

一般財団法人横浜総合医学振興財団

# 研究等助成報告書

(学生自主的活動助成報告書掲載)

本文は財団ホームページに掲載

<http://www.ysougoigaku.com/>

財団助成  
平成26年度

## 刊 行 に 当 た っ て

助成対象研究の成果である報告書をまとめた平成26年度研究等報告書抄録集並びに医学教育・学生活動助成報告書を刊行いたしました。

昨年度までは、「研究等報告書抄録集」及び「医学教育・学生活動助成報告書」としてそれぞれを冊子で刊行しておりました。しかしながら、平成26年度から助成事業規模を縮小したことに伴い、今回から1冊にまとめました。

なお、「研究等報告書抄録集」については、昨年度から研究成果をより広く周知するとともに経費節減を目的に、抄録及び本文の全文を財団ホームページへ掲載しております。

1 以下、具体的な事業の概要を記しますが、「研究助成事業」では、

- ① 進研究助成は、梅原清氏御夫妻からの御寄附を財源として、相当の実績を有する研究者を対象として特に臨床応用が期待される優れた医学研究の推進を目的としており、優れた研究に対しては3ヶ年度の継続助成を行っています。

平成26年度助成実績 10件（助成金 計1,000万円）

また、3ヶ年度継続助成を行った研究のうち、特に優れた研究に対して「梅原賞」を授与していますが、27年度に2か年分を併せて審査することにしました。

- ② わかば研究助成は、将来を担う若手の医学研究者の育成を目的として大学院生を含む35歳以下の研究者が行う研究を助成しています。

平成26年度助成実績 8件（助成金 計500万円）

- ③ 医療技術研究助成は、医師を除く医療従事者が行う実務的研究や業務改善の進捗を図ることを目的として、医師を除く医療従事者が行う研究等を助成します。

平成26年度助成実績 6件（助成金 計100万円）

- ④ 医学・医療関連事業助成は、医学領域における社会的課題に対する組織的活動の支援を目的とし、啓発や研修事業などの組織としての取組みに助成します。

平成26年度助成実績 該当助成なし

- ⑤ 指定寄附研究助成は、寄附者の意思によって指定された分野の研究に助成します。

平成26年度助成実績 1件（助成金 計100万円）

2 次に、「医学教育・学生活動助成」は、横浜市立大学関係者が行う医学関連事業に対する助成です。

- ① 学生自主的活動助成として7件、57万円。

以上のとおり、平成26年度は若手研究者に重点をおいた研究助成及び医学教育・学生活動助成の2事業を行いました。

27年度以降も、若手研究者を中心にした助成など、当財団の特色を出しながら貴重な財源を有効に活用した助成を続けて参ります。

今後とも、関係皆様方のご支援、ご指導を賜りますようお願い申し上げます。

平成27年11月

一般財団法人横浜総合医学振興財団

理事長 井出 研

# 目 次

## I 推進研究助成

第10グループ(平成24年度～26年度継続助成終了)

臓器創出へ向けた戦略的研究：ヒト iPS 細胞を用いた革新的三次元肝・

[膵組織創出法の開発](#).....1

武部 貴 則

[Birt-Hogg-Dubé \(BHD\) 症候群の診療拠点化と病態解明](#).....5

古屋 充 子

[微小管制御異常に起因する脊髄小脳変性症の新たな発症メカニズム](#)

[の解明](#).....9

鈴木 厚

[精神疾患の神経回路形成障害のメカニズムおよび治療法の解明を目的とした](#)

[プロテオミクスと構造解析](#).....14

宮崎 智 之

## II わかば研究助成

[ポリグルタミン病凝集体形成における BAG6 複合体の役割についての検討](#).....18

多田 美紀子

[ナノ薄膜法を用いた iPS 細胞の平滑筋分化誘導と血管再構築](#).....22

石渡 遼

[ATP2B1 遺伝子のカルシウム動態への影響とその臨床応用](#).....25

藤原 亮

[PirB 制御によるアルツハイマー病の新規治療法の開発](#).....29

栗原 裕 司

[ラット膀胱尿路上皮の伸展刺激受容機構における TRPM8 チャンネルの](#)

[機能的役割の解明](#).....32

伊藤 悠 城

[膵癌の新規治療効果/予後予測マーカー、新規治療分子標的の探索：](#)

[低酸素・低栄養環境下で相乗的に発現誘導される遺伝子群を候補分子とする](#)

[臨床病理学的解析](#).....35

青山 徹

[メトホルミンによる膵β細胞機能および量の制御機構の解明](#).....39

田島 一 樹

[ヒト免疫不全ウイルス蛋白質の翻訳後修飾とその機能解析](#).....45

宮川 敬

<25年度 奨励研究助成>

[小分子 RNA による精巢幹細胞分化制御システムの解析](#).....45

富澤 信 一

### III 医療技術研究助成

軟部腫瘍の病理診断における chromogenic in situ hybridization (CISH) 法の  
確立.....48

川 島 真 人

脳腫瘍PETイメージングにおける高精度自動領域抽出法の開発.....51

我 妻 慧

抗悪性腫瘍薬治療に伴う心筋障害の評価における心筋トロポニンの有用性に  
関する研究.....54

橋 口 研 朗

肝線維化におけるHA, PⅢNP, TIMP-1 の検討と評価.....57

小 森 彩

感染症診断のための遺伝子解析法の確立.....60

杉 山 嘉 史

関節リウマチの足関節に対する関節エコーを用いた詳細な観察.....63

豊 田 行 健

<25年度 医療技術研究助成>

心臓カテーテル検査を受ける幼児へのプレパレーションの効果：就学前の幼児の保  
護者へのアンケート調査から.....66

中 村 祐 子

### IV 指定寄附助成

心臓疾患研究助成（24年度）

虚血性心疾患発症におけるEPACの役割について検討.....69

藤 田 孝 之

### V 学生自主的活動助成

UCSD 平成26年3月31日～4月27日

堀 越 理 仁.....71

University of Washington Medical Center (UWMC) における臨床実習

平成26年7月21日～8月1日

豊 田 真 寿.....74

Oregon Health Science University における研修

平成27年2月20日～3月6日

富 田 詩 織.....81

解剖実習における考察結果の日本解剖学会全国集会・学生セッションでの発表

荻 窪 まどか.....90

村 田 紡.....92

深 沢 聖.....93

山 田 理 佳.....94

遠 藤 桜 子.....95

鈴 川 祐 一 郎.....96

川 村 飛 翔.....97

Orthopedic Research Society(ORS)におけるポスター発表

<u>内 山 真</u> .....	98
--------------------	----

Wex medicine 地域医療班・奈良実習（大福診療所、奈良医大、  
明日香村国民健康保険診療所）

<u>大 東 杏</u> .....	100
--------------------	-----

<u>茂 木 悠 平</u> .....	102
----------------------	-----

<u>田 邊 桃 佳</u> .....	103
----------------------	-----

<u>相 澤 広太郎</u> .....	107
----------------------	-----

<u>山 田 佑 輝</u> .....	114
----------------------	-----

和歌山疫学実習

<u>繁 田 奈央子</u> .....	115
----------------------	-----

<u>大 東 杏</u> .....	116
--------------------	-----

<u>茂 木 悠 平</u> .....	118
----------------------	-----

<推進研究助成>

研 究 報 告 書

ヒト iPS 細胞を用いた革新的三次元肝・膵組織創出法の開発

武部 貴則

(谷口英樹, 関根圭輔)

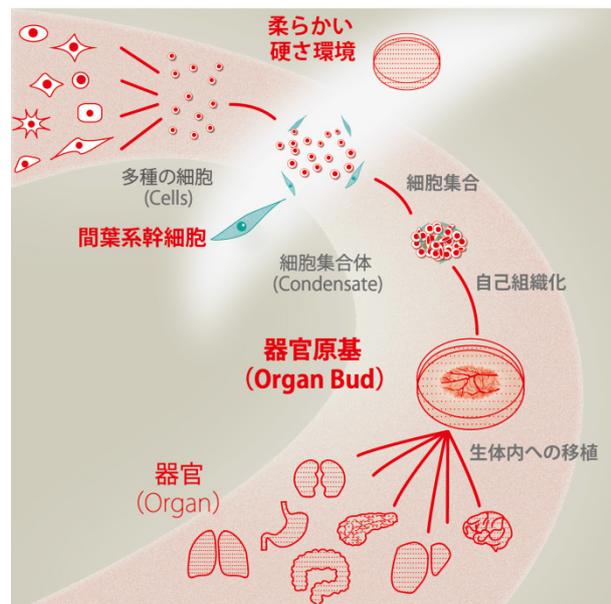
横浜市立大学 大学院医学研究科 臓器再生医学

1.目的

人工多能性幹細胞 (iPS細胞) などの幹細胞を用いた再生医療の実現をめざすうえでは、目的とする細胞のみならず、血管、血液、間質、神経などの支持細胞を含む立体的な構造の時間変化および空間変化を再現することが必要であるという仮説が有力になりつつある。これらを実現するために、多能性幹細胞に由来する器官の創出に多種多様な細胞間相互作用を応用する革新的な3次元 (4次元) 培養系が待望されていた。

近年、われわれは、胎内において器官原基が形成される過程を模倣する新規の細胞培養技術である器官原基法を開発し、試験管内においてヒトのiPS細胞から立体的な肝臓原基の自律的な自己組織化 (self-organization) が起こることを示した。すなわち、前腸内胚葉からの肝臓原基の形成に必要な、間葉系前駆細胞および血管内皮前駆細胞と肝内胚葉細胞との細胞間相互作用を模倣する培養系を確立した。この方法により、未分化な内胚葉細胞、血管内皮細胞、間葉系細胞を共培養すると、約48時間の培養により細胞が集合し (self-condensation) 、数日間の培養により立体的な肝臓原基が形成された。一方、肝臓原基が形成される分子機構に関しては未解明な点が多く、ほかの器官原基への応用が可能であるかどうかは不明であった。

そこで、この研究では、iPS細胞に由来する肝臓原基の形成を、分子細胞生物学的な手法や細胞動態の数理モデルなどにより解析し器官原基形成機構の解明を試みた。さらに、この動作原理がほかの器官の再構成のための手法として利用可能であるかどうか検討した。



## 2. 方法

ジエチルエーテルを用いて麻酔した GFP/RFP 蛍光トランスジェニックマウス妊娠12-13日目の腹部を70%エタノールで消毒した後、開腹し、胎児を摘出した。胎児から腎臓、脳、心臓、肺、肝臓、腸、癌などより分離した細胞を、 $2 \times 10^6$  cellsのHUVEC、 $2 \times 10^5$  cellsのMSCと混合し、細胞を播種した。その後、37°Cのインキュベーターで1日間培養した。培養には、さまざまな硬さ特性を有するハイドルゲル基板を用いて、物理特性が器官原基形成に及ぼす影響を検討した。また、作製した器官原基を体内に移植した後に、機能的な組織の形成過程を詳細に解析する目的で、免疫不全マウス頭蓋観察窓内への移植実験を行った。形成された組織は、遺伝子発現マイクロアレイ、組織学的解析、電子顕微鏡解析などに加えて、疾患モデル動物に対する治療効果を評価することで機能発現の定量評価を行った。

## 3. 結果

タイムラプスイメージング解析により細胞の動態を追跡するため、各種の細胞を蛍光で標識し器官原基法により共培養した。その結果、迅速な集合により細胞集合体が形成されたのち、内皮細胞によるネットワークの形成といった自己組織化をつうじた空間の再構成が起り、器官原基が形成されることを見出した。このような初期の過程に生じる細胞集合のダイナミクスを*in silico*によるモデル解析により詳細に検討した結果、器官原基の形成の初期過程では多細胞系の急速な力学的な収縮が起こっていることを示唆された。実際、このような細胞集合体の収縮のダイナミクスは、指数関数により示される粘弾性体の収縮モデル(Kelvin-Voigt model)により近似できることがわかった。つまり、細胞集合体の形成および収縮は個々の細胞の自律的な遊走よりも、多数の細胞系における力学的な収縮によるものであることが示唆された。一方、細胞骨格系タンパク質の活性化を阻害する薬剤ブレビスタチンを添加したところ細胞集合体の形成が阻害されたことから、アクチン系による収縮力が重要な役割をはたしていることがわかった。また実際に、アクチン系の発現の経時変化をみたところ、播種ののち数時間で発現量は最大になった。これは、さきに示した、大きな収縮がはじまる時間スケールとほぼ一致した。さらに、細胞集合体の形成に必要な細胞種を検討したところ、間葉系前駆細胞が欠けた場合にのみ細胞集合体の形成が阻害されることがわかった。以上の結果から、間葉系前駆細胞の骨格系タンパク質の収縮力が、力学的な細胞集合体の形成の駆動源である可能性が示された。

これまでの結果から、力学的な細胞集合体の形成には細胞のあいだの相互作用、とくに、収縮力と接着力が重要であることがわかった。一方、この現象はマトリゲルのうえで効率的に生じることがわかっているが、細胞とマトリゲルとのあいだの相互作用がどのくらい影響をあたえるかはわかっていなかった。そこで、多細胞系から器官原基が形成される過程において基板の硬さがどのような影響をあたえるかを検証した。具体的には、硬さを自在に制御することの可能なヒドロゲルの基板を構築し、さまざまな硬さ条件の基板のうえに細胞を播種した。その結果、細胞集合体はヤング約10 kPaという硬さ条件において効率的に形成されることがわかった。今回の結果は、ミリメートルに

わたる大きなサイズスケールの場合でも、細胞と細胞のあいだの収縮力および接着力と、細胞と細胞外との接着力とのあいだに力の競争が存在し、ゲル基板の硬さがその制御因子であることを示したものと考えられた。

以上のように最適な硬さ環境における間葉系前駆細胞を起点とした収縮が自律的な細胞集合体の形成に重要であるならば、器官原基法は胚葉の由来に関係なくほかの器官原基に拡張できるものと考えられた。そこで、さらなる汎用性を評価するため、マウスの胚および成体の複数の器官から細胞を単離し、器官原基法により共培養した。驚くべきことに、細胞集合体の形成による複合組織の形成は、肝臓のみならず、膵臓、腸、肺、心臓、腎臓、脳、さらには、がん細胞を含むすべての細胞種において保たれていた。すなわち、移植手術にたえる力学的な強度をもつ細胞集合体が形成されることが判明した。実際、血管内皮細胞を含む組織を再構成して移植することにより、従来の組織工学的なアプローチと比べ、移植ののちはるかに短い時間で血液の再灌流が生じた。したがって、器官原基法は任意の種類および量の多細胞系から複合組織を形成するうえで汎用的な基盤技術になると考えられた。

次に、単離されたマウスの膵  $\beta$  細胞株、血管内皮細胞、間葉系前駆細胞の共培養により細胞集合体を形成し生体へ移植したところ、迅速に血液に再灌流が生じ、生着した  $\beta$  細胞は最終的に豊富な微小血管ネットワークをもつ膵島様の組織を形成した。さらに、疾患モデルに対する治療の有効性を評価するため、1 型劇症糖尿病モデルマウスの腎臓の被膜下に細胞集合体を移植した。対照となるマウスでは糖尿病を誘導したのち 6 日目に死亡したのに対し、細胞集合体を移植したマウスは早期に血糖値が正常化し生存した。今後、ヒト iPS 細胞などに由来する膵臓原基を再構成することができれば、従来の方法と比較してよりすぐれた糖尿病の治療法を生みだすことが可能になると期待される。

さらに腎臓の創出への応用の可能性を検討したところ、胎仔の腎臓原基より単離した細胞を血管内皮細胞、間葉系前駆細胞と共培養することにより、同様に細胞集合体を形成することに成功した。驚くべきことに、作製した腎臓原基は移植により数日で血液が血管に流入し、移植 21 日目には血液を濾過する機能をもつ糸球体様の組織を再構成した。移植 21 日目に摘出した組織の遺伝子発現の解析、免疫染色、電子顕微鏡による解析の結果、濾過の機能に必須となる足細胞、基底膜、内皮細胞からなる三つ組構造が形成されていることが見い出された。したがって、多能性幹細胞を用いて創出された組織の臨床への応用を想定した場合、終末分化した成熟細胞あるいは成熟組織を利用するよりも、器官原基に相当する未熟な組織を移植したほうが、機能性および治療の有効性にすぐれる可能性があると考えられた。

#### 4. 考察(自己評価, 今後の展望など)

この研究においては、実験的にさまざまな器官に由来する細胞に血管内皮細胞を組み込むことにより、機能的な血管網の迅速な形成と、それにつづく自己組織化をつうじた機能の発現が実現することが明らかにされた。今後、この手法を活用することにより、いまだ評価のなされていない多様な支持細胞の自己組織化への寄与を評価することが可能となり、複雑な器官形成を担保する新

規の培養系の開発につながるものと期待される。この研究が明らかにした間葉系細胞の凝集を活用した細胞集合体の作製は、多能性幹細胞を用いたヒト基礎生物学やヒト病理学を研究するための強力なツールとなるのみならず、治療の困難な疾患の治療をめざす次々世代の再生医療を実現する中核技術となるものと期待される。

## 5. 論文及び学会発表

### 受賞等

1. 武部貴則：ベーリンガーインゲルハイム 平成 26 年度ベルツ賞，2014
2. 武部貴則：横浜市立大学医学会 平成 25 年度医学会賞，2014
3. 武部貴則：公益財団法人 かなえ医薬振興財団 平成 26 年度 第 43 回研究助成金受賞，2014

### 主な論文：共著者も含め計22本中5本を記載

1. **Takebe T\***, et al: *Cell Stem Cell*, in press. (Selected as **Cover Work**)
2. **Takebe T**\*, et al. *Journal of Clinical Investigation*, 2014.
3. **Takebe T\***, et al: *Nature Protocols*, 2014.
4. Rashid T, **Takebe T**, Nakauchi H: *Gut*, 2014
5. **Takebe T**, Taniguchi H: *Clinical Pharmacology Therapeutics*, 2014

招待講演：国内:14回, 国外:17回

[目次に戻る](#)

<推進研究助成>

研 究 報 告 書

課題名

Birt-Hogg-Dubé (BHD) 症候群の診療拠点化と病態解明

報告者名・所属部科名

古屋 充子 (代表) ・ 横浜市立大学医学研究科・分子病理

長嶋 洋治 (共同研究者) ・ 東京女子医科大学附属病院・病理診断科

中谷 行雄 (共同研究者) ・ 千葉大学大学院医学研究院・診断病理学

矢尾 正祐 (共同研究者) ・ 横浜市立大学医学研究科・泌尿器科

## I. 目的

Birt-Hogg-Dubé(BHD)症候群は、フォリクリン(*FLCN*) 遺伝子の胚細胞変異に基づく常染色体優性遺伝性疾患で、多発性腎癌や皮膚腫瘍、反復性気胸などを高頻度に発生します。BHD 症候群は H27 年度現在、まだ厚生労働省の特定疾患に認定されておらず、日本では長年、殆どの患者さんが疾患情報を持たないまま不適切な治療を受けていました。本邦における罹患者の正確な人数はまだ把握されていませんが、我々のこれまでの情報集積から 200 家系以上存在することが判明しました。我々は本邦初の BHD 症候群診療ウェブサイト“BHD ネット”を通じて BHD 症候群の啓蒙活動と遺伝子診断、定期検査を推進しており、2012 年度に横浜市立大学附属病院に開設した BHD 専門外来と併せて BHD 症候群の患者さんやご家族から早期腎癌を発見し、臓器温存腫瘍摘出術につながる症例も得ました。BHD 症候群患者さんは将来、腎癌を発症しても初期から適切な治療を提供することが可能です。我々の主たる活動目的は、

- ①全国医療機関から紹介受診される BHD 症候群の患者さんに対する包括的診療体制の確立。
- ②本邦における BHD 症候群の診断基準の確立と診療ガイドライン作成。
- ③本邦の研究代表チームとして BHD 症候群病態の解明と治療標的に関する研究を推進する。

この 3 点です。

## II. 方法

### 【①診療】

疑い患者の紹介は診療ウェブサイトや横浜市立大学附属病院 BHD 専門外来への紹介受診を通じて行い、診療情報をチームメンバーで検討し、遺伝子検査被験適応例に関しては十分なカウンセリングを経て検査を施行する。FLCN 変異を認める場合は全身精査を行い悪性腫瘍の有無をスクリーニングし、各診療科で情報共有しながらフォローアップする。また家族についても保因者の有無を可及的に検討し、家族への啓蒙活動を行うとともに、必要に応じて遺伝子検査を提供する。

### 【②ガイドライン作成準備と先進医療承認】

集積される診療情報を元に、日本人向けの診断基準の作成と診療ガイドライン作成のための正確なデータを構築する。厚労省の先進医療承認を得る。

### 【③病態解明】

BHD ネットに提供される腎癌・肺嚢胞・血液・その他疾患臓器の病理組織標本や検体資料を用いて各臓器に発生する病態の解明、FLCN の機能解析や治療標的探索のための解析を行う。

## III. 結果

### 【①診療】

2015年現在のべ107のBHD家系を新規に同定しました。症状を有する家族を合計すると275名です。保因者ほぼ全員が何らかの関連症状を発症し、腎癌の発症リスクは20%程度と判明しました。また14か所のエクソン領域において11-13番目に半数以上の変異が集中していることも分かりました。開設後2年半でBHD専門外来を受診した患者は58名となり、うち48名は県外からの受診でした。今後も増加が予想されます。

### 【②ガイドライン作成準備と先進医療承認】

欧州 BHD コンソーシアムは 2009 年に診断基準を提唱しましたが、大基準に位置づけた皮疹が日本人患者では 30%程度と乏しく軽微で、日本人患者の多くは反復性気胸や多発性嚢胞から発見されることが明らかになりました。また肺嚢胞や腎腫瘍の特徴的な病理組織像と臨床情報を元に日本人向けのガイドライン作成準備を進めています。厚労省へ提出中の先進医療申請は、現在厚労省担当者の指導に沿って改訂しながら進めています。

### 【③病態解明】

- 肺嚢胞の病理学的特徴を明らかにし、原著および総説でそれらの所見を発表しました(文献 1,8, 9, 10)
- 腎腫瘍の組織学的特徴を明らかにし、診断に有用な免疫染色パネルを用い

た組織分類や, FLCN 経路下流の亢進分子 GPNMB を同定し, 診断や治療標的としての可能性を発表しました(文献 2, 3, 4, 5, 6, 7, 12)

- 所属機関で手術した患者腎癌から不死化細胞を樹立しました. 現在 FLCN 変異を有するヒト細胞株は米国立がん研究所でしか使用できなかったため, 今後この細胞を用いて色々な研究が可能になります.

#### IV. 考察

この3年間, 日本中の医療施設から多くの依頼を受け, 貴重な診療情報と研究資料を順調に集積できました. 本邦一の包括診療拠点に成長した今日, これらのデータを整理して国内外に広く発信する義務は勿論のこと, 市民講座や患者会設立に向けた社会活動も開始しており, BHD 症候群のより充実した診療と更なる病態解明, 標的治療戦略に向けて, 我々の果たすべき責任は大きいと認識しています. 本年は国際的に最も大きな BHD 活動団体である米国 BHD 財団からインタビューを受けるなど, アジア最大の活動拠点として一層充実した活動を行えるよう, 社会発信の整備にも取り組む予定です.

#### V-I. 論文発表 (\* コレスポ)

1. Okada A, Hirono T, Watanabe T, Hasegawa G, Tanaka R, **Furuva M\***. Partial Pleural Covering for Intractable Pneumothorax in Patients with Birt-Hogg-Dubé Syndrome. *Clin Respir J*, 2015, in press.
2. **Furuva M\***, Hong SB, Tanaka R, Kuroda N, Nagashima Y, Nagahama K, Suyama T, Yao M, Nakatani Y. Distinctive Expression Patterns of GPNMB and Folliculin in Renal Tumors in Patients with Birt-Hogg-Dubé Syndrome. *Cancer Sci*, 2015;106:315-23.
3. Iribe Y, Kuroda N, Nagashima Y, Yao M, Tanaka R, Gotoda H, Kawakami F, Imamura Y, Nakamura Y, Ando M, Araki A, Matsushima J, Nakatani Y, **Furuva M\***. Immunohistochemical Characterization of Renal Tumors in Patients with Birt-Hogg-Dubé Syndrome. *Pathol Int*. 2015, 65:126-32.
4. Hasumi H, Baba M, Hasumi Y, Lang M, Huang Y, Oh HF, Matsuo M, Merino MJ, Yao M, Ito Y, **Furuva M**, Iribe Y, Kodama T, Southon E, Tessarollo L, Nagashima K, Haines DC, Linehan WM, Schmidt LS. Folliculin-interacting proteins Fnip1 and Fnip2 Play Critical Roles in Kidney Tumor Suppression in Cooperation with Flcn. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015, 112:E1624-31.
5. Yamada Y, Sakamoto S, **Furuva M**, Nihei N, Nakatani Y, Ichikawa T. Case of bilateral and multifocal renal cell carcinoma associated with Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Int J Urol*, 2015, 22:230-1.
6. Kuroda N\*, **Furuva M**, Nagashima Y, Gotoda H, Kawakami F, Moritani S, Ota S, Hora M, Michal M, Hes O, Nakatani Y. Review of Renal Tumors associated with Birt-Hogg-Dubé syndrome with focus on clinical and pathobiological aspects. *Pol J Pathol* 2014; 66: 93-99.
7. Kuroda N\*, **Furuva M**, Nagashima Y, Gotoda H, Moritani S, Kawakami F, Imamura Y, Bando Y, Takahashi M, Kanayama H, Ota S, Michal M, Hes O, Nakatani Y. Intratumoral peripheral small papillary tuft (ITPSPT): A diagnostic clue of renal tumors associated with Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Ann Diagn Pathol* 2014; 18:171-6.
8. Onuki T\*, Goto Y, Tanaka R, **Furuva M** et al. Radiologically Indeterminate Pulmonary Cysts in Birt-Hogg-Dubé Syndrome. *Ann Thoracic Surg*. 97:682-5, 2014.
9. Nishii T, Tanabe M, Tanaka R, Matsuzawa T, Okudela K, Nozawa A, Nakatani Y, **Furuva M\***. Unique Mutation, Accelerated mTOR Signaling and Angiogenesis in the Pulmonary Cysts of Birt-Hogg-Dubé Syndrome. *Pathol Int*. 63:45-55, 2013.

- 1 0. **Furuya M\***, Nakatani Y. Birt-Hogg-Dubé Syndrome. *J ClinPathol*, 66:178-188, 2013.
- 1 1. **Furuya M\***, Tanaka R, Nagashima Y, Nagahama K, Nakatani Y et al. Pulmonary Cysts of Birt-Hogg-Dubé Syndrome: A Clinicopathologic and Immunohistochemical Study of 9 Families. *Am J SurgPathol* 36; 589-600, 2012.
- 1 2. Nagashima Y, **Furuya M**, Gotohda H, Takagi S, Hes O, Michal M, Grossmann P, Tanaka R, Nakatani Y, Kuroda N. FLCN gene-mutated renal cell neoplasms: mother and daughter cases with a novel germline mutation. *Int J Urol*. 19:468-70. 2012

#### V-II 学会発表 (指定演説・学会セッション担当など重要なもののみ記載)

1. 古屋充子: 遺伝性腎腫瘍に対する包括診療の取り組み-Birt-Hogg-Dubé 症候群を中心に-ワークショップ 13 「腎癌 up to date-個別化医療を目指して」, 第 102 回日本病理学会総会, 札幌, 2013.6.
2. 古屋充子: Birt-Hogg-Dubé (BHD) 症候群の臨床病理学的検討, 第 59 回日本病理学会秋期特別総会, B 演説, 甲府, 2013.11.
3. 中谷行雄・古屋充子ほか: ~Birt-Hogg-Dubé 症候群: 臨床・病理・遺伝子からのアプローチ~第 104 回日本病理学会総会コンパニオンミーティング開催, 名古屋 2015, 4.

#### V-III その他

1. 古屋充子: BHD 症候群. 神奈川新聞「先進医療を市民へ」2014年9月19日
2. 刊行物: Birt-Hogg-Dubé 症候群(古屋充子・中谷行雄編)ポータルサイト印刷 2015. 4.

<推進研究助成>

研 究 報 告 書

# 微小管制御異常に起因する脊髄小脳変性症の 新たな発症メカニズムの解明

鈴木 厚

共同研究者： 佐竹智子

横浜市立大学大学院 生命医科学研究科 分子細胞医科学研究室

## 1. 目的：

進行性の運動失調を主症状とする脊髄小脳変性症は、小脳および脳幹から脊髄にかけての神経細胞が徐々に変性、消失することに起因する難治性の神経疾患の総称である。約30%を占める常染色体優性遺伝を示すケースについては原因遺伝子の同定が進みその多くがポリグルタミンの増幅に起因するタンパク質の凝集が神経変性の原因と考えられている。しかしその詳細な発症機構の多くは不明である。さらに残る多くの症例についてはいまだ発症原因も不明なままである。本研究においては、申請者らが発見した微小管制御因子、MTCL1 が小脳プルキンエ細胞（以下、PJ 細胞）に特異性高く発現するとともに、その遺伝子改変マウスがPJ細胞の進行性的変性、脱落とそれに呼応した運動失調を示すという点に着目し、このタンパク質の機能異常がヒト脊髄小脳変性症の発症原因の一つになっている可能性を検討することを目的とした。また、いかにしてこの微小管制御因子の機能異常がPJ細胞の変性、壊死に帰結するのか、その機構の解明も進め、本疾患の治療戦略を立てる上での基盤的知見を得ることも目指した。

## 2. 方法：

### 1) マウス個体レベルの組織学的・電気生理学的解析による MTCL1 の機能解析

MTCL1 の遺伝子改変マウス(MTCL1 分子の後半3/4領域が発現しなくなったジーントラップマウス：以下、GT マウス)の小脳組織の組織学的、電気生理学的な解析を進め、GT マウスにおける異常の出始めの時期を特定するとともに、いかなる異常が PJ 細胞の変性・壊死の第一原因となっているのかを突き止めた。また、横浜市立大学医学部第二生理学教室の高橋教授の協力の下、小脳急性スライスを用いたプルキンエ細胞の活動電位の測定も行った。PJ 細胞の異常と MTCL1 の関連を探る上では、野生型マウスを用いて生後に見られる PJ 細胞の正常な発達過程における MTCL1 の発現、局在を解析した。さらに、PJ 細胞内における MTCL1 の機能不全が PJ 細胞の異常を引き起こしていることを最終的に確認するために、子宮穿孔法によって野生型 PJ 細胞内で特異的に MTCL1 をノックダウンする技術を確立し、その影響を組織学的に解析した。

### 2) 脊髄小脳変性症患者ゲノムのエキソーム解析

横浜市大医学部遺伝学教室の松本直通教授の協力の下、発症原因が不明である脊髄小脳変性症患者のゲノム DNA 200 例の MTCL1、およびそのホモログ分子、MTCL2 遺伝子について、次世代シーケンサーを用いたエキソーム解析を進め、患者特異的にこれらの分子のアミノ酸変異が見られないかどうかを検討した。見つかった変異については、国際的データベースを使った患者特異性の検証、進化的保存性や変異の疾患原性の評価を行い、最終的には分子細胞生物学的な実験によって同定されたアミノ酸変異が MTCL1、

2 の機能異常に帰結していないかを実際に検討した。

## 3. 結果：

4. 脊髄小脳変性症については、現在、患者ゲノムの大規模解析が国内外で精力的、組織的に進められている。たとえば、文科省・新学術領域研究「パーソナルゲノム情報に基づく脳疾患メカニズムの解明」という研究班(平成22年度～平成26年度)でも本疾患を重要な解析対象の一つとしている。こうした背景の下、本研究は、遺伝子改変マウスの表現系の解析結果に基づいて、機能既知のタンパク質(かつ、申請者の同定した新規タンパク質)に絞り込んで患者ゲノムの解析を進めたという点に大きな特色を持つ。網羅的解析を進める場合と異なり、この研究戦略が成功した場合には、すでに分子・細胞レベル、個体レベルで当該分子の機能に関する知見が蓄積しているがために、発症機構の解明を非常に短期間に達成することができる。実際下記に示すように、3年間の研究によって、遺伝的解析レベルで MTCL1 の機能異常が脊髄小脳変性症の原因であることを示唆することに成功すると同時に、その

発生メカニズムの基本的部分を具体的に明らかにすることにも成功した (図1 参照)。さらにそこで示唆された結果は、本疾患との関わりにとどまらず、神経細胞の維持一般における微小管制御の重要性を全く新しい観点から提示するものとなった。本研究の主たる具体的な成果は下記の諸点となる。

●MTCL1 GT マウスのPJ 細胞の異常が現れ始める時期を生後の日数をさかのぼって検討したところ、運動失調症状の評価が困難な生後4週のマウスのPJ 細胞において、すでに神経変性が起っていることがわかった。電気生理学的検討によっても、この時期のPJ 細胞の活動電位発生の閾値が野生型に比べて異常に上昇していることが判明した。この時期のPJ 細胞では樹状突起の枝分かれに有意な異常が観察されたが、下記に記す MTCL1 の局在にヒントを得て、軸索起始部(AIS)に注目してさらにさかのぼって解析を進めたところ、生後14日前後のPJ 細胞において、AISの形態異常(異常な幅の増大と形態のゆがみ)が見られることが判明した(図3)。さらに子宮穿孔法によってPJ 細胞特異的にMTCL1をノックダウンした場合には、ankyrin Gで染まるAIS構造自身の消失と軸索極性の異常というより重篤な現象が引き起こされる(軸索上に樹状突起スパイン様構造が異所的に形成される)ことがわかった。AISは軸索極性の発達と活動電位の発生に決定的に必要とされる構造であるため、MTCL1欠損がPJ細胞の機能異常を引き起こす一次的な原因はこのAIS形成不全であると結論した。

●このAIS領域には、細胞体内部から伸びた太い微小管の束(AIS微小管束)が貫通していることが古くから知られている。この事実と合致して、①MTCL1がAIS発達期である生後7日ごろにAIS微小管束に一時的に強い濃縮を示すこと(図2)、および②MTCL1 GTマウスのPJ細胞、あるいはMTCL1がノックダウンされたPJ細胞ではこのAIS微小管束の密度が低下し、時には断裂等が観察されることが次に判明した(図3)。このAIS微小管束の形態異常は、電子顕微鏡観察によっても裏付けられた。以上の結果から、MTCL1はその微小管束化・安定化活性を通じて生後1週間ぐらいから進むPJ細胞の軸索の発達過程、特にAIS形成に不可欠な役割を果たしており、MTCL1の機能欠損はこのAISの正常な発達を障害することでPJ細胞の軸索極性の正常な発達を妨げていることが判明した。その結果、MTCL1 GTマウスでは、PJ細胞の活動電位発生異常と運動失調症状が引き起こされ、最終的には、PJ細胞の変性・壊死に帰結していると考えられる(図1参照)。

●他方、医学部遺伝学教室(松本直通教授)の保有する(発症原因が不確定な)200名のヒト小脳脊髄変性症患者ゲノムDNAに対してエキソーム解析を進め、患者特異的なアミノ酸変異をMTCL1について2種、MTCL2について4種を同定した。その後、「方法」に記述したようなプロセスで有力候補変異を絞り、最終的に、確認された一家系のアミノ酸変異が、実際にMTCL1の微小管安定化活性を失わせることを

図1 MTCL1は、AIS微小管の束化・安定化を介してAISの形成/機能を制御するのではないかと

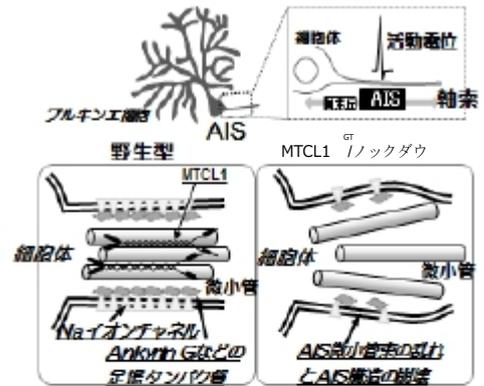


図2 MTCL1はPJ細胞の発達初期に、AIS形成領域に安定化微小管とともに濃縮する。

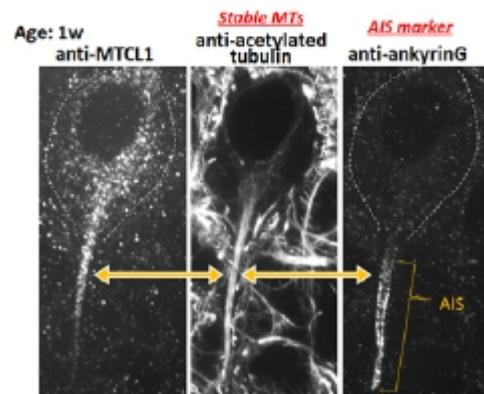
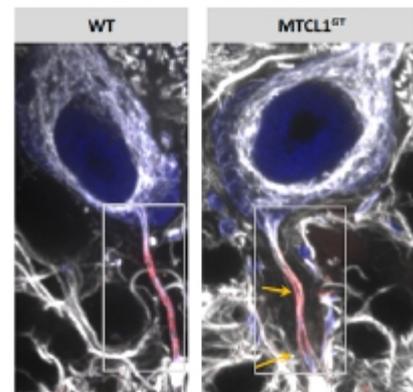


図3 MTCL1の機能異常は、AIS微小管の断裂とAIS構造の異常に至る  
acetylated tubulin/calbindin/ankG



実験的に確認した。この結果から、MTCL1 の微小管制御異常を生み出すこの点変異が疾患の発症に関連している可能性が強く示された。

### 5. 考察：

我々の最近の研究 (Nat. Communi. 2014) から、MTCL1 はゴルジ微小管の安定的な形成に必須であることが判明した。近年の報告では、神経細胞樹状突起の枝分かれの発達にこのゴルジ微小管が必須な役割を果たしていることが示唆されていることから、当初我々は、MTCL1 が (特に PJ 細胞に) 極度に発達している樹状突起の枝分かれに主として働いていると予想していた。しかしこの 3 年間で明らかとなったのは、MTCL1 の欠失は、この樹状突起の枝分かれの異常が顕在化する前に、より早い段階で進む AIS の発達、軸索の極性化に異常を引き起こすという結果であった。そもそも、神経細胞における圧倒的な機能的重要性に関わらず、この AIS 構造の形成メカニズムについてはいまだほとんどわかっていない。その内部を貫通する AIS 微小管束の働きに至っては、不思議なことにほとんど注目さえされていない。従って、この 3 年間で得られた成果は、神経細胞一般の機能発現、維持に根源的に重要なメカニズムの解明という点でも、独創性の高い重要な知見を生み出すことに成功した。因みに申請者は、「AIS 微小管束がゴルジ微小管から発達したものである」という、我々しか提出しえないユニークな仮説を本研究から着想しその検討を進めるに至っている。

いずれにせよ、本研究を最終的に完成させるためには、「MTCL1 がその微小管制御活性を通じて AIS 形成に働いている」ことを実験的に証明することが必要である。そのためには、「子宮穿孔法によって MTCL1 をノックダウンした PJ 細胞のレスキュー実験」を各種変異体を用いて行い、MTCL1 の微小管制御活性がその AIS 形成促進能に必須であるか否かの検討を進めなければならない (進行中)。脊髄小脳で見られたアミノ酸変異に対しても同様な実験を行うことによって疾患との関連性を実験的に確認することが次に求められる (進行中)。引き続き家系解析を進めるとともに、こうした実験的証拠をさらに固めることにより、最終的に本研究が完成すると考える。

### 一 6. 論文および学会発表

#### 論文発表

1. **Suzuki A\*** PAR-1 kinase and Cell Polarity. "Cell Polarity: Biological Role and Basic Mechanisms" Part1, Chapter 2. Springer, 2015 (著書)
2. Sato Y, Hayashi K, Amano Y, Takahashi M, Yonemura S, Hayashi I, Hirose H, Ohno S, **Suzuki A\*** MTCL1 crosslinks and stabilizes noncentrosomal microtubules on the Golgi membrane. *Nat. Communi.* 5: 5266-80, 2014
3. Sato Y, Akitsu M, Amano Y, Yamashita K, Ide M, Shimada K, Yamashita A, Hirano H, Arakawa N, Maki T, Hayashi I, Ohno S, **Suzuki A\*** A novel PAR-1-binding protein, MTCL1, plays critical roles in organizing microtubules in polarizing epithelial cells. *J. Cell Sci* 126 : 4671-4683, 2013
4. Hirate Y, Hirahara S, Inoue KI, **Suzuki A**, Alarcon VB, Akimoto K, Hirai T, Adachi M, Chida K, Ohno S, Marikawa Y, Nakao K, Shimono A, Sasaki H\* Polarity-dependent distribution of Angiotensin II type 1 receptor localizes Hippo signaling in preimplantation embryo. *Curr. Biol.* 23: 1181-1194, 2013

学会発表

1.Satake T, Chen S, Miura E, Hayashi-Takeo Y, Yuzaki M, and Suzuki A. MTCL1, a novel microtubule cross-linking protein, is essential to determine the slender morphology of the axon initial segment of cerebellar Purkinje cells. 口頭発表 第37回 日本分子生物学会年会 2014年11月25日 ワークショップ：神経系の機能とその破綻]

「

[目次に戻る](#)

<推進研究助成>

研 究 報 告 書

精神疾患の神経回路形成障害のメカニズムおよび治療法の解明を  
目的としたプロテオミクスと構造解析

報告者名

宮崎智之

共同研究者

高橋琢哉、平野久、梁明秀、長土居有隆

所属部科名

横浜市立大学医学部生理学

### 【目的】

経験依存的にシナプスへ移行する AMPA 受容体は、記憶・学習の分子基盤として知られる一方で、近年モデル動物や死後脳を用いた研究により、統合失調症、うつ病、自閉症、症候性てんかんなどの様々な精神・神経疾患に関与することが示唆されている。現時点ではこれら知見を生きたヒトで観察する技術はなく、申請者は AMPA 受容体の挙動をヒトの脳内で非侵襲的に測定すべく、PET(陽電子放射断層撮像法)薬剤の創出を行ってきた。

### 【方法】

**細胞膜表面に提示された AMPA 受容体に対し選択的結合を示す化合物のスクリーニング**

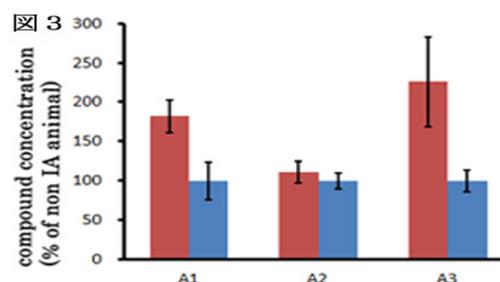
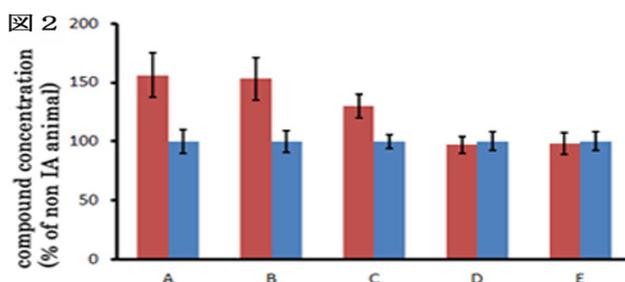
機能的状態の AMPA 受容体は、シナプスないし細胞膜表面に提示されたものである。そこで、AMPA 受容体の細胞膜表面提示量が増加するモデル動物を用いて、既知の AMPA 受容体結合化合物ライブラリーの中から、細胞膜表面に提示された AMPA 受容体に選択的に結合する化合物のスクリーニングを行うこととした。申請者の事前検討により、IA テスト後 24 時間で、海馬における AMPA 受容体の細胞膜表面提示量が約 80%増加する。その状態のラットに既知の AMPA 受容体結合化合物を経静脈的に投与し、15 分後に断頭して海馬組織を回収し、蓄積する化合物濃度を LC-MS/MS を用いて測定した(図 1)。



過去の論文を検討すると、今まで AMPA 受容体を標的とした PET 薬剤の合成に成功していないのは、*in vivo* 投与においてそれら化合物が十分な脳移行性を示さなかったためである。申請者は事前検討として、すでにヒトで PET 薬剤として使用されている *raclopride* をラットに経静脈的に投与し、線条体における集積濃度を LC-MS/MS で測定したところ、その脳内集積率(%ID)が過去に報告された PET 実験での%ID とほぼ同じ値を示すことを確認した。つまり図 1 の方法により、PET 撮像に耐えうる高い脳移行性を示す化合物を、放射性標識しない段階でスクリーニングできる実験系を確立した(特許申請準備中)。

### 【結果】

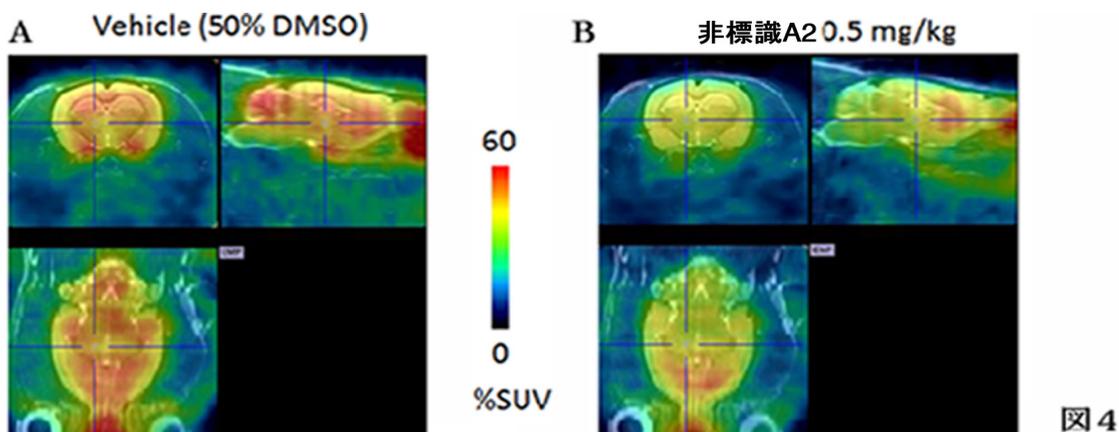
複数の AMPA 受容体結合化合物を図 1 の方法で測定した結果、5 つの化合物が PET 撮像に最低限必要な 0.1 以上の%ID を示した。またその中で、IA テストにより%ID が上昇する化合物が 3 つあることを見出した(図 2、A~C)。次に、化合物を PET 薬剤として使用することにあたって、化合物内に  $^{11}\text{C}$  ないし  $^{18}\text{F}$  を導入し放射性標識する必要がある。IA テストによる変化が最も大きかった化合物 A について、その構造情報を基に合成方法を検討したところ、放射性標識したメチル基を異なる 3 つ位置に付与した化合物が合成できると判断した(化合物 A1、A2、A3)。しかしながら、これら 3 つの化合物は元の化合物 A とは構造が異なってくるため、再度図 1 の方法で確認を行った。その結果、A1、A3 では元の化合物 A と同様に IA テストによる海馬への集積増加を認めた一方で、A2 についてはその変化が消失した(図 3)。電気生理学的な検討を行うと、化合物 A2 は元の化合物 A と同程度の AMPA 受容体に対する結合能を保持していたため、化合物 A2 は細胞膜表面ではなく、AMPA 受容体の発現総量を計測できる PET 薬剤候補と考えた。



### AMPA 受容体の発現総量を検出する化合物 A2 を用いた PET イメージング

PET イメージングで AMPA 受容体の細胞膜表面提示量を計測することにあたって、同一個体

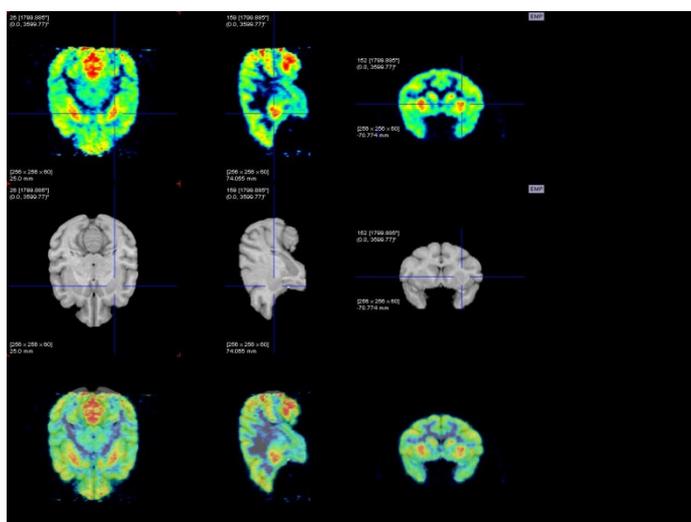
で AMPA 受容体の発現総量には変化がないことを計測する必要がある。従って A1、A3 と同様に、A2 を用いたイメージングも必須である。A1、A3 に比して A2 の方が脂溶性の指標である CLogP が高いため(A1 2.16、A2 2.50、A3 2.39)、A2 の PET 薬剤でイメージングできなければ他の化合物でのイメージングは難しいと考え、まず A2 を用いた PET 撮像を行った。図 4 A に示すように、A2 は線条体、海馬、小脳に特異的集積を示し、非放射性 A2 を用いた blocking 実験において、この集積は消去された(図 4 B)。



Blocking により標識 A2 の集積に変化が見られなかった脳幹を参照部位とし、Logan plot 法による特異的結合能の算出を行ったところ、線条体では脳幹の 1.84 倍、海馬では 1.73 倍の特異的結合を認めた。この結果は、線条体、海馬、脳幹の AMPA 受容体発現総量を生化学的に検討した結果と一致しており(線条体 211%、海馬 203%、脳幹 100%)、放射性標識体 A2 は AMPA 受容体の発現総量を特異的に検出していることが明らかとなった。また、この化合物を用いてアカゲザルでの PET 撮像にも成功しており、この画像はラットのそれより極めて高い空間分解能とコントラストを有しており、申請者は世界初の AMPA 受容体を標的とした PET 薬剤の創出に成功した(特許申請準備中・本学知財員会の承認はすでに受けている)。

#### 【考察】

放射性標識体 A2 については、特異性をさらに確認すべく、in vivo で海馬の AMPA 受容体の過剰発現および knock down させたラットを用いて PET 撮像を行っていく。ラット、マカクの実験と並行して、本 PET 薬剤を用いたヒトでのイメージングに向けて、毒性試験等の臨床応用への準備を進めている。将来的には、AMPA 受容体の総量が変わることが



死後脳を用いた研究などで示唆されている精神疾患患者(うつ病、てんかんやアルツハイマー型認知症など)を対象とし、AMPA 受容体の細胞表面提示量または総量の変化をこれら疾患患者で経時的に計測し、治療における反応性と AMPA 受容体の量的変化率との相関を検討し、本 PET 薬剤が精神・神経疾患の新規バイオマーカーとなるかを検討していく。それと同時に、複数の精神・神経疾患モデル動物を用いて AMPA 受容体の PET イメージングを経時的に行い、AMPA 受容体の局在および量的変化に対する包括的なデータベースを作成し、AMPA 受容体の量的発現調節が治療ターゲットとなりうるかを検討することで、本 PET 薬剤を用いた臨床・基礎研究への双方向的な展開を試みていきたいと考えている。近年 AMPA 受容体機能を向上ないし抑制させる薬剤が次々と開発され、一部はすでに臨床応用されており、そうでない化合物も治験第 3 相に上がっているものが複数ある。本薬剤を使用してヒトにおける AMPA 受容体の定量を行った上で、上昇した患者、低下した患者それぞれに合った薬剤をテーラーメイドで投薬できるシステム整備に向け、今年度内には臨床研究が行えるよう準備を行っている。

#### 【学会発表】

- ① Novel method for development of the new PET probes detecting AMPA receptors、第 37 回日本神経科学大会、横浜
- ② The development of PET imaging for detecting AMPA receptors trafficking during acquisition of fear memory、第 92 回日本生理学会大会、神戸
- ③ 現在、放射性標識体 A1~3 については特許申請中であり、申請 1 年後に構造情報が一般公開となった時点で、本助成金の報告書等にも詳細な情報を記載する予定。

[目次に戻る](#)

<わかば研究助成>

研 究 報 告 書

## 課 題 名

ポリグルタミン病凝集体形成における BAG6 複合体の役割についての検討

報 告 者 名

多田 美紀子、窪田 瞬、土井 宏、田中 章景

所 属 部 科 名

神経内科学・脳卒中医学

### 1. 目的

我々は、ポリグルタミン (PolyQ) 核内凝集体を形成する Neuro2a 細胞から、凝集体構成成分として UBQLN1、UBQLN2、Tollip、FUS/TLS、EWS、TAF15 を同定し報告してきた (Doi, *et al.*, *FEBS Let*, 2004, Doi, *et al.*, *J BiolChem*, 2008)。現在までに報告した 6 種類の凝集体結合タンパク質のうち 4 種類 (UBQLN2、FUS/TLS、EWS、TAF15) が、その後筋萎縮性側索硬化症 (ALS)/前頭側頭葉変性症 (FTLD) の責任遺伝子またはタンパク質凝集に関与する因子であることが判明するなど、PolyQ 凝集体構成成分は神経変性疾患の病態を広く担う重要なキープレイヤーであることが示されている。本研究では、我々が独自に培養細胞系で PolyQ 核内凝集体構成成分として同定しているものの、ヒト疾患における病的意義づけが未解析・未発表である small glutamine-rich tetratricopeptiderepeat containing protein alpha (SGTA) およびそれに関連する BAG6 複合体 (BAG6、UBL4A、TRC35) (Leznicki, *et al.*, *Proc Natl AcadSci U S A*, 2012, Xu, *et al.*, *Cell Rep*, 2012) の *in vitro* における PolyQ 凝集への影響、ヒト疾患における病理学的特徴を明らかにすることを目的とする。さらに遺伝学的手法を用いて SGTA、BAG6 複合体構成タンパク質と ALS/FTLD との関連について明らかにする。

### 2. 方法

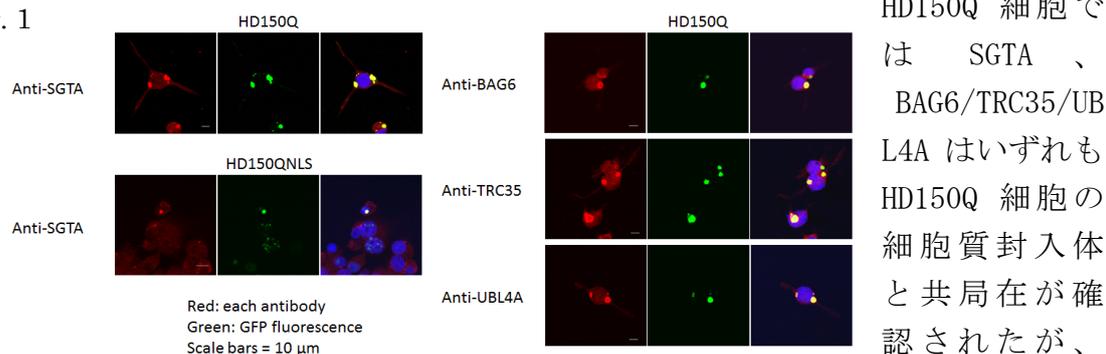
Ecdysone 誘導化に正常長である 16 リピートまたは疾患長である異常伸長した 150 リピートのグルタミン鎖を持つハンチンチン N 端断片を細胞質および核内に発現する PolyQ 病モデル Neuro2a 細胞 (それぞれ HD16Q 細胞、150Q

細胞、HD16QNLS 細胞、150QNLS 細胞)、各種 PolyQ 病および ALS 患者剖検組織を用いて、免疫組織学的検討を行うことにより、SGTA および BAG6 複合体構成タンパク質 (BAG6、UBL4A、TRC35) が実際の疾患と関連していることを裏付ける。また PolyQ 病細胞モデルを用い、SGTA とその結合パートナーである BAG6 複合体が PolyQ 凝集体形成に与える役割の検討を行った。解析方法としては培養細胞において SGTA、BAG6 複合体構成因子を強制発現またはノックダウンして、PolyQ 凝集体形成に対する影響を生化学的、形態学的に観察した。さらに、我々が同定した PolyQ 凝集体構成成分が高い確率で ALS/FTLD の新規病原因子であることが証明されてきた経緯を鑑み、BAG6 複合体の構成因子、SGTA をコードする遺伝子の ALS/FTLD 患者における変異検索を施行した。遺伝子変異検索については「神経筋変性疾患、白質脳症の遺伝的背景の包括的な解析」(A130530002) として平成 25 年 5 月 30 日の本学医学研究倫理委員会で承認されている。病理学的研究については「神経・筋疾患における免疫組織化学的研究」(B130704093) として平成 25 年 5 月 20 日の本学医学研究倫理委員会で承認されている。

### 3. 結果

#### ・SGTA、BAG6 複合体の免疫組織学的検討

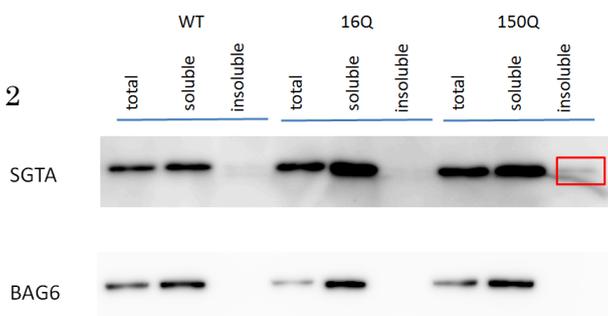
Fig. 1



HD150Q 細胞では SGTA、BAG6/TRC35/UBL4A はいずれも HD150Q 細胞の細胞質封入体と共局在が確認されたが、

HD150QNLS 細胞では SGTA のみ核内封入体との共局在がみられた (Fig. 1)。

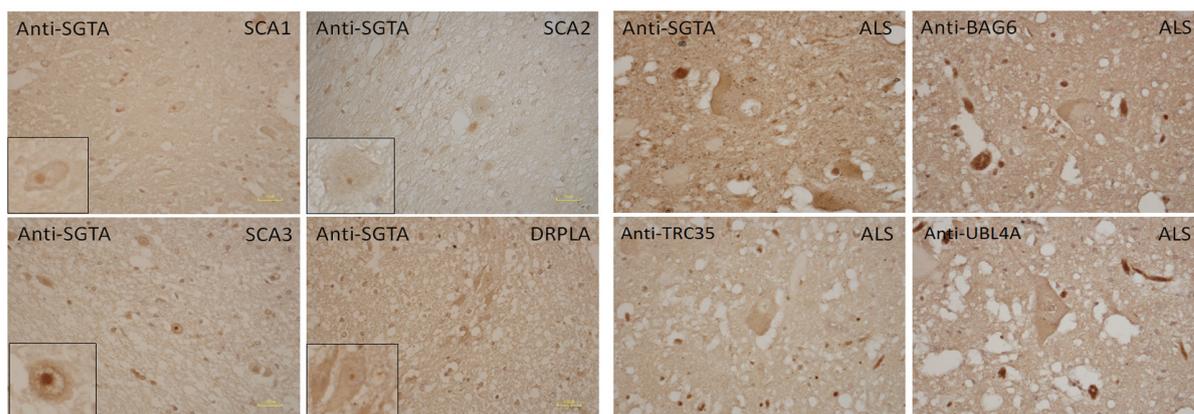
Fig. 2



Neuro2a 細胞 (WT)、HD16Q 細胞、HD150Q 細胞を 1% Triton-X100 可溶性/不溶性分画に分離すると、HD150Q 細胞でのみ SGTA は

不溶分画に移行することを確認した。BAG6 については不溶性分画への移行が確認できなかった (Fig. 2)。

Fig. 3

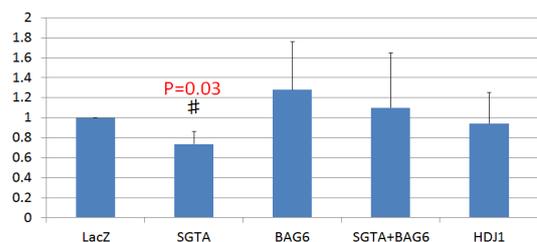


ヒト剖検脳における検討 (Fig. 3) では SGTA が各種 PolyQ 病症例の核内凝集体と結合していることが確認でき、SGTA は PolyQ 病に共通する新規結合タンパク質であることが確認された。ALS 症例に関しては SGTA による封入体の染色性は認めなかった。BAG6 複合体構成タンパク質については PolyQ 病、ALS 症例ともに封入体の染色性は認めなかった。以上から、SGTA の PolyQ 病への関与が明らかとなったが、BAG6 複合体構成タンパク質については、PolyQ 病、ALS への関与は明らかでなかった。

・ PolyQ 凝集体に与える SGTA、BAG6 複合体構成タンパク質の影響

HD150Q 細胞において SGTA、BAG6 を過剰発現させた際の PolyQ 凝集体を filter trap assay で定量した (n=3)。結果、SGTA は PolyQ 凝集体形成に対し抑制的に働いている可能性が示唆された (Fig. 4)。一方で BAG6 に関しては凝集抑制効果が明らかでなかった。shRNA を用いた SGTA のノックダウンについては、PolyQ 凝集体が増加する傾向が見られ、矛盾しない結果であるが現時点で有意差が明らかでなく、今後さらなる検討を要する結果であった。

Fig. 4



・ SGTA、BAG6 複合体の遺伝子変異検索

本研究を通じて ALS/FTLD 患者 52 例の DNA を収集した。そのうち 18 例について遺伝子解析済みであるが、SGTA、BAG6 複合体構成タンパク質の変異は

同定されていない。

4. 考察

本研究では PolyQ 核内凝集体を形成する Neuro2a 細胞から、凝集体構成成分

として、我々が独自に同定していたが、ヒト疾患における病的意義づけが未解析・未発表である SGTA に着目し、その結合タンパクである BAG6 複合体とともにその役割を解明することを目指した。患者組織での病理学的評価において、SGTA は各種 PolyQ 病に共通する凝集体結合タンパクであることが示され、新規の PolyQ 病凝集マーカーとなりうることを明らかにした。ALS については、病理学的にも SGTA の凝集が見られず、関連を示唆する結果を得られなかった。そこで PolyQ 病との関連にターゲットを絞り、PolyQ モデル細胞を用いた凝集評価を行ったところ、SGTA は PolyQ 凝集体形成に対し抑制的に働いていることを示す結果を得ることができた。先行研究において、PolyQ タンパク質は種々のシャペロン、ユビキチン・プロテアソーム系 (UPS) タンパク質、オートファジー関連タンパク質によりその毒性が制御されることが明らかになっている。しかし、これらあらかじめ影響があると予測されたタンパク分解系分子を対象として凝集への影響を検討した研究がほとんどである。SGTA はこれまでの研究と異なり、PolyQ 凝集体からバイアスなく同定した分子であり、実際に PolyQ 凝集を制御している重要な分子である可能性が非常に高いと考えられる。一方で BAG6 複合体構成タンパク質については、病理学的にも生化学的にも PolyQ 病、ALS との関連を示唆する結果を得ることができなかった。SGTA は TPR ドメインを介して Hsc70 と結合するコシャペロンであり (Philip L.K. *et al.*, *Horm Cancer*, 2013)、BAG6 系を介さず、シャペロン系を調節して PolyQ 凝集を抑制する可能性がある。今後 BAG6 複合体以外の分子群を介した SGTA の PolyQ 凝集抑制のメカニズムを明らかにする必要があると考えられる。

## 5. 論文および学会発表。

論文

なし (投稿準備中)。

学会発表

Tada M., Doi H., Koyano S., Tanaka F., Matrin 3 is a component of neuronal cytoplasmic inclusion of motor neuron in SALS, 56<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology, 2015, Niigata.

[目次に戻る](#)

<わかば研究助成>

研 究 報 告 書

ナノ薄膜法を用いた iPS 細胞の平滑筋分化誘導と血管再構築

石渡 遼

横浜市立大学 大学院医学研究科 循環制御医学

## 1. 目的

動脈硬化性疾患の背景には、様々な環境要因、遺伝的要因が存在し、現状の画一的な対症療法には限界がある。iPS 細胞を用いて血管疾患を解析できるような実験モデルが実現すれば、個々の疾患のメカニズムの解析や、治療法の開発が飛躍的に進むことが期待される。iPS 細胞を血管平滑筋細胞に分化誘導する方法が研究されているが、分化度の高い平滑筋細胞の実現には未だ至っていない。また、平滑筋細胞が層状に並んだ、血管壁の構造を模倣することができれば、動脈硬化性疾患の要因となる細胞外基質の分解や免疫細胞の浸潤・プラークの形成を再現することが可能となる。

申請者は、細胞外基質を模したナノ薄膜を利用する独自の 방법으로、平滑筋細胞を層状に三次元構築することに成功した。この方法は、互いに接着する分子を交互にコーティングすることによって、細胞表面上にナノスケールの薄膜を形成し、その上に細胞を播種していくものである (図.1)。単純な細胞の凝集体であるスフェロイドの中では低下してしまう平滑筋分化マーカーの発現が、本モデルでは保たれており、層状に細胞を接着させることが、平滑筋分化度を保つのに重要であることが示唆された。さらに、三次元積層体内では、動脈壁を構成する主要な細胞外基質である弾性線維の分解を観察できる他、免疫細胞の浸潤による血管リモデリングを観察できることを示した。本研究では、iPS 細胞を平滑筋細胞への分化能を有する間葉系幹細胞へ分化誘導し、ナノ薄膜法により層状に三次元構築することで、ヒトの血管構造を模倣できる可能性を持つ実験モデルの確立を目指す。

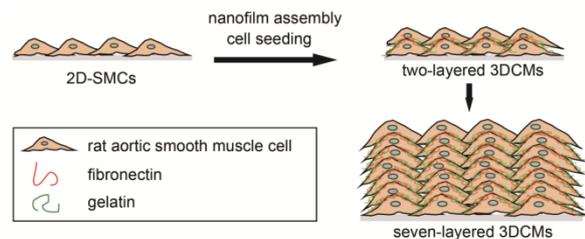


図.1 ナノ薄膜法による三次元平滑細胞積層体の構築

## 2. 方法

ヒト iPS 細胞を間葉系幹細胞分化誘導培養液 (Alpha-MEM; 10%FBS, 2mM L-Glutamine, 0.1mM non-essential aminoacid, 0.01% ascorbic acide 含有)で10-12日培養し, 間葉系幹細胞へ分化誘導を行った. ラット大動脈平滑筋細胞を, ラット新生仔 (生後0-1日)より単離培養し, 培養した. プラスチックディスクを fibronectin によりコーティングし, 平滑筋細胞を  $11 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> の密度で播種した. 接着させ1日後, 細胞を, fibronectin (0.2mg/ml) と gelatin (0.2mg/ml) の溶液に交互に計9回浸漬し, ナノ薄膜を形成した. その上に, 2層目の平滑筋細胞を同密度で播種し, 積層した.平滑筋細胞を1日1層積層し, 7層の三次元積層体を作製した. 8層目に, iPS 細胞由来間葉系幹細胞を  $22 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> の密度で播種した. 対照群として,iPS 細胞由来間葉系幹細胞を同密度で単層播種した. 間葉系幹細胞積層後1日目に, 平滑筋細胞層への接着を顕微鏡で観察し, 間葉系幹細胞の平滑筋細胞三次元積層体への接着を, 評価した. 9層目に再び平滑筋細胞を積層し, さらに3日間培養したのち固定し, 組織切片を作製し, エラスチカ・ワンギーソン (EVG) 染色によって弾性線維の形成を評価した.

## 3. 結果

図2にiPS細胞由来間葉系幹細胞を単層で播種した様子と, 平滑筋細胞の三次元積層体上に積層した様子を示す. iPS 細胞由来間葉系幹細胞は, 平滑筋細胞上で, 凝集体を形成することなく接着し, 積層体構造を形成した. 間葉系幹細胞を分化度の高い平滑筋細胞誘導する方法は未だに分かっていない.図3には, さらに1層の平滑筋細胞を積層し, iPS 細胞由来間葉系幹細胞を挟むように構築した三次元積層体を示す. 積層体は, 3日間断裂や凝集することなく構造を保っていた. さらに, ディスクから剥がした積層体はピンセットで取り扱うことが可能であり伸縮性があった. 積層体・断面の組織切片を作製し, 弾性線維の形成を評価した. 平滑筋細胞が積層された下層の方には弾性線維の形成を認めたものの, iPS 細胞由来間葉系幹細胞を積層した上層の方には, 弾性線維の形成は認められなかった.

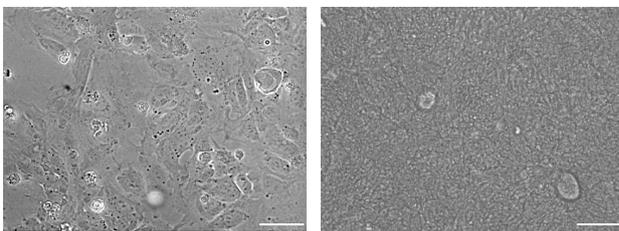


図.2 平滑筋細胞積層体における間葉系幹細胞の接着(左)単層で播種した iPS 細胞由来間葉系幹細胞. (右)平滑筋細胞の三次元積層体上に播種した間葉系幹細胞 Scale bars; 20μm

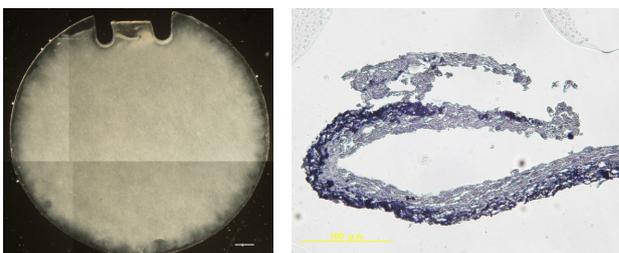


図.3iPS 細胞由来間葉系幹細胞を含む平滑筋細胞三次元積層体の構造 (左)三次元積層体を上から観察した様子 scale bar; 1mm. (右) 三次元積層体の断面の EVG 染色. 濃い紫; 弾性線維. scale bars; 100μm.

#### 4. 考察

iPS 由来間葉系幹細胞を含む積層体は 3 日間安定して培養可能であり層構造を保っていたことから、iPS 由来細胞をナノ薄膜法による三次元構築に応用することが可能であることが分かった。しかし、積層された間葉系幹細胞は弾性線維合成能を有しておらず、平滑筋様に分化させるには、積層培養は不十分であると考えられる。今後はレチノイン酸添加などにより iPS 由来細胞をより平滑筋細胞様に分化させ、積層体の構築を検討をしていく。

[目次に戻る](#)

<わかば研究助成>

研 究 報 告 書

## ATP2B1 遺伝子のカルシウム動態への影響とその臨床応用

藤原 亮

共同研究者

谷津 圭介, 平和 伸仁, 梅村 敏

横浜市立大学大学院 医学研究科 病態制御内科学

### 1. 目的

高血圧は日本で約 4300 万人, 世界全体では 10 億人以上が罹患しており, 生活習慣病のなかで最も有病率の高い疾患である. 日本のミレニアムゲノムプロジェクトにおけるゲノムワイド関連解析により ATP2B1 遺伝子が 2008 年にはじめて高血圧候補遺伝子であることが報告された. さらに大規模なゲノムワイド解析によりさまざまな人種において ATP2B1 遺伝子が血圧値に強い影響を与えている遺伝子であることがわかってきている (*Nature*, 478: 103-9, 2011). ATP2B1 遺伝子は PMCA1 という蛋白をコードしており, 細胞膜に存在するカルシウム汲み出しポンプとして働き, 細胞内のカルシウムイオンを細胞外に排出する役割を担う. ATP2B1 遺伝子の全身ノックアウトマウスは胎生致死になってしまうことから, 我々の研究グループでは, ATP2B1 遺伝子の平滑筋特異的ノックアウトマウス及び全身ヘテロノックアウトマウスを作成し血圧が上昇することを明らかにしてきた. 今回, 血圧上昇のメカニズムを解明するため, PMCA1 の発現低下がカルシウム動態へ及ぼす影響, 及びその臨床応用の可能性について明らかにすることを目的とした.

### 2. 方法

(その1) 全身ヘテロノックアウトマウスでは血圧上昇に加え, 血清カルシウム濃度が低下していることが明らかになったため, その原因検索としてカルシウム代謝に関わる内分泌ホルモンや尿中カルシウム排泄量の測定などの基礎検討を行い, カルシウム代謝への影響を検討した.

(その2) 血圧上昇を示した血管平滑筋特異的ノックアウトマウスに各種血管作動薬を投与しその血圧変化を対照群のマウスと比較することで ATP2B1 遺伝子の発現低下と血管作動薬の種類による血圧変化の違いについて検討した。血管作動薬には, amlodipine (カルシウム拮抗薬), prazosin ( $\alpha$  受容体遮断薬), candesartan (アンジオテンシン II 受容体拮抗薬), L-NAME (NOS 阻害薬) を腹腔内単回投与し血圧や脈拍の変化をテレメトリー法 (自由行動下での観血的血圧測定法) を用いて 24 時間測定した。また, amlodipine を 2 週間持続投与し, テイルカフ法 (非観血的血圧測定法) を用いて血圧の変化を測定した。マウスは通常食 (塩分 0.6%MF 食) で飼育し, 測定には 3 か月齢マウスを使用した。

### 3. 結果

(その1) 全身ヘテロノックアウトマウスでは対照群のマウスと比べて血清カルシウム濃度が低下しており, 尿中カルシウム排泄量の増加と尿中リン排泄量の低下が認められた。また, intact-PTH の分泌は有意に低下しており, FGF23 は低下傾向にあった (表 1 (A), 表 1 (B))。活性型ビタミン D やオステオカルシンに有意な差は認められなかった。一方, 大腿骨を用いた骨標本では, ノックアウトマウスで有意に骨密度が低下していることが明らかになった。

表 1 (A). 全身ヘテロノックアウトマウスにおける体重・生化学検査の結果

	ATP2B1 <sup>+/-</sup>	Control	P value
<b>Body Weight (g)</b>	<b>26.5 ± 0.8</b>	<b>26.6 ± 0.7</b>	<b>0.91</b>
<b>Creatinine (mg/dl)</b>	<b>0.14 ± 0.01</b>	<b>0.15 ± 0.00</b>	<b>0.11</b>
<b>ALP (U/L)</b>	<b>255 ± 4.8</b>	<b>229 ± 9.5</b>	<b>&lt;0.05</b>
<b>Calcium (mg/dl)</b>	<b>8.3 ± 0.1</b>	<b>8.9 ± 0.1</b>	<b>&lt;0.01</b>
<b>Phosphate (mg/dl)</b>	<b>11.6 ± 0.6</b>	<b>11.1 ± 0.3</b>	<b>0.44</b>
<b>Intact-PTH (pg/mL)</b>	<b>154 ± 41.0</b>	<b>324 ± 41.4</b>	<b>&lt;0.05</b>
<b>FGF-23 (pg/mL)</b>	<b>98.9 ± 4.5</b>	<b>114.2 ± 6.0</b>	<b>0.06</b>

表 1 (B). 全身ヘテロノックアウトマウスにおける尿検査の結果

	ATP2B1 <sup>+/-</sup>	Control	P value
<b>Urine [Ca/Cr]</b>	<b>0.77 ± 0.117</b>	<b>0.33 ± 0.08</b>	<b>&lt;0.01</b>
<b>Urine [P/Cr]</b>	<b>2.34 ± 0.369</b>	<b>6.39 ± 1.17</b>	<b>&lt;0.01</b>
<b>Urine Osm (mOsm/l)</b>	<b>1689 ± 88.8</b>	<b>1787 ± 91.0</b>	<b>0.45</b>
<b>Urine volume (ml/day)</b>	<b>1.32 ± 0.13</b>	<b>1.11 ± 0.12</b>	<b>0.26</b>

Data are expressed as mean ± SEM. n=6-8

\*P<0.05, significant difference between systemic heterozygous KO mice and control mice

(その2) 血管平滑筋特異的ノックアウトマウスにおける amlodipine (カルシウム拮抗薬), prazosin ( $\alpha$  受容体遮断薬), candesartan (アンジオテンシンII受容体拮抗薬) の腹腔内単回投与では対照群のマウスと比較して血圧や脈拍の変化に有意な差は認められなかった. 同様に L-NAME (NOS 阻害薬) 投与においても血圧の変化に有意な差は認められなかった (図 1(A)). 一方で amlodipine の2週間持続投与ではノックアウトマウスにおいて降圧効果が大きい傾向が認められた (図 1(B)).

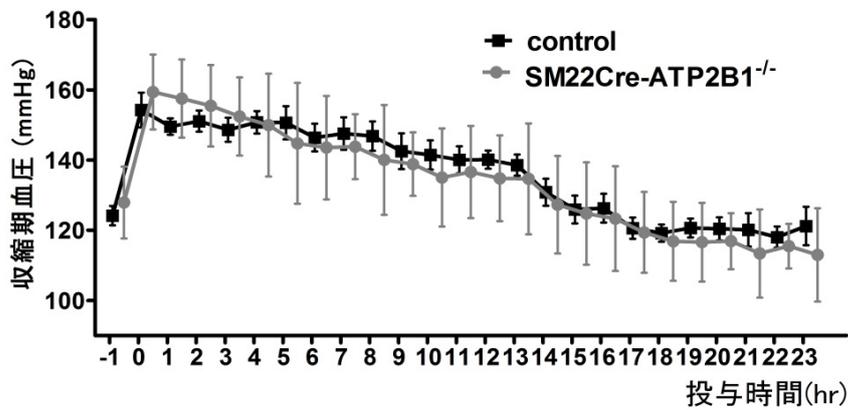


図 1(A).  
L-NAME 腹腔内単回投与後の血圧の変化  
Date are expressed as mean  $\pm$  SEM.

n=8

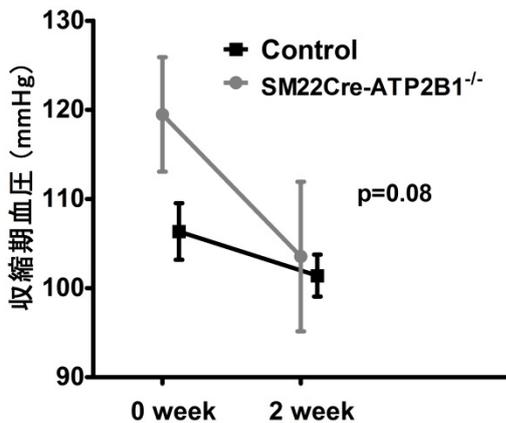


図 1(B). amlodipine の2週間持続投与後の血圧の変化  
Date are expressed as mean  $\pm$  SEM.

n=6

#### 4. 考察

本研究により、ATP2B1 遺伝子の全身ヘテロノックアウトマウスにおける血清カルシウム値の低下には、尿中カルシウム排泄の増加が関与しており、intact-PTH の分泌低下が大きな役割を果たしている可能性が考えられた。また骨密度の低下を認めることから、カルシウム代謝機構が著しく変化しており、血圧上昇のメカニズムに関連している可能性が明らかとなった。

一方、血管平滑筋特異的ノックアウトマウスにおける amlodipine の 2 週間持続投与実験では、降圧効果が強い傾向にあることが明らかとなった。ATP2B1 遺伝子はカルシウム排泄ポンプの機能を有する PMCA1 をコードしており、そのノックアウトマウスの血管平滑筋細胞では細胞内カルシウム濃度が上昇することが明らかになっている。よってカルシウム拮抗薬である amlodipine では降圧効果が増強される可能性が考えられ、本研究結果により、マウスにおける ATP2B1 遺伝子の発現量の低下がカルシウム拮抗薬の降圧効果を増強する可能性が示された。このことはヒトにおいても ATP2B1 遺伝子多型を調べることで、高血圧治療のテーラーメイド医療へ応用できる可能性があることを示している。

#### 5. 学会発表

○藤原 亮, 平和 伸仁, 江原 洋介, 奥山 由紀, 藤田 恵美, 勝又 真理, 小林 雄祐, 坂 早苗, 谷津 圭介, 戸谷 義幸, 梅村 敏: ATP2B1 遺伝子の全身ヘテロノックアウトマウスにおける臓器障害とカルシウム代謝 第36回日本高血圧学会, 横浜 2014.10

[目次に戻る](#)

<わかば研究助成>

研 究 報 告 書

## PirB 制御によるアルツハイマー病の新規治療法の開発

栗原 裕司

横浜市立大学 大学院生命医科学研究科生体機能医科学研究室

### 1. 目的

認知機能や記憶機能の障害を主症状とする進行性の神経変性疾患であるアルツハイマー病に対する予防や治療は今日極めて重要な課題である。アルツハイマー病の予防・治療を目指した医学研究が世界中で行われ、現在最も注目されている研究の一つに、**amyloid  $\beta$  precursor protein** の部分配列である **amyloid  $\beta$  ( $A\beta$ )** の機能抑制を目指した研究がある。 $A\beta$  は脳内における凝集・蓄積により重合し、重合した  $A\beta$  ( $A\beta$  重合体) が神経細胞の傷害・死滅を引き起こすことによって認知・記憶機能障害が誘起されると考えられている。近年、 $A\beta$  重合体は **paired immunoglobulin-like receptor B (PirB)** に結合することによって、アルツハイマー病の認知・記憶機能を障害することが報告された (Kim et al., *Science*, 2013) ことから、この  $A\beta$  重合体-PirB 結合はアルツハイマー病発症の原因であることを示す。

申請者らは新規分子 **lateral olfactory tract usher substance (LOTUS)** を発見し、LOTUS は Nogo 等の神経再生阻害因子の受容体である **Nogo receptor-1 (NgR1)** に結合し、Nogo の作用を抑制する NgR1 の内在性アンタゴニストであることを明らかにした (Sato et al., *Science*, 2011)。さらに、申請者は、LOTUS の NgR1 への結合が、Nogo の他に 3 種存在する神経再生阻害因子の作用も抑制し、NgR1 のすべてのリガンドに対するアンタゴニストであることを明らかにした (Kurihara et al., *Mol Cell Neurosci*, 2014)。一方で、申請者は、LOTUS と PirB におけるリガンド-受容体結合実験および免疫共沈降実験を行ったところ、LOTUS は PirB と相互作用することを発見した(次頁; 図 A, B)。しかしながら、LOTUS 結合による PirB の機能に対する影響および  $A\beta$  を受容する PirB の機能に対する抑制物質に関する報告は全くの未知である。本研究の目的は、PirB の制御によるアルツハイマー病

の新規治療法を開発することである。

## 2. 方法

### (1) A $\beta$ 重合体-PirB 結合に対する LOTUS の抑制効果の検討

COS7 細胞株に PirB および LOTUS の両者を強制発現させ、A $\beta$  重合体を添加して、A $\beta$  重合体の PirB への結合に対する LOTUS の影響を検討した。

### (2) A $\beta$ 重合体-PirB 結合に対する抗 PirB 抗体の抑制効果の検討

COS7 細胞株に PirB を強制発現させ、抗 PirB 抗体と同時に A $\beta$  重合体を添加して、A $\beta$  重合体の PirB への結合に対する抗 PirB 抗体の影響を検討した。

## 3. 結果

A $\beta$  重合体の PirB への結合に対する LOTUS の影響を調べたところ、PirB 単独を強制発現させた COS7 細胞に A $\beta$  重合体は結合するが、LOTUS および PirB の両者を強制発現させた COS7 細胞では A $\beta$  重合体の結合が抑制されることを発見した (図 C)。また、PirB を強制発現させた COS7 細胞に対する A $\beta$  重合体の結合が、当研究室所有の抗 PirB 抗体の添加により抑制されることも見出した (図 D)。

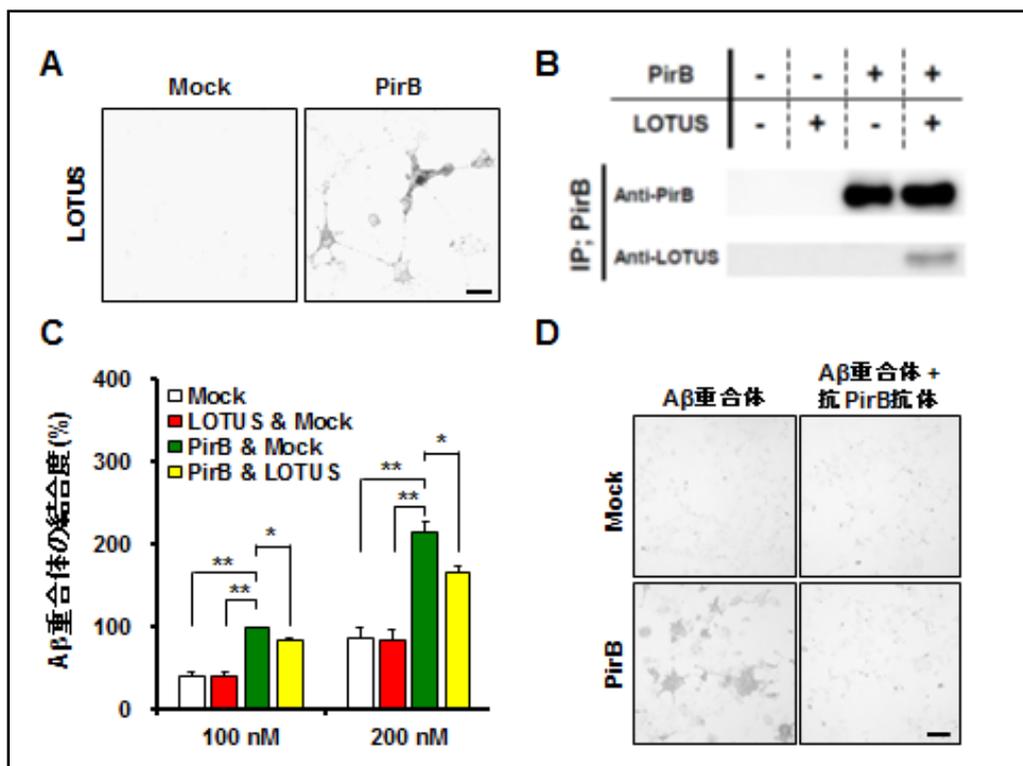


図 LOTUS および抗 PirB 抗体は A $\beta$  重合体-PirB 結合を阻害する

A COS7 細胞に強制発現させた PirB に対する精製 LOTUS タンパク質の結合実験。Scale bar、50  $\mu$ m。

B COS7 細胞に強制発現させた PirB および LOTUS における免疫共沈降実験。

C LOTUS および PirB の両者を強制発現させた COS7 細胞に対する A $\beta$  重合体結合の定量化グラフ。n=10, \* $P$ <0.05 \*\* $P$ <0.01 one-way ANOVA。

D 抗 PirB 抗体による A $\beta$  重合体-PirB 結合の阻害効果。Scale bar、50  $\mu$ m。

## 4. 考察

以上の結果から、LOTUS あるいは当研究室所有の抗 PirB 抗体は A $\beta$  重合体-PirB の結合を阻害することが明らかとなった。このことは、A $\beta$  結合により誘起される PirB の機能を LOTUS あるいは当該抗 PirB 抗体が抑制する可能性を示唆する。アルツハイマー病の認知機能障害の原因分子として知られている A $\beta$  重合体が結合する新規受容体として PirB が同定されているものの、PirB を特異的にかつ効果的に阻害できる手法の報告はなされていない。PirB の機能を LOTUS あるいは当該抗 PirB 抗体が抑制できることが判明すれば、LOTUS および抗 PirB 抗体の機能はアルツハイマー病の予防・治療に画期的な進展をもたらすと期待される。

現在、PirB を発現し、A $\beta$  重合体-PirB 相互作用によりリン酸化 Cofilin が減少することが知られているマウス大脳皮質神経細胞および海馬神経細胞 (Kim et al., Science, 2013) を用いて、LOTUS あるいは抗 PirB 抗体の抑制効果を検証する実験を遂行中である。

[目次に戻る](#)

<わかば研究助成>

研 究 報 告 書

課題名

ラット膀胱尿路上皮の伸展刺激受容機構における TRPM8 チャネルの機能的役割の解明

報告者名

伊藤悠城<sup>1,2</sup>、相澤直樹<sup>2</sup>、井川靖彦<sup>2</sup>

1: 横浜市立大学大学院医学科泌尿器病態学教室

2: 東京大学コンチネンス医学講座

## 1. 目的

過活動膀胱（OAB）は急に起こる抑えきれないほどの強い尿意を主症状とする症状症候群であり、40歳以上の日本人における有病率は12.4%以上と推定されている（本間, 他. 日本排尿機能学会誌, 2003）。また近年 OAB と類似する病態として膀胱痛症候群（BPS）があり、特に蓄尿時に痛みを伴うことが報告されており、どちらの病態においても患者の生活の質（QOL）は著しく低下している。OAB の治療薬は抗コリン薬が第一選択薬として古くから使用されてきたが、治療効果が低く副作用が多いことで患者の満足度も低い（Akino H *et al.*, *Int J Urol.* 2014）。他方、BPS に対する治療薬は皆無であり、新規治療薬の開発が望まれている。

Transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8) チャネルは、OAB および BPS 患者の膀胱において発現が亢進しており（Mukerji G *et al.*, *BMC Urol.* 2006）、げっ歯類においては、膀胱の尿路上皮および膀胱の知覚伝達路である L6 後根神経節においても発現が確認されていること（Jun JH *et al.*, *Int Neurourol J.* 2012）などから、OAB や BPS の病態解明において重要な役割を果たすことが示唆されてきた。我々はこれまでラットを用いて、TRPM8 チャネルが膀胱伸展により誘発される生理的な排尿反射の閾値を調節し、さらに、この時（膀胱伸展時）発火している求心性神経活動に対し促進的な役割を有することを報告してきた。

これまでに、膀胱伸展により尿路上皮から様々な伝達物質（アセチルコリン：ACh、アデノシン三リン酸：ATP、一酸化窒素：NO、神経成長因子：NGF、サブスタンス P：SP、カルシトニン遺伝子関連ペプチド：CGRP、タキキニン類、プロスタグランジン E2：PGE2 など）が放出されることがすでに報告されており、OAB や BPS ではこのような伝達物質の放出過多もしくは放出減少が背景として存在することが示唆され、これらの伝達物質を標的とした創薬が進行中である。

今回我々は、膀胱知覚（求心路）におよぼす TRPM8 チャンネルの作用発現に関与する尿路上皮由来の伝達物質を同定し、TRPM8 チャンネルもしくはそれに関与する伝達物質が、OAB や BPS の病態解明および新規治療薬標的と成り得るかどうかを検討する。

## 2. 方法

尿路上皮から放出される伝達物質の回収・測定には、回収液の採取方法および採取量の影響が大きく、再現性が良くバラつきの少ないデータの取得は困難であった。この問題点を解決するため、今回我々は、特殊なウッシングチャンバーを使用する。ウッシングチャンバーは短絡電流法を使い、上皮膜における電解質輸送を電気生理学的に測定する装置であり、いくつかの会社がこのチャンバーを販売しているが、我々が用いるウッシングチャンバーは、より小さい標本でも回収液に含まれる伝達物質の測定を再現性良く正確に行うことができることを、すでに予備実験において確認している。

更に、独自に開発・設計したオプションパーツを用いることで、ラットおよびマウスのような小さな膀胱標本に対しても正確な圧力負荷をかけることが可能である。これにより、生理的な膀胱伸展を想定した圧力負荷を行い、TRPM8 チャンネルを介したより詳細なメカニズムの解明が可能になると考えられる。

独自改良したウッシングチャンバーを用いて、SD 雌性ラット膀胱上皮より放出される上皮由来の伝達物質の測定を試みた。上皮由来の伝達物質の中でも、今回行った前試験では比較的測定が安易である ATP の測定を試みた。

## 3. 結果

これまでに行った前試験では、ラット膀胱の尿路上皮より放出される ATP 量は、圧力負荷（20cmH<sub>2</sub>O）により徐々に増加し、圧力負荷開始から 30 分経過すると定常状態に達することが分かった。いずれも未発表データのため、詳細の記述は避けるが、現在このウッシングチャンバーを用いて、TRPM8 チャンネルを始めとした各種標的チャンネルの尿路上皮における機能的役割を解析中である。

#### 4. 考察

我々の独自改良したウッシングチャンバーを用いて、マウスおよびラット尿路上皮からの伝達物質の定量化の確立を目指した。尿路上皮から放出される伝達物質の回収・測定には、回収液の採取方法および採取量の影響が大きく、再現性が良くバラつきの少ないデータの取得が至上命題であった。今回の我々の改良したウッシングチャンバーではその問題点が改善されていたが、それでもチャンバー内にわずかなよごれが存在するだけで、測定したATP量の値に多少のばらつきが生じた。測定前のチャンバーの洗浄方法に工夫をするなどして、安定した測定系を確立した。

#### 5. 論文および学会発表

Ito H, Aizawa N, Sugiyama R, Watanabe S, Takahashi N, Tajimi M, Fukuhara H, Homma Y, Kubota Y, Andersson KE, Igawa Y. [Functional role of the transient receptor potential melastatin 8 \(TRPM8\) ion channel in the urinary bladder assessed by conscious cystometry and ex vivo measurements of single-unit mechanosensitive bladder afferent activities in the rat.](#) BJU Int. 2015 [Epub ahead of print].

[目次に戻る](#)

## <わかば研究助成>

### 研 究 報 告 書

課題名：膵癌の新規治療効果／予後予測マーカー，新規治療分子標的の探索：低酸素・低栄養環境下で相乗的に発現誘導される遺伝子群を候補分子とする臨床病理学的解析

報告者名：青山徹

所属部科名：神奈川県立がんセンター

#### 【研究課題】

膵癌の新規治療効果／予後予測マーカー，新規治療分子標的の探索：低酸素・低栄養環境下で相乗的に発現誘導される遺伝子群を候補分子とする臨床病理学的解析

#### 【要旨】

2007年から2014年の期間に神奈川県立がんセンター消化器外科で膵癌の診断で、根治切除及び術後 S-1 補助化学療法を施行した症例を対象に治療継続に関わる因子の探索を行った。検討の結果、これらの症例では治療開始前の腎機能が治療継続の重要であった。

#### 【研究の目的】

JASPAC-01 の結果、切除可能膵癌の標準治療は根治切除と術後 6 カ月間の S-1 補助化学療法が標準治療となった。術後補助化学療法は微小転移を抑制することを目的に施行され一定期間の治療継続が必要である。しかし、治療の継続率は十分ではない。このため、治療継続性の改善にはこれらに影響を及ぼす因子の検討が必要である。

#### 【研究の対象と方法】

2007年から2014年までに当院で膵癌の診断で根治切除を施行し、術後に S-1 補助化学療法を施行した 40 例を対象に検討を行った。

#### 【研究の結果】

対象の年齢の中央値は 68 歳，男性が 24 例・女性が 16 例。術式は膵頭十二指腸切除が 29 例・膵体尾部切除が 11 例。進行度は IIA が 8 例・IIB が 32 例。化学療法前血清クレア

チニン値の中央値は 0.66mg/dl, クレアチニンクリアランス(CCr)値の中央値は 70.3ml/min であった. 年齢・性別・術式・CCr 値・病期などを調整因子として単変量・多変量解析を行った. 結果, CCr 値が唯一 S-1 継続性に影響する因子となった( $\geq 60$ ml/min versus  $<60$ ml/min; Hazard ratio 4.202, 95%CI 1.443-12.237,  $p=0.008$ , 表 1 を参照). 6 ヶ月間の治療継続率は, CCr 値 60mg/min 以上のグループでは 70.8%, CCr 値 60mg/min 以下のグループでは 25.0%であった(図 1 を参照). CCr 値 60mg/min 以下のグループでは, S-1 開始後 30 日以内の有害事象による治療継続困難症例が多かった.

【結語】

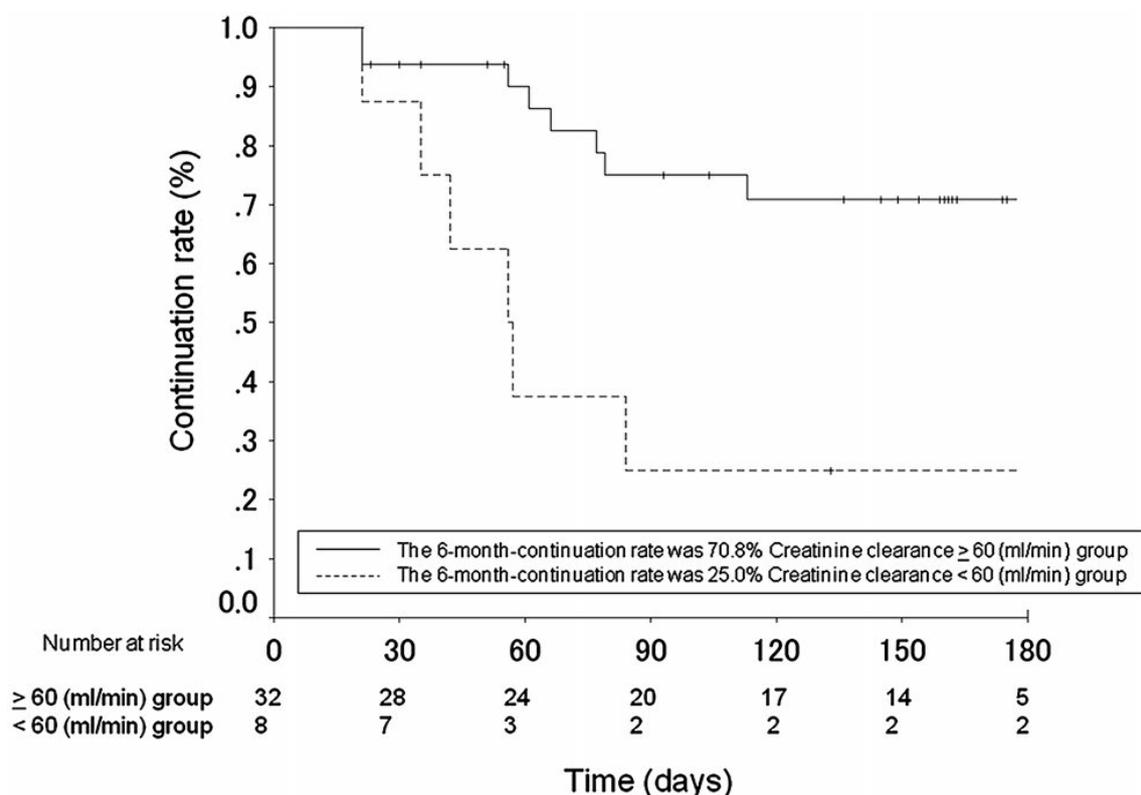
今回の検討では, 化学療法施行前の CCr 値が S-1 治療の継続性に重要な影響を及ぼす可能性が示唆された. 今後, 術後に S-1 補助化学療法を予定している患者のうち, CCr60ml/min 以下の症例では治療開始直後からの有害事象に注意し経過をみていく必要があると考えられた.

本検討結果は, Cancer Chemother Pharmacol(Impact factor:2.6)の 74 巻・6 号・1235-40 項に掲載された.

表 1 S-1 補助化学療法の継続性に関わるリスク因子の単変量・多変量解析の結果(Aoyama T, et al: CCP, 2014 より引用)

Factors	Number	OR	95 % CI	P value	OR	95 % CI	P value
Age (years)				0.503			
- < 75	32	1.000					
75 ≤ -	8	1.551	0.430-5.603				
Gender				0.699			
Female	16	1.000					
Male	24	1.243	0.413-3.736				
Type of surgery				0.782			
DP	11	1.000					
PD or TP	29	1.179	0.368-3.780				
Surgical complication				0.975			
No	31	1.000					
Yes	9	1.021	0.285-3.661				
Body weight loss (%)				0.871			
- < 10 %	27	1.000					
10 % ≤ -	13	1.095	0.366-3.269				
Creatinine clearance (ml/min)				0.008			0.008
60 ≤ -	33	1.000					
- < 60	7	4.202	1.443-12.237		4.202	1.443-12.237	
Stage				0.322			
IIA	8	1.000					
IIB	32	1.906	0.531-6.841				

図1 腎機能ごとの S-1 補助化学療法の継続率の比較(Aoyama T, et al: CCP, 2014 より引用)



【備考】2014年度にわかば研究助成から研究支援を頂いて報告した論文及び学会報告の一覧論文報告(5編)

①Aoyama T, Katayama Y, Murakawa M, et al. Risk factors for 6-month continuation of S-1 adjuvant chemotherapy for resected pancreatic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2014; 74: 1235-40. (Impact factor: 2.6)

②Aoyama T, Katayama Y, Murakawa M, et al. Safety and feasibility of S-1 adjuvant chemotherapy for pancreatic cancer in elderly patients. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015 Mar 29. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25821166. (Impact factor: 2.6)

③Aoyama T, Katayama Y, Murakawa M, et al. Clinical implication of peritoneal cytology in the pancreatic cancer patients who underwent curative resection followed by adjuvant gemcitabine or S-1 chemotherapy. *Hepatogastroenterology* 62:86-92, 2015 (Impact factor: 0.907)

④Aoyama T, Katayama Y, Murakawa M, et al. Lymphatic invasion is an independent prognostic factor in pancreatic cancer patients undergoing curative resection followed by adjuvant chemotherapy with gemcitabine or S-1. *Hepatogastroenterology* 62:60-65, 2015 (Impact factor: 0.907)

⑤Toru Aoyama, Masaaki Murakawa, Yusuke Katayama, et al. Impact of Postoperative

Complications on Survival and Recurrence in Pancreatic Cancer. *Anticancer Research*, 2015 (in press) (Impact factor: 1.872)

海外学会報告(5編)

①Toru Aoyama: Preoperative Risk Assessment of Pancreatic Surgery for Pancreatic Cancer by the Surgical Apgar Score. *American Society Clinical Oncology Gastrointestinal Cancers Symposium 2015*, San Francisco, 2015, 1.

②Masahiro Asari, Toru Aoyama: Impact of postoperative complications on pancreatic cancer survival and recurrence. *American Society Clinical Oncology Gastrointestinal Cancers Symposium 2015*, San Francisco, 2015, 1.

③ Masaaki Murakawa, Toru Aoyama: Safety and feasibility of S-1 adjuvant chemotherapy for pancreatic cancer in elderly patients. *American Society Clinical Oncology Gastrointestinal Cancers Symposium 2015*, San Francisco, 2015, 1.

④Yusuke Katayama, Toru Aoyama: Risk factors for 6-month continuation of S-1 adjuvant chemotherapy for resected pancreatic cancer. *American Society Clinical Oncology Gastrointestinal Cancers Symposium 2015*, San Francisco, 2015, 1.

⑤Yusuke Katayama, Toru Aoyama: Peritoneal Cytology in the Pancreatic Cancer Patients who underwent Curative Resection followed by Adjuvant Chemotherapy. *American Society Clinical Oncology Gastrointestinal Cancers Symposium 2015*, San Francisco, 2015, 1.

[目次に戻る](#)

<わかば研究助成>

研 究 報 告 書

メトホルミンによる膵β細胞機能および量の制御機構の解明

田島一樹

横浜市立大学附属病院内分泌糖尿病内科

## 1. 目的

2型糖尿病の発症・進展を膵β細胞の調節異常という観点から捉えると、その発症前から膵β細胞の機能低下に加えて、膵β細胞量の減少が認められ、膵β細胞の量および機能の向上を目指す治療法開発が求められている。一方で、2型糖尿病に対するインスリン抵抗性改善薬として多用されているメトホルミンが、膵β細胞に及ぼす影響については不明な点が多い。ビグアナイド薬のメトホルミンは、主に肝臓、骨格筋や脂肪組織に作用し、血糖降下作用を発揮する。近年では、インスリン作用に働く消化管ホルモンである“インクレチン”のエンハンサーとしても注目されており、我々は、これまでにメトホルミンが、マウス膵島においてインクレチン受容体の発現を上昇させることを示した。本研究の目的は、インスリン抵抗性改善薬であるメトホルミンによる、インクレチン受容体発現も含めた膵β細胞における影響について解析し、病態に応じた適切な治療法を開発すること、さらにはメトホルミンの膵β細胞保護作用、なかでも膵島移植への治療応用の可能性として、膵島細胞中心壊死の制御機構を明らかにすることを目指した。

## 2. 方法

### ①メトホルミンが膵β細胞機能や量に及ぼす影響についての検討

8週齢 C57BL6J 雄マウスを普通食群、普通食+メトホルミン治療群、高脂肪食群、高脂肪食+メトホルミン治療群の4群に分け、8週間飼育し、組織学的評価、分子生物学的評価をおこなった。また、長期負荷実験として、C57BL6J 雄マウスを普通食群、高脂肪食群、高脂肪食+メトホルミン治療群の3群に分け、60週間飼育し、同様の検討を行った。尚、メトホルミンは 250mg/kg の濃度で飲水投与を行った。

### ②メトホルミンがグルコース誘導性の膵島細胞中心壊死に及ぼす影響についての検討

8-11週齢 C57BL6J 雄マウスの単離膵島において、サイズ別 (Large islets: 150μm 以上、

Small islets: 100  $\mu\text{m}$  以下) にわけ、高グルコース下 (200mg/dL) で 24 時間、48 時間培養を行い、メトホルミン (1mM) を投与した際に、膵島細胞中心壊死に及ぼす影響を解析した。

### 3. 結果

①高脂肪食 8 週間負荷マウスでは、メトホルミン投与で、インスリン抵抗性の改善を認め、耐糖能は維持されたが、膵  $\beta$  細胞代償性過形成およびインスリン分泌亢進は、メトホルミン非投与群と比較して抑制され、単離膵島におけるグルコース応答性インスリン分泌は同等であった (図 1, 2)。この時、膵島における GLP-1 受容体発現は、高脂肪食負荷により有意に増加を認めたが、メトホルミン投与で抑制され、GLP-1 によるグルコース応答性インスリン分泌は両群とも同等であった。一方、肝臓では、HE 染色においてメトホルミン投与により肝脂肪化の改善を認め、肝内中性脂肪含量の有意な低下も認めた。また、精巣上体脂肪では、メトホルミン投与により脂肪重量、脂肪細胞サイズは有意に低下、また遺伝子発現評価において F4/80、CD11c の低下を認めた。

高脂肪食 60 週負荷マウスでは、メトホルミン投与で体重、随時血糖、膵  $\beta$  細胞量、および単離膵島のグルコース応答性インスリン分泌に影響を与えなかったが、インスリン抵抗性は有意に改善し、また高脂肪食負荷による GLP-1 受容体発現の増加を抑制した。

図 1. 8 週負荷マウスにおける膵  $\beta$  細胞量 (SC: 普通食、HFD: 高脂肪食、Met: メトホルミン)  
 □: SC    ▨: SC + Met    ■: HFD    ▩: HFD + Met

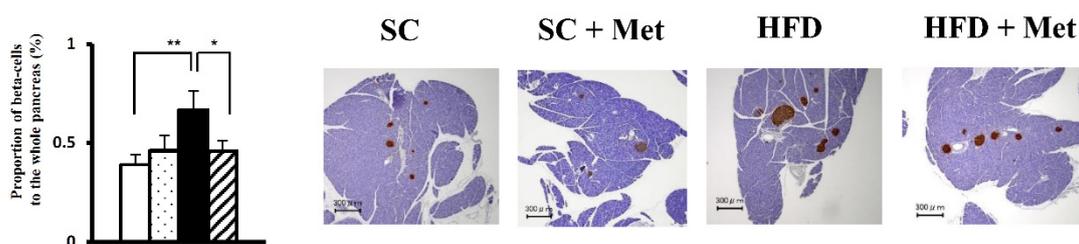
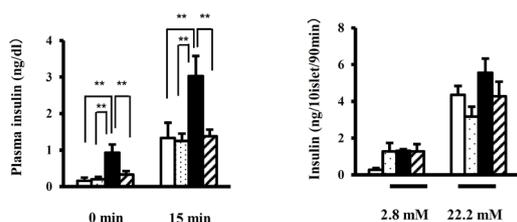


図 2. 8 週負荷マウスにおけるインスリン分泌評価 (左: 経口ブドウ糖負荷時、右: 単離膵島におけるグルコース応答性インスリン分泌能評価)



②C57Bl/6J マウス単離膵島 ( $\geq 150 \mu\text{m}$ ) を高グルコース (200 mg/dl) 下で 24、48 時間培養すると、膵島細胞の中心部に core を認めた。MIP-GFP マウス単離膵島で同様の検討を行

うと、膵島の中心部は GFP で染まらないこと（インスリン陰性）を確認した（図 3）。また、単離膵島におけるグルコース応答性インスリン分泌評価では、Large islets で small islets に比較しインスリン分泌の低下を認めた（図 3）。膵島中心部の Core は、TUNEL 染色において TUNEL 陽性部位と一致した（図 4）。メトホルミンを添加すると、膵島中心部における TUNEL 陽性部位の割合は有意に抑制された（図 4）。また、AMPK 活性化薬である AICAR の添加で同様に膵島細胞中心壊死を抑制したことから、Met の膵島細胞中心壊死の抑制効果は AMPK を介している可能性も示唆された。

図 3. 高グルコース培養下における単離膵島（Large islets）の形態およびインスリン分泌能評価（左：MIP-GFP マウス単離膵島、右：グルコース応答性インスリン分泌能）

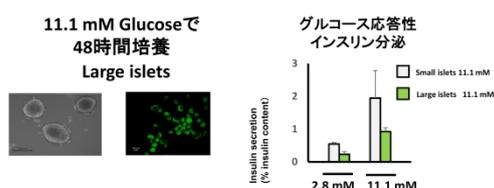
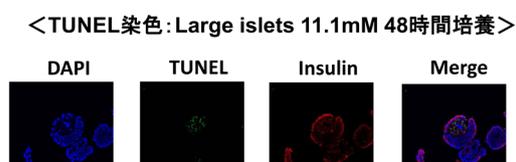


図 4. 高グルコース培養下における単離膵島の TUNEL 染色（左）およびメトホルミン添加時の膵島中心部における TUNEL 陽性膵島の割合（右）



	24 h		48 h	
	5.6mM	11.1mM	5.6mM	11.1mM
<b>Small</b>				
Ctrl	0 (0/16)	1.9 (1/52)	0 (0/36)	0 (0/10)
Met	0 (0/29)	0 (0/40)	0 (0/85)	0 (0/77)
<b>Large</b>				
Ctrl	5.0 (2/40)	17.0 (7/41)	0 (0/5)	22.2 (6/27)
Met	0 (0/30)	0 (0/30)	0 (0/29)	4.5 (1/22)

#### 4. 考察

メトホルミンは高血糖やインスリン抵抗性存在下では、膵 β 細胞に対する代償性反応を抑制していたが、全身のインスリン抵抗性が改善された結果、過剰なインスリン分泌が不要となり、結果的に膵 β 細胞機能を保護していることが示唆された。既報において、高脂肪食下では膵 β 細胞における GLP-1 受容体発現は代償性に亢進していることが報告されているが、本研究においては、メトホルミンによるインスリン抵抗性改善により代償性発現増加が抑制されたことが示唆された。また、メトホルミンは高血糖下での膵島細胞中心壊死を抑制し、直接的な膵 β 細胞保護作用を有している可能性が示唆された。本研究において、メトホルミンの膵 β 細胞保護作用が示唆されたことは、今後治療応用へと展開する糸口となりうる。今後、メトホルミンによる小胞体ストレス応答およびオートファジー調節機構の解析もすすめ、直接的なアポトーシス制御による膵 β 細胞減少の抑制という観点から治療に繋がることを目指す。また、メトホルミンの膵島細胞中心壊死の抑制に関しては、膵島移植への治療応用も期待されるため、機序について解析を進めている。

## 5. 論文発表および学会発表

田島一樹, 白川純, 富樫優, 井上英昭, 寺内康夫: メトホルミンによる膵  $\beta$  細胞保護作用の検討 第 58 回日本糖尿病学会年次学術総会 2015 年 5 月 下関

田島一樹, 白川純, 富樫優, 井上英昭, 寺内康夫: メトホルミンによる膵  $\beta$  細胞保護作用の検討 第 52 回日本臨床分子医学会 2015 年 4 月 京都

田島一樹、白川純、富樫優、井上英昭、寺内康夫: メトホルミンは膵  $\beta$  細胞保護作用を有するか? 第 29 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会, 2015 年 2 月 京都

[目次に戻る](#)

## <わかば研究助成>

### 研 究 報 告 書

ヒト免疫不全ウイルス蛋白質の翻訳後修飾とその機能解析

宮川敬

横浜市立大学医学部微生物学

#### 1. 目的

エイズの病因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染者数は、全世界で現在 3300 万人に達し、本邦でも依然増加傾向にある。HIV 感染症の治療においては、多剤併用療法の奏功により感染者の予後は大幅に改善されたが、薬剤の半永久的な服用が原因による耐性ウイルスの出現が問題視されている。またエイズの治癒を目指すためには、体内に潜伏する HIV を完全に除去する必要がある、そのための新しい治療法や薬剤選択の幅を広げる基礎研究が求められている。

ヒト細胞には I 型インターフェロン誘導性で、広範なウイルスの複製を抑制する「宿主防御因子（Restriction factor）」が複数存在する。Restriction factor は外来ウイルスに対する細胞内免疫応答の一つと考えられており、その代表的な例が APOBEC3G や SAMHD1 と呼ばれる蛋白質である。これらは感染細胞内で生ずるウイルスゲノムの逆転写反応を強く阻害するが、HIV アクセサリー蛋白質である Vif や Vpx の働きによって不活化される。つまり体内では事実上 Restriction factor としての機能は抑制されている。

したがって感染細胞内で Restriction factor を再活性化させるような因子や手段が見つければ、ヒトが生来兼ね備える防御機構を活かした HIV の排除が理論上可能となり、画期的な新規の治療戦略となりうる。また HIV アクセサリー蛋白質はリン酸化、ユビキチン化などの翻訳後修飾が起ることで機能する。そこで申請者らは、HIV アクセサリー蛋白質と強く結合可能な翻訳後修飾関連因子群をプロテオミクス解析により網羅的に調べた。次に、アクセサリー蛋白質の活性を低下させ、且つ Restriction factor を再活性化させる因子を探索し、その詳細な分子機構の解明を目指した。

#### 2. 方法

HIV アクセサリー蛋白質 Vif、Vpx に結合する翻訳後修飾関連因子群の探索には、AlphaScreen 法を用いた。本法では、ビオチン標識した HIV アクセサリー蛋白質と FLAG タグ標識した翻訳後修飾関連因子とをそれぞれ蛋白質合成した後、ストレプトアビジンをコ

ートしたドナービーズと、FLAG 抗体およびプロテイン A をコートしたアクセプタービーズをそれぞれ等量混和し、両者の距離依存的に生じるエネルギー転移性発光シグナルを検出することで相互作用を定量可能である。得られた候補蛋白質は分子生物学的およびウイルス学的手法を用いた機能解析および HIV 感染への影響について調べた。

### 3. 結果

#### ① Vif の活性を阻害する ASK1 の同定とその機能解析

Vif が APOBEC3G を細胞内分解する機構においては、Vif が Cul5, EloB, EloC などの因子群とユビキチンリガーゼ複合体を形成することで、APOBEC3G を効率的にユビキチン化する。予備実験において、炎症性サイトカインの存在時には、Vif が APOBEC3G を分解できないことが分かった。そこで細胞内の炎症性シグナル経路に関連したリン酸化酵素群に着目して調べたところ、ASK1 と呼ばれる因子が Vif と強力に結合することが分かった。ASK1 に Vif をリン酸化する機能は見られなかったが、ASK1 存在下では Vif の活性が低下した。その結合部位は Vif の EloC 結合領域と重複しており、ASK1 の発現依存的に Vif と EloC の相互作用が失われた。結果として ASK1 は Vif のユビキチンリガーゼ複合体形成を阻害することで、APOBEC3G の抗 HIV 活性を高めていることが分かった。さらに ASK1 は HIV の核酸系逆転写酵素阻害薬レトロビル (AZT) の添加により誘導されることが分かり、本機構が AZT の副次的効果として働きうる可能性が示唆された。

#### ② Vpx の活性を阻害する新規宿主因子の同定とその機能解析

Vpx は SAMHD1 をユビキチン・プロテアソーム系で細胞内分解する。一方、Vpx にはその蛋白質安定性に関わる 2 つのリジン残基があり、このリジンを標的としたユビキチン化酵素の存在が示唆されている。そこで Vpx と結合するユビキチン化酵素を網羅的に探索したところ、3 種の宿主因子が Vpx 結合性を示した。うち、1 種については、実際に Vpx をユビキチン・プロテアソーム系で細胞内分解に導くことで SAMHD1 の抗 HIV 活性を高める可能性が示唆され、現在その詳細な分子機序について検討中である。

### 4. 考察

これまで感染細胞内で Restriction factor を再活性化させるような因子の存在はほとんど知られていなかったが、本研究によってその存在が証明されつつある。エイズの治癒を目指すためには、体内に潜伏する HIV を完全に除去する治療戦略の確立が必須である。今後は本研究で見いだした因子や分子機構を効率的に誘導する手段を見いだすことで、ヒト本来の防御機構を活かした画期的な新規治療戦略に結びつけることが重要である。

### 5. 論文発表

- 1) **Miyakawa K**, et al.,: ASK1 restores the antiviral activity of APOBEC3G by disrupting HIV-1 Vif-mediated counteraction. **Nature Communications**. 6:6945, 2015
- 2) **Miyakawa K**, et al.,: Molecular dissection of HBV evasion from restriction factor tetherin: A new perspective for antiviral cell therapy. **Oncotarget**. 6(26), 21840-21852, 2015

[目次に戻る](#)

<25年度 奨励研究助成>

研 究 報 告 書

## 小分子 RNA による精巣幹細胞分化制御システムの解析

富澤 信一

横浜市立大学 医学部 組織学

### 目的

本研究は哺乳類の精子形成過程において、精巣の幹細胞分化を制御する分子機構を解明することを最終目的とする。我々は現在までに、精巣幹細胞が前駆細胞へと分化する際に、核内で DNA メチル化やヒストン修飾などのエピジェネティックな状態が大きく変換することを免疫染色法により明らかにし、この現象をエピジェネティックスイッチと名付けた (Shirakawa et al., *Development* 2013)。エピジェネティクスとは DNA の塩基配列を変えることなく、DNA メチル化、ヒストンタンパクの修飾、小分子 RNA やその他の非コード RNA の機能を介して遺伝子発現状態を制御する機構のことである。エピジェネティクスの現象は哺乳類の正常な発生に不可欠で、細胞分化にも重要な役割を果たすことが示されている。一方で、雄マウスの生殖細胞においては小分子 RNA の一種である piRNA が DNA メチル化の導入や遺伝子発現抑制に関与することが知られている。このように、エピジェネティックな状態は小分子 RNA の作用によって変化する場合がある。

そこで本研究では、精子幹細胞の分化時に起きるエピジェネティックスイッチに小分子 RNA が関与している可能性を検証する。具体的には、精巣幹細胞分化に伴って発現変動する小分子 RNA を同定し、それが分化に不必要な mRNA を転写後に抑制したり、DNA メチル化やヘテロクロマチン形成を誘導して遺伝子発現を抑制したりするなどといった機構により幹細胞分化を制御している可能性について調べることにした。

### 方法

セルソーター(BD FACSAriaII)を用い、マウス(GFRa1-EGFP ノックインマウスおよび Ngn3-EGFP トランスジェニックマウス)の精巣から幹細胞と前駆細胞を高純度に分取し、そこから RNA を採取した。分取には精巣幹細胞に特異的に発現する GFRa1-EGFP レポー

ターと精巣幹細胞から前駆細胞にかけて発現する Ngn3-EGFP レポーター、さらに前駆細胞に特異的に発現する Kit を指標とし、GFRa1+/Kit<sup>-</sup> (精巣幹細胞)、Ngn3+/Kit<sup>+</sup> (前駆細胞)の2種類の分画を採取し、small RNA-seq用のライブラリー作製に使用した。調整済みのサンプルは次世代シーケンサー(Illumina 社 MiSeq)を用いて解析した(九州大学生体防御医学研究所佐々木裕之教授との共同研究)。

### 結果および考察

それぞれ数万個の精巣幹細胞(GFRa1+/Kit<sup>-</sup>)と前駆細胞(Ngn3+/Kit<sup>+</sup>)から RNA を採取し、実験に用いた。約 40 塩基以下の短い RNA から選択的に次世代シーケンサー用ライブラリーを作製し、MiSeq を用いて配列の同定を行った結果、各細胞種から 400 万~500 万リードの小分子 RNA 配列を取得することができた。得られた配列データはトリミング後、Bowtie によるマウスゲノム(mm10)へのマッピングを行った。その後、既知の miRNA や piRNA クラスターの発現量の定量と、新規の小分子 RNA の同定のための解析を行った。その上で精巣幹細胞、前駆細胞それぞれで特異的に高発現している小分子 RNA を同定するための解析を進めている。今後、同定された小分子 RNA についてはゲノム全体的な遺伝子発現状態や DNA メチル化状態との関連性を調べていく予定である。

### 論文および学会発表

1. Veselovska L, Smallwood SA, Saadeh H, Stewart KR, Krueger F, Maupetit-Mehouas S, Arnaud P, **Tomizawa S**, Andrews S, Kelsey G. Deep sequencing and de novo assembly of the mouse oocyte transcriptome define the contribution of transcription to the DNA methylation landscape. *Genome Biol* 16(1)209 2015
2. Kubo N, Toh H, Shirane K, Shirakawa T, Kobayashi H, Sato T, Sone H, Sato Y, **Tomizawa S**, Tsurusaki Y, Shibata H, Saitsu H, Suzuki Y, Matsumoto N, Suyama M, Kono T, Ohbo K, Sasaki H. DNA methylation and gene expression dynamics during spermatogonial stem cell differentiation in the early postnatal mouse testis. *BMC Genomics* 16(1) 624 2015
3. Ohbo K, **Tomizawa S**. Epigenetic regulation in stem cell development, cell fate conversion, and reprogramming. *Biomolecular Concepts* 6 1-9 2015

4. **Tomizawa S**, Shirakawa T, Ohbo K. Stem cell epigenetics: insights from studies on embryonic, induced pluripotent, and germline stem cells *Current Pathobiology Reports* 2(1) 1-9 2014
5. Shirakawa T, Yaman-Deveci R, **Tomizawa S**, Kamizato Y, Nakajima K, Sone H, Sato Y, Sharif J, Yamashita A, Takada-Horisawa Y, Yoshida S, Ura K, Muto M, Koseki H, Suda T, Ohbo K. An epigenetic switch is crucial for spermatogonia to exit the undifferentiated state toward a Kit-positive identity. *Development* 140 3565-3576 2013
6. Sequences in the H19 ICR that are transcribed as small RNA in oocytes are dispensable for methylation imprinting in YAC transgenic mice. Takahashi T, Matsuzaki H, **Tomizawa S**, Okamura E, Ichiyangi T, Fukamizu A, Sasaki H, Tanimoto K *Gene* 508(1) 26-34 2012
7. Watanabe T, **Tomizawa S**, Mitsuya K, Totoki Y, Yamamoto Y, Kuramochi-Miyagawa S, Iida N, Hoki Y, Murphy PJ, Toyoda A, Gotoh K, Hiura H, Arima T, Fujiyama A, Sado T, Shibata T, Nakano T, Lin H, Ichiyangi K, Soloway PD, Sasaki H. Role for piRNAs and noncoding RNA in de novo DNA methylation of the imprinted mouse Rasgrf1 locus. *Science* 332(6031) 848-852 2011

[目次に戻る](#)

<医療技術研究助成>

## 研 究 報 告 書

軟部腫瘍の病理診断における chromogenic in situ hybridization(CISH)法の確立

川島真人<sup>1</sup>

加藤生真<sup>1</sup>、青木一郎<sup>1</sup>、松尾光祐<sup>2</sup>、三田和博<sup>3</sup>

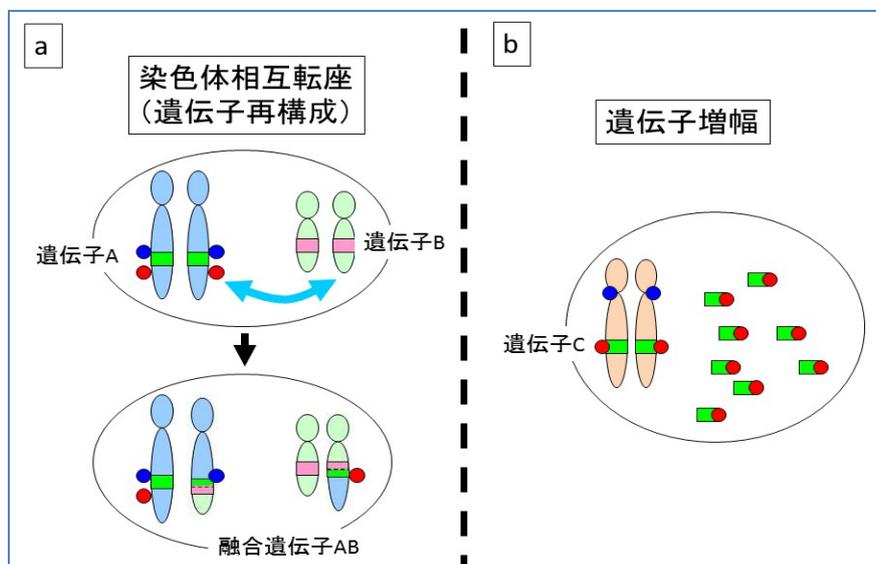
横浜市立大学大学院医学研究科分子病理学<sup>1</sup>、整形外科<sup>2</sup>、附属病院病理診断科<sup>3</sup>

### 1. 目的

軟部腫瘍は極めて多彩な組織型が存在する上に、個々の疾患の部分像が似通っており、良悪性を含め病理診断に難渋することが多く、治療選択に大きな影響を及ぼす。組織像が多彩な一方で、疾患特異的な遺伝子異常が相次いで発見されており、確定診断に必須となりつつある。

遺伝子異常の多くは相互転座や遺伝子増幅の形をとっている為、2色プローブを用いた in situ hybridization(ISH)法を施行することで検出が可能だが(図1)、従来一般的に行われてきた fluorescence ISH(FISH)法は、蛍光顕微鏡下などの特殊な設備を要し、暗室での作業など検出にかかる労力も過大である。

(図1) 遺伝子再構成・遺伝子増幅の概念図



近年、光学顕微鏡下での検出が可能な chromogenic ISH(CISH)法が知られるようになった。FISH 法では暗所や蛍光顕微鏡といった特殊な環境を必要とするのに対し、CISH 法では、特に特殊な環境は必要なく、光学顕微鏡下での検出が可能である。また、FISH 法では標本が退色してしまうのに対して、CISH 法ではほとんど退色することがない。つまり、CISH 法を用いることが出来れば、標本の作製、診断において通常的环境下で行うことが出来る。今後有用性が認知されてくると考えられる手法だが、現状では乳癌の HER2 遺伝子などの特定の領域で実用化されているのみである。

我々は、軟部腫瘍診断における CISH 法の有用性について検討する。特に FISH 法と CISH 法を比較・検討を行うことで、FISH 法と比較した CISH 法の有用性がさらに明確になり、日常の病理診断への応用の足掛かりとなる。

## 2. 方法

横浜市立大学附属病院で生検、切除された検体のホルマリン固定パラフィン包埋材料を用いた。遺伝子再構成あるいは遺伝子増幅が判明している腫瘍に対して、標的遺伝子の 2 色プローブを用いた FISH 法での観察を施行し、さらに同一スライド上で引き続き CISH 法での観察を施行した。一定時間内での観察可能な細胞の個数、シグナルの明瞭さについて比較した。

## 3. 結果

5 症例の FISH 法・CISH 法での比較を(表 1)に示す。

(表 1) 各症例におけるカウント細胞数・シグナルの質

症例	最終診断	遺伝子異常	FISH 法		CISH 法	
			カウント数	シグナル	カウント数	シグナル
1	Xp11.2-RCC	TFE3 再構成	14	明瞭	17	明瞭
2	CCS	EWSR1 再構成	21	比較的明瞭	14	色素の干渉あるが 明瞭
3	EMC	EWSR1 再構成	13	比較的明瞭	31	明瞭
4	ES	EWSR1 再構成	0	検出不能	6	やや弱い が 観察可能
5	WDLPS	MDM2 増幅	32	きわめて 明瞭	39	きわめて 明瞭

Xp11.2-RCC ; Xp11.2 転座型腎細胞癌、CCS ; 明細胞肉腫、EMC ; 骨外性粘液型脂肪肉腫、ES ; Ewing 肉腫、WDLPS ; 高分化型脂肪肉腫

遺伝子再構成でのシグナル観察のしやすさは手法により異なっていた。①色素を含有する腫瘍の場合(症例 2)、CISH 法ではシグナルが色素の顆粒を重なり、シグナル観察にやや難渋した。一方、FISH 法では色素の影響を受けずシグナル観察は容易であった。②介在する非腫瘍細胞(毛細血管の内皮細胞など)の多い腫瘍では(症例 1,3)、CISH 法の方が観察は容易であった。③FISH 法でのシグナル観察が困難でも CISH 法ではシグナルを確認できた例があった(症例 4)。

遺伝子増幅の観察はいずれの方法でも容易であった(症例 5)。

#### 4. 考察

遺伝子再構成の観察では症例に応じた最適な手法が存在すると思われた。多彩な細胞が介在する場合は CISH 法での観察の方が組織構築や腫瘍細胞の形態を確認しながら観察可能であり、より精度が高いと思われた。一方、色素の多い検体の場合、FISH 法での観察の方が色素の影響を受けず、より精度が高いと思われた。また、FISH 法での蛍光シグナルが微弱な場合でも、CISH 法のシグナルは観察可能な事例があることが明らかとなった。

標本保存の観点からも CISH 法は有用である。今回の検討例に関して CISH 法実施後 1~10 ヶ月後にシグナルを再観察したが、シグナルの退色はみられなかった。

FISH 法に加え CISH 法を実施することで、よりストレスの少ないシグナル観察方法が選択可能となり、精度の高い判定に結びつくと思われた。

#### 5. 論文及び学会発表

なし

[目次に戻る](#)

<医療技術研究助成>

研 究 報 告 書

## 脳腫瘍 PET イメージングにおける高精度自動領域抽出法の開発

我妻 慧

東京都健康長寿医療センター研究所 神経画像研究チーム

### 1. 目的

アミノ酸代謝を反映する  $^{11}\text{C}$ -メチオニン陽電子断層撮像 (PET) は CT や MRI と比較して脳腫瘍の局在や範囲の診断、治療後の脳腫瘍の再発診断に優れた診断能を有する (Graudemans AW, 2013)。しかし、PET は空間分解能が低く、腫瘍の大きさや正常組織との放射能濃度比によっても描出能や定量値が変化するため (Soret M, 2007)、正確な腫瘍進展範囲の描出が困難な可能性がある。PET の描出能や定量値を改善するソフトウェア的手法に空間分解能 (PSF) 補正法がある。現在、臨床で最も多く行われている  $^{18}\text{F}$ -FDG PET 検査において、PSF 補正が PET の定量値とコントラストを改善させるという報告がされている (Akamatsu G, 2014)。しかし、脳腫瘍 PET 検査において PSF 補正の有用性は検討されていない。そこで、本研究は  $^{11}\text{C}$ -メチオニン PET の腫瘍範囲の描出精度の向上を目的の一環として、PSF 補正による模擬腫瘍の PET 定量値の変化と、腫瘍範囲の抽出能を検証することを目的とする。

### 2. 方法

ファントムのバックグラウンド (BG) の放射能濃度を 2.65 kBq/ml に  $^{18}\text{F}$  溶液を調製した。BG と 10、20 mm のアクリル球と二重構造アクリル球との放射能濃度比を 1 : 3、1 : 2、1 : 1.5 と変化させた。

Discovery PET/CT 710 を用い、 $^{11}\text{C}$  を 10 分撮像した際と同等の撮像時間になる 8 分 43 秒間、ファントムを撮像した。画像再構成条件はマトリクスサイズ 256×256、有効視野 25.6 cm、ピクセルサイズ 1.0 mm、3D-OSEM+TOF (iteration4、subset16) と 3D-OSEM+TOF+PSF (iteration5、subset16) とした。

BG の関心領域 (ROI) として、内径 1.0 cm の円形 ROI を 5 つ設置した。それぞれ、5 点の mean standardized uptake value ( $\text{SUV}_{\text{mean}}$ ) の平均を BG の  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  とした。BG の  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  と模擬腫瘍の  $\text{SUV}_{\text{max}}$  の比から腫瘍正常組織比 (T/N) を算出した。実測した模擬腫瘍の体積と、 $\text{SUV}_{\text{max}}$  からしきい値法で算出した体積との誤差を算出し、輪郭抽出能を求めた。

### 3. 結果

10、20 mm のホット球と二重構造のホット球の  $SUV_{max}$  と T/N を図 1 にまとめた。PSF 補正により、放射能濃度比 1 : 3 の 10 mm ホット球以外では  $SUV_{max}$ 、T/N ともに変化がなかった。実測した 10 mm、20 mm、二重構造アクリル球の容積はそれぞれ、0.708、3.99、18.71  $cm^3$  であった。輪郭抽出能を表 1 にまとめた。放射能濃度比が小さくなるにつれて輪郭抽出能は低くなり、PSF 補正を使用することで輪郭抽出能は改善傾向を示した。

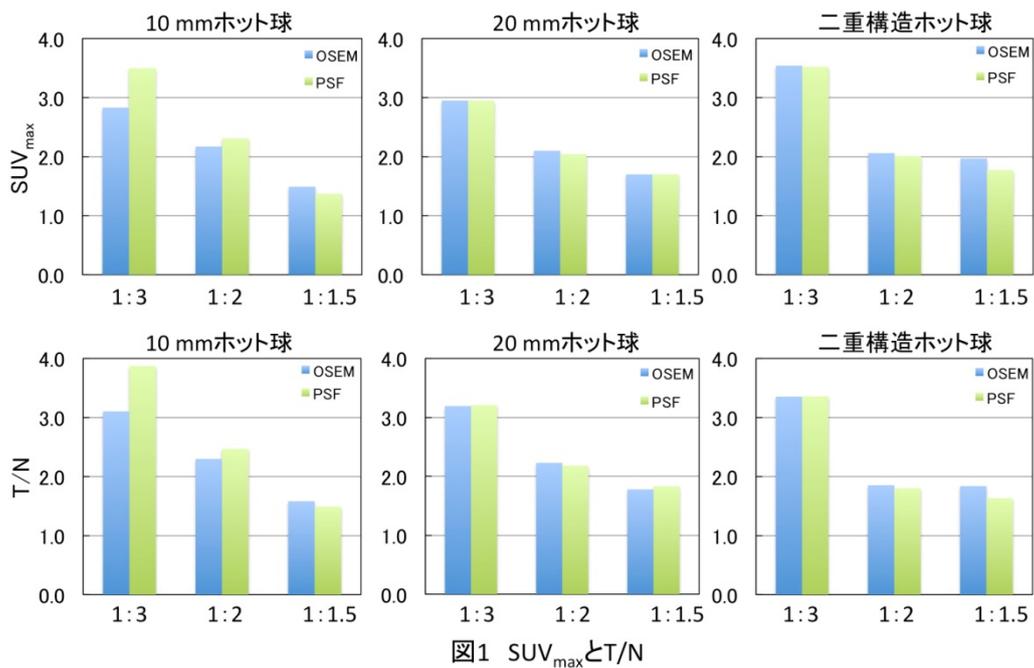


図1  $SUV_{max}$ とT/N

表 1 輪郭抽出能 (%)

アクリル球	10 mm ホット球			20 mm ホット球			二重構造ホット球		
	放射能濃度比 1 : 3	放射能濃度比 1 : 2	放射能濃度比 1 : 1.5	放射能濃度比 1 : 3	放射能濃度比 1 : 2	放射能濃度比 1 : 1.5	放射能濃度比 1 : 3	放射能濃度比 1 : 2	放射能濃度比 1 : 1.5
OSEM	60.0	31.9	7.9	98.0	33.3	9.4	100.3	77.6	40.0
PSF	85.9	69.8	53.1	91.5	58.1	20.3	99.1	90.6	40.1

#### 4. 考察

PSF 補正は計算アルゴリズムの関係上、集積辺縁部にエッジアーチファクトと呼ばれる集積増強部分が発生し、定量値が過大評価されるという問題点を持つ。放射能濃度比 1 : 3 の 10 mm ホット球ではエッジアーチファクトの影響が現れたと考える。PSF 補正は画像のノイズを低減しコントラストを向上させる。PSF 補正により各ホット球の集積内のノイズが低減したために、しきい値法による腫瘍体積（輪郭）の抽出の精度が向上したと考える。

$^{18}\text{F}$ -FDG PET において集積体積で治療効果判定や予後予測を検討する報告が増えている。 $^{11}\text{C}$ -メチオニンを使用した先行研究では、 $T/N \geq 1.3$  を glioma のしきい値とする報告がある (Kobayashi K, 2105)。今回の結果より、 $T/N \leq 2.0$  のような低い放射能濃度比では、PSF 補正の問題点である定量値の過大評価を認めなかった。 $^{11}\text{C}$ -メチオニンの脳腫瘍 PET 検査において、PSF 補正を使用することで腫瘍範囲の描出精度が向上し、腫瘍の浸潤や進展範囲の正確な評価が可能になることが期待できる。今後は  $^{11}\text{C}$ -メチオニン PET の臨床画像での利用と評価を考えている。

#### 5. 論文及び学会発表

第 35 回日本放射線技術学会総会学術大会 (2015.11.5-7) にて学会発表予定である。

[目次に戻る](#)

## <医療技術研究助成>

### 研 究 報 告 書

抗悪性腫瘍薬治療に伴う心筋障害の心筋トロポニン測定による検出に関する研究

橋口研朗

(共同研究者：宮島栄治)

横浜市立大学附属市民総合医療センター 臨床検査部

#### 1. 目的

現在、抗悪性腫瘍治療薬は格段の進歩を遂げて悪性腫瘍も治療可能な疾患となってきた。しかし、多くの抗悪性腫瘍治療薬は少なからず心毒性を有しており、その心毒性は直ちに顕在化し難く、心毒性の確定診断には心筋生検を実施する必要がある。そのため、治療中の患者では心不全やリズム障害が顕在化して初めて対応となる場合も多くみられる。そこで今回、抗悪性腫瘍治療薬適応患者の残余検体を用いて心筋障害の指標となる心筋トロポニン I (以下 TnI) を測定して治療薬による心毒性の影響を検討した。

#### 2. 方法

対象：血液疾患又は乳腺疾患の悪性腫瘍疾患患者で、2014年6月から2015年5月までに抗悪性腫瘍治療を開始して3か月以上経過した症例を対象とした。

測定：治療開始前と開始後の院内検査測定後の残余血清を用いて高感度トロポニン I (アーキテクト社)、および NT-proBNP (ロシュ・ダイアグノスティックス社) を経時的に測定した。また、一部の症例では院内で検査を実施した心臓エコー検査 (UCG) による心機能評価の結果についても検討した。

#### 3. 結果

血液疾患 34 例：悪性リンパ腫 16 例、骨髄異形成症候群 (MDS) 7 例、急性骨髄性白血病 (AML) 8 例、急性リンパ性白血病 2 例、多発性骨髄腫 1 例

性別：男性 21 例、女性 13 例 年齢：61.4±13.97

経過：34 例中 7 例が死亡 (治療開始から平均期間 167.6±98.86 日で死亡)

TnI 濃度(pg/ml)

	治療開始前	治療後最大値	変化量
生存例	5.8±6.41	81.6±102.81	76.0±102.13
死亡例	7.0±8.37	179.8±208.61	172.8±210.25
全例	6.0±6.68	98.90±129.58	92.9±129.41

NT-proBNP(pg/ml)

	治療開始前	治療後最大値	変化量
生存例	262.1±383.84	1344.8±2683.52	1082.7±2614.90
死亡例	453.1±298.07	19435±15717.22	18982.1±15620.62
全例	295.5±374.10	4510.6±9611.10	4215.1±9517.97

心エコー検査(UCG)

院内の心エコー検査を実施した 16 例を比較（死亡 5 例）

	治療前 LVEF(%)	治療後最少 LVEF(%)
生存例	67.4±11.54	63.2±8.73
死亡例	73.6±5.53	59.1±17.41

乳腺疾患 20 例：乳癌 20 例

性別：男性 0 例、女性 20 例 年齢：48.7±13.04

経過：2015 年 9 月現在 19 例は治療継続中、1 例は治療終了

TnI 濃度(pg/ml)

	治療開始前	治療後最大値	変化量
	1.6±3.20	25.2±22.81	23.7±22.80

NT-proBNP(pg/ml)

	治療開始前	治療後最大値	変化量
	59.6±66.47	177.7±275.23	118.0±219.15

心エコー検査(UCG)

院内の心エコー検査を実施した 10 例を比較

治療前 LVEF(%)	治療後最少 LVEF(%)
69.4±7.56	68.8±5.29

4. 考察

今回測定に用いた TnI は横紋筋である心筋のカルシウムイオンによる筋収縮において重要な役割を果たしているタンパク質複合体のサブユニットの 1 つである。TnI は心特異性が高く、血液中でカットオフ値（99%URL）以上検出された場合は心筋障害（壊死）の存在が示唆されており、急性期の心筋梗塞や心筋炎の鑑別に用いられている。また、NT-proBNP は心負荷の増大に伴って増加するため心不全の診断に有用な指標として用いられている。

測定結果は、血液疾患が 34 例中死亡 7 例であった。治療前後で TnI 濃度を比較すると、治療前が  $6.0 \pm 6.68 \text{pg/ml}$  であり、治療開始後の最大値は  $98.90 \pm 129.58 \text{pg/ml}$  (変化量  $92.9 \pm 129.41 \text{pg/ml}$ ) となり、増加が認められた。また、NT-proBNP 濃度に関しても治療前が  $295.5 \pm 374.10 \text{pg/ml}$  であり、治療後の最大値は  $4510.6 \pm 9611.10 \text{pg/ml}$  であった。そして、心エコー検査の結果からは、死亡例の LVEF (左室駆出率) では平均にして 10%以上の低下 (治療前  $73.6 \pm 5.53\%$  治療開始後  $59.1 \pm 17.41\%$ ) が認められたのに対して生存例ではわずかに減少したのみ (治療前  $67.4 \pm 11.54\%$  治療後  $63.2 \pm 8.73\%$ ) であった。

乳腺疾患は 20 例あり、1 例が治療終了で 19 例は治療継続中 (2015 年 8 月現在)。TnI 濃度は治療開始前が  $1.6 \pm 3.20 \text{pg/ml}$ 、治療開始後の最大値が  $25.2 \pm 22.81 \text{pg/ml}$  であり、NT-proBNP 濃度も  $59.6 \pm 66.47 \text{pg/ml}$  から  $177.7 \pm 275.23 \text{pg/ml}$  と、治療開始後に TnI、NT-proBNP 濃度ともに増加していることが認められた (共に  $P < 0.01$ )。心エコー検査の結果は治療前の LVEF が  $69.4 \pm 7.56\%$ 、治療開始後が  $68.8 \pm 5.29\%$  と差はなかった。

以上のことより、血液疾患における悪性腫瘍患者の抗悪性腫瘍治療対象者では TnI 濃度と NT-proBNP 濃度が、いずれも治療前と比較して治療後に増加していることがわかり、心筋壊死や心負荷の増大が示唆された。また、心機能を評価する心エコー検査の結果からも、死亡例では LVEF の減少がみられており、TnI 濃度の増加は心機能の低下に関連していることが確認できた。

乳腺疾患は TnI、NT-proBNP 濃度がともに治療後に増加していたが、現時点では明確な症状が現れていない。血液疾患に比べて、抗がん剤の使用回数、投与量ともに少ないため、短期での副作用の影響が表れにくいと考えられるので、より長期的な観測が必要になると思われた。

## 5. 論文及び学会発表

第 62 回日本臨床検査医学会学術集会にて発表予定。

[目次に戻る](#)

<医療技術研究助成>

研 究 報 告 書

肝線維化における HA,PⅢNP,TIMP-1 の検討と評価

小森彩

横浜市立大学附属市民総合医療センター 臨床検査部

宮島栄治

横浜市立大学附属市民総合医療センター 臨床検査部 部長

高浪由紀子

横浜市立大学附属市民総合医療センター 臨床検査部 担当係長

### 1.目的

現在、慢性肝炎の線維化評価は肝生検がゴールドスタンダードとされているが、侵襲的であり診断のバラつきなどの問題点も多いため、非侵襲的な超音波や血清による線維化診断が注目されている。本研究では血清における肝線維化マーカーであるヒアルロン酸(HA),プロコラーゲンⅢ型アミノ末端ペプチド(PⅢNP),組織メタロプロテアーゼ阻害物質1(TIMP-1) および、これらのマーカーを用いて得られる ELF スコアと肝生検結果を比較検討した。

### 2.対象および方法

全自動化学発光免疫測定装置ケミルミ ADVIA Centaur XP を使用し、血清における肝線維化マーカーを測定した。

#### ① 健常人における検討

健常人 137 名(男性 60 名 女性 77 名)においてそれぞれの肝線維化マーカーを測定し、評価した。

#### ② 患者検体における検討、健常人群との比較検討

当院で肝生検を行った患者 145 名を対象とし肝線維化マーカーを測定し、評価した。また健常人群と患者群の結果を比較検討した。

#### ③ 線維化ステージと各マーカーとの比較検討

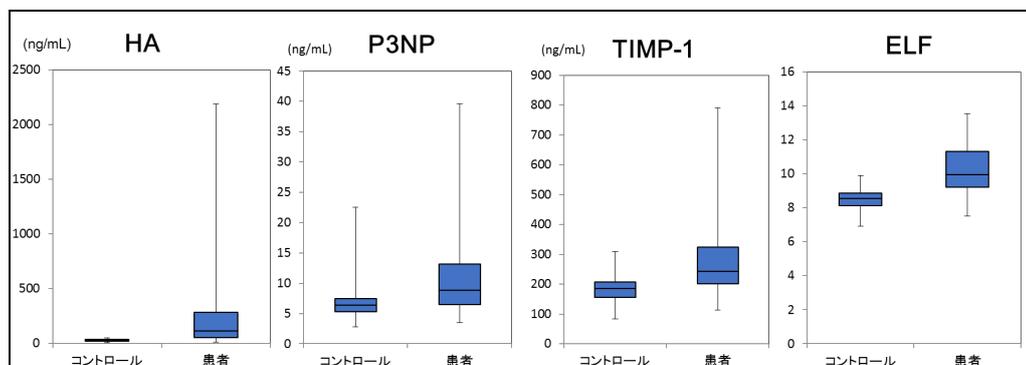
肝生検においてステージ判定をされた 128 名を対象に線維化ステージ別で肝線維化マーカーを比較検討した。

### 3.結果

- ① 健常人群の HA、P3NP、TIMP-1、ELF スコアの中央値はそれぞれ 28.63ng/mL,6.39ng/mL,185.7ng/mL,8.54 であった。

- ② 患者群の HA、P3NP、TIMP-1、ELF スコアの中央値はそれぞれ 117.17ng/mL, 8.83 ng/mL, 243.7 ng/mL, 9.96 であった。また、健常人群の結果をコントロール群として比較すると患者群はコントロール群に比べ、全てのマーカーおよび ELF スコアが有意に高値を示していた。(全て  $P < 0.001$ ) (Fig.1) (Table.1)

(Fig.1)

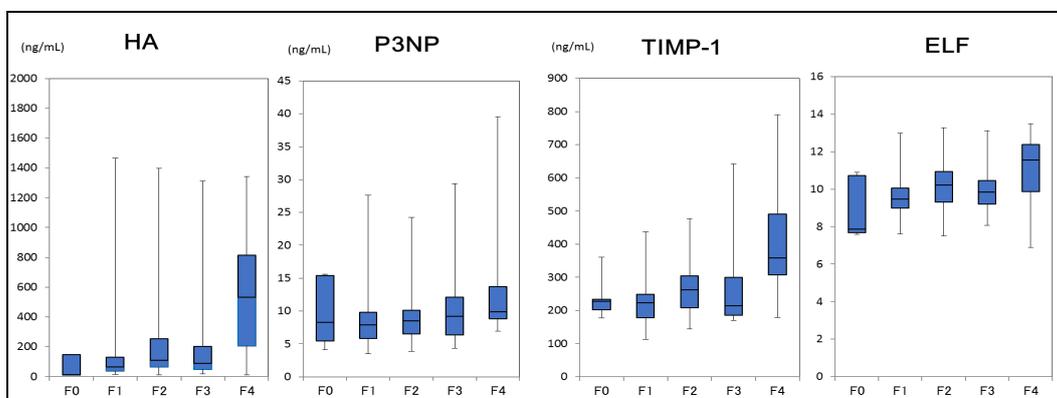


(Table.1)

中央値	HA(ng/mL)	P3NP(ng/mL)	TIMP-1(ng/mL)	ELF
コントロール(n=137)	28.63	6.39	185.7	8.54
患者(n=145)	117.17	8.83	243.7	9.96

- ③ 全てのマーカーおよび ELF スコアは線維化ステージが上がるにつれ高値を示す傾向があった。特に F4 はそれ以下の各ステージと比較して有意に高値を示していた。(全て  $P < 0.05$ ) (Fig.2)

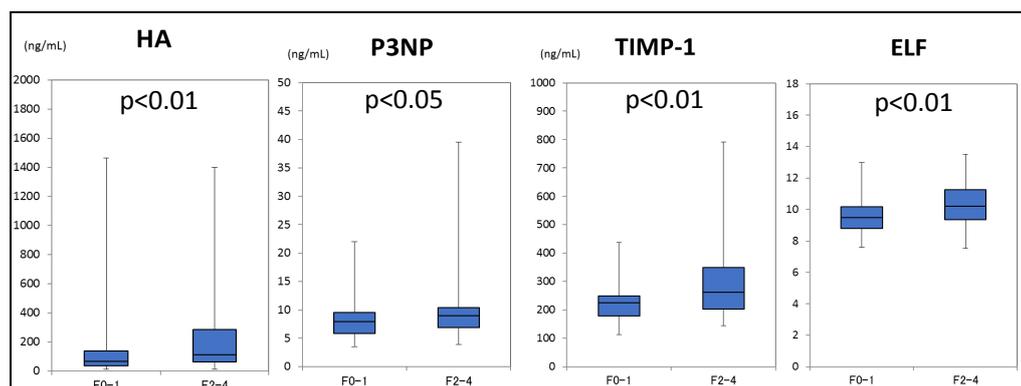
(Fig.2)



さらに線維化が初期段階の群と進行した群での比較を行った。

全てのマーカーおよび ELF スコアは、線維化が初期の F0~1 群に比べて、線維化が進行した F2~4 の群で有意に高値を示していた。(Fig.3)

(Fig.3)



#### 4.考察及びまとめ

コントロール群に比べ、肝疾患患者の全てのマーカーおよび ELF スコアは高値であり、さらに線維化が進行するに従い、高値を示す傾向があった。特に肝硬変とされる F4 ではそれ以下のステージと比較して全てのマーカーの値に有意な差が認められた。これより、HA、P III NP、TIMP-1、ELF スコアは線維化ステージの予測に有用であり、慢性肝炎と肝硬変を区別するのに有用であることが示唆された。

さらに線維化が初期段階の群と比較して線維化が進行した群では全てのマーカーおよび ELF スコアが有意に高値を示していた。

現在の C 型肝炎治療ガイドラインでは F2 以上を線維化進展例としており、線維化軽度例と進展例では治療方針が変わってくるため、このように線維化が初期の群と進行した群を区別ができるマーカーは治療方針の決定にも役に立つと考えられる。しかし、腫瘍や炎症、腎障害等が認められる症例の場合、線維化ステージとは関連しないマーカーの上昇がみられた例もあったため、合併症の有無を把握したうえで評価する必要がある。

#### 5.論文及び学会発表

肝線維化におけるヒアルロン酸の検討とその評価,第 2 回首都圏シーメンス免疫フォーラム,新宿,2014,6

肝線維化における HA・P III NP・TIMP-1 および ELF スコアの検討と評価,第 46 回日本臨床検査自動化学会大会,神戸,2014,10

[目次に戻る](#)

<医療技術研究助成>

研 究 報 告 書

感染症診断のための遺伝子解析法の確立

杉山嘉史 大河原愛 廣瀬春香

感染制御部 / 臨床検査部

1.目的

遺伝子解析技術を用いた分離菌株の精査を目的とし、今回我々は methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) を対象として Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) のタイプ判別を行った。

2.方法

横浜市立大学附属市民総合医療センター微生物検査室に 2014 年 1 月～2014 年 12 月に提出された臨床検体から分離・凍結保存した MRSA のうち(1)入院後 3～21 日目に新規検出されたいわゆる Healthcare-associated MRSA(HA-MRSA)31 株と(2)皮膚科外来での新規検出 MRSA で皮膚科医師の診察により臨床的に市中型と判断された Community-associated MRSA(CA-MRSA)24 株を実験に供した。DNA は MORA extract kit (極東/コスモバイオ)を用いて抽出し、Kondo らの開発した Multiplex PCR により SCC*mec* のタイプを決定した<sup>1)</sup>。Table1 に PCR の条件を示す。増幅産物を 2%アガロースゲルにて電気泳動後、エチジウムブロマイド染色により確認した。

3.結果

①MRSA からの DNA の抽出は、MORA extract kit により十分量が得られた。また 260/280 は、ほぼ 2.00 であった。

②今回解析した 55 検体の全てで *mecA* 遺伝子の増幅が確認できた。

③当院で分離された HA-MRSA では最も多かったのは TypeIVSCC*mec* 株で 17 株(55%)、次いで多かったのは TypeIISCC*mec* 株で 11 株(35%)であった。

CA-MRSA では最も多かったのは TypeIVSCC*mec* 株で 12 株(50%)、次いで多かったのは TypeIISCC*mec* 株で 8 株(33%)であった (Table2)。

4.考察

今回 MRSA を対象とし、保存臨床分離株から安定して核酸の抽出を行え、精製度も十分なものであったが、菌体膜の破壊に加温や物理的な振動を含め、操作は煩雑であった。今後、より簡易な方法による核酸の抽出を検討したい。また、Kondo らの Multiplex PCR による

解析は、PCR 反応時間を除き、バッチ処理にて 1 時間半以内で実施でき、簡便であった。

MRSA は医療関連感染において最も重要な微生物のひとつで、近年では HA-MRSA とは異なる特徴を有する CA-MRSA が市中に広がり世界的な問題になっている。CA-MRSA 感染症は世界各国でそれぞれの国に特徴的な CA-MRSA クローンが存在していることが明らかになってきている。TypeIVSCC*mec* 株（米国）、TypeIVSCC*mec* 株、TypeVSCC*mec* 株（台湾、中国）TypeIVSCC*mec* 株（ヨーロッパ）のどの海外で流行が報告されている特徴的な MRSA クローンの多くは Pantone Valentine Leukocidin（PVL）と呼ばれる白血球溶解毒素産生株で、そのことにより臨床的にも重篤な症状を呈することが多いと報告されているが、本邦での CA-MRSA 分離報告例では PVL 産生株の報告割合は多くない。

本邦での報告では HA-MRSA では TypeIIISCC*mec* 株が、CA-MRSA では TypeIVSCC*mec* 株の分離頻度が高いと報告されているが、今回我々が調べた結果は HA-MRSA においても CA-MRSA においても TypeIVSCC*mec* の分離頻度が最も高かった。判定不能となった 3 菌株を含め SCC*mec* のサブタイプや MSSA 染色体などの詳細な解析を追加したい。

Multiplex PCR により MRSA の SCC*mec* タイプ判別を行うことができた。遺伝子解析は菌・耐性因子の同定、感染源の確定、地域・集団における特定クローンの流行の把握などが行える。今後検討をさらに広げ、診療科や感染制御部に有用な情報を提供していきたい。

#### 参考文献

- 1) Kondo Y, Ito T, Ma XX, Watanabe S, Kreiswirth BN, Etienne J, *et al.*: Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome *mec* type assignment : rapid identification system for *mec*, *ccr*, and major differences in junkyard regions. *Antimicrob Agents Chemother* 2007 ; 51 : 264–74.

<b>Table 1</b> Multiplex PCR	
Primer for PCR	Nucleotide sequence (5'→3')
M-PCR 1 (for amplification of ccr gene complex type with mecA)	
mA1	TGCTATCCACCCTCAAACAGG
mA2	AACGTTGTAACCACCCCAAGA
α1	AACCTATATCATCAATCAGTACGT
α2	TAAAGGCATCAATGCACAAACT
α3	AGCTCAAAGCAAGCAATAGAAT
βc	ATTGCCTTGATAATAGCCITCT
α4.2	GTATCAATGCACCAGAACTT
β4.2	TTGCGACTCTCTTGCGT
γR	CCTTTATAGACTGGATTATTCAAATAT
γF	CGTCTATTACAAGATGTTAAGGATAAT
M-PCR 2 (for amplification of mec gene complex class)	
mI6	CATAACTTCCCATTCTGCAGATG
IS7	ATGCTTAATGATAGCATCCGAATG
IS2	TGAGGTTATTCAGATATTTTCGATGT
mA7	ATATACCAAACCCGACAACACTACA
M-PCR-1 · 94°120s ,(94°120s + 57°60s + 72°120s, 30cycles),72°120s	
M-PCR-2 · 94°120s, (94°120s + 60°60s + 72°120s, 30cycles),72°120s	

<b>Table 2</b> SCCmec Type				
	TypeII SCCmec	TypeIV SCCmec	TypeV SCCmec	型別不明
HA-MRSA (31株)	11株	17株	3株	
CA-MRSA (24株)	8株	12株	1株	3株

[目次に戻る](#)

## <医療技術研究助成> 研 究 報 告 書

関節リウマチの足関節に対する関節エコーを用いた詳細な観察

豊田 行健、峯岸 薫、浜 真麻、吉見 竜介、杉山 裕美子、土田 奈緒美、國下 洋  
輔、岸本 大河、神山 玲光、桐野 洋平、上田 敦久、石ヶ坪 良明

横浜市立大学大学院医学研究科 病態免疫制御内科学

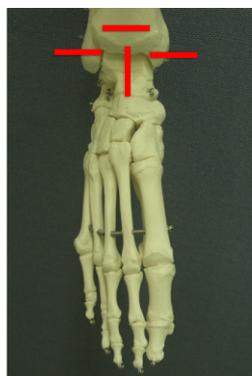
### 【目的】

関節リウマチ(RA)における関節エコー検査の重要性や有用性はもうすでに確立されており、日常臨床において、他の血液検査やレントゲン撮影などと同様に盛んに行われている。先行研究においては手指や手関節、膝をルーチンの関節エコー検査部位として推奨されており、足関節を含めた大関節は必要があれば検査すべきとされている。しかし、足関節はその解剖学的な特徴により触診による評価が難しい部位であり、また浮腫や肥満などにより関節炎が見逃されやすい部位でもある。今回の検討では、関節エコーを用いた関節リウマチの足関節の詳細な観察を目的とした。

### 【方法】

2014年の7月から10月の間に横浜市立大学附属病院リウマチ・血液・感染症内科にて関節エコー外来を受診されたRA患者60例(女性83%、年齢 $61 \pm 15$ 歳)を対象に、他のルーチンの評価部位(手・手指・膝)に加えて両足関節に関節エコーを実施した。足関節はその構造上、距腿関節、前面腱群、内側腱群、外側腱群の4部位に分けエコーを施行した。そしてエコー所見と触診所見を比較した。エコーでわかる病変は関節内の関節滑膜炎と腱に起こる腱鞘滑膜炎があり、この病変の程度をグレースケール法(GS)とパワードプラ法(PD)で半定量的にそれぞれ4段階に評価した。GS $\geq 2$ またはPD $\geq 1$ があればエコー陽性とした。また患者の主観的な足関節の疼痛を、0から100までの尺度(VAS: Visual analog

## US評価部位

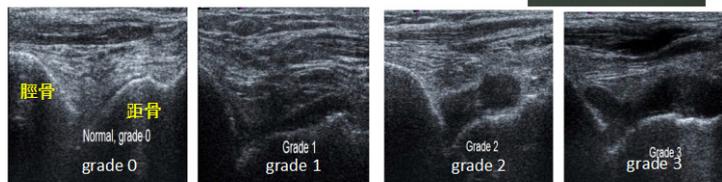


- ・足関節：距腿関節
- ・前面腱群：長趾伸筋腱  
長母趾伸筋腱  
前脛骨筋腱
- ・内側腱群：後脛骨筋腱  
長趾屈筋腱  
長母趾屈筋腱
- ・外側腱群：長短腓骨筋腱

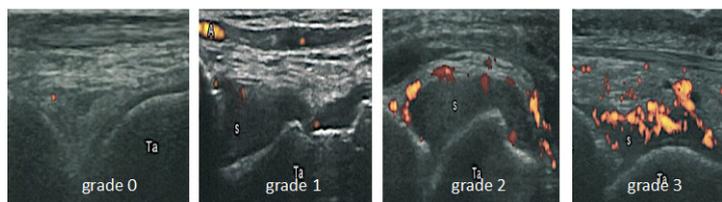


scale) で示し、これについてもエコー所見との比較を行った。

### US評価法・関節

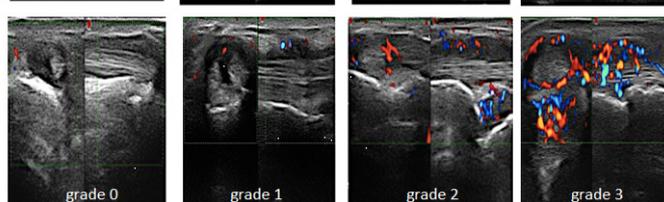
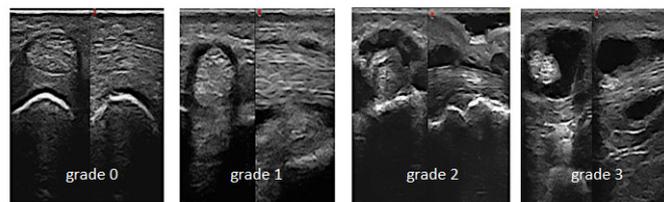


Hammer HB et al. Ann Rheum Dis. 2011;70:1995-8



日本リウマチ学会編 関節エコー撮像法ガイドライン滑膜炎変アトラス

### US評価法・腱



Naredo E, et al. Ann Rheum Dis 2013;72:1328-1334.

#### 【結果】

120 足関節を観察し、距腿関節の 15.8%、前面腱群の 4.2%、内側腱群の 13.3%、外側腱群の 10.8%でエコー所見陽性であった。エコー陽性所見に対し、触診の感度・特異度は、滑膜炎で 0.68 および 0.81、腱鞘滑膜炎では 0.76 と 0.88 であった。エコーと触診所見の一致率  $\kappa$  は、滑膜炎 0.39 に対して腱鞘滑膜炎 0.58 であった。滑膜炎と腱鞘滑膜炎を同時に認められた場合 VAS が高く、腱鞘滑膜炎を認める関節で触診による腫脹や圧痛の陽性率が高かった。

US		N	触診		VAS**
滑膜炎	腱鞘滑膜炎		腫脹*	圧痛*	
-	-	89	9 (10.1%)	9 (10.1%)	10.8 ± 19.2
+	-	6	2 (33.3%)	1 (16.7%)	33.3 ± 29.1
-	+	12	9 (75.0%)	7 (58.3%)	41.2 ± 28.1
+	+	13	8 (61.5%)	6 (46.2%)	71.8 ± 21.9

【結論】 RA 患者の足関節において、理学所見や VAS は滑膜炎よりも腱鞘滑膜炎を反映しており、触診では見過ごされやすい滑膜炎もエコーでは感度よく検出しうる事が明らかとなった。

#### 【論文および学会発表】

- ・ 豊田 行健、峯岸 薫、浜 真麻、吉見 竜介、杉山 裕美子、土田 奈緒美、國下 洋

輔、岸本 大河、神山 玲光、桐野 洋平、岳野 光洋、上田 敦久、石ヶ坪 良明「関節リウマチ患者における足関節の関節超音波検査の重要性」第 59 回日本リウマチ学会総会・学術集会 W8-3

- 豊田 行健、峯岸 薫、浜 真麻、吉見 竜介、岳野 光洋、上田 敦久、石ヶ坪 良明「患者希望を取り入れた関節超音波検査評価部位の決定」日本超音波医学会第 88 回学術集会 パネルディスカッション「関節リウマチの日常検査法を考える」
- Yukihiro Toyota, Kaoru Minegishi, Maasa Hama, Ryusuke Yoshimi, Yumiko Sugiyama, Naomi Tsuchida, Yosuke Kunishita, DaigaKishimoto, ReikouKamiyama, YoheiKirino, Mitsuhiro Takeno, Atsuhisa Ueda, Yoshiaki Ishigatsubo. “ULTRASONOGRAPHIC ASSESSMENT COVERS A PITFAL OF PHYSICAL EXAMINATION IN THE ANKLE JOINTS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS” **Annual European Congress of Rheumatology EULAR® 2015 Rome, Italy, 10 – 13 June 2015**

この他にも第 30 回日本臨床リウマチ学会および 2015 ACR/ARHP Annual Meeting にて発表を行う予定である。

[目次に戻る](#)

<25年度 医療技術研究助成>  
研 究 報 告 書

心臓カテーテル検査を受ける幼児へのプレパレーションの効果  
～就学前の幼児の保護者へのアンケート調査から～

中村 祐子

(横浜市立大学附属病院 6-1病棟)

分担研究者

島貫 利津子 (元 横浜市立大学附属病院 小児科外来)

染谷奈々子 (元 横浜市立大学附属病院 看護部 小児看護専門看護師)

醍醐 智絵 (株式会社 ポピンズ 保育士)

1. 目的

横浜市立大学附属病院では心臓カテーテル検査を受ける際にプレパレーションを行い、その方法として「イラスト 6 枚組 (けんさがんばるもん～心臓カテーテル検査について～キヨノサチコ、制作 偕成社、企画 横浜市立大学附属病院)」及び「シールラリー」を外来・病棟の共通のツールとして活用している。この運用はそれぞれ 2006 年、2010 年から開始しているが現在まで有用性及び改善点の評価を医療者のみで行っていた。今回は保護者へのアンケート調査を実施することで当該ツールとその運用方法の考察を行い、今後の看護の質の向上を目的とした。

2. 方法

就学前 (3～6 歳) の小児心臓疾患で心臓カテーテル検査を受ける対象患児と保護者に研究依頼書を用い説明し同意を得た。その後、外来でプレパレーションの導入を行い、同じツールを用いて病棟でもプレパレーションを行った。アンケートは「入院前アンケート」「検査後アンケート」を配布し保護者の自由意志に基づき回収箱に投函してもらった。

3. 結果

入院前アンケートでは、外来での説明で『病院にお泊りに行くこと』は理解できたが 7 名、できなかったが 2 名であった。「ノンタンが笑顔なので本人も病院が好きなので『ノンタンも嬉しそうだね』と話していた」、「何回か読んであげると、その後ひとりで『ノンタン病院おとまりで一す』と読んでいた」、「7 月に入ってから、お泊りに行くことへの緊張を話してくれた」、「『入院するの?』と聞いていた」、「『何回お泊りするの?』と自分から聞いた。『怖い』、『やだ』という言葉もあったがやらないといけないのは理解していた」との意見があった。

『安全ベルトを合わせる場所』は理解できたが8名、できなかったが1名であった。「前回の記憶と照らし合わせてもう一度確認が出来たと思う」「『チクッしてる』と点滴のことに気づき、よく見ていた」、「ここでいつも『お着替え』という。指を指して『てんてき』と教えてくれる」、「その時間に『ゲームしよう』と言っていた」、「ベルトをつけて動かないことに質問や抵抗がなく、スムーズに行えた」、「されるがままという感じで泣いたり抵抗したりはしないが表情は固まっている」との意見があった。

『検査後の安静について』は理解できたが7名、できなかったが1名、未回答が1名であった。「前回は思い出せたようで『寝ながらご飯は食べられなかったね』と話していた」、「動いちゃいけないから何のDVD見ようかな」、「血圧のところで『シュポシュポ、キュッキュ』といいながら母の腕をギュギューしてくる。おしっこのところで『おむつ』と指を指す」、「『ノンタンがこう言っていた』『カバ看護師がこう言った』という言葉が聞かれた」「『ずっと寝ているのがつまらないから絵本を買っていこう』と張り切っている」、「『ばんそうこう』と足の付け根を触ったりしていたので、イメージが今までの経験で少し出来ている様子」、「『人形とねんね』という。病院で2回ねんねしたら家に帰れると教えた」、「我慢したあとに自由な時間があるから頑張ろうとしていた」、「保育士に遊んでもらえるのが嬉しいみたいでベッドの上やプレイルームで遊んだことを話してくれる」との意見があった。

『家庭で「けんさがんばるもん」を見たか』は見たが7名、見なかったが1名、未回答が1名であった。「平仮名の練習中で、自分でゆっくり読んで見ながらひとつひとつ確認していた」、「『ふーん』『どこの病院?』『ここ消毒の血?』など興味深々。不安もあるが、前回のカテの記憶と合わせて理解した様子だった」、「表紙を見せたときにすぐ『読んで』といい、終わると『ノンタンもお泊り、チクッ頑張った』と拍手していた」、「どういうことをやるのかわかった方が怖くない」、「『読んで』と持ってきた。一人で読んでいることもあった」、「ベルトをみて『こうやってやるんだよね』と昨年のことを思い出していた」との意見があった。

『見たきっかけはどんな場面だったか』では子どもから進んで見たが1名、親がきっかけをつくったが4名、子どもから進んで／親がきっかけをつくったが2名、未回答が2名であった。

検査後アンケートの『検査後のお子さんの様子について』では、泣いていたけど動かなかったが1名、泣いて動いていたが2名、はじめは寝ていたが起きてから泣いたが2名、ICUへ入室したが1名、起きていたが親が会ったら泣かずに寝たが1名であった。

『検査後の安静について理解していたか』は理解していたが3名、理解してなかったが3名、未回答が1名であった。「飲めない、食べられない、動けないことがわかっていたのでわがままを言わず協力的だった」、「ノンタンやキャラクターがこう言っていたと自分から話していた」、「ノンタンと一緒にだよと言ってもやっぱり泣いていた」、

「よくわからない不安な感じ、『抱っこ』『何か飲みたい』などずっとぐずっていた」との意見があった。

『シールラリーを楽しんでいたか』ははいが5名、いいえが1名、未回答が1名であった。「励みになったと思う」、「楽しそうにシールを貼っていた」、「帰宅してすぐに『シールは?』と聞いていた」、「『「ノンタン見たよ』『シール貼ったよ』と自分から教えてくれた」との意見があった。

#### 4. 考察

入院前アンケートからはカテーテル経験数に関係なく、検査の流れを理解できているようであった。ある1例では病院ではプレパレーションに集中できなかったが、家庭で小冊子を用いることで興味をもて、前回の記憶と照合でき、自分の言葉でカテーテル検査について理解できていた。また、病院という環境では採血などの処置もあり緊張してプレパレーションが効果的にできない場合もあり、プレパレーションを行う場所やタイミングが大切であることがわかった。幼児ではプレパレーションを繰り返すことにより、検査の内容を再確認することができる。特に年長児では、平仮名を認識できるようになり、自ら読もうとするため、家庭では、小冊子を自ら取れる場所に配置するなどの工夫も必要であることがわかった。また、小冊子の字の大きさや文章量にも配慮することが大切であると思われる。

検査後アンケートは、検査後の子どもの様子を保護者の視点で見てもらったが、泣いていることで安静を理解していないとする場合もあれば、泣いていても動かなかったことで安静を守られていたとする場合もあった。保護者と医療者それぞれの安静に対する視点の違いもあり、検査後の評価に違いがあることがわかった。検査後の安静を理解していなかったという中で「よくわからない不安な感じ」という意見もあったため、不安の除去ができるような関わりができるようにプレパレーションを工夫していくことも必要だとわかった。また、プレパレーションと合わせて行ったシールラリーは検査入院での楽しみにもなっていることもわかった。

今回、プレパレーションについて保護者の評価をもとに、ツールとその運用方法について考察を行った。外来・病棟と同じ共通のツールである小冊子を家庭でも使うことで、入院してからのイメージを家庭でも説明することができた。また、シールラリーを行うことは幼児の楽しみとなっており、プレパレーションと一緒にすることは有効であることが再確認できた。今後もプレパレーションを継続するとともに、子どもにとっての「安静」がどのような状態か保護者との共通認識を行い、子どもにとって検査が苦痛だけで終わらないように工夫して看護を実践していくことで、看護の質の向上につながるとと思われる。

[目次に戻る](#)

<指定寄附助成 心臓疾患研究助成 >  
研 究 報 告 書

## 虚血性心疾患発症における EPAC の役割についての検討

藤田孝之, 金 慧玲, 日高祐子, 蔡 文倩, 石川義弘

横浜市立大学 医学部 循環制御医学

### 【背景・目的】

cAMP は代表的なセカンドメッセンジャーであり、カテコラミンシグナルなどにより励起される心血管系の情報伝達系の主役である。心血管系細胞の機能制御に重要な役割を果たすが、その作用機序は古典的には protein kinase A (PKA) を介すると考えられてきた。しかし近年、新規 cAMP 標的分子として Exchange proteins directly activated by cyclic AMP (EPAC) が同定された。EPAC は GTPase の一つである Rap の GTP 交換因子として働き Rap を活性化するが、これは PKA に非依存的である。これまで PKA を介すると信じられてきた cAMP シグナルの様々な機能が、EPAC を介する経路にも起因している可能性が高く、その詳細の解明は重要な意味を持つと考えられる。

これまでの我々の検討から、EPAC の欠損あるいは過剰発現は、心疾患発症に大きな影響を与えることが明らかになった。特に EPAC 欠損動物において各種心不全(圧負荷モデル、慢性カテコラミン刺激モデルなど) の発症が有意に抑制されることが観察された。心臓にストレスが加わった際の心筋細胞アポトーシス(細胞死)は、EPAC 欠損動物において有意に抑制されており、同マウスでは心筋細胞内のカルシウム動態も大きく異なることも確認された(*J. Clin. Invest.* 124: 2785-2801, 2014)。これは、EPAC の機能抑制が心不全の発症予防、治療の有望な手法となりうることを示している。心不全は高齢化に伴い現在患者数が増加傾向にある。心不全は運動耐容能、寿命に影響する極めて重要な疾患であるが、心不全を引き起こす主要な原因の一つが虚血性心疾患である。本研究では虚血ストレスによる心筋細胞死に注目し、この細胞死の制御における EPAC の有用性について検討を行った。

### 【方法】

ラット心臓より心筋細胞を抽出し初代培養を行う。SiRNAによりEPAC1の発現量を減少させた細胞とコントロール SiRNA を作用させた細胞との間で、低酸素・再酸素化刺激(虚血・再灌

流を想定)に対する反応を比較することで、EPAC1 の虚血時の作用を明らかにする。(低酸素条件下で 48 時間培養を行い、その後 24 時間通常の培養条件で培養した後に、ウェスタンブロッティング法等にて各種タンパク発現量を評価する。)

ランゲンドルフ灌流心においてマウス心臓に虚血・再灌流刺激を与え、その際の心臓の反応を評価する。(30 分間の虚血の後に 60 分間再灌流した心筋組織を使用し、ウェスタンブロッティング法等にて各種分子の発現を評価する。)

## 【結果・考察】

虚血による心筋細胞の細胞死には、BCL2/adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3 (BNIP3) が関与していることが報告されている (Regula KM et al. (2002) *Circ Res* 91: 226-231.)。BNIP3は、心筋細胞の細胞死のメカニズムとして重要なオートファジー、アポトーシス、ネクローシスいずれもを促進することが報告されており、虚血による BNIP3発現の上昇がこれらを介して細胞死を促進することが指摘されている。我々の心筋細胞虚血・再灌流モデルにおいてもBNIP3の上昇が観察された。興味深いことにこの反応は EPAC1-SiRNAによってEPAC1発現を減少させた細胞において有意に抑制されており、EPAC1の虚血障害の促進作用が示唆された。オートファジーは細胞死に対して促進にも抑制にも働くことがあり、それはストレスの種類や程度によると考えられているが、虚血時のBNIP3によるオートファジーは細胞死促進に働くとの報告がある (Wang EY et al. (2013) *Hypertension* 62: 70-77.)。今回の検討でオートファジーの指標であるLC3B-IIの発現量も、この虚血・再灌流モデルで上昇することが観察され、EPAC1発現抑制により有意にその上昇が抑制されていることが明らかとなった。これらの所見から、EPAC1の発現抑制は、虚血によるBNIP3の発現誘導を抑制することにより、細胞のオートファジーの活性化を抑制していることが示唆された。

またアポトーシス促進因子として虚血時の心筋細胞障害の原因の一つと考えられている Baxの発現量についても、当モデルにおいて上昇していることが認められたが、これもEPAC1発現抑制により有意に抑制された。

以上の検討よりEPAC1は心筋細胞において、虚血・再灌流刺激時のBNIP3やBaxの発現上昇を促進することでオートファジー、アポトーシスを誘導し、細胞死を促進していることが示唆された。これは急性心筋梗塞やそれに対する再灌流治療(カテーテルインターベンションなど)施行時などに際しEPAC1機能を抑制することが、心筋細胞死を予防する有望な手段となりうることを示している。

今回我々は更にランゲンドルフ灌流心における虚血・再灌流モデルの立ち上げに成功し、このモデルにおいても、虚血・再灌流によるBNIP3の発現上昇が観察された。今後EPAC1ノックアウトマウスからの心臓を用いた実験をこのモデル等で行うことで、虚血・再灌流による心筋障害予防における、EPAC1機能制御の有用性を更に検討していく予定である。

[目次に戻る](#)

<学生自主的研究助成報告書 >

## UCSD Clinical Clerkship 報告書

横浜市立大学医学科 6年

堀越理仁

### 1.留学の目的

今回私は、医学教育学教室のご後援のもと、UCSD(カリフォルニア大学サンディエゴ校)の外部生向け臨床実習プログラムに参加させていただきました。留学をしたいと思ったきっかけは、以前から海外の医療がどのようなものかに興味があったことと、過去に同じプログラムを利用して留学をされた先輩からとても良い経験ができたというお話を伺ったことでした。留学することで、医学的な知識や技術を得るだけでなく、制度や文化など幅広い面における日本の医療との違いを現地で体験し、知りたいと考えました。

### 2.実習概要

私が参加した実習の概要は以下の通りです。

実習期間：3/31-4/27(4週間)

実習場所：Rady Children's Hospital、病床数 520 床の小児専門病院

実習科：小児循環器科

### 3.実習内容

実習では主に前半の二週間を外来、後半の二週間を病棟で過ごしました。外来では、毎日日替わりで先生につき、問診や身体診察を行う様子を見学しました。外来は 20 分に 1 名の完全予約制で、8 時 40 分から 16 時までの枠がありました。アメリカではまずかかりつけ医を受診することが原則となっており、そこからさらに精査が必要と判断された患者さんが紹介されて来院していました。患者さんは胸痛や心雑音の精査から珍しい先天性心疾患まで多岐にわたり、非常に興味深い症例を多数見せていただくことができました。初めは先生が診察する様子を見学するところから始まりましたが、聴診などの身体診察や問診など、慣れていくにつれて自分でやらせてもらえることも増えて行きました。日本との違いとして、患者さん一人あたりの予約枠が長いこと、次回予約の調整は全て事務の方が行うなど仕事がうまく分担されていること、テンプレートや引用機能などを使って記載しやすいカルテシステムが導入されていること、などがありました。これらの工夫のおかげで、医師はより診察に集中することができていたように思います。また、保険ごとに適応となる検査項目が異なる点や、年齢によって両親の保険の対象から外れてしまう点など、アメ

リカ特有の社会的側面も見ることができました。

後半の2週間は CVICU という心血管系疾患を専門とした ICU 病棟にて実習を行いました。病棟での実習時間は朝 7 時から夕方 5 時までと、朝型の生活でした。朝はまず回診から始まります。回診は循環器内科の先生だけでなく、新生児科や心臓外科の先生も一緒に回ります。また、看護師、薬剤師、栄養士、ソーシャルワーカーの方々も参加し、患者さんについて医師と活発にコミュニケーションがとられていました。X 線撮影を行った場合は、その日の画像を放射線科の先生と確認し、意見交換が行われていました。回診が終わると、割り当てられた受け持ち患者さんの診察を毎日行い、前日からの経過をまとめたものを指導医の先生に報告します。その際には患者さんの状況を循環器系、呼吸器系、といったように系統立てて、漏れなく説明するように指導されました。また、必ずアセスメントやプランについて、自分なりの考えや提案が求められました。レジデントの先生は毎回上級医の先生と積極的にディスカッションをしていて、そこから上級医の先生のレクチャーが始まったり、レジデントの先生が持ってきた論文を皆で読んだり、知識が更に深まる機会が多くありました。

外来や病棟での実習の合間に、検査や手術も見せていただくことができました。エコー検査は専門の技師さんによって毎日行われており、それらを循環器内科の担当医師が判断していきます。患者さん一人の検査が一段落する度に内容について確認し合い、どのような疾患が疑われ、どのような像を出す必要があるかという点について非常に良く連携が取られていました。心臓の壁や血管などに異常が無いか、決まった流れで一通り見て行く過程を教えて頂き、今まで苦手意識を持っていたエコー像も少し読めるようになりました。カテーテル検査や治療も盛んに行われており、まだ日本では一般的でない経カテーテル的弁置換術や ASD(心房中隔欠損)の治療も行われていました。小児専門病院であり専門的な症例が集まってくるため、手術はほぼ毎日のように行われ、病棟の受け入れ態勢も整えられていました。実際に見学させていただいた症例は、僧帽弁形成術と、DORV(両大血管右室起始症)に対する心内修復術でした。

昼には昼食の出るレジデント向けの勉強会が開催されており、そちらにも参加させていただきました。専門の先生によって毎日異なるテーマの講義が行われており、教育的な環境が整っていました。

#### 4.留学で得たこと

今回の留学で得たことは主に三点あります。一点目は、当初の目的でもあったように、海外の医療について知ることができたことです。まずかかりつけ医にかかり、紹介されて初めて専門病院で診察を受けることができるという制度や、病院を選ぶ時や検査を行う際には必ず加入している保険を考慮する必要があるという独特な社会的背景が興味深かったです。また、外来や病棟において各診療科の医師間や、医師と他の専門職間で互いにその専門性を尊重し、協力し合っている様子がとても印象的でした。最先端技術を取り入れる

のは、やはりアメリカの方が早いと感じました。

二点目は、医学の学び方です。レジデントの先生の積極的な姿勢には大変刺激を受け、自分で考えること、そしてそれをアウトプットしていくことの重要性を改めて実感しました。また、系統立ったプレゼンテーションは、聞く人が聞きやすいというものもちろんですが、自分の中でも情報を整理するのに役立ちました。これらの手法は、これから現場に出る際には是非実践して行きたいと思います。全体的に教育熱心な雰囲気があり、質問をするとすぐに答えてくださったので、小児循環器についての医学知識や診察技術についても多くを学ぶことができました。

三点目は、日本の医療の良さを再認識したということです。日本の医療も基本的なシステムにおいてはアメリカと大きく変わらず、十分に質の高い医療を提供していることが分かりました。また、アメリカの医療に優れている点が多くあるように、処置や対応の丁寧さ、保険制度など、日本の医療にも良いところがたくさんあることを改めて感じました。そのような互いの良さを共有し、世界中で活躍する先生方と切磋琢磨し合えるよう、これからも医学の知識はもちろん、英語力を高める努力も続けて行きたいと思いました。

これらの感覚は人から話を聞くだけでなく、実際に現地に行ってこそ得られるものだと思うので、今回学生のうちにこのような機会を与えていただくことができ、本当に良かったと思います。

## 5.謝辞

今回このような貴重な経験をさせていただくにあたり、ご支援いただきました横浜総合医学振興財団、医学教育学教室の後藤英司先生を始め、多くの方々に大変お世話になりました。この場をお借りして改めて御礼申し上げます。この留学で学んだことを生かし、これからも更に邁進して参りますので、今後共ご指導ご鞭撻の程、よろしく願い申し上げます。

[目次に戻る](#)

< 学生自主的研究助成報告書 >

## 活動報告書

### 単位互換制度を利用した

### University of Washington における麻酔科学の修学

医学科 5年 豊田真寿

この度、2014年7月19～8月3日にアメリカシアトルにある University of Washington Medical Center にて麻酔科学を修学して参りましたので、報告をさせていただきます。本活動は、今年度4月より承認されました単位互換性制度を利用し、本学にて病院実習をする代わりに University of Washington にて実習を行い、単位を認めて頂くというものでした。私は予めより海外の医学にも興味があり、将来、臨床医学や研究を行なう為に医師として留学することを考えて参りました。よって今回の短期留学の経験は私にとって非常に有意義な経験となり、また国際都市横浜におけるグローバルな人材養成を目標の1つとした本学の方針に少しでも貢献出来ればと考え、この度報告をさせて頂くことと致しました。以下に、今回の短期留学に当たっての時間経過をお示しし、本報告書はそれに沿った報告をさせて頂ければと思います。

2013年後期 麻酔科学講義 富樫敬先生の講義に出席

2014年1月 メールにて富樫先生に留学の相談

2014年4月 本学麻酔科学にて病院実習

2014年7月19日～8月3日 University of Washington Medical Center にて病院実習

始めに、今回の University of Washington における実習は、今年の麻酔科学の講義にいらっしやった富樫敬先生がアメリカの医療について、また臨床留学について講義して下さったことがきっかけとなっております。富樫先生は、後藤隆久教授が帝京大学にて御勤務されていらっしやった頃の後輩にあたる先生で、日本にて麻酔科医として働かれた後、臨床医として渡米され、現在 University of Washington Medical Center の Cardiothoracic Anesthesia Division、Cardiothoracic Critical Care Division にて御勤務されていらっしやいます。先ほども触れましたが、私は海外の医療にも関心があり、講義中に富樫先生よりアメリカの医療に関心のある学生が入れば受け入れるとお話し下さったため、講義後に個人的に連絡を取ら

せて頂き、今回の留学を受け入れて頂く運びとなりました。留学が決まり、その時期を考える際、日本における麻酔科学における実習内容を知ることなく、アメリカにおける実習をしても理解に苦しむのではないかという考えがありましたので、公式な病院実習が始まる前の4月21～25日の期間に本学にて麻酔科学実習をさせて頂きました。4月の大変御忙しい時期ではありましたが実習を受け入れて下さり、御指導をして頂いた麻酔科学の先生には非常に感謝しております。また、OSCEの問題などがあり、実習や留学のスケジュールを変更しなければならなかった際に、御尽力を頂いた白井さんを始めとした学務課の皆様にも感謝しております。



University of Washingtonの大学校舎

それではここから、今回経験させて頂きました University of Washington Medical Center における実習内容について述べさせて頂きます。実習は2週間に渡って Cardiothoracic ICU

(CT-ICU) でObserverとして胸部外科手術後の患者管理、心臓手術・肺手術を見学させて頂くというものでした。第1週目は富樫先生がAttendingを勤めるチームに所属し、病棟回診を主として、カンファレンスや抄録会への参加、手術室見学をさせて頂きました。朝は6時頃に病院に行き、夜間の患者の状態を把握することに始まり、その日の患者管理予定を調べることから始まりました。Observerとして実習に入っているため、処置などは基本的に出来ず、CT-ICUの病室に自分の意志で入ることすら出来ませんでした。Estherさんという大変教育熱心な Nurse Practitioner の方に御指導頂き、身体診察や患者さんとのコミュニケーションを取る機会を頂きました。Nurse Practitioner は日本ではあまり見かけない役職ですが、医師であるAttendingを筆頭とした5、6人のチームのうち2、3人を占めていて、医師と対等に議論するのに加え、問診や処置も医師と遜色無く行なっていました。1つのチームはAttending以外にFellowの医師、Nurse Practitionerが2～3人、薬剤師が1人といった構成で、平均10人程度の患者を毎日管理されていました。最終的な判断はAttendingに委ねられていましたが、全てのスタッフが患者に関しての状態を把握し、毎日全ての患者に対して2～3時間かけての回診を行い、患者に関してのディスカッション交わしていました。Attendingの先生はスタッフのプレゼンテーションをただ聞くのではなく、必ず問題提起し、それに対する理解が得られたと感じるまでは次の患者さんの元に向かわないというスタンスを取られており、非常に教育熱心であると感じました。私も患者さんのプレゼンテーションをさせて頂く経験を頂戴しましたが、回診時に医師・看護師の方に対して行なった経験は無く、更に英語で行なうという状況に非常に面食らいました。プレゼンテーションの対象となる患者さんは自分が特に関心を寄せる症例から選び、前日より原稿を用意して何度も口に出して練習をしました。前日に富樫先生より流れを教わり、当日早朝よりEstherさんに患者状態や、プレゼンすべき問題点などの御指導を頂き、何とかこなすことが出来ましたが、私にとっては勉強になるとともに充実した経験となりました。担当患者さんは心不全に対してLVADを施行した方で、日本でまだ心臓血管外科にて実習を行なったことが無い私にとっては、大変貴重な症例に出くわすこととなりました。CT-ICUで管理されている患者さんは心移植、補助心臓装置 (LVAD, RVAL) の留置、CABGや肺移植といった処置が行なわれている方がほとんどでした。



University of WashingtonのSuzzallo Library

また実習1週目の金曜日には University of Washington の附属病院である Harborview Medical Center にて手術見学をさせて頂きました。Harborview Medical Center は University of Washington の外傷治療病院として機能しており、ワシントン州全域から外傷患者が運ばれてくるとのことでした。院内には20~30程度の手術室があり、周囲で発生した交通事故は勿論のこと、時には銃撃戦で負傷した患者が遠方よりヘリコプターで運ばれてくると伺いました。この病院で実習をさせて頂いたのは、富樫先生より御紹介頂いた、産業医科大学御卒業の南立宏一郎先生が受け入れて下さった為です。私が実習に伺った際には、南立先生に病院の案内やオペ室における手術麻酔の御説明をして頂きました。その際に見学させて頂いた手術は成人の鼠径ヘルニアに対するものでしたが、麻酔はレジデントの方が担当されていました。日本国内でも短期間しか手術麻酔は見学しておりませんが、南立先生の御指導内容やレジデントの方の働きぶりを見てみると、日本と大きく異なることはないことが分かりました。これまで、アメリカのレジデントは日本の研修医よりも知識があり、上級医とも遜色なく積極的にディスカッション出来るなど、その優秀さばかり伺ってきまし

たが、少なくとも麻酔の手技の部分では1年目の方はやはり手慣れない部分が多く、1,2年かけて徐々に上達されていかれるというお話を伺うことが出来ました。第2週目の月曜日からは、台湾系アメリカ人のチェン先生の下、CT-ICUで実習させて頂きました。2週目は1週目に比べると、ぎこちないなりにチームスタッフの方ともコミュニケーションが取れるようになりました。日本人がいないという環境で、内心は不安な部分が大変大きかったですが、親切なアメリカ人スタッフの方々に恵まれ、引き続いて実習をすることが出来ました。2週目は基本的に1週目の実習内容と同じでしたが、患者さんは毎日入れ替わりがあり、新鮮な気持ちで実習を行いました。そして実習最終日には、チェン先生より移植肺を他の病院に取りに行き、オペ見学をさせて頂くという大変貴重な経験をさせて頂きました。文字数に限りがありますので詳細については省略致しますが、チェン先生は胸部外科の方で、私が外科に興味がある旨を伝えると、これからアラスカに移植用の肺を取りに行くので、良かったら一緒に行かないかと御提案を下さいました。アラスカまではBoeingのチャーター機で伺い、移動時間に片道4時間程度かけて向かいました。それまでは移植において、レシピエント側の医師は、既に摘出が済んだ臓器を受け取りに行くだけなのかと考えておりましたが、実際は摘出する為のオペの執刀をしていました。学生の間には移植の現場を見学させて頂くことが日本で経験出来るかは分かりませんが、私にとっては留学した為に経験出来た大変有意義な時間となりました。移植の手術は、自分よりも若い女性がドナーで、手術室に運ばれていらっしゃるところから立ち会うことが出来ました。どのような状態でドナーに至ったのかをはっきりと理解することは出来ませんでした。外傷は全くなく、外見上は全く健康そうに見えました。摘出手術の結果は、ドナーの方が肺炎に罹っていたということで肺の状態が悪く、臓器を持ち帰るには至りませんでした。しかし、患者さんの腹部や胸部には氷が敷き詰められていき、徐々に脈拍が落ちていく様子を確認することが出来ました。レシピエント側の先生方が臓器の摘出を諦め、途中で帰ることになってしまったため、その後の患者さんへの処置がどのように進んだのかは分かりませんが、医師の行為によって患者さんが死に向かっていくことを目の当たりにし、臓器移植について自分の考えを持つきっかけとなりました。これまでは、脳死判定後の臓器移植について、紙面や講義中の議論で、ある種、感覚的な部分で考えていましたが、実際に移植現場を目の当たりにし、まだ生きている患者さんに医師が介入することでその命を止めてしまうということには、個人的には抵抗を感じました。患者さんの年齢や状態によって感じ方も異なるので、一概には言えませんが、やはり日本で育ち医師となっていない現状では、まだ医療として割り切れない感情があるのだと自分自身の感じ方に気づくことが出来ました。実習最終日に、このような移植医療に触れることができ、留学した意義を多いに感じる事が出来たまま実習を終えました。



移植臓器を取りに行った際の搭乗機

ここまで、実習経験について触れさせて頂きましたが、次に語学に関して、私が直面しました問題について触れさせて頂きます。私は1年生時より大学の講義とは別に個人的に英語学習を継続して参りました。また、日常会話における表現や循環器領域についての英語表現を勉強してから実習に向かいました。特に実習前の3、4ヶ月は TOEFL-ibtの受験を続け、英語のreading, listening, speaking, writing それぞれについて勉強をしていました。しかし実際には、病院内では様々な分野の英単語が次々と聞こえ、さらに本来知っていたはずの単語も発音の点から理解出来ないことが多々あり、実習当初は会話のテーマがなんであるのかを理解するのが非常に困難な状況でした。時間が経つにつれ少しずつは慣れていきましたが、このような状況は2週間程度では目覚ましく改善されるはずもなく、最後まで悔しい想いをしたのが正直なところです。学生のうちに、このような打ちのめされる経験が出来たことは財産になると考えていますので、ポジティブに捉え、今後も継続して勉強を継続して参りたいと思います。また、留学中は、英語でのコミュニケーションの難しさや実習内容が予想と異なっていたなどの理由により、何の為にアメリカに来たのか分からなくなってしまう時や自分の居場所が無いと感じてしまう時が度々ありました。しかし、実

習を終えて2週間を振り返ると、富樫先生を始め、ホームステイ先のご家族や日本人医師の南立先生、CT-ICUのスタッフの方々、また異なる目的で留学をされて来た全く職種の違う方々と出会い、親切にして頂けたことは私にとってかけがえのない経験となりました。また、病院内にいらっしゃったスタッフの方々にはアメリカ人だけでなく、それぞれの目的で様々な国から来た他国の方も多く、語学面での不利な面を努力で補い、熱心に働かれています。そういった方々の姿勢を目の当たりにし、自分も時間や日本という土地柄に言い訳せず、継続して語学学習をしようというモチベーションを頂きました。

今回の短期留学で経験させて頂きましたことを、より詳細に述べさせて頂きたく存じますが、これで報告書を締めくくらせて頂ければと思います。最後に改めて、今回留学のチャンスを下さった後藤隆久教授を始め麻酔科の先生方に感謝すると共に、経済的支援をして頂いた横浜総合医学振興財団様やその他の支援をして下さった学務課の方々、先生・友人に感謝を申し上げます。ありがとうございました。

[目次に戻る](#)

< 学生自主的研究助成報告書 >

オレゴン健康科学大学 Oregon Health and Science University 留学 2015.2.20-3.6

医学科 6 年 富田 詩織

## はじめに

私は医学部 3 年の際にイギリスへ留学した経験から、GP に興味をもちその後家庭医を志すようになりました。その後 OHSU にはアメリカの中でも人気の高い家庭医療プログラムがあり日本からの留学も支援されていると聞き、挑戦することにしました。なかなかタイミングが合わず、結局 6 年生の国試後になってしまいました。医師になる直前のこの時期だからこそ得られる経験となりました。

## 1 週目

Date	Schedule	Comments
23 (M)	Orientation (Campus tour and etc.)  Clinic – Linda Lallande, NP	OHSU の担当者の方にキャンパス全体を案内していただきました。  午後からはクリニックへ行き、ナースプラクティショナ – (NP) の方の業務を見学させていただきました。NP は日本にはまだ制度自体がありません。もちろん不明点があるときには医師と共同して診療を行います。安定している患者さんに対しては問診も薬の処方も医師と同様に行います。日本への導入には様々な意見があるとおもいますが、特に家庭医の分野では重要な存在になると思います。

<b>24 (T)</b>	<p>Clinic – Dr. Erica Pettigrew (Resident)</p> <p>Clinic – Dr. Daisuke Yamashita</p>	<p>家庭医のレジデントの診察を見学しました。言葉通り赤ちゃんからお年寄りまで診察を行っていました。初めて生後 3 日の赤ちゃんに対する割礼を見学。アメリカでは半数が行うとのことで日本との違いに驚きました。</p>
<b>25 (W)</b>	<p>Behavioral Health Video Review</p> <p>Clinic – Dr. Meg Hayes</p>	<p>診察の様子をビデオにとり、その時の振り返りを上級医とレジデントが行うビデオレビューに参加。診察を行う際の自分の表情や口調とともに感情と向き合うことはとても大切な機会だと感じました。また、午後は家庭医の上級医の先生につきましたが、お産を終えたばかりのお母さんの診察や婦人科の診察も行っており、私は家庭医としてのウイメンズヘルスに興味があるので非常に面白かったです。</p>
<b>26 (Th)</b>	<p>&lt;Richmond Clinic&gt; AM clinic – Dr. Sumathi “Chummi” Devarajan</p> <p>PM clinic – Dr. John Muench</p>	<p>リッチモンドクリニックという昨日までとは異なるクリニックへ。こちらは低収入の人も関係なく診察に訪れるため、アルコール中毒や麻薬中毒、多国籍の患者さんも多く、雰囲気も違いました。アメリカの保険は複雑で理解が難しいのですが、日本と同様に保険に関しては多くの問題を抱えていると感じました。</p>
<b>27 (F)</b>	<p>FMIS-D</p>	<p>初めて病棟を見学しました。Delivery グループに入ってお産を終えたばかりのお母さんと赤ちゃんを診察しました。こちらではリスクの低いお産は家庭医が扱い、退院後も家庭医が診察を行います。日本ではまだ家庭医がお産までみるのは一般的ではありませんが、その人のライフイベントすべてに関わる家庭医がお産を扱わないのは不自然だ、と先生方がおっしゃっていたのが印象的でした。</p>

一週目はまだ時差ボケも残っており、少しつらかったのですがはじめてアメリカで家庭医療を見学することができ毎日わくわくしていました。

日本に比べてもかなり家庭医というものが医療界の中でも認知されており、患者さんも基本的にまず家庭医にかかることを当然としています。診察用のベッドはすぐに婦人科用のベッドとしても使えるようになっており、婦人科的な訴えもすぐ診察できるようになっていることに驚きました。

また、家庭医志望の医学生の子と夕飯をたべながら日本の家庭医療も含めた医療制度や、医学部での授業の違いなどいろいろなことを話すことができ刺激になりました。

## 2 週目

Date	Schedule	Comments
2 (M)	New International Employee Orientataion	アメリカ国外からの留学生向けのオリエンテーションに参加しました。ポートランドの街ツアーに加えて、留学生としてどのようにアメリカの文化になじんでいかなどバックアップ体制がとても整っていることに驚きました。日本の大学でも留学生の受け入れを進めていくうえではこのようなシステムも必要だと思います。
3 (T)	FMIS (Hospital)  PCM “A Patient-Centered Approach to Patients with Medically Unexplained Symptoms” “Student-led session: Women in Medicine:	午前中は病棟見学で回診のあと、医学生の子とカフェで一休みしながら、将来の目標や日本での生活などについてお話しました。その後、家庭医療科の患者さんと画像的に疑問のある患者さんを放射線科の医師とディスカッションするカンファに出席。専門科のバックアップと知識のブラッシュアップができる機会がありとても有意義だと感じました。
	FMIG (Family Medicine Interest group) Dinner with Hans Han	午後は医学部 2 年生の授業に参加しました。ディスカッションの多い授業でしたが、どの生徒も積極的に発言しており驚きました。また、女性医師としてのワークライフバランスのような授業もあり、日本でも女性医師が増えてきている現在そのような知識も必要だと思いました。

				夜は家庭医療に興味をもつ医学生と実際に家庭医療のレジデントに進む医学生が情報交換をするディナーに招待していただきました。国は違えど、家庭医療に対して不安に思うことは同じなのだと思議に思うと同時に親近感を得ることもできました。
<b>4 (W)</b>	Behavioral Health Review	Health Video	Resident Conference	先週と同じく、ビデオレビューに参加。そこで、先生方に各国の家庭医の違いについて教えていただきました。 午後は、レジデントカンファに参加。普段は別のクリニックで働くレジデントが集まり上級医の指導を受けたり、プレゼンが行われ知識の向上がはかられていました。乳がんの検診について文献的考察や人工破水の論文をもとに EBM を学びました。
<b>5 (Th)</b>	Clerkship Lectures “Using Data to Improve Patient Health” (Dr. Joe Skariah) “Chairman’s Session: Discussion” (Dr. John Saultz) Small group session Dr. Eric Wiser’s group			この日は医学部 3 年生の授業に参加。少人数制の授業で、EBM について学びました。また、家庭医の上級医の先生を呼んで、生徒からの質問を広げていく形で行われる授業もあり日本ではあまりない形式だと驚きました。 午後の授業は、さらに少人数となり 4 名でのセッションとなりました。自分自身が家庭医療科で体験した症例から学んだ事項を論文的に考察しながらディスカッションが行われました。それについて、先生がコメントする形で授業がすすみました。
<b>6 (F)</b>	FMIS			病棟での回診に参加しました。こちらでは基本的に入院のハードルが高いため重症度の高い患者さんが多く、医師としても大変だと感じました。

2 週目はクリニックではなく、病棟や医学生の講義、レジデントの勉強会などを中心に参加しました。私自身、教育にもとても興味があるため日本の医学部とアメリカの医学部との授業の違いを感じることができ興味深く思いました。4 年制の大学へ進んだ後に医学部へ進むということもあり生徒個々のモチベーションの高さを感じました。生徒自身が授業に積極的に関わっていくものが多く、飽きることなく、自分で勉強する力がつく教育でした。

アメリカの医学生とコーヒーを飲んだり、こちらでレジデントとして働く日本人の先生方も紹介していただいたりと楽しい夜も過ごすことができました。

## 最後に

日本ではまだまだ家庭医療は発展途上にあり、不安な面も多いですがこれからどうなっていくのかがとても楽しみな分野だと思います。発展途上だからこそ私が思い描く医療を形にする余地もあると思います。今回、このように OHSU を訪問することで日本の医療の課題が見えてきたと同時に、必ずしもアメリカと同じように家庭医療をやっていく必然性はないと感じました。日本の文化にあった家庭医療が必ずあると思います。それを模索し、実現するためにこれからも努力していきたいと、改めて思えた 2 週間でした。今回の留学を支えてくださった横浜総合医学振興財団の皆様には感謝いたしますと同時に、4 月から医師としての第一歩を踏み出すものとして日本の医療に少しでも貢献していくことができたかと考えております。



[目次に戻る](#)

### < 学生自主的研究助成報告書 >

全国リトリートに参加して  
医学科 3 年 荻窪まどか

このたび、私たち医学科 3 年と医学科 2 年の 7 人で、第 120 回日本解剖学会総会・全国学術集会・第 92 回日本生理学学会大会合同大会と合わせて開催されました、全国学生リトリートに参加して参りました。

全国リトリートとは、医学研究に興味を持つ全国の医学生たちが集い、互いの研究について発表しあい、交流を持つことを主旨に開催された企画で、今回で横浜市立大学は 3 回目の参加でした。私たち 7 人は、全員初めてこのリトリートに参加をいたし、大変充実した時間を過ごすことができました。

私たちが発表したのは、医学科 2 年生による 2014 年度学生解剖実習の中で見つかった、変異についての研究でした。私たちは、横浜市立大学組織学教室の先生方のご指導のもと、2014 年より解剖に関する研究会をたちあげ、解剖を始めとした基礎的な手技を教えていただきつつ研究を行って参りました。

活動を行っている中で、研究に関して、また科学に関して、様々なことを学びました。中でもとても印象に残っていることの一つは、どんな実験結果も、決して断言はできず、様々な方からのお話を伺いながら柔軟に見解を変えて行くことが必要であったということ

です。

今回学んだ変異については、発見当初より様々な見解を皆で出し合って参りました。様々な文献だけでなく、先生方のご経験なども伺いながら議論致していくうち、多くの仮説が浮かび上がり、その仮説が現実味を帯びてくるにつれ、結論としてどうしても完成したものと考えたくになりました。しかし、またある別の先生からお話をうかがうと、自らの見解に穴があったり、また別の面からの見方があったりと、何度も自らの考えを見直し、修正する必要がありました。研究を進めて行く中で、物事の多面性や深さについて、非常に強く感じさせられました。

様々な可能性をふまえてポスターにまとめて臨んだりトリート会期中にも、他大学の医学生や先生に私たちの研究についてお話致している中で、多くのご意見をいただき、発見がありました。とりわけ、他大の医学生より鋭い質問をいただいた時には、大変大きな刺激をもらいました。鋭い視点を持ち、研究を自ら組み立てて発表している全国の医学生と出会い、交流することで、時には自らの力不足を感じつつ、また勉学に励んでゆこうと、前向きな気持ちを持つことができました。

私たちが目指す医師の仕事の一つには、患者さんの体調から病気を探り、診断していくことがあげられます。この診断という過程にあたり、患者さんの体の多面性や病気の多様さについて考えることは不可欠であり、自分の診断への過信は大変危険であるということを、今回の研究活動を通じて垣間みることができましたような気がしています。

今回のような、大変貴重かつ充実した時間を過ごすことができましたのは、横浜市立大学組織学教室の先生方を始めとする多くの先生方のご指導とご協力、同輩・後輩の協力、また、横浜市学生振興財団よりいただきましたご支援のお陰と存じております。ご協力くださいました皆様への深い感謝をこめて、報告と致したいと思えます。

< 学生自主的研究助成報告書 >

2015年度MD研究者育成プログラム全国リトリート報告書

横浜市立大学医学部医学科 3年 村田 紘

私は3月21日から22日にかけて、神戸国際会議場・展示場にて行われた第120回日本解剖学会総会・第92回日本生理学会大会、2015年度MD研究者育成プログラム全国リトリートに、横浜総合医学振興財団の助成金の交付を得て参加した。全国リトリートは、全国の医学部学生が主体の研究発表の場である。

私は、2年生の解剖実習で見つかった、胎児期の大腸の回転異常やその合併症を持つ御遺体について、2014年7月頃から他7人の学生と共に解剖学的・組織学的観察をし、先行文献を参考に考察した。その後それらを、写真やスケッチを交えながら英語でポスターにまとめ、全国リトリートで発表する機会を得た。

リトリートの中で約2時間、それぞれの学生が自分のブースにポスターを掲示し、そのブースを先生方や他大学の学生が訪れ質疑応答する時間が設けられた。想像を超えた数の先生や学生が私たちの研究に興味をもってくださり、私たちは休みなく、研究の詳細を説明したり質問に応えたりと素晴らしい発表の場を得ることができた。特に、大腸の回転異常と合併症の関係性や発症の経緯など、研究対象が生体ではないために正解が分からず様々な考察ができる部分を、他者に説明することの難しさを実感し、また研究方法に対して意見を下さる方もいて、学ぶことが多かった。

他大学の学生のポスター発表や口頭発表を聞く機会もあり、今まで座学ばかりで研究経験の未熟な私にとって、今後の自らの研究テーマのヒントを見つけたり、研究に対して並々ならぬ熱意のある学生と触れ合ったりと、大学の講義室に閉じこもっているだけではできないような経験をすることができた。

今回リトリートを目標に研究をしたことにより初めて、医学において疑問に思ったことを解明するために実際に手を動かして作業し、観察し、過去の文献を参考に考察を深め、それを他者に発信するという経験をすることができた。学生の内に研究の世界に触れられたことは、臨床に出てもより良い医療を求め、リサーチマインドを持って診療をしていく上で大きな助けになると思う。この度の研究や全国リトリートでの発表に際し、リトリート参加費援助を頂いた横浜総合医学振興財団の皆様と、多くの助言や技術的なご支援を頂いた組織学教室の先生方、病理学教室の先生方、技術員の方に、この場を借りて深く御礼申し上げます。

<学生自主的研究助成報告書 >

2015年度 MD 研究者育成プログラム 全国リトリートに関する報告書

横浜市立大学医学部医学科 3年 深沢聖

このたび、2015年3月21～22日に神戸コンベンションセンターにて行われた2015年度MD研究者育成プログラム全国リトリートに、横浜総合医学振興財団の助成金の交付をいただいて参加した。

本学会に参加した最大の目的は、2年生の解剖学実習において見つかった大腸の回転異常および大腸上皮の出血や水腎症、動脈硬化に関する分析について、ポスター発表を行うことである。私たちは大腸の回転異常は胎児期の大腸の発生過程における異常に由来すると考え、そのほかの合併症との関係を考察した。考察においては解剖学および組織学的アプローチを行い、文献を利用して裏付けを行った。ポスター発表に際しては結果を英語でまとめた。

初日のポスター発表では、ポスターの前に交代で待機し質問を受け付けたり、他大学の学生のポスターを読み発表者とディスカッションを行ったりした。他に解剖の症例報告を行った学生がいなかったこともあり、多くの参加者に目を留め質問していただくことができた。また、質問対応を通し、私たち自身も考えを整理し考察を深め、研究の課題を見つけることができた。私たちのご献体は大腸の回転異常に加えさまざまな合併症があり、それらの関係性を質問されることが多かったが、因果関係が見出せない部分が多く、今後さらに観察および考察が必要であると感じた。またとても丁寧に解剖、観察されていると多くのお褒めの言葉を頂戴することができた。

その後のシンポジウムでは8名の学生の口頭発表を聞いた。どれも斬新なテーマで、非常に高度な研究を行っており、深い感銘を受けた。さらにどの発表に対しても質問が多く出て活発な議論がなされていたことに驚いた。双方向性のある有意義なシンポジウムであったと感じる。

夕食時には引き続きポスター掲示もあり、さらに深いディスカッションをすることができた。また、研究医を志望する学生と出会い、研究のおもしろさを聞くことができた。

二日目は特別講演を拝聴し、研究医のキャリアパスについての理解を深めることができた。今回のリトリートで初めて研究に関わり発表の場に参加し、多くを学ぶことができた。今まで講義を中心とするインプットを行うことがほとんどであったが、これまでに得た知識をフル活用し、研究を行い発表して、他の参加者の発表を聞くことで、基礎分野と臨床科目が密接に関わりあっていることに気づいた。今度もどちらも真摯に学んでいきたい。また、自分と同じ学生が自ら仮説を立て、プロトコルを考えて高度な研究を行っていることに刺激を受けた。私も、疑問を持ち追究する姿勢を見習いたいと強く思う。初めて学会に参加する貴重な機会をいただき、実りある二日間を過ごすことができた。

最後に、リトリートに参加し、発表するための助成金をくださった横浜総合医学振興財団に感謝の意を表したい。また、研究を進めるにあたり、解剖実習から切片の切り出し、固定、染色、そしてポスターや論文内容に関するディスカッションにいたるまで多くの知識や示唆を頂いた横浜市大組織学教室の先生方に深く御礼を申し上げたい。学生生活の折り返し地点を迎えたが、今回学んだことを糧にさらに勉学に励み、社会に貢献できる医師になりたいと思う。

<学生自主的研究助成報告書 >

解剖学会報告書

医学部医学科3年 山田理佳

私たちは3月21日～22日にかけて行われた、解剖学生理学合同学会に参加した。

今回、2年生の実習で見つかったご遺体は、胃の裏で結腸が3回転して回盲部の下降不全がみられるのみならず、繊維性筋性異型性を左腎動脈に、左腎に水腎症を伴う珍しいご遺体であった。さらに、中結腸動脈、右結腸動脈、回結腸動脈すべてが吻合し、中結腸動脈が二分している変異もあった。

私たちはこの変異について、特に、腎臓と結腸の異常との関連性について考えた。これは学会でも多く質問された点であり、時には議論を行ったが、関連性はない、という認識に変わりにはなかった。しかし、私個人的には今なお実は何らかの関連があるのではないかとまだ疑っている。今後勉強していく中で、もし手がかりになるものがあれば、再び考えてみたいと思う。

見学したポスター発表で、私が一番興味を抱いたのは、獨協大学の、痛みの軽減方法につながる痛みの定量化についての研究である。クロールイオンでGABA受容体の定量化を図るものだが、高齢化社会で今後緩和治療が多く必要になっていく中、根治は目指さなくても痛みの軽減をすることが多くの患者さんのQOLの向上を促すと思うからだ。

学生発表では、プレゼン発表の技術がとても高く、研究に時間を惜しみなくかけていることがとても伝わり、尊敬することが多かった。

今回の学会にむけて様々な事象を考察することは、3年生の臨床学習の集大成のようなものとなり、充実した。またポスター構成を考え、他者にわかりやすく伝えるための工夫をほかの発表者から学んだことは、4年生のリサクラにむけて、大きな参考となった。

これからも、医学の勉強を教科書のみならず、さまざまな視点から学んでいきたい。

最後に、この取組みに最初から最後までご協力いただいた組織学の先生方、資金助成の形でご協力いただいた横浜総合医学振興財団の皆様と、さまざまな疑問点解決にご指摘くださった宮木先生、大橋先生、奥寺先生に心から感謝を申しあげ、この報告を締めさせていただきます。

<学生自主的研究助成報告書 >

解剖学会報告書

医学部医学科 2年 遠藤桜子

私たちは、3/21～3/23 に神戸で行われた日本解剖学会総会・全国学術集会に参加させて頂き、2年生の解剖実習中に見つかった変異についてポスター発表を行いました。また今回は学会と合わせて行われた全国学生リトリートにも参加し、他大学の学生のポスターを見てまわったり、1日目の夜に行われた懇親会で先生方や他大学の学生と交流する機会に恵まれました。

今回見つかった変異は大腸の回転異常で、それに伴って起こった全身の動脈硬化病変についても解剖学的、組織学的考察を行いました。学会1日目は上記の内容について英語でまとめたポスターを1時間ほど掲示し、見に来て下さった方々に口頭で説明したり、質問に答えたりしました。2日目は学会で行われた研究者の先生方の発表やシンポジウムを聞き、学生リトリートのプログラムの一環である講演会にも参加しました。

このプログラムに参加したことで自分にとって2つの大きな収穫が得られました。

一つめは、普段の授業で学んだことをより一層深め、さらに一步進んだ発展的な内容に触れることが出来たことです。変異について調べるためにはまず正常な状態についてしっかりと理解する必要があるため2年生の授業で学んだ知識を総動員する必要がありました。また、切り出し、薄切、包埋、染色というプレパラートの作製を、組織学の先生方に指導して頂きながら自分たちで行えたことは、普段の授業ではなかなか出来ない貴重な体験でした。そうした観察の結果を解釈、考察するにあたっては、日本語や英語の文献や論文を調べました。自分たちの主張を客観的に分かりやすく第三者に伝えるためにはどうすればよいのか、様々な文献にあたって考える作業はとてもやりがいがありました。

二つめは、学会を通して様々な最新の研究に触れ、リトリートで他大学の学生と交流することで、自分の将来のキャリアや理想の医師像をイメージするきっかけとなり、勉強に対するモチベーションにも繋がったことです。様々なバックグラウンドを持つ人、興味の対象をしっかりと絞って学生ながらに研究をしている人からは大変良い刺激を受け、有意義な時間を過ごさせて頂きました。

組織学教室の先生方には、観察や解析の技術指導をして頂いたり、考察の指針を示して頂いたり、大変お世話になりこの場を借りて感謝申し上げます。今回このプログラムに参加して学んだこと、感じたことをこれからの学習に活かしていきたいと思っております。

## <学生自主的研究助成報告書 >

### MD 研究者育成プログラムリトリート 参加報告

医学部医学科 2年 鈴川祐一郎

日本解剖学会総会・全国学術総会・第92回日本生学会大会 合同大会における MD 研究者育成プログラムリトリートに参加し、ポスター発表を行ってまいりました。発表では学生解剖実習で偶然見つかった大腸変異のご献体について、肉眼解剖および組織学的に考察を行った成果をまとめました。

初め大腸の回転異常ということで、より詳細に調べようと解剖を進めたところ、脊椎の大きな側弯をはじめ潰れた片腎、胸郭形成術の手術痕、食道裂孔ヘルニア、尿管の変異などありとあらゆる異状が見つかりました。さらに組織片をとって観察すると、片側の腎動脈の狭窄や大腸上皮の粘膜下出血も見つかりました。いったいこのご献体についてどのような軸でまとめ、報告するべきなのか大いに悩みました。協議を重ねて曲りなりにも道筋をつけた経験は私にとって大きなプラスになったと感じております。

研究の方法や発表のまとめ方など初めての経験だらけで五里霧中の中、組織学教室の先生方の粘り強いご指導のおかげで何とか発表までこぎつけることができました。深く感謝しています。また準備の過程で病理学教室にも何度もお世話になりました。ありがとうございました。

MD 研究者育成プログラムリトリートとは、東大、名大、京大、阪大の医学部による基礎医学研究者育成プロジェクトです。このプロジェクトでは年に一回参加者が泊りがけで発表を行うイベントを開催しているということですが、今回は解剖・生理合同学会と同時開催の運びになったようです。ポスター発表の合間に他大学の学生の発表も見られたことは刺激になりました。共焦点蛍光顕微鏡を使ったオートファゴソームの分子機序の研究など、非常にレベルの高い成果に触れて自分たちの発表が恥ずかしくなる気持ちもありました。今後の糧にしたいと思います。一方で、解剖学会にいらしていた小児外科や腹腔外科の先生などが私たちの発表に興味を持って下さったのは励みになりました。やはり自己満足で終わるのでなく広く発表の場に出てくることは大切なのだと実感できた場面でした。

夜の懇親会では研究者を目指す学生たちと話をし、親交を深めることができました。この中から研究者が排出されるとすれば、早くから交流し互いに励ましあうことは重要だと思います。私は三重大、阪大、京大の学生たちと触れ合い、それぞれの大学のカリキュラムや雰囲気の違いを知ることができました。他大学と比較することで横浜市大の良いところ、また改善の余地のあるところが垣間見えた気がします。

今回の一連の活動で本当に様々な経験をすることができました。最後にもう一度組織学教室、病理学教室、それから一緒に発表を作った先輩方と同輩に感謝をささげ、報告を終わります。ありがとうございました。

[目次に戻る](#)

## <学生自主的研究助成報告書 >

MD 研究者育成プログラムリトリート 参加報告

医学科 2年 川村飛翔

3月21日から22日に、生理学・解剖学学会および学生リトリートに参加させていただきました。貴重な機会をくださった大保先生初め組織学教室の皆様、金銭面での援助をしてくださった俱進会の皆様、そして、最後まで面倒を見てくださいました吉田先生には改めて感謝の意を申し上げたいと思います。

さて、当日はどうだったかと申しますと、ポスターではありますが学会で発表するということが初めてでしたし、他にも同じような学生がいるということが、よい刺激になりました。多くの学生が一人で一枚のポスターを仕上げていたのが、本来なら比べるのはおこがましいのかもしれませんが、僕らのようにチームで一つの研究を仕上げるという体験からも得られることはとても多かったように思います。

実際のところ、当日に至るまでに何度も暗礁に乗り上げ、このままではポスターを作るに至らないのではないかと思うこともしばしばでした。それを皆で何度も議論しあって、予定が合わなくとも何とか仕事をリレーのようにつないでいけたからこそ、ポスターという一つの形にすることができたのだと思っています。議論を重ねるごとに、結果の解釈も大きく変化していきまし、当初の予想からどんどん離れていくのが面白くも思えました。これら全てがチームとして仕事をしたから得られたこと僕の大切な体験です。ですから、当日学会に参加したことも大事だと思うのですが、そこに至るまでの過程で得たことの方が自分には大きかったし、それ自体存分に楽しむことができたように思います。まだ論文にする作業もありますが、一緒に頑張ってきた先輩、同輩たちにもこの場を借りてお礼を申し上げたいと思います。

[目次に戻る](#)

< 学生自主的研究助成報告書 >

横浜市立大学医学部 医学科 5年

出張者氏名 内山 真

1. 研究課題名 : Orthopaedic Research Society
2. 用務地 : アメリカ・ネバダ州・ラスベガス
3. 用務先 : MGM Grand Hotel
4. 活動日程 平成27年3月28日 ~ 4月2日 (6日間)
5. 活動報告書

このたび、アメリカで開催された ORS annual meeting(基礎整形外科学会)にポスタープレゼンターとして参加させて頂きました。本学会において発表した研究は、医学科4年4月~7月の期間に行なわれたリサーチクラークシップをきっかけとしております。研究内容としては、人工股関節置換術後における骨代謝マーカーと骨密度の変動について、アレンドロネートとPTHの無作為前向き比較を行うというものでした。もちろん整形外科に関する知識がほとんどない状態であっただけでなく、電子カルテの見方、統計の方法などわからないことだらけでのスタートでしたが、実習を担当してくださった整形外科の小林直実先生をはじめとする先生方のご指導のおかげでなんとか研究として形にすることができました。そして実習の最後には優秀者のうちの一人として表彰していただくこともでき、非常に有意義な実習期間となりました。

実習期間が終わったあと、せっかくなので論文として研究内容をまとめるとともに、ORSに抄録を出そうと先生に勧めていただき、これもまた初めての経験だったのですが英語で抄録を書き、なんとかポスター発表をさせていただけることとなりました。今年のORSはラスベガスで行われるとのことで海外に行ったことのなかった私としては非常に不安でいっぱいだったのですが、整形外科の先生方が色々案内して下さり、安心して行動することができました。学会でのポスター発表では、研究内容に関して英語で受け答えをする機会に恵まれ、国内の学会ではなかなか経験できない貴重な経験をすることができました。しかし、満足いく受け答えには程遠く、相手に自分の研究内容をしっかり

と伝えられたかどうかわからなかったので、今後もし機会があればリベンジしたいと思います。また学会では日本人の先生がオーラル発表をしている姿も見させていただき、自分もいずれは国際学会において英語でオーラル発表をできるよう、医学知識においても英語においても努力をしていきたいと思いました。数年後には医師として実際に臨床の場に出ることとなりますが、ただ漫然と臨床に出るだけで満足せず、一人の研究者であるということを決して忘れず、医学の発展に貢献できるよう、常に向学心、向上心を忘れずに医学に向き合いたいと思います。今回の ORS への参加はそのための第一歩として、日本だけでなく他国の医師の方々がどのような研究をしているか、またどのような姿勢で研究に向き合うべきかを学ぶ上で、非常に有意義な経験となりました。

学生として国際学会に参加することができましたのは御指導下さった整形外科の先生方・秘書さんの御協力と、経済的な支援を下さった横浜総合医学振興財団様のおかげであります。皆様には心より感謝申し上げます。

※今回の学会参加における費用のうち、横浜総合医学振興財団様からいただいた助成金 90000 円以外を、横浜市立大学医学部整形外科教室の研究費から払い、そちらに領収書の原本を使用しなければならなかったため、コピーのみの添付となってしまいました。  
大変申し訳ございません。

[目次に戻る](#)

<学生自主的研究助成報告書 >

## We × Medicine 奈良実習

大東 杏

### ● 日程

2015年3月19日 奈良県立医科大学総合医療学教室実習

2015年3月20日 明日香村国民健康保険診療所実習

### ● 目的

去年は新潟の山間部に実習に行ったり、与論島に実習に行ったりとその土地それぞれの特性を学び家庭医療というものについてざっくりと学んだ。今回総合診療と地域の家庭医療の両方を学ぶことで各々の特性を理解し、良さ及び問題点などについて自分なりに知ることが目標である。また横市には医局として総合診療が確立していないので、奈良県立医科大学において入院施設をもった総合診療科というものについて知り将来に生かしたいと考えている。

### ● 実習内容

2015年3月19日 奈良県立医科大学総合医療学教室実習

午前：

奈良県立医科大学の総合診療科とはどのようにできているかについての説明を受ける。奈良県立医科大学の総合診療科はリウマチセンター及び糖尿病、二次救急などが組み込まれたものとなっており膠原病の患者さんが実に多い。3人体制で行っており、主治医と担当医と大ボスである。月・水・金にカンファを行い患者さんの情報を共有する。これは総合診療科の人数が少ないので誰でも担当できるようにするためである。月曜には膠原病以外のカンファがあり、水曜には膠原病とナースカンファ（患者さんの心の悩みなど）があるのが特徴的である。入院患者さんは膠原病の人の入院日数が非常に多く、もともとは10床であったが、だんだん増やしてきている。

午後：

吉本先生の外来を見学した。実にいろいろな病気の患者さんが来ることに驚いた。脳梗塞であったり、偏頭痛、糖尿病。一人の人がいろいろな科にかかっており、それを統括したり、患者が各々の先生に少し聞きにくいことを聞いたり、全身的に見て治療方針に誤りはないかなどを調べるのが総合診療医だとおもった。先生のカルテはとても詳細で、患者の一言も大事なことを漏らさないぞっという姿勢が見られたように感じる。これも地域の特性なのかもしれないが、比較的よく話をする患者が多かった。関東では患者にいかに話してもらおうかが大事になってくるのに対して、関西ではいかに多くの情報のなかから大事なこと

を理解するかが大事になってくると思った。やはり地域それぞれの特性があるので地域医療は面白いなと感じた。最後に研修医含め医師の今日診察した患者についてのカンファレンスがあったが、どの先生もカルテをものすごく詳細に取っているのがわかった。また腫瘍マーカーの擬陽性の問題、適切な取り扱いなどの議論はすごく興味深く、充実した一日だった。

2015年3月20日 明日香村国民健康保険診療所実習

午前：武田先生の外来見学

患者目線の診療だなと感じた。今まで薬の値段や大きさ、粉か錠剤かなど気にしたことはなかった。糖尿病の患者さんの月々の負担がどれぐらいするのか、負担が大きいようであれば塩分などを控えて薬に頼らない血糖値のコントロールをできるようにしていこうという先生の姿に驚いた。体だけでなく、その人の生活まで診る。家庭医だと思った。漢方薬の処方もあることを初めて知った。舌癌を心配する患者に対して丁寧な診察をし、念のため腫瘍マーカーを調べたりと、家庭医目線の腫瘍マーカーの使い方もわかってよかった。

昨日総合診療の見学をしたこともあり、家庭医療という外来の違いを改めて感じた。症状を細かく聞くことはもちろん、一見関係ないように思えるちょっとした雑談も先生と患者の信頼関係が深く築かれていることを感じた。また今まで小児の診察を見たことがなかったので、赤ちゃんを泣き止ます方法とか先生のお母さんお父さんに気遣う姿勢がとても勉強になった。武田先生、小林先生、ナース、事務の人たちの動きが本当にすごくてテキパキ動く姿に感動した。実習が終わった今思うのは、このような実習は決して無駄になることはないということである。大学にいと本当に珍しい病気とかを先生が取り上げるため、家庭医とかに必要な技能を学ぶことができない。

午後：血圧実習と代診の先生の外来見学

実習に行っておきながら、基本的な技術もないのに悔しくなった。次回からは血圧・聴診など侵襲性のないもののは少しでも学んでいきたいと思った。

[目次に戻る](#)

## <学生自主的研究助成報告書 >

奈良実習報告書

医学科3年 茂木悠平

3/19 終日武田先生の診療所や往診を見学させていただいた。

朝の車の中や休憩時間中に先生とお話させていただき、これまで曖昧であった総合医と家庭医の違いをはっきりとさせることができ今後の診療科選択に具体的なイメージが得られた。

一日ではあるがカンファレンス、診療などをはじめ仕事を終日見学できたため診療所の一日の流れを感じる事ができた。

その中で迅速な診療の裏で医療事務さん、看護師さんが頑張っているのを見てチーム医療による効率化や互いを尊重しあうことの重要さを知った。

また先生の診療を見学させてもらい、患者さんのお話を伺う機会を作っていただいたこと、往診に連れて行っていただいたことで地域に密着し住民の健康を支える診療所の役割、そしてその重要さを感じた。

自分は今まで診療を見た経験がなかったのだが、先生の丁寧なご説明とともに見学できたので医学の実際の現場での運用のされ方、また医学だけでは補うことのできない技術や人間性に寄与する部分の大きいことを感じ今後の自分への課題も浮かび上がってきた。

3/20 終日奈良県医科大学総合診療科で診療見学や総合診療科についての説明、同診療科の吉本先生の研修医時代の話聞くことができた。

教授の診療を見学させていただいた。「診療時は患者に笑ってもらうことで緊張を解きほぐして信頼を得ってもらうことを心がけている、しかしそんな小手先のテクニックだけじゃ意味がない。総合診療で常に新しい医学の知識を取り入れて疾患を区別するための考え方を付けることが大前提だ。」と教授がおっしゃられていたのが印象的だった。

医局に戻ってからのカンファレンスでは入院患者の症例を紹介していただいた。話の中には膠原病の方が多くおられた。ちょうど医学部の授業で膠原病について習ったばかりであったので知識はあったのだが、現実の疾患では複数の膠原病を患っていたり、典型的な症状に乏しかったり、治療薬は効き目に個人差がかなりあることなど簡単に応用できるものではないと痛感した。

吉本先生の研修医時代のお話も伺うことができた。先生は研修医時代に奈良の南部の僻地で診療を行われていたそうで、一人で村中の色々な疾患を診なければいけなかったことが結果的には医師としての力を付けることになったそうだ。今の都会の医者、特に大学病院はそれぞれ医師が専門性に特化しているが、町医者の様に一人で色々な疾患に対応できるのが本来の姿の医者なのだと思う。専門性を高めるにしてもまずは日常的疾患をしっかり診療できるようになってからにしようと感じた。

これからは医学の勉強により一層邁進していくことはもちろん、将来の事も視野に入れて医学生ではなく医師として必要な能力や気質も徐々に磨いていきたいと思いました。

[目次に戻る](#)

< 学生自主的研究助成報告書 >

## We×Medicine 地域医療班奈良実習報告書

横浜市立大学医学部医学科 2 年

We×Medicine 地域医療班所属

田邊桃佳

### 1. 目的

We×Medicine 地域医療班は、大学の講義ではあまり触れられないことを自主的に学んでいる。地域医療班という名前だが、部員の興味は単に地域医療のみならず、家庭医療や総合診療など多岐に渡っている。活動の中心を担うのは 2 年生や 3 年生で、低学年かつ普段座学ばかりをしているため、春休みを利用して病院実習を行うことで、現場を理解し、日頃部員とともに学んだ知識を補強し、地域医療、家庭医療、総合診療を深く考えることを目的とした。

### 2. 期間

2015 年 3 月 18 日（水）から 2015 年 3 月 20 日（金）まで

### 3. 場所

奈良県内の以下の病院、診療所で実習した。

- ・ 社会医療法人健生会大福診療所
- ・ 奈良県立医科大学附属病院総合診療科
- ・ 明日香村国民健康保険診療所

### 4. 実習内容

#### ◆ 2015 年 3 月 18 日（水）

社会医療法人健生会大福診療所にて  
午前診療所の所長の朝倉先生による外来見学  
午後朝倉先生の往診に同行

午前 11 時半頃に到着したため、外来の見学は 1 時間程度だった。そのような短い時間の中で、患者さんやご家族がたくさん話すということが強く印象に残った。関西の人は自分からよく話すというイメージを持っていたが、それは外来の場でも顕著に見られ、自分の状態を自主的に詳しく説明する患者さんが多いように感じた。患者さんが話すのが困難でも、同行の家族やグルー

プホームの方が詳しく説明して下さる。ここがこれまで見学したことのある他の地域での外来と異なるように感じた。

午後の往診先は5人の患者さんの自宅とグループホームであった。往診は医師である朝倉先生、看護師1名、事務の方が運転手として同行し、診療所から半径5km程度の範囲を回るそうだ。往診を行う患者さんは高齢者が多いのかと思っていたが、2歳のミオパチーの患者さんまで、年齢も疾患も予想より幅広く驚いた。往診で印象に残った患者さんを1名紹介する。

#### 58歳男性 ALS

家族妻、4歳の娘、2歳の娘

私はその患者さんの往診を見学しながら、ALSの患者さんということで、患者さんのADL (Activities of Daily Living) について、ADLの代表的要素である「DEATH」にあてはめて考えた。

D (Dressing) …上半身は可能。下半身は難しいと思われる。

E (Eating) …利き手がやや不自由。はさみに似た形のスプーンを用いれば自力でも可能。

A (Ambulating) …車いすで移動可能。自力でベッドから車いすに乗ることができる。

T (Toileting) …聞くことができなかつたためわからなかつた。

H (Hygiene) …歯磨きは自力でできるが、入浴は訪問サービスを利用している。

患者さんと先生の会話を聞きながら、患者さんのADLについて考えられたことで以前の実習よりも成長したと感じられた。

また、私はこの患者さんを純粋に尊敬した。患者さんは今は仕事をしていないものの、かつて料理人だったそうだ。筋力が徐々に低下しているものの、今なお自宅でときどき料理をするそうで、往診のときも先生に「明日はこのワインを使って肉を煮込むんだ」と誇らしく話していた。ALSの患者さんはこの先病状が悪化するという事実を受け入れるのが困難で、悲観的になる人が多いと聞くが、この患者さんはそのような事実を受け入れたうえで、今できることを楽しもうとしているように見えた。加えて、4歳の娘、2歳の娘さんと遊ぶのも楽しんでいるそうだ。将来子どもたちを上手く育てていけないことや、奥さんに負担が大きくなることを心配していたが、それでも今を大切に生きていくところに尊敬した。

奈良県立医科大学にて  
夕方地域家庭医療 WS

奈良県立医科大学の学生が主体となっていく地域家庭医療 WS に参加した。この WS は本格的で、毎回ゲストの先生をお招きして開催している。今回は発達障害の子どもとの関わり方について、奈良県総合医療センターの田口真輝先生からレクチャーがあった。奈良県立医科大学のみならず、広島、大阪、京都の大学から、医学生のみならず、看護や栄養の学生も参加していたため、実に多様な意見を聞くことができた。先生のレクチャーも勉強になったが、学生の深い意見、そして本格的な勉強会の運営に刺激を受けられ、私たち We × Medicine の今後の活動に活かしていきたいと感じた。

◆ 2015年3月19日（木）

奈良県立医科大学附属病院総合診療科にて

午前総合診療科の先生方から総合診療科の説明、院内の紹介

午後総合診療科吉本先生の外来見学

実習前は、総合診療科はどこの診療科を受診すべきかわからない患者さんを受け入れたり、診断のつかない患者さんを診断したりして、専門の診療科に振り分けるような役割が大きいのだというイメージを持っていた。しかし、奈良県立医科大学の総合診療科は、そのような役割を果たしながらも、10個前後の病名のついている患者さん、しかもその疾患が珍しいものであっても継続的に治療しているとのことで驚いた。加えて、膠原病、糖尿病、TTP（血栓性血小板減少症）の治療にも力を入れているとのことだ。

吉本先生の外来では、患者さんが何を求めているのかを大切にしている印象を受けた。自分が何の病気なのかを強く知りたがっている患者さんには適切な検査を受けるように勧めていた。対照的に、今すぐつらい症状を直してほしい患者さんには薬を処方していた。総合診療科は多数の疾患をもつ患者さんが受診することが多いが、どの病気から治療するか、あるいはどの症状から解決していくかということに医師は悩まされるだろう。吉本先生はご自身の意見と患者さんの要望を上手くマッチさせながら診療にあたっていて、これこそが総合診療で重要であろうと感じた。

◆ 2015年3月20日（金）

明日香村国民健康保険診療所にて

午前武田先生の外来見学

お昼夢市茶屋で昼食、明日香村観光

## 午後武田先生の代診の先生の外来見学

明日香村国民健康保険診療所のような診療所を見学するのは私にとって初めてだった。まず村の診療所という場が初めてであり、しかも国保の診療所である。武田先生がおっしゃっていたのだが、国保の診療所は保険料を財源として運営しているため、患者さんに薬を過剰に処方したり、検査をしすぎたりすることは、患者さんにとって身体的な負担のみならず、金銭的な負担も大きくし、保険料を値上げしなければならなくなる。加えて、村民が診療所を利用すればするほど、診療所の設備をよりよくできる。このように、診療所の経営の面でも勉強になった。

診療所の所長である武田先生の外来は、0歳児から90代の高齢者まで、内科系の疾患から外傷まで、患者さんの年齢も症状も幅広く、これこそ診療所の医療なのだと感じた。次々に受診する多様な患者さんに臨機応変に対応できる武田先生のようになれるよう、どの科目もきちんと学び幅広い知識を定着させ、日頃から様々な人と関わり、患者さんの年齢に応じたコミュニケーションを実践できるようになりたいと思った。

武田先生の外来中に、患者さんの血圧測定をしてみるよう提案された。しかし、生理学実習で血圧測定を学んだが、上手くできるようになるまで繰り返し実践することができず、慣れていなかったためお断りした。今後、大学の講義で基本的な診療技能を練習できる機会は4年生のOSCEの前までないと先輩方から聞いている。その前にも3年生や4年生のうちに実習に行く機会があるだろうから、早めに聴診や血圧測定などの基本的な診療技能を習得しておきたいと強く感じた。今回実習に参加したWe×Medicineの部員とともに、本学のシミュレーションセンターをお借りして練習することを検討したい。

[目次に戻る](#)

## <学生自主的研究助成報告書 >

We×Medicine 地域医療班 奈良県医療実習報告書  
医学科 2年 相澤 広太郎

### 【概要】

今回、3/18～3/19 の行程で奈良県における医療実習見学をさせていただいた。具体的には奈良県立医科大学総合医療学教室と明日香村国民健康保険診療所の二ヶ所である。前者では大学病院における総合診療の役割を、後者では地域における家庭医療の役割を学ぶことを目的として臨んだ。

### 【スケジュール】

#### 3/17 奈良県立医科大学 6年柴田さんとの会食

この日は翌日の実習に向けて前日に奈良県入り。夜に同部活で2年の山田祐揮とともに、鳥貴族にて奈良県立医科大学 6年の柴田浩気さんと親睦を兼ねた会食。その席で奈良の医学生活動の現状を教えていただいた。

奈良県は学閥や医療組織の垣根を越えてプライマリーケアの振興に積極的であるため、学生への支援体制が整っているようだ。そのため彼が旗揚げした地域医療 WS の創設・成熟の過程には先生方の協力が随時見られる印象であった。また同じ志を持つ同級生・下級生を適材適所に配置して運営を軌道に乗せる彼自身の爆発的手腕の影響も感じられた。現在の地域医療 WS は医師・看護師のみならずメディカルスタッフも巻き込んだ多職種連携の様相を呈しており、県外からの認知度も高く奈良県を超えてプライマリーケア連合学会関西学生支部をも脅かす存在であるようだ。現在の横浜市立大学と比べると、プライマリーケアに対する学生・医師・大学の意識の差は歴然としており、We×Medicine としても発信力や地域の医師とのネットワークなど見直さなければならない部分が多いとわかった。

#### 3/18 奈良県立医科大学総合医療学教室実習

##### ① AM9:00～

1F 玄関すぐ右の総合診療科外来にて吉本清巳先生にお会いし、ご挨拶。案内された2F 総合診療科医局はスタッフ同士が上下関係問わず和気藹々としており明るい印象であった。ギクシャクとした環境であれば疑問点も見逃されるので、この関係は日常のカンファレンスにもプラスに働くのではないかと、そんな思いを抱きながら、幸運にも総合診療科柴田健二教授との病棟見学から始まった。西尾教授は自治医科大学医学出身で村立・町立・県立・国立・アメリカの病院を渡り歩いたという異色かつ数少ない経歴の持ち主である。そ

のため各医療現場の実態を網羅的に把握している。私は研修医の方が担当するある病棟患者（男性 2日前に睡眠剤導入後意識障害 錐体外路症状）の元へ教授とともに伺った。具体的な処置の内容などは未習のため不明だが、そこでの教授と研修医とのやりとりが気になった。研修医としては MR 検査を実施したいが、放射線科にコンサルしてもどうせ断られるだろうから思案しているという発言に対し、教授は「どうせ断られると思ったら患者本位ではない。患者本位なので玉砕してでも言うべき。」とおっしゃっていた。さらに教授によると大学病院の MR は順番待ちが非常に多く、総合診療科の立場としては放射線科と常にせめぎ合う状態にあるため、～で～が疑われるので～してほしいという論理的目的をはっきりしなければならないそうだ。大学病院における総合診療は専門領域との風当たりが厳しいが、その分相手を納得させるための論理性を養うには適した環境であるとわかった。

医局に戻り、再び西尾教授からお話を伺った。教授が終始おっしゃっていたのは、家庭医療はまず大学病院総合できっちりとしたアルゴリズムを学んでからにするべきであるということだ。具体的にいうと大学病院がピアノ練習曲のソナチネである一方、地域病院・診療所は独立した数々の曲である。地域病院では一曲一曲は弾けたとしても疾患との1:1対応になってしまい応用が利かない一方、ソナチネのような疾患鑑別までのプロセス（考えかた）を身につけていると希少疾患までも結果的に鑑別できるようになるそうだ。また一般病院は専門医とのなあなあ関係になるが、大学病院はある意味ドライ。全人的医療は独りよがり終始するのでその独りよがりの範囲を家庭医療のような狭いものとどめず、大学病院総合という厳しい環境で拡大していくべきだとおっしゃっていた。私は卒後、大学病院に残るつもりが無かったのでこの考えは新鮮であり、改めて自分の進路を見つめ直さなければならないと思った。その他にも総合診療という概念の歴史的経緯を説明してくださったがここでは割愛する。

## ② AM11:00～PM4:00

続いて吉本清巳先生の外来見学をさせていただいた。実習前の総合診療のイメージとして正体不明の症状を問診と診察を通して分析し、原因疾患を究明するというのを描いていたが、やはり一筋縄ではいかないらしい。特に吉本先生が受け持っておられる患者は難病の再診が多く、劇的な症状改善というより長期フォローが特徴的であった。疾患は未習のためわからないがその中でも総合診療として意外に感じた2症例を通じた事例を紹介する。

まず40代女性で胃潰瘍と卵巣がんの再発患者で婦人科通院をしている方だ。予後不良で総合診療科では排尿痛や下腹部の痛みに対する対症療法にとどまっている。この患者は吉本先生に対して治療云々ではなく、婦人科の担当変更に対する不安などを吐露していた。総合診療科として果たす役割と少し違うのではないかと思い、診察後の吉本先生に伺ったところ専門外来は忙しいので我々総合診療科は傾聴的立場でもあり、また病院総合医も家庭医療的視点で長期フォローが大切ではないだろうかということだった。大学病院の総合診療でも家庭医療の要素が求められる場面があり、時間軸の使い分けが必要だということ

を学んだ。

次に 20 代女性で奈良医大看護師の方だ。この方はシェーグレン症候群という甲状腺異常の他に、口唇ヘルペス、熱の花、背中ニキビといった症状があり、吉本先生も悩んでおられた。ここで印象的だったのは処方されている薬剤の効用を専門的に説明し、薬剤の取捨選択や新しい薬剤の組み合わせの提案などを自主的にされていた点である。大学病院という医療関係者が多く集まる施設では彼ら自身が患者となることもあり、診察する医師側は相手を納得させるだけのより高度な専門性と論理性を兼ね備えていなければならないとわかった。

吉本先生ということもあって中々ストレートに疾患が決まるという症例は少なかったが、専門→総診、総診→専門という大学病院ならではの連携を見ることができた。一方で **Bad news telling** などの繊細な内容については専門科へ考慮していた。地域の家庭医療が中心では技術というより患者との親和性が高いので、**Common disease** に対するアルゴリズムが総診のように定式化されていないと大学病院に集まる希少疾患には対応できないだろうと思ひ、大学病院総合の必要性を感じた。

### ③ PM4:00~

病棟入院患者に関する多職種カンファレンスを見学した。主治医の報告と他の医師の意見、看護師の要望など総括して今後の治療方針を決定していた。

### ④ PM4:00~7:30

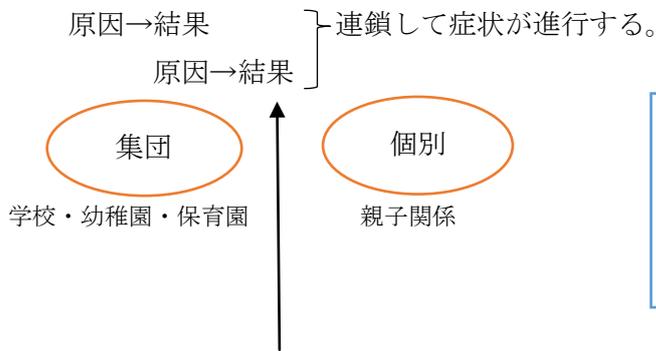
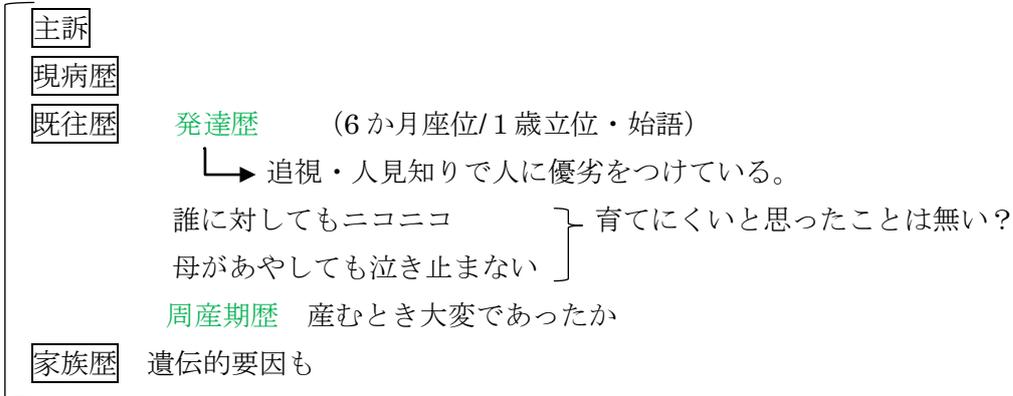
奈良医大第 9 回地域家庭医療 WS (ワークショップ) に参加させていただいた。今回のテーマは「外来に 8 歳の女の子が勉強についていけない。友達とよくケンカをする。先生の言うことを聞かないという主訴でやってきた。」とうもの。背景には発達障害や心身症という概念があり、その基本的事項から応用までを奈良県総合医療センターNICU 田口真輝先生の説明を交えながら WS 形式で議論した。

1. 自閉症スペクトラム症候群 (ASD)  
昔は広汎性発達障害
  - アスペルガー症候群
  - 高機能自閉症
2. 注意欠陥性障害 (ADHD)
  - 不注意優性型 (忘れ物など)
  - 衝動性優性型 (興味の急転換)
  - 混合型
3. 学習障害 (LD)
4. 軽度遅滞 (MR)

(問題)

まず学校からの要請？母からの要請？

誰が困ってるの？なんで来たの？



個性だから見守ってあげてと  
いう発言は慎重に  
➡先に延ばすことは母の負担  
の蓄積にもつながり得る。

発達障害によっても行動の意味合いは異なる。

- 授業を聞かない
- アスペ：授業がつまらない
- ADHD：隣に楽しい子がいる (他の興味)
- MR：内容がわからない
- 叱り方も大きく異なる。
- その他
- アスペ：価値観が合わない。加減知らない。
- ADHD：自分から手を出す
- MR：身辺自律が遅れていじめられやすい

15歳までに改善されないと不都合。よく怒られる。

自尊心 *self esteem*

自分はこれでいいんじゃないか



投薬治療では改善されたことを称賛するのは患者のこれまでの人格を否定することになり、自尊心を傷つけてしまう。薬を手渡す際にも治療というワードを控えるなど最大限の配慮が必要である。

では支援として医師は患者をとりまくネットワークを利用する。医師は子育てのプロと誤解されがちであるが、子どもの周りの行政サービス、自助団体などの存在を知る必要がある。また学校への概念教育や兄弟間の格差の取り扱いを考慮するなどしなければならない。

発達障害児とは

- 困った子ではなく、困っている子
- 付き合うのが難しい子ではなく、世の中で生きていくのが大変な子
- わからないことをする子ではなく、世の中の仕組みがよくわからない子
- 言うことを聞かない子ではなく、言われたことが理解できない子

この WS に参加して発達障害に関する基本的概念を理解でき、また患者だけでなく家族関係や集団環境などの多面的フォローの必要性が色濃く出る分野だとわかった。また不十分な知識で安易な発言をすると患者を傷つけることにもなりうるので非常に神経を使う印象であった。WS では立場を交換して考えるので医師で思いつかなかった疑問点の発見などの驚きがあり、このような取り組みは多職種連携が求められる将来で非常に有効であると思う。

### 3/19 明日香村国民健康保険診療所実習

明日香村国民健康保険診療所は地域医療支援・地域振興を目的に設立された地域医療振興協会が自治体からの委託等を受けて運営する保健医療福祉複合施設のひとつである。診療所は村の健康福祉センター「たちばな」内にあり、村の保健福祉部門と連携を図りながら在宅医療の充実にも取り組んでいる。また奈良医大や済生会病院、山下医院などの他の医療施設にも近いという特徴がある。

#### ① AM9:00~

ミーティング後、武田以知郎先生の外来見学をさせていただいた。前日の奈良県立医大総合診療科の外来見学と比較してみると、大学病院ではあまりみられないインフルエンザや花粉症、糖尿病や高血圧などの慢性疾患が主であった。また診療の際に武田先生は患者に「あいうべ体操」と「足指体操」なるものを積極的に勧めておられた。詳しく聞くとあいうべ体操というのは、舌が上あごについた状態を意識する体操でアレルギー性疾患や便秘、顔のむくみ、うつ症状の改善などが期待されるもので、足指体操というのは足指間隔を広げることで外反母趾や O 脚の改善につながる体操である。整形外科では矯正治療や手

術が主でこのような方法は提供されないそうだが、このような一次予防を行うことで明日香村全体の医療費負担を軽減できるのではないだろうか。このことから診療所が患者にとってのゲートキーパー的役割を担っているとわかった。

## ② PM0:00～

午後は訪問診療に同行見学させていただいた。その際、武田先生が補足してくださったのだが往診は患者の要請に応じて診療することで、訪問診療は定期的な診療という概念的違いがあるそうだ。今回は後者の方で、4件の訪問診療を行った。円背や認知症、泌尿器症状、末期がんと多岐にわたっていたがその中でも 94 歳女性の認知症患者が印象的だった。当初、訪問時、私はその方の症状を知らずに見学していたところ、見た目も元気で受け答えもはっきりしていたので老化に伴う運動障害程度に思っていたのだが、後で認知症と知り非常に驚いた。武田先生曰く診療時には患者は気丈にふるまうので注意が必要らしく、確かに看護師の方は別行動で家族に普段の様子などを確認していた。この事実を知らないと、悪化している症状も緩やかに低下しているという風に見落とされてしまうので大切なことだと思った。

## ③ PM7:00～9:00

最後に武田先生のご厚意で奈良医大にて行われた「第 29 回日本プライマリ・ケア連合学会近畿地方会第 3 回実行委員会」の様子を一部見学させていただいた。この会合では第 29 回日本プライマリ・ケア連合学会近畿地方会におけるプログラムの構成・企画についてが主であり、プログラム案を見ながらワールドカフェ形式で具体化する作業を行っていた。その際に出てきたテーマとして、各メディカルスタッフがそれぞれ異なる意見を持つようなカテゴリーとは何か、が議題になった。際、教育、災害、ライフステージなどのカテゴリーが上がり前日に行った WS が昇華したような印象を受けた。学生や社会人を問わずやはり WS やワールドカフェ方式で議論するというのはコミュニケーションにおける手段として有効であるのだろう。テーマのカテゴリー化は学生生活においても応用できるものと感じた。

武田先生は午前外来、午後には訪問診療と介護認定審査会、プライマリ・ケア連合学会と活動範囲が非常に広いアクティブな方であった。大学病院の総合診療医とは違うライフスタイルであるが、交わる部分も多いのではと思った。

## まとめ

この 2 日を通じて奈良医大総診もしかり、明日香村診療所もしかり県全体で分け隔てなくプライマリケアという共通目標を達成させるべく行動する勢いに圧倒された。残念ながら横浜市立大学はその雰囲気醸成されておらず総合診療科を発足して 1 年に満たない。総合診療、家庭医療を磨くためには将来大学を飛び出すべきか、それとも残ってやるべきか非常に悩ましい。一方、部内ミーティングで出た意見として、総合診療科の患者には複

数の疾患が集まっている事例も多くどこから手を付ければよいか難しいケースがある。また専門科から領域外と判断されてたらい回しとなるケースもあり、どちらで取り扱うべきかという明確な線引きが必要であるという意見が出て、未だ課題があるように感じた。将来自分は奈良医総診のように、専門科とも対等に渡り合える総合診療医になりたいと思っている。そのためには大局的な視点に立たなければならないので医療保険制度や看護師、栄養士、理学療法士などのメディカルスタッフについて、多職種連携について勉強していきたい。また総合診療医も複数の専門医資格を経るのか、家庭医を経るのかによっても違ってくるのでそのライフキャリアについても調べていきたい。

[目次に戻る](#)

< 学生自主的 [目次](#) 研究助成報告書 >

## We × Medicine 地域医療班 奈良研修振り返りシート

氏名：山田 祐揮

学年：3

### ①奈良研修を終えての全体の感想

日頃外のフィールドでお世話になっている先生方の「いつもの」臨床現場にお邪魔して直接学ぶことができ、貴重な経験でした。地域に密着する家庭医である朝倉先生、家庭医療・地域医療と病院総合診療の双方の経験を持つ吉本先生の双方の日常診療を短期間に一度に目の当たりにすることができ、“generalist”の何たるかを考える貴重な時間でした。

### ②印象に残った患者さんやケースとその振り返り

70 才女性、脊髄損傷の旦那さんを介護している。胃痛で受診、ただし主その他にも継続的な不眠や食欲や飲酒の亢進あり、生物医学的側面のみならず心理社会面も含めた包括的なフォローが必要とされる、家庭医の専門性が実臨床で活かされるケースであった。当日は主に食欲、睡眠の評価や胃痛に対する解釈モデルを聴取した。胃痛に関しては、コーヒーやお酒の飲み過ぎが原因ではないかと解釈されており、ついつい飲み過ぎてしまう自分に対して自責の念があったようだが、朝倉先生はそうした思いを傾聴したうえで「でも、そういうリラックスも大事ですよ」とアドバイスをされていた。

### ③今回の実習で得たこと

家庭医療の現場においての、実際のケースに即しての家庭医療学の学びはもちろんのこと、初診の 92 才の女性に対する長谷川式簡易認知症スケールの評価現場に立ち会うことができ、またフィードバックの中で、臨床医として降圧薬の中でも ACE 阻害薬と ARB の使い分けと期待する効果の違いを教えて頂き、これまで学んできた薬理学と実臨床における考え方のつながりを実感することができた。

### ④今回の実習を終えて、これからどのように行動したいか

3 年生となり、臨床科目の授業が開始された。低学年で家庭医療の現場に触れていた時は、自分の目指す医師像も関係して、心理社会的側面に注目していた部分が非常に強かったが、これからは生物医学的側面もバランスよく注目し、「医師としてのリアリティ」を持って実際のケースにあたり、そのうえで心理社会面も考えつつ治療方針や言葉がけを考えるという学びの方向性を意識していきたい。

<学生自主的研究助成報告書 >

和歌山県疫学実習

繁田奈央子

島根大学公衆衛生学教授の神田秀行先生の指導のもと、疫学の教科書「Epidemiology an Introduction」の理解を深め、研究モデルの設定の仕方について学んだ。

1、まず、教科書の理解について今回重点的に理解した部分を述べる。

4章の疾病発生と因果効果における生命表に関して、Effective number at risk の求め方を理解した。自動車事故でなくなるリスクを例に考えた。Effective number at risk は at risk から、(Lost to follow up or died of other causes ÷ 2) を減じることで求められる。それは自動車事故でなくなるリスクを考えるとときに期間内に追うことができなくなった人々を利便上半分の時期に亡くなったと仮定して計算するためである。

7章のバイアスを扱う章では症例対象研究におけるマッチングについてディスカッションを行った。例として、暴露によって病気のリスクは10倍、男は女よりリスク5倍になるケースを扱った。このケースではさらに男の90%が暴露、女の10%が暴露している男女それぞれ100,000人いる集団を母集団とした。まず、コホート研究におけるマッチングについて理解を共有した。この場合、暴露、非暴露群の男の割合が違ふことは交絡因子になる。よってコホート研究ではマッチングによってこの交絡因子を防ぐことができた。次に症例対象研究におけるマッチングについてディスカッションを行った。コホート研究では暴露ありと暴露なしの群に分け、それらを追って疾病を発症するかを調査するが、症例対象研究では疾病がある群とない群に分け、それらを遡って暴露、非暴露の割合を調査する。この例の場合、トータル4740症例に合わせてコントロール群を4740例用意する。男性の数、女性の数も症例群とコントロール群で合わせる。暴露の割合も母集団に合わせて、男の90%、女の10%が暴露しているとする。ここからオッズ比を用いてRRを求めると10のはずが5になってしまう。その理由について考察した。症例対象研究においてマッチングを使うときには対象群は暴露に独立に選ばなければならない。また、この場合男女に分けて層化することで、男女それぞれのRRは10と正しく求めることができる。

2、次に研究デザインについて学んだことを述べる。

睡眠とアディポネクチンの関係を例に説明していただいた。研究の発端となるリサーチクエスチョンと研究計画の大切さを理解した。リサーチクエスチョンから始まり、アディポネクチンと関係しそうな因子を羅列し、TテストやX<sup>2</sup>乗検定を行い、実際に関係する因子を抽出するというプロセスを理解した。またそのあとの多変量回帰分析についても理解した。その中にロジスティックモデルと線形回帰があることを知り、双方の使いかた、利点欠点についても理解した。結果が出たあとのオッズ比の求め方や数値をもとにどのように考察を進めていけばいいのかについても指導していただいた。

[目次に戻る](#)

<学生自主的研究助成報告書 >

和歌山県神田先生疫学勉強会実習

大東杏

目的：4月～7月にカナダのカルガリー大学で疫学研究をリサーチクラークシップとして行うにあたり必要な基礎知識についての理解を深めるため、前横浜市立大学社会予防医学教室講師である神田先生に教えてもらい準備を整えるため。今回は神田先生が和歌山に学会に来ていたとのことで和歌山での勉強会となった。

日程：2015年3月26日、27日

実習内容：

教科書（epidemiology an introduction）についてわからなかったところの内容についてわかるようになったところを載せる。

#### 5. Type of Epidemiologic Studies

- P87～症例対照研究について

症例対照研究には、Density Case-control Studies と Cumulative Case-control Studies と Case-Cohort Studies の三種類があるとされているがいまいちその違いがわかりません。また母集団、対照群、標本についてちゃんと理解できておらず、オッズ比を導く方法についても理解できていません。

症例対照研究について教えていただきたいです。

→症例対照研究とコホート研究について詳しく教えてもらった。コホート研究は要因が先で、症例対照研究は疾患が先という考え方をするとよい。つまりコホート研究は、要因の暴露があり、その曝露によりある期間内に病気を発病するかにより、因果関係を調べる。一方症例対照研究では疾患がある人に対して様々な因果関係となりうるものの頻度を調べるものである。この違いがはっきりとはしていなかったなので、ちゃんと理解できてよかった。

#### 12. Using Regression Models in epidemiologic Analysis

- P221

多変量解析の具体的な利用方法、層化分析との併用などについて教えていただきたいです。

実際の院生の実験内容について具体的に説明してもらいながら教えてもらった。

多変量解析の主要な強みの一つは、いくつかの交絡変数を同時に扱えるという簡便さである。多変量モデルにおいて、複数の変数をモデルに含めることで、それぞれの項が他項に交絡されていない状態をつくれる。

それぞれ三つのカテゴリーを持つ5つの交絡変数を取り扱う分析を行っているとする。層化分析を行う場合。最初の変数に対して3つの層が必要であり…。これだと $3 \times 3 \times 3 \times 3 \times 3 = 243$ の層が必要となる。このように層の数が多いと各層に含まれる対象数が少なすぎて有用な推定値を得ることができない。多変量解析はもっと効果的な方法でこの問題を解決することができる。しかし、多変量解析から得られた結果は層化分析よりもバイアスに弱い。

Figure12-4で仮想的なデータを考える。このデータでは暴露群と非暴露群で年齢分布に重なりがない。年齢の制御を層化分析で試みると、このデータには何も情報はないという結果になる。(どの年齢区分でも重なりが全くないから)

多変量回帰分析では、データの全範囲にわたって二つの平行な直線に適合する。曝露と非曝露の結果の差は曝露の回帰係数に等しくこれが曝露の効果を示したものである。

重複していないデータの集まりからも統計的に安定した値がもたらされてしまう。

もし年齢と結果の関係が12-5のようだったら？結果に対する曝露因子の作用は存在しない。よってFigure12-4は誤りである。(観測地を超えた不適切な外挿を行ったことによるバイアス。

何か間違っただけをいうよりは何も言わない方がまし！

層化分析では、読者と研究者の両方がその研究のキーとなる変数ごとにデータの分布を知ることができる。多変量回帰分析は層化分析の補佐として使われるべき！

データの分布をみてデータを分析する前に、多変量モデリングに飛びつくのは間違いである。

夜には福島県立医科大学の福島先生とお話をし疫学研究の醍醐味について教えていただいた。神田先生との二日間は非常に有意義なものであった。

[目次に戻る](#)

< 学生自主的研究助成報告書 >

## 和歌山疫学実習

茂木悠平

### 1. 目的

疫学の権威の先生を訪ねて疫学の勉強会や我々の日頃の勉強の疑問点を聞くことで研究の流れやその方法など疫学に対する理解を深めること、また先生自身の経験を聞くことで疫学研究の現状を把握すること。

### 2. 日程、場所

2014/3/26～2014/3/27 で和歌山駅近郊の喫茶店を使っておこなった。

### 3. 方法

基本的には参考書「Epidemiology An Introduction」を用いて行い、自分たちで予習した中での不明点をお聞きして先生に答えていただくという形をとった。時折日本の医療制度の特徴や疫学研究の流れなど未知だが興味があることについてもお聞きした。

### 4. 人数

自分を含めた、疫学研究を将来行う予定の横浜市立大学医学部医学科3年生3人

### 5. 感想

普段から疫学について勉強していた僕たちにとって実際の疫学の先生のお話を聞く今回のことはとても実りあるものであった。

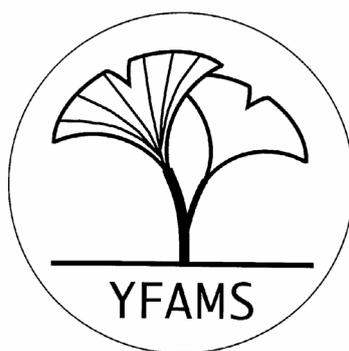
なぜなら、まず実際の疫学研究の話を書くことで参考書の内容をより深く印象付けることができたからだ。例えば重回帰分析や層化の概念、両者の違いおよび使用する局面は教科書を読んでいただけではわからないし、先生の解説があったからこそ教科書での文字面以上の深みを持って理解をすることができた。教科書上の理解不明点は一通り解決したので、そのうえでもう一度教科書を読みこんで更なる気づきを得ようと思う。

そして、疫学研究のやり方を教えていただいたことでおおまかな研究のイメージを把握できたことも大きな学びであった。

はじめに研究の出発点としての research question を考えること、そしてあらかじめ研究計画を立ててそれに従ってデータを集計、要約、そして記述疫学、分析疫学、介入研究を通して仮説を証明していく流れが一連の流れである。Research question は研究の規模、研究の対象、誰も今まで触れていないことに着眼して吟味することが大事だと仰っていたことはとても印象的であった。先行研究には無いからこそ研究して論文を出す意味があるのだと思った。先生自身が行われたスポーツ年鑑を用いた疫学研究の例を示して簡単なデータを用いるのが大事だとも仰っていた。自分たちはまだ大規模な研究はできないことから、そういったインターネットやスポーツ年鑑など誰でも手に入る情報を駆使した研究デザインを考え出すのが重要だと気づき、学生だからと極端に研究の幅が狭まることはないのだと思った。

この実習を通じて疫学についての見地が深まったし、それ以上に疫学研究というものの面白さ、ユニークさに触れられてこの後に控えている研究がとても待ち遠しくなってきた。

この経験を糧に実りある研究活動をしていきたいと思う。



平成26年度財団助成  
研究等報告書抄録集  
(学生自主の研究助成報告書掲載)

発 行

平成27年11月

一般財団法人横浜総合医学振興財団

横浜市金沢区福浦3丁目9番地

電 話 045-788-8635

F a x 045-788-8640