

## 共同研究

## 目 次

### ①医学部

1. プロバイオティクスによる下部消化管手術後の感染予防効果の検討	181
2. 自閉性障害患者のsyntaxin1A、1B遺伝子解析と臨床病態との関連性の検討	182
3. ヒト胎児頭蓋の形成過程 - CT画像による経時的解析と免疫組織学的観察	184
4. 脂肪組織由来間質細胞を用いた難治性肺動脈性肺高血圧症治療の安全性および有効性に対する研究	185
5. 腎がん臨床サンプルを用いたメタボローム解析	186
6. 前立腺癌患者を対象としたワイヤレス制御マイクロ流路チップ・セルソーターを用いた循環がん細胞の臨床応用評価	187
7. アリールスルファターゼの機能とVI型ムコ多糖症への関与 - 組織化学的研究	188
8. グライコプロテオミクスによる糖尿病及び関連合併症マーカーの探索	189
9. ショウジョウバエにおける種間浸透	190
10. カイコNa <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPaseの示す低K <sup>+</sup> 親和性の機構解明	191
11. Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase分子の新たな機能制御機構の探究	192
12. 肺高血圧症に対する基礎的研究	194
13. 左右両循環系（心室、動脈）血行力学の情報論的解析	195
14. 高齢ドライバおよび軽度認知症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	196
15. 先天性内分泌疾患のメダカモデルの作製と解析	197
16. 唾液腺疾患と唾液腺管開口部位の形態構造との関連性について	198
17. 結腸直腸癌の診断・治療に関するバイオマーカーの探索	199
18. ヒトiPS細胞から誘導した膵β細胞の機能解析	200
19. 熱傷創に対する脂肪由来幹細胞（ADRC）の有効性及び安全性の検討	201
20. ヒトiPS細胞を用いた皮膚付属器再生	202
21. 子宮内膜症の新たな血清診断バイオマーカーの開発	203
22. 肺孤立性毛細血管腫の臨床病理学的研究	204
23. 甲状腺低分化癌と未分化癌の臨床病理学的ならびに分子病理学的研究	206
24. 慢性肺血栓栓症に対する肺動脈血管形成術に関する共同研究	208
25. 膵臓癌検出における糖鎖修飾リボヌクレアーゼ1の有用性の検討	209
26. ヒト体内に常在する抗酸菌・古細菌の探索および疾病との関連の解明	210
27. 難治性ネフローゼの血中惹起分子探索と尿中診断バイオマーカーの確立	211
28. しびれ感覚を引き起こす感覚神経興奮メカニズム	212
29. ATP受容体によるインスリン開口分泌調節機構の解明	213
30. 発汗機能からみる炎症性皮膚疾患の外用療法の検討	215
31. ショウジョウバエ成虫脳グリアサブタイプで特異的に発現する遺伝子の機能解析	216
32. 統合失調症患者のsyntaxin1A、1B遺伝子解析と臨床症状との関連性の検討	218
33. ショウジョウバエの生殖様式を決定づける遺伝的機構の解明	220
34. 超音波ガイド下穿刺における磁性式ニードルガイドの有用性の検討	221
35. ヒトiPS細胞を用いた真皮毛根鞘細胞への分化誘導の試み	222
36. タバコ誘発炎症における脂質メディエーター関連遺伝子の役割の解明	224

## 目 次

37. 疾患モデルマウスを用いた常位胎盤早期剥離の革新的治療法の開発	225
38. 人工呼吸関連肺炎における緑膿菌の役割と抗PcrV抗体療法の可能性	227
39. 炎症性腸疾患活動性評価における全自動測定系を用いた糞便バイオマーカーの有用性の検討	229
40. 心臓手術用低侵襲凝固治療装置に関する評価手法に関する研究	230
41. 進行した網膜変性症に対する STS 型人工網膜装置の医師主導治験	231
42. 熱傷創のデジタル写真画像を用いた面積及び深達度評価手法の検討・検証と診療支援ツールの開発研究	232
②保健学部	
43. キチンによるアレルギー応答誘導機構の解明	237
44. LC-MS/MSによる合成ステロイド剤の高感度微量分析法の開発	239
45. 子宮頸部における新しいハイリスク型ヒト乳頭腫ウイルスの再考	240
46. 電子角度計 (Electrogoniometer) の開発および信頼性に関する研究	242
47. 糖尿病における運動神経障害の病態生理	243
48. 放射性医薬品の品質管理手法に関する研究	245
49. スマートインソールを使った運動解析とアルゴリズムの研究開発	246
50. バドミントンにおける安全性と高いパフォーマンスを靴によってもたらしめるための研究	247
51. 脳障害患者などに関わる腹壁筋低緊張と姿勢障害の病態解明	248
52. 3次元ゲル線量計の開発	249
53. GEMを用いた放射線検出器の開発	250
54. MRIの高機能化 (画像処理)	251
55. MRIの形態・機能情報取得機能に基づく心臓を中心とした全身の高速・高精細撮像法の研究	253
56. 機械学習を用いたMRIの撮像時間短縮技術に関する研究	254
57. Digital Breast Tomosynthesis の画像評価	255
③総合政策学部	
58. タイのHIV感染者へのケアにおけるタスクシフティングに関する研究	259
④医学研究科	
59. 上皮細胞における尿酸のparacellular輸送	263
60. 百日咳菌Ⅲ型分泌機構の臨床分離株における発現	264
61. マラリア防御免疫におけるミトコンドリア活性酸素関連性	266
62. 妊娠中のマラリアの病態重症化機構の解明	267
63. 三日熱マラリアの重症化機構の解明	269
64. 企業健診におけるCCD特異的IgE抗体測定の有用性に関する検討	271
65. 病原細菌伝播モデルの確立と感染伝播を制御する因子の探索	273
66. 非小細胞肺癌から小細胞肺癌への形質転換現象とリプログラミング現象との関連性の検討	275
67. 薬剤耐性菌感染症に対するファージ療法の確立に向けた基礎的研究	276
68. <i>Helicobacter pylori</i> 感染者における除菌治療後皮疹発生メカニズムの解明	278

① 医学部

## 1. プロバイオティクスによる下部消化管手術後の感染予防効果の検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 敬明	医学部総合医療学	助教	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
正木 忠彦	医学部外科学	教授	総括
松岡 弘芳	医学部外科学	准教授	データ処理
朝原 崇	ヤクルト本社中央研究所	主任研究員	便・細菌類の検査

## キーワード

プロバイオティクス、下部消化管手術、感染予防、腸管細胞叢

## 研究分野

基礎研究

## 1. 共同研究の目的

目標症例数 70 症例に対して、現在登録数は 18 例である。今後も該当患者の登録数の増加に努める。

## 2. 共同研究の内容・計画

直腸癌手術、もしくは人工肛門閉鎖術予定患者を対象とし、服用有り群、服用無し群の 2 群に分け、服用有り群患者には手術前 7 日間、及び手術翌日から 7 日間乳酸菌飲料（ヤクルト 65®）服用して頂く。術後の SSI 発生率、および便・血液検査の変化を比較検討する。

## 3. 研究成果（経過）

目標症例数 70 症例に対して、21 症例の数隻にとどまった。研究代表者の転科により更なる症例の蓄積は困難と判断し試験終了となった。

現状では集積症例においての解析は進んでおり、乳酸菌服用例群においては、術前の下剤や手術の影響による腸内細菌叢や pH 変動が緩徐である。

今後は論文投稿の予定である。

## 2. 自閉性障害患者の syntaxin1A、1B 遺伝子解析と臨床病態との関連性の検討

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
藤原 智徳	医学部細胞生理学	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
林 優子	県立広島大学	教授	患者試料採取、臨床診断
田丸 政男	県立広島大学	名誉教授	患者試料採取
楊 國昌	医学部小児科学	教授	血液試料収集
赤川 公朗	医学部細胞生理学	名誉教授	遺伝子発現調節の解析
小藤 剛史	医学部 RI 部門	助教	遺伝子発現量の解析

### キーワード

自閉性障害、Syntaxin1A、遺伝子発現異常、Copy number variation
------------------------------------------------

### 研究分野

神経科学
------

#### 1. 共同研究の目的

syntaxin1A 遺伝子(syl)欠失マウスでは情動行動異常が誘起されることが知られている。申請者等は自閉性障害患者(ASD)の血球細胞において sylA の発現量が有意に変動していて、その遺伝子発現調節に異常がある可能性が示してきた。また一部の ASD ではゲノムに syl 遺伝子のコピー数変異(copy number variation:CNV)を見出し、これが情動行動異常の原因であると推定された。本研究は例数を増やして ASD における血液及び唾液試料を調べて sylA 遺伝子の発現異常並びに CNV の出現頻度を検討して、これが精神・神経症状の発症に関与することを明らかにする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

インフォームドコンセントを得た ASD から末梢血液試料を採取し、白血球分画を得た後、mRNA 及びゲノム DNA を抽出する。この試料の遺伝子に関して定量的 PCR 法により sylA mRNA 発現量を検討する。その試料について遺伝子 SNPS や CNV、特に haploid の有無を調べる。また遺伝子発現調節領域及びイントロン内の異常メチル化を調べる。更に血球内のヒストン脱アセチル化酵素活性や sylA 遺伝子に関与する既知の遺伝子発現調節因子群の発現量等を調べ、想定される sylA の発現異常の原因を検討する。これらの結果に基づいて sylA 遺伝子の発現制御系の異常と自閉性障害の臨床症状との関連を明らかにする。(本研究は昨年度よりの継続課題であり本年度は研究代表者を変更した)

#### 3. 研究成果(経過)

これまで自閉性障害患者(ASD)の遺伝子解析により、その一部で syntax in1A (sylA)遺伝子数が haploid となっている遺伝子数変異(CNV)が存在することを明らかにした。またより多くの ASD 検体を対象とした解析を行うために、患者の協力を得やすい唾液試料を用いたゲノム解析法を確立した。その結果、知的障害の比較的軽い ASD において、高い頻度で sylA の CNV が確認された。

これらの結果を論文発表した(Kofuji et al 2017)また、CNV 以外に sylA 遺伝子の発現量の変動が ASD 患者で確認された。そ

ここで、sylA 遺伝子の点突然変異の解析および異常メチル化の有無についても検討している。最近の我々の研究で、同じ機能を担うと長年考えられてきた sylA とシンタキシン 1B (sylB)が、中枢神経において異なる機能を持つことが明らかになった。そこで、sylB についても唾液試料の ASD における CNV を検討した。これまでのところ、その遺伝子の異常は見つかっていない。現在、自閉性障害の多様な臨床症状と sylA および sylB 遺伝子との関連について明らかにするため、より多くの検体数を用いた詳細な解析を行っている。

### 3. ヒト胎児頭蓋の形成過程—CT 画像による経時的解析と免疫組織学的観察

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
松村 譲児	医学部解剖学	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
天野 カオリ	医学部解剖学	講師	CT 画像解析・免疫組織学的観察
三川 信之	千葉大学	准教授	研究進行・試料採取

#### キーワード

ヒト胎児、頭蓋部発生、CT 画像、免疫組織学的観察
---------------------------

#### 研究分野

形態構造・免疫組織学的研究
---------------

#### 1. 共同研究の目的

杏林大学に所蔵されている胎児標本ならびに胎児頭蓋晒骨標本（約 1,000 例）を用い、マイクロ CT 撮影装置によって精細 3 次元画像データとし、データをもとに、ヒト胎児頭頸部領域の発生過程における形態学的変化をコンピュータ上における計測を含めた画像解析手法によって追究、発生学研究の基礎資料を作成することを目的とする。

また、骨格標本と同齢の胎児頭頸部組織試料を用いて免疫組織学的染色・観察も同時に行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

杏林大学の胎児標本・胎児頭蓋晒骨標本を、マイクロ CT 撮影装置を用いて画像データとし、ヒト胎児骨格発生過程における頭蓋部経時的形態変化を解析する。試料には、胎生 3 カ月以降の胎児骨格標本を使用する。胎生期には副鼻腔に相当する構造は認められないが、生後の上顎洞形成部位である眼窩下部領域について前後左右径の画像計測を行い、上顎洞の形成過程における経時的観察を行う。さらに胎児頭蓋縫合部領域の形成過程における形態解析と組織構造の解明を目的にマイクロ CT にて観察し、同胎齢期の胎児標本から縫合部位を採取し、FGF・TGF- $\beta$  等の発育因子を使用し免疫組織学的ならびに SEM による観察を進行する。

検討すべき胎児標本体数が膨大なため、研究継続によりデータ作成を続行する。

#### 3. 研究成果（経過）

本研究の一環として、胎児頭蓋顔面領域の筋群における発達・発育過程についても同時に観察を行っており、26 年度に胎生期鰓弓筋(表情筋・咀嚼筋)の構造について成人との比較・検討することを目的に 6 カ月胎児と成人（43-86 歳）を使用し、横断面積  $1 \text{ mm}^2$  中の筋線維数を計測後、筋線維解析した結果を論文にて報告した（Morphological study of the facial and skeletal muscles in fetus. Topics in Embryology Avid Science 1-17:2016）。

本研究に関しては本年度にて終了とする。

## 4. 脂肪組織由来間質細胞を用いた難治性肺動脈性肺高血圧症治療の安全性および有効性に対する研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
佐藤 徹	医学部内科学Ⅱ	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
吉野 秀朗	医学部内科学Ⅱ	教授	研究指導者
松下 健一	医学部内科学Ⅱ	講師	研究指導者
伊波 巧	医学部内科学Ⅱ	助教	研究実施者
上杉 陽一郎	医学部内科学Ⅱ	医員	研究実施者
大谷 伸久	自由が丘 MC クリニック	院長	研究指導者
前村 浩二	長崎大学	教授	研究指導者
江口 正倫	長崎大学病院	医員	研究実施者

## キーワード

脂肪組織由来間質細胞、肺動脈性肺高血圧症

## 研究分野

循環器

## 1. 共同研究の目的

肺動脈性肺高血圧症に対して、脂肪細胞より脂肪組織由来間質細胞を抽出し、静脈内投与をすることで治療を行う。

## 2. 共同研究の内容・計画

本共同研究施設である長崎大学病院循環器内科では小動物の肺高血圧症モデルに対して脂肪組織由来間質細胞の投与により効果を得ており学術的協力をしながら人に応用する。豚を使った実験で安全性は確認しており、今後人への投与を予定している。厚生労働省のヒト幹細胞臨床研究審査会は廃止され、施設ごとの再生医療委員会で審議することとなり、新しい審査体制での認可の準備をする。

## 3. 研究成果（経過）

厚生労働省の再生医療の臨床応用認可に関する方針が変わり、今年度は研究方針および申請方法の再検討をし、ほぼ終了した。

## 5. 腎がん臨床サンプルを用いたメタボローム解析

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
桶川 隆嗣	医学部泌尿器科学	臨床教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
原 隆人	武田薬品工業株式会社 癌創薬ユニット	主席研究員	研究データ管理、総括
山岡 万寿夫	武田薬品工業株式会社 癌創薬ユニット	主席研究員	代謝酵素あるいは遺伝子変異の有無
森本 恵	武田薬品工業株式会社 癌創薬ユニット	研究員	免疫不全動物への腎がん移植

### キーワード

腎がん、メタボローム解析

### 研究分野

臨床研究

#### 1. 共同研究の目的

近年がん領域では、cancer metabolism についての研究が増加し、重要視されている。この研究領域での課題は、臨床・in vivo 実験系・in vitro 実験系をつなぐ薬物評価実験系が確立していないことであり、また、臨床癌における代謝パターンの情報も少ない。一部の腎がんについては VHL 変異に起因する解糖系および脂質生合成型の充進が癌増殖に関与するとの仮説が考えられている。腎がんにおける代謝パターンの解析を行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

- 1) 腎癌の血液および腫瘍代謝パターンの解析、病理組織像、代謝酵素発現量、遺伝子変異の有無を調べ、正常組織と比較する。
- 2) 免疫不全動物に腎癌あるいは、樹立した株化細胞を着させ、その血液および腫瘍代謝パターンの解析、病理組織像、代謝酵素発現量、遺伝子変異の有無を調べ、腎癌と比較する（動物実験は武田薬品工業株式会社の施設内にて実施）
- 3) 腎癌から直接あるいは、免疫不全動物に移植した腎癌から樹立した培養細胞の代謝パターンの解析、代謝酵素発現量、遺伝子変異の有無を調べ、腎癌と比較する。

#### 3. 研究成果（経過）

35名の患者様同意で手術検体、血液を提供いただき腫瘍代謝パターンの解析、病理組織像、代謝酵素発現量、遺伝子変異の有無を解析終了。腎がんのメタボローム解析においては国内外での研究報告はなく、価値ある研究であり、現在論文投稿中である。

6. 前立腺癌患者を対象としたワイヤレス制御マイクロ流路チップ・セルソーターを用いた循環がん細胞の臨床応用評価

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
桶川 隆嗣	医学部泌尿器科学	臨床教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 雅之	(株)オンチップ・バイオテクノロジーズ	取締役	On-chip Sort Wi-Fi の機器管理

#### キーワード

前立腺癌、循環がん細胞、マイクロ流路

#### 研究分野

臨床研究

#### 1. 共同研究の目的

去勢抵抗性前立腺癌（CRPC）患者を対象として、化学療法開始前の循環癌細胞（CTC）数を測定し、全生存期間（OS）を予測可能か評価することである。副次的目的は、PFSやOSに関して、CTC数と前立腺特異抗原（PSA）との関係性を評価することである。

#### 2. 共同研究の内容・計画

- 1.全血 4.0mL にワイヤレス制御マイクロ流路チップ・セルソーターを用いた循環がん細胞を測定する。測定の前処理として、CD45 ビーズを用いた白血球除去法（ビーズ法）とカラムを用いた白血球除去法（カラム法）を行う。
- 2.PFS 及び OS に関して、患者背景、CTC 数と PSA との関係について、Cox 比例ハザードモデルを用いて多変量分析する。

#### 3. 研究成果（経過）

この研究はオンチップ・バイオテクノロジーズとの共同研究であり、ワイヤレス制御マイクロ流路チップ・セルソーターを用いた前立腺癌患者における循環血中癌細胞（CTC）の特性解析と癌転移動態の分析を行っている。昨年、サブ解析で貴重な結果を見出すことができ、「Okegawa T, et al. Int J Mol Sci. 2016 Nov 30; 17 (12). pii:E2008.」 (Impact Factor: 3.257) に掲載された。主解析の方は現在まで 45 名の患者様同意で血液を提供いただき CTC-clusters および androgen-receptor splice variant (ARV)-7 での治療効果判定を検討している。前立腺癌患者における CTC-clusters および ARV-7 においては国内外での研究報告はなく、価値ある研究である。

## 7. アリールスルファターゼの機能と VI 型ムコ多糖症への関与 — 組織化学的研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
川上 速人	医学部解剖学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
秋元 義弘	医学部解剖学	教授	解剖学、細胞生物学、組織細胞化学
赤坂 甲治	東京大学大学院	教授	分子発生学
大森 紹仁	東京大学大学院	特任助教	発生生物学

### キーワード

アリールスルファターゼ、細胞外基質、ER ストレス、免疫電顕

### 研究分野

組織化学

#### 1. 共同研究の目的

硫酸化多糖の硫酸基を加水分解する酵素であるアリールスルファターゼ A, B (ARSA, ARSB)の存在様式を明らかにすることにより、細胞外マトリックスとしてのこれらの機能を解明する。また、ARSB-KO マウス、MPSVI モデルラットを用い、VI 型ムコ多糖症を発症した個体の組織における ARSB の量的変化と局在変化を免疫組織化学的に解析し、VI 型ムコ多糖症発症の分子機構についての解明を目指す。

#### 2. 共同研究の内容・計画

アリールスルファターゼ (ARS) は、コラーゲンにはない ARS 特有の、突起形成などのダイナミックな細胞形態の形成にかかわる細胞外マトリックス機能を有することが示唆されている。これは ARS が細胞外で不溶性マトリックス構成成分として機能することを示している。しかし一般的には、ARSA、ARSB はリソソーム酵素であるとの認識がいまだに根強い。我々は、血管内皮細胞表面に ARSA と ARSB が局在していることを報告しているが、他の組織においても ARS が細胞表面に局在しているかは検証していない。ARSA と ARSB が一般的に細胞表面・細胞外に存在することを確認するため、消化管、腎臓、肺、軟骨組織、中枢神経系など、マウスのさまざまな組織における ARSA、ARSB の存在様式を、特異抗体を用いて免疫蛍光組織学、免疫電顕組織学的に解析する。また、硫酸化ムコ多糖と結合した状態では、人工基質に対する酵素活性を失うことを確認する。さらに ARSB ノックアウトマウスと VI 型ムコ多糖症のモデルである MPSVI ラットを用い、各組織における ARSA、ARSB の存在様式を正常組織と比較することにより、ムコ多糖症発症の分子機構を、臓器特異的变化に留意しつつ明らかにする。

#### 3. 研究成果 (経過)

アリールスルファターゼ (ARS) は、細胞外マトリックスとしての機能を有し、細胞突起形成などのダイナミックな細胞形態形成にかかわることが示唆されている。我々は、血管内皮細胞表面に ARSA と ARSB が局在していることを報告しているが、消化管、腎臓、肺、軟骨組織、中枢神経系など、マウスのさまざまな組織においても、ARSA、ARSB が細胞表面に存在することを電顕免疫組織化学的に確認した。さらに ARSB 突然変異モデルラット 15 週令のホモ個体、ヘテロ個体において、軟骨細胞と血管内皮細胞に、粗面小胞体由来と思われる多数の空胞が電顕的に確認された。これは、変異遺伝子の産物自体が細胞障害を引き起こすことを示している。原因として小胞体 (ER) ストレスの可能性が考えられたが、ER ストレスマーカーである CHOP、PDI (C81H6) に対する特異抗体による免疫組織化学的検索からは、変異個体特有の染色パターンは確認できなかった。

## 8. グライコプロテオミクスによる糖尿病及び関連合併症マーカーの探索

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
秋元 義弘	医学部解剖学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
川上 速人	医学部解剖学	教授	研究の立案、指導
遠藤 玉夫	東京都健康長寿医療センター 研究所	副所長	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
千葉 優子	東京都健康長寿医療センター 研究所	副部長	プロテオーム研究の指導、遂行

## キーワード

糖尿病、合併症マーカー、糸球体、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、ミオシン、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 化蛋白質をグライコプロテオミクス法により網羅的に解析し、糖尿病の診断、治療に役立つ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

糖尿病モデル動物の網膜、腎臓、神経、膵臓、血液並びにヒトの血液を用いて、O-GlcNAc の修飾が変化する蛋白質を調べる。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）

研究代表者らは、これまで正常 Wistar ラットおよび糖尿病 GK ラットの腎臓を材料にして、プロテオミクスにより O-GlcNAc 化タンパク質の解析を行い、アクチン、 $\alpha$ -アクチニン 4 など細胞骨格タンパク質や、ATP synthase などミトコンドリアタンパク質に糖尿病腎症で O-GlcNAc 化の有意な増加が生ずることを見出し、O-GlcNAc 化の変化が糖尿病腎症の一因になっていることを明らかにした。本研究では、糖尿病合併症におけるアクチンの役割に注目し、O-GlcNAc 化ペプチド、リン酸化ペプチド、非修飾ペプチドを抗原として特異的 O-GlcNAc 化アクチン抗体、リン酸化アクチン抗体、非修飾アクチン抗体を作製し、糖尿病モデル GK ラットの腎臓における局在の変化を免疫組織化学的に検討した。その結果、O-GlcNAc 化アクチンならびにリン酸化アクチンは、糖尿病に伴い糸球体や尿細管における局在並びに発現量が変化することが判明した。これに対し、今回作製した抗非修飾アクチン抗体は免疫染色には適用できなかった。以上の結果から糖尿病ではアクチンへの O-GlcNAc 修飾が増加し、リン酸化を調節して糖尿病合併症に密接に関与することが明らかになり、O-GlcNAc 修飾アクチンが糖尿病合併症のマーカーとなりうる事が判明した。

## 9. ショウジョウバエにおける種間浸透

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
佐藤 玄	医学部生物学	講師	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
澤村 京一	筑波大学大学院	准教授	DNA 多型の解析
上村 佳孝	慶應義塾大学	准教授	雑種の形態
戸張 よし子	NPO 科学教育研究所	理事	雑種の妊性
松田 宗男	医学部生物学	客員教授	染色体多型

### キーワード

雑種形成、遺伝子浸透、遺伝子多型、染色体体系、ショウジョウバエ近縁種

### 研究分野

進化遺伝学

#### 1. 共同研究の目的

2000年以降、従来生息の記載がない熱帯種のショウジョウバエが、亜熱帯の沖縄諸島だけでなく鹿児島でも採集されるようになった。温暖化の影響か、温度感受性などの遺伝的変異により生息域を拡大しているのかは不明である。熱帯種で同胞種でもある、*D. parapallidosa*、*D. ananassae* の熱帯で採集された系統の遺伝的変異を調べ、雑種形成の可能性と侵入種の特徴を明らかにすることを目的としている。

#### 2. 共同研究の内容・計画

既に維持されている系統及び、2012年以降に採集したマレーシア、ペナン島の系統を中心に上記2種について、以下の遺伝的変異について調査をする。1) 第4染色体の偽遺伝子( $\phi$ CO1)、2) Y-染色体上の kl-1 領域、3) 唾腺染色体、4) 生殖的隔離、5) 外部形態。これらの遺伝的変異と、遺伝子頻度と遺伝子型頻度を推定し、種の分布域拡大化と、雑種形成、種間の遺伝子移入の結果などから種分化の萌芽について研究を行う。従来の分子レベルだけの解析から導き出された仮説の検証を、外部形態、染色体逆位、妊性の研究結果などを加えることにより行う。

#### 3. 研究成果（経過）

*D. ananassae* と *D. parapallidosa* の近縁2種に関し、2012年以降に採集したマレー半島、ペナン島の系統を中心に採集された系統および杏林大学で維持されている系統を用いて、以下の遺伝的変異について調査をした。1) 第4染色体の偽遺伝子( $\phi$ CO1)、2) Y-染色体上の kl-1 領域、3) 唾腺染色体、4) 生殖的隔離、5) 外部形態。これらの遺伝的変異と、その頻度（遺伝子及び遺伝子型）を推定し、種の分布拡大の動態と種間の遺伝子移入を含めた雑種形成の結果から、種分化の萌芽的過程について推測し考察を行なった。従来の分子レベルだけからの解析から導き出された仮説の検証を行い、その結果を *Zoological Science* に発表した。

Sawamura K, Sato H, Lee CY, Kamimura Y, Matsuda M. (2016) A Natural Population Derived from Species Hybridization in the *Drosophila ananassa* Species Complex on Penang Island, Malaysia. *Zoolog. Sci.* 33:467-475

10. カイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の示す低 K<sup>+</sup>親和性の機構解明

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
丑丸 真	医学部化学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
誉田 晴夫	医学部泌尿器科学	非常勤講師	ATPase 分子の単離と活性測定
原 諭吉	東京医科歯科大学	客員教授	カイコ Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase の培養細胞内発現

## キーワード

カイコ、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase、酵素機能制御

## 研究分野

生化学

## 1. 共同研究の目的

高等動物細胞膜に存在する Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase は、膜を介して Na<sup>+</sup>および K<sup>+</sup>の能動輸送を行う。その結果生じた Na<sup>+</sup>および K<sup>+</sup>の濃度勾配は、神経組織における情報伝達、腸管における栄養素の吸収などの生理機能を担っている。我々は、チョウ目昆虫であるカイコでは Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase が神経組織にしか見られず、また酵素的性質も哺乳類 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase とは異なっている事を見出した。その中でも K<sup>+</sup>に対する親和性が哺乳類に比べ約一桁低いことは特筆すべき特徴である。そこで培養細胞を用いた Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 発現系を使い、その原因を明らかにする。

## 2. 共同研究の内容・計画

カイコ神経組織から単離した Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase α および β 鎖 cDNA を、カイコ卵巣由来の培養細胞 BM-N に挿入して Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 活性を発現させる系を確立した。そこで次に、カイコ β 鎖とラット α 鎖を組合わせて Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase が発現するかどうか試みる。もし発現したら、ATPase を測定して K<sup>+</sup>に対する親和性を決定し、カイコ神経組織 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の親和性と比較する。この結果にもとづいて、ラット α 鎖一次構造を改変した変異体を作成・発現させ、なぜ、カイコ神経組織 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup>に対する親和性が哺乳類 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase よりも低いのか、明らかにする。

## 3. 研究成果（経過）

1. カイコ神経組織から単離した Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase について、それを構成する α および β 鎖 cDNA をクローニングした。これら cDNA をカイコ卵巣由来培養細胞 BM-N (内因性 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を持たない) に挿入し Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を発現させることに成功した。
  2. 培養細胞から Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を含むミクロソームを調製し、Na<sup>+</sup>及び、K<sup>+</sup>に対する親和性を測定した。その結果、カイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の Na<sup>+</sup>に対する親和性は、哺乳類のそれより 6 倍大きく、逆に K<sup>+</sup>に対する親和性は 20 倍低かった。
  3. 哺乳類であるラット Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase α 鎖とカイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase β 鎖からなるハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の発現に成功した。この Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase はカイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase よりも K<sup>+</sup>親和性が高かったが、詳細は、検討中である。
- 培養細胞に発現させたカイコ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase も、カイコ神経から得た Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase と同様、K<sup>+</sup>に対して低親和性を示し、ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup>親和性はカイコのそれよりも高くなった。したがって当初の仮説通り、β 鎖が K<sup>+</sup>に対する低親和性に関与している可能性が高い。

## 11. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 分子の新たな機能制御機構の探究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
丑丸 真	医学部化学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
林 雄太郎	理化学研究所	客員主管研究員	ATPase 標品の精製と活性測定・解析
原 諭吉	東京医科歯科大学	客員教授	ATPase 分子の機構解析
菅田 晴夫	医学部泌尿器科学	非常勤講師	酵素反応と基質結合の解析

### キーワード

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase、レクチン親和性クロマトグラフィー、四量体、基質結合、酵素機能制御

### 研究分野

生化学

#### 1. 共同研究の目的

あらゆる動物細胞に存在する Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase は、細胞膜に Na<sup>+</sup>および K<sup>+</sup>の電気化学勾配を形成し、神経興奮、Na<sup>+</sup>再吸収、栄養素の吸収などの生理機能を担っている。また、本態性高血圧症や癌の発症に関与していることが明らかになりつつある。このことは、この ATPase 活性の制御機構の異常が、疾病に関わる可能性を示している。制御の分子機構の解明には、各種組織からの単離・精製が不可欠である。これまで精製が事実上不可能であった微量の組織から、林らは新しく、当該タンパク質の迅速単離を可能とする方法を開発した。この方法を用いて、各種組織からこの ATPase 分子を単離し、新たな制御因子の探索、新たな制御機構の解明および、それらの結果と疾病との関係を探査する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

ブタ腎を用いて整備されたレクチン・アフィニティクロマトグラフィー (LAC) 法を、種々の組織またはそのホモジネートを界面活性剤で可溶化したものに適用する。すなわち、この ATPase が糖タンパク質であることを利用して、LAC 法およびゲルろ過法によって、種々の組織からこの ATPase 分子の単離を可能にする。単離した ATPase 分子を用いて、1)ATPase 活性測定、2)基質およびその類似体との結合能の測定、3)オリゴマー構造の同定、4)この ATPase 分子と共に単離される、制御分子候補の検出、5)制御分子による制御機構の解析を行う。さらに、6)疾病モデル動物の組織や培養細胞からの単離を行い、健常組織から単離された ATPase 分子との、上記の観点からの比較を行う。

#### 3. 研究成果 (経過)

当膜タンパク質の単離法として、レクチン親和性クロマトグラフィー (LAC 法) を新しく開発・整備することに成功した。ブタ腎からこの方法で得た精製標品の特性は次のようだった。1. LAC 法の条件を改善した結果 (プロピオン酸無添加、低濃度界面活性剤の使用など)、当タンパク質標品は、四量体 (Tetraprotomer, T、分子量: 64 万、オリゴマー構造: (αβγ)<sub>4</sub>) のみで構成されていて、LAC 法以前の標品に混在していた、二量体 (Diprotomer) や単量体 (Protomer) はほとんど検出されなかった。2. T は凍結保存によって失活せず、そのオリゴマー構造も ATPase 活性も安定に維持できた。さらに、25°Cでのゲルろ過によっても、オリゴマー構造は保持された。3. T の構造状態は、一価カチオンとして、Na<sup>+</sup>のみ、K<sup>+</sup>のみ、または、両方が混在する時のいずれでも、四量体構造が変化することはなかった。すなわち、T 状態のままであった。従来の Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 標品標品は、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> (1 価カチオン濃度比) に依って、D/P (オリゴマー量比) が大きく変化した。4. 原子間力顕微鏡法 (Atomic Force

Microscopy, AFP 法) で、溶液中での T 標品の動的挙動を観測することができた。既報の D 体や P 体のサイズとの比較により、T が四量体と確認できた。また四量体分子内で、T と D 間での解離・会合変換が観測された。

以上の結果から、 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase 分子の機能単位は、四量体であることが強く示唆された。

## 12. 肺高血圧症に対する基礎的研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
佐藤 徹	医学部内科学Ⅱ	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
田中 宏明	アクトリオンファーマシューティカल्ズ ジャパン株式会社	副本部長	研究方針等の検討及び研究関連 最新情報収集・提供

### キーワード

肺高血圧症、基礎的研究、新規治療戦略、トランスレーショナルリサーチ

### 研究分野

循環器内科学

#### 1. 共同研究の目的

肺高血圧症、基礎的研究、新規治療戦略、トランスレーショナルリサーチ。

#### 2. 共同研究の内容・計画

肺高血圧症に関する学会報告及び研究内容を吟味し、十分な議論の上、基礎的研究計画を作成する。その後、肺高血圧症の病態に関する基礎的研究を遂行し、その基礎的研究から得られた知見をもとに、肺高血圧症の新規治療法開発に向けたトランスレーショナルリサーチを行う。

#### 3. 研究成果（経過）

本研究の趣旨、目的、達成目標を満たす事業を行い、いずれも満足する結果が得られた。来年度も再申請し、同様の意義のある事業を施行出来たらと考える。

## 13. 左右両循環系（心室、動脈）血行力学の情報論的解析

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
赤木 美智男	医学部医学教育学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
阿波 彰一	太陽こども病院 (元杏林大学医学部教授)	非常勤医師	研究責任者、動物実験、データ解析、論文執筆
保崎 明	医学部小児科学	講師	動物実験、データ解析
中村 嘉宏	宮内庁	侍医	動物実験、データ解析

## キーワード

体・肺各心室圧、大（肺）動脈血流量、周波数領域、伝達関数、線形性

## 研究分野

循環器力学

## 1. 共同研究の目的

イヌを用いて、全身麻酔・開胸陽圧呼吸下で、大・肺両循環系の圧・流量・心室容積の関係を異なる心拍数下で実測し、①心室流入量、心室圧、心室流出量、動脈圧等のフーリエ変換を用いた周波数解剖析値からこれらの関係の線形性を確認する。②これらの変数の関係を、周波数領域で定義する。③関係式におけるパラメーターを決定し両循環系の力学的特性を明らかにする。

## 2. 共同研究の内容・計画

リタイヤビーグル犬をペントバルビタールによる静脈麻酔で麻酔し、気管挿管して陽圧呼吸管理する。心電図および総頸動脈もしくは大腿動脈から挿入したカテーテルにより大動脈圧をモニターする。胸骨正中切開により心臓に至り、圧および流量（または流速）センサーを大動脈と左心室流入部に、左神経の計測終了後は肺動脈と右心室流入部に装着し、それぞれの部位における圧と流量（または流速）を同時記録（紙および A/D 変換してコンピューターに）する。一方、thermal dilution 法により心拍出量を計測し、心室容量の変化と動脈への流出量の calibration とする。洞結節部の冷却および心房ペーシングにより、心拍数を変化させて記録する。また、ドブタミン負荷による強心時にも同様の計測を行う。

データは自作のソフトウェアによりフーリエ変換し、上記①、②、③の解析を行う。

## 3. 研究成果（経過）

平成 27 年 3 月 2 日から実験を開始し、平成 28 年 7 月末までに 19 回行った。

解析に必要なデータが採取できており、一旦実験を終了した。

データの解析のための、自作のソフトウェアを改変中である。

## 14. 高齢ドライバおよび軽度認知症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

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
長谷川 浩	医学部高齢医学	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
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、特に軽度認知症ドライバ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へ行っていただく。ここで定置型ドライビングシミュレータ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）

本年度は、杏林大学病院もの忘れセンター受診者から文書による同意が取れた対象（軽度認知機能低下の方）と交通安全研究所で募集した一般高齢ドライバーに対し交通安全環境研究所において、ドライビングシミュレーターを用いその運転技能評価を行った。加齢に伴うと考えられる2つの同時対象に対する反応性の低下など傾向を確認することができた。

この結果の一部を用い、平成28年12月1日に第35回日本認知症学会学術集会にて発表を行った。

## 15. 先天性内分泌疾患のメダカモデルの作製と解析

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
谷口 善仁	医学部衛生学公衆衛生学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
長谷川 奉延	慶應義塾大学	教授	臨床病理的研究
石井 智弘	慶應義塾大学	講師	遺伝子工学的研究
天野 直子	慶應義塾大学	共同研究員	遺伝子工学的研究
鳴海 覚志	国立成育医療研究センター	室長	遺伝子工学的研究

## キーワード

先天性内分泌疾患、細胞周期、臓器形成、メダカ

## 研究分野

小児内分泌学

## 1. 共同研究の目的

慶應義塾大学小児科長谷川研究グループでは先天性内分泌疾患の新規原因遺伝子を単離した。これまでに、臨床症状や *in vitro* での実験結果から当該遺伝子が細胞周期や臓器形成に重要な役割を果たしていることが示唆されている。本研究は、脊椎動物モデルであるメダカを使用し、この遺伝子の *in vivo* での機能を調べることを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

当該遺伝子は細胞レベルでの機能解析から機能獲得型変異だと考えられる。昨年は *conditional* に遺伝子を強制発現させる系を作っていたが、胚が早期に死亡したりタンパク質の発現が認められなかったりしてうまくいかなかったため、新しくデザインしたコンストラクトで疾患モデルメダカを作製する。

## 3. 研究成果（経過）

慶應義塾大学小児科長谷川研究グループの鳴海らは、先天性副腎低形成に免疫不全などを合併する新たな疾患単位を MIRAGE 症候群と名付け、2016年に *Nature Genetics* に発表した。家系、および細胞生物学的な解析から、本疾患は、エンドソームの成熟に関わる SAMD9 タンパク質の機能獲得型変異が原因であることが明らかとなった。

変異型 SAMD9 は細胞毒性が強く、培養細胞に発現させると異常エンドソームが蓄積し、細胞の増殖は著しく阻害される。この毒性のため、動物モデルを作るためにメダカやマウスでの変異タンパク質の発現が試みられてきたが、いまだ成功したものはない。

今年度は、コリオジェニンのプロモーター下に、ヒト変異 SAMD9 を接続したコンストラクトを作製し、メダカ卵に注入した。コリオジェニンは卵膜の構成要素で、エストロゲンによってその発現はタイトに制御されている。このコンストラクトは顕微注入後、発現のリークによる個体の死亡を認めなかった。現在、次世代にトランスジーンが伝達された系統を選別している。なお、鳴海は今年度、慶應義塾大学より国立成育医療研究センターへ所属が変更となった。

## 16. 唾液腺疾患と唾液腺管開口部位の形態構造との関連性について

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
天野 カオリ	医学部解剖学	講師	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
相澤 信	日本大学	教授	試料提供 (日大)
島田 和幸	日本大学	名誉教授	試料採取 (日大) 研究指導

### キーワード

ヒト、唾液腺管開口部形態、唾液腺疾患、SEM、神経分布、平滑筋分布
-----------------------------------

### 研究分野

臨床解剖
------

#### 1. 共同研究の目的

唾液腺における感染性疾患は耳下腺に多く、唾石症や嚢胞は顎下腺での高い発症率となっている。耳下腺の感染経路に関しては主導管の開口部形態、すなわち耳下腺と口腔とをつなぐ位置関係が原因であることが考えられ、結果についてはすでに報告している。顎下腺に関する動物実験は多数報告されているが、症例以外でのヒトに関連する報告はわずかで、特に舌下腺管との共通開口部である舌下小丘の形態構造に関する詳細は不明である。この領域に関する形態構造を解明することは臨床的にも有意義であるといえる。

#### 2. 共同研究の内容・計画

ヒト成人ならびに胎児顎下・舌下腺管を試料として使用し、開口部位(耳下腺乳頭・舌下小丘部)に関する肉眼形態学的ならびにSEMによる形態観察を行う。試料は日大医学部研究用成人遺体と、杏林大学医学部寄贈研究用胎児遺体を使用する。唾液腺管開口部位における神経分布の観察には免疫組織学的染色を行う。免疫染色用試料の遺体は10時間以内に頸部のみ4%パラホルムアルデヒド/PBS溶液にて固定し、凍結試料を作成する。神経分布の染色にはPGP9.5, Tyrosin Hydroxylase (TH), Choline acetyl transferase と、Substance Pを使用する。また導管壁の平滑筋構造の観察には $\alpha$ -SMA抗体を使用する。

#### 3. 研究成果(経過)

ヒト唾液腺管の特異な構造と機能の関連を解明することを目的とし研究を進行している。  
ヒト成人ならびに胎児顎下・舌下腺管を試料として使用し、開口部位(耳下腺乳頭・舌下小丘部)に関する肉眼形態学的ならびに走査型電子顕微鏡による形態観察を行った。試料は日大医学部研究用成人遺体と、杏林大学医学部寄贈研究用胎児遺体を使用した。  
また唾液腺管開口部位における神経分布を観察するために免疫組織学的染色を行った。  
神経分布の染色にはProtein Gene Product(PGP)9.5, Tyrosin Hydroxylase(TH), Choline acetyl transferase(ChAT)と、感覚線維の同定にはSubstance P(SP)を使用する。また導管壁に分布する平滑筋線維の同定には $\alpha$ -SMA抗体を使用した。

研究成果は現在 Italian Journal of Anatomy and embryology に2017年掲載中である。

Title: Study of human Wharton's duct structure and its relationship with salivary flow

Authors: Kaori Amano\*, Nobuyuki Mitsukawa, Tomonori Harada, Shin Aizawa, George Matsumur

なお胎児顎下腺管試料を使用した研究成果論文を現在投稿中である。

## 17. 結腸直腸癌の診断・治療に関するバイオマーカーの探索

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 敬明	医学部総合医療学	助教	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
表 和範	オリエンタル酵母株式会社 長浜生物科学研究所	研究員	実験・研究の実施
榎本 哲郎	オリエンタル酵母株式会社	主任	実験・研究の支援
保田 尚孝	オリエンタル酵母株式会社 長浜生物科学研究所	所長	実験・研究の管理

## キーワード

結腸直腸癌、バイオマーカー、基礎的研究、HiCEP

## 研究分野

消化器外科学

## 1. 共同研究の目的

結腸直腸癌の診断・治療に関するバイオマーカーの探索を行うこと。

## 2. 共同研究の内容・計画

検出感度の良い遺伝子検出法である HiCEP 技術を有するオリエンタル酵母様と共同で、結腸直腸癌の診断・治療に関するバイオマーカーの探索を行う。

まず、当科先行研究“腺管分離法とマイクロアレイを用いた大腸癌浸潤部・族出での浸潤能の解明”で用いた大腸癌組織検体を用い、先駆的緩急として大腸癌部・正常部における遺伝子発現の差を検討する。ここで検出感度、必要量などの技術的ノウハウを獲得し、解析対象の選定を含め研究計画の立案を行い、バイオマーカー検索を行う。

## 3. 研究成果（経過）

外科切除検体 2 例を用いて、パラフィン切片、凍結切片を用い HiCEP 解析を行った。RNA の分解が進んでいるパラフィン切片での解析は不可能であったが、凍結切片での解析は可能であった。

さらに 4 症例の解析を起こったが、癌部の RNA は保たれていたが、正常部分での RNA の分解が著しく、実験施行が困難であった。このためさらに 4 検体の正常粘膜を採取し RNA を抽出したが、どの検体も正常粘膜の RNA の分解が著しかった。

-80℃の冷凍庫に保管していたが、サンプルの劣化が著しくこれ以上の研究遂行困難と判断し、オリエンタル酵母とも協議の上、試験中止とした。

## 18. ヒト iPS 細胞から誘導した膵β細胞の機能解析

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
今泉 美佳	医学部生化学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
青柳 共太	医学部生化学	講師	インスリン分泌解析
大河内 仁志	国立国際医療センター	部長	iPSβ細胞の調製
矢部 茂治	国立国際医療センター	上級研究員	iPSβ細胞の調製

### キーワード

iPS細胞、膵β細胞、インスリン、開口分泌
-----------------------

### 研究分野

分子細胞生物学
---------

#### 1. 共同研究の目的

ヒト iPS 細胞から誘導した膵β細胞は糖尿病における再生医療、また糖尿病の病態解析や薬効分析への応用が期待されている。iPS 細胞のβ細胞への分化誘導法の開発は急速に進展してきたが、得られた iPSβ細胞が正常な膵β細胞と同等のインスリン分泌機能を有するのかを詳細に検証する必要がある。本研究ではβ細胞のインスリン分泌機能の評価指標として、正常膵β細胞に特徴的に見られるグルコース応答に対する 2 相性インスリン開口分泌機能に着目し、私達が独自に構築しているインスリン顆粒開口分泌イメージング解析システムを主に用いて検証する。得られた結果はより質の高い iPSβ細胞の作製法に反映させる。

#### 2. 共同研究の内容・計画

今年度は国立国際医療センター細胞組織再生医学研究部から供与された iPSβ細胞の生理学的解析を主に行う。

1) iPSβ細胞の perfusion 実験によるインスリン分泌 2 相性の解析、2) 全反射蛍光顕微鏡 (TIRFM) イメージングシステムを用いたインスリン分泌顆粒の 2 相性開口分泌機能解析、3) 細胞内 Ca<sup>2+</sup>および細胞内 ATP 変動のイメージング解析を行い、iPSβ細胞の 2 相性インスリン開口分泌機能を詳細に検証する。

得られた結果をより質の高い iPSβ細胞の作製法に反映させる。

#### 3. 研究成果 (経過)

ヒト iPS 細胞から誘導した膵β細胞は糖尿病における再生医療、また糖尿病の病態解析や薬効分析への応用が期待されている。iPS 細胞のβ細胞への分化誘導法の開発は急速に進展してきたが、得られたヒト iPSβ細胞が正常な膵β細胞と同等のインスリン分泌機能を有するのかを詳細に検証する必要がある。本研究ではβ細胞のインスリン分泌機能の評価指標として、正常膵β細胞に特徴的に見られるグルコース応答に対する 2 相性インスリン分泌機能に着目し、検討を行った。今年度は国立国際医療センター細胞組織再生医学研究部から提供された iPSβ細胞をインスリン-GFP アデノウイルスベクターで処理し、GFP 標識したインスリン顆粒からのインスリン開口放出を全反射蛍光顕微鏡 (TIRFM) 下で可視化解析した。その結果、正常な膵β細胞と同様、高グルコース刺激に対するインスリン顆粒の細胞膜へのドッキングおよび細胞膜とのフュージョンが観察された。また、インスリン開口放出数のタイムコースは正常膵β細胞と同様に 2 相性となった。このように本研究により、ヒト iPSβ細胞においても正常膵β細胞に特徴的に見られるグルコース応答に対する 2 相性インスリン分泌機能を保持していること明らかとなった。ただ、供給された iPSβ細胞は細胞調製ごとにインスリン分泌応答のばらつきが大きく、安定的な細胞調製が今後の研究課題となる。

## 19. 熱傷創に対する脂肪由来幹細胞（ADRC）の有効性および安全性の検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
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	研究分野
樽井 武彦	医学部救急医学	准教授	動物及び基礎実験の施行・結果解析
海田 賢彦	医学部救急医学	助教	動物及び基礎実験の施行・結果解析
朝日 通雄	大阪医科大学	教授	動物及び基礎実験の施行・結果解析
伊井 正明	大阪医科大学	講師	動物及び基礎実験の施行・結果解析

## キーワード

熱傷治療、脂肪由来幹細胞（ADRC）、創傷治癒、安全性

## 研究分野

再生医療

## 1. 共同研究の目的

ヒト脂肪由来幹細胞（ADRC）の熱傷創に対する治療効果と安全性を検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

内容) 熱傷治療において ADRC の有用性と安全性を確認するために、小動物（マウス）と大動物（ブタ）を用いた動物実験を、大阪医科大学薬理学教室との共同研究として施行中。

計画) 実験 1) ヒトの脂肪吸引から得られた脂肪組織を原料とし、Cytori 社製 Celution を用いて ADRC を分離し、ヌードマウスの熱傷モデルに皮下注射して、熱傷創の治癒過程に対する有効性を評価する。動物実験は大阪医科大学の動物実験施設にて今後約 2 回施行の予定。同時に ADRC を用いた *in vitro* の基礎実験も行う（大阪医科大学および杏林大学にて施行）。

実験 2) 実験 1 で有効性が示された場合、熱傷患者治療の臨床応用に向けて、大動物を用いた安全性の確認実験を行う。ブタの脂肪吸引を行い、上記 Celution を用いて ADRC を分離し、同じブタ個体に皮下注射して、一定期間飼育後、安全性の確認を行う（同実験は外部委託する予定）。実験期間は、上記を含めて 1 年間の予定である。

## 3. 研究成果（経過）

熱傷治療において ADRC の有用性と安全性を確認するために、小動物（マウス）を用いた動物実験とその裏付けとなる *in vitro* の細胞生物学的実験を、大阪医科大学薬理学教室との共同研究として施行中である。

平成 27 年度には、ヌードマウスの熱傷モデルを作成後、ヒトの脂肪吸引から得られた脂肪組織を原料として ADRC を分離し、上記モデルに皮下注射して、熱傷創に対する有効性を評価し、その有効性を確認した。

（平成 28 年度）上記モデルの皮膚を組織学的に検索し、ADRC による血管新生及び組織増生効果を確認した。並行して *In Vitro* の実験を行い、ADRC の細胞特性を評価し、ADRC 培養上清による上皮細胞および線維芽細胞の増殖・遊走能刺激作用を確認中である。

## 20. ヒト iPS 細胞を用いた皮膚付属器再生

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
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	研究分野
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
馬淵 洋	東京医科歯科大学大学院	助教	iPS 細胞の分化誘導効率の解析

### 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

本研究は瘢痕性脱毛症をはじめとする難治性皮膚疾患の再生医療実現の技術的基盤としてヒト iPS 細胞を用いた皮膚付属器の再生法の確立を目的とする。共同研究者の施設はヒト iPS 細胞研究の本邦における拠点の一つであり、申請者は既に共同研究を続けている。共同研究者からヒト iPS 細胞の供給と分化誘導に関する技術支援を受けることで安定した実験計画の遂行が可能になる。共同研究者には我々が新たに開発した皮膚付属器再生技術を選元する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

既にライン化され多施設にて研究に用いられているヒト iPS 細胞の供給を共同研究者からうける（本計画では新規 iPS 細胞の作成は行わない）。申請者らは供給されたヒト iPS 細胞をフィーダーフリー化した上で、組織特異的マーカーの発現をモニタリングしながら上皮系細胞（ケラチノサイト）と間葉系細胞（毛乳頭細胞・線維芽細胞など）に分化誘導する。得られた上皮・間葉系両方の細胞を共培養あるいは *in vivo* の環境に移植す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・分子生物学的解析は本学と共同研究者ら両方の施設で行う。

#### 3. 研究成果（経過）

本研究は共同研究者から提供されたライン化されたヒト iPS 細胞をフィーダーフリー化しヒト付属器・特に毛包を構成する二つのコンポーネント（上皮系・間葉系細胞）を分化誘導しそれらを用いて皮膚付属器の再現を試みている。

共同研究 2 年目となる本年度はフィーダーフリー化したヒト iPS 細胞から上皮系細胞であるケラチノサイト、間葉系細胞を誘導しケラチン 14、毛包幹細胞マーカーであるケラチン 15、間葉系幹細胞のマーカーである CD44、CD90、CD105、CD166 などのマーカーの発現をリアルタイム PCR、フローサイトメトリーで確認した後、コラーゲンゲルを用いた 3 次元培養系を用いて皮膚の立体構造の再現を試みた。部分的に上皮、真皮を模した立体構造をもつ皮膚様の構造物の再現はできているものの、安定して結果が得られてはおらず、さらなる改善が必要である。

## 21. 子宮内膜症の新たな血清診断バイオマーカーの開発

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
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	研究分野
福田 道子	産業技術総合研究所	フェロー	ペプチド探索、解析

## キーワード

子宮内膜症、疾患特異的バイオマーカー、糖蛋白、ファージディスプレイ

## 研究分野

産婦人科学

## 1. 共同研究の目的

子宮内膜症は近年増加傾向にあり、良性疾患ではあるが月経困難症や不妊症の原因となり女性の QOL を著しく損なう疾患である。しかしながら現在、子宮内膜症の有効な血清診断マーカーはなく、その開発が切望されている。本研究では子宮内膜症の新規血清バイオマーカーを探索し、診断に応用することを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

子宮内膜症患者の血清をレクチンコートしたマルチウェルプレートに加え、糖タンパク質を選択的にプラスチックに吸着させる。ファージライブラリーは非特異的ファージ除去後に子宮内膜症患者血清を吸着したウェルに加え結合したクローンを選択し、ファージの DNA がコードするインサートのペプチド配列を決定する。その後、ペプチドが認識する血清糖蛋白質を血清あるいは病変組織から単離しプロテオミクスで同定する。糖蛋白質バイオマーカー候補の検出系をファージライブラリースクリーニングを応用して作製しその適用範囲や有効性等について検証する。

## 3. 研究成果（経過）

子宮内膜症患者の手術前後の血清を用い、subtractive phage display screening を行った結果、consensus sequence が得られ、その peptide の receptor も同定された。そこで、この peptide を別の内膜症患者の血清で確認したが、陽性にはならなかった。Screening の段階での患者血清ではエストロゲンが非常に高値であったため、エストロゲン濃度との対応も検討したがエストロゲン濃度との対応は認められなかった。従って現時点で screening された peptide の内膜症診断における有用性は認められず、現在新たな peptide のスクリーニングを行っているところである。

## 22. 肺孤立性毛細血管腫の臨床病理学的研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
菅間 博	医学部病理学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
藤原 正親	医学部病理学	准教授	検体の選定
橋本 浩次	NTT 東日本関東病院	医師	検体の解析
倉田 厚	東京医科大学	准教授	文献的検索

### キーワード

肺孤立性毛細血管腫、病理組織学、免疫組織化学、臨床病理学

### 研究分野

病理学

#### 1. 共同研究の目的

肺孤立性毛細血管腫は 2006 年に初めて 2 例の報告がなされて、これまで英文で 10 例程度しか報告されていない稀な疾患である。しばしば検診の胸部 CT で発見され、極めて緩徐な増大傾向を示し、肺癌が疑われて切除されることが多い。しかし、稀であるがゆえに、その臨床病理学的、組織学的、免疫組織化学的特徴は十分に検討されていない。我々は病理部に保存されたホルマリン固定パラフィン包埋組織 (FFPE 組織) を用いて、この解析を行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

毛細血管の増生パターンや範囲などを組織学的に判定し、また、免疫組織化学的に血管内皮マーカーや、他の腫瘍で染色されることが分かっているマーカーなどの発現を検索する。また、適宜、その臨床所見や経過などを参照する。

これにあたって、症例の集積のため杏林大、NTT 東日本関東病院、東京医科大学で共同研究を行う。

具体的には、杏林大学での手術例での肺孤立性毛細血管腫の症例に関する、個人を特定できる内容の除外された臨床経過と、FFPE 組織から薄切された未染色標本を染色し、組織学的・免疫組織化学的に解析する。

#### 3. 研究成果 (経過)

肺の毛細血管腫 solitary pulmonary capillary hemangioma (SPCH) を一つの独立した疾患概念として確立するために、NTT 東日本関東病院、杏林大学共同で症例を集積し、臨床病理学的検討を行った。全例無症状での画像発見であり、年齢は 30-68 歳 (中央値: 54 歳)、男女はそれぞれ 3 例と 4 例であった。CT 上はいずれも孤立性スリガラス状結節 (GGN) を呈し、腫瘤径は 8-16mm であった。過去の CT 像との対比可能な症例では、約 7 年間に 4 mm 大から 10 mm 大まで増加した症例がある一方で、10 年間で腫瘤径がほとんど変わらなかった症例もあった。ほぼ全例において術中での病変の触知は困難だった。剖面は暗赤色調を呈し、組織学的には胞隔内で肺胞腔との区別が難しい程に拡張した毛細血管の増生を認めた。全例で毛細血管の肺動静脈内への進展を認め、免疫組織化学的には CD31 や CD34 などの血管内皮マーカーに加えて  $\alpha$ -SMA も陽性となった。臨床経過、病理所見から SPCH は血管周皮を有する毛細血管の良性増殖性病変と考えられた。既報 9 例でも同様、無症候性病変の CT 発見・40-50 代に好発・20 mm 大以下の GGN であった。したがって、SPCH は GGN として発見され、肺癌との鑑別を要する病変であり、既に確立されたいずれの疾患概念とも異なった新規疾患概念であると考えられる。近年、CT による肺がん検診が生命予後を改善することが示され、この普及に伴って、無症候性の病変である SPCH も世界的にも発見が増加する可能性がある。GGN に対する肺切除検体の正確な

診断のために、SPCH は一つの独立した疾患概念として確立されるべき疾患であり、下記の通り、論文(英文)にて報告した。

Hashimoto H, Kurata A, Fujiwara M, Hara K, Matsumoto J, Kusakabe M, Tachibana K, Nashiro T, Terado Y, Akahane M, Usui K, Suzuki Y, Kondo H, Kamma H, Kuroda M, Horiuchi H. Solitary Pulmonary Capillary Hemangioma of Adult Cases: Clinicopathologic Characteristics as an Unrecognized Entity. *Am J Surg Pathol.* 2016; 40(10): 1380-1389.

## 23. 甲状腺低分化癌と未分化癌の臨床病理学的ならびに分子病理学的研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
菅間 博	医学部病理学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
岡本 高宏	東京女子医科大学	教授	臨床病理学的解析
石井 順	医学部病理学	助教	遺伝子工学的解析、免疫組織化学的解析
堀内 喜代美	東京女子医科大学	講師	臨床病理学的解析
平野 浩一	医学部外科学	教授	臨床病理学的解析、免疫組織化学的解析
中里 陽子	医学部外科学	助教	臨床病理学的解析、免疫組織化学的解析

### キーワード

甲状腺癌、低分化癌、未分化癌、悪性転化、分子標的治療
----------------------------

### 研究分野

医科学
-----

#### 1. 共同研究の目的

甲状腺癌未分化癌は極めて予後が悪く、一般に手術の適応にならない。甲状腺分化癌あるいは低分化癌から未分化癌へ変化することを、悪性転化と呼ぶが、その分子生物学的な機序は解っていない。甲状腺低分化癌と未分化癌の標本を集積し、臨床病理学的、病理組織学的ならびに分子病理学的に解析して、甲状腺癌の悪性転化の機序を明らかにする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

##### 1. 甲状腺低分化癌と未分化癌の臨床病理学的ならびに病理組織学的検討

杏林大学付属病院ならびに東京女子医科大学付属病院で生検ないし手術された低分化癌と未分化癌の症例を集積し、臨床病理学的ならびに病理組織学的に解析する。

##### 2. 低分化癌と未分化癌の分子生物学的解析

生検あるいは手術標本を対象として、免疫組織化学的ならびに分子病理学的により蛋白、RNA、DNA レベルの解析をおこなう。さらに甲状腺癌由来の培養細胞株を用いて遺伝子工学的ならびに分子生物学的な解析をおこなう。

#### 3. 研究成果（経過）

甲状腺癌低分化癌と未分化癌は、頻度が低い。東京女子医科大学 内分泌外科と共同して、甲状腺低分化癌と未分化癌の症例を集積し、臨床病理学的ならびに分子遺伝学的な特徴を明らかにすることを目的として、研究を行った。今年度は、低分化癌と未分化癌の診断基準について整理するとともに、臨床的特徴と術後の予後の違いを明らかにした。さらに、背景の腫瘍関連遺伝子の異常の解析を進めた。結果は、以下の学会で発表するとともに雑誌に投稿した。

- 1) 澤文、千葉知宏、菅間博.甲状腺癌増殖シグナルにおけるアデニル酸シクラーゼの作用.第 105 回日本病理学会総会 仙台、平成 28 年 5 月 12-14 日.
- 2) 菅間博.新しい甲状腺癌取り扱い規約(第 7 版) 組織診断基準と細胞診報告様式 甲状腺腫瘍の組織診断基準について第 57

回日本臨床細胞学会、横浜、平成 28 年 5 月 28-29 日.

3) 菅間博、千葉知宏.甲状腺未分化癌、低分化癌 Update 甲状腺低分化癌の病理診断基準 Update.日本内分泌・甲状腺外科学会雑誌 (2186-9545)33 巻 Suppl.1 Page S65(2016.04)

4) 千葉知宏、菅間博.第 7 版の甲状腺癌取扱い規約における変更点について】 甲状腺低分化癌について(解説/特集).日本内分泌・甲状腺外科学会雑誌 (2186-9545)33 巻 2 号 Page78-82(2016.06)

5) Ishii J, Kojima K, Chiba T, Sumiishi A, Arimasu Y, Shishido-hara Y, Sato H, Yazawa T, Kamma H: PROX1 promotes secretory granule formation in medullary thyroid cancer cells Endocrinology 2016 Mar;157(3):1289-98.

## 24. 慢性肺血栓塞栓病に対する肺動脈血管形成術に関する共同研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
佐藤 徹	医学部内科学Ⅱ	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
柳澤 亮爾	医学部内科学Ⅱ	特任助教	形成術指導・普及、研究施行
吉野 秀朗	医学部内科学Ⅱ	教授	研究統括
伊波 巧	循環器内科	助教	形成術指導、統括
Sandhu S G	Mayo Clinic	准教授	形成術施行・普及、研究施行
Franz P R	Mayo Clinic	教授	形成術施行・普及、研究施行

### キーワード

慢性肺血栓塞栓症、肺動脈形成術、前向き研究

### 研究分野

臨床研究

#### 1. 共同研究の目的

当教室は、慢性肺血栓塞栓症の先進的治療法であるカテーテルによる肺動脈形成術を発展させ、その有用性と安全性を検討してきたが、アメリカでは未だ普及しておらず、この手技のメーヨークリニックにおける指導、アメリカを中心とした全世界への普及と症例登録、アメリカおよび全世界の慢性肺血栓塞栓症治療における肺動脈形成術の前向き研究の企画・準備。更に、慢性肺血栓塞栓症の病態解明。

#### 2. 共同研究の内容・計画

柳澤亮爾がアメリカ・メーヨークリニックに勤務し、肺動脈血管形成術の開始、発展を指導し、ここを拠点として、この治療法のアメリカおよび世界への普及活動、慢性肺血栓塞栓症治療におけるこの治療法の前向き研究開始のための準備および企画を行う。更に、メーヨークリニックと共同で本疾患の病態解明のため、臨床的・基礎的研究を施行する。杏林大学循環器内科との Web conference を定期的で開催して、杏林スタッフも研究に参加して研究を推進する。

#### 3. 研究成果（経過）

柳澤亮爾が Mayo Clinic に留学、出向し、目標とした課題を大体 50%達成した。この新しい治療法を Mayo Clinic において更に発展させること、および全米に普及させるという目標は、前者が約 70%の達成度、後者が約 20%の達成度であった。これらの目的に関しては、種々の形で今後も Mayo Clinic を中心に協力的体制を維持したいと考えるが、ひとまずこの project は今年度で終了させたい。

## 25. 膵臓癌検出における糖鎖修飾リボヌクレアーゼ 1 の有用性の検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
土岐 真朗	医学部内科学Ⅲ	助教	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
仲田 大輔	東ソー株式会社	研究員	検体の測定とデータ解析
高橋 信一	医学部内科学Ⅲ	教授	研究指導
久松 理一	医学部内科学Ⅲ	教授	研究指導

## キーワード

膵臓癌、糖鎖修飾 RNase1

## 研究分野

消化器内科学

## 1. 共同研究の目的

本臨床研究は、東ソー株式会社が開発した「新規膵臓癌診断マーカー」を用いて、その臨床的有用性を検討する目的で実施する。本新規膵臓癌診断マーカーは、膵臓から血液中に分泌されるリボヌクレアーゼ 1 の N 型糖鎖付加状態を測定することで膵臓癌を検出する。これまでの研究において、膵臓癌患者の血液中のリボヌクレアーゼ 1 の N 型糖鎖付加状態を調べると、膵臓癌ではない人と比較して、特定のアミノ酸残基に N 型糖鎖が付加された状態のリボヌクレアーゼ 1 の割合が増えていることが明らかとなっている (Scientific Reports 4, Article number:6715, 2014)。リボヌクレアーゼ 1 は膵臓特異的に分泌されるタンパク質であるため、CA19-9 など、の既存の膵臓癌マーカーよりも磁器特異性に優れていると考えられ、血液検査による膵臓癌の特異的な検出を可能にすると期待され、本試験では、この診断マーカーの臨床的有用性の検討を行うことを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

＜対象＞①膵臓癌と診断された症例：50 例、②膵臓癌ではないが膵臓癌の危険因子である膵臓癌の家族歴がありかつ喫煙または飲酒歴のある症例：50 例、③膵管内乳頭粘液性腫瘍：50 例の 150 例を対象とする。

＜方法＞上記症例において、残余検体を使用し、東ソー株式会社の自動免疫診断装置を用いてリボヌクレアーゼ 1 の N 型糖鎖付加状態を測定し、膵臓癌検出における糖鎖修飾 RNase1 の有用性について検討する。

解析方法：上記①膵臓癌と②、③の対照群に分けた測定値を統計的に解析して、膵癌量検出における新規膵臓癌診断マーカーの臨床的有用性を確認する。

## 3. 研究成果（経過）

2017 年 3 月 17 日現在、膵癌 42 症例の登録が終了、経過を追っている。データの解析は、50 例で一度行うプロトコールとなっているため、まだ行っていない。症例の集積を継続して行っていく。

## 26. ヒト体内に常在する抗酸菌・古細菌の探索および疾病との関連の解明

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
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	研究分野
松本 壮吉	新潟大学	教授	マウス感染実験

### キーワード

抗酸菌、古細菌、常在菌、メタゲノム、感染症

### 研究分野

微生物学

#### 1. 共同研究の目的

近年、腸管内や口腔内の大量の微生物ゲノムデータを同時に解析し、菌叢を構成する細菌の実態を明らかにすることで、これらの菌叢とヒトの疾患との関連について解明する研究が進められている。本研究では、これまで研究がすすんでいなかった抗酸菌・古細菌に焦点を当て、腸内・口腔・皮膚表面などの抗酸菌・古細菌の常在菌叢 (mycobacteriome & archaeome) を明らかにする。また従来、菌がほとんど生息していないとされる体液 (血液、尿、髄液、涙液、胆汁、眼房水など) についても、抗酸菌・古細菌の存在について探索する。さらには、疾患を持つ患者との菌叢の差異を検討し、これらの菌の存在と疾患発症との関連について解明することを目指す。

#### 2. 共同研究の内容・計画

- ・健康人および特定の疾患 (感染症の関与が疑われるもの) に罹患した患者から、口腔内、腸管内、皮膚表面のスワブ検体、血液、尿、眼房水、涙液、胆汁を採取する。
- ・抗酸菌・古細菌に対応可能な方法で菌の DNA を抽出する。
- ・次世代シーケンシングシステム (ION TORRENT) および細菌メタゲノム検出キット (ION 16S Metagenome Kit) を用い、検体中の細菌の種類および分布を明らかにする。
- ・抗酸菌・古細菌に対応した培養法を用い、検体中に菌が生存・増殖していることを証明する。
- ・特定の疾患との関連が疑われた菌については、患者の病理組織での検出を試みる一方、動物へ接種し同様の病態が再現されるかを病理学的に検討する。

#### 3. 研究成果 (経過)

本研究は、健康人および患者の検体を使用するため、医学部の倫理委員会における承認が必要であるが、複数の診療科の協力を必要とすることなどからその準備に時間を要し、本年 2 月に承認された。その後、まず健康人からサンプルの採取を開始し、菌の培養および検出を進めているところである。この間に、研究の準備としてすでに肺炎等の疾患をもつ患者から分離培養された抗酸菌の 1 種である *Mycobacterium kyorinense* の 6 株について、次世代シーケンシングシステムを用いて全ゲノム解析を行い、本システムにより抗酸菌のゲノム解析が可能であるかについて検証した。結果として、*Mycobacterium kyorinense* の基準株をレファレンスとしていずれも解析に成功し、多数の single nucleotide polymorphism や insertion/deletion が認められることがわかり、本システムが抗酸菌の全ゲノム解析に有用であることが示された。今後は、研究計画に基づき、健康人および各種疾患患者から採取した材料から細菌メタゲノム検出キットを用いて抗酸菌・古細菌を同定し、次世代シーケンシングシステムによりゲノム解析を行う予定である。また、分離された菌についてマウスへの感染実験を行い、疾患が再現されるかどうかについて検討を行う予定である。

## 27. 難治性ネフローゼの血中惹起分子探索と尿中診断バイオマーカーの確立

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
楊 國昌	医学部小児科学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
竹松 弘	京都大学	准教授	遺伝子クローニング

## キーワード

ネフローゼ、血管透過性因子、尿バイオマーカー

## 研究分野

腎臓病学

## 1. 共同研究の目的

難治性ネフローゼ（ネフ）患者は長期の免疫抑制治療を余儀なくされ、その半数以上は腎死に至る。ネフの惹起分子は血清中に存在すると考えられるが、その本体は不明である。また、腎死へのプロセスを示すバイオマーカーとなる分子は未だ存在しない。本研究では、腎糸球体上皮の膜上に特異発現する新規分子 *crumbs homolog2* (CRB2) が血清中ネフ惹起分子の作用標的になることを想定し、ネフ血清から CRB2 結合分子を同定する。さらに、尿中脱落 CRB2 をネフ増悪の指標と考え、その酵素免疫測定法 (ELISA) を樹立し、診断薬として開発する。

## 2. 共同研究の内容・計画

高分子量である CRB2 を断片化した各タンパク産物発現用ヒト CRB2cDNA をクローニングし、Fc 癒合タンパク発現ベクターに挿入する。これらをプロテイン A カラムで大量精製する。各 Fc 剛合 CRB2 タンパクとネフ患者血清を混合し、抗 Fc 抗体で沈降させ、これを質量解析で解析することで血清中の CRB2 結合分子を同定する。また、作成済の CRB2 発現細胞をラット尾根部に移植し、得た腸骨リンパ節内リンパ球ハイブリドーマを作成する。これにより、複数のモノクローナル抗体作成用クローンを得て抗体の大量作成を行う。これらのモノクローナル抗体を用いた ELISA を樹立し、糸球体から尿中に剥離した CRB2 を測定する。これにより、尿 CRB2 がネフにおける腎障害の指標になることを証明する。

## 3. 研究成果（経過）

腎糸球体上皮膜上に特異発現する *crumbs homolog2* (CRB2) のリコンビナント蛋白を抗原として、抗 CRB2 モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを樹立し、抗 CRB2 特異抗体を得た。その作成過程に於いて、免疫マウスは、抗 CRB2-IgG-補体 C3 で構成された免疫複合体の糸球体内沈着による難治性ネフローゼ（膜性腎症）を発症していることが判明した。このマウス腎症は、CRB2 リコンビナント抗原の 2 週間毎の 3 回皮下注射法により、初回免疫から 6 週後に蛋白尿を発症した。これらの発症再現率は、100%に至った (10/10 匹)。このマウス膜性腎症の免疫沈着物は、IgG サブクラス 1 と 2a を主体とする構成物であった。これらの免疫複合体は、ボウマン腔側の糸球体上皮から進入し、最終的に糸球体基底膜に移動したことから、ヒトの膜性腎症を体現したモデルであることが確信された。本マウス腎症に対して、臨床で使用される糖質ステロイドを投与しているが、現時点で救済効果は得られていない。

## 28. しびれ感覚を引き起こす感覚神経興奮メカニズム

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
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	研究分野
小林 靖	防衛医科大学	教授	神経細胞の免疫組織学的解析

### キーワード

異常感覚、末梢神経、神経圧迫、酸感受性イオンチャネル、パッチクランプ法
-------------------------------------

### 研究分野

神経科学
------

#### 1. 共同研究の目的

しびれ感覚は、末梢神経の障害、あるいは組織の虚血と再灌流などで発生し、痛みとは独立した難治性の異常感覚である。しかし、しびれ感覚を起こす神経機構は未だ解明されていない。本申請者は、虚血による組織酸性化、あるいは ATP の枯渇による Na/K ポンプの抑制が神経を興奮させてしびれを引き起こすとの仮説を立てた。本研究において、電気生理学的手法と免疫組織学的手法を併用して仮説の検証を行い、しびれ発生の神経機構の解明を目指す。

#### 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、単一の感覚神経の電気活動を記録する。この技法で特定の感覚刺激（触刺激、温度、痛み、かゆみ等）に反応する神経活動を記録できる。初年度は、ラットの足をマンシエットで圧迫して虚血性のしびれを実験的に再現し、その時に興奮する感覚神経を同定する。その後、酸性液酸感受性イオンチャネルの遮断薬、Na/K ポンプの遮断薬等を用い、しびれに関連する神経活動を再現あるいは抑制することで神経興奮メカニズムを解析する。さらに、免疫染色法を用いて、しびれ感覚に関連する受容体・イオンチャネルを同定して、上記の仮説を検証する。

#### 3. 研究成果（経過）

しびれ感覚は、末梢神経の障害あるいは組織の虚血と再灌流などで発生し、痛みとは独立した難治性の異常感覚である。しかし、しびれ感覚を伝える神経線維の種類としびれを起こす神経機構は未だに解明されていない。本研究の初年度は、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、特定の感覚刺激（触刺激、温度、痛み、かゆみ等）に反応する単一の感覚神経の神経活動を記録した。さらに、ラットの足をマンシエットで圧迫して虚血性のしびれを実験的に再現したところ、一群の神経線維における興奮活動を記録することに成功した。次年度は、電気生理学的手法と免疫組織学的手法を併用して、虚血による組織酸性化が神経を興奮させてしびれを引き起こすとの仮説の基、当該神経線維の同定としびれ感覚に関連する受容体・イオンチャネルの同定を行い、しびれ発生の神経機構の解明を目指す。

## 29. ATP 受容体によるインスリン開口分泌調節機構の解明

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
今泉 美佳	医学部生化学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
青柳 共太	医学部生化学	講師	インスリン開口分泌解析
岸本 拓磨	医学部生化学	助教	$\beta$ 細胞のイメージング解析
津田 誠	九州大学大学院	教授	ATP 受容体作用薬、 ノックアウトマウスの供与

## キーワード

インスリン、開口分泌、ATP 受容体、TIRF イメージング

## 研究分野

分子細胞生物学

## 1. 共同研究の目的

膵  $\beta$  細胞からのインスリン分泌機構を解明し、その基礎研究成果をもとに糖尿病におけるインスリン分泌障害の成因を明らかにすることは、糖尿病患者が急増している現状において急務の課題である。ATP は  $\beta$  細胞内インスリン顆粒に貯蔵され、インスリンと共に開口分泌されるが、ATP の開口分泌への制御は不明な点が多い。今回 ATP 受容体の神経薬理学研究のリーダーである九州大学薬学研究院・津田教授より ATP 受容体作用薬及びノックアウトマウスの供与を受け、ATP のインスリン開口分泌への autocrine-paracrine 制御の詳細な検討を行う。

## 2. 共同研究の内容・計画

正常膵細胞での ATP 受容体によるインスリン分泌への autocrine-paracrine 調節機構については多数の研究が行われてきたが、未だ不明な点が多い。本研究では正常時と病態時における ATP 受容体刺激に対するインスリン分泌変動を比較検討することで、膵  $\beta$  細胞での ATP 受容体によるインスリン分泌調節機構を明らかにしていく。高脂肪食マウス、ATP 受容体ノックアウトマウス、2 型糖尿病モデルマウスから調製した  $\beta$  細胞を用いて、インスリン開口分泌の徹底解析（インスリン分泌顆粒開口分泌イメージング解析法、細胞内  $Ca^{2+}$ 測定法、 $\beta$  細胞及び膵島の perfusion 実験法、膵灌流実験法）を行い、正常マウス  $\beta$  細胞との比較検討により、ATP 受容体によるインスリン開口分泌調節の分子機構を明確にする。またこの結果より、ATP 受容体の調節機構の破綻と 2 型糖尿病でのインスリン開口分泌低下との関連を明らかにする。

## 3. 研究成果（経過）

膵  $\beta$  細胞からのインスリン分泌機構を解明し、その基礎研究成果をもとに糖尿病におけるインスリン分泌障害の成因を明らかにすることは、糖尿病患者が急増している現状において急務の課題である。ATP は  $\beta$  細胞内インスリン顆粒に貯蔵され、インスリンと共に開口分泌されるが、ATP の開口分泌への制御は不明な点が多い。本研究では正常時と病態時（特にインスリン抵抗性時）における ATP 受容体刺激に対するインスリン分泌変動を比較検討することで、膵  $\beta$  細胞での ATP 受容体によるインスリン分泌調節機構を明らかにしていくことを目的とした。妊娠期母体ではインスリン抵抗性を示し、これを代償するために膵  $\beta$  細胞からのインスリン分泌が亢進する。ATP 受容体阻害剤を用いて検討した所、P2X7 受容体阻害剤により妊娠期インスリン分泌亢進が阻害される知見を得た。来年度は妊娠期の P2X7 受容体ノックアウトマウスから調製した  $\beta$  細胞を用いて、インスリン開口分泌イメージング解析、細胞内  $Ca^{2+}$ 測定法、 $\beta$  細胞及び膵島の perfusion 実験法、生化学的解析等を行い、野生型妊娠マウス  $\beta$  細胞との

比較検討により、P2X7 受容体によるインスリン分泌亢進の分子機構を明確にする予定である。一方、肥満によるインスリン抵抗性に対してもこれを代償するために膵 β 細胞からのインスリン分泌が亢進することが知られている。この肥満によるインスリン分泌亢進においても ATP 受容体による分泌調節が行われているかどうか合わせて明らかにする予定である。

## 30. 発汗機能からみる炎症性皮膚疾患の外用療法の検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
水川 良子	医学部皮膚科学	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
佐藤 洋平	医学部皮膚科学	助教	発汗の評価、組織検討
下田 由莉江	医学部皮膚科学	助教	水分量や発汗の測定、評価
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

本研究では、従来悪化因子と考えられてきた発汗の誘導が、炎症性皮膚疾患の治療戦略になりうるとの観点から、発汗負荷の影響およびステロイド外用剤を含む外用剤が発汗にどのように影響しているのかを明らかにする。これらの結果は従来漠然と行われてきた外用剤の使用方法をデータの的に明らかにするとともに、より適切な炎症性皮膚疾患の外用治療の一助になると確信している。

## 2. 共同研究の内容・計画

我々は発汗異常がアトピー性皮膚炎を中心とした炎症性皮膚疾患の病態に重要な役割を果たしている事を明らかにしてきた。炎症性皮膚疾患の治療の主体はステロイド外用剤であるが、ステロイド外用は炎症反応を抑制するのみでなく発汗機能をも抑制している可能性がある。そこで、治療前の各種炎症性皮膚疾患の発汗機能を足浴負荷で検討するとともに、各種外用により皮膚所見が改善した際の発汗機能も同時に測定し、比較検討を行う。その際の外用剤の使用量との相関なども検討する。

## 3. 研究成果（経過）

発汗は、皮膚角質水分量をコントロールするのみでなく、汗に含まれる抗菌ペプチドやサイトカインなどの様々な物質による皮表面の恒常性のコントロールにも大きく影響している。そこで、ステロイド外用剤を含む外用剤が発汗にどのように影響しているのかを明らかにすることを本研究の目的とし、初年度（本年度）は健康人および治療前の各種炎症性皮膚疾患の発汗機能を足浴負荷で検討し、各疾患による発汗パターンの違いや程度につき検討を行った。

その結果、

- 1、発汗は、皮溝、皮丘各々から分泌されている。
- 2、定常状態では、皮溝からの発汗が主体をなす。
- 3、足浴負荷を行うと、皮丘からの発汗が増加し、皮膚温および深部体温の上昇の抑制効果を発揮する。
- 4、各種炎症性皮膚疾患では、定常状態での発汗機能の低下を認め、皮溝からの発汗が減少していた。

以上より、皮溝からの発汗は定常状態での皮膚角質水分量の維持に関与する一方で、皮丘からの発汗は皮膚の恒常性の維持に関与していると推察された。

### 31. ショウジョウバエ成虫脳グリアサブタイプで特異的に発現する遺伝子の機能解析

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
栗崎 健	医学部生物学	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
上田 龍	国立遺伝学研究所	教授	遺伝学的解析ツールの作成
近藤 周	国立遺伝学研究所	助教	遺伝学的解析ツールの作成
加藤 健太郎	医学部生物学	講師	機能解析の実行・評価

#### キーワード

脳神経、神経変性、モデル生物、グリア細胞
----------------------

#### 研究分野

神経生物学
-------

#### 1. 共同研究の目的

グリア細胞組織が有する基本的な役割について理解するため、我々は他の高等モデル生物に比べてシンプルな脳神経系を持つショウジョウバエをモデル系に用いて、グリア機能とその発生について研究を行っている。本研究では、3つのグリアサブタイプに注目して、これらのサブタイプで特異的に発現する遺伝子の機能について解析する。本研究の解析結果とこれまで報告のある脊椎動物を用いた研究結果を比較することにより、種を超えて保存されているグリアサブタイプにおける細胞機能制御のための基本的な遺伝的機構と、ショウジョウバエにおいて特殊化した遺伝的機構について明らかにできることが期待できる。

#### 2. 共同研究の内容・計画

本共同研究では、グリアサブタイプで特異的に発現する遺伝子の機能を明らかにするために、同遺伝学研究所で作成された既存の解析ツールと新規に作成する解析ツールを活用して研究に取り組む。具体的には、既に我々が同定しているグリアサブタイプで特異的に発現する候補遺伝子について、以下の研究を行う。

- (1) 遺伝学研究所で開発された RNAi ライブラリーを用いた、グリアサブタイプ特異的な遺伝子機能阻害解析。
- (2) 遺伝学研究所で開発された効率的なゲノム編集技術を利用した、遺伝子発現をモニターするトランスジェニック個体の作成、ならびにこれを用いた細胞レベルにおける遺伝発現解析。
- (3) 遺伝学研究所で開発された効率的なゲノム編集技術を利用した、候補遺伝子の機能喪失突然変異体の作成とこれを用いた個体レベルでの遺伝子機能の解析。

#### 3. 研究成果（経過）

本共同研究では、グリアサブタイプで特異的に発現する遺伝子の機能を明らかにするために、遺伝学研究所で作成された既存の解析ツールと新規に作成する解析ツールを活用して研究に取り組む。具体的には、既に我々が同定しているグリアサブタイプで特異的に発現する候補遺伝子について、以下の研究を計画した。

- (1) グリアサブタイプ特異的な遺伝子機能阻害解析。
- (2) 遺伝子発現解析。
- (3) 遺機能喪失突然変異体の作成とこれを用いた個体レベルでの遺伝子機能の解析。

本年度は特に、(1)を中心に研究を遂行した。遺伝研ならびに米国 Bloomington Stock Center より供給された、約 100 遺伝子に対する UAS-RNAi 系統を用い、グリア細胞特異的なノックアウト実験を行い、個体の発生ならびに行動に対する影響を調べた。その結果、発生に異常を与える遺伝子 9 遺伝子、行動に異常を与える遺伝子 3 遺伝子、ストレス耐性に影響を与える遺伝子 9 遺伝子を候補遺伝子として単離することができた。さらに、この中で、特に興味深い表現系を示した、1 遺伝子については、ノックインラインの作成を依頼し、その作成に成功した（現在解析中）。今年度の研究成果に基づき次年度も共同研究の継続を予定している。

## 32. 統合失調症患者の syntaxin1A、1B 遺伝子解析と臨床症状との関連性の検討

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
藤原 智徳	医学部細胞生理学	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
吉田 寿美子	国立精神・神経医療研究センター	臨床検査部部长	試料、情報の管理、解析
服部 功太郎	国立精神・神経医療研究センター	MGC バイオリソース管理室長	試料、情報の管理、解析
赤川 公朗	医学部細胞生理学	名誉教授	総括、試料の解析
小藤 剛史	医学部細胞生理学	助教	試料の解析

### キーワード

統合失調症、シンタキシン 1B、遺伝子発現異常

### 研究分野

神経科学

#### 1. 共同研究の目的

中枢神経系でシナプス伝達を制御している syntaxin1A 遺伝子 (sy1A) の欠失は動物に情動行動異常を惹起する。我々はヒトの自閉性障害患者の一部において sy1A の発現異常が起こっており、その原因の一つが sy1A 遺伝子数の半減によることを明らかにしている。一方、sy1A の類似遺伝子である syntaxin1B 遺伝子 (sy1B) の欠失により動物に統合失調症様の異常が生じることが知られている。本研究ではヒトの統合失調症における sy1B および sy1A 遺伝子を解析して、各遺伝子異常がその発症や症状に関与する可能性について検討する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

倫理承認済みのナショナルセンター・バイオバンクに登録された統合失調症例のゲノム DNA 試料と情報を用いる。この試料の sy1B および sy1A 遺伝子に関して Copy Number assay により遺伝子のコピー数の増減の有無を検討する。また、遺伝子ゲノム構造配列を読み、遺伝子変異や一塩基多型 (SNP) について検討する。さらに、bisulfate 法およびメチル化シトシンに対する免疫沈降法により発現調節領域及びイントロン内の異常メチル化の有無を調べる。これらの結果に基づいて sy1B および sy1A 遺伝子異常と統合失調症の発症および臨床症状の関連を明らかにする。

#### 3. 研究成果 (経過)

中枢神経においてシナプス伝達の制御に関わる syntaxin (sy1) として、sy1A と sy1B が発現している。我々は sy1A を欠失したマウスで情動行動異常が惹起されること、sy1B を欠失したマウスで統合失調症様の行動障害が生じることを明らかにした。そこで、ヒトの統合失調症と sy1A および sy1B 遺伝子の関連について解析し、各遺伝子異常が精神神経疾患の発症や症状に関与する可能性について検討した。倫理承認済みのナショナルセンター・バイオバンクに登録された統合失調症例のゲノム DNA 試料を用いて、sy1A および sy1B 遺伝子の Copy Number assay により遺伝子のコピー数の増減の有無を検討した。これまで、健常者および患者各 100 例 (計 200 検体) の遺伝子解析を行ったが、その遺伝子のコピー数に異常がある例は認められていない。今後、その関連についてさらに詳細解析するために、ゲノム遺伝子配列のシーケンスを行い、遺伝子変異や一塩基多型 (SNP) について検討する。また、bisulfate 法およびメチル化シトシンに対する免疫沈降法により発現調節領域及びイントロン内の異常メチル化

の有無を調べる。これらの結果に基づいて sy1A および sy1B 遺伝子異常と統合失調症の発症およびその臨床症状との関連を明らかにする。

### 33. ショウジョウバエの生殖様式を決定づける遺伝的機構の解明

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
平井 和之	医学部生物学	講師	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
松田 宗男	医学部生物学	客員教授	細胞遺伝学的解析
豊田 敦	国立遺伝学研究所	特任教授	比較ゲノム解析

#### キーワード

単為生殖、中心体、胚発生、受精、有糸分裂
----------------------

#### 研究分野

ゲノム科学
-------

#### 1. 共同研究の目的

動物における単為生殖は、その生物種の有性生殖の進化の過程で新たに形成された生殖様式である。このような生殖様式の転換にどのような遺伝的変化が関与しているのか、これまでに実証された例はほとんどない。そこで、本共同研究では、アナナスショウジョウバエ (*Drosophila ananassae*) の自然集団に由来する有性生殖系統と無性生殖系統を用いたゲノム遺伝と遺伝子発現の比較検討を行い、この種において単為生殖を可能にしている遺伝的原因の特定を目指す。本研究により、動物の繁殖戦略に決定的な遺伝的基盤の一例が実証されると期待される。

#### 2. 共同研究の内容・計画

現在、10 kb 以上の長いリードを扱える次世代シーケンサーを利用して、アナナスショウジョウバエ単為生殖系統のゲノム配列の決定を試みている。2016年度、この最新のゲノム情報を基に単為生殖の候補遺伝子の絞り込みを進める。第1に、単為生殖系統の有性生殖系統への戻し交配を10世代繰り返して作製した、ゲノムの大部分が有性生殖系統のDNAに置換され、一部のみ単為生殖系統由来のDNAを持つ単為生殖系統のゲノム構成を決定する。これにより、単為生殖の成立に必須な、単為生殖系統由来の最小限の染色体領域を明らかにする。第2に、既に得ている単為発生胚と有性発生胚の遺伝子発現解析 (RNA-seq) のデータを、新しいゲノム情報をもとに再検討し、単為発生特異的な発現様式が見られる遺伝子を明らかにする。

#### 3. 研究成果 (経過)

アナナスショウジョウバエは基本的に有性生殖を行っている種であるが、南太平洋地域の一部に単為生殖を行う集団が存在する。本共同研究は、この単為生殖の成立に必須な遺伝子を特定することを目的に実施した。はじめに、単為生殖系統 1E18 をもとに、有性生殖系統への戻し交配を繰り返し、染色体の大部分が有性生殖系統のDNAに置換されているにも関わらず単為生殖を行うことができる系統を確立した。それらのうち有性生殖系統の染色体への置換が最も進んでいる2つの単為生殖系統 (17b25 と 17b31) と、親の単為生殖系統 1E18 について、次世代シーケンサーによりゲノムの塩基配列を決定した。単為生殖の成立に重要な遺伝子は、これら3系統に共通していると考えられる。比較多型解析から、そのような共通染色体領域がXと第2染色体に総塩基長 13.7 Mbp あることが分かった。さらに単為生殖系統 17b31 について、もう一度有性生殖系統へ戻し交配し、新たな単為生殖系統を多数作製した。それらの染色体を比較解析したところ、単為生殖には、X染色体の遺伝的変異は必須ではなく、第2染色体の2領域 (左腕の約 1 Mbp と右腕の約 1 Mb) が重要であることが分かった。各領域に存在する遺伝子数は約 100 と見積もられている。本研究により、アナナスショウジョウバエの単為生殖は、特定の染色体領域に存在する複数の遺伝子の影響により成立していることが明らかになった。

## 34. 超音波ガイド下穿刺における磁性式ニードルガイドの有用性の検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
萬 知子	医学部麻酔科学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
徳嶺 譲芳	医学部麻酔科学	准教授	プロトコル作成、サポート
渡辺 邦太郎	医学部麻酔科学	助教	研究結果の分析
佐藤 大介	テルモ株式会社		ニードルガイド説明

## キーワード

超音波ガイド下穿刺、磁性化、ニードルガイド

## 研究分野

麻酔科学

## 1. 共同研究の目的

中心静脈穿刺の合併症を低減するため、超音波ガイドによる穿刺手技が普及してきた。しかし、正しい知識と手技の習得がなければ合併症の低減は期待できない。このため、シミュレーション・トレーニングは必須である。今回、新技術のニードルガイドは、トレーニングを短縮できる可能性がある。シミュレーション教育の効率化は、正しい手技の普及を促進し、医療安全に寄与するであろう。今回、新型ニードルガイドの有効性について検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

新技術の針の磁性化によるニードルガイドの研究を、以下の3点で計画した。

薬事承認済みの機能ではないため、研究は全てシミュレータを用いたトレーニング（被験者は当大学スタッフ）で実施する。

- ・中心静脈穿刺での有用性検討
- ・(PICCを想定した)末梢静脈穿刺でのラーニングカーブの違いについての検証
- ・当該機能を用いて手技訓練を実施する際に最適な教育方法の検討

## 3. 研究成果（経過）

昨年末に、研究プロトコルの作成と倫理委員会の承認を得ることができた。パイロット試験は終了し、本実験を開始している。パイロット試験の結果は良好である。本年度内で目標数にまで達することができない可能性があるため、次年度への継続申請を行うこととした。

35. ヒト iPS 細胞を用いた真皮毛根鞘細胞への分化誘導の試み

**研究代表者**

氏名	所属	職名	研究分野
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	研究分野
岸本 治郎	資生堂ライフサイエンス 研究センター	室長	分化誘導条件の検討
相馬 勤	資生堂ライフサイエンス 研究センター	グループ マネージャー	分化誘導細胞の特性の解析
佐藤 敬	資生堂ライフサイエンス 研究センター	グループ リーダー	分化誘導細胞の特性解析
辻 弓子	資生堂ライフサイエンス 研究センター	研究員	分化誘導細胞の特性解析
吉田 雄三	資生堂ライフサイエンス 研究センター	研究員	分化誘導細胞の特性解析
宮本 章子	資生堂ライフサイエンス 研究センター	研究員	分化誘導細胞の特性解析
佐藤 洋平	医学部皮膚科学	助教	真皮毛根鞘細胞の作成
下田 由莉江	医学部皮膚科学	助教	真皮毛根鞘細胞の作成
福山 雅大	医学部皮膚科学	助教	真皮毛根鞘細胞の作成
塚島 明希	医学部皮膚科学	実験助手	真皮毛根鞘細胞の作成
君嶋 桃子	医学部皮膚科学	実験助手	真皮毛根鞘細胞の作成
山崎 好美	医学部皮膚科学	実験助手	真皮毛根鞘細胞の作成

**キーワード**

再生医学・ヒト iPS 細胞・分化誘導・皮膚・真皮毛根鞘細胞
--------------------------------

**研究分野**

再生医学、皮膚科学
-----------

**1. 共同研究の目的**

真皮毛根鞘細胞は毛誘導能のある間葉系細胞であり難治性脱毛症の罹患部への注入により脱毛改善効果を示すことが期待されるが、そのヒトからの採取は容易ではない。本計画ではヒト iPS 細胞から間葉系幹細胞を誘導し、さらに分化誘導することで真皮

毛根幹細胞の作成を試みる。申請者らが間葉系幹細胞を誘導し、共同研究者らと分化誘導条件を検討、分化誘導で得た細胞とヒト真皮毛根幹細胞との遺伝子発現プロファイル、機能などを比較検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

既にライン化され商業的に供給されるヒト iPS 細胞から申請者らの開発した分化誘導条件をもちいて間葉系幹細胞へ分化誘導する。次いで共同研究施設のデータを元にヒト間葉系幹細胞と真皮毛根幹細胞の網羅的遺伝子発現プロファイルの比較検討から真皮毛根幹細胞で特異的に発現が高いシグナル経路を同定し、その活性化因子をもちいて間葉系幹細胞をさらに誘導し真皮毛根幹細胞の作成を試みる。最終的に誘導されたヒト iPS 由来細胞とヒト由来真皮毛根幹細胞の機能的・分子生物学的解析は本学と共同研究者ら両方の施設で行う。

## 3. 研究成果（経過）

ライン化されたヒト iPS 細胞を PDGF、FGF、TGF- $\beta$  を含む間葉系幹細胞用培地を用いて間葉系幹細胞へ分化誘導した。次いで共同研究施設のマイクロアレイデータを元にヒト間葉系幹細胞と真皮毛根幹細胞の網羅的遺伝子発現プロファイルの比較検討から真皮毛根幹細胞で特異的に発現が高くバイオマーカーとなりうる可能性の高い遺伝子を同定し、ヒト iPS 由来間葉系幹細胞に毛包発生の際に発現が上昇する WNT シグナル系の活性化因子などを作用させることにより真皮毛根幹細胞のマーカーの発現が上昇するか否かについて検討した。現在までの結果では、予想に反して WNT 活性化因子の添加はしない方がむしろヒト iPS 由来間葉系幹細胞における真皮毛根幹細胞マーカーの発現が強い傾向がみられ、他のアプローチを検討する予定である。

### 36. タバコ誘発炎症における脂質メディエーター関連遺伝子の役割の解明

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
渡辺 雅人	医学部内科学 I	助教	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
和田 裕雄	順天堂大学	准教授	マウスの飼育・繁殖・実験

#### キーワード

マウス、炎症、喫煙
-----------

#### 研究分野

呼吸器内科学、分子医学
-------------

#### 1. 共同研究の目的

タバコが誘発する気道炎症において脂質メディエーターとその関連遺伝子の役割を探る。

#### 2. 共同研究の内容・計画

マウスにタバコ煙を曝露し、気道炎症を誘発する。mRNA を抽出し、定量的 RT-PCR にて遺伝子発現を評価する。脂質メディエーターは微量かつ不安定であるため、脂質メディエーターが誘導されない遺伝子置換マウスを用いて野生型マウスと比較しながら検討を行う。

#### 3. 研究成果（経過）

タバコが誘発する気道炎症において脂質メディエーターとその関連遺伝子の役割を探る目的で、脂質メディエーター関連遺伝子改変マウスにタバコ煙を曝露し、気道炎症を誘発した。安楽死後に肺を採材し、mRNA を抽出し、定量的 RT-PCR にて遺伝子発現を評価した。その結果、好中球性炎症に関連する遺伝子の発現に脂質メディエーターが関与することが示唆された。

## 37. 疾患モデルマウスを用いた常位胎盤早期剥離の革新的治療法の開発

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
岩下 光利	医学部産科婦人科学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
長島 隆	医学部産科婦人科学	講師	研究の立案と遂行
石田 愛美	医学部産科婦人科学	実験助手	研究の準備と整備
Lester F. Lau	University of Illinois at Chicago	Professor	疾患モデルマウスの提供

## キーワード

遺伝子改変マウス、Cre-LoxP システム、TGF- $\beta$  スーパーファミリー、BMP 蛋白、BMPR2

## 研究分野

生殖内分泌

## 1. 共同研究の目的

近年、当教室の長島隆講師により、妊娠期間中の母体胎児死亡率が最も高い疾患である常位胎盤早期剥離の発症に関し、TGF- $\beta$  スーパーファミリーに属し、BMP 蛋白に分類される BMP4 と BMP7 が関与すること、その受容体である BMPR2 を子宮特異的に欠損した妊娠マウスにおいて同疾患が生じることが明らかにされた。この発見により、常位胎盤早期剥離の遺伝的背景が明らかとなり、同疾患の分子機構に基づく新たな治療戦略を描き出すことが可能となった。本研究は、その研究成果をもとに、**本学研究室が主体となって米国の共同研究機関との間で行われる国際共同研究として開始され**、疾患モデルマウスを用いることで常位胎盤早期剥離の革新的な診断方法、治療方法、ならびに予防方法を開発するための基礎的データを収集することを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

- ①**遺伝子改変マウスの作成とその表現形の解析**：全組織で BMP4 と BMP7 を欠損するマウスは胎生致死となる。よって、共同研究者が有する遺伝子改変マウスと Cre-LoxP システムを用いることで、子宮特異的に BMP4 と BMP7 を欠損するマウスを作成し、表現形を解析することで常位胎盤早期剥離の発症メカニズムを解明する。
- ②**常位胎盤早期剥離に対する標的治療因子の同定**：子宮特異的に BMP4 と BMP7 を欠損する遺伝子改変マウスの解析により得られた遺伝子の発現変化を基に、治療標的因子となり得るシグナル伝達物質の同定を行う。計画通りに行かない場合も考え、マイクロアレイ、Real-time PCR、Western blotting など複数の手法を用いて行う。
- ③**標的治療因子に対する誘導的な遺伝子制御ベクター開発**：同定された治療標的因子の遺伝子配列を抗体発現のベクターに組み込み、動物細胞内に導入したのち細胞を大量培養することで、目的とする治療用抗体を作成する。抗体は元来体内に存在する蛋白質であるため、副作用が少なく治療効果の高い治療薬として期待できる。
- ④**遺伝子制御ベクターの in vitro での動態確認と有効性の検討**：作成した抗体ベクターを一般培養細胞ならびに子宮内膜細胞にも導入し、細胞内における標的因子の導入効率を評価する。さらに、常位胎盤早期剥離の際に発現量の変化する遺伝子が、抗体ベクターの導入により正常な発現量に改善するのか、その有効性を検討する。
- ⑤**遺伝子制御ベクターの in vivo での効果判定と安全性の確認**：抗体ベクターにより作成された治療用抗体を、子宮特異的に BMPR2 を欠損するマウスへ投与し、生殖能力に問題のない雄マウスと交配させ、妊娠性を確認することで、一連の抗体治療により常位胎盤早期剥離の発症が抑制されたのか評価する。さらに、同疾患の治療薬として安全に使用できるのか、投与されたマウスとその胎児に対して長期的な観察も含めた安全性を確認する。

### 3. 研究成果（経過）

共同研究者である長島により、妊娠期間中の母体胎児死亡率が最も高い疾患である常位胎盤早期剥離の発症に関して、TGF-βスーパーファミリーに属し、BMP 蛋白に分類される BMP4 と BMP7 が関与すること、その受容体である BMPR2 を子宮特異的に欠損した妊娠マウス (*Bmpr2cKO*) において同疾患が生じることが既に明らかにされている。本研究は、全組織で BMP4 または BMP7 を欠損するマウス (*Bmp4 KO* と *Bmp7 KO*) は胎生致死であることから、共同研究者が有する遺伝子改変マウスと Cre-LoxP システムを用いることで、子宮特異的に同 BMP 蛋白を欠損するマウス (*Bmp4cKO* と *Bmp7cKO*) を作成し、表現形を解析することで、常位胎盤早期剥離の発症メカニズムを解明し、革新的な新規治療法を開発することを最終目標としている。

初年度は、*Bmp4cKO* と *Bmp7cKO* の作成とその表現形の解析に主眼をおき、研究を進めてきた。*Bmp4* 遺伝子内に flox サイトを組み込んだマウス (*Bmp4<sup>flox/flox</sup>*) と、*Pgr* (プロゲステロン受容体) 遺伝子内に Cre サイトを組み込んだマウス (*Pgr<sup>Cre/+</sup>*) を交配させることで *Bmp4cKO* を作成し、その妊孕性を確認した。*Bmp4cKO* は極度の妊孕性低下を示したが、卵胞発育と排卵に代表される卵巣機能、ならびに受精卵の着床機能には異常を認めなかった。しかし、着床後の妊娠子宮の変化を経時的に観察した結果、*Bmp4cKO* は妊娠子宮の重量減少を示し、排卵後の子宮内膜の変化であり、着床後の妊娠維持に必須である脱落膜化の機能不全を来していた。*Bmpr2cKO* も脱落膜化の機能不全を呈することから、BMP4 は脱落膜化に必須であると考えられた。現在、マイクロアレイにて網羅的に遺伝子発現の変化を解析中である。今後は、同解析結果を基に real-time PCR、Western Blotting、ならびに免疫染色などの分子生物学的な手法を用いて、BMP4-BMPR2 が関与する、常位胎盤早期剥離の治療標的因子となり得るシグナル伝達経路の解明を目指す。なお、*Bmp7cKO* は現在作成中であり、作成が完了したのち妊孕性の確認を行っていく予定である。

## 38. 人工呼吸関連肺炎における緑膿菌の役割と抗 PcrV 抗体療法の可能性

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
森山 潔	医学部麻酔科学	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
岡野 弘	医学部麻酔科学	レジデント	研究の実施
萬 知子	医学部麻酔科学	教授	研究への助言
小谷真理子	医学部麻酔科学	医員	研究の実施
大川 友之	塩野義製薬株式会社	主幹研究員	総括、測定系の設定
巻 秀樹	塩野義製薬株式会社	主幹研究員	臨床分離株の性状解析
佐藤 剛章	塩野義製薬株式会社	主幹研究員	臨床分離株の性状解析
内海 崇興	塩野義製薬株式会社	研究員	測定系の設定、測定、データ解析

## キーワード

人工呼吸関連肺炎、緑膿菌、抗 PcrV 抗体療法

## 研究分野

周術期管理

## 1. 共同研究の目的

人工呼吸管理患者では弱毒菌が常在菌と化し、患者の免疫力低下に伴い肺炎（人工呼吸器関連肺炎（Ventilator Associated Pneumonia :VAP））など日和見感染を引き起こす。VAP を引き起こす代表的な弱毒菌である緑膿菌は、抗菌薬に耐性を獲得する能力が高いため、救命が困難である。我々は緑膿菌のⅢ型分泌システムにより分泌される病態増悪因子である抗原蛋白（PcrV）に着目し、PcrV を標的とした免疫療法の開発を進めてきた。本研究では、VAP に対する抗 PcrV 療法の可能性を明らかにするため、集中治療室で人工呼吸管理を要する患者を対象に、抗 PcrV 抗体及び緑膿菌関連物質の発現を調査する。本研究は塩野義製薬株式会社との共同研究で、研究代表機関は杏林大学医学部麻酔科学教室である。

## 2. 共同研究の内容・計画

中央集中治療室入室後 1 週間以内に、初回の血液及び気管内吸引痰を採取し、培養による緑膿菌感染を確認し、緑膿菌が検出された場合、通常通り抗菌薬に対する耐性を調べる。更に緑膿菌関連物質（緑膿菌由来タンパク、抗 PcrV 抗体、毒素などの緑膿菌分泌成分）の定量を、ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)、質量分析計等で行う。以降、人工呼吸管理継続中は回避を基本とし、発熱等感染を疑わせる臨床兆候に応じて追加で検体採取を行う。

## 3. 研究成果（経過）

現在 4 例の患者より同意が得られている。対象を集中治療室入室 1 週間以内に同意を取得できた患者に限定してしまったため、

同意を得られた患者数が目標より少ない。より多くの症例数が必要なため、研究対象を集中治療室入室1週間以降の患者も含めるよう研究計画の変更を申請し、受理された。

## 39. 炎症性腸疾患活動性評価における全自動測定系を用いた糞便バイオマーカーの有用性の検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
久松 理一	医学部内科学Ⅲ	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
櫻庭 彰人	医学部内科学Ⅲ	助教	患者情報の管理
大西 宏明	医学部臨床検査医学	教授	検体の測定
土井 洋介	アルフレッサファーマ株式会社	室長	測定器の管理・測定

## キーワード

炎症性腸疾患、糞便バイオマーカー、カルプロテクチン、便潜血定量

## 研究分野

消化器内科

## 1. 共同研究の目的

炎症性腸疾患は日本で増加しており潰瘍性大腸炎は 18 万人、クローン病は 4 万人を超えた。疾患活動性モニタリングは治療の評価、方針決定に重要であるが、これまで適切なバイオマーカーが確立させていなかった。このような中、便潜血定量や便中カルプロテクチンの有用性が報告されてきている。今回、アルフレッサ社の全自動測定器を用いることで、各糞便マーカーの同時測定が可能となり、又、技師の負担も大幅に軽減される。本研究によって炎症性腸疾患のモニタリングにおける各糞便マーカーの位置づけが明らかとなり、かつ臨床応用が可能となる。

## 2. 共同研究の内容・計画

当科通院中の炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病、分類不能型腸炎、腸管ペーチェット）において便中ヘモグロビン量、便中カルプロテクチン量、便中ラクトフェリン量を同時測定し、活動性指標や、内視鏡所見と比較し、それぞれの相関を明らかにする。これにより各マーカーの特性、位置付けを明らかにする。

## 3. 研究成果（経過）

便中カルプロテクチン検査、便中ラクトフェリン検査、半定量的免疫化学的便潜血検査を一つの便検体から同時自動測定可能な HemoTecht NS-Prime, Direct Clinical Chemistry Analyzer（アルフレッサ社）を臨床検査室に導入し、院内測定システムを構築した。また、潰瘍性大腸炎患者 50 名、クローン病患者 10 名より文書による同意を得、潰瘍性大腸炎患者 12 名で測定を実施した。登録患者は順調に増加している。今後症例を増やすとともに内視鏡所見や臨床症状といった疾患活動性との相関を解析する予定である。

#### 40. 心臓手術用低侵襲凝固治療装置に関する評価手法に関する研究

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
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	研究分野
清水 一夫	東北大学	特任教授	凝固システム及び評価システムの検討
太田 信	東北大学	准教授	評価システムの全体設計
于 凱鴻	東北大学	研究員	評価システム設計

##### キーワード

赤外線、心房細動、生体組織モデル、生体流動工学

##### 研究分野

心臓外科学

#### 1. 共同研究の目的

東北大学流体研究所等の研究者（光と熱が生体に及ぼす影響やシミュレーションを研究している生体医工学の研究者）との共同研究を実施することにより、開発中の赤外線凝固器による組織凝固に到る照射出力、照射時間、断続照射間隔等の基礎実験による客観的なデータを収集し、凝固治療における機序を明確にし、装置の性能を評価しうる指標を得ることを目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

- ①凝固治療のための基盤となる温度分布測定を評価するための環境を構築する。
- ②構築した評価環境と生体内での凝固性能を比較（動物実験等）し評価性能の最適化を図る。
- ③様々な凝固治療法との比較を行い、本研究方式の優位性、安全性を明確にする。

#### 3. 研究成果（経過）

色素寒天ゲルを用いた凝固実験で、色素の種類に関わらず一定の凝固深度を得る事が解った。  
生体と寒天ゲルは熱凝固反応を得ることが出来ることが証明され実験モデルとなり得ることが解った。  
今後は熱電球を用いて温度分布の実測を行う予定である。

## 41. 進行した網膜変性症に対する STS 型人工網膜装置の医師主導治験

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
平形 明人	医学部眼科学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
大澤 孝治	株式会社ニデック	室長	人工網膜装置のサポート
不二門 尚	大阪大学	教授	人工視覚主任研究員
塩川 芳昭	医学部脳神経外科学	教授	脳外科手術
瓶井 資弘	愛知医科大学	教授	眼科手術指導

## キーワード

STS 型人工網膜、医師主導治験、網膜変性症、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）

## 研究分野

ライフサイエンス

## 1. 共同研究の目的

大阪大学大学院医学系研究科の不二門 尚教授を中心に進められている、進行した網膜変性症に対する STS 型人工網膜装置の医師主導治験計画が、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の「医療機器開発推進事業」に採択された。大阪大学、愛知医科大学、杏林大学と株式会社ニデックは本共同研究の実施機関となっている。杏林大学での医師主導治験を進めるにあたり、(株)ニデックと杏林大学の間で共同研究契約を結び、人工網膜装置を提供してもらい、網膜変性症の人工視覚医師主導治験を実施したい。

## 2. 共同研究の内容・計画

STS 型人工網膜装置及び、適用基準の判定、手術サポート、視機能評価等を行う周辺機器の設計・製作を、(株)ニデックが担当しており、治験及び、準備期間、終了後の経過観察等で使用する装置を(株)ニデックが杏林大学へ貸出、提供する。現在の計画では、前記治験装置の完成が平成 29 年 11 月だが、事前に治験への参加者を募集して適用疾患の判定をする場合は、倫理委員会の承認を経た上、臨床研究で使用した適用疾患の判定装置を提供する。医師主導治験が開始された後、共同施設内の医師が交流して人工視覚を埋植する手術を実施し、経過観察する。

## 3. 研究成果（経過）

平成 28 年 12 月 1 日～平成 29 年 3 月 31 日は網膜変性症の人工視覚医師主導治験実験に向けて共同研究施設と調整等準備をおこない、必要な消耗品を購入した。平成 29 年 4 月 1 日以降、開始の予定である。

## 42. 熱傷創のデジタル写真画像を用いた面積及び深達度評価手法の検討・検証と診療支援ツールの開発研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
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	研究分野
加藤 聡一郎	医学部救急医学	助教	研究責任者、研究全般
海田 賢彦	医学部救急医学	助教	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、診療支援

### 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、正確な熱傷面積及び熱傷深達度を評価する手法を検討・検証し、重症度に応じた適切な熱傷診療を支援するための情報提供ツールを開発する。そのためには、臨床医学領域（熱傷診療の専門性や特殊性を加味した判断）と医用工学領域（人体計測および画像解析技術等）の共同研究体制が必要になる。杏林大学医学部救急医学教室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

後向きに収集した解析に耐えるデジタル写真画像から、全身を対象とした広範囲画像と、比較的狭い範囲を対象とした局所画像に分けて研究を行う。解析のための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 症例分を対象とする。広範囲画像を用いて、全身の熱傷面積率および熱傷深達度を自動で評価・概算する技術を検討する。局所画像を用いて、同一部位撮影画像の経時変化から、熱傷皮膚面積/健常皮膚面積の比を抽出するための評価手法を検討する。最終的には、撮影→解析→情報提供を一連の流れで遂行できる前向き調査用プロトタイプの完成を目指す。体表面積や熱傷面積等の誤差が少ない計測手法とし、人体模型による検証を合わせて臨床研究に耐える機能を達成する。

#### 3. 研究成果（経過）

デジタル写真画像を用いて、正確な熱傷面積及び熱傷深達度を評価する手法を検討・検証し、重症度に応じた適切な熱傷診療を支援するための情報提供ツールを開発することを目的とした研究を開始した。後向きに収集した熱傷創のデジタル写真画像を用いて、予備解析研究を実施した。

<予備解析 1 >

熱傷面積および熱傷深達度を自動評価する技術の検討を行った。Seed 領域を自動抽出する Growcut 法で複数の深達度を含む熱傷セグメンテーションを行い、2名の熱傷専門医及びそれに準ずる医師の面積診断（以下、専門家診断）結果と比較した。診断精度はⅡ度熱傷の F 値（調和平均）0.697、Ⅲ度熱傷の F 値 0.524 であり、いずれもユーザーが熱傷領域を選択するサポートベクターマシン（SVM）を使用した先行研究手法と同程度の精度で、自動抽出できる可能性が示唆された。

<予備解析 2 >

熱傷部位への植皮面画像から、植皮片面積を自動算出する技術の検討を行った。SLIC Superpixels により画像内の色情報を考

慮したブロックに分割して、ガウスカネルを用いた SVM で植皮部と熱傷部の分類を行った。診断精度は、全ピクセルにおいて専門家診断との一致率が平均 85%以上という結果を得た。医師 2 名間の一致率も同程度であり、本法による診断精度は専門家と同等である可能性が示唆された。

## ② 保健学部

## 43. キチンによるアレルギー応答誘導機構の解明

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
新江 賢	保健学部臨床検査技術学科	講師	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
中江 進	東大医科学研究所	准教授	遺伝子改変マウスの提供
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
須藤 カツ子	東京医科大学	講師	遺伝子改変マウスの作製

## キーワード

キチン、アレルギー

## 研究分野

免疫・アレルギー

## 1. 共同研究の目的

ダニはアレルギー性指息のもっとも高頻度な抗原であるが、その発症に関わるダニ成分は不明である。申請者は、タンパク質抗原単独ではアレルギーは誘導されないが、ダニの外殻構成成分「キチン」の存在下では、Th2 サイトカイン誘導因子である IL-33 の発現誘導を介して、マウスにアレルギー応答が惹起されることを見出した。そこで、ダニによるアレルギー応答誘発機序を明らかにするために、アレルギー応答における 1) キチンおよび IL-33 の標的細胞の同定と活性化機構の解明、2) キチン受容体の同定およびキチン受容体のシグナル伝達経路の解明を目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

1. キチンおよび IL-33 の標的細胞の同定と活性化機構の解明：現在、IL-33 の存在下でキチンに応答する細胞として樹状細胞が同定できている。キチン・IL-33 刺激によって活性化された樹状細胞による Th2 細胞の分化機構や Th2 型免疫応答の誘導機構を明確にする。

2. キチン受容体の同定およびキチン受容体のシグナル伝達経路の解明：キチン・IL-33 刺激による樹状細胞の活性化は、TLR2 欠損および Dectin-1 欠損樹状細胞でも観察されており（未発表）、未知のキチン受容体の存在が示唆されている。申請者がキチンに結合する分子として LC-MS/MS 解析により捉えた分子群のうち（未発表）、実際にキチンに結合する分子機能を *in vitro* 及び *in vivo* で評価する。

## 3. 研究成果（経過）

これまでに、キチンは単独では骨髄由来樹状細胞（BMDC）を活性化しないが、IL-33 存在下では IL-1b の産生を強く誘導することを見出している。さらに、この IL-33+キチン刺激で BMDC より産生される IL-1 が、抗原特異的な Th2 細胞の活性化を増強することを、IL-1a/b 欠損マウス由来 BMDC と OTII マウス由来 T 細胞との共培養系で明らかにしている。そこで今回、キチン及び IL-33 により活性化した樹状細胞より産生される IL-1 が、アレルギー誘導に関わるかどうかを *in vivo* で検討した。まず、OVA+キチン感作によるアレルギー応答がほとんど生じない IL-33R (IL-1RL1, ST2) 欠損マウスに、野生型マウス由来もしくは IL-33R 欠損マウス由来 BMDC を経鼻的に移入再構築した。次に、OVA+キチンによる気道炎症を誘導した。その結果、IL-33R 欠損マウス由来 BMDC 移入マウスでは気道への好酸球浸潤がほとんど見られなかったのに対して、野生型マウス由来 BMDC 移入マウスでは、強い好酸球浸潤が観察された。この結果から、キチンが IL-33 と共に樹状細胞を活性化することにより、アレルギー

性気道炎症が惹起されることが明らかとなった。

## 44. LC-MS/MSによる合成ステロイド剤の高感度微量分析法の開発

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
石井 和夫	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	研究分野
小原 映	保健学部診療放射線技術学科	講師	LC-MS/MSによるベクロメタゾンの定量法の開発
柴崎 浩美	東京薬科大学	准教授	LC-MS/MSによるフルチカゾンの定量法の開発
横川 彰朋	東京薬科大学	助教	体内動態解析

## キーワード

LC-MS/MS、合成ステロイド剤、血中濃度推移、体内動態解析

## 研究分野

臨床薬学

## 1. 共同研究の目的

合成ステロイドは、吸入剤として気管支喘息の治療に、また、点鼻剤としてアレルギー性鼻炎の治療に広く用いられている。吸入および点鼻ステロイド剤は、局所作用を示し、低用量での薬効発現が期待されるが、小児における低身長などの副作用を懸念する患者も多い。本研究では、吸入および点鼻ステロイド剤の血中濃度推移を把握し、体内動態解析を行うことにより、全身作用を予測することを目指し、LC-MS/MS法によるベクロメタゾンとフルチカゾンの高感度測定法の開発を目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

吸入および点鼻ステロイド剤使用時の血中ステロイド濃度はピコグラムオーダーであることから、超微量分析法の開発が必要となる。血液試料からの抽出法、LC-MS/MS分離分析条件の検討を行い、高い精度・再現性および感度の分析法を確立する。

- 1)抽出法の検討：マトリックス効果が少ない固相抽出とし、適切な抽出カートリッジおよび抽出溶媒を選択する。
- 2)精度・再現性の検討：血漿試料に標品フルチカゾンあるいはベクロメタゾンを添加し、測定精度・再現性を確認する。
- 3)ステロイド剤使用時の血中濃度推移の検討：ステロイド剤使用後の血中濃度推移を追跡する。

## 3. 研究成果（経過）

本研究では、吸入および点鼻ステロイド剤の血中濃度推移を把握し、体内動態解析を行うことにより、全身作用を予測することを目指し、LC-MS/MS法による血中ベクロメタゾンおよびフルチカゾンの高感度定量法を確立し、体内動態解析に応用することを目的としている。

平成27年度に確立したフルチカゾンのLC-MS/MS測定条件のもとで、平成28年度は、生体成分からの抽出法を検討するとともに、感度および精度・再現性を確認した。血漿1 mLを用い、酢酸エチルを溶出溶媒としたSep-Pak Plus C18 Cartridgeを用いた固相抽出法により、高い抽出率で、生体由来成分からの妨害なく測定が可能であることを確認した。本法の検出限界は注入量として0.2 pg (S/N = 5)、定量限界は3 pg/mLであり、点鼻あるいは吸入後のフルチカゾンの血中濃度を定量するうえで十分な感度を得られた。本法の精度を10.22 pg/mLと102.2 pg/mLにおいて確認した結果、相対誤差と変動係数は、低濃度域では3.5%以内、高濃度域では1.1%以内といずれも良好であった。次年度は、フルチカゾンの点鼻薬使用後の血中濃度を経時的に測定し、体内動態解析を行う予定である。また、ベクロメタゾンの測定条件の検討も行う。

#### 45. 子宮頸部における新しいハイリスク型ヒト乳頭腫ウイルスの再考

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
大河戸 光章	保健学部臨床検査技術学科	講師	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
笹川 寿之	金沢医科大学	臨床教授	総括・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	婦人科診療部長	検体採取
岡山 香里	群馬パース大学	助教	PCR・in situ PCR・ISH・標本作製

##### 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

細胞診で上皮内病変(SIL)、組織診で子宮頸部上皮内腫瘍(CIN)と判定された病態はハイリスク型 human papillomavirus (HPV) の 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、同 68 型 (HR13) による細胞変化であるが、HR13 陰性例が少なからず存在する。現在、細胞診検体で保険適応となっている HPV 検査法はハイブリッドキャプチャー法など主に HR13 の有無を調べる方法であるが、ASC-US 症例のうち、組織診で浸潤癌と診断される症例が実在することからも、HPV 検査による誤陰性を避けるべく、HR13 以外の型の存在をスクリーニングする必要がある。そこで我々は子宮頸癌および HR13 陰性の上皮内病変(SIL) および CIN 症例を用いて HR を疑う HPV (26, 30, 34, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85 型等) を検出し、ハイリスク型 HPV を再考する。この研究によって新たなハイリスク型 HPV が加わり、より一層の異型細胞の検出感度向上に寄与すると考える。

### 2. 共同研究の内容・計画

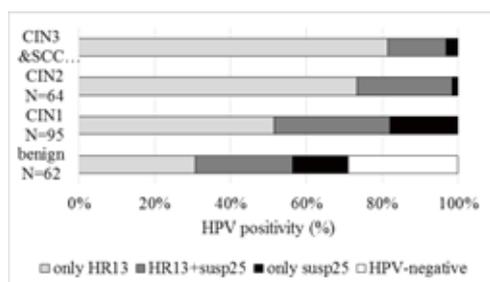
研究内容は HR13 陰性の SIL (細胞診) および CIN 症例を用いて HR を疑う HPV 検出を検出し、ハイリスク型 HPV を再考する内容である。

昨年度は、HR-susp.9 の型別リスク評価するために陽性症例を経過観察し、CIN の発症、消退および進展から HPV の型別リスクについて解析した。平成 28 年度は組織標本および細胞標本を用いて in situ hybridization 法および in situ PCR 法で HR13 と HR-susp.9 局在を解析し、HPV 感染細胞所見を明らかにする。

なお、本共同研究は平成 26 年度から平成 30 年度 (平成 26 年 4 月 1 日から平成 31 年 3 月 31 日) の研究計画における 3 年目の計画である。

### 3. 研究成果 (経過)

○HR-susp.9 および HR13 の感染率の調査&リスク評価解析結果



前年に引き続き症例を追加し、さらに新たなジェノタイプ (HPV-6,11,40,42,54,55,61,62,71,72,74,81,84,90) を検出する特異的プライマーを作成して解析した(HR-susp.9→25)。症例は benign:62 例、CIN1:95 例、CIN2:64 例、CIN3&SCC:65 例である。各症例の HR13 陰性率はそれぞれ 17.9%、1.6%、3.1%であり、陰性例すべてから HR-susp.25 のいずれかが検出され HPV 感染陰性の CIN は存在しないことが明らかになった。HR-susp.25 のうち HPV34 と 71 の検出率は CIN3&SCC で有意に高く、病変進行との関連が認められた。

また既存のハイリスク型が感染している検体には、多くのユニーク型が共存していることが明らかになった。HR13 と HR-susp.25 を区別して、感染状態を調査した結果、HR13 単独感染は CIN3 のみで有意に頻度が高い結果となり、病変の進展に大きく関連していた。一方、HR-susp.25 の単独感染の頻度は CIN1 で有意に高く、CIN2、CIN3&SCC で有意に低かった。以上より、ユニーク型は CIN1 の発症に限定されることが新たな事実として明らかになった。ユニーク型は多重感染の状態から、単独タイプに淘汰されて CIN1 を形成するが、持続的に感染しにくいことが推察された。

	Simple infections		Multiple infections		
	HR13	susp25	HR13	HR13+ susp25	susp25
Benign	18(40.9%)	4(9.1%)	1(2.3%)	16(36.4%)	5(11.4%)
CIN1	34(35.8%)	14(14.7%)	15(15.8%)	29(30.5%)	3(3.2%)
CIN2	35(54.7%)	0.0%(0)	10(15.6%)	18(28.1%)	1(1.6%)
CIN3&SCC	38(58.5%)	1(1.5%)	12(18.5%)	13(20.0%)	1(1.5%)

#### 46. 電子角度計 (Electrogoniometer) の開発および信頼性に関する研究

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
八並 光信	保健学部理学療法学	教授	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
渡辺 一弘	創価大学工学部	学部長	解析ソフトの開発
佐々木 博幸	コアシステムジャパン	開発部長	解析ソフトの開発
前 錠一	北浦通信	技術部長	電子角度計のプロトタイプ製作

##### キーワード

電子角度計、関節可動域、被検者間信頼性
---------------------

##### 研究分野

複合領域
------

### 1. 共同研究の目的

リハビリテーション医学において、筋力と関節可動域の測定は、患者の残存能力を知る上で重要な指標となる。筋力に関しては、様々な定量的測定を可能にする機器が普及している。他方、関節可動域の測定に使用する角度計は、アナログの域を出ていないが現状である。近年、傾斜系やスマートフォンに内蔵されている3軸加速度センサーやジャイロセンサーを利用したものが登場してきた。

本研究は、プロトタイプ電子角度計を用いて、その信頼性や操作性を検証しつつ、機器の改良を目的とする。

### 2. 共同研究の内容・計画

(1)平成27年度、再度、信頼に関する東大式角度計と電子角度計の基礎的比較実験を行った。その結果、検者内信頼性は両者とも高かった。測定時間は、電子角度計の方が高かった。検者間信頼性は、電子角度計の方が東大式角度計より高かった。ユーザビリティの調査結果も、電子角度計の片手操作性、軽量、視認が不要などの点が優れていた。

(2)今後、電子角度計による関節角度測定後の送信データを、スマートフォンで受け取りさらにデータベースに格納して、解析できるアプリケーションを開発する。また、臨床の現場で理学療法士に使用してもらい完成度を高めたいと考える。

### 3. 研究成果（経過）

(1)プロトタイプのデジタル角度計（電子角度計 Electrogoniometer）の製作は完了し、実用化に向けて仕様の改善を試みたが、筐体の小型化が困難であること、スマートフォンへの自動転送および表示システムの開発に、かなりの資金が必要なため、共同研究を終了するに至った。

(2)本研究は、「八並光信・橋立 博幸・門馬 博・齋藤 利恵・佐々木 博幸・前 錠一・渡辺 一弘：新たに開発した電子角度計の信頼性と操作性に関する検討（原著）,臨床理学療法研究 (1883-3373)33 巻 Page1-5(2016.08)」で公表した。

## 47. 糖尿病における運動神経障害の病態生理

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
丹羽 正利	保健学部作業療法学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
村松 憲	健康科学大学	准教授	共同実験者
生友 聖子	健康科学大学	助教	共同実験者
玉木 徹	健康科学大学	助手	共同実験者
大城 直美	保健学部作業療法学	助教	共同実験者

## キーワード

糖尿病、運動ニューロン、神経科学、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

糖尿病性神経障害は糖尿病発症直後から観察される障害の一つで、初期の遠心性・求心性線維の伝導速度の低下に始まり、慢性期には神経線維の脱落が生じる事が知られている。筋力低下、筋萎縮などの運動障害は多くの場合慢性期まで観察されないために、運動ニューロンは糖尿病性神経障害に対して強い耐性を持つと考えられてきた。しかし、最近、脊髄運動ニューロンや脳神経細胞にも変性が生じることが報告されている。これらの点を明らかにすることを目的に、糖尿病ラットを用いて糖尿病性神経障害による神経細胞や線維の障害様式を調べる。

## 2. 共同研究の内容・計画

実験にはストレプトゾドシンの投与によってI型糖尿病を発症したWister系ラット(糖尿病群)とI型糖尿病を発症したWister系ラット(糖尿病群)、及びそれぞれ健常なコントロールラット(対照群)を用いる。それぞれにおいて、脊髄運動ニューロンと脳神経細胞の形態を比較する。運動ニューロンの標識はイソフルレン麻酔下で行う。麻酔下のラット腓腹筋筋枝・腹壁筋筋枝を切断して、その断端を10%Dextran溶液に2時間浸す。その後、Dextranの拡散を防ぐために神経断端をスポンゼルで覆い、術創を縫合する。必要に応じてラットには輸液、消炎鎮痛剤、抗生物質を投与する。2~3週間の生存期間の後、ネブタール麻酔による深麻酔下において10%パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、脊髄を取り出す。後固定の後、腰髄から仙髄までの脊髄の連続切片(100 $\mu$ m)を作成し、標識された運動ニューロン像をデジタルカメラで撮影し解析する。脳神経細胞は、ネブタール麻酔による深麻酔下において10%パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、脳を取り出す。後固定の後、脳の連続切片(100 $\mu$ m)を作成し、ニッスル染色を施し、神経細胞像を解析する。

## 3. 研究成果(経過)

平成28年度は、糖尿病発症後3ヶ月程度長期生存させたラットについて運動細胞及び筋細胞の形態の変化を調べた。実験にはストレプトゾドシンの投与によって糖尿病発症後3ヶ月程度生存させたWister系ラットと健常なコントロールラットを用いた。それぞれにおいて、脊髄運動ニューロンと筋細胞、及び前庭神経細胞の形態を比較した。運動ニューロンの標識は、イソフルレン麻酔下のラットの腹壁筋筋枝を切断して、その断端を10%Dextran溶液に2時間浸した。2~3週間の生存期間の後、深麻酔下

にて 10%パラホルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、脊髄及び筋組織を取り出した。後固定の後、脊髄及び筋組織の連続切片を作成し、標識された運動ニューロン及び筋組織を解析した。前庭神経細胞は、同様に灌流固定後に脳を取り出し、後固定の後、脳の連続切片を作成し、ニッスル染色を施し、前庭神経細胞を解析した。その結果、糖尿病発症長期の腹壁筋の運動ニューロンについては、初期のラットに比べて細胞数と細胞体径が有意に減少していること、及び筋細胞の大きさが有意に減少していることを発見した。また、前庭神経細胞は、ほとんど変化がなかった。

## 48. 放射性医薬品の品質管理手法に関する研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
山本 智朗	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	研究分野
對間 博之	茨城県立医療大学	准教授	実験分担
廣野 圭司	横浜市立大学附属病院	技師	実験分担
菊池 敬	北里大学病院	技師	実験分担
横田 憲一	長野市民病院	技師	実験分担

## キーワード

放射性医薬品、品質管理手法、クロマトグラフィ、放射化学的純度

## 研究分野

--

## 1. 共同研究の目的

放射性医薬品の品質管理手法について、臨床に広く普及させたいと考えていると同時に、学部教育にも反映させるために、他大学との共同で研究することで、実践教育にも反映させることができる。

## 2. 共同研究の内容・計画

本邦では 2011 年 6 月 10 日に放射性医薬品取り扱いガイドラインが日本核医学会等の関係学会が共同で作成していたが、放射性医薬品に関する品質管理においては脆弱な状況が続いている。核医学検査で使用される放射性医薬品には完成製剤とキット製剤がある。キット製剤の調整方法は日本核医学会からガイドラインが出されているが、施設内で放射化学的純度や pH 測定などの検定は行われていないのが現状である。そこで我々は放射化学的純度測定が簡易的に行える、放射性医薬品の安全管理に関する基礎検討を行うこととした。

## 3. 研究成果（経過）

今回は一般施設を共同研究とした。理由は実際に臨床施設で本品質管理が現実的に可能かという調査の一環である。基本的な検討は全て本学内施設で行っている。対象は最も多く使われている骨シンチグラフィ用放射性医薬品である  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP とした。①基礎検討；對間准教授（茨城県立医療大）と本研究の方法論について打ち合わせを行い、次の通り基礎検討を行った。i) パーテクネートの純度測定、ii) 正常調整の  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP の純度測定、iii) ジェネレータの規定外溶出による  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP の純度測定、iv) 正常調整後の  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP にパーテクネートを追加したエラーによる純度測定。基礎検討では十分なデータが取れたので、これを国内学術雑誌の技術資料として投稿する。②臨床検討；現在、横浜市立大病院で実行中であり、まだデータ集積ができていない。不慣れた術者では、測定時にミスが出やすいことが判明している。よって、若干のコツが必要であった。北里大病院および長野市民病院ではキット製剤の利用見込みが立たず、実験データの確認と意見交換となった。これらのデータと、追加実験（エラー時の純度測定データの追加）により、学術雑誌（杏林医学会誌、邦文誌か英文誌かは未定）に原著論文として投稿する。

#### 49. スマートインソールを使った運動解析とアルゴリズムの研究開発

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
倉林 準	保健学部理学療法学科	講師	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
鈴木 肇	株式会社ワイアードゲート	代表取締役社長	各種スマートインソールの提供、研究開発

##### キーワード

IOT、足低圧、スマートインソール、ウェアラブル

##### 研究分野

スポーツ医・工学、障害予防

### 1. 共同研究の目的

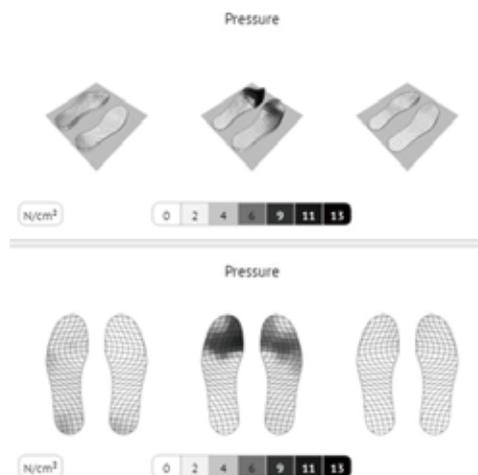
ヒトが社会活動を行うに当たり、靴を履く文化は日本でも当然のごとくなってきた。しかしながら、靴に関して日常的に、何が靴の中で起こっているのか、さらにどのような影響もたらされているのか、わかっていないことが多い。本共同研究は、ウェアラブルデバイスとしてのスマートインソールを用いて、その発展の可能性を探り、紐解きながら、ヒトの靴文化から得られる情報をより価値のあるビッグデータとして活用できるように基盤をつくることを目的としている。

### 2. 共同研究の内容・計画

株式会社ワイアードゲートの提供する各種スマートインソール（足裏に圧力センサ、加速度センサ、ジャイロ、電子コンパス、BLEなどを内蔵）と同社のクラウドプラットフォームを使い、そこから抽出されたユーザーの運動データを使ってアスリートや一般人の運動解析を行う。また、これらのデータを使った新たな運動解析アルゴリズムの研究開発を行う。

### 3. 研究成果（経過）

既存のスマートインソールをベースにした新型インソールの基礎となる部分の研究を中心に進めてきた。共同研究者のワイアードゲートの提供する各種スマートインソール（足裏に圧力センサ、加速度センサ、ジャイロ、電子コンパス、BLEなどを内蔵）を使って、図1のような計測自体は出来ているものの、高齢者に用いた場合の耐久性や電源の問題、スポーツの場面で用いる場合の耐久性の問題など、多くの課題を確認できた。高齢者が行方不明になった場合を考えれば4日以上連続的な使用が必要とされ、スポーツにおいては、足部全体として考えたときに1トン以上の衝撃耐久性を持つ必要と全体としての耐久性を検討していく必要がある。検討の余地は依然残っており、第一段階としての結果に留まった。今後実質的に使用可能な仕様に向けて研究を進めていく必要があると考えている。



## 50. バドミントンにおける安全性と高いパフォーマンスを靴によってもたらしめるための研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
倉林 準	保健学部理学療法学科	講師	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
阿部 秀夫	株式会社 LA マイスター 株式会社 KIZUNA ジャパン	代表取締役社長	全体の企画立案
佐藤 充	株式会社 KIZUNA ジャパン	常務	制作
石井 孝典	株式会社 KIZUNA ジャパン	部長	開発
土居 健次郎	株式会社 LA マイスター	社員	開発・制作

## キーワード

バドミントン、靴の開発、特許、靴の機能、靴の設計

## 研究分野

スポーツ医・工学、障害予防

## 1. 共同研究の目的

バドミントンは、三次元的に激しい動作をするのが特徴で、最も消費エネルギーの高い競技と言われている。下肢の疾病も多く、急性外傷から慢性外傷まで多岐にわたる。しかしながら、外傷への予防を踏まえた競技パフォーマンスを引き出すためのバドミントンの靴は、なかなかあるようでない。本共同研究では、上記を満たすための新しい靴の開発によって、バドミントン競技に安全と高いパフォーマンスを獲得することを目的としている。

## 2. 共同研究の内容・計画

バドミントンにおける下肢の問題点を靴によってどのように改善できるのかを、新しいアイデアを持って、検討していく。靴の形、材質、靴の機能などを、バドミントンに精通している阿部、石井、倉林のもと、様々な工夫を凝らしながら研究・開発を進め、靴の製造を経験している佐藤、土居らと共に、実際に作りながら検証していく。最終的にはバドミントン選手における評価・計測も行っていく予定である。

## 3. 研究成果（経過）

今年度の研究成果は、昨年度の共同研究の中で、両面使用シャンク及び、当該シャンクを備えた一对のスポーツシューズ：2016年10月5日、特願2016-196964、スポーツシューズの踵部背面衝撃緩衝構造：2016年10月5日、特願2016-196965の2件について特許を得た。それと並行して、靴の機能についての設計をCADソフトによって作成した。

しかしながら、材質の問題や特許部や特許部以外の機能についても、検討の余地は残っている。材質については、重量と強度、衝撃吸収の割合など、考えることは多く、結論には至っていない。特許部の構造機能についても、材料特性や、採算性などを考慮した材質や形状を結論付けていく必要がある。特許部以外の機能や構造については、ほかの方が出している特許などを鑑みて進めていく必要があり、特にアウトソールについては、まだまだ調べていく必要があると考えている。

今年度は、靴づくりの第一段階を進めたが、モノ作りとしては、今後も継続して段階を経ていく必要があると考えている。

## 51. 脳障害患者などに関わる腹壁筋低緊張と姿勢障害の病態解明

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
丹羽 正利	保健学部作業療法学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
佐々木 誠一	茨城県立医療大学	教授	実験及び標本作成

### キーワード

脳障害、姿勢障害、腹壁筋

### 研究分野

総合領域

#### 1. 共同研究の目的

脳障害患者などの腹壁筋の障害は、上肢・下肢筋の過緊張状態に比べ、低緊張状態を呈し、その基礎となる脊髄神経機構の相違が予想される。また、座位・立位時の身体の平衡や姿勢の調節に主に関わると考えられる前庭神経核から腹壁筋運動ニューロンへの効果を調べた報告はほとんどない。そこで本研究は、脳障害後に見られる腹壁筋の病態を明らかにするために、その運動制御メカニズムを探究することが目的である。まず、腹壁筋運動ニューロンから細胞内記録をとり、脊髄反射機構の性質を電気生理学的に解析する。さらに、腹壁筋運動ニューロンへの錘体路の入力儀式及び前庭入力様式を解析する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

実験にはネンプタル麻酔下の成ラットおよび成ネコを用いる。腹壁筋運動ニューロンを細胞内記録により同定し、I群線維を刺激することにより膜電位を解析する。それにより脊髄神経機構を解明する。

腹壁筋運動ニューロンを同定した後、錘体路を電気刺激し、細胞内記録より膜電位を解析する。それにより腹壁筋運動ニューロンへの運動性の下行路を解明する。

また、腹壁筋運動ニューロンを同定した後、前庭神経核を電気刺激し、細胞内記録より膜電位を解析する。それにより腹壁筋運動ニューロンへの前庭入力様式を解明する。

#### 3. 研究成果（経過）

平成28年度は、腹壁筋運動ニューロンを同定した後、前庭神経核及び内側縦束を電気刺激し、腹壁筋運動ニューロンの細胞内記録より膜電位を解析し、その下行路の様態を調べた。まず、腹壁筋支配神経を剖出し、双極カフ電極を装着し電気刺激できるようにした。腹壁筋運動ニューロンへ記録電極を刺入するために、第6胸髄から第3腰髄の間で椎弓切除を行い脊髄背面を露出させた。前庭神経核を電気刺激するための電極を刺入するために、脳幹部背面を露出させた。前庭神経が刺激できるように正円窓に銀ボール電極を植えた。手術終了後、ガラス管微小電極を胸髄・腰髄後索に刺入して単一細胞より細胞内記録をとった。腹壁筋支配神経を刺激することにより、それぞれの髄節で腹壁筋運動ニューロンを同定した。また、タングステン微小電極を脳幹部背面から刺入し前庭神経核を電気刺激した。また銀ボール電極を刺激することにより前庭神経を電気刺激した。それらにより腹壁筋運動ニューロンの細胞内記録を行い膜電位を解析した。その結果、前庭神経核及び内側縦束を電気刺激することにより、主に同側の腹壁筋運動ニューロンから小さな興奮性シナプス後電位が観察された。

## 52. 3次元ゲル線量計の開発

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小池 貴久	保健学部診療放射線技術学	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
原田 和正	駒澤大学	教授	共同研究者
成田 裕樹	駒澤大学	研究生	共同研究者
坂本 岳士	保健学部診療放射線技術学	助教	共同研究者

## キーワード

放射線治療、線量評価、ゲル検出器、3次元線量分布

## 研究分野

総合領域

## 1. 共同研究の目的

新規に開発するゲル線量計の性能、および3次元線量分布を評価することを目的とする。最終的にはゲル線量計の性能向上により、放射線治療領域における簡便かつ高精度の3次元線量分布評価を目指す。

## 2. 共同研究の内容・計画

ゲル線量計は、放射線照射により生じるラジカル重合反応のためにゲルが固化する特性を利用した線量計で、簡便にしかも複雑な3次元線量分布の測定が可能になると期待されている。

本研究では、新しいゲル線量計の開発を目的として、用いる最適な物質、化合物の配合比率を化学的な観点から求める。また、線量計としての機能を評価するため、線量を求める指標としてMRI装置での撮像から得られる $T_2$ 緩和時間を元にして、線量計としての適応、さらには詳細な3次元線量分布の評価が可能であるか検討を行う。線量計としての物質的な検討は主に駒澤大学で行い、線量計の性能評価を、本学MRI装置を用いて行う。

## 3. 研究成果（経過）

新規に開発するゲル線量計の性能、および3次元線量分布を評価することを目的として研究を進めた。ゲル線量計は、放射線照射により生じるラジカル重合反応のためにゲルが固化する特性を利用した線量計であるが、線量計として適した素材であるかを確認するため、用いる最適な物質、化合物の配合比率を化学的な観点から求めた。また、線量計としての機能を評価するため、線量を求める指標としてMRIから得られる $T_2$ 緩和時間を元にして、線量計としての適応、さらには詳細な3次元線量分布の評価が可能であるか検討を行った。その結果、化合物の配合比率に関しては数種類の物質で適切な条件を見つけ出すことに成功した。さらに、MRIでの評価に適した最適な撮像パラメータを構築することにも成功した。今後は、より線量測定範囲の広い化合物の選定、実際の3次元線量分布の測定、および線量計としての線量直線性の評価を行う必要がある。

成果：19th ISRR 2016 ポスター発表 成田 裕樹

### 53. GEM を用いた放射線検出器の開発

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小池 貴久	保健学部診療放射線技術学	准教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
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
内田 智久	高エネルギー加速器研究機構 (KEK)	准教授	共同研究者

#### キーワード

放射線検出器、MPGD、GEM、X線、中性子線

#### 研究分野

総合領域

#### 1. 共同研究の目的

Micro Pattern Gaseous Detector (MPGD) の1つである Gas Electron Multiplier (GEM)の開発、およびこの技術を用いた種々の放射線検出器の開発、および性能評価を行う。この検出器の特徴として、コンバーター（放射線信号変換素材）を変えることで、測定対象を変えることが可能で有り、特に、X線、中性子線に対して用途に応じた検出感度の検出器開発を目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

MPGD の1つである GEM は、基板に多数の細孔が開けられたものでこの両面間に高電圧を印加することで細孔内に形成される高電場を利用してガス増幅を行い、放射線の検出を行う。多数の孔が基盤上に一様に広がっている特徴から、それぞれの孔がガス放射線検出器として働くため既存の検出器に比べ高計数率に耐えられ、2次元的に一様な性能が得られることからワイヤー型の検出器では不可能な2次元情報を得ることが可能である。

本研究では GEM 自体の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測定器の電子回路設計を含めた検出器システムの研究開発を行う。検出器の開発は主に KEK で行い、装置の性能・特性評価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 Gas Electron Multiplier (GEM)自体の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測定器の電子回路設計を含めた検出器システムの研究・開発を行った。今年度は、特に中性子の検出を目的とした検出器の開発を行った。コンバーター（放射線信号変換素材）にホウ素（B-10）を用いることで中性子ビームモニタとして必要とされる範囲の任意の検出効率を得ることができた。また、専用の電子回路の開発において、中性子エネルギーを選別してとらえることができるようにするため、飛行時間法（TOF 法）を用いることで可能とした。実際のビームテストではリアルタイムでの画像取得に必要なソフトウェア上の改良すべき点が判明し、改良を加える予定である。

次年度以降は、これまでの装置開発に加えて、近年注目されつつあるホウ素補足療法（BNCT）に用いる中性子検出器としての応用を目的として、TOF 法を用いたエネルギー選別の性能向上を目指す予定である。

## 54. MRI の高機能化（画像処理）

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
久原 重英	保健学部診療放射線技術学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
金谷 重彦	奈良先端科学技術大学院大学	教授	共同研究者（Real-time Cine 動き補正技術）
佐藤 哲大	群馬県立県民健康科学大学	准教授	共同研究者（ECV Map 動き補正技術）

## キーワード

MRI、Real-time Cine、動き補正、心筋 T1 Mapping、ECV Map

## 研究分野

MRI

## 1. 共同研究の目的

MRI 撮像技術の進歩は目覚ましいが、臨床適用上はまだ様々な技術的改善が必要となっている。本研究では、主に画像処理技術をベースに、下記心臓 MRI を中心とした領域に於けるさらなる MRI の高機能化を図る。

- 1) Real-time Cine の動き補正に関する研究：通常の Cine MRI では心電図同期を用いレトロスペクティブに画像再構成を行うが、不整脈があると画像化が困難である。Real-time Cine の適用が期待されるが、低 SNR 等の問題がありこれを解決する。
- 2) 心筋 T1 Mapping における動き補正法の研究：造影前後の T1 Map から ECV Map 作成時の動きの問題を解決する。

## 2. 共同研究の内容・計画

- 1) Real-time Cine の動き補正に関する研究：Real time Cine は不整脈の影響無く心筋動態の観察が可能であるが、低 SNR であることや自由呼吸による位置ずれ等の問題がある。そこで、呼吸動の動き補正と心位相自動抽出アルゴリズム+同一心位相間での加算平均等により、SNR&画質向上を図るアルゴリズムに関する研究を行う。
- 2) 心筋 T1 Mapping における動き補正法の研究：ECV Map は造影前後で得られた Pre-Post の T1 Map から作成されるが、息止め位置のずれ等があると正しい値が得られない。Pre-Post 間での大きなコントラスト差がある中での動き補正技術が必要であり、本研究ではこの動き補正アルゴリズムに関する研究を行う。動き補正に関する基本アルゴリズムは、基本的に奈良先端科学技術大学院大学ならびに群馬県立県民健康科学大学にて行い、補正後の画質評価等を本学にて行う。

## 3. 研究成果（経過）

今年度は、心臓 MRI に関する下記 2 点の高機能化に関する研究を行った。

- 1) Real-time Cine の画質向上に関する研究：Real-time Cine は不整脈の影響無く心筋の動態観察が可能であるが、低 SNR である点が問題である。SNR&画質を向上する一つの方法は、同一心位相間で加算平均を行うことであるが、一連の画像シリーズから心位相を自動分類する技術や呼吸動の補正技術等が必要である。今回、心室内腔面積をベースとした心位相の自動分類法、ならびに心拍変動があっても心位相間での加算平均を可能とする手法を開発し評価を行なった。その結果、SNR&画質の向上を確認できた。成果の一部は医用画像研究会にて 1 件連名発表済。
- 2) 心筋 T1 Mapping における動き補正法の研究：ECV Map は造影前後で得られた Pre-Post の T1 Map から作成されるが、息止め位置のずれ等があると正しい値が得られない。Pre-Post 間での大きなコントラスト差がある中での動き補正を可能とするため、相互情報量と心室内腔の内接円に基づく動き補正技術を開発、良好な結果が得られた。結果は IFMIA2017 にて 1 件連名発表済。

(\*) 動き補正に関する基本アルゴリズム開発は、基本的に奈良先端科学技術大学院大学ならびに群馬県立県民健康科学大学にて  
行い、補正後の画質評価等を本学にて行った。

## 55. MRI の形態・機能情報取得機能に基づく心臓を中心とした全身の高速・高精細撮像法の研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
久原 重英	保健学部診療放射線技術学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
市之瀬 伸保	東芝メディカルシステムズ株式会社	主幹	共同研究者（パルスシーケンス改良等）

## キーワード

MRI、高速撮像、高精細撮像、心臓 MRI、T1 Mapping

## 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を生かし、臨床的観点から最大限に生かすための、より効果的な撮像手法ならびに画像処理・解析手法に関する研究を行う。今年度は特に、近年 MRI 分野で注目されている心筋 T1 Mapping に関し、新しく提案した PC TI-Prep 法の精度比較等に関する研究を行う。

## 2. 共同研究の内容・計画

心筋 T1 Mapping では、MOLLI (Modified Look Locker Imaging) 法が多く用いられているが、心拍 (RR) 変動の影響を受け易いこと、また ssfp ベースであるため T2 の影響を受ける等の報告がなされている。そこで FFE 法をベースとし、RR 変動の補正を可能とした PC TI-Prep 法を提案、T1 ファントムを用い、従来法である MOLLI 法等との精度比較等を行う。パルスシーケンス側の改良等は、主に東芝メディカルシステムズ株式会社にて行い、得られた画像ならびに精度等の評価を本学にて行う。

## 3. 研究成果（経過）

近年 MRI 分野で注目されている心筋 T1 Mapping に関し、新しく提案した PC TI-Prep (Polarity Corrected TI-Prep T1 Mapping) 法の精度比較等に関する研究を行っている。心筋 T1 Mapping では、MOLLI (Modified Look Locker Imaging) 法が多く用いられているが、心拍 (RR) 変動の影響を受け易いこと、また ssfp (Steady State Free Precession) ベースであるため T2 ならびに磁場の不均一性の影響を受けやすい等の報告がなされている。そこで FFE (Fast Field Echo) 法をベースとし、心拍変動の補正を可能とした PC TI-Prep 法を提案、T1 ファントムならびに心電図同期シミュレータを用いて、従来法である MOLLI 法との精度比較等を行った。その結果、PC TI-Prep 法は MOLLI 法よりも磁場の不均一性に強く、かつ心拍変動の影響が少ない T1 Map の取得が可能であることが判った(\*)。論文 1 件投稿準備中。今後、さらに造影剤投与前後の T1 Map (Pre T1 Map ならびに Post T1 Map) から作成される ECV (Extra Cellular Volume) Map の作成とその精度検証を進めると共に、健常ボランティアでの T1 Map の精度比較等も行う予定。

(\*) パルスシーケンス側の改良等は、主に東芝メディカルシステムズ (株) にて行い、得られた画像ならびに精度等の評価を本学にて行っている

## 56. 機械学習を用いた MRI の撮像時間短縮技術に関する研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
久原 重英	保健学部診療放射線技術学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
竹内 純一	九州大学 システム情報科学研究院	教授	共同研究者（圧縮センシング技術）
川喜田 雅則	九州大学 システム情報科学研究院	助教	共同研究者（機械学習技術）

### キーワード

MRI、高速撮像、機械学習、圧縮センシング、画像再構成

### 研究分野

MRI

#### 1. 共同研究の目的

MRI（磁気共鳴映像装置）は放射線の被曝が無く、軟部組織の描出能に優れる等の特徴があるが、検査時間が長いことが問題であり、さらなる撮像時間の短縮化が求められている。撮像時間の短縮技術の一つとして、圧縮センシング技術の適用が試みられているが、基本的に繰り返し演算を用いるため再構成時間が長く、まだ臨床適用上必要な画質と許容時間内での画像再構成を両立した手法は十分には確立されていない。本研究の目的は、問題点を解決するための新しいデータ収集・再構成手法を提案する事にある。

#### 2. 共同研究の内容・計画

一般に、圧縮センシングでは、ランダムサンプリングによる収集データに対して、基本的に繰り返し演算による画像再構成を行うための再構成時間が長い。本研究では、機械学習を用いたアプローチを行う。機会学習に基づく手法は、学習に時間がかかる反面、学習後の処理は比較的短時間で可能なため、一般的な圧縮センシングに比べて構成時間を短縮できる可能性がある。具体的には、MRI で得られた完全なデータならに画像を正解値として持ちつつ、サンプリングパターンや機械学習の各パラメータを変化させて最適化を行う。機械学習に基づく再構成アルゴリズムの検討は、主に九州大学システム情報科学研究院にて行い、得られた画像の評価を本学にて行う。

#### 3. 研究成果（経過）

MRI の撮像時間短縮法の一つに、通常の画像再構成に必要なデータ数よりも少ないデータを収集する方法があるが、得られる画像は低解像度の画像、もしくはアーチファクトを含んだ画像となる。圧縮センシング法ではアーチファクトを含んだ画像から所定のアルゴリズムと繰り返し演算にて元画像を復元するが、臨床適用にはまだ再構成時間が長いという問題がある。本研究では機械学習を用いた手法を用いることで、再構成時間の短縮が可能かどうかについての基礎検討を行っている。今年度は、頭部 MRI 画像を対象に、まず単純な例として、高速化によって得られる低解像度画像から、機械学習を用いて元画像を復元する方法について研究開発を行い、低解像度画像よりもより高分解能な画像が復元されることを確認した(\*)。成果の一部は、電気情報通信学会の研究分科会にて1件連名発表済。今後、引き続き対象画像種を増やして評価を行うと共に、アーチファクトを含んだ画像&データからの復元法についても検討を進める予定。

(\*) 機械学習に基づく再構成アルゴリズムの検討は、主に九大・システム情報科学研究院にて行い、得られた画像の評価等を本学が担当している。

## 57. Digital Breast Tomosynthesis の画像評価

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
芝生 春菜	保健学部診療放射線技術学	助教	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
田中 功	東京女子医科大学 東医療センター	技師長	研究指導およびデータ解析
油原 俊之	東京女子医科大学 東医療センター	主任	研究指導およびデータ解析

## キーワード

マンモグラフィ、Digital Breast Tomosynthesis

## 研究分野

診療放射線技術学

## 1. 共同研究の目的

マンモグラフィは乳房病変の診療には必要不可欠であるが、若年者のマンモグラフィ撮影については乳線密度等について問題となることが多い。そこでこの問題を解決するための技術として3次元撮影となる Digital Breast Tomosynthesis (DBT) が注目されている。本研究では、マンモグラフィ精度管理局ファントムを用いて DBT で得られた麗像と従来のマンモグラフィ (2D) 画像を比較することで画像評価をおこなう。

## 2. 共同研究の内容・計画

杏林大学の装置では Tomosynthesis 撮影が不可能な為、実験には東京女子医科大学東医療センターの GE Healthcare 社製 Senographe Essential を用いる。マンモグラフィの精度管理用ファントムである RMI156 ファントムを DBT 撮影および 2D 撮影にて撮影条件を変化させながら撮影する。撮影した画像の評価は検診マンモグラフィ撮影認定技師取得者およびマンモグラフィ読影に従事している医師でおこなう。画像評価の結果より、DBT 画像の画質評価および有用性について検討する。

## 3. 研究成果 (経過)

Digital Breast Tomosynthesis (DBT) 撮影では、Tomosynthesis 画像データを利用して 2D 近似画像である Volume Preview (VP) 画像を作成できる。今年度の本研究では、新たな画像再構成技術として開発された VP 画像 (VP3.1) と従来の VP 画像 (VP1.1) および従来のマンモグラフィ画像(2D) について撮影条件を変化させて評価した。方法は RMI156 ファントムを 2D および DBT モードにて撮影し、2D 画像、DBT 撮影で生成される VP1.1 および VP3.1 に対して乳房撮影精度管理マニュアルに基づいて視覚評価した。撮影条件は 29kV、Rh/Rh 一定とし、撮影線量を 45・63・80・125・250mAs と変化させた。視覚評価は検診マンモグラフィ撮影認定技師取得者 8 名でおこなった。VP3.1 および VP1.1 と 2D 画像を比較することにより、Tomosynthesis 撮影にて生成された 2D 画像の画質について明らかにすることができた。画像再構成技術の向上に伴う VP 画像の描出能の改良について検討することで、従来の 2D 撮影と同等もしくはそれ以上の Tomosynthesis 撮影の有用性が示唆された。次年度以降は乳線密度の差による Tomosynthesis 画像の描出能や最適撮影条件の検討などについて検討する必要がある。

③ 総合政策学部

## 58. タイの HIV 感染者へのケアにおけるタスクシフティングに関する研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
北島 勉	総合政策学部	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
岡村 裕	総合政策学部	准教授	質問票の作成・データ分析
Malcolm Field	総合政策学部	教授	研究デザイン・質問票の作成
Viboon Wattananankul	コンケン大学	講師	質問票の作成・データ収集
Saiyud Moolphate	チェンマイラチャパット大学	講師	質問票の作成・データ収集

## キーワード

HIV、タスクシフティング、スティグマ、プライマリケア、タイ

## 研究分野

国際保健

## 1. 共同研究の目的

タイでは、抗 HIV 多剤併用療法 (antiretroviral therapy, ART) を受療する患者が増加し、その適切な提供体制の構築が課題となっている。申請者らは、チェンマイの農村部において、ART の提供を医師から看護師にシフトすることの有効性とその課題について研究した。本研究では、そこで明らかとなった課題への対応策を検討する。また、コンケンにおいて都市部の三次病院から診療所へ ART の提供をシフトすることと患者の健康状態や満足度との関連を調査し、タイの都市部及び農村部の ART 提供体制の在り方について検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

調査対象地域：タイ国チェンマイ県サンバトン郡とコンケン県ムアン郡  
 調査対象施設：サンバトン地域病院と保健センター、コンケン病院  
 調査対象者：上記施設において ART を利用している患者および医療スタッフ  
 調査方法：面接調査と質問票による調査

サンバトン郡では、ART 提供に関する課題の改善策を導入し、その効果を調査する。コンケン病院においては、ART を病院で受療する患者と地域の診療所で受療する患者のグループを形成し、それぞれについて健康状態や医療に関する満足度などについて調査する。

## 3. 研究成果（経過）

タイでは HIV の検査や感染者へのケアを病院から地域のヘルスセンターにシフトしようとしている。HIV に対するスティグマは依然として存在するが、ヘルスセンターの職員が HIV 感染者に対してスティグマや偏見を持たずに接することがスティグマの軽減につながる可能性も示唆されている。現在、地域住民への保健医療サービスを提供している職員の多くは、公衆衛生学部や公衆衛生大学で養成されている。そこで、本研究では、公衆衛生学専攻学生を対象に、HIV に関する意識や態度を調べ、HIV ケアのタスクシフティングを推進するための人材育成の在り方について検討することを目的とする。現在、タイの 16 大学において調

査を実施中である。公衆衛生大学の学生 39 人を対象に実施したパイロット調査の結果では、HIV 感染者が触れたシーツなどに触れることに不安を感じる(57%)、ヘルスセンターのスタッフが、過去 1 年に HIV 感染者かその疑いのある患者にケアを提供したがない状況を見たことがある (23.1%)、同僚が HIV 感染者だと不安 (64.7%)、保健医療施設で HIV 感染者を差別しても問題にならない (35.9%) であった。全国調査の結果を待たなくてはならないが、HIV 関連のケアのタスクシフティングを進める上で、公衆衛生大学・学部における HIV 感染者への差別や偏見に対する教育について検討が必要であることを示唆する結果であった。

#### ④ 医学研究科

## 59. 上皮細胞における尿酸の paracellular 輸送

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
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	研究分野
市田 公美	東京薬科大学	教授	研究取りまとめ
中村 真希子	東京薬科大学	助教	安定発現細胞の作製、輸送実験
塚田 愛	東京薬科大学	研究生	qPCR、プロテオミクス
木村 徹	医学部薬理学	学内講師	安定発現細胞の作製、輸送実験

## キーワード

尿酸輸送、上皮細胞、paracellular 輸送

## 研究分野

薬理学

## 1. 共同研究の目的

上皮細胞における有機イオンや電解質の輸送ルートは大きく2つに分類される。1つは、細胞を横切って輸送される transcellular ルートであり、トランスポーターやチャネルを介する輸送である。もう1つが細胞と細胞の間を通る paracellular ルートである。種々の上皮由来細胞を用いた結果、いくつかの細胞で paracellular ルートによる尿酸輸送が見られた。本研究では、上皮細胞における尿酸の paracellular 輸送形式およびそれに関与する分子について検討を行う。

## 2. 共同研究の内容・計画

東京薬科大学薬学部病態生理学教室において、尿酸の paracellular 輸送を行う候補分子 (claudin 等) の発現解析を qPCR、プロテオミクスにて行う。また、それらによって絞られた候補分子の安定発現細胞の樹立を行う。杏林大学においては、作製された安定細胞を用いて尿酸の paracellular 輸送実験を行う。

## 3. 研究成果 (経過)

上皮細胞における有機イオンや電解質の輸送ルートは大きく2つに分類される。1つは、細胞を横切って輸送される transcellular ルートであり、トランスポーターやチャネルを介する輸送である。もう1つが細胞と細胞の間を通る paracellular ルートである。本研究では、上皮細胞における尿酸の paracellular 輸送形式およびそれに関与する分子について明らかにすることを目的とする。paracellular 輸送は、タイトジャンクションを形成する claudin の種類によって調節されていることが知られている。腎臓由来の MDCK, LLC-PK1 細胞では尿酸をほとんど通過させなかったが、胎盤由来の BeWo 細胞では 4℃でも尿酸の上下間での輸送が観察され、paracellular 経路での輸送が示唆された。腸管由来の Caco-2 細胞には、尿酸を通過させるクローンとそうでないクローンがあった。尿酸の paracellular 輸送が見られた BeWo 細胞、Caco-2 細胞には claudin 1, 3, 4, 6, 7, 12 の発現が確認できたが、これらの claudin を尿酸の paracellular 輸送が見られない MDCK 細胞に過剰発現させても、尿酸の輸送に変化は見られなかった。claudin 以外の分子として podocalyxin の発現量に違いが見られたことから解析を行ったが、発現の有無で paracellular 輸送に変化は見られなかった。

## 60. 百日咳菌Ⅲ型分泌機構の臨床分離株における発現

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
神谷 茂	医学部感染症学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
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細菌学的性状の解析
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遺伝学的性状の解析
花輪 智子	医学部感染症学	講師	Ⅲ型分泌装置の発現解析

### キーワード

百日咳菌、Ⅲ型分泌機構、遺伝子発現、臨床分離株、病原性関連因子

### 研究分野

細菌学

#### 1. 共同研究の目的

細菌のⅢ型分泌機構 (TTSS) はニードル状の分泌装置によりエフェクターとよばれる蛋白質を宿主細胞に直接打ち込むものである。注入されたエフェクターは細菌の感染に有利となるよう宿主の生理機能を修飾するが、その作用は多様であり解明されていないものも多い。百日咳菌 TTSS は病原性に関連しており、その発現量は新鮮分離株では高い。しかし継代回数の増加と共に減少するため実験室株では極めて低い。TTSS 発現を制御する因子について詳細が明らかにされていないことから本研究では臨床分離株を用いてその制御機構を解析する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

[研究内容] 百日咳菌は炭素源として主にグルタミン酸をエネルギー産生に利用している。これまでグルタミン酸濃度を低下させることによりⅢ型分泌機構の発現が上昇することを見いだした。この応答が菌株特異的であるかについて複数の臨床分離株を用いて検討する。

[計画] 百日咳菌臨床分離株 5 株を通常の培地またはグルタミン酸の濃度を 20%に低下させた培地で培養を行い、菌体の除去および濃縮により培地中のタンパク質を回収する。それらを SDS-PAGE で展開し、特異抗体を用いて TTSS 発現量を比較する。さらに鉄欠乏またはアミノ酸欠乏等グルタミン酸以外の栄養枯渇による TTSS 産生量への影響について調べる。

#### 3. 研究成果 (経過)

百日咳菌の産生する病原因子は付着因子、毒素など多数存在する。そのうち宿主定着性に関わるⅢ型分泌装置は臨床分離株における発現はワクチン株と比較して顕著に充進していることが報告されている。その一方で、その機能、役割について分子レベルでの解析は進んでいない。

本研究においてⅢ型分泌装置の発現と栄養枯渇応答との関連を明らかにする目的で、グルコースをエネルギー代謝で、利用しない百日咳菌が主に炭素源としているグルタミン酸を枯渇させると発現が転写レベルで誘発することを明らかにした (Hanawa et al., J. Bacteriol.199:343, 2016)。また、この誘発はワクチン株を含む使用した全て臨床分離株にみられた。また、Brickman らの報告 (Brickman et.al. J. Bacteriol.193:4798, 2011) と同様に鉄欠乏についても同じくⅢ型分泌装置の発現がみられたが、これらの環境下、小分子ヌクレオチドである (p)ppGpp をメディエーターとする緊縮応答が誘発する。これまで緊縮応答を欠損した百日咳菌ではⅢ型分泌装置の発現が顕著に低下することを明らかにしている (Sugisaki, et.al., Microbial. 159:1379)。これらの結

果より緊縮応答によりⅢ型分泌装置の発現が制御されていることが明らかとなった。

## 61. マラリア防御免疫におけるミトコンドリア活性酸素関連性

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 富美恵	医学部感染症学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
林 純一	筑波大学	名誉教授	データ解析
中田 和人	筑波大学	教授	マウス病態解析
井上 信一	医学部感染症学	助教	感染実験、免疫細胞の機能解析

### キーワード

マラリア、ミトコンドリア、活性酸素、防御免疫

### 研究分野

寄生虫免疫学、分子細胞生物学

## 1. 共同研究の目的

生体が免疫機能を発揮する際に、免疫細胞内のミトコンドリアが産生する活性酸素種（ROS）がどのようにして関与しているのかを解明する。特に、マラリア原虫感染における宿主の免疫応答に注目する。①ミトコンドリア由来の ROS 産生がマラリア原虫感染に与える影響（過剰免疫病態）②ミトコンドリア由来の ROS 産生がマラリア感染防御免疫の獲得に与える影響（防御免疫）等がみられるのかを検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

筑波大学の林・中田教授より、ミトコンドリア活性酸素が過剰産生しているミトコンドリア DNA 変異マウス（A11 マウス）を譲り受ける。①ミトコンドリア由来の ROS 産生がマラリア原虫感染に与える影響をしらべるため、A11 マウスと野生型マウスに強毒株マラリア原虫を感染させて、過剰免疫による病態を比較する。次に、②ミトコンドリア由来の ROS 産生がマラリア感染防御免疫の獲得に与える影響を調べるため、A11 マウスと野生型マウスに非致死性マラリア原虫を感染させて末梢血中の感染赤血球の割合を経時的に測定し、比較する。上記の検討によって変化が見られた場合、順次、各種免疫細胞の機能解析（抗体産生・サイトカイン産生）をおこなう。

## 3. 研究成果（経過）

生体が免疫機能を発揮する際に、免疫細胞内のミトコンドリアが産生する活性酸素種(ROS)がどのようにして関与しているのかを解明することを研究目的とする。特に、マラリア原虫感染における宿主の免疫応答に注目する。

本研究を進めるにあたり、筑波大学の林教授と中田教授より、ミトコンドリア活性酸素が過剰産生しているミトコンドリア DNA 変異マウス(A11 マウス)が分与された。ミトコンドリア由来 ROS 産生がマラリア原虫感染に与える影響を調べるため、強毒株マラリア原虫(*Plasmodium berghei* ANKA)を A11 マウスと野生型マウスに感染させて、免疫病態を比較した。強毒株マラリア原虫感染によって、野生型マウスと A11 マウスは共に全個体が死亡したが、A11 マウスで有意に寿命の延命がみられた。野生型マウスと比較して、A11 マウスでは、マラリア感染による強い炎症に起因する血液脳関門の破壊の度合いが低下し、さらには、脳組織に浸潤する IFN- $\gamma$  産生細胞数とグランザイム B 産生細胞数が低下していることが明らかとなった。現在、血漿中の IFN- $\gamma$  と TNF- $\alpha$  の濃度測定、脳組織におけるケモカイン産生、HIF-1 $\alpha$  や VEGF の発現を比較解析している。

## 62. 妊娠中のマラリアの病態重症化機構の解明

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 富美恵	医学部感染症学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
新倉 保	医学部感染症学	助教	妊娠中のマウスマラリアモデルの病態解析
井上 信一	医学部感染症学	助教	妊娠中のマウスマラリアモデルの病態解析
朝日 博子	医学部感染症学	非常勤講師	妊娠中のマウスマラリアモデルの病態解析
峯尾 松一郎	東京医科大学	実験助手	組織標本作成

## キーワード

マラリア、妊娠、重症化、胎盤

## 研究分野

寄生虫感染症

## 1. 共同研究の目的

我々が独自に確立した妊娠中のマウスマラリアモデルを用いて、原虫血症増悪直前の宿主体内におけるマラリア原虫の局在を解析することで、妊娠中のマラリアの病態重症化機構を明らかにする。

## 2. 共同研究の内容・計画

妊娠中のマラリアにおいて、マラリア原虫はまず胎盤で増殖すると推測される。そこで、宿主体内での原虫の局在を容易に捉えられるように、ルシフェラーゼ遺伝子 (*luc2*) をマラリア原虫に導入し、感染赤血球が胎盤組織に蓄積するかどうかを明らかにする。

妊娠中のマラリアにおける胎盤組織の傷害は、胎盤に蓄積した感染赤血球によって宿主の炎症反応が活性化されることで引き起こされると推測される。そこで、細胞傷害に関わると考えられている一酸化窒素 (NO) 合成不全マウス、炎症性サイトカイン IFN- $\gamma$  に対する受容体 (IFN- $\gamma$ R1) を欠損したマウス、抗原提示細胞上に発現し CD4<sup>+</sup>T 細胞の活性化に関わる MHC class II を欠損したマウス等を用いて、マラリア原虫感染赤血球の胎盤への蓄積を伴う胎盤組織傷害機構を明らかにする。

## 3. 研究成果 (経過)

妊娠中のマラリアで頻発する流産や死産、胎児の発育不全は、マラリア原虫感染赤血球の胎盤組織への集積によって引き起こされる胎盤の組織傷害に起因すると考えられる。そこで本研究では、宿主体内での原虫の局在が捉えられるようにルシフェラーゼ遺伝子を導入したマウスマラリア原虫を用いて、妊娠中のマラリアにおける感染赤血球の局在を解析した。解析の結果、胎盤組織に感染赤血球の蓄積が認められた。これまでに、IFN- $\gamma$  受容体 (IFN- $\gamma$ R1) 欠損マウスでは野生型マウスと比較して胎児死亡率が有意に低下することを見出している。そこで、野生型原虫と IFN- $\gamma$ R1 欠損マウスの胎盤における感染赤血球の蓄積量を比較したところ、蓄積量に有意な差異は認められなかった。これらの結果から、妊娠中のマラリアにおける胎盤機能障害には、感染赤血球の蓄積によって誘導される IFN- $\gamma$  が中心的な役割を果たすことが示された。

次に、胎盤組織内で IFN- $\gamma$  によって活性化される細胞を解析した。マラリア原虫を感染させた野生型マウスの胎盤では非感染マウスと比較して CD8<sup>+</sup>T 細胞とマクロファージの割合が増加した。一方、マラリア原虫を感染させた IFN- $\gamma$ R1 欠損マウスの胎

盤では、CD8<sup>+</sup>T 細胞とマクロファージの増加が認められず、非感染マウスと同レベルであった。これらの結果から、妊娠中のマラリアにおける胎盤組織の傷害には、IFN- $\gamma$  によって活性化された CD8<sup>+</sup>T 細胞とマクロファージが関与することが示唆された。

## 63. 三日熱マラリアの重症化機構の解明

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
小林 富美恵	医学部感染症学	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
朝日 博子	医学部感染症学	非常勤講師	マラリア原虫培養条件の確立
新倉 保	医学部感染症学	助教	マラリア原虫培養条件の確立
井上 信一	医学部感染症学	助教	マラリア原虫培養条件の確立
滝澤 始	医学部内科学 I	教授	実験材料の確保
皿谷 健	医学部内科学 I	学内講師	実験材料の確保
松田 剛明	医学部救急医学	教授	実験材料の確保
河合 伸	医学部総合医療学	教授	実験材料の確保
渡邊 卓	医学部臨床検査学	教授	実験材料の確保
本郷 偉元	武蔵野赤十字病院	副部長	実験材料の確保
今村 顕史	がん・感染症センター都立駒込病院	部長	実験材料の確保
鯉渕 智彦	東京大学医科学研究所附属病院	診療科長	実験材料の確保
城戸 康年	東京大学医科学研究所附属病院	研修医	実験材料の確保

## キーワード

三日熱マラリア、重症化、マラリア罹患者、継代培養

## 研究分野

寄生虫感染症

## 1. 共同研究の目的

三日熱マラリアの重症化機構を解明するための第一段階として、国内で発症したマラリア罹患者の血液から得た原虫を用い、三日熱マラリア原虫の継代培養法の確立を目指す。

## 2. 共同研究の内容・計画

近年になってインドやブラジルを中心に重症三日熱マラリアの症例報告が増加している。この三日熱マラリアの重症化機構は明らかにされていない。熱帯熱マラリア原虫は、継代培養法が確立されていることから、*in vitro* 実験系による病原性の解析等が可能である。実際に、本学感染症学講座寄生虫学部門においても、*in vitro* 実験系により、熱帯熱マラリア原虫の分化・増殖の分子機構を解析している。一方、三日熱マラリア原虫の培養系は未だに確立されていないため、三日熱マラリア原虫の病原性の解析は困難を極めている。そこで本研究では、三日熱マラリアの重症化機構を解明するための第一段階として、本学付属病院及び近隣の医療機関に来院したマラリア罹患者の血液から得た原虫を用いて、三日熱マラリア原虫の継代培養法の確立を目指す。

## 3. 研究成果（経過）

本研究では、三日熱マラリアの重症化機構を解明するための第一段階として、本学付属病院及び近隣の医療機関に来院したマラリア罹患者の血液から得た原虫を用いて、三日熱マラリア原虫の継代培養法を確立することを目的とした。本年度は、三日熱マラリア罹患者の血液が得られなかったため、熱帯熱マラリア原虫を用いて継代培養の培養条件を検討した。その結果、無血清培地を用いて、長期的に安定して熱帯熱マラリア原虫を培養できる条件を確立した。また、熱帯熱マラリア原虫の生殖母体を安定して誘導することができた。

## 64. 企業健診における CCD 特異的 IgE 抗体測定の有用性に関する検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
横井 秀格	医学部耳鼻咽喉科学	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
松本 祐磨	医学部耳鼻咽喉科学	助教	データ解析
櫻井 裕之	医学部薬理学	教授	データ解析アドバイス
齋藤 康一郎	医学部耳鼻咽喉科学	教授	データ解析アドバイス
大沢 琢雄	シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社		特異的 IgE 抗体の測定とデータ解析

## キーワード

花粉症、特異的 IgE 抗体、Cross-reactive Carbohydrate Determinant (CCD)、企業健診

## 研究分野

アレルギー

## 1. 共同研究の目的

花粉症患者ならびに果物植物性の食物アレルギー患者において、特異的 IgE 抗体価と臨床症状が一致しない、いわゆる False Positive が見受けられる。その原因の一つに花粉や野菜に共通する糖鎖 Cross-reactive Carbohydrate Determinant (CCD) に対する IgE 抗体の影響が従来から指摘されているが、わが国での臨床の現場における応用例は少ない。そのため、CCD に対する特異的 IgE 抗体の検出頻度と花粉アレルゲン特異的 IgE 抗体検査へ及ぼす影響、および回避方法について検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

〈研究の実施期間〉2016年4月1日から2017年3月31日

〈研究の対象〉調査研究対象：シダックス株式会社にて上記期間中に健診を受けた患者を対象にする。いずれも本学の倫理委員会の承認を得た上で、本試験の内容と趣旨について十分な説明を受け、理解かつ同意の得られた患者のみを対象とする。

〈研究の方法〉シダックス株式会社の2015年度健康診断対象者の内、本研究の参加に同意した受診者を対象として、スギ、ヒノキ、カモガヤ、ブタクサ、ハウスダスト、小麦、大豆、MUXF、Bromelain、HRPO、Ascorbate oxidase に対する特異的 IgE 抗体をシーメンス HCD (株)にて測定し、各抗体の保有率およびアンケートによる症状の有無と CCD 抗体の保有率を検討する。

〈予想される結果〉過去の検討において、花粉アレルゲンによって CCD に対する特異的 IgE 抗体の検出頻度に差異があること、また、小麦や大豆特異的 IgE 抗体陽性者においては、CCD が関与していることが示唆された。本研究を通して、花粉および穀物アレルゲン特異的 IgE 抗体検査への CCD 関与が明らかになれば、アレルギー患者に対する診断精度の向上が期待されるだけでなく、患者に対する治療方針の決定や服薬ならびに生活指導において非常に有意義あると考えられる。

## 3. 研究成果(経過)

受診者：347名(男252名、女95名、年齢分布17歳~68歳)なお、内173名は2012年にも受診していた。

測定項目：以下の特異的 IgE 抗体 スギ、ヒノキ、カモガヤ、ブタクサ、ハウスダスト、小麦、大豆、MUXF、Bromelain、HRPO、ASOD

結果：花粉症あり群(医師の診断あり)66名における各抗体の陽性率は、スギ96%、ヒノキ83%、カモガヤ30%、ブタクサ3%、

ハウスダスト 48%、小麦 0%、大豆 3%、MUXF:3%、Bromelain:3%、HRPO:9%、ASOD:0%であった。花粉症なし群 127 名における各抗体の陽性率は、スギ 49%、ヒノキ 29%、カモガヤ 12%、ブタクサ 2%、ハウスダスト 43%、小麦 2%、大豆 2%、MUXF:3%、Bromelain:3%、HRPO:3%、ASOD:5%であった。特異的 IgE 抗体価と花粉症症状には相関があり花粉症診断の補助的指標として有用と考えられたが、CCD 抗体の陽性率には差が見られなかった。

しかし、いずれかの CCD 抗体がクラス 1 以上の集団における小麦、大豆特異的 IgE 抗体陽性率は 7%、18%と高率であり、花粉特異的 IgE 抗体陰性群における CCD 抗体の陽性率は、MUXF:0%、Bromelain:0%、HRPO:0%、ASOD:1%とほぼ検出されなかった。以上のことから、CCD 抗体は花粉特異的 IgE 抗体陽性者において多く産生され、CCD 抗体の濃度が高くなるにしたい、大豆や小麦などの特異的 IgE 抗体を陽性化させることが示唆された。

これらの結果をまとめて投稿し、Yokoi H, Yoshitake H, Matsumoto Y, Kawada M, Takato Y, Shinagawa K, Sakurai H, Saito K. Involvement of cross-reactive carbohydrate determinants-specific IgE in pollen allergy testing. *Asia Pac Allergy*. 2017 Jan ; 7 (1) :29-36. doi :10. 5415/apallergy.2017.7.1.29.に掲載された。

## 65. 病原細菌伝播モデルの確立と感染伝播を制御する因子の探索

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
大崎 敬子	医学部感染症学	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
山口 博之	北海道大学	教授	トランスクリプトーム解析
神谷 茂	医学部感染症学	教授	データの分析・助言
北条 史	医学部共同研究施設 実験動物部門	助教	動物実験

## キーワード

感染伝播、*Helicobacter pylori*、スナネズミ、連続流動培養、トランスクリプトーム解析

## 研究分野

感染症学

## 1. 共同研究の目的

人に病原性を示す細菌の伝播は飛沫や接触によるヒト・ヒト感染のほか、環境中の細菌がヒトに感染する例が知られている。しかし、その感染ルートを詳しく解析するにはこれまでのところ環境中からの細菌の分離に頼る以外の方法が無く、詳細な解析は行われていない。本研究では、細菌の感染ルートを可視化して観察する方法の確立をめざし、そのモデルを使って制御因子の解明を目指す。この研究の成果により、抗菌薬や消毒薬に頼らない、新しい感染症の発生予防についての理解と応用が期待される。

## 2. 共同研究の内容・計画

小動物（普通マウス、無菌マウス、スナネズミ等）間での病原細菌（*Helicobacter pylori*、下痢原性細菌および肺炎起因菌）伝播モデルの構築と病原細菌の生存・伝播を制御する常在菌叢・物性の検証を行う。平成 28 年度には次の 2 系統の動物実験モデルの確立と、その実験材料（胃粘膜組織）を用いたトランスクリプトーム解析を行う。

1. ノートバイオード動物を用いた *H.pylori* 感染胃炎制御モデルの確立（大崎担当）
2. *H.pylori* 感染アメーバを用いた環境由来感染モデルの確立（北条担当）

トランスクリプトームの結果は北海道大学山口博之教授により分析され、感染制御に重要なタンパク発現の動態を解析する。また、杏林大学においては、菌側の病原因子の発現を検討する。

## 3. 研究成果（経過）

本研究ではまず無菌動物を使った感染実験系の確立を目指したが、動物の開発が困難とわかり、現在まで確立できていない。そこで研究計画の一部変更を行った。入手可能な SPF スナネズミの動物実験モデルを使って、動物感染性の異なる *H.pylori* 菌株を投与し、感染成立時と不成立時に宿主に認められる影響のうち、特に常在細菌叢について比較した。感染 2 か月後炎症が強くなった動物からのサンプリングを行い、杏林大学共同研究施設にてメタゲノム解析を実施した。さらに、長期持続感染のモデルとして 12 か月後のサンプルを回収する。これまで動物へ定着しないと考えられた菌株において感染経過中に菌数が増加してきたことが明らかとなったため、連続流動培養装置を使って 2 菌株の長期間培養を実施した。継続的に培養液を回収し電子顕微鏡による観察を実施した結果、培養経過において螺旋状菌と球状菌の比率に変化が認められ、動物に難感染性を示した菌株の球状菌の割合が易感染性の菌株と比べて高くなっていることが示された。以上の結果を第 50 回日本細菌学会総会に発表した（平成 29 年 3 月 19-21 日）。また、保存しているサンプルからは RNA を抽出しトランスクリプトーム解析の準備を進めている。

また、閉鎖空間における細菌の移動を調べるため、地下歩道空間の継時的な空中浮遊細菌のサンプリングを北海道大学で実施した。サンプルは杏林大学共同研究施設にてメタゲノム解析を実施した。その結果、空中細菌数と相関する因子として、ヒトの動き、環境中の湿度と温度などが明らかとなった。本研究結果は ProsOne 誌へ投稿準備中である。

## 66. 非小細胞肺癌から小細胞肺癌への形質転換現象とリプログラミング現象との関連性の検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
菅間 博	医学部病理学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
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
佐藤 華子	聖マリアンナ医科大学	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	准教授	分子病理学的解析、免疫組織化学的解析

## キーワード

肺癌、小細胞癌、非小細胞癌、形質転換、リプログラミング

## 研究分野

病理学

## 1. 共同研究の目的

EGFR 遺伝子変異のある肺線癌患者への Tyrosine kinase inhibitor 投与により、腺癌細胞に小細胞癌への形質転換が惹起されるとの報告が近年相次いで報告されている。また我々は非小細胞肺癌細胞への POU 遺伝子導入により小細胞肺癌への形質転換を起こすことに成功し、その過程でリプログラミング現象が引き起こされていることを *in vitro* において確認した。本共同研究では、複合型小細胞肺癌/大細胞神経内分泌癌組織において、同様のリプログラミング現象が惹起されているか否かについて検討することを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

小細胞肺癌、大細胞神経内分泌癌、および複数の組織型を示す神経内分泌肺癌（複合型小細胞肺癌/大細胞神経内分泌癌）の組織切片を用い、リプログラミングに関与する分子の転写産物に対するプローブを用いた *in situ hybridization* を行うことにより、リプログラミング現象の有無について検討する。対照には肺腺癌、肺扁平上皮癌の組織切片を用いる。

## 3. 研究成果（経過）

肺癌細胞における神経内分泌形質獲得機序について検討し、神経系細胞の分化制御機構の極めて上流に位置する転写因子 POU3F4 あるいは POU4F2 を遺伝子導入することにより、非小細胞肺癌細胞を神経内分泌癌細胞に形質転換させることに成功した。さらに、POU3F4/4F2 遺伝子導入により形態変化の見られた大細胞癌株（TKB5）を NOD-SCID マウスの皮下に接種することにより形成された腫瘍は、形態的に小細胞肺癌に酷似し、癌細胞の核および、細胞質は小型化した。これらの遺伝子導入細胞について遺伝子発現解析を行ったところ、神経内分泌マーカー、TTF1、そして神経前駆細胞分化に関与している PLAGL1、TCF4、FOXG1 発現の増加が確認された。一方で、幹細胞化誘導因子や幹細胞マーカーの発現増加は認められなかった。以上より、本現象は単独遺伝子導入により惹起されたダイレクトリプログラミング現象であることが判明した。

第 106 回日本病理学会総会 2017 年 4 月 27・29 日、新宿にて発表。

## 67. 薬剤耐性菌感染症に対するファージ療法の確立に向けた基礎的研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
松田 剛明	医学部救急医学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
丹治 保典	東京工業大学	教授	ファージの分離、提供、解析
宮永 一彦	東京工業大学	助教	ファージの分離、提供、解析
神谷 茂	医学部感染症学	教授	ブドウ球菌属菌の解析
大西 宏明	医学部臨床検査医学	教授	ブドウ球菌属菌の分離、提供
花輪 智子	医学部感染症学	講師	臨床分離株の解析、ファージの活性測定

### キーワード

黄色ブドウ球菌、バクテリオファージ、ファージ療法、MRSA、MSSA

### 研究分野

感染症学

#### 1. 共同研究の目的

バクテリオファージ（以下ファージ）は宿主特異性が高く、感染宿主である細菌を溶菌し死滅させる一方で、ヒトの細胞には影響を与えない。現在の細菌感染症の治療は抗菌薬によるものが中心であるが、耐性菌の増加により新たな治療法の開発が必要となっている。

本研究ではファージ療法の確立を目的とし、治療に適したメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)を溶菌するファージのライブラリーを構築する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

〔研究内容〕 MRSA 臨床分離株等を用いてファージを単離し、溶菌活性、宿主域等を基にスクリーニングを行い、治療に適したファージライブラリーを構築する。

〔計画〕 MRSA を中心に黄色ブドウ球菌の臨床分離株 120 株の遺伝型、バイオフィーム形成能を検討し、実験に用いる株を選別する。都市下水処理場（東京都）の下水流入水より採取したファージを単離し、スクリーニングにより宿主域の広いファージを得る。さらに病原遺伝子、薬剤耐性遺伝子を含むファージを除き、広い宿主域をもつ安定なファージを選別し、これらの性状について解析を行う。

#### 3. 研究成果（経過）

本年度は大学倫理委員会に申請、承認された実験計画内容に従い、杏林大学付属病院で 2015 年および 2016 年分離されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌を用いて解析を行った。各菌株の選択に際して 1-2 月、4-5 月、7-8 月、10-11 月に分離された菌のうち、ATT を主として救急および、その他の診療科で分離された株のうち、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）については、116 株、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌（MSSA）については 40 株を選択した。また、MRSA についてはイミペネム耐性を指標にして市中感染型 MRSA (CA-MRAS)、院内感染型 (HA-MRSA) と推定される株をほぼ同数となるようにした。MRSA の遺伝子

型を決定には、Multiplex PCR である POT 法解析（関東化学）により行った。その結果、国内において近年流行している市中感染型が 6 株 MRSA がおよび世界的に分離されている院内感染型 MRSA が 41 株含まれていることが明らかとなった。さらに、この方法によりプロファージの分布も一部調査できる。これらの情報を基にファージ分離に用いる MRSA 10 株を選択した。

## 68. *Helicobacter pylori* 感染者における除菌治療後皮疹発生メカニズムの解明

### 研究代表者

氏名	所属	職名	研究分野
大崎 敬子	医学部感染症学	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	研究分野
阿部 理一郎	新潟大学	教授	エクソソーム解析
神谷 茂	医学部感染症学	教授	データの分析・助言
北条 史	医学部共同研究施設 実験動物部門	助教	動物実験

### キーワード

*Helicobacter pylori*、除菌治療、エクソソーム解析

### 研究分野

感染症学

#### 1. 共同研究の目的

*Helicobacter pylori* はヒトの胃に感染し、胃炎や胃潰瘍の原因細菌であり、胃癌のリスク因子である。感染者は抗生物質 2 剤とプロトンポンプインヒビターを組み合わせた除菌治療が勧められているが、治療後に高頻度で皮膚に発疹がみられる症例が 5% ほどの頻度で認められる。本研究は除菌後皮疹発生の免疫学的メカニズムを解明するために実施する。

#### 2. 共同研究の内容・計画

*H. pylori* 感染スナネズミは感染の確認後、一定期間観察し、クラリスロマイシン、アモキシシリン、プロトンポンプインヒビターを組み合わせた三剤併用除菌治療を施す。除菌後群、非除菌感染群、非感染群のスナネズミより、血清および小腸の採取を実施して、病理標本の作製と血清採取、さらに血清からはエクソソームを収集して、*H. pylori* 由来タンパク質の検出のために網羅的プロテオーム解析を実施する。

#### 3. 研究成果（経過）

*H. pylori* 感染者における除菌後皮疹発症メカニズムの解析のために、感染動物実験を実施しサンプリングを行った。スナネズミは *H. pylori* 感染後 5 週から、クラリスロマイシン、アモキシシリン、ランソプラゾールの 3 剤を併用し 1 週間、朝晩 2 回連続投与した。除菌後群、非除菌感染群、非感染群のスナネズミより、血清および小腸のバイエル板を採取した。現在、ギムザ染色および免疫染色を施した病理標本の作製と血清からはエクソソームを収集して *H. pylori* 由来タンパク質の検出のために網羅的プロテオーム解析を実施中である。解析結果のそろった時点で、不足しているデータがあった場合には追加の実験を計画する。十分なデータであると確認できた場合には、論文投稿へ向けて準備を進める。