

第 16 回 川崎医科大学 学術集会

日時：令和 7 年 9 月 6 日（土） 10:00～14:45

会場：川崎医科大学校舎棟

M-703 講義室 （プロジェクト研究課題口頭発表）

（川崎医学会受賞講演）

M-702 講義室 （川崎医学会 50 周年記念事業 特別講演会）

スケジュール：

開催の挨拶 10:00～
川崎医科大学 学長 砂田 芳秀

セッション 1（4 題） 10:05～

川崎医学会 50 周年記念事業 特別講演会 11:00～

昼休憩／川崎医学会総会 12:40～

セッション 2（4 題） 13:20～

川崎医学会受賞講演（2 題） 14:05～

表彰式 14:35～

閉会の挨拶
川崎医科大学 副学長 毛利 聡

第16回 川崎医科大学学術集会 プログラム

セッション 1

(4題) 座長：山内 明

	分野	課題番号	時間	研究課題	研究代表者
1	新分子・新技術	R06基-005	10:05～10:15	慢性腎臓病の治療シミュレーションシステムの開発	神田 英一郎
2	神経・運動器・ 生殖・循環	R06基-056	10:15～10:25	コネクチン Novex-3 の中心体・微小管を介した核物性 と心筋分裂制御機構の解明	橋本 謙
3	環境と生体反応	R06基-079	10:25～10:35	免疫細胞の疲弊・老化に焦点を当てたHTLV-1による 発がん及び慢性炎症の病態解明	齊藤 峰輝
4	環境と生体反応	R06基-012	10:35～10:45	慢性肉芽腫症の創薬ターゲットの探索	宮野 佳

休憩 10:45～11:00

11:00～12:25 川崎医学会50周年記念事業 特別講演会

昼休憩 12:25～13:20 川崎医学会総会 (12:40～)

セッション 2

(4題) 座長：仁科 惣治

	分野	課題番号	時間	研究課題	研究代表者
5	医学研究への扉	/	13:20～13:28	HER2陽性乳がん細胞株(KPL-4)に対するEquolの影響	若林 俊太郎
6	大学院	R06大-001	13:28～13:38	ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬の抗動脈硬化作用の検討	岩本 秀幸
7	環境と生体反応	R06基-068	13:38～13:48	慢性感染症によって誘導される脾腫におけるサイトカイン構成要素EBI3の役割について	井関 將典
8	消化器・代謝・ 腎	R06基-046	13:48～13:58	好酸球性食道炎と口腔内細菌および食道粘膜関連細菌叢と粘膜免疫機序の解明	松本 啓志

休憩 13:58～14:05

川崎医学会受賞講演

(2題) 座長：向井 知之

受賞講演	時間	受賞論文タイトル	研究代表者
川崎医学会賞 研究奨励賞	14:05～14:20	Sweat protects against contact hypersensitivity: Transient sweat suppression compromises skin barrier function in mice.	石丸 浩靖
川崎医学会50周年記念論文賞	14:20～14:35	Evaluation of glomerular hemodynamic changes by sodium-glucose-transporter 2 inhibition in type 2 diabetic rats using in vivo imaging	城所 研吾

課題番号	研究課題	研究代表者
— 神経・運動器・生殖・循環 —		
R05基-025	電気けいれん療法の抗うつ効果の検討-リアノジン受容体と細胞内Ca ²⁺ ストアの変化	丸山 恵美
R05基-084	筋線維壊死を抑制する革新的ペプチド医薬の分子機構解明	大澤 裕
R05基-085	カベオリン-3ナノキャリアーによる筋ジストロフィー病態介入療法	宗兼 麻美
R06基-016	脳梗塞後の人参養栄湯と運動療法の併用による機能回復効果およびその機序	氷見 直之
R06基-025	心房細動合併脳梗塞におけるNETsの関与について	八木田 佳樹
R06基-026	アテローム血栓性脳梗塞の新規疾患感受性遺伝子の探索	大山 直紀
R06基-027	動脈硬化関連脳梗塞の残余リスクの検索	岩本 高典
R06基-030	モデルマウスを用いた漢方薬の抗うつ効果の検討	中村 丈洋
R06基-034	若年成人における婦人科良性疾患と脳卒中との関連性の解明	岡崎 知子
R06基-036	フォーム硬化剤調整方法の違いによる下肢静脈瘤硬化療法の治療成績の比較検討	田淵 篤
R06基-043	ガラクトシアリドーシスモデルマウスにおける眼病変の表現型解析と in vivo 遺伝子治療法の開発	松田 純子
R06基-045	単色X線を用いた微小血管造影における塞栓物質の血管内動態の解明	林田 稔
R06基-050	プロサポシンが惹起する視細胞特異的アポトーシスのメカニズム解明	石塚 佑太
R06基-051	長期鼻閉塞における嗅球出力ニューロンの電気生理学的解析	外村 宗達
R06基-052	難治性関節リウマチ患者におけるエピジェネティックバイオマーカーの探索	中野 和久
R06基-053	JAK阻害薬から非TNF生物学的抗リウマチ薬への切替困難症例の分子プロファイルの同定	藤田 俊一
R06基-054	全身性強皮症の皮膚硬化におけるエピジェネティクス異常誘導機構の解明	浅野 澄恵
R06基-064	脊髄におけるタウ病理の免疫組織化学的研究	西村 広健
R06基-073	マウス嗅球における細胞内GABA含有量と神経分類マーカーとの比較解析	佐藤 慧太
R06基-074	アプリを用いた自主訓練とフィードバック併用によるPDに対する遠隔リハシステムの開発	三原 雅史
R06基-075	「TGF- β 誘発サルコペニア」を標的とする医薬品の開発	大久保 浩平

課題番号	研究課題	研究代表者
R06基-076	筋線維壊死を阻害するペプチド医薬の薬理機構を解明する	大澤 裕
R06基-077	カベオリン-3による筋ジストロフィー介入療法の基盤研究	宗兼 麻美
R06基-078	ステロイドホルモンによる嗅球神経回路調節に関する3次元構造解析	山西 治代
R06基-084	女兒てんかん原因遺伝子 PCDH19 の機能解析	林 周一
R06基-085	嗅覚系神経回路のマルチモーダル調節機構の解明	樋田 一徳
R06基-087	Krabbe病におけるラクトシルセラミド蓄積と神経細胞死の解析	渡邊 昂
R06基-097	睡眠呼吸障害は嗅覚脳神経回路にどのような影響を及ぼすのか？	濱本 真一
R06基-103	バランス機能改善のためのニューロモデュレーション技術の確立と至適刺激部位の検討	梶山 裕太
R06基-105	コネクチン力学応答を介する蛋白質分解調節と心不全	花島 章
R06基-107	血中miRNAによる変形性関節症に特異的なバイオマーカーの検証	西江 宏行
R06基-108	ALSにおける相分離形成異常に関与するlncRNA配列の探索（継続・発展研究）	山崎 晃
— 消化器・代謝・腎 —		
R04基-050	ブドウ糖毒性と腓ラ氏m6A RNA メチレーション不全の検討	木村 友彦
R05基-054	4D flow MRIを用いた食道静脈瘤静脈瘤出血リスク層別化の非侵襲的評価	檜垣 篤
R05基-112	老年期のビタミン類及び微量元素の充足状態の実態調査及び介入研究	秋山 真樹
R06基-003	間質性膀胱炎の幹細胞移植を用いた根治的治療の構築	横西 哲広
R06基-004	インフリキシマブで寛解維持中のクローン病症例における血中トラフ濃度の経時的变化の検討	半田 修
R06基-008	自然呼吸下3D Radial Look-Locker MRIにより得られた緩和時間と脂肪分画値の肝胆膵疾患の診断への有用性	福倉 良彦
R06基-010	乳酸を介したT細胞のPD-1発現調節を標的とした解糖系阻害剤および免疫チェックポイント阻害剤併用療法の開発	佐々木 恭
R06基-014	2型糖尿病患者における体格指標を運動指導へ応用するためのエビデンス構築	中西 修平
R06基-015	動脈硬化モデルマウスにおけるインクレチン関連薬の抗動脈硬化作用の検討	真田 淳平
R06基-018	SGLT2 阻害薬およびイメグリミンによる老化抑制効果・寿命延長効果の検討	金藤 秀明

課題番号	研究課題	研究代表者
R06基-019	原発性アルドステロン症における唾液中ステロイドホルモン分画測定の意義	宗 友厚
R06基-020	グルココルチコイドが膵β細胞機能・形態に与える影響の検討	伏見 佳朗
R06基-021	2型糖尿病患者の腎障害に対するSGLT2阻害薬とDPP-4阻害薬の影響の比較；SECRETE-I study事後解析	下田 将司
R06基-031	マルチパラメトリックMRIによる早期糖尿病性腎症の予後予測に関する検討	山本 亮
R06基-047	好酸球性大腸炎と大腸粘膜関連細菌叢と粘膜免疫機序の解明	大澤 元保
R06基-063	胃がん・食道胃接合部癌に対するリキッドバイオプシーによる予後予測と薬剤選択のための基礎研究	藤原 由規
R06基-066	消化器がんにおける血液循環がん幹細胞検出	白羽 英則
R06基-069	2型糖尿病における膵ラ氏島epitranscriptomicsの検討	木村 友彦
R06基-091	糖尿病性腎臓病におけるMR活性化による慢性炎症遷延機序解明	長洲 一
R06基-092	短期的なDNA損傷の記憶と腎臓病の関係の解明	岸 誠司
R06基-093	糖尿病関連腎臓病におけるミネラルコルチコイド受容体（MR）活性による腎糸球体微小循環動態制御器機構の解明	城所 研吾
R06基-094	ネフロン喪失に伴う代償性糸球体過剰濾過に対する SGLT2 阻害薬の腎保護作用機序の解明	和田 佳久
R06基-095	筋-ミトコンドリア-腎連関による腎保護効果検証	山内 佑
R06基-099	定量的マルチパラメトリックMRIによる膵管内乳頭粘液性腫瘍関連膵癌の発癌 risk factor の検討	神吉 昭彦
R06基-119	過敏性腸症候群の粘膜細菌叢と脳腸相関	塩谷 昭子
— 腫瘍 —		
R03基-049	拡散強調画像に基づく仮想エラストグラフィを用いた膵腫瘍の診断能に関する検討	檜垣 篤
R04基-056	Gd-EOB-DTPA 造影MRI の肝細胞相で低信号を示す肝細胞性結節の長期追跡調査	檜垣 篤
R06基-002	がん局所への薬剤送達能の最適化を目指した近赤外線応答型薬物送達システム開発	仁科 惣治
R06基-006	EGFR C797S 変異オシメルチニブ耐性肺癌に有効な分子標的薬の選択	瀧川 奈義夫
R06基-007	前立腺MRIの最適化：合成拡散強調像の定量評価の臨床応用に向けた研究	玉田 勉
R06基-011	骨髄異形成症候群細胞株の増殖動態の検討：SIRT4の役割について	辻岡 貴之

課題番号	研究課題	研究代表者
R06基-017	子宮体がんの分子遺伝学的分類を基盤とした新規バイオマーカーの探索	森谷 卓也
R06基-023	環状RNA分子を起点とするがん促進型分子ネットワークの解明	増田 清士
R06基-024	T細胞レパトア解析による最適な乳がん治療法確立への挑戦	岩本 高行
R06基-029	核酸医薬を用いたリンパ球のRNA編集	武井 直子
R06基-032	マルチパラメトリックMRIを用いた前立腺癌診断におけるAIとcomputer-aided diagnosisの有用性の検討	檜垣 篤
R06基-037	婦人科悪性腫瘍における抗腫瘍免疫環境を基盤とした新規バイオマーカーの開発	塩見 達志
R06基-038	皮膚悪性腫瘍に対する免疫療法の効果及びirAE発症を予測する血清バイオマーカーの開発	田中 了
R06基-044	乳癌におけるがん精巣抗原発現の病理組織学的解析	佐貫 史明
R06基-048	肺がん患者におけるClaudin18.2蛋白をターゲットとした新規薬物療法の可能性に関する検討	山根 弘路
R06基-049	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検討	越智 宣昭
R06基-055	がん精巣抗原XAGE1を用いた非小細胞肺がんの診断法の開発	最相 晋輔
R06基-057	肺癌薬物療法の効果と再発をモニタリングする血清NY-ESO-1/XAGE1抗体の開発	黒瀬 浩史
R06基-058	脂質メディエーターによる白血病分化誘導療法の開発研究	岡本 秀一郎
R06基-059	Morule-like componentを有する肺腺癌の意義に関する臨床病理学的検討	松野 岳志
R06基-065	乳癌患者のがん抗原に対する免疫応答の解析	小池 良和
R06基-067	骨髄増殖性腫瘍の遺伝子解析と新規併用療法開発の基礎的検討	北中 明
R06基-071	患者由来乳癌オルガノイドの作製と特性解析	山辻 知樹
R06基-072	肺癌進展における double minute 染色体の意義、治療薬耐性への関わり の解明	深澤 拓也
R06基-081	Liquid biopsyによる大腸癌術後再発予測技術の開発	永坂 岳司
R06基-088	妊娠および胚性腫瘍の微小環境に関する基礎的研究	下屋 浩一郎
R06基-089	婦人科がん関連線維芽細胞クローンの包括的解析	村田 卓也
R06基-090	肺癌におけるDigital PET/CT の有用性の評価	清水 克彦

課題番号	研究課題	研究代表者
R06基-106	骨髄組織におけるBAP1発現に関する後方視的検討	藤原 英世
R06基-110	RAS/RAF野生型大腸癌において化学療法に対する完全無反応群の主要な分子機構と病理組織像との関係を分析する	上野 富雄
R06基-111	再発危険マーカーである大腸癌低分化クラスターの意義を人工知能で解明する	吉松 和彦
R06基-112	深層学習による人工知能を用いた大腸癌肝転移CT画像から悪性度を評価するモデル作成	岡田 敏正
R06基-113	予後不良大腸癌におけるsustainableなTGF β シグナルによるEMT亢進状態と免疫疲弊を克服する機能的RNAを標的とした革新的治療法の開発	矢野 修也
R06基-114	上皮間葉転換と間質のデュアル蛍光イメージングによる膵癌新分類と新治療方針の構築	峯田 修明
R06基-115	治療不応RAS/RAF遺伝子野生型大腸癌におけるHER2遺伝子増幅、上皮間葉転換、リンパ球疲弊の相互関連を病理特徴ならびにRNA発現プロファイルから包括的に明らかにする	上野 綸
R06基-116	大腸癌コンパニオン診断用に適した病理場所を深層学習による人工知能を用いて自動検出する	井上 貴裕
R06基-117	大腸癌の転移リンパ節・非転移リンパ節内のリンパ球を比較することで担癌宿主免疫システムの個別化とリンパ節内におけるPD-1/PD-L1系とは独立した免疫疲弊システムの発見	神原 啓伸
R06基-118	がん性腹膜炎と良性疾患腹膜炎内浸潤リンパ球のRNA発現プロファイルを用いた包括的解析によるがん関連炎症と正常炎症の違いの解明	堀 昌明
— 環境と生体反応 —		
R06ス-001	HTLV-1 関連疾患における Tax 標的遺伝子 NR4A2 の病因的意義解明とその制御法の開発	國塩 幸
R06基-001	細胞内小胞輸送を制御する蛋白質複合体の形成機序の解明	大友 孝信
R06基-009	グルコサミノグリカンの細胞内輸送におけるテザリング複合体の機能解析	寺脇 正剛
R06基-013	2型気道炎症における好酸球の役割—IL-33誘導性マウス気道炎症モデルの解析2—	加藤 茂樹
R06基-022	尋常性天疱瘡の発症トリガーとなる単純ヘルペスウイルス感染の役割解明	山本 剛伸
R06基-035	肺胞上皮細胞における脂質リン酸ホスファターゼ3の発現低下が肺線維症の病態形成に及ぼす影響	竹之内 康広
R06基-039	SARS-CoV-2の感染を予防する新規組換えウイルスワクチンの開発	内藤 忠相
R06基-040	カクテル型インフルエンザワクチンによる防御効果の実験的検証	後川 潤
R06基-041	マンソン裂頭条虫クローン株のバイオリソース化に関する研究—遺伝子アノテーションとin vitro 保存法開発の試み—	沖野 哲也
R06基-060	ウイルス感染行動の比較解析によるインフルエンザウイルスのヒトへの感染性獲得メカニズムの解明	堺 立也
R06基-062	RNAウイルスゲノムのポイントオブケア (POCT) 検査キットの開発研究	伊藤 達男

課題番号	研究課題	研究代表者
R06基-070	自己炎症性疾患関連遺伝子 <i>KIF7</i> による炎症誘導機構の解明	向井 知之
R06基-080	マラリア原虫の細胞内小器官タンパク質の超微細局在解析	森田 将之
R06基-082	せん妄と抗老化蛋白 (Klotho 【 α -Klotho】) の関連解析	岡脇 誠
R06基-083	成人自己炎症性疾患「VEXAS症候群」モデル細胞・モデル動物作製と、その病態解析	坂本 祐真
R06基-098	ヒト白血病細胞株THP-1のM1/M2 マクロファージへの分化と細胞動態解析	山内 明
R06基-101	金属・天然由来バイオマテリアル複合体の毒性に基づく抗腫瘍・免疫賦活剤の開発	西村 泰光
— 新分子・新技術 —		
R06基-028	神経形成作用を持つ機能性脂質シナプタミドの細胞内における分解機構の解明	坪井 一人
R06基-042	オーファンGタンパク質共役型受容体GPR176による筋線維芽細胞への分化の分子メカニズム解明	岡本 安雄
R06基-061	分子動態シミュレーションと実験によるHTLV-1病原性タンパク質Taxの溶液中における分子構造解析	三浦 未知
R06基-100	有口赤血球症を伴う溶血性貧血の網羅的病態解析と診断アルゴリズムの確立	未盛 晋一郎
R06基-102	RNAウイルスゲノムが宿主細胞内で形成する凝集体の機能の解明	清水 由梨香
— 大学院研究 —		
R06大-002	糖尿病関連腎臓病における上皮細胞sGC活性化による糸球体濾過量制御機構の解明	梶本 恵莉子 (佐々木 環)
R06大-003	非ステロイド性ミネラルコルチコイド受容体 (MR) 拮抗薬 Finerenoneによるアルブミン尿改善作用の分子メカニズムの解明	岩倉 主 (佐々木 環)
R06大-004	マウス嗅球におけるヒスタミン作動性神経回路の解析	南(小川)祐佳里 (樋田 一徳)

	演題名	学生氏名
— 令和6年度 医学研究への扉 —		
優秀賞	UBA1 p. M41V変異は細胞死を誘導することで炎症反応を惹起する	臼井 海貴
優秀賞	内包出血モデルラットにおける出血の大小と運動機能障害の関係はあるのか？	野々村 萌
優秀賞	オシメルチニブ耐性EGFR遺伝子変異陽性肺癌に対するROR1阻害薬の有効性に関する基礎的検討	満岡 弘大
優秀賞	吊り上げ法の矯正効果に関する長期的結果の検討	高橋 悠
優秀賞	インフルエンザウイルスの感染行動の解析 ～鳥インフルエンザウイルスの解析～	今中 真彩
優秀賞	Examining the dynamics of neuronal activity in the piriform cortex during social defeat stress by fiber photometry	柴崎 由佳
優秀賞	イカ類(十腕形上目)心臓の構造機能とバネ分子コネクチン解析による進化戦略の解明	網本 悠平
優秀賞	演題名は特許関連のため掲載なし	磯部 莉央
優秀賞	ケモブレインモデルマウスの海馬におけるミクログリアの増加と神経新生の減少	馬庭 湧人
優秀賞	Nox2の120番目のロイシンのミスセンス変異はNox2とp22との結合能を喪失させ慢性肉芽腫症を引き起こす	遠藤 あゆ
優秀賞	インフリキシマブ投与中の潰瘍性大腸炎におけるトラフ濃度の測定は有用か	木本 幸成
優秀賞	腹腔鏡下子宮全摘術(TLH)に対するALLYポジショニングシステム(ALLY)の有用性についての検討	高橋 ももこ
優秀賞	HER2陽性乳がん細胞株(KPL-4)に対するEquolの影響	若林 俊太朗
優秀賞	全身性強皮症の皮膚硬化におけるエピジェネティクス異常誘導機構の解明	宮本 将馬
優秀賞	ヒト大腸がん細胞株に対する抗がん剤暴露による変化の検討	森澤 蒼
優秀賞	芍薬甘草湯は筋トレによる筋組成の変化やマイオカイン分泌能に影響を与えるか？	川村 駿翔
優秀賞	うつ様モデルマウスに対する漢方薬の効果の比較	秋田 大輝
優秀賞	Bringing history to life using the collections of Sherrington and Le Gros Clark from Oxford	久高 唯莉

※

【抄録集】

I. 口頭発表

— セッション1 —

1.

分野：新分子・新技術

課題番号：R06 基-005

研究課題：慢性腎臓病の治療シミュレーションシステムの開発

研究代表者名（所属）：神田 英一郎（健康管理学）

[背景]慢性腎臓病(CKD)は透析、心血管疾患発症そして生命予後に関係する。CKD 患者の正確な予後予測は、治療法の選択や高リスク患者のスクリーニングなど臨床に重要なツールとなる。近年データテクノロジーの発展により、CKD 患者ビッグデータベースが構築され、CKD の病態が解明されつつある。

[方法] CKD の進行、透析導入、死亡などの予後予測を高精度で行う人工知能 (AI)を開発し、社会実装を試みた。

[結果]まず、開発した CKD 患者の予後予測システムを WEB 上に公開した。このシステムの基盤となる AI モデルは、CKD 患者ビッグデータを基盤に作成した約 20 種類の AI モデルから、最も予測能が高い Random forest model を選択した。さらに、一般人広く活用していただくため、WEB システムとして公開したところ、アクセス数が 1 日 1,000 人を超えた。

次に、自然言語処理(NLP)は Chat GPT などで使用されており、広く知られている。しかしながら、NLP AI がどの程度 CKD の病態を反映するかは、明らかではなかった。そこで、NLP AI の構築する医学用語バーチャル空間と CKD 患者ビッグデータを比較し、その正確性を最新数学の圏論で証明した。これにより、NLP AI が CKD 患者の予後を予測できる可能性が示唆され、新しい基盤アルゴリズムが開発された。

[結語]本研究により、CKD 治療の AI の有効性ととも、そのニーズも明らかになった。ビッグデータと最新 AI モデルの活用した治療シミュレーションシステムによる、CKD 患者の予後の改善が期待される。

2.

分野：神経・運動器・生殖・循環

課題番号：R06 基-056

研究課題：コネクチン Novex-3 の中心体・微小管を介した核物性と心筋分裂制御機構の解明

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

心筋細胞は胎児期には活発に分裂するが、出生後は分裂を停止する。我々は、心筋分裂のマスター遺伝子候補として、胎児心筋の核を軟らかく保つことで分裂を促進する Novex-3 を同定した。先行研究において以下が既知である。(1)胎児期心筋は一般的な分裂細胞と同様、核近傍の中心体から微小管が伸長し、分裂時には中心体が複製して紡錘体を形成することで正常に分裂する。(2)出生後には中心体が消失し、核周囲にリング状に集積した微小管が周囲に伸長するようになり、分裂能を失う。本研究では、以上の過程における Novex-3 の関与を検討した。胎児心筋を用いた解析では、Novex-3 が心筋のサルコメアだけでなく核膜構成蛋白 (lamin A/C, sun2, nesprin1) の近傍において核膜全域に渡ってスポット状に局在していた。更に、これらのスポットが更に大きく集積した場所では、細胞分裂に必要、且つ、微小管形成中心を成す中心体の構成蛋白 (γ -tubulin, PCM-1, PCNT, AKAP9) と明確に共局在していた。以上より、胎児期には、核に高発現する Novex-3 が中心体蛋白と共局在し、これを安定化させることにより、1)分裂に必要な中心体を正常な構造・配置に維持し、2)微小管の核周囲への集積とそれに伴う核硬化を阻止することで軟らかい核を維持しており、これらにより胎児心筋の分裂能を維持すると考えられた。一方、出生後には Novex-3 の核発現が消失し、サルコメア発現が主となる為、上記の機構が働かなくなり、1)中心体消失と 2)核周囲微小管の集積による核硬化の両方が起こり、心筋分裂が停止するものと考えられる。

3.

分野：環境と生体反応

課題番号：R06 基-079

研究課題：免疫細胞の疲弊・老化に焦点を当てた HTLV-1 による発がん及び慢性炎症の病態解明

研究代表者名（所属）：齊藤 峰輝（微生物学）

共同研究者名：内藤 忠相

【背景と目的】HTLV-1 は主に CD4+T 細胞に感染し、一部の高齢者に成人 T 細胞白血病 (ATL) または HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) を発症させる。過去のプロジェクト研究で、免疫老化に重要ながん抑制遺伝子 *menin* とその標的 *bach2* の発現が、HTLV-1 感染者の末梢血単核球中で非感染健常人と比較して有意に低下していること、Menin 及び Bach2 蛋白質が HTLV-1 のがん遺伝子 Tax 及び HBZ と相互作用することを報告した。本研究では、HTLV-1 感染による CD4+T 細胞の老化促進が ATL や HAM の病態形成に寄与する可能性について検証する。

【材料と方法】1 細胞あたり 1 コピーのウイルスゲノムが染色体 DNA に組み込まれ、細胞分裂により娘細胞へと伝達される HTLV-1 感染を mimic する系として、細胞分裂時に導入遺伝子が細胞周期あたり 1 回だけ複製し、細胞内で安定的に維持されるエピソーム型プラスミド pCEP4 を用いて Tax 及び HBZ の発現プラスミドを作製する。導入した Tax 及び HBZ が HTLV-1 非感染 CD4+T 細胞に及ぼす影響を解析し、得られた結果を HTLV-1 関連疾患モデルマウス及び患者検体を用いて検証する。

【結果と考察】エピソーム型発現プラスミドを構築し HTLV-1 非感染ヒト T 細胞に導入することで「HTLV-1 感染様 CD4+T 細胞」を樹立した。今後、解析を進めていく。

4.

分野：環境と生体反応

課題番号：R06 基-012

研究課題：慢性肉芽腫症の創薬ターゲットの探索

研究代表者名（所属）：宮野 佳（自然科学）

共同研究者名：西松 伸一郎

食細胞に発現する NADPH オキシダーゼ 2 (Nox2) は、殺菌剤である活性酸素を生成する酵素であり、その遺伝的欠損は幼少期より重篤な感染症を繰り返す慢性肉芽腫症を発症する。非食細胞においても Nox1-4 (Nox1~Nox4 の 4 分子) は生理的機能を示すが、過剰発現した Nox1-4 は酸化ストレスを引き起こす。このストレスと疾患の関係の理解には、Nox の発現をタンパク質レベルで見積もることが重要である。しかし、非食細胞 Nox を特異的かつ高感度に検出できる抗体を商業的に入手することは困難である。今回、我々は Nox1-4 の酵素活性に必須なサブユニット p22^{phox} が、Nox1-4 の共発現に依存してタンパク質レベルで安定化されることを見出した。p22^{phox} は、免疫ブロットや組織染色で有用な抗体の入手が容易なため、p22^{phox} を Nox1-4 活性のマーカーとして提案できないかと考えた。実際に、例えばマウス肺組織では非食細胞 Nox1-4 により安定化された p22^{phox} の発現が確認された。逆説的ではあるが、この結果は、p22^{phox} のノックダウンが Nox1-4 活性を同時に抑制できる可能性を示唆し、実際に単一に p22^{phox} をノックダウンした肺上皮細胞では Nox1-4 依存性の細胞遊走が抑制された。以上より、様々な組織や細胞において、p22^{phox} は Nox1-4 活性のマーカーとして、また Nox 活性抑制の標的になりうることを示唆する。

5.

演題名：HER2 陽性乳がん細胞株 (KPL-4) に対する Equol の影響

学生氏名：若林 俊太郎

指導教員名：平 成人、岩本 高行

【研究の背景】エクオール (Equol) は、大豆イソフラボンが腸内細菌によって活性化されて体内に取り込まれる成分である。エストロゲン受容体に結合し、更年期症状の軽減や骨密度の上昇、皮膚老化の予防といったエストロゲン様作用を示す。エストロゲン受容体陽性乳がん患者が、内分泌療法薬によって引き起こされる有害事象を緩和させるため、Equol を服用した場合にがん細胞が増殖しないかという懸念がある。これまで、Equol は濃度依存性にエストロゲン受容体陽性乳癌株、さらにエストロゲン受容体陰性乳癌株に対し、濃度依存性に増殖抑制作用を示すことが明らかした。今回、Equol が HER2 陽性乳がん細胞株にどのような影響を及ぼすのかを検討した。

【材料と方法】HER2 陽性乳がん細胞株 (KPL-4) を用いた。Equol が細胞増殖に及ぼす影響について、WST1 を用いて測定した。細胞周期に及ぼす影響は PI 染色を行い FACS で解析した。ERβ の mRNA は Real time PCR を用いて解析した。ERβ、PTEN、P-PTEN のタンパク量はウエスタンブロットを用いて解析した。【結果】細胞増殖能は、Equol の濃度依存的に減少した。細胞周期の解析では subG1 期及び G1 期が増加し、S 期及び G2/M 期が減少していた。ERβ の mRNA は変化が見られなかった。ERβ、PTEN、P-PTEN のタンパク量は高濃度暴露時において増加した。

【考察】Equol の HER2 陽性乳がん細胞株に及ぼす影響は濃度依存的に細胞増殖抑制し、G1-S チェックポイントで S 期移行阻害、また、アポトーシス誘導作用を示すことが明らかにされた。一方 PI3/AKT 経路に関連するタンパク質の増加がみられたことから、アポトーシスが誘導されたと考えられた。

6.

分野：大学院

課題番号：R06 大-001

研究課題：ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬の抗動脈硬化作用の検討

研究代表者名 (所属)：岩本 秀幸 (生物学系分子代謝内分泌学)

指導教授名：金藤 秀明

共同研究者名：木村 友彦

ミネラルコルチコイド受容体 (MR) を介した内皮細胞の損傷は、動脈硬化発症の重要な要因である。本研究では MR の活性を特異的に阻害するエサセレノンによるミネラルコルチコイドシグナル伝達の特異的阻害が、動脈硬化の進行に有益な効果を示すかどうかを検証することを目的とした。アポ E 欠損マウスを動脈硬化モデルとして使用し、非糖尿病モデルに加え、ストレプトゾトシンを用いて糖尿病モデルを作成した。これらを対照群とエサセレノン群に分け、10 週齢から 8 週間、エサセレノン含有食を投与した。代謝マーカーや腹部大動脈の mRNA 発現を評価し、大動脈弓と胸大動脈の組織学的な検査を行った。さらに、エサセレノンの血管平滑筋細胞への直接的な影響を調べるため、ヒト大動脈平滑筋細胞 (HASMCs) を使用した。結果として、糖尿病マウスにおいて、大動脈弓のプラーク面積はエサセレノン群で対照群に比べて有意に小さかったものの、血圧や血清脂質レベルに差は認めなかった。炎症関連遺伝子、マクロファージマーカー、細胞接着因子、酸化ストレスマーカーは、すべてエサセレノン群で有意に低値だった。HASMCs を用いた研究では、エサセレノンが血管平滑筋細胞に対して抗炎症作用を有することを確認した。ミネラルコルチコイドシグナル伝達を特異的に阻害するエサセレノンは、血圧や糖脂質代謝に影響を与えることなく、動脈硬化の進行に有益な効果を発揮した。

7.

分野：環境と生体反応

課題番号：R06 基-068

研究課題：慢性感染症によって誘導される脾腫におけるサイトカイン構成要素 EBI3 の役割について

研究代表者名（所属）：井関 将典（免疫学）

共同研究者名：向井 知之、坂本 祐真

EBI3 はヘテロダイマーサイトカイン IL-27、IL-35、IL-39 の構成要素であるが、生体内における機能は完全には解明されていない。TLR7 アゴニストであるイミキモド (IMQ) の反復塗布は脾機能の亢進による脾腫を誘発するが、その分子メカニズムは未だ不明である。我々は *Ebi3* 遺伝子欠損 (KO) マウスを作製し、慢性感染によって誘導される脾腫における EBI3 の役割を解析した。

野生型 (WT) マウスの耳に IMQ を週 3 回、8 週間塗布し、脾腫を誘発した。RNA-seq 解析により、IMQ 塗布マウスの脾臓における I 型インターフェロン (IFN) 関連遺伝子の発現上昇が明らかになった。これらの病理学的変化は KO マウスでは緩和されており、EBI3 が TLR7 刺激によって誘導される脾腫に寄与することが示唆された。その分子機構として I 型 IFN の関与が示唆されたが、脾臓、末梢血における *Ifna*、*Ifnb* 遺伝子発現は IMQ を塗布した WT と KO 間で差は無かった。近年 IL-27 が I 型 IFN 関連遺伝子の発現を誘導することが報告されている。我々は IMQ 塗布によって脾臓と末梢血の *I127a* 遺伝子レベルが上昇することを見いだした。さらに、I 型 IFN 非存在下で IL-27 刺激は骨髄由来マクロファージの I 型 IFN 関連遺伝子の発現を誘導した。以上より、EBI3 が IL-27 を介して TLR7 誘導性の脾腫に寄与していることが示された。

8.

分野：消化器・代謝・腎

課題番号：R06 基-046

研究課題：好酸球性食道炎と口腔内細菌および食道粘膜関連細菌叢と粘膜免疫機序の解明

研究代表者名（所属）：松本 啓志（消化器内科学）

共同研究者名：塩谷 昭子

好酸球性食道炎 (EoE) は、食道粘膜の好酸球性炎症を特徴とする慢性炎症性疾患です。本研究では、EoE 患者における唾液と食道粘液の細菌叢を調査し、EoE の疾患活動性と粘膜サイトカイン発現との関連性を検討した。

方法；対象は、活動性 EoE (A-EoE) と非活動性 EoE (I-EoE) の患者とし、A-EoE は好酸球数ピークが 15/HPF を超える場合と定義した。唾液サンプルは、内視鏡検査前に患者から採取した。EoE 患者から内視鏡検査中に食道遠位部からブラッシングサンプルを採取した。EoE の炎症の程度は、EoE 内視鏡参照スコア (EREFS) を用いて評価しました。16S rRNA 遺伝子解析を行った。

結果；59 例の患者が登録され、そのうち 8 例が I-EoE、17 例が A-EoE、28 例が対照群でした。口腔内と食道において、*Streptococcus*、*Prevotella* などの主要な細菌属が検出されました。対照群と比較して、活動性 EoE 群では唾液と食道粘膜において *Prevotella* 属が有意に多く検出されました。一方、活動性 EoE 患者では唾液において *Neisseria* 属が、食道粘膜において *Streptococcus* 属が有意に少なかった。EoE と *Streptococcus* の EREFS は逆相関していました。

結論：本研究は、EoE 患者の唾液と食道粘膜における細菌叢の特性を明らかにしました。

II. 川崎医学会受賞講演

2025 年度川崎医学会賞 研究奨励賞：石丸 浩靖（元薬理学大学院生）

受賞対象論文：Sweat protects against contact hypersensitivity: Transient sweat suppression compromises skin barrier function in mice.

Journal of Investigative Dermatology. 144 巻・10 号・頁 [2211~2220]・2024 年

Hironobu Ishimaru, Kenta Nakamoto, Mariko Yamane, Takenobu Yamamoto, Keisuke Kitakaze, Yasuhiro Takenouchi, Kazuhito Tsuboi, Yasuo Okamoto, Yumi Aoyama

緒言：角層は皮膚バリアとして抗原の侵入を防ぐ役割を担い、その機能は角層水分量 (SSH) と相関する。SSH の維持には汗が寄与し、発汗がアレルギー性皮膚炎に関与する可能性が報告されている。本研究では、発汗がアレルギー反応に対して防御的に働くかを明らかにするため、マウスで汗腺が存在する足底部の発汗を抑制し、発汗低下が感作相及び惹起相に与える影響を検討した。

方法：C57BL/6J 系統の雄性マウスの足底部に抗コリン薬を経皮投与し、発汗を低下させた。次にハプテンを経皮的に感作・惹起し、アレルギー反応、炎症性サイトカインの mRNA 発現量及び免疫染色等の手法で評価した。

結果：発汗抑制により、感作相では低濃度のハプテンから感作が成立し、惹起相ではアレルギー反応が増強された。加えて血清総 IgE 量および炎症性サイトカインの mRNA 発現量が有意に増加し、足皮膚中のハプテン濃度は非発汗抑制群の 5 倍以上に増加していた。さらに惹起後に高湿度環境と置いたところ、発汗抑制によるアレルギー反応の増悪が減弱した。

考察：発汗抑制により感作閾値が低下し、感作が成立しやすくなっていた。惹起相のアレルギー反応も増悪したが、これらの変化はハプテン吸収量の増加によるものと考えられる。また、保湿を模倣した高湿度環境でアレルギー反応が減弱したことから、保湿により発汗低下によるアレルギー反応の増悪を抑制できる可能性が示唆された。

2025 年度川崎医学会 50 周年記念論文賞：城所 研吾（腎臓・高血圧内科学）

受賞対象論文：Evaluation of glomerular hemodynamic changes by sodium-glucose-transporter 2 inhibition in type 2 diabetic rats using in vivo imaging

Kidney International, Volume 106, Issue 3, 408 - 418

Yoshihisa Wada, Kengo Kidokoro, Megumi Kondo, Atsuyuki Tokuyama, Hiroyuki Kadoya, Hajime Nagasu, Eiichiro Kanda, Tamaki Sasaki, David Z. I. Cherney, Naoki Kashihara

近年の大規模臨床試験により、SGLT2 阻害薬は糖尿病の有無を問わず慢性腎臓病の進行を抑制し、腎保護効果を有することが明らかとなっている。糖尿病関連腎臓病に対する SGLT2 阻害薬の腎保護効果の主要機序の一つとして、糸球体内圧の正常化に伴う糸球体過剰濾過の是正があげられており、その背後にある血行動態的メカニズムの解明が重要な課題となっている。SGLT2 阻害薬は、近位尿細管での Na⁺再吸収を抑制することでマクラデンサ（緻密斑）への Na⁺供給を増加させ、尿細管糸球体フィードバック (Tubuloglomerular feedback; TG feedback) 機構を回復させることで、輸入細動脈収縮を介して糸球体過剰濾過を改善すると考えられているが、2 型糖尿病における糸球体血行動態の詳細な変化や、TG feedback に関与する adenosine A1 受容体 (AlaR) 経路、Angiotensin II receptor blocker (ARB) との併用効果などは未だ十分に明らかではない。本研究は、二光子励起顕微鏡を用いた生体イメージング技

術を用い、SGLT2 阻害による腎糸球体微小循環動態変化の解析およびその分子メカニズムの解明を目的とした。2 型糖尿病モデルラット (ZDF ラット) を用い、SGLT2 阻害薬 luseogliflozin が糸球体血行動態に与える影響を生体イメージングにて解析した。ZDF ラットでは輸入細動脈と輸出細動脈が拡張し、単一ネフロン糸球体濾過量 (SNGFR) の増加、すなわち糸球体過剰濾過が認められた。SGLT2 阻害薬投与により、輸入細動脈の過拡張の是正と SNGFR の有意な低下が確認され、尿中 adenosine 濃度も増加した。AlaR 拮抗薬との併用によりこの効果は消失したことから、TG feedback 機構における adenosine-AlaR 経路が関与していることが示唆された。ARB と SGLT2 阻害薬との併用では、輸入細動脈の過拡張の是正に加え、糸球体容積の増加がみられた。これらの結果から、SGLT2 阻害薬は主に adenosine-AlaR 経路を介した TG feedback 機構により糖尿病関連腎臓病の糸球体過剰濾過を是正し、ARB との併用で相加的な腎保護効果が期待されることが明らかとなった。

2025 年度川崎医学会賞 川崎医学会誌 論文賞： 医学会・編集委員会より

釋舎 竜司 先生

対象論文：当院における胃粘膜関連リンパ組織型節外性辺縁帯リンパ腫に対する放射線治療成績，ならびに放射性肝障害と腎症のリスク因子の検討

川崎医学会誌 50 巻

齋藤 渉 先生

対象論文：Preliminary study for predictive indicators focused on semen analysis of inflammation for male infertility.

Kawasaki Medical Journal 50 巻

Ⅲ. プロジェクト研究 抄録

— 神経・運動器・生殖・循環 —

課題番号：R05 基-025

研究課題：電気けいれん療法の抗うつ効果の検討-リアノジン受容体と細胞内 Ca^{2+} ストアの変化

研究代表者名（所属）：丸山 恵美（生理学 2）

共同研究者名：中村 丈洋、氷見 直之

【目的】電気けいれん療法は現在でもうつ病患者に最も有効性の高い治療法の一つであるがその作用機序は不明な点が多い。モデルマウスの海馬で認められたリアノジン受容体（RyRs）タンパクの過剰発現と機能低下の同時発生の謎の一端を解明するため、RyRs の細胞内存在領域である滑面小胞体およびシナプス小胞の変化を組織学的および生化学的に検討した。

【方法】C57BL/6J マウス（7w、オス）に拘束水浸ストレスを負荷して作成したうつ様モデルマウスに電気けいれんショック（ECS：80Hz, 30mA, 0.5ms pulse, 1.2s）を1回/日、2週間施しその後行動試験（強制水泳試験など）によって抑うつ度を確認した。海馬組織から全小胞体と粗面小胞体をそれぞれ分画抽出したのち western blot 法にてタンパク量を計測し、うつおよび ECS による滑面小胞体の変化を検討した。また海馬 RyRs に対する免疫電顕標本を作成し、シナプス小胞と滑面小胞体膜の変化と RyRs との関係形態学的に検討した。

【結果】海馬の全小胞体のタンパク量は Normal 群に比べてストレス+ECS 群では減少傾向を示した一方、粗面小胞体量はストレス群で増加傾向を示した。これはストレス群で滑面小胞体の減少を、ストレス+ECS 群では小胞体全般の減少を示唆する。海馬の電顕画像ではストレス群でのシナプス減少およびストレス+ECS 群での増加を確認したが、RyRs の免疫電顕画像は確認できなかった。いずれの結果も既報のうつ状態での RyRs の過剰発現を支持するものではないため、さらなる検討が必要である。

課題番号：R05 基-084

研究課題：筋線維壊死を抑制する革新的ペプチド医薬の分子機構解明

研究代表者名（所属）：大澤 裕（神経内科学）

共同研究者名：西松 伸一郎、宗兼 麻美、大久保 浩平

特許等非公開事項を含むため、抄録本文は掲載不可とする。

課題番号：R05 基-085

研究課題：カベオリン-3 ナノキャリアーによる筋ジストロフィー病態介入療法

研究代表者名（所属）：宗兼 麻美（神経内科学）

共同研究者名：大澤 裕、西松 伸一郎

特許等非公開事項を含むため、抄録本文は掲載不可とする。

課題番号：R06 基-016

研究課題：脳梗塞後の人參養栄湯と運動療法の併用による機能回復効果およびその機序

研究代表者名（所属）：氷見 直之（生理学 2）

大病からの体力回復に効果がある漢方薬である人參養栄湯を脳梗塞モデルラットに投与することで、早期の体力回復、またそれにより運動療法開始の早期化、さらに運動療法による機能回復の早期化が促進されることを検証すべく実験を計画している。既に認知記憶能改善に効果が見られたので報告する。ラットをセボフルランにて麻酔後、径 $45\mu\text{m}$ のマイクロスフェア懸濁液を総頸動脈より注入し、縫合および覚醒後より 14 日間人參養栄湯（1,000mg/kg/day）および水道水（対照群）を自由摂取させた。術後 10 日後より Barnes 迷路試験にて空間認知・記憶能を 5 日間かけて測定した。Barnes 迷路試験終了後、脳を摘出し、凍結切片の作成およびタンパク質抽出を行った。

人参養栄湯投与群 (n=5) では、Barnes 迷路のゴール到達時間変化およびゴールの暗箱撤去で行う probe テストの両項目で対照群 (n=6) と比較して記憶能が有意に回復していた。迷路上の走行速度に有意差はないことから運動量の差異による結果ではないと考えられた。

今後は人参養栄湯が記憶能の早期回復に寄与した機序として急性期の自発運動量、海馬の脳由来神経栄養因子 (BDNF) やシナプス関連分子 (PSD95 など) の濃度を測定し考察する。

課題番号：R06 基-025

研究課題：心房細動合併脳梗塞における NETs の関与について

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、岡崎 知子、岩本 高典、宮里 紗季

心房細動合併脳梗塞の再発予防には抗凝固療法が標準治療である。しかし適切な抗凝固療法下でも再発する例があり、臨床問題となっている。そのような例では凝固系活性化によるフィブリン血栓形成以外の血栓形成機序が関与している可能性がある。そのような機序の一つとして、Neutrophil extracellular traps (NETs) が想定される。しかし心房細動合併脳梗塞の再発と NETs の関連については検討されておらず不明である。本研究の目的は、心原性脳塞栓症発症における NETs の関与を明らかにすることである。

本研究は本学倫理委員会の承認を受け (川崎医科大学倫理委員会承認番号 6363)、急性期脳梗塞患者登録を 2025 年 4 月 30 日まで継続する。2025 年 3 月 31 日までに 204 例の登録が完了しており、うち心房細動合併脳梗塞は 72 例である。全例で入院時血液検査の残血清を回収しており、凍結保存している。これらは登録期間満了後、ELISA で NETs 関連マーカーを測定する予定である。これまでの登録例全例で予後調査として 3 か月後の再発の有無、日常生活動作レベルの調査を行っている。また登録 1 年後の当科外来受診時に、予後調査とともに血液検査残血清を回収する。

以上のように研究は順調に進捗している。本研究の成果により、脳梗塞を再発した症例の特徴を明らかにし、再発リスクの層別化が可能になることが期待される。NETs の関与が大きい症例に対して、NETs を標的とした新規抗血栓療法開発につながる知見を得られる可能性がある。

課題番号：R06 基-026

研究課題：アテローム血栓性脳梗塞の新規疾患感受性遺伝子の探索

研究代表者名 (所属)：大山 直紀 (脳卒中医学)

共同研究者名：八木田 佳樹、岡崎 知子、岩本 高典、宮里 紗季

近年、JAK2V617F 遺伝子変異 (JAK2 変異) と動脈硬化の関連性について報告されている。本研究では、脳動脈狭窄を有する脳梗塞患者の JAK2 変異有病率や臨床的特徴について検討した。

2021 年 1 月 1 日～2024 年 5 月 31 日に、発症 30 日以内の脳動脈狭窄を有するまたは穿通枝閉塞による脳血管障害で当科に入院した連続 377 例のうち、JAK2 変異解析検査に同意を得られた 316 例を対象とした。脳動脈狭窄は径狭窄率 \geq 50%とし、患者背景 (臨床病型、脳卒中危険因子、入院前治療、採血データ、脳梗塞病変、血管病変) について診療録よりデータ収集した。

316 例の年齢中央値は 74 歳、女性は 100 例 (32%) であった。JAK2 変異は 8 例 (2.6%) に認められ、臨床病型別では、アテローム血栓性脳梗塞 4/102 例 (4.1%)、ラクナ梗塞 2/101 例 (2.0%)、その他の病型 2/113 例 (1.8%) であった。188 例 (60%) に脳動脈狭窄を認め、うち 7 例 (3.9%) に JAK2 変異を認めたが、脳動脈狭窄のない 128 例の JAK2 変異有病率 (1 例, 0.8%) と比較して有意差はなかった。JAK2 変異の有無で患者背景を比較したところ、ヘマトクリット (オッズ比 1.32)、血小板数 (同 1.19)、トロンボモジュリン (同 1.08) が JAK2 変異と独立して関連していることが示された。

脳梗塞患者における JAK2 変異有病率は低く病型による差は小さいものの、血液学的異常との関連が示され、とくに JAK2 変異患者におけるトロンボモジュリンの上昇は内皮機能障害を反映している可能性が示唆された。

課題番号：R06 基-027

研究課題：動脈硬化関連脳梗塞の残余リスクの検索

研究代表者名（所属）：岩本 高典（脳卒中医学）

共同研究者名：八木田 佳樹、大山 直樹、岡崎 知子、宮里 紗季

動脈硬化の代表的な危険因子のひとつは血中の LDL コレステロールである。しかし十分な管理を行っていても動脈硬化関連脳梗塞を発症することがある。このような場合の残余リスクとして、酸化 LDL 受容体など以外に好中球細胞外トラップを想定した。本研究の目的は、動脈硬化関連脳梗塞における酸化 LDL 受容体と好中球細胞外トラップの関与を明らかにすることである。

本研究は本学倫理委員会の承認を受け（川崎医科大学倫理委員会承認番号 6363）、急性期脳梗塞患者登録を 2025 年 4 月 30 日まで継続する。2025 年 3 月 31 日までに 204 例の登録が完了しており、うち動脈硬化関連脳梗塞は 29 例である。全例で入院時血液検査の残血清を回収しており、凍結保存している。これらは登録期間満了後、ELISA で NETs 関連マーカーを測定する予定である。これまでの登録例全例で予後調査として 3 か月後の再発の有無、日常生活動作レベルの調査を行っている。また登録 1 年後の当科外来受診時に、予後調査とともに血液検査残血清を回収する。酸化 LDL 受容体と好中球細胞外トラップ関連マーカーは ELISA システムを用いて測定する。現時点で必要な条件設定をほぼ終了しており、2025 年度は本測定に入る予定である。

以上のように研究は順調に進捗している。本研究の成果により、脳梗塞を再発した症例の特徴を明らかにし、再発リスクの層別化が可能になることが期待される。

課題番号：R06 基-030

研究課題：モデルマウスを用いた漢方薬の抗うつ効果の検討

研究代表者名（所属）：中村 丈洋（生理学 2）

共同研究者名：氷見 直之、丸山 恵美

【目的】漢方薬はこれまで抗ストレス薬として用いられてきたが、近年うつに対する治療効果が注目されている。我々は現在主に用いられている抑肝散、半夏厚朴湯およびその効果が期待されている人参養榮湯について抗うつ効果を比較検討した。

【方法】C57BL/6J マウス（7w、オス）に拘束水浸ストレスを負荷することでうつ様モデルマウスを作成した。モデル完成二週間後に行動試験（新奇環境摂食抑制試験（NSF）、強制水泳試験（FST）、自発運動量（LA）計測）を行い抑うつ度を計測した。また、モデル完成直後より BrdU を腹腔内投与することで新生細胞をラベリングし、DCX との二重染色により海馬歯状回における新生神経細胞密度を計測して組織学的に検討した。漢方薬はモデル作成開始 3 日前から実験終了まで給水瓶にて自由摂取させた（半夏厚朴湯、人参養榮湯：2.0mg/ml 蒸留水、抑肝散：1.2、4.0mg/ml）。

【結果】モデルマウスに対して抗うつ効果を最も示したのは半夏厚朴湯であった。他二剤も抗うつ効果があるもののその効果は限定的だった。一方、非ストレス群（Normal 群）への投与効果は抑肝散・人参養榮湯は FST および LA-消灯時で行動が亢進したが半夏厚朴湯では LA-点灯時に亢進が見られたのみだった。

【結論】今回調べた三剤のうち半夏厚朴湯はうつ様症状の改善に最も効果があり、抑肝散および人参養榮湯は個体の正常機能を向上させることで抗うつ効果を発揮している可能性が示唆された。

課題番号：R06 基-034

研究課題：若年成人における婦人科良性疾患と脳卒中との関連性の解明

研究代表者名（所属）：岡崎 知子（脳卒中医学）

共同研究者名：八木田 佳樹、大山 直紀、岩本 高典、宮里 紗季

近年、婦人科良性疾患（子宮筋腫・子宮腺筋症・子宮内膜症）と動脈硬化性疾患の関連が報告されている。若年性脳卒中患者の背景を調査し、凝固異常、脳卒中危険因子の合併率について男女で比較し、また女性においては、婦人科良性疾患の有無でこれらの因子を比較した。本研究は本学倫理委員会の承認を受け

ている（川崎医科大学倫理委員会承認番号 6031）。

対象は、2015年1月から2022年12月までに当科に入院した55歳以下の急性期脳卒中患者で、後ろ向きに検討を行った。背景因子・検査データは診療録より抽出し、脳卒中病型・危険因子・血液データ・機能予後などを性差で比較した。女性では婦人科良性疾患合併群と非合併群で比較した。

対象期間中の55歳以下脳卒中患者は287例、女性は89例であった。高血圧と喫煙は男性で多く、貧血とDダイマー高値は女性で多かった。脳梗塞病型は、原因が確定されない脳梗塞が女性で有意に多く、発症2年後までの機能予後に性差はなかった。女性では34.8%の症例で子宮内膜症・子宮腺筋症・子宮筋腫のいずれかを合併していた。脳卒中危険因子や脳卒中病型に合併群と非合併群で群間差を認めなかった。若年性脳卒中では、女性では貧血とDダイマー高値が男性よりも多くみられた。しかし今回の検討では、婦人科良性疾患合併群と非合併群で若年性脳卒中の背景に有意差はみられなかった。

課題番号：R06 基-036

研究課題：フォーム硬化剤調整方法の違いによる下肢静脈瘤硬化療法の治療成績の比較検討

研究代表者名（所属）：田淵 篤（心臓血管外科学）

共同研究者名：山根 尚貴

【目的】自動マイクロフォーム調製システム（VARIXIO）を用いた術中フォーム硬化療法（foam sclerotherapy: FS、V群）と従来のTessari法による術中FS（T群）の治療成績を比較検討する。

【対象、方法】当科で2021年4月から2024年3月に術中FSを行った202肢、164症例（V群：101肢、79症例、T群：101肢、85症例）を対象とした。V群は0.5%ポリドカノール2mlをVARIXIOでフォーム硬化剤を調製し、T群は手動で調製した。カルテ情報から患者背景、診察所見、静脈超音波検査所見、手術所見、術後合併症、静脈閉塞の有無を後ろ向きに比較検討した。

【結果】両群間で男女比、年齢、術前CEAP臨床分類の割合、revised Venous Clinical Severity Score (rVCSS)に有意差はなかった。硬化剤使用量はV群 5.3 ± 2.9 ml、T群 5.2 ± 2.1 mlで有意差はなく、両群ともに術中合併症はなかった。術後合併症のFS部硬結、血栓性静脈炎、深部静脈血栓症の頻度に有意差はなく、FS部静脈閉塞（術後1、6ヵ月）はV群：91.1%、91.0%、T群：77.2%、69.2%で有意差を認めた。rVCSSは術後6ヵ月でV群： 0.7 ± 1.2 、T群： 1.1 ± 1.4 で有意差はなかった。

【結語】VARIXIOで調製したフォーム硬化剤は従来法と比較して治療成績は良好であった。

課題番号：R06 基-043

研究課題：ガラクトシアリドーシスモデルマウスにおける眼病変の表現型解析と *in vivo* 遺伝子治療法の開発

研究代表者名（所属）：松田 純子（病態代謝学）

共同研究者名：石塚 佑太、渡邊 昂、鎌尾 浩行

ガラクトシアリドーシス (GS) はリソソーム酵素であるカテプシン A (CTSA) の遺伝的欠損によるリソソーム蓄積症であり、日本人に多く見られる。GSの主症状はミオクローヌスなどの中枢神経症状と、眼底チェリーレッド斑を特徴とする眼病変による視力障害である。現在、GSに対する根本的な治療法は確立されておらず、患者のQOLは進行性の視力障害により著しく低下している。そこで我々は、GSの眼病変を標的とした *in vivo* 遺伝子治療法の開発に取り組んでいる。本年度は、治療法の開発研究に不可欠なGSモデルマウスとして、*Ctsa* 遺伝子に日本人に多いスプライス変異を再現した *Ctsa*-K0マウスを本学の動物実験施設に導入し、*Ctsa*-K0マウスの眼病変の表現型解析を行った。20週齢の *Ctsa*-K0マウスの眼組織を同腹の野生型マウスと病理組織学的に比較解析した結果、*Ctsa*-K0マウスでは、パラフィン切片のHE染色において、毛様体上皮細胞に顕著な泡沫様腫大が、また網膜色素上皮細胞には腫大および色素顆粒の偏在が認められた。これらの所見は、*Ctsa*-K0マウスがヒトGSと同様に眼病変を呈し、治療効果を評価するための有効なモデル動物となる可能性を示している。今後は、眼組織内の蓄積物の同定と定量、網膜電図による視機能の解析を行い、眼病変の表現型を横断的かつ経時的に明らかにしていく予定である。

課題番号：R06 基-045

研究課題：単色 X 線を用いた微小血管造影における塞栓物質の血管内動態の解明

研究代表者名（所属）：林田 稔（放射線診断学）

共同研究者名：山本 亮、福永 健志、玉田 勉、中村 博貴、渡部 博之

【背景】慢性炎症に伴う関節周囲の炎症誘発新生血管を本来抗生物質である難水溶性のイミペネム・シラスタチン(IPM/CS)を塞栓物質として使用し選択的に塞栓することで除痛効果が得られる治療法が報告されている。海外では同治療に Embosphere も塞栓物質として使用され、効果を得ている。

【目的】IPM/CS と Embosphere(100-300 μ m)の塞栓物質としての特性を比較、検討することである。

【対象・方法】健康な日本白色家兎(約 3 kg)5 羽を対象とした。あらかじめ兎の片側耳介に炎症誘発を作成した。血管撮影は大型放射光施設 (super photon ring-8; SPring-8) から抽出される単色 X 線を用いることにより、微小血管造影を行った。塞栓前、塞栓直後、塞栓 90 分後まで 10 分ごとに血管造影を行った。これらの血管造影画像から塞栓されている血管径、再開通時間を評価した。

【結果】IPM/CS は塞栓直後に塞栓される血管径は平均 $267 \pm 58.35 \mu\text{m}$ 、range:174-363 μm であった。塞栓後の経過観察で正常部位の血管は 90 分以内に再開通を認めた。炎症誘発部位での再開通は認めなかった。一方で Embosphere(100-300 μ m)では塞栓される血管径は平均 $233 \pm 44.84 \mu\text{m}$ 、range:174-292 μm であった。正常部位、炎症誘発部位では塞栓後 90 分間までの観察で再開通は認めなかった。

【結論】生体下における IPM/CS、Embosphere の塞栓物質としての特徴を明らかにすることができた。

課題番号：R06 基-050

研究課題：プロサポシンが惹起する視細胞特異的アポトーシスのメカニズム解明

研究代表者名（所属）：石塚 佑太（病態代謝学）

共同研究者名：松田 純子、渡邊 昂

【背景と目的】プロサポシン (PSAP) はリソソームにおけるスフィンゴ脂質の分解に必須な 4 種のサポシン (SAPs) の前駆体であるとともに独自の生理機能を有することが示唆されている。我々は、PSAP を全身で過剰発現するトランスジェニックマウス (*PSAP^{Tg}*) を作製し、網膜視細胞が PSAP の発現量に依存して、進行性にアポトーシスにより脱落することを見出した。本研究では、PSAP の発現亢進が視細胞死を直接的に惹起する要因であると仮説を立て、その分子メカニズムの解明に取り組んだ。

【方法】野生型および *PSAP^{Tg}* マウスの眼球から作製したパラフィン包埋連続切片に対し、神経節細胞マーカー (RBPMs) および網膜色素上皮マーカー (RPE65) を用いて免疫組織化学染色を実施した。さらに、抗ヒト PSAP 特異抗体による免疫沈降を行い、沈降物を SDS-PAGE 後に銀染色し、PSAP と結合する候補タンパク質を探索した。

【結果】RBPMs および RPE65 染色では、*PSAP^{Tg}* マウス網膜に明らかな異常所見は認められなかった。一方、抗ヒト PSAP 抗体による免疫沈降サンプルの銀染色では、ネガティブコントロールには見られない複数のバンドが検出された。

【考察】網膜色素変性症の発症機序として視細胞、網膜色素上皮、神経節細胞の異常が考えられるが、本モデルでは神経節細胞および色素上皮に顕著な異常を認めなかったことから、視細胞死が主要因であるという見解がより強く支持された。免疫沈降条件の最適化にも成功したため、今後はプロテオーム解析によって網膜内で PSAP と相互作用する分子を同定し、PSAP が惹起する視細胞死の分子メカニズムの解明を目指す。

課題番号：R06 基-051

研究課題：長期鼻閉塞における嗅球出力ニューロンの電気生理学的解析

研究代表者名（所属）：外村 宗達（解剖学）

嗅球ニューロンは成体においてもターンオーバーを繰り返し、匂い刺激に応じて神経回路を再編成することで、嗅覚の機能調節に関与している。慢性副鼻腔炎などによる長期鼻閉塞では、匂い刺激の遮断に

より嗅球が萎縮し、鼻閉塞の改善後も嗅覚障害が持続する中枢性嗅覚障害をきたす。特に、嗅神経とシナプスを形成し匂い識別に関わる TH (tyrosine hydroxylase) 陽性ニューロンは、匂い刺激の遮断により活性が低下し、中枢性嗅覚障害の一因となる可能性が示唆されている。一方、嗅覚神経回路の二次ニューロンである僧帽細胞も TH 陽性ニューロンと同様に嗅神経とシナプスを形成するが、長期鼻閉塞による電気生理学的変化については未解明である。一般的に電気生理学実験に用いる急性脳スライス標本は、脳組織へのダメージ軽減を目的として酸素需要が比較的低い 2~5 週齢の幼若な動物を使用する。しかし本研究では、長期鼻閉塞マウスを使用するため 13 週齢を超える個体が対象となり、スライス作製時の脳組織ダメージが大きく、安定したホールセルパッチクランプ記録が困難であった。そこで、成熟マウスにおいて安定した記録が可能となる嗅球急性スライス標本の作製条件を検討した。今後は、長期鼻閉塞マウスの僧帽細胞における電気生理学的解析を進める予定である。

課題番号：R06 基-052

研究課題：難治性関節リウマチ患者におけるエピジェネティックバイオマーカーの探索

研究代表者名 (所属)：中野 和久 (リウマチ・膠原病学)

【目的】治療抵抗性の関節リウマチ (RA) 患者におけるエピジェネティックバイオマーカーを確立することを目的とする。

【方法】健常人および発症早期 (発症から 1 ヶ月以内) の RA 患者 (A 群)、MTX のみで寛解に到達した RA 患者 (B 群)、生物学的製剤/JAK 阻害薬使用により寛解に到達した RA 患者 (C 群)、複数のクラスの生物学的製剤/JAK 阻害薬を一定期間使用したにも関わらず、中等度以上の RA 疾患活動性が残存する RA 患者 (D 群) を 2023 年度の SETOUCHI-RA レジストリー (承認番号：5564-03) のデータベースより抽出し、血液を採取、遠心分離にて血漿を分離した後、セルフリー DNA を抽出し、セルフリー DNA 濃度、候補遺伝子についてのメチル化 DNA レベルを測定し、臨床情報との関連を評価し、治療抵抗性 RA 患者のセルフリー DNA のメチル化の特徴を明らかにする。

【結果】2023 年度の SETOUCHI-RA レジストリーによる解析から、B 群 30 例、C 群 163 例、D 群 31 例が各々抽出された。健常人 30 例、B 群 20 例、C 群 28 例、D 群 10 例からはセルフリー DNA を抽出し、濃度測定を行なった。

【結論】現在、セルフリー DNA での網羅的なメチル化 DNA の解析を進めている。候補遺伝子を選別して、治療抵抗性の関節リウマチ (RA) 患者におけるエピジェネティックバイオマーカーを確立する。

課題番号：R06 基-053

研究課題：JAK 阻害薬から非 TNF 生物学的抗リウマチ薬への切替困難症例の分子プロファイルの同定

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：中野 和久

【背景】JAK 阻害 (JAKi) は関節リウマチ (RA) において高い有効性を示す一方、長期使用に伴う悪性腫瘍や感染症のリスクが懸念されている。本研究では、高齢 RA 患者において JAKi から非 TNF バイオ製剤への切替え後に再燃などにより JAKi を再開した症例の分子プロファイルの同定を試みた。

【方法】JAKi を 6 か月以上内服し、低疾患活動性 (LDA) を達成している 65 歳以上の RA 患者 16 例を対象に、IL-6 阻害薬 (IL-6i) またはアバタセプト (ABT) へ切替えを行い、24 週後の LDA 維持率を評価した。背景因子、疾患活動性、一般採血項目に加えて、MILLIPLEX® を用いて 17 項目のサイトカインを測定し、検討を行った。

【結果】16 例中 9 例で 24 週後に LDA 以下を維持した (IL-6i: 7/9 例、ABT: 2/7 例)。疾患活動性再燃 5 例、アレルギー 2 例は JAKi を再開した。サイトカインは 5 つのクラスターに分類され、GM-CSF、Granzyme A、IFN- γ 、IL-2、IL-10、sCD137 は RF と $r=0.8$ 以上で強い相関を示し、抗核抗体陰性例では血清 Perforin 値が有意に高値であった。MTX 併用例で JAKi 再燃例が多い傾向にあった。

【結語】JAKi により安定している高齢 RA 患者におけるバイオ製剤切替え困難例のリスク因子が示された。本研究の結果は、個別化医療の実現に向けた重要な知見となり得る。

課題番号：R06 基-054

研究課題：全身性強皮症の皮膚硬化におけるエピジェネティックス異常誘導機構の解明

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：中野 和久、青山 裕美

【目的】全身性強皮症(SSc)の発症には DNA メチル化異常が注目されているが詳細は不明である。本研究では SSc の皮膚硬化過程における、低酸素環境がもたらす表皮細胞のエピゲノム修飾と機能変質の分子基盤を明らかにする。

【方法】SSc 患者皮膚硬化過程における低酸素の影響を評価するため、ヒト成人皮膚表皮初代細胞株(NHEK)を低酸素環境で培養し、DNA メチル化状態の変化を検討する。

【結果】ヒト成人皮膚表皮初代細胞株(NHEK)およびヒト表皮細胞株 (HaCaT) を低酸素環境で培養したところ、DNMT/TET 双方の mRNA 発現が低下、さらに表皮細胞の分化マーカー (KRT1、KRT5、KRT10、KRT14、LOR、IVL) の mRNA 発現も低下しており、SSc 皮下で認める低酸素により、エピゲノム異常および表皮細胞の脱分化が生じる可能性が示唆された。

【結論】現在、皮膚凍結切片を免疫染色後、染色された表皮細胞に対してレーザーマイクロダイセクションを行い抽出した核酸をメチル化 DNA アレイと網羅的 mRNA 発現解析に提出しており、今後はこれらを統合解析して DNA メチル化に関与する重要な遺伝子を抽出する。また、単離した SSc 表皮細胞に低酸素刺激を加え、これらの遺伝子の DNA メチル化状態を解析し、候補遺伝子を絞り込む。

課題番号：R06 基-064

研究課題：脊髄におけるタウ病理の免疫組織化学的研究

研究代表者名（所属）：西村 広健（病理学）

共同研究者名：松野 岳志

[背景] アルツハイマー病(AD)は、アミロイド β ($A\beta$)とタウの両者が脳に沈着する疾患であるが、近年 primary age-related tauopathy (PART)と呼ばれる $A\beta$ 沈着に乏しく AD 同様のタウ沈着を示す病態群が注目されている。タウの脳内分布・進展様式はよく知られている (Braak/AT8 stage)が、脊髄のタウ病理は未だ不明な点が多い。

[目的] PART の脊髄タウ病理の詳細を明らかにする。

[方法] PART 6 例、AD 病理 5 例の脊髄パラフィン切片を用い、抗リン酸化タウ抗体(AT8)免疫染色でタウを検出した。Braak/AT8 ステージと脊髄タウ病理との関連、PART と AD 病理の関連について検討した。

[結果] 1)5/11 例で脊髄にタウ病理がみられたが極めてごく少量、2)神経細胞体の陽性像と突起状陽性像が前角にみられる、3)AD 病理で脊髄にタウ病理がみられたのは 2 例で、AD と診断できる程度のタウの大脳病理を示す症例、4)PART で脊髄にタウ病理がみられた症例は 3 例、5)脊髄にタウが沈着することと Braak/AT8 ステージに関連はなかった。

[考察] PART のタウ病理は海馬領域に限局することから、脊髄にタウ病理が乏しいことは納得がいく。PART でも脊髄前角にタウ病理がわずかでもみられることは、運動障害が生じ得る可能性もありえる点で重要な所見かもしれない。

課題番号：R06 基-073

研究課題：マウス嗅球における細胞内 GABA 含有量と神経分類マーカーとの比較解析

研究代表者名（所属）：佐藤 慧太（解剖学）

嗅覚の一次中枢である嗅球深層の顆粒細胞層において、抑制性の神経伝達物質である GABA の免疫陽性反応強度、つまりその細胞内存在量には細胞間で大きな差が存在する。このような細胞間での GABA 免疫陽性反応強度の多様性は、新規の神経分類指標となる可能性もあるが、嗅球の一部での報告にとどまっており、既知の神経分類指標との比較、およびその機能的意義も不明である。

そこで本研究では、実験条件による変動が少ないと考えられる金粒子標識免疫電子顕微鏡法を用い、嗅球全層における GABA 免疫陽性反応強度を定量的に解析した。同時に、嗅球の介在ニューロンの既知の分

類マーカーとして知られる、カルレチニン (CR) やカルバインディン (CB)、セクレタゴギン (SCGN)、チロシン水酸化酵素 (TH) などの神経分類マーカー発現細胞を免疫組織化学的に同定し、金粒子標識免疫電子顕微鏡法による解析を行なった。その結果、同一の分類マーカーを発現し、これまで同じサブポピュレーションとされてきたニューロン間においても、その GABA 免疫陽性反応強度の大きな差が存在することが明らかになった。

課題番号：R06 基-074

研究課題：アプリを用いた自主訓練とフィードバック併用による PD に対する遠隔リハビリシステムの開発

研究代表者名 (所属)：三原 雅史 (神経内科学)

共同研究者名：梶山 裕太、久徳 弓子

高齢化に伴い患者数が増加しているパーキンソン病(PD)は、歩行バランス障害を特徴とする進行性の神経変性疾患であり、わが国でも患者数が増加している。PD 患者に対しては薬物療法に加えて運動介入・リハビリテーションの有効性が報告されているが、適切な訓練メニューの構築、指導を行える専門職リソースの不足などが問題となり、十分な介入ができていない。我々はこれらの問題を解決するための方法として、患者・参加者にとって最適な運動プログラムをオンデマンドで選択し、個別化した自主訓練メニューの構築を可能とした自主訓練指導アプリを開発し、これをベースとした遠隔リハビリシステムを提案した。また、客観的な活動量評価として携帯型活動量計を用いた評価システムの開発も行っている。本年度は体系化した PD 向け訓練メニューについて指導用動画を作成し、アプリへの実装を行ったうえで、倫理委員会の承認を得て実臨床での実装を目指した臨床研究を開始した。現在、患者の組み入れを開始しており、4名の患者に使用していただいている。これまでのところ、1名で、研究と無関係な転倒による骨折を認めているもの、アプリ自体の操作性や安全性には大きな問題はなく研究は進行できている。これまでの参加者では、研究参加後に運動量の増加が認められており、今後例数を増やして安全な遠隔リハビリシステムとしての臨床応用に向けた検討を行いたいと考えている。

課題番号：R06 基-075

研究課題：「TGF- β 誘発サルコペニア」を標的とする医薬品の開発

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

長寿蛋白質である α -Klotho を欠損させたマウスはサルコペニアを含む多彩な老化表現型を示し寿命が短縮する。我々は、血液中の循環型 α -Klotho は、マイオスタチン、GDF11、アクチビン、TGF- β 1 などの筋消耗性 Transforming growth factor (TGF)- β 分子を阻害することを報告した (論文 1)。これら TGF- β 分子を広範に抑制する低分子化合物は α -Klotho 欠損マウスのサルコペニアを回復させた。ところが、この化合物は心血管系副作用のリスクがあり臨床応用は難しい。本研究では、このリスクがないマイオスタチン単独阻害によって欠損マウスのサルコペニアが回復するかを検証した。 α -Klotho (-/-) マウスと、マイオスタチン活性を抑制するマイオスタチンプロドメインを過剰発現するトランスジェニックマウス [MSTN^{Pro} (+/-) Tg] を交配した。 α -Klotho (-/-) マウスと比較すると、 α -Klotho (-/-)/MSTN^{Pro} (+/-) Tg マウスは筋量、握力、筋張力が有意に増加した。驚くべきことに、このマウスの平均生存期間は、 α -Klotho (-/-) マウスと比較し有意に延長した。マイオスタチン阻害による筋量増加が、なぜ寿命の延長につながるのか、その分子メカニズムを解析し、介入療法を試みている。

課題番号：R06 基-076

研究課題：筋線維壊死を阻害するペプチド医薬の薬理機構を解明する

研究代表者名 (所属)：大澤 裕 (神経内科学)

共同研究者名：西松 伸一郎、宗兼 麻美、大久保 浩平

特許等非公開事項を含むため、抄録本文は掲載不可とする。

課題番号：R06 基-077

研究課題：カベオリン-3 による筋ジストロフィー介入療法の基盤研究

研究代表者名（所属）：宗兼 麻美（神経内科学）

共同研究者名：大澤 裕、西松 伸一郎

特許等非公開事項を含むため、抄録本文は掲載不可とする。

課題番号：R06 基-078

研究課題：ステロイドホルモンによる嗅球神経回路調節に関する 3 次元構造解析

研究代表者名（所属）：山西 治代（解剖学）

共同研究者名：樋田 一徳

嗅覚系は、下等動物から高等動物、ヒトに至るまで種差を超えて構造が維持されている。近年、嗅覚障害による QOL の低下からも、嗅覚の重要性が認識されている。匂い分子は、鼻腔の嗅上皮の嗅神経の受容体に結合し、その情報は、嗅神経の軸索を介して、一次中枢である嗅球へ、さらに嗅球から高次中枢へと投射される。嗅球の表面には糸球体と呼ばれる構造があり、様々な生理活性物質を含有したニューロンから構成されている。本研究では、女性ホルモンであるエストラジオールによって、嗅球のチロシン水酸化酵素陽性 (TH) ニューロンが、どのように形態を変化させ嗅神経回路の機能に影響を及ぼすかについて、1 細胞レベルで詳細に調べるため、光学顕微鏡観察と同じ領域を透過型電子顕微鏡により行う広範囲モニタージュ観察法を確立した。広範囲モニタージュ観察法で得られた画像では、デジタルマップのように、適宜拡大縮小を行い、光学顕微鏡と同程度の約 $150 \times 150 \mu\text{m}^2$ の領域全域を電子顕微鏡のナノレベルで観察することが可能となった。さらに糸球体全体像を観察 TH ニューロンの 3 次元構造と近傍の細胞間のシナプス結合の形態、分布を明らかにすることが可能となった。現在、糸球体における TH ニューロンへの出入力を同定し、糸球体でのシナプスの分布を解析するとともに、TH ニューロンの 3 次元再構築を進めている。

課題番号：R06 基-084

研究課題：女児てんかん原因遺伝子 PCDH19 の機能解析

研究代表者名（所属）：林 周一（解剖学）

PCDH19 関連症候群は、生後 6 か月～18 か月の女児にてんかん発作を発症する指定難病であり、X 染色体にコードされる細胞間接着因子プロトカドヘリン 19 (PCDH19) 遺伝子の変異が原因である。本研究では、PCDH19 の機能喪失が脳の発生に及ぼす影響を明らかにするために、*Pcdh19* 欠損マウスで発見した嗅球の表現型を解析した。まず、*Pcdh19* 遺伝子の 3' 末端に HA-3×FLAG タグをノックインしたマウスを用いて、野生型のマウスの嗅入力経路における PCDH19 タンパク質の局在を調べた。胎生 14.5 日齢では、PCDH19 は嗅上皮から嗅球の糸球体に投射する嗅神経に局在した。生後 0 日齢では、嗅球の吻側近傍の嗅神経束において、PCDH19 の一部は軸索誘導因子 Neuropilin 1 陽性の軸索に局在した。嗅球では、PCDH19 陽性の軸索は PCDH19 陰性の軸索とは異なる糸球体に収束し、各糸球体の中で PCDH19 は均一に分布した。次に、*Pcdh19* 欠損マウスの嗅球を解析した。ヘテロ接合型雌マウスでは、PCDH19 陽性糸球体の数が減少し、さらに一部の糸球体では、PCDH19 陽性軸索と PCDH19 欠損軸索が分離してモザイク状になった。したがって、PCDH19 は発生段階で嗅神経の軸索間相互作用に働き、PCDH19 の機能喪失により糸球体への嗅神経の誘導と収束に異常が起きることが示唆される。

課題番号：R06 基-085

研究課題：嗅覚系神経回路のマルチモーダル調節機構の解明

研究代表者名（所属）：樋田 一徳（解剖学）

共同研究者名：山西 治代

研究代表者は従来、独自の correlated Volume EM Analysis により嗅球神経回路を一貫して構造解析し、

最近は一ニューロン標識を応用、高次脳中枢から嗅球への遠心性ニューロンの投射様式をシリーズで論文発表してきた。加えて生体内環境が嗅覚へ及ぼすに着眼し、性ステロイド (estradiol) による「内因性調節」の解析を行い、匂い刺激による「求心性調節」や他の脳領域からの「遠心性調節」を明らかにした。

本年度はヒスタミンニューロンの解析結果を論文発表し (Minami et al 2024)、嗅覚が視床下部機能により調節されている可能性を証明することができた。これは単なる遠心性調節のみならず、体内ホメオスタシス中枢により調節を受ける体内調節により、嗅覚も同時に影響を受けることがわかってきた。このことは、嗅覚系神経回路がマルチモーダルに調節を受けていることを示し、現在、嗅覚系へ影響を及ぼす視床下部領域のニューロン構成などの解析を進めている。

なお、嗅球内ニューロン上のシナプスのより広範囲における分布を解析するにあたり、本学および大阪大学の電子顕微鏡を用い、自動モニタージュ撮影 (JEOL; LLP, Toida et al 2025) と遠隔観察高解像度 TV 会議システムによる遠隔観察解析 Network Tele-Microscopy により解析効率の向上に努めている。

課題番号 : R06 基-087

研究課題 : Krabbe 病におけるラクトシルセラミド蓄積と神経細胞死の解析

研究代表者名 (所属) : 渡邊 昂 (病態代謝学)

Krabbe 病は、ガラクトシルセラミド (GalCer) β -galactosidase (GALC) の遺伝的欠損による脱髄疾患である。我々は、これまでの解析から Krabbe 病の病態悪化にラクトシルセラミド (LacCer) の蓄積が関与している可能性を見出した。しかしながら、脱髄組織における LacCer がどの細胞由来なのかについては不明な点が多い。本研究では単純な神経炎症のモデルであるクプリゾン誘発モデルを用いて LacCer の蓄積を脳組織の構成細胞種別に解析した。クプリゾンを 5 週間給餌した野生型マウスの脳梁・海馬・大脳白質から細胞を単離し、セルソーターでアストログリア、オリゴデンドログリア、ミクログリア、ニューロンに分取した。それぞれの細胞から脂質を抽出して LC-MS で解析した結果、クプリゾン給餌マウスでは特にミクログリアで LacCer が蓄積していた。そのセラミド構造は d18:1/18:0 であり、ニューロンに豊富に存在するガングリオンドのセラミド構造と一致していた。脱髄と神経炎症を検討するために、ニューロンを抗 CNPase 抗体で、ミクログリアを抗 Iba1 抗体で、アストログリアを抗 GFAP 抗体で染色した結果、クプリゾン給餌によって特に脳梁で脱髄と神経炎症が見られた。既報では、細胞障害に応じてアストログリアで LacCer が新規に合成されると報告されているが、本解析から LacCer はダメージを受けたニューロンをミクログリアが貪食した結果、蓄積していると考えられる。

課題番号 : R06 基-097

研究課題 : 睡眠呼吸障害は嗅覚脳神経回路にどのような影響を及ぼすのか?

研究代表者名 (所属) : 濱本 真一 (耳鼻咽喉・頭頸部外科学)

共同研究者名 : 三宅 宏徳、木下 将、兵 行義、原 浩貴

嗅覚障害は鼻中隔彎曲などの鼻腔の形態異常、アレルギー性鼻炎や副鼻腔炎、頭部外傷や神経変性疾患、加齢などさまざまな原因で生じる。近年、閉塞性睡眠時無呼吸 OSA 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。OSA を合併した嗅覚障害におけるメタアナリシスでは、無呼吸指数 AHI の増加と嗅覚機能障害に相関が示されている。OSA は嗅覚障害の発生率が高く、嗅覚障害の程度は OSA の重症度と相関するとされる。しかし、OSA 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。また、睡眠時無呼吸検査の結果と、日常においてアンケート (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、OSA に関連する嗅覚障害について、睡眠障害における各種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：R06 基-103

研究課題：バランス機能改善のためのニューロモデュレーション技術の確立と至適刺激部位の検討

研究代表者名（所属）：梶山 裕太（神経内科学）

共同研究者名：三原 雅史、久徳 弓子

【背景】高齢者の転倒は寝たきりや入院、要介護の原因となり、大きな社会問題となっている。転倒予防のための運動訓練は、それ自身が常に転倒リスクを伴うため、我々はニューロフィードバック（NFB）を用いて座ってできる転倒予防トレーニングを提案してきた。本研究では仮想現実（VR）を用いた疑似転倒タスクと、NFBを用いてバランス機能を向上させる VR-NFB の有効性を検討した。【手法】健常若年者 14 人を対象とし、実刺激と Sham 刺激とを用いてランダム化クロスオーバー試験を行った。VR-NFB では転倒と歩行の 2 つの課題を行い、近赤外分光装置（NIRS）を用いて補足運動野（SMA）の活動を測定し、被験者にフィードバックした。主要評価は VR-NFB 前後でのバランス機能（水平揺動時と安静時の重心移動平均の比）の改善とし、副次評価として VR-NFB 中の有害事象と脳血流変化を検討した。【結果】装置装着部の痛みや不快感、VR による不快感を認めたが重篤な有害事象は認めなかった。実刺激を用いた VR-NFB では、Sham 刺激と比較してバランス機能の改善を認めた。（実刺激 -1.72 ± 0.71 ；Sham 刺激 -0.091 ± 0.25 ； $p < 0.05$ ）。実刺激を用いた VR-NFB では、Sham 刺激と比較して SMA 活動の亢進を認めた。【考察】VR-NFB は健常若年者において水平揺動時のバランス機能を改善させ、安全かつ有効な転倒予防トレーニング法である可能性が示唆された。しかし、装着時に不快感を訴えるケースもあり、器具改善の必要性が示唆された。

課題番号：R06 基-105

研究課題：コネクチン力学応答を介する蛋白質分解調節と心不全

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

心筋は高血圧などの力学的過負荷に対し、心筋細胞の肥大を介したポンプ機能の調節によって適応するが、長期的には心不全に至る。サルコメアに存在する巨大バネ分子コネクチンは、心臓の拡張性を規定するため、力学的負荷を直接感知する分子実体であり、心不全の病態や治療に直結すると考えられる。私たちは新規コネクチン結合蛋白質を同定し、KO マウスや KO・過剰発現ゼブラフィッシュ心臓の解析を通じて、力学的負荷による心不全の発症防止に寄与していることを明らかにしてきた。本課題では、新規コネクチン結合蛋白質がコネクチン M 線領域を介した蛋白質分解を調節し、心不全発症を抑制する仕組みの解明を進めた。まず、KO マウス心臓におけるコネクチンを介したユビキチン-プロテアソーム系やオートファジー・リソソーム系に関与する蛋白質の量を抗体で解析したが、顕著な変動は確認されなかった。一方、KO・過剰発現ゼブラフィッシュ心臓の遺伝子変動を RNA-seq で網羅的に解析した結果、オートファジー経路の有意な変動 ($p < 0.01$) が認められた。さらに、ゼブラフィッシュ心臓では、新規コネクチン結合蛋白質がコネクチンを介した蛋白質分解経路の起点となるサルコメア M 線領域に局在していることが明らかになった。引き続き心不全モデルを作製・解析し、力学的負荷によるコネクチンを介した蛋白質分解経路の変動と心不全発症の仕組みの解明に取り組んでいる。

課題番号：R06 基-107

研究課題：血中 miRNA による変形性関節症に特異的なバイオマーカーの検証

研究代表者名（所属）：西江 宏行（先端腫瘍医学）

共同研究者名：永坂 岳司、岡脇 誠

痛みは主観的なものであり、客観的な評価ができないことが診療を難しくしている。慢性痛の分類、特に体に損傷のある侵害受容性疼痛と、原因不明の一次性慢性痛について、客観的指標の一つとするために、血漿中循環マイクロ RNA (miRNA) がこの分類に有効かを検証した。対象は、変形性股関節症 (HO) 患者、一次性慢性痛 (CPP) 患者、健常者である。HO 患者では股関節置換術の前後で、CPP 患者で認知行動療法の前後で、採血と痛みや QOL に関する質問紙評価を行った。評価としては、痛み

(NRS)、QOL (EQ-5D)、疼痛生活障害尺度 (PDAS)、心理尺度 (PHQ-9, PCS) などを用いた。血漿中 miRNA をマイクロアレイと RT-PCR で測定し、分類モデルと ROC 解析で診断精度を検討した。

結果

let-7a, miR-26a, miR-16 が HO、CPP、健常者を分類するのに有効であった (AUC > 0.94、決定係数 $R^2 = 0.677$)。let-7a は変形性関節症と関連していた。

結論

血中 miRNA は侵害受容性疼痛と一次性慢性痛を客観的に分類できる可能性があり、個別化された疼痛管理に貢献する新たな診断ツールとなりうる。

なお、本研究は、Pain Report 誌に投稿中である。

課題番号：R06 基-108

研究課題：ALS における相分離形成異常に関与する lncRNA 配列の探索 (継続・発展研究)

研究代表者名 (所属)：山崎 晃 (衛生学)

共同研究者名：伊藤 達男、清水 由梨香

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis; ALS) 患者検体由来の運動神経細胞では、異常な液-液相分離が形成される。しかし、液-液相分離を構成するロングノンコーディング RNA (lncRNA) の機能に着目した研究は少ない。そこで本研究では、lncRNA の機能を CRISPR/dCas13 システムで阻害することにより相分離を解消できるか探索した。

家族性・孤発性 ALS 患者由来の iPS 細胞を理研細胞バンクより購入し、さらに運動神経細胞への分化プロトコルを確立した。作製した運動神経において、汎神経マーカーである TUBB3 の発現を確認した。次に、iPS 細胞で dCas13 を発現する株を樹立するとともに、標的 lncRNA ノックダウン用のガイド RNA を約 3 万種類設計し、クローニングを完了した。次に、これらのガイド RNA を iPS 細胞から分化させた運動神経細胞に発現させ、ヒ素暴露に抵抗性をもたらす候補のスクリーニング実験を実施した。スクリーニング実験によって、約 3 万種類のガイド RNA に関する次世代シーケンスデータが得られた。本データを解析するために、Galaxy 上に MAGeCK を中心とした解析パイプラインを構築し、ヒ素暴露に対して生存した細胞でエンリッチされているガイド RNA を約 100 種類程度抽出した。抽出した約 100 種類のガイド RNA から、ストレス顆粒の解消に最も効果があるものを同定するために、個々のガイド RNA をクローニングし、個別に神経細胞で発現させ、ヒ素処理を行い相分離を形成させた。相分離の構成要素である TDP-43 タンパク質の免疫染色を行い、形成・解消能を指標に評価を実施した。

— 消化器・代謝・腎 —

課題番号：R04 基-050

研究課題：ブドウ糖毒性と腓ラ氏 m⁶A RNA メチレーション不全の検討

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：片倉 幸乃、真田 淳平、下田 将司

【背景】2 型糖尿病の腓 β 細胞では m⁶A RNA メチル化不全が生じており、これが β 細胞増殖障害、インスリンシグナル障害を引き起こし糖尿病の病態を構成する原因の一つであると報告されている。

【目的】腓ラ氏島の m⁶A RNA メチル化レベルの継時的な変化と、SGLT2 阻害薬による糖毒性の回避が RNA メチレーションに与える影響を詳細に検討する。

【方法】肥満 2 型糖尿病モデル db/db マウスに対して 7 週齢から SGLT2 阻害薬 (Luseoglifrozin) を混餌投与した群を Luseo 群とし、コントロール群との間で各種パラメータ、腓 β 細胞の m⁶A メチル化関連因子について検討した。

【結果】7 週齢から 18 週齢の介入期間中、コントロール群で随時血糖値が 500~650mg/dl を呈した。一方で、Luseo 群では 220~230mg/dl と有意に低い値であった。その結果、腓ラ氏島の Mettl14, Mettl3 といったメチル化誘導酵素関連遺伝子、reader である Ythdf2、脱メチル化酵素関連遺伝子 Alkbh5 の mRNA 発現量は

ずれも Luseo 群で有意に高値であった。

【結語】糖毒性が膵β細胞の m⁶A RNA メチル化を抑制する一方, SGLT2 阻害薬は長期的な血糖改善を通じて m⁶A メチル化活性を維持し, 膵β細胞機能の保護に寄与する可能性が示唆された. 今後は m⁶A 修飾がもたらす転写後制御の詳細な解析に加え, 臨床応用への可能性も検討していく必要がある。

課題番号 : R05 基-054

研究課題 : 4D flow MRI を用いた食道静脈瘤静脈瘤出血リスク層別化の非侵襲的評価

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、山本 亮、玉田 勉、福倉 良彦

背景 : 食道静脈瘤出血は肝硬変の重篤な合併症であり、内視鏡検査に代わる非侵襲的な評価法が求められている。本研究では 4D flow MRI を用いて門脈系の血流を直接測定し、食道静脈瘤出血リスクとの関連を評価した。

材料と方法 : 慢性肝疾患患者 67 名を対象に、3-T MRI 装置で速度エンコード 20 cm/s の 4D flow MRI を施行した。iTFlow2 を用いて左胃静脈 (LGV)、奇静脈 (AZV)、門脈本幹、脾静脈、上腸間膜静脈の血流量を測定した。内視鏡所見により静脈瘤なし、低リスク、高リスクの 3 群に分類し、スピアマンの順位相関係数と ROC 解析にて診断能を評価した。

結果 : 静脈瘤出血リスクは LGV と負、AZV と正の相関を示した。AZV は高リスク群識別に最も有効で (AUC 0.94, 感度 100%, 特異度 95.7%, カットオフ 0.131 L/min)、LGV (AUC 0.88, 感度 100%, 特異度 73.1%, カットオフ -0.013 L/min) が次に有用であった。

考察 : LGV 逆流量の増加と AZV 血流量の増加は静脈瘤発生の病態と一致しており、4D flow MRI によるこれら静脈の血流測定は内視鏡検査、および治療の必要性を判断するのに役立つ可能性があることを示唆している。

結論 : 4D flow MRI で評価した LGV および AZV 血流量は、食道静脈瘤の出血リスクを層別化するための非侵襲的な定量評価指標である。

課題番号 : R05 基-112

研究課題 : 老年期のビタミン類及び微量元素の充足状態の実態調査及び介入研究

研究代表者名 (所属) : 秋山 真樹 (総合老年医学)

共同研究者名 : 杉本 研

【背景】高齢者においてビタミン類や微量元素の欠乏が身体機能に及ぼす影響についてエビデンスは乏しい。

【目的】高齢入院患者のビタミン類・微量元素欠乏の実態および身体機能 (特に転倒・転落の有無) との関連を明らかにすること。

【方法】2023 年 9 月 1 日から 2025 年 2 月 28 日までに川崎医科大学高齢者医療センターに初回入院した患者を対象に、血色素量、血清アルブミン値、血清コレステロール値、ビタミン B1、ビタミン C、葉酸、亜鉛の異常低値を示す患者の割合を調べる。

さらに “転倒・転落アセスメントスコアシート” を用いて、転倒・転落の “既往なし群” と “既往あり群” の 2 群に分け、2 群間でこれらの採血結果に差があるか否かを検討する。

【結果】入院時の採血結果で検査値の異常低値を示す患者の割合は、血色素量 68.9% (n=663)、血清アルブミン値 95.2% (n=668)、血清コレステロール値 21.0% (n=644)、ビタミン B1 35.8% (n=394)、ビタミン C 31.2% (n=202)、葉酸 9.38% (n=437)、亜鉛 67.4% (n=438) であった。

“既往なし群” と “既往あり群” の 2 群間の採血結果は、血色素量、血清アルブミン値、血清コレステロール値、ビタミン C、葉酸、亜鉛については有意差を認めなかったが、異常高値を示した症例を除外した場合において、“既往あり群” でビタミン B1 は有意に低値であった (29.1 ± 10.6 ng/ml, n=186 vs 26.8 ± 9.3 ng/ml, n=257, p=0.02)。

【結語】高齢入院患者では、高率に貧血・低アルブミン血症・ビタミン欠乏及び亜鉛欠乏を認めた。身体

機能低下（転倒・転落の既往）とビタミンB1値との関連が示唆された。

課題番号：R06基-003

研究課題：間質性膀胱炎の幹細胞移植を用いた根治的治療の構築

研究代表者名（所属）：横西 哲広（解剖学）

【目的】膀胱上皮は尿路のバリア機能を担い、その障害は間質性膀胱炎などの難治性疾患を引き起こす。本研究では、異常上皮の除去と正常上皮への再構築を目指し、界面活性剤であるベンザルコニウム塩化物（BC）による上皮除去と、組織幹細胞由来の膀胱オルガノイド移植の併用による治療戦略を検証した。

【方法】野生型マウスと、低濃度BCの反復注入によって作成した間質性膀胱炎モデルマウスの膀胱内にBCを注入して上皮除去後に、CAG-EGFPマウスから樹立した膀胱オルガノイドを経尿道的に移植した。

【結果】膀胱オルガノイドは移植翌日には宿主膀胱基底膜に定着し、基底細胞から中幹細胞、表層細胞まで分化し、三層構造を再構築した。表層細胞はバリア機能であるウロプラキリンとタイトジャンクションを構成していた。間質性膀胱炎モデルマウスに移植したオルガノイドは移植8週間後も定着を認め、再構築上皮が機能的であることを示した。

【考察】BCによる選択的上皮除去とオルガノイド移植の併用は、膀胱上皮幹細胞の機能評価系として有用であるとともに、がんを含む膀胱上皮疾患への再生治療法として有望であると考えられた。

課題番号：R06基-004

研究課題：インフリキシマブで寛解維持中のクローン病症例における血中トラフ濃度の経時的变化の検討

研究代表者名（所属）：半田 修（消化器内科学）

共同研究者名：塩谷 昭子、梅垣 英次、松本 啓志、大澤 元保、松本 正憲、葉 祥元、笹平 百世、三澤 拓

【背景】Infliximab（IFX）治療中のクローン病（CD）症例では、IFX血中トラフ濃度（TC）を治療有効域に保つことが寛解維持に重要である。

【目的】IFXのTCを経時的に測定したCD症例で、有効TCを保つために重要な因子を後ろ向きに検討した。

【方法】2020年から2024年までに当院を受診したCD症例でIFXのTCを測定した症例につき、TCの初回測定時とその後のTCを比較し、TCの推移に影響を与える因子を後ろ向きに検討した。

【結果】IFXのTC測定を行ったCD症例は52症例。小腸型/小腸大腸型/大腸型：10/35/7。症例数は女：男＝21：31、中央値で、年齢43.1歳、病悩期間196か月、TC6.5 mg/mL。全症例のTCの推移をみると、時間経過に伴いTCが低下する傾向が見られた。複数回のTC測定を行っている症例は38例で、そのうち治療変更が無かったのは16例であった。これら16例をTCが初回測定時に比べて最終的に低下、不変、上昇した3群に分けて、初回測定時の患者背景を比較したところ、上昇した症例では低下した症例に比しHBIが低く（ $p=0.029$ ）、チオプリンの使用が多かった（ $p=0.004$ ）。

【結語】Infliximab治療中のCD症例で血中TCを保つためには、既報の如くチオプリンの併用が有用と考えられた。

課題番号：R06基-008

研究課題：自然呼吸下3D Radial Look-Locker MRIにより得られた緩和時間と脂肪分画値の肝胆膵疾患の診断への有用性

研究代表者名（所属）：福倉 良彦（機能・代謝画像診断学）

共同研究者名：玉田 勉、山本 亮、神吉 昭彦、檜垣 篤

【目的】MRIで得られるT1緩和時間は、肝胆膵疾患を非侵襲的に評価可能な信頼性の高いバイオマーカーとして使用されている。本研究の目的は、脂肪抑制非併用/抑制併用T1緩和時間と脂肪分画値が定

量可能な自然呼吸下 3D radial DIXON Look-Locker にて得られた水/脂肪分離 T1 緩和時間と脂肪分画値の精度を検証することである。

【方法】対象は、2024 年 4 月から 10 月までの間に上腹部の自然呼吸下 3D radial DIXON Look-Locker が撮像された 30 症例である。3D radial DIXON Look-Locker で得られた肝実質の脂肪抑制非併用/抑制併用 T1 緩和時間および脂肪分画値を通常の臨床で用いられる 2D Look-Locker による脂肪抑制非併用/併用 T1 緩和時間や mDIXON による脂肪分画値と比較した。

【結果】スピアマンの相関係数は、肝実質の脂肪抑制非併用 T1 緩和時間で 0.92 ($p < 0.001$)、脂肪抑制非併用 T1 緩和時間は 0.89 ($p < 0.001$)、脂肪分画値は 0.69 ($p < 0.001$) であった。Bland-Altman 分析ではいずれも比例誤差を認めなかった。

【結論】自然呼吸下 3D radial DIXON Look-Locker で算出された肝実質の水/脂肪分離 T1 緩和時間は、従来の撮像にて得られた値と高い相関を示したが、脂肪分画値は相関係数が低かった。

課題番号：R06 基-010

研究課題：乳酸を介した T 細胞の PD-1 発現調節を標的とした解糖系阻害剤および免疫チェックポイント阻害剤併用療法の開発

研究代表者名（所属）：佐々木 恭（消化器内科学）

共同研究者名：仁科 惣治、大幸 一真

【背景】がん微小環境において、解糖系が亢進し高乳酸濃度の癌では CD8+Tcell の PD-1 発現は低下し、抑制性 Tcell (Treg) の PD-1 発現が亢進する。これらの癌に対して免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) を投与すると CD8+Tcell は活性化されず、腫瘍免疫抑制細胞である Treg のみが活性化され、ICI 抵抗性が生じることが危惧される。そこで乳酸産生を抑制する解糖系阻害剤 2deoxy-D-Glucose (2DG) が乳酸抑制を介して、CD8+Tcell/制御性 Tcell の PD-1 発現を調整し、ICI 治療抵抗性を改善するか検討した。

【結果】肝癌細胞 (Huh7) と CD8+Tcell の共培養実験において、Huh7 培養上清中の乳酸産生を 2DG は有意に抑制した。2DG により乳酸産生が抑制された Huh7 の培養上清では、CD8+Tcell の PD-1 mRNA の発現が有意に亢進した。肝癌細胞株 Hep55.1c 皮下移植腫瘍組織を用いた FACS 解析において、Control 群と比べ 2DG 群では CD8+Tcell 数の増加/Treg 数の減少を認めた。Hep55.1c 皮下移植マウスにおいて、2DG と抗 PD-1 抗体の併用は抗腫瘍効果を増強した。

【結論】解糖系阻害剤 (2DG) は、乳酸産生の抑制を介して CD8+Tcell の活性を亢進し、Treg cell の活性低下を介して抗腫瘍免疫を改善させる可能性が示唆された。

課題番号：R06 基-014

研究課題：2 型糖尿病患者における体格指標を運動指導へ応用するためのエビデンス構築

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、伏見 佳朗

本研究は、過去の当プロジェクト研究により明らかとなった握力という簡便な指標を運動指導に活用し、その効果を血糖および体重管理の視点で検証することに加え、体重管理評価のための、腹部脂肪の指標（腹囲や内臓脂肪）とは異なる脂肪蓄積指標を、全身を網羅した体組成指標を詳細に検討することを探り出すことを目的とする。

本研究は現在も症例の経過観察を継続中であるが、研究開始後、外来通院中の 2 型糖尿病患者の現状を把握するため、既存のデータを抽出し、横断的検討を行った。体成分分析結果の体水分量 (TBW)、体脂肪量 (BFM)、筋肉量 (SLM)、体脂肪率 (%BF)、四肢骨格筋指数 (SMI)、体格指標の握力、腹囲、BMI、ABSI と血糖管理の指標 HbA1c との関係を検討し、その結果、握力に負の、%BF、腹囲に正の有意な関連を認めた。

さらに詳細な検討を行うため、体脂肪量と筋肉量（全身データ）、腹囲と握力（局所データ）を高値および低値に分けて各々 4 群に分類し、HbA1c との関連を検討したところ、前者の 4 群間では有意な HbA1c の相違はなかった一方で、後者の 4 群間では低腹囲・高握力が最も HbA1c が低値であり、血糖管理には脂

肪及び筋肉の“量”以上に脂肪の集積部位や筋力の方が重要である可能性を示唆した。

課題番号：R06 基-015

研究課題：動脈硬化モデルマウスにおけるインクレチン関連薬の抗動脈硬化作用の検討

研究代表者名（所属）：真田 淳平（糖尿病・代謝・内分泌内科学）

共同研究者名：金藤 秀明、下田 将司、木村 友彦、岩本 侑一郎、岩本 秀幸、段 和徳、杉崎 俊友

【背景・目的】GIP/GLP-1 受容体作動薬である Tirzepatide (Tirze) が発売されている。今回我々は Tirze の抗動脈硬化作用を検討する他、Tirze 同様食欲抑制効果の強い GLP-1 受容体作動薬である Semaglutide (Sema) との効果の違いを検討した。

【方法】動脈硬化モデルであるアポE欠損マウスに8週齢で高血糖を誘発し10～22週齢（早期）もしくは18～30週齢（進行期）まで Tirze、Sema、PBS のいずれかを投与し大動脈弓プラーク面積、大動脈 mRNA 発現を評価した。また高血糖を誘発せず10～22週齢まで介入を行う検討（非高血糖）も行った。

【結果】早期、進行期群では Control 群と比較し Sema、Tirze で血糖値が有意に低下した。非高血糖群では3群間で血糖値の差は無かった。大動脈弓プラーク面積は、早期群では Control 群と比較し Sema、Tirze 投与群で有意に抑制された。一方、進行期、非高血糖群では3群間で差は無かった。腹部大動脈の mRNA 発現は、炎症性サイトカイン、細胞接着因子、マクロファージマーカーが非高血糖・早期・進行期群いずれにおいても Control 群と比較し Sema、Tirze 群で発現量が抑制された。

【結語】インクレチンシグナルは動脈硬化進展抑制に働くことが示唆された。プラーク進展の結果から早期より介入することが重要であると考えられた。

課題番号：R06 基-018

研究課題：SGLT2 阻害薬およびイメグリミンによる老化抑制効果・寿命延長効果の検討

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：木村 友彦・真田 淳平

SGLT2 阻害薬に関しては、老化や寿命に対する効果を確認できている。具体的には、Pair feeding により摂取カロリーを合わせて検討することにより、SGLT2 阻害薬ルセグリフロジンがマウスの寿命を延長させるという実験結果を得ている。また、トレッドミルでの走行時間や Grip hand strength（握力）は SGLT2 投薬群で有意に改善している。さらに、白血球ゲノムのテロメア長が SGLT2 投薬群で有意に長いという結果も既に得ている。ただ、マウスの寿命の観点から侵襲性を避けた必要最小限の介入のみ行っているため、今後は、その効果の詳細な分子機構を明らかにする計画である。

イメグリミンに関しては、酸化ストレスや炎症を抑制することを申請者らは既に論文報告している。さらにイメグリミンは筋肉での NAD 上昇を介し Sirt1 を活性化すること、PGC-1 α の脱アセチル化を介してミトコンドリア機能亢進し、酸素消費能改善をもたらすことも知られている。これらのことから、イメグリミンは、運動能力維持効果および寿命延長効果を有していることが期待される。イメグリミンに関しては、SGLT2 阻害薬での実験方法や結果を参考にし、その老化や寿命に対する効果を検討している。

課題番号：R06 基-019

研究課題：原発性アルドステロン症における唾液中ステロイドホルモン分画測定の意味

研究代表者名（所属）：宗 友厚（糖尿病・代謝・内分泌内科学）

共同研究者名：岩本 侑一郎

【背景】原発性アルドステロン症(PA)は本態性高血圧の原因の10～20%を占める内分泌疾患である。近年、液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS/MS)により唾液中ステロイドホルモン分画の測定が可能となったが、PA診療における臨床的意義は明らかとなっていない。

【目的】PAの非侵襲的診断法として唾液中ステロイドホルモン分画測定の有用性を検討する。

【方法】本研究はPAの精査目的で当科に入院した20～70歳の患者のうち、書面での同意が得られたPA

患者 25 名、非 PA 患者 25 名を対象とした非介入前向き観察研究である。入院翌日に 8 時、10 時、14 時、20 時、23 時に血液検査と同時に唾液検体 1mL/回採取し、LC-MS/MS により唾液中ステロイドホルモン分画を測定する。

【結果】抄録時点で PA 患者 4 名、非 PA 患者 12 名が研究参加に同意し、6 名分(うち PA 患者 2 名、非 PA 患者 4 名)の唾液中ステロイドホルモン分画測定が完了している。唾液中アルドステロン濃度と血漿アルドステロン濃度は正の相関を示した($r=0.939$, $p<0.001$)。非 PA 患者と比べて、PA 患者の唾液中アルドステロン濃度は 8 時、14 時時点で有意に高値であった。また近年 PA 診断マーカーとして期待されている 18-ヒドロキシコルチゾール(18-oxoF)は全ての時間帯で PA 患者で高値であり、18-oxoF の日内変動の曲線下面積は PA 患者で有意に大きかった($p<0.001$)。

【結論】唾液中アルドステロン濃度、および唾液中 18-oxoF は PA 診断のための非侵襲的診断法としての有用性が期待される結果であった。

課題番号：R06 基-020

研究課題：グルココルチコイドが膵β細胞機能・形態に与える影響の検討

研究代表者名(所属)：伏見 佳朗(糖尿病・代謝・内分泌内科学)

共同研究者名：木村 友彦、岩本 侑一郎

【背景】グルココルチコイド(GC)は末梢組織のインスリン感受性低下と肝臓での糖新生亢進により高血糖を惹起し、最終的に膵β細胞障害をきたすものの、GCによる直接的な膵β細胞障害の機序に関する報告は少ない。

【目的】膵β細胞の視点から GC 誘発性高血糖の機序を明らかにする。

【方法】In vivo では、7 週齢の C57BL/6J 雄性マウスに対し、コルチコステロン水溶液(50μg/mL; C 群)、デキサメタゾン(Dex)水溶液(400μg/mL; D 群)、0.01%エタノール水溶液(V 群)を飼育水とし 2 週間飼育した。In vitro では MIN6 細胞株に対し Dex 100nM、GC 受容体阻害薬(RU-486) 10μM を 24 時間投与した。また siRNA を用いて GC 受容体をノックダウンさせた実験をおこなった。

【結果】2 週間介入後の血糖値は V 群 151±14mg/dL、C 群 141±14mg/dL、D 群 291±19mg/dL であり、D 群でのみ高血糖が惹起された。膵β細胞の電子顕微鏡像では、V 群と比べて C 群、D 群でインスリン顆粒の数が有意に減少し、良質なインスリン顆粒の割合は V 群、C 群、D 群の順に減少した。膵ラ氏島におけるインスリン合成や機能維持に重要な遺伝子発現は V 群と比べて C 群、D 群で有意に減少した。次に、MIN6 細胞株に対し Dex を投与するとインスリン関連遺伝子発現は有意に減少し、炎症、アポトーシスに関連する遺伝子発現が増加し、細胞生存率が減少した。Dex と RU-486 の共投与により、これらの変化はみられなかった。siRNA を用いて GC 受容体発現を 58.8%ノックダウンさせた結果、Dex 投与後のインスリン関連遺伝子発現は保たれた。

【結論】GC は高血糖の有無に関わらず膵β細胞のインスリン合成能を直接的に低下させた。膵β細胞における GC 受容体シグナルの阻害は膵保護的に働き、GC 投与時のインスリン合成能の低下を抑制した。

課題番号：R06 基-021

研究課題：2 型糖尿病患者の腎障害に対する SGLT2 阻害薬と DPP-4 阻害薬の影響の比較;SECRETE-I study 事後解析

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：金藤 秀明

【背景】糖尿病性腎症重症化予防は、糖尿病患者の健康寿命および QOL 維持に加え、医療費適正化の観点からも重要な課題である。SGLT2 阻害薬を用いた大規模臨床試験は、本薬が糖尿病性腎症を含む慢性腎臓病の病態進展を抑制することを示唆している。一方で、SGLT2 阻害薬が糖尿病関連腎臓病早期患者の腎機能に与える影響については十分には解明されていない。

【目的】SGLT2 阻害薬が糖尿病関連腎臓病早期の患者の腎機能に与える影響を DPP-4 阻害薬を対照に検証する。

【方法】SGLT2 阻害薬と DPP-4 阻害薬を用いた多施設共同無作為化実薬対照比較試験 SECRETE-I study に登録された被験者の集積データを用い、観察期間 25-26 週間の eGFR の推移を解析した。被験者は Luseogliflozin (L) もしくは Teneligliptin (T) による 24 週間の治療後に 1-2 週間の薬剤ウォッシュアウトを受けた。

【結果】103 例の腎障害の程度の内訳は、eGFR 区分 G1-2: 91 例(88%), アルブミン尿区分 A1-2: 97 例(94%)であった。24 週の介入期間中、eGFR (ml/min/1.73m²)は L 群: 78.6±16.8→75.5±15.7, T 群: 77.9±15.5→73.8±16.0 と両群ともにベースラインに比し有意に低下し、薬剤ウォッシュアウト後両群ともに有意に増加、L 群はベースラインに比し有意に上昇した(+2.0±6.7, p<0.05)。尿中アルブミン排泄量は L 群でベースラインに比し減少傾向にあった(p=0.08)。eGFR 不変・増加を目的変数とし名義ロジスティック回帰分析では、L 投与が独立した寄与因子であった。

【結語】L は T に比し糖尿病関連腎臓病早期患者の腎機能を早期から保護する。

課題番号: R06 基-031

研究課題: マルチパラメトリック MRI による早期糖尿病性腎症の予後予測に関する検討

研究代表者名(所属): 山本 亮(放射線診断学)

共同研究者名: 玉田 勉、福倉 良彦、神吉 昭彦、檜垣 篤、金藤 秀明、中西 修平、佐々木 環、長洲 一、板野 精之

糖尿病性腎症は血液透析導入のもっとも多い原疾患であり、進行すると腎障害をきたすだけでなく、心血管イベントが増加することが知られている。早期での治療介入が重要であるが、それでも一部の症例では急激に進行することがわかってきた。一方、近年では機能的 MRI 撮像により形態以外の情報を非侵襲的に得ることができるようになってきた。本研究の目的は早期糖尿病性腎症において機能的 MR 撮像が予後予測のバイオマーカーになりえるかどうかを検討することである。

対象と方法: 20 症例の早期糖尿病性腎症患者をに対し、T1 値、T2 値、BOLD (Blood oxygenation level dependent) イメージ、ASL (arterial spin labeling) イメージ、IVIM (Intravoxel incoherent motion) イメージ、SSFP (Steady-state free precession) with IR pulse イメージの複数の機能的 MR イメージ(マルチパラメトリック MRI)を撮像した。その後の経過で糖尿病性腎症ステージが進行しなかった群(n=13)と進行した群(n=7)に分け、マルチパラメトリック MRI の各撮像パラメータを比較検討した。

結果: SSFP with IR pulse 撮像から算出される最適 TI の皮髄コントラストのみで両群間に有意差が認められた(5.89±1.36 vs. 4.26±0.94, p=0.019)。

考察: SSFP with IR pulse 撮像から算出される最適 TI の皮髄コントラストは腎皮質と腎髄質の線維化と水分含有量の差を表したパラメータであり、腎皮質における線維化の進行と水分含有量の低下を表している可能性があり、早期糖尿病性腎症の予後を予測することができるパラメータである可能性が示唆された。

課題番号: R06 基-047

研究課題: 好酸球性大腸炎と大腸粘膜関連細菌叢と粘膜免疫機序の解明

研究代表者名(所属): 大澤 元保(消化器内科学)

共同研究者名: 塩谷 昭子、松本 啓志

【背景】好酸球性消化管疾患(EGID)は、消化管粘膜への好酸球浸潤を主とする原因不明の慢性的な消化管アレルギー性疾患である。食道以外の好酸球性胃腸炎(non-EoE-EGID)と定義されている。近年、種々の疾患で腸内細菌叢の関連性が報告されている。腸内細菌叢は糞便だけではなく、消化管粘膜粘液にも存在しており、粘膜関連細菌叢(Mucosa-associated microbiota:MAM)と呼ばれる。

【目的】non-EoE-EGID と MAM との関連性を明らかにする。

【方法】2021 年 10 月から 2023 年 3 月までに川崎医科大学附属病院に通院されている non-EoE-EGID 症例、下痢型過敏性腸症候群、コントロール症例を登録した。通常のポリエチレングリコール 2L を用い

た前処置を行い、大腸内視鏡検査を行った。盲腸到達後、内視鏡を抜去しながら、内視鏡下にブラシを用いて腸粘液を採取した。サンプル採取する場所は、回腸末端、S状結腸の2か所とした次世代シーケンサーで得られた粘膜サンプルの16SrRNA遺伝子に基づく菌叢解析を評価した。

【結果】今回の研究では、non-EoE-EGID群11例（平均年齢42.3歳、男性6例）、下痢型過敏性腸症候群11例（平均年齢47.9歳、男性7例）、コントロール9例（平均年齢49.0歳、男性4例）であった。non-EoE-EGID群は、control群と比較してStanotrophomonas, Viellonella, Dorea, Gluconacetabacter, Pseudomonas, Streptococcusが有意に多かった。non-EoE-EGID群は、IBS-D群と比較してOribacterium, Faecalibacteriumが有意に多かった。

結論；non-EoE-EGIDに特徴的なMAMの存在する可能性がある。しかし、症例数が少ないため、今後さらに症例蓄積し粘膜免疫との関連性についての検討が必要である。

課題番号：R06基-063

研究課題：胃がん・食道胃接合部癌に対するリキッドバイオプシーによる予後予測と薬剤選択のための基礎研究

研究代表者名（所属）：藤原 由規（消化器外科学）

共同研究者名：遠藤 俊治、東田 正陽

これまでに施行できたのは1例のみであった。バレット型の食道癌または食道胃接合部癌症例で、術後再発症例である。pStageIII食道癌で術後補助化学療法後に骨転移した症例に対してCTC（循環腫瘍細胞）解析を行った。CTC検出は、Stemcell technology社のキットを使用し、技術的サポートも得られている。基礎実験：正常人の血液にがん細胞を混入させCTCの検出を試みたところ良好な結果がえられた。その結果に基づき臨床応用を開始した。骨転移に対して放射線照射後、1か月の時点での採血で、CTCの検出は可能であった。ただ、注目すべき点は、フローサイトメトリーでEpCAM陽性、CD44陰性の領域にCTCの存在が示唆されたが、通常観察される領域と少しずれており、放射線により壊れたがん細胞が血中に流失した可能性が示唆された。その後、免疫Checkpoint阻害薬の投与が継続され、骨転移はNC状態で維持され、PET/CTでも有意な病変の描出は認めていない。同時期の採血で多くのCTCが検出されており、がん抗原がリンパ球を刺激し免疫Checkpoint阻害薬（ICI）の効果を高めている可能性が示唆された。

課題番号：R06基-066

研究課題：消化器がんにおける血液循環がん幹細胞検出

研究代表者名（所属）：白羽 英則（総合内科学2）

共同研究者名：河本 博文、谷川 朋弘、三宅 圭祐、川中 美和、西野 謙、和田 望、末廣 満彦、浦田 矩代、伏見 崇、河田 真由子

【目的】進行消化器がんの抗がん剤耐性化予測のため、血液循環がん細胞中のがん幹細胞検出技術を確立する。

【方法】健常者血液に培養消化器がん細胞（PLC, Hep3B, MKN45）を付加し、EasySep磁気ビーズを用いた改良法でがん細胞を分離し、CRESTコートガラスに展開。サイトケラチン染色でがん細胞を同定、抗幹細胞抗体（EpCAM, CD133, CD90, CD44, CD24）でがん幹細胞を同定した。細胞数は、顕微鏡で3視野の陽性細胞数の平均で評価した。分離無しをコントロールとした。

【結果】PLCではコントロールで7.7-11個のがん細胞を検出（回収率39-73%）。分離前後の幹細胞陽性率は、EpCAM 0%, CD133 34.8%→17.6%, CD90 24.0%→5.6%, CD44 4.2%→0%, CD24 66.7%→92.3%であった。Hep3Bでは、分離前のがん細胞でがん幹細胞の検出を試み、EpCAM 85.8%, CD133 84.46%, CD90 0%, CD44 0%, CD24 90.1%の幹細胞が検出された。MKN45では、EpCAM 100%, CD133 0%, CD90 33.3%, CD44 100%, CD24 100%の幹細胞が検出された。

【考察】EasySep改良法とCRESTガラスを用いて血液中の39-73%のがん細胞を検出可能であった。また、複数抗体併用によりがん幹細胞も検出が可能であった。

課題番号：R06 基-069

研究課題：2型糖尿病における膵ラ氏島 epitranscriptomics の検討

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：真田 淳平

【背景】2型糖尿病の膵β細胞では m⁶A RNA メチル化不全が生じており、これがβ細胞増殖障害、インスリンシグナル障害を引き起こし糖尿病の病態を構成する原因の一つであると報告されている。

【目的】膵ラ氏島の m⁶A RNA メチル化不全がインスリン分泌に及ぼす影響について検討する。

【方法】マウス膵β細胞株 MIN を使用し、メチル化誘導酵素 METTL14、METTL3 のノックダウンがグルコース応答性インスリン分泌、インスリン生合成・分泌関連因子に与える影響を検討する。

【結果】METTL14、METTL3 のノックダウン下においてグルコース応答性インスリン分泌の低下がみられた。インスリン生合成、分泌に極めて重要な因子である MafA の mRNA 発現が低下していること、また発現低下の原因としてメチル化不全状態では MafA mRNA stability の低下が関与していた。

【結語】糖毒性自体が膵ラ氏島の RNA メチル化不全を誘導することがわかっていたが、本検討から糖尿病状態におけるメチル化不全が、インスリン分泌・インスリン生合成に関与する MafA の mRNA stability を低下させたことが解明された。

課題番号：R06 基-091

研究課題：糖尿病性腎臓病における MR 活性化による慢性炎症遷延機序解明

研究代表者名（所属）：長洲 一（腎臓・高血圧内科学）

共同研究者名：城所 研吾、佐々木 環、和田 将史

【背景】糖尿病関連腎臓病(DKD)ではアルドステロン非依存的 MR 活性化が起こる。これが病態促進に関与するため MR 阻害薬による臓器保護効果が期待されていた。近年、非ステロイド系ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬であるフィネレノンが FIGARO-DKD および FIDELIO-DKD で糖尿病関連腎臓病に対して腎保護効果を示したため新規 DKD 治療薬と使用可能となっている。

その腎保護効果として抗炎症作用の可能性が報告されているが、その詳細な機序は不明である。我々はアルドステロンによる腎障害進行機序の解明を行ってきた。MR 活性化によりマクロファージにおける Inflammasome 活性化を惹起された。Inflammasome は自然免疫システムの一つであり、様々な病態によりその意義が報告されている。以上より本研究では「DKD では MR 活性化によりマクロファージにおけるインフラマゾーム活性化を介して腎内慢性炎症を惹起する」との仮説を検証することとする。

【方法】・進行性糖尿病関連腎臓病モデルマウスに対するフィネレノンの腎保護効果の検証

eNOS 欠損マウス(eNOSKO)および2型糖尿病モデルマウス (db/db) と交配し、進行性糖尿病関連腎臓病モデルマウス(eNOS-dbdb)を作成した。出生後8週齢から投薬を開始し、4週間のちに組織採取及び腎障害を検討した。程骨髄由来マクロファージを用いて研究を行った。刺激としては NLRP3 inflammasome 活性化に必要な Nfkb 活性化刺激として Lipopolysaccharide(LPS)刺激を行い、Aldosterone の意義を検討するためフィネレノン同時投与による遺伝子発現変化を検討した。

【結果】DKD モデルに対して MRA 投与で腎障害の抑制効果があることが分かった。特に炎症の抑制効果が強く、マクロファージの浸潤が抑制されていた。また Vitro の検討ではアルドステロンにより TRPC5 の発現が上昇していた。TRPC5 の発現上昇の意義を検討するため TRPC5 阻害薬を使用し検討したところ、LPS 刺激のよって起こるサイトカイン発現が抑制されていた。

【結論】アルドステロン受容体活性化によりマクロファージにおける炎症性シグナルが活性化する可能性が示唆された。その分子メカニズムとして TRPC5 によるカルシウム流入が関与していることが示された。

課題番号：R06 基-092

研究課題：短期的な DNA 損傷の記憶と腎臓病の関係の解明

研究代表者名（所属）：岸 誠司（腎臓・高血圧内科学）

共同研究者名：佐々木 環、長洲 一、高須 将伸

【背景】加齢は腎機能低下を含む多様な疾患リスクの根底にあるが、その発端となる分子機構は依然として不明である。我々はこれまでに、ゲノム不安定性に由来する細胞老化が急性腎障害から慢性腎疾患への移行に寄与することを報告してきた (Kishi S et al, *J Clin Invest.* 2019, *Sci Transl Med.* 2019)。本研究では、若年期の軽度かつ一過性の DNA 損傷が、加齢に伴う腎構造・機能変化に及ぼす長期的影響を検証した。

【方法】I-*Ppo* I^{STOP/+}マウスと Cre^{ERT2/+}マウスを交配させ、タモキシフェン投与により一過性かつ可逆的な DNA 損傷を誘導可能な ICE マウスを作製した (*CeIl* 2023)。4 か月齢時にタモキシフェンを 4 週間混餌にて投与し、7 および 14 か月齢の腎を解析した。

【結果】ICE マウスではコントロールマウスに比較して、single-nucleus RNA-seq 解析により、7 か月齢で近位尿細管 (S1-S2 セグメント) の構成比減少と線維芽細胞の増加を認めた。14 か月齢では、不全修復型尿細管の蓄積が顕著となり、間質の線維化が増悪していた。また、両時点で、近位尿細管におけるゲノム不安定性の増大とおよび細胞老化の進行が確認された。

【結論】若年期の可逆的 DNA 損傷が、特に近位尿細管に影響し、加齢に伴う腎構造に長期的かつ不可逆的な変化を残すことを示した。本研究は、軽微な内因性 DNA ストレスが腎老化の“記憶”として存在し、細胞老化を介して加齢による腎病変のリスク因子となる可能性を示しており、新たな腎老化の分子基盤の解明に寄与すると考えられる。

課題番号：R06 基-093

研究課題：糖尿病関連腎臓病におけるミネラルコルチコイド受容体 (MR) 活性による腎糸球体微小循環動態制御器機構の解明

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：佐々木 環、立川 理絵

【背景・目的】糖尿病関連腎臓病 (DKD) に対する非ステロイド型 MRA の腎保護作用が示されたが、その分子機序は不明である。大規模臨床試験の eGFR slope 変化から、「MR 活性は機能的に GFR を制御している」と仮説を立てた。MR 活性の GFR 制御への関与および DKD における MRA による腎微小循環動態変化の解析を目的とした。

【方法】SD ラットを使用しアルドステロン (Aldo)、エサキセレノン (Esax) を投与した。二光子レーザー顕微鏡を用いた in vivo imaging により単一ネフロン GFR (SNGFR)、糸球体輸入/輸出細動脈径比 (AA/EA) を測定した。次に db/+m (Control)、db/db マウス (db/db) を使用し、高塩食および Esax の投薬の後同様の評価を行い、尿細管糸球体フィードバック (TGF) の主要な血管作動因子であるアデノシンの関与も検証した。

【結果】SD ラットへの Aldo 投薬により、AA/EA、SNGFR の増加を認めた。db/db は Control と比較し、アルブミン尿の増加、AA/EA、SNGFR の増大を認めた。Esax はこれらの変化を軽減した。アデノシン A1 受容体 (A1aR) 拮抗薬の併用は、Esax の糸球体過剰濾過抑制効果を減弱させた。

【結語】Esax は DKD の糸球体過剰濾過を是正した。MR 活性による GFR 制御は、アデノシン-A1aR 経路による TGF の関与が示唆された。

課題番号：R06 基-094

研究課題：ネフロン喪失に伴う代償性糸球体過剰濾過に対する SGLT2 阻害薬の腎保護作用機序の解明

研究代表者名 (所属)：和田 佳久 (腎臓・高血圧内科学)

共同研究者名：城所 研吾、佐々木 環、平野 憲 (大学院生)

【背景】SGLT2 阻害薬は非糖尿病性慢性腎臓病 (CKD) においても腎保護効果を示すことが報告されている。本研究では、「非糖尿病性 CKD における残存ネフロンの代償性糸球体過剰濾過に SGLT2 が関与する」との仮説を検証した。

【方法】雄性 C57BL/6 マウスに 5/6 腎摘出を施行し CKD モデルを作成。SGLT2 阻害薬を 1 週間投与し、

In vivo imagingにより単一ネフロンGFR (SNGFR) を測定、蛍光グルコースアナログ (2-NBDG) を用いて近位尿細管でのグルコース再吸収を評価した。加えて、尿細管糸球体フィードバックにおける血管作動因子である尿中アデノシン排泄量を測定し、8週間の長期投与による影響も検討した。

【結果】5/6腎摘群ではSNGFRおよび2-NBDG取り込みが増加し、SGLT2阻害薬投与によりこれらは抑制された。SGLT2阻害薬投与群は5/6腎摘群と比較して、アデノシンの尿中排泄量は増加し、アデノシンA1受容体拮抗薬の投与は過剰濾過抑制効果を打ち消した。8週間投与では体重減少と血圧上昇が認められ、本モデルでの長期検討は困難と判断した。

【結語】非糖尿病性CKDにおいてSGLT2を介したNa⁺・グルコース再吸収の亢進が過剰濾過に関与する可能性が示唆された。

課題番号：R06基-095

研究課題：筋-ミトコンドリア-腎連関による腎保護効果の証明

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：岸 誠司、佐々木 環

【背景】近年、加齢に伴う予備能力低下状態「フレイル」が注目されている。CKD患者のフレイル合併率は高く、透析移行や生命予後不良のリスク因子である。フレイルの主因「サルコペニア」(筋肉量減少・機能低下)は、適切な介入で改善可能だが、高齢CKD患者は心血管病リスクや筋骨格系合併症から十分な運動処方が困難である。本研究では、筋肥大マウスモデルを用いて筋腎連関をターゲットに高齢CKD患者の治療法開発の基礎的知見獲得を目指す。

【方法】顕著な筋肥大と筋力増大の特性を示す変異マイオスタチン遺伝子高発現トランスジェニックマウス(MSTNproTG)および野生型同腹仔マウスを用いた。CKDモデルとして低用量シスプラチンの反復投与、糖尿病性腎症モデルとしてストレプトゾトシン投与を行った。それぞれ、薬剤投与終了後から4および7週間後にマウスから腎臓を採取し、骨格筋量維持のCKD発症・進展への保護効果を検証した。

【結果】MSTNproTGマウスは顕著な骨格筋肥大を示した。しかし、当初の仮説とは異なり、シスプラチン誘発性CKDモデルおよびストレプトゾトシン誘発性糖尿病性腎症モデルの両方において、MSTNproTGマウスは野生型マウスと比較して、腎病変が有意に悪化していた。

【結語】MSTNproTGマウスにおけるマイオスタチン機能抑制とそれに伴う筋肥大は、少なくとも本研究で採用した腎障害モデルにおいては、腎保護的に作用せず、むしろ腎病態を増悪させる可能性が強く示唆された。

課題番号：R06基-099

研究課題：定量的マルチパラメトリックMRIによる膵管内乳頭粘液性腫瘍関連膵癌の発癌 risk factorの検討

研究代表者名 (所属)：神吉 昭彦 (放射線診断学)

共同研究者名：玉田 勉、福倉 良彦、山本 亮、佐藤 祐樹、前場 淑香

背景：膵管内乳頭粘液性腫瘍 (IPMN)に関連する膵癌には2つの異なるタイプが存在する。一つは、IPMN自体が悪性転化するIPMN関連膵癌 (IPMN-AIC)であり、もう一つはIPMNとは独立に膵癌が発生するIPMN併存膵癌 (IPMN-CIC)である。現在の診療ガイドラインは主にIPMN-AICに対応しており、IPMN-CICに対する戦略は、エビデンスの不足により限られている。本研究では、IPMN-CIC、非浸潤性IPMN、IPMN-AICの間で形態的および定量的MRI比較を行い、リスク評価のための新たなバイオマーカーを特定することを目的とした。

対象と方法：腹部3T MRIを受けた94人の患者を、IPMN (n=60)、IPMN-AIC (n=11)、IPMN-CIC (n=23)の3群に分類した。MRCPによる形態評価では、嚢胞病変の個数および最大径、主膵管 (MPD)の最大径を評価した。定量評価では、マルチエコー3D Dixon法およびT1マッピングシーケンスを用いて、膵実質のプロトン密度脂肪分画 (PDFF)、T2*緩和時間、T1緩和時間を測定した。群間比較はKruskal-Wallis検定を用い、その後Bonferroni補正を行ったMann-Whitney U検定で解析した。

結果：嚢胞病変の個数には有意差が認められなかった ($p=0.509$)。最大嚢胞径および MPD 径は、IPMN 群および IPMN-CIC 群に比べて、IPMN-AIC 群で有意に大きかった (いずれも $p<0.001$)。一方、IPMN 群と IPMN-CIC 群の間には有意差はなかった ($p=0.462$ および $p=1.000$)。

T2*緩和時間には群間で有意差はなかった ($p=0.530$)。PDFF および T1 緩和時間は、IPMN 群および IPMN-AIC 群に比べて、IPMN-CIC 群で有意に高かった (いずれも $p<0.001$ 、および $p=0.017$)。一方、IPMN 群と IPMN-AIC 群の間には有意差は認められなかった ($p=0.220$ および $p=1.000$)。

結論：膵実質内の PDFF および T1 緩和時間は、IPMN-CIC と IPMN-AIC を識別するための有用な指標であり、IPMN-CIC のリスク評価における新たなバイオマーカーとして利用できる可能性がある。

課題番号：R06 基-119

研究課題：過敏性腸症候群の粘膜細菌叢と脳腸相関

研究代表者名 (所属)：塩谷 昭子 (消化器内科学)

共同研究者名：松本 啓志、葉 祥元

背景：過敏性腸症候群 (IBS) は反復性の下腹部痛や不快感を特徴とし、下痢、便秘あるいは双方を交互に繰り返す頻度の高い機能性腸疾患である、便秘型 (IBS-C)、下痢型 (IBS-D)、混合型 (IBS-M)、分類不能型 4 つの型に分けられる。IBS はストレスに対する過剰な反応に関連する脳腸相関の障害で、腸内細菌叢の変化が脳の生理機能、行動機能、認識機能に影響を及ぼすことが報告されている。

目的：IBS マウスモデルにおける脳腸細菌叢相関の関連性を調べ、IBS 病態への関与を解明する。

方法：IBS 様マウスモデルとして、慢性社会的敗北ストレス (chronic social defeat stress: cSDS) 「(4 週齢 C57BL/6J を用いて 10 日間、毎日 10 分を連日行う) を用いた。成熟後 (10 週齢)、急性ストレス負荷 (10 日間、毎日 1 時間を連日行う) により便の性状と行動異常を評価した後、解剖を行った。便中短鎖脂肪酸解析、腸粘液細菌叢解析、腸と脳組織 mRNA レベルを検討した。

結果：IBS 様モデルマウスは対照マウスと比較して、体重が SDS より成熟後有意に増加し、急性ストレスの追加で増加が抑制された。さらに排便量と水分量が有意に多く、運動量が急性ストレスの追加で有意に減少した。糞便中の有機酸解析では有意な差を認めなかったが、酪酸産生関連菌が有意に減少した。mRNA の解析について、腸における IL-6 の増加、MUC2、SERT、HTR4 の減少を認めた。脳内下垂体における DRD2、OXTR、MOR1 の増加を認めた。

結論：IBS マウスモデルにおいて、腸粘液の酪酸産生菌の減少および脳内のセロトニン、ドーパミン、オキシトシンの遺伝子発現の変化を認めたことより、脳腸細菌叢相関が IBS の病態に関与している可能性を確認した。

— 腫瘍 —

課題番号：R03 基-049

研究課題：拡散強調画像に基づく仮想エラストグラフィを用いた膵腫瘍の診断能に関する検討

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、山本 亮、玉田 勉

背景：拡散強調画像 (DWI) は、水分子の拡散現象を利用した画像診断法であり、その拡散の程度は見かけの拡散係数 (ADC) として定量化できる。近年、shifted ADC (sADC) という手法が開発され、これは組織のずり弾性係数を反映するとされる。これまでに sADC は肝臓の弾性評価、肝臓および乳腺腫瘍の良悪性鑑別、脳腫瘍の硬さの評価において有用であると報告されている。膵管腺癌 (PDAC) と自己免疫性膵炎 (AIP) は従来の画像法では鑑別が難しいため、本研究では sADC がその鑑別に有用かを検討した。

方法：対象は PDAC 患者 20 名と AIP 患者 4 名の計 24 名である。Philips 製 3.0T MRI 装置を用い、b 値を 0、200、1500 s/mm^2 に設定して DWI を撮像した。放射線科医が病変部およびその周囲に関心領域を手動で設定し、sADC、ADC を測定した。

結果：AIP の sADC および ADC 値は PDAC よりも有意に低かった (それぞれ $p=0.037$ 、 $p=0.029$)。PDAC と

AIP の鑑別における曲線下面積 (AUC) は sADC で 0.838 (p=0.027)、ADC で 0.850 (p=0.005) であった。結論：PDAC は AIP に比べ拡散制限が軽度であり、ずり弾性係数も低ことが示唆された。DWI は PDAC と AIP の鑑別に役立つ可能性があると考えられる。

課題番号：R04 基-056

研究課題：Gd-EOB-DTPA 造影 MRI の肝細胞相で低信号を示す肝細胞性結節の長期追跡調査

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、山本 亮、玉田 勉、外園 英光、前場 淑香

【目的】Gd-EOB-DTPA 造影 MRI で早期濃染はなく肝細胞相で低信号を示す結節 (High risk nodule) は、高頻度に検出される。これらの多くは肝細胞癌または異形成結節であり、過去には 11.9~35.1%が多血化すると報告されているが、長期予後は明らかでない。本研究では、5年以上経過観察可能であった結節を対象として、多血化の頻度とその危険因子を検討した。

【対象と方法】2008年1月から2014年12月にGd-EOB-DTPA造影MRIで指摘されたHigh risk noduleのうち、5年以上MRIで経過観察した94結節を対象とした。初回腫瘍径、年間増大幅、年齢、性別、肝硬変の有無、治療歴、同時多発病変、形態、縦横比などを評価し、多血化群と非多血化群で比較した。

【結果】多血化した結節は44.7% (42/94)、非多血化は25.5% (24/94)、不明瞭化は29.8% (28/94)であった。多血化群と非多血化群の比較では、年間増大幅 (P<.001)、脂肪含有 (P=.02)、縦横比 (P<.001)、境界明瞭さ (P=.006)、形態 (P<.001) に有意差を認めた。

【結論】High risk noduleの経過観察では、増大速度が速く、脂肪を含み、境界明瞭で円形の結節は多血化リスクが高い。一方、境界が不明瞭で不整形の結節は経過観察可能な病変である可能性が高い。

課題番号：R06 基-002

研究課題：がん局所への薬剤送達能の最適化を目指した近赤外線応答型薬物送達システム開発

研究代表者名 (所属)：仁科 惣治 (消化器内科学)

共同研究者名：佐々木 恭、大幸 一真

【目的と方法】グルコース誘導体 2-Deoxy-D-Glucose (2DG) はがん細胞の主要なエネルギー源である解糖系を阻害し抗腫瘍効果を発揮するが、2DG のがん臨床試験では有害事象により未だ臨床応用には至っていない。我々は、リポソーム表面に腫瘍血管/がん細胞標的ペプチド (iRGD) を修飾し腫瘍導入効率を向上させ、さらに近赤外線に応答して腫瘍局所で内包薬剤 (2DG) を一気に放出する機能を付与した“近赤外線応答性 2DG リポソーム (iRGD-2DG-NanoHT)” を作製し、肝がん治療開発を行ってきた。今回、iRGD-2DG-NanoHT の肝がん抑制機構における Ferroptosis の影響に着目して検討を行った。

【結果】Diethylnitrosamine (DEN) 誘発肝がんマウスモデルにおいて、iRGD-2DG-NanoHT は高効率な DDS 機能を伴う抗腫瘍効果を来し、小胞体ストレスに伴う強力な細胞死誘導作用に加えて抗腫瘍免疫活性化作用も認めた。さらに、免疫原性細胞死の様式とされる Ferroptosis に関連した SLC7A11 及び GPx4 の発現抑制を認め、ダメージ関連分子パターン (DAMP) である HMGB1 核外放出の亢進所見を認めた。

【結論】iRGD-2DG-NanoHT は 2DG (原体) より強力な肝がん抑制効果および抗腫瘍免疫活性化作用を認めたが、その一機序として肝癌細胞に対する Ferroptosis 誘導の関与が考えられた。

課題番号：R06 基-006

研究課題：EGFR C797S 変異オシメルチニブ耐性肺癌に有効な分子標的薬の選択

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、越智 宣昭、長崎 泰有 (大学院生)、小坂 陽子 (大学院生)

EGFR 遺伝子変異を有する肺癌は、EGFR チロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) の台頭により進行期でも劇的な効果が得られるが、いずれ耐性となり再燃する。第 1~2 世代の EGFR-TKI により誘導される耐性遺伝子である T790M 変異にも第 3 世代のオシメルチニブは効果を有するが、これも耐性となり C797S 変異が生

じることが多い。今回、C797S 変異に有効とされる第 4 世代の EGFR-TKI (BI4020、JND3229、TQB3804) の *in vitro* での評価を行うこととした。細胞株は Ba/F3 細胞に EGFR-TKI 感受性遺伝子を導入した株 (19De1) と各種耐性遺伝子を導入した株 19De1+T790M、19De1+T790M+C797S、19De1+C797S) を用いて、薬剤感受性試験 (MTT assay) を実施した。50%増殖抑制濃度 (IC50; 平均値±標準偏差) は、多くの細胞株で BI4020 が最も小さく、TQB3804、JND3229 と続いた。19De1+T790M+C797S 株における IC50 は、BI4020 で 0.39 ± 0.24 nM、JND3229 で 61.2 ± 3.1 nM、TQB3804 で 3.8 ± 0.61 nM であり、Western blotting でも BI4020 はリン酸化 EGFR およびその下流の AKT を抑制していた。検討した EGFR-TKI の中では BI4020 の有効性が示唆された。

課題番号：R06 基-007

研究課題：前立腺 MRI の最適化：合成拡散強調像の定量評価の臨床応用に向けた研究

研究代表者名 (所属)：玉田 勉 (放射線診断学)

目的：合成拡散強調画像 (syDWI) から同時に取得した ADC、T1、T2 が、前立腺癌の検出率が約 30%である PI-RADS (前立腺 MRI の診断基準) のカテゴリ-3 病変における検出能の改善に寄与するか検証する。

方法：2021 年 10 月から 2024 年 1 月までの間に、生検前のマルチパラメトリック MRI で前立腺癌を示唆する病変に対して MRI-超音波融合ガイド下前立腺生検を受けた患者のうち、PI-RADS v2.1 カテゴリ-3 であった 103 病変 (86 例) を評価した。すべての MRI 画像は、3T MRI で取得した。SyDWI には、異なる 2 つの TR および TE で取得した b0 画像、および単一の TR および TE で取得した b1000 および b2000 画像が含まれた。b 値 0 および 1000 s/mm² の画像から算出した T1、T2、および ADC を、PI-RADS カテゴリ-3 の病変に対する生検で確認された臨床的有意癌 (グリソンスコア (GS) ≥ 7) と非前立腺癌 (GS=6 または良性組織) で比較した。

結果：PI-RADS カテゴリ-3 であった 103 病変のうち、生検で臨床的有意癌と診断された症例は 31、非前立腺癌と診断された症例は 72 例であった。臨床的有意癌の T1 (ms)、T2 (ms)、および ADC ($\times 10^{-3}$ mm²/s) は、非前立腺癌のそれらに比して有意に低かった (P = 0.025 から P < 0.001)。ROC 解析によるそれらの識別能は (AUC) は、T2 (0.73) は T1 (0.64) および ADC (0.69) よりも高く、それらを組み合わせた場合 0.75 と増加した。

結論：本研究の結果から、syDWI から同時定量した T1、T2、ADC は、PI-RADS カテゴリ-3 病変のより正確な診断に役立つ可能性がある。

課題番号：R06 基-011

研究課題：骨髄異形成症候群細胞株の増殖動態の検討：SIRT4 の役割について

研究代表者名 (所属)：辻岡 貴之 (検査診断学)

共同研究者名：北中 明、末盛 晋一郎

背景：TCA 回路は細胞代謝の中心的存在でありエネルギー産生の源である。癌細胞は、栄養源として機能異常をきたした解糖系を補う形でグルタミン代謝系を利用するため、これが枯渇すると強い細胞死が誘導される。今回、我々は骨髄異形成症候群 (MDS)、急性骨髄性白血病 (AML) を含む骨髄系腫瘍の新規治療ターゲットとしてグルタミン代謝系を抑制する *SIRT4* 遺伝子に注目した。

材料と方法：当教室独自の *in vitro* MDS/AML 細胞モデルを用いて *SIRT4* 発現を制御可能な変異株を作製した。変異株を用いて網羅的遺伝子発現・GSEA 解析を行った。トランスアミナーゼ阻害薬 (アミノオキシ酢酸ヘミ塩酸塩：AOA) と解糖系阻害薬 (2-Deoxy-D-glucose: 2DG) を用いて *SIRT4* 発現誘導と多剤併用による増殖抑制効果を検討した。

結果：GSEA 解析により *SIRT4* 発現時に translation control (翻訳制御)、TCA 回路と電子伝達系に関わる複数の Gene Set に発現低下をきたす遺伝子の偏りを認めた。変異株に *SIRT4* を発現させ AOA と 2-DG を併用したところ、顕著な増殖抑制効果とアポトーシス誘導を認めた。

考察：GSEA 解析の結果から、*SIRT4* は TCA 回路を抑制することが示唆される。*SIRT4* 発現時に AOA と 2-

DG を併用することは骨髄系腫瘍の新しい治療戦略となる可能性がある。

課題番号：R06 基-017

研究課題：子宮体がんの分子遺伝学的分類を基盤とした新規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：塩見 達志、太田 啓明、本郷 淳司、稲吉 貴絵

子宮体がんに対する治療選択や予後推定を目的として、分子遺伝学的な分類法が提唱されている。TCGA 分類、ProMisE 分類においては、それぞれ 4 群に分類されており、WHO 分類でも紹介されている。しかし、分類に必要な *POLE* 遺伝子の解析には次世代シーケンスの実施が必須であり、実臨床の場ですべての症例を検索するのは困難である。最近になり、p. P286R 変異、p. V411L 変異を有する *POLE* mut-subtype において、ataxia telangiectasia mutated gene (ATM) がナンセンス変異を有しており、免疫組織染色で核において ATM の完全消失、あるいはモザイクパターンを示すことが報告された。そこで、ATM、および分類に必要な他のマーカー (microsatellite instability; MSI、TP53) に対する免疫染色を加え、日常の病理診断でも分類可能なパネルの構築を試みた。原発性の子宮体がんに対し手術が施行された 131 例の病理標本を用いて、ATM、MSI (PMS2、MSH6)、p 53 に対する染色を行った。その結果、それぞれのマーカーに陽性例、陰性例が存在しており、組み合わせによる分類が可能であることを確認した。今後、予後を含めた臨床病理学的探索、ならびに新規バイオマーカーとの組合せによるさらなる病理分類を行うための基盤づくりができた。

課題番号：R06 基-023

研究課題：環状 RNA 分子を起点とするがん促進型分子ネットワークの解明

研究代表者名（所属）：増田 清士 (学長付)

環状 RNA (circRNA) は 5' 末端と 3' 末端がつながった環状構造を呈する RNA 分子で、特殊なスプライシング形式 (backsplicing) によって生成される。近年 circRNA が糖尿病、アルツハイマー病、アテローム性動脈硬化症、慢性炎症性疾患、癌などの病態形成に関与していることが報告されているが詳細な分子機構は明らかでない。本研究は、circPPF1A1 が細胞周期調節遺伝子の発現調節することで、食道扁平上皮癌 (ESCC) の細胞増殖を誘導することを見出した。公共データベースに収載されている RNA-seq データ (正常食道組織 23 例、ESCC 23 症例) を再解析した結果、circPPF1A1 は ESCC で発現が亢進していた。siRNA で内因性 circPPF1A1 をノックダウンすると、ESCC 細胞株 (KYSE140 および KYSE180) の細胞増殖が有意に抑制された。RNA-seq を用いた網羅的発現解析により、circPPF1A1 ノックダウン細胞で 1048 遺伝子 (up 471/down 577) の発現変動遺伝子を同定した。エンリッチメント解析の結果、“cell division”や“regulation of mitotic cell cycle”が上位にランクされた。以上の結果から、circPPF1A1 は ESCC の有望な治療標的であることが示唆され、詳細な分子メカニズムについて検討を行っている。

課題番号：R06 基-024

研究課題：T 細胞レパトア解析による最適な乳がん治療法確立への挑戦

研究代表者名（所属）：岩本 高行 (乳腺甲状腺外科学)

背景：乳癌の術前薬物療法 (NAC) 前後の TCR レパトアと化学療法の効果ならびに腸内フローラの間接関係を明らかにすることを本研究の目的とした。

方法：2019 年 10 月 1 日から 2022 年 3 月 31 日の間に、前向きコホート研究「腸内フローラから探る乳がん術前化学療法の効果予測」に登録され、NAC 前後の末梢血を採取できた症例を対象とした。全例に Anthracycline と Taxane が、human epidermal growth factor 2 (HER2) 陽性乳癌には抗 HER2 薬が投与された。NAC 前の便の 16SrRNA マイクロバイオーム解析と NAC 前後の末梢血 TCRA および B レパトア解析で検討をおこなった。

結果：主研究に登録された 197 例のうち、レパトア解析が行えた 21 例を対象とした。ホルモン受容体陽

性かつHER2陰性は6例(29%)、HER2陽性は9例(43%)、トリプルネガティブ(TN)乳癌は5例(24%)であった。NAC前後でTCR多様性は有意に減少し(TRA $p < 0.001$ 、TRB $p < 0.001$)、TRBクローナリティは有意に増加した($p = 0.027$)。腸内フローラの多様性とTCRの多様性($r = -0.1$, $p = 0.66$)やクローナリティ($r = -0.25$, $p = 0.27$)に相関は認めなかった。菌叢統計比較解析では、TCR多様性と相関のある菌種は認めなかったが、TCRクローナリティはBifidobacterialesと有意な相関を認めた(TRA: $r = 0.56$, $p = 0.008$ 、TRB: $r = 0.56$, $p = 0.008$)。

結語: NAC前後でTCR多様性やクローナリティは増減を認め、一部の腸内細菌とTCRクローナリティに相関がみられた。この結果の臨床的意義については今後検討していく必要がある。

課題番号: R06基-029

研究課題: 核酸医薬を用いたリンパ球のRNA編集

研究代表者名(所属): 武井 直子(衛生学)

共同研究者名: 伊藤 達男、矢野 修也、丹 祐人、日野 峻介

特許等非公開事項を含むため、抄録本文は掲載不可とする

課題番号: R06基-032

研究課題: マルチパラメトリックMRIを用いた前立腺癌診断におけるAIとcomputer-aided diagnosisの有用性の検討

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、山本 亮、山本 緑、玉田 勉、福倉 良彦

【背景】前立腺癌の診断においてマルチパラメトリックMRIが普及しているが、画像の評価は読影医の経験に影響されることが知られている。近年、AIによる診断支援が注目されているものの、その臨床的な有用性についてはまだ十分に明らかではない。

【方法】当院で前立腺全摘術を施行した52症例を対象とし、経験年数が1~25年の放射線科医師4名が、AI支援なし・ありの条件でPI-RADS評価を行った。さらにAI(QP-Prostate)単独の評価も実施し、感度、特異度、AUCを比較検討した。

【結果】医師単独での診断精度(AUC)は経験年数が増すごとに高くなり(0.675~0.790)、AI支援を加えることで4名すべての医師でAUCが有意に向上した($p < 0.05$)。特に経験1年目の医師では0.675から0.712に改善した。AI単独診断では特異度は高かったが(0.939)、感度が低かった(0.336)。

【考察】AIによる診断支援で、特に経験の浅い医師において診断能が改善したことから、AIは医師の経験に関わらず診断を補助できる可能性がある。一方、AI単独の診断性能は限定的であり、あくまで医師の診断を補助するツールとしての位置づけが適切と考えられる。

【結論】前立腺癌のmp-MRI診断において、AI支援は特に経験の浅い医師の診断精度向上に寄与することが示された。AIは臨床現場での診断支援として有望である。

課題番号: R06基-037

研究課題: 婦人科悪性腫瘍における抗腫瘍免疫環境を基盤とした新規バイオマーカーの開発

研究代表者名(所属): 塩見 達志(病理学)

【背景】本研究では、婦人科癌を対象に、腫瘍の進展、病理組織学的特徴(腫瘍浸潤リンパ球(TIL)、腫瘍部B細胞、形質細胞など)、がん精巣抗原との関連性を解析することを目的とする。今回は、婦人科癌(外陰癌)の1つである乳房外パジェット病(EMPD)について検討した。

【方法】浸潤性EMPD患者20例(minimal浸潤/frank浸潤: 11/9例)の代表的組織切片を用い、組織学的にTumor associated immune cells status(TAICs)を評価した。TAICsの程度は0-3のスケールでスコア化した(0, none; 1, patchy-sparse; 2, band-like; 3, prominent)。スコアは最終的に、TAICs: low(スコア0-1)とTAICs: high(スコア2-3)に層別化した。これらの症例について免疫染色(CD3, CD20, CD138など)を行った。

【結果】 minimal 浸潤例では、low が 6/11 (55.5%)、high が 5/11 (45.5%)、frank 浸潤の症例ではそれぞれ 6/9 (66.7%)、3/9 (33.3%) であった。免疫染色では、in situ 症例の多くは、T 細胞と B 細胞、そして C 形質細胞が比較的まばらに分布していた。in situ ながら皮膚付属器への進展が目立ち、腫瘍細胞数がより増した箇所では、T 細胞、B 細胞、形質細胞がセットになって結節状増生を示していた。minimal invasion 症例では免疫反応が目立つ症例と、そうでない症例があり、frank invasion においては免疫細胞が不明瞭になる症例がやや多く見受けられた。

【結論】 EMPD の多くは、in situ の段階では、TAIC は low から high になり免疫細胞による防御 line が形成され、そこから invasion が進む際は TAIC high から low に転じ、腫瘍にとって有利な環境がつけられる、という経時的変化を示すものと推察された。

課題番号：R06 基-038

研究課題：皮膚悪性腫瘍に対する免疫療法の効果及び irAE 発症を予測するバイオマーカーの開発

研究代表者名（所属）：田中 了（皮膚科学）

共同研究者名：岡 三喜男、塩見 達志、青山 裕美

【背景と目的】 がん精巢抗原 NY-ESO-1、XAGE1 は、非小細胞肺癌（NSCLC）や悪性黒色腫など種々のがんに発現し抗腫瘍免疫応答を誘導している。これまでに我々は血清 抗 NY-ESO-1 抗体と抗 XAGE1 抗体が、進行期 NSCLC に対する抗 PD-1 療法の効果と予後を予測すること、また、NSCLC において免疫チェックポイント（IC）療法後のモニタリングマーカーになりうることを報告した。

【方法と結果】 血清中の抗 NY-ESO-1 抗体と抗 XAGE1 抗体は ELISA 法にて測定した。今回、悪性黒色腫患者において抗 NY-ESO-1 /XAGE1 抗体値を検討したところ 34 例中 4 例で抗 NY-ESO-1 抗体、1 例で抗 XAGE1 抗体が陽性であった。その中で特に治療開始前の抗 NY-ESO-1 抗体価が高かった切除不能鼻腔悪性黒色腫例において、ペムブロリズマブ療法の導入後、効果と共に抗体価が低下した。

【結論と考察】 血清抗 NY-ESO-1 抗体はがん特異的に検出され、本抗体によるモニタリングが NSCLC のみならず、悪性黒色腫においても IC 療法の症例選択や効果予測に有用な可能性がある。

課題番号：R06 基-044

研究課題：乳癌におけるがん精巢抗原発現の病理組織学的解析

研究代表者名（所属）：佐貫 史明（病理学）

共同研究者名：岡 三喜男、平 成人、小池 良和

【背景と目的】 近年、免疫チェックポイント阻害薬（ICI）が乳癌にも承認されたが、PD-L1 以外に効果予測バイオマーカーがない。NY-ESO-1 及び KK-LC-1 はがん特異的に発現するがん精巢抗原（CTA）であり、乳癌での発現と腫瘍微小環境（TME）との関連は不明である。今回、我々は乳癌組織の CTA 発現頻度、TME との関連を病理組織学的に解析した。

【方法】 ホルモン受容体と HER2 の発現パターンに基づく Luminal、HER2、TNBC のサブタイプに分類し、乳癌手術 81 例を対象に NY-ESO-1 と KK-LC-1 の免疫染色を行い H-score で評価した。また PD-L1 発現や腫瘍浸潤リンパ球、TIL パターンや CD8 T 細胞、三次リンパ様構造との関連を解析した。

【結果】 NY-ESO-1 と KK-LC-1 は各サブタイプで陽性例があり、NY-ESO-1 は TNBC にやや多い傾向にあった ($p=0.096$)。NY-ESO-1 と MIB-1 陽性率は正の相関関係にあった ($p=0.048$)。NY-ESO-1 と TIL (%) ($p=0.149$)、腫瘍領域の CD8 T 細胞の数は正に相関する傾向にあった。

【結論と考察】 MIB-1 陽性率は NY-ESO-1 発現の予測に有用であることが示唆された。TNBC のうち、Basal-like type など増殖能の高いサブタイプを同定することが更なる精度向上に繋がる可能性がある。

課題番号：R06 基-048

研究課題：肺がん患者における Claudin18.2 をターゲットとした新規薬物療法の可能性に関する検討

研究代表者名（所属）：山根 弘路（総合内科学4）

共同研究者名：瀧川 奈義夫、越智 宣昭

【背景】脊椎動物でタイトジャンクションを形成する蛋白質である Claudin18.2 は現在様々な腫瘍系で治療ターゲットとしての可能性が期待されており、特に胃がんにおいては Claudin18.2 の Monoclonal 抗体である Zolbetuximab が新たな治療戦略として上市されている。今回我々は肺がんにおける Claudin 18.2 蛋白をターゲットとした化学療法の可能性を予見することを目的として新たな基礎研究を企画した。

【研究方法と結果】TCGA データベースにて Gene amplification が判明している肺がん細胞株 NCI-H1105 および ABC1 細胞株、および低発現ながら mRNA 発現が確認されている A549 細胞株を Claudin18.2 蛋白の高発現が確認されている HEK293 細胞と Flowcytometry 法を用いて、細胞表面に発現する Claudin18.2 蛋白を比較した。残念ながら、肺がん細胞株 3 株における Claudin18.2 蛋白発現は著しく低値であり、胃がん細胞株との違いが明らかとなった。

【今後の方針】Zolbetuximab を用いた肺がんに対する新規薬物療法の可能性は厳しいと判断されるが、ADC 製剤の開発などの経緯もあり、今後細胞株だけではなく、臨床検体を用いた検討は継続していきたいと考えている。

課題番号：R06 基-049

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

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) 耐性機序の開明は未だ十分とは言えない。我々は、EGFR の L858R+T790M 変異を有する H1975 細胞株において Pemetrexed (PEM) 耐性獲得後に未知の機序による Osimertinib 耐性が誘導されることを見出した。これまでの検討でその耐性機序として YES1 遺伝子の関与が示唆され、YES1 阻害薬と Osimertinib による相乗効果も示された。また EGFR の exon 19 欠失+T790M 変異を有する RPC9 細胞株においても同様に Osimertinib への耐性誘導を認めた。PEM 以外の各種抗がん薬耐性細胞を樹立したところ、5-FU 耐性細胞において TYMS と YES1 の有意な上昇を認め、同様に Osimertinib への感受性低下を認めた。RNA シークエンスでは、H1975 では PEM 耐性により多くの遺伝子発現に有意な変動を認めたが、RPC9 系統ではその変化は乏しかった。主成分分析でも同様の傾向を確認できた。H1975 系統では PEM 耐性により、FGFR1、VIM、TYMS、ENOSF1、YES1 などが有意に上昇し、SPINT2、IRF6、PCDH1 などが有意に低下していた。RPC9 系統ではそのパターンは異なっていた。YES1 の発現誘導に関わる因子の同定のため、引き続き解析を進めている。

課題番号：R06 基-055

研究課題：がん精巣抗原 XAGE1 を用いた非小細胞肺がんの診断法の開発

研究代表者名（所属）：最相 晋輔（呼吸器外科学）

共同研究者名：中田 昌男、清水 克彦、野島 雄史、黒瀬 浩史、佐貫 史明、岡 三喜男

【背景と目的】肺がんはがん死亡の第一位であり、とくに肺腺がんは肺がんの約 50%を占めている。肺腺がん対し分子標的薬、免疫治療薬、抗体薬物結合薬など多彩な治療薬が開発されている。肺腺がんの診断では、病理組織学的に TTF-1 免疫染色が使用されているが、正常の肺胞上皮や気管支上皮にも発現がみられる。一方、我々が開発している XAGE1 はがん特異的かつ肺腺がんに発現している。今回、我々は XAGE1 を標的にした肺腺がんの血清学的および組織学的診断について検討した。

【方法】2015 年から 2024 年まで、当院で診断した肺腺がん 415 例と切除した 179 例の血清を集積し血清 XAGE1 抗体を ELISA 法で測定し、切除例では US09-13 抗体を用いて免疫染色を行った。

【結果】全肺腺がんの血清 XAGE1 抗体陽性率は 20%、I 期 6%、II 期 15%、III 期 23%、IV 期 31%であった。切除した非小細胞肺がんの XAGE1 陽性率は 42% (97/231)、肺腺がんの陽性率は 52% (93/179) であった。うち肺腺がんの XAGE1 陽性率は I 期 50%、II 期 50%、III 期 64%であった。

【結論と考察】XAGE1 抗原の発現は病期に関係なく肺腺がんの約 50%に検出され、病期の進行と共に血

清抗体の検出頻度が高くなった。肺腺がん診断における XAGE1 の感度はやや低いものの、特異度は極めて高く、診断薬として開発する予定である。

課題番号：R06 基-057

研究課題：肺癌薬物療法の効果と再発をモニタリングする血清 NY-ESO-1/XAGE1 抗体の開発

研究代表者名（所属）：黒瀬 浩史（呼吸器内科学）

共同研究者名：岡 三喜男、小賀 徹

【背景】非小細胞肺癌(NSCLC)の診断と治療で腫瘍マーカーが頻用されているが、感度、特異度には課題が多い。一方、がん精巢抗原の NY-ESO-1 と XAGE1 はがん特異的に発現し、宿主に液性及び細胞性がん免疫応答を誘導する。その血清抗体はがん特異的に検出され、宿主のがん免疫応答を反映している。今回、NSCLC における本抗体と各種治療との関連について検討した。

【方法】2015 年から 2023 年まで、当院を受診した NSCLC を対象に、各種の治療前後、周術期に血清 NY-ESO-1 と XAGE1 抗体を ELISA 法で測定した。

【結果】全体の抗体陽性率は 19% (105/543)、腺がん 23%、扁平上皮がん 11% であり、進行期で陽性率が上昇していた。基本的に NY-ESO-1 抗体は扁平上皮がん、XAGE1 抗体は腺がんを検出された。また ICI 奏効例で抗体価が高く、ICI 効果予測において腫瘍 PD-L1 発現より良好な臨床性能を示した。抗体価は化学療法、分子標的治療、ICI 治療の臨床効果、手術や術後再発と共に変動し、効果及び免疫モニタリングマーカーとしての有用性を示した。

【結論】血清 NY-ESO-1/XAGE1 抗体は NSCLC の診断と治療効果のモニタリングにおいて有用性を示した。本抗体は簡便、迅速、安価に測定可能であることから、今後の NSCLC 診療に貢献することが期待される。

課題番号：R06 基-058

研究課題：脂質メディエーターによる白血病分化誘導療法の開発研究

研究代表者名（所属）：岡本 秀一郎（生化学）

【目的】急性白血病の治療法には、主に殺細胞効果のある抗癌剤治療と分化を誘導する分化誘導療法がある。分化誘導剤としては、レチノイン酸や亜ヒ酸などが臨床応用され治療成績の向上に寄与しているが、適応疾患が急性前骨髄性白血病(APL)と限られている。APL以外の白血病にも効果を発揮する分化誘導剤の開発を目指して研究を進めている。

【方法】独自に開発した骨髄微小環境再現培養法で、複数の白血病細胞株が分化することを確認した。その培養環境で分泌される分化誘導因子を同定するため、二次元薄層クロマトグラフィーと高速液体クロマトグラフィーを実施する。

【結果】二次元薄層クロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーにより、分化を誘導する因子が脂質であることを明らかにした。分化誘導因子の同定を進めるため、サンプルの純度を高めていたが、高純度の脂質で細胞を処理することで細胞死が誘導されることが明らかとなった。

【結語】サンプルの投与量と分化度の評価方法を再検討行い、分化誘導因子の同定を進める。

課題番号：R06 基-059

研究課題：Morule-like component を有する肺腺癌の意義に関する臨床病理学的検討

研究代表者名（所属）：松野 岳志（病理学）

共同研究者名：西村 広健、最相 晋輔、黒瀬 浩史

【背景】肺腺癌では、モルラ様構造が時にみられ、EGFR 遺伝子変異との関連性についても認知されるようになってきた。しかし、多数の症例を集積した研究はほとんどなく、細胞由来など、明らかになっていない点も多い。今回、免疫組織学的手法を用いることで、モルラ様構造と EGFR 変異との関連性について明らかにすることを目的とした。

【方法】EGFR 変異陽性肺癌 42 例で、モルラ様構造の有無を検討した。また、EGFR 変異陽性肺癌 6 例、

モルラ様構造を示す肺癌 21 例について、EGFR 変異抗体(L858R、exon19 deletion)で免疫染色を行い、染色強度や陽性率を評価し、モルラ様構造の量との関係性、EGFR 変異の種類ごとの違いについて検討した。

【結果】EGFR 変異陽性例では 42.9% (18/42) でモルラ様構造を認めた。また、モルラ様構造を示す症例のうち、81.5% (22/27) でいずれかの抗体の染色性がみられた。モルラ様構造と周囲の細胞の染色性に明瞭な違いはみられなかった。染色強度、陽性率とモルラ様構造の量との関係性は不明瞭で、EGFR 変異の種類ごとの明確な違いも明かではなかった。

【考察】モルラ様構造を示す肺癌は、EGFR 遺伝子変異を示す傾向があることを確認できた。モルラ様構造と周囲の細胞の染色性に大きな違いはなく、同質の細胞由来である可能性が示唆された。モルラ様構造の量と EGFR 変異の程度については、関係性が不明瞭であったが、モルラ様構造の意義について、さらに検証していきたい。

課題番号：R06 基-065

研究課題：乳癌患者のがん抗原に対する免疫応答の解析

研究代表者名（所属）：小池 良和（乳腺甲状腺外科学）

共同研究者名：平 成人、佐貫 史明、岡 三喜男

【背景と目的】トリプルネガティブ乳癌（TNBC）は予後不良で、標準治療として免疫チェックポイント阻害薬（ICI）が承認されている。しかし、乳癌では明確ながん抗原や免疫応答の報告は少なく、ICI 選択の精度向上が課題である。現在、ICI 療法の患者選定は PD-L1 発現が指標とされるが、その評価には不確実性があるため、より信頼性の高いバイオマーカーの探索が急務である。本研究では、その候補として B7-H4 に着目し、T 細胞増殖およびサイトカイン産生を抑制する免疫調節因子としての役割を検討し、TNBC 治療の新たな指標となる可能性を探る。

【方法】当科で 2023 年 1 月から 12 月までに手術した TNBC11 例について、組織型・グレード・MIB-1 index・B7-H4 について免疫染色を用い検討した。

【結果】年齢中央値は 68 歳、Stage I A 8 例、I B 1 例、II A 1 例、y I A 1 例、組織型は Scirrhous 5 例、Apocrine 4 例、Solid 1 例、Mp(mix) 1 例であった。B7-H4 陽性 4 例(36.4%) 陰性 7 例、B7-H4 陽性 4 例は何れも H-Grade 2 以上、B7-H4 陽性 4 例のうち 3 例は MIB-1 index が 40%以上(全体の平均、25.25%)であった。

【結論と考察】TNBC の中でも B7-H4 がより発現する Basal like type を選別する事が、ICI 有効症例の選択精度向上に繋がる可能性がある。

課題番号：R06 基-067

研究課題：骨髄増殖性腫瘍の遺伝子解析と新規併用療法開発の基礎的検討

研究代表者名（所属）：北中 明（検査診断学）

共同研究者名：辻岡 貴之、末盛 晋一郎

骨髄増殖性腫瘍（MPN）の原因となる遺伝子変異のうち、*CALR* 変異により細胞増殖が促進される機構については、未だ不明な点が多い。われわれは、*CALR* 変異導入 F-36P-MPL 細胞、ならびに 293T 細胞による一過性発現系を用いて、変異 *CALR* によって細胞増殖が活性化されるまでの情報伝達機構における重要分子の同定を試みた。各種阻害剤を用いたスクリーニングより、Src ファミリーチロシンキナーゼ（PTK）の阻害が、変異 *CALR* 依存性細胞増殖を抑制することが明らかとなった。Src 選択的阻害剤 PP2、Bcr-Abl/Src 阻害薬ボスチニブは、ともに *CALR* 変異導入 F-36P-MPL 細胞の増殖を抑制し、STAT5 の転写活性を低下させた。このことより、変異 *CALR* によって STAT5 が活性化される機構には、JAK PTK に加えて Src PTK が関与していることが示唆された。ボスチニブはすでに慢性骨髄性白血病治療薬として使用されており、MPN 治療薬である JAK 阻害剤ルキシリチニブとの併用は、*in vitro* で相乗的な細胞増殖抑制効果を引き起こすことが明らかとなった。この知見を基に、ルキシリチニブとボスチニブを

併用することによって、ルキソリチニブの副作用による貧血の増悪を防ぎながら、Src PTK 阻害によって MPN の病勢を抑制する新規治療法の開発可能性が示された。

課題番号：R06 基-071

研究課題：患者由来乳癌オルガノイドの作製と特性解析

研究代表者名（所属）：山辻 知樹（総合外科学）

近年、国内外において、生検サンプルや切除臓器を活用したオルガノイド研究が進展している。オルガノイドは、解剖学および機能的に生体内の器官に類似した特徴を有することから、これまで解析が困難であった生命現象の理解を可能にしている (Lancaster MA et al. Science 345:1247125, 2014)。癌研究の分野においても、各臓器由来の癌オルガノイドが樹立されており、従来の細胞株や遺伝子改変マウスに代わる新たな癌モデルとして、個別化医療や新規治療法の開発に活用されている。

当院で、手術を受けた乳癌患者 35 名の検体を用い、Sachs らの手法に基づいてオルガノイドの樹立を試みた (Cell. 172:373-86. 2018)。樹立の基準として、3 か月以上の培養期間および 10 回以上の継代が可能であることを条件とした。その結果、8 株の乳癌オルガノイドの樹立に成功し、成功率は 22.8%であった。形態は主に solid 型および solid と cystic を併せ持つ mixed 型に分類された。現在、これらのオルガノイドに対して whole exome sequencing 解析を進めており、さらに NOG マウス皮下に作製した xenograft における病理組織学的解析を行っている。

課題番号：R06 基-072

研究課題：肺癌進展における double minute 染色体の意義、治療薬耐性への関わりの解明

研究代表者名（所属）：深澤 拓也（総合外科学）

Double minute (DM) 染色体とは、環状構造を有する染色体外 DNA であり、近年の研究により、癌遺伝子の発現を増強し、腫瘍の進展に関与することが明らかとなっている (Nat Rev Genet. 23, 760-771, 2022 ; Nat Rev Cancer. 24, 261-273, 2024)。現在、多くの固形癌において extrachromosomal DNA (ecDNA) が存在することが確認されており、その機能解析と治療応用に向けた研究が加速している。我々は 2018 年より、肺癌の切除検体および悪性胸水から、組織型・病期・治療経過の異なる肺癌オルガノイドを樹立し、ライブラリの構築を進めてきた。核型解析の結果、樹立したオルガノイドの約 2 割に Double minute 染色体の存在が認められた。さらに、一部のオルガノイド由来ゲノム抽出物において PCR 解析を実施したところ、MYC 遺伝子の増幅が確認された。加えて、特異的プローブを用いた FISH 解析により、MYC を含む多数の Double minute 染色体が検出された。現在、これらのオルガノイドに対する抗癌剤感受性を評価し、染色体外 DNA における MYC 増幅との関連性について解析を進めている。

課題番号：R06 基-081

研究課題：Liquid biopsy による大腸癌術後再発予測技術の開発

研究代表者名（所属）：永坂 岳司（先端腫瘍医学）

SETOUCHI Study (UMIN000035144) は、2025 年 3 月 31 日をもって試験開始から 5 年間のフォローアップを完了した。合計 452 例の大腸癌患者が登録され、そのうち 444 例が悪性症例であった。術後病期の内訳は、Stage 0/I/II/III/IV=24 例/130 例/128 例/135 例/27 例であった。

本研究では、大腸癌術後再発予測技術の精度を検証するため、術前血液 (point 1) および術後血液 (point 2) 中の circulating cell-free DNA (ccfDNA) におけるメチル化 DNA の検出を実施した。解析対象は Stage IV の 27 例を除外した 417 例で、観察期間中に 52 例 (12.5%) が再発を認めた。

再発部位 (重複あり) は、肝転移 22 例 (9.5%)、肺転移 12 例 (2.9%)、腹膜播種 5 例 (1.2%)、リンパ節転移 8 例 (1.9%)、その他 8 例 (1.9%) であった。

EFEMP1、SFRP2、UNC5C のプロモーター領域のメチル化は、蛍光 Hi-SA 法 (Yasui K, Nagasaka T et al. ; Mol Cancer, 2024) により測定された。Combination Score (Fc) ≥ 15 を陽性と定義した場合、Cox 回

帰分析において、point 1 ではハザード比 1.54 (95%信頼区間 : 0.72-3.28、log-rank P=0.26)、point 2 ではハザード比 2.72 (95%信頼区間 : 1.40-5.30、P=0.002) となり、point 2 における ccfDNA メチル化解析が、大腸癌術後の再発を有意に予測する指標であることが示された。

課題番号 : R06 基-088

研究課題 : 妊娠および胚性腫瘍の微小環境に関する基礎的研究

研究代表者名 (所属) : 下屋 浩一郎 (産婦人科学)

共同研究者名 : 本郷 淳司、村田 卓也

【目的】妊娠性および胚性腫瘍は希少がんであるためがんの微小環境の解析は十分には進んでいない。本研究では妊娠および胚性腫瘍の新治療法を開発する目的で、絨毛がんの培養細胞である BeWo 細胞を用いて 2 次元、3 次元単独培養と線維芽細胞との共培養を行った。

【方法】12 培地を用いて BeWo 細胞の 2 次元培養および 3 次元コラーゲンゲル培養を行った。子宮筋腫の手術検体の正常子宮体部から線維芽細胞を培養し、単一コロニー由来の子宮体部線維芽細胞のクローン株を樹立した。そして、3 次元コラーゲンゲル内の BeWo 細胞 1×10^5 個と共培養を行った。

【結果】F12 培地中の 2 次元培養で BeWo 細胞は増殖したが、3 次元コラーゲンゲル内では BeWo 細胞の増殖は認められなかった。一方、正常子宮体部由来の線維芽細胞クローン株と共培養した場合は、BeWo 細胞は増殖し、コラーゲンゲル内で特徴的な形態の Spheroid を形成した。

【考察】BeWo 細胞は forskolin 刺激により Syncytium 化することが知られている。線維芽細胞との共培養により形成された Spheroid は表面の細胞が内部の細胞とは異なるように見え、Syncytium 化などの分化を起こし、胎盤器官の一部を再現している可能性が示唆された。BeWo 細胞が示したこのような Spheroid に関する報告はなく、新規の構造体が生成された可能性がある。

課題番号 : R06 基-089

研究課題 : 婦人科がん関連線維芽細胞クローンの包括的解析

研究代表者名 (所属) : 村田 卓也 (産婦人科学)

共同研究者名 : 本郷 淳司・下屋 浩一郎

【目的】がん関連線維芽細胞はがんの周囲に存在し、がん細胞の増殖、転移、抗がん剤抵抗性に関与している。近年解析が進み、種々のサブセットが存在していることが明らかとなった。本研究では婦人科がんの進展を促進するがん関連線維芽細胞クローンを包括的に解析し、治療標的を明らかにすることを目的とする。

【方法】婦人科がんの手術検体からがん関連線維芽細胞のクローンを分離し、がん細胞と共培養することによりがんの増殖におよぼす効果を解析した。また、共培養下のがん関連線維芽細胞で発現が上昇するサイトカイン・ケモカインの mRNA 発現量をサイトカイン・ケモカインアレイを用いて解析した。

【結果】子宮頸がんの臨床検体から 3 種類のがん関連線維芽細胞クローンの初代培養細胞を樹立した。そのうちの 2 種類について共培養下での子宮頸がん培養細胞 ME180 株に対する影響を解析した結果、その作用に統計学的に有意に差が認められた。また、サイトカイン・ケモカインアレイにて、共培養下でのがん関連線維芽細胞における mRNA 発現量を解析した結果、CXCL6 が非常に高い値を示した。

【考察】これまでになががん関連線維芽細胞において上昇しているサイトカイン・ケモカインとしては、CXCL12 が広く知られており、CCL5 についても報告があるが、CXCL6 については知られていない。CXCL6 の高発現は TCGA データを基にした解析において婦人科の 3 大がんである子宮頸がん、子宮体がん、卵巣がんのいずれにおいても予後との相関があることが示されており、CXCL6 産生がん関連線維芽細胞が婦人科がんの治療標的となる可能性が示された。

課題番号 : R06 基-090

研究課題 : 肺癌における Digital PET/CT の有用性の評価

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、松谷 隆志

【はじめに】近年、Digital PET 装置の導入により、従来型と比較して高感度・高分解能の検査が可能となった。一方、肺癌の術前診断において肺門・縦隔リンパ節への集積が高くなることで、手術適応について判断に悩む症例が増加した。本研究では Digital PET の肺門・縦隔リンパ節診断の診断能を従来型と比較検討した。

【対象と方法】2022年8月から2024年7月までにPETを行った後、手術を施行した非小細胞肺癌症例のうち、腫瘍径5cm以下の腺癌および扁平上皮癌を対象とした。術前治療を行った患者は除外した。PETによるリンパ節診断は放射線レポートを参考に術前カンファレンスで評価した結果とした。摘出したリンパ節は病理学的評価を行い、摘出しなかったリンパ節は術後6ヶ月のCTで増大がなければ転移陰性と判断した。

【結果】Analog群61例（腺癌47例、扁平上皮癌14例）とDigital群42例（腺癌32例、扁平上皮癌10例）に対して解析を行った。Digital PETになることで、リンパ節診断の感度は約2倍と向上した(37.5% vs 71.4%, $P=0.08$)。特異度はやや低下し(96.2% vs 88.6%, $P=0.90$)、偽陽性が増加した(2例 vs 4例)。正診率はほぼ同等であった(88.5% vs 85.7%, $P=0.66$)。Digital PET群で偽陰性を2例認め、その転移リンパ節は病理学的に micrometastasis であった。

【まとめ】Digital PETは従来のAnalog PETと比較して、感度が上昇し偽陰性が減少した。一方で、偽陽性例の増加に対しては注意が必要である。Digital PETでリンパ節転移が陽性と疑われる際には、生検を考慮するなどより慎重な評価が重要である。

課題番号：R06 基-106

研究課題：骨髄組織における BAP1 発現に関する後方視的検討

研究代表者名（所属）：藤原 英世（病理学）

共同研究者名：秋山 隆、西村 広健、中西 秀和、近藤 英生、和田 秀穂

（諸言）BAP1(BRCA associated protein 1) は3番染色体短腕上の *BAP1* 遺伝子にコードされる脱ユビキチン化酵素で、がん抑制遺伝子として機能している。BAP1 一次抗体を用いた免疫組織化学では、正常では中皮細胞や肺胞上皮細胞の核に陽性であることが知られているが、様々な固形腫瘍において BAP1 の消失がみられ、中皮腫など一部の腫瘍では病理診断に応用されている。一方造血器腫瘍では、ヒト骨髄組織における免疫染色の報告は確認できない。本研究では正常骨髄も含めた、様々な骨髄組織検体における BAP1 発現について研究・考察した。

（方法）川崎医科大学総合医療センターの病理検査室に提出された正常骨髄検体および、造血器悪性腫瘍と診断された骨髄生検検体（ホルマリン固定・パラフィン包埋標本）の残検体を使用し、BAP1 免疫染色を行った。

（結果・考察）正常骨髄では各造血細胞の核への発現が確認され、比較的認識が容易である巨核球に着目した。巨核球の著増する造血器腫瘍および、骨髄異形成症候群や急性骨髄性白血病における免疫染色では、巨核球は部分陽性であるが、異形成細胞や芽球の発現低下が示唆された。いずれの症例も正常造血細胞が含まれており、より詳細な評価が必要である。また、非腫瘍性・腫瘍性を問わず一部の巨核球の核は陽性であることから、骨髄を評価する際の内在性コントロールとなり得ると考えた。今後は症例数の蓄積や、BAP1 陽性細胞と各造血マーカーとの二重免疫染色、関連遺伝子の免疫染色も検討したい。

課題番号：R06 基-110

研究課題：RAS/RAF 野生型大腸癌において化学療法に対する完全無反応群の主要な分子機構と病理組織像との関係を分析する

研究代表者名（所属）：上野 富雄（消化器外科学）

共同研究者名：岡田 敏正、永坂 岳司、矢野 修也

【Purpose】

1 検体収集システムの構築： 癌性腹膜炎=いかなる治療にも抵抗性症例と考え、癌性腹膜炎から RNA 解析に供する検体収集システムを確立する。

2 遺伝子発現プロファイリングと多層解析： RNA-seq により包括的な遺伝子発現プロファイリングを実施し、化学療法時の発現差解析、発現パターン解析、ネットワーク解析などを行う。

【Material and Method】

川崎医科大学附属病院で高度進行大腸癌、膵癌症例。

【Results】

1 現在消化器外科では消化器内科の協力もあり、癌性腹膜炎に陥った大腸癌、膵癌の腹水から癌細胞とマッチしたリンパ球の樹立を教室の研究の柱として行なっている。現在まで、大腸癌は 35 例、膵癌は 3 例樹立に成功している。

2 大腸癌の内訳は、KRAS 遺伝子野生型 10 例、KRAS 遺伝子変異型 12 例、BRAFV600E 遺伝子変異 2 例、MSI-H 大腸癌 1 例と実際の臨床に即したものになっている。

3 現在まで川崎医科大学オリジナル大腸癌細胞株に対して 17 例の遺伝子解析を行なっている。驚くことに、腹膜播種を起こした KRAS 野生型は、EMT などの薬物抵抗性マーカーをほとんど発現していなかった。

4 一方で、これら高度進行大腸癌に殺細胞剤を加えたところ EMT プログラムを発動し、キナーゼ阻害薬を暴露すると EMT が抑制された。

課題番号：R06 基-111

研究課題：再発危険マーカーである大腸癌低分化クラスターの意義を人工知能で解明する

研究代表者名（所属）：吉松 和彦（消化器外科学）

共同研究者名：上野 富雄、矢野 修也、北川 集士

【背景】Stage III 大腸癌において、腫瘍先進部に低分化胞巣（poorly differentiated cluster: PDC）が多く認められる症例は早期再発を来し、予後不良である。我々は PDC が化学療法抵抗性の細胞集団であると仮定し、PDC 解析による再発予測と抵抗性マーカー同定の可能性を検討した。

【対象・方法】2015～2021年に当院で切除された Stage III 大腸癌のうち、カペシタビン+オキサリプラチン療法を受けた 44 例を対象に、腫瘍先進部および転移リンパ節の PDC 数を比較した。最も PDC が集積した部位を対物 20 倍レンズで観察し、1 視野あたりの PDC 数を測定した。再発例と非再発例に分けて、Stem cell マーカー、抗がん剤耐性マーカーの免疫組織学的検査を施行した

【結果】腫瘍先進部 PDC 数は再発群で 12.38 ± 3.92 個、無再発群で 3.75 ± 2.49 個と有意差を認め、カットオフ値は 7 個であった。転移リンパ節 PDC 数も再発群で有意に多く、5 個以上で DFS が有意に短縮していた。一方、現時点では Stem cell マーカー、抗がん剤耐性マーカーの免疫組織学的検査を施行しているが、再発例と非再発例もしくは原発巣と PDC 間に差を認めなかった。

【結語】PDC の存在は再発予測マーカーおよび化学療法抵抗性細胞集団として有用であるが、生物学的重要性についてはさらなる検討が必要である。

課題番号：R06 基-112

研究課題：深層学習による人工知能を用いた大腸癌肝転移 CT 画像から悪性度を評価するモデル作成

研究代表者名（所属）：岡田 敏正（消化器外科学）

共同研究者名：上野 富雄、吉松 和彦、矢野 修也

本研究では、肝転移病変を有する CT 画像 78 例（変異陽性 31 例・陰性 47 例）を対象に、非侵襲的に RAS 遺伝子変異有無を推論する手法を確立した。まず、肝臓全体を粗く切り出した ROI 領域から、GLCM テクスチャ（Contrast, Homogeneity, Energy）、一次統計（平均強度・分散・エントロピー）、Sobel エッジ密度、Boundary Contrast など計 10 種の Radiomics 特徴を抽出し、L1 正則化ロジスティック回帰を 5-fold 交差検証したところ、AUC=0.65、Accuracy=0.60 にとどまった。次に、nnUNet v2 による腫瘍 ROI 自動抽出を行い、純粋な病変部のみを用いて同様の 7 種の特徴で解析した結果、5-

fold CV AUC は 0.86、Accuracy は 0.75 に大幅改善した。特に、RAS 遺伝子変異群では Edge Density が低く Boundary Contrast が高い（辺縁不明瞭かつ造影不良）、RAS 遺伝子野生型群では逆の傾向が明確となった。ROC 曲線では True Positive Rate が 90%近傍、False Positive Rate が 10%以下の領域を示し、高い診断性能を確認した。N = 80 例程度で高精度化が期待されるため、症例集積を重ね CT 画像を用いた非侵襲的な分子プロファイリングの臨床応用を目指したい。

課題番号：R06 基-113

研究課題：予後不良大腸癌における sustainable な TGF β シグナルによる EMT 亢進状態と免疫疲弊を克服する機能的 RNA を標的とした革新的治療法の開発

研究代表者名（所属）：矢野 修也（消化器外科学）

共同研究者名：伊藤 達男、永坂 岳司、上野 富雄

大腸癌において、腫瘍の免疫環境と上皮間葉可塑性（epithelial-mesenchymal plasticity：EMP）は、化学療法や免疫療法を含む治療に対する応答性や治療後の再発・転移リスクに深く関与すると考えられている。本研究では、臨床サンプルを用いて治療群別に RNA シーケンス解析を行い、癌細胞由来の bulk RNA 発現データから免疫応答性スコア（immune responsiveness score：IRS）および EMP スコアを定量化・可視化した。さらに、スコアの変化をベクトル解析により軌道として描出し、治療による腫瘍の転写的進化の方向性を解析した。その結果、Treatment1 群では、抗原提示関連分子（B2M, TAP1/2, HLA 群など）の発現が顕著に低下し、T 細胞の認識回避状態が生じていた。また、ZEB1 や VIM などの EMT 関連転写因子が高発現しており、免疫逃避かつ EMP が促進された状態への転写的進化が示唆された。一方、Treatment2 群では、STAT1 や CXCL9/10、CD274 などの免疫関連遺伝子群が広範に活性化し、EMT 関連遺伝子の発現は低下していた。これにより、Treatment2 は免疫活性化と EMP 抑制の両者を達成する理想的な治療表現型であることが明らかとなった。さらに、Control 群と各治療群との間でのスコア変化を症例ごとに矢印ベクトルとして可視化することで、個別腫瘍が治療によってどのような進化軌道をたどるかを直感的に把握することが可能であった。

課題番号：R06 基-114

研究課題：上皮間葉転換と間質のデュアル蛍光イメージングによる膵癌新分類と新治療方針の構築

研究代表者名（所属）：峯田 修明（消化器外科学）

共同研究者名：上野 富雄、吉松 和彦、矢野 修也

【背景】豊富な間質を有する膵がんは予後不良と関連している。TCGA コホート解析および当施設のデータから、間質豊富な膵がんは、よく分化した腺がん優位型と比較して予後が不良であることが示された。

【方法】上皮間葉移行（EMT）をリアルタイムでモニタリングするため、ビメンチンプロモーター駆動型赤色蛍光タンパク質（vim-RFP）バイオセンサーを新規に開発した。間質豊富な膵がん組織における遺伝子発現解析を実施し、当院のコホートにおいて間質性 VIM 発現を評価した。

【結果】癌性腹水中の膵癌細胞株を樹立し、NGS による RNAseq では殺細胞剤暴露では EMT 関連遺伝子の発現が上昇した。vim-RFP バイオセンサーは、EMT の可塑性に基づく膵がんの亜型を正確に層別化し、分子遺伝子発現プロファイルと強い相関を示した。リアルタイム画像解析により、標的キナーゼ阻害剤（特にイマチニブメシル酸塩とレゴラフェニブ）が化学療法誘発性 EMT を効果的に逆転させ、間葉系膵がん細胞の化学療法感受性を回復することが示された。間質性 VIM 発現の高値は、当院のコホートにおいて予後不良と有意に関連した。

【結論】本研究の結果は、膵がんにおける間質成分の臨床的意義を明らかにし、間質豊富な膵がんにおける治療成績の改善に向けた EMT 阻害の治療可能性を示唆する。

課題番号：R06 基-115

研究課題：治療不応 RAS/RAF 遺伝子野生型大腸癌における HER2 遺伝子増幅、上皮間葉転換、リンパ球疲弊の相互関連を病理特徴ならびに RNA 発現プロファイルから包括的に明らかにする

研究代表者名（所属）：上野 綸（消化器外科学）

共同研究者名：上野 富雄、吉松 和彦、矢野 修也

【背景】EGFR 阻害療法に対する耐性機構の解明は、治療最適化において重要である。EGFR と同じ ERBB ファミリーに属する HER2 (ERBB2) は、EGFR 非依存的なシグナル伝達を代償的に活性化する可能性があるが、大腸癌における発現変動と経路再構成の詳細は不明である。

【方法】RNA-seq データに対し、DESeq2 正規化および ComBat 補正を行った後、VST 変換を施した。HER2 系 (ERBB2、PIK3CA、AKT1、STAT3 など) および EGFR 系 (EGFR、MAPK1、GRB2、FOS、JUN など) の下流遺伝子を抽出し、Control 群とオキサリプラチン治療群における発現を比較。ヒートマップと t 検定により発現差を評価し、さらに HER2 シグネチャスコアを算出した。

【結果】オキサリプラチン治療群では HER2 系遺伝子の多くが上昇し、ERBB2 (+0.45)、PIK3CA (+0.38)、AKT1 (+0.51)、STAT3 (+0.43) などが高発現を示した。一方、EGFR 系遺伝子は大きな変化を示さず、MAPK1 (-0.22)、GRB2 (-0.19) はやや低下した。HER2 signature スコアも Control 群に比して上昇傾向を示した (mean ± SD: 1.65 ± 0.19 vs 1.23 ± 0.22, p = 0.12)。

【結論】オキサリプラチン治療により EGFR シグナル依存性は低下し、HER2-PI3K-AKT 軸の選択的活性化が示唆された。本経路再構成は、RAS 野生型大腸癌が HER2 シグナルを活性化し耐性機構の一端である可能性がある。

課題番号：R06 基-116

研究課題：大腸癌コンパニオン診断用に適した病理場所を深層学習による人工知能を用いて自動検出する

研究代表者名（所属）：井上 貴裕（消化器外科学）

共同研究者名：上野 富雄、吉松 和彦、矢野 修也

【Purpose】

臨床病理学的初見から MSI-H を AI で認識できるモデルを作成すること

【Material and Method】

2019 年 1 月～2024 年 8 月に川崎医科大学で治療を受けた右側結腸腫瘍 (5cm 超) の症例 64 例を対象に、臨床病理学的に解析した。

MSI (マイクロサテライト不安定性) 高頻度 (MSI-H) か否かは PCR または IHC により判定した。

【Results】

1. MSI 大腸癌の腫瘍の特徴：CT 画像腸重積所見は MSI-H と強く関連し、感度 87.0%、特異度 95.1%、陽性的中率 90.9%、陰性的中率 92.9%であった。一方、腸閉塞所見は MSI 非高頻度 (非 MSI-H) と関連し、感度 95.1%、特異度 90.9%を示した。CT 所見による MSI-H の予測において、腸重積は高い診断精度を持つ可能性が示された。
2. MSI 大腸癌の再発の特徴：当院での MSI-H 大腸癌の再発は全例局所再発であった (3 例)。非 MSI-H 大腸癌は、肝肺転移や腹膜播種であった。
3. MSI-H 大腸癌は、ほとんどが低分化腺癌や粘液型であった。

今後は、これらのコホートを用いて病理学的特徴を明らかにし、CT 画像と病理画像を組み合わせることで、AI による MSI-H の拾い上げ精度のさらなる向上を目指したい。

課題番号：R06 基-117

研究課題：大腸癌の転移リンパ節・非転移リンパ節内のリンパ球を比較することで担癌宿主免疫システムの個別化とリンパ節内における PD-1/PD-L1 系とは独立した免疫疲弊システムの発見

研究代表者名（所属）：神原 啓伸（消化器外科学）

共同研究者名：上野 富雄、吉松 和彦、矢野 修也

【Purpose】大腸癌における PD-1/PD-L1 系とは独立した免疫疲弊システムの発見

【Material and Method】

進行 MSS 大腸癌患者の癌性腹水から腫瘍細胞および自家リンパ球をそれぞれ培養・樹立し、免疫細胞と腫瘍細胞の相互作用を検討するための *ex vivo* モデルを構築した。

【Results】

腹水中のがん細胞株に対し、臨床で広く用いられる細胞障害性抗がん剤を暴露させ NGS 解析、並びにシグナルパスウェイ解析を行った結果、炎症性サイトカイン：CXCL1、CXCL8、IL1B、IL33、PTX3、免疫抑制関連：TNFRSF10C、TNFRSF10D といった免疫抑制関連因子が増加し、がんの免疫回避シグナルが活性化していた。

さらに、PD-1 ファミリーに属する免疫抑制分子「CD276」が高発現していた。これらの現象は、CD274(PD-L1)ではなく、CD276 が新たな免疫疲弊を担っている可能性を示唆しており、従来の PD-1、PD-L1 といった免疫チェックポイント分子とは異なる新たな免疫逃避経路の存在を示している。

したがって、CD276 の発現機構と機能の詳細を明らかにし、これを標的とする新規治療法を開発することは、従来の免疫療法が効果を示さなかった Cold tumor の MSS 大腸癌に対し、新たな免疫療法につながる。今後は大学院生として引き続き研究を行う予定としている。

課題番号：R06 基-118

研究課題：がん性腹膜炎と良性疾患腹膜炎内浸潤リンパ球の RNA 発現プロファイルを用いた包括的解析によるがん関連炎症と正常炎症の違いの解明

研究代表者名（所属）：堀 昌明（消化器外科学）

共同研究者名：上野 富雄、吉松 和彦、矢野 修也

【Purpose】がんの炎症と正常の炎症をがん性腹膜炎と良性疾患腹膜炎内でのリンパ球を包括的に解析し、癌性腹膜炎における炎症状態を把握する

【Material and Method】

Stage IV 胃癌及び大腸癌患者の癌性腹水から腫瘍細胞および自家リンパ球をそれぞれ培養・樹立し、免疫細胞と腫瘍細胞の相互作用を検討するための *ex vivo* モデルを構築した。

【Results】

Stage IV 大腸癌患者の増加した腹水中には、以下のパターンが存在した。1. 癌細胞はほとんど存在せず白血球、リンパ球のみ、2. 癌細胞とリンパ球が多く存在する、3. 癌細胞だけで免疫細胞はほとんどいない、4. 血性腹水となり赤血球がほとんどを占める。2024 年の 1 年間で 20 例ほど癌性腹水の培養を行なったが、表題の課題に合致する癌性腹水 6 例と集積に時間を要している。さらに、がん細胞の増殖は容易であるが、リンパ球が疲弊したまま増殖するのは難しく、バルクによる NGS による解析が可能なリンパ球数も症例によりまちまちである。一方、急性虫垂炎・急性胆嚢炎良性患者のリンパ球は培養シャーレ中でも容易に増加した。正常患者、癌患者 3 例ずつのリンパ球の NGS を施行したところ、癌患者のみ PD-1、CTLA-4、LAG-3 といった免疫疲弊マーカーが高発現していた。

今後は大学院での研究を行う予定としている。

— 環境と生体反応 —

課題番号：R06 ス-001

研究課題：HTLV-1 関連疾患における Tax 標的遺伝子 NR4A2 の病因的意義解明とその制御法の開発

研究代表者名（所属）：國塩 幸（微生物学）

共同研究者名：齊藤 峰輝

【目的】ヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV-1) は主に CD4+T 細胞に感染し、一部の感染者に成人 T 細胞白血病 (ATL) もしくは HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) を発症させる。教室の先行研究により、近年自己免

疫疾患の病態や疲弊 T 細胞の誘導による発がんへの関与が報告されているオープン核内受容体 NR4A2 が、HTLV-1 の転写制御因子 Tax によって発現誘導される標的遺伝子であることが明らかになった。本研究では、HTLV-1 関連疾患の病態形成における NR4A2 の病因的意義解明と、その制御法の開発を目指す。

【方法】HTLV-1 は生体内で 1 細胞あたり 1 コピーのウイルスゲノムが染色体 DNA に組込まれたプロウイルスとして存在し、細胞分裂により娘細胞へと伝達される。そこで、細胞分裂時に導入遺伝子が細胞周期あたり 1 回だけ複製し、細胞内で安定的に維持されるエピソーム型プラスミド pCEP4 を用いて Tax の発現プラスミドを構築し、プラスミドにコードされる GFP の発現を指標に「HTLV-1 感染様 CD4+T 細胞」を取得して、Tax が CD4+T 細胞に及ぼす影響を解析する。

【結果・結論】「エピソーム型 Tax 発現プラスミド」を構築できた。現在、Tax 発現陽性の「HTLV-1 感染様 CD4+T 細胞」をセルソーターにより分離・回収して解析を行っている。

課題番号：R06 基-001

研究課題：細胞内小胞輸送を制御する蛋白質複合体の形成機序の解明

研究代表者名（所属）：大友 孝信（分子遺伝医学）

共同研究者名：寺脇 正剛

細胞内の小胞同士を融合し小胞輸送を制御するタンパク質複合体としては、HOPS 複合体や CORVET 複合体が知られている。我々は 2023 年にこれらの構成分子が互いに入れ替わったハイブリッド型の複合体の存在を報告し、これらがマクロピノサイトーシスのエンドサイトーシスにおいて機能していることを示した。本研究では、これらタンパク質複合体の形成機序を明らかにすべく、構成分子のノックアウトならびに強発現を行い、複合体の形成量を質量分析機で定量した。HOPS や CORVET と共通の class-C core 骨格を持ち、末端が VPS41 と VPS3 分子で構成される Hybrid-A 複合体は、部品が入れ替わることで CORVET へ遷移する可能性が示された。同様の骨格と末端に VPS8 と VPS39 を有する Hybrid-B 複合体も、部品が入れ替わることで CORVET へ遷移する可能性が示された。また、Hybrid-B は全ての構成分子が発現している条件下では自律的に組み立てることが示唆された。Hybrid-A のみが存在しうる VPS8/VPS39 のダブルノックアウト細胞を作製することは出来なかった。当該細胞はタンパク質複合体の遷移モデル全体の理解には必須であるため、引き続き作製試行中である。完成後に免疫沈降と質量分析にて各複合体の形成量を再定量する、もしくは当該細胞が致死性である可能性も含め考察する必要がある。

課題番号：R06 基-009

研究課題：グルコサミノグリカンの細胞内輸送におけるテザリング複合体の機能解析

研究代表者名（所属）：寺脇 正剛（分子遺伝医学）

共同研究者名：大友 孝信

グリコサミノグリカン(GAG)はエンドサイトーシスによって取り込まれ、リソソームにおいて分解されることで細胞の恒常性が維持されている。我々はこれまでに、GAG を含む液相性分解基質のエンドサイトーシスによる輸送分解には VPS33A を含む新規テザリング複合体 Hybrid-B が機能していることを報告している。その VPS33A における p. R498W 変異は GAG の蓄積を伴うムコ多糖症類似疾患の原因となる。今回我々はこの変異が VPS33A の GAG の輸送や分解に与える影響について細胞レベルで評価した。GAG の存在量を健常人由来および患者由来皮膚線維芽細胞の GAG を質量分析で比較検討したところ、デルマタン硫酸とヘパラン硫酸の蓄積が認められた。この結果は患者の尿検体や血液における GAG の蓄積パターンと一致している。患者由来の線維芽細胞を電子顕微鏡で観察したところ、未消化の基質を含む不均一なエンドリソソームが多く観察され、この変異がエンドソーム系にもたらす異常が確認された。さらに我々はインタラクトーム解析により VPS33A と結合する因子のうち、p. R498W 変異により結合が失われる 2 因子を同定した。これは VPS33A とこれらの因子の相互作用が GAG のエンドサイトーシスにおいて重要な意義を持っていることを示しており、今後この 2 因子の解析により、テザリング複合体の新たな機能解明を進めていく予定である。

課題番号：R06 基-013

研究課題：2 型気道炎症における好酸球の役割—IL-33 誘導性マウス気道炎症モデルの解析 2—

研究代表者名（所属）：加藤 茂樹（総合臨床医学）

共同研究者名：池上 仁美

（目的）これまで IL-33 誘導性マウス好酸球気道炎症モデルを用いて IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウス及び好酸球欠損マウスでは C57BL/6 野生型マウス (WT) に比して 2 型気道炎症が亢進していること、この原因として気道中の 2 型自然リンパ球 (ILC2) が増加していることを報告してきた。これらの結果から IL-5 で誘導される好酸球の一部に ILC2 を介する 2 型炎症抑制機構が存在することが推測された。今回は ILC2 を抑制する細胞表面分子として PD-1 発現及びそのリガンドである PD-L1 の好酸球における発現をフローサイトメトリーを用いて検討した。

（方法）IL-33 を WT マウスに 1 回 0.5 μ g を 1 日 1 回、3 日間投与し、最終投与の 24 時間後に気管支肺胞洗浄 (BAL) を行い、ILC2 の PD-1 発現と Siglec-F 陽性の好酸球における PD-L1 及び CD80 の発現をフローサイトメトリーを用いて検討した。

（結果）BAL 液中の ILC2 は、PD-1 を発現していた (陽性率:95.6%)。一方、一部の好酸球は PD-L1 及び CD80 を発現していたが、Siglec-F 低発現の好酸球は、Siglec-F 強発現の好酸球に比べて PD-L1 及び CD80 の発現率が高かった。

（考察）気道中の一部の好酸球が PD-1 を介して ILC2 を抑制する可能性が示唆された。今後、シングル細胞 RNA 解析を行い、制御性好酸球に関して詳細に検討していく。

課題番号：R06 基-022

研究課題：尋常性天疱瘡の発症トリガーとなる単純ヘルペスウイルス感染の役割解明

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、山根 万里子

単純ヘルペスウイルス (HSV) 感染は、表皮細胞間に存在するデスモグレイン 3 (Dsg3) に対する自己抗体によって表皮内水疱を生じる尋常性天疱瘡の発症に関与する報告がある。HSV 感染症と尋常性天疱瘡は棘融解細胞を形成する共通の特徴があるが、関連性は不明である。HSV-1 の表皮感染後に誘導される宿主の反応について解析した。

B6 マウス、Dsg3 ノックアウト B6 (Dsg3 KO) マウスに HSV-1 を経表皮感染し、病変部を組織学的に確認した。皮膚抽出タンパクを基質とし、血清中の自己抗体を immunoblot 法で解析した。

HSV-1 感染による表皮内の棘融解細胞数は、B6 マウスより Dsg3 KO マウスが多く、スキンスコア (皮疹の重症度) は、Dsg3 KO マウスで低値を示した。immunoblot において、100kDa 付近に新規 IgG 型自己抗体が同定され、B6 マウスでは 91% (コントロール 8.3%)、Dsg3 KO マウスでは 100% (コントロール 17%) で検出された。血清 HSV-1 抗体価は、Dsg3 KO マウスで高値を示した。

HSV-1 が表皮で効率よく増殖するために、ウイルスは Dsg3 を利用して隣接するケラチノサイトに cell to cell spread によるウイルス感染拡大をきたす。一方、宿主は表皮細胞間に存在する抗原に対する自己抗体を誘導することにより、細胞を離開 (棘融解細胞の誘導) させ、cell to cell によるウイルス感染拡大を阻止しようとする。つまり、尋常性天疱瘡は、HSV-1 感染に対する防御反応の一つとして発症する可能性がある。

課題番号：R06 基-035

研究課題：肺胞上皮細胞における脂質リン酸ホスファターゼ 3 の発現低下が肺線維症の病態形成に及ぼす影響

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

特発性肺線維症は予後不良の疾患であり、新たな治療法の開発が求められている。スフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) およびリゾホスファチジン酸 (LPA) の蓄積が線維化を促進することが報告されている

が、その蓄積機構は不明である。我々は、これらの脂質を分解する脂質リン酸ホスファターゼ 3

(LPP3) の発現が肺線維症モデルマウスにおいて低下することを見出しており、この発現低下が S1P および LPA の蓄積に関与すると考えた。LPP3 発現の増加が肺線維化を改善するか検討するために、本研究では LPP3 過剰発現マウスを作製し、解析した。

まず、Cre 存在下で loxP が切断され発現阻止配列が喪失することにより LPP3 を過剰発現する LSL-Lpp3 マウスと全身性 Cre 発現マウス (CAG-Cre) を交配して全身性 LPP3 高発現マウスの作出を試みたが、胎生致死であった。そこで、LSL-Lpp3 マウスとマクロファージ特異的あるいは肺胞上皮細胞特異的 Cre 発現マウス (LysM-Cre あるいは SPC-Cre) を交配した。これらのマウスでは肺における LPP3 mRNA およびタンパク質の発現増加が確認された。また、マクロファージ特異的 LPP3 高発現マウスの腹腔マクロファージで S1P 分解活性の上昇を認めた。現在、これらのマウスを用い、肺線維化に与える影響の解析を進めている。

課題番号：R06 基-039

研究課題：SARS-CoV-2 の感染を予防する新規組換えウイルスワクチンの開発

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】新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の感染予防に資する組換えワクチンの開発を試みる。組換えワクチンの母体株には増殖欠損型の水疱性口内炎ウイルス (VSV) を用い、VSV 粒子表面に SARS-CoV-2 の Spike 蛋白質を搭載させた安全性の高い新規ワクチンを創出する。

【方法】培養細胞を用いて組換え VSV 粒子を合成する逆遺伝学的システムは確立されている。そこで、VSV ゲノムにコードされているエンベロープ G 遺伝子を GFP 遺伝子に置換したウイルスゲノム発現プラスミドを作製し、BHK/T7-9 細胞 (T7 RNA ポリメラーゼ発現細胞) に Spike 蛋白質発現プラスミドと共導入することで増殖欠損型の Spike 搭載 VSV を作出する。VSV 合成の評価は、組換えウイルスが感染した細胞のみで発現する GFP 蛋白質の有無によって検証する。

【結果・考察】VSV 由来の G 蛋白質をエンベロープにもつ増殖欠損型 VSV は作出できたが、Spike 蛋白質を搭載した増殖欠損型 VSV の合成には成功しなかった。一方で、プラスミドから発現する Spike 蛋白質自体は機能的であることは確認しており、今後は、G 蛋白質発現プラスミドと Spike 蛋白質発現プラスミドの共導入により「G+Spike」搭載 VSV の合成を検討し、さらに SARS-CoV-2 感染を阻止する中和抗体産生のためのウイルス抗原となり得るかどうかを動物実験等で調べる。

課題番号：R06 基-040

研究課題：カクテル型インフルエンザワクチンによる防御効果の実験的検証

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

【背景と目的】新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の流行が収まりだした 2022/23 シーズンにインフルエンザが再流行した要因の一つとして、主要抗原部位であるヘマグルチニン (HA) の抗原変異による免疫逃避が考えられる。教室の先行研究で、HA 頭部のアミノ酸置換によって起こるアスパラギン結合型 (N 型) 糖鎖の脱着がウイルスの性状や抗原性に影響することが明らかになっている (Ushirogawa et al. BMC Infect. Dis. 2016)。そこで、「抗原変異に対応可能なカクテル型 HA ワクチンの開発」を目標に本研究を行った。

【材料と方法】① HA の塩基配列情報分析による流行株の抗原性解析、② その情報を基盤とした組換えウイルス株の作製、③ 糖鎖プロファイルが異なる 3 種類の HA を混合した「抗原カクテル」の効果検証、を行った。

【結果と考察】COVID-19 パンデミック後の香港型流行株の一部は新規の N 型糖鎖付加領域を獲得しており、パンデミック以前の株と比較するとウイルスの性状や抗原性に差が認められた。2022/23 シーズンに流行した香港型ウイルス流行株の HA 塩基配列情報から N 型糖鎖プロファイルが異なる 3 種類の HA タン

パク質を作製し、混合した「抗原カクテル」をモルモットに接種した。得られた抗血清の効果を検証したところ、「抗原カクテル」が幅広い抗原変異に対応可能であることを示唆する結果が得られた。

課題番号：R06 基-041

研究課題：マンソン裂頭条虫クローン株のバイオリソース化に関する研究—遺伝子アノテーションと *in vitro* 保存法開発の試み—

研究代表者名（所属）：沖野 哲也（微生物学）

共同研究者名：齊藤 峰輝、後川 潤

【背景・目的】ヒトにマンソン孤虫症を引き起こすマンソン裂頭条虫（サナダムシ）は、再生・免疫などのモデル動物（バイオリソース）として有望である。我々は、本虫のライフサイクルを実験室内で完成させ、3倍体クローン株（Kawasaki triploid strain:以下 Kt 株）を作出した（Okino *et al*, 2017）。今回、Kt 株の染色体レベルのゲノム解析および近年問題になっていた種名を明らかにすることを目的とした。

【方法】マウス体内で維持していた幼虫から DNA を抽出し、近接ライゲーションと HiRise 解析でアセンブリされた配列に Geneious Prime を用いて既知の配列をマッピングした。また、ミトコンドリア *cox1* 遺伝子を PCR ダイレクトシーケンスで読み MEGAX を用いて分子系統樹を作成した。

【結果・考察】本虫の幼虫と成虫のステージで最も豊富に発現している遺伝子の上位 30 個ずつ（Liu *et al*, 2022）および *P-ISF*（Kondo *et al*, 2020）が、アセンブリされた配列（上位 15 本）にマッピングできた。また、*cox1* 遺伝子の全長 1566bp が読み、Kt 株が *Spirometra mansoni* の分岐群に含まれた。形態学的に Kt 株が *S. mansoni* の新模式標本として記載された（Kuchta *et al*, 2024）ことから、Kt 株の種名は *S. mansoni* である。

課題番号：R06 基-060

研究課題：ウイルス感染行動の比較解析によるインフルエンザウイルスのヒトへの感染性獲得メカニズムの解明

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複数の受容体との結合を入れ替えることで細胞表面を運動し、この運動により感染効率を上げている。ところで、感染の場は宿主動物により異なる（例えばヒトウイルスは呼吸器感染、ミズドリウイルスは消化器感染）。そこで、我々は感染に最適なウイルスの運動（感染行動）パターンは宿主により異なると考え、これまでヒトウイルスの運動の特徴を明らかにしてきた。本研究では、自然界に存在するヒトウイルスに似た運動パターンのウイルスを探し出すことを目指し、ミズドリを宿主とするウイルスの運動の解析を行った。受容体としてトリウイルスの受容体の $\alpha 2, 3$ 型シアロ糖鎖 (3SG) あるいはヒトウイルスの受容体の $\alpha 2, 6$ 型シアロ糖鎖 (6SG) 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運動の可視化解析を行った。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。一方トリウイルスは、ウイルス株により両表面で様々な運動を示したが、ヒトウイルスと同等に 6SG 表面に強く結合するウイルス株や 3SG 表面で運動する株が存在した。しかし、これらのトリウイルスの運動は、ヒトウイルスに比べ直線性が高かった。以上の結果は、自然界のトリウイルスの中にはヒトウイルスと同様の受容体特異性を持つウイルスが存在し、これらのウイルスがわずかに運動特性を変化させることでヒトへの感染性を獲得する可能性を示唆する。

課題番号：R06 基-062

研究課題：RNA ウイルスゲノムのポイントオブケア（POCT）検査キットの開発研究

研究代表者名（所属）：伊藤 達男（衛生学）

（重症性血小板減少症候群（SFTS）迅速診断法開発に向けた基盤技術の整備）

本研究では、重症性血小板減少症候群（SFTS）の早期診断法開発に向け、SFTS ウイルス（SFTSV）の

保存領域同定と、それに基づく CRISPR/Cas13 技術応用を目指した基盤構築を目的としました。研究期間中においては、擬似ウイルスモデル構築のための重要な準備段階を進めました。

具体的には、SFTSV 擬似ウイルス作成に必要な発現プラスミドの入手準備に時間を要しましたが、MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research の Benjamin Brennan 氏より、HB29 株由来の pTVT7-HB29L および pTM1-HB29L プラスミドを提供いただきました。これらすべてのプラスミドについて配列確認を次世代シーケンス解析にて行い、目的配列に変異がないことを確認しています。これにより、SFTSV 逆遺伝学系確立に必要な HB29 株用プラスミド資材の確保が完了しました。

現在、これらプラスミドを用いた実験に必要な遺伝子組換え実験申請手続き中であり、擬似ウイルス産生に向けた準備が整いつつあります。本研究計画期間中に達成できたのはここまでですが、今後は本プラスミド産生物をコントロールとして、SFTSV 保存領域を標的とするガイド RNA の設計、ならびに CRISPR/Cas13 システムを用いた TLC 迅速検出法の開発を進める予定です。

なお、申請者らはこれまでに CRISPR/Cas13 システムを用いた RNA 標的切断の効率を、RNA 局所構造予測に基づき検証しており、また SARS-CoV-2 由来ゲノム RNA の宿主細胞内相互作用解析に成功 (TRIP 法、特許申請中) するなど、Cas13 応用技術に関する実績も積み上げています。この基盤を活かし、今後、SFTSV 迅速診断系構築に向けた研究を加速させます。

本研究成果は、国内における SFTSV 感染拡大防止と医療現場での迅速診断体制強化に資するものであり、社会的意義も大きいと考えています。引き続き、本研究目的達成に向け鋭意取り組みます。

課題番号：R06 基-070

研究課題：自己炎症性疾患関連遺伝子 KIF7 による炎症誘導機構の解明

研究代表者名 (所属)：向井 知之 (免疫学)

共同研究者名：井関 将典、坂本 祐真

自己炎症性疾患とは、自然免疫関連遺伝子の変異により、自然免疫の過剰活性化が生じる疾患である。学外共同研究者らは、自己炎症性疾患の患者で、発症に関係していると考えられる KIF7 遺伝子のミスセンスホモ変異 (c. 1367C>T, S456F) を同定した。KIF7 (Kinesin family member 7) は、モーター蛋白として機能し、一次繊毛の形成および機能の調節をしている。本研究では、KIF7 変異が自己炎症性疾患の病態に関与するかを明らかにするため、当教室にて変異マウスを作製し、その表現型を解析した。

Kif7 S456F 変異マウスは通常飼育下では目立った表現型は認めなかったが、マウス全血 (白血球) 由来 RNA を用いて RNA-seq 解析を行ったところ、変異ホモマウスにおいて複数の自然免疫関連受容体の発現亢進を認めた。複数のリガンドによる刺激を目的に、糞便の腹腔内投与による腹膜炎を誘導したが、変異マウスと野生型マウスで致死率や体重減少の程度に有意な違いは認めなかった。

現在までの解析で、変異マウスにおける炎症反応の増悪は確認できていないが、何らかの病態特異的なリガンドに対して過剰反応する可能性があり、今後は変異マウス・細胞を各種炎症誘導リガンドで刺激し、炎症反応の評価を進める予定である。

課題番号：R06 基-080

研究課題：マラリア原虫の細胞内小器官タンパク質の超微細局在解析

研究代表者名 (所属)：森田 将之 (解剖学)

赤血球への寄生と破壊を繰り返すマラリア原虫は、哺乳類には無い独特の細胞内小器官であるデングラニュール (DG) を駆使して寄生後の赤血球内の環境を構築している。マラリア原虫内に DG は数十個存在しそれらは全て形態的に同様に観察されるが、内包するタンパク質の種類によって 2 種以上の DG (RESA 陽性および RESA 陰性 DG) に分類できる。各 DG のタンパク質レパートリーを明らかにできれば、マラリア原虫の赤血球寄生メカニズムの分子基盤の解明に貢献できると考えられる。本研究では、既知 DG タンパク質である EXP2 が、RESA 陽性および陰性の DG のどちらに局在するかを検討した。

CRISPR/Cas9 システムによって EXP2 の C 末端に AGIA ペプチドタグを導入した。EXP2-AGIA の局在を抗 AGIA モノクローナル抗体を用いた免疫電子顕微鏡法で観察し、RESA との共局在解析を実施した。その結果、EXP2 は RESA 陰性の DG に局在することが分かった。

マラリア原虫が赤血球へ侵入した後、RESA は感染赤血球膜の修飾に関わるが、EXP2 は感染赤血球内でタンパク質の輸送に関わり、機能的に互いに独立している。このことから、RESA 陽性 DG と EXP2 陽性 DG を個別に解析することで、各機能に特化した赤血球寄生メカニズムの理解を大きく進めることが可能となる。

課題番号：R06 基-082

研究課題：せん妄と抗老化蛋白 (Klotho 【 α -Klotho】) の関連解析

研究代表者名 (所属)：岡脇 誠 (先端腫瘍医学)

共同研究者名：永坂 岳司、西江 宏行

本研究は、せん妄の発症前段階における診断・予測を可能とする分子生物学的機構の解明を目的とする。せん妄は、老化や炎症との関連が示唆されており、近年では DNA メチル化を含むエピゲノム異常が老化の一因として注目されている。なかでも抗老化因子である Klotho (α -Klotho) は、炎症抑制、腫瘍抑制、認知機能の改善に関与し、その発現はプロモーター領域のメチル化状態によって制御されることが知られている。

本研究では、老化・炎症・腫瘍と密接に関わる Klotho に着目し、せん妄の発症予測に有用な血中バイオマーカーの同定を目指す。「せん妄発症高リスク群予測モデルの構築 (UMIN000038938)」(川崎医科大学倫理委員会承認番号：6279-00) に基づき収集した 42 例の血液検体を用いて、Circulating cell-free DNA および白血球分画由来 DNA の Bisulfite 処理を行った。

Klotho の発現に関与するとされる重要領域 (-450~-331) における CpG サイトのメチル化状態を、蛍光 Hi-SA 法 (Yasui K, Nagasaka T, et al.; Mol Cancer, 2024) により検出可能とする系の構築を行った。現在、収集した 42 例について、Circulating cell-free DNA および白血球分画 DNA における Klotho メチル化解析を進行中である。

課題番号：R06 基-083

研究課題：成人自己炎症性疾患「VEXAS 症候群」モデル細胞・モデル動物作製と、その病態解析

研究代表者名 (所属)：坂本 祐真 (免疫学)

共同研究者名：向井 知之、井関 将典、伊藤 達男、清水 由梨香、近藤 英生

VEXAS (Vacuoles, E1 enzyme, X-linked, Autoinflammatory, Somatic) 症候群は、成人後期に発症する、多彩な全身性炎症症状を特徴とする治療抵抗性の自己炎症性疾患である。本疾患は、ユビキチン活性化酵素 E1 をコードする *UBAI* 遺伝子に体細胞変異が生じることで、骨髓球系細胞の異常クローンが炎症を誘発すると考えられているが、分子機序は解明されていない。この問題に取り組むため、本研究では、ヒト単球性細胞株を対象として、CRISPR/ Cas9 システムを用いたゲノム編集により *UBAI* 変異を導入し、本疾患モデル細胞を作製した。その結果、*UBAI* 変異細胞では、*UBAI-WT* 細胞と比較して、「細胞死が増加」、「HMGB-1 および ATP 放出が亢進」、「TNF α や IL-1 β 等の炎症性サイトカイン産生が増強」していた。これらの知見を総合し、本疾患では細胞死が亢進し、その際、大量に放出される DAMPs

(Damage-Associated Molecular Patterns) を介して炎症が惹起されるという病態機序が考えられた。現在、本疾患モデル動物作製に取り組んでおり、細胞モデルの解析と統合し、多層的アプローチから本疾患の分子病態解明と適切な治療戦略構築のための基盤データ取得を目指す。

課題番号：R06 基-098

研究課題：ヒト白血球細胞株 THP-1 の M1/M2 マクロファージへの分化と細胞動態解析

研究代表者名 (所属)：山内 明 (生化学)

マクロファージは微生物や異物の排除に関わるほか、腫瘍組織へ浸潤して免疫を制御する機能が知られている。本研究では、マクロファージの動態制御を基にしたスクリーニング系の構築のために、細胞株からのマクロファージ様細胞分化への方法の確立を試みた。

ヒト急性単球性白血病細胞株 THP-1 を用いてケモカイン MIP-1 α への細胞遊走を細胞動態解析装置 TAXIScan で計測したところ、未分化では走化性はほとんど見られず、PMA(ホルボールエステル)、ATRA(all-trans レチノイン酸)、活性化 Vitamin D の添加では遊走は不十分であった。さらに検討を重ね、Vitamin D、HDAC インヒビター、GM-CSF、Interferon γ を組み合わせることで、MIP-1 α に対する明らかな遊走を示す細胞を誘導することができた。また分化誘導後の表面抗原解析では、CD14、CD80 が陽性、CD163 は陰性であり、生体防御機能の一つである活性酸素の産生が検出された。これらより、Vitamin D、HDAC インヒビター、GM-CSF にて分化誘導した細胞株は M1 マクロファージ様細胞であると考えられる。現在、分化後のマクロファージ系細胞を使用して走化性を制御する因子の探索を行っている。

課題番号：R06 基-101

研究課題：金属・天然由来バイオマテリアル複合体の毒性に基づく抗腫瘍・免疫賦活剤の開発

研究代表者名（所属）：西村 泰光（衛生学）

共同研究者名：山内 明

九州大学拠点の AMED 橋渡し研究プロジェクト シーズ H の開拓課題として採択されており、特許出願を予定するため、抄録本文は掲載不可とする。

— 新分子・新技術 —

課題番号：R06 基-028

研究課題：神経形成作用を持つ機能性脂質シナプタミドの細胞内における分解機構の解明

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

シナプタミドは多価不飽和脂肪酸であるドコサヘキサエン酸とエタノールアミンがアミド結合を介して縮合した構造を有し、N-アシルエタノールアミン(NAE)類に分類される。シナプタミドは神経形成作用を示すことから発生過程や神経機能維持に重要な役割を持つと考えられているが、その細胞内分解機構はほとんど不明である。そこで本研究では NAE の加水分解に関わるリソソーム酵素である酸性セラミダーゼ(AC)に着目した。我々はこれまでに蛍光基質 LAMCA を独自に開発し、無細胞反応系における AC 活性の簡便な測定に有用であることを明らかにしてきた。今回、AC 活性の細胞内イメージングを目指して、生細胞に細胞外から LAMCA を加えて AC 活性の検出を試みた。まず、AC を過剰発現するヒト胎児腎臓 HEK293T 細胞で検討したところ、コントロール細胞と比較して 2.8 倍高速に LAMCA を加水分解したことから、細胞レベルで LAMCA が AC 活性を検出出来る可能性が考えられた。一方、AC を内在性に高発現するヒト前立腺がん LNCaP 細胞でも LAMCA の加水分解が観察されたが、AC の siRNA 処理でも加水分解速度は減少せず、本実験系では他の酵素による加水分解の寄与が大きいと考えられた。LAMCA の AC に対する特異性を担保するには、阻害薬の併用など、実験系のさらなる改善が必要である。今後は、シナプタミドが AC による LAMCA 加水分解を競合的に阻害するかどうかを検討し、シナプタミドの代謝機構の解明をさらに進めていきたい。

課題番号：R06 基-042

研究課題：オーファン G タンパク質共役型受容体 GPR176 による筋線維芽細胞への分化の分子メカニズム解明

研究代表者名（所属）：岡本 安雄（薬理学）

共同研究者名：坪井 一人、竹之内 康広、北風 圭介、石丸 浩靖

背景・目的：GPR176 はリガンド非依存的に cAMP 産生を抑制する G タンパク質 Gz 共役型受容体であり、我々はこれまでに、GPR176 が線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化を促進することを明らかにした。本

研究では、GPR176 の過剰発現 (OE) およびノックダウン (KD) を用い、その分子メカニズムを解析した。
方法：ラット線維芽細胞株 NRK-49F において、siRNA により Gpr176 を KD し、OE と比較した。ストレス応答は WST-8 アッセイ、代謝関連遺伝子の発現は qPCR で評価した。さらに、GPR176 過剰発現 HEK293 細胞を用い、cAMP-Glo アッセイおよび Gq/z キメラを用いた TGF α 切断アッセイで GPR176 活性を測定した。
結果・考察：KD では erastin 感受性が上昇し、OE では低下した。また KD により PGC-1 α 、HK2、LDHA、ATP5B、NDUFB8 の発現が上昇し、OE では抑制された。GPR176 は代謝を抑制し、フェロトーシス感受性を下げることで線維化を促進する可能性が示唆された。リガンド非依存的 GPR176 活性の検出は困難であり、cAMP-Glo アッセイでは cAMP 低下がみられたが、TGF α 切断アッセイでは一貫性がなかった。GPR176 が Gz と強く結合し、Gq/z キメラとの共役が阻害されている可能性がある。今後、Gz のノックアウトにより活性解析を進める予定である。

課題番号：R06 基-061

研究課題：分子動態シミュレーションと実験による HTLV-1 病原性タンパク質 Tax の溶液中における分子構造解析

研究代表者名 (所属)：三浦 未知 (微生物学)

ヒト T 細胞白血病ウイルス HTLV-1 のタンパク質 Tax は感染細胞の腫瘍化や炎症性疾患を引き起こす。Tax は多様な宿主因子と結合するが分子的な動作原理は不明である。タンパク質の立体構造を予測する AI プログラム AlphaFold によると、Tax の構造はほぼランダムコイルで予測の Confidence score も低いことから、おそらく Tax は天然変性タンパク質であると想定した。

本研究では、Tax と宿主因子の相互作用解析を in silico で試みた。AlphaFold3 により Tax と IKK γ (Tax と相互作用する NF κ B 経路の分子) の複合体構造を予測した。そして予測された複合体の熱揺動をシミュレーションし、近接した距離を保ち続ける複数のアミノ酸のペアを見出した。これらは Tax と IKK γ の分子間結合に重要なアミノ酸と考えられる。

またクライオ電顕による構造解析を目指して組換え Tax の調製を試みた。His タグ付き Tax は可溶化せず、後のリフォールディングを期待して 8M 尿素で可溶化し精製した。Ni カラム上でのリフォールディングのため溶出時に尿素を除くと目的タンパク質が Ni カラムから遊離してこなかった。カラム上で凝集を起こすものと考えられる。MBP または GST 融合 Tax は良く可溶化し精製できた。しかし MBP と Tax の間にあるプロテアーゼ認識部位を切断できなかった。Tax が認識部位をマスクしているか、何らかの機序でプロテアーゼを阻害しているのかもしれない。これら Tax の特異な性質を逆に利用して Tax のシャペロンの分子を見つけ、Tax と共にクライオ電顕解析を行う新たな研究の方向性も見出された。

課題番号：R06 基-100

研究課題：有口赤血球症を伴う溶血性貧血の網羅的病態解析と診断アルゴリズムの確立

研究代表者名 (所属)：末盛 晋一郎 (検査診断学 (病態解析))

共同研究者名：北中 明

有口赤血球症を伴い溶血性貧血を呈する原因疾患には、種々の疾患がある。診療の現場では有口赤血球症を伴い溶血性貧血を呈する疾患の認知度が低いため、適切な解析が実施されず原因疾患の確定診断に至らない症例が存在する。これまでに「有口赤血球症を伴い溶血性貧血を呈する疾患」を対象として網羅的に解析した報告は乏しいことから、「有口赤血球症を伴い溶血性貧血を呈する症例」に対して詳細な解析を集約的に行い、新規知見に基づいた診断アルゴリズムを確立し診療の現場に提供することを目的として本研究を行った。

一般診療の場で確定診断に有用な所見の一つに有口赤血球の存在の確認がある。一般的に臨床の現場での有口赤血球の確認は塗抹標本鏡検で行われているが、塗抹標本鏡検では有口赤血球の確定が困難なことが少なくない。一方で走査電顕では有口赤血球を的確に同定可能なうえ詳細な形態の相違も観察でき、有口赤血球の細分類がなされている。

しかし走査電顕像と塗抹標本像との比較観察がなされていないため、塗抹標本像での有口赤血球の細分類はなされておらず、診療現場では有口赤血球の診断が十分に行えていない。

R6 年度中になし得たのは走査電顕像と塗抹標本像との比較観察、血液検査結果との関連の評価であり、その結果を報告する。

課題番号：R06 基-102

研究課題：RNA ウイルスゲノムが宿主細胞内で形成する凝集体の機能の解明

研究代表者名（所属）：清水 由梨香（衛生学）

共同研究者名：伊藤 達男

新型コロナウイルス SARS-CoV-2 は RNA ウイルスの一種であり、感染時に自身の RNA を宿主細胞へ導入し、細胞内の翻訳装置を乗っ取ってウイルスタンパク質を合成する。その際、ウイルス RNA は宿主由来の因子と相互作用し、凝集体を形成するとされる。特にゲノムの 5' 非翻訳領域 (5' UTR) は、タンパク質をコードする領域と比較して変異の頻度が著しく低く、ウイルス増殖において重要な役割を担っていると考えられている。本研究では、この 5' UTR がヒト細胞内でどのような因子と相互作用しているのかに着目し、免疫沈降法およびトランスクリプトーム解析を用いて相互作用因子の同定を行った。その結果、脂質代謝に関与する複数の RNA 因子が優位に抽出され、ウイルスが宿主の脂質代謝経路を利用して増殖している可能性が示唆された。そこで、既存の脂質代謝阻害薬であるスタチン 3 種を用い、5' UTR に制御される翻訳効率への影響を解析したところ、いずれも濃度依存的に翻訳効率が低下することが確認された。以上の結果から、ウイルス RNA と宿主因子の相互作用を標的とした介入が治療法として有望であり、スタチンがその候補となり得ることが明らかとなった。

— 大学院研究 —

課題番号：R06 大-002

研究課題：糖尿病関連腎臓病における上皮細胞 sGC 活性化による糸球体濾過量制御機構の解明

研究代表者名（所属）：梶本 恵莉子（組織培養・免疫系分野 分子血管・血圧制御学）

指導教授名：佐々木 環

共同研究者名：長洲 一、和田 将史

研究背景：糖尿病性腎臓病(Diabetic Kidney Disease: DKD)が透析導入の重要な疾患である。私共はこれまで DKD の発症及び進展に内皮機能障害が重要な役割を担うことを報告してきた。特に糖尿病関連腎臓病の初期には糸球体の代償性肥大が起こる。一方で内皮機能障害(eNOS 経路の破綻)があると阻害されることがわかっている。一方で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の形成に重要であることが判明している。この代償起点の破綻と細胞病態連関において、可溶性グアニル酸シクラーゼ(soluble Guanylate Cyclase:sGC)活性化に着目した。sGC は eNOS-NO 経路の下流に存在する α 鎖と β 鎖で構成されるヘテロ 2 量体のタンパク質複合体である。sGC β 鎖の H-NOX domain のヘム鉄に NO が結合すると活性化し GTP から cGMP を産生する。本研究では、「内皮機能障害による糸球体上皮細胞の sGC 活性化不全が糸球体硬化病変形成に重要な役割を担う」との仮説を証明するべく検討を行う。本研究では「**高血糖下において糸球体内皮細胞由来の NO は糸球体上皮細胞内 sGC 活性化を介して糸球体保護的に働く**」との仮説を立て研究を行った。

方法・結果 1)糸球体病変の評価を PAS 染色で行ったところ、podocin-sGC β /fl-STZ では軽度のメサンギウム基質の増加を認めた。糸球体上皮細胞の sGC タンパク発現を免疫染色で検討したところ糖尿病発症により有意に発現が上昇した。一方で podocin-sGC β /fl-STZ では sGC タンパク発現消失を確認した。また podocin-sGC β /fl-STZ では糖尿病を発症するとアルブミン尿が増加傾向であった。さらに podocin-sGC β /fl-STZ では糖尿病発症後における GFR 増加、糸球体サイズの増大が抑制されていた。2)eNOS-KO マウスでは糖尿病発症により WT と比較しアルブミン尿が有意に増加した。eNOS-KO/STZ に対し sGC 活性化薬の投与でアルブミン尿および糸球体病変の改善が見られた。以上より、内皮機能障害の存在下でも sGC 活性化薬の投与により DKD の進行を抑制する可能性があることが示唆された。

結語：本研究より糸球体内皮由来の NO は糸球体上皮細胞における sGC 活性化に寄与する可能性が示唆された。これは糖尿病・高血糖下における糸球体の代償性肥大に重要な役割を担っていることが示された。

課題番号：R06 大-003

研究課題：非ステロイド性ミネラルコルチコイド受容体 (MR) 拮抗薬 Finerenone によるアルブミン尿改善作用の分子メカニズムの解明

研究代表者名 (所属)：岩倉 主 (分子血管・免疫制御学)

指導教授名：佐々木 環

背景・目的:2型糖尿病を有する CKD 患者における非ステロイド系鉱質コルチコイド受容体拮抗薬(MRA)の腎保護効果が示された。糖尿病性腎臓病(DKD)では MR 活性化がポドサイト障害進展に関与する。ポドサイトの Ca^{2+} 流入経路である TRPC チャンネルは、その発現・活性の亢進が腎疾患の糸球体障害進展と関連しており、また MR 活性が TRPC 発現を制御していることが報告されている。「ポドサイトにおける MR-TRPC 経路が DKD の糸球体障害進展に関与する」と仮説を立て検証した。

方法:6週齢の C57BL/6 マウス (Control) と糖尿病モデル Akita マウス (Akita) を使用した。片腎摘出術後、高食塩食および finerenone 投薬開始し 8 週後に屠殺した。尿中アルブミン排泄量、腎糸球体組織障害の評価、培養ポドサイトの MR 活性化に伴う TRPC5 発現量、 Ca^{2+} 動態変化、細胞骨格変化、および finerenone による抑制効果を検証した。

結果: Akita 群ではポドサイト障害と有意なアルブミン尿増加を認めた。培養ポドサイトでは、アルドステロンにより TRPC5 蛋白発現増加、ROS 産生亢進、 Ca^{2+} 流入が惹起され、actin rearrangement が誘導された。Finerenone および TRPC5 阻害薬はこれらの変化を減弱させた。

結論: DKD における MR 阻害は、ポドサイトの TRPC5 発現・活性を減弱させ、 Ca^{2+} 流入抑制によりポドサイト障害を軽減する。

課題番号：R06 大-004

研究課題：マウス嗅球におけるヒスタミン作動性神経回路の解析

研究代表者名 (所属)：南 祐佳里 (形態系分野 統合形態学・神経科学・泌尿生殖発生学)

指導教授名：樋田 一徳

セロトニンなどのモノアミン系ニューロンは他の脳領域から嗅球に入力し、におい情報の処理に影響を与えることが知られている。しかし、同じく嗅球に存在するヒスタミンニューロンの役割は不明なままである。そこで本研究では視床下部から嗅球へのヒスタミンニューロンの投射経路やシナプス結合等の形態解析を行った。ヒスタミンの合成酵素である L-ヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) に対する抗体を使用し、光学顕微鏡、共焦点レーザー走査顕微鏡、超高電圧電子顕微鏡、および電子顕微鏡を用いて、嗅球におけるヒスタミン作動性神経線維の局在、他の神経細胞との関係、およびシナプス構造を観察した。次に、起始核を特定するため、嗅球の顆粒細胞層に逆行性トレーサーの FluoroGold を注入した。また、HDC-Cre マウスにアデノ随伴ウイルスベクターを注入し、起始核から嗅球への順行性投射を解析した。その結果、HDC 陽性線維が嗅球の嗅神経層に多く存在することが明らかになり、嗅神経から非対称性シナプスを受け、非嗅神経細胞と連続シナプスを形成するのを確認した。また、嗅球に投射するヒスタミン神経が視床下部の腹側結節乳頭核に起始することを確認し、視床下部から嗅球までの軸索の経路を初めて 3 次元的可視化した。以上の結果から、ヒスタミンニューロンが匂い情報処理の調節に重要な役割を果たしており、これらが視床下部から調整を受けている可能性が示唆された。

IV. 令和6年度 医学研究への扉 優秀賞 抄録

演題名：UBA1 p.M41V 変異は細胞死を誘導することで炎症反応を惹起する

学生氏名：臼井 海貴

指導教員名：坂本 祐真、向井 知之

【背景】 VEXAS 症候群 (Vacuoles, E1 enzyme, X-linked, Autoinflammatory, Somatic syndrome) は、発熱や全身の炎症を特徴とする自己炎症性疾患で、UBA1 遺伝子の体細胞変異が原因となる。本変異を有する骨髄球系細胞が炎症を惹起すると推測されるが、その機序は解明されていない。

【方法】 CRISPR/Cas9 ゲノム編集を用いて、ホモ接合性の UBA1 p.M41V 変異をヒト単球性白血病細胞株 U937 に導入した (変異株)。無刺激または TNF 刺激下で 24 時間培養し、細胞死の程度を Annexin V-PI 二重染色および細胞外 LDH 濃度により解析した。上清中の HMGB-1 および IL-8 濃度を ELISA 法により測定した。

【結果】 無刺激下において、変異株では、野生株と比較して Annexin V および PI 陽性細胞割合の増加、細胞外 LDH 濃度が上昇し、また上清中の HMGB-1 および IL-8 濃度が上昇していた。TNF 刺激下においては、変異株、野生株ともに細胞死の亢進が見られるが、変異株では低濃度の TNF に対する反応性が亢進していた。

【考察】 変異株では細胞死の亢進、上清 HMGB-1 および IL-8 濃度の上昇を認めた。これらの結果から、VEXAS 症候群では、UBA1 変異が細胞死を誘導し、それに伴って放出された HMGB-1 が炎症を惹起する機序が考えられた。

【結語】 本研究は、VEXAS 症候群の病態解明と治療法開発への手がかりを提供するものである。

演題名：内包出血モデルラットにおける出血の大小と運動機能障害の関係はあるのか？

学生氏名：野々村 萌

指導教員名：飛田 秀樹、田尻 直輝、上野 新也

脳内出血は内包近傍 (大脳基底核や視床) に多く見られる。内包出血モデル動物は小出血でも大きな運動障害を示し、コラゲナーゼ溶液を脳内へ微小注入することにより作製できる。今回の実験では、様々な濃度注入と脳内出血による運動障害の程度の経時変化と組織変化を調べることを目的とした。

実験方法 コラゲナーゼ type IV 溶液 (15U/mL, 30U/mL, 100U/mL) を用意し、内包近傍部に 1.4 μ L 投与し、術後、1 日、3 日、1 週、2 週、3 週に運動機能を Motor Deficit Score (棒上歩行、前肢把握、後肢引き戻し、回転を各 5 点) により実施した。また、7 日後に灌流固定し、脳組織を HE 染色、Iba-1 染色 (ミクログリアマーカー)、GFAP 染色 (アストロサイトマーカー) を行った。

結果 MDS では、各濃度の違いによる大きな差はみられなかった。また自発回転運動は速やかに改善したが、前肢把握と後肢引き戻しでは緩やかな改善が見られた。意外にも高濃度注入群では回転障害は軽度であった。HE 染色により出血部が 15U/mL 投与群では目的部の下部、100U/mL では上部に確認された。Iba-1 染色および GFAP 染色では出血部近傍で強い免疫染色性を確認できた。

考察 投与濃度と運動障害の程度には関係がないと考えられる。しかし、HE 染色による投与部位の確認実験からすべての個体に於いて投与部位を確認する必要性が生じた。最終的な結論に至るにはいくつかの課題があることが明らかになった。

演題名： オシメルチニブ耐性 EGFR 遺伝子変異陽性肺癌に対する ROR1 阻害薬の有効性に関する基礎的検討

学生氏名：満岡 弘大

指導教員名：河原 辰由樹、越智 宣昭、瀧川 奈義夫

【背景・目的】 上皮成長因子受容体 (EGFR) 遺伝子変異を有する肺癌に対して EGFR チロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) は有効であるが、多くは 1~2 年で効果が乏しくなり耐性となっている。最も使用頻度の

高いTKIであるオシメルチニブの耐性機序は不明の点が多い。受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1 (ROR1) は多くの肺癌組織で発現が認められ、今回はROR1阻害薬のin vitroでの有効性を明らかにする。

【方法】EGFR変異陽性肺癌細胞株(PC-9)へオシメルチニブを持続曝露し、耐性株(PC-9/OsmR2)を樹立した。PC-9とPC-9/OsmR2を用いて、オシメルチニブとROR1阻害薬(X)への感受性を、MTT assayにより50%増殖抑制濃度(IC50)を求め比較した。薬剤の併用効果に関してはCombination indexを用いて検討した。

【結果】オシメルチニブのIC50(平均値±標準偏差)は、PC-9で $0.04979 \pm 0.016913 \mu\text{M}$ 、PC-9/OsmR2で $1.93 \pm 0.7293 \mu\text{M}$ と高度の耐性を獲得していた。XのIC50は、PC-9で $0.16621 \pm 0.014865 \mu\text{M}$ 、PC-9/OsmR2で $0.146 \pm 0.227 \mu\text{M}$ であり、耐性株でより有効であった。併用効果に関してはfraction affected 0.5でのCombination index値0.4と相乗効果が示された。

【結論】オシメルチニブ耐性肺癌に対してXと併用することで、耐性克服の可能性が示唆された。

演題名：吊り上げ法の矯正効果に関する長期的結果の検討

学生氏名：高橋 悠

指導教員名：曹 英樹、吉田 篤史、久山 寿子

【目的】漏斗胸は前胸部を圧迫し運動能力低下、胸痛、自己イメージ低下を伴う胸郭の発達異常である。手術は従来思春期にNuss法が行われている。漏斗胸のHigh volume centerである当院小児外科では、学童に対して2017年に吊り上げ法(以下本法)を新開発した。本法の胸郭矯正効果について評価検討した。

【対象と方法】2017年7月1日より2024年8月31日に当院で本法を行った全症例数は47例であった。すでにバーを抜去した症例のうち合併症、既往歴があるものなどを除いた当院外来フォロー中の23例を検討した。評価はCTおよび正面・側面レントゲン画像を用いて、前胸部陥凹の指標であるHaller Index(HI)とRadiographic Haller Index(RHI)を算出した。

【結果】全症例のHI平均値は術前 4.7 ± 1.5 が抜去後 2.9 ± 0.57 に有意に改善した。RHIは術前 4.2 ± 1.8 術直後 2.9 ± 0.39 抜去直前 2.5 ± 0.50 抜去1年 2.8 ± 0.64 で術後の矯正効果は良好で、抜去後1年でもHI、RHIの再発なく維持できている。男女別では術前のRHIはそれぞれ 4.3 ± 2.1 、 4.2 ± 1.3 が抜去後 2.6 ± 0.51 、 3.5 ± 0.62 と男児での矯正効果は良好である女兒は矯正効果不良であった。年齢別では8歳未満群と8歳以上群に分けると術前のRHIがそれぞれ 3.7 ± 0.64 、 4.9 ± 2.6 であったのが抜去後に 2.5 ± 0.51 、 3.0 ± 0.71 となった。バー留置期間を4年未満群と4年以上群に分けると術前RHIは 3.9 ± 1.1 、 4.6 ± 2.4 が抜去後は 2.5 ± 0.71 、 2.9 ± 0.56 となり手術時期、留置期間による有意差は認めなかった。

【結語】吊り上げ法は学童男児の漏斗胸に対して有効的な治療法である。

演題名：インフルエンザウイルスの感染行動の解析 ～鳥インフルエンザウイルスの解析～

学生氏名：今中 真彩

指導教員名：堺 立也

インフルエンザウイルスはヘマグルチニンとノイラミニダーゼを協調して働かせることで細胞表面を運動することができる。またこの運動は細胞への感染に重要である。鳥インフルエンザウイルスの中にはヒトインフルエンザウイルスに似た運動を行うものがある。本実験ではそれらのウイルスとヒトインフルエンザウイルスとの運動の類似点・相違点を定量的に明らかにすることで、ヒトへの感染リスクを評価することを試みた。実験に用いたウイルスは鳥インフルエンザウイルスA型(H3N9亜型)、ウイルスレセプターは $\alpha 2, 3$ シアロ糖鎖結合アルブミンと $\alpha 2, 6$ シアロ糖鎖結合アルブミンを用いた。ウイルス運動は、反射干渉顕微鏡を用いて可視化し、画像解析ソフトウェアFijiで解析した。その結果、鳥ウイルスA型(H3N9亜型)は、運動の速さとレセプター依存性はヒトウイルスと同等であった。一方、運動の様式は、ヒトウイルスがランダム運動なのに対し、鳥ウイルスは直線性の高い運動であった。ヒトのインフルエンザウイルスは、もともと鳥ウイルスがヒトへの感染性を獲得したものであるが、運動様式がランダム運動へと変化するようヘマグルチニンやノイラミニダーゼが変異することでヒトへの感染性を高

めるのではないだろうか。

演題名 : Examining the dynamics of neuronal activity in the piriform cortex during social defeat stress by fiber photometry

学生氏名 : 柴崎 由佳

指導教員名 : 古屋敷 智之、篠原 亮太

Chronic stress induces neuronal dysfunctions and risks mental illnesses. Chronic social defeat stress (SDS), a widely used mouse model for studying the mechanisms of depression, induces behavioral changes such as social avoidance. Our previous study demonstrated that the activation of excitatory neurons in the piriform (olfactory) cortex during chronic SDS is crucial for the induction of social avoidance. However, the neuronal activity dynamics in the piriform cortex during the perception of chronic stress remains unclear.

In this study, we recorded neuronal activity of piriform excitatory neurons during SDS using fiber photometry. To monitor neuronal activity, we unilaterally infused an adeno-associated virus (AAV) encoding a genetically encoded calcium indicator (GCaMP) in a Cre recombinase-dependent manner alongside an AAV expressing Cre recombinase under the *Camk2 α* promoter into the anterior piriform cortex of C57BL/6N mice. This was followed by the implantation of an optical fiber. Two weeks post-surgery, the mice were subjected to SDS for 10 min. We observed that GCaMP activity in piriform excitatory neurons initially decreased after exposure to an aggressor ICR mouse but gradually returned to baseline levels with continued exposure. We plan to examine GCaMP activity during chronic SDS and subsequent behavioral testing to gain a deeper understanding of neuronal activity dynamics of piriform excitatory neurons during and after chronic stress.

演題名 : イカ類 (十腕形上目) 心臓の構造機能とバネ分子コネクチン解析による進化戦略の解明

学生氏名 : 網本 悠平

指導教員名 : 花島 章、毛利 聡、橋本 謙、木元 弥咲、大平 桃子

脊椎動物である両生類・爬虫類から哺乳類への進化において、心臓は心房退縮、冠循環発達、心室拡張性低下などにより高い血液ポンプ機能を獲得した。本研究では脊椎動物同様に心房-心室型心臓・閉鎖循環系を持つ軟体動物イカ類 (イカ、コウイカ) について心臓を含む循環システムや心室拡張性を規定する巨大なコネクチン分子を解析し、進化戦略の違いを検討した。

体心臓1つ 鰓心臓2つの形態は共通し、イカはコウイカと比較して明瞭な冠血管、縮小した鰓心房を有していた。造影CTでは閉鎖循環系を確認、心エコー検査では心臓拍動・大動脈の蠕動が観察された。染色組織観察では鰓心臓の心筋細胞は疎で、体心臓ではイカはコウイカより密であった。定量PCRとSDS-PAGE、WBでは、コネクチンは体心臓や大動脈に多く存在し、イカはコウイカより短いコネクチンを有していた。免疫蛍光顕微鏡観察においてコネクチンの筋節への局在を確認した。またイカの体心室のコネクチン一次構造をPCRで決定した結果、コウイカと比較して弾性領域が短いことが明らかになった。分子系統解析では、コウイカのコネクチンは他のイカより進化速度が遅いことが分かった。

以上より軟体動物であるイカ類は進化の過程で3つの心臓を用いて鰓循環と体循環を分離し、イカとコウイカに分岐後にイカは冠血管発達、鰓心房退縮、コネクチン短縮による体心室の拡張性低下という哺乳類と類似した収斂進化を遂げていることが示唆された。これにより海中での高い遊泳能力・活動性を実現させたと考えられる。

演題名・抄録内容 : 特許関連のため掲載なし

学生氏名 : 磯部 莉央

演題名：ケモブレインモデルマウスの海馬におけるミクログリアの増加と神経新生の減少

学生氏名：馬庭 湧人

指導教員名：神野 尚三、山田 純

近年、がんおよび抗がん剤治療によって認知機能が障害されることに注目が集まり、がん関連認知機能障害（CRCI）と呼ばれている。化学療法中の患者に起こる認知機能障害「ケモブレイン」は、患者のQOLを著しく下げ、がん治療の障害の一つとなるが、その機序は解明されておらず、有効な対処法は確立されていない。本研究では、神経炎症への関与が示唆されているグリア細胞の一種であるミクログリアに着目し、ケモブレインモデルマウスの行動学的変化との関連を解析した。ケモブレインモデルは、代表的な化学療法剤であるメトトレキサート（MTX）の投与によって作出した。また、認知機能を改善する作用が近年報告されている糖尿病治療薬であるメトホルミン（MTF）をMTXと同時に投与し、ケモブレイン治療モデルマウスとした。うつ様症状の指標である強制水泳試験における無動時間は、MTX投与マウスで延長し、MTX/MTF投与マウスで短縮していた。免疫組織化学的解析では、MTX投与マウスの海馬における新生ニューロンの空間分布密度に減少が認められたのに対して、MTX/MTF投与したマウスでは新生ニューロンの密度が増加していた。また、MTX投与マウスの海馬におけるミクログリアの密度に増加傾向が認められたのに対して、MTX/MTF投与マウスでは、ミクログリアの密度に変化は認められなかった。本研究の結果は、MTXによる海馬のミクログリアの活性化と神経新生の減少がCRCIに関わっていること、また糖尿病治療薬であるMTFがこれらを改善する可能性があることを示唆するものである。

演題名：Nox2の120番目のロイシンのミスセンス変異はNox2とp22との結合能を喪失させ慢性肉芽腫症を引き起こす

学生氏名：遠藤 あゆ

指導教員名：宮野 佳

Nox2は小胞体でhigh mannose型糖鎖が付加され、続いてゴルジ体でcomplex型へと変換され、細胞膜へと到達し、細胞外へ殺菌に重要な活性酸素を生成する。Nox2が小胞体から出るためには、Noxのパートナー分子p22との結合が必須である。私は、Nox2（L102P）ミスセンス変異が慢性肉芽腫症を引き起こすのはp22との結合能を失ったことに起因するのではないかと考えた。実際に、p22との共発現で野生型Nox2はcomplex型糖鎖を示したが、Nox2（L120P）はhigh mannose型糖鎖のみであった。また、このLeuをArgに置換したNox2もhigh mannose型糖鎖のみを有していた。一方、ThrやAlaに置換した場合、野生型と同等にcomplex型糖鎖を示した。この結果は、L120PとL120Rが活性酸素生成活性を示さないこと、一方でL120TやL120Aが酵素活性を有していることと一致する。さらに、Nox2を免疫沈降したところ、L120PとL120Rではp22が共沈降しなかった。これはL120PとL120Rでcomplex型糖鎖が見られなかったことと一致する。以上の結果から、120番目のLeuはp22との結合に関わっていること、またそのアミノ酸のミスセンス変異がp22との結合能を喪失させ、Nox2が細胞膜に移行できず、細胞外に活性酸素を生成できないことから慢性肉芽腫症を引き起こしていることが分かった。

演題名：インフリキシマブ投与中の潰瘍性大腸炎におけるトラフ濃度の測定は有用か

学生氏名：木本 幸成

指導教員名：塩谷 昭子、半田 修

【目的】インフリキシマブ（IFX）投与中の潰瘍性大腸炎（UC）患者で、血中IFXトラフ濃度測定が再燃予測に有用かを後ろ向きに検討する。

【対象・方法】2020年7月から2023年6月までに川崎医科大学附属病院を受診し、血中IFXトラフ濃度を測定したUC患者（17症例）について、低トラフ症例と高トラフ症例を比較し、血液検査結果や内服に違いがあるかについて検討した。

【結果】低トラフ症例はLRGが高く、男性が多く、免疫調整薬の併用が少なかった。

【考察】血中IFXトラフ濃度の低下は炎症マーカーの悪化をひき起こし、最終的に臨床症状の悪化につながると考えられた。経時的に血中IFXトラフ濃度を測ることで、症状だけでなく炎症マーカーの悪化

よりも早期に再燃が予測できる可能性がある。それにより IFX の増量や、治療変更といった治療の最適化が行える。

【結語】 IFX 投与中の潰瘍性大腸炎症例における血中 IFX トラフ濃度の測定は有用である。

演題名：腹腔鏡下子宮全摘術(TLH)に対する ALLY ポジショニングシステム(ALLY)の有用性についての検討

学生氏名：高橋 ももこ

指導教員名：太田 啓明、下屋 浩一郎

【緒言】 TLH では子宮マニピレーターを使用するが、第二助手が保持することが多く、第二助手への負担が指摘されてきた。本研究ではテーブルマウント型子宮マニピレーター保持器“ALLY”を使用し、その有用性を検討した。

【方法】 2023 年 2 月から 2024 年 11 月までに当院で施行した 49 症例の TLH を対象とし、第二助手が子宮マニピレーターを保持する対照群（23 例）と、ALLY が子宮マニピレーターを保持する ALLY 使用群（26 例）の 2 群に分け後方視的に検討した。年齢、BMI に有意差がない 2 群間で手術時間、出血量、摘出子宮重量、第二助手の作業時間、術者別執刀時間を比較した。

【結果】 手術時間は対照群 140 分、使用群 158 分で ALLY 使用により有意に延長した ($P < 0.05$)。指導医の執刀時間は対照群 125 分に対し、使用群で 99 分に ALLY 使用により短縮した ($P = 0.005$)。一方、研修医の執刀時間は対照群 50.7 分から使用群 78.3 分に延長した。第二助手のマニピレーター保持時間は対照群 104 分から使用群 3.4 分に有意に減少し、カメラ保持時間は 19.1 分から 49.2 分に延長したが有意差はなかった。

【考察】 ALLY の導入により指導医の執刀時間が短縮され、研修医に執刀の機会を提供できた。また、指導医が手術進行中に画面を指しながら研修医に指導を行うことが可能となり効率的な指導が可能であった。第二助手の負担軽減も確認されたが、カメラ保持時間は増加傾向にとどまるのみであった。

【結語】 TLH における ALLY の使用は研修医の効率的な手術教育に寄与し、第二助手の負担軽減にも有用であると考えられる。

演題名：HER2 陽性乳がん細胞株(KPL-4)に対する Equol の影響

学生氏名：若林 俊太郎

指導教員名：平 成人、岩本 高行

【研究の背景】 エクオール (Equol) は、大豆イソフラボンが腸内細菌によって活性化されて体内に取り込まれる成分である。エストロゲン受容体に結合し、更年期症状の軽減や骨密度の上昇、皮膚老化の予防といったエストロゲン様作用を示す。エストロゲン受容体陽性乳がん患者が、内分泌療法薬によって引き起こされる有害事象を緩和させるため、Equol を服用した場合にがん細胞が増殖しないかという懸念がある。これまで、Equol は濃度依存性にエストロゲン受容体陽性乳癌株、さらにエストロゲン受容体陰性乳癌株に対し、濃度依存性に増殖抑制作用を示すことが明らかした。今回、Equol が HER2 陽性乳がん細胞株にどのような影響を及ぼすのかを検討した。

【材料と方法】 HER2 陽性乳がん細胞株(KPL-4)を用いた。Equol が細胞増殖に及ぼす影響について、WST1 を用いて測定した。細胞周期に及ぼす影響は PI 染色を行い FACS で解析した。ERβ の mRNA は Real time PCR を用いて解析した。ERβ、PTEN、P-PTEN のタンパク量はウエスタンブロットを用いて解析した。

【結果】 細胞増殖能は、Equol の濃度依存的に減少した。細胞周期の解析では subG1 期及び G1 期が増加し、S 期及び G2/M 期が減少していた。ERβ の mRNA は変化が見られなかった。ERβ、PTEN、P-PTEN のタンパク量は高濃度暴露時において増加した。

【考察】 Equol の HER2 陽性乳がん細胞株に及ぼす影響は濃度依存的に細胞増殖抑制し、G1-S チェックポイントで S 期移行阻害、また、アポトーシス誘導作用を示すことが明らかにされた。一方 PI3/AKT 経路に関連するタンパク質の増加がみられたことから、アポトーシスが誘導されたと考えられた。

演題名：全身性強皮症の皮膚硬化におけるエピジェネティクス異常誘導機構の解明

学生氏名：宮本 将馬

指導教員名：浅野 澄恵、丹野 美佐子、中野 和久

【背景】全身性強皮症 (SSc) は、患者の生活の質を著しく低下させる一方で、治療薬の有効性も極めて限定的である。寒冷刺激に伴うレイノー現象が SSc 発症に先んじることが多く、また、近年では、後天的遺伝子制御メカニズムであるエピゲノムの異常、特に DNA メチル化異常が SSc 発症、および、疾患の慢性化に寄与する可能性が注目されている。

【方法】本研究では、SSc の皮膚硬化過程において、寒冷刺激による表皮細胞の DNA メチル化の変化を明らかにするため、ヒト表皮角化細胞株 HaCaT を寒冷条件 (4°C, 1 分/5 分) に曝露させたのち、DNA メチル化に関与する TET1-3、DNMT1/3A/3B、表皮細胞分化マーカーの mRNA 発現をリアルタイム PCR で検討した。

【結果】37°C と寒冷曝露によって、TET および表皮細胞分化マーカー (KRT1、KRT5、KRT10、KRT14、LORICRIN、INVOLUCRIN) の発現に寒冷曝露時間に比例した発現低下は認められなかったが、DNMT1/3A/3B は、寒冷曝露時間に比例して発現が低下する傾向を認めた。

【考察】寒冷刺激は DNA メチル化酵素 DNMT の発現低下を介して、表皮細胞の DNA 低メチル化を誘導する可能性が示唆された。今後は DNA 低メチル化により発現調節されるターゲット遺伝子を検討していく。なお、寒冷条件により一時的に酵素活性が低下することも考慮し、実際に表皮細胞の DNA メチル化がどの程度変化するか DNA メチル化定量も検討していく。

演題名：ヒト大腸がん細胞株に対する抗がん剤暴露による変化の検討

学生氏名：森澤 蒼

指導教員名：上野 富雄、吉松 和彦

【目的】ヒト大腸癌細胞は長期間にわたり抗癌剤 (オキサリプラチン : OXA) に暴露されると耐性を持つ。OXA 耐性株と非耐性株を用いて、OXA に暴露されたヒト大腸癌細胞株 HCT116 の反応を解析する。

【方法】OXA を 0.1 μ M から 2 週間ごとに濃度を上げ最終的に 50 μ M の耐性株を作成した。非耐性株と耐性株を 0, 1, 10, 50, 100 μ M の OXA 濃度下でそれぞれ培養し、0, 3, 7 日目に細胞増殖能を測定した。また非耐性株に OXA 50 μ M を 1 週間暴露した株 (Exp 株) も作成した。非耐性株と耐性株、Exp 株の 3 種類の株を用いて β -actin、Vimentin、E-Cadherin、ATP7A、ATP7B、CD44、CD133 の発現確認を行った。

【結果】細胞増殖では、非耐性株で OXA 濃度が 10 μ M を超えると増殖能は有意に低下した。耐性株では、OXA 100 μ M 下の培養でも OXA 0 μ M 下と比べ 41% の減少にとどまった。ATP7A・ATP7B 発現は耐性株と Exp 株において減少、Vimentin 発現は Exp 株において有意に増加し、E-Cadherin 発現は低下した。CD44 発現は耐性株と Exp 株において減少、CD133 発現は耐性株と Exp 株において有意に減少した。

【考察】細胞増殖能測定により、耐性株には OXA への耐性があることを確認した。Vimentin が増加、E-Cadherin 発現は低下しており、OXA 暴露により上皮間葉移行 (EMT) がおきている可能性がある。ATP7A、ATP7B が減少傾向にあり、OXA の取り込みや排出との関係も推測される。しかし、耐性株と Exp 株の CD44 と CD133 の減少傾向から OXA の暴露による癌幹細胞化の可能性は少ないと考えた。今後、耐性化の機序に EMT と OXA の取り込みや排出との関係を明らかにする必要がある。

演題名：芍薬甘草湯は筋トレによる筋組成の変化やマイオカイン分泌能に影響を与えるか？

学生氏名：川村 駿翔

指導教員名：氷見 直之

筋力トレーニング (筋トレ) により損傷した筋は超回復により主に速筋で肥大することが知られている。また筋活動により、筋組織から様々な臓器に対し生理活性を誘発する因子群であるマイオカインが分泌される。一方、芍薬甘草湯 (SKT) はふくらはぎの痙攣などの抑制効果があることで知られている漢方薬である。しかし SKT が筋活動を抑制することで筋トレ効果やマイオカイン分泌能をも抑制する可能性が考えられるため、本研究では、これらの SKT の影響を確認することを目的とした。

方法として、健常ラットに 2 週間、経皮電気刺激による筋強縮または下肢筋への負荷が高い下り坂走行を行った後、腓腹筋とヒラメ筋を摘出および抽出し、MHC-1 (遅筋マーカー)、MHC-2 (速筋マーカー)、CD206 (M2 型マクロファージマーカー)、IGF-I および IL-6 (代表的なマイオカイン) の濃度を western blot または ELISA 法により測定した。結果として、腓腹筋、ヒラメ筋双方で、全ての測定項目において SKT による発現の差は見られなかった。また、CD206 はヒラメ筋にのみ発現が確認された。

これらの結果から、SKT の筋活動抑制効果は遅筋と速筋の組成、マイオカインの分泌能には影響しないと考えられる。また CD206 は筋の炎症を抑え組織修復を促す働きのある M2 型マクロファージのマーカーなので、ヒラメ筋ではより炎症が抑えられやすい特性があることが示唆された。今後は、炎症促進型である M1 マクロファージの定量による SKT の炎症抑制効果の解析および、n 数増加による MHC やマイオカイン類濃度のより精度の高い解析が望まれる。

演題名：うつ様モデルマウスに対する漢方薬の効果の比較

学生氏名：秋田 大輝

指導教員名：丸山 恵美

【目的】多くのストレスに晒されている昨今では全人口の約 3%から 5%が生涯うつ病にかかると言われており、その罹患率は近年増加傾向にある。しかし治療法が確立しておらず現行の治療薬では効果がみられない場合も少なくない。近年では新たな治療法として漢方薬が注目されているがその効果のエビデンスが少ない。今回の研究では、特に精神神経症状や不安症に効果があるとされている半夏厚朴湯、抑肝散、人参養榮湯について、うつ様モデルマウスを用いてその効果の違いの有無を検討した。

【方法・結果】C57BL/6J マウス(7 週齢♂)を 2 週間にわたり拘束水浸ストレス負荷を与えうつ様モデルマウスを作成した。モデルマウス作成 3 日前から作成後 2 週間の計 4 週間、蒸留水と 3 種類の漢方を自由摂取させ比較した。NSF (新奇環境摂食抑制試験)、FST (強制水泳試験)、LA (自発運動量)による行動試験において、全ての漢方摂取群において改善傾向が示されたが、半夏厚朴湯はより強い傾向が示された。また BrdU による海馬歯状回の神経新生の数を比較すると半夏厚朴湯と人参養榮湯摂取群において増加が見られた。これらの結果より半夏厚朴湯が最もうつ様症状の改善に効果が示された。

演題名：Bringing history to life using the collections of Sherrington and Le Gros Clark from Oxford

学生氏名：久高 唯莉

指導教員名：Zoltán Molnár、樋田 一徳、林 周一

For my topic, I focused on bringing history to life using the remarkable collections of Le Gros Clark from Oxford. I researched his life and work especially his Central Nervous System (CNS) box. This is a histological teaching slide collection of the nervous system and was used extensively for both teaching and research. He incorporated the findings of primatology and evolutionary biology into medical education and advocated an educational approach to understanding human body structure and function from an evolutionary perspective.

As part of our work, my team and I held weekly presentations where we carefully examined the specimens. We shared our ideas and thoughts, asked questions, and discussed any doubts. This teamwork made our learning experience richer and more engaging. The collection has 103 slides, and I chose a few interesting ones for my presentation. These slides have been scanned and are now available online. You can visit the website through the URL if you want to explore them. I hope you enjoy discovering the fascinating work of Le Gros Clark through this collection!
<https://learntech.medsci.ox.ac.uk/cslide/items/view/1009>