

## 共同研究

## 目 次

### ①医学部

1. 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	191
2. 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	192
3. 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	193
4. ヒト iPS 細胞を用いた皮膚付属器再生	194
5. 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	195
6. 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	197
7. しびれ感覚を引き起こす感覚神経興奮メカニズム	198
8. ATP 受容体によるインスリン開口分泌調節機構の解明	199
9. 発汗機能からみる炎症性皮膚疾患の外用療法の検討	200
10. 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	201
11. 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	202
12. 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	203
13. 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	204
14. 糖尿病合併症新規マーカーの探索	205
15. ヒト唾液由来エキソソームの機能解析に関する研究	206
16. 近赤外光を用いたアブレーション装置の研究	207
17. 妊娠糖尿病における腸内細菌叢の変化	208
18. 尿路悪性腫瘍に対するアミノ酸トランスポーター阻害療法の基礎的検討	209
19. エレンタール® 摂取 (900kcal/day 摂取) による腸内環境変化検討	210
20. 多発性嚢胞腎に対する抗アミノ酸トランスポーター療法の検討	211
21. ディフィシル菌腸炎における糞便移植療法に変わる創薬への試み	212
22. ヒト脊髄内の代替神経システムを強化する新しい運動機能回復戦略	213
23. 熱傷創に対する脂肪由来再生細胞 (ADRCs) の有効性および安全性の検討	215
24. 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	216
25. (ラット/カイコ) -ハイブリッドNa <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase のK <sup>+</sup> 親和性	217
26. Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase・四量体分子への強心ステロイド (ウアバイン) の結合	218
27. 入射角可変式全反射蛍光 (V-TIRF) 顕微鏡による2相性インスリン分泌のイメージング解析	219
28. 依存症治療における香辛料の効果に関する研究	220

### ②保健学部

29. キチンによるアレルギー応答誘導機構の解明	223
30. LC-MS/MSによる合成ステロイド剤の高感度微量分析と体内動態解析	224
31. 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	225
32. 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	226

## 目 次

33. GEMを用いた放射線検出器の開発 .....	227
34. 機械学習を用いたMRIの撮像時間短縮技術に関する研究 .....	228
35. 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 .....	229
36. ラット神経前駆細胞由来分化ニューロンおよびヒトiPS由来運動ニューロンを用いた ADAR2ノックダウンによる .....	230
37. Digital Breast Tomosynthesis の画像評価 .....	231
38. 糖尿病性皮質脊髄路障害の病態解明 .....	232
39. 糖尿病に起因する横隔神経障害と運動単位の活動性の変化 .....	233
40. 疼痛感覚の質的表現を具現化する電気刺激システムの開発 .....	234
41. 皮膚体表面における水分蒸発量の計測および皮膚バリア機能評価に関する研究 .....	235
42. 血液型D抗原の発現制御メカニズムの解明 .....	236
43. 医用テレメータ使用環境下における院内電磁波環境の評価方法の検討 .....	237
44. 院内デイケアの活動による入院患者の日中活動係数、睡眠状態への影響 .....	239
45. インフルエンザ抗原検出試薬の発症初期での有用性の評価 .....	240
46. 高周波を用いた人工心肺装置の静脈リザーバ内貯液量連続モニタリング装置の研究開発 ...	241

① 医学部

## 1. 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	役割分担
小藤 剛史	医学部 RI 部門	助教	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
林 優子	県立広島大学	教授	臨床診断、患者試料収集
田丸 政男	県立広島大学	名誉教授	患者試料収集
赤川 公朗	医学部細胞生理学	名誉教授	ゲノム解析
藤原 智徳	医学部細胞生理学	非常勤講師	遺伝子発現解析、ゲノム解析
楊 國昌	医学部小児科学	教授	試料収集

## キーワード

自閉性障害、モノアミン、シntaxin 1 A、遺伝子発現異常

## 研究分野

神経科学

## 1. 共同研究の目的

これまでの当共同研究の成果から、シナプス小胞の開口放出を制御するシntaxin 1 遺伝子 (sy1A) の発現制御の障害とヒト自閉性障害 (ASD) の関連が明らかになった。本研究では患者の検体数を増やし、sy1A の発現量と臨床症状と関連の詳細を明らかにする。また、sy1A のアイソフォームの 1 つである sy1B 遺伝子の発現異常 (mRNA 発現量や CNV) についても解析し、多様な臨床症状との関連について精査する。

## 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患者の唾液試料および口腔内粘膜を採取し、ゲノム DNA を精製する。そのゲノム DNA を用いて定量的 PCR による CNV 解析、および SNPs 解析を行う。また、ゲノム DNA メチル化の動態についても解析する。ゲノム DNA のメチル化の動態に違いがみられた患者については、血液サンプルを採取し、RT-PCR による発現量解析を行う。これらの解析結果をもとに、特定の臨床症状と sy1A の発現量の相関について検討する。また、遺伝的背景について調べるため、患者の親族の遺伝子解析も行う。同様の解析を sy1B 遺伝子についても行い、シナプス機能の障害と自閉性疾患の関連について明らかにする。

## 3. 研究成果 (経過)

研究代表者・藤原智徳の異動に伴い、代表者を小藤剛史に変更した。

これまで自閉性障害患者 (ASD) の遺伝子解析により、その一部でシntaxin 1A (sy1A) 遺伝子数が半減している遺伝子数変異 (CNV) が存在することを明らかにした。sy1A 遺伝子と ASD の関連について、疫学的に十分な検体数を得るため、被験者への負担を軽減した唾液試料を用いたゲノム解析法を新規に確立した。その結果、知的障害の比較的軽い ASD において、高い頻度で sy1A 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 sy1A 遺伝子の発現量の変動が ASD 患者で確認された。そこで、sy1A 遺伝子の発現量に影響を与える可能性がある点突然変異および異常メチル化の有無についても検討したが、異常は見つからなかった。さらに、sy1A と同等の機能を担うと長年考えられてきたシntaxin 1B (sy1B) 遺伝子についても解析を行ったが、sy1B 遺伝子の異常は認められなかった。

本研究により、シナプス伝達を直接制御する sy1A が ASD に関与する重要な原因遺伝子の一つであり、sy1A 遺伝子の CNV や発現量の変動が ASD 患者で多数認められることが明らかとなった。

## 2. 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	役割分担
桶川 隆嗣	医学部泌尿器科学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小林 雅之	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. 現在、論文作成中である。

#### 3. 研究成果（経過）

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。

方法：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。

結果：CTC クラスターが存在する患者およびアンドロゲン受容体のスプライスバリエント（Androgen receptor and its splice variant：AR-V）7 変異のある患者はアビラテロンとエンザルタミドに初期耐性を示したため、クラスターの存在は治療効果予測のマーカーになりうる可能性が示唆された。

報告：本研究の一部は AR-V7 in circulating tumor cells cluster as a predictive biomarker of abiraterone acetate and enzalutamide treatment in castration-resistant prostate cancer patients. Okegawa T, et al. Prostate. 2018 Jun;78(8):576-582. に掲載された。

## 3. 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	役割分担
長谷川 浩	医学部総合医療学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
関根 道昭	交通安全環境研究所 自動車安全研究領域	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）

本年度は杏林大学および交通安全環境研究所において本研究参加可能な対象者 10 名を選出し、交通安全環境研究所において運転シミュレーターに乗っていただき運転の能力を分析した。

高齢ドライバにより事故予防のためにいくつかのハザードに対する運転特性を調査した。歩行者の急な飛び出しに対する反射的なブレーキ操作に関しては、健常高齢者は問題がなかったが、飛び出しの予測ができない軽度認知機能低下ドライバも存在し、潜在的なハザードが存在し、これらに対する支援法が必要と考えられた。また同様にこれらの対象者では、前方に自転車走行、横断歩道付近に歩行者が存在するハザードでは、走行中全体にアクセル操作とブレーキ操作を頻回に繰り返しており、踏み間違えのリスクの上昇が疑われた。本年度は以前のデータを含め全般的に解析を行い、本内容を独立行政法人自動車技術総合機構交通安全環境研究所の主催するフォーラム 2018 にて発表を行った。

また、本共同研究は本年度をもって終了とする。

#### 4. 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	役割分担
大山 学	医学部皮膚科学	教授	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
岡野 栄之	慶應義塾大学 医学部生理学教室	教授	ヒト iPS 細胞の供給・分化誘導法指導

##### キーワード

再生医学、ヒト iPS 細胞、分化誘導、皮膚、付属器
----------------------------

##### 研究分野

再生医学・皮膚科学
-----------

#### 1. 共同研究の目的

本研究は瘢痕性脱毛症などの難治性皮膚疾患の再生医療実現の技術的基盤としてのヒト 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。共同研究者から既にライン化されたヒト 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期待できる。共同研究者には我々が開発した技術を還元する。

#### 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使用されているヒト 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、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（間葉系幹細胞・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）

本研究では、共同研究者の施設で、あるいは商業的に確立しフィーダーフリー化されたヒト iPS 細胞から皮膚を構成する二つのコンポーネント（上皮系のケラチノサイトと間葉系細胞）を分化誘導しそれらを 3 次的に組み合わせることでヒト付属器を再現することを目的としている。

本年度は、昨年度に引き続き、ヒト細胞から作成した 3 次元培養皮膚を用いて毛包発生に必須なケラチノサイトと間葉系細胞間の相互作用を増強する方法を検討した。これまで検討した WNT シグナル活性化因子に加えて、SHH、EDA シグナル活性化因子を正常皮膚由来 3 次元培養皮膚に作用させたところ、それぞれ異なった毛包関連因子の発現が増強することが明らかとなった。次いで複数の因子を組み合わせると一部毛包関連因子の発現について相乗効果がみられた。次いで、ヒト iPS 細胞を用いて同様の実験を行ったが、ヒト iPS 細胞由来の細胞は各種因子の組合せ培養状況では生存率が低く、遺伝子レベルではいくつかの毛包関連遺伝子の発現の増強を確認できたが、構造体の形成にはさらなる技術的な改良が必要であることがわかった。特に iPS 細胞からケラチノサイトを誘導する際に、継代培養すると生存率が低下することから継代せず直接間葉系細胞からなる人工真皮に播種するなどの工夫を加えることを検討している。

## 5. 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	役割分担
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	役割分担
仲田 大輔	東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部開発部	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	特任教授	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、早期発見、糖鎖修飾 RNase1

## 研究分野

膵臓

## 1. 共同研究の目的

膵臓の早期診断には大きなブレイクスルーは生まれず、医療機器の進歩にもかかわらず膵臓診断時の各ステージの割合は有意な変化を認めていない。切除可能な膵臓症例を増やすためには、医療機関の努力だけでは不十分であり、国民自らが健康をセルフチェックするシステムの構築が必要であると考えている。そのためには、低侵襲で簡便な、そして安価なスクリーニングシステムの開発が求められており、その一貫として、膵臓癌検出における糖鎖修飾リボヌクレアーゼ 1 (RNase1) の有用性について検討する。主要評価項目：糖鎖修飾リボヌクレアーゼ 1 (RNase1) による膵臓癌の特異的な検出率

## 2. 共同研究の内容・計画

<研究 1>

①当院を受診した新規膵臓癌症例 50 例、②当院を受診し膵臓癌が否定され症例 100 例の 150 例を対象とする。上記症例において、残検体を使用し、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リボヌクレアーゼ 1 (RNase1) の有用性について検討する。尚、膵臓癌症例は、病理組織学的検査にて組織検体で Group4, 5 あるいは細胞診で ClassIV, V の診断に至った症例を登録し解析する。② の症例は、1 ヶ月以内に腹部 CT あるいは MRI、超音波内視鏡などの画像検査で膵臓癌が否定された症例とする。

<研究 2>

研究 1 で得られたデータを元にカットオフ値を設定し、膵臓癌と診断された新たな症例 50 例を対象として、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）

2019 年 3 月 9 日現在、膵臓癌症例 125 例、対照症例 90 例の登録を終了しております。引き続き症例の登録を行ってまいります。以下の内容で 2018 年 11 月 1 日の JDDW2018 神戸で成果を発表させていただきました（下記抄録）。

【目的】近年増加傾向にある膵臓癌は、診断時すでに切除不能な症例が多いことから固形癌の中でも予後不良の癌とされている。切除可能症例を増やすためには低侵襲で簡便なスクリーニングシステムの開発が求められる。そこで、我々は、新規膵臓癌診断マーカーとしての糖鎖修飾 RNase1 に着目し、代表的な膵臓癌マーカーである CEA, CA19-9, SPAN1, DUPAN2 と比較し、その有用性について検討した。【方法】膵臓癌の確定診断に至った 66 例と、東ソー（株）でボランティアにより提供された健常者血清 50 例を対象と

した。「糖鎖修飾 RNase1」測定試薬（東ソー製）を用いて G3/t 比を求め、CEA, CA19-9, SPAN1, DUPAN2 と膵癌診断能を統計学的に比較検討した。G3/t 比とは、血清中 RNase1 分子の 88 番目 Asn 残基における N 型糖鎖の付加比率である。【成績】膵癌診断における G3/t 比の ROC 解析では AUC0.949 と高い診断能が得られた。最適なカットオフ値は 0.0583 で、感度 78.8%, 特異度 98%であった。cStage I, II, III, IV による陽性的中率は、G3/t 比 57, 100, 85, 74%, CEA で 14, 38, 31, 64%, CA19-9 で 71, 88, 69, 79%, SPAN1 で 50, 71, 69, 97%, DUPAN2 で 29, 29, 38, 79%であった。切除可能群 (n=17) と切除不能群 (n=49) の 2 群に分けて各項目の陽性的中率を評価すると、それぞれ G3/t 比 (82%, 78%), CEA (29%, 58%), CA19-9 (71%, 82%), SPAN1 (60%, 94%), DUPAN2 (38%, 69%)であった。【結論】糖鎖修飾 RNase1 の測定による膵癌の診断率は、切除可能症例において CA19-9, SPAN1 と比較し有意差はなかったが、82%と高かった。また、CEA, DUPAN2 との比較では有意差をもって診断率は高く、糖鎖修飾 RNase1 は切除可能膵癌発見において有用である可能性が示唆された。

## 6. 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	役割分担
大西 宏明	医学部臨床検査医学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
松本 壮吉	国立大学法人新潟大学	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、肺癌

## 研究分野

微生物学

## 1. 共同研究の目的

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、膝液、胆汁など）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、肺癌患者において肺癌組織中の細菌の存在について検討し、これらの菌の存在と肺癌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、膝液、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。
- ・ 肺癌患者の摘出肺癌組織中から DNA を抽出し、16SRNA 特異的 PCR により菌の存在を検討する。
- ・ 特定の疾患との関連が疑われた菌について、動物へ接種し病理学的に検討する。

## 3. 研究成果（経過）

本研究では、*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った結果、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。今年度は、口腔内の洗浄液を収集し、直接遺伝子抽出を行って抗酸菌専用 16SrRNA プライマーを用いて抗酸菌の検出を試みた。その結果、*M. helvum*, *M. vaccae* 等の抗酸菌が共通して検出された。これらの菌はヒト口腔内における常在菌としての報告は無く、歯科口腔疾患等への関与の可能性を今後検討すべきと考えられた。また、抗酸菌は川崎病との関連の可能性を指摘されており、*M. intracellulare* の接種により川崎病に類似の心血管病変が生じたという報告が見られる。そのため、川崎病のモデル動物として BCG 菌を接種したマウスに、*M. kyorinense* の菌体抽出物を接種した。今後、心血管病変について病理学的に検討し、本菌と川崎病との関連について検討を行っていく。

## 7. 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	役割分担
八木 淳一	医学部統合生理学	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小林 靖	防衛医科大学校 解剖学講座	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、虚血、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、しびれ感覚を引き起こす神経機構は未だ解明されていない。本申請者は、新規の記録法を開発し、組織の虚血状態で痛みの神経とは異なる「中閾値一触覚型神経」が放電することを見出した。平成 30 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、虚血状態でしびれ感覚を引き起こす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「麻醉下ラット標本-感覚神経パッチクランプ法」を用い、ラットの足首をマンシェットで圧迫し虚血性のしびれを実験的に再現して、その時の感覚神経の放電活動を記録する。この放電活動については、虚血による組織酸性化によって引き起こされるとの仮説を立てている。平成 30 年度は、酸性液、酸感受性イオンチャネルの遮断薬等を用い、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の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、しびれ感覚を引き起こす神経機構は未だ解明されていない。本申請者は、独自に開発した「麻醉下ラット標本-脊髄後根神経節(DRG)ニューロンパッチクランプ法」を用い、ラットの足首をマンシェットで圧迫し虚血性のしびれを実験的に再現して、その時の感覚神経の放電活動を記録した。これまでに、組織の虚血状態で痛みの神経(Class I DRG ニューロン)とは異なる「中閾値一触覚型(Class II) DRG ニューロン」が放電することを見出した。Class II DRG ニューロンは、電気生理学的特徴として、神経の興奮性を抑える働きを持つ「一過性K<sup>+</sup>チャネル」を高密度に発現し、酸性液の刺激により酸感受性イオンチャネル(ASIC)様の電流を発生した。虚血下の組織酸性化が神経の興奮を促すことが示唆されるが、どのような機序で放電するのか、その詳細は未だ不明である。来年度は引き続き、電気生理学的手法と免疫組織学的手法を併用して、虚血状態でしびれ感覚を引き起こす神経機構の解明を目指す。

## 8. 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	役割分担
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	役割分担
青柳 共太	医学部生化学	講師	インスリン開口分泌解析
牧山 智彦	医学部生化学	助教	$\beta$ 細胞のイメージング解析
津田 誠	国立大学法人 九州大学大学院 薬学研究院	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

膵 $\beta$ 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。昨年度までの共同研究により、妊娠期インスリン抵抗性状態において、ATP 受容体である P2X7 受容体が $\beta$ 細胞からのインスリン分泌を促進的に調節していることを見出した。本年度は肥満によるインスリン抵抗性状態でも妊娠期と同様に P2X7 受容体が $\beta$ 細胞からのインスリン分泌を促進的に調節するのか、またその分泌調節機構を高脂肪食下の P2X7 ノックアウトマウス、P2X7-GFP ノックイン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<sup>2+</sup>測定法、生化学的解析等により明らかにする。

## 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 のインスリン開口分泌への制御は不明な点が多い。本研究では正常時（非妊娠期）とインスリン抵抗性状態である妊娠期における ATP 受容体（P2X7 受容体）刺激に対するインスリン分泌変動を比較検討し、P2X7 受容体によるインスリン分泌調節機構を明らかにすることを目的とした。

妊娠期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。P2X7 受容体阻害剤処理および P2X7 受容体欠損マウスから調製した $\beta$ 細胞でのインスリン分泌を解析した結果、非妊娠期 $\beta$ 細胞からのインスリン分泌への影響は見られなかったが、妊娠期では、阻害剤処理また P2X7 受容体欠損によりインスリン分泌亢進が阻害された。また、妊娠期 $\beta$ 細胞ではグルコース刺激による細胞外への ATP 放出量が非妊娠期 $\beta$ 細胞より有意に増加していること、また ectonucleotidase 阻害剤の効果の解析により、妊娠期では ATP 放出の増加により、低感受性 P2 受容体である P2X7 受容体が autocrine-paracrine により活性化され、代償性インスリン分泌亢進が引き起こされることが示唆された。以上の結果より、P2X7 受容体は非妊娠期でのインスリン分泌への調節効果はないが、妊娠期でのインスリン分泌亢進に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

## 9. 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	役割分担
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	役割分担
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 (本学医学部医学研究生)	研究員 (研究生)	水分量や発汗の評価

### キーワード

炎症性皮膚疾患、角質水分量、発汗、ステロイド外用剤、保湿剤
-------------------------------

### 研究分野

皮膚免疫学
-------

#### 1. 共同研究の目的

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

本研究では、アトピー性皮膚炎および高齢者に多い皮脂欠乏性湿疹、蕁麻疹様皮膚炎を対象に発汗機能とステロイド外用量、その使用法を検討してきた。いままでに得られた知見を元に、上記以外の疾患に対する適切な外用療法を発汗機能をふまえて検討する。具体的には、発汗異常が発症機序に関与していると考えられる扁平苔癬、結節性痒疹やアミロイド苔癬などの難治性皮膚疾患を対象とする。各種外用による皮膚所見改善前後による治療評価と皮膚角質水分量 (SSH)、発汗機能測定を合わせて行う。また、マウス耳介や足趾でも外用による SSH、発汗機能測定も行う予定である。

#### 3. 研究成果 (経過)

炎症性皮膚疾患の治療のために、より効率的な外用療法を確立するため、発汗が炎症性皮膚疾患の発症に関与する機序の一端を解明しようと考えた。炎症性皮膚疾患としては扁平苔癬 (Lichen planus; LP) を対象とし、1. 発汗機能の測定として、発汗負荷による発汗量、皮膚角質水分量 (SSH)、皮膚バリア機能 (TEWL) を行った。2. 発汗量は鋳型法 (IM 法) により質的、量的に測定を行い、解析した。3. 組織内での汗の漏出の有無および炎症性細胞浸潤の誘導機序を明らかにするために各種免疫組織学的検討を施行した。

結果として、1. LP では病変部のみでなく病変部周囲の SSH および IM 法による発汗低下が確認され、発汗の低下が結果ではなく病変の初期段階で生じていることが判明した。

2. 免疫組織学的検討で、表皮内汗管から表皮内に汗の漏出が生じ得ることが確認された。また汗に含まれるケモカインが炎症性細胞浸潤を誘導している可能性を明らかにすることができた。1 で得られた結果同様に、初期病変部でも同様の所見を確認し、汗の漏れが LP の病態形成に関与していることを明らかにした。今後はこれらの知見を元に、本疾患への効率的な外用療法の確立を目指す予定である。

## 10. 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	役割分担
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	役割分担
吉田 寿美子	国立精神・神経医療研究センター	臨床検査部部長	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	試料の解析
小藤 剛史	医学部 R I 部門	助教	試料の解析

## キーワード

統合失調症、シンタキシン 1 B、遺伝子発現異常

## 研究分野

神経科学

## 1. 共同研究の目的

中枢神経には、シナプス伝達の制御に関わる syntaxin1A 遺伝子(sy1A) とその類似遺伝子である syntaxin1B (sy1B)が発現している。我々は、これらの遺伝子を欠損したマウスの表現型が、ヒト精神神経疾患でみられる障害と類似していることを明らかにした。また、ヒトの自閉性障害患者の一部において sy1A の発現異常が、みられることを明らかにした。本研究は、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 試料を用い、Copy Number assay により sy1B および sy1A 遺伝子のコピー数をの異常の有無を調べる。また、遺伝子ゲノムのシーケンス解析を行い、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メチル化の程度を調べる。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）

研究代表者の藤原智徳の異動に伴い、代表者を小藤剛史に変更した。  
シンタキシン 1 (sy1) は、中枢神経においてシナプス伝達の制御に関わっており、sy1A と sy1B の 2 種類が存在する。我々は sy1A を欠損したマウスが情動行動異常を、sy1B を欠損したマウスが統合失調症様の行動障害を生じることを明らかにした。また、ヒトの自閉症患者の一部において sy1A 遺伝子のコピー数が半減することを報告した。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。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、Copy Number assay により sy1A および sy1B 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、計 200 例の遺伝子解析を行ったが、コピー数の異常は認められていない。また、遺伝子配列の解析が継続中であるが、現在のところ変異は見つかっていない。今後、遺伝子配列の解析を継続し、さらに一塩基多型について検討する。また、発現調節領域等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。

## 11. 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	役割分担
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	役割分担
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	課長代理	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

中心静脈穿刺では気胸や動脈穿刺などの合併症リスクがあり、超音波ガイド下で穿刺しリスクを低減する手技が広まってきている。しかしながらきちんとした手技を理解して習熟した上で超音波ガイドを使用しなければ合併症の低減や成功率の上昇は期待できない。このためトレーニングは必須である。今回、新たな技術によるニードルガイドで、より安全性の向上やラーニングカーブ改善の可能性があるため、その有用性について研究を実施したい。

#### 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点についての研究を計画した。  
薬事承認済みの機能ではないため、研究は全てファントムを用いた非臨床（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）

新技術の針の磁性化によるニードルガイドについて、以下の研究を実施した。薬事承認済みの機能ではないため、研究は全てファントムを用いた非臨床（被験者は当大学スタッフ）で行った。

中心静脈穿刺での有用性検討：研究の結果、ニードルガイドの有効性を示すことができた。この技術を用いることで中心静脈穿刺の安全性は著しく向上することが期待できる。この結果は、臨床麻酔学会第37回大会（平成29年11月5日）のランチョンセミナー（演者：渡辺邦太郎）で発表した。また下記の論文として公表した。

Watanabe K, Tokumine J, Lefor AK, Motoyasu A, Moriyama K, Yorozu T.

A Shallow Angle Short-Axis Out-of-Plane Approach Reduces the Rate of Posterior Wall Injuries in Central Venous Catheterization: A Simulation Study.

Biomed Res Int. 2018 Sep 10;2018:4793174. doi: 10.1155/2018/4793174. eCollection 2018.

## 12. ヒト iPS 細胞を用いた真皮毛根幹細胞への分化誘導の試み

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
大山 学	医学部皮膚科学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
岸本 治郎	資生堂ライフサイエンス 研究センター再生医療開発室	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 研究センター再生医療開発室	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 研究センター再生医療開発室	グループリーダー	分化誘導細胞の特性解析

## キーワード

再生医学、ヒト iPS 細胞、分化誘導、皮膚、真皮毛根幹細胞

## 研究分野

再生医学・皮膚科学

## 1. 共同研究の目的

真皮毛根幹細胞は毛誘導能のある間葉系細胞であり脱毛症の罹患部への注入により症状改善効果を示すことが期待される。しかし、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、あるいは CiRA などの学術機関により供給されるヒト iPS 細胞から申請者らの確立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する。間葉系幹細胞を、同定したシグナル経路の活性化因子存在下に培養する、あるいはヒト毛乳頭細胞との共培養することにより分化誘導し加え真皮毛根幹細胞の作成を試みる。また、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分化誘導して得られたヒト iPS 細胞由来間葉系幹細胞に毛包発生に重要とされるシグナル経路の活性化因子などを作用させ真皮毛根幹細胞のマーカーの発現変化の検討を引き続き行った。また、両施設にてヒト iPS 細胞のフィーダーフリーでの培養技術の統一化・最適化を試み、安定した培養が可能になった。ヒト真皮毛根幹細胞の生物学的特性を検討する方法の開発の一環として、ヒト毛乳頭細胞の特性を培養下で向上させる培養技術の確立を試みた。毛包発生に必要な WNT シグナル系をはじめとするいくつかのシグナル経路の活性化因子を組みあわせることで、毛乳頭マーカーの発現の増強がみられた。今後、さらなる因子の組合せの最適化をはかるための技術的基盤を構築することができた。今後、確立した条件でヒト真皮毛根幹細胞を培養し、毛乳頭細胞の特性をどの程度示すかについて検討する予定である。

### 13. 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	役割分担
窪田 博	医学部心臓血管外科学	教授	統括

#### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
清水 一夫	東北大学大学院 医工学研究科運動学分野	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 流体科学研究所 太田研究室	准教授	評価システムの全体設計
于 凱鴻	東北大学 流体科学研究所 太田研究室	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）

様々な臓器の焼灼を近赤外光により焼灼するにあたり、その条件を明確にする必要がある。そこで、心筋臓器を使ってまず、in vitro 実験を行った。①その結果、心筋表面が焦げない条件として、近赤外線出力35%、(4秒照射-6秒消灯)を7回と近赤外線出力35%、(2秒照射-3秒消灯)を10回実施するという条件を見出した。②次にIn vitroで臓器の焼灼を行い、焼灼状況を比較したところ、AtriCureで3.3~5.8mm、本装置で3.7~5.5mmの焼灼深さのデータが得られた。これらの条件を基に、動物実験を実施した。心臓の焼灼を行うにあたり、焼灼条件を上記2つに絞り、実験用動物（家畜ブタ）を用いて、評価を実施した。比較装置として、AtriCure製RF焼灼装置を用い、心筋の焼灼状況を本装置と比較した。病理標本を作成して、焼灼距離を計測した結果、AtriCureは1.2mm、本装置で0.5mmの中央値を得た。また、貫壁、内膜保持、血栓形成に関して、病理学的の差異はないと判定した。

## 14. 糖尿病合併症新規マーカーの探索

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
秋元 義弘	医学部解剖学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
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 老化ゲノム機能研究チーム	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 老化ゲノム機能研究チーム	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 糖尿病・代謝・内分泌内科	副部長	プロテオーム研究の指導、遂行

## キーワード

糖尿病、O-GlcNAc、複合糖質、糖鎖生物学、グライコプロテオミクス

## 研究分野

組織化学

## 1. 共同研究の目的

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

## 2. 共同研究の内容・計画

糖尿病モデル動物の腎臓、神経、網膜、膵臓、血液 並びにヒトの組織と血液を用いて、O-GlcNAc の修飾が変化する蛋白質を調べる。さらに変動の認められたタンパク質について局在の変化を免疫組織化学的に検討する。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）

腎臓におけるリン酸化アクチンと O-GlcNAc 化アクチンの役割を解明することを目的に、アクチンのアミノ酸配列の中で O-GlcNAc 化とリン酸化の修飾が競合して起こるセリン残基の一つに注目し、リン酸化ペプチドおよび O-GlcNAc 化ペプチドを抗原として特異的抗体を作製し、この抗体を用いて免疫組織化学的にラット腎臓におけるリン酸化アクチンと O-GlcNAc 化アクチンの局在を調べた。その結果、リン酸化アクチンと O-GlcNAc 化アクチンは糸球体上皮細胞の細胞質のみならず核に局在すること、また尿細管上皮細胞の核や微絨毛に局在することが明らかになった。さらに、培養糸球体上皮細胞を用いて局在を比較検討した。

## 15. ヒト唾液由来エクソソームの機能解析に関する研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
秋元 義弘	医学部解剖学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
川上 速人	医学部解剖学	教授	研究の立案、指導
矢ノ下 良平	帝京平成大学薬学部 膜機能研究ユニット	教授	研究の統括
小川 祐子	帝京平成大学薬学部 膜機能研究ユニット	准教授	エクソソームの単離、成分解析
三浦 ゆり	東京都健康長寿医療センター研究所 老化ゲノム機能研究チーム	副部長	プロテオーム解析

### キーワード

唾液、エクソソーム、生体防御機構、電子顕微鏡解析
--------------------------

### 研究分野

組織化学
------

#### 1. 共同研究の目的

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

#### 2. 共同研究の内容・計画

① 唾液エクソソーム中に含まれる RNA を蛍光標識し、各種培養細胞への取り込みを蛍光顕微鏡や FACS 等で観察する。エクソソームの RNA 由来のタンパク質の発現はウェスタンブロットングや、免疫蛍光染色で確認する。②野生型のマウスの口腔に蛍光標識したエクソソームを取り込ませ、一定時間経過後にマウスを無苦痛処理により殺処分し、消化管等から蛍光を指標にエクソソームの分布を検出する。エクソソームが集積している臓器、組織については組織切片を作成して、細胞内での局在を検討する。

#### 3. 研究成果（経過）

エクソソームは、エクソサイトーシスにより分泌される膜小胞である。唾液エクソソームはサイズと構成成分によりエクソソーム I (Exo I) と II (Exo II) に分けられる。Exo II は LPS を含有しているが、Exo II によるマクロファージ (Mφ) からの NO 産生は全唾液 (WS) に対して低い。そこで WS の精製過程の各画分及び Exo II をリクロマトグラフィーした画分について、構成成分と NO 産生の関係を検討した。

画分ⅢとⅣには主に IgA が含まれていた。LPS は WS 中の約 60%が遠心濃縮の通過画分に画分されたが、ゲルろ過後は、Exo 画分と一致したピークとして検出された。NO 産生は画分Ⅲ≒Ⅳ>Ⅰ≒Ⅱの順となった。EV-A の NO 産生は画分Ⅱ(ExoⅡ)より増強し、WS と同等であった。以上より、ExoⅡ表面には LPS および IgA が緩く相互作用し、NO 産生を抑制していることが考えられた。

## 16. 近赤外光を用いたアブレーション装置の研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
窪田 博	医学部心臓血管外科学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
清水 一夫	(株)ニューロシューティカルズ	開発部長	アブレーション装置の開発
三池 信也	(株)ニューロシューティカルズ	代表取締役	アブレーション装置の開発
中島 章夫	保健学部臨床工学科	准教授	アブレーション装置を使って、治療効果等の検証を行い、かつ、安全性に対する評価を行う。

## キーワード

心臓、近赤外光、光凝固、光アブレーション、医療機器

## 研究分野

心臓外科学

## 1. 共同研究の目的

近赤外光を用いたアブレーション装置の研究開発を実施することを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

ハロゲンランプを使用し、近赤外光による組織の焼灼を行うことで筋組織深部まで焼灼が可能になるという研究代表者のこれまでの研究成果を基にニューロシューティカルズ社が医療機器の開発を担当し、研究代表者等は、杏林大学において、治療効果等の検証と安全性に対する評価を行う。

## 3. 研究成果（経過）

近赤外光を用いた光アブレーションを内視鏡手技で行うことを目指し、新しい構成により、共同研究先企業で開発を行っているが、焼灼温度が上がらず、装置の完成にいたっていない。従来構成は石英ロットとハロゲンランプをプローブ上に持つ構成であるが、内視鏡手技を念頭にハロゲンランプ光源装置と赤外光の射出プローブを分離し、ファイバーで接続する構成を取っている。このため、光源装置からの赤外線光を効率良く、射出プローブまで伝送することが重要となるが、石英の光学特性は赤外光に対して、伝送効率が悪いことが知られており、装置開発には時間を要している。例えば、石英の伝送効率が悪い場合、目標温度まで温度上昇を考え、光量を上げると、プローブ保持部の温度上昇を伴うため、対策が必要となる。また、光量増加は可視光の増加を伴うため、術者の保護を考え、可視光の減光量を増やす必要がある。また、ハロゲンランプは構造上、集光には向かないことも判ってきており、他の光源の検討を含めて、共同研究先企業で行っている。

## 17. 妊娠糖尿病における腸内細菌叢の変化

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
田中 啓	医学部産科婦人科学	助教	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
岩下 光利	医学部産科婦人科学	教授	研究デザイン
宮澤 賢司	タカナン乳業㈱	商品研究所 チーフ	計測・解析
何方	タカナン乳業㈱	商品研究所 所長	計測・解析

### キーワード

妊娠糖尿病、腸内細菌叢、インスリン抵抗性
----------------------

### 研究分野

産科婦人科
-------

#### 1. 共同研究の目的

近年、生活習慣病、特に糖尿病と腸内細菌叢との関連が明らかになってきている。妊娠糖尿病は、妊娠中のインスリン抵抗性上昇に伴って、血糖コントロールが悪化する妊娠関連合併症である。妊娠糖尿病を罹患した女性は、将来の糖尿病予備軍とも考えられている。しかし、妊娠糖尿病妊婦と正常妊婦で、腸内細菌叢に違いがあるのかは明らかにされていない。日本人妊婦における妊娠糖尿病の罹患と腸内細菌叢の関係を明らかにする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

杏林大学医学部付属病院産科通院中の妊娠糖尿病妊婦・正常妊婦（20例ずつ）の便検体よりDNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いて腸内細菌叢の解析を行い、両者の傾向を比較する。研究の説明、参加登録、検体回収は杏林大学産科婦人科学教室が行う。DNA抽出および次世代シーケンサーを用いた腸内細菌の解析をタカナン乳業研究所で行う。臨床的な患者情報を含めたデータの分析は杏林大学産科婦人科学教室（研究代表者）が行う。

#### 3. 研究成果（経過）

平成30年4月より、研究計画書の通りに研究参加者をリクルートした。

平成31年3月までに、同意の得られた38名に研究に参加してもらい、検便検体を回収した。

（うち19名は回収途中）

予定症例数は40名を計画しているため、ひきつづき残り2名のエントリーを募集する。

すべての検体が回収できたのちに、次世代シーケンサーによる計測と解析に進む予定である。

## 18. 尿路悪性腫瘍に対するアミノ酸トランスポーター阻害療法の基礎的検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
櫻井 裕之	医学部薬理学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
澤崎 晴武	多摩北部医療センター泌尿器科	医長	細胞培養、生化学的解析

## キーワード

尿路悪性腫瘍、化学療法、アミノ酸トランスポーター

## 研究分野

腫瘍薬理学

## 1. 共同研究の目的

尿道癌、膀胱癌などの尿路悪性腫瘍は、手術適応でなくなると予後が悪い。腫瘍細胞特異的に発現する LAT1 を標的とした治療が有効であるか、そうであるならメカニズムについて検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

尿路悪性腫瘍の細胞株を入手し、シスプラチン耐性株を樹立する。親株と耐性株についてアミノ酸トランスポーターLAT1 の発現を RTPCR やウエスタンブロット、免疫染色にて評価する。

LAT1 を標的とした阻害薬で細胞株の増殖が阻害されるかを検討する。特に親株と耐性株につき、アミノ酸トランスポーター阻害療法への感受性に差があるかに注目して評価を行う。

## 3. 研究成果（経過）

様々な尿路悪性腫瘍の細胞株を入手し、アミノ酸トランスポーターLAT1 の発現を RTPCR やウエスタンブロット、免疫染色にて評価した。それらの細胞株が、LAT1 を標的とした阻害薬で細胞株の増殖が阻害されるかを検討中である。

## 19. エレンタール®摂取（900kcal/day 摂取）による腸内環境変化検討

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
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	役割分担
福田 真嗣	株式会社メタジェン	代表取締役社長	腸内環境関連データの取得・解析
影山 陽子	味の素株式会社 バイオフィン研究所	グループ長	血中アミノ酸濃度データの解析

### キーワード

成分栄養剤、アミノ酸、腸内環境、メタゲノム解析、クローン病
-------------------------------

### 研究分野

消化器内科学
--------

#### 1. 共同研究の目的

本研究では健康人を対象とし、Half-ED (ED;elemental diet)投与（900kcal/day）による腸内細菌および腸内環境変化を明らかにする。

健康人に Half-ED 療法を 2 週間実施し、腸内細菌叢および代謝を検討することで腸内環境変化を検出できるか研究を実施する。本検討により、クローン病に対する栄養療法の作用メカニズム解明に向けた基礎的データを得、次の研究構想に発展させることを目指す。

#### 2. 共同研究の内容・計画

ED は、1 日あたり 900kcal の投与量を 2 週間毎日経口投与し、2 週間後の腸内環境変化およびその後通常食に戻した後の回復性について検討する。

ED 開始前後について便検査、血液検査による腸内細菌叢の変化を調査する。4 症例それぞれにおける変化を検討することで、健康人における ED の影響を評価する。

臨床サンプルおよび被験者の基礎データは杏林大学医学部にて取得する。

腸内環境の変化については、株式会社メタジェンにおいて 16S rRNA 解析、メタゲノム解析、代謝物解析を実施する。血中アミノ酸変化については、膨大な健康人血中アミノ酸データを保有する味の素株式会社にて解析を実施することで、ED 摂取による血中アミノ酸変化の有無を検討する。

#### 3. 研究成果（経過）

本研究は健康人を対象とし、Half-ED (ED;elemental diet)投与（900kcal/day）による腸内細菌および腸内環境変化を明らかにすることを目的に実施した。

<対象者>健康人 4 名 (M3 F1)

<進行状況>腸内環境関連データおよび栄養関連の血中濃度データの取得が完了し、データが固定され、解析が終了した。

<有害事象>有害事象の発生はなかった。

<データ解析および結果>

Half-ED によっても、腸内細菌叢が変化することが確認できた。個人によって、その変化が通常食戻し後も継続するタイプと、回復するタイプに分かれる可能性が示唆された。腸内代謝物では、脂肪摂取の低下に因ると思われる、1 次胆汁酸の増加が確認された。エレンタールにおける下痢発現および抗炎症効果の要因である可能性がある。

血中アミノ酸濃度も、Half-ED 投与によって変化することが確認できた。例えばメチオニンの増加に対し、その増加を是正するように食事戻し後はシステインの増加を認めるなど、Half-ED 投与はアミノ酸代謝に変化を与え、アミノ酸によっては食事戻し後 2 週間後にも影響していることが明らかとなった。

## 20. 多発性嚢胞腎に対する抗アミノ酸トランスポーター療法の検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
櫻井 裕之	医学部薬理学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
西尾 沙織	北海道大学医学部	准教授	モデルマウスの解析
木村 徹	医学部薬理学	学内講師	モデル細胞での実験

## キーワード

多発性嚢胞腎、アミノ酸トランスポーター

## 研究分野

薬理学

## 1. 共同研究の目的

遺伝性腎疾患の中で最多の末期腎不全の原因となる多発性嚢胞腎に対して、アミノ酸トランスポーターの阻害が有効か検討する。

## 2. 共同研究の内容・計画

北大西尾博士の所有する多発性嚢胞腎モデルマウスにアミノ酸トランスポーター阻害薬を投与して疾患の進行を抑制できるか評価する。本学薬理学教室では、すでに入手済みの多発性嚢胞腎モデル尿細管細胞を阻害薬存在下で培養し、細胞内信号伝達経路への影響を調べ、有効性のメカニズムを解明する。

## 3. 研究成果（経過）

多発性嚢胞腎モデルマウスにアミノ酸トランスポーターの阻害薬を投与することにより、腎嚢胞の形成が抑制された。多発性嚢胞腎マウスより単離した尿細管細胞は阻害薬により増殖の抑制がみられたが、コントロールの尿細管細胞ではみられなかった。以上より、アミノ酸トランスポーターの阻害は多発性嚢胞腎の治療に有効であることが示唆された。今後、投与量、投与間隔の最適化が望まれる。

## 21. ディフィシル菌腸炎における糞便移植療法に変わる創薬への試み

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
米澤 英雄	医学部感染症学	講師	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
今井 健一	日本大学歯学部細菌学講座	教授	口腔内マイクロビオータ解析

### キーワード

クロストリディウム・デフィシル、口腔内マイクロビオータ、腸内マイクロビオータ
--

### 研究分野

細菌学
-----

#### 1. 共同研究の目的

*Clostridium difficile* 腸炎は抗菌薬などの使用により、腸内マイクロビオータ細菌構成が異常を起こすことで発症する。近年、*C. difficile* 腸炎の治療法として糞便移植が脚光を浴びているが、有効な菌種構成については未確立である。本研究は、口腔内細菌が産生する抗菌物質（バクテリオシン）が及ぼす口腔内および腸内マイクロビオータへの影響を解析し、最終的には *C. difficile* の定着・増殖を阻害するような細菌を同定することを目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

腔内マイクロビオータにはレンサ球菌属が主として存在するが、一部のレンサ球菌はバクテリオシンを産生する。これまで *C. difficile* を保菌者において口腔内にバクテリオシン産生細菌を保菌する確率が高いことを見い出している。つまり産生されたバクテリオシンが腸内マイクロビオータを攪乱することで *C. difficile* が定着しやすい環境が出来ている可能性が示唆された。そこで *C. difficile* 保菌者および非保菌者の腸内マイクロビオータを本学所有の次世代シーケンサを用いて解析を行い、*C. difficile* の定着・増殖を阻害するような細菌を同定する。既存および新規のバクテリオシン感受性細菌に着目し、*C. difficile* の定着・増殖を阻害するような細菌を同定する。また口腔内バクテリオシン産生細菌の保菌の有無に着目し、それが腸内および口腔内マイクロビオータに与える影響について検討を行う。

#### 3. 研究成果（経過）

口腔内細菌でありう蝕原因菌である *Streptococcus mutans* が産生するランチビオテックスバクテリオシン Mutacin および Smb は、腸内マイクロビオータの主要な構成細菌である *Clostridium* 属、*Eubacterium* 属、*Peptostreptococcus* 属、*Enterococcus* 属細菌、そして *Clostridioides difficile* に対して強い抗菌活性を示すことを明らかとした。またこれらバクテリオシンを産生する *S. mutans* 臨床分離株でも、同様にこうした腸内細菌に対して強い抗菌活性を示すことを明らかとした。次に東京医科歯科大学小児歯科外来受診患者 70 名の便および唾液検体由来細菌 DNA を用いて次世代シーケンサを用いたメタゲノム解析により、腸管および口腔マイクロビオータの解析を行った（倫理委員会審査承認済 東京医科歯科大学 D2015-817、杏林大学 813）。口腔内に Mutacin を産生する *S. mutans* を保有するヒトでは、腸内マイクロビオータの  $\alpha$  多様性が有意に低下することが明らかとなった。現在便検体由来細菌 DNA より *C. difficile* 保菌者の詳細な検討、および *C. difficile* 保菌者と非保菌者間での腸内細菌叢の違いについての検討を、メタゲノム解析結果を用いて詳細に検討しているところである。

## 22. ヒト脊髄内の代替神経システムを強化する新しい運動機能回復戦略

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中島 剛	医学部統合生理学	学内講師	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
小宮山 伴与志	千葉大学教育学部	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
四津 有人	茨城県立医療大学	准教授	実験実施・データ解析等
大木 紫	医学部統合生理学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
市村 正一	医学部整形外科学	教授	実験実施時のアドバイス・指導等
小西 一斉	医学部整形外科学	専修医	実験実施・データ解析等
渋谷 賢	医学部統合生理学	講師	実験実施・データ解析等

## キーワード

錐体路、脊髄介在ニューロン、可塑性誘導、脊髄障害、神経リハビリテーション

## 研究分野

臨床神経生理学

## 1. 共同研究の目的

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

## 2. 共同研究の内容・計画

現在、我々は、健常者を対象に、介在ニューロン系にシナプス増強効果 (LTP) 促す非侵襲的脊髄刺激法 (錐体路と末梢神経への組み合わせ刺激の繰り返し) を開発している。これは海馬等で知られている LTP 効果を脊髄に応用したものがある。今回は、これに他の手法を組み合わせ、簡略で更に長期的に増強効果が得られる、ハイブリッド型神経リハビリテーション法の開発を目指す。具体的には、脊髄介在ニューロンに持続的に入力を与えることが知られている 1. 筋への感覚入力 (筋への振動刺激等) や 2. 身体の傾く感覚を誘導する前庭感覚刺激、さらには、3. 麻痺筋への運動イメージ・随意努力などを駆使するものである。まず、健常者で本手法の増強効果と最適な刺激パラメータ等を検討し、その後脊髄障害患者への応用可能性を探る。そして、本研究で開発した介入手法が、当該患者の上肢運動機能改善に有効かどうかについて検討をおこなう。この効果判定には、運動機能評価や電気生理学検査、さらには上肢巧緻運動 (物体に腕を伸ばす運動や物体把持運動) の運動解析等も行う。

## 3. 研究成果 (経過)

脊髄障害後、脳から脊髄への運動系下行路の再建は、運動機能の回復を促す重要な神経基盤となる。本研究は、ヒト脊髄内に代替神経システムを再構築する、新たな神経リハビリテーション法を開発する。特に、代替経路の主役となりうる、介在ニュー

ロン系 (INs) を介した運動経路を外部刺激等により強化し、障害脊髄を神経バイパスする運動機能回復法の確立を目指す。

我々は、今までに、ヒト頸髄 INs にシナプス増強効果 (LTP) 促す非侵襲的脊髄刺激法 (錐体路と末梢神経への組み合わせ刺激の繰り返し, RCS) を開発した。ただし、RCS 中、標的とする筋が活動していない場合 (安静状態)、この増強効果は減弱した (活動依存性)。よって、随意運動の困難な麻痺筋への応用は難しかった。そこで、本年度は、標的筋が安静状態でも、INs の長期増強を誘導できる介入方法を検討した。今回の研究では、麻痺筋への運動イメージ想起に着眼し、1. 運動イメージが頸髄 INs を賦活化できるのか、また、2. 運動イメージ中に RCS を行うことによって、頸髄 INs に LTP を誘導できるのか、について実験を行った。

被験者 (健康成人 28 名、不全型頸髄損傷患者 1 名) には、最大努力で肘を屈曲する運動イメージを行わせ、その間に、錐体路と末梢神経への組み合わせ刺激 (CS, 刺激間隔 10 ミリ秒) を行った。その結果、上腕二頭筋の筋電図上に得られる運動誘発電位 (MEP) の大きさは、コントロール課題と比して有意に増大した。この MEP の大きさは、錐体路刺激単独と末梢神経刺激単独による波形の代数和より大きい場合、両入力を共通に受ける IN 系での収束効果 (興奮性) とみなすことができる (空間的促通効果)。今回、その促通量は、コントロールと比して運動イメージ課題で有意に増強した。また、運動イメージ中、10 分間の RCS を行うと、60 分間にわたり、単独 TMS による MEP は増強し、CS による空間的促通効果も増大した。また、1 名の頸髄損傷患者においても同様の効果が観察された。

これらの結果から、運動イメージは、頸髄 INs を賦活化し、RCS 中、標的とする筋が活動していない場合でも、頸髄 INs に長期増強効果を誘導できることがわかった。

## 23. 熱傷創に対する脂肪由来再生細胞（ADRCs）の有効性及び安全性の検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
山口 芳裕	医学部救急医学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
樽井 武彦	医学部救急医学	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	大阪医科大学薬理学	教授	動物及び基礎実験の施行・結果解析
伊井 正明	大阪医科大学薬理学	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、熱傷創に対する有効性を評価した。動物実験は大阪医科大学の動物実験施設にて行った。

実験 2) ADRC を用いた in vitro の基礎実験も施行中（大阪医科大学および杏林大学にて施行）。現在上記の実験で得られた治療を論文投稿中。必要な追加実験を施行予定である。実験期間は、今後約 6 ヶ月～1 年間の予定である。

## 3. 研究成果（経過）

熱傷創に対する脂肪組織由来再生細胞 (ADRCs) の臨床応用を目指し、有効性・安全性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 ADRCs を分離し、上記モデルに局所投与し、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、ADRCs 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、ADRCs の細胞特性を評価し、ADRCs 培養上清による上皮細胞および線維芽細胞の増殖・遊走能刺激作用を検討した。

(平成 29 年度) 上記 In Vitro の実験で、ADRCs の細胞特性に関する結果が得られ、ADRCs 培養上清による上皮細胞および線維芽細胞の増殖・遊走能刺激作用も確認されたので、ここまで得られた結果を論文にまとめ、論文投稿した。論文審査の過程で必要となる追加実験を施行した。

(平成 30 年度)、ADRCs のコラーゲン再生作用を検討確認し、追記し雑誌 Regenerative Medicine に 2019 年 1 月アクセプトされた。今後臨床応用に向けて細胞投与形態、安全性について評価する予定である。

## 24. 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	役割分担
山口 芳裕	医学部救急医学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
守永 広征	医学部救急医学	助教	研究責任者。研究全般。
加藤 聡一郎	医学部救急医学	専攻医	研究全般。
海田 賢彦	医学部救急医学	助教	画像と臨床上の情報リンク等。
田中 敏幸	慶應義塾大学理工学部 物理情報工学科	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。臨床医学領域（熱傷診療の専門性や特殊性）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であり、杏林大学医学部救急医学と慶應義塾大学理工学部物理情報工学科信号・画像処理研究室で協力して行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

後向きに収集したデジタル写真画像を基に、全身を対象とした広範囲と、比較的狭い範囲を対象とした局所の画像に分けて研究を行う。解析に必要な条件を満たした熱傷創の画像、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的変化から、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、撮影→解析→情報提供を一連の流れで遂行す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で、臨床研究に耐えうる機能を達成する。

#### 3. 研究成果（経過）

解析に必要な条件を満たした熱傷創のデジタル写真画像（後向きに収集）計30症例分から、解析対象とする症例を選定した。熱傷専門医およびそれに準ずる医師によって、写真画像から熱傷創およびその深達度を評価しエリア分けを行った。これをもとに、全身を対象とした広範囲と、比較的狭い範囲を対象とした局所の画像に分けて画像解析を実施した。

広範囲画像を用いた研究では、全身の熱傷面を自動で抽出するための方法論を検討し、背景画像の切り捨てや熱傷深達度に応じた自動分割評価する技術を検証した。局所画像を用いた研究では、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証した。

写真の撮影プロトコールを作成し、体表面積や熱傷面積を誤差が少なくなる計測法を開発するため臨床研究を施行予定である。最終的には、撮影→解析→情報提供を一連の流れで遂行することを目指している。

25. (ラット/カイク)・ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup>親和性

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
丑丸 真	医学部化学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
誉田 晴夫	医学部化学	非常勤講師	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase の生化学的性質の分析
原 諭吉	東京医科歯科大学	客員教授	カイク及びラット Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase の培養細胞内発現

## キーワード

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase カイク、ラット、培養細胞

## 研究分野

生化学

## 1. 共同研究の目的

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase は動物細胞膜に存在する膜たんぱく質であり、その構成サブユニット  $\alpha$  及び  $\beta$  鎖を介して細胞内 Na<sup>+</sup> を細胞外へ、細胞外 K<sup>+</sup> を細胞内へ能動輸送している。これまでの研究によって、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup> 親和性をコントロールしているのは  $\alpha$  鎖ではなく  $\beta$  鎖であることを示してきた。平成 30 年度は、ラット Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase とカイク Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase のハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を用いて、われわれの仮説をさらに補強する。

## 2. 共同研究の内容・計画

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup> 親和性をコントロールしているのは  $\alpha$  鎖ではなく、 $\beta$  鎖であるとの仮説を直接実証するため、哺乳類よりも親和性が著しく K<sup>+</sup> 親和性が低いカイク Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase と、ラット Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の  $\alpha$  鎖、 $\beta$  鎖を用い、内因性 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を持たないカイク卵巣由来培養細胞に(ラット/カイク)ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を発現させ、その K<sup>+</sup> に対する親和性を比較定量する。昨年度は(カイク  $\alpha$ /ラット  $\beta$ ) Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase と(ラット  $\alpha$ /カイク  $\beta$ ) Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を構築して K<sup>+</sup> 親和性を測定し、これまでの結果を示唆する結果を得た。平成 30 年度は、(ラット  $\alpha$ /ラット  $\beta$ ) Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase のデータを加えて、これまでの研究をまとめる。

## 3. 研究成果(経過)

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の K<sup>+</sup> 親和性を支配するのは  $\alpha$  鎖ではなく、 $\beta$  鎖であるとの仮説を直接実証するため、哺乳類よりも親和性が著しく K<sup>+</sup> 親和性の低いカイク Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase と、ラット Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase の  $\alpha$  鎖、 $\beta$  鎖を用い、内因性 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を持たないカイク卵巣由来培養細胞に(ラット/カイク)ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を発現させ、その K<sup>+</sup> に対する親和性を比較定量した。カイク卵巣由来培養細胞に発現した(カイク  $\alpha$ /カイク  $\beta$ ) Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase、(カイク  $\alpha$ /ラット  $\beta$ ) ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase について、以下の結果が得られた

- ① ウアイン感受性は両方とも高かった。すなわち、 $\beta$  鎖はウアイン感受性に関与しないと考えられる。
- ② Na<sup>+</sup> に対する親和性は、両方ともほぼ同じ値を示した。
- ③ K<sup>+</sup> に対する親和性は、ハイブリッド Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase のほうが、約 3 倍高かった。したがって、 $\beta$  鎖が K<sup>+</sup> に対する低親和性に関与している、という我々の仮説が裏付けられた。

## 26. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase・四量体分子への強心ステロイド（ウアバイン）の結合

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
丑丸 真	医学部化学	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
林 雄太郎	千葉科学大学 危機管理学部	非常勤講師	四量体標品の単離とウアバイン結合量測定
原 諭吉	東京医歯大学 医学部	名誉教授	結果の解析・評価
誉田 晴夫	医学部化学	非常勤講師	酵素反応と基質結合の解析

### キーワード

Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase、四量体、強心ステロイド、ウアバイン、協同性
---

### 研究分野

生化学
-----

#### 1. 共同研究の目的

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase は「細胞の発電所」の機能を持つ、典型的な膜タンパク質である。この発見の 60 年後の昨年、その機能単位の四次構造は、林らにより「四量体」であることが示された。この膜タンパク質とウアバインは、非常に特異的に、強力に結合し、完全に ATPase 活性を阻害する。最近の研究により、体内で作られた「ウアバイン様ホルモン物質」が、本態性高血圧症の原因物質とされている。この研究では、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 四量体とウアバインとの結合の、強さ（結合定数）、協同性、可逆性を測定し、従来の知見を再吟味する。それにより、このステロイド結合の生理作用の分子機構解明を目指すものである。

#### 2. 共同研究の内容・計画

新規な方法（レクチン親和性クロマトグラフィー法）で、ブタ腎から Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 四量体を単離する。四量体を、様々な溶液、温度などの条件で、様々な濃度の 3H-ウアバインとインキュベーションした後、ゲルろ過クロマトグラフィーに負荷し、四量体とともに溶出する放射能をラジオクロマト検出器で測定して、ウアバイン結合量を測定する。Scatchard plot 解析により、結合量のストイキオメトリー、結合定数、協同性を測定・評価する。

#### 3. 研究成果（経過）

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 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を解析し、以下の特性を明らかにした。1. LAC 法の条件を改善し、当蛋白質標品は、四量体（Tetraprotomer, T、オリゴマー構造：(αβγ)<sub>4</sub>）に相当する画分のみで構成されていた。二量体（Diprotomer, D）や単量体（Protomer, P）に相当するもの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 活性も安定に維持された。さらに、25℃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、T 状態のままであった。従来の Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 標品は、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>（1 価カチオン濃度比）によって、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。以上より、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 分子の機能単位は、四量体であることを強く示唆する知見が得られた。

## 27. 入射角可変式全反射蛍光(V-TIRF)顕微鏡による2相性インスリン分泌のイメージング解析

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
今泉 美佳	医学部細胞生化学	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
青柳 共太	医学部細胞生化学	講師	インスリン開口分泌解析
若園 佳彦	宮崎大学医学部	助教	V-TIRF 顕微鏡開発
寺川 進	静岡英和学院短期大学部 浜松医科大学名誉教授	非常勤講師	V-TIRF 顕微鏡開発

## キーワード

インスリン、開口分泌、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

インスリンは $\beta$ 細胞内のインスリン顆粒に貯蔵されており、2相性に細胞外へ分泌される。この2相性インスリン分泌機構の解明は、インスリン分泌不全が成因の一つと考えられる2型糖尿病を予防し、新たな治療法を開発するためにも早急に解決すべき課題である。私達は全反射蛍光(TIRF)顕微鏡を用いて細胞膜下でのGFP標識インスリン顆粒動態解析法を確立し、主に第1相インスリン分泌機構研究を行ってきた。しかし第2相インスリン分泌機構は今だ不明のままである。分泌第2相は細胞質から形質膜へ新たに移動した顆粒が担っており、解明に向けては、細胞膜だけを観察する現状のTIRF顕微鏡だけでは限界があり、より細胞内部まで同時に観察可能な顕微鏡システムが必須となる。本研究では、入射角可変式全反射蛍光(V-TIRF)顕微鏡を開発し、今まで測定困難だった細胞内部の顆粒の貯蔵から形質膜への移動、さらに開口放出までを高空間時間分解能で4D(x,y,z,time)イメージング解析し、第2相インスリン分泌機構を明らかにすることを目的とする。

## 2. 共同研究の内容・計画

1. V-TIRF 顕微鏡の完成: V-TIRF 顕微鏡のプロトタイプに改良を加え(入射角の多段階化、多波長励起蛍光測定システム)、V-TIRF 顕微鏡システムを宮崎大学医学部・静岡英和学院グループ(若園・寺川)との共同研究により完成させる。

2. V-TIRF 顕微鏡の特長は従来のTIRF顕微鏡と異なり、細胞のTIRF照明領域(形質膜下から細胞内部 $\sim$ 500nm)を多段階に分けて高速に変化させながら蛍光測定することができる。これにより共焦点法などで今まで測定困難だった領域での顆粒動態、すなわち顆粒貯蔵部位から形質膜へ顆粒の移動、さらに開口放出までを高空間時間分解能で4D画像解析することが可能となる。このV-TIRF顕微鏡解析により、本共同研究では特に第2相インスリン分泌でのインスリン顆粒輸送の分泌経路の構成過程を明確にする。

## 3. 研究成果(経過)

インスリンは $\beta$ 細胞内のインスリン顆粒に貯蔵されており、2相性に細胞外へ分泌される。この2相性インスリン分泌機構の解明は、インスリン分泌不全が成因の一つと考えられる2型糖尿病を予防し、新たな治療法を開発するためにも早急に解決すべき課題である。本研究では、入射角可変式全反射蛍光(V-TIRF)顕微鏡を開発改良し、今まで測定困難だった細胞内部のインスリン顆粒の貯蔵から形質膜への移動、さらに開口放出までを高空間時間分解能で4D(x,y,z,time)イメージング解析し、2相性インスリン分泌機構全容をイメージングにより明らかにすることを目的とした。

今年度は従来開発して来たV-TIRF顕微鏡のプロトタイプシステムの改良を行った。まず、入射角の多段階化の改良を行い、また、現在は1波長励起であったシステムを2波長励起となるよう改良を進めている。来年度は、改良V-TIRF顕微鏡でインスリン分泌イメージング解析を行う予定である。

## 28. 依存症治療における香辛料の効果に関する研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中山 高宏	医学部細胞生理学	助教	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
濱田 博喜	岡山理科大学	教授	有機化合物の合成

### キーワード

syntaxin1A、KAT3 阻害剤、中脳報酬系、依存症
-------------------------------

### 研究分野

神経科学
------

#### 1. 共同研究の目的

本計画では、中脳辺縁神経細胞において *stx1A* 遺伝子の発現誘導を決定している P300/CBP の阻害剤であり香辛料の有効成分として知られる *curcumin* に着目し、(1)マウス生体内投与により脳内 *stx1A* 発現量を抑制可能であることを明らかにし、(2)ドーパミン合成・分泌阻害による依存症状に対する抑制効果を検証することを目的としている

#### 2. 共同研究の内容・計画

我が国において 2000 万人の罹患者を抱える依存症は、中脳辺縁ドーパミン神経の報酬系亢進によって引き起こされ、ドーパミン機能の阻害により症状が緩和されることが知られている。我々はこれまでに、神経モノアミン伝達に関わる *syntaxin1A* (*stx1A*) 遺伝子の発現量低下が、中脳辺縁系におけるドーパミン分泌抑制を起こすと共に、その発現は神経細胞における P300/CBP ヒストンアセチル化酵素による促進によって神経細胞・組織特異的に発現制御されていることを発見してきた。これらの知見に基づき、生化学・行動学的手法を用いてマウスの依存症状に対する治癒効果を検証する。

#### 3. 研究成果（経過）

これまでに神経細胞でのみ *stx1A* プロモーター領域に結合する転写因子を精製し、質量分析、スーパーシフトアッセイ及び ChIP 解析を行ったところ、エピゲノム因子として知られるヒストンアセチル化酵素 KAT3 の存在を同定してきた。この KAT3 に対する促進剤である CTPB および TTK21 を *stx1A* の高発現を示す神経細胞株 PC12 および初代神経培養細胞に作用させた結果、*in vitro* において *stx1A* 遺伝子転写活性、STX1A タンパク質発現量及びドーパミン分泌量が有意に促進された一方で、KAT3 阻害剤である *curcumin* および C646 を作用させた結果、逆にそれらが抑制されることを発見してきた。更に *in vivo* における STX1A 発現抑制効果を確認する為に 0.01-10mg/kg の濃度でマウス腹腔内投与を 3 週間行ったところ、0.1mg/kg 以上の濃度において脳における STX1A タンパク質の発現量が抑えられることを確認した。また ECD-HPLC 解析により中脳におけるドーパミン濃度と分泌後代謝物 HVA との比率を求めることによるドーパミン合成・分泌機能を調べたところ、いずれもが低下を示すことも見出ししてきた。そこで 0.1mg/kg *curcumin* を事前投与した際のアルコール嗜好性に与える影響を自由選択試験により検証したところ、アルコールに対する嗜好性が低下することを発見した。これは KAT3 阻害剤である *curcumin* にアルコール依存症に対する予防効果があることを意味しており、引き続き解析を行う予定にしている。

## ② 保健学部

## 29. 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	役割分担
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	役割分担
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	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、キチナーゼ様タンパク質

## 研究分野

免疫・アレルギー

## 1. 共同研究の目的

これまでに、タンパク質抗原単独では誘導されないが、ダニの主要な構成成分である「キチン」と共に吸入するとアレルギー応答が誘導されることを明らかとしている。しかしながら、受容体を始めとするキチンシグナルの伝達機構は不明である。代表者は、この機構に関与するキチン結合分子としてキチナーゼ様タンパク質「Chil1」をマウス肺より同定している。そこで、本共同研究では、ダニアレルギーの発症機構の解明を目的として、Chil1によるシグナル伝達機構の解明を目指す。

## 2. 共同研究の内容・計画

- Chil1の標的細胞の同定：現在までに、キチン+ Chil1添加により活性化する細胞として樹状細胞が同定できている。マスト細胞や近年新たに同定された2型自然リンパ球(ILC2)など、アレルギーに関与する細胞へのChil1の効果について明らかにする。
- 気道炎症におけるChil1機能の解明：キチンによる気道炎症惹起におけるChil1の役割は不明である。そこで、マウスにキチン+ Chil1を吸入させることにより、気道炎症におけるChil1機能の解明を目指す。
- Chil1遺伝子欠損マウスの作製とその解析：生体内のChil1がキチンによる気道炎症の誘導に必須であるか不明である。そこで、CRISPR/Cas9システムを用いてChil1遺伝子欠損マウスを作製し、Chil1の機能を明らかにする。

## 3. 研究成果（経過）

ダニ外殻の主要な構成成分であるキチンが、アレルギー誘導のアジュバントとして機能することが明らかとなっている。本申請では、この機構に関与するキチン結合分子であるキチナーゼ様タンパク質「Chil1」によるシグナル伝達機構の解明を目指した。

- Chil1の標的細胞の同定：キチン+ Chil1添加により活性化する細胞としてマウス骨髄由来の樹状細胞が明らかとなっているが、本共同研究により、キチン+ Chil1添加により活性化する細胞としてマウス骨髄由来マスト細胞が新たに同定された。
- 気道炎症におけるChil1機能の解明：キチンによる気道炎症惹起におけるChil1の役割を解明する目的で、マウスにキチン+rmChil1を吸入させた。すると、肺胞洗浄液中の好中球及び好酸球数は、キチン単独吸入マウスと比べて、キチン+rmChil1吸入マウスで大幅に増加した。この結果から、Chil1は、キチンによる炎症誘導に大きく関与していることが明らかとなった。
- Chil1遺伝子欠損マウスの作製とその解析：CRISPR/Cas9システムを用いてChil1遺伝子欠損マウスの作製を試みた。現在までに4匹の変異マウスが得られており、いずれもChil1遺伝子を欠損していることが明らかとなっている。

### 30. LC-MS/MS による合成ステロイド剤の高感度微量分析と体内動態解析

#### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
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	役割分担
小原 映	保健学診療放射線技術学科	助教	点鼻薬 1 噴霧に含まれるフルチカゾン量の個人差の検討
柴崎 浩美	東京薬科大学薬学部 医療薬学科臨床薬学	准教授	LC-MS/MS によるフルチカゾンの定量と体内動態解析
横川 彰朋	東京薬科大学薬学部 医療薬学科臨床薬学	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

フルチカゾンは、気管支喘息や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の投与量は極めて少ないため、投与後の血中濃度推移および体内動態に関する報告はほとんどない。本研究では、吸入および点鼻ステロイド剤の全身作用の予測を目指し、点鼻後のフルチカゾンの血中濃度測定と体内動態解析を目的とする。また、点鼻薬は経口剤や注射剤と異なり、投与量に個人差が生じやすく、体内動態に影響を与える可能性がある。本年度は、1 噴霧に含まれるフルチカゾンの量の個人差の解明も行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

昨年度までに、LC-MS/MS 法による血中フルチカゾンプロピオン酸エステル濃度の微量定量法(ピコグラムオーダー)を確立し、点鼻後の血中濃度推移を明らかにした。本年度は、フルチカゾン点鼻後の体内動態解析を計画している。それに先立ち、点鼻薬の1 噴霧に含まれるフルチカゾンの量を定量し、実際の噴霧量とその個人差を明らかにする。

- 1) 1 噴霧中のフルチカゾン量の個人内・個人間変動: 5 名程度の成人に、点鼻薬の使用法を説明した後、容器に噴霧を行う。噴霧量を定量し、個人内・個人間の変動を明らかにする。
- 2) 点鼻ステロイドの体内動態解析: 花粉症の患者 2 名程度を対象にフルチカゾンプロピオン酸エステル点鼻後の血中濃度を経時的に測定し、体内動態解析を行う。

#### 3. 研究成果(経過)

本研究では、点鼻ステロイド剤の血中濃度推移の把握と体内動態解析を行うことにより、点鼻ステロイド剤の全身作用を予測することを目指している。

平成 30 年度は、1 噴霧中に実際に含まれるフルチカゾンプロピオン酸エステル (FP) 量を確認し、その個人内、個人間変動を検討した。3 名の健常成人を対象に、各 5 回ずつ噴霧した時の 1 回の噴霧に含まれる FP 量のばらつきは 39.26~54.48  $\mu\text{g}$ , 44.78~46.78  $\mu\text{g}$ , 44.24~47.28  $\mu\text{g}$  であり、個人内変動は 1.8~11.5%であった。また、添付文書に示されている 1 回の噴霧量 50  $\mu\text{g}$  に対する相対誤差は -6.4~-8.6%であった。6 名が各 1 回ずつの噴霧を行った時の測定値は 44.47~46.96  $\mu\text{g}$  であり、個人間変動は 1.9%、相対誤差は -8.3% であった。

さらに、2 名の被験者を対象に、FP 100  $\mu\text{g}$  を点鼻した後 7 時間までの血中濃度を経時的に測定した。FP の AUC<sub>0→7h</sub> は 1760  $\text{pg} \cdot \text{min}/\text{mL}$ , 1217  $\text{pg} \cdot \text{min}/\text{mL}$  であり、FP が点鼻後に体循環に流入する割合を示唆した。2-コンパートメントモデルにて解析した CL/F は 4.09 L/min, 11.73 L/min であり、体内動態に 4.5 倍の被験者間の差があることを確認した。

## 31. 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	役割分担
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	役割分担
笹川 寿之	金沢医科大学	主任教授	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*	診療部長	細胞擦過・組織生検・コルポ診
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、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陰性の上皮内病変(SIL)およびCIN症例を用いてHRを疑うHPV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HR13、HRを疑うHPV、unknown HRを合わせた39種類のHPVを均等の感度で検出できるuniplex E6/E7 PCR法を開発した(Okodo-M, J Med Virol, 2018)。この手法を用いて、あらためてすべてのCINをスクリーニングして、HPV型別によるリスク評価を実施する。

## 3. 研究成果(経過)

子宮頸部上皮内腫瘍(CIN)におけるKoilocyteは、すべてのHPV型による細胞変性効果であることが知られていたが、我々の開発したuniplex E6/E7 PCR assay(Okodo M et al, J Med Virol, 2018)と独自のmicrodissection(MD)技術によって、新事実を発見した。CINを有する651患者からのPapanicolaou(Pap)標本においてKoilocyteの有無について評価し、液体ベースの(WL)細胞診サンプルでHPVを包括的に検出した。HPV型のロジスティック回帰分析を行って、どの遺伝子型がKoilocyte形成と関連しているかを決定した。またPap標本上のMDサンプルのPCRによってHPVを検出した。HPVはWL試料中に98.6%(642/651)検出された。Koilocyteは651のPap塗抹標本のうち191(29.3%)で見られた。Koilocyte形成に関してオッズ比1.0以上のほとんどのHPV型が、KoilocyteのMDサンプルにおいて検出されたがHPV-16、-52、-18、および-44は検出されなかった。我々は、Koilocyteがハイリスク型とされるHPV-16、-18、および-52以外の特定のHPV型の細胞変性効果であることを明らかにした最初の発見者である。CIN 2+への進行のリスクの評価において、Pap標本中のKoilocyteの存在は有用な情報であり得る。現在、Int J Cancerに投稿準備中である。

## 32. 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すための研究

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
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	役割分担
阿部 秀夫	株) LA マイスター 株) VK スポーツ	代表取締役社長	全体の計画立案
佐藤 充	株) LA マイスター	常務	制作
石井 孝典	株) VK スポーツ	部長	開発
土井 健次郎	株) 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、靴の制作、パフォーマンス、シミュレーション
-----------------------------------

### 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、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

平成 28 年度 10 月、2 件特許出願を行い、平成 30 年 1 月に 1 件特許査定、1 件拒絶理由通知を受けた。審査官と面談により手続き補正書を 2 月 19 日に提出した。もう一軒の特許も取得予定である。それとは別に有限要素法を用いた三次元モデルのシミュレーションなども始めている。今後、靴の製造のための研究をバドミントン選手の足形計測、バドミントン選手の運動特性など、バドミントン特有のデータを収集しながら、靴開発の土台を構築していく予定である。また、共同研究先の KIZUNA ジャパンがバドミントンメーカーシェア世界 2 位の VICTOR と業務提携して、VK スポーツと社名が変更となっている。

#### 3. 研究成果（経過）

2016 年 2 件特許出願を行い、2017 年に 1 件特許査定、2018 年特許 6288687 号として特許公報に公開された。

それぞれの図は次のようになる。①：右利き用左足部（側面図）、②：右利き用右足部（側面図）、③：立体図、上下をひっくり返すと①⇔②となり、右利き用⇔左利き用も共通のものになり、金型一つで左右、左右利き手に対応するものとした。

右利きと仮定した場合、①左足部は、ジャンプ後の着地、右足の蹴りだしに多用される。後足部の下に凸は緩衝として用いられ、中足部の上に凸は足部アーチの補強、前足部は横アーチ保持として機能する。②右足部は、前足部～後足部にかけて下に凸の構造を有することで、右足を前方に踏み込んだ時に、ROCKROLL 機能を補助する機能を有することになる。

このシャンクは、利き手、左右足に寄らず、一つで対応できる仕組みなのと、バドミントン競技における左右の運動特性に対応した機能を有する点、これらについて特許を認定されるに至った。2019 年度の科研費申請はこれらの状況を踏まえて申請している。

## 33. 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	役割分担
小池 貴久	保健学部診療放射線技術学科	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
宇野 彰二	高エネルギー加速器研究機構 (KEK)	教授	共同研究者（検出器設計・開発）
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（回路設計・開発）

## 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、エネルギー弁別画像の取得を目指した新しい検出器の開発を目的とする。

新年度は科研費を得た BNCT 用ビームモニタの開発を行う。

## 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 次的に一樣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。

本研究では中性子ビームモニタの開発、性能向上を目的として、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・特性評価等について本学の放射線機器を用いて行う。

## 3. 研究成果（経過）

本研究では Gas Electron Multiplier (GEM) の開発を含めた放射線検出器に関する基本パラメーターの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・開発を行っている。

今年度は、中性子捕捉療法 (BNCT) 用のビームモニタとして活用するために機器の改良を進めた。特に BNCT 用中性子ビームモニタとして要求される仕様に合わせた改良（検出効率、時間分解能）を加えることができ、実験施設（中性子ビームライン）でのデータ収集も実施できた。さらには、高エネルギー中性子測定にも対応できるシステム変更を試みた結果、測定対象エネルギーを拡張できる可能性が示されたことは有意義であった。

実際のビームラインの仕様（ビーム発生方式等）に合わせたビームモニタとして要求される検出器性能が明確になってきたので、さらに改良を加えていく予定である。

## 34. 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	役割分担
久原 重英	保健学部診療放射線技術学科	教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
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、この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。機械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再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び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 画像ならびに MRA 画像を対象とし、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（2D、3D 共）が復元されることを確認すると共に、研究会（IBISML、9月）にて1件発表した。今後、引き続き一部プロセスの多重化等を含め、サンプリングパターンや機械学習の構造ならびに各パラメータを変化させて最適化を行う予定。

（\*）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分担している

## 35. 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	役割分担
久原 重英	保健学部診療放射線技術学科	教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
市之瀬 伸保	キャノンメディカルシステムズ(株)(*) MRI 事業部 (* 2018 年 1 月社名変更)	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(継続)。

## 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 フェントムを用い、従来法である MOLLI 法等との精度比較等を行う(継続)。パルスシーケンス側の改良等は、主にキャノンメディカルシステムズ(株)にて行い、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、FFE(Fast Field Echo)法をベースとした PC TI-Prep (Polarity Corrected TI-Prep T1 Mapping) 法を提案し、他手法と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 ならびに静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。そこでそれらの影響が少ない PC TI-Pre 法を提案し、今年度は特に、T1 フェントムならびに心電図同期シミュレータを用いて、不整脈発生時の精度低下に関して、より高精度な補正が可能な方式を提案し、その精度評価等を行った。成果の一部は日本磁気共鳴医学会(9月)にて1件発表した。今後、さらに PC TI-Pre 法の精度向上を図ると共に、MOLLI 法に対する不整脈補正法の提案・精度評価等も行っていく予定。

(\*) パルスシーケンス側の改良等は、主にキャノンメディカルシステムズ(株)にて行い、得られた画像ならびに精度の評価等を本学にて行っている

36. ラット神経前駆細胞由来分化ニューロンおよびヒト iPS 由来運動ニューロンを用いた ADAR2 ノックダウンによる TDP-43 凝集体形成系の検討

**研究代表者**

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

**共同研究者**

氏名	所属	職名	役割分担
田中 慎治	田辺三菱製薬株式会社・創薬本部・神経科学創薬ユニット	研究員	ヒト ADAR2 shRNA 配列の検討およびヒト iPS 運動ニューロンでの検討

**キーワード**

筋萎縮性側索硬化症(ALS)、運動ニューロン、ヒト iPS 細胞、組換えアデノウイルスベクター、治療薬開発

**研究分野**

神経病理、神経内科

**1. 共同研究の目的**

ヒト筋萎縮性側索硬化症(ALS)に特徴的な細胞内 TDP-43 凝集体の病態と治療法開発に関して、ラット神経前駆細胞由来ニューロンおよびヒト iPS 細胞由来運動ニューロンを用いて、ALS 患者で活性が低下している ADAR2 のノックダウンによる TDP-43 凝集体形成の検討を行う。

**2. 共同研究の内容・計画**

1. ラット神経前駆細胞由来ニューロンへ、ヒト正常および C 末断片 TDP-43、また ADAR2 shRNA を発現する組換えアデノウイルスベクターを共感染させ、ALS に特徴的な細胞質 TDP-43 凝集体の形成を検討する。
2. ヒト iPS 由来運動ニューロンで同上の検討を行うため、ノックダウン作用が確認されたヒト ADAR2 shRNA 配列を選定する。
3. ヒト shRNA を発現するアデノウイルスベクターを作製し、ヒト iPS 由来運動ニューロンを用いた TDP-43 凝集体の形成を検討する。

**3. 研究成果（経過）**

研究目的：ヒト筋萎縮性側索硬化症(ALS)に特徴的な細胞内 TDP-43 凝集体の病態と治療法開発に関して、ラット神経前駆細胞由来ニューロンおよびヒト iPS 細胞由来運動ニューロンを用いて、ALS 患者で活性が低下している ADAR2 のノックダウンによる TDP-43 凝集体形成の検討を行う。

研究経過：

1. 田辺三菱製薬にて、ヒト ADAR2 shRNA 配列候補を HEK293 細胞へ一過性に導入し、ADAR2 遺伝子発現および ADAR2 タンパク質のノックダウン作用を評価し 2 種のヒト ADAR2 shRNA 配列を選定した。
2. 杏林大にて、上記ノックダウン作用が認められたヒト ADAR2 shRNA を発現する組換えアデノウイルスを作製した。
3. 共同研究期間でのアデノウイルスベクターを用いた TDP-43 凝集体形成の検討は未実施である。

## 37. Digital Breast Tomosynthesis の画像評価

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
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	役割分担
田中 功	東京女子医科大学 中央放射線部	代表	研究指導およびデータ解析
油原 俊之	東京女子医科大学 中央放射線部	技師長	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用ファントムを用いて DBT で得られた画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。前年度までに本研究では、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。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。平成 30 年度は 4 月 11 日から休職していたため進捗がないが、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、画質評価方法について検討する必要がある。

## 38. 糖尿病性皮質脊髄路障害の病態解明

### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
村松 憲	保健学部理学療法学科	准教授	統括

### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
志茂 聡	健康科学大学	准教授	皮質脊髄路の超微形態の観察
丹羽 正利	保健学部作業療法学科	教授	皮質脊髄路の電気生理学的解析

### キーワード

糖尿病、運動野、皮質脊髄路
---------------

### 研究分野

総合領域
------

#### 1. 共同研究の目的

最近、我々は糖尿病モデルラットの皮質脊髄路軸索の損傷とそれに伴う運動野の萎縮を発見し、末梢神経だけでなく中枢神経もまた糖尿病性神経障害の標的となることを示した (Muramatsu et al. 2018)。しかしながら、中枢神経内で生じる軸索損傷の詳細は不明であったため、電気生理学的手法を用いた単一軸索レベルでの興奮伝導と電子顕微鏡を用いた皮質脊髄路軸索の超微形態を調べることによって、糖尿病に起因して生じる皮質脊髄路軸索障害の詳細を明らかにすることを本共同研究の目的とする。

#### 2. 共同研究の内容・計画

[糖尿病ラット]実験にはストレプトゾトシンの腹腔内投与によって1型糖尿病を発症した13週齢のWistarラット(STZラット)12頭とその健常対照群である同週齢のWistarラット12頭を用いる。両群の動物は10週間もしくは20週間の通常飼育期間の後に実験に使用する。飼育中に何らかの疾患を発病したり、外傷を負ったりしたラットはペントバルビタールを腹腔内投与(1ml/頭)することによって安楽死させる。[実験]ケタミン(70 mg/kg)、キシラジン(5 mg/kg)麻酔下で維持したラットの頸髄、腰髄に刺激用のタングステン微小電極を刺入する。次に大脳皮質運動野に記録用のタングステン微小電極を刺入し、脊髄の電気刺激によって逆行性に発火する単一皮質脊髄路細胞のスパイクを記録して、皮質脊髄路軸索の伝導速度などを求める。実験終了後はペントバルビタールを腹腔内投与(50 mg/kg)し、深麻酔下で脱血後、灌流固定し、脳と脊髄を摘出する。摘出した脳と脊髄から切片を作成し、電子顕微鏡を用いて皮質脊髄路軸索の超微形態を観察する。なお、保健学部に電子顕微鏡は設置されていないが、電子顕微鏡は愛知県岡崎市の生理学研究所のものを利用する予定であるため、実験計画の遂行には問題はない。

#### 3. 研究成果(経過)

実験はストレプトゾドシンの投与によって1型糖尿病を発症したWistar系ラット(糖尿病群)と健常なラット(対照群)の運動野を皮質内微小電気刺激法にて刺激し、身体に誘発される運動を指標に運動野の脳地図を作成した。その後、同領域から脊髄を刺激することによって生じる皮質脊髄路細胞の逆行性活動電位を記録し、その分布や神経伝導速度を記録した。その結果、糖尿病ラットでは神経伝導速度の低下と逆行性活動電位が記録できる範囲の狭小化(運動野の萎縮部位にほぼ一致)が生じていることがわかった。この背景には既に我々が報告している糖尿病による皮質脊髄路線維の損傷が関与すると思われた(Muramatsu et al. 2018)。また、電気生理学的解析を行なったラットから脊髄を摘出し、電子顕微鏡を用いて皮質脊髄路線維の超微形態を観察するための準備を開始している。上記の途中経過について本年度は第42回日本神経科学大会(兵庫)、第61回日本糖尿病学会年次学術集会(東京)、第5回日本糖尿病理学療法学術大会(神奈川)にて報告した。

## 39. 糖尿病に起因する横隔神経障害と運動単位の活動性の変化

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
村松 憲	保健学部理学療法学科	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
生友 聖子	東京医療学院大学	助教	単一運動単位電位の解析
丹羽 正利	保健学作業療法学科	教授	同上

## キーワード

糖尿病、横隔神経、運動耐用品

## 研究分野

総合領域

## 1. 共同研究の目的

糖尿病患者において観察される運動耐用品低下は運動療法実施の障害となることが知られている。運動耐用品低下は筋力、代謝機能、呼吸機能などの様々な要因によって生じることが知られているが、糖尿病ではミトコンドリア機能異常に起因する筋の代謝障害が主因であると考えられてきた。しかし、最近、我々は糖尿病モデル動物の横隔神経運動ニューロンが減少することを見出し、横隔神経の損傷による運動時の換気量低下も耐用品低下の一因ではないかと考えるに至った。本共同研究では横隔膜の運動制御の基盤となる運動単位が糖尿病によってどのような影響を受けているのか明らかにすることを目的に行う。

## 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1型糖尿病を発症したWister系ラット(糖尿病群)と健常なラット(対照群)を用いる。イソフルレン麻酔下で維持したラットの左頸部を切開し、腕神経叢から分枝する横隔神経に刺激用のカフ電極を設置する。次いで、腹部を切開し、横隔膜の筋電図を記録するための針電極を刺入する。以上の実験準備を終えたら、次に述べる3つの方法で運動単位の電気生理学的解析を行う。1) 横隔神経伝導速度の算出: 横隔神経を電気刺激し、横隔膜から記録されるM波の潜時から伝導速度を算出する。2) 単一運動単位電位の記録(誘発電位): 横隔神経を最小強度で電気刺激することによって横隔膜から記録される単一運動単位電位を記録する。3) 単一運動単位電位の記録(自発電位): 横隔神経に刺入した記録電極から自発呼吸に関連して生じる筋活動電位を記録、単一運動単位電位を単離して運動単位の発火頻度とスパイク高の関係を明らかにする。以上のパラメーターを指標に、糖尿病によって横隔膜の運動単位がどのような影響を受け、また、横隔神経運動ニューロン減少をどのように補償しているのか明らかにする予定である。

## 3. 研究成果(経過)

実験はストレプトゾドシンの投与によって1型糖尿病を発症したWistar系ラット(糖尿病群)と健常なラット(対照群)を対象に、横隔神経伝導速度、自発呼吸下での横隔膜単一運動単位電位の記録を記録した。その結果、糖尿病モデル動物の横隔神経伝導速度低下に加えて、単一運動単位電位の振幅増大、発火頻度の増加などが認められた。運動単位電位の振幅増大は既に我々が明らかにしている糖尿病性神経障害による横隔神経運動ニューロンの減少を代償するために、残存する運動ニューロンの神経支配比が上昇した結果であると考えた。また、発火頻度の増加は運動単位の減少や横隔膜の筋力低下を運動単位の発火頻度増加による筋線維の加重によって代償した結果であると考えられた。上記の途中経過について本年度は第42回日本神経科学大会(兵庫)と第5回日本糖尿病理学療法学会にて報告した。

#### 40. 疼痛感覚の質的表現を具現化する電気刺激システムの開発

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
瀬野 晋一郎	保健学部臨床工学科	講師	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
嶋津 秀昭	北陸大学医療保健学部	教授	システム全体の立案
小林 博子	保健学部臨床工学科	准教授	基礎データの分析
渡辺 篤志	保健学部臨床工学科	講師	ソフトウェアの開発
木暮 英輝	保健学部臨床工学科	助教	ハードウェアの開発

##### キーワード

痛み、電気刺激、マクギル疼痛質問表
-------------------

##### 研究分野

生体計測
------

### 1. 共同研究の目的

本研究は痛みの”質（表現）”を実体の伴う感覚として再現可能な電気刺激システムの開発を目的とする。痛みは主観的な要素からなる生体の警告信号であり、客観的に評価することは重要である。マクギル疼痛質問表は痛みの質を言語で分類評価する方法の1つであるが、その表現の数が多いこと、国や地域、言語によって表現（意味）が異なることなどの問題が挙げられる。そこで、痛みの表現に対応する感覚を具体的に描出することが可能となれば、言語とは異なる手法で痛みの質を評価できると考えている。

### 2. 共同研究の内容・計画

皮膚感覚は3種類の感覚神経（Aβ線維、Aδ線維、C線維）を介して伝達され、これらの神経系を個々に刺激することで対応する感覚が誘発される。3つの神経線維は正弦波刺激に対する周波数特性が異なるので、本研究はその特性を利用した複合的電気刺激システムの作製を試みる。システムの開発後、健常な被験者を対象とした基礎実験を行い、誘発される感覚と主観的アンケート評価を比較検討する。得られる基礎データを解析して、電気刺激による皮膚感覚の具現化の可能性を検証すると共に、試作装置の改良および主観的な皮膚感覚の表現と3種類の神経線維の関連性を客観的に分析する。北陸大学の嶋津はデータの評価と分析を行い、杏林大学チームはデータ収集と評価を行う。

### 3. 研究成果（経過）

痛みは主観的な要素からなる生体の警告信号であり、客観的に評価することは重要である。マクギル疼痛質問表は痛みの性質を言語で分類評価する簡便な手法の1つであるが、痛みの表現は国や地域、言語によって異なるなどの問題が挙げられる。そこで、我々は痛みの性質（表現）を実体の伴う感覚として再現可能な電気刺激システムの開発を試み、痛みの表現に対応する感覚を具体的に描出することが可能となれば、言語とは異なる手法で痛みの性質を評価できると考えている。

試作システムは5、250および2000 Hzの正弦波刺激に対する知覚感度（電流知覚閾値）の測定後、各電流値を任意の倍率に増幅し、単一刺激あるいは組み合わせた複合刺激として出力できる。本研究では、健常なボランティア学生20名の左前腕部を対象に電気刺激を行い、それに伴い誘発される感覚を日本語版マクギルの疼痛質問表を用いて分類させた。実験の結果、2000Hzの単一刺激では過去の報告同様、疼痛感覚が誘発されにくかった。一方、5Hz、250Hzの単一刺激では刺激量の増大に伴い様々な痛みの性質が誘発され、特に5Hzを含む単一および複合刺激では拍動痛が顕著に現れる傾向を認めた。しかし、本研究の結果から刺激周波数と痛みの性質に関する分類には至らなかったため継続してデータの蓄積に努める。

## 41. 皮膚体表面における水分蒸発量の計測および皮膚バリア機能評価に関する研究

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
瀬野 晋一郎	保健学部臨床工学科	講師	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
嶋津 秀昭	北陸大学医療保健学部	教授	研究全体の立案
小林 博子	保健学部臨床工学科	准教授	生体データの収集および分析
渡辺 篤志	保健学部臨床工学科	講師	ソフトウェアの開発
木暮 英輝	保健学部臨床工学科	助教	基礎実験モデルの確立

## キーワード

皮膚バリア、経皮水分蒸散量(trans epidermal water loss; TEWL)

## 研究分野

生体計測

## 1. 共同研究の目的

皮膚は体内から過剰な水分の蒸散を防止することに加え、外部環境から異物の侵入を抑制する。このような働きは皮膚バリアとして周知され、その機能異常は生体の恒常性を損なう恐れがあり、客観的かつ簡易的な手法でバリア機能を評価することが望まれる。そこで、本研究は皮膚表面から自然と蒸散する経皮水分蒸散量（trans epidermal water loss; TEWL）を定量的に分析することを目的とした計測システムを開発し、皮膚に備わるバリア機能を数値化して客観的な評価を試みる。

## 2. 共同研究の内容・計画

本研究は TEWL とバリア機能の定量化を目的とした測定システムの開発および改良を行う。TEWL は外部環境と生体の間における湿度差で生じる水分の拡散現象を温度や相対湿度に基づいた数式モデルより求める。まず、試作装置の有用性を検証するために、簡易的な生体モデルを構築して定期的に蒸散する水分の計測を行い、算出される数値を分析する。次に、健常な被験者を対象として身体の部位（前腕部、手掌、前額部など）、季節の変化、化粧品の有無などの TEWL に影響を与える要因を把握し、TEWL とバリア指標の関連性を分析する。北陸大学の嶋津は主として原理の理論的な考察と測定精度の分析を行い、杏林大学では基礎実験、被験者による測定、データ分析を行う。

## 3. 研究成果（経過）

皮膚は体内から過剰な水分の蒸散を防止することに加え、外部環境から異物の侵入を抑制する。このような働きは皮膚バリアとして周知され、その機能異常は生体の恒常性を損なう恐れがあり、客観的かつ簡易的な手法でバリア機能を評価することが望まれる。そこで、我々は皮膚からの経皮水分蒸散量（trans epidermal water loss; TEWL）を定量的に計測可能なシステムを開発し、得られる測定値よりバリア機能に関する評価指標の算出を試みた。

開発システムを利用して、健常なボランティア学生 40 名を対象に 5 月から 9 月の各月末という日程で 4 カ所（手甲部、肘部、前額部、踝）を計測した。実験の結果、TEWL とバリア指標は測定部位および季節ごとで明らかに異なる値を示すことが確認できた。過去の研究報告と比較すると、本システムで得られた実測値（TEWL）は僅かに小さい傾向であった。加えて、皮脂や発汗の影響も一部観察されたので、今後はこれらの点を考慮して本システムの測定原理や TEWL とバリア指標の算出に対する数式モデルを再検討する必要性が示唆された。

## 42. 血液型 D 抗原の発現制御メカニズムの解明

### 研究代表者

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

### 共同研究者

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

### キーワード

RhD 抗原、発現制御メカニズム、相互作用分子
-------------------------

### 研究分野

輸血
----

#### 1. 共同研究の目的

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

#### 2. 共同研究の内容・計画

RhD の既知の相互作用分子、候補分子について蛋白・蛋白間相互作用が具体的にどの蛋白間で起きているのか検討する。まず RhD の各アイソフォームを組み込んだ N 末端 Myc、Flag-tag 付の強制発現ベクターを作成、これと相互作用分子の全長・各機能ドメインの強制発現ベクターを 293 細胞に同時導入する。抗 Flag 抗体、抗 Myc 抗体を用いた免疫沈降で RhD 蛋白と直接相互作用するキー分子を絞り込む。得られた直接相互作用分子については D 抗原の強制発現系と赤芽球系細胞株 K562 に同時導入し、正常 D 抗原発現細胞モデルの作成を試みる。

#### 3. 研究成果（経過）

RhD の各アイソフォーム (Wild, DEL7, DEL9, DEL78, DEL89, DEL789, 3-9CE)、RHCE を組み込んだ N 末端 Flag-tag 付の強制発現ベクターを作製した。また、相互作用分子として ANK1, RHAG に Myc-tag あるいは HA-tag を付けた全長・各機能ドメインの強制発現ベクターを作製した。単独で 293 細胞に導入し、ウェスタンブロッティングで検出したところ、ANK1 は良好に検出できたが、RhD アイソフォームははっきりとしたバンドは確認できなかった。RHAG は Myc-tag, HA-tag とも検出できなかったため、さらに Flag-tag, GFP-tag にのせかえて検討を実施している。まずは Flag-RhD アイソフォームと良好であった ANK1 を 293 細胞に同時導入して蛋白を回収した。Flag-RhD アイソフォームの検出が弱かったことから、抗 Flag 抗体を用いた免疫沈降で RhD 蛋白を落とし、ANK1 で検出することで ANK1 が RhD 蛋白と直接相互作用するキー分子かを検討した。しかし、現時点で明らかなバンドが確認できておらず、細胞や反応タンパク量、抗体の条件を変え、良好に検出できる条件を検討している。

## 43. 医用テレメータ使用環境下における院内電磁波環境の評価方法の検討

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中島 章夫	保健学部臨床工学科	准教授	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
斎藤 人志	金沢医科大学氷見市民病院 (一般・消化器外科)	教授 (ME 部 部長)	研究全体の立案
森山 学	金沢医科大学氷見市民病院	教授	研究全体の立案
森下 貢成	金沢医科大学氷見市民病院	臨床工学技士	実験方法立案、分析
余川 絢音	金沢医科大学氷見市民病院	臨床工学技士	データ収集、及び分析、アンケート調査
玉谷 亮一	石川県済生会金沢病院	臨床工学技士	データ収集、及び分析、アンケート調査
鈴木 哲治	保健学部臨床工学科	助教	測定環境モデル・評価方法の確立

## キーワード

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

## 研究分野

医療電磁環境

## 1. 共同研究の目的

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

(☆電波環境協議会,医療機関において安心・安全に電波を利用するための手引き, 電波環境協議会, 2016. p12-25.)

## 2. 共同研究の内容・計画

本研究は、電磁波を測定するアンテナシステムと電磁波の電力・電界強度を周波数成分で計測・解析可能なスペクトラムアナライザを用いて、院内医用テレメータ使用状況下における電磁波環境の評価を定量的に行う。まず、金沢医科大学氷見市民病院、及び石川県済生会金沢病院にて、使用されている医用テレメータのアンテナ方式・チャンネル範囲、CN 比等について調査するとともに、これまで医用テレメータ使用環境下において、照明器具や通信機器、他医療機器からの電磁干渉の事例について、病棟看護師、臨床工学技士を対象にアンケート調査を行う。次に、アンテナシステム、スペクトラムアナライザを用いて、アンケート調査結果から電磁干渉が生じた病棟や、照明器具などを交換した病棟、新規に導入した高出力エネルギーを持つ医療機器の使用場所等を中心に、院内医用テレメータ使用環境下での電磁波の電力・電界強度の測定・分析を行い、電磁波環境の新たな評価方法の確立を検討する。杏林大学では、測定環境モデルの確立、データ分析、院内電磁波環境の評価方法の分析を行う。

## 3. 研究成果（経過）

本研究は、電磁波を測定するアンテナシステムと電磁波の電力・電界強度を周波数成分で計測・解析可能なスペクトラムアナ

ライザ（以下、スペアナ）を用いて、院内医用テレメータ使用状況下における電磁波環境の測定・解析による定量評価を目的としている。

2018年度は、まず測定実施前調査として、金沢医科大学氷見市民病院で使用されている医用テレメータの製造メーカー、アンテナ方式、使用チャンネル範囲について調査調査を行った。これをもとに、2019年1月19日に金沢医科大学氷見市民病院の医用テレメータが設置・使用されている病棟（合計5病棟）にて、電界強度の測定をスペアナ、及びアンテナシステムを用いて測定し、データをまとめた。測定結果については、第94回日本医療機器学会大会（2019年6月14～15日、大阪、発表者：余川絢音）、第58回日本生体医工学会大会（2019年6月6～8日、沖縄、発表者：中島章夫）にて発表を予定している。

今後の計画として、照明器具や通信機器、他医療機器からの電磁干渉の事例について、病棟看護師、臨床工学技士を対象にアンケート調査を行う。次に、スペアナ、アンテナシステムを用いて、アンケート調査結果から電磁干渉が生じた病棟や、照明器具などを交換した病棟、新規に導入した高出力エネルギーを持つ医療機器の使用場所等を中心に、院内医用テレメータ使用環境下での電磁波の電力・電界強度の測定・分析を行い、電磁波環境の新たな評価方法の確立を検討する。杏林大学では、測定環境モデルの確立、データ分析、院内電磁波環境の評価方法の分析を行う。

## 44. 院内デイケアの活動による入院患者の日中活動係数、睡眠状態への影響

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
門馬 博	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	役割分担
佐藤 雅晃	南多摩病院	副主任	介入研究の責任者
八並 光信	保健学部理学療法学科	教授	データ解析、研究遂行支援

## キーワード

院内デイケア、活動量、睡眠覚醒リズム

## 研究分野

リハビリテーション

## 1. 共同研究の目的

入院による活動量の低下や生活環境の変化は、廃用症候群をもたらしたり、睡眠障害を招いたり、心身のストレス要因となる。その対策として、リハビリテーションは重要であるが、さらに日中活動量を増すことにより、日常生活自立度を高める効果が期待される。

本研究の目的は、活動量および睡眠覚醒リズムを Actigraph（体動センサー）でモニタリングし、院内デイケア活動の効果判定を行うことである。

## 2. 共同研究の内容・計画

(1)対象は、75 歳以上の腰椎圧迫骨折の診断にて保存的加療中の入院患者で、院内デイケア活動の参加に同意し、なおかつ本研究への趣旨を十分に理解して、同意書に署名した者とする。なお、介入中において同意の撤回をした場合は、ただちに中止する。

(2)方法は、Actigraph を非利き手に 2 週間装着する。院内デイケア参加日の平日と院内デイケア休止日の土日祝日の身体活動量と睡眠覚醒リズムを比較する。その他、ADL テスト、N 式老年者用日常生活動作能力評価、気分スケール、高齢者うつ尺度短縮版等の評価を行う。本研究は、南多摩病院倫理審査委員会および杏林大学倫理審査委員会の許諾のもと行われる。

## 3. 研究成果（経過）

2018 年度の進捗としては以下のとおりである。

- ・杏林大学保健学部における倫理審査受審
- ・医療法人社団永生会における倫理審査受審
- ・門馬、佐藤、八並の 3 者によるミーティングを行い、使用機器（アクチグラフ）の取り扱いに関する打ち合わせを開催

以上より、入院患者を対象としたデータ収集を開始する段階まで至ったが、病院内における季節性インフルエンザの流行から研究の遂行が困難となったため、データの収集は次年度に延期することとなった。

#### 45. インフルエンザ抗原検出試薬の発症初期での有用性の評価

##### 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
小林 治	保健学部臨床検査技術学科	教授	統括

##### 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
寺田 昭子	富士フィルムメディカル株式会社	営業本部 POCT 部	PCR 検査

##### キーワード

インフルエンザ、発症初期、迅速診断キット、感度

##### 研究分野

臨床検査

#### 1. 共同研究の目的

インフルエンザ診断に用いられる厚生労働省認可の迅速キットは感度が低く、発症後 6 時間未満で多くの偽陰性が存在する。発症初期の検出感度を高める目的で開発された富士ドライケム IMMUNO AG カートリッジ FluAB (以下、\*本試薬) について、インフルエンザウイルス抗原検出の発症からの検出率について臨床性能評価を行う。

#### 2. 共同研究の内容・計画

- すでに取得済みの日常検査後の凍結保管抽出液残液を用い、日常検査で実施された本試薬及びリアルタイム PCR と比較検討する。
- 杏林大学保健学部から凍結保管された抽出液残液を富士フィルムメディカルに提供する。  
提供された抽出液残液を本試薬専用測定機器である富士ドライケム IMMUNO AG1 の測定とリアルタイム PCR 測定を実施する。測定結果を杏林大学保健学部へ報告する。
- 杏林大学保健学部においてリアルタイム PCR 測定結果に対する日常検査試薬、本試薬測定結果を比較し感度、特異度、発症時間による感度の比較を実施する。

#### 3. 研究成果（経過）

すでに検体や必要な試料は収集されているが、共同研究の事務処理に時間を要したために実際の研究開始は 3 月中旬であった。そのことから、本学研究倫理審査委員会に申請した予定の研究期間を平成 31 年 3 月 31 日から同年 6 月 30 日まで延期したものを変更申請中である。倫理審査委員会承認後、速やかに共同研究に関する内容の変更を申請する所存である。  
また、富士フィルムメディカル株式会社から本学に向けての研究経費 500,000 円については手続き中である。

## 46. 高周波を用いた人工心肺装置の静脈リザーバ内貯血量連続モニタリング装置の研究開発

## 研究代表者

氏名	所属	職名	役割分担
中村 淳史	保健学部臨床工学科	講師	統括

## 共同研究者

氏名	所属	職名	役割分担
桑名克之	泉工医科工業(株)	部長補佐	共同研究助言・統括
脇田俊昭	(有)啓	取締役	プロトタイプ測定装置の作成
五島康人	(株)さがみはら産業創造センター	インキュベーション・マネージャー	コーディネート業務

## キーワード

心臓手術、人工心肺装置、静脈リザーバ

## 研究分野

臨床工学

## 1. 共同研究の目的

人工心肺 (CPB : cardiopulmonary bypass) を用いた心臓血管手術時の患者循環血液量は心筋保護液や輸液、患者尿量、脱血流量などで変化する。現在、CPB 中の循環血液量は静脈リザーバ (VR : venous reservoir) 内の血液量 (貯血量) を目視で監視を行い調節が行われている。VR 内貯血量は患者水分バランスの調整、血行動態把握、輸血量の決定、CPB 装置の安全性や自動化に重要な項目である。しかし、貯血量を連続的に数値化・モニタリングを行う装置は実用化されていない。そこで、本研究では VR 貯血量の連続的モニタリング装置の開発を行う。

## 2. 共同研究の内容・計画

2019年1月～2019年5月

VR リザーバに血液および電解質液を充填させ、VR 内の液体積に対して LCR メータを用いて周波数 100Hz～数 MHz 帯域における電気的特性を取得する。結果より、測定に最適な周波数範囲の決定を行う。

2019年6月～12月

VR 内の液体積に対しての電気的特性より測定方法を確立し、プロトタイプの測定装置を作成する。次に、測定装置を使用して VR 貯血量が実用範囲内の精度で測定が可能か評価を行う。

## 3. 研究成果 (経過)

平成 31 年 2 月 20 日に共同研究を行う 3 社 (5 名) と打ち合わせを行い、2019 年度の研究スケジュールの確認と研究の打ち合わせを行い、装置開発に向けて達成すべき課題や問題点に関して協議した。共同研究開始日より日が浅いため 2018 年度の研究成果はない。