### 令和元年度財団助成

# 研究等報告書集

学生自主的活動助成•学術講演会助成報告書掲載

一般財団法人横浜総合医学振興財団

#### 目 次

#### I 推進研究助成

第15グループ(平成29年度~令和元年度継続助成終了)

#### ①立 石 健 祐

「IDH1 変異が及ぼす DNA 修復機構変化の解明と合成致死に基づく治療法の開発」

#### ②蓮 見壽 史

「Birt - Hogg - Dubē (BHD)関連腎癌をモデルとした新規腎癌治療薬開発のための創薬基盤確立 |

#### ③宮川 敬

「HIV 潜伏感染に関わる宿主因子の探索と機能解析」

#### Ⅱ わかば研究助成

#### ①増 川 太 輝

「L-DOPA 受容体 GPR143 とアドレナリン  $\alpha$  1 受容体との機能連関およびその生体内役割の解析」

#### ②橋口俊太

「脊髄小脳失調症 42 型のモデルマウスを用いた神経変性分子病態基盤の解明と治療法 開発」

#### ③三 留 拓

「FLCN とクロマチン再構成遺伝子群のダブルノックアウトによる BHD 関連腎癌新規マウスモデルの構築及びクロマチン因子の解析」

#### ④中鍛治 里 奈

「新規磁性抗癌剤を用いた口腔癌治療法の開発」

#### ⑤笹 目 丈

「中枢神経系原発悪性リンパ腫におけるミクログリアが腫瘍形成に及ぼす機構の解明と新規治療法の開発」

#### ⑥関原和正

「M2 マクロファージおよび骨髄由来免疫抑制細胞の口腔がん予後予測マーカーとしての可能性」

#### ⑦栗 田 裕 介

「サルコペニアマウスモデルを用いた骨格筋量が膵癌化学療法に与える影響の解析」

#### ⑧乙 竹 泰

「単球、マクロファージにおける IRF8 発現異常を軸とした全身性強皮症における血管障害の病態解明」

#### ⑨大 竹 慎 二

「チロシンキナーゼ遺伝子 ALK の変異から起こる腎癌発生機序の解明と新規腎癌治療薬 創薬基盤の確立」

#### ⑩古 宮 裕 泰

「単球系細胞から捉えた神経変性疾患の病態機序解明」

#### ⑪福 永 久 典

「微小管の重合反応に対する放射線影響の検討」

#### 迎三 宅 茂 太

「DNA 修復機構を標的とした IDH 変異神経膠腫に対する特異的治療の開発」

#### Ⅲ 医療技術研究助成

#### ①馬 場 薫

「特別養護老人ホームに勤務する看護職の就業継続意向に関連する要因の検討」

#### ②大 澤 翔 (研究途中のため報告書掲載は令和3年度予定)

「看護師によるマスク換気におけるヘッドバンドの使用がマスクフィットに与える影響-気道 シミユレーターを用いたクロスオーバー試験-」

- ③大 浦 令未奈 (研究途中のため報告書掲載は令和3年度予定) 「学童期にある小児慢性腎臓病の子どもの治療アドヒアランスの実態とその関連要因」
- ④菅野雄介(研究途中のため報告書掲載は令和3年度予定) 「がん診療連携拠点病院におけるがん看護の質の維持・向上に向けた経年的評価システムの構築に関する研究」

#### Ⅳ 医学•医療関連事業助成

#### ①山 田 顕 光

「乳癌多施設共有データベースの構築」

#### ②片 山 佳代子

「神奈川県におけるがん教育外部講師の確保・養成・研修支援に関する取組み」

#### ③畑 千 秋

「地域がん診療連携拠点病院におけるがん患者と家族へのオリエンテーションプログラムの 開発」

#### ④西 巻 滋

「横浜市立大学附属 2 病院で出生した母子の母乳率調査(母親の電子端末を使用した研究)」

#### ⑤十.肥.真.奈

「高齢心不全患者に対する advance care planning (ACP)実践状況と実践を促進、阻害する要因の整理」

#### V 指定寄附研究助成

①平成30年度心臟疾患

南 智行

「中枢吻合"Pouch 法"を用いた遊離右内胸動脈(free RITA)の早期、遠隔期成績及び開存率の検討」

②腎臓がん関係

軸屋良介

「FLCN/Fnip1/Fnip2遺伝子群のノックアウトマウスを用いた機能解析」

#### VI 学生自主的活動助

①「インドネシアフィールドワーク及び IACSC 学会発表」

大田悠加

大谷紗良

桐原ゆい

小 山 茜

細 川 真由子

②「米国の大学・附属病院における重症、希少疾患患者に対する高度看護実践と教育・研究に関する研修」

篠﨑澪

渡 辺 も え

沼 田 日菜子

③「日本解剖学会総会全国学術集会」参加と学生セッションにおいての研究成果発表 (新型コロナウイルス感染症の影響により現地開催中止)

阿部直樹

山田康平

青 木 谣

古川大期

川 内 翔一朗

柳瀬桃子

藤井拓海

内山琴音

#### VII 学術講演会助成

① 五嶋良郎

「神経生物学セミナー(主催:分子薬理神経生物学)」

② 宮城 悦子

「女性医学セミナー」

- ③ 古屋 充子 (新型コロナウイルス感染症の影響により中止) 「第8回神奈川婦人科臨床病理研究会」
- ④ 石上 友章

「第16回漢方医学ユニット合同研修会」

- ⑤ 富澤信一 (新型コロナウイルス感染症の影響により中止)「Epigenetics and Chromatin Dynamics Meeting 第4回」
- ⑥ 富澤信一 (新型コロナウイルス感染症の影響により中止)「Epigenetics and Chromatin Dynamics Meeting 第5回」

※目次の課題名等は研究助成申請時のものです。

#### <推進研究助成>

(IDH1変異が及ぼす DNA 修復機構変化の解明と合成致死に基づく治療法の開発)

(立石 健祐 1)

(Daniel P. Cahill<sup>2</sup>, 山本哲哉 <sup>1</sup>)

(1横浜市立大学大学院医学研究科脳神経外科学

<sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Massachusetts General Hospital)

#### 抄録

神経膠腫 (glioma)は成人悪性脳腫瘍の代表的疾患であり、概して予後不良である。Gliomaには最も予後不良な glioblastoma (初発時より悪性)に加えて、低悪性度病変から次第に悪性化する astrocytoma, oligodendroglioma が含まれる。後者にはほぼ全例において IDH 変異(そのほとんどは IDH1<sup>R132</sup>変異)が存在し、これらの腫瘍発生に関わる重要な遺伝子異常であることが判明している。このことからも glioma 制御の観点上極めて重要な遺伝子異常と認識されている。研究代表者らは glioma に対し、特に IDH1 変異を標的とした治療法の開発に取り組んできた。本研究では特に IDH1 変異が誘導する NAD+代謝異常に着目し、NAD+合成経路と消費経路の両方向から NAD 枯渇を促進させるアプローチによる治療法の可能性を提唱した。また NAD 合成阻害剤の脳腫瘍を標的とした実臨床化に向けた改良、放射線治療との併用効果を目指した治療法、分子標的治療による抗腫瘍効果の可能性などをこれまでに独自に樹立し新たに当施設で樹立した脳腫瘍細胞株などを通じて報告してきた。これらの研究成果は glioma に共通して認められる IDH1<sup>R132H</sup> 変異を標的とした神経膠腫に対する独創的治療アプローチにつながることが期待される。

#### <推進研究助成>

(IDH 1 変異が及ぼす DNA 修復機構変化の解明と合成致死に基づく治療法の開発)

#### (立石 健祐1)

(Daniel P. Cahill<sup>2</sup>, 山本哲哉 <sup>1</sup>)

(1横浜市立大学大学院医学研究科脳神経外科学、

<sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Massachusetts General Hospital)

#### 1. 目 的

代表的な脳原発性悪性腫瘍である神経膠腫(glioma)において IDH1 遺伝子変異(IDH1<sup>Pl32</sup>)が腫瘍発生初期段階で高率に生じることが知られている <sup>1</sup>。神経膠腫における IDH1 変異は、単に腫瘍発生進展に重要であるのみならず同変異を治療標的とした治療法の開発が治療成績の向上に寄与することが期待されている。研究代表者らはこれまで樹立困難とされてきた患者由来 IDH1 変異 glioma 細胞株作成に成功しており、独自に樹立した細胞株を用いて IDH1 遺伝子変異がもたらす NAD+の代謝性変化を見出すとともに、 NAD 合成阻害剤(NAMPT 阻害剤)を用いた NAD+枯渇による腫瘍制御法を提唱した(Tateishi K et al. Cancer Cell. 2015)。また IDH1 変異 glioma の悪性転化に関わる MYC遺伝子の過剰発現が解糖系代謝を促進させることから,NAD 依存性の解糖系酵素を阻害で強力な抗腫瘍効果を生じることを明らかにした(Tateishi K et al. Clin Cancer Res. 2016)。更にアルキル化剤 temozolomide(TMZ)を併用することで NAD+依存性の DNA 修復酵素 PARP の活性化を通じた NAD+枯渇が促進し細胞死が生じることを見出した <sup>2</sup>。これらの結果、glioma において、IDH1 変異が誘導する NAD+代謝性変化を利用した治療法は将来の臨床応用につながる可能性が見出された。そこでこれらの遺伝子異常に基づく代謝特性を応用することでより発展した治療法の開発を本研究の目的に掲げた。

#### 2. 方 法

樹立した *IDH1* 変異 glioma 細胞株用いて細胞・動物実験、分子遺伝学的解析、分子生物学的解析、 プロテオミクス解析などを行った。

#### 3. 結 果

#### 1. IDH1 変異が及ぼす代謝機構変化の解明

IDH1 変異神経膠芽腫幹細胞に対し TMZ を投与したところ、濃度依存性に細胞毒性を誘導することが判明した。ただし細胞増殖抑制効果は数日後以降に生じ、これは本来の TMZ の薬理作用によるものと考えられた。一方 TMZ 投与直後より数時間以内に細胞内 PARP 活性の上昇とともに代謝産物である poly ADP-ribose (PAR)が過剰に産生された。更には PARP 活性と連動し NAD+消費が生じることが判明した。これらの現象は PARP 阻害剤である olaparib にて拮抗が生じたことから PARP 活性依存性であることが判明した。このことは TMZ 投与後急速に生じる DNA メチル基負荷に対する修復機構が潜在的な治療標的となりうることを示唆する結果であった  $^2$ 。これに対して別のアプローチとして PARP の代謝産物である PAR の分解酵素 PARG を抑制することで PAR の過剰発現を通じて NAD+低下が促進されることが判明した  $^3$ 。

#### 2. TMZ と NAMPT 阻害剤あるいは PARG 阻害剤併用による細胞毒性効果の検討

次に IDH 1 変異細胞株に対し TMZ と NAMPT、PARG 阻害剤を併用投与したところ、いずれの細胞においても TMZ の濃度依存性に併用効果が生じることが判明した。この現象は IDH1 野生型細胞株や isogenic model (IDH1 変異非発現) では認められなかったことからも IDH1 変異細胞において特に併用効果が期待できることが示唆された。また NAD+は NAMPT 阻害剤、TMZ 単独と比較し、併用下では強力に抑制されることが併せて判明した。また PARG 阻害と TMZ 併用でも同様の所見が見いだされた  $^3$ 。

- 3. ヒストン脱アセチル化酵素 SIRT1 の活性化は NAD低下を促進させ、抗腫瘍効果を発揮する。 SIRT1 は anti-aging に関わる重要な分子である。p53 の脱アセチル化等に関わるが、NAD 消費を通じて SIRT の活性化が生じる。そのため SIRT 活性化を SIRT activator (STAC)あるいは強制発現モデルを作成し誘発させることで NAPMT 阻害剤との強力な併用効果が発揮されることを確認した。原理は上記の PARP 活性同様 NAD 枯渇による代謝障害が主因であった 4。
- 4. Oligodendroglioma における PI3K/AKT/mTOR pathway 関連遺伝子異常の重要性 樹立が極めて困難とされる oligodendroglioma (OD) PDX モデルを複数樹立することに成功した。

この研究を通じて OD の悪性化に PI3K/AKT/mTOR pathway 活性化に関わる遺伝子異常が果たす役割を見出すとともに、同経路を阻害することで強力な抗腫瘍効果が見いだせること、更には上述の TMZ と NAMPT 阻害剤の併用効果が OD においても認められることを明らかにした  $^5$ 。

#### 5. NAMPT 阻害剤局所投与法の開発

NAMPT 阻害剤の全身的毒性を克服すべく、マイクロパーティクルに封入した薬剤を開発しIDH1 変異脳腫瘍モデルに対して投与したところ、局所治療での著明な抗腫瘍効果が見いだされた。また迅速に IDH 変異を判定するシステムを作成した。これにより局所治療の可能性を提唱するに

至った6。

#### 6. PDX モデルを通じてその他明らかにしたこと

PDX モデルを通じて、*IDH1* 変異が誘導する glutamine 代謝機構変化の解明<sup>7</sup>、DLL3 を標的とした治療法の提唱<sup>8</sup>や *BRAF*変異などの MAP キナーゼ活性化による小児脳腫瘍形成機構の解明<sup>9,10</sup>、中枢神経原発悪性リンパ腫などの腫瘍形成機序の解明<sup>11,12</sup>などを図った。

#### 4. 考 察

これまでの研究及び本研究により、NAD+代謝は IDH1 変異 glioma に対する強い細胞抑制標的であることが判明した。このことは IDH1 変異を標的とした将来の個別化医療に向けた有力な標的であることを示唆するものである。一方で NAMPT 阻害剤の毒性については従来から指摘されており、この毒性を克服しなければ臨床応用は困難な状況にあった。これを克服するために NAMPT 阻害剤の局所への投与法、TMZ との併用療法、NAMPT 阻害以外のアプローチによる治療法を開発した。これらの研究成果は glioma に対する未来の治療アプローチとして多くの論文に引用されるに至っている。これらの成果を元に今後数年以内に IDH1 変異神経膠腫に対する新たな治療法を確立することを次なる研究目標に掲げる。なお本研究の成果の多くは本学にて、また国際共同研究を通じて見いだされたものである。

#### 5. 論文及び学会発表(研究会を含む)

#### 論文発表

- 1. <u>Tateishi K</u>, Wakimoto H and Cahill DP. IDH1 Mutation and World Health Organization 2016 Diagnostic Criteria for Adult Diffuse Gliomas: Advances in Surgical Strategy. *Neurosurgery*. 2017;64:134-138.
- 2. <u>Tateishi K</u>, Higuchi F, Miller JJ, Koerner MVA, Lelic N, Shankar GM, Tanaka S, Fisher DE, Batchelor TT, Iafrate AJ, Wakimoto H, Chi AS and Cahill DP. The Alkylating Chemotherapeutic Temozolomide Induces Metabolic Stress in IDH1-Mutant Cancers and Potentiates NAD(+) Depletion-Mediated Cytotoxicity. *Cancer Res.* 2017;77:4102-4115.
- 3. Nagashima H, Lee CK, <u>Tateishi K</u>, Higuchi F, Subramanian M, Rafferty S, Melamed L, Miller JJ, Wakimoto H and Cahill DP. Poly(ADP-ribose) glycohydrolase inhibition sequesters NAD+ to potentiate the metabolic lethality of alkylating chemotherapy in IDH mutant tumor cells. *Cancer Discov*. 2020.
- 4. Miller JJ, Fink A, Banagis JA, Nagashima H, Subramanian M, Lee CK, Melamed L, Tummala SS, <u>Tateishi K</u>, Wakimoto H and Cahill DP. Sirtuin activation targets IDH-mutant tumors. *Neuro Oncol*. 2020.
- 5. <u>Tateishi K</u>, Nakamura T, Juratli TA, Williams EA, Matsushita Y, Miyake S, Nishi M, Miller JJ, Tummala SS, Fink AL, Lelic N, Koerner MVA, Miyake Y, Sasame J, Fujimoto K, Tanaka T, Minamimoto R, Matsunaga S, Mukaihara S, Shuto T, Taguchi H, Udaka N, Murata H, Ryo A, Yamanaka S, Curry WT, Dias-Santagata D, Yamamoto T, Ichimura K, Batchelor TT, Chi AS, Iafrate AJ, Wakimoto H and Cahill

- DP. PI3K/AKT/mTOR Pathway Alterations Promote Malignant Progression and Xenograft Formation in Oligodendroglial Tumors. *Clin Cancer Res.* 2019;25:4375-4387.
- 6. Shankar GM, Kirtane AR, Miller JJ, Mazdiyasni H, Rogner J, Tai T, Williams EA, Higuchi F, Juratli TA, <u>Tateishi K</u>, Koerner MVA, Tummala SS, Fink AL, Penson T, Schmidt SP, Wojtkiewicz GR, Baig A, Francis JM, Rinne ML, Batten JM, Batchelor TT, Brastianos PK, Curry WT, Jr., Barker FG, 2nd, Jordan JT, Iafrate AJ, Chi AS, Lennerz JK, Meyerson M, Langer R, Wakimoto H, Traverso G and Cahill DP. Genotype-targeted local therapy of glioma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115:E8388-E8394.
- 7. McBrayer SK, Mayers JR, DiNatale GJ, Shi DD, Khanal J, Chakraborty AA, Sarosiek KA, Briggs KJ, Robbins AK, Sewastianik T, Shareef SJ, Olenchock BA, Parker SJ, <u>Tateishi K</u>, Spinelli JB, Islam M, Haigis MC, Looper RE, Ligon KL, Bernstein BE, Carrasco RD, Cahill DP, Asara JM, Metallo CM, Yennawar NH, Vander Heiden MG and Kaelin WG, Jr. Transaminase Inhibition by 2-Hydroxyglutarate Impairs Glutamate Biosynthesis and Redox Homeostasis in Glioma. *Cell*. 2018;175:101-116 e25.
- 8. Spino M, Kurz SC, Chiriboga L, Serrano J, Zeck B, Sen N, Patel S, Shen G, Vasudevaraja V, Tsirigos A, Suryadevara CM, Frenster JD, <u>Tateishi K</u>, Wakimoto H, Jain R, Riina HA, Nicolaides T, Sulman EP, Cahill DP, Golfinos JG, Isse K, Saunders LR, Zagzag D, Placantonakis DG, Snuderl M and Chi AS. Cell surface Notch ligand DLL3 is a therapeutic target in isocitrate dehydrogenase mutant glioma. *Clin Cancer Res.* 2018.
- 9. <u>Tateishi K</u>, Ikegaya N, Udaka N, Sasame J, Hayashi T, Miyake Y, Okabe T, Minamimoto R, Murata H, Utsunomiya D, Yamanaka S and Yamamoto T. BRAF V600E mutation mediates FDG-methionine uptake mismatch in polymorphous low-grade neuroepithelial tumor of the young. *Acta Neuropathol Commun.* 2020;8:139.
- 10. <u>Tateishi K</u>, Nakamura T and Yamamoto T. Molecular genetics and therapeutic targets of pediatric low-grade gliomas. *Brain Tumor Pathol*. 2019;36:74-83.
- 11. Nakamura T, Fukuoka K, Nakano Y, Yamasaki K, Matsushita Y, Yamashita S, Ikeda J, Udaka N, Tanoshima R, Shiba N, <u>Tateishi K</u>, Yamanaka S, Yamamoto T, Hirato J and Ichimura K. Genome-wide DNA methylation profiling shows molecular heterogeneity of anaplastic pleomorphic xanthoastrocytoma. *Cancer Sci.* 2019;110:828-832.
- 12. <u>Tateishi K</u>, Miyake Y, Kawazu M, Sasaki N, Nakamura T, Sasame J, Yoshii Y, Ueno T, Miyake A, Watanabe J, Matsushita Y, Shiba N, Udaka N, Ohki K, Fink AL, Tummala SS, Natsumeda M, Ikegaya N, Nishi M, Ohtake M, Miyazaki R, Suenaga J, Murata H, Aoki I, Miller JJ, Fujii Y, Ryo A, Yamanaka S, Mano H, Cahill DP, Wakimoto H, Chi AS, Batchelor TT, Nagane M, Ichimura K and Yamamoto T. Hyperactive RelA/p65-hexokinase 2 signaling axis drive primary central nervous system lymphoma. *Cancer Res.* 2020.

#### 学会発表,筆頭演者のみ

1. 立石健祐, 三宅勇平, 河津正人, 佐々木重嘉, 吉井幸恵, 笹目丈, 永根基雄, 市村幸一.

- NF-kB 経路の活性化は PCNSL の中枢神経浸潤を促進させる. 第 38 回日本脳腫瘍病理学会 (シンポジウム), 東京, 2020. 9.
- 2. <u>立石健祐</u>, 山本哲哉. 研究成果がもたらす脳腫瘍分生物学の進展と課題. 第 40 回日本脳神経外科コングレス (招待講演), 金沢, 2020. 8.
- 3. 立石健祐, 佐々木重嘉, 河津正人, 三宅勇平, 中村大志, 吉井幸恵, 松下裕子, 山中正二, 山本哲哉, 脇本浩明, 永根基雄, 市村幸一. ヒト由来中枢神経原発悪性リンパ腫細胞株を 用いた腫瘍発生進展機構の解明、治療法探求のためのトランスレーショナル研究. 第 37 回日本脳腫瘍学会学術総会(シンポジウム, Top Scoring Abstract), 金沢, 2019.12.
- 4. <u>立石健祐</u>; 脳腫瘍幹細胞株の樹立と遺伝子異常を標的とした治療法開発に向けたトランスレーショナル研究. 横浜市立大学大学院医学セミナー(教育講演), 横浜, 2019, 10.
- <u>Tateishi K</u>, Nakamura T, Juratli TA, Miyake S, Yamanaka S, Yamamoto T, Ichimura K, Wakimoto H, Cahill DP. PI3 kinase pathway alterations promote tumor progression and xenograft formation in oligodendroglial tumors. ASNO meeting, Taipei, 2019, 9.
- 6. <u>立石健祐</u>, 三宅茂太, 三宅勇平, 笹目丈, 中村大志, 山本哲哉. ヒト由来脳腫瘍細胞株を 用いた前臨床研究-多施設共同研究の進捗状況について- 神奈川脳神経外科懇話会, 横浜, 2019.7.
- 7. <u>立石健祐</u>. 小児脳腫瘍の up to date と脳腫瘍研究グループの紹介. 横浜小児血液腫瘍 Meeting (特別講演), 横浜, 2019, 6.
- 8. <u>立石健祐</u>, 佐々木重嘉, 河津正人, 三宅勇平, 中村大志, 吉井幸恵, 松下裕子, 山中正二, 山本哲哉, 脇本浩明, 永根基雄, 市村幸一. ヒト由来中枢神経原発悪性リンパ腫細胞株を 用いた腫瘍発生進展機構の解明、治療法探求のためのトランスレーショナル研究. 第 20 回日本分子脳神経外科学会(シンポジウム), 名古屋, 2019, 5.
- 9. <u>立石健祐</u>,中村大志,山本哲哉,市村幸一, Iafrate AJ, 脇本浩明, Cahill DP. PI3K/AKT/mTOR経路の遺伝子異常は oligodendroglioma の悪性化に関与する.第 36 回日本 脳腫瘍学会学術総会 (シンポジウム),小田原, 2018.12.
- 10. <u>Tateishi K</u>, Nakamura T, Fink A, Lelic N, Matsushita Y, Koerner M, Murata H, Ichimura K, Batchelor T, Yamamoto T, Chi A, Iafrate J, Wakimoto H, Cahill D: : PI3 kinase pathway activation promotes malignant progression in oligodendroglial tumors. 23<sup>rd</sup> Annual Meeting of the society for Neuro-Oncology (Symposium). New Orleans, 2018.11.
- 11. <u>Tateishi K</u>, Nakamura T, Miyake S, Matsushita Y, Miyake Y, Yamanaka Sm Yamamoto T, Chi AS, Ichimura K, Wakimoto H, Cahill DP: PI3K pathway activation to promote malignant progression in oligodendroglial tumor. 第 77 回日本脳神経外科学会学術総会 (シンポジウム), 仙台, 2018.10.
- 12. <u>Tateishi K</u>: Pediatric invasive glioma DIPG. The 5<sup>th</sup> International Symposium of Brain Tumor Pathology (Keynote lecture), Hakone, 2018.9.
- 13. Tateishi K, Nakamura T, Miyake S, Matsushita Y, Miyake Y, Yamanaka Sm Yamamoto T, Chi AS,

Ichimura K, Wakimoto H, Cahill DP: PI3K pathway activation to promote malignant progression in oligodendroglial tumor.19<sup>th</sup> International Congress of Neuropathology (Symposium), Tokyo, 2018.9.

- 14. <u>立石健祐</u>: IDH1 変異神経膠腫の分子生物学的特徴と遺伝子変異を標的とした治療法の開発. 第 19 回日本分子脳神経外科学会 (イブニングセミナー特別講演), 大阪, 2018.8.
- 15. 立石健祐: 脳腫瘍幹細胞モデル樹立を通じた個別化医療への挑戦. 新潟脳神経研究会特別例会 (特別講演), 新潟, 2018.6.
- 16. <u>立石健祐</u>, 中村大志, 村田英俊, 山本哲哉: 脳脊髄腫瘍のバイオマーカーの探索と標的治療開発に向けた遺伝子解析及びヒト由来脳腫瘍細胞株を用いた前臨床研究. 多施設共同研究のご案内. 神奈川脳神経懇話会, 横浜, 2018.2.
- 17. <u>立石健祐</u>: Novel therapeutic strategy in IDH1 mutant gliomas targeted for deregulated NAD+ metabolism. 癌と代謝研究会. 東京, 2018.1.

#### <推進研究助成>

(申請書記載の課題名)

Birt-Hogg-Dubé (BHD)関連腎癌をモデルとした新規腎癌治療薬開発のための創薬基盤確立

(報告者名) 蓮見壽史

( 共同研究者名も併記 )

軸屋良介、三留拓、大竹慎二、川浦沙知、野口剛、磯野泰大、桑原達 辰野健二、伊藤悠亮、村岡研太郎、林成彦、槙山和秀、近藤慶一、中井川昇 折舘伸彦、油谷浩幸、古屋充子、矢尾正祐

(所属部科名)泌尿器科学

Birt-Hogg-Dubé (BHD) 症候群は腎細胞癌、皮膚線維毛包腫、肺嚢胞を3徴とする常染色体優性遺伝性の腫瘍多発疾患であり、原因遺伝子として folliculin (FLCN)が同定されていますが、FLCN 欠失下における腎腫瘍化機構は明らかにされていません。そこで本研究では、ヒト BHD 関連腎癌検体を用いた全エクソーム解析を行うと同時に、FLCN ノックアウトマウスを用いた分子生物学的解析を行いました。全エクソーム解析の結果、BHD 関連腎癌は Copy Number Variation (CNV) の変動が少ないこと、クロマチン再構成遺伝子群の変異が多いことが明らかとなりました (Hasumi et al. Hum Mol Genet 2018)。さらに、FLCNの唾液腺における欠失が、核酸合成とミトコンドリア代謝の亢進を引き起こし、唾液腺の嚢胞形成や腫瘍化を引き起こしている可能性が明らかとなりました (Isono et al. BBRC 2020)。これらの結果は、BHD 症候群の診療に役立つだけでなく、新規腎癌治療薬の開発に役立つと考えられます。

#### <推進研究助成>

(申請書記載の課題名)

Birt-Hogg-Dubé (BHD)関連腎癌をモデルとした新規腎癌治療薬開発のための創薬基盤確立

(報告者名) 蓮見壽史

( 共同研究者名も併記 )

軸屋良介、三留拓、大竹慎二、川浦沙知、野口剛、磯野泰大、桑原達 辰野健二、伊藤悠亮、村岡研太郎、林成彦、槙山和秀、近藤慶一、中井川昇 折舘伸彦、油谷浩幸、古屋充子、矢尾正祐

(所属部科名)泌尿器科学

本文には次の項目について記載して下さい。

#### 1. 目 的

腎癌は根治切除が不可能な進行例の場合、発見後の5年生存率は0~10%と非常に予後不良な疾患ですが、これは他癌腫と比べて、個々の遺伝子変異に応じた精密医療の開発が不十分であるためと考えられます。その背景には、遺伝性腎癌の家系解析や散発性腎癌のゲノム解析から同定された VHL, PBRM1, BAP1, SETD2, FLCN, FH, SDHB などの癌抑制遺伝子や ALK, MiTF などの癌遺伝子の中から、腎癌全体の8割ほどで変異が認められる VHL 遺伝子の機能解析が優先的に進められる一方、VHL以外の腎癌関連遺伝子の機能解析はまだほとんど手が付けられていない、という歴史的経緯があります。 VHL 複合体の機能不全を理論的根拠として開発、使用されている血管新生阻害剤は、全身臓器の血管にもダメージを与えるため長期使用では患者さんの活力そのものを奪う一方でその効果が限定的であり、腎癌の分子背景とは無関係に開発された免疫チェックポイント阻害剤(ICI)にそのファーストラインとしての地位を奪われつつあります。しかも ICI の恩恵を受ける腎癌患者さんの割合もまた限定的です。

以上から、これからの新規腎癌治療薬開発のためには、VHL 以外の腎癌関連遺伝子の変異によって引き起こされる遺伝性希少性腎癌の研究へシフトする必要があると考えられます。遺伝性希少性腎癌の一つである Birt-Hogg-Dubé (BHD)症候群は、FLCN の生殖細胞系列変異によって引き起こされ、腎細胞癌、皮膚線維毛包腫、肺嚢胞を 3 徴とする常染色体優性遺伝性の腫瘍多発疾患ですが、FLCN 欠失下における腎腫瘍化機構は明らかにされていません。そこで、本研究では、ヒト BHD 症

候群関連腎癌の全エクソーム解析や、FLCN ノックアウトマウスを用いた分子生物学的な解析を行いました。また、BHD 症候群における全身徴候は完全には明らかにされておらず、特に BHD 症候群と頭頚部腫瘍との関連は議論のあるところとなっております。そこで、本研究では BHD 症候群患者の頸部スクリーニングおよび唾液腺特異的 FLCN ノックアウトマウスの作成を行い、その表現型の解析を行いました。

#### 2. 方 法

当院は全国における BHD 関連腎癌の診療拠点となっており、手術をご希望される BHD 関連腎癌の患者さんが全国から来院されます。本研究では全国から集まった Birt-Hogg-Dubé (BHD)症候群患者から外科的切除された BHD 関連腎癌の内、15 症例、29 検体について、東京大学先端科学技術研究センター・ゲノムサイエンス分野(油谷浩幸 博士)との共同研究にて、次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析を行いました。また、BHD 関連腎癌における代謝経路の変化を調べるために、LC/MS によるメタボローム解析を行いました。

さらに、BHD 症候群と頭頚部腫瘍の関連の有無を調べるために、BHD 症候群患者の頸部超音波スクリーニングを行うと同時に、唾液腺特異的 FLCN ノックアウトマウスの作成を行い、その表現型の解析を行いました。

#### 3. 結 果

既報の通り BHD 症候群関連腎癌は様々な組織型を示すことが、H&E 染色にて確認されました (Figure 1)。

Figure 1

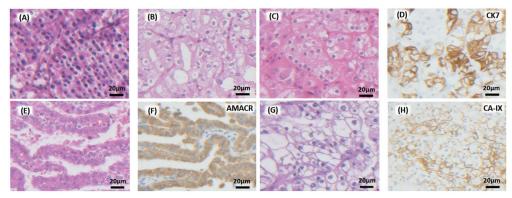


Figure1. BHD 関連腎癌にみられる様々な組織型

- (A) Oncocytoma. (B) Chromophobe renal cell carcinoma (chRCC).
- (C) Hybrid oncocytic/chromophobe tumor (HOCT). (D) cytokeratin 7

10 11 12 13 14 15

(CK7)免疫染色. (E)Papillary renal cell carcinoma (pRCC). (F) α-methylacyl-CoA (AMACR) 免疫染色. (G)Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC). (H) CA-IX 免疫染色

FLCN は AMPK/mTOR 経路やミトコンドリア代謝経路を介して細胞内の 代謝と密接に関わることが明らかになってきましたが、腎臓特異的 FLCN ノックアウトマウスは多発嚢胞様腎過形成を引き起こすのみで癌 の発生は見られませんでした(Baba et al., JNCI2008)。そこで我々は、 多段階発癌における FLCN 変異以外の遺伝子変異を明らかにするために、 BHD 関連腎癌組織検体を用いた全エクソーム解析を行い、FLCN 変異以 外のドライバー遺伝子候補を同定しました(Figure 2)。

Figure 2 Patient No. 59T12 59T14 59T15 Pathway

HC HC HC ON CI 38TI 42TI 42T2 #3T Histology
ARID1B
ARID3B
BAHCC1
BAZ1A
BAZ2B
CREBBP
DOT1L
EID1
HISTIHID Chromatin remodeling Chromatin remodeling Chromatin remodeling 0.5 0.2 0.6 Chromatin Chromatin 0.8 0.2 Chromatin Chromatin Chromatin 0.6 HIST1H1D HIST1H2AB HMGXB4 0.5 Chromatin remodeling
DNA methylation
DNA methylation
DNA repair
DNA repair ING2
JARID2
MLL2
NCOR2
PHF17
SAP130
SETD7
SMARCAL
SMARCD3
SUPT7L
TOX3
ZZZ3
DIP2B
GLYR1
PDS5B 0.4 0.3 0.4 PDS5B ATAD5 BOD1L RHN01 FAAP100 CREBBP 0.5 0.4 DFNA5 DTX3L ERCC2 HLTF 0.2 HUTE1 0.9 MSH3 Rad23a 0.5 TEL02 0.3 0.7 0.5

Figure 2. BHD 関連腎癌における体細胞性変異

クロマチン再構成遺伝子および DNA 修復などに関連する遺伝子変異を 示します。数字は腫瘍率で補正された Allelic variation を示します。 Ho; Hybrid oncocytic/chromophobe tumor. Ch; Chromophobe renal cell carcinoma. HC; Ho または Ch(変性のため不明確). On; Oncocytoma. C1; Clear cell renal cell carcinoma. Pa; Papillary renal cell carcinoma. TP; Tubulo papillary renal cell carcinoma.

また、BHD 関連腎癌における Copy Number Variation(CNV)は The Cancer Genome Atlas(TCGA)など既報の散発性腎癌における CNV パターンと全く異なり、BHD 関連腎癌の分子背景が散発性腎癌と全く異なることが示唆されました(Figure 3)。

#### Figure 3

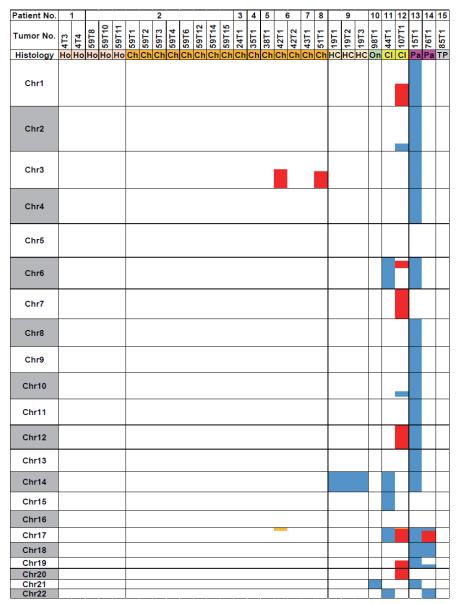
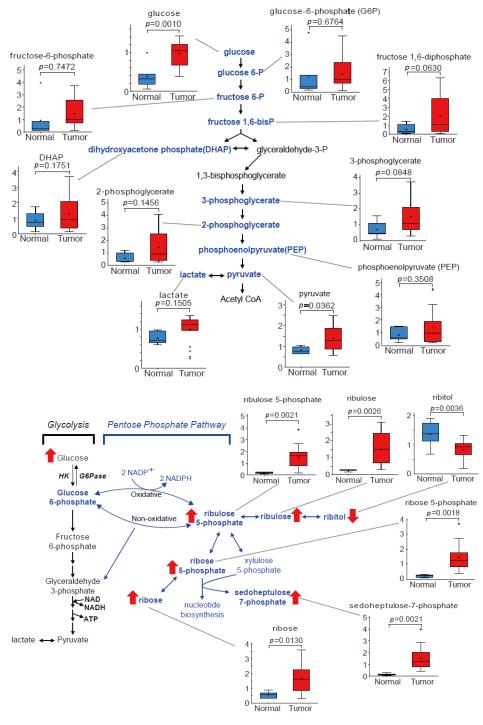


Figure 3. BHD 関連腎癌における Copy Number Variation(CNV) 赤:copy gain, オレンジ:uniparental disomy (UPD), 青: copy loss さらに、BHD 関連腎癌のメタボローム解析にて、BHD 関連腎癌ではグ

ルコースの取り込みが亢進しておりましたが、その代謝産物はリン酸化ペントース回路へ流入し、活性酸素の中和に使われている可能性が示唆されました(Figure 4)。

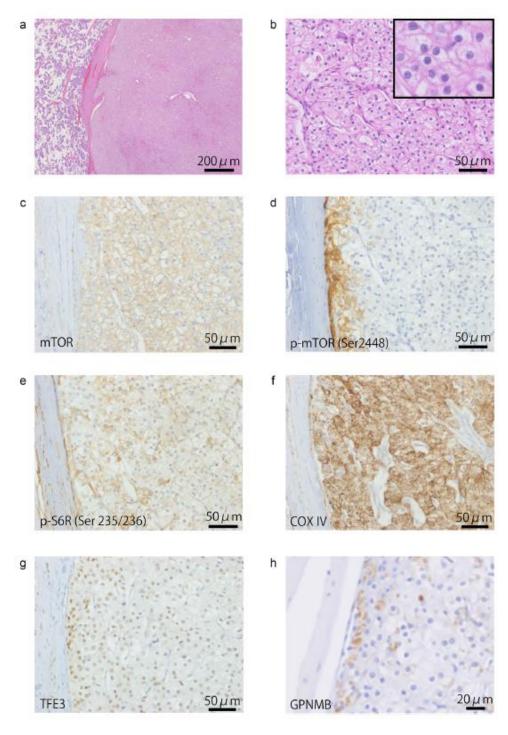
Figure 4.



BHD 症候群に発生した唾液腺腫瘍の免疫染色を行ったところ、FLCN

欠失下で起こる mTOR-S6K 経路や、TFE3-GPNMB 経路の亢進が観察されました(Figure 5)

Figure 5.



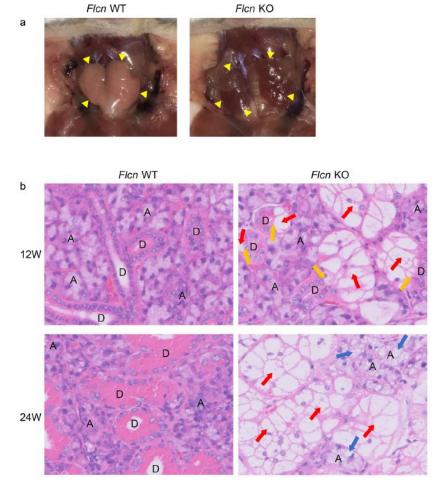
また、BHD 症候群患者の超音波スクリーニングにて、BHD 症候群において、唾液腺嚢胞の頻度が高いことが明らかとなりました(Table 1)。

Table 1
Screening of salivary gland using ultrasonography demonstrated that BHD patients have an increased risk of cyst formation in the salivary gland.

BHD patient	Sex	Age	Number of cysts	Size	FLCN mutation
1	F	43	1	4.4 mm × 3.6 mm	Exon 4 c199dupG
2	M	41	1	4.0 mm × 2.4 mm	Exon 7 c769-771 delTCC
3	M	55	1	5.3 mm × 4.5 mm	Exon11 c1285dupC
4	F	55	2	2.7 mm $\times$ 2.0 mm, 2.2 mm $\times$ 1.5 mm	Exon11 c1285dupC
5	F	46	1	3.6 mm × 1.9 mm	Exon11 c1285dupC
6	F	36	2	6.2 mm $\times$ 3.5 mm, 5.2 mm $\times$ 4.7 mm	Exon11 c1285dupC
7	F	52	1	2.6 mm × 1.4 mm	Exon 12 c1347-1353 dupCCACCCT
8	F	54	3	3.6 mm $\times$ 2.5 mm, 2.8 mm $\times$ 1.7 mm, 2.6 mm $\times$ 1.6 mm	Exon 13 c1522-1524 delAAG

FLCN の唾液腺における生理的意義を調べるために、唾液腺特異的 FLCN ノックアウトマウスを作成したところ、唾液腺の導管が拡張し、時間の経過ともに最終的に腺房部分も淡明細胞化していくことが明らかとなりました(Figure 6)。

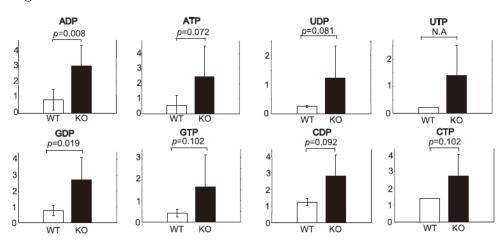
Figure 6.



FLCN 欠失唾液腺にてメタボローム解析を行ったところ、核酸合成が

亢進しておりました(Figure 7)。

Figure 7.



以上の解析から、BHD 関連腎癌の多数がクロマチン再構成遺伝子に変異を有することが明らかとなりました。また、グルコースの取り込みが亢進し、その代謝産物がペントースリン酸化回路へ流入していることから、腫瘍化により増加する活性酸素の中和にグルコースを利用している可能性が示唆されました。一方で、BHD 患者では唾液腺嚢胞の頻度が高く、BHD 患者に発生した唾液腺腫瘍では FLCN 欠失下に特徴的なmTOR-TFE3 経路の亢進が観察され、これらが FLCN 欠失により発生している可能性が示唆されました。また、唾液腺 FLCN ノックアウトマウスにおいて、核酸合成が亢進していることから、BHD 症候群における嚢胞形成や唾液腺腫瘍発生が、核酸合成の亢進により引き起こされている可能性が示唆されました。

#### 4. 考 察

2002 年の FLCN 発見以降、横浜市立大学泌尿器科学教室では、FLCN の機能解析と、FLCN 生殖細胞系列変異によって引き起こされる BHD 症候群の本邦における全体像の解明とその診療に取り組んできました。 FLCN の結合蛋白 FNIP1 や FNIP2 の同定や、その結合の生理的意義、FLCN がミトコンドリア代謝制御に重要であることなど、数々の重要な報告を世界に先駆けて行ってまいりました。

本研究では、BHD 関連腎癌においてクロマチン再構成遺伝子変異がドライバー遺伝子変異となっている可能性を示す一方で、BHD 症候群と唾液腺嚢胞や唾液腺腫瘍との関連を示しました。本研究成果は、BHD 症候

群における健診方法の確立や、BHD 関連腎癌ならびに散発性腎癌の新規治療薬の開発基盤の確立に役立と考えられます。

#### 5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

FLCN alteration drives metabolic reprogramming towards nucleotide synthesis and cyst formation in salivary gland. Yasuhiro Isono, Mitsuko Furuya, Tatsu Kuwahara, Daisuke Sano, Kae Suzuki, Ryosuke Jikuya, Taku Mitome, Shinji Otake, Takashi Kawahara, Yusuke Ito, Kentaro Muraoka, Noboru Nakaigawa, Yayoi Kimura, Masaya Baba, Kiyotaka Nagahama, Hiroyuki Takahata, Ichiro Saito, Laura S Schmidt, W Marston Linehan, Tatsuhiko Kodama, Masahiro Yao, Nobuhiko Oridate, Hisashi Hasumi. Biochemical and biophysical research communications 522(4) 931-938 2020

<u>Birt-Hogg-Dubé</u> syndrome-associated renal cell carcinoma: <u>Histopathological features and diagnostic conundrum.</u> Mitsuko Furuya, Hisashi Hasumi, Masahiro Yao, Yoji Nagashima. Cancer science 111(1) 15-22 2020

Folliculin Regulates Osteoclastogenesis Through Metabolic Regulation. Masaya Baba, Mitsuhiro Endoh, Wenjuan Ma, Hirofumi Toyama, Akiyoshi Hirayama, Keizo Nishikawa, Keiyo Takubo, Hiroyuki Hano, Hisashi Hasumi, Terumasa Umemoto, Michihiro Hashimoto, Nobuko Irie, Chiharu Esumi, Miho Kataoka, Naomi Nakagata, Tomoyoshi Soga, Masahiro Yao, Tomomi Kamba, Takashi Minami, Masaru Ishii, Toshio Suda. Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research 33(10) 1785-1798 2018

BHD-associated kidney cancer exhibits unique molecular characteristics and a wide variety of variants in chromatin remodeling genes. Hasumi H, Furuya M, Tatsuno K, Yamamoto S, Baba M, Hasumi Y, Isono Y, Suzuki K, Jikuya R, Otake S, Muraoka K, Osaka K, Hayashi N, Makiyama K, Miyoshi Y, Kondo K, Nakaigawa N, Kawahara T, Izumi K, Teranishi J, Yumura Y, Uemura H, Nagashima Y, Metwalli AR, Schmidt LS, Aburatani H, Linehan WM, Yao M. Human molecular

genetics 27(15) 2712 - 2724 2018

Pathologic Characteristics of the Hereditary Renal Cell Carcinomas Associated with Birt-Hogg-Dube Syndrome. Furuya Mitsuko, Kato Ikuma, Nagashima Yoji, Kuroda Naoto, Hasumi Hisashi, Baba Masaya, Yao Masahiro, Nakatani Yukio. MODERN PATHOLOGY 31 340 2018

Hereditary kidney cancer syndromes: Genetic disorders driven by <u>alterations in metabolism and epigenome regulation.</u> Hasumi H, Yao M. Cancer science 109(3) 581-586 2018

VHL gene FISH may become a diagnostic marker for Birt-Hogg-Dube syndrome-associated clear cell renal cell carcinomas. Matsumoto Kana, Kato Ikuma, Iribe Yasuhiro, Nagashima Yoji, Nakatani Yukio, Hasumi Hisashi, Yao Masahiro, Furuya Mitsuko. CANCER SCIENCE 109 1131 2018

Molecular Characteristics of Renal Cell Carcinomas in Patients with Birt-Hogg-Dube Syndrome. Furuya Mitsuko, Hisashi Hasumi, Kato Ikuma, Baba Masaya, Nagashima Yoji, Iribe Yasuhiro, Nakatani Yukio, Yao Masahiro. CANCER SCIENCE 109 860 2018

Establishment and characterization of BHD-F59RSVT, an immortalized cell line derived from a renal cell carcinoma in a patient with Birt-Hogg-Dubé syndrome. Mitsuko Furuya, Hisashi Hasumi, Masaya Baba, Reiko Tanaka, Yasuhiro Iribe, Takahiro Onishi, Yoji Nagashima, Yukio Nakatani, Yasuhiro Isono, Masahiro Yao Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology 97(3) 343-351 2017

H255Y and K508R missense mutations in tumour suppressor folliculin (FLCN) promote kidney cell proliferation. Hasumi H, Hasumi Y, Baba M, Nishi H, Furuya M, Vocke CD, Lang M, Irie N, Esumi C, Merino MJ, Kawahara T, Isono Y, Makiyama K, Warner AC, Haines DC, Wei MH, Zbar B, Hagenau H, Feigenbaum L, Kondo K, Nakaigawa N, Yao M, Metwalli AR, Marston Linehan W, Schmidt LS. Human molecular

genetics 26(2) 354 - 366 2017

蓮見壽史、矢尾正祐 遺伝性腎癌症候群、臨床泌尿器科 2018 72(10):892-901

蓮見壽史、矢尾正祐、腎癌の分子生物学と発癌機序、癌遺伝子・癌抑制遺伝子、 日本臨床 2017、75 巻増刊号 6、47-52 頁

蓮見壽史、臨床応用を目指した基礎研究、遺伝性腎細胞癌基礎研究の進歩、日本 臨床 2017、75 巻増刊号 6、148-156 頁

蓮見壽史、矢尾正祐、家族性腫瘍症候群と腎細胞癌、病理と臨床 2017、35(10)、910-914 頁

Jikuya R, Hasumi H et.al., BHD-associated kidney cancer exhibits a unique molecular characteristics and a wide variety of chromatin remodeling genes mutations, AACR2018, Chicago, April, Poster presentation

2019年 International Journal of Urology, Top Cited Article 2018

2018年6月第24回日本家族性腫瘍学会学術集会 最優秀演題賞

#### <推進研究助成>

HIV 潜伏感染に関わる宿主因子の探索と機能解析

宮川 敬

(共同研究者 梁 明秀)

横浜市立大学 大学院医学研究科 微生物学

#### 抄録

ヒト免疫不全ウイルス(HIV)は感染細胞内で自身のゲノムを宿主染色体に組み込み、子孫ウイルスを安定的に産生するが、組み込まれたウイルスゲノムの転写が起こらない、いわゆる「潜伏化状態」の感染細胞が存在するため、投薬中断した患者ではウイルスの再活性化が起こる。本研究では、潜伏感染に関わるメカニズムを解明するため、独自の HIV 潜伏感染モデル細胞を作成し、ウイルスの潜伏化に関わる微小環境および宿主因子の探索と解析を行った。その結果、低酸素刺激にともなって誘導される 2 種類の long non-coding RNA がHIV 潜伏化を促進することがわかった。次に、リンパ節での主要な HIV 感染様式であり、HIV 潜伏化や抗ウイルス療法における薬効低下の要因となる「Cell-to-Cell 感染」を時間空間的に観察・定量化する技術開発を行った。HIV に発光タグを挿入することで微量なウイルス伝播の追跡が可能なり、基礎研究においてこれまで定量的な実験が難しかった Cell-to-Cell 感染を簡便に測定できる新技術を開発することに成功した。

#### <推進研究助成>

#### HIV 潜伏感染に関わる宿主因子の探索と機能解析

#### 宮川 敬

#### (共同研究者 梁 明秀)

#### 横浜市立大学 大学院医学研究科 微生物学

#### 1. 目的

ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染に伴うエイズ発症は適切な投薬によりほぼ抑制可能になったものの、投薬中断した患者ではウイルスの再活性化が起こる。感染細胞内では HIV は自身のゲノムを宿主染色体に組み込み子孫ウイルスを安定的に産生するが、一定の割合で、組み込まれたウイルスゲノムの転写が起こらない、いわゆる「潜伏化状態」となる感染細胞が存在するためである。HIV の主要な感染様式として、感染細胞から放出されたウイルス粒子が別の細胞に感染する「cell-free 感染」と、感染細胞と非感染細胞が直接接触することにより一度に大量のウイルスを受け渡す「Cell-to-Cell(細胞-細胞間)感染」があるが、後者は細胞が高密度に存在するリンパ節での主要な感染様式となっている。近年、LRA(latency reversing agent)によって潜伏感染細胞を一旦再活性化させ、ART と免疫系による感染細胞の排除を目指す Shock and kill 療法が試みられてきたが、Cell-to-cell 感染では薬効が低下することから顕著な成果は出ていない。本研究では、申請者が独自に樹立した HIV 潜伏感染モデル細胞を用い、HIV 潜伏化に関わる微小環境や宿主因子の探索と解析を試みた。また、Cell-to-cell 感染を時間空間的に観察・定量化する技術開発を行った。

#### 2. 方法

HIV 潜伏・再活性化の作用機序解明のため、各種レポーター遺伝子を有する Env 欠損型 HIV 分子クローンを構築した。 VSV シュードタイプしたレポーター HIV を CD4 陽性 T 細胞および単球に感染させ、限界希釈法にて潜伏感染細胞 株を複数樹立した。 HIV ゲノムの遺伝子発現をルシフェラーゼアッセイにより 簡便に測定可能な HIV 潜伏感染モデル細胞として用いた。これらの細胞を用いて様々な培養環境でウイルスゲノムの発現変化を調べた。

発光タグ HiBiT を有する複製可能な HIV 分子クローン (hiHIV) を作成し、 hiHIV を T 細胞株に様々な MOI で感染させ、限界希釈法にてクローニングし

てプロウイルス化させた T 細胞を作製した(1D10 細胞)。ルシフェラーゼ断片 LgBiT 遺伝子を搭載したレンチウイルスベクターを作成し、TZM-bl 細胞へ遺伝子導入した。遺伝子導入細胞はピューロマイシンで選択し、LgBiT を安定発現させた標的レポーター細胞株を樹立した(TZMbl-Lg 細胞)。1D10 をドナー細胞、TZMbl-Lg をアクセプター細胞とし、これらの細胞をさまざまな条件で共培養し、Cell-to-Cell 感染を定量的に測定可能なアッセイ系の検討を行った。

#### 3. 結果

HIV 潜伏感染モデル細胞に様々な細胞外刺激を行ったところ、低酸素下では ウイルスゲノムの転写を示すレポーター活性の減少が見られ、HIV 潜伏化の可 能性が示唆された。また、通常酸素濃度に戻すことにより、再び HIV ゲノムの 転写が起こることが分かった。エピジェネティック解析により、低酸素下では HIV プロモーター領域の RNA PolII 結合が低下し、且つ H3K9 および H3K27 メチル化が促進していたことから、ウイルスゲノムの潜伏化が遺伝子レベルで 起こっていることが分かった。低酸素刺激に伴って発現が 2 倍以上変動する宿 主因子について RNA-Seq 法にて探索したところ、エピゲノム制御因子が多数 含まれていた。しかし、これらのうち機能的に HIV 潜伏化に寄与するものは見 いだせなかった。遺伝子の転写を配列特異的に制御することが知られる long non-coding RNA (LincRNA) に着目して再解析した結果、低酸素刺激に伴って 発現が変動する約 700 種の LincRNA を抽出した。バイオインフォマティクス を用いて、HIV 遺伝子配列と高い相同配列を有する 10 種類の LincRNA を同定 した。これらの因子をノックダウンした感染細胞を作成し、低酸素培養下での HIV 潜伏化効率を測定した。その結果、少なくとも 2 種類の LincRNA が低酸 素刺激に伴う HIV 潜伏化機序に関わることを見い出した。

次に、Cell-to-cell 感染を時間空間的に観察・定量するための実験系構築を行った。HIV Gag タンパク質の特定の領域に発光タグ HiBiT を挿入することにより、野生型 Gag タンパク質と同様のプロセシングパターンを維持したまま HiBiT 搭載 HIV 粒子 (hiHIV) が形成されることがすることが分かった。hiHIV の産生量と感染価は野生型 HIV よりもやや減少が見られたが、本研究を遂行する上では許容範囲内であった。hiHIV を T 細胞株に感染させ、限界希釈法にてクローニングし、hiHIV ゲノムを発現する T 細胞クローン 1D10 細胞を樹立した。1D10 は、恒常的に hiHIV を少量産生しているが、PMA、SAHA、Bryostatin、JQ1 など既知の LRA の添加によって hiHIV の産生量が増加したことから、1D10 はウイルスゲノムが染色体に組み込まれていることが示唆された。定量的 Cell-to-cell 感染系の確立のため、LRA 処理した 1D10 細胞と標的レポーター細胞である TZMbl-Lg 細胞とを平面培養系で共培養した。その結果、

共培養した群でのみ高い発光が観察された。1D10 細胞の培養上清をTZMbl-Lg 細胞に滴下した群では発光はまったく見られなかった。1D10 細胞のみ、もしくは、TZMbl-Lg 細胞のみの群でも発光はまったく見られなかった。また共培養した群でも、CCR5 阻害剤を添加した群は発光が完全に抑制された。宿主膜タンパク質LFA1はCell-to-Cell感染に重要な構造体であるVirological synapseの形成に関与することが知られている。LFA1 をモノクローナル抗体で阻害した群は、コントロール群に比べ有意に発光が低下した。また、生体模倣ハイドロゲルを用いた高密度三次元培養法によってこれらの細胞を共培養すると、バックグラウンドシグナルが低減し、10倍以上のSN比を観察した。これらの結果から、1D10 細胞と TZMbl-Lg 細胞を高密度三次元共培養することで、Cell-to-Cell 感染を特異的かつ比較的簡便に測定できることがわかった。

#### 4. 考察

本研究により HIV 潜伏化に関わる LincRNA が解明されたことで、エイズ発症を防止する従来の治療から、エイズ克服にむけた治療法の開発に貢献できる可能性がある。近年、non-coding RNA が様々な疾患の病態進行に関わることが次々に報告されており、これを標的とした核酸医薬品の開発が盛んに行われており、本研究で見出した LincRNA を標的した医薬品開発は技術的に充分可能である。また、発光タグを挿入した感染性 HIV ゲノムを T細胞染色体に組み込むことで、これまで実験的に再現しにくかった Cell-to-Cell 感染を簡単に定量解析できる基盤技術を開発した。今後、Cell-to-Cell 感染系に関わる宿主因子探索や抗 HIV 薬の薬効解析にも有用なツールとなりうる。

#### 5. 論文

- 1) <u>Miyakawa K</u>, Matsunaga S, Yokoyama M, Nomaguchi M, Kimura Y, Nishi M, Kimura H, Sato H, Hirano H, Tamura T, Akari H, Miura T, Adachi A, Sawasaki T, Yamamoto N, Ryo A: PIM kinases facilitate lentiviral evasion from SAMHD1 restriction via Vpx phosphorylation *Nature Communications*. 10 (1), 1844, 2019
- 2) <u>Miyakawa K</u>, Nishi M, Matsunaga S, Okayama A, Anraku M, Kudoh A, Hirano H, Kimura H, Morikawa Y, Yamamoto N, Ono A, Ryo A: The tumor suppressor APC promotes HIV-1 assembly via interaction with Gag precursor protein. *Nature Communications*. 8, 14259, 2017

#### <わかば研究助成>

## L-DOPA 受容体 GPR143 とアドレナリン $\alpha_1$ 受容体との機能連関および その生体内役割の解析

#### 増川太輝

共同研究者:橋本達夫 横浜市立大学分子薬理神経生物学

#### 抄録

レボドパ(L-DOPA)療法は現在でもパーキンソン病の治療におけるゴールドスタンダードである。L-DOPA の薬理作用はドパミンへの変換を介してのみ発現すると考えられてきたが、L-DOPA 自体が生理機能を持つという知見も集積されてきた。我々は、7 回膜貫通型 G タンパク質共役型受容体(GPCR)である GPR143 が L-DOPA 受容体であることを証明してきた。最近になり、L-DOPA-GPR143 シグナルが血管平滑筋においてアドレナリン  $\alpha_1$  受容体( $\alpha_1$ AR)の機能を修飾し、生理的な血圧を調節することを見出した。本研究では、GPR143 の受容体構造のうち、どの領域が  $\alpha_1$ AR を介する応答の増強に必要であるかを、GPR143 に関する 7 つのキメラ体を作製し、 $\alpha_1$ AR との機能連関の有無を解析することにより検討した。その結果、 $\alpha_1$ AR との機能連関に必要な GPR143 の領域が明らかとなってきた。今後は、 $\alpha_1$ AR 応答の増強が GPR143 との二量体形成を介しているか否かについて検討する予定である。

#### <わかば研究助成>

### L-DOPA 受容体 GPR143 とアドレナリン $\alpha_{\rm I}$ 受容体との機能連関および その生体内役割の解析

#### 増川太輝

#### 共同研究者:橋本達夫 横浜市立大学分子薬理神経生物学

#### 1. 目的

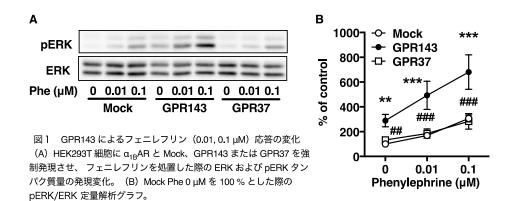
我々は、L-DOPA-GPR143 シグナルが血管平滑筋においてアドレナリン  $\alpha_1$  受容体( $\alpha_1$ AR)の機能を修飾し、生理的な血圧を調節することを明らかにした。また、共免疫沈降法および免疫組織科学的検討により、GPR143 と  $\alpha_{1B}$ AR が物理的相互作用を示すことを見出した。さらに、 $\alpha_{1B}$ AR を強制発現させた HEK293T 細胞に  $\alpha_1$ AR 作動薬であるフェニレフリンを処置すると ERK のリン酸化タンパク質 (pERK) が増加し、このフェニレフリンの作用がGPR143 を強制発現させることにより増強されるという知見を得ている (Masukawa et al, 2017)。本研究では、GPR143 がどのようにして  $\alpha_{1B}$ AR 応答を増強するのかを解明することを目的する。

#### 2. 方法

HEK293T 細胞に  $\alpha_{IB}AR$  および、GPR143、GPR37 または GPR143 のキメラ体をトランスフェクションし、それぞれの受容体を強制発現させた。この細胞に対し、フェニレフリン (0.01 または 0.1  $\mu$ M) を 10 分間処置した後、免疫沈降緩衝液を用いてタンパク質を可溶化させた。ERK および pERK タンパク質量をウェスタンブロット法を用いて検出・定量し、GPR143 の有無やキメラ体の発現によってフェニレフリン応答が変化するか否かを検討した。

#### 3. 結果

GPR143 の受容体構造のうち、どの領域が  $\alpha_{1B}AR$  を介する応答の増強に必要であるかを、GPR143 に関するキメラ体を作製する必要がある。キメラ体を作製するにあたり、ネガティブコントロールとして  $\alpha_{1B}AR$  を介する応答を増強させない GPCR を探索した。GPR143 は  $\alpha_{1B}AR$  を介するフェニレフリンによる pERK タンパク質増加作用を増強したが、GPR143 と類似の細胞内局在を示す GPR37 はフェニレフリン応答増強作用を模倣しなかった (図1)。



次に、GPR37 を用いて flag タグを付加させた GPR143 のキメラ体 (GPR143 chimera-flag) プラスミドを 7 種類作製した(図 2)。HEK293T 細胞に  $\alpha_{IB}AR$  と GPR143 およびそのキメラ体を発現させ、フェニレフリン応答が変化するか否かを検討した。その結果、GPR143 によるフェニレフリン応答の増強作用は、キメラ体 1、2>4、6>3、5>7 の順番で抑制された(図 2)。

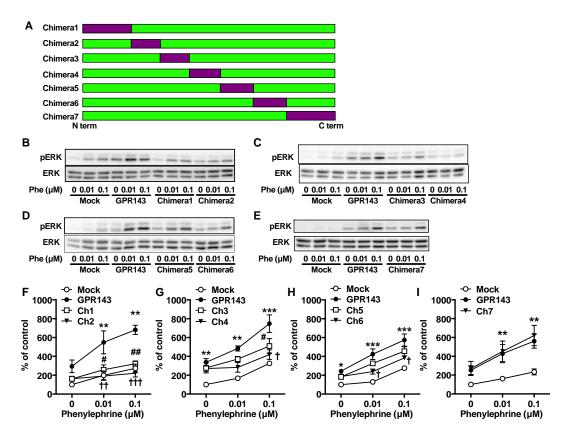


図2 GPR143 のキメラ体によるフェニレフリン(0.01, 0.1 µM) 応答の変化
(A) GPR143 のキメラ体の模式図。緑は GPR143、紫は GPR37 の配列を示す。(B-E) GPR143 またはそのキメラ体を強制発現させ、フェニレフリンを処置した際の ERK および pERK タンパク 質量の発現変化。(F-I) Mock Phe 0 µM を 100 %とした際の pERK/ERK 定量解析グラフ。Ch: Chimera。

#### 4. 考察

本研究の結果から、GPR143 は  $\alpha_{1B}AR$  応答を増強し、その応答が GPR143 のいくつかのキメラ体により抑制されることが明らかとなった。特に、 $\alpha_{1B}AR$  とキメラ体 1 および 2 を発現する細胞におけるフェニレフリン応答は、 $\alpha_{1B}AR$  を単独で発現する細胞と比較し、同程度であった。このことから、キメラ体 1 および 2 において GPR37 に置換された領域がGPR143 によるフェニレフリン応答の増強に重要な役割を果たすことが示唆される。我々は、すでに L-DOPA が GPR143 と  $\alpha_{1B}AR$  との複合体形成を介して生理的な血圧変動を調節することを示唆する知見を得ているので、キメラ体 1 および 2 のそれぞれ置換された領域は  $\alpha_{1B}AR$  との二量体形成領域である可能性が考えられる。今後は、本研究で得られた知見を基に GPR143 と  $\alpha_{1B}AR$  との二量体形成をペプチドを用いて阻害した際に、二量体形成が阻害されるか否か、GPR143 によるフェニレフリン応答の増強作用が抑制されるか否か、二量体形成を阻害するペプチドが生体においても機能するかどうかについて検証する予定である。

#### 5. 論文および学会発表

今後、データをまとめて特許提出、論文公表する予定である。

#### <わかば研究助成>

(研究課題名)

脊髄小脳失調症 42 型モデルマウスを用いた神経変性分子病態基盤の解明と治療法開発

(報告者名)

橋口俊太

(共同研究者名)

土井宏、竹内英之、田中章景

(所属部科名)

神経内科学·脳卒中医学

#### (抄録)

電位依存性カルシウムチャネル(Voltage-gated calcium channels: VGCCs)の変異は、精神疾患からてんかん症候群、家族性片麻痺性片頭痛などの発作性疾患に至るまで、広範な神経系疾患の発症との関連が報告されている。我々は、従来研究対象としてきた脊髄小脳失調症(SCA)家系において VGCCs の一種である Cav3.1 をコードする CACNAIG の点変異 R1715H を同定した。現在、この変異は SCA42 として登録されている。SCA42 の病態を解明する目的で、前述の変異をゲノム編集により導入したノックインマウス(CacnaIg\_R1723H\_KI マウス)を世界に先駆けて作成した。これまでの電気生理学的、行動学的、病理学的解析により CACNAIG 点変異が、T型カルシウムチャネルの電気生理学的にはプルキンエ細胞変性を引き起こすことを証明し、SCA42 モデルマウスとして確立した。現在は CacnaIg\_R1723H\_KI マウスに対して、分子生物学的、病理学的および電気生理学的手法を駆使しさらに多面的な解析をすすめており、これによりカルシウムチャネル異常による神経変性の病態を解明し、さらにモデルマウスへのT型カルシウムチャネル修飾薬の投与実験を継続し、病態に基づく根本治療開発へ繋げる研究を推進していく。

#### <わかば研究助成>

(研究課題名)

脊髄小脳失調症 42 型モデルマウスを用いた神経変性分子病態基盤の解明と治療法開発

(報告者名)

橋口俊太

(共同研究者名)

土井宏、竹内英之、田中章景

(所属部科名)

神経内科学 · 脳卒中医学

(報告書)

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失調症(SCA)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。当科では、長年にわたり研究対象としてきた SCA 家系において、新規責任遺伝子 *CACNA1G* 点変異 R1715Hを 2015年に新規に同定した。*CACNA1G* は低電位活性化型の T型 VGCCsの一種である Cav3.1をコードしており、様々な細胞機能に関与するが、変異により神経変性をきたすメカニズムは全く不明である。本研究では *CACNA1G* の R1715H 変異をゲノム編集により導入・作成したノックインマウス(*Cacna1g*\_R1723H\_KIマウス)を行動面、病理学的側面、電気生理学的側面から多面的に解析することで、新規 SCA モデルマウスとして確立する。 SCA は代表的な神経難病であり、多くの病型が存在するが、病態修飾療法はこれまで全く開発されていない。本マウスに対し、T型カルシウムチャネル修飾薬を用いた新たな治療法を開発し、SCA 治療研究のブレイクスルーを目指すことを目的とする。

#### 2. 方法

① Cacna lg\_R1723H\_KIマウスの行動解析

*Cacna1g\_*R1723H\_KI マウスおよび野生型マウスにおいて、体重および、Wire hang test、Rotarod test、Footprint test といった運動機能を 50 週齢まで経時的に解析を行う。

② Cacna1g R1723H KIマウスの病理学的解析

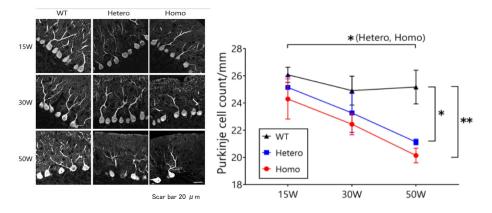
マウス小脳切片の病理学的評価とプルキンエ細胞数の定量化に加えて、抗 Calbindin 抗

体を用いた詳細な形態評価、Cav3.1 抗体を用いた免疫染色など多角的な解析を行う。さらに高解像度顕微鏡を用いて spine 数を定量化しシナプス形成障害の有無について評価する。

- ③ Cacna1g\_R1723H\_KIマウスの電気生理学的解析
- マウス小脳の急性スライスを作成し、パッチクランプ法により、小脳サーキットを構成するプルキンエ細胞などをターゲットに T型カルシウム電流、活動電位および rebound spike などを解析する。
- ④ Cacna1g\_R1723H\_KIマウスのT型カルシウムチャネル修飾薬の効果の確認中枢移行性が良好で、すでに小児欠神発作に対する選択薬として上梓されているT型カルシウムチャネル修飾薬(X)を用いてのモデル動物に対する投与実験を開始している。Rotarod test による行動解析およびプルキンエ細胞密度の定量化による病理学的解析を合わせて実施する。

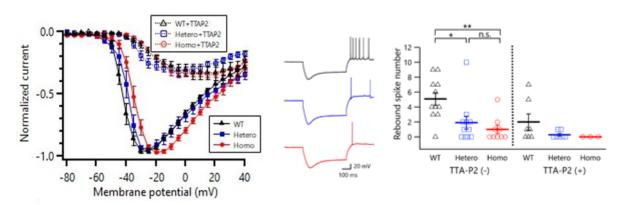
#### 3. 結果

- ① Cacna1g\_R1723H\_KIマウスの行動解析
- 11 週以降では、野生型と比較してヘテロノックインマウス、ホモノックインマウスにおいて小脳失調を反映する運動機能の低下を認めたことより、SCA42 患者の症状と合致する表現系を得た。
- ② Cacna1g\_R1723H\_KIマウスの病理学的解析



病理学的解析では、各群のマウスに対して Calbindin 抗体を用いた蛍光免疫染色を施行してプルキンエ細胞を観察した。肉眼的なプルキンエ細胞の減少と共に、プルキンエ細胞密度の定量化を行い、50 週齢では野生型と比べて、ノックインマウスで有意に密度減少を認め、プルキンエ細胞の変性を認めた。

#### ③ Cacna1g\_R1723H\_KIマウスの電気生理学的



若齢マウスの小脳急性スライスを用いたパッチクランプ法によるプルキンエ細胞の電気生理学的解析では、T型カルシウム電流の単離に成功し、電流電圧曲線では細胞モデルと同様に正方向へのシフトを示した。また、プルキンエ細胞の活動電位の自発発火頻度には差異は認めなかったが、過分極後に発生する rebound spike においてはノックインマウス群で有意な低下を認めた。

④ Cacna1g\_R1723H\_KIマウスのT型カルシウムチャネル修飾薬の効果の確認 10 週齢から 50 週齢のマウスにおいて、血中濃度を確認し、自由飲水の形態で野生型およびノックインマウスへ薬剤投与を施行した。Homo マウスでの有効性は認めていないが、Hetero マウスにおいて、30 週齢以降で、Rotarod test の落下時間が薬剤投与群で有意に改善しているデータを得ており、今後さらに病理学的解析などを追加で行い、解析を継続していく方針である。

#### 4. 考察

CACNA1Gは、Cav3.1をコードしており、中枢神経系では視床、扁桃体、小脳、下オリーブ核などに多く発現することが知られている。この遺伝子に関しての先行研究からは、Cacna1g / ックアウトマウスでは、rebound firing が欠如し、バクロフェン誘導性のspike-and-wave discharge (SWDs) が見られないことより、欠神発作の原因となる SWDs 産生に <math>Cav3.1 が関与することが示されている。一方で、運動機能、生存には影響を与えないことが報告されている(Kim D,et al., Neuron, 2001)。このことから、単純なloss-of-function 機序で小脳失調は生じないと考えられる。逆に野生型 Cacna1g を過剰発現させたトランスジェニックマウスでは、視床一大脳皮質ネットワークの亢進により、CA42 の病型を再現する動物モデルを世界で初めて報告をした(CA42 の病型を再現する動物モデルを世界で初めて報告をした(CA42 のようなメカニズムで神経変性を来すのかは未解明であり、チャネロパチーとしての CCA42 モデルマウスに対する遺伝

学的、生化学的な解析を行うことで今後、さらに詳細な病態解明および、現在進行中のカルシウムチャネル修飾薬を用いた SCA の治療法開発を進めていく。また電気生理学的解析には生体ネットワークを温存した状態での in vivo での実験系を組み立てていく予定である。

### 5. 論文及び学会発表

## ① 原著論文(英文)

Hashiguchi S, Doi H, Kunii M, Nakamura Y, Shimuta M, Suzuki E, Koyano S, Okubo M, Kishida H, Shiina M, Ogata K, Hirashima F, Inoue Y, Kubota S, Hayashi N, Nakamura H, Takahashi K, Katsumoto A, Tada M, Tanaka K, Sasaoka T, Miyatake S, Miyake N, Saitsu H, Sato N, Ozaki K, Ohta K, Yokota T, Mizusawa H, Mitsui J, Ishiura H, Yoshimura J, Morishita S, Tsuji S, Takeuchi H, Ishikawa K, Matsumoto N, Ishikawa T, Tanaka F: Ataxic phenotype with altered CaV3.1 channel property in a mouse model for spinocerebellar ataxia 42. Neurobiol Dis, **130**:104516, 2019.

# ② 学会発表(海外)

Doi H, Hashiguchi S, Kunii M, Nakamura Y, Shimuta M, Suzuki E, Okubo M, Sasaoka T, Takeuchi H, Ishikawa T, Tanaka F: Ataxic phenotype with altered Ca<sub>v</sub>3.1 channel property in a mouse model for spinocerebellar ataxia 42, Society for Neuroscience, Chicago, 2019, 10.

### ③ 学会発表(国内)

橋口俊太, 土井宏, 国井美佐子, 中村行宏, 志牟田美佐, 鈴木江津子, 大久保正紀, 笹岡俊邦, 竹内英之, 石川太郎, 田中章景: Ataxic phenotype with altered Cav3.1 channel property in a mouse model for spinocerebellar ataxia 42.

第 42 回日本神経科学大会, 新潟, 2019, 7.

FLCN とクロマチン再構成遺伝子群のダブルノックアウトによる BHD 関連腎癌新規マウスモデルの構築及びクロマチン因子の解析

三留 拓

共同研究者 蓮見 壽史、矢尾 正祐

横浜市立大学大学院医学研究科泌尿器病態学

### 抄録

家族性腎癌症候群である Birt-Hogg-Dubé (BHD) 症候群の原因遺伝子として folliculin 遺伝子(FLCN)が同定されている。次世代シーケンサーを用いた散発性淡明細胞型腎癌の網羅的遺伝子解析により、クロマチン再構成遺伝子群の変異頻度が高いことが分かっており、(BAP1 12.1%、PBRM1 47.1%、SETD2 23.8%)。BHD 関連腎癌とクロマチン因子との関連を明らかにするのが本研究の目的である。15 人の BHD 患者から 29 の BHD 関連腎臓腫瘍を対象にして全エクソームシーケンス解析を行った結果、クロマチンリモデリング遺伝子のバリアント頻度が高いことがわかりました(17/29 tumors, 59%)。KSP-Cre Flcn flox/flox マウスは、著名に肥大した腎臓を示し、およそ 3 週間後には腎不全により死亡しました。今後は Flcn とクロマチン再構成遺伝子群 (Bap1、Pbrm1、Setd2)の腎特異的ダブルノックアウトの表現型観察と解析をしていくことで BHD 関連腎癌とクロマチン因子との関連を明らかにしたいと考えている。

FLCN とクロマチン再構成遺伝子群のダブルノックアウトによる BHD 関連腎癌新規マウスモデルの構築及びクロマチン因子の解析

三留 拓

共同研究者 蓮見 壽史、矢尾 正祐

横浜市立大学大学院医学研究科泌尿器病態学

#### 1 目的

家族性腎癌症候群である Birt-Hogg-Dubé (BHD) 症候群の原因遺伝子として folliculin 遺伝子(FLCN)が同定されている。次世代シーケンサーを用いた散発性淡明細胞型腎癌の網羅的遺伝子解析により、クロマチン再構成遺伝子群の変異頻度が高いことが分かっており、腎臓における発癌との関連が示唆されている(BRCA1 associated protein-1(BAP1) 12.1%、polybromo1(PBRM1) 47.1%、 SET domain containing 2 histone lysine methyltransferase(SETD2) 23.8%)。マウスモデル及び BHD 関連腎癌の全エクソーム解析により、BHD 関連腎癌とクロマチン因子との関連を明らかにする。

### 2 方法

BHD に関連する腎がんの追加のバリアントを調査するために、15 人の BHD 患者から 29 の BHD 関連腎臓腫瘍を対象にして全エクソームシーケンス解析を行う。KSP-kadherin (CDH16) または Cre recombinase 発現マウス (KSP-Cre) または Phosphoenolpyruvate carboxykinase による Cre recombinase 発現マウス(PEPCK-Cre)を使用して、FLCN を腎臓特異的にノックアウトしたマウス(Flcn f/f)を交配により作成し、その表現型を解析する。また、Flcn とクロマチン再構成遺伝子群 (Bap1、Pbrm1、Setd2) の腎特異的ダブルノックアウトを作成することで新たな発癌マウスモデルを確立するとともにその表現型を確認する。

以下のマウスを使用する。National Cancer Institute (米国)が作製した Flcn f/f、the University of Pennsylvania (米国)が作成した PEPCK-Cre、Genentech(米国)が作成した Bap1 f/f、The University of Texas Southwestern Medical Center (米国)が作製した Pbrm1 f/f、Cincinnati Children's Hospital Medical Center (米国)が作成した SETD2 f/f。

#### 3 結果

BHD に関連する腎癌の全エクソームシーケンスにより、29 腫瘍のうち 25 の腎腫瘍に

FLCN 変異が検出された。20 の腫瘍は、FLCN 対立遺伝子にフレームシフト/ナンセンス変異または LOH を示した。病理学的に、5 腫瘍が HOCT(hybrid oncocytic/chromophobe tumor)、15 腫瘍が嫌色素性腎細胞癌、3 腫瘍が HOCT 又は嫌色素性腎細胞癌、1 腫瘍がオンコサイトーマ、2 腫瘍が淡明細胞型腎細胞癌、2 腫瘍が乳頭状腎細胞癌、1 腫瘍がtubulopapillary renal cell carcinoma であった。解析を行ったところ(Karkinos4.1.11)、クロマチンリモデリング遺伝子のバリアント頻度が高いことがわかりました(17/29 tumors, 59%, 図 1)。BHD 関連の腎癌において、クロマチンリモデリング遺伝子の変化が BHD における腎腫瘍形成の重要なドライバー変異である可能性が示唆されました。

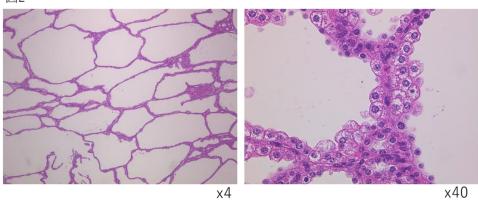
<図 1>

Pathway	Patient No.	<u> </u>	1		_				2	_		_	_	_	3	4	5	(	5	7	8	L	9	_	10	11	12	13	14	15
	Tumor No.	4T3	4T4	59T8	59T10	59T11	59T1	59T2	59T3	59T4	916g	59T12	59T14	59T15	24T1	35T1	38T1	42T1	42T2	43T1	51T1	19T1	19T2	19T3	98T1	44T1	107T1	15T1	76T1	85T1
	Histology	Но	Но	Но	Но	Но	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	HC	HC	HC	On	CI	CI	Pa	Pa	TP
Chromatin remodeling	ARID1B																													0.5
Chromatin remodeling	ARID3B					0.7																								
Chromatin remodeling	BAHCC1		0.5																											
Chromatin remodeling	BAZ1A																							0.2						
Chromatin remodeling	BAZ2B																	0.6												
Chromatin remodeling	CREBBP															0.8														
Chromatin remodeling	DOT1L																									0.2				
Chromatin remodeling	EID1																												0.6	
Chromatin remodeling	HIST1H1D												0.5																	
Chromatin remodeling	HIST1H2AB																				0.5									
Chromatin remodeling	HMGXB4			1																										
Chromatin remodeling	ING2							0.4																						
Chromatin remodeling	JARID2													0.3																
Chromatin remodeling	MLL2																								0.8					
Chromatin remodeling	NCOR2																				0.1									
Chromatin remodeling	PHF17																										0.5			
Chromatin remodeling	SAP130																			1							0.0			
Chromatin remodeling	SETD7																			_				0.4						
Chromatin remodeling	SMARCAL1																		0.6					0.4						
Chromatin remodeling	SMARCD3																		0.0								0.2			
Chromatin remodeling	SUPT7L																					0.5					0.2			
Chromatin remodeling	TOX3																		-			0.0							0.2	
Chromatin remodeling	ZZZ3							0.7																					0.2	
DNA methylation	DIP2B	$\vdash$	-				-	0.7	0.8	-			-	-	$\vdash$	-	_					$\vdash$		-	-	$\vdash$		-	$\vdash$	
DNA methylation	GLYR1								0.0					0.4																
DNA repair	PDS5B	$\vdash$		1		-		-		-	1	$\vdash$		0.4	$\vdash$	$\vdash$					-	$\vdash$		-			0.4		$\vdash$	
DNA repair	ATAD5		1	-										-					-								0.4			
DNA repair	BOD1L		-				1												-											
DNA repair	RHNO1													-					-			0.5								
DNA repair	FAAP100		1											-	$\vdash$		-		-			0.5								
DNA repair	CREBBP		1													0.8			-					-			-	-		
DNA repair	DFNA5													0.4	-	0.0			-					-			-			
	DTX3L													0.4																
DNA repair	ERCC2													0.4					0.2											
DNA repair	HLTF																		0.6											
DNA repair	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1																		0.6						0.0					
DNA repair	HUWE1 MSH3																	0.9							0.8					
DNA repair	177 (0.7.1.0)																	0.9	-											
DNA repair	RAD23A													-	-	0.4			-							-	-			
DNA repair	SMC1A							0.5						-					-								-			
DNA repair	TELO2				0.7														_			0.3								
DNA repair	TONSL				0.7														_											
DNA repair	TOPBP1																										0.3			
DNA repair	UIMC1							_		_				8.0								_								
Telomere regulation	TERB1															1	-													
Telomere regulation	RTEL1									0.5																				
Telomere regulation	TNKS																												0.5	
Telomere regulation	WRAP53																1													

KSP-Cre による腎臓特異的 Flcn ノックアウトマウスでは、Cre 発現のない腎臓に比べて 1 週間後に著名に肥大した polysitic kideney を認め、腎実質は菲薄化が顕著でした (図 2)。 およそ 3 週間後には腎不全により死亡しまし、先行論文と同様の結果を示しました。 クロ

マチン関連遺伝子の腎臓特異的ノックアウトマウスは交配途中のため、今回の報告では結果を示すことができなった。

#### 図2



#### 4 考察

全エクソーム解析から、BHD 関連腎癌では FLCN 変異自体が決定的なドライバーとなっているが、それと同時に共通の遺伝子変異は少ないながらもクロマチン制御に関わる遺伝子群に変異が多くみられたことから、BHD 関連腎癌もエピゲノムの破綻から発生している可能性が高いことが示唆されている。引き続き Flcn とクロマチン関連遺伝子の腎臓特異的ダブルノックアウトマウスの交配、解析をすすめていく予定である。

## 5 論文及び学会発表

Hisashi Hasumi, Mitsuko Furuya, Kenji Tatsuno, Shogo Yamamoto, Masaya Baba,2 Yukiko Hasumi, Yasuhiro Isono, Kae Suzuki,1 Ryosuke Jikuya, Shinji Otake, Kentaro Muraoka, Kimito Osaka, Narihiko Hayashi, Kazuhide Makiyama, Yasuhide Miyoshi, Keiichi Kondo, Noboru Nakaigawa, Takashi Kawahara, Koji Izumi, Junichi Teranishi, Yasushi Yumura, Hiroji Uemura, Yoji Nagashima, Adam R Metwalli, Laura S Schmidt, Hiroyuki Aburatani, W Marston Linehan, and Masahiro Yao: BHD-associated kidney cancer exhibits unique molecular characteristics and a wide variety of variants in chromatin remodeling genes. Hum Mol Genet. 2018 Aug 1; 27(15): 2712–2724.

新規磁性抗癌剤を用いた口腔癌治療法の開発

### 中鍛治 里奈

横浜市立大学大学院医学研究科 循環制御医学

我々は医工連携研究で、有機化合物でありながら磁性をもち、強い抗腫瘍効果をもつ「Fe(Salen)」を同定した。 さらにこの研究を進め、磁性がより強く、あらゆる化合物に容易に結合する新しい化合物(以下、「鉄アセン」)を合成した。 この鉄アセンと市販医薬品を化学結合させることで、さまざまな薬剤の磁性化を行うことができると期待できる。本申請では、鉄アセンの磁性強度や細胞毒性の有無について評価を行い、鉄アセンを用いた新しいドラッグデリバリーの手法を検討する。

研究方法として鉄アセンの磁性の強さをFe(Salen)と比較するために超伝導量子干渉計を用いて磁性を計測した。また、培養癌細胞株に対して細胞毒性を持つか細胞生存アッセイによって評価した。

これらの実験の結果、鉄アセンは Fe(Salen)より強い磁性を持つことを明らかにした。また、細胞毒性の評価では、シスプラチンや Fe(Salen)では濃度依存的な抗腫瘍効果を示したのに対し、鉄アセンは有意な細胞毒性を示さなかった。これらの結果より、鉄アセンはFe(Salen) より磁性が強いが抗癌活性はなく、他医薬品と結合させて作る磁性化医薬品として有用である可能性を示唆した。

新規磁性抗癌剤を用いた口腔癌治療法の開発

### 中鍛治 里奈

横浜市立大学大学院医学研究科 循環制御医学

#### 1. 目的

我々はこれまでにドラッグデリバリーを利用した新規口腔癌治療法の開発を目的に㈱IHIと共同研究を行ってきた。その研究成果を基に、抗癌剤のみならずあらゆる医薬品にドラッグデリバリーを応用するための研究を進めている。先行研究において、磁性を有する有機化合物である  $\mu$ -oxo N, N-bis (salicylidene)ethylenediamine iron [以下、Fe(Salen)]の同定に成功した。 Fe(Salen) は磁性を持ちながら抗腫瘍効果をもつ。 Fe(Salen)と市販医薬品の合成による、薬効成分自体を磁性化する技術は世界で初めてである。 一方で、本研究で用いた「鉄アセン」は Fe(Salen)の研究から新しく合成された有機化合物である。 鉄アセンはその化学構造より、Fe(Salen)より磁性が強いが抗癌活性はなく、より他医薬品と結合が容易な化学構造を持つ化合物であると推察される。 そこで、本申請では鉄アセンが磁石を用いたドラッグデリバリーにより適した化合物であることの検証を目的としている。 鉄アセンを用いて、あらゆる医薬品の薬効成分を磁性化する技術と磁性化医薬品の開発を進めていく。

#### 2. 方法

研究では鉄アセンの磁性の強さを Fe(Salen)と比較する。先行研究で詳細に磁性を確認している Fe(Salen)と鉄アセンの磁性を比較することで、数値的な磁性は示すことができないが一定の磁性の強さを保持することを確認する。また、鉄アセンは Fe(Salen)と異なり細胞毒性を持たない、つまり、抗腫瘍効果を示さないということが予測される。それを確かめるため、培養癌細胞株に対して細胞毒性を持つか評価する。用いる細胞株はヒト由来口腔癌細胞株(OSC19,HSC3)とする。

#### 【研究方法】

・鉄アセンの磁性の評価

鉄アセンの磁性を評価する。比較対象として Fe(Salen)との比較を行う。この実験には超 伝導量子干渉計 (superconducting quantum interference device, SQUID)を用いた。SQUID は極めて弱い磁場の検出に用いられる非常に感度の高い磁気センサの一種である。わずかな試料でも磁性の有無を検出することができる。他の方法として、水の上に浮かべた鉄アセンの粉末に磁石に近づけ、磁石に集積するか目視で確認する。磁石に粉末が集積するか否かをみることで磁性の有無を確認することができる簡便な方法である。

### ・口腔癌細胞株に対する細胞毒性の評価

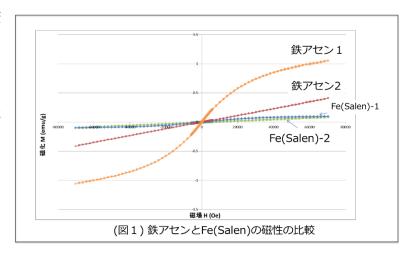
培養した口腔癌細胞株に鉄アセンを投与し、一定時間経過後の細胞生存率を評価する。評価には細胞増殖アッセイ(XTT assay)を用いる。鉄アセンの濃度や投与時間を設定することで詳細な評価を行う。XTT assay はミトコンドリアが XTT assay 試薬を代謝する際の酸化還元反応によって生じる発色を検出する比色法の一つである。発色の強度によって生細胞の多さを明らかにすることができる。ここでは細胞毒性の比較として口腔癌の治療に一般的に用いられるシスプラチンと、先行研究で検討を行っていた Fe(Salen)を用いた。

### 3. 結果

・鉄アセンの磁性の評価

磁性の評価には SQUID を用いた。その結果を(図1)に示す。対象とするサンプルに

磁場をかけ磁場の強度を変化させたときに勾配が急なS字カーブを描くほど磁力が強いことを示している。結果として、鉄アセンはFe(Salen)より強い磁性を持つことを明らかにした。Fe(Salen)も磁性を持つことは先行研究で明らかとしているが、その磁性と鉄アセンの磁性を比較すると



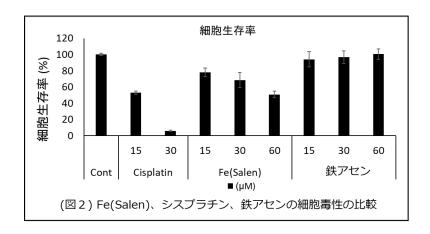
Fe(Salen)より大幅に強い磁性を示した。

目視による磁性の確認でも鉄アセンの粉末が磁石の直上に集積してくることを確認する ことができた。これらにより鉄アセンに磁性があることを明らかにすることができた。

#### ・口腔がん細胞株に対する細胞毒性の評価

培養した口腔癌細胞に対して、培養から 2 時間後にそれぞれの試薬を投与し、培養から 24 時間後に細胞の生存率を確認した。その結果、比較として用いた抗がん剤であるシスプラチンや Fe(Salen)では濃度依存的な細胞毒性を示したのに対し、鉄アセンはコントロールと比較して実験で用いたそれぞれの濃度で有意な細胞毒性を示さなかった(図 2)。尚、鉄アセンの分子量はいまだ明らかになっていないが、Fe(Salen)と同等として検討を行ってい

る。



#### 4. 考察

これらの結果より、鉄アセンは先行研究の Fe(Salen)より強い磁性を持ちながら、口腔癌細胞に対する細胞毒性を示さないことを明らかにした。これにより、鉄アセンは当初の開発時の推測の通り、Fe(Salen)より磁性が強いが抗癌活性はなく、より他医薬品と結合が容易な化学構造を持つ化合物である可能性が高くなった。これを生かして、鉄アセンを他の医薬品と結合させて新たなドラッグデリバリー薬を開発する足掛かりとしたい。しかしながら、本研究では明らかにできなかった点も多くある。鉄アセンの細胞内取り込みを確認できなかったことや、口腔癌細胞に対する細胞毒性をもたないことは確認できたが正常細胞に対する細胞毒性をもつか否かは確認することができなかった。これらは今後の課題として挙げられる。また、実際に他の医薬品と結合させた際にその構造が変化する可能性は十分にあり、磁性化医薬品の開発には多くの評価点が考えられる。今後も鉄アセンの詳細な評価を継続していく。

#### 5. 論文及び学会発表

なし

(中枢神経系原発悪性リンパ腫におけるミクログリアが腫瘍形成に及ぼす機構 の解明と新規治療法の開発)

(笹目 丈)

(共同研究者名:立石 健祐、黒滝 大翼)

(横浜市立大学医学部・医学研究科 脳神経外科学)

中枢神経系原発悪性リンパ腫(primary central nervous system lymphoma: PCNSL)は、中枢神経系のみに限局するリンパ腫の一亜型で、きわめて進行が速く予後不良である。 PCNSL の進展、悪性化には NF-kB 経路の恒常的活性化が重要であることがわかってきた一方で、そもそも PCNSL が中枢神経に限局して発生する機序は未だ不明であり、何らかの免疫学的機構の関与が示唆されてきた。本研究では、中枢神経に常在する免疫細胞であるミクログリアと PCNSL の関係性に着目し、マウスモデルを用いてミクログリアが PCNSL の腫瘍形成にどのような影響を及ぼすか検討した。

PCNSL 移植後のマウス大脳では腫瘍形成に伴いミクログリアの増勢が見られ、一方でミクログリアを Colony-stimulating factor 1 receptor 阻害薬投与により減少させると腫瘍の増殖が抑制される傾向が見られた。この結果からミクログリアと PCNSL 腫瘍形成の関係性が示唆された。今後こうした免疫学的機構の解析を通じた病因、病態解明が新たな治療法の開発へ繋がることが期待される。

(中枢神経系原発悪性リンパ腫におけるミクログリアが腫瘍形成に及ぼす機構 の解明と新規治療法の開発)

(笹目 丈)

(共同研究者名:立石 健祐、黒滝 大翼)

(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 (primary central nervous system lymphoma: PCNSL) は、中枢神経系のみに限局して病変を形成するリンパ腫の一亜型で、きわめて進行が速く予後不良である。標準的治療として、高容量 methotrexate 化学療法および全脳放射線照射を行うが、再発は不可避である。また治療による神経毒性の問題もあり、新たな治療法の開発が必要な状況にある。

PCNSL の診断は生検術による組織診断で行うが、サンプル量が乏しくゲノム解析研究は困難であった。だが当教室を中心とした国内多施設共同研究により大規模な遺伝子解析が行われ、PCNSL には非常に高率に NF-kB 経路の活性化に関わる遺伝子 (MYD88, CD79B) の変異が存在することが明らかになった (Nakamura et al. Neuropathol Appl Neurobiol 2016)。また近年、当教室立石助教率いる研究グループが世界最大規模の PCNSL 細胞株の樹立に成功し、PCNSL の進展、悪性化には NF-kB 経路の恒常的活性化が重要であることを見出した (Tateishi, Sasame et al. manuscript submitted)。

一方で、そもそも PCNSL が中枢神経に限局して発生する機序は未だ不明である。MYD88, CD79B 変異を同じく高率に認める精巣リンパ腫も、中枢神経と同様に免疫学的寛容部位であることなどから、何らかの免疫系機構の関与が示唆されている。

腫瘍内に浸潤する腫瘍関連マクロファージ (Tumor-associated macrophage: TAM) は様々ながん種で腫瘍の進展に関与することが報告されている。PCNSL においても免疫抑制・腫瘍促進性の TAM の浸潤が多いと予後が悪いことが報告されているが (Sasayama et al. Brain Pathology 2015; Nam et al. Oncoimmunology 2018)、これらの研究では卵黄嚢由来であるミクログリアと骨髄単球由来マクロファージ を区別できていない。興味深いことに、PCNSL は血管周囲に腫瘍細胞が配列しながらびまん性に浸潤する病理像を特徴とするが、血管壁周囲を取り巻く細胞であるペリサイトはリンパ腫細胞をリクルートし得ること (Venetz et al. Int J Cancer 2010)、ペリサイトはミクログリアに分化し得、逆にミクログリアもペリサイト

に分化し得ることが報告されている (Yamamoto et al. Sci Rep 2017; Sakuma et al. J Neuroinflammation 2016)。以上の点からミクログリアが PCNSL の腫瘍形成に関与する可能性が高い。そこで本研究では、PCNSL マウスモデルを用いてミクログリアが PCNSL 腫瘍形成にどのような影響を及ぼすか検討した。

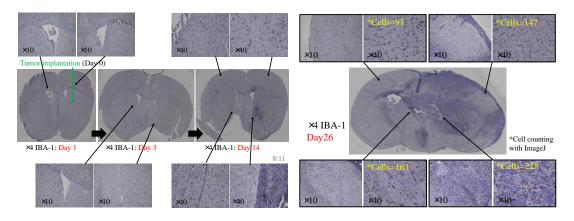
### 2. 方法

- 1) 当施設で得た PCNSL 患者検体を処理し、腫瘍細胞をマウスの大脳基底核に定位的に移植し、patient-derived xenograft; PDX モデルを樹立した。腫瘍形成とミクログリアの関係を経時的に評価するために隔日ごとに大脳を切り出し、HE 染色や IBA-1 免疫染色を行った。
- 2) マウスのミクログリアを除去する系を樹立するために、Colony-stimulating factor 1 receptor 阻害薬である PLX3397 の投与を行った (Elmore et al. *Neuron* 2014)。 C57BL/6 マウスおよび SCID Beidge マウスに対して、0.029% PLX3397 添加飼料を 21 日間投与し、マウスの大脳を 切り出して得た白血球を フローサイトメトリー (FACS Celesta) で解析した。
- 3) SCID Beidge マウス 6 匹を Control 群 (通常飼料のみ投与)、PLX3397→Control 群 (PLX3397 添加飼料を 14 日間投与し腫瘍を移植。その後は 21 日間通常飼料を投与)、PLX3397 継続群 (PLX3397 添加飼料のみ投与)の 3 群に分けた。食餌開始から 14 日で PCNSL 細胞株をマウスの大脳に移植し、移植から 21 日で大脳を切り出し、HE 染色や IBA-1 免疫染色を行った。

#### 3. 結果

# 1) PCNSL マウスモデルにおける経時的な腫瘍形成とミクログリアの関係

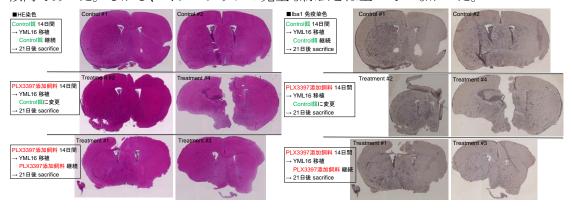
PCNSL 細胞 (YML16) をマウスに移植後 1, 3, 14, 26 日目の大脳を IBA-1 免疫染色で評価した (下図)。移植した側に徐々に腫瘍 (濃青色) が形成され、ミクログリア (茶褐色) の分布は腫瘍形成側で多く、26 日後では活性化したミクログリアが腫瘍の周囲を囲むように集まっていた。



# 2) ミクログリア減少マウスにおける PCNSL 腫瘍形成の評価

PLX3397 添加飼料を投与すると、14 日の段階で C57BL/6 マウスでは Control に対して 6%、 SCID Beidge マウスでは 24%程度までミクログリアの量が減少した。21 日の段階でも同程度 の減少率であった。そのため、方法 3) のように 14 日間食餌をさせた段階でミクログリア がある程度減少したものと判断し、PCNSL 細胞 (YML16) の移植を行った。

移植から 21 日後で切り出した大脳の HE 染色 (下図 左) において、Control 群と PLX3397 継続群を比較すると、腫瘍増殖が抑制される傾向はあったが顕著ではなかった。同じく IBA-1 免疫染色では、Control 群と比較して PLX3397 を投与した 2 群のミクログリアは減少傾向であった。しかし、ミクログリアの完全な除去とは至っていなかった。



# 4. 考察

今回の研究を通じて、ミクログリアの PCNSL 腫瘍形成に関与する可能性およびミクログリアを抑制することで PCNSL の腫瘍形成を制御できる可能性が見出せた。一方でその効果は未だ不十分であり、ミクログリアをより完全に除去した状態での腫瘍形成の評価などは今後の課題である。PLX3397 添加飼料の食餌期間などの再検討を進める。また、 C57BL/6 マウスと SCID Beidge マウスにおいて、PLX3397 添加飼料でのミクログリア除去率の違いが生じる理由は不明であり、残存する他の免疫細胞との関係性も今後の課題である。

### 5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

Kensuke Tateishi, Yohei Miyake, Masahito Kawazu, Nobuyoshi Sasaki, Taishi Nakamura, <u>Jo Sasame</u>, Yukie Yoshii, Toshihide Ueno, Akio Miyake, Jun Watanabe, Yuko Matsushita, Norio Shiba, Naoko Udaka, Kentaro Ohki, Alexandria Fink, Shilpa Tummala, Manabu Natsumeda, Naoki Ikegaya, Mayuko Nishi, Makoto Ohtake, Ryohei Miyazaki, Jun Suenaga, Hidetoshi Murata, Ichio Aoki, Julie Miller, Yukihiko Fujii, Akihide Ryo, Shoji Yamanaka, Hiroyuki Mano, Daniel Cahill, Hiroaki Wakimoto, Andrew Chi, Tracy Batchelor, Motoo Nagane, Koichi Ichimura, and Tetsuya Yamamoto. Hyperactive RelA/p65-hexokinase 2 signaling axis drives primary central nervous system lymphoma. *Cancer Research*. 2020, in press

M2 マクロファージおよび骨髄由来免疫抑制細胞の口腔がん予後予測マーカー としての可能性

関原 和正 1),2)

共同研究者:中島 慎太郎1,來生 知1)

1)横浜市立大学大学院医学研究科 顎顔面口腔機能制御学 2)浜松医科大学医学部 ウイルス・寄生虫学

### 抄録

腫瘍再発には治療後の微小環境変化や癌幹細胞の関与が考えられ、治療抵抗 性を克服する治療法や早期発見に繋がる検査法の開発が切望されている。我々 は腫瘍内に流入し分化した M2MΦ や PD-1 が難治性を克服する標的となり、ま た予後を予測するのに有用なマーカーになりうる可能性があるという仮説を立 てた。そこで本研究では、マウスモデルを用いてコントロール群、がん未治療 群、再発群において、末梢血液中の CD11b、CD206、PD-1 陽性細胞の割合を 解析した。また口腔がん患者を対象に、治療前後の末梢血液の CD11b+骨髄細 胞、CD206+M2MΦ、PD-1 の割合を解析し、これらが口腔がん予後予測マーカ ーとして有用であるかを検討した。非照射マウスが移植後10日目くらいから急 激に増大したのに対し、再発モデルは緩徐に増大した。次に移植後12日目にお いてコントロール群、未治療がん移植モデル群、再発モデル群のマウスより末 梢血を採取し CD11b、CD206、PD-1 陽性細胞の割合の変化を観察したが、有 意差は見られなかった。口腔がん患者の臨床検体では、治療前および治療中の 末梢血中では CD11b+骨髄細胞、CD206+M2MΦ、CD206+PD-1+M2MΦ の割合 が顕著に増加した。更なる解析を行うことでこれらが予後予測マーカーとして 有用である可能性が期待される。

M2 マクロファージおよび骨髄由来免疫抑制細胞の口腔がん予後予測マーカー としての可能性

関原 和正 1),2)

共同研究者:中島 慎太郎1,來生 知1)

1)横浜市立大学大学院医学研究科 顎顔面口腔機能制御学 2)浜松医科大学医学部 ウイルス・寄生虫学

## 1. 目 的

口腔がん治療において化学療法、放射線療法は広く活用されているが、近年 の治療技術の進歩にも関わらず治療後の残存・再発がしばしば見られ問題とな っている。再発は予後を著しく悪化させ、またその要因として有用な治療法が ないこと、早期発見が難しいことが挙げられる。腫瘍再発には治療後の微小環 境変化や癌幹細胞の関与が考えられ、治療抵抗性を克服する治療法や早期発見 に繋がる検査法の開発が切望されている。申請者らのグループでは、放射線照 射により血管新生が抑制された際、CD11b 陽性細胞が腫瘍内に流入し M2 マク ロファージ (M2MΦ) に分化し、血管再形成が誘導されることを明らかにした (Kioi M et al. JCI 2010)。また、乳がんや食道がん、悪性リンパ腫などで、腫 瘍内にマクロファージが浸潤し血管新生や腫瘍免疫抑制を介してがん細胞の増 殖を促進し、腫瘍の悪性化に寄与していることも報告されている。近年この腫 瘍に随伴するマクロファージ(Tumor-associated macrophage: TAM)の一部が M2MΦ であることを示す報告もある。さらに最近 PD-1 を発現する TAM が腫瘍 免疫を抑制するという報告がなされた(Gordon SR et al. Nature 2017)。しかし 口腔がんにおいて、M2MΦ や PD-1 が悪性化や再発に寄与しているかはいまだ 不明で、我々は腫瘍内に流入し分化した M2MΦ や PD-1 が難治性を克服する標 的となり、また予後を予測するのに有用なマーカーになりうる可能性があると いう仮説を立てた(図 **1**)。

そこで本研究では、まずマウスモデルを用いてコントロール群、がん未治療群、再発群において、末梢血液中の CD11b、CD206、PD-1 陽性細胞の割合を解析することを目的とした。また、口腔がん患者を対象に、治療前後の末梢血液の CD11b+骨髄細胞、CD206+M2MΦ、PD-1 の割合と予後を解析し、これらが口腔がん予後予測マーカーとして有用であるかを検討することを最終目的とし

た。

## 2. 方 法

## ① マウスモデルの作製

マウス由来口腔扁平上皮癌細胞 SCC-VII を用いて C3-H マウスの背部皮膚に腫瘍を摂取するモデルを用いて行った。具体的にはマウス皮膚に予め放射線照射を行い、局所の血管を死滅させたマウス(再発モデル)と非照射マウス(未治療モデル)に播種し、腫瘍を形成させた。腫瘍を移植しないマウス(PBS のみ注射)をコントロール群とした。

- ② マウス末梢血液中および腫瘍内の CD11b、CD206、PD-1 の発現解析 コントロール群、未治療がん移植モデル群、再発モデル群のマウスより末梢 血を採取した。末梢血は塩化アンモニウム溶血材を用いて溶血し、FITC anti-mouse CD11b, AF647 anti-mouse CD206, BV421 anti-mouse PD-1 抗体で 染色後、フローサイトメーターを用いて CD11b+骨髄細胞、CD206+M2MΦ、CD206+PD-1+M2MΦ を検出し、各群での割合の変化を解析した。
- ③ 口腔がん患者末梢血液中における治療前後での変化

口腔がん患者を対象に治療前後で採血を行い、Polymorphprep を用いて単球 および顆粒球を分離し、APC anti-human CD11b, BV421 anti-human CD206, PE anti-human PD-1 抗体で染色後、フローサイトメーターを用いて CD11b+骨髄細胞、CD206+M2MΦ、CD206+PD-1+M2MΦ を検出し、各群での割合の変化を解析した。

#### 3. 結 果

まず背部皮膚に予め 12 Gy の放射線照射を行い、局所の血管を死滅させたマウス(再発モデル)と非照射マウス(未治療モデル)に SCC-VII を播種し、増殖曲線を描いた。非照射マウスが移植後 10 日目くらいから急激に増大したのに対し、再発モデルは緩徐に増大した。フローサイトメーターを用いて CD11b+骨髄細胞、CD206+M2MΦ、CD206+PD-1+M2MΦ を検出したところ、コントロール群と比較して、未治療モデル群、再発モデル群のマウスにおいて、CD11b+骨髄細胞の割合が有意に増加していたが、未治療モデル群と再発モデル群間では有意差は見られなかった。CD206+M2MΦ および CD206+PD-1+M2MΦ に関しても、同様の結果であった。一方、口腔がん患者の臨床検体では、治療開始前および化学放射線治療中の末梢血中の CD11b+骨髄細胞、CD206+M2MΦ、CD206+PD-1+M2MΦ を検出した。治療前と比較して化学放射線療法を施行する

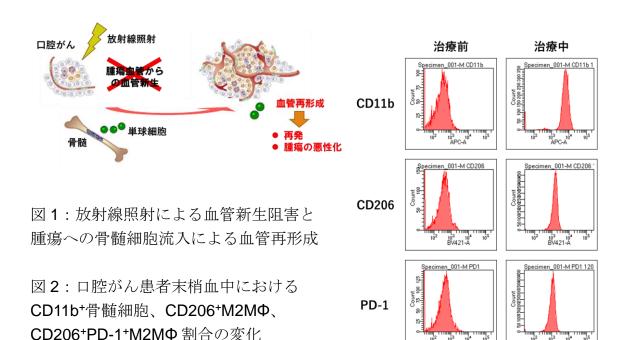
と CD11b<sup>+</sup>骨髄細胞、CD206<sup>+</sup>M2MΦ、CD206<sup>+</sup>PD-1<sup>+</sup>M2MΦ の割合が顕著に増加 した(図 2)。治療後の解析は現在解析中である。今後は検体数を増やして引き 続き解析を行う予定である。

## 4. 考 察

**C3H** マウス実験では有意な結果が得られなかったが、マウスもしくは細胞特異性が考えられる。別の系を用いて更なる解析を進めたいと考えている。また臨床検体を用いた実験より、末梢血中でも **CD11b**+骨髄細胞、**CD206+M2MΦ**、**CD206+PD-1+M2MΦ** の割合の変化が見られたことから、更なる解析を行うことで予後予測マーカーとして有用である可能性を期待できる。

# 5. 学会発表

- <u>関原和正</u>, 中島慎太郎, 來生知. 治療抵抗性を誘導する骨髄細胞の流入と口腔癌幹細胞の分子メカニズム. 日本放射線腫瘍学会 第 32 回学術大会. 名古屋. 2019.11. 口演.
- <u>関原和正</u>, 來生知. CD11b 陽性骨髄細胞の流入と口腔癌幹細胞による治療抵抗性の分子メカニズム. 第79回日本癌学会学術総会. 広島・web 開催. 2020. 10. ポスター. Accepted.
- <u>関原和正</u>, 中島慎太郎, 來生知. 骨髄細胞の流入と口腔癌幹細胞による治療抵抗性の分子機構. 第 8 回 がんと代謝研究会. 佐渡. 2021. 5. ポスター. Accepted.



(申請書記載の課題名) サルコペニアマウスモデルを用いた骨格筋量が膵癌化学療法に与える影響の解析

> (報告者名) 栗田裕介 (共同研究者名も併記) 加藤真吾、中島淳

(所属部科名) 肝胆膵消化器病学

抄録 近年、がん化学療法の効果に影響を与える因子の一つとして、患者の筋肉量が注目されている。主に加齢に伴う骨格筋量低下はサルコペニアと呼ばれ、我々は、難治癌の代表である膵癌において、サルコペニアの患者では、化学療法後の予後が不良となることを報告した。他のがん種においても、疫学的な解析から患者の骨格筋量とがん化学療法の効果や予後との関連性が報告されている。しかし疫学的な相関を示した報告のみであり、患者の骨格筋量が化学療法の効果に影響を与える機序は明らかになっていない。以上の背景から、本研究では骨格筋量低下モデルマウスを用いて、骨格筋量が膵癌化学療法の効果に与える影響について検討を行った。今回、筋萎縮マウスを使用して化学療法薬剤による腫瘍の縮小効果を検討した。統計学的な有意な差こそ認めなかったが、筋萎縮がない群で縮小効果がある傾向が認められた。依然として少数例での検討にとどまっており、今後も症例を蓄積することで明確に骨格筋量の維持による予後延長効果、化学療法の有効性について結論付けることを目標として研究を継続していく。筋萎縮を防ぐことで予後延長効果が認められれば患者様の利益になるとともに、付随的に筋力維持によるQOL 改善効果によるメリットも見込まれる。

(申請書記載の課題名)

サルコペニアマウスモデルを用いた骨格筋量が膵癌化学療法に与える影響の解析

(報告者名) 栗田裕介

(共同研究者名も併記)加藤真吾、中島淳(所属部科名)

肝胆膵消化器病学

## 1. 目 的

近年、がん化学療法の効果に影響を与える因子の一つとして、患者の筋肉量が注目されている。主に加齢に伴う骨格筋量低下はサルコペニアと呼ばれ、申請者は、難治癌の代表である膵癌において、サルコペニアの患者では、化学療法後の予後が不良となることを報告した(Kurita et al. Pancreatology. 2019;19:127-135)。他のがん種においても、疫学的な解析から患者の骨格筋量とがん化学療法の効果や予後との関連性が報告されている。しかし疫学的な相関を示した報告のみであり、患者の骨格筋量が化学療法の効果に影響を与える機序は明らかになっていない。以上の背景から、本研究では骨格筋量低下モデルマウスを用いて、骨格筋量が膵癌化学療法の効果に与える影響とその機序を解明する。

### 2. 方 法

1. 廃用性筋萎縮モデルマウスを用いた膵癌化学療法の効果の解析

後肢挙上マウスはマウスの後肢に負荷がかからない状態にすることで廃用性委縮を生じさせるモデルであり、簡便な筋萎縮モデルとして使用した。これにマウス膵癌オルガノイド細胞株を同所移植する。そして抗腫瘍製剤(Gemcitabine)を投与し、廃用性筋萎縮モデルマウス群と非筋萎縮マウス群との 2 群間で腫瘍縮小効果を比較した。また、後肢挙上マウスによる廃用性筋萎縮モデルにおいて、化学療法開始後も後肢挙上を継続し筋萎縮持続マウスモデル群と、運動をさせることで筋萎縮改善させる群に分けて 2 群間で治療効果を比較した。

### 2.加齢性筋萎縮マウスを用いた膵癌化学療法の効果の検討

一般にマウスは生後 7-10 か月で最大筋力を示し、生後 13 か月経過すると加齢に伴い生理的に筋肉量が低下してくるとされる。今回、25 か月のマウスはヒトにおける老年と類似した筋力の低下を呈する。非筋萎縮マウスとして生後 10 か月のマウス、加齢性筋萎縮マウスとして 25 か月のマウス、それぞれにマウス膵癌オルガノイド細胞株を同所移植し、膵癌モデルマウスを作成、Gemcitabine を投与し、腫瘍縮小効果を比較した。

### 3. 結 果

#### 1.廃用性筋萎縮モデルマウスを用いた膵癌化学療法の効果の解析

抗腫瘍製剤(Gemcitabine)を投与し、廃用性筋萎縮モデルマウス群と非筋萎縮マウス群との2群間で腫瘍縮小効果を比較した。計10例の2群間の検討において腫瘍縮小効果は有意な差は認めなかった。後肢挙上マウスによる廃用性筋萎縮モデルにおいて、化学療法開始後も後肢挙上を継続し筋萎縮持続マウスモデル群と、運動をさせることで筋萎縮改善させる群に分けて2群間において、統計上有意な差は認めなかった。

## 2.加齢性筋萎縮マウスを用いた膵癌化学療法の効果の検討

筋萎縮マウスとして生後 10 か月のマウス、加齢性筋萎縮マウスとして 25 か月のマウス、 それぞれにマウス膵癌オルガノイド細胞株を同所移植し、膵癌モデルマウスを作成、 Gemcitabine を投与し、腫瘍縮小効果を比較したが、この点においても有意な差は認めなかった。予後について有意差は認めなかったものの変化を認めた。

### 4. 考 察

これまでサルコペニアは膵癌をはじめとした悪性腫瘍の予後因子になることが報告されている。筋萎縮を防ぐことで予後延長が期待されるが、侵襲性や負担が大きい点から、依然としてヒトを対象としたリハビリテーションの介入を行った筋萎縮予防効果による予後延長効果は示されていない。そこで今回サルコペニアマウスモデルを作成して運動を継続させることによるリハビリテーションの予後延長効果を検討した。

今回、筋萎縮マウスを使用して腫瘍の縮小効果を検討したが、統計学的な有意な差を認めなかったが、筋萎縮がない群で縮小効果がある傾向が認められた。依然として少数例での検討にとどまっており、統計学的な検出力が不十分な可能性がある。そこで症例を蓄積することで明確にリハビリテーションによる予後延長効果、化学療法の有効性について結論付けることを目標として研究を継続していく。進行膵癌においてリハビリテーションにより筋萎縮を防ぐことで予後延長効果が認められれば患者様の利益になるとともに、付随的に筋力維持による QOL 改善効果によるメリットも見込まれる。

また症例を蓄積と並行し、マイオカインの解析として、上記解析の中で血清中及び腫瘍

内の IL-6 濃度を測定し、比較する。マイオカインに関しては、まず代表的な IL-6 の解析から始めるが、必要に応じてサイトカインアレイなど網羅的な解析を加え、筋肉の分泌されるサイトカインの関連性の検討を行う。

- 5. **論文及び学会発表**(研究会を含む) この研究に関連して発表した論文(タイトル、掲載誌)や発表学会(名 称、開催日)を記して下さい。
- ・第 105 回消化器病学会総会 シンポジウム 3:消化器疾患におけるサルコペニア 2019 年 5 月 10 日(金) 14:20~16:50
- · Yokohama Digestive Meeting 2019 2019年12月3日(火)
- Yusuke Kurita, Noritoshi Kobayashi, Motohiko Tokuhisa, et al. Sarcopenia is a reliable prognostic factor in patients with advanced pancreatic cancer receiving FOLFIRINOX chemotherapy.
   Pancreatology 19 (2019) 127e135

単球、マクロファージにおける IRF8 発現異常を軸とした全身性強皮症における血管障害の 病態解明

## 乙竹 泰

共同研究者:山口 由衣、浅見 美穂、秋田 亜紗美、池田 範子

所属部科名:横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学

#### 抄録

全身性強皮症(SSc)は免疫異常、血管障害、皮膚・肺を含む全身臓器の線維化を主要な3 病態とする全身性の自己免疫疾患である。今回我々は SSc における血管障害において、単球/マクロファージにおけるインターフェロン制御因子8(IRF8)の果たす役割について注目して研究を行った。IRF8 は単球、マクロファージ(Mf)の分化に必須であり、その機能にも影響を及ぼす転写因子である。当科におけるこれまでの実験によりびまん皮膚硬化型SSc 患者の末梢血単球においては IRF8 発現が低下していることが判明した。SSc における単球/マクロファージ系細胞の機能異常に IRF8 が関与する可能性を考えた。

単球/マクロファージを含む骨髄球系細胞特異的に IRF8 がノックダウンされた Cre(LysM)IRF8(flox/flox)マウスの背部皮膚血管においては、血管の狭窄、毛細血管増生を認めた。また、血管壁においては $\alpha$ SMA の発現低下がみられ、血管透過性亢進への寄与が示唆された。さらに、背部皮膚および末梢血単球由来 Mf において VEGF の mRNA 発現の上昇がみられた。本研究により単球/Mf における IRF8 の発現異常が強皮症における血管障害に深く寄与していることが示唆され、今後血管障害を誘導するより詳細な機序について解析を進める予定である。

単球、マクロファージにおける IRF8 発現異常を軸とした全身性強皮症における血管障害の 病態解明

乙竹 泰

共同研究者:山口 由衣、浅見 美穂、秋田 亜紗美、池田 範子 所属部科名:横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学

#### 1. 目的

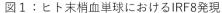
全身性強皮症(SSc)は免疫異常、血管障害、皮膚・肺を含む全身臓器の線維化を主要な3 病態とする全身性の自己免疫疾患である。免疫異常、血管障害、線維化の順で症状が出現 し、その発症には単球、マクロファージ、B細胞等の免疫細胞が関与すると考えられている。

SSc における血管障害の原因として血管新生の恒常的な活性化と脈管形成における顕著な障害があげられる。血管新生は既存の血管内皮細胞の増殖により血管が形成される過程、脈管形成は骨髄由来血管内皮前駆細胞が血管の障害部位で血管周皮細胞等に分化して血管が形成される過程である。これらの異常により毛細血管の拡張、細動脈の狭窄、小血管の消失などが各種臓器で生じる。

インターフェロン制御因子 8 (IRF8) は IRF ファミリーに属する転写因子であり、単球、マクロファージの分化のみならずそれらの機能においても重要な因子と考えられている。 近年ゲノムワイド相関解析において、SSc と IRF8 の相関が日本人を含む複数の集団で報告されている。

我々は SSc における単球、マクロファージ系細胞の機能異常に単球系細胞の分化、機能の制御因子である IRF8 が関与する可能性を考えた。これまでの実験から、びまん皮膚硬化型 SSc 患者の末梢血単球において IRF8 発現が限局皮膚硬化型 SSc および健常人と比して有意に低下していることを明らかにした(図 1)。また、RNA 干渉法により IRF8 をノックダウンした単球由来のマクロファージにおいて VEGF に mRNA レベルで発現異常があることが分かり(図 2)、IRF8 の低下が血管障害に寄与する可能性が考えられた。

今回我々はIRF8 が in vivo において血管障害に及ぼす影響について解析することを目的とした。本研究において我々は IRF8 の発現低下により①単球/マクロファージにおけるサイトカイン/ケモカイン発現が変化し間接的に血管障害に寄与する可能性、②単球系 PHC など脈管形成にかかわる骨髄球系細胞において血管内皮細胞や血管周皮細胞への分化が障害され直接的に血管障害に寄与する可能性、を想定し単球/マクロファージを含む骨髄球系細胞特異的に IRF8 がノックダウンされた Cre(LysM)IRF8(flox/flox)マウスを用いて血管の解析を行った。



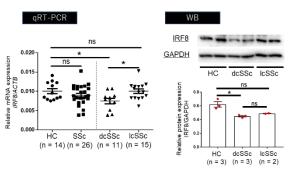
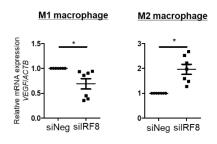


図2: IRF8ノックダウン単球由来マクロファージ におけるVEGFのmRNA発現



## 2. 方法

Cre(LysM)IRF8(flox/flox)マウス (IRF8cKO マウス) を作成し下記について評価を行った。

1) FITC-dextran を用いたマクロでの血管の形態異常の解析

マウスの尾静脈から FITC-dextran を投与し、投与後に背部皮膚を筋膜上で切離し回収した。 背部皮下の血管内における FITC の蛍光を蛍光顕微鏡により観察した。

2) 組織切片を用いたミクロでの血管の形態異常の解析

12 週令の IRF8cKO マウス、そしてコントロールとして C57B6 マウスの背部皮膚を回収 し、組織切片に対して  $\alpha$  SMA の免疫染色を行い血管壁における  $\alpha$  SMA 発現を評価した。

3) 組織切片および末梢血単球由来マクロファージにおける VEGF の測定

IRF8cKO マウスおよび C57B6J マウスの背部皮膚における VEGF、 $\alpha$  SMA の mRNA 発現について qRT-PCR 法で解析を行った。さらに、マウス末梢血単核球を M-CSF 存在下 で培養して得られたマウス末梢血単球由来マクロファージにおいて VEGF の mRNA 発現を qRT-PCR 法で評価した。

### 3. 結果

# 1) IRF8cKO マウスの背部血管の形態学的異常

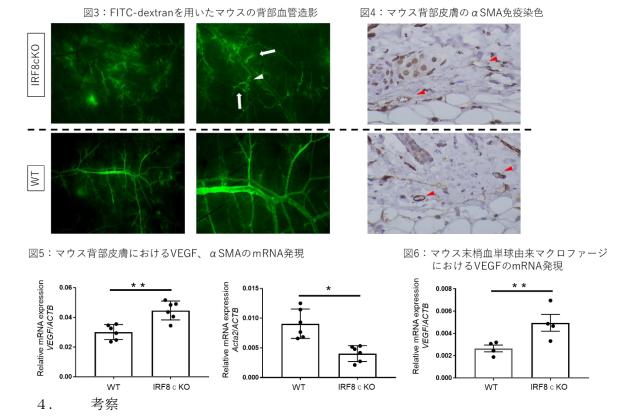
IRF8cKO マウスにおいては、血管の狭窄(矢尻)および毛細血管の増生(矢印)を認めた(図 3)。また、血管透過性の亢進を示唆する背景の FITC 輝度上昇を認めた。さらに免疫染色において真皮脂肪織境界部の小血管において  $\alpha$  SMA の発現低下を認めた(図 4)。

2) マウス背部皮膚における VEGF、α SMA の mRNA 発現

マウス背部皮膚から得た mRNA を用いて、qRT-PCR を行い、VEGF、 $\alpha$  SMA の発現を評価した。IRF8cKO マウスの皮膚においては VEGF の優位な発現上昇と $\alpha$  SMA の優位な発現低下を認めた(各々p=0.0087、p=0.0022、Mann-Whitney U test、各群 n=6)(図 5)。

3) マウスの末梢血単球由来マクロファージにおける VEGF の mRNA 発現

マウスの末梢血単球由来マクロファージから得た mRNA を用いて qRT-PCR を行い、VEGF 発現を評価した。 IRF8cKO マウスにおいては VEGF の mRNA 発現が優位に上昇した (p=0.028、Mann-Whitney U test、各群 n=4) (図 6)。



骨髄球特異的に IRF8 がノックアウトされた Cre(LysM)IRF8(flox/flox)マウス (IRF8cKO マウス) の背部皮膚血管においては、血管の狭窄と毛細血管の増生を認めた。また、これらの血管においては血管透過性が亢進している可能性が示唆された。全身性強皮症においてもこれらと同様の血管障害が出現するが、その病態に骨髄球における IRF8 発現異常が寄与している可能性が考えられる。今回の実験では血管透過性の亢進について定量的な評価が行えていない。今後はエバンスブルーを経静脈的に投与し一定時間後に皮膚を回収し、皮膚に含まれる漏出したエバンスブルーを抽出した上で抽出液の蛍光強度を測定することにより定量的評価を予定する。

マウス背部皮膚の小血管においては $\alpha$  SMA の発現が低下しており、血管周皮細胞の欠如した脆弱な血管であること、さらにそれに伴い上述の血管正当化性亢進が生じている可能性が示唆された。末梢血中に単球において IRF8 発現が低下したことにより、何らかの機序により血管周皮細胞への分化が障害された可能性が示唆された。

一方で、IRF8cKOマウスの皮膚および末梢血単球由来マクロファージにおいては血管の成長を促す VEGFの mRNA 発現が亢進していた。末梢血単球や組織中のマクロファージにおける IRF8 発現低下により VEGF 発現が亢進、これにより異常な毛細血管の増生が促された可能性が考えられる。

以上より、全身性強皮症患者の単球、マクロファージ系細胞における IRF8 低下が、仮説として考えた①サイトカイン/ケモカイン発現が変化し間接的に血管障害に寄与する可能性、

②単球系PHCなど脈管形成にかかわる骨髄球系細胞において血管内皮細胞や血管周皮細胞への分化が障害され直接的に血管障害に寄与する可能性、のいずれにおいても密接に関与していると考えられた。今後血管障害を誘導するより詳細な機序について解析を進める予定である。

### 5. 学会発表

- 1) Ototake Y, Yamaguchi Y, Asami M, Komitsu N, Watanabe T, Kurotaki D, Tamura T, Aihara M. Downregulated expression of Interferon regulatory factor 8 in monocytes/macrophages exhibits pro-fibrotic phenotype and may contribute to the pathogenic process of systemic sclerosis. 49th European Society for Dermatological Research (ESDR) Annual Meeting (Bordeaux, France), 2019.9.18-21
- 2) Ototake Y, Yamaguchi Y, Asami M, Komitsu N, Watanabe T, Kurotaki D, Tamura T, Aihara M. Monocytes/macrophages may contribute to the pathogenic process of systemic s
- clerosis via downregulation of Interferon regulatory factor 8. 44<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology (Aomori, Japan), 2019.11.8-10
- 3) Yamaguchi Y, Ototake Y, Watanabe T, Kurotaki D, Tamura T, Aihara M. Monocytes/macrophages may contribute to the fibrotic process of systemic sclerosis via downregulation of interferon regulatory factor 8. 64<sup>th</sup> Annual General Assembly and Scientific Meeting of the Japan College of Rheumatology (Online, Japan), 2020.8.17-9.15.

チロシンキナーゼ遺伝子 ALK の変異から起こる腎癌発生機序の解明と新規腎癌治療薬創薬 基盤の確立

大竹慎二

蓮見壽史、三留拓、軸屋良介、野口剛、川浦沙知、矢尾正祐 泌尿器科学

#### 抄録

既存の腎癌研究では VHL などメジャーな腎癌関連遺伝子の機能解析に重きが置かれてきたが、その過程で生み出された薬剤には効果に限界があり強い副作用が生じてしまうことが分かっている。そのため研究対象となりにくかった希少腎癌の発癌機構を解明していく必要があると考えた。症例数は少ないものの発癌関連遺伝子として報告されている ALK(anaplastic lymphoma kinase)融合遺伝子について着目し、ALK 融合遺伝子を発現する Cell line 及び腎臓特異的に発現するマウスモデルを構築・解析を行った。作成した Cell line において ALK 阻害薬を投与したところ、腎癌における 1st line 治療薬である血管新生阻害剤よりも強力な ALK 発現抑制効果を認めた。ALK の下流の pathway についても同様の効果が認められた。ALK 融合遺伝子をトリガーとした腎癌患者においては既存の薬剤よりも ALK 阻害薬が有効である可能性が示唆された。腎臓特異的な ALK 融合遺伝子導入マウスでは腎癌の自然発生が認められ、当該マウスは生後 1 週間以内に死亡してしまうことが確認された。病理組織学的には腎髄質の嚢胞形成と腎髄質の腫瘍化が認められた。この世界初の希少腎癌自然発生マウスは、腎腫瘍化機構の解明につながり、新規腎癌治療薬の開発に役立つことが期待される。

チロシンキナーゼ遺伝子 ALK の変異から起こる腎癌発生機序の解明と新規腎癌治療薬創薬 基盤の確立

大竹慎二

蓮見壽史、三留拓、軸屋良介、野口剛、川浦沙知、矢尾正祐 泌尿器科学

#### 1. 目的

腎癌では、遺伝性腎癌の家系解析や散発性腎癌の全ゲノム解析などから、現在までに腎癌関連遺伝子が 13 個ほど同定されており、それぞれの遺伝子変異から異なる組織型の腎癌が発生する。既存の腎癌研究ではVHLなどのメジャーな腎癌関連遺伝子の機能解析とその変異による腎癌の発生・進展機序解明に重きが置かれてきたが、その過程で生み出された血管新生阻害剤は、その効果の限界と強い副作用から免疫チェックポイント阻害剤にとって代わられようとしている。免疫チェックポイント阻害剤の効果も一部の症例において限定的であることが明らかになりつつあり、全く違うアプローチでの発癌メカニズムの解明と薬剤開発が求められている。今後は、その希少性から研究対象となりにくかった希少腎癌の発癌機構を解明していく必要があると考えられる。そこで申請者は、症例数は少ないものの腎癌関連遺伝子として報告されているALK(anaplastic lymphoma kinase)融合遺伝子を研究テーマとし、ALK 融合遺伝子を発現するCell line 及び腎臓特異的に発現するマウスモデルを構築・解析していくこととした。

## 2. 方法

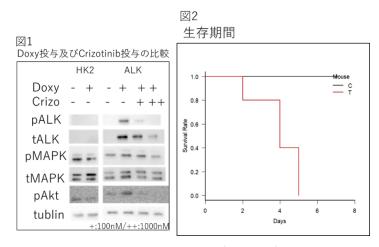
ALK 及びパートナー遺伝子を購入し PCR 操作で融合遺伝子を作成した。融合ポイントについては既報の症例報告を参考とした。

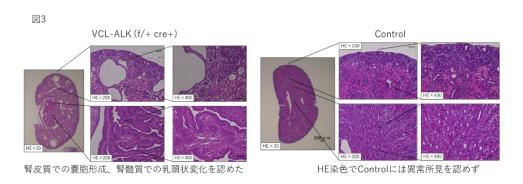
レンチウイルスを用いて融合遺伝子を HEK293・HK-2 細胞で導入した。その際に Doxycycline 存在下に融合遺伝子が発現するシステムとした。樹立した細胞株に ALK 阻害剤である Crizotinib を投与し、ALK 及びその下流の pathway への阻害効果の有無を確認した。次に腎細胞癌治療の 1st line 選択薬である Sunitinib と Crizotinib を投与した際の蛋白質発現の比較を行った。

融合遺伝子を pRosa26 vector に導入し、ES 細胞へのエレクトロポレーションを経てキメラマウスを作成した。GENOTYPE を行い、目的の融合遺伝子を受け継いだマウス F1 を確立した。当該マウスと腎臓特異的 Cre リコンビネースを発現する Cre マウスとを掛け合わせることで、腎臓特異的に融合遺伝子を発現するマウス F2 を確立した。腫瘍形成の有無・発現変動蛋白質・生存期間を確認した。

#### 3. 結果

細胞株では Doxycycline 投与後 24 時間で ALK タンパク質が最も発現することが確認された。 以降 Doxycycline 投与後 24 時間経過時点の細胞抽出液を用いることとした。 Crizotinib を投与 したところ、融合遺伝子導入細胞株では ALK の発現及び活性の低下が Crizotinib の濃度依存性 に確認された。下流の pathway についても同様であった(図 1)。次に Sunitinib と Crizotinib を投与した際の蛋白質発現の比較を行った。 Crizotinib は Sunitinib と比較して、より低濃度で の ALK の発現及び活性の低下が確認された。 下流の pathway についても同様であった。





60

#### 4. 考察

細胞への分子標的薬の投与の結果からは、ALK 発現細胞株においては腎細胞癌 1st line 選択薬である Sunitinib よりも ALK 選択的阻害剤である Crizotinib の方が ALK 及び下流 pathway への強い阻害作用が認められた。これは ALK 遺伝子変異を伴った腎細胞癌患者においては、Sunitinib よりも Crizotinib の方が有効である可能性を示唆するものである。

マウスモデルにおいて、ALK f/+ Cre+マウスの腎臓における腫瘍化を確認出来た。当該マウス に対して RNA-seq を行い発現変動遺伝子を確認する予定である。そこから得られたデータを VHL モデルマウスやクロマチンリモデリングモデルマウスの RNA-seq データとマージさせる ことで、共通して変動する遺伝子や pathway を確認し、腎細胞癌全体に有効な治療標的や診断 マーカーの探求に繋げていきたいと考えている。

当該マウスは生後 7 日以内に死亡してしまうが、死因については明らかでない。腎臓の形態学的な変化は確認出来たものの、マウス自体の大きさゆえに採血での生化学的検査は行えていない。任意の時点から目的遺伝子を発現させることの可能な Cre マウスとマウス F1 とを掛け合わせることで成熟マウスモデルを確立し、腫瘍形成の有無と採血での生化学的変化を確認していく予定である。

#### 5. 論文及び学会発表

投稿中

## 【単球系細胞から捉えた神経変性疾患の病態機序解明】

古宮 裕泰

共同研究者: 小川 有紀, 竹内 英之, 田中 章景 所属部科: 横浜市立大学 神経内科学・脳卒中医学教室

#### 抄録

筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病態において、CCR2 陽性骨髄単球系炎症細胞の中枢神経浸潤による神経炎症機序が想定されているが、CCR2 の中枢での細胞局在を含めその詳細は未解明である。ALS モデルである SOD1 Tg マウスを、CCR2 および CX3CR1 のレポーターマウスである  $Ccr2^{rp/rp}$  マウス および  $Cx3cr1^{grp/grp}$  マウスと交配し SOD1 Tg- $Ccr2^{rp/+}$ - $Cx3cr1^{grp/+}$ を作成し、免疫組織学的に病期毎の腰髄における CCR2 の細胞局在について検討を行った。SOD1 Tg- $Ccr2^{rp/+}$ - $Cx3cr1^{grp/+}$ マウスでは、病期進行に伴った腰髄への CCR2 陽性単球細胞浸潤の経時的増加を認めた。CCR2 は、単球系細胞のみならず、ミクログリアや神経細胞にも発現が認められたが、アストロサイトには認めなかった。ALSでは、病勢進行に伴った CCR2 陽性単球の中枢神経浸潤の増加と、ミクログリアや神経細胞における CCR2 の発現誘導が、神経炎症の悪循環を惹起し、ALS の病態形成の一機序を担っている可能性が示唆される。

## 【単球系細胞から捉えた神経変性疾患の病態機序解明】

古宮 裕泰

共同研究者: 小川 有紀, 竹内 英之, 田中 章景 所属部科: 横浜市立大学 神経内科学・脳卒中医学教室

#### 1. 目的

単球系細胞は発生過程で全身に分布し、各臓器の自然免疫センサーとして機能している一方、各臓器の恒常性維持にも寄与している。これまで、神経疾患における単球系細胞の神経系への浸潤は、神経系の恒常性破綻に続発すると考えられ、免疫組織における単球系細胞の制御異常が、「非自律性」に神経系の恒常性破綻や病態に寄与する可能性は考慮されてこなかった。

筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病態において、CCR2 (chemokine CC motif receptor 2) 陽性骨髄単球系炎症細胞の中枢神経浸潤による神経炎症機序が想定されているが、CCR2 の中枢の細胞局在を含めその詳細は未解明である。

本研究では、ALS モデルマウスの病変部位である腰髄での CCR2 陽性細胞の経時的局在解析を行うことで、ALS の病態形成における CCR2 陽性細胞の役割を検討する。

## 2. 方法

ALS モデルである SOD1 Tg マウスを、CCR2 および CX3CR1 の各レポーターマウスである  $Ccr2^{fo/fp}$ マウスおよび  $Cx3cr1^{gfo/gfp}$ マウスと交配することで SOD1 Tg- $Ccr2^{fo/f+}$ - $Cx3cr1^{gfo/f+}$ を作成し、免疫組織学的解析を用いて、病初期(12 週齢)、病中期 (16 週齢)、病後期(20 週齢)、病末期(24 週齢)での腰髄における CCR2 陽性細胞の数を評価した。また、同様に CCR 2 の腰髄内細胞局在についても、Iba1 陽性細胞(浸潤単球およびミクログリア)、CX3CR1 陽性細胞(ミクログリア)、NeuN 陽性細胞(神経細胞)、GFAP 陽性細胞(アストロサイト)との免疫二重染色を行うことで、経時的検討を行った。

#### 3. 結果

SOD1Tg- $Ccr2^{fp/+}$ - $Cx3cr1^{gfp/+}$ マウスはSOD1 Tg マウスと同様の病勢推移を呈し(生存日数中央値 SOD1;167 日,SOD1-CX3CR1 $^{+/-}$ -CCR2 $^{+/-}$ ; 160 日 Fig. A)、病期進行に伴った腰髄への CCR 2 陽性単球細胞浸潤の経時的増加を認めた(Fig. B)。

病勢進行に伴って、CCR2 の局在は、Iba1 陽性細胞(浸潤単球およびミクログリア)に加えて、CX3CR1 陽性細胞(ミクログリア)や NeuN 陽性細胞(神経細胞)にも認められるようになったが、既報告とは異なり GFAP 陽性細胞(アストロサイト)には認められなかった(Fig. C)。

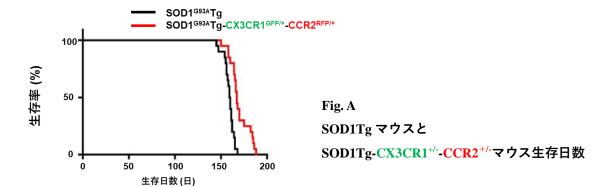


Fig. B

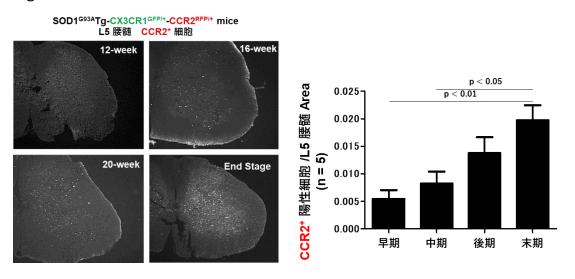
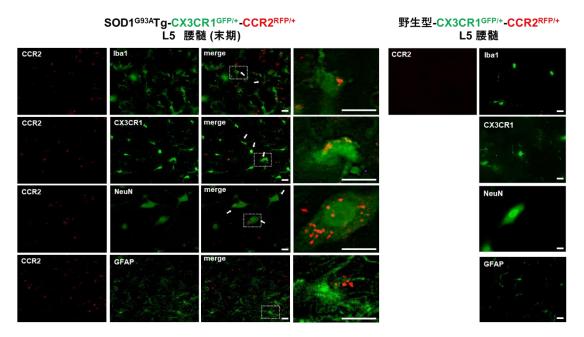
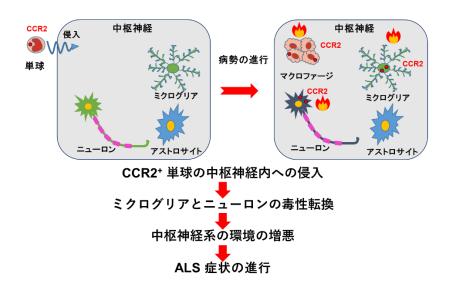


Fig. C



### 4. 考察

ALS の病態機序において、病勢進行に伴った CCR2 陽性単球の中枢神経浸潤の増加と、ミクログリアや神経細胞における CCR2 の発現誘導が、CCL2 (C-C motif chemokine 2)-CCR2 シグナルを通して、神経炎症の悪循環を惹起することで、ALS の病態形成の一機序を担っている可能性が示唆される。また、生体内での単球系細胞の動態を検討する上で、本研究で使用した  $CX3CR1^{+/-}$ - $CCR2^{+/-}$ マウスは大変有用なツールと考えられた。



#### 5. 論文および学会発表

### <論文発表>

Komiya H, Takeuchi H, Ogawa Y, Hatooka Y, Takahashi K, Katsumoto A, Kubota S, Nakamura H, Kunii M, Tada M, Doi H, Tanaka F. CCR2 is localized in microglia and neurons, as well as infiltrating monocytes, in the lumbar spinal cord of ALS mice. Mol Brain. 2020 Apr 29;13(1):64.

### <学会発表>

1. 古宮 裕泰, 竹内 英之, 小川 有紀, 高橋 慶太, 勝元 敦子, 國井 美紗子, 多田 美紀子, 土井 宏, 田中 章景 ALS モデルマウスの中枢神経における CCR2 の局在. 第 43 回日本神 経科学会大会, 2020, 7.

微小管の重合反応に対する放射線影響の検討

## 福永 久典

共同研究者:横谷 明徳(量子科学技術研究開発機構)

湘南鎌倉総合病院 附属臨床研究センター

### 抄録

細胞質に存在する細胞小器官は、細胞の生存に必須であり、互いにコミュニケーションをとりながら細胞内秩序を維持していることが近年の研究から明らかになっている。そこで本研究では、細胞骨格の一つである微小管を構成するチューブリンの重合反応に着目し、放射線がどのような影響を与えるのか検討した。(1)全てのチューブリンに放射線を照射した後で重合反応させた群、(2)一部のチューブリンにのみ放射線を照射し、正常なチューブリンと混合させ、重合反応させた群、(3)正常なチューブリンを重合反応させた群について、反応開始から5400秒後までの重合反応を測定した。そして、混合群の重合反応の効率が低下し、放射線が照射されたチューブリンが正常なチューブリンの重合反応を妨げる可能性があることを見出した。この結果から、微小管に与える放射線影響は線量依存的ではなく、たとえ低線量であっても、放射照射によって損傷したチューブリンが正常なチューブリンの微小管形成(重合反応)を妨げることで、細胞機能に与える影響がより大きくなると推測された。同時に、同時にそのような影響を修復するメカニズムが細胞内に備わっている可能性も示唆された。

### 微小管の重合反応に対する放射線影響の検討

### 福永 久典

共同研究者:横谷 明徳(量子科学技術研究開発機構)

湘南鎌倉総合病院 附属臨床研究センター

#### 1. 目 的

放射線による影響とは「物質に与えられた放射線エネルギーの緩和後、照射前とは異なる安定的な生成物が発生する現象」と定義される。細胞中における核酸、タンパク質、脂質などの分子は生命活動を維持する上で必須の機能を持っているが、放射線影響によってそれらの分子の機能が失われれば細胞死に至り、あるいは変質すれば機能障害を来たしてしまう。従来の放射線生物学研究は DNA への損傷・修復に着目した研究が大半を占めてきた。しかしながら、細胞質に存在する多くの細胞小器官は細胞の生存に必須であり、互いにコミュニケーションをとりながら細胞内秩序を維持していることが近年の研究から明らかになっている。したがって、今後は細胞小器官に対する放射線影響の解明がより重要になると予想される。

細胞骨格を構成する「微小管」は、細胞分裂時に倍加した染色体を細胞の両極に分離して、それに続いて細胞質分裂を起こすのに必須の役割を果たしている。さらに、間期においても微小管は、細胞骨格の一つとして、細胞の形態や極性を維持するだけでなく、モータータンパク質であるダイニンやキネシンなどの足場として細胞内シグナル伝達に寄与する。このように微小管は細胞内小器官として細胞の生存に重要な役割を果たしているが、その微小管に対する放射線影響は未だ十分に明らかになっていない。

微小管は $\alpha$  チューブリンと $\beta$  チューブリンが結合したヘテロ二量体(ヘテロダイマー)を基本単位として構成されている。このヘテロ二量体が繊維状につながったものをプロトフィラメントと呼び、これが十数本程度集まって螺旋状の構造を取ったものが微小管である。したがって、もし放射線影響によってひとつひとつのチューブリンが変質した場合、微小管の重合反応にも変化が生じうる可能性がある。そして、そのような変化は上述した細胞分裂期や間期における細胞の挙動に影響を与えることが予想される。そこで本研究では、この微小管に着目し、「細胞骨格を形成する上で欠かせない微小管の重合反応に対して、放射線がどのような影響を与えるのか」を検討とする。

## 2. 方 法

チューブリン重合反応は三段階フェーズ (フェーズ I: 重合核形成,フェーズ II: 伸長,フェーズ III: 平衡定常)に分けられる (図 1)。各フェーズにおける重合の度合いは、市販の蛍光法チューブリン重合アッセイキット (フナコシ)よって比較的簡便に *in vitro* で測定できる。本研究では、放射線照射後のチューブリン重合反応の進行度合いを、マイクロプレートリーダーを用いて反応時間に伴う蛍光量変化として測定した。

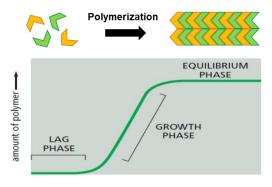
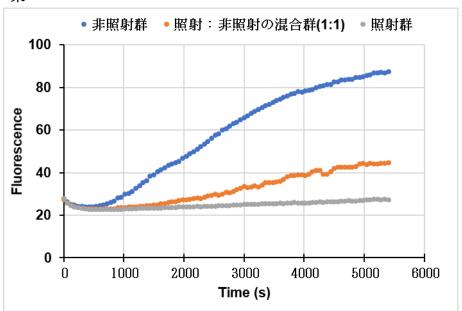


図1 チューブリン重合反応とフェーズ

具体的には、9.1 mg/mL のチューブリン溶液試料(17 μL)に対して、①全てのチューブリンに放射線を照射した後で重合反応させた場合、②半分のチューブリンにのみ放射線を照射した後に重合反応させた場合をそれぞれ測定した。そして、正常チューブリンと照射後(損傷)チューブリンとの分子間相互作用の変化を評価した。

## 3. 結 果



#### 図2 照射後チューブリンの重合反応

対照群として非照射チューブリンを重合させた群、1000 Gy 照射したチューブリンと 非照射チューブリンを 1:1 で混合、重合させた群、1000 Gy 照射したチューブリンを重 合させた群を重合開始から 5400 秒後まで比較した。

図 2 のように、非照射チューブリンを重合させた群、1000 Gy を照射したチューブリンと非照射チューブリンを 1:1 で混合し、重合させた群、1000 Gy を照射したチューブリンを

重合させた群について、重合開始から 5400 秒後まで比較した。照射群では、重合の進行はほとんどみられなかった。5400 秒後の時点で混合群の蛍光強度は非照射群に 0.5 を乗じた値よりも低く、600 秒後から 3600 秒後までの進行速度も約 1/3 にまで低下しており、放射線照射されたチューブリンが正常チューブリンの重合を妨げている可能性が示唆された。

#### 4. 考 察

一部のチューブリンにのみ放射線トラックがヒットする場合、正常なチューブリンのみで重合反応が進行する可能性や、放射照射によって損傷したチューブリンが全体としての重合反応を妨げる「ドミナント・ネガティブ」のような現象がみられる可能性が想定されるが、本研究の成果からは後者のモデルが考えられた。すなわち、微小管に与える放射線影響は線量依存的ではなく、たとえ低線量の放射線被ばくであっても、放射照射によって損傷したチューブリンが正常なチューブリンの微小管形成(重合反応)を妨げることで、細胞機能に与える影響がより大きくなると推測される。そして、同時にそのような微小管の放射線影響を修復するメカニズムが細胞内に備わっている可能性も示唆される。次のステップとして、放射線の照射線量を変える、あるいは照射されたチューブリンと非照射との割合を変えるなど、さらに条件検討を進めていきたい。

## 5. 論文及び学会発表

COVID-19 感染拡大の影響によって本研究の活動も制限されていたため、その成果を報告した論文や学会発表はまだありませんが、これからさらに検討を重ねて、今後、報告する所存です。

### <わかば研究助成>

(申請書記載の課題名)

DNA 修復機構を標的とした IDH変異神経膠腫に対する特異的治療の開発

(報告者名)

三宅茂太

( 共同研究者名も併記 )

立石健祐, 笹目丈, 三宅勇平, 山本哲哉

(所属部科名)

横浜市立大学 大学院医学研究科 脳神経外科

## 抄録

IDH変異型神経膠腫に対し、放射線とNAMPT阻害薬の併用治療の有効性およびその機序の検討を行なった。まず、患者由来神経膠腫細胞に対し放射線及びNAMPT阻害薬の併用治療を行なったところ、IDH変異型神経膠腫に対し上乗せ効果を認めた。さらに、IDH変異型神経膠腫細胞株を用い同様の併用療法を行なったところ、患者由来神経膠腫細胞と同様に上乗せ効果を認めた。放射線治療が細胞内のPARを活性化することが示され、併用効果はPARP阻害薬で打ち消される事が確認された。また、併用効果は3-MA投与で打ち消されることから、本併用療法は放射線治療によるDNA損傷に反応したPAR活性化がNAD需要を高め、NAMPT阻害薬と相乗的にNAD枯渇を引き起こし、autophagyを誘発すると考えられた。最後に、IDH阻害薬で2HGを長期抑制したモデルでは併用療法の上乗せ効果が減じる事から、併用療法はIDH変異型神経膠腫に特異的治療になり得る可能性が示唆された。

### <わかば研究助成>

(申請書記載の課題名)

DNA 修復機構を標的とした IDH変異神経膠腫に対する特異的治療の開発

(報告者名)

三宅茂太

( 共同研究者名も併記 )

立石健祐, 笹目丈, 三宅勇平, 山本哲哉

(所属部科名)

横浜市立大学 大学院医学研究科 脳神経外科

### 1. 目的

神経膠腫は原発性頭蓋内腫瘍の約20-25%を占め、非常に悪性度が高いことで知られている。*IDH*変異は星細胞腫や乏突起膠腫の腫瘍発生初期における遺伝子変異であり、再発進展時にも遺伝子変異が維持される点からも、腫瘍の維持に重要な遺伝子変異であると考えられている。

*IDH*変異神経膠腫はNAD+枯渇に特に脆弱である(Tateishi K et al. Cancer Cell. 2015)。アルキル化剤テモゾロミド(TMZ)がPARP活性化を誘導することでNAD+を消費することが見出されており、NAD+合成阻害剤とTMZの併用療法が特に *IDH*変異神経膠腫に対する強力な抗腫瘍効果を発揮することが明らかにされてきた(Tateishi K et al. Clin Cancer Res. 2016., Tateishi K et al. Cancer Res. 2017.)。

これらの点を踏まえ、*IDH*変異型神経膠腫の DNA 修復機構の解明ならびに特異的治療の開発を目的とし、*IDH*変異型神経膠腫に対する放射線治療と NAMPT 阻害薬の併用による腫瘍抑制効果を検討することとした。

#### 2. 方法

本研究は、横浜市立大学の人を対象とする医学系研究に対する倫理承認を得て実施された(A171130006)。

# 1) 患者由来の脳腫瘍細胞に対する放射線感受性の検討

横浜市立大学および関連病院で手術し摘出した患者由来の脳腫瘍細胞に対する放射線および薬剤感受性の検討を行なった。摘出検体は速やかに幹細胞培養液中で単細胞化し、10Gyの放射線単回照射およびNAMPT阻害薬(FK866 50nM)を投与した。ATP assay(cell titer-glo assay)により治療3日目に細胞活性を評価した。

# 2) IDH変異型神経膠腫細胞株を用いた in vitro 実験

放射線治療とNAMPT 阻害薬の併用が IDH変異型神経膠腫に対し有用である可能性を検証するため、IDH1 変異型神経膠腫細胞株である MGG152 および、MGG152 に IDH1 阻害薬 (AGI-5198) を長期投与し、2-HG を長期間抑制したモデルを作成した。これらの培養細胞に対し放射線治療(RT)及びNAMPT 阻害薬(NAMPTi)を投与し細胞活性及び細胞死の誘導を評価した。また、活性酸素(ROS)およびNAD代謝関連化合物の投与を行い、抗腫瘍効果の機序を検討した。さらに、western blot法を用いて DNA 修復経路の DNA 修復関連タンパク発現を検討することで IDH変異依存的な DNA 修復経路を検討した。細胞活性は ATP assay を用い、apoptosisは cas3/7assay を用いて評価した。

### 3. 結果

# 1) 放射線治療と NAMPT 阻害薬の併用が患者由来 IDH変異型神経膠腫細胞に対し増殖抑制効果を示 す。

2017年9月から2018年11月までに手術を施行した悪性神経膠腫41患者検体(*IDH*野生型:30検体、*IDH*変異型:11検体)について後方視的に検討を行なった。

IDH野生型神経膠腫ではRTに対するNAMPTiの相乗効果は認めないが、IDH変異型神経膠腫ではRTとNAMPTiの上乗せ効果が認められた(図 1)。以上より、RTとNAMPTiの併用がIDH変異型神経膠腫に対し有用である可能性が示唆された。

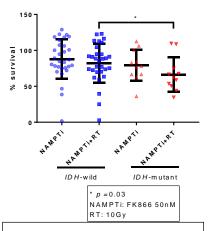


図 1. 患者由来神経膠腫細胞に対する 放射線及び NAMPT 阻害薬感受性の検討

# 2) IDH変異型神経膠腫細胞株を用いた in vitro 実験

# A. 放射線治療と NAMPT 阻害薬による上乗せ効果は NAD-ATP 代謝障害による

患者由来細胞での知見と同様に、IDH変異型神経膠腫細胞株 (MGG152) でも RTと NAMPTi は上乗せ効果を認めた(図 2. A)。IDH変異型神経膠腫では GSH (グルタチオン)が減少するため、酸化ストレスに対し脆弱性があると考えられている。一般的に、放射線治療は酸化ストレスを惹起するため、RTと NAMPTi 併用療法が細胞内の酸化ストレスを増加させて抗腫瘍効果を示している可能性を検討した。MGG152 に Glutaminase 阻害薬、GSH 前駆体、ROS を添付したが、RTと NAMPTi の上乗せ効果は変化しなかった(図 2. B-D)。過去の報告から、NAMPT 阻害薬はNAD 産生を阻害し DNA 損傷に対する PAR 活性による NAD 消費と相乗的に致死的なNAD 枯渇を誘発すると考えられている。PAR 活性を阻害するため PARP 阻害薬を

投与したところ、RT と NAMPTi の上乗せ効果が相殺された (図 2. E)。以上より、 IDH変異型神経膠腫細胞株における RT と NAMPTi による上乗せ効果は NAD 代謝経路が関与している可能性が示唆された。

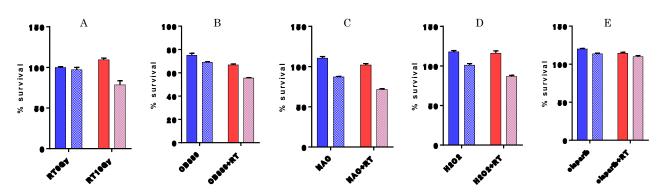
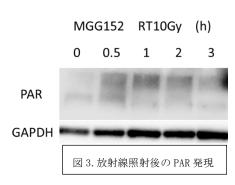


図 2.MGG152 を用いた放射線と NAMPT 阻害薬の併用療法の検討(赤:RT0Gy、青:RT10Gy、濃:FK 無し、薄:FK 50nM)
A.RT10Gy+NAMPTi、B. Glutaminase 阻害薬(CB839 100uM)、C. GSH 前駆体(NAC 1000uM)、D. ROS(H202 100uM)、E. PARP 阻害薬(olaparib 1uM)

# B. 放射線治療は PAR を活性化する

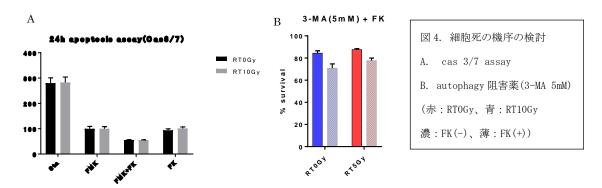
続いて、放射線治療が IDH変異型神経膠腫細胞株に対して NAD 消費を促進するか確かめるため、PAR の発現を検討した。 IDH変異型細胞株に対し RT10Gy 照射後 0.5 時間と早期に PARの発現は上昇し、3 時間後にかけて発現が低下する事が明らかとなった(図 3)。



以上より、放射線照射は DNA 損傷を惹起し、早期に PAR 活性を上昇させると考えられた。すなわち、RT と NAMPTi の併用療法は、PAR 活性化を介し NAD 需要を増加させ、致死的な NAD 枯渇を誘発する可能性がある。

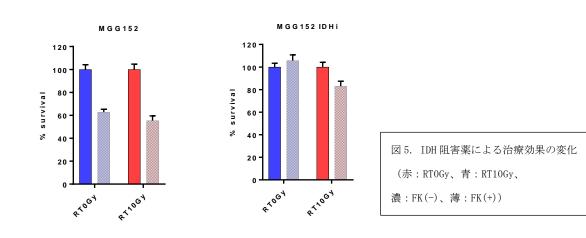
# C. 放射線治療と NAMPT 阻害薬の併用療法は autophagy を惹起する

さらに、RT と NAMPTi の併用治療が細胞死を誘発しているか検討した。MGG152 に対しRT と NAMPTi を用いて治療後に cas3/7assay で検討したところ、apoptosis は誘導されていなかった(図 4. A)。一方で、同様の治療を行なった MGG152 細胞株は autophagy 阻害薬である 3-MA 投与により細胞抑制効果が reverse された(図 4. B)。以上より、*IDH*変異型神経膠腫細胞株に対する RT と NAMPTi の治療効果は apoptosis ではなく autophagy によると考えられた。



# D. 放射線治療と NAMPT 阻害薬の上乗せ効果は 2HG 依存的である

最後に、NAMPT 阻害薬とRT10Gy の上乗せ効果が A B IDH 変異依存的であるか検討するため、IDH1 阻害薬長期投与による 2HG 抑制 MGG152 細胞株を用いた検討を行なった。図 5 に示すように IDH1 阻害薬耐性細胞は RT と NAMPTi の併用療法に対して耐性を有した。以上より、RT と NAMPTi の併用効果は IDH 変異による 2HG 依存的である可能性が示唆された。



#### 4. 考察

本研究を通じ、患者由来細胞で観察された IDH変異型神経膠腫に対する放射線と NAMPT 阻害薬の併用治療による抗腫瘍効果は、放射線治療による DNA 損傷に伴う PAR 活性化が NAD 消費を引き起こし、NAD 枯渇により autophagy が引き起こされている可能性がある。また、IDH変異型神経膠腫では 2HG 依存的に NAD 産生が低下していることから、IDH変異型神経膠腫に特異的な治療であると考えられる。IDH変異型神経膠腫に対する放射線治療と NAMPT 阻害薬の併用治療についての検討は今までに報告が無く、新たな知見である。放射線治療は現在の標準治療であり、標準治療に対する上乗せ効果を確認したことは臨床への応用を考

慮した際に有用である可能性がある。一方で、NAMPT 阻害薬と TMZ の併用に比べて併用効果は少く、放射線治療に特異的な DNA 修復機構に関連する化合物を加えるなどのさらなる検討により、さらに効果的な合成致死アプローチを見いだす必要がある。

# 5. 論文および学会発表

- 三宅茂太,立石健祐,笹目丈,三宅勇平,松山晋一郎,中村大志,山本哲哉. 悪性神経膠腫における抗がん剤感受性予測因子の検討.第15回脳腫瘍の基礎シンポジウム,2020年1月18日,東京
- 三宅茂太,立石健祐,笹目丈,三宅勇平,松山晋一郎,中村大志,山本哲哉. 悪性神経膠腫における抗がん剤感受性予測因子の検討.第37回日本脳腫瘍学会, 2019年12月2日,石川.

### <医療技術研究助成>

特別養護老人ホームに勤務する看護職の就業継続意向に関連する要因の検討

馬場 薫1)

共同研究者 叶谷 由佳<sup>2)</sup>

- 1) 横浜市立大学大学院医学研究科看護学専攻
- 2) 横浜市立大学医学部看護学科

## 抄録

本研究の目的は、特別養護老人ホーム(以下特養)に勤務する看護職の離転職意向の関連要因について、個人要因、職務要因、職場環境要因、及び心理社会的要因として組織コミットメントとワークエンゲイジメントに着目し、離転職意向の関連要因を包括的に明らかにすることである。全国の特養から1,000か所を抽出して、看護職2,000名と施設長1,000名に質問紙調査を実施し、看護職は255名(有効回答率12.8%)、施設長は163部(有効回答率16.3%)の回答を得た。分析の結果、オンコールの負担感が強いほど、情緒的組織コミットメントが低いほど、特養看護職の離転職意向が高かった。また、医療・介護事故対策の整備に「取り組んでいる」と施設長が回答した特養の方が離転職意向有り群よりも離転職意向無し群の割合が多かった。このことより、特養看護職の定着には、組織目標に貢献する動機付けや上司のサポート、キャリアアップの機会の保証、オンコール対応の負担軽減のために介護職の能力開発や予測される状態変化について共有する連携構築、安全管理体制の整備に向けた取組の重要性が示唆された。

## <医療技術研究助成>

特別養護老人ホームに勤務する看護職の就業継続意向に関連する要因の検討

馬場 薫1)

共同研究者 叶谷 由佳<sup>2)</sup>

- 1) 横浜市立大学大学院医学研究科看護学専攻
- 2) 横浜市立大学医学部看護学科

## 1. 目 的

諸外国に例を見ない速度で高齢化が進んでいるわが国では、地域包括ケアシステムの構築が急がれている。特養においては、入所者の介護度が高まり、要介護4・5の入所者割合が7割に、平均要介護度は4.0に限りなく近づいている(厚生労働省、2017)。また、医療が必要な入所者は7割を超え(厚生労働省、2014)、医療提供を主目的としていない特養でも入所者の医療ニーズが高まっている。そこで、特養では、今後の医療ニーズを併せ持つ入所者数の更なる増加を見込し、医療提供体制の強化に向けた看護職の安定的な定着が必要である。

一方、特養における看護職の離職率は 21.5%と高い水準にあり (日本看護協会, 2014), 看護職の不足感を抱える施設は約5割に上る (三菱総合研究所, 2014)。日本の特養に相当する欧米におけるナーシングホームでは、ケアの質の低さに職員の離職率が影響しているとの指摘がされている (AHCA, 2011) また、看護職の定着率が高いと入所者の入院発生率が低いことも報告されている (Kali S, 2013)。このことから、看護職の離職は、ケアの質低下を招くことが懸念され、安全で質の高いケアを提供するうえでも深刻な問題である。

特養看護職は、病院とは異なる役割や職場環境が離転職に影響を及ぼしていることが予測される。しかしながら、特養の看護職の離職に関する先行研究は、個人の背景や職場での役割、業務内容、及び職場環境の視点から離職意向への関連要因を検討した研究は皆無に近い。そこで、本研究では、特養の看護職の離転職意向と個人要因、職務要因、職場環境要因、及び心理社会的要因として情緒的組織コミットメントとワークエンゲイジメントに着目し、離職意向に関連する要因を包括的に解明する。本研究で得られる結果は、特養看護職の定着を促進するような管理実践の在り方を検討する一助となることが期待できる。

#### 2. 方 法

全国の特養から 1,000 か所を抽出して,看護職 2,000 名と施設長 1,000 名に郵送で調査

票を配布した。看護職への調査(以下,看護職票)では,基本属性,役割ストレス,労働条件,人的環境,教育研修機会の満足度,看護実践の自己評価,情緒的組織コミットメント,ワークエンゲイジメント,離転職意向を尋ねた。管理者への調査(以下,施設票)では,施設属性,看護職の採用状況,看護職の定着対策の実施状況を尋ねた。分析方法は,離転職意向の有り群と無し群の間で単変量解析を行い,有意差が認められた項目を独立変数,離転職意向の有無を従属変数とした多重ロジスティック回帰分析を実施した。また,看護職票と施設票の連結ができた調査票を対象として,離転職意向と定着対策との関連について $\chi^2$ 検定を行った。

#### 3. 結果

看護職票は 255 部(有効回答率 12.8%)と施設票 163 部(16.3%)を分析対象とした。 単変量解析で p<0.2 の 13 の変数をロジスティック回帰分析に投入した結果,オンコールの 負担感が強いほど,情緒的組織コミットメントが低いほど,特養看護職の離転職意向が高 かった(表 1)。看護職票と施設票の連結ができた 193 部を対象として,離転職意向と定着 対策との関連について  $\chi^2$  検定を行った結果,医療・介護事故対策の整備に「取り組んでい る」と施設長が回答した特養の方が離転職意向有り群よりも離転職意向無し群の割合が多 かった(表 2)。

#### 4. 考 察

本研究結果で看護職の離転職意向に関連した情緒的組織コミットメントは、組織の理念や価値に対する心理的愛着を表す要素であり、パフォーマンスなどの生産性や心理的健康をもたらす要素の一つである(高木,1997)。この要素は、相談できる上司(難波,2009)、キャリアアップの機会(緒形ら,2015)や他職種との連携体制(緒形ら,2013)との関連も報告されている。そこで、組織目標に貢献する動機づけや教育体制等のキャリアアップ支援、介護職との連携構築を行って情緒的組織コミットメントを向上させることが重要と考える。

夜間のコール内容は、瞬時にアセスメントが必要であり、出動や医師への連絡の必要性を判断すること、そして介護職への適切な指示を出すことは看護職にとって重責であると推測される。一方、看護職が認識する介護職の専門性として、「看護職がいない夜間の医療処置や判断」をあげているという報告(吉原、2009)や、介護職が医療処置を行う場合、判断や行為への責任は看護職にあると認識している(松田、2012)というように看護職と介護職の認識の違いがあることが報告されている。また、一定の研修を受けた介護職が夜勤に含まれている施設の約8割が喀痰吸引や経管栄養に対応していることも報告されている(株式会社三菱総合研究所、2011)。これらのことから、介護職と日中の入居者の状態や予測される状態変化の対応について共有するなどの連携構築、介護職のケア技術を向上する教育などのキャリアアップ支援、及び安全管理体制を整備することの重要性が示唆され

た。

今後の方向性として、本調査で明らかにした離転職要因に対する施設長の取組の実践例 やその成果に関する聞き取り調査を行い、看護職の定着のための具体的実践項目を抽出す る予定である。

表1 離転職意向の影響要因

n=255

	β	オッズ比	95%CI	P値
情緒的組織コミットメント	-0.343	0.710	0.648-0.777	<0.001
オンコール対応の負担感	0.341	1.406	1.087-1.818	0.009

- 1)変数増加法:尤度比
- 2)モデル x<sup>2</sup>検定 p<0.001
- 3) HosmerとLemeshowの検定 p<0.742
- 4) 判別的中率 77.3%

表 2 離転職意向と定着対策との関連

n=193

			11-193	
取り組んでいる*↑対策	離転職意向あり (n=98)	離転職意向なし (n=95)	 P値* <sup>2</sup>	
	n(%)	n(%)	-	
給与水準の引き上げ	87 (88.8)	86(90.5)	0.690	
福利厚生の充実	84 (85.7)	82(86.3)	0.904	
キャリアに応じた教育・研修体制の整備	75 (76.5)	76 (80.0)	0.559	
能力に応じた配置・処遇改善	78 (79.6)	76 (80.0)	0.944	
業務負担の改善	80 (81.6)	82(86.3)	0.376	
業務内容と役割の明確化	81 (82.7)	84(88.4)	0.255	
柔軟な勤務形態の導入	37(37.8)	43 (45.2)	0.290	
有給休暇の取得推進	94(95.9)	91 (95.8)	0.622	
医療・介護事故対策の整備	89 (90.8)	93(97.9)	0.034	
労働安全衛生の整備	89 (90.8)	86(90.5)	0.945	
利用者からの暴力・ハラスメント等の対策整備	67 (68.4)	72 (75.8)	0.251	
職場内のハラスメント等の対策整備	80(81.6)	78 (82.1)	0.932	
メンタルヘルスケア体制の整備	87(88.8)	86 (90.5)	0.690	

<sup>\*1 「</sup>積極的に取り組んでいる」「ある程度取り組んでいる」を「取り組んでいる」とした

## 5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

## 【学会発表】

馬場薫, 叶谷由佳, 土肥眞奈:特別養護老人ホームに勤務する看護職の離転職意向に影響する要因の検討, 第24回日本看護管理学会学術集会, 2020, 10, 石川

<sup>\*2</sup>  $\chi^2$ 検定

# <医学・医療関連事業助成>

# 乳癌多施設共有データベースの構築

山田顕光1),山本晋也2),成井一隆2),遠藤格1)

- 1) 横浜市立大学大学院 医学研究科 消化器·腫瘍外科
- 2) 横浜市立大学附属市民総合医療センター 乳腺・甲状腺外科

#### 抄録

乳癌は本邦の女性において最も罹患率が高い癌種である。本研究では質の高い観察研究を行うために、横浜臨床腫瘍グループ (YCOG) 関連施設における乳癌多施設共有データベースの構築を行った。

対象は 2000 年以降, YCOG 関連施設で乳癌と診断され治療を行っている症例. 研究期間 は本学倫理委員会承認日(2020年7月13日)から 2040年12月31日とした. 過去の症例は後ろ向き観察研究,今後治療を受ける症例は前向き観察研究として,対象からオプトアウトまたは書面による情報提供・同意確認を行う.

関連施設代表者と電子メール及び Web 会議によって協議し. 術前カンファレンスシート, 手術記事, 退院抄録, 摘出標本の病理組織学的診断, 術後治療および予後などを連動して入力できるエクセルシートをテンプレートとして作成した. データの送受は, 匿名化されパスワード管理された症例データシートを電子メールの返信機能を用いて送受し, 事務局内のインターネットに接続されていないコンピューター端末で保管する. 2020 年 8 月 31 日現在, 関連施設での倫理委員会承認手続きを進めている. 本データベースを活用し, 横浜発の意義ある観察研究を邁進させたい.

### <医療技術研究助成>

# 乳癌多施設共有データベースの構築

山田顕光1),山本晋也2),成井一隆2),遠藤格1)

- 3) 横浜市立大学大学院 医学研究科 消化器·腫瘍外科
- 4) 横浜市立大学附属市民総合医療センター 乳腺・甲状腺外科

#### 1. 目的

乳癌は本邦の女性において最も罹患率が高い癌種であり、年間約90,000人が新たに乳癌の診断を受けている.科学的根拠(エビデンス)構築のためには前向きの介入研究が必須であるが、臨床研究法の施行に伴い介入研究の実施には莫大な費用がかかり、極めてハードルが高くなっている.一方、観察研究は、エビデンスレベルは高くないが、National Clinical Database のように前向きに登録をしていけば一定のバイアスが排除できるうえ、ランダム化試験よりもリアルワールドデータに近づけるという利点も指摘されている。当然、後ろ向き研究よりエビデンスレベルが高く、医学的価値の高い研究となる.ただし、症例数の大きさがエビデンスの強さもつながるため、多施設でなるべく大きなデータベースを構築することが望ましい.

本邦における年間乳がん手術件数は、都内の大病院では単施設で 1,000 例に上る. 横浜臨床腫瘍グループ (Yokohama Clinical Oncology Group: YOCG) 関連施設における乳癌手術件数は、2018年には附属病院 72 例、附属市民総合医療センター227 例、みなと赤十字病院 217 例、横浜労災病院 220 例、横浜市民病院 68 例、横浜医療センター25 例、済生会南部病院 44 例、横須賀共済病院 127 例、藤沢市民病院 146 例、茅ヶ崎市立病院 109 例の計 1,200 例に上り、県内では随一の症例数となる. この数の利を生かし、日々の臨床で浮かび上がる Clinical question に対する答えを明らかにする観察研究を行うため、多施設共有データベースを作成することを目的とした.

## 2. 方法

本研究はYCOG 研究の一環として行い、YCOG 関連施設のなかで日本乳癌学会乳癌専門医または認定医が赴任している附属病院、附属市民総合医療センター、横浜市民病院、横浜労災病院、横浜みなと赤十字病院、横浜市済生会南部病院、藤沢市民病院、横須賀共済病院、茅ヶ崎市立病院の9病院とした。上記施設で乳癌と診断され、手術、薬物治療、放射線治療を施行された症例を対象とする。予定登録数は15,000例、主施設倫理委員会承認日から2030年12月31日までを症例登録期間、個人の予定追跡期間は登録後10年間、研究実施期間は2040年12月31日までとした。

データベースは各施設代表者と電子メールおよび Web 会議システムを利用して合議し作

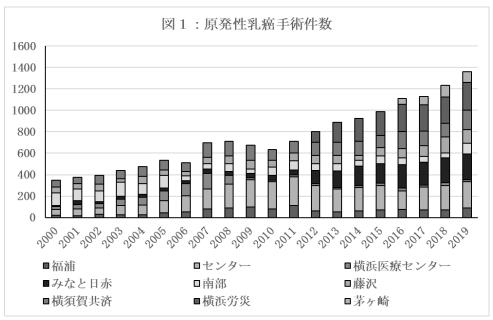
成した. 共通データベースにおける観察項目は以下の通りである.

- ・ 背景情報:年齢,性別,既往歴、併存疾患,家族歴,閉経状況,身長,体重,腫瘍の 局在など
- 血液検査, 画像検査初見
- ・ 術前診断:組織型,核グレード,ER,PgR,HER2,Ki67 など免疫化学的染色,TNM 分類、サブタイプ分類など
- · 周術期治療の種類、治療開始時期、効果判定(RESISTに準拠)
- 手術情報:手術日,手術時間、出血量、術式、腋窩操作,入院期間 迅速病理有無,迅速病理診断結果,術後合併症など
- ・ 摘出標本の病理組織学的所見:組織型,腫瘍径,核グレード(核異型度,核分裂像), ER, PgR, HER2, Ki67, EGFR, CK5/6, p53 など免疫化学的染色,リンパ節転移 個数/総郭清リンパ節個数,リンパ管襲、静脈侵襲、遠隔転移の有無、遠隔臓器転移, 病理学的 TNM 分類、病理学的病期,組織学的切除断端,術前化学療法の組織学的治療 効果
- ・ 予後情報:最終確認日,再発有無,再発部位,生存,死亡原因など以上の情報を入力する共通データベース用のテンプレートとして,①術前カンファレンスシート,②手術記録,③退院抄録,④摘出標本の病理組織学的診断,⑤術後治療および予後,⑥前記①から⑤の情報が集約されたデータベース用シート,が連動して記載できるExel®シートを作成する.各施設でFile Maker®等ですでに使用しているデータベースがある場合には,共有データベース用テンプレートのExel®シートとして出力する.

過去の症例は後ろ向き観察研究として、今後登録する症例は前向き観察研究として行う. 過去の症例に対しては各施設のホームページまたは外来に研究内容を公示しオプトアウト を行う. 前向き観察研究は各施設の倫理委員会の基準によりオプトアウトまたは書面によ り情報開示および同意取得をとる. 本学に事務局を設置し、匿名化されパスワードで管理 されたデータシートを、電子メールを用いて送受する. 送受の際には誤送信を防ぐため返 信機能を用いることとする. 集積したデータは事務局(本学消化器・腫瘍外科学医局内) の、インターネットに接続されていない独立したコンピューター端末で厳重に管理する. 集積したデータベースを用いて、各種観察研究を行う.

### 3. 結果

本研究は 2020 年 7 月 13 日に本学倫理委員会に受理された(研究名:乳癌の治療成績に関する多施設共同観察研究,承認番号 B20070008). 現在は参加予定施設でそれぞれの施設の倫理委員会に申請中であり,承認がおりた施設からデータの収集を行っていく予定である. なお,2000 年以降の各施設の手術件数を図 1 に示す. 2019 年の原発性乳癌手術件数は 1,360 件,累積件数は 14,942 件であり,まずはこれらの症例の後ろ向き観察研究用データ収集を始めていく.



# 4. 考察

データベースで重要な点は、研究のために過不足ない項目の設定と継続可能性であり、 日常診療の負担とならないような工夫が必要である.したがって項目の設定に際して各施 設の代表者との綿密な協議を行った.また外科診療において、手術症例は必ずカンファレ ンスを行うが、その際に提示するカンファレンスシートと、手術記事、術後の病理結果等 がひとつのファイル内で連動し、日常の業務負担を軽減するようなデータベースファイル を構築した.

乳癌の治療成績解析のためには長期予後のフォローが不可欠である。特にホルモン陽性 乳癌は術後5年以降の晩期再発も稀ではないため、少なくとも10年間の経過観察を要する。 昨今の地域医療連携推進によって、早期乳癌症例は周術期治療が落ち着いたところで近隣 のクリニックへ逆紹介されることが増えているため、フォローアップ率が低下していく可 能性がある。一つの解決策としては、神奈川県で使用している地域医療連携パスを使用し、 普段の処方はクリニックや近隣の医療機関で行い、年に一度は予後調査もかねて手術施行 した施設で検査受診をすることが考えられる。再発疑いまたは再発症例など有事の場合は、 すみやかに再度基幹施設へ紹介されることが多いが、無再発の健常者の予後調査について は今後も地域の医療機関との協議が必要となるであろう。

本研究は運用を開始したばかりではあるが、本データベースを活用し、横浜発の意義ある臨床研究を邁進させていきたい.

#### 5. 論文及び学会発表

本研究に関しての学術的発表はまだ行われていない.

### <医学・医療関連事業助成>

神奈川県におけるがん教育外部講師の確保・養成・フォローアップ支援に関する取組み

片山 佳代子

神奈川県立がんセンター臨床研究所 がんサバイバーシップ・教育ユニット ユニット長

## <医学・医療関連事業助成>

(目的)改正がん対策基本法 23 条や新学習指導要領において、がん教育が位置づけられ、2020 年度から順次全面実施されている。文科省は、地域の実情に応じた実施を推進するために「都道府県等で外部講師名簿作成等、活用体制の整備」を提示し、一層の充実が必要と提言している。しかし、外部講師活用には地域格差があり、県ではその活用率が低い(2019 年度文科調査の結果)。外部講師を学校現場で活用するためには、準備と命の授業を担当する患者らとの連携も不可欠となる。行政や教育委員会だけで完結する事業ではなく、医療者の協力が必須である。そこで本事業の目的は、外部講師の確保、養成、研修会開催ならびにフォローアップを行ったり、がん教育に関係する関係者向けの冊子を作成したり、県内外でのがん教育を推進することとした。

(方法)神奈川県がん患者団体連合会(県がん連)と協力し、外部講師希望者を対象に、県がん連主催の以下の研修会とその後のフォローアップ研修を企画開催した。①2019年10月5日、20日、11月4日「2019年度がん教育研修会」(共催:横浜市教育委員会)②2020年3月8日、14日に、先の研修会のフォローアップ研修会(共催:本研究事業他)コロナ禍のため中止を余儀なくされた。③2020年8月8日、23日、10月17日、18日「2020年度がん教育研修会」(後援:本事業他)オンラインによる完全リモートで実施。

(結果) 県内外から 60 名が参加した。事後アンケート結果では、とても有意義だった 51.5%、有意義だった 45.5%と研修会の評価は高かった。コロナ禍にありオンライン 化の不安もあったが、結果は県外からの参加者もあり、今後の可能性を示唆する新しい形の研修会となった。

### <医療技術研究助成>

神奈川県におけるがん教育外部講師の確保・養成・フォローアップ支援に関する取組み

### 片山佳代子

神奈川県立がんセンター臨床研究所 がんサバイバーシップ・教育ユニット ユニット長

#### 1. 目的

改正がん対策基本法 23 条や新学習指導要領において、がん教育が位置づけられ、実質学校現場では 2020 年度から順次全面実施されている。文科省がん教育総合支援事業では、地域の実情に応じた実施を推進するために「都道府県等で外部講師名簿作成等、活用体制の整備」を提示し、一層の充実が必要であるとしている。しかし実際は、外部講師活用の足並みには地域格差がある。神奈川県では、リスト数もさることながらその活用率も低いことが判明している(平成 30 年度におけるがん教育の実施状況調査の結果※)。外部講師を学校現場で活用するためには、準備が必要であり、命の授業を担当する患者らとの連携も不可欠となる。がん教育は、行政や教育委員会だけで完結する事業ではなく、医療専門職ならびにがん患者らの協力が必須である。本事業の目的は、県・市教育委員会保健体育科を医療専門職らが支援し、外部講師の確保、養成、研修会開催ならびにフォローアップを行い、またその橋渡しとして、がん教育に関わる全てのステークホルダーを対象とする応援冊子を作成することで神奈川県内外でのがん教育を推進し、がん死亡率減少施策に貢献することとした。

## 2. 方法

神奈川県がん患者団体連合会(以下、県がん連)と協力し、県内外の外部講師希望者を対象に、県がん連主催の以下の研修会とその後のフォローアップ研修を企画開催した。 ①2019年10月5日、20日、11月4日「2019年度がん教育研修会」(主催:神奈川県がん患者団体連行会、共催:横浜市教育委員会)

- ②2020年3月8日、14日に、先の研修会のフォローアップ研修会(同主催、共催:本研究助成金事業(片山佳代子)、他)を開催予定としたが、コロナ禍のため中止を余儀なくされた。
- ③2020 年 8 月 8 日、23 日、10 月 17 日、18 日「2020 年度がん教育研修会」(主催:神奈川県がん患者団体連行会、後援:本研究助成金事業(片山佳代子)、他)オンラインによる完全リモートで実施。

### 3. 結果

①県内外から 50 名が、事務局や準備委員を含めると合計 60 名が参加した。そのうち、県外から 20 名の参加があった(北海道 2、静岡 3、岩手 1、富山 1、大阪 1、兵庫 1、長崎 2 など)。男性 24.2%、女性 75.8%の参加であった。(その他の参加者の内訳については図 1 を参照)。

参加者中 33 名からの事後アンケート結果では、研修会はとても有意義だった 51.5%、有意義だった 45.5%、研修を受けて外部講師についての理解が深まったと思うか?の問いに、とてもそう思う 21.2%、そう思う 69.7%と研修会の評価は高かった。その他、がんにおけるネットとの付き合い方も今の時代は必要、がんだけでなくネットとの付き合い方も学べる、がん教育の場を小、中、高校に限らず、大学生、社会人向けにももっと展開して欲しいなどの自由記述も寄せられた。

②がん教育に関わる全ての人を応援する冊子「On Cancer」を作成し、無料で全国の教育委員会や患者会へ送付し、情報発信を試みた。

### ●2020 年夏号~目次~

- 1. がん教育ががん対策を推進する(若尾文彦先生、国立がん研究センターがん対策情報センターセンター長)
- 2. 学校におけるがん教育の可能性(浦田奈々美先生、神奈川県教育委員会保健安全グループ)
- 3. 轟 浩美氏(胃がん患者家族会 認定 NPO 希望の会理事長)
- 4. 中村 翔先生(神奈川県立がんセンター臨床研究所がんサバイバーシップ・教育ユニット 客員研究員・医師)A4 サイズ、8ページ。

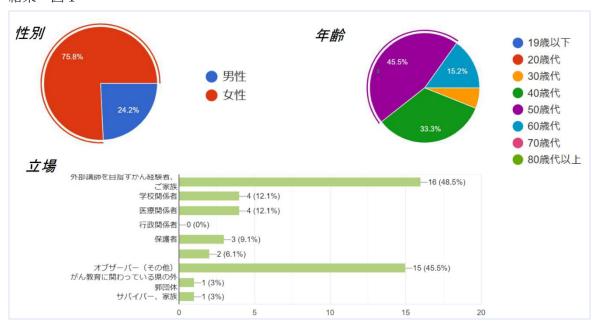
#### 4. 考察

コロナ禍で当初企画していた研修会が中止となり、どのように外部講師の養成や研修を行うべきか、議論を重ねた末、ZOOMを使ったオンラインでの研修会の開催に至った。回線の不具合や、当日のタイムスケジュールなどの準備は、県がん連のがん教育WGが



担い、リハーサルを含め多くの時間を費やして当日の開催に至った。これまでの研修会には県内からの参加者が多く、県外といっても東京都や千葉県などの近隣県からの参加のみであったが、今回の研修会は北は北海道から南は福岡県からと、多くの県外者の参加があった。コロナ対策としてどのようにがん患者らの安全を確保しつつ、研修会を開催するかが課題であったが、今後の可能性を示唆する新しい形の研修会となった。オンラインの可能性を今後もさらに検討し、患者らと協働で実りのあるがん教育講座を開催し今後のがん教育の推進に尽力していきたい。

## 結果 図1



## 5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

- ・講演. 片山佳代子. 子どもたちに伝えるがんの知識とは. 2020 年度がん教育オンライン研修会. 2020.08.08.
- ・制作物. 2020 年夏号 冊子「On Cancer」1500 部
- ・制作物. クリアフィアル 200 部 がん教育の情報発信用.

# <医学・医療関連事業助成>

地域がん診療連携拠点病院におけるがん患者と家族への オリエンテーションプログラムの開発

### 畑 千秋 齋藤 幸枝

(公立大学法人 横浜市立大学附属病院 看護部)

患者、家族の理解を促し、心情面でのサポートと治療の意思決定支援に繋がり、個人に 最適化されたがん医療を実現する一助として、看護師が実施する「がん患者と家族へのオ リエンテーションプログラム」(以下、プログラム)の作成に取り組んだ。

プログラムには、先行研究から導き出されたがんに関する必要な情報である 8 つの要素 (①病気、②治療、③生活、④家族、⑤こころ、⑥医療者とのコミュニケーション、⑦今 後のこと、⑧お金のこと)に加え、がんゲノム検査に関することを追加した。

6 名の患者にプログラムを実施したところ、「医師の面談による理解」「不安の緩和」「今後のイメージの明確化」に繋がり、一定の効果は確認できた。しかしプログラム実施及び 多職種間調整に時間を要し、実施側の業務調整や時間確保も課題となった。

本プログラムには、早期からの緩和ケア導入の意味もあり、緩和ケアのコンポーネント (疾病教育が中心の情緒的サポート、情報提供、問題整理と問題解決、適切な紹介)を含 み、教育的かつ支援プログラムとしての介入的要素も持つと考える。今後もより効果的な 支援方法に繋げられるよう、実践を通して効果を検証しつつ、面談を行う看護師側のトレ ーニングや情報ツールの整備を進めていく必要がある。

### <医療技術研究助成>

# 地域がん診療連携拠点病院におけるがん患者と家族への オリエンテーションプログラムの開発

### 畑 千秋 齋藤 幸枝

(公立大学法人 横浜市立大学附属病院 看護部)

### 1 目的

我が国のがん対策については、「がん対策推進基本計画」に基づいて整備が進められ、がん医療の均てん化については一定の成果が得られている。その一方、拠点病院の取り組みに格差があること、がん罹患をきっかけとした離職割合の未改善、免疫チェックポイント阻害薬等新規薬物療法への対応の負担増大、がんゲノム医療の一定の集約化等、新たな課題が指摘されている。また、がんに関する情報の中には必ずしも科学的根拠に基づいていないものが混在しており、患者が正しい情報を得ることが困難な場合があるため、The Institute of Medicine(IOM)では、がん患者、家族に対して望まれる相談支援体制について報告をまとめ、治療開始期からの包括的な情報提供や支援の重要性を強調している。しかし、平成26年のがん患者体験調査(内閣府)によると、がん相談支援センターの利用率は7.7%と低く、患者、家族のニーズも多様化しているため、状況に応じた適切な支援を受けられないことが懸念されている。

当院では、がん相談支援センター、緩和ケアセンター、化学療法センター、がんゲノム 診断科を設置し、各医療担当者が治療方法やその効果、有害事象に関する説明を行ってい るものの、治療の全体像や支援体制、メンタルヘルスに関連する基本的な教育と情報提供 は十分とはいえない。そのような現状を踏まえ、がん診断期から初期治療を行う早期の段 階から患者、家族に対し積極的な働きかけを行う実効性のある支援プログラムを実施した いと考えた。

本事業の目的は、看護師が実施するオリエンテーションプログラム(以下、プログラム)を作成し、実践を通してその効果を検討し、患者や家族への効果的なプログラムを開発することである。

本事業の意義は、患者、家族の理解を促し、心情面でのサポートと治療の意思決定支援に繋がり、個人に最適化されたがん医療を実現する一助となることである。本プログラムが体系化され活用されれば、専門・認定看護師しか行えなかった支援を一般の看護師も実施することが可能となり、がん看護の質の向上に繋がると考える。また、当院の相談支援体制、心理社会的支援の充実、がん患者指導管理料等経営面での貢献が期待できる。

ゲノム医療の貢献としても、当院では、他施設に先駆けて 2016 年 11 月より米国ニューヨークにあるメモリアルスロンケタリングがんセンターの最新のがんゲノム検査 MSK-IMPACT を導入し運営している。同様に MSK-IMPACT を運営している他施設に比較して検査提出数も多く、2018 年 3 月にがんゲノム医療中核拠点病院が指定されて以来、患者、医療者の双方でがんゲノム医療への関心は高まっているが、現時点で実際に運営している施設は限られている。特に、当院のように専任医師を配置して体制を整えている施設は数少なく、神奈川県では当院だけである。このような背景から、本事業でがんゲノム医療の内容を含めた本プログラムを開発することは極めて意義深いと考える。

#### 2. 事業計画の内容

本事業においては、先行研究並びに国立がんセンター小川らによって開発された看護師プログラムをもとに(許可済)当院の特徴や支援体制を含めたオリエンテーションプログラムを開発する。既存のプログラムで先行研究から導き出されたがんに関する必要な情報である 8 つの要素(①病気について、②治療について、③生活について、④家族のこと、⑤こころのこと、⑥医療者とのコミュニケーション、⑦今後のこと、⑧お金のこと)に加え、がんゲノム検査に関するプログラムを追加する。これらをがん看護領域の専門・認定看護師、がん治療医、がんゲノム診断科医師らに確認してもらい、コンセンサスを形成し、プログラムの開発をすすめる。各診療科、各部門とも情報提供の合意を行い、がんゲノム医療の情報提供の対象者の選定も行っていく。

経過において小川らの研究に携わったがん看護学の看護学科教員にスーパーバイズを受け、プログラムの妥当性、信頼性についてスーパーバイズを受ける。

#### 3. 結果

本プログラムを 6 名(男性 2 名、女性 4 名、平均年齢 39 歳( $30\sim48$  歳)。)に対して実施した。原疾患は胆管がん 2 名、子宮がん 3 名、軟部肉腫 1 名、治療方針は手術 3 名、がん薬物療法 3 名であった。

プログラムの実施時間は、平均 40分(30~90分)で、看護師の実践内容は「医師の説明に対する補足」6名、「副作用についての説明補足」6名、「患者、家族の意思確認」6名、「理解の度合いを確認」6名、「不安・抑うつのアセスメント」5名、「家族へのサポート、面談」3名、「患者、家族の意思確認」6名、「情報提供」6名、「患者会の紹介」6名、「コミュニケーション促進」2名、「サポート体制の確認」4名であった。連携職種としては、社会保険労務士1名、緩和ケアチーム2名であった。がんゲノム診断科の紹介は4名に行ったが、希望者は1名(最終的にがんゲノム検査を実施)であった。

患者、家族からの評価としては、「医師の面談に対する理解の深まり」「不安の緩和」「今後のイメージの予測」があった。4名は1回 $/1\sim2$ 週の定期面談を希望し、プログラムに沿って「情緒的サポート」を中心に支援を実施した。がん患者スクリーニングによる不安

STAS-Jを介入前後で比較したところ、改善5名、不変1名であった。

### 4. 考察

治療早期からの患者、家族への支援は、その重要性が確認されている一方、当院にはが ん看護相談支援の標準的なプログラムがなく、面談を実施するがん看護領域の専門・認定 看護師にゆだねられているのが現状であった。本事業により、今回は看護師によるプログ ラム実施の可能性の検討まで進めることができた。プログラム実施により患者の「医師の 面談による理解」「不安の緩和」「今後のイメージの明確化」に繋がり、一定の効果を確認 することができた。しかし、今回実践できたのは6名と少数であり、実施時間も平均40分 かかったこと、多職種間調整にも時間を要することから、実施側の業務調整や時間確保も 課題となった。がん患者指導管理料算定には繋がったが、費用対効果を踏まえて再検討す る必要がある。

また、本プログラムには、早期からの緩和ケア導入の意味もあり、緩和ケアのコンポーネント(疾病教育が中心の情緒的サポート、情報提供、問題整理と問題解決、適切な紹介)を含み、教育的かつ支援プログラムとしての介入的要素も持つと考える。

今後もより効果的な支援方法に繋げられるよう、実践を通して効果を検証しつつ、面談を行う看護師側のトレーニングや情報ツールの整備を進めていく必要があり、最終的に本プログラムが有効かどうかの実証に向けた更なる取り組みについても検討が必要である。

#### 5. 論文及び学会発表

2021年度の日本がん看護学会に演題発表申込予定である。

## <医学・医療関連事業助成>

横浜市立大学附属2病院で出生した母子の母乳率調査 (母親の電子端末を使用した研究)

# 西巻 滋

横浜市立大学附属病院 臨床研修センター・小児科

【目的】2018 年 12 月から 2020 年 7 月で、横浜市立大学附属病院と市民総合医療センターで出生した新生児 454 例(在胎週数:33 週 6 日~41 週 6 日、出生体重:1,652g~4,292g)を対象とした。早産児(<37 週 0 日)27 例、低出生体重児(<2,500g)50 例、その他の疾患が23 例、双胎が10 例だった。NICU に入院し母子分離された児は34 例で、期間は1日から20日だった。

【方法】退院前24時間の栄養状況を電子カルテから調査した(=生後0か月)。生後1か月の受診時は保護者と面接をして、生後2か月、4か月、6か月、8か月、10か月、1歳にはメールで回答の1週間前の栄養状況を尋ねた。

【結果】データ数は、生後 0 か月時 (日齢 5~7) 450、1 か月時 432、2 か月時 338、4 か月時 283、6 か月時 226、8 か月時 177、10 か月時 131、12 か月時 111 だった(計 2, 148)。完全母乳栄養の割合は、退院時は 58.4%であったが、1 か月時 54.4%と下がるも、2 か月時 57.4%になり、4 か月時 63.3%とピークだった。その後に、徐々に低下するが、1 歳時でも 53.2%を維持した。また、完全母乳栄養にほぼ母乳栄養の割合を加えると、2 か月時 71.6%、4 か月時 74.9%とピークだった。その後に、徐々に低下するが、1 歳時でも 61.3%を維持した。混合栄養の割合は 1 か月時の 43.8%が一番高く、その後に徐々に低下した。一方、完全人工栄養の割合は、0 か月時に 1.6%であったが、徐々に増え、1 歳時の 22.5%となった。授乳していない割合は、10 か月から認め、1 歳時に 6.3%と増えた。

【考察】母乳栄養の割合は月齢が進んでも大きく下がることはなく、生後 4 か月にピークがあった。1歳の時点で約半数が完全母乳栄養であった。一方で、月齢が進むにつれ、混合栄養の割合が減り人工乳栄養の割合が増えた。欧米諸国のデータと比べ横浜市立大学附属 2 病院での母乳育児は進んでいると考える。

### <医療技術研究助成>

横浜市立大学附属2病院で出生した母子の母乳率調査 (母親の電子端末を使用した研究)

## 西巻 滋

横浜市立大学附属病院 臨床研修センター・小児科

## 1. 目 的

WHO は 2 歳以降までの母乳育児を推進しており、厚生労働省の「すこやか親子 21(第 2 次)」でも母乳育児は推進されている。しかし日本では長期間のデータがない。一方、横浜市立大学附属病院および横浜市立大学附属市民総合医療センターは 2 病院とも WHO・ユニセフから「赤ちゃんにやさしい病院(BFH)」として認められ、母乳育児のリーダーとして活動している(我が国の医療施設は 68 施設と少ない(2018 年))。

そこで、2病院で出産した母親に、生後2か月、4か月、6か月、8か月、10か月、1歳の時点の乳幼児の栄養方法を把握し、2病院で出生した母子の1年間の母乳率を検討することを目的とする。

#### 2. 方 法

2018年12月から2020年7月で、横浜市立大学附属病院と横浜市立大学附属市民総合医療センターで分娩した449例の母親から出生した新生児454例(在胎週数:33週6日~41週6日、出生体重:1,652g~4,292g)を対象とした。433例中で、早産児(<37週0日)は27例、低出生体重児(<2,500g)は50例、その他の疾患が23例、双胎が10例だった。新生児期にNICUに入院し母子分離された児は34例で、その期間は1日から20日だった。

分娩様式 施設名 (数) 平均年齢 (範囲) 分娩数 (%) 経腟分娩 (%) 帝王切開分娩 (%) 全体 (449) 38.6 (20 - 43) 354 (78.8%) 95 (21.2%) 初産 31.9 (20 - 43) 164 (52.1%) 135 (80.4%) 33 (19.6%) 横浜市立大学附属病院 (304)経産 34.3 (20 - 43) 140 (48.2%) 109 (80.1%) 32 (19.9%) 横浜市立大学附属 初産 32.9 (23 - 42) 68 (45.8%) 52 (76.5%) 16 (23.5%) 市民総合医療センタ-経産 35.3 (20 - 44) 77 (54.2%) 53 (68.8%) 24 (31.2%)

表1 対象となった母体情報

生後 0 か月のデータは、退院前 24 時間の栄養状況を電子カルテから調査した(日齢  $5\sim7$ )。生後 1 か月のデータは、受診前の 1 週間の栄養状況を保護者と面接をして調査した。生後 2 か月、4 か月、6 か月、8 か月、10 か月、1 歳の時点のデータは、メールを通じて 1 週間前を振り返り、栄養状況を尋ねた。

施設名	新生児数	平均在胎週数 (週)	平均出生体重 (g)
	(男:女)	(範囲)	(範囲)
全体	454	38.6	2,976
	(230 : 224)	(33 - 41)	(1,652 - 4,292)
横浜市立大学附属病院	307	38.5	2,974
	(161 : 146)	(33 - 41)	(1,652 - 4,292)
横浜市立大学附属	147	38.7	2,981
市民総合医療センター	(69:78)	(36 - 41)	(2,196 - 4,174)

表 2 対象となった新生児情報

回答の選択肢は、(1)完全母乳栄養、(2)混合栄養、(3)完全人工乳栄養、(4)授乳していない、に分け、さらに(2)混合栄養では、人工乳の投与が1日に1回程度または1日に100mL程度までの混合栄養を(2a)ほぼ母乳栄養とした。

#### 3. 結 果

データ数は、生後 0 か月時 450、1 か月時 432、2 か月時 338、4 か月時 283、6 か月時 226、8 か月時 177、10 か月時 131、1 歳時 111 だった(計 2, 148)。 アンケートの回収率は、2 か月時 87.6%、4 か月時 84.5%、6 か月時 83.7%、8 か月時 83.2%、10 か月時 76.6%、1 歳時 78.7%であり、月齢が進んでも高い回収率を維持していた。

完全母乳栄養の割合は、退院時は58.4%であったが、1か月時54.4%と下がるも、2か月時57.4%になり、4か月時63.3%とピークだった。その後に、徐々に低下するが、1歳時でも53.2%を維持した。また、完全母乳栄養にほぼ母乳栄養の割合を加えると、2か月時71.6%、4か月時74.9%とピークだった。その後に、徐々に低下するが、1歳時でも61.3%を維持した。完全母乳栄養の割合に比べ、ほぼ母乳栄養の割合は10%程度高くなった。

混合栄養の割合は1か月時の43.8%が一番高く、その後に徐々に低下した。 一方、完全人工栄養の割合は、0か月時に1.6%であったが、徐々に増え、1歳 時の22.5%となった。

授乳していない割合は、10か月から認め、1歳時に6.3%と増えた。

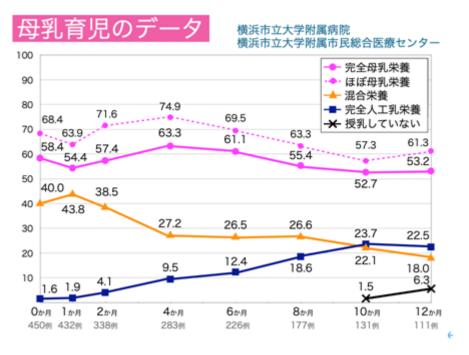


図 母乳栄養の割合

# 4. 考 察

母乳栄養の有益性は世界で認識され、諸外国からは母乳栄養のデータが出ている。2010年の英国のデータでは、完全母乳率は出生後に69%と高いが、その後に直線的に低下し、生後3か月では17%、生後4か月には12%と低下する。2016年の米国の完全母乳率のデータも同様で、生後1か月は58.8%だが生後6か月には25.4%に低下する。

今回の我々の研究で得られた完全母乳率は、月齢が進んでも大きく下がることはなく、むしろ生後4か月にピークがあった。そして1歳の時点でも約半数が完全母乳栄養であった。それらのデータは英国や米国のデータとは大きく違っていた。一方で、月齢が進むにつれ、混合栄養の割合が減り人工乳栄養の割合が増えた。混合母乳栄養の場合は、徐々に人工乳の割合が増えていくことがうかがえた。横浜市立大学附属2病院では完全母乳栄養は母子の約半数で認められ、それが1年間続くことは特記に値する。結論として、横浜市立大学附属2病院はBFHとしての活動を続けているが、その結果として2病院では母乳育児は進んでいると考える。

# 5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

メールを使用した母乳栄養に関する前方視的調査:第1報 1歳までの母乳栄養率 第65回日本新生児成育医学会・学術集会 2021年5月7~9日

## <医学・医療関連事業助成>

高齢心不全患者に対する advance care planning (ACP)実践状況と実践を促進、阻害する要因の整理

土肥 真奈

横浜市立大学医学部看護学科

## 抄録

高齢心不全患者へのACPの実態と実施に至った関連要因を明らかにすることを目的とし、地方厚生局に循環器診療を登録している全国の病院2769施設の看護部長と循環器患者が主に入院する病棟看護師長を対象とした無記名自記式質問紙による横断調査を実施した。その結果、中間報告可能なデータとして320施設より回答が得られ、高齢心不全患者へACPを実施している施設は42.2%であり、実施割合について回答した131施設の内、全ての患者に行っている施設は12.2%、3/4以上の患者に行っている施設が8.4%、1/2以上3/4未満の患者に行っている施設が9.9%、1/4以上1/2未満の患者に行っている施設が12.2%、1/4未満の患者に行っている施設が57.3%だった。

高齢心不全患者へのACP実施率は42.2%と約半数に近い一方で、実施内訳をみると全患者に行っている施設は1割程度にとどまり、ACP実施施設のさらなる普及と導入施設内での普及が必要な状況であることが示された。今後ACP実施の有無・頻度を従属変数とした多重ロジスティック回帰分析を行い、実施に至った関連要因を明らかにしていく。

## <医療技術研究助成>

高齢心不全患者に対する advance care planning (ACP)実践状況と実践を促進、阻害する要因の整理

土肥 填奈

臼井咲耶、叶谷由佳

横浜市立大学医学部看護学科老年看護学領域

## 1. 目 的

心不全は死因第2位の心疾患の中で最も多く、患者数の世界的な増加が予測されて いる。中でも高齢者の心不全は虚血性心疾患や弁膜症に起因し、急性憎悪による再入 院を繰り返しながら徐々に機能低下していく。急性憎悪時は治療によって退院まで回 復することも可能である。一方で、経過の中で大動脈解離等を発症し死に至る場合も あり、不測の事態に備え患者や家族の治療方針に関する意思確認は必須である。しか し前述したように機能低下の過程でも一時的に回復することや長期間小康状態を維持 する症例があり、緩和ケア導入の時期を見極めることや意思決定支援が困難である(日 本循環器学会、2010)。このような背景を踏まえ、高齢心不全患者に対しては急性・慢 性心不全診療ガイドラインにおいて advance care planning (ACP) を行うことが重要 と示された。ACPとは意思決定能力が低下する前に患者や家族が望む治療と生き方を 医療従事者が共有し事前に対話しながら計画するプロセス全体を指す (日本循環器学 会、2018)。ACP 自体はすでに患者本人の鬱や不安の発症を抑え、家族に満足感をも たらすことが明らかになっているが(Deteringら、2010)、高齢心不全患者に対する ACP 実施状況や効果を示す報告はまだ少なく、日本国内においては先駆的に実践した 事例の紹介などにとどまる。 したがって高齢心不全患者への ACP の実践や導入につな がる知見の蓄積が求められる。

そこで全国規模で調査することで高齢心不全患者への ACP の実態と実施に至った 関連要因の全体像が明らかになると考えた。

#### 2. 方 法

調査用紙配布は COVID-19 の影響を受け 2020 年7月1日以降となった。

調査項目は、心不全患者への ACP に関する先行の解説や報告(高田 2015、芳野 2015、中島 2018、坪井ら 2018、安井ら 2016、堀部ら 2018、Detering ら 2010 他 8 文献)をもとに設定した。

### 1) 看護部長用調查項目

- (1) 病院の属性について(全病床数、総看護師数など)
- (2) ACP について (ACP 推進者の有無、ACP に関連する部署や委員会の有無など)
- (3) その他 (緩和ケア、退院支援状況、教育体制、連携状況)
- 2) 循環器患者が主に入院する病棟看護師長用調査項目
- (1) 病棟の属性について (病棟の種類、病床数、高齢心不全患者の割合、 病棟看護師数など)
- (2) 高齢心不全患者への ACP 実施の有無と頻度
- (3) その他(患者カンファレンス、意思決定支援ガイドライン周知の有無)

## 3. 結果

COVID-19 の影響を受け調査票配布時期が遅れたため、2020 年 8 月 25 日時点で解析可能なデータの中間報告として以下の結果を示す。

ACP 実施の有無について回答があった 320 施設のデータを解析した。回答を得た施設の平均全病床数は  $251.9\pm180.9$  床、平均総看護師数(常勤)は  $204.1\pm214.3$  人、平均総看護師数(非常勤)は  $22.3\pm21.8$  人だった。また、ACP について相談できる部署や委員会があると回答した施設は 4.8%だった。

回答を得た病棟の平均病床数は 60.3±67.6 床、平均病棟看護師数(常勤)は 6.9±13.5 人、平均病棟看護師数(非常勤)は 2.1±4.2 人だった。また病棟の種類は循環器単科病棟が 9.6%、他科混合病棟が 78.0%、その他が 12.4%だった。

320 施設中、高齢心不全患者へ ACP を実施している施設は 42.2%であり、その実施割合について回答した 131 施設の内、全ての患者に行っている施設は 12.2%、3/4 以上の患者に行っている施設が 8.4%、1/2 以上 3/4 未満の患者に行っている施設が 9.9%、1/4 以上 1/2 未満の患者に行っている施設が 12.2%、1/4 未満の患者に行っている施設が 57.3%だった。

#### 4. 考 察

高齢心不全患者への ACP 実施率は 42.2%と約半数に近い一方で、その実施内訳を みると全患者に行っている施設は 1 割程度にとどまり、ACP 実施施設のさらなる普及 と導入施設内での普及が必要な状況であることが示された。ACP の実態と実施に至る 関連要因と考えられる "ACP について相談できる部署や委員会がある施設"は 4.8% と低めの割合ではあるが、今後高齢心不全患者への ACP 実施の有無・頻度を従属変数 とした多重ロジスティック回帰分析を行い、高齢心不全患者への ACP の実態と実施に 至った関連要因を明らかにしていく。

### 5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

日本看護研究学会での論文公開を目指している。

### 【引用文献】

- 日本循環器学会, (2010): 循環器病の診断と治療に関するガイドライン 循環器疾患に おける 末期 医療に 関する 提言, http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2010\_nonogi\_h.pdf, (検索日: 2019年8月28日)
- Detering, K. M., Hancock, A. D., Reade, M. C. et al, (2010): The impact of advance care planning on end of life care in elderly patients: randomised controlled trial, Bmj, 340, c1345.
- 高田弥寿子, (2015): 【難治性心不全に対するチーム医療・末期状態から終末期まで】 難治性心不全診療における意思決定支援 アドバンスケアプランニングの実践と 課題, 医学のあゆみ, 254, (11), 1057-1062.
- 芳野菊子,太田憲司,山本美雪,ほか (2015):慢性心不全終末期における意思決定 支援にむけた病棟看護師の役割.ホスピスケアと在宅ケア,23,(1),11-16.
- 中島菜穂子, 久留米大学心不全支援チーム, (2018): 【地域住民の意識から変えるアドバンス・ケア・プランニング推進チームの活動】 ACP 推進のための各病院の取り組み 心不全支援ケアチームによる心不全患者教育の一環としての ACP 啓発, 看護展望, 43, (11), 1047-1051.
- 坪井京子, 増田誠一郎,(2018): 慢性心不全患者の最期の迎え方における意思決定を支援する看護師が経験する困難, 日本看護学会論文集: 慢性期看護, 48, 175-178.
- 安井博規、(2016) 【終末期の意思決定-アドバンス・ケア・プランニングの実践をめ ざして-】 心不全の緩和ケアと意思決定支援, Modern Physician, 36, (8), 864-868. 堀部秀夫, 齋藤慶子, 伊東紀揮, ほか(2018): チームで取り組む循環器医療における Advance Care Planning チーム編成から挑む高齢者心不全の ACP, 日本循環器学 会学術集会抄録集, 82, CS1-4.

# <平成30年度 指定寄附研究助成 心臟疾患研究>

## (研究課題件名)

中枢吻合 "Pouch 法"を用いた遊離右内胸動脈(free RITA)の早期、 遠隔期成績及び開存率の検討

(報告者)

南 智行

#### (共同研究者)

内田 敬二 横浜市立大学附属市民総合医療センター心臓血管センター診療教授 輕部 義久 横浜市立大学附属市民総合医療センター心臓血管センター准教授 益田 宗孝 横浜市立大学附属病院 心臓血管外科 主任教授

#### (所属部科名)

横浜市立大学附属市民総合医療センター心臓血管センター

#### 抄録

#### 背景

中枢吻合 "Pouch 法"を用いた遊離右内胸動脈(free RITA)の早期、遠隔期成績及び開存率を検討した。

#### 方 法

2013 年 4 月から 2019 年 4 月までに回旋枝(CX)領域に冠動脈バイパス術を施行した 218 例を対象とした。Pouch 法を用いた free RITA を使用した症例は 78 例、大伏在静脈(SVG)を使用した症例は 140 例であり、2 群を比較検討した。

#### 結果

手術時間は fRITA 群  $486.3\pm81.7$ min、SVG 群  $407.7\pm90.7$ min であり有意に free RITA 群 で長かった。CX 領域へのバイパス開存率は、術後 30 日では free RITA 群 82/85(96.5%)、SVG 群 190/195(97.4%)であった。一年後グラフト開存を確認した症例での CX 領域へのバイパス開存率は fRITA 群 61/64(95.3%)、SVG 群 105/119(88.2%)であり、有意差を認めないものの、やや fRITA 群がよい成績であった。

## 結 論

free RITA 群と SVG 群では早期成績、生存率、一年後グラフト開存率に大きな違いは認めなかった。さらなる遠隔期の経過観察が必要である。

# <平成30年度 指定寄附研究助成 心臟疾患研究>

(研究課題件名)

中枢吻合 "Pouch 法"を用いた遊離右内胸動脈(free RITA)の早期、 遠隔期成績及び開存率の検討

> (報告者) 南 智行

(共同研究者)

内田 敬二 横浜市立大学附属市民総合医療センター心臓血管センター診療教授 輕部 義久 横浜市立大学附属市民総合医療センター心臓血管センター准教授 益田 宗孝 横浜市立大学附属病院 心臓血管外科 主任教授

(所属部科名)

横浜市立大学附属市民総合医療センター心臓血管センター

#### 1.目的

近年、動脈硬化疾患が増加の一途をたどっており、また若年化が進んでいる。そのため若年で冠動脈バイパス術(以下 CABG)を受ける症例が年々増加しており、バイパスグラフトの長期開存率が重要となってくる。CABG における両側内胸動脈のグラフト使用は多くの報告により有用性が示唆されてきているが、一方で片側および両側内胸動脈の 5 年死亡率、心筋梗塞発症率、脳卒中発生率に差がなかったとする報告もあり、さまざまな議論がある。

右内胸動脈(RITA)を使用する際であるが、その長さが問題となってくる。十分な距離がとれず、その結果左前下行枝(LAD)への使用が多くなる。そもそも左内胸動脈(LITA)の左前下行枝(LAD)への吻合は golden standard であるが、RITA の使用によりこれを妨げてしまうこととなる。また RITA—LAD 吻合を施行すると心臓再手術の際にこれを損傷する可能性もある。一方遊離(free)での使用方法もあるが、中枢吻合の場所が問題となってくる。中枢吻合を LITA にした場合は LITA を損傷してしまう危惧があり、また中枢吻合を大動脈とした際は RITA と大動脈吻合口の口径差による吻合困難および狭窄が問題となる。

当院では2013年より比較的若年患者に対して、回旋枝領域へのバイパスに free RITA を使用することとした。中枢吻合は大動脈とし、その大動脈吻合口の口径差を克服するために Pouch 法を施行している。今研究の目的は、大動脈を中枢吻合とした free RITA の遠隔

期成績及び開存率の検討することである。

## 2.方 法

Pouch 法は当センターで開始した新しい手技であり、free RITA の大動脈中枢吻合側の吻合口形成法である。直径 2mm 程度の RITA をまず 10mm cutback する。その後先端片側の角と heel を合わせるよう折り返し、折り返した 5mm のラインを 7 - 0 プロリンで連続縫合する。こうして周囲 16mm 程度の Pouch 状の吻合口が完成する。仮に大動脈に直径 5mm の吻合口を作成すると周囲 15mm 程度となり、Pouch 状吻合口により口径差がなくなり、狭窄も起きにくくなることが予想され、結果長期開存率が期待できる。

当センターのデータベースから 2013 年 4 月以降の冠動脈疾患患者に対して、回旋枝(CX) 領域にバイパスを施行した多枝単独 CABG 症例を抽出し、回旋枝領域に Pouch 法による free RITA を使用した症例と、回旋枝領域に大伏在静脈 (SVG) を使用した症例とに分け、早期治療成績を比較検討した。 さらに当センターでは、冠動脈バイパス施行症例に対して 術後 1 年後、その後 5 年毎に冠動脈 CT によるグラフト開存の有無を確認しており、それを用いて遠隔期グラフト開存率を比較した。

2013年4月から2019年4月までに冠動脈疾患に対して単独 CABG を施行した症例の内、再手術を除き CX 領域にバイパスを施行した多枝バイパス症例 218 例を対象とした。CX 領域に Pouch 法を用いた free RITA を使用した症例は 78 例であり、原則として 75 歳以下を適応とした。CX 領域に SVG を使用した症例は 140 例であり、この 2 群を比較検討した。



#### 3.結果

RITA 群の平均年齢は  $61.5\pm9.7$  歳、SVG 群は  $71.8\pm8.5$  歳であり、有意差を認めた。CX 領域への吻合数は fRITA 群では 87、SVG 群では 200 であった。手術時間についてであるが、fRITA 群は  $486.3\pm81.7$ min、SVG 群は  $407.7\pm90.7$ min であり有意に fRITA 群で長かった。正中創の深部胸骨層まで至る感染発生は fRITA 群 3 例、SVG 群 5 例であり有意差は認めなかった。病院死亡は fRITA 群で 1 例認めた。

CX 領域へのバイパス開存率は、術後 30 日では fRITA 群 82/85 (96.5%)、SVG 群 190/195 (97.4%) であった。一年後グラフト開存を確認した症例での CX 領域へのバイパス開存率は fRITA 群 61/64 (95.3%)、SVG 群 105/119 (88.2%) であり、有意差は認めなかったものの、fRITA 群のほうがやや良好な傾向を認めた。

Patency for LCX						
	fRITA	SVG	P			
Graft patency of 30 days	82/85 (96.5%)	190/195 (97.4%)	0.658			
Graft patency of 1 year	61/64 (95.3%)	105/119 (88.2%)	0.092			

#### 4.結 論

fRITA 群と SVG 群では早期成績に違いは認めず、遠隔期生存率でも両郡で有意差を認めないった。一年でのグラフト開存率は有意差を認めないものの、fRITA 群のほうが良好な傾向を認めた。グラフト開存率については明確な差が出てくるのは少なくとも術後 10 年の計観察が必要と思われるため、長期にわたる経過観察が必須であると考えられた。

# 5.論文及び学会発表

- Tomoyuki Minami, Keiji Uchida, Norihisa Karube, Tomoki Cho, Yusuke Matsuki, Kenich Fushimi, Naoto Yabu, Yoshihiro Kusida, Noritake Kikunishi, Mifa Chu, Munetaka Masuda. Early outcomes and 1-year results of free right internal thoracic artery graft with pouch technique. 第71回日本胸部外科学会定期学術集会、東京 2018.10
- 南 智行、内田 敬二、軽部 義久、長 知樹、松木 佑介、根本 寛子、藪 直人、 串田 好宏、菊西 啓雄、朱 美和、益田 宗孝:中枢吻合 "Pouch 法" を用いた free RITA の早期、中期成績の検討. 第 49 回日本心臓血管外科学会学術総会、岡山 2019.02

- 第 28 回アジア心臓血管外科学会(28<sup>th</sup> Congress of the Asian Society for Cardiovascular & Thoracic Surgery ASCVTS 2020 Febrary 7-10)に発表予定であったが新型コロナウイルスを懸念して発表断念
- 第72回日本胸部外科学会定期学術集会にも演題提出中であるが学会延期中

## <指定寄附研究助成 腎臓がん関係>

研究課題件名

FLCN/Fnip1/Fnip2 遺伝子群のノックアウトマウスを用いた機能解析

報告者名

軸屋 良介

共同研究者名

矢尾 正祐 蓮見 壽史 大竹 慎二 三留 拓

所属部科名

横浜市立大学 大学院医学研究科 泌尿器科学教室

#### 抄録

Birt-Hogg-Dubé (BHD)症候群は腎細胞癌、皮膚の線維毛包腫、肺嚢胞を 3 徴とする常染色体優性遺伝性の腫瘍多発疾患であり、その原因遺伝子として folliculin (FLCN)、結合蛋白質 FNIP1, FNIP2 が同定された。腎臓では FNIP1 と FNIP2 のダブルノックアウトで FLCN ノックアウト同様多発嚢胞様腎過形成を引き起こす。今回腎臓特異的 FLCN および Fnip1/Fnip2 ノックアウトマウスを作成し、その表現型を解析することで各蛋白質の相互作用・代謝経路など同定し、BHD 関連腎癌における発癌機序の解明、新規の腎癌治療薬開発のための創薬基盤の確立を目指した。

FLCN、及び FNIP1, FNIP2 の腎臓特異的ヘテロノックアウトマウスは腎臓細胞の異常増殖を来さず生存することが確認できた。当該マウスモデルは、腎臓細胞において片方の遺伝子が欠損しているという点において、ヒトにおける家族性腎癌 (BHD 症候群) の特徴を有するモデルと考えられる。このマウスの表現型を観察し、腫瘍が生じた場合にはその腫瘍を解析することで、BHD 関連腎癌における発癌機序を解明すべく、引き続き研究を進めていく。

## <指定寄附研究助成 腎臓がん関係>

研究課題件名

FLCN/Fnip1/Fnip2 遺伝子群のノックアウトマウスを用いた機能解析

報告者名

軸屋 良介

共同研究者名

矢尾 正祐 蓮見 壽史 大竹 慎二 三留 拓

所属部科名

横浜市立大学 大学院医学研究科 泌尿器科学教室

#### 1. 目的

Birt-Hogg-Dubé (BHD)症候群は腎細胞癌、皮膚の線維毛包腫、肺嚢胞を 3 徴とする常染色体優性遺伝性の腫瘍多発疾患であり、その原因遺伝子として folliculin (FLCN)が同定された。FLCN は AMPK/mTOR 経路やミトコンドリア代謝経路を介して細胞内の代謝と密接に関わることが明らかになってきたが、腎臓特異的 FLCN ノックアウトマウスは多発嚢胞様腎過形成を引き起こすのみで癌の発生は見られなかった。FLCN の結合蛋白として、folliculin-interacting protein1 および 2(FNIP1 と FNIP2)を同定し、FNIP1 およびFNIP2 が共に細胞内エネルギーセンサーである AMPK(AMP-activated protein kinase)に結合する。我々は FNIP1 と FNIP2 のノックアウトマウスを作成し、腎臓では FNIP1 と FNIP2のダブルノックアウトにて FLCN ノックアウト同様多発嚢胞様腎過形成を引き起こすことを明らかにしている。つまり、FLCN の細胞内代謝制御や腎癌抑制機能を含めた様々な役割は FNIP1/2 との結合を通じて行われていること、FNIP1 と FNIP2 が癌抑制において重複する機能を有することが明らかとなった。腎臓特異的 FLCN および Fnip1/Fnip2 ノックアウトマウスを作成し、その表現型を解析することでそれぞれの遺伝子の相互作用・代謝経路など同定し新規の腎癌治療薬開発のための創薬基盤の確立を目指す。

## 2. 方法

2002年に研究グループ長の蓮見壽史の前所属先である米国国立癌研究所泌尿器腫瘍部門にて BHD 症候群の責任遺伝子として folliculin (FLCN)が同定され、本グループはその後の研究の中で様々な FLCN 機能解析のためのモデルを構築し、特に、腎臓特異的な FLCN ノックアウトマウスの作成から、FLCN は腎尿細管細胞の増殖を制御していることを明らかに

した(J Natl Cancer Inst, 100:140, 2008)。

FLCN/Fnip1/Fnip2 遺伝子コンディショナル・ノックアウトマウスと腎臓特異的 Cre リコンビネースを発現するトランスジェニックマウスを掛け合わせ、腎臓特異的 FLCN および Fnip1/Fnip2 ノックアウトマウスを作成し、その表現型を解析する。このモデルに発癌が観察されれば、その組織検体を様々な生化学的手法にて解析する。以上から FLCN/Fnip1/Fnip2 の相互作用・代謝経路など同定し新規の腎癌治療薬開発のための創薬 基盤の確立を目指す。

#### 3. 結果

FNIP1 と FNIP2 のノックアウトマウス、及び FLCN の腎臓特異的ホモノックアウトマウスは多発嚢胞様腎過形成を引き起こし、3 週令で腎不全のため死亡する。腎臓の病理学的所見では明らかな癌の発生は見られていない。

現在 FLCN、及び FNIP1, FNIP2 の腎臓特異的ヘテロノックアウトマウスを飼育中であり、 当該マウスは腎臓細胞の異常増殖を来さず生存することから、このマウスモデルに今後腎 細胞癌含む表現型が生じるかどうかを観察中である。

#### 4. 考察

近年の研究で、FLCH の構造及び機能は急速に解明されてきている。FLCN-FNIP2-RagA/RagC-Ragulator 複合体のcryo 電子顕微鏡による構造解析が為され、FLCNのRagC/Dに対するGAPとしての機能、及びmTORC1 pathway におけるenergy sensing の機序が明らかになってきている(Shen et al, 2019. Lawrence R.E. et al, 2019)。しかしながらなぜ BHD 症候群に代表される表現型の異常を引き起こすかは明らかにされていない。

今回の研究により未解明の FLCN の機能についての理解が深まるものと期待する。

現時点では、FLCN、及び FNIP1, FNIP2 の腎臓特異的ヘテロノックアウトマウスの表現型は得られていないが、当該マウスモデルは、腎臓細胞において片方の遺伝子が欠損しているという点において、ヒトにおける家族性腎癌(BHD 症候群)の特徴を有するモデルと考えられる。

このマウスの表現型を観察し、腫瘍が生じた場合にはその腫瘍を解析することで、BHD 関連腎癌における発癌メカニズムの解明に繋がることに期待し、引き続き研究を進めていく。

#### 5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

Comprehensive analyses of hereditary kidney cancer elucidate the oncogenic

mechanism of renal cell carcinoma.

第 108 回 日本泌尿器科学会総会 2020 年 4 月 23 日 (新型コロナウイルス感染症のため 開催延期中、今後発表予定)

# インドネシアフィールドワーク及び IACSC 学会発表 大田悠加 横浜市立大学医学部看護学科 3 年

## 要約

令和元年8月22日~30日にインドネシアジャカルタ、マカッサルでのフィールドワークの実施、及びIACSCにて昨年看護学科のフィリピンフィールドワークで行った衛生教育プログラムに関して子供たちへの手洗い教育について口頭発表を行いました。

フィールドワークではインドネシアの医療施設、教育機関の見学を通して、インドネシアの医療、看護の実際、日本との違いを感じ、新たな視点から医療、看護を考えることができました。

学会では客観的に物事を捉えて、今後の課題を考察する機会にもなり、また外国語を用いて発表を行う機会にもなり、良い経験となりました。

ご支援いただいた横浜総合医学振興財団の皆様に心より感謝申し上げます。

# インドネシアフィールドワーク及び IACSC 学会発表 大田悠加 横浜市立大学医学部看護学科 3 年

この度、令和元年 8 月 22 日~30 日にインドネシアジャカルタ、マカッサルでのフィールドワーク及び IACSC にて『Developing and implementing a handwashing education program for kindergarteners in the Philippines』について口頭発表を行いました。詳細について、以下の通りに報告いたします。

インドネシアジャカルタ、マカッサルでのフィールドワークでは 23 日に Pondok Kopi Islamic Hospital の見学、24 日に Public Health Center in Parung の見学、Rumah Sakit Ibu&Anak Buah Hati の見学、29 日に Hasanuddin university での見学、ディスカッション、Rappokalling Public Health Center の見学を行いました。

フィールドワークで学んだことの一つが宗教への配慮です。インドネシアは人口の9割近くがイスラム教を信仰しています。イスラム教は一日の中でお祈りの時間が多くあり、信仰する人々はその時間を大切にしています。実際、インドネシアを案内してくれた学生がお祈りの時間になると駅や図書館にあるお祈りの部屋に行き、お祈りをするということが何回もありました。お祈りの部屋は街や施設の中に多くみられ、専用の部屋がないところでは方角を確認してその場で行っていました。学生に聞いてみるとお祈りは当たり前のことで生活の一部だとのことで、インドネシアの人にとってイスラム教が大きな支えになっていることがわかりました。病院では病室の中にお祈りする方角を示した矢印が書いてあり、専用の部屋などが用意されていました。病院では身体の状況によりお祈りをすることができない患者に対して宗教面での支援として、ベット上でも行えるお祈りなどが行われていました。また、病院では女性専用の部屋なども用意されていました。母子手帳はJICA発行の母子手帳と比べ、イスラム教の人用に作られており、母親の絵がヒジャブ着用の絵になっていました。インドネシアでは宗教が人々のなか、生活の中で大きな役割を持っており、医療者側も宗教的支援を重要なものとして位置付けていることを学びました。

2番目に医療システム、設備についてです。インドネシアの人はほとんどが共通の ID を持っており、それがあることでヘルスケアセンターなどはすべて無料で使えます。救急車は料金がかかりますが利用でき、ほとんどの施設に備わっていました。ただ、インドネシアは交通がとても混んでおり、搬送にどれくらいの時間がかかるかはわからないとのことでした。病院、ヘルスケアセンターの設備は充実していると感じた一方、器具や設備の管理として病室に器具や薬が置きっぱなしになっていたり、乱雑に置かれていたり、器具や設備が汚れていたりなど不十分なように感じました。インドネシアでは設備は整っており、

十分な医療が平等に受けられる環境ではあるかと思いますが、管理やシステムの点で不十分な環境だと思いました。

3番目に看護師の環境です。印象に残ったのは専門の看護師が多く活躍していることです。 看護教育も4年間の基礎教育のあとに1年間の臨床教育があるシステムとなっています。 看護教育の現場ではそれぞれの領域ごとに細かく状況が再現された部屋があり、演習など が実践に近い形で行えると感じました。インドネシアでは臨床での看護実践能力が重要と されており、それにより看護を専門的なものにしているのだと思いました。

28日にIACSC にて『Developing and implementing a handwashing education program for kindergarteners in the Philippines』について口頭発表を行いました。

IACSC はアジアを中心とした大学間ネットワークであり、各都市、国際機関等と協働しながら、都市が抱える課題の解決に向け取り組んでいるもので、アジアを中心とした都市の大学教員・研究者・学生・職員及び関連する機関が相互に連携し、情報やリソースの共有、議論、調査、研究、プロジェクトを実施しています。持続可能な社会をめざして、都市の諸問題を解決し、地域や世界に貢献することを目標としています。今回は IACSC の学会に参加させていただきました。医療、看護の面からだけでなく都市開発や環境の面からの発表、議論もあり、多面的に問題を考えることができる学会となっています。

私たちは昨年看護学科のフィリピンフィールドワークで行った衛生教育プログラムについて実践も交えながら発表を行いました。フィリピンでは衛生環境が整っていないことが健康に大きく影響していることが問題となっています。フィリピン子供たちは衛生環境の悪さにより下痢になることが多く、それを予防する方法として正しい手洗い方法を習得してもらうことを考えました。その実践として歌や劇、クイズなどを使った楽しんで覚えてもらうプログラムを作成し、実践しました。

学会に参加するにあたり、自分たちが行ったプログラムを振り返り、再度考察し、まとめ、わかりやすく伝える準備を行いました。プログラムを行っていた時には気づくことができなかった部分に気づき、さらに深く考察することができました。また、英語での発表となったため、発表資料を英語で作成し、発表練習を何度も行いました。先生方にも指導していただきながら、添削を繰り返しより良いものにすることができたと思います。準備の期間は自分たちの行ったことを客観的に捉えて、今後の課題を考察する機会にもなり、また外国語を用いて正しく伝える方法を取得する機会にもなり、良い経験となりました。

口頭発表は、発表約 10 分、で行われました。途中のプログラムの実践の場面では笑いも起こり、楽しく伝えることができたと思います。発表後は楽しかった、わかりやすかったとの評価もいただき、良い経験となりました。

今回のフィールドワーク、学会への参加は私にとって看護という学問を深く考える機会となり、看護を学んでいくうえでの重要な経験となりました。また、自分とは違う文化、環境に触れたことで視野を広く持つ機会となり、国際看護を学んでいくうえでの重要な経験となりました。今回の経験を今後にも活かしていきたいと思います。

最後になりますが、御指導くださった先生方、ご支援いただいた横浜総合医学振興財団 の皆様に、心より感謝申し上げます。

## 〈支出〉

航空券代 ¥115,250 宿泊費 (7泊) ¥51,250 現地交通費 ¥4,000 病院見学費 ¥2,000 現地の旅行アレンジ代 ¥6,000 Wi-Fiレンタル ¥1,800 HCC見学費 ¥2,000

計 ¥182,300





インドネシアフィールドワーク及び IACSC 学会発表

## 大谷紗良 横浜市立大学医学部看護学科3年

#### 要約

この度、令和元年8月22日から8月30日の9日間、インドネシアのジャカルタ、マカッサルの二都市にてインドネシアフィールドワーク及びIACSC学会発表を助成金を利用して参加させていただきました。

ジャカルタでは病院やヘルスケアセンターの見学等のフィールドワークを通し、現地の医療制度や地域保健、ハウスキーピング等について現場で働く看護師の方々のプレゼンテーションや、診療の様子を見学を通して学習しました。また、マカッサルではハサヌディン大学にて第 10 回 IACSC 学会へ参加し、平成 30 年度に参加したフィリピンフィールドワークでの 2~3 歳の子どもを対象にした手指衛生、排泄に関する衛生教育をふまえ"Developing and implementing a hand-washing education program for kindergarteners in the Philippines"という題名で発表を行いました。その他、ハサヌディン大学の看護学生と交流し、インドネシアの看護教育の学習や、演習室の見学をしたり、理学療法士を目指す学生とも交流をし、またディスカッションを経て非常に多くの学びを得ることができました。

ご支援いただいた横浜総合医学振興財団の皆さまに心より感謝申し上げます。 以下、この場をお借りして活動報告をさせて頂きます。

#### インドネシアフィールドワーク及び IACSC 学会発表

## 大谷紗良 横浜市立大学医学部看護学科3年

令和元年8月22日から8月30日の9日間、インドネシアフィールドワーク及びIACSC 学会発表として、インドネシアのジャカルタでは病院やヘルスケアセンターの見学等のフィールドワーク、マカッサルのハサヌディン大学にて第10回IACSC 学会へ参加させていただきました。

ジャカルタで訪れた総合病院である Pondok Kopi Islamic Hospital では約9割の国民がイスラム教徒であるインドネシアならではのスピリチュアルケアについて学習することができました。また、この病院では助産ケアに力を入れており、インドネシアの母子手帳や分娩室の様子を見学することで、日本との違いを実際に目で見ることできました。地域の方がかかりつけ病院として日常的に利用する Public Health Center ではインドネシアの保健制度について学び、地域に根付いた医療の実際を理解することができました。その他、フィールドワーク通して、避妊具や避妊薬を無償提供している国が多く存在する中、日本ではそれらが保険適応外であること、そして日本の病院のハウスキーピングが徹底されていることに気付き、日本が見習うべき点、同時に、他国へ発信するべき日本の技術を再確認しました。

IACSCでは準備から現地での発表を通して、フィリピンでの活動の成果や、改善点についてより深く振り返ることができました。各国の著名な先生方の発表も聞くことができ、医療だけでなく、災害、教育など様々な分野に関して沢山の学びを得ることができました。また、ハサヌディン大学での現地の大学生とディスカッションでは、インドネシアの災害看護について説明してもらい、私たちは日本の DMAT や YMAT 等について説明し、互いに学びを深められる貴重な機会となりました。今回得た学びを活かし、今後の報告会等を通し、多くの方々に学びを共有、発信していくことができるよう精進いたします。

手厚くご指導をして下さいました先生方、そして助成金を支援していただきました横浜総合医学振興財団の皆さまのご支援の賜物であり、この場をお借りして皆さまに厚く御礼申し上げます。

航空券代 ¥115,250 宿泊費(7泊) ¥51,250 現地交通費 ¥4,000 病院見学費 ¥2,000 現地の旅行アレンジ代 ¥6,000 Wi-fi レンタル代 ¥1,800 HCC 見学費 ¥2,000 計 ¥182,300



2019 年度 IACSC への参加・発表, インドネシアでのフィールドワークの参加 桐原ゆい

横浜市立大学医学部看護学科3年生

## 〈要約〉

この度、令和元年 8 月 22 日~8 月 26 日にインドネシアのジャカルタでフィールドワークを行いました。病院・地域の保健施設の見学、現地の学生と交流を図りました。また、令和元年 8 月 27 日~8 月 28 日にインドネシアのマカッサルで行われました IACSC にて、

「Developing and implementing a handwashing education program for kindergarteners in the Philippines」について口頭発表を行いました。その後、病院・地域の保健施設・小学校の見学を行い、現地の学生とディスカッションを行いました。フィールドワーク・会の参加の詳細について以下の通り報告致します。

私たちが今回、行ったインドネシアでのフィールドワークについて報告致します。まず、 私たちは、ジャカルタの2カ所の病院と1カ所の地域の健康管理センターを見学しました。 その場所で一番感じたことは、日本の病院と比べて設備等に大きな差があるわけではない ということです。インドネシアでは、地域にある健康管理センターが日本でいうかかりつ け医の役割を担っています。そのため、多くの人が健康管理センターに訪れていました。 そして、現地の学生にジャカルタ市内を案内してもらい、国立の図書館、町のシンボルの タワーに行き、様々なことを話すことができました。具体的には、お互いの国について、 衣食住の生活、学業について、今興味があることなどを話し、交流を深めることができた と感じています。

次に、学会についてです。学会では、昨年フィリピンで行ったフィールドワークについて発表しました。マカッサルにあるハサヌディン大学で行われ、様々な分野の方が公演・ポスター発表を行っていました。医療・保健・福祉に限らず、環境や都市について多岐に渡る内容となっており、貴重な機会を得ることができました。

また、マカッサルでは、病院・地域の健康管理センター・小学校の健康診断を見学させていただくことができました。

今回のフィールドワーク・学会の参加は私にとって国際看護にさらに興味を持ち、学びを深めることができる機会となりました。今後、国際的な視野を持てるように励んでいきたいと思います。そして、この経験を必ず今後に活かしていきます。

最後になりますが、御指導くださった先生方、ご支援いただいた横浜総合医学振興財団 の皆様に、心より感謝申し上げます。





# ・収支計算の報告 〈支出〉 航空券代 ¥115,250 宿泊費 (7泊) ¥51,250 現地交通費 ¥4,000 病院見学費 ¥2,000 現地の旅行アレンジ代 ¥6,000 Wi-Fi レンタル ¥1,800 HCC 見学費 ¥2,000

計 ¥182,300

インドネシアでのフィールドワーク、IACSC での発表を終えて

## 小山 茜

#### 横浜市立大学医学部看護学科3年

#### 要約

8月末に9日間、インドネシアにフィールドワークをしに訪問しました。今回の訪問の目的は、横浜市立大学が主催の1校である学会・IACSCで発表をすること、そして国民の多数がイスラム教である国の医療を視察することでした。現地の看護の先生と連絡を取り、病院やヘルスセンターへの訪問日程を調整、先生方の教え子である生徒との交流も企画して下さり、とても充実したものになりました。日本との文化の違いや日本でのまだまだ改善すべき点などが浮かんできたので本当に訪問出来て良かったと思います。

学会での発表内容は昨年のフィリピンのフィールドワークで行った幼児とその母に対する衛生教育についてです。実際の発表も英語での口演だったのでとても緊張しましたが、学生ということで皆さん暖かい目で見て下さり、先生方のサポートのお陰で滞りなく終えることができました。当日の発表だけでなく、発表の準備段階においても学ぶことがたくさんあり、日本語ではなく英語で行うことの難しさを突きつけられたように思います。

今回のインドネシアでのフィールドワークでは貴重な経験をさせて頂きました。本当に 渡航して良かったと思います。この場をお借りしまして、助成をして頂いた一般財団法人 横浜医学振興財団様に感謝を申し上げます。

# <写真>





<経費>	
航空券代	¥115,250
宿泊費(7泊)	¥51,250
	¥4,000
現地交通費	•
病院見学費	¥2,000
現地の旅行アレンジ代	¥6,000
WiーFiレンタル	¥1,800
ヘルスセンター見学費	¥2,000
計	¥182,300

#### インドネシアフィールドワーク及び IACSC 学会発表

## 細川真由子

## 横浜市立大学医学部看護学科3年

要約

2019年8月22日から8月30日にかけ、横浜市立大学医学部看護学科3 年生の有志とともに、インドネシアにおいてフィールドワークをし、8月27 日にはハサヌディン大学で行われた IACAC に参加し、2018 年にフィリピンの子供た ちに対して行った、衛生教育と手洗い指導に関する口頭発表を行った。フィールドワー クはジャカルタ及びマカッサルにおいて行い、病院や地域のヘルスケアセンターを見学 させていただき特に宗教的観点からの日本との違いを学べたほか、現地の看護学生との 交流も図ることができ、非常に充実した時間を過ごすことができた。

今回の研修は、フィリピンフィールドワークでお世話になった母性看護学の先生方か らの提案により行う運びとなったが、ぜひインドネシアとのつながりが今後も続いてい くことを願う。

#### インドネシアフィールドワーク及び IACSC 学会発表

## 細川真由子

#### 横浜市立大学医学部看護学科3年

この度インドネシアのハサヌディン大学において行われた IACSC 学会に参加し、 2018年にフィリピンでのフィールドワークで行った現地の子供たちに対する衛生教育 と手洗い指導に関する口頭発表を行った。またジャカルタとマカッサルにおいて、様々 な先生方の協力のもと現地の病院やヘルスケアセンターを見学させていただいたので、 詳細を以下の通り報告する。

まず IACSC は横浜市立大学をはじめとするアジアの様々な大学が「環境」「まちづくり」「公衆衛生」分野の三つのテーマで相互に連携し、情報共有や議論、研究、プロジェクトの実施を行い、持続可能な社会を目指し都市の諸問題を解決し地域や世界に貢献することを目標としている大学間ネットワークである。今年は8月27日、28日の日程で開催され、私たちは27日に発表を行った。

我々の発表はまずフィリピンでの衛生教育と手洗い指導を行うことになった背景について説明し、そのほか準備をどのように行ったかやその目標、今後改善すべき点について発表した。さらに教育を行った方法がロールプレイと自分たちで作った手洗いの歌を歌うというものだったので、実際に使った道具を用いてロールプレイを行ったり、歌っている動画を流すなどわかりやすいように工夫をして発表を行なった。プレゼンを作成するまでの過程を含めて、英語での口頭発表ということもありとても大変だったが、とてもいい経験になった。

ジャカルタやマカッサルでは、現地の看護学の先生方の多大なるご協力を得て様々な病院やヘルスケアセンターを見学させていただいた。蚊が多かったり、入院している部屋でも個々のベットの間にカーテンがかかっていないところがあったりと日本とは違うところも多くあったが、地域のヘルスケアセンターでは国民に与えられている ID カードを見せるとプライマリケアや妊婦検診は無償で受けることができるなど、とてもいいサービスも多々あった。特に違いを感じたのは、インドネシアはイスラム教の国なので「スピリチュアル」の部分に重きを置いていることが多かったほか、看護師が患者の世話をするよりも、家族によるケアが多くみられ患者自身の生活により近い入院生活が送れるのではないかと考えた。

今回のインドネシアでのフィールドワークは、なかなか普段は見ることのできないインドネシアの医療状況を見学できたり、学生との交流を通して実際の教育状況などを知ることで日本を再度見つめなおしたりと私にとってとてもいい経験となった。この経験を友人や後輩に伝え次につなげていきたいと思う。

最後になりましたが、このフィールドワークをするにあたり、ご指導くださった先生 方、現地で活動のコーディネートをしてくださった先生方、一緒にインドネシアにいっ たメンバー、そしてご支援いただいた横浜総合医学振興財団のみなさまに、厚く御礼申 し上げます。ありがとうございました。





## <支出>

航空券代 ¥115,250

宿泊費 (7 泊) ¥51,250

現地交通費 ¥4,000

病院見学費 ¥2,000

現地の旅行アレンジ代 ¥6,000

Wi−Fiレンタル ¥1,800

HCC見学費 ¥2,000

計 ¥182,300

( 米国の大学・附属病院における重症・希少疾患患者に対する 高度看護実践と教育・研究に関する研修 )

( 篠﨑 澪 )

( 看護学科・4年 )

2019 年 10 月に、卒業研究の一環として、米国ペンシルバニア州のテンプル大学附属病院、ペンシルバニア大学及びペンシルバニア大学附属病院で研修を行った。主に周術期における Nursing practitioner(以下 NP)の看護実践と役割の実際と米国の看護教育の特徴について学んだ。

NPには、一定レベルの診断や処方を行うことが許されている。しかし、独立して診療できること自体が NP の強みなのではなく、多職種でそれぞれの専門性を活かしながら協働していけること、患者とその家族により良いケアが提供できることこそが強みであると考えた。また、家族をも対象と捉え、日々医療・看護を提供することの重要性を改めて感じた。

また、心臓外科手術の見学においては、心疾患の発症に対する食事や栄養の 観点からの予防の重要性や有効性が考えられた。

さらに、米国の看護基礎教育の特徴として、充実したシミュレーション教育と Diversity を意識した教育があげられ、このような教育により、米国の看護師が持つ高度なアセスメント力や判断力が養成されているのだと分かった。

今回の研修参加に対し、一般社団法人横浜総合医学振興財団の皆様にご賛同いただき、費用の一部を補助していただいた。深く感謝申し上げる。

( 米国の大学・附属病院における重症・希少疾患患者に対する 高度看護実践と教育・研究に関する研修 )

( 篠﨑 澪 )

( 看護学科・4年 )

2019 年 10 月に、卒業研究の一環として、米国ペンシルバニア州のテンプル大学附属病院、ペンシルバニア大学及びペンシルバニア大学附属病院で研修を行った。主に周術期における Nursing practitioner(以下 NP)の看護実践と役割の実際と米国の看護教育の特徴について学んだ。ここでは、特に以下の3点について記す。

- 1.米国の急性期病院で見た医療・看護の実際
- ●米国の急性期病院における Surgical Nurse Practitioner 及び看護職の役割

Nurse Practitioner(以下 NP)は、主に米国において見られる上級の看護職である。一定レベルの診断や処方を行うことが許されており、臨床医と看護師の中間職として位置付けられる。日本においても、その必要性は検討されているが、米国等「ナース・プラクティショナー」に相当する資格はなく、現在の日本の法律においては、看護職は、医師の指示を受けなければ診断や処方を含めた医行為を行うことはできない。

米国おいては、1971 年に NP の職業団体である American Academy of Nurse Practitioner(以下 AANP)が創設され、以降さらに拡大されてきた。NP の独立権は州の法律によって異なり、テンプル大学附属病院が立地するペンシルバニア州は、Reduced Nurseに当てはまり、すべての医行為の独立は認められていない。Reduced Practice は、AANPにおいて、以下のように定められている(表 1)。さらに、細かく示すと、ペンシルバニア州において NP は、プライマリーケア提供者と認識されており、免許を取得した医師との書面による協約に基づいて、病状の診断、治療計画の作成と実施、診断テストのオーダーと実施、及びその他の医療サービスの提供を行うことができるとされている。

#### (表 1) Reduced Practice

#### Reduced Nurse

State practice and licensure laws reduce the ability of NPs to engage in at least one element of NP practice. State law requires a career-long regulated collaborative agreement with another health provider in order for the NP to provide patient care, or it limits the setting of one or more elements of NP practice.

テンプル大学附属病院は、超急性期病院であるため、術後 ICU→一般病棟で管理された 患者は、地域の病院に転院後に自宅に戻ることが多いという。Surgical Nurse Practitioner は、主に術前と術後退院後の外来診療を担っている。術前外来では、主に家族歴、生活歴、 既往歴、内服歴、手術歴といった患者情報を収集し、フィジカルアセスメントを深めてい く。時に前の担当医と情報共有をすることもあるという。必要に応じて、検査のオーダー と実施、処方と服薬指導(手術に影響のある薬の内服中止等)をも行っていく。それらをもと に、執刀医が手術の方針を決めるということもあり、患者のことをより良く知り、患者に 合った最善の手術・医療を提供するためにも Surgical Nurse Practitioner が果たす役割の 重要性が窺える。テンプル大学附属病院では、執刀医と Surgical Nurse Practitioner がぺ アになってはたらいており、Surgical Nurse Practitioner が「What should I do for Dr. Toyoda?」と話していたことがとても印象的であった。まさに、AANPの「Reduced Practice」 の定義の一部にある「collaborative agreement with another health provider in order for the NP to provide patient care, or it limits the setting of one or more elements of NP practice.」であると思った。独立して診療できること自体が NP の強みなのではなく、それ があることによって、様々な専門性を持った医療職が多く存在する米国において、それぞ れの専門性を活かしながら協働していけること、そして、患者とその家族により良い医療 が提供できることが強みであると思う。この場面においては患者情報の収集といった点で 検査のオーダー・実施や処方ができるといった NP の強みがあり、活かされていると考えた。

#### ●米国の医療・看護における多職種連携の在り方

肺移植後患者についてのカンファレンスを見学させていただいた。カンファレンスには、 免疫科、肺内科、肺外科、Nurse Practitioner、栄養士、理学療法士、言語聴覚士と様々な 職種が参加しており、米国における医療業務の細分化とその中での多職種連携の一部を見 ることができた。病棟において、患者の日々の変化を観察するのは主に看護職(Registered Nurse/Nurse Practitioner)であり、それは日本と類似する点でもあると考えられる。その ためか、カンファレンスでは、看護職が進行役を務め、まずは看護職の視点で「その患者 が今どういう状態であるのか」、「それに対してどういったケアをしているのか」、「また今 後いつまで何に気をつけるべきなのか」が主に話されていた。しかし、看護職から医師に 質問するような形式でありながら、前述した多くの専門職により様々な視点で検討が進め られていたことが印象的であった。各患者の検討後には、「結果~をして、現状は回復して いるのか、そうでないのか」とまとめられており、YES or NO がはっきりした米国らしさ を感じるとともに、わかりやすいと思った。また、患者の離床や服薬状況といった現状に 対し、「患者自身が理解しているかどうか」といったことも話されており、患者の主体性を 大切にし、活かす医療・看護であるようにも感じた。カンファレンスの中では、患者の家 族をも含めた社会的側面についても触れられていた。それら社会的側面の患者情報は退院 調整を検討する場面でも使用されており、超急性期病院であることの特徴の一つでもある と考えられた。

また、手術室内だけを見ても、医療専門職の職種多さがわかり、日本との大きな違いでもあると考える。執刀医である Medical Doctor、記録や外回りの業務、時に機械出しを行う Registered Nurse、主に執刀医の補助を行う Physician Assistant、機械出しを専門に行う Scrub technician に加え、体外循環装置を使用する場合は Clinical Engineer、補助人工心臓装着術の場合は VAD Coordinator が関わることとなる。これら米国における医療業務の分業化は、よりそれぞれの分野に対し専門的な知識を持った職種が関わることができるといった利点があると考える。また、医療者自身のやりがいといった視点においても、自身の専門性を最大限活かしながら、患者に医療を提供できると考える。

また、手術に恐怖を感じている患者に対しては、本や写真を用いて多くのスタッフから 説明を行うということもあり、患者の意思決定や不安の軽減を図るうえでも、多職種連携 の重要性が窺えた。

これだけ多くの職種と関わる中では、それぞれの職種の特性を知ることがまず必要であると考える。近年、多職種連携が強調されているが、自分の専門職の詳細な業務内容を知る機会はあまりないのではないか。私たちは、医学部看護学科の学生であるため、医学科の学生と交流を図る機会は得られるが、そうでない単独の学部の学生はその機会を得ることすら難しいだろう。また、私たちも他の薬剤師や PT・OT といった職種との交流を得ることは難しい。学部教育のなかでも、多職種連携が意識できるようなプログラムや環境づくりが今後の課題でもあると考える。また、私自身、看護職以外の医療職についてさらに理解を深めたいと思った。

#### ●Surgery で見られた患者の身体状況からの考察

テンプル大学附属病院での臨床実習では、計 5 件の手術を見学させていただいた。その うちの3件は、Pulmonary Thromboembolism (以下PTE) であった。しかし、当然なが ら、3 人の患者それぞれ特徴がある。年齢や身長、体重、BMI といった患者情報や、PTE そのものの症状やその程度が異なれば、手術内容も変わってくる。実際に見学するなかで、 患者によって心臓そのものの大きさや状態、心臓周囲にみられる内臓脂肪量の違いがある ように感じ、非常に驚いた。また、それには年齢や BMI が関連しているように思った。年 齢が高齢になるほど、他疾患や手術の既往があり、術部に癒着が起こっている可能性があ ったり、BMI が高くなるほど、心臓周囲に付着している脂肪量が多くなったりすることが 考えられる。実際に先行研究においても BMI 値と心疾患の発症や予後、心外膜脂肪に相関 があることが示されている。これらことから、心疾患の発症に対して、食事や栄養の観点 から事前に予防することの重要性やその有効性を改めて感じた。それと同時に、心疾患発 症後や心臓移植の待機中の患者に対する必要な看護ケアの一つとしても栄養管理があげら れるのではないかと考えた。実際に BMI35.0 以上の心臓移植レシピエントは予後が不良で あることや、小児期に固形臓器を移植したレシピエントの肥満リスクについて示した先行 研究も散見されている。また、心臓移植後に食事や運動といった生活面の管理をすること で予後が改善するのではないかという知見も得られている。これらのことについて、今後 さらに学びを深めていきたく、私自身の今後の課題の一つである。

また、反対に、心臓や肺の移植をする際には、ドナーの健康状態も重要なのではないかと考えた。実際に質問させていただくと、肺移植については、年齢や体格、臓器の大きさ、喫煙歴、喘息の既往歴、既往歴、体調管理方法、肺の機能、動脈血血液ガス分析(ABG)等の項目と実際にドナー肺を見た状況から、そのレシピエントに適切なのかどうかを判断するということであった。このような厳しい条件がある中でも、米国では年間8000~9000人もの臓器提供者がおり、日本の約80倍の臓器提供数となっていることに対し、改めて驚いた。



−②豊田 MD、柳田 MD と

#### ↑①手術見学終了後の千葉教授とゼミ生

## 2.米国の医療・看護における家族ケアの重要性

米国の医療・看護における家族ケアについて、日本においても NICU(Neonatal Intensive Care Unit)での Family Centered Care などが取り入れられている。米国では、病院に家族のための休憩室があったり、家族のメンタルケアをするための診察室があったりすることから、本研修前より家族ケアを重要視しているというイメージがあった。実際に Surgical Nurse Practitioner の語りより、さらにその重要性を感じることができた。前述した Surgical Nurse Practitioner の役割の一つに、術前の患者情報の収集があった。しかし、性格的な特徴や手術への恐怖から話したがらず、十分に情報が得られないこともあると考えられる。そういった場合には、家族から情報収集をするということであった。これについて Surgical Nurse Practitioner は、「米国は家族と関わる時間が多いから、家族から話を聞く」というように話していた。家族をも対象と捉え、家族ケアを重要視し、日々医療・看護を提供しているからこそ、その「家族と関わる時間」を多くことができ、患者の情報収集も可能にしていると考えた。

#### 3.看護教育

#### ●充実したシミュレーション教育

今回の研修では、ペンシルバニア大学看護学部のシミュレーションセンターも見学させていただくことができた。在宅看護を提供する場面や家族教育を実施する場面等、細かい状況設定がされたシミュレーションルームがあった。また、シミュレーションルーム内には、様々な医療機器や薬が用意されていた。そこで行われる演習は、教員が操作するシミュレーション人形の状況に応じて、「どういったケアが必要なのか?」を考え、使用すべき薬を判断したり、医師や他職種のコンサルテーションを要求したりする力が求められていた。日本の演習授業では、事前に事細かに患者の状況が設定されていることが多く、それをもとに必要なケアを事前に準備したうえでのシミュレーションとなることが多い。これは、日米の看護教育の大きな違いであると感じると同時に、このような教育によって、米国の看護師が持つ高度なアセスメント力や判断力が養成されているのだと分かった。

#### ●Diversity を意識した教育内容

シミュレーションセンター見学時に、様々な肌色の人形が置かれていたことに驚いた。 しかし、これは様々な人種が暮らす米国の特徴であると考える。肌色が異なれば、採血時 の血管の見え方等も異なってくるだろう。実際に学部教育のうちから、それらを想定して 演習ができるという点でも、より実践に近い教育であるといえると思う。授業内で乳幼児 死亡率を示す際にも、人種別の割合が示されており、私自身も Diversity を意識することが できた。こういった Diversity を意識した教育を行っていくことで、人種による違いを差別 するのではなく、反対に理解につながるのではないかと考えた。

日本においても、近年外国人患者が増加している。医療通訳等の職種が活躍する病院もあるが、通訳は患者な話す内容をそのまま訳すことしかできず、不安や恐怖といった感情を汲み取ることができても、それを医療者に伝えることはできないと倫理綱領で定められているという。患者の気持ちといった見えない部分をも尊重した医療を提供するためには、医療者自身が外国語や外国語や絵を用いたパンフレット等を用いてコミュニケーションを取ることが望ましいと私は考える。また、米国と日本でも異なるように、国が違えば医療へのアクセスの仕方も異なる。そういった面でも外国人患者は、不安や悩みを抱くだろう。だからこそ、今後の課題として、上記のような人種を含めた海外諸国の文化や医療制度、医療英語等を日本の看護教育にも今以上に取り入れていく必要があると考える。



↑③ペンシルバニア大学看護学部シミュレーションセンターにあった黒色肌の模型 ↑④授業をしてくださったペンシルバニア大学 Professor Ross Johnson と

#### 4.感想

私は研修前より、海外の医療に興味があり、昨年は大学と附属病院合同のハワイ看護研修に参加させていただいた。ハワイでは、その地域に密接したプライマリーケアについて学ぶ機会が多かったが、今回は急性期医療に触れる機会が多く、とても新鮮で刺激的であった。さらに、上記のような学びを新たに得ることができ、良かった。それらは自身の将来を考えるうえでも活かしていきたいと思う。

#### 5.謝辞

今回の研修参加に対し、一般社団法人横浜総合医学振興財団の皆様にご賛同いただき、 費用の一部を補助していただきました。深く感謝申し上げます。

今回、研修を行うにあたり、実習の受け入れやご指導を賜りましたテンプル大学附属病院の豊田吉哉 MD、柳田朗 MD、Ashly J Whiting NP、Janet Wong NP、Foley Joanne RN をはじめとした多くの関係者の方々に深く感謝申し上げます。

また、ペンシルバニア大学附属病院 Elizabeth Carnall RN、ペンシルバニア大学看護学部の Nancy Biller Assistant Dean、Ross Professor、Cynthia Connolly Professor、Lisa Lewis Professor、Anne Hoyt-Brennan Professor にも深く感謝申し上げます。

最後になりますが、本研修の企画、調整及び同行をしてくださいました横浜市立大学先端成人看護学領域千葉由美教授にもこの場をお借りして、深く感謝申し上げます。

## 6. 収支計算報告

用途	金額
交通費	
(羽田→トロント→フィラデルフィア	152,480 円
フィラデルフィア→トロント→羽田)	
タクシー費	
(フィラデルフィア空港→ホテル	4023 円
ホテル→フィラデルフィア空港)	
宿泊費	81,402 円
ペンシルバニア大学看護学部研修費	29,000 円
ペンシルバニア大学附属病院研修費	45,500 円
テンプル大学附属病院研修費	0 円
	合計 31, 2400円

「アメリカの医療現場や看護教育を見て」

渡辺 もえ

## 医学部看護学科 4年

## 要約

2019 年 10 月に、アメリカのペンシルバニア州のテンプル大学附属病院、ペンシルバニア大学及びペンシルバニア大学附属病院で研修を行った。

テンプル大学附属病院では、5件の心臓外科手術の現場や周手術期の病棟内を見学させていただいた。日本と比べて多くの職種が連携して医療を行っている様子や、同内容の手術を行っていても患者の状態により手術時間や予後が変わってくることがわかった。また、一般的な看護師である Registered Nurse(以下RN とする)と違い、医師の業務の一部を行うことができる Nursing Practitioner(以下 NP とする)がどのような看護を患者に提供しているのかを知ることができた。

ペンシルバニア大学では看護教育の現場やどのような授業が行われているのかを知り、レベルが高く充実した演習内容を見て、高度医療を提供するアメリカの看護師が持つ能力が養成されているとわかった。

今回の研修参加に対し、一般社団法人横浜総合医学振興財団の皆様にご賛同いただき、費用の一部を補助していただいた。深く感謝申し上げる。

## 「アメリカの医療現場や看護教育を見て」

#### 渡辺 もえ

## 医学部看護学科 4年

2019 年 10 月、アメリカのペンシルバニア州のテンプル大学附属病院、ペンシルバニア大学及びペンシルバニア大学附属病院で研修を行った。テンプル大学附属病院では、手術現場や周手術期の病棟内を見学し、同じ内容の手術をしている患者の比較、多職種が連携して医療を行っている様子や、一般的な看護師である Registered Nurse(以下 RN とする)と違い、医師の業務の一部を行うことができる Nursing Practitioner(以下 NP とする)がどのような看護を患者に提供しているのかを学んだ。ペンシルベニア大学ではアメリカの看護教育の実際を知ることができた。

#### 1. 手術現場を見て

テンプル大学附属病院では、心臓外科の手術を 5 件、両肺移植手術を 1 件見学させていただいた。心臓外科手術は 3 件が入血栓塞栓症(Pulmonary Thromboembolism:以下 PTE とする)の手術、 2 件が Heart Mate III という補助人工心臓を入れる手術であった。手術室のホワイトボードには患者の名前や年齢だけでなく身長、体重、BMI 等が記されていた。同じ手術を複数見たことで、患者によって年齢や体型、症状が違ってくるのは当然であるが、そういった違いが手術にどのような影響を与えるのかを目の当たりにした。患者によって心臓の状態が違い、ある患者では心臓周囲に脂肪が多く付着し、手術に時間がかかっていることもあった。手術時間が長くなれば患者への侵襲も大きくなり、患者の予後にも関わってくると考えられる。また、脂肪の蓄積が多いというのは食生活などのこれまでの生活習慣も大きく関係していると考えられる。循環器疾患と生活習慣の関連性というのは様々なところで目にするが、疾患の発症に関して栄養の観点から事前に予防することの重要さを感じ、看護ケアとして栄養バランスのとれた食事を摂取することの指導が大切になってくるのではないかと考えられた。

また、手術室では他職種の連携を見ることができた。日本でも執刀医、麻酔科医、器械出し看護師や外回り看護師、臨床工学技士等の多職種が連携して手術を行っている。アメリカでは執刀医とともに Physician Assistant(=PA)と呼ばれる人が手術をサポートしていた。PA とは、医師の監督のもとに簡単な手術の補助(例えば縫合や吸引等)など、医師が

行う医療行為の一部をカバーする医療資格者である。その他にも、看護師ではない器械出し専門の人が手術をサポートしている様子も見られた。医師の技術はもちろん、PA や器械出しの人々の技術も非常に重要であり、専門職同士が連携し合い、手術を成功させていると学ぶことができた。業務が専門職によって細分化されており、各職種が専門性を活かしながら効率よく医療が提供できるのではないかと感じた。しかしそこで協力してハイレベルな医療を提供するには他職種がどのような業務を行うのかについての知識も必要になると考えられる。手術室で他職種が連携している様子を見て、私は学生生活を通して看護部の学生としか関わったことがなく、他職種がどのような勉強をしてどのような専門性を持っているのか把握できていないことを痛感した。手術室ではなく病棟においても、患者に一番近い存在である看護師として他職種がどのような働きをしているのかを知り、患者のQOL向上のため何が必要なのか、それに協力してくれる職種と連携していくことは非常に重要であると学ぶことができた。また、日本においては器械出しは看護師が行うため、疾患や術式について知識を深め、よりスムーズな手術が行えるようサポートすることが看護として大切であると感じた。



↑テンプル大学附属病院にて豊田 MD、柳田 MD と

#### 2. Nurse Practitioner について

Nurse Practitioner(以下 NP)は、主に米国において見られる上級の看護職である。アメリカでは僻地や郊外でプライマリーケアを担う医師の不足から、医師でない者を訓練し新しい医療専門職を養成することで、プライマリーケア医不足を補う手段が試みられ、その結果 NP という資格が誕生している。NP は一部の診断や処方を行うことが許されており、

臨床医と看護師の中間職として位置付けられる。日本においては専門看護師、認定看護師がいるが、医師法により、診断や処方などを行うことは認められておらず、特定の医療行為を実施できる特定看護師は導入の検討段階であり、NPに相当する職種は存在しない。これは日米での大きな違いである。

テンプル大学附属病院では、手術専門のNPの方にお話を伺うことができた。術前と術後退院後の外来診療を担い、プライマリーケアを提供していた。手術前には患者の情報収集(家族歴、既往歴、社会的背景等)やフィジカルアセスメントを綿密に行うことでどういった手術になるのかを考えること、NPが収集した情報や検査結果から医師は手術の判断を行う。そのため手術の術式についての詳しい知識や急性期の知識が必要とされるとのことだった。

日本では NP に相当する資格はなく、医療行為も行えないが、手術前の情報収集といった基本的なところは同じであり、やはりそれを丁寧に行うことが患者の QOL を向上させることに繋がるのではないかと考えた。また、NP について初めて知ったとき、看護師でも一部医療行為を行えるという日本との違いに驚きがあった。実際に話を聞いて医療行為を行えるだけでなく、看護師としての患者や家族へのケアを取り入れながら、診療、検査、処方、治療を決断できるという患者に合わせた医療を提供できるのが NP の大きな役割であると学ぶことができた。

#### 3. 看護教育について

ペンシルバニア大学では大学病院内の救急外来や ICU、腫瘍科を見学することができ た。超急性期病院ということもあって、日本では見られない 24 時間のみ入院するという部 屋も見られた。また、看護学生が受ける授業を実際に受けたり、看護学部棟の案内をして いただき、どのような看護教育がされているのかを知ることができた。ペンシルベニア大 学は、1765年に設立された歴史ある大学であり、医学部が初めて設立された大学でもある。 さらにペンシルベニア大学看護学部は、看護学ワールドランキングにおいて 2016 年~2018 年で第 1 位を獲得している。シミュレーションセンターを案内していただいたときには、 普段私たちが使用している設備とは全く違うレベルの演習内容や機材の充実さに驚嘆した。 演習室は数室あり、最初に訪れた部屋は、ベッドがずらっと並んでいる部屋であった。こ れは私たちが使用していた演習室と似ていたが、すべてのベッドにパソコンやモニターが 完備されていて、どのように記録するのかを学ぶことができる。2 つ目の部屋では演習で使 用する人形を見ることができた。成人モデルだけではなく妊婦や小児のモデル、上半身や 下半身と身体を細かく分けたモデルなどがあった。実際にモデルを使用しながら生徒がシ ミュレーションをするテストでは、どのように行うのかも教えていただいた。先生は隣の 部屋からモデルのバイタルサイン等を操作し(モデルは、脈拍(上腕動脈だけでなく橈骨動脈、 総頚動脈、大腿動脈、足背動脈でも触知可能)や血圧、呼吸数を測定でき、眼の開閉も行え る)、それに対して生徒がどのような看護を行うのかを見るのだという。ベッドの横には薬

やカテーテル等もたくさん置かれており、生徒はすべて自分で選択しながらシミュレーシ ョンを行う。私たちが行ってきた演習では、試験であっても使用する物品はすべて用意さ れており、設定された状況下で何が正しいのかを自分で考えながら選択するというのはな かったように思う。アメリカではその場での判断力や臨機応変さを学生時代から養成して いると感じた。臨床においてそういった能力は非常に重要であるため、日本でもさらに臨 床に生かせるような演習プログラムが今後発展してほしいと思う。他にも、台所やリビン グ、ベッド、トイレ、浴槽、洗濯機といった実際の家の中のような設備が整っている在宅 ケアシミュレーション室や、ICU のような設備や手術室で使用する器械が揃ったシミュレ ーション室も見ることができた。また、手首のモデルや皮膚と触感を類似させたモデルが あり、それを利用して点滴ルートをとる練習を行っているとのことであった。皮膚の色も、 日本では肌色のみであるが、黒人用の肌の色のモデルも用意されており、どの肌の色でも 練習できるようになっていた。日本でも外国人患者数は増加しており、さらに東京オリン ピック開催に伴い様々な国からの観光客がやってくることが予想され、そういった外国人 が医療機関を利用することもあると考えられる。私は肌色のモデル人形で当たり前のよう に演習を行っていたが、肌色の違いで血管の見え方や傷や発赤の見え方も違ってくるのか もしれないとその時はじめて気づいた。この気づきがなければ外国人患者を前にして戸惑 いを隠せなかったと思う。人種の壁を越えた医療の提供が必要とされる中で、語学力だけ でなく、様々な患者に対応できるように学んでいかなければいけないと感じた。





↑ペンシルベニア大学にて Nancy Biller 先生と ↑ペンシルバニア大学 Ross Johnson 先生と



←黒色肌のモデル



ーシミュレーションルーム

## 4. 謝辞

今回の研修参加に対し、一般社団法人横浜医学総合振興財団の皆様よりご賛同いただき、費用の一部を補助していただきました。深く感謝申し上げます。

今回、研修を行うにあたり、実習の受け入れやご指導を賜りましたテンプル大学附属病院の豊田吉哉 MD、柳田朗 MD、Ashly J Whiting NP、Janet Wong NP、Foley Joanne RN をはじめとした多くの関係者の方々に深く感謝申し上げます。

また、ペンシルバニア大学附属病院 Elizabeth Carnall RN、ペンシルバニア大学看護学部の Nancy Biller Assistant Dean、Ross Professor、Cynthia Connnolly Professor、Lisa Lewis Professor、Anne Hoyt-Brennan Professor にも深く感謝申し上げます。

最後になりますが、本研修の企画、調整及び同行をしてくださいました横浜市立大学 先端成人看護学領域千葉由美教授にもこの場をお借りして、深く感謝申し上げます。

## 5. 収支計算報告

用途	金額
交通費	
(羽田→トロント→フィラデルフィア	152,480 円
フィラデルフィア→トロント→羽田)	
タクシー費	
(フィラデルフィア空港→ホテル	4023 円
ホテル→フィラデルフィア空港)	
宿泊費	81,402 円
ペンシルバニア大学看護学部研修費	29,000 円
ペンシルバニア大学附属病院研修費	45,500 円
テンプル大学附属病院研修費	0 円
	合計 31,2400円

(米国の大学・附属病院における重症・希少疾患患者に対する高度看護実践と教育・研究に関する研修)

(沼田 日菜子)

(医学部看護学科・第4学年)

米国の病院での手術・病棟見学から、日本よりも米国は医療の分業制が確立されていることがわかった。米国で外科医の働きを学んだため外科に注目すると、手術件数の増加や高齢化に伴う合併症を持つ患者の手術増加等により負担が多く、業務過多や労働時間超過が問題として挙がる。そこで米国のように看護師でありながら医師の業務の一部を担うことができる NPや、手術時のサポートや縫合を専門とする PA という職種による分業が行われればこの問題が解決に向かうのではないか。

米国ペンシルベニア大学の看護学科の演習室には多様なマネキンがあり、実際の看護場面を想起させる設備が整っていた。学生が主体となって看護を展開できるよう工夫がなされており、自身で考え、アセスメントする能力が育まれる環境であった。また、彼らは演習と同様の手技を実際の患者で実習の際に行うことができ、免許をとり現場で働く以前より技術や経験を積むことができる。

日本と米国における制度や教育方法には差異が存在したものの、看護師は患者のための看護を展開するべきという視点は共通のものであり、それは看護師にとって最も重視しなければならないことであると再認識した。

#### <学生自主的活動助成>

(米国の大学・附属病院における重症・希少疾患患者 に対する高度看護実践と教育・研究に関する研修)

(沼田 日菜子)

#### (医学部看護学科・第4学年)

アメリカで心臓外科手術 4 件、肺移植手術 1 件、計 5 件の手術を見学した。まずは手術の場面でのアメリカと日本の相違点や課題について考察していく。見学した手術はいずれもアメリカで活躍される日本人医師による手術であった。心臓外科手術は豊田吉哉先生、肺移植手術は柳田朗先生が執刀した。アメリカでの手術を見学し、日本との相違点として特筆すべきは医療における分業制であると感じた。そして分業制を確立することは日本が抱える課題、医師・看護師の業務過多や負担増大の解決策となるのではないかと考えた。まず、手術室においての看護師の役割や立場をアメリカと日本を比較して検討する。日本の手術室における看護師の役割は器械出しと外回りが主であるが、アメリカでは器械出し看護師はおらず、器械出しを専門とする職業の方(スクラブテクニシャン:以下 ST)が従事していた。ST は手術の経過を予測し、必要な物品を用意して執刀医が指示する前に器具を渡していた。そして不足している物品を判断し外回り看護師に依頼し、常に万全の状態でいることで手術がスムーズに進行していた。

日本の心臓大血管手術数は 2000~2009 年で約 1 万件増加しており、呼吸器外科や食道手術の件数も増加傾向にある(参考①)。手術室看護師は、このような「手術件数増加とマンパワー不足」、「仕事量の増加と安全の保証」の相反する問題に直面している(参考②)。今後も手術件数が増加すれば手術室看護師が不足し、個人にかかる負担が大きくなり人為的なミスを招き、安全性の徹底が困難となることが課題としてあがる。そこで、器械出しという看護師の役割を他の職種が担い業務を分担することで看護師の負担が減少し専門性を活かした看護を提供できると考える。ここでの専門性とは、手術中の患者の状態を管理して異変に即座に気づき臨機応変に対応し、安全性を保つことだと考える。したがって、アメリカのように ST という職種を手術室に配置することでその専門性を発揮し、患者を主体とした手術室看護を展開することができるのではないか。

また、アメリカにはフィジシャンアシスタント(PA)という資格がある。PA とは医師の 手術のサポートや縫合等を専門として行う職業であり、その存在により手術中の医師の負 担は減少するだろう。日本の診療科別医師数を経時的に見ると、平成6年から26年までの 10 年間で医師の総数は 1.3 倍増加しているのに対し外科医の総数はほぼ横ばいである(参 考③)。産科・産婦人科を除き他の診療科の医師は増加していることや上記のとおり、手術 件数が増加傾向にあることから、外科医が不足していることが推測される。外科医不足に 付随して労働時間の超過も課題としてあがる。平成 23、24 年の調査によると 20~30 代の 外科医の約4割が年間3000時間超の時間外労働をしていることが明らかになった(参考③)。 時間外労働の要因は外科医不足の他に、低侵襲の手術が増加していることや高齢化に伴う 周手術期の負担増加があがる。内視鏡外科手術は創が小さく術後回復が早いとされるが手 術時間が長いという報告があり、また高齢化に伴い合併症を持つ患者の手術が増加してい ることがわかっている(参考③)。以上のことから外科医の負担が増大していることがわか り、日本では今後も高齢化が進行すると予想されるためこの負担はますます増大していく と考えられる。それに伴い看護師の負担も増大していくと予測できる。加えてアメリカで はナースプラクティショナー(NP)という資格が存在し、看護師でありながらも一定水準 での薬の処方や診断が可能となる。医師の業務の一部を NP が担うことで医師の負担軽減に 繋がり、医師は専門性の高い医療ケアを実践できる。以上のことから、アメリカのような 分業制を日本で導入し医師と看護師の負担を減少することで、安全性を損なわず専門性を 重視した手術や医療ケアを提供していくことが必要になると考える。

アメリカでは多職種が専門性を追求し患者に関わるため、カンファレンスも医師・看護師・NP・PT・栄養士・言語聴覚士等の様々な職種が揃い行われる。見学したカンファレンスは計20名ほどの多職種職員が集まっており、患者一人ひとりについてNPが先導しながら各職種の視点から見た患者の情報交換をしていた。形式に囚われている印象はなく、各々が患者に対する意見を自由に口に出していた。日本でも多職種連携が必要だということは学んだが、分業化が進むアメリカにおいてはより密な連携が必要で、そのために患者について多職種の視点から意見を交換できる場が必須になるのだと学んだ。

アメリカで手術やカンファレンスを見学し、BMI30 以上の患者が多いことがわかり、これは医療の視点から、是正すべき課題のひとつであると考えた。アメリカでは人為的に低カロリー、低脂肪にした健康食品を摂取しない傾向にあるという話も聞いた。町を歩いていても痩身の方は少なく、肥満傾向にある方が多い印象を受けた。スーパーにはハンバーガーやドーナツ、ジュース等、高カロリー高脂肪のものが安価で販売されており一つつが大きく、自身がアメリカに滞在している間もそのようなものを摂取し食生活の乱れを感じた。アメリカの死亡数の 1 位は心疾患であり、肥満が心疾患に大きく関わることは既知である。また、肥満患者の心臓外科手術を見学した際に心臓が脂肪で覆われている様子を目視することができた。それは手術時間にも少なからず影響を及ぼすと推測でき、癒着や炎症の遷延等の予後にも重大な影響を与えると考える。そして肥満患者の増加は患者自身

の負担や医療者の負担にも繋がる。日本も近年食事の欧米化が進んでおり、安価で高カロリーの食事ができ、車や電車での移動が主であり意識しないと運動を習慣化することが難しい。2016年の調査によると日本の肥満者の割合は男性 31.3%、女性 20.6%であり 10年間で有意な増減は見られていない (参考④)。しかし食生活の欧米化が進行し運動習慣のない人々が増えると仮定すると日本でも心疾患患者が増加する恐れがある。日本で肥満者を増加させないため、肥満者の予後を悪化させないために看護師として栄養指導を効果的に行うことが必要だと考える。そのために栄養学の知識を正しく身につけて患者への栄養指導を個別性に合わせて行うことが看護師には求められる。

次にアメリカと日本の看護学生の育成方法の相違点・課題について考察する。アメリカ で University of Pennsylvania(以下 U.Penn)の学生が演習を行う、シミュレーションセ ンターを見学した。シミュレーションセンターで毎週 2 時間 8 人ずつのグループで演習を 行う。あらゆる看護提供の場面に合わせた演習室がいくつもあり、それぞれが病室、在宅、 手術室等を再現しており実際の看護場面と近い環境で演習を行うことができる。実際の看 護場面に近いのは演習室の内装のみならず物品までもであった。病室や手術室で使用する であろう物品や薬品がすべて演習室に備えられており、学生はその中から想定している患 者に必要なものを判断し、用意して演習に臨むことができる。学生たちは必要な物品を考 え、かつ患者に合わせたカテーテルの長さや太さまでも判断しなければならない。演習室 には患者を想定したマネキンが多数あり、心臓や脈(橈骨動脈のみならず膝窩動脈、足 背動脈、浅側頭動脈等も触知可能)が動き心電図モニターと連動していたり、まばたき や落涙することができたりした。中には産婦のマネキンで子供を産むことができるものや 身体の部位別のマネキンもあり、輸血や注射、カテーテル挿入の演習が可能である。マネ キンはマジックミラーとなっている別室のパソコンで遠隔操作することができる。別室で マジックミラーにより演習者の様子を見ながらマイクでマネキンに声を当て、パソコンで マネキンの状態を変化させて演習を行っている。また、すべての部屋にカメラがついてお り学生は演習終了後に録画映像を見直し自身で客観的に評価することができる。シミュレ ーションセンターは6時~21時まで使用可能で、学生たちは日々自己研鑽に努めていると いう。そして学生たちは病院実習において、演習で行っていたことを実践し、患者のため に最良な看護を展開できる力を育んでいる。





アメリカの看護学生育成法を目の当たりにし、日本の課題として、アメリカと比較した看護学生・看護師 1 年目の経験や技術力の差があがると考えた。日本の演習の様子として横浜市立大学を例にとると、演習室は病室を再現したものであり、物品は授業毎に想定している患者に必要なものが用意されている状況であった。アメリカのように患者に必要な物品をはじめから学生が用意することで、患者の状態をアセスメントする力、学生主体で考察する能力、判断力が育まれると考える。また、演習後に録画した自身の看護実践を観ることで他人からの評価を参考にしつつ自身の看護実践をより深く考察することができるのではないか。そして演習で行ったことを病院実習で患者に応用することでさらに個別性に対応したアセスメント力や看護技術の向上に繋がる。日本では資格がない学生は実践できることが限られているため、看護師 1 年目に研修等で技術や経験を積む。日本は法律の関係上、学生が行える看護実践に限りがあり、学校設備の面では U.Penn は世界でも優れた看護大学として有名であり日本でここまで完備されている看護大学は少ないと考えられる。日本とアメリカでは法律や金銭面の大きな相違はあるものの、日本の看護学生の技術力、看護師 1 年目の質を向上するためには学生時代から自分で考える、実践する機会を多数設けるべきだと感じた。

今回、医療先進国であるアメリカに行ったことで日本の遅れや課題を自身の中で明確にすることができた。それらの課題は即座に対処し解決できるものではなく、日本の課題であり続けるのかもしれない。しかし日本の課題やアメリカとの差を肌で感じた経験は、看護師として従事する上で貴重なものとなるだろう。今回自身の中で日本の課題だと考えたことを忘れずに、アメリカで学んだことを糧に知識を深め、医療技術の向上に努めて、私の思う患者のための看護を展開していきたい。

#### 最後に

今回の海外研修で日本と米国の差異や日本における課題を学んだことで、看護観を深めることができました。研修のお力添えをしてくださった横浜総合医学振興財団の方々に深く感謝いたします。



#### <学術講演会助成>

## 令和元年度「学術講演会開催助成」報告書 五嶋 良郎 横浜市立大学大学院医学研究科分子薬理神経学

#### 大学院医学セミナー・神経生物学セミナー

【開催日時】2019年7月23日(火曜)18:00~19:30 (講演・質疑応答含む)

【 会 場 】横浜市立大学福浦キャンパス ヘボンホール

【参加者数】96名 (学部生、大学院生、教員など)

【講師】Stephen M. Strittmatter 先生 (米国エール大学医学部 神経内科学・神経生物学 教授)

【 テーマ 】 "Molecular Restraints on Plasticity and Neural Repair"

【開催状況、成果】当日は、大学院医学セミナーおよび神経生物学セミナーとして開催した。参加者は、大学院生のみならず再生医療、神経再生の研究者、脳外科、整形外科、解剖学、生理学、薬理学を始め多くの研究者が参加した。Strittmatter 博士は、脊髄神経再生に関わる様々な分子を発見してきた。この実績に加え、神経再生に影響を与える分子のターゲッティングを網羅的に行い、数多くの分子群の同定に成功した。セミナー後には、基礎的および臨床応用の面での様々な質疑応答があり、活発な討論が行われた。





#### <学術講演会助成>

## 令和元年度 横浜総合医学振興財団 「学術講演会開催助成」報告

横浜市立大学産婦人科学教室 主任教室 宮城悦子

2019年7月2日18時30分より、横浜市立大学附属病院10階臨床講堂において、令和元年度 横浜総合医学振興財団「学術講演会開催助成」をいただき、オーストラリアメルボルン大学内科ジョン・ワーク教授とスザンヌ・ガーランド教授のご夫妻を迎え、女性の健康に関する特別講義を開催いたしました。お二人は、私の長年の友人であるとともに共同研究者でありますが、今回初めて横浜市立大学医学部キャンパスをご案内することができました。また、未発表のデータをたくさん盛り込んだ講義を行っていただき、約40人の出席者一同、大変勉強になりました。

ワーク教授からは、遺伝性乳がん卵巣がん症候群の原因遺伝子 BRCA 1 あるいは 2 の変異を持つ女性に対する、予防的卵巣卵管切除術後の骨粗鬆症管理につき長年の研究成果をご発表いただきました。従来の DEXA だけでは骨の強度を評価し将来の骨折予防予測の評価は困難であり、3 次元の Peripheral quantitative computed tomography (pQCT)を用いることとで、より詳細な管理ができること、女性ホルモン補充療法の評価にも有用なことを最新の知見を交えて解説いただきました。

また、子宮頸がん予防研究の第一人者のガーランド教授からは、世界の子宮頸がん予防が、WHOのアナウンスおよび世界情勢から、HPV ワクチン接種を全女性の90%、検診受診率を70%、適切な治療を受ける女性90%を目標とすることで、ほぼ撲滅できる疾患であるいう力強いメッセージをいただきました。また、先進国の中でも突出して子宮頸がん予防が進み、高いHPV ワクチン接種率と対策型子宮頸がん検診を実現しているオーストラリアでは、近い将来に子宮頸がんは希少がんとなり、いずれは撲滅に向かうであろうという推計についても解説をいただきました。一方、日本ではHPV ワクチン接種の積極的接種勧奨が中止されていることへの懸念を表明されると同時に、日本からHPV ワクチン接種の高い世代でその効果が表れ始めているデータもご紹介いただきました。お二人には講義の後、医局員、大学院生、外部研究者との質疑応答の時間もいただきました。遺伝性乳がん卵巣がん症候群へのホルモン剤投与の利益・不利益について、またオーストラリアの子宮頸がん予防プログラムの成功の鍵などについて、大変丁寧なご回答をいただきました。

私が産婦人科学教室の主任教授となり2年が経過したところで、最も敬愛するお二人を本学に迎え講演いただいたことは、若い先生方にとっても大変刺激になったことと思います。本学のグローバル化に彼らが今後大いに貢献してくれることを期待しつつ、改

めて横浜総合医学振興財団に感謝の意を表します。

## Professor John Wark 先生のご略歴

Emeritus Professor of Medicine Department of Medicine, The Royal Melbourne Hospital, University of Melbourne

- 1972 Junior Resident Medical Officer, St. Vincent's Hospital, Melbourne, Australia.
- 1981-83 Research Fellow, Harvard School of Public Health and Harvard Medical School, Boston, U.S.A. 1983 (July-Dec) Lecturer in Medicine, University of Melbourne, Department of Medicine, Austin Hospital, and Consultant Physician, Endocrine Unit, Austin Hospital, Heidelberg, Australia.
- 1984-1990 Senior Lecturer in Medicine, University of Melbourne Department of Medicine, Royal Melbourne Hospital, Victoria, Australia.
- 1990 present Head of Unit, Bone and Mineral Service/ Bone and Mineral Medicine, Royal Melbourne Hospital. 1992 (July-December) Visiting Professor, University of British Columbia Department of Medicine, Vancouver General Hospital.
- 1995-1998 Scientist, W.H.O. Core Working Group on "Guidelines for Clinical Trials in Osteoporosis.
- 1990 2000 Associate Professor (Clinical), University of Melbourne, Department of Medicine, Royal Melbourne Hospital.
- 2000 present Professor of Medicine, The University of Melbourne, Department of Medicine, Royal Melbourne Hospital.
- 2002 present Consultant, Centre for Menstrual Cycle and Ovulation Research (CEMCOR), University of British Columbia, Vancouver, 2003 – 2010
- 2010 present Member, Melbourne Health Expert Scientific Review Panel Medicine, Dentistry & Health Sciences, The University of Melbourne.

## Professor Suzanne Garland 先生のご略歴

Prof. Reproductive & Neonatal Infectious Diseases, Department of Obstetrics and <u>Gynaecology</u>, University of Melbourne, Honorary Research Fellow, Infection & Immunity, Murdoch Children's Research Institute, Director, Centre for Women's Infectious Diseases Research, RWH

- Professor Garland is an internationally recognized clinical microbiologist and sexual health physician, with particular expertise in infectious diseases related to reproductive health and the neonate. Her undergraduate degree was obtained at the University of Melbourne, with postgraduate training in UK public health system and in US Harvard University.
- With her team, Prof Garland, has been a leader in patient self-collected genital sampling using molecular techniques (PCR) for diagnosis of reproductive tract infections, [predating diagnostic commercial assays]. She has published extensively on clinical epidemiology of sexually transmitted infections in Australia.
- In HPV research she led phase 3 clinical trials of prophylactic HPV vaccines, findings from which were instrumental in the Australian government adopting a national immunization program.
- She also led the <u>genoprevalence</u> of HPV in Australian women pre-HPV vaccination program in Australia
  and which has provided baseline data from which post vaccination effectiveness and impact are being
  defined.
- · She is a regular Advisor to WHO, and published more than 650 in peer-reviewed journals.
- In 2018 she was awarded the prestigious Officer of the Order of Australia [AO] and also elected Vice
  president of IPVS.
- In 2019 awarded an Honorary Fellowship to the American College of Obstetricians Gynecologists (FACOG)

## 学内掲示用ポスター

# Special Lectures for Women's Health

(横浜市大産婦人科同門会主催、横浜総合医学振興財団助成)
@Yokohama City University Hospital Auditorium
July 2 (Tue), 2019 6:30pm – 8:00pm



# Lecture 1 Bone Loss in Patients after Risk Reducing SalpingoOophorectomy (RRSO)

Professor John D Wark

Emeritus Professor of Medicine Department of Medicine, The Royal Melbourne Hospital, University of Melbourne

#### Lecture 2

Can we achieve cervical cancer elimination? Australian data HPV vaccination screening approach

**Professor Suzanne M Garland** 

Prof. Reproductive & Neonatal Infectious Diseases,
Department of Obstetrics and Gynaecology, University of Melbourne
Honorary Research Fellow, Infection & Immunity,
Murdoch Children's Research Institute



## 講演会の風景





## <学術講演会助成>

# 令和元年度 学術講演会開催助成 石上 友章

横浜市立大学医学部 循環器・腎臓・高血圧内科学

# 横浜市立大学医学会講演会要旨

演	題	コアカリキュラムに基づいた各大学の取り組みと課題
演	者	氏 名:高山真 勤務先:東北大学病院 総合地域医療教育支援部・漢方内科 所 属:東北大学大学院医学系研究科 漢方・統合医療学共同研究講座 役 職:特任教授
日	時	令和2年1月25日(土) 15:45-16:45
会	場	公立大学法人横浜市立大学医学部へボンホール
主催部署		神奈川県 4 大学医学部 FD フォーラム漢方医学ユニット 第 16 回合同研修会 事務局 (医学部循環器・腎臓・高血圧内科学)
内容要旨 (約 700 字)		令和二年一月二十五日に、神奈川県 4 大学 FD フォーラム第 16 回漢方医学ユニット合同研修会をヘボンホールで、開催しました。本研修会は、2008 年より開催されており、過去に当大学でも3回の開催歴があります。2002 年に、医学部教育コア・カリキュラムの改訂があり、『和漢薬を概説できる』の一文が、明治維新以後初めて採用されました。その結果、全国の医学部の卒前教育で、漢方・東洋医学の教育を行うことが、公的に認められましたが、100 年以上の教育の主意があるために、全国の医学部では、教員の不足、標準カリキュラムの不備、教育源の不足に直面することになります。神奈川県では、県下4大学で自じた共通する課題を解決する目的で、神奈川県 4 大学 FD フォーラムを結成した、その中の漢方医学ユニットで活動しております。今回は、神奈川県 4 大学 FD フォーラムを結成した。東連の記憶を開発して、高山先生にご講演を賜りました。東北大学病院総合地域医療教育支援部・漢方内科、東北大学院医学系の東地域の課題について総合討論をする企画として、高山先生にご講演を賜りました。東北大学病院総合地域医療教育支援部・漢方内科、東北大学院医学系の課題について総合対論をする企画として、高山先生にご講演を関りました。東北大学病院総合地域医療教育支援部・漢方内科、東北大学院医学系の課題に、漢方・統合医療学共同研究講座では、医学部学生、研修医、大学院生、明医と幅広い対象に、漢方・東洋医学の専門的教育を提供しており、その取り組みについて、改めて伺うことができました。
文	責	石上友章
参加	人数	45 名



