

臨床医学研究所

教授：藤瀬 清隆 (兼任)	肝臓病学・消化器病学
准教授：保科 定頼 (兼任)	臨床検査医学・臨床微生物学
准教授：坪田 昭人	肝臓病学・消化器病学
講師：成相 孝一 (実験動物研究施設より出向)	生殖生理学・実験外科学
講師：並木 禎尚	消化器病学・臨床腫瘍学

教育・研究概要

I. 肝疾患と酸化ストレス

1) 酸化ストレスによる肝発癌に関する網羅的遺伝子発現解析：持続的な酸化ストレス状態にある動物モデルにおいて、慢性肝炎状態から肝発癌に至るまでの発現遺伝子の動向を解析した。

2) 新規抗酸化剤の開発：ラクトフェリンを酸化ストレス状態にある動物モデルに投与し、その効果と機序を解明した。腸溶型やペグ化のドラッグデリバリーシステムの開発に成功し、特許出願した。

3) C型慢性肝疾患に対する病態解析と治験：治療抵抗性の病態機序の解明や上記ラクトフェリンの無作為化二重盲検臨床比較試験も含めた種々の治験を附属柏病院 消化器・肝臓内科と共同で行い、治療効果の向上を目指した。

II. 分子間相互作用のモデリングと応用計算

分子間相互作用に関する研究を代表的スーパーコンピュータである地球シミュレーターに應用しようとしている。独立行政法人海洋研究開発機構と当研究所が中心になり、超高速計算機の医療分野への本格的活用を模索した。

III. *ATP7B* の細胞内局在に関する研究

細胞内銅輸送蛋白である *ATP7B* の細胞内局在についての研究をスペインの研究所と共同で行っている。当研究所の分担は *ATP7B* が病的状態である Wilson 病についての検討である。

IV. 肝硬変の分子標的治療の基礎的研究

多糖被覆リポソームを用いた肝硬変に対する新たな分子標的治療法の開発に着手した。

V. 末梢血中の食細胞除去が作用する排卵抑制についての研究

排卵には活性酸素種 ROS が関わるとされ、われ

われは排卵卵巣においてスーパーオキシドが遊離していることを活性酸素センサーによって確認するとともに排卵卵胞における酸化ストレスマーカーの局在を証明した。当該年度においては、排卵時の酸化ストレスに関わる ROS の産生源を知るために、その候補と考えられる好中球および単球（マクロファージ）を特異的吸着能を有する酢酸セルロースビーズを用いて末梢血中より除去すると排卵が抑えられるかについて検討した。

VI. 光線力学療法 (PDT) を応用した卵胞退行の誘導に関する基礎的研究

多嚢胞性卵巣 (PCO) は、排卵に至らない卵胞が異常に蓄積する卵巣疾患で、卵巣性の不妊因子としても重要である。一方、PDT は、標的細胞に選択的に取り込まれる光感受性物質を投与し、患部にレーザー光線を照射することで光感受性物質を励起させ、細胞死を導く物理学的療法である。PDT は主として腫瘍の治療に應用されるが、我々は光感受性物質が卵胞に集積する性質を利用して PDT による卵胞退行の誘導について検討しており、将来的には上述のような卵巣疾患の治療に應用させたいと考えている。

VII. 革新的な癌治療法・予防法の開発を目指した基礎的研究

1) ガン治療用磁性ドラッグデリバリーシステムの開発：従来の癌治療用ドラッグデリバリーシステム (DDS) では、所期の性能は達成されていない。本研究では、異分野融合により、癌治療薬を含有するサブミクロンサイズの粒子内部に、無害な磁性体を配置したこれまでにない高性能な磁気誘導型 DDS を目指している。さらに、体内深部の癌病変局所に有効な磁場を低侵襲に照射できる特殊装置の開発をあわせて行うことにより、統合的なシステムの構築を目指している。尚、本研究は平成 20～23 年度産業技術研究助成事業 (NEDO) プロジェクトとして、現在遂行中である。

2) 大腸癌転移の分子標的予防を目指したナノ粒子の開発：肝細胞増殖因子のアナログである NK-4 は、血管新生および腫瘍転移を抑制する作用をもつことに着目し、NK-4 遺伝子を含有する糖鎖被覆ナノ粒子（大腸癌が転移しやすい肝臓に特異的に集積する）を用いた大腸癌の肝転移予防法の開発を行っている。

VIII. 新しい真菌同定の方式

真菌染色体のユニバーサル領域を用いた DNA 塩基配列から菌種を同定する方式を確立し、従来の形態・生化学性状では困難な株の同定を行った。多剤耐性緑膿菌抗菌力測定を酸素電極装置で測定し、ホスミシンの併用効果を確認した。

IX. ダイオキシン分解酵素の酵素化学的性状を利用し化学療法薬母核を提案した Persistent organic pollutant reductase の単離と実用

至適発育温度が 65°C の好熱菌で、通称パチルス御堂筋と言うグラム陽性の桿菌を新規に分離した。この細菌は 1995 年に米国コロンビア大学と慈恵医大で冷凍保存を始めて、SH2A, SH2B と名付けたが、非常に変異を起こしやすく、安定した性状を維持するのが一つ問題であり、随時保存をしている。16S リボソーム RNA の塩基配列で近縁関係を作ると基準株 J1, J2 は *Geobacillus thermodenitrificans* に 97% 相同で、J3 は *Geobacillus thermoglucosidance* に 95% 相同であった。そこでこれら 2 菌種、3 株を使用している。前者を *Geobacillus midousuji* とし、後者は目下検討中である。好気性の微生物で至適発育に 65°C で溶存酸素をどう供給するかが問題となる。増殖曲線モデルの計算式と実測値とから計算すると、二分裂時間が 6.9~7.6 分となった。4 時間程度でコロニー形成をする。培地としては無機塩にイースト・エキストラクト（酵母抽出物）のみを加えた貧栄養の最少発育培地が見ついている。この培地で炭素原利用を調べると、多環芳香属化合物としてはナフタレンを使わないが、ビフェニル、ダイオキシン、フラン、アンスロン、フェナンスレンなどを利用している。無塩素化ダイオキシンの分解産物のガス・マス分析を見ると確かに分解して代謝産物が認められた。超音波破碎して超遠心で膜画分だけを取り出して 2, 3, 7, 8 位の 4 塩素化ダイオキシンの分解を見ると 100 mL 中に初発 1,100 pg のダイオキシンが 200 pg まで減少した。これは還元反応であって、白色腐朽菌などのような今までに見られていた酸化反応ではない。代謝経路はグルタチオン-S-トランスフェラーゼがグルタチオンを利用して S をつけながら親水化し、グリシンをはずして、N-アセチラーゼでピロリンが出てくるという予想となった。¹⁴C を使ってダイオキシンの分解物が得られた。さらに lipase, lipase-esterase などの脂質代謝酵素活性も有望視されている。

「点検・評価」

平成 19 年度は臨床医学研究所の常勤 3 名、兼任 2 名のほか、消化器・肝臓内科、総合診療部、循環器内科、腎臓・高血圧内科、麻酔科、形成外科、脳神経外科、産婦人科、救急部など柏病院診療部に所属する教員が一般研究員（総数 20 名）として参加登録し、臨床医学研究所を中心した研究ならびに他大学・企業との共同研究が行われました。

当研究所は平成 19 年度で 8 年目となりました。開所以来、当研究所に置く研究は臨床応用を念頭におくものであり、研究テーマごとに研究班が構成されはじめてきたことで、臨床、基礎共に確実な結果を出し始めています。

この研究体制を一般研究員にも拡大していきたいと考えています。6 年生選択実習で Phase 1, 2, 3, 4 ごとに学生の希望があり、専任教員を中心に実習を行いました。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Koyama T, Tsubota A, Nariai K, Mitsunaga M, Yanaga K, Takahashi H. Novel biomedical imaging approach for detection of sentinel nodes in an experimental model of gastric cancer. *Br J Surg* 2007; 94(8): 996-1001.
- 2) Tsubota A, Yoshikawa T, Nariai K, Mitsunaga M, Yumoto Y, Fukushima K, Hoshina S, Fujise K. Bovine lactoferrin potently inhibits liver mitochondrial 8-OHdG levels and retrieves hepatic OGG1 activities in Long-Evans Cinnamon rats. *J Hepatol* 2008; 48(3): 486-93.
- 3) Yanai H, Tada N, Yoshida H, Tomono Y. Diacylglycerol oil for apolipoprotein C-II deficiency. *QJM* 2007; 100(4): 247-8.
- 4) Yanai H, Yoshida H, Tomono Y, Hirowatari Y, Kurosawa, Matsumoto A, Tada N. Effects of diacylglycerol on glucose, lipid metabolism, and plasma serotonin levels in lean Japanese. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16(1): 47-51.
- 5) Yanai H, Yoshida H, Tomono Y, Tada N. Severe hypoglycemia in a patient with anorexia nervosa. *Eat Weight Disord* 2008; 13(1): e1-e3.
- 6) Kurosawa H, Yoshida H, Yanai H, Ogura Y, Hirowatari Y, Tada N. Comparative study between anion-exchange HPLC and homogeneous assay methods in regard to the accuracy of high- and low-density lipoprotein cholesterol measurement. *Clin Biochem* 2007; 40(16-17): 1291-6.

- 7) Yanai H, Yoshida H, Hirowatari Y, Tomono Y, Tada N. Oxidized low density lipoprotein elevates platelet serotonin release. *Am J Hematol* 2007; 82 (7): 686-7.
- 8) 多田紀夫, 吉田 博. メタボリックシンドロームにおけるトリグリセリド-rich リポ蛋白の臨床的意義. *臨病理* 2007; 55(5): 43-6.

IV. 著 書

- 1) 坪田昭人, 成相孝一, 保科定頼, 藤瀬清隆. Wilson 病ラットモデルにおけるラクトフェリンの効果と作用機序. 第2回ラクトフェリンフォーラム実行委員会編. *ラクトフェリン2007: ラクトフェリン研究の新たな展望と応用へのメッセージ*. 東京: 日本医学館, 2007. p. 94-9.

医用エンジニアリング研究室

教授: 古幡 博 分子医工学, 超音波医学
特任准教授: 金本 光一 医工学

教育・研究概要

I. 脳血管障害の診断・解析・治療統合化システムの前臨床

脳血管障害治療法として XCT・MRI 画像誘導型の経頭蓋超音波治療法を開発中である。その実用化に向け、一部は治験の準備を開始した。[神内, 救医, 神病, 日立メディコ, 日立中研, 東北大学, 国立循環器病センター, 新潟大学との共同研究]

1) Brain Virtual Sonography (BVS) の精度向上

BVS の初期位置合わせ精度を向上させるための CT, MRI マーカとアタッチメントを開発した。磁場の乱れによる検出誤差の小さいフラット型の磁場発生器を用いた BVS システムは高精度で、臨床適用上問題のないことを確認した。

2) Transcranial color flow imaging (TC-CFI) 検出率の臨床研究

脳梗塞患者に経頭蓋超音波検査を行い、頭蓋内血管の描出率, MRA 所見との対比を行った。TC-CFI による診断は, MRA とほぼ同等の診断能力を有していた。しかし、高齢女性での頭蓋内血管描出の低さが問題であった。

3) 病的脳血管に対する低周波超音波照射の安全性

SHR/SP における rt-PA 投与下の超音波照射による、頭蓋内出血状態を病理組織学的に評価した。rt-PA 非投与超音波単独照射時より、出血閾値が低くなり、大出血を来す確立がやや高まる傾向が認められた。

4) 超音波プローブ頭部固定具の開発

超音波プローブ頭部固定具を設計製作し、健常ボランティアによってその操作性, 固定性を検証し、追加的改良を加えた。

5) 霊長類脳梗塞モデルによる安全性評価

カニクイザル中大脳動脈自家血血栓塞栓モデル 10 頭を用い rt-PA 投与単独群と経頭蓋超音波脳血栓溶解装置 (TCT-LoFUT) 併用群における副作用, すなわち、出血状態を MRI 画像解析および病理組織学的 (塞栓 24 時間後) に評価した。出血率, 出血状態に 2 群間の差異を認めず, TCT-LoFUT の安