

## 共同研究



## 目 次

### ①医学部

|                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1. 自閉性障害患者のsyntaxin1A、1B 遺伝子解析と臨床病態との関連性の検討 .....                                                       | 181 |
| 2. 腎がん臨床サンプルを用いたメタボローム解析 .....                                                                          | 182 |
| 3. 前立腺癌患者を対象としたワイヤレス制御マイクロ流路チップ・セルソーターを用いた<br>循環がん細胞の臨床応用評価 .....                                       | 184 |
| 4. 高齢ドライバおよび軽度認知症ドライバにおける安全運転支援の評価方法に関する共同研究 .....                                                      | 185 |
| 5. 熱傷創に対する脂肪由来幹細胞(ADRC)の有効性および安全性の検討 .....                                                              | 186 |
| 6. ヒトiPS細胞を用いた皮膚付属器再生 .....                                                                             | 187 |
| 7. 膵臓癌検出における糖鎖修飾リボヌクレアーゼ1の有用性の検討 .....                                                                  | 188 |
| 8. ヒト体内に常在する抗酸菌・古細菌の探索および疾病との関連の解明 .....                                                                | 189 |
| 9. 難治性ネフローゼの血中惹起分子探索と尿中診断バイオマーカーの確立 .....                                                               | 190 |
| 10. しびれ感覚を引き起こす感覚神経興奮メカニズム .....                                                                        | 191 |
| 11. ATP受容体によるインスリン開口分泌調節機構の解明 .....                                                                     | 192 |
| 12. 疾患モデルマウスを用いた常位胎盤早期剥離の革新的治療法の開発 .....                                                                | 194 |
| 13. 発汗機能からみる炎症性皮膚疾患の外用療法の検討 .....                                                                       | 195 |
| 14. ショウジョウバエ成虫脳グリアサブタイプで特異的に発現する遺伝子の機能解析 .....                                                          | 196 |
| 15. 統合失調症患者のsyntaxin1A、1B 遺伝子解析と臨床症状との関連性の検討 .....                                                      | 197 |
| 16. 超音波ガイド下穿刺における磁性式ニードルガイドの有用性の検討 .....                                                                | 198 |
| 17. ヒトiPS細胞を用いた真皮毛根鞘細胞への分化誘導の試み .....                                                                   | 199 |
| 18. 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 .....                                                                  | 200 |
| 19. 進行した網膜変性症に対する STS 型人工網膜装置の医師主導治験 .....                                                              | 201 |
| 20. 熱傷創のデジタル写真画像を用いた面積及び深達度評価手法の検討・検証と<br>診療支援ツールの開発研究 .....                                            | 202 |
| 21. 糖尿病合併症新規マーカーの探索 .....                                                                               | 203 |
| 22. ヒト唾液由来エキソソームの機能解析に関する研究 .....                                                                       | 204 |
| 23. ヒト胎児頭蓋顎顔面形成期における発育障害と機能との関連性について .....                                                              | 206 |
| 24. Na <sup>+</sup> およびK <sup>+</sup> 親和性に与えるNa <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase $\beta$ 鎖の影響 ..... | 208 |
| 25. MIRAGE症候群モデル作成による変異型SAMD9の臓器形成における役割の解明 .....                                                       | 209 |
| 26. TMEM141とラミンプロセシング酵素Zmpste24との遺伝的相互作用の検証 .....                                                       | 210 |
| 27. Na/K-ATPase・四量体分子の構造と機能 .....                                                                       | 211 |
| 28. 人工呼吸関連肺炎における緑膿菌の役割と抗PcrV抗体療法の可能性 .....                                                              | 212 |
| 29. 近赤外光を用いたアブレーション装置の研究 .....                                                                          | 213 |
| 30. コルチゾール6 $\beta$ -水酸化代謝クリアランスを用いたレゴラフェニブの薬物動態 .....                                                  | 215 |
| 31. 尿路悪性腫瘍に対するアミノ酸トランスポーター阻害療法の基礎的検討 .....                                                              | 216 |

### ②保健学部

|                                           |     |
|-------------------------------------------|-----|
| 32. キチンによるアレルギー応答誘導機構の解明 .....            | 237 |
| 33. LC-MS/MSによる合成ステロイド剤の高感度微量分析法の開発 ..... | 239 |
| 34. 子宮頸部における新しいハイリスク型ヒト乳頭腫ウイルスの再考 .....   | 240 |
| 35. 糖尿病における運動神経障害の病態生理 .....              | 242 |
| 36. 放射性医薬品の品質管理手法に関する研究 .....             | 243 |

## 目 次

|                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 37. バドミントンにおける安全性と高いパフォーマンスを靴によってもたらすための研究 .....                                   | 245 |
| 38. GEMを用いた放射線検出器の開発 .....                                                         | 246 |
| 39. 機械学習を用いたMRIの撮像時間短縮技術に関する研究 .....                                               | 247 |
| 40. 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                                     | 248 |
| 41. Digital Breast Tomosynthesis の画像評価 .....                                       | 249 |
| 42. Equolの体内動態研究に適用するための代謝物標品の合成と一斉分析法の開発 .....                                    | 250 |
| 43. ラット神経前駆細胞由来分化ニューロンおよびヒトiPS由来運動ニューロンを用いた<br>ADAR2ノックダウンによるTDP-43凝集体形成系の検討 ..... | 251 |
| ③総合政策学部                                                                            |     |
| 44. タイのHIV感染者へのケアにおけるタスクシフティングに関する研究 .....                                         | 259 |
| 45. 日本における中国人居住者の中国伝統文化意識の研究 .....                                                 | 259 |
| ④医学研究科                                                                             |     |
| 46. 妊娠中のマラリアの病態重症化機構の解明 .....                                                      | 263 |
| 47. 三日熱マラリアの重症化機構の解明 .....                                                         | 264 |
| 48. 企業健診におけるCCD特異的IgE抗体測定の有用性に関する検討 .....                                          | 266 |
| 49. 病原細菌伝播モデルの確立と感染伝播を制御する因子の探索 .....                                              | 267 |
| 50. 非小細胞肺癌から小細胞肺癌への形質転換現象とリプログラミング現象との関連性の検討 .                                     | 269 |
| 51. <i>Helicobacter pylori</i> 感染者における除菌治療後皮疹発生メカニズムの解明 .....                      | 271 |
| 52. 薬剤耐性菌感染症に対するファージ療法の確立に向けた基礎的研究 .....                                           | 273 |
| 53. トランスポーター遺伝子変異と尿酸代謝異常 .....                                                     | 275 |
| 54. ミトコンドリアによる新たなマラリア感染免疫制御機構の解明 .....                                             | 276 |
| 55. 抗マラリア活性化合物の評価研究 .....                                                          | 276 |
| 56. 抗マラリア活性化合物の <i>in vivo</i> 評価 .....                                            | 276 |
| ⑤国際協力研究科                                                                           |     |
| 57. 感染症対策の経済評価に関する研究 .....                                                         | 278 |

## ① 医学部



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

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属      | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|----------|-----|---------|
| 藤原 智徳 | 医学部細胞生理学 | 准教授 | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名   | 所 属          | 職 名  | 役 割 分 担       |
|-------|--------------|------|---------------|
| 林 優子  | 県立広島大学       | 教授   | 臨床診断、患者試料収集   |
| 田丸 政男 | 県立広島大学       | 名誉教授 | 患者試料採取        |
| 楊 國昌  | 医学部小児科学      | 教授   | 患者試料収集        |
| 赤川 公朗 | 医学部細胞生理学     | 名誉教授 | ゲノム解析         |
| 小藤 剛史 | 医学部放射性同位元素部門 | 助教   | 遺伝子発現解析、ゲノム解析 |

## キーワード

自閉性障害、モノアミン、シンタキシン 1A、遺伝子発現異常

## 研究分野

神経科学

## 1. 共同研究の目的

シナプス関連蛋白質であるシンタキシン 1 遺伝子 (sy1A) とヒト自閉性障害 (ASD) の関連について解析した結果、多数の患者例でその遺伝子発現量の変動がみられ、また一部の患者例で遺伝子のコピー数多型 (CNV) がみられた。本研究では患者の検体数を増やし、ASD と sy1A の関連の詳細を明らかにする。また、sy1A のアイソフォームの 1 つである sy1B 遺伝子の発現異常 (mRNA 発現量や CNV) についても解析し、多様な臨床症状との関連について精査する。

## 2. 共同研究の内容・計画

インフォームドコンセントを得た ASD 患者の血液および唾液試料を採取し、ゲノム DNA および RNA を精製する。ゲノム DNA は定量的 PCR による CNV 解析、および SNPs 解析を行う。また、RNA は RT-PCR による発現量解析を行い、その発現制御機構についてゲノム DNA メチル化の動態との関連について解析する。さらにこれらの解析結果をもとに、特定の臨床症状と sy1A の発現量との関係について詳細に検討する。また、遺伝的背景について調べるため、遺伝子発現量に変化がみられた患者の親族の遺伝子解析も行う。同様の解析を sy1B 遺伝子についても行い、シナプス機能の障害と自閉性疾患の関連について明らかにする。

## 3. 研究成果 (経過)

これまでのヒト遺伝子解析により、自閉性障害患者 (ASD) の一部で syntaxin1A (sy1A) 遺伝子数が haploid となっている遺伝子数変異 (CNV) が存在することを明らかにした。その結果、知的障害の比較的軽い ASD 患者において、高い頻度で sy1A の CNV が確認された。これらの結果を論文発表した (Kofuji et al 2017)。また、CNV が確認された患者では、sy1A 遺伝子の発現量が正常被験者と比べ、減少してことを見出した。興味深いことに、sy1A の CNV が確認されなかった ASD 患者の多くにおいて、sy1A 遺伝子の発現量が増加あるいは減少している例が多数認められた。そこで、sy1A 遺伝子の発現制御の障害を検討するため、点突然変異の解析および異常メチル化の有無について検討した。また、sy1A と同様に神経細胞で発現するシンタキシン 1 B (sy1B) 遺伝子についても同様の検討を行った。これまでのところ、ASD 患者において sy1B 遺伝子の異常は見つかっていない。現在、自閉

性障害の多様な臨床症状と *sy1A* および *sy1B* 遺伝子との関連について明らかにするため、より多くの検体数を用いた詳細な解析を行っている。

## 2. 腎がん臨床サンプルを用いたメタボローム解析

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属      | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|----------|-----|---------|
| 桶川 隆嗣 | 医学部泌尿器科学 | 教授  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名    | 所 属        | 職 名   | 役 割 分 担          |
|--------|------------|-------|------------------|
| 原 隆人   | 武田薬品工業株式会社 | 主席研究員 | 研究データ管理、総括       |
| 山岡 万寿夫 | 武田薬品工業株式会社 | 主席研究員 | 代謝酵素あるいは遺伝子変異の有無 |
| 森本 恵   | 武田薬品工業株式会社 | 研究員   | 免疫不全動物への腎がん移植    |

## キーワード

腎がん、メタボローム解析

## 研究分野

臨床研究

## 1. 共同研究の目的

近年がん領域では、cancer metabolism についての研究が増加し、重要視されている。この研究領域での課題は、臨床-in vivo 実験系-in vitro をつなぐ薬物評価実験系が確立していないことであり、また、臨床癌における代謝パターンの情報も少ない。一部の腎がんについては VHL 変異に起因する解糖系および脂質生合成型の充進が癌増殖に関与するとの仮説が考えられている。腎がんにおける代謝パターンの解析をする。

## 2. 共同研究の内容・計画

腎癌の血液および腫瘍代謝パターンの解析、病理組織像、代謝酵素発現量、遺伝子変異の有無を調べ、正常組織と比較する。免疫不全動物に腎癌あるいは、樹立した株化細胞を生着させ、その血液および腫瘍代謝パターンの解析、病理組織像、代謝酵素発現量、遺伝子変異の有無を調べ、腎癌と比較する（動物実験は武田薬品工業株式会社の施設内にて実施）。腎癌から直接あるいは、免疫不全動物に移植した腎癌から樹立した培養細胞の代謝パターンの解析、代謝酵素発現量、遺伝子変異の有無を調べ、腎癌と比較する。現在、論文作成中である。

## 3. 研究成果（経過）

腎摘除術を行った腎癌の手術標本を用い、同一標本内の異なる部位の代謝物質解析を行った結果、腫瘍内の代謝物プロファイルが部位毎に異なるということを見出した。これは、代謝特性に関して腫瘍内ヘテロ性が存在すること示している。さらに、ビルビン酸代謝活性が腫瘍組織の部位により異なることから、ビルビン酸に着目し研究を進めると、ビルビン酸が腎癌細胞の増殖を促進すること、ビルビン酸トランスポーターの阻害がマウスに移植したヒト由来腎癌組織の増殖を遅らせることが明らかになった。これは、腎癌細胞の増殖にビルビン酸が強く関係しており、ビルビン酸代謝が治療標的の一つとなることを示唆している。

掲載論文：

Okegawa T, Morimoto M, Nishizawa S, Kitazawa S, Honda K, Araki H, Tamura T, Ando A, Satomi Y, Nutahara K, Hara T. Intratumor Heterogeneity in Primary Kidney Cancer Revealed by Metabolic Profiling of Multiple Spatially Separated Samples within Tumors. EBioMedicine. 2017 May;19:31-38. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.04.009. Epub 2017 Apr 6.

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

#### 研究代表者

| 氏 名   | 所 属      | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|----------|-----|---------|
| 桶川 隆嗣 | 医学部泌尿器科学 | 教授  | 統括      |

#### 共同研究者

| 氏 名   | 所 属                 | 職 名 | 役 割 分 担                  |
|-------|---------------------|-----|--------------------------|
| 小林 雅之 | (株)オンチップ・バイオテクノロジーズ | 取締役 | On-chip Sort Wi-Fi の機器管理 |

#### キーワード

|                    |
|--------------------|
| 前立腺癌、循環がん細胞、マイクロ流路 |
|--------------------|

#### 研究分野

|      |
|------|
| 臨床研究 |
|------|

#### 1. 共同研究の目的

去勢抵抗性前立腺癌（CRPC）患者を対象として、化学療法開始前の循環癌細胞（CTC）数を測定し、全生存期間（OS）を予測可能か評価することである。副次的目的は、PFSやOSに関して、CTC数と前立腺特異抗原（PSA）との関係性を評価することである。

#### 2. 共同研究の内容・計画

- 1.全血 4.0mL にワイヤレス制御マイクロ流路チップ・セルソーターを用いた循環がん細胞を測定する。測定の前処理として、CD45 ビーズを用いた白血球除去法（ビーズ法）とカラムを用いた白血球除去法（カラム法）を行う。
- 2.PFS 及び OS に関して、患者背景、CTC 数と PSA との関係性について、Cox 比例ハザードモデルを用いて多変量分析する。
- 3.現在、論文執筆中である。

#### 3. 研究成果（経過）

去勢抵抗性前立腺癌においてはリガンド結合部位を欠くアンドロゲン受容体(AR)のスプライスバリエントの AR-V7 が核内移行し転写活性を有し、AR 経路阻害剤に対する薬剤耐性機序の一因となっているとされている。今回、AR-V7 は CTC クラスターからも検出可能であり、CTC クラスター中に AR-V7 が検出された症例では有意に AR 経路阻害剤への感受性が低いことが報告した。

掲載論文：

Okegawa T, Ninomiya N, Masuda K, Nakamura Y, Tambo M, Nutahara K. AR-V7 in circulating tumor cells cluster as a predictive biomarker of abiraterone acetate and enzalutamide treatment in castration-resistant prostate cancer patients.Prostate. 2018 Mar 5. doi: 10.1002/pros.23501. [Epub ahead of print].

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

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|---------|-----|---------|
| 長谷川 浩 | 医学部高齢医学 | 准教授 | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名   | 所 属       | 職 名   | 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、特に軽度認知症ドライバにおける運転支援方法のあり方について解明することを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

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

## 3. 研究成果（経過）

本年度は杏林大学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 11 名を選出し、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。

高齢ドライバ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。この結果の一部を用い、交通安全環境研究所の主催するフォーラム 2017 にて発表を行った。

## 5. 熱傷創に対する脂肪由来幹細胞（ADRC）の有効性及び安全性の検討

### 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          |
|-------|---------|-----|------------------|
| 樽井 武彦 | 医学部救急医学 | 教授  | 動物及び基礎実験の施行・結果解析 |
| 海田 賢彦 | 医学部救急医学 | 助教  | 動物及び基礎実験の施行・結果解析 |
| 朝日 通雄 | 大阪医科大学  | 教授  | 動物及び基礎実験の施行・結果解析 |
| 伊井 正明 | 大阪医科大学  | 講師  | 動物及び基礎実験の施行・結果解析 |

### キーワード

熱傷治療、脂肪由来幹細胞（ADRC）、創傷治癒、安全性

### 研究分野

再生医療

#### 1. 共同研究の目的

ヒト脂肪由来幹細胞（ADRC）の熱傷創に対する治療効果と安全性を検討する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

内容）熱傷治療において ADRC の有用性及び安全性を確認するために、小動物（マウス）と大動物（ブタ）を用いた動物実験を、大阪医科大学薬理学教室との共同研究として施行中。

計画）実験 1）ヒトの脂肪吸引から得られた脂肪組織を原料とし、Cytori 社製 Celution を用いて ADRC を分離し、ヌードマウスの熱傷モデルに皮下注射して、熱傷創に対する有効性を評価する。動物実験は大阪医科大学の動物実験施設にて今後約 2 回施行予定。同時に ADRC を用いた *in vitro* の基礎実験も施行中（大阪医科大学および杏林大学にて施行）。

実験 2）実験 1 で有効性が示された場合、熱傷患者治療の臨床応用に向けて、大動物を用いた安全性の確認実験を行う。ブタの脂肪吸引を行い、上記 Celution を用いて ADRC を分離し、同じブタ個体に皮下注射して、一定期間飼育後、安全性の確認を行う（同実験は、外部委託する予定）。実験期間は、今後約 1 年間の予定である。

#### 3. 研究成果（経過）

熱傷治療において ADRC の有用性及び安全性を確認するために、小動物（マウス）を用いた動物実験とその裏付けとなる *in vitro* の細胞生物学的実験を、大阪医科大学薬理学教室との共同研究として施行中である。

平成 27 年度には、ヌードマウスの熱傷モデルを作成後、ヒトの脂肪吸引から得られた脂肪組織を原料として ADRC を分離し、上記モデルに皮下注射して、熱傷創に対する有効性を評価し、その有効性を確認した。

（平成 28 年度）上記モデルの皮膚を組織学的に検索し、ADRC による血管新生及び組織増生効果を確認した。並行して *In Vitro* の実験を行い、ADRC の細胞特性を評価し、ADRC 培養上清による上皮細胞および線維芽細胞の増殖・遊走能刺激作用を確認中である。

（平成 29 年度）上記 *In Vitro* の実験で、ADRC の細胞特性に関する結果が得られ、ADRC 培養上清による上皮細胞および線維芽細胞の増殖・遊走能刺激作用も確認されたので、ここまで得られた結果を論文にまとめ、現在投稿審査中である。論文審査の

過程で必要となる追加実験（主に In Vitro）を適宜施行している。

## 6. 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      | 教授  | ヒト iPS 細胞の供給・分化誘導法指導 |
| 馬 淵 洋 | 東京医科歯科大学大学院 | 助教  | iPS 細胞の分化誘導効率の解析     |

### 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

本研究は瘢痕性脱毛症をはじめとする難治性皮膚疾患の再生医療実現の技術的基盤としてヒト iPS 細胞を用いた皮膚付属器の再生法の確立を目的とする。共同研究者の施設はヒト iPS 細胞研究の本邦における拠点の一つであり、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 細胞の供給と分化誘導に関する技術支援を受けることで安定した実験計画の遂行が可能になる。共同研究者には我々が新たに開発した皮膚付属器再生技術を還元する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

既にライン化され多施設にて研究に用いられているヒト iPS 細胞の供給を共同研究者からうける（本計画では新規 iPS 細胞の作成は行わない）。申請者らは供給されたヒト iPS 細胞をフィーダーフリー化した上で、組織特異的マーカーの発現をモニタリングしながら上皮系細胞（ケラチノサイト）と間葉系細胞（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共培養あるいは *in vivo* の環境に移植することで毛包をはじめとする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・分子生物学的解析は本学と共同研究者ら両方の施設で行う。

#### 3. 研究成果（経過）

本研究では、商業的に入手、あるいは共同研究者から提供されたフィーダーフリー化されたヒト iPS 細胞を用いてヒト付属器、特に毛包を構成する二つのコンポーネント（上皮系のケラチノサイトと間葉系細胞）を分化誘導し付属器の再現を試みている。

共同研究3年目となる本年度は、前年度試みたヒト iPS 細胞から誘導したケラチノサイトと間葉系細胞を用いた3次元培養皮膚の作成法の安定化を目指すとともに、付属器誘導に必要な上皮-間葉系細胞間の相互作用を *in vitro* で惹起するための方法を模索するため、正常ヒトケラチノサイトと線維芽細胞を用いて作成した3次元培養皮膚に WNT シグナル等の活性化因子を作用させる、あるいはヒト毛乳頭細胞を上皮、真皮相当部分の間に挿入するなどの実験を行った。純粋にヒト iPS 細胞のみで構成される3次元培養皮膚の作成は未だ完全に安定化していないもの使用する細胞数や真皮相当部分へのヒト iPS 細胞由来間葉系細胞の封入法をある程度最適化することができた。また、正常ヒト細胞を用いた3次元培養皮膚に WNT シグナル活性因子やヒト毛乳頭細胞を作用させいくつかの毛包関連遺伝子の発現の上昇を検出できた。今後、同法をさらに改良しヒト iPS 細胞のみから作成した3次元培養皮膚に応用する予定である。

## 7. 膵臓癌検出における糖鎖修飾リボヌクレアーゼ 1 の有用性の検討

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|---------|-----|---------|
| 土岐 真朗 | 医学部内科学Ⅲ | 助教  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名   | 所 属     | 職 名  | 役 割 分 担     |
|-------|---------|------|-------------|
| 仲田 大輔 | 東ソー株式会社 | 研究員  | 検体の測定とデータ解析 |
| 高橋 信一 | 医学部内科学Ⅲ | 特任教授 | 研究指導        |
| 久松 理一 | 医学部内科学Ⅲ | 教授   | 研究指導        |

## キーワード

膵臓癌、糖鎖修飾 RNase1

## 研究分野

消化器内科学

## 1. 共同研究の目的

本臨床研究は、東ソー株式会社が開発した「新規膵臓癌診断マーカー」を用いて、その臨床的有用性を検討する目的で実施する。本新規膵臓癌診断マーカーは、膵臓から血液中に分泌されるリボヌクレアーゼ 1 の N 型糖鎖付加状態を測定することで膵臓癌を検出する。これまでの研究において、膵臓癌患者の血液中のリボヌクレアーゼ 1 の N 型糖鎖付加状態を調べると、膵臓癌ではない人と比較して、特定のアミノ酸残基に N 型糖鎖が付加された状態のリボヌクレアーゼ 1 の割合が増えていることが明らかとなっている (Scientific Reports 4, Article number: 6715, 2014)。リボヌクレアーゼ 1 は膵臓特異的に分泌されるタンパク質であるため、CA19-9 などの既存の膵臓癌マーカーよりも臓器特異性に優れていると考えられ、血液検査による膵臓癌の特異的な検出を可能にすると期待され、本試験では、この診断マーカーの臨床的有用性の検討を行うことを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

＜対象＞①膵臓癌と診断された症例：50 例、②膵臓癌ではないが膵臓癌の危険因子である膵臓癌の家族歴がありかつ喫煙または飲酒歴のある症例：50 例、③膵管内乳頭粘液性腫瘍：50 例の 150 例を対象とする。

＜方法＞上記症例において、残余検体を使用し、東ソー株式会社の自動免疫診断装置を用いてリボヌクレアーゼ 1 の N 型糖鎖付加状態を測定し、膵臓癌検出における糖鎖修飾 RNase1 の有用性について検討する。

解析方法：上記①膵臓癌と②、③の対照群に分けた測定値を統計的に解析して、膵癌検出における新規膵臓癌診断マーカーの臨床的有用性を確認する。

## 3. 研究成果（経過）

2018 年 3 月 3 日現在、膵臓癌は 86 症例まで登録済み。膵臓癌の登録を引き続き行うことと、対照群の登録も合わせて行っていく。

8. ヒト体内に常在する抗酸菌・古細菌の探索および疾病との関連の解明

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 |
|-------|------|-----|---------|
| 松本 壮吉 | 新潟大学 | 教授  | マウス感染実験 |

キーワード

|                       |
|-----------------------|
| 抗酸菌、古細菌、常在菌、メタゲノム、感染症 |
|-----------------------|

研究分野

|      |
|------|
| 微生物学 |
|------|

1. 共同研究の目的

近年、腸管内や口腔内の大量の微生物ゲノムデータを同時に解析し、菌叢を構成する細菌の実態を明らかにすることで、これらの菌叢とヒトの疾患との関連について解明する研究が進められている。本研究では、これまで研究がすすんでいなかった抗酸菌・古細菌に焦点を当て、腸内・口腔・皮膚表面などの抗酸菌・古細菌の常在菌叢（mycobacteriome & archaeome）を明らかにする。また従来、菌がほとんど生息していないとされる体液（血液、尿、髄液、脾液、胆汁、眼房水など）についても、抗酸菌・古細菌の存在について探索する。さらには、疾患を持つ患者との菌叢の差異を検討し、これらの菌の存在と疾患発症との関連について解明することを目指す。

2. 共同研究の内容・計画

- ・健常人および特定の疾患（感染症の関与が疑われるもの）に罹患した患者から、口腔内、腸管内、皮膚表面のスワブ検体、血液、尿、眼房水、脾液、胆汁を採取する。
- ・抗酸菌・古細菌に対応可能な方法で菌のDNAを抽出する。
- ・次世代シーケンシステム（ION TORRENT）および細菌メタゲノム検出キット（ION 16S Metagenome Kit）を用い、検体中の細菌の種類および分布を明らかにする。
- ・抗酸菌・古細菌に対応した培養法を用い、検体中に菌が生存・増殖していることを証明する。
- ・特定の疾患との関連が疑われた菌については、患者の病理組織での検出を試みる一方、動物へ接種し同様の病態が再現されるかを病理学的に検討する。

3. 研究成果（経過）

本研究では、Mycobacterium kyorinense の6株について、次世代シーケンシステムを用いて全ゲノム解析を行った結果、多数の single nucleotide polymorphism や、insertion/deletion が認められることがわかり、本システムが抗酸菌の全ゲノム解析に有用であることが示された。今年度は、胃瘻患者8名から胃液を採取し、抗酸菌特異的な培養を行った。また、健常人20名（男女それぞれ10名）から口腔内スワブおよび皮膚スワブ検体を採取し、抗酸菌特異的な培養を行った。さらに、口腔内の洗浄液を収集し、直接遺伝子抽出を行って抗酸菌専用 16SrRNA プライマーを用いて抗酸菌の検出を試みた。結果として、抗酸菌の有意な発育は見られず、微量の抗酸菌の培養には培地や培養条件の工夫が必要であることが判明した。今後は、これらの培地や培養条件を変更し、髄液や手術検体等の培養を実施する予定である。また、近年癌組織中の細菌が癌の薬剤耐性に関与する等の報告も見られるため、新たに肺癌組織からの抗酸菌の培養を試みる研究を計画し、2例の肺癌検体からDNAを抽出した。今後、抗酸菌や古細菌のDNAの検出を進める予定である。また、これらの検体から抗酸菌が検出された後に、マウスに対する感染実験を行うなどにより、疾患との関連について検討する予定である。

## 9. 難治性ネフローゼの血中惹起分子探索と尿中診断バイオマーカーの確立

## 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     |
|------|------|-----|-------------|
| 竹松 弘 | 京都大学 | 教授  | 細胞内シグナリング解析 |

## キーワード

難治性ネフローゼ、創薬、診断バイオマーカー

## 研究分野

腎臓病学

## 1. 共同研究の目的

平成 28 年度の本共同研究で、腎糸球体上皮膜上に特異発現する crumbs homolog2 (CRB2) のリコンビナント抗原を用いた抗 CRB2 モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを樹立した。さらに、その過程に於いて、この免疫マウスは、抗 CRB2IgG 抗体-補体 C3 で構成された免疫複合体による難治性ネフローゼ（膜性腎症）を発症していることが判明した。本研究により、この腎症の病態解明を行い、ヒトの同腎症における新規の抗原であることを証明する。

## 2. 共同研究の内容・計画

すでに、マウス CRB2 リコンビナント抗原の 3 回皮下注射法において、100%の膜性腎症の再現率を確保した。CRB2 および抗 CRB2 抗体を測定する ELISA を樹立し、本モデルにおける尿中 CRB2 および血中抗 CRB2 抗体の存在を明らかにすることで、本腎症の診断バイオマーカーを確立する。また、本モデルにおける抗体産生状態のバイオマーカーの確立を、胸腺、脾臓および末梢血の免疫システムを標的として行う。さらに、ヒトネフローゼ血清における血中抗 CRB2 抗体の存在を、新規に樹立する ELISA で明らかにし、CRB2 が膜性腎症の新規の抗原であることを証明する。

## 3. 研究成果（経過）

リコンビナント crumbs2 (CRB2) の皮下注射は、3 回法のみならず、1 回法にても 4-5 週後に 100%の確立でネフローゼを発症することを確認した。これらの糸球体病変は、早期は微小変化型、晩期は巣状糸球体硬化に至り、ヒト腎症の各組織型と一致した。このことは、CRB2 を足場とすることで、生理的な病態によるネフローゼ動物の樹立を、世界に先駆けて樹立することができたことを示した。樹立した ELISA により、ネフローゼ患者の血清中の抗 CRB2 抗体は同定できなかったことから、血清中のレクチンなどの小分子が、CRB2 に結合し、out-side in signaling を惹起する病態が推測された。今後、ネフローゼ惹起因子の同定として、培養細胞膜上の CRB2 と結合するネフローゼ患者血清中の分子を、質量解析を用いて探索する。これにより、ネフローゼ発症早期の糸球体上皮において、CRB2 リン酸化亢進の下流パスウェイを同定し、同パスウェイに作用する化合物のスクリーニングをプロテオームとメタボローム癒合解析行うことで、新規の抗ネフローゼ薬の創薬研究につなげる。

## 10. 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 | 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、神経圧迫、酸感受性イオンチャネル、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、研究初年度、組織の虚血状態が誘発する感覚神経の放電活動を記録することに成功した。平成 29 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エ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、あるいは ATP の枯渇による Na/K ポンプの抑制によって引き起こされるとの仮説を立てている。次年度は、酸性液、酸感受性イオンチャネルの遮断薬、Na/K ポンプの遮断薬等を用い、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する。さらに、免疫染色法を用いて、しびれ感覚に関連する受容体・イオンチャネルを同定して、上記の仮説を検証する。

#### 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、しびれ感覚を起こす神経機構は未だ解明されていない。本研究において、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、マンシエットの圧迫で足を虚血状態下にしたところ、痛みのニューロンとは異なる「中間値機械刺激受容型ニューロン」が放電することを見出した。この感覚ニューロンは、isolectin B4 陽性、カプサイシン感受性など高閾値型の痛みニューロンと共通の性質も示したが、弱い機械刺激（2 g）に反応し、高密度の A 電流チャネルを発現するなど、痛みニューロンとは異なる性質を示した（論文執筆中）。次に、しびれを起こすメカニズムについて、「虚血による組織酸性化が神経を興奮させてしびれ感覚を引き起こす」との仮説を元に実験を進めたが、平成 29 年度内にはこの問題を解決することはできなかった。今後も引き続き上記の仮説検証を行い、しびれ発生の神経機構の解明を目指す。

## 11. ATP 受容体によるインスリン開口分泌調節機構の解明

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属    | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|--------|-----|---------|
| 今泉 美佳 | 医学部生化学 | 教授  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名   | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担                     |
|-------|---------|-----|-----------------------------|
| 青柳 共太 | 医学部生化学  | 講師  | インスリン開口分泌解析                 |
| 牧山 智彦 | 医学部生化学  | 助教  | $\beta$ 細胞のイメージング解析         |
| 津田 誠  | 九州大学大学院 | 教授  | ATP 受容体作用薬、<br>ノックアウトマウスの供与 |

## キーワード

インスリン、開口分泌、ATP 受容体、TIRF イメージング

## 研究分野

分子細胞生物学

## 1. 共同研究の目的

膵  $\beta$  細胞からのインスリン分泌機構を解明し、その基礎研究成果をもとに糖尿病におけるインスリン分泌障害の成因を明らかにすることは、糖尿病患者が急増している現状において急務の課題である。ATP は  $\beta$  細胞内インスリン顆粒に貯蔵され、インスリンと共に開口分泌されるが、ATP の開口分泌への制御は不明な点が多い。今回 ATP 受容体の神経薬理学研究のリーダーである九州大学薬学研究院・津田教授より ATP 受容体作用薬及びノックアウトマウスの供与を受け、ATP のインスリン開口分泌への autocrine-paracrine 制御の詳細な検討を行う。

## 2. 共同研究の内容・計画

膵  $\beta$  細胞での ATP 受容体によるインスリン分泌への autocrine-paracrine 調節機構については多数の研究が行われてきたが、未だ不明な点が多い。昨年度の共同研究により、ATP 受容体の中でも P2X7 受容体が妊娠期において膵  $\beta$  細胞からのインスリン分泌を促進的に調節していることを見出した。本年度は妊娠期の P2X7 ノックアウトマウスから調製した  $\beta$  細胞を用いて、インスリン開口分泌イメージング解析、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  測定法、 $\beta$  細胞及び膵島の perfusion 実験法、生化学的解析等を行い、野生型妊娠マウス  $\beta$  細胞との比較検討により、P2X7 受容体によるインスリン開口分泌調節の分子機構を明確にする予定である。

## 3. 研究成果（経過）

膵  $\beta$  細胞からのインスリン分泌機構を解明し、その基礎研究成果をもとに糖尿病におけるインスリン分泌障害の成因を明らかにすることは、糖尿病患者が急増している現状において急務の課題である。ATP は  $\beta$  細胞内インスリン顆粒に貯蔵され、インスリンと共に開口分泌されるが、ATP の開口分泌への制御は不明な点が多い。本研究では正常時とインスリン抵抗性状態における ATP 受容体 (P2X7 受容体) 刺激に対するインスリン分泌変動を比較検討し、P2X7 受容体によるインスリン開口分泌調節機構を明らかにすることを目的とした。P2X7 受容体欠損マウスから調製した  $\beta$  細胞でのインスリン開口分泌を解析した結果、正常時（非妊娠時）では P2X7 受容体欠損による影響は見られなかったが、インスリン抵抗性状態である妊娠時ではインスリン分泌亢進が P2X7 受容体欠損により阻害された。この妊娠時における P2X7 受容体によるインスリン分泌亢進メカニズムを検討した結果、妊娠時に引き起こされる ATP 放出増加が ATP 低感受性である P2X7 受容体を活性化し、代償性のグルコース応答性インスリン分泌亢進を引き起こすことを、細胞外 ATP 定量と ectonucleotidase 阻害剤の効果の解析により明らかにした。

## 12. 疾患モデルマウスを用いた常位胎盤早期剥離の革新的治療法の開発

### 研究代表者

| 氏 名   | 所 属       | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|-----------|-----|---------|
| 岩下 光利 | 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     |
|---------------|-----------------------------------|-----------|-------------|
| 長島 隆          | 医学部産科婦人科学                         | 講師        | 研究の立案と遂行    |
| 石田 愛美         | 医学部産科婦人科学                         | 実験助手      | 研究の準備と整備    |
| Lester F. Lau | University of Illinois at Chicago | Professor | 疾患モデルマウスの提供 |

### キーワード

遺伝子改変マウス、Cre-LoxP システム、TGF- $\beta$  スーパーファミリー、BMP 蛋白、BMPR2

### 研究分野

生殖内分泌

#### 1. 共同研究の目的

近年、母体胎児死亡率が最も高い疾患である常位胎盤早期剥離の発症に関し、TGF- $\beta$  スーパーファミリーに属する BMP 蛋白が関与すること、その受容体である BMPR2 を子宮特異的に欠損した妊娠マウスで同疾患が生じることが、当教室の長島 隆講師により明らかにされた。さらに、BMP 蛋白の BMP4 と BMP7 がその発症に深く関与している可能性が明らかにされた。この発見により、常位胎盤早期剥離の遺伝的背景が明らかとなり、同疾患の分子機構に基づく新たな治療戦略を描き出すことが可能となった。本研究は、この研究成果を基に、昨年から本学研究室とイリノイ大学との間で開始されている国際共同研究であり、疾患モデルマウスを用いて同疾患の革新的な診断方法、治療方法、予防方法を開発するための基礎的データを収集することを目的としている。

#### 2. 共同研究の内容・計画

①遺伝子改変マウスの作成とその表現形の解析：全組織で BMP4 と BMP7 を欠損するマウスは胎生致死となるため、Cre-LoxP システムにより子宮特異的に BMP4 と BMP7 を欠損する遺伝子改変マウスを作成し、表現形を解析することで、同疾患の発症メカニズムを解明する。既にマウスの作成は終了し、不妊が明らかとなった。

②常位胎盤早期剥離に対する標的治療因子の同定：遺伝子改変マウスの解析によって得られた知見を基に、治療標的因子となり得るシグナル伝達物質の同定を行う。これまでの結果から、子宮の脱落膜化と血管新生に関する遺伝子に発現変化が生じていることが明らかとなった。今後はさらに複数の手法を用いて詳細な検討を行う。

③標的治療因子に対する誘導的な遺伝子制御ベクターの開発：同定された治療標的因子の遺伝子配列を抗体発現ベクターに組み込み、動物細胞内に導入したのち細胞を大量培養することで、目的とする治療用抗体を作成する。抗体は元来体内に存在する蛋白質であるため、副作用が少なく治療効果の高い治療薬として期待できる。

④遺伝子制御ベクターの *in vitro* での動態確認と有効性の検討：作成した抗体ベクターを一般培養細胞ならびに子宮内膜細胞にも導入し、細胞内における標的因子の導入効率を評価する。さらに、常位胎盤早期剥離の際に発現量の変化する遺伝子が、抗体ベクターの導入により正常な発現量に改善するのか、その有効性を検討する。

⑤遺伝子制御ベクターの *in vivo* での効果判定と安全性の確認：抗体ベクターにより作成された治療用抗体を、子宮特異的に BMPR2 を欠損するマウスへ投与し、生殖能力に問題のない雄マウスと交配させ、妊孕性を確認することで、一連の抗体治療により常位胎盤早期剥離の発症が抑制されたのか評価する。さらに、同疾患の治療薬として安全に使用できるのか、投与されたマウス

とその胎児に対して長期的な観察も含めた安全性を確認する。

### 3. 研究成果（経過）

共同研究者である長島により、TGF- $\beta$  superfamily に属し BMP 蛋白に分類される BMP4 と BMP7 が、常位胎盤早期剥離の発症に関与すること、その受容体である BMPR2 を子宮特異的に欠損した妊娠マウス (*Bmpr2* cKO) で同疾患が生じることが既に明らかにされている。本研究では、全組織で BMP4 または BMP7 を欠損するマウスが胎生致死であることから、Cre-LoxP システムにより子宮特異的に同蛋白を欠損するマウス (*Bmp4* cKO と *Bmp7* cKO) を作成し、その表現形を解析することで、常位胎盤早期剥離の発症メカニズムを解明し、革新的な新規治療法を開発することを最終目標とした。これまでの研究で、*Bmp4* cKO と *Bmp7* cKO を作成したのち、その表現形の解析を行い、共に極度の妊孕性低下を示すことを明らかにした。特に *Bmp4* cKO は、排卵、卵胞発育、性ステロイド分泌などの卵巣機能、受精卵の着床、妊娠初期の胎児と胎盤形成には異常を認めなかった。しかし、妊娠中期の胎盤形成に異常を示し、妊娠子宮の重量減少を認めた。この変化は、排卵後の子宮内膜の変化であり、着床後の妊娠維持に必須である脱落膜化に異常を来することが原因であった。さらに、脱落膜化の異常は、子宮内膜細胞の増殖と分化が、機能不全を呈することによって生じることが明らかにした。現在、子宮内膜組織検体をを用いたマイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析と、遺伝子クローニング技術により作成した BMPR2 を内在する複合蛋白質を用いて、BMP4 と BMP7 を介した常位胎盤早期剥離に対する治療標的因子の同定を試みている。さらに、研究期間中に確立したマウス子宮内膜細胞の単離と培養に関する技術を用いて、*in vitro* や *in vivo* での子宮内膜細胞への遺伝子導入も検討している。次年度は総括の年と位置付け、具体的な治療方法の開発と論文による発表、ならびに同研究で得られた研究内容の、本学園での特許化を最終目標とする。

### 13. 発汗機能からみる炎症性皮膚疾患の外用療法の検討

#### 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 | 准教授 | 統括      |

#### 共同研究者

| 氏 名    | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担      |
|--------|---------|-----|--------------|
| 下田 由莉江 | 医学部皮膚科学 | 助教  | 水分量や発汗の測定、評価 |
| 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

本研究では、従来悪化因子と考えられてきた発汗の誘導が、炎症性皮膚疾患の治療戦略になりうるとの観点から、発汗負荷の影響およびステロイド外用剤を含む外用剤が発汗にどのように影響しているのかを明らかにする。これらの結果は従来漠然と行われてきた外用剤の使用方法をデータの的に明らかにするとともに、より適切な炎症性皮膚疾患の外用治療の一助になると確信している。

#### 2. 共同研究の内容・計画

炎症性皮膚疾患の治療に用いられているステロイド外用剤が、発汗機能に及ぼす影響を明らかにするため、炎症性皮膚疾患の発汗機能とステロイド外用量、その使用法を検討する。炎症性皮膚疾患として、本年度は高齢者に多い皮脂欠乏性湿疹およびその増悪系と考えられる蕁麻疹様皮膚炎を対象とする。発汗量および皮膚角質水分量は年齢により大きく異なるため、若年者と同様の外用療法を漫然と行うことが医原的に病態を悪化させている可能性を考えている。各種外用による発汗機能、角質水分量測定を行う。合併症に対する内服薬との関連も検討する。これにより、高齢者の炎症性皮膚疾患に対する適切な外用療法を確立させる。

#### 3. 研究成果（経過）

炎症性皮膚疾患の治療に用いられているステロイド内服および外用剤が、発汗機能に及ぼす影響を明らかにするため、炎症性皮膚疾患の発汗機能とステロイド外用量、その使用法を検討した。

炎症性皮膚疾患として、本年度は高齢者に多い蕁麻疹様皮膚炎を対象とした。蕁麻疹様皮膚炎は痒疹に含まれる病型とされているが、疾患概念も未だ確立されていないため、教室経験例を集積し、基礎疾患の有無、外用剤を含め治療歴などを検討するとともに、保湿剤を含めた外用治療による効果を検証した。症例は、43-89歳の高齢男性に多く、基礎疾患に糖尿病を有する症例が多く存在した。また、皮疹に対する治療としてセレスタミンを含むステロイド内服歴のある症例が約半数に認められたこと、外用はステロイド外用のみを処方されていたことなど、治療歴が発症に関与している可能性も示唆された。各症例とも角質水分量は低下し、角質水分量を増加させる保湿剤の外用の併用が奏功した。これらの結果から、高齢者で見られる本疾患には、ステロイド内服やステロイド単独外用は悪化因子として作用し病態を考慮した外用療法が治療法として選択されるべきであると考えられた。

## 14. ショウジョウバエ成虫脳グリアサブタイプで特異的に発現する遺伝子の機能解析

## 研究代表者

| 氏 名  | 所 属    | 職 名 | 役 割 分 担 |
|------|--------|-----|---------|
| 栗崎 健 | 医学部生物学 | 教授  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名    | 所 属      | 職 名 | 役 割 分 担      |
|--------|----------|-----|--------------|
| 上田 龍   | 国立遺伝学研究所 | 教授  | 遺伝学的解析ツールの作成 |
| 近藤 周   | 国立遺伝学研究所 | 助教  | 遺伝学的解析ツールの作成 |
| 加藤 健太郎 | 医学部生物学   | 講師  | 機能解析の実行・評価   |

## キーワード

脳神経、神経変性、モデル生物、グリア細胞

## 研究分野

神経生物学

## 1. 共同研究の目的

グリア細胞組織が有する基本的な役割について理解するため、我々は、他の高等モデル生物に比べてシンプルな脳神経系を持つショウジョウバエをモデル系に用いて、グリア機能とその発生について研究を行っている。本研究では、3つのグリアサブタイプに注目して、これらのサブタイプで特異的に発現する遺伝子の機能について解析する。本研究の解析結果とこれまで報告のある脊椎動物を用いた研究結果を比較することにより、種を超えて保存されているグリアサブタイプにおける細胞機能制御のための基本的な遺伝的機構と、ショウジョウバエにおいて特殊化した遺伝的機構について明らかにできることが期待できる。

## 2. 共同研究の内容・計画

本共同研究では、グリアサブタイプで特異的に発現する遺伝子の機能を明らかにするために、遺伝学研究所で作成された既存の解析ツールと新規に作成する解析ツールを活用して研究に取り組む。具体的には、既に我々が同定しているグリアサブタイプで特異的に発現する候補遺伝子について、以下の研究を昨年度に引き続き行う。

- (1) 遺伝学研究所で開発された RNAi ライブラリーを用いた、グリアサブタイプ特異的な遺伝子機能阻害解析。
- (2) 遺伝学研究所で開発された効率的なゲノム編集技術を利用した、遺伝子発現をモニターするトランスジェニック個体の作成、ならびにこれを用いた細胞レベルにおける遺伝子発現解析。
- (3) 遺伝学研究所で開発された効率的なゲノム編集技術を利用した、候補遺伝子の機能欠失突然変異体の作成とこれを用いた個体レベルでの遺伝子機能の解析。

## 3. 研究成果（経過）

本共同研究では、グリアサブタイプで特異的に発現する遺伝子の機能を明らかにするために、遺伝学研究所で作成された既存の解析ツールと新規に作成する解析ツールを活用して研究に取り組んだ。具体的には、既に我々が同定しているグリアサブタイプで特異的に発現する候補遺伝子について、以下の研究を昨年度に引き続き行った。

- (1) 遺伝学研究所で開発された RNAi 系統を用いた、グリアサブタイプ特異的な遺伝子機能阻害解析を行い、ノックダウンにより、グリア組織に異常を生じる系統を同定した。
- (2) 遺伝学研究所で開発された効率的なゲノム編集技術により作成された遺伝子発現をモニターするトランスジェニック個体を

用いて、グリア細胞で特異的に発現すると考えられる細胞接着をコードする遺伝子に焦点を絞り、成虫脳における発現パターンを解析した。

- (3) 遺伝学研究所で開発された効率的なゲノム編集技術を利用した、候補遺伝子の機能欠失突然変異体を用いて、グリア細胞で発現する遺伝子のノックアウト個体の表現体の解析を行った。

## 15. 統合失調症患者の syntaxin1A、1B 遺伝子解析と臨床症状との関連性の検討

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属      | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|----------|-----|---------|
| 藤原 智徳 | 医学部細胞生理学 | 准教授 | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名    | 所 属             | 職 名             | 役 割 分 担     |
|--------|-----------------|-----------------|-------------|
| 吉田 寿美子 | 国立精神・神経医療研究センター | 臨床検査部部長         | 試料、情報の管理、解析 |
| 服部 功太郎 | 国立精神・神経医療研究センター | MGC バイオリソース管理室長 | 試料、情報の管理、解析 |
| 赤川 公朗  | 医学部細胞生理学        | 名誉教授            | 総括、試料の解析    |
| 小藤 剛史  | 医学部放射性同位元素部門    | 助教              | 試料の解析       |

## キーワード

統合失調症、シンタキシン 1B、遺伝子発現異常

## 研究分野

神経科学

## 1. 共同研究の目的

シナプス伝達の制御に関わる syntaxin1A 遺伝子(sy1A)を欠失したマウスで情動行動異常が惹起される。我々はヒトの自閉性障害患者の一部において sy1A の発現異常が起こっており、その原因の一つが sy1A 遺伝子数の半減によることを明らかにした。中枢神経には一方、sy1A とその類似遺伝子である syntaxin1B (sy1B)が発現している。sy1B を欠失したマウスで統合失調症様の行動障害が生じることを明らかにした。本研究では、ヒトの統合失調症における sy1B および sy1A 遺伝子を解析して、各遺伝子異常が精神神経疾患の発症や症状に関与する可能性について検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

倫理承認済みのナショナルセンター・パイオバンクに登録された統合失調症例のゲノム DNA 試料と情報を用いる。この試料について、sy1B および sy1A 遺伝子の Copy Number assay により遺伝子のコピー数の増減の有無を検討する。また、遺伝子ゲノム構造配列を読み、遺伝子変異や一塩基多型(SNP)について検討する。さらに、bisulfate 法およびメチル化シトシンに対する免疫沈降法により発現調節領域及びイントロン内の異常メチル化の有無を調べる。これらの結果に基づいて sy1B および sy1A 遺伝子異常と統合失調症の発症および臨床症状の関連を明らかにする。

## 3. 研究成果（経過）

神経細胞にはシナプス伝達を制御する syntaxin (sy1) として、異なる遺伝子に由来する sy1A と sy1B が発現している。我々は sy1A または、sy1B を欠失したマウスにおいて、ヒト精神神経疾患でみられる障害と類似の障害が認められることを明らかにした。そこで、ヒトの統合失調症と sy1A および sy1B 遺伝子の関連について解析し、各遺伝子異常が精神神経疾患の発症や症状に関与する可能性について検討した。倫理承認済みのナショナルセンター・パイオバンクに登録された統合失調症例のゲノム DNA 試料を用いて、sy1A および sy1B の遺伝子構造解析を行った。これまで、健常者および患者各 100 例（計 200 検体）の遺伝子解析を行ったが、その遺伝子構造に異常がある例は認められなかった。さらに詳細解析するため、遺伝子変異や一塩基多型(SNP)について検討した。また、bisulfate 法およびメチル化シトシンに対する免疫沈降法により発現調節領域及びイントロン内の異常メチル化の有無を検討した。これらの結果をもとに、sy1A および sy1B 遺伝子異常と統合失調症の発症およびその臨床症状との関連について検討している。

## 16. 超音波ガイド下穿刺における磁性式ニードルガイドの有用性の検討

### 研究代表者

| 氏 名  | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担 |
|------|---------|-----|---------|
| 萬 知子 | 医学部麻酔科学 | 教授  | 統括      |

### 共同研究者

| 氏 名    | 所 属     | 職 名  | 役 割 分 担      |
|--------|---------|------|--------------|
| 徳嶺 譲芳  | 医学部麻酔科学 | 准教授  | プロトコル作成、サポート |
| 渡辺 邦太郎 | 医学部麻酔科学 | 助教   | 研究結果の分析      |
| 佐藤 大介  | テルモ株式会社 | 課長代理 | ニードルガイド説明    |

### キーワード

超音波ガイド下穿刺、磁性化、ニードルガイド

### 研究分野

麻酔科学

#### 1. 共同研究の目的

中心静脈穿刺では気胸や動脈穿刺などの合併症リスクがあり、超音波ガイド下で穿刺を行いリスクを低減する手技が広まってきた。しかしながらきちんとした手技を理解して習熟した上で超音波ガイドを使用しなければ合併症の低減や成功率の上昇は期待できない。このためトレーニングは必須である。今回、新たな技術によるニードルガイドで、より安全性の向上やラーニングカーブ改善の可能性があるため、その有用性について研究を実施したい。

#### 2. 共同研究の内容・計画

新技術の針の磁性化によるニードルガイドの研究を、以下の3点についての研究を計画した。

薬事承認済みの機能ではないため、研究は全てファントムを用いた非臨床（被験者は当大学スタッフ）で実施する。

- ・中心静脈穿刺での有用性検討
- ・(PICCを想定した)末梢静脈穿刺でのラーニングカーブの違いについての検証
- ・当該機能を用いて手技訓練を実施する際に最適な教育方法の検討

#### 3. 研究成果（経過）

新技術の針の磁性化によるニードルガイドについて、以下の3つの研究を計画し、実行中である。薬事承認済みの機能ではないため、研究は全てファントムを用いた非臨床（被験者は当大学スタッフ）で実施している。

- ①中心静脈穿刺での有用性検討：研究の結果、ニードルガイドの有効性を示すことができた。この技術を用いることで中心静脈穿刺の安全性は著しく向上することが期待できる。この結果は、臨床麻酔学会第37回大会（平成29年11月5日）のランチョンセミナー（演者：渡辺邦太郎）で発表した。現在、論文作成中である。
  - ②（PICCを想定した）末梢静脈穿刺でのラーニングカーブの違いについての検証：末梢静脈穿刺のシミュレーショントレーニングを開始している。データを取っている段階である。
  - ③当該機能を用いて手技訓練を実施する際に最適な教育方法の検討：シミュレーション研究の経験を基に、最適な教育方法を検討中である。
- ②および③については、平成30年度に引き続き検討する予定である。

## 17. ヒト iPS 細胞を用いた真皮毛根鞘細胞への分化誘導の試み

## 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      |
|--------|-----------------------|----------------|--------------|
| 岸 本 治郎 | 資生堂ライフサイエンス<br>研究センター | 室長             | 分化誘導条件の検討    |
| 相 馬 勤  | 資生堂ライフサイエンス<br>研究センター | グループ<br>マネージャー | 分化誘導細胞の特性の解析 |
| 佐 藤 敬  | 資生堂ライフサイエンス<br>研究センター | グループ<br>リーダー   | 分化誘導細胞の特性解析  |

## キーワード

再生医学、ヒト iPS 細胞、分化誘導、皮膚、真皮毛根鞘細胞

## 研究分野

再生医学・皮膚科学

## 1. 共同研究の目的

真皮毛根鞘細胞は毛誘導能のある間葉系細胞であり難治性脱毛症の罹患部への注入により脱毛改善効果を示すことが期待される。しかし、ヒトからの採取は容易ではない。本計画ではヒト iPS 細胞から間葉系幹細胞を誘導し、さらに分化誘導することで真皮毛根鞘細胞の作成を試みる。申請者らが間葉系幹細胞を誘導し、共同研究者らと分化誘導条件を検討、分化誘導で得た細胞とヒト真皮毛根鞘細胞との遺伝子発現プロファイル、機能などを検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

既にライン化され商業的に、あるいは CiRA などの学術機関により供給されるヒト iPS 細胞から申請者らの開発した分化誘導条件をもちいて間葉系幹細胞へ分化誘導する。次いで共同研究施設のデータを元にヒト間葉系幹細胞と真皮毛根鞘細胞の網羅的遺伝子発現プロファイルの比較検討から真皮毛根鞘細胞で特異的に発現が高いシグナル経路を同定し、その活性化因子をもちいて間葉系幹細胞にさらに誘導を加え真皮毛根鞘細胞の作成を試みる。最終的に誘導されたヒト iPS 由来細胞とヒト由来真皮毛根鞘細胞の機能的・分子生物学的解析は本学と共同研究者ら両方の施設で行う。

## 3. 研究成果（経過）

昨年度に引き続きライン化されたヒト iPS 細胞を PDGF、FGF、TGF- $\beta$  を含む間葉系幹細胞用培地を用いて分化誘導して得られたヒト iPS 細胞由来間葉系幹細胞に WNT シグナル系の活性化因子などを濃度、添加培養期間を変えて作用させることにより真皮毛根鞘細胞のマーカーの発現が上昇するか否かについて検討した。真皮毛根鞘細胞には未だ特異的なマーカーがないため、網羅的遺伝子解析により同定されたいくつかのマーカーの発現を解析した。活性因子の添加により発現が上昇したマーカーも存在したが、逆に発現が低下するものもあり一定の傾向はみられなかった。次いで、ヒト毛包由来間葉系細胞とヒト iPS 由来間葉系幹細胞を共培養することにより真皮毛根鞘細胞の形質を獲得させることができるか否かを検討するため、両細胞の共培養系の確立をこころみ、今後の解析に利用可能な系を確立した。今後、この系を用いてマーカーの発現変化などを検討する予定である。

## 18. 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 | 東北大学大学院 | 特任教授 | 凝固システム及び評価システムの動物実験等による評価検討 |
| 太田 信  | 東北大学    | 准教授  | 評価システムの全体設計                 |
| 于 凱鴻  | 東北大学    | 研究員  | 凝固システムの動物実験等による評価検討         |

### 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。そこで、実験動物の心筋を使って焼灼実験を行った。①近赤外光を放出する石英ファイバー端面が組織に接触している場合と非接触の場合での焼灼状況を検証した結果、1mmほど組織から離れた非接触状態と組織と接触状態での焼灼状況はほぼ同じであったが、1mm以上組織から離れると焼灼の深さは浅くなり、距離2～4mmまでは焼灼の深さは同じであった。組織内の水分の吸収波長により、焼灼状況が変わることが予想される。次に②組織に石英ファイバーの先端が接触した場合、接触加重により、焼灼深さに影響が生じるか検証した結果、150g以上で最大5mmまでの焼灼深さが得られ、1.5mm程度の焼灼深さが深くなることが判った。さらに③先端形状（フラット型とテーパ型）により、焼灼時のPop現象（組織内での焼灼時の水蒸気爆発）の発生頻度度の検証をした結果、フラット型の方が深く焼灼できるが、Pop現象が多く、テーパ型の方がPop現象の少ない安全な焼灼できることが判った。また、Pop現象の発生を抑えるため、ファイバー出力を抑え、焼灼時間かけることが有効であること、臓器により熱拡散条件が違い、焼灼条件を変えることで、適応可能であることが確認できた。

## 19. 進行した網膜変性症に対する STS 型人工網膜装置の医師主導治験

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属    | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|--------|-----|---------|
| 平形 明人 | 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     |
|-------|-----------|-----|-------------|
| 大澤 孝治 | 株式会社ニデック  | 室長  | 人工網膜装置のサポート |
| 不二門 尚 | 大阪大学      | 教授  | 人工視覚主任研究員   |
| 塩川 芳昭 | 医学部脳神経外科学 | 教授  | 脳外科手術       |
| 瓶井 資弘 | 愛知医科大学    | 教授  | 眼科手術指導      |

## キーワード

STS 型人工網膜、医師主導治験、網膜変性症、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）

## 研究分野

ライフサイエンス

## 1. 共同研究の目的

大阪大学大学院医学系研究科の不二門 尚 教授を中心に進められている、進行した網膜変性症に対する STS 型人工網膜装置の医師主導治験計画が、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の「医療機器開発推進事業」に採択された。大阪大学、愛知医大、杏林大学と㈱ニデックは本共同研究の実施機関となっている。杏林大学での医師主導治験を進めるにあたり、㈱ニデックと杏林大学の間で共同研究契約を結び、人口網膜装置を提供してもらい、網膜変性患者の人工視覚医師主導治験を実験したい。

## 2. 共同研究の内容・計画

STS 型人工網膜装置及び、適用基準の判定、手術サポート、視機能評価等を行う周辺機器の設計・製作を、㈱ニデックが担当しており、治験及び、準備期間、終了後の経過観察等で使用する装置を㈱ニデックが杏林大学へ貸出、提供する。現在の計画では、前記治験装置の完成が平成 29 年 11 月だが、事前に治験への参加者を募集して適用疾患の判定をする場合は、倫理委員会の承認を経た上、臨床研究で使用した適用疾患の判定装置を提供する。医師主導治験が開始された後、共同施設内の医師が交流して人工視覚を埋植する手術を実施し、経過観察する。

## 3. 研究成果（経過）

H29.4.1～H30.3.31 は網膜変性患者の人工視覚医師主導治験実験に向けて共同研究施設と調整等準備をおこない、引き続き必要な消耗品を購入した。また、適応基準の判定に必要な経角膜刺激装置を使用した臨床研究を倫理委員会で承認を得たのち開始し、現在まで 2 名に対して装置を用いた評価を行った。現在、共同研究施設である大阪大学で総合的な評価を行っていただいている。手術症例の選択段階であるため、手術の実施には至っていない。

20. 熱傷創のデジタル写真画像を用いた面積及び深達度評価手法の検討・検証と診療支援ツールの開発研究

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       |
|--------|---------|-----|---------------|
| 守永 広征  | 医学部救急医学 | 助教  | 研究責任者、研究全般    |
| 加藤 聡一郎 | 医学部救急医学 | 助教  | 研究全般          |
| 海田 賢彦  | 医学部救急医学 | 助教  | 画像と臨床上の情報リンク等 |
| 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、診療支援 |
|----------------------|

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、正確な熱傷面積及び熱傷深達度を評価する手法を検討・検証し、重症度に応じた適切な熱傷診療を支援するための情報提供ツールを開発する。そのためには、臨床医学領域（熱傷診療の専門性や特殊性を加味した判断）と医用工学領域（人体計測および画像解析技術等）の共同研究体制が必要になる。杏林大学医学部救急医学教室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

後向きに収集した解析に耐えうるデジタル写真画像から、全身を対象とした広範囲画像と、比較的狭い範囲を対象とした局所画像に分けて研究を行う。解析のための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 症例分を対象とする。広範囲画像を用いて、全身の熱傷面積率および熱傷深達度を自動で評価・概算する技術を検討する。局所画像を用いて、同一部位撮影画像の経時変化から、熱傷皮膚面積／健常皮膚面積の比を抽出するための評価手法を検討する。最終的には、撮影→解析→情報提供を一連の流れで遂行できる前向き調査用プロトタイプの完成を目指す。体表面積や熱傷面積等の誤差が少ない計測手法とし、人体模型による検証を合わせて臨床研究に耐えうる機能を達成する。

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）計 30 症例分から、解析対象とする症例を選定した。熱傷専門医およびそれに準ずる医師によって、写真画像から熱傷創およびその深達度を評価しエリア分けを行った。これをもとに、全身を対象とした広範囲と、比較的狭い範囲を対象とした局所の画像に分けて画像解析を実施した。

広範囲画像を用いた研究では、全身の熱傷面を自動で抽出するための方法論を検討し、背景画像の切り捨てや熱傷深達度に応じた自動分割評価する技術を検証した。局所画像を用いた研究では、熱傷皮膚面積／健常皮膚面積の比を抽出するための評価手法を検証した。

最終的に、撮影→解析→情報提供を一連の流れで遂行することを目指しており、今後広範囲画像については、前向き調査用のプロトタイプを作成し、体表面積や熱傷面積を誤差が少ない計測手法で臨床研究へと進むために、本研究を継続していく予定であ

る。局所画像については、植皮後の時系列に応じた植皮片変化を抽出することを目標とした臨床研究へと進むために、本研究を継続していく予定である。

21. 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 | 医学部解剖学 | 教授  | 統括      |

共同研究者

| 氏 名   | 所 属                  | 職 名   | 役 割 分 担        |
|-------|----------------------|-------|----------------|
| 川上 速人 | 医学部解剖学               | 教授    | 研究の立案、指導       |
| 遠藤 玉夫 | 東京都健康長寿医療センター<br>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<br>研究所 | 研究副部長 | プロテオーム研究の指導、遂行 |
| 千葉 優子 | 東京都健康長寿医療センター        | 副部長   | プロテオーム研究の指導、遂行 |

キーワード

|                                      |
|--------------------------------------|
| 糖尿病性腎症、合併症マーカー、糸球体、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）

研究代表者らは、これまで正常 Wistar ラットおよび糖尿病 GK ラットの腎臓を材料にして、プロテオミクスにより O-GlcNAc 化タンパク質の解析を行い、アクチン、 $\alpha$ -アクチニン 4 など細胞骨格タンパク質や、ATP synthase などミトコンドリアタンパク質に糖尿病腎症で O-GlcNAc 化の有意な増加が生ずることを見出し、O-GlcNAc 化の変化が糖尿病腎症の一因になっていることを明らかにした。本研究では、糖尿病合併症におけるアクチンの役割に注目し、O-GlcNAc 化ペプチド、リン酸化ペプチド、非修飾ペプチドを抗原として特異的 O-GlcNAc 化アクチン抗体、リン酸化アクチン抗体、非修飾アクチン抗体を作製し、糖尿病モデル GK ラットの腎臓における局在の変化を免疫組織化学的に検討した。その結果、O-GlcNAc 化アクチンならびにリン酸化アクチンは、糖尿病に伴い糸球体や尿細管における局在並びに発現量が変化することが判明した。さらに糖尿病では O-GlcNAc 化アクチンは細胞質のみならず核にも存在し、いずれも糖尿病で増加することが明らかになった。

## 22. 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 | 医学部解剖学 | 教授  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名    | 所 属                  | 職 名   | 役 割 分 担        |
|--------|----------------------|-------|----------------|
| 川上 速人  | 医学部解剖学               | 教授    | 研究の立案、指導       |
| 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<br>研究所 | 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）

エクソソームは細胞外に分泌される直径 30-100 nm の小胞であり、新しい細胞間情報伝達的手段として注目されている。我々はこれまでヒト唾液エクソソームが全唾液中や消化酵素に対して比較的安定であることを報告した。今回、消化酵素による *in vitro* における安定性を詳細に検討した。ヒト唾液エクソソームはゲルろ過クロマトグラフィーを用いて精製した。消化酵素として pepsin と pancreatin を用いた。SDS-PAGE によるタンパク質成分の変化、Western blotting によるエクソソームマーカー (CD9、Alix、TSG101) および mucin 5B の検出、エクソソーム表面に存在する DPP IV の酵素活性、電子顕微鏡による形態変化等を指標にして安定性を検討した。

DPP IV 活性は、胃消化酵素 pepsin 存在下 (37℃、pH 3) では経時的に減少したが、3 時間処理後でも活性は残った。膵液中酵素混合物 pancreatin 存在下 (37℃、pH 7.4) においては比較的保たれていた。一方、形態は両条件とも保たれていた。エクソソーム表面の CD9 やエクソソームの周囲に存在していると考えられる mucin 5B は分解したが、DPP IV やエクソソーム内部の Alix、TSG101 の分解はみられなかった。

23. ヒト胎児頭蓋顎顔面形成期における発育障害と機能との関連性について

研究代表者

| 氏 名    | 所 属    | 職 名 | 役 割 分 担 |
|--------|--------|-----|---------|
| 天野 カオリ | 医学部解剖学 | 講師  | 統括      |

共同研究者

| 氏 名   | 所 属    | 職 名 | 役 割 分 担   |
|-------|--------|-----|-----------|
| 三川 信之 | 千葉大学   | 教授  | 試料提供、論文執筆 |
| 長瀬 美樹 | 医学部解剖学 | 教授  | 研究指導、統括   |

キーワード

|                                 |
|---------------------------------|
| ヒト胎児、頭蓋顎顔面発育形成、機能障害、SEM、マイクロ CT |
|---------------------------------|

研究分野

|         |
|---------|
| 頭蓋顎顔面発生 |
|---------|

1. 共同研究の目的

ヒト顔面の形成は胎生 26 日頃より開始され、口窩周囲を取り囲む前頭鼻隆起・上顎隆起・下顎隆起の出現と共に内側鼻隆起と外側鼻隆起が突出し、鼻窩の形成が顕著となる。上顎隆起と内側鼻隆起の癒合により上顎と上唇は接合され、鼻窩と口窩を分離させる。

胎生 6 週には左右の内側鼻隆起が正中で合流することで顎間部が形成され、この部が上唇正中部（人中部位）となるが、人中部の形成機序に関しては未だ不明な点も多く残されている。加えてこの領域は胎生期の形成不全により口唇裂等の奇形発症部位として深く関連するため初期発生段階における形態構造の詳細を解明することは臨床的にも意義がある。

2. 共同研究の内容・計画

杏林大学寄贈研究用 3 カ月から 9 カ月胎児を試料とする。

形態学的観察には主として走査型電子顕微鏡を使用し、加えてマイクロ CT 撮影装置によって精細 3 次元画像データとし、このデータをもとにヒト胎児頭頸部領域の発生過程における形態学的変化をコンピュータ上における計測を含めた画像解析手法によって検討を試みる。

また、顎顔面正中部や頭蓋縫合部位などにおける発育を阻害/促進する成長因子等との関連を解明する目的で胎児頭頸部組織試料を用いて免疫組織学的染色・観察を行う。

加えて器官形成期における生体観察試料として胎仔ラットを動物実験に使用する。

3. 研究成果（経過）

ヒト胎児人中部位の立体構築を SEM にて観察し、加えて内部組織構造を観察するために HE ならびに EVG 染色を行った。

この領域は胎生期の形成不全により口唇裂等の奇形発症部位として深く関連するため初期発生段階における形態構造の詳細を解明することは臨床的にも意義がある。

6 カ月胎児の前頭断面 SEM 像において、人中・中心部に相当する部位で左右を区別できる縦走溝が結合組織間に認められた。またその溝の深部層には口輪筋を構成する骨格筋線維束が左右から横走し交叉走行する筋線維束群と、前額方向に走行し横断面として確認できる筋線維束群がそれぞれの筋層を構成していた。

上記研究成果の一部について学会にて演題名「ヒト胎児人中領域の形態構造について－SEM ならびに組織学的観察－」として報告済み（第 122 回日本解剖学会総会・全国学術集会 長崎 3 月 28－30 日長崎）。

教室所蔵の全胎児標本における規格整理作業に伴い本研究を中止とする。

24. Na<sup>+</sup>および K<sup>+</sup>親和性に与える Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase β 鎖の影響

## 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                                                   |
|-------|----------|-------|-----------------------------------------------------------|
| 菅田 晴夫 | 医学部化学    | 非常勤講師 | ATPase 分子の単離と活性測定                                         |
| 原 諭吉  | 東京医科歯科大学 | 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、酵素機能制御、K<sup>+</sup>親和性

## 研究分野

生化学

## 1. 共同研究の目的

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase は全ての動物細胞膜にあって、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イオンポンプである。哺乳類のような高等動物細胞の Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase は Na<sup>+</sup>および K<sup>+</sup>に異なった親和性を示し、その比は Na<sup>+</sup>: K<sup>+</sup>=10:1 である。しかしチョウ目昆虫であるカイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の場合、その比は 1:3 である。この違いのメカニズムを探ることが、本研究の目的である。

## 2. 共同研究の内容・計画

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を構成する二つのサブユニット α 及び β 鎖 cDNA をクローニングしてそれらのアミノ酸配列を調べたところ、カイコと哺乳類の α 鎖は 70%以上の相同性を示したが、β 鎖は 30%以下だった。そこで、我々は Na<sup>+</sup>および 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 鎖ではないかとの仮説をたて、これを検証するために、①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、カイコ、ラット及び両者のハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を発現させ、②それら Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の Na<sup>+</sup>および K<sup>+</sup>に対する親和性を詳細に比較することによって、β 鎖の役割を検証することを計画した。

## 3. 研究成果（経過）

- 特異的阻害剤ウアバインが効きにくいラット腎臓 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase と、K<sup>+</sup>に対する親和性がラットより 6 倍低いカイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の α、β 鎖を用いて、内在性 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を持たないカイコ由来培養細胞へ、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の発現を試みた。
- 発現した（カイコ α/カイコ β）・Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase、（カイコ α/ラット β）・ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase について、以下の結果が得られた
  - ウアバイン感受性は両方とも高かった。すなわち、β 鎖はウアバイン感受性に関与しないと考えられる。
  - Na<sup>+</sup>に対する親和性は、両方ともほぼ同じ値を示した。
  - K<sup>+</sup>に対する親和性は、ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase のほうが、約 3 倍高かった。したがって、β 鎖が K<sup>+</sup>に対する低親和性に関与している、という我々の仮説が裏付けられた。
  - ラット腎臓 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup>に対する親和性は、カイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase より約 5 倍高かった。この値の不一致の原因を確かめるために、（ラット α/ラット β）・Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を発現させ、K<sup>+</sup>親和性の測定を行うことを計画中である。

25. MIRAGE 症候群モデル作成による変異型 SAMD9 の臓器形成における役割の解明

研究代表者

| 氏 名   | 所 属         | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|-------------|-----|---------|
| 谷口 善仁 | 医学部衛生学公衆衛生学 | 教授  | 統括      |

共同研究者

| 氏 名   | 所 属          | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|--------------|-----|---------|
| 鳴海 覚志 | 国立成育医療研究センター | 室長  | 表現型解析   |
| 木下 政人 | 京都大学         | 助教  | 疾患モデル作成 |

キーワード

|                          |
|--------------------------|
| 先天性内分泌疾患、臓器形成、エンドソーム、メダカ |
|--------------------------|

研究分野

|        |
|--------|
| 小児内分泌学 |
|--------|

1. 共同研究の目的

MIRAGE 症候群は、Myelodysplasia (造血異常)、Infection (易感染性)、Restriction of growth (成長障害)、Adrenal hypoplasia (先天性副腎低形成症)、Genital phenotypes (性腺症状)、Enteropathy (消化器症状) を主要徴候とする、2016 年に報告された新しい小児先天性内分泌疾患である。本研究では、メダカを用いて疾患モデルを作成し、臓器形成異常の発症機序を解明することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

MIRAGE 症候群は SAMD9 の機能獲得型変異により発症することが鳴海らによって明らかにされた (文献 1)。培養細胞を用いた実験では、エンドソーム成熟異常により細胞増殖が著しく阻害されることがわかっている。本研究では変異型 SAMD9 を発現誘導可能なトランスジェニックメダカを作成し、分子生物学的、病理組織学的手法により、個体における臓器形成異常の影響を評価する。

文献 1: Narumi, et al., Nat Genet. 48:792-797, 2016.

3. 研究成果 (経過)

MIRAGE 症候群は 2016 年に鳴海らによって原因遺伝子が同定された、Myelodysplasia (造血異常)、Infection (易感染性)、Restriction of growth (成長障害)、Adrenal hypoplasia (先天性副腎低形成症)、Genital phenotypes (性腺症状)、Enteropathy (消化器症状) を主要徴候とする新しい小児先天性内分泌疾患である (参考文献 1)。培養細胞を用いた実験から、本疾患は SAMD9 の機能獲得型変異によりエンドソーム成熟異常が起り、細胞増殖が著しく阻害されることがわかっている。本研究では、MIRAGE 症候群における臓器形成異常の発症機序を解明することを目的として、ヒト型 SAMD9 遺伝子変異を持つメダカの作成を試みた。メダカ胚における SAMD9 の発現は、同時に発現させた蛍光タンパク質によりモニターしたが、タンパク毒性が強く、変異型 SAMD9 を効率よく発現させることができなかった。そこで、発現系をピテロジェニン誘導発現系に切り替え、G0 世代での胚での発現に成功した。今後は導入した遺伝子を安定に保持する系統を得て、表現型の解析を行っていく予定である。

参考文献

1) Narumi, et al., Nat Genet. 48:792-797, 2016.

## 26. TMEM141 とラミンプロセッシング酵素 Zmpste24 との遺伝的相互作用の検証

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属         | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|-------------|-----|---------|
| 谷口 善仁 | 医学部衛生学公衆衛生学 | 教授  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名   | 所 属                                    | 職 名  | 役 割 分 担  |
|-------|----------------------------------------|------|----------|
| 殿山 泰弘 | 慶應義塾大学先端研究センター / ゲノムスーパーパワー (GSP) センター | 特任助教 | 遺伝子工学的研究 |

## キーワード

早老症、ラミノパシー、メダカ、Zmpste24、遺伝的相互作用

## 研究分野

分子遺伝学

## 1. 共同研究の目的

新規の膜小胞タンパク分子 TMEM141 は、メダカ胚において脳形成への関与が示唆されている。そのメカニズムについて、殿山らによる酵母ツーハイブリッド法による実験からラミンの関与が予測された。本研究では、殿山らがゲノム編集技術により作製した TMEM141 変異メダカと、研究代表者である谷口が作製した Zmpste24 変異メダカとの交配実験を行うことにより、TMEM141 とラミンとの遺伝的相互作用を検証することを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

Zmpste24 は、核の中間径フィラメントであるラミンの成熟に関与するプロテアーゼで、これに異常を来すと DNA 損傷に起因した早老症を来することが哺乳動物で知られている。Zmpste24 の活性を消失させたメダカでは、ラミンの成熟過程に異常が生じることが、谷口と殿山とのこれまでの共同研究によりすでに明らかになっている。本研究では TMEM141 変異メダカと Zmpste24 変異メダカを交配して、新たに二重変異体を作出し、発生異常等の形態的表現型を観察すると同時に、細胞や組織レベルで詳細な解析を実施する。

## 3. 研究成果（経過）

ラミンは核膜の裏打ちをする中間径フィラメントで、ファルネシル化された後、ZMPSTE24 による限定的タンパク切断を受けて成熟する。ラミンや ZMPSTE24 に異常があると、ハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群 (HGPS) などの疾患を発症することが知られている。我々は比較生物学的な見地から、老化に関して生物学的に保存されている分子経路を調べる目的で、zmpste24 に変異を持つメダカを作成した。Zmpste24 変異メダカの寿命は野生型のメダカと変わりがなく、組織学的にも異常を認めなかったが、細胞学的には *in vitro*, *in vivo* 双方で核異型を示した。また、テロメアの短縮、放射線感受性、p21 の誘導などに異常が見られることがわかった。一方、殿山らが新規に発見した TMEM141 とは遺伝的相互作用を示さなかった。以上の成果は、Comparative Biochemistry and Physiology 誌に発表した。

## 参考文献

1) Tonoyama, et al., Abnormal nuclear morphology is independent of longevity in a zmpste24-deficient fish model of Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS), Comparative Biochemistry and Physiology, in press.

## 27. Na/K-ATPase・四量体分子の構造と機能

### 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 | 理化学研究所   | 研究嘱託  | 標品の単離と構造観測・解析  |
| 原 諭吉  | 東京医科歯科大学 | 名誉教授  | ATPase 分子の機構解析 |
| 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

Na/K-ATPase、機能単位、四量体四次構造、動的分子構造変化

### 研究分野

生化学

#### 1. 共同研究の目的

1950 年代に発見された Na/K-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。世界中での約 60 年間の研究にも拘わらず、その機能単位の分子構造は不明のままである。最近林らは、新規な方法でブタ腎から、Na/K-ATPase の四量体 (T) を、安定に単離することに成功した。この T の動的構造を、機能と関連させて多角的に研究する。これにより、当膜タンパク質による「発電 (電気化学勾配の発現)」の分子機構を、改めて探究することにより、四量体が機能単位であることを証明する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

レクチン親和性クロマトグラフィー (LAC 法) で、ブタ腎から Na/K-ATPase 四量体を単離する。クライオ電子顕微鏡法で静的分子構造を明らかにする。一方、原子間力顕微鏡法 (Atomic Force Microscopy, AFP 法) で、ATPase 活性発現溶液中での T 標品の動的挙動を、特異的阻害剤 (強ステロイド、Ouabain) の有無で観測する。ウアバイン有無の差を捉えることにより、機能発現と共役した、T 分子の三次または四次的な構造変化を同定する。いろいろな溶液条件で、この構造変化を解析することにより、これが機能と密接に関連した構造変化であることを証明する。

#### 3. 研究成果 (経過)

我々が研究・開発してきた新規精製法、レクチン親和性クロマトグラフィー (LAC 法) によって、ブタ腎から Na/K-ATPase の粗標品を得た。その後、高性能ゲルクロマトグラフィーで、ゲル濾過的に単分散性の精製標品を単離できた。この標品の流体力学的直径(R)と分子量が、分子量と R が既知の標準タンパク質を使ったゲル濾過法で決められ、それぞれ 15nm と 623kD であった。これは、チログロブリンタンパク質のサイズ(17nm と 665kD)とほぼ一致した。この分子量は、これまで低角レーザ光散乱法で得られていた四量体の分子量と一致した。

この精製標品は、Na/K-ATPase のモノクローナル抗体 (抗ウサギ  $\alpha$  鎖) に結合した。さらに、ATPase 活性の 95% が強心性ステロイドのウアバインで阻害された。従って、この標品は Na/K-ATPase 四量体であり、全体としては 15nm 直径の球状に近い形の分子と結論された。これらの形状と分子量は、Na+優勢のイオン環境でも、K+優勢のイオン環境でも同じであった。このことは、能動輸送の分子機構を解く上で鍵となる、2つのコンホメーション状態 (E1 と E2) で、四量体を維持していて、四量体分子の解離などを起こさないことを示していて重要である。この標品は凍結・解凍処理でも、ATPase 活性は保持された。

この標品を、高速原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscope) を使って、溶液状態で観測した (金沢大学との共同研究)。その結果、全体としては高さ 1.5 nm x 直径 1.5 nm の円柱状であり、その中に、直径 7 ~ 8 nm x 高さ 1.5 nm の円柱状物体が 4 本存在し、揺らいで動く姿が観測できた。この観測は、Na/K-ATPase 分子の四量体可視化を実現したと同時に、ゲル濾過的に結論された四量体分子を、可視化によっても証明するものと結論できた。

28. 人工呼吸関連肺炎における緑膿菌の役割と抗 PcrV 抗体療法の可能性

研究代表者

| 氏 名  | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担 |
|------|---------|-----|---------|
| 森山 潔 | 医学部麻酔科学 | 准教授 | 統括      |

共同研究者

| 氏 名   | 所 属       | 職 名   | 役 割 分 担 |
|-------|-----------|-------|---------|
| 萬 知子  | 医学部麻酔科学   | 教授    | 研究の助言   |
| 小谷真理子 | 医学部麻酔科学   | 助教    | 研究の実施   |
| 岡野 弘  | 医学部麻酔科学   | レジデント | 研究の実施   |
| 大川 友之 | 塩野義製薬株式会社 | 主幹研究員 | 研究の実施   |
| 佐藤 剛章 | 塩野義製薬株式会社 | 主幹研究員 | 研究の実施   |

キーワード

|                        |
|------------------------|
| 緑膿菌、PcrV、III 型毒素分泌システム |
|------------------------|

研究分野

|       |
|-------|
| 周術期管理 |
|-------|

1. 共同研究の目的

人工呼吸管理患者では弱毒菌が常在菌と化し、患者の免疫力低下に伴い人工呼吸器関連肺炎（VAP） など日和見感染を引き起こす。我々は緑膿菌のⅢ型分泌システムにより分泌される病態増悪因子である V 抗原蛋白（PcrV） に着目し、PcrV を標的とした免疫療法の開発を進めてきた。本研究では、VAP に対する抗 PcrV 療法の可能性を明らかにするため、集中治療室で人工呼吸管理を要する患者を対象に、抗 PcrV 抗体及び緑膿菌関連物質の発現を調査する。本研究は塩野義製薬株式会社との共同研究で、研究代表機関は杏林大学医学部麻酔科学教室である。

2. 共同研究の内容・計画

中央集中治療室入室後、初回の血液及び気管内吸引痰を採取し、培養による緑膿菌感染を確認し、緑膿菌が検出された場合、通常通り抗菌薬に対する耐性を調べる。更に緑膿菌関連物質（緑膿菌由来タンパク、抗 PcrV 抗体、毒素などの緑膿菌分泌成分）の定量を、ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)、質量分析計等で行う。以降、人工呼吸管理継続中は 1 回/週を基本とし、発熱等感染を疑わせる臨床兆候に応じて追加で検体採取を行う。

3. 研究成果（経過）

【目的】緑膿菌は人工呼吸器関連肺炎（VAP）の代表的起因菌で、患者の免疫能低下に伴い肺炎及び敗血症を引き起こす。我々は緑膿菌Ⅲ型分泌システムより分泌される病態増悪因子 V 抗原(PcrV)を標的とした免疫療法の開発を進めてきた。今回、集中治療室で人工呼吸管理中の患者を対象に、抗 PcrV 抗体・抗原の発現を調査した。【方法】対象は 2016 年 4 月 1 日以降当院集中治療室で人工呼吸管理され、本研究に対する同意を得られた患者。同意取得後初回の血液及び気管内吸引痰を採取し、緑膿菌の有無、抗菌薬への耐性に加え、抗 PcrV 抗体・抗原の発現を、ELISA 法で測定した。以降、人工呼吸管理継続中は週 1 回、検体採取を行った。結果は平均±標準偏差、あるいは中央値(四分位範囲)で示した。【結果】患者 11 名から、計 33 の検体を得られた。年齢 62±23 歳、人工呼吸管理日数 15(13-44)日、ICU 滞在日数 19(15-44)日、ICU での死亡率 18%、院内死亡率 27%。VAP や VAE いずれの

基準も満たす患者はいなかった。喀痰から緑膿菌が検出されたのは 6 例(55%)16 検体(48%)。抗 PcrV 抗体価は 12 (6-136) ng/mL、PcrV 抗原値は 78 (105-456) ng/mL。耐性傾向の強い緑膿菌が検出された 2 例の抗 PcrV 抗体価は著明に高く(>500ng/mL)、PcrV 抗体価が高い症例では、PcrV 抗原の血中濃度は低い傾向がみられた。[考察&結語]肺炎を発症していない人工呼吸患者の半数近くで緑膿菌が不顕性感染しており、不顕性感染の段階でのⅢ型分泌システムに対する感作の可能性を示している。不顕性感染の段階での抗菌薬療法は緑膿菌を多剤耐性化へと導くため禁忌であるが、免疫療法は応用可能な可能性があり、今後更なるデータの集積を行っていききたい。

## 29. 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 | 開発部長  | 装置開発                                       |
| 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シューティカルズ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装置を開発するにあたり、その目標として、今までの研究成果を基に、内視鏡手技を目指した新しい装置構成を企業へ依頼した。このため、現状の石英ロットとハロゲンランプをプローブ部に持つ構成から脱却し、先端光学系とフレキシブルファイバーによる装置を実現する計画である。まず、焼灼実験を通して、光学特性の検証を行った。プローブ先端の熱が組織への熱伝導で焼灼されるのではないことを確認するため、非接触状態での焼灼を行い、組織表面から1mm離しても焼灼の様子が変わらないことを示した。これは近赤外光を用いた焼灼での大きな特徴で、組織上の膜を赤外光が透過し、膜を保存した状態で筋組織を焼灼可能となる。これはRF信号による従来の焼灼では得られない特性である。次に、組織の焼灼時に発生するPop現象（組織内での焼灼時の水蒸気爆発）は焼灼時に組織を破壊し、問題になるため、その度合いを検証した。この結果、組織の温度上昇を抑えながら、焼灼時間をかけることが有効であることが判った。しかし、現状の装置では連続照射時の組織温度の上昇カーブと断続的な照射時の組織温度上昇カーブに違いがあることが判り、課題であることが判った。

30. コルチゾール 6 $\beta$ -水酸化代謝クリアランスを用いたレゴラフェニブの薬物動態

## 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       |
|-------|--------|-----|---------------|
| 柴崎 浩美 | 東京薬科大学 | 准教授 | 薬物動態の測定、データ解析 |

## キーワード

レゴラフェニブ、CYP3A、コルチゾール、大腸癌、消化管間質腫瘍

## 研究分野

薬物動態

## 1. 共同研究の目的

内因性コルチゾール 6 位水酸化代謝クリアランスを指標とする方法による CYP3A フェノタイピング法を用い、レゴラフェニブの薬物動態を予測し、レゴラフェニブの至適用量の設定による個別化使用を確立する。

## 2. 共同研究の内容・計画

レゴラフェニブの化学療法が予定され、かつ選択基準を満たす患者を対象に杏林大学医学部付属病院で患者の組み入れ及び検体採取を行い、薬物動態の測定およびデータの解析を東京薬科大学で行う。

## 3. 研究成果（経過）

予定患者数 20 例の登録と採血および採尿の検体採取は終了した。患者は全例 Stage IV 大腸癌だった。  
現在、東京薬科大学にて薬物動態の測定およびデータの解析を実施中である。

31. 尿路悪性腫瘍に対するアミノ酸トランスポーター阻害療法の基礎的検討

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     |
|-------|------------|-----|-------------|
| 澤崎 晴武 | 多摩北部医療センター | 医長  | 細胞培養、生化学的解析 |

キーワード

|                          |
|--------------------------|
| 尿路悪性腫瘍、化学療法、アミノ酸トランスポーター |
|--------------------------|

研究分野

|       |
|-------|
| 腫瘍薬理学 |
|-------|

1. 共同研究の目的

尿道癌、膀胱癌などの尿路悪性腫瘍は、手術適応でなくなると予後が悪い。腫瘍細胞特異的に発現する LAT1 を標的とした治療が有効であるか、そうであるならメカニズムについて検討する。

2. 共同研究の内容・計画

尿路悪性腫瘍の細胞株を入手し、シスプラチン耐性株を樹立する。親株と耐性株についてアミノ酸トランスポーターLAT1 の発現を RTPCR やウエスタンブロット、免疫染色にて評価する。

LAT1 を標的とした阻害薬で細胞株の増殖が阻害されるかを検討する。特に親株と耐性株につき、アミノ酸トランスポーター阻害療法への感受性に差があるかに注目して評価を行う。

3. 研究成果（経過）

澤崎氏は、前立腺がんの細胞株の培養に成功した。現在適切な尿路悪性腫瘍細胞株を見つけているところである。

## ②保健学部



## 32. キチンによるアレルギー応答誘導機構の解明

## 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 | 講師  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名    | 所 属        | 職 名  | 役 割 分 担     |
|--------|------------|------|-------------|
| 中江 進   | 東京大学医科学研究所 | 准教授  | 遺伝子改変マウスの提供 |
| 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  |
| 須藤 カツ子 | 東京医科大学     | 講師   | 遺伝子改変マウスの作製 |

## キーワード

キチン、アレルギー

## 研究分野

免疫・アレルギー

## 1. 共同研究の目的

ダニはアレルギー性指息のもっとも高頻度な抗原であるが、その発症に関わるダニ成分は不明である。申請者は、タンパク質抗原単独ではアレルギーは誘導されないが、ダニの外殻構成成分「キチン」の存在下では、Th2 サイトカイン誘導因子である IL-33 の発現誘導を介して、マウスにアレルギー応答が惹起されることを見出した。そこで、ダニによるアレルギー応答誘発機序を明らかにするために、アレルギー応答における 1) キチンおよび IL-33 の標的細胞の同定と活性化機構の解明、2) キチン受容体の同定およびキチン受容体のシグナル伝達経路の解明を目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

**1. キチンおよび IL-33 の標的細胞の同定と活性化機構の解明**：現在、IL-33 の存在下でキチンに応答する細胞として樹状細胞が同定できている。キチン・IL-33 刺激によって活性化された樹状細胞による Th2 細胞の分化機構や Th2 型免疫応答の誘導機構を明確にする。**2. キチン受容体の同定およびキチン受容体のシグナル伝達経路の解明**：キチン・IL-33 刺激による樹状細胞の活性化は、TLR2 欠損および Dectin-1 欠損樹状細胞でも観察されており（未発表）、未知のキチン受容体の存在が示唆されている。申請者らがキチンに結合する分子として LC-MS/MS 解析により捉えた分子群のうち（未発表）、実際にキチンに結合する分子機能を *in vitro* 及び *in vivo* で評価する。

## 3. 研究成果（経過）

これまでに、キチンと IL-33 により活性化した樹状細胞が、アレルギー性気道炎症の誘導に関与することを明らかとしている。しかしながら、いかなるメディエーターがこれを媒介するかは不明である。これまでに、キチンは単独では樹状細胞を活性化しないが、IL-33 存在下では IL-1 の産生を強く誘導することを見出している。そこで、この樹状細胞由来 IL-1 のアレルギー性気道炎症の誘導への関与について検討した。OVA+キチン感作によるアレルギー応答がほとんど生じない IL-33R (IL-1RL1, ST2) 欠損マウスに、野生型マウス由来もしくは IL-1 欠損マウス由来 BMDC を経鼻的に移入再構築した。次に、OVA+キチンの吸入感作によりアレルギー性気道炎症を誘導した。その結果、IL-1 欠損マウス由来 BMDC 移入マウスでは気道への好酸球浸潤がほとんど見られなかったのに対して、野生型マウス由来 BMDC 移入マウスでは、強い好酸球浸潤が観察された。この結果から、キチンと IL-33 により活性化された樹状細胞が IL-1 を産生することにより、アレルギー性気道炎症が惹起されることが明らかとなった。

### 33. LC-MS/MS による合成ステロイド剤の高感度微量分析法の開発

#### 研究代表者

| 氏 名   | 所 属           | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|---------------|-----|---------|
| 石井 和夫 | 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                             |
|-------|---------------|-----|-------------------------------------|
| 小原 映  | 保健学部診療放射線技術学科 | 講師  | LC-MS/MS によるベクロメタゾンの定量法の開発          |
| 柴崎 浩美 | 東京薬科大学        | 准教授 | LC-MS/MS によるフルチカゾンの定量と<br>血中濃度推移の解析 |
| 横川 彰朋 | 東京薬科大学        | 助教  | 体内動態解析                              |

#### キーワード

LC-MS/MS、合成ステロイド剤、血中濃度推移、体内動態解析

#### 研究分野

臨床薬学

#### 1. 共同研究の目的

合成ステロイド剤は、様々な疾患の治療に用いられるが、気管支喘息やアレルギー性鼻炎では局所治療として、吸入薬や点鼻薬が使用される。これらの剤形では低用量での薬効発現が期待されるが、副作用からの懸念から、特に小児においては使用が躊躇される場合がある。本研究では、ステロイド剤の血中濃度推移を把握し、体内動態解析を行うことにより、吸入および点鼻ステロイド剤の全身作用を予測することを目指し、LC-MS/MS 法による超微量分析法の開発を目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

吸入および点鼻ステロイド剤使用時の血中ステロイド濃度は超微量（ピコグラムオーダー）であることに加えて、患者の負担の軽減のために採血量を減らすことを考慮すると、超微量微量法が必要となる。前年度は、生体成分からの抽出法を検討し、LC-MS/MS 法によるフルチカゾンの感度および精度の確認を行い、高感度微量微量法を確立した。本年度は、フルチカゾンの血中濃度推移の把握とベクロメタゾン測定法の確立を計画している。

- 1)ベクロメタゾンの測定法の確立：生体由来の成分との分離を可能とするグラジエントの検討と感度および精度の確認。
- 2)フルチカゾン使用時の血中濃度推移の検討：点鼻薬使用後に経時的な血中濃度を把握する。

#### 3. 研究成果（経過）

本研究では、点鼻ステロイド剤の血中濃度推移の把握と体内動態解析を行うことにより、全身作用を予測することを目指している。

平成 29 年は、LC-MS/MS 法による血中ベクロメタゾン（17-BMP）の高感度定量法を検討した。Agilent 6410 LC-MS/MS を用い、カラム phenomenex® Gemini-NX C18、移動相を 10 mM 酢酸アンモニウム + 0.2% 酢酸水溶液とメタノールのグラジエント法とした。fragmentor voltage 115 V, collision energy 5 V とした時の、precursor ion および product ion は、17-BMP で m/z 465→447、17-monopropionate-2H5 (17-BMP-2H<sub>5</sub>) で m/z 470→452 と最適化された。17-BMP-2H<sub>5</sub> を内標準物質とし、25.28～255.75 pg/mL の範囲で作成した検量線は、 $y = 1.1015x + 0.0128$  ( $r = 0.9994$ ) の良好な直線性を示した。

さらに、これまでに確立した測定法を用い、フルチカゾンプロピオン酸エステル（FP）を点鼻した被験者の血中濃度を点鼻後 180 分まで経時的に測定した。FP の血中濃度として、点鼻 15 分後に 4 pg/mL が検出され、60 分後に最高血中濃度 8.59 pg/mL となった。今後、7 時間程度までの採血を行い体内動態解析を行う予定である。

## 34. 子宮頸部における新しいハイリスク型ヒト乳頭腫ウイルスの再考

## 研究代表者

| 氏 名    | 所 属          | 職 名 | 役 割 分 担 |
|--------|--------------|-----|---------|
| 大河戸 光章 | 保健学部臨床検査技術学科 | 講師  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名   | 所 属           | 職 名  | 役 割 分 担                  |
|-------|---------------|------|--------------------------|
| 笹川 寿之 | 金沢医科大学        | 主任教授 | 総括、プライマー・プローブ設計          |
| 小田 瑞恵 | こころとからだの元気プラザ | 診療部長 | 細胞擦過、組織生検、コルポ診           |
| 岡山 香里 | 群馬パース大学       | 助教   | PCR、in situ PCR、ISH、標本作製 |

## 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

細胞診で上皮内病変(SIL)、組織診で子宮頸部上皮内腫瘍(CIN)と判定された病態はハイリスク型 human papillomavirus (HPV) の 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、同 68 型 (HR13) による細胞変化であるが、HR13 陰性例が少なからず存在する。現在、細胞診検体で保険適応となっている HPV 検査法はハイブリッドキャプチャー法など主に HR13 の有無を調べる方法であるが、ASC-US 症例のうち、組織診で浸潤癌と診断される症例が実在することからも、HPV 検査による誤陰性を避けるべく、HR13 以外の型の存在をスクリーニングする必要がある。そこで我々は子宮頸癌および HR13 陰性の上皮内病変 (SIL) および CIN 症例を用いて HR を疑う HPV (26, 30, 34, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85 型等) を検出し、ハイリスク型 HPV を再考する。この研究によって新たなハイリスク型 HPV が加わり、より一層の異型細胞の検出感度向上に寄与すると考える。

## 2. 共同研究の内容・計画

研究内容は HR13 陰性の SIL (細胞診) および CIN 症例を用いて HR を疑う HPV 検出を検出し、ハイリスク型 HPV を再考する内容である。

昨年度は、in situ hybridization 法および in situ PCR 法で HR13 と HR-susp. 9 局在を解析し、HPV 感染細胞所見を解析した。平成 29 年度は引き続き HPV の組織局在、感染所見を解析する他、HPV physical status 解析、HR-susp. 9 および HR13 の感染率、型別リスク評価、複合感染によるリスク評価を行う。

なお、本共同研究は平成 26 年度から平成 30 年度 (平成 26 年 4 月 1 日から平成 31 年 3 月 31 日) の研究計画における 4 年目の計画である。

## 3. 研究成果 (経過)

本研究グループは本年度、39 種類の HPV 型を均等感度で検出できる uniplex E6/E7 PCR assay を完成させた (図 1) (Okodo M et.al, J Med Virol, 2018)。多種の HPV 型を高感度に検出できる世界で唯一のアッセイであり CIN2 において、先行研究の約 5 倍の HPV 多重感染を証明した。さらに新しい事実として本アッセイで「HPV 単独感染」と判定した症例が CIN3 へ進展しやすい傾向を掴んだ。フォローアップしているハイリスク型 HPV 陽性の CIN2 患者の進展率が低い事実と、我々のアッセイによる結果は「型別感度の異なる consensus primer-PCR 法」を採用した先行研究には、HPV 偽陰性の結果が多々含まれていた可能性を指摘する。つ

まり、CIN の進展予測のバイオマーカーとして HPV 型を判定することが不十分と結論づけるのは拙速と考える。我々はこれらの背景を踏まえ、「HPV 型および単独感染はバイオマーカーになり得るのか?」、「新たなバイオマーカーを必要とするのか?」という問いに答えるため、uniplex E6/E7 PCR アッセイによる HPV 型の再網羅を来年度実施する予定である。

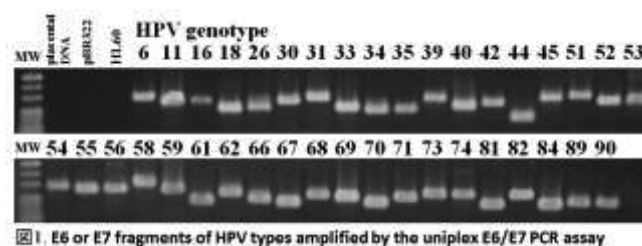


図1. E6 or E7 fragments of HPV types amplified by the uniplex E6/E7 PCR assay

## 35. 糖尿病における運動神経障害の病態生理

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属        | 職 名 | 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      |
|-------|------------|-----|--------------|
| 村松 憲  | 健康科学大学     | 准教授 | 実験及びデータ解析    |
| 生友 聖子 | 健康科学大学     | 助教  | 筋組織の標本作成     |
| 玉木 徹  | 健康科学大学     | 助手  | 運動ニューロンの標本作成 |
| 大城 直美 | 保健学部作業療法学科 | 助教  | 実験及びデータ解析    |

## キーワード

糖尿病、運動ニューロン、神経科学、リハビリテーション

## 研究分野

総合領域

## 1. 共同研究の目的

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

## 2. 共同研究の内容・計画

実験にはストレプトゾドシンの投与によってⅠ型糖尿病を発症した Wister 系ラット(糖尿病群)とⅠ型糖尿病を発症した Wister 系ラット (糖尿病群)、及びそれぞれ健常なコントロールラット(対照群)を用いる。それぞれにおいて、脊髄運動ニューロンと筋細胞の形態を比較・解析する。運動ニューロンの標識はイソフルレン麻酔下で行う。麻酔下のラット上下肢筋・体幹筋・括約筋筋枝を切断して、その断端を 10%Dextran 溶液に 2 時間浸す。その後、Dextran の拡散を防ぐために神経断端をスポンゼルで覆い、術創を縫合する。必要に応じてラットには輸液、消炎鎮痛剤、抗生物質を投与する。2 週間の生存期間の後、深麻酔下において 10%パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、脊髄及び筋組織を取り出す。後固定の後、腰髄から仙髄までの脊髄の連続切片 (100  $\mu$  m) を作成し、標識された運動ニューロン像及び筋組織を解析する。筋組織は、深麻酔下において 10%パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、筋を取り出す。後固定の後、筋の連続切片 (100  $\mu$  m) を作成し、HE 染色を施し、筋細胞の形態を比較・解析する。また、末梢神経を刺激することにより筋の M 波を記録し、その収縮様態を比較・解析する。

## 3. 研究成果(経過)

実験にはストレプトゾドシンの投与によってⅠ型糖尿病を発症した Wister 系ラット(糖尿病群)と健常なコントロールラット(対照群)を用いた。それぞれにおいて、脊髄運動ニューロンと筋細胞の形態を比較・解析した。実験はイソフルレン麻酔下で行った。麻酔下のラットの腹壁筋・括約筋筋枝を切断して、その断端を 10%Dextran 溶液に 2 時間浸した後、術創を縫合した。2 週間の生存期間の後、深麻酔下において 10%パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、脊髄及び筋組織を取り出した。

後固定の後、腰髄から仙髄までの脊髄の連続切片を作成し、標識された運動ニューロン像及び筋組織を解析した。筋細胞は、深麻酔下において 10%パラホルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、筋を取り出し、後固定の後、筋の連続切片を作成し、HE 染色を施し、筋細胞の形態を比較・解析した。また、末梢神経を刺激することにより筋の M 波を記録し、その収縮様態を比較・解析した。その結果、糖尿病群の腹壁筋・括約筋運動ニューロンは、対照群と比べて細胞数と細胞体径が有意に減少していた。腹壁筋細胞にも狭小化の傾向が見られた。括約筋細胞の解析は進行中である。また、糖尿病群の M 波の記録から健常な運動単位が枝を伸ばし再神経支配した可能性が伺われた。

## 36. 放射性医薬品の品質管理手法に関する研究

## 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      |
|-------|------------|-----|--------------|
| 廣野 圭司 | 横浜市立大学附属病院 | 技師  | 臨床施設による実際の使用 |
| 菊池 敬  | 北里大学病院     | 技師  | 臨床施設による実際の使用 |

## キーワード

放射性医薬品、品質管理、クロマトグラフィ、放射化学的純度

## 研究分野

核医学

## 1. 共同研究の目的

放射性医薬品の品質管理手法について、臨床に広く普及させたいと考えていると同時に、学部教育にも反映させるために、他大学および診療施設との共同で研究することで、実践教育にも反映させることができる。

## 2. 共同研究の内容・計画

本邦では 2011 年 6 月 10 日に放射性医薬品取り扱いガイドラインが日本核医学会等の関係学会が共同で作成していたが、放射性医薬品に関する品質管理においては脆弱な状況が続いている。キット製剤の調整方法は日本核医学会からガイドラインが出されているが、施設内で放射化学的純度や pH 測定などの検定は行われていない。そこで我々は放射化学的純度測定が簡易的に行える、放射性医薬品の安全管理に関する基礎検討として、最も使用頻度の高い骨シンチグラフィ用キット型製剤について検討した。次年度は他の医薬品についても、様々な使用条件を想定した検討を行う。

## 3. 研究成果（経過）

放射性医薬品の簡易式純度検定が臨床現場で利用できるのか実施試験として、共同研究施設で、使用後の放射性医薬品を利用して行った。共同研究施設で使用された放射性医薬品は  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP であり、様々な負荷試験は本学で行った。

・  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP による結果

臨床現場での利用では、90 サンプルによる試験を行い、標識率 95%以上と正常な標識率を 2 分程度の手技で検定を行うことができることが実証された。しかし、手順に不慣れだと、展開用紙の扱いを失敗し、やり直す必要が散見され、十分な訓練と慎重な手技が要求された。

負荷試験では、臨床で想定されるミスを試験的に起こさせ、その状態で検定を行ったが、標識率に差がみられる、本製剤はかなり安定した状態でバインディングされていることが分かった。

この試験結果は、速報として日本核医学技術学会関東地方会で報告し、邦文で論文化して投稿する。その他に試験については、英文化した論文で投稿する。内容は二重投稿にならないように十分に配慮する。本共同研究はこれで終了とする。

37. バドミントンにおける安全性と高いパフォーマンスを靴によってもたらすための研究

研究代表者

| 氏 名  | 所 属        | 職 名 | 役 割 分 担 |
|------|------------|-----|---------|
| 倉林 準 | 保健学部理学療法学科 | 講師  | 統括      |

共同研究者

| 氏 名    | 所 属                           | 職 名     | 役 割 分 担 |
|--------|-------------------------------|---------|---------|
| 阿部 秀夫  | 株式会社 LA マイスター<br>株式会社 VK スポーツ | 代表取締役社長 | 全体の企画立案 |
| 佐藤 充   | 株式会社 LA マイスター                 | 常務      | 制作      |
| 石井 孝典  | 株式会社 VK スポーツ                  | 部長      | 開発      |
| 土居 健次郎 | 株式会社 LA マイスター                 | 社員      | 開発・制作   |

キーワード

|                                   |
|-----------------------------------|
| バドミントン、靴の開発、靴の制作、パフォーマンス、シミュレーション |
|-----------------------------------|

研究分野

|               |
|---------------|
| スポーツ医・工学、障害予防 |
|---------------|

1. 共同研究の目的

バドミントンは、三次元的に激しい動作をするのが特徴で、最も消費エネルギーの高い競技と言われている。下肢の疾病も多く、急性外傷から慢性外傷まで多岐にわたる。しかしながら、外傷への予防を踏まえた競技パフォーマンスを引き出すためのバドミントンの靴は、なかなかあるようでない。本共同研究では、上記を満たすための新しい靴の開発によって、バドミントン競技に安全と高いパフォーマンスを獲得することを目的としている。

2. 共同研究の内容・計画

昨年度の共同研究の中で、両面使用シャンク及び当該シャンクを備えた一対のスポーツシューズ：2016 年 10 月 5 日、特許 2016-196964、スポーツシューズの踵部背面衝撃緩衝構造：2016 年 10 月 5 日、特許 2016-196965 の 2 件について特許を得た。これらをもとに靴自体のデザインや材質、形状などをさらに検討する必要がある。現在は、実物自体を開発するための準備を行っているとともに、有限要素法（Finite Element Method）を用いた力学計算シミュレーションについて進め始めている。本共同研究は、実物の開発とシミュレーションを並行的に来年度の計画を進めていこうと考えている。

3. 研究成果（経過）

平成 28 年度 10 月、2 件特許出願を行い、平成 30 年 1 月に 1 件特許査定、2 月 16 日に特許第 6288687 号として登録され、3 月 7 日に「両面使用シャンク及び当該シャンクを備えた一対のスポーツシューズ」という発明の名称で特許公報に公開された（図 1）。

拒絶理由通知を受けた 1 件は、手続き補正書を平成 30 年 2 月 19 日に提出した。近々特許査定を得ると弁理士から報告を受けている。

それとは別に有限要素法を用いた三次元モデルのシミュレーションなども始めている。

今後、靴の製造のための研究をバドミントン選手の足形計測、バドミントン選手の運動特性など、バドミントン特有のデータを

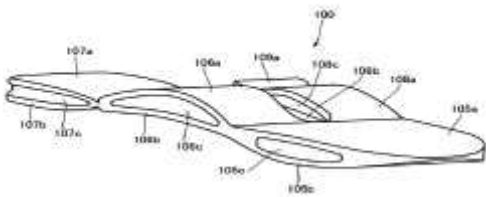


図 1： シャンク構造

収集しながら、靴開発の土台を構築していく予定である。また、共同研究先の株) KIZUNA ジャパンがバドミントンメーカーシェア世界 2 位の VICTOR International と業務提携して、VK スポーツと社名が変更となっている。

### 38. GEM を用い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 | 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<br>(KEK) | 教授  | 検出器設計、回路設計          |
| 内田 智久 | 高エネルギー加速器研究機構<br>(KEK) | 准教授 | 回路設計、データ処理アルゴリズムの作成 |

#### キーワード

放射線検出器、MPGD、GEM、X 線、中性子線

#### 研究分野

総合領域

#### 1. 共同研究の目的

Micro Pattern Gaseous Detector (MPGD) の 1 つである Gas Electron Multiplier (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、および性能評価を行う。この検出器の特徴として、コンバーター（放射線信号変換素材）を変えることで、測定対象を変えることが可能で有り、特に、X 線、中性子線に対して用途に応じた検出感度、エネルギー弁別画像の取得を目指した新しい検出器の開発を目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

MPGD の 1 つである GEM は、基板に多数の細孔が開けられたものでこの両面間に高電圧を印加すること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 次元的に一般的な性能が得られることからワイヤー型の検出器では不可能な 2 次元情報を得ることが可能である。

本研究では昨年度に引き続き GEM 自体の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 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・開発を行っている。

今年度は、科研費を獲得できたことで BNCT 用のビームモニタとして活用するために機器の改良を精力的に進めることができた。特に BNCT 用中性子ビームモニタとして要求される仕様に合わせた改良（検出効率、時間分解能、エネルギー分解能 等）を加えることができた。実際の BNCT ビームラインでのビームテストでは、これまでの改良に加え、ビームラインの仕様（ビーム発生方式等）に合わせた BNCT ビームモニタとして要求される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。

## 39. 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<br>システム情報科学研究院 | 教授  | 共同研究者（圧縮センシング技術） |
| 川喜田 雅則 | 九州大学<br>システム情報科学研究院 | 助教  | 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、まだ臨床適用に必要な画質と許容時間内の画像再構成を両立した手法は十分には確立されていない。本研究の目的は、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の再構成時間が長い。本研究では、機械学習を用いたアプローチを行う。機会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に画像を正解値として持ちつつ、サンプリングパターンや機械学習の各パラメータを変化させて最適化を行う。機械学習に基づく再構成アルゴリズムの検討は、主に九州大学システム情報科学研究院にて行い、得られた画像の評価を本学にて行う。

## 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、臨床適用にはまだ再構成時間が長いという問題がある。本研究では機械学習を用いた手法を用いることで、再構成時間の短縮が可能かどうかについての基礎検討を行っている。今年度は、頭部 MRI 画像に加え MRA 画像も対象とし、高速化によって得られる低解像度画像から、機械学習を用いて元画像を復元する方法について研究開発を行い、低解像度画像よりもより高分解能な画像が復元されることを確認した(\*)。今後、引き続きアルゴリズムの改良を行うと共に、異なるサンプリング法に対する画像復元法についても検討を進める予定。

(\*)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。

40. 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式会社 | 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生かし、臨床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、近年 MRI 分野で注目されている心筋 T1 Mapping に関し、新しく提案した PC TI-Prep 法の精度比較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 (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 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、T1 ファントムを用い、従来法である MOLLI 法等との精度比較等を行う。パルスシーケンス側の改良等は、主に東芝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等の評価を本学にて行う。

3. 研究成果（経過）

近年 MRI 分野で注目されている心筋 T1 Mapping に関し、新しく提案した PC TI-Prep (Polarity Corrected TI-Prep T1 Mapping) 法の精度比較等に関する研究を行っている。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 ならびに磁場の不均一性の影響を受けやすい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、心拍変動の補正を可能とした PC TI-Prep 法を提案、今年度は特に、T1 ファントムならびに心電図同期シミュレータを用いて基本的な精度検証等を行い (\*)、連名にて論文 1 件投稿し採択された。今後、臨床適用時に生じる様々な課題（息止め時間による撮像時間の制限等）下においても精度確保が可能な方式等に関して検討を進める予定。

なお、上記の他、高速撮像関係についても連名にて 1 件論文投稿・採択された。

(\*) 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等の評価を本学にて行っている

## 41. Digital Breast Tomosynthesis の画像評価

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属           | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|---------------|-----|---------|
| 芝生 春菜 | 保健学部診療放射線技術学科 | 助教  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名   | 所 属      | 職 名 | 役 割 分 担      |
|-------|----------|-----|--------------|
| 田中 功  | 東京女子医科大学 | 技師長 | 研究指導およびデータ解析 |
| 油原 俊之 | 東京女子医科大学 | 主任  | 研究指導およびデータ解析 |

## キーワード

マンモグラフィ、Digital Breast Tomosynthesis

## 研究分野

診療放射線技術学

## 1. 共同研究の目的

マンモグラフィは乳房病変の診療には必要不可欠であるが、若年者のマンモグラフィ撮影については乳線密度等について問題となることが多い。そこでこの問題を解決するための技術として 3 次元撮影となる Digital Breast Tomosynthesis (DBT) が注目されている。本研究では、マンモグラフィ精度管理局ファントムを用いて DBT で得られた麗像と従来のマンモグラフィ (2D) 画像を比較することで画像評価をおこなう。

## 2. 共同研究の内容・計画

杏林大学の装置では Tomosynthesis 撮影が不可能な為、実験には東京女子医科大学東医療センターの GE Healthcare 社製 Senographe Essential を用いる。マンモグラフィの精度管理用ファントムである RMI156 ファントムを DBT 撮影および 2D 撮影にて撮影条件を変化させながら撮影する。撮影した画像の評価は検診マンモグラフィ撮影認定技師取得者およびマンモグラフィ読影に従事している医師でおこなう。画像評価の結果より、DBT 画像の画質評価および有用性について検討する。

## 3. 研究成果 (経過)

Digital Breast Tomosynthesis (DBT) 撮影では、Tomosynthesis 画像データを利用して 2D 近似画像である Volume Preview (VP) 画像を作成できる。今年度の本研究では、新たな画像再構成技術として開発された VP 画像 (VP3.1) と従来の VP 画像 (VP1.1) および従来のマンモグラフィ画像 (2D) について撮影条件を変化させて評価した。方法は RMI156 ファントムを 2D および DBT モードにて撮影し、2D 画像、DBT 撮影で生成される VP1.1 および VP3.1 に対して乳房撮影精度管理マニュアルに基づいて視覚評価した。撮影条件は 29kV、Rh/Rh 一定とし、撮影線量を 45・63・80・125・250mAs と変化させた。視覚評価は検診マンモグラフィ撮影認定技師取得者 8 名でおこなった。VP3.1 および VP1.1 と 2D 画像を比較することにより、Tomosynthesis 撮影にて生成された 2D 画像の画質について明らかにすることができた。画像再構成技術の向上に伴う VP 画像の描出能の改良について検討することで、従来の 2D 撮影と同等もしくはそれ以上の Tomosynthesis 撮影の有用性が示唆された。次年度以降は乳線密度の差による Tomosynthesis 画像の描出能や最適撮影条件、画質評価方法について検討する必要がある。

42. Equol の体内動態研究に適用するための代謝物標品の合成と一斉分析法の開発

研究代表者

| 氏 名   | 所 属           | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|---------------|-----|---------|
| 石井 和夫 | 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        |
|-------|---------------|-----|----------------|
| 小原 映  | 保健学部診療放射線技術学科 | 講師  | 標品の化学合成と分析法の開発 |
| 柴崎 浩美 | 東京薬科大学        | 准教授 | 体内動態解析         |
| 横川 彰朋 | 東京薬科大学        | 助教  | 化学合成品の構造確認     |

キーワード

|                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------|
| equol, conjugated metabolites, chemical synthesis, simultaneous determination |
|-------------------------------------------------------------------------------|

研究分野

|      |
|------|
| 臨床薬学 |
|------|

1. 共同研究の目的

equol は 17β-estradiol と化学構造が類似するため強いエストロゲン作用を持ち、乳がんなどのホルモン依存性がんの予防に期待される。equol はイソフラボン daidzein から腸内細菌で合成され、血中では 99%以上が抱合代謝物として体内を循環する。過去の体内動態研究では、代謝物標品が入手困難、かつ高極性のため相互分離が困難という理由から、極性基を除去し得られる equol を分析している。それゆえ体内動態の詳細は全く不明であり生体作用を予測できない。本研究では equol 抱合代謝物の化学合成と一斉分析法の開発を行う。

2. 共同研究の内容・計画

体内動態、すなわち吸収、分布、代謝、排せを追跡するためには、血液中、尿中の equol のみならず、その代謝物の定性、定量分析が必要不可欠である。我々は世界に先駆けイソフラボンの動態研究のための代謝物の化学合成を行い、それらの分析法の開発と体内動態の研究を行ってきた。その経験を活かし、さらに equol の代謝物の化学合成と血液中、尿中での一斉分析法の開発を行う。equol は前述のごとく腸内細菌により daidzein から合成されるため、血中で検出されるのは微量である。パイロット実験では、血液中で数 ng/mL レベルであったため、手段として LC-MS/MS を用いた特異的・高感度な分析法を開発する予定である。

3. 研究成果（経過）

本研究では、イソフラボン daidzein から腸内細菌によって合成される equol の体内動態の詳細を明らかにすることを目的としている。平成 29 年度は、抱合代謝物の標品全ての化学合成をし、それらを標品とし、Equol 抱合代謝物の一斉分析法を検討した。体内動態の詳細を把握するためには抱合代謝物は必須であるが、現在市販されていないため、入手困難である。今回、当研究室にて未だ合成されていなかった Equol-7-glucuronide-4'-sulfate 及び Equol-7-sulfate-4'-glucuronide の合成をし、NMR 及び LC-MS にて構造を確認した。

さらに、今まで合成したものも含め Equol 抱合代謝物を標品とし、LC-MS/MS を用いた一斉分析法を検討した。内部標準物質として、equol-2H<sub>4</sub>を用いた。各抱合代謝物を HPLC により分離・分取し、各々の溶離液に equol-2H<sub>4</sub>を添加した後、β-glucuronidase により酵素水解し Equol として定量する分析法を開発した。血漿中の Equol の回収率は、68.66±5.23%と良好な値を示した。また作成した検量線は 2.02～40.30 ng/0.2 mL の範囲内において、y = 0.0563x - 0.0023 (r = 0.9994) と良好な直線性を示した。今後は、開発した一斉分析法をヒト血漿や尿へ適用し、Equol 抱合代謝物のプロファイルを明らかにする。

43. ラット神経前駆細胞由来分化ニューロンおよびヒト iPS 由来運動ニューロンを用いた ADAR2 ノックダウンによる TDP-43 凝集体形成系の検討

#### 研究代表者

| 氏 名   | 所 属          | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|--------------|-----|---------|
| 渡部 和彦 | 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                                       |
|-------|------------|-----|-----------------------------------------------|
| 田中 慎治 | 田辺三菱製薬株式会社 | 研究員 | ヒト ADAR2 shRNA 配列の検討および<br>ヒト iPS 運動ニューロンでの検討 |

#### キーワード

筋萎縮性側索硬化症(ALS)、運動ニューロン、ヒト iPS 細胞、組換えアデノウイルスベクター、治療薬開発

#### 研究分野

神経病理、神経内科

#### 1. 共同研究の目的

ヒト筋萎縮性側索硬化症(ALS)に特徴的な細胞内 TDP-43 凝集体の病態と治療法開発に関して、ラット神経前駆細胞由来ニューロンおよびヒト iPS 細胞由来運動ニューロンを用いて、ALS 患者で活性が低下している ADAR2 のノックダウンによる TDP-43 凝集体形成の検討を行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

1. ラット神経前駆細胞由来ニューロンへ、ヒト正常および C 末断片 TDP-43、また ADAR2 shRNA を発現する組換えアデノウイルスベクターを共感染させ、ALS に特徴的な細胞質 TDP-43 凝集体の形成を検討する。
2. ヒト iPS 由来運動ニューロンで同上の検討を行うため、ノックダウン作用が確認されたヒト ADAR2 shRNA 配列を選定する。
3. ヒト shRNA を発現するアデノウイルスベクターを作製し、ヒト iPS 由来運動ニューロンを用いた TDP-43 凝集体の形成を検討する。

#### 3. 研究成果（経過）

1. ラット神経前駆細胞由来ニューロンへ、ヒト正常および C 末断片 TDP-43、ラット ADAR2 shRNA を発現する組換えアデノウイルスベクターを共感染させ、ALS に特徴的な細胞質 TDP-43 凝集体の形成を検討した。当該ニューロンには ADAR2 の発現を認めず、ADAR2 shRNA による凝集体形成促進効果はみられなかった。
2. ヒト iPS 由来運動ニューロンで同上の検討を行うため、ノックダウン作用が確認されたヒト ADAR2 shRNA 配列を 2 種類選定した。
3. ヒト shRNA を発現するアデノウイルスベクターを作製するために、ADAR2 shRNA 配列と EGFP を組み込んだシャトルプラスミドを作製した。
4. 上記研究を平成 30 年度も継続する（継続申請済み）。受入金は 3 月時点で未収のため執行せず。



### ③ 総合政策学部



## 44. タイの HIV 感染者へのケアにおけるタスクシフティングに関する研究

## 研究代表者

| 氏 名  | 所 属    | 職 名 | 役 割 分 担 |
|------|--------|-----|---------|
| 北島 勉 | 総合政策学部 | 教授  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名              | 所 属           | 職 名 | 役 割 分 担      |
|------------------|---------------|-----|--------------|
| Malcolm Field    | 総合政策学部        | 教授  | 文献レビュー、質問票作成 |
| 岡村 裕             | 総合政策学部        | 教授  | 研究計画策定       |
| Saiyud Moolphate | チェンマイラチャパット大学 | 講師  | 研究計画策定、調査監督  |

## キーワード

HIV、抗レトロウイルス療法、タイ、タスクシフティング、保健センター

## 研究分野

国際保健

## 1. 共同研究の目的

一次医療施設であるヘルスセンターにおいて、抗 HIV 多剤併用療法（ART）や HIV 検査を提供することの実現可能性を、ヘルスセンターのスタッフのスキルや施設設備の面から検討し、今後のあり方を検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

対象地域は、タイ国チェンマイ県とコンケン県である。平成 28 年度の研究結果をもとに、HIV 感染者にケアを提供する際に必要なスタッフのスキルや施設設備に関する質問票を作成し、両県のヘルスセンターのスタッフを対象に調査を行い、ヘルスセンターで ART や HIV 検査を提供する上でのギャップを明らかにする。その上で、病院からヘルスセンターへ ART の提供や HIV 検査をシフトするための方策を検討する。

## 3. 研究成果（経過）

タイのチェンマイ県のサンパトン郡において、サンパトン地域病院で抗レトロウイルス療法（Antiretroviral Therapy、以下 ART）を受療している患者のうち、病状が安定している患者を、より自宅に近い保健センターに紹介し、保健センターに常駐する看護師が彼らのフォローアップをするという取り組み（タスクシフティング）が行われている。本研究は、病院で ART を受療している患者と保健センターで受療している患者の医療サービスへの満足度、スティグマ、健康状態に関する違いの有無を調べ、ART のタスクシフティングの質を向上していく上でのエビデンスを得ることとする。平成 30 年 2 月 3 月にかけて、サンパトン地域病院とサンパトン郡内の保健センターにおいて質問票による調査と、カルテからの情報収集を行った。本調査を実施するにあたり、杏林大学国際協力研究科研究倫理委員会からの承認を得た（承認番号 23）。300 人の ART 受療者から協力を得た。現在、データ入力中であるが、現時点で入力完了している 30 人について分析をしたところ、男性 21 名、平均年齢 46.1 歳（±9.1）、主観的健康得点は 100 点満点中 83.8 点（±14.5）、全体的な患者満足度は 5 点満点中 4.6 点（±0.5）と高かった。今後は、病院と保健センター間の患者満足度等の差異の有無を検討し、その改善方法を検討したい。

#### 45. 日本における中国人居住者の中国伝統文化意識の研究

##### 研究代表者

| 氏 名 | 所 属    | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-----|--------|-----|---------|
| 劉 迪 | 総合政策学部 | 教授  | 統括      |

##### 共同研究者

| 氏 名  | 所 属        | 職 名 | 役 割 分 担                                  |
|------|------------|-----|------------------------------------------|
| 孫 海英 | 北方工業大学（中国） | 准教授 | 日本に居住する中国人の中国伝統文化意識についての調査とその結果分析などを協力する |

##### キーワード

華僑華人子女、中国語教育、中国語教室、東京 23 区

##### 研究分野

地域社会、政治学

#### 1. 共同研究の目的

今日本には中国からの移住者が多くいる。中には中国改革開放政策の影響で来日した人々とその子供たちがいる他、近年、中国大学における日本語教育や日本の中国へ進出する企業などを通して日本へ進学、就職に行く中国人も増えている。異文化の影響を受けつつ、その人たちは中国伝統文化に対してどう考えているのかを研究することを目的として、具体的に次の三つに分けて研究を行う。

1. 日本人の伝統文化自覚意識を明らかにする
2. 日本人と中国人がそれぞれどのように伝統文化に対して自覚、意識するのか、また、日常生活においてどのように伝統文化を継承、実践するのかを明らかにする
3. 日本社会において、在日中国人が伝統文化意識や文化・身分のアイデンティティをどのように保持するのかを明らかにする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

本研究は以下の3つの内容をめぐって展開する。

- 1 日本人の伝統文化に対する自覚意識に関する調査を行う。
- 2 日本では伝統文化における教育に関する調査を行う。
- 3 日本の伝統文化を宣伝するイベントなどの展開する状況を調査する。
- 4 調査結果をまとめ中国人と日本人の伝統文化に対する自覚意識に表れる相違を比較対照しながら研究報告を整理する

- 1 劉は比較政治学の視点から日本人の伝統文化保護や推進などに関係する制度の知識を提供して、本研究の理論的意義を把握する。
- 2 孫は日本人の伝統文化に対する自覚意識の調査を実施する。
- 3 二人は在日中国人の伝統文化に対する自覚意識について意見交換を行う。
- 4 孫は最終的なまとめを担当し、研究報告を作成する。

#### 3. 研究成果（経過）

- 1 劉 迪教授
  - ①孫海英准教授と共同で研究計画案を作成し。
  - ②日本華文教育に関する資料収集・インタビューを行った。
  - ③2018年2月12日千代田国際語学院で行われたシンポジウム「第一回日本と中国の中国語教育」で学術発表した。

2 孫海准教授

- ①2017年9月 来日後、劉迪教授と研究課題について検討し、中国語教室における中国人子供の中国語教育の実情の調査を行うことから研究を展開することを決めた。
- ②2017年10月 中国大使館、国立国語研究所などの機関を通して、華僑華人の中国語教育についての資料を収集した。
- ③2017年11月～2018年1月 アンケート調査の項目や内容の設定などを考え、アンケート調査票を作った。
- ④2018年2月12日 千代田国際語学院で行われたシンポジウム「第一回日本と中国の中国語教育」に参加し、中国の小学生の中国語教育事情、教材の編纂、または日本の中国語教育の歴史や現状についての報告を聴いた。
- ⑤2018年2月24日 同源中国語学校の楊林校長と面談し、学校の運営状況、学生の中国語学習の実情などを了解する上、楊校長から研究課題を進行させるための資料提供などの協力も得た。
- ⑥2018年3月 東京都の中国語学校を20校選定し、アンケート調査を始める。



#### ④ 医学研究科



## 46. 妊娠中のマラリアの病態重症化機構の解明

## 研究代表者

| 氏 名    | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担 |
|--------|---------|-----|---------|
| 小林 富美恵 | 医学部感染症学 | 教授  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名    | 所 属     | 職 名   | 役 割 分 担             |
|--------|---------|-------|---------------------|
| 新倉 保   | 医学部感染症学 | 学内講師  | 妊娠中のマウスマラリアモデルの病態解析 |
| 井上 信一  | 医学部感染症学 | 学内講師  | 妊娠中のマウスマラリアモデルの病態解析 |
| 朝日 博子  | 医学部感染症学 | 非常勤講師 | 妊娠中のマウスマラリアモデルの病態解析 |
| 峯尾 松一郎 | 東京医科大学  | 実験助手  | 組織標本作成              |

## キーワード

マラリア、妊娠、重症化、胎盤

## 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

妊娠中のマラリアにおいて脂肪肝が発症することが報告されているが、その発症機構は解明されていない。我々が独自に確立した妊娠中のマラリアの脂肪肝モデルを解析したところ、肝細胞のペルオキシソームの脂肪代謝関連酵素の発現が低下していることを見出した。このペルオキシソーム脂肪代謝関連酵素の発現低下は、宿主の炎症反応が活性化されることで引き起こされると推測される。そこで、肝細胞傷害に関わると考えられている一酸化窒素 (NO) 合成不全マウスを用いて、妊娠中のマラリアにおける脂肪肝発症機構を明らかにする。共同研究において、本学では脂肪肝の分子レベルでの解析を行い、東京医科大学では脂肪肝の形態学的な解析を行う予定である。

## 3. 研究成果（経過）

妊娠中にマラリアに罹患すると、非妊娠時より症状が増悪することが知られている。妊娠中のマラリアの病態の重症化は、妊娠による免疫抑制が主な原因であると考えられている。一方、妊娠中には、妊娠関連ホルモンの作用によって脂肪組織の増加や赤血球造血が亢進することが知られている。これらの因子は、妊娠中のマラリアの病態の重症化に関わると推測されるが、妊娠中のマラリアの病態の重症化との関係は明らかにされていない。

幼若赤血球には、成熟赤血球と比較して、マラリア原虫の栄養源となる物質が多く含まれていることが明らかにされている。これらの物質はマラリア原虫に特異的なフマル酸回路を介して代謝される。これらの知見から、妊娠中のマラリアの病態の重症化にはフマル酸回路に関わることが推測される。そこで本研究では、フマル酸回路の **Key molecule** である **malate:quinone-oxidoreductase (MQO)** を欠損させたマラリア原虫を用いて、妊娠中の重症マラリアと赤血球造血亢進との関係を明らかにすることを目的とした。

野生型のマラリア原虫と **MQO** を欠損させたマラリア原虫を妊娠マウスに感染させ、原虫血症の推移を比較した。その結果、**MQO** を欠損させたマラリア原虫の原虫血症は、野生型原虫を感染させた妊娠マウスと比較して抑制された。これらの結果から、

妊娠中のマラリアの病態の重症化には、フマル酸回路が関わることが示唆された。

## 47. 三日熱マラリアの重症化機構の解明

## 研究代表者

| 氏 名    | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担 |
|--------|---------|-----|---------|
| 小林 富美恵 | 医学部感染症学 | 准教授 | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名   | 所 属              | 職 名   | 役 割 分 担       |
|-------|------------------|-------|---------------|
| 朝日 博子 | 医学部感染症学          | 非常勤講師 | マラリア原虫培養条件の確立 |
| 新倉 保  | 医学部感染症学          | 学内講師  | マラリア原虫培養条件の確立 |
| 井上 信一 | 医学部感染症学          | 学内講師  | マラリア原虫培養条件の確立 |
| 滝澤 始  | 医学部内科学 I         | 教授    | 実験材料の確保       |
| 皿谷 健  | 医学部内科学 I         | 学内講師  | 実験材料の確保       |
| 松田 剛明 | 医学部救急医学          | 教授    | 実験材料の確保       |
| 河合 伸  | 医学部総合医療学         | 教授    | 実験材料の確保       |
| 渡邊 卓  | 医学部臨床検査医学        | 教授    | 実験材料の確保       |
| 本郷 偉元 | 武蔵野赤十字病院         | 副部長   | 実験材料の確保       |
| 今村 顕史 | がん・感染症センター都立駒込病院 | 部長    | 実験材料の確保       |
| 鯉渕 智彦 | 東京大学医科学研究所附属病院   | 診療科長  | 実験材料の確保       |
| 城戸 康年 | 東京大学医科学研究所附属病院   | 研修医   | 実験材料の確保       |

## キーワード

三日熱マラリア、重症化、マラリア罹患者、継代培養

## 研究分野

寄生虫感染症

## 1. 共同研究の目的

三日熱マラリアの重症化機構を解明するための第一段階として、国内で発症したマラリア罹患者の血液から得た原虫を用い、三日熱マラリア原虫の継代培養法の確立を目指す。

## 2. 共同研究の内容・計画

近年になってインドやブラジルを中心に重症三日熱マラリアの症例報告が増加している。この三日熱マラリアの重症化機構は明らかにされていない。熱帯熱マラリア原虫は、継代培養法が確立されていることから、*in vitro* 実験系による病原性の解析等が可能である。実際に、本学感染症学講座寄生虫学部門においても、*in vitro* 実験系により、熱帯熱マラリア原虫の分化・増殖の分子機構を解析している。一方、三日熱マラリア原虫の培養系は未だに確立されていないため、三日熱マラリア原虫の病原性の解析は困難を極めている。そこで本研究では、三日熱マラリアの重症化機構を解明するための第一段階として、本学付属病院及び近隣の医療機関に来院したマラリア罹患者の血液から得た原虫を用いて、三日熱マラリア原虫の継代培養法の確立を目指す。

## 3. 研究成果（経過）

本研究では、三日熱マラリアの重症化機構を解明するための第一段階として、本学付属病院及び近隣の医療機関に来院したマラリア罹患者の血液から得た原虫を用いて、三日熱マラリア原虫の継代培養法を確立することを目的とした。本年度は、三日熱マラリア罹患者の血液が得られなかったため、熱帯熱マラリア原虫を用いて引き続き継代培養の培養条件を検討した。また、昨年度、熱帯熱マラリア原虫の生殖母体を安定して誘導する実験系を確立できたことから、抗マラリア活性を有する化合物の生殖母体に対する影響について解析を進めた。

## 48. 企業健診における CCD 特異的 IgE 抗体測定の有用性に関する検討

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属       | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|-----------|-----|---------|
| 横井 秀格 | 医学部耳鼻咽喉科学 | 准教授 | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名    | 所 属                       | 職 名               | 役 割 分 担             |
|--------|---------------------------|-------------------|---------------------|
| 松本 祐磨  | 医学部耳鼻咽喉科学                 | 助教                | データ解析               |
| 櫻井 裕之  | 医学部薬理学                    | 教授                | データ解析アドバイス          |
| 齋藤 康一郎 | 医学部耳鼻咽喉科学                 | 教授                | データ解析アドバイス          |
| 大沢 琢雄  | シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社 | LD 事業本部<br>事業開発室長 | 特異的 IgE 抗体の測定とデータ解析 |

## キーワード

花粉症、特異的 IgE 抗体、Cross-reactive Carbohydrate Determinant (CCD)、企業健診

## 研究分野

アレルギー

## 1. 共同研究の目的

これまで、花粉症患者ならびに果物・植物性の食物アレルギー患者において、特異的 IgE 抗体価と臨床症状が一致しない、いわゆる False Positive の原因の一つの花粉や野菜に共通する糖鎖 Cross-reactive Carbohydrate Determinant (CCD) に対する IgE 抗体の影響を調べてきた。その中で、今後昆虫に対する抗原の影響が示唆されているために追加検討するため。

## 2. 共同研究の内容・計画

〈研究の実施期間〉2017 年 4 月 1 日から 2018 年 3 月 31 日

〈研究の対象〉調査研究対象：シダックス株式会社にて上記期間中に健診を受けた患者を対象にする。いずれも本学の倫理委員会の承認を得た上で、本試験の内容と趣旨について十分な説明を受け、理解かつ同意の得られた患者のみを対象とした。

〈研究の方法〉シダックス株式会社の 2015 年度健康診断対象者の内、本研究の参加に同意した受診者を対象として、スギ、ヒノキ、カモガヤ、ブタクサ、ハウスダスト、小麦、大豆、MUXF、Bromelain、HRPO、Ascorbate oxidase に対する特異的 IgE 抗体をシーメンス HCD (株) にて測定し、各抗体の保有率およびアンケートによる症状の有無と CCD 抗体の保有率を検討した。その結果、ブタクサにおいて 30%弱、CCD が検査における偽陽性に関与することが示唆された。今後、上記にて得られた余剰血清を用いて昆虫抗原の検査に及ぼす影響を解析する。

〈予想される結果〉これまで昆虫抗原のアレルギー性検査における結果の検討が詳細になされていない。本研究を通して、花粉、昆虫および穀物アレルギー特異的 IgE 抗体検査への CCD 関与が明らかになれば、アレルギー患者に対する診断精度の向上が期待されるだけでなく、患者に対する治療方針の決定や服薬ならびに生活指導において非常に有意義であると考えられる。

## 3. 研究成果 (経過)

受診者：347 名 (男 252 名、女 95 名、年齢分布 17 歳～68 歳) なお、内 173 名は 2012 年にも受診していた。

測定項目：以下の特異的 IgE 抗体 スギ、ヒノキ、カモガヤ、ブタクサ、ハウスダスト、小麦、大豆、MUXF、Bromelain、HRPO、ASOD

結果：「花粉症あり」のスギ sIgE 抗体陽性率は 97%、陰性率は 3%、「花粉症なし」のスギ sIgE 抗体陽性率は 56%、陰性率は

44%だった。【結論】「花粉症あり」で、スギ sIgE 抗体陰性の場合は、スギ花粉症の発症はほぼないと判断できる。一方、「症状なし」群の 56%にスギ aIgE 抗体が陽性であったが、花粉症と判定し難い。また、MUXF aIgE 抗体陽性者はスギ、ヒノキ、カモガヤの aIgE 抗体陽性率が 100%、ブタクサ、小麦、大豆の aIgE 抗体陽性率が 88%と交差反応の影響が示唆された。

これらのデータを 6 月 22 日・24 日に開催される、第 64 回日本アレルギー学会学術総会の際にて発表する予定である。

## 49. 病原細菌伝播モデルの確立と感染伝播を制御する因子の探索

## 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 |
|-------|-------------|-----|---------|
| 山口 博之 | 北海道大学       | 教授  | メタゲノム解析 |
| 北条 史  | 医学部実験動物施設部門 | 助教  | 動物実験    |

## キーワード

感染伝播、*Helicobacter pylori*、メタゲノム解析、細菌叢

## 研究分野

感染症学

## 1. 共同研究の目的

人に病原性を示す細菌の伝播や感染の成立については詳しく解析するにはこれまでのところ環境中からの細菌の分離に頼る以外の方法が無く、詳細な解析は行われていない。本研究では、細菌の感染ルートを可視化して観察する方法の確立をめざし、いくつかの動物実験モデルを使って制御因子の解明を目指す。この研究の成果により、抗菌薬や消毒薬に頼らない、新しい感染症の発生予防についての理解と応用が期待される。

## 2. 共同研究の内容・計画

平成 28 年度に無菌動物を使った感染実験系の確立を目指したが動物の開発が困難とわかり、研究計画の変更を行った。入手可能な SPF スナネズミ動物実験モデルを使って、感染性の異なる *H. pylori* の菌株を感染させ、感染成立時と不成立時に宿主に認められる影響のうち、特に常在細菌叢について比較し、差を明らかにした。さらに、北海道大学では閉鎖空間における細菌の移動を調べるため、空中浮遊細菌のサンプリングを実施して、メタゲノム解析を実施した。その結果、これまでの報告にない非常に多様な細菌 DNA が検出された。平成 29 年度にはこの研究結果をさらに発展させるため、

1. ノートバイオート動物および CCD カメラを用いた行動観察システムによる感染成立要因解析（大崎担当）
2. 閉鎖空間における細菌の移動と人の動きの相互作用について評価を加える予定である。（山口担当）

## 3. 研究成果（経過）

本研究は病原細菌伝播モデルの確立と感染伝播を制御する因子の探索を目的として、マウスを用いた室内実験と、環境中の細菌の動きをモニタリングできるシステムを開発することを目的として行った。

平成 28 年度にスナネズミを使って新規無菌動物の確立を目指したが産仔数が安定せずに実現できなかったため、SPF スナネズミでの病原細菌伝播モデルの開発と伝播制御の研究に切り替えた。SPF スナネズミ動物実験モデルを使って、感染性の異なる *H. pylori* 株を別々に投与し、感染成立時と不成立時に宿主に認められる影響のうち、特に常在細菌叢について比較し、両者の違いを明らかにし学会にて報告した（European *Helicobacter* and Microbiota Study Group - XXIXth International Workshop on *Helicobacter* and Microbiota in Inflammation and Cancer, Osaki T, et al, 2017）。

また北海道大学では閉鎖空間における細菌の移動を調べるため、空中浮遊細菌のサンプリングを実施して、そのサンプルについて杏林大学の施設で 16S メタゲノム解析を実施した。その結果、閉鎖され温度管理された条件下でも気候の変動に伴う空中の湿度、気温などの条件と一致する細菌数の上昇が認められた。さらに、ヒトの動きに伴う細菌の動きが観察され、それらの結果についての論文報告を行った。Walker occupancy has an impact on changing airborne bacterial communities in an underground

pedestrian space, as small-dust particles increased with raising both temperature and humidity. Okubo T, Osaki T, Uemura A, Sakai K, Matushita M, Matsuo J, Nakamura S, Kamiya S, Yamaguchi H. PLoS ONE, 12(9):e0184980.

## 50. 非小細胞肺癌から小細胞肺癌への形質転換現象とリプログラミング現象との関連性の検討

## 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 | 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 |
| 佐藤 華子 | 聖マリアンナ医科大学 | 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     | 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

肺癌、小細胞癌、非小細胞癌、形質転換、リプログラミング

## 研究分野

病理学

## 1. 共同研究の目的

EGFR 遺伝子変異のある肺腺癌患者への Tyrosine kinase inhibitor 投与により、腺癌細胞に小細胞癌への形質転換が惹起されたとの報告が近年相次いで報告されている。また我々は非小細胞肺癌細胞への POU 遺伝子導入により小細胞肺癌への形質転換を起こすことに成功し、その過程でリプログラミング現象が引き起こされていることを *in vitro* において確認した。本共同研究では、複合型小細胞肺癌/大細胞神経内分泌癌組織において、同様のリプログラミング現象が惹起されているか否かについて検討することを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

小細胞肺癌、大細胞神経内分泌癌、および複数の組織型を示す神経内分泌肺癌(複合型小細胞肺癌/大細胞神経内分泌癌)の組織切片を用い、リプログラミングに関与する分子の転写産物に対するプローブを用いた *in situ hybridization* を行うことにより、リプログラミング現象の有無について検討する。対照には肺腺癌、肺扁平上皮癌の組織切片を用いる。

## 3. 研究成果(経過)

EGFR 遺伝子変異のある肺腺癌患者への tyrosine kinase inhibitor 投与により、腺癌細胞に小細胞癌への形質転換が惹起されたとの報告が近年相次いで報告されている。また我々は非小細胞肺癌細胞への POU 遺伝子導入により小細胞肺癌への形質転換を起こすことに成功し、その過程でリプログラミング現象が引き起こされていることを *in vitro* において確認している。そこで本年度はリプログラミングに関与する分子の発現状態について網羅的に解析を行ったところ、非小細胞癌細胞が小細胞癌細胞に形質転換する際には、TCF4 や PLAGL1 など、幼若な神経細胞の発生初期に発現する分子が過剰発現していること、それらをコードする遺伝子のプロモーターのメチル化状態が、過メチル化状態から非メチル化状態に変換されていることを明らかにすることができた。

## 51. *Helicobacter pylori* 感染者における除菌治療後皮疹発生メカニズムの解明

### 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   |
|--------|---------------------|-----|-----------|
| 阿部 理一郎 | 新潟大学大学院<br>医歯学総合研究所 | 教授  | エクソソーム解析  |
| 神谷 茂   | 医学部感染症学             | 教授  | データの分析、助言 |
| 北条 史   | 医学部実験動物施設部門         | 助教  | 動物実験      |

### キーワード

*Helicobacter pylori*、動物実験モデル、除菌治療、エクソソーム解析

### 研究分野

感染症学

#### 1. 共同研究の目的

*Helicobacter pylori* はヒトの胃に感染し、胃炎や胃潰瘍の原因細菌であり、胃癌のリスク因子である。感染者は抗生物質 2 剤とプロトンポンプインヒビターを組み合わせた除菌治療が勧められているが、治療後に高頻度で皮膚に発疹がみられる症例が 5%ほどの頻度で認められる。本研究は除菌後皮疹発生の免疫学的メカニズムを解明するために実施する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

*H. pylori* 感染スナネズミは感染の確認後、一定期間観察し、クラリスロマイシン、アモキシシリン、プロトンポンプインヒビターを組み合わせた三剤併用除菌治療を施す。

除菌後群、非除菌感染群、非感染群のスナネズミより、血清および小腸の採取を実施して、病理標本の作製と血清採取、さらに血清からはエクソソームを収集して、*H. pylori* 由来タンパク質の検出のために網羅的プロテオーム解析を実施する。平成 28 年に動物実験によりサンプルを収集しているため、平成 29 年にはサンプル解析および追加実験を実施することを予定している。

#### 3. 研究成果（経過）

*Helicobacter pylori* はヒトの胃に感染し、胃炎や胃潰瘍の原因細菌であり、胃癌のリスク因子である。感染者は抗生物質 2 剤とプロトンポンプインヒビターを組み合わせた除菌治療が勧められているが、治療後に高頻度で皮膚に発疹がみられる症例が 5%ほどの頻度で認められる。本研究の目的は、除菌後皮疹発生の免疫学的メカニズムを解明することである。

*H. pylori* 感染スナネズミは感染の確認後、一定期間観察し、クラリスロマイシン、アモキシシリン、プロトンポンプインヒビターを組み合わせた三剤併用除菌治療を施す。

除菌後群、非除菌感染群、非感染群のスナネズミより、血清および腸管を採取して、病理標本の作製、さらに血清からはエクソソームを収集して、*H. pylori* 由来タンパク質の検出のために網羅的プロテオーム解析を実施している。本研究は杏林大学共同研究施設実験動物部門の感染動物飼育室内で動物実験を実施し、新潟大学にてそれらの検体の解析を継続している。感染群において血清由来エクソソームから、数種の *H. pylori* 由来タンパク質が検出されており、現在、発表資料を作成し、論文投稿を予定している。

## 52. 薬剤耐性菌感染症に対するファージ療法の確立に向けた基礎的研究

## 研究代表者

| 氏 名   | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担 |
|-------|---------|-----|---------|
| 松田 剛明 | 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            |
|-------|-----------|-----|--------------------|
| 丹治 保典 | 東京工業大学    | 教授  | ファージの分離、提供、解析      |
| 宮永 一彦 | 東京工業大学    | 助教  | ファージの分離、提供、解析      |
| 神谷 茂  | 医学部感染症学   | 教授  | ブドウ球菌属菌の解析         |
| 大西 宏明 | 医学部臨床検査医学 | 教授  | ブドウ球菌属菌の分離、提供      |
| 花輪 智子 | 医学部感染症学   | 講師  | 臨床分離株の解析、ファージの活性測定 |

## キーワード

黄色ブドウ球菌、バクテリオファージ、ファージ療法、MRSA、MSSA

## 研究分野

感染症学

## 1. 共同研究の目的

バクテリオファージ（以下ファージ）は宿主特異性が高く、感染宿主である細菌を溶菌し死滅させる一方で、ヒトの細胞には影響を与えない。現在の細菌感染症の治療は抗菌薬によるものが中心であるが、耐性菌の増加により新たな治療法の開発が必要となっている。

本研究ではファージ療法の確立を目的とし、治療に適したメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）を溶菌するファージのライブラリーを構築する。

## 2. 共同研究の内容・計画

[研究内容] MRSA 臨床分離株等を用いてファージを単離し、溶菌活性、宿主域等を基にスクリーニングを行い、治療に適したファージライブラリーを構築する。

[計画]MRSA を中心に黄色ブドウ球菌の臨床分離株 120 株の遺伝型、バイオフィーム形成能を検討し、実験に用いる株を選別する。都市下水処理場(東京都)の下水流入水より採取したファージを単離し、スクリーニングにより宿主域の広いファージを得る。さらに病原遺伝子、薬剤耐性遺伝子を含むファージを除き、広い宿主域をもつ安定なファージを選別し、これらの性状について解析を行う。

## 3. 研究成果（経過）

前年度に行ったメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）解析結果より選別した MRSA を用いて、下水流入水に含まれるファージの単離を試みた。その結果、院内感染型(HA)-MRSA に感染するファージを単離できたものの、市中感染型(CA)-MRSA を溶菌するファージの単離には至っていない。現在、新たに調製した下水流入水を用いて引き続き CA-MRSA ファージの単離を試みている。

一方、性状が明らかとなっているメチシリン感受性黄色ブドウ球菌（MSSA）ファージを用いて MRSA 臨床分離株に対する感

受性を検討した。その結果、HA-MRSA 株の 77.6%が高感受性を示したのに対して CA-MRSA のうち高感受性を示した株は 47.3%に過ぎなかった。

今後、MRSA のマウス皮膚および創傷感染モデルを用いて、上記ファージの治療効果を検討し、*in vivo*における治療効果の評価系を確立する。また、新たに単離されるファージの評価を行い、治療を目的とした MRSA ファージのライブラリーを構築する。

## 53. トランスポーター遺伝子変異と尿酸代謝異常

## 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   | 研究取りまとめ       |
| 藤田 恭子 | 東京薬科大学 | 講師   | 変異体の作製、輸送実験   |
| 三輪 裕幸 | 東京薬科大学 | 助教   | 発現細胞の作製、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、トランスポーター、高尿酸血症、低尿酸血症

## 研究分野

薬理遺伝学

## 1. 共同研究の目的

ヒトにおけるプリン代謝の最終代謝産物は尿酸である。血清尿酸値は、尿中への尿酸排泄能と尿酸産生量によって決定される。腎臓において、尿酸はトランスポーターにより再吸収、分泌が行われ、種々のトランスポーターが尿酸輸送を行うことが報告されてきた。しかし、どの程度腎臓における尿酸輸送に寄与するのかは十分に明らかにされていない。研究室では、これら尿酸輸送や代謝系の解析を通じて、尿酸動態及び代謝異常の機序を明らかにする。

## 2. 共同研究の内容・計画

尿酸代謝異常疾患を持つ患者の末梢血からゲノム DNA を抽出する。目的とするトランスポーター遺伝子のエクソンおよびエクソン-イントロン境界領域を増幅できるプライマーを設計し、ダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定する。当該遺伝子に変異ないしアミノ酸置換を伴う多型が同定された場合には、site-directed mutagenesis 法により、患者において同定された変異を持つトランスポーター遺伝子を作成し、適切な遺伝子発現系（アフリカツメガエル卵母細胞、あるいはほ乳類培養細胞）を用いてその尿酸輸送活性を測定する。

## 3. 研究成果（経過）

家族性低尿酸血症と高尿酸血症について尿酸トランスポーターの遺伝子解析を行った。シーケンスが読めていないサンプルがあり総合的な解析はそのデータが得られてからになる。一方、尿酸トランスポーターと相互作用する化合物の尿酸トランスポーターへの機能を薬理的に解析するため、卵母細胞に尿酸トランスポーターを発現させて、化合物のあるなしで尿酸輸送の解析を行っている。

54. ミトコンドリアによる新たなマラリア感染免疫制御機構の解明

研究代表者

| 氏 名    | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担 |
|--------|---------|-----|---------|
| 小林 富美恵 | 医学部感染症学 | 教授  | 統括      |

共同研究者

| 氏 名   | 所 属     | 職 名  | 役 割 分 担        |
|-------|---------|------|----------------|
| 林 純一  | 筑波大学    | 名誉教授 | データ解析          |
| 中田 和人 | 筑波大学    | 教授   | マウス病態解析        |
| 井上 信一 | 医学部感染症学 | 学内講師 | 感染実験、免疫細胞の機能解析 |

キーワード

|                        |
|------------------------|
| マラリア、ミトコンドリア、活性酸素、防御免疫 |
|------------------------|

研究分野

|                |
|----------------|
| 寄生虫免疫学、分子細胞生物学 |
|----------------|

1. 共同研究の目的

生体内の免疫細胞がその機能を発揮する状況において、免疫細胞内のミトコンドリアによるエネルギー(ATP)産生やその際に漏出する活性酸素種(ROS)がどのように関与するのかを解明する。特に、マラリア原虫感染における宿主免疫応答に注目する。マラリア原虫感染により引き起される免疫病態の発症機構、もしくはマラリア感染防御免疫の獲得機構におけるミトコンドリアの関与を詳細に検討する。本研究では、個体レベルでの解析に加えて個々の免疫細胞を細胞レベルと分子レベルで解析することで、そのメカニズムの解明まで研究を進める。

2. 共同研究の内容・計画

筑波大学の林・中田教授より譲渡された、2種類のミトコンドリア DNA 変異マウス(A11 mouse: ROS 過剰産生; Δ mito-mouse: 呼吸鎖複合体の ATP 産生機能低下)を活用して、ミトコンドリア由来の ROS や ATP エネルギーがマラリア原虫感染に与える影響をしらべるため、A11 mouse や Δ mito-mouse にマラリア原虫 *Plasmodium berghei* を感染させる。強毒株の *P. berghei* ANKA を用いることでマラリア免疫病態発症への影響を調べる。また、弱毒株の *P. berghei* XAT を用いることでマラリア防御免疫の成立への影響を調べる。個々の感染個体より血清や各種免疫細胞を採取して機能解析実験(抗体産生・サイトカイン産生)をおこなう。さらに、機能変化が見られた免疫細胞の遺伝子解析をすることにより、そのメカニズムの解明の手がかりとする。

3. 研究成果（経過）

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

本研究を進めるにあたり、筑波大学から、ミトコンドリア DNA 変異によりミトコンドリア活性酸素が過剰産生しているマウス(A11 マウス)とミトコンドリアエネルギー産生が低下するマウス(Δ mito マウス)分与された。ミトコンドリア由来 ROS 産生がマラリア原虫感染に与える影響を調べるため、強毒株マラリア原虫 (*Plasmodium berghei* ANKA)を A11 マウスと野生型マウスに感染させて、免疫病態を比較した。強毒株マラリア原虫の感染によって、野生型マウスと A11 マウスは共に全個体が死亡したが、A11 マウスで有為に寿命の延長がみられた。野生型マウスと比較して、A11 マウスではマラリア感染による強い炎症に起因する血液脳関門の破壊の度合いが低下し、さらには、脳組織に浸潤する IFN-γ 産生細胞数とグランザイム B 産生細胞数が低下していることが明らかとなった。現在、Δ mito マウスにマラリア原虫を感染させることで、エネルギー産生がマラリア免疫に与える影響を解析している。

## 55. 抗マラリア活性化合物の評価研究

## 研究代表者

| 氏 名    | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担 |
|--------|---------|-----|---------|
| 小林 富美恵 | 医学部感染症学 | 教授  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名   | 所 属                    | 職 名      | 役 割 分 担                                         |
|-------|------------------------|----------|-------------------------------------------------|
| 渡邊 信元 | 理化学研究所<br>環境資源科学研究センター | ユニットリーダー | 抗マラリア活性化合物の合成                                   |
| 新倉 保  | 医学部感染症学                | 学内講師     | 化合物のマラリア原虫に対する増殖阻害活性の評価<br>化合物の抗マラリア活性解析/作用機序解明 |
| 井上 信一 | 医学部感染症学                | 学内講師     | 化合物の抗マラリア活性解析/作用機序解明                            |

## 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 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 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）

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 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 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した。その結果、マラリア原虫の増殖を著しく阻害する化合物を見出した。今後、この化合物をリード化合物として、抗マラリア活性がより高い化合物を合成・作出し、抗マラリア活性を評価する予定である。

## 56. 抗マラリア活性化合物の *in vivo* 評価

### 研究代表者

| 氏 名    | 所 属     | 職 名 | 役 割 分 担 |
|--------|---------|-----|---------|
| 小林 富美恵 | 医学部感染症学 | 教授  | 統括      |

### 共同研究者

| 氏 名   | 所 属                          | 職 名   | 役 割 分 担                                         |
|-------|------------------------------|-------|-------------------------------------------------|
| 和田 章  | 理化学研究所<br>ライフサイエンス技術基盤研究センター | 専任研究員 | 抗マラリア活性化合物の合成                                   |
| 新倉 保  | 医学部感染症学                      | 学内講師  | 化合物のマラリア原虫に対する増殖阻害活性の評価<br>化合物の抗マラリア活性解析/作用機序解明 |
| 井上 信一 | 医学部感染症学                      | 学内講師  | 化合物の抗マラリア活性解析/作用機序解明                            |

### 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 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。そこで、マラリアのマウスモデルを用いて、この化合物 XL の抗マラリア活性を評価した。その結果、化合物 XL は、高い抗マラリア活性を有することが明らかとなった。今後、化合物 XL の投与経路や体内動態など詳細な解析を行うとともに、化合物 XL のマラリア原虫に対する増殖阻害機構を解明する予定である。

## ⑤ 国際協力研究科



## 57. 感染症対策の経済評価に関する研究

## 研究代表者

| 氏 名  | 所 属                 | 職 名 | 役 割 分 担 |
|------|---------------------|-----|---------|
| 北島 勉 | 総合政策学部<br>(国際協力研究科) | 教授  | 統括      |

## 共同研究者

| 氏 名   | 所 属       | 職 名                               | 役 割 分 担    |
|-------|-----------|-----------------------------------|------------|
| 梶本 裕介 | 産業技術総合研究所 | Clinical<br>Research<br>Associate | 文献収集、データ分析 |

## キーワード

HIV、Pre-exposure Prophylaxis、経済評価

## 研究分野

国際保健

## 1. 共同研究の目的

感染症対策を検討するための基礎的資料を作成するために、HIV 感染予防策の一つである Pre-exposure Prophylaxis（暴露前予防、PrEP）の経済評価を行い、PrEP 導入のあり方について検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

諸外国で実施された PrEP の効果に関する文献をレビューし、PrEP の費用と効果に関するデータを抽出する。日本国内の臨床データを加えて、HIV 感染ハイリスクグループに PrEP を導入した際の HIV 感染予防における効果とその費用を推計する。

## 3. 研究成果（経過）

近年、HIV 予防において、暴露前予防（Pre-exposure Prophylaxis, PrEP）が注目されている。各国の PrEP に関する費用対効果の傾向から、日本において PrEP を費用効果的に使用するための条件を探索するため、本レビューを実施した。

Pubmed を使用して PrEP の費用対効果に関する論文を検索した。検索された論文のうち、先進国を対象とした研究のみを分析した。

14 本の論文が分析対象として抽出された。PrEP の年間費用の中央値は 1,057,191 円であった。研究対象者別では、Men who sex with men(MSM)を対象とした文献が 10 本と最も多く、うち 3 本が費用効果的、6 本が条件により費用効果的、1 本が非費用効果的と結論づけられていた。On-demand PrEP の費用対効果に絞ると、2 本の論文があり、2 本とも費用効果的と結論づけられていた。

PrEP に用いられる薬剤の日本の薬価から、先発薬を使用した場合に費用効果的ではないことが推測される。他の先進国では、HIV 感染リスクが高い MSM に対象を絞り、かつ服薬アドヒアランスが良い場合には費用効果的となる結果が得られていた。日本においては、安価なジェネリック薬の使用、MSM の高 HIV 感染リスク集団の特定、および On-demand PrEP が PrEP を費用効果的とする可能性がある。

