

共同研究

① 医学部

1. 真皮毛根症細胞の生物学的機能の解析方法についての検討
2. 糖尿病性腎症におけるメカノセンサーPiezo1, Piezo2 の役割の解明とそれに基づく新規治療法の確立
3. セプチンによるインスリン極性分泌制御機構とその破綻による糖尿病発症
4. 中枢神経系腫瘍分類の分子生物学的研究
5. 脳神経系におけるグリアサブタイプ機能の分子遺伝学的解析
6. 糖尿病合併症新規マーカーの探索
7. ヒト唾液由来エキソソームの機能解析に関する研究
8. ヒト脊髄内の代替神経システムを強化する新しい運動機能回復戦略
9. 大脳皮質視覚野に可塑性を促す新しい視覚機能回復法
10. 百日咳菌 BipA のバイオフィーム形成における機能の解析
11. 包括的腸管細菌叢解析に基づく 5-アミノサリチル酸の抗炎症作用機序の解明
12. 胆管プラスチックステントのドレナージ効率の検証と新形状の模索
13. 卵巣癌診断のための新たなコンビネーションアッセイの確立
14. 原発性上皮性卵巣癌における DNA ミスマッチ修復異常の検討
15. 赤外線照射による埋込型補助人工心臓ドライブライン感染の制御
16. 宿主免疫機構の発達に必要な腸管微生物叢曝露の時機・内容と炎症性腸疾患病態への関与
17. マウスモデルを用いた炎症性皮膚疾患の機序の解明
18. ヨウ素特異的取込み制御蛋白の発現調節と結節性甲状腺腫の発病機序の関係
19. がんゲノム医療に資する迅速な変異機能解析法の開発
20. 高齢ドライバにおける安全運転支援の評価方法に関する共同研究
21. 尿酸代謝異常におけるトランスポーター機能解析
22. 熱傷創のデジタル写真画像を用いた領域抽出技術による面積及び深達度評価手法の高精度化研究
23. 顔認識アプリケーションによる顔面神経麻痺の評価システムの臨床研究
24. 炎症性腸疾患における便中カルプロテクチン、便中ヘモグロビンの有用性
25. 膵癌におけるエピゲノムの不均一性と可塑性
26. 核内糖修飾アクチンの解析による糖尿病性腎症の病因・病態探索
27. アミノ酸シグナル阻害によるサイトカインストームの制御
28. KAT3 作用薬及び疾患治療法の開発に関する研究
29. 百日咳菌外膜ベシクルに含まれる病原因子の局在解析
30. ラット脳内に局在する Na⁺/K⁺-ATPase α 鎖アイソフォームの免疫組織学的同定
31. 四量体 Na⁺/K⁺-ATPase 分子へのウアバインの非化学量論的結合
32. モルヒネによる侵害受容性末梢神経の興奮修飾作用
33. ヒト iPS 細胞を用いた皮膚付属器再生～ヒト毛包立体構造の再現を中心に

34. Clostridium butyricum の腸管感染症起因菌に対する増殖抑制効果に関する基礎的研究
35. 患者エクソソーム解析による ANCA 関連血管炎の活動性バイオマーカーの探索
36. 新規 COVID-19 ワクチンに対する組織反応の病理組織学的評価
37. マラリア原虫の抗マラリア活性化化合物に対する耐性獲得機序の解明
38. 新規抗マラリア活性化化合物の作用機序の解明
39. 皮膚疾患診断用 3 次元超音波装置の開発
40. 新型コロナウイルス PCR 新規検査試薬に関する研究
41. 長期呼吸補助を可能とする次世代人工肺システムの開発
42. 非侵襲的脳刺激法による脳の可塑性誘導による運動改善効果に関する研究
43. メカノチャネル Piezo2 のマウス胎生期での発現解析

② 保健学部

44. 医療機器用熱交換器の開発研究
45. 3T MRI における全身の高速・高精細撮像法についての研究
46. 安静臥床状態での神経筋電気刺激療法が静脈還流量に及ぼす影響
47. 体外循環回路でのチューブコネクタ接続部の改良に関する研究
48. 鼻腔炎症に起因する嗅覚機能及び摂食行動の変化と脳腸連関の変動
49. トリプルネガティブ乳癌に対する新規治療抗体の樹立
50. 医用テレメータ使用環境下における院内電波環境の評価方法の検討
51. 超高磁場 fMRI による身体バランスの危機認知に応答する神経機構の同定
52. 姿勢保持および日常的動作の安定性に関わる頭部および体幹部評価法の構築
53. 腫瘍形成 HPV のゲノム網羅解析による上皮内腫瘍の進展予測に関する研究
54. 微細加工技術を応用した放射線検出器の開発
55. キチンに対する生体応答機構の解明
56. 全身性炎症による脳内炎症性環境が誘発する生体分子変化のイメージング質量分析
57. 乳腺小葉癌に対する新規抗体作製及びその解析
58. 介護保険施設入所高齢者の入退院連携システムの開発
59. 高脂肪食モデルマウスを用いた腸管 IgA 局在と IgA 分泌量の変化の検証
60. 糖尿病によって生じる運動野萎縮の改善に有効なりハビリテーションの開発
61. 血液型 D 抗原の相互作用分子との分子間ネットワークの解明
62. ICT を活用した看護実践能力育成システムの構築—モチベーションとリフレクションの測定を通じて—
63. MRI ディープラーニング再構成の学習データ量削減
64. 自動血球分析装置を用いた血球形態、造血、炎症の評価法の検討
65. 人工肺閉塞アラートシステムの開発
66. 愛玩動物に対する血液透析療法の提案
67. 医療機器管理データベースを用いた実習室機器管理手法の検討

① 医学部

1. 真皮毛根細胞の生物学的機能の解析方法についての検討

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大 山 学	医学部皮膚科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
尾郷 正志	資生堂新領域価値開発センター	室長	共同研究の進捗管理
高木 雅哉	資生堂新領域価値開発センター	室員	毛髪・頭皮評価技術の検証
辻飛 雄馬	資生堂新領域価値開発センター	室員	真皮毛根鞘細胞の機能評価

キーワード

再生医学・真皮毛根鞘細胞・免疫調節作用・毛誘導・計測技術

研究分野

再生医学・皮膚科学

1. 共同研究の目的

真皮毛根鞘細胞(DSCC)はその毛誘導能から脱毛症に対する細胞移植による再生医療のリソースとして有用性が期待される一方で、免疫調節作用、創傷治癒促進作用など様々な生物学的機能を有することが示唆されているが齧歯類細胞でのデータが主である。本研究ではヒト DSCC の機能を特に免疫調節機能を中心に解析し臨床応用への可能性を探究するとともに、毛髪・頭皮の状態を臨床的に評価するための基盤技術の確立を目指す。

2. 共同研究の内容・計画

DSCC の生物学的特性の解析については、共同研究者が培養ヒト DSCC を用いてサイトカイン産生、免疫細胞の増殖にあたる影響などの観点から基礎的実験を遂行し、申請者らと共にデータの解析を行う。また、申請者らはこれまで蓄積された免疫疾患での臨床データをもとに実験条件などの助言を行う。必要に応じて自己免疫性脱毛症における DSCC 部におけるサイトカイン・免疫関連分子の発現などの検証も行う。毛髪・頭皮の状態を臨床的に評価する技術の開発については、共同で毛髪・頭皮が局所の炎症からうける影響について画像解析技術などを用いて定量化する技術や、患者の自覚的所見を数値化する方法論の確立を目指す。

3. 研究成果（経過）

本研究は、毛包発生・形成に重要な役割を果たす毛乳頭の前駆細胞の生物学的特性をもつ真皮毛根鞘細胞(DSCC)の生物学的機能の解析法を検討するプロジェクトである。本研究初年度となる今年度は、脱毛症罹患部に移植した際に DSCC が示す脱毛症改善効果と相関する生物学的特性の検討と、将来的に DSCC を脱毛症罹患部に移植した際に用いる客観的な評価法の確立の二つをテーマに研究を遂行した。DSCC の脱毛改善効果と相関するマーカーについては、過去に遂行された DSCC 移植臨床試験の治療効果と、そこで用いられた DSCC の各種間葉系細胞マーカーの発現強度との相関性を検討した。その結果、DSCC における平滑筋関連マーカーの発現が低いほど（つまり分化度が低いほど）治療効果が高いことが示唆され、この結果を論文発表した（Yoshida Y, Takahashi M, Yamanishi H, Nakazawa Y, Kishimoto J, Ohyama M. Int J Mol Sci. 2022 Jun 27;23(13):7125.）。また、臨床的な治療効果を定量的に測定するために、脱毛部位の臨床写真を色のコントラストから二値化することで毛の密度を定量的に測定する方法を安定化させ、さらに毛の分け方に限らず補正して測定するアルゴリズムを確立しさらに精度向上に努めている。

2. 糖尿病性腎症におけるメカノセンサーPiezo1, Piezo2 の役割の解明とそれに基づく新規治療法の確立

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
長瀬 美樹	医学部肉眼解剖学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
横尾 隆	東京慈恵会医科大学	教授	研究のスーパーバイズ
神崎 剛	東京慈恵会医科大学	助教	研究のスーパーバイズ、腎組織像の解析
大庭 梨菜	東京慈恵会医科大学	大学院生	研究の実務、論文執筆

キーワード

慢性腎臓病, ボドサイト, メカノバイオロジー, Piezo1, Piezo2

研究分野

腎臓病学

1. 共同研究の目的

慢性腎臓病(CKD)は心血管死や末期腎不全のリスクを高める国民病として注目されているが、根本的治療法がないのが現状である。透析患者の原疾患としては糖尿病性腎症が最も多く、その発症・進展には糸球体過剰濾過・糸球体高血圧といった力学的要因が深く関わる。申請者はこれまでに腎臓におけるメカノセンサー(Piezo1、Piezo2)の発現細胞を同定し、発現調節機構を明らかにした。そこで本研究では、これらメカノセンサーに着目して糖尿病性腎症の病態を解明し、治療標的の探索を行い、透析患者数の減少、健康長寿社会の実現をはかることを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

本研究ではメカノセンサーPiezo1、Piezo2に着目し、①糖尿病性腎症モデル動物の作製とメカノセンサー発現解析、②細胞特異的 Piezo1、Piezo2 KO マウスを用いた機能解析、③培養細胞にメカノ刺激を付与した系での解析、④ヒト腎生検サンプルを用いた解析、の4目標を設定し、Piezo1、Piezo2の機能的役割を解明し、糖尿病性腎症の新たな治療標的を探索する。

本共同研究のために、東京慈恵会医科大学病院 腎臓・高血圧内科 大学院生の大庭梨菜氏が、杏林大学医学部肉眼解剖学に特別研究生として国内留学され、共同研究に従事する。

3. 研究成果(経過)

① 糖尿病性腎症モデル動物の作製とメカノセンサー発現解析:

C57BL/6J マウスにストレプトゾトシン・高脂肪食を投与して肥満糖尿病モデルを作製した。

高血糖は出現したが、腎障害は軽微であった。遺伝性糖尿病マウス KK^Y と KK^Y に高食塩食を付与して糖尿病性腎障害を加速させたモデルを作製し、腎障害の表現型やメカノセンサーの発現を解析した。

② 培養細胞を用いた解析:

マウス Piezo1、Piezo2 の全長をサブクローニングした発現ベクター-pcDNA3 を作製した。

HEK 細胞や Hela 細胞に一過性に過剰発現して表現型、刺激に対する反応性を解析するとともに、安定発現株を樹立した。

③ ヒト腎生検サンプルを用いた解析:

杏林大学で行ったヒト腎生検サンプルを用いて、Piezo1、Piezo2 の発現を解析し、糖尿病や腎障害の程度と比較した。

3. セプチンによるインスリン極性分泌制御機構とその破綻による糖尿病発症

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
今泉 美佳	医学部細胞生化学	研究教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
木下 専	名古屋大学	教授	生化学実験、免疫電子顕微鏡解析、ノックアウトマウスの作成
青柳 共太	医学部細胞生化学	講師	イメージング解析、組織化学実験
宇田川 陽秀	医学部細胞生化学	任期助教	分子生物学実験

キーワード

インスリン分泌、極性分泌、アクティブゾーン

研究分野

細胞生物学

1. 共同研究の目的

膵B細胞からのインスリン分泌の実態は第1相、第2相から成る2相性であり、毛細血管方向へ極性分泌されることが知られている。しかし2相性インスリン極性分泌機構の全容は未だ不明であり、インスリン分泌不全を呈する2型糖尿病の病態を明らかにするためにも解明が急がれている。私達は既に第1相インスリン極性分泌が神経アクティブゾーンの足場蛋白質であるELKSにより制御してされていることを明らかにしたが(Cell Rep. 2019)、未だ解明されていない第2相インスリン極性分泌が細胞骨格系足場蛋白質であるセプチン重合体により調節されていることを最近見出した。本研究はセプチン重合体による第2相インスリン極性分泌制御機構を解明することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

セプチン重合体の必須構成分子であるセプチン7遺伝子をノックアウトした膵島を主に用いて、インスリン極性分泌部位である毛細血管側のB細胞膜領域でのインスリン開口分泌のin situ イメージング解析、組織化学実験、蛋白質間相互作用解析を行い、セプチン重合体による第2相インスリン極性分泌制御機構を解明する。さらにこれらの成果を2型糖尿病モデルマウスから調製した膵島を用いて検証し、セプチン重合体の形成異常による第2相インスリン極性分泌の破綻と2型糖尿病発症との関連を明らかにし、2型糖尿病の新規治療法を考察する。

3. 研究成果（経過）

膵島組織内B細胞は静脈系毛細血管を囲むように配置されており、インスリンは毛細血管側のB細胞膜から毛細血管へ極性分泌されることが示唆されている。加えてB細胞からのグルコース応答性インスリン分泌は第1相、第2相からなる2相性分泌を示す。しかし2相性インスリン分泌がどのようなメカニズムで毛細血管に面したB細胞膜領域で引き起こされるのか、その極性分泌機構については未だ不明な点が多い。私達はB細胞の極性分泌部位に2種類の足場タンパク質、ELKSとSeptinが局在していることを見出し、ELKSが第1相インスリン極性分泌を制御していることを最近明らかにした。本研究では未だ明らかではないSeptinによるインスリン極性分泌調節機構の解明を目的に研究を行った。その結果、1)SeptinはSeptin7を必須分子として数種類のSeptinが重合体を形成して極性分泌部位に局在しており、2)Septin7 B細胞特異的ノックアウトマウス由来のB細胞では第2相インスリン開口分泌が選択的に低下していた。また、3)Septin7免疫沈降試料質量分析の結果、シャペロン蛋白質Hsc70が見出され、B細胞内でSeptin7と相互作用していること、さらにHsc70は細胞膜SNARE蛋白質であるSNAP-25と相互作用

していることがわかった。以上の結果より、Septin 重合体は Hsc70-SNAP-25 を介して第2相インスリン極性分泌を調節していることが示唆された。

4. 中枢神経系腫瘍分類の分子生物学的研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
里見 介史	医学部病理学	学内講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
高見 浩数	東京大学	助教	分子生物学的解析
義岡 孝子	国立成育医療研究センター	部長	病理組織学的解析
市村 幸一	順天堂大学	教授	分子生物学的解析

キーワード

中枢神経系腫瘍、病理診断、分子生物学的解析

研究分野

人体病理学

1. 共同研究の目的

集積された中枢神経系腫瘍の臨床検体を用いて、病理組織学的、分子生物学的解析を行い、既知のいずれの腫瘍とも類似しない新規腫瘍型の同定と分類体系を確立する。

2. 共同研究の内容・計画

脳腫瘍の多くは極めて予後不良で、正確な病理診断のために、遺伝子-形態統合診断が導入された。しかし、遺伝子解析だけでは分類不能・分類困難な中枢神経系腫瘍はいまだに存在し、正確な病理診断法の確立は喫緊の課題である。

本研究では、網羅的な各種分子生物学的解析とバイオインフォマティクス解析を組み合わせることで、分類不能ないし分類困難な中枢神経系腫瘍の臨床病理学的特徴を抽出し、その特徴づけに寄与するバイオマーカーを同定する。

3. 研究成果（経過）

本研究では、網羅的な各種分子生物学的解析とバイオインフォマティクス解析を組み合わせることで、分類不能ないし分類困難な中枢神経系腫瘍の臨床病理学的特徴を抽出し、その特徴づけに寄与するバイオマーカーを同定する。

今年度は、分子生物学的解析手法の確立のため、ロングリードシーケンスおよび DNA メチル化プロファイルの取得が可能な、ナノポアシーケンス用の機材と試薬を購入し、基礎検討を行なった。また、微量の変異やコピー数異常を検出するための、デジタル PCR の臨床検体への応用可能性を検討した。

現在、対象とする脳腫瘍の臨床検体を用いるための中央倫理申請の準備を行っており、国立成育医療研究センターを中央機関として倫理申請を行う予定である。研究が許可され次第、実際の臨床検体を用いた検討を開始するための症例の抽出と実際の解析を予定している。

5. 脳神経系におけるグリアサブタイプ機能の分子遺伝学的解析

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
栗崎 健	医学部生物学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
齋藤 都暁	国立遺伝学研究所	教授	ショウジョウバエトランスジェニックシステムの作成

キーワード

グリア細胞、ショウジョウバエ、脳神経、ゲノム編集

研究分野

神経科学

1. 共同研究の目的

神経系は、神経細胞とグリア細胞という二種類の主要細胞から構成される組織である。かつては、グリア細胞は神経系の構造支持や栄養供給といった補助的な役割を持つ細胞と考えられていたが、現在では神経系の発生ならびに機能に積極的に関与していると考えられている。しかしながらグリア細胞の役割についての理解は十分ではなく、神経細胞に比べてその理解は遅れている。本研究では、分子遺伝学的解析に優れたモデル生物であるショウジョウバエを用いて、脳神経系におけるグリア細胞の機能とその制御について遺伝子レベルで明らかにすることを目的とし、グリア特異的遺伝子の脳神経系における役割を調べる。

2. 共同研究の内容・計画

申請者らはこれまでに、グリアサブタイプを特異的に標識する GAL4 系統を用いて、NGS によるトランスクリプトーム解析 (RNA-seq) を行い、神経細胞で発現する遺伝子群との比較により、細胞体グリア (CG)、アストロサイト様グリア (ALG)、被覆グリア (EG) の各グリアサブタイプで特異的に発現する遺伝子群の同定に成功している。それらの遺伝子について、CRISPR/Cas9 による細胞種特異的に遺伝子機能のノックアウト (tissue-specific [ts]CRISPR/Cas9 mutagenesis) により、グリア細胞特異的な遺伝子機能の抑制を行う。そのために、国立遺伝学研究所との共同研究により、薬剤誘導系を用いて tsCRISPR/Cas9 mutagenesis を成虫特異的にコンディショナルに行う解析系を確立して、グリアサブタイプ特異的な遺伝子機能の解析を行う。

3. 研究成果 (経過)

本研究では、分子遺伝学的解析に優れたモデル生物であるショウジョウバエを用いて、脳神経系におけるグリア細胞の機能とその制御について遺伝子レベルで明らかにすることを目的とし、グリア特異的遺伝子の脳神経系における役割の解析を行う。具体的には、当研究室で行った、NGS によるトランスクリプトーム解析 (RNA-seq) の結果を受けて、グリアサブタイプで特異的に発現する遺伝子群に注目して、その機能を CRISPR/Cas9 による細胞種特異的に遺伝子機能のノックアウト (tsCRISPR/Cas9 mutagenesis) により、グリア細胞特異的な遺伝子機能の抑制を行いその表現系から遺伝子機能の解析を行うことを計画した。本年度は、(1) 6 遺伝子 7 系統について、恒常的にガイド RNA を発現する U6-gRNA 系統の作出と、(2) グリアサブタイプ特異的にゲノム変種による遺伝子機能抑制を行う解析系確立のための遺伝子組換え体の作出を行った。また、本研究成果の一部については、第 45 回日本分子生物学会年会においてポスター発表を行った。

6. 糖尿病合併症新規マーカーの探索

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
秋元 義弘	医学部顕微解剖学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
遠藤 玉夫	東京都健康長寿医療センター研究所	所長代理	研究の立案、指導
三浦 ゆり	東京都健康長寿医療センター研究所	研究副部長	プロテオーム研究の指導、遂行
新井 富生	東京都健康長寿医療センター	部長	剖検例の検索と剖検及び臨床データの確認
千葉 優子	東京都健康長寿医療センター	部長	プロテオーム研究の指導、遂行

キーワード

糖尿病、O-GlcNAc、複合糖質、糖鎖生物学、グライコプロテオミクス

研究分野

組織化学

1. 共同研究の目的

これまで我々は、細胞質の糖修飾（O-GlcNAc 化）異常タンパク質の解析を行い、糖尿病に伴い腎臓において細胞骨格タンパク質であるアクチン、チューブリン、アクチニンなどに顕著な O-GlcNAc 修飾の変化が生ずることを明らかにしてきた。さらに本研究では、糖尿病及び合併症により発現変動する O-GlcNAc 化蛋白質をプロテオミクスと免疫組織化学法により網羅的に解析し、糖尿病の診断、治療に役立つ新規マーカーとなる蛋白質を明らかにする。

2. 共同研究の内容・計画

①糖修飾アクチン抗体あるいはリン酸化アクチン抗体を培養細胞に導入して、核の形態変化を検討する。②免疫沈降法とプロテオミクス解析により修飾アクチンと相互作用するタンパク質の検索を行う。この際、東京都健康長寿医療センター研究所プロテオミクス共同センターに設置されている機器および本学の共同研究施設の LC-MS (LTQ-Orbitrap Velos) を使用してプロテオーム解析を行う。

3. 研究成果（経過）

糖尿病性腎症患者剖検例の腎組織のホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）切片を用いたプロテオーム解析を行い、糖尿病性腎症の発症や進展に関連するタンパク質候補を明らかにすることを目的とした。

糸球体の硬化・結節性病変・細動脈硬化、また尿細管萎縮、動脈硬化、間質性炎症細胞浸潤、変性を指標とし、解析対象とする糖尿病性腎症群および糖尿病非腎症群を抽出した。FFPE 切片からタンパク質を抽出後、還元・アルキル化、酵素消化、液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS/MS）、データベース検索を行い、タンパク質の同定を行った。また、得られた LC-MS/MS データを用い、ラベルフリー定量法による変動解析を行った。さらに、解析結果を用いてパスウェイ解析を行い、糖尿病性腎症群に特徴的なタンパク質を探索した。

LC-MS/MS の結果、15 例の検体から合計 2404 のタンパク質が同定された。そのうち、糖尿病性腎症群において 2 倍以上増加および減少するタンパク質は、それぞれ 89 および 39 であった。また、変動したタンパク質についてパスウェイ解析を行ったところ、補体活性化経路の関連が示唆された。

7. ヒト唾液由来エクソソームの機能解析に関する研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
秋元 義弘	医学部顕微解剖学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
矢ノ下 良平	帝京平成大学	教授	研究の統括
小川 祐子	帝京平成大学	准教授	エクソソームの単離、成分解析
三浦 ゆり	東京都健康長寿医療センター	研究副部長	プロテオーム解析

キーワード

唾液、エクソソーム、生体防御機構、電子顕微鏡解析

研究分野

組織化学

1. 共同研究の目的

エクソソームは細胞から分泌される直径 30-100 nm の小胞である。これまで申請者らはヒト唾液にエクソソームが大量に存在することを見出し、プロテオーム解析およびトランスクリプトーム解析により、その性状を明らかにしてきた。唾液は単に食物消化に必要なだけでなく、外界から細菌などの異物が体内に侵入するのを防ぎ口腔内衛生環境を保つための重要な生体防御成分である。本研究の目的は、唾液エクソソームの生体防御機能について免疫系細胞に対する生物学的作用を明らかにすることである。

2. 共同研究の内容・計画

① 唾液エクソソーム中に含まれる RNA を蛍光標識し、各種培養細胞への取り込みを蛍光顕微鏡や FACS 等で観察する。エクソソームの RNA 由来のタンパク質の発現はウェスタンブロットングや、免疫蛍光染色で確認する。②エクソソームをゲルろ過クロマトグラフィーを用いて精製し、安定性の指標として唾液エクソソーム表面に存在する DPP IV 酵素活性、構成成分のウェスタンブロット、粒子径測定、電子顕微鏡での形態観察を行う。

3. 研究成果（経過）

細胞外小胞(extracellular vesicles, EVs)は近年、新しい細胞間情報伝達機構として注目されている。我々はヒト唾液のゲルろ過クロマトグラフィーにより、サイズの異なる 2 種類の EVs (EV-I 画分及び EV-II 画分)が存在することを報告した。EV-II はジペプチジルペプチダーゼ IV(DPP IV)活性を指標に分離しているが、EV-I を特徴づける構成成分は不明であった。そこで両者を分画遠心後に粒子径測定、免疫電子顕微鏡観察、プロテオーム解析を行った。

EV-I-20k および EV-II-100k の平均粒子径は、それぞれ 145 nm と 66 nm であった。プロテオーム解析の結果、EV-I-20k から ezrin, Annexin A1, MUC1 およびアミノペプチダーゼ N (APN) が特徴的なタンパク質として検出された。一方、EV-II-100k からは CD9 および DPP IV が検出された。

8. ヒト脊髄内の代替神経システムを強化する新しい運動機能回復戦略

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中島 剛	医学部統合生理学	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小宮山 伴与志	千葉大学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
大木 紫	医学部統合生理学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
市村 正一	医学部整形外科学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
小西 一斉	医学部整形外科学	専修医	実験実施・データ解析等
渋谷 賢	医学部統合生理学	講師	実験実施・データ解析等

キーワード

錐体路、脊髄介在ニューロン、可塑性誘導、脊髄障害、神経リハビリテーション

研究分野

臨床神経生理学

1. 共同研究の目的

脊髄障害後、脳から脊髄への運動系下行路の再建は、運動機能の回復を促す重要な神経基盤となる。本研究は、ヒト脊髄内に代替神経システムを再構築する、新たな神経リハビリテーション法を開発する。特に、代替経路の主役となりうる、介在ニューロン系を介した運動経路を外部刺激等により強化し、障害脊髄を神経バイパスする運動機能回復法の確立を目指す。本課題では、我々が今まで培ってきた健常成人での脊髄賦活化研究をベースに、1. 脊髄障害患者における適応可能性と、2. 上肢巧緻運動の機能回復について詳細に検討する。

2. 共同研究の内容・計画

現在、我々は、健常者を対象に、介在ニューロン系にシナプス増強効果（LTP）促す非侵襲的脊髄刺激法（錐体路と末梢神経への組み合わせ刺激の繰り返し）を開発している。これは海馬等で知られている LTP 効果を脊髄に応用したものがある。今回は、これに他の手法を組み合わせ、簡略で更に長期的に増強効果が得られる、ハイブリッド型神経リハビリテーション法の開発を目指す。具体的には、脊髄介在ニューロンに持続的に入力を与えることが知られている麻痺筋への運動イメージ・随意努力などを駆使するものである（Irie, Nakajima et al. J Neurophysiol. 2021 参照）。まず、健常者で本手法の増強効果と最適な刺激パラメータ等を検討し、その後脊髄障害患者への応用も行う。そして、本研究で開発した介入手法が、当該患者の上肢運動機能改善に有効かどうかについて検討をおこなう。この効果判定には、運動機能評価や電気生理学検査、さらには上肢巧緻運動（物体に腕を伸ばす運動や物体把持運動）の運動解析等も行う。

3. 研究成果（経過）

脊髄障害後、脳から脊髄への運動系下行路の再建は、運動機能の回復を促す重要な神経基盤となる。本研究は、ヒト脊髄内に代替神経システムを再構築する、新たな神経リハビリテーション法を開発する。特に、代替経路の主役となりうる、介在ニューロン系（INs）を介した運動経路を外部刺激等により強化し、障害脊髄を神経バイパスする運動機能回復法の確立を目指す。

我々は、今までに、ヒト頸髄 INs にシナプス増強効果 (LTP) 促す非侵襲的脊髄刺激法 (錐体路と末梢神経への組み合わせ刺激の繰り返し, RCS) を開発した。

ただし、この増強効果の持続時間は1時間程度と短く、臨床応用を目指すにはさらにその効果を持続させる必要があった。そこで、本年度は、昨年度同様、RCS の刺激条件、特に、昨年度同様、身体の傾く感覚を誘導する前庭感覚刺激を組み合わせることにより、研究および実験を行う予定であった。その結果、身体が傾く感覚を生み出す前庭感覚刺激を行いながら、上述の RCS を行うと、RCS のみを行ったときよりも、その増強効果および持続時間が顕著に増大した。

よって、前庭刺激による RCS は、更なるヒト頸髄 INs にシナプス増強効果を促すことができ、臨床応用へ向けた一つの基礎データを得ることができた。

9. 大脳皮質視覚野に可塑性を促す新しい視覚機能回復法

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中島 剛	医学部統合生理学	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小宮山 伴与志	千葉大学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
大木 紫	医学部統合生理学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
寺尾 安生	医学部細胞生理学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
有安 諒平	医学部統合生理学	大学院生	実験実施・データ解析等
寺田 さとみ	医学部細胞生理学	助教	実験実施・データ解析等

キーワード

大脳皮質視覚野、可塑性誘導、視覚障害、神経リハビリ

研究分野

臨床神経生理学

1. 共同研究の目的

本共同研究の目的は、ヒト非侵襲的脳刺激法を用い、新しいコンセプトの視覚機能回復法を開発する。特に本課題では、① 視覚情報を受け取る脳領域（大脳皮質視覚野）の活動を、外部刺激（視覚刺激および経頭蓋的磁気刺激法）によって励起・長期増強させ、② 障害によって減衰した視覚入力を脳内で“増幅・強化”しようとするものである。今回は、視覚要素の中でも、とりわけ色覚の機能回復に焦点を絞る。具体的な研究内容は、我々が今まで培ってきた健常晴眼者での視覚野賦活化の基礎研究をベースに千葉大学と連携し、視覚障害患者への適応可能性と視機能回復について詳細な検討を行うものである。

2. 共同研究の内容・計画

本研究内容と計画は、視覚要素の中でも、とりわけ色覚能を標的に研究を進める予定である。今回は、各種色彩刺激と視覚野への経頭蓋的磁気刺激を組み合わせる“連合性刺激”を繰り返すことにより、視覚野に可塑性誘導（シナプス増強）できるのか、について検討する。一般的なシナプスの性質から、ニューロンが強く活性化している時に入力が入ると、入力が入ったシナプスで効率増強が生じる。本研究課題では、視覚刺激による入力により視覚野ニューロンを活性化させ、その最中、タイミングよく、皮質視覚野直上へ経頭蓋的磁気刺激を行う。そして、その連合性刺激を繰り返し行うことで、標的とする視覚経路の選択的増強が観察され、その効果がどの程度継続するのか確認する。本年度は、視覚野へのタイミングを変化させ、その効果を検証する。これらの検討ののち、本介入手法が視機能改善に貢献するかを検討する。主に、賦活化した色彩視に関連する視覚機能を定量的に評価する。

3. 研究成果（経過）

本共同研究の目的は、ヒト非侵襲的脳刺激法を用い、新しいコンセプトの視覚機能回復法を開発する。特に本課題では、① 視覚情報を受け取る脳領域（大脳皮質視覚野）の活動を、外部刺激（視覚刺激および経頭蓋的磁気刺激法）によって励起・長期増強させ、② 障害によって減衰した視覚入力を脳内で“増幅・強化”しようとするものである。今回は、視覚要素の中でも、とりわ

け色覚の機能回復に焦点を絞る。

本共同研究の目的は、ヒト非侵襲的脳刺激法を用い、新しいコンセプトの視覚機能回復法を開発する。特に本課題では、① 視覚情報を受け取る脳領域（大脳皮質視覚野）の活動を、外部刺激（視覚刺激および経頭蓋的磁気刺激法）によって励起・長期増強させ、② 障害によって減衰した視覚入力を脳内で“増幅・強化”しようとするものである。今回は、視覚要素の中でも、とりわけ色覚の機能回復に焦点を絞る。具体的な研究内容は、視覚障害患者への適応可能性と視機能回復について詳細な検討を行うものである。まずは、健常者を対象として検討を行った結果、数分間の外部刺激（連合性刺激）によって、視覚誘発電位（皮質起源の応答）の大きさが増大して、刺激後、60分間程度継続した。この結果は、当該連合性刺激が視覚経路の一部である一次視覚野内において、連合性刺激による長期増強効果が生じたのではないかと考えられた。

10. 百日咳菌 BipA のバイオフィーム形成における機能の解析

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
花輪 智子	医学部感染症学	研究教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
蒲地 一成	国立感染症研究所	室長	臨床分離株の提供および <i>bipA</i> 遺伝子の解析
大塚 奈緒	国立感染症研究所	主任研究官	臨床分離株の提供および BipA 欠損株の作成とその解析

キーワード

百日咳菌・バイオフィーム・定着因子・臨床分離株・外膜ベシクル

研究分野

細菌学

1. 共同研究の目的

百日咳菌臨床分離株は宿主内でバイオフィームを形成することから本菌の病原性発現に重要であると考えられている。申請者らはこれまで百日咳菌のバイオフィーム形成過程で *bipA* の転写が顕著に亢進することを見出している。*BipA* は外膜に局在するタンパク質であり、本菌感染後に抗体が産生されることから宿主内で発現することが確認されているが、その機能は明らかとなっていない。そこで *bipA* 欠損変異株を用いてバイオフィーム形成における影響や外膜ヴェシクル (OMV) との関連について検討を行い、*BipA* の機能を明らかにする。

2. 共同研究の内容・計画

百日咳菌臨床分離株では病原遺伝子の保有状況が異なり、多数の百日咳菌臨床分離株を保有している感染症研究所との共同研究により *bipA* 遺伝子の保有状況を調査する。また蒲地博士らは既にワクチンの製造に使用されている Tohama 株および臨床分離株で *bipA* 変異株を作成しておりそれらの性状の解析を進める。

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

3. 研究成果（経過）

急性呼吸器感染症である百日咳はワクチン既接種者の成人にも感染を引き起こす。百日咳の原因菌である百日咳菌は多くの病原因子を産生することが明らかとなっているが、病原性発現機序については不明な点が多い。*BipA* は百日咳菌の外膜タンパク質の1つであり、百日咳の患者血清中に *BipA* に対する抗体が検出されることから、宿主内で発現され、感染伝播などに関与しているものと考えられている。しかしながら *bipA* の機能については明らかとなっていない。そこで本研究で *BipA* の病原性発現における役割を明らかにすることを目的とした。

本研究では *BipA* の遺伝子欠損株は固相表面上へのバイオフィーム形成能が低下するものの液相表面に形成されるバイオフィーム（ベリクル）の形成には影響せず、また、外膜ベシクルの産生量にも影響しないことを明らかにした。さらにバイオフィーム形成菌の菌体表面に局在している病原因子の局在に対する影響を調べた。菌体表面に局在している *Vag8* や *FHA* はベシクルとして放出される。しかし、*BipA* の欠損変異株でもこれらの局在に影響はなかったことから、*BipA* は他の病原因子の分泌にも影響しないことが明らかとなった。以上のことから、*BipA* は他の病原因子との直接的な相互作用以外の機構で病原性に関わることが明らかとなった。

11. 包括的腸管細菌叢解析に基づく 5-アミノサリチル酸の抗炎症作用機序の解明

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
久松 理一	医学部消化器内科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
三好 潤	医学部消化器内科学	学内講師	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析
和田 晴香	医学部消化器内科学	大学院生	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析
西成田 悠	医学部消化器内科学	大学院生	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析
小栗 典明	医学部消化器内科学	大学院生	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析
日比 紀文	北里大学北里研究所	センター長・ 特任教授	SPF および無菌動物飼育・実験
小林 拓	北里大学北里研究所	副センター長・ 特任准教授	SPF および無菌動物飼育・実験
竹内 修	北里大学北里研究所	部長補佐	SPF および無菌動物飼育・実験

キーワード

腸管細菌叢、5-アミノサリチル酸、炎症性腸疾患

研究分野

消化器内科学

1. 共同研究の目的

炎症性腸疾患(IBD)患者数は増加傾向にあり、安全、有効かつ経済的な治療法の開発はきわめて重要な医学的、社会的課題である。その病態はまだ解明されていないが、腸管微生物叢(microbiota)が大きな役割を果たしていると考えられている。また、5-アミノサリチル酸(5-ASA)はIBDに対する治療薬として広く用いられているが、その作用機序は明らかではない。本共同研究では、5-ASAによる腸管 microbiota の変化を解析し(目的1)、その抗炎症効果を in vivo で評価する(目的2)とともに、その作用機序を探索する(目的3)ことを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

目的1について、5-ASAによる腸管 microbiota の変化を解析するために、SPF環境下マウスに5-ASAを経口摂取させて糞便中DNAを経時的に解析する。目的2について、5-ASAにより変化した腸管 microbiota を SPF 環境下のデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘導性腸炎マウスモデルに移入することにより、治療効果を検討する。さらに、無菌マウスに5-ASAにより変化した腸管 microbiota を移入・定着させた後に、DSS感受性を評価することにより、腸炎に対する予防効果も評価する。目的3については、目的1で得られた結果をもとに有効性に関与する微生物、代謝物の同定を目指すとともに、マウスの免疫状態の変化も解析する。

3. 研究成果（経過）

SPF 環境飼育マウス（野生型 C57BL6）を用い、5-アミノサリチル酸（5-ASA）投与により腸管細菌叢の構成が変化することを 16S rRNA gene amplicon sequencing による解析で明らかにした。また、5-ASA 投与群では対照の無投与群（NT 群）と比較して宿主腸管免疫機構が変化することも示された。さらに2つのアイソレーター内の無菌雌マウスに、それぞれ 5-ASA 投与群、NT 群から糞便移植を行い、各アイソレーター内で無菌雄マウスとの繁殖を行なった。各アイソレーター内で腸管細菌叢の母仔伝播が成立していることを 16S rRNA gene amplicon sequencing による解析で明らかにした。そして、仔マウスを用いた解析により、5-ASA 投与により変化した腸内細菌叢は宿主の免疫機構に異なる影響を与えること、5-ASA により変化した腸内微生物叢は炎症性腸疾患動物モデルとして広く用いられるデキストラン硫酸ナトリウム（DSS）誘導性腸炎への感受性を低下させることを示した。

以上より、5-ASA が腸管細菌叢を変化させることが、同薬の抗炎症作用機序の一つであることが示唆された。

12. 胆管プラスチックステントのドレナージ効率の検証と新形状の模索

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
土岐 真朗	医学部消化器内科学	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
久松 理一	医学部消化器内科学	教授	研究指導
嶋田 真也	ゼオンメディカル（株）	社員	実験遂行の調整と立案。ゼオンメディカルと杏林大学医学部との調整。

キーワード

胆管、プラスチックステント、ドレナージ効率、開存期間、ステント形状

研究分野

胆道

1. 共同研究の目的

近年、悪性胆道狭窄症例の増加に伴い、胆管プラスチックステントを使用する頻度は増加傾向にある。内視鏡的胆道ドレナージに使用する胆管プラスチックステント（以下 PS）は、様々なニーズにより製造メーカー各社から様々な形状が発売されているものの、ドレナージ効率等の明確な検証に基づいた使い分けがされていない現状がある。金属ステントと比較して十分な開存期間が得られているとはいえないものの、金属ステントよりも安価で、現状よりも開存期間の長いプラスチックステントを開発することは、患者の負担を軽減し、医療費削減にも寄与すると考えられる。

2. 共同研究の内容・計画

<検討 1>ドレナージ効率の高い PS の形状の法則性を模索する（机上実験）、<検討 2>胆道閉塞部位による PS の形状によるドレナージ効率の検証（机上実験）、<検討 3>新形状の PS の試作品を作成し短期、長期ドレナージ効率の検証（机上実験）、<検討 4>製品化に向けて PS の素材、コーティングの検討（机上実験）。<検討 5>既存の PS の材質を用いて実際の PS を作成する。<検討 6>試作品ができれば、耐久性、ドレナージ効率含め机上実験を行う。現在<検討 5>まで進んでいる。また、形状に関して特許申請も行っている。

3. 研究成果（経過）

<検討 1>ドレナージ効率の高い PS の形状の法則性を模索する（机上実験）：終了

<検討 2>胆道閉塞部位による PS の形状によるドレナージ効率の検証（机上実験）：終了

<検討 3>新形状の PS の試作品を作成し短期、長期ドレナージ効率の検証（机上実験）：
試作品を現在作成し、形状の微調整を行っております。

<検討 4>製品化に向けて PS の素材の検証（机上実験）：共同研究施設のゼオンメディカル（株）と共同で試作品を作成中ですが、検証の結果、素材はポリエチレンで決定しております。現在ステントのリリース抵抗低減を模索しております。

また、2020年5月に出願した“発明「チューブステント」”について、出願審査請求を特許庁に行う準備も公的資金企画管理課と進めております。

13. 卵巣癌診断のための新たなコンビネーションアッセイの確立

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
小林 陽一	医学部産科婦人科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
三上 幹男	東海大学	教授	研究の総括

キーワード

卵巣癌、早期診断、バイオマーカー、コンビネーションアッセイ

研究分野

婦人科腫瘍学

1. 共同研究の目的

卵巣癌の血清診断としては CA125 が汎用されているが、CA125 は偽陽性が多いという欠点がある。また早期発見につながるマーカーはない。これらを克服するために卵巣癌診断の新たなコンビネーションアッセイを確立することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

本研究では、我々が既に候補として選別した新たなバイオマーカーの候補と、東海大学において検討中の卵巣癌の新たな診断法において、その両者の併用による有用性を検討するため、当院で得られた血液検体を東海大学でも解析を行い、コンビネーションアッセイとしての有用性を検討する

3. 研究成果（経過）

当科よりの血液を含め、卵巣癌例 564 例 非卵巣癌例 1154 例を用いて、CSGSA-AI 解析を行った（CSGSA-AI;液体クロマトグラフィー/質量分析(LC/MS)による網羅的血清糖ペプチドスペクトラ解析 [CSGSA : Comprehensive Serum Glycopeptide Spectra Analysis、血液より糖蛋白を抽出、糖ペプチドとして LC/MS に投入し、2次元データから数値として糖ペプチドピークデータを得る]によりえた CSGSA データを 2次元バーコード化し、既存癌関連蛋白(CA125、HE4)の血中濃度で 2次元バーコードをカラー化し、それを AI に深層学習させ癌の有無の診断を行う、あるいは CSDSA データをすべて持ちいて機械学習を行って卵巣癌の有無を診断する)。卵巣癌の罹患率が 10 万人当たり 20.7 人（がん情報サービス）で補正し計算を行った結果、卵巣癌検知 AI①（カラー2次元バーコードを用いた深層学習）での、PPVは 5.7%、卵巣癌検知 AI②（CSGSA ピークデータを用いた機械学習、LightGBM）では、PPV10.0%、という結果が得られた。以上より本研究を 2023 年 1 月 31 日で終了とし、AMED の研究へ繋げて行く予定である。

14. 原発性上皮性卵巣癌における DNA ミスマッチ修復異常の検討

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
小林 陽一	医学部産科婦人科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
渡部 洋	東北医科薬科大学	教授	研究の計画・統括
柴原 純二	医学部病理学	教授	検体の準備・提供

キーワード

上皮性卵巣癌、DNA ミスマッチ修復異常、抗 PD-1 抗体薬、個別化癌治療

研究分野

婦人科腫瘍学

1. 共同研究の目的

卵巣癌の新たな治療戦略を確立するため、DNA ミスマッチ修復 (MMR) 機能異常を有する卵巣癌に対する有効な化学療法の適用による患者長期予後改善、および MMR 関連遺伝子情報に基づく将来的な化学療法の個別化を目的とする

2. 共同研究の内容・計画

原発性上皮性卵巣癌 200 例の手術摘出組織を対象として、現在 MSI の判定に用いられているベセスダパネルに採用されるマイクロサテライトマーカーを用いて、正常組織との比較からの MSI の解析を行う。なお MSI-H および EMAST と判定された症例では、免疫組織染色による hMLH1, hMSH2, MSH 6, PMS2 および MSH3 蛋白の組織内発現を検討し、卵巣癌における MMR 機能異常の頻度および初回化学療法の有効性との関連性について検討を行う。

3. 研究成果 (経過)

原発性上皮性卵巣癌 200 例の手術摘出組織を対象として、現在 MSI の判定に用いられているベセスダパネルに採用されるマイクロサテライトマーカーを用いて、正常組織との比較からの MSI の解析を行った。なお MSI-H および EMAST と判定された症例では、免疫組織染色による hMLH1, hMSH2, MSH 6, PMS2 および MSH3 蛋白の組織内発現を検討し、卵巣癌における MMR 機能異常の頻度および初回化学療法の有効性との関連性について更なる解析を行っているところである。

15. 赤外線照射による埋込型補助人工心臓ドライプライン感染の制御

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
窪田 博	医学部心臓血管外科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
齋木 佳克	東北大学	教授	凝固システム、及び感染制御の検討
吉岡 一朗	東北大学	助教	凝固システム、及び感染制御の検討

キーワード

赤外線焼灼、感染制御、埋込型補助人工心臓

研究分野

心臓血管外科

1. 共同研究の目的

重症心不全に対する埋込型補助人工心臓治療が確立されているが、合併症としてカニューレからのドライプライン感染がある。その結果脳梗塞の併発や敗血症をきたし、長期間の入院を余儀される。これらを防ぐために赤外線を利用した熱凝固アブレーション装置の焼灼により、感染の局所制御が可能と考えられる。本研究では生体工学的基礎実験と動物実験による組織学的な検討を行いながら、将来的な臨床導入への道筋を立てることを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

1. 実験小動物における皮膚欠損・皮下組織露出モデルの形成
2. 皮下組織への赤外線照射モデルの検討
3. ドライブラインに対する赤外線照射の直接的影響の検討
4. 今後は大実験動物における補助人工心臓用ドライプライン皮膚貫通モデルの形成と赤外線照射モデルの検討

3. 研究成果（経過）

ドライプライン感染は植込型補助人工心臓患者において最も頻度が高い合併症であり、臨床管理上の大きな課題となっている。人工物であるドライプラインに感染が生じると、細菌が生成するバイオフィルムによって治療抵抗性となる。この問題を解決するために、新しいエネルギーデバイスである近赤外線を利用した光アブレーション装置を用いて感染を局所制御する方法の確立に取り組んでいる。

今年度は、皮下組織に十分な光凝固が生じ、かつ体腔内臓器の障害が生じない照射条件を確認する目的で、また、照射後の生体反応や創傷治癒過程を確認する目的で慢性動物実験を行った。具体的には、麻酔下にラットの背部にドライプライン貫通部を想定した表皮欠損創部を作成し、複数の条件下で赤外線照射を施行し、病理学的評価を行った。結果として、適切と思われる出力(10%-25%)、照射時間(10sec-20sec)の範囲を確認することができた。

今後は、作成した表皮欠損創部にメシチリン感受性黄色ブドウ球菌を感染させた感染モデルに対して確認された条件で近赤外線照射を施行し、感染組織に対する効果を病理学的に評価する予定である。

16. 宿主免疫機構の発達に必要な腸管微生物叢曝露の時機・内容と炎症性腸疾患病態への関与

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
三好 潤	医学部消化器内科学	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
久松 理一	医学部消化器内科学	教授	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析、研究総括補助
松浦 稔	医学部消化器内科学	准教授	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析、研究総括補助
和田 晴香	医学部消化器内科学	大学院生	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析
西成田 悠	医学部消化器内科学	大学院生	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析
小栗 典明	医学部消化器内科学	大学院生	マウス腸内細菌叢解析および免疫学的解析
日比 紀文	北里大学北里研究所	センター長・ 特任教授	SPF および無菌動物飼育・実験
小林 拓	北里大学北里研究所	副センター長・ 特任准教授	SPF および無菌動物飼育・実験
竹内 修	北里大学北里研究所	部長補佐	SPF および無菌動物飼育・実験

キーワード

腸管微生物叢、免疫発達、炎症性腸疾患

研究分野

消化器内科学

1. 共同研究の目的

炎症性腸疾患（IBD）発症にかかわる環境因子の一つとして腸管 **microbiota** が注目されている。近年、妊娠中や小児期の抗菌薬使用により児の IBD 発症リスクが上昇することが報告されている。我々はこれまでに、周産期に母体に抗菌薬を投与することにより、仔において、長期にわたる腸管微生物叢の乱れ（**dysbiosis**）、小児期の免疫発達異常（リンパ球分化、サイトカインプロファイル）、および腸炎発症リスク上昇を認めた。本研究では、腸管微生物叢への曝露タイミング・内容が宿主免疫発達に与える影響（目的 1）および腸管 **dysbiosis** 是正時期による腸炎発症リスク軽減効果の違い（目的 2）について検討する。

2. 共同研究の内容・計画

無菌マウスの免疫機構は SPF マウスと異なることが知られている。目的 1 について、3、7 または 11 週齢の無菌マウスに週齢・性別が一致する SPF マウスの腸管微生物を移入し、レシピエントの免疫状態がドナー類似に変化するかを検討する。さらに、3 週齢の無菌マウスに、性別が一致する 3 週齢または 11 週齢 SPF マウスの腸管微生物を移入し、各々の免疫発達を評価する。ドナー、レシピエントの腸管微生物叢は糞便 DNA を用いて解析する。

目的 2 について、周産期抗菌薬投与 IBD マウスモデル (Miyoshi et al. Cell Rep. 2017) の抗菌薬投与群の仔に 3 または 11 週齢時に無治療群より腸管 microbiota の移入を行い、自然発症腸炎の発症率・重症度およびデキストラン硫酸ナトリウム誘導性腸炎への感受性の変化を検討する。

3. 研究成果 (経過)

性別、週齢 (4 週齢および 10 週齢) を一致させた SPF マウス 5 匹、無菌 (Germ free) マウス 10 匹を用意した。無菌マウスの半数は動物施設搬入後に速やかに SPF マウスの糞便溶解液を経口投与するとともに SPF 環境に移動させた。これにより、SPF マウス (SPF 群)、元・無菌マウス (exGF 群)、無菌マウス (GF 群) の 3 群を用意した。4 週齢または 10 週齢で腸内細菌叢、SPF 環境に曝露した exGF マウスにおいて、それぞれ週齢相応の腸内細菌叢が生着した。腸管の肉眼的、顕微鏡的、電子顕微鏡的所見は、いずれの exGF 群でも SPF 化していた。免疫状態については、4 週齢で腸内細菌叢を獲得した exGF でのみ SPF 化を認めた。同様の方法で 4 週齢の GF マウスに性別が一致する 4 週齢または 10 週齢の SPF マウス腸内細菌叢を移入して SPF 環境に移動したところ、これらの exGF マウスでは生着する細菌叢に有意な差異を認めず、腸管構造や免疫状態の差異も明らかではなかった。以上より、4 週齢マウスは 10 週齢マウスと異なり免疫可塑性を有していること、4 週齢マウスは週齢に「適した」腸管に生着する細菌を選択する機構を有していることが示唆された。4 週齢マウスに想定される腸管細菌選択機構を探求するため、回腸および大腸粘膜の遺伝子発現について検討を開始した。

17. マウスモデルを用いた炎症性皮膚疾患の機序の解明

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
水川 良子	医学部皮膚科学	臨床教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
土肥 孝彰	マルホ株式会社 (本学医学部医学研究生)	研究員 (研究生)	水分量や発汗の評価

キーワード

炎症性皮膚疾患、角質水分量、発汗、ステロイド外用剤、保湿剤

研究分野

皮膚免疫学

1. 共同研究の目的

我々の教室では、以前からハプテン塗布による接触過敏症モデルを作成し、様々な観点から接触皮膚炎およびアトピー性皮膚炎(AD)の機序の解明を行ってきた。高湿度環境は接触過敏反応を減弱させうるが、生体の湿度感知の機序は未だ明らかではない。本共同研究は、今までの知見をもとに、接触皮膚炎およびADに代表される炎症性皮膚疾患の機序のさらなる解明を目指し、最終的には治療への応用を目指す。

2. 共同研究の内容・計画

今までの研究で、足蹠からの発汗の少ない ft/ft マウスでは皮膚バリアは破壊され、接触過敏反応(CHS)が増強することが明らかにされている。昨年度の検討において、本マウス足蹠におけるハプテン吸収量は亢進し遅延型反応は亢進しているものの、即時型反応の増強はみられなかった。そこで、本年度は発汗低下が遅延型反応、即時型反応に異なる影響を与えているのか、両反応の相互関係につき検討を加える。具体的には、コントロールとなる C57BL/6 マウスを含めた Toll-like receptor KO マウスおよび肥満細胞欠損マウスを用いて、即時型および遅延型反応の程度を発汗を含めて検討し、今まであまり注目されていないこれらの関係を明らかにする。

3. 研究成果(経過)

今までの研究で、足蹠からの発汗は即時型反応(ITH)および接触過敏反応(CHS)を増強させることを、発汗量の低い ft/ft マウスを用いた検討で明らかにしてきた。そこで本年度は、発汗抑制作用を有する薬剤を経皮的にマウス足蹠に投与、人工的に発汗低下状態を誘導し ITH および CHS がどのように変化するかを確認した。

1. 発汗抑制剤を塗布することで、C57BL/6 マウスの足蹠の角質水分量は投与前の 1/3 程度に減弱し、発汗滴も著明に減少していた。

2. 1で施行した発汗抑制はハプテン感作時および誘発時に各々行い、発汗が ITH および CHS に与える影響を検討した。感作時および誘発時とも発汗を抑制すると ITH、CHS ともに非処理群よりも高値を示した。

以上の結果から、遺伝的に発汗低下がないマウスでも人工的に発汗低下および発汗低下による角質水分量を低下させることで、皮膚炎症が増強されることを明らかにできた。次年度は更なる解析を進める予定である。

18. ヨウ素特異的取込み制御蛋白の発現調節と結節性甲状腺腫の発病機序の関係

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
菅間 博	医学部病理学	特任教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
矢澤 卓也	獨協医科大学	教授	分子病理学的解析、免疫組織化学的解析
石井 順	獨協医科大学	助教	分子病理学的解析、免疫組織化学的解析
藤原 正親	医学部病理学	教授	分子病理学的解析、免疫組織化学的解析

キーワード

甲状腺、ヨウ素トランスポーター、SLC26A7、SLC 26A4、結節性甲状腺腫
--

研究分野

病理学

1. 共同研究の目的

新たなヨウ素トランスポーターである SLC26A7 と SLC 26A4 (Pendrin) の甲状腺濾胞のヨウ素輸送、貯蔵における役割と機能調節機構を明らかにし、結節性甲状腺腫の発病機序の解明につなげる。

2. 共同研究の内容・計画

- 1) SLC26A7 と Pendrin のヨウ素輸送能を培養細胞を用いて遺伝子工学的に比較解析する。
- 2) SLC26A7 と Pendrin 遺伝子の発現調節機構をプロモーターのリポーターアッセイ等により解析する。
- 3) SLC26A7 と Pendrin のノックアウトおよびトランスジェニックマウス相互交配を行い、甲状腺機能および病理形態像を解析する。
- 4) 結節性甲状腺腫の臨床病理検体を用いて、SLC26A7 と Pendrin の遺伝子発現および蛋白レベルの局所的变化等を解析し、一般の結節性甲状腺腫の発病機構に迫る。

3. 研究成果（経過）

SLC26A7 と SLC 26A4 の甲状腺濾胞のヨウ素輸送、貯蔵における役割の違いを明らかにし、結節性甲状腺腫の発病機序を解明することを目的として、以下の検討を行った。

- 1) NCBI と EMBL-EBI のデータベースから解析した結果、生物進化の過程で、SCL26A4 は甲状腺を持たない無脊椎生物でも見られるが、SLC26A7 は両生類以降で獲得されたと考えられた。
- 2) プロモーター配列の転写因子モチーフを解析した結果、両者は甲状腺特異転写因子 NKX2-1(TTF1)、FOXE1 (TTF2)、PAX8 の作用様式に差があること、甲状腺刺激ホルモン受容体 (TSH-R) のシグナル伝達の応答 (CRE 応答) に違いがあることが推測された。
- 3) SLC26A7 と SLC 26A4 のノックアウトマウスを用いた解析した結果、甲状腺病変には差があること明らかになった。(名古屋市立医学との共同研究)
- 4) 抗 SLC26A7 特異抗体を作成し免疫組織学的に解析した結果、結節性甲状腺腫の拡大した濾胞とバセドウ病の活動性濾胞における SLC26A7 と SLC26A4 の発現パターンに違いがあることが明らかになった。ヨウ素の輸送と貯蔵のバランスの違いを示唆していると考えられる。

甲状腺濾胞におけるヨウ素輸送には SLC26A7 と SLC26A4 の両方が関わるが、ヨウ素の貯蔵には SLC26A7 は強く関わると思われる。今後、結節性甲状腺腫の発病機序の解明につなげたい。

19. がんゲノム医療に資する迅速な変異機能解析法の開発

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大西 宏明	医学部臨床検査医学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
堤 修一	東京大学	特任准教授	バイオインフォマティクス

キーワード

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

研究分野

ゲノム医学

1. 共同研究の目的

本研究の目的は、がんゲノム医療の過程で新たに発見される生殖細胞系遺伝子変異（Germline 変異）の発がんリスクについて新規ソフトウェアを用いて判定すること、および、ソフトウェアで判定不能の変異については、メダカ発がん実験で発がん性を検証することである。本研究により、新規 Germline 変異の発がん性を迅速かつ簡便に判定でき、患者および親族にがんの治療や予防・早期発見の一助となる変異情報を速やかに提供することができるようになると思われる。

2. 共同研究の内容・計画

- ①がんゲノム医療の過程で発見された新規 Germline 変異について、ソフトウェア VarSeq (Golden Helix 社) を用いて解析し、変異の発がん性について判定する。解析の結果、発がん性が判定不能であった変異については、②の研究を行う。
- ②ヒトの意義不明 Germline 変異による発がん性リスクを、遺伝子変異導入メダカを用いた発がん実験で検証する。ヒトの発がんリスクと考えられるヒト Germline 変異と同じ変異を、遺伝子変異を誘導できる CRISPR/Cas9 システムのゲノム編集技術によりメダカの遺伝子に導入し、メダカ遺伝子機能に異常を有するメダカを作製する。次に、メダカ遺伝子変異導入メダカを水槽で飼育し、発がん性を観察し、発生したがんの病理診断を行う。

3. 研究成果（経過）

本研究の目的は、がんゲノム医療の過程で新たに発見される生殖細胞系遺伝子変異（Germline 変異）の発がんリスクについて新規ソフトウェアを用いて判定すること、および、ソフトウェアで判定不能の変異については、メダカ発がん実験で発がん性を検証することである。

新規 Germline 変異について、ソフトウェア VarSeq (Golden Helix 社) を用いて解析し、変異の発がん性について判定した。本ソフトウェアで発がん性が判定不能であったヒトの意義不明 Germline 変異による発がん性リスクを、遺伝子変異導入メダカを用いた発がん実験で検証した。ヒト変異と同様の変異を、遺伝子変異を誘導できる CRISPR/Cas9 システムのゲノム編集技術によりメダカの遺伝子に導入し、メダカ遺伝子機能に異常を有するメダカを作製した。メダカ遺伝子変異導入メダカを水槽で飼育し、腫瘍性病変の発生を病理学的に確認した。

本研究により、がんゲノム医療で発見される新規 Germline 変異の発がん性を迅速かつ簡便に判定でき、患者および親族にがんの治療や予防・早期発見の一助となる変異情報を速やかに取得することができるようになった。

20. 高齢ドライバーにおける安全運転支援の評価方法に関する共同研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
長谷川 浩	医学部総合医療学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
関根 道昭	交通安全環境研究所	主席研究員	運転能力評価・運転支援方法の評価

キーワード

高齢者、認知症、運転能力評価、運転支援方法の評価

研究分野

高齢者安全運転

1. 共同研究の目的

自動車の安全運転支援システム（自動ブレーキ、車間距離維持装置、車線逸脱防止装置など）の開発が進んでいる。これらの技術は、運転が難しくなった高齢者や軽度の認知症患者において事故の予防やモビリティ確保の観点から特に有効であると考えられる。一方で、運転支援技術を利用するドライバーの行動についてはまだ十分に解明されておらず、これらは国際的にも関心が高い現在進行中の議論である。本研究では、高齢ドライバー、特に軽度認知症ドライバーにおける運転支援方法のあり方について解明することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

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

3. 研究成果（経過）

本年度も昨年に引き続き新型コロナウイルス感染症流行のため、本研究参加者が募集できなかった。このため、一昨年度までの交通安全研究所において運転シュミレーターに乗っていただいたデータを基に運転の能力を分析した。高齢ドライバーはシュミレーターでの基本的な運転技能に問題はなかったが、複数の対象を同時に処理する必要がある場面において、特に自転車や歩行者に対する適切な減速等が不十分なケースが見受けられた。一方で信号機や他車両に対する反応には特別な問題は観察されなかった。高齢ドライバーは複数の対象が存在する場面において、特に歩行者や自転車などの比較的小さい対象に対する注意が欠落する可能性が示唆された。

21. 尿酸代謝異常におけるトランスポーター機能解析

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
櫻井 裕之	医学部薬理学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
市田 公美	東京薬科大学	教授	研究統括
藤田 恭子	東京薬科大学	講師	変異体の作製、輸送実験
木村 徹	医学部薬理学	学内講師	トランスポーター遺伝子解析 卵母細胞での発現、輸送実験
田中 弦	医学部薬理学	助教	トランスポーター遺伝子解析 卵母細胞での発現、輸送実験

キーワード

尿酸、SLC2A9, URAT1, 遺伝子変異

研究分野

薬理学

1. 共同研究の目的

腎での尿酸トランスポーターはほぼ同定されているが、尿酸代謝異常において、どのトランスポーターが重要か、また、治療標的として有用なのはどれか、といった課題が残っている。本共同研究はこの課題に取り組む。

2. 共同研究の内容・計画

高尿酸血症での変異体を解析し、トランスポーター機能にどのような変化があるかを卵母細胞に発現させて調べる。腎性低尿酸血症の症例でも同様の解析を行う。また、尿酸低下作用のある薬物の存在下で、尿酸トランスポーター（GLUT9 や URAT1）強制発現卵母細胞への尿酸取り込みを評価することで、トランスポーターへの作用を調べる。

3. 研究成果（経過）

尿酸代謝異常の疑われる症例での尿酸トランスポーター変異体を作製し、そのmRNA をアフリカツメガエル卵母細胞に注入し、強制発現させてその機能を評価した。これまでの解析では新規の変異はみつからなかった。

22. 熱傷創のデジタル写真画像を用いた領域抽出技術による面積及び深達度評価手法の高精度化研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
山口 芳裕	医学部救急医学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
加藤 聡一郎	医学部救急医学	学内講師	研究全般（研究責任者）
海田 賢彦	医学部救急医学	講師	画像と臨床情報のリンク等
田中 敏幸	慶應義塾大学	教授	画像解析全般

キーワード

写真画像、熱傷面積、熱傷深達度、診療

研究分野

熱傷、医用工学

1. 共同研究の目的

デジタル写真画像を用いて、正確な熱傷面積および熱傷深達度を評価する手法を確立し、重症度や局所所見の正確なデータに基づき適切な熱傷診療を支援するためのツールを開発する。得られた画像の調査・解析・検討には、臨床医学領域と医用工学領域の共同研究体制が必要となるため、杏林大学医学部救急医学と慶應義塾大学理工学部物理情報工学科信号・画像処理研究室で協力して行う。

2. 共同研究の内容・計画

後向きに収集したデジタル写真画像を基に、熱傷重症度（受傷面積・深達度等）の自動評価技術の確立を目指して、以下の2項目を主体とした研究を遂行する。

研究①：全身の熱傷面積率や深達度別割合の自動解析算出手法の検討・検証

研究②：経時的变化から熱傷皮膚面積／健常皮膚面積差を抽出する手法の検討・検証

必要条件を満たした熱傷創の広範囲画像および局所画像、計30症例分を収集し、先行研究（平成28年度杏林大学医学部倫理委員会申請研究：H28-089）の30症例と合わせて60症例分を解析対象とし、撮影から解析までを含む一連の前向き調査用プロトタイプの実現を目指す。

3. 研究成果（経過）

後向きに収集したデジタル写真画像を基に、熱傷重症度（受傷面積・深達度等）の自動評価技術の確立を目指して、以下の2項目を主体とした研究を実施した。

研究①：全身の熱傷面積率や深達度別割合の自動解析算出手法の検討・検証

研究②：経時的变化から熱傷皮膚面積／健常皮膚面積差を抽出する手法の検討・検証

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

Diagnosis support system for skin grafting using GrowCut with an automated seed selection

Kodai Ezaki, Soichiro Kato, Yoshihiro Yamaguchi, Toshiyuki Tanaka

Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering: Imaging & Visualization 1-18 2022年9月28日 査

読有り (<https://doi.org/10.1080/21681163.2022.2121763>)

23. 顔認識アプリケーションによる顔面神経麻痺の評価システムの臨床研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
多久嶋 亮彦	医学部形成外科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
雨宮 俊一	株式会社 NTT データ	研究員	ソフトウェア作成統括
成田 圭吾	医学部形成外科学	助教	データ分析 統括
木村 武一郎	医学部形成外科学	医員	データ分析

キーワード

顔面神経麻痺、臨床検査、artificial intelligence

研究分野

形成外科

1. 共同研究の目的

現在、顔面神経麻痺患者に対する評価法として柳原法、Sunnybrook 法、House-Brackmann 法などがあるが、評価者の主観が強く反映されることが多く顔面神経麻痺発症後の症状のフォローアップや手術前後の評価を正確に行うことは難しいのが現状である。そこで、顔面神経麻痺患者の病状を客観的に捉えるため、様々な用途に应用されている顔認識アプリケーションを用いて静的・動的に顔面の運動機能を評価したいと考えた。関連学会からのコンセンサスを得て、検者間での誤差のない標準的な評価方法を確立することが本研究の目的である。

2. 共同研究の内容・計画

顔認識アプリケーションを使用して顔面神経麻痺患者の動画データを解析し、顔面神経麻痺患者の病状の客観的評価方法を構築する。現在顔面を認識するソフトウェアは多様な用途で使用されているが、現在の技術ではほぼリアルタイムに顔面の主たるパーツを facial keypoint として正確に捕捉、解析することが可能となっていることから、本研究の着想に至った。各データは杏林大学形成外科におき顔面神経麻痺患者の手術前後の状態を記録、評価するためにこれまで収集されたものであり、本研究は既に倫理委員会の承認を得た上で共同研究契約を締結したものである。

3. 研究成果（経過）

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

このことにつき、現時点での成果を 2022 年 4 月には日本形成外科学会総会シンポジウムで、7 月には日本顔面神経学会パネルディスカッションにおいて発表を行い、顔面神経学会誌“Facial Nerve Research Japan vol.42”(未刊)に投稿し、受理された。今後は実臨床にも耐えうる評価法の立案を目標に、解析を進めていく予定である。さらなるデータ解析を行い、英文誌への投稿も予定している。本研究は、遅滞なく進められている。

24. 炎症性腸疾患における便中カルプロテクチン、便中ヘモグロビンの有用性

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
久松 理一	医学部消化器内科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
松山 直人	アルフレッサファーマ株式会社	部長	企業側責任者、便検査試薬提供、 便検査測定機器貸与
相澤 菜穂	アルフレッサファーマ株式会社	専任部長	研究計画の策定、臨床事項問合せ、 便検査試薬提供、便検査測定機器貸与

キーワード

炎症性腸疾患、便中カルプロテクチン、便中ヘモグロビン

研究分野

臨床研究

1. 共同研究の目的

アルフレッサファーマ株式会社は金コロイド凝集法を用いて、従来の免疫学的便潜血（便中ヘモグロビン）検査の測定原理、測定機器、採便容器を応用し便中カルプロテクチン測定試薬を開発した。便中カルプロテクチンおよび便中ヘモグロビンを同意測定することにより、炎症性腸疾患の活動性評価、治療効果判定や再燃予測に有用であることを示すエビデンスを本邦で構築することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

金コロイド凝集法便中カルプロテクチン測定試薬、便中ヘモグロビン測定試薬を用いて、炎症性 ZOOM の治療効果予測ならびに再燃予測のバイオマーカーとしての便中カルプロテクチン、便中ヘモグロビンの有用性について単施設における前向き観察研究を行う。研究期間は1年間とする。

3. 研究成果（経過）

金コロイド凝集法便中カルプロテクチン測定試薬、便中ヘモグロビン測定試薬を用いて、炎症性腸疾患の治療効果予測ならびに再燃予測のバイオマーカーとしての便中カルプロテクチン、便中ヘモグロビンの有用性について単施設における前向き観察研究を行い報告した（Sakuraba A, et al. BMC Gastroenterol. 2021 May 1;21(1):197）。

方法：便中バイオマーカー測定後 30 日以内に大腸内視鏡検査を受けた UC 患者 133 症例を対象として検討した。臨床的および内視鏡的疾患活動性は、それぞれ Lichtiger Index および Mayo endoscopic subscore (MES) を用いて評価した。

結果：計 162 回の大腸内視鏡検査が施行され、各バイオマーカーと MES の相関では直腸で有意に低かった。直腸を除く部位では便中カルプロテクチンおよびラクトフェリンは MES 0 と MES \geq 1 を区別することが可能であった。また、便中ヘモグロビンは直腸炎の MES 0 の判別に優れていた。

25. 膵癌におけるエピゲノムの不均一性と可塑性

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
林 玲匡	医学部病理学	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
Christine A. Iacobuzio-Donahue	メモリアル・スロンケタリングがんセンター	膵癌研究センター長	膵癌のクローン進展解析およびメチル化解析

キーワード

膵癌、クローン進展、DNA メチル化

研究分野

腫瘍学、病理学

1. 共同研究の目的

本研究では、時間的・空間的に不均一な膵癌サンプルを用いてゲノム・エピゲノムの網羅的解析を行うことで、膵癌における DNA メチル化を主とするエピゲノムプロファイルの不均一性を明らかにし、クローン進展を背景としたその可塑性を探索する。本研究は、①メモリアル・スロンケタリングがんセンター（米国）、②杏林大学の2つの研究機関で解析を行い、結果を統合する予定である。なお、原データからの解析は、各々の機関で行われ、各機関の解析結果に基づく仮説を、相互に補完、検証する予定である。

2. 共同研究の内容・計画

①メモリアル・スロンケタリングがんセンターでは、研究解剖で複数領域から採取された凍結組織検体を用いて（8 症例 50 サンプル）、網羅的な体細胞変異解析（全エクソン解析、全ゲノム解析）と DNA メチル化解析（EPIC-seq）を行った。
②杏林大学では、外科手術材料のホルマリン固定パラフィン包埋組織検体（FFPE 検体）を用いて、形態学的に不均一で偏在傾向のある膵癌症例を用いて、各々の形態像を示す領域の DNA メチル化を網羅的メチル化アレイにて解析した（8 症例 40 サンプル）。現在は、これらのデータから得られたメチル化プロファイルの詳細な解析を行っている。

3. 研究成果（経過）

杏林大学病院に保管されている浸潤性膵管癌 6 症例、40 領域より Infinium MethylationEPIC BeadChip kit（Illumina 社）を用いて網羅的 DNA メチル化解析を行った。また、4 症例について対応する正常部位から追加でメチル化解析を行った。クラスター解析の結果、正常により近いメチル化プロファイルを示す群と正常と異なるメチル化プロファイルを示す群の 2 群に分類可能であった。また、症例によっては、同一腫瘍内で両群の性質を合わせもつものもあった。現在は、TCGA（The Cancer Genome Atlas）の公開メチル化データを加え、より多数例での解析を進めている。スロンケタリングがんセンターでの終末期膵癌を用いた解析結果からは、腫瘍内のメチル化プロファイルは比較的保たれていることも示唆されており、2 つコホートの相互検証も進めている。

26. 核内糖修飾アクチンの解析による糖尿病性腎症の病因・病態探索

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
秋元 義弘	医学部顕微解剖学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
池原 譲	千葉大学大学	教授	病理学的解析
要 伸也	医学部 腎臓・リウマチ膠原病内科学	教授	腎生検例の検索と臨床データの確認
楊 國昌	医学部	客員教授	糸球体足細胞の培養系を用いた解析
木内 善太郎	医学部小児科学	助教	糸球体足細胞の培養系を用いた解析

キーワード

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

研究分野

病態医科学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

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

3. 研究成果 (経過)

本研究からは、これまで O-GlcNAc 化 Ser199 アクチンが細胞質だけでなく核内にも存在する事実を見出した。核の内部には、クロマチンや核マトリクスの他に、核内構造体とよばれる RNA と RBP (RNA 結合タンパク質) から構成される機能的な集合体が存在する。核内構造体では転写、RNA プロセッシング、RNA エディティングなど様々な RNA の転写制御が行われている。そこで今年度は、糖修飾アクチンの核内における役割について調べる目的で、糖修飾(O-GlcNAc 化 Ser199)アクチン抗体と核内構造体に対するマーカータンパク質抗体を用いて、免疫組織化学的方法と免疫沈降法により糖修飾アクチンがこれらの核内構造体のどれに局在するかを検討した。

その結果、ラット腎系球体の核において糖修飾アクチンが核スペckルに局在する Serine-rich splicing factor3 (SRSF3) と共局在していることが明らかになった。さらに、糖修飾アクチン抗体による免疫沈降産物を用いて Western blotting を行ったところ、糖修飾アクチンと SRSF3 の結合性が確認された。SRSF3 は、転写、RNA プロセッシングやタンパク質の翻訳などさまざまな機能を担っていることが明らかになっている。以上のことから、糖修飾アクチンが核スペckルにおいて SRSF3 と相互作用してこれらの機能を調節することが推測された。

27. アミノ酸シグナル阻害によるサイトカインストームの制御

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
櫻井 裕之	医学部薬理学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
和田 洋一郎	東京大学	教授	一細胞遺伝子発現解析
末弘 淳一	医学部薬理学	助教	内皮細胞培養・動物実験

キーワード

アミノ酸シグナル、LAT1、サイトカインストーム

研究分野

薬理学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

2021年度の共同研究により培養血管内皮細胞を用いたRNA-seqを行い、LAT1により急性呼吸促迫症候群(ARDS)で発現上昇するケモカイン遺伝子が制御されていることを発見した。その知見を発展させるべく、内皮特異的あるいは全身でのLAT1ノックアウトマウス肺に炎症を惹起した組織での遺伝子発現解析、および、内皮で起こった炎症の全身への影響を解析するため、同ノックアウトマウスを用いた質量分析計による血液中の分泌因子の網羅的比較定量を行う

3. 研究成果(経過)

炎症刺激下の内皮細胞におけるLAT1を介した遺伝子誘導を解析することを目的として、2021年度にLAT1阻害薬JPH203で処理したヒト肺微小血管内皮細胞HPMEC、ヒト臍帯静脈内皮細胞HUVECを用いて、エンドトキシンLPS、dsRNA poly(I:C)、B-DNA poly(dA:dT)を添加しRNA-seqによる遺伝子発現解析を行った。その結果、上記の刺激によって誘導された急性炎症関連遺伝子(CXCL10、CCL5、CX3CL1など)がLAT1の制御下にあることを見出し、2022年度はそれらの中でCXCL10に着目し解析を進めた。CXCL10は内皮細胞をはじめとする種々の細胞を供給元とし、ウイルス感染などにおいて白血球細胞へ作用し炎症に関与することが知られる。また、内皮細胞においてオートクリンで作用するとの報告があり、in vivo解析を進める前の予備検討として、in vitroでリコンビナントヒトCXCL10をHUVECに添加し内皮機能への影響を解析した。その結果、増殖、遊走、炎症接着分子の誘導などへの明確な作用は認められず、CXCL10と炎症性サイトカインとの共刺激において内皮細胞での炎症反応の増強は確認されなかった。これらを考慮し、現在、内皮細胞からのCXCL10の分泌と非内皮細胞への作用に焦点を当て、内皮特異的LAT1コンディショナルノックアウトマウスを用いたin vivo解析を進めている。

28. KAT3 作用薬及び疾患治療法の開発に関する研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中山 高宏	医学部病態生理学	助教	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
Tapas K. Kundu	Molecular Biology & Genetics Unit JNCASR	教授	有機化合物の合成・修飾
村岡 貴博	東京農工大学	教授	有機化合物の合成
内田 紀之	東京農工大学	助教	有機化合物の修飾
庄司 静子	東京農工大学	実験助手	有機化合物を用いた解析
渡辺 豪	北里大学	講師	AI-MD シミュレーション
濱田 博喜	岡山理科大学	教授	有機化合物の合成・修飾

キーワード

syntaxin1A、SNARE、KAT3、モノアミン伝達、精神疾患

研究分野

神経科学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

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

3. 研究成果（経過）

我々はこれまでに神経細胞において stx1A プロモーター領域に結合する転写因子を精製し、質量分析、スーパーシフトアッセイ及び ChIP 解析を行った結果、エピゲノム因子 KAT3 ヒストンアセチル化酵素の存在を同定してきた。この KAT3 に対する阻害剤である EGCG および Anacardic acid を作用させた結果、新たに stx1A 発現が抑制されることを発見してきた。更に in vivo に

おける STX1A 発現抑制効果を確認する為にマウス腹腔内投与を 1 週間行ったところ、脳における STX1A タンパク質の発現量が抑えられることを確認した。また ECD-HPLC 解析により中脳におけるドーパミン濃度と分泌後代謝物 HVA との比率を求めることによるドーパミン合成・分泌機能を調べたところ、いずれもが低下を示すことも見出してきた。そこで EGCG および Anacardic acid を投与した際のアルコール嗜好性に与える影響を自由選択試験により検証したところ、アルコールに対する嗜好性が低下することを発見した。また場所依存性行動試験により依存症モデルマウスにおいてニコチン依存性が低下していることも明らかにしてきた。これらの結果は KAT3 阻害による STX1A 発現低下にはアルコール・ニコチン依存症に対する抑制効果があることを意味しており、今後も他の種類の KAT3 阻害剤に関して引き続き解析を行う予定にしている。

29. 百日咳菌外膜ベシクルに含まれる病原因子の局在解析

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
花輪 智子	医学部感染症学	研究教授	統括

共同研究者

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

キーワード

百日咳菌・外膜ベシクル・定着因子・細胞内輸送、病原性

研究分野

感染免疫学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

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

3. 研究成果（経過）

細菌は表層および細胞質成分を含む細胞小胞を分泌し、細菌間および宿主細胞間に機能分子の輸送に利用されていることが報告されてきている。病原細菌の分泌する OMV はワクチンとしても注目されており、髄膜炎では既にこれまでのワクチンに添加され、使用されている。

百日咳菌も外膜ベシクル(OMV)を産生するが、これまで百日咳菌の OMV 中に付着に関わる FHA および本菌の重要な病原因子である ACT が含まれていることを明らかにしている。本課題では、百日咳菌 OMV に含まれる病原因子が宿主細胞内に輸送され、さらに生物活性を発現するとの仮説をたて、それを検証する。

百日咳菌 OMV を OptiPrep 密度勾配遠心法により精製し、肺胞上皮細胞である A549 およびマクロファージ系培養細胞株である J774 に添加し、蛍光免疫染色を行なった。その結果、OMV に含まれている病原因子が A549 中に移行したことが明らかとなり、A549 に添加した細胞中の何らかの輸送系によって取り込まれた可能性が考えられた。現在 early endosome との共局在を検討中である。一方、J774 は、OMV を貪食した後、数時間後には形態学的に変化し、細胞死が引き起こされることを確認した。現在細胞死の機構とそれを引き起こした因子を解析中である。

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

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
丑丸 真	医学部化学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
誉田 晴夫	医学部化学	非常勤講師	イムノプロットイング
須賀 圭	医学部化学	講師	細胞培養・免疫組織染色
原 諭吉	東京医科歯科大	客員教授	データの解析

キーワード

Na ⁺ /K ⁺ -ATPase、アイソフォーム、免疫組織染色、蛍光顕微鏡、イムノプロットイング

研究分野

生化学

1. 共同研究の目的

細胞内の Na⁺を細胞外へ、K⁺をその逆方向へ能動輸送するイオンポンプである Na⁺/K⁺-ATPase は、脳内において神経刺激伝達に関わっている。このポンプは α および β 鎖から構成されている。主たる機能を持つ α 鎖には 4 つのアイソフォームがあり、脳内にはその内の 3 つ、α1、α2、および α3 が存在する。2022 年度は、ラット大脳内及びその初代培養細胞における α 鎖アイソフォームの局在を明らかにし、さらに脳機能との関係について研究する。

2. 共同研究の内容・計画

Na⁺/K⁺-ATPase α 鎖アイソフォームの特異的抗体、及び脳内の種々の部位に特異的な抗体（マーカー抗体）を用いてラット大脳切片を免疫組織染色し、これを本学に設置されているオールインワン蛍光顕微鏡で撮影し、α 鎖の大脳内局在を明らかにする。次に、培養された脳神経細胞およびグリア細胞について、α 鎖アイソフォームの特異的抗体を用いたウエスタンブロットイングを行い、その脳細胞および軸索内局在についても明らかにする。これらの知見と、すでに明らかになっている脳機能との関連付けを試みる。

3. 研究成果（経過）

Na⁺/K⁺-ATPase α 鎖の 3 つのアイソフォーム、α1、α2、α3 のラット大脳皮質内の局在、および培養されたラット大脳神経細胞とグリア細胞内の局在を、免疫組織化学およびイムノプロットイング法で調べた。大脳皮質組織は表面から内部に向けて 6 層に分類されること、各層のマーカータンパク質が存在することが知られている。大脳を横方向（Coronal）及び縦方向（Sagittal）に輪切りした標品と、アイソフォーム及びマーカータンパク質の抗体を用いて免疫組織学的に調べた結果、α1 は第 3-4 層にはっきりと認められた。しかし、他のアイソフォームについては明瞭な結果が得られなかった。

培養神経細胞では、α1 が細胞体に、α3 が軸索に主に分布していることが明らかになった。α2 はイムノプロットイングで検出されるものの、細胞内の局在ははっきりしなかった。

グリア細胞には α2 が主に分布していた。イムノプロットイングでは α2 と α1 (α2 > α1) が認められたが、興味深いことに、グリア細胞由来の腫瘍細胞（グリオーマ細胞）では、α2 が消失していた。この結果は、Na⁺/K⁺-ATPase 活性測定結果からも確認された。ヒトグリオーマ細胞でも同様の結果が得られるかどうか、検証する予定である。

31. 四量体 Na/K-ATPase 分子へのウアバインの非化学量論的結合

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
丑丸 真	医学部化学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
林 雄太郎	千葉科学大学	非常勤講師	四量体標品単離, ウアバイン結合量測定
原 諭吉	東京医科歯科大学	名誉教授	結果の解析・評価
菅田 晴夫	医学部化学	非常勤講師	酵素反応と基質結合の解析

キーワード

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

研究分野

生化学

1. 共同研究の目的

タンパク質分子・Na/K-ATPase(NKA)の発見から70年近く経過した現在、その機能単位の四次構造は四量体・Tetraprotomer(T)とみなして(林ら)、その作用の分子機構を追究する段階に達した。NAKの研究史においては、既にPostとAlbersによって、ATPase反応におけるNAK分子は、性質の対照的な2つの状態(E1とE2)を循環的に変換することによって、ATPの化学的エネルギーの、Na⁺とK⁺の輸送エネルギーへの転換がなされることが確立している。したがって、この研究目的は、NAKの四量体構造に基づくE1とE2状態の実体解明により、NAKの分子機構を解明することにある。

2. 共同研究の内容・計画

分子機構解明のカギとして使えるのが、NAKの超特異的阻害剤である強心ステロイド・Ouabain(oub)である。四量体NAK分子が解離した状態(ProtomerまたはDiprotomer)では、oubはその結合部位の全てに結合し(化学量論的結合)、ATPase活性も完全に停止させる。一方oubは、Tには部分的にしか結合しない(非化学量論的結合)が、機能は完全に停止させる。また、これまでのTを使わない実験では、oubはE1状態では結合しないが、E2状態では結合するとされている。従って、Tを用いた場合でも、このoub結合特性が同じかをまず実験的に確認する。これが確認されたなら、四量体NAK分子において、構成単位(PおよびD)が独立して動くのではなく、それらの間に繋がりをもつ動きが、作用機構の重要な要素となることが結論できる。

3. 研究成果(経過)

重要な実験結果

1. このNa⁺/K⁺-ATPaseの分子の機能単位は、レクチン親和性クロマト法(LAC法)によって、四量体(Tetraprotomer, T)として単離できる。
2. LAC法以外によって、単量体(Protomer, P)や二量体(Diprotomer, D)が単離される。しかし、これらは機能単位ではなく、不適切な精製法によって得られた、不純物である。
3. P、DおよびTの各オリゴマー体へのouabain結合量は、それぞれ1、2および2~3(mol/mol)である。PやDには化学量論的に結合したが、Tには約半分しか結合せず、その結合は非化学量論的である。
4. ouabainは、全てのオリゴマー体のATPase活性を、完全に阻害する。
5. ATP結合量は、ouabain結合量とほぼ同じである(P:D:T=1:2:2 mol/mol)。Tに対しては半分しか結合せず、や

は非化学量論的である。

結論と今後の課題

6. 1モルの当蛋白質分子の機能単位 (T) には、ouabain および ATP のいずれに関しても、その結合部位は各4モル存在する。しかし、蛋白質分子が機能している時、それらは、ほぼ半分の2モルしか結合しない。すなわち、この蛋白質分子は、リガンド結合部位の半量は使われない特性を有している (半量部位反応性)。

したがって、この分子のエネルギー変換メカニズムの解明には、「半量部位反応性」の実態を明らかにすることが不可欠であると、結論した。

32. モルヒネによる侵害受容性末梢神経の興奮修飾作用

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
八木 淳一	医学部統合生理学	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小林 靖	防衛医科大学校	教授	神経細胞の免疫組織学的解析

キーワード

末梢神経、鎮痛薬、イオンチャネル、パッチクランプ法、線維筋痛症

研究分野

神経科学

1. 共同研究の目的

強力な鎮痛作用を有するモルヒネは、中枢神経のみならず、末梢神経の興奮性を修飾すると考えられている。しかし、モルヒネが侵害受容性末梢神経の興奮性に及ぼす神経メカニズムは明らかになっていない。本研究では、慢性疼痛の起因となる侵害受容性ニューロンの膜電位振動に対してモルヒネが及ぼす作用を電気生理学的に解析し、末梢神経におけるモルヒネの鎮痛作用機序を明らかにする。

2. 共同研究の内容・計画

実験には独自に開発した「麻酔下ラット標本-感覚神経パッチクランプ法」を用いる。侵害受容性ニューロンの細胞体から膜電位記録を行い、侵害刺激を与えて膜電位振動と活動電位を発生させる。これら痛みの誘発に関連する神経活動に対して、モルヒネのイオンチャネル修飾作用を電気生理学的に解析し、その後、免疫組織学的手法を併用して、この修飾作用に関与する受容体とイオンチャネルの種類を同定する。(免疫染色は、共同研究者の小林教授の元で行う。) また、この機序を元に、同様の興奮性修飾作用を有する非麻薬性物質を探索し、末梢由来の線維筋痛症や持続性しびれ感覚の治療薬開発につなげる。

3. 研究成果（経過）

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

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

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大 山 学	医学部皮膚科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
岡野 栄之	慶應義塾大学	教授	ヒト iPS 細胞の供給・分化誘導法指導

キーワード

再生医学・ヒト iPS 細胞・分化誘導・皮膚・付属器

研究分野

再生医学・皮膚科学

1. 共同研究の目的

本研究では癬痕性脱毛症・無汗症などの難治性皮膚疾患の再生医療の実現のためヒト iPS 細胞を活用した皮膚付属器の再生法の技術的基盤、特にヒト毛包構造の再現を主たる目的とする。共同研究者の施設はヒト iPS 細胞研究の代表的拠点で、申請者は共同研究を続けてきた。ヒト iPS 細胞の維持、分化誘導に関して共同研究者から技術的指導を受けることで効率的な研究計画の遂行が可能となる。共同研究者には本学で確立された技術を還元する。

2. 共同研究の内容・計画

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

3. 研究成果（経過）

本年度は昨年度までの研究から明らかとなったヒト iPS 細胞の分化誘導法の改良に取り組んだ。毛包など皮膚付属器の器官形成には上皮-間葉系の相互作用が重要である。毛包の場合には毛誘導能を有する毛乳頭細胞が器官形成の鍵を握る。これまでヒト iPS 細胞から毛乳頭細胞への誘導には、まずヒト iPS 細胞から間葉系幹細胞を誘導し、得られた細胞に、さらに WNT シグナル、BMP シグナル、FGF シグナルと三つのシグナル伝達系の活性化因子を組みあわせて作用させ分化誘導していた。しかし、セラチノサイトとの相互作用実験などの結果から毛乳頭への分化が十分でないことがわかってきた。今年度は、過去の文献の渉猟から、新たな WNT シグナル活性化因子と異なるサブタイプの組換え FGF タンパクを混合しヒト毛乳頭細胞を培養し毛乳頭関連マーカーの発現をまず検討した。この条件下では培養ヒト毛乳頭細胞における BMP4 の発現が著明に亢進するため、組換え BMP タンパクの添加が不要である可能性が示された。そこで、LEF1、NOG、VCAN などその他の毛誘導能関連毛乳頭マーカーの発現を前述 WNT、FGF シグナル活性化因子で刺激したヒト毛乳頭細胞で評価したところいずれも亢進しており、本条件が毛乳頭細胞の特性維持に重要であり、かつ、ヒト iPS 細胞からの毛乳頭細胞への分化誘導にも応用できる可能性が示唆された。

34. Clostridium butyricum の腸管感染症起因菌に対する増殖抑制効果に関する基礎的研究。

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
三戸部 治郎	医学部感染症学	教授	統括

共同研究者

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

キーワード

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

研究分野

細菌学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

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

3. 研究成果（経過）

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

この培養上清と新鮮培地の有機成分を HPLC で比較したところ、ギ酸、酢酸、乳酸、酪酸が 5 から 20mM 程度の濃度で産生していた。一方、これらの有機酸のナトリウム塩を同濃度、培地に加えた実験では抑制は見られなかった。また C. butyricum が産生する成分については限外分子量が 100Da の透析膜を用いて培養上清を濃縮する操作を行ったが、濃縮した培養上清を加えた培養では、病原蛋白の抑制が見られなかった。

以上の結果は比較的分子量が高い特異的な産生物が存在するのではなく、増殖の抑制は主として C. butyricum が産生する有機酸による培地の pH の低下によるものであることが示された。

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

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
櫻井 裕之	医学部薬理学	教授	統括

共同研究者

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

キーワード

急速進行性腎炎、ANCA、エクソソーム

研究分野

薬理学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

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

3. 研究成果（経過）

ANCA 関連血管炎は臨床的に急速進行性腎炎を呈し、免疫抑制療法で寛解しても再発があり、それを予期するのが困難である。CRP などの炎症反応や ANCA が病勢を反映するとされているが、それより鋭敏なマーカーを患者血中エクソソームの解析から同定することを目的とする。
血中エクソソームの単離、確認法の確立はできたが、COVID19 のため検体の採取が進まず、共同研究者も解析のための時間がとれず、今年度をもって終了とした。

36. 新規 COVID-19 ワクチンに対する組織反応の病理組織学的評価

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
林 玲匡	医学部病理学	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
内田 智士	京都府立医科大学 iCONM	准教授 副主幹研究員	新規 COVID-19 ワクチンの開発

キーワード

COVID-19、ワクチン、免疫応答、免疫組織化学染色、病理組織学的評価

研究分野

病理学、免疫学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

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

3. 研究成果（経過）

マウスに対して、レポータータンパク質を発現する mRNA を皮内、もしくは筋肉内に投与して、その組織を回収した。形態学的評価とともに、特殊染色、免疫組織化学染色、*in situ hybridization* などの手法を用いて、マウス体内での mRNA 動態を解明した。結果は、その他の実験結果とともに "Cutaneous jet-injection of naked mRNA vaccine induces robust immune responses without systemic vaccine spillage" として論文まとめ、プレプリントとして bioRxiv 上で公開した (<https://doi.org/10.1101/2023.02.27.530188>)。今後はマウスデータを追加して、主要科学誌に今夏投稿予定である。なお、共同研究者である内田智士氏は 2023 年 1 月 1 日より東京医科歯科大学の教授へ就任した。

37. マラリア原虫の抗マラリア活性化合物に対する耐性獲得機序の解明

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
新倉 保	医学部感染症学	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
渡邊 信元	理化学研究所	ユニットリーダー	抗マラリア活性化合物の合成

キーワード

抗マラリア活性、化合物、耐性獲得、薬剤開発

研究分野

寄生虫学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

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

3. 研究成果（経過）

これまでに得られた結果の検証を行った。得られた研究結果をまとめ、投稿する準備を進めている。

38. 新規抗マラリア活性化化合物の作用機序の解明

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
新倉 保	医学部感染症学	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
和田 章	理化学研究所	専任研究員	抗マラリア活性化化合物の合成

キーワード

抗マラリア活性、化合物、作用機序、薬剤開発

研究分野

寄生虫学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

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

3. 研究成果（経過）

これまでに得られた結果の検証を行った。得られた研究結果をまとめ、投稿した。現在査読中である（2023年2月現在）。

39. 皮膚疾患診断用3次元超音波装置の開発

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大 山 学	医学部皮膚科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
伊田 泰一郎	アドバンテスト新企画商品開発室	プロジェクト リーダー	超音波装置の開発・改良

キーワード

皮膚科学、診断装置、超音波、3次元、高周波数

研究分野

皮膚科学

1. 共同研究の目的

皮膚科領域において皮膚生検標本を用いた病理組織学的診断のもつ意義は非常に大きい。しかし、侵襲的検査であり、瘢痕を残すことも多いため、小児症例、あるいは顔面の病変などには施行しにくい欠点がある。本研究では、共同研究者のもつ高周波数超音波画像解析技術を用いて患者に侵襲なく3次元で皮膚微細構造の観察を可能にする診断装置の開発を目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

共同研究者の施設において開発された可動式高周波数超音波検出センサを内蔵した超音波画像診断装置を用いて、皮膚科外来を受診した皮膚疾患患者の病変部を非侵襲的に観察する。特に皮膚生検を実施する症例では、検体採取部を検査前に画像撮影し、採取した病理組織標本と超音波でえられた画像との比較検討を行うことで画質向上に務め装置のさらなる改良に努める。特に、臨床経過を連続して3次元で病理組織的に検討することが困難な脱毛症など皮膚付属器疾患の診断、既存技術では腫瘍切除マージンの決定が困難な顔面の基底細胞癌などの術前評価に力をいれる。計画の実施に必要な倫理申請承認後計画を遂行する。

3. 研究成果（経過）

本研究は、共同研究者の施設において開発された可動式高周波数超音波検出センサを内蔵した超音波画像診断装置を用いて、皮膚疾患患者の病変部を非侵襲的に測定し、ソフトウェアを用いて微細3次元構造を可視化する技術の開発を目的としている。共同研究初年度の本年度は、まず脱毛症患者、基底細胞癌患者の測定に注力し、毛包など3次元構造体を明瞭に可視化するための検出センサの調整、フォーカスの最適化、画像ソフト上での加工など測定機器の改良をかさね、毛包に関しては毛包峽部のレベルまで評価に耐える画質での測定が可能となった。さらに、計測時間の短縮化などより測定を容易にするために装置に改良を加えた。さらに改良した測定機器をもちいて円形脱毛症の活動期、症状固定期、回復期の症例から画像を採取し、臨床記録、病理組織所見と対比することで回復期に特徴的といえる可能性がある画像所見を同定した。今後、この所見の再現性についてさらに検討するとともに、基底細胞癌の腫瘍マージンの決定法の開発にも取り組み装置の実臨床への応用を目指す。

40. 新型コロナウイルス PCR 新規検査試薬に関する研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大西 宏明	医学部臨床検査医学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
山崎 聡子	医学部臨床検査医学	助教	検体収集・送付
田上 潤	タカラバイオ株式会社	部長	検体保管、測定

キーワード

COVID-19、SARS-CoV-2、鼻咽頭ぬぐい液、唾液、PCR

研究分野

臨床検査医学

1. 共同研究の目的

タカラバイオ社製リアルタイム RT-PCR 検出キット「Takara SARS-CoV-2 ダイレクト PCR 検出キット（体外診断用医薬品 承認番号：30200EZXR00076000；従来品）」を改良した製品（改良品）の設計開発初期段階にあたり、臨床検体を用いたユーザビリティの評価を行い、改良品の組成を見直す必要性を検討する。改良品は従来品に比較して操作に不慣れた作業者でも簡単に扱える組成になり、検査体制の拡充に寄与すると期待される。

2. 共同研究の内容・計画

2022年1～2月に新型コロナウイルス感染症が疑われた患者から、通常の診療に用いる目的で過去に採取された鼻咽頭ぬぐい液および唾液の凍結保存残余検体のうち、SARS-CoV-2に対するリアルタイム RT-PCR 検査陽性15検体、陰性15検体、計30検体について匿名化を実施しタカラバイオ社に提供する。タカラバイオ社は提携先である群馬パース大学に検体を搬送し、同大学内において従来品および改良品それぞれを用いてリアルタイム RT-PCR 法による測定を行い、算出された Ct 値の相関性と判定結果の陽性・陰性一致率を評価する。また、提携先の臨床検査技師が改良品を用いた際の使用感についてアンケートに回答し、誤使用や使いにくさを感じることなく使用できるか評価を行い、結果に応じて組成を見直す。

3. 研究成果（経過）

研究契約に従い、鼻咽頭ぬぐい液 20 検体および唾液 10 検体の残余検体をタカラバイオ株式会社へ送付した。PCR の結果については、現在提携施設で検討中である。

41. 長期呼吸補助を可能とする次世代人工肺システムの開発

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
安楽 真樹	医学部呼吸器・甲状腺外科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
渡邊 文和	富士システムズ株式会社	取締役	人工肺およびカニューレの開発・試作
佐藤 一彬	富士システムズ株式会社	主任	
横井 涼	富士システムズ株式会社	主任	

キーワード

人工肺、肺移植、慢性呼吸不全、機器開発

研究分野

人工臓器

1. 共同研究の目的

申請者らはこれまでに新規開発人工肺の50日(7週間)を越える長期耐久性(ガス交換性能および抗血栓性の維持)を確認した(AMED事業名:医療分野研究成果展開事業 先端計測分析技術・機器開発プログラム)。今後さらに人工肺の耐久性及びガス交換性能の向上を図り、医療機器(呼吸補助システム)実用化に向けて取り組むことが共同研究の目的である。

2. 共同研究の内容・計画

人工肺の仕様決定:大動物を用いた in vivo 試験および数値流体解析を繰り返し実施し、使用するシリコーン中空糸膜に適した人工肺デザイン(人工肺ポート部形状、サイズ)および人工肺の仕様を決定する。また、人工肺の抗血栓性を付与する市販のコーティング剤の検討を行う。

駆動装置の仕様検討:本システムでは血液ポンプを使用するため、その血液ポンプおよび駆動装置の仕様を検討する。

人工肺システムの評価:大動物耐久性実証試験を行い、承認申請に必要なデータを集積する。

3. 研究成果(経過)

試作人工肺を用いて大動物実験を実施した(N=1)。

受託実験施設での大動物周術期管理、モニタリング、討議方法など詳細に検討することが可能であることを確認した。

人工肺前後、回路部分の血栓付着状況を、実験後の autopsy を行うことで評価した。また、各臓器へ与える人工肺装着の影響について詳細に検討した。

次年度以降、人工肺および体外循環回路の流体解析による in vitro 手法での最適化、また大動物実験による実証検討を重ねる予定である。

42. 非侵襲的脳刺激法による脳の可塑性誘導による運動改善効果に関する研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
寺尾 安生	医学部病態生理学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
宇川 義一	福島県立医科大学	教授	共同研究デザインの策定
Francesco Fiscaro	福島県立医科大学	博士研究員	共同研究の遂行

キーワード

大脳基底核、大脳皮質、可塑性変化、磁気刺激、低強度集束超音波刺激

研究分野

神経生理学

1. 共同研究の目的

磁気刺激・低強度非侵襲超音波刺激をはじめとする非侵襲的脳刺激法は、脳の可塑性を誘導することによって脳機能を調整できることが知られている。パーキンソン病は薬物療法が治療の中心であるが、薬剤抵抗例の症例においては非侵襲的脳刺激法による脳機能の調整効果が治療効果を増強する方法として期待される。本研究はパーキンソン病など運動障害疾患において非侵襲的脳刺激により運動機能・歩行機能を改善する刺激法の開発を目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

共同研究者の施設において開発・研究がなされてきた磁気刺激・低強度非侵襲超音波刺激などの非侵襲的脳刺激法を用い、刺激パラメータを調整することで、健常人において各皮質・皮質下領域の機能を調整(亢進・抑制)する刺激法を確立する。さらにこの刺激法を用いて、運動障害ネットワークに含まれることが明らかにされてきた腹側運動前野・背外側前頭前野、補足運動野、頭頂葉などの皮質領域、被殻・尾状核などの皮質下領域をターゲットとした刺激を行い、機能を調整することで、パーキンソン病などの運動障害患者の運動機能・歩行機能を改善できる刺激法を開発する。

3. 研究成果(経過)

健常人において連続磁気刺激法を用いて運動野を刺激し、刺激後一次運動野の神経可塑性の変化(運動野の興奮性の変化)がどのように誘導されるかを検討した。具体的には運動野の興奮性を、運動野を刺激して得られる運動誘発電位の振幅を指標に調べ、刺激後この振幅が経時的にどのように変化するかを検討した。連続磁気刺激法の刺激パラメータを調整しながら実験を行い、神経可塑性を最も効率的に変化させることができる、すなわち運動野の機能を効率的に調整(亢進・抑制)する刺激できる最適のパラメータを検討している。

43. メカノチャネル Piezo2 のマウス胎生期での発現解析

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
長瀬 美樹	医学部肉眼解剖学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
長瀬 敬	介護老人保健施設 国立あおやぎ苑立川	施設長	マウス胎児の回収、凍結切片作成、染色、 顕微鏡での観察

キーワード

メカノバイオロジー、Piezo2、発生生物学、神経堤細胞、マウス胎児

研究分野

発生生物学

1. 共同研究の目的

研究代表者の現在のテーマは、メカノレセプターPiezo1,2 の腎臓及びその病態における発現と機能の研究である。このうちPiezo2 は高血圧モデル動物の腎線維化部分の間質細胞に発現していることを見出した。Piezo2 は末梢神経のメカノレセプターとして主に検討されている。発生学的には末梢神経は神経堤細胞由来である。Asada et al.(2011)は腎線維化部位に神経堤由来の細胞が関与するという論文を出しており極めて興味深い。かつ共同研究者は胎生期の神経堤細胞の研究で医学博士を授与されている。これらのことから、腎臓のPiezo2 陽性細胞が神経堤由来との仮説のもと、胎生期のPiezo2 の発現解析を行う共同研究を計画した。

2. 共同研究の内容・計画

- ①マウス胎児の回収（胎生 9.5 日～当該研究期間では胎生 15.5 日ころまで）
- ②クライオスタットによる凍結切片の作成
- ③RNAscope in situ hybridization 及び免疫染色での以下のマーカーの染色・共染色
 - ・ Piezo2・腎臓（後腎）マーカー：Six2, Foxd1, Pax2, Neph1, Epo など
 - ・ 副腎マーカー：tyrosine hydroxylase など
 - ・ 神経堤マーカー：p75^{NTR}, P0, Pax3, Sox9, Sox10, Pou4f など
- ④蛍光顕微鏡及び共焦点顕微鏡による観察

3. 研究成果（経過）

まず、胎生（E）9.5 をポジコンとして各種神経堤細胞マーカーの染色を RNAscope in situ hybridization で確認した。そのうえで現在までに E11.75, E13.75, E15.75 での Piezo2 および神経堤マーカー、腎臓特異的マーカーの発現解析を行っている。

E11.75 では Piezo2 は神経堤由来というより、中胚葉由来の組織に多く局在しているようである。しかし他の神経堤マーカーや腎臓マーカーの発現も不明瞭で、切片の状態も悪く、今後さらに検討を加える。

E13.75, E15.75 では、Piezo2 は後根神経節（神経堤由来）に発現しており、metanephros においては我々の既報の報告の通り FoxD1 陽性の間質細胞にも発現していた。そのほかの組織にもかなり広範に（ユビキタスではなく、バックグラウンドでもない）発現が認められるようである。

今後胎生期をさらに細かいステージに分けつつ、最適な切片の切り出し方向、染色条件を繰り返し検討して、観察を反復して、発現パターンのより詳細な理解把握に努めていく所存である。

② 保健学部

44. 医療機器用熱交換器の開発研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
磯山 隆	保健学部臨床工学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
中村 淳史	保健学部臨床工学科	講師	設計、性能試験、解析評価
小林 信彦	太陽工業株式会社	相談役	技術的助言

キーワード

人工心肺、熱交換器、体温コントロール

研究分野

体外循環学

1. 共同研究の目的

一般的な開心術で用いる人工肺には患者体温を術中に低く維持するため熱交換器が内蔵されている。現状の熱交換器はステンレス製のパイプや高分子製の中空糸で構成されているが改善の余地があると考え。今回、太陽工業株式会社の協力を得ながら新しい構造で高効率な熱交換器の開発研究を開始する計画である。高効率もしくはコスト低減等の結果が得られれば医療機器の進化改良に貢献できる。

2. 共同研究の内容・計画

太陽工業株式会社が保有する熱交換ユニットの独自技術を医療における人工肺の熱交換器に応用する共同研究である。本学側で医療用熱交換器としてのポート配置や熱交換ユニットのサイズ等の要求仕様を決定し、太陽工業株式会社と協力しながら熱交換器プロトタイプを試作する。本学臨床工学科は熱交換能力の計測機器を有するため試作プロトタイプの性能試験及び評価を実施しながら改良設計を繰り返す計画である。

3. 研究成果（経過）

太陽工業株式会社が保有する熱交換ユニットの独自技術を医療における人工肺の熱交換器に応用する共同研究である。本年度は本学臨床工学科で熱交換能力の計測機器の整備及び計測手法の検討を実施し、中村講師が所属する臨床工学科循環器グループの卒業研究テーマ「人工心肺で使用される熱交換器の効率に関する検討」として取りまとめた。具体的には熱交換効率を計測するための実験装置の組み立てと市販人工肺に内蔵された熱交換器の熱交換効率を血液流量と冷温水槽の流量から計算する計測手法が確立できた。

来年度は本学側で医療用熱交換器としてのポート配置や熱交換ユニットのサイズ等の要求仕様を決定し、太陽工業株式会社と協力しながら熱交換器プロトタイプを試作し、性能試験及び評価を実施する計画である。

45. 3T MRI における全身の高速・高精細撮像法についての研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
久原 重英	保健学部	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
市之瀬 伸保	キャノンメディカルシステムズ (株)	主席	共同研究者 (パルスシーケンス改良等)

キーワード

MRI、3T、高速撮像、高精細撮像、深層学習

研究分野

MRI

1. 共同研究の目的

MRI の形態・機能等の情報取得機能に基づき、臨床的観点及び MRI シミュレータも用いた定量的観点から、深層学習の手法も併用して、MRI の高速・高精細撮像を可能とする撮像法・操作法及び画像処理法等に関する研究を行う。今年度は、マルチパラメータマッピング、fMRI、冠動脈 MRA を中心に、深層学習を併用した手法による性能向上の可能性について検討する。

2. 共同研究の内容・計画

マルチパラメータマッピングに関しては、撮像パラメータの最適化に加え、深層学習を用いた手法にて定量精度の向上が可能かについての検討を行う。同様に、fMRI に関しては基本画質の向上について、冠動脈 MRA については撮像操作の簡略化・確実化も含めた画質向上について、深層学習を用いた手法での性能向上の可能性について検討する。
パルスシーケンス側の改良等は、主にキャノンメディカルシステムズ (株) にて行い、データ処理ならびに得られた画像の評価等を本学にて行う。

3. 研究成果 (経過)

心筋 T1 Mapping に関しては、MRI シミュレータを用いた Dictionary Matching 法により、定量精度の向上ならびに不整脈の影響の低減を図り、その成果は MRMS (Magnetic Resonance in Medical Sciences) 誌ならびに RPT (Radiological Physics and Technology) 誌に掲載された。また高速 3D 撮像法と本手法 (Matching 法) を用いたマルチパラメータマッピング法も提案し、日本磁気共鳴医学会 (令和 4 年 9 月)、ならびに医用画像研究会 MI (令和 5 年 3 月) にて発表した。fMRI を含む MRI の画質改善に関しては、画質向上のキーとなる静磁場調整技術 (シミング) に関し、機械学習を用いた Phase Unwrapping 技術を提案し、同じく日本磁気共鳴医学会、ならびに医用画像研究会 MI にて発表した。冠動脈 MRA に関しては、機械学習を用いて、MRI シネ画像から左右の冠動脈の静止期間を同時に検出する手法を提案し、ISMRM (International Society for Magnetic Resonance in Medicine) に採択され、発表予定 (令和 5 年 6 月) である。

なお、MRI 実機上のパルスシーケンスの改良等については主にキャノンメディカルシステムズ (株) にて行い、得られた画像データの解析法の開発ならびに精度の評価等を本学にて実施した。

46. 安静臥床状態での神経筋電気刺激療法が静脈還流量に及ぼす影響

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
柴田 茂貴	保健学部理学療法学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
松嶋 真哉	聖マリアンナ医科大学 横浜市西部病院	主任	実験計画・検査測定者

キーワード

神経筋電気刺激、理学療法、重症患者、循環動態、静脈還流量

研究分野

理学療法・基礎

1. 共同研究の目的

集中治療室に入院した重症患者の様な臥床時間が長い患者に対して、受動的に実施可能な運動・トレーニング方法として神経筋電気刺激(NMES)が用いられる。NMESは筋力の維持のみならず運動耐容能維持を目的とした有酸素運動としても応用できる可能性が示されている。しかし、NMES実施中の循環動態を詳細に検討した報告は少ない。そこで、NMESを用いた運動を実施した際の静脈還流量に着目し、循環動態の変化を明らかとすることを目的とした。

2. 共同研究の内容・計画

健常成人に対して下肢・体幹にNMESを実施し、その際の静脈還流量をはじめとする循環動態を測定する。また安静時、NMES単独、NMESに下肢の他動運動を併用した運動、および能動運動実施時と比較し、それぞれの特徴を検討する。

対象：健常成人 10～15名予定

使用機器：ベルト型NMES(G-TES:株式会社ホームイオン研究所)

測定項目：超音波画像診断装置(EPIQ 7, Philips, Eindhoven, The Netherlands)を用いて、下肢の静脈、下大静脈の血流速度や右心系の壁運動を測定する

3. 研究成果(経過)

新型コロナウイルスの感染状況を考慮して、人を対象とした本研究は行わなかった。

47. 体外循環回路でのチューブコネクタ接続部の改良に関する研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
福長 一義	保健学部臨床工学科	教授	統括

共同研究者

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

キーワード

ECMO、体外循環、血液回路、人工心肺装置、人工心臓

研究分野

臨床工学

1. 共同研究の目的

ECMOなどの体外循環回路のチューブとコネクタの接続部にはわずかな段差が生じる。この段差により、血流が乱れ、血液適合性が低下することが指摘されている。そこで本研究では、チューブの接続・固定方法の工夫やコネクタ形状の改良などによって、接続部の血栓を減少させられるかについて検討を行う。

2. 共同研究の内容・計画

現在臨床に使用されている製品（チューブとコネクタ）をベースに、コネクタの形状やチューブの接続・固定方法などを変更した検証モデルを設計し、モデリングマシンや3Dプリンタを活用して検証モデルを試作する。接続部の流れの変化を評価するために、油膜法を応用した流れの可視化を行う。検証モデルの実験結果から、段差部の洗い流しの差異についてデータを収集し、製品改善に向けた足がかりを探っていく。

3. 研究成果（経過）

体外循環回路では人工肺やチューブ同士を接続するためにコネクタが用いられている。コネクタとチューブの接続部には段差があるため、流れが停滞し、血栓形成の原因となっている。本共同研究では、コネクタ接続部の壁面近傍の流れを観察するために、油膜法を用いた評価方法を検討してきた。今回、コネクタとチューブを接続する際に生じるチューブの曲がり具合による流れの影響や、チューブサイズを変更するための異径コネクタの流れについて検討した。

油膜法は物体表面に油を塗布し、洗い流しの状態から壁面近傍の流れを観察する方法である。油膜用の試料は、流動パラフィン、油煙、オレイン酸を混合して作成した。被観察面に油膜 20 μ L を塗布し、3 L/min または、5 L/min で 5 分間洗い流した際の状態をビデオ撮影した。異径コネクタ（6、10 mm 変換）および、コネクタ近傍のチューブの曲がり具合（半径 4 cm、8 cm）を対象とした。

先行研究の結果と同様に、流入側と流出側の洗い流しを比較すると、すべての実験で流出側の洗い流しが悪かった。異径コネクタ（10 mm→6 mm）において、流路が細くなることで流速が増加し、洗い流しが改善されることも予想されたが、今回の条件では流出側の洗い流しは改善されなかった。また接続部ではなく異径コネクタ内部に油膜の停滞がみられた。コネクタを切断して観察したところ製造時のバリが残っていることがわかった。このバリと流路の拡大による流れの剥離により多量の油膜が停滞したものと考えられた。チューブの曲がりの影響を観察したところ、すべての条件で曲がりの内側段差部に流れの停滞が見られ

た。以上のように本共同研究期間を通して、様々な条件で回路接続部の段差近傍の流れを詳細に検討し、製品改善に向けた基礎データを収集できたことが成果である。

48. 鼻腔炎症に起因する嗅覚機能及び摂食行動の変化と脳腸連関の変動

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
石井 さなえ	保健学部臨床検査技術学科	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
大崎 敬子	医学部感染症学	教授	腸内細菌叢解析、短鎖脂肪酸解析
楠本 郁恵	鹿児島大学大学院	助教	行動解析

キーワード

脳腸連関、鼻腔炎症、摂食行動、嗅覚機能

研究分野

病態神経科学

1. 共同研究の目的

疫学的研究および動物実験から、鼻腔炎症が精神疾患を誘発するリスクが指摘されている。マウスを用いた自身の研究結果から、「慢性鼻腔炎症が嗅覚機能、摂食行動、脳腸連関の変動を介して精神疾患を引き起こし、炎症収束に伴い回復する」という仮説をたてた。本研究では、慢性鼻腔炎症マウス及び鼻腔炎症からの回復マウスにおいて、嗅覚機能と摂食行動、腸内細菌叢とその代謝産物、鼻腔と脳組織をモニターし、変化が起こるタイムコースを明らかにする。

2. 共同研究の内容・計画

成体雄マウスの両側鼻腔にリポ多糖を繰り返し投与することで、慢性鼻腔炎症マウスを(3回/週、10 μ L/片鼻腔)、投与を中止することで鼻腔炎症からの回復マウスを作製する。投与開始から1, 3, 10週目、投与中止から1, 3, 10週目に以下の実験を行う。

- ①嗅覚機能と摂食行動の行動学的解析(鹿児島大・医歯学研の楠本助教)：匂い順化試験、餌水摂取量の測定を行う。
- ②腸内細菌叢とその代謝産物解析(杏林大・医の大崎教授)：糞便及び盲腸便を用いて腸内細菌叢の16Sメタゲノム解析と、短鎖脂肪酸解析を行う。
- ③鼻腔と脳組織の組織学的解析(石井)：固定サンプルを用いた免疫染色を行う。

3. 研究成果(経過)

慢性的な鼻腔炎症は精神神経疾患の原因になりうる。マウスを用いたこれまでの研究から、慢性鼻腔炎症により嗅球の萎縮、腸内細菌叢の変動、成長に伴う体重増加の抑制が起こることを明らかにした。そこで本研究では、慢性鼻腔炎症が摂食調節機構にどのように関与するかを明らかにすることを目的とした。8週齢の雄マウスの両側鼻腔に生理食塩水もしくはリポ多糖(LPS)を週に3回、10週間投与し、投与後は無処置のまま10週間飼育した。LPS投与群では投与開始から数週間で、摂食量の減少、体重増加の抑制、軽微な嗅覚機能の低下が見られた。組織学的解析により、LPS投与群では嗅上皮の損傷と、広範囲の脳領域におけるグリア細胞の活性化が見られた。また、腸内細菌叢のメタゲノム解析の結果、LPS投与群では、腸内細菌叢の成熟と環境順化が遅れる可能性が示された。これらの結果から、慢性鼻腔炎症は脳組織の損傷と腸内細菌叢の変動を介して摂食調節機構を乱す可能性が示された。今後はその分子機序を明らかにし、慢性鼻腔炎症が精神神経疾患を引き起こす機構解明及び予防・治療法の開発に貢献する。

49. トリプルネガティブ乳癌に対する新規治療抗体の樹立

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
水谷 奈津子	保健学部臨床検査技術学科	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
松岡 周二	順天堂大学	特任准教授	完全ヒト抗体産生マウスを用いた抗体樹立の補助と抗原分子同定
堀本 義哉	順天堂大学	准教授	治療実験及び治療実験マウスの病理診断

キーワード

モノクローナル抗体、トリプルネガティブ乳癌、Basal type2、完全ヒト抗体産生マウス

研究分野

免疫診断学・病理学

1. 共同研究の目的

- トリプルネガティブ乳癌に対する新規治療抗体を樹立する。トリプルネガティブ乳癌には、さらにサブタイプが5ないし6の型に分類されており、その中で予後が特に不良とされている Basal type2, と LAR type に的を絞り、抗体樹立を目指す。
- 免疫に使用するマウスは、完全ヒト抗体産生マウスを用いる。樹立された抗体は、既にヒト化されている状態である。治療に有望な抗体が得られた時には、別途臨床研究も含めて計画書を作成する。

2. 共同研究の内容・計画

- 完全ヒト抗体産生マウスにトリプルネガティブ乳癌の培養細胞(MDA-MB453,HCC70,HCC1806)を2週間毎に交互に免疫を3ヶ月間行い、免疫マウスの脾臓細胞とミエローマ細胞と細胞融合することによりハイブリドーマを作成する。その中から前述の乳癌細胞に対する抗体を選択する。
- 樹立抗体を乳癌の他の組織型培養細胞及び他臓器癌の培養細胞と反応させ FACS を用いて結合性の有無を確認する。これにより特異性を確認する。またマウスを用いた治療実験を行い、治療効果を確認する。
- 最も有望な抗体を選択し抗原解析を行い、抗原分子を同定する。

3. 研究成果（経過）

- 完全ヒト抗体産生マウスへ、トリプルネガティブ乳癌の培養細胞（ヒト）の MDA-MB453(LAR type), HCC-70・HCC-1806(Basal 2 type)を交互に5ヶ月間免疫して、免疫マウスの脾臓細胞と P3U1 細胞とをポリエチレングリコール法にて細胞融合を行った。今回からはその他の業務の事を考えて摘出した脾臓細胞は赤血球処理を行って2分割し、半分は-80℃に保存して2回に分けて細胞融合を行うことにした。1回目の1stスクリーニングでは、1つも有効な抗体は得られなかった。現在は、2回目の細胞融合後のスクリーニング中である。
- 完全ヒト抗体産生マウスはクローンが少数である場合が多く、BALB/c マウスへの免疫も並行して行う事にし、BALB/c マウスの方は現在免疫中である。2ヶ月後に細胞融合を予定している。

50. 医用テレメータ使用環境下における院内電波環境の評価方法の検討

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中島 章夫	保健学部臨床工学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
木南 伸一	金沢医科大学氷見市民病院	教授	研究全体の立案
余川 絢音	金沢医科大学氷見市民病院	臨床工学技士	データ収集、及び分析、アンケート調査
鈴木 哲治	保健学部臨床工学科	助教	測定環境モデル・評価方法の確立

キーワード

医用テレメータ、電磁波ノイズ、LED 照明器具、無線チャンネル管理、スペクトラムアナライザ

研究分野

医療電磁環境

1. 共同研究の目的

近年、携帯電話や無線 LAN 等の普及に加え、LED 照明器具の導入により、医療機関における医用テレメータの電波利用に伴うトラブル事例が生じるケースが顕在化している。総務省や電波環境協議会によれば、医用テレメータにおける電波障害に関して多くの事例が報告されている。一方、臨床現場での無線チャンネル管理は 48.1%に留まっている☆)。そこで、医用テレメータ使用環境下にて、院内設置の照明器具や通信機器、エネルギーを発する医療機器等から放射される電波を定量的に測定（電波干渉等の影響を調査）し、院内電波環境の新たな評価方法を検討することを目的とする。

(☆電波環境協議会,医療機関において安心・安全に電波を利用するための手引き (改訂版). 電波環境協議会. 2021. p24-32. https://www.emcc-info.net/medical_emc/info20210700.html)

2. 共同研究の内容・計画

本研究は、電波を測定するアンテナシステムと電波の電力・電界強度を周波数成分で計測・解析可能なスペクトラムアナライザを用いて、院内医用テレメータ使用状況下における電波環境の評価を定量的に行う。過去 3 年間にわたり金沢医科大学氷見市民病院院内病棟にて、使用されている医用テレメータのアンテナ方式・チャンネル範囲、CN 比等について複数病棟で調査を行い、セントラルモニタでの受信障害が発生し対策を講じた研究の一部を本年度の電子回路研究会（非線形電子回路および電子回路一般、2021 年 12 月 23 日、Web）、及び第 95 回日本医療機器学会（2021 年 11 月 15 日～17 日、Web）にて発表した（筆頭演者：余川絢音）。今後、これら受信障害発生を防止することを目的とし、医用テレメータ使用環境下において、ナースコール等通信機器、他医療機器からの電磁干渉の原因を調査する。また、アンテナシステム、スペクトラムアナライザを用いて、測定調査結果から電磁干渉が生じた病棟や、照明器具などを交換した病棟、新規に導入した高出力エネルギーを持つ医療機器の使用場所等を中心に、院内医用テレメータ使用環境下での電波の電力・電界強度の測定・分析を行い、電波環境の新たな評価方法の確立を検討する。杏林大学では、測定環境モデルの確立、データ分析、院内電波環境の評価方法の分析を行う。

3. 研究成果（経過）

本研究は、電波を測定するアンテナシステムと電波の電力・電界強度を周波数成分で計測・解析可能なスペクトラムアナライザ（以下スペアナ）を用いて、院内医用テレメータ使用状況下における電波環境の測定・解析による定量評価を目的としている。2022 年度は、2021 年から引き続き、テレメータ信号電波が規定通りに送受信されない電磁障害への対策・電波環境の調査結果

について、その研究成果を、電気学会電子回路研究会「超スマート社会の実現に向けて障害となる雑音の事例・計測・対策など」(2023年3月23日、東京都市大学) ECT-0023-027「医用テレメータの電波障害に起因した電波環境の調査：中島章夫」として発表した。また、2022年8月29日付けで日本医療機器学会の学会誌、医療機器学へ(医用テレメータ用漏洩同軸ケーブル再敷設前後における電磁波環境の定量的評価、筆頭著者：余川絢音)として論文を投稿し、原著論文として掲載された(医療機器学、vol.92、No.4、pp389-399)。

51. 超高磁場 fMRI による身体バランスの危機認知に応答する神経機構の同定

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
跡見 友章	保健学部理学療法学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
菊池 吉晃	東京都立大学	客員教授	高次脳機能解析
久原 重英	保健学部	教授	MRI の計測と解析
小林 邦典	保健学部	非常勤講師	MRI の計測と解析

キーワード

fMRI・身体バランス・危機認知

研究分野

総合領域

1. 共同研究の目的

近年社会的問題となっている高齢者の転倒恐怖感のように、身体バランス制御の破綻はヒトの高次な認知機能や行動にも影響を与える。一方で身体バランス制御と高次脳機能との関係性に関する研究は方法論的制限により少ない。申請者らは fMRI による先行研究にて、実際に不安定なバランス課題を経験した場合に、身体バランスが不安定な動画の提示によって、身体の危機認知に関する脳領域が活動することを示した (Atomi T, Kikuchi Y, 2014)。本研究では、バランス課題未経験の被験者に対して、先行研究同様の刺激動画を用いて運動イメージを行う条件で脳活動を計測し、先行研究の結果と比較する。

2. 共同研究の内容・計画

1. 研究の概要

本研究では、身体バランスの不安定性を表す刺激動画に対して、「動作観察課題と運動イメージ課題の併用」により能動的に自己投影する条件で活動する脳領域を確認する。

2. 対象者：健康な右利き成人男性 30 名

3. 課題：身体バランスの安定性に関する 2 種類の刺激動画を提示した際の脳活動を含む生理反応および主観的データを計測する。

4. 計測項目：①脳活動 (fMRI)、②生理データ (心電図・呼吸)、③主観評価

5. 解析：

①fMRI：解析ソフト SPM10 を用いて脳活動の解析および相関解析などを実施する。

②生理データ：呼吸リズム・心拍のパターンについて解析を実施する。

③主観的評価：各アンケート結果に対して ANOVA や多重比較などの統計解析を行う。

④脳活動と主観評価との関係：各データと脳活動との相関解析などを実施する。

3. 研究成果 (経過)

2022 年度：

新型コロナウイルス感染症による影響で延期していた本実験を終了し、解析を進めている。

実験デザイン：バランス課題実施時の刺激動画を用いた fMRI 実験の実施と結果：

- ①対象：健常な右利き若年成人男性 16 名を対象に実験を実施した。
- ②バランス課題：加速度センサを頭部等に装着、重心動揺計上での片脚立位課題を実施した。
- ③fMRI 課題：2 条件のバランス課題（安定，不安定）の刺激動画に対して，自分自身が能動的に課題を実施しているようにイメージして観る条件（Motor Image：以下 MI）および他者が行っているのを観る条件（Action Observation：以下 AO）の 2 条件の観点を設定し，刺激提示時の脳活動を fMRI により計測した。
- ④解析：バランス課題は、頭部、胸部、骨盤部、足部における加速度の関係性を相関解析などにより実施中である。fMRI 課題は、個人解析および集団解析により有意に活動が得られる脳領域について解析を実施中である。

52. 姿勢保持および日常的動作の安定性に関わる頭部および体幹部評価法の構築

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
跡見 友章	保健学部理学療法学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
田中 和哉	帝京科学大学	講師	実験の計画、計測、解析、考察
藤木 聡一郎	獨協医科大学	講師	実験の計画、解析、考察
跡見 順子	東京農工大学	特任教授	実験の計画、解析、考察
清水 美穂	東京農工大学	特任准教授	実験の計画、考察
畠山 望	東京農工大学	研究生	実験の計画、計測、解析、考察
高田 勇	東京農工大学	大学院生	実験の計画、計測、解析、考察

キーワード

身体バランス、動作解析、加速度センサ、動画解析

研究分野

総合領域

1. 共同研究の目的

近年、ロコモティブシンドローム（運動器症候群）の概念が提唱され、身体バランスや歩き方など、運動の質的側面に着目した評価系の確立が必要となっている。

人体において頭部を含めた体幹部の質量比は、身体全体における60%を占めるとされており、歩行動作や坐位での日常生活動作における効率性や安定性に大きな影響を与える。従って、姿勢・動作制御戦略における頭部・体幹部の評価は動作安定性および効率性の指標に含む必要がある。一方で、現在のバランス能力の評価系にはそれらの評価は含まれていない。

本研究は、汎用性の高い計測機器によって、立位姿勢や歩行における身体部位の偏位の質的な評価が可能となることを目的として実施する。

2. 共同研究の内容・計画

各種の姿勢保持および動作遂行課題を実施時の安定性について検討する。

- 計測機器：4Kビデオカメラ2台・9軸加速度センサ5個（センサ貼付部位：頭部・体幹部・骨盤・両足部）
- 動画解析：動画解析ソフトを用い、矢状面および前額面における頭部・体幹部・骨盤・下肢の平面座標を算出し、空間的位置偏位を検討
- 加速度解析：頭部・胸郭・骨盤に生じる3軸加速度・3軸角加速度変化を算出
- 評価：課題実施時の各体節における垂直性および加速度・角加速度変化を検討する。

なお、本申請研究は杏林大学倫理審査委員会の承認を得ており（2019-5）、研究を開始している。

3. 研究成果（経過）

2022 年度においては、本実験で実施した片脚立位課題実施時における、頭部・胸郭部・骨盤部・両上肢・両下肢の各セグメントに生じた加速度の関係性について解析を実施した。

解析は、各課題遂行時の 3 軸方向の加速度について、片脚立位時に荷重軸となる頭部、胸郭部、骨盤部、荷重側下腿部に加速度が生じるタイミングを位相解析によって検討した。加速度は、3 軸方向の合成加速度から算出した実効値を用い、位相解析については、合成加速度の波形について位相角を算出し、各セグメント間の位相の同期度について位相同期値を算出した。統計的検定としては、頭部・胸郭部・骨盤部を対とする位相同期値と、頭部・胸郭部・骨盤部と右下肢を対とする位相同期値に対し、センサ対と条件（開眼、閉眼）を要因とする二元配置分散分析を実施した。結果として、胸郭部－荷重側下肢の位相同期値は、頭部・骨盤部と荷重側下肢に比較して有意に高値を示した。本研究の結果より、片脚立位時には頭部と骨盤部、胸郭部と荷重側下肢に生じる加速度の時系列的類似性が高まることが示された。

本研究の成果は、日本生理人類学会第 83 回大会（2022. 10. 29, 京都）にて発表した。

53. 腫瘍形成 HPV のゲノム網羅解析による上皮内腫瘍の進展予測に関する研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大河戸 光章	保健学部臨床検査技術学科	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小林 陽一	医学部産婦人科	主任教授	細胞擦過・組織生検・コルポ診
笹川 寿之	金沢医科大学	主任教授	プライマー・プローブ設計
小田 瑞恵	こころとからだの元気プラザ	診療部長	細胞擦過・組織生検・コルポ診

キーワード

ハイリスク型 HPV 子宮頸部上皮内腫瘍

研究分野

病理学

1. 共同研究の目的

ヒト乳頭腫ウイルス (HPV) ワクチン接種が滞っている状況で、子宮頸がんを減少するためには、前癌病変である子宮頸部上皮内腫瘍を早期発見し、癌進展前に治療することが重要である。現在、進展予測の指標として 8 種の HPV 型が示されている。しかし 8 種の型陽性例を経過観察してもほとんどは消退するため、新たな指標の発見が熱望されている。本研究課題の目的は、上皮内腫瘍の進展と HPV ゲノム網羅解析の関連性を調査することにより、腫瘍を形成する特定の HPV 型 (腫瘍形成 HPV) が進展に関与することを明らかにすることである。腫瘍形成 HPV と進展との関連性が明らかになることで、的確な治療が可能となり、多くの女性がかもつ上皮内腫瘍に対する不安・恐怖心が払拭され、さらに子宮頸がん減少に貢献できることが期待される。

2. 共同研究の内容・計画

uniplex E6/E7 PCR 法による HPV の網羅解析によって、細胞診標本上の多核細胞が HPV16 型、HPV34 型などの特定の遺伝子型による変化であること、上皮内病変 1 細胞が 1 種類の HPV 型感染による変化であること以下の論文で公表した。来年度も引き続き、研究を継続する。

Profiles of human papillomavirus detection of the multinucleated cells in the cervical smears. *Microorganisms* 2021, 9(8), 1575

Human papillomavirus infection status of single cells isolated from cervical cytology specimens by simple manual microdissection

J Med Virol, 2021, 93(8), 5084-5094

3. 研究成果 (経過)

子宮頸部上皮内腫瘍において HPV のゲノム解析を実施して以下の結果が得られた。

uniplex E6/E7 PCR 法による HPV の網羅解析によって、子宮頸部上皮内腫瘍由来の HPV 感染細胞が腔に蓄積して、子宮頸部だけでなく腔病変の発生に関与することを以下の論文で公表した。この結果に基づくと子宮頸部上皮内腫瘍の発生は、HPV 型ごとの組織トロピズムも影響する可能性があり、引き続き解析を実施する予定である。

Okodo M, Okayama K, Teruya K, Tanabe K, Ito C, Ishii Y, Fujii M, Kimura H, Oda M.

Effects of menstrual cycle on the accumulation of human papillomavirus-infected cells exfoliated from the cervix that drift into the vagina

Microorganisms, 2022, 10(4), 693; <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040693>

54. 微細加工技術を応用した放射線検出器の開発

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
小池 貴久	保健学部診療放射線技術学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
宇野 彰二	高エネルギー加速器研究機構	教授	検出器の設計、計測回路の設計

キーワード

放射線検出器、MPGD、GEM、中性子線、BNCT

研究分野

総合領域

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

新たに開発した GEM 自体の評価・開発を含めた検出器に関する基本パラメーターの測定や、信号処理の電子回路設計・評価を含めた検出器システムの研究・開発を行う。

今年度は実際のパルス中性子場での実験も計画し、検出器開発を進める予定である。検出器の開発・組立は主に KEK で行い、装置の性能・特性評価等について本学の放射線機器を用いて行う。

3. 研究成果（経過）

本研究では微細加工技術を応用した放射線検出器の 1 つである Gas Electron Multiplier (GEM)の開発を含めた放射線検出器に関する基本パラメーターの最適化や、放射線検出器の信号処理電子回路設計を含めた検出器システムの研究・開発を行っている。今年度も、中性子捕捉療法（BNCT）用のビームモニタとして活用するために装置の改良を進めた。特に要求される仕様に合わせた改良（エネルギー弁別能の向上と反応断面積の向上）を加えることができた。装置評価のために加速器ベースの中性子照射場でのテストを予定していたが、照射装置の不具合により実施が延期となった。次年度の実施に向けて装置とデータ処理プログラムの改良を進めている。

55. キチンに対する生体応答機構の解明

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
新江 賢	保健学部臨床検査技術学科	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
中江 進	広島大学大学院	教授	遺伝子改変マウスの作製・提供
松本 健治	成育医療研究センター	研究部長	実験機器等の研究支援

キーワード

キチン、アレルギー、キチナーゼ様タンパク質

研究分野

免疫・アレルギー

1. 共同研究の目的

申請者は、ダニ外殻の主要な構成成分であるキチンが、新規のダニアレルギー誘発物質であることを明らかにしている。さらに、キチナーゼ様タンパク質 **Chil1** が、キチンによる免疫細胞の活性化に関与することを明らかにしており、キチンによるダニアレルギーの誘発に関与している可能性がある。そこで、本申請では、新規のダニアレルギー発症機構の解明を目的として、**Chil1** を中心とするキチンシグナル伝達機構の解明を目指す。

2. 共同研究の内容・計画

Chil1 を中心とするキチンシグナルの伝達経路を解明するため、以下の検討を実施する。

1) **Chil1** 産生細胞の同定

Chil1 は、マウスの肺胞洗浄液中に一定量存在するが、その産生機構は不明である。そこで、肺組織細胞中の **Chil1** 産生・分泌細胞を **FACS** にて同定する。

2) キチン/**Chil1** 複合体に対する細胞膜型受容体の探索

His 標識リコンビナント **Chil1** と、抗 **His** マグネットビーズを用いて、肺組織の溶解液からキチン/**Chil1** 複合体に結合する分子を同定する。

3. 研究成果（経過）

ダニの外殻を構成する多糖類キチンは、自然免疫依存的に気道炎症を誘発することが明らかとなっており、ダニアレルギーの原因となる他、**COPD** などの慢性炎症性呼吸器疾患との関連が示唆されている。しかしながら、本気道炎症の起点となるキチン受容体をはじめとしたキチン粒子のシグナル伝達機構の詳細はほとんど明らかとなっていない。申請者はこれまでに、可溶性のキチン粒子結合タンパク質の一つであるキチナーゼ様タンパク **Chil1** が、キチン粒子による気道炎症誘発に強く関わることを **Chil1** 遺伝子欠損マウスを用いた検討により明らかにしているが、**Chil1** の気道における産生細胞や産生機構は全く不明である。そこで、キチン吸入マウス肺細胞のセルソーターによる分取および、一細胞 **RNA** シークエンス (**scRNA-seq**) 解析を共同研究により実施した。その各クラスターにおける遺伝子発現量・パターンを解析した結果、**II** 型肺胞上皮細胞において **Chil1** の非常に強い発現が見られ、本細胞が **Chil1** 分子の主要な産生細胞であると推測された。今後は、本細胞をマウス肺よりソートおよび培養して、**Chil1** 産生の詳細なメカニズムについて検討する。

56. 全身性炎症による脳内炎症性環境が誘発する生体分子変化のイメージング質量分析

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
島田 厚良	保健学部臨床検査技術学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
袴田 秀樹	東京薬科大学	教授	イメージング質量分析計の指導
町田 晃一	東京薬科大学	助手	イメージング質量分析計の操作
小原 映	保健学部	助教	試料切片の作製とイメージング

キーワード

イメージング質量分析、敗血症、神経炎症、化学修飾

研究分野

病理学

1. 共同研究の目的

新生児敗血症モデルマウスでは、形成途上にある脳内ミクログリアが炎症性刺激に対して応答し、遺伝子発現を変える。この脳内炎症性環境は、生体分子の化学修飾を誘発して、形成期の脳にこれまで知られていない悪影響を与える可能性が高い。本研究では、敗血症に起因して脳のどの部位でどの分子がいかなる化学修飾を受けるのかを、Mass Spectrometry (MS；質量分析)の先端的技术である Mass spectrometry imaging (MSI)を用いて網羅的にスクリーニングする。

2. 共同研究の内容・計画

リポ多糖により全身性炎症を惹起した新生仔マウスから新鮮脳凍結切片を作製する。東京薬科大学の autoflex maX (Bruker 社)を用いて、切片上の生体分子を Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization (MALDI) によってイオン化する。次に、質量電荷比 m/z 値の違いで time-of-flight (TOF)が異なることを利用した MS を行って、生体分子の分布を二次元的にイメージングする (MSI)。2020 年度に本研究を開始し、脳内分布が変化する分子の存在を検出した。2022 年度は、各分子に適した matrix を工夫して、どの部位でいかなる化学修飾が生じるのかを定性的に同定する。その後は標的物質を抽出し、本学の TSQ Quantum Ultra LC/MS/MS system を用いて定量分析する。生体分子化学修飾の観点から、新生児敗血症に起因する脳症の解明に貢献したい。

3. 研究成果（経過）

新生児敗血症モデルの脳を質量分析イメージング(MALDI-TOF-MSI)を用いて分析した。Matrix としては 9-aminoacridine in 80% ethanol を切片に塗布し、negative mode で検出できることが分かった。これを用い広範囲の m/z の分布パターンを逐一撮像した。その結果、m/z 779.2、m/z 825.4 などの分子は、新生仔の脳で脳大脳白質に一致する分布パターンを示した。このことは、LPS による毒性は血液脳関門を破壊していないこと、また、7 日齢マウスの脳は白質でミエリン形成が盛んに進行することを示した。さらに、m/z 779.2 の分子は、RIKEN LIPIDOMICS のデータベースにより、phosphatidylcholine か sulfatide と考えられ、m/z 825.4 の分子は phosphatidylethanolamine の可能性があり、いずれもミエリン構成脂質と考えられた。以上のことから、本年度の研究ではミエリン形成に関する異常として、「全身性炎症に応答するミクログリア/Mφ は、脳組織のミエリン形成を支持する能力が低くなっている」と考えるに至った。

57. 乳腺小葉癌に対する新規抗体作製及びその解析

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
水谷 奈津子	保健学部臨床検査技術学科	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
松岡 周二	順天堂大学	特任准教授	抗原分子同定
堀本 義哉	順天堂大学	准教授	臨床例選択・病理組織症例判定

キーワード

モノクローナル抗体、乳腺小葉癌、特異性、抗腫瘍活性

研究分野

免疫診断学・病理学

1. 共同研究の目的

- 1.乳腺小葉癌に対して特異的に陽性を示す新規診断抗体を樹立する。
免疫組織化学染色にて現状では、乳腺小葉癌にていして特異的に陽性を示す抗体がない。E-cadherin,β-catenin に陰性を示すのが小葉癌であるとの病理組織診断の現状に着目し、特異的に陽性を示す診断抗体を樹立する。
- 2.抗体の他の腫瘍との結合性の解析
原発不明癌の診断にも使用可能である抗体の選択のために、他臓器癌の FACS 解析を通じて特異性を検証する。

2. 共同研究の内容・計画

- 1.2021 年に BALB/c マウスへの乳腺小葉癌の培養細胞の免疫・細胞融合・スクリーニングにより得られた数クローンについて、その中で最も有望な個体について抗原分子を同定する。
- 2.乳癌の他の組織型培養細胞および他臓器癌の培養細胞に対する結合性について FACS を行い解析する。またすでに病理診断が終了している過去の臨床例のパラフィン切片での特異性の確認を行う。FACS について一部は確認済みであるがパラフィン切片についてはこれから行う。順天堂大学医学部倫理委員会承認済み（承認番号：順大医倫第 2019040 号）杏林大学保健学部倫理委員会承認済み（承認番号：2020-12）

3. 研究成果（経過）

- 1.乳腺小葉癌に対する新規診断抗体樹立について
今年度も細胞融合を行った。結果として6抗体が採れた。
- 2.1のうち3抗体が免疫組織化学染色に用いる事が可能である。臨床例を用いてテスト染色を行い、小葉癌3症例であるがまだ途中であるが现阶段では小葉癌の部位が陽性として染色されている。
- 3.1の抗体について他腫瘍由来の培養細胞株との FACS 解析を行なっている。いくつかは他の腫瘍由来の細胞株と結合する結果が得られている。特異性が高い抗体も判明している。今年度は、正常な細胞株や組織片で陰性を示すかを確認する予定である。
- 4.1の有望な抗体についてヌードマウスを用いて腹水作製を施行したがいずれも採取出来なかった。そこでハイブリドーマ細胞を大量培養して精製し、抗原分子を同定する事にした。現在その作業中である。今年度中には、抗原分子を同定したい
- 5.抗腫瘍活性の検討については余裕があれば行う。

58. 介護保険施設入所高齢者の入退院連携システムの開発

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
坂井 志麻	保健学部看護学科	教授	統括

共同研究者

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

キーワード

入退院支援 介護保険施設 連携

研究分野

高齢者看護学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

2021 年度実施した病院・施設の連携状況に関するヒアリング調査より質問紙調査の調査項目を洗練し、介護保険施設入所者の入退院支援プロセスにおける、病院・施設間連携の実態、入院を契機に医療機関へ退所となった介護保険施設高齢者の特徴について、関東圏 1 都 6 県の特養ならびに老健施設全施設 3000 施設へ郵送法による自記式質問紙調査を実施する。病院・施設間の連携プロトコルの作成と連携に必要な情報共有ツールを作成する。

3. 研究成果（経過）

介護保険施設入所者の入退院支援プロセスにおいて、病院・施設の連携担当者がどのような連携を実践しているのか、また入院を契機に医療機関へ退所となった介護保険施設高齢者の特徴とはどのようなものか明らかにするために、半構造的質問法によるインタビュー調査結果の分析を行った。研究成果を 10 月の日本エンドオブライフケア学会第 5 回学術集会で「介護保険施設入所者の入退院支援プロセスにおける本人の意向をつなぐかわり」を演題発表した。さらに 12 月に日本看護科学学会第 42 回学術集会で「介護保険施設入所者の入退院支援プロセスにおける病院・施設間連携の課題」で演題発表した。

59. 高脂肪食モデルマウスを用いた腸管 IgA 局在と IgA 分泌量の変化の検証

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
丹羽 正利	保健学部作業療法学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
坂本 祐太	健康科学大学	助教	形態学的構造、免疫組織化学的所見の解析
志茂 聡	健康科学大学	教授	形態学的構造、免疫組織化学的所見の解析
村松 憲	保健学部	准教授	糖尿病による所見の解析

キーワード

高脂肪摂食、急速凍結、腸管免疫、可溶性血清蛋白

研究分野

総合領域

1. 共同研究の目的

肥満や糖尿病患者は易感染性であり、感染後の重症化リスクが高いことが臨床上の問題点として知られている。我々は、高脂肪食を投与したマウスの空腸絨毛粘膜固有層において IgA 陽性細胞数を検証し、通常食を投与したマウスと比較して IgA 陽性細胞数の減少や分布が変化することを報告した(Int J Mol Sci. 2021,22,1165)。一方で、回腸、盲腸、結腸の変化や、IgA を分泌する形質細胞の同定による IgA 分泌能の検証は課題として残されている。そこで、本研究は高脂肪食モデルマウスにおける腸絨毛内の形質細胞分布と IgA 分泌能を検証することで、高脂肪食投与による腸管免疫機能低下を解明することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

動物モデルは、高脂肪食(60kcal%fat, Research Diets, inc)で 16 週間飼育された食事誘導性肥満モデルマウスと通常食(13kcal%fat, Lab Diet)で飼育された同週齢マウスを対照とする。麻酔下(三種混合薬;ドミツール、ミタゾラム、ベトルフェール)にて標的臓器(空腸、回腸、盲腸、結腸)を露出し、寒剤を腸管粘膜に直接かけ、正常な血行動態下で急速凍結を行う。凍結した腸管試料は凍結置換後にパラフィン包埋する。形態学的解析では、ヘマトキシリンエオジン染色を用いて粘膜上皮、粘膜固有層、陰窩、筋層の各組織構造を比較する。免疫組織化学的解析では、腸管組織内の IgA、IgM、IgG1 などの可溶性血清蛋白に対する免疫染色と、CD19 や CD22 に対する免疫染色を行う。発色には DAB(diaminobenzidine)反応もしくは蛍光標識抗体を用いて、陽性部位や共染色細胞を比較する。さらに、ELISA による糞便中の IgA 定量値を測定することにより、高脂肪食投与による腸管 IgA 分泌細胞の局在変化と、IgA 分泌機能の関連性について検証する。

3. 研究成果(経過)

肥満や糖尿病患者では腸管免疫機能の低下が知られるが、従来の固定法では可溶性血清蛋白は流失するため、腸管液性免疫で機能する Immunoglobulin (Ig) A の分布や保有細胞を組織切片上で観察することは困難であった。これまで我々は、生体に直接凍結寒剤をかけることで物質の移動と流失が起らずに臓器組織の局所に可溶性血清蛋白が保存される「生体内凍結技法」を用いた Ig の分布の観察によって、通常食を投与したマウスと比較し、高脂肪食を投与したマウスの空腸絨毛粘膜固有層における IgA 陽性細胞数の減少や分布が変化することを報告した(Int J Mol Sci. 2022,22,1165)。本年は、通常食マウスまたは高脂肪食マウスの空腸と回腸の絨毛に分布する IgA 陽性細胞を観察し、高脂肪食マウスの空腸絨毛に分布する IgA+CD22-形質細胞は減少し、空腸絨毛基部に IgA+CD22+B 細胞が偏って分布することを見出した。今後の方針として、腸絨毛に分布する免疫細胞を量的解

析し、複数個体の腸絨毛において IgA+CD22⁺形質細胞、IgA+CD22⁺B 細胞をカウントし、通常食マウスと高脂肪食マウスと比較する。また、抗 CCL25 抗体、抗 BAFF 抗体を用いた光学顕微鏡画像および蛍光顕微鏡画像の観察により、高脂肪食における形質細胞の遊走能、分化能の変化を検証する。さらに、ELISA による糞便中の IgA 定量値の測定より、高脂肪食投与による腸管 IgA 分泌細胞の局在変化と、IgA 分泌機能の関連性について検証する。

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

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
村松 憲	保健学部理学療法学科	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
三五 一憲	東京都医学総合研究所	プロジェクト リーダー	中枢神経内における pGAP-43 発現と その分布の解析
新見 直子	東京都医学総合研究所	研究員	中枢神経内における pGAP-43 発現と その分布の解析
生友 聖子	東京医療学院大学	講師	中枢神経内における c-fos 発現と その分布の解析

キーワード

糖尿病、運動野、皮質脊髄路、リハビリテーション

研究分野

総合領域

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

実験には 1 型糖尿病ラット (糖尿病群) と健常なラット (対照群) を用いる。糖尿病群は 21 週間の飼育後、スキルトレーニングを行う群 (ST 群)、有酸素運動を行う群 (AT 群)、通常の飼育を継続する群 (SED 群) に分類し、2 週間のトレーニングを行う。トレーニング期間が終了したら、脳や脊髄を摘出し、中枢神経内において神経の可塑的变化に依存して発現する pGAP-43 タンパク質及び神経細胞の活動依存的に発現する c-fos タンパク質の発現、分布を免疫組織化学的に調べる。

3. 研究成果 (経過)

前年度までに糖尿病ラットの皮質脊髄路障害に関連して生じる運動野の萎縮がスキル運動によって回復すること、また、この機能回復は皮質脊髄路を介さずに脊髄にモーターコマンドを伝達する代償的な下行路が形成されることによって達成されることを明らかにした。また、伸長中の軸索だけが発現するリン酸化 GAP-43 タンパク質の分布を網羅的に調べた結果、スキル運動を行なった糖尿病ラットの赤核脊髄路にリン酸化 GAP-43 タンパク質が分布することを突き止めた。本年度は赤核を直接刺激し、それによって誘発される後肢の筋電図を指標に赤核と脊髄のシナプス結合について調べ、スキル運動を行なった動物では赤核脊髄路と脊髄のシナプス結合が強化されていることを示した。なお、本研究結果は *Experimental Neurology* 誌に掲載された。
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2023.114357>

61. 血液型 D 抗原の相互作用分子との分子間ネットワークの解明

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
三島 由祐子	保健学部臨床検査技術学科	学内講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
池田 敏之	東京大学医学部附属病院	助教	研究責任者

キーワード

RhD 抗原、発現制御メカニズム、相互作用分子

研究分野

輸血

1. 共同研究の目的

輸血療法において RhD 抗原（以下 D 抗原）は ABO とならぶ主要血液型抗原である。D 抗原の発現は赤血球特異的であり、D 抗原関連分子群が正常に働かなくなると赤血球は正常な形態を保てなくなる。したがって D 抗原の発現制御メカニズムを解明することは、赤血球が正常な形態や機能を保ったりするメカニズムを解明する上でもきわめて重要である。本研究は RhD 抗原の発現制御メカニズムをこれら相互作用分子とスプライシング制御機構に着目して検討、その分子間ネットワークを明らかにすることを目的として実施する。

2. 共同研究の内容・計画

RhD の既知の相互作用分子、候補分子について蛋白・蛋白間相互作用が具体的にどの蛋白間で起きているのか検討する。現在までに RhD の各アイソフォームを組み込んだ N 末端 Myc, Flag-tag 付の強制発現ベクターと相互作用分子の全長・各機能ドメインの強制発現ベクターを 293 細胞に同時導入したところ、BND3 が RhD 蛋白と直接相互作用するキー分子であることが推定された。この BND3 をもとに具体的にどのような分子間ネットワークが構成されているか、免疫沈降法やツウハイブリッドアッセイによる検討をおこなっている。

3. 研究成果（経過）

RhD 抗原の相互作用分子を検索していたが、これまでの研究で ANK1, RHAG は直接作用するキー分子ではないことがわかった。次の候補として球状赤血球症原因遺伝子として知られる spectrinA, spectrinB, band3 を選択し、これらの Myc-tag, HA-tag, Flag-tag あるいは GFP-tag を付けた強制発現ベクターを作製し、RhD の Myc-tag, HA-tag, Flag-tag あるいは GFP-tag をつけた各アイソフォームと様々な組み合わせで 293 細胞への同時導入、免疫沈降を検討した。その結果 BND3 との同時導入で RhD 蛋白の発現が確認されたことから、BND3 が RhD 蛋白に直接作用するキー分子であることが示唆された。現在はこれを確認するため、Band3 と全長 RhD の細胞内での結合を luciferase reporter assay で確認することを試みている。

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
佐野 恵美香	保健学部看護学科	准教授	統括

共同研究者

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

キーワード

看護実践能力、ICT、看護教育、能力育成システム

研究分野

看護学

1. 共同研究の目的

ICT (Information and Communication Technology) を活用した看護基礎教育の基盤をつくらうとするものであり、授業における ICT 活用の影響について検討する。近年、ICT を医療チームの一員とする社会が訪れようとしており、看護基礎教育では ICT を活用するための基礎的能力を養うことが求められている。ICT を活用するための基礎的能力を養うことのできる新たな教授方法とはどのようなものか、能動的な学びの促進・継続、学びの動機付けへの影響を検討することが本共同研究の目的である。

2. 共同研究の内容・計画

看護実践能力修得のための学び方や考え方の基盤、人間関係形成過程を学ぶ時期の学生を対象に、看護技術習得に ICT を活用することの影響について、質問票調査により **prosocial motivation** および **reflection** を測定し、ICT を活用することでの効果的な学習形態について多角的に調査を開始し、ICT を授業に活用することの学生が感じる効果、看護職に対する向社会的モチベーション (自律的側面のみ) のデータを取得した。2022 年度はサンプル数を増やすとともに、チーム学習行動やウェルビーイングについて調査を継続する予定である。なお本申請研究は杏林大学倫理審査委員会の承認 (2021-75) を得て研究を開始している。

3. 研究成果 (経過)

ICT (Information and Communication Technology) を活用した看護実践能力育成システム構築のために、授業における ICT 活用の影響について検討した。なお本申請研究は杏林大学倫理審査委員会の承認 (2021-75) を得て研究を開始している。

看護技術習得のために ICT を活用することへの影響について、質問紙調査により **prosocial motivation** および **reflection** を測定した。2022 年度は 2021 年度の継続として、ICT を授業に活用することで学生が感じる効果とデメリット、今後の可能性についてと学生の看護職に対する向社会的モチベーション (自律的側面のみ) のデータサンプルを増やし、22 年度からチーム学習行動やウェルビーイングについて調査した。

データは一橋大学・順天堂大学の研究者とともに多角的に検討し、本調査結果については、日本看護学教育学会 第 32 回学術集

会（2022年8月6日～7日）の交流セッションおよび、第42回日本看護科学学会学術集会（2022年12月3日～4日）にて口演発表を行い、同分野の研究者と意見交換した。

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
久原 重英	保健学部	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
竹内 純一	九州大学大学院 システム情報科学研究所	教授	共同研究者（機械学習/圧縮センシング技術）
竹島 秀則	キャノンメディカルシステムズ (株) 研究開発センター	主幹	共同研究者（MRI 画像再構成/機械学習技術）

キーワード

MRI、画像再構成、深層学習、データ量、圧縮センシング

研究分野

MRI

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

MRI 深層学習再構成ならびに応用技術において十分な学習データを収集できていない場合に、科学的根拠に基づいて、より少ない追加データ収集にて性能向上を図る手法について研究を行う。

本年度は、昨年度の上記に関するフィジビリティスタディでの理論検討に基づき、人体撮像データならびに評価用シミュレーションデータを用いて実証を行う。

手法検討は3者共同で行うと共に、九州大学にてアルゴリズム試作を行い、キャノンメディカルシステムズならびに本学にて人体撮像データならびに評価用シミュレーションデータを準備・作成し、アルゴリズムの評価を行う予定。

3. 研究成果（経過）

近年 MRI の画像再構成や応用技術に深層学習が多用され始めている。しかしながら、深層学習には多量のデータが必要であり、十分な学習データが収集できていない場合、追加データ収集により性能向上を図る必要がある。本研究では科学的根拠に基づき学習データ量削減を図る手法について研究を行った。具体的には、データ量削減のために学習の途中で性能を予測する方法（①学習性能予測手法）と元データから学習データを増やして評価する方法（②Bloch シミュレーションも用いた学習性能評価手法）の2つの課題を設定し、昨年度のフィジビリティスタディを基に検討を行った。①に対しては、Fisher 情報行列の固有値分布に着目してデータ数を増加させたときの汎化誤差予想を行う手法を提案した。MoDL を使った実験において、予測通りの傾向が観察され、提案手法が有効であることを確認できた。本成果は特許として1件提案中である。②については、脳画像を各組織領域に分類し、文献値等を元に組織の物理値を変化させて設定することで、物理現象との乖離がなく、かつ、高精細かつ組織緩和時間のバリエーションを増加させる手法を新たに考案し、それを特許として1件提案した。さらに実際の MRI 装置で収集したデータを用いて、提案手法が実現できるかのフィジビリティスタディを行い、実現可能であることを確認できた。

64. 自動血球分析装置を用いた血球形態、造血、炎症の評価法の検討

研究代表者

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

共同研究者

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

キーワード

XR シリーズ 血球形態 造血 炎症

研究分野

血液検査学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

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

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

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

3. 研究成果（経過）

2022年5月に、保健学部倫理審査委員会と医学部倫理委員会の研究倫理審査が承認された。2022年6月より自動血球分析装置 XR-1000 による試料の測定を開始している。

本研究の成果を2023年7月29日、30日に開催される第24回日本検査血液学会学術集会で発表予定である。

演題名：XR-1000 と DxH 800 の好中球関連の研究用項目による脱顆粒好中球の検出

演者：加藤庸介、坂本大典、大西宏明、滝智彦

65. 人工肺閉塞アラートシステムの開発

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中村 淳史	保健学部臨床工学科	講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
菊田 雅宏	保健学部臨床工学科	助教	データ取得・評価
井上 将	泉工医科工業（株）	課長	研究用機器の試作
村田 綾	泉工医科工業（株）		実験データの解析協力

キーワード

人工肺、体外循環、血液粘度、圧較差

研究分野

臨床工学

1. 共同研究の目的

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

2. 共同研究の内容・計画

2021 年度は同タイプの人工肺を用いて、流体の粘度、流量、圧較差各流量における人工肺前後の圧較差の計測し、粘度、流量から圧較差を予測する関係式を導き出した。

2022 年度は 2022 年 4 月～8 月に関係式の信頼性を検証する実験を行う。9 月～12 月には得られたデータの解析を行い本システムモデルの検討を行う。

3. 研究成果（経過）

体外循環中は人工肺の入口と出口間で生じる圧較差の監視を行い、人工肺内の血栓形成を検知している。しかし、圧較差は血液粘度値と血液流量で変化するため、明確な血栓形成の判断は困難である。本研究は 2 年目となり、昨年度は血液流量と血液粘度の関係性を明らかにし、重回帰分析により、流量と粘度値から正常時の人工肺の圧較差を予測する関係式を導き出した。今年度は圧較差の予測式の精度を高め、さらに血栓形成のモニタリングシステムを作成し、その実用性の検討を行った。

昨年度と比べて圧較差の低圧域と高圧域において予測精度の改善が認められ、予測式の調整済み R^2 は 0.9 以上となり、血液流量 1～5 L/min の流量域で実測値との誤差が $\pm 10\%$ 以内となった。臨床で使用される血液流量 1～5 L/min の流量域において、予測式の精度は高く実用の可能性が示唆された。また、今回作成した人工肺の血栓形成モニタリングシステムは血流量と血液粘度値より圧較差（正常時）の予測値と血栓形成による実測値の解離を経時的かつ視覚的に捉えられるため、人工肺の血栓形成による閉塞を早期に検知できることが示唆された。

66. 愛玩動物に対する血液透析療法の提案

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
菊田 雅宏	保健学部臨床工学科	助教	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
磯山 隆	保健学部臨床工学科	教授	研究指導
岩楯 桜子	保健学部臨床工学科	教授	研究指導
須田 健二	保健学部臨床工学科	講師	研究指導 実験補助
長久保 大	東京大学大学院 附属動物医療センター	特任助教	実験補助（獣医師）

キーワード

血液透析犬猫急性腎障害輸液ポンプ

研究分野

血液透析

1. 共同研究の目的

愛玩動物の血液透析にかかる費用は人の約 60 倍と高価であり、動物用の血液透析装置を導入している病院は全国で約 40 施設程度と普及していない。動物用の血液透析装置は入用の血液透析装置を改良したものであるため、透析液流量が 500ml/min と多い。そのため、愛玩動物にとっては高効率であり、不均衡症候群をきたしやすい。不均衡症候群は血液透析の導入期にみられる血液透析特有の合併症であり、血圧低下や嘔吐、痙攣、倦怠感をきたす。これらの現状を踏まえ、不均衡症候群の発症を防止する新しい動物用血液透析システムを考案することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

本研究では、血液を低流量で送血可能な輸液ポンプを使用して、愛玩動物の血液透析を実施する。杏林大学では、輸液ポンプで低効率かつ愛玩動物への血液透析が可能か、模擬血液を使用して尿毒素物質の除去効率や電解質の是正、血液温度の変化を計測することで評価する。評価結果から不均衡症候群の発症を防止する動物用血液透析システムを考案する。東京大学大学院附属動物医療センターでは、考案した動物用血液透析システムが臨床で実施可能か、実験犬や実験猫へ血液透析を実施することで評価する。

3. 研究成果（経過）

本年度は輸液ポンプを使用して、不均衡症候群を予防する血液透析システムの構築と、このシステムで血液透析が可能かを評価する動物実験を実施した。構築したシステムは輸液ポンプ 3 台とシリンジポンプ 1 台、輸液加温装置 1 台、輸液ポンプが使用できるように改良した動物用血液回路、ダイアライザを使用した。本システムは血液透析専用の機器を必要とせず、動物病院的スタッフでも操作可能な機器のみで構成される全く新しいシステムである。模擬血液を使用して本システムで尿毒素物質の除去および不均衡症候群の予防が可能か評価した。結果、尿毒素物質は低効率で除去することができ、不均衡症候群を予防することが可能と考えられた。しかし、輸液ポンプは本来、輸液および輸血をする機器であるため、血液を体外へと脱血可能か、東京大学大学院附属動物医療センターで動物実験を実施した。実験は体重 10kg の健康犬に対して、構築したシステムで 4 時間の血液透析を全身麻酔下で実施した。結果、脱血は問題なくでき、血液透析中もトラブルがなく終了した。しかし、ダイアライザに血液

凝固が認められた。今後は、抗凝固薬量の調整と鎮静化でも実施可能か検討し、さらなるシステムの改良を実施する。

67. 医療機器管理データベースを用いた実習室機器管理手法の検討

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中島 章夫	保健学部臨床工学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
田村 光希	株式会社 HITOTSU	代表取締役	データベース開発
鈴木 哲治	保健学部臨床工学科	学内講師	データベース運用・分析

キーワード

医療機器管理、データベース、一元管理システム

研究分野

医療機器管理

1. 共同研究の目的

現在、病院では多種・多品目にわたる医療機器が使用されており、これら多くの医療機器を安全に運用するために「医療機器安全管理責任者」を配置することが医療法にて義務付けられている¹⁾。医療機器安全管理責任者の業務内容には、「医療機器の保守点検に関する計画の策定及び保守点検の適切な実施」が含まれていることから、病院では臨床工学技士が医療機器安全管理責任者に任命されることが多い。この医療機器の保守点検には、複数社から販売されている医療機器管理システムや、汎用データベースである FileMaker 等を用いている病院が多い。両者システムに共通する問題点としては、システム開発関係者や医療機器管理を主業務とする臨床工学技士など専門知識がないと運用できない点が挙げられる。一方、本学臨床工学科では 10 年以上にわたり、病院での医療機器管理を模擬した機器管理データベース（以下、機器管理 DB）を FileMaker で構築し、実習機材管理に運用してきた。そこで、今回(株)HITOTSU さんが開発した医療機器等を一元管理できるベースシステムを用いて、本学実習機材に特化した機器管理 DB を共同で開発・運用することを目的として研究を行う。

2. 共同研究の内容・計画

本研究は、本学臨床工学科内で行われる医療機器や電子機器を用いた学内実習にて、病院での医療機器管理を模擬した機器管理 DB を開発・運用し、誰でも（学内→学生、病院→看護職等）が使える現代の IT 技術をベースにしたインタフェースを持つ機器管理 DB を構築することにある。

2022 年度は、臨床工学科 2 年次後期科目「医用電子工学実習」で使用する電子機器（5 種類：全 166 台）を対象とした機器管理 DB を開発し、実際の実習にて機器の貸出（実習開始時）、返却・点検（実習終了時）時に学生自ら運用し、その改善点などをフィードバックすることで、病院での医療機器管理を模擬した機器管理データベースの基本仕様の確立を目指す。

2023 年度以降は、臨床工学科で所有する実習機材用の医療機器（輸液ポンプや人工呼吸器等）も対象とし、臨床工学科 3 年時前期科目「医用治療機器学実習、医用計測機器学実習、安全管理学実習」で運用を予定する。

3. 研究成果（経過）

本学臨床工学科で 10 年以上にわたり、FileMaker を用いた機器管理データベース（以下、機器管理 DB）を構築し、病院での医療機器管理を模擬して臨床工学室の実習機材管理に運用してきた。今回は、プラットフォームに依存しない一元管理できる機器管理 DB の開発を目的に、本学実習機材に特化した機器管理 DB を(株)HITOTSU さんと共同で開発・運用を目的とした研究を行った。

今年度は、臨床工学科 2 年次後期科目「医用電子工学実習」で使用する電子機器（5 種類：全 166 台）を対象とした機器管理 DB

を開発し、実際の実習にて機器の貸出（実習開始時）、返却・点検（実習終了時）時に学生自ら運用し、その改善点などを(株)HITOTSUさんにフィードバックし、病院での医療機器管理を模擬した機器管理DBの基本仕様を確立できた。