量 (SSH) の低下がハプテン塗布による即時型反応に与える影響を検討した。

1. 皮膚角質水分量の低い *fl/fl* マウス足蹠のハプテン吸収量はコントロールマウスよりも亢進していた。

2. 一方、*fl/fl* マウス足蹠へのハプテン塗布による即時型反応は、亢進していなかった。

この結果は従来の他系統のマウス耳翼で得られてきた曝露抗原量と即時型反応が相関するという結果に一致していない。同じ *fl/fl* マウスの耳翼を用いた検討では、抗原量と即時型反応に相関性は認められており、耳翼でみられる IgE 依存性の反応が足蹠では定石通りではなく、別の経路を介している可能性も示唆していると考えられる。耳翼と足蹠という解剖学的な部位差に加え、搔破による影響などいくつかの関与が予測される要因があり、これらに関する検討を要すると考えている。また、即時型反応のみでなく、遅延型反応が耳翼と足蹠でどのように異なるのかなど、ヒトでみられる部位による疾患発症頻度の差などを解明する糸口になるかと考えられる。

26. 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	特任教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
矢澤 卓也	獨協医科大学	教授	分子病理学的解析、免疫組織化学的解析
石井 順	獨協医科大学	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	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 SLC26A4 (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 を特異的に認識する抗体の作成
- 2) SLC26A7 と Pendrin のマウスとヒトの各臓器組織における発現を免疫組織化学的に解析する。
- 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、本年度は以下の検討を行った。

- 1) SLC26A7 と Pendrin 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、両者は甲状腺特異な 3 転写因子 NKX2-1 (TF1)、FOXE1 (TF2)、PAX8 の作用様式に差があること、ならびに甲状腺刺激ホルモン受容体 (TSH-R) のシグナル伝達の応答 (CRE 応答) に違いがあることが明らかになった。
- 2) SLC26A7 と Pendrin のノックアウトマウスの形態学的な解析した結果、両者の甲状腺の病変に差があることが明らかになった。
- 3) SLC26A7 の特異的なペプチドを合成し、ウサギを免疫して特異抗体を作成した。
- 4) バセドウ病と腺腫様甲状腺腫の病理組織標本を対象として、3) で作成した抗 SLC26A7 特異抗体と市販の抗 Pendrin 特異抗体を用いて免疫組織学的に解析した。その結果、各病変で両者の発現パターンに違いがあることが明らかになった。

27. 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	特任准教授	バイオインフォマティクス

キーワード

がんゲノム医療、がん予防・早期発見、生殖細胞系遺伝子変異 (Germline 変異)、バイオインフォマティクス、メダカ発がん実験

研究分野

分子生物学

1. 共同研究の目的

がんゲノム医療では、生殖細胞系遺伝子変異 (Germline 変異) が、がんの治療のみならず予防・早期発見の観点からも注目されている。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メダカ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、がんゲノム医療で発見される 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ことを考える。

2. 共同研究の内容・計画

- ・マウスやヒトの全ゲノムシーケンスで発見された Germline 変異について、発がん性など機能的意義をソフトウェア VarSeq (Golden Helix 社) で解析し、変異の機能的意義を判定する。
- ・解析の結果、意義が判定不能であった変異については、その発がん性を、遺伝子変異導入メダカを用いた発がん実験で、検証可能であることを示す。
- ・CRISPR/Cas9 システムのゲノム編集技術によりメダカの遺伝子に導入し、メダカ遺伝子機能に異常を有するメダカを作製する。次に、メダカ遺伝子変異導入メダカを水槽で飼育し、発がん性を観察し、発生したがんの病理診断を行う。

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 年度に、次世代シーケンサー NextSeq2000 を用いて、消化管の重複癌症例にて発がんリスクとなりうる *RAD50* 遺伝子修復遺伝子の Germline 変異を発見した。ソフトウェア VarSeq による解析では、本変異は判定不明変異であったため、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を構築した。

2021 年度は、本変異に関してメダカ発がん実験を行った。メダカに *RAD50* ヘテロ変異を導入すると、複数の臓器に腫瘍性病変の発生が見られた。さらに、変異体メダカでは、網膜に毛細血管拡張が認められ、小脳性の運動失調を疑う遊泳異常が認められた。これらの異常はヒトにおける発がんリスクを有する遺伝性疾患である毛細血管拡張性運動失調症 (Ataxia Telangiectasia) に類似していると考えられた。

28. 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	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ー用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）

本年度は新型コロナウイルス感染症流行のため、本研究参加者が募集できなかった。

このため、昨年度までの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いたデータを基に運転の能力を分析した。

高齢ドライバーはシミュレーターでの基本的な運転技能に問題はなかったが、複数の対象を同時に処理する必要がある場面において、特に自転車や歩行者に対する適切な減速等が不十分なケースが見受けられた。一方で信号機や他車両に対する反応には特別な問題は観察されなかった。高齢ドライバーは複数の対象が存在する場面において、特に歩行者や自転車などの比較的小さい対象に対する注意が欠落する可能性が示唆された。

29. 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	医長	データ解析

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）

膀胱がんの再発予測にアミノ酸トランスポーターLAT1の免疫組織染色が有用であることを示した。Research and Reports in Urology 2021:13 603-611に論文発表した。

30. 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	東京薬科大学	教授	研究統括
藤田 恭子	東京薬科大学	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 卵母細胞での発現、輸送実験
田中 弦	医学部薬理学	助教	トランスポーター遺伝子解析 卵母細胞での発現、輸送実験

キーワード

急速進行性腎炎、ANCA、エクソソーム

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の存在下で、尿酸トランスポーター（GLUT9 や URAT1）強制発現卵母細胞へ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。

31. 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	学内講師	研究全般（研究責任者）
海田 賢彦	医学部救急医学	講師	画像と臨床情報のリンク等
田中 敏幸	慶應義塾大学	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：経時の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
 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）

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実施した

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：経時の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
 コロナ禍につき、対面での打合せや研究実施等には大きな制限があり、十分な研究時間の確保も困難であったが、論文執筆活動の1つとして、これまでに重ねてきた研究成果の報告が以下の医用工学系海外雑誌に掲載された。

Daijiro Wada, Soichiro Kato, Yoshihiro Yamaguchi, Toshiyuki Tanaka: Region extraction method for skin grafts via image analysis. Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering: Imaging and Visualization 2021.

(<https://doi.org/10.1080/21681163.2021.1966649>)

32. 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
成田 圭吾	医学部形成外科学	助教	データ解析、統括
木村 武一郎	医学部形成外科学	医員	データ解析
雨宮 俊一	株式会社 NTT データ	研究員	ソフトウェア開発、統括

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な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、本研究は既に倫理委員会の承認を得た上で共同研究契約を締結したものである。

3. 研究成果（経過）

本研究は AI を使用したアプリケーションにより、元来困難であった顔面神経麻痺の重症度を動画データで評価することを目的として開始した。本システムは Facial Keypoint Detection、すなわち眉、瞼裂、鼻、口唇、輪郭を計 68 個の点で捉え、定量的にその動きを追うことで評価しようとするものであるが、既存の顔面捕捉モデルは健常者のみを対象として学習を行っており、独特の表情を為す顔面神経麻痺患者の顔面の特徴点を正確に捕捉できないことがわかった。そこで我々はまず、当科の既存の臨床動画とその正解付（各特徴点がどこにあるか）を利用して顔面神経麻痺患者の表情を学習させた。すると、特徴点の捕捉は定性的にも定量的にも改善した。このことにつき 2021 年 11 月に開始された日本顔面神経学会シンポジウムで発表を行い、現在同内容について論文執筆を行っている。

今後は実臨床にも耐えうる評価法の立案を目標に、解析を進めていく予定である。2022 年 4 月には、現時点での成果を日本形成外科学会総会シンポジウムにおいて発表する。本研究は、遅滞なく進められている。

33. 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
桜庭 彰人	医学部消化器内科学	助教	検体採取、データ管理、解析
斎藤 大祐	医学部消化器内科学	助教	検体採取、データ管理、解析
松浦 稔	医学部消化器内科学	准教授	検体採取、解析
松山 直人	アルフレッサファーマ株式会社	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	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）

炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病）の疾患活動性を評価するバイオマーカーとして便中カルプロテクチン、便中ヘモグロビン定量検査が知られている。特に潰瘍性大腸炎では内視鏡的活動度と相関性が高いことが知られている。ネスコート Cp オ

ート（アルフレッサファーマ）は便中カルプロテクチンと便中カルプロテクチンを同一検体で同時測定することが可能であり、これを用いて両者の性能の違い、適切な症例の選択、について検討する。特に生物学的製剤で治療している中等症以上の潰瘍性大腸炎の経過、寛解期潰瘍性大腸炎の再燃予測、クローン病の疾患活動性指標としての評価に着目する。潰瘍性大腸炎の炎症範囲別の感度・特異度の違いについては *BMC Gastroenterol.* 2021 May 1;21(1):197. に発表した。また寛解期潰瘍性大腸炎に対する再燃予測としての評価は第 101 回日本消化器内視鏡学会総会にて発表した。現在、クローン病に対する活動性評価について解析中である。

34. 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	MSKCC	膵がん研究センター長	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）

杏林大学病院に保管されている2019年9月1日以降の膵癌外科手術材料の標本を系統的にレビューし、①浸潤径が20mmをこえる ②間質の線維化が軽度であり腫瘍含有率の高い ③病理組織学的に多彩な像を示すの3点を満たす症例6例を選定した。同症例の40領域から最適化条件下でDNAを抽出し、Infinium MethylationEPIC BeadChip kit（Illumina社）を用いて網羅的 DNA メチル化解析を行った。データの品質をチェックし、何れも高次解析に適したものであることを確認した。現在は、腫瘍内のメチル化プロファイルの不均一性、偏在性を現在解析中であり、組織像との対比も進めている。なお、共同研究先のメモリアル・スロンケタリングがんセンターでの解析結果からは、腫瘍横断的に見た場合、腫瘍内のメチル化プロファイルは比較的保たれていることが示唆されており、2つコホートの相互検証も予定している。

35. ヒト iPS 細胞を用いた皮膚付属器再生～ヒト毛包立体構造の再現を中心に

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	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

研究では癬痕性脱毛症・無汗症などの難治性皮膚疾患の再生医療実現に向けてヒト iPS 細胞を活用した皮膚付属器の再生法の技術的基盤、特にヒト毛包構造の再現を主たる目的とする。共同研究者の施設はヒト iPS 細胞研究の代表的拠点であり、申請者はこれまでも共同研究を続けてきた。ヒト iPS 細胞の維持、分化誘導に関して共同研究者から技術的指導を受ける効率的な研究計画の遂行が可能となる。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

本計画では新規 iPS 細胞新規樹立は行わず共同研究者から既に提供を受けたライン化され広く研究に用いられているヒト iPS 細胞を利用する。本学では、適宜共同研究者の指導を受けながら、細胞特異的マーカーの発現をモニタリングしつつヒト iPS 細胞から主として毛誘導能をもつ毛乳頭細胞に相当する間葉系細胞を分化誘導する。得られた細胞を正常ヒト組織由来細胞とともに 3 次元培養し組織再構築を試みるとともに得られた構造体を *in vivo* の環境に導入・移植することで毛包・汗腺など皮膚付属器の器官再生を試みる。特に、ヒト毛包再生の再現を目指す。再生された構造体の形態的・分子生物学的・機能解析は本学にて行う。

3. 研究成果（経過）

本年度は、これまでの共同研究者との共同研究の成果として確立されたコラーゲンゲルに間葉系細胞塊を埋没し、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毛包様立体構造再生法を活用し、ヒト iPS 細胞から毛乳頭細胞へと分化させた細胞で毛乳頭類似構造を作製し、ヒト毛乳頭細胞から同様に作成した細胞塊をコントロールとして、毛包様立体構造体を安定して定期的に作製した。得られた構造体における分子生物学的手法、免疫組織化学的手法を用いて毛包関連マーカーの発現を系統的に解析した。ヒト毛乳頭細胞由来細胞塊と比べてやや発現強度は劣るがヒト iPS 細胞由来の毛乳頭類似構造を用いたものでもケラチン 33a、40、82 など毛包関連マーカーの発現を得ることができた。また、これらの構造体に毛包発生に重要なシグナル系 (WNT、EDA、SHH) の活性化因子を *in vitro* で作用させたところ、一部の毛包関連マーカーの発現強度がヒト iPS 細胞由来細胞を用いて構築した構造体においてヒト毛乳頭細胞塊を用いた構造体におけるものより高いことが示され、ヒト iPS 細胞の有用性を示すことができた。これらの成果を学術論文としてまとめ発表した (Fukuyama et al. Front Cell Dev Biol. 2021 Aug 2;9:590333)。

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
三戸部 治郎	医学部感染症学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
高橋 志達	ミヤリサン製薬株式会社	取締役・本部長	研究費の負担、研究計画立案補助、 データ解析補助
岡 健太郎	ミヤリサン製薬株式会社	部長	データ解析
大崎 敬子	医学部感染症学	教授	嫌気培養、データ解析補助

キーワード

プロバイオティクス、有機酸、*Clostridium butyricum*、腸管出血性大腸菌、腸管感染症起因菌

研究分野

細菌学

1. 共同研究の目的

*Clostridium butyricum*による腸管感染症起因菌の増殖抑制のメカニズムを調べる。

2. 共同研究の内容・計画

*Clostridium butyricum*による菌腸内細菌科の病原細菌の増殖抑制を観察し、菌の変化を顕微鏡による形態観察と種々の化学染色法で解析する。遺伝子発現レベルで変化が起こることが予想された場合、RNAseq法を用いてトランスクリプトーム解析を行う。

3. 研究成果（経過）

*Clostridium butyricum*による腸管感染症起因菌の増殖抑制のメカニズムを調べる目的で、赤痢菌に対する増殖抑制効果を観察した。*C. butyricum*の培養上清を赤痢菌の培養に加え、病原性遺伝子発現を観察したところ、著明な病原遺伝子発現の抑制効果と増殖抑制効果が見られた。

この培養上清と新鮮培地の有機成分をHPLCで比較したところ、ギ酸、酢酸、乳酸、酪酸が5から20mM程度の濃度で産生していた。一方、これらの有機酸のナトリウム塩を同濃度、培地に加えた実験では抑制は見られなかった。*C. butyricum*が産生する成分については限外分子量が明らかな透析膜を用いて培養上清を濃縮することで、およその分子量を予想する予定である。

増殖抑制を受けた菌体は増殖速度が3倍以上に延長したが、破壊された形態は示さず、致命的とはいえない抑制効果があることが示された。これは毒素産生性細菌に対するプロバイオティクスという視点で考えた場合、菌体の破壊で誘導される毒素放出を伴わない増殖抑制という意味で有用であると考えられる。

37. 患者エクソソーム解析による ANCA 関連血管炎の活動性バイオマーカーの探索新規

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
要 伸也	医学部 腎臓・リウマチ膠原病内科学	教授	データ分析
福岡 利仁	医学部 腎臓・リウマチ膠原病内科学	講師	患者検体採取、データ分析
吉崎 幸	国立国際医療研究センター	医員	エクソソーム解析

キーワード

急速進行性腎炎、ANCA、エクソソーム

研究分野

薬理学

1. 共同研究の目的

ANCA 関連血管炎は臨床的に急速進行性腎炎を呈し、免疫抑制療法で寛解しても再発があり、それを予期するのが困難である。CRP などの炎症反応や ANCA が病勢を反映するとされているが、それより鋭敏なマーカーを患者血中エクソソームの解析から同定することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

腎臓内科でフォローしている ANCA 関連血管炎の患者の病勢の強い時期と寛解期でエクソソームを単離し、エクソソーム中の蛋白、核酸を分析し、病勢との関連を検討する。本研究は 2019 年 11 月 27 日に本学倫理委員会で承認（承認番号 1404）されている。

3. 研究成果（経過）

ANCA 関連血管炎は臨床的に急速進行性腎炎を呈し、免疫抑制療法で寛解しても再発があり、それを予期するのが困難である。CRP などの炎症反応や ANCA が病勢を反映するとされているが、それより鋭敏なマーカーを患者血中エクソソームの解析から同定することを目的とする。

本年度は血中エクソソームの単離、確認法の確立を行った。

38. 新規 COVID-19 ワクチンに対する組織反応の病理組織学的評価

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
内田 智士	京都府立医科大学 iCONM	准教授 副主幹	新規 COVID-19 ワクチンの開発

キーワード

COVID-19、ワクチン、免疫応答、免疫組織化学染色、病理組織学的評価

研究分野

病理学、免疫学

1. 共同研究の目的

COVID-19 感染は、現在世界で最も重要な医療問題であり、国産のワクチン開発は喫緊の課題である。共同研究者である内田准教授らのグループは、脂質を用いない新たなワクチン開発を行っており、マウスモデルでは、顕著な成果が得られつつある。今回、共同研究により、マウスの皮膚や筋肉といった注射部位や所属リンパ節などの評価を病理学的に行うことで、ワクチンに対する *in vivo* の免疫応答を細胞レベルでより詳細に評価する。

2. 共同研究の内容・計画

マウスに対して、レポータータンパク質を発現する mRNA を皮内、もしくは筋肉内に投与して、その組織を回収する。マウスより得られた組織サンプルは、OCT コンパウンドに包埋あるいはホルマリン固定の後、杏林大学病理学教室に送られ、形態学的評価とともに、特殊染色、免疫組織化学染色、*in situ hybridization* などの手法を用いて、統合的な病理組織学的評価を行う。なお、実験に用いられるマウスは、トランスジェニックマウスであり、その組織サンプルに COVID-19 の感染性はない。

3. 研究成果（経過）

共同研究者である内田准教授らのグループは、脂質を用いない新たなワクチン開発を行っており、マウスモデルでは、顕著な成果が得られつつある。今回、共同研究により、マウスの皮膚や筋肉といった注射部位の組織を病理学的に評価した。その結果、一部のマウスで皮下にリンパ濾胞形成が見られており、このリンパ濾胞について現在免疫組織化学染色、*in situ hybridization* などの手法を用いて、統合的な病理組織学的評価を行っている。なお、実験に用いられるマウスは、トランスジェニックマウスであり、その組織サンプルに COVID-19 の感染性はない。

39. マラリア原虫の抗マラリア活性化合物に対する耐性獲得機序の解明

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
渡邊 信元	理化学研究所	ユニットリーダー	抗マラリア活性化合物の合成

キーワード

抗マラリア活性、化合物、耐性獲得、薬剤開発

研究分野

寄生虫学

1. 共同研究の目的

マウスマラリア原虫を用いて化合物の抗マラリア活性および耐性化の機序を解明する。

2. 共同研究の内容・計画

各種マラリア原虫をマウスに感染させ、それらに化合物を投与する。マラリア原虫の増殖阻害活性及びマラリア原虫感染マウスの延命効果等により、化合物の抗マラリア活性および耐性化を評価する。

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ルを見出した。これらの研究結果をまとめ、論文として投稿する準備を進めている（2022年3月投稿予定）。

40. 新規抗マラリア活性化化合物の作用機序の解明

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
和田 章	理化学研究所	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

寄生虫学

1. 共同研究の目的

マラリア感染マウスを使用した各種化合物の抗マラリア活性の評価及び薬効発現の作用機序を解明する。

2. 共同研究の内容・計画

マラリア原虫を感染させたマウスを作製した後、それらに各種化合物を投与する。そして、マウス内のマラリア原虫に対する化合物の増殖抑制効果および薬効発現の作用機序を詳細に解明する。

3. 研究成果（経過）

本学で実施した *in vivo* 評価によって、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 には抗マラリア活性があることが明らかになった。現在、化合物の抗マラリア活性をより高めるために化合物の改良およびその *in vivo* 評価を行っている。

② 保健学部

41. 介護保険施設入所高齢者の入退院連携システムの開発

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
坂井 志麻	保健学部看護学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
高井 ゆかり	群馬県立県民健康科学大学	教授	ヒアリング調査計画と分析
長江 弘子	東京女子医科大学	教授	質問紙調査計画とツール作成
石橋 みゆき	千葉大学	准教授	質問紙調査計画と分析

キーワード

入退院支援、介護保険施設、連携

研究分野

高齢者看護学

1. 共同研究の目的

介護保険施設入所高齢者の入退院連携システム（入退院連携プロトコールおよび情報連携ツール）を開発することである。具体的なアウトカムは、①関東圏の介護保険施設（介護老人福祉施設、介護老人保健施設）を対象に入所高齢者の急性期病院との入退院時における連携の実態と工夫点・課題について明らかにする。②介護保険施設入所高齢者の病院・施設間における入退院連携プロトコールの開発および情報連携ツールを開発する。

2. 共同研究の内容・計画

看取りや在宅復帰を実践している施設より、病院・施設の連携担当者対象に、成功事例と困難事例における連携状況に関するヒアリング調査を実施する。ヒアリング調査より質問紙調査の調査項目を洗練し、介護保険施設入所者の入退院支援プロセスにおける、病院・施設間連携の実態、入院を契機に医療機関へ退所となった介護保険施設高齢者の特徴について、関東圏1都6県の特養ならびに老健施設全施設3,000施設へ郵送法による自記式質問紙調査を実施する。

3. 研究成果（経過）

看取りや在宅復帰を実践している施設より、病院・施設の連携担当者対象に、成功事例と困難事例における連携状況に関するヒアリング調査を実施する。

ヒアリング調査より質問紙調査の調査項目を洗練し、介護保険施設入所者の入退院支援プロセスにおける、病院・施設間連携の実態、入院を契機に医療機関へ退所となった介護保険施設高齢者の特徴について、関東圏1都6県の特養ならびに老健施設全施設3000施設へ郵送法による自記式質問紙調査を実施する。

病院・施設間の連携プロトコールの作成と連携に必要な情報共有ツールを作成する。

42. 容量結合型対極板 SAS パッドマトリックスの持つ低周波カット能力の検証

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中島 章夫	保健学部臨床工学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
永田 康	横須賀共済病院	臨床工学技士	研究全体の立案、データ収集
鈴木 哲治	保健学部	助教	評価方法の確立

キーワード

電気メス、低周波成分、SAS パッドマトリックス、患者安全向上

研究分野

治療機器（高エネルギーデバイス）

1. 共同研究の目的

泉工医科工業社（以下：泉工）が販売している電気メス用対極板、メラ SAS パッドマトリックス（SAS：Safety Area System、以下 SAS）は、生体に有害な低周波成分をカットする特性を持っている。泉工の資料では、電気メスからを用いて患者に出力したところ、この対極板の特性により低周波の影響による筋肉の痙攣が消失するという記載があった。電気メスは、患者と電気メスとが閉回路を形成しているため、メス先から患者に流れた電流は対極板により電気メスに回収される仕組みになっている。本機能が正常に作動していると仮定すると、対極板より先の電気メス側では低周波成分はカットされるが、対極板より手前の患者には低周波成分が生じる可能性があると考えられる。そこで本研究の目的は、電気メス出力時にオシロスコープで低周波成分を測定し、SAS の持つ低周波カット能力の有用性を検証し、電気メス使用時の患者安全の向上を目指す。

2. 共同研究の内容・計画

使用物品は、大きく分けて電気メス本体、付属品（メス先電極、対極板）、電気メスチェッカ、測定用オシロスコープとなる。電気メスは、泉工医科工業社の Shapper Ai 他、メドトロニック社、エルベ社の電気メスで測定実験を行う予定である。人体の模擬抵抗用機器として、泉工医科工業社製 ESA225 を使用し、負荷抵抗はメーカ出力点検時と同じ 500Ω に設定し、対極板は SAS パッドを使用する。以上、電気メス等は、横須賀共済病院所有の機材を用い、オシロスコープは本学臨床工学科所有の機材を使用する予定である。

研究方法は、人体模擬抵抗である ESA225、及び SAS パッドの閉回路中における各電流値を、オシロスコープで測定し、低周波成分の大きさを調査する。電気メスの出力モードは、純粹切開、混合、ノーマル凝固、ソフト凝固等で行い、各モードにおける周波数成分を FFT 解析により検討する。また、SAS は銅板に貼付し簡易的な閉回路を作成する。電気メスからの出力は、実際の手術症例での使用に合わせ、30～80W の範囲で測定する。

研究結果については、学会発表等も視野に入れ、本学と共同でデータ解析・分析を行う。

3. 研究成果（経過）

本研究は、泉工医科工業社（以下：泉工）が販売している電気メス用対極板、メラ SAS パッドマトリックス（SAS：Safety Area System、以下 SAS）を対象とした。本 SAS は、生体に有害な低周波成分をカットする特性を持つ対極板である一方、本 SAS を用いて電気メスを患者に使用した際、低周波の影響による筋肉の痙攣が消失するという事例があった。電気メスは、患者と電気メスとが閉回路を形成しているため、メス先から患者に流れた電流は対極板により電気メスに回収される仕組みになっている。本機能が正常に作動していると仮定すると、対極板より先の電気メス側では低周波成分はカットされるが、対極板より手前の患者

には低周波成分が生じる可能性があると考えられる。そこで本研究は、電気メス使用時の患者安全の向上を目指すことを目的として、電気メス出力時にオシロスコープで低周波成分を測定し、SAS の持つ低周波カット能力の有用性を検証した。

2021 年度はコロナ禍の影響で、杏林側研究者が直接測定をできなかったため、横須賀共済病院臨床工学科にて、本学より貸与したオシロスコープ及び高電圧プローブを用いた測定を実施した。研究方法は、人体模擬抵抗である ESA225（電気メスチェッカ、泉工医科工業）、及び SAS パッドの閉回路中における各電流値をオシロスコープで測定し、低周波成分の大きさを調査した。SAS は銅板に貼付し簡易的な閉回路を作成し、電気メスの出力モードは、純粹切開、混合、ノーマル凝固、ソフト凝固で行い、出力は実際の手術症例での使用に合わせ、30～80W の範囲で測定した。結果、通常の閉回路と SAS パッド波形との差は特に見られなかった。よって電気メスからは低周波成分が出ていない事が考えられた。近年使用されている電気メスはアナログ制御ではなく、デジタル制御になったことによって以前より低周波が作られにくい状況となっている。したがって、本検証で行ったシステムでは低周波を検証することはできない可能性が高い。今後の検討事項としては、現在臨床で使用されている古い製造年タイプの電気メスを用いて同様の測定を行い、人体に影響を及ぼす低周波成分が出力されているかと確認すると共に、SAS の低周波カット能力有無についても併せて検証を行う。

43. 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	保健学部作業療法学科	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	助教	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	保健学部作業療法学科	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

肥満や糖尿病患者は易感染性であり、感染後の重症化リスクが低いことが臨床上的の問題点として知られている。我々は、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を報告した (Ont J Mol Sci. 2021, 22, 1165)。一方で、回腸、盲腸、結腸の変化や、IgA を分泌する形質細胞の同定による IgA 分泌能の検証は課題として残されている。そこで、本研究は高脂肪食モデルマウスにおける腸絨毛内の形質細胞分布と IgA 分泌能を検証することで、高脂肪食投与による腸管免疫機能低下を解明することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

動物モデルは、高脂肪食 (60 kcal % fat, Research Diets, inc) で 16 週間飼育された食事誘導性肥満モデルマウスと通常食 (13 kcal % fat, Lab Diet) で飼育された同週齢マウスを対照とする。麻酔下 (三種混合薬; ドミトール、ミタゾラム、ペトルフェール) にて標的臓器 (空腸、回腸、盲腸、結腸) を露出し、寒剤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と、CD19 や CD22 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 (局在変化と、IgA 分泌機能の関連性について検証する。

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。これまで我々は、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らずに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」を用いた Ig の分布の観察によって、通常食を投与したマウスと比較し、高脂肪食を投与したマウスの空腸絨毛粘膜固有層における IgA 陽性細胞数の減少や分布が変化することを報告した (Int J Mol Sci. 2021, 22, 1165)。本年は、通常食と高脂肪食の差が明確であった 20 週齢マウスにおける腸管 Ig 陽性細胞に着目した。4 週齢から 20 週齢にかけて通常食を投与した通常食マウスと、同期間に高脂肪食を投与した食事誘導性肥満モデルマウスを作製した。マウスの空腸および回腸を標的臓器として生体内凍結技法

-凍結置換法によって固定し、パラフィン包埋試料を作製した。現在は、形態学的解析とともに免疫組織化学的手法を用いた解析に着手している。今後の方針として、空腸および回腸における Ig 陽性細胞の分布比較、蛍光標識抗体を用いた Ig および細胞のマーカ―蛋白との共染色細胞の同定、ELISA による糞便中の IgA 定量値の測定より、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。

44. 糖尿病によって生じる運動野萎縮の改善に有効なリハビリテーションの開発

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
村松 憲	保健学部作業療法学科	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
三五 一憲	東京都医学総合研究所	プロジェクト リーダー	中枢神経内における分子マーカー発現と その分布の解析
新見 直子	東京都医学総合研究所	研究員	中枢神経内における分子マーカー発現と その分布の解析

キーワード

糖尿病、運動野、皮質脊髄路、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

1型糖尿病ラットでは皮質脊髄路（CST）軸索が損傷し、二次的に運動野面積が減少する。最近、我々はこれに対するリハビリテーションの効果を検討したところ、運動学習を伴う複雑な全身運動（スキルトレーニング）がCST以外の代償的下行路の活動を促し、運動野面積が回復することが明らかになった。しかし、この代償路の詳細が不明であるため、神経系の可塑性に関連する分子マーカーの脳内における発現/分布を指標に、代償路の局在を明らかにしようとするのが本共同研究の目的である。

2. 共同研究の内容・計画

実験には1型糖尿病ラット（糖尿病群）と健常なラット（対照群）を用いる。糖尿病群は21週間の飼育後、スキルトレーニングを行う群（ST群）、有酸素運動を行う群（AT群）、通常の飼育を継続する群（SED群）に分類し、2週間のトレーニングを行う。トレーニング期間が終了したら、脳や脊髄を摘出し、中枢神経内におけるGAP-43などの神経を可塑性に関連するタンパク質の発現、分布を免疫組織化学的に調べる。

3. 研究成果（経過）

前年度までに糖尿病ラットの皮質脊髄路障害に関連して生じる運動野の萎縮がスキル運動によって回復すること、また、この機能回復は皮質脊髄路を介さないで脊髄にモーターコマンドを伝達する代償的な下行路が形成されることによって達成されることを明らかにした。本年度はこの代償的な下行路の局在を調べる目的で、伸長中の軸索だけが発現するリン酸化GAP-43タンパク質の分布を網羅的に調べた。その結果、スキル運動を行なった糖尿病ラットの赤核脊髄路にリン酸化GAP-43タンパク質が分布することを突き止め、代償的な下行路の有力な候補を絞り込むことができた。

45. 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	保健学部臨床検査技術学科	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	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。現在までに 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 細胞に同時導入したところ、BND3 が RhD 蛋白と直接相互作用するキー分子であることが推定された。この BND3 をもとに具体的にどのような分子間ネットワークが構成されているか、免疫沈降法やツーハイブリッドアッセイによる検討をおこなって順次解明していく。

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。

46. 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	保健学部臨床検査技術学科	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
中江 進	広島大学大学院	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としている。さらに、キチナーゼ様タンパク質 Ch11 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、Ch11 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

Ch11 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) Ch11 産生細胞の同定

Ch11 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 Ch11 産生・分泌細胞を FACS にて同定する。

2) キチン/Ch11 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 Ch11 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/Ch11 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、自然免疫依存的な気道炎症の誘導機構を検討した。これまでに、キチンが粒子サイズ依存的に気道炎症を誘発し、好中球および好酸球の浸潤を誘発することが明らかとなっている。そこで今回、キチンによる好中球性気道炎症の誘発機構の解明を試みた。T 細胞・B 細胞・NKT 細胞を欠損する Rag2 欠損マウスでは野生型マウスと同程度の好中球浸潤が見られたのに対し、T 細胞・B 細胞・NKT 細胞と自然リンパ球 (Innate lymphoid cells: ILC) を欠損する Rag2 x Il2rg 欠損マウスでは好中球数が大幅に減少した。このような結果から、キチン粒子による好中球性気道炎症の誘発には ILC が関与すると推測される。好中球の誘導に関わる ILC には、IL-17 や IL-22 を産生する ILC3 の関与が想定されたが、これらのサイトカイン欠損マウスでも、野生型マウスと同程度の好中球浸潤が観察された。その一方で、ILC3 を活性化する IL-1 の欠損マウスでは、キチン粒子による好中球浸潤が大幅に抑制された。これらの結果から、キチン粒子による気道炎症には、IL-17 や IL-22 を産生する既知の ILC3 ではなく、IL-1 に応答する未知の ILC サブセットが関与していると推測された。

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
久原 重英	保健学部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
市之瀬 伸保	キャノンメディカルシステムズ (株) CTMR 統括ソリューション	主席	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 法に関し、新たにマッチング法を用いた精度比較、及び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、今年度は新たにマッチング法を用いた精度比較、及び MOLLI 法における不整脈の影響について、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、より高精度な不整脈補正法について検討する。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) 法を提案し、MOLLI 法との精度比較を行なってきた (*)。今年度は、新たにマッチング法を用いた精度比較、及び MOLLI 法における不整脈の影響について、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、より高精度な不整脈補正法について提案した。その成果は MRMS (Magnetic Resonance in Medical Sciences) 誌ならびに RPT (Radiological Physics and Technology) 誌の 2 誌に投稿し現在査読中である。

本研究対象部位 (心臓) に関しては所定の成果が得られたため、今後さらに適用部位を広げて検討を行っていく予定。

(*) 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実施した。

48. 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
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）
實松 豊	九州大学 システム情報科学研究院	准教授	共同研究者（機械学習/情報理論）

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、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。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 MRI シミュレータも用いて、MRI のサンプリングパターンやニューラルネットワークの他の構造等についての検討を行う。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来た（*）。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、MRI シミュレータも用いて、MRI のサンプリングパターンやニューラルネットワークの他の構造等についての検討を行った。また画質以外の復元精度評価法との関係についても検討した。その結果、ニューラルネットワークの構造ならびに画質以外の復元精度評価法に応じた、最適サンプリングパターンに関する知見が得られた。これらの成果に関しては、今後 MRI の主要学会である ISMRM, ESMRMB 等に投稿・発表予定である。

（*）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た。

49. 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	保健学部理学療法学科	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

キーワード

糖尿病、横隔神経、運動耐用量

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量低下は運動療法実施の障害となることが知られている。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が、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量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1型糖尿病ラット（糖尿病群）と健常なラット（対照群）を用いる。麻酔下で維持したラットの左頸部を切開し、横隔神経に刺激用のカフ電極を設置する。次いで、横隔膜に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2つの方法で運動単位の電気生理学的解析を行う。1) 横隔神経を電気刺激することによって誘発される単一運動単位電位を記録する。2) 自発呼吸下の横隔膜から単一運動単位電位を記録する。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）

2021年度は糖尿病モデル動物の横隔神経の神経筋接合部の形態学的な変化を調べた。その結果、糖尿病モデル動物の神経筋接合部は対照群に比べて小さく、その密度も低かった。また、運動神経終末から豊富な軸索側枝の発芽が認められ、残存する運動神経による活発な再神経支配が行われていることが明らかになった。

50. 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	保健学部理学療法学科	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

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 (CST) 0 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、CST 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て CST 軸索の興奮伝導の特徴と電子顕微鏡を用いた CST 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 CST 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)1とその健全対照群である同週齢のWistarラットを用いる。両群の動物は23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フィールド電位を記録して、皮質脊髄路軸索の伝導速度などを求める。実験終了後は脳と脊髄を摘出し、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)

本年度は糖尿病モデル動物の皮質脊髄路の超微形態を調べた。その結果、皮質脊髄路の全長にわたる軸索の萎縮と腰仙髄に投射する皮質脊髄路線維の末端部において髄鞘の菲薄化が生じていることが明らかになった。また、同部位には稀ではあるが脱髄や軸索変性が認められた。これはつまり、糖尿病によって生じる皮質脊髄路障害は軸索の長い線維の末端部に特に生じやすいことを示している。以上の結果は前年度までに得られていた電気生理学的解析結果と合わせて、下記の雑誌に原著論文として発表した。

Ken Muramatsu, Satoshi Shimo et.al.

Functional and Structural Changes in the Corticospinal Tract of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Int. J. Mol. Sci. 2021; 22: 10123

51. 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	保健学部臨床工学科	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	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	保健学部臨床工学科	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、ナースコールシステム CN比、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、エネルギーを発生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評価を定量的に行う。過去 3 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、セントラルモニタでの受信障害が発生し対策を講じた研究の一部を昨年度の第 49 回日本医療福祉設備学会にて発表した（筆頭演者：中島章夫）。今後、これら受信障害発生を防止することを目的とし、医用テレメータ使用環境下において、ナースコール等通信機器、他医療機器からの電磁干渉の原因を調査する。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、測定調査結果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、電波を測定するアンテナシステムと電波の電力・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波環境の測定・解析による定量評価を目的としている。2021 年度は、2020 年から引き続き、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への対策・電波環境の調査結果に

ついて、その研究成果を、第50回日本医療福祉設備学会（2021年12月13日～2022年1月12日、Web開催）一般演題40「医用テレメータ受信障害に対する漏洩同軸ケーブル再敷設による電磁波環境改善の試み、筆頭演者：余川絢音」、及び、電気学会電子回路研究会：非線形電子回路および電子回路一般（2021年12月23日、Web開催）ECT-21-075「医療施設での電磁波ノイズ問題について：中島章夫」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、現在再査読審議中となっている。

2022年度の計画としては、第97回日本医療機器学会（2022年6月2～4日、横浜）にて上記研究結果を発表し、医療機器学への投稿論文の査読者からの対応を行うと共に、氷見市民病院にて2021年にコロナ病棟増設に伴う医用テレメータアンテナ増設・変更後の院内医用テレメータ使用環境下での電波の電力・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、2021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ったため、Onlineで打合せ等を行い、測定方法の支援、学会発表及び投稿論文の指導等を行った。

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：健康な右利き成人男性 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む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）

2021 年度：

新型コロナウイルス感染症による影響で延期していた本実験を実施した。

本実験では、2020年度の予備実験で設定した撮像パラメータを用いて刺激動画を用いたfMRI実験の実施と結果：

- ① 健常な右利き若年成人男性16名を対象に実験を実施した。
- ② 課題は、2条件のバランス課題（安定、不安定）の刺激動画に対して、自分自身が能動的に課題を実施しているようにイメージして観る条件（Motor Image：以下MI）および他者が行っているのを観る条件（Action Observation：以下AO）の2条件の観点を設定し、刺激提示時の脳活動をfMRIにより計測した。

本実験が2022年度1月に終了したことから、現在解析を進めている。

2022年度の方向性：

解析を実施し、研究成果の報告を行う予定である。

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	保健学部理学療法学科	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）

2021 年度においては、若年健常男性 15 名に対して片脚立位課題として、計測は頭部・胸郭部・骨盤部・両上肢・両下肢に貼付した加速度センサと重心動揺計を用いて実施した。

各課題遂行時の 3 軸方向の加速度及び総軌跡長、外周面積を計測した。解析は、左右方向、上下方向、前後方向の合成加速度から算出した実効値と、重心動揺計より得られた総軌跡長および外周面積を算出した。

結果として、視覚条件の違いとして、加速度から算出した実効値では、胸郭部と骨盤部を除いて開眼時に比べて閉眼時において有意に高値を示した。また、総軌跡長および外周面積も開眼時に比べて閉眼時において有意に高値を示した。相関関係は開眼時に比べて閉眼時において、四肢の加速度間に有意な相関を認めた。頭部と胸郭部の間には視覚条件によらず有意な相関を認めた。本研究の成果は、第 18 回姿勢と歩行研究会（2022. 03. 12, 東京）にて発表した。

54. 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	保健学部臨床検査技術学科	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、多くの女性がか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、次世代シーケンサー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、Koilocytic changes are not elicited by human papillomavirus genotypes with oncogenic potential *J Med Viro*, 2020;92:3766-3773. Correlation between Human Papillomavirus Codetection Profiles and Cervical Intraepithelial Neoplasia in Japanese Women Microorganisms 2020, 8(12),1863. を公表した。

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以下の結果が得られた。

1. 細胞診標本上の異型細胞の由来を解析するためには、単一細胞レベルでのマイクロダイセクション (MMD) 法が欠かせない。現在、レーザーマイクロダイセクション法が主流であるが、高コストに加えて単一細胞レベルでのマイクロダイセクションは非常に困難なため、独自の MMD 法を考案した。我々の方法により、細胞診検体から分離した単細胞を用いて、HPV の遺伝子型を同定することに成功した。さらに多重感染症例から調製した上皮内病変細胞の大半は、1つの遺伝子型しか含まないことが判明した。今後、細胞診標本上の上皮内病変細胞が示す形態変化と感染 HPV 遺伝子型との関係を検討する際に、MMD 法が応用できる。

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>

2. 我々の考案した uniplex E6/E7 PCR assay (*J Med Virol*, 2018) を用い、HPV 陽性の細胞診標本上に存在する多核細胞について HPV 遺伝子型を MMD 法で解析した。その結果、多核細胞から、HPV16、34、56 など、特に癌発症に関連するハイリスク型による形態学的変化であることが明らかになり、上皮内扁平上皮病変の予測因子となる可能性が示された。

Profiles of human papillomavirus detection of the multinucleated cells in the cervical smears.

Microorganisms 2021, 9(8), 1575; <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081575>

55. 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	保健学部臨床工学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
桑名 克之	泉工医科工業株式会社	部長補佐	共同研究助言・統括
井上 将	泉工医科工業株式会社	課長	医療機器情報収集
柏原 進	泉工医科工業株式会社	部長	開発部門統括

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

現在臨床に使用されている製品（チューブとコネクタ）を参考に、段差部位に注目した流体解析を実施する。コネクタ前後のチューブの屈曲状態や、流量、圧力などを変化させ、段差部位の流れの変化を可視化し系統的に調査する。臨床使用条件・状況（手術室内での機材の配置や、人工心肺の条件）を想定した流れの解析も行い、先述の基礎的な条件での流れとの相違などを検討する。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、製品改善の足がかりを探っていく。

3. 研究成果（経過）

体外循環回路では人工肺やチューブ同士を接続するためにコネクタが用いられている。コネクタとチューブの接続部には段差があるため、流れが停滞し、血栓形成の原因となっている。本共同研究では、コネクタ接続部の壁面近傍の流れを観察するために、油膜法を用いた評価方法を検討してきた。今回、コネクタとチューブを接続する際に生じる角度のずれが、接続部の流れに及ぼす影響について検討した。

油膜法は物体表面に油を塗布し、洗い流しの状態から壁面近傍の流れを観察する方法である。人工心肺用チューブおよびコネクタ（3/8inch、MERA）を用い、流動パラフィンと油煙を混合した試料 40 μL をコネクタ接続部に塗布して油膜を作成した後に、ローラポンプで水道水を 3 L/min、6 L/min で循環させて 5 分間の洗い流し実験を行った。接続部周囲に 90 度ずらした 2 個のカメラを配置して、前面および側面の油膜の動きを同時に動画撮影した。

先行研究で報告されているのと同様に、本研究でもコネクタの流出部よりも流入部のほうが、洗い流しが良好であった。コネクタとチューブの接続角（並行に接続した場合は 0°）が 0°、3°、7° について比較したところ、0° ではリング状に油膜が残ったのに対して、角度を付けたものはコーナーの内側で油膜が停滞する様子が観察された。接続角 3° は、肉眼では並行との違い

を判別できない程度のずれであるが、接続部に偏った流れの停滞が生じる可能性が示唆された。以上のように本共同研究期間を通して、様々な条件で回路接続部の段差近傍の流れを詳細に検討し、製品改善に向けた基礎データを収集できたことが成果である。

56. 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	保健学部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	保健学部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	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 SP02 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、6 か月後、1 年後のデータ収集を終えたので、引き続き、2 年後までのデータ取得のため、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。さらに磁場の幾何学的物理特性を評価する。

3. 研究成果（経過）

承認後の令和 1 年 10 月 1 日から複数台の 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。予定通りの計画で進んでおり、全ての装置を分解しログを解析した結果は、曝露前と有意差はないことが 2 年強の経過で確認できた。

本 CO2 モニタは 3T-MRI 装置の静磁場下において問題なく使用できることが証明されたので、本研究はこれで終了とする。なお、研究成果は技術報告として学会誌に掲載するためデータを纏めて執筆する。

57. 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	保健学部臨床検査技術学科	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	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変化こそたらさないが、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凍結切片を作製し、特殊なスライドガラスに貼り付け真空乾燥する。東京薬科大学に2019年度に導入された 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、生体分子の分布を二次元的にイメージング (MSI)する。2020年度に本研究を開始し、ある種の脂質分子の脳内分布が変化することを検出した。2021年度は、分子種を特定し、脳のどの部位でいかなる化学修飾を受けるのかを定性的に同定したい。その後は脳から標的物質を抽出し、本学が備える 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)

新生児敗血症モデルマウスでは、形成途上にある脳内ミクログリアが炎症性刺激に対して応答し、遺伝子発現を変える。生後7日齢(P7)マウスのLPS投与4時間後群と24時間後群の左大脳皮質・辺縁系・小脳において、8種類のサイトカインに有意の濃度変化が認められた。特にCCL2、G-CSF、CXCL10、CCL11はLPS投与4時間後、24時間後共に上昇し、脳の部位では差異がなかった。この脳内炎症性環境をもっとも強く受け取るのは、受容体の発現の高さからミクログリアと考えられる。ミクログリアはLPS投与24時間後の遺伝子発現変化で、自細胞内の化学修飾を誘発した。このことから、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が高い。本年度は、各分子に適したmatrixを工夫する中で、Matrixは25 mM 9-aminoacridine(9-AA) in 70% MeOHへと変更し、Calibrationとして9-AA/angiotensin IIに変更した。adult mouse brain (LPS投与 vs Saline)にて標準を取りつつ、baby mouse brain (LPS投与 vs Saline)の画像に対してMass spectrometry imaging (MSI)を用いて網羅的にスクリーニングしている。解像度 100 μmとして、着目すべき点をしばりこみつつある。その標的物質を確定できれば抽出

し、本学の TSQ Quantum Ultra LC/MS/MS system を用いて定量分析する。生体分子化学修飾の観点から、新生児敗血症に起因する脳症の解明に貢献したい。

58. 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
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、中性子線、BNCT

研究分野

総合領域

1. 共同研究の目的

マイクロパターンガス検出器 (MPGD) の一つであるガス電子増幅装置 (GEM) の開発、およびこの技術要素を用いた種々の放射線検出器の開発・性能評価を行う。特に、これまでの研究で得られた技術の医療応用を目指し、近年、がんに対する新しい放射線治療として脚光を浴びている、BNCT (中性子捕捉療法) の中性子ビーム評価が可能な中性子検出器の開発を継続して行う。

2. 共同研究の内容・計画

新たに開発した GEM 自体の評価・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、信号処理の電子回路設計・評価を含めた検出器システムの研究・開発を行う。今年度は実際の中性子場での実験も計画し、検出器開発を進める予定である。検出器の開発・組立は主に 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の 1 つである Gas Electron Multiplier (GEM) の開発を含めた放射線検出器に関する基本パラメーターの最適化や、放射線検出器の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、中性子捕捉療法 (BNCT) 用のビームモニタとして活用するために装置の改良を進めた。特に要求される仕様に合わせた改良 (エネルギー弁別能の向上) を加えることができ、実験施設 (京都大学原子炉) でのデータ収集も実施できた。さらには、新しい GEM の開発・評価を進めることができ、実際の中性子線治療条件でビームの状態を乱すことなく、リアルタイムに中性子ビームを評価できることの見通しを立てることができ、新たな知見も得られた。ビームモニタとして要求される検出器性能が明確になってきたので、さらに改良を加えていく予定である。

59. 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	保健学部臨床工学科	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
桑名 克之	泉工医科工業株式会社	部長補佐	共同研究助言・統括
井上 将	泉工医科工業株式会社	課長	医療市場情報収集
鈴木 利佳	泉工医科工業株式会社	次長	開発部統括

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

静脈リザーバに必須であるリザーバ内の液量を示す目盛シールに透明かつ導電性を有する導電性ゲルシートの応用を検討する。2021 年度の研究計画は①4 月～9 月 : 種々の導電性ゲルシート評価 (グレードの選択、形状の検討)、②10 月～12 月 : 導電性ゲルシートの仕様検討、③2022 年 1 月～3 月 : 導電性ゲルシートの仕様決定、2021 年 4 月～2022 年 3 月 : 周波数 1MHz での測定器の検討を行う。

3. 研究成果 (経過)

静脈リザーバに必須であるリザーバ内の液量を示す目盛シールに、静脈リザーバ内の視認性を確保可能な透明かつ導電性を有する導電性ゲルシートの応用の検討を行った。種々の導電性ゲルシート評価 (グレードの選択、形状の検討) を行い、本研究開発のコンセプトを具体化したプロトタイプ電極の作成を行い実験的に評価した。その結果、貯液量連続モニタリング装置の目的を十分に達するレベルであることが確認された。

60. 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	保健学部臨床検査技術学科	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	特任准教授	抗原分子同定
堀本 義哉	順天堂大学	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, β -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。(2020 年度に 2 回細胞融合を行なったが、特異度が高いクローンが得られず現在追加で免疫中である。)
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) 杏林大学保健学部倫理委員会承認済み(承認番号: 2020-12)

3. 研究成果(経過)

1. 乳腺小葉癌に対する新規診断抗体樹立について
昨年度報告した 5 抗体について、一部は失活してしまった。クローニングを急がなければすぐに失活してしまう事が判明した。今年度も 3 回細胞融合を行なってスクリーニングを施行した。1st スクリーニングで FACS 陽性を示したクローンに対してその日もしくは翌日には限界希釈法を施行したが、多くは失敗した。最終的に現在 6 抗体が有望な抗体として残っている。
2. 1 のうち 3 抗体が免疫組織化学染色に用いる事が可能である。現在臨床例を用いてテスト染色を行うところである。
3. 1 の抗体について他腫瘍由来の培養細胞株との FACS 解析を行なっている。いくつかは他の腫瘍由来の細胞株と結合する結果が得られている。今年度は、正常な細胞株や組織片で陰性を示すかを確認する予定である。
4. 今年度はさらに 1 の有望な抗体についてヌードマウスを用いて腹水を作製・精製し、抗原分子を同定する。そして結果について論文化する事と学会で報告する予定である。
5. 抗腫瘍活性の検討については余裕があれば行う。

61. ICT を活用した看護実践能力育成システムの構築—モチベーションとリフレクションの測定を通じて—

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
佐野 恵美香	保健学部看護学科	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
安田 行宏	一橋大学	教授	共同研究助言・統括
和田 裕雄	順天堂大学	先任准教授	共同研究助言
荒添 美紀	保健学部看護学科	教授	調査計画と分析
大坪 裕子	保健学部看護学科	講師	調査計画と実施
楠田 美奈	保健学部看護学科	学内講師	調査計画と実施

キーワード

看護実践能力、ICT、看護教育、能力育成システム

研究分野

看護学

1. 共同研究の目的

ICT (Information and Communication Technology) を活用した看護実践能力育成システム構築のために、授業における ICT 活用の影響について検討する。近年、ICT を医療チームの一員とする社会が訪れようとしており、看護基礎教育では ICT を活用するための基礎的能力を養うことが求められている。VOD (Video On Demand) 教材を活用した学習のニーズや効果は年々高まり、知識や実践力向上への効果が示唆されている。能動的な学びの促進・継続、学びの動機付けへの影響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

看護基礎教育の早い段階であり、看護実践能力修得のための学び方や考え方の基盤、人間関係形成過程を学ぶ時期の学生を対象に、看護技術習得に ICT を活用することの影響について検討する。またリフレクションにより自信や自尊感情を身に付けモチベーションをあげる・次のステップへのモチベーションとなるという報告や、不適切なリフレクションによっては、モチベーションを低下させるという報告があるため、質問票調査により prosocial motivation および reflection を測定し、ICT を活用することでの効果的な学習形態について検討する。

3. 研究成果（経過）

ICT (Information and Communication Technology) を活用した看護実践能力育成システム構築のために、授業における ICT 活用の影響について検討した。なお本申請研究は杏林大学倫理審査委員会の承認 (2021-75) を得て研究を開始している。看護技術習得のために ICT を活用することの影響について、質問紙調査により prosocial motivation および reflection を測定した。2021 年度は ICT を授業に活用することで学生が感じる効果とデメリット、今後の可能性についてと、学生の看護職に対する向社会的モチベーション (自律的側面のみ) のデータを取得した。現在データを集計するとともに、ICT を活用することでの効果的な学習形態について、データを一橋大学・順天堂大学の研究者とともに多角的に検討している。

本調査結果については、日本看護学教育学会 第 32 回学術集会（2022 年 8 月 6 日～7 日）の交流セッションにて発表できるよう投稿中である。

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中村 淳史	保健学部臨床工学科	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
井上 将	泉工医科工業（株）	課長	研究用機器の試作
村田 綾	泉工医科工業（株）		実験データの解析協力

キーワード

人工肺、体外循環、血液粘度、圧較差

研究分野

臨床工学

1. 共同研究の目的

人工心肺施行中のトラブルは、119 症例に 1 件（0.84%）の割合で発生しており、トラブルの発生部位は人工肺が一番多いとされている。トラブルの多くは人工肺内部での血栓形成による人工肺の閉塞（目詰まり）である。人工肺の閉塞は血液の酸素化や血液ポンプによる灌流維持が不能となる。その場合、一時的に人工心肺を停止させ、人工肺を新しい物に交換が必要となる。臨床では人工肺の閉塞を検知するために人工肺前後の圧力が測定され、人工肺前後に生じる圧較差を監視することが必須となっている。しかし圧較差は血液流量、血液粘度（温度、Ht 値）に影響され一定ではない。特に血液粘度は人工心肺中に測定されていないため、血液粘度を考慮した、圧較差の評価は可能となっていない。そこで、本研究では血液粘度を考慮した、人工肺の圧較差の評価法について検討する。

2. 共同研究の内容・計画

承認後～2021 年 10 月

連続的に血液粘度測定の検討と評価を行う。

2021 年 6 月～2021 年 10 月

粘度変化に対しての人工肺の圧-流量特性についてのデータを取得する。

2021 年 10 月～2022 年 3 月

血液粘度から人工肺の圧較差値を予測するシステムを作成し評価する。

3. 研究成果（経過）

2021 年度は人工肺の流量と灌流液粘度、圧較差の関係を明らかにすることを目的とし、人工心肺回路に人工肺全体、熱交換部、ガス交換部の圧較差について検討を行った。その結果、熱交換部が人工肺全体に対して占める圧較差の割合は、粘度 0.69～2.70 cP において 1 L/min:28.2±1.8%、4 L/min:19.7±2.0%、7 L/min:15.7±2.3%となり、流量の増加に伴って低下する事が確認され、人工肺内の熱交換部とガス交換部では圧-流量特性が異なることが実験的に確認され、さらに、実験データから重回帰分析により、流量と粘度値から人工肺全体の圧較差を予測する関係式を得た。今後、予測式の信頼性の検討を行う予定である。

63. MRI ディープラーニング再構成の学習データ量削減

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
久原 重英	保健学部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
竹内 純一	九州大学大学院 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）
竹島 秀則	キヤノンメディカルシステムズ (株) 研究開発センター	主幹	共同研究者（MRI 画像再構成/機械学習技術）

キーワード

MRI, 画像再構成, 深層学習, データ量, 圧縮センシング

研究分野

MRI

1. 共同研究の目的

近年 MRI の画像再構成や応用技術に深層学習が多用され始めている。しかしながら、深層学習には多量のデータが必要であり、十分な学習データが収集できていない場合、追加データ収集により性能向上を図る必要がある。本研究では科学的根拠に基づき学習データ量削減を図る手法について研究を行う。

2. 共同研究の内容・計画

MRI 深層学習再構成ならびに応用技術において十分な学習データを収集できていない場合に、科学的根拠に基づいて、より少ない追加データ収集にて性能向上を図る手法について研究を行う。手法検討は3者共同で行うと共に、九州大学にてアルゴリズム試作を行い、キヤノンメディカルシステムズならびに本学にて人体撮像データならびに評価用シミュレーションデータを準備・作成し、アルゴリズムの評価を行う予定。本年度はまず上記に関するフィージビリティスタディを行う。

3. 研究成果（経過）

近年 MRI の画像再構成や応用技術に深層学習が多用され始めている。しかしながら、深層学習には多量のデータが必要であり、十分な学習データが収集できていない場合、追加データ収集により性能向上を図る必要がある。本研究では科学的根拠に基づき学習データ量削減を図る手法について研究を行っている。

本年度は特に、データ量削減のために学習の途中で性能を予測する方法（学習性能予測手法）と元データから学習データを増やして評価する方法（Bloch シミュレーションも用いた学習性能評価手法）の2つの課題を設定し、それぞれの課題に係る基礎検討を実施、理論ならびに処理プロセスを含む基本方式の確認まで実施した。

本手法検討は3者共同で行うと共に、九州大学にてアルゴリズム試作を行い、キヤノンメディカルシステムズならびに本学にて人体撮像データならびに評価用シミュレーションデータを準備・作成し、アルゴリズムの評価を行っていく予定であり、今後、さらに実データへ適用した場合等について検討を進める予定。

64. 自動血球分析装置を用いた血球形態、造血、炎症の評価法の検討

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
加藤 庸介	保健学部臨床検査技術学科	学内講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
滝 智彦	保健学部臨床検査技術学科	教授	データ処理、解析協力
大西 宏明	杏林大学付属病院臨床検査部	部長	残余検体採取、データ処理協力
丸木 佳子	シスメックス株式会社		機器管理、測定技術サポート

キーワード

XR シリーズ 血球形態 造血 炎症

研究分野

血液検査学

1. 共同研究の目的

近年の自動血球分析装置は血球数や白血球分類の測定のみならず、各メーカーで独自の検査項目を搭載し付加価値をつけている。これまで、各メーカーの自動血球分析装置に搭載されている独自の検査項目については、スクリーニングや病態評価に関する報告があるが、未だその利用方法が解明されていない項目も多く存在する。自動血球分析装置より出力される検査項目を用いて血球形態、造血、炎症の評価を行う。これにより造血器疾患や炎症性疾患における病態評価法およびスクリーニング法が確立できれば、多くの施設で利用されることが期待される。

2. 共同研究の内容・計画

対象検体は、診療目的で杏林大学医学部付属病院において血液検査の採血を行った患者の残余検体を使用する。対象疾患は、白血病、骨髄異形成症候群、骨髄増殖性腫瘍、血小板減少症、血小板機能異常症、再生不良性貧血、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫、ウイルス感染症を各疾患で20名を目標とする。XRシリーズで出力される白血球系、赤血球系、血小板系の検査項目である115項目とする。これらの検査項目において、造血器疾患や炎症性疾患における病態評価法およびスクリーニング法に有用であるかを検討する。

①自動血球分析装置 XR シリーズによる検査項目測定 ②血液塗抹標本を作製し血球形態異常を判別する ③血球の RNA 定量、転写産物の発現量の解析、の順に進めていく。

XR シリーズの検査項目について、疾患別比較、項目間の比較、血球形態異常との相関性の確認、各疾患と血球の RNA 定量および転写産物の発現量との関連性を検討する。

3. 研究成果（経過）

2022年12月16日にシスメックス株式会社より自動血球分析装置 XR-1000 の貸与が開始している。現在、保健学部倫理審査委員会と医学部倫理委員会への研究倫理審査を申請中である。次年度より試料の測定を開始する予定である。