

共同研究

① 医学部

1. 視神経脊髄炎における microRNA を用いた診断・視機能予後予測バイオマーカーの探索
2. 小児食物アレルギーの原因アレルゲン診断と個別化治療を視野に入れた網羅的抗原解析
3. マイトファジー不全に起因する糖尿病発症機構の解明
4. 組織修復機構を基軸とした原虫感染症の新たな治療戦略の開発
5. 霊長類の脳における ER/GA-SNARE 蛋白質発現の分子生理・病理学的老化研究
6. 機械学習による眼科画像検査を活用したぶどう膜炎の活動性の定量的評価の検討
7. 眼炎症性疾患における microRNA を用いた診断・視機能予後予測バイオマーカーの探索
8. オーフエン受容体 GPR116 の機能解析
9. 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
10. 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
11. 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
12. 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
13. 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
14. マウスモデルを用いた炎症性皮膚疾患の機序の解明
15. 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
16. 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
17. 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
18. 痔癌におけるエピゲノムの不均一性と可塑性
19. KAT3 作用薬及び疾患治療法の開発に関する研究
20. 百日咳菌外膜ベシクルに含まれる病原因子の局在解析
21. 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
22. モルヒネによる侵害受容性末梢神経の興奮修飾作用
23. 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
24. 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
25. 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
26. 新規抗マラリア活性化化合物の作用機序の解明
27. 真皮毛根鞘細胞の生物学的機能の解析方法についての検討
28. 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
29. 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
30. 中枢神経系腫瘍分類の分子生物学的研究
31. 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
32. 糖尿病合併症新規マーカーの探索：グライコプロテオミクスと免疫組織化学的解析
33. ヒト唾液由来エキソソームの機能解析に関する研究：免疫電顕法を用いた解析

34. 皮膚疾患診断用3次元超音波装置の開発
35. 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
36. メカノチャネルPiezo2のマウス胎生期での発現解析
37. 枇杷葉による抗炎症作用の体系的な理解と動脈硬化治療への応用
38. 赤痢ワクチン候補株の評価系の構築
39. 緑内障が運転行動に及ぼす影響の研究
40. 膀胱癌組織における遺伝子変異の検討
41. 低酸素環境下における筋肉・脂肪におけるミトコンドリアの関与の解明
42. 陰嚢水腫におけるアクアポリン1遺伝子の一塩基多型およびメチル化の検討

② 保健学部

43. 自動吸引圧コントロール機能を有するポータブル吸引器の開発研究
44. 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
45. 微細加工技術を応用した放射線検出器の開発
46. 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
47. キチンに対する生体応答機構の解明
48. 全身性炎症に応答する脳内免疫代謝学的制御の質量分析法を用いた解析
49. 乳腺小葉癌に対する新規抗体の作製及びその解析
50. 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
51. 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–
52. 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
53. 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
54. 医療機器用熱交換器の開発研究
55. 愛玩動物に対する血液透析療法の提案
56. 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
57. 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
58. トリプルネガティブ乳癌に対する新規治療抗体の樹立
59. 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
60. 肺癌関連因子としての RNU2-1 遺伝子コピー数多型の解析
61. 人工心肺装置でのベントポンプにおける手術状況に応じた流量自動制御
62. 造血器腫瘍の血球異常を指標とした病態評価法に関する研究
63. RFID パッシブタグによる医療機器位置情報管理の検討

① 医学部

1. 視神経脊髄炎における microRNA を用いた診断・視機能予後予測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
慶野 博	医学部眼科学	臨床教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
高崎 一郎	富山大学	准教授	マイクロアレイ解析

キーワード

視神経脊髄炎、microRNA、バイオマーカー

研究分野

眼科学

1. 共同研究の目的

視神経脊髄炎は中年以降の女性に好発し、ステロイド全身治療に抵抗性を示す視力予後不良の疾患である。視神経脊髄炎の活動性評価は視力、検眼鏡的所見、MRI などの画像所見、髄液検査などを基に総合的に判断されるが、現状では生体試料を活用した疾患活動性を示すバイオマーカーの報告は少ない。近年、蛋白質の翻訳に関与しない non-coding RNA である microRNA(miRNA) が癌や免疫領域の新たな診断・予後予測バイオマーカーとして、その有用性が報告されている。本研究課題では miRNA を用いて視神経脊髄炎の活動性評価、予後予測のためのバイオマーカーの確立を目指し、視神経脊髄炎患者の血液、および髄液中の microRNA の発現レベルをマイクロアレイの手法を用いて比較し、各疾患に特徴的な microRNA を抽出し眼所見、臨床経過との関連を解析することで活動性評価・予後予測因子としての microRNA の有用性を検証する。

2. 共同研究の内容・計画

本研究では視神経脊髄炎の症例を対象に全身治療前の血清、髄液検体、および健常人の血清から microRNA を含む total RNA を抽出、それらの検体を富山大学学術研究部工学系に送付し、マイクロアレイの手法を用いて mature miRNA の発現について網羅的に解析し、健常人と比較することで疾患特異的な診断バイオマーカーを探索する。さらに得られたデータを pathway 解析ソフトである QIAGEN Ingenuity Pathway Analysis(IPA)に入力し、疾患に特異的な pathway を探索することで病態形成に関与する新たな分子マーカーを抽出する。また視機能予後の良好群と不良群で分類し、発症初期の段階で miRNA の発現を比較することで予後予測に繋がる新たなバイオマーカーの確立を目指す。

本研究課題を通じて新しいバイオマーカーを同定することは視神経脊髄炎の診断、予後予測、個々の症例の活動性に応じた層別化・個別化医療を展開していくうえでの重要な基盤になりうると考える。

3. 研究成果（経過）

視神経脊髄炎(抗 aquaporin:AQP4 抗体陽性視神経炎)は中年以降の女性に好発し、特発性視神経炎と比較して、ステロイド全身治療に抵抗性を示す視力予後不良の疾患である。視神経脊髄炎の活動性評価は視力、検眼鏡的所見、MRI などの画像所見、髄液検査などを基に総合的に判断されるが、現状では生体試料を活用した疾患活動性を示すバイオマーカーの報告は少ない。近年、蛋白質の翻訳に関与しない non-coding RNA である microRNA(miRNA)が癌や免疫領域の新たな診断・予後予測バイオマーカーとして、その有用性が報告されている。本研究課題では miRNA を用いて視神経脊髄炎の診断、予後予測バイオマーカーの確立を目指し、視神経脊髄炎患者の血液中の microRNA の発現レベルをマイクロアレイの手法を用いて比較し、各視神経炎疾患と microRNA との関連について検証した。杏林アイセンターにて特発性視神経炎(特発群)と診断された 10 例、抗 AQP4 陽性群 9 例(全例女性)、健常人 10 例より血清採取、GeneChip miRNA 4.0 Array を用いてマイクロアレイ解析、クラスター解析を行った。その結果、クラスター解析では健常人群と視神経炎群(特発群と抗 AQP4 群)は異なったクラスターに分類されたが、特発

群と抗 AQP4 群との比較では類似した発現パターンを示した。さらに発現の変動した miRNA の種類は両方の疾患で共通するものが含まれていた。これらの結果から特発群と抗 AQP4 群では一部の共通した miRNA が視神経炎の病態形成に関与している可能性が示唆された。

2. 小児食物アレルギーの原因アレルゲン診断と個別化治療を視野に入れた網羅的抗原解析

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
安戸 裕貴	医学部臨床検査医学	准教授	統括

共同研究者

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	データ解析・計画へのアドバイス
成田 雅美	医学部小児科学	教授	臨床情報・血清試料の収集
北浦 次郎	順天堂大学大学院	教授	食物抗原間・食物抗原と花粉抗原間における抗原交差性の評価

キーワード

食物アレルギー、アレルゲン、IgE、花粉抗原、構造エピトープ

研究分野

アレルギー

1. 共同研究の目的

近年、先進国を中心に、小児食物アレルギーは増加傾向にあるが、その原因について、詳細は未だ明らかにされていない。我々は、順天堂大学アトピー疾患センターとの共同研究により、特に増加の著しいナッツアレルギーを対象に、正確な診断法の確立する研究成果を挙げてきた。本研究では、多項目アレルゲン特異的 IgE 値データを用いたクラスター解析による小児食物アレルギーの原因の解明を試み、花粉抗原との関与について検討を行う。また、アレルゲン特異的 IgE 値に基づく食物アレルギー高精度診断法の開発や食物間の抗原交差性を評価することにより、食物アレルギー患者へエビデンスに基づく情報の提供を試みる。

2. 共同研究の内容・計画

①患者群は主にナッツアレルギー患者とし、また対照群として花粉症を有する小児をリクルートする。対象者の血清試料および臨床情報を収集する。(予定数：患者 80名、花粉症 20例) ②血清試料を用いて、多項目アレルゲン特異的 IgE 値を測定し (ISAC 法)、これらのデータを用いてクラスター分析による分類分けを行い、花粉症患者と類似した分類パターンをどの程度認めるか評価する。③くすみ、マカダミアナッツ等の各種ナッツアレルゲンの組み替えタンパクを精製したのち、各種ナッツアレルゲン特異的 IgE 値を ELISA 法により測定する。これらのデータを組み合わせることにより、ROC 曲線の作成および AUC を算出し、各種ナッツアレルギーの診断に対する高精度診断法の確立を試みる。④複数の食物アレルギー、および食物アレルギーと花粉症を有する対象者の血清を用いて、タンパク結合阻害実験を行い、交差性について評価し、情報を提供する。

3. 研究成果 (経過)

近年、先進国を中心に、小児食物アレルギーは増加傾向にあるが、その原因について、明らかにされていない。本研究では、順天堂大学アトピー疾患センターとの共同研究により、多項目アレルゲン特異的 IgE 値データを用いたクラスター解析により、小児食物アレルギーの原因として花粉感作による交差性の関与やアレルゲン特異的 IgE 値に基づく食物アレルギーの診断について高精度な検査法の開発を試みている。

令和 5 年度の成果として、マカダミアナッツレグミンアレルゲン Mac i 2 特異的 IgE 測定法がマカダミアナッツアレルギー診断の高精度診断法であることを報告した (Yamamoto R, et al. J Allergy Clin Immunol Practice.)。また、Mac i 2 の立体構造が、その診断精度に重要であることを示した。従来、立体構造の抗原性 (構造的エピトープ) が重要であることは知られていたが、診断学の観点から世界で初めて実証した報告となる。

来年度の計画として、この新規知見を踏まえて、上記目的に加えて、代表的な食物アレルギー（卵、牛乳、ピーナッツ、カシューナッツ、くるみ、アーモンド）の各種アレルギーの構造的エピトープの抗原重要性について診断的観点から解明することを目標として、現在症例を集積している。

3. マイトファジー不全に起因する糖尿病発症機構の解明

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
青柳 共太	医学部細胞生化学	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
神吉 智丈	新潟大学大学院	教授	糖尿病発症課程におけるマイトファジー不全の分子機構の解明
山下 俊一	新潟大学大学院	助教	糖尿病発症課程におけるマイトファジー不全の分子機構の解明
松崎 京子	医学部細胞生化学	講師	糖尿病の病態解析、膵β細胞における損傷ミトコンドリア除去機構の解析

キーワード

糖尿病、膵β細胞、マイトファジー、ミトコンドリア

研究分野

糖尿病学

1. 共同研究の目的

2型糖尿病患者の膵β細胞では、インスリン分泌やアポトーシスに重要な役割を果たすミトコンドリアの形態的・機能的な異常が観察されている。このことは、本来マイトファジー（ミトコンドリアを分解するオートファジー）によって分解される損傷したミトコンドリアが分解されずに蓄積していることを示しており、膵β細胞におけるマイトファジー不全が2型糖尿病発症の原因となっていることを強く示唆している。本共同研究では膵β細胞のマイトファジー不全に起因する糖尿病発症機構の解明に挑む。

2. 共同研究の内容・計画

本共同研究では、共同研究者である新潟大・神吉教授と共に開発した膵β細胞特異的マイトファジー可視化解析マウスと糖尿病モデル db/db マウスを交配したマウスを主に用いて、以下の課題に取り組む。

- ①糖尿病発症過程におけるミトコンドリア機能減弱の解明
- ②糖尿病発症過程における損傷ミトコンドリア蓄積量の増大の解明
- ③糖尿病発症過程におけるマイトファジー減弱機構の解明
- ④インスリン治療による損傷ミトコンドリア蓄積量への影響の解明

3. 研究成果（経過）

糖尿病の新規治療薬として近年上市されたイメグリミンはミトコンドリアに作用し、膵β細胞からのインスリン分泌を増強して耐糖能を改善することが知られている。そこで本年度はイメグリミンが糖尿病膵β細胞における損傷ミトコンドリアの蓄積やマイトファジーに与える影響について解析を行った。糖尿病モデル db/db マウスにイメグリミンとイメグリミン類似構造を持つ糖尿病治療薬であるメトホルミンを6週間投与した。イメグリミンもしくはメトホルミン投与した db/db マウスにおいて耐糖能は改善したが、イメグリミン投与の場合のみ血中インスリン量の増大が観察された。イメグリミン投与した db/db マウスの膵β細胞では損傷ミトコンドリアの蓄積量が減少し、それに伴って ROS 産生とマイトファジーが減少したが、メトホルミン投与した db/db マウスでは損傷ミトコンドリアの蓄積量に変化は観察されなかった。さらに、イメグリミン投与した db/db マウスの膵β細胞ではグルコース刺激依存的なインスリン分泌の増強とアポトーシスの減少が観察されたが、メトホルミン投与した db/db マウスの膵β細胞ではインスリン分泌の増強およびアポトーシスの減少は観察されなかった。以上の結果を論文にまとめ、現在投

稿中である。

4. 組織修復機構を基軸とした原虫感染症の新たな治療戦略の開発

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
彦坂 健児	千葉大学	准教授	原虫感染マウスの病態解析

キーワード

原虫感染症、組織修復、Plet-1、治療

研究分野

寄生虫学

1. 共同研究の目的

マラリアをはじめとする原虫感染症の病態の重症化と組織修復との関係を明らかにし、最終的に組織修復機構を活性化させることで各種の原虫感染症の症状を緩和するという、宿主因子を標的とした新たな原虫感染症の治療戦略を開発することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

本研究の最終目的は、宿主の組織修復機構を基軸とした原虫感染症の新たな治療戦略を開発することである。この目的のために、まず、①Plet-1欠損マウスを用いてマラリアによる組織傷害と組織修復との関係を解明する。また、②プロテオーム解析およびRNA seq解析により、Plet-1が関わる組織修復の分子機構を明らかにする。最終的に、③組織修復機構を活性化させることで原虫感染症の症状を緩和するという、宿主因子を標的とした新たな原虫感染症の治療戦略を提示するために、Plet-1の発現を増加させたマウスを用いて組織修復機構活性化による原虫感染症の症状の緩和効果を検証する。

3. 研究成果（経過）

宿主の組織修復機構を基軸とした原虫感染症の新たな治療戦略を開発するため、まず、CRISPR-Cas9システムによりPlet-1欠損マウスの作出を試みた。その結果、Plet-1遺伝子に変異を有するマウスの作出に成功した。作出したマウスの交配を重ね、フレームシフトを起こしたPlet-1遺伝子をホモで有するマウス（Plet-1欠損マウス）を単離した。効率的な単離のため、制限酵素でフレームシフトを検出する「Plet-1欠損マウスの迅速判別法」を樹立し、実施した。

得られたPlet-1欠損マウスにマウスマラリア原虫を感染させたところ、野生型のマウスと比較して病態が重症化することが示唆された。さらに、感染後8日目のマウスを解剖して各臓器の肉眼的な観察を行ったところ、Plet-1欠損マウスの肺に重度の障害が起こっていることが示唆された。現在、病理組織標本を作製し、マウスマラリア原虫を感染させたPlet-1欠損マウスの肺病態について解析を進めている。

5. 霊長類の脳における ER/GA-SNARE 蛋白質発現の分子生理・病理学的老化研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
須賀 圭	医学部化学	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
木村 展之	岡山理科大学	教授	細胞/組織採取・切片作製

キーワード

脳、加齢、霊長類、神経変性、細胞内輸送関連蛋白質

研究分野

分子神経生理・病理

1. 共同研究の目的

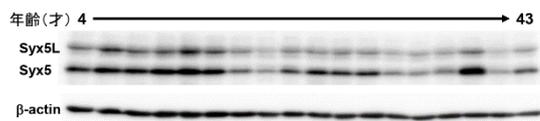
神経細胞内で必須な ER・ゴルジ間膜輸送の加齢に伴う機能低下は、申請者が注目して来た Syx5 タンパク質の発現低下と細胞内局在の変化に起因するのではないかと考えた。そこで本研究は、ER/GA-SNARE 分子である Syx5 の発現が老化に伴いどのように変化して細胞内輸送をどのように傷害した結果として神経機能が障害され認知機能低下につながるのか？を問いとし、決してヒト脳では追跡することのできないその分子メカニズムを、ヒトにより近縁な高等霊長類であるカンクイザルを用いた老化研究の第一人者である木村教授との共同研究により探るものである。

2. 共同研究の内容・計画

本研究は岡山理科大学の木村展之教授との共同研究であり、ヒト近縁の霊長類であるカンクイザルを用いて、加齢に伴う ER/GA-SNARE 蛋白質発現の変化を分子生理学・病理学的に解析するものである。具体的な研究方法としては、加齢・老化研究を行う上で格好の試料であるカンクイザル脳より初代培養神経細胞や組織切片を採取し、それらを用いて免疫組織化学的ならびに生化学的手法を用いてタンパク質発現や細胞内輸送の加齢や老化に伴う変化の解析を行う。分担としては共同研究者である木村教授に、生細胞採取ならびにパラフィンおよび凍結切片組織標本の作製をして頂き、申請者がその試料を用いて実験と解析を行う計画である。

3. 研究成果（経過）

本研究は岡山理科大学の木村展之教授との共同研究であり、ヒト近縁の霊長類であるカンクイザルを用いて、加齢に伴う ER/GA-SNARE 蛋白質発現の変化を分子生理学・病理学的に解析するものである。具体的な研究方法としては、加齢・老化研究を行う上で格好の試料であるカンクイザル脳より初代培養神経細胞や組織切片を採取し、それらを用いて免疫組織化学的ならびに生化学的手法を用いてタンパク質発現や細胞内輸送の加齢や老化に伴う変化の解析を行う。分担としては共同研究者である木村教授に、生細胞採取ならびにパラフィンおよび凍結切片組織標本の作製をして頂き、申請者がその試料を用いて実験と解析を行う計画である。



図：加齢に伴うカンクイザル脳内Syx5(L)タンパク質の発現量の変化

6. 機械学習による眼科画像検査を活用したぶどう膜炎の活動性の定量的評価の検討

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
慶野 博	医学部眼科学	臨床教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
畑中 裕司	大分大学	教授	画像解析

キーワード

ぶどう膜炎、画像、機械学習、定量的評価

研究分野

眼科学

1. 共同研究の目的

ぶどう膜炎の診療では検眼鏡の所見に加えて蛍光眼底造影検査や光干渉断層計(optical coherent tomography: OCT)画像などを用いて活動性評価を行うが、その課題として定性的、主観的な評価である点が挙げられる。近年、医用画像に機械学習を導入することにより、異常所見の検出や疾患の分類などの診断支援システムが注目されている。本研究では大分大学 理工学部(畑中 裕司 教授)と共同でぶどう膜炎の活動性を客観的かつ定量的に評価するために OCT 画像、蛍光眼底造影検査画像を用いて機械学習の手法を用いて炎症所見を検出、定量化し、ぶどう膜炎診療における機械学習を用いた定量評価の有用性について検討を行うことを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

本研究では杏林アイセンターに受診したぶどう膜炎患者において施行された OCT 画像、蛍光眼底造影検査を匿名化後、各画像の異常所見のマークあり画像(学習画像)とマークなし画像(テスト画像)を大分大学理工学部に送付し、機械に学習させることで学習モデルを作成させる。次にテストデータ画像を用いて validation を行い学習モデルの精度について評価する。また学習モデルから得られた値と眼科医によって評価されたスコアとの関連について解析し、学習モデルの有用性を検証する。本研究を通じてぶどう膜炎の活動性の定量的、かつ客観的な評価が可能となり、現状よりもさらに精度の高いぶどう膜炎診療へと発展していくことが期待される。

3. 研究成果(経過)

ぶどう膜炎の診療では検眼鏡の所見に加えて蛍光眼底造影検査や光干渉断層計(optical coherent tomography: OCT)画像などを用いて活動性評価を行うが、その課題として定性的、主観的な評価である点が挙げられる。近年、医用画像に機械学習を導入することにより、異常所見の検出や疾患の分類などの診断支援システムが注目されている。本研究では大分大学 理工学部(畑中 裕司 教授)と共同でぶどう膜炎の活動性を客観的かつ定量的に評価するために前眼部 OCT 画像を用いて機械学習の手法を用いて炎症所見を検出、定量化し、ぶどう膜炎診療における機械学習を用いた定量評価の有用性について検討を行った。前眼部 OCT 画像を撮影されたぶどう膜炎患者 32 例 53 眼を対象とした。前房細胞グレーディングは SUN Working Group のものを用いた。OCT 画像中の前房領域を特定し、その領域内を正方形で関心領域に設定しテクスチャ解析の結果を基に成分分析を行い、上位 5 要素を使用してニューラルネットワークによる重回帰分析を行った。その結果、眼科医による前房細胞グレードと回帰分析モデルによる予測値を 4 分割交差検定したところ、相関係数が 0.862 と高い相関がみられた。これらの結果から、ぶどう膜炎の前眼部 OCT 画像をテクスチャ解析することにより前房細胞グレードを推定できる可能性が示された。

7. 眼炎症性疾患における microRNA を用いた診断・視機能予後予測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
慶野 博	医学部眼科学	臨床教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
高崎 一郎	富山大学	准教授	マイクロアレイ解析

キーワード

ぶどう膜炎、画像、機械学習、定量的評価

研究分野

眼科学

1. 共同研究の目的

ベーチェット病や原田病などの眼炎症性疾患(ぶどう膜炎)の活動性の評価は視力検査、検眼鏡の所見、眼底画像所見、再燃頻度などから判断するが、血液などの生体試料を用いた疾患活動性を示すバイオマーカーの報告は少ない。最近では蛋白質の翻訳に関与しない non-coding RNA である microRNA(miRNA)が免疫領域や悪性腫瘍などの診断・疾患活動性バイオマーカーとして、その有用性が報告されている。本研究課題では miRNA を用いて眼炎症性疾患の活動性評価、視機能予後を予測するバイオマーカーの確立を目指し、ぶどう膜炎の血液中の microRNA の発現レベルをマイクロアレイの手法を用いて比較し、各疾患に特徴的な microRNA を抽出し眼所見、臨床経過との関連について解析する。本研究課題を通じて眼炎症性疾患における活動性評価・予後予測に繋がる microRNA のバイオマーカーとしての有用性について検討を行う。

2. 共同研究の内容・計画

本研究ではベーチェット病や原田病などのぶどう膜炎の症例を対象に全身治療前の血清、髄液検体、および健常人の血清から miRNA を抽出する。それらの検体を富山大学学術研究部工学系に送付し、マイクロアレイの手法を用いて mature miRNA の発現について網羅的に解析し、健常人と比較することで疾患特異的な診断バイオマーカーを探索する。さらに疾患特異的な遺伝子 pathway について検討するために QIAGEN Ingenuity Pathway Analysis(IPA)を活用し、病態形成に関与する新たな分子ネットワークを抽出する。また治療開始後の再燃の頻度で経過良好群と不良群で分類し、治療前の miRNA の発現を比較することで予後を規定する新たなバイオマーカーの探索をする。本研究課題を通じて新しいバイオマーカーを同定することはぶどう膜炎の診断、疾患活動性に応じた層別化・個別化医療の展開、視機能予後を予測していくうえでの新たな知見が得られることが期待される。

3. 研究成果(経過)

眼炎症性疾患(ぶどう膜炎)の活動性の評価は視力検査、検眼鏡の所見、眼底画像所見、再燃頻度などから判断するが、血液などの生体試料を用いた疾患活動性を示すバイオマーカーの報告は少ない。最近では蛋白質の翻訳に関与しない non-coding RNA である microRNA(miRNA)が免疫領域や悪性腫瘍などの診断・疾患活動性バイオマーカーとして、その有用性が報告されている。本研究課題では miRNA を用いて眼炎症性疾患の活動性評価、視機能予後を予測するバイオマーカーの確立を目指し、動物モデルを用いた実験的ぶどう膜炎を誘導し、血液中の microRNA の発現レベルをマイクロアレイの手法を用いて経時的に比較し、各病期に特徴的な microRNA を抽出し眼所見との関連について解析することを目的とする。

現在、実験的ぶどう膜炎を誘導したラットから採取した血清と実験的ぶどう膜炎を誘導していないラットから採取した血清を共同研究施設である富山大に送付し、現在 microRNA の発現解析を実施中である。解析結果を入手後に実験的ぶどう膜炎の各病期(ぶどう膜炎発症前、炎症活動期、炎症退縮期)と microRNA の発現との関連について検討を行う予定である。

8. オーファン受容体 GPR116 の機能解析

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
中村 信大	東京工業大学	准教授	GPR116 (ADGRF5) KO マウスの飼育と機能解析

キーワード

GPR116 (Adgrf5)、糸球体内皮細胞、アルブミン尿、腎嚢胞、ノックアウトマウス

研究分野

分子生物学・腎臓病学

1. 共同研究の目的

共同研究者が所属する研究室でクローニングしたオーファン受容体 GPR116 (Adhesion 型 GPCR) の KO マウスを作製したところ、腎障害 (アルブミン尿、糸球体変化、腎嚢胞) が認められた。そこで、腎臓における GPR116 の機能的役割を検討する目的で、WT マウスの腎臓での GPR の発現部位を詳しく調べるとともに、KO マウスの腎臓の形態学的変化を解析し、また GPR116 WT マウスと KO マウスの単離糸球体、単離糸球体内皮細胞を用いて WT と KO で発現の変化する分子を探索する。さらに動物モデルや腎生検標本を用いて病態との関連を解析する。

2. 共同研究の内容・計画

- ①様々な週齢の GPR116 WT マウス、KO マウスより灌流固定した腎臓を採取し、腎臓の形態学的変化を光学顕微鏡、電子顕微鏡で観察する。
- ②凍結ブロックを作製し、免疫組織染色を行う。光学顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡で局在を観察し、腎障害が発症するメカニズムを解析する。
- ③本分子のヒトでの発現を解析すると同時に、糖尿病や高血圧性腎障害における変化を動物モデルやヒト腎生検組織で解析する。

3. 研究成果 (経過)

共同研究者が所属する研究室でクローニングしたオーファン受容体 GPR116 (Adgrf5) の KO マウスを作製したところ、腎障害 (糸球体内皮障害、糸球体基底膜変化、アルブミン尿) が出現した。腎障害のメカニズムを明らかにするために、WT と KO マウスより糸球体内皮細胞を単離して遺伝子発現を比較すると同時に、ヒト初代培養糸球体内皮細胞において siRNA を用いて Adgrf5 knockdown を行い、シグナルカスケードを明らかにした。結果をまとめて J Am Soc Nephrol 誌に投稿したところ、Major revision (投稿〆切 2024/4/29) となったため、revise 実験を進めた。期日までに投稿する予定である。

The glomerular endothelial cell receptor ADGRF5 maintains the integrity of the glomerular filtration barrier

Miki Nagase^{1,2,*}, Hikaru Ando³, Yoshiaki Beppu³, Hidetake Kurihara^{2,4}, Souta Oki³, Fumimasa Kubo³, Kazuki Yamamoto³, Takashi Nagase⁵, Shinya Kaname⁶, Yoshihiro Akimoto⁷, Hiroshi Fukuhara⁸, Tatsuo Sakai², Shigehisa Hirose³, and Nobuhiro Nakamura^{3,*}

9. 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	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病院	名誉顧問	SPF および無菌動物飼育・実験
小林 拓	北里大学北里研究所病院	センター長	SPF および無菌動物飼育・実験
竹内 修	北里大学北里研究所病院	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。本研究結果を英文誌に報告した (Wada H, Miyoshi J, Kuronuma S, et al. 5-Aminosalicylic acid alters the gut microbiota and altered microbiota transmitted vertically to offspring have protective effects against colitis. *Sci Rep.* 2023;13(1):12241.)

10. 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日本ゼオン、杏林大学医学部の調整

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すると十分な開存期間が得られているとはいえないものの、金属ステントは高価であり、開存期間の長い安価な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）。日本ゼオン総合開発センターメディカル研究所にて行う。机上実験では模擬胆汁（成分：胆汁酸 5%、オレイン酸 5%、エコーガム/ケトロール 0.5%、温度約 40°Cに調整）、プラスチックステント（素材：ペバックス、径：7.5Fr、ステント長：10cm）を用いて行う。ストレートか pig tail タイプ、側孔の場所、個数、形状による違いを検証し、ドレナージ効率のより良いステントの形状、側孔について検証する。

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）：机上実験済み
日本ゼオン総合開発センター メディカル研究所にて行い、形状による違いを検証した。ドレナージ効率のより良いステントの形状、側孔についてサンプルを作成した。
<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 1 で作成したサンプルを使用して、中下部胆管、肝門部胆管の模擬閉塞を仮定してステントの形状、側孔の位置の改良を加え、試作品を作成した。
<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）
試作品による短期ドレナージ効率を既存の PS の形状と比較し、有意差をもって効率が良いことを証明できた。
<検討 4> 製品化に向けて PS の素材、形状を決定した。
本研究はこれをもって終了として、今後、新たにゼオンメディカル株式会社と共同研究契約を締結し、製品化に向けて安全性の検証を行う予定である。

11. 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・総括
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

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、外部業者に委託して解析を行っているところである。

12. 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。

昨年度は、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い、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。

更に今年度は、人間において、補助人工心臓植え込み式の摘出をした際、そのドライプラインに赤外線凝固器を使用して焼灼し、その有効性を確認することが出来た。

13. 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
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病院	特別顧問	SPF および無菌動物飼育・実験
小林 拓	北里大学北里研究所病院	センター長	SPF および無菌動物飼育・実験
竹内 修	北里大学北里研究所病院	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、幼少および成獣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、幼少無菌マウスに、性別が一致する幼少 SPF マウスまたは成獣 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、IBD マウスモデルに異なるタイミング（週齢）で腸管 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、無菌（GF）マウスを用いて 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。腸管形態は、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。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たところ、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を検討した。4 週齢と 10 週齢 GF マウスは遺伝子発現プロファイルが異なっていた。各週齢の GF マウスに特徴的に発現する遺伝子群と 10 週齢 SPF マウスから腸内細菌叢を移入した時に生着する細菌の相関関係を解析し、4 週齢マウスに生着しやすいと考えられる細菌属を見出した。これらの細菌属は SPF 環境において 4 週齢マウスで 10 週齢マウスと比較して有意に多く存在していた。

14. 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	研究員	水分量や発汗の評価

キーワード

炎症性皮膚疾患、角質水分量、発汗、ステロイド外用剤、保湿剤

研究分野

皮膚免疫学

1. 共同研究の目的

我々の教室では、以前からハブ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 マウスでは接触過敏反応(CHS)および即時型反応(ITH)が増強することを明らかにしてきた。さらに発汗抑制剤を皮膚局所に投与するマウスの系を確立し、それによる発汗低下も ft/ft マウス同様に CHS, ITH が増強することを確認した。本年度は今までの結果をもとに、ハブテン繰り返しによるアトピー性皮膚炎(AD)モデルを湿度環境を変えて作成することで、湿度による角質水分量の変化がADモデルにどのような影響を与えるのかを明らかにする。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 マウスや各種マウスを用いてADモデルを異なる湿度環境で作成、比較する。これにより、ADと湿度環境の関係、マウス種の違の影響などを明らかにできる。

3. 研究成果(経過)

今年度までの研究で、バリア機能異常があることで知られている flaky tail mouse (ft/ft)では、足蹠からの発汗も低下していることを我々は明らかにしてきた。発汗低下は皮膚角質水分量(SSH)を低下させ、これによるハブテン吸収の増加がハブテン単回塗布による接触過敏反応(CHS)および即時型反応(ITH)の増加を引き起こす。ハブテンを繰り返し塗布するハブテン繰り返しモデルはアトピー性皮膚炎(AD)の病態を再現しうするため、異なる湿度環境下で本モデルを作成しSSHの変化が本モデルに与える影響を確認した。C57BL/6 耳翼を用いた検討では、高湿度環境下では低湿度環境下より皮膚所見は軽減し(紅斑、腫脹、鱗屑とも減少)し、ハブテン塗布 day14 からその差は有意であった。ft/ft マウスでも同様の結果が確認され、皮膚バリア機能異常の有無に関わらずSSHの増加はAD様の皮膚炎症を抑制することが判明した。また、ft/ft マウス所属リンパ節(day42)においてType2 サイトカインである IL-4, IL-13 が低湿度環境下作成マウスにおいて高値を示した。

以上の結果から、皮膚バリア機能異常を認める場合でも、SSHを人工的に増加させることで炎症性皮膚疾患の程度を軽減させる可能性が示唆され、治療的観点からも有用な所見であると考えられた。

15. 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

杏林大学もの忘れセンターを受診し、正常から軽度認知機能低下と診断された患者さんの中で、本人の希望があり協力の得られた方につき、三鷹市内の交通安全環境研究所に行っていただく。ここで定置型ドライビングシュミレーターを用い高齢者や軽度認知症の患者が苦手とする運転場面を再現し、運転の様子を定性的、定量的に解析する。例えば、見通しの悪い交差点における飛び出してくる車両へのブレーキ装置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、2020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。

16. 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成を目指す。

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、学術活動の1つとして、これまでに重ねてきた研究成果を以下の専門領域学会で報告した。

1) Yoshikawa T, Kato S, Yamaguchi Y, Tanaka T: Evaluation Method for Healing Process in Severe Burns Using Image Processing, 45th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society 2023, 2023/7/24-27.

2) Shimbo Y, Kato S, Yamaguchi Y, Tanaka T: Burn Area Extraction Method by Depth with Image Processing, The 1st International Conference on ICT Application Research, 2023/9/10-12.

17. 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
成田 圭吾	医学部形成外科学	助教	データ解析、統括
木村 武一郎	医学部形成外科学	専修医	データ解析
雨宮 俊一	NTTDATA	研究員	ソフトウェア開発

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、様々な用途に応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、これまでに基本システムの開発、顔面神経麻痺患者の動画学習を行ってきた。本研究期間では、顔の向きが異なる動画が現在の評価システムに及ぼす影響についての研究を追加し、学会報告、専門誌への投稿を行った。本研究は、遅滞なく進められている。

18. 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。なお、匿名化後の原データ（論文の際に公共データベースのアップロードが求められるもの）からの解析も視野にいれ、現在 MTA の締結を進めている。

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。TCGA（The Cancer Genome Atlas）の公開メチル化データから再解析でも類似の傾向が見られた。2024 年 3 月の第 113 回日本病理学会総会で発表予定である。メチル化からみたエピゲノム腫瘍進展マップも作成中であり、同データも加えてこの春に科学誌への投稿を予定している。

19. 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、KAT3、化合物、中脳、自閉症

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、エピゲノム因子の存在を同定してきた。この作用薬 PBD を作用させた結果、新たに stx1A 発現が促進されることを発見してきた。更に in vivo における STX1A 発現促進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増強されることを確認した。また ECD-HPLC 解析により中脳における 5-HT 濃度と分泌後代謝物 5-HIAA との比率を求めることによるセロトニン分泌機能を調べたところ、分泌の増加を示すことも見出てきた。そこで PBD を投与した際の自閉症症状に与える影響を検証したところ、潜在抑制機能が回復することを発見した。また一方で stx1A 発現に関与しない NFκB シグナル伝達経路の作用薬によっては潜在抑制機能は影響がなかった。これらの結果は PBD による STX1A 発現変化には自閉症症状に対する治癒効果があることを示しており、以上の結果を論文等の成果にまとめることができたことから、ヒストンアセチル化酵素作用薬を用いた精神疾患研究は本年度をもって一区切りとする。

20. 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	医学部総合医療学	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

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、百日咳菌の病原因子の OMV を通じた宿主細胞内への輸送とその生物活性を明らかにすることを目的とした。

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。early endosome との共局在を検討したところ、early endosome に FHA が検出された。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。

本研究により、百日咳菌の OMV には、補体阻害因子など共通の病原因子の他、菌の生育環境により、異なる種類の病原因子のセットが含まれており、さらに OMV を通じて宿主細胞に輸送されることで、細胞毒性などの病原性発現に関与していることが示唆された。

21. 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
菅田 晴夫	医学部化学	非常勤講師	イムノプロットイング、ATPase 活性測定
須賀 圭	医学部化学	准教授	細胞培養、組織染色
原 諭吉	東京医科歯科大学	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、グリア、グリオーマ

研究分野

生化学、生理学

1. 共同研究の目的

これまで我々は、Na⁺/K⁺-ATPase α 鎖の 3 つのアイソフォーム、α1、α2、α3 のラット大脳内局在を免疫組織染色によって明らかにしてきた。この過程で、ラットグリア細胞に主に存在する α2 が、グリア細胞がガン化した C6 グリオーマ細胞では認められないことをイムノプロットイング及び ATPase 活性測定によって見出した。グリオーマは脳腫瘍と密接な関係があるので、本当に α2 が消失したのかどうか、また、α2 消失と、脳腫瘍に伴って見られる脳浮腫との間に関連があるのかどうか調べる。

2. 共同研究の内容・計画

1. Na⁺/K⁺-ATPase α 鎖アイソフォーム、α1、α2、α3 の分布を、ラット初代培養細胞、C6 グリオーマ細胞、NG108 細胞、及びヒトグリオーマ細胞について調べる。
2. PCR 反応を用いて、グリアおよびグリオーマ細胞内の α アイソザイム 遺伝子発現の有無を調べる。
3. グリアおよびグリオーマ細胞 Na⁺/K⁺-ATPase の Na⁺ および K⁺ に対する親和性を調べ、イオン輸送活性に違いがあるかどうか調べる。

3. 研究成果（経過）

これまで我々は、Na⁺/K⁺-ATPase α 鎖の 3 つのアイソフォーム、α1、α2、α3 がラット大脳に存在することを示し、さらにラットグリア細胞に存在している α1、α2 のうち、グリア細胞がガン化した C6 グリオーマ細胞では、α2 が認められないことを見出してきた。

α2 が消失したのかどうか更に確認するため、ラットとマウスのハイブリッドグリオーマ細胞である NG108 細胞について調べたところ、C6 グリオーマ細胞と同様の結果が得られた。

ヒトのグリオーマ細胞についても調べる予定だったが、適当な細胞株が入手できなかつたため翌年度にもちこすことになった。ある文献によれば、ヒトグリオーマ細胞には α2 ではなく α3 が存在するなど、我々の結果との違いが報告されている。そこで、先行研究の結果もふまえ、翌年度では、マウス（もし入手できればヒト）グリアおよびグリオーマ細胞の Na⁺/K⁺-ATPase について、アイソフォームの局在のみならず、ATPase 活性など、基本的な生化学的性質について調べる予定である。

22. 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、イオンチャンネル、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ン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ン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ン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ンネルの種類を同定する。

23. 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、特にヒト毛包の再生法の技術的基盤の確立を主たる目的とする。共同研究者の施設は本邦におけるヒト 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 細胞のみを利用する。本学では、共同研究者の指導を受けつつ、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の分化誘導法を開発する。確立した方法で分化誘導し得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ことで毛包をはじめとする皮膚付属器の器官再生を試みる。再生された構造体の形態的・分子生物学的・機能解析は本学にて行う。

3. 研究成果（経過）

本年度は、毛誘導能をもつ毛乳頭構造を、ヒト iPS 細胞を用いて効率良く作製するための技術開発の一環として、昨年度確立した毛包形成における上皮-間葉系相互作用を促進する培養条件を用いて毛誘導能をもつヒト毛乳頭細胞を培養し、それを用いて立体構造体の作製を試みた。作製法として、ハングドロップ法と低接着細胞培養マイクロプレートと遠心分離法を組み合わせた方法を用い、また培養培地として WNT シグナル経路と FGF 経路の活性因子を組み合わせた培地を用いてヒト毛乳頭類似構造を作製したところ、両方の立体培養条件において平面培養時と比較して、より毛乳頭関連マーカーの発現の高い毛乳頭類似細胞塊を作製することができた。しかし、免疫組織学的検討の結果、こうしたマーカーは細胞塊に一律に発現している訳ではなく、一部の細胞に発現が高いことも明らかとなった。つまり、より効率の良く毛誘導能をもつ細胞を得るには、新しく確立した培養条件で培養し、得られた細胞からさらに毛誘導能の高い細胞を分離培養する必要があることが明らかとなった。そこで、毛誘導能と相関する SOX2、LEF1 の発現をもとに求める細胞のソーティングを可能にする細胞表面マーカーの同定を試みいくつかの候補因子を同定し得た。この後ヒト iPS 細胞への応用を目指し、同定した候補因子の特徴を明らかにする予定である。

24. 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	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
内田 智士	東京医科歯科大学	教授	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ている。今回の共同研究により、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。結果の一部は *Molecular Therapy* (IF 12.4) にアクセプトされ、現在印刷中である。治験第一相を目指して、現在さらに研究を進めている。

25. 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	医学部感染症学	講師	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。
現在、得られた研究結果をまとめ、投稿準備中である（2024年2月現在）。

26. 新規抗マalaria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alaria活性化化合物の合成

キーワード

抗マalaria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alaria感染マウスを使用した各種化合物の抗マalaria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alaria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alaria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）

得られた研究結果をまとめ、論文を投稿し、受理された（以下）。

Asahi H1, Niikura M, Inoue SI², Sendo F3, Kobayashi F4, Wada A1 (1RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research, 2Nagasaki University, 3Kojunosato, 4Azabu University): Dihydroartemisinin Disrupts Zinc Homeostasis in Plasmodium falciparum To Potentiate Its Antimalarial Action via Pyknosis. ACS Infect Dis. 9(7):1303-1309, 2023.

27. 真皮毛根鞘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	室長	共同研究の進捗管理
高木 雅哉	資生堂	室員	毛髪・頭皮評価技術の検証
辻飛 雄馬	資生堂	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 を用いて成長因子産生、間葉系分化マーカー発現様式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脱毛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では、共同で毛髪・頭皮の状況を画像解析技術などを用いて定量化する技術を開発中であり、さらに患者の自覚的所見を数値化する方法論の確立を目指している。

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としての生物学的特性をもつ真皮毛根鞘細胞(DSCC)の機能の解析法を検討するプロジェクトである。DSCC は男性型・女性型脱毛症において薄毛部への移植で症状改善効果を示すことが期待されているが、その臨床的な治療効果を定量的に測定するための効率よい方法論は確立されていない。そこで、臨床写真、あるいはトリコスコピー画像を二値化し毛密度、毛径などの自動計測するアルゴリズムを複数開発し、学会や学術論文での発表を行った (Takagi et al. J Dermatol Sci 2023 2報)。今後、開発したアルゴリズムを統合させ、実臨床で応用可能なソフトウェアを共同開発する予定である。また、DSCC が臨床的に有効性を示すメカニズムとして、脱毛症罹患部の微細環境における炎症反応を抑制する作用が想定されることから、DSCC の免疫抑制能についてサイトカインなどの発現などの観点から解析を行い、仮説を裏付ける結果を得つつある。今後、機能と脱毛症状改善の相関などにつき先行して行われた臨床試験でのデータなどをもとにさらに解析を進める予定である。

28. 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

①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負荷した系での解析、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。

②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)

今年度は、培養細胞を用いた解析を中心に行った。

①HEK細胞にマウス Piezo2 WT と Piezo2 gain of function mutant をサブクローニングした発現ベクター-pcDNA3 を作製した。一過性に発現させ、phospho ERK, fibronectin などの変化を解析した。

②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^{Ay} と KK^{Ay} に高食塩食を負荷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。

③ヒト腎生検サンプルを用いた解析: 杏林大学と東京慈恵会医科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。

29. 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	医学部細胞生化学	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	准教授	イメージング解析、組織化学実験
宇田川 陽秀	文教大学	特任講師	分子生物学実験

キーワード

膵β細胞、インスリン分泌、極性分泌

研究分野

細胞生物学

1. 共同研究の目的

膵β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、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β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β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β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β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β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β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、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インスリン極性分泌部位に局在しており、Septin7β細胞特異的ノックアウトマウス由来のβ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、免疫沈降実験によりSeptin7はβ細胞内でシャペロン蛋白質Heat shock protein 70 (Hsc70)と相互作用しており、またHsc70はインスリン顆粒膜に局在しているCysteine

String Protein (Csp) また細胞膜 SNARE 蛋白質である SNAP25 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-Csp-SNAP25 を介して第 2 相インスリン極性開口分泌を調節していることが示唆された。

30. 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	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

キーワード

悪性腫瘍, 中枢神経系腫瘍, DNA メチル化解析, 病理診断

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）

本研究は、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の確立を目的とする。
杏林大学医学部付属病院で外科的に切除された脳腫瘍検体および病理診断コンサルテーション目的に送付された病理組織検体から、診断困難であった症例、新規に定義された腫瘍型と思われる症例、非典型的な臨床病理学的所見を呈する症例を選択し、94例についてDNAメチル化解析を行った。
次元削減法を含む各種バイオインフォマティクス解析により、分類不能ないし分類困難な腫瘍を特定し、1例について網羅的発現解析を行った。その解析から同腫瘍では稀な融合遺伝子形成が同定され、腫瘍形成に関与していることが推定された。
今後、論文発表を予定している。

31. 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系統の作成

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。そのために、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、昨年度確立した解析系を用いて、12 遺伝子について、成虫乳 r-ビルグリア前駆体細胞における、特異的なノックアウトを行い、成虫期のエンシーシンググリア (EG) ならびにアストロサイト様グリア (ALG) の発生ならびに、機能についての影響を解析した。その結果 12 遺伝子のうち 2 つの遺伝子について、EG ならびに ALG の発生・分化の異常が生じることを明らかにした。発生に対する顕著な異常がなかった 10 遺伝子については、1ヶ月後の成虫における運動性を解析しこんだがコントロールと比して顕著な異常を見つけないことができなかった。この結果、少なくとも転写因子をコードする 2 つの遺伝子がグリアサブタイプの発生・分化に必要であることが明らかになった。

32. 糖尿病合併症新規マーカーの探索：グライコプロテオミクスと免疫組織化学的解析

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研究所	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研究所	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、免疫組織化学
--

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 化タンパク質をプロテオミクスと組織・細胞を用いた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タンパク質を明らかにする。

2. 共同研究の内容・計画

①糖修飾タンパク質抗体あるいはリン酸化タンパク質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糖修飾タンパク質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 を使用してプロテオーム解析を行う。③糖尿病モデル動物（GK ラット、KK マウス）を用いて、糖尿病合併症が起こる腎臓、神経、網膜における糖修飾タンパク質の局在と発現量を免疫組織化学的に調べ、リン酸化タンパク質と比較検討する。

3. 研究成果（経過）

アクチンは細胞骨格成分としての機能がよく知られているのに加えて、近年、核内において転写などの調節に関与することが明らかになりつつある。アクチンは、リン酸化、糖修飾（O-GlcNAc 化）など様々な翻訳後修飾を受ける。リン酸化部位は 35 カ所あり、そのうち Tyr53 と Thr201-203 のリン酸化はアクチンフィラメントの伸長の制御に関与することが知られている。これに対して糖修飾（O-GlcNAc 化）部位は 6 ヶ所あり、そのうち 3 ヶ所（Ser 52, 199, 323）はリン酸化部位と一致している。しかし、これらの部位の糖修飾が、アクチンの機能調節にどのように関与しているについては不明である。そこで本研究では、リン酸化、糖修飾 S199 アクチンの核内における役割について調べる目的でリン酸化、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によりリン酸化、糖修飾アクチンが核内構造体のどこに局在するかを検討した。その結果ラット腎糸球体および培養細胞においてリン酸化 Ser199 アクチン並びに糖修飾 Ser199 アクチンが核スペckルに存在する serine and arginine rich splicing factor 2 (SRSF2)と共局在していることが明らかになった。

33. ヒト唾液由来エクソソームの機能解析に関する研究:免疫電顕法を用いた解析

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	研究教授	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所	研究副部長	プロテオーム解析

キーワード

唾液、エクソソーム、生体防御機構、電子顕微鏡解析、アミノペプチダーゼ

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。唾液エクソソームにはサイズの異なる 2 種類のアミノペプチダーゼが発現しているが、その存在意義は明らかになっていない。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、アミノペプチダーゼに注目して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ティングや、免疫蛍光染色で確認する。②ゲルろ過クロマトグラフィーを用いてエクソソームを精製し、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アミノペプチダーゼについて、免疫電顕法を用いた性状解析を行う。

3. 研究成果（経過）

ヒト唾液にはサイズの異なる 2 種類の細胞外小胞(EV-I 及び EV-II)が存在する。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、両 EVs の指標となるタンパク質を同定するとともに、免疫沈降によってそれらのタンパク質の存在状態を調べ、構造上の特徴を明らかにした。ヒト全唾液からゲルろ過クロマトグラフィーで精製した EV-I 画分および EV-II 画分をそれぞれ 2 万 xg および 10 万 xg で段階的に遠心し、EV-I 画分の 20k-ppt(EV-I-20k)および EV-II 画分の 100 k-ppt(EV-II-100k)についてプロテオーム解析を行った。オミックス情報から得られたいくつかの膜タンパク質に対し、抗体結合ビーズを使用して EVs を免疫沈降した。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。プロテオーム解析により、両方の EV から膜タンパク質としてムチン 1 (MUC1)、CD9 および DPP IV 等が検出された。これらタンパク質に対して免疫沈降を行うと EV-I は抗 MUC1 抗体、EV-II は抗 DPP IV 抗体または抗 CD9 抗体結合ビーズで共沈した。この結果を利用し、全唾液より抗 DPP

IV 抗体および抗 MUC1 抗体を用いて免疫沈降を行ったところ、2 種類の EV を分離できた。

34. 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	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ですが、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。また、病理標本は切り出しのやり直しに限界があり、求める断面が得られない場合もある。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

既に倫理申請承認され計画遂行中である。共同研究者が開発し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し、データを集積している。特に皮膚生検実施例では、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焦点の調整、画質の改良、画像処理法の改良を加えている。特に、3次元で病理組織的に検討する必要がある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応用できる装置開発を目指している。

3. 研究成果（経過）

本研究では、共同研究者の施設で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、本学付属病院皮膚科に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確立を目指している。共同研究2年目の本年度は、脱毛症患者、基底細胞癌患者以外の皮膚腫瘍にも解析対象を拡張し測定データの積み上げを行いつつ、実臨床における操作性を重視した操作ソフトウェアの改良を行った。毛包などの構造体を明瞭に描出する検出センサの調整、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た結果、円形脱毛症の病期に特徴的な所見を安定して描出できるようになった。また、基底細胞癌において病理組織標本と対比可能な画質の画像所見を得ることが可能になりつつある。こうした所見について、国内外の学会にて学術発表を行った。さらに本年度は装置のアーム部分の可動性の改良などハード面での改良も進み、より小型で操作性の良い装置の試作に取り組むことができた。今後、さらなる改良を加え実臨床での実用化を目指す。

35. 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)

健常人において低強度集束超音波刺激を用いて運動野を経頭蓋的に刺激することで、可塑性の誘導ができるかを検討した。刺激パラメータを調整することで運動野の興奮性がどのように変化するかを調べた。このデータをもとに運動野の興奮性を最も効率的に調整(亢進・抑制)できる有効な刺激パラメータを確立した。低強度集束超音波刺激を運動野上でおこなった前後で脳波にどのような変化がみられるか、脳波周波数解析を行って検討した。

36. 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 日以降）
- 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：p75NTR、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）

RNAscope in situ hybridization と免疫染色にて、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。

さらに、救急医学教室と共同研究で行っている、UUO による腎線維化モデルにおいて、胎生期の遺伝子が活性化(Sox9)していることを見出し、Piezo2 との関係の有無、シグナル経路を解析している。

発表論文

Roles of the mechanosensitive ion channel Piezo1 in the renal podocyte injury of experimental hypertensive nephropathy.
Ogino S, Yoshikawa K, Nagase T, Mikami K, Nagase M.
Hypertens Res. 2024 Mar;47(3):747-759.

37. 枇杷葉による抗炎症作用の体系的な理解と動脈硬化治療への応用

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	NGSによる遺伝子発現解析

キーワード

枇杷葉、動脈硬化、血管炎症、東洋医学

研究分野

薬理学

1. 共同研究の目的

申請者は東洋医学で用いられる枇杷葉が血管への強力な抗炎症作用を有することを見出したことから、動脈硬化治療への応用を目標に、その作用メカニズムを明らかにすることを本研究の目的とする。本共同研究からこれまで経験的な情報に限られてきた枇杷葉の作用について理論的かつ体系的な理解が可能となり、動脈硬化の新たな治療へ繋がることが期待される。

2. 共同研究の内容・計画

上記を達成するために、動脈硬化などの疾患に関連する血管システムの研究を専門とする東京大学アイソトープ総合センター和田洋一郎教授との共同研究を通して、内皮モデルである臍帯静脈内皮細胞 HUVEC を用いた遺伝子発現・内皮機能解析、さらに、動脈硬化動物モデルである ApoE ノックアウトマウスを用いた Oil red O による血管壁への脂肪蓄積観察、血中リポタンパク質の定量、Visium による空間的遺伝子発現解析を行う。これらを通して枇杷葉の抗炎症作用を体系的に理解し、血管の慢性炎症に起因する動脈硬化治療へ応用可能かどうか、可能性を探る。

3. 研究成果（経過）

本年度は、内皮モデルである臍帯静脈内皮細胞 HUVEC を用いた遺伝子発現・内皮機能解析、及び、動脈硬化モデルである高脂肪食負荷 ApoE ノックアウトマウスを用いた Oil red O による血管壁への脂肪蓄積観察、血中リポタンパク質の定量、Visium による空間的遺伝子発現解析を行った。

血管内皮細胞を用いた RNA-seq とジーンオントロジー解析では、枇杷葉が炎症関連因子を抑制することに加え、脂質代謝に関連する遺伝子を誘導することを見出した。ApoE ノックアウトマウスの高脂肪食負荷モデルを用いた解析では、免疫組織化学により、枇杷葉を投与した群にて VCAM1 の発現低下、Oil red O 染色により血管壁への脂肪蓄積の減少が認められた。マウス血液中の各種マーカーの検討では、炎症抑制にともなう組織傷害マーカーの低下が認められた一方、リポタンパク質の変化は確認できなかった。現在、これらの現象を統合的に理解するため、大動脈を用いた Visium による空間的遺伝子発現解析を行い、各血管構成細胞における変動遺伝子の解析を進めている。

38. 赤痢ワクチン候補株の評価系の構築

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(株)	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(株)	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

赤痢菌、ワクチン、血清型、腹腔感染

研究分野

細菌学

1. 共同研究の目的

感染症学教室で開発中の赤痢ワクチン候補株のマウス評価系を作製する。

2. 共同研究の内容・計画

マウスの腹腔に赤痢ワクチン候補株を接種し、免疫がついた個体の血清抗体価を測定する。免疫終了後、血清型が異なる野生型菌を腹腔接種でチャレンジしワクチン効果を判定する。製剤化を目的とするため、安定して判定が可能な評価系を作製する。

3. 研究成果（経過）

杏林大学医学部・感染症学教室では赤痢菌群に共通な病原蛋白を抗原として、血清型を超えた効果を示す *Shigella flexneri* 2a をベースにした生ワクチン候補株を開発中である。赤痢菌の動物感染モデルとしてマウスの腹腔感染系が報告されており、これを利用してワクチン評価系の試験を行った。

ワクチン候補株は世界的に分離数が最も多い *S. sonnei* に対して 70%近い防御効果を示した。細胞侵入性を欠落させているため、免疫時の菌量を十分に多く取ることができ、それを反映してポジティブコントロールとして用いた、細胞侵入性が残っている未改良株よりも高い効果を示した。

また、本研究のテーマである血清中の赤痢菌病原蛋白に対する抗体を測定する ELISA 系を作製し、血清抗体価を比較したところ、防御効果を反映してポジティブコントロールの未改良株よりも高い傾向にあった。また、ワクチン候補株である *S. flexneri* 2a の O 抗原に対するワクチン効果を調べる測定系を作製した。これらの測定に用いた ELISA は抗体の希釈率が低く、より感度を上げる必要があるため、改良を続ける予定である。

39. 緑内障が運転行動に及ぼす影響の研究

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
北 善幸	医学部眼科学	准教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
加藤 洋子	独立行政法人自動車技術総合機構 交通安全環境研究所	研究員	運転能力の評価、予防安全システムによる効果の 評価

キーワード

緑内障、自動車運転、シミュレーション

研究分野

眼科学

1. 共同研究の目的

緑内障患者の視野障害が運転行動に及ぼす影響の研究をすること

2. 共同研究の内容・計画

複数の対象に対して同時に適切に注意を向けなければならない場面（例えば、先行車や対向車に注意して走行している際に道路脇から車両や歩行者が飛び出す）など、視野欠損が生じている場合に見落としが生じると考えられる運転場面をドライビングシミュレータにおいて模擬し、実験参加者の運転の様子を定性的、定量的に解析する。さらに、それらのシナリオにおいて見落としが生じた場合にどのような予防安全システムがあれば見落としを防げるか検討し、予防安全システムの試作を行いその効果を確認する。

杏林大学附属病院に通院中の緑内障患者に対して、交通安全環境研究所のドライビングシミュレータを用いて研究を行う。

3. 研究成果（経過）

交通安全環境研究所において、定置型ドライビングシミュレータのプログラムを改良し、緑内障による視野欠損によって対象物の見落としが生じると予想される場面を模擬することを試みている。

40. 膀胱癌組織における遺伝子変異の検討

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
福原 浩	医学部泌尿器科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
野宮 明	関東労災病院	部長	助言
奥野 佑美子	同愛記念病院	医員	遺伝子解析
武内 巧	関東労災病院	嘱託医	遺伝子解析

キーワード

膀胱癌、遺伝子、変異

研究分野

泌尿器科

1. 共同研究の目的

膀胱癌における遺伝子変異を解析し、その生物学的、臨床的意義を検討する。その結果を用いて、膀胱癌診療に寄与することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

関東労災病院において採取した膀胱癌組織からゲノムを抽出し、いくつかの個別の遺伝子についてその構造を解析する。解析する遺伝子は、①乳癌において癌抑制遺伝子であることも示唆されている ZNF668、②G-CSF をコードする CSF3 を対象とする。臨床データと比較して、これらの遺伝子における体細胞変異と、膀胱癌の浸潤性や悪性度との関連を検討する。

3. 研究成果（経過）

関東労災病院において採取した膀胱癌組織からゲノムを抽出し、いくつかの個別の遺伝子についてその構造を解析した。解析する遺伝子は、①乳癌において癌抑制遺伝子であることも示唆されている ZNF668、②G-CSF をコードする CSF3 を対象とする。臨床データと比較して、これらの遺伝子における体細胞変異と、膀胱癌の浸潤性や悪性度との関連を検討した。

杏林大学の検体も使用する予定であったが、解析途中で有意差が出たため、杏林大学の検体は使用せず、研究終了とした。下記論文に受理された。

Okuno Y, Hori M, Hattori-Kato M, Fukuhara H, Nomiya A, Mikami K, Takeuchi T. Structural Analysis of the Colony-Stimulating Factor 3 Gene of Granulocyte Colony-Stimulating Factor-Producing Urothelial Cancer. *Cureus*, 15, e43981, 2023.

41. 低酸素環境下における筋肉・脂肪におけるミトコンドリアの関与の解明

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
山本(坪井) 玲奈	High Altitude Management 株式会社	代表取締役	共同研究計画の提案・監修
松下 敬一	TSM 株式会社	代表取締役	共同研究計画の提案・監修
岡本 真由美	医学部病態生理学	非常勤講師	共同研究の遂行
黒澤 麻由美	TSM 株式会社	社員	共同研究の遂行
藤掛 明日希	TSM 株式会社	社員	共同研究の遂行
小島 匡人	TSM 株式会社	社員	共同研究の遂行

キーワード

低酸素環境、ミトコンドリア、筋肉、脂肪

研究分野

神経生理学

1. 共同研究の目的

近年、低酸素環境下で運動負荷させることによる血液成分、特にヘモグロビン量の増加のみならず、ミトコンドリア活性の上昇が報告されている。高地トレーニングを模した低酸素環境におけるトレーニング効果の機序は知られていない。低酸素環境における高地トレーニングでは、通常のトレーニングに比べて暴露期間、酸低酸素環境がミトコンドリア機能を活性化し、体力や持久力を向上させるとの報告がある。低酸素環境では暴露期間、酸素濃度の条件によりその効果の結果が異なると考えられる。そこで、最適な酸素濃度、暴露期間の検討を行い、筋肉及び脂肪におけるミトコンドリアの活性、また体重・血糖・体脂肪に与える影響を検討する。

2. 共同研究の内容・計画

低酸素発生装置を用いて、酸素濃度を①平地相当(21.0%)、②標高 2500m相当 (15.3%)、③標高 4000m相当(12.6%)の3群、各群6頭の比較で解析を行う。

暴露期間を1週間、2週間、4週間とし、毎日体重、血糖(尾より血糖測定穿刺ペンにて採血)を測定、毎週1回、動物用CTスキャンにて体脂肪量をスキャンする。

暴露期間終了後は安楽死させ、筋肉(Soleus, Gastro)及び脂肪(精巣上体周囲白色脂肪、褐色脂肪)、血液を採取し解析を行う。あわせて血液を用いて一般的な生化学検査を行う。

3. 研究成果(経過)

低酸素発生装置を用いて、8-9週齢のマウスで期間運動負荷のない状態で、酸素濃度を①平地相当(21.0%)、②標高 2500m相当

(15.3%)、③標高 4000m相当(12.6%)の3群で暴露実験をおこなった。各群9-10頭の観察を行った。期間中毎日体重を測定し、暴露期間終了後に組織(筋肉及び脂肪)、血液を採取し解析を行った。酸素濃度が低くなるに伴って体重の増加抑制傾向がみられた。また酸素濃度依存的に赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度は高値を示した。酸素濃度依存的に体重増加に変化のみられた要因について、現在検討・解析中である。

42. 陰嚢水腫おけるアキアポリン1 遺伝子の一塩基多型およびメチル化の検討

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
福原 浩	医学部泌尿器科学	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
野宮 明	関東労災病院	部長	助言
加藤 真実	三井記念病院	医員	遺伝子解析
武内 巧	関東労災病院	嘱託医	遺伝子解析

キーワード

陰嚢水腫、aquaporin1 遺伝子、一塩基多型、メチル化、精巣鞘膜

研究分野

泌尿器科

1. 共同研究の目的

成人発症陰嚢水腫の成因として aquaporin1 (AQP1) 蛋白の関連が想定される。AQP1 遺伝子の構造を解析し、その生物学的、臨床的意義を検討する。その結果を用いて、陰嚢水腫発生機序の解明を目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

関東労災病院において採取した陰嚢水腫組織からゲノムを抽出し、AQP1 遺伝子についてその一塩基多型及びメチル化を解析する。その結果を用いて、AQP1 遺伝子の構造と陰嚢水腫の発生について、複数の遺伝モデルを用いて検討する。

3. 研究成果（経過）

関東労災病院において採取した陰嚢水腫組織からゲノムを抽出し、aquaporin1 (AQP1) 遺伝子についてその一塩基多型及びメチル化を解析した。その結果を用いて、AQP1 遺伝子の構造と陰嚢水腫の発生について、複数の遺伝モデルを用いて検討した。杏林大学の検体も使用する予定であったが、解析途中で有意差が出たため、杏林大学の検体は使用せず、研究終了とした。下記論文に受理された。

Hattori-Kato M, Okuno Y, Zaito M, Fukuhara H, Nomiya A, Mikami K, Takeuchi T. Hypomethylation of a CpG Site in the CpG Island of the Aquaporin 1 Gene May Be Involved in the Formation of Adult-Onset Non-communicating Hydrocele Testis. *Cureus*. 15, e47651, 2023.

② 保健学部

43. 自動吸引圧コントロール機能を有するポータブル吸引器の開発研究

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
戸谷 剛	あおぞら診療所墨田	院長	ニーズ抽出、試作機評価
小谷 博子	東京未来大学	准教授	試作機評価、助言
木暮 英輝	保健学部	助教	プロトタイプ製作

キーワード

吸引器、在宅医療、吸引圧コントロール

研究分野

在宅医療

1. 共同研究の目的

高齢者や医療的ケア児の在宅医療における喀痰吸引には吸引器が用いられる。一般的な口腔・鼻腔内吸引の場合にはチューブ閉塞時に 20kPa (0.2 気圧程度) の吸引圧になるように吸引ポンプを調節して使用するが、取り付けるカテーテルの太さや吸引する液体の粘稠度によっては吸引圧の過不足感により操作が滞る問題点が存在する。本研究では、課題の抽出と解決策の提案を行い、改良したプロトタイプを試作することを目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

共同研究者である戸谷剛医師は医療的ケア児のための在宅クリニックで診断治療をする中で、吸引器にはさらなる改良が必要と感じている。共同研究では抽出されたニーズをもとに本学側で技術的な検討を加え、実現可能な解決策の候補を提案する。具体的には吸引ポンプを制御し吸引圧の自動コントロールを基本とするポータブルなプロトタイプを設計・試作し、性能試験を実施する。試作機は共同研究者の戸谷医師と小谷准教授に評価していただき改良設計につなげる計画である。

3. 研究成果（経過）

本年度は吸引ポンプを制御し吸引圧の自動コントロールを基本とするポータブルなプロトタイプを卒業研究テーマとして学部 4 年生 3 名とともに設計・試作し、性能試験を実施した。

プロトタイプは設計通りの機能と性能を発揮できたため、その結果をクリニカルエンジニアリング誌の卒業研究コンペに投稿した。

来年度はプロトタイプの改良を実施する計画である。

44. 超高磁場 fMRI による身体バランスの危機認知に应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	保健学部リハビリテーション学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
菊池 吉晃	首都大学東京	教授	MRI の計測と高次脳機能解析
久原 重英	国際医療福祉大学	客員研究員	MRI の計測と解析
小林 邦典	保健学部診療放射線技術学科	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)

2023 年度：本実験を終了し、解析を継続して進めている。

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：健康な右利き若年成人男性 25 名を対象に実験を実施した。

②fMRI 課題：26 名の被験者全員に対して、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。また、刺激動画に対する主観評価を情動的側面および身体的側面 9 項目実施した。

③解析：集団解析の結果、実際にバランス課題を実施していない被験者であっても、AO に MI を併用することにより、高次運動領域を中心に感覚—運動関連の脳領域が活動することが示唆された。主観評価と脳活動における重回帰分析の結果から、バランス難易度が高い DU 条件では、MI の併用によって左下頭頂小様の活動が「困難さ」と正の相関、バランス難易度の低い DS 条件では、右下頭頂小様の活動が「恐怖」と負の相関を示した。

本研究の成果は、第 84 回日本生理人類学会（2023 年 6 月 17 日、福岡）で発表した。

45. 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 (KEK)	教授	共同研究者（検出器設計・開発）

キーワード

放射線検出器、放射線治療装置の線量分布評価、MPGD、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、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とともに、一般的な放射線治療時の線量分布を2次元的にリアルタイムでモニタできるビームモニタの開発も進める。

2. 共同研究の内容・計画

これまでに開発した GEM の評価、検出器システムとしての基本性能の測定や、信号処理用電子回路の評価を行う。また、パルス中性子場での実験も行う予定である。

高エネルギーX線用リアルタイムビームモニタの開発では、原理検証を目的とした試作機の作成に取り掛かる。

検出器の開発・組立は主に KEK で行い、装置の基本性能・特性評価等について本学の放射線機器を用いて行う予定である。

3. 研究成果（経過）

本研究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)の開発と放射線検出器としての最適化、および信号処理電子回路の改良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。要求される仕様に合わせるため、GEM そのものに用いる材質に改良を加え基礎特性の評価実験を行った。GEM 自体の改良により想定した要求性能を満たすことが示されたが、現行の検出器システムではバックグラウンド放射線として問題となる γ 線に対する感度がまだ高いことが示された（検出器の構成材による）。今後は、 γ 線に対して低感度となる部材に変更し、検出器を再構築したうえで評価・改良を進める予定である。

46. 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	保健学部リハビリテーション学科	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	大学院生	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。

- 1.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）
- 2.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
- 3.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
- 4.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、本申請研究は保健学部倫理審査委員会の承認を得て研究を開始し、計測と一部の解析は終了している。

3. 研究成果（経過）

2023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継続し、当年度で共同研究は終了した。

本共同研究の結果、汎用性の高い加速度センサによる多点計測と位相解析により、姿勢・動作の特徴量を新たに抽出することが可能となった。また、研究成果を発展・応用させる内容にて科研費（分担）が採択されたため、今後は新たな共同研究を計画する予定である。

【本共同研究に関連する成果（全期間）】

特許：特開 2023-180005【発明の名称】姿勢制御評価方法及び姿勢制御評価装置

論文：Tanaka K, Fujiki S, Atomi T*, et al., Scientific Reports, 2022.

学会発表：第 79 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会（2020.11.25, 横浜）、第 18 回姿勢と歩行研究会（2022.3.12, 東京）、日本生理人類学会第 83 回大会（2022.10.29, 京都）、姿勢と歩行研究会第 20 回大会（2023.03.23, 東京）

47. 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

ハウスダスト中のキチン粒子が新規の気道炎症誘発物質であることが明らかとされており、アレルギー・慢性閉塞性肺疾患（COPD）などとの関連が示唆されている。申請者による検討から、キチン粒子は IgE 抗体や T 細胞などの獲得免疫と無関係に気道炎症を誘発することが明らかとなっているが、キチン粒子による自然免疫応答の活性化機構の詳細は不明である。そこで本共同研究では、キチン粒子による気道炎症誘発機構の解明を目指して、キチン粒子による気道炎症に関わる新規免疫細胞およびサイトカインの解明を目指す。

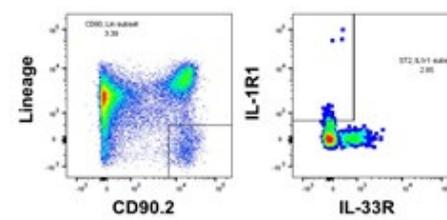
2. 共同研究の内容・計画

申請者の検討より、キチン粒子による気道炎症は自然リンパ球（innate lymphoid cell; ILC）を欠損するマウスでは強く抑制されることが明らかとなっている。一方で、IL-17 や IL-22 といった既知の ILC サイトカイン欠損マウスでは気道炎症が抑制されないことから、新規の ILC サブセットとサイトカインの関与が想定される。そこで、キチン吸入マウス肺の ILC について single cell RNA-seq を実施し、キチン粒子に反応して好中球性気道炎症に関わる新規 ILC サブセットを特定する。さらに、当細胞群のサイトカイン産生性を確認すると共に、Rag2 x Il2r α 欠損マウスに移入して、キチン粒子による気道炎症を再構築できるか検討する。

3. 研究成果（経過）

ハウスダスト中のキチン粒子が新規の気道炎症誘発物質であることが明らかとされており、アレルギー・慢性閉塞性肺疾患（COPD）などとの関連が示唆されている。そこで、本申請では、キチン粒子による好中球性の気道炎症誘発に関わる新規 ILC サブセットの同定および機能解析を目指して、キチン吸入後の肺 ILC を用いて 1 細胞 RNA シークエンス（scRNA-seq）解析を実施することとした。

実験に先立って、ILC および、IL-1 受容体（IL-1R1）を発現する ILC のキチン吸入肺での検出を試みた。その結果、FACS により ILC および IL-1R1 発現 ILC を実際に検出することができた（下図）。さらに、scRNA-seq 用のサンプルとして、必要な細胞数の ILC を高純度に FACS でソートする必要がある。そこで、いくつかの肺 single 細胞調製方法を検討し、マウス 1 匹当たり 5,000 cells 以上の ILC を 80%以上の純度で sorting することに成功した。今後、キチン吸入後の肺内の ILC を用いて scRNA-seq 解析を実施する。



48. 全身性炎症に应答する脳内免疫代謝学的制御の質量分析法を用いた解析

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	質量分析の技量に関する指導
町田 晃一	東京薬科大学	助教	ミエリン脂質の質量分析
小原 映	保健学部	助教	LC-MS/MSを用いた質量分析
摂津 黎	保健学部	助教	脳のサンプリングと組織学解析

キーワード

免疫代謝学、脳、ミクログリア、新生児敗血症、質量分析

研究分野

実験病理学

1. 共同研究の目的

新生児敗血症は脳性麻痺の危険因子であり、白質のミエリン形成不全が残存して発達障害の原因となる。しかし、脳が全身性炎症に应答する仕組みには不明な点が多い。我々が実験的に積み重ねた病理組織学的解析、サイトカインアッセイ、遺伝子発現解析、イメージング質量分析の成果を踏まえ、全身性炎症に应答するミクログリアはエネルギー代謝を切り替え、免疫代謝学的制御を行うことを実証する。また、炎症应答中のミクログリアはミエリン形成を支持する能力が低くなっていると考え、ミエリン構成脂質の組織内濃度および化学修飾を分析する。

2. 共同研究の内容・計画

新生児マウスに LPS を腹腔内投与して、新生児敗血症モデルを作製する。全身性炎症に应答するミクログリアを解析する中で、グルコース代謝の経路の変化に着目している。とりわけ、免疫代謝学的制御を行っていることを証明するため、脳組織中で代謝産物濃度が変化していることを高速液体クロマトグラフィー・質量分析法(LC-MS/MS)にて測定する。一方、全身性炎症に应答するミクログリアは、発達中の脳組織でミエリン形成を支持する能力が低くなっていると仮説を立てている。ミエリン構成脂質分子の組織内濃度比の変化や化学修飾を受けた脂質の存在を LC-MS/MS にて解析する。

3. 研究成果（経過）

生後 7 日齢の C57BL/6 マウスに、大腸菌由来リボ多糖 LPS を腹腔内投与し、全身性炎症に対して新生児の脳が行う免疫应答を研究している。これまでの研究で、LPS 投与の 4、24 時間後には脳実質内サイトカインの組織内濃度が変動し、24 時間後には脳内マクロファージ(Mφ)数が上昇した。新鮮脳細胞を分散し、脳内 Mφ/ミクログリアのみを分離して RT-qPCR を行った結果、Saa3 や Irg1 などをはじめとする遺伝子発現の急上昇を認めた。本研究においては、7 日齢の脳組織で髄鞘形成が盛んに行われていることに着目し、Mφ/ミクログリアが免疫应答のために遺伝子発現を変動させることによって、髄質に集積した脂質に代謝的变化が生じるのではないかと仮説を立てた。本年度は、脳由来の脂質を定量するための手技を検討する目的で、成体の C57BL/6 マウス 4 匹に LPS を腹腔内投与し、24 時間後に新鮮脳を摘出した。凍結破碎装置を用いて大脳組織を迅速に破碎し、脂質を抽出した。脂質抽出は組織が 20mg/mL となるようにメタノールを加え超音波破碎して進めた。東京薬科大学が有する LC-qTOF-

MS (高速液体クロマトグラフィーに、四重極型と飛行時間型の質量分析計を組み合わせたハイブリッド型の質量分析装置) を用いてリポドミクスを行ったところ、ポジティブモードの解析において、アシルカルニチン、ヘキソシルセラミド、リゾホスファチジルコリン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリンなどを正確に同定し、定量的に解析できた。また、LPS 投与マウスでは全身性炎症の影響を受けて、アシルカルニチン、ホスファチジルセリンの組織内量が増加した。今後は質量分析の条件を工夫してネガティブモードの解析も調整し、次いで、7日齢のマウスの脳から脂質を抽出して同様のリポドミクスを行う。髄鞘形成中である幼若脳に特徴的な脂質濃度の変化を捉えることによって、全身性炎症に対して新生仔の脳が行う免疫応答を分子レベルで明らかにしていきたい。

49. 乳腺小葉癌に対する新規抗体の作製及びその解析

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	客員准教授	病理症例組織判定

キーワード

モノクローナル抗体、乳腺小葉癌、特異性、病理診断、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 から 22 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数クローン得られた。その中で最も有望なクローンについてこれから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）であったが順天堂大学にて期間が終了してしまった為現在更新申請中。共同研究として順天堂大学にて一括申請中である。

3. 研究成果（経過）

乳腺小葉癌にフローサイトメトリー及び免疫組織化学的に陽性を示す有望な抗体が 3 種作製することができた。その中で他の臓器の腫瘍の培養細胞に対してかなり特異度の高い 1 つは精製を行った。これから抗原解析を行う。それから病理診断が終了している症例の組織染色についても症例を追加すべきであるという指摘を受け、これから染色を追加するところである。順天堂大学の倫理委員会へも昨年に再度審査を受けて承認された（E23-0113）。杏林大学保健学部での倫理審査へも変更申請を行っている最中である。

50. 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の病態評価法やスクリーニング法に有用かを検討する。

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）

・本研究の成果を2023年度第24回日本検査血液学会学術集会で発表した。

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

51. 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—

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	調査計画と分析
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。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ている (杏林大学倫理審査委員会の承認 (2021-75))。2022 年度に引き続き、2023 年度はサンプル数を増やすとともに、学生が感じる効果や看護職に対する向社会的モチベーション、チーム学習行動やウェルビーイングについて調査結果をまとめていく予定である。

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た。質問紙調査により **prosocial motivation**、**reflection**、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)、チーム学習行動、ウェルビーイング、睡眠について、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等を 2021 年度から継続的に調査を実施しデータ数を増やした。

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 33 回学術集会 (2023 年 8 月 26 日~27 日) の交流セッションにて ICT の授業活用に関して、第 43 回日本看護科学学会学術集会 (2023 年

12月9日～10日)にてウェルビーイング、睡眠について口演発表を行い、同分野の研究者と意見交換した。
3年間で蓄積されたデータの解析を共同研究機関とともに実施し、論文として成果報告する予定である。

52. 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	保健学部リハビリテーション学科	教授	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
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
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
村松 憲	保健学部リハビリテーション学科	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、形質細胞

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的問題点として知られている。我々は2022年の研究において、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。本年では、高脂肪食モデルマウスにおける腸絨毛内に分布する形質細胞の量的解析、形質細胞の遊走を促す CCL25、形質細胞への分化を誘導する BAFF の免疫組織化学的解析から、高脂肪食投与による免疫細胞への影響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週間飼育された高脂肪食マウスと通常食(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、ベトルファール)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。腸絨毛に分布する免疫細胞の量的解析では、中心乳び管または規則的に並ぶ単層円柱上皮の観察を腸絨毛の中央と定義し、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で比較する。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。

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、高脂肪食マウスの空腸絨毛に分布する IgA 産生 B 細胞 (IgA+CD22⁺B 細胞) の減少を観察した。本年は、高脂肪食マウスの空腸絨毛において IgA+CD138⁻B 細胞が有意に減少していること、IgA+CD138⁺形質細胞が維持されていること、回腸では IgA 産生細胞に変化が生じないことを見

出した。さらに、抗 BAFF 抗体、抗 APRIL 抗体を用いて空腸絨毛を観察し、高脂肪食マウスでは BAFF 陽性反応のみが有意に減弱することを見出した。現在はこれまでの知見を論文としてまとめ、国際誌へ投稿中である。今後の方針として、抗 CCL25 抗体、抗 TNF- β 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や、ELISA による糞便中の IgA 定量値の測定および空腸内容物、回腸内容物の IgA 定量値の解析より、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。

53. 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関連の変動

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	助教	行動解析

キーワード

脳腸関連、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、脳腸関連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)

本研究は、マウスに慢性的な鼻腔炎症を誘導し、摂食調節機構にどう影響するかを明らかにすることを目的としている。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回ずつ投与し続けると、LPS投与群において摂食量が減少すること、体重増加が抑制されることを、本校の施設でも、共同研究先の鹿児島大学の施設でも確認できた。10週間投与すると、LPS投与群において腸内細菌叢が変動すること、鼻炎回復後でも短鎖脂肪酸産生菌が減少していることが明らかとなった。そこで、短鎖脂肪酸受容体の脳内分布を調べるために受容体の免疫染色を行ったところ、下垂体に発現が見られたことから、ホルモン産生に影響することが推測された。今後は慢性鼻腔炎症が下垂体を制御する視床下部へ及ぼす影響を組織学的に解析する予定である。

54. 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

熱交換器、人工心肺、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。昨年度に引き続き、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継続する計画である。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改良に貢献可能である。

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。前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確立ができた。本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。

3. 研究成果（経過）

本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、卒業研究テーマとして学部4年生2名と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設計・試作した。

しかし、水密用ポリウレタン樹脂の流し込み工程で不具合があり流路抵抗が高くなってしまったため、熱交換性能試験及び評価には至らなかった。

来年度は製造工程を見直すことで新たなプロトタイプを設計試作する計画である。

55. 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
岩橋 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	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人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 500 mL/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）

昨年度、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、1 回の動物実験にて手技の確認と安全性の評価を実施した。今年度はさらに 3 回の正常な犬、猫を用いた動物実験と、2 例の腎不全症例に対し、本システムの有用性を評価した。動物実験では血液回路内の血液凝固を生じることはなく、安全性にも問題はなかったため、臨床例に用いることとなった。1 症例目は水腎症による急性腎障害、敗血症疑いの猫に対して、血液透析を実施した。2 回の血液透析では尿毒素の除去と電解質の補正、体液量の調整が問題なく実施できたが、治療開始 3 日目に血栓症疑いのため死亡した。血栓症の疑いは入院時より認められていたため、本システムの血液透析による影響ではないと考えられた。2 例目は原因不明の腎障害の猫に対して、血液透析を実施した。5 回の血液透析は問題なく実施できたが、腎機能の回復が認めず、飼い主の希望により血液透析は終了となった。今後も、臨床例に対して血液透析を施行することで、本システムの有用性を

検討していく予定である。

56. 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	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。

23 年度は、22 年度に開発した臨床工学科 2 年次後期科目「医用電子工学実習」で使用した機器管理 DB の仕様、使用状況について検証し、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た状況やその改善点などを HITOTSU 開発側へフィードバックする。また、2023 年 4 月以降、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」での運用を予定する。

3. 研究成果（経過）

昨年度に引き続き、臨床で用いられているクラウド型の医療機器管理 DB システムを用いて、病院での医療機器管理を模擬した臨床工学室での実習機材の管理・運用を行った。本システムは、(株)HITOTSU が開発したプラットフォームに依存しない一元管理可能な医療機器管理 DB を、養成校教育現場用に改変したタイプで、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、2023 年 9 月

21日から2024年1月11日までの実習期間中、全10回の実習にて機器の貸出（実習開始時）、返却・点検（実習終了時）時に学生自ら運用を行った。

2年目となる今年度実施した結果を元に、2024年2月20日に（株）HITOTSU 田村様と打合せを行い、次年度の実施方法、改善点について相談を行った。2024年度は、新しく追加した機材の登録、及びバーコード読取り精度の向上、機器管理DB仕様のアップデートを実施する予定である。

57. 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。今年度は引き続き、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20μLを塗布し、5分間洗い流した際の状態をビデオ撮影した。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。異径コネクタでは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。製品化されているコネクタであっても流れは最適化されておらず、流路の拡大による流れの剥離が生じることが明らかになった。ま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。このことから臨床においても、常に同じ状態でチューブを曲げていると流れの停滞が生じることが示唆された。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。

58. 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

1. 現在有効な治療薬がないとされている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** に的を絞り、抗体樹立を目指す。
2. 免疫に使用するマウスは、共同研究者松岡先生の下で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。

2. 共同研究の内容・計画

1. 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(HCC70,HCC1806,MDA-MB231)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。
2. 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。
3. 最も有望な抗体を選択し、まずは診断済みの組織症例標本にて免疫染色が可能かを検証する。現在共同研究として順天堂大学にて一括倫理申請中である。その後抗原解析を行い、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については、特別に無償で1匹提供を受けて、免疫・細胞融合・スクリーニングを行ったが、有望なクローンは採取できなかった。近日マウスの会社とのミーティングがあり、継続されるかどうかは不明である。そこで昨年4月ごろから免疫マウスをBALB/cマウスへ変更し、免疫・細胞融合・スクリーニングを行っているが、まだ有望なクローンは得られていない。共同研究先で同様の目的でBALB/cマウスを用いて抗体樹立を目指した製薬企業の方々がいたが、4人体制で行われていたが有望なクローンは得られていない。数ヶ月前より再び新たなBALB/cマウスで免疫を開始したが、今度はアジュバントを加える事と、免疫に使用する培養細胞をトリプルネガティブ乳癌の **Basal type2** の別の培養細胞に一部変更して行っている。今年は、有望な抗体が得られ、治療実験へ進められるように努力する所存である。また昨年に順天堂大学での倫理審査を受け、承認された (E23-0113)。本学でも修正審査を受ける予定である。

59. 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	保健学部リハビリテーション学科	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、我々はこれに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)

本年度は肥満 2 型糖尿病モデル動物である ZFDM ラットを対象に 2 型糖尿病が大脳皮質運動野の身体部位再現に与える影響を調べた。その結果、ZFDM(fa/fa)ラットの大脳皮質運動野後肢領域は 2 型糖尿病発症後 6 ヶ月までに徐々に萎縮する一方、ZFDM (fa/+) ラットの運動野には変化がないことが明らかになった。また、運動野と脊髄の機能的結合は ZFDM (fa/fa) において病期依存的に減弱する一方、ZFDM (fa/+) では変化がなかった。これは以前報告した 1 型糖尿病モデル動物の運動野の変化と類似する結果である。今後、これらの機能障害に対するリハビリテーションの効果について検討をしていく予定である。

60. 肺癌関連因子としての RNU2-1 遺伝子コピー数多型の解析

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
相磯 聡子	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
宮城 洋平	神奈川県立がんセンター	所長	生体試料支援機構の構築
佐藤 慎哉	神奈川県立がんセンター	室長	生体試料支援機構の構築
齋藤 春洋	神奈川県立がんセンター	部長	試料と臨床情報の収集
伊藤 宏之	神奈川県立がんセンター	部長	試料と臨床情報の収集
諸橋 智恵	神奈川県立がんセンター	統括管理者	試料の準備と提供
醍醐 弥太郎	東京大学	特任教授	共同研究の連携構築
大西 宏明	医学部臨床検査医学	教授	遺伝子解析のアドバイス
上田 真樹子	保健学部臨床検査技術学科	助教	データ解析

キーワード

コピー数多型、縦列繰り返し配列、*RNU2-1* 遺伝子、マイクロ RNA、遺伝子変異

研究分野

ヒトゲノム解析

1. 共同研究の目的

RNU2-1 遺伝子は核内低分子 RNA U2 (snRNA U2) の遺伝子である。snRNA U2 はスプライシングの場 (spliceosome) の構成成分としてイントロンの正確な切除に関わる。*RNU2-1* 遺伝子を含む 6.1 kb の配列は縦列繰り返し配列を形成し、コピー数が約 5~80 の多型 (コピー数多型) を示す。本研究の目的は、① *RNU2-1* 遺伝子のコピー数 (germline) の肺癌関連因子としての可能性 ② 肺癌患者における *RNU2-1* コピー数と肺癌マーカーとされる血中 miR-1246 (snRNU2 断片) レベルとの相関性 ③ 肺癌組織におけるコピー数変異 (somatic) および点変異 を明らかにすることである。

2. 共同研究の内容・計画

本研究は文科省コホート・生体試料支援プラットフォーム「生体試料による活動支援」にて行う。

1. 肺腺癌患者血液由来 DNA について、デジタル PCR により *RNU2-1* 遺伝子コピー数を求め健康人と比較する。
2. 肺腺癌患者血清 miR-1246 (snRNU2 断片) をリアルタイム PCR により定量し *RNU2-1* 遺伝子コピー数との相関を分析する。
3. 肺腺癌組織の *RNU2-1* 遺伝子コピー数を求め、非がん部組織のコピー数と比較する。また既知および新規遺伝子変異を解析する。

3. 研究成果（経過）

本研究課題について倫理審査を受け 6 月 8 日に承認を得た。神奈川県立がんセンターの佐藤がん分子病態部室長を通し 11 月に検体および情報の提供を受け、実験を開始した。本年度に得られた結果を以下に示す。

- ・肺腺癌患者 46 例および健常者 36 例について、
 - ①ゲノム DNA のデジタル PCR を行い、*RNU2-1* 遺伝子のコピー数を求めた。患者群 26~99copy/cell、健常者 31~82copy/cell で、マン・ホイットニーの順位検定の結果、両者間に有意差はなかった。
 - ②血清 miR-1246 (=snRNU2 断片) をリアルタイム PCR により定量した。先行研究の結果同様、健常者に比べ患者では有意に高値を示した ($p=0.0003$)。
 - ③*RNU2-1* 遺伝子コピー数と血清 miR-1246 (=snRNU2 断片) の相関をピアソンの相関係数に基づき解析した結果、相関は見られなかった
- ・以上の結果から、*RNU2-1* 遺伝子のコピー数は非常に多様であるが、Dosage Compensation (遺伝子量補償) が働き、血中の miR-1246 レベルは当遺伝子多型の影響を受けていないと推測された。
- ・本共同研究は来年度も継続し、肺癌組織と正常組織のコピー数の比較および肺癌組織における点変異の検出を行う予定である。

61. 人工心肺装置でのベントポンプにおける手術状況に応じた流量自動制御

研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
鈴木 哲治	保健学部臨床工学科	学内講師	統括

共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
和多田 雅哉	東京都市大学	教授	自動制御のモータ評価、システムの評価・検証

キーワード

人工心肺装置、ベントポンプ、流量制御

研究分野

体外循環

1. 共同研究の目的

心臓外科手術で、人の心臓と肺の役割を一時的に代行する体外循環を行うのが人工心肺装置である。また、血液を酸素加して全身に血液を送る役割の他に、出血した血液の回収と無血術野を確保する吸引ポンプも含まれる。その一つで、心腔内ベントポンプは心腔内に貯留した血液を吸引することで、心筋の過伸展を防止する。さらに手術中はベントポンプの過度な回転による陰圧によって、心腔内に挿入したカニューレ先端の心筋への張り付きが生じないように回転数を調節する必要がある。人工心肺装置は適正な体外循環を維持するための操作を必要とし、その操作に加えて、手術工程に応じた術野吸引や心腔内ベントなどの吸引流量の調整も必要となる。そこで、ベントポンプの流量調整を自動化させることで人工心肺装置の操作者の負担を軽減することを目的とした。

2. 共同研究の内容・計画

本研究では、流量センサをベント回路に装着し、実際に流れている血液や吸引で混入した気泡を計測する。その情報をもとにベント吸引の流量を制御するポンプダイヤルの調節を試みる。既存の血液ポンプと接続して行うため、ダイヤル調整にステップングモータなどを用いて状況に応じた詳細な制御を行う。

2023年度は、ベント吸引を行うための模擬回路の作成を試みる。これによって過度な吸引や気泡が混入した状態の検出を行い、自動制御に必要な信号の取得を行う。共同研究者の和多田教授には自動制御をおこなうためのモータの選定と自動制御方式について助言を頂く。

2024年度以降は、2023年度の測定結果を元に構築したベントポンプの流量自動制御システムを用いて、東京都市大学で行っている動物実験等で自動制御の評価・検証を行う。

3. 研究成果（経過）

心臓外科手術で、人の心臓と肺の役割を一時的に代行する体外循環を行う人工心肺装置に組み込まれている血液の回収と無血術野を確保する吸引ポンプが含まれる。その一つで、心腔内ベントポンプは心腔内に貯留した血液を吸引することで、心筋の過伸展を防止する。さらに手術中はベントポンプの過度な回転による陰圧によって、心腔内に挿入したカニューレ先端の心筋への張り付きが生じないように回転数を調節する必要がある。そこで、ベントポンプの流量調整を自動化させることで人工心肺装置の操作者の負担を軽減することを目的とした。本研究では、流量センサをベント回路に装着し、実際に流れている血液や吸引で混入した気泡を計測し、その情報をもとにベント吸引の流量を制御するポンプダイヤルの調節を試みた。2023年度は、ベント吸引を行うための模擬回路の作成をおこなった。これらをもちいて過度な吸引や気泡が混入した状態の検出を行い、自動制御に必要な信号の取得をおこなうことができた。共同研究者の和多田教授には自動制御をおこなうためのモータの選定と自動制御方式について助言を頂いた。また、今後、作成をしたシステムの評価を見据えて、和多田教授のもと動物実習の一環としてヤギを用い

た体外循環の実施も行い、短い時間であったが体外循環の確立を行うことができた。

62. 造血器腫瘍の血球異常を指標とした病態評価法に関する研究

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
緒方 清行	東京血液疾患診療所	理事長	残余検体採取、データ処理

キーワード

造血器腫瘍 血球異常 病態評価

研究分野

血液検査学

1. 共同研究の目的

自動血球分析装置、フローサイトメトリー、遺伝子解析法を用いて、造血器腫瘍で生じる様々な血球異常を検出できる新たな病態評価法の確立を目的とする。

2. 共同研究の内容・計画

造血器腫瘍患者の臨床検査が終了した既存試料（残余検体）を自動血球分析装置、フローサイトメトリー、次世代シーケンサーなどの遺伝子解析装置によって測定し、出力される情報を解析し、造血器腫瘍の血球異常との関連性を調べ、造血器腫瘍の病態評価法の有用性を検討する。

3. 研究成果（経過）

現在、本研究は保健学部倫理審査委員会へ倫理審査申請中であり、研究は開始されていない状態である。倫理審査承認後に研究を開始する予定である。

63. RFID パッシブタグによる医療機器位置情報管理の検討

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
齋藤 憲	(株)マーストークンソリューション	営業係長	自動認識事業 営業第2グループ
岩崎 英明	(株)マーストークンソリューション	次長	自動認識事業 営業第2グループ
鈴木 哲治	保健学部臨床工学科	学内講師	データ運用・分析

キーワード

RFID、医療機器管理、位置情報、データベース

研究分野

医療機器管理

1. 共同研究の目的

現在多くの病院で、バーコードによる医療機器管理が実施されている。一方、RFID 技術を利用したアクティブタグ※を用いたシステムは 2000 年初頭から用いられてきたが、パッシブタグ※（以下、タグ）の例はほとんどない。また、病院内において医療機器が又貸しされ、医療機器管理データ上の位置から移動され、機器の回収が困難となったり紛失したりする事例が多発している。そこで、本研究の目的は、医療機器への安全性が検証された市販の RFID パッシブタグ（以下、タグ）を用いた位置検出システムを活用し、医療機器の貼付したタグの種類やアンテナ種類の違いによるタグ読取り精度の測定を行い、RFID システムを医療機器の保守管理に用いる基礎検討を行う。

2. 共同研究の内容・計画

本研究では、RFID のアンテナやタグからの信号を処理する RFID リーダライタを開発している(株)マーストークンソリューションさん（以下、MTS）が開発した位置情報管理システムを用いて研究を行う。臨床現場で医療機器管理を実施している臨床工学室や病棟を模擬し、本学内実習室間で、輸液ポンプやシリンジポンプ、人工呼吸器に貼付したパッシブタグの読取り精度を RFID リーダライタ、及びで測定する。

2023 年度は、各種タグとアンテナとの読取り精度について、各種医療機器（輸液ポンプ、シリンジポンプ、人工呼吸器、生体情報モニタ、等）へのタグ貼付箇所をパラメータとして、アンテナからの電界強度を測定し、読取り精度について検討する。

2024 年度以降は、2023 年度の測定結果を元に、付属病院臨床工学室の協力を元に、臨床現場における RFID 医療機器位置情報システム構築の試験運用を予定する。

3. 研究成果（経過）

本研究では、RFID のアンテナやタグからの信号を処理する RFID リーダライタ等を開発している(株)マーストークンソリューション（以下、MTS）が開発した位置情報管理システム、及びアンテナ、RFID リーダライタを用いて測定環境を構築した。

本年度は、臨床現場で医療機器管理を実施している臨床工学室や病棟を模擬し、本学内実習室間（A 棟 313、及び 303 実習室）で、輸液ポンプやシリンジポンプ、人工呼吸器に貼付したパッシブタグの読取り精度を RFID リーダライタ、及びアンテナで測定し、各種タグとアンテナとの読取り精度について、各種医療機器（輸液ポンプ、シリンジポンプ、人工呼吸器、生体情報モニタ、等）へのタグ貼付箇所をパラメータとして、アンテナからの電界強度を測定し、読取り精度について検討した。これら研究

成果の一部を 2023 年度卒業研究〔医療機器管理における RFID パッシブタグを用いた貼付位置の検証〕としてまとめた他、第 52 回日本医療福祉設備学会、一般演題（BCP・その他）にて、「RFID アンテナ種類によるパッシブタグ読取り精度の検討」として 2023 年 11 月 17 日に発表を行った。

2024 年度以降は、2023 年度の測定結果を元に、附属病院臨床工学室の協力を元に、臨床現場における RFID 医療機器位置情報システム構築の試験運用を予定する。