第 12 回　川崎医科大学 学術集会

日時：令和 3 年 7 月 31 日（土）10:30～15:00

会場：現代医学教育博物館 3 階資料室、4 階展示室

スケジュール：

開会の挨拶　10:30～

川崎医科大学　学長　福永　仁夫

セッション 1（3 題）　10:40～

休憩　11:25～

セッション 2（3 題）　11:40～

昼休憩　12:25～

川崎医学会総会（12：30～）

ポスター閲覧（7 題）　13:25～

セッション 3（3 題）　14:00～

表彰　14:55～

閉会の挨拶

川崎医科大学　副学長　柏原　直樹

第 12 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：樋田　一徳、小賀　徹

	分野	課題番号	時　間	研　究　課　題	研究代表者
1	腫瘍	R02 基-046	10:40～10:55	抗 EGFR 抗体による獲得耐性を予測する Liquid biopsy の有益性の検討	永坂　岳司
2	環境と生体反応	R02 ス-005	10:55～11:10	miR223 を介した S1PR1 発現制御による SLE 病態の解明	浅野　澄恵
3	新分子・新技術	R02 基-010	11:10～11:25	ROCK 阻害薬による角膜内皮疾患治療法の開発	藤本　久貴

休憩　　11:25～11:40

セッション　2（3 題）　座長：山内　明、伊藤　達男

	大学名	学部学科名	時　間	研　究　課　題	研究代表者
1	医療福祉大学	医療技術学部臨床検査学科	11:40～11:55	造血器腫瘍細胞株における新規 MEK1/2 阻害薬ビニメチニブの効果	榊原　佳奈枝
2	岡山県立大学	情報工学部人間情報工学科	11:55～12:10	身体活動量の高い若年女性における栄養摂取状況と四肢筋量との関係	大下　和茂
3	福山大学	薬学部薬学科	12:10～12:25	コレステロールトランスポーターNPC1L1 による α-トコフェロールの認識と細胞内取り込み	上敷領　淳

昼休憩　　12:25～13:25　　川崎医学会総会（12:30～）
ポスター閲覧　13:25～13:55

セッション　3（3 題）　座長：西松　伸一郎、松田　純子

	分野	課題番号	時　間	研　究　課　題	研究代表者
1	消化器・代謝・腎	R02 基-017	14:00～14:15	食欲と脂質代謝を制御する機能性脂質分子の生合成・分解機構の解明	坪井　一人
2	神経・運動器・生殖・循環	R02 基-071	14:15～14:30	HDB/MCPO より嗅球に投射する GABA ニューロンの解析	佐藤　慧太
3	大学院	R02 大-004	14:30～14:45	GLP-1 受容体作動薬 Dulaglutide による抗動脈硬化作用の機序解明	真田　淳平（大学院生）

ポスター掲示

— 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
P1	川崎医療福祉大学	医療技術学部 臨床工学科	機械学習とスマートグラスを用いた医療機器操作支援システム	宮崎　仁
P2	川崎医療福祉大学	医療技術学部 臨床検査学科	造血器腫瘍細胞株における新規 MEK1/2 阻害薬ビニメチニブの効果	榊原　佳奈枝
P3	岡山県立大学	情報工学部 人間情報工学科	身体活動量の高い若年女性における栄養摂取状況と四肢筋量との関係	大下　和茂
P4	岡山県立大学	保健福祉学部 栄養学科	熱帯果樹の葉に含まれる 5-リポキシゲナーゼ阻害成分の探索	川上　祐生
P5	福山大学	薬学部 薬学科	コレステロールトランスポーターNPC1L1 によるα-トコフェロールの認識と細胞内取り込み	上敷領　淳
P6	福山大学	薬学部 薬学科	動脈硬化抑制に関わる核内受容体の標的遺伝子の探索と創薬応用	松岡　浩史
P7	福山大学	薬学部 薬学科	腎虚血再灌流障害におけるグルタチオン分解酵素を介したアポトーシス発現制御	木平　孝高

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 —		
R02 基-061	嗅覚障害の神経解剖学的メカニズムの解明	樋田　一徳
R02 基-025	下垂体性性腺機能低下症の原因遺伝子探索	嶋　雄一
R02 基-051	無麻酔下マウスの脳における単一傍細胞記録系の確立	林　周一
R02 基-060	脾臓形成における脾洞杆状内皮細胞の発生生物学的解析	小野　公嗣
R02 基-011	マウス精巣内異種精子形成を目的とした新規移植法の確立	横西　哲広
R02 基-057	電子顕微鏡による嗅球カルレチニン免疫陽性傍糸球体細胞のシナプス形態解析	野津　英司
R02 基-058	マウス嗅球におけるヒスタミン作動性神経線維の局在と遠心性入力の形態学的解析	堀江　沙和

R02 基-071	HDB/MCPO より嗅球に投射する GABA ニューロンの解析	佐藤　慧太
R02 基-039	脊椎動物における心臓拡張システムの多様性	毛利　聡
R02 基-040	Fam64a の強制発現による心機能悪化を回避する心筋再生戦略の検討	橋本　謙
R02 基-056	心筋細胞膜とサルコメア間の張力伝達ネットワークによるメカノセンシング機構解明	花島　章
R02 基-007	運動療法最適化のための血中乳酸濃度および神経栄養因子群の動態解析	氷見　直之
R02 基-082	関節リウマチマウスモデルの滑膜最初期病変における BST-1 の役割	石原　克彦
R02 基-063	Cherubism モデルマウスを用いたチロシンキナーゼ阻害薬の抗炎症および破骨細胞分化抑制効果の検討	向井　知之
R02 基-078	酸性セラミダーゼとマクロファージの活性制御によるクラッベ病の新たな治療法開発研究	松田　純子
R02 ス-006	サポシンD変異による神経変性疾患発症の分子メカニズムの解明	渡邉　昂
R02 基-089	末梢動脈疾患における vasohibin の発現に関する臨床病理学的検討	森田　一郎
R02 基-054	低活動膀胱に関する発症機序解析 －加齢に伴う慢性膀胱虚血に着目した病態解析研究－	藤井　智浩
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
R02 基-076	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	大久保　浩平
R02 基-043	脳梗塞急性期において出血性梗塞発症と関連するバイオマーカーの検索	八木田　佳樹
R02 基-062	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
R02 基-065	骨細胞に着目した血管石灰化の病態解明	藤田　俊一
R02 基-001	網膜色素上皮細胞のメラニン生成促進による抗酸化作用	鎌尾　浩行
R02 基-090	睡眠呼吸障害に関連する嗅覚障害の研究	濵本　真一
― 消化器・代謝・腎 ―		
R02 基-072	活性酸素産生細胞膜タンパク質 gp91*phox* の構造を抗体を利用して解析する。	栗林　太

R02 基-020	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
R02 基-017	食欲と脂質代謝を制御する機能性脂質分子の生合成・分解機構の解明	坪井　一人
R02 基-018	虚血後再灌流腎間質線維化モデルマウスにおける脂質メディエーターリゾホスファチジン酸（LPA)の役割に関する研究	竹之内　康広
R02 ス-002	環状リン脂質メディエーターの生合成酵素の同定と機能解析	北風　圭介
R02 基-080	腸管運動制御に関わる BST-1 の腸管発生における局在解析	矢作　綾野
R02 基-067	細胞膜脂質の水酸化が制御する膀胱機能	郷　慎司
R02 基-006	ムコ多糖症で蓄積するムコ多糖の性質および代謝に関する基礎的研究	大友　孝信
R02 ス-001	ライソゾーム病におけるオートファジー障害の解明	森脇　隆仁
R02 基-096	膜性腎症の糸球体上皮細胞（ポドサイト）障害像の解析（細胞内小器官の形態像と基底膜との関連の視点から）	佐々木　環
R02 基-097	糸球体内皮細胞-上皮細胞連関機序における sGC 活性化の意義の検討	長洲　一
R02 基-094	糸球体内皮 Glycocalyx の Hyaluronan と CD44 陽性 Leukocyte の糖尿病性腎症進展における病態機序の解明	板野　精之
R02 基-098	Keap1/Nrf2 活性による糸球体濾過率（GFR）制御機構の解明	城所　研吾
R02 基-099	加齢腎進展における内皮機能障害と Inflammaging の連関機序の解明	山内　佑
R02 基-016	2 型糖尿病治療において患者の継続力の評価は治療に有用か : 初診患者の前向き観察研究	中西　修平
R02 基-050	薬物治療による膵β細胞保護効果の 2 型糖尿病病態進展度による相違の検討	下田　将司
R02 基-041	インスリン遺伝子転写因子 PDX-1 が膵β細胞の SNARE protein 発現およびインスリン分泌に与える影響	木村　友彦
R02 基-027	血管内皮 PDK1 の全身の糖代謝に及ぼす影響とその発現制御の解明	小畑　淳史
R02 基-066	乾癬性関節炎および乾癬モデルマウスを用いた病態解析と治療候補薬剤の治療効果の検討	長洲　晶子
R02 基-079	鉄代謝蛋白、ミトコンドリアフェリチンの機能解析と細胞恒常性への関与	原　裕一
R02 基-004	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

R02 基-024	画像強調処理 LCI(Linked Color Imaging) を用いた除菌後胃粘膜発赤の組織学的な鑑別に関する有用性の検討	梅垣　英次
R02 基-005	腸内細菌叢異常を起点としたクローン病の腸管狭窄リスク因子の探索	半田　修
R02 基-042	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
R02 基-059	4D-flow を用いた門脈血流動態解析による門脈圧亢進症の早期診断の検討	檜垣　篤
R02 基-013	筋肉量と体脂肪のバランスが認知機能、メンタルヘルス、ADL に及ぼす影響の検討	藤本　壮八
― 腫瘍 ―		
R01 50th-1	腫瘍増大・抗腫瘍に関わる細胞集団の解析～血管新生と抗腫瘍免疫～	栗林　太
R02 基-049	骨髄から分泌される抗癌剤耐性化因子の同定～白血病を再発させないために～	岡本　秀一郎
R02 ス-003	ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型感染細胞内で特異的に誘導される長鎖ノンコーディング RNA を探索し、細胞内で果たす役割を解明する	和田　雄治
R02 基-037	*EGFR* 変異肺癌におけるグルタチオン代謝経路阻害による耐性克服	瀧川　奈義夫
R02 基-091	殺細胞性抗がん薬による第 3 世代 EGFR-TKI 耐性誘導と克服に関する基礎的検討	越智　宣昭
R01 50th-2	シングルセル解析及び Multi-Omics 解析を用いた上皮成長因子受容体 (EGFR) 遺伝子変異パターンによる EGFR 遺伝子変異陽性肺癌の機能的差異の解明	越智　宣昭
R02 基-087	RNA sequence を用いた肺癌オルガノイドにおける融合遺伝子の同定と actionable 変異に対する抗腫瘍効果の誘導	山辻　知樹
R02 基-088	CRISPRi 法を用いた肺および食道扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果の解析	深澤　拓也
R02 基-036	肺癌における微小免疫腫瘍環境と抗癌剤+免疫チェックポイント阻害薬併用療法の効果の検討	清水　克彦
R02 基-053	急性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群における FLT3-ITD 変異の患者特異的プライマー設定による微小残存病変検出法の開発	近藤　英生
R02 基-069	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
R02 基-092	卵巣顆粒膜細胞腫細胞株における HDAC inhibitor の増殖抑制効果とエピジェネティクスの異常の解析と治療への応用についての研究	下屋　浩一郎
R02 基-077	癌細胞 p 53 による腫瘍局所マクロファージ機能調節機構～遺伝子改変発癌マウスを用いた解析	中村　隆文
R02 基-003	内分泌療法と CDK4/6 阻害薬の併用療法に耐性となった乳癌に対する新規治療戦略の開発	紅林　淳一

R02 基-023	アゾキシメタン誘発マウス大腸腫瘍モデルにおける運動と高脂肪食と腸内細菌叢の関連性の検討	松本　啓志
R02 基-029	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
R02 基-045	切除不能進行再発大腸癌に対する大腸癌進展速度（進展緩徐か否か）推定を可能とするバイオマーカーの同定	山口　佳之
R02 基-046	抗 EGFR 抗体による獲得耐性を予測する Liquid biopsy の有益性の検討	永坂　岳司
R02 基-047	患者・家族満足度調査による Precision Palliative Active Care Program 構成項目の最適化	岡脇　誠
R02 基-048	胃癌における免疫チェックポイント阻害剤に対する新規バイオマーカーの構築	谷岡　洋亮
R02 基-014	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診断法の最適化	玉田　勉
R02 基-083	MRI-US 融合画像ガイド下生検による PI-RADS v２ と v2.1 の診断能比較	木戸　歩
R02 基-035	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 : 段階的に悪性化した細胞株の遺伝子発現パターンからクローン進化を探る	通山　薫
R02 基-031	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の探索	北中　明
R02 基-019	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
R02 基-022	乳癌の個別化治療を目指した新しい病理組織学的バイオマーカーの探索	森谷　卓也
R02 基-021	RNA 結合蛋白質 TIA1a を起点とした食道癌進展機構の解明と新規治療戦略の分子基盤	増田　清士
R02 基-093	BRAF non-V600E 変異肺癌に対する新規治療法の開発	羽井佐　実
― 環境と生体反応 ―		
R02 基-068	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
R02 基-055	金または銀を担持したチタン酸ナノシートのガラス基板上への製膜	吉岡　大輔
R02 基-081	制御性Ｔ細胞を制御する～ブレーキの解除を目指して～	山内　明
R02 基-030	新型インフルエンザウイルス出現予測のためのウイルス感染行動解析	堺　立也
R02 基-034	クローン株を用いた条虫由来の新規代謝制御因子の統合的機能解析	沖野　哲也

R02 基-033	ヘマグルチニンのアスパラギン結合型糖鎖プロファイルに着目したインフルエンザワクチン改善方法の検証	後川　潤
R02 基-070	細胞膜外酵素 BST-1/CD157 は自然免疫細胞において IL-6 産生を制御している	井関　將典
R02 基-085	チタン酸ナノシートのリソソーム介在毒性機序の解析	西村　泰光
R02 基-012	CTL の活性化機序におよぼす石綿曝露影響	武井　直子
R02 基-038	低容量石綿長期曝露株におけるマトリクスプロテアーゼ MMP7 発現亢進とその機能の解析	李　順姫
R02 基-064	TNF 受容体関連周期性症候群（TRAPS）モデルを用いた炎症惹起・遷延化メカニズムの解明	平野　紘康
R02 基-100	PM2.5 の院外心停止発症に対する影響と高感受性集団の同定	小島　淳
R02 基-084	気管支喘息における睡眠時無呼吸合併の影響に関する包括的検討	小賀　徹
R02 若-001	加熱式タバコの気道と全身への影響の検討	八十川　直哉
R02 基-095	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
R02 ス-005	miR223 を介した S1PR1 発現制御による SLE 病態の解明	浅野　澄恵
R02 基-052	ヘルペスウイルス感染多核巨細胞の検出感度向上を目指した改良型 Tzanck test による皮膚 HSV/VZV 感染症の診断	山本　剛伸
― 新分子・新技術 ―		
R02 ス-004	ゼブラフィッシュを用いた心疾患の病態解明および治療法開発のための実験系確立	臼居　優
R02 基-044	モデル動物と臨床検体の統合的解析による HAM の革新的診断・治療法開発	齊藤　峰輝
R02 基-032	全世代に接種可能な新規弱毒生インフルエンザワクチンの開発	内藤　忠相
R02 基-028	治療標的として、SARS-CoV-2 の RNA に結合するホスト由来制御因子の抽出を目指す研究開発	伊藤　達男
R02 基-009	珪酸曝露による肺線維化に関連する細胞外基質の検討	大槻　剛巳
R02 基-015	ヒアルロン酸を用いた新規舌下免疫療法の開発	加藤　茂樹
R02 基-026	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

R02 基-074	サルコペニアに対する病態修飾薬の開発	砂田　芳秀
R02 基-073	微量血液検体による心疾患・筋疾患の簡易迅速診断法の確立	大澤　裕
R02 基-075	MELAS に対する疾患特異的末梢血バイオマーカーの開発	宗兼　麻美
R01 基-077	婦人科がんのヌードマウス PDOX 系とがん組織凍結バンクの確立－難治性がんの個別化治療への臨床応用を目指して	村田　卓也
29 基-091	がん関連線維芽細胞に着目したがん細胞のリンパ節転移解析―新たな転移メカニズムの解明をめざして	村田　卓也
R01 基-070	MR 流体を膝継手に搭載した装着型歩行訓練用ロボットの開発と有効性の検証	山本　五弥子
R02 基-002	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
R02 基-010	ROCK 阻害薬による角膜内皮疾患治療法の開発	藤本　久貴
R02 基-008	人工知能を活用した治療支援システムの開発	神田　英一郎
― 大学院研究 ―		
R02 大-002	IL-33 誘導性好酸球性気道炎症モデルマウスにおける IL-5 の役割	田中　仁美 （小賀　徹）
R02 大-006	糖尿病性腎臓病における SGLT2 阻害薬による糸球体過剰濾過抑制機構の解明	和田　佳久 （柏原　直樹）
R02 大-007	糖尿病性腎臓病における SGLT2 阻害薬の eNOS uncoupling 是正を介した糸球体内皮機能改善の検討	近藤　恵 （柏原　直樹）
R02 大-003	DPP-4 阻害薬および SGLT2 阻害薬を併用した際の膵β細胞保護効果に関する研究	伏見　佳朗 （金藤　秀明）
R02 大-004	GLP-1 受容体作動薬 Dulaglutide による抗動脈硬化作用の機序解明	真田　淳平 （金藤　秀明）
R02 大-009	卵胞液を用いた卵の質評価法の開発	松本　桂子 （下屋　浩一郎）
R02 大-008	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	河原　恭子 （守田　吉孝）
R02 大-001	低用量アスピリンによる消化管粘膜傷害関連因子の検討	半田　有紀子 （塩谷　昭子）
R02 大-005	炎症性腸疾患と腸内微生物との関連に関する検討	福嶋　真弥 （塩谷　昭子）

医学研究への扉　抄録

― 令和 2 年度 医学研究への扉 ―

優秀賞	漏斗胸患者における吊り上げ法による胸郭形態矯正効果に関する研究	石橋　美南子
優秀賞	インフルエンザワクチン開発に資する基盤研究	髭内　大成
優秀賞	医療情報における「やさしい日本語」に関する調査	山田　望
優秀賞	マイクロサージャリートレーニング	山本　武瑠
優秀賞	先天性風疹症候群をなくすためには？ ～我が国からの風疹を排除することは可能か～	吉田　裕里加
優秀賞	次世代シークエンサーを用いた遺伝子解析技術を学ぶ	藏野　裕太
優秀賞	新生児蘇生プログラムの有効性についての検討	福田　莉子
優秀賞	睡眠の質と生活習慣病との関連の検討	行廣　美央
優秀賞	フィトセラミド構造欠損マウス（Des2 ノックアウトマウス）膀胱組織の病態解析	宇野　元之
優秀賞	糖代謝阻害薬 2-deoxy-D-glucose(2DG) 封入 PLGA ナノ粒子による慢性肝炎抑制効果の検討	伊野部　重仁
優秀賞	分裂促進因子 Fam64a の心筋特異的 KO マウスの表現型解析	岡本　真梨子
優秀賞	遺伝子改変マウスを用いた TNF 受容体関連周期性発熱症候群の病態解析	西村　求寿
優秀賞	HSV-1 投与による発汗障害モデルマウスの特徴	清水　優希
優秀賞	慢性硬膜下血腫の再発と血液型との関連性	山本　大二朗
優秀賞	膀胱内の加齢性変化に関する検証	山田　和輝
優秀賞	グリセロホスホジエステラーゼ４および７の蛍光基質を用いた活性評価	津田　真帆
優秀賞	岡山県内の三大河川に生息するオオサンショウウオの遺伝子多型解析	河合　凌
優秀賞	R 言語によるオープンデータ解析と Web アプリケーション開発	日浦　航輔

お知らせ

〇参加者の先生方へ

１．会場：現代医学教育博物館
　　口頭発表： 3 階資料室
　　ポスター展示：4 階展示室

２．受付
　現代医学教育博物館　3 階資料室前
　※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。
　※1 階から階段もしくはエレベーターで 3 階にお越しください。
　※**2 階は新型コロナウイルスワクチン職域接種会場のため立入禁止**です。

３．顕彰
　口頭発表（プロジェクト研究の課題）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　3 階資料室

〇座長の先生方へ

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、時間厳守でお願いします。
　　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）

〇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、時間厳守でお願いします。
　　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 階中央教員秘書室内）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 階中央教員秘書室内）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、13：30 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、「課題番号（先生のお名前）」**でお願いします。
　★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、早目に接続してください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。

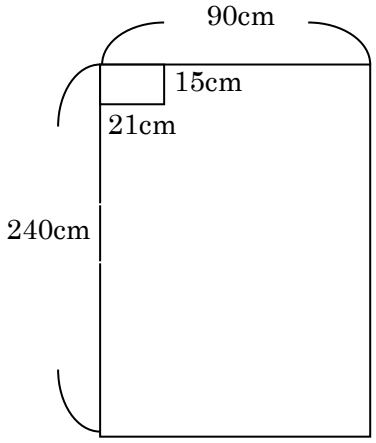
〇ポスター展示

１．ポスター掲示について

7 月 31 日（土）10：00～11：00 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。
それ以外の最上段に
①大学名・学部名
②演題名
③ご発表者名
を必ずご記入ください。



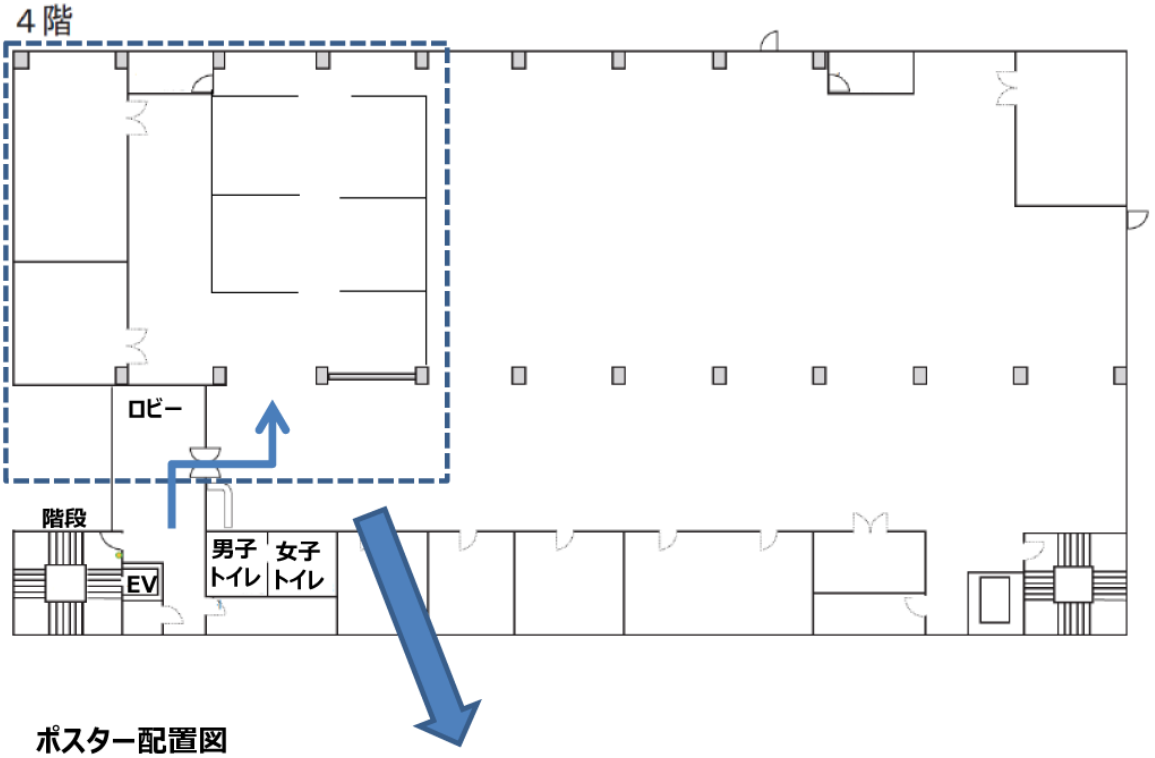
３．撤去時間

7 月 31 日（土）16：00 までに期間内の撤去をお願いします。

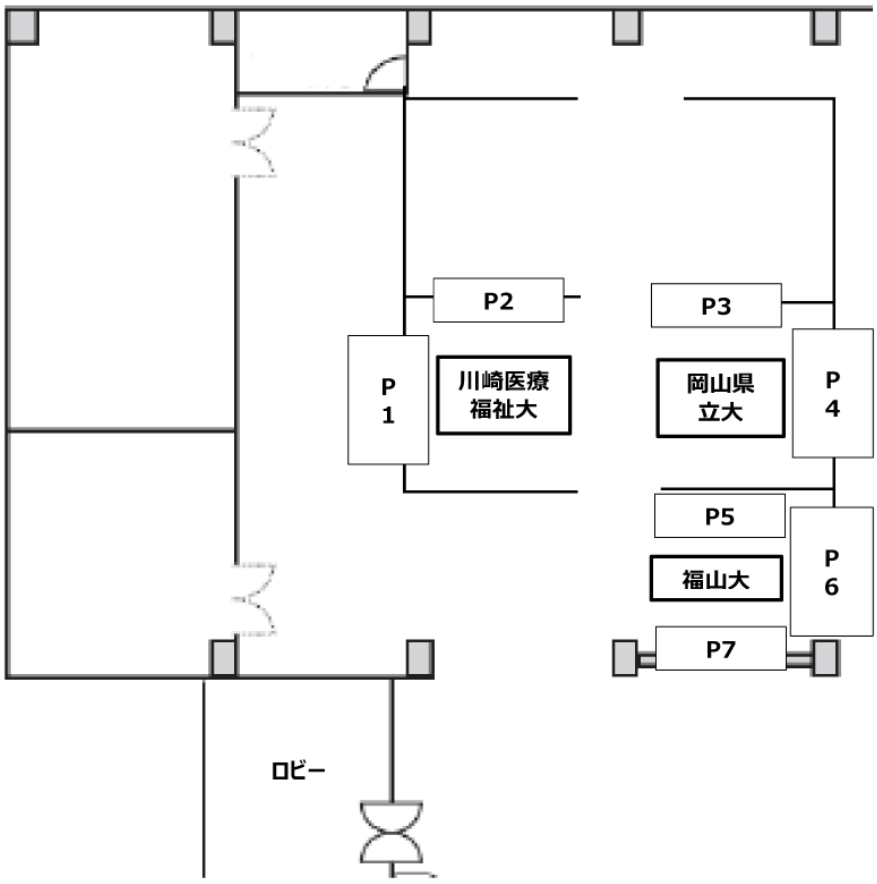
なお、撤去終了時間後に残っているポスターについては、廃棄させていただきますので、ご了承ください。

ポスター展示会場

4階



ポスター配置図



Ⅰ．口頭発表

課題番号：R02 基-046
研究課題：抗 EGFR 抗体による獲得耐性を予測する Liquid biopsy の有益性の検討
研究代表者名（所属）：永坂　岳司（臨床腫瘍学）
共同研究者名：谷岡　洋亮・岡脇　誠・佐野　史典・堅田　洋佑
Acquired mutations are detected in plasma. However, still few reports examine the concordance between liquid biopsy and metastatic lesions with acquired resistance. Herein we evaluated whether a polymerase chain reaction-reverse sequence-specific oligonucleotide (PCR-rSSO) method can examine the concordance between liquid biopsy and metastatic lesions with acquired resistance. Firstly, we examined the presence of acquired mutations in 7 chemoresistant metastatic lesions and blood samples obtained from a metastatic colorectal cancer (mCRC) patient treated with anti-EGFR therapy (patient 1). Metastatic tumor specimens harbored diverse acquired mutations in the *KRAS* gene in all of the 7 (100%) metastases, and the two acquired mutations were detected in blood specimens collected after acquiring resistance. Next, we analyzed primary tumors, metastatic lesions after chemotherapy, and blood samples from three additional mCRC patients but noted that none of the patients exhibited mutations in liquid biopsy except for one case with *BRAF* V600E mutation, which was confirmed in both primary tumor and peritoneal dissemination. Of the four cases, acquired mutations of *KRAS*, as well as *BRAF* V600E mutation, was detected in the blood obtained only after confirmation of acquiring resistance by radiological examinations. Our results suggest liquid biopsy based on the PCR-rSSO is a successful procedure for capturing acquired mutations with precise information of mutational spectrum that may lend us to reach selective target agents for *RAS* mutations.

課題番号：R02 ス-005
研究課題：miR223 を介した S1PR1 発現制御による SLE 病態の解明
研究代表者名（所属）：浅野　澄恵（リウマチ･膠原病学）
共同研究者名：守田　吉孝、向井　知之
【目的】SLE モデル MRL/lpr マウスの脾臓 CD4+T 細胞の網羅的エピゲノムライブラリーを作成し解析した結果、S1pr1 の発現低下とともに、その遺伝子を標的とする micro RNA 223-3p (Mir223)の発現亢進を見いだした。これらの SLE 病態への関与を解析する。【方法】Mir223 knockout lupus-prone mice (*Mir223*$^{-/-}$*Fas*$^{lpr/lpr}$)を作成し，44 週齢での表現型の差異を解析した。【結果】S1pr1-3'UTR をサブクローニングした pmirGLO dual luciferase miRNA Target expression vector をトランスフェクションしたヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)でのルシフェラーゼ活性は miR-223-3p mimic によって抑制された。また miR-223-3p mimic は EL4 mouse T cell line(EL4)の S1pr1 発現を有意に減少させた。さらに、*Mir223*$^{-/-}$*Fas*$^{lpr/lpr}$では、*Mir223*$^{+/+}$*Fas*$^{lpr/lpr}$に比較し、脾臓 CD4+T 細胞の S1pr1 が有意に増加し、その糸球体への浸潤を有意に認め、尿蛋白および糸球体スコアの増悪傾向を認めた。【結論】Mir223 欠損は標的遺伝子である S1pr1 の発現を上昇させ、リンパ球の炎症臓器への浸潤を促進することでループス腎炎を悪化させた。

課題番号：R02 基-010
研究課題：ROCK 阻害薬による角膜内皮疾患治療法の開発
研究代表者名（所属）：藤本　久貴（眼科学１）
本研究中、ROCK 阻害薬であるリパスジル点眼が、角膜内皮疾患に著効する可能性を見出し、複数の成果報告に結び付くに至った。
角膜内皮移植術後早期の接着不良移植片が、リパスジル点眼開始 36 時間後に自然接着した症例を報告した(臨床眼科学会 2020)。次いで白内障手術時操作により全体の 70%のデスメ膜および角膜内皮細胞が除去された

水疱性角膜症が、3か月間のリパスジル点眼使用で透明化した症例を報告した（手術学会 2021）。急性期の内皮損傷に対して特に有効と考えられたため、検討を進めた。
結果は肯定的であり、角膜内皮密度 1500/mm² 以下の内皮減少眼の白内障手術において、術後リパスジル点眼を使用することにより、中心部角膜内皮密度の減少はゼロ％に抑制された。さらに術後 7 日目の角膜浮腫はほぼ全く生じないことを示した（JSCRS2020、臨床眼科学会 2020、Fujimoto H. et al, Translational Vision Science & Technology. 2021）。
さらに慢性期の角膜内皮障害についても検討を進めた。その結果、フックス角膜内皮ジストロフィ(FECD)、レーザー虹彩切開術(LI)後の水疱性角膜症について、リパスジル点眼のみの使用にて視力改善および実質浮腫の改善が得られることを示した（ARVO2020、角膜カンファランス 2020）。
以上の知見は角膜疾患に対する新たなモダリティの治療法を示唆するものである。特にリパスジル点眼は緑内障点眼として安全性が確立されており、既存薬転用の優位性を持つため今後角膜疾患への応用が期待される。

演題名：造血器腫瘍細胞株における新規 MEK1/2 阻害薬ビニメチニブの効果
研究代表者（発表者）名：榊原佳奈枝
所属（大学・学部・学科）：川崎医療福祉大学・医療技術学部・臨床検査学科
ビニメチニブは *NRAS* または *BRAF* 変異を伴う悪性黒色腫の治療薬として用いられる新規 MEK1/2 阻害剤である。本研究では、この薬剤が造血器腫瘍に対して抗腫瘍効果を示すかどうかを調べるために 10 種のヒト白血病細胞株を用いて各種実験を行い、細胞増殖抑制効果の主たる原因の解明とビニメチニブの治療効果を予測できるバイオマーカーの特定を試みた。その結果、*NRAS* 変異を有する 5 種の細胞株のうち 3 株、*NRAS* 変異を有さない 5 種の細胞株のうち 1 株においてビニメチニブによる増殖抑制が認められた。この抗腫瘍効果は主に G1 細胞周期停止の誘導によるものであった。また MAP キナーゼ/ERK および PI3 キナーゼ/Akt 経路のリン酸化状態を調べたところ、ビニメチニブ耐性株は感受性株と比較して Akt のリン酸化状態が強い傾向にあった。さらに一部の細胞株において PI3 キナーゼ/Akt 阻害剤であるブパリシブとビニメチニブを併用するとアポトーシス細胞が相加的に増加した。本研究結果より、ビニメチニブの造血器腫瘍に対する治療効果を予測するバイオマーカーとして Akt の強いリン酸化状態が役立ち得ると期待される。新規 MEK1/2 阻害剤ビニメチニブや PI3 キナーゼ/Akt 阻害剤ブパリシブを用いる治療は、造血幹細胞移植に適さない患者や再発・難治性造血器腫瘍に対する新たな治療戦略となり得ることが明らかとなった。一方、そのためには腫瘍細胞における増殖シグナル伝達の特徴に基づく適正な使用が必須と考えられる。

演題名：身体活動量の高い若年女性における栄養摂取状況と四肢筋量との関係
研究代表者（発表者）名：大下和茂
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
健康日本 21 等では，若年女性における低体重者の高割合が指摘されており，将来的なサルコペニア予防から，若年女性を対象とした四肢筋量（AMM）や骨格筋指数（SMI）と身体活動との関係が報告されている．しかし，身体活動量が高かったとしても，栄養摂取状況によっては筋量獲得に繋がらない場合がある．そこで本研究は，身体活動レベル（PAL）の高い若年女性の AMM と栄養摂取状況との関係について検討を加えた．
対象は，生活活動調査による PAL が 2.0 以上であった 18～21 歳の女性 86 名であった．AMM は多周波 BIA 法により測定し，栄養素等摂取状況は，食物摂取頻度調査（FFQg）を用い調査し，1 日の総エネルギー（E），たんぱく質（P），脂質（F），炭水化物（C）摂取量をそれぞれ算出した．
AMM は，PAL，E 摂取量および三大栄養素の各摂取量とそれぞれ有意な正相関を示した．三大栄養素の各摂取量を説明変数とした重回帰分析の結果，AMM に有意に貢献していたのは P 摂取量のみであった．また，E 摂取量もしくは P 摂取量と PAL，身長，体重を説明変数とした重回帰分析の結果，AMM に有意に貢献していたのは PAL 以外の項目であった．

以上の結果は，身体活動レベルの高い若年者であったとしても，栄養摂取状況，特に総エネルギーおよびたんぱく質摂取量が低い場合，高筋量の獲得に繋がらないことを示唆しており，若年期からの運動習慣だけでなく適切な栄養摂取が将来的なサルコペニア予防に重要であると言える．

演題名：コレステロールトランスポーターNPC1L1 による α-トコフェロールの認識と細胞内取り込み
研究代表者（発表者）名：上敷領　淳
所属（大学・学部・学科）：福山大学・薬学部・薬学科

コレステロールは動物において必須の脂質であり、多くの重要な役割を果たしている。Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1)は、13 回膜貫通型のコレステロールトランスポーターであり、細胞外の N 末端領域（NTD）にコレステロール結合ドメインを持っている。NTD にコレステロールが結合すると、コレステロール-NPC1L1 複合体がエンドサイトーシスされることで、コレステロールの取り込みが行われる。また、NPC1L1 はコレステロールだけでなく、α-トコフェロール（ビタミン E）の細胞内取り込みにも関与するという報告がある。しかし、α-トコフェロールの細胞内への取り込みがコレステロールと同様の機構で行われているか否かに関しては不明な点が多い。そこで、我々はα-トコフェロールの NPC1L1 への結合および結合後に起こる細胞内への取り込みに関して検討を行った。
NPC1L1 の NTD を可溶性タンパク質として発現させた実験により、α-トコフェロールは NTD への[^{3}H]-コレステロール結合を阻害することが確認された。NPC1L1 安定発現細胞を用いた実験により、α-トコフェロールの投与によって NPC1L1 が細胞内に取り込まれること、および NPC1L1 阻害薬であるエゼチミブがα-トコフェロールの細胞内取り込みを阻害することが確認された。また、NPC1L1 の NTD を欠損させると、α-トコフェロールの細胞内取り込みが阻害されることが確認された。以上のことから、NPC1L1 はコレステロールと同様の機構でα-トコフェロールの細胞内取り込みにも関与することが示唆された。

課題番号：R02 基-017
研究課題：食欲と脂質代謝を制御する機能性脂質分子の生合成・分解機構の解明
研究代表者名（所属）：坪井 一人（薬理学）
共同研究者名：北風 圭介

N-アシルエタノールアミン(NAE)は食欲や脂質代謝を制御する脂質分子であり、生活習慣病の主要な原因である肥満を抑制する生理作用を持つ。一方、その小腸における代謝機構には不明な点が多い。本研究では、NAE の分解反応に焦点を当てた。この分解反応を担う酵素としては、中性～アルカリ性で作用する脂肪酸アミド加水分解酵素と、酸性で作用するリソソーム酵素である NAE 酸性アミダーゼが知られていた。今回、NAE 酸性アミダーゼとは別のリソソーム酵素であり、セラミドを分解する酵素と考えられてきた酸性セラミダーゼが NAE の分解に関与するとの作業仮説を設定した。まず、ヒト組換え酸性セラミダーゼの精製標品と放射標識 NAE を反応させたところ、セラミドと比較して高い加水分解活性を認めた。次に、胎児腎臓 HEK293 細胞を放射標識エタノールアミンで代謝標識し、酸性セラミダーゼを一過性に発現させたところ、細胞内の放射標識 NAE は減少した。質量分析の結果、種々の NAE 分子種の減少が判明した。さらに、内在性に酸性セラミダーゼを高発現する前立腺 LNCaP 細胞を用いて、siRNA 法により本酵素の発現を抑制したところ、細胞内 NAE レベルが上昇した。以上の結果から、酸性セラミダーゼが NAE の加水分解に関わることが示唆され、今後、小腸における本分解反応に酸性セラミダーゼが関与する可能性を考慮する必要があると考えられた。

課題番号：R02 基-071
研究課題：HDB/MCPO より嗅球に投射する GABA ニューロンの解析
研究代表者名（所属）：佐藤 慧太（解剖学）

哺乳類の嗅覚の情報伝達において、鼻腔の嗅上皮細胞が受容した嗅覚情報は、嗅神経を介して嗅覚の一次中

枢である嗅球へと伝達される。嗅球は、嗅覚情報を中枢へ伝達するだけでなく、前嗅核や梨状皮質、扁桃体、前脳基底部といった大脳領域、縫線核や青斑核といった脳幹部の神経核より、遠心性の神経線維の入力を受ける。前脳基底部のブローカの対角帯水平脚および大細胞性視索前核（HDB/MCPO）は、記憶や睡眠と強い機能的関連がある脳領域の 1 つである。HDB/MCPO には、非アセチルコリン作動性で抑制性神経伝達物質 GABA を含有し、特異的な神経活性物質としてパルブアルブミン（PV）を含有する PV ニューロンも含まれる。これらの抑制性の神経線維が、HDB/MCPO より嗅球へ投射し、前脳から嗅覚神経回路を抑制性に直接制御する神経回路として作用していることが予想される。しかし、HDB/MCPO に存在する神経細胞のうち、嗅球へ投射する非アセチルコリン作動性ニューロンの投射様式や投射する細胞の分布、その化学的な特徴の解明はなされていない。
そこで本研究では、マウスにおいて逆行性神経トレーサーによる標識と免疫組織化学的手法により、HDB/MCPO から嗅球へと投射する PV ニューロンを同定し、その神経核内分布、および化学的性質の解明を試みたので報告する。

課題番号：R02 大-004
研究課題：GLP-1 受容体作動薬 Dulaglutide による抗動脈硬化作用の機序解明
研究代表者名（所属）：真田淳平（生化学系分野　分子代謝内分泌学）
共同研究者名：金藤秀明
【背景・目的】Dulaglutide（Dula）は REWIND 試験で大血管イベントの抑制効果が報告されたが、基礎研究で抗動脈硬化作用の報告はない。糖尿病早期と進行期の間で抗動脈硬化作用に差が出るのか、非糖尿病状態における血管内皮への効果を検討した。
【方法】アポ E 欠損マウスに 10～18 週齢まで Dula または PBS を投与し大動脈弓プラーク、大動脈 Root 免疫染色及び大動脈 mRNA 発現を評価した。ストレプトゾシンで高血糖を誘発、早期介入（10～18 週齢）、進行期介入（18～26 週齢）での効果の差を検討した。
【結果】プラーク面積は Dula により非糖尿病状態で抑制傾向、高血糖誘発マウスでは早期・進行期ともに進展を有意に抑制した。Root 部分の免疫染色は早期で Dula により CD68・Mac-2 陽性面積が有意に減少した。mRNA 発現は、GLP-1 受容体が早期の Dula 群で非糖尿病群と同程度の発現量を維持、Control 群は発現量が有意に低下した。進行期では両群ともに非糖尿病状態と比較し大きく低下していた。炎症性サイトカイン・マクロファージマーカーは Dula 投与により早期・非糖尿病状態において有意に発現が低下もしくは低下傾向を示した。これらの変化は進行期では見られなかった。
【結論】Dula は抗動脈硬化作用を有し、血糖非依存的に炎症性サイトカイン、マクロファージマーカーの発現を低下させた。

Ⅱ．ポスター

演題名：機械学習とスマートグラスを用いた医療機器操作支援システム
研究代表者（発表者）名：宮崎仁
所属（大学・学部・学科）：川崎医療福祉大学・医療技術学部・臨床工学科

少子高齢化に伴う医療現場の人材不足により，新人教育にかかるコストや労力は年々増加している．例えば，人工心肺装置を用いた手術は月に数回しか行われないため，臨床工学技士が人工心肺の分野で教育・研修を受ける機会は少ないのが現状である．また，人工心肺装置の回路は高額であるため，訓練にかかるコストも高い．

本研究では，まず人工心肺の術前準備に着目し，心臓血管外科の経験がない，または少ない臨床工学技士でも術前準備を正確に行えるようにすることを目的として，ディープラーニングによる画像認識技術を用いて，人工心肺の循環回路を手に持つだけで，スマートグラスにマニュアルを自動表示するシステムを開発した．

システムは、小型コンピュータ（Raspberry Pi）と、画像取得用の Web カメラ、マニュアル表示用のスマートグラスで構成されている．画像認識には，約 1000 クラスの物体を学習しているモデルとして広く普及している VGG16 をベースに，転移学習によって人工心肺装置の回路を画像認識するためのニューラルネットワークを構築した．3 種類の機器の教師データとして，対象機器ごとに 400 枚の学習データと 100 枚の検証データの合計 1,500 枚を使用した．その結果，すべてのデバイスが正しく認識され，対応するマニュアルがスマートグラスに表示されることを確認した．
今度は，準備から離脱までの一連の操作をサポートし，エラーやミスが発生した場合の対処法を示す機能を追加する予定である．

演題名：造血器腫瘍細胞株における新規 MEK1/2 阻害薬ビニメチニブの効果
研究代表者（発表者）名：榊原佳奈枝
所属（大学・学部・学科）：川崎医療福祉大学・医療技術学部・臨床検査学科
ビニメチニブは *NRAS* または *BRAF* 変異を伴う悪性黒色腫の治療薬として用いられる新規 MEK1/2 阻害剤である。本研究では、この薬剤が造血器腫瘍に対して抗腫瘍効果を示すかどうかを調べるために 10 種のヒト白血病細胞株を用いて各種実験を行い、細胞増殖抑制効果の主たる原因の解明とビニメチニブの治療効果を予測できるバイオマーカーの特定を試みた。その結果、*NRAS* 変異を有する 5 種の細胞株のうち 3 株、*NRAS* 変異を有さない 5 種の細胞株のうち 1 株においてビニメチニブによる増殖抑制が認められた。この抗腫瘍効果は主に G1 細胞周期停止の誘導によるものであった。また MAP キナーゼ/ERK および PI3 キナーゼ/Akt 経路のリン酸化状態を調べたところ、ビニメチニブ耐性株は感受性株と比較して Akt のリン酸化状態が強い傾向にあった。さらに一部の細胞株において PI3 キナーゼ/Akt 阻害剤であるブパリシブとビニメチニブを併用するとアポトーシス細胞が相加的に増加した。本研究結果より、ビニメチニブの造血器腫瘍に対する治療効果を予測するバイオマーカーとして Akt の強いリン酸化状態が役立ち得ると期待される。新規 MEK1/2 阻害剤ビニメチニブや PI3 キナーゼ/Akt 阻害剤ブパリシブを用いる治療は、造血幹細胞移植に適さない患者や再発・難治性造血器腫瘍に対する新たな治療戦略となり得ることが明らかとなった。一方、そのためには腫瘍細胞における増殖シグナル伝達の特徴に基づく適正な使用が必須と考えられる。

演題名：身体活動量の高い若年女性における栄養摂取状況と四肢筋量との関係
研究代表者（発表者）名：大下和茂
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

健康日本 21 等では，若年女性における低体重者の高割合が指摘されており，将来的なサルコペニア予防から，若年女性を対象とした四肢筋量（AMM）や骨格筋指数（SMI）と身体活動との関係が報告されている．しかし，身体活動量が高かったとしても，栄養摂取状況によっては筋量獲得に繋がらない場合

がある．そこで本研究は，身体活動レベル（PAL）の高い若年女性の AMM と栄養摂取状況との関係について検討を加えた．

対象は，生活活動調査による PAL が 2.0 以上であった 18～21 歳の女性 86 名であった．AMM は多周波 BIA 法により測定し，栄養素等摂取状況は，食物摂取頻度調査（FFQg）を用い調査し，1 日の総エネルギー（E），たんぱく質（P），脂質（F），炭水化物（C）摂取量をそれぞれ算出した．

AMM は，PAL，E 摂取量および三大栄養素の各摂取量とそれぞれ有意な正相関を示した．三大栄養素の各摂取量を説明変数とした重回帰分析の結果，AMM に有意に貢献していたのは P 摂取量のみであった．また，E 摂取量もしくは P 摂取量と PAL，身長，体重を説明変数とした重回帰分析の結果，AMM に有意に貢献していたのは PAL 以外の項目であった．

以上の結果は，身体活動レベルの高い若年者であったとしても，栄養摂取状況，特に総エネルギーおよびたんぱく質摂取量が低い場合，高筋量の獲得に繋がらないことを示唆しており，若年期からの運動習慣だけでなく適切な栄養摂取が将来的なサルコペニア予防に重要であると言える．

演題名：熱帯果樹の葉に含まれる 5-リポキシゲナーゼ阻害成分の探索

研究代表者（発表者）名：川上祐生
所属（大学・学部・学科）：岡山県立大学・保健福祉学部・栄養学科

炎症やアレルギーなどの生体防御反応に関わる強力な生理活性脂質であるロイコトリエンは、病変部位への炎症細胞の遊走、平滑筋の収縮、血管の透過性の亢進などの活性を示す。ロイコトリエンの生成は、種々の刺激によって、生体膜リン脂質から遊離されたアラキドン酸に 5-リポキシゲナーゼが作用し、アラキドン酸の 5 位に酸素が添加され、過酸化脂質である 5-ヒドロペルオキシ酸が生成するところから始まる。この 5-ヒドロペルオキシ酸に同じ 5-リポキシゲナーゼが作用してロイコトリエン A_4 が生成した後、種々のロイコトリエンに変換される。そのため、ロイコトリエンの生成に関係のある 5-リポキシゲナーゼの働きを制御することができれば、炎症反応やアレルギー症状の軽減につながることが期待される。本研究では、熱帯果樹の葉に焦点を当て、そこに含まれる 5-リポキシゲナーゼ阻害成分の探索を試みた。熱帯果樹の葉の抽出物は 5-リポキシゲナーゼ活性を濃度依存的に阻害し、とくにエタノール濃度の高い溶媒で抽出した抽出液は 5-リポキシゲナーゼ活性に対する 50%阻害濃度が比較的低く、効果的に本酵素を阻害することを確認した。さらに、この葉の抽出物を溶媒による分配や各種クロマトグラフィー法を用いて分画し、5-リポキシゲナーゼ活性を阻害する画分を得た。

演題名：コレステロールトランスポーターNPC1L1 による α-トコフェロールの認識と細胞内取り込み

研究代表者（発表者）名：上敷領　淳
所属（大学・学部・学科）：福山大学・薬学部・薬学科

コレステロールは動物において必須の脂質であり、多くの重要な役割を果たしている。Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1)は、13 回膜貫通型のコレステロールトランスポーターであり、細胞外の N 末端領域（NTD）にコレステロール結合ドメインを持っている。NTD にコレステロールが結合すると、コレステロール-NPC1L1 複合体がエンドサイトーシスされることで、コレステロールの取り込みが行われる。また、NPC1L1 はコレステロールだけでなく、α-トコフェロール（ビタミン E）の細胞内取り込みにも関与するという報告がある。しかし、α-トコフェロールの細胞内への取り込みがコレステロールと同様の機構で行われているか否かに関しては不明な点が多い。そこで、我々はα-トコフェロールの NPC1L1 への結合および結合後に起こる細胞内への取り込みに関して検討を行った。

NPC1L1 の NTD を可溶性タンパク質として発現させた実験により、α-トコフェロールは NTD への[^{3}H]-コレステロール結合を阻害することが確認された。NPC1L1 安定発現細胞を用いた実験により、α-トコフェロールの投与によって NPC1L1 が細胞内に取り込まれること、および NPC1L1 阻害薬であるエゼチミブがα-トコフェロールの細胞内取り込みを阻害することが確認された。また、NPC1L1 の NTD を欠損させると、α-トコフェロールの細胞内取り込みが阻害されることが確認された。以上のことから、NPC1L1

はコレステロールと同様の機構でα-トコフェロールの細胞内取り込みにも関与することが示唆された。

演題名：動脈硬化抑制に関わる核内受容体の標的遺伝子の探索と創薬応用
研究代表者（発表者）名：松岡　浩史
所属（大学・学部・学科）：福山大学・薬学部・薬学科
【目的】動脈硬化の治療に用いられる脂質降下薬は予防には効果的であるが、すでに蓄積された脂質を除去する効果は十分でなく、新たな治療薬の開発が必要である。レチノイン酸関連オーファン受容体α（RORα）の遺伝子欠失は、脂質代謝異常および過剰な炎症反応を惹き起こし、アテローム性動脈硬化を発症することが報告されている。そこで、我々はRORαが制御する標的遺伝子の同定を通じて、動脈硬化の抑制メカニズムの解明とその活性化法の開発に取り組んできた。
【方法・結果】各種RORα応答配列（RORE）の結合性および応答性の解析によって、RORαと強い親和性を示すREREを特定した。その配列をヒトゲノム上の各遺伝子プロモーター近傍で検索し、標的遺伝子候補を抽出した。次に、RORαの過剰発現およびノックダウン培養細胞系により、RORα発現に連動する標的遺伝子を選出した。また、それら標的遺伝子のREREに対する結合性および応答性を、ゲルシフト解析およびレポーター解析により評価した。これら戦略を経て、RORαの標的遺伝子として、血中糖濃度の調節酵素、細胞接着分子、蓄積コレステロールの除去酵素、オキシステロールの代謝酵素を得た。さらに、RORα作動薬による誘導性を評価した結果、それら標的遺伝子の発現亢進が示された。現在、RORα制御ネットワークの全容解明を目指し、オミクス解析への展開を検討中である。

演題名：腎虚血再灌流障害におけるグルタチオン分解酵素を介したアポトーシス発現制御
研究代表者（発表者）名：木平　孝高
所属（大学・学部・学科）：福山大学・薬学部・薬学科
腎虚血再灌流障害（IRI)は、尿細管細胞死、炎症等が原因となり生じる腎機能障害である。低酸素誘導因子（HIF)-1αは、低酸素により誘導される転写因子であり、細胞の代謝や生存、炎症等を制御するため、IRIの障害発現に影響を与えると考えられる。そこで本研究では、HIF-1αヘテロ欠損（hKO)マウスを用いてIRIにおけるHIF-1αの役割について解析を行った。
マウスの右腎を摘出し、左腎の腎動静脈を血管クランプ用いて45分間閉塞させた後、クランプを外すことでIRIモデルを作製した。また、尿細管細胞HK2を用いて、in vitro解析を行った。
hKOマウスにおけるIRIは、野生型（WT)マウスに比べ遷延することが明らかとなった。IRIには、尿細管細胞のアポトーシスが関与することから、腎組織におけるアポトーシス発現を解析したところ、hKOではアポトーシス発現が遅れることが明らかとなった。IRIのアポトーシス発現にはERストレスが関与することから、ERストレス下流にありアポトーシス発現に関与するグルタチオン分解酵素CHAC1に注目し、この発現を調べたところ、WTではIRI時に発現上昇するCHAC1が、hKOでは発現抑制されていることが明らかとなった。CHAC1をHK2細胞において発現抑制すると、抗アポトーシスに働くBcl-2の発現が上昇することから、CHAC1はBcl-2の発現に関与しており、IRIにおけるアポトーシスを抑制していることが示唆された。以上より、HIF-1αは、CHAC1を介してアポトーシス誘導に影響を与えることにより、IRIからの回復に関与することが考えられる。

Ⅲ．抄録

課題番号：R02 基-061
研究課題：嗅覚障害の神経解剖学的メカニズムの解明
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、清蔭恵美
［目的］世界的パンデミックを起こしている COVID-19 の初期症状の嗅覚異常が広く知られ、どのような機転で嗅覚機能障害に陥るかが関心事であるが、障害メカニズムの詳細は不明である。本研究は、モデル動物による嗅覚異常メカニズム解明への解剖学的基礎の構築を目的とした。
［方法］物理的除入力（鼻閉モデル）、傷害性除入力（硫酸亜鉛点鼻不可逆的障害）、鼻炎性除入力（鼻炎モデル：アレルゲン投与）のうち、解析の進んだ鼻閉モデルについて報告する。8 週齢雄 C57BL/6J マウス左外鼻孔を鼻閉、1 週間後に鼻閉の有無を確認し、4 週間後に灌流固定した。
［結果］TH/VGAT, CB/VGAT, CR/VGAT の多重免疫蛍光・レーザー顕微鏡解析で、42um^3 あたりの共存率を解析した。左鼻閉側：総 VGAT 陽性数平均 32、%TH/VGAT 48.5%、右側：総 VGAT 陽性数平均 61、% TH/VGAT 64.5%、TH 陽性突起が占める割合は、左鼻閉側：1.85%、右側：2.48%であった。CR, CB は鼻閉後の変化が見られない。
［考察］入力遮断後の嗅球神経回路の変化は不明であった。今回、VGAT など新たに機能的マーカーにより、GABA 機能も減少し神経回路の変化が示唆された。
［今後］鼻閉により機能障害を起こした後に再開通した場合、機能障害が不可逆的になるか、嗅粘膜の受容細胞の変化や再生能についても検討したい。

課題番号：R02 基-025
研究課題：下垂体性性腺機能低下症の原因遺伝子探索
研究代表者名（所属）：嶋　雄一（解剖学）
下垂体性性腺機能低下症は、下垂体ゴナドトロピンの産生・分泌低下により生殖腺の機能が低下する先天性疾患である。この疾患において原因遺伝子が同定されているのは 30%前後であり、残りの多くの症例では原因遺伝子が不明である。我々は、核内受容体型の転写因子をコードする *Nr5a1* 遺伝子の下垂体特異的発現制御領域（下垂体エンハンサー）を欠失させることにより、下垂体性性腺機能低下症の疾患モデルマウスを作出した。
　このマウスの下垂体の遺伝子発現パターンを野生型マウスと比較し、発現低下している遺伝子を抽出した。一方、NR5A1 陽性細胞を EGFP で標識したマウス（Ad4BP-BAC-EGFP マウス、***PLoS ONE*** 10:e018352, 2015）の下垂体からソーティングにより細胞を回収し、下垂体全体との比較によってゴナドトロピン産生細胞で高発現している遺伝子を抽出した。両者に共通している遺伝子は、オスで 16 遺伝子、メスで 9 遺伝子であった。
　現在、国立成育医療研究センター分子内分泌研究部との共同研究により、下垂体性性腺機能低下症患者における上記の遺伝子の変異の有無を解析している。また、上記の遺伝子が NR5A1 によって直接制御されるか否かを検証するために、ゴナドトロピン産生細胞を用いた CUT&RUN 解析（***eLIFE*** 6:e21856, 2017）により、NR5A1 結合領域の網羅的な解析を進めている。

課題番号：R02 基-051
研究課題：無麻酔下マウスの脳における単一傍細胞記録系の確立
研究代表者名（所属）：林　周一（解剖学）
共同研究者名：樋田一徳
　マウスの嗅球と horizontal limb of the diagonal band of Broca (HDB)の傍細胞記録をする上で、脳定位で開頭し、電極を挿入する必要がある。開頭技術の習得および HDB から嗅球への投射の確認のために、麻酔下の成獣マウスの嗅球に逆行性トレーサーFluoroGold を注入した。FluoroGold 注入後、3－

4 日後にマウスを灌流固定して、脳を取り出した。後固定した脳をスライスして標識されたニューロンの位置を同定した。その結果、HDB のニューロンが強く標識された。この結果はこれまでの報告と一致し、HDB ニューロンが嗅球に投射することを示す。

また、傍細胞記録から得られたデータを解釈する上で、嗅球の各層の神経伝達物質受容体の発現情報が重要である。そこで、ノルアドレナリンの受容体の一つであり、嗅球に発現することが知られている α1B adrenergic receptor（ADRA1B)の発現を調べた。ADRA1B 染色標本（解剖学堀江助教作製）で染色強度を定量した結果、糸球体層で ADRA1B の発現が高いことが分かった。糸球体層の中でも、糸球体内部と糸球体周囲の領域では、前者の受容体発現が高いことが分かった。現在、これらの知見を生かして傍細胞記録の系のさらなる確立に努めている。

課題番号：R02 基-060
研究課題：脾臓形成における脾洞杆状内皮細胞の発生生物学的解析
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（ΔSpE）を用いた形態学的解析により、杆状内皮細胞によって形成される脾洞の形態異常について検証を試みた。

ΔSpE の脾臓における脾洞を免疫染色により解析したところ、脾洞杆状内皮細胞のマーカー Stabilin-2 の発現は ΔSpE で弱い傾向にみられた。さらに、基底膜マーカーである Laminin による免疫染色の結果、ΔSpE では白脾髄辺縁にある辺縁洞（Marginal zone, MZ）でを示す Laminin 陽性反応が消失していた。
以上の結果から、NR5A1 は脾洞の機能分化に重要な因子であり、また杆状内皮細胞が、脾洞の形成さらには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。さらに、MZ においてはその形態形成に重要な因子であり、かつ白脾髄の形態異常に関連していることが考えられる。これらの異常がいつから生じるのかについて現在解析を進めているところである。

課題番号：R02 基-011
研究課題：マウス精巣内異種精子形成を目的とした新規移植法の確立
研究代表者名（所属）：横西　哲広（解剖学）

小児がんサバイバーの約 3 割が、晩期合併症である不妊症を発症する。しかし、精子凍結保存が叶わない性未成熟の若年性がん患者の妊孕性の温存法は確立されていない。申請者はマウスの精細管内にベンザルコニウム塩化物（Benzalkonium Chloride; BC）を注入すると、精子幹細胞ニッチを構成するセルトリ細胞を選択的に除去することを見出した。BC 注入後のマウス精巣に別個体の精巣細胞を移植することで、精子幹細胞だけでなくニッチを構成するセルトリ細胞、ライディッヒ細胞や筋様細胞を置換でき、宿主の精巣内でドナー由来の精巣を再構成することに成功した（Yokonishi, Nat commun., 2020）。本手法を用いることで、マウス精巣の中でヒト精巣を再構築すれば、若年性男性がん患者の妊孕性の温存法となると期待した。

BC 注入後の移植効率が低いため、宿主の前処置法を改良し、ドナー細胞の定着率を向上させる必要がある。アルキル化剤のブスルファン腹腔投与は、精子幹細胞を死滅させ、生殖細胞を除去できる。本研究では、ブスルファン投与後の精巣に BC を注入し、セルトリ細胞への BC の効果増強と副作用について検討した。ブスファン投与＋BC 群ではコントロールと比較し、セルトリ細胞除去と生殖細胞除去率が向上し、その他の間質細胞や精巣の構造に影響は与えなかった。ブスファン投与＋BC 群への移植効率については検討中である。

課題番号：R02 基-057
研究課題：電子顕微鏡による嗅球カルレチニン免疫陽性傍糸球体細胞 のシナプス形態解析
研究代表者名（所属）：野津 英司（解剖学）
匂い情報の一次中枢である嗅球に存在する細胞は、形態学的に特定された比較的少数の細胞種と、神経化学的な特性から分類した幾つかのサブポピュレーションに分類されている。嗅上皮で受容された匂い情報が入力される嗅球糸球体の周囲には、形態的に分類された傍糸球体細胞が分布しており、嗅球の投射ニューロンである僧帽細胞・房飾細胞に入力された匂い情報の調節に重要な役割を果たしていると考えられている。これらの傍糸球体細胞は神経化学的に分類され、それぞれが僧帽細胞・房飾細胞との間に形成する神経回路の解析が進められている。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）が形成する神経回路についてはまだ解析が進んでいない。本研究では、CR ニューロンの神経化学的性質について詳細な検討を行い、従来、CR ニューロンの多くが神経伝達物質である GABA に対して免疫陰性をし、多数が陰性を示すとされていたが、その染色性については多様な染色強度を示す細胞が含まれていることを確認した。一方で、電子顕微鏡を用いた CR ニューロンが形成する神経回路の形態学的な解析を進めているが、CR ニューロンからの出力となるシナプスについては現在のところ確認出来ていない。これらの GABA 免疫染色の結果と、CR ニューロンが形成するシナプスとの関連性についての解析が今後の課題である。

課題番号：R02 基-058
研究課題：マウス嗅球におけるヒスタミン作動性神経線維に局在と遠心生入力の形態学的解析
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ノルアドレナリンなどの遠心性の入力があることが知られている。本研究では、新たにヒスタミン作動生線維について遠心性の入力経路及び嗅球内での神経回路の解明を最終目的としている。
ヒスタミン作動性線維の起始核及び嗅球における可視化を免疫組織化学法により検討した。ヒスタミン作動性神経を可視化には抗ヒスタミン抗体及びヒスタミンの合成酵素であるヒスチジン脱炭酸酵素（histidine decarboxylase: HDC）抗体を用いて免疫染色を行った。抗ヒスタミン抗体を用いる際には、通常のアルデヒド固定の前にカルボジイミド固定を施すことで、ヒスタミン作動性線維の可視化が可能となった。ヒスタミン作動性線維は視床下部乳頭体核（Tuberomammillary nuvleus: Tmn）に細胞体が多数見られ、非常に細く varicosity を多く含む線維は分界条床核に密集して観察された。同様に HDC 抗体を用いたところ、Tmn 細胞とその太い突起が観察され、Tmn でヒスタミン合成が行われていることが示唆された。嗅球におけるヒスタミン作動性線維の局在を調べたところ、深層である顆粒細胞層に最も多く線維が見られ、その他の層では他の遠心性入力に比べ非常に数が少なかった。

課題番号：R02 基-071
研究課題：HDB/MCPO より嗅球に投射する GABA ニューロンの解析
研究代表者名（所属）： 佐藤 慧太（解剖学）
哺乳類の嗅覚の情報伝達において、鼻腔の嗅上皮細胞が受容した嗅覚情報は、嗅神経を介して嗅覚の一次中枢である嗅球へと伝達される。嗅球は、嗅覚情報を中枢へ伝達するだけでなく、前嗅核や梨状皮質、扁桃体、前脳基底部といった大脳領域、縫線核や青斑核といった脳幹部の神経核より、遠心性の神経線維の入力を受ける。前脳基底部のブローカの対角帯水平脚および大細胞性視索前核（HDB/MCPO）は、記憶や睡眠と強い機能的関連がある脳領域の 1 つである。HDB/MCPO には、非アセチルコリン作動性で抑制性神経伝達物質 GABA を含有し、特異的な神経活性物質としてパルブアルブミン（PV）を含有する PV ニューロンも含まれる。これらの抑制性の神経線維が、HDB/MCPO より嗅球へ投射し、前脳から嗅覚神経回路を抑制性に直接制御する神経回路として作用していることが予想される。しかし、HDB/MCPO に存在する神経細胞のうち、嗅

球へ投射する非アセチルコリン作動性ニューロンの投射様式や投射する細胞の分布、その化学的な特徴の解明はなされていない。
そこで本研究では、マウスにおいて逆行性神経トレーサーによる標識と免疫組織化学的手法により、HDB/MCPO から嗅球へと投射する PV ニューロンを同定し、その神経核内分布、および化学的性質の解明を試みたので報告する。

課題番号：R02 基-039
研究課題： 脊椎動物における心臓拡張システムの多様性
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・臼居　優

ヒト心室は収縮時に蓄えた弾性エネルギーにより血液を吸引すると共に心房収縮による血液充填を受ける。心房-心室の構造は脊椎動物の心臓に共通した構造であるが、その拡張システムの障害は心不全として重要な要素であり、病態生理理解のため異種生物心臓について検討した。無顎類ヤツメウナギの心臓は軟骨組織のカプセルに収納されており、その心臓力学特性を評価するため麻酔下に超音波検査による心房・心室の流入・流出血波形を計測した。心室への血液流入はヒトと異なり、心房収縮による充填のみであった。また、心房への血液流入は殆どが心室収縮時に限られ、静脈洞と心房に高い圧較差が心室収縮時に発生していた。その理由として心臓が軟骨カプセルに収容され、心房と心室の容積和が一定に保たれるため心室容積の減少によりカプセル内が陰圧となり心房が受動的に伸展されていると考えた。この仮説を検証するため定常状態で動脈圧・心房圧・心室圧を計測しながらカプセルに切開を入れたところ、心室収縮による心房圧低下は消失し、動脈圧は 50㎜Hg から 10㎜Hg まで低下した。

ヤツメウナギ は心房に効率よく血液を取り込むため心臓全体を軟骨カプセルに収納し、心室が収縮するエネルギーを心房の血液充填に利用していた。哺乳類が心室の血液充填に関して心房への依存を低下させているのに対し、異なる戦略によって心機能を進化させてきたことが明らかになった。

課題番号：R02 基-040
研究課題： Fam64a の強制発現による心機能悪化を回避する心筋再生戦略の検討
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・臼居 優

心筋細胞は胎生期にのみ分裂能を有する為、成体では心筋梗塞等で失われた心筋を再生することは出来ない。我々は最近、心筋分裂には胎生期の低酸素環境が必須であり、出生後の肺呼吸開始による酸素増加が心筋分裂を停めることを突き止め、胎生期心筋の分裂を促進する三つの遺伝子[Fam64a, APC/C, Novex3]を同定した。

1. 心筋特異的 Fam64a 過剰発現マウス

Fam64a 発現が失われる出生後において心筋特異的にその発現を長期維持する過剰発現マウスを作製したところ、期待通り成体心筋の分裂は促進されたが、同時に心筋細胞の過剰な脱分化・未熟化が起こり、心機能が悪化した。分子機構を検討したところ、Fam64a が糖質コルチコイド受容体と複合体を形成し、心筋分化を促進する転写因子 Klf15 を阻害することで心筋の脱分化を促進することを明らかにした。心筋分裂には先行する脱分化とそれに伴う収縮力低下が必ず付随する為、今後は過剰な脱分化を避けつつ心筋再生を実現する為の対策として、心傷害に対する一過性の Fam64a 導入法の検討を進めていく。

2. 心筋特異的 Fam64a KO マウス

ゲノム編集により心筋特異的 Fam64a KO マウスを作製した。ゲノムレベルでの当該部位の欠損、また、mRNA と蛋白レベルでの心筋特異的 Fam64a 欠損を確認した。本マウスでは Fam64a が高活性である胎生初期に心筋特異的に KO される為、心筋分裂障害や発生異常が想定される。今後、表現型解析を進める。

課題番号：R02 基-056
研究課題： 心筋細胞膜とサルコメア間の張力伝達ネットワークによるメカノセンシング機構解明
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、臼居　優
心臓は高血圧などの力学的環境変化に対して、心筋細胞の肥大を介したポンプ機能調節によって適応するが、長期的にはこの適応機構も破綻して心不全に至る。本研究では、心筋細胞膜とサルコメア Z 線間を短軸方向に繋ぐコスタメアに注目し、特に新規コスタメアタンパク質の遺伝子改変マウスの解析を通して、心臓の力学的情報感知システムの解明に取り組んだ。新規コスタメア局在タンパク質は主に心臓で発現し、心臓への過負荷が無ければ心臓構造(SPring8 の X 線位相差 CT)や心機能(心エコー・心電図)に問題が見られず生存や繁殖可能だが、ミトコンドリアの融合や不整列(電顕)、カルシウム動態関連タンパク質の増加(ウエスタンブロット)が見られ、大動脈狭窄術 TAC で左室に圧負荷をかけるとほとんどの個体が突然死した。そこで大動脈狭窄手術による左室への圧負荷をゆるめにかけて長期飼育し、心機能(心エコー・心電図)、心筋病態(組織染色)、心筋細胞微細構造(電顕)、コスタメア蛋白質局在(免疫蛍光顕微鏡)、筋収縮関連タンパク質の大きさと発現量(SDS-Agarose ゲル電気泳動、ウエスタンブロット)の解析を行った。その結果、遺伝子改変マウスは野生型に比べ、心不全の病態が早く悪化することが明らかとなった。従って、新規コスタメア局在タンパク質は心臓のメカノセンシングプロセスの一端を担い、力学的負荷による心不全発症を防いでいることが明らかとなった。

課題番号：R02 基-007
研究課題： 運動療法最適化のための血中乳酸濃度および神経栄養因子群の動態解析
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
運動の種類による筋由来の栄養因子（マイオカイン）群の分泌動態を解析中である。5 週齢の雄ラットを無作為に、①非運動群（ケージ内飼育のみ)、②強制運動群（トレッドミル走行： 15m/分 × 30 分を 7 日間)、③自発走行群（running wheel ケージにて 7 日間飼育、平均 5,000m/日以上走行した個体を採用）および④電気刺激群（前脛骨筋および腓腹筋を皮膚上の電極にて刺激　2Hz・10 分間の刺激を 7 日間）に分けた。それぞれの運動終了後、前脛骨筋および腓腹筋を摘出し、抽出を行い ELISA にて BDNF、IGF-1、Western blot にて irisin、cathepsin B を測定した。運動開始 7 日後の後肢の筋におけるマイオカイン発現量を比較したところ、4 群の間に有意な差は見られなかった。また非運動群についてはケージ内で歩行や後肢による起立が可能であり比較コントロールになっていない可能性を考え、後肢の随意運動が不可能な脊髄損傷モデルを作成したが、これも 7 日間の飼育中に歩様が回復し、自発運動が可能となっていた。一方、坐骨神経切断モデルでは 7 日後においても後肢の引きずり歩行を示しており、前脛骨筋および腓腹筋の随意運動が不可能な非運動群として、マイオカイン類を測定中である。一方、運動強度の指標と考えている血中乳酸濃度は、強制運動群および電気刺激群のみ刺激直後に有意に上昇していた。

課題番号：R02 基-082
研究課題： 関節リウマチマウスモデルの滑膜最初期病変における BST-1 の役割
研究代表者名（所属）： 石原　克彦（免疫学）
共同研究者名： 矢作　綾野、井関　將典
Bone marrow stromal cell antigen-1(BST-1)/CD157 は関節リウマチ(RA)の骨髄間質細胞に高発現し ADP リボシルシクラーゼ活性を持つ細胞膜外酵素として同定された。IL-6 ファミリーサイトカインに共通する受容体サブユニット gp130 の Y759F 変異体をノックインした gp130F759 は RA とよく似た病態を呈するマウスモデルである。5 ヶ月齢の gp130F759 を用いて RA の臨床的関節炎発症前(前臨床期)の病態を類推する目的で発現遺伝子を解析したところ、滑膜非血液系細胞で *Bst1* 遺伝子の発現が一過性に亢

進していた。テープ法で作製した滑膜組織凍結切片を解析したところ、抗 BST-1 抗体の反応性は、野生型では血管内皮に認められるのに対し、gp130F759 では血管周囲で認められた。交配により二重変異マウス *Bst1*KO/gp130F759 を作製し、前臨床期における組織学的変化を定量解析したところ *Bst1*KO/gp130F759 の関節滑膜の線維化は gp130F759 と比較して軽減した。滑膜増生、新生血管数には差を認めなかった。*Bst1*KO/gp130F759 の滑膜線維芽細胞は gp130F759 と比較して IL-6 の産生が低下していた。臨床的関節炎発症前の滑膜組織において BST-1 は滑膜線維芽細胞の IL-6 の産生を介して線維化を促進している可能性が示唆された。(600 字)

課題番号：R02 基-063
研究課題： Cherubism モデルマウスを用いたチロシンキナーゼ阻害薬の抗炎症および破骨細胞分化抑制効果の検討
研究代表者名（所属）： 向井　知之（免疫学）
共同研究者名： 守田 吉孝、赤木 貴彦
【目的】Cherubism は、自己炎症性骨疾患の一つで、顎骨破壊を特徴とする稀な遺伝性疾患である。アダプター蛋白 SH3BP2 の機能獲得変異が責任変異であり、マクロファージ・破骨細胞の過剰活性化を惹起する。確立された治療法はないが、近年、Bcr-Abl 阻害薬 Imatinib が Cherubism に有効である可能性が示された。本研究では、Cherubism モデルマウスを用い、Imatinib の炎症及び骨破壊に対する治療効果を検討する。
【方法】マウス骨髄由来マクロファージを用いて、LPS 刺激による炎症反応、RANKL 誘導破骨細胞分化に及ぼす Imatinib の影響を検討する。マウスに Imatinib を 4 週間腹腔投与し、炎症・骨破壊抑制効果を検証する。
【結果】LPS 刺激による TNF 産生は Imatinib により軽減しなかった。一方、RANKL による破骨細胞分化は用量依存的に抑制された。Imatinib により破骨細胞分化のマスター制御因子 NFATc1 の発現が抑制された。マウスに対する Imatinib の投与では、全身炎症・骨量減少に対する治療効果は確認出来なかった。
【結語】in vitro 実験では破骨細胞抑制効果はみられたが、in vivo 投与での骨量減少抑制効果は確認出来なかった。治療効果の有無を明らかにするため、投与量・投与経路について更なる検討が必要である。

課題番号：R02 基-078
研究課題： 酸性セラミダーゼとマクロファージの活性制御によるクラッベ病の新たな治療法開発研究
研究代表者名（所属）： 松田　純子（病態代謝学）
共同研究者名： 渡邉　昂、郷　慎司
クラッベ病（別名：グロボイド細胞白質ジストロフィー）は、リソソーム酵素であるガラクトシルセラミド（GalCer）β-ガラクトシダーゼ（GALC）の欠損による遺伝性脱髄疾患である。GALC の主な基質は GalCer だが、クラッベ病の神経組織では、GalCer よりも GalCer のリゾ体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から、クラッベ病の病態は、サイコシンの細胞毒性によるとする「サイコシン仮説」によって長く説明されてきた。
我々は、酸性セラミダーゼ活性の低下を呈するサポシン D 欠損マウス（Sap-D KO）とクラッベ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、Twi）の交配により Sap-D 欠損 Twitcher マウス（Sap-D/Twi）を作製し、Sap-D/Twi では、予想通りにサイコシンが蓄積しないにもかかわらず、予想外に Twi よりも寿命が短く、その脱髄病変は Twi と質的に同等で、脱髄病変部にはミエリン様構造物や多彩な形状の膜様封入体を含むマクロファージ（グロボイド細胞）の著明な浸潤を認めることを見出した。
これらの結果は、従来信じられてきた「サイコシン仮説」のみではクラッベ病の病態を説明できないことを強く示唆している。今後は、Sap-D/Twi において、マクロファージが異常に活性化していることに

着目し、「貪食した髄鞘由来の GalCer を分解することができない GALC 欠損マクロファージが異常に活性化し、脱髄を惹起、増悪させる。」という「悪玉マクロファージ仮説」の検証に取り組む。得られた成果は、「サイコシン仮説」に代わるクラッベ病の新たな発症メカニズムの提唱と、マクロファージの活性制御によるクラッベ病の新たな治療法開発につながる。

課題番号：R02 ス-006
研究課題： サポシン D 変異による神経変性疾患発症の分子メカニズムの解明
研究代表者名（所属）： 渡邉　昂　（病態代謝学）
共同研究者名： 松田　純子、郷　慎司

プロサポシン (PSAP) 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サポシン (SAP-A, B, C, D) の前駆体タンパク質である。私たちは、昨年、*PSAP* 遺伝子のサポシン D (SAP-D) 領域の変異がパーキンソン病を引き起こすことを報告した (Oji et al, *Brain*, 2020)。本研究では、ドパミンニューロンの変性脱落の分子メカニズムの解明を目指して、Sap-D 領域に変異を導入した *Sap-D* ノックアウト (KO) マウス由来の培養細胞を用いた実験系の樹立に取り組んだ。

Sap-D 変異のヘテロマウスを交配して樹立した *Sap-D* KO およびヘテロ、野生型マウスの胎児線維芽細胞 (MEF) と、*Psap*-KO および PSAP 過剰発現 (Tg) マウス由来の MEF を用いて、血清飢餓による Autophagy flux assay を行った。その結果、*Sap*-D KO、*Psap*-KO、PSAP-Tg マウスでは、定常状態において Autophagy の亢進が認められ、PSAP-Tg では Autophagy flux の低下が示唆された。同時に PSAP のタンパク質量を検出した結果、*Sap-D* KO では、培地中への PSAP 分泌量が減少し、細胞内の PSAP 量が著増していた。

これらの結果から、PSAP の細胞内外の量の変化による Autophagy の異常がドパミンニューロンの変性脱落に関与している可能性が示唆された。今後は *Sap-D* KO マウス由来のドパミンニューロンの初代培養実験系を確立し、神経細胞を用いての検証に取り組む予定である。

課題番号：R02 基-089
研究課題： 末梢動脈疾患における vasohibin の発現に関する臨床病理学的検討
研究代表者名（所属）： 森田一郎（総合外科学）
共同研究者名： 森谷卓也、石田敦久、磯田竜太郎

Vasohibin は本邦で発見された。血管新生を抑制する vasohibin-1 (VASH1)と血管新生を促進する vasohibin-2 (VASH2)がある。これらは tubulin の脱チロシン化への関与が報告されている。Vasohibin の研究の多くが腫瘍新生血管に対するもので、peripheral arterial disease (PAD:末梢動脈疾患)における関与は未解明である。

【目的】PAD における VASH1、VASH2 および tubulin の発現を、病理組織学的に検索し臨床的特徴とも照合して関連性を検討することとした。

【方法】2019 年 1 月から 2020 年 7 月までに手術により切除された大腿動脈について検討した。PAD 症例は 44 例で、対照症例は下肢血圧低下のない症例 (ankle brachial index が 0.90 以下 ; 主に動脈瘤症例) 20 例の大腿動脈を用いた。(1) Hematoxylin Eosin 染色、Elastica-Masson(E-M)染色および免疫組織化学染色 (CD31, VASH1, VASH2, 脱チロシン化チューブリン(Glu-tubulin)に対する抗体を使用) を行った。(2)E-M 染色で動脈の 3 層構造を確認し、それぞれの厚さを計測した後、VASH1,VASH2 および Glu-tubulin の染色性を以下(A)から(E)のように評価した。(A) 中膜および中膜に近い外膜に存在する CD31 陽性血管数、 (B) VASH1 陽性 /CD31 陽性血管数、(C) VASH2 陽性/CD31 陽性血管数、(D)外膜の血管密度と VASH1 および VASH2 の発現率、(E) 中膜平滑筋における Glu-tubulin の発現。

【結果と考察】VASH1 は PAD および対象症例ともに発現が弱いが、VASH2 および Glu-tubulin は血管内皮細胞および中膜平滑筋細胞に発現がみられた。特に中膜の外膜寄りの平滑筋細胞に両者が共発現する傾向があり、PAD における tubulin の脱チロシン化には VASH2 が関与している可能性が示唆された。現在下腿動脈も含めさらに検討中である。

課題番号：R02 基-054
研究課題： 低活動膀胱に関する発症機序解析 ―加齢に伴う慢性膀胱虚血に着目した病態解析研究―
研究代表者名（所属）： 藤井智浩（泌尿器科学）
共同研究者名： 永井 敦、大平 伸、平田啓太、森中啓文、中塚騰太
［背景と目的］加齢に伴い下部尿路症状(lower urinary tract symptoms: LUTS)の罹患率は増加し、本邦では 60 歳以上の約 78%が LUTS を有することが報告されている。加齢が LUTS の重要な危険因子であることは明確にされているが、膀胱組織内で起こる変化については明確にされていない。本研究では、器質性疾患に伴う膀胱機能障害に関連することが報告されている虚血性変化に着目して、加齢に伴う膀胱機能変化の病態解析を行った。［対象と方法］実験動物は、C57BL/6J マウス、雄性、20～100 週齢（20 週齢毎）を用い、加齢に伴う膀胱機能変化について解析を行った。［結果］形態組織学的解析では、加齢に伴い膀胱上皮の菲薄化および間質を中心とした線維化を認めた。間質を中心とした線維化は、加齢に伴い次第に筋層への拡大を認めた。膀胱内圧測定検査による膀胱機能解析では、加齢に伴い排尿筋過活動を合併した排尿筋低活動による膀胱機能障害を認めた。免疫組織生化学的解析では、加齢に伴い膀胱内における酸化ストレスの過剰産生を認めたが、器質性疾患に伴う膀胱機能障害に関連する虚血は加齢だけでは有意な変化は認められなかった。［結論］加齢に伴う膀胱機能障害には酸化ストレスが関連していると推測された。
虚血性変化は器質的疾患を合併しなければ認められないと推測され、器質性疾患の合併を反映する指標となる可能性がある。

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）
［背景と目的］慢性前立腺炎の病態には複数の要因が関連しており、泌尿器科領域における難治性疾患の 1 つとなっている。近年、自己免疫が慢性前立腺炎の病態に関連していると推測されており、病態を反映する動物モデルが自己免疫誘導慢性前立腺炎モデルであるとされている。また、必須アミノ酸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 Ido(indoleamine 2,3-dioxygenase)は、尿路生殖器臓器における炎症性変化に関連しており、Ido 阻害により慢性前立腺炎を抑制できる可能性があると仮説をたてた。本研究では自己免疫誘導慢性前立腺炎モデルマウスを作成し、Ido 阻害による炎症抑制作用を検証した。［対象と方法］Wistar ラット・雄性・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。C57BL/6 Ido ノックアウト($Ido^{-/-}$)マウス・雄性・10～15 週齢に前立腺抗原を皮下投与することで自己免疫誘導慢性前立腺炎モデルマウスを作成した。比較対象群として同条件 C57BL/6 野生型マウス($Ido^{+/+}$)マウスを用い、両群間における炎症性変化を比較解析した。［結果］組織学的解析では、$Ido^{-/-}$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の抑制を認めた。免疫組織生化学的手法による炎症性解析では、$Ido^{-/-}$マウスにおいて IL-1β・CCL2・CCL3・TIMP-1 の統計学的に有意な抑制を認めた。［結論］Ido 阻害により自己免疫誘導慢性前立腺炎における炎症抑制作用が示された。Ido 阻害は慢性前立腺炎の発症抑制に繋がる可能性がある。

課題番号：R02 基-076
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）：大久保　浩平（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下の神経型 NO 合成酵素(nNOS)活性が著明に亢進している（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を探る。すなわち、独自に発見した nNOS 活性化と、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から、筋萎縮に対する新たな治療法の確立を目指す。これまでに、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・繁殖に成功し、その骨格筋解析により、筋鞘膜 nNOS 活性と骨格筋量の相関について検証を進めている。また、カベオリン-3 欠損から nNOS 活性化に至る過程を解析し、骨格筋量制御機構の詳細について検証している。

課題番号：R02 基-043
研究課題：脳梗塞急性期において出血性梗塞発症と関連するバイオマーカーの検索
研究代表者名（所属）：八木田佳樹（脳卒中医学）
共同研究者名：大山直紀、岩本高典
脳梗塞急性期において最も有効性が高い治療法は再灌流療法であるが、出血性梗塞などの再灌流障害が問題点である。近年の血栓回収療法の発展により、再灌流障害の病態も大きく変化してきていると推定される。したがってこれまでとは異なった新たなバイオマーカーが病態と関連する可能性が考えられる。本研究では現在の再灌流療法において、出血性梗塞発症と関連するバイオマーカーを明らかにすることを目的としている。2016 年 6 月から 2020 年 2 月までに当科に入院し、主幹動脈の閉塞による脳梗塞と診断された患者を対象とした。文書で同意を得られた 96 例のうち、必要なデータをすべて得られた 91 例を解析対象とした。再灌流障害の標的となる血管内皮機能、バリア機能および血管基底膜分解に関連したバイオマーカーとして、細胞性フィブロネクチン、MMP-2,9、クローディン、S100B、エンドセリン１、APP770 の血清中可溶性分子濃度を測定した。このうち出血性梗塞と有意な関連を示したものはなかったが、APP770 は脳浮腫増悪と関連する傾向があった。再灌流を得た例のみで検討すると、APP770 は有意に脳浮腫増悪と関連した。
APP770 発現亢進が脳浮腫増悪の病態と関連している可能性が示唆された。現在、発症時の脳血管内皮障害と関連する患者背景との関連やバイオマーカーの追加測定を行い、再灌流療法の合併症としての脳浮腫増悪の病態解明とこれを抑制する新たな治療戦略につなげることを目的に研究をさらに進めている。

課題番号：R02 基-062
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(AngⅡ)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 AngⅡ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、AngⅡ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 AngⅡ(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、AngⅡ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、AngII 欠損による影響を同様に評価した。【結果】AngⅡ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】AngⅡ投与下では骨びらんは増強したが、AngⅡ受容体欠損では軽減しなかった。AngⅡ過剰による骨破壊増強はみられるが、生理的 AngⅡ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：R02 基-065

研究課題：骨細胞･炎症に着目した血管石灰化の病態解明
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、浅野　澄恵、金藤　秀明、小畑　淳史、赤木　貴彦
【目的】血管石灰化形成・進展における骨細胞様細胞および炎症性サイトカインの役割の解明を行い、骨細胞様細胞の機能調節による血管石灰化の進展抑制、更には石灰化の退縮を目指す治療法の探索を行なう。【方法】マウス血管石灰化モデルとして、摘出大動脈組織を高濃度リン存在下で培養し血管石灰化を誘導、マイクロ CT，von Kossa 染色、Alizarin red 染色にて石灰化を評価した。さらに、 培養液にサイトカイン(TNF、IL1β、IL-6+sIL6R、IL17a)、RANKL を添加し、石灰化進展の差異を検討した。また、血管石灰化部位に存在する骨細胞様細胞の表面マーカーを確認するため、DMP1、MEPE、Sclerostin、Osteocalsin、Phalloidin で組織染色を行った。【結果】高濃度リン(2.6mM Na2HPO4/NaH2PO4)存在下で 10 日間培養したところ、摘出大動脈組織の中膜を中心に、マイクロ CT、von Kossa 染色、Alizarin red 染色のいずれでも血管石灰化を確認できた。培養液に IL17a、IL1β、IL-6+sIL-6R を添加した群で、 石灰化進展の傾向を認めた。血管石灰化組織において MEPE、Sclerostin が染色された。【結論】血管石灰化はサイトカイン投与で進展する傾向を認め、血管石灰化組織には骨細胞および骨芽細表面マーカーを認めることから、骨細胞様細胞の存在が示唆された。

課題番号：R02 基-001
研究課題：網膜色素上皮細胞のメラニン生成促進による抗酸化作用
研究代表者名（所属）：鎌尾浩行（眼科学 1）
【目的】抗酸化能を有する RPE のメラニンに対する mTOR 阻害薬の影響を評価した。
【対象と方法】細胞は市販されている胎児 RPE、mTOR 阻害薬は Rapamycin を使用した。異なる 3 つの濃度の Rapamycin（0、10、100nM）を添加し胎児 RPE の培養を行い、Rapamycin 添加 1 日後の死細胞数と生細胞数を発光試験で測定した。次に 100nM Rapamycin 添加 2 週、4 週後の色素量を透過率試験、添加 1 日、3 日、4 週後のメラニン形成特有遺伝子（MITF、TYR、TYRP1）の発現量を定量 PCR、添加 4 週後に過酸化水素を添加し細胞死への影響を Annexin V/PI で評価した。
【結果】Rapamycin 添加 1 日後の死細胞率は、添加なしが 0%、10nM が 2.2%、100nM が 0.9%と 3 群に有意差を認めなかった。Rapamycin 添加 1 日後の細胞数は、添加なしと比較し 10nM は 68%、100nM は 64%と有意に細胞増殖能が低下した。RPE の透過率は添加なしと比較し、添加前は 100%、2 週後は 96%、4 週後は 93%と有意にメラニン量が促進した。メラニン形成特有遺伝子の発現量は、MITF が添加 3 日後は 1.9 倍、TYR が添加 1 日後は 2.0 倍、3 日後は 2.9 倍、4 週後は 1.4 倍、TYRP1 が添加 1 日後は 1.9 倍、3 日後は 1.5 倍と有意に上昇した。Annexin V 陽性細胞は過酸化水素添加により、Rapamycin 添加なしが 18.8%から 21.9%、Rapamycin 添加ありが 22.0%から 38.9%と抗酸化能が有意に低下した。
【結論】Rapamycin は RPE のメラニン形成特有遺伝子の発現を促進させ、メラニン量を増加させたが、抗酸化能は促進させなかった。

課題番号：R02 基-090
研究課題：睡眠呼吸障害に関連する嗅覚障害の研究
研究代表者名（所属）：濵本　真一（耳鼻咽喉・頭頸部外科学）
共同研究者名：原　浩貴・雜賀　太郎・三宅　宏徳・田中　麻里子
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，加齢などさまざま原因で生じる．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，対象症例は口頭でアンケートに同意を得た 15 歳以上の 59 例（男性 40 例、女性 19 例、平均年齢 52.4 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：R02 基-072
研究課題：活性酸素産生細胞膜タンパク質 gp91^{phox}の構造を抗体を利用して解析する。
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。また、本申請課題の追求の過程で、生化学教室では様々は知見を発表してきた（Miyano K, Okamoto S, et. al., ***J Biol Chem.*** 295, 11877. 2020, Okamoto S, Miyano K, et. al., ***Biosci Biotechnol Biochem.*** 84, 2319. 2020）。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（O_2^-）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：R02 基-020
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）

これまでのプロジェクト研究において，線維症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抗がん剤ブレオマイシン反復投与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。
2020 年度のプロジェクト研究では、

1. 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， LPP3 および p16 の発現の変化を検討した。肺線維症モデルマウスから単離した肺胞上皮細胞において LPP3 の遺伝子発現が低下していた。また、肺線維症モデルマウスから単離したマクロファージ、肺胞上皮細胞や血管内皮細胞において p16 の発現が増加し、細胞老化を起こしていると考えられた。
2. LPP3 を細胞特異的に過剰発現するように遺伝子操作した LPP3 コンディショナルノックインマウス（2020 年度文部科学省新学術領域先端モデル動物支援プラットフォーム・モデル動物作製支援）の作製に必要なドナーベクターを構築し、がん研究会がん研究所細胞生物部に送り、現在 LPP3 コンディショナルノックインマウスの作製中である。

課題番号：R02 基-017
研究課題：食欲と脂質代謝を制御する機能性脂質分子の生合成・分解機構の解明

研究代表者名（所属）：坪井 一人（薬理学）
共同研究者名：北風 圭介
N-アシルエタノールアミン(NAE)は食欲や脂質代謝を制御する脂質分子であり、生活習慣病の主要な原因である肥満を抑制する生理作用を持つ。一方、その小腸における代謝機構には不明な点が多い。本研究では、NAE の分解反応に焦点を当てた。この分解反応を担う酵素としては、中性～アルカリ性で作用する脂肪酸アミド加水分解酵素と、酸性で作用するリソソーム酵素である NAE 酸性アミダーゼが知られていた。今回、NAE 酸性アミダーゼとは別のリソソーム酵素であり、セラミドを分解する酵素と考えられてきた酸性セラミダーゼが NAE の分解に関与するとの作業仮説を設定した。まず、ヒト組換え酸性セラミダーゼの精製標品と放射標識 NAE を反応させたところ、セラミドと比較して高い加水分解活性を認めた。次に、胎児腎臓 HEK293 細胞を放射標識エタノールアミンで代謝標識し、酸性セラミダーゼを一過性に発現させたところ、細胞内の放射標識 NAE は減少した。質量分析の結果、種々の NAE 分子種の減少が判明した。さらに、内在性に酸性セラミダーゼを高発現する前立腺 LNCaP 細胞を用いて、siRNA 法により本酵素の発現を抑制したところ、細胞内 NAE レベルが上昇した。以上の結果から、酸性セラミダーゼが NAE の加水分解に関わることが示唆され、今後、小腸における本分解反応に酸性セラミダーゼが関与する可能性を考慮する必要があると考えられた。

課題番号：R02 基-018
研究課題:虚血後再灌流腎間質線維化モデルマウスにおける脂質メディエーターリゾホスファチジン酸(LPA)の役割に関する研究
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
【背景・目的】腎線維化は急性腎障害の瘢痕形成や慢性腎臓病の進行に大きく関与しており、腎線維化の進行を阻止することは非常に重要な研究課題となっている。一方、脂質メディエーターであるリゾホスファチジン酸（LPA）は、近年その代謝酵素や受容体の解析から多種多様な生理的、病理的機能を有し、様々な臓器の線維化に関与することが明らかとなってきている。本研究では、腎虚血後再灌流(IR)マウスを用い、LPA 受容体阻害薬の効果について検討した。
【結果および考察】IR 処置後 14 日経過したマウスの腎臓は無処置群に比べ組織学的解析による腎間質線維化の進展が認められ、線維化マーカーであるα-smooth muscle actin(α-SMA)、β-catenin、collagen type Ⅰ α 1の遺伝子発現の増加が認められた。LPA 受容体の遺伝子発現変化を検討したところ、sham 群の腎臓に比べ 1 型 LPA 受容体(LPA1)遺伝子発現は虚血後再灌流処置後 3 日後、7 日後および 14 日後で増加が認められた。そこで、IR マウスモデルに対する LPA1 受容体阻害薬を IR 処置前日から 14 日後まで腹腔内投与を行った。その結果、対照群の左腎に比べ、腎臓重量、組織学的解析による腎間質線維化、α-SMA およびβ-catenin タンパク発現には変化が認められず、LPA1 阻害剤の効果は認められなかった。LPA による腎臓への作用は急性期・慢性期などの障害時期により異なることも報告されているため、今後は投与時期などを含め検討していく予定である。

課題番号：R02 ス-002
研究課題：環状リン脂質メディエーターの生合成酵素の同定と機能解析
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
リゾホスファチジン酸（LPA)はがん悪性化や動脈硬化等の病態を誘因する脂質メディエーターである。環状ホスファチジン酸（cPA)は LPA と類似した構造でありながら、がん細胞の浸潤・転移の抑制や血管内膜肥厚の抑制等の LPA とは異なる生理活性を示す。cPA の生合成経路としては、血清中のオートタキシンが報告されている。一方、細胞内においてはリゾホスホリパーゼ D 型酵素によって cPA が生成すると推測されているが、責任酵素の同定には至っていない。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、LPA を生合成するリゾホスホリパーゼ D 型酵素であり、cPA 生合成活性を持

つ可能性が考えられた。そこで、本研究では GDE7 の cPA 生合成活性の評価を行った。まず、ヒト GDE7 を HEK293T 細胞株に過剰発現させた。放射性同位体ラベルした基質を酵素的に調製し、GDE7 の cPA および LPA 生合成活性を薄層クロマトグラフィーで評価した。その結果、GDE7 が cPA 生合成活性を持つことが明らかとなった。また、GDE7 を内在性に高発現する MCF-7 細胞株に対し、CRISPR-Cas9 系による GDE7 のノックアウト(KO)を行った。GDE7 KO 株では cPA の下流因子である FABP4 や MMP1 の mRNA 発現が低下していた。以上より、GDE7 の cPA 生合成への寄与が示唆される。

課題番号：R02 基-080
研究課題：腸管運動制御に関わる BST-1 の腸管発生における局在解析
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　將典・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、腸管-神経-免疫の制御分子である。BST-1 を欠損させたマウス *Bst1*KO(KO)の大腸組織片はアセチルコリン刺激による収縮反応が低下している。しかし HE 染色では筋層に明らかな異常が認められないことから、KO の大腸における神経系の異常を形態学的に探索した。成獣大腸の免疫染色により腸管神経系細胞として神経幹細胞(Nestin^{+})と成熟神経細胞(NeuN^{+})の局在を共焦点顕微鏡にて観察した結果、野生型(WT)では検出されない神経幹細胞が KO では少数ながら散在して検出された(2018-19 年度プロジェクト研究)。KO では腸管神経叢発生が遅れる可能性が示唆されたため、授乳期(7,14 日目)、離乳期(21 日目)の大腸の新鮮凍結切片組織を用いて、Nestin、NeuN に対する抗体を用いて神経叢形成過程の免疫染色を行った。その結果、生後 14 日目の KO と WT で大腸神経叢の形態に差はなく、いずれも Nestin^{+}細胞を認め、BST-1 は WT の Nestin^{+}細胞内に認められた。生後 21 日目では KO でより多くの Nestin^{+}細胞が維持されていた。これらの結果から、BST-1 の欠損により離乳期の腸管神経叢における Nestin^{+}神経幹細胞の分化が抑制されると考えられた。

課題番号：R02 基-067
研究課題：細胞膜脂質の水酸化が制御する膀胱機能
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、渡邉　昂、大平 伸、永井　敦
　スフィンゴ糖脂質は、細胞膜の外層に存在する膜脂質の一種で、疎水性部分にセラミド骨格を持つ。セラミド骨格には、組織ごと構造多様性があり、小腸、腎臓などの上皮組織には、水酸基が 1 つ多い「フィトセラミド構造」が特徴的かつ豊富に存在する。我々は、上皮細胞におけるフィトセラミド構造の生物機能の解明を目指して、フィトセラミド欠損マウス：Dihydro-　ceramide: sphinganine C4-hydroxylase（DES2）ノックアウトマウス（*Des2*-KO）を作製し、*Des2*-KO では、小腸病変によると推定される栄養失調と、腎病変によると推定される水腎症に加えて、膀胱移行上皮細胞の形態異常による排尿障害が起こることを見いだした。
本研究では、フィトセラミド構造が制御する膀胱機能の分子メカニズムを明らかにする目的で、野生型と *Des2*-KO マウスの膀胱組織から抽出したスフィンゴ糖脂質の構造を、高速液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS）を用いて解析した。また、哺乳動物に共通した構造多様性であることを確認する目的で、膀胱全摘出術を行った膀胱がん患者の正常膀胱組織部分を用いて、ヒト膀胱組織におけるスフィンゴ糖脂質構造を決定した。その結果、マウス膀胱、ヒト膀胱ともにセラミド骨格のスフィンゴシン塩基の炭化水素の鎖長が 20 と長く、C4 位に水酸基を有するフィトセラミド構造が豊富に存在することが明らかになった。伸縮を繰り返す特殊な上皮細胞からなる膀胱組織において、種を越えてフィトセラミド構造が豊富に存在しているという事実は、フィトセラミド欠損マウスの膀胱移行上皮細胞に形態異常を認めるという事実とあわせて、フィトセラミド構造という膜脂質の構造多様性が、膀胱移行上皮細胞の伸縮機能において重要な役割を担っている事を強く示唆する。

課題番号：R02 基-006
研究課題：ムコ多糖症で蓄積するムコ多糖の性質および代謝に関する基礎的研究
研究代表者名（所属）：大友　孝信（分子遺伝医学）
共同研究者名：森脇　隆仁

ムコ多糖症などのライソゾーム病で細胞内外に蓄積する「ムコ多糖」は糖タンパク質であり、中央部のコアタンパク質部分に複数の糖鎖が結合した構造をとっている。糖鎖は抗体により検出することが難しいため、我々はムコ多糖のコアタンパク質部分にペプチドタグを付加し、ウェスタンブロットや蛍光免疫染色にて糖鎖の状態を含めてムコ多糖を検出することを着想した。

我々はムコ多糖コアタンパク質のうち、局在や分子量などを考慮して 3 種類（それぞれ *SDC1*、*DCN*、*BGN* 遺伝子）を選択し、C 端に FLAG タグを付加した一過性発現ベクターを作成した。これらを用いて培養細胞に強制発現しウェスタンブロットで検出した。

FLAG タグに対する抗体ではそれぞれバンドが検出可能であった。糖鎖修飾によると考えられるバンドシフトを検出できたのは SDC1 のみであったが、糖鎖分解処理には抵抗性であった。DCN に関しては、抗 DCN 抗体では糖鎖修飾されたタンパク質の検出が示唆されたものの、タグ抗体ではバンドシフトの検出は出来なかった。

今回ムコ多糖のコアタンパク質の糖鎖付加状態を評価することを試みたが、残念ながらタグ抗体で適切に検出出来る条件を見出すことはできなかった。今後、外因性に発現させたムコ多糖コアタンパク質が内因性に糖鎖修飾を受けるために、ウイルスベクターで定常発現させ蓄積させるなどの実験系を検討する必要があると考えられた。

課題番号：R02 ス-001
研究課題：ライソゾーム病におけるオートファジー障害の解明
研究代表者名（所属）：森脇　隆仁（分子遺伝医学）
共同研究者名：大友　孝信

ライソゾーム病はライソゾーム内の酸性分解酵素の遺伝的欠損により、ライソゾーム内に大量の脂質やムコ多糖などが蓄積し、肝臓・脾臓の腫大、骨変形、中枢神経障害など、様々な症状を呈する疾患群である。一部のライソゾーム病関連遺伝子の欠損は HeLa 細胞でオートファジーの障害を引き起こすことは、これまでの申請者らの研究で見出されていた。本プロジェクトにおいて、申請者らは、種々の培養条件におけるライソゾーム病関連遺伝子欠損細胞のオートファジーフラックスを解析することで、これらライソゾーム病関連遺伝子欠損細胞株のオートファジー障害のメカニズムの解明を試みた。その結果、培地に含まれるとある物質（以下物質 X）が、オートファジーフラックスの停止に関わっていることが明らかとなった。物質 X の影響に対する感受性は欠損するライソゾーム病関連遺伝子により異なった。物質 X の影響は、一般的なオートファジーのアップレギュレーターである TORIN やメトホルミンなどの薬剤では緩和することはできなかった。また、物質 X による阻害ではオートファゴソームとライソゾームの融合は阻害されず、その後の分解のステップに異常をきたしていることが示唆された。その一方で、物質 X によるオートファジー障害が起きるメカニズムの詳細についてはまだ不明な点が多く、今後の課題である。

課題番号：R02 基-096
研究課題：膜性腎症の糸球体上皮細胞（ポドサイト）障害像の解析（細胞内小器官の形態像と基底膜との関連の視点から）
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

【目的】ポドサイトから内皮細胞へのシグナル伝達の障害による糸球体病変が報告されている。特発性膜性腎症は，ポドサイトの内在抗原に対する自己免疫疾患で，スリット膜構造が破綻し高度な蛋白尿を

認める。膜性腎症のポドサイトを中心に内皮細胞と基底膜をあわせて超微形態像から観察し，ポドサイトを中心とする微小環境と糸球体障害の形成過程の検討を目的とした。【方法】2010-18 年の特発性膜性腎症（Churg Stage 1-4 期）の腎生検例を対象に，ポドサイトは 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（一次突起消失と足突起の癒合）や細胞骨格線維（アクチン線維凝集），内皮細胞は，1.有窓構造，2.内皮下浮腫，3.細胞形態（腫脹，網状化），基底膜病変に着目し観察した。(川崎医科大学倫理員会　承認番号 3625)。【結果】ポドサイトの剥離や一次突起の消失した係締では内皮細胞は網状化・腫大し，有窓構造消失と内皮下腔の拡大を認めた。ポドサイト足突起・細胞質が保持されても新生により肥厚した基底膜部でも，内皮細胞の有窓構造は消失し腫脹していた。【結語】膜性腎症の超微形態像の観察から，ポドサイトと内皮細胞の基底膜を介した糸球体障害の形成過程での関連を認めた。今後，メサンギウム細胞との関連も検討を追加し，ポドサイト傷害の形成過程を周辺の環境との連関との視点から検討する。

課題番号：R02 基-097
研究課題：糸球体内皮細胞-上皮細胞連関機序における sGC 活性化の意義の検討
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：角谷裕之・柏原直樹・近藤恵・梅野怜奈
申請者らは慢性腎臓病が心血管イベントのリスク因子であるという知見より糸球体内皮機能障害と糖尿病性腎症進展の関連について検討を続けてきた(JASN. 2013)（Lab In. 2016）。多くの基礎研究から糸球体上皮細胞障害が糸球体硬化病変への進展機序として重要であることが知られている。以上より「糸球体内皮細胞における eNOS-NO 経路は糸球体上皮細胞における sGC 活性化を介し、生体維持に働く」との作業仮説が想起される。
方法・結果
使用動物は WT(C57BL/6)及び eNOS 欠損マウス（eNOSKO）を用いた。両マウスにストレプトゾトシン（STZ）を投与し、糖尿病を作成した。WT-Con, WT-STZ, eNOSKO-Con, eNOSKO-STZ の 4 群の比較検討を行った。糖尿病発症後、WT-STZ で軽度のアルブミン尿増加を認めたが eNOSKO-STZ ではさらに著明に増加していた。以上のことから、eNOSKO-STZ では糸球体過剰ろ過が早期から起こることがわかった。また、PAS 染色で糸球体病変の観察を行ったところ WT-STZ では糸球体肥大が軽度認めれるが硬化糸球体は認めない。eNOS-STZ は 4 週の時点で硬化糸球体が散見された。またミトコンドリアの形態異常が認められ、内皮機能(eNOS-NO 経路)が糸球体上皮細胞のミトコンドリア biogenesis に重要な役割を担っていることが示された。
以上の結果から eNOS-NO 経路の破綻は糖尿病状態おける糸球体上皮細胞障害を促進させることがわかった。またその機序として NO によるミトコンドリア保護効果を介した可能性が示された。現在、ポドサイト特定的 sGC 欠損マウスを作成中である。本マウスを用いて更なる詳細の検討を進めている。

課題番号：R02 基-094
研究課題：糸球体内皮 Glycocalyx の Hyaluronan と CD44 陽性 Leukocyte の糖尿病性腎症進展における病態機序の解明
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：角谷裕之、柏原直樹
【背景】糖尿病性腎臓病（DKD）は CKD の主要な要因である。私共は、これまでに糖尿病、高血圧、加齢などに共通して随伴する内皮障害が糸球体障害の発症・進展に関与することを明らかにし、特に腎糸球体内皮細胞表層に存在する Glycocalyx がアルブミン尿の出現に深く関与していた。そのため、糸球体内皮細胞保護、特に Glycocalyx の保護は DKD 進展を抑制できる可能性が示唆される。Glycocalyx の構成因子であるヒアルロン酸は、白血球の表面マーカーである CD44 のリガンドであり、ヒアルロン酸-CD44 の相互作用は、炎症部位の内皮細胞へのリンパ球の一次接着に関与する。DKD においては、「糸球体内皮 Glycocalyx の恒常性の破綻により、ヒアルロン酸が蓄積し、CD44 陽性 leukocyte の糸球体内皮へのホーミングが増加し局所に炎症を惹起し腎症が進展する」との仮説を立てて検討した。
【方法】野生型マウス（WT)、内皮障害モデルマウスとして eNOS 欠損マウス（eNOSKO）使用した。2 型

糖尿病モデルマウスである db/db マウスと eNOSKO マウスを交配し eNOSKO-db/db マウスを使用した。これらのマウスの循環血中の CD44 陽性 leukocyte 数を FACS で解析した。また、腎糸球体内における CD44 陽性 leukocyte のホーミング数を in vivo imaging 法で評価した。
【結果】eNOSKO-db/db マウスの循環血中の CD44 陽性 leukocyte 数は、WT マウス、db/db マウスと比較して週齢を経るに従って増加した。また、同マウスの糸球体内における CD44 陽性 leukocyte のホーミング数も増加していた。
【結語】DKD の糸球体障害に CD44 陽性 leukocyte による炎症惹起が関与している可能性がある。現在、さらに検討を続けている。

課題番号：R02 基-098
研究課題：Keap1/Nrf2 活性による糸球体濾過率（GFR）制御機構の解明
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、角谷　裕之、柏原　直樹
背景：Keap1/Nrf2 経路は、抗酸化遺伝子発現の中心的な制御機構である。Nrf2 活性化薬は、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。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 or 50mg/kg/day)を 1 週間投薬し、3 手法にて GFR を評価した。*In vivo* imaging にて糸球体輸入/輸出細動脈径(AA/EA)、糸球体透過性を評価した。培養ポドサイトを用い、angiotensin II 刺激による細胞内カルシウム濃度変化、および RTA による影響を評価した。
結果：dh404 投与群、Keap1-KD では GFR の有意な上昇を認めた。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。各群の糸球体透過性に相違はなかった。dh404 は angiotensin II による培養細胞内への Ca 流入を抑制した。
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 制御に重要な役割を果たしている可能性がある。

課題番号：R02 基-099
研究課題：加齢腎進展における内皮機能障害と Inflammaging の連関機序の解明
研究代表者名（所属）：山内　佑（腎臓・高血圧内科学）
共同研究者名：長洲　一・角谷裕之・柏原直樹・和田佳久
背景：本邦において透析導入年齢は高齢化しており、この背景には加齢関連腎硬化症(加齢腎)の関与がある。また加齢による臓器障害には慢性炎症(Inflammaging)が重要であり注目されている。「内皮機能障害が Inflammasome 活性化を助長し、加齢関連腎障害を促進させる」と仮説を立て検証した。特に eNOS-NO 経路に着目するため、eNOS 欠損マウス(eNOSKO)を用いた。
方法・結果：骨髄由来マクロファージ(BMDM)を使用した。WT(C57BL/6)由来の BMDM に NLRP3-Inflammasome 活性化(LPS-ATP)刺激を行い、培養上清の IL-1β分泌で Inflammasome 活性化を検討した。LPS-ATP 刺激で IL-1β分泌を認め、Nitric oxide(NO)ドナーである S-Nitroso glutathione(GSNO)により抑制された。また GSNO により Inflammasome 関連遺伝子の発現が低下しており、発現制御機構を検討するため、ATAC-seq 解析を行った。WT の BMDM を用いて control 群、LPS 群と LPS＋GSNO 群の 3 群比較を行った。LPS 群と比較して LPS+GSNO 群では転写因子 CCAAT/ enhancer binding protein(C/EBP)βの結合領域が closed になっていた。C/EBP は NLRP3 Inflammasome に関連するとともに、加齢腎で活性化する。以上より NO が C/EBPβの結合領域に作用し、Inflammasome 関連遺伝子の発現制御を行うことが示された。in vivo で Inflammasome 活性化の意義を検討するために、ASC の欠損マウス(ASCKO)を用いた。ASC は Inflammasome 活性化に必須な分子であり、欠損により Inflammasome が活性化されない。ASCKO と eNOSKO を交配させ、二重欠損マウス(eNOS-ASC-DKO)を作出し、比較検討した。15ヶ月齢 (15M)時点では、WT-15M は明らかな組織障害を認めないが、eNOSKO-15M では糸球体病変の進行を認めた。これらの変

化も eNOS-ASC-DKO-15M で軽減された。
結語：eNOS-NO 経路は加齢腎において Inflammaging の制御を介し、腎障害の進展を抑制した。

課題番号：R02 基-016
研究課題：2 型糖尿病治療において患者の継続力の評価は治療に有用か：初診患者の前向き観察研究
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
背景：2 型糖尿病は現時点では完治が見込めない疾患であるため、治療は生涯継続して取り組まなければならず、日常生活ならびに経済的にも大きな負担になり得る。そのため、患者が継続して治療に取り組む力は 2 型糖尿病治療に重要である。近年、物事を“継続する力”を評価する目的で開発されたグリットスコア（Grit-S）は、近年臨床現場に応用した報告が散見されるが、2 型糖尿病に関する研究はほとんどない。
目的：2 型糖尿病患者に対し Grit-S を評価し、通院中の疾病管理状態との関連を検討する。
対象および方法：当科外来を 2 型糖尿病で初診し Grit-S を回答し、その後の 1 年間の外来情報を得られた 122 名を対象とした。1 年間の観察期間中の受診および管理状況を評価した。
結果：観察期間中の連絡のない受診中断者は 21 名であった。初診時の Grit-S が低い患者は受診中断が有意に多い傾向を認めたが、101 名の継続通院者の 1 年後の HbA1c との関連は認めなかった。
考察：2 型糖尿病患者において、Grit-S で評価した「継続力」は受診中断という深刻な状況の予測に有用である可能性があり、臨床現場への応用が期待される一方で、治療を継続できれば治療効果との関連は強くないため、医療者の患者に対する粘り強い療養指導が疾病管理に重要であることを示唆した。
結語：2 型糖尿病患者の「継続力」の評価は受診中断予測に有用である可能性がある。

課題番号：R02 基-050
研究課題：薬物治療による膵 β 細胞保護効果の 2 型糖尿病病態進展度 による相違の検討
研究代表者名（所属）：下田　将司（糖尿病・代謝・内分泌内科学）
共同研究者名：磯辺　隼人, 益子　晃子, 真田　淳平, 伏見　佳朗, 片倉　幸乃, 小畑　淳史, 小原　健司, 辰巳　文則, 中西　修平, 宗　友厚, 金藤　秀明
【背景・目的】インスリン治療による高血糖の改善（糖毒性の改善）はβ細胞保護効果があり、2 型糖尿病症例においても血糖管理不良の場合はインスリン治療を行う。一方で、インスリン治療で得られるβ細胞保護効果の程度が、介入時点でのβ細胞機能により差異があるかは不明であり、その差異を検討する。【方法】未治療で HbA1c 9.0%以上、もしくは糖尿病治療薬使用中にも関わらず HbA1c 8.0%以上のインスリン導入が必要な 2 型糖尿病患者のうち、当院へ入院した 34 症例を対象とした。入院時の空腹時 CPR index(CPI) 1.0 を基準にインスリン分泌能維持群と低下群の 2 群に群別した。インスリン導入による血糖管理を行い、退院時のインスリン分泌能の回復の程度を 2 群間で比較し、その後の経過の違いを追跡検討した。【結果】維持群と低下群の介入前背景において、年齢、糖尿病罹病期間、前治療薬使用状況に差はなかったが、BMI(29.7, 24.3)、HbA1c(9.8%, 11.3%)、CPI(1.8, 0.6)、尿 CPR(124.0μg/日, 63.1μg/日)に差を認めた。インスリン導入後の血糖管理状況に群間差はなく、β細胞ストレス指標である Proinsulin/CPR 比は維持群(-3.5pmol/l)と低下群(-4.8 pmol/l)ともに低下し群間差はなかった。一方で、退院時の食事負荷試験 $CPR_{120-0}/Glucose_{120-0}$ は、入院時のそれと比較し維持群(+0.04)で低下群(+0.01)より改善していた。インスリン離脱所要期間は維持群(5.4 週)で低下群(11.8 週)より短かった。【まとめ】インスリン治療によりβ細胞ストレスは両群ともに同等に改善したが、維持群でインスリン分泌反応の回復は早く、インスリン離脱所要期間も短かった。
【結語】介入時点β細胞機能によりインスリン治療によるβ細胞保護効果は異なる。

課題番号：R02 基-041

研究課題：インスリン遺伝子転写因子 PDX-1 が膵β細胞の SNARE protein 発現およびインスリン分泌に与える影響
研究代表者名（所属）：木村友彦（糖尿病・代謝・内分泌内科学）
共同研究者名：下田　将司・小畑　淳史・真田　淳平・伏見　佳朗
【背景・目的】PDX-1 はβ細胞においてインスリンシグナルの下流に位置しており、インスリン、IGF-1 シグナルと共に、インスリン分泌能の増強に深く関与している。PDX-1 が SNARE protein 発現に与える影響について検討し、インスリン分泌における PDX-1 のさらなる役割を解明する。
【方法】マウスβ細胞株である MIN6 細胞において PDX-1 ノックダウンおよびインスリン分泌に関与する MafA ノックダウンにより SNARE protein の発現レベルを検討した。
【結果】siPDX-1 により MIN6 の PDX1mRNA 発現は約 85％低下した。また、同様に siMafA により MafA 発現は 80％低下し、その併用により PDX1、MafA 発現はそれぞれ約 80-90%と有意に低下した。一方で、SNARE protein である SNAP25、STX1A、VAMP2、RAB27A、GJD2 の mRNA 発現はいずれも有意な変化がみられなかった。ウエスタンブロット法による評価においても、siPDX-1,siMafA の SNAER protein への有意な影響は見られなかった。しかし（やはりインスリン分泌に関連する）脂肪酸受容体 GPR40 の膵島における発現が糖尿病状態では低下すること、さらにそのメカニズムには PDX-1 発現低下が関連することを見い出している。
【考察・今後の展望】近年 GPR family に属する GPR43 がインスリン分泌、また腸管でのインクレチン分泌に関与していることが報告されている。我々は、糖尿病モデル *db/db* マウスの腸管では正常血糖コントロールマウスの腸管に比べ、GPR43 の発現が有意に低下していることを確認しており、糖脂肪毒性下における膵島での GPR43 の発現とインクレチン分泌、インスリン分泌の関連について検討していく。

課題番号：R02 基-027
研究課題：血管内皮 PDK1 の全身の糖代謝に及ぼす影響とその発現制御の解明
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、木村　友彦、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。従来 PDK1 の発現は「恒常的である」と言われていたが、本研究により、大変興味深いことに 2 型糖尿病モデルマウスである db/db マウスと正常耐糖能である db/m マウスの大動脈血管内皮初代培養細胞において、PDK1 は、蛋白量及びその機能を活性化する p-PDK1 がともに db/db マウスにおいて低下している一方で、1 型糖尿病モデルマウスであるストレプトゾトシン投与高血糖マウスの大動脈血管内皮初代培養細胞において、PDK1 の発現は増加しているという結果を得た。このことは、血管内皮 PDK1 が全身の糖代謝に深く関わり、尚且つ、全身の糖代謝状態も血管内皮 PDK1 に多大な影響を与えることを示唆する。さらにはヒトにおいて、予定手術あるいは緊急手術で得られた大動脈から採取した血管内皮において、PDK1 の mRNA 発現は肥満者である程発現が有意に低下していた。このように「恒常的に発現」しているとされていた PDK1 が血管内皮において病態により発現パターンが逆転し、ヒトにおいても肥満に相関して発現が低下しているという事実が明らかとなった。

課題番号：R02 基-066
研究課題：乾癬性関節炎および乾癬モデルマウスを用いた病態解析と治療候補薬剤の治療効果の検討
研究代表者名（所属）：長洲 晶子（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
背景・目的：乾癬は炎症性皮膚角化症の 1 つで、表皮角化細胞の過剰な炎症・増殖をきたす。乾癬にはメタボリック症候群の合併率が高いことが知られているが、肥満、高脂血症がどのように乾癬の病態に関与するかは明らかでない。今回、肥満マウス、高脂血症マウスに、それぞれ乾癬を誘導し、肥満、高脂血症、また 2 つの病態が重なることが、乾癬にどのように影響するかを解析した。

方法：肥満モデルとして高脂血症負荷、また高脂血症モデルとして ApoE(アポリポタンパク E)欠損マウスを用いた。乾癬病変乾癬モデルとして、TLR7 リガンドであるイミキモド（IMQ）を耳に塗布して乾癬を誘導した。
結果：肥満および高脂血症単独では有意な皮膚病変の悪化は認めなかったが、2 つのリスクが重なることで有意に皮膚病変が悪化した。皮膚組織での炎症性サイトカイン発現亢進を認めた。興味深いことに、IMQ を塗布していないマウスにおいて、高脂肪食負荷が皮膚組織での CCL20 遺伝子発現を、また高脂血症により皮膚で IL-19 遺伝子発現が増強していた。
結語：肥満、高脂血症というリスクが重複することで乾癬病変が有意に悪化した。その機序として、肥満や高脂血症自体が、前乾癬病態といえる炎症病態をそれぞれ別の機序で形成していることが示された。これらの知見は、乾癬に合併する病態毎に炎症惹起機序が異なる可能性を示唆しており、病態に応じた治療戦略の必要性を示している。

課題番号：R02 基-079
研究課題：鉄代謝蛋白、ミトコンドリアフェリチンの機能解析と細胞恒常性への関与
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
ミトコンドリア品質管理はミトコンドリア特異的オートファジー（マイトファジー）により行われるが、マイトファジーは加齢やがん、神経変性疾患などで障害される。したがってマイトファジーの誘導はがんなどの治療手段として期待される。細胞内鉄欠乏はマイトファジーを誘導するがその機序は明らかにされていない。そこで本研究では鉄キレート剤を用いて鉄欠乏によるマイトファジー誘導の分子機構を明らかにするとともに、肝発癌を抑制しうるか否かを検討した。鉄キレート剤 Deferiprone（DFP）は、HIF1α-SP1 経路を介してミトコンドリアフェリチン（FTMT）の転写を亢進した。FTMT はミトコンドリア移行配列を有するため障害ミトコンドリアではマトリックスまで移行できずミトコンドリア外膜に係留し、選択的オートファジー受容体である nuclear receptor coactivator 4（NCOA4)と結合してマイトファジーを誘導した。FTMT と NCOA4 の結合部位についても同定した。一方、2 種類の肝発癌マウスモデルに DFP を投与すると肝発癌（腫瘍数と最大腫瘍径）が有意に抑制された。さらに興味深いことに、DFP を投与してもマウスの FTMT を KO すると肝発癌抑制がキャンセルされた。以上より、肝発癌抑制には単なる鉄欠乏ではなく、マイトファジーの誘導が不可欠であることが明らかとなった。

課題番号：R02 基-004
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
背景：IBS の腸内細菌叢に関する最近の review では、健常者との相違が報告されているが、糞便細菌叢の検討がほとんどで、IBS-C と IBS-D 間で比較している研究は少なく、一定の見解が得られていない。
目的：回腸および大腸の粘膜細菌叢を IBS 群と健常対照群で解析し、さらに便秘型および下痢型のサブタイプ別に比較検討した。方法：大腸内視鏡検査の際に、ポリエチレングリコールを用いた前処置後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。各サンプルから DNA を回収し、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：IBS 患者において健常者と比較して細菌多様性は低下し、酪酸産生菌が IBS で有意に少く、IBS-C と IBS-D 間で細菌構成比および機能解析に差を認め、IBS-C 群では、酪酸産生菌の中でも *Butyricicoccus* 属が S 状結腸で、IBS-D 群では *Ruminococcus 属および Oscillospira* 属が回腸末端で減少を認めた。

課題番号：R02 基-024
研究課題：画像強調処理 LCI(Linked Color Imaging）を用いた除菌後胃粘膜発赤の組織学的な鑑別に関する有用性の検討
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・福嶋真弥・半田有紀子
H.pylori 除菌後に出現する地図状の発赤胃粘膜は、除菌治療に伴う胃内環境の変化や胃粘膜の修復によって顕在化する腸上皮化生粘膜であることが多いが、胃癌との鑑別が大変困難であり、除菌後胃癌のリスク因子であることも報告されている。この除菌後に発生する発赤胃粘膜の腸上皮化生に関する組織学的検討および内視鏡による色値の特性を検討した。その両者の関連性を解明することにより、早期の胃癌診断および癌発生リスクを予測することが可能になる。予防医学の観点からも、内視鏡観察による胃発がんのリスクを層別化することは極めて重要なことと考える。そこで、*H. pylori* 除菌治療後の胃粘膜に発生する領域性を有する発赤に対して以下の項目を検討した。
①消化管内視鏡健検査の通常白色光(WLI)および特殊光(LCI)で観察される色値、周囲粘膜との色差
②発赤粘膜の生検材料より、組織構造［組織炎症度(updated Sydney system）、腸上皮化生の種類、免疫組織化学染色］の検討
③内視鏡で得られる色値と組織構造の関連性
その結果、腸上皮化生の色値において、胃癌の既往のある患者とない患者、胃腸混合型腸上皮化生と腸型腸上皮化生において有意な差を認めた。　一般的に、胃腸混合型腸上皮化生は腸型腸上皮化生と比較して胃発がんのリスクが高く、この結果は胃がん高リスクを予測するマーカーに成りうる可能性が示唆された。

課題番号：R02 基-005
研究課題：腸内細菌叢異常を起点としたクローン病の腸管狭窄リスク因子の探索
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、福嶋 真弥・半田 有紀子
【背景】どのような因子がクローン病(CD)症例の腸内細菌叢に影響を与えるかを調べた検討は少ない。今回我々は、CD 患者の回腸粘膜関連細菌叢と患者背景因子について横断的に検討した。
【目的】CD 患者の粘膜関連腸内細菌叢を変化させる因子について検討する。
【患者・方法】対象は、2018 年 5 月から 2020 年 4 月までに当院を受診し、内視鏡下でブラシによる腸管粘液採取および腸内細菌叢解析に同意した CD 患者。内視鏡下にブラシで採取した回腸粘液のシーケンス解析を実施した。(IRB: 3087, 3087-1, -2, -3, -4)
【結果】対象は CD 患者 18 例（男性 12 名；平均年齢 46.9 歳）であった。疾患活動性（CDAI）はα多様性と負の相関を認め、CDAI 150 以上の群では未満の群と比較して *Coprococcus* 属（p=0.032）が有意に少なかった。手術歴あり群では *Eubacterium* 属が増加していた(0.029)。狭窄あり群では、狭窄なし群と比較して *Ruminococcaceae* 科が多かった（0.05）。生物学的製剤(Bio)治療群では *Butyricimonas* 属（0.013）、*Phascolactobacterium* 属（0.001）、*Eubacterium* 属(0.015)が少なかった。
【結語】CD 患者では、活動性、開腹手術歴、腸管狭窄、Bio の使用等が腸内細菌叢に影響を及ぼす。

課題番号：R02 基-042
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、檜垣　篤、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 9 例、糖尿病性腎症症例 42 例（Stage 1:26 症例、Stage 2:8 症例、Stage 3:5 症例、Stage 4:3 症例）の計 51 症例に対し、機能的 MR imaging パラメータとして腎皮質及び髄質の T2 値、BOLD（T2*値、R2*値)、

multi TI を用いた IR パルス併用 SSFP（反転 TI、最適 TI、および腎皮質厚、腎長径を計測し、正常群、糖尿病性 Stage1-4 の 5 群間でそれぞれのパラーメータにおいて比較検討を行った。【結果】腎皮質の T2 値、腎髄質の T2*値、反転 TI、最適 TI、腎皮質厚において 5 群間比較で有意差が認められた。正常症例と糖尿病性腎症 Stage1（早期糖尿病性腎症）との 2 群間比較では、腎皮質の T2 値、腎髄質の T2*値、反転 TI、最適 TI において有意差が認められた。【考察】腎皮質の T2 値、反転 TI、最適 TI は腎皮質の水分含有量を反映していると考えられており、早期糖尿病性腎症に見られる糸球体高血圧に伴う腎皮質の浮腫状変化をとらえている可能性があるものと考えられた。非侵襲的に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：R02 基-059
研究課題：4D-flow を用いた門脈血流動態解析による門脈圧亢進症の早期診断の検討
研究代表者名（所属）：檜垣　篤（放射線診断学）
共同研究者名：神吉 昭彦・外園 英光・山本 亮・玉田 勉
4D flow MRI が撮像された 100 例を対象とし、肝線維化と門脈血行動態の関係を評価した。門脈本幹（PT）、左右門脈（PV）、上腸間膜静脈（SMV）、脾静脈（SV）で定量的評価を行い、血管径（mm^2）、純血流量（ml/s）、順行血流量（ml/s）、逆行血流量（ml/s）、総血流量（ml/s）、平均速度（cm/s）を算出した。形態的評価と線維化スコアの組み合わせで肝線維化を評価し、3 群（A：正常（n=45）、B：軽度から中等度の線維化（n=35）、C：高度の線維化（n=20））に分けた。3 群間の比較では、PT、右 PV の逆行血流量と平均速度、SMV の面積と平均速度、SV の面積、総血流量、左 PV の純血流量、順行血流量に有意差が認められた。A 群と B 群の間で 3 指標（右 PV の平均速度、左 PV の純血流量と順行血流量）、A 群と C 群の間で 8 指標（PT の逆行血流量と平均速度、SMV の面積と平均速度、SV の面積と SV の総血流量、右 PV の逆行血流量と平均速度）、A 群と C 群の間で 7 指標（PT の逆行血流量と平均速度、SMV の面積と平均速度、SV の面積と SV の総血流量、右 PV の逆行血流量）に有意差が認められた($p<0.001$ to $p=0.042$)。これらの結果は、肝線維症がある程度進行すると、門脈系の血行動態の変化が加速することを示唆している。肝線維症が進行すると、PT、SMV、右 PV の血流量や速度が変化し、SV と左 PV の流量が増加する。これらの血行動態の変化は、側副血行路の形成や肝臓の形態学的変化に関連している可能性がある。

課題番号：R02 基-013
研究課題：筋肉量と体脂肪のバランスが認知機能、メンタルヘルス、ADL に及ぼす影響の検討
研究代表者名（所属）：藤本壮八（健康管理学）
共同研究者名：高尾俊弘、山中義之、角直樹
　申請した研究は継続中であり、本研究に関連した研究成果を途中経過として報告する。
【目的】体重を脂肪量と除脂肪体重に分け、メンタルヘルスへの影響を検討した。【対象・方法】対象は 2018 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 WHO5 精神健康状態表（WHO5）に回答頂いた 4002 人（女性：1935 人、平均年齢：51.8±10.7 歳）。脂肪量及び除脂肪体重は D.Hoon らの報告（Br J Nutr. 2017,118,858-）をもとに性別、年齢、身長、体重、腹囲より算出した。【結果】BMI の四分位と WHO5 の比較では BMI が最も低い（BMI＜20.6）と BMI が最も高い(BMI＞25.5)群で WHO5 の点数が低値、即ち精神的健康状態が悪い状態であった。脂肪量の四分位と WHO5 の点数の比較では、BMI と同様に脂肪量が最も低い群と最も多い群で WHO5 が低値であった。しかし、除脂肪体重の四分位と WHO5 の点数の比較では、最も除脂肪体重が低い群と比較し最も除脂肪体重が重い群で WHO5 は有意に高値であった（p＝0.018）。さらに BMI 四分位毎に WHO5 を年齢及び性別、脂肪量または除脂肪体重で多変量解析を行うと、最も BMI が高い群で脂肪量と WHO5 は有意な負の関連が認められた（推定値；-0.08, 95%CI: -0.142 to -0.018)、また、最も BMI が低い群で脂肪量(推定値：0.150, 95%CI：0.016 to 0.283)および除脂肪体重(推定値：0.117, 95%CI：0.001 to 0.232)と WHO5 とは何れも有意な正の関連が認められ

た。【結論】BMI 高値では脂肪量の増加がメンタルヘルス悪化と関連するが、除脂肪体重とは関連を認めなかった。更に現在、高齢者を対象に認知機能及び ADL も含め詳細な検討を行っている。

課題番号：R01 50th-1
研究課題：腫瘍増大・抗腫瘍に関わる細胞集団の解析～血管新生と抗腫瘍免疫～
研究代表者名（所属）：栗林　太（生化学）
共同研究者名：山内　明、岡本　秀一郎、宮野　佳
目的：血管新生は腫瘍増大に、免疫系は抗腫瘍に働く。本研究の目的は血管／リンパ管新生と免疫細胞動態の解析、及び新規化合物 14-100 投与による影響の評価である。

方法：ヒト膵癌 BxPC-3 をヌードマウスへ接種し担癌状態とした後、化合物 14-100 投与有り／無しの 2 群に振分け、５週後に腫瘍組織を切除し、シングルセル解析（10xGenomics 社 Chromium システム）を行った。また従来法にて mRNA 発現（定量 RT-PCR）およびタンパク質発現（免疫組織染色およびフローサイトメトリー）を評価した。

結果：シングルセル解析では、マウス由来血管内皮細胞（$VEGFR2^+$, $Tie1^+$, $Tie2^+$, $PECAM1^+$等）およびリンパ内皮細胞（$LYVE1^+$, $Podoplanin^+$, $Prox1^+$, $VEGFR2^+$等）は同じクラスターに存在し、区別可能であった。特にリンパ内皮細胞は血管内皮と比べてごく少数であったが、明確に区別された。免疫組織染色では極少数ながら脈管形成途中のリンパ内皮細胞が確認された。また、化合物 14-100 投与有り／無しで対比したところ、各クラスターでの遺伝子発現の変化が観察された。

考察：従来の定量 PCR 法はバルクの細胞集団の評価であるが、シングルセル解析では一細胞レベルで発現変化が極少数の細胞集団でも評価可能であり、薬剤投与の影響の比較も可能であることが示された。

課題番号：R02 基-049
研究課題：骨髄から分泌される抗癌剤耐性化因子の同定～白血病を再発させないために～
研究代表者名（所属）：岡本　秀一郎（生化学）
　手術治療が不可能な白血病では、抗癌剤に耐性を示す白血病細胞の存在は、治療の失敗に直結する。
　申請者は、骨髄内環境、特に血管ニッチによる抗癌剤抵抗性のメカニズム解明に向けた研究を行った。まず、血管ニッチを再現するため、血管内皮細胞株をフィーダー細胞として用いる *in vitro* 培養モデルを確立して耐性化のメカニズムの解明に取り組んだ。
　血管ニッチでは VEGFA-VEGFR2 シグナルが耐性化に深くかかわっていると報告があるが、詳細は不明である。申請者は、VEGFA-VEGFR2 シグナルをブロックしても耐性化が誘導されることを確認し、VEGFA-VEGFR2 シグナルは耐性化に直接関与していないことを確認した。一方で、フィーダー細胞と白血病細胞の直接的な接触が耐性化に重要であることを見出した。
これらの結果から、血管ニッチでの耐性化における VEGFA-VEGFR2 シグナルの役割は、血管内皮細胞の遊走によるニッチの形成が主な役割であり、抗がん剤耐性化には、直接関与していない可能性が示唆された。

課題番号：R02 ス-003
研究課題：ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型感染細胞内で特異的に誘導される長鎖ノンコーディング RNA を探索し、細胞内で果たす役割を解明する。
研究代表者名（所属）：和田　雄治（微生物学）
共同研究者名：齊藤　峰輝

ヒトT細胞白血病ウイルス1型（Human T-cell leukemia virus type 1：HTLV-1）はレトロウイルス科に属するRNA腫瘍ウイルスであり、感染者の一部に成人T細胞白血病・リンパ腫（ATL）等のHTLV-1関連疾患を引き起こす。本研究室のこれまでの研究活動により、HTLV-1 bZIP factor（HBZ）遺伝子をヒト由来T細胞株に人工的に発現誘導する事により、複数種の長鎖ノンコーディングRNA（lncRNA）が誘導される事を見出した。本研究では、HTLV-1関連疾患の発病機序の解明に寄与する知見を獲得する事を目的に、HBZによるlncRNAの誘導機序及びその役割の解明を試みた。

これまでの研究活動により見出されたlncRNAを対象に、HBZ発現条件下における各lncRNA発現量をqRT-PCR法により定量的に再解析した。本解析により最もHBZ依存的に誘導されたlncRNA（lncRNA-A）を解析対象として選定した。ATLの発病とlncRNA-A発現の関連性を探索する為に、ATL患者及びHTLV-1非感染者由来末梢血単核球より抽出したRNAを用いて、qRT-PCR法により同様の解析を実施した。その結果、急性型ATL患者検体においてlncRNA-Aの発現量が有意に変動することが明らかとなり、ATL病態発現にlncRNA-A発現量が寄与する可能性が示唆された。

課題番号：R02基-037
研究課題：*EGFR*変異肺癌におけるグルタチオン代謝経路阻害による耐性克服
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：山根　弘路・中西　秀和・小原　弘之・越智　宣昭・中川　望
（目的）*EGFR*変異肺癌において、グルタチオン代謝経路阻害による第3世代EGFRチロシンキナーゼ阻害薬（オシメルチニブ）の耐性克服を目的とする。（方法）Ba/F3細胞の*EGFR*導入細胞株（M3：L858R変異、M6：L858R+T790M+C797S変異、M8：L858R+C797S変異）を用いて、MTT assayでオシメルチニブ、システインからγグルタミルシステインへの変換を阻害するBSO、GSHを阻害するAPR-246、およびグルタミナーゼを阻害するCB-839に対する50%増殖抑制濃度（IC50）を決定する。オシメルチニブとBSO、APR-246、あるいはCB-839を併用した際の効果をcombination indexを用いて検討する。（結果）オシメルチニブのIC50（μM）はM3、M6、M8でそれぞれ0.00219、1.172、1.562であり、M3に対しM6は535倍、M8は713倍の高度耐性となっていた。BSO、CB-839、およびAPR-246のIC50(μM)は、M6においてそれぞれ429.1、4.63、および1.110であり、M8においてそれぞれ160.9、4.39、および0.828であった。オシメルチニブはCB-839とのみ併用効果を認め、モル比1：20、1：5、1：2.5のいずれも相乗効果であった。（結論）オシメルチニブ耐性*EGFR*変異肺癌では、グルタミナーゼ阻害薬との併用が有望と考えられた。

課題番号：R02基-091
研究課題：殺細胞性抗がん薬による第3世代EGFR-TKI耐性誘導と克服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がんに対する第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、EGFR遺伝子変異陽性非小細胞肺癌細胞株（H1975細胞：L858R+T790M変異）においてPemetrexed（PEM）耐性獲得後に未知の機序によるOsimertinib耐性を招くことを見出した。これまでの検討からその耐性機序としてYES1遺伝子の関与が示唆され、YES1遺伝子のknockdownにより、Osimertinibへの感受性が回復し、さらに、YES1阻害薬（Dasatinib、Saracatinib）とOsimertinibによる相乗効果が示された。

今回新たにEGFR遺伝子statusの異なるRPC9細胞株（Ex19欠失＋T790M変異）においても同様にPEM耐性獲得によるOsimertinib耐性誘導を認め、YES1高発現を確認し、YES1阻害薬とOsimertinib併用による相乗効果が示された。RPC9/PEM耐性株ではOsimertinibとSaracatinibでより高い相乗効果を認めた。

引き続きPEM耐性によるOsimertinib耐性を誘導する機序の解明と、耐性の克服についての検討を進

めている。

課題番号：R01 50th-2
研究課題：シングルセル解析及び Multi-Omics 解析を用いた上皮成長因子受容体(EGFR)遺伝子変異パターンによる EGFR 遺伝子変異陽性肺癌の機能的差異の解明
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
上皮成長因子受容体（EGFR）遺伝子変異を有する進行非小細胞肺癌における EGFR チロシンキナーゼ阻害薬（EGFR-TKI）の有効性は、EGFR 遺伝子変異のパターンによってその治療効果や臨床的な予後が異なることが報告されている。変異パターンによる分子生物学的、機能的変化については十分に解明されていない。我々は主な活性化 EGFR 遺伝子変異と EGFR-TKI 耐性変異（二次獲得耐性：T790M 変異、三次獲得耐性：C797S 変異）を導入した Ba/F3 細胞ライブラリを樹立し、その機能解析を進めてきた。
メタボローム解析による主成分分析、クラスター解析により野生型 EGFR および２つの major mutation(L858R 変異、Exon19 欠失)は明確に区別された。野生型と変異型の間に明確な差異を認め、また変異型の中でも異なる代謝経路が活性化されていることが示された。RNA Seq によるトランスクリプトーム解析の結果も含め、特に第 3 世代 EGFR-TKI に対する獲得耐性メカニズム関する EGFR 遺伝子変異パターンによる違いをシングルセル解析の結果とともに検討する。個々の細胞におけるトランスクリプトーム解析によりクラスター分類された結果を統合解析することで、EGFR 遺伝子変異パターンによる細胞機能解析が飛躍的に進むことが予想されることから、現在解析準備を進めている。

課題番号：R02 基-087
研究課題：RNA sequence を用いた肺癌オルガノイドにおける融合遺伝子の同定と actionable 変異に対する抗腫瘍効果の誘導
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
65 歳女性、肺門および縦隔リンパ節転移を伴う肺腺癌からオルガノイド: LUAD#19 を樹立した。術前肺癌生検組織からはドライバー遺伝子は不検出であった。そこで LUAD#19 からの抽出ゲノムに対する whole exome sequence を施行したが、やはりドライバー遺伝子の検出には至らなかった。しかし RNA sequence を行った結果、融合癌遺伝子：*TPM3-ROS1* が検出され、その発現は、RT-PCR 法および immunoblot 法にて確認された。ROS1 融合遺伝子は、非小細胞肺癌の 1 -2%に見られ、肺癌診療ガイドライン（2020）からⅣ期症例に対し、キナーゼ阻害剤よる治療が推奨されている。ALK 阻害剤でもあるクリゾチニブ、さらに ROS1 に対する選択的チロシンキナーゼ阻害活性を持つエヌトレクチニブは、はいずれも LUAD#19 に対し増殖抑制効果を示し、特に後者は、より低濃度での抗腫瘍効果を誘導した。一方で ROS1 融合遺伝子を持たない肺癌オルガノイド： LUAD#5 においてはこの効果は見られなかった。
TPM3-ROS1 は ROS1 融合遺伝子の中でも 3%でしかない稀なドライバー遺伝子である。今回、PDT-LUAD#19 に対する RNA sequence により、当該遺伝子の同定に加え、新しい分子標的薬剤への感受性が確認され、再発時の有効な治療法を提示できることが示された。

課題番号：R02 基-088
研究課題： CRISPRi 法を用いた肺および食道扁平上皮癌に対する抗腫
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、肺扁平上皮癌・食道癌においては、SOX2, ΔNP63, PI3CA 等の遺伝子の増幅および変異が明らかになり標的遺伝子として新たに報告されている(Hammerman PS et al. Nature. 489: 519-25. 2012, Zhang et al. Cell Reports 5: 1-13 2013.)。しかし、これらの標的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、遺

伝子編集技術: CRISPR interference（CRISPR i）法を用いて ΔNp63 を抑制することで扁平上皮癌に対し抗腫瘍効果が誘導できることを報告し、薬剤開発が困難な標的へのゲノム編集技術の有効性を報告している（Yoshida Fukazawa et al. Oncotarget. 9: 29220-32. 2018）。今回我々は、新たに SOX2 および PIK3CA 遺伝子を標的にできる CRISPRi 発現型 all-in-one 型エピゲノム編集ベクター: Ad-CRISPRi *SOX2* をおよび Ad-CRISPRi *PIK3CA* を作製した。当該ベクターは、SOX2 と PIK3CA 発現のある肺扁平上皮癌株 EBC2、HCC95 において、それぞれの標的遺伝子を抑制し、増殖と、colony 形成を疎外した。さらに標的の同時抑制により有意な抗腫瘍効果が誘導可能であった。

課題番号：R02 基-036
研究課題：肺癌における微小免疫腫瘍環境と抗癌剤+免疫チェックポイント阻害薬併用療法の効果の検討
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　野島雄史
はじめに：昨年の発表では腫瘍微小環境(TIME)分類(Type-I:PD-L1 陽性/CD8+TIL 高値、Type-II:PD-L1 陰性/CD8+TIL 低値、Type-III:PD-L1 陽性/CD8+TIL 低値、Type-IV:PD-L1 陰性/CD8+TIL 高値)および VEGF 発現(A:低発現/B:高発現)を加えた Modified TIME 分類を考案し ICI 単剤治療の効果との関連を発表した。Type-I は 75%の奏効率が得られたが Type-II と Type-IIIB の奏効率は 0%であったことから、Modified TIME 分類は ICI 単剤治療の効果予測因子として有用であると報告した。今回我々は Modified TIME 分類と殺細胞性抗癌剤/ICI 併用治療の効果との関連を検討した。方法：抗癌剤+ ICI 併用治療を受けた進行・再発 NSCLC 症例 30 例で臨床病理学的および免疫組織学的検討を行った。結果： 1 次治療が 24 例、TKI 治療後が 6 例でレジメンは Pembrolizumab 併用 24 例、Atezolizumab/Bevacizumab 併用 6 例で治療効果は PR18 例、SD8 例、PD4 例だった。Modified TIME 分類を考慮すると、ICI 単剤では 0%だった Type-IIA/B、IIIB の奏効率が ICI 併用治療では Type-IIA/B 50%、Type-IIIB 60%の奏効率が得られた。結論： ICI と殺細胞性抗癌剤の併用治療は ICI 単剤療法では効果がなかった Type においても 50%以上の奏効率を示した。その一方で効果予測因子としての有用性は確認できなかった。

課題番号：R02 基-053
研究課題：急性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群における FLT3-ITD 変異の患者特異的プライマー設定による微小残存病変検出法の開発
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
これまで我々は、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、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う方法を検討してきた。細胞株由来 DNA をテンプレートとし、FLT3-ITD 変異、NPM1 変異、CEBPA（BZ 領域）の対象領域をはさむプライマーセット（Forward はそれぞれ 6-FAM, HEX, NED で蛍光標識）を第 1 セット、CEBPA（TAD1 領域）、CEBPA（TAD2 領域）の対象領域をはさむプライマーセット（Forward はそれぞれ 6-FAM, HEX で蛍光標識）を第 2 セットとし複数の条件で条件を検討した。また PCR 産物を ABI 3100 で測定、解析した。第 1 セットにて FLT3 363bp, NPM1 319bp, CEBPA 246bp、第 2 セットにて TAD1 326bp, TAD2 251bp および変異のフラグメントを確認した。保険収載されている FLT3 変異解析 ITD/TKD（コンパニオン診断）は、一生に 1 回のみ算定できるとの制限が設けられているため、モニタリングには利用し得ない。我々の方法を補完的に用いることで（倫理委員会承認済）、患者検体において、治療効果による FLT3-ITD 変異の増減、および新規 ITD 変異の出現を検出できており、臨床判断において有用であった。

課題番号：R02 基-069
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

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 aggressive lymphoma 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)により作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、その前後の組織における S1PR1、S1PR2 発現について検討することで有用な予測因子となり得るかを検討した。当院において FL から形質転換した症例について S1PR1、S1PR2 の発現を検討したが有意な結果は得られなかった。近年 CSF-1 なども形質転換に関与するとの報告もあり、これらの関連性についても検討し症例の蓄積が必要である。

課題番号：R02 基-092
研究課題：卵巣顆粒膜細胞腫細胞株における HDAC inhibitor の増殖抑制効果とエピジェネティクスの異常の解析と治療への応用についての研究
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：通山　薫、辻岡　貴之、羽間　夕紀子、松本　桂子

【諸言】卵巣境界悪性腫瘍のひとつである顆粒膜細胞腫（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として、化学療法の奏功率の悪さがあげられる。OGCT の進行癌に対する新たな治療戦略を確立するために、ヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害剤であるパノビノスタット（PS）の効果を卵巣癌細胞株を用いて検討した。

【方法】各細胞株の PS に対する感受性を MTT アッセイで調べた。アポトーシス細胞の検出と細胞周期の解析はフローサイトメトリーで行った。ヒストン H4 と α-チューブリンのアセチル化、切断された cleaved PARP と p21 はイムノブロッティング分析で評価した。また、PS の作用機序を探るため、遺伝子解析を行った。

【結果】5 つの細胞株が PS に感受性を示し、アポトーシス死に誘導されることがわかった。PS は、GCT 以外の卵巣癌細胞株では G0/G1 期の細胞割合を増加させ、S 期を減少させたが、GCT 細胞株では S 期の割合のみを減少させた。PS は、H4 と α-チューブリンのアセチル化を増加させた。GCT の 2 つの細胞株（KGN, COV434）に対して、PS と脱ユビキチン化酵素阻害剤を併用することで、相加的な抗増殖効果を発揮した。加えて遺伝子解析の結果、PS 処理細胞は DNA 複製や細胞周期に関連する遺伝子の発現が抑制されることで細胞死に至っていることも分かった。

【結論】HDAC 阻害剤は、GCT の治療に有効であることが示された。

課題番号：R02 基-077
研究課題：癌細胞 p53 による腫瘍局所マクロファージ機能調節機構
～遺伝子改変発癌マウスを用いた解析
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】子宮癌や卵巣癌では p53 が変異すると再発転移しやすい。今回 SV40T 抗原により p53 機能が抑制されている癌細胞のマクロファージの機能の影響について検討する。

【方法】子宮頸癌を発生する HPVE6E7 蛋白と同じ 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 αT3 マウス、αT3 マウスと p53 欠損マウスを交配して作製された p53 欠損する発癌 αT3（−)マウス、さらに αT3 マウスとヒト変異 p53 発現する

M1 マウスを交配して作製された変異 p53 発現する発癌αT3 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】①αT3・αT3(-)・αT3 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 の発現を増強した。
【考察】p53 抑制癌細胞は IDO 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 IDO や PD-L1 の発現も増強させ、より強く腫瘍局所免疫を抑性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：R02 基-003
研究課題：内分泌療法と CDK4/6 阻害薬の併用療法に耐性となった乳癌に対する新規治療戦略の開発
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、齋藤　亙、緒方　良平
近年、ホルモン受容体陽性 HER2 陰性の進行・再発乳癌の治療として内分泌療法と CDK4/6 阻害薬の併用が導入され、無増悪生存期間や全生存期間の延長に寄与している。しかし、多くの症例では、本併用療法の治療中に耐性が獲得され、病状が進行し、他の治療への変更が必要となってくる。これまで我々は、内分泌療法や CDK4/6 阻害薬、各々単独に対する耐性獲得の分子機構に関し、継続的に基礎研究を進めてきている。今回、これらの治療の併用療法に対する耐性の獲得機構と各々の単独療法に対する耐性獲得機構に違いがあるとの仮説の下に基礎研究を行った。
　昨年までに樹立された CDK4/6 阻害薬（パルボシクリブ、アベマシクリブ）に耐性を獲得した細胞株を用い、1）エストロゲン枯渇培地、2）抗エストロゲン薬フルベストラント添加培地を用い長期培養し、内分泌療法 + CDK4/6 阻害薬両方に対し耐性を示す細胞株の樹立を試みた。これまで 6 か月間の長期培養を行った耐性細胞を用いた検討では、1）増殖速度はコントロールの細胞に比べ緩やかである、2）エストロゲンに対する増殖反応性の低下が観察された、3）形態学的な変化は認められなかった。今後、エストロゲンシグナルや癌幹細胞制御に関連する因子の変化に関しても検討を行う予定である。
　さらに今年度は、昨年までに行ってきた基礎研究のまとめと追加実験を行い、複数の英文論文が仕上がり掲載された。

課題番号：R02 基-023
研究課題：アゾキシメタン誘発マウス大腸腫瘍モデルにおける運動と高脂肪食と腸内細菌叢の関連性の検討
研究代表者名（所属）：松本啓志（消化管内科学）
共同研究者名：塩谷昭子、梅垣英次、半田修、村尾高久、福嶋真弥、半田有紀子
高脂肪食誘発肥満マウスにおける運動負荷および糞便移植による大腸腫瘍抑制実験を行った。Balb/c マウスを用いてアゾキシメタン誘発（週 1 回、6 回腹腔内投与、1mg/kg）大腸腫瘍モデルに対して、運動負荷(Ex)週 5 回、18m/sec、30 分）群、腸内細菌叢移植群(Fecal Microbiota transplantation:FMT) と FMT+Ex 群を行った。FMT はレシピエントマウスは移植前 2 日間抗菌薬を内服後、ドナーマウスから週 5 回、新鮮便を移植した。ドナーマウスは通常食、通常食＋運動、高脂肪食＋運動の 3 群とした。したがって FMT 群は、通常食マウス糞便移植群、運動+通常食マウス糞便移植群、運動高脂肪食マウス移植群の 3 群にわけて検討した。また、FMT+Ex 群も上記 3 群に運動を加え 3 群にわけて検討をおこなった。マウスは毎週の体重測定、4 週ごとの大腸内視鏡検査を用いたポリープ発生、CT 解析による内臓・皮下脂肪面積の測定、採血、採便を行った。
　結果は、高脂肪食は普通食よりも大腸ポリープ数が増加した。高脂肪食誘発肥満における AOM 誘発大腸ポリープは糞便移植および糞便移植+運動でポリープ数を有意に抑制された。FMT によるポリープ抑制効果が一番強かったのは運動した普通食マウスの糞便を移植した群、および運動した普通食マウスの糞便を移植した上で運動負荷群であった。しかし、2 群で有意な差はなかった。

課題番号：R02 基-029
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、松本啓志、半田修、大澤元保、福嶋真弥
【背景】わが国の食道癌は扁平上皮癌が主であるが、近年バレット食道(BE)から発生する食道腺癌が増加している。我々はヒト臨床検体を用いた検討で、短い BE に比べて長い BE では PDZKI の発現が増加することを報告している。しかし、BE における PDZK1 の機能は不明である。
【目的】食道腺癌細胞株（OE33）における PDZK1 の機能を in vitro で解析し、その意義を明らかにする。
【方法】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 P5 細胞を作成した。それぞれの細胞の増殖能と、proteasome inhibitor（PSI）によるアポトーシス刺激に対する PDZK1 の作用を、AnnexinV、ヨウ化プロピジウムによる二重染色を行い、フローサイトメトリーで評価した。アポトーシス実行タンパクである caspase3 の発現を western blotting で評価した。
【結果】両細胞で増殖速度に有意な差を認めなかった。B5 細胞では、PSI 刺激により有意にアポトーシスが増加し、pro-caspase3 の発現低下と cleaved-caspase3 の発現亢進がみられた。一方、P5 細胞では以上の変化は抑制されていた。
【結語】食道腺癌の発生母地である BE における PDZK1 発現増加は、 アポトーシス刺激に対する抵抗性を増加させて、発癌に関与する可能性がある。

課題番号：R02 基-045
研究課題：切除不能進行再発大腸癌に対する大腸癌進展速度（進展緩徐か否か）推定を可能とするバイオマーカーの同定
研究代表者名（所属）：山口　佳之（臨床腫瘍学）
共同研究者名：永坂　岳司・岡脇　誠・谷岡　洋亮・佐野　史典
切除不能進行再発大腸癌に対する化学療法では、「強力な治療が適応にならない患者」はフッ化ピリミジン系薬剤単剤＋Bevacizumab（BEV; 抗 VEGF 抗体）という副作用の少ないレジメンが適応となる。このフッ化ピリミジン系薬剤単剤＋BEV は「強力な治療が適応になる患者」であっても、腫瘍進行が緩徐と判断される場合や重篤な副作用の発生を好まない場合に、適応となる。海外では、フッ化ピリミジン系薬剤単剤から治療を開始し増悪後にオキサリプラチンや CPT-11 を加えるといった逐次療法は、複数の第III相臨床試験にて、有害事象を軽減しつつ併用療法と同等の治療成績が得られる治療法であることが示されている。しかしながら、その施行率は低い。その理由としては、どの薬剤にも不応であり急激に悪化する症例が少なからず存在するため、この逐次療法がどの患者に適応となるか、または、実施するべきかが明確に出来ないことが挙げられる。我々が現在までに得た知見から、副作用の少ない化学療法から導入可能な（すなわち腫瘍進展速度が緩徐な）進行再発大腸癌症例の Molecular phenotype として、「MGMT（O6-methylguanine-DNA methyltransferase）不活性とフッ化ピリミジン系薬剤及びオキサリプラチン投与により誘導される intermediate-hypermutant-phenotype 大腸癌」を想定している。今回、我々は、1,000 例を超える大腸癌患者から得られた大腸癌 DNA を用い、POLE 遺伝子変異を含む Molecular Subtype を分類し、MGMT メチル化を含め、それら大腸癌の臨床病理学的特徴の抽出を行い報告した。

課題番号：R02 基-046
研究課題：抗 EGFR 抗体による獲得耐性を予測する Liquid biopsy の有益性の検討
研究代表者名（所属）：永坂　岳司（臨床腫瘍学）
共同研究者名：谷岡　洋亮・岡脇　誠・佐野　史典・堅田　洋佑

Acquired mutations are detected in plasma. However, still few reports examine the concordance between liquid biopsy and metastatic lesions with acquired resistance. Herein we evaluated whether a polymerase chain reaction-reverse sequence-specific oligonucleotide (PCR-rSSO) method can examine the concordance between liquid biopsy and metastatic lesions with acquired resistance. Firstly, we examined the presence of acquired mutations in 7 chemoresistant metastatic lesions and blood samples obtained from a metastatic colorectal cancer (mCRC) patient treated with anti-EGFR therapy (patient 1). Metastatic tumor specimens harbored diverse acquired mutations in the *KRAS* gene in all of the 7 (100%) metastases, and the two acquired mutations were detected in blood specimens collected after acquiring resistance. Next, we analyzed primary tumors, metastatic lesions after chemotherapy, and blood samples from three additional mCRC patients but noted that none of the patients exhibited mutations in liquid biopsy except for one case with *BRAF* V600E mutation, which was confirmed in both primary tumor and peritoneal dissemination. Of the four cases, acquired mutations of *KRAS*, as well as *BRAF* V600E mutation, was detected in the blood obtained only after confirmation of acquiring resistance by radiological examinations. Our results suggest liquid biopsy based on the PCR-rSSO is a successful procedure for capturing acquired mutations with precise information of mutational spectrum that may lend us to reach selective target agents for *RAS* mutations.

課題番号：R02 基-047
研究課題：患者・家族満足度調査による Precision Palliative Active Care Program 構成項目の最適化
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、本来慣れ親しんだ住処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・スコア化を行う当院独自の Care Program であり、現在、その構成項目の最適化を進めている。本研究は、その PPAP 構成項目の最適化を行い、PPAP の前向き研究への橋渡しを目標にしている。

PPAP 基準項目の選定については、その outcome を入室時の Palliative Prognosis Score (PaP スコア) および Palliative Prognostic Index (PPI）による予後予測が PPAP の実践により、どのように変動するのかを確認し、予後や QOL に寄与する因子の抽出を行っている。具体的には、①緩和ケア病棟スタッフによる、入室時・入室 2 週間後・1 ヵ月後時点における PaP スコア・PPI の確認、②それらスコアがどのように変化または改善したのかを数値化、③スコアによる予後予測が 1 ヵ月以上の改善または悪化に関与する因子の選出、を Logistic-regression を用い行っている。特に PaP スコアは主治医の予後予測に比重が高く設定されていることにより、評価への影響が強いため、PPI を重視している。これらスコアと予後改善・悪化に相関を認める因子群を抽出し、かつ、極力、客観性が得られる因子を選別し、PPAP 構成項目の最適化を図っている。現在、40 例程度のデータ収集を終了している。今後は、選定された項目を PPAP 構成項目に固定し、前向き研究として、その PPAP の意義を検証する予定であるが、この前向き研究は、緩和ケア病棟の再開を待たねばならない。

課題番号：R02 基-048
研究課題：胃癌における免疫チェックポイント阻害剤に対する新規バイオマーカーの構築
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

Background: Recently, the blockade of PD-1 / PD-L1 interaction to restore T cell activity has emerged as a breakthrough therapy to gastric cancer (GC) same as various cancers. Nonetheless, the therapeutic effect is limited to specific patients and so the predictive biomarker identification is urgent. In this study, we analyzed longitudinal blood samples which is obtained easily from unresectable GC patients receiving PD-1 blockade monotherapies and

evaluated dynamic changes in peripheral blood PD-1+CD8+ T cells.
Methods: We retrospectively evaluated 6 unresectable GC patients who received PD-1 blockade monotherapies in our institute. Peripheral blood samples were obtained before, during and after treatment and analyzed using multi-color flow cytometry.
Results: Of 6 patients, 4 (66%) were male, and the median age was 70 years (range 54-79). Five patients were treated by Nivolumab and one patient was treated by Pembrolizumab as 2nd-line. Partial response was observed in 1 patient, and Stable disease was in 2 patients and progressive disease was in 3 patients. Frequency of PD-1+ cells as a percentage of total CD8+ T lymphocytes before treatment with PD-1 blockade and after 2 months was 30.0% (range 5.3-48.2) and 37.7 (range 2.88-84.5), respectively. Two of 3 patients with clinical response with PD-1 blockade showed the reduction in the frequency of PD1+ cell among CD8+ T lymphocytes after PD-1 blockade treatment. On the other hand, two of 3 patients with non-clinical response showed the increase.
Conclusion: Dynamic changes in peripheral blood PD-1+ CD8 T lymphocytes may predict clinical benefit from PD-1 blockade treatment in unresectable GC patients.

課題番号：R02 基-014
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診断法の最適化
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・神吉　昭彦
目的：前立腺 MRI の前立腺有意癌の検出における最新の診断基準である Prostate Imaging and Reporting Data System version 2.1 (PI-RADS v2.1)を用いたマルチパラメトリック MRI（mpMRI：T2 強調像、拡散強調像、ダイナミック造影）とバイパラメトリック MRI（bpMRI：T2 強調像と拡散強調像）の診断能と評価者間の再現性を評価すること。方法：PSA 高値を伴った 103 患者が 3T 装置の MRI 検査が施行され、前立腺癌が疑わしい病変に対して MRI ガイド下生検を受け病理診断がなされた。3 人の経験豊富な放射線科医が独立してその MRI で指摘された病変を後方視的に評価し、mpMRI と bpMRI の最終的な PI-RADS assessment category（1～5）を決定した。結果：MRI で疑われた 165 病変の病理結果は、81 が前立腺有意癌で、残りが良性病変であった。PI-RADS assessment category における評価者の一致率（カッパ値）は、bpMRI は 0.642、bpMRI は 0.664 であった。3 人の評価者において、前立腺癌の診断感度は bpMRI より mpMRI で有意に高かった（$P < 0.001$ to $P = 0.016$）。一方、診断特異度は mpMRI より bpMRI で有意に高かった（すべて $P < 0.001$）。ROC 解析から得られた AUC は、全ての評価者で、mpMRI より bpMRI で高く、評価者 1 と評価者 2 において有意な差が認められた（Reader 1: 0.823 vs. 0.785, $P = 0.035$; Reader 2: 0.852 vs. 0.829, $P = 0.099$; and Reader 3: 0.828 vs. 0.773, $P = 0.002$）。まとめ：PI-RADS v2.1 を用いた前立腺有意癌の検出において、bpMRI の評価者間の再現性と診断精度は mpMRI のそれらと同等であった。

課題番号：R02 基-083
研究課題：MRI-US 融合画像ガイド下生検による PI-RADS ｖ2 と ｖ2.1 の診断能比較
研究代表者名（所属）：木戸　歩（放射線診断学）
共同研究者名：玉田 勉, 曽根 照喜, 宮地 禎幸, 森谷 卓也
目的：3T-MRI を用いた SENSE 併用拡散強調像（EPIS）と C-SENSE 併用拡散強調像(EPICS)の間で、画質、腫瘍検出能、悪性度の識別能の比較を行った。
対象と方法：前立腺マルチパラメトリック MRI が施行され、MRI 超音波融合画像ガイド下生検にて前立腺癌と診断された 26 名の患者を対象とした。
前立腺の解剖学的な歪み（AD）や病変の目立ち度（LCS)、内閉鎖筋と病変部の信号強度比（SNR)、病変部と非病変部のコントラスト比（CNR)、病変部と非病変部の見かけの拡散係数（ADC_{mean}）を評価し、これらの検討項目について EPIS と EPICS との間で比較を行った。さらに、非病変部と病変部、グリソンスコア（GS）が 3+4 以下と 4+3 以上の間の ADC_{mean} を両シークエンスで比較した。また、両シークエンスの ADC_{mean} と GS グレード群

（GG）との関係も評価した。
結果：AD と SNR は、EPICS の方が EPIS よりも有意に高く、LCS と CNR は同等であった。一方、EPIS と EPICS のいずれにおいても、腫瘍の ADCmean は正常なよりも有意に低かった。GS≦3+4 と GS≧4+3 の比較では、EPICS のみ有意な差を認めた。腫瘍の ADCmean と GG と比較では、EPICS のみ有意な負の相関関係を認めた。
結語：
EPICS が画質を向上させ、腫瘍悪性度の診断性能向上に寄与する可能性が示唆された。

課題番号：R02 基-035
研究課題：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：段階的に悪性化した細胞株の遺伝子発現パターンからクローン進化を探る
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

骨髄異形成症候群（MDS）は難治性造血障害で、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。我々はこれまでに、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、元患者骨髄細胞に ***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。表面マーカーと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。
あらたな探索として、遺伝子発現プロファイルの変化とクローン進化の関係をシングルセルレベルで究明すべく、10X Chromium システムを用いたシングルセル RNA 解析を開始した。現在 MDS92 と MDS-L について遺伝子発現ライブラリーを構築したところであり、今後いくつかの亜株についても実験を進める予定である。

課題番号：R02 基-031
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の探索
研究代表者名（所属）：北中　明（検査診断学（病態解析））
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）の病態解明を目的として、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行った。
令和 2 年度は、56 例の MPN（および疑い症例）に対して臨床検体の遺伝子解析を行った。10 例に *JAK2*V617F 変異が、2 例に *CALR* 変異（解析中 43 例）が認められた。
MDS ついては、日常診療で作成された既存の標本を用いた遺伝子解析を可能とするための予備的検討を行なった。その結果、封入済みのギムザ染色標本から DMA を抽出し、ダイレクトシークエンス、ならびに全自動遺伝子解析装置 i-densy IS-5320 を用いた手法によって、代表的な *SF3B1* 変異の解析が可能となった。*CALR* 変異は MPN の発症に深く関与するが、解析に適した細胞株が存在しないことから、薬剤スクリーニングに使用可能な疾患モデルの開発が望まれていた。われわれは MPN のモデルとして *CALR* 変異導入 F-36P-MPL 細胞株を作成し、Src ファミリーの選択的阻害剤 PP2 および、Bcr-Abl、Src ファミリーに対する阻害剤ボスチニブによって変異 *CALR* 依存性の細胞増殖が阻害され、その責任分子が Src ファミリーの Lyn であることを示している。当該シグナル経路における Lyn の関与を明確にするため、タンパク質解析、レポーターアッセイによる分析を行った。

課題番号：R02 基-019

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±0.49nM,MDS92: 74.3 ±12.6nM, HL-60: 145.0 ±6.1nM）, 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：R02 基-022
研究課題：乳癌の個別化治療を目指した新しい病理組織学的バイオマーカーの探索
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、三上剛司、三上友香、佐貫史明
【背景】細胞外マトリックス内にコラーゲンが異常沈着することにより、癌細胞の浸潤・転移が促される可能性が示唆されている。今回、コラーゲン代謝の主要な翻訳後修飾を担うとされる prolyl-4-hydroxase(P4H)に着目し、その臨床病理学的意義について検討した。【方法】浸潤径 10mm 以上の浸潤性乳癌 90 例を用いた。免疫組織学的に、P4H α subunit 1(P4HA1)・P4HA2・Ki67・p53・HIF-1α を用いて、浸潤癌細胞と非腫瘍部乳管上皮における発現を評価した。また、乳癌細胞株における P4H 発現の検討や乳癌細胞株・ヒト乳癌組織における P4H タンパクの検出も行った。【結果】P4HA2 は、非腫瘍部に比して浸潤癌成分において有意に高発現を示した。また、P4HA2 は高い組織学的グレード、高い核グレード、高い Ki67 標識率、p53 陽性、トリプルネガティブ(TN)型の症例で有意に高発現であった。浸潤癌における P4HA1 と P4HA2 の発現には正の相関があり、P4HA2 と HIF-1α の発現は逆相関を示した。乳癌細胞株では、P4HA2 は TN 型でより高発現を示し、乳癌細胞株・ヒト乳癌組織でも TN 型において P4HA2 タンパク発現量が高かった。【結語】P4HA2 は乳癌の悪性度マーカーの一つになり得ることが示唆された。さらに P4H の特性を明らかにするためには、癌浸潤や転移、局所における低酸素ストレスなどに関わる他因子との関連性についても検討が必要と思われる。

課題番号：R02 基-021
研究課題：RNA 結合蛋白質 TIA1a を起点とした食道癌進展機構の解明と 新規治療戦略の分子基盤
研究代表者名（所属）：増田　清士（学長付）
RNA 結合蛋白質 TIA1 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。TIA1 は完全長の TIA1a と 11 アミノ酸が欠失した TIA1b の 2 つのアイソフォームがある。
　これまでの研究で、① TIA1a と TIA1b では細胞内局在が異なり、TIA1a のみが細胞質に発現すること、② TIA1a を高発現すると食道癌細胞の増殖が促進されること、③ TIA1a の特定のアミノ酸残基がリン酸化されると核から細胞質に移行し腫瘍形成能が誘導されることを見出した。
本研究は、TIA1a と TIA1b の機能差が標的 mRNA 群の違いによるものか検討するとともに、TIA1a 特異的介入法の有効性について検証した。

TIA1a、TIA1b を各々遺伝子導入した細胞で免疫沈降を行い、標的 mRNA を qPCR で検討したところ、両アイソフォームともに細胞周期促進因子 CCNA2 や SKP2 と結合した。次に各アイソフォーム特異的 siRNA を設計し、細胞に遺伝子導入した結果、TIA1a を特異的にノックダウンした細胞でのみ CCNA2 や SKP2 の蛋白質量が減少し、細胞増殖が抑制された。
以上の結果から、TIA1a と TIA1b の機能差は標的 mRNA 群の違いではなく、細胞内局在の違いに依存していること、また TIA1a 特異的な介入法が癌細胞の増殖抑制に有用であることが示唆された。

課題番号：R02 基-093
研究課題：BRAF non-V600E 変異肺癌に対する新規治療法の開発
研究代表者名（所属）：羽井佐　実（学長付）
共同研究者名：深澤　拓也・髙岡　宗徳・石田　尚正
BRAF non-V600E 変異を持つ肺癌に対する標的治療法は未確立であり、現在世界でおよそ 4 万人以上がこの肺癌で死亡している。近年、Corcoran 、Yaeger らにより、BRAF 変異大腸癌において、BRAF 阻害剤による下流シグナルの抑制がフィードバックにより EGFR を活性化し、MEK/ERK シグナルを再活性化することが報告され、EGFR 阻害剤と BRAF 阻害剤または MEK 阻害剤の併用が抗腫瘍効果をもたらすことが示された（Cancer Discovery 8: 428-43. 2018, Clin Cancer Res. 2019 doi: 10.1158/1078-0432）。
73 歳男性、左下葉原発の早期肺腺癌患者から樹立した、*BRAF*^{G469A} をドライバー遺伝子に持つ肺腺癌オルガノイド: LUAD#5 に対し、EGFR 阻害剤：エルロチニブと MEK 阻害剤：トラメチニブの併用効果を解析した。 細胞内在性 ATP の定量から、二剤併用後 cell viability はそれぞれの単独投与に比べ有意に抑制されており、また Immunoblot 解析によりリン酸化 ERK 発現の抑制が認められた。同様の結果は、*BRAF*^{G469A} 変異陽性肺腺癌株:H1395 により再現され、この併用療法が有効な治療法であることが示された。

課題番号：R02 基-068
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。GenBank/EMBL/DDBJ に公開されている SRA（Sequence Read Archive）データをもとに、チュウゴクオオサンショウウオ（*Andrias davideanus*）の IGF-1 と Myostatin 遺伝子を含む TGF-ß ファミリーの塩基配列を解析した。抽出した塩基配列（タグ）を翻訳し、そのアミノ酸配列を既知の脊椎動物のアミノ酸配列と比較したところ、IGF-1、Myostatin ならびに GDF11 遺伝子をコードしていることが判明した。解析した SRA の情報から、チュウゴクオオサンショウウオのゲノムは精力的に解析されているが、本邦のオオサンショウウオ（*Andrias japonicus*）についてはほとんど進んでいない。岡山県内の河川に生息するオオサンショウウオの調査により得られた尾部組織片由来の DNA をもとに、オオサンショウウオのゲノム解析を進めていく。

課題番号：R02 基-055
研究課題：金または銀を担持したチタン酸ナノシートのガラス基板上への製膜
研究代表者名（所属）：吉岡大輔（自然科学）
金属酸化物を用いたチタン酸ナノシート(TNS)への金属種の担持は，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 分散液に任意量のハロゲン化水素酸(HX = HF，HCl，HBr)を添加し，担持反応に及ぼす影響を調査した。HX の種類を問わず，添加量に応じて TNS 分散液の pH

は一様に減少した。また，TNS 分散液へ紫外線照射を行い，分散液の酸化還元電位の変化を記録したところ，紫外線照射停止直後の酸化還元電位は，HX の添加量には依存するものの，種類には依存しないことが分かった。HX を添加した TNS 分散液に対して Au 担持を行ったところ，局在表面プラズモン共鳴(LSPR)による可視光域の吸収を示す分散液が得られた。HX 添加量の増加に伴い，吸収が大きくなり，HCl，HBr の添加ではその効果が大きく表れた。また，Eu 担持を行ったところ，蛍光発光を示す分散液が得られた。こちらもまた，HX 添加量の増加に伴う発光の増大がみられ，HCl，HBr の添加ではその効果が大きく表れた。これらの結果から，pH の減少による酸化還元電位への影響のほかに，ハロゲン化物イオンの酸化反応の受けやすさもまた担持反応に影響していると考えられる。一方で，ハロゲン化物イオンのサイズが大きくなると TNS の凝集が起こり， LSPR による吸収や Eu 発光に影響を及ぼす。イオンサイズと光誘起酸化還元反応への影響はトレードオフの関係にあると考えられるため，より詳細な検討が必要である。

課題番号：R02 基-081
研究課題：制御性Ｔ細胞を制御する～ブレーキの解除を目指して～
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、山村真弘
目的：癌治療として最近、免疫チェックポイント阻害剤が注目されている。免疫抑制に働く制御性 T 細胞を抑えることで、免疫機能の増強により抗腫瘍効果を発揮する。しかしながら抗体医薬であるため、高価、注射薬のみ、免疫反応などのデメリットがある。本研究では制御性 T 細胞の機能を抑える安価で扱い易い抗腫瘍物質を見出すことを目的としている。
方法：ヒト末梢血白血球からフローサイトメトリーにて $CD4^+CD25^+CCR4^+$細胞を制御性 T 細としてソーティングし、IL-2 添加培地で 72 時間培養後に、ケモカインに対する走化性を細胞動態解析装置 TAXIScan にて解析した。このアッセイ系にて種々の低分子化合物および天然抽出物について走化性を阻害するものを探索した。
結果：ヒト末梢血由来 $CD4^+CD25^+CCR4^+$細胞は、CCR4 リガンドである CCL22 および、CXCR4 リガンドである CXCL12 に対して良好な走化性を示した。この細胞の走化性を制御する物質を探索したところ、シイタケ菌糸体抽出物 Lentinula edodes mycelia (LEM)に抑制効果がみられた。また、LEM には細胞毒性は観られなかった。
考察：LEM はこれまで、*in vitro* および *in vivo* で種々の抗腫瘍作用が報告されている。今回の結果より、LEM の抗腫瘍メカニズムの一つして制御性 T 細胞の機能の抑制が考えられた。

課題番号：R02 基-030
研究課題：新型インフルエンザウイルス出現予測のためのウイルス感染行動解析
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
インフルエンザウイルスは，結合する受容体を交換することで細胞表面に沿って運動することができる．感染に最適な運動の様式(行動パターン)は宿主により異なることから，行動パターンはウイルスのヒトへの感染性の指標となり得る．本研究では，行動パターンを基に自然界に存在するヒトへの感染性を持つウイルス(新型ウイルスの候補)を探し出すことを目指し，ヒトやミズドリを宿主とするインフルエンザウイルスの行動の解析と分類を行った．ヒトウイルス，トリウイルス各 7 株を解析した．受容体として α2,6 型シアロ糖鎖(6SG)あるいは α2,3 型シアロ糖鎖(3SG)を結合したガラス表面を作製し，この表面でのウイルスの行動を反射干渉顕微鏡で観察した．ヒトウイルスは，6SG 表面に強く結合する，あるいは 3SG 表面で活発に運動した．従来ヒトへの感染には 6SG との強い結合が重要とされているが，3SA 表面での運動も重要であることが明らかになった．一方トリウイルスは，両表面でウイルス株により様々な行動を示したが，ヒトウイルスと同等に 6SG 表面に強く結合するウイルス 1 株，3SG 表面で運動する 2 株が存在した．新型ウイルスは，2009 年のパンデミックでみられたようにブタを中間宿主とするウイルスが変異によりヒトへの感染性を

獲得したとされるが，今回のトリウイルスの結果は，ヒトへ感染するポテンシャルを持つウイルスがすでにミズドリに存在することを示している．

課題番号：R02 基-034
研究課題：クローン株を用いた条虫由来の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。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いる。今回，高週齢のマウスでも体重増加効果が現れるかを検討した。【方法】16 週齢（高週齢）の ICR マウス♀３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た。また，脂肪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）した。【結果・考察】コントロール群は全く体重が増加せず，Kt-1 株投与群の方に若干の体重増加傾向がみられた。また，脂肪量の変化は認められなかった。体重増加量に関して，既知の４週齢（若週齢）の Kt-1 株投与群よりも高週齢の方が有意に低かった。このことから条虫由来の生理活性物質は，高週齢（成熟期）のマウスの代謝系には影響をおよぼしにくいことが示唆される。

課題番号：R02 基-033
研究課題：ヘマグルチニンのアスパラギン結合型糖鎖プロファイルに着目したインフルエンザワクチン改善方法の検証
研究代表者名（所属）：後川　潤（微生物学）
共同研究者名：齊藤 峰輝
【背景】香港型インフルエンザウイルスは、遺伝子変異による抗原性の多様化が生じやすい性質を持つ。特にヘマグルチニン(HA)球状部のアスパラギン（N）結合型糖鎖付加および欠損を伴う抗原性変異は、HA ワクチンの効果に影響すると考えられる。本研究では、2019-20 年に国内で流行した 3 タイプのウイルスの性状（増殖能や病原性）を HA-N 型糖鎖プロファイルのみが異なる条件で比較し、糖鎖とウイルスの性状との関係を検証した。【材料と方法】HA 遺伝子に変異を導入して糖鎖 3-HA、糖鎖 4-HA および糖鎖 5-HA の組換え香港型様ウイルス株を、WSN 株（逆遺伝学的ウイルス作製法に用いられる低病原性の実験室株）を母体として作出し、これらの株間の性状を赤血球凝集試験、プラーク試験およびマウス感染実験にて比較検証した。さらに抗ウイルス血清に対する中和逃避能を赤血球凝集抑制（HI）試験で調べた。【結果と考察】3 タイプの組換えウイルス株の性状解析では、細胞における増殖効率やマウスへの病原性に差が認められた。また、2020-21 年のワクチン製造株（糖鎖 2-HA）に対する抗ウイルス血清を用いた HI 試験では、いずれの株に対しても抑制効果が低かった。これらの結果から香港型ウイルスの HA-N 型糖鎖プロファイルは、ウイルスの性状や免疫逃避に影響する因子であり、HA ワクチンの防御効果を改善する手掛かりになる可能性が示唆された。

課題番号：R02 基-070
研究課題：細胞膜外酵素 BST-1/CD157 は自然免疫細胞において IL-6 産生を制御している
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。我々はこれまで BST-1 が脾臓 B 細胞の亜集団である辺縁帯 B 細胞やマクロファージ（MΦ）の

表面に発現していることを明らかにしており、これら自然免疫に関係が深い細胞での役割を解明するため *Bst1* 遺伝子欠損マウス(KO)を用いて解析を続けている。野生型マウス（WT）および KO の骨髄細胞を M-CSF 存在下で培養し骨髄由来ＭΦ（BMMΦ）を誘導した。BMMΦを LPS 刺激した際の貪食能は WT と KO で差はなかったが、LPS 刺激で細胞表面の BST-1 発現は上昇し、また *Bst1* 遺伝子 mRNA の発現上昇も見られた。そこで BMMΦを LPS または IL-4 刺激によってそれぞれ M1、M2 MΦに分化させたところ、M2 MΦマーカー遺伝子の発現誘導は WT と KO 間で差はなかったが M1 MΦマーカーの一つである *Il6* 遺伝子の発現が WT と比較して KO で低下していた。しかしながら他の M1 MΦマーカー遺伝子は低下しておらず、*Il6* に特異的な現象であることが分かった。更に LPS 刺激前の *Il6* 遺伝子の転写も KO BMMΦで低下していた。以上のことから BST-1 が *Il6* 遺伝子の発現調節に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。これらの分子機構の詳細を解明するため更に解析を進めている。

課題番号：R02 基-085
研究課題：チタン酸ナノシートのリソソーム介在毒性機序の解析
研究代表者名（所属）：西村泰光（衛生学）
共同研究者名：大槻剛己、吉留敬、武井直子、伊藤達男、李順姫、吉岡大輔
チタン酸ナノシート（TiNS）は極薄の特徴を生かした工業利用が期待されている。これまでにヒト単球の培養実験から TiNS 曝露が著しい空砲形成を伴いカスパーゼ依存性のアポトーシスを誘導し、毒性機序に v-ATPase を介したリソソーム過剰が係わることを明らかにしていた。近年、リソソーム由来 Ca2+シグナルの意義が指摘され、リソソーム遺伝子の発現誘導にも働くことが知られる。そこで、TiNS の毒性機序における細胞内 Ca2+とリソソーム機能制御との関わりを調べた。遊離 Ca2+吸収波長の測定と SEM-EDX による元素分析から、TiNS への Ca2+の結合を確認した。細胞質内 Ca2+量を Fluo-4 AM で測定したとき、二酸化チタンナノ粒子 P25 と対照的に TiNS 曝露 1 日後の単球では蛍光強度が有意に増加した。曝露後 2 日後の単球は ATP6V1E1, MCOLN1/TRPML1, MCOLN3/TRPML3 mRNA 量の有意な増加を示し、P25 曝露では変化が無かった。TRPML 作動薬でリソソーム内 Ca2+の放出に働く ML-SA1 は TiNS 曝露時にのみ細胞死を増悪させた。細胞内 Ca2+キレート剤 BAPTA-AM はリソソーム遺伝子の mRNA 増加を抑制した。以上の結果は、毒性機序として TiNS の取り込みを介したリソソーム由来細胞内 Ca2+濃度の増加と続くリソソームの過剰亢進が起きていることを示す。

課題番号：R02 基-012
研究課題：CTL の活性化機序におよぼす石綿曝露影響
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、伊藤 達男、李 順姫
石綿曝露は悪性中皮腫を引き起こすが、抗腫瘍免疫機能への影響は不明な点が多い。これまでに申請者らは長期石綿曝露による $CD8^+$T 細胞機能の低下を見出している。このことは、$CD8^+$T 細胞が適切に活性化され細胞増殖を伴い、granzyme B・perforin・IFN-g 産生に至る一連の活性化機序に問題があることを示している。$CD8^+$T 細胞が適切に活性化される為には、細胞表面上の T 細胞受容体（TCR）に MHC クラス I と抗原の複合体が結合するだけでなく、同じく細胞表面上に存在する補助刺激受容体が適切なリガンドを認識することが重要である。本研究の目的は、T 細胞の活性化調節に重要であることが知られている 4-1BB、CD27 あるいは OX-40 などの補助刺激受容体に注目し、補助刺激存在下における CTL の細胞増殖や granzyme B・perforin・IFN-g 産生に及ぼす石綿曝露影響を調べることである。はじめに、抗 CD3 抗体を用いて TCR を介した刺激を誘導し、ヒト $CD8^+$T 細胞株 EBT-8 の細胞増殖が促進するかどうかを検討した。予め 1 mg/ml の抗 CD3 抗体でコートした 96 穴平底ウェルに、EBT-8 細胞を播種した。2 日後に WST-1 を添加し、添加後 2 時間目の吸光度を多機能マイクロプレートリーダーで 450nm 及び対照波長として 650nm のフィルターを用いて測定した。対照群として抗 CD3 抗体非添加のウェルを用意した。抗 CD3 抗体刺激によって、吸光度の増加、すなわち細胞数の増加が認められた。今後は、TCR を介した刺激と各種補助刺激存在下

において細胞増殖が促進される条件を検討し、CD8+T 細胞の活性化機序における石綿曝露影響を明らかにしたい。

課題番号：R02 基-038
研究課題：低容量石綿長期曝露株におけるマトリクスプロテアーゼ MMP7 発現亢進とその機能の解析
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、伊藤達男

石綿曝露に起因する悪性中皮腫は石綿曝露から平均４０年という長い期間を経て発症する。我々は、低容量石綿長期曝露が制御性 T 細胞（Treg）機能に与える影響を明らかにする目的で、制御性 T 細胞様 T 細胞株 MT-2 (Org)に、白石綿(CB)と青石綿(CR)をそれぞれ低濃度で長期曝露し、石綿誘導性アポトーシスに抵抗性をもつ細胞株（CB1、CR1）を樹立した。これまでの研究から、これらの細胞において Treg 機能が著しく増強することを明らかにした。mRNA マイクロアレイの結果、MMP7（Matrix Metalloproteinase 7）が非常に高い発現量を呈することを見出した。そこで、本研究においては MMP7 の低容量石綿長期曝露株における Treg 機能増強との関連を解析した。その結果、MMP7 の中和抗体、阻害剤を添加しても、CB1 の反応性 T 細胞に対する強い増殖抑制能は維持された。一方、細胞移動能を検討した結果、CB1 株は Org に比べ顕著に多くフィブロネクチンコートフィルターを通過することが観察され、MMP7 阻害剤の添加によりその移動は抑えられた。これらの結果から、MMP7 は低容量石綿長期曝露株における、Treg 機能増強に直接関与していないが、腫瘍内への移動・浸潤を促すことが示された。機能増強した Treg が腫瘍内に浸潤することにより、腫瘍局所における抗腫瘍免疫を減弱する可能性が示唆された。

課題番号：R02 基-064
研究課題：TNF 受容体関連周期性症候群（TRAPS）モデルを用いた炎症惹起・遷延化メカニズムの解明
研究代表者名（所属）：平野 紘康（総合内科学 1）
共同研究者名：守田 吉孝、向井 知之、石原 克彦、井関 將典、赤木 貴彦

背景：TNF 受容体関連周期性症候群（TNF-receptor associated periodic syndrome; TRAPS）は、自己炎症性疾患の一つで、TNFR1 をコードする TNFRSF1A のヘテロ変異により発症する。本邦では数十家系が報告されている。変異は TNFR1 の細胞外ドメインの遺伝子座に存在する（C62Y、T79M など）。症状は、2-3 週間持続する発作性の周期性発熱に加え、関節炎や腹痛、皮疹をきたす。治療はステロイドが使用され、難治例には TNF 阻害薬や IL-1β 阻害薬が用いられるが、有効性は必ずしも高くない。新規治療開発のためにも、その詳細な病態解明が必要とされている。今回、TRAPS 変異をゲノム編集によりノックインした TRAPS 変異マウスを作成し、その表現型を解析した。
方法：TRAPS の病的変異として確立されている C62Y および T79M 変異、日本で報告された T90I 変異、さらに当教室で報告した G87V 変異の計 4 系統の TRAPS モデルマウスを作成した。
結果：通常飼育下（クリーンエリア）での表現型解析では、肉眼的観察、組織学的解析、血中炎症性サイトカイン測定にて炎症所見は認めなかった。炎症惹起刺激として、T79M および G87V 系統に対して、LPS＋D-Galactosamine の腹腔投与を行ったところ、野生型に比して変異マウスで生存率が高いという、予想と逆の結果が得られた。
結語：ヒト TRAPS 患者においても未だ発作性炎症発作の誘因は分かっていない。TRAPS マウスの解析でも、現在までのところ炎症を誘発する刺激は明らかでは無い。何らかの特異的な炎症惹起因子が存在することが考えられ、引き続き検討を進めていく。

課題番号：R02 基-100
研究課題：PM2.5 の院外心停止発症に対する影響と高感受性集団の同定
研究代表者名（所属）：小島　淳（総合内科学 3）

Objective: To examine the association of short-term exposure to particulate matter ≤2.5 μm in diameter ($PM_{2.5}$) with the incidence of out-of-hospital cardiac arrests (OHCAs) of respiratory origin and eventual prognosis

Patients and Methods: This prospective, nationwide, population-based case-crossover study was based on the All-Japan Utstein Registry of OHCAs compiled across all 47 Japanese prefectures. The subjects were OHCA patients (n=243,338; n=72,124 witnessed by bystanders) with non-cardiac origins during the $PM_{2.5}$-monitoring period (April 2011–December 2016). Conditional logistic regression model was used to estimate a 10-μg/m^3 increase in average $PM_{2.5}$ concentrations for the event and previous day (lag0–1). Propensity score matching was used to assess confounding and match cardiac-origin and respiratory-origin OHCA patients.

Results: Overall, 21,383 bystander-witnessed OHCAs of respiratory origin (mean age: 80.6 [13.8] years) were included. There was a higher effect estimate (increase; 95% confidence interval) in respiratory-origin OHCAs (2.5%; 0.0–5.1%); the percentage increase in cardiac-origin OHCAs was equivalent during the same $PM_{2.5}$ monitoring period after propensity score matching (2.6%; 0.1–5.1%). $PM_{2.5}$ exposure was possibly associated with non-shockable rhythm on initial electrocardiogram (2.4%; −0.2 to 5.1%). Absence of spontaneous circulation return (3.1%; 0.3–6.1%) and 1-month mortality rate (2.7%; 0.0–5.4%]) were remarkable in respiratory-origin OHCA patients.

Conclusion: $PM_{2.5}$-related respiratory failure deterioration may promote OHCAs in individuals with pre-existing pulmonary conditions. Increased $PM_{2.5}$ concentration was associated with non-shockable rhythm, leading to unfavourable outcomes. These findings may help prevent OHCAs in high-risk patients with cardiopulmonary diseases that may be exacerbated by respiratory viral infection

課題番号：R02 基-084
研究課題：気管支喘息における睡眠時無呼吸合併の影響に関する包括的検討
研究代表者名（所属）：小賀徹（呼吸器内科学）
共同研究者名：小橋吉博、加藤茂樹、吉岡大介、阿部公亮、黒瀬浩史、八十川直哉、田中仁美、友田恒一、白井亮

＜背景と目的＞気管支喘息患者において、睡眠時無呼吸症候群(SAS)の合併率が高く、喘息病態の悪化に関与しうることが指摘されているが、これは欧米の知見に基づいており、日本における報告はない。SAS に関して、日本と欧米で比較すると、欧米では肥満型が主体なのに対し、日本などのアジア諸国では、肥満よりむしろ、顎顔面形態を含む解剖学的な問題が指摘され、SAS のフェノタイプの違いが挙げられる。この中で、私たちは、川崎医科大学附属病院ならびに総合医療センターに通院中の喘息患者において、SAS の簡易検査を実施することにより、SAS の存在頻度を推定し、同時に、呼吸機能、症状、健康状態、喘息コントロール、睡眠の質などを包括的に評価することにより、本邦における喘息患者における SAS の合併や喘息病態への関わりを検討することとする。

＜経過＞2021 年 5 月 20 日現在において、34 人（男 16 人）、平均 58 歳の患者から同意を取得し、本研究に参加いただいた。呼吸機能は、平均 1 秒量 2.31 L（対予測値 88.2%）であった。

＜予定＞コロナの影響もあったが、症例登録は少しずつ進んでいる。2021 年には、院生も加わり、症例登録を増やして、今年の秋頃までに、約 100 人の患者登録を予定している。8 月にプロジェクト成果発表があれば、中間解析結果を合わせて報告したいと思う。

課題番号：R02 若-001
研究課題：加熱式タバコの気道と全身への影響の検討
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、小橋　吉博、加藤　茂樹、黒瀬　浩史、田中　仁美

【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 21 名、紙巻きたばこ 2 名、加熱式たばこ 7 名、の 30 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：R02 基-095
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。さらに当院外来通院中の PD 患者の透析排液中の炎症性サイトカインの発現量について検討した。
【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(caspase-1、IL-1β、IL-18 の発現亢進）を認めた。腹膜中皮細胞下層の浸潤マクロファージでインフラマソームが活性化していた。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。さらに ASCKO マウスの骨髄を WT マウスに移植し、線維化を誘導したところ線維化が顕著に抑制された。PD 患者の腹膜透析液排液中の IL-1β、IL-18 の発現量は PD 歴が長期化するに従い上昇傾向にあった。
【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：R02 ス-005
研究課題：miR223 を介した S1PR1 発現制御による SLE 病態の解明
研究代表者名（所属）：浅野　澄恵（リウマチ･膠原病学）
共同研究者名：守田　吉孝、向井　知之
【目的】SLE モデル MRL/lpr マウスの脾臓 CD4+T 細胞の網羅的エピゲノムライブラリーを作成し解析した結果、S1pr1 の発現低下とともに、その遺伝子を標的とする micro RNA 223-3p (Mir223)の発現亢進を見いだした。これらの SLE 病態への関与を解析する。【方法】Mir223 knockout lupus-prone mice (*Mir223*$^{-/-}$ *Fas*$^{lpr/lpr}$)を作成し, 44 週齢での表現型の差異を解析した。【結果】S1pr1-3'UTR をサブクローニングした pmirGLO dual luciferase miRNA Target expression vector をトランスフェクションしたヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)でのルシフェラーゼ活性は miR-223-3p mimic によって抑制された。また miR-223-3p mimic

は EL4 mouse T cell line(EL4)の S1pr1 発現を有意に減少させた。さらに、*Mir223*$^{-/-}$*Fas*$^{lpr/lpr}$では、*Mir223*$^{+/+}$*Fas*$^{lpr/lpr}$に比較し、脾臓 CD4+T 細胞の S1pr1 が有意に増加し、その糸球体への浸潤を有意に認め、尿蛋白および糸球体スコアの増悪傾向を認めた。【結論】Mir223 欠損は標的遺伝子である S1pr1 の発現を上昇させ、リンパ球の炎症臓器への浸潤を促進することでループス腎炎を悪化させた。

課題番号：R02 基-052
研究課題：ヘルペスウイルス感染多核巨細胞の検出感度向上を目指した改良型 Tzanck test による皮膚 HSV/VZV 感染症の診断
研究代表者名（所属）：山本　剛伸（皮膚科学）
共同研究者名：青山　裕美
単純ヘルペスウイルス(HSV)、水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)感染症は、表皮水疱内にウイルス感染多核巨細胞や棘融解細胞を認める。これらの細胞を非侵襲的に確認するツァンクテストが診断に用いられる。従来の方法は、水疱底の細胞を顕微鏡で確認するが、感度が低い。このため、感度を上げるために改良型 Tzanck test の確立を試みた。
感染細胞の形態を *in vitro* で確認したところ、高分化ケラチノサイト(表皮有棘細胞層に該当)では、ウイルス感染ケラチノサイトが塊を形成し、多核巨細胞に相当する形態が証明された。一方、低分化ケラチノサイト(表皮基底層に該当)では、ウイルス感染ケラチノサイトは、非感染細胞に接触感染拡大する形態(棘融解細胞に相当)が確認された。
小水疱の水疱蓋側と水疱底(従来法)のケラチノサイトの面積を確認した結果、HSV、VZV 感染症ともに水疱蓋側の細胞が水疱底の細胞より大きいことが証明された。正常多角型ケラチノサイトより大型の細胞の割合をそれぞれ計算したところ、水疱蓋側が水疱底側より多いことが確認された。
ウイルス感染による細胞変性効果として、一目瞭然である多核巨細胞を効果的に検出することが、ツァンクテストの感度を上げるために重要であるが、高分化ケラチノサイトが存在する小水疱の水疱蓋側の細胞をサンプルとして利用することがツァンクテストの感度向上に有用であることが証明された。

課題番号：R02 ス-004
研究課題：ゼブラフィッシュを用いた心疾患の病態解明および治療法開発のための実験系確立
研究代表者名（所属）：臼居　優（生理学１）
共同研究者名：毛利聡・橋本謙・花島章
【背景】日本における心疾患の死亡率は 1990 年代以降増加傾向にあり、心不全の病態解明と新たな治療法の開発は喫緊の課題である。医学研究においてはヒトと同じ哺乳類のマウスをモデルとした実験が一般的であるが、より簡易な実験系を用いて広く生物界で保存されている生体機能を探索し、理解することも重要である。このような背景から我々は硬骨魚類のゼブラフィッシュを用いて、心臓機能を評価する実験系を確立し、心臓の生理学的機能の解析や心疾患の病態解明に取り組んだ。【方法・結果】本年度は、ゼブラフィッシュの飼育設備と遺伝子組換え実験を行う環境を整備し、Tol2 トランスポゾンを利用した遺伝子改変ゼブラフィッシュや CRISPR/Cas9 によるノックアウトゼブラフィッシュを作出した。ゼブラフィッシュの心臓機能を評価するために、心筋細胞特異的に蛍光タンパク質や GCaMP(カルシウム濃度の変化を感知する遺伝子)を発現する遺伝子改変系統を作製した。また拡張型心筋症の主たる原因遺伝子のコネクチンを欠損したゼブラフィッシュを作製し、F0 世代において、浮腫と心臓内腔の拡大を観察した。【結語】本学にてゼブラフィッシュを用いた研究環境を構築し、遺伝子組換えゼブラフィッシュを安定的に作製することができた。遺伝子組換えゼブラフィッシュは短期間で系統化することが可能であり、この利点を活かして今後は心蔵機能の詳細な解析を進めていく。

課題番号：R02 基-044
研究課題：モデル動物と臨床検体の統合的解析による HAM の革新的診断・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：後川 潤、内藤 忠相
【目的】ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型（HTLV-1）関連脊髄症（HTLV-1 associated myelopathy：HAM）は、HTLV-1 感染者のごく一部に発症する慢性炎症性疾患である。約 40%の患者が経過中に歩行不能となる深刻な疾患であるが、その発症予防法・治療法は確立されていない。本研究では、独自に作製した HAM モデルマウスと患者検体との詳細な比較解析により、HAM の診断・治療法の開発に資する新規バイオマーカーの同定を試みた。【方法】先行研究で同定した HTLV-1 の転写制御因子 Tax および HBZ の標的細胞遺伝子から、新規疾患バイオマーカーを探索した。具体的には、HAM モデルマウス、HAM 患者、無症候性キャリアー、非感染健常人の検体を用いて、各種 mRNA 発現の定量（PBMC）、蛋白量・抗体価（血清）の測定を行い比較解析した。【結果・考察】その結果、① HAM の発症と病態への関与が報告されている CXCL10 が HAM マウス血清中でも高値である ② HAM 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 ③ HAM 患者血清中に疾患特異的自己抗体が存在する―ことを示唆する所見を得た。これらの因子は、HAM の病態を反映する新規バイオマーカーまたは治療標的となる可能性がある。

課題番号：R02 基-032
研究課題：全世代に接種可能な新規弱毒生インフルエンザワクチンの開発
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】本邦のインフルエンザワクチンは“不活化スプリットワクチン”のみ承認されており、発症および重症化の阻止効果が高い“弱毒生ワクチン”は承認されておらず国産開発も遅れている。弱毒生ワクチンには、健常者の体温条件（36℃～37℃）では増殖不能となるウイルス特性が必要である。本研究では、我々が新規に単離した低温増殖性に優れた組換えインフルエンザウイルスを用いて、安全性に優れた弱毒生ワクチンの独自開発を目指す。
【方法】先行研究の成果として、ウイルス RNA ポリメラーゼである PB1 蛋白質の Lys471 残基を His に置換することで、37℃では増殖できず 34℃以下でのみ増殖できる低温増殖馴化性ウイルス PB1-K471H 株を単離している。そこで、培養細胞および発育鶏卵を用いて PB1-K471H 株の増殖特性を調べることで、弱毒生ワクチンへの応用の可能性を検討した。
【結果・考察】PB1-K471H 株は、PB1 野生株と同程度の子孫粒子数を産生するが、その粒子中において“非感染性粒子”の存在割合が非常に高いことを明らかにした。さらに、ウイルス共感染実験の結果、PB1-K471H 株は PB1 野生株の複製を阻害する“ウイルス干渉作用”を示した。これらのウイルス性状は、低温増殖馴化性に加えて安全性の高い弱毒生ワクチン開発に活用できる有用な特性であり、今後は動物感染実験によりワクチン効果の検討を行う。

課題番号：R02 基-028
研究課題：治療標的として、SARS-CoV-2 の RNA に結合するホスト由来因子の抽出を目指す研究 開発
研究代表者名（所属）：伊藤 達男（衛生学）
共同研究者名：西村泰光、武井直子、李順姫
目的：CRISPR/dCas13 を用いて、SARS-CoV-2 ゲノム配列に含まれる 5'UTR RNA がヒト細胞内に て果たす機能を明らかにすることを目指した。 方法：⑴SARS-CoV-2 の 5'UTR に融合したルシフェラーゼ RNA を発現するプラスミドをヒト腎 芽細胞株 HEK293T 細胞およびヒト肺上皮細胞株 A549 細胞に導入し、SARS-CoV-2 の 5'UTR の付与によるルシフェラーゼタンパク質の翻訳活性の変化を計測した。⑵ルシフェラー ゼ RNA を標的とした gRNA-dCas13 複合体を上記細胞に発現させて、dCas13 を標的する抗体を用いて RNA 免疫沈降を行い SARS-CoV-2 の 5'UTR と相互作用するヒト細胞 RNA を抽出 した。RNA 抽出液に対して、超精密 RNA 次世代シークエンス解析を行なった。 結果：⑴SARS-CoV-2 の 5'UTR が付与されたルシフェラーゼ RNA は高い翻訳活性を示した。⑵ SARS-CoV-2 の 5'UTR と相互作

用するヒト細胞 RNA では脂質代謝を調節するものが優位に 濃縮されていた。 結論：SARS-CoV-2 の 5'UTR の過剰発現細胞では、メバロン酸経路に関与する因子の発現が変化 した。また、HMG-CoA 還元酵素阻害剤は、SARS-CoV-2 モデルに由来する 5'UTR を介した 翻訳活性を抑制した。

課題番号：R02 基-009
研究課題：珪酸曝露による肺線維化に関連する細胞外基質の検討
研究代表者名（所属）：大槻剛巳（衛生学）
共同研究者名：李　順姫
珪肺症は珪酸曝露による肺線維症を病態とする。肺線維症の発生と進行にはインテグリンやフィブロネクチン、ビトロネクチン、ラミニン、コラーゲンなどの細胞外マトリックス関連分子はすべて重要な役割を果たすことが知られている。インテグリンファミリーのリガンドの新しいメンバーである血清ネフロネクチンに着目した。珪肺症例血清中の測定について、福山大学・今 教授が方法を樹立、その他珪肺症の症例の肺線維化の指標との関連を統計学的に明らかにすることを目的とした（倫理承認 2719)。20 人の珪肺症患者（年齢：74.9±5.4、M19 人・F1 人、備前市、耐火煉瓦工場過去従業員）と 19 人の健康なボランティア（44.8±8.6 歳、M9 人・F10 人）で検討。症例は国際労働局 2011 改訂ガイドラインに従ってじん肺と診断。また、硬化性皮膚、レイノー現象、顔面紅斑、または関節痛などの自己免疫疾患の臨床症状はなし。血清ネフロネクチンは、珪肺症で有意に高値。血清ネフロネクチンは、一秒率、血清 MCP-1 および MIP-1α と正の相関を示した。重回帰分析を使用して、サイトカインや臨床パラメーターから「予測ネフロネクチ= 17.340 − 0.052×%FEV1 + 0.044×MIP-1α−0.129×TNF-α」で示された。 実測値と計算された予測値は強い正の有意な相関を示した。 ネフロネクチンは珪肺症の線維化の指標になると共に、いくつかの肺における免疫因子との関連が想定された。

課題番号：R02 基-015
研究課題：ヒアルロン酸を用いた新規舌下免疫療法の開発
研究代表者名（所属）：加藤茂樹（呼吸器内科学）
共同研究者名：田中　仁美
（目的）これまでダニ誘発マウス慢性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）の作用増強剤としての有効性を証明し、国際特許を出願した（WO 2019/189676 AI)。今回は、適応疾患の追加を目的にマウスアレルギー性鼻炎モデルにおける（HA）の SLIT における有効性を検討した。
（方法）BALB/c マウスにブタクサ花粉を Alum と混合し day1,day8 に腹腔内投与し、全身感作を行い、day15-18 にブタクサ花粉を経鼻投与し急性アレルギー性鼻炎モデルを作成する。2 週間 SLIT を行い、鼻再チャレンジ後に治療効果の判定を行う。SLIT の内容は、PBS,ブタクサ花粉,ブタクサ花粉＋HA とした。 治療効果は、SLIT 前後における鼻かき、くしゃみの回数及び鼻腔洗浄液中の好酸球数の変化で判定する。
（結果）鼻かき、くしゃみの回数は、ブタクサ花粉単独の SLIT では変化は認めなかったが、HA を加えることで、鼻かき及びくしゃみの回数が有意に減少した。鼻腔洗浄液中の好酸球数は、ブタクサ花粉単独の SLIT に比べて HA を加えることで有意に減少した。
（考察）HA を作用増強剤として用いる新規 SLIT は、気管支喘息だけでなくアレルギー性鼻炎にも有効であることが推測された。さらに、アレルゲンに関しては、ダニ以外のアレルゲンに関しても有効である可能性が示唆された。

課題番号：R02 基-026
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・内分泌内科学）
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、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、糖毒性で低下する MafA や PDX-1 発現を直接増加させる薬剤を網羅的に検索しており、既にいくつかの薬剤を同定している。膵β細胞株にて MafA や PDX-1 の発現を増加させた薬剤に関しては、単離膵島にても同じ結果が得られている。さらに、（糖毒性のために MafA や PDX-1 発現が低下している）２型糖尿病モデルマウスから単離した膵島においても同じ結果が得られている。

課題番号：R02 基-074
研究課題：サルコペニアに対する病態修飾薬の開発
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、白河俊一
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とした（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。2020 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。マウス骨格筋のマイオスタチン活性亢進は軽減し筋萎縮は改善した。この結果を踏まえ、2021 年度はマイオスタチン/TGF-β を標的とした新規医薬品開発に取り組みたい。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：R02 基-073
研究課題：微量血液検体による心疾患・筋疾患の簡易迅速診断法の確立
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、白河俊一
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・JST 支援により権利化した（国際公開番号：WO2017/094837）。本研究は、これをシーズとして、この蛋白質の ELISA 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、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、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、③免疫組織染色で染色性を確認、④抗体を組み合わせ、標準蛋白質を対象とした ELISA 定量系を構築、⑤定量キットの血液干渉を防止する条件を設定した。現在実施している、臨床血液検体を用いた ELISA 定量により、診断有用性を検証して、将来の臨床性能試験の実施を目指したい。

課題番号：R02 基-075
研究課題：MELAS に対する疾患特異的末梢血バイオマーカーの開発
研究代表者名（所属）：宗兼　麻美（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、①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、②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て脳卒中様発作の再発防止されることを証明し（Ohsawa, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 90(5):529-536, 2019)、医師主導治験を経て 2019 年 2 月にタウリンの国内薬事承認を得た（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、MELAS 患者では、Protein Y が血中に出現することを見出した。本研究は、この Protein Y の血中出現を裏付ける分子機構を解明し、血清 Protein Y 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を目指す。2020 年度は、MELAS モデル細胞の培養により、Protein Y が、培養上清中にも出現することを発見した。また、Protein Y のリコンビナント蛋白質を作成して、これを標準蛋白質として ELISA 定量測定系の構築に取り組んだ。疾患特異的末梢血バイオマーカーとなり得るのか、患者血清の測定による検証を予定している。

課題番号：R01 基-077
研究課題：婦人科がんのヌードマウス PDOX 系とがん組織凍結バンクの確立
－難治性がんの個別化治療への臨床応用を目指して
研究代表者名（所属）：村田卓也（産婦人科学 2）
共同研究者名：下屋浩一郎
【背景】患者由来がんの免疫不全マウスへの移植は投与前抗がん剤感受性試験の系として有望である。しかし、固形癌においてすべての個々のがんで移植系を確立することはいまだできておらず基礎研究の集積が必要である。今回、婦人科がんおよび乳がんのヌードマウス皮下移植系の確立と凍結保存したがん組織のヌードマウス皮下移植を行なったので報告する。
【方法】婦人科がんおよび乳がんの患者由来がんをヌードマウスの皮下に移植し、がんの生着の有無を解析した。また、生着したがん組織を 2mm 角に切断し、細胞組織凍結液を用いた凍結保存を行なった。さらにそのうちの 3 例についてヌードマウスの皮下に移植し生着の有無を観察した。
【結果】患者由来がん 47 例をヌードマウス皮下へ移植した。そのうち、27 例についてがん組織の生着を観察した（57%)。このうち 10 例について移植がん組織を凍結保存し、3 例を解凍してヌードマウス皮下に移植した結果、1 例が生着した。
【考察】患者がんのヌードマウス皮下移植は、直近の 10 例では 80%もの高い生着率であった。これをさらに 100%に近づけるようにすることが必要である。生着においては血管新生が重要であると考えられ、VEGF や PDGF などの血管新生因子の投与による効果を解析することが必要であると考えられる。また、このことは、凍結保存したがん組織の生着にも応用できると考えられた。

課題番号：29 基-091
研究課題：がん関連線維芽細胞に着目したがん細胞のリンパ節転移解析
—新たな転移メカニズムの解明をめざして
研究代表者名（所属）：村田卓也（産婦人科学 2）
共同研究者名：中村隆文　　下屋浩一郎
【目的】子宮頸がんの患者由来がん組織から樹立したがん関連線維芽細胞 CCF-1 は、子宮頸がん細胞 ME180 株と共にヌードマウスの皮下に移植すると、がん細胞 ME180 がリンパ節に転移した。しかし、ME180 のみをヌードマウスの皮下に移植してもリンパ節転移は起こらなかった。また、CCF-1 細胞を不死化した細胞でも、CCF-1 で見られたようなリンパ節転移は起こらなかった。そこで、CCF-1 細胞が示した転移現象のメカニズムを解明するために、がん関連線維芽細胞 CCF-1 と不死化 CCF-1 の 2 種類の細胞について、がん細胞との共培養条件下と単独培養条件下での網羅的遺伝子発現解析を行なった。
【方法】CCF-1 細胞に hTERT 遺伝子と SV40 large T 抗原遺伝子を発現させ、不死化 CCF-1 細胞である CCF-TT 細胞を作製した。ME180 と共培養した CCF-1、単独培養の CCF-1、ME180 と共培養した CCF-

TT、単独培養した CCF-TT の 4 通りについて Affymetrix 社製の網羅的遺伝子発現解析を行ない比較解析した。
【結果】転移に関与すると考えられた膜タンパク質において、TM4SF1, TMEM132b の発現が上昇していた。TM4SF1 は子宮頸がん組織においてがん細胞と間質の線維芽細胞の両方において発現が認められたが、TMEM132b ではがん組織の線維芽細胞にのみ発現が認められた。
【考察】膜タンパク質は細胞表面で直接他の細胞と相互作用するため、転移に直接関係することが予想され、転移阻害の分子標的となることが示唆された。

課題番号：R01 基-070
研究課題：MR 流体を膝継手に搭載した装着型歩行訓練用ロボットの開発と有効性の検証
研究代表者名（所属）：山本 五弥子（リハビリテーション医学）
共同研究者名：花山 耕三、金丸 詩門、西谷 春彦、佐藤 智史、安永 雅
脳卒中による重度片麻痺患者は、麻痺側下肢の支持性が低いため、歩行訓練時に長下肢装具を装着する必要がある。長下肢装具の膝継手を固定することで、歩行時の膝折れを防止することができるが、下肢の振り出しが困難になること、歩行立脚期に重心の上下移動が大きくなりエネルギー消費量が増えること、歩容が悪くなる等の問題がある。これらの問題点を解消するために、歩行周期に応じて適切に膝継手を制動、遊動することができる装具の開発を進めた。橋本義肢製作（株）との共同研究によって、長下肢装具の膝継手に、磁性流体(magneto-rheological:MR)ブレーキを搭載した、Robotic MR-KAFO の試作機を作製した。膝継手の制動力は、歩行周期に応じて足底のスイッチで切り替えられ、同時に膝継手と足継手の角度変化をはじめとする歩行解析を行えるシステムを組み込んだ。制動力の設定と歩行解析システムは、Bluetooth を用いて Robotic MR-KAFO 本体とパソコンとの間で交信できるようにした。
【症例】34 歳男性、右被殻出血、重度左片麻痺（BRS Ⅱ）のある患者に対して、Robotic MR-KAFO を使用した。膝継手の制動力を変更し、その都度歩行時の膝関節角度や歩容を確認した。制動力は 8 段階中 3 の強さで設定すると、立脚期の膝折れを防止しながら自然な膝屈曲運動が可能となり、通常の長下肢装具と比較して歩行速度や歩幅の改善を認めた。今後は、多くの症例に対して Robotic MR-KAFO を継続的に使用し、その有効性を確認していく必要があると考えている。

課題番号：R02 基-002
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、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、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、肝癌モデルを用いて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。その作用機序として、①乳酸低下による T 細胞からの IFNγ産生を介した JAK-STAT1 系活性化、もしくは ②AMPK 活性亢進を介したヒストンメチル化酵素 enhancer of zeste homolog 2(EZH2)リン酸化による Histone H3 lysine 27 トリメチル化抑制（H3K27me3）による CXCL9,10 転写活性の亢進が考えられた。
【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る。

課題番号：R02 基-010
研究課題：ROCK 阻害薬による角膜内皮疾患治療法の開発
研究代表者名（所属）：藤本　久貴（眼科学１）
本研究中、ROCK 阻害薬であるリパスジル点眼が、角膜内皮疾患に著効する可能性を見出し、複数の成果報告に結び付くに至った。
角膜内皮移植術後早期の接着不良移植片が、リパスジル点眼開始 36 時間後に自然接着した症例を報告した（臨床眼科学会 2020）。次いで白内障手術時操作により全体の 70%のデスメ膜および角膜内皮細胞が除去された水疱性角膜症が、３か月間のリパスジル点眼使用で透明化した症例を報告した（手術学会 2021）。急性期の内皮損傷に対して特に有効と考えられたため、検討を進めた。
結果は肯定的であり、角膜内皮密度 1500/mm² 以下の内皮減少眼の白内障手術において、術後リパスジル点眼を使用することにより、中心部角膜内皮密度の減少はゼロ％に抑制された。さらに術後 7 日目の角膜浮腫はほぼ全く生じないことを示した（JSCRS2020、臨床眼科学会 2020、Fujimoto H. et al, Translational Vision Science & Technology. 2021）。
さらに慢性期の角膜内皮障害についても検討を進めた。その結果、フックス角膜内皮ジストロフィ(FECD)、レーザー虹彩切開術(LI)後の水疱性角膜症について、リパスジル点眼のみの使用にて視力改善および実質浮腫の改善が得られることを示した（ARVO2020、角膜カンファランス 2020）。
以上の知見は角膜疾患に対する新たなモダリティの治療法を示唆するものである。特にリパスジル点眼は緑内障点眼として安全性が確立されており、既存薬転用の優位性を持つため今後角膜疾患への応用が期待される。

課題番号：R02 基-008
研究課題：人工知能を活用した治療支援システムの開発
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
[目的]患者の腎機能や生命の予後予測は、高リスク患者のスクリーニングや治療法の選択において有効であるが、臨床現場では瞬時に判断しなくてはならず非常に困難である。近年 AI・ICT 技術の急速な発展により医療データの活用が現実化した。そこで最新の AI 技術を活用して、慢性腎臓病(CKD)患者の腎・生命予後を予測するアルゴリズムを構築した。
[方法]電子カルテの経時データ(n=3,714)を 2 分割し開発用と検証用とした。Random forest (RF)、Gradient boosting、eXtreme gradient boosting、support vector machine を基盤とする複数の機械学習モデルを作成した。プライマリーアウトカムを透析導入ないし死亡とし、臨床で使用される特徴量から予後を予測しするようアルゴリズムを作成した。開発用のデータで機械学習モデルを作成し、予測精度の高いモデルを選択した。次に、検証用データを用いて精度を確認した。
[結果]日常診療で用いられている 45 の背景因子や検査値のデータを用いて 20 の機械学習モデルを作成した。経時データを用いた RF がもっとも高い精度を示し、臨床指標よりも優れていた; C-statistics 0.924 (95% CI 0.895, 0.953)。このモデルは、糸球体濾過率、原疾患、年齢に基づいたサブグループ解析でも同様な精度の高さを示した。また、スプライン Cox 比例ハザードモデルは、モデルによる予測確率と高リスクの関係を示した(p<0.0001)。
[結論]本研究によって臨床で使用されているデータを活用することにより、既存の予後予測指標よりも精度が高い機械学習モデルが構築されることが示された。

課題番号：R02 大-002
研究課題：IL-33 誘導性好酸球性気道炎症モデルマウスにおける IL-5 の役割
研究代表者名（所属）：田中　仁美（川崎医科大学　呼吸器内科学）

共同研究者名：小賀　徹、加藤　茂樹
【背景】IL-33 は気道が障害されることにより気道上皮細胞から放出されるサイトカインであり、細胞膜上にある IL-33 受容体に結合し Th2 細胞や ILC2 を活性化して IL-5 および IL-13 の産生を誘導する。IL-5 は好酸球性炎症発現のすべての段階に直接的に作用し、好酸球性気道炎症の病態形成に深く関わっていることが示唆されている。【目的】IL-33 によって抗原非特異的な ILC2 を介した経路における IL-5 により誘導、活性化された好酸球の喘息病態形成における役割を明らかにし、好酸球をターゲットとした喘息治療の重要性に関してマウスモデルを用いて基礎的に検証する。【方法】C57BL/6 野生型マウスおよび IL-5 受容体 α 鎖欠損（IL-5Rα KO）マウスに IL-33 を 3 日間経鼻的に投与し、好酸球性気道炎症マウスモデルを作成する。IL-33 最終投与の 24 時間後に気道過敏性、気道炎症、および組織学的な検討を行う。【結果】IL-33 投与により気管支肺胞洗浄液（BALF）中の好酸球数および IL-5、IL-13 の有意な増加と、気道過敏性の亢進を認めた。IL-5Rα KO マウスでは WT マウスと比較して好酸球増加及び気道過敏性亢進の程度は弱かったが、IL-5、IL-13 は有意に高値であった。また、IL-5Rα KO マウスでは WT マウスと比較して ILC2 の有意な増加を認めた。一方 WT マウスで inflammatory eosinophils および resident eosinophils の有意な増加を認め、好酸球顆粒蛋白である EDN の増加を認めた。【結論】IL-5 により誘導された好酸球が気道過敏性の亢進に重要であり、Type2 炎症の抑制に関与している可能性が示唆された。

課題番号：R02 大-006
研究課題：糖尿病性腎臓病における SGLT2 阻害薬による糸球体過剰濾過抑制機構の解明
研究代表者名（所属）：和田　佳久（組織培養・免疫学分野　分子血管・血圧制御学）
共同研究者名：柏原　直樹
【背景】1 型糖尿病(DM)マウスを用いた検討で、糸球体尿細管フィードバック(TGF)におけるアデノシン / アデノシン 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我々は見出した。1 型と 2 型 DM での糸球体過剰濾過の成因、SGLT2 阻害薬(SGLT2i)によるその抑制効果は異なることが示唆されているが詳細は不明である。2 型 DM 動物を用い SGLT2i による糸球体血行動態への影響を解明した。
【方法】2 型 DM モデルである Zucker Diabetic Fatty rat(ZDF)を使用した。SGLT2i 群、SGLT2i＋A1aR 拮抗薬群、Insulin 群を作成し、SNGFR と糸球体輸入細動脈(AA)・輸出性細動脈(EA)径、血糖、尿中 Glu、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、SGLT2i は AA の過拡張を是正し糸球体過剰濾過を抑制した。A1aR 拮抗薬により SGLT2i の過剰濾過抑制作用は消失したことから、アデノシン / A1aR 経路が、重要な TGF シグナリングと考えられた。尿中 Glu と Na 排泄は、SGLT2i および SGLT2i+A1aR 拮抗薬群で差は見られなかった。
【考察】TGF におけるアデノシン/ A1aR 経路は、2 型 DM における糸球体過剰濾過の成因、SGLT2 阻害による糸球体過濾過抑制に関与している。

課題番号：R02 大-007
研究課題：糖尿病性腎臓病における SGLT2 阻害薬の eNOS uncoupling 是正を介した糸球体内皮機能改善の検討
研究代表者名（所属）：近藤　恵（組織培養・免疫学分野　分子血管・血圧制御学）
共同研究者名：柏原　直樹
【背景・目的】糖尿病合併症としての細小血管症の発症・進展には、血管内皮機能障害が基盤病態を形成している。我々は、糖尿病マウスを用い、内皮 nitric oxide synthesis (eNOS) の補酵素である BH4 減少に伴う eNOS 機能異常(eNOS uncoupling)が、糸球体内酸化ストレスを増加させ、アルブミン尿の発症と関連することを報告している。2 型糖尿病モデルマウスにおける SGLT2i による内皮機能改善効果を検証した。

【方法】6 週齢の雄性 db/db マウスを用いた。Canagliflozin (CANA;10mg/kg) を 8 週間投与し、糸球体過剰濾過、血漿および腎内の BH4 レベル、eNOS dimer/monomer 比、糸球体内の ROS/NO 産生量を評価した。
【結果】db/db+vehicle 群（Vehi 群）では、糸球体過剰濾過やアルブミン尿増加、血清・腎組織内 BH4 濃度の低下、eNOS dimer/monomer 比の低下、糸球体内 ROS/NO 不均衡を認めたが、CANA によりその変化は軽減された。CANA 群では糸球体 glycocalyx は保持され、糸球体アルブミン漏出が減少した。
【結語】CANA は糖尿病における糸球体内皮機能を改善し、その機序として血糖の低下や糸球体過剰濾過の軽減が関与していることが示唆された。

課題番号：R02 大-003
研究課題：DPP-4 阻害薬および SGLT2 阻害薬を併用した際の膵β細胞保護効果に関する研究
研究代表者名（所属）：伏見　佳朗（分子代謝内分泌学）
共同研究者名：金藤　秀明
DPP-4 阻害薬および SGLT2 阻害薬は異なる作用で血糖降下作用を有し、合剤化に伴い今後更なる臨床現場での活躍が期待されるが、DPP-4 阻害薬および SGLT2 阻害薬の併用による膵β細胞保護効果を検討した報告や、膵β細胞保護効果が病態早期・進行期において差異があるかどうかについて検討した報告はない。
今回我々は、DPP-4 阻害薬および SGLT2 阻害薬の単剤および併用による膵β細胞保護効果の違い、並びに、病期による効果の差異を詳細に解明することを目的とした。
BKS.Cg-+Lepr^{db}/Jcl（db/db）マウス雄性を早期介入群(7 週齢)、進行期介入群(16 週齢)に分別し、Linagliptin(Lina 群)、Empagliflozin(Empa 群)、Linagliptin + Empagliflozin の混合薬剤(L+E 群)、0.5% Carboxymethylcellulose(Cont 群)の 4 群に割り当て、それぞれ 2 週間の経口投与を行った。介入前後で各種代謝パラメーターの測定、介入 1 週間後に Oral Glucose Tolerance Test(OGTT)を施行した。介入後解剖を行い、膵臓を摘出し各種染色を行った。また、単離膵島を用いて Glucose-Stimulated Insulin Secresion(GSIS)を施行し、real time PCR 法にて各種 mRMA 発現を観察した。
早期・進行期ともに、Empa 群・L+E 群で有意に血糖値が低下し、早期 L+E 群のみβ細胞量、Ki-67 陽性ββ細胞比、インスリン転写因子およびβ細胞分化増殖因子の発現が有意に増加した。これらの変化は進行期群では指摘出来なかった。
DPP-4 阻害薬および SGLT2 阻害薬の併用は、病態早期の肥満 2 型糖尿病モデルマウスの血糖値を有意に低下し、インスリン生合成およびβ細胞分化・増殖因子の発現を増加することで、2 週間の短期投与でも膵β細胞保護効果を有することが示唆された。

課題番号：R02 大-004
研究課題：GLP-1 受容体作動薬 Dulaglutide による抗動脈硬化作用の機序解明
研究代表者名（所属）：真田淳平（生化学系分野　分子代謝内分泌学）
共同研究者名：金藤秀明
【背景・目的】Dulaglutide（Dula）は REWIND 試験で大血管イベントの抑制効果が報告されたが、基礎研究で抗動脈硬化作用の報告はない。糖尿病早期と進行期の間で抗動脈硬化作用に差が出るのか、非糖尿病状態における血管内皮への効果を検討した。
【方法】アポ E 欠損マウスに 10～18 週齢まで Dula または PBS を投与し大動脈弓プラーク、大動脈 Root 免疫染色及び大動脈 mRNA 発現を評価した。ストレプトゾシンで高血糖を誘発、早期介入（10～18 週齢）、進行期介入（18～26 週齢）での効果の差を検討した。
【結果】プラーク面積は Dula により非糖尿病状態で抑制傾向、高血糖誘発マウスでは早期・進行期ともに進展を有意に抑制した。Root 部分の免疫染色は早期で Dula により CD68・Mac-2 陽性面積が有意に減少した。mRNA 発現は、GLP-1 受容体が早期の Dula 群で非糖尿病群と同程度の発現量を維持、Control 群は発現量が有意に低下した。進行期では両群ともに非糖尿病状態と比較し大きく低下していた。炎症性サイトカ

イン・マクロファージマーカーは Dula 投与により早期・非糖尿病状態において有意に発現が低下もしくは低下傾向を示した。これらの変化は進行期では見られなかった。
【結論】Dula は抗動脈硬化作用を有し、血糖非依存的に炎症性サイトカイン、マクロファージマーカーの発現を低下させた。

課題番号：R02 大-009
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）：松本　桂子（周産期・生殖・腫瘍免疫学）
共同研究者名：下屋　浩一郎
目的：卵胞液中のサイトカインを網羅的に解析し指標となるマーカーを検討し、さらにそのマーカーにおいて胚盤胞に至ったか、至っていないかで卵子の質のマーカーとなり得る物質を検証する。
方法：＜Study①＞サイトカインの検討に際して、女性因子を除いた男性因子と原因不明因子の中で胚盤胞に至ったもの（GradeAA or GradeAA 以外）と未胚盤胞症例を選択し、卵胞液の網羅的サイトカイン・ケモカイン解析を行った。
＜Study②＞サイトカインの網羅的解析後に無作為に選択された 140 症例の血清・卵胞液を用いて IL-4・IL-7・IL-1ra について ELISA 法を用いて吸光度を測定することで定量検査を行った。
結果：＜Study①＞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。
＜Study②＞血清での IL-4・IL-17・IL-1ra と胚盤胞に至ったものと未胚盤胞との比較においては IL-17 で有意差を認めた。（$p<0.05$）肺胞液での IL-4・IL-17・IL-1ra と胚盤胞に至ったものと未胚盤胞との比較においては有意差を認めなかった。また、IL-4・IL-17・IL-1ra と胚盤胞の Grade 別での 3 群間 （GradeAA or AA 以外 or 未胚盤胞）の比較でも同様に血清 IL-17 おいて有意差を認め（$P<0.05$） 、群間比較では GradeAA 以外と未胚盤胞との間に有意差を認めた（$P<0.05$）。
結論：胚盤胞・未胚盤胞との 2 群間において、卵胞液では明らかな有意差は認めなかったが、血清においては IL-17A で有意差を認めた。今後は血清の IL-17A がさらなる評価法として検討されるべきであると考える。

課題番号：R02 大-008
研究課題：全身性エリテマトーデスの病態における SH3BP2 の役割の解明
研究代表者名（所属）：河原　恭子（組織培養・免疫系分野　リウマチ分子病態解析学）
【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 週齢時に脾腫大と腎病変を評価し、自己抗体価の測定と脾臓リンパ球をフローサイトメトリーで解析した。また、細胞特異的な SH3BP2 の役割を検討するため B 細胞特異的 SH3BP2 欠失マウスの解析と in vitro で T 細胞、樹状細胞とマクロファージを解析した。
【結果】SH3BP2 欠失により脾腫大、腎病変、自己抗体上昇、脾臓 $CD3^{+}B220^{+}CD4^{-}CD8^{-}$T cell の割合など SLE 様病変を有意に減少させた。しかし B 細胞特異的 SH3BP2 欠失マウスでは減少が見られず、また in vitro での T 細胞とマクロファージの特性にも影響を与えなかった。驚くべきことに、SH3BP2 欠失は in vitro で骨髄由来樹状細胞の分化を抑制し、また脾臓における樹状細胞の数を減少させた。
【結論】SH3BP2 欠失は、Fas^{lpr} マウスにおける SLE 様病変を改善させた。今後、SH3BP2 を標的とした自己免疫性疾患の治療戦略も可能になると考える。

課題番号：R02 大-001
研究課題：低用量アスピリンによる消化管粘膜傷害関連因子の検討

研究代表者名（所属）：半田有紀子（消化管病態学）
【目的】これまでに低用量アスピリン（LDA）による消化性潰瘍および上部消化管出血と関連する臨床背景因子や遺伝子多型の検討を行ってきた。さらに薬物代謝・トランスポーター遺伝子解析用マイクロアレイ（DMET plus）を使用し、網羅的 SNP 解析により CYP4F11 の関連性を報告した（PLoS One.2013 18;8:e84244)。今回 LDA 内服患者における小腸出血関連因子について、症例を追加し検討した。【対象および方法】カプセル内視鏡検査を行い小腸粘膜傷害による小腸出血が疑われた長期 LDA 内服患者を小腸出血群とし、長期 LDA 内服患者で消化管出血歴がなく、内視鏡検査で消化性潰瘍を認めない患者を対照群とした。臨床背景因子との関連性と、網羅的 SNP 解析により有意な関連性が得られた 4 SNPs について DNA ダイレクトシークエンス法により検討した。【結果】対象は小腸出血群 56 例と対照群 410 例。小腸出血と有意な関連性が認められたのは、喫煙、脳血管疾患、慢性腎不全、抗凝固薬併用、NSAIDs 併用、CYP4F11 20043G＞A(D446N) rs1060463、GSTP1 313A＞G rs1695 であった。PPI との関連性は認めなった。さらに傾向スコアマッチング解析を行った結果、GSTP1 313A＞G rs1695 が有意に関連した。【結論】GSTP1 SNP は小腸出血の予測マーカーとなる可能性が示唆された。

課題番号：R02 大-005
研究課題：炎症性腸疾患と腸内微生物との関連に関する検討
研究代表者名（所属）：福嶋真弥（形態系分野　消化管病態学）
共同研究者名：塩谷昭子、半田有紀子、大澤元保、村尾高久、半田修、松本啓志、梅垣英次
背景：消化管内細胞叢は、管腔内だけでなく消化管粘膜上皮・粘液層にも存在する。朝刊粘膜に局在する粘膜関連細胞叢（MAM）は腸管免疫に直接関わり、宿主との相互作用に重要な役割を果たしている。目的：クローン病（CD）の腸内細胞叢の多様性と特徴および、抗 TNF-α抗体が腸内細胞叢に与える影響を検討した。方法：対象は大腸内視鏡検査を施行した CD 患者および健常対照者。2L の PEG を用いた前処置を行い、大腸内視鏡検査を行った。内視鏡下にブラシを用いて回腸粘膜の粘液を採取した。各サンプルから DNA を回収し、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。結果：対象は CD 患者 18 例（平均年齢 46.9 歳、男性：女性＝12：6)、健常者 13 例（平均 55.8 歳、男性：女性＝5：8)。 CD 群のうち抗 TNF-α抗体投与者は 10 例であった。CD 群は健常群と比べα-多様性が低下していた。属レベルでの細菌構成比の検討では、CD 群は健常群と比べ *Coprococcus*、*Roseburia*、*Oscillospira*、*Ruminococcus* が有意に減少していた。CD 群において、抗 TNF-α抗体投与群と非投与群でα多様性に有意な差はなかった。両群間の属レベルでの細菌構成比の検討では、抗 TNF-α抗体投与群と非投与群と比べ *Bacteroides*、*Parabacteroides*、*Eubacterium*、*Oscillospira* が減少していた。
結論： CD 患者の MAM では健常者と比較して多様性が低下し、特に抗炎症作用を有する細菌,
特に酪酸産生菌が減少し、MAM の CD 病態形成への関与が示唆された。

課題番号：優秀賞
演題名：漏斗胸患者における吊り上げ法による胸郭形態矯正効果に関する研究
研究者名：石橋　美南子
指導教員名：曹　英樹　吉田　篤史　久山　寿子
〈背景・目的〉現在漏斗胸の治療は Nuss 法が標準術式であるが、低年齢施行での術後合併症があり、当科では新たな術式として陥凹した胸郭外に金属バーを入れて、最陥凹部の胸骨と肋軟骨を吊り上げる方法（以下吊り上げ法）を開発したので、本法の治療効果について評価する。〈方法〉2017 年 7 月~2020 年 6 月に吊り上げ法を施行したのは 40 例（男 30 例、女 10 例）で、手術時年齢 8.6±3.9 歳（4 歳~24 歳未満）であった。3 歳ごとに症例の年齢分布を調査すると 6 歳~9 歳未満の群が多かったので、2014 年 7 月~2017 年 6 月の Nuss 法適応児（Nuss 法群）と 2017 年 7 月~2020 年 3 月の吊り上げ法適応児（吊り上げ法群）を比較した。Nuss 法群は 23 例（男 15 例、女 8 例)、手術時年齢 7.8±0.5 歳で、吊り上げ法群は 22 例（男 16 例、女 6 例)、手術時年齢 6.7±0.8 歳であった。評価指標として術前と術後に撮影した胸部単純レントゲン画像から

計測した、Vertebral Index（VI）を用いた。〈結果〉術前 VI は、Nuss 法群が 31.8±9.3、吊り上げ法群が 31.0±8.8 であったのが、術後 VI は Nuss 法群が 22.1±3.1、吊り上げ法群が 23.7±2.9 と両術式で正常値 VI 20.1±1.7 に近づいていた。Nuss 法群と吊り上げ法群の術前同士、術後同士の VI をそれぞれ比較すると、いずれも有意差は認められなかった。（術前 p＝0.910、術後 p＝0.073）〈考察〉吊り上げ法も Nuss 法と同様に漏斗胸手術として効果があり、低年齢での漏斗胸に対する有効な術式であると考えた。
（承認番号 5037-00）

課題番号：優秀賞
演題名：インフルエンザワクチン開発に資する基盤研究
研究者名：髭内　大成
指導教員名：齊藤　峰輝　内藤　忠相
特許等に関わる恐れがあるため未掲載

課題番号：優秀賞
演題名：医療情報における「やさしい日本語」に関する調査
研究者名：山田　望
指導教員名：橋本　美香
【背景と目的】
　近年、「やさしい日本語」の普及が急速に進んでいる。文化庁の作成した「在留支援のためのやさしい日本語ガイドライン」によると、「日常生活に困らない言語」とした外国人は約 63%であった。「希望する情報発信言語」として「やさしい日本語」を選んだ外国人は 76%であった。このため、「やさしい日本語」による情報提供を行うことが有効であると推測される。しかし、実際に在留外国人が日本語によって、どれだけ情報を正確に得ることができているのかは不明である。そのため、やさしい日本語による表記が実際に的確にできているかどうかについて、日本語学の見地から調査することを目的とした。
【調査方法】
　行政機関が発信している文書を、日本語語彙分析ソフト J-LEX を用いて解析し、語彙の難易度の調査を行った。
【結果】
　初級レベルの単語(使用頻度 1～1285 位)は 60%程度、中級の単語(同 1286～8000 位)は 20%から 30%後半、上級の単語(同 8001 位以上)は３～10%の割合で分布していた。特に、「動悸」、「麻酔」など医学系の単語は中級レベル以上が多かった。
【考察】
　医学系の単語は一般的に言われている「やさしい日本語」への言い換えのルールに則っただけでは言い換えるのが難しいということが明らかになった。医療に関する情報を外国人が十分に理解するにために、医学系の単語についてどのような方法が効果的であるかを検討することが今後の課題である。

課題番号：優秀賞
演題名：マイクロサージャリートレーニング
研究者名：山本　武瑠
指導教員名：新井　理恵　長谷川　健二郎
【目的】川崎医科大学マイクロサージャリートレーニングプログラムに参加したので報告する。
【方法】
Stage1~5 に分けられたプログラムに準じてトレーニングをすすめる。
Stage1:人工物（手袋）を用い、マイクロ下での基本的な操作に慣れる。外反させる。Pitch や bite をそろえる。

Stage2:鶏肉の手羽元を用い実際の血管（1.5 ㎜前後）の吻合連絡をする。血管剥離の練習を行う。
Stage3:ラットの扱い方と麻酔方法などを学ぶ。雄のラットを用いた大腿動静脈（1.0 ㎜前後）の吻合を練習する。この Stage では、鶏肉の血管よりも細い血管の吻合練習を行う。吻合ミスによる出血、血栓形成を経験し、実際の生きた動物の血管吻合を取得する。
Stage4:大腿動静脈（1.0 ㎜前後）の吻合による皮弁の生着を目的とする。
Stage5:スーパーマイクロサージャリーと呼ばれ、さらに血管径の細いラットの浅下腹壁動静脈（0.3~0.5 ㎜）の吻合による皮弁の生着を目的とする。
【結果】今回、研究期間中に Stage2 までクリアすることが出来た。
【考察】マイクロサージャリーのトレーニングには、貝割れ大根・シリコンチューブ・ラットなどを用いた方法が報告されている。川崎医科大学マイクロサージャリートレーニングプログラムは Stage を設定し、効率よくマイクロテクニックが習得できるプログラムだと考えられる。
【動物実験委員会】承認番号 20-093

課題番号：優秀賞
演題名：先天性風疹症候群をなくすためには？～我が国からの風疹を排除することは可能か～
研究者名：吉田　裕里加
指導教員名：宮田　一平
先天性風疹症候群(CRS)は妊娠初期の母体の風疹感染により生じる病態である。CRS は、先天性心血管奇形・白内障・難聴の古典的三徴のほか、発育発達遅滞などをきたし、児に生涯にわたって影響を与える。我が国では数年ごとに風疹の流行があり、それに伴い CRS も発生している。CRS は感染症法で定められた全例届出疾患であり、風疹流行のあった 2003、2013、2018 年に、それぞれ 10、45、5 件の CRS の発生が報告されている。2018 年からの流行は現在も継続している。CRS の発生をなくすことが出来ないのか、このために何をすべきであるのかを文献調査し、考察した。

妊婦の風疹感染を防ぐためには、社会全体での風疹の流行を防ぐことが必要である。そこで、日本からの風疹の排除が可能であるのかを調査した。その結果、風疹の排除に成功した国の存在、我が国における風疹流行の特徴などを知った。これらの結果から、国内でのワクチン接種率の向上と、国外からの風疹ウイルスの流入を断つ必要があると考えた。

課題番号：優秀賞
演題名：次世代シークエンサーを用いた遺伝子解析技術を学ぶ
研究者名：藏野　裕太
指導教員名：大槻　剛巳　西村　泰光　武井　直子　李　順姫　伊藤　達男
【背景】現在、世界規模で新型コロナウイルス感染による深刻な健康障害（COVID-19）、に対して速やかな研究開発が必要な状況にある。感染拡大への対応として、SARS-CoV2 の RNA 配列に対して、ワクチン開発が行われ、異例の速さで社会実装が進んでおり、次に進めるべき研究開発として、ウイルス粒子の産生を抑制するような抗ウイルス薬の開発が期待されている。
【目的】SARS-CoV2 の翻訳メカニズムの理解：SARS-CoV2 の非翻訳領域が融合したタンパク RNA からの翻訳活性の変化を検証し、更にドラッグリポジションでの治療薬候補を探索する。
【方法】
･SARS-CoV2 非翻訳領域とルシフェラーゼタンパクを発現する遺伝子融合体を導入した 2 種類のヒト細胞株において、ルシフェラーゼタンパク質の翻訳効率の変化を確認した。
･上記実験系にて、薬剤によるルシフェラーゼタンパクの発現量の変化を比較検討した。
【結果】
･一部の脂質異常症治療薬で、SARS-CoV2 非翻訳領域 RNA を融合したルシフェラーゼタンパクの発現を抑制する効果が見られた。

【考察】肥満患者で COVID-19 が重症化しやすいことが報告されている。本研究結果では通常投与量を超えた投与量が望まれる結果が示されており、安全投与量の上限内での投与が可能であるかについて後続研究に期待したい。
組換え DNA 実験安全委員会：　承認番号　川換 19-30
バイオセイフティ委員会：　承認番号 20008

課題番号：優秀賞
演題名：新生児蘇生プログラムの有効性についての検討
研究者名：福田　莉子
指導教員名：川本　豊
【背景・目的】新生児蘇生では 30 秒毎の心拍数と自発呼吸の有無により蘇生処置内容が決定されるため、心拍数では特に 60bpm、100bpm 前後を迅速、正確に評価することが重要である。しかし、新生児蘇生法（NCPR）で一般的に推奨されている 6 秒カウント法は迅速性、正確性に問題があり、分娩室に心電図モニターを常備する施設は未だ十分ではなく、また“pulseless electrical activity”の可能性を排除する必要がある。今回の研究では Tap 評価の有効性（決定速度、精度）の評価と 2 つの Tap ツール（Ｉ′ 11NAVI、NeoTapLS）の比較をし、今回開発したＩ′ 11NAVI の精度と臨床性を NeoTapLS との相関関係から調べた。【方法】蘇生人形レールダル SimB マネキンを使用して、15 のシミュレートした心拍数を被験者（新生児科の医師 4、看護師 17 名）は前胸部の聴診によってＩ‘11NAVI（以下研究ツール B)、NeoTapLS（以下対照ツール A）を各々使用して評価した。その心拍数の評価に要した時間と評価した心拍数の精度を対照ツール A と研究ツール B で比較検討した。【結果】ツール A、B の HR 測定値誤差は各々2.0±2.5bpm、2.4±3.5bpm（平均±SD）で有意差は認めず、両者の測定値には極めて良好な正の相関（r=0.99　p <0.001）を認めた。ツール A、B は 315 の HR すべてを 3 区分に正確に分類した。【結論】ツール A、B は簡便、正確な蘇生時の新生児 HR の評価法として同等に使用できる可能性が高い。

課題番号：優秀賞
演題名：睡眠の質と生活習慣病との関連の検討
研究者名：行廣　美央
指導教員名：高尾　俊弘　藤本　壮八　山中　義之　角　直樹
【背景】睡眠と生活習慣病の関連は報告されている。しかし、健診現場では、生活習慣病対策に睡眠の質は十分検討されていない。【目的】睡眠の質と健診項目との関連を検討する。【対象と方法】対象は 2020 年 11 月 17 日から同年 12 月 2 日の期間に川崎医科大学附属病院健康診断センターで健診を受診し、昨年度も同様に健診受診歴がある受診者で本研究への参加を書面にて同意頂いた 40 歳から 79 歳までの 137 人(女性 67 人、男性 70 人)。対象者には過去 1 か月間における睡眠の質を評価する日本語版ピッツバーグ睡眠質問票(PSQI)に回答して頂き、睡眠の質と 2020 年の健診項目及び 2019 年からの変化との関連を統計学的に検討した。【結果】生活習慣病の有無と PSQI を比較すると、肥満と高血圧では PSQI スコアに有意な差が無かったが、糖尿病と脂質異常では有意に睡眠の質が低値であった。これらは性別、年齢を加えた多変量解析でも糖尿病、脂質異常いずれも同様の結果であった。PSQI の要素の解析では、糖尿病では睡眠時間が短く睡眠効率が有意に低値であった。脂質異常では日中覚醒困難が有意に悪化していた。しかし、睡眠障害の有無で 2019 年から 2020 年の空腹時血糖変化、LDL コレステロール変化に有意な差は認められなかった。【結語】睡眠の質の悪化と糖尿病及び脂質異常との関連が示唆された。今後、生活習慣病対策に睡眠を含めた生活指導を考慮する必要があると考えられた。承認番号：5042

課題番号：優秀賞
演題名：フィトセラミド構造欠損マウス（Des2 ノックアウトマウス）膀胱組織の病態解析
研究者名：宇野　元之

指導教員名：松田　純子　郷　慎司　渡邉　昴
【背景と目的】スフィンゴ糖脂質は細胞膜の外葉に存在する両親媒性の膜脂質で、セラミド骨格と糖鎖部分からなる。セラミド骨格には構造多様性があり、小腸、腎臓、膀胱の上皮組織には水酸基が一つ多いフィトセラミド構造が豊富に存在する。我々はフィトセラミド構造を欠損する Des2 遺伝子欠損マウス（Des2-KO）を作成し、その膀胱に明瞭な組織変化を見出した。本研究ではその分子機構を解明するために、Des2-KO と野生型の膀胱組織の遺伝子発現量を比較解析した。【方法】 野生型と Des2-KO の膀胱組織から RNA を抽出し、逆転写して c DNA を合成した。遺伝子発現量は RNA Sequencing（RNA-seq）と Realtime PCR を用いて定量した。【結果】 RNA-seq により Des2-KO で有意に発現変化している遺伝子が 762 個同定された（上昇 348 個、低下 414 個）。膀胱移行上皮細胞の頂端膜に特徴的に発現するウロプラキンに着目し、その細胞内輸送に関わる遺伝子群の発現を比較したところ、DES2-KO では Mal の発現が約 3 倍と有意に上昇していることがわかった。【考察】 Mal は膀胱移行上皮細胞の頂端膜に局在する膜タンパク質で、ウロプラキンの頂端膜へ輸送に関与すると考えられている。Des2-KO における膀胱移行上皮頂端膜の構造変化の原因は、フィトセラミド構造の欠損により、Mal が正常に頂端膜に局在できなくなることによるウロプラキンの輸送障害である可能性がある。
動物実験：20-013、遺伝子組換え実験：川換 17-25-2

課題番号：優秀賞
演題名：糖代謝阻害薬 2-deoxy-D-glucose(2DG) 封入 PLGA ナノ粒子による慢性肝炎抑制効果の検討
研究者名：伊野部　重仁
指導教員名：仁科　惣治
特許等に関わる恐れがあるため未掲載

課題番号：優秀賞
演題名：分裂促進因子 Fam64a の心筋特異的 KO マウスの表現型解析
研究者名：岡本　真梨子
指導教員名：橋本　謙　毛利　聡　花島　章
心筋細胞は出生後に分裂能を失う為、成体で生ずる心筋梗塞や心不全で失われた心筋細胞を再生することはできない。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内在性の分裂再生能を活性化する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、期待通り成体心筋の分裂は促進された。しかし、過剰量の Fam64a が心筋成熟や正常な概日リズムを制御する転写因子 Klf15 を阻害することで、加齢と共に心機能が悪化した。そこで本研究では、Fam64a の機能を更に深く探求するため、Cre-LoxP 系を用いて心筋特異的 Fam64a ノックアウト(cKO)マウスを作製し、新生児を用いてその表現型を解析した。組織 HE 染色では、心臓のサイズや心筋の組織構築において cKO マウスと正常マウスの間に大きな差は認められなかった。次に、定量 PCR 法では想定通り cKO マウスにおいて細胞分裂の阻害が認められた。また、TG マウスで変動の大きかった遺伝子群については、Klf15 を含めて多くの遺伝子で TG マウスと逆方向の変動を示し、概日リズムについては TG マウスと同様に乱れが認められた。以上より、心筋細胞の分裂は Fam64a の厳密な制御下にあり、その過剰や不足は心機能に悪影響を及ぼし得ると考えられた。今後は、心機能の悪化機序を解明し、その回避方策を検討することで、真の心筋再生の実現を目指す。【承認番号】動物実験：20-094　DNA 組換え：川換 18-11

課題番号：優秀賞
演題名：遺伝子改変マウスを用いた TNF 受容体関連周期性発熱症候群の病態解析
研究者名：西村　求寿
指導教員名：向井　知之　守田　吉孝

【背景】TNF 受容体関連周期性症候群（TRAPS）は、自己炎症性疾患の一つで、TNFR1 をコードする TNFRSF1A 遺伝子のヘテロ変異を有する周期性発熱性疾患である。その病態として、変異 TNFR1 の細胞内貯留が過剰な小胞体ストレスを起こし、LPS（リポポリサッカライド）に対する炎症反応を増強する可能性が想定されているが、その詳細な機序は未だ解明されていない。今回、マウス Tnfrsf1a に C62Y および T79M 変異を導入した TRAPS モデルマウスを用いて病態解析を行った。
【方法】野生型、C62Y、T79M 変異マウスの骨髄由来マクロファージから RNA および蛋白を回収した。小胞体ストレス関連遺伝子・蛋白および LPS 刺激後の NF-kB 活性について、定量 PCR 法、Western blot 法で評価した。
【結果】C62Y と T79M 変異マクロファージにおいて、小胞体ストレス関連遺伝子（Xbp1）、蛋白（ATF6、IRE1）の発現に有意な差は認めなかった。また、LPS 刺激後の NF-kB 経路の蛋白発現（IkB、NF-kB p65）についても有意な差は認めなかった。
【結論】今回検討した、無刺激状態での小胞体ストレス、また LPS 刺激後の NF-kB 活性化には差を認めなかった。TRAPS での炎症病態には LPS 以外の炎症惹起因子が関与している可能性もあり、今後更なる病態解析が必要である。
動物実験委員会　18-099、18-110、18-125
組換え DNA 実験安全委員会　川換 18-09、川換 18-14、川換 18-15、川換 18-17

課題番号：優秀賞
演題名：HSV-1 投与による発汗障害モデルマウスの特徴
研究者名：清水　優希
指導教員名：淺沼　由美子　山本　剛伸　青山　裕美
【背景・目的】
皮膚の発汗は角層水分量を保持し、皮膚バリア機能の維持に重要である。発汗障害は皮膚バリア機能の低下をもたらし、炎症性皮膚疾患の発症要因になる可能性がある。我々は単純ヘルペスウイルス 1 型(HSV-1)を用いて発汗障害モデルマウスを作製することに成功したが、発汗障害の程度には個体差が認められ、今後、実験を行う上で長期間発汗障害が継続するマウスを効率よく作出することを目的に、発汗障害の表現型を観察し関連因子があるか検討した。
【方法】
マウス(C57BL/6J、雄)の左大腿 L4-5 神経支配領域に HSV-1（7401H 株、1×106PFU)を経皮感染させ、発汗障害モデルマウスを作製した。HSV-1 投与後、皮膚病変、foot pad(FP)の厚み、各瞼球における発汗滴数の計測を行い発汗障害や病変を評価した。発汗障害の程度で群分けし、関連因子を検討した。
【結果】
発汗障害は投与後 5 日から始まり 12 日がピークであった。各瞼球の発汗滴数が 0 になったものは回復しなかった。分節には一致しなかった。発汗障害群の Baseline 発汗滴数は対象群より低く、HSV-1 投与後早期に足の腫れが生じ、その後も遷延する傾向にあった。皮膚スコアは関連しなかった。
【考察】
HSV-1 感染による発汗障害を効率よく誘導するには、Baseline の発汗が少ない個体を使用し、足の腫れが早く発症する個体が候補になる。

課題番号：優秀賞
演題名：慢性硬膜下血腫の再発と血液型との関連性
研究者名：山本　大二朗
指導教員名：宇野　昌明　平井　聡　八木　謙次
【目的・背景】慢性硬膜下血腫（CSDH）は超高齢社会である日本において発生率が年々増加している傾向にある。以前は良性疾患といわれていた CSDH ではあるが再発することがいわれており、高齢患者の予後が悪いという報告もある。従って術後の再発が大きな課題になっている。一方で ABO 式血液型が出血傾向や

炎症性機序に関与している可能性が言われてはいるが CSDH との関連性は不明である。そこで今回の研究では ABO 式血液型と CSDH の関連性について調査した。
【方法】2011 年 1 月～2019 年 9 月の間に川崎医科大学附属病院で穿頭血腫ドレナージ術を施行した 376 人の症候性 CSDH 患者を対象として、再発の有無または血液凝固機能、内服薬などの患者の背景について後方視的に分析を行った。再発の定義は、術後 3 か月以内に CSDH が再発し症候性に至ったものとした。
【結果】対象の集団の中で 307 人（250 半球血腫）が術後 3 か月の経過で再発が評価された。このうち 37 半球血腫（10.6%）で術後の 11～67 日で再発を認めた。A 型はそのうち 24/153 半球血腫（15.7%）、B 型 6 /78 半球血腫（7.7%）、AB 型 3 /39(7.7%)、O 型 4 /80 半球血腫（5.0%）であった。A 型は非 A 型と比較して CSDH の再発と有意に関連していた。
【結語】血液型 A 型患者は非 A 型患者よりも慢性硬膜下血腫の術後再発が多いことが示された。従って、血液型 A 型患者はより注意深い経過観察と炎症性機序に対する更なる治療法の開発が望まれる。(倫理委員会承認番号:3177-2)

課題番号：優秀賞
演題名：膀胱内の加齢性変化に関する検証
研究者名：山田　和輝
指導教員名：中塚　騰太　森中　啓文　髙崎　宏靖　平田　啓太　大平　伸　永井　敦
【背景と目的】本邦では、60 歳以上の約 78%が何らかの下部尿路症状（lower urinary tract symptoms: LUTS）を有しており、加齢が LUTS 危険因子の 1 つであると考えられている。しかし、加齢に伴う膀胱内の変化は、未だ明確にされていないのが現状である。近年、LUTS と酸化ストレスの関連性が報告されており、本研究では酸化ストレスに着目した膀胱内の加齢性変化を検証した。【対象と方法】実験動物は、C57BL/6J マウス、雄性、20～100 週齢（20 週齢毎）を使用し、加齢による酸化ストレスと膀胱内の変化について検証した。【結果】定量検査による酸化ストレス解析では、加齢に伴う膀胱を含めた全身性に酸化ストレスの過剰産生を認めた。膀胱内圧測定検査による膀胱機能解析では、加齢による最大膀胱容量および最大膀胱内圧の低下を認め、低活動膀胱に類似する所見であった。組織学的解析では、加齢に伴い膀胱上皮の菲薄化を認め、間質から筋層へ進行する線維性肥厚の所見を認めた。また、器質性疾患に伴う LUTS の病態規定因子である虚血に関する解析では、加齢に伴う有意な変化は認めなかった。【結論】膀胱内では加齢に伴い酸化ストレスが過剰産生され、間質から筋層へ進行する線維性肥厚により LUTS が出現することが推測された。【研究承認】本研究は、川崎医科大学動物実験委員会の承認を受けて遂行した研究課題である。（承認番号: 20-069）

課題番号：優秀賞
演題名：グリセロホスホジエステラーゼ 4 および 7 の蛍光基質を用いた活性評価
研究者名：津田　真帆
指導教員名：北風　圭介　岡本　安雄　坪井　一人　竹之内　康広
【背景・目的】リゾホスファチジン酸 (LPA)は細胞増殖やがんの浸潤などの様々な生理・病態生理作用を持つ脂質メディエーターであり、創薬標的として注目されている。LPA はリゾホスファチジルコリン (LPC)から血中のオートタキシンならびに細胞内のグリセロホスホジエステラーゼ (GDE)4 および GDE7 によって生成される。GDE4 および GDE7 活性の測定には、ラジオアイソトープや質量分析が用いられているが、操作が複雑で測定に時間がかかるという問題点がある。そこで本研究では、これらの酵素の短時間で簡便な活性測定法の開発を目指し、オートタキシンの蛍光基質として知られる FS-3 をこれらの酵素活性測定に使用できるか検討した。
【方法】まず、HEK293T 細胞に、ヒト GDE4 あるいは GDE7 をリポフェクション法により強制発現させ、ウエスタンブロット法で発現を確認した。次に、FS-3 を用いて GDE4 および GDE7 の酵素活性を測定した。さらに、GDE7 の FS-3 分解活性が天然基質である LPC により阻害されるか検討した。

【結果・考察】ウエスタンブロット法より、GDE4 および GDE7 の発現を確認した。また、GDE4 では Mg2+、GDE7 では Ca2+依存的な FS-3 分解活性が見られた。さらに、GDE7 の FS-3 分解活性は LPC の濃度依存的に阻害された。以上より、本研究で GDE4 および GDE7 の活性を短時間で簡便に測定する系を構築できた。今後、本測定法は GDE4 および GDE7 の阻害剤探索などへの活用が期待される。

課題番号：優秀賞
演題名：岡山県内の三大河川に生息するオオサンショウウオの遺伝子多型解析
研究者名：河合　凌
指導教員名：西松　伸一郎
岡山県真庭市では 90 年以上にわたりオオサンショウウオの保護が図られてきた。2017 年から岡山県教育委員会が中心となり捕獲調査が行われている。本研究は、2020 年 2 月から 11 月までに岡山県内の河川と山口県岩国市内の河川で捕獲されたオオサンショウウオの尾部組織由来の DNA を用いて、マイクロサテライトを解析し、遺伝的多様性を明らかにすることを目的とした。
　オオサンショウウオの核ゲノム中に存在する 8 ヶ所のマイクロサテライト領域を挟むプライマーを用いて PCR を行ない、増殖した DNA 断片の長さをキャピラリーDNA シーケンサーにより解析した。岡山県内と山口県内で捕獲された計 109 個体の個体間のマイクロサテライトを比較した結果、岡山県内の吉井川、旭川、高梁川に生息する個体群ごとにそれぞれ特徴的な長さの遺伝子型が存在することが判明した。また、山口県内で捕獲された個体は高梁川流域に生息する個体群と遺伝的な関係が深いことが判明した。
　ミトコンドリア DNA の解析で，本邦のオオサンショウウオは地理的に伊勢湾水系と近畿以西の 2 系統に分類されるとの報告がある。本研究により近畿以西の集団が、さらに旭川以東と高梁川以西の 2 系統に分類される可能性が示唆された。これにより、今後、野外で保護された在来種を元の生息場所に放流するなど、在来種の保全に有用である。
本実験は、文化庁の許可のもと組換え DNA 実験安全委員会（川換 16-041）の承認を得て実施した。

課題番号：優秀賞
演題名：R 言語によるオープンデータ解析と Web アプリケーション開発
研究者名：日浦　航輔
指導教員名：松本　宏樹
近年、様々な分野において人工知能（AI）やビッグデータといった IT 技術を活用したシチュエーションや問題解決手法などがみられるようになった。ビックデータは現代の石油とも呼ばれており、それを有効活用する為には統計学とプログラミングのスキルが必要である。医療分野においても、画像認識の AI を利用した診断補助システムなどが普及し始めると、それらを適切に扱えなければ、適切な医療を患者さんに届けることはできないので、将来医師になる我々も中身を理解した上で利用する必要がある。
本研究では、オープンソフトウェアである R 言語と開発環境である Rstudio を用い、日本における新型コロナウイルスの流行状況についてのオープンデータ解析を行った。さらに、情報共有・発信を容易にするために、その結果を Web アプリケーション化した。またプログラミング教育のための教材として活用できるようにした。作成したアプリケーションは、(1) R 言語の Shiny ライブラリを用いて東洋経済社が集計した新型コロナウイルスの都道府県別陽性者数・死亡者数と Apple 社が公開している AppleMovingTrends のデータを比較して表示する web アプリケーション、(2) R 言語の JapanMap と Animation ライブラリを用いた都道府県別の新型コロナウイルスの陽性者数推移のアニメーションである。