

第 11 回 川崎医科大学 学術集会

日時：令和 2 年 8 月 1 日（土）11:00～15:40

会場：現代医学教育博物館 2 階大講堂、4 階展示室

口頭発表 9 題

ポスター掲示 15 題

川崎医科大学大学院 3 題

川崎医療福祉大学 3 題、岡山県立大学 3 題、福山大学 3 題

令和元年度「医学研究への扉」3 題

開会の挨拶 11:00～

学長 福永 仁夫

川崎医学会 運営委員長 大槻 剛巳

セッション 1（3 題） 11:15～

昼休憩／川崎医学会総会 12:00～

セッション 2（3 題） 13:00～

休憩／ポスター閲覧 13:45～

セッション 3（3 題） 14:30～

表彰 15:30～

閉会の挨拶

副学長 柏原 直樹

第11回 川崎医科大学学術集会 プログラム

セッション 1 (3題) 座長：山内 明、金藤 秀明

	大学名	学部学科名	時 間	研 究 課 題	研究代表者
1	川崎医療 福祉大学	医療技術学部 臨床栄養学科	11:15～11:30	焙煎エゴマ種子から抽出した油の酸化遅延 効果およびその生理作用	宮田 恵多
2	福山大学	薬学部 薬学科	11:30～11:45	内因性ステロイドの検査試料としての爪の 有用性評価	小川 祥二 郎
3	岡山県立 大学	保健福祉学部 看護学科	11:45～12:00	高暑下におけるマスク着用時の温熱環境	池田 理恵

昼休憩 12:00～13:00 川崎医学会総会 (12:00～12:40)

セッション 2 (3題) 座長：毛利 聡、栗林 太

	分野	課題番号	時 間	研 究 課 題	研究代表者
1	環境と生 体反応	R01 基-100	13:00～13:15	肺炎マイコプラズマにおける耐性出現およ び増殖機構の解明	大石 智洋
2	新分子・ 新技術	R01 基-030	13:15～13:30	エピスタシス効果による新型インフルエン ザウイルスの出現予測	内藤 忠相
3	大学院	R01 大-001	13:30～13:45	TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) の モデル細胞作製と炎症惹起・遷延化メカニ ズムの解析	守田 吉孝 (辻 尚子) 【代理発表：向井 知之】

休憩 13:45～14:30 ポスター閲覧

セッション 3 (3題) 座長：嶋 雄一、神田 英一郎

	分野	課題番号	時 間	研 究 課 題	研究代表者
1	神経・運 動器・生 殖・循環	R01 基-074	14:30～14:45	<i>Inhbb</i> 転写制御における転写因子 Runx3 に よる新規作用の解明	小島 史也
2	消化器・ 代謝・腎	R01 基-010	11:45～15:00	糖尿病腎症の発症に血糖値と肥満はどの程 度影響するか：2 型糖尿病患者の経時的な 外来データを用いた検討	中西 修平
3	環境と生 体反応	R01 基-040	15:00～15:15	Growth/differentiation factor 15 (GDF15) が肺線維化に及ぼす影響の検討	竹之内 康 広

ポスター掲示

— 大学院研究（プロジェクト研究） —				
	課題番号	研究課題		研究代表者
P1	R01 大-001	TNF 受容体関連周期性症候群（TRAPS）のモデル細胞作製と炎症惹起・遷延化メカニズムの解析		守田 吉孝 （辻 尚子）
P2	R01 大-002	急性大動脈解離発症後生存モデル作成 急性大動脈解離後、急性肺障害に対する治療薬剤の検討		山辻 知樹 （渡邊 達也）
P3	R01 大-003	新規薬剤（COA-CI）の脊髄損傷に対する治療効果のメカニズムの研究		宮本 修 （坂本 一晴）
— 医学研究への扉 —				
		研究課題		研究者
P4	令和元年度医学研究への扉	炎症性変化に着目した精巣虚血再灌流による造精機能障害の病態解析		山下 花也子
P5	令和元年度医学研究への扉	VR システムによるリハビリテーションへの応用		清水 沙紀
P6	令和元年度医学研究への扉	心臓内腔の立体化への追求		藤森 阿季子
— 川崎医療福祉大学・岡山県立大学・福山大学 —				
	大学名	学部学科名	研究課題	研究代表者
P7	川崎医療福祉大学	医療福祉学部 臨床心理学科	地域住民が主体となれる認知症予防の仕組みづくり	荒井 佐和子
P8	川崎医療福祉大学	医療技術学部 健康体育学科	Poly I:C 投与マウスの身体活動性低下に対するカルニチンの効果	小柳 えり
P9	川崎医療福祉大学	医療技術学部 臨床栄養学科	焙煎エゴマ種子から抽出した油の酸化遅延効果およびその生理作用	宮田 恵多
P10	福山大学	薬学部 薬学科	細胞外基質ネフロネクチンは、T 細胞内の活性酸素種 ROS レベル調節を介した Th17 と制御性 T 細胞(Treg)のバランス制御により自己免疫疾患増悪化に関与する	本田 真知子 今 重之
P11	福山大学	薬学部 薬学科	Pharmacokinetics・Pharmacodynamics 解析に基づく抗菌化学療法個別化への臨床的アプローチ	佐藤 雄己
P12	福山大学	薬学部 薬学科	内因性ステロイドの検査試料としての爪の有用性評価	小川 祥二郎
P13	岡山県立大学	情報工学部 人間情報工学科	低侵襲型センサによる嚥下時間の計測に関する基礎研究	穂苅 真樹

P14	岡山県立 大学	デザイン学部 デザイン工学 科	着心地を考慮した作業時衣服(防護服やつなぎ等)の研究	船山 俊克
P15	岡山県立 大学	保健福祉学部 看護学科	高暑下におけるマスク着用時の温熱環境	池田 理恵

プロジェクト研究 抄録

課題番号	研究課題	研究代表者
— 神経・運動器・生殖・循環 —		
R01 基-074	<i>Inhbb</i> 転写制御における転写因子 Runx3 による新規作用の解明	小島 史也
R01 基-080	高次脳中枢から嗅球神経回路への遠心性投射機構: ヒスタミンニューロン	樋田 一徳
R01 基-041	視床下部腹内側核における NR5A1 の機能解明	嶋 雄一
R01 基-053	視床の巨大シナプス終末発達を制御する遺伝子の網羅的探索	林 周一
R01 基-056	脾臓形成過程における脾洞杆状内皮細胞の特性と細胞間相互作用の解析	小野 公嗣
R01 基-082	ラット嗅球糸球体におけるカルレチニン免疫陽性ニューロンの形態学的解析	野津 英司
R01 基-084	マウス嗅球におけるノルアドレナリン、アセチルコリンによる調節機構の形態学的解析	堀江 沙和
R01 ス-005	嗅球 GABA ニューロンの免疫組織化学的解析による分類	佐藤 慧太
R01 基-072	放射光施設 SPring-8 位相差 CT による心筋分裂能を維持した遺伝子改変マウス心臓の非固定微細構造評価法の確立	毛利 聡
R01 基-045	Fam64a 及び APC/C を用いた心筋再生の実現に向けた基礎的検討	橋本 謙
R01 基-054	筋弾性蛋白質コネクチン張力感知機構を介した心疾患の病態生理解明	花島 章
R01 基-017	脊髄損傷モデルラットに対する下腿筋電気刺激による運動機能改善効果のメカニズム研究—BDNF 関与の検証	宮本 修
R01 基-022	マイクロスフィア脳塞栓認知症モデル動物の海馬のシナプス伝達特性	氷見 直之
30 基-055	脳梗塞リハビリテーションにおける時間依存性を司る分子メカニズムの解明	岡部 直彦
R01 基-029	近赤外線蛍光顕微鏡による腹膜微小循環障害の評価	矢田 豊隆

R01 基-049	光干渉断層法 (OCT) ガイドと冠動脈造影法ガイドの冠動脈ステント留置における有効性の比較	根石 陽二
R01 基-048	分岐部病変における Proximal Optimizing Technique のステントベンチ比較	久米 輝善
28 基-075	Impact of PCSK9-inhibitors versus guideline directed statins therapy on no-culprit plaque characteristics in patient with acute coronary syndrome	山田 亮太郎
R01 若-001	免疫関連遺伝子 IdO に着目した慢性前立腺炎に対する炎症抑制機構の解明	大平 伸
R01 基-073	精巣虚血再灌流障害における造精機能障害に関連する炎症性変化の網羅的解析および病態関連因子阻害薬を用いた創薬研究	清水 真次朗
R01 基-009	シュワン細胞での異型トランスサイレチン凝集の研究:細胞死への関与について	村上 龍文
R01 基-035	当科外来受診患者の臨床情報登録システムの構築 (長時間にわたる前向き観察研究)	久徳 弓子
R01 基-003	カベオリン-3/神経型 NOS を起点とする骨格筋量制御機構の解明	深井 雄太
R01 基-097	自己免疫疾患及び腎疾患合併妊娠の胎盤病変へのアプローチによる病態解明	杉原 弥香
R01 基-060	炎症性骨破壊におけるアンジオテンシン II および骨細胞の役割の解明	守田 吉孝
R01 基-061	全身性エリテマトーデスの病態における SH3BP2 の役割の検討	向井 知之
R01 基-103	Dementia Assessment Sheet for Community-based integrated Care System-8 items (DASC-8) を用いた全脳照射後の認知・生活機能評価	釋舎 竜司
— 消化器・代謝・腎 —		
R01 基-013	マンソン裂頭条虫クローン株を用いた新規代謝制御因子の統合的機能解析	沖野 哲也
R01 基-089	オリゴマー化変異プロサポシンはパーキンソン病の原因となるか?	渡邊 悦子
R01 基-034	ゲノム DNA ホメオスターシス維持機構と腎臓病の進展機構の関連の解明	岸 誠司
R01 基-108	Keap-1/Nrf2 経路活性化による GFR 制御機構の解明	柏原 直樹
R01 基-102	糖尿病性腎臓病における糸球体上皮細胞のミトコンドリア動態観察による傷害過程の考察 (特に細胞間の恒常性環境について)	佐々木 環
R01 基-105	糸球体内皮細胞・上皮細胞連関におけるインフラマソーム活性化制御機構の解明	長洲 一
R01 基-101	腹膜線維化進展におけるインフラマソーム活性化の役割解明と新規治療法開発	角谷 裕之

R01 基-104	SGLT2 阻害薬による糖尿病性腎症進展抑制効果の機序解明	城所 研吾
R01 基-106	SGLT2 阻害薬による糸球体循環動態変化および糸球体内酸化ストレスの検討	板野 精之
R01 基-107	プロスタサイクリンの腸管血流改善効果を介した腎保護効果の検証	内田 篤志
R01 基-010	糖尿病腎症の発症に血糖値と肥満はどの程度影響するか：2 型糖尿病患者の経時的な外来データを用いた検討	中西 修平
30 若-004	SGLT2 阻害薬投与に伴うエネルギー恒常性維持生体反応 = 腎・消化管連関の解明 =	下田 将司
R01 基-067	血管内皮 PDK1 が全身の糖代謝に及ぼす影響及びその発現制御メカニズムの解明	小畑 淳史
R01 基-008	過敏性腸症候群の病態と腸内微生物との関連に関する検討	塩谷 昭子
R01 基-018	腸管粘液に着目した高脂肪食摂取起因性便秘症のメカニズム解明	半田 修
R01 基-051	機能的 MR imaging による早期糖尿病性腎症の画像的評価	山本 亮
R01 基-071	Direct-acting antiviral 投与後の細胞外容積分画による肝線維化の評価	神吉 昭彦
R01 基-075	MRI を用いた膵実質線維化の定量評価と膵外分泌機能の HbA1c との関連性についての検討	八十川 和哉
— 腫瘍 —		
30 若-002	新たな白血病治療法開発にむけた、低酸素環境下での解糖系阻害治療の研究	岡本 秀一郎
R01 基-094	食道癌の危険因子に関する検討-主に生活習慣病との関連から-	中村 純
R01 基-026	ゲノム編集技術を用いた ROR1 ノックアウト悪性中皮腫細胞株の樹立	瀧川 奈義夫
R01 基-042	進行非小細胞肺癌（多形がん）の臨床的特性と原発巣および転移巣における ROR1 発現に関する検討	山根 弘路
R01 基-092	殺細胞性抗がん薬による第 3 世代 EGFR-TKI 耐性誘導に関する基礎的検討	越智 宣昭
R01 基-076	肺癌における微小免疫腫瘍環境と免疫チェックポイント阻害薬の効果の検討	清水 克彦
30 ス-001	濾胞性リンパ腫から形質転換した aggressive リンパ腫におけるスフィンゴシン-1 リン酸受容体 1 の発現の意義	清水 里紗
R01 基-055	遺伝子改変発癌マウスを用いた p 53 と癌浸潤に関与するマクロファージの機能調節機構の解析	中村 隆文

R01 ス-004	卵巣顆粒膜細胞腫に対する新たな治療戦略 ～細胞周期・エストロゲンに着目して～	羽間 夕紀子
R01 基-007	乳癌の内分泌療法耐性の発生メカニズムの解明とその克服を目指した基礎研究	紅林 淳一
R01 基-068	肝発癌抑制機構としてのミトコンドリア品質管理	原 裕一
R01 基-098	実臨床における肝細胞癌に対するレンバチニブの有効性と安全性の検討	大海 宏暢
R01 基-052	バレット食道におけるバレット腺癌リスクマーカーの検討	村尾 高久
R01 基-006	StageⅢ治癒切除大腸癌に対するオキサリプラチン併用補助化学療法における腸内細菌叢の解析	渡邊 裕策
R01 基-066	免疫チェックポイント阻害剤効果予測バイオマーカーの探索	谷岡 洋亮
R01 基-027	MRI-経直腸超音波融合画像ガイド下前立腺標的生検を用いた前立腺癌の新たな診断戦略：治療前悪性度評価法の確立	玉田 勉
R01 基-023	骨髄異形成症候群から急性白血病へ移行する分子機構の探索：患者骨髄細胞から段階的に悪性化した細胞株の遺伝子発現パターンから見た解析	通山 薫
R01 基-079	骨髄増殖性腫瘍および骨髄異形成症候群の遺伝子解析と治療標的分子探索	北中 明
R01 基-024	骨髄異形成症候群における DNA メチル化阻害薬の作用機序の解明	辻岡 貴之
R01 基-050	頭頸部癌および食道癌の発生要因とその増殖に関する研究－特に HPV 感染の関連について－	藤田 譲
R01 基-014	ホルモン非依存性乳癌を早期発見するための病理組織学的検討	森谷 卓也
R01 基-043	中咽頭癌におけるウイルス感染と癌化、および癌微小環境における分子病理学的アプローチ	伊禮 功
R01 基-047	骨髄組織における免疫多重染色に関する研究	藤原 英世
R01 基-099	肺癌、食道癌における PIK3CA 遺伝子の発現および標的遺伝子としての評価	羽井佐 実
R01 基-011	癌促進型 RNA 結合蛋白質のリン酸化制御に着目した新規食道癌治療戦略の分子基盤	増田 清士
－ 環境と生体反応 －		
R01 基-096	からだのサイズを制御する分子メカニズムの解明	西松 伸一郎
R01 基-019	チタン酸ナノシートを用いた蛍光増強薄膜製膜時における諸条件の検討	吉岡 大輔

R01 基-081	特異抗体を利用した細胞膜タンパク質 gp91 ^{phox} の構造解析	栗林 太
R01 基-093	高尿酸血症の免疫機能へ影響：尿酸は敵か味方か？	山内 明
R01 ス-003	殺菌やレドックスシグナルに重要な活性酸素生成酵素 Nox の時空間制御システムの解明	宮野 佳
R01 基-038	インフルエンザウイルス感染におけるターゲティング機構の研究	堺 立也
R01 基-064	肺線維化における生理活性リゾリン脂質分解酵素の役割	岡本 安雄
R01 基-069	神経因性疼痛治療薬の創製を目指した抗炎症作用を有する新規機能性脂質の探索	坪井 一人
R01 基-040	Growth/differentiation factor 15 (GDF15)が肺線維化に及ぼす影響の検討	竹之内 康広
R01 ス-002	抗肥満性脂質の生合成酵素 GDE7 の細胞内活性化機構の解明	北風 圭介
R01 基-095	関節リウマチマウスモデル gp130F759 の滑膜最初期病変の組織学的解析	石原 克彦
R01 基-086	BST-1/CD157 の細胞膜外酵素活性および受容体機能による B 細胞の生存制御機構	井関 將典
R01 基-087	BST-1 における腸管運動制御と筋・神経組織関与の検討	矢作 綾野
R01 基-002	マイナス荷電粒子優位室内環境：長期居住モニターによる免疫影響の観察	大槻 剛巳
R01 基-039	トランスクリプトーム解析による石綿曝露の免疫機能影響の解明	西村 泰光
R01 基-012	CCR5,CCR7,及び CXCR3 に注目した長期石綿曝露 CD8+T 細胞亜株の機能解析	武井 直子
R01 基-031	加熱式たばこの人体への影響 一気道と全身の観点から	八十川 直哉
R01 基-100	肺炎マイコプラズマにおける耐性出現および増殖機構の解明	大石 智洋
R01 基-062	TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) のモデルマウス作成と炎症惹起・遷延化メカニズムの解明	平野 紘康
R01 基-063	自己炎症性疾患患者における炎症収束因子による病態評価の検討	藤田 俊一
R01 基-058	動物モデルを用いた単純疱疹の小水泡形成メカニズム、発汗への影響の解析	山本 剛伸
R01 基-088	片側鼻腔閉鎖による鼻呼吸障害モデルマウスを用いた睡眠覚醒関連ケミカルメディエーターの変化	原 浩貴

R01 基-037	睡眠時無呼吸症候群に関連する嗅覚障害の発生メカニズム	濱本 真一
R01 基-036	小児アレルギー疾患が睡眠に与える影響	兵 行義
R01 基-109	小動物用 SPECT/CT システムの基本性能評価	犬伏 正幸
R01 基-046	肥満者の体重減少がメンタルヘルスに及ぼす影響への検討	藤本 壮八
— 新分子・新技術 —		
R01 基-059	モデル動物と患者検体の解析に基づく HAM の病態解明と革新的治療法開発	齊藤 峰輝
R01 基-030	エピスタシス効果による新型インフルエンザウイルスの出現予測	内藤 忠相
30 基-031	多剤耐性菌に対する新規治療法の開発	川野 光興
29 基-014	遺伝子組換え型ファージを用いた多剤耐性菌治療薬の開発に向けた基盤研究	川野 光興
R01 基-032	酸性セラミダーゼの活性制御によるクラッペ病の治療法開発研究	松田 純子
R01 基-044	膀胱移行上皮におけるフィトセラミド構造含有脂質の機能解明	郷 慎司
R01 基-016	細胞内小胞輸送に関わる分子がムコ多糖代謝に与える影響	大友 孝信
R01 基-083	自己免疫疾患の発症に関わる血中因子の検討	李 順姫
R01 基-090	新規 AKT 阻害剤を用いた非小細胞肺癌に対する抗腫瘍効果の解析	山辻 知樹
R01 基-091	SOX2 抑制型アデノ随伴ウイルスベクターを用いた扁平上皮癌に対する新規治療法開発	深澤 拓也
R01 基-025	CD44 リガンドを用いた新規アレルギー特異的舌下免疫療法的作用機序に関する研究	加藤 茂樹
30 基-004	CD44 リガンドを用いた新規アレルギー特異的舌下免疫療法の特許開発	加藤 茂樹
28 基-062	ダニ抗原誘発マウス慢性気管支喘息モデルのアレルギー免疫療法における CD44 の役割に関する研究	加藤 茂樹
R01 基-057	急性骨髄性白血病における ELN リスク分類に準じた遺伝子変異検出法の開発	近藤 英生
R01 基-020	膵β細胞機能障害の分子メカニズムに基づいた新規糖尿病治療薬の検索	金藤 秀明

R01 基-005	サルコペニアに対する医薬品の開発	砂田 芳秀
R01 基-004	微量血液検体による心疾患・筋疾患診断法の確立	大澤 裕
R01 基-028	ミトコンドリア病 MELAS に対する疾患特異的バイオマーカーの開発	白河 俊一
R01 基-065	卵胞液を用いた卵の質評価法の開発	下屋 浩一郎
R01 基-001	糖代謝阻害剤 2-Deoxy-D-Glucose 封入 PLGA ナノ粒子による抗腫瘍免疫活性化機序の解明およびがん治療開発	仁科 惣治
R01 基-021	AI（人工知能）による内視鏡画像自動診断（病変拾いあげ）システムの開発	梅垣 英次
R01 基-015	円錐角膜病態の根本的理解と新規医療技術開発	藤本 久貴
R01 基-078	Precision Palliative Active Care Program の開発とその臨床応用	岡脇 誠
R01 基-085	脳剖検検体における新しい髄鞘染色の検討	西村 広健
30 基-023	システマティックレビューのための機械学習を活用した文献検索システムの開発	神田 英一郎

お知らせ

○参加者の先生方へ

1. 会場：現代医学教育博物館
口頭発表：2 階大講堂
ポスター展示：4 階展示室
2. 受付
現代医学教育博物館 2 階大講堂前
※参加人数を確認するため、職員証（学生証）をお持ちください。
3. 顕彰
口頭発表および大学院研究（ポスター）の優れた発表に対して表彰をします。
4. プログラム
オンライン閲覧となりますので、当日はタブレット端末（iPad・スマートフォン等）から閲覧いただくことになります。

★今年度も医学会総会を学術集会の昼休憩時間に開催します。

会場：現代医学教育博物館 2 階大講堂

※注意事項

各階展示室内での飲食はご遠慮ください。

○座長の先生方へ

1. ご担当セッションの開始予定時刻 10 分前までに、会場内前方の次座長席にご着席ください。
2. 各セッションの演題発表時間等
時間のお知らせのため、アラームを鳴らしますので、時間厳守をお願いします。
発表時間：10 分・質疑応答：4 分・予備：1 分 計 15 分
(アラーム：開始後 10 分、終了 1 分前)

○口頭発表演者の先生方へ

1. ご自身の発表時間 10 分前には、会場内前方の次演者席にご着席ください。
2. 各セッションの演題発表時間等
時間のお知らせのため、アラームを鳴らしますので、時間厳守をお願いします。
発表時間：10 分・質疑応答：4 分・予備 1 分 計 15 分
(アラーム：開始後 10 分、終了 1 分前)
3. スライドデータについて
・スライドデータは、前日 16：30 までに医大研究支援係（6 階中央研究秘書室内）にお持ちください。難しい場合は、ご連絡の上、当日の朝 9：00 までに医大研究支援係（6 階中央研究秘書室内）にお持ちください。
・セッション 3 の先生で、この時間に間に合わない場合は、12：30 までに、必ず、受付までお持ちください。

- ・スライドデータのファイル名は、「セッション番号（課題番号 先生のお名前）」をお願いします。
- ★データは、当日、会場のパソコンデスクトップ上にセッションごとに分けたフォルダに入れておきます。
- ★データをお持ちいただいた際に、スライドの動作確認をお願いします。（当日のスライド試写はありません。）

4. 会場設置のパソコンについて

口頭発表会場に設置されているパソコンは、Windows10 : Power point2019 になりますので、Windows 環境で動作チェックしたデータをお持ちくださいますようお願いいたします。

5. パソコンの持ち込み依頼をいただいている先生へ

発表前にパソコンをケーブルに接続しますので、会場前方（次演者席前）のパソコン受付に発表開始 20 分前までに必ずお持ちください。（次演者、次次演者まで、パソコンをケーブルに接続できますので、早目に接続していただきますようご協力をお願いします。）

- ★パソコンを持ち込みされる場合でも、スライドデータを USB メモリ等でもお持ちください。
- ★必ず、充電器及び外部出力用の変換アダプターをお持ちください。
- ★当日のスライド試写は行いません。

○ポスター展示

1. ポスター掲示について

7 月 31 日（金）15 : 30～17 : 00、8 月 1 日（土）9 : 30～11 : 00 までに掲示をお願いします。

2. ポスター様式

パネルのサイズは縦 240cm×横 90cm です。

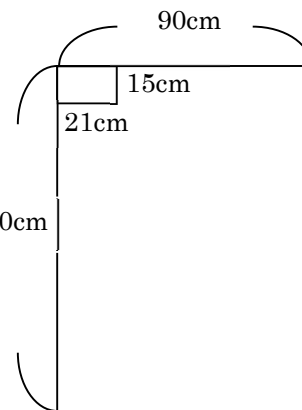
用紙の大きさは問いません。ただし、最上段左側にパネル番号 A5 判（縦 15cm×横 21cm）を掲示しますので、スペースをあけてください。

なお、バイオイメージングユニットでポスターを印字する場合は、240cm ポスターのサイズは幅 85cmとなります。

それ以外の最上段に

- ①課題番号
- ②課題名
- ③研究代表者名
- ④共同研究者名

を必ずご記入ください。



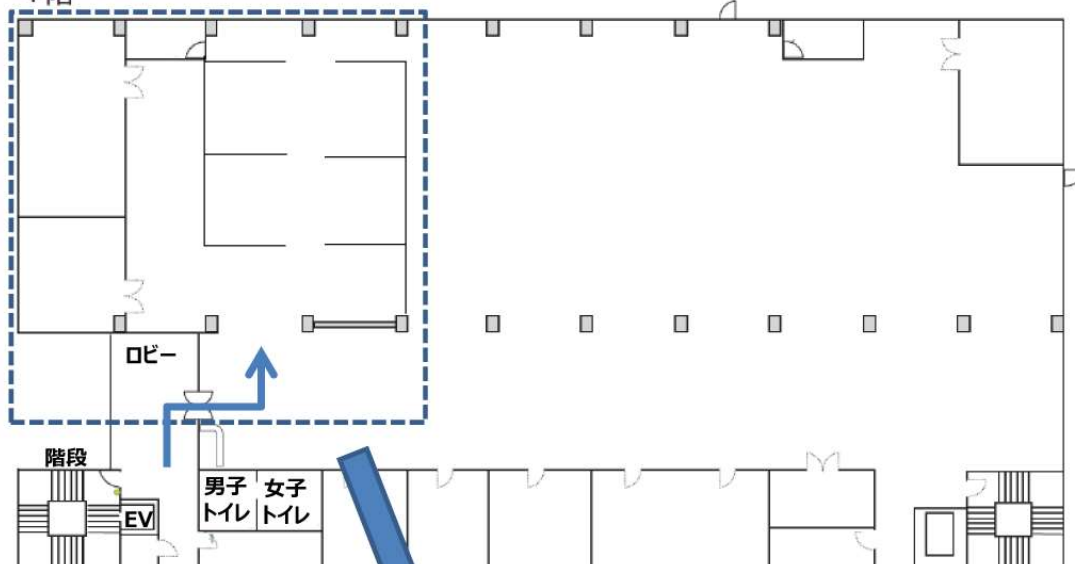
3. 撤去時間

8 月 1 日（土）学術集会後～16 : 30、8 月 3 日（月）10 : 00～15 : 00

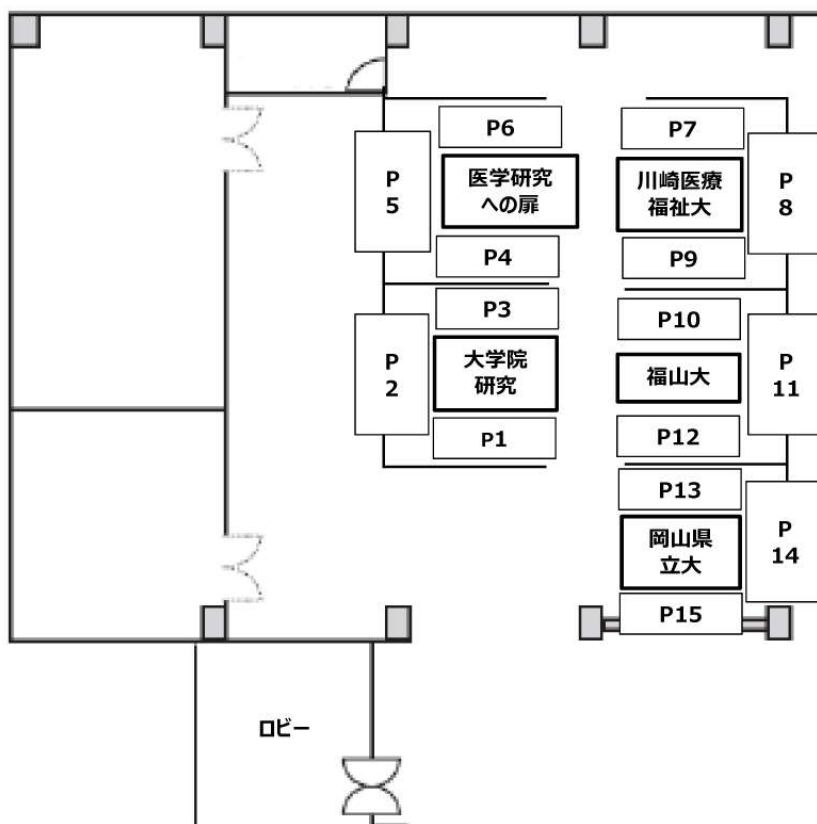
★期間内の撤去をお願いします。なお、撤去終了時間後に残っているポスターについては、廃棄させていただきますので、ご了承ください。

ポスター展示会場

4 階



ポスター配置図



I. 口頭発表

演題名：焙煎エゴマ種子から抽出した油の酸化遅延効果およびその生理作用

研究代表者（発表者）名：宮田 恵多

所属（大学・学部・学科）：川崎医療福祉大学・医療技術学部・臨床栄養学科

n-3 系不飽和脂肪酸の α -リノレン酸を豊富に含むエゴマ (*Perilla frutescens*) 種子から抽出した油は健康食品としての需要が急増しているが、酸化が起こりやすいという欠点がある。本研究では、酸化遅延効果の高いエゴマ油の抽出法の検討およびその生理作用を調べた。酸化遅延効果の高いエゴマ油の抽出法の検討として、乾燥エゴマ種子から抽出した油（エゴマ油）と焙煎エゴマ種子から抽出した油（焙煎油）の酸化速度を POV および TBA 試験で比較した。その結果、POV 試験では差はなかったが、TBA 試験では焙煎油の方がエゴマ油よりも酸化速度が遅かった。さらに、両油をモデル生物の *C. elegans* に投与し、寿命への影響を調べた結果、エゴマ油投与群はコントロール群に比べ寿命の延伸が認められなかったが、焙煎油投与群はコントロール群に比べ優位に寿命が延伸した。また、焙煎油投与群では、転写因子 SKN-1 (Nrf ホモログ) の制御下にある *gst-4* (グルタチオン-S-転移酵素) および *gcs-1* (グルタチオン合成酵素) の発現がコントロール群に比べ優位に上昇していた。以上の結果から、エゴマ種子の焙煎による加熱でエゴマ種子中に含まれる成分の変化で褐変物質、新たな化合物等が生じたことにより酸化遅延効果が起こり、その物質が SKN-1 を介して *C. elegans* の寿命を延伸させる効果がある可能性が示唆された。

演題名：内因性ステロイドの検査試料としての爪の有用性評価

研究代表者（発表者）名：小川 祥二郎

所属（大学・学部・学科）：福山大学・薬学部・薬学科

内因性ステロイドの体液・組織中のレベル変動の的確な把握は、種々の疾病の診断などに重要である。検査試料として汎用される血液と比較して、爪は無侵襲的に採取可能であり、慢性疾患診断用試料として期待が寄せられている。しかし、ステロイド検査試料における爪の有用性については十分に検討されていない。本研究ではテストステロン (TST), コルチゾール (CRT), プログステロン (PRG), グリコケノデオキシコール酸 (GCDCA), タウロケノデオキシコール酸 (TCDCA), デヒドロエピアンドロステロンサルフェート (DHEAS) を対象に、これらの LC/ESI-MS/MS 定量法を開発し、左右の手の爪中含量差とそれらの性差を吟味した。右手の爪のステロイド含量 (R) と左手の爪の含量 (L) を測定した結果 ($n = 20$), GCDCA, TCDCA 及び DHEAS では R と L 間で大きな差が観察された。すなわち R と L どちらの結果を用いるかでステロイド含量の評価が異なることが示唆された。一方、TST, CRT 及び PRG では R, L 間の差は小さかった。TST などの疎水性の高いステロイドは手洗い、入浴等における溶失が少なく、L と R に差が生じにくいものと推察された。また、爪中 TST 含量及び爪中 PRG 含量には明らかな性差が観察される一方で、CRT 含量にはそれが認められなかった。すなわち、性差に関して爪は血中レベルと同様の挙動を示す事が判明した。

演題名：高暑下におけるマスク着用時の温熱環境

研究代表者（発表者）名：池田 理恵

所属（大学・学部・学科）：岡山県立大学・保健福祉学部・看護学科

COVID-19 の感染対策として「新しい生活様式」が提言され、身体的距離、マスク着用、手洗いが推奨されている。外出時、屋内にいるときや会話をするときには症状がなくてもマスクを着用することが求められているが、熱中症のリスクについても注意する必要がある。しかし、マスクを装着した時の温熱環境に関する報告はほとんどない。そこで、健康な標準的体格の 20 歳代成人男性 1 名を対象に室温 29℃ の環境で、マスク周辺の温熱環境を測定したので報告する。エアコンを使用しない室内で、サージカルマスクと絹製マスクの 2 種類のマスクを、安静 10 分、運動（軽い歩行）10 分の計 20 分間着用し、マスク内側の温度・湿度、マスク外側の温度・湿度、頬と体表面 4 か所の皮膚温（グラム（株）：LT-

8B)、発汗、鼓膜温（テクノネクスト（株）：BL100）、心拍数（フクダ電子：FM-180）を連続測定した。さらに、安静、運動 10 分毎にサーモグラフィを撮影した。マスク内は安静時、サージカルマスク $34.8 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 、 $89.8 \pm 2.2\%$ 、絹マスク $32.1 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$ 、 $77.4 \pm 13.5\%$ と絹マスクが低かった。サーモグラフィでも絹マスクは呼吸により熱や湿気をマスク外に放散している様子が窺えた。運動時のマスク内の温度・湿度に素材による差はなく、高暑下では軽い運動であってもマスク装用により熱中症のリスクを高めることが示唆された。

課題番号：R01 基-100

研究課題：肺炎マイコプラズマにおける耐性出現および増殖機構の解明

研究代表者名（所属）：大石智洋（小児科学）

共同研究者名：尾内一信

2019 年 1 月から 2019 年 12 月まで、以前から継続している小児マイコプラズマ感染症の全国調査および耐性機構の解明について検討を行った。

まず、全国調査では、肺炎マイコプラズマ陽性 44 検体、マクロライド耐性率は 21.6%であり、マクロライド耐性遺伝子変異は全て A2063G 変異であり、流行は落ち着き、マクロライド耐性率は低く推移していた。キノロン系薬やテトラサイクリン系では、明らかに最小発育阻止濃度(MIC)の高い株は見られなかった。P1 タンパクによる分子疫学的解析では、P1Type2 と Type2 サブタイプが 88.2%と大勢を占め、マクロライド耐性株は、少数分離された Type1 の全てと Type2 の 1 株のみであり、近年と同様の傾向であった。

耐性機構の解明では、マクロライド耐性株に、低濃度のマクロライド系薬を添加し継代培養するセレクション実験を施行したところ、継代培養により元の 10 倍以上の MIC にて成育する株が散見され、これらの株に対しシーケンス解析を施行したところ、A2063G 変異株はほとんど検出されず、C2617T など他の遺伝子変異株が大勢を占めた。

今後、全国調査については引き続き調査を行い、また、セレクション実験については、低濃度マクロライド系薬添加により発育した株につき、薬剤無添加の培地に培養し増菌させ、そこから 10 コロニーほど抽出し、それぞれシーケンス解析を行う予定である。

課題番号：R01 基-030

研究課題：エピスタシス効果による新型インフルエンザウイルスの出現予測

研究代表者名（所属）：内藤 忠相（微生物学）

共同研究者名：齊藤 峰輝

【目的】インフルエンザ迅速診断キットにはイムノクロマト法が採用されており、ウイルス抗原であるヌクレオプロテイン（NP）を認識する抗 NP 抗体が使われている。そのため、NP 蛋白質に既存の抗 NP 抗体で認識できない変異が生じた場合、偽陰性症例となり早期治療の機会を逸する可能性がある。実際、この現象が 2009 年の新型インフルエンザパンデミック時に報告されている。本研究では、変異ウイルスライブラリーによる診断キット偽陰性株の単離とその性状解析により、新型ウイルスの感染対策に資する基盤情報の取得を試みた。

【方法】①A 型インフルエンザウイルス H1N1 株を元株とした変異ウイルスライブラリー（変異ウイルスの集合体）を作出し、②プラークアッセイにより NP 変異株を単離した後、③既存の診断キットを用いて検出感度を比較することで新規抗原変異株の同定を試みた。

【結果・考察】アミノ酸置換を伴う新規 NP 変異株を 5 株（R19H、E81G、T6A/S314G、Q20P/K470R、Q122K/A286S 変異株）単離したが、ウイルスの検出感度は野生株とほぼ同等であった。一方、変異 NP 蛋白質の構造モデリング解析により、「変異が入りやすい」および「入りにくい」領域を同定した。本研究成果は、我々の実験系が未来流行株を予測する上で重要な「変異を許容するアミノ酸部位」の網羅的スクリーニング系として有用であることを示している。

課題番号：R01 大-001

研究課題：TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) のモデル細胞作製と炎症惹起・遷延化メカニズムの解析
研究代表者名 (所属)：辻 尚子 (組織培養・免疫系分野 リウマチ分子病態解析学)

【緒言】TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) は、TNFRSF1A 遺伝子変異を有する周期性発熱症候群である。我々は、周期性発熱を呈する 1 家系 2 名から G87V/T90I 変異を同定した。G87V 変異は新規報告であり、病態との関連を検討するため、既報の TRAPS 変異と併せて炎症反応への影響を評価した。

【方法】TRAPS 患者 2 名と健常人 12 名から血液を採取し、末梢血単球細胞 (PBMC) におけるミトコンドリア内活性酸素産生をフローサイトメトリーで評価。また、上記 TRAPS 患者 2 名と健常人 2 名から回収した PBMC を TLR ligand で刺激し、上清中のサイトカインを Multiplex アッセイを用いて網羅的に解析した。

【結果】患者 PBMC のミトコンドリア内活性酸素値は健常人と比較して有意に上昇した。Multiplex アッセイでは、患者群において低濃度 LPS 刺激による IL-6 の産生が亢進する傾向にあった。更に、FSL-1 (TLR2/6 agonist) 刺激後の IL-8 産生、LPS 刺激後の IL-6 と GM-CSF 産生は TRAPS 患者群で亢進した。

【結論】G87V 変異を有する患者の小胞体ストレスの亢進が示唆された。更に TLR2/6 刺激による炎症性サイトカイン産生亢進が病態に関与している可能性がある。この現象を再現するため、Crispr/Cas9 システムを用いたモデル細胞を作製する方針である。

課題番号：R01 基-074

研究課題：*Inhbb* 転写制御における転写因子 Runx3 による新規作用の解明

研究代表者名 (所属)：小島 史也 (自然科学)

共同研究者名：西松 伸一郎

転写因子 Runx3 を欠く雌マウスは無排卵で不妊になることが知られている。申請者はこれまでにマウス卵巣内において *Runx3* mRNA 発現が卵胞顆粒膜細胞に局在することを明らかにし、*Runx3* 欠損マウスの卵巣では卵胞成熟やステロイド産生が低下していることや、卵胞成熟やステロイド産生に重要な因子である、activin や inhibin をコードする遺伝子の mRNA 発現が低下していることを報告した。

マウスゲノムデータベースより、*Inhbb* の上流域に Runx3 の認識配列と考えられる配列が複数箇所存在することから、本研究では、転写因子 Runx3 による *Inhbb* 転写制御に対する関与を検討した。

マウス卵胞顆粒膜細胞由来の OV3121 細胞を用い、Luciferase assay により *Inhbb* のプロモーター解析を行った。その結果、*Inhbb* 上流-1241 bp から-892 bp の間で Runx3 発現により、*Inhbb* のプロモーター活性に変化が見られた。-1241 bp から-892 bp の間の Runx3 の結合予測配列に変異を入れたコンストラクトでは、プロモーター活性が低下し、また、Runx3 発現によるプロモーター活性の変化は見られなかった。

以上のことから、Runx3 は *Inhbb* の転写制御に関与していることが考えられた。

課題番号：R01 基-010

研究課題：糖尿病腎症の発症に血糖値と肥満はどの程度影響するか：2 型糖尿病患者の経時的な外来データを用いた検討

研究代表者名 (所属)：中西修平 (糖尿病・代謝・内分泌内科学)

共同研究者名：金藤 秀明、辰巳 文則、蛭川 英典

緒言：2 型糖尿病の細小血管合併症のひとつである腎症は、その予防のための血糖管理目標として HbA1c 7%未満が提示されている。一方で肥満関連腎臓病も考慮すべき病態と考えられ、肥満が及ぼす影響も考慮すべきである。

目的：外来で加療中の 2 型糖尿病患者を後ろ向きに経年的に観察し、腎症発症と HbA1c および BMI の関与を検討する。

対象および方法：2000 年から 2018 年の間に外来通院中の 2 型糖尿病患者で、観察開始時に腎症が確認されなかった患者を対象とした。観察開始時の HbA1c が 7%未満 (C) と以上 (U)、BMI が 25 未満 (N)

と以上 (0) の計 4 群 (CN、CO、UN、UO) にカテゴリー化し、各カテゴリーの腎症発症の Cox 比例ハザードモデルを用いてハザード比を算出した。

結果：諸因子で調整した結果、CN と比較し CO、UN、UO のハザード比は 1.40 (P=0.030)、1.40 (0.027)、1.54 (0.008) で、CO と UN は同等のハザードであった。

考察：糖尿病の細小血管合併症の中で、神経障害及び網膜症と比較すると腎症は血圧や動脈硬化など多面的な影響をより強く受ける疾患である。今回の結果からは血糖管理と肥満は腎症に対し同等の危険因子となり得ることが示唆され、腎症予防に関して HbA1c7%未満を目指すことと同様に、BMI25 未満も新たな目標として考慮することも重要であると考えられた。

課題番号：R01 基-040

研究課題：Growth/differentiation factor 15 (GDF15)が肺線維化に及ぼす影響の検討

研究代表者名 (所属)：竹之内 康広 (薬理学)

共同研究者名：岡本 安雄

肺線維症は、適切な予防および治療が確立されていない疾患であり、肺の線維化に関わる新規シグナル分子を同定し検討することが重要となっている。我々は、抗がん剤ブレオマイシン腹腔内反復投与肺線維症モデルマウスの肺を用いたマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、線維化肺で growth/differentiation factor 15 (GDF15) 遺伝子発現の増加を見出した。本研究では GDF15 の肺線維化過程に関与する新規シグナル分子としての可能性を検討することを目的とした。

マクロファージは活性化により線維化に関与する M2 型へ誘導されることが報告されている。GDF15 処置は、IL-4+IL-13 刺激で増加した M2 マーカー遺伝子をさらに増加させた。また、肺線維化において細胞外マトリックスを産生する筋線維芽細胞が深く関与することが知られている。筋線維芽細胞に発現する α -smooth muscle actin (α -SMA) タンパクの発現を検討したところ、GDF15 処置は線維芽細胞 WI-38 において α -SMA 発現を増加させた。線維化のシグナルとして ALK5 が Smad2/3 のリン酸化を介し、線維化関連遺伝子の発現を誘導することが報告されている。線維芽細胞においても GDF15 により Smad2 のリン酸化が認められ、ALK5 阻害薬の同時処置によりリン酸化の消失および α -SMA タンパクの増加が抑制された。

以上の結果から、GDF15 はマクロファージでは M2 型への分化誘導促進、線維芽細胞では ALK5-Smad2/3 経路を介した活性化により肺線維化の発症・進展に関与していることが明らかとなった。

II. ポスター

課題番号：R01 大-001

研究課題：TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) のモデル細胞作製と炎症惹起・遷延化メカニズムの解析
研究代表者名 (所属)：辻 尚子 (組織培養・免疫系分野 リウマチ分子病態解析学)

【緒言】TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) は、TNFRSF1A 遺伝子変異を有する周期性発熱症候群である。我々は、周期性発熱を呈する 1 家系 2 名から G87V/T90I 変異を同定した。G87V 変異は新規報告であり、病態との関連を検討するため、既報の TRAPS 変異と併せて炎症反応への影響を評価した。

【方法】TRAPS 患者 2 名と健常人 12 名から血液を採取し、末梢血単球細胞 (PBMC) におけるミトコンドリア内活性酸素産生をフローサイトメトリーで評価。また、上記 TRAPS 患者 2 名と健常人 2 名から回収した PBMC を TLR ligand で刺激し、上清中のサイトカインを Multiplex アッセイを用いて網羅的に解析した。

【結果】患者 PBMC のミトコンドリア内活性酸素値は健常人と比較して有意に上昇した。Multiplex アッセイでは、患者群において低濃度 LPS 刺激による IL-6 の産生が亢進する傾向にあった。更に、FSL-1 (TLR2/6 agonist) 刺激後の IL-8 産生、LPS 刺激後の IL-6 と GM-CSF 産生は TRAPS 患者群で亢進した。

【結論】G87V 変異を有する患者の小胞体ストレスの亢進が示唆された。更に TLR2/6 刺激による炎症性サイトカイン産生亢進が病態に関与している可能性がある。この現象を再現するため、Crispr/Cas9 システムを用いたモデル細胞を作製する方針である。

課題番号：R01 大-002

研究課題：急性大動脈解離発症後生存モデル作成。急性大動脈解離後、急性肺障害に対する治療薬剤の検討
研究代表者名 (所属)：山辻 知樹、渡邊 達也 (総合外科学)

共同研究者名：杭ノ瀬 昌彦、深澤 拓也、高岡 宗徳、徳永 宜之

急性大動脈解離保存的加療中には急性肺障害を合併することが報告されており、重症例では非侵襲的及び侵襲的人工呼吸管理を要する重要な合併症であるが、本病態への有効な治療法は確立されていない。大動脈解離による急性肺障害の原因として、マクロファージや好中球の関与が報告されているが、有効な治療法は確立されていない。

本研究において、大動脈解離に伴う肺障害への薬剤の有効性を、急性大動脈解離モデルマウスを用いて検討する。そして、薬剤の有効性を検証するための元となる大動脈解離発症後に生存するモデルマウスの作成を試みた。

β -aminopropionitrile (BAPN) の経口投与後、Angiotensin II (AngII) を徐放させることでマウスに大動脈解離が発症する (Circulation. 126: 3070-80. 2012)。これまでの基礎実験において、BAPN の 4 週間投与後に AngII を 48 時間かけて徐放させることでほぼ 100% 大動脈解離を発症させることができる。また、48 時間以内の急性期に胸部大動脈、腹部大動脈の破裂により一部死亡してしまう個体があるが、48 時間時点で生存している個体への AngII の投与を中断することで、大動脈解離発症後も死亡することなく、生存、経過観察することが可能であり、その技術を確立することができた。

今後は大動脈解離発症後の生存期間の呼吸障害の推移を評価系を確立し、治療薬剤による肺障害の治療効果を検証していく予定としている。

課題番号：R01 大-003

研究課題：研究新規薬剤 (COA-C1) の脊髄損傷に対する治療効果のメカニズムの研究

研究代表者名 (所属)：坂本 一晴 (神経構造機能学)

共同研究者名：氷見 直之、林 範人、岡部 直彦、丸山 恵美、宮本 修

【目的・背景】

2C1-C. OXT-A (COA-C1) はアデノシン類似体の新規低分子化合物であり、血管新生作用が報告されている。さらに、これまでの我々の研究において脳卒中モデルラットに対し発症後の COA-C1 投与が神経細

胞死の抑制および機能回復促進作用を示した。今回、これらの効果が脊髄損傷モデルにおいても発揮されることを検証し、その新規治療薬としての可能性を検討した。

【方法】脊髄損傷モデルは雄 SD ラットの T7-T9 レベルに荷重装置を用いた圧迫損傷により作製した。損傷直後から COA-C1 を 6mg/kg、5 日間投与した群(急性期投与群)、同量の生理食塩水を投与した群(対照群)および、脊髄損傷急性期の効果と比較するため損傷 4 日後から投与を開始した群(亜急性期群)を作製した。運動機能は BBB スコアと傾斜台試験により評価した。組織の評価は HE 染色を、TUNEL 染色にてアポトーシスを検出した。また pERK/ERK レベルを検出した。

【結果】運動機能は急性期投与群で対照群と亜急性期群に対して 7 日後より有意な改善が認められた。また急性期投与群において損傷 28 日後の脊髄空胞体積と 7 日後のアポトーシスが有意に減少した。さらに COA-C1 投与群において pERK/ERK が上昇した。

【考察】COA-C1 の損傷急性期投与は ERK の経路を介して組織保護効果を示し、COA-C1 の新規治療薬としての可能性が示された。

課題番号：48

発表演題：炎症性変化に着目した精巣虚血再灌流による造精機能障害の病態解析

発表者名：山下花也子

指導教員名：平田 啓太、大平 伸、永井 敦

【目的】精巣虚血は、泌尿器領域における緊急疾患の 1 つであり、速やかな血流改善が求められる。適切な血流改善が得られた場合でも、一部の症例では造精機能障害に至ることがある。しかし、その病態は明確にされていない。虚血再灌流障害を来す代表的疾患において、炎症性変化が臓器機能障害を誘導することが報告されている。今回、炎症性変化に着目して精巣虚血再灌流による造精機能障害の病態解析を行った。【対象と方法】実験動物は、10~15 週齢、C57BL/6J マウスを用いた。左精巣血流を 1 時間遮断した後、血流を再開することで精巣虚血再灌流モデルマウスを作成した。比較対照群を同条件の偽手術マウスとした。血流再開後 1、3、5 週目における精液所見の変化と精巣内における組織変化を比較検証した。【結果】精液検査では、再還流 1 週目から精子濃度と運動率の低下を認めた。網羅的タンパク定量検査および免疫組織学的解析を用いた炎症解析では、再還流 1 週目から EGF・IL-2・CCL2・CCL3 の上昇を認めた。右側精巣においても左側精巣に追従して同様の变化を認めた。これらの変化に続いて、免疫組織学的解析により両側精巣における酸化ストレス(ROS)の過剰産生および細胞死の増加を確認した。【結論】精巣虚血再灌流では、炎症性変化が惹起されることで精液所見の悪化を認めた。これらの変化は、患側精巣だけでなく対側精巣においても同様に認められることで、造精機能障害に至ると推測された。

課題番号：49

発表演題：VR システムによるリハビリテーションへの応用

発表者名：清水 沙紀

指導教員名：三原 雅史

高齢者の運動機能維持、転倒予防のためには立位歩行訓練が重要であるが、訓練そのものの転倒リスクから介助者の負担が大きく、訓練量の増加が難しかった。VR を用いたリハビリテーションシステムの構築が、立位歩行訓練の効率化に寄与する可能性が考えられ、今回我々は、市販の安価な機材を用いた VR リハビリテーションシステムの構築を試み、その効果を検証した。unity hub を用いて仮想空間上に VR 環境を構築し、外乱揺動刺激を行うプログラムを作成し、これを HTCvive 上に再現した。構築した VR 環境での視覚情報変化に伴う姿勢バランスへの影響を確認するため健常成人 8 名の外乱誘導時と静止時の下肢筋電図(EMG)と重心位置(COP)の測定を行った。一部被験者では脳活動も測定した。VR の有無、視覚刺激の条件を変えた 4 条件(視覚刺激 大/中/小、VR なし)の刺激で、測定を行った。その結果、物体数の多い VR 条件(視覚刺激大)と同様の刺激をモニター上に提示した条件(VR なし)との比較では、VR 条件で有意に COP 移動距離が大きく、又、有意差はないものの物体数の多いもので COP 移動

距離が大きい傾向がみられた。EMG では条件間での明らかな差は認めなかった。同様の視覚刺激提示条件においても、VR 装着下では立位バランスへの効果が大きく、VR 刺激を用いたシステムが訓練効果の効率化をもたらす可能性が示唆された。今後はより詳細な条件の設定や多数例での検討が必要と考えられる。(2996-1)

課題番号：99

発表演題：心臓内腔の立体化への追求

発表者名：藤森 阿季子

指導教員名：森谷 卓也、横田 ヒロミツ

〔はじめに〕

メディカルイラストレーション(MI)とは、医療、医学における情報を視覚化し、医療従事者のみならず、患者さんにもよりわかりやすく伝えることを可能にできる分野である。一学年のリベラルアーツで MI を選択した際、非常に興味深くもっと極めたいと思い、今回の研究に挑戦した。

〔方法〕

はじめに、鉛筆画でのスケッチで 2DCG、3DCG の技術を学んだ。次に 2D、3DCG のソフトウェアの基本的操作法を習得し、心臓をテーマとし MI の製作を行った。さらに 3D プリンターで臓器模型を製作した。

〔結果(作品)〕

鉛筆画ではタッチの差によるグラデーション、練りゴムを使った光の入れ方による表現を学んだ。仙骨を使って硬質表現、2DCG によるスケッチのカラーリングを試みた。肺は、正常肺と間質性肺炎、肺線維症の肺を用いて 2DCG のレイヤーによる内部表現と、イラストレーターを使って心臓の外観と血流を説明できるシェーマを描いた。さらに、3DCG と 3D プリンターにより心臓の内腔と外観の模型を製作し、心房と心室の位置関係を表現した。

〔考察〕

イラストだけでは、空間的な認知に限界があるが、3DCG を用いて模型を製作したことで、心臓を巡る血液と心房、心室の位置関係に関して理解が容易となった。今後医療や医学現場にも、3DCG を積極的に導入することが望ましいと思われる。

演題名：地域住民が主体となれる認知症予防の仕組みづくり

研究代表者(発表者)名：荒井 佐和子、谷原 弘之

所属(大学・学部・学科)：川崎医療福祉大学・医療福祉学部・臨床心理学科

【目的】

岡山県赤磐市では、認知症の人やその家族が住みやすい地域づくりの手助けをする認知症予防支援ボランティア(D ボラ)養成講座を開講し、受講生は認知症カフェと高齢者施設での傾聴活動を行ってきた。昨年度は活動推進を狙いとして講座のメニューに脳トレと傾聴を取り入れた。本研究では、調査結果をもとに認知症予防の仕組みづくりを検討する。

【方法】

講座開始前に受講者 29 名に、講座で学ぶ内容の活かし方について自由記述で回答を求めた(川崎医療福祉大学倫理委員会承認番号 19-015)。

【結果と考察】

得られた延べ 30 個の自由記述を KJ 法で分類し 4 カテゴリを得た。「①現在のボランティア活動への活用意欲」を持つ者は多様な地域への活動頻度が高かった。集団を対象に実施できる脳トレと傾聴のやり方を提供することで、D ボラ活動の継続と活性化が期待できると考えられる。「②新しい活動への意欲」を持つ者は活動未経験者が含まれた。サロンや認知症カフェなどで経験者の補助として活動できる場を提供することで、活動の開始の後押しになると考えられる。「③自分や身近な人への活用意欲」を持つ者には、家族やご近所との助け合いも D ボラ活動だと保障することで、地域の自助や互助の強化に

つながると考えられる。「④意気込み」を持つ者には、具体的な実施方法の提供や多様な活用場面例を示すことで、活動の開始や活性化、自主的な活動展開につながると考えられる。

演題名：Poly I:C 投与マウスの身体活動性低下に対するカルニチンの効果

研究代表者（発表者）名：小柳 えり

所属（大学・学部・学科）：川崎医療福祉大学・医療技術学部・健康体育学科

【背景】疲労感、過労や精神的ストレス、疾病などの要因により引き起こされ、身体活動性の低下、すなわち倦怠感を伴う。サプリメントとしてのアセチル L カルニチン（ALC）摂取による慢性疲労の軽減が報告されているものの、そのメカニズムについては明らかとなっていない。本研究では疲労モデルとして用いられてきた Poly I:C 投与マウスを用いて、疲労回復促進効果に対する ALC の作用機序について検討することとした。【方法】実験動物には、9~10 週齢の C3H/HeN 雄マウス(n=25)を使用した。ALC 投与群(n=13)には ALC (100 mg/kg, i. p.)を、コントロール群(n=12)には滅菌 PBS を実験終了まで投与し、その後、両群ともに眼窩静脈叢より Poly I:C (5 mg/kg, i. v.)を投与し、1 週間の自発運動量を評価した。また、Poly I:C 投与、1 時間後に脳および血液を採取し、ALC 投与の影響について評価した。【結果】Poly I:C 投与後 24 時間の自発運動量は、ALC 投与群で有意な低下抑制を観察した。大脳の *Bdnf*、*Tmem119*、*Tspo* の ALC 投与による有意な増加を観察した。【結論】ALC をあらかじめ投与することにより脳内遺伝子発現の変化を介した Poly I:C 投与による活動性の低下抑制が明らかとなった。

演題名：焙煎エゴマ種子から抽出した油の酸化遅延効果およびその生理作用

研究代表者（発表者）名：宮田 恵多

所属（大学・学部・学科）：川崎医療福祉大学・医療技術学部・臨床栄養学科

n-3 系不飽和脂肪酸の α -リノレン酸を豊富に含むエゴマ (*Perilla frutescens*) 種子から抽出した油は健康食品としての需要が急増しているが、酸化が起こりやすいという欠点がある。本研究では、酸化遅延効果の高いエゴマ油の抽出法の検討およびその生理作用を調べた。酸化遅延効果の高いエゴマ油の抽出法の検討として、乾燥エゴマ種子から抽出した油（エゴマ油）と焙煎エゴマ種子から抽出した油（焙煎油）の酸化速度を POV および TBA 試験で比較した。その結果、POV 試験では差はなかったが、TBA 試験では焙煎油の方がエゴマ油よりも酸化速度が遅かった。さらに、両油をモデル生物の *C. elegans* に投与し、寿命への影響を調べた結果、エゴマ油投与群はコントロール群に比べ寿命の延伸が認められなかったが、焙煎油投与群はコントロール群に比べ優位に寿命が延伸した。また、焙煎油投与群では、転写因子 SKN-1 (Nrf ホモログ) の制御下にある *gst-4* (グルタチオン-S-転移酵素) および *gcs-1* (グルタチオン合成酵素) の発現がコントロール群に比べ優位に上昇していた。以上の結果から、エゴマ種子の焙煎による加熱でエゴマ種子中に含まれる成分の変化で褐変物質、新たな化合物等が生じたことにより酸化遅延効果が起こり、その物質が SKN-1 を介して *C. elegans* の寿命を延伸させる効果がある可能性が示唆された。

演題名：細胞外基質ネフロネクチンは、T 細胞内の活性酸素種 ROS レベル調節を介した Th17 と制御性 T 細胞(Treg)のバランス制御により自己免疫疾患増悪化に関与する

研究代表者（発表者）名：本田 真知子、今 重之

所属（大学・学部・学科）：福山大学薬学部薬学科

我々は細胞外基質ネフロネクチン (Npnt) が関節リウマチ (RA) や実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) 等の血中で亢進し、Npnt 抗体が RA モデルの増悪化抑制効果を有することを報告している。今回、Npnt 抗体が Th17 分化を抑制し Treg を増強することで EAE 増悪化に関与することを見出した。Th17 と Treg 分化に及ぼす Npnt の作用機序を明らかにするため、Npnt 結合分子を探索した結果、セレン含有分子であるセレノプロテイン P(SeP)を同定した。SeP は、グルタチオンペルオキシダーゼ GPx1 の発現と活性を亢進させ、活性酸素種 ROS 分解に関与する分子である。実際に、EAE の

CD4⁺T 細胞内では Npnt、SeP、GPx1 発現の増強と ROS 分解の亢進がみられ、さらに Npnt 抗体投与は Npnt、SeP、GPx1 発現亢進を抑制し ROS 分解を遮断したことから、本経路が Th17 と Treg 分化に関与すると予想した。そこで、ROS スカベンジャーである N-アセチルシステイン(NAC)の投与を行った結果、NAC は Npnt 抗体による Th17 抑制と Treg 亢進を有意に阻害することが分かった。さらに NAC は Npnt 抗体による EAE 抑制も阻害することを臨床スコアから明らかにした。これらの結果から、Npnt は ROS を介した Th17/Treg バランス制御を行うことで EAE 増悪化に関与することを明らかにした。

演題名：Pharmacokinetics-Pharmacodynamics 解析に基づく抗菌化学療法個別化への臨床的アプローチ

研究代表者（発表者）名：佐藤 雄己

所属（大学・学部・学科）：福山大学・薬学部・薬学科

感染症治療において、抗菌薬を効果的に使用するためには、Pharmacokinetics-Pharmacodynamics (PK-PD) 解析に基づく投与設計を実施することが重要である。集中・救急治療やがん化学療法などを行う特殊病態下の患者においては、基礎疾患や投与開始前後での全身状態の変化により、血中濃度の個体差が大きく、また、抗菌効果の指標となる起炎菌が特定されないため、PK-PD 解析に基づく血中濃度の評価や投与計画に難渋することも少なくない。演者は、超高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計を用いて、特殊病態下の患者における抗菌薬の血中濃度を測定し、有効性および安全性の観点から PK-PD 解析の有用性を検討した。その結果、いくつかの抗菌薬について、肺炎、持続血液透析濾過施行中の急性腎不全および血液悪性腫瘍における発熱性好中球減少症患者においては、PK-PD 解析により投与設計を行うと共に、それぞれの病態に応じ至適血中濃度を設定し、厳密な血中濃度の管理が必要であることを明らかにした。さらに、抗真菌薬については、副作用の発現防止の観点から、長期使用における PK-PD 解析の有用性を明らかにした。抗菌化学療法における PK-PD 解析は、特殊病態下で見られる薬物動態の「個体差」を「個別化療法」に展開するための有用なツールであると考えられる。これらのツールを用いて、臨床で得られる限定的な情報を最大限に活用し、抗菌化学療法を適正化していくことが重要であると考えられる。

演題名：内因性ステロイドの検査試料としての爪の有用性評価

研究代表者（発表者）名：小川 祥二郎

所属（大学・学部・学科）：福山大学・薬学部・薬学科

内因性ステロイドの体液・組織中のレベル変動の的確な把握は、種々の疾病の診断などに重要である。検査試料として汎用される血液と比較して、爪は無侵襲的に採取可能であり、慢性疾患診断用試料として期待が寄せられている。しかし、ステロイド検査試料における爪の有用性については十分に検討されていない。本研究ではテストステロン (TST)、コルチゾール (CRT)、プロゲステロン (PRG)、グリコケノデオキシコール酸 (GCDCA)、タウロケノデオキシコール酸 (TCDCA)、デヒドロエピアンドロステロンサルフェート (DHEAS) を対象に、これらの LC/ESI-MS/MS 定量法を開発し、左右の手の爪中含量差とそれらの性差を吟味した。右手の爪のステロイド含量 (R) と左手の爪の含量 (L) を測定した結果 ($n=20$)、GCDCA、TCDCA 及び DHEAS では R と L 間で大きな差が観察された。すなわち R と L どちらの結果を用いるかでステロイド含量の評価が異なることが示唆された。一方、TST、CRT 及び PRG では R、L 間の差は小さかった。TST などの疎水性の高いステロイドは手洗い、入浴等における溶失が少なく、L と R に差が生じにくいものと推察された。また、爪中 TST 含量及び爪中 PRG 含量には明確な性差が観察される一方で、CRT 含量にはそれが認められなかった。すなわち、性差に関して爪は血中レベルと同様の挙動を示す事が判明した。

演題名：低侵襲型センサによる嚥下時間の計測に関する基礎研究

研究代表者（発表者）名：穂苅 真樹

所属（大学・学部・学科）：岡山県立大学・情報工学部・人間情報工学科

超高齢社会を迎え、要介護人口が急速な増加傾向にある。介護現場では、様々な障害への対応が急がれており、嚥下障害への対応もそのうちの一つである。嚥下は、咀嚼した食物を飲みこみやすい大きさに取りまとめ喉の奥へ飲みこみ、食道から胃へ送り込むまでの動作で、加齢とともに低下傾向となる。そのため、誤嚥や栄養摂取量の低下などの恐れが高まることから、高齢者の嚥下の状態を把握または数値化し、その状態に適した嚥下食を提供しなければならない。

従来、嚥下を把握または数値化する手段として、スクリーニングテスト、内視鏡検査や EGG 等が使用されているが、検査者には専門的知識や経験を有することが望まれる。さらに、日常的に検査する場合、被検査者への負担も大きい。

研究の最終目標を高齢者の嚥下の状態に適した嚥下食に関する指標を提案することにより、本件ではその第一段階として、被検査者への侵襲性が低く、嚥下動作を計測するための方法について述べる。咽頭部に設置したコンデンサマイクロホンで採音し、信号処理回路で嚥下時に発生する音の信号成分のみを抽出し、ソフトウェアで嚥下時間を求めるシステムを試作した。次に、被検査者を本学女子学生 4 名とし、粘度の異なる試料の嚥下時間を本システムで計測するとともに、どの順に飲み込みやすかったかを被検査者に聞き取り調査を実施した。計測及び調査結果を定性的に比較したが、関連性は無かった。

演題名：着心地を考慮した作業時衣服(防護服やつなぎ等)の研究

研究代表者（発表者）名：船山 俊克

所属（大学・学部・学科）：岡山県立大学 デザイン学部 デザイン工学科

近年、毎年のように何らかの感染症が話題になっている。感染防止の方法は様々あるが、実際に感染者と接する場合、マスクや防護服などの有効性は周知の通りである。今回の新型コロナウイルスでは、マスクの不足とともに防護服の不足も話題になり、各医療機関が工夫を凝らして、独自の防護服の制作を行っていることも報道された。本研究者の専門はデザインであるが、デザインの領域でも防護服に対する活動が見られ、生地のパターンの無料配布などがインターネットを始め一部で注目を集めた。現在用いられている防護服は基本的にディスポザブルであり、使い終わった後は汚染箇所に触れないように脱ぎ、廃棄される。そのため、必要数が一気に向上した場合、今後も同様のことは起こりうる。

この問題に対する解答は主に次の二つである。「より安価で生産性に優れたディスポザブル型防護服」を開発するか、「滅菌処理が可能な再利用可能型防護服を新規開発」するかである。後者の場合、商品単価を上げることができ、生地やパターン開発に対してコストを割くことができる。

我々はこれまでに生地の風合い研究を行ってきた。昨年行ったジーンズを対象とした実験では、生地の 6 種類全ての力学的特性を計測し、それぞれの値が着心地とどのように関係しているかを考察し、その一部に相関関係があることがわかった。今期はここにパターンの研究を適応し、着心地の良い防護服デザインに着手する。

演題名：高暑下におけるマスク装用時の温熱環境

研究代表者（発表者）名：池田 理恵

所属（大学・学部・学科）：岡山県立大学・保健福祉学部・看護学科

COVID-19 の感染対策として「新しい生活様式」が提言され、身体的距離、マスク着用、手洗いが推奨されている。外出時、屋内にいるときや会話をするときは症状がなくてもマスクを着用することが求められているが、熱中症のリスクについても注意する必要がある。しかし、マスクを装用した時の温熱環境に関する報告はほとんどない。そこで、健康な標準的体格の 20 歳代成人男性 1 名を対象に室温 29℃ の環境で、マスク周辺の温熱環境を測定したので報告する。エアコンを使用しない室内で、サージカルマスクと絹製マスクの 2 種類のマスクを、安静 10 分、運動（軽い歩行）10 分の計 20 分間装用し、マスク内側の温度・湿度、マスク外側の温度・湿度、頬と体表面 4 か所の皮膚温（グラム（株）：LT-8B）、発汗、鼓膜温（テクノネクスト（株）：BL100）、心拍数（フクダ電子：FM-180）を連続測定した。さらに、安静、運動 10 分毎にサーモグラフィを撮影した。マスク内は安静時、サージカルマスク

34.8±0.2℃、89.8±2.2%、絹マスク 32.1±2.0℃、77.4±13.5%と絹マスクが低かった。サーモグラフィでも絹マスクは呼吸により熱や湿気をマスク外に放散している様子が窺えた。運動時のマスク内の温度・湿度に素材による差はなく、高暑下では軽い運動であってもマスク装用により熱中症のリスクを高めることが示唆された。

Ⅲ. 抄録

課題番号：R01 基-074

研究課題： *Inhbb* 転写制御における転写因子 Runx3 による新規作用の解明

研究代表者名（所属）：小島 史也（自然科学）

共同研究者名：西松 伸一郎

転写因子 Runx3 を欠く雌マウスは無排卵で不妊になることが知られている。申請者はこれまでにマウス卵巣内において *Runx3* mRNA 発現が卵胞顆粒膜細胞に局在することを明らかにし、*Runx3* 欠損マウスの卵巣では卵胞成熟やステロイド産生が低下していることや、卵胞成熟やステロイド産生に重要な因子である、activin や inhibin をコードする遺伝子の mRNA 発現が低下していることを報告した。

マウスゲノムデータベースより、*Inhbb* の上流域に Runx3 の認識配列と考えられる配列が複数箇所存在することから、本研究では、転写因子 Runx3 による *Inhbb* 転写制御に対する関与を検討した。

マウス卵胞顆粒膜細胞由来の OV3121 細胞を用い、Luciferase assay により *Inhbb* のプロモーター解析を行った。その結果、*Inhbb* 上流-1241 bp から-892 bp の間で Runx3 発現により、*Inhbb* のプロモーター活性に変化が見られた。-1241 bp から-892 bp の間の Runx3 の結合予測配列に変異を入れたコンストラクトでは、プロモーター活性が低下し、また、Runx3 発現によるプロモーター活性の変化は見られなかった。

以上のことから、Runx3 は *Inhbb* の転写制御に関与していることが考えられた。

課題番号：R01 基-080

研究課題：高次脳中枢から嗅球神経回路への遠心性投射機構：ヒスタミンニューロン

研究代表者名（所属）：樋田 一徳（解剖学）

共同研究者名：佐藤 慧太、堀江 沙和

我々はこれまで嗅覚系一次中枢嗅球における嗅覚情報処理機構に注目し、単一ニューロン標識と三次元構造解析を行い、縫線核からのセロトニン 5HT ニューロン (Suzuki et al 2015)、対角帯水平脚 HDB からのアセチルコリン Ach ニューロン (Hamamoto et al 2017)、青斑核からのノルアドレナリン NA ニューロン (Horie et al 2020 投稿中) の嗅球への遠心性投射を明らかにした。一連の研究の流れで、本研究は、ヒスタミンニューロンの遠心性投射を明らかにすることを目的とするものである。

ヒスタミンニューロンの細胞体は視床下部乳頭体核 (Tuberomammillary nucleus: Tmn) に存在し、そこを起始核として嗅球を含む脳内に投射する。ヒスタミンおよびヒスタミン合成酵素のヒスチジン脱炭酸酵素 (histidine decarboxylase: HDC) に対する抗体を用い染色した結果、起始核 Tmn で細胞体が、更に分界条床核に多くの varicosity を有する細い線維が確認できた。嗅球では顆粒細胞層の深部に varicosity 有する細い線維が見られた。現在、嗅球からの逆行性標識を併用し、起始核からの投射を解析している。将来的に Histamine-Cre マウスを用いた単一ニューロン標識を解析予定で、関連委員会には承認済みで現在動物導入の手続き中である。

課題番号：R01 基-041

研究課題：視床下部腹内側核における NR5A1 の機能解明

研究代表者名（所属）：嶋 雄一（解剖学）

NR5A1 (Ad4BP, SF-1) は核内受容体型の転写因子であり、視床下部腹内側核、下垂体ゴナドトロピン産生細胞、脾臓、副腎皮質および生殖腺に発現しており、各組織の発生と機能維持に重要な役割を果たしている。このうち、視床下部腹内側核 (Ventromedial Hypothalamic Nucleus, VMH) は摂食中枢および雌の性行動の中枢として知られているが、VMH における NR5A1 の機能の詳細は不明である。我々は *Nr5a1* 遺伝子の第 6 インترونに VMH 特異的発現調節領域 (エンハンサー) を同定したことから (Shima Y, et al., *Mol Endocrinol* 19:2812-23, 2005)、今回、ゲノム編集によって VMH エンハンサーを欠失させたマウスを作出した。

エンハンサーヘテロ欠損マウスは雌雄ともに生殖能力を有していたが、産仔の数が少ない傾向があり、また F1 世代は 5~10 匹に 1 匹の割合で、成熟前に死亡した（原因は不明）。これまでに得られたエンハンサーホモ欠損マウスでは、VMH における NR5A1 の発現が消失していた。これらのマウスの発生は正常であったが、雌雄ともに出生後の体重増加がコントロールマウスよりも有意に大きく、肥満を呈した。現在マウスの交配を続けており、十分な数のマウスが得られれば、エンハンサー欠損による VMH の遺伝子発現パターン変化を明らかにする予定である。

課題番号：R01 基-053

研究課題：視床の巨大シナプス終末発達を制御する遺伝子の網羅的探索

研究代表者名（所属）：林 周一（解剖学）

大脳皮質の異なる領域間の情報伝達には、大脳皮質から視床への軸索投射が重要な働きをすることが示唆されている。大脳皮質から視床への主要な出力を担うのは、大脳皮質 5 層ニューロンであり、そのシナプス形成制御を理解することは、大脳皮質から視床への出力機構を理解する上で重要である。そこで本研究は、生後初期のマウスの脳において、大脳皮質 5 層から視床核への投射のシナプス形成を制御する遺伝子群を同定することを目的として行った。

まず、脳スライス上で視床後核の位置を正確に同定するために、大脳皮質 5 層特異的に発現する Rbp4-Cre マウスとレポーターマウスをそれぞれ米国と英国から導入した。両系統をかけ合わせることで、大脳皮質 5 層軸索が蛍光標識され、軸索の投射先である視床後核を他の視床核から区別することが可能となった。視床後核は微小領域のため、遺伝子発現解析に先立ち、視床後核から RNA を抽出する条件設定を行った。成獣マウスの脳スライスを作製し、蛍光顕微鏡下で視床後核を同定した。その後、メスで視床後核を切り出し、RNA 抽出作業を行った。引き続き、生後 1, 2 週のマウスの脳の視床後核からも RNA 抽出を行い、RNA sequencing による遺伝子発現解析を行う予定である。

課題番号：R01 基-056

研究課題：脾臓形成過程における脾洞杆状内皮細胞の特性と細胞間相互作用の解析

研究代表者名（所属）：小野 公嗣（解剖学）

共同研究者名：嶋 雄一

NR5A1 は核内受容体型の転写因子であり、ステロイドホルモン産生組織である副腎や生殖腺の発生に必須の因子であることが報告されている。我々は、*Nr5a1* 遺伝子の組織特異的エンハンサー領域を探索する過程で、本遺伝子の脾臓エンハンサー（Spleen enhancer, SpE）を同定し、その欠損マウスの作製に成功した。NR5A1 が発現する脾洞の杆状内皮細胞については、これまでその分化メカニズムは不明であった。本研究では、脾臓エンハンサー欠損マウス（ Δ SpE）を用いた形態学的解析により、脾臓エンハンサー欠損に伴う杆状内皮細胞の形態異常について検証を試みた。

Δ SpE の脾臓の HE 染色を観察したところ、欠損マウスにおいて白脾髄が実質の中心に融合して存在しており、血管の発達が悪く、白脾髄に中心動脈がほとんど認められなかった。次に、 Δ SpE の脾洞を免疫染色により解析した。その結果、Laminin の染色で見られる基底膜において、脾洞に特徴的な間隙が Δ SpE では観察されなかった。杆状内皮細胞マーカー Stabilin-2 および、血管内皮細胞接着因子 VE-Cadherin の発現は Δ SpE で弱い傾向にみられた。VE-Cadherin で縁取られた杆状内皮細胞の形態は、 Δ SpE において杆状というよりは多角形をしたものがみられた。以上の結果は、昨年走査型電子顕微鏡による観察結果を支持するものとなった。

以上の結果から、NR5A1 は杆状内皮細胞の機能分化に重要な因子であり、また杆状内皮細胞が脾臓形成過程で大きな役割を果たしている可能性が示唆された。

課題番号：R01 基-082

研究課題：ラット嗅球糸球体におけるカルレチニン免疫陽性ニューロンの形態学的解析

研究代表者名（所属）：野津 英司（解剖学）

嗅球は匂い情報の一次中枢であり、鼻腔の嗅上皮で受容された匂い分子の情報を嗅球表層の糸球体で受け入れ、処理した後、より高次の中枢へと投射する。この匂い情報の処理については、嗅球の介在ニューロンが形成する神経回路が重要な役割を果たしており、様々な研究が行われている。嗅球の主要な介在ニューロン群の1つである傍糸球体細胞は、神経化学的な特徴によって細分化され、それぞれが形成する神経回路が解析されている。しかしながら、傍糸球体細胞全体の20%を占めるカルレチニンを含有するニューロン群（CRニューロン）については、その詳細は明らかになっていない。本研究では、電子顕微鏡を用いてCRニューロンが形成する神経回路の形態学的な解析を行い、CRニューロンの樹状突起に対して、興奮性と考えられる非対称性シナプスが形成されている象を確認した。非対称性シナプスを形成している相手としては、糸球体内で興奮性シナプスを形成する嗅受容細胞もしくは嗅球の投射ニューロンである僧帽細胞・房飾細胞が候補としてあげられるが、これまでに確認したCRニューロンへ非対称性シナプスを形成している神経要素は、嗅受容神経とは電子顕微鏡で認められる特徴が異なっており、僧帽細胞・房飾細胞が有力な候補であると考えられる。今後CRニューロンへ入力している神経の特定とCRニューロンからの出力についての検討を進める。

課題番号：R01 基-084

研究課題：マウス嗅球におけるノルアドレナリン、アセチルコリンによる調節機構の形態学的解析

研究代表者名（所属）：堀江 沙和（解剖学）

嗅覚情報処理をする1次中枢である嗅球では、糸球体において僧帽細胞へと情報が伝えられ、さらに高次中枢へと伝えられる。一方、嗅球へは脳の他の領域より遠心性の入力があることが知られているが、その詳細は不明であった。そこで、遠心性入力のうちノルアドレナリン（NA）およびアセチルコリン（Ach）に注目し、遠心性の入力による嗅球内神経回路の調節機構の解明を最終目的とし、本研究では嗅球内でのNAニューロンの微細形態を解析した。

NAニューロンの線維は、非常に少ないが嗅球内の各層でシナプスを形成していた。シナプスは全てNAニューロンの線維のvaricosity部分で見られ、その頻度やシナプスを形成する相手が嗅球内の各層で異なる事が明らかとなった。中でも、外網状層（EPL）においては、NAニューロンの線維が僧房細胞の樹状突起とシナプスを形成していることが連続切片法を用いた電子顕微鏡3次元立体再構築像より明らかとなった。さらに、NAとAchの神経線維の関係を調べるために、各神経線維に特異的なマーカーを用いた免疫組織化学的手法を行い、その嗅球内での走行を調べた。興味深いことに、嗅球におけるAchおよびNA線維の分布は相補的に見られた。具体的には、Achは糸球体層（GL）では糸球体内に多くの線維が入り、枝分かれをし、EPLでは、outer-halfに多く線維が見られた。一方、NA線維はGLでは糸球体内ではなく、糸球体の周囲に、EPLではinner-halfに多くの線維が観察される傾向にあった。

課題番号：R01 ス-005

研究課題：嗅球 GABA ニューロンの免疫組織化学的解析による分類

研究代表者名（所属）：佐藤 慧太（解剖学）

GABAを発現する抑制性の介在ニューロン（GABAニューロン）は、様々な脳領域における神経回路の、極めて重要な構成要素である。嗅覚の一次中枢である嗅球においても、GABAニューロンが存在し、嗅球内の局所神経回路を介して嗅覚情報の調整に関与する。嗅球GABAニューロンを免疫組織化学的に可視化すると、そのGABA免疫陽性反応強度に多様性がある。しかし、このようなGABA免疫陽性反応の多様性に着目した解析はなされておらず、その機能的意義も不明であった。本研究では、嗅球のGABAニューロンにおけるGABA免疫陽性反応強度の多様性を、免疫組織化学的解析によって定量的に明らかにする。

まず、蛍光標識したGABA免疫陽性反応を共焦点レーザー顕微鏡で観察し、細胞ごとの蛍光強度を計測した。結果、嗅球GABAニューロンの大部分が存在する顆粒細胞層において、GABA免疫陽性反応の細胞間における顕著な差の存在が明らかになった。その細胞数の分布は、強い反応強度を示す細胞が少数で

あるのに対し、弱い反応強度を示す細胞は多い傾向が観察された。さらに本研究では、観察条件による変動を排除したより正確な計測を行うため、免疫陽性反応を金粒子によって標識し、超高圧電子顕微鏡を用いた可視化を試みた。結果、細胞間で金粒子密度に差があり、さらに、その密度によって分類されるいくつかの細胞群の存在が示唆され、GABA 免疫陽性反応の多様性の詳細を明らかにした。

課題番号：R01 基-072

研究課題：放射光施設 SPring-8 位相差 CT による心筋分裂能を維持した遺伝子改変マウス心臓の非固定微細構造評価法の確立

研究代表者名（所属）：毛利 聡（生理学 1）

共同研究者名：橋本 謙、花島 章

我々は胎児期に心筋細胞の分裂を促進し出生後の呼吸開始による酸素分圧上昇によって発現が著減する Fam64a の心筋細胞特異的過剰発現するマウスにおいて、心筋細胞の分裂能は維持されるものの心機能は低下することを確認した。原因の探索において心筋細胞分裂の維持による心室の乳頭筋や肉柱、腱索などの構造変化を非固定で異なる力学条件下で評価する必要があり、放射光施設 SPring-8 位相差 CT を用いて実験を行った。マウスは吸入麻酔薬イソフルランの深麻酔下に開胸して心臓を摘出し、高カリウムの心臓停止液にて灌流して弛緩状態で電氣的活動を停止させた。左心室内腔を重点するメディウムとして 2%濃度のアガロースゲル、10%ゼラチン、超音波検査用エコーゲルを試用した。これらを注入するために大動脈に 24G エラスターを留置して、生理的な拡張期心室圧（5mmHg）にてメディウムを充填し位相差 CT にて撮影した。X 線タルボ干渉計（透過型回折格子ピッチ $4.8\mu\text{m}$ ）を用い、sCMOS カメラと組み合わせた際のピクセル分解能は 6.5 ミクロン程度であった。2%濃度のアガロースゲルは流動性を維持するために 50℃程度が必要でありタンパク変性が問題となった。ゼラチンは密度が高く心臓組織とのコントラストが不十分であり、エコーゲルを用いた撮影で最も良好な画像を取得することが出来た。

課題番号：R01 基-045

研究課題：Fam64a 及び APC/C を用いた心筋再生の実現に向けた基礎的検討

研究代表者名（所属）：橋本 謙（生理学 1）

共同研究者名：毛利 聡、西松 伸一郎、花島 章

心筋梗塞や心不全等の心疾患には根本的治療が存在しない。iPS 細胞等の未分化細胞から体外で心筋を作製する研究が精力的に進められているが、現時点で作製し得る心筋細胞は胎児心筋程度の成熟度（分化度）であり、成体心筋の機能を補うには不十分である。これに対して近年、分裂が活発な胎生期の環境を成体心筋に導入することで分裂再生能の回復を目指す戦略が注目されている。我々は、胎生期の低酸素環境が心筋分裂に必須であることを突き止め、低酸素下で心筋分裂を促進する新規遺伝子 Fam64a を同定した。Fam64a の過剰発現（TG）マウスを作製したところ、期待通り成体期心筋の分裂は促進されたが、一方で加齢と共に心機能が悪化した。本年度は、この心機能悪化の機序を明らかにすべく研究を進めた。RNA-seq 解析では、TG マウスにおいて最も変動したパスウェイとして意外にも「概日リズム」が同定された。そこで、テレメトリー実験を行ったところ、TG マウスでは昼夜の心拍変動リズムに異常が見られ、高頻度に心室期外収縮が認められた。現在、活動電位などの心筋電気活動の計測を行っており、過剰な Fam64a が概日リズム制御を介して心筋電気活動を障害する可能性を検討している。また、当初は Fam64a の過剰蓄積を防ぐ目的で、Fam64a を分解に導くユビキチンリガー APC/C とのダブル過剰発現マウスを作製する計画であったが、予定通り進んでいない。現時点では培養細胞レベルで APC/C の活性化を確認している段階であり、次年度に挑戦する予定である。以上の検討により、Fam64a の過剰蓄積による心機能悪化を回避する方策を検討し、Fam64a を用いた心筋再生の実現に向けた基盤知見を得ることを目指す。

課題番号：R01 基-054

研究課題：筋弾性蛋白質コネクチン張力感知機構を介した心疾患の病態生理解明

研究代表者名（所属）：花島 章（生理学1）

共同研究者名：毛利 聡、橋本 謙

心臓のポンプ機能は血圧や血液拍出量などの力学的環境に応答して調節されている。しかし、力学情報感知からポンプ機能調節に至るまでの分子機構の多くは未解明である。心臓の拡張期には、心筋細胞サルコメアのZ線からM線までを一分子で繋ぐ弾性蛋白質コネクチンが分子バネとして大きく伸展する。そこで本課題では、弾性蛋白質コネクチンのバネ領域が心臓のメカノセンサーとして力学情報を感知するとともに、心臓のポンプ機能を調節していることを明らかにする目的で様々な角度から研究を進めた。その結果、薬剤投与で作製した肺高血圧症ラットでは、血行動態負荷が増加した右室において、長いバネ領域を持つコネクチン N2BA アイソフォームの発現割合が増えた。一方、負荷の低い左室では発現が増えていないため、液性因子ではなく、圧負荷によってコネクチンのアイソフォーム転換が起きる可能性が高いことが示唆された。さらに、心臓で高発現な新規コネクチン結合蛋白質の K0 マウスで、コネクチンの発現量が増える分子機構解明のために、心筋細胞の構造機能関連の各種分子を解析し、心筋細胞カルシウムの流通量を調節する PLN の発現及び、膜蛋白質である ITG の発現変化を見出した。膜蛋白質の変化がサルコメア蛋白質の発現量やカルシウム動態の変化に至る分子機構の更なる解析を深め、心疾患の病態生理解明に繋げていく。

課題番号：R01 基-017

研究課題：脊髄損傷モデルラットに対する下腿筋電気刺激による運動機能改善効果のメカニズム研究—BDNF 関与の検証

研究代表者名（所属）：宮本 修（生理学2）

共同研究者名：氷見 直之、丸山 恵美、林 範人

昨年度、脊損ラットの下腿骨格筋を電気刺激することで運動機能の回復が起こり、その際、BDNF が細胞保護と神経軸索再生に関与した可能性について報告した。今回、BDNF を介した機能回復のメカニズムとして筋収縮の必要性和その情報の伝達経路について検討した。重りを T9 レベルに落下させてラット脊損モデル（SCI）を作成し、損傷直後から両側前脛骨筋に経皮的電気刺激（ES）を行った。ラットを SCI のみ群、SCI+ES 群、後根求心路切断群（SCI+DRX+ES）、筋弛緩剤であるダントロレン投与群

（SCI+Dant+ES）に分けた。運動機能の評価には BBB スコア、傾斜台試験などを用いた。損傷中心部の BDNF 産生細胞の密度とアポトーシス細胞数を測定した。また、L2-4 後根神経節（DRG）の BDNF/NeuN 二重染色及び皮質脊髄路の BDA 神経トレーサーと pGAP43 の二重染色を行った。損傷 6 週間後、SCI+ES では全ての運動試験が改善し、損傷中心部への軸索伸長が認められた。損傷 3 日後の SCI+ES 群は他群と比べて DRG と損傷部の BDNF 陽性細胞が増加し TUNEL 陽性細胞が減少した。一方、SCI+DRX+ES と SCI+Dant+ES ではそれらの効果が減少した。以上の結果から、ES による運動機能改善のメカニズムとして、下腿骨格筋の収縮情報が脊髄求心路を介した経路で脊髄 BDNF 産生を促進したことが考察された。

課題番号：R01 基-022

研究課題：マイクロスフェア脳塞栓認知症モデル動物の海馬のシナプス伝達特性

研究代表者名（所属）：氷見 直之（生理学2）

共同研究者名：宮本 修、丸山 恵美、坂本 一晴

運動障害が見られないにも関わらず記憶能の低下が生じる軽度脳梗塞の発症メカニズム解明のため、マイクロスフェア（MS）脳塞栓モデルラットの海馬シナプス伝達特性の変化を解析した。

H30 年度プロジェクト研究にて、電気生理学的手法にて海馬ニューロンの活動を記録した結果、CA1 ニューロンのチャネル特性および CA3-CA1 シナプスにおける paired pulse facilitation（PPF）において MS 群と sham 群間に有意な差はなかった。そこで R1 年度はシナプス関連分子の比較を中心に行った。

MS 脳塞栓ラットは、8 週齢 SD ラットを麻酔後頸部を切開し、外頸および翼口蓋動脈を一時的に閉止した状態で総頸動脈より MS（径 45 μ m）を注入し作製した。sham 群は同様の手法で生理食塩水のみを注入し

た。本モデルにおいて運動機能の低下を伴わない認知機能（空間記憶脳）の低下が生じることは従来のプロジェクト研究で既に確認している。

塞栓作製 7 日後の脳組織より海馬を摘出して抽出後 Western Blot にてシナプス伝達に関連するタンパクの発現を確認した。対象として海馬の前シナプス (synaptophysin) および後シナプス (PSD95) および樹状突起 (MAP2) を調べた。結果として、synaptophysin および MAP2 は sham 群と MS 群で差はなかったが、PSD95 は MS 群で有意に低下していた。

課題番号：30 基-055

研究課題：脳梗塞リハビリテーションにおける時間依存性を司る分子メカニズムの解明

研究代表者名（所属）：岡部 直彦（生理学 2）

共同研究者名：氷見 直之

脳梗塞後リハビリテーションの効果は時間依存的であり術後一定期間を経過すると効果が減弱することが知られているが、どのような遺伝子発現変化がリハビリテーションの時間依存性に影響を与えているかは明らかになっていない。本研究では①脳梗塞後リハビリテーションにより再構成される神経回路を同定し、②再構成回路における遺伝子発現がリハビリテーションの実施時期によりどのように変化するかを明らかにする。現在までの研究では①を目的として下記の 3 実験を行った。1. 行動試験によるリハビリテーションの効果検証と機能回復を担う脳領域および神経細胞種の同定、2. 樹状突起スパイン解析によるシナプス動態の解析、3. 狂犬病ウイルスをもちいた単シナプス経路解析。

これらの実験からはそれぞれ以下の可能性が示唆された。

①脳梗塞後リハビリテーションは脳梗塞により生じた機能障害を回復させるが、この機能回復は対側（健常側）脳よりも梗塞側脳の残存脳領域である前運動野に依存する。

②脳梗塞領域に投射する神経細胞では樹状突起スパインが減少し、リハビリテーションはこれらの異常を回復する。

③一次運動野への脳梗塞により梗塞脳体性感覚野・視床および対側脳前運動野から梗塞側前運動野へのシナプス入力が障害され、リハビリテーションではこれらの障害が軽減される。

課題番号：R01 基-029

研究課題：近赤外線蛍光顕微鏡による腹膜微小循環障害の評価

研究代表者名（所属）：矢田 豊隆（生化学）

共同研究者名：山内 明、立花 博之

【目的】腹膜微小血管障害の発症メカニズムを理解する上で、内皮由来弛緩因子 (endothelium-derived releasing factor, EDRF) の作用の場である腹膜微小血管の循環動態を評価することは、重要である。今回、EDRF、特に、内皮依存性過分極 (endothelium-dependent hyperpolarization, EDH) としての過酸化水素 (H_2O_2) の腹膜微小血管に対する拡張効果を明らかにすることによって、腹膜微小血管障害の早期診断技術開発を目的とする。

【方法】正常犬群を対象に麻酔開腹後、腹腔動脈の枝にカニューレーションを行った。内皮依存性血管拡張薬 (ブラジキニン $3 \mu g/min$ 動注) を投与し、拡張作用は、近赤外線蛍光顕微鏡を用いて評価。ブラジキニン投与時、EDH/ H_2O_2 阻害薬 (血管内皮レベルでの H_2O_2 分解薬 catalase $1200U/kg$ 投与前後で血管拡張反応を評価し、EDH/ H_2O_2 の関与を明らかにした。

【結果】ブラジキニン投与後、腹膜微小細動脈において有意な拡張を認め、その反応は、EDH/ H_2O_2 の分解薬 catalase によって有意に減弱した。

【結論】近赤外線蛍光顕微鏡によるイヌ生体内腹膜微小細動脈のブラジキニンに対する拡張を認め、その反応は、catalase によって減弱され、内皮由来過分極/過酸化水素を介する反応と思われた。

課題番号：R01 基-049

研究課題：光干渉断層法（OCT）ガイドと冠動脈造影法ガイドの冠動脈ステント留置における有効性の比較
研究代表者名（所属）：根石 陽二（循環器内科学）

背景：Optical coherence tomography（OCT）の正確な血管サイズ計測能力・高いプラーク組織性状診断能力・優れたステント血管反応の評価能力は、冠動脈造影に比べて、より安全に大きなステント拡張をもたらし、経皮的冠動脈インターベンション（PCI）治療成績の向上に寄与する可能性がある。PCI 治療における OCT ガイドと冠動脈造影ガイドの有効性を比較検討することを目的とした。

対象：PCI 適応の新規病変を有する 16 例の安定狭心症患者を対象とした。対象患者を OCT ガイド PCI 群あるいは冠動脈造影ガイド PCI 群のいずれかに 1:1 の割合でランダムに割り付けた。両群ともステント留置後に OCT 施行しステント内を観察し追加治療の必要性を判断している。2 群の患者背景および PCI 手技（ステント径・長および最大拡張気圧、総造影剤量、透視時間、PCI 後の OCT 所見や後拡張の有無など）を比較検討した。

結果：患者背景には、年齢・性差・合併疾患や脂質データ・HbA1c・腎機能・CPK や内服薬などに 2 群間で有意差は認めなかった。ステントのサイズ（径・長）や最大バルーン拡張圧は 2 群間に有意差なく、ステント留置までの総造影剤量は冠動脈造影ガイド PCI 群で有意に少なかったが PCI 終了時の総造影剤量は 2 群間で有意差はなかった。ステント留置後の OCT 観察後に後拡張が必要な症例および合併症は、有意差はなかったが冠動脈造影ガイド PCI 群で多い傾向であった。

結語：OCT は血管サイズのみならず冠動脈プラークの有無や性状が確認できることで、ステントの留置部位やステントサイズを安全かつ正確に判断でき、合併症およびステント拡張不良・圧着不良を低減可能である。OCT ガイド PCI は冠動脈造影ガイド PCI に比しより安全かつ正確な PCI が施行できる。

課題番号：R01 基-048

研究課題：研分岐部病変における Proximal Optimizing Technique のステントベンチ比較

研究代表者名（所属）：久米 輝善（循環器内科学）

冠動脈分岐部病変をステントで治療する場合 Re-POT（proximal optimizing technique）sequence

（POT+側枝穴あけ+second POT）にてステント留置する方法が行われるようになった。しかし、どのようなステント・方法が、分岐部病変に対し有効かどうか十分な検討はなされていない。我々はベンチテストにて、Re-POT 後にステントの拡張性や圧着不良、側枝入口部の Jail 率に差があるがどうか各種ステントを用いて比較検討した。また、側枝穴あけの際に我々が考案した Proximal balloon edge dilation 法（PBED 法）と通常の方法で、側枝入口部の Jail 率に差があるがどうか検討した。結果は、側枝入口部 Jail 率にはステント間で有意差を認めた。また、側枝穴あけの際に PBED 法で拡張した方が、通常の方法で行う場合より、有意に Second POT をした際の側枝入口部 Jail 率の悪化が抑制された。今回の検討で、冠動脈分岐部病変をステントで治療する際に、最適なステントの種類が判明し、また我々が考案した PBED 法は側枝入口部の Jail 率が有意に良好であった。側枝入口部のステントストラットの Jail は新生内膜被覆による側枝血流障害を来しうるため臨床上重要なポイントとなる。今回の結果は冠動脈分岐部病変の治療成績の改善に貢献すると考えられた。

課題番号：28 基-075

研究課題：Impact of PCSK9-inhibitors versus guideline directed statins therapy on no-culprit plaque characteristics in patient with acute coronary syndrome

研究代表者名（所属）：山田 亮太郎（循環器内科学）

共同研究者名：久米 輝善、岡本 公志、玉田 智子、古山 輝将、今井 孝一郎、根石 陽二、上村 史朗

Background: The impact of achieving very low LDL-C levels with proprotein convertase subtilisin/kexin type 9-inhibitors（PCSK9i）on plaque stabilization has not been fully investigated. The purpose of this study was to evaluate the impact of incremental LDL-C lowering with PCSK9i add-on for plaque stabilization compared with guideline directed statins therapy in acute coronary syndrome（ACS）patients.

Methods: A total of 40 non-culprit lesions from 21 patients with ACS were retrospectively examined. Plaque vulnerability and volumetric measurements were assessed by serial optical coherence tomography (OCT) at baseline and 9 months follow-up. Eleven patients received statin alone, and 10 patients received PCSK9i with statin for 9 months.

Results: There were no significant difference in patient backgrounds and baseline OCT findings except for the prevalence of familial hypercholesterolemia. In follow-up, LDL-C was significantly decreased in PCSK9i group. Frequency of thin cap fibroatheroma, delta change of cap thickness and mean lipid arc were significantly improved in PCSK9i group.

Conclusions: Plaque vulnerability in PCSK9i group might be improved even though high prevalence of familial hypercholesterolemia.

課題番号：R01 若-001

研究課題：免疫関連遺伝子 Ido に着目した慢性前立腺炎に対する炎症抑制機構の解明

研究代表者名（所属）：大平 伸（泌尿器科学）

【目的】慢性前立腺炎は複雑で未解明な病態であるため、現段階では有効性を示す治療薬が乏しい。ヒト慢性前立腺炎の病態を最も反映する動物モデルが、自己免疫誘発慢性前立腺炎 (experimental autoimmune prostatitis: EAP) モデルであると考えられている。Ido は、必須アミノ酸であるトリプトファンのキヌレニン代謝経路における律速酵素である。Ido は生体内の炎症反応に関与しており、前立腺に高く発現していることが知られている。今回、EAP モデルマウスを用いて慢性前立腺炎に対する Ido 阻害による発症抑制作用を検証した。【対象と方法】Wistar ラット・5 週齢から摘出した前立腺組織を用いて前立腺抗原を抽出した。Ido ノックアウト型 (Ido^{-/-}) および野生型 (Ido^{+/+})、C57BL/6J マウス・10~15 週齢に前立腺抗原を皮下投与 (肩部・尾部) することで EAP モデルを作成し、両群間における前立腺内の変化を比較解析した。【結果】HE 染色および Masson-Trichrome 染色を用いた組織学的解析では、Ido^{-/-}EAP マウスにおいて、間質を中心とした炎症細胞浸潤および線維化が抑制されていた。炎症性変化に着目した網羅的タンパク定量解析では、Ido^{-/-}EAP マウスにおいて、M-CSF・IL-1 β ・CCL2・CCL3・CXCL2・TIMP-1 の抑制を認めた。蛍光免疫染色を用いた免疫組織学的解析においても、同様の結果が得られた。【結論】Ido は、前立腺内における間質を中心とした炎症性変化および線維化の発症に関連している可能性がある。Ido 阻害は、これらの変化を抑制することで慢性前立腺炎の発症抑制作用を示す可能性がある。

課題番号：R01 基-073

研究課題：精巣虚血再灌流障害における造精機能障害に関連する炎症性変化の網羅的解析および病態関連因子阻害薬を用いた創薬研究

研究代表者名（所属）：清水 真次朗（泌尿器科学）

共同研究者名：平田 啓太、大平 伸、西下 憲文、宮地 禎幸、永井 敦

【目的】精巣虚血は、泌尿器領域における緊急疾患の 1 つであり、速やかな血流改善が求められる。適切な血流改善が得られた場合でも造精機能障害に至ることがあり、その病態は明確にされていない。虚血再灌流障害を来す代表的疾患において、炎症性変化が臓器機能障害を誘導することが報告されている。今回、炎症性変化に着目して精巣虚血再灌流による造精機能障害の病態解析を行った。【対象と方法】実験動物は、10~15 週齢、C57BL/6J マウスを用いた。左精巣血流を 1 時間遮断した後、血流を再開することで精巣虚血再灌流モデルマウスを作成した。比較対照群を同条件の偽手術マウスとした。血流再開後 1、3、5 週目における精液所見と組織変化を比較検証した。【結果】精液検査では、再還流 1 週目から精子濃度と運動率の低下を認めた。炎症性変化に着目した網羅的タンパク定量検査では、再還流 1 週目から EGF・IL-2・CCL2・CCL3 の上昇を認めた。これらの炎症性変化に続いて、酸化ストレスの過剰産生および細胞死の出現を確認した。右側精巣においても左側精巣に追従して同様の変化が認められた。【結論】精巣虚血再灌流では、炎症性変化の出現時期に精液所見の増悪が認められた。これらの変化は、対側精巣においても認められて造精機能障害に至ることから、これらの炎症性変化が病態関連

因子となり得る可能性がある。現在、病態関連因子阻害による造精機能保護効果を検証する実験を予定している。

課題番号：R01 基-009

研究課題：シュワン細胞での異型トランスサイレチン凝集の研究：細胞死への関与について

研究代表者名（所属）：村上 龍文（神経内科学）

共同研究者名：砂田 芳秀

昨年度のプロジェクト研究で TTR アミロイドニューロパチー腓腹神経を TUNEL 法で染色をすると TUNEL 陽性細胞を多数認め、これらの細胞は透過型電子顕微鏡での観察でシュワン細胞であった。また腓腹神経の細胞の一部は TTR 陽性であることから、シュワン細胞の TTR 凝集がアポトーシスを惹起していることが示唆された。

そこで本研究では我々が独自に FAP モデルマウス DRG から樹立した不死化シュワン培養細胞 TgS1 を用い、異型 TTR がアポトーシスを関与するかを調べることにした。FAP モデルマウスでは、熱ショック因子 1 (Hsf1) を低下させると末梢神経に TTR アミロイドが沈着することが報告されている。そこで TgS1 に Hsf1 siRNA を導入し、Hsf1 を低下させて TTR 凝集を増加させて、Tali™ apoptosis kit を用い、アネキシン V 陽性細胞、PI 陽性細胞を定量し細胞死を調べた。その結果この条件ではアポトーシスの有意な増加は観察されなかった。次に TgS1 を無血清培地で培養し、同様にアネキシン V/PI 染色で検討すると約 10% の TgS1 でアポトーシス細胞死が惹起された。

以上のことから現在 TgS1 に Hsf1 siRNA を導入後に、後無血清培養を行い、この条件で TTR 凝集とアポトーシスが関連するかを検討している。

課題番号：R01 基-035

研究課題：当科外来受診患者の臨床情報登録システムの構築（長期間にわたる前向き観察研究）

研究代表者名（所属）：久徳 弓子（神経内科学）

共同研究者名：砂田 芳秀、三原 雅史、吉武 亜紀

認知症における BPSD (Behavioral Psychological Symptoms of Dementia) は患者及び介護者の生活の質並びに日常生活能力に大きな影響をもたらす。

本研究では、当科外来を受診し認知症または軽度認知機能障害と診断された 20 歳以上の患者の臨床情報の登録を目的とする。収集すべき臨床情報（患者基本情報、診断名、総合的機能評価、神経心理評価、身体機能評価、脳画像・血液・脳脊髄液検査実施の有無）を整理し、効率的に登録を行い、データを活用できるシステムを作成するためのデータ蓄積を行う（長期間にわたる前向き観察研究）。さらに、既知の認知機能評価を指標に脳波や画像データなどとの相関解析、判別解析を行い、認知症の診断・進行度の客観的評価のためのバイオマーカーの確立を目指す。

現在 23 例の患者（平均年齢 75.4 ± 7.9 、男性 7 名、女性 16 名、アルツハイマー型認知症 6 名、軽度認知障害 17 名）に同意を得、収集すべき臨床情報（改訂長谷川式簡易知能評価スケール $20.7 \pm 5.0/30$ 、Mini-Mental State Examination $23.0 \pm 4.3/30$ 、地域包括ケアシステムにおける認知症アセスメント $32.3 \pm 8.6/84$ 、阿部式 BPSD スコア $1.40 \pm 1.70/44$ 、Zarit 介護負担尺度日本語版 15.71 ± 9.34 など）のデータ蓄積を行なっている。

課題番号：R01 基-003

研究課題：カベオリン-3/神経型 NOS を起点とする骨格筋量制御機構の解明

研究代表者名（所属）：深井 雄太（神経内科学）

共同研究者名：大澤 裕、西松 伸一郎、砂田 芳秀

われわれが独自に作出した肢帯型筋ジストロフィー (LGMD1C) の疾患モデルであるカベオリン-3 欠損マウス (CAV3^{P104L} Tg) は、著明な筋萎縮を呈するが、興味深いことに筋鞘膜の神経型 NO 合成酵素 (nNOS) 活

性が亢進している (Sunada, et al. Hum Mol Genet 10: 173-8, 2001)。本研究はカベオリン-3/nNOS 二重欠損マウスを作出し、筋鞘膜 nNOS 活性が骨格筋量制御にどのような役割を果たしているのかの解明を目標とする。すなわち独自に発見した nNOS と、その上流の制御因子と考えられるカベオリン-3 によって惹起される筋萎縮病態の解明を基盤として、筋萎縮に対する新たな治療法の確立を目指す。2019 年度は、カベオリン-3 欠損マウス (CAV3^{P104L} Tg) と nNOS 欠損マウスを交配し、野性型、カベオリン-3 欠損、カベオリン-3・nNOS 二重欠損、nNOS 欠損マウスの作出に成功した。2020 年度は、それぞれの遺伝子型を示すマウスについて系統維持・繁殖をおこない、骨格筋を解析したい。

課題番号：R01 基-097

研究課題：自己免疫疾患及び腎疾患合併妊娠の胎盤病変へのアプローチによる病態解明

研究代表者名 (所属)：杉原 弥香 (産婦人科学 1)

共同研究者名：下屋 浩一郎、羽間 夕紀子

胎盤とは、胎生動物において、胚および胎児の組織と母体の組織とが緊密に接着し、両者の間に物質の交換や細胞レベルの相互作用など、生理的に重要な相互関係が生じている組織複合体である。妊娠維持に必要なホルモンの産生、胎児への栄養の供給、母子間の免疫バリアーとしての機能を担い、胎児の生命維持装置として妊娠維持に必須の役割を果たしている。そのため、その機能不全は、着床障害、不育症の原因にもなる。また、胎盤は成熟個体に見られる数多くのホルモン・細胞成長因子等の生理活性物質のほとんどを産生するために、生理活性物質の宝庫として物質探索の材料としても利用されている。一方で、血液疾患合併妊娠・糖代謝異常合併妊娠・甲状腺疾患合併妊娠・自己免疫性疾患合併妊娠等で胎児発育遅延 (FGR) や形態異常が出現する理由については未知な部分が多い。妊娠高血圧症候群

(HDP) に合併する FGR に関しては胎盤を含めて多くの研究がなされているが膠原病合併妊娠や腎疾患合併妊娠などに起因する FGR についての研究は少ないのが現状である。今回我々は合併症妊娠により FGR となった妊婦の胎盤と正常妊娠の胎盤において免疫染色を行い、胎児発育遅延と関連があると思われるエストロゲン受容体の発現率に差がないか検討した。またその他、胎児胎盤重量比 (胎児体重/胎盤重量) との関連についても併せて検討を行った。

課題番号：R01 基-060

研究課題：炎症性骨破壊におけるアンジオテンシン II および骨細胞の役割の解明

研究代表者名 (所属)：守田 吉孝 (リウマチ・膠原病学)

共同研究者名：向井 知之、赤木 貴彦

【目的】アンジオテンシン II (Ang II) は血圧調節因子として知られている。近年、骨代謝での役割が報告されているが、関節リウマチなどの関節炎局所における骨破壊 (炎症性骨破壊) における Ang II の役割は分かっていない。本研究では骨破壊性関節炎を自然発症する TNF トランスジェニック (TNFtg) マウスを用い、Ang II の炎症性骨破壊への影響を検討した。【方法】12 週齢の野生型及び TNF-tg マウスに浸透圧ポンプを用いて Ang II (1 mg/kg/min) を 4 週間持続投与し、関節炎スコア (関節腫脹)、足関節の骨びらんと海綿骨量 (第 5 腰椎・脛骨) をマイクロ CT で評価した。更に、Ang II 受容体欠損マウス (ARKO) と TNFtg マウスを交配し、2 重変異マウス (ARKO/TNFtg) を作成し、Ang II 欠損による影響を同様に評価した。【結果】Ang II 投与群では、関節炎スコアや組織学的な炎症細胞浸潤の程度に差は認めなかったが、距骨の骨びらんとは有意に悪化した。椎骨・脛骨の海綿骨に有意な影響は認めなかった。TNFtg 群と ARKO/TNFtg 群の比較では、関節炎、骨びらん、海綿骨量に有意な差は認めなかった。【結論】Ang II 投与下では骨びらんとは増強したが、Ang II 受容体欠損では軽減しなかった。Ang II 過剰による骨破壊増強はみられるが、生理的 Ang II レベルでは骨破壊に大きな影響がないことが示唆された。

課題番号：R01 基-061

研究課題：全身性エリテマトーデスの病態における SH3BP2 の役割の検討

研究代表者名（所属）：向井 知之（リウマチ・膠原病学）

共同研究者名：守田 吉孝、石原 克彦、井関 将典、長洲 一、河原 恭子、長洲 晶子

【目的】アダプター蛋白 SH3BP2 は免疫担当細胞に広く発現し、シグナル伝達を調節する。本研究では、SH3BP2 欠損マウスを用い、全身性エリテマトーデスの病態形成における SH3BP2 の役割を解析した。【方法】SLE モデルマウスとして Fas 機能障害を有する Fas^{lpr} マウスを用いた。SH3BP2 欠損マウスと Fas^{lpr} マウスを交配し、二重変異マウスを作製した。35 週齢時に、血清・尿・脾臓・リンパ節・腎臓を採取し、尿蛋白、脾腫、腎組織を解析した。免疫学的解析として、抗 dsDNA 抗体価、リウマチ因子 (RF)、B 細胞・T 細胞サブセットの解析を行った。【結果】野生型、SH3BP2 欠損マウス、Fas^{lpr} マウス、二重変異マウスの 4 群を比較した。Fas^{lpr} マウスでは脾腫・抗 dsDNA 抗体価・RF の上昇、腎増殖性糸球体病変を認め、二重変異マウスではいずれも有意に軽減した。フローサイトメトリーでは、Fas^{lpr} マウスでは脾臓における CD3⁺B220⁺CD4⁺CD8⁻ (double negative) T cell の割合が増加していたが、二重変異マウスでは有意に低下していた。【結論】SH3BP2 欠失は、Fas^{lpr} マウスにおける自己抗体産生、脾臓における double negative T cell の増加を軽減し、臓器病変の進展を抑制した。SH3BP2 を標的とした自己免疫性疾患治療の基盤となる知見と考える。

課題番号：R01 基-103

研究課題：Dementia Assessment Sheet for Community-based integrated Care System-8 items (DASC-8) を用いた全脳照射後の認知・生活機能評価

研究代表者名（所属）：釋舎 竜司（放射線腫瘍学）

共同研究者名：余田 栄作、神谷 伸彦、河田 裕二郎

【背景】DASC-8 は、2018 年に日本老年医学会が提唱した認知・生活機能を簡便に評価する質問票であり、新しい総合機能評価法として注目されつつある。また、我々は予防的全脳照射 (PCI) 後の MRI を用いた脳萎縮の定量評価を Voxel-Based Specific Regional System for Alzheimer's Disease (VSRAD[®]) を利用し、継続研究している。これら 2 つを組み合わせ、脳機能と形態の両面から総合的に照射後の脳の状態を評価した。【対象】2016 年 1 月 19 日以後に、限局型小細胞肺癌に対する PCI が施行され、現在生存中の 5 名。【目的】（主要項目）照射前と 3、6-11、12-18 ヶ月後の認知機能・ADL (HDS-R, MMSE, DASC-8) の変化割合。（副次項目）照射前と 3、6-11、12-18 ヶ月後の VSRAD[®] による「海馬の萎縮度」、「海馬の萎縮比」、「全脳萎縮領域の割合」を定量。【方法】主・副検討で得られた認知機能・ADL の変化割合と、VSRAD[®] の研究で得られた定量値の相関関係を統計解析する。【結果】5 例中 1 例で、照射後 9 ヶ月に DASC-8 のカテゴリ分類が I → II へ、17 ヶ月後には II → III へ認知機能・ADL が悪化した。また、その症例の VSRAD[®] で得られた定量値は、「海馬の萎縮度」と「海馬の萎縮比」より、「全脳萎縮領域の割合」が多い結果であった。【考察】従来、使用されている MMSE・HDS-R に加えて DASC-8 を PCI 後の認知機能のモニタリングに用いることで、認知機能の状態ばかりでなく、患者の QOL に係る ADL の状態を定量的に把握することができた。

課題番号：R01 基-013

研究課題：マンソン裂頭条虫クローン株を用いた新規代謝制御因子の統合的機能解析

研究代表者名（所属）：沖野 哲也（微生物学）

共同研究者名：後川 潤、齊藤 峰輝

【背景・目的】マンソン裂頭条虫の幼虫は、成長ホルモン様因子などの生理活性物質を分泌して、実験的宿主（マウス）の代謝系に影響をおよぼすことが知られている。研究代表者らは、マンソン裂頭条虫の生活環を実験室内で完成させ、岡山県産の 3 倍体成虫を起源とする遺伝的に均一な 3 倍体クローン条虫株 (Kawasaki triploid strain: Kt 株) の樹立法を確立した (Okino et al. 2017)。研究代表者らは、宿主（マウス）におよぼす効果（体重増加）が異なる複数の Kt 株を用いて、条虫由来の生理活性物質（新規の代謝制御因子）を同定し、その機能的意義を明らかにすることを目指しており、現在、3 つのクローン株 (Kt-1, 2, 3 株) を維持している。【方法】4 週齢の ICR マウス（♀）6 匹ずつを 2 群（コントロール群、

Kt-1 株 3 条投与群) に分け、3 週間にわたり体重測定し、マウスを剖検後、肝臓・脾臓の湿重量を測定した。また、脂肪量・筋肉量の変化を観察するため、感染前と 3 週間後のマウスを、それぞれ CT 撮影 (L5 の脂肪、後肢の筋肉) した。【結果・考察】コントロール群に比べ Kt-1 株投与群の方に体重増加傾向がみられた。脾臓の湿重量は、コントロール群より Kt-1 株投与群の方が有意に重かった。このことは感染により免疫系に何らかの影響をおよぼしたことが示唆される。株間での詳細な比較は、今後検討していく。

課題番号：R01 基-089

研究課題：オリゴマー化変異プロサポシンはパーキンソン病の原因となるか？

研究代表者名 (所属)：渡邊 悦子 (病態代謝学)

共同研究者名：松田 純子 (病態代謝学)、郷 慎司 (病態代謝学)

サポシン (SAP-A, B, C, D) は、スフィンゴ脂質のリソソームにおける分解において、酵素と共に必要な疎水性糖タンパク質で、前駆体タンパク質であるプロサポシン (PSAP) にコードされている。ヒトでは、PSAP、SAP-A、B、C の各欠損症が知られており、いずれも小児期発症の神経型スフィンゴリポドーシスを引き起こす。最近、松田らは、PSAP の SAP-D 領域の変異がパーキンソン病を引き起こすことを世界に先駆けて報告した (Oji Y et al, *Brain*, 2020)。我々が作成した SAP-D 変異マウスは、パーキンソン病患者者に同定された変異と類似の Cys が置換するミスセンス変異 (Cys509Ser) を持ち、小脳プルキンエ細胞と黒質ドパミン神経細胞の変性脱落を呈する。本研究では、SAP-D 変異によるパーキンソン病発症の分子メカニズムを解明する目的で、SAP-D 変異マウス脳に蓄積する PSAP の生化学的性質を、SAP-A 変異 (C106F) マウス、SAP-C 変異 (C384S) マウスと比較解析した。PSAP の蓄積は SAP-D 変異マウスが最も高度で、次いで SAP-C 変異マウスであった。βメルカプトエタノール非添加の非還元条件での検討では、SAP-D 変異マウス及び SAP-C 変異マウスにおいて、野生型マウス及び SAP-A 変異マウスには認めないオリゴマー化 PSAP の蓄積を認めた。オリゴマー化 PSAP は熱処理に耐性で、βメルカプトエタノール添加の還元条件では消失したことから、ジスルフィド結合を介して形成されると推定された。神経セロイドリポフスチン症の一部では PSAP および SAPs の蓄積が報告されており、オリゴマー化した変異 PSAP の蓄積がドパミン神経細胞の変性を惹起する可能性がある。

課題番号：R01 基-034

研究課題：ゲノム DNA ホメオスターシス維持機構と腎臓病の進展機構の関連の解明

研究代表者名 (所属)：岸 誠司 (総合臨床医学)

共同研究者名：桑原 篤憲、庵谷 千恵子、柏原 直樹

近年の観察研究によって急性腎障害 (AKI) が慢性腎臓病 (CKD) に移行すること、さらに AKI は末期腎不全のリスクであることが明らかとなった。基礎的検討で腎機能回復のカギである近位尿細管上皮細胞 (PTECs) の再生能力が損傷の重症度に依存しており、さらに不全修復状態の PTECs の G2-M 期での細胞周期停止が、細胞老化に似た表現型獲得に繋がり腎臓の線維化を促進するメカニズムが考えられている。この表現型は p53 阻害剤によって回避されることから DNA 損傷応答 (DDR) の関与も考えられているが、詳細な検討はこれまでなかった。本研究では DDR のマスターレギュレーターである ATM- and Rad3-related (ATR) に注目して解析を行った。

腎生検組織にて慢性進行性のヒト病態で DDR の関与を明らかにした。この結果は、PTECs や腎臓オルガノイドを用いた *in vitro* 試験でも裏付けられ、ATR 阻害は DNA 障害を増幅した。さらに ATR の PTECs 特異的欠失マウスを解析し、DDR の破壊がより多くの累積 DNA 損傷、アポトーシス、腎機能障害、および損傷後のより重篤な腎臓線維化をもたらすことを明らかにした。これらのデータは、DDR が G2/M 停止、TASCC の形成、線維化関連サイトカイン分泌などの経路を介して AKI から CKD への移行を調節することを示しており、新たな治療標的の同定につながるものと考えられた。

課題番号：R01 基-108

研究課題：Keap-1/Nrf2 経路活性化による GFR 制御機構の解明

研究代表者名（所属）：柏原 直樹（腎臓・高血圧内科学）

共同研究者名：城所 研吾、和田 佳久

背景・目的：Keap1/Nrf2 経路は、抗酸化システム、解毒遺伝子応答の中心的な制御機構である。Nrf2 活性化薬(bardoxolone methyl)は、慢性腎臓病患者の糸球体濾過率(GFR)を増加させ、また糖尿病性腎臓病患者におけるイヌリンクリアランス法により測定された GFR を増加させた。In vivo imaging 法を用い、遺伝学的、薬理学的手法による Keap1/Nrf2 活性化に伴う GFR 制御機序の解明を目的とした。

方法：C57BL/6 マウス(Cont)、Nrf2 欠損マウス(Nrf2-KO)、Keap1-knockdown マウス(Keap1-KD)を用いた。Nrf2 活性化薬(RTA dh404; RTA, 10 mg/kg/day)を1週間投薬し、二光子レーザー顕微鏡を用い Single nephron GFR(SNGFR)、糸球体容積、糸球体輸入/輸出細動脈径(AA/EA)、高分子物質の糸球体透過性を評価した。

結果：Keap1-KD の SNGFR は、Cont と比較して有意な上昇を認めた(9.13 ± 0.55 vs 4.40 ± 0.39 nl/min)。RTA は SNGFR を有意に上昇させたが、Nrf2-KO では上昇を認めなかった。各群の AA/EA ratio は有意差なく、Nrf2 活性化された群においては糸球体容積の増大を認めた。各群のアルブミンおよび 40kd-Dextran の糸球体透過性に相違はなかった。

結語：Nrf2 活性化は糸球体濾過面積を増大させ GFR を増加させることが示唆された。Keap1/Nrf2 経路は GFR の基盤制御機構の可能性がある。

課題番号：R01 基-102

研究課題：糖尿病性腎臓病における糸球体上皮細胞のミトコンドリア動態観察による傷害過程の考察（特に細胞間の恒常性環境について）

研究代表者名（所属）：佐々木 環（腎臓・高血圧内科学）

共同研究者名：長洲 一、柏原 直樹、和田 佳久

【目的】糸球体上皮細胞（Pod）障害は、基底膜からの剥離、細胞死に至り糸球体からの喪失、硬化病変形成につながる。Pod 機能維持には、周囲環境に合わせて細胞骨格の変化・維持、ミトコンドリアによるエネルギー産生、オートファジーによる細胞質内の維持、等が重要である。今回、糖尿病性腎症(DN)の Pod 細胞内小器と細胞形態を観察し、喪失に至るまでの形態像を解析した。【方法】2013-18 年の腎生検例を対象に、1.核、ミトコンドリア、小胞体の形態や数、2.リソソームとオートファジー像、3.細胞形態や細胞骨格線維、4.内皮細胞やメサングウム細胞の関連について着目し電子顕微鏡で観察した。

（倫理審査番号 3249（研究期間～2020. 3. 31）承認日 2018/10/12）【結果】Pod は、同一糸球体内においても多彩な形態像を認めた。核は2核あるいは切れ込みなどの辺縁の不整を、細胞質ではミトコンドリアの形態異常（小型化）と数の減少、小胞体の拡張、リソソーム・オートファジー像の増加と、脂肪滴や空胞形成を認めた。細胞形態変化に伴い細胞骨格線維の増加、次いで消失、同部位では内皮細胞の形態異常も観察された。【結語】DNにおける Pod 障害は、エネルギーや蛋白質などの細胞内代謝と細胞骨格維持機構と、内皮細胞との協調、などの異常が関係している。【今後の展開】糸球体微小環境恒常性のバイオマーカーを検索に繋げる。

課題番号：R01 基-105

研究課題：糸球体内皮細胞-上皮細胞連関におけるインフラマソーム活性化制御機構の解明

研究代表者名（所属）：長洲 一（腎臓・高血圧内科学）

共同研究者名：近藤 恵、角谷 裕之、柏原 直樹

糖尿病性腎症の研究から糸球体上皮細胞障害が糸球体硬化病変の形成に重要であることが判明している。また、糸球体上皮細胞におけるミトコンドリアストレス蓄積が上皮細胞脱落に関与する。しかし糸球体上皮細胞におけるミトコンドリアストレス蓄積の機序に関しては不明である。その一つの機序として Inflammasome に着目した。近年、自然免疫システムの一つである Inflammasome が腎障害進展に関与することが種々の動物モデルで解明してきた。昨年、ストレプトゾトシン誘発糖尿病モデル作成し検討を行い報告した。本年度、進行性2型糖尿病性腎症モ

デルである、eNOS 欠損マウス (eNOSKO)・レプチン受容体欠損マウス (dbdb) を用い検討を行なった。使用動物は db/db および eNOSKO-dbdb を用いて研究を行なった。dbdb, eNOSKO-dbdb の 2 群を作成。10 週齢では dbdb で軽度のアルブミン尿増加を認めたが eNOSKO-dbdb ではさらに増加していた。また、PAS 染色で糸球体病変の観察を行ったところ eNOS-dbdb でのみ 10 週齢の時点で硬化糸球体が散見された。Inflammasome の評価を行うため尿中 IL 1 β 発現を ELISA で確認したところ eNOS-dbdb でのみ顕著に増加していた。また Inflammasome の key component である ASC の発現局在を免疫染色で検討したところ podocyte で発現が上昇していた。これらの結果から内皮機能障害は糸球体上皮細胞内インフラマソーム活性化を介して糸球体硬化病変形成を促進させたことが二型糖尿病モデルでも示された。糸球体上皮細胞における Inflammasome 活性化が糖尿病性腎症の病態形成における共通経路である可能性が示唆された。昨年の結果と合わせて報告する。

課題番号：R01 基-101

研究課題：腹膜線維化進展におけるインフラマソーム活性化の役割解明と新規治療法開発

研究代表者名 (所属)：角谷 裕之 (腎臓・高血圧内科学)

共同研究者名：柏原 直樹

【背景】腹膜透析 (PD) 普及の障壁となるのは、長期継続に伴う腹膜機能低下、腹膜肥厚・線維化にある。長期化に付随し慢性炎症が惹起・持続することが示されているが、詳細な機序は不明である。インフラマソームは非感染性慢性炎症に中心的な役割を果たす。

【目的】腹膜慢性炎症と線維化における NLRP-3 インフラマソーム活性化の分子機序を解明する。

【方法】インフラマソームのアダプター分子 ASC (apoptosis-associated speck-like protein) 遺伝子欠損マウス (ASCKO) 及び野生型 C57/BL6J マウス (WT) を使用した。0.1%クロルヘキシジン・グルコネート (CG) 腹腔内投与による腹膜線維化モデルを作成した。

【結果】WT-CG 群では、腹膜肥厚、線維化、炎症細胞浸潤を認め、腹膜組織でインフラマソーム活性化 (NLRP-3、ASC、caspase-1、IL-1 β 、IL-18 の発現亢進) を認めた。また、中皮細胞下層にマクロファージ浸潤の増強を認めた。さらに、浸潤マクロファージ (ASC/F4/80 の二重染色) においてインフラマソームが活性化していることが判明した。ASCKO-CG 群では腹膜線維化、炎症、インフラマソーム活性化が顕著に抑制された。

【結論】腹膜慢性炎症、線維化過程においてインフラマソーム活性化が重要な役割を果たす。その活性制御は慢性炎症、線維化抑制のための新規治療ターゲットになりうる

課題番号：R01 基-104

研究課題：SGLT2 阻害薬による糖尿病性腎症進展抑制効果の機序解明

研究代表者名 (所属)：城所 研吾 (腎臓・高血圧内科学)

共同研究者名：和田 佳久、柏原 直樹

【背景】二光子レーザー顕微鏡による *in vivo* imaging 法を用い、小動物の single nephron GFR (SNGFR) の測定手法を確立し、尿細管糸球体フィードバックにおける adenosine/adenosine A1 受容体 (A1aR) 経路が糖尿病性腎臓病の糸球体過剰濾過の成因に関与することを、1 型糖尿病モデルマウスを用い証明した (Circulation 2019)。2 型糖尿病マウスを用い、SGLT2 阻害薬による糸球体血行動態への作用機序と、投薬直後の尿中 Na、Glucose と SNGFR の継時的評価を行い解明することを目的とした。

【方法】2 型糖尿病モデルである Zucker Diabetic Fatty rat (ZDF) と Zucker Lean rat (ZL) を使用した。SNGFR と糸球体輸入細動脈 (AA)・輸出性細動脈 (EA) 径を測定した。SGLT2 阻害薬 (luseogliflozin) 群、SGLT2 阻害薬+A1aR 拮抗薬群、Insulin 群を作成し、投与後 2 時間までの血管径、SNGFR、血糖、尿中 Glucose および Na 排泄の変化を観察した。

【結果】ZDF は糸球体過剰濾過を呈し、AA 径および EA 径の有意な拡大を認めた。SGLT2 阻害薬投与後、ZDF では過剰濾過の抑制、AA の過拡張の是正が認められた。EA 径に有意な変化はなかった。SGLT2 阻害薬+A1aR 拮抗薬群では、SNGFR の変化は認めなかった。尿中 Glucose と Na 排泄の変化は、SGLT2 阻害薬および SGLT2 阻害薬+A1aR 拮抗薬群で同等であった。

【結語】 Adenosine/adenosine A1 受容体 (A1aR) 経路は、2 型糖尿病の糸球体過剰濾過の成因にも重要な役割を果たしており、SGLT2 阻害薬の腎保護効果に関与している。

課題番号：R01 基-106

研究課題：糖尿病性腎臓病における SGLT2 阻害薬の糸球体内皮酸化ストレスの軽減効果の検討

研究代表者名（所属）：板野 精之（腎臓・高血圧内科学）

共同研究者名：近藤 恵、城所 研吾、柏原 直樹

【背景・目的】腎障害を有する 2 型糖尿病患者を対象とした大規模臨床試験において、sodium glucose cotransporter 2 阻害薬 (SGLT2i) は糖尿病性腎臓病 (DKD) の進展を有意に抑制した。Tubuloglomerular feedback (TGF) を介した糸球体過剰濾過抑制が主要メカニズムと想定されている。一方で、糖尿病合併症としての細小血管症の発症・進展には血管内皮障害が基盤病態を形成しており、これまでに我々は糖尿病性腎臓病モデル動物の糸球体内酸化ストレスが腎臓病進展に関与することを報告している。DKD における糸球体過剰濾過と酸化ストレスに着目し、SGLT2 阻害薬による腎保護メカニズムの解明を試みた。

【方法】2 型糖尿病 db/db マウスを用いた。Canagliflozin (CANA; 10mg/kg) 投与前後の急性期 (投与前後 2 時間)、ならびに慢性期 (CANA 8 週間投与) における同一糸球体 Single Nephron GFR (SNGFR) の変化を *in vivo* imaging を用い評価した。糸球体内の活性酸素種 (ROS) 及び一酸化窒素 (NO) の産生を検出試薬 (CellROX Deep Red (ROS)、DAR-FM DA (NO)) を用い、*ex vivo* の実験系にて評価した。Tomato lectin 染色にて糸球体透過性に関与する glycocalyx の評価を行った。

【結果】db/db は糸球体過剰濾過を呈しており、CANA 投薬後 2 時間以内に過剰濾過は抑制された。8 週間投薬後も過剰濾過抑制効果は持続しており、尿中アルブミン排泄は有意に抑制された。db/db の糸球体では ROS 産生が亢進し、NO 産生が低下していた (ROS/NO 不均衡) が、CANA により不均衡は有意に改善された。Glycocalyx は db/db で染色性の低下を認めたが、CANA 投与により維持された。

【結語】 SGLT2 阻害薬は DKD における糸球体過剰濾過、アルブミン尿、糸球体内 ROS/NO の不均衡を改善した。

課題番号：R01 基-107

研究課題：プロスタサイクリンの腸管血流改善効果を介した腎保護効果の検証

研究代表者名（所属）：内田 篤志（腎臓・高血圧内科学）

共同研究者名：角谷 裕之、柏原 直樹

【背景】慢性腎臓病 (CKD) の主要原疾患は糖尿病、高血圧、加齢など多岐に渡るが、末期腎不全状態になると共通して食欲不振、嘔気、下痢などの尿毒症症状が出現してくる。これら一連の症状は体内への尿毒素の蓄積に伴い出現してくると考えられているが、どのような機序を介して蓄積してくるかどうか十分な検討がなされていない。一方で、猫の腎不全治療薬である経口プロスタサイクリン (PGI₂) には血管内皮保護作用、血管拡張作用、抗炎症作用などを介して腎機能低下を抑制し臨床症状を改善させる効果が示唆されているが、腎不全状態の腸管微小血管における影響を検討した報告はない。以上より、「PGI₂ は、腸管血流改善効果を介して尿毒症症状を軽減させる」と仮説を立て検討した。

【方法】ICR マウスを使用する。共焦点レーザー顕微鏡を使用して生体マウス腸管微小血管を *in vivo* imaging 法にて可視化する。そして可視化された腸管微小血管の血流および血管拡張能、腸管微小血管の内皮細胞表面 glycocalyx を可視化し、同薬剤の影響を検討する。

【結果】ICR マウスの腸管微小血管を生体 *in vivo* imaging で可視化に成功した。さらに PGI₂ を経静脈投与すると腸管の微小血管径が有意に拡張し、腸管血流増加を認めた。

【結語】PGI₂ は腸管血流改善効果を介して腎不全状態の消化器症状を改善させる可能性が示唆された。今後、腎不全モデルである ICGN マウスを使用し、腸管血流の変化を比較する予定である。

課題番号：R01 基-010

研究課題：糖尿病腎症の発症に血糖値と肥満はどの程度影響するか：2 型糖尿病患者の経時的な外来データを用いた検討

研究代表者名（所属）：中西 修平（糖尿病・代謝・内分泌内科学）

共同研究者名：金藤 秀明、辰巳 文則、蛭川 英典

緒言：2 型糖尿病の細小血管合併症のひとつである腎症は、その予防のための血糖管理目標として HbA1c7%未満が提示されている。一方で肥満関連腎臓病も考慮すべき病態と考えられ、肥満が及ぼす影響も考慮すべきである。

目的：外来で加療中の 2 型糖尿病患者を後ろ向きに経年的に観察し、腎症発症と HbA1c および BMI の関与を検討する。

対象および方法：2000 年から 2018 年の間に外来通院中の 2 型糖尿病患者で、観察開始時に腎症が確認されなかった患者を対象とした。観察開始時の HbA1c が 7%未満（C）と以上（U）、BMI が 25 未満（N）と以上（O）の計 4 群（CN、CO、UN、UO）にカテゴリー化し、各カテゴリーの腎症発症の Cox 比例ハザードモデルを用いてハザード比を算出した。

結果：諸因子で調整した結果、CN と比較し CO、UN、UO のハザード比は 1.40（P=0.030）、1.40（0.027）、1.54（0.008）で、CO と UN は同等のハザードであった。

考察：糖尿病の細小血管合併症の中で、神経障害及び網膜症と比較すると腎症は血圧や動脈硬化など多面的な影響をより強く受ける疾患である。今回の結果からは血糖管理と肥満は腎症に対し同等の危険因子となり得ることが示唆され、腎症予防に関して HbA1c7%未満を目指すことと同様に、BMI25 未満も新たな目標として考慮することも重要であると考えられた。

課題番号：30 若-004

研究課題：SGLT2 阻害薬投与に伴うエネルギー恒常性維持生体反応 = 腎・消化管連関の解明 =

研究代表者名（所属）：下田 将司（糖尿病・代謝・内分泌内科学）

【背景・目的】SGLT2 阻害薬は尿糖排泄促進により血糖値を改善し、体重を減少させる。一方、SGLT2 阻害薬投与後に食欲亢進を訴える患者が多くみられ、これはエネルギー恒常性維持のための防御機構の存在が示唆される。そこで、我々はそのエネルギー恒常性維持機構の一つとして、グルコースの体外排泄調節を担う『腎臓』とグルコースの体内流入調節を担う『消化管』の連関の有無を検討する。【方法】糖尿病モデル・正常血糖モデルマウスを SGLT2 阻害薬 luseogliflozin 投与群、非投与群にわけ 2 週間介入後、消化管での糖輸送担体発現、糖輸送能やインクレチン分泌能を比較検討する。【結果】糖尿病モデル・正常血糖モデルマウスともに、消化管での糖輸送担体発現、糖輸送能やインクレチン分泌能は luseogliflozin 投与群で非投与群に比し亢進していた。【結語】SGLT2 阻害薬は血糖低下とは独立して消化管糖輸送を亢進させる。

課題番号：R01 基-067

研究課題：血管内皮 PDK1 が全身の糖代謝に及ぼす影響及びその発現制御メカニズムの解明

研究代表者名（所属）：小畑 淳史（糖尿病・代謝・内分泌学）

共同研究者名：真田 淳平、伏見 佳朗、下田 将司、金藤 秀明

Phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1)は、insulin receptor-PI3 kinase の下流にあり、血管内皮細胞の増殖や生体での血管拡張作用を調節している。我々のグループは、血管内皮細胞特異的 PDK1 欠損マウスが内臓脂肪内血管新生および脂肪細胞肥大を抑制することにより、通常食 6 か月及び、高脂肪食 3 か月負荷時に体重減少やインスリン抵抗性改善を呈することを報告してきた。また、血管内皮 PDK1 が膵臓・膵β細胞の Vascularity, 血流を保持することで膵β細胞量及び機能に重要な役割を果たすことを報告した。一方で、一般的に PDK1 は「恒常的に発現」していると考えられていたが、ストレプトゾトシンを用いた 1 型糖尿病モデルマウスの初代血管内皮細胞では PDK1 の発現は有意に増加しており、2 型糖尿病モデルである db/db マウスの初代血管内皮細胞では db/m と比較して有意に PDK1 の発現は低下していた。肥満モデルである高脂肪食 20 週負荷したマウスにおいても初代血管内皮 PDK1 の発現は低下していた。動物モデルだけでなく、待機または緊急手術で得られたヒトの血管内皮に

において、肥満であるほど PDK1 の発現が低下していることを明らかにした。

課題番号：R01 基-008

研究課題：過敏性腸症候群の病態と腸内微生物との関連に関する検討

研究代表者名（所属）：塩谷 昭子（消化管内科学）

共同研究者名：梅垣 英次、松本 啓志、半田 修、村尾 高久、大澤 元保、勝又 諒、福嶋 真弥、半田 有紀子

目的：IBS における MAM について下痢型 IBS (IBS-D)、便秘型 IBS (IBS-C) および健常者、の 3 群で比較検討した。また下痢型 IBS (IBS-D) 患者群において、血清サイトカインや食物アレルギーが腸内細菌叢とどのように関連しているのか評価した。方法：大腸内視鏡検査の際に、内視鏡下にブラシを用いて回腸、S 状結腸粘膜の粘液を採取した。MiSeq による 16S リボゾーム遺伝子の V3-V4 アンプリコンシークエンス解析を実施した。QIIME を用いて微生物の属レベルまでの同定を行い、細菌構成比、多様性について検討した。さらにメタゲノム機能予測解析 (PICRUSt) を追加した。結果： α -diversity は均等度が control 群と比較して IBS-D で特に低かった。PCoA 解析において 3 群間で有意差を認めた。IBS-D において *Megamonas*, *Prevotella*、IBS-C において *Ruminococcus*, *Dorea* が有意に多く、IBS-D において *Ruminococcus* が、IBS-C において *Faecalibacterium*, *Roseburia* が有意に少なかった。PICRUSt 解析においても、IBS 2 群で差を認めた。*Prevotella* は血清 TNF- α 値と正の相関を示し、抗原感作陽性 IBS-D 群は Lachnospiraceae 科が多く、Lachnospiraceae は TNF- α ($r=0.52$) および IL-4 ($r=-0.55$) 値と相関した。結論：IBS-D と IBS-C の MAM に差を認め、腸内細菌叢が IBS type を規定する要因となる可能性が示唆された。さらに IBS-D 患者において食物アレルギーの有無によって腸内細菌叢の変容が認められ、その変容は全身性の微小炎症とも関連している可能性が示唆された。

課題番号：R01 基-018

研究課題：腸管粘液に着目した高脂肪食摂取起因性便秘症のメカニズム解明

研究代表者名（所属）：半田 修（消化管内科学）

共同研究者名：塩谷 昭子、松本 啓志、村尾 高久、大澤 元保

【背景】便秘はありふれた胃腸症状の一つであり、食習慣が便秘の発症に影響を及ぼす。ヒトを対象とした研究では高脂肪食摂取が糖尿病や高齢者の便秘と強く関連するという報告があるが、そのメカニズムは不明である。また、大腸粘液が糞便のスムーズな動きを促進することが報告されているが、便秘と大腸粘液量の関係に着目した報告はほとんどない。

【目的】C57BL/6 マウスを用いて、高脂肪食 (HFD) が便秘を引き起こすメカニズムについて、特に大腸粘液量に着目して解明する。

【材料・方法】HFD 摂取マウスと普通食摂取マウスで、体重、摂餌量、便重量、便の水分含有量の変化を測定した。また、便の大腸通過時間、全消化管通過時間を測定すると共に、大腸粘液量を測定した。さらに、大腸粘液量と便秘の関係について乳化剤を用いて検討した。

【結果】体重は HFD 群で有意に増加したが、摂餌量は 2 群で有意差を認めなかった。便重量は HFD 群で有意に減少し、便水分含有量には有意差を認めなかった。また、全消化管通過時間、大腸通過時間ともに HFD 群で延長を認めた。大腸粘液量の評価では PAS 染色陽性物質および、組織のアルシアンブルー染色面積比率ともに HFD 群で減少を認めた。乳化剤投与したマウスでは大腸通過時間が減少していることも明らかにした。

【結語】食事の改善や粘液増加剤が HFD による便秘の治療の選択肢のひとつとなりうる。

課題番号：R01 基-051

研究課題：機能的 MR imaging による早期糖尿病性腎症の画像的評価

研究代表者名（所属）：山本 亮（放射線診断学）

共同研究者名：玉田 勉、福永 健志

【目的】MRI を用いた機能的画像診断を応用することにより、非侵襲的に早期糖尿病性腎症の画像変化を解明し、早期診断の新たな指標としての有用性を検討することである。【対象と方法】正常症例 8 例、糖尿病性腎症症例 25 例（早期 20 症例、進行 5 症例）の計 33 症例に対し、機能的 MR imaging として腎皮質及び髄質の T1 値、T2 値、BOLD (T2*, R2*), IVIM (ADC、D、D*, f)、ASL、及び Time-SLIP（反転 TI、最適 TI）を撮像、計測し、正常群、早期糖尿病性腎症群、進行糖尿病性腎症群の 3 群間でそれぞれのパラメータの比較検討を行った。【結果】腎皮質の T1 値、反転 TI において正常群と早期糖尿病性腎症群の間に有意差が認められた。【考察】T1mapping 撮像から測定される皮質の T1 値の低下、及び Time-SLIP 撮像から測定される反転 TI の低下は早期糖尿病性腎症における腎皮質の浮腫性変化や線維化を鋭敏にとらえた結果である可能性が示唆される結果であった。非侵襲的に外来で比較的短時間に施行できる機能的 MRI 診断法は、糖尿病性腎症の早期診断に貢献できる可能性が示唆された。

課題番号：R01 基-071

研究課題：Direct-acting antiviral 投与後の細胞外容積分画による肝線維化の評価

研究代表者名（所属）：神吉 昭彦（放射線診断学）

共同研究者名：前場 淑香、八十川 和哉、檜垣 篤、山本 亮、玉田 勉

近年、C 型慢性肝疾患に対して直接型抗ウイルス薬（Direct Acting antivirals：DAA）が使用可能となり、安全で高い抗ウイルス効果が得られるようになった。これに伴い速やかな肝機能の改善がみられるようになったが、肝線維化の改善については未だ明らかにされていない。肝線維化の評価の golden standard は肝生検であるが、侵襲が大きいうえに、診断の精度は必ずしも十分ではない。近年、造影 CT を用いた細胞外容積分画（extracellular volume：ECV）と肝線維化が強い相関があることが報告されている。ECV は、心臓、肝臓、脾臓などの領域で組織の線維化を表す指標として期待されている。ECV は通常の臨床で行われている造影 CT を後方視的に評価して算出することができるため、患者への新たな侵襲や負担がない。つまり、DAA 投与後の肝線維化の評価として ECV の有用性が確立されれば非常に臨床的価値が高い。現時点において、DAA 治療前後での ECV を用いた肝線維化の評価に関する報告は見られない。本研究は DAA 投与後の肝線維化の評価として ECV が有用であるかを検討する。

課題番号：R01 基-075

研究課題：MRI を用いた膵実質線維化の定量評価と膵外分泌機能の HbA1c との関連性についての検討

研究代表者名（所属）：八十川 和哉（放射線診断学）

共同研究者名：玉田 勉、山本 亮

膵実質線維化や膵外分泌機能障害は一般的には慢性膵炎によるものとされている。耐糖能異常においても膵臓に同様の変化を認めるとされているが、不明な点が多い。我々はこれまでに非侵襲的な空間選択的 IR パルス併用 cine-dynamic MRCP が膵外分泌機能検査になりえる可能性を報告している。T1 mapping は心筋線維化の定量的評価や重症度を客観的に評価することが可能となっており臨床的に使用されている。また、膵実質線維化の定量的評価も可能であると報告されている。これらを用いて耐糖能異常と膵実質線維化や膵外分泌機能障害との関係性について検討を行った。対象は腹部 MRI を施行され、検査の前後 2 ヶ月以内に HbA1c を測定されている 122 例を後ろ向きに検討を行なった。MRI には cine-dynamic MRCP と T1 mapping の撮像が含まれている。膵外分泌機能は secretion grade：SG を用いて評価し、膵実質の T1-value は T1 mapping において膵頭部に ROI をおいて測定した。HbA1c 値を用いてアメリカ糖尿病学会診断基準を一部改変して 4 群に分類した (non-diabetes, HbA1c<5.7%; pre-diabetes, 5.7%≤HbA1c<6.5%; type-2-DM, 6.5%≤HbA1c<8.0; and severe-T2DM, HbA1c≥8.0)。結果は SG と HbA1c、T1-value と HbA1c ではそれぞれ有意な相関を認めた ($r=0.226$, $P=0.013$ and $r=-0.250$, $P=0.006$)。non-diabetes における SG は T2DM と severe-T2DM より有為な高値を示した ($P=0.042$, $P=0.006$)。また、pre-diabetes における SG は severe-T2DM より有為な高値を示した ($P=0.007$)。severe-T2DM における T1-value は T2DM, pre-diabetes and non-diabetes より有為な高値を示した ($P=0.012$,

P<0.001, P<0.001)。膵実質線維化は比較的 severe-T2DM なるまで認めず、膵外分泌機能障害は徐々に進行する傾向にあり、耐糖能異常における膵外分泌機能障害は線維化によるものではない可能性が示唆された。

課題番号：30 若-002

研究課題：新たな白血病治療法開発にむけた、低酸素環境下での解糖系阻害治療の研究

研究代表者名（所属）：岡本 秀一郎（生化学）

急性白血病の高い再発率を克服するには、化学療耐性白血病に有効な抗癌剤を開発する必要がある。

申請者は、白血病細胞が耐性を獲得する原因の一つに骨髄内の環境因子が関与していると考え、低酸素環境に着目した。低酸素環境では、代謝リプログラミングによりグルコース代謝への依存度が増すと考え、グルコース代謝阻害剤による治療法を開発を試みたが、十分な治療効果は認められなかった。

しかし、耐性化研究を進める中で、抗癌剤感受性が低酸素以外の環境因子にも影響を受けることを確認するに至った。耐性を克服するためには、多様な因子を考慮する必要があると考え、骨髄内の多因子を同時に再現した培養方法の確立を行った。そして、フィーダー細胞・酸素分圧・培養液組成を調整して、骨髄内環境再現培養法の確立に成功した。この培養方法では、抗癌剤に対して高い耐性が誘導されており、骨髄内での耐性化が再現されていると考えられる。

申請者は、この培養方法を用いて耐性化誘導因子の絞り込みに成功したため文献的考察を含めて報告する。

課題番号：R01 基-094

研究課題：食道癌の危険因子に関する検討-主に生活習慣病との関連から-

研究代表者名（所属）：中村 純（総合内科学 2）

共同研究者名：眞部 紀明、春間 賢、河本 博文、山辻 知樹、猶本 良夫

【背景】食道癌（扁平上皮癌）は、膵癌、胆道癌、肝癌とともに予後の悪い消化器癌の一つであるが、早期発見できれば救命可能な癌でもある。飲酒、喫煙が食道癌の高リスクであることは知られているが、慢性疾患との関連性については不明な点が多いのが現状である。今回、川崎医科大学付属病院および総合医療センターで経験した食道癌症例について、食道癌の診断時に合併した基礎疾患を中心に検討し、早期診断への対策を考察した。

【対象と方法】2011 年 4 月 1 日から 2017 年 3 月末までの期間、川崎医科大学付属病院および総合医療センターで上部消化管内視鏡検査を受け、病理組織学的に扁平上皮癌と診断された 406 例（男性 333 例、女性 73 例、平均年齢 68.5 歳）を対象に、診療録をもとに診断時の基礎疾患と既往歴について検討した。

【結果】詳細に検討できた食道癌 178 例中 45 例（25.3%）は症状なく検診やスクリーニング検査で発見された。また、そのうち 7 例（15.6%）が進行癌だった。進行癌 101 症例のうち、高血圧症や糖尿病、脂質代謝異常症などの慢性疾患で通院中の患者が 48 例（47.5%）、他臓器癌の既往は 22 例（21.8%）に認められた。

【考察】食道進行癌の約半数が common な慢性疾患で通院中に発見されていることから、主治医はリスクを十分に認識し、積極的に検査の機会を設けることが重要である。

課題番号：R01 基-026

研究課題：ゲノム編集技術を用いた ROR1 ノックアウト悪性中皮腫細胞株の樹立

研究代表者名（所属）：瀧川 奈義夫（総合内科学 4）

共同研究者名：中川 望、山根 弘路、中西 秀和、小原 弘之、越智 宣昭

悪性中皮腫に高発現する ROR1 は正常組織での発現は乏しく、治療標的になることを報告してきた。今回、ROR1 遺伝子を標的とした gRNA/Cas9 の発現プラスミド・ドナープラスミドの作成を、Homology directed repair (HDR) と CRISPR-PITCh 法にて行い、そのプラスミドを ROR1 発現細胞に導入し、ノックアウト細胞を作製することを目的とした。

ROR1 のエクソン 1 を挟んだふたつの gRNA を用いた 2 Cut strategy にて効率的にノックアウトできる様に gRNA/Cas9 の発現プラスミドを設計した。PC-9、MST0-211H、および HEK293 の 3 種類の細胞株にプラスミドを導入し PCR を施行したところ、HDR と CRISPR-PITCh のいずれの方法でもプラスミドの発現が確認された。次に、gRNA/Cas9 発現プラスミド・ドナープラスミドを細胞株に導入し 3 週後にコロニーを単離し、PCR でプラスミドを確認した。

ROR1 エクソン 1 の近傍の配列をもとにプライマーを設計し PCR を施行したところ、ひとつの細胞においては少なくとも 1 アレルでは挿入が起こり、残りのアレルでは deletion が起こっていると考えられた。最後にこのノックアウト細胞のオフターゲット部位が正常であることを確認するため、gRNA の上流と下流のそれぞれ 5 か所の PCR を施行しシーケンス中である。

課題番号：R01 基-042

研究課題：進行非小細胞肺癌（多形がん）の臨床的特性と原発巣および転移巣における **ROR1** 発現に関する検討

研究代表者名（所属）：山根 弘路（総合内科学 4）

共同研究者名：瀧川 奈義夫、中西 秀和、越智 宣昭、長崎 康有

原発性肺多形癌（NSCLC-PL）とは ①低分化な非小細胞性肺癌であり、紡錘細胞あるいは巨細胞を 10%以上の割合で含む、ないしは ②紡錘細胞と巨細胞のみからなる腫瘍である。臨床的特徴として、末梢型の腫瘍影を呈することが多く、腫瘍の増大速度が速く予後不良であることが報告されている。これらの特徴はがんの浸潤・転移にかかわる上皮間葉転換（EMT）との関連性が強く示唆されることから、EMT 関連分子の解析を通じて、予後不良である NSCLC-PL の新規治療法の確立や NSCLC-PL の予後因子の解明が期待されている。今回我々は EMT に関与すると考えられている receptor tyrosine kinase like orphan receptor(ROR1)に注目し、当科で治療した NSCLC-PL 患者の腫瘍細胞における ROR-1 発現と患者予後、また近年肺癌治療において大きなインパクトを持つ免疫チェックポイント阻害剤への感受性との関連について解析することとした。2011 年 4 月から 2020 年 3 月までに川崎医科大学総合医療センターにおいて内科的治療がおこなわれた進行期 NSCLC-PL 患者は計 11 例であった。うち免疫チェックポイント阻害剤を使用して加療された症例は 3 例であり、現在、患者腫瘍検体 11 例における ROR1 発現を抗マウス ROR1 抗体(clone 1F5D8)を用いて解析中である。

課題番号：R01 基-092

研究課題：殺細胞性抗がん薬による第 3 世代 EGFR-TKI 耐性誘導に関する基礎的検討

研究代表者名（所属）：越智 宣昭（総合内科学 4）

共同研究者名：瀧川 奈義夫、山根 弘路、中西 秀和、小原 弘之、中川 望

EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌に対する第 3 世代 EGFR-TKI（Osimertinib）耐性機序として C797S 変異などが報告されているが未解明の部分が多い。我々は、H1975 細胞株（L858R 変異+T790M 変異）は Pemetrexed（PEM）耐性後に C797S 変異以外の機序による Osimertinib 耐性を招くことを見出し、マイクロアレイの結果からその耐性メカニズムの一端に関わると考えられる遺伝子 YES1 を同定した。次に YES1 遺伝子を knockdown したところ、Osimertinib への感受性が回復した。さらに、YES1 阻害効果を有する薬剤（Dasatinib、Saracatinib）と Osimertinib による併用効果を検討し、一定の濃度条件下では高い相乗効果を認めた。また Western blotting にて、PEM 耐性株で高発現を認める YES1 の抑制も確認できた。

メタボローム解析により、PC-9（Ex19 欠失）、RPC9（Ex19 欠失+T790M）、PC9/PEMR（Ex19 欠失・PEM 耐性株）を比較したところ、主成分解析と階層的クラスター解析では 3 系統の細胞株は明確に区別された。RPC9 と PC9/PEMR はいずれも親株に比べ有意にアミノ酸合成が低下し、総グルタチオンも低下していた。PEM と EGFR-TKI の両者に耐性となる機序の解明と、代謝経路の制御による耐性の克服を進めている。

課題番号：R01 基-076

研究課題：肺癌における微小免疫腫瘍環境と免疫チェックポイント阻害薬の効果の検討

研究代表者名（所属）：清水 克彦（呼吸器外科学）

共同研究者名：中田 昌男

免疫チェックポイント阻害剤(ICI)を用いた癌免疫療法は、多くの癌に対する治療法として確立されている。従来より我々は PD-L1 発現と CD8+TIL で分類した腫瘍免疫微小環境(TIME)分類を研究しており、本研究では TIME 分類に VEGF 発現を加えた Advanced TIME 分類を考案し ICI の効果との関連を検討した。2017 年 4 月から 2 年間に当院で ICI 単剤治療を受けた進行・再発肺癌症例 36 例を対象とした。治療効果は PR15 例、SD4 例、PD17 例であった。PD-L1 発現が陽性(TPS $\geq$ 10%) 21 例、陰性(TPS<10%) 15 例で、CD8+TIL 高値(HPF $\geq$ 50) 18 例、低値(HPF<50) 18 例だった。VEGF 高発現(H-score $\geq$ 4) 14 例、低発現(H-score<4) 22 例だった。奏効率は TIME Type-I (PD-L1 陽性、CD8+TIL 高値)は 75.0%で他の Type よりも有意に高かった。Advanced TIME では Type-IA(VEGF 低発現)は 88.9%、Type-IB(VEGF 高発現)は 33.3%で Type-IA は Type-IB よりも有意に奏効率が高かった。TIME 分類は ICI の効果を予測する有用なバイオマーカーであり、VEGF 発現を加えた Advanced TIME はより有用な治療予測因子になりうると思われる。

課題番号：30 ス-001

研究課題：濾胞性リンパ腫から形質転換した aggressive リンパ腫におけるスフィンゴシン-1 リン酸受容体 1 の発現の意義

研究代表者名（所属）：清水 里紗（血液内科学）

共同研究者名：和田 秀穂、近藤 英生、近藤 敏範

濾胞性リンパ腫(Follicular lymphoma, FL)は低悪性度リンパ腫の代表的疾患である。しかし診断後 10 年で 18～28%の症例が、Diffuse large B-cell lymphoma(DLBCL)へ形質転換する可能性があることが示されており、形質転換症例は予後不良とされているが、形質転換の発症機序は不明な点が多い。Sphingosine-1-phosphate (S1P) は、スフィンゴ脂質の代謝の過程で、sphingosine kinase(SPHK)によりつくられるリゾリン脂質の一種である。さまざまな組織の細胞表面に発現している 5 つの G 蛋白共役型受容体 S1PR1～5 を介して多彩な生物活性を発揮する。そのうち S1PR1 は主に、リンパ球や血管内皮細胞の細胞移動に関与していることが知られている。近年 S1PR1 および S1PR2 シグナル経路の異常が FL の形質転換に関与しているとの報告がある。形質転換 FL は、発生の段階で形質転換の運命が決まっている可能性に着目し、形質転換前後の組織における S1PR1、S1PR2 の発現について検討することで、形質転換の有用な予測因子となり得るかを検討した。形質転換前後の検体が得られた症例において免疫染色を行ったが、DLBCL における染色条件では FL での感度が低く、染色条件を検討する必要があると考えられる。

課題番号：R01 基-055

研究課題：遺伝子改変発癌マウスを用いた p53 と癌浸潤に関与するマクロファージの機能調節の解析

研究代表者名（所属）：中村 隆文（産婦人科学 1）

共同研究者名：田中 圭紀

【目的】子宮頸癌は HPV 感染による p53 と RB 蛋白の機能抑制により発生する。p53 機能が抑制された癌細胞が誘導したマクロファージの機能について検討する。

【方法】HPV と同じ DNA ウイルスである SV40 の T 抗原も p53 と RB 蛋白を抑制する。T 抗原により発癌する遺伝子組み換え発癌マウス α T3 マウス、 α T3 マウスと p53 欠損マウスを交配して作製された p53 欠損発癌 α T3 (-) マウス、さらに α T3 マウスと変異 p53 発現する M1 マウスを交配して作製された変異 p53 発現発癌 α T3 M1 マウスを用いた。各マウスの腫瘍からそれぞれ培養細胞を作製して、各癌細胞と腹腔内マクロファージとを混合培養して IDO と PD-L1 の発現を免疫染色で検討した。またマウス腹腔内に各癌細胞移植した場合の腹腔内マクロファージの IDO と PD-L1 の発現も FACS で検討した。

【成績】① α T3・ α T3(-)・ α T3 M1 癌細胞は IDO や PD-L1 を発現していた。②各癌細胞は腹腔内マクロファージを誘導した。③各癌細胞により誘導されたマクロファージも IDO や PD-L1 を発現した。

【考察】p53 抑制癌細胞は ID0 と PD-L1 を発現して腫瘍免疫を抑制する。さらに癌細胞の p53 機能抑制が癌周囲に誘導されたマクロファージの ID0 や PD-L1 の発現も増強させ、より強く腫瘍局所免疫を抑制しながら腫瘍の進展や浸潤を促進している可能性が示唆された。

課題番号：R01 ス-004

研究課題：卵巣顆粒膜細胞腫に対する新たな治療戦略 ～細胞周期・エストロゲンに着目して～

研究代表者名（所属）：羽間 夕紀子（産婦人科学 1）

共同研究者名：下屋 浩一郎、通山 薫、森谷 卓也、中村 隆文、松本 桂子、松本 良

【緒言】卵巣顆粒膜細胞腫（以下 OGCT）III・IV 期の 5 年生存率は 59%と決して良好とはいえない理由の一つに化学療法の奏効率の悪さがあげられる。Cisplatin（以下 CDDP）を含むレジメンの奏効率は 37%と非常に低く、新たな化学療法あるいは分子標的治療薬の開発が急務である。今回、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤（以下 HDACi）を用いることで、OGCT の化学療法奏効率の飛躍的向上と有害事象の軽減の可能性について検討した。

【方法】卵巣上皮性腫瘍のうち漿液性癌細胞株 SKOV-3、明細胞癌細胞株 OVISe・RMG、OGCT 細胞株 KGN・COV434 の計 5 種類の細胞株を使用し、HDACi 単剤、CDDP 単剤、および両剤を併用した際の細胞増殖抑制効果を、48 時間・72 時間の MTT assay 法により検討した。

【結果】OGCT 株のみならず漿液性癌・明細胞癌株についても HDACi の細胞増殖抑制効果が認められた。HDACi との併用実験では、CDDP 単剤の時に比して非常に低用量で相加効果が認められた。

【考察】HDACi は現在造血器腫瘍で使用されている分子標的治療薬で、腫瘍細胞の細胞周期の停止やアポトーシスの誘導など様々な作用が報告されている。今回の結果から、卵巣癌株に CDDP と HDACi を併用することで、CDDP の使用量を減少させることができた。これは臨床的に CDDP の有害事象を軽減できる可能性を示唆する。今後 HDACi による細胞死の詳細な解析や、OGCT の特徴であるエストロゲン産生能との関連性などの更なる追加分析を要するが、将来的に HDACi が卵巣癌の治療戦略の 1 つになる可能性を有している。

課題番号：R01 基-007

研究課題：乳癌の内分泌療法耐性の発生メカニズムの解明とその克服を目指した基礎研究

研究代表者名（所属）：紅林 淳一（乳腺甲状腺外科学）

共同研究者名：小池 良和、緒方 良平

乳癌はその多くがエストロゲン依存性であり、内分泌療法が広く用いられているが、必ず耐性が出現する。耐性が獲得された乳癌は、内分泌療法が無効であり、抗癌化学療法が適応となる。抗癌化学療法の導入を遅らせるべく、内分泌療法耐性獲得のメカニズムが研究され、その克服を目指し多くの試みがなされている。我々は以前から乳癌の内分泌療法耐性獲得のメカニズムの解明を目指し、基礎研究を進めてきている。

近年我々は、エストロゲン依存性癌の代表的なモデルである MCF-7 細胞を用い、エストロゲン枯渇下、抗エストロゲン薬の曝露下で 6 カ月以上の長期の細胞培養を行い、エストロゲン枯渇下や抗エストロゲン薬に耐性となった細胞（long-term estrogen deprived 細胞 [LTED]細胞とフルベストラント[FUL] 耐性細胞）を樹立した。さらに、親細胞と比較した mRNA マイクロアレイ解析を行い、1) LTED 細胞では ER シグナル伝達の亢進、エストロゲンに対する hypersensitivity、癌幹細胞比率の増加、2) FUL 耐性細胞では ER シグナル伝達の抑制や HER1, HER2 の発現促進、3) 両耐性細胞に共通した遺伝子発現の変化として、CXCR4 と HER4 の発現亢進が認められた。そこで本年度は、両耐性細胞を用いて、1) CXCR4 及び HER4 阻害薬（プレリキサホル、ネラチニブ）の細胞増殖や癌幹細胞比率に与える影響、2) CXCR4 及び HER4 阻害薬による内分泌療法耐性克服の試みを行った。さらに、近年、エストロゲン依存性乳癌の治療に導入された CDK4/6 阻害薬に対する耐性メカニズムに関する基礎的研究を始めている。

課題番号：R01 基-068

研究課題：肝発癌抑制機構としてのミトコンドリア品質管理

研究代表者名（所属）：原 裕一（肝胆膵内科学）

共同研究者名：日野 啓輔

【目的】我々はこれまでに鉄キレート剤が非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）において抑制されたミトコンドリア選択的オートファジー（mitophagy）を回復させミトコンドリア機能を改善することで病態進展を抑制することを報告してきた。さらに我々は鉄キレート誘導性 mitophagy の key molecule として mitochondria ferritin (FtMt)を同定した。今回鉄欠乏による mitophagy 誘導の分子機構とヒト NAFLD 組織における FtMt の意義について検討した。

【成績】DFP による mitophagy 誘導の際に FtMt 誘導されるが、細胞内鉄欠乏の際に HIF1 α の発現が上昇し、その後、転写因子 SP1 が FtMt のプロモーター領域に結合が増加することで FtMt の発現が上昇した。FtMt のノックダウンにより mitophagy は抑制された。FtMt は標的分子とオートファゴソームを結合させるカーゴレセプターのひとつである nuclear receptor coactivator 4 (NCOA4)結合した。ミトコンドリア移行シグナルを持つ蛋白はミトコンドリア膜電位の低下によりミトコンドリア外膜に係留するが、FtMt も鉄欠乏により膜電位の低下したミトコンドリア外膜に係留していた。以上から FtMt は障害ミトコンドリア選択的に移行し、さらに外膜に係留することで NCOA4 と結合して mitophagy を誘導すると考えられた。NAFLD 肝組織による検討では FtMt の発現は Matteoni type の進展とともに減少する傾向にあった。

【結論、考察】mitophagy の全く新しい分子機構を明らかにするとともに、ミトコンドリア品質管理は NAFLD 病態進展抑制のための治療戦略となる可能性が示唆された。さらに FtMt は NAFLD 線維化進展の新たなバイオマーカーとなりうる可能性が示唆された。

課題番号：R01 基-098

研究課題：実臨床における肝細胞癌に対するレンバチニブの有効性と安全性の検討

研究代表者名（所属）：大海 宏暢（肝胆膵内科学）

共同研究者名：富山 恭行、日野 啓輔

【目的】レンバチニブ（Len）はソラフェニブ（Sor）に対する非劣性が REFLECT 試験で示され、進行肝細胞癌（HCC）の一次治療薬として確立された。一方、Sor などのチミジンキナーゼインヒビター

（TKI）治療歴は REFLECT 試験の除外基準に該当し、これらの条件における有用性は十分なエビデンスはない。今回われわれは、実臨床における Len の短期治療成績をレトロスペクティブに解析し、TKI 治療歴の有無にも着目して比較検討した。

【方法】2018 年 4 月から 2019 年 3 月の期間、当施設ならびに関連施設で Len を導入し、解析時点で初回効果判定が可能であった 55 例を対象とした。治療効果は約 8 週間ごとに modified RECIST で判定し、有害事象は CTCAE ver4.0 で評価した。

【成績】患者背景の内訳は、平均年齢 74 歳、BCLC ステージ B/C が 15/25 例、血管浸潤 18 例（45%）、肝外転移 14 例（35%）であった。最良治療効果は、CR/PR/SD/PD がそれぞれ 1/16/15/8 例、奏効率 43%、病勢制御率 80%であった。Grade3 以上の有害事象は AST 上昇（5.1%）、食欲不振（4.4%）、高血圧（3.6%）、疲労感（2.9%）の順であった。REFLECT 試験の適格基準を満たさない症例は 40 例中 20 例（50%）であり、内訳としては TKI 治療歴が 14 例と最多であった。TKI 治療歴の有無で比較した背景因子は両群間で有意差はなく、奏効率の比較においても有意差を認めなかった。

【結論】実臨床における使用経験から、Len は過去の TKI 治療歴に関わらず進行 HCC に有用である可能性が示唆された。

課題番号：R01 基-052

研究課題：バレット食道におけるバレット腺癌リスクマーカーの検討

研究代表者名（所属）：村尾 高久（消化管内科学）

共同研究者名：塩谷 昭子、梅垣 英次、松本 啓志、半田 修、大澤 元保、合田 杏佑、勝又 諒、福嶋 真弥、半田 有紀子

背景：我々は 3cm に満たないバレット食道（SSBE）から発症した食道腺癌（EAC）の背景粘膜における PDZK1 の発現量が、対照群と比較し有意に高発現であることを見出しているが、EAC における PDZK1 の役割は明らかではない。

目的：EAC 細胞株における PDZK1 の機能を in vitro で解析し、意義を明らかにする。

方法：PDZK1 過剰発現およびノックダウンプラスミドを構築し、OE33 に空ベクターをトランスフェクトした B5 細胞と、PDZK1 を過剰発現させた P 細胞を作成した。それぞれの細胞の増殖能と、PSI によるアポトーシス刺激に対する PDZK1 の作用を、Annexin-V、PI による 2 重染色を行い、フローサイトメトリーで解析し調べた。

結果：両細胞で増殖速度に差を認めなかった。DMSO を添加した対象群に比べて PSI 刺激群では B5 細胞の有意なアポトーシスの増加を認めたが、P 細胞ではアポトーシスの増加抑制を認めた。また、ヘキスト 33342 と PI による 2 重染色でアポトーシス小体を指標とした場合でも同様の結果を認めた。アポトーシス実行蛋白を Western Blotting で解析したところ、B5 細胞において PSI 刺激で増加した Cleaved Caspase3 の発現は、P 細胞では抑制されていた。

結論：PDZK1 は EAC において抗アポトーシス作用を増強し癌の抵抗性を増加させる可能性がある。

課題番号：R01 基-006

研究課題：StageⅢ 治癒切除大腸癌に対するオキサリプラチン併用補助化学療法における腸内細菌叢の解析

研究代表者名（所属）：渡邊 裕策（消化器外科学）

共同研究者名：鶴田 淳、上野 富雄、塩谷 昭子、松本 啓志

（背景）腸内細菌叢の構成異常（dysbiosis）により変化した微小環境が癌治療に影響を及ぼすことが示唆されている。（目的）StageⅢ 治癒切除大腸癌に対するオキサリプラチン併用補助化学療法患者における腸内細菌叢の解析を行い、補助化学療法による dysbiosis が患者の QOL（Quality of Life）や有害事象プロファイルにどのように影響するかを検証する。（対象）消化器外科において治癒切除された StageⅢ 大腸癌に対しオキサリプラチン併用補助化学療法を行う患者 20 例（方法）・細菌叢検体（以下の 7 ポイントで採取）①-1 術前 大腸内視鏡 回腸末端（粘膜関連細菌叢（MAM））①-2 手術時 標本摘出時 MAM ② 退院後～補助化学療法開始前 糞便 ③-1 補助化学療法終了後（補助療法 6 ヶ月経過）糞便 ③-2 補助化学療法終了後（補助療法 6 ヶ月経過）大腸内視鏡 回腸末端 MAM ④-1 補助療法終了後 6 ヶ月 糞便 ④-2 補助療法終了後 6 ヶ月 大腸内視鏡 回腸末端 MAM ・QOL 調査（以下の 4 ポイントで調査）①術前（ベースライン）② 補助療法開始前 ③ 補助化学療法終了時（補助療法 6 ヶ月経過）④ 補助療法終了後 6 ヶ月の 4 ポイントで、・EQ-5D、・PNQ（Patient Neurotoxicity Questionnaire）、・EORTC QLQ C-30、・J-HAQ を用いて行う。（結果）2020 年 4 月現在、1 例が登録済みである。（結語）研究代表者の異動に伴い、本研究は一旦終了とする。

課題番号：R01 基-066

研究課題：免疫チェックポイント阻害剤効果予測バイオマーカーの探索

研究代表者名（所属）：谷岡 洋亮（臨床腫瘍学）

共同研究者名：永坂 岳司、岡脇 誠、佐野 史典、堅田 洋佑

切除不能進行再発胃癌の化学療法では免疫チェックポイント阻害剤（ICI）であるニボルマブは三次治療の標準治療と位置づけられている。しかしながら、ICI 療法の効果は限定的であり、また重篤な副作用が生じる場合もあり、後方ラインでの使用は、その適応が制限されることが予想される。そこで、後方ラインでの ICI 療法の効果を高めるための探索が重要となってくる。我々がすでに行っている切除不能進行再発胃癌に対する二次治療に関する多施設共同観察研究「切除不能進行・再発胃癌患者の二次化学療法中における末梢神経障害を中心とした副作用と薬剤効果を検討する多施設共同観察研究（IVY Study, UMIN000033376）」および当院倫理委員会で承認された（承認番号 3765）研究参加患者を対象に、ICI 奏功群を予測するバイオマーカーの探索を行う。2020 年 4 月時点で、IVY 試験症例登録数は 83 例であり、ICI 療法前の血液検体が約 30 検体得られている。これらの検体を用い、ICI 治療前の切除不

能進行再発胃癌患者の末梢血中リンパ球サブセットをFACSを用いて測定し、ソーティングした細胞のGenetic/Epigenetic変異を探索し、効果予測バイオマーカーの探索を行う。現在FACS実験を行うための、蛍光抗体選択、AriaIIIの準備中である。

課題番号：R01基-027

研究課題：MRI-経直腸超音波融合画像ガイド下前立腺標的生検を用いた前立腺癌の新たな診断戦略：治療前悪性度評価法の確立

研究代表者名（所属）：玉田 勉（放射線診断学）

共同研究者名：木戸 歩、宮地 禎幸、福永 健志

目的：MRI-経直腸超音波融合画像ガイド下前立腺標的生検（MRGB）を病理のゴールドスタンダードとして、前立腺マルチパラメトリックMRI（mpMRI）の診断基準であるProstate Imaging and Reporting Data System Version 2（PI-RADS v2）とそのupdated versionであるPI-RADS v2.1における前立腺移行域癌の検出能を比較すること。

方法：高PSA血症を伴った58症例が、mpMRIを受け、続いてmpMRIで移行域の前立腺癌が疑われた病変に対してMRGBが施行された。2名の放射線科医が独立して、それぞれの病変のPI-RADS v2、PI-RADS v2.1のカテゴリーを決定した。

結果：58症例の中で、26症例が前立腺癌有意癌（Gleason score（GS）=3+3、n=9；GS=3+4、n=9；GS=3+5、n=1；GS=4+3、n=4；GS=4+4、n=3）、32症例が良性病変と病理学的に診断された。PI-RADS カテゴリーの評価者間の再現性において、カッパ値はPI-RADS v2で0.580、PI-RADS v2.1で0.645であった。前立腺有意癌の診断能の比較において、診断感度は両評価者共に両診断法の間で同等であった（ $p \geq 0.500$ ）。reader 1は診断特異度がPI-RADS v2.1はPI-RADS v2より有意に高く（ $p=0.002$ ）、reader 2は両診断法の間で同等であった（ $p=1.000$ ）。両評価者共にROC解析から得られたarea under the ROC curve（AUC）は両評価者ともにPI-RADS v2よりPI-RADS v2.1で高かったが、有意な差はなかった（0.786 vs. 0.847 for reader 1、 $p=0.052$ ；0.808 vs. 0.858 for reader 2、 $p=0.197$ ）

まとめ：これらの結果は、PI-RADS v2に比べてPI-RADS v2.1は前立腺移行域病変の診断に適していることを示唆する。

課題番号：R01基-023

研究課題：骨髓異形成症候群から急性白血病へ移行する分子機構の探索：患者骨髓細胞から段階的に悪性化した細胞株の遺伝子発現パターンから見た解析

研究代表者名（所属）：通山 薫（検査診断学（病態解析））

共同研究者名：北中 明、辻岡 貴之、末盛 晋一郎

骨髓異形成症候群（MDS）は難治性の造血障害で、しばしば急性骨髄性白血病（AML）へ移行する。本研究の目的はMDS由来細胞株MDS92とその亜株を用いて、MDSからAMLへ移行する病型進展の分子機構を解明することである。

MDS92およびそこから分離された亜株から成るMDS92ファミリーはMDSからAMLへの流れをインビトロで再現していると考えている。病型進展に関わる遺伝子変異を全エクソーム解析にて探索してきた結果、元患者骨髓細胞に**TP53変異**があり、そこに**CEBPA変異**と**NRAS変異**が重なって細胞株樹立の契機となり、さらにMDS92から芽球性亜株MDS-Lへ移行する段階で**Histone1H3C (K27M)変異**がdriver変異として作用したと示唆されるが、この変異獲得クローンの拡大はIL-3依存性であった。

各細胞亜株間での発現形質の比較として表面マーカー解析を取り上げ、病型進展との関連を検討したところ、造血幹細胞マーカーCD34の発現が芽球比率と概ね相関しており、病型移行に伴って上昇傾向がみられた。またIL-3存在下でMDS-Lからさらに増殖旺盛となったMDS-L2007では、予後不良が示唆されるCD7の高発現がみられた。

遺伝子発現プロファイルの変化とクローン進化の関係の解析については、今後10X Chromiumシステムを用いたシングルセルRNA解析を計画中である。

課題番号：R01 基-079

研究課題：骨髄増殖性腫瘍および骨髄異形成症候群の遺伝子解析と治療標的分子探索

研究代表者名（所属）：北中 明（検査診断学）

共同研究者名：通山 薫、辻岡 貴之、末盛 晋一郎

骨髄増殖性腫瘍（MPN）および骨髄異形成症候群（MDS）の病態解析として、臨床検体の遺伝子解析と疾患モデルを用いた新規治療標的分子の探索を実施した。

令和元年度は、82 例の MPN（PV 6 例、ET 13 例、MF 3 例、その他 13 例、解析中 47 例）を対象に遺伝子解析を行い、解析済症例の 31%に JAK2V617F 変異が、23%に CALR 変異が認められた。MDS については、SF3B1 変異の解析法を当研究室で確立した。

CALR 変異は MPN の発症に深く関与するが、その機能解析に適した細胞株は存在せず、薬剤スクリーニングに使用可能なモデルの開発が望まれていた。われわれは MPN 疾患モデルである CALR 変異導入 F-36P-MPL 細胞株（CALRmut F-36P-MPL）を作成し、変異 CALR 依存性の細胞増殖を阻害する化合物のスクリーニングを実施したところ、SRC ファミリーの選択的阻害剤 PP2 および、Bcr-Abi ならびに Src ファミリーに対する阻害剤ボスチニブによって、CALRmut F-36P-MPL の変異 CALR 依存性の細胞増殖が阻害されることを見出した。2 剤に共通した標的分子は SRC ファミリーであり、重要な分子の同定を試みたところ、LYN を標的とした shRNA がサイトカイン非存在下に認められる変異 CALR 依存性細胞増殖を阻害したことから、Lyn の重要性が示唆された。

課題番号：R01 基-024

研究課題：骨髄異形成症候群における DNA メチル化阻害薬の作用機序の解明

研究代表者名（所属）：辻岡 貴之（検査診断学）

共同研究者名：通山 薫、北中 明、末盛 晋一郎

目的：DNA メチル化阻害薬は骨髄異形成症候群（MDS）の治療薬として注目されているが、作用機序に不明な点が多いため in vitro の系を用いて検討した。

材料と方法：MDS 細胞株 MDS-L, MDS92 と白血病細胞株 HL-60, U937, K562 を DNA メチル化阻害薬（decitabine；DAC, azacitidine：AZA）で連日処理した。

結果：5 つの細胞株の中で、特に MDS-L, MDS92, HL-60 で強い増殖抑制がみられ（DAC:IC50 は MDS-L: 16.0 ± 0.49 nM, MDS92: 74.3 ± 12.6 nM, HL-60: 145.0 ± 6.1 nM），アポトーシスによる細胞死が確認された。細胞周期の解析では、MDS-L を DAC で処理したとき、濃度依存性に G2/M 期の細胞が増加した。DNA マイクロアレイと全ゲノムを対象とした網羅的メチル化解析を行い DAC の作用機序に関わると予想される 13 個の遺伝子を抽出し特に, cholesterol 25-hydroxylase (CH25H) に注目した。定量 PCR を用いて CH25H の発現量を確認したところ、5 つの細胞株で DAC 処理により発現の上昇を認めた。MDS-L, HL-60 を用いた CH25H プロモーター領域のメチル化解析では健常人骨髄 CD34 陽性細胞と比較して顕著なメチル化を認めた。

考察：現在、急性白血病患者検体を用いて上記結果を検証中である。

課題番号：R01 基-050

研究課題：頭頸部癌および食道癌の発生要因とその増殖に関する研究—特に HPV 感染の関連について—

研究代表者名（所属）：藤田 穰（検査診断学（内視鏡・超音波））

共同研究者名：眞部 紀明、猶本 良夫、山辻 知樹、秋定 健、宇野 雅子、福嶋 真弥

【背景と目的】食道扁平上皮癌（以下食道癌）は喫煙と飲酒が主なリスク因子であるが、二つの因子の無い食道癌もある。ヒトパピローマウイルス（Human papilloma virus：HPV）は子宮頸癌の原因となり、飲酒・喫煙に無関係の頭頸部癌のリスク因子としても挙げられる。頭頸部に留まらず食道粘膜にも感染を認め、食道癌のリスクが上がるという報告もある。頭頸部及び食道癌症例の HPV 感染率（HPV16、HPV18）

を検討し、HPV 感染に伴う頭頸部癌及び食道癌症例の増殖因子を含めた臨床病理学的特徴及び予後について HPV 無関連の頭頸部及び食道癌症例と比較することを目的とした。【対象】川崎医科大学総合医療センター及び同附属病院における早期の頭頸部及び食道癌を対象とした。【結果】対象症例中、飲酒・喫煙歴の無い女性の早期食道癌 13 例が検出された。平均年齢は 75.5 歳で、全て表在癌であった。部位は Mt 領域に多く、肉眼形態は陥凹型が 9 例と多かった。高齢等で切除希望の無かった 3 例（未治療 2 例、放射線治療 1 例）を除き、全て腫瘍摘出が可能であった（内視鏡的切除 5 例、外科的切除 5 例）。臨床経過は腫瘍摘出拒否の 3 例を除き、局所、遠隔共に再発は無かった（平均観察期間 48 か月）。【今後の予定】従来のリスク因子の無い食道癌は高齢で経過良好例が多かった。今後は免疫染色で HPV 感染及び増殖能との関連性を検討する予定である。

課題番号：R01 基-014

研究課題：ホルモン非依存性乳癌を早期発見するための病理組織学的検討

研究代表者名（所属）：森谷 卓也（病理学）

共同研究者名：紅林 淳一、三上 友香

2010 年～2019 年に本学附属病院で乳癌の手術を受けた症例のうち、トリプルネガティブ（ER, PR、HER2 の 3 つがいずれも陰性）の浸潤癌（以下 TN）は 116 例であった。全例女性、年齢は 25-94 歳（平均 61.6 歳）、通常型浸潤性乳管癌 98 例、特殊型乳癌 18 例であった。手術時の浸潤径は平均 19mm で、浸潤径 5mm 以下の例が 21 例（18.1%）含まれていた。84 例（72.4%）が核グレード 3、81 例が組織学的グレードⅢと高悪性度例が主体を占め、Ki67 陽性率も平均 48.3%と高増殖能を示すが、浸潤径 3mm 以下の例では平均 25.0%にとどまった。浸潤癌成分の間や周囲に非浸潤癌成分（乳管内癌成分）が存在したのは 99 例（85.3%）で、大半の症例においては、浸潤前病変としての乳管内癌成分の特徴について病理学的な解析が可能と思われた。腫瘍内に複数の浸潤癌成分を認めたのは 14 例（12.1%）で、その大半は乳管内癌成分を介して多発浸潤をきたしたものと考えられた。定型的な TN のイメージは浸潤癌成分が優位の充実型～髄様型を示す浸潤癌だが、今回の検討からはより多様な癌の進展様式があることが明らかになった。次に、TN 症例の非癌部乳管上皮について、ER および基底細胞マーカーとして CK14 の発現頻度を計測し、TN 以外の乳癌とも比較したが、TN に特異的な変化は得られなかった。

課題番号：R01 基-043

研究課題：中咽頭癌におけるウイルス感染と癌化、および癌微小環境における分子病理学的アプローチ

研究代表者名（所属）：伊禮 功（病理学）

共同研究者名：福田 裕次郎（耳鼻咽喉科学）、森谷 卓也（病理学）

中咽頭癌のなかでも、近年、HPV 関連中咽頭癌が増加している。HPV 関連遺伝子(E6, 7)産物が細胞周期の調節に関わる分子に対して、抑制性に働き、癌化をきたすとともに、過剰な p16 蛋白の発現を生むとされている。【方法】本研究では p16 蛋白の発現状態を観察し、ISH(in situ hybridization)法との比較を行い、さらに臨床病理学的なパラメーターとの相関を検討した。【結果】中咽頭癌のうち p16 蛋白の高発現がみられる HPV 関連中咽頭癌は 9 例であった。組織型は非角化型(5 例)、乳頭型(3 例)、角化型(1 例)であった。症例の半数がⅢ/Ⅳ期、治療抵抗性であり、遠隔転移もみられた。p16 蛋白の高度な発現がみられるものは、その多くが ISH 法では、核内に陽性シグナルが観察されたが、p16 蛋白は陰性で、ISH 法のみ陽性シグナルがみられる症例も観察された。【結語】p16 蛋白の免疫染色を用いた ISH 法の代替法は、ある程度の確度をもって HPV 関連中咽頭癌を診断することは可能性であると考えるが、その感度は若干低い印象であった。本施設の HPV 関連中咽頭癌は形態的、生物学的特性において、多彩なものが混在している可能性があり、今後、診断法の再考、および PD-1 などの免疫関連分子の発現を観察し、さらなる病態の解析を行う必要がある。

課題番号：R01 基-047

研究課題：骨髄組織における免疫多重染色に関する研究

研究代表者名（所属）：藤原 英世（病理学）

共同研究者名：西村 広健、秋山 隆

【背景】GATA-1 は赤芽球や巨核球などの分化に重要な転写因子である。最近、GATA-1 抗体を用いた骨髄組織の免疫染色において、赤芽球および巨核球の核内に発現することが報告された。本研究では、骨髄病理組織診断における抗 GATA-1 抗体の有用性について検討した。【材料、方法】正常および造血器疾患の、骨髄組織の赤芽球・巨核球における GATA-1 の発現について、市販の抗 GATA-1 抗体（ウサギモノクローナル抗体：D52H6）を用いて免疫染色を実施した。【結果】正常骨髄では赤芽球・巨核球の核に陽性であったが、成熟した赤芽球系では幼若段階のものと比べて GATA-1 の発現が少なく、一部は陰性であった、巨核球では陰性の細胞も多く、同一症例内・症例間でばらつきがみられた。骨髄異形成症候群症例および、反応性赤芽球過形成症例では幼若段階の赤芽球でも GATA-1 の発現が乏しいものも観察された。【考察】本研究では、GATA-1 は赤芽球系および巨核球系細胞の発現については、先行研究と異なる結果もみられた。なお、核内陽性所見を示す点では、微小巨核球など巨核球形態の評価が困難な細胞については、細胞質マーカーとの多重免疫染色を行うことで評価することができる点で、有用な抗体となり得る。骨髄検体は少量しか採取されず、造血細胞主体に染色されるため、陽性コントロールの設定が今後の課題である。また、骨髄増殖性腫瘍など、他の造血器悪性疾患も含め、今後症例を増やして検討予定である。

課題番号：R01 基-099

研究課題：肺癌、食道癌における PIK3CA 遺伝子の発現および標的遺伝子としての評価

研究代表者名（所属）：羽井佐 実（学長付）

共同研究者名：深澤 也、高岡 徳、石田 正

肺扁平上皮癌の増殖・進展における PIK3CA 遺伝子の関与が報告され(Yamamoto et al. Cancer Res. 68: 6913-6921. 2008)、また米国癌ゲノムアトラス研究ネットワーク (The Cancer Genome Atlas Research Network: TCGA) から肺扁平上皮癌の多くに PIK3CA 変異が認められることが報告された (TCGA Nature. 151: 543-50. 2014.)。特異的抗体を用いた Immunoblot 解析の結果から、PIK3CA 遺伝子変異型肺癌において AKT の高い活性化が認められた。また siRNA を用いた PIK3CA の silencing により、また肺扁平上皮癌 EBC-2 の増殖が抑制され、SOX2 との共抑制によりその抑制効果はさらに増強した。PIK3CA および SOX2 に対する CRISPRi 発現型アデノウイルスベクターを感染後、双方を発現する EBC-2 細胞においては、TUNEL 染色により apoptosis が確認されたが、この効果は normal human lung fibroblast :NHLF 見られなかった。このことから、当該 2 遺伝子の共抑制による扁平上皮癌に対する標的治療の可能性が示唆された。

課題番号：R01 基-011

研究課題：癌促進型 RNA 結合蛋白質のリン酸化制御に着目した新規食道癌治療戦略の分子基盤

研究代表者名（所属）：増田 清士（医学部・学長付）

RNA 結合蛋白 (RBP) ファミリー遺伝子は、mRNA の転写から翻訳に至るまでの様々な品質管理や発現制御（転写後調節機構）の中心的な役割を担う分子である。

これまでの研究で、RBP ファミリーに属する TIA1a が食道扁平上皮癌 (ESCC) の発生と進行に伴い発現・局在に変化を生じ癌促進的に働くことを見出した (Oncotarget 2016)。TIA1a はヒンジ領域に蛋白質構造や機能を調節する disordered sequence を含んでおり、平成 30 年度プロジェクト研究ではヒンジ領域内にある特定のアミノ酸（局在調節アミノ酸）のリン酸化によって TIA1a の細胞内局在が制御されることを見いだした。本研究では、局在調節アミノ酸を Ala に置換した非リン酸化型 TIA1a (TIA1a-mtA) と Asp に置換したリン酸化型 TIA1a (TIA1a-mtD) を各々安定発現する細胞株を樹立し、TIA1a のリン酸化が ESCC 細胞動態に与える影響を検討した。細胞増殖は MTT 法で、腫瘍形成能は三次元培養法で検討した。TIA1a-mtD 発現細胞に比べ、TIA1a-mtA 発現細胞は細胞増殖能が有意に抑制された。また、野生型 TIA1a (TIA1a-wt) 発現細胞および TIA1a-mtD 発現細胞ではスフェロイドの形成が確認されたが、TIA1a-mtA 発現細胞は有意に抑制されていた。以上の結果から、TIA1a の局在調節アミノ酸のリン酸化によって TIA1a が核から細胞質に移行することで ESCC 細胞に悪性形質変化が誘導されると考えられる。

課題番号：R01 基-096

研究課題：からだのサイズを制御する分子メカニズムの解明

研究代表者名（所属）：西松 伸一郎（自然科学）

共同研究者名：守山 禎之、小島 史也、大澤 裕

ヒトもサンショウウオも、細胞が寄り集まってできた多細胞生物である。1960 年代に英国の Bullough により「からだ全体のサイズに対して臓器や組織の大きさを一定に調節する仕組みが存在する」とする仮説が提唱されたが、その仕組みは未だによくわかっていない。

オオサンショウウオは、世界最大の両生類である。オオサンショウウオの体が大型化した原因を明らかにする目的で、ゲノム DNA の解析を行っている。岡山県内および山口県内で捕獲された 143 個体のオオサンショウウオの DNA を解析している過程で、在来種のオオサンショウウオでは、ミトコンドリア DNA が細胞あたり 2 コピー存在することを発見した。チュウゴクオオサンショウウオならびに在来種との交配により誕生した交雑種では 1 コピーであることから、進化の過程で保存されてきたことが示唆される。ミトコンドリア DNA の塩基配列の比較から、チュウゴクオオサンショウウオとオオサンショウウオが分岐したのは約 8.3 億年前と推定されている。オオサンショウウオが生息する地域（岐阜県以西）は、かつてユーラシア大陸の一部であった陸地で、約 7000 万年前に大陸から切り離され、現在の日本列島が形成されたと考えられている。日本列島の形成よりも以前にオオサンショウウオの種分化が始まっていたのか、今後の研究を待たねばならないが、興味深い結果が得られつつある。

課題番号：R01 基-019

研究課題：チタン酸ナノシートを用いた蛍光増強薄膜成膜時における諸条件の検討

研究代表者名（所属）：吉岡 大輔（自然科学）

チタン酸ナノシート(TNS)への金、銀の担持は、TNS の光誘起酸化還元反応により起こっていると考えられる。研究代表者である吉岡は、TNS 分散液の酸化還元的雰囲気をコントロールすることで、特に、犠牲剤や還元力の高い物質の添加で、金や銀の担持量の増減や金担持 TNS、銀担持 TNS が示す表面プラズモン共鳴 (SPR)の強さを制御できると考えた。そこで、TNS 分散液に任意量のハロゲン化水素酸(HX=HF, HCl, HBr)を添加し、金や銀の担持に及ぼす影響について、検討を行った。

TNS 分散液に HX の添加を行うと、添加量の増加に伴い pH の減少がみられ、その変化量には HX の違いは見られなかった。HF 添加では、分散液中の Ti の濃度と同程度の添加を行っても TNS の凝集は見られなかった。HCl, HBr 添加では、Ti の濃度に近づくにつれて TNS の凝集が起こった。HX の添加による pH の変化量に違いがないことから、ハロゲン化物イオンの大きさが凝集に影響すると考えられる。

HX を添加したそれぞれの TNS 分散液を用いて、金や銀の担持を行った。還元的雰囲気の影響を受けやすい金担持において、HBr, HCl, HF 存在下では、添加量の増加に伴い SPR による吸収が大きくなった。特に、HBr 添加の効果が最も大きくなった。一方で、銀担持においては HCl, HF の添加の効果は金担持と同様であるが、HBr の添加による効果はほとんど見られなかった。

TNS の水分散性に対する影響と還元力を鑑みると、HCl, HF の添加は金、銀担持 TNS の調製には有効である。

課題番号：R01 基-081

研究課題：特異抗体を利用した細胞膜タンパク質 gp91^{phox}の構造解析

研究代表者名（所属）：栗林 太（生化学）

申請者等は、これまでに頂いたプロジェクト研究費等によって活性酸素産生タンパク質である gp91^{phox}に結合する抗体の解析を行ってきた (Kawai C *et al.*, *Microbiol Immunol.* 2018)。本申請課題はその研究の延長線上にあり現在も解析を続けている。細胞膜タンパク質 gp91^{phox} (phox は phagocyte oxidase の略) は、病原微生物等の貪食など細胞が刺激された時に、細胞休止期には細胞内に存在する蛋白質、p47^{phox}, p67^{phox}, p40^{phox} と Rac が細胞膜に移行して結合することにより活性化される。その結果、gp91^{phox}を含む食細胞 NADPH オキシダーゼは活性酸素の 1 種であるスーパーオキシド (O₂⁻) を生成

し、この O_2^- から派生した様々な活性酸素種は強力な殺菌作用を持つ。これらオキシダーゼ複合体を構成するタンパク質の1つでも遺伝的に障害されると慢性肉芽腫症 (CGD) になり、重篤な感染症を繰り返す。これら活性酸素生成タンパク質の内、gp91^{phox} だけは性染色体にコードされているので、患者の 80% 程度は男児である。本研究では gp91^{phox} に結合する抗体の結合部位の詳細抗原を決定することである。我々は様々なキメラタンパク質を生細胞とリコンビナントとして発現可能なアッセイ系を構築した後、gp91^{phox} との結合実験を行った。その後詳細な結合マップを形成するために、様々な point mutation を gp91^{phox} に導入し解析したので、本会において報告させていただきたい。

課題番号：R01 基-093

研究課題：高尿酸血症の免疫機能への影響：尿酸は敵か味方か？

研究代表者名 (所属)：山内 明 (生化学)

共同研究者名：岡本 秀一郎、宮野 佳

【目的】尿酸の抗酸化作用による免疫担当細胞の機能の制御機構を明らかにする。

【背景】尿酸には抗酸化作用があることが知られているが、炎症時の免疫担当細胞に対する直接的効果は不明である。本研究では痛風の病態解明を目指して、高尿酸状態の免疫担当細胞の機能への影響を解析した。

【方法】ヒト T リンパ腫由来細胞株 Jurkat 細胞を用いて、正常尿酸濃度、高尿酸濃度 (尿酸結晶無し) および高尿酸濃度 (尿酸結晶有) で培養後、ケモカイン SDF-1 α に対する走化性を細胞動態解析装置 TAXIScan にて解析した。また、尿酸のインフラマソーム関連分子への影響について、遺伝子発現を定量 RT-PCR にて評価した。

【結果】尿酸結晶の有無で結果が大きく異なった。まず高尿酸濃度培地 (尿酸結晶有) では Jurkat 細胞は対照 (尿酸を加えなかった細胞) よりも SDF-1 α への走化性が亢進していた。しかしながら、高尿酸濃度培地 (尿酸結晶無し) では、Jurkat 細胞の SDF-1 α への走化性が抑制されていた。さらにインフラマソーム関連分子の遺伝子発現は、高尿酸濃度 (尿酸結晶有) の培養条件下で、NLRP2, NLRP12, および CASP1 の発現が増加していた。

【考察】高尿酸状態かつ尿酸結晶無しの状態は免疫細胞の機能に抑制的に働き、尿酸結晶が生成されると走化性が活性化し、インフラマソーム関連分子の発現が増加することが示唆される。

課題番号：R01 ス-003

研究課題：殺菌やレドックスシグナルに重要な活性酸素生成酵素 Nox の時空間制御システムの解明

研究代表者名 (所属)：宮野 佳 (生化学)

活性酸素生成酵素 Nox (NADPH oxidase) ファミリーは、ヒトでは Nox1~Nox5 と Duox1/2 の 7 種が知られ、殺菌やレドックスシグナルに関わっている。今回私は、Nox が個体の恒常性に重要な細胞遊走を調節していることを見出した。血管新生において重要な内皮細胞の遊走は、細胞表面受容体 VEGFR-2 とリガンドの血管成長因子 VEGF-A の結合により引き起こされる。私は、Nox4 が受容体などの膜タンパク質のプロセッシングの場である小胞体において、細胞表面に輸送される前の未成熟 VEGFR-2 をタンパク質レベルで安定化していることを見出した。この安定化は、細胞表面 VEGFR-2 の維持に必須であり、その結果 Nox4 活性が内皮細胞の遊走を促進していることを明らかにした。一方、粘膜損傷の修復に関わる上皮細胞の遊走において、細胞膜に発現する Nox1 が自身の生成物による正のフィードバック調節を受け、細胞外に生成した活性酸素が上皮細胞の遊走を抑制していることが分かった。以上の結果から、活性酸素は細胞遊走を正または負に一律に制御するのではなく、Nox が発現する細胞の種類によって遊走の促進や抑制を行っていることが示された。こうして、活性酸素が“生成される場所” (Nox4 は小胞体内腔、Nox1 は細胞外) や Nox の“活性調節” (Nox1 の正のフィードバック調節)、すなわち時空間制御は、個体の恒常性の維持に重要であると考えられる。

課題番号：R01 基-038

研究課題：インフルエンザウイルス感染におけるターゲッティング機構の研究

研究代表者名（所属）：堺 立也（微生物学）

共同研究者名：齊藤 峰輝

我々はこれまでの研究で、インフルエンザウイルスが細胞表面のウイルス受容体(シアロ糖鎖)との結合を次々と入れ替えることで運動することを明らかにした。ところで、ウイルス運動は、ウイルスが細胞内に侵入する場所であるエンドサイトーシスが起きる領域までの移動(ターゲッティング)にとって有効と考えられるが、高すぎる運動性はウイルスの侵入(エンドサイトーシスを受けるため)には不利となろう。我々は、インフルエンザウイルスが複数種の受容体を運動(ターゲッティング)用と静止(侵入)用に使い分けているという仮説を立てた。仮説の証明のため、2種の受容体、 $\alpha 2, 3$ 型および $\alpha 2, 6$ 型シアロ糖鎖(以下 3SA, 6SA と略)、を結合させた表面でのインフルエンザウイルス(A 型 3 種, B 型 2 種)の運動特性を調べた。その結果、インフルエンザウイルス 5 種中 4 種は、6SG 表面での運動性は低く、3SG 表面で活発に運動した。ところでウイルス感染の場となる呼吸器上皮組織では、感染の標的となる非線毛細胞には 6SA が多く、周辺の線毛細胞には 3SA が多いとされている。我々の結果は、(例外はあるものの)インフルエンザウイルスが、線毛表面では 3SA を運動用の受容体として使って移動し、非線毛細胞表面では 6SA を静止用の受容体として使い細胞に侵入していることを示している。ウイルスが複数の受容体を用途に合わせ使い分けていることは大変興味深い。

課題番号：R01 基-064

研究課題：肺線維化における生理活性リゾリン脂質分解酵素の役割

研究代表者名（所属）：岡本 安雄（薬理学）

共同研究者名：坪井 一人、竹之内 康広、北風 圭介

線維症一般に重要な因子であるリゾホスファチジン酸 (LPA) やスフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) の分解活性をもつ脂質リン酸ホスファターゼ 3 (*LPP3*) の遺伝子発現およびタンパク質発現が肺線維症モデルマウスの肺で低下していることから、線維化肺では、*LPP3* の発現低下が S1P と LPA の蓄積を引き起こし、線維化を促進していることが考えられた。*LPP3* 遺伝子発現については、転写因子 Krüppel-like Factor 2 (KLF2) が *LPP3* 遺伝子発現を促進することやマイクロ RNA による *LPP3* 遺伝子発現抑制が報告されている。線維症モデルマウスの肺で KLF2 の遺伝子発現が低下していたことから、KLF2 の発現を促進する脂質異常症治療薬スタチンをブレオマイシン誘発性肺線維症モデルマウスに経口投与し、肺線維化を抑制するか否かを検討した。スタチン投与はブレオマイシン投与による体重減少およびマウスの気管支肺胞洗浄液中の細胞数、可溶性コラーゲン量およびタンパク量の増加を抑制しなかったことから、スタチンによる肺線維化抑制効果は観察できなかった。今後、肺線維症モデルマウスおよびコントロールマウスの肺から磁気ビーズ細胞分離法を用いて肺胞上皮細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞、マクロファージを分離し、肺線維症モデルマウスの各肺構成細胞における *LPP3* の発現の変化および発現調節メカニズムを検討する予定である。

課題番号：R01 基-069

研究課題：神経因性疼痛治療薬の創製を目指した抗炎症作用を有する新規機能性脂質の探索

研究代表者名（所属）：坪井 一人（薬理学）

共同研究者名：竹之内 康広、北風 圭介

N-アシルエタノールアミン (NAE) は、ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 PPAR α を介して神経因性ないしは炎症性疼痛に対してある程度の抗炎症・鎮痛作用を示す。本研究は、体内で分解されにくい強力な NAE 類縁体を見出すことを最終目標とする。今回、PPAR α 活性化能を評価するアッセイ系の確立を行った。具体的には、PPAR α のリガンド結合領域と酵母転写因子 GAL4 の DNA 結合領域の融合タンパク質を COS-7 細胞に発現させ、ルシフェラーゼをレポーターとする実験系を構築した。細胞を 30 μ M の PPAR α アゴニスト GW7647 で処理したところ、生じた化学発光は 9.7 倍上昇し、実験系が確立したと考えられた。

さらに、体内における NAE の加水分解における酸性セラミダーゼの役割を検討した。本酵素の精製組換え標品は、既知の基質であるセラミドに加えて NAE も加水分解した。HEK293 細胞に酸性セラミダーゼを過剰発現させたところ、NAE の細胞内レベルは減少した。逆に、内在性に酸性セラミダーゼを高発現するヒト前立腺 LNCaP 細胞を用いて、siRNA 法により本酵素をノックダウンしたところ、NAE の細胞内レベルは上昇した。以上の結果から NAE の加水分解に酸性セラミダーゼが関与することが示唆された。今後、NAE 類縁体を開発する上で、酸性セラミダーゼによる加水分解を考慮することが必要と考えられた。

課題番号：R01 基-040

研究課題：Growth/differentiation factor 15 (GDF15) が肺線維化に及ぼす影響の検討

研究代表者名（所属）：竹之内 康広（薬理学）

共同研究者名：岡本 安雄

肺線維症は、適切な予防および治療法が確立されていない疾患であり、肺の線維化に関わる新規シグナル分子を同定し検討することが重要となっている。我々は、抗がん剤ブレオマイシン腹腔内反復投与肺線維症モデルマウスの肺を用いたマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、線維化肺で growth/differentiation factor 15 (GDF15) 遺伝子発現の増加を見出した。本研究では GDF15 の肺線維化過程に関与する新規シグナル分子としての可能性を検討することを目的とした。

マクロファージは活性化により線維化に関与する M2 型へ誘導されることが報告されている。GDF15 処置は、IL-4+IL-13 刺激で増加した M2 マーカー遺伝子をさらに増加させた。また、肺線維化において細胞外マトリックスを産生する筋線維芽細胞が深く関与することが知られている。筋線維芽細胞に発現する α -smooth muscle actin (α -SMA) タンパクの発現を検討したところ、GDF15 処置は線維芽細胞 WI-38 において α -SMA 発現を増加させた。線維化のシグナルとして ALK5 が Smad2/3 のリン酸化を介し、線維化関連遺伝子の発現を誘導することが報告されている。線維芽細胞においても GDF15 により Smad2 のリン酸化が認められ、ALK5 阻害薬の同時処置によりリン酸化の消失および α -SMA タンパクの増加が抑制された。

以上の結果から、GDF15 はマクロファージでは M2 型への分化誘導促進、線維芽細胞では ALK5-Smad2/3 経路を介した活性化により肺線維化の発症・進展に関与していることが明らかとなった。

課題番号：R01 ス-002

研究課題：抗肥満性脂質の生合成酵素 GDE7 の細胞内活性化機構の解明

研究代表者名（所属）：北風 圭介（薬理学）

共同研究者名：坪井 一人

N-アシルエタノールアミンは、多彩な生理活性を持つ脂質メディエーターである。なかでもオレオイルエタノールアミド(OEA)は、食欲抑制作用を発揮することから、内因性の抗肥満物質として注目されている。近年、我々が見出したグリセロホスホジエステラーゼ 7 (GDE7) は、 Ca^{2+} 依存性に OEA を含む N-アシルエタノールアミンを生合成する酵素であり、小胞体膜上に局在することが示唆されている。GDE7 には 2 箇所の膜貫通ドメインおよび、その中間に Ca^{2+} 結合部位が推定されているが、細胞内での活性化機構は未解明である。そこで本研究では、 Ca^{2+} による GDE7 の細胞内活性化機構の解明を目的とし、小胞体膜上における配向性を解析した。

まず、C 末端に FLAG タグを付加したヒト GDE7 を COS-7 細胞株に安定発現させた。超遠心分離により得た小胞体画分を用いて、Proteinase K 感受性試験を行った。次に、低濃度のジギトニンによる細胞膜選択的な透過処理を行い、免疫細胞染色を行った。いずれの実験においても、GDE7 の C 末端は小胞体外に存在することが示された。このことから、GDE7 の Ca^{2+} 結合部位は小胞体内腔に存在し、小胞体内の Ca^{2+} によって GDE7 は恒常的に活性化していることが示唆される。また、GDE7 を内在性に高発現する MCF-7 細胞株において、CRISPR-Cas9 系による GDE7 のノックアウトに成功しており、内在性の GDE7 についても同様の膜配向性を示すか検討中である。

課題番号：R01 基-095

研究課題：関節リウマチマウスモデル gp130F759 の滑膜最初期病変の組織学的解析

研究代表者名（所属）：石原 克彦（免疫学）

共同研究者名：井関 将典、矢作 綾野

1. gp130F759 の滑膜の免疫組織学的解析

Gp130F759 の関節炎最初期滑膜組織で遺伝子発現の増加を認めた BST-1 の局在について、野生型(WT)と gp130F759 の後肢関節の川本テープ法による凍結切片を用いて蛍光免疫染色を行った。WT、gp130F759 いずれにおいてもほとんど全ての BST-1 陽性細胞は血液系細胞マーカーCD45 陰性であり、静脈系と思われる血管内皮細胞にも BST-1 の産生を認めた。CD45 陽性 BST-1 陽性細胞は WT の滑膜の極一部にしか認められなかった。gp130F759 では CD45 陰性 BST-1 陽性細胞が増加していた。血液・非血液系に分離した滑膜細胞の定量的 PCR 法で得られた、*Bst1* 遺伝子の非血液系細胞における発現増強をタンパク質レベルで確認できた。

2. gp130F759 の滑膜初期病変と末梢血白血球動態の関連解析

CX3CR1-EGFP/gp130F759 の滑膜表層に局在する GFP 陽性のマクロファージ様滑膜細胞と、末梢血中に増加する Ly6C^{low}CX3CR1^{high} の単球との差異を検討している。

3. *Mycoplasma fermentans*(Mf)感染誘導モデルにおける滑膜組織の反応性変化

Mf 感染 1 ヶ月後の Col1-ECFP /gp130F759 の関節滑膜について、川本テープ法を用いた免疫組織染色を行い、線維芽細胞様滑膜細胞の変化を解析している。

課題番号：R01 基-086

研究課題：BST-1/CD157 の細胞膜外酵素活性および受容体機能による B 細胞の生存制御機構

研究代表者名（所属）：井関 将典（免疫学）

共同研究者名：石原 克彦、矢作 綾野

Bone marrow stromal cell antigen-1 (BST-1)/CD157 は ADP リボシルシクラーゼ活性を有する細胞膜外酵素である。我々は C57BL/6 背景の *Bst1* 遺伝子欠損マウス (KO) において I 型胸腺非依存性抗原 (TNP-LPS) に対する抗原特異的抗体産生が亢進していること、BST-1 が脾臓 B 細胞の亜集団である辺縁帯 (marginal zone: MZ) B 細胞に発現しており濾胞 B 細胞にはほとんど発現していないことを明らかにしてきている。また KO MZ B 細胞は LPS 刺激時の細胞生存が野生型 (WT) に比べて亢進していることを示唆するデータを得ていた。純化した MZ B 細胞を用いたマイクロアレイ解析により様々な遺伝子の発現変化を調べているが、その中で炎症性サイトカイン *Il6* 遺伝子の発現が LPS 刺激 KO MZ B 細胞で低下していることを発見した。我々は別の実験で BST-1 はマクロファージ (MΦ) に高発現していること、KO 由来 MΦ において *Il6* 遺伝子の発現が低いことを新たに見出している。BST-1 を発現する二つの免疫細胞において *Bst1* 欠損により共に *Il6* 遺伝子の発現が低下するという結果は共通の分子機構の存在を示唆している。また、MZ B 細胞由来 IL-6 はエンドトキシンショックを増悪化させると報告されている。今後 BST-1 による IL-6 産生調節を介した炎症制御について検討していきたい。(598 字)

課題番号：R01 基-087

研究課題：BST-1 における腸管運動制御と筋・神経組織関与の検討

研究代表者名（所属）：矢作 綾野（免疫学）

共同研究者名：竹之内 康広、井関 将典、岡本 安雄、石原 克彦

Bone marrow stromal cell antigen-1 (BST-1)/CD157 は、GPI アンカー型細胞膜外酵素であり、NAD からサイクリック ADP リボースを産生する ADP リボシルシクラーゼ活性を持つ。BST-1 の腸管運動制御機能への寄与について *ex vivo* にて検討した結果、BST-1 の欠損によりアセチルコリンに対する腸管収縮反応性が十二指腸で亢進、大腸で減弱することから、BST-1 は腸管部位によって異なる機序を介して蠕動運動を制御している可能性を報告した (2018 年度プロジェクト研究)。腸機能の支配は筋肉や神経組織によって形成されることから、今回 *Bst1* KO (KO) および野生型 (WT) マウスの十二指腸・大腸における神経細胞の構成を病理学に観察した。GFAP、Nestin、NeuN に対

する抗体で染色し、グリア細胞 (GFAP⁺)、神経上皮細胞 (Nestin⁺)、成熟神経細胞 (NeuN⁺) の局在を共焦点顕微鏡にて観察した。その結果、大腸における神経叢の大部分は KO、WT 共に GFAP 陽性であった。野生型の大腸では検出できなかった神経上皮細胞が *Bst1* KO の大腸では少数ながら散在して検出された。一方、十二指腸では KO における異常所見は見受けられなかった。これらの結果から *Bst1* KO の大腸においては腸管神経系の発生が障害されている可能性が示唆された。

課題番号：R01 基-002

研究課題：マイナス荷電粒子優位室内環境：長期居住モニターによる免疫影響の観察

研究代表者名（所属）：大槻 剛巳（衛生学）

共同研究者名：李 順姫、西村 泰光、武井 直子、吉留 敬

多孔木炭塗料と壁面に電圧（72V）を配して壁面に負に帯電することによって、室内環境中の 20nm 前後の粒子を壁面に収集し、相対的に負帯電粒子優位な室内環境を構築し、それによって短期（2.5 時間）、中期（夜間 2 週間）および長期（実際の住宅に設置し 3 ヶ月ごとに ON と OFF）の滞在実験により NK 細胞の殺細胞効果が増強することを報告した。現在（株）ヤマダホームズからの受託研究で、2016 年 7 月 11 日から本仕様（Wellness Air）と気密性を重視した Smart House の仕様を整備した新規戸建住宅共住者 3 世帯 6 名の対象者の登録を開始し〔A)入居前 1（契約時）、B)入居前 2（着工時）、C)入居後 1（入居半年後）、D)入居後 2（入居 1 年後）、E)入居後 3（入居 2 年後）、F)入居後 4（入居 3 年後）〕に採血・採尿を実施中である。2019 年度に 1 番目の家族は E まで終了、2 番目は D まで終了、3 番目は C を実施した。一般の健診項目、NK 細胞活性、尿では一時尿ながら酸化す採れる指標の 80HdG の測定を行い。また対象者には血圧・脈拍・体温を毎日測定して頂き、健康に関連するコメント欄とともに健康日記をつけてもらっており、毎月、研究代表者がコメントを寄せている。今後、集められた血清によって、網羅的サイトカイン測定をルミネックス法にて実施予定である。

課題番号：R01 基-039

研究課題：トランスクリプトーム解析による石綿曝露の免疫機能影響の解析

研究代表者名（所属）：西村 泰光（衛生学）

共同研究者名：大槻 剛巳、吉留 敬、武井 直子、李 順姫

【背景】我々は石綿曝露の免疫抑制影響を提起し、これまでに細胞培養実験から免疫機能低下の特徴を見出し、幾つかの特徴が中皮腫または石綿曝露者で確認されることを報告してきた。しかし、未だその抑制機序は不明である。最近、ヒト CD8⁺T 細胞株 EBT-8 を用いて、長期白石綿曝露による細胞内 perforin 量と刺激後の IFN- γ 産生能低下を捉えた。そこで、複数種の石綿曝露下 EBT-8 を長期間培養し、全転写産物の解析（トランスクリプトーム解析）から石綿曝露に共通した発現量変化を示す遺伝子を探索した。

【方法】EBT-8 を 30 μ g/ml 濃度の 2 種類の白石綿（CA, JAWE）、青石綿（CR）、TiO₂ 曝露下、或いは曝露せず（対照群）、IL-2 添加培地で継代培養した。培養 39 日目以降に毎週細胞を回収し、生細胞を凍結保存した。目的遺伝子 mRNA 量を realtime RT-PCR で測定すると共に、各群 3 例（全 15 例）の NGS 解析により全転写産物量の変化を分析した。

【結果】TiO₂ と対照的に CA, JAWE, CR の何れの石綿曝露も IFN- γ mRNA 量の低下を引き起こし、IFN- γ mRNA 量は石綿曝露日数依存的漸減を示した。NGS 解析より得られたコンセンサス転写物について 29,638 転写物の発現量を比較できた。その中で、CA, JAWE, CR に共通し 4 倍以上の変動を示す転写物は 5 つ有り、IFN- γ を含み既知遺伝子が 3 つ、未知転写物が 2 つであった。

【考察】IFN- γ mRNA 量の曝露日数依存的漸減は、蓄積した石綿による免疫機能抑制作用を支持する。また解析の結果は少数の共通する転写産物量変動を示し、機能低下機序との関わりを示唆する。

課題番号：R01 基-012

研究課題：CCR5, CCR7, 及び CXCR3 に注目した長期石綿曝露 CD8⁺T 細胞亜株の機能解析

研究代表者名（所属）：武井 直子（衛生学）

共同研究者名：大槻 剛巳、西村 泰光、吉留 敬、李 順姫

石綿の発癌作用はよく知られているが、癌疾患の抑制に働く抗腫瘍免疫への石綿曝露影響は不明な部分が多い。抗腫瘍免疫において naïve CD8+T 細胞は適切な細胞やサイトカインの環境下で増殖を伴い細胞傷害性 T 細胞 (CTL) に分化し、granzyme や perforin を分泌し、標的を特異的に攻撃する。腫瘍細胞が効果的に排除されるためには、「CTL が分化すること」だけでなく、「分化後の CTL が機能を維持させること」、「CTL の遊走 (腫瘍部位への遊走とリンパ節への停留) が適切であること」が重要である。本研究では、CD8+T 細胞の遊走活性に対する長期石綿曝露影響を調べる目的で、ケモカインレセプター

(CCR5, CCR7, 及び CXCR3) の発現量を測定した。30 µg/ml の濃度の白石綿添加/非添加培地中でヒト CD8+T 細胞株 EBT-8 を 1-2 カ月間培養し、石綿曝露亜株及び対照亜株を作成した。発現量の測定には flow cytometry を用いた。1 カ月間の石綿曝露は、CXCR3+、CCR5+、及び CCR7+細胞比率に影響を示さなかったが、4 例中 3 例における CCR5 発現量 (MFI) の減少とともに、CCR7 発現量 (MFI) が有意に減少した。曝露期間を延長すれば、CCR5 と CCR7 の発現変化がより大きくなると考え、曝露期間を 2 カ月にしたところ、CCR5+及び CCR7+細胞比率は有意に減少した。以上の結果は長期石綿曝露が CTL の遊走活性に影響を及ぼす可能性を示す。今後は CCR5 及び CCR7 における遊走活性を測定したい。

課題番号 : R01 基-031

研究課題 : 加熱式たばこの人体への影響 —気道と全身の観点から—

研究代表者名 (所属) : 八十川 直哉 (呼吸器内科学)

共同研究者名 : 小賀 徹、黒瀬 浩史、小橋 吉博、加藤 茂樹

【背景】近年、日本では、紙巻きたばこの代替として、加熱式たばこが普及してきている。海外では、電子タバコがその主流であるが、気道炎症や肺気腫を誘引する可能性を指摘され、その使用に警鐘が鳴らされ始めた。しかし、加熱式タバコに関しては、人体への影響はまだ報告されていない。

【目的】加熱式タバコの気道と全身への影響を、特に炎症の観点から、紙巻きたばこ常習者、非喫煙者、と比較検討する。

【方法】20 歳以上の健常人ボランティアの非喫煙者 20 名、紙巻きたばこ 20 名、加熱式たばこ 20 名を目標に募集する。問診票および質問票、呼吸機能検査、誘発喀痰検査、採血を行う。主要評価として、気道炎症に関しては、誘発喀痰検査を行い、喀痰を採取し、誘発喀痰中の細胞数と分画の計測、ならびに上清を分離し、サイトカインや酸化ストレスマーカーを中心に、測定する。同時に、採血により、全身性炎症も評価する。そのほか、副次評価として、患者報告型アウトカムを質問票を用いて評価し、加熱式タバコ使用者の生活の質 (QOL) や呼吸器症状、睡眠の状態などを比較検討する。

【結果】現時点で、非喫煙者 4 名、紙巻きたばこ 1 名、加熱式たばこ 1 名、の 6 名の登録・検査を実施した。誘発痰採取など含め、特に問題なく、検査は実施できることを確認している。

【考察】現在、コロナ問題もあり、登録もペースダウンしながらしている。今後解除されれば、さらに登録をすすめていきたい。

課題番号 : R01 基-100

研究課題 : 肺炎マイコプラズマにおける耐性出現および増殖機構の解明

研究代表者名 (所属) : 大石 智洋 (小児科学)

共同研究者名 : 尾内 一信

2019 年 1 月から 2019 年 12 月まで、以前から継続している小児マイコプラズマ感染症の全国調査および耐性機構の解明について検討を行った。

まず、全国調査では、肺炎マイコプラズマ陽性 44 検体、マクロライド耐性率は 21.6% であり、マクロライド耐性遺伝子変異は全て A2063G 変異であり、流行は落ち着き、マクロライド耐性率は低く推移していた。キノロン系薬やテトラサイクリン系では、明らかに最小発育阻止濃度 (MIC) の高い株は見られなかった。P1 タンパクによる分子疫学的解析では、P1 Type2 と Type2 サブタイプが 88.2% と大勢を占め、マクロライド耐性株は、少数分離された Type1 の全てと Type2 の 1 株のみであり、近年と同様の傾向であった。

耐性機構の解明では、マクロライド耐性株に、低濃度のマクロライド系薬を添加し継代培養するセレクション実験を施行したところ、継代培養により元の 10 倍以上の MIC にて成育する株が散見され、これらの株に対しシーケンス解析を施行したところ、A2063G 変異株はほとんど検出されず、C2617T など他の遺伝子変異株が大勢を占めた。

今後、全国調査については引き続き調査を行い、また、セレクション実験については、低濃度マクロライド系薬添加により発育した株につき、薬剤無添加の培地に培養し増菌させ、そこから 10 コロニーほど抽出し、それぞれシーケンス解析を行う予定である。

課題番号：R01 基-062

研究課題：TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) のモデルマウス作成と炎症惹起・遷延化メカニズムの解明
研究代表者名 (所属)：平野 紘康 (リウマチ・膠原病学)

共同研究者名：守田 吉孝、向井 知之、石原 克彦、井関 将典、辻 尚子、赤木 貴彦

【背景】TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) は、1 型 TNFR をコードする TNFRSF1A を責任遺伝子とする常染色体優性遺伝の自己炎症性疾患である。現在まで TRAPS の炎症機序の詳細は明らかにされていない。今回、Tnfrsf1a 遺伝子に G87V 変異を導入した TRAPS モデルマウスを作成し、炎症病態を呈するかを解析した。

【方法】G87V 変異マウスを 33 週齢まで経時的に観察し、組織学的解析を行った。ELISA による血清 IL-1 β ・TNF 濃度の測定、定量 PCR 法による炎症性サイトカイン遺伝子の発現解析をした。さらに、炎症惹起刺激 (LPS+D-Galactosamine) に対する反応を評価した。

【結果】G87 変異マウスは肉眼的に異常を認めず、組織学的解析で内臓に炎症を認めなかった。また、血清 IL-1 β ・TNF 濃度、全血 RNA での炎症性サイトカイン遺伝子発現の上昇は認めなかった。さらに、炎症惹起刺激により、野生型マウスが全数致死的経過をたどったのに対して、変異マウスでは死亡率は低下した。

【結論】G87V 変異マウスは、通常飼育下では炎症所見を認めなかった。さらに、予想に反して炎症刺激に対する反応性の低下をみとめた。ヒト TRAPS 患者のような炎症病態を呈するには何らかの病態特異的炎症惹起刺激が存在する可能性があり、病態解析を進めるために、炎症誘発因子の探索が必要と考えられた。

課題番号：R01 基-063

研究課題：自己炎症性疾患患者における炎症収束因子による病態評価の検討

研究代表者名 (所属)：藤田 俊一 (リウマチ・膠原病学)

共同研究者名：守田 吉孝、向井 知之、赤木 貴彦

【目的】自己炎症性疾患患者における炎症収束因子の臨床的意義を検討する。今回、自己炎症性疾患の一つである Schnitzler 症候群に対して、IL-6 阻害剤であるトシリズマブが奏効した症例を経験したので報告する。【症例報告】57 歳男性。3 年前より数日間持続する 38 度以上の発熱、蕁麻疹、多関節炎発作が出現し、発作頻度が増加したため、当院を紹介受診した。家族歴はなく、発作時の血液検査で炎症反応の上昇 (WBC 14,800 / μ L、CRP 10.02 mg/dL) を呈していた。M 蛋白血症 (IgG- κ 型、IgM- κ 型) を認め、骨髄穿刺では骨髄のクローナルな形質細胞が 5.4%であった。感染症や悪性腫瘍を除外し、Schnitzler 症候群と診断した。患者の同意と当院倫理委員会の承認を得た後、トシリズマブ皮下注射を開始したところ、1 年間経過した現在まで発作なく経過した。【臨床的意義】Schnitzler 症候群は、慢性蕁麻疹と M 蛋白血症を伴い、周期的に発熱や関節炎、骨髄炎による骨痛を起す疾患である。稀少疾患であるため、Schnitzler 症候群の治療法は確立されておらず、IL-6 阻害剤の奏効した経過は、本症例の病態を考える上で非常に興味深い。症例を蓄積し、治療前後の IL-6 を含む炎症性サイトカインの動態やそれに関わる炎症収束因子の役割を検討し、新規バイオマーカーとしての可能性を検討する。

課題番号：R01 基-058

研究課題：動物モデルを用いた単純疱疹の小水疱形成メカニズム、発汗への影響の解析

研究代表者名（所属）：山本 剛伸（皮膚科学）

共同研究者名：浅沼 由美子、青山 裕美

アトピー性皮膚炎(AD)は表皮バリア機能障害など様々な要因により発症する。AD 皮疹部は発汗低下をきたし、単純疱疹を併発しやすい。単純疱疹は、単純ヘルペスウイルス(HSV)感染による小水疱内に HSV 感染ケラチノサイト(KC)の棘融解/多核巨細胞を認める。

発汗障害が AD と単純疱疹に関与すると推測し、培養 KC を用いた HSV 感染による細胞の形態変化、さらに HSV 感染マウスによる発汗の影響を解析した。

低分化 KC に HSV-1 が感染すると、円形の棘融解を形成する。一方、高分化 KC は感染後、細胞融合による多核巨細胞を誘導する。いずれも細胞内骨格、細胞間接着蛋白の分布が劇的に変化することにより引き起こされた。

C57BL/6J マウスの大腿に HSV-1 を経皮感染させると、接種部位の皮膚病変とともに、足底に丘疹、小水疱の形成を認め、さらに病変部の発汗低下が確認された。病変部にピロカルピン投与しても発汗亢進は認められず、足底汗腺部位に HSV-1 の存在が証明された。

KC の分化状態によって、HSV-1 の感染に伴う細胞形態(棘融解、多核巨細胞)が規定される。マウスでは HSV-1 感染によりウイルスが神経線維を介して腺細胞に到達し、神経線維・腺細胞を障害することによる発汗低下が誘導される。

AD では HSV 感染により小水疱形成のほか、発汗障害の増悪を一時的に惹起し、AD と HSV 感染の増悪をきたしていることが示唆される。

課題番号：R01 基-088

研究課題：片側鼻腔閉鎖による鼻呼吸障害モデルマウスを用いた睡眠覚醒関連ケミカルメディエーターの変化

研究代表者名（所属）：原 浩貴（耳鼻咽喉科学）

共同研究者名：兵 行義、雑賀 太郎、濱本 真一（大学院生 田所 宏章）

【背景】アレルギー性鼻炎 Allergic Rhinitis（以下 AR）は産生されたケミカルメディエーターによって睡眠・覚醒調整に関与しているとされているが、その点を明らかにした基礎研究は少ない。今回、鼻呼吸障害モデルマウスを作製し、AR と睡眠障害の相関について、サイトカインのみならず、その他いくつかのケミカルメディエーターを測定し、検討する。

【方法】C57BL/6（以下 B6）を用いて片鼻閉鎖による鼻呼吸障害モデルを作製し、運動量測定装置を用いて行動を解析した。また、AR モデルでも行動制限が出現するか、B6 と Th2 型炎症が強く発現する BALB/c を用いて検討した。

【結果】6 週齢マウスでは片側鼻腔閉鎖の処置によって有意に行動制限を生じたが、14 週齢のマウスでは明らかな差は認められなかった。次に、AR によって活動性変化が生じるかを検討する目的で AR モデルを用いて行動解析したところ、B6 では明らかな行動変化は認めなかったが、BALB/c では行動制限が出現した。

【考察】若年マウスは酸素要求量が多いため有意に行動制限が出現すると考えられた。次に、BALB/c を用いた実験から、アレルギー性炎症によって何らかの行動制限がみられ、活動性低下が生じたと考えられた。しかし、活動性が高まる時間帯は変化しないことから睡眠障害の出現は現時点では不明である。血清ケミカルメディエーターは発表をもって報告する。

課題番号：R01 基-037

研究課題：睡眠時無呼吸症候群に関連する嗅覚障害発生メカニズム

研究代表者名（所属）：濱本 真一（耳鼻咽喉科学）

共同研究者名：原 浩貴、兵 行義、雑賀 太郎

嗅覚障害は鼻中隔彎曲などの鼻腔の形態異常、アレルギー性鼻炎や副鼻腔炎、頭部外傷や神経変性疾

患，加齢などさまざまな原因で生じる．近年，閉塞性睡眠時無呼吸などの睡眠呼吸障害と嗅覚障害の関連性を示す報告も認める（Gunbey E et al., 2015）．しかし，閉塞性睡眠時無呼吸における嗅覚障害の誘因や病態については不明な点が多いままである．そこで，当科睡眠呼吸障害外来を受診した患者を対象として，睡眠呼吸障害に関連する症状アンケートを集計し嗅覚障害の合併について調査を行う．対象期間は 2017 年 5 月 1 日から 2020 年 3 月 31 日．対象症例は，15 歳以上の 511 例（男性 362 例，女性 149 例，平均年齢 52.3 歳（15～87 歳））とした．嗅覚障害を有する症例については睡眠時無呼吸検査の結果と，日常のにおいアンケート（日本鼻科学会）を用いた嗅覚障害の程度についても検討する．さらに，アンケート結果から患者背景や環境因子などの影響についても検討し，嗅覚障害に関連した QOL 調査を行う．今回の検討では，閉塞性睡眠時無呼吸に関連する嗅覚障害について，睡眠障害に関連するパラメータの解析を進めることによってその関連性の解明を目的としている．

課題番号：R01 基-036

研究課題：小児アレルギー疾患が睡眠に与える影響

研究代表者名（所属）：兵 行義（耳鼻咽喉科学）

共同研究者名：原 浩貴、雑賀 太郎、濱本 真一、若林 時生

【はじめに】小児アレルギー性鼻炎は成人と異なり、症状や QOL の障害の程度が把握しにくいのが実情である．そこで、就学時検診を施行した児童を対象に調査を行ったので報告する。

【対象・方法】2017 年、2018 年の 2 年間に岡山県浅口市・里庄町医師会・教育委員会の協力のもと、就学時検診後に保護者にアンケート調査への協力をいただいた。アンケートは 1.アレルギー疾患の有無、2.日本アレルギー性鼻炎 QOL 調査表（JRQLQ）、3.OSA—18 quality of life survey（OSA-18）にて構成された。なお本研究は川崎医科大学倫理委員会にて承認の上検討した。（承認番号 2820）なおこの研究は利益相反に該当しない

【結果・考察】673 名からの解答があり、回収率 99.4%であった。2 年間に於いてアレルギー疾患の罹患率は変化なく、アトピー性皮膚炎 16.3%、気管支喘息 11.3%、アレルギー性鼻炎 28.2%の有病率であった。何らかの鼻症状を有する割合は 48.3%であった。一方 OSA-18 では 40 点以上が 9.2%あり、アレルギー疾患を有するほうが、OSA-18 値は高値であった。

課題番号：R01 基-109

研究課題：小動物用 SPECT/CT システムの基本性能評価

研究代表者名（所属）：犬伏 正幸（放射線核医学）

共同研究者名：曾根 照喜、竹内 省吾、三村 浩明

【背景と目的】MILabs 社の小動物用 SPECT 装置 U-SPECT5 の基本性能評価を行った。

【材料と方法】放射性同位元素は ^{99m}Tc を用いた。分解能・プルーミ型ファントムを用いて均一性と視覚的空間分解能を、ガラス管ファントムを用いて定量的空間分解能と計数率特性を評価した。

【結果】均一性の評価では、フィルタ補正により %CV が 15%に改善された。視覚的空間分解能評価では、集積体 0.9mm 以上で識別可能と判断した。定量的空間分解能評価では、半値幅 (FWHM) は 1.98mm と妥当だった。計数率特性の評価では、測定する放射線量は 200MBq 以内が望ましいと考えられた。

【考察と結論】均一性が、フィルタ処理を行わなければ十分な値を示さなかった理由として、シンチレーションカメラの数が 120 度配置の 2 検出器であることが主因と考えられた。

しかし、視覚的・定量的に評価した空間分解能においては、小動物の in vivo 機能イメージングに十分な性能を有していることが確認できた。

課題番号：R01 基-046

研究課題：肥満者の体重減少がメンタルヘルスに及ぼす影響への検討

研究代表者名（所属）：藤本 壮八（健康管理学）

共同研究者名：角 直樹、山中 義之、高尾 俊弘

【背景】肥満の機序に精神的ストレスとの関連が多く報告されている。しかし、肥満の改善に対してのメンタルヘルスとの関連については十分に検討されていない。【目的】BMI の変化とメンタルヘルスへの関連を検討する。【方法】2016 年度に川崎医科大学附属病院健康診断センターを受診し WHO-5 精神的健康状態表 (WHO5) に回答した 3264 人を対象とした。BMI を 5 分位に群分け (BMI<20.2, 20.2~22.0, 22.1~23.7, 23.8~25.8, 25.8<) を行い WHO5 の点数を比較した。また、群ごとに 2016 年度から 2017 年度にかけての WHO5 の点数の変化を検討した。更に 2016 年度から 2017 年度にかけての BMI の変化率を 3 分位に群分けし BMI の変化と WHO5 の点数の変化を同様に検討した。【結果】BMI の 5 分位で WHO5 の点数を比較した検討では、BMI が低い群が最も WHO5 の点数が低く精神的健康状態が悪いことが示されたが、BMI が高い群では WHO5 の点数は適正な BMI 群と有意差は認めなかった。2016 年度と 2017 年度で WHO5 の変化を比較した場合、BMI 維持群と BMI 増加群では WHO5 の点数が有意に上昇した ($p=0.011$, $p=0.027$) が、BMI 減少群では WHO5 の点数が有意に低下した ($p=0.029$)。BMI の 5 分位で最も BMI が高い群 (BMI>25.8) で行った同様の検討でも、BMI 減少群では WHO5 の点数の有意な低下を認めた ($p=0.028$)。【結語】BMI の減少がメンタルヘルスの悪化に関連することが示唆された。今後、メンタルヘルスとの関連にも配慮した肥満指導の必要性について更なる検討が必要と考える。

課題番号：R01 基-059

研究課題：モデル動物と患者検体の解析に基づく HAM の病態解明と革新的治療法開発

研究代表者名 (所属)：齊藤 峰輝 (微生物学)

共同研究者名：内藤 忠相、後川 潤

【目的】ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) 関連脊髄症 (HAM) は、HTLV-1 感染者のごく一部に発症する臓器特異的自己免疫疾患類似の慢性炎症性疾患である。本研究では、HAM の新規モデル動物を作成し患者検体と比較解析を行うことで、画期的診断法・治療法開発につながる新規シーズ・バイオマーカーを探索する。

【方法】①中枢神経系の組織抗原である Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) に特異的な CD4 陽性 T 細胞に HTLV-1 の転写制御因子 Tax または HBZ を発現するトランスジェニック (Tg) マウスを作成した。②テトラサイクリン応答プロモーターの下流に Tax または HBZ 遺伝子を組み込んだコンストラクトを Jurkat Tet-ON 細胞株に導入し、Tax または HBZ の発現誘導前後で変動する多数の新規標的遺伝子群を同定した。③それら標的遺伝子の変動を HAM マウスと HAM 患者の血漿・リンパ球で解析し患者情報と対比することで、バイオマーカーとしての意義を検証した。

【結果・考察】①MOG 特異的な CD4 陽性 T 細胞に Tax または HBZ を発現する Tg マウスを得て、約 30% の個体に 7~11 週齢で HAM 類似の下肢対麻痺を自然発症することを見出した。②HAM 患者と HAM マウスの双方において、Th1 様の T 細胞機能異常が病態形成に重要であることを示唆する知見を得た。

課題番号：R01 基-030

研究課題：エピスタシス効果による新型インフルエンザウイルスの出現予測

研究代表者名 (所属)：内藤 忠相 (微生物学)

共同研究者名：齊藤 峰輝

【目的】インフルエンザ迅速診断キットにはイムノクロマト法が採用されており、ウイルス抗原であるヌクレオプロテイン (NP) を認識する抗 NP 抗体が使われている。そのため、NP 蛋白質に既存の抗 NP 抗体で認識できない変異が生じた場合、偽陰性症例となり早期治療の機会を逸する可能性がある。実際、この現象が 2009 年の新型インフルエンザパンデミック時に報告されている。本研究では、変異ウイルスライブラリーによる診断キット偽陰性株の単離とその性状解析により、新型ウイルスの感染対策に資する基盤情報の取得を試みた。

【方法】①A 型インフルエンザウイルス H1N1 株を元株とした変異ウイルスライブラリー (変異ウイルスの集合体) を作出し、②プラークアッセイにより NP 変異株を単離した後、③既存の診断キットを用いて

検出感度を比較することで新規抗原変異株の同定を試みた。

【結果・考察】アミノ酸置換を伴う新規 NP 変異株を 5 株 (R19H、E81G、T6A/S314G、Q20P/K470R、Q122K/A286S 変異株) 単離したが、ウイルスの検出感度は野生株とほぼ同等であった。一方、変異 NP 蛋白質の構造モデリング解析により、「変異が入りやすい」および「入りにくい」領域を同定した。本研究成果は、我々の実験系が未来流行株を予測する上で重要な「変異を許容するアミノ酸部位」の網羅的スクリーニング系として有用であることを示している。

課題番号：30 基-031

研究課題：多剤耐性菌に対する新規治療法の開発

研究代表者名 (所属)：川野 光興 (微生物学)

共同研究者名：齊藤 峰輝

抗菌薬濫用による多剤耐性菌の増加により、新しい作用機序をもつ抗菌法の開発が急務になっている。私は、細菌に感染するウイルスであるバクテリオファージの宿主特異的な感染作用を用いて多剤耐性菌を制御する「ファージ療法」に向けた基盤技術開発を行っている。最近、生育必須遺伝子を標的とするアンチセンス RNA を用いて細菌の増殖を抑制する方法を確立した。そして、このシステムを導入した組換え型ファージの感染作用を用いて、カルバペネム耐性大腸菌に対する新規抗菌法の開発に成功した。さらに、国立感染症研究所薬剤耐性研究センターと連携して、国内で臨床分離された多剤耐性肺炎桿菌に感染する天然ファージの探索を行っている。現在までに各種多剤耐性肺炎桿菌株に感染できる約 30 種類のファージを単離し、各ファージの感染特異性を調べた。これら複数のファージを混合した「ファージカクテル」を用いることにより、国内の多剤耐性肺炎桿菌に対して比較的感染域の高いファージ療法の開発を行うことができ、ファージ感染耐性菌の出現をかなり低減することができると考えられる。今後は、将来の感染症治療に役立てられるファージを前もって解析・保管しておく国内初の「ファージバンク」を設立し、これから益々注目される多剤耐性菌問題の解決に向けて貢献していきたいと考えている。

課題番号：29 基-014

研究課題：遺伝子組換え型ファージを用いた多剤耐性菌治療薬の開発に向けた基盤研究

研究代表者名 (所属)：川野 光興 (微生物学)

共同研究者名：齊藤 峰輝

抗菌薬の濫用により、従来の抗菌薬が効かない薬剤耐性細菌が世界中で増えている。さらに、複数の抗菌薬に耐性をもつ様々な「多剤耐性菌」が確認されている。最近私たちは、アンチセンス RNA を用いて細菌増殖を抑制する方法を確立し、このシステムを導入した M13 ファージミドを基盤とする抗菌法の開発に成功した。本研究では、多剤耐性菌に対してアンチセンス RNA による生育阻害効果を示す標的遺伝子や塩基配列を検討し、ファージミド感染によるファージ療法の基盤技術開発を行うことを目的とした。

遺伝子組換えファージミドに感染した細菌の増殖を阻害する方法として三つのアプローチを考えた。一つ目は、ファージミドから転写された人工アンチセンス RNA により、生育に必須な遺伝子の発現を抑制する方法。二つ目はトキシン-アンチトキシン系遺伝子のアンチトキシンの発現をアンチセンス RNA によって抑制し、トキシン遺伝子を発現亢進して生育を阻害する方法。三つ目は、24 塩基のランダム核酸配列を用いた増殖抑制法である。これらは、宿主細胞の溶菌反応を伴わないためエンドトキシンショックを引き起こさず死滅させることができる。

必須遺伝子を標的としたアンチセンス RNA を用いてファージミド感染実験を行ったところ、細菌の生育を 99.999%以上阻害することができた。ファージ療法研究において初めて、アンチセンス RNA による抗菌作用を示すことができた。

課題番号：R01 基-032

研究課題：酸性セラミダーゼの活性制御によるクラッペ病の治療法開発研究

研究代表者名（所属）：松田 純子（病態代謝学）

共同研究者名：郷 慎司（病態代謝学）、渡邊 悦子（病態代謝学）

クラッペ病（別名：グロバイド細胞白質ジストロフィー）は、リソソーム酵素ガラクトシルセラミドβガラクトシダーゼ（GALC）の欠損症で、中枢および末梢神経系に脱髄をきたす。クラッペ病における代謝異常の特徴は、GALCの主な基質であるガラクトシルセラミド（GalCer）よりもリゾ脂質であるガラクトシルスフィンゴシン（サイコシン）の蓄積が目立つことであり、細胞毒性の強いサイコシンが、オリゴデンドログリア、シュワン細胞の細胞死を引き起こし、脱髄を惹起すると推定されている。しかしながら、サイコシンの生成経路はいまだ未解明である。

本研究では、「サイコシンは、GalCerの酸性セラミダーゼ（ASAHI）による脱アシル化によって生成する。」という仮説の証明を試みた。我々が独自に作成したサポシンD（*Sap-D*）欠損マウスではASAHIの活性が約10%に低下する。そこで、クラッペ病モデルマウスである自然発生のGALC欠損マウス（*Twitcher*マウス）を、*Sap-D*欠損マウスと交配し、*Sap-D*欠損*Twitcher*マウスと*Twitcher*マウスの表現型を比較解析した。その結果、*Sap-D*欠損*Twitcher*マウスでは、中枢神経系の脱髄病変が改善し、脳組織中のサイコシンレベルが低下していた。

これらの結果は、ASAHIによるGalCerの脱アシル化によってサイコシンが生成することを示唆しており、酸性セラミダーゼの活性抑制がクラッペ病の新たな治療法につながる可能性がある。

課題番号：R01 基-044

研究課題：膀胱移行上皮におけるフィトセラミド構造含有脂質の機能解明

研究代表者名（所属）：郷 慎司（病態代謝学）

共同研究者名：松田 純子、永井 敦、大平 伸

スフィンゴ脂質は細胞膜の外層に存在する脂質成分の一種である。その基本構造は疎水性の脂質「セラミド」骨格であるが、その構造には微細な構造多様性が存在する。消化管組織にはセラミド骨格中のスフィンゴシンに水酸基が一つ付加された「フィトセラミド構造」が豊富に存在することが知られていたが、当研究室の解析により膀胱にもフィトセラミド構造が多く存在することが明らかになった。

フィトセラミドの機能を明らかにするため、フィトセラミドの合成に関わる酵素遺伝子 *Des2* のノックアウトマウス（*Des2-KO*）を独自に作成し解析を行ってきた。*Des2-KO*の膀胱において、膀胱移行上皮細胞内の巨大な空胞、頂端側の細胞膜構造の異常を見出した。また*Des2-KO*膀胱移行上皮細胞のミトコンドリア内に明瞭な異常構造を見出した。*Des2-KO*では排尿障害も起きておりフィトセラミド構造が膀胱の正常な機能発現に必須であることを示した。加えて、生化学的な解析から、*Des2-KO*の膀胱組織ではオートファジーの指標：LC3の発現が亢進していることを見出した。これらの結果から、フィトセラミドの欠損により細胞膜脂質の組成が変化することにより、細胞膜、細胞内小器官の膜動態・代謝が大きく変化したことによって様々な細胞機能異常が引き起こされていることが示唆される。

課題番号：R01 基-016

研究課題：細胞内小胞輸送に関わる分子がムコ多糖代謝に与える影響

研究代表者名（所属）：大友 孝信（分子遺伝医学）

我々は2017年に遺伝性のムコ多糖症と類似した新規疾患（MPSPS）を同定し、病態の解析を行っている。本疾患の原因遺伝子 *VPS33A* はオートファジーやエンドサイトーシスといった細胞内輸送に関与することが知られていたが、患者細胞ではこれらの機能は障害されていなかった。その理由として、*VPS33A* 分子内のドメインごとに機能が異なり、患者で見られる遺伝子変異は細胞内輸送に影響を与えないことが考察された。今回我々は細胞での遺伝子のノックアウト、ノックイン、強制発現などを行い、各ドメイン（2-1、3a、3b、2-2）に変異を持つ*VPS33A* タンパク質の動態と細胞機能に関しての解析を行った。既報では患者細胞で*VPS33A* タンパク量は正常の40%程度に低下していたが、*VPS33A* のノック

ダウン実験では、オートファジーやエンドサイトーシス機能を維持するために15%程度の残存量でも十分であることが分かった。また3bドメインの遺伝子変異は自身のタンパク質安定性を高めると共に、細胞内輸送で働くHOPS複合体への結合性を失わせるが、それでも細胞内輸送の機能は保たれることが判明した。その一方で、VPS33Aタンパク質の完全ノックアウトでは細胞内輸送は完全に停止することが確認された。以上の結果から、既報とは異なり、VPS33A分子のHOPS輸送複合体への結合は細胞内輸送の維持には必須ではないことが示唆された。

課題番号：R01基-083

研究課題：自己免疫疾患の発症に関わる血中因子の検討

研究代表者名（所属）：李 順姫（衛生学）

共同研究者名：大槻 剛巳、西村 泰光、吉留 敬、武井 直子

珪肺症では、肺の線維化に伴う慢性の呼吸不全の他に、特筆すべき点として、多発性硬化症、リウマチ、強皮症、近年ではANCA関連血管炎などの自己免疫疾患を高頻度で合併することが報告されている。これまでに、我々は自己免疫疾患の診断を受けていない珪肺症患者由来血漿中の代表的な自己抗体濃度を調べ、いくつかの自己抗体が健常人に比べ顕著に高い値であることを見出した。このことは、自己免疫疾患を発症していなくとも、珪肺症患者では自己抗体が出現しており、明らかに自己免疫疾患へ傾向していることを示唆している。この結果を受け、我々は、珪肺症例を自己免疫疾患への過渡期にあると捉えることで、発症を予見することが難しい自己免疫疾患の早期発見を実現するツールを開発したいと考えている。

前述の研究で、健常人ボランティアの年齢が、珪肺症例の年齢と離れているとの指摘を多く受けた経緯から、本研究では各群間の検体年齢を可能な限り近づけて収集した。これまでに、我々が比較検討してきた健常人、珪肺症例、自己免疫疾患としての強皮症例に加え、本研究では珪肺症例で高頻度に合併が報告されているANCA関連血管炎の検体も含めて、血中サイトカイン、自己抗体など各種血液成分を検討、統計解析することで、より精度の高い予測式の構築を試みた。

課題番号：R01基-090

研究課題：新規AKT阻害剤を用いた非小細胞肺癌に対する抗腫瘍効果の解析

研究代表者名（所属）：山辻 知樹（総合外科学）

共同研究者名：湯川 拓郎、吉田 将和

成長因子またはサイトカインの1種であるミッドカインは、肺癌、食道癌をはじめとする多くの癌で発現がみられ、その増殖と進展に関与している。申請者らは、このミッドカインプロモータを用いたセルベースアッセイにより、4万4千種の化合物ライブラリからスクリーニングを行い、ミッドカイン特異的阻害剤：iMDKを見出した。そして、当該低分子化合物がPhosphoinositide 3-kinase (PI3K)/AKTシグナルを阻害することで、非小細胞肺癌および口腔癌に抗腫瘍効果を誘導できること報告した(Naomoto Y et al. PLoS One. 8: e71093. 2013, Exp Cell Res. 335: 197-206. 2015, Anticancer Res. 36: 2775-81. 2016)。iMDKの構造改変から得られた派生化合物を用いた*in vitro*での解析から、肺扁平上皮癌に対してより強い抗腫瘍効果を示す化合物XおよびYの選定に至った。これらの誘導体は、肺癌細胞株の細胞増殖をiMDKより効果的に抑制するとともに、ミッドカイン発現の少ないヒト正常肺線維芽細胞株に対する抑制効果は限られていた。薬剤添加後48時間において誘導体XおよびYはPIK3CA変異を持つ肺癌細胞株：H460およびHCC95においてリン酸化AKTの発現を阻害し、早期apoptosisを増加させた。対してリン酸化AKT発現の比較的少ない肺癌細胞株：H226では誘導されるapoptosisは低値であった。以上の結果からiMDK derivativeによるAKT活性を有する肺癌に対する新規治療開発の可能性が示された。

課題番号：R01基-091

研究課題：SOX2 抑制型アデノ随伴ウイルスベクターを用いた扁平上皮癌に対する新規治療法開発

研究代表者名（所属）：深澤 拓也（総合外科学）

共同研究者名：湯川 拓郎、吉田 将和

近年、肺・食道扁平上皮癌において、SOX2, ΔNP63 等の遺伝子の増幅および変異が明らかになり、新たな標的遺伝子として報告されてきている。しかし、これらの転写因子に対する分子標的治療薬は未開発である。我々は、肺扁平上皮癌・食道癌の系統維持型癌遺伝：SOX2 の発現を制御できる Zinc Finger 型人工転写因子を開発し、肺および食道扁平上皮癌に対して抗腫瘍効果を誘導できることを報告している（Yokota E et al. *Oncotarget*. 8:103063-103076. 2017）。切除標本を用いた免疫組織化学的検討から、肺及び食道扁平上皮癌において高率で SOX2 の発現が認められた (>80%)。本研究において、我々は生体内での免疫反応を惹起しにくい、recombinant adeno-associated viral vector による当該人工転写因子発現システム：AAV-ATF/SOX2 を作製した。当該 vector を 5000 MOI で感染後 72 時間において、肺扁平上皮癌: EBC-2 の SOX2 発現と増殖能の抑制が認められた。一方、同条件での食道扁平上皮癌株 TE-1 における発現の抑制は認められなかった。後者では Flag-tag 融合蛋白の発現が少なく、今後より高濃度の AAV の精製が必要と考えられた。

課題番号：R01 基-025

研究課題：CD44 リガンドを用いた新規アレルゲン特異的舌下免疫療法の作用機序に関する研究

研究代表者名（所属）：加藤 茂樹（呼吸器内科学）

共同研究者名：田中 仁美

（目的）ダニ誘発マウス慢性軽症喘息モデルのアレルゲン特異的舌下免疫療法（SLIT）におけるヒアルロン酸（HA）の添加剤としての作用機序を検討する。

（方法）野生型マウス(WT:C57BL/6)を用いて、ダニ誘発マウス慢性軽症喘息モデル（ダニ経鼻感作、1 日 1 回週 5 日、3 週）を作成し、ダニアレルゲンに HA を添加剤として加えた SLIT（HA/SLIT）を 2 週間行い、CD44 欠損マウス（CD44KO）の慢性喘息モデルにおける HA/SLIT の効果と比較検討する。評価項目は即時型喘息反応および気管支肺胞洗浄（BAL）液中の好酸球数と IL-5, IL-13 濃度とする。

（結果）WT マウスでは、HA/SLIT によりダニアレルゲンチャレンジ後の即時型喘息反応（気道抵抗の上昇）が消失した。さらに、BAL 液中の好酸球数が減少し、IL-5, IL-13 濃度が低下した。一方、CD44KO マウスでは、HA/SLIT を施行しても即時型喘息反応および BAL 液中の好酸球数と IL-5, IL-13 濃度に有意な変化は認められなかった。

（考察）CD44KO マウスでは HA/SLIT の効果が認められなかったことから CD44 の発現が HA/SLIT に必須であることが考えられた。今後、HA/SLIT の作用機序として重要と考えている制御性 T 細胞の CD44 に関して検討して行く。尚、本研究は鳥居薬品との共同研究である。

課題番号：30 基-004

研究課題：CD44 リガンドを用いた新規アレルゲン特異的舌下免疫療法の特許開発

研究代表者名（所属）：加藤 茂樹（呼吸器内科学）

共同研究者名：白井 亮

（目的）ヒトの軽症から中等症のダニ誘発アトピー型喘息患者を対象とした臨床応用を念頭に置き作成したダニ誘発マウス慢性軽症喘息モデルのアレルゲン特異的な舌下免疫療法（SLIT）におけるヒアルロン酸（HA）の添加剤としての有効性を評価し、HA の至適分子量を検討する。

（方法）ダニアレルゲン（鳥居薬品から提供）を用いて、経鼻感作の回数を調整し（週 5 日 3 週）、マウス軽症慢性喘息モデルを作成する。本疾患モデルに対して少量のダニアレルゲンに HA をアジュバントとして加えた HA/SLIT を施行し（週 5 日 2 週）、治療効果を判定する。HA は、低分子量、中分子量、高分子量の 3 種類を検討する。

（結果）ダニアレルゲンだけでは有意な改善を認めなかったが、HA を SLIT に加えることにより、喘息の特徴である好酸球気道炎症、気道過敏性の亢進、および血清 IgE 抗体価の上昇を有意に改善させた。

HA の分子量の検討では、中分子量、低分子量の順に効果が高く、高分子量 HA は無効であった。

(考察) 特定の分子量の HA は、ダニアレルゲンに加えることで SLIT の効果を増強した。ヒアルロン酸を有効成分として含むアレルゲン作用増強剤として、2019 年 3 月 28 日に特許を出願した (国際出願番号:PCT/JP2019/13838 号)。尚、本研究は鳥居薬品との共同研究である。今後、HA の作用機序についても研究を進める。

課題番号 : 28 基-062

研究課題 : ダニ抗原誘発マウス慢性気管支喘息モデルのアレルゲン免疫療法における CD44 の役割に関する研究。

研究代表者名 (所属) : 加藤 茂樹 (呼吸器内科学)

共同研究者名 : 池田 征樹

(目的)

今回、CD44 欠損マウス (CD44KO) を用いて、ダニ誘発マウス慢性喘息モデルを作成し、野生型マウス (C57BL/6、WT) と比較し、本慢性喘息モデルの病態形成における CD44 の役割に関して検討した。

(方法)

1. WT あるいは CD44KO マウスに 1 日 1 回、週 5 日、5 週、ダニ溶液を経鼻投与しマウス慢性喘息モデルを作成する。
2. 喘息モデルの評価として、ダニ抗原最終投与 24 時間後に気道過敏性試験 (メサコリン吸入後の気道抵抗の測定) を行う。さらに、気管支肺胞洗浄 (BAL) を行い、BAL 液中の好酸球数を測定し、好酸球性気道炎症を評価する。

(結果)

1. WT マウスでは、気道過敏性の亢進を認めたが、CD44KO マウスでは気道過敏性の亢進は認められなかった。
2. WT マウスでは、BAL 液中の好酸球数の増加を認めた。CD44KO マウスでは、WT マウスと比較して有意に BAL 液中の好酸球数が多かった。

(考察)

1. 気道過敏性の亢進に関しては、CD44 は気管支平滑筋にも発現しており、この欠損が気管支平滑筋のメサコリン反応性に関与している可能性が推測された。
2. CD44 は、制御性 T 細胞の機能を増強することが報告されており、CD44 の欠損が、制御性 T 細胞によるダニ抗原誘発好酸球性気道炎症の抑制効果を減弱していることが示唆された。

課題番号 : R01 基-057

研究課題 : 急性骨髄性白血病における ELN リスク分類に準じた遺伝子変異検出法の開発

研究代表者名 (所属) : 近藤 英生 (血液内科学)

共同研究者名 : 和田 秀穂

AML の新たな ELN リスク分類に組み込まれた遺伝子変異のうち重要かつ Indel 変異である FLT3, NPM1, CEBPA 遺伝子変異について、急性骨髄性白血病患者 15 例 (再発含む) の骨髄または末梢血残余検体より DNA を抽出し、FLT3-ITD 変異 (363bp, FAM 標識)、NPM1 変異 (316bp, HEX 標識)、CEBPA 変異 (BZ 領域 150bp, NED 標識; TAD1 領域 204bp, FAM 標識; TAD2 領域 256bp, HEX 標識) のプライマーセットを用い、マルチプレックス PCR 法により同時に増幅、フラグメント解析を行った。16 例のうち FLT3-ITD 変異を 5 例、NPM1 変異を 1 例に検出。CEBPA 変異は検出した検体はなかった。5 例の FLT3-ITD 変異陽性例は、コンパニオン診断でも陽性が確認され、FLT3 阻害薬による治療が行われた。また FLT3 阻害薬休薬中に急激な末梢血成熟単球の増加 (WBC 8 万/uL, Monocyte 90%) を来した 1 症例において FLT3-ITD 変異を再検したところ、治療開始時の FLT3-ITD ratio 0.05 に対し、7.04 と著明に変異アリルが優位であり、単球は白血病クローン由来であることを確認した。当院においても FLT3-ITD 変異の頻度は既報 (約 30%) と同等であり、1 回限り可能なコンパニオン診断との併用は臨床上有用であった。

課題番号：R01 基-020

研究課題：膵β細胞機能障害の分子メカニズムに基づいた新規糖尿病治療薬の検索

研究代表者名（所属）：金藤 秀明（糖尿病・代謝・内分泌学）

共同研究者名：小畑 淳史

膵β細胞はグルコース応答性にインスリンを生合成、分泌する細胞であるが、高血糖が持続するとβ細胞は疲弊して、インスリン生合成および分泌障害は低下する。この現象は高血糖毒性として広く知られている。インスリンの発現を制御しているのは転写因子 MafA や PDX-1 であるが、申請者らは、高血糖毒性には MafA および PDX-1 発現の低下が深く関与すること、また高血糖を是正すればこうした因子の発現が回復することなどを報告している。今回の研究においては、各種小分子化合物ライブラリーを用いて、高血糖毒性で低下する MafA や PDX-1 の発現を直接増加させる薬剤や因子を網羅的に検索しており、いくつかの因子を同定している。膵β細胞株にて変化を認めた薬剤に関しては健常マウスあるいは糖尿病モデルマウスから単離した膵島にても同じ結果が得られることも確認済みである。

課題番号：R01 基-005

研究課題：サルコペニアに対する医薬品の開発

研究代表者名（所属）：砂田 芳秀（神経内科学）

共同研究者名：大澤 裕、西松 伸一郎、深井 雄太

健康寿命を短縮する加齢性筋萎縮（サルコペニア）は、超高齢化社会を迎えたわが国の介護医療費を押し上げる最大の要因である。マイオスタチンは胎生前期には筋の原基である体節に、胎生後期から誕生後は骨格筋に特異的に発現する TGF-β 分子で、ノックアウトマウスの骨格筋量が、野性型マウスの約 2 倍に増加することから骨格筋量を負に制御すると考えられている。われわれは筋ジストロフィーモデルマウスで、マイオスタチン活性亢進による筋萎縮の分子機構を世界に先駆け明らかにした (Ohsawa, et al., J Clin Inv 161, 2006)。本研究は、サルコペニアをマイオスタチン/TGF-β の恒常性破綻病態と仮説して、その阻害医薬品の開発を目指す。2019 年度は、マイオスタチン活性阻害マウスと老化モデルマウスの交配によって、マイオスタチン活性阻害老化モデルマウスを作出した。このマウスの骨格筋の網羅的遺伝子解析を実施し、マイオスタチン/TGF-β を起点とする分子間クロストークについて解析をすすめた。2020 年度は、作出したマウスの寿命と生理機能解析、骨格筋・骨・腎臓の組織生化学解析を実施し、併せてマイオスタチン/TGF-β を標的とした新規医薬品開発に取り組む。国民の健康寿命延伸・介護医療費削減に向け、マイオスタチン/TGF-β を標的とした新規医薬品開発を本学から発信する。

課題番号：R01 基-004

研究課題：微量血液検体による心疾患・筋疾患診断法の確立

研究代表者名（所属）：大澤 裕（神経内科学）

共同研究者名：砂田 芳秀、西松 伸一郎、深井 雄太

われわれは、筋疾患と心疾患、とりわけ心筋梗塞超急性期に、血中に出現する蛋白質を発見して、JST 支援事業として学校法人川崎学園からその国際特許を出願した。本研究は、これをシーズとして、この蛋白質の 定量キットを作成、心疾患と筋疾患の迅速診断における分析的妥当性を検証して、体外診断用医薬品としての POC の取得を最終目標とする。これまでに、定量キット作成のため、この蛋白質の、3 つの抗原決定基に対する抗体（9 種類）を作成した。いずれの抗体も、①ウエスタンブロット解析で、哺乳類細胞発現リコンビナント蛋白質に反応、②マウス骨格筋粗分画に反応、③293 ヒト腎芽細胞発現蛋白質には反応するが、反応性には差違あり、④免疫組織染色で染色性を確認、さらに、⑤リコンビナント蛋白質（標準蛋白質）の大量発現にも成功した。定量キット構築が可能と判断され、抗体を組み合わせ、標準蛋白質を対象とした CMC 試験に取り組んでいる。2020 年度は、(i) 定量キットの血液干渉に関する条件設定、(ii) 臨床検体を用いた臨床性能試験の実施を目指したい。

課題番号：R01 基-028

研究課題：ミトコンドリア病 MELAS に対する疾患特異的バイオマーカーの開発

研究代表者名（所属）：白河 俊一（神経内科学）

共同研究者名：砂田 芳秀、西松 伸一郎

われわれは、ミトコンドリア病 MELAS はミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)}の タウリン修飾欠損による Leu^(UUR)翻訳障害病であること、タウリン大量投与によってミトコンドリア機能障害が改善し脳卒中様発作の再発を防止することを証明し (Ohsawa, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 90(5):529-536, 2019)、医師主導治験を経て 2019 年 2 月に国内薬事承認が得られた (国内特許 5028639, 厚労科研費 難治 H24 - 難治等 (難) - 一般 - 068, AMED 難治性疾患克服事業 15ek0109093h0001、16ek0109093h0002、17ek0109093h0003)。この治験の by-product として、Protein X が、血中に出現することを発見した。本研究は、この Protein X の血中出現を裏付ける分子機構を解明し、血清 Protein X が MELAS 疾患活動性の新規バイオマーカーとなり得るか否かを検討する。定量 ELISA アッセイ系を構築し、新たな医療技術へと展開したい。2019 年度は、この Protein X の血中出現についてモデル細胞による検討を進めた。また、Protein X のリコンビナント蛋白質の作成に取り組んだ。2020 年度は、その血中出現機構の全容を解明し、鋭敏な測定系を構築して、健常者及び MELAS 患者血清試料で定量したい。

課題番号：R01 基-065

研究課題：卵胞液を用いた卵の質評価法の開発

研究代表者名（所属）：下屋 浩一郎（産婦人科学 1）

共同研究者名：松本 桂子、杉原 弥香、羽間 夕紀子

サイトカインの検討に際して 4 症例（胚盤胞に達したもの・胚盤胞に達していないもの・顕微授精にて胚盤胞に達したもの・conventional 法を用いて胚盤胞に達したもの）を選択し、網羅的サイトカイン・ケモカイン解析を行った。胚盤胞に至ったもので、肉眼的分類（grading ; A-C）をもとに、サイトカインの比較を行ったところ、IL-1ra, IL-4, IL-17A において有意差を認めた。現在卵胞液を収集中であるが、それぞれのサイトカインにおいて ELISA 法を用いてさらなる検討を行う予定としている。

また卵子の成長や卵胞液の生成に関与しているとされる顆粒膜細胞に関しては、まず細胞診の方法で切片を作成しインヒビン染色を行い形態学的に顆粒膜細胞の同定を行えた。複数回の検討を行うためにセルブロック作成に取りかかったが、微細な検体をセルブロックにするため、幾つかの方法で検討するも効率的な方法には至らなかった。続いて顆粒膜細胞の培養を行ったところ約 80%程度増殖を確認できたが、正常細胞であることから形態的維持が困難であること、また検体による増殖スピードの差があることから検討が困難であった。そこで数種類の顆粒膜細胞腫の培養上清を用いてサイトカインの網羅的検討を行ったところ、最も正常系に近いとされる KGN でサイトカインの分布が類似している印象であった。今後さらなる解析を行い最も類似していると考えられる顆粒膜細胞腫を用いて卵の質と関与していると考えられるサイトカインの添加実験も検討中である。

課題番号：R01 基-001

研究課題：糖代謝阻害剤 2-Deoxy-D-Glucose 封入 PLGA ナノ粒子による抗腫瘍免疫活性化機序の解明およびがん治療開発

研究代表者名（所属）：仁科 惣治（肝胆膵内科学）

共同研究者名：山内 明、佐々木 恭、原 裕一、日野 啓輔

【目的】がん細胞における解糖系亢進（Warburg 効果）はがん微小環境での腫瘍免疫を抑制するが、解糖系阻害によりそれが解除されることが報告されている。しかしながら、解糖系阻害が肝がん微小環境における腫瘍免疫に及ぼす影響は不明な点が多い。そこで、解糖系阻害による肝細胞癌抑制効果および腫瘍免疫活性化機構について検討した。

【方法】がん特異的解糖系阻害剤としてグルコース誘導体 2-deoxy-D-glucose (2DG) を Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) ナノ粒子に封入した 2DG-PLGA 開発し、肝がん抑制効果を検討し、腫瘍免疫

機構を解析した。

【成績】2DG-PLGA が投与された免疫応答性肝発癌マウスの肝腫瘍で強い抗腫瘍効果を認めたが、T 細胞浸潤を伴った腫瘍免疫効果も認めた。さらに 2DG-PLGA は、抗 PD1 抗体抵抗性がん細胞移植した免疫応答性マウスに対しても抗腫瘍効果を発揮した。一方で 2DG は肝癌細胞に対し、乳酸低下による T 細胞からの IFN γ 産生を解した JAK-STAT1 活性化等の機序を解して CXCL9, 10, 11 の産生を亢進させた。

【結語】がん特異的解糖系阻害剤である 2DG-PLGA は、既報の細胞死や細胞増殖抑制効果のみならず、腫瘍免疫活性化を兼ね備えた作用機序を有する肝がん治療薬であり、抗 PD1 抗体抵抗性がんへの有効性も示された。

課題番号：R01 基-021

研究課題：AI（人工知能）による内視鏡画像自動診断（病変拾いあげ）システムの開発

研究代表者名（所属）：梅垣 英次（消化管内科学）

共同研究者名：塩谷 昭子、松本 啓志、半田 修、村尾 高久、大澤 元保、勝又 諒、福島 真弥、半田 有紀子

【概要】消化管の内視鏡画像診断や病理診断などにおいて、コンピュータによる機械学習を導入し、熟練した医師に迫る診断能、自動検出に成功した例がいくつか報告されている。人工知能（Artificial Intelligence：AI）は大量のデータから規則性やルールなどを学習し、与えられた課題に対して推論や回答、情報の合成などを行う機械学習（ML：Machine Learning）を基礎とするものが主流となっている。

【目的】AI を用いた内視鏡画像診断システムのプロトタイプを用いて、実証実験を行う。

【方法】

現行システム（AI MEDICAL SERVICE Inc. Tokyo, Japan）の実証実験：AI 教育に収集した画像および動画の 95% を使用し、残り 5% を完成した人工知能がどれだけの精度とスピードを持って診断できるかの検証を行う。対象は川崎医科大学附属病院で上部消化管内視鏡検査で得られた内視鏡画像を本ソフトウェアに取り込み、その有用性を検証する。川崎医科大学附属病院で施行された上部消化管内視鏡検査において、早期胃がんと診断された病変および非がん胃粘膜の各種画像を本ソフトウェアに取り込むことにより機械学習をさせ、その学習効果を検証する。

【結果】当院ではがん病変で病理ありの動画 24 動画、がん以外病理ありの動画 157 動画、動画のみ 10 動画を提供した。このシステムが臨床現場で応用可能となれば、内視鏡診断能の向上と近てん化（地域格差の消失）、内視鏡検診に関わる専門医の二次読影での負担軽減などが可能になると考える。

課題番号：R01 基-015

研究課題：円錐角膜病態の根本的理解と新規医療技術開発

研究代表者名（所属）：藤本 久貴（眼科学 1）

円錐角膜は進行性で非炎症性の角膜変形疾患である。角膜高次収差に起因する、しばしば両眼性の視力低下を来し、多くの場合十分な矯正視力を得られない。その本質は①菲薄化、②前方突出、③非対称性変化（中心からのずれ）、と考えられる。申請者は前眼部 OCT を用いてこれらのパラメーターの経時的な進行を初めて定量的に報告し、高い評価を得た（Fujimoto H et al. *IOVS*. 2016）。このような研究を通じて形態的挙動は徐々に明らかになってきているが、その基盤となる分子メカニズムについては不明なままである。角膜移植術の対象症例より摘出したヒト角膜組織の網羅的転写因子解析を行い、角膜形状の各パラメーターおよびその経時的变化との関係付けを詳細に行い、病態の本質を明らかにする。特に菲薄化、前方突出、非対称性変化が独立して挙動している可能性があるため、各変化を担う転写因子動態の関係性を詳細に検討する。解析にあたっては多数の遺伝子発現を一括に制御する因子である転写因子を主たる対象とする。

これまでに円錐角膜症例 5 例、日本人コントロール（水疱性角膜症、角膜穿孔）3 例の計 8 例角膜移植時の摘出角膜をコラゲナーゼ処理、ケラトサイトを分散培養し、6 例から多量のケラトサイト細胞株の作製に成功した。ケラトサイトは線維芽細胞様形態であり、活発な増殖能を示した。順次転写因子ライブラリのレポーターウイルスを導入し、発現転写因子の直接的測定を行っているところである。

課題番号：R01 基-078

研究課題：Precision Palliative Active Care Program の開発とその臨床応用

研究代表者名（所属）：岡脇 誠（臨床腫瘍学）

共同研究者名：永坂 岳司、佐野 史典、谷岡 洋亮、堅田 洋佑

Precision Palliative Active Care Program (PPAP) とは患者と家族の希望に沿い全人的苦痛に対処しながら、栄養管理及びリハビリテーションを行い、本来の生活即ち慣れ親しんだ住処～自宅～で生活ができること、またその後の支援を含め、各患者の身体的・精神的・社会的必要項目・達成項目に即して客観的に評価・スコア化行う当院独自の Care Program である。

PPAP 基準項目策定について、現在、鋭意検討中である。各患者の PPAP 作成には、現在、以下の流れにて行っている。1) 緩和ケア病棟に入棟時の PPI (Palliative Prognostic Index) を評価、2) 緩和ケア目標項目の選定・確認。この際に患者の希望を明確にし、その希望達成を第一の目標とし、栄養管理・リハビリテーション、必要に応じて酸素療法、状態に配慮しながら、環境整備（介護タクシー、リクライニング車椅子、酸素濃縮器設置等）を行う。PPAP は、終末期患者の well-being に寄与するための客観的評価・実践項目の構築を行い、各患者の最後の希望を達成し、満足な終末期を提供することを目的にしている。最終評価を患者の満足度との比較検討を予定していたが、難しい面もあるため、今後は、患者のご家族にアンケートによる満足度スコアを PPAP の機能評価に加える予定である。

課題番号：R01 基-085

研究課題：脳剖検検体における新しい髄鞘染色の検討

研究代表者名（所属）：西村 広健（病理学）

共同研究者名：松野 岳志

〔背景〕 剖検脳の病理学的検索で使用される KB(クリューバー・バレラ)染色は、古くから使用されている髄鞘染色であるが、使用する試薬の種類やロット、染色者間、検体の状態により染色性が左右される点が問題である。それでも KB 染色が用いられる理由は、他によい方法が無いためである。髄鞘に対する免疫組織化学は有用であるものの、スクリーニングのための検索としてはコストパフォーマンスの点で問題がある。

〔目的〕 KB 染色より簡便で、条件により染色性が左右されにくい髄鞘染色の検討を行う。

〔方法〕 剖検脳症例のホルマリン固定パラフィン包埋 (formalin-fixed paraffin-embedded: FFPE) 検体を用いて各種染色を行う。髄鞘染色の候補としては、筋生検の凍結切片で髄鞘を明瞭に染色するゴモリ・トリクローム染色を使用し、KB 染色と比較する。

〔結果〕 1) ゴモリ・トリクローム染色は凍結切片のみならず FFPE で髄鞘を染色した、2) KB 染色と比較しても比較的明瞭に髄鞘を染色する、3) 染色方法は簡便である、3) 髄鞘以外の構造物との分別が悪い、ことがわかった。

〔考察〕 FFPE の髄鞘染色として KB 染色以外の候補としてゴモリ・トリクローム染色は有用である可能性もあるが、KB 染色と比較して圧倒的に有用とはいえない。複数の病態での検討、他の染色との比較検討を加えて、有用性についてさらに検討する。

課題番号：30 基-023

研究課題：システマティックレビューのための機械学習を活用した文献検索システムの開発

研究代表者名（所属）：神田 英一郎（学長付）

共同研究者名：柏原 直樹

背景・目的 慢性腎臓病 (CKD) 患者は増加傾向にある。CKD の進行および発症の抑制が重要な課題である。CKD に関して国内外で数多くの研究が実施され膨大な知見が報告されており、PubMed によると 2019 年には 8000 本以上の論文が報告された。ガイドライン作成時には文献を網羅的に評価・採用する必要があるが、全ての医学文献を対象として CKD に関するエビデンスを検索することは不可能に近い。そこで、筆者らは AI 技術を活用し、ガイドライン作成を支援するシステムを開発した。

方法 PubMed から得られた数十万の文献データを、自然言語処理を用いて文章構造を解析し数値化した。次に、ベクトル空間モデルを長・短期記憶ニューラルネットワーク (long short term memory, LSTM) を元に構築したディープラーニングを用いて解析し、文章関係性の評価を行った。

結果 Key word 検索では 1012 本の論文がヒットし、複数の査読者による数週間の査読の結果 15 本の論文が選択された。これを正解データとした解析結果は、accuracy 98%以上を示した。さらに、このアルゴリズムをもとに、大量の文献からリサーチクエスチョンに近い論文を自動で選び出すシステムを開発し実用化した。通常のシステマティックレビューと比べ作業時間が大幅に短縮され、誤選択の可能性が非常に低下した。

結論 本研究を通して、テキストマイニングによって膨大な医学的テキストデータを網羅的に解析することにより、腎臓病に関するエビデンスを統合することができる可能性があることが示唆された。