

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・学術講演会助成報告書掲載

財団助成
平成28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28年度研究等報告書抄録集並びに学生自主的活動助成・学術講演会助成報告書を刊行いたしました。

平成28年度から新規事業として「三杉記念医学教育研究基金」による学術講演会助成を実施いたしました。これらの助成事業の成果をより広く周知するため、今回刊行した内容のほか、研究等報告書の全文を財団ホームページに掲載しております。

以下、具体的な事業の概要を記しますが、「研究等助成事業」では、

- ① 推進研究助成は、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28年度助成実績 9件（助成金 計900万円）

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、平成27年度及び28年度に継続助成が終了した研究について29年度に審査し、10月に第7回授与式を行いました。

- 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28年度助成実績 12件（助成金 計 600万円）

- 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28年度助成実績 2件（助成金 計 40万円）

- 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28年度助成実績 4件（助成金 計 200万円）

- 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28年度助成実績 2件（助成金 計 123万円）

次に、「横浜市大教育等助成事業」では、

- ⑥ 学生自主的活動助成 10件（助成金 計 89.8万円）
- ⑦ 学術講演会助成 5件（助成金 計 20万円）

以上のとおり平成28年度に研究助成及び横浜市大教育等助成の2事業を行いました。29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29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 第7回 梅原賞受賞

動脈硬化症における炎症の永続性をもたらす自己抗体を介する自己免疫基盤の解明と
診療への応用

[石上友章](#)1

II 推進研究助成

第12グループ(平成26年度～28年度継続助成終了)

ユビキチン化修飾系を治療標的とする膠原病の新規治療法の探索

[吉見竜介](#)7

単球分化における、ゲノム3次元構造を介した斬新な遺伝子発現制御機構の発見と解明

[西山晃](#)15

カルシウム輸送蛋白PMCA1による腎保護効果の検討

[涌井広道](#)19

III わかば研究助成

腸上皮化生からの胃発癌における胃幹細胞での腸特異的ホメオボックス遺伝子ISXの
役割の解明

[須江聡一郎](#)30

放射線治療後の口腔癌の再発制御を目的とした抗PD-1/PD-L1抗体薬の応用法の開発

[大久保牧子](#)35

生活習慣病における白血球ATRAPの病態生理学的意義についての検討

[春原浩太郎](#)39

5型アデニル酸シクラーゼ(AC5)及びEpac1を標的とした、安全で有用な心疾患治療薬の
開発

[蔡文倩](#)43

マイクロ流体システムを用いた次世代型 in vitro 精子形成システムの開発とその応用 <u>山 中 弘 行</u>	47
神経回路形成因子 LOTUS の可溶性タンパクが有する生理作用の解析 <u>川 上 裕</u>	51
組織型プラスミノゲン活性化因子に着目した動脈管閉鎖のメカニズムの解明 <u>齋 藤 純 一</u>	55
アルツハイマー病発症におけるセマフォリン 3A の役割 <u>實 木 葵</u>	60
漢方薬を用いた慢性腎臓病の新規治療戦略の開発 <u>畠 田 一 司</u>	64
電位依存性カルシウムチャネル関連疾患の分子病態基盤の解明 <u>國 井 美 紗 子</u>	68
次世代シーケンサーを用いた胃がん変異遺伝子の網羅的解析と新規マウスモデルの構築 <u>杉 森 慎</u>	72
内因性 Nogo 受容体阻害因子 LOTUS による神経再生の研究 <u>上 野 龍</u>	77
(わかば研究助成 平成 27 年度) 分子標的治療に向けた中枢神経系原発悪性リンパ腫における NF- κ B 経路に関わる CD79B/MYD88 遺伝子変異解析 <u>中 村 大 志</u>	80

IV 医療技術研究助成

手術部位感染対策の強化にむけた取り組み

中 村 加 奈 (研究途中のため報告書提出は 30 年度予定)

骨髄増殖性疾患患者におけるJAK2V617F 遺伝子変異および CALR 遺伝子変異の測定方法の比較

廣瀬 春香86

V 医学・医療関連事業助成

横浜市在住高齢者の入浴関連事故発生動向に関する実態調査

垣内 康宏90

神奈川リンパ浮腫診療ネットワークの構築

矢吹 雄一郎94

医学部共用試験の重要性啓蒙のための e-learning 素材の開発

稲森 正彦98

OneNote を用いた医学教育における能動的学習の推進

飯田 洋102

VI 指定寄附研究助成

(平成 27 年度 心臓疾患助成)

心臓弁膜症に対する外科治療戦略 — 人工弁置換術後の遠隔成績 —

郷田 素彦106

(平成 27 年度 胆のうがん研究助成)

胆嚢癌の診断における体外式造影超音波検査の有用性を検討する前向きコホート研究

三輪 治生110

(心臓疾患研究助成)

生体弁置換後の心房細動に対する新規経口抗凝固薬 (DOAC) 使用多施設前向き介入研究

安田 章 沢 (長期留学のため助成中止)

(腎臓内科学関係)

糖尿病性腎症患者の透析導入までの保存期の期間と自己管理に影響する要因

竹山 志津子 (研究途中のため報告書提出は 30 年度予定)

VII 学生自主的活動助成

Medical English Society 活動

大島美音	115
大桃すみれ	116
石渡麻衣	117
大貝明日香	118
鈴木崇文	119
赤木雄	120
深沢聖	122
繁田奈央子	123
茂木悠平	124
中村創	125
田邊桃佳	126

第28回学生・研修医のための家庭医療学夏期セミナー

山田祐揮	127
相澤広太郎	129
田邊桃佳	131
深沢聖	133
茂木悠平	135

日本病理学会中部支部 第10回 病理夏の学校 in Gifu 2016

松元加奈	137
----------------------	-----

鹿児島県立大島病院での研修

田邊桃佳	140
----------------------	-----

Orthopaedic Research Society (ORS) ; San Diego 学会におけるポスター発表

メルリーニ マックアンドウルー	144
---------------------------------	-----

Orthopaedic Research Society San Diego におけるポスター発表

「Effect of Platelet Derived Growth Factor on peritenon derived stem/progenitor cells」

河野寛人	146
----------------------	-----

mHealth 及び Public Health に関する議論と学習 Behavioral Economics の事業への参加
(活動名は申請時のもの)

[高 彬 良](#)152

第 122 回日本解剖学会総会での学会発表

[長谷川 広 大](#)157

[加 藤 伸 忠](#)159

[張 田 佳 代](#)162

[渡 辺 武 俊](#)165

インドの病院でのボランティア活動及び病院見学

[茂 木 悠 平](#)168

アーナンダ病院 ボランティア研修

[東 莞 爾](#)172

VIII 学術講演会助成

第 5 回神奈川県婦人科臨床病理研究会 講演会

[古 屋 充 子](#)176

第 13 回日本高齢者虐待防止学会 横浜大会

[田 辺 有 里 子](#)177

第 6 回メディカルゲノム勉強会

[宮 武 聡 子](#)181

第 23 回法医病理研究会 法医病理夏期セミナー

[井 濱 容 子](#)182

がん遺伝子検査キックオフミーティング

[加 藤 真 吾](#)184

<第7回梅原賞受賞>

動脈硬化症における炎症の永続性をもたらす
自己抗体を介する自己免疫基盤の解明と診療への応用

石上友章

共同研究者

陳琳・中島理恵・木野旅人・峯岸慎太郎・土肥正志・杉山美智子

横浜市立大学医学部 循環器・腎臓・高血圧内科学

抄録

動脈硬化症は、生活習慣病の終末像であるが、脂質・血圧・血糖のコントロールだけでは制圧することができず、残余リスク(Residual Risk)と言われている。これまでの研究から、動脈硬化症のヒトの血清中には、複数の自己成分に対する抗体(自己抗体)が存在することが明らかになった。(Ishigami T, et al. 2013, 米国特許 US 9,310,380 B2、日本特許特許第 5904553 号) 動脈硬化症の残余リスクは、全身性・局所性の炎症と考えられているが、我々の研究から、動脈硬化症における炎症の永続性をもたらしている生物学的基盤として、自己抗体の産生を伴う自己免疫現象が存在すると考えられた。本研究では、ApoE ノックアウトマウスを対象にした実験を行い、新たに腸内共生微生物による、脾臓由来の B 細胞サブセットの動脈周囲脂肪組織における異所性の活性化が認められることが明らかになった。抗生物質カクテルの投与および、B 細胞の表面抗原に対する抗体製剤の投与により、血清 IgG/IgG3 は低下し、血清脂質の変化を伴わずに動脈硬化症が抑制されることを明らかにした。動脈硬化症の抑制効果は、高脂質食を投与された ApoE ノックアウトマウスで認められたが、背景種である C57BL6/J マウスに高脂質食を投与した系では認められなかった。腸内共生微生物による、B 細胞の活性化は、動脈硬化症の炎症の永続性をもたらす生物学的基盤であると考えられる。腸内細菌の除菌および、B 細胞を標的にした抗体製剤は、この病態を制御することで、動脈硬化症の制圧を可能にする。生活習慣病の治療標的である、脂質、血圧、血糖のコントロールだけでは、動脈硬化症は十分にはコントロールすることができないことから、残余リスク(Residual Risk)に対する治療の必要性が求められている。腸内細菌および、B 細胞は、動脈硬化症診療における、脂質、血圧、血糖にかわる、新規の治療標的であり、未知の残余リスクであると考えられる。今後は腸内細菌・B 細胞を標的にした治療によって、動脈硬化症を根本的に制圧することが可能になると考えられた。

☆本研究は、下記のように本学よりプレスリリースされました。(別途添付しました)

<http://www.yokohama-cu.ac.jp/en/20161020-ishigami-gut-microbes-and-immune-system-associated-with-arteriosclerosis/>

http://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/res/ishigami_20161020.html

☆本研究の成果は、国内特許申請中で、JST 指定国移行支援にも申請中です。

<第7回梅原賞受賞>

動脈硬化症における炎症の永続性をもたらす
自己抗体を介する自己免疫基盤の解明と診療への応用

石上友章

共同研究者

陳琳・中島理恵・木野旅人・峯岸慎太郎・土肥正志・杉山美智子

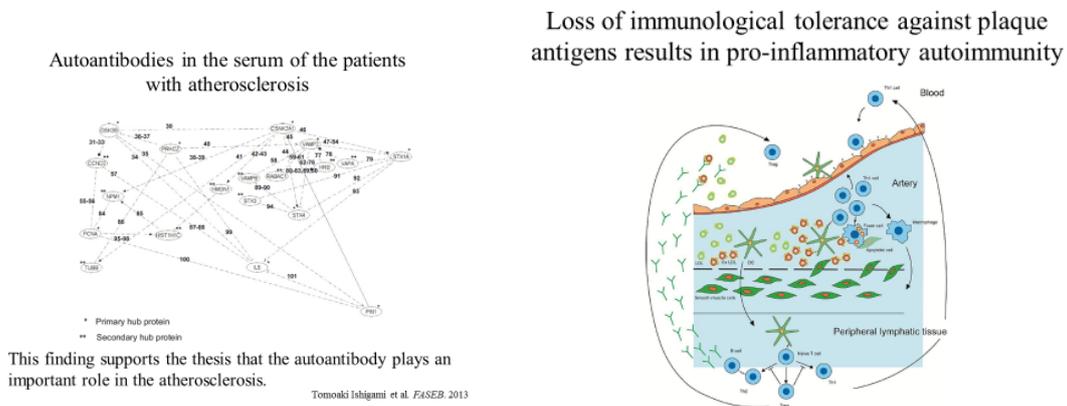
横浜市立大学医学部 循環器・腎臓・高血圧内科学

1, 目的

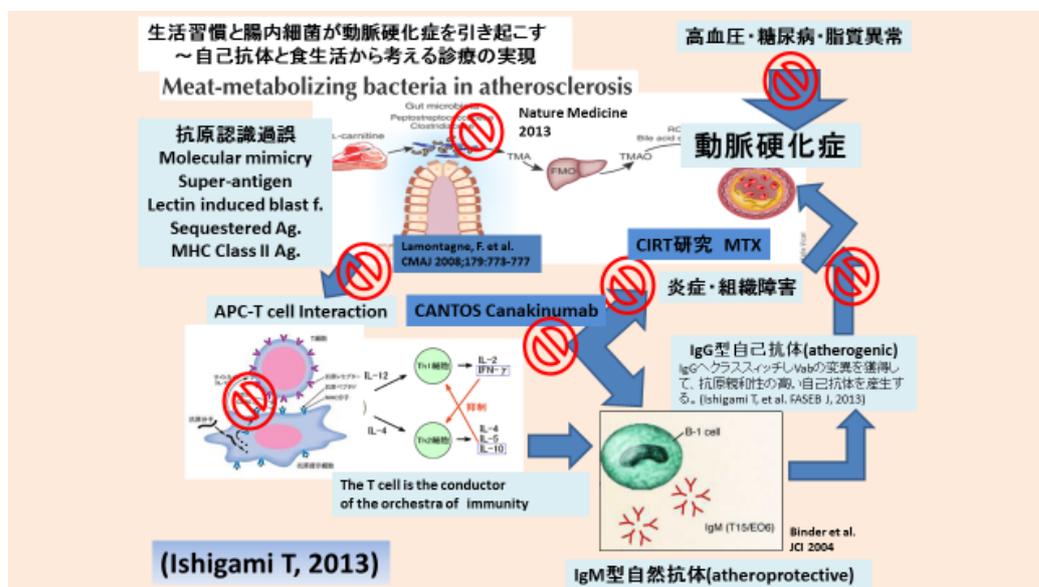
- ・動脈硬化症は、生活習慣病の終末像であり、無症候性に進行する。
- ・動脈硬化症によって、虚血性心疾患、虚血性脳卒中が発症し、健康長寿に影響する。
- ・動脈硬化症は、全身・局所性の炎症性疾患と考えられているが、その成因は不明だった。
- ・臨床的に、炎症についての治療法が皆無で、残余リスクといわれる課題となっている。
- ・先行する研究で、本症に複数の自己抗原に対する自己抗体が関与することが分かった。
- ・本研究では、実験動物を対象にした実験で、その生物学的基盤を追究し、明らかにした。

動脈硬化症は、生活習慣病の終末像で、無症候性に進行し、ひとたび発症すると生活の質を著しく損なうばかりでなく、致死性である。動脈硬化症の成因には、脂質異常、糖代謝異常、血圧の亢進とともに局所性、**全身性の炎症**が深い関わりを持っていることが明らかになり、本症の制圧には炎症に対する理解が必須である。これまでに炎症の永続性をもたらしている病態生理については、活性酸素種(Reactive Oxygen Species)や、レニンアンジオテンシン(RA)系の最終産物であるアンジオテンシン II が関与しているとされていた。しかし、そのいずれも生体ネットワークがもたらす帰結(consequence)の一つではあるが、動脈硬化症をもたらしている生物学的基盤であるとはまでは言えない。したがって RA 系の抑制による心血管イベントの制圧には限界があり、活性酸素種を除去するといわれている抗酸化剤(Vitamin E など)の薬効についても否定的な結果に終わっている。研究代表者はこれまでに、動脈硬化症の炎症の永続性をもたらしている生物学的基盤を明らかにする目的で、冠状動脈硬化症・閉塞性動脈硬化症患者の血清を対象に、約 2000 種類のタンパク質に対する自己抗体を解析し、本症に複数の自己タンパクに対する自己抗体が関与することを明らかにした。この複数のタンパク質の中から、Th2 サイトカインである IL5 に着目して、さらなる解析を行ったところ、抗 IL5 抗体価は、血清に存在する IL5 の分泌型に対する抗体価が、有意に高値を示すことが明らかになった。閉塞性動脈硬化症患者 90 名、冠状動脈硬化症患者 20 名、および年齢をマッチさせた健常成人 80 名に対して、抗分泌型 IL5 抗体価を測定し比較したところ、統計学的有意差をもって、動脈硬化症患者血清中の抗体価が高値を示した。さらに、多変量回帰分析の結果、抗分泌型 IL5 抗体価は、血清 IL5 濃度と逆相関しており、患者血中の自己抗体が、IL5 の働きを抑制している可能性が示唆された。

(Ishigami T et al. FASEB J, 2013、米国特許 US 9, 310, 380 B2、2010年11月17日出願、2016年4月12日登録;日本特許 特許第5904553号、2010/11/17出願、2016/3/25登録)



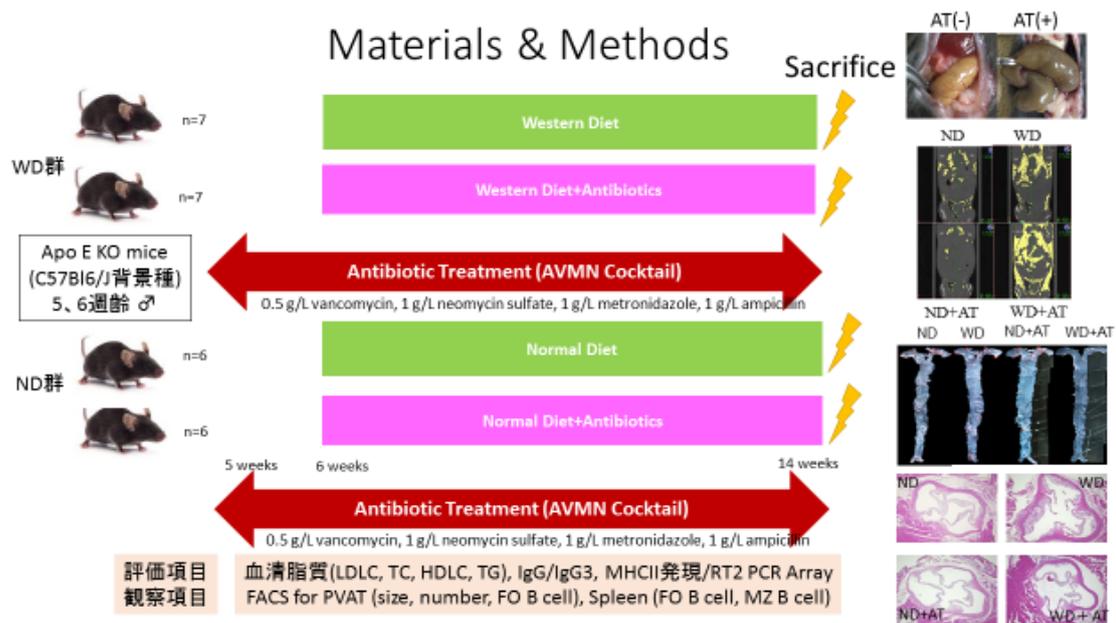
この結果から、**動脈硬化症における炎症の永続性をもたらしている本質に、自己抗体による自己免疫機序が関与する可能性が示された**。そこで、今回我々は、下図に示すような仮説をたてて、原則的に自己抗原は免疫寛容によって抗原化が回避されていることから、**molecular mimicry (分子模倣)** による自己タンパクの抗原化が、生活習慣によってもたらされる機序を、腸内細菌(commensal microbiota)由来の抗原が、自己の免疫系を異常に活性化する仕組みについて、実験動物を用いた本研究を計画した。



2、方法

遺伝子改変 ApoE ノックアウトマウスを A, B, 2 群にわけ、A 群は、抗生物質カクテル (AVNM)を、試験開始 1 週間前から投与を始めた。B 群とともに、western diet/normal diet を開始し 8 週間与えたあとに、sacrifice して大動脈、大動脈周囲脂肪(PVAT)、脾臓、血液

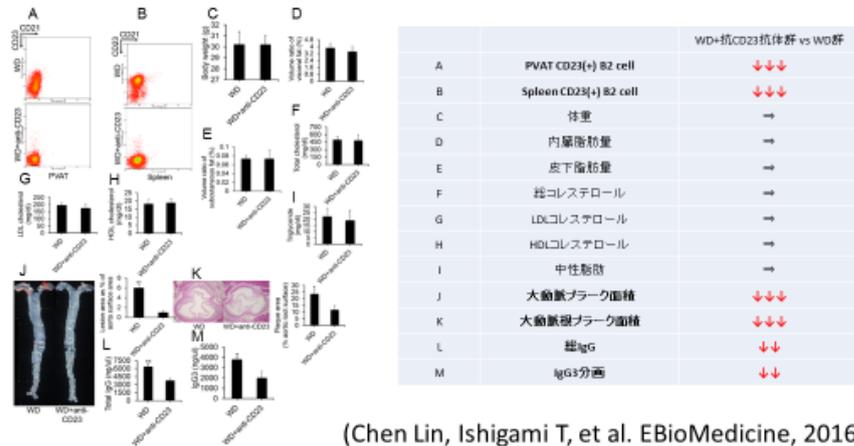
を採取し、それぞれ Oil Red O 染色によるプラーク面積の評価、細胞を分離して表面抗原に対する FACS 解析、血清脂質、IgG, IgG3、内臓脂肪容積の評価を行った。その結果、A 群+western diet 群で、B 群+western diet 群に比較して、有意な大動脈でのプラーク形成の抑制を認め、PVAT, 脾臓での B 細胞サブタイプの違いを明らかにした。次に異なる B 細胞サブタイプ間の遺伝子の発現プロファイルを、RT2-PCR Microarray (Qiagen) を使って解析した。さらに B2 細胞の表面抗原に対する抗体を投与し、動脈硬化症の発症の程度を比較検討した。方法の概略を、下図のように示す。



3、結果

本研究の結果、動脈硬化症における炎症の永続性をもたらす免疫異常として、新たに腸内共生微生物による、脾臓由来の B 細胞サブタイプの動脈周囲脂肪組織における異所性の活性化が認められることが明らかになった。抗生物質カクテルの投与および、B2 細胞の表面抗原に対する抗体製剤(抗 CD23 抗体)の投与により、血清 IgG/IgG3 は低下し、血清脂質の変化を伴わずに動脈硬化症が抑制されることを明らかにした。動脈硬化症の抑制効果は、高脂質食を投与された ApoE ノックアウトマウスで認められたが、背景種である C57BL6/J マウスに高脂質食を投与した系では認められなかった。

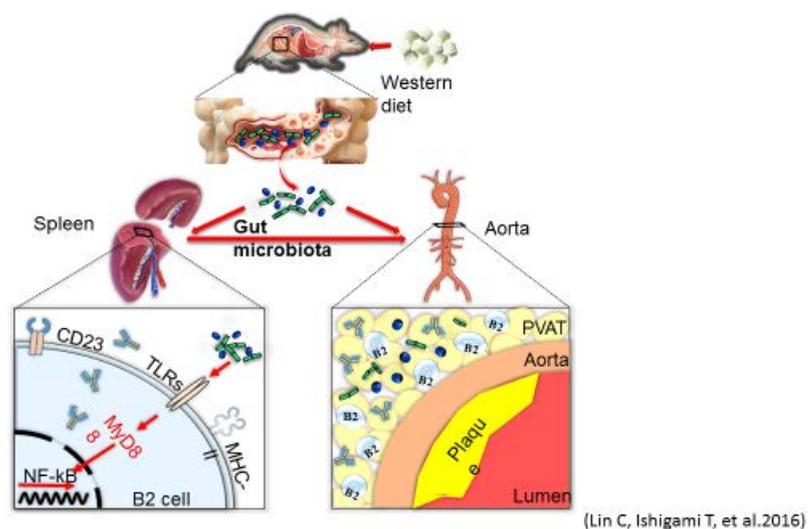
抗CD23抗体による、動脈硬化抑制作用



4、考察

高脂肪・高カロリー食摂取下における、腸内共生微生物による、B細胞サブタイプの活性化は、動脈硬化症の炎症の永続性をもたらす生物学的基盤であると考えられる。腸内細菌の除菌および、B細胞サブタイプを標的とした抗体製剤は、この病態を制御することで、動脈硬化症の制圧を可能にする。生活習慣病の治療標的である、脂質、血圧、血糖のコントロールだけでは、動脈硬化症は十分にはコントロールすることができないことから、残余リスク(Residual Risk)に対する治療の必要性が求められている。腸内細菌および、B細胞サブタイプは、動脈硬化症診療における、脂質、血圧、血糖にかわる、新規の治療標的であり、未知の残余リスクであると考えられる。今後は腸内細菌・B細胞サブタイプを標的とした治療によって、動脈硬化症を根本的に制圧することが可能になると考えられた。

図. 腸内細菌を介して、B細胞が活性化されることで、動脈硬化症が発症する。



5、論文及び学会発表（研究会を含む）

Commensal microbes-specific activation of B2 cell subsets contribute to atherosclerosis development independent of lipid metabolism

Lin Chen, Tomoaki Ishigami*(corresponding author), Rie Nakashima-Sasaki, Tabito Kino, Masashi Doi, Shintaro Minegishi, Satoshi Umemura, EBioMedicine, 2016
プレスリリース（横浜市立大学）

http://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/res/ishigami_20161020.html

<http://www.yokohama-cu.ac.jp/en/20161020-ishigami-gut-microbes-and-immune-system-associated-with-arteriosclerosis/>

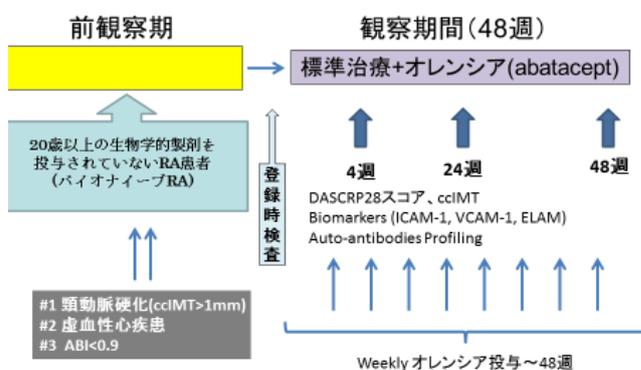
国内特許申請（Japanese Patent Application No. 2016-204783）

国際特許申請 JST 指定国移行申請

6、本研究の臨床研究への展開

本研究は、動脈硬化症における腸内細菌と B 細胞との役割を明らかにし、抗 CD23 抗体が本症の発症・進展を抑制する可能性を示すことができました。申請者は、本研究に先立ち、血中の自己抗体が、動脈硬化症の成因に関わっていることを明らかにしました。(Ishigami T et al. FASEB J, 2013、米国特許 US 9,310,380 B2、2010年11月17日出願、2016年4月12日登録;日本特許 特許第 5904553 号、2010/11/17 出願、2016/3/25 登録) 現在、生物学的製剤である Abatacept (CTLA4-Ig、オレンシア)の動脈硬化症に対する効果を、自己抗体を測定し検討する医師主導型臨床試験(ORACLE Arthritis 試験、UMIN000015217)を実施しております。本研究ならびに先行する研究は、基礎的な検討ですが、POC(proof of concept)となる ORACLE Arthritis 試験とあわせて、本格的な『動脈硬化症の成因としての自己免疫』説の検証ならびに、臨床応用をめざした展開を同時に行っております。ORACLE Arthritis 試験は、2016年2月に目標症例の登録を終了し、2017年2月に最終ビジットを迎えることが出来ました。今後は、データの解析、血清の解析をすすめ、研究成果として発表します。

研究デザイン(Single Arm 試験)



<推進研究助成>

ユビキチン化修飾系を治療標的とする膠原病の新規治療法の探索

吉見 竜介

共同研究者：上田敦久，塚原利典，神山玲光，岸本大河

横浜市立大学医学部 血液・免疫・感染症内科学

横浜市立大学医学部 呼吸器内科学

抄録：

近年，いくつかの膠原病疾患で I 型インターフェロン（IFN）誘導遺伝子群の発現の亢進が明らかにされているが，その機序はまだ不明である．本研究では，膠原病患者から採取した末梢血単核球を用いて I 型 IFN 産生における E3 ユビキチンリガーゼ TRIM 蛋白の役割を解析した．その結果，SLE 群では健常者群と比較して TRIM21 の発現が有意に亢進し，逆に TRIM27 の発現は有意に低下していた．健常者群では TRIM21 mRNA の発現量が I 型 IFN mRNA 発現量と逆相関するのに対し，SLE 群では相関を認めなかった．SLE 群では健常者群と比較して TRIM21 の基質である IRF3 や IRF5 のプロテアソームでの分解が抑制されていた．一方，TRIM27 の基質であり I 型 IFN の産生を促進する TANK-binding kinase (TBK) 1 蛋白の発現は健常者群と比較して SLE 群で亢進していた．以上から，TRIM21 の機能不全による IRF ファミリーの分解抑制と TRIM27 の発現低下による TBK1 の分解抑制が SLE における I 型 IFN 産生亢進に関与していることが示唆された．

<推進研究助成>

ユビキチン化修飾系を治療標的とする膠原病の新規治療法の探索

吉見 竜介

共同研究者：上田敦久，塚原利典，神山玲光，岸本大河

横浜市立大学医学部 血液・免疫・感染症内科学

横浜市立大学医学部 呼吸器内科学

目的：

全身性エリテマトーデス（SLE），多発性筋炎・皮膚筋炎（PM/DM）などの膠原病疾患の原因は自己免疫反応による炎症とされるが，発症機序は依然として不明である．近年，膠原病疾患のいくつかにおいて I 型インターフェロン（IFN）の刺激で誘導される遺伝子群の発現が亢進している“IFN signature”と呼ばれる現象が明らかにされているが，病態において何が IFN signature を誘導しているのかはまだ明らかではない．しかし，I 型 IFN を用いたウイルス性肝炎等の治療で自己抗体産生や自己免疫症状がみられることから，I 型 IFN の産生が病態形成上重要な役割を持つ可能性が高い．一方，免疫応答ではユビキチン修飾を介した蛋白質の分解や機能制御が重要な役割を担っており，中でも E3（ユビキチンリガーゼ）は特異的な基質の認識において重要である．SLE やシェーグレン症候群における自己抗原 TRIM21 を含む TRIM ファミリーは N 末端側に RING, B-Box, Coiled-coil の 3 ドメインを共通に有する蛋白質ファミリーである．我々はこれまでに TRIM21 が I 型 IFN の産生に重要な転写因子群である IFN regulatory factor（IRF）ファミリーをユビキチン化することを細胞レベルやノックアウトマウスを用いた実験で明らかにしてきた（1,2）．一般的に RING ドメインは E3 活性を有することが多いため，他の TRIM 蛋白も IRF ファミリーの発現量や機能の調節等によって I 型 IFN の産生を調節している可能性があるが，この点について調べた報告はなかった．そこで本研究では，膠原病患者検体を用いて I 型 IFN 産生における TRIM 蛋白の役割を解析し，ユビキチン修飾系の新たな治療ターゲットとしての可能性について検討した．

方法：

- 1) 健常人および SLE, PM/DM, 全身性強皮症（SSc）から血液を採取して末梢血単核球（PBMC）を分離し，TRIM ファミリーの発現プロファイルを定量 RT-PCR 法によって網羅的に調べた．
- 2) 健常者群と膠原病疾患群で発現に差がみられた TRIM 遺伝子について，定量 RT-PCR 法により I 型 IFN 遺伝子との関連性を検討した．
- 3) 健常者群と膠原病疾患群で発現に差がみられた TRIM 遺伝子に関して，その基質となる蛋白の発現量やユビキチン化の状態をウェスタンブロット法やユビキチン化試験により検討した．

結果:

1. 膠原病における TRIM ファミリーの発現

様々な膠原病において患者群と健常者群の PBMC における TRIM ファミリー遺伝子の発現を定量 RT-PCR 法を用いて比較した。その結果、患者群と健常者群で有意に発現量に差がある TRIM ファミリー遺伝子を同定した。SLE 群では健常者群と比較して TRIM21, TRIM39 の発現が有意に亢進している一方、TRIM27 の発現は有意に低下していた。PM/DM 群では健常者群と比較して TRIM21, TRIM39 の発現がいずれも有意に低下していた。SSc 群では健常者群と比較して TRIM21, TRIM27, TRIM38, TRIM39 の発現がいずれも有意に低下していた。

2. SLE における TRIM21 の役割

上述 1.において SLE 患者の PBMC における TRIM21 mRNA の発現量が健常者群と比較して有意に発現量が高かったことから、SLE 病態における I 型 IFN 産生の亢進に TRIM21 が関与していることが予想された。そこでまず、ウェスタンブロット法により TRIM21 蛋白の発現量を SLE 群と健常者群で比較し、蛋白レベルでも SLE 群で有意に発現量が高いことを確認した。

次に、SLE 患者における I 型 IFN の発現亢進について確認するために、I 型 IFN によって誘導される *MxA*, *IFI27*, *IFI44*, *SIGLEC1* の mRNA の PBMC における発現を健常者と比較した。その結果、いずれの遺伝子の mRNA においても健常者と比較して SLE 患者では有意に高い発現を示した。このことは SLE 患者において血中の I 型 IFN の濃度が高いことを示している。一方、I 型 IFN である IFN- α , IFN- β の mRNA 発現量は両群間において差はみられなかった。

I 型 IFN の発現には転写因子である IRF ファミリーが関与することが知られている。そこで、RT-PCR 法により SLE 患者の PBMC における各 IRF ファミリー遺伝子の mRNA の発現量を健常者の PBMC と比較した。その結果、I 型 IFN 誘導遺伝子である IRF7 については SLE 患者で有意に高値であったが、IRF3, IRF5, IRF8 については両群間で有意な差を認めなかった。

これまでに TRIM21 が IRF ファミリーのユビキチン化を介して I 型 IFN の発現を制御している可能性が細胞レベルやノックアウトマウスを用いた研究によって示唆されている(3-5)。そこで、まず TRIM21 と I 型 IFN の mRNA 発現量の関連を解析した。その結果、健常者群においては TRIM21 mRNA の発現量は IFN- α あるいは IFN- β の mRNA 発現量と逆相関することが分かった(図 1)。これに対して、SLE 群では健常者群でみられた逆相関を認めなかった。さらに、SLE 群を血清抗 TRIM21 抗体の陽性群と陰性群で分けて TRIM21 と I 型 IFN の mRNA 量の関連を検討した。その結果、抗体陰性群では TRIM21 と I 型 IFN の mRNA 発現量の間に関連はみられなかったが、抗体陽性群では TRIM21 mRNA の発現量は IFN- α あるいは IFN- β の mRNA 発現量と正の相関を示した。

TRIM21 と I 型 IFN の mRNA 量の関連における SLE 群と健常者群での相違は、TRIM21 の IRF ファミリーに対する E3 ユビキチンリガーゼ活性の違いに起因する可能性が考えられた。そこで、プロテアソーム阻害薬である MG-132 を用いてユビキチン化試験を行い、IRF ファミリー蛋白のユビキチン化の程度を健常者群と SLE 群で比較した。その結果、健常者群では MG-132 を加えて PBMC を培養した場合、MG-132 を加えない場合と比較して

IRF3, IRF5 の発現量が増加した. このことは健常者群では IRF3, IRF5 が恒常的にユビキチン化されプロテアソーム依存性に分解されていることを意味する. 一方, SLE 群では MG-132 の加えないときと加えた時で発現量に差がなかった (図 2).

以上から, TRIM21 の機能不全が SLE における I 型 IFN 産生亢進に関与している可能性が示唆された.

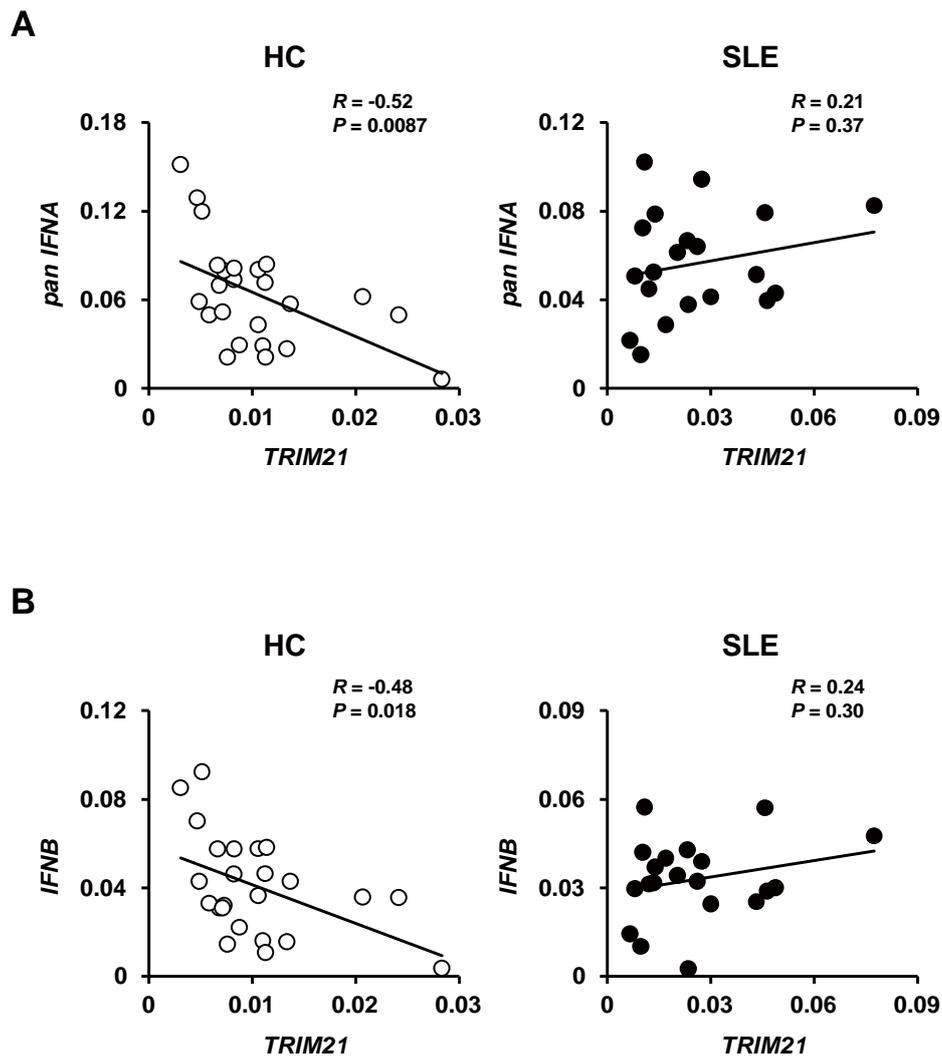


図 1 健常者 (HC) 群および SLE 群における TRIM21 と I 型 IFN の間の mRNA 発現量の関連性

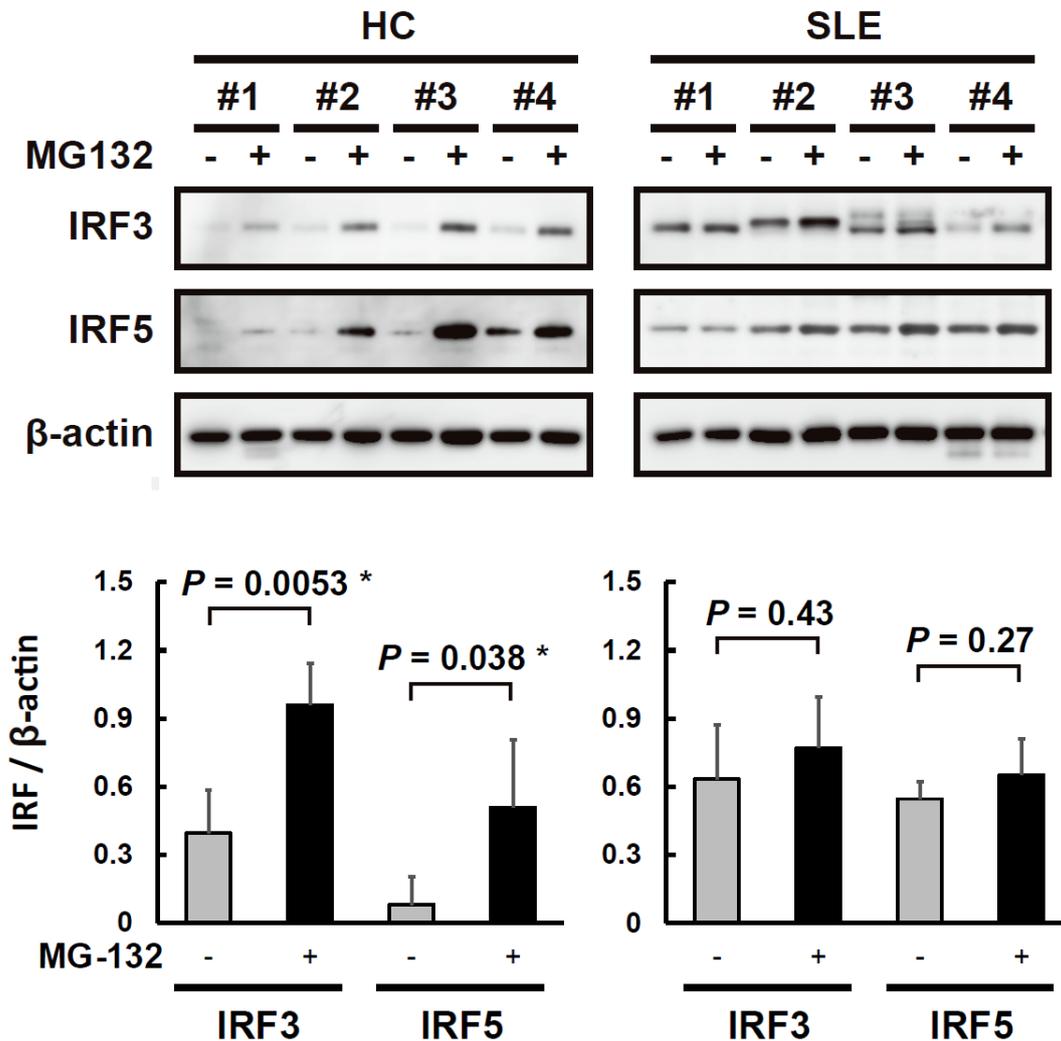


図2 健常者 (HC) 群および SLE 群における IRF ファミリーのユビキチン化の程度と比較

3. SLE における TRIM27 の役割

TRIM27 は TANK-binding kinase (TBK) 1 をユビキチン化する作用を持ち、ユビキチン化された TBK1 はプロテアソームで分解される(6)。TBK1 は IRF3 や IRF7 をリン酸化して活性化する作用を有するため、TRIM27 は TBK1 の翻訳後発現調節によって I 型 IFN の発現を制御する。上述 1. のように SLE 群では健常者群と比較して TRIM27 の発現が低下していたことから、SLE 群にて TBK1 蛋白の発現が健常者群と比較して亢進していることが予想された。両群から採取した PBMC を用いてウェスタンブロット法を行ったところ、

SLE 群では TBK1 蛋白の発現量が健常者群と比較して有意に高かった (図 3). このことから, SLE でみられる I 型 IFN の過剰産生には TRIM27 の発現低下とそれに伴う TBK1 の分解抑制が関与していることが示唆された.

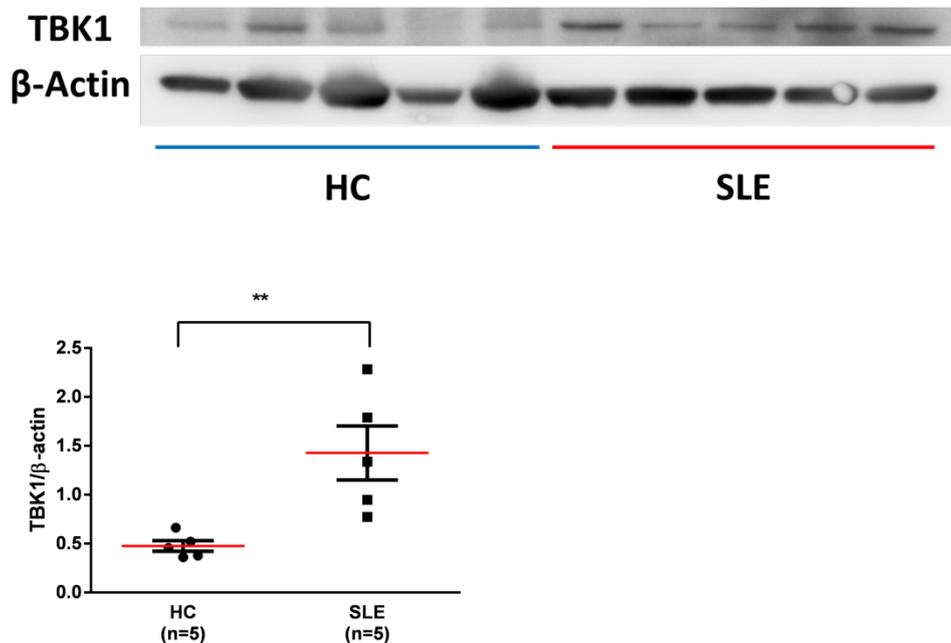


図 3 健常者 (HC) 群および SLE 群における TBK1 蛋白の発現量の比較

考察:

本研究により, いくつかの TRIM ファミリーの発現量が膠原病疾患で変化しており, TRIM ファミリーの発現量や E3 ユビキチンリガーゼ活性の変化が I 型 IFN の過剰産生に関与していることを示唆する様々な新しい証拠を得た. 本研究の結果からは SLE における TRIM21 の E3 ユビキチンリガーゼ活性を低下させる可能性のある因子として抗 TRIM21 抗体が考えられる. しかし, 抗 TRIM21 抗体陰性例であっても健常者群で見られるような TRIM21 と I 型 IFN の mRNA 発現量の逆相関はみられないことから, 抗 TRIM21 抗体以外の因子の存在も考えるべきである. また, 抗 TRIM21 抗体が細胞中でどのように TRIM21 分子の機能を阻害するかということを解明することも課題の一つである. これに関して, ウイルス感染に際して抗 TRIM21 抗体がウイルスと結合して細胞質に入り, 炎症性サイトカインの誘導を惹起するとする最近の報告は興味深いところである(7).

本研究では, SLE において PBMC における TRIM27 の発現が低下していることが明らかになった. TRIM27 は microRNA(miR)-27a によって発現が調節されていることが最近報告されている(8). これまでに miR-27a と SLE の関連についての報告はないが, miR-27a が TRIM27 の発現調節を介して SLE における I 型 IFN 過剰産生に関与している可能性があり, 今後のさらなる解析が期待される.

参考文献:

- (1) Kong HJ et al. *J. Immunol.* **179**: 26, 2007, (2) Yoshimi R et al. *J. Immunol.* **182**: 7527, 2009, (3) Higgs R et al. *J. Immunol.* **181**: 1780, 2008, (4) Higgs R et al. *PloS one.* **5**: e11776, 2010, (5) Espinosa A et al. *J Exp Med.* **206**: 1661, 2009, (6) Zheng Q et al. *Cell Res.* **25**: 1121, 2015, (7) Mallery DL et al. *Proc Natl Acad Sci USA.* **107**:19985, 2010. (8) Zheng Q et al. *J. Immunol.* **196**: 1317, 2016.

論文及び学会発表:

論文

- (1) Yohei Kirino, Haruko Ideguchi, Mitsuhiro Takeno, Akiko Suda, Kana Higashitani, Yosuke Kunishita, Kaoru Takase-Minegishi, Maasa Tamura, Toshiyuki Watanabe, Yukiko Asami, Ryusuke Yoshimi, Takeaki Uehara, Tetsu Yamazaki, Akiko Sekiguchi, Atsushi Ihata, Shigeru Ohno, Atsuhisa Ueda, Toshihisa Igarashi, Shohei Nagaoka, Yoshiaki Ishigatsubo, Hideaki Nakajima: Continuous evolution of clinical phenotype in 578 Japanese Behçet's disease patients: a retrospective observational study. *Arthritis Res Ther.*, **18**(1): 217, 2016.
- (2) 吉見竜介: 全身性自己免疫疾患におけるユビキチンリガーゼの役割. 別冊 *BIO Clinica* 慢性炎症と疾患. **5**(3): 157-163, 2016.
- (3) Yukihiro Toyota, Maasa Tamura, Yohei Kirino, Yumiko Sugiyama, Naomi Tsuchida, Yosuke Kunishita, Daiga Kishimoto, Reikou Kamiyama, Miura Yasushi, Kaoru Minegishi, Ryusuke Yoshimi, Atsuhisa Ueda, Hideaki Nakajima: Musculoskeletal ultrasonography delineates ankle symptoms in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol.* **27**(3):425-429, 2017.
- (4) 吉見竜介: 関節エコー入門 (前篇) 関節超音波検査の基礎知識. *Medicina.* **54**(3): 583-589, 2017.
- (5) Kaoru Takase-Minegishi, Nobuyuki Horita, Kouji Kobayashi, Ryusuke Yoshimi, Yohei Kirino, Shigeru Ohno, Takeshi Kaneko, Hideaki Nakajima, Richard J. Wakefield, Paul Emery: Diagnostic test accuracy of ultrasound for synovitis in rheumatoid arthritis: systematic review and meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)*, 2017. (In press)
- (6) 吉見竜介: 関節エコー入門 (後篇) 関節超音波検査によるリウマチ性疾患の診断. *Medicina.* **54**(5): 776-781, 2017.

学会・研究会発表

- (1) 神山玲光, 吉見竜介, 國下洋輔, 岸本大河, 峯岸薫, 浜真麻, 桐野洋平, 浅見由希子, 上田敦久, 岳野光洋, 石ヶ坪良明: 全身性エリテマトーデスにおける自己抗原 TRIM21 の役割. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会: 東京, 2014, 4.
- (2) Reikou Kamiyama, Ryusuke Yoshimi, Toshinori Tsukahara, Atsuhisa Ueda, Mitsuhiro Takeno, Keiko Ozato, Yoshiaki Ishigatsubo: The dysfunction of the E3 ubiquitin ligase TRIM21 in systemic lupus erythematosus. *The American Association of Immunologists 101st Annual Meeting*: Pittsburgh, Pennsylvania, May, 2014.
- (3) 吉見竜介, 芳田祐子, 神山玲光, 吉居廣朗, 塚原利典, 尾里啓子, 石ヶ坪良明: 自己免疫疾患における TRIM21-IRF8 系の役割. 第 4 回 *T-cell Camp*: 小田原, 2014, 5.
- (4) 吉見竜介, 芳田祐子, 吉居廣朗, 神山玲光, 塚原利典, 上田敦久, Herbert C. Morse III, 尾里啓子, 石ヶ坪良明: 自己免疫疾患と転写因子 IRF8. 第 16 回神奈川血液・免疫フォーラム

ム: 横浜, 2014, 11.

- (5) 神山玲光, 吉見竜介, 岸本大河, 岳野光洋, 上田敦久, 尾里啓子, 石ヶ坪良明: SLE 病態では IRF ファミリーのユビキチン化が減少している. 第 59 回日本リウマチ学会総会・学術集会: 名古屋, 2015, 4.
- (6) 吉見竜介, 杉山裕美子, 岸本大河, 神山玲光, 塚原利典, 尾里啓子, 上田敦久, 石ヶ坪良明: 膠原病疾患における TRIM-IRF 系の役割. 第 5 回 T-cell Camp: 小田原, 2015, 5.
- (7) 神山玲光, 吉見竜介, 土田奈緒美, 杉山裕美子, 峯岸薫, 田村真麻, 桐野洋平, 上原武晃, 浅見由希子, 関口章子, 出口治子, 井畑淳, 大野滋, 川井孝子, 五十嵐俊久, 長岡章平, 石ヶ坪良明, 上田敦久: 強皮症における抗 SS-A 抗体やリウマチ因子の臨床的意義. 第 60 回日本リウマチ学会総会・学術集会: 横浜, 2016, 4.
- (8) 吉見竜介, 神山玲光, 塚原利典, 岸本大河, 杉山裕美子, 國下洋輔, 桐野洋平, 上田敦久, 中島秀明: リウマチ性疾患病態における TRIM-IRF 系の役割について. 第 6 回 T-cell Camp: 小田原, 2016, 5.
- (9) Reikou Kamiyama, Ryusuke Yoshimi, Yumiko Sugiyama, Yosuke Kunishita, Daiga Kishimoto, Toshinori Tsukahara, Yukiko Asami, Yohei Kirino, Mitsuhiro Takeno, Atsuhisa Ueda, Keiko Ozato, Hideaki Nakajima: The role of tripartite motif-containing 21 in interferon signature of systemic lupus erythematosus. *American College of Rheumatology 80th Annual Meeting: Washington, D.C., November, 2016.*
- (10) 吉見竜介: 自然免疫と全身性エリテマトーデス. 第 67 回湘南免疫疾患カンファレンス. 横浜, 2017, 2, 25.
- (11) Daiga Kishimoto, Yohei Kirino, Maasa Tamura, Ryusuke Yoshimi, Hideaki Nakajima: Functional alteration of M2 Macrophages contributes to pathogenesis of lupus nephritis. 第 61 回日本リウマチ学会総会・学術集会: 福岡, 2017, 4.

〈推進研究助成〉

単球分化における、ゲノム 3 次元構造を介した斬新な
遺伝子発現制御機構の発見と解明

西山 晃

研究分担者：田村智彦、中林 潤、木村 透

横浜市立大学大学院医学研究科免疫学

抄録

細胞が組織特異的な機能を獲得する過程である細胞分化においては、細胞の系譜決定を導く、然るべき遺伝子発現が必須である。系譜決定を導く遺伝子発現では、系譜特異的な転写因子が遺伝子の遠位転写制御領域に結合し、エンハンサーを形成することが起点となる。この遺伝子発現の誘導機構は、遠位転写制御領域から遺伝子に至る一方向性の活性化機構であると一般に考えられている。Interferon regulatory factor 8 (IRF8) は血球特異的な転写因子であり、単球を含む単核貪食細胞群の分化に重要な役割を持つ。我々はこれまでに、単球分化において IRF8 が遠位エンハンサーを創出することによって、標的遺伝子の発現を誘導することを報告している。

本研究では、IRF8 の標的遺伝子の一つである *Klf4* 遺伝子の活性化機序を詳細に検討した結果、エンハンサーから遺伝子という一方向性では無く、エンハンサーと遺伝子が多段階に、かつ双方向性に活性化するという全く新しい遺伝子発現の誘導機構を発見した。さらには、この活性化機構を導く分子機構、ならびに相互活性化の普遍性について検討を行った。

<推進研究助成>

単球分化における、ゲノム 3 次元構造を介した斬新な遺伝子発現制御機構の発見と解明

報告者：西山 晃

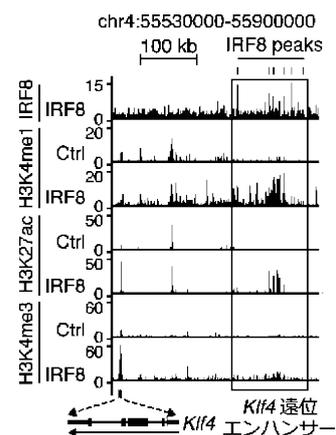
研究分担者：田村智彦、中林 潤、木村 透

横浜市立大学大学院医学研究科免疫学

1. 目的

細胞分化は、細胞が組織特異的な機能を獲得する過程の一つであり、その過程においては然るべき遺伝子発現が必須である。この細胞分化に伴う遺伝子発現では、系譜特異的な転写因子が遺伝子発現の主要なスイッチであることに加え、遺伝子側においても遠位に存在するエンハンサーと呼ばれる転写制御領域が重要な役割を持つ。転写因子が転写制御領域に結合すると、この領域は“primed”エンハンサーと呼ばれる状態に遷移する。次にエンハンサーとして活性化されると共に、クロマチンループ構造を介して遺伝子の転写開始点 (TSS) と近接する。さらに RNA ポリメラーゼ II がリクルートされ、転写開始が誘導される。このように組織特異的な遺伝子の発現誘導は、転写因子の転写制御領域への結合から遺伝子の転写開始に至る、一方向性の活性化プロセスであると一般に考えられている。

Interferon regulatory factor 8 (IRF8) は血球特異的に発現する転写因子であり、単球や樹状細胞を含む単核貪食細胞群の分化に重要な役割を持つ。我々はこれまでに、単球分化において IRF8 が遠位エンハンサーを創出することによって、標的遺伝子の発現を誘導することを見出した。さらに IRF8 の標的遺伝子の一つとして転写因子をコードする遺伝子 *Klf4* を同定している。IRF8 は *Klf4* 遺伝子上流に複数箇所結合し、広大なエンハンサーを形成する (第 1 図)。今回、*Klf4* 遺伝子をモデルとして、我々は IRF8 による標的遺伝子の発現誘導機構について詳細な解析を試みた。その中で、エンハンサーから遺伝子という一方向性では無く、エンハンサーと遺伝子が多段階かつ双方向性に活性化するという全く新しい発現誘導機構を見出しており、その分子機構の解明を目指し解析を行った。



第1図 *Klf4* 遺伝子座のヒストン修飾

2. 方法

細胞分化系として、転写因子 IRF8 が誘導する *in vitro* での単球・マクロファージ分化系を用いた。この分化系には、*Irf8* 欠損マウスから樹立した骨髓系前駆細胞株 Tot2 に、ドキシサイクリンによる IRF8 発現誘導系を組み込んだ IRF8 tet-on Tot2 細胞を用いた。

また溶媒対照群に加え、マウス骨髄系前駆細胞株 32Dc1.3 細胞を対照群に用いた。

ヒストン H3.3 の転写制御領域への取込みは、ChIP-PCR によって評価した。外来 H3.3-YFP 遺伝子を IRF8 tet-on Tot2 細胞に導入し、抗 GFP 抗体を用いて ChIP を行った。

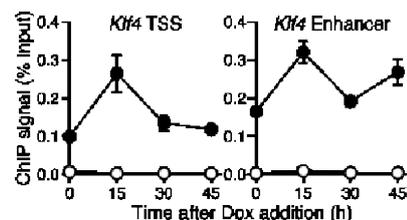
クロマチン高次構造の網羅的解析は、Hi-C 法を用いて行った。Hi-C 法は、東京大学先端科学技術研究センターの油谷研究室との共同研究で行った。

3. 結果

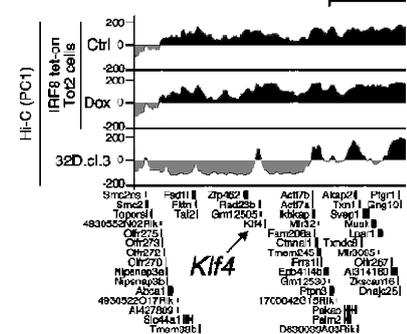
まず IRF8 による *Klf4* 発現の誘導における、*Klf4* 遺伝子のエンハンサーと TSS 近傍の活性化順序を詳細に調べた。その結果、意外にもエンハンサーが細胞分化以前から *Klf4* 遺伝子と近接すること、さらにはエンハンサーの活性化以前に *Klf4* TSS で転写開始が誘導されることが判明した。このことから我々は、エンハンサーと *Klf4* 遺伝子は相互に活性化するという仮説を持つに至った。この検証のために、CRISPR/Cas9 法を用いて種々の *Klf4* 遺伝子座の変異細胞を作成し、エンハンサーならびに *Klf4* 遺伝子の活性化を評価した。エンハンサー欠失細胞では *Klf4* 遺伝子の転写開始は阻害され、また *Klf4* 遺伝子の 5' 領域の欠失細胞ではエンハンサーの活性化は減弱した。これらの結果は先の仮説を強く支持するものであった。さらに、このエンハンサーと遺伝子の相互活性化を担う分子を探索した結果、エンハンサーの活性化を導くヒストンアセチルトランスフェラーゼである CBP/p300 が、エンハンサーと *Klf4* 遺伝子に同調して取込まれることが判明した（西山ら、投稿準備中）。

さらに、CBP/p300 が取込まれる分子機構の検討を進めた。CBP/p300 よりも早期に、*Klf4* 遺伝子のエンハンサーと TSS 領域に取込まれる分子を探索した結果、ヒストン H3 のバリエーションである H3.3 が見出された。CBP/p300 はエンハンサーならびに転写の活性化のマーカであるヒストン H3 の 27 番目リジンのアセチル化 (H3K27ac) を担うが、H3.3 は他のヒストン H3 バリエーションと比較して H3K27ac の頻度が高い。以上のことから、H3.3 ならびに CBP/p300 の取込み機構の双方が密接な関連を持つと予想される（第 2 図）。

これらに加え、細胞分化以前に形成されるエンハンサーと遺伝子間のクロマチンループ構造の普遍性を検証した。ゲノムワイドの解析のために Hi-C 法を用い、主成分分析法によってループ構造を評価した。その結果、IRF8 tet-on Tot2 細胞の *Klf4* 遺伝子を含む領域では、5 Mb 以上の広範囲に渡り、32Dc1.3 細胞とは異なるクロマチンループ構造が細胞分化以前から存在していた（第 3 図）。このような領域はゲノム中に複数存在しており、細胞分化以前に形成されるクロマチンループ構造は、普遍的な分子機構であることが考えられた。



第2図 ヒストンH3.3の取込み
chr4:52200000-59200000



第3図 *Klf4* 遺伝子周辺のクロマチン構造

4. 考察

転写因子が誘導する遺伝子発現は、転写因子のエンハンサー領域への結合を起点として遺伝子での転写に至る一方向性の活性化機構であると広く考えられてきた。しかしながら、本研究において IRF8 による *Klf4* 遺伝子の活性化を検討した結果、エンハンサーと遺伝子が多段階にかつ相互に活性化するという新しい転写制御機構が明らかとなった。

この多段階かつ双方向の活性化は、クロマチンループ構造によって近接した両領域間での相互作用が生み出す活性化機構である。今回の解析によって、エンハンサー領域に早期に取込まれたヒストンバリエント H3.3 が、その後の両領域の活性化と密接に関連する可能性が示唆された。また、ゲノムワイドの解析によって、*Klf4* 遺伝子と類似したループ構造がゲノム中に複数存在することを示唆する結果が得られた。この結果は、*Klf4* 遺伝子の活性化を担う分子機構が普遍的な遺伝子活性化機構であることを支持するものである。

本研究は基礎医学の範疇にあるが、解析の対象となった遠位エンハンサーやクロマチン高次構造については、がんを含む多数の疾患で変異が頻発することが明らかとなっている。本研究の成果によって転写制御の新しい一面がもたらされ、様々な疾患の病態理解について新しい解釈が可能になると共に、新規治療法の開発を導くことが期待できる。

この研究の遂行にあたり、研究分担者の先生方をはじめ、横浜市立大学医学部免疫学教室の藩助教、大学院生の伏見氏、技術補佐員の本間氏、東京大学の油谷浩幸教授、堤修一特任准教授に、多大なご協力をいただきましたことを深く感謝申し上げます。

5. 論文及び学会発表 (抜粋)

1. Sharov A. A., [Nishiyama A.](#), Qian Y. et al. : Chromatin Properties of Regulatory DNA Probed by Manipulation of Transcription Factors. *J Comput Biol* 21:569, 2014
2. Kurotaki D., Yamamoto M., [Nishiyama A.](#) et al. : IRF8 inhibits C/EBP α activity to restrain mononuclear phagocyte progenitors from differentiating into neutrophils. *Nat Commun* 5:4978, 2014
3. Sasaki H., Kurotaki D., Osato N. et al. : Transcription factor IRF8 plays a critical role in the development of murine basophils and mast cells. *Blood* 125:358, 2015
4. Inamochi Y., Dey A., [Nishiyama A.](#) et al. : Transcription elongation factor Brd4-P-TEFb accelerates intestinal differentiation-associated *SLC2A5* gene expression. *Biochem Biophys Res Commun* 477:150, 2016
5. Ban T., Sato G. R., [Nishiyama A.](#) et al. : Lyn Kinase Suppresses the transcriptional activity of IRF5 in the TLR-MyD88 pathway to restrain the development of autoimmunity. *Immunity* 45:319, 2016

<推進研究助成>

カルシウム輸送蛋白 PMCA1 による腎保護効果の検討

涌井 広道

横浜市立大学医学部 循環器・腎臓内科学

共同研究者

梅村 敏 (横浜労災病院)

田村 功一 (横浜市立大学医学部 循環器・腎臓内科学)

藤田 恵美 (横浜市立大学大学院医学研究科 病態制御内科学)

江原 洋介 (横浜市立大学大学院医学研究科 病態制御内科学)

角田 剛一郎 (横浜市立大学大学院医学研究科 病態制御内科学)

抄録

PMCA1 は腎尿細管で高発現であるが、その病態生理学的意義についてはほとんど分かっていない。本研究では、腎障害モデル動物をもちいて腎 PMCA1 の発現調節を検討し、さらに、腎尿細管特異的 PMCA1 欠損マウスをもちいて、腎における PMCA1 の機能的意義を明らかにした。腎障害モデルマウスとして、片側尿管結紮マウス、5/6 腎臓摘出マウスおよび慢性アンジオテンシン II 刺激マウスを作製し、腎線維化、腎機能低下や蛋白尿の増加、高血圧の発症に伴う、腎での PMCA1 発現調節を対照群と比較検討した。また、Cre-LoxP システムをもちいて遠位尿細管～集合管特異的 PMCA1 欠損マウスを作製し、その表現型を正常マウスと比較検討した。血圧正常腎障害モデル (片側尿管結紮および 5/6 腎摘出) では腎 PMCA1 発現量が不変であるのに対して、血圧上昇腎障害モデルでは腎 PMCA1 発現量の増加を認めた。遠位尿細管～集合管特異的 PMCA1 欠損マウスは、正常マウスと比較して、腎機能や血圧は同等であるものの、高 Ca 尿症、多尿および尿濃縮力障害を認めた。以上より、腎における PMCA1 は高血圧関連腎障害の発症・進展に関与する可能性が示唆された。また、遠位尿細管～集合管における PMCA1 は尿濃縮力および尿中 Ca 排泄の調節機能を担うことが明らかにされた。

<推進研究助成>

カルシウム輸送蛋白 PMCA1 による腎保護効果の検討

涌井 広道

横浜市立大学医学部 循環器・腎臓内科学

共同研究者

梅村 敏 (横浜労災病院)

田村 功一 (横浜市立大学医学部 循環器・腎臓内科学)

藤田 恵美 (横浜市立大学大学院医学研究科 病態制御内科学)

江原 洋介 (横浜市立大学大学院医学研究科 病態制御内科学)

角田 剛一朗 (横浜市立大学大学院医学研究科 病態制御内科学)

1. 目的

ATP2B1 は本態性高血圧症に対する網羅的疾患感受性遺伝子解析により、血圧に最も影響を与える遺伝子として報告された (International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies. *Nature* 478: 103-9, 2011) . Plasma membrane Ca²⁺-ATPase 1 (PMCA1) は ATP2B1 遺伝子によってコードされるタンパクであり、腎尿細管で内在性に高発現を認めるが、その病態生理学的意義についてはほとんど分かっていない。本研究では、腎障害モデル動物をもちいて腎 PMCA1 の発現調節を検討し、さらに、腎尿細管特異的 PMCA1 欠損マウスをもちいて、腎における PMCA1 の機能的意義を明らかにした。

2. 方法

実験 1 : 腎障害モデルマウスとして、片側尿管結紮 (unilateral ureteral obstruction (UUO)) マウス, 5/6 腎臓摘出 (5/6 nephrectomy (5/6Nx)) マウス, および慢性持続 Angiotensin II (Ang II) 投与マウスを作製し、腎線維化の亢進, 腎機能低下や蛋白尿の増加に伴う、腎での PMCA1 発現調節を対照群と比較検討した。

実験 2 : Cre-LoxP システムをもちいて遠位尿細管～集合管特異的 PMCA1 欠損マウス (KSP-KO) を作製し、その表現型をコントロールマウスと比較検討した。

3. 結果

実験 1 : UUO 施行 7 日後, 腎線維化を認め, transforming growth factor- β

(TGF- β), コラーゲンなどの線維化関連遺伝子発現の増加, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), F4/80 などのマクロファージ関連遺伝子発現の増加を認めた (図 1). 一方, 血圧および腎 PMCA1 発現は UUO 群と sham 手術群で差を認めなかった. 5/6Nx 施行 4 週間後, 糸球体濾過量は有意に低下した (図 2). 一方, 血圧および腎 PMCA1 発現は 5/6Nx 群と sham 手術群で差を認めなかった. 慢性持続 Ang II 投与 2 週間後, アルブミン尿の増加, 血圧上昇とともに腎 PMCA 発現量の有意な増加を認めた (図 3).

実験 2: KSP-KO では, 野生型マウスと比較して, 腎機能や血圧は同等であるものの, 高 Ca 尿症, 多尿および尿濃縮力障害を認め, 飲水制限下でも同様であった (図 4). さらに, KSP-KO ではバソプレッシンに対する反応性の低下, plasma membrane での aquaporin-2 (AQP2) 発現レベルが減少していた (図 5). KSP-KO の血清カルシウム濃度は野生型マウスと同等であり, 小腸でのカルシウム輸送蛋白 Transient Receptor Potential Vanilloid 6 (TRPV6) mRNA 発現が増加していた. さらに, KSP-KO の副甲状腺ホルモンは野生型マウスより高値であった. 集合管特異的 PMCA1 欠損マウス (AQP2-KO) でも同様の表現型を認め, 高 Ca 尿症および尿濃縮力障害の程度は KSP-KO よりも軽微であった.

4. 考察

本研究において, 我々は生体において 3 つの腎障害モデルにおける, 腎 PMCA1 の発現調節を明らかにした. UUO は腎線維化を誘導し, 5/6 腎摘は腎機能を低下させ, 慢性 AngII 投与はアルブミン尿の増加をもたらした. 一方, 腎 PMCA1 発現量は, UUO および 5/6 腎摘によって変化しなかったものの, 慢性 AngII 投与によって, 有意に増加した. 血圧に着目すると, UUO および 5/6 腎摘は血圧に影響を与えなかったが, 慢性 AngII 投与は血圧上昇をもたらした. すなわち, 血圧に影響を及ぼさない腎障害モデルでは腎 PMCA1 発現レベルは変化しないが, 血圧上昇を伴う腎障害モデルでは, 腎 PMCA1 発現レベルが変化した. この結果は, 最も強力な高血圧感受性遺伝子として報告された PMCA1 について, 腎での発現レベルの変化が, 高血圧関連腎障害の発症・進展に関与している可能性を示唆している.

PMCA1 は細胞内から細胞外にカルシウムを放出するチャネルである. 我々は以前に, 血管平滑筋特異的 PMCA1 欠損マウスをもちいて, 血管平滑筋における PMCA1 の欠損が, 血管作動薬による細胞内カルシウム濃度の上昇反応を増強させ, 血管収縮力の増強とともに高血圧をもたらすことを明らかにした (Kobayashi Y, Wakui H, et al. *Hypertension* 59: 854-60, 2012). 一般に, AngII 刺激は様々な細胞において細胞基質内のカルシウム濃度を上昇させることが知られている.

腎尿細管においては、Ang II は細胞膜の 1 型アンジオテンシン受容体 (AT1 受容体) に結合して、細胞内カルシウム濃度を上昇させ、ナトリウム再吸収を促進させる。したがって、本研究でみられた慢性 Ang II 投与時における腎 PMCA1 発現量の増加は、AngII を介した細胞内カルシウム濃度上昇およびナトリウム再吸収に対して拮抗的に働いている可能性がある。今後、腎特異的 PMCA1 発現制御モデルをもちいて、Ang II 刺激による腎障害および血圧上昇に対する PMCA1 の機能的な役割を明らかにしていく予定である。

KSP-KO での検討結果から、遠位尿細管、集合管における PMCA1 は、生体において尿中 Ca 排泄の調節・尿濃縮力調節に重要な役割を担うことが明らかにされた。腎集合管においてカルシウム感知受容体は、主細胞および介在細胞に存在する (Tfelt-Hansen J, Brown EM. *Critical reviews in clinical laboratory sciences* 42:35-70, 2005)。カルシウム感知受容体の活性化は、AQP2 発現、バソプレッシンによる AQP2 の apical membrane へのトラフィックを抑制し、水の再吸収を抑制し、尿浸透圧を低下させる。AQP2-KO の結果からも、集合管における PMCA1 発現の減少が、尿細管管腔でカルシウム感知受容体を活性化させることで、高カルシウム尿症のみならず、多尿・尿濃縮力障害をきたす機序が示唆された。一方、KSP-KO の血清カルシウム濃度は野生型マウスと同等であった。KSP-KO では野生型マウスに比べて、副甲状腺ホルモンの増加および小腸における TRPV6 mRNA 発現増強を認め、腎性カルシウム喪失に対して代償的に働いている可能性が示唆された。

特発性高カルシウム尿症は一般人の 5~10% にみられ、疾患感受性遺伝子として TRPV5/6 や ADCY10 が知られている (Monico CG, Milliner DS. *Nature reviews Nephrology* 8: 151-162, 2012)。本研究によって、遠位尿細管~集合管での PMCA1 欠損が高カルシウム尿症および尿濃縮力障害をもたらすことが明らかにされ、ATP2B1 も高カルシウム尿症にかかわる重要な遺伝子であることが新たに示唆された。

5. 論文および学会発表

【原著論文】

Wakui H, Sumida K, Fujita M, Ohtomo Y, Ohsawa M, Kobayashi R, Uneda K, Azushima K, Haruhara K, Yatsu K, Hirawa N, Minegishi S, Ishigami T, Umemura S, Tamura K. Enhancement of intrarenal plasma membrane calcium pump isoform 1 expression in chronic angiotensin II-infused mice. *Physiol Rep.* 2017, *in press.*

【学会発表】

Fujita M: Distal tubules-specific knockout of ATP2B1 is associated with severe polyuria and hypercalciuria without hypertension. Asia Pacific Congress of Nephrology, Tokyo, 2014.5.

江原洋介：遠位尿細管特異的 ATP2B1 欠損マウスの食塩負荷による血圧変動について。第 37 回日本高血圧学会総会，横浜，2014，10。

藤田恵美：高血圧感受性遺伝子 ATP2B1 遠位尿細管特異的欠損マウスの解析。第 37 回日本高血圧学会総会，横浜，2014，10。

江原洋介：全身ヘテロ ATP2B1 欠損マウスにおける高血圧と低 Ca 血症について。第 51 回高血圧関連疾患モデル学会学術総会，豊中，2015，10。

江原洋介：全身ヘテロ ATP2B1 欠損マウスにおける高血圧と低 Ca 血症の関連について。第 38 回日本高血圧学会総会，松山，2015，10。

藤田恵美：優秀演題賞。遠位尿細管特異的 ATP2B1 欠損マウスは食塩感受性高血圧を呈する。第 51 回高血圧関連疾患モデル学会学術総会，豊中，2015，10。

6. 図の説明

Figure 1. UUO モデルにおける腎障害，血圧と腎 PMCA1 発現量

(A) Sham 手術，UUO 手術 7 日後の腎組織マッソントリクローム染色。Sham 手術，UUO 手術 7 日後の腎線維化関連遺伝子発現 (B, TGF- β ; C, 1 型コラーゲン ; D, 3 型コラーゲン ; E, MCP-1 ; F, F4/80)。 ** $P < 0.01$ vs sham (G) Sham 手術，UUO 手術後の血圧変化 (H) Sham 手術，UUO 手術 7 日後の腎 PMCA1m RNA 発現

Figure 2. 5/6 腎摘モデルにおける腎障害，血圧と腎 PMCA1 発現量

(A) Sham 手術，5/6Nx 手術 4 週間後のクレアチニンクリアランス。 ** $P < 0.01$ vs sham (B) Sham 手術，5/6Nx 手術後の血圧変化 (H) Sham 手術，5/6Nx 手術 4 週間後の腎 PMCA1m RNA 発現

Figure 3. 慢性 Ang II 投与モデルにおける腎障害，血圧と腎 PMCA1 発現量

(A) Vehicle, Ang II 投与 2 週間後におけるアルブミン尿。 ** $P < 0.01$ vs vehicle (B) Vehicle, Ang II 投与 2 週間後の血圧変化。 ** $P < 0.01$ vs vehicle (C) Vehicle,

Ang II 投与 2 週間後の腎 PMCA1 mRNA 発現 $*P<0.05$ vs vehicle (D) Vehicle, Ang II 投与 2 週間後の腎 PMCA1 蛋白発現 $*P<0.05$ vs vehicle

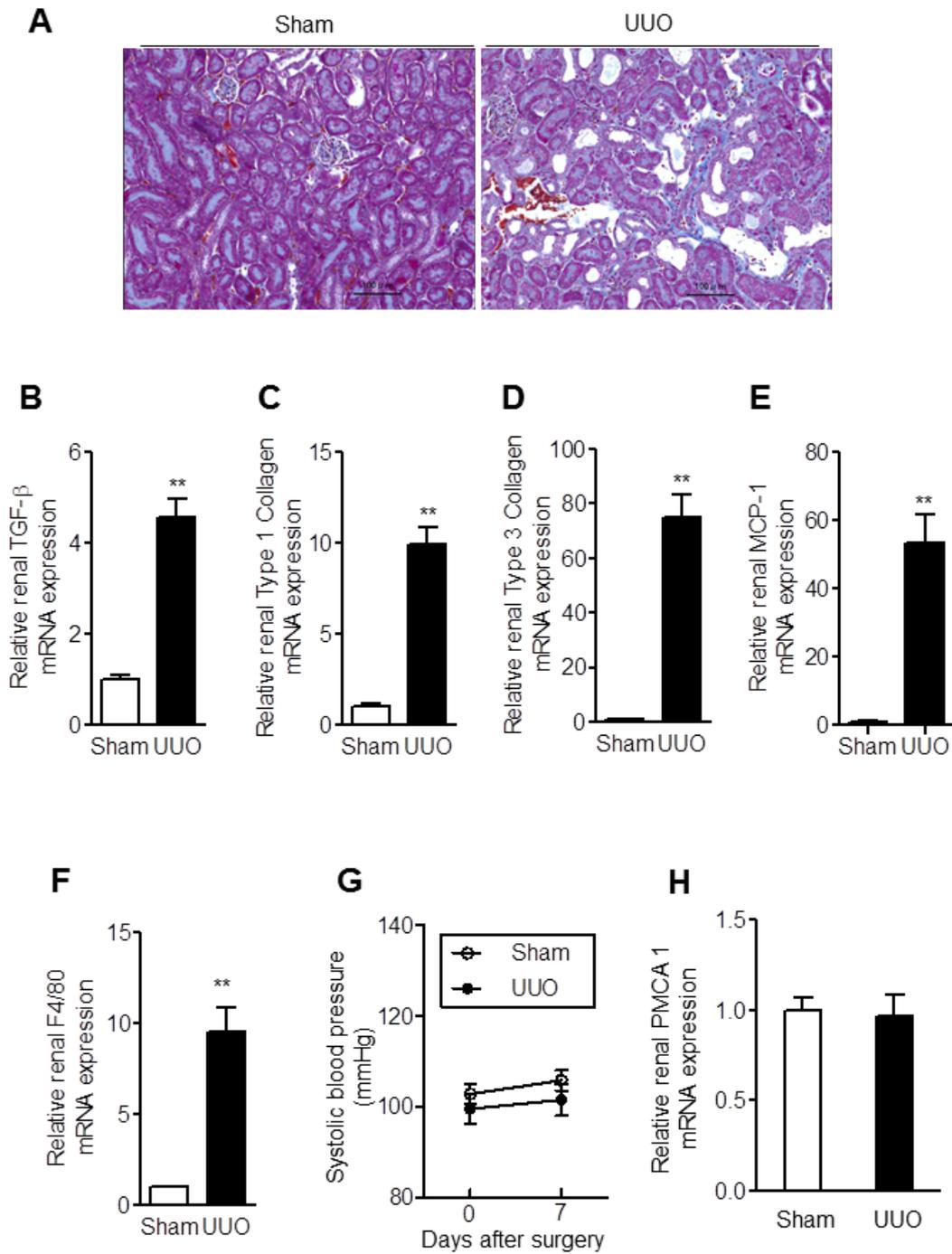
Figure 4. KSP-KO における飲水量, 尿量, 尿浸透圧, 尿中 Ca 排泄量

(A) 飲水量 (B) 尿量 (C) 尿浸透圧 (D) 尿中カルシウム排泄量 $*P<0.05$ vs control, $***P<0.01$ vs control, $\#P<0.01$ vs basal condition

Figure 5. KSP-KO におけるバソプレッシンへの無反応および apical membrane AQP-2 発現の減少

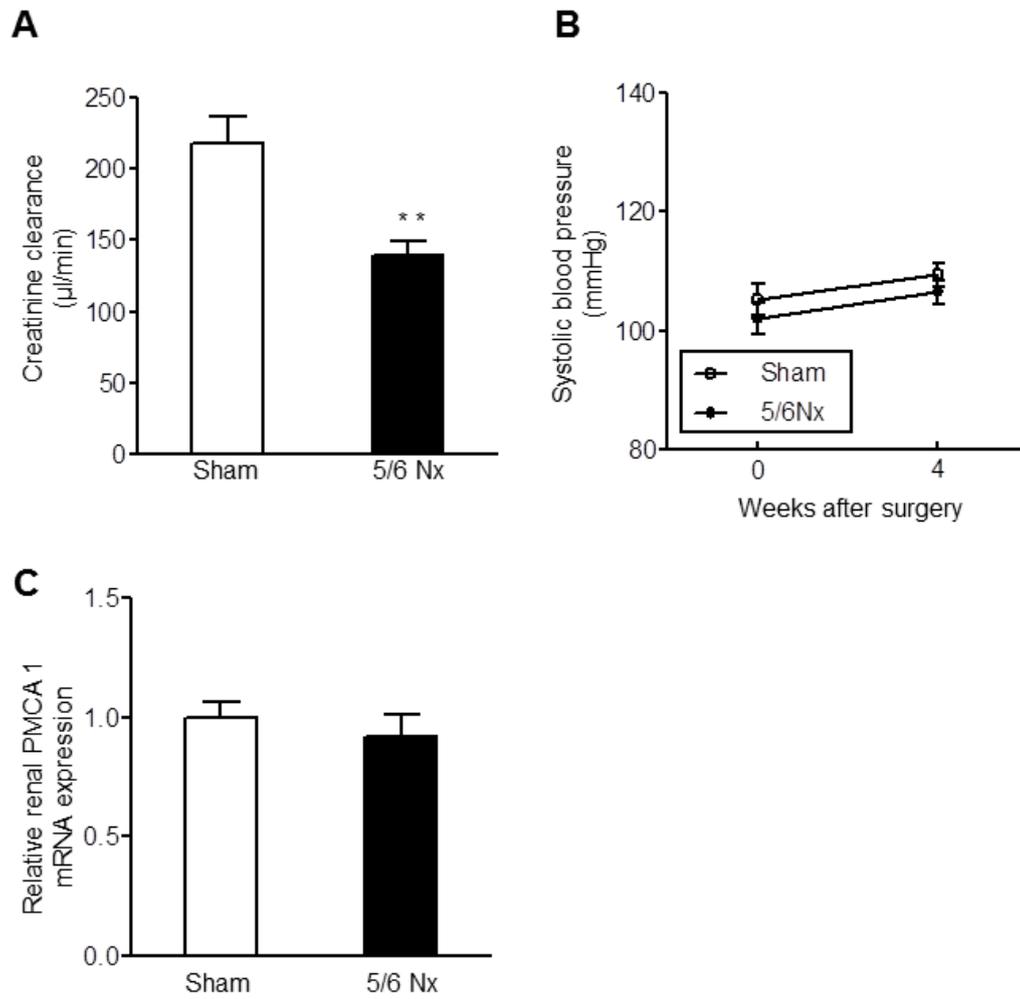
(A) バソプレッシン (AVP) 投与による尿浸透圧の変化 (B) apical membrane AQP-2 発現 $*P<0.05$ vs control

Figure 1



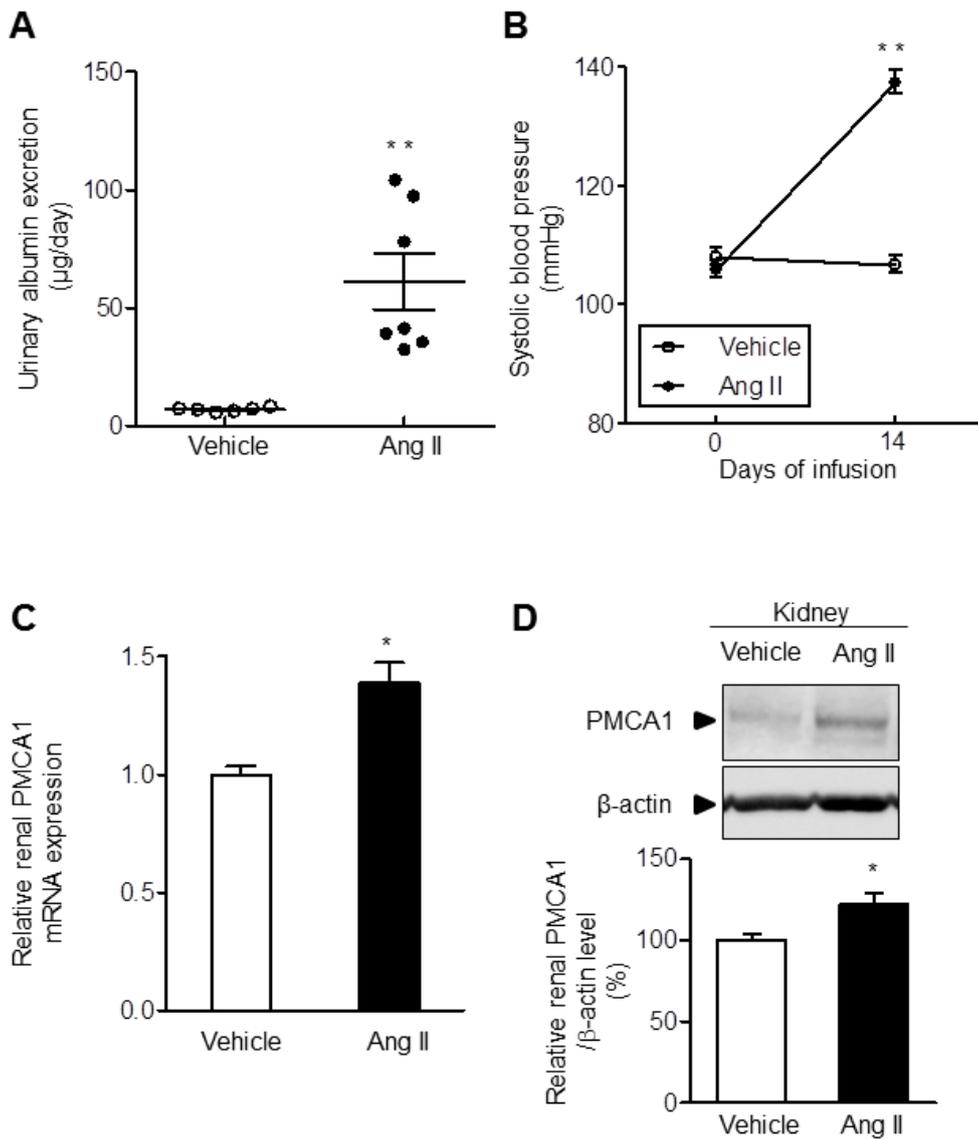
Wakui H, et al. *Physiol Rep.* 2017, in press.

Figure 2



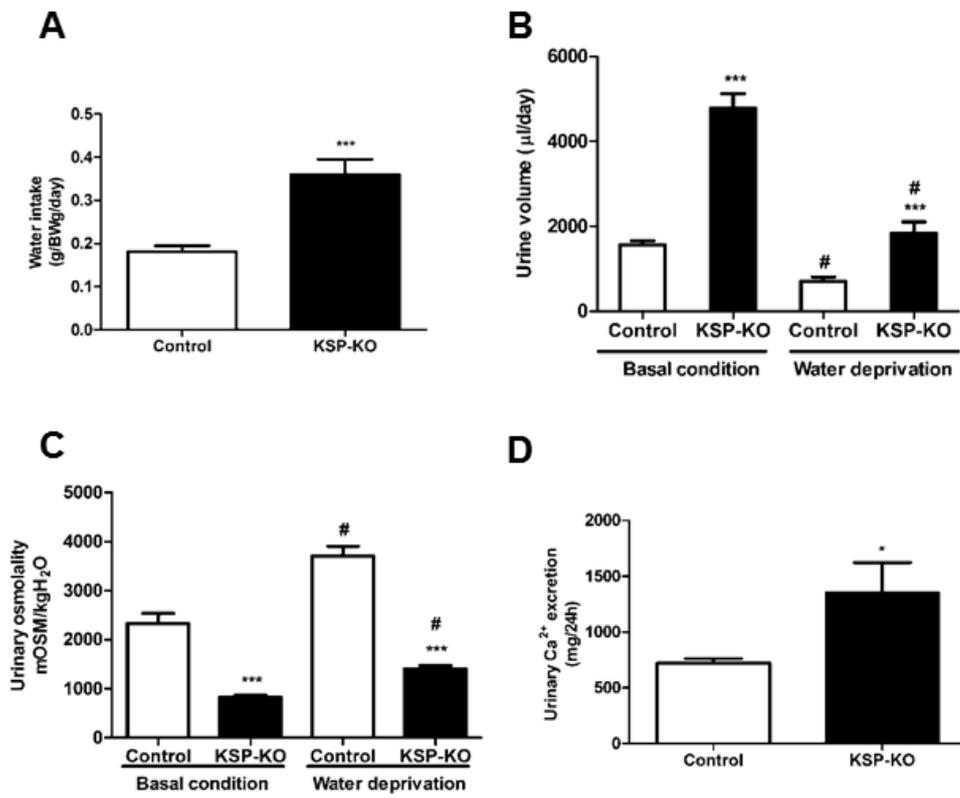
Wakui H, et al. *Physiol Rep.* 2017, in press.

Figure 3



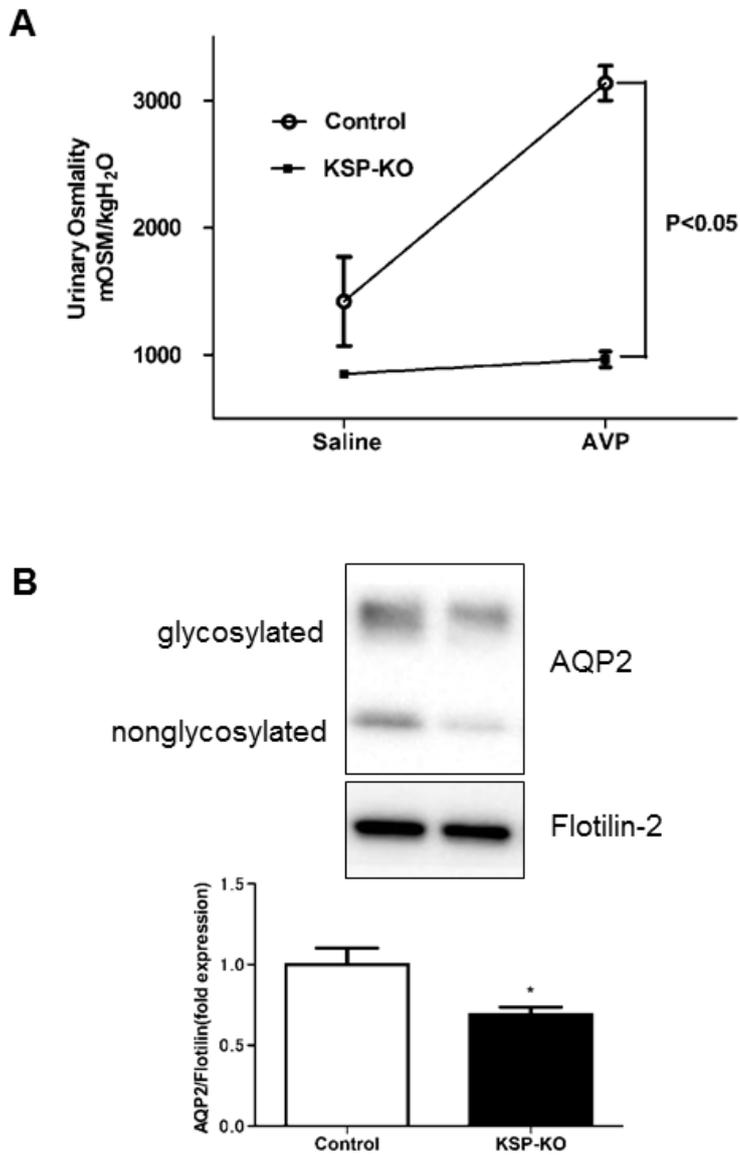
Wakui H, et al. *Physiol Rep.* 2017, in press.

Figure 4



Fujita M, Wakui H, et al. Manuscript under preparation

Figure 5



Fujita M, Wakui H, et al. Manuscript under preparation

<わかば研究助成>

腸上皮化生からの胃発癌における胃幹細胞での腸特異的ホメオボックス遺伝子
ISX の役割の解明

須江 聡一郎
芝田 渉 前田 慎

消化器内科

抄録

目的:我々は正常胃で発現せず、*H.pylori*により胃で発現する Intestine specific homeobox (ISX)が *H. pylori*感染による腸上皮化生と胃発癌において重要であることを報告してきた。本研究では胃オルガノイド培養を用いて、胃幹細胞での ISX の役割を検討した。

方法:ヒト胃由来のオルガノイド培養を行い、mRNA 発現解析と免疫染色を行った。また、マウス MNU 胃癌モデルでの検討を行った。さらにヒト胃オルガノイドを用いた ISX の発現に関する実験系を確立した。

結果:ヒト胃炎粘膜由来のオルガノイドで ISX の発現は有意に増加し、腸上皮マーカーである CDX2,MUC2 は胃炎群で増加し、胃上皮マーカーである MUC5AC は減少する傾向を認めた。MNU 胃発癌モデルでは ISX ノックアウトにおいて有意に腫瘍数が減少した。同一の胃組織由来のオルガノイドに TNF α を投与した所、ISX 発現の増加が確認され、ISX 阻害薬での発現減少、TNF α + ISX 阻害薬での発現増加のキャンセルが確認された。

結論: ISX はヒトの胃幹細胞レベルで *H. pylori*感染により発現し、腸上皮化生や胃発癌に重要である。

<わかば研究助成>

腸上皮化生からの胃発癌における胃幹細胞での腸特異的ホメオボックス遺伝子
ISX の役割の解明

須江 聡一郎
芝田 渉、前田 慎

消化器内科

1.目的 *H. pylori* 感染は 1) 遺伝子変化、2) エピジェネティック変化、3) シグナル伝達経路の変化、4) 自然免疫、適応免疫、の誘導を介して慢性胃炎、腸上皮化生、胃癌への段階的変化を誘導する [Sue et al. BioMed Research International, 2015].

我々は *Helicobacter* 感染マウスモデルのオルガノイド培養において ISX の発現が増加していたことを発見し、研究を行い胃発癌における ISX について以下の成果を論文として発表した. [Sue et al. J Gastroenterol, 2016]

- 1) *H. pylori* 感染した胃粘膜において ISX 発現は発現増加していた.
- 2) *Helicobacter* 感染はマウス胃で ISX 発現を誘導した.
- 3) ISX 発現は細胞増殖を促進し、腸上皮化生の生物学的マーカー発現及び幹細胞性の獲得を誘導した.
- 4) ISX のノックダウンは腸上皮化生の生物学的マーカー発現を抑制した.
- 5) ヒト胃癌における ISX の発現を確認した(約 40%).
- 6) ISX 発現は胃癌細胞の腫瘍形成を促進する.

我々の研究で MKN-45 胃癌細胞への ISX の発現は CD44 の発現を増加させ、スフェロイドコロニーを形成した. CD44 は胃癌幹細胞及び胃組織幹細胞のマーカーと提唱されている[3]. Liu et al. は, MKN-45 細胞からのスフェロイド・コロニー形成細胞に自己複製能, 高度増殖能, 薬剤耐性, CD44 の高発現といった胃癌幹細胞の特徴が認められると報告している[4]. これらの点から, 我々は ISX 発現が化学療法に耐性を示す癌細胞の新たな治療標的となる可能性があると考えた. 我々の仮説では, *H. pylori* による慢性炎症は, NF- κ B やシグナル伝達性転写因子 3 (STAT3) 等, 様々なシグナル伝達経路を活性化し, TNF- α , IL-1 β , IL-6 といった炎症性サイトカインの放出を誘導し, これらのサイトカインによる 胃幹細胞における ISX 発現が CD44 の発現を誘導し, 胃癌幹細胞を生じさせると考えた.

本研究では胃幹細胞における ISX 発現の役割についてオルガノイド培養を用いた実験系

で明らかにすることを目的とした。本研究で胃幹細胞における *H. pylori* による ISX の発現の胃発癌における役割を解明することは、除菌後発癌の高リスク群の絞り込みや進行胃癌の新たな治療ターゲットとなることが期待される。

2.方法

1) ヒト胃由来オルガノイド培養と mRNA 発現解析と免疫染色

ヒトの胃の生検サンプルを用いてオルガノイド培養を行い、mRNA を回収し、正常胃由来と *H. pylori* 感染胃炎由来における遺伝子発現を比較した。ヒト胃由来オルガノイド培養のプロトコールは Gail B Gifford らと同様の方法を用いた。作成したオルガノイドは免疫染色・蛍光免疫染色で β カテニン、E カドヘリンに加え、胃上皮マーカーとして SOX2、腸上皮マーカーとして CDX2 の染色を行った。

2) マウス MNU 胃癌モデルでの検討と胃由来オルガノイドの xenograft model

MNU 胃癌マウスモデルを ISX ノックアウトマウスと ISX ワイルドタイプにて行った。さらにそれぞれの胃組織を用いてオルガノイド培養を行った。培養されたオルガノイドを免疫不全マウスの皮下に移植し、腫瘍形成を観察した。

3) ヒト胃オルガノイドを用いた ISX の発現に関する実験系の確立

ヒト胃由来のオルガノイドを用いて胃癌細胞株で得られた結果を検証した。ISX 発現のために TNF α を胃癌細胞株の際と同じ条件で投与した。さらに胃癌細胞株にて mRNA・蛋白レベルで ISX 発現を抑制する薬剤の投与による影響を、コントロール・TNF α ・ISX 抑制薬・TNF α + ISX 抑制薬の 4 群にて qRT-PCR にて ISX の mRNA 発現を比較した。

3.結果

1) ヒト胃由来オルガノイド培養と mRNA 発現解析と免疫染色

ヒトの胃由来のオルガノイド培養を行い、免疫染色・蛍光免疫染色にてオルガノイドが作成できていることを確認した。mRNA の回収と qRT-PCR での遺伝子発現評価を行った所、胃炎粘膜由来のオルガノイドで ISX の発現は有意に増加し、腸上皮マーカーである CDX2, MUC2 は胃炎群で増加し、胃上皮マーカーである MUC5AC は減少する傾向を認め、ISX 発現と MUC2 発現は強い相関を認めた。オルガノイドの染色において β カテニン、E カドヘリンの染色を確認した。胃由来のオルガノイドであり、SOX 2 の染色が確認された。加えて腸上皮マーカーである CDX2 の染色が確認されたオルガノイドも認めた。

2) マウス MNU 胃癌モデルでの検討と胃由来オルガノイドの xenograft model

240ppm 隔週 5 週間投与・50 週後での解析において、ISX ノックアウトで有意に腫瘍数が減少した。オルガノイド培養は成功し、回収した免疫不全マウスの皮下

に移植した。現在 ISX ノックアウトとワイルドタイプでの差を検討するために、追加での MNU モデルを行い、皮下移植と解析を行っていく予定である。

3) ヒト胃オルガノイドを用いた ISX の発現に関する実験系の確立

ヒト胃由来オルガノイドは継代を繰り返して培養を続けることが可能であった。同一の胃組織由来のオルガノイドを用いて前述の4群における ISX 発現を比較した所、コントロールと比べ TNF α 群にて ISX 発現は増加し、ISX 阻害薬群にて ISX 発現は減少し、TNF α による ISX 発現増加は ISX 阻害薬にてキャンセルされた。

4. 考察

本研究ではヒト胃組織由来のオルガノイド培養を行い、オルガノイドの遺伝子発現解析を行うことに成功した。さらにヒト胃組織由来のオルガノイドを実験系として使用し、オルガノイドにおける ISX 発現増加や発現抑制を検討できた。従来のマウスを用いた胃発癌研究では動物種が異なるという重大な **limitation** があったが、本研究でヒト胃オルガノイドという系を使って検証ができたことはブレークスルーとなりうる。

本研究から胃組織幹細胞における ISX 発現は炎症シグナルにて増加し、腸上皮マーカーの増加と胃マーカーの減少という変化がヒトにおいても幹細胞レベルで起きていることを確認できた。さらに幹細胞レベルでの炎症シグナルによる ISX 発現は ISX 標的薬でキャンセル可能であることを示すことができた。MNU モデルの結果から ISX は胃発癌の重要な因子であることが示され、ISX のヒト胃幹細胞レベルでの抑制が可能であったことは、ISX を標的とした胃発癌抑制治療の可能性を示唆している。

組織幹細胞に癌で発現している遺伝子発現変化を再現した発癌モデルはすでにマウスにおいては多数行われているが、ヒトにおいては現在盛んに検証が行われている段階と言える。胃癌は大腸癌と異なり多様な遺伝変異を持った集団であるが、共通点としては *H. pylori* により胃炎・腸上皮化生を来した後に発癌するという点がある。本研究で検証している ISX という分子は胃幹細胞レベルで *H. pylori* 感染により発現し、腸上皮化生や胃発癌に重要であることが明らかとなった。

5. 論文及び学会発表

<国際学会口演>

Sue Soichiro et.al., Digestive Disease Week 2017 (USA, Chicago) Oral presentation
“Intestine-specific homeobox (ISX) is an important regulator for gastric carcinogenesis with potential for molecular target”

<国内学会>

須江 (筆頭発表者)、第 89 回 の本胃癌学会総会 2017.3 Intestine-specific homeobox (ISX) regulates gastric tumorigenesis in MNU model

須江 (筆頭発表者)、第 76 回 日本癌学会学術集会 2017.9 胃癌における

Intestine-specific homeobox (ISX)標的薬の探索

<論文>

Sue S, Shibata W, Maeda S. -Induced Signaling Pathways Contribute to Intestinal Metaplasia and Gastric Carcinogenesis. *BioMed research international* 2015; **2015**: 737621

Sue S, Shibata W, Kameta E, Sato T, Ishii Y, Kaneko H, Miwa H, Sasaki T, Tamura T, Kondo M, Maeda S. Intestine-specific homeobox (ISX) induces intestinal metaplasia and cell proliferation to contribute to gastric carcinogenesis. *Journal of gastroenterology* **2016**

<わかば研究助成>

放射線治療後の口腔癌の再発制御を目的とした
抗 PD-1/PD-L1 抗体薬の応用法の開発

大久保 牧子

(共同研究者) 來生 知

横浜市立大学 顎顔面口腔機能制御学講座

抄録

【背景】口腔癌では治療後の再発は予後を悪化させることから、その制御は火急の課題である。われわれは以前に脳腫瘍において、放射線照射により CD11b 陽性骨髄由来細胞 (CD11b+骨髄細胞) が腫瘍内へ流入し再発に寄与することを報告したが、その阻害法は確立されていない。一方で、近年注目されている抗 PD-1/PD-L1 抗体薬であるが、骨髄由来細胞における PD-1, PD-L1 の発現が報告されている。本研究では、放射線照射後の口腔癌における骨髄由来細胞の関与と、それらの細胞群における PD-1/PD-L1 の発現を検討した。

【方法】OSC-19 (ヒト舌扁平上皮癌細胞株) 皮下腫瘍マウスモデルと放射線治療前後の患者組織標本を用いて、放射線照射による微小環境変化を骨髄由来細胞群を中心に免疫染色で解析した。さらに PD-1/PD-L1 の関与についても検討した。【結果】放射線照射後の腫瘍内では血管減少と低酸素領域の拡大、CD11b+骨髄細胞の誘導が認められ、それらの大半はマクロファージと MDSC (Myeloid-derived suppressor cell) へ分化していた。患者組織標本では再発検体において CD11b+骨髄細胞とマクロファージの増加を認めた。PD-1/PD-L1 に関しては検討途中である。【結語】放射線照射後の口腔癌では CD11b+骨髄細胞が誘導され、それらがマクロファージや MDSC に分化し腫瘍再発に寄与していることが示唆された。今後は同細胞群における PD-1/PD-L1 の発現の検討を継続し、抗 PD-1/PD-L1 抗体薬による放射線照射後の口腔癌の再発制御法の確立を目標とする。

<わかば研究助成>

放射線治療後の口腔癌の再発制御を目的とした
抗 PD-1/PD-L1 抗体薬の応用法の開発

大久保 牧子

(共同研究者) 來生 知

横浜市立大学 顎顔面口腔機能制御学講座

1 目的

口腔癌において放射線治療後の再発は予後を著しい低下させることから、その制御は火急の課題である。われわれは以前に脳腫瘍において、放射線照射により CD11b 陽性骨髄由来細胞 (CD11b+骨髄細胞) が腫瘍内へ流入し再発に寄与することを報告した (Kioi et al, 2010)。またさまざまながん種において、腫瘍内に骨髄系細胞群であるマクロファージや Myeloid-derived suppressor cell (MDSC) が浸潤し血管新生や腫瘍免疫抑制を介して腫瘍の悪性化に寄与していることも報告され、がん微小環境を構成するこれらの非腫瘍細胞は新たな治療の標的として注目されている (Jain et al, 2008)。一方で、近年免疫チェックポイント阻害薬の抗 PD-1/PD-L1 抗体薬が注目され、2017 年 3 月には再発転移または遠隔転移を有する頭頸部癌における PD-1 抗体薬ニボルマブの使用が国内承認された。PD-1/PD-L1 は主に T 細胞/腫瘍細胞上で発現し、抗腫瘍免疫抑制を解除し効果的な免疫応答を誘導するものであるが、一部の報告で単球やマクロファージ、MDSC などの骨髄由来細胞上での発現が示されている (Norman et al, 2014)。そこで本研究では、放射線照射後の口腔癌における微小環境変化と骨髄由来細胞の関与を検証し、さらにそれらの細胞群における PD-1/PD-L1 の発現を検討した。そして放射線照射後の微小環境変化をターゲットとする抗 PD-1/PD-L1 抗体薬を用いた新たな治療法の確立を最終目的とした。

2 方法

- OSC-19 (ヒト舌扁平上皮癌細胞株) を Balb/c nude マウスの背部皮下に移植した。腫瘍体積が 200mm³ 程度に増殖した時点で局所放射線照射後 12Gy を施行し再発マウスモデルを作製した。
- 再発マウスモデルを用いて、放射線照射により引き起こされる腫瘍微小環境の経時間的変化について免疫染色で検討した。
- 口腔癌患者の臨床検体を用いて、同一患者の原発腫瘍と放射線照射後の再発腫瘍における骨髄由来細胞の関与について免疫染色で検討した。
- 再発マウスモデル、口腔癌患者の臨床検体を用いて、PD-1、PD-L1 の発現について免疫染色で検討した。

3 結果

OSC-19 皮下移植マウスに 12Gy の局所放射線照射を施行すると、図 1 のような増殖曲線を描いた。再発マウスモデルにおいて経時的に腫瘍を採取し腫瘍微小環境を検証したところ、放射線照射により腫瘍内の血管が減少し低酸素状態になると、CD11b⁺骨髄細胞が誘導されていた (図 2)。さらに CD11b⁺骨髄細胞の中でも CD11b⁺F4/80⁺マクロファージ、CD11b⁺Gr-1⁺ MDSC が大半を占めていた (図 3)。患者の臨床検体では、同一患者の再発腫瘍において CD11b⁺骨髄細胞と CD206⁺M2 マクロファージが有意に増加しており (図 4)、マウス、ヒト両検体において放射線照射後に骨髄由来細胞が誘導されていることが示された。これらの細胞群における PD-1、PD-L1 の発現に関しては研究途中である。

4 考察

本研究により、口腔癌において放射線照射により腫瘍内に CD11b⁺骨髄細胞が誘導され、それらがマクロファージや MDSC に分化し腫瘍の再発や難治性に寄与している可能性が示された。つまりこれらの細胞群の阻害が可能になれば、放射線療法における原発制御率は向上すると思われる。

低酸素誘導因子 HIF-1 α によりマクロファージや MDSC 上の PD-L1 の発現が上昇するという報告 (Norman et al, 2014) や、炎症性サイトカインにより単球上の PD-1 の発現が上昇するという報告がある。放射線照射後のがん微小環境は低酸素環境にあり、かつ炎症性サイトカインが多く産生されているため、抗 PD-1/PD-L1 抗体薬によるマクロファージや MDSC の効果的な阻害が期待される。また口腔扁平上皮癌における PD-1/PD-L1 の発現率は 46~87% と報告されており (Straub et al, 2016)、本来の抗腫瘍免疫抑制による抗腫瘍効果との相乗効果も期待される。

放射線療法に付随して抗 PD-1/PD-L1 抗体療法を行うことで腫瘍の再発制御が可能になれば、手術などの外科治療の回避が期待されるため、機能的、審美的要因から温存が望まれる口腔癌治療において飛躍的な発展を望める。

5 学会発表

大久保牧子, 來生 知, 杉浦 圭, 飯坂友宏, 吉井 悠, 光藤健司, 藤内 祝. 口腔癌再発に関わる骨髄CD11b陽性単球細胞の役割とバイオマーカーとしての検討. 第41回日本頭頸部癌学会, 京都, 2017, 6.

大久保牧子, 來生 知, 杉浦 圭, 飯坂友宏, 吉井 悠, 光藤健司, 藤内 祝. 放射線照射後の癌微小環境ニッチにおける骨髄細胞の役割. 第 71 回日本口腔科学会学術集会, 愛媛, 2017, 4.

大久保牧子, 來生 知, 杉浦 圭, 飯坂友宏, 吉井 悠, 光藤健司, 藤内 祝. 口腔癌の放射線治療後の再発に関わる骨髄 CD11b 陽性単球細胞の役割とメカニズムの解明. 第 35 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会, 福岡, 2017, 1.

大久保牧子, 來生 知, 中島英行, 杉浦 圭, 飯坂友宏, 光藤健司, 藤内 祝. 口腔癌再発を導く骨髄 CD11b+単球細胞の分化機構とその役割. 第 61 回日本口腔外科学会総会・学術大会, 千葉, 2016, 11.

図1

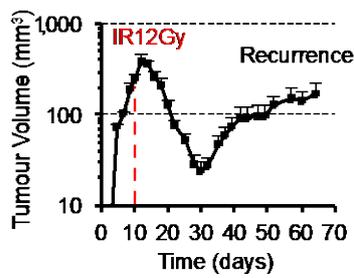


図2

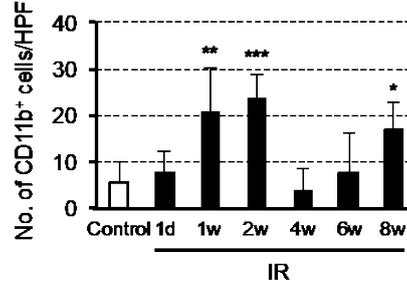


図3

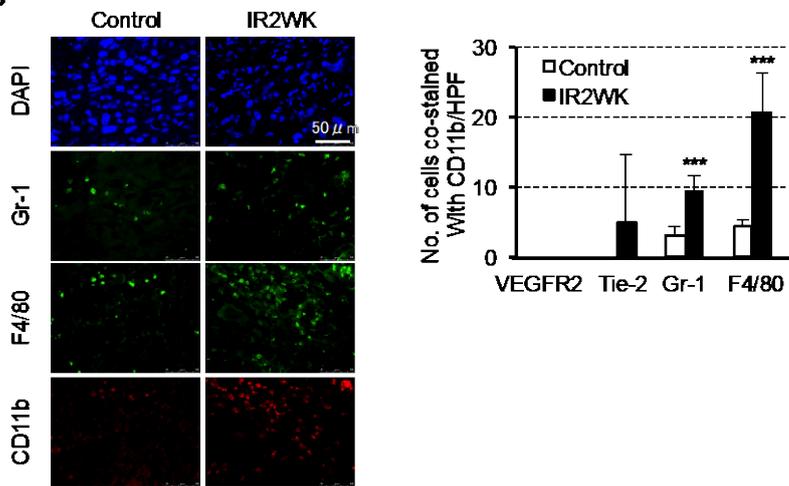
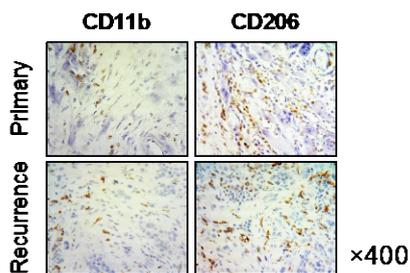


図4



<わかば研究助成>

生活習慣病における白血球 ATRAP の病態生理学的意義についての検討

春原 浩太郎 1), 2)

共同研究者; 田村功一 1), 横尾隆 2)

1) 横浜市立大学附属病院 循環器・腎臓・高血圧内科学

2) 東京慈恵会医科大学 腎臓・高血圧内科

抄録

AT1 受容体を始めとする組織レニン-アンジオテンシン(RA)系の過剰な活性化が、種々の生活習慣病やこれに伴う臓器障害に関与するとされている。報告者らは、AT1 受容体直接結合因子として ATRAP の単離・同定に成功し、ATRAP が組織 AT1 受容体の過剰活性化を抑制することで臓器障害を改善する可能性について明らかにしてきた。本研究では、近年生活習慣病病態との関連が注目される白血球・免疫系に着目し、白血球における ATRAP 発現と生活習慣病における機能的意義について検討した。健常ヒト末梢血白血球において ATRAP の遺伝子発現および蛋白発現を確認し、特に好中球や単球などミエロイド系免疫細胞に高く発現した。当科通院中患者 86 名の白血球 ATRAP 遺伝子発現量は、年齢、好中球数、単球数、血清 CRP、白血球炎症性サイトカイン遺伝子発現との有意な正相関を認めた。さらに白血球 ATRAP の機能的な意義を調べるため、骨髄移植により骨髄 ATRAP 欠損マウスおよび野生型(対照)マウスを作成し、微小炎症モデルとして低用量リポポリサッカライド投与を行った。骨髄 ATRAP 欠損マウスでは、白血球 IL-1 β 遺伝子発現が有意に高値であり、白血球における ATRAP が、炎症に対して抑制性に作用する可能性が示唆された。

<わかば研究助成>

生活習慣病における白血球 ATRAP の病態生理学的意義についての検討

春原 浩太郎 1), 2)

共同研究者; 田村功一 1), 横尾隆 2)

1) 横浜市立大学附属病院 循環器・腎臓・高血圧内科学

2) 東京慈恵会医科大学 腎臓・高血圧内科

1. 目的

レニン-アンジオテンシン(RA)系は、心血管系、腎臓、中枢神経、脂肪組織など全身諸臓器に発現しており、これら組織局所 RA 系は循環血中 RA 系とは独立した調節を受け、特に、生理活性物質アンジオテンシン II(Ang II)およびその主な受容体である 1 型アンジオテンシン(AT1)受容体の系が、組織局所 RA 系過剰活性化を介して生活習慣病や臓器障害の発症・進展に中心的な役割を果たしていると考えられている。共同研究者田村らは、AT1 受容体の機能に注目し、AT1 受容体直接結合因子として ATRAP(Angiotensin receptor-associated protein)の単離・同定に成功した(Daviet L et al. J Biol Chem 1999; Lopez-Illasaca M et al. Mol Biol Cell 2003)。さらに、ATRAP は、AT1 受容体の細胞内への内在化を促進するとともに、同受容体下流の情報伝達系を抑制的に制御することを明らかにした(Tanaka Y et al. FEBS Letter 2005; Wakui H et al. Hypertens 2010)。

近年、高血圧をはじめとする生活習慣病領域の研究においては、免疫細胞、腸内細菌叢などの免疫学的異常と病態との関連が注目されている。白血球には機能を有する RA 系が存在し、特に白血球 AT1 受容体と生活習慣病あるいは臓器障害との関連を指摘する報告が相次いで報告されているが(Zhang J et al. J Clin Invest 2014; Zhang J et al. J Am Soc Nephrol 2016)、白血球 ATRAP の生活習慣病における意義は明らかではない。本研究では、白血球における ATRAP 発現および生活習慣病における機能的意義を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

【実験1】 健常人末梢血白血球における ATRAP 発現解析

a) 健常人ボランティアより採取した末梢血を市販の RNA 抽出用採血管および RNA 抽出キットを用いて白血球 RNA を抽出し、real-time qPCR 法により ATRAP 遺伝子発現を確認した。b) 健常人ボランティアより採取した末梢血を溶血処理の後、蛋白抽出を行い、ウェスタンブロット法により ATRAP 蛋白発現を確認した。c) さらに健常人ボランティアより採取した末梢血を溶血処理の後、フローサイトメトリーを用いて、好中球、単球、B リンパ球、T リンパ球に分離し、RNA 抽出を行い、

各白血球分画毎の ATRAP 遺伝子発現量を real-time qPCR 法により定量、比較した。

【実験 2】 生活習慣病患者末梢血白血球における ATRAP 発現解析

研究参加の同意を得た横浜市立大学附属病院腎臓・高血圧内科外来通院患者より末梢血を得た。実験 1 の方法により白血球 ATRAP 遺伝子発現を定量し、末梢血採取時の各種臨床データとの関連について横断的に解析を行った。

【実験 3】 全身性 ATRAP 欠損マウスにおける末梢血および骨髄細胞の解析

全身性 ATRAP 欠損マウスを用いて、免疫細胞における ATRAP 欠損が血球系細胞の分化成熟や構成比率に及ぼす影響を調べた。全身性 ATRAP 欠損マウスおよび野生型マウス脾臓より血球系細胞を採取し、各白血球分画の絶対数および構成比率をフローサイトメトリー法により比較した。全身性 ATRAP 欠損マウスおよび野生型マウスより骨髄細胞を採取し、各種サイトカインとともに培養し、細胞数をフローサイトメトリー法により、遺伝子発現を real-time qPCR 法により解析した。

【実験 4】 骨髄 ATRAP 欠損マウスの作成および生活習慣病モデルにおける検討

8-9 週齢 C57BL/6J マウスへ致死性の放射性照射を行い、骨髄を破壊した後、全身性 ATRAP 欠損マウスおよび野生型マウス由来の骨髄細胞を尾静注することにより、骨髄 ATRAP 欠損マウスと野生型(対照)マウスを作成した。骨髄生着を確認後、生活習慣病モデルとして Ang II 投与(RA 系過剰活性化モデル)および低用量リポポリサッカライド投与(炎症モデル)を行った。

3. 結果

【実験 1】 健常人末梢血白血球において ATRAP の遺伝子発現および蛋白発現を確認した。末梢血を好中球、単球、Bリンパ球、Tリンパ球に分離した後に遺伝子発現を定量したところ、好中球や単球においてリンパ球の約 20-30 倍高く発現していることが明らかとなり、白血球 ATRAP 遺伝子発現は概ね好中球や単球などミエロイド系免疫細胞の ATRAP 発現を反映するものと考えられた。

【実験 2】生活習慣病患者 86 名(平均年齢 63 歳、高血圧 95%、糖尿病 28%、脂質異常症 66%、慢性腎臓病 63%)より末梢血を得た。白血球 ATRAP 遺伝子発現量は、年齢、好中球数、単球数、血清 CRP、白血球における IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1 遺伝子発現などの炎症性サイトカインとの有意な正相関を認め、炎症との関連が示唆された。一方で、血圧関連(外来血圧、家庭血圧、降圧薬内服状況)、糖尿病、動脈硬化指標に関しては、白血球 ATRAP との明らかな関連を認めなかった。

【実験 3】白血球 ATRAP の機能的意義について調べるため、マウスを用いた検討を試みた。前段階として実験 3 では、全身性 ATRAP 欠損マウスおよび野生型マウスの免疫細胞に差異があるか確認をした。通常飼育下の全身性 ATRAP 欠損マウスおよび野生型マウスの脾臓細胞を採取し、フローサイトメトリーで定量したところ、白血球分画(好中球、単球、樹状細胞、好酸球、Bリンパ球、Tリンパ球)の構成比率に明らかな差異を認めなかった。また、実験 1 において ATRAP は特にミエロイド系免疫細胞に高く発現することを認めたため、マウス骨髄細胞を M-CSF によりマクロファージに分化させて検討することにした。定常状態において野生型マウス由来および ATRAP 欠損マウス由来マクロファージの表面抗原マーカーあるいは遺伝子発現に関して明らかな差異を認めなかった。以上より、通常飼育下あるいは定常状態において ATRAP が免疫系細胞の分化や発現に及ぼす

影響は小さいものと考えられた。

【実験 4】白血球 ATRAP の生活習慣病病態における機能的な意義を調べるため、骨髄移植により骨髄 ATRAP 欠損マウスおよび野生型(対照)マウスを作成した。骨髄の生着率、死亡率、体重増加などに関して、骨髄 ATRAP 欠損マウスおよび野生型(対照)マウスで同等であった。RA 系過剰活性化モデルとして Ang II を持続投与した。Ang II 投与による主な表現型である、血圧上昇、心肥大、腎障害(尿中アルブミン排出、腎線維化)を観察したが、両群で同程度であった。また、生活習慣病における微小炎症モデルとして低用量リポポリサッカライド投与を行った。骨髄 ATRAP 欠損マウスでは、野生型(対照)マウスと比較して、リポポリサッカライド投与後の白血球 IL-1 β 遺伝子発現が高値となることが確認され、白血球における ATRAP は、炎症に対して抑制的に作用する可能性が示唆された。

4. 考察

近年、生活習慣病研究の中で RA 系と炎症・免疫系との関連が注目されている。本研究は、白血球における ATRAP の発現およびその機能についての初めての検討である。本研究では、健康人白血球において好中球や単球などのミエロイド系に高く発現すること、生活習慣病患者において血清 CRP や白血球炎症性サイトカイン遺伝子発現など炎症のパラメータと強く正相関すること、骨髄 ATRAP 欠損マウスでは白血球における炎症反応を増悪させる可能性について明らかにした。一方で、実験 2 において生活習慣病病態との関連を認めなかったこと、実験 4 の Ang II 投与実験において明らかな表現型の差異を認めなかったことより、白血球 ATRAP が生活習慣病において果たす役割については明らかに出来ておらず、今後の検討が必要である。具体的には、骨髄移植あるいは免疫細胞特異的 ATRAP 遺伝子改変動物を用いて、ミエロイド系細胞の関与が知られる高脂肪食負荷、糖尿病腎症、あるいは虚血再灌流(急性腎障害)モデルの検討を予定している。

5. 論文および学会発表

論文発表；

2017 年 9 月現在、英文誌投稿中、リバイス中

学会発表；

第 59 回 日本腎臓学会学術総会 口演発表 (2016 年 6 月 19 開催)

米国腎臓学会 Kidney Week 2016 ポスター発表 (2016 年 11 月 19 日開催)

第 4 回 Jikei & Tokyo University Joint Seminar 口演発表 (2017 年 3 月 1 日開催)

<わかば研究助成>

5 型アデニル酸シクラーゼ (AC5) 及び Epac1 を標的とした,
安全で有用な心疾患治療薬の開発

蔡 文倩

横浜市立大学大学院医学研究科・循環制御医学

β -アドレナリン受容体 (β -AR) 遮断薬による治療は心不全の進行を抑制し、予後を改善する極めて重要なものとして確立されている。しかし β -AR 遮断薬は β -AR を介するシグナル全体を抑制してしまうため、基本的な心機能維持まで抑制し、心不全を逆に増悪させてしまう副作用がしばしば大きな問題となる。我々はこのカテコラミンの作用のうち、有害な作用を Epac1 (Exchange Protein directly Activated by cAMP) が選択的に仲介していることを明らかにしてきた。

今回我々は Epac1 阻害剤である CE3F4 の主に不整脈治療薬としての有用性を、細胞実験、動物実験で検討した。マウス心臓から抽出した心筋細胞の Ca^{2+} 動態を評価したところ、CE3F4 は不整脈発症のメカニズムとして重要な小胞体からの Ca^{2+} リークを抑制した。さらにペーシングにより誘発される心房細動と、calsequestrin 2 欠損マウスにおける心室性不整脈の両マウス不整脈モデルにおいて、CE3F4 投与は、不整脈への抑制作用を示した。これらの結果から Epac 阻害剤は不整脈治療薬として有用である可能性が示唆された。

<わかば研究助成>

5型アデニル酸シクラーゼ (AC5) 及び Epac1 を標的とした、
安全で有用な心疾患治療薬の開発

蔡 文倩

横浜市立大学大学院医学研究科・循環制御医学

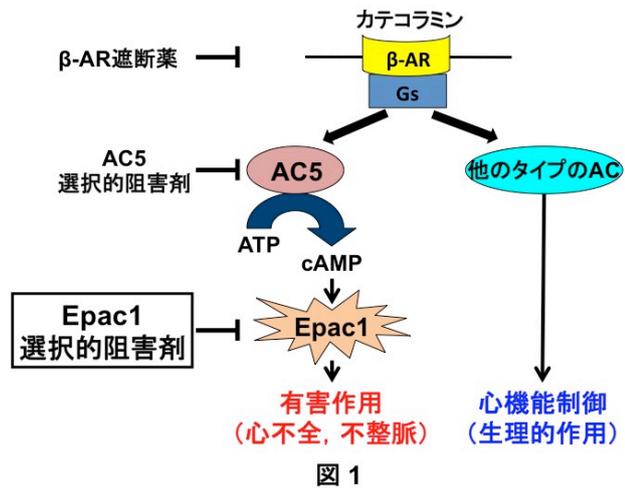
1. 目 的

心不全は心臓の機能が低下した状態であり、あらゆる心疾患により生じる。心臓へのストレスは心筋細胞死を起し、心筋細胞数の減少は心臓のポンプ機能を低下させ心不全を発症させる。しかし心筋細胞死のメカニズムは未だ十分解明されておらず、それらの制御は心不全の治療、予防に極めて重要であると考えられている。一方不整脈は心不全に陥った心臓で特に誘発され、心房細動は心不全を増悪させるのみならず、脳梗塞の発症も促進し臨床で大きな問題となる。また重症心室性不整脈は心不全患者等の突然死の重要な原因となる。

これら心不全、不整脈の原因となる重要なメカニズムの一つが、交感神経活性化であり、このシグナルは主に β -アドレナリン受容体 (β -AR) を介する。カテコラミンの急性の心機能促進作用は、全身の循環維持のために極めて重要であるが、慢性的なカテコラミン刺激は心筋細胞死の原因となり、結果として心機能を低下させ、不整脈も誘発させる。したがって β 受容体遮断薬による治療は心不全の進行を抑制し、予後を改善する極めて重要なものとして確立されている。しかし、 β 遮断薬は β -アドレナリン受容体を介するシグナル全体を抑制してしまうため、その有用な作用である基本的な心機能維持まで抑制し、心不全を逆に増悪させてしまう副作用がしばしば大きな問題となる。我々は β -アドレナリン受容体の下流のシグナル伝達系に着目し、特にカテコラミンの有害作用につながる経路の選択的な抑制を行うことで、上記の様な副作用の少ない心不全治療薬の確立を目指している。

β -アドレナリン受容体刺激は、アデニル酸シクラーゼ (AC) を活性化させセカンドメッセンジャーである cAMP を合成し、その細胞内濃度を高める。cAMP の上昇は心筋の機能を制御しているが、同時に有害作用として心筋細胞死を引き起こし心不全を発症させたり、不整脈を誘発したりする。我々のこれまでの検討から、心臓に発現する AC のアイソフォームの一つである AC5 が特にカテコラミンの有害作用発現に重要な役割を果たすことがあきらかとなった (Circulation 2007)。それを元に我々は AC5 阻害薬であるビダラビンの不整脈治療薬としての有用性を確認し、加えて従来の β -遮断薬と比較して心機能抑制の副作用が非常に少ないことを確認した (論文投稿中)。 さらに cAMP の下流の標的分子としては

Protein kinase A (PKA) がこれまで主なものとして考えられてきたが、近年 cAMP の標的となる分子として新たに、Exchange protein directly activated by cAMP (Epac) が報告され、その重要性が注目されている。我々は Epac1 欠損マウスを使用した詳細な検討を行い、上記 Epac のサブタイプの一つである Epac1 が、心不全や不整脈発症に重要であることを明らかにした (JCI 2014)。加えてカテコラミンの有害作用発現メカニズムとして、AC5 の下流で Epac1 が重要であることも、遺伝子改変動物を用いた実験で証明することに成功した (BBRC 2016)。これは、AC5 阻害薬のみならず、Epac1 阻害薬がカテコラミンの有害作用を選択的に遮断することができる可能性を示す結果である (図 1)。これを踏まえ、今回我々は Epac1 阻害薬の主に不整脈治療薬としての有用性を検討した。



2. 方法

Epac1 選択的阻害剤 (CE3F4) の不整脈発症抑制作用を、細胞実験と、動物実験において評価した。心筋細胞を成体マウスの心臓から抽出・培養し、不整脈発症の原因とされている、カテコラミン刺激による筋小胞体 (SR) からの Ca^{2+} リークやそれによって生じる自発的 Ca^{2+} 放出 (SCR) の程度への CE3F4 の作用を観察した。さらに、マウス不整脈モデルにおいて、CE3F4 による不整脈治療の効果を検討した。まず臨床において極めて重要な不整脈である心房細動のマウスモデルにおいて、CE3F4 の効果を評価した。これまでのマウスにおける心房細動モデルでは発作がわずか数秒しか誘発できなかったため、薬効などの評価が困難であったが、近年我々は交感神経活性を高めることにより、安定して数分間持続する心房細動を誘発できるモデルを確立しており (PLoS One 2015 報告)、同モデルを用いて評価した。更に CE3F4 の心室性不整脈への効果を確認するため、calsequestrin 2 欠損マウスをモデルとして用いて検討した。

3. 結果

マウス心臓から抽出した心筋細胞を用いて、Epac1 阻害剤である CE3F4 はノルエピネフリンによる Ca^{2+} リークや SCR の増加を抑制した。また、心房細動モデルにおいて、CE3F4 は β 遮断薬と比較しても同等に不整脈の抑制効果を有することが明らかとなった。加えて重要なことに、 β 遮断薬と同程度の効果がみられる用量で、CE3F4 は心拍数にほとんど影響を及ぼさなかったのに対し、 β 遮断薬は心拍数の有意な低下を認めた。これは期待された

通り，CE3F4は β 遮断薬と比較して副作用の少ない，安全な不整脈治療薬となりうる可能性を示すものであった。

4. 考 察

不整脈治療を要する患者は，心機能が低下していることが多く， β 遮断薬の心機能抑制の副作用は投与時にしばしば問題になる．結果として十分な不整脈治療が行えなくなる場合もあるし，何とか投与可能であっても，投与開始時に心不全発症などについて極めて細かい注意を払う必要がある．

今回の我々の検討結果は，Epac1阻害剤が上記の β -遮断薬の問題点を克服でき，安全な不整脈治療薬となりうる可能性を示すものであった．この結果を踏まえ今後は， β 遮断薬による治療の有効性が確立している心不全などについてもEpac1阻害剤の効果を検討し，本薬剤の有用性を検討していく予定である．

5. 論文及び学発表（研究会を含む）

Epac1 plays an important role in the development of atrial fibrillation in mice. 第27回日本病態生理学会大会（2017年8月 東京）

<わかば研究助成>

マイクロ流体システムを用いた次世代型 *in vitro* 精子形成システムの開発とその応用

山中弘行

共同研究者

小川毅彦 古目谷暢

横浜市立大学大学院医学研究科泌尿器病態学

抄録

我々は組織培養法として知られている気相液相界面培養法を用いてマウス精子産生に成功したが、ヒトやその他の動物では成功していない。その原因として生体内の空間的環境を十分に模倣できていないことが考えられる。そのことを証明するように第五世代デバイスにおいては持続的な培養液の供給と組織全体への均等な栄養供給を実現できたため精子形成効率の向上とその持続時間の延長を達成できた。我々は共同研究先と協力し、多孔膜を使用せず PDMS で形成した格子の間に培養液を通過させ栄養供給し、組織培養を行うデバイスを開発した。このデバイスは組織との境界に多孔膜を用いて垂直方向から栄養供給を行う従来の培養方法と異なり左右のスリットから物質供給を行うため、上方向からの視認性・酸素透過性が高く個々の精子細胞の挙動をタイムラプス等で持続的に観察する事もできた。さらに、垂直方向からも物質供給能できるデバイスを開発し、既存のデバイスと同等の結果を得た。これらの実験で得られた知見を活かし、今後の精巣組織培養に活用する予定である。

<わかば研究助成>

マイクロ流体システムを用いた次世代型 *in vitro* 精子形成システムの開発とその応用

山中弘行

共同研究者

小川毅彦 古目谷暢

横浜市立大学大学院医学研究科泌尿器病態学

1. 目的

当研究室では気相液相培養法を用いて仔マウス精巣を培養し精子形成に導くことを世界で初めて実現した。しかし、その効率は生体内と比較すると非常に低い。生体内では細胞の周囲 50 μ m 以内には毛細血管が配置されており、血流・リンパ流・ヘモグロビンなどを介した物質・酸素の供給と老廃物の除去を効率的に行っている。一方で気相液相境界法では①物質供給は拡散に依存する②培養液は時間とともに劣化していく③組織からの老廃物を washout する循環系が存在しない④ガス交換は組織と直接接触した部分からのみ行われる。つまり、生体内を模倣した形での精子形成が行われているとは言えない。このことがヒトを含めた高等生物での *in vitro* 精子形成を困難にしている一面考えられる。この問題を解決するためには、生体内で行われているような微小血管網を介した物質供給とガス供給および老廃物の除去が絶え間なくかつ適切に行われることが必要であり、そのような培養系を考える事が本研究の意義である。

2. 方法

前述の気相液相培養法の抱える問題点を解決し、組織培養環境を生体内に近づけるために我々はマイクロ流体システム (MF) を用いた組織培養法を検討し、改良を続けている。マイクロ流体システムは半導体技術を応用した工学技術に基づいており、polydimethylsiloxane (PDMS) を基材としてそこに μ m レベルの微細流路を構築することができる。さらに PDMS は水を通さず、高い酸素透過性を備えており、細胞培養への応用が可能である。我々はマイクロ流体デバイスを作成し改良することで第5世代デバイスまで進化させてきた。今回、共同研究先と協力し、多孔膜を使用せず PDMS で形成した格子の間 (25 μ m 以下) に培養液を通過させ左右から栄養供給し、組織培養を行うデバイス (Ver6) を開発した。また、さらなる物質供給の向上により培養環境を向上させる方法を検討するため、上下方法から培養液を供給し精巣培養を行うデバイス (Ver8) を開発した。これらのデバイスを用いて、Acr-トランスジェニックマウスの精巣培養を行った。

3 結果

Ver6 デバイスを用いた精巣培養において、既存のデバイスと培養結果には大きな違いが見られなかったものの、組織培養スペースとの境界に用いていた多孔膜を使用することが無くなったため、顕微鏡を用いた観察の際に視認性が高まり、精子形成における各段階の細胞を細かく評価することができた。精子形成を詳細に評価・研究するという観点からも視認性が高いことは大きなメリットであり Ver6 デバイスの有用性は非常に高いと考えられた。Ver8 デバイスの培養結果においては、GFP の発現は十分に見られたものの、ほかデバイスとの差を確認することはできなかった一方で、水平方向への組織の成長は大きく、さらなるデバイスの改良を追求できないかと考えている。

4. 考察

Ver6, Ver8 デバイス共に Ver5 デバイスとは異なる組織への栄養供給方法を行っており、今後の新しいデバイスを検討していくに当たり有用なデータを得ることができた。一方で、精巣組織培養においては良好な培養結果を得ることができたものの、デバイスにおける培養環境の細かいパラメータ（組織周囲での酸素濃度、PH、組織の圧力環境）などは評価できていない。可能な限り今後評価を図っていきたい。

5. 論文及び学会発表

2016 Pharma Medica, April 2016 vol.34.No.4

山中弘行、小川毅彦

精巣組織の凍結

第 61 回日本生殖医療学会学術講演会

2016 年 11 月 3 日（木）～4 日（金） パシフィコ横浜

山中弘行 三條博之 古目谷暢 加藤佐樹子 林功晃 中村寛子 木村啓志 小川毅彦

マイクロ流体システムを用いた次世代型 *in vitro* 精子形成システムの開発とその応用

第 16 回日本再生医療学会

2017 年 3 月 7 日（火）～9 日（木） 仙台国際センター 会議棟・展示棟

山中弘行 古目谷暢 加藤佐樹子 林功晃 中村寛子 木村啓志 小川毅彦 矢尾正祐

マイクロ流体デバイスを用いた *In Vitro* 精子形成について

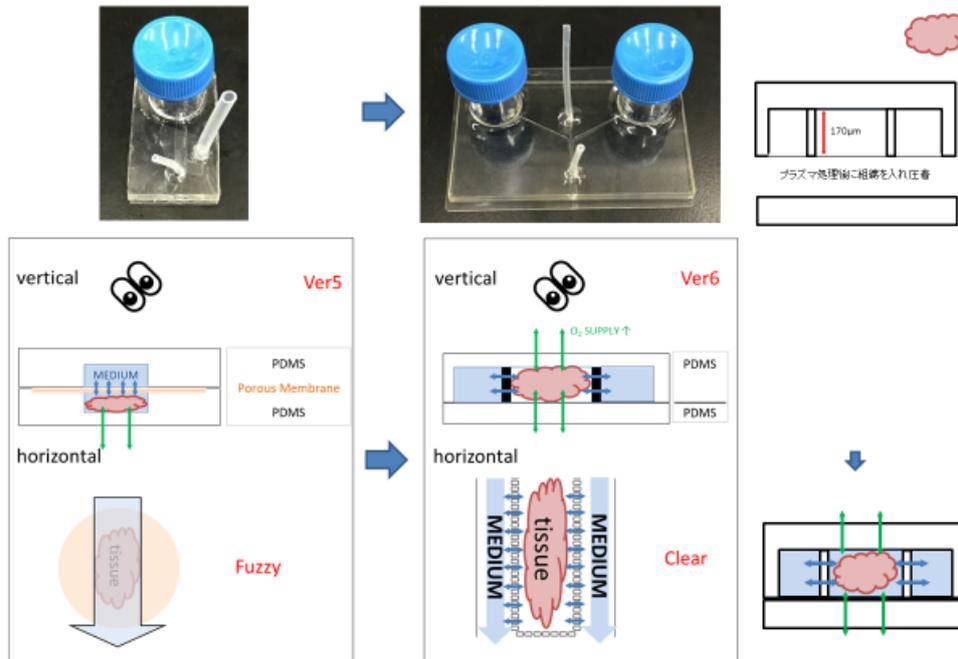
第 105 回日本泌尿器科学会総会

2017 年 4 月 21 日（金）～24 日（月）

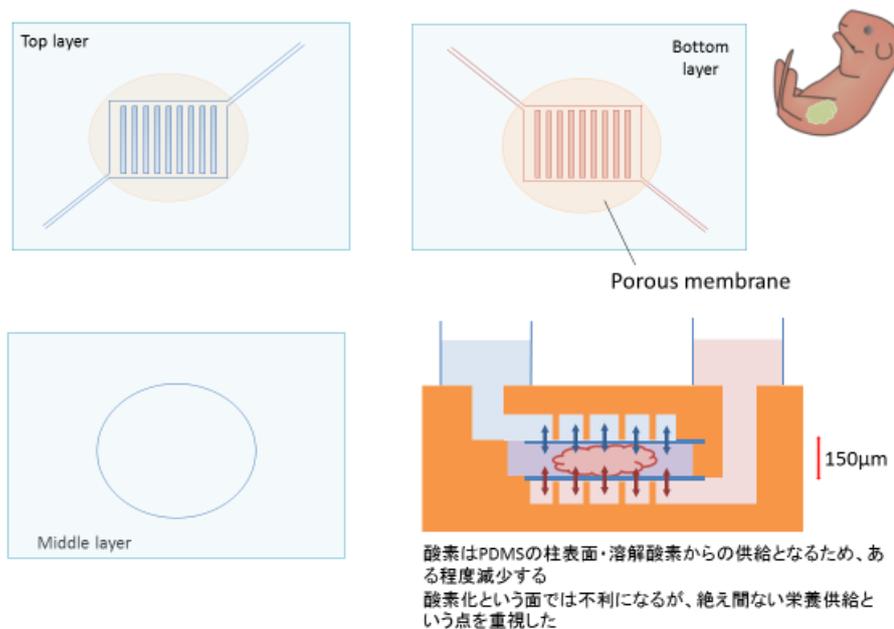
城山観光ホテル かごしま県民交流センター 宝山ホール

山中弘行 古目谷暢 加藤佐樹子 林功晃 中村寛子 木村啓志 小川毅彦 矢尾正祐
 マイクロ流体デバイスを用いた In Vitro 精子形成について

Ver6(左右のPDMS格子から栄養供給を受けるデバイス)



Ver.8(上下方向から栄養供給を行うデバイス)



<わかば研究助成>

神経回路形成因子 LOTUS の可溶性タンパク質が有する生理作用の解析

川上 裕

栗原裕司、竹居光太郎

横浜市立大学大学院生命医科学研究科

抄録

中枢神経系の再生を阻む NgR1 のアンタゴニストである LOTUS (lateral olfactory tract usher substance) は NgR1 と結合し、ミエリン関連阻害因子 (MAI) など NgR1 のリガンドの結合を阻害することで NgR1 の機能を阻害し、成長円錐の崩壊や突起伸長阻害を抑制する。LOTUS は可溶性タンパク質 (s-LOTUS) として脳脊髄液中にも検出されているが、その機能は検証されていない。今回、s-LOTUS の NgR1 機能における分子機構の解明および機能解析を行った。s-LOTUS は NgR1 と MAI の結合を抑制せず、NgR1 の共受容体 p75 と結合し、両者の相互作用を阻害した。s-LOTUS は MAI により誘起される RhoA の活性化、および MAI により誘起されるニワトリ後根神経節細胞の成長円錐の崩壊および突起伸長阻害、さらに *lotus* ノックアウトマウス由来の嗅球細胞における成長円錐の崩壊を抑制した。さらに、マウス視神経障害モデルにおける s-LOTUS の硝子体内投与は軸索再生を促進させた。以上より、s-LOTUS は NgR1 機能を抑制し神経再生を促進させることが示唆された。

<わかば研究助成>

神経回路形成因子 LOTUS の可溶性タンパク質が有する生理作用の解析

川上 裕

栗原裕司、竹居光太郎

横浜市立大学大学院生命医科学研究科

目的

中枢神経系では再生を阻害する物質やそれによるシグナル伝達経路が内在的に存在しており、神経再生が極めて困難である。内因性の神経再生阻害を担う主な分子機構として、Nogo66, MAG, OMgp, BlyS, CSPGsといった5種の神経再生阻害分子の各々が共通して結合するNogo受容体type1 (NgR1) を介するシグナル伝達経路が知られている。近年、申請者が所属する研究室において発見されたLateral Olfactory Tract Usher Substance

(LOTUS) (Sato et al. Science, 2011) は、これら5種の神経再生阻害因子とNgR1の結合による神経再生阻害を抑制する内在性タンパクである。LOTUSはNgR1の拮抗物質として働く膜タンパク質である一方、細胞膜から分泌されて機能する可溶性タンパク質としても存在するが、可溶性LOTUS (s-LOTUS) が膜タンパク型と同様の生理機能を有するかについては知られていない。本研究では、s-LOTUSを用いた将来的な薬物療法を鑑み、タンパク質製剤としてのs-LOTUSが有する生理作用、およびその作用機序の解明を目的とする。

2. 方法

a) s-LOTUSおよびNgR1のリガンドのタンパク精製

シグナル配列に続いてmouse LOTUS (85-1818) (NCBI NM_145123)の塩基配列を有するものをs-LOTUSと定義し、適宜各種タグを融合させたリコンビナントタンパク質を作製した。

b) 結合実験

培養細胞を播種し4時間培養した後、リポフェクション法を用いて各種膜タンパクの配列を含むプラスミドを導入し、44時間培養した。リガンドを投与し1時間37°C 5%CO₂下で反応させ固定した後、内在性のアルカリフォスファターゼ (AP) を失活化させたのち、APタグを融合させたタンパク質の結合をAPの基質として室温下で呈色させた。一方、SBP-Fcタグを融合させたものについては、anti-SBP抗体およびビオチンラベルを付加された抗体とAPを付加したavidin-biotin complex試薬を用いてAPの基質と反応させて検出した。

c) 成長円錐崩壊および神経突起伸長の解析

ニワトリ胚卵生13日の脊髄後根神経節 (DRG)、またはC57BL/6Jマウス胎生13日の嗅球の8等分

片を、細胞塊として接着させそれぞれ24時間、48時間培養した。s-LOTUSを投与した後、NgR1の各リガンドを投与し培養した。固定後、蛍光標識されたPhalloidin反応させて形態を描出させ、神経突起の先端に形成される成長円錐の形状を撮影し、成長円錐の崩壊率を計測した。神経突起伸長については、上記のDRGを24時間分散培養し固定した後、 α -tubulinに対する抗体を用いて染色を行い、各細胞体の起始部から突起の先端までの最長距離を上で計測した。

d) プルダウンアッセイおよびウエスタンブロッティング

培養細胞をトランスフェクションさせ培養した後、特異的な結合性質を有する分子を付加したビーズを用いて細胞溶解液と反応させ、SDS-PAGEのサンプルを作製した。SDS-PAGEの後、semi-dry ウエスタンブロッティングを行ってメンブレンに転写した後、5%スキムミルクでブロッキングし、5% bovine serum albumin (BSA)で希釈した1次抗体と4℃下で一晩反応させた。HRPを付加した2次抗体と反応させた後、HRPの基質と反応させ撮影した。

e) マウス視神経圧挫障害モデルにおけるs-LOTUSの生体内投与実験

生後21日目マウスの左眼窩を開放し、視神経の眼球より約1 mmの部位を鉗子で7秒間圧挫した。受傷直後および受傷7日後に硝子体内にs-LOTUSを注入し、受傷12日後には視神経の軸索を標識するためcholera toxin subunit Bを注入した。受傷14日目に眼球と視神経を摘出し、凍結切片を作製して損傷部位より遠位側に伸びる軸索の本数を各距離において計測した。

3. 結果

s-LOTUSはNgR1とMAIの結合を抑制せず、NgR1の共受容体p75と結合し、両者の相互作用を阻害した(図1)。s-LOTUSはMAIにより誘起されるRhoAの活性化、およびMAIにより誘起されるニワトリ後根神経節細胞の成長円錐の崩壊および突起伸長阻害(図2)、さらに*lotus*ノックアウトマウス由来の嗅球細胞における成長円錐の崩壊を抑制した。さらに、マウス視神経障害モデルにおけるs-LOTUSの硝子体内投与は軸索再生を促進させた。

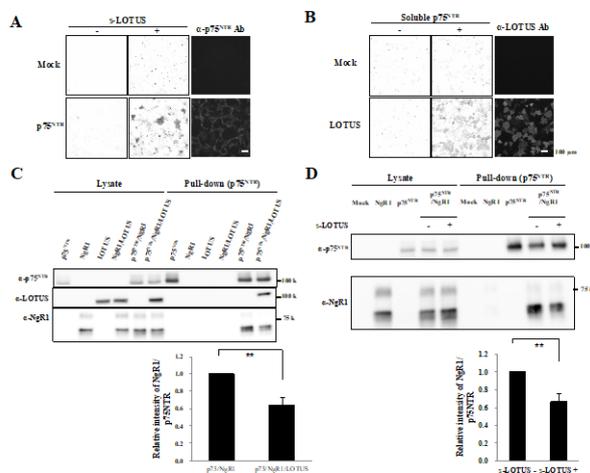


図1 LOTUS は p75^{NTR} と結合し、p75^{NTR} と NgR1 の相互作用を抑制する。A, B: 培養細胞上の LOTUS または p75^{NTR} に対する、可溶性タンパクの結合実験。bar, 100 μm。C: p75^{NTR}, NgR1, および LOTUS を強制発現させた HEK293T 細胞のプルダウン実験。D: p75^{NTR} および NgR1 を強制発現させた HEK293T 細胞へ s-LOTUS の投与を行ったプルダウン実験。** p < 0.01, Tukey ANOVA

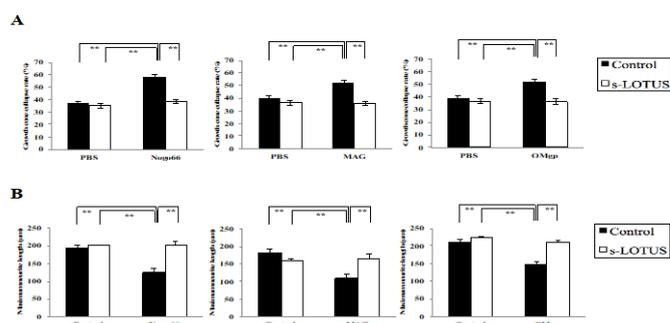


図2 s-LOTUSはNgR1のリガンドにより誘起される成長円錐崩壊、および神経突起伸長阻害を抑制する。A: ニワトリ DRG 細胞における成長円錐崩壊の評価。B: 同細胞における神経突起伸長の検証。n = 4, ** p<0.01, Tukey-Kramer ANOVA

4. 考察

今回、s-LOTUSは、NgR1およびその共受容体p75^{NTR}とも結合し、NgR1シグナリングに必須とされるNgR1とp75^{NTR}の相互作用を抑制することによってシグナルを阻害することが示された。

s-LOTUSは、膜結合型LOTUSがNgR1のリガンド結合を阻害するのに対して、それとは異なる作用機序によりNgR1シグナリングを抑制することが示唆された。一般に、膜結合型タンパクがmatrix metalloproteinase (MMP)などによって切断され可溶性タンパクを生じた場合、膜結合型と可溶性とはリガンドと受容体の関係のコンテキストで言えば同様の分子機構で機能を有することが多い。一部のタンパクでは膜結合型と可溶性とで有する機能が大きく異なることや、膜結合型のみが機能を有することがあるが、LOTUSはNgR1受容体機能の抑制という機能を共通するものの作用機序が異なる分子であり、例えば結合様式がcis型とtrans型とで大きく異なるといった別の機序の関与が想定される。LOTUS自体の立体構造、およびLOTUSとNgR1またはp75^{NTR}との結合様式など、今後の詳細な分子機構の解明が待たれる。

また、内在性LOTUSが欠損する組織において外的に投与されたs-LOTUSが機能を補填することを示すことができたことは、s-LOTUSが中枢神経系の損傷に対する薬物療法の候補分子のひとつであることが期待される。s-LOTUSを基とする創薬には高い凝集性の回避や薬物動態の解析などの数多くの課題が残されているものの、LOTUSが有する機能ドメインの同定はs-LOTUSの臨床応用において重要な研究課題となる。特に、膜結合型LOTUSのNgR1への拮抗作用がC末端側のUA/ECドメインに存在することが示唆されていることから、今後は可溶性UA/ECを中心とした各ドメインのタンパク質についても、同様の機能解析を行うことが重要となる。

<わかば研究助成>

組織型プラスミノゲン活性化因子に着目した動脈管閉鎖のメカニズムの解明

齋藤純一

横山詩子、石川義弘

横浜市立大学大学院 医学研究科 循環制御医学

抄録

本研究の目的は、動脈管閉鎖に必要な内膜肥厚形成に対する、組織型プラスミノゲン活性化因子 (PLAT) の関与を解明することである。

はじめに、胎生 21 日目 (満期) の胎仔ラットを用いて、動脈管と大動脈の内皮細胞を分離し、PLAT が大動脈よりも動脈管の内皮細胞に高発現している事を確認した。次に、PLAT がプラスミノゲンをプラスミンに変換することで、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) を活性化するかを検討した。ゼラチンザイモグラフィを行い、大動脈より動脈管の内皮細胞で MMP 活性が高く、プラスミノゲン投与下では MMP 活性がさらに増加することを確認した。3 次元血管モデルを用いて、プラスミノゲン添加により、内皮細胞での MMP 活性増加と弾性線維断裂が生じることを確認した。胎生 19 日目の未熟な胎仔ラットへプラスミノゲンを投与したところ、動脈管の MMP 活性が増加し、内弾性板断裂と内膜肥厚形成が促された。

本研究から、動脈管の内皮細胞で高発現している PLAT は、MMP の活性化を介して、動脈管の内膜肥厚形成に関与している可能性が示唆された。

<わかば研究助成>

組織型プラスミノゲン活性化因子に着目した動脈管閉鎖のメカニズムの解明

齋藤純一

横山詩子、石川義弘

横浜市立大学大学院 医学研究科 循環制御医学

1. 目的

動脈管とは、大動脈と肺動脈の間に存在し、胎児が生存するためには開存が必要な血管である。通常は、出生直後の肺呼吸の開始とともに血管収縮（機能的閉鎖）が起こり、続いて解剖学的閉鎖に至る。しかし、早産児ではしばしば出生後も開存したまま（動脈管開存症）になり、心不全や肺出血、脳室内出血、壊死性腸炎などの重大な合併症を起し、生命予後が悪化する。現在、動脈管開存症に対する治療薬は、血管収縮を目的とした COX 阻害薬のみであるが、腎機能障害や消化管穿孔などの重篤な副作用が報告されていることや、半数近くの子では効果不十分のために外科治療が行われる。そのため、動脈管開存症に対する新たな治療薬の開発が望まれている。

近年、動脈管が解剖学的に閉鎖するためには、血管収縮による機能的閉鎖だけでなく、胎生中期から始まる血管リモデリング（**内膜肥厚形成**）が重要であることが明らかとなった（**図 1**）（*Yokoyama U et al., Circulation. 2014; Circ. Res. 2008; J Clin Invest. 2006* 他）。胎児は胎内で高濃度のプロスタグランジン E (PGE) にさらされながら、動脈管を拡張させつつ、生後の閉鎖に向けた準備として動脈管の内膜肥厚を形成している。早産児では、この動脈管の内膜肥厚が未発達なため、動脈管開存症の割合が高く、COX 阻害薬で閉じた動脈管が容易に再開通する。

動脈管の内皮細胞に対する網羅的遺伝子解析の結果から、動脈管の内皮細胞で**組織型プラスミノゲン活性化因子 (PLAT)** が高発現していることが報告されている。本研究では PLAT に焦点を当て、動脈管の内膜肥厚形成への関与を解明することが目的である。

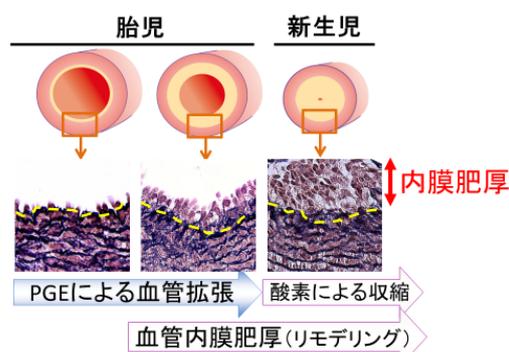
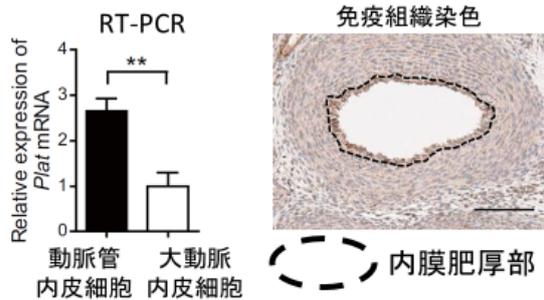


図1 胎生中期から始まる動脈管の内膜肥厚形成

2. 方法

胎生 21 日目（胎生満期）の胎仔ラットから動脈管と大動脈を摘出し、FACS (Fluorescence-activated cell sorting) で内皮細胞を分離した。分離した内皮細胞を用いて、RT-PCR で PLAT 発現の比較を行い、培養上清のゼラチンゼイモグラフィーでマト

リックスメタロプロテアーゼ(MMP)活性の比較を行った。PLATの血管リモデリングへの直接の影響を確認するため、3次元血管モデルを作成し(Ishiwata R, Yokoyama U et al., *Atherosclerosis*. 2014)、PLATの基質となるプラスミノゲンの添加を行い、弾性線維の変化を確認した。最後に、胎生19日目の未熟な胎仔ラットに対してプラスミノゲンの胎仔腹腔内投与を行い、胎生20日目の胎仔動脈管の内弾性板断裂と内膜肥厚形成を確認した。



3. 結果

動脈管の内皮細胞は、大動脈と比較してPLATが高発現していた(図3)。

図3 動脈管におけるPLATの発現。(左)内皮細胞のPLAT発現の比較(n=6, **p<0.01)。(右)動脈管(胎生21日目)のPLATの免疫組織染色。濃い茶色がPLATを示す。Scale bar: 100 μm

PLATは、プラスミノゲンのプラスミンへの変換を介して、MMPを活性化する。FACSで分離した内皮細胞のゼラチンゼイモグラフィーで、動脈管内皮細胞の高いMMP活性が確認された(図4左)。また、MMP活性はプラスミノゲン添加により増強した。in situゼラチンゼイモグラフィーでは、動脈管の内膜肥厚部での高いMMP活性が確認された(図4右)。

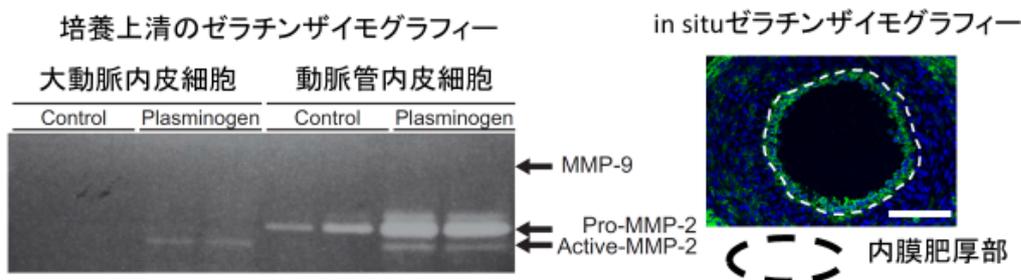


図4 動脈管におけるMMP活性。(左)動脈管と大動脈のMMP活性。(右)動脈管(胎生21日目)のin situゼイモグラフィー。緑色はMMP活性、青色は核を示す。Scale bar: 100 μm

ヒト臍帯静脈内皮細胞とラット大動脈平滑筋細胞を用いて作成した3次元血管モデルに対して、プラスミノゲン添加の有無で48時間のインキュベーションを行ったところ、プラスミノゲン添加下でMMP活性が増加し、弾性線維断裂が確認された(図5)。

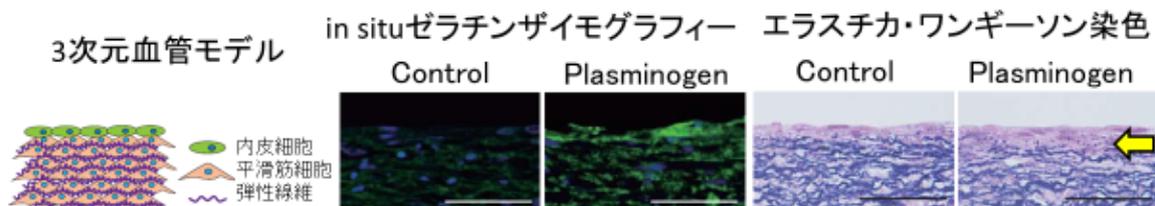


図5 3次元血管モデルにおける弾性線維の変化。(左) 3次元血管モデルの図。(中央) in situ ザイモグラフィ。緑色はMMP活性、青色は核を示す。(右) 弾性線維染色。弾性線維は濃い紫色で示される。黄色矢印は弾性線維断裂を示す。Scale bar: 50 μ m

胎生19日目の未熟な胎仔ラットに対して、プラスミノゲンの胎仔投与を行ったところ、胎仔動脈管のMMP活性が増加し、内弾性板の断裂と内膜肥厚形成が確認された。

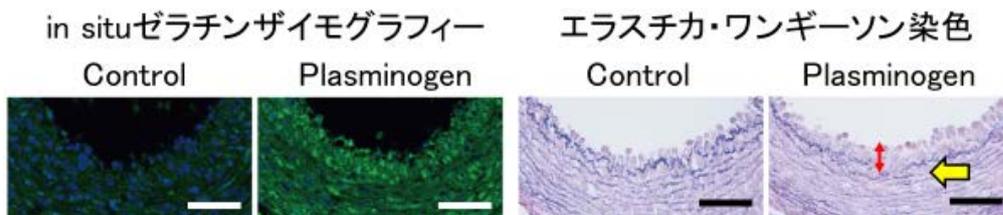


図6 プラスミノゲン投与による胎仔動脈管の変化。(左) 動脈管(胎生20日目)の in situ ザイモグラフィ。緑色はMMP活性、青色は核を示す。(右) 弾性線維染色。弾性線維は濃い紫色で示される。黄色矢印は弾性線維断裂、赤矢印は内膜肥厚を示す。Scale bars: 50 μ m

4. 考察

本研究から、動脈管の内皮細胞で高発現しているPLATは、MMPの活性化を介して、動脈管の内膜肥厚形成に関与している可能性が示唆された。新生児では血中プラスミノゲン濃度が成人の50%しかなく、かつ早産児ほど血中プラスミノゲンが低いことが報告されている。そのため、プラスミノゲンを補充することで、動脈管の内膜肥厚形成を促進し、動脈管閉鎖を促すことが出来る可能性がある。しかし、プラスミノゲン投与による出血などの他臓器への影響や、より大型の動物での効果など、今後の検討を行う必要である。

貴財団からのご支援をいただくことで、未熟児動脈管に対する治療の礎となるデータを得られたことに深く感謝申し上げます。

5. 論文および学会発表

- Tissue-type plasminogen activator contributes to remodeling of the rat ductus arteriosus.

Junichi Saito, Utako Yokoyama, Naoki Nicho, Yun-Wen-Zheng, Yasuhiro Ichikawa, Satoko Ito, Masanari Umemura, Takayuki Fujita, Shuichi Ito, Hideki Taniguchi, Toshihide Asou, Munetaka Masuda, Yoshihide Ishikawa.

PLOS ONE (under minor revision)

- Human Gene Profiling Reveals Contribution of Tissue Plasminogen Activator to Intimal Thickening of the Ductus Arteriosus.

Junichi Saito, Utako Yokoyama, Munetaka Masuda, Toshihide Asou, Yoshihide Ishikawa.

American Heart Association Scientific Session 2016, November 14

- ・ヒト動脈管における内膜肥厚部の遺伝子プロファイリング

齋藤純一、横山詩子、益田宗孝、麻生俊英、石川義弘

第 52 回 日本周産期・新生児医学・学術集会、2016 年 7 月 17 日

<わかば研究助成>

アルツハイマー病発症におけるセマフォリン 3A の役割

實木 葵

横浜市立大学医学部生理学

抄録

アルツハイマー型認知症 (AD) をはじめとする認知症の克服は世界的な最重要課題の1つである。AD は記憶障害や認知機能の低下が主症状の神経変性疾患である。認知症初期に神経細胞の変性が徐々に進行し神経ネットワークの破綻が起こる。このことから、AD の発症過程において神経回路形成に関わる分子の変化がみられると考えられる。これまでに分泌型神経軸索ガイダンス分子セマフォリン 3A (Sema3A)がAD発症初期の患者の死後脳にて発現が増加していること、さらには Sema3A を海馬スライスに添加すると濃度依存的にシナプス伝達が抑制されることが報告されている (Good et al., *J Neurochem*, 2004; Bouzioukh et al., *Eur J Neurosci*, 2006)。これらの知見は、AD の発症における Sema3A の関与を示唆するが、そのメカニズムや因果関係の有無は全く不明のままである。本研究では AD モデルマウスを用い病態発症時における Sema3A とその受容体のシナプスにおける分泌・発現動態を明らかにすることにより、アルツハイマー病の新たな治療ターゲットを創出する。

<わかば研究助成>

アルツハイマー病発症におけるセマフォリン 3A の役割

實木 葵

横浜市立大学医学部生理学

1.目的

アルツハイマー型認知症 (AD) をはじめとする認知症の克服は世界的な最重要課題の1つである。AD は記憶障害や認知機能の低下が主症状の神経変性疾患である。認知症初期に神経細胞の変性が徐々に進行し神経ネットワークの破綻が起こる。このことから、AD の発症過程において神経回路形成に関わる分子の変化がみられると考えられる。これまでに分泌型神経軸索ガイダンス分子セマフォリン 3A (Sema3A)が AD 発症初期の患者の死後脳にて発現が増加していること、さらには Sema3A を海馬スライスに添加すると濃度依存的にシナプス伝達が抑制されることが報告されている (Good et al., *J Neurochem*, 2004; Bouzioukh et al., *Eur J Neurosci*, 2006)。これらの知見は、AD の発症における Sema3A の関与を示唆するが、そのメカニズムや因果関係の有無は全く不明のままである。

本研究では AD モデルマウス (Saito et al., *Nature neurosci* 2014)と Sema3A の分泌を可視化するノックインマウスを用いて、病態発症時における Sema3A の分泌・発現動態を明らかにすることにより、アルツハイマー病の新たな治療ターゲットを創出することを目的とする。

2.方法

(i) A β 前駆体である APP を過剰に産生することで神経細胞の変性を惹起し学習障害を呈する AD モデルマウス (*App*^{NL-G-F/NL-G-F})を用い、Sema3A の受容体である PlexinA4 (PlexA4)と Neurophilin-1 (NRP1)のシナプスにおける発現量を同定する。

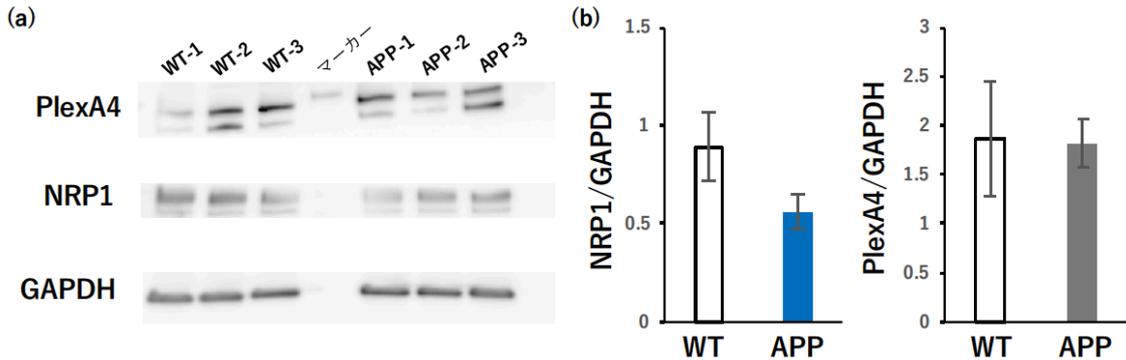
(ii) 病態発症時における Sema3A の分泌・発現動態を明らかにするため、*App*^{NL-G-F/NL-G-F} と Sema3A の分泌を可視化するノックインマウス (*flag-SEP-Sema3A*) を掛け合わせ、Sema3A の分泌動態を検討する。

3.結果

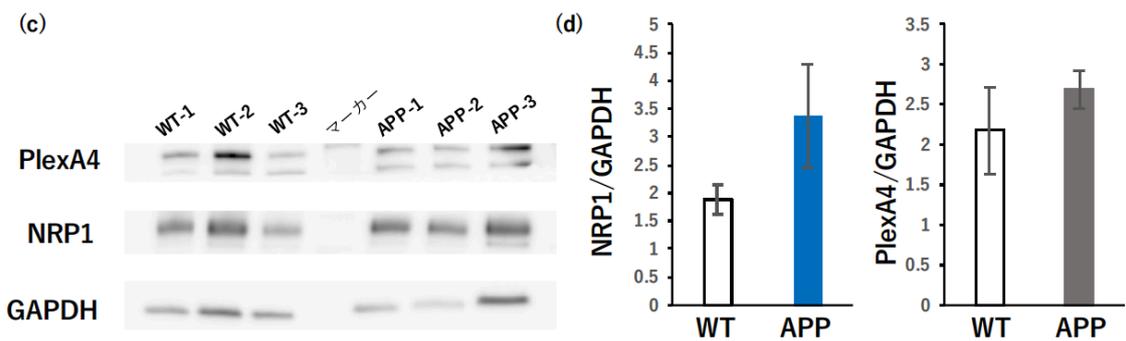
Sema3A が AD 発症初期の患者の死後脳にて発現が増加していることから、*App*^{NL-G-F/NL-G-F} マウスの A β の蓄積が顕著に観察される生後 12ヶ月齢の海馬領域において Sema3A の受容体であ

る PlexA4 と NRP1 がプレシナプスとポストシナプスを含むシナプトニューロソーム画分にて発現が増加しているかをウエスタンブロッティング法により検討した。その結果、PlexA4 は海馬ライセートでは発現に変化はないが、シナプトニューロソーム画分には僅かではあるが増加傾向が得られた(a,b)。NRP1 においては海馬ライセートでは低下傾向にあったが、その一方で、シナプトニューロソーム画分にて発現増加傾向であることが明らかになった(c,d)。

海馬ライセート



海馬シナプトニューロソーム



(a) $App^{NL-G-F/NL-G-F}$ (APP)マウス とコントロール野生型(WT)マウスの海馬ライセートにおける PlexA4 と NRP1、GAPDH のウエスタンブロッティングの結果。(b) NRP1 と PlexA4 のタンパク量を GAPDH で割った定量化グラフ n=3, 平均値±SEM。

(c) APP マウス と WT マウスの海馬シナプトニューロソームにおける PlexA4 と NRP1、GAPDH のウエスタンブロッティングの結果。(d) NRP1 と PlexA4 のタンパク量を GAPDH で割った定量化グラフ n=3, 平均値±SEM。

4. 考察

$App^{NL-G-F/NL-G-F}$ マウスの A β の蓄積が顕著に観察される生後 12 ヶ月齢の海馬領域において Sema3A の受容体である NRP1、PlexA4 がシナプスにおいて発現増加傾向があることが示された。また、海馬ライセートで NRP1 の発現は WT と比べ減少傾向にあるがシナプトニューロソーム画分

では NRP1 の発現が増加傾向にある結果は、シナプス部位に過剰に NRP1 が集積していることが示唆される。これは Sema3A シグナルが始めに NRP1 の Semaドメインに結合し、その後 PlexA4 の自己会合の抑制が外れ活性化することから、AD 発症時には Sema3A がシナプスにて過剰に分泌する可能性が示唆された。これらの結果からも、Sema3A やその受容体をターゲットすることで AD の治療に進展をもたらすと期待される。

現在、 $App^{NL-G-F/NL-G-F}$ と Sema3A の分泌を可視化するノックインマウス (*flag-SEP-Sema3A*) を掛け合わせたモデル動物を作成中であり、経時的に A β が蓄積するタイムコースにて Sema3A の分泌動態を観察する実験を遂行中である。

<わかば研究助成>

漢方薬を用いた慢性腎臓病の新規治療戦略の開発

畝田一司

共同研究者: 涌井広道, 小豆島健護, 小林竜, 白善雅, 大城光二, 春原浩太郎, 鈴木将太,
金口翔, 山地孝祐, 山田貴之, 山下暁朗, 田村功一

横浜市立大学附属病院 腎臓・高血圧内科

抄録

慢性腎臓病(CKD)は心血管病や腎代替療法を要する末期腎不全の強力なリスク要因であることから, CKDに対するより効果的な医療の推進は重要な課題であるが, 現状のCKD治療薬は限られている. 近年, 摂食促進ホルモンとして同定されたグレリンの腎障害抑制作用が報告されている. 我々はグレリン活性化作用を有する漢方薬 X に着目し, 漢方薬 X の腎保護効果について検討した. 2種のCKDモデルマウス(慢性アンジオテンシンII(Ang II)負荷マウス, 片側尿管結紮(UUO)マウス)に対して漢方薬 X の経口投与を行い, 腎機能, 腎障害指標を対照群と比較評価した.

漢方薬 X は慢性 Ang II 負荷マウスの尿中アルブミン/クレアチニン比(UACR)を有意に抑制し, UUO マウスの腎 MCP1 発現を抑制させた. 一方, UUO マウスの血中グレリン濃度は漢方薬 X により変動しなかった. 以上より, 漢方薬 X は UACR を減少させ, CKD の発症・進展を抑制する可能性が示唆された. また, 漢方薬 X の腎保護作用には腎 MCP1 発現の抑制が重要と考えられたが, グレリン系の関与や活性化機序については今後さらなる検討を要する.

<わかば研究助成>

漢方薬を用いた慢性腎臓病の新規治療戦略の開発

畝田一司

共同研究者: 涌井広道, 小豆島健護, 小林竜, 白善雅, 大城光二, 春原浩太郎, 鈴木将太,
金口翔, 山地孝祐, 山田貴之, 山下暁朗, 田村功一

横浜市立大学附属病院 腎臓・高血圧内科

1. 目的

慢性腎臓病(CKD)患者は本邦に 1,330 万人超いと推計されている。CKD は心血管病や腎代替療法を要する末期腎不全の強力なリスク要因であり, CKD に対するより効果的な医療の推進は, 患者の QOL や医療経済の観点からも重要な課題と言える。しかしながら, 現状の CKD に対する治療薬はレニン・アンジオテンシン系(RAS)阻害薬を中心とした降圧薬が中心であり, 治療薬の選択肢は限られている。CKD では, 栄養障害, 炎症, 動脈硬化の 3 つが互いに悪影響を及ぼし予後を悪化させるため, これらの要素を多面的に改善させる新たな治療手段の開発は, 有力な治療選択肢になると考えられる。近年, 摂食促進ホルモンであるグレリン(Kojima M, et al. 1999)が低栄養状態の改善に加え, 腎臓において酸化ストレス・炎症・線維化を直接的に抑制することが報告されている(Fujimura, et al. 2014, Sun, et al. 2015)。本研究では, グレリン活性化作用を有する漢方薬 X に着目し, 漢方薬 X のグレリン系を介した腎保護効果を明らかにすることを目的に遂行された。

2. 方法

以下の 2 つの CKD モデル動物を用いた実験を行った。

《実験 1;慢性アンジオテンシン II (Ang II) 負荷マウス》

- ・通常マウス餌に漢方薬 X を混合させた飼料(漢方薬 X 混合餌)を作製した。
- ・10 週齢の 129/Sv マウス(雄性)に浸透圧ポンプを植え込み, Ang II 500ng/kg/min もしくは生理食塩水を 4 週間負荷した。さらに浸透圧ポンプによる負荷期間中, マウスに通常マウス餌ないし漢方薬 X 混合餌を摂取させた。具体的な実験群は以下の通りとなる。
 - ①慢性 Ang II 負荷マウスの漢方薬 X 混合餌摂取群(Ang II-漢方薬 X 群)
 - ②慢性 Ang II 負荷マウスの通常マウス餌摂取群(Ang II-通常餌群)
 - ③生理食塩水負荷マウスの通常マウス餌摂取群(対照群)
- ・上記 3 群のマウスについて血圧, 体重, 摂餌量を計測し, 4 週間後(14 週齢)に代謝ケージにて尿サンプルを採取した後, サクリファイスして腎臓, 血液を採取した。そして得られた検体を用いて, 腎機能指標(血清クレアチニン濃度), 腎障害指標(尿中アルブミン/クレアチニン比; UACR)を評価した。

《実験 2; 片側尿管結紮(UUO)マウス》

- ・通常マウス餌に漢方薬 X を混合させた飼料(漢方薬 X 混合餌)を作製した。
- ・8-10 週齢の C57BL6J マウス(雄性)に対し, 麻酔下で腹部を皮切し, 片側の尿管を結紮して UUO マウスを作製した。また, 麻酔下で UUO マウスと同部位を皮切した Sham 手術マウスを作製した。
- ・UUO マウスおよび Sham 手術マウスに対し, 手術 3 日前から手術 7 日後まで通常マウス餌ないし漢方薬 X 混合餌を摂取させた後, サクリファイスした。具体的な実験群は以下の通りとなる。
 - ①UUO マウスの漢方薬 X 混合餌摂取群(UUO-漢方薬 X 群)
 - ②UUO マウスの通常マウス餌摂取群(UUO-通常餌群)
 - ③Sham 手術マウスの漢方薬 X 混合餌摂取群(Sham-漢方薬 X 群)
 - ④Sham 手術マウスの通常マウス餌摂取群(Sham-通常餌群)
- ・上記 4 群のマウスについて体重, 摂餌量を計測し, 腎障害について qRT-PCR 法および組織学的検討(Masson Trichrome 染色)によって評価を行った。また, 各群マウスの血液中のグレリン濃度を測定した。

3. 結果

《実験 1; 慢性 Ang II 負荷マウス》

実験期間中の体重推移, および摂餌量は 3 群間で有意差を認めなかった。血圧は対照群と比較し, Ang II-漢方薬 X 群と Ang II-通常餌群で有意に高値であった(非観血的収縮期血圧: Ang II-漢方薬 X 群 vs Ang II-通常餌群 vs 対照群; 189.2 ± 15.0 vs 180.8 ± 18.2 vs 130.6 ± 11.3 mmHg, $P < 0.001$ by one-way ANOVA with post hoc Bonferroni test)。次に, 血清クレアチニン濃度は対照群と比較し, Ang II-漢方薬 X 群と Ang II-通常餌群で高値であったが, Ang II-漢方薬 X 群と Ang II-通常餌群の間で有意差は認めなかった。一方, UACR は対照群と比較し, Ang II-漢方薬 X 群において有意に高値だった(UACR: Ang II-漢方薬 X 群 vs Ang II-通常餌群 vs 対照群; 88.9 ± 65.6 vs 48.6 ± 30.8 vs 3.6 ± 0.4 $\mu\text{g}/\text{mgCr}$, $P < 0.05$ by one-way ANOVA with post hoc Bonferroni test)。

《実験 2; 片側尿管結紮(UUO)マウス》

実験期間中の体重, 摂餌量は 4 群間で有意差を認めなかった。続いて各群マウスの腎臓を解析したところ, Sham-漢方薬 X 群・Sham-通常餌群と比較して UUO-漢方薬 X 群・UUO-通常餌群では, 腎 MCP1 (Monocyte Chemotactic Protein-1)mRNA 発現量が約 10 倍増加していた。さらに, UUO-漢方薬 X 群は UUO-通常餌群と比べ, 腎 MCP1 が低い傾向であった($P=0.053$)。一方, 腎コラーゲン 4 α mRNA 発現量や腎組織の Masson Trichrome 染色を評価したところ, UUO-漢方薬 X 群・UUO-通常餌群は Sham-漢方薬 X 群・Sham-通常餌群と比較して腎線維化の亢進を

認めしたが、UUO-漢方薬X群とUUO-通常餌との間に有意な差は認めなかった。さらに、各群マウスの血中グレリン濃度も有意差を認めなかった。

4. 考察

今回の研究において、我々は2種のCKDモデルマウスを作製し、漢方薬Xの腎保護効果を検討した。実験1において、漢方薬Xは慢性Ang II負荷に伴うUACRの増加を抑制した。UACRは実臨床においてCKDの重症度分類として用いられており、腎予後のみならず心血管疾患の発症や生命予後とも相関する指標として知られる(エビデンスに基づくCKD診療ガイドライン2013, 日本腎臓学会監修)。現在利用可能なUACR減少作用を有する治療手段としては、降圧薬であるRAS阻害薬に限られる。RAS阻害薬はCKD合併高血圧患者に対する第1選択の降圧薬であるが、糸球体濾過量の低下や高カリウム血症などの副作用を有し、実臨床においてUACR減少効果を十分に得られない状況も存在する。我々の検討では、漢方薬X投与に伴う血清クレアチニン濃度の悪化は認めておらず、漢方薬XはCKD治療に際し、既存治療と比較して優れたアドヒアランスを有する可能性がある。

実験2において、漢方薬XはUUOに伴う腎MCP1の発現を抑制する傾向を示した。このことから、漢方薬Xは腎MCP1産生を抑制し、腎保護効果を発揮する可能性が示唆された。一方、血中グレリン濃度は漢方薬X投与の有無に依らず同等であった。これまでの報告において、グレリン系は血中グレリンの他に、組織におけるグレリン産生やグレリン受容体など複数の因子によって活性が規定されることが報告されている(Delporte C: 2013)。従って、今後は5/6腎摘モデルなど異なるCKDモデルマウスを用いた検討を加えるとともに、グレリン受容体欠損マウス、グレリン欠損マウスにおける漢方薬Xの腎機能・腎障害抑制を検討し、漢方薬Xによるグレリン系の活性化と腎保護効果の分子的機序を明らかにする計画である。

5. 論文及び学会発表

今後、日本高血圧学会総会、日本腎臓学会学術総会にて発表を検討している。

<わかば研究助成>

電位依存性カルシウムチャネル関連疾患の分子病態基盤の解明

國井美紗子

横浜市立大学附属病院 神経内科・脳卒中科

電位依存性カルシウムチャネル (Voltage-gated calcium channels: VGCCs) は、多彩なアイソフォームを持ち、様々な細胞機能に関与する。我々は West 症候群および Rett 症候群様の発達障害など、重度発達障害を呈した患者 4 例において、VGCC の一種をコードする CACNA 遺伝子の一種に *de novo* 変異を同定した。また、昨年フランスより新規脊髄小脳変性の責任遺伝子として CACNA 遺伝子が報告されたが、我々も同時期に長く解析していた家系において同様の変異をつきとめていた。未報告の 4 種類の変異と、フランス及び当院の家系で認めている脊髄小脳変性症となる既報告の変異を含めた計 5 種類の変異について、それぞれベクターを作成した。野生型および各種病的変異型の CACNA 遺伝子を HEK293 細胞に発現させ、蛍光顕微鏡下で発現細胞を同定し、パッチクランプ法を行っている。野生型と変異型の一部で電流-電圧曲線において挙動に差が見られており、電気生理学的機能が異なる可能性が示唆される。現在さらに解析数を増やし検討をすすめている。

<わかば研究助成>

電位依存性カルシウムチャネル関連疾患の分子病態基盤の解明

國井美紗子

横浜市立大学附属病院 神経内科・脳卒中科

1, 目的

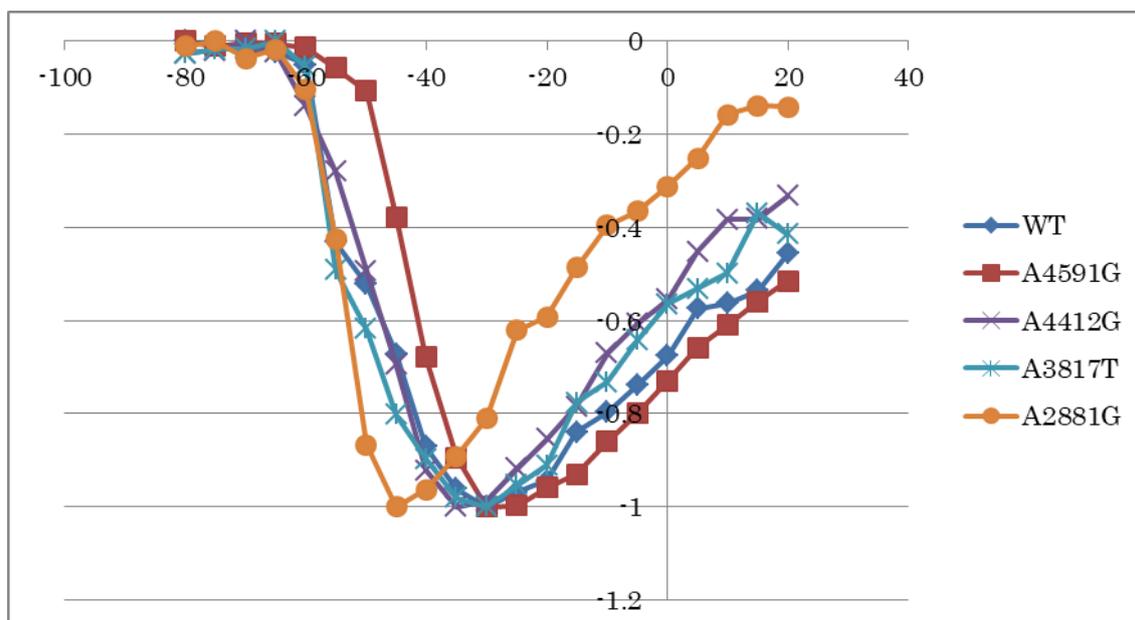
電位依存性カルシウムチャネル (Voltage-gated calcium channels: VGCCs) は、多彩なアイソフォームを持ち、様々な細胞機能に関与する。VGCCs 変異は精神疾患やてんかん症候群に加え、家族性片麻痺性片頭痛などの発作性疾患から脊髄小脳変性症などの変性疾患に至るまで、広範囲にわたる神経系疾患の発症と関連している。我々は West 症候群および Rett 症候群様の発達障害など、重度発達障害を呈した患者 4 例において、VGCC の一種をコードする CACNA 遺伝子の一種に *de novo* 変異を同定している。また、昨年には、当科で長年にわたり追跡してきた脊髄小脳変性の新規責任遺伝子が CACNA 遺伝子であることをフランスのグループとほぼ同時期に明らかにした。本研究では変異によるカルシウムチャネルの機能変化について電気生理学的な面から検討することで、変異ごとに大きく異なる表現型を形成する分子基盤の解明、さらに薬剤スクリーニングを通じた VGCCs 関連疾患の病態修飾治療の開発に繋がる解析系を構築する。

2, 方法

West 症候群および Rett 症候群様の発達障害など重度発達障害を呈した患者 4 名から得られた CACNA 遺伝子変異はそれぞれ報告のない変異である。フランス及び当院の家系で認めた脊髄小脳変性症となる既報告の変異、発達障害の原因となる未報告の 4 種類を含めた計 5 種類の CACNA 遺伝子変異を site-directed mutagenesis を用いて CACNA 発現ベクターに導入した。ベクターには発現マーカーの DsRed と遺伝子産物を同じ mRNA から別々に発現する pIRES2 DsRed_Express2 を用いた。野生型および各種病的変異型の CACNA 発現ベクターを HEK293 細胞にトランスフェクションし、蛍光顕微鏡下で DsRed 発現細胞を同定し、パッチクランプ法にて電気生理学的機能を解析した。主な生理学的解析手法としては、Current clamp 法を用いた細胞発火特性の解析、Voltage clamp 法を用いたシナプス後電流の解析である。シナプス後電流の解析には、電圧を様々なパラメーターにより変化させた時の電流を測定して得られる電流-電圧曲線、steady-state inactivation curve、deactivation curve を用いる。それらの曲線の変化を比較することで、CACNA 遺伝子の点変異がチャネル機能に及ぼす影響を評価する。

3, 結果

変異を発現させた培養細胞は、肉眼的形態や生存率などには野生型と大きく違いは見られなかった。現在までに各種変異をもつ細胞において、**Current clamp** 法及び **Voltage clamp** 法を用いたシナプス後電流の解析法を確立した。既に脊髄小脳変性症となる変異では、**Voltage clamp** 法により得られる電流-電圧曲線や **Steady-state inactivation curve** などで野生型と異なる挙動を示すことが報告され、我々が現在解析中のプロトコールでも、同様の現象が再現できている。現在、脊髄小脳変性症型変異に引き続き、重度発達障害となる変異型を発現させた培養細胞においても同様の検討を開始している(下図)。青線で野生型の電流-電圧曲線を示し、4種の点変異を発現させた細胞での挙動を各色で示している。CACNA 遺伝子の A4591G 変異型ではグラフの右方変位傾向が、A2881G 変異型では左方変位傾向がみられている。現在まだ解析細胞数が少ないため今後更にデータを蓄積し、有意差があるかを確認していく。挙動に有意な差がみられれば、各種変異とカルシウムチャネルの機能変化がどのように関連するのかが判明すると考えられる。



図：CACNA 遺伝子発現 HEK239 細胞における電流-電圧曲線

4, 考察

VGCCs は、活性化される脱分極の電位によって高電位活性化型 (L 型、N 型、P/Q 型、及び R 型) と低電位活性化型 (T 型) に分類され、様々な細胞機能に関与する。VGCCs の変異は自閉症スペクトラム障害、統合失調症、双極性障害などの精神疾患、てんかん症候群、家族性片麻痺性片頭痛、脊髄小脳変性症など広範囲にわたる神経系疾患発症と関連していることが知られている。我々は研究過程において収集した West 症候群および Rett 症候群様の発達障害など重度発達障害を呈した患者 4 例において、VGCC の一種をコードする CACNA 遺伝子の *de novo* 変異を明らかにし、さらに脊髄小脳変性症の責任遺伝子とし

ても CACNA 遺伝子を同定してきた。VGCCs の中で当該遺伝子の変異に関連する疾患の報告は、良性のてんかんや神経変性をきたす病態など国内外を含めて少数にとどまっていた。昨年新規の脊髄小脳変性症の原因遺伝子であることがフランスより報告されたが、我々が確認している重度発達障害を呈する表現系の報告はなく、CACNA 遺伝子変異は多様な表現型を呈するスペクトラムを形成する可能性が示唆される。我々は本研究において、CACNA の異常と表現形を評価する解析系を確立することができた。現在 2 種類の変異について電流-電圧曲線において野生型と異なる電気生理学的挙動を示す結果が得られており、今後更に繰り返し実験を行うことで、結果の確実性を確認する予定である。電流-電圧曲線であまり野生型と差のみられない 2 種類の変異についても、**Steady-state inactivation curve** などのパラメーターでの解析を行い、挙動に差があるかを引き続き検討していく。今回確立した実験法を用いてさらに研究を進めることで、CACNA 遺伝子について、その変異が多彩な疾患に関与する分子基盤が明らかになると考えられる。

5, 論文及び学会発表

現在実験中のデータがまとまり次第論文報告を行う予定である。学会発表については、2018 年 5 月 23 日から 26 日に札幌市で行われる第 59 回日本神経学会学術大会にて発表予定である。

<わかば研究助成>

次世代シーケンサーを用いた胃がん変異遺伝子の網羅的解析と新規マウスモデルの構築

杉森 慎

共同研究者：神保 智彩，芝田 渉，前田 慎

横浜市立大学医学部消化器内科学

抄録

近年，進行胃癌における遺伝子プロファイルが明らかにされ，ゲノム安定型・EBウイルス関連型・マイクロサテライト不安定型・クロマチン不安定型の4グループへの分類が提唱されてきたが，胃発癌に関わる分子基盤は未だ不明である．本研究では内視鏡的粘膜下層剥離術を施行された高分化型腺癌タイプの早期胃癌16例のFFPE検体を用いて，10遺伝子についての次世代シーケンサー解析，及びCINパターンの進行胃癌において高頻度かつ排他的なコピーナンバー変化が報告されている RTK-RAS 経路と PI3K経路の10遺伝子についてのdigitalPCRによるコピーナンバー解析を実施した．結果，CINグループの特徴に矛盾せず TP53 変異を高頻度(66.6%)に認めたが，コピーナンバー数変化に関しては進行胃癌における既報より低頻度であった．従って，早期胃癌の段階から TP53 変異の関与が示唆される一方で，RTK-RAS 経路及び PI3K 経路のコピーナンバー数変化は，癌の進展に寄与する変化であると考えられた．現在，これらの遺伝子変異を再現したマウスモデルを作製中である．

<わかば研究助成>

次世代シーケンサーを用いた胃がん変異遺伝子の網羅的解析と新規マウスモデルの構築

杉森 慎

共同研究者：神保 智彩，芝田 渉，前田 慎

横浜市立大学医学部消化器内科学

1 目的

近年，早期胃癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術（Endoscopic Submucosal Dissection、以後 ESD）が普及し，現在では 90%を超える 5 年生存率が報告されている一方で，進行胃癌に対して未だ有効な分子標的治療薬や根治治療法はなく，未だ我が国の癌死亡率の 2 位を占める予後不良の難治疾患である（厚生労働省 2013年度人口動態統計によるがん死亡データ）. これまでに経口フッ化ピリミジン系代謝拮抗薬や，抗HER2抗体，抗VEGFR2抗体等の分子標的薬の臨床応用が進められてきたが，未だ十分な有用性とは言い難く，新規治療標的分子の同定と臨床応用を見据えた詳細な発癌・浸潤・転移メカニズムの解明は急務であり，分子標的薬の臨床応用を推進する上で胃癌マウスモデルの創出は必要不可欠であるが，浸潤・転移過程を詳細に再現したマウスモデルは未だ報告がない.

本研究では内視鏡的粘膜下層剥離術を施行された高分化型腺癌タイプの早期胃癌検体を用いて，次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析，及びdigital PCRによるコピーナンバー解析を実施し，胃発癌に関わる遺伝子プロファイルを明らかにし，さらに，同定した遺伝子変化パターンを再現した新規胃発癌マウスモデルの樹立を目的とした.

2 方法

横浜市立大学附属病院にて ESD を施行された高分化型腺癌タイプの早期胃癌 16 症例を選出した

(Table.1). ホルマリン固定パラフィン包埋 (Formalin-fixed, paraffin-embedded: FFPE) 検体より レーザーマイクロダイセクション法により腫瘍部と非腫瘍部に切り分け, QIAamp DNA FFPE Tissue Kit

(Qiagen社) を用いてDNAを抽出した. 得られたDNAを用いて, 次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析 (NGS解析), 及びdigital PCRによるコピーナンバー解析 (CNV解析) を実施した.

NGS 解析

Thermofisher Scientific 社の Ion AmpliSeq™によりデザインした 10 遺伝子(TP53, ARID1A, CDH1, PIK3CA, RHOA, KRAS, TGFBR2, APC, CTNNB1, SMAD4)についてのカスタムパネルを作製した. Ion AmpliSeq™ Library kits 2.0 及び Ion PGM™ Template One Touch (OT2) 200 Kitによりライブラリ作製・調整を行い, Ion PGM™ System にてシーケンスを行った. 得られたデータは Ion Reporter ®(Thermofisher Scientific 社)により解析を行った.

CNV解析

CIN パターンの進行胃癌において高頻度かつ排他的なコピーナンバー変化が報告されている RTK-RAS 経路と PI3K経路の10遺伝子(EGFR, ERBB2, ERBB3, JAK2, FGFR2, MET, VEGFA, KRAS, NRAS, PIK3CA)の各遺伝子についての検討を行った. 各サンプルDNA 10ngを各遺伝子のassayに使用し, FAM及びHEXにて蛍光probe標識されたBio-rad社のPrimePCR™ primerを用いて, QX200ddPCRシステムでPCR反応及び解析を行った. 得られたデータを補完する目的で, EGFR, ERBB2 については同 FFPE 検体を用いて免疫染色を行い, digitalPCRで得られた結果と比較を行った.

3 結果

NGS解析の結果、多様な変異パターンが検出されたが、TP53の変異を15症例中10例(66.6%)と高頻度に認めた(Figure.5)。CNV解析においてはERBB2の増幅を13症例中3例、METの増幅を1例に認め、ERBB2遺伝子増幅例は、いずれも免役染色にて過剰発現が確認された(Fig.2, 3, 4)。またERBB2の増幅を認めた3例は、いずれもTP53単独の変異を認めた症例であった(Fig.5)。

4 考察

近年、進行胃癌における遺伝子プロファイルが明らかにされ、ゲノム安定型・EBウイルス関連型・マイクロサテライト不安定型(MSI)・クロマチン不安定型(CIN)の4グループへの分類が提唱されてきた(Nature.201411;513(7517):202-9,Figure1)。ゲノム安定型はびまん型の組織型を特徴とすること、また本邦におけるEBウイルス関連型胃癌は欧米と異なり極めて寡少であることさらに本邦においてESDを施行された腸型早期胃癌330例のマイクロサテライト不安定性についての検討ではMSI-high:45例、MSI-low:9例、MSS(安定型):276例に分類されたとの報告が存在することから(Int.J.Cancer.2016 138:1689-1697)、本研究で解析の対象とした高分化型腺癌タイプの早期胃癌は、CINのグループに分類されることが予想された。実際にNGS解析を行ったところ、TP53変異を高頻度(66.6%)に認め、CINグループの特徴に矛盾しない結果であった。一方で、CINグループの進行胃癌では、RTK-RAS経路とPI3K経路の高頻度かつ排他的なコピーナンバー数変化が報告されているが、本検討ではERBB2の増幅を13症例中3例、METの増幅を1例に認めるのみであった。以上より、CINグループの胃癌では、早期胃癌の段階からTP53の変異獲得が示唆される一方で、RTK-RAS経路及びPI3K経路のコピーナンバー数変化は、早期胃癌では少なく、癌の進展に寄与する変化であると考えられた。今後、例数を増やし、更なる解析を予定している。また興味深いことに、ERBB2の増幅を認めた3例は、いずれもNGS解析ではTP53単独の変異を認める症例であったことから、ERBB2増幅とTP53変異の組み合わせが発癌に至る一経路である可能性が示唆された。現在、floxタイプのERBB2トランスジェニックマウス及びTP53ノックアウトマウスの交配及び、Lgr5-creERT等のcreマウスとの交配を進めており、invivoレベルでの胃発癌への寄与を検討する予定である。

4 論文及び学会発表

芝田 渉, 須江 聡一郎, 佐藤 健, 亀田 英里, 杉森 慎, 石井 泰明, 山田 博昭, 金子 裕明, 佐々木 智彦, 石井 寛裕, 田村 寿英, 近藤 正晃, 前田 慎: 次世代シークエンスを用いた胃癌クリニカルシークエンスの試み. 第25回日本消化器関連学会週間デジタルポスターセッション6胃・十二指腸検査・診断), 福岡, 2017, 10.

<わかば研究助成>

内因性 Nogo 受容体阻害因子 LOTUS による神経再生の研究

上野 龍

横浜市立大学 大学院医学研究科・医学部 脳神経外科教室

抄録

成体哺乳類の中樞神経の軸索は損傷後にほとんど再生せず、中枢神経系由来の髄鞘断片は神経突起の伸張を強力に阻害することがわかっている。特に **Nogo** を中心とする軸索進展阻害因子は神経回路網の再建に重要な役割を担っている。今回、本学で新たに発見された内因性の Nogo 受容体阻害因子 LOTUS が、これらの抑制環境を解除することで神経回路再生を促すとの仮説をたて、LOTUS 過剰発現動物 (Tg ラット) を用いた脳損傷動物モデルでこの仮説を検討した。Tg ラットと WT ラットの延髄レベルで片側錐体路を選択的に切断し、その後の四肢の運動機能の改善を比較したところ、障害 3 週間目以降で、優位に Tg ラットで障害側上下肢の運動機能の改善が認められた。現在より詳細に、神経トレーサーを用いた新生回路の組織評価、皮質内微小電気刺激法を用いた電気生理学的評価を進めている。

1. 研究の目的及び意義

哺乳類成体脳では中枢神経由来の髄鞘断片等の影響により、回路の混線を防いでいる一方で、再生を阻害している。特に中枢神経障害後に Nogo に対する中和抗体投与や、Nogo 受容体 (NgR) を阻害することで、軸索伸長が得られ、行動学的に改善が得られることも示されている (Tsai et al., 2011)。

NgR には Nogo 以外の MAG (myelin-associated glycoprotein)、OMgp (oligodendrocyte myelin glycoprotein) 等の ligand も結合することが判明している。

本学で発見された Lateral Olfactory Tract Usher Substance (LOTUS) は、これら全てに拮抗することが分かっており (Sato et al., 2011; Kurihara et al., 2014)、Nogo 単独の拮抗と比較し、より広範な効果が期待できる。軸索伸展に着目した神経再生療法は極めて少なく、脊髄損傷モデルで移植療法が若干の施設で進められている程度である。内因性の Nogo 受容体阻害因子 LOTUS がこれらの抑制環境を解除することで神経回路再生を促すとの仮説をたて、脳損傷動物モデルを用いてこれらの仮説を検討した。



2 研究方法と計画

Rat LOTUS を cloning し、Synapsin I promoter の基に導入した plasmid vector を作成し、これを Wister Rat 受精卵に microinjection することで、神経細胞に LOTUS を過剰発現させたラット (Tg ラット) を作成した。control として wild type Wister を用いた。当初は、軸索切断後に同一神経細胞から新たな軸索伸展が生じるか否かを検証するため、ラットの脳梁離断モデルを用いた検証を行っていた。しかし、モデル作成後の変化のばらつきが大きく、評価困難であったため、モデルを変更し検証を行った。

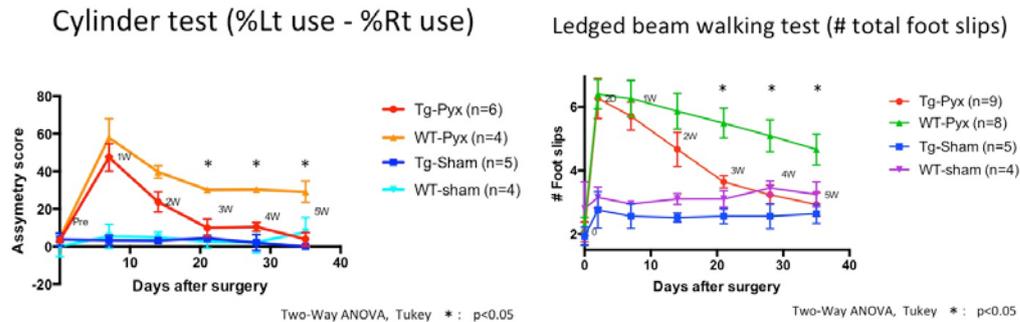
片側錐体路切断モデル：齧歯類の中枢神経損傷後、非障害側の運動野からの入出力が、脊髓レベルで collateral sprouting を介した同側支配が生じることで、機能回復が得られるということが最近の研究で判明しており (Starkey et al., 2012)、運動機能の改善には同側周辺神経細胞からの新たな軸索伸展による機能代償が重要であることが分かる。

本モデルは、周辺神経細胞からの collateral sprouting 促進効果を検証する実験系となる。具体的には 12 週齢のオス成体ラットを使用し、麻酔下で腹側より穿頭し、延髄レベルで、左側の錐体を顕微鏡下で切断した。損傷後の前後肢の運動機能回復を評価するため、cylinder test (前肢)、ledged beam walking test (後肢) を用いた。

3. 結果

Tg ラットと野生型ラットの延髄レベルで左側錐体路を選択的に切断した (右図)

その後の四肢の運動機能の改善を比較したところ、障害後3週間目以降で、Tg ラットにおいて、優位に障害側上下肢の運動機能の改善が認められた（下図）



4. 考察と今後の展望

これまでに NgR の KO 動物を用いたモデルで、錐体路切断後の運動機能改善、神経回路網の再構築が促進されることが報告されている (Cafferty et al., 2006)。

LOTUS 過剰発現動物においても、コントロール群と比較し、錐体路切断後に優位に運動機能の改善が見られた。現在、上記の行動解析に加え、組織、電気生理学的な評価を行っている。

6. 論文及び学会発表

なし

7. 参考文献

Tsai SY, et al (2011) Stroke 42:186-190.

Schwab ME: Nat Rev Neurosci 11:799-811, 2010

Sato Y, et al: Science 333:769-773, 2011

Starkey ML, et al (2012) Brain 135:3265-3281.

Cafferty W, et al (2006) Journal of Neuroscience 26:12242-12250

<平成 27 年度 わかば研究助成>

分子標的治療に向けた中枢神経系原発悪性リンパ腫における NF- κ B 経路に関わる
CD79B/MYD88 遺伝子変異解析

中村 大志

横浜市立大学 医学部医学研究科 脳神経外科学

抄録

中枢神経系原発悪性リンパ腫 (PCNSL) は原発性脳腫瘍の 3-5% を占め, その発症率は世界的に増加している. その平均生存期間は 40 ヶ月程度に留まり最も予後の悪い脳腫瘍のひとつにあげられる. 近年 PCNSL の遺伝子異常について遺伝子解析は最近になりよう相次いで報告されている. これら網羅的遺伝子解析の結果より見いだされた遺伝子異常の多くが NF- κ B 経路に関わる変異であった. なかでも *MYD88* と *CD79B* において点突然変異 hotspot である *MYD88* L265 と *CD79B* Y196 を認め, これらによる NF- κ B 経路の恒常的活性化が PCNSL の増殖・進展に寄与していると考えられる.

横浜市立大学附属病院脳神経外科において腫瘍生検術および開頭腫瘍摘出術によって得られた検体のうち病理診断に提出する残検体を利用して CD79B/MYD88 とともにこれまでに PCR 確認のできているプライマーを用いて PCR をおこなった. それをパイロシークエンス法で遺伝子解析をおこなった.

横浜市立大学附属病院において摘出された中枢神経系原発悪性リンパ腫 29 症例に対して CD79B Y196 MYD88 L265 とその周辺における遺伝子変異を評価した. 29 検体のうちで CD79B 遺伝子変異好発部位における変異は 24 症例, MYD88 遺伝子変異好発部位における変異は 15 症例認めた.

中枢神経系原発悪性リンパ腫は病理組織型としてはびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) であり, 今回遺伝子解析をおこなった遺伝子変異部分はこれまでの報告の如く全身性 DLBCL における変異頻度と比較して遥かに高い頻度で認めた.

その一方で腫瘍含有率が高いはずの腫瘍検体において CD79B における変異ピークが高くない腫瘍も数多く認めた. これについては, 腫瘍含有率だけでは説明が困難であり, これらの PCNSL においてドライバー遺伝子変異ではなく一部のサブクローンにおける遺伝子変異の可能性が示唆される結果であった.

B 細胞系リンパ腫において異常な活性化が腫瘍の増殖・浸潤・転移において重要な役割を果たすことが知られており, CD79B や MYD88 は B-cell signaling/ NF- κ B pathway における細胞膜上およびその直下における役割を果たす. これらの発現タンパクからの刺激を受ける BTK に対しては分子標的薬も臨床応用が開始されており PCNSL にとっては有

望な治療候補となっている。今後、これらの遺伝子変異評価が治療反応性を予測するうえで有用な可能性が示された。

<平成 27 年度 わかば研究助成>

分子標的治療に向けた中枢神経系原発悪性リンパ腫における NF- κ B 経路に関わる
CD79B/MYD88 遺伝子変異解析

中村 大志

横浜市立大学 医学部医学研究科 脳神経外科学

1. 目的

中枢神経系原発悪性リンパ腫 (PCNSL) は原発性脳腫瘍の 3-5% を占め, その発症率は世界的に増加している. その平均生存期間は 40 ヶ月程度に留まり最も予後の悪い脳腫瘍のひとつにあげられる. 近年 PCNSL の遺伝子異常について遺伝子解析は最近になりよう相次いで報告されている (Bruno, *Oncotarget*. 2014, Vater, *Blood*. 2014, Braggio, *Clinical Cancer Research*. 2015, Nakamura, *Neuropathology and applied neurobiology*. 2015). これら網羅的遺伝子解析の結果より見いだされた遺伝子異常の多くが NF- κ B 経路に関わる変異であった.

なかでも, *CD79B* (83. 1%), *MYD88* (76. 1%), *TBL1XR1* (22. 5%), *PRDM1* (20%), *CREBBP1* (20%), *CARD11* (18. 3%) (Nakamura, *Neuropathology and applied neurobiology*. 2015) において高頻度に遺伝子変異を認めた. 最も変異の頻度が高かった *MYD88* と *CD79B* において点突然変異 hotspot である *MYD88* L265 と *CD79B* Y196 を認めた. 全身性びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 (DLBCL) に比べてこれら 2 か所における遺伝子変異が高頻度に変異しているのは, PCNSL の微小環境において toll-like receptor ligands や B-cell receptor ligands からの抗原提示シグナルを本来直接受ける *CD79B* と *MYD88* に遺伝子変異を有することにより NF- κ B 経路が中枢神経特有の乏しい抗原提示反応を補う, 自己活性化のメカニズムを果たしていると解釈できる. これによる NF- κ B 経路の恒常的活性化が PCNSL の増殖・進展に寄与していると考えられる.

B cell signaling のリン酸化カスケードにおいて CD79B のすぐ下流にある Bruton' s tyrosine kinase (BTK) (Fig. 1) 阻害薬であるイブリチニブ (ヤンセンファーマ社) は米国においてマンツル細胞リンパ腫・慢性リンパ球性白血病 (CLL) に対して FDA 承認が既に得られている. 日本においても「再発又は難治性の慢性リンパ性白血病/小リンパ球性リンパ腫」に対して既に適応申請がされている. また MYD88 に対する分子標的薬も開発されてきており, 今後の臨床応用が待たれている.

そこで、PCNSL においてもこれらにおける遺伝子変異が分子治療の標的となる可能性があり、横浜市立大学附属病院脳神経外科において腫瘍生検・摘出術を施行され PCNSL の病理診断となった症例に対して *CD79B* と *MYD88* に遺伝子変異解析をおこない、遺伝子変異の有無と臨床情報との比較をおこなっていく。この *CD79B* と *MYD88* 遺伝子解析を蓄積していくことは PCNSL におけるこれらの分子標的治療の臨床応用において重要と考える。

2. 方法

検体の収集

横浜市立大学付属病院脳神経外科において腫瘍生検術および開頭腫瘍摘出術によって得られた検体のうち病理診断に提出する残検体を利用する。

DNA 抽出から PCR まで

その検体を Allprotect Tissue Reagent (Qiagen) を充填させたスピッツに保管し、脳神経外科教室にある $-20^{\circ}\text{C}/-80^{\circ}\text{C}$ 冷蔵庫に保存しておく。症例が一定数集まるごとに DNA 抽出キットを用いて DNA を抽出する。

それを、*CD79B*/*MYD88* とともにこれまでに PCR 確認のできているプライマーを用いて PCR をおこなう。それをサンガー法ではエタノール沈殿させて残りはシーケンスをかけるだけの状態に、パイロシーケンス法ではあとは、パイロシーケンスをかけるだけ状態にして、共同研究機関である国立がん研究センター研究所脳腫瘍連携研究分野に輸送する。この際に症例は連結可能匿名化の処理をおこない、外部へは個人の特定できる情報はでないように配慮する。

シーケンス

シーケンス実験は国立がん研究センター研究所脳腫瘍連携研究分野松下研究員に、他の研究検体とともにおこなってもらう。

3. 結果

パイロシーケンスによって遺伝子変異好発部位における単塩基置換変異の検出をおこなった

PCR primer をデザインして正常組織等を用いて PCR condition の適正化をおこなったうえで腫瘍に対して遺伝子解析をおこなった。

横浜市立大学附属病院において摘出された中枢神経系原発悪性リンパ腫 29 症例に対して *CD79B* Y196 *MYD88* L265 とその周辺における遺伝子変異を評価した。

29 検体のうちで *CD79B* 遺伝子変異好発部位における変異は 24 症例、*MYD88* 遺伝子変異好発部位における変異は 15 症例認めた。

4. 考察

中枢神経系原発悪性リンパ腫は病理組織型としてはびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) であり、今回遺伝子解析をおこなった遺伝子変異部分はこれまでの報告の如く全身性 DLBCL における変異頻度と比較して遥かに

高い頻度で認めた。

その一方で腫瘍含有率が高いはずの腫瘍検体において **CD79B** における変異ピークが高くない腫瘍も数多く認めた。これについては、腫瘍含有率だけでは説明が困難であり、これらの **PCNSL** においてドライバー遺伝子変異ではなく一部のサブクローンにおける遺伝子変異の可能性が示唆される結果であった。

B 細胞系リンパ腫において異常な活性化が腫瘍の増殖・浸潤・転移において重要な役割を果たすことが知られており、**CD79B** や **MYD88** は **B-cell signaling/ NF- κ B pathway** における細胞膜上およびその直下における役割を果たす。これらの発現タンパクからの刺激を受ける **BTK** に対しては分子標的薬も臨床応用が開始されており **PCNSL** にとっては有望な治療候補となっている。今後、これらの遺伝子変異評価が治療反応性を予測するうえで有用な可能性が示された。

5. 論文及び学会発表

学会発表

中村大志, 中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する網羅的メチル化解析による分子生物学的特徴の解明, 日本脳腫瘍学会, 2015/12/08, 京都, 口演

中村大志, Recurrent mutations of *CD79B* and *MYD88* are the hallmark of primary central nervous system lymphomas, 日本脳腫瘍学会, 2014/11/30-12/02, 千葉, 口演

中村大志, 中枢神経系原発悪性リンパ腫は *CD79B* と *MYD88* における遺伝子変異をその特徴とする, 日本脳神経外科学会, 2014/10/09-11, 神奈川, 口演

論文発表

Recurrent mutations of *CD79B* and *MYD88* are the hallmark of primary central nervous system lymphomas

Taishi Nakamura, Kensuke Tateishi, Tohru Niwa, Yuko Matsushita, Kaoru Tamura, Manabu Kinoshita, Kazuhiro Tanaka, Shintaro Fukushima, Hirokazu Takami, Hideyuki Arita, Atsuhiko Kubo, Takashi Shuto, Makoto Ohno, Yasuji Miyakita, Sylvia Kocialkowski, Takashi Sasayama, Naoya Hashimoto, Taketoshi Maehara, Soichiro Shibui, Toshikazu Ushijima, Nobutaka Kawahara, Yoshitaka Narita, Koichi Ichimura : *Neuropathology and Applied Neurobiology*

Genome-wide DNA methylation profiling identifies primary central nervous system lymphoma as a distinct entity different from systemic diffuse large B-cell lymphoma.

[目次に戻る](#)

Nakamura T, Yamashita S, Fukumura K, Nakabayashi J, Tanaka K, Tamura K, Tateishi K, Kinoshita M, Fukushima S, Takami H, Fukuoka K, Yamazaki K, Matsushita Y, Ohno M, Miyakita Y, Shibui S, Kubo A, Shuto T, Kocialkowski S, Yamanaka S, Mukasa A, Sasayama T, Mishima K, Maehara T, Kawahara N, Nagane M, Narita Y, Mano H, Ushijima T, Ichimura K.

Acta Neuropathol. 2017

<医療技術研究助成>

骨髄増殖性疾患患者における JAK2V617F 遺伝子変異および
CALR 遺伝子変異の検出方法の比較

廣瀬 春香

橋口研朗 山西有紀 田中春華

横浜市立大学附属市民総合医療センター 臨床検査部

抄録

骨髄増殖性腫瘍 (MPN) 患者における JAK2V617F 遺伝子変異は、真性多血症 (PV) の 95%、本態性血小板血症 (ET) および本態性血小板血症 (PMF) の 50%に認められ、JAK2 変異陰性の ET では 67%、PMF では 88%に CALR exon9 変異の存在が報告されている。JAK2 変異率の定量値は、予後及び治療効果の評価に重要であり、また、変異箇所が 36 におよぶ CALR 変異は、これまでに高頻度の Type1 と 2 のみを対象として、JAK2 変異とともに i-densy IS-5310 により検出を行っていた。今回、JAK2V617F の変異率の検証および CALR 変異の検出をシーケンス解析により試みた。対象は、2016 年 4 月から 2017 年 4 月までに MPN 精査目的で JAK2V617F 変異検査依頼のあった検体とした。i-densy により JAK2V617F 変異が検出された 20 例を、Quant studio TM 3D digital PCR system により定量した結果、i-densy により算出された変異率と非常に高い相関 ($r=0.991, P<0.01$) が確認できた。CALR 変異は、シーケンス解析にて 30 例のうち 1 例で Type2 変異が判別できた。今後、検出感度を含む検討を追加し、頻度の低い変異も検出可能な方法を確認し、診療に貢献していきたい。

<医療技術研究助成>

骨髄増殖性疾患患者における JAK2V617F 遺伝子変異および
CALR 遺伝子変異の検出方法の比較

廣瀬 春香

橋口研朗 山西有紀 田中春華

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

骨髄増殖性腫瘍 (MPN) 患者における細胞内チロシンキナーゼ, JAK2V617F 遺伝子変異は、真性多血症 (PV) の 95%、本態性血小板血症 (ET) および本態性血小板血症 (PMF) の 50%に認められることはすでに知られている。また、小胞体シャペロンである Calreticulin (CALR) exon9 変異は JAK2 変異陰性の ET では 67%、PMF では 88%に認められている。CALR 変異には Type1 (52-bp deletion), Type2 (5-bp insertion) が各々、53%、31.7%、頻度の少ない変異が Type36 まで報告されている。CALR 変異陽性例は JAK2 変異陽性例に比べて血栓症のリスクが低く生存率が高いといわれている。これら変異の解析は、high resolution melting analysis や種々の PCR 法、ダイレクトシーケンス法などが用いられ、他の遺伝子変異解析と同様に laboratory dependent test (LDT) による。JAK2V617F 遺伝子変異検査は、すでに保険診療となっているが、定量値ではなく、半定量値により結果報告がされている。予後及び治療効果の評価に、定量値が関与することから、測定試薬・装置による結果値の差異に関する検討し、定量値報告が必要である。また、変異箇所が複数ある CALR 変異は、当検査部では、これまでに変異の頻度の高い Type1 と 2 を対象に検出を行っていたが、他の変異がないかの詳細な解析はできていない。そこで今回我々は、JAK2V617F の変異率の定量値の正確性およびシーケンス解析による CALR 変異の検出方法を確立することを目的とした。

2. 方法

対象は、2016年4月1日から2017年4月30日にMPN精査目的でJAK2V617F変異検査依頼があり提出された検体を対象とした。サンプルは、末梢血もしくは骨髄液から抽出したDNA(QIAamp DNA Mini Kit キアゲン株式会社)を使用し、得られた精製核酸を使用した。1) このうち全自動遺伝子解析装置 i-densy IS-5310 (以下 i-densy; アークレイ株式会社 原理 PCR 法および QProbe 法)により JAK2V617F 変異が検出された 20 例を、Quant studio TM 3D digital PCR system (サーモフィッシュャーサイエンティフィック株式会社)

により定量した。2) CALR exon9 の変異が存在する領域を PCR により増幅し、精製後、ファスマック株式会社に依頼し、得られたシーケンスから変異の有無を確認した。

3. 結果

1) JAK2 遺伝子 V617F 変異陽性例検体を digital PCR にて測定した結果、i-densy により算出された変異率と非常に高い相関 ($r=0.991, P<0.01$) が確認できた (Fig.1)。i-densy で変異率 5%未満であった 3 例に関しては digital PCR では 1 例が陽性、2 例が陰性 (0%) となった。

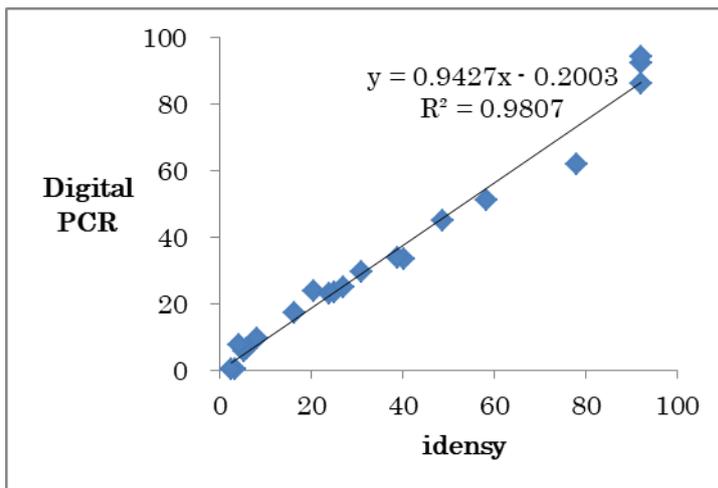
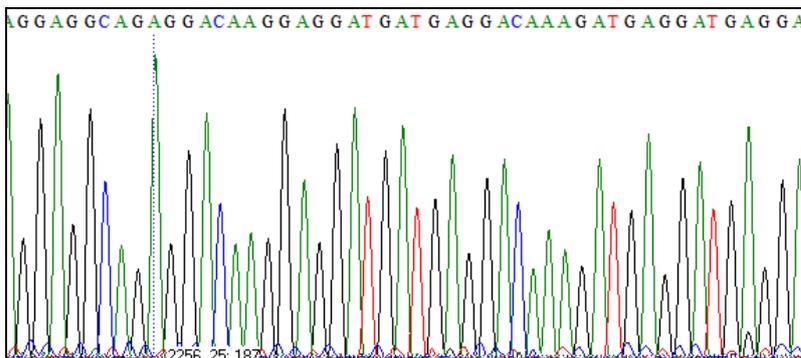


Fig.1 変異率の比較

2) シーケンス解析による CALR 変異の判別が可能か否かを、すでに i-densy にて Type2 変異が検出された検体で試みた。Fig.2 に示すように 5bp (TTGTC) insertion を確認できた。次に、JAK2V617F/CALR (Type1,Type2) 変異がみられなかった 29 例を対象に、シーケンス解析結果を確認したが、変異は検出されなかった。



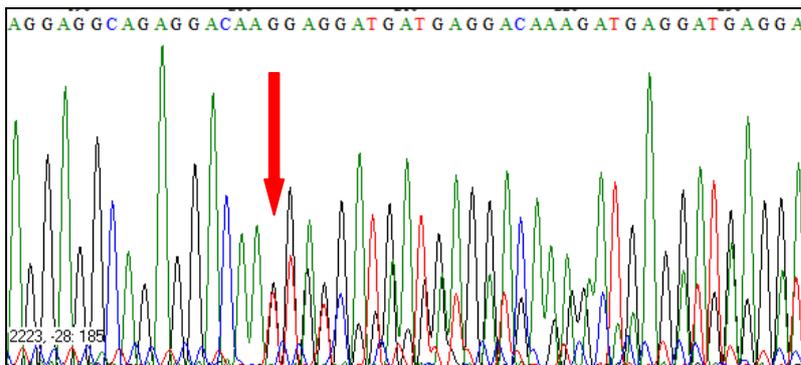


Fig.2 シーケンス解析による CALR Type2 変異(5bp insertion)

4. 考察

i-densy による JAK2V617F 遺伝子変異解析は、変異型波形と野生型波形の面積比から変異率を算出する。しかしながら検査結果の報告は、変異率ではなく、外注検査センターの半定量報告値に則り、5%未満を陰性、5%以上 20%未満を 1+、20%以上 80%未満を 2+、80%以上を 3+と報告としている。今回、変異率の正確性を測定原理が異なる digital PCR で確認したところ、高い相関があることがわかった。digital PCR は、統計学的手法で絶対数が得られるため、real-time PCR による遺伝子定量のためのスタンダードの作成等に用いられている。よって、i-densy により算出される JAK2 遺伝子 V617F 変異率を定量値で報告可能と考えられた。カットオフ値とされている変異率 5%に関しては、今回、かい離例がみられた。細胞増殖が見られたときに再検を試みるなどの検討を追加する予定である。

CALR 変異の検出のため、i-densy により Type2 変異が検出された検体を用いてシーケンス解析を行ったところ、判別可能であることが確認できた。次に、Type1, 2 以外の低頻度の変異の可能性のある 29 例のシーケンス解析を行ったところ、変異はみられなかった。今後、検出感度を含めた検証を追加し、本測定法の有用性を検証したい。

骨髄増殖性腫瘍(MPN)の診断基準に含まれる CALR 変異は、導入できていない施設がほとんどである。検討を追加し、頻度の低い変異も検出可能な方法を確立し、治療に貢献していきたい。

5. 論文及び学会発表

追加検討後、2018 年 5 月までに発表を予定している。

<医学・医療関連事業助成>

横浜市在住高齢者の入浴関連事故発生動向に関する実態調査

垣内 康宏

東海大学医学部基盤診療学系法医学（前所属：横浜市医療局がん・疾病対策課）

抄録

浴槽に肩まで長時間浸かって入浴するという我が国独特の生活習慣等が要因となり、我が国の家庭内溺死死亡率は諸外国と比較して突出して高く、年間 3,000 人以上が家庭内の浴槽で溺死しており、その約 8 割以上を 65 歳以上高齢者が占めている。このような現状に対し、入浴中急死事故の実態把握、病態解明および予防策に関する先行研究が一部の地域で実施されているものの、全国的には未だ十分な検討が及んでいない。そこで本研究では、119 番救急通報時における緊急度・重症度識別（コール・トリアージ）システムを導入し、入浴関連事故をはじめとする救急搬送データの蓄積を行っている横浜市消防局の協力を得て、2014 年 12 月～2015 年 2 月の 3 ヶ月間における横浜市内全域の救急搬送データから、事故発生場所が自宅浴槽内で、救急搬送後に死亡が確認された症例（134 例）を抽出し、その統計学的分析を行ったところ、全体の 98.5%（132 例）が 65 歳以上の高齢者であり、その死因は大半（全 134 例中 117 例、全体の 87.3%）が溺死・溺水であった。今後は、横浜市栄区のセーフコミュニティ活動とも連携し、中・軽症例やヒヤリ・ハット例のデータ収集も進める予定である

<医学・医療関連事業助成>

横浜市在住高齢者の入浴関連事故発生動向に関する実態調査

垣内 康宏

東海大学医学部基盤診療学系法医学（前所属：横浜市医療局がん・疾病対策課）

6. 目 的

浴槽に肩まで長時間浸かって入浴するという生活習慣は我が国に独特のものであり、身体を清潔に保つことに加えて、疲労回復を促進する等のプラスの効用がある一方、溺死死亡率が西欧諸国と比較して、特に75歳以上高齢者において突出して高いという、マイナスの側面も指摘されている。これは、特に冬季において「寒い浴室・熱いお湯」という外的環境の中で、浴室や脱衣室の室温と浴槽内の湯温の温度差を原因とする血圧の急変動の結果、意識障害や熱中症等が生じていることが推定されている。

加えて、現在我が国は急速に進む少子高齢化に直面しており、総人口に占める65歳以上高齢者の比率は、2030年には約28%、2050年には約32%に増大すると予想されている（総務省国勢調査より）。特に、周囲のサポートの乏しい独居高齢者世帯は年々増加の一途を辿り、大きな社会問題ともなっている。このように、独居高齢者世帯の増加とともに、家庭内での「不慮の事故」も年々増加しており、2003年以降その数は交通事故による死亡数を上回っている。その中でも「不慮の事故」の約3割近く、年間3,000人以上が家庭内の浴槽で溺死しており、その約8割以上を65歳以上高齢者が占めている（2013年人口動態統計より）。

このような状況の中、特に横浜市を含めた神奈川県の入浴関連事故発生率は、全国と比較しても非常に高い。この課題に対し本事業は、横浜市内在住の高齢者を対象に、救急搬送情報等の既存の行政データの収集・分析を行うことによって、入浴関連事故の危険因子をより詳細に把握するとともに、エビデンスに基づいた予防対策の確立に貢献することを目的とする。同時に、得られた知見を行政機関の政策立案過程にフィードバックすることで、研究成果を地域社会に直接還元する。

7. 方 法

横浜市消防局においては、2008年10月より119番救急通報時における緊急度・重症度識別（コール・トリアージ）システムの導入に基づいた「横浜型救急システム」の

運用を開始し、タッチパネル端末を用いた被搬送者情報の入力により、既往症や初診時診断名を含めた救急搬送データの蓄積を行っている。そこで本事業では、横浜市消防局から入浴関連死に関する救急搬送データの提供を受け、その分析を行った。対象期間は2014年12月1日～2015年2月28日の3ヶ月間(最も入浴関連事故が多い時期)、対象地域は神奈川県横浜市内全域と設定し、事故発生場所が自宅浴槽内で、救急搬送後に死亡が確認された症例(134例)を抽出した。

8. 結 果

抽出された全134例の属性は、性別が男性79例：女性55例、年齢が20～97歳に分布し、平均値：77.8歳、中央値：81.0歳で、全体の98.5%(132例)が65歳以上の高齢者であった。またその主たる死因は大半(全134例中117例、全体の87.3%)が溺死・溺水であり、その他は、心筋梗塞等の虚血性心疾患(6例)、急性大動脈疾患(4例)、肺炎等(3例)、脳内出血(2例)、心不全(2例)であった。加えて特筆すべきは、溺死・溺水例における解剖率の高さであり、117例中113例(96.6%)において解剖が実施されていた。これに対し、非溺死・溺水例では、17例中8例(47.1%)で解剖が実施されていた。

9. 考 察

我が国の死亡診断書/死体検案書、そしてそれらを元にした死亡小票から作成される人口動態統計においては、「死亡した場所」については「自宅」かそれ以外か、しか判別できず、自宅内のどの場所で死亡したかを把握することができないのが現状である。しかし、入浴関連死については、溺死＝事故死＝外因死と死亡診断される場合もあれば、例えば心不全＝病死＝内因死と診断される場合もある。そしてもし内因死と診断された場合、その死が浴槽内で発生しても、また寝室で発生しても人口動態統計上は判別できず、このことがわが国で入浴関連死が過小評価されうる原因となってきた。この問題を克服するため、報告者は人口動態統計に代わり、家庭内の事故発生場所についての情報も得られる救急搬送データを用いた。これによって、浴室内で発生した事故か否かを明確に把握することができた。

横浜市の入浴関連事故の発生状況の把握について特筆すべき点は、その死亡事例の大半で解剖が実施されていることである。これは横浜市が監察医制度施行地域であるためであり、行政解剖によって溺死の正確な診断が他地域よりも可能になっていることが推測される。これは裏返せば、日本の大半の地域で監察医制度が実施されていないことから、入浴関連事故の発生数が過小評価されている可能性が強く示唆される。また、横浜市においても2015年4月から監察医制度が廃止されたため、入浴関連死に関し今後、正確な診断が難しくなるおそれが懸念される。

また、本事業ではこれまで、死亡事例を中心に分析を行ってきたが、実際に入浴関連事故が生じたが医療機関受診等に至らなかった軽症例や、そのような明確な発症に至る前段階の「ヒヤリ・ハット事例」も顕在化させていく予定である。報告者は 2017 年 7 月から横浜市栄区役所のセーフコミュニティ活動における、傷害サーベイランス分科会委員に就任した。セーフコミュニティ活動とは、「致命的な事故やけがは、原因を究明することで予防できる」という考えに基づき、地域ぐるみで予防活動を展開する安全・安心なまちづくりを目指す活動であり、WHO（世界保健機関）が推奨している国際認証制度である。栄区は、2018年にWHOによる再認証審査を控えており、そのためにエビデンスに基づいた外傷の頻度と原因を記録するプログラムの構築が求められている。このような背景もあり、今後は横浜市 18 区の中で最も高齢化率が高い栄区において、上記のセーフコミュニティ再認証審査にも資するような形で、更にデータの蓄積を重ねる予定である。その上で、死亡例 - 重症例 - 中・軽症例 - ヒヤリ・ハット例相互間の有機的関連性について、ハインリッヒの法則に従い統計学的分析を行うとともに、関係各機関と検討・議論を重ね、入浴関連事故の発生を未然に防ぐための最適な予防策について提言を行う予定である。

10. 論文及び学会発表（研究会を含む）

本事業については、第 86 回日本法医学会学術関東地方集会（2017 年 10 月 28 日）において、「行政データの活用による入浴関連事故の実態把握」として、学会発表予定である。

<医学・医療関連事業助成>

神奈川県リンパ浮腫診療ネットワークの構築

矢吹 雄一郎

横浜市立大学医学部形成外科

抄録

本邦では悪性腫瘍に関連する外科治療や放射線治療で生じる続発性リンパ浮腫が多く、近年増加傾向にある。それに対し、圧迫療法を主体とした保存治療が長らく行われてきたが、技術の革新に伴い新しい検査法や治療法が開発され、患者に合わせた治療法の選択が可能になりつつある。しかし、各医療機関における診療の特性と限界から、各々独自に診療を行っているのが課題であった。そこで我々は2008年に「神奈川県リンパ浮腫研究会」を発足し、情報の収集と共有を目的とし、年一回勉強会を学内で開催してきたが、社会的ニーズの急激な増加に対応できない状況であった。

今回、本事業の助成により、正式に事務局を本学形成外科に設置した。また、勉強会の開催頻度を年2回とし、学外の会場で開催することが可能となった。研究会の対象を神奈川県下でリンパ浮腫診療に携わる医師、看護師、理学療法士、鍼灸治療師に拡大した。開催した勉強会には80名ほどの参加を得た。

今後、本研究会を継続し診療ネットワークの構築することが中長期的な目標である。それにより、各医療機関がそれぞれの特性を保ちながら、連携を行うことでリンパ浮腫診療の標準化が可能となる。

<医学・医療関連事業助成>

神奈川県リンパ浮腫診療ネットワークの構築

矢吹 雄一郎

横浜市立大学医学部形成外科

1. 目的

リンパ浮腫は中枢のリンパ流が障害されることで、末梢の皮下組織にリンパ液が貯留する結果生じる。世界的にはフィラリア感染症によるものが最も多く、その患者数は1億4千万～2億5千万人と推定されている。本邦では、悪性腫瘍に関連する外科治療や放射線治療で生じる続発性リンパ浮腫が圧倒的に多く、約10～20万人の有病者がいるとされており、年々増加している。

それに対し、従来は弾性着衣や多重包帯法などを用いた圧迫療法を主体とした保存療法が行われてきた。近年、技術の革新に伴い、新たな評価方法や治療法が開発され、患者に合わせた治療法の選択が可能になりつつある。それは同時に診療の多様化を意味しており、その結果各医療機関における診療の特性と限界が生じ、その結果各々が独自に診療を行っているのが実情である。そこで我々は2008年に「神奈川県リンパ浮腫研究会」を発足し、情報の収集と共有を目的とし、年一回勉強会を学内で開催してきた。しかし、社会的ニーズは増加の一步と辿り、現行の勉強会では対応できない状況であった。

本事業の目的は、神奈川県を中心としたリンパ浮腫の診療に携わる医療機関を対象とし、診療の多様性を認めながらも、情報の収集・共有することで連携した診療ネットワークを構築することである。その足掛かりとして、ニーズの高まっている研究会を整備すると同時に、勉強会の開催を行うことである。

2. 方法

「神奈川県リンパ浮腫研究会」の会則を策定し、世話人会や研究会事務局を正式に設置、発足することとした。研究会会員の対象を広げ、会員を募ることとした。また、本会主催の勉強会を年1回開催していたが、学外の規模の大きい会場で勉強会開催を追加で行うこととした。

3. 結果

神奈川県リンパ浮腫研究会会則を策定し、世話人会で承認、運用開始した。事務局を正式に横浜市立大学附属病院形成外科（横浜市金沢区福浦3-9）に置いた。

2017年7月29日に第12回神奈川県リンパ浮腫研究会（勉強会）を開催した。対象は神奈

パ浮腫診療の標準化が可能となる。症例や医療機関の充実していない医療圏や、逆にそれらが過密している医療圏では、診療ネットワークの構築は困難であると予想される。そのため、神奈川県は日本で初めてのリンパ浮腫診療ネットワークのモデル医療圏となり得ることが示唆された。

5. 論文および学会発表

特になし

<医学・医療関連事業助成>

医学共用試験の重要性啓蒙のための e-learning 素材の開発について

稲森 正彦

横浜市立大学医学部医学教育学

【抄録】

現在の医学部の 4 年生において、共用試験実施評価機構が行う共用試験を受験することが義務化されている。そのうちの 하나가 OSCE (Objective Structured Clinical Examination ; 客観的臨床能力試験) で、学生ごとにいくつかの課題が与えられ、それに対して適切に対応できる態度や技能が備わっているかどうか判定される。この共用試験は第二の医師国家試験ともいえるものであり、厳正な施行が求められるが、本学では平成 26 年度の試験において、不正行為が発生した。当該学生について処分が行われたが、同時に学内の管理体制の整備も問われ、共用試験に対する取組み方の意識を新たにすることが求められており、教員、職員及び学生等、学内への啓蒙を図ることが求められた。そのための方法として、本学では現在整備されていない e-learning 環境の整備と教育素材を開発することを目的とした。e-learning の素材開発に当たり、その構造化について、既存の様々なシステムの情報を収集し、その試験的な構築を行ない、小規模なシステムでの実験を行った。なお e-learning の学内環境整備に関しては、現在過渡期としてセンター病院のサーバーを用いた運用が行われるようになっているが、この経験を将来的な全学内での整備へ還元していきたい。

<医学・医療関連事業助成>

医学共用試験の重要性啓蒙のための e-learning 素材の開発について

稲森 正彦

横浜市立大学医学部医学教育学

1. 目的

現在の医学部の 4 年生において、共用試験実施評価機構が行う共用試験を受験することが義務化されており、この試験を受験し合格することで **student doctor** の認証が与えられてはじめて病棟実習を開始できる。この「共用試験」は 2 種類の試験からなり、一つは、コンピュータ画面に試験問題がランダムに次々提示される **CBT(Computer Based Testing)** といわれる試験で、6 時間で 320 問の試験問題に取り組み、その回答状況から、十分な知識が修得できているかどうか判定される。もう一つは **OSCE (Objective Structured Clinical Examination; 客観的臨床能力試験)** という試験で、模擬患者さんへの面接や、各種のシミュレータを用いた試験で、学生ごとにいくつかの課題が与えられ、それに対して適切に対応できる態度や技能が備わっているかどうか判定される。

この共用試験は第二の医師国家試験ともいえるものであり、厳正な施行が求められているが、本学では平成 26 年度の試験において、OSCE の課題（試験問題）が、OSCE 前夜、同大学の試験会場に入った学生により、掲示してあった課題が撮影され、電子媒体を介して受験予定者全員に送られるという不正行為が発生した。このため漏洩に関与した学生について処分が行われたが、同時に学内の管理体制の整備も問われており、機構より 3 年間の観察処分が行われている。その中で、学内の共用試験に対する取り組み方の意識を新たにすることが求められており、平成 26 年度には全学的な **FD** が行われた。

それを踏まえて、本学の取り組みの一環として **e-learning** 素材を開発し、教員、職員及び学生等、学内への啓蒙を図ることが必要と判断し、そのための方法として、本学では現在完全には整備されていない **e-learning** 環境の整備と教育素材を開発することを本事業の目的とした。

2. 方法

まず医学共用試験の重要性を啓蒙するにあたり、共用試験についての情報収集をホームページ上、及び共用試験実施評価機構で作成された文書についての確認を行い、共用試験実施評価機構の委員へのインタビューを行い、そのポイントについてのまとめを行った。

次に **e-learning** の素材開発に当たり、特にその構造化について、既存の様々なシステム

の情報収集を試みた。本学附属病院でいままで行われていたシステムの確認，A 大学で独自開発されているシステム概要の調査，A 社で公開販売されているシステムの調査，B 大学及び C 大学で行われているシステム概要につき，調査を行った。

次段階として，実際にその類似システムについて試験的な構築を行ない，小規模なシステムでの実験を行った。

3. 結果

共用試験の重要性について啓蒙を行うにあたり盛り込むべき因子として，共用試験の正式名称，共用試験の目的，医学教育の構造，守秘義務と同意書，診療参加型実習，共用試験の総括評価，参加大学，OSCE の目的，OSCE のステーション，一般的な OSCE の構造，横浜市立大学の OSCE で起きた問題とその対策，横浜市立大学の OSCE の特徴，実施日時，運営体制，試験当日の流れ，試験の流れ，試験中のアナウンス，合図，配置図，試験全体の学生の流れ，評価に当たっての留意事項，評価者医学の担当業務，服装などが挙げられ，それを盛り込んだ ppt 形式のファイルをまず作成した。

次に既存の様々なシステムの情報を収集解析したところ，Moodle などの既存のソフトをベースに作成されたもの，独自のシステムで開発されるものに大別された。Moodle を基礎とするものについて，その CBT 等も行うことができる多彩な機能が喧伝されているが，本学でも八景キャンパスで 4 年前に一度試みられ，担当教員の異動と共に運用が滞ったという情報を得て，最終的には永続的な運用には難があると判断した。その点 on demand で開発されたシステムは，拡張性に難があるが比較的構築維持しやすいと考え，まずはそのシステム構築を目指した。

続いて，はじめに ppt 形式で作成した素材を題材として，広島大学で公開されているアドインでのファイル形式，及び flash 形式への書き換えを行った後，安価なサーバーを購入し，そこを含んだ小規模ネットワークを私個人の PC と形成して，接続実験を行った。開始当初は使用可能であった。

4. 考察

本学の共用試験における不正行為を発端としてその体制整備を行うなかで，e-learning の素材開発と環境整備を行った。教材の作成と共に，e-learning に関する本学の現状の把握，他大学や社会的な現況やその位置づけについて調査を行うことができ，大変有意義な事業であった。

e-learning 上での完全公開には至らなかったが，その素材に関しては学内の FD や説明会等で活用されており，機構及び社会から求められているニーズに応える活動の一環であったと考えられた。

接続実験に関して当初使用可能であったが，事業期間終了後，ハードの破損があり，使用不可能となった。破損の原因は不明であるが，ハード面で予想以上の負荷がかかる可能

性があり、今後の計画に生かせればと考えている。

なお e-learning の学内環境整備に関しては、現在過渡期の措置としてセンター病院のサーバーを用いた運用が行われるようになっているが、この経験を将来的な全学内での整備へ還元していきたい。

5. 論文及び学会発表

1. 医学部における簡便な e-learning システム開発の経験. 第3回地域保健医療学実習懇話会. 2017年11月 発表予定

<医学・医療関連事業助成>

OneNote を用いた医学教育における能動的学習の推進

飯田 洋

横浜市立大学医学部 医学教育学

【抄録】

変化する医学教育において近年、能動的学習（学習者主体の学び）の推進が重要課題となっている。平成 24 年 8 月には中央審議会答申「新たな未来を築くための大学教育の質的転換に向けて～生涯学び続け、主体的に考える力を育成する大学へ～」がまとめられたり、平成 28 年 5 月 24～27 日に横浜市立大学医学部で実施された「医学教育分野別評価」においてもこの課題はより一層明確にされた。

また、インターネット上では、次々と新たなサービスが展開され、社会における情報流通やコミュニケーションのあり方もどんどん変化している。パソコンによるインターネット環境の整備にとどまらず、携帯やスマートフォンによるインターネット利用も高率である。総務省が実施した「通信利用動向調査報告書 2015」によると、スマートフォンの 20 代保有率は 94.5%であり（パソコンは 85.3%）、ipad などのタブレット端末保有率は 32.3%となっている。横浜市立大学医学部においても、ほぼ全ての学生がスマートフォンやタブレット端末を保有しており、講義の予習・復習、情報の検索・共有などに使用している。

学生のスマートフォンやタブレット端末の勉強における使用状況を調査した。

またパソコン、スマートフォンやタブレット端末で使用できる「OneNote（ワンノート）」を使用し、能動的学習法である PBL（Problem Based Learning）を行った。OneNote はあらゆる情報を集約できる便利なデジタル ノートである。文字を入力できるだけでなく、さまざまな種類のデータをそのままの形式で貼り付けたり、収集しておくことで、あらゆる情報をひとつにまとめておくことができるツールである。OneNote を利用していると、わざわざ保存の操作をしなくても、情報がどんどんたまっていき、情報がクラウド（OneDrive）に保存されるので、パソコンだけでなく、スマートフォンやタブレットで OneNote を起動すると、いつも同じ情報が見られる仕組みになっている。これらは、共有することができるので、PBL で行った学習（予習・復習を含む）をグループ間で共有するのに役立った。

<医学・医療関連事業助成>

OneNote を用いた医学教育における能動的学習の推進

飯田 洋

横浜市立大学医学部 医学教育学

【目的】

変化する医学教育において近年、能動的学習(学習者主体の学び)の推進が重要課題となっている。平成24年8月には中央審議会答申「新たな未来を築くための大学教育の質的転換に向けて～生涯学び続け、主体的に考える力を育成する大学へ～」がまとめられたり、平成28年5月24～27日に横浜市立大学医学部で実施された「医学教育分野別評価」においてもこの課題はより一層明確にされた。

また、インターネット上では、次々と新たなサービスが展開され、社会における情報流通やコミュニケーションのあり方もどんどん変化している。パソコンによるインターネット環境の整備にとどまらず、携帯やスマートフォンによるインターネット利用も高率である。総務省が実施した「通信利用動向調査報告書2015」によると、スマートフォンの20代保有率は94.5%であり(パソコンは85.3%)、ipadなどのタブレット端末保有率は32.3%となっている。横浜市立大学医学部においても、ほぼ全ての学生がスマートフォンやタブレット端末を保有しており、講義の予習・復習、情報の検索・共有などに使用している。

学生のスマートフォンやタブレット端末の勉強における使用状況を調査した。

またパソコン、スマートフォンやタブレット端末で使用できる「OneNote(ワンノート)」を使用し、能動的学習法であるPBL(Problem Based Learning)を行ったので、考察を加えて報告する。

【対象と方法】

1,2年生の担任をしている関係上、まず私が担当する担任21人を対象とし、学生のスマートフォンやタブレット端末の勉強における使用状況を聞き取り調査した。また1年生を対象とした後期担任プログラム、教室体験演習、4年生を対象としたリサーチクラークシップにおいて、OneNoteを用いて行った。

【結果と考察】

担任である1,2年生21人中、スマートフォン所有は21名全員、スマートフォンとは別にタブレット端末所有は14名(ノートパソコンを含めると20名)であった。入学時はス

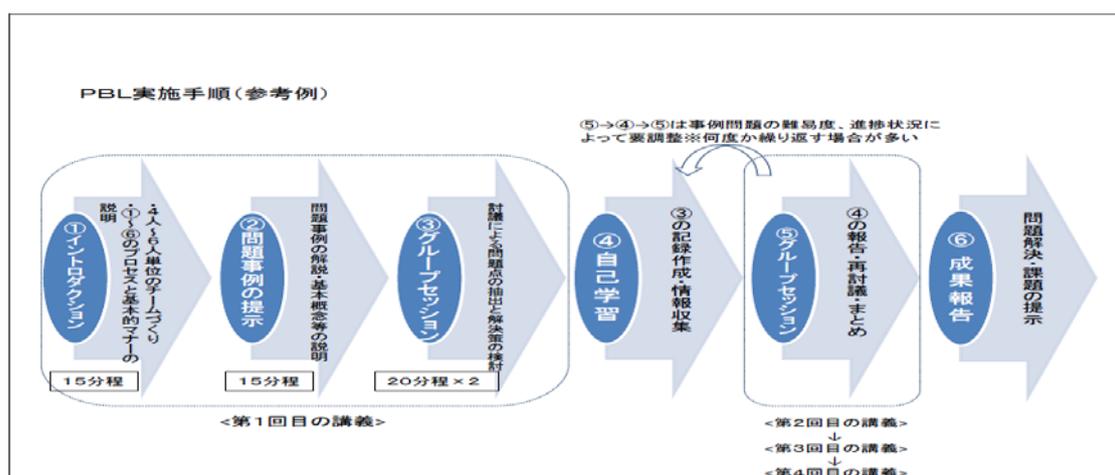
スマートフォンでなかった学生が2名いたが、LINEなどのSNSを利用する目的でスマートフォンに変更したとのことであった。

スマートフォン、タブレット端末（ノートパソコンを含む）の利用方法としては、大学からのメール連絡の確認、講義の予習・復習、講義資料の閲覧、講義・実習の課題の作成など多岐にわたっており、医学生にとって欠かせないツールとなっている。

私が学生の頃には存在していなかったスマートフォンやタブレット端末の普及により、医学生の学習環境・方法は、想像できないほど変化している。医学教育学の教員として、低学年の講義～高学年の病棟実習まで学生と接しているが、学生は本の教科書は持っておらず教科書の情報がタブレットに保存され、わからない情報はタブレットを通じてインターネットで調べ、その情報はTwitterやLINEなどを通して一瞬で学年全員に行き渡っている。

PBLとは

少人数グループによる問題発見解決型（事例解決型、事業課題解決型）の学習方法である。少し補足すると、そのプロセスには、グループ討議、活動記録の作成、自己学習、成果報告までを含む統合的・創造的な学習に主眼を置いている実践形式の学習方法である。



(先導的 IT スペシャリスト育成推進プログラム PBL 型授業実施におけるノウハウ集より)

OneNote とは

マイクロソフトの OneNote が開発・販売しているソフトである。すでに 10 年以上の歴史を持つソフトである。

Word や Excel が情報を加工して文書を作ったり、データを入力して分析したりするソフトなのに対し、OneNote は情報を集めるソフトである。マイクロソフトは、OneNote のことを「デジタルノート」と呼んでいるが、まさに現実のノートのように何でも自由に書き込んで記録できるのが、OneNote の最大のウリである。

次は OneNote の画面です。文字、画像、図形、表、手書き文字など、さまざまな情報が自

由な位置に書き込まれているのがわかる。

OneNote はあらゆる情報を集約できる便利なデジタル ノートである。

文字を入力できるだけでなく、さまざまな種類のデータをそのままの形式で貼り付けたり、収集しておくことで、あらゆる情報をひとつにまとめておくことができるツールである。

OneNote を利用していると、わざわざ保存の操作をしなくても、情報がどんどんたまっていき、情報がクラウド (OneDrive) に保存されるので、パソコンだけでなく、スマートフォンやタブレットで OneNote を起動すると、いつも同じ情報が見られる仕組みになっている。またこれらは、共有することができるので、PBL で行った学習 (予習・復習を含む) をグループ間で共有するのに役立つ。

【おわりに】

パソコン、スマートフォンやタブレット端末で使用できる「OneNote」を使用した学習支援、また能動的学習法である PBL を今後も推進したい

【論文および学会発表】

飯田洋，稲生優海，藤田浩司，西巻滋，稲森正彦：医療系新生生に対する多職種連携への理解を深める試み．第 49 回日本医学教育学会大会，札幌．2017 年 8 月

<平成 27 年度 指定寄附研究助成 心臓疾患研究>

心臓弁膜症に対する外科治療戦略
—人工弁置換術後の遠隔成績—

郷田素彦

益田宗孝 鈴木伸一 磯松幸尚 町田大輔

横浜市立大学 外科治療学 心臓血管外科

【背景】高齡化が進む本邦において、増加傾向の大動脈弁疾患に対しては生体弁による人工弁置換術が治療の主流である。その際体格に見合ったサイズの人工弁使用が好ましいが、一方で日本人の大動脈弁輪は小さく各種生体弁の最小サイズである 19mm を使用することも多い。【目的】 Mitroflow 19mm(MF)と Carpentier-Edwards Perimount Aortic Valve19mm(CEP)の遠隔期成績を比較する。【方法】大動脈弁疾患で MF および CEP により弁置換術を施行した症例の術前、術直後、術後 1 年、2 年の心機能、人工弁機能を、心臓超音波検査の所見をもとに比較した。【結果】 MF 群 20 例、CEP 群 21 例で年齢(77.7yr vs 76.7yr; $p=0.457$)、体格(BSA 1.49m² vs 1.53m²; $p=0.767$)に有意差なし。術前心機能は LVDd(46.9mm vs 47.1mm; $p=0.434$)、LVDs(29.8mm vs 29.8mm; $p=0.491$)、EF(64.6% vs 66.7%; $p=0.283$)、と有意差なし。エコー上算出した左室心筋重量の変化は術前、術直後、1 年後、2 年後の順に MF 群で 209.5g→173.3g→138.1g→153.2g、CEP 群で 247.4g→217.1g→184.9g→189.8g とそれぞれ有意に減少、すなわち左室肥大の経時的改善が認められた。大動脈弁位における圧較差(mmHg)は MF 群 90.5→36.8→35.3→33.9、CEP 群 71.7→32.1→31.4→29.0 といずれのポイントでも両群間において有意差はなかった。【結論】最小の人工弁である Mitroflow 19mm は人工弁位での圧較差および左室の肥大心筋の改善について 2 年目までは Carpentier-Edwards Perimount Aortic Valve19mm と同等の効果が期待できる。

<平成 27 年度 指定寄附研究助成 心臓疾患研究>

心臓弁膜症に対する外科治療戦略

—人工弁置換術後の遠隔成績—

郷田素彦

益田宗孝 鈴木伸一 磯松幸尚 町田大輔

横浜市立大学 外科治療学 心臓血管外科

1. 目的

高齢化が進む中、本邦での心臓弁膜症手術は年々増加傾向にある。僧帽弁逆流など一部の弁膜症では形成術が盛んに行われており、良好な成績が国内外から報告されている一方で、大動脈弁疾患や僧帽弁狭窄症に対しては人工弁置換術が主流である。人工弁は機械弁、生体弁ともに多くの種類の弁が臨床使用されている。

そのうち生体弁は抗凝固療法が不要であるという利点から特に高齢者での使用頻度が増しているが、弁機能不全や機械弁よりもサイズが大きいなどの課題も存在する。

本研究の目的はこれまで移植されてきた人工弁のそれぞれの種類での遠隔成績を明らかにすることであり、その中でも大動脈弁用の最小サイズの生体弁である **Mitroflow 19mm** と世界的に最も使用されている生体弁である **Carpentier-Edwards Perimount Aortic Valve 19mm** との比較を行うことである。

2. 方法

2012 年 2 月から 2017 年 3 月までの期間に横浜市立大学において **Mitroflow 19mm** か **Carpentier-Edwards Perimount Aortic Valve 19mm** を用いて大動脈弁位人工弁置換術を受けた症例 41 例を前方視的あるいは後方視的に集計し、臨床情報に加えて術前、術直後、術後 1 年および術後 2 年において実施した心臓超音波検査の所見から心機能および人工弁機能に関するデータを蓄積する。それらから人工弁の種類別の遠隔成績を評価する。

3. 結果

(1) 患者背景、術前および手術因子

表 1 に示す如く、年齢や体表面積に有意差はなかったが男女比においては

MF 群で女性が多かった。手術において要した体外循環時間、大動脈遮断時間は両群に有意差はなかった。心臓超音波検査において左室機能は両群に有意差はなかった。

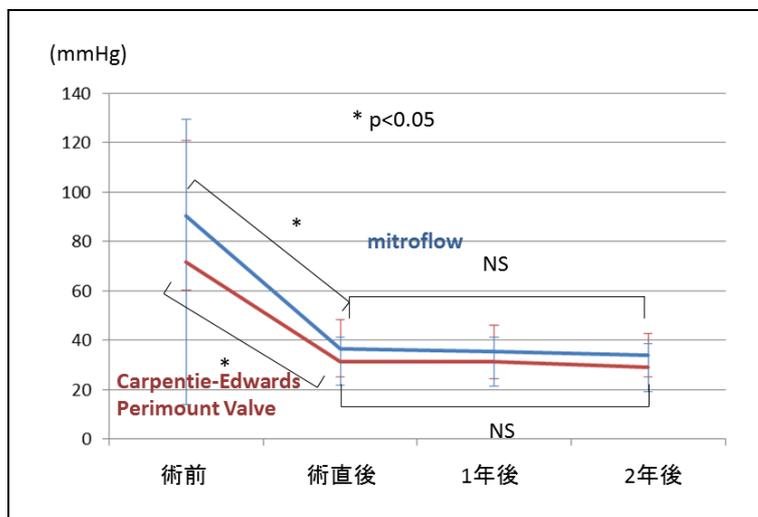
表 1：患者背景、手術因子および術前左室機能の比較

	MF 群	CEP 群	p
n	20	21	
年齢(才)	77.7	76.7	NS
男：女	3：17	14：7	<0.05
体表面積(m ²)	1.49	1.53	NS
体外循環時間(min)	190.8	208.3	NS
大動脈遮断時間(min)	142.4	151.8	NS
LVDd(mm)	46.9	47.1	NS
LVDs(mm)	29.8	29.8	NS
LVEF(%)	64.6	66.7	NS

(2) 両群の人工弁位の圧較差の経時的変化

図 1 に示す如く、両群ともに大動脈弁位における圧較差は大動脈弁置換術前よりも術直後で改善した。すなわち MF 群 90.5→36.8→35.3→33.9、CEP 群 71.7→32.1→31.4→29.0 と変化し、術直後から遠隔期は 2 年目まで両群において圧較差の増大などは認めなかった。

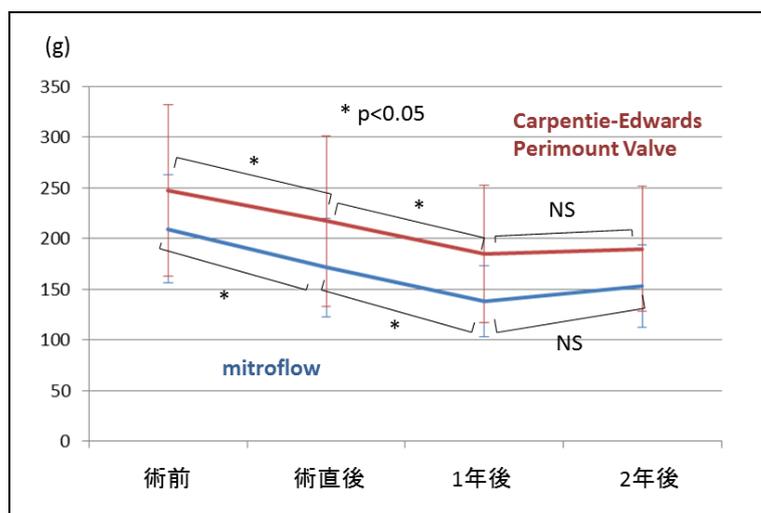
図 1：大動脈弁位における圧較差の経時的変化



(3) 両群の左室心筋重量の経時的変化

図2に示す如く、両群ともに左室肥大を示す左室心筋重量は大動脈弁置換術後より経時的に改善した。すなわち術前、術直後、1年後、2年後の順にMF群で209.5g→173.3g→138.1g→153.2g(青線)、CEP群で247.4g→217.1g→184.9g→189.8g(赤線)とそれぞれ有意に減少した。1年後から2年後にかけては心筋重量の減少は両群ともに認めなかった。

図2：左室心筋重量の経時的変化



4. 考察

大動脈弁位に移植する生体弁はサイズが大きい方が循環動態に有利である。しかし日本人は体格が小さく、すなわち欧米に比し大動脈弁輪も小さいため最小サイズである 19mm を使用することがあり、その圧較差と耐久性が課題である。Mitroflow19mm は本邦で使用できる中で最小の大きさであり特に小柄な女性において使用することがある。本研究において、Mitroflow19mm は、人工弁位圧較差の変化や左室肥大の改善効果において、これまで良好な遠隔成績が報告されている Carpentier-Edwards Perimount Aortic Valve19mm[1]と比較しても劣らないことが示された。したがって弁輪形が小さすぎて Carpentier-Edwards Perimount Aortic Valve19mm を移植することができない症例に、Mitroflow19mm を移植することで、より高侵襲な弁輪拡大術を回避し、同等の遠隔成績を期待できると結論付けることができる。

[1] Very Long-Term Outcomes of the Carpentier-Edwards Perimount Aortic Valve in Patients Aged 60 or Younger Thierry Bourguignon, et al. Ann Thorac Surg. 14 July 2015

5. 論文および学会発表

今後さらに症例を蓄積し学会発表および論文化する予定である。

<平成 27 年度 指定寄附研究助成 胆のうがん研究助成>

胆嚢隆起性病変の鑑別診断における, 高音圧造影モードを用いた造影超音波検査の有用性

三輪治生

杉森一哉, 三箇克幸, 廣谷あかね, 手塚瞬, 合田賢弘, 入江邦泰, 沼田和司

横浜市立大学附属市民総合医療センター 消化器病センター

前田慎

横浜市立大学医学部 消化器内科学

抄録

【目的】胆嚢隆起性病変の鑑別診断における, 高音圧造影モードを用いた造影超音波検査 (High MI CEUS) の有用性を検討する.

【対象と方法】2007 年 2 月から 2017 年 3 月までに, High MI CEUS を施行し, 診断確定に至った 36 例(胆嚢癌 17 例, 非腫瘍性ポリープ 19 例)を対象とした. 超音波機器は, LOGIQ7(GE healthcare 社)を使用し, ソナゾイド 0.2mL/body を静注した後, 病変全体の染影と血管像を撮像した. 撮像した画像は, 2名の読影者が単独で読影し, kappa value により各所見の一致率を評価した. また, 胆嚢癌の診断における B-mode, および CEUS の正診率を検討した.

【結果】CEUS の各項目における kappa value は, B-mode と比較して高い結果であった. 胆嚢癌の診断において, B-mode では内部不均一の頻度が高く($p < 0.05$), CEUS では, 広基性病変, 血管拡張, 血管不整, 造影効果不均一の頻度が高い結果であった($p < 0.01$). 胆嚢癌の診断における感度・特異度・正診率は, B-mode で 80%, 79%, 73%, CEUS で 94%, 89%, 92%と, CEUS で高い結果であった.

【結語】High MI CEUS は, 胆嚢隆起性病変の鑑別診断において有用であった.

<平成 27 年度 指定寄附研究助成胆のうがん研究助成>

胆嚢隆起性病変の鑑別診断における、高音圧造影モードを用いた造影超音波検査の有用性

三輪治生

杉森一哉, 三箇克幸, 廣谷あかね, 手塚瞬, 合田賢弘, 入江邦泰, 沼田和司

横浜市立大学附属市民総合医療センター 消化器病センター

前田慎

横浜市立大学医学部 消化器内科学

【背景と目的】

胆嚢癌は早期には無症状であることが多い一方、切除不能例で発見された場合、極めて予後不良な疾患である^[1]。術前に施行されている病理診断としては、経乳頭的アプローチによる胆汁細胞診が挙げられるが、診断感度は低く、腫瘍性病変の除外はしばしば困難である^[2]。また、近年胆道疾患に対して超音波内視鏡ガイド下穿刺術を施行した報告が増えているが、限局性の胆嚢隆起性病変に対しては、胆汁流出に伴う腹膜播種が危惧されるため適応外と考えられる^[3]。このような点から、手術適応となりうる胆嚢病変に関して、病理診断は容易ではなく、適切な治療選択のためには、正確な画像診断法の確立が極めて重要である。

胆嚢隆起性病変に関して、血行動態に基づいた診断法の報告は少なく、造影 CT や Color Doppler 超音波などによる鑑別は容易ではない。当施設では、以前より胆嚢癌の術前精査として、肝転移の検出を目的にソナゾイド®（第一三共株式会社）を用いた腹部造影超音波検査(CEUS)を施行しており、同時に血管相で胆嚢病変の血流評価を目的とした撮像を行ってきた。

ソナゾイド造影超音波検査では、通常 Mechanical index (MI) 値 0.2-0.3 の低音圧連続撮像が用いられるが、同法では背景の B-mode の影響が強く、高輝度病変の多い胆嚢隆起性病変の血流検出の妨げとなる^[4]。また、胆嚢隆起性病変は良性、悪性ともに内部に血流を伴うため、造影効果のみによる鑑別が困難である。これらの特性に対して、我々は、背景の B-mode の影響を消去し、病変内部の血管像を描出しうる高音圧撮像を用いてきた。

本研究では、胆嚢隆起性病変の鑑別診断における、高音圧造影モードを用いた造影超音波検査(High MI CEUS)の有用性を検討し、報告する。

【対象と方法】

対象は、2007 年 2 月から 2017 年 3 月までに、High MI CEUS を施行し、診断確定に至った 36 例(胆嚢癌 17 例, 非腫瘍性ポリープ 19 例)。超音波装置は、LOGIQ7(GE

healthcare 社)を使用し、ソナゾイド 0.2mL/body を静注した後、病変全体の染影と血管像を撮像した。これらの画像は、2名の読影者がそれぞれ単独で読影し、kappa valueにより各所見の一致率を評価した。評価項目は、<B-mode>エコー輝度/形態/輪郭/内部不均一性/点状高エコー像、<CEUS>造影輝度/造影後形態/血管径/血管形態/造影効果不均一性とした。両者の不一致項目については、consensus meetingによりいずれかの所見に決定し、良性・悪性の鑑別に寄与する因子について単変量解析を行った。これにより得られた結果をもとに、胆嚢癌の診断における B-mode、および CEUS の正診率を検討した。さらに、病変の大きさによる差が生じないように層別化を追加し、B-mode、および CEUS の正診率を検討した。

【結果】

平均年齢は、胆嚢癌 72.4 歳(52-87 歳)、非腫瘍性ポリープ 59.6 歳(34-83 歳)であり、胆嚢癌で有意に高齢であった($p<0.001$)。平均病変径は、胆嚢癌 23.4mm(14-37mm)、非腫瘍性ポリープ 12.4mm(10-20mm)であり、胆嚢癌で有意に大きい結果であった($p<0.001$)。胆嚢癌の 2 例は、胆嚢内に充満する胆泥のため B-mode での評価不能であったが、CEUS では全例の血流検出が可能であった。上記の各所見における kappa value は、B-mode 0.43/0.64/0.49/0.41/0.54、CEUS 0.44/0.83/0.71/0.66/0.82 であった。

胆嚢癌の診断において、B-mode では内部不均一の頻度が高く ($p<0.05$)、CEUS では、広基性病変、血管拡張、血管不整、造影効果不均一の頻度が高い結果であった($p<0.001$)。胆嚢癌の診断における感度・特異度・正診率は、B-mode で 80%、79%、73%、CEUS で 94%、89%、92%であった。

11-20mm の病変に限定すると、胆嚢癌 8 例、非腫瘍性ポリープ 11 例の平均病変径は、16.4mm、14.2mm であり、有意差を認めなかった($p=0.402$)。これらの病変において、胆嚢癌と有意に相関する因子は、CEUS における、広基性病変($p=0.006$)、血管拡張($p=0.041$)、血管不整($p=0.041$)のみであり、感度・特異度・正診率は、88%、91%、89%であった。

【考察】

本研究では、High MI CEUS を用いて胆嚢隆起性病変の鑑別診断における有用性を後方視的に検討した。Kappa value を用いて算出された、2名の読影者間の一致率は、造影輝度を除いた CEUS の各項目で、B-mode と比較して高い結果であった。この結果より、CEUS は、B-mode と比較して客観性に優れた検査法である可能性が示唆された。

過去の報告において、B-mode で有茎性を呈する病変は、非腫瘍性ポリープを示唆する所見として報告されているが^[5]、58%(11/19)で広基性の形態を呈し、胆嚢癌との鑑別が困難であった($p=0.271$)。一方、造影後には、病変の基部に流入する血管が明瞭となり、95%(18/19)で有茎性病変を呈した($p<0.001$)。また、病変内部の血管像に関して、胆嚢癌では 71%(12/17)で血管拡張($p<0.001$)、82%(14/17)で血管不整を認めた($p<0.001$)。

B-mode, CEUS とともに, 内部エコーの不均一性は胆嚢癌を示唆する所見であった.

本研究では, 病変径によるバイアスを除去するため, 大きさによる有意差がない 11-20mm の病変において, 鑑別診断における有用性を再度検討した. B-mode では, いずれの因子においても, 良悪性の鑑別における有意差を認めなかったが, CEUS では, 広基性, 血管拡張, 血管不整の 3 項目が胆嚢癌と相関する因子であった.

単変量解析において有意な因子のいずれかを持つ病変を胆嚢癌とした場合の感度・特異度・正診率は, CEUS で B-mode と比較して高く, 11-20mm に限定した場合でも, 明らかな診断能の低下を認めなかった.

【結語】

本研究において, High MI CEUS は, 胆嚢隆起性病変の鑑別診断において有用な検査法であった. 今後, 症例の集積や前向き試験による診断法の確立が期待される.

【引用文献】

1. Piehler, J.M. and R.W. Crichlow, *Primary carcinoma of the gallbladder*. Surg Gynecol Obstet, 1978. **147**(6): p. 929-42.
2. Naito, Y., et al., *Usefulness of lavage cytology during endoscopic transpapillary catheterization into the gallbladder in the cytological diagnosis of gallbladder disease*. Diagn Cytopathol, 2009. **37**(6): p. 402-6.
3. Chantarojanasiri, T., et al., *The role of endoscopic ultrasound in the diagnosis of gallbladder diseases*. J Med Ultrason (2001), 2017. **44**(1): p. 63-70.
4. Miwa, H., et al., *Differential diagnosis of solid pancreatic lesions using contrast-enhanced three-dimensional ultrasonography*. Abdom Imaging, 2014. **39**(5): p. 988-99.
5. Bhatt, N.R., et al., *Evidence based management of polyps of the gall bladder: A systematic review of the risk factors of malignancy*. Surgeon, 2016. **14**(5): p. 278-86.

【図】 評価項目

B-mode				
• Echogenicity	Hyper-echoic		Hypo-echoic	
• Morphology	Sessile		Pedunculated	
• Outline	Smooth		Irregular	
• Heterogeneity	Homogeneous		Heterogeneous	
• Hyper-echoic spots	Present		Absent	
CEUS				
• Enhancement grade	Marked		Mild	
• Morphology	Sessile		Pedunculated	
• Thickness of vessels	Thin		Dilated	
• Shape of vessels	Regular		Irregular	
• Heterogeneity	Homogeneous		Heterogeneous	

<学生自主的活動助成>

MES 活動報告書

横浜市立大学医学部医学科 6年 大島 美音

MES のクラスでは単語を学ぶ時間と臨床問題を解く時間を通して、医学英語の理解を深めました。単語を学ぶ時間には毎回テーマがあります。循環器、消化器、運動器、腎臓、眼科、皮膚科などを学びました。単語の成り立ちから理解することで、効率よく英単語を覚えることができ、回を重ねるごとに単語が覚えやすくなっていくのを実感しました。単語を学びながら、意味や発音が類似していて混乱しやすい語彙についても分かりやすく説明していただき、理解することができました。

臨床問題を解く時間には USMLE を解きます。先生が生徒のレベルに合った問題を選んでくださり、それについてみんなで考えます。英語だけでなく、医学の勉強になりました。覚えにくい身体診察についてはみんなで実践しながら体で覚えました。

授業はどのパートも参加型で行われます。正しい発音を指導していただいたり、英会話も学ぶことができます。これから日本にいても英語を使う機会が増えていくと思うので、この MES で学んだことを活かしていきたいです。

<学生自主的活動助成>

MES 活動報告書

横浜市立大学医学部医学科 6年 大桃 すみれ

MES ではひとりで勉強するより効率よく医学英語を学ぶことができました。長い間講師を務めてくださっているデイン先生の講義は基本的な単語のレクチャーから始まり、医師国家試験のような問題を英語で解くという形で講義をして下さいます。先生の講義は双方向性であり、自分から英語で発言しなくてはなりません。ですから医学単語を試行錯誤して文章を作る期会を与えてもらえます。実際に自分で発言した英語は記憶に残りますし、なによりネイティブが医療単語を使っているところを見ると「あ、こうやってこの単語を使うんだ」と気づかされる場面が多く、教科書を用いて医学英語を勉強するよりもはるかに記憶に定着しました。医療単語に関する著書は多数あり、福浦キャンパスでも容易に読むことができます。しかし医療の場面での英語の使い方は実際に使っている人がどのように単語を使っているか見るのがよいと思います。MES の活動の魅力は、楽しさでもあると思います。デイン先生が横須賀海軍基地でのバーベキューに招いてくださるなど授業外でも MES のメンバーと交流する機会に恵まれました。医学部の生活の中でとてもたのしい思い出を残してくれました。MES という活動に参加できたことを大変喜ばしく思っております。これを可能にしてくださった皆様に感謝申し上げます。

<学生自主的活動助成>

MES 活動報告書

横浜市立大学医学部医学科 6年 石渡 麻衣

医学英語を学び、英語でのコミュニケーション能力を身に付けるためMESに参加した。先生とディスカッションしながら症例問題を考える過程は、語学力の向上に加え医学的知識の整理にも役立ったと思う。

今年度の活動で最も印象深いのは、横須賀海軍病院見学である。病院内の施設を一通り見学した後、カンファレンスにも参加させていただいた。カンファレンスの内容は日本の病院と相違なかったが、患者の年齢層が低く、疾病構造が日本とは異なると感じた。さらに海軍敷地内の商業施設等も見学し、そこに住む方々の生活についても学ぶことができた。海軍敷地内は住んでいる方、働いている方はアメリカ人が多く、売っているものも日本とは異なり、日本にいるとは思えなかった。普段めったに足を踏み入れる機会がない病院を見学することができ、貴重な体験となった。

今後医師として働くにあたり、MESで学んだ知識、語学力を生かしていきたい。このような貴重な機会をくださった横浜総合医学振興財団の皆様にこの場を借りて深く御礼を申し上げたいと思う。

<学生自主的活動助成>

MES 活動報告書

横浜市立大学医学部医学科 6 年 大貝 明日香

医学を学ぶ学生にとって、課外活動の時間は非常に限られている。膨大な知識量と技術力を身につけるために使うべき時間は非常に膨大で、自身の興味に邁進する機会は他の学部生に比較しても少ない。特に 6 年次は、就職活動に卒業試験、国家試験とやるべきことが多く、その中で、医学という学問への興味をさらに深めるきっかけを得るタイミングを計ることがなかなか難しい。そこで MES 活動への参加は学生のモチベーションを高めてくれる非常に効率的で有意義な機会であったと殊に思う。MES の活動のメインは横須賀海軍基地病院 Dane 準医師による医学英語の授業であったが、本年度は海軍病院の見学もさせてもらうことができた。

MES 活動への参加は医師としてのモチベーションだけでなく、医学英語の構造から応用まで、ロジカルに説明された講義は今後のグローバル化した現代に対応する準備として相応しい契機になったと思う。

いよいよ春より医師になりさらに時間に追われる日々になる。そのなかで学生時代にこのような機会に触れられたことは非常に貴重な経験であり、限られた時間の中で興味を広げ、学問を深め、MES で学んだ医学英語を実臨床に繋げてゆくことができることを非常に喜ばしく感じている。是非後輩たちにも MES 活動に興味をもって参加して欲しいと強く感じている。

<学生自主的活動助成>

MES 活動報告書

横浜市立大学医学部医学科 6 年 鈴木 崇文

私は 2015 年 3 月の初回より Medical English Society (MES) への参加を継続してきました。この活動は医学生にとり非常に有意義なものと感じた理由について以下の通り述べます。

まず、医学英語への学習の糸口として役立つと感じました。MES での講義は臓器別の Medical Terminology の学習を中心として行われます。これにより、単語の語幹から意味を推測し、効率的に学習を行う術を学ぶことができました。基礎的な医学知識を前提に進められるため、どの学年にとっても非常に理解がしやすく、基礎医学を学ぶ 2 年生の段階でも十分参加できます。また、講義の最後には USMLE step2 の問題を病態の把握をしつつ解くため、USMLE のみならず CBT や国家試験への学習にも有用であると感じました。

また、先生との意思疎通も基本的に英語で行われるため、普段英語を使うことのない学生にとって医学のみならず、英語を学び直すのに良い機会であると感じました。特に病態生理や身体所見について英語で理解し、また説明するプロセスは普段経験しないことであり、英語の良いトレーニングとなりました。

さらに、医学生の段階から医学英語を多く学ぶことは、将来医師や研究者として海外で活躍するための土台になると信じております。私自身、University of California San Diego での臨床実習中に本報告を執筆しておりますが、MES が海外の医療に興味を持つようになったきっかけであったと言えます。

多くの横浜市大の卒業生が海外で活躍するような環境を整えるため、MES の継続を強く希望いたします。

<学生自主的活動助成>

MESに参加した一年間

横浜市立大学医学部医学科6年生 赤木 雄

MES(Medical English Society)で学習をしたこの一年間で能力は向上し、5年生の目標としていた USMLE STEP1 (United States Medical Licensing Examination) 合格を果たすことができました。一年間で感じたことや、MES で学習できた能力について書かせていただきたいと思います。

まず申し上げたいのは、講師を務めてくださるデイン先生の講義が大変優れているということです。毎回参加者は10名程度です。学年や医学英語の経験も個人ごとに違うので、全員が満足するような講義をするというのはいかに難しいか想像に難くないとおもいます。デイン先生の講義は、一人ひとり順番に当てていって、その人が分からなければ図を描いたり実演したりして理解するまで付き合ってくれるというスタイルです。普段講義室で受ける講義は受け身であることが多いので、こういう双方向性で聴いている学生の方の理解力に応じてもらえることはあまりないです。講義の質が高いということに尽きず、先生の講義は講義の仕方としても見本となるものです。学生同士で行なっている勉強会をする上でも参考にさせていただいています。

MES の講義でまず学べることはやはり医学英語です。自分でもかなり普段から勉強していますので、確かに講義を受ける前から知っている内容もありました。ただし、この講義で自分の苦手な医学英語の分野に気づかせてもらうことができました。MES の講義は毎回テーマがあって、例えば、循環器とか整形外科とか生殖器などです。なので、自分の得意な科目だけでなく、不得意な分野とも必ず出会います。泌尿器や生殖器、整形外科というのはとくに解剖学的内容が日本語でも説明するのは得意ではなかったですし、苦手意識もあったのでなかなか自分で手をつけないでいました。MES で自分の苦手な範囲を勉強する機会を得られたのはとてもありがたかったです。

単語だけでなく、国試や卒業試験にも役立つ医学知識を身につけることもできます。前半は単語、後半は国試形式の問題を英語で解くのが毎回の流れです。出される問題は USMLE に準じたものが多かったので、とくに僕には役に立ちました。先生は準医師として海軍病院で勤務されていますので、病院での症例をお話ししてくださることもよくあって、それで印象に残っている臨床的知識もあります。ローテーターカフのどの筋肉が損傷されているか検査する方法や、手根管症候群、心外膜炎の聴診の仕方など実技的な指導もして下さります。こういう臨床の現場に即した講義というのも普段受けられないので楽しく感じました。

以上に申しあげましたように、講義のやり方、医学英語、臨床知識について大きく学べた一年間でした。五年生の目標は USMLE STEP1 を 250 以上のスコアで合格するという目標がありました。結果としては、十分に満足のいくスコアで合格することができました。自分でも猛勉強しましたが、なかなか集中できない時もありましたし、苦手な分野もありました。MES に定期的に参加したことで勉強のペースを保つことができ、苦手分野をカバーすることもできました。USMLE を受けたいと思っている人にも、MES はとても良い場所だと思います。

<学生自主的活動助成>

MES 活動報告書

横浜市立大学医学部医学科 5 年 深沢 聖

大学講義以外でも医学英語を学びたいと思い、4年生で初めてMESに参加した。MESは5年生を中心とする活動であり、疾患名などの医学に関わる英単語の解説を先生にしていた後、症例問題を参加者全員で考える。講義は英語で行われ、医学的な解説もあり、英語と医学の復習を同時に行うことができる。今年度は中心学年として参加・運営することとなった。

昨年度に比べ医学的な知識が付き、実習の成果を感じる事ができた。また、横須賀海軍病院で診察されている先生とディスカッションする中で日本と医療とアメリカの医療の違いも学んだ。さらに、今年度は冬休みに横須賀海軍病院の見学も行なった。海軍の敷地内にあるため患者の年齢が全体的に低く、疾病構造が日本の病院と異なっていると感じた。

私は5年生の春休みにアメリカの病院で留学をしたが、本活動で培った知識と語学力が大いに役立ったと感じる。卒業後も留学をし、日本の医療の長所や改善の余地がある部分を客観的に見つけ、日本の医療に貢献したいと考えている。グローバル化が叫ばれる昨今、コミュニケーションツールとして英語を扱うスキルは不可欠である。日頃医学と並行して英語を学んでいるが、1人では英語を話す機会を設けにくく、挫折しそうになることもある。道のりは険しいが、MESで海外に羽ばたきたいと考える同級生や後輩に出会い、刺激を受けている。来年度は最高学年としての参加となるが、医学の勉強と両立して今後も参加し、将来の夢に向かって多くを吸収していきたい。

このような貴重な機会をくださった横浜総合医学振興財団の皆様はこの場を借りて深く御礼を申し上げたいと思う。

<学生自主的活動助成>

Medical English Society 活動報告・感想

横浜市立大学医学部医学科6年 繁田 奈央子

今年も横須賀海軍で準医師をなさっている先生に医学英語の授業をしていただきました。前半1時間の英単語の時間では単語の成り立ちを習い、自分で単語を分解し単語の意味を考える練習をします。約1年前から授業を習い始め、接頭語や接尾語の意味を徐々に覚えてきました。以前よりも効率よく単語が覚えられるようになりました。意味が似た単語については詳しく説明してもらえるので日本語で覚えている知識とリンクさせることで医学そのものの勉強にもなります。

後半1時間は USMLE の症例問題をみんなで解きます。問題文を音読するので正しい発音を指導していただけます。反射や身体所見は実際に生徒の身体を使って説明してくれるので印象に残り勉強になります。また、問題を通して海軍で多い疾患や日本との違いもお話してくださるのでそれも興味深いです。

先生がとても教育熱心で優しいので授業がとても楽しいです。これからも続けて英語力を伸ばしていきたいです。

<学生自主的活動助成>

MES 活動報告書

横浜市立大学医学部医学科 6年 茂木 悠平

世界では日本、中国を含めた数か国以外、医学教育は英語で行われている。自分が海外に出て感じたことは、医学を英語で学んでいる海外の医者は自国外に出て医療を学ぶことに大きな抵抗がないということだ。それから自分も医学英語の重要さを痛感し、医学英語を学ぶ方法を模索していた。そんな中で出会った活動が MES である。

MES の活動としては横須賀海軍病院で準医師をされている Dane 先生にきていただき、授業を月一回行っていただいている。授業内容は医学英単語を語幹から学ぶ、という内容を軸として疾患の病態生理の解説や身体所見や徴候など医学、実臨床への理解を深めてくれることも適宜教えていただいている。授業はすべて英語で行われて、先生が頻繁に生徒に話を振ってくれるおかげで生徒が英語を使って発言する機会も多い。

横須賀海軍病院に勤めている Dane 先生はしばしば実臨床や患者のことなどアメリカの医療について話してくださるのでアメリカを含めた海外の医療への興味がわきたてられた。脱臼の整復の仕方、神経学的異常所見の取り方など自分たちで行うには難しいものも教えていただけるので臨床実習への応用、臨床実習で学んだことの実践も可能である。

英語で発言しなければいけない環境は英会話の勉強になると同時に自分に英語力が足りないことも自覚させられ、授業の度に英語を勉強するモチベーションがあがり授業外でも自分で英語を学ぶ機会を継続して持つことができた。

また、一度横須賀米軍基地及び海軍病院に連れて行っていただいた。病院内では病院の設備、薬剤師や準医師などの業務内容の説明、勤めていらっしゃる先生方のカンファレンスの見学をした。横須賀海軍病院はアメリカのシステムの医療を行っており、職業間の連携の仕方の違いや用いている器具の違いがあつて非常に興味深かった。

自分自身ではなかなか触れることのない医学英語、そしてアメリカ式の医療。MES の授業を通してそれらに関して知識、知見が深まり更なる興味を持たれたことが非常に実りあることだったと思う。これからも MES の活動に参加して、世界の医療の共通語である医学英語をマスターしたいと思っている。

<学生自主的活動助成>

Medical English Society 活動報告

横浜市立大学医学部医学科 5年 中村 創

Medical English Society (略称 MES)は医学を英語で学ぶ事を目的としたサークル活動である。普段は月一回、外部講師の方に英語で講義して頂くのが活動内容となっている。講師は横須賀海軍基地で勤務されている先生で、今年の講師だったのは増田デイン先生という若い日系アメリカ人の準医師の方だった。講義は90分で、産婦人科学や循環器内科学など各科についての一回完結型の授業となっており、時間の合わない日は欠席したとしても付いて行くことが出来る。授業の最初にミニテストを行い、理解度を確認の後、前半は解剖学と総論について、単語の穴埋めプリントをスライドに沿って穴埋めをしていくものとなっている。医学英語を学んでいて特に課題となるのが覚えるべき単語の多さだが、本講義では単語をその語源で分解して学ぶことで効率的に覚えることができる。例えば、"gastroenteritis"という単語は"gastro"+ "enter"+ "itis"という形に分解でき、それぞれ「胃」+「小腸」+「炎症」という意味に対応するので「胃腸炎」と言った形だ。授業の後半では USMLE というアメリカの医師国家試験の過去問から講義内容に関連した臨床問題を実際にみんなで解いてみると言ったものである。ここでは、文中に出てくる診察手技のやり方について、生徒が患者役になって実際に先生にやってもらうこともあり、本だけでは学ぶ事のできない実践的な医療を習得することにもつながるため有意義だと感じた。

また、冬には先生が普段勤務されている横須賀海軍基地に招待してもらい、病院内やショッピングモールなどの施設を案内してもらった。患者の数に対して施設が非常に充実しているな、というのが一番の印象だった。日本人の医師も数名ではあったが、研修後や将来海外留学を考えている先生が勤務している姿を垣間見ることができ、将来の選択として考える良い機会となった。

最後に、支援してくださった横浜総合医学振興財団様に深い感謝を申し上げたいと思います、ありがとうございました。

<学生自主的活動助成>

MES 活動報告

横浜市立大学医学部医学科 4 年 田邊 桃佳

私は 3 年生の終わりから MES に参加しています。当時は講義で臨床科目の半分を終えたところでしたが、今年度はすべての臨床科目を履修し終えたので、毎回の MES で医学の知識が増えているのを実感し、今まで以上に活動を楽しむことができました。

MES の活動は毎回 2 時間程度です。前半は Neuroscience など毎度異なるテーマで解剖、生理、疾患を学びます。英語の医学用語を接頭語や接尾語に着目しながら勉強していく形式ですが、以前よりも臨床医学の知識が増えていることもあり、知らない英単語でも十分推測し理解できるようになりました。後半は USMLE の形式の問題を検討します。他の参加者は 5 年生ばかりで、毎度実力の差を痛感していました。しかし、CBT の勉強を本格的に始めた秋頃から、これまで難しいと感じていた問題に少しずつ太刀打ちできるようになったと自負しています。ただし、日本の医学の知識では正答できなかった問題もあり、特に印象に残っています。それは食道癌のリスクのある患者の場合、何年ごとに内視鏡検査を行うかといった問題であると記憶していますが、USMLE の問題は米国の疫学に基づいて作られているということもあり、日本であれば何年だろうという感覚で答えたところ誤りでした。この間違いから日米の違いの一つを学ぶことができ、興味深かったです。

来年度も MES の活動を通して臨床医学を復習し、英語の医学用語を結びつけて学習できることを楽しみにしています。今年度は毎度の授業の復習を怠りがちでしたので、来年度は自主的に復習し、より効率良く医学用語を英語で習得していきたいと考えています。

<学生自主的活動助成>

第 28 回 学生・研修医のための家庭医療学夏期セミナー参加報告

横浜市立大学医学部医学科 4 年 山田 祐揮

湘南の夏は、暑い。

「湘南」という字面からして既に、それそのものでどこかエネルギーを発していそうな雰囲気すらある。暑い、熱い、アツい。湘南：海に限らず、湘南の夏にはありとあらゆる「あつさ」が同居している。

「夏セミ」も、湘南の果て湯河原に、これ以上ないくらいの「アツさ」を抱えて、どっしりとそこに座している。「学生・研修医のための家庭医療学夏期セミナー」、平成の世と共に産声を上げ 28 回を数える夏期セミナーは、既に湯河原で開催されること 5 回目である。日本全国から一いや、遠くイギリス、アメリカ、そして東欧諸国からも一家庭医療・総合診療と聞いて胸がときめく学生や研修医達がここ湯河原に一堂に会する。講師も、全国で家庭医療・総合診療の臨床の最前線を走る医師が集結する。夏セミが行われる 3 日間、家庭医療・総合診療にかける想いの発するエネルギーは、湯河原の天を穿つほどに高まるのである。

ニューウェルシティ湯河原というホテルに 3 日間缶詰になり、学び、気づき、語り、夢を、希望を思う存分膨らませる。ホテルの中だから、当たり前だが全館空調が効いている。だから、夏の暑さはそこにはない。はずである。だが、参加者の、講師の、そしてその場にいる全ての学び、気づき、夢の持つ光り輝かんばかりのエネルギーがそこにはある。すべからく夏セミは「アツい」のである。とてつもなく。

私は、「夏セミ」のスタッフであった。スタッフとして迎える 3 回目の夏期セミナー。あろうことかこの私が長も勤めていた。セッション局という、参加者と講師と、学びが出会う場をコーディネートする部門である。前年の夏セミが終わってすぐ準備に取りかかり、それから 1 年の間数多の壁を乗り越えて迎えた夏セミ当日は、スタッフにとっては「戦場」でもある。自分が望む学びと気づき、出会いの得られる「楽園」と、その楽園を 3 日間滞りなく楽園たらしめるための「戦場」が背中合わせで同居する、厳しいながらもこれ以上の充実はないほどの 3 日間である。

事実を言えば、スタッフであることで自由な時間は減る。一年間、多くのタスクと責務と交渉ごとを抱える。それでいて、普通の医学生としても duty をこなしつつ過ごす。それでもなお、私がここにいるように、多くのスタッフがスクラムを組んでこの 3 日間を作り上げるのは、普段大学ではぶつけられないようなほとばしるほどの情熱やエネルギーを持った仲間がここに集い、語り、手を取り、キーボードを打ち、夏セミの 3 日間

が”いつもの”3日間で終わったときの参加者や講師の満足そうな表情、デザインから関わることで参加者より深い次元で得られる学び、そしてスタッフだけで苦勞をねぎらう打ち上げの開放感。

極めて贅沢である。これ以上ないほど。だから、夏セミは循環する。参加者がスタッフになり、スタッフが講師になり、学びの輪を作り上げていく。それは、ニューウェルシティを出てすぐに立ちはだかる、神奈川県への県境を踏み越えた後も、なおも続く輪なのである。

<学生自主的活動助成>

第 28 回 学生・研修医のための家庭医療学夏期セミナー参加報告

横浜市立大学医学部医学科 4 年 相澤 広太郎

2016. 8. 6～8. 9 の 4 日間、横浜市立大学 We×Medicine の活動の一環として、ニューウェルシティ湯河原で開催された「第 28 回学生・研修医のための家庭医療学夏期セミナー」に参加させて頂いた。

まず概要について触れたい。このセミナーは日本プライマリ・ケア連合学会 学生・研修医部会が運営主体で、少子高齢化社会を見据えて注目される、総合診療や家庭医療に関心を持つ医療系学生と医師が一堂に会し、多様な領域のセッションやディスカッションを通じて大学外での深い学びを得ることに主眼を置いている。また新専門医制度や多職種連携といった時事的課題にも触れ、各々が目指す医師像を再考する場となっている。私は今回、家庭医療における診察後の治療や制度利用による継続フォローの実践を学ぶことを目的にした。

その中でも印象的であったセッションを紹介したい。和田彫り診療所、医療福祉生協連家庭医療学開発センター勤務の樫尾明彦先生が代表講師を務めた「家庭医療×東洋医学（漢方・鍼灸）～東洋医学が第一選択となるケースを知ろう！～」である。危険な疾患を見逃さない救急外来に比較すると、家庭医は西洋医学的な検査をしても器質的な原因が見つからない、もしくは治療として確立されていない症候に対しても対応を求められることがより多いと考えられる。しかし、それらの症状が致死的な疾患や積極的な治療が有効である疾患に該当しないと考えられる場合には、仮に症状は残っていたとしても経過観察となることが少なくない。このような場合、家庭医療の現場では漢方の役割は大きな位置を占めている。このセッションでは漢方初学者や、漢方に興味はあるがどう勉強するのかイメージがつきにくい参加者を対象に、問診や症候からいかに処方に結びつけるかを中心にケースを用いて、家庭医が経験した漢方の有効な事例の紹介、鍼灸の実技も含めて、東洋医学と家庭医療の親和性について検討した。

まず厳しい時間制約の中にも関わらず、東洋医学の多岐にわたるテーマが盛り込まれた充実したセッション内容であった。前半では筋肉の電気抵抗を感知するココロメーターと円皮鍼を用いた鍼灸治療の基本概念と実際を通じ、鍼灸の効果と意義を理解することができた。後半では各先生方による東洋医学が第一選択となるケースの紹介、テーマ別のディスカッションを通じて家庭医療と東洋医学の親和性を再考することができた。私は水毒のディスカッションを通じて、雨天や低気圧により悪化する症状や疾患を再認識し、東洋医学が環境因を重視していることを学んだ。このセッションを契機として、

西洋医学での説明が難しい軽微な症例にも東洋医学の視点を交えて診断していくことの必要性を、普段から意識していきたい。

学外の勉強会に参加する意義は、学外の医学交流を通じて学内での学習を相対化し、比較検討が可能になるという点である。状況に応じた選択肢を考慮するという行為はこれからの実務に求められることであり、このセミナーは非常にそれを痛感することが出来た。

<学生自主的活動助成>

第28回 学生・研修医のための家庭医療学夏期セミナー参加報告

横浜市立大学医学部医学科4年 田邊 桃佳

2016年8月6日から8日まで、日本プライマリ・ケア連合学会 学生・研修医部会による第28回学生・研修医のための家庭医療学夏期セミナー（夏セミ）に参加しました。夏セミでスタッフをされていた先輩からの紹介で2年生の時から参加し始め、今年で3回目となりました。

夏セミは全国の家庭医や総合診療医によるセッション、著名な先生方による講演、全国の学生との交流会など魅力的なコンテンツに溢れていますが、特に印象に残ったセッション『ワクワクするウィメンズヘルスを実践するために！』について報告します。

まず本セッションの概要を説明します。家庭医にとってウィメンズヘルス（以下WH）に精通することは、女性患者を包括的かつ継続的にケアしていくうえで非常に重要です。しかし、臨床実習や研修のなかでWEに関する病歴聴取とそのコミュニケーション方法を系統的に学習する機会は乏しいと伺いますし、私を含め多くの医学生や医師が日常診療でWHを実践することを困難だと感じているようです。本セッションでは、今後WHを日常診療へ取り入れる中で、これだけは押さえておきたい病歴聴取のポイントを講義形式で学習し、医師-患者間のコミュニケーションや関係性についてロールプレイを通じて考えました。

続いて本セッションを通じて私が学んだことや感じたことを紹介します。これまでの大学の講義ではWHを学べる機会はほとんどありませんでしたので、本セッションでロールプレイの充実した実践的な形式で勉強できたことを大変有意義に感じています。

一度目のロールプレイは「産婦人科診療に必要な基本的情報を聴取しよう！」というテーマでした。WH関連の病歴聴取にはデリケートな内容（月経歴、性交渉、妊娠・出産歴など）も多いため、患者さんに配慮した問いかけになるよう気を付けながら、聴取項目がなぜ、どのように大切なのかについても説明することが重要であると感じました。

二度目のロールプレイは、「主訴に関係なく女性に特有の医療面接を行ってみよう！WHを日常診療に導入してみよう！」というテーマでした。このロールプレイの前にヘルスマンテナンスについて発症予防とスクリーニングという2つの観点から教えて頂き、それを活かせるようなロールプレイを実践しようと奮闘していましたが、こちらの方が難しいと感じました。日常の診療では患者さんのニーズに応じて検査や治療を行うことに重きが置かれていると思われがちですが、医師から積極的にヘルスマンテナンスの重要性を啓発することも出来るのだと気づきました。ただし、患者さんにただ単純に

知識を教えるのではなく、日常でどのようなヘルスマンテナンスを実践できるのかを提案することが重要です。ロールプレイをしながらヘルスマンテナンスの具体的な方法を考えて提案するという点が難しかったのかもしれません。

WH を実践するうえで産婦人科をはじめ広範な知識が求められますが、それ以上に患者さんに配慮した診療を行えることが大事だと改めて実感しました。加えて、診断や治療のみならず、予防の啓発に努めることも WH に携わる家庭医として求められていると感じました。これから産婦人科の講義が始まりますが、知識を十分に身に着けることはもちろんのこと、その知識をどのように活用できるのかを考えながら学んでいきたいです。特に、2つ目のロールプレイでヘルスマンテナンスの具体的な方法を考えて提案することに難しさを感じたので、引き続き検討していきたいと思います。

<学生自主的活動助成>

第 28 回 学生・研修医のための家庭医療学夏期セミナー参加報告

横浜市立大学医学部医学科 5 年 深沢 聖

1. 夏期セミナーについて

夏期セミナーとは、医療系学生、初期研修医を対象に講師の先生をお招きして家庭医療に関する企画やセッションを行うセミナーである。期間は3日間で、参加者は同じ施設に宿泊する。講師と参加者を合わせ400人以上が関わるセミナーである。

2. 参加した目的

夏期セミナーは学生約40名が有志のスタッフとして開催1年前から集まり、企画の立案等の準備と当日の運営を行う。私は前回はスタッフとして参加した。それまで家庭医療になじみがなかったが、家庭医療の基礎と勉強の足掛かりとなるキーワードをたっぷり学ぶことが出来た。また、参加者と交流し、同じ志を持つ仲間を作ることが出来た。さらにスタッフを務めたことで、他スタッフとの連携の方法や夏期セミナーのような大規模なイベントの運営のノウハウを学んだ。今回は前回の学びをさらに深めたいという思いと、家庭医療の知識以外にもスタッフとして経験を積みたいという思いがあり参加した。

3. 感想

今回は企画局という部署の局長を務めることになった。企画局はセッション以外の全ての企画の立案から運営まで行う、総勢20名近い大きな部署である。企画局長のお話を聞いたときは不安でいっぱいであったが、全国から熱く優秀なスタッフが集まり、盤石な体制でスタートを切ることができた。夏期セミナー参加歴が浅く、家庭医療の知識も少ない私に何が出来るか考え、スタッフが考えた企画をできる限り実現させること、働きやすい環境を作ることを目標にし一年間を過ごすことにした。よりよい企画にしたいという思いのあまり立案に際し意見が衝突したり、多くの仕事を抱え過ぎていても言い出しにくく感じるスタッフもいるであろうと考え、局長としては仕事の適正な分配と、一人一人の精神的なケアを意識的に行った。

企画局は管轄の企画が多くスタッフが全国から集まっているため、企画ごとにSkypeミーティングをしながら打ち合わせをした。連日ミーティングが入る中で大学の試験や実習など自分の勉強との両立に悩み疲弊することもあったが、スタッフと話すたびに私も頑張らなくてはとパワーをもらい当日まで準備を進めることが出来た。企画書上の文章

でしかなかった企画が当日形となって参加者に楽しんで頂くことができ、全ての企画を終えて閉会式を迎えた時は感無量だった。当日は様々なハプニングがあり、準備段階から多くのシチュエーションを想定しておくべきだったと反省した。同時に、不測の事態に陥った時には部署の壁を超えて助けを求め、参加者の立場に立ってどのようにカバーすべきか考えることが重要であると学んだ。

一年を通して、チームビルディング、タイムマネジメント、ハプニングへの対処法など様々なことを学んだと思う。失敗も多々あり、悔しさや反省点も残るが貴重な経験をすることが出来た。さらに、スタッフを務めたことで家庭医療に関心のある仲間に数多く出会い、勉強会に参加する機会が増えて家庭医療に関する知識も増えたように思う。今回学んだことを糧にさらに成長できるよう、努力し続けたい。

夏期セミナーでレクチャーして頂いた先生方、スタッフの皆さん、そしてこのような機会を下された医学振興財団の皆様にも心より感謝申し上げたいと思う。

<学生自主的活動助成>

第28回 学生・研修医のための家庭医療学夏期セミナー参加報告

横浜市立大学医学部医学科5年 茂木 悠平

【日時】2016/8/5～2016/8/9

【場所】静岡県熱海市泉107 ニューウェルシティ湯河原内

【趣旨】学生・研修医のための家庭医療学夏期セミナーという2泊3日のセミナーへ、家庭医療的な診察技能や家庭医療という分野に関してなど学校の通常授業では学べないことを学び、家庭医療への理解を一層深めて普段の実習にも使える技術を持ち帰ること。またそのセミナーの運営を手伝うことでチームの中での行動や会を運営するにあたって気にすべきことなどを学んで今後のノンテクニカルスキルの育成の参考にすること。

【感想】参加した2泊3日はセッションと呼ばれる授業及びその他の家庭医療に関する目録が詰まっており、息をつく暇もないほど忙しかったがその分学びも深かった。普段の大学での授業、実習では病気やその他生理学的性質などとても科学に即した医学的側面を習っていたが、セッションで習った内容は症状からの鑑別疾患のことから患者さんとの接し方、話し方、行動変容の促し方など、コミュニケーションおよび患者の非医学的側面に志向したものが多く、ベッドサイドでの実習及び将来の医師としての患者さんとの接し方を考えるにあたって非常に参考となった。そのようなセッションの時間での学びはもちろんのこと、全国から集まった先生や学生との出会いや交流も自分へのよい刺激となった。家庭医を目指す人はもちろんのこと、医師以外の医療従事者と接して普段の仕事内容や信念、医師に対する捉え方や要望を聞いて医師という職業を客観的に見つめなおすことが出来、将来の自分の像を見つめなおす良いきっかけとなった。また、今回のセミナーでは運営側として携わっていたので、各催し物の多くの裏方、運営に携わることが出来た。今回自分が主として担当したのは開会式、閉会式、懇親会、ポスターセッションである。開会式では参加者に夏期セミナーの趣旨を説明して士気を上げてもらうこと、アイスブレイキングなどで参加者同士打ち解けて歓談すること、懇親会では参加者やスタッフも交えてのアツい意見の交換や歓談を鼓舞していくこと、そしてそれに添える酒やお菓子を滞りなく配布すること。閉会式では閉会の辞やクロージングムービーのつながりを潤滑に行い参加者に夏期セミナーの終了を実感させるとともに今後への飛躍へ気持ちを引き締めってもらうこと。ポスターセッションでは後期研修病院の広報を通じて参加者と病院関係者にコミュニケーションを取ってもらい、病院への興味をもってもらおうと同時に医師のキャリアや進路についての考察を深めてもらうことが趣

旨であった。それらはほかのメンバーのサポートもあり、致命的なミスはなく進んだと思う。しかし、人前でのスピーチで壮大にどもってしまったこと、懇親会で物品の配分の計画が不十分でスタッフみんなの時間を割いて手伝ってもらったことが反省点であり、それらを改善することを今後の成長の指針としていきたいと感じた。総じて医療面、団体行動などでのノンテクニカルスキルを学べたこと、またスタッフとしての活動や参加者との交流を通して他大学の医学部の学生と密に交流出来たことで自分たちには持っていないものを持っていることに気づいたり、違う学び舎でのカリキュラムや実習内容を知ったなどとても自分へのいい刺激になることが多かった。ここで学んだことを忘れぬよう心に刻んだまま、今後一層本校での実習、学業へまい進していきたい。

<学生自主的活動助成>

『第10回 病理夏の学校 in Gifu 2016』に参加して

横浜市立大学医学部医学科3年 松元 加奈

要約

私は3年生の病理学の授業を通して病気の奥深さに興味を抱き、自分の医学の興味と理解を深めるため『第10回 病理夏の学校 in Gifu』に参加しました。『病理夏の学校』では学生や研修医が事前に提示されたテーマに基づき、班別に話し合い、症例解析結果を発表しました。テーマは、40代男性が胸腺腫再発を契機として消化管・皮膚・肝症状を呈し、死に至るという症例で、私は胸腺腫との関連性から **Thymoma-associated multiorgan autoimmunity(TAMA)**の発症を考えました。TAMAは胸腺腫にGVHD様の皮膚症状・肝障害・腸炎を発症する稀な疾患ですが、私は今回の症例と一致する点が多いことに着目しました。

当日、私は積極的に議論に参加することを意識し、班の報告者として発表させていただきました。そして岐阜大学の先生方にお話しする機会にも恵まれ、そこで予習で生じた疑問に対して先生の考えを伺うことができ、多くを学びました。このような積極性が評価されたのか、参加者の記憶に残る学生として **Most Impressive Student** に選んでいただきました。

最後になりますが、今回丁寧なご指導をして下さった古屋充子准教授・江中牧子先生をはじめ分子病理学の先生方、そして経済的支援をしていただいた横浜総合医学振興財団様に感謝を申し上げます。

<学生自主的活動助成>

『第10回 病理夏の学校 in Gifu 2016』に参加して

横浜市立大学医学部医学科3年 松元 加奈

1.目的

私は3年生から始まった病理学の授業を通して、病気の原因、発生機序の解明、病気の診断といった病気の奥深さに強く興味を抱くようになりました。今回学生や研修医が集まって意見を交換し合う『病理夏の学校』があると聞き、自分の医学に対する理解と興味を深めるために参加しました。『第10回 病理夏の学校 in Gifu』では2016年8月20日～21日にかけて、学生27名、大学院生16名、前期研修医15名、専攻医4名、教員・専門医30名が事前に資料配布されたテーマに基づいて、班別にディスカッションを行い、症例解析結果を発表し合いました。

2.結果

事前に配布されたテーマは、40代男性が胸腺腫再発をきっかけに、下痢を主とした消化管症状、皮膚症状、肝症状を呈し、脳梗塞と敗血症によって死に至るといった症例でした。私はまず抗核抗体が320倍であることと皮膚症状を呈したことにより、全身性エリテマトーデス(SLE)を発症し、血液検査から自己免疫性肝炎を併発した症例であると考えました。しかし、消化管症状の説明がSLEだけではつかないので、与えられた症例をもう一度読み直し、下痢を呈する疾患としてセリアック病・リンパ腫・自己免疫疾患について勉強し直しましたが、どの疾患も上手く当てはまりませんでした。次に胸腺腫について詳しく調べてみると、Thymoma-associated multiorgan autoimmunity(TAMA)の可能性が浮上しました。TAMAとは、骨髄移植や輸血などの既往なしに胸腺腫にGVHD様の皮膚症状・肝障害・腸炎を発症し、切除不能例や術後再発・転移を背景に持つ、非常に予後が悪い疾患です。今回の症例も胸腺腫再発により死亡しており、一致する点が多いことに気が付きました。病理像も、皮膚、肝、消化管で確かにGVHDと似たような症状を呈しており、私は今回の症例はTAMAの可能性が高いとした上で、TAMAの発生機序や診断基準の疑問を述べるスライドを事前に作成しました。

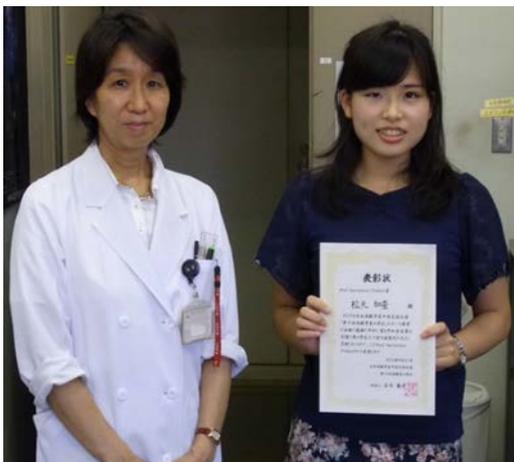
当日、1グループあたり約15名の5つのグループに分けられ、各班で与えられた考察事項について話し合い、どうしてこのような疾患に至ったのか皆で意見を出しました。研修医や大学院生の方々が病理像を見て教科書も見ずに様々な疾患を判断していく姿

に驚きつつ、私も積極的に議論に参加し、初日と二日目の両日共にグループの報告者として発表させていただきました。また、1日目の終わりに行われた交流会では岐阜大学の先生方に自分のスライドを見ていただく機会に恵まれました。そこで、予習で生じた疑問に対して先生の考えを伺うことができ、多くを学びました。このような積極性が評価されたのか、参加者の記憶に残る学生として **Most Impressive Student** に選んでいただきました。

3.感想

今回の『病理夏の学校』を通して多くのことを学ばせていただきましたが、特に岐阜大学の先生から教えていただいた病理診断における3つのポイントが最も印象的でした。病理診断では、まず1つ目として幅広い知識が不可欠であり、2つ目は標本をしっかりと見ることが重要であると言われました。そして最後の3つ目はこれらの情報を元に丁寧に推論することであると教えていただきました。今回の病理学校を通じて、この3つが自分に欠けていると痛感し、そしてこれら全てを兼ね備えることがいかに大切かを感じました。

またディスカッションにおける積極性の重要性も改めて認識しました。しっかりと勉強をした上で、積極的に議論に参加すると、様々な人から意見や評価をいただくことができ、自分の学習に大いにプラスになることが分かりました。はじめは大学院生などの自分より知識が豊富な方々との話し合いにためらいを覚えました。事前に自分で多くを学んだことや先生方に教えていただいたことが自信になり、積極的に発言することができたので、今回受賞できたのだと思います。最後になりますが、今回丁寧なご指導を下さった古屋充子准教授、江中牧子先生をはじめとする分子病理学の先生方、そして経済的支援をしていただいた横浜総合医学振興財団様に感謝を申し上げます。本当にありがとうございました。



指導医の古屋准教授（左）と筆者(右)

金額

- ・研修費用(宿泊費・食費込み)5000円
- ・交通費 18200円
- ・ご支援していただいた額 12000円

<学生自主的活動助成>

鹿児島県立大島病院での実習

横浜市立大学医学部医学科 4年 田邊 桃佳

要約

私は大学入学前から地域医療に関心を持ち、これまで地域医療に力を入れているいくつかの病院を見学してきた。ところで「地域医療」という言葉は僻地における医療と誤解されがちである。しかし、私は「地域医療」はあくまでもその地域のニーズに応える医療だと捉えている。今回の実習先である鹿児島県立大島病院は奄美大島で最大規模の病院である。そのような病院がどのような役割を果たしているのか、島内でどれだけの医療を提供できているのかということに興味を湧き、本実習を計画した。わずか1日の実習であったが、小児科、内科、救急という幅広く診る診療科での実習を通して、大きな島で最大規模の病院の果たす役割を垣間見ることができたと感じている。鹿児島県立大島病院は三次医療機関でありながらも、一次や二次の役割も担っていること、奄美大島は一部の外科・産科疾患を除き、島内で基本的にほとんどの疾患に対応できるということを理解した。

<学生自主的活動助成>

鹿児島県立大島病院での実習

横浜市立大学医学部医学科 4年 田邊 桃佳

1. 目的

私は大学入学前から地域医療に関心を持っています。大学入学後はWe×Medicine という、大学ではあまり学べない医学・医療を自主的に学ぶ部活の地域医療班に所属しています。そしてこれまで地域医療に力を入れている様々な病院にて部員とともに実習を重ねてきました。ただし、これまで離島の病院では実習したことがなく、また私自身かねてから離島の医療を見学したいという思いを持っており、今回の実習を計画しました。

ところで、「地域医療」という言葉は僻地での医療と誤解されがちです。しかし私は「地域医療」はあくまでもその地域のニーズに応える医療だと捉えています。今回は実習先として離島を選びましたが、あえて診療所が一つしかないような離島ではなく、規模の大きな島である奄美大島を選びました。前者のような島の医療はときどきメディアで見聞きすることがありますが、後者のような島の医療について私は全く知りませんでした。奄美大島は日本の離島で2番目に大きい島であり、実習先の鹿児島県立大島病院は鹿児島の県立病院で最大規模とのこと。このように、大きな島で最大規模の病院はどのような役割を果たしているのか、島内でどれだけの医療を提供できているのかということに興味を湧きました。そこでこの2点を自身で見て聞いて理解することを目的にしました。

2. 期間

2016年10月26日(水)から28日(金)まで
ただし、26日と28日は移動日とし、27日に
実習を行いました。



3. 実習先

鹿児島県立大島病院

〒894-0015

鹿児島県奄美市名瀬真名津町 18-1

4. 実習内容

まず 2016 年 10 月 27 日(木)の実習スケジュールを以下に示します。

09:10-09:30	病院内見学
09:30-12:00	小児科での実習
12:00-13:00	昼食
13:00-17:00	内科、救命救急センターでの実習
19:30-23:00	歓迎会

実習の初めに病院内を案内していただきました。1 階と 2 階は各診療科の外来、3 階から 7 階までが病棟となっていました。さらに、病院の隣の救命救急センターも見学しました。1 階から 3 階までが救命救急センターであり、4 階から 6 階までが研修施設、屋上にヘリポートがありました。ドクターヘリの運用は 2016 年 12 月からを予定しており、実際にドクターヘリを見ることはできませんでしたが、機会があればドクターヘリの運用の様子も見学したいと思います。

午前中は小児科の外来を見学しました。三次医療機関ではありますが、一次や二次で扱われるような疾患も診ており、症例の幅広さを実感しました。具体的には、喘息を主訴として定期的に通院している患者さんが多くいらっしゃいました。また奄美大島の土地柄ゆえ台風が多いため、気候に応じて投薬量を調節していると小児科の先生に教わりました。

午後は内科で研修医の先生とその指導医の先生について実習を行いました。午後は外来はやっていないため、カンファレンスや病棟の回診が中心でした。

カンファレンスでは敗血症の疑いで入院されている女性の高齢者の患者さんが扱われました。検査を繰り返しているものの感染源が不明で、発熱に上手く対処できていないとのことで、治療方針をディスカッションしました。

病棟では呼吸器内科の患者さんを中心に回診に同行しました。肺癌で化学療法を受けられている患者さん、結核の治療を受けている患者さんが複数名、他に COPD

やSLEなどの患者さんがいらっしゃいました。

また、内科の実習ではありましたが、救命救急センターも見学させていただきました。元々両膝が悪く、トイレで転倒し、左前額部からの出血と歩行困難により救急搬送された女性が救命救急センターに入り、検査を受けられるまでを見学しました。加えて、救命救急センターで入院しており、内科の先生方が診ている膠原病疑いの患者さんで胸部および腹部エコーを練習させていただきました。

5. 感想

前述の通り、私は2つの目的を持って本実習に励みました。それらの目的を達成できたか振り返ります。結論から述べますと、どちらの目的も達成できたと感じています。大きな島で最大規模の病院はどのような役割を果たしているのか疑問に感じていましたが、三次医療機関でありながらも、一次や二次の役割も担っていることが分かりました。それは小児科や救急の外来を見学し、そこで扱われる疾患の幅広さから確かめることができました。

わずか1日の実習であり、すべての診療科を見学できたわけではありません。したがって2つの目的を「十分に」達成できたとは言い難いかもしれません。しかし本実習で大きな島で最大規模の病院の果たす役割を垣間見ることができたと感じています。また離島の医療を見学できる機会があれば、他の診療科あるいはより小規模な診療所などでも実習し、地域医療の多様性に触れることができたらと考えています。

6. 収支

自宅から成田空港までの往復交通費	¥7,076
成田空港から奄美空港までの交通費	¥18,780
奄美空港から鹿児島県立大島病院までの往復交通費	¥2,200
宿泊費	¥800
計	¥28,856

7. 謝辞

本実習を快諾してくださりました鹿児島県立大島病院の総務課の皆様、内科・小児科のスタッフの皆様、研修医の皆様に変にお世話になりました。また、横浜医学振興財団の皆様にも御礼申し上げます。

<学生自主的活動助成>

Orthopaedic Research Society ; San Diego 学会におけるポスター発表

横浜市立大学医学部医学科5年 メルリーニ マックアンドゥルー

要約

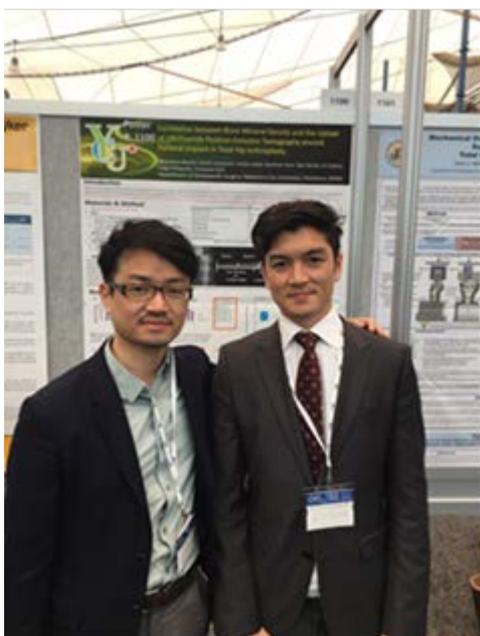
私は3月18日から5日間、サンディエゴで開催された“**Orthopedic Research Society**”に参加しました。昨年4月から7月までの間リサーチクラークシップという研究期間がありましたが、私は横浜市立大学整形外科の股関節グループで人工股関節の研究に携わりました。既存の人工股関節に骨類似素材を塗布したインプラントが股関節の骨密度低下を抑制するかをPETで評価する研究でしたが、先生に研究成果を評価して頂きORSで発表することになりました。初めての本格的な研究がポスター発表に繋がり嬉々としていた反面で発表内容を英語でプレゼンできるかの不安もありました。会場ではやはり数人の研究者や臨床医にポスターの簡潔な説明や細かい部分の解説を求められ緊張しましたが、英語を試すチャンスだと思い一生懸命説明し、相手が納得するまで話すのをやめませんでした。わからないことはわからないと正直に言うことの大切さもこの場で体感することができました。学生では自分の発言に責任を持つ機会はなかなかありませんのでプロになる前にその真剣さを少し経験でき私にとっては今後の大きな財産になると思います。支援して頂いた財団の皆様、整形外科の先生方の皆様に改めて感謝申し上げます。

<学生自主的活動助成>

Orthopaedic Research Society ; San Diego 学会におけるポスター発表

横浜市立大学医学部医学科5年 メルリーニ マックアンドゥルー

私は3月18日から5日間、サンディエゴで開催された“Orthopedic Research Society”に参加しました。昨年4月から7月までの間リサーチクラークシップという研究期間がありましたが、私は横浜市立大学整形外科の股関節グループで人工股関節の研究に携わりました。既存の人工股関節に骨類似素材を塗布したインプラントが股関節の骨密度低下を抑制するかをPETで評価する研究でしたが、先生に研究成果を評価して頂きORSで発表することになりました。初めての本格的な研究がポスター発表に繋がり嬉々としていた反面で発表内容を英語でプレゼンできるかの不安もありました。会場ではやはり数人の研究者や臨床医にポスターの簡潔な説明や細かい部分の解説を求められ緊張しましたが、英語を試すチャンスだと思い一生懸命説明し、相手が納得するまで話すのをやめませんでした。わからないことはわからないと正直に言うことの大切さもこの場で体感することができました。学生では自分の発言に責任を持つ機会はなかなかありませんのでプロになる前にその真剣さを少し経験でき私にとっては今後の大きな財産になると思います。支援して頂いた財団の皆様、整形外科の先生方の皆様に改めて感謝申し上げます。



収支計算の報告

内訳

交通費

航空券運賃	135,000円
成田空港施設利用料	2,610円
出入国税	7,990円

宿泊費

ホテル代	116,000円
ICN株式会社取扱手数料	5,500円
学会参加費用	45,587円

合計 317,687円

<学生自主的活動助成>

Effect of Platelet Derived Growth Factor on peritendon derived stem/progenitor cells

横浜市立大学医学部医学科 4年 河野 寛人

序論

PRP 療法は、腱損傷治癒を促す治療法のひとつであり、PDGF は PRP 中の主要な成分である。また、腱修復においては二種類の細胞（腱実質由来の TDSPC と腱周囲膜由来の PDSPC）関与すると考えられており、腱修復の初期にはこのうちの PDSPC がより重要であると考えられている。これは、外因性の腱修復の要素としての、PDSPC と PDGF との相乗効果を確認するために行われた研究である。

方法

Mienaltowski(2013)らの行った方法に準じて腱周囲膜の前駆細胞を取り出して継代培養し、使用した。継代した細胞を PDGF の濃度別にコントロール、1ng/ml、10ng/ml の3つに分け、増殖、遊走、および分化を評価した。

結果

増殖実験において、PDGF 10ng/ml group は PDGF 1ng/ml group やコントロール群と比べて有意に増殖していることが確認できた。

遊走実験において、24 時間後の遊走度は、PDGF10ng/ml group とコントロール群、PDGF 1ng/ml group とコントロール群で有意差があった。

PDGF10ng/ml group と PDGF 1ng/ml group での有意差は確認できなかった。

分化実験の遺伝子発現において群間で差は見られなかった。

考察

これらの結果は、1)PDSPC は、外因性の細胞として腱修復能を持つ。2)PDGF は PDSPC の増殖および遊走を促進する。3)PDGF は PDSPC の分化に影響を与えない。という3つの考察を示すことができる。

<学生自主的活動助成>

Effect of Platelet Derived Growth Factor on peritenon derived stem/progenitor cells

横浜市立大学医学部医学科 4年 河野 寛人

【序論】

多血小板血漿(Platelet rich plasma :PRP)療法は、腱損傷治癒を促す治療法のひとつである。PRP 中には種々の増殖因子や修復因子が含まれていて、相互作用によって腱修復を促すことがわかっているが、個別の作用はわかっていない。ゆえにこのうち、主成分である PDGF(Platelet derived growth factor)の作用を調べた。

また、腱修復においては二種類の細胞が関与すると考えられており、一つは腱実質由来の TDSPC(Tendon derived stem progenitor cell)で、もう一つは腱周囲膜由来の PDSPC(Peritenon derived stem progenitor cell)である。腱修復の初期にはこのうちの PDSPC がより重要であると考えられている。PDGF と腱修復の関係においては、'PDGF-BB がイヌ屈筋腱細胞の増殖とコラーゲン合成を促進する'(Thomopoulos 2005)などの研究があるが、PDSPC そのものに対する報告はない。今回は PDSPC の遊走、増殖、腱への分化を評価することによって、PDGF の PDSPC に対する効果を調べた。

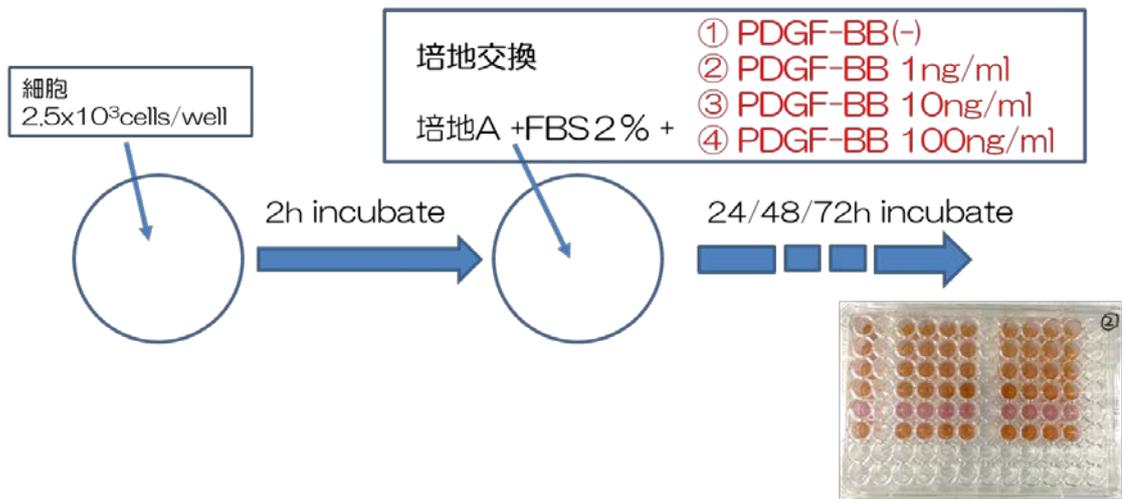
【方法】

Mienaltowski et al.(2013)の行った方法に準じて6~7週の SD Rat オスのアキレス腱周囲膜組織と腱実質を分け、膜由来の stem/progenitor cell を取り出して継代培養し、使用した。P=3 まで継代した細胞を DMEM および 2%FBS(control)、2%FBS +1ng/ml PDGF(PDGF 1ng/ml group)、2%FBS+10ng/ml PDGF(PDGF 10ng/ml group)に分け、増殖、遊走、および分化を評価した。細胞増殖は、Cell Counting Kit-8® (同仁化学研究所)を使用した。プロトコルは(図1)のとおりである。細胞遊走は Oris™ Cell Migration Assay Kit(Platypus Technologies)を用い、遊走していない部分の面積を ImageJ を用いてはかり、全体から引くことによってパーセンテージで表し、評価した。プロトコルは(図2)の通りである。腱への分化は、リアルタイム PCR によって評価した。プライマーとして、腱マーカーのスクレラクシス(SCX)とテノモジュリン(Tnmd)、およびコラーゲンマーカーの I 型コラーゲン α 1(COL1A1)および III 型コラーゲン α 1(COL3A1)を用いた。

PDGF については、いくつかのサブタイプがあるが、生体内のどの PDGF 受容体にも結合できることと、過去の研究において使われている濃度、さらに PRP 中の濃度がおおよそ 12ng/ml であることを考慮し、PDGF-BB を 1ng/ml,10ng/ml で用意した。

また、グラフにおける統計学的有意差は t 検定を用いた。

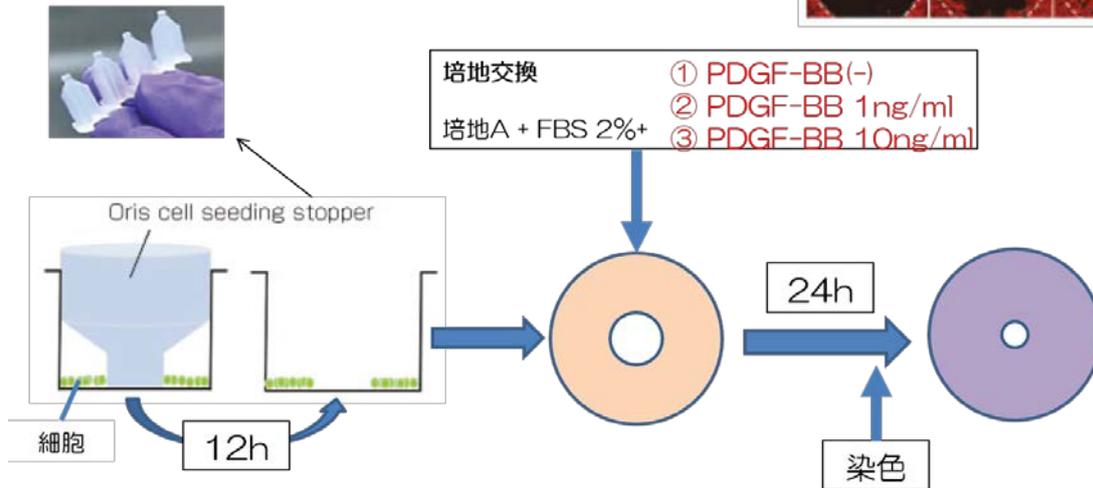
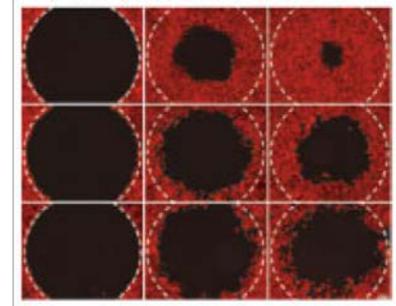
- ✓ 細胞 : rat PDSPC (p=3)
- ✓ 培地A : DMEM(high glu)+ 抗菌薬
- ✓ 培養条件 : 37°C 5% CO₂



→Cell Counting Kit-8® を使用し、投与後24,48,72時間で評価

(図 1) 増殖実験プロトコル

- ✓ 細胞：rat PDSPC (p=3)
- ✓ 培地A：DMEM(high glu)+ 抗菌薬
- ✓ 培養条件：37°C 5% CO₂
- ✓ Oris Cell Migration Assay Kit® 使用



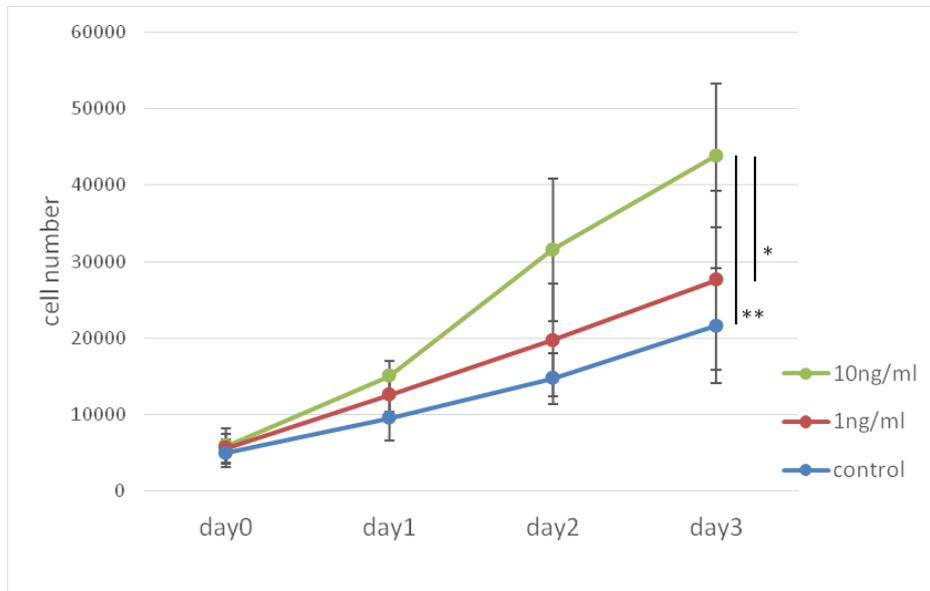
(図 2)遊走実験プロトコル

【結果】

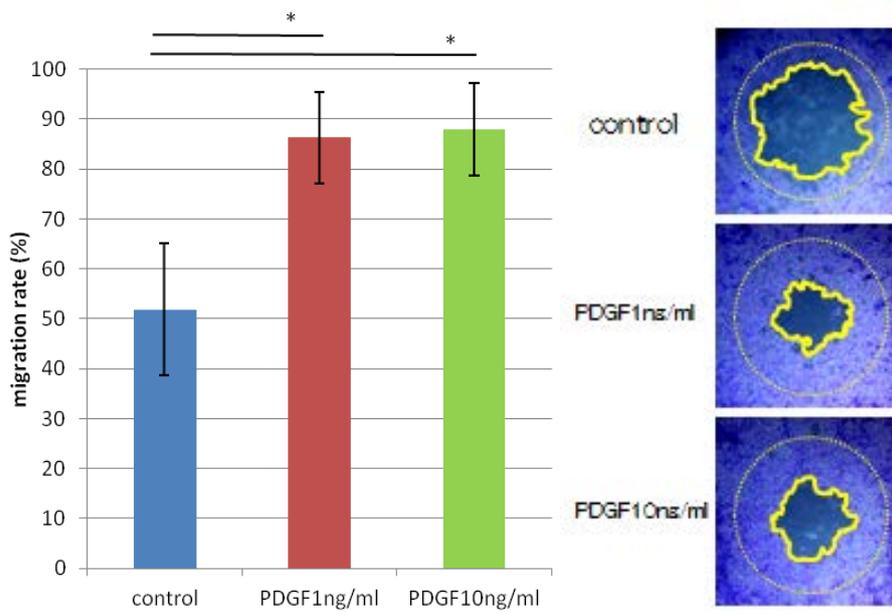
PDSPC の増殖実験の結果は(図 3)のようになった。PDGF 10ng/ml group は day3 において PDGF 1ng/ml group、コントロール群と比べて有意に増殖していることが確認できた。(PDGF 1ng/ml group の 1.6 倍、 $P<0.05$, コントロール群の 2.0 倍、 $P<0.01$)

遊走においても PDGF の有意性が確認できた(図 4)。 24 時間後の遊走度は PDGF 10ng/ml group でコントロール群の 1.7 倍、PDGF 1ng/ml group でコントロール群の 1.7 倍であった(どちらも $P<0.05$)。PDGF 10ng/ml group と PDGF 1ng/ml group での有意差は確認できなかった。

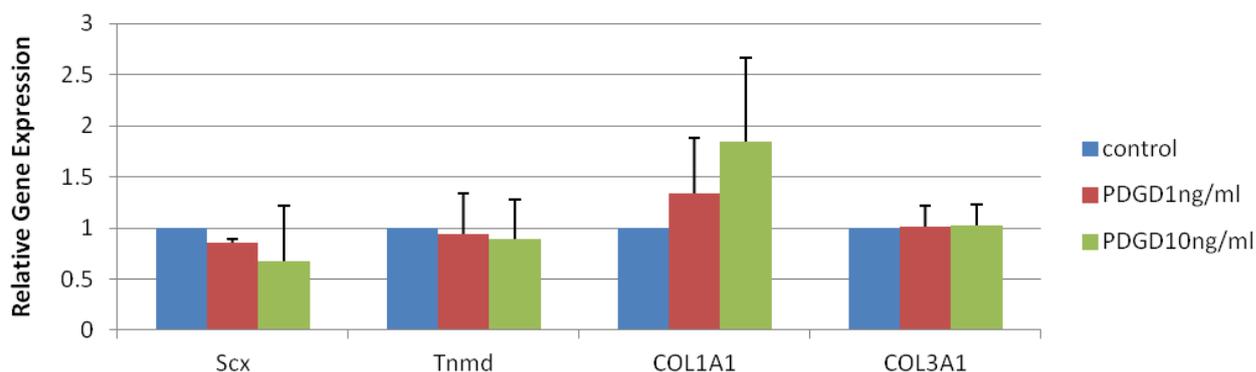
分化の遺伝子発現(図 5)においては群間で有意差は見られなかったが、発現は上昇傾向であった。



(図 3) *P<0.05, **P<0.01, (N=4)



(図 4) 遊走度(%)=実線内の面積/点線内の面積×100, *P<0.05, (N=4)



(図 5) 相対的な Scx, Tnmd, COL1A1, and COL3A1 の遺伝子発現量

【考察】

これらの結果は、1)PDSPC は、外因性の細胞として腱修復能を持つ。2)PDGF は PDSPC の増殖および遊走を促進する。3)PDGF は PDSPC の分化に影響を与えない。という 3つの考察を示すことができる。

これにより、PDGF が腱損傷治癒の早期に有効に働く可能性を示すことができた。

また、PRP 中の濃度である PDGF10ng/ml で、腱損傷治癒に対して有効な成分であるということを示すことができた。臨床においては、腱修復のための PRP に含まれる増殖因子の効果は、投与のタイミングおよび、損傷部位の環境に依存すると考えられる。

【参考文献】

- 1) MJ. Mienaltowski et al. Tissue Engineering PartA. 2013;19: 199-210.
- 2) NA Dymnt et al PLOS ONE. 2014 :9: e96113.
- 3) S.Thompoulos et al. Journal of Hand Surgery. 2005; 30: 441-447.
- 4) A Colciago et al. International Journal of Biomedical Science. 2009;5: 380-389.

ORS 経費内訳

飛行機	175830	円
ホテル	51600	円
学会参加費	45971	円
保険	6330	円
ビザ(ESTA)	1636	円
現地通信費	11457	円
合計	292824	円

<学生自主的活動助成>

Harvard T.H.Chan School of Public Health 及び Johns Hopkins Bloomberg
School of Public Health 留学の報告

高 彬良

医学部医学科・6年

要約

3月20日より3月31日までの2週間 HSPS へ、その後4月3日より4月14日まで JHSPS へそれぞれ留学する機会を頂戴しましたので、ここにご報告致します。まず最初にこの場をお借りし、今回の留学に関して多大なるご高配を賜りました WHO 神戸センター野崎慎仁郎先生、HSPS 教授 Ichiro kawachi 先生、JHSPS Prof.Edward Bunker に御礼申し上げます。

HSPS 滞在中は行動経済学、HighRiskBehavior、モバイルデータ、Nutrition Epidemiology、Injury Epidemiology、Occupational Health など Public health に関する様々な授業に出席したほか、Kawachi 先生のラボミーティングへ参加させていただきました。これ以外にも、Harvard と MIT が共同で設立した Wellframe, Inc にてお話しを伺ったり、医療コンサルタントで MPH ホルダーである Dr. Anshuman Chadda にお話しを伺う機会を頂戴するなど、MPH 取得後に大学以外でご活躍の方とお話しする機会も頂戴しました。JHSPS ではデジタルヘルスに関するケースリサーチを経験させて頂きました。

今回の留学で得た知見を活かせるよう、今後とも精進してまいりたいと思います。このような貴重な機会を賜りましたこと、心より嬉しく感じております。

<学生自主的活動助成>

Harvard T.H.Chan School of Public Health 及び Johns Hopkins Bloomberg School of
Public Health 留学の報告

高 彬良

医学部医学科・6年

雪の舞う 3 月のボストン・ケンブリッジの町並みを今も克明に思い出します。Central の駅前のカフェで議論する学生。Harvard Yard にある Starbucks の窓際に座り、ラテを片手に討論を続ける学生。街全体が学びに植えているかのような雰囲気の中、M2 シャトルに乗って HSPS のビルへと向かいました。ボストン治安はとても良く、「iphone で音楽を聞きながら歩くことができるくらい」という表現が正しいのかはわかりませんが、少なくとも後述するボルチモアのように身の危険を感じることはありませんでした。

MPH の授業はボストン美術館や Children's Hospital の近くにある Harvard T.H. Chan School of Public Health のビル、あるいは Cambridge の Kennedy School などで行われます。授業後に少しバスに乗って Fenway Park へ、あるいは電車に乗って Back Bay へ足を向ける学生も少なくありません。

理論重視の Harvard, 実践重視の Johns Hopkins とよく称される通り滞在中に参加できた授業の多くは講義型であり、ディスカッションメインのイベントは昼に多く開催されている印象を持ちました。昼休みの時間を使って開催されるイベントの扱う分野は多岐にわたり、産業医学などの研究もあれば分子生物学の研究発表もあり。熱を帯びたディスカッションを聞きながら食べるピザは絶品です。

授業の質は格別でしたね。Harvard に居る。世界最高の知能が集まる場所に居る。という高揚感がそう思わせる側面もあるかと思いますが、発言に対する寛容さは日本とは明らかに違うものを感じました。大学院という性質上、様々なバックグラウンドを持った学生が集まり、各々の経験や現場での問題感を共有しながら進んでいく授業内での質問の中には、講義の意図と外れるものもあります。それなのに、あたかもその質問を予期していたかのように「ああ、それはこのスライドにあるように…」と滞りなく授業を進めていく教授・PhD の先生たちの講義に心惹かれているうちに、いつのまにか授業が終わっている。

そんな毎日は幸せでしたね。こんなに没頭できる授業を、生徒の考えまでも織り込んで練った授業を受けていただける。いつか、きちんと生徒として席についていたいと思わずにはられませんでした。

授業の質以外にも、驚いた点は多くありました。ランチ後の授業には多くの学生がランチのサラダを持ってやってきます。講義の始まりはカフェテリアに居るのかと錯覚するくらい。中には最前列に座り、ノートを開くこともなくただただリンゴを感じりながら目を閉じて授業に聞き入っている生徒もいる。寝ていると思いきや、先生が考え込む程のクリティカルな質問をする。文系出身者も多くいる MPH のクラスで、外部講師がシナプス発達の観点から小児の機能発達について講義する。これは **Advanced** な内容だけどね...と言いながら、楽しそうに授業を進めていく先先生方。居眠りしている生徒を見かけることはない。みんなが楽しそうだった。本当に幸せな時間でした。

滞在中は **Ichiro Kawachi** 先生のご厚意により、ラボミーティングへ参加する機会を頂きました。着いて最初の仕事は、ケータリングの料理を並べてワインの準備をすること。和やかな雰囲気の中ミーティングは進んで行きます。このミーティングのディスカッションにキャッチアップすることは、正直に言って叶いませんでした。統計に対する素養のなさをこのときほど悔しく感じた瞬間はありませんでしたし、英語力の未熟さを痛感した瞬間でもありました。内容自体はとても興味深く、また「日常生活に根付いているな」と感じました。パ・リーグと共同で行動変容に取り組んでおられる先生、経済的なニュースと事故の相関を調べている先生。行動経済学への興味を心の底から引き立てられる時間でした。

ほんの短い時間の滞在でしたし、語れるような立場にもありませんが、ただただそこに居る全員が「学ぶ」ということを楽しんでいる。そんな印象を受けながら、ボルチモアへと旅立ちました。

Baltimore はメリーランド州にある独立都市であり、後の米国国家となった「**The Star-Spangled banner**」という詩の舞台でもあります。ボストンに比べ、愛国心がとても強い印象をいたるところで受けました。お世辞にも治安が良いとはいえず、移動は公共交通ではなく **Uber** を使う日々。**Inner harbor** 周辺は比較的安全とされていて、とある **Uber** の運転手いわく「なあ兄ちゃん。みんな治安が悪い、あそこはイカれた街だっていうけど、そのうちの何人が実際に来たんだ？ゼロだ。この辺はいい街だよな。へんなところをほつつき歩くからいけないんだ。**Inner Harver** は安全だろ？俺はこの街を愛してる。」とのこと。それでも、少し恐怖を感じる瞬間はありました。一般的に安全と言われる **Inner Harver** の **Shake Shack** の目の前でも物乞いに話しかけられる。大通りから 1

ブロック先のマクドナルドのレジで囲まれる。貧富の差を、アメリカらしさをひしひしとを感じる瞬間でした。

Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health はそんな Baltimore から車で 10 分ほど離れた場所にあります。周りにはスラムもあり、大きな病院も併設されていますが四隅には警備員が常駐する詰め所が設置されています。夕方には出歩くな、この建物の向こうへは歩いていってはいけない、というのが先生からの初めての教え、というのもなかなかない経験ではないでしょうか。もっとも、後に「歩いてはいけない」方にある別館へと小走りで行くことになるのですが。

JHSPS では m-Health の入門講座を既にオンラインで受講していたこともあり、特にケーススタディを経験させて頂きました。ケーススタディではアメリカ・ワシントン州に本社を置くとある企業の製品を対象に調査を進めていたのですが、このスタディからも様々な気づきを得ることが出来ました。例えば、日本では当たり前のように iPhone を使っている人を多く見かけますが、Apple のお膝元アメリカでの事情は違います。Android 端末が主流で、iPhone はハイエンド向けなのです。僕らが日本に居る間に手にする情報から想像するアメリカは、みんなが iPhone を持ち、Siri に話しかけ、ググっている世界でしょう。もしかしたら僕らの想像の中のシリコンバレーはあまりにも偉大すぎて、僕らの想像の中のアメリカはあまりに全員がハイエンドなイメージすぎやしないか、と気付いた瞬間でもありました。

折しもユナイテッド航空でのオーバーブックの事件が起こり、スミソニアン博物館で「戦勝国としての」太平洋戦争の展示を見ながら、なんとなく「差別」の足音を感じていた。そんな毎日だったのかもしれない。

今回の留学では、特にモバイルヘルスという分野に軸足を起きながら、様々な授業を経験させて頂きました。モバイルヘルスとはスマートフォンなどの携帯端末を利用して行う医療行為や診療サポート行為を指します。英語で言うと「Mobile Health」となるのですが、海外ではよく「mHealth (エム・ヘルス)」としばしば略されています。日本においても医政発 0714 第 4 号通知以降、様々なサービスが立ち上がるなど注目を集め始めた分野でもあります。実臨床の場で使われている様子を窺い知る事は叶いませんでしたが、HSPS で python の授業が人気を集めるなど、注目の高まりを感じる機会は多くありました。

「今までの自分の積み上げを一旦リセットして取れるものは取り切るみたいな感じだと、もっと色々なチャンスが転がり込んできたのかもしれない」という後悔は少しありますが、いつの日か MPH の生徒としてアメリカへ戻れるよう、努力を積み重ねて参りたいと決意を新たにしました。

[目次に戻る](#)

重ね重ね、この場をお借りして今回の留学にお力添えを頂いた皆様に、心より御礼申し上げます。

収支報告書

交通費：219,270 円

宿泊費：123,856 円

計：343,126 円

<学生自主的活動助成>

第 122 回日本解剖学会総会における発表

長谷川 広大

医学科 4 年

要約

昨年度、長崎大学坂本キャンパスで開催された第 122 回日本解剖学会総会・全国学術集会に参加させて頂き、この中の 3 月 28 日に行われた学生セッションにて発表を行いました。

今回の私たちの研究テーマは「超音波エコーを用いた新たな解剖実習方法の試み」であり、具体的には、あらかじめ超音波エコーを用いて体表から神経の走行を予測してから解剖を行うことで、体内の臓器を立体的に理解できるようになるのではないか、という提案です。

この研究の計画、実践、発表を通して行うことで、研究の考え方に触れられ、また解剖学を異なった視点から見ることができました。さらに全国規模で開催される学会にて研究成果を発表するという貴重な経験もさせて頂きました。また他大学の研究発表も見ることができ日本の解剖学の最先端に触れることができ大変刺激になりました。このような機会を与えてくださり大変ありがとうございました。今回の研究、発表には横浜総合医学振興財団様をはじめ、たくさんの方々に大変お世話になりました。厚く御礼申し上げます。

与えて頂いた経験を糧にして、今後、医学の考え方をさらに養っていきたいと考えております。ありがとうございました。

<学生自主的活動助成>

第 122 回日本解剖学会総会・学術集会 学生セッション発表

医学部医学科 4 年 長谷川広大

日時： 2017 年 3 月 27 日（月）～29 日（水）

場所： 長崎大学坂本キャンパス

参加者： 医学部医学科 4 年

加藤伸忠、長谷川広大、張田佳代、渡辺武俊

目的：

2016 年度に行った研究である「超音波エコーを用いた新たな解剖実習方法の試み」を日本解剖学会で発表することにより、リサーチマインドを養い、さら日本全国の大学の発表を見ることで、最先端の研究に触れる。

方法：

第 122 回日本解剖学会総会・全国学術集会の学生セッションにおける「超音波エコーを用いた新たな解剖実習方法の試み」に関する発表

報告内容：

【タイトル】超音波エコーを用いた新たな解剖実習方法の試み

【概要】

エコーを用いてあらかじめ自分が剖出したい部位を予測してから実際の解剖を行うという新たな解剖実習方法を考案した。具体的にはエコーを用いて体表面からあらかじめ剖出部位の位置、走行を予測し、その位置にマーキングを施した後、その予測が正しかったかどうかを確認するという方法であり、これによって系統解剖では、なかなかつかみづらい身体の臓器の位置を 3D として把握する力が養われると期待できる。

感想：

この研究の計画、実践、発表を通して行うことで、研究の考え方に触れられ、その進め方を体感することができました。また、今までの系統解剖に工夫を加えることで解剖学を異なった視点から見ることができました。さらに全国規模で開催される学会にて研究成果を発表するという貴重な経験もさせて頂きました。このような機会を与えてくださり大変ありがとうございました。

<学生自主的活動助成>

第 122 回日本解剖学会総会における発表

加藤 伸忠

医学科 4 年

要約

今回私たちは長崎大学で行われた日本解剖学会総会・全国学術総会の学生セッションに参加し、1年間研究してきた「エコーを用いた新たな解剖実習の試み」というテーマについて発表して参りました。このテーマを選んだ理由は、従来の紙媒体の手引きだけを頼りに進める系統解剖の実習をもっと有意義なものにするために、エコーという実際の臨床の場で用いられている機器を取り入れてみたらよいのではないかという発想に基づくものでした。そして、皆様のお力添えのおかげで、エコーを用いた解剖実習の立案、実行、そして考察を行い、今春の学会におきまして、その研究成果のご報告をさせていただくことができました。解剖学会では、自大学の発表に対して他の大学の先生から意見を頂戴することができ、自分たちの研究を新たな視点で振り返ることができました。さらに、他の大学の学生の研究や最先端の研究に触れることができ、学問的刺激を受けることもできました。これからも、解剖学に関する学生主体の研究活動を進め、その成果を様々な形で発信していければと思っております。

<学生自主的活動助成>

第 122 回日本解剖学会総会・全国学術集会 学生セッション

医学部医学科 4 年 加藤伸忠

日時：

2017 年 3 月 27 日～2017 年 3 月 29 日

場所：

長崎大学坂本キャンパス

参加者：

長谷川広大、張田佳代、渡辺武俊、加藤伸忠

目的：

平成 28 年度の学生の自主的な解剖活動の中で研究してきた、エコーを用いた新たな解剖実習方法の取り組みについて、学会で発表し全国の先生方や学生の方に研究内容を報告するとともに研究内容に関する意見をいただく。

方法：

第 122 回日本解剖学会総会・全国学術集会において「超音波エコーを用いた新たな解剖実習方法の試み」に関する発表を行う。

報告内容：

【タイトル】超音波エコーを用いた新たな解剖実習方法の試み

【概要】エコーを用いた解剖構造の予測から、実際の系統解剖を行うまでの一連のプロセスについて順を追って発表した。まずエコーを用いて、解剖該当箇所を観察する。(今回は神経を中心にエコーでの観察を行った。)これによって、解剖を行う前にご遺体内の神経の走行を把握することができる。次に、このエコーでの観察に基づいて神経の走行箇所をマーキングする。このマーキングを目印に解剖を行い、エコーでの観察と実際の神経の走行が一致することを確認する。このような解剖を行うことにより、事前に体内の解剖学的構造を意識した上で解剖を行うことができるため、従来の解剖実習に比べて理解度、充実度を上げることが期待される。

【まとめ】エコーを用いた解剖実習は、機材の準備やエコーの指導ができる人材の配置などの点で課題を抱えているが、従来の解剖とは違い人体の構造を意識した上で解剖ができ、積極的に解剖実習に携わることができるため有用であるといえる。

感想：

今回私たちは長崎大学で行われた日本解剖学会総会・全国学術総会の学生セッションに参加し、1年間研究してきた「エコーを用いた新たな解剖実習の試み」というテーマについて発表して参りました。このテーマを選んだ理由は、従来の紙媒体の手引きだけを頼りに進める系統解剖の実習をもっと有意義なものにするために、エコーという実際の臨床の場で用いられている機器を取り入れてみたらよいのではないかという発想に基づくものでした。そして、皆様のお力添えのおかげで、エコーを用いた解剖実習の立案、実行、そして考察を行い、今春の学会におきまして、その研究成果のご報告をさせていただくことができました。解剖学会では、自大学の発表に対して他の大学の先生から意見を頂戴することができ、自分たちの研究を新たな視点で振り返ることができました。さらに、他の大学の学生の研究や最先端の研究に触れることができ、学問的刺激を受けることもできました。これからも、解剖学に関する学生主体の研究活動を進め、その成果を様々な形で発信していければと思っております。

<学生自主的活動助成>

第 122 回日本解剖学会総会における発表

張田 佳代

医学科 4 年

要約

今回解剖学会に参加するにあたり、様々なことを勉強することができました。

エコーを用いた解剖を提案するというテーマでの発表でしたが、そのために、まずは使い慣れないエコーを勉強するところから始まりました。画像を立体の断面として捉えることに最初こそ戸惑いましたが、慣れていくと、臓器ごとの位置関係が分かるようになり、更にはその立体構造を把握できるようになり、とても面白く学ぶことができました。特に面白かったのは、エコーでは個人差が目に見えるのだと実感できたことです。今日の医療現場では、個々人に合わせた医療が求められています。様々な医療手技を適切に施すためには、その個人差をきちんと把握する必要があります。今回のこの学びが、将来、実際に医療現場に立った時に、とても役だつてであろうと思っています。

また、発表の準備を経験することで、「人にわかりやすく伝えることの難しさ」を痛感しました。自分が学んだことの感動を、限られた時間の中で、どうしたら他人に伝えることができるか。独りよがりの発表にならないようにすることは、簡単な様に見えてとても難しかったです。それを皆で一緒に考え、推敲し、結果として良い発表が出来たのではないかと思います。長くなりましたが、総じて、この学びは私にとって様々な新しい気づきを与えてくれました。貴財団の恩恵の下でこのような貴重な体験ができたことを、とても感謝しております。

<学生自主的活動助成>

第 122 回日本解剖学会総会・学術集会 学生セッション発表

医学部医学科 4 年 張田佳代

<日時> 2017 年 3 月 27 日 (月) ~29 日 (水)

<場所> 長崎大学坂本キャンパス

<参加者> 加藤伸忠、長谷川広大、張田佳代、渡辺武俊

<目的>

解剖の勉強にエコーを取り入れることがどのようなメリットをもたらすのかを検討する。
そのために、エコーの生体への利用についても勉強する。

<方法>

第 122 回日本解剖学会総会・学術集会学生セッションにおいて、「超音波エコーを用いた新たな解剖実習方法の試み」に関する口頭発表

<報告内容>

【タイトル】 超音波エコーを用いた新たな解剖実習方法の試み

【概要】系統解剖実習では臓器の位置を立体的に把握することが難しい。そこで解剖前に超音波エコーを用い、ご遺体であらかじめ自分が剖出したい部位を観察し、その走行を予測後、実際の解剖を行い確認するという新たな解剖学習法を試みた。具体的には、超音波エコーを用いて、①剖出部位における筋肉、血管、神経の走行を観察、②皮膚へのマーキングとマーカーク針の挿入、③実際に剖出し予想と合っているか確認する、というアプローチを行なった。

この方法を行うことで体表面から臓器を立体的に理解するのに役立つと考えられる。

<感想>

今回解剖学会に参加するにあたり、様々なことを勉強することができました。

エコーを用いた解剖を提案するというテーマでの発表でしたが、そのために、まずは使い慣れないエコーを勉強するところから始まりました。画像を立体の断面として捉えることに最初こそ戸惑いましたが、慣れていくと、臓器ごとの位置関係が分かるようになり、更にはその立体構造を把握できるようになり、とても面白く学ぶことができました。特に面白かったのは、エコーでは個人差が目に見えるのだと実感できたことです。今日の医療現場では、個々人に合わせた医療が求められています。様々な医療手技を適切に施すためには、その個人差をきちんと把握

する必要があります。今回のこの学びが、将来、実際に医療現場に立った時に、とても役だつてであろうと思っています。

また、発表の準備を経験することで、「人にわかりやすく伝えることの難しさ」を痛感しました。自分が学んだことの感動を、限られた時間の中で、どうしたら他人に伝えることができるか。独りよがりの発表にならないようにすることは、簡単な様に見えてとても難しかったです。それを皆で一緒に考え、推敲し、結果として良い発表が出来たのではないかと思います。

長くなりましたが、総じて、この学びは私にとって様々な新しい気づきを与えてくれました。貴財団の恩恵の下でこのような貴重な体験ができたことを、とても感謝しております。

<学生自主的活動助成>

第 122 回日本解剖学会総会における発表

渡辺 武俊

医学科・4年

要約

この度、横浜総合医学振興財団の助成を受け、2017年3月28日、第122回日本解剖学会総会に参加しました。本学会の学生セッションで、「エコーを用いた新たな解剖実習方法の提案」の題で、共著者として発表に携わったのでここに報告いたします。

私は、エコーを用いた解剖について、当時3年生の学生3人(長谷川広大、加藤伸忠、張田佳代)と共に、解剖実習への応用の可能性について検討しました。エコーで身体の構造を捉え直すことで、解剖をより多角的に理解できたり、臨床現場で頻用されるエコーの扱い方に習熟できたりするなどといった成果をまとめて発表しました。

本年度の解剖学会学生セッションは口頭発表の形式をとったため、長谷川が代表として実際の発表を行いました。準備にあたっては学生が主体となって、効果的な発表の工夫や質疑応答の想定などを協力して行い、発表は成功裏に終わりました。

今回の学会発表での経験をもとに、今後もより深く医学の習得に精進する所存です。この場をお借りして、横浜総合医学振興財団および学会参加をサポートして下さった関係各位に御礼申し上げます。

<学生自主的活動助成>

第122回日本解剖学会総会・学術集会 学生セッション発表

医学部医学科 4年 渡辺武俊

日時 | 2017年3月27日(月)～29日(水)

場所 | 長崎大学坂本キャンパス

参加者 | 長谷川広大(演者)、加藤伸忠、張田佳代、渡辺武俊

目的

超音波診断装置(以下エコーと呼ぶ)を用いた新たな解剖実習方法について研究した成果を学会で発表することで、研究内容に対するフィードバックを得るとともに、他大学の学生、教員との交流を図る。

方法

第122回日本解剖学会総会・学術集会の学生セッションにおける、「超音波エコーを用いた新たな解剖実習方法の試み」と題した一般口演発表

報告内容

<タイトル>超音波エコーを用いた新たな解剖実習方法の試み

<概要>エコーは侵襲性が低く持ち運びができ、撮影データの記録も容易であるため、今日の臨床現場に広く活用されている。一方、超音波画像を理解するためには、解剖学的に立体構造を正しく理解することが必要である。

系統解剖実習では、表層から深層に向けて解剖を行い、各構造物の位置関係を学習するが、深層の解剖時には表層の臓器、組織は存在しないこともあり、統合的理解が不十分になることがある。そこで、解剖開始前にエコーを用い、ご遺体のうちあらかじめ剖出したい部位を表層から深層まで観察するという新たな解剖学習法の開発を試みた。

今回の発表では、動脈および神経をこの方法を用いて実際に剖出した例を提示した。具体的には、エコーを用いて、①剖出部位における筋肉、血管、神経の走行を観察、②皮膚へのマーキング、③実際に剖出し、予想とあっているか確認する、というアプローチを行なった。

この学習法は、学習者が目的とする臓器や血管、神経のネットワークを、体表から能動的に学習できるとともに、臓器、組織の立体的な理解を深めるために大変有用な学習法となり得ると考えた。

感想

質疑応答では様々な大学の方々から質問、意見をいただき、関心の高さが感じられた。また、他大学の発表を聞き、今後の研究活動の参考になるような情報も得られた。

最後に、今回助成して下さった横浜総合医学振興財団に心より御礼申し上げます。

<学生自主的活動助成>

インド病院実習報告書

茂木悠平

横浜市立大学医学部医学科 6 年生

要約

2017/3/15-3/17, 2017/3/23-29 の日程でインドの二つの病院を見学した。一つはクシナガラという比較的的地方にあるインド福祉村病院の外来、もう一方はデリーという都会にある Max Super Specialty Hospital の総合内科の病棟と小児 ICU を見学した。前者は医療を最低限の価格で行う Governmental Hospital に似た病院であり、後者は医療水準、環境が整っている分相応の金額を払わねばならない Private Hospital と呼ばれる病院であった。

双方の病院の患者の層や医療の内容は大きく異なっていた。インド福祉村病院は医療が低価格であるため、貧困に苦しんでいる数多の周辺住民が連日来院する。そのためただ一人の外来医師は主に問診と身体所見のみを用いて患者を効率よく診療し、且つ経済的に負担のないような治療を選択していた。一方、Max Super Specialty Hospital では医療費がとてもし高い分患者は富裕層に限られるがその医療を求めて海外から来院する患者も多い。医療行為としては日本の大病院に引けをとらないようなベッド数 500 床という規模、そして検査機器はもちろん臓器移植なども盛んに行われているように医療水準も高かった。これら 2 種類の病院の存在は国民全員に最低限の医療アクセスを与え、かつ金銭的余裕のある者にはよりよい医療が受けられるような仕組みを構築していた。

<学生自主的活動助成>

インド病院実習報告書

横浜市立大学医学部医学科 6 年生

茂木悠平

この度は医学振興財団様の支援のもと、2017/3/15～3/17 の日程でインドの Kushinagar にあるインド福祉村病院にボランティアと 2017/3/23～3/29 の日程でインドの Delhi にある Max Super Specialty Hospital に病院見学を行ってきた。

インドの病院は大きく 2 種類に分かれる。一つは貧しい人でも低コストで医療を受けられる Governmental Hospital と費用は掛かるがより良い設備で医療が受けられる Private Hospital の二つである。Ananda Hospital は前者、Max Super Specialty Hospital は後者の部類となる。

Ananda Hospital は外来専門の病院であり、その外来のサポートをさせていただいた。限られた病院の設備、医師の時間、患者の資金の中で最大限可能な医療を行っている印象を受けた。

病院は日本の開業医のクリニック程度の大きさで、外来室、薬局、X 線写真撮影室、経過観察用ベッド、臨床検査室があった。

人員は外来医師 1 人、ナース 1 人、医療事務 1 人、臨床検査を行う医師 1 人という構成であった。

診察を待つ患者さんは病院外や診察室内まであふれかえっており、先生も一日 6 時間で 100 人の外来を行うというハードスケジュールをこなしていらした。

検査技師は 1 人であり、患者さんの出せる費用も限られているため問診と身体所見で可能な限り当たりを付けて本当に必要な患者にだけ検査を行っていた。インドで common disease であるチフスに対する検査が日本で一般的に用いられる培養検査ではなく、診断精度と診断時期がやや劣り日本ではもう使用されていない widal 法という血清学的検査を使用していたのは貧しい患者にも医療を施す Governmental Hospital ならではの感じた。

治療も経済性を意識しており薬を処方する必要があるときも同種類の中から安いものを厳選して処方していた。

文化や習慣からくる疾患も少なからずあった。排便後に水で肛門と尿道を洗う習慣があり、菌が肛門から尿道に引き起こされる UTI、そして風通しの悪い茅葺の家に暮らしている人が冬場寒さをしのぐために家の中で料理をして引き起こされる喘息などが例だ。

そのような例に関しては治療以外に先生が指導や患者教育を行って再発防止に取り組まれていた。

Ananda hospital は医療の質こそ最先端ではないものの、貧しい人でもアクセス可能な医療

機関として門口を開き地域の人の生活を知ったうえでのアドバイス、治療計画を立ててくれる、地域全体の健康問題をサポートする病院として機能していた。

Max Hospital は500床あまりの病床があり、35もの専門科に分かれている大病院で合った。そこでは小児科と総合内科病棟の実習をさせていただいた。

Max Hospital は上述した通り医療資源や人員が豊富であり、細分化された専門科が存在し癌治療や臓器移植も盛んに行われていた。インドで最高レベルの医療を提供しており、近隣諸国からも多くの方が医療を受けにくるほどだそう。

手術などの手技は見学しておらず認可されている薬に多少の違いはあるので詳しいことはのべられないが、治療の内容は基本的に日本の大病院と似たレベルであるように感じられた。治療は国のガイドラインに則って行われること、医師同士の勉強会や論文抄読会、薬剤会社による薬剤説明会など先進医療を学び、実践する場が確立されていた。

病院内でも患者と家族が長い時間を過ごすという考え方が根底にあるように感じた。各病室は広く各個室には家族用のソファが置いており、朝から夕方まで常に家族の方と一緒に過ごされている患者も多く、家族用にも病院食が出るなど家族に対するサービスも少なからず用意されていた。

また、患者さんとのコミュニケーションの時間を長くとおられた。

回診時には患者やその家族が積極的に質問や病状の報告をしたり、医師も病状の説明から退院後の身の回りの生活まで色々なことを話すなど一般的な日本の回診よりも長い時間をかけて患者とその家族と話されている印象を受けた。

ただ、Max hospital で一つ至らない点があるとするならば衛生観念が日本ほど高くないことである。ICUでたびたび虫を見かけたことや外シャントのチューブ挿入時に術者がガウンを着ていなかったこともあるなど日本の医療からすると少し違和感を覚えたことも時々あった。

Ananda hospital のような Governmental hospital は低価格で最低限の地域の医療を支えている病院であり、Max hospital のような Private hospital は相応の対価で最高レベルの医療、サービス、施設を提供する病院である。インドは地域、身分の差によって貧富の差が大きい、Governmental hospital と Private hospital と病院の種類を分けることで患者の経済状態に合わせて様々なレベルの医療を提供できるようになっているのだと感じた。日本では国民全員に対して安定した質の医療を提供できる仕組みが整っていることから考えると、インドの医療の問題は経済的弱者への医療を担う Governmental hospital の医療の質が比較的低いことである。今現在、Governmental hospital の低価格の医療は古い医療設備と医療スタッフの重労働で成り立っているように思われるのでその部分へのアプローチが医療的、または経済的アプローチが今後の課題だと考えられる。

出費：

インド（デリー空港）への往復飛行機代：55090 円

インド福祉村病院（クシナガラ）までの往復飛行機代：33500 円

海外旅行保険：9650 円

Max Super Specialty Hospital 見学費用：33592 円

Max Super Specialty Hospital 滞在中の宿 7 泊分：7786 円

予防接種（A 型肝炎、腸チフス、破傷風、日本脳炎）：37490 円

計：177108 円

<学生自主的活動助成>

アーナンダ病院ボランティア実習

横浜市立大学医学部医学科 6年

東 莞爾

要約

2017年3月15~17日の日程で、インド、ウッタル・プラディッシュ州、クシナガラ地区にあるアーナンダ病院で実習を行った。日本のように医療保険制度が整っておらず、医療難民が存在する地域における医療の実態を見学することが目的である。アーナンダ病院はインド農村部の医療を受けられない地域において、プライマリケアの充実、公衆衛生や教育の普及などを目的とする病院である。病院は十分な機能や衛生環境を持っているとは言えず、患者のプライバシーも保たれていないといえなかった。現地では日本でも多い生活習慣病以外に、腸チフス、マラリアを始めとする感染症も一般的であり、これはインドの衛生環境を如実に反映していると感じた。唯一のDrは複数の病院で多忙な診療活動をしており、クシナガラの農村地における医療需要と、それに対する医療資源の不足を目の当たりにした。一方で、インドではカースト制度の影響もあり未だに貧富の差が激しく、private hospitalでは清潔で行き届いた環境の中で、細分化された医療が提供されているのも現実である。医療財源が限られた中で行われるプライマリケアの重要性と、それをとりまく医療制度の意義を改めて考えさせられる実習であった。

<学生自主的活動助成>

アーナンダ病院ボランティア実習

横浜市立大学医学部医学科 6年

東 莞爾

2017年3月15~17日の日程で、インド、ウッタル・プラディッシュ州、クシナガラ地区にあるアーナンダ病院で実習を行った。日本のように医療保険制度が整っておらず、医療難民が存在する地域における医療の実態を見学することが目的である。アーナンダ病院はインド農村部の医療を受けられない地域において、プライマリケアの充実、公衆衛生や教育の普及などを目的に、インド福祉村協会により1998年に設立された。インド福祉村協会とは日本とインドの両国民が価値観を共有し、互いに学びあうことを理念とする認定特定非営利活動法人であり、インドの医療の恵まれない人々に対する医療、教育の提供や、それをサポートするボランティアスタッフの育成を行っている。日本を始め各国の医療関係者をボランティアスタッフとして受け入れており、今回同5年生の学生2名で当該プログラムへの参加を希望した。

インドの人口は13億人であり、面積は日本の9倍である。衛生環境は決して良いとは言えず、直感的に述べると、人と、犬と、牛と、それにたかるハエと、バイクと、車とが密集して、入り混じって共存している、といった環境である。人々はそこで物を売り、料理をし、食事をする。露店で売られる美味しそうな食べ物のまわりではハエが飛んでおり、お皿も我々の見ために衛生的とは言えない。通りを歩くと発生源の分からないにおいの帯が不定期に訪れ、そこに面した家々もドアを開け放っていることが多いので、皿を地面において手で食事をとっている様子がよく見られた。水道は一部の地域でしか整備されておらず、上水道が一日数時間しか供給されない地域もある。総じて日本では考え難い光景が、



アーナンダ病院



病院の壁には日本のキャラクターが描かれていた。

日常の風景として広がっていた。

今回我々が3日間の実習をさせていただいた（前後1日間の宿泊も含めて4泊5日滞在させていただいた）アーナンダ病院があるクシナガラは、首都デリーから東に600km離れたネパールの国境に近い都市である。アーナンダ病院は基本的に外来専門の病院であり、患者のプライマリケアを行う。診療棟には診察室2室、ベッド6床、検査室、手術室、レントゲン室、薬局等があり、1日に約100人の患者を診察する。ベッドは輸液など短時間の安静を必要とする場合にのみ使われ、私の滞在期間中は使われているところは見られなかった。手術室についても以前は助産師がいて出産を行うために使っていたそうだが、今は使われていないという。また敷地内にある管理棟はこの病院唯一の医師である Dr. Gupta とその家族の住居となっており、今回我々も滞在させていただいた。

朝、外来が始まる1時間前には、患者が病院の外に集まり始める。診察室はとてもきれいとは言えず医師はハエを手でよけながら診察をしていた。院内には基本的に患者は裸足で入館し、看護師が事前にバイタルを測ってもらったら診察室の前で診察を待つ。診察室のドアは常に開いており、また診察室の中にも待合用の椅子が二つあり次に呼ばれる患者は座って待つため、診察を受ける患者のプライバシーは守られているとは言い難かった。

（陰部の視診などを除いてほとんどすべての診察がこの部屋で行われた。）Dr は基本的に問診と、必要に応じて触診、聴診を積極的に行っていた。病院で出来る検査は血液検査（血算、生化学検査）と X 線撮影のみであり、これらを加味したスクリーニングにより患者をフォローするか、市中病院に紹介するか判断しなければならなかったため、問診、触診、聴診の占める重要性は大きいという。患者の疾患としては、感染症が多い。特に腸チフス、パラチフス、細菌性赤痢、アメーバ赤痢、コレラなどの消化器感染症が多く、これはインドの衛生環境を如実に反映していると感じた。腹痛、発熱をみたらまず鑑別に腸チフスを鑑別に挙げると聞いて驚いたが、「日本には基本的に腸チフスは存在せず、輸入感染症と呼ばれている」と言うと、向こうも驚いていた。結核や狂犬病、デング熱も多く、また特に南部地方においてマラリアも一般的な病気であるという。外来ではその他糖尿病、季節性のウィルス性感冒など日本でも多い疾患もみられた。外来は夕方頃に終了し Dr はそれから昼食をとり、また市中の他の病院に外勤で診察をしに行く。クシナガラの農村地における医療需要と、それに対する医療資源の不足を目の当たりにした。



174

病院のある村

今回の実習で強く感じたのは、医療資源を適正に分配するシステムの重要性である。インドの病院が全てこれまで述べたような状況にあるわけではなく、都市部の病院や **private hospital** においては（比較的）清潔で行き届いた環境の中で、細分化された医療が提供されているのも現実である。インドではカースト制度の影響が現在に解消されたとはいえ、未だに貧富の差が激しい。お金のある人が良いサービスを受けられる、というのはある意味理にかなったことなのかもしれないが、医療とは人の生活の根底を形作る欠かせないものであり、国や制度により向上させていくべき福祉である。医療財源がない中で行われるプライマリケアの重要性と、それをとりまく医療制度の意義を改めて考えさせられる実習であった。



Dr. Gupta と

収支計算報告

交通費（飛行機）	42350 円
現地移動費用	33500 円
旅行保険費用	6320 円
ワクチン費用	25920 円
計	108090 円

< 学術講演会助成 >

第 5 回神奈川婦人科腫瘍病理研究会

古 屋 充 子

横浜市立大学大学院医学研究科医学研究科 分子病理学

- ・ 開催日:2016 年 3 月 18 日 14 時より 17 時
- ・ 場所:横浜市立大学附属病院 10 階小会議室
- ・ 参加者数:31 名

プログラムは以下の通り

演題 1 : 卵巣 Microcystic stromal tumor の一例 横浜市民病院産婦人科 山口瑞穂 先生

演題 2 : 抗酸菌感染症性腹膜炎を伴った卵管癌の一例
聖マリアンナ医科大学産婦人科学 横道憲幸 先生

演題 3 : 子宮頸部由来か体部由来か判定が困難であった子宮小細胞癌の一例 東海大学
医学部基盤診療学系病理診断学 梶原 博 先生

報告: 第二回研究会発表演題の国際誌掲載 小野響子 先生

特別講演: 婦人科癌を発症する家族性腫瘍 千葉県立がんセンター 横井左奈 先生

各演題につき 4-5 件の質疑応答があり、大変活発な研究会となった。また 特別講演では最新の診療研究知見を拝聴し、終了後も横井先生を囲んで長時間意見交換が行われた。

参加者からは好評を得ており、特に日ごろ発言や座長を経験する機会のない若手医師の育成や、直接意見交換しない臨床・病理医間の意思疎通を促すものになって定着してきた。

稀有症例についての研究情報交換や、少数症例の県内での情報共有に活用し、神奈川県全体の医学研究にも貢献する研究会に発展させていくことを確認した。

<学術講演会助成>

第 13 回日本高齢者虐待防止学会横浜大会

田 辺 有理子

横浜市立大学医学部看護学科

- 開催日時： 平成 28 年 7 月 16 日（土） 11:20-12:10
- 会場： 横浜市立大学金沢八景キャンパス シーガルホール
〒236-0027 神奈川県横浜市金沢区瀬戸 22-2
- 講演会名： 第 13 回日本高齢者虐待防止学会横浜大会 特別講演
かしこい高齢者施設の選び方
講師 松宮良典（ふくろう法律事務所 弁護士）
座長 山本克司（聖カタリナ大学）
- 参加者数： 380 名

高齢者虐待防止法制定から 10 年が経ち、医療・介護の専門職をはじめ、高齢者の介護にかかわる市民にとっても、高齢者虐待は身近な問題となっている。このたび、平成 28 年 7 月 16 日（土）に横浜市立大学金沢八景キャンパスにおいて第 13 回日本高齢者虐待防止学会横浜大会（大会長は医学部看護学科教授松下年子）が開催された。大会テーマ「高齢者虐待防止に向けた新たな挑戦」のもと、システムズ・アプローチに基づく家族支援等のあり様とともに、施設虐待を起こさない、受けないための方策や、法改正を目指して取り組むべき課題を掲示した。これらの実現をへて高齢者虐待とその対応がいかに変わり得るのか、高齢者がその人らしい生活を送れることをいかに保証し得るのかを探求する企画とした。特に川崎市の有料老人ホームにおける入所者の転落死事件もあり、高齢者施設の介護ケアの質の確保が重要な課題であり、関心も高いことから、このたび高齢者虐待防止に関連した施設の選び方について、特別講演を企画した。

貴財団の助成により、京都から高齢者施設の課題に造詣の深い弁護士の松宮良典先生を講師として招聘することができ、医療、司法、行政関係者のみならず、介護職や介護中の家族にとっても、有益な講演会を開催することができた。当日は、介護職、看護師、保健師、大学教員、司法、行政関係者、家族など、380 名が参加した。



松宮良典（ふくろう法律事務所 弁護士）



講演と会場の様子

講演要旨

1 養介護施設従事者等による高齢者虐待の現状

平成 28 年 2 月 19 日付けで、厚生労働省老健局長から、養介護施設従事者等による高齢者虐待の状況等を踏まえた対応の強化についての通知が発出された。平成 26 年度の養介護施設従事者等による高齢者虐待の相談・通報件数及び虐待判断件数が、前年度に比較して、158 件（16.4%）、79 件（35.7%）増えていること、さらに、平成 28 年 2 月 15 日に、神奈川県の有料老人ホームの元職員が、高齢者に対する殺人容疑で逮捕された（事例①）ことを踏まえたものだ。

誰でも安心できる環境で最期まで自分らしく生活したいと望んでいる。その環境を求めて介護施設を選んでいる。しかし、施設の選択を誤ると生命・健康・精神・財産等が害されてしまう。事例①のように生命まで侵害されてしまう。

高齢者施設をいかに選ぶのかに触れる前に、まずは、問題のある介護施設の例を見ていきたい。

2 有料老人ホーム、サービス付き高齢者住宅（サ高住）

（1）有料老人ホーム、サ高住とは

今、もっとも入居しやすいのは、有料老人ホーム、サ高住であろう。有料老人ホームとは、①老人を入居させ（以下「入居サービス」という）、②当該老人に対して「入浴、排せつ又は食事の介護」、「食事の提供」、「洗濯、掃除等の家事」又は「健康管理」の少なくとも一つのサービス（以下「介護等サービス」という）を供与する施設として定義されている（老人福祉法 29 条 1 項）。従って、同項の規定に基づく「届出」の有無にかかわらず、①入居サービス及び②介護等サービスの実施が認められるものは、すべて有料老人ホームに該当するものとして取り扱うことになる。

サ高住の基本形は、賃貸借契約を締結して部屋を借りて、安否確認と生活相談サービスの提供を受けるのみで、介護・看護サービスは付いていない。サ高住の中には、実質的に

有料老人ホームの定義にあてはまる場合であっても、老人福祉法上の規制を免れるために、有料老人ホームの届出をせずに、サ高住と称しているところもあるので、サ高住を選ぶ場合には、注意が必要である。

(2) 問題のある事例

平成 26 年度高齢者虐待対応状況調査結果によれば、「その他入所系」では「介護等放棄」が含まれるケースの割合が他の施設種別よりも高い《統計的有意差あり》ことが指摘されている。先の事例①は、わずか 2 か月の間に入居者 3 人が相次いで 4 階または 6 階のベランダから転落死した。ベランダの手すりの高さは 120cm あったという。その後、同施設や系列施設で、繰り返し職員による窃盗や頭をたたいて首を絞め、腰を蹴るなど暴行があったことも報道された。

他に、みなし有料老人ホームに入居している女性（70 歳代、要介護度 V）は、事業者 X と賃貸借、居宅介護支援、訪問介護、訪問看護の契約を締結し、本人は賃貸マンション 3 階に住んでいた。入居 1 年後には、脱水症の疑いが認められ、目ヤニが多く、髪がべたつき匂っていた。全身の皮膚の乾燥が強く、右上肢、腋下、陰部の掻痒感がひどかった。足はかさつき、足指の間に垢がいっぱいあった。鼻腔・口腔内の汚染が強かった。鼻腔チューブは汚れ紫色になっており、鼻垢も付いていた、寝巻は汚れが目立ち、尿臭がし、布団・シーツも汚れていた。このような状態で、施設から救出された。

サ高住（2 階）と小規模多機能型施設（1 階）併用型の施設である年の 3 月に、1 階の浴室で、認知症があり、普段から、「入浴」時「出る時、少しフラつき」があり、「お風呂入ったら体がダルイ」との話していた上に、1 週間前から食欲減退等により体調不良だった女性（80 歳代、要介護度 I、高血圧、腰が曲がり前かがみで歩行）が、職員による見守りのないまま、一人で入浴して溺死、全身が浴槽に浸かっている状態で発見された。

3 介護療養型医療施設、介護老人保健施設（老健）、特別養護老人ホーム（特養）

(1) 介護療養型医療施設、老健、特養とは

比較的安価で、介護・看護等のケアをしてもらいたいという方は、介護保険法上の施設である介護療養型医療施設（医療的ケアが常時必要な安定期の方向け）、介護老人保健施設（老健）（リハビリや特養ではできない医療的ケアが必要で、自宅に戻ることが予定されている方向け。施設によっては事実上終身というところもある）、特別養護老人ホーム（特養）（介護・看護が必要で、終身住みたい方向け。看取りまでしている施設もある）がある。

(2) 問題のある事例

ある特別養護老人ホームの男性ヘルパーから「殺すぞ」と言われたり殴られたりしたとして、元入所者の男性（76 歳）が同ホームに慰謝料 300 万円を求め、男性の家族が録音した IC レコーダーの音声データなどをもとに暴言や暴行があったと認定し、60 万円を支払うよう命じた判決があった。判決によると、ヘルパーは平成 21 年 8 月、認知症の症状がある原告男性が数分おきにナースコールを繰り返したことに立腹。男性をたたいたり「お前、

死ぬ、殺すぞ」などと暴言を吐いた（事例②）。

ある老人保健施設で、夜間看護師がいない上に、SpO₂（動脈血酸素飽和度）が90%を下回り、体温が38度を超えていたのに、夜勤の介護士が看護師や医師に連絡さえせず、誤嚥性肺炎を悪化させたケースがあった。

4 介護サービス情報公表システムの活用

上記で紹介した事例のような施設は誰も選びたくないだろう。しかし、介護サービス情報公表システムを活用すれば、簡単に問題のある施設を選択肢から外することができる。

A（*レーダーチャートは別添資料）、B 常勤率 = (常勤職員数) / (非常勤職員を常勤換算した数 + 常勤職員数)、C 介護職員の1年間の離職率 = (常勤介護職員の退職者数) / (常勤介護職員数)、D 経験年数5年以上の従業員の割合、E 第三者による評価の有無、F 常勤者の人員配置率 = (入居者数) / (常勤看護職員数 + 常勤介護職員数) の6つの指標を活用しよう。これらの指標は、A 全項目で都道府県の平均以上であること、B 常勤83.2%以上、C 15.2%以下、D 40%以上（なお、平均勤続年数は5.5年）Eは有り、F 常勤のみで2.5以内を目安にすればよい。

これらの指標を事例①、事例②についてあてはめると、以下のようになる。

チェック項目	目安	事例①の施設	事例②の施設
Aレーダーチャート	全項目で都道府県の平均以上であること	×3項目が都道府県の平均より下	○全項目都道府県の平均以上
B 常勤率	常勤 83.2%以上	×非常勤の方が多い 常勤 33 人 非常勤 40 人	△常勤 29 人 非常勤 12 人 * 常勤換算不明
C 介護職員の1年間の離職率	15.2%以下	×21.2% =7/33	×62.1% =18/29
D 経験年数5年以上の従業員の割合	40%以上 平均勤続年数は5.5年	×15.6%	×32.7%
E 第三者による評価	有り	×無し	×無し
F 常勤者の人員配置率	常勤のみで 2.5 以内	×2.7 人 =100/37	○2.42 =80/31
総括		全6項目×	3項目×

以上のように、いずれも全項目をクリアしていないのである。このように、簡単に上記施設を選択肢から外することができる。

<学術講演会助成>

第6回メディカルゲノム勉強会
我が国における遺伝性乳癌の現状と対策

宮武聡子

横浜市立大学附属病院遺伝子診療部

日時：平成28年7月28日（木）18:00-19:00

会場：横浜市立大学附属病院10階 修士講義室

演題：我が国における遺伝性乳癌の現状と対策

講師：昭和大学病院乳腺外科 教授 中村 清吾先生

共催：横浜市立大学附属病院遺伝子診療部、横浜市立大学医学研究科遺伝学教室

（メディカルゲノム勉強会は、横浜市大附属病院メディカルゲノムセンター構想の活動の一環として附属病院遺伝子診療部、医学研究科遺伝学教室で企画しております。）

参加者：25名

講演内容：

近年、家族性腫瘍における遺伝学的な知見の集積とともに、その治療法が格段に進歩してきている。家族性腫瘍の1つである遺伝性乳がん卵巣がん（Hereditary Breast and Ovarian Cancer, HBOC）症候群は、BRCA1/2の生殖細胞系列の病的変異が原因で、乳がんや卵巣がんを高率に発症する。アメリカの某女優がBRCA1変異陽性であることを自ら公表し、予防的乳房切除、卵巣・卵管切除を行ったことも、人々の関心を高めることとなった。

今回は日本HBOCコンソーシアムの理事長で、昭和大学病院乳腺外科の中村清吾教授を講師にお迎えした。日本のHBOC診療をリードする先生で、診断、治療についての主に以下の内容についてご講演いただいた。

- 1、 BRCA1/2 陽性乳がんの特徴、疫学的事項
- 2、 BRCA1/2 の遺伝子診断、家族内での拾い上げをどうするか？
- 3、 BRCA1/2 陽性乳がんの治療法、抗がん剤の選択について
- 4、 BRCA1/2 陰性、遺伝性乳がんについて
- 5、 日本HBOCコンソーシアムについて

HBOC診療における最新の知見をえることができ、大変有意義な会となった。

< 学術講演会助成 >

法医病理研究会 主催
第 23 回法医病理夏期セミナー

井濱 容子

横浜市立大学大学院医学研究科 法医学

日時：平成 28 年 8 月 5 日（金）午後 1 時～午後 7 時

平成 28 年 8 月 6 日（土）午前 9 時～午後 1 時

場所：横浜市立大学 金沢八景キャンパス YCU スクエア

参加人数：101 名

8 月 5 日（金） YCU スクエア 3 階 Y204

13:00～13:05 会長挨拶

13:05～14:15 特別講演①

座長：井濱 容子（横浜市大）

動画で解説！ミスしない脳脊髄の切り方・これだけでプロ顔！マクロ所見あれこれ

公益財団法人東京都医学総合研究所 新井 信隆 先生

14:30～15:40 特別講演②

座長：井濱 容子（横浜市大）

神経病理：コスパの良い！染色の選択・これで十分！細胞病理

公益財団法人東京都医学総合研究所 新井 信隆 先生

15:40～16:10 新井先生への質問コーナー

16:20～17:00 指定演題①

座長：林 敬人（鹿大院）

1. 巨大脳動静脈奇形を認めた頭部外傷の 1 剖検例

高山みお, 柏木正之, 原 健二, 松末 綾, Brian Waters, 池松夏紀, 久保真一（福岡大）

17:00～19:00 意見交換会 YCU スクエア 1 階ピオニーホール

8月6日(土) YCU スクエア 3階 Y204

9:00～ 9:40 一般演題

座長：池松和哉(長大院)

2. 遊具の打撲に起因する延髄周囲の硬膜下血腫が見逃された例

平山菜穂¹⁾, 鶴沼香奈¹⁾, 槇野陽介²⁾, 渡邊 嶺¹⁾, 小松亜由美¹⁾, 上村公一¹⁾

(¹⁾医歯大, ²⁾東大)

9:40～10:20 指定演題②

座長：高宮正隆(岩手医大)

3. 皮質動脈破綻による亜急性特発性硬膜下血腫の1例

舟山一寿¹⁾, 原田一樹²⁾, 高橋直也³⁾, 青山 崇¹⁾, 樋口涼子¹⁾, 渡辺 拓¹⁾, 川井 桂¹⁾,

高塚尚和¹⁾ (¹⁾新潟大院, ²⁾防医大, ³⁾新潟大院放射線技術科学)

10:30～12:00 特別講演③

座長：原田 一樹(防医大)

神経病理：応用編(クイズ含む)

公益財団法人東京都医学総合研究所 新井 信隆 先生

12:00～12:30 新井先生への質問コーナー

12:30～12:35 閉会挨拶

< 学術講演会助成 >

がん遺伝子検査キックオフミーティング開催報告

加藤真吾

横浜市立大学医学部 肝胆膵消化器病学

開催日時: 10月6日(木) 19時～20時

場所: 附属病院 10階臨床講堂

参加者: 30名

【主旨】

がん患者さんのがん関連遺伝子変異を網羅的に解析することによって、その患者さんに最適な抗がん薬を調べる「がんクリニカルシーケンス検査」の当院における導入が決定した。

本検査は、今までは存在しなかった概念の検査であり、国内では非常に限られた施設しか導入していない。このため、当院での開始に伴い、日本で初めてクリニカルシーケンスを導入した京都大学の武藤教授をお招きし、キックオフミーティングを企画した。また、当院へ導入予定の検査であるMSK-IMPACTを開発した研究室に留学されていた、東京大学の高阪先生に検査の説明をして頂くこととした。

【プログラム】

Opening Remarks 19:00～

横浜市立大学肝胆膵消化器病学 教授 中島 淳 先生

一般演題 19:10～19:20

がんゲノム医療の未来と課題

～MSK-IMPACT 10,000例で明らかになったこと～

演者: 東京大学大学院医学系研究科生化学・分子生物学講座 ゲノム医学講座
特任助教 高阪 真路 先生

特別講演 19:20～20:00

クリニカルシーケンスの臨床実装とネットワーク構築

演者: 京都大学大学院医学研究科 腫瘍薬物治療学講座
教授 武藤 学 先生



【講演を終えて】

講演当日は、以下の通り様々な診療科の先生方、そして事務の方と学生さんにお越し頂くことが出来た。院内の関心は非常に高いものと思われた。

＜参加者所属一覧＞

消化器・肝移植外科、一般外科、肝胆膵消化器内科、呼吸器内科、血液内科、小児科、産婦人科、臨床腫瘍科、耳鼻科、口腔外科、泌尿器科、病理部、遺伝子診療部、整形外科、脳外科、医学部学生、医事課

診療科の枠を超えて活発な議論が行われ、非常に有意義な会となった。

クリニカルシーケンスは間違いなく将来的には一般的な検査になると考えられるが、それに先駆けて当院で導入できたことは、極めて意義深い。今回の講演会で、院内に検査の存在を周知できたことで、今後の診療がスムーズに進むものと思われる。

本件に助成を頂き、心より御礼申し上げます。

ご寄附のお願い

財団事業を資金面で支えているのは、皆様からのご寄附と財団経営売店の売上利益です。

ご寄附は、売店の利益全額と併せて、医学・医療の研究助成や医学教育の改善助成、学生の海外研修助成などに使われます。

「がんの研究のために」など、ご寄附の用途を限定することも可能です。(指定寄附)

ご寄附のお申込みは、随時、財団事務局でお受けいたします。

Tel.045-788-8635

メールアドレス：igakuz@af.wakwak.com

HP アドレス：<http://www.ysogoigaku.com/>