

一般演題

1. コーヒーの細胞増殖抑制効果におけるp21依存性

東京慈恵会医科大学環境保健医学講座

○光岡浩一郎・福澤 志保
与五沢真吾・柳澤 裕之

1. Inhibitory effect of coffee on proliferation of human colon carcinoma HT29 cells via p21/waf1/cip1-dependent pathway. Kouichiro MITSUOKA, Shiho FUKUZAWA, Shingo YOGOSAWA, Hiroyuki YANAGISAWA

目的：コーヒー摂取と大腸がんリスクについてはさまざまな疫学的報告があるが、その関連は明らかになっていない。またコーヒーががん細胞の増殖を抑制する分子メカニズムについても詳細は不明である。ヒト大腸がん細胞由来HT29細胞に instant coffee powder (ICP) を添加すると、濃度依存的に増殖が抑制された。フローサイトメトリーによる細胞周期解析を行うと、G2/M期の割合の増加がみられた。このとき、CDKインヒビターであるp21/waf1/cip1の発現の上昇がウェスタンブロッティングにより確認された。そこで、ICPの増殖抑制効果がp21依存性的なのかどうか、siRNAを用いて検討した。

方法：① Western Blotting：各希釈倍率でICPを添加した培地で培養した細胞を回収し、全細胞抽出液を得、SDS-PAGE後、PVDF膜に転写し、抗CDK1,p21,actin各抗体を用いて検出した。② WST-8assay：各希釈倍率でICPを添加した培地で細胞を3日間培養し、WST-8 アッセイ(同仁化学)により、増殖抑制効果を検討した。③ 細胞周期解析：各希釈倍率でICPを添加した培地で培養した細胞をエタノール固定後、PI (propidium iodide)染色し、MACSQuant (ミルテニーバイオテク社)を用いてフローサイトメトリーによる細胞周期解析を行った。

結果：①では、ICP 1:12.5および1:10でp21の発現誘導がみられた。また、p21 siRNAを導入した群ではICPで処理してもその発現誘導が抑制されていること、control siRNA導入群ではICP処理によるp21の発現が誘導されることも確認した。

②では、ICP濃度依存的に増殖抑制効果が観察されたが、p21 siRNA処理群ではcontrol siRNA処理群と比較し細胞増殖抑制効果の低下が観察された。③では、ICP処理後1日でG2/M期の割合の増加が観察された。p21 siRNAを導入した群では、control siRNAを導入した群と比較して、ICP処理後1日のG2/M期の割合の増加が抑制された。

考察：ICPによる細胞増殖抑制効果やG2/M期の割合の増加がp21のノックダウンにより低下したことから、ICPによるヒト大腸癌由来HT29細胞の増殖抑制効果が発揮される際には、少なくとも部分的には関与していると考えられた。

2. 神経板外植片培養法による神経板の前プラコード外胚葉様組織への転換

¹東京慈恵会医科大学解剖学講座(組織・発生)

²東北大学医学部附属創生応用医学研究センター
発生発達神経科学分野

³東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
基盤研究施設(分子細胞生物学)

○重谷安代¹・若松義雄²

立花利公³・岡部正隆¹

2. Conversion of neural plate explants to pre-placodal ectoderm-like tissue *in vitro*. Yasuyo SHIGETANI, Yoshio WAKAMATSU, Toshiaki TACHIBANA, Masataka OKABE

神経堤と頭部感覚プラコードは、ともに発生初期の神経板と非神経外胚葉の間にある外胚葉上皮(神経板境界)に由来する。BMPシグナルは、神経板境界の誘導と、それに続く神経板境界内に起こる神経堤の誘導に重要であることが知られている。一方でFGFシグナルは、神経板境界の誘導と、その後の前プラコード外胚葉(PPE;のちの頭部感覚プラコード)の誘導に重要であることが知られている。既報において、神経板外植片にBMP4を加えて培養すると神経板が神経堤細胞へ転換することが知られているが、同様に神経板がPPEへ転換するような報告は一切なされていない。そこで、頭部神経板外植片を用いてBMP4とFGF2の効果を検討したところ、外植片は隣接する細胞膜においてデスモゾーム/トノフィラメントを特徴的に持った単層扁平上皮の形態を呈することが分かった。またこの上皮は、神経板境界に特異的に発現

する分子マーカーや、PPE特異的マーカーを発現することから、神経板がBMP4とFGF2の作用によりPPE様組織へ転換したと考えられた(Shigetani et al., 2016)。この新しい外植片培養法は、いまだ未開拓な領域であるPPE誘導の機構の解明や、頭部プラコードの領域特異性の研究にも役に立つと思われる。

3. 発生期における横隔膜部位別のトランスクリプトーム解析

¹東京慈恵会医科大学医学部医学科3年

²東京慈恵会医科大学解剖学講座(組織・発生)

◦久保芽佳¹・辰巳 徳史²

鈴木 英明²・岡部 正隆²

3. Transcriptome analysis of different parts of the developing diaphragm. Yumeka KUBO, Norifumi TATSUMI, Hideaki SUZUKI, Masataka OKABE

背景・目的：先天性横隔膜ヘルニア（Congenital diaphragmatic hernia；CDH）は、心腹膜管を閉鎖する胸腹膜の形成不全により生じ、腹腔内臓器が胸腔内に侵入し肺の発育不全を引き起こす致命的疾患である。その発症率は1/2,000～3,000で、特定難病にも指定されている。CDHの胸腹膜の閉鎖不全は片側性あるいは両側性に起こるが、その85～90%の症例で左側のみに発症することが知られている。

そこで、部位別の遺伝子発現を網羅的に解析し比較して、部位別の特徴を明らかにして、なぜ横隔膜の左側にCDHが生じやすいのかを調べることを目的とした。

方法：13.5日マウス胚から横隔膜を単離し、6つの部位（前方部、中央部、左右前後方部）に分けたものと、横隔膜全体、肝臓のTotal RNAの抽出を行い、次世代シーケンサーにより発現遺伝子の解析（トランスクリプトーム解析）を行った。得られた結果をR, R studioを用いて各部位を特徴づける遺伝子の解析を行った。

結果：6つの部位のクラスタリング解析を行った結果、各部位が異なる遺伝子プロファイルを持つ可能性が示唆された。主成分分析の結果では右後方部のみが他の左右部と大きく異なる遺伝子プロファイルを持つことが明らかとなった。さらに

左右部位の2群間比較を行った結果、それぞれの部位を特徴付ける部位特異的な遺伝子の候補が見つかった。

結論：横隔膜は単一組織に見えるがその発生は複数の部位から細胞が集まって作られる組織である。そのため部位別に発現する遺伝子が異なることが予測され実際今回得られた結果もそれを示唆している。この部位特異的な発現遺伝子の中に、妊娠中のなんらかの要因により動きやすいものが存在し、それにより左側のCDHが起きやすい可能性が考えられる。今後は特定した遺伝子発現からパスウェイ解析などを行うことで、CDH発症に関与する遺伝子カスケードとその原因因子の特定を行いたい。

4. Light-up型蛍光プローブを用いて遺伝子発現の揺らぎを瞬時に可視化する

東京慈恵会医科大学細菌学講座

◦杉本 真也・千葉 明生

水之江義充

4. Visualization of fluctuations in gene expression with a fluorescence light-up probe. Shinya SUGIMOTO, Akio CHIBA, Yoshimitsu MIZUNOE

目的：近年、ある特定の細胞における遺伝子発現の揺らぎが、形態形成・発生・分化・環境ストレス応答などに大きく影響することが明らかとなり、多彩な生命現象における分子や細胞の確率的変動（揺らぎ）の重要性が認識されるようになってきた。しかし、そのような研究は遺伝子組換えが容易に行えるモデル生物を用いた解析が主流で、幅広い生物種について研究するためには、汎用性の高い研究ツール・手法の開発が必要である。アミロイド線維の検出試薬として汎用されているThioflavin T (ThT)は、アミロイド線維に結合した場合に蛍光強度が増大するlight-up型蛍光プローブである。近年我々は、ThTがRNAにも結合することを発見した¹⁾。本研究では、RNA代謝酵素の活性測定と、1細胞レベルでのRNAの量的変動の可視化にThTを応用できるかを検討した。

方法・結果：まず、ThTの核酸への結合能を調べた。その結果、DNA（大腸菌ゲノムDNA）よ

りRNA（大腸菌トータルRNA）に結合しやすく、強い蛍光を発することが分かった。とくに、プリン塩基を多く含むRNAに結合した。この性質を利用して、ポリA合成酵素やRNA分解酵素の活性をリアルタイムかつ定量的に測定することに成功した。また、大腸菌の細胞内RNAの量的変動をThTで可視化することができた。とくに、休眠状態にあってRNA合成が低下している“persister”と呼ばれるごく少数の菌を識別するのに有効であった。薬剤感受性菌に由来するpersisterは、バイオフィーム内部等において薬剤寛容性を示すため、persisterの識別は臨床的に重要である。ThTを用いた本手法は、大腸菌のみならず、黄色ブドウ球菌や緑膿菌などさまざまな細菌にも適用可能であった。さらに、バイオフィーム内におけるRNAの時空間的変動などについても本手法と共焦点レーザー顕微鏡を用いて可視化することができた。

結論：以上より、ThTを用いることで多様な生命現象にかかわる遺伝子発現の揺らぎを1細胞レベルで観察できた。今後、さまざまな研究分野においても本手法が応用されることに期待したい。

1) Sugimoto et al. *Nucleic Acids Res.* 2015

5. HIV関連疾患の神経病理

東京慈恵会医科大学病理学講座神経病理学研究室

○福田 隆浩

5. Neuropathology of diseases related to human immunodeficiency virus. Takahiro FUKUDA

目的：Human Immunodeficiency Virus (HIV) 関連疾患に対して多剤併用療法 (cART) が開発されて以来、HIV感染者の生命予後は飛躍的に伸びている。しかし、cARTの中断や薬剤耐性などにより治療に失敗する症例も存在する。それに伴い、HIV関連疾患の神経病理も多様な所見を呈することが知られる。当施設で経験したHIV関連疾患の臨床神経病理所見をまとめ、文献的考察を加えて報告する。

対象と方法：対象はHIV関連疾患8症例（29-70歳、平均47.9歳、男性7例、女性1例）。各症例の中枢神経系（CNS）のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックより作製した標本において、HE染

色、KB染色、Bodian染色、抗酸菌染色、グラム染色、PAS染色、グロコット染色と免疫組織化学（GFAP, neurofilaments, MBP, amyloid precursor protein; APP, CD68, Iba1, CD3, CD4, CD8, CD20, CD80, CD163, CD204, p24, JC virus VP1, JC virus agnoprotein, CMV, toxoplasma, HSV1, HSV2, VZV, HHV6, measles, EBV, histoplasma）を検索した。

結果：6例にHIV encephalitisが、3例にHIV leukoencephalopathyが、1例にvacuolar myelopathyが存在した。何れの症例も中枢神経系の神経細胞脱落は目立たなかった。ミクログリアの活性化とAPP陽性軸索損傷は6例に認められた。臨床的にimmune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS) が確認されcARTを中断せざる終えなかった症例においてCD8陽性細胞の浸潤は明らかではなかった。HIV関連感染として、PML, CMV, クリプトコッカス、結核を認めた。42歳男性において、血管壁鉍質化が存在した。

考察：HIVによるCNS病変は、抗体陽転時、抗体陽転後の治療の有無、治療後に生ずるIRIS、そして、合併する感染症や血管障害により多彩な病理像を呈する。経過中、ADEMやPRESが出現することもあり、今後、HIV症例の複雑な病態生理を解明するために、詳細な臨床的、画像的、病理学的検討を行う必要がある。

6. 新規トキソプラズマ診断法の開発：ダイテストからTOKIOテストへ

¹東京慈恵会医科大学熱帯医学講座

²東京慈恵会医科大学感染制御科

○保科 斉生^{1,2}・青沼 宏佳¹

堀 誠治²・嘉糠 洋陸¹

6. Revisiting a method for diagnosing toxoplasmosis: Development of the Toxoplasma Killing Observation test. Tokio HOSHINA, Hiroka AONUMA, Seiji HORI, Hirotaka KANUKA

トキソプラズマ感染症は、原虫*Toxoplasma gondii*による感染症である。免疫障害患者では脳炎等の原因となり、時に予後不良である。また、妊娠中の感染は、TORCH症候群の1つである先天性トキソプラズマ症の原因となる。活動期感染では、タキゾイトの急激な増殖が見られる。宿主

免疫の成立により、ブラディゾイトが形成され、非活動期感染となるが、感染は宿主の生涯にわたり継続する。

診断には活動期であるか否かの鑑別が重要であるが、一般的な抗トキソプラズマIgG, IgM抗体の測定のみでは判断が困難である場合が多い。ダイテストは1948年に開発された血清学的検査であり、その感度と得意度は高く、いまだに他の検査を評価する際のレファレンス検査となっている。ただし、方法の煩雑さがゆえに、国内で実施可能な施設は東京慈恵会医科大学熱帯医学講座のみである。そこで、我々は検査に用いるトキソプラズマ虫体（タキゾイト）をGFP発現タキゾイトに置換することで、計数と評価がより簡易な改良型ダイテストである、TOKIO (Toxoplasma Killing Observation) テストを開発した。TOKIOテストの改良点を以下に示す。

①新鮮虫体（タキゾイト）の培養：従来は哺乳類宿主（マウス等）を用いた感染による虫体確保が主であったが、培養細胞を用いることで、より修飾が少ない安定したタキゾイトの収集を可能にした。

②アクセサリーファクターの確保：検査にあたり、トキソプラズマ未感染健常者のうち約10%が保有する因子である、アクセサリーファクターを含む血清が必要となる。ボランティアから採取した血清に代わり、日本赤十字社より献血検体を購入することで、安定した入手経路を確保した。

③計数評価スキルの習熟：ダイテストでは、被験血清中に存在する抗体の虫体変性程度を測定する。この測定にはメチレンブルー染色を利用するが、染色が薄いことなどから、計数には習熟した技術と経験を要する。TOKIOテストでは、蛍光(GFP)陽性虫体の残存率を計数するため、撮影画像を対象にした自動カウントが可能となり、再現性と情報の保持性に優れている。

これまでのTOKIOテストによる臨床検体等の検査結果も含め、最新の成果を紹介したい。

7. HHV-6B脳炎において、interleukin -1 β とbasic fibroblast growth factor はウイルスの増殖因子となる

¹東京慈恵会医科大学ウイルス学講座

²東京慈恵会医科大学小児科学講座

³東京慈恵会医科大学産婦人科学講座

○玉井 将人¹・小林 伸行¹

嶋田 和也¹・岡 直美¹

高橋 麻弓¹・齋藤 義弘²

和田 靖之²・岡本 愛光³

井田 博幸²・近藤 一博¹

7. Interleukin 1 β and basic fibroblast growth factor promote viral proliferation in human herpesvirus 6B encephalitis. Masato TAMAI, Nobuyuki KOBAYASHI, Kazuya SHIMADA, Naomi OKA, Mayumi TAKAHASHI, Yoshihiro SAITO, Yasuyuki WADA, Aikou OKAMOTO, Hiroyuki IDA, Kazuhiro KONDO

目的：Human herpesvirus (HHV-) 6Bは乳幼児期における突発性発疹の原因として知られるが、脳炎を引き起こす原因ウイルスとして臨床的に問題となる。しかし、HHV-6Bが脳内で病原性を発揮する機序についてはいまだ不明な点が多い。そこで、本研究では、HHV-6Bが脳炎を引き起こす原因を明らかにするために、interleukin (IL) -1 β とbasic fibroblast growth factor (bFGF)が、脳内で増殖・持続感染に与える影響について、検討を行った。

方法：IL-1 β またはbFGF存在下で、アストロサイトーマ細胞株(U373MG)にHHV-6Bを感染させ、ウイルス遺伝子の発現を検討した。感染直後およびHHV-6Bの遺伝子発現が低下する感染4日後でIL-1 β またはbFGFを加え、HHV-6Bの遺伝子およびタンパク発現の変化を検討した。さらに、感染4日後にIL-1 β またはbFGFを加えたU373MGから臍帯血単核球(CBMC)を用いて、感染性を有するウイルスがより多く分離できるか比較した。また、HHV-6B脳炎患者の髄液中IL-1 β およびbFGFを測定した。

結果：IL-1 β は、HHV-6B感染直後のimmediate early遺伝子、early遺伝子、late遺伝子発現を上昇させた。さらに、bFGFは、感染後のearly遺伝子、late遺伝子の発現低下を防いだ。また、HHV-6B脳炎患者の髄液においても、IL-1 β およびbFGF

が上昇していた。

結論：IL-1 β が脳内のHHV-6B増殖を誘導し、bFGFによって、ウイルス遺伝子の発現が維持されることで、HHV-6B脳炎が引き起こされる可能性が示唆された。すなわち、これらの上昇を防ぐことはHHV-6B脳炎の予防や治療に役立つことが考えられた。

8. オープンフィールド試験による亜鉛欠乏ラット及び亜鉛過剰摂取ラットの活動性評価

¹東京慈恵会医科大学医学部医学科4年

²東京慈恵会医科大学医学部医学科5年

³東京慈恵会医科大学環境保健医学講座

⁴東京慈恵会医科大学ウイルス学講座

⁵北里大学医学部衛生学

°市川 瑛美¹・飯田 健介²

木戸 尊将³・小林 伸行⁴

菅谷ちえ美⁵・角田 正史⁵

近藤 一博⁴・柳澤 裕之³

8. Behavior of rats fed a zinc-deficient or a zinc-excess diet evaluated with an open field test. Emi ICHIKAWA, Kensuke IIDA, Takamasa KIDO, Nobuyuki KOBAYASHI, Chiemi SUGAYA, Masashi TSUNODA, Kazuhiro KONDO, Hiroyuki YANAGISAWA

背景：現在の日本人は必須微量元素である亜鉛の摂取不足が問題となっている。亜鉛が不足することによって、脱毛、味覚症状、成長遅延、皮膚症状、精神神経障害等を引き起こすとされている。昨年の成医会において、亜鉛欠乏症状一つである精神神経障害に起因すると考えられる「活動性の低下」についてオープンフィールド試験を用いて評価した。その結果、すべての項目（中心、周り、総行動距離、立ち上がりの回数）において、減少傾向が観察された。そこで本研究では、新たな測定項目（静止している時間）を加え亜鉛欠乏の症候の一つである行動抑制を亜鉛欠乏ラットを用いて検討する。さらに亜鉛過剰摂取ラットも同時に研究することで、精神神経症状に対する亜鉛の効果について観察する。この研究は、亜鉛過剰モデルだけではなく、亜鉛欠乏モデルでも報告はない研究である。

方法：5週齢のSDラット（n=5:雄）に亜鉛欠乏食（亜鉛無添加）、標準食（亜鉛0.01%含有）、

亜鉛過剰食（亜鉛0.2%含有）を毎日17gずつ4週間与えた。飼育期間中は毎週、体重測定を行い、同時にオープンフィールドを用いてラットを正方形のフィールド内に30分間放置し行動を観察した。評価項目として、オープンフィールド（正方形）底面の内側70%以上、底面の内側70%未満20%以上、底面の内側20%未満、総移動距離、静止している時間、立ち上がりの回数の6項目を測定した。

結果：亜鉛欠乏群では、3週目からオープンフィールド底面の内側70%以上、総移動距離の項目で減少傾向であり、4週目ではオープンフィールド底面の内側70%以上、総移動距離の項目において減少し（P=0.0518）、静止時間は増加した。（P=0.0515）。亜鉛過剰群では、3週目からオープンフィールド底面の内側70%未満20%以上、底面の内側20%未満、総移動距離が有意に上昇した。

考察：亜鉛欠乏群のオープンフィールド試験の結果は、減少傾向は示したが、有意差には至らなかった。原因として、4週間の亜鉛欠乏食摂取では、均一な亜鉛欠乏モデルを作成することが困難であると推定される。亜鉛過剰群ではオープンフィールド底面内側70%未満、総移動距離有意に上昇した。これはADHD（注意欠陥/多動性障害）症状のようにも観察できる。ADHDは従来からドパミンやノルアドレナリンなどの神経伝達物質が十分に作動していないことが原因と考えられている。亜鉛過剰モデルの脳組織には、病理組織学的変化がない（未発表）ことから、亜鉛過剰群で観察される多動は、神経伝達物質の作用不足が関係している可能性がある。

9. 腸管出血性大腸菌O157において見出された新規塩基変異による α 因子の機能不全

¹東京慈恵会医科大学医学部医学科6年 (2015年度)

²東京慈恵会医科大学細菌学講座

°西岡 彩子¹・岩瀬 忠行²

水之江義充²

9. Dysfunction of σ factor via a novel point mutation in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157. Saiko NISHIOKA, Tadayuki IWASE, Yoshimitsu MIZUNOE

細菌を含め、すべての生物には外界ストレスへの応答機構が備わっている。代表的な食中毒原因菌である腸管出血性大腸菌O157は、土壌や河川水などの厳しい環境下でも生存可能である。大腸菌における代表的なストレス制御因子として、 α 因子RpoSが知られている。RpoSはRNAポリメラーゼ (RNAP) との結合により、酸化や寒冷等のストレス抵抗性関連遺伝子の発現を制御する。

東京慈恵会医科大学細菌学講座において、RpoSを発現するものの、その制御下にあるカタラーゼ (HPII) の活性が著しく低く、酸化ストレス感受性の臨床分離株が見出されている。

本菌株の *rpoS* の塩基配列解析の結果、128番目のアミノ酸変異を伴うミスセンス突然変異が確認された。この変異とRpoS機能消失の関連性を調べるため、実験室株大腸菌K-12株の *rpoS* に本変異を導入したところ、予期されたようにHPII活性の消失が認められた。ゆえに、本株の表現型は128番目のアミノ酸の変異によるものと考えられる。

本部位のアミノ酸の性質とRpoS活性の関連を調べるため、本部位を様々なアミノ酸に置換し、HPII活性を測定した。親水性アミノ酸 (Asp, Gln, Glu, Lys) 置換では、HPII活性はほとんど認められなかったが、疎水性アミノ酸 (Leu, Ala, Met, Phe) 置換では認められた。Reporter assayによるRpoSの転写機能解析においても結果は同様であった。

興味深いことに、疎水性アミノ酸であるPro置換株では、HPII活性が認められなかった。Proには α ヘリックス構造の破壊作用があるため、本部位に見られる立体構造が変化したものと考えられる。

以上の結果から、本株におけるRpoS機能不全は、128番目のアミノ酸が親水性であったため生じたものであり、RpoSが機能する上で、本部位のアミノ酸が疎水性であること、その近傍の α ヘリックス構造が維持されることの2点が重要と考えられる。

ストレス抵抗性において極めて重要なRpoSの作用機序の解明は、細菌の生存戦略への理解を深めるだけでなく、新規感染制御法の開発にもつながると期待される。

10. 骨格筋を強くする遠心性収縮負荷の筋節内検知センサ

¹東京慈恵会医科大学分子生理学講座

²東京慈恵会医科大学葛飾医療センター
リハビリテーション科

³東京慈恵会医科大学学生物学研究室

°平野 和宏^{1,2}・中原 直哉¹

山内 秀樹¹・平塚 理恵³

山口 真紀¹・竹森 重¹

10. Stress sensor of skeletal muscle sarcomere in myogenetic eccentric contraction. Kazuhiro HIRANO, Naoya NAKAHARA, Hideki YAMAUCHI, Rie HIRATSUKA, Maki YAMAGUCHI, Shigeru TAKEMORI

背景・目的：近年、加齢性骨格筋減弱（サルコペニア）による転倒や不活動が問題となる中、骨格筋を強くする処方求められている。この中で重い物を支えながら机上にそっと置く骨格筋が示す遠心性収縮が注目されている。この遠心性収縮では短縮しようとする筋節が外力によって強制的に引き伸ばされており、筋節構造内の力支持装置に大き目の力学的負荷がかかる。この力学負荷が強すぎれば遅発性筋痛や肉離れなどの筋損傷を惹き起こすが、適度な強度の遠心性収縮は筋力増強・筋肥大という骨格筋を強くする変化を誘導するというのが注目される理由である。ここで適度な強度の遠心性収縮が筋節内力支持装置のどこに作用して骨格筋を増強する変化を誘導するのかを、光学顕微鏡、電子顕微鏡、X線回折法で検索するのが研究目的である。

方法：8週齢F334系雄性ラット足底筋の血流を保ったまま支配神経を露出し、この神経を矩形波電気刺激して筋を収縮させた。ラットは収縮能の

み評価した対照群 (CON), 刺激頻度100Hzで筋長一定 (等尺性) の負荷収縮をさせた等尺性収縮群 (ISO), 負荷収縮に同期して筋長を至適長の10%分強制伸張した遠心性収縮群 (ECC) に分けた。ISOとECC群の負荷収縮は一回300 msを3秒間隔で10回行わせた。ECC群は, 電気刺激頻度に50 Hz, 75 Hz, 100 Hzの3段階を設けることで, 各々軽度, 中等度, 強度の遠心性負荷収縮をさせた3亜群とした。負荷収縮後60分の収縮能変化を完全強縮の等尺性収縮で経時評価し, その後光学, 電子顕微鏡用標本に調製した。X線回折用標本は60分の収縮能評価後, 直ちに界面活性剤で細胞膜を除去したスキンド骨格筋標本とし, 後日, 高エネルギー加速器研究機構の放射光施設でのX線回折像取得 (共同利用2015G708) に用いた。

結果・考察: 中等・強度ECC亜群は刺激後60分の収縮能評価で, それぞれ8%・12%の収縮張力の低下を示した。強度ECC亜群の筋には光学顕微鏡レベルで横紋構造の崩壊, 膜の歪みを認め, 中等度ECC亜群でも電子顕微鏡レベルでは筋節の乱れを認めた。筋節内周期構造の劣化をもっとも鋭敏に反映して減弱するX線回折像のミオシン層線は, CON群・軽度ECC亜群・ISO群では強く認められたが, 中等・強度ECC亜群ではほとんど認められなかった。CON群・軽度ECC亜群・ISO群でのミオシン層線強度について, 現段階ではその程度の違いは明らかでないが, X線回折にて他の反射を評価することで, 極めて微妙な筋節周期構造の乱れを検出し, 収縮負荷に対する骨格筋増強性の適応応答を誘導する筋節内検知センサを明らかにする。

11. 慢性痛モデル動物における自発痛の新規長期客観的評価法の開発

¹東京慈恵会医科大学医学部医学科3年

²東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
神経科学研究部

³東京慈恵会医科大学先端医学推進拠点群
痛み脳科学センター

⁴東京慈恵会医科大学内科学講座リウマチ・膠原病内科

○沼賀 由佳^{1,2}・大藤 洋介^{2,3,4}

杉本真理子^{2,3}・高橋由香里^{2,3}

渡部 文子^{2,3}・加藤 総夫^{2,3}

11. Development of a novel method for evaluating spontaneous pain in animal models of chronic pain. Yuka NUMAGA, Yohsuke OTO, Mariko SUGIMOTO, Yukari TAKAHASHI, Ayako M. WATABE, Fusao KATO

目的: 国民の約10-20%がなんらかの慢性痛を訴えている。その発症機構の解明と病態・治療効果の評価には, 疼痛モデル動物における痛みの定量的解析が必須である。一方, ヒトで「主観的な感覚ならびに情動体験」と定義される「痛み」を, モデル動物で評価することには困難が伴う。多くの非臨床研究では, 触覚や熱刺激などによって誘発される逃避応答閾値を「痛み」の指標としているが, 治療薬や介入に対するその応答は患者における応答と多くの場合一致しない。慢性痛患者が訴える持続的な自発痛や日常生活の中での動作の困難さなどをモデル動物で簡便かつ定量的に評価することを目的として, 動物が主体的かつ自発的に示す行動として知られる回し車運動の定量化による自発痛の評価を試みた。

方法: 実験はすべて東京慈恵会医科大学動物実験規程に則り同委員会の審査を経て学長の承認を得て行った。マウスを垂直もしくは水平型の回転車を備えたケージに入れ, 自由飲水摂食下, 個別飼育した。ケージを明期・暗期各12時間に設定して個別に照明した。約1週間以上の基礎計測後, 各種痛みモデル (ホルマリン炎症性疼痛モデル, リウマチ関節炎痛モデルなど) と対照群を作製し, 同ケージで1-3週間連続的に飼育した。30分ごとの回転車回転数 (R) を連続的に記録し, 概日リズム解析を行った。

結果: 健常マウスでRは暗期にのみ増大する明瞭な日内変動を示した。痛みモデルにおいて, 総

運動量，明期・暗期運動量分布の変化が示唆された。

結論：回転車は，その設置が飼育上望ましいとされるほどげっ歯類の環境を豊かにする因子であることが知られている。その回転数の自動連続測定は動物への負担が少なく，かつ主体的な行動を長期にわたって評価しうる有用な計測系であると考えられる。今後，モデルの時間経過や治療薬の影響評価などを試み，患者が訴える自発痛や日常生活と類似の情報を得ることが可能か検討を進める。

12. ヒト化肝臓キメラマウスの作製技術確立とウイルス性肝炎における前臨床研究：東京慈恵会医科大学における4年間の報告

¹ 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
基盤研究施設（分子細胞生物学）

² 東京慈恵会医科大学大学院医学研究科肝病態制御学

³ 東京慈恵会医科大学臨床検査医学講座

⁴ 国立感染症研究所ウイルス第二部

⁵ 国立研究開発法人理化学研究所ライフサイエンス
技術基盤研究センター

⁶ 東京慈恵会医科大学内科学講座消化器・肝臓内科

⁷ 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
実験動物研究施設柏分室

⁸ 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
臨床医学研究所

⁹ 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
実験動物研究施設

¹⁰ 医療法人財団明理会新松戸中央総合病院
消化器病センター

¹¹ 医療法人社団誠高会おおたかの森病院
消化器・肝臓内科

○坪田 昭人^{1,2}・松浦 知和³

相崎 英樹⁴・小嶋 聡一⁵

松本 喜弘⁶・阿片 理恵¹

青木 正隆⁷・湯本 陽子⁸

吉澤 麻貴⁸・朴 鍾燮³

中村まり子³・堀島 智子⁹

石野田康広⁹・角田 正紀⁹

加藤 慶三^{2,10}・前橋はるか³

竹村 友希¹・野村 真弓¹

菊地 恵美¹・斎藤 英希¹

都丸 慶子¹・鈴木 雄太¹

藤岡 宏樹¹・池田 恵一¹

島田 紀朋¹¹・岩本 武夫¹

立花 利公¹・馬目 佳信¹

12. Establishment of a humanized mouse and preclinical research for viral hepatitis: A 4-year report from The Jikei University School of Medicine. Akihito Tsubota, Tomokazu Matsuura, Hideki Aizaki, Soichi Kojima, Yoshihiro Matsumoto, Rie Agata, Masataka Aoki, Yoko Yumoto, Maki Yoshizawa, Jon-Hyoku Paku, Mariko Nakamura, Tomoko Horishima, Yasuhiro Ishinoda, Masahiro Tsunoda, Keizo Kato, Haruka Maehashi, Yuki Takemura, Mayumi Nomura, Emi Kikuchi, Hideki Saito, Keiko Tomaru, Yuta Suzuki, Kohki Fujioka, Keiichi Ikeda, Noritomo Shimada, Takeo Iwamoto, Toshiaki Tachibana, Yoshinobu Manome

肝臓に thymidine kinase を特異的に発現する超免疫不全マウス (TK-NOG) に対して独自の protocol による ganciclovir での前処理でマウス肝細胞の傷害・脱落を惹起させる。適切な時期にヒト肝細胞を経脾臓的に肝臓に移植，ヒト肝細胞による置換・キメラ化を成立させた。そのヒト肝臓キメラマウスを用いて以下の内容を行ってきた東京慈恵会医科大学の4年間の報告する。

- (1) 独自の handling と低コスト化の成功
- (2) B型肝炎ウイルス (HBV) に対する新規化合物に対しての前臨床試験
- (3) C型肝炎ウイルス (HCV) の SVR (sustained virological response) モデル作製と SVR 後の電顕像解析による肝発癌との関連性の検討
- (4) HBV 感染後の網羅的トランスクリプトーム解析：感染初期から慢性感染期の時系列挙動解析

本研究は，厚生労働科学研究費補助（現国立研究開発法人日本医療研究開発機構）肝炎等克服実用化研究事業「HCV に対する抗ウイルス治療後，SVR 後の病態に関する研究」，感染症実用化研究事業「肝炎等克服実用化研究事業 i 「輸送体機能の *in vivo* 解析とその臨床意義の解析」，創薬実用化等研究事業「次世代生命基盤技術を用いた B 型肝炎制圧のための創薬研究」及び文部科学省独立行政法人 日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究のもとに行われてきた。

13. アミノ酸摂取量の調整によるマラリア制御の可能性

¹東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
実験動物研究施設

²味の素株式会社イノベーション研究所

³国立国際医療センター研究所熱帯医学マラリア研究部

⁴帯広畜産大学原虫病研究センター

⁵マヒドン大学熱帯医学部

⁶東京慈恵会医科大学熱帯医学講座

○齊木 選射¹・長尾 健児²

石上 盛敏³・福本 晋也⁴

クルドゥスッドウスリヴィッチャ⁵

櫻井 達也¹・坂内 慎²

狩野 繁之³・嘉糠 洋陸^{1,6}

13. Preventing malaria by adjusting amino-acid intake. Erisha SAIKI, Kenji NAGAO, Moritoshi IWAGAMI, Shinya FUKUMOTO, Srivicha KRUDSOOD, Tatsuya SAKURAI, Makoto BANNAI, Shigeyuki KANO, Hiroataka KANUKA

熱帯熱マラリア患者は、適切な処置が施されない場合、重症貧血や脳性マラリアなどの重篤な症状を呈する。マラリア原虫は複雑な生活環を有し、巧みに宿主免疫機構を免れることから、ワクチン開発は途上にある。アルテミシニンと他の抗マラリア薬を組み合わせた治療（Artemisinin-based Combination Therapy：ACT）はマラリアによる負荷を一時的に減少させたが、薬剤耐性株の出現により、早くも代替となる新規の薬剤が必要とされている。さらには地球温暖化による流行地域拡大の恐れから、マラリア制圧へ向けた新規手法の開発が喫緊の課題とされている。

大半のアミノ酸合成経路を欠くマラリア原虫は、哺乳類の血中にて分裂・増殖する際、アミノ酸源の多くをヘモグロビンの分解に依存する。ヘモグロビンに含まれていないイソロイシン (Ile) など一部のアミノ酸については、血漿中から血球内へと取り込まれ、利用される。通常、血漿に含まれる遊離アミノ酸の濃度組成（血漿アミノグラム）は、恒常性を維持する範囲で一定に保たれている。しかし、我々はこれまでの研究から、齧歯類特異的マラリア原虫 *Plasmodium berghei* 感染赤血球率が上昇するに従って、血漿アミノグラムが顕著に変動することを明らかにした。また、血漿アミノグラムはアミノ酸配合率を調節した合成食

によって人為的に誘導することが可能である。そこで我々は、食餌に含まれるアミノ酸含量がマラリアへ与える影響の検証を実施した。

マラリア原虫の増殖率が異なる3系統のマウスにおいて、感染前後の血漿アミノグラムを解析したところ、Ileを含む一部のアミノ酸群の濃度に原虫増殖率と比例する動態を認めた。Ile欠損食を与えたマウスへのマラリア原虫感染実験から、原虫赤血球感染率が有意に減少することを、アーテスネートとIle欠損食の併用試験からは、同食が減薬効果を有することをそれぞれ見出した。また、脳性マラリアのモデルマウスを用いた解析からは、Ile欠損食給餌によるマウスの生存率向上を認めた。栄養学的知見に基づく解析によって得られたこれらの結果は、マラリア制御におけるアミノ酸摂取量調整の有効性を示唆するものである。

14. ムコ多糖症II型モデルマウスの骨病変の病理・分子生物学的解析

¹東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
遺伝子治療研究部

²東京慈恵会医科大学小児科学講座

³東京慈恵会医科大学整形外科科学講座

○和田 美穂^{1,2}・嶋田 洋太¹

樋口 孝¹・前田 和洋²

齋藤 充³・井田 博幸²

大橋 十也^{1,2}・小林 博司^{1,2}

14. Molecular and pathological analysis of bone involvement of murine mucopolysaccharidosis type II. Miho WADA, Yohta SHIMADA, Takashi HIGUCHI, Kazuhiro MAEDA, Mitsuru SAITO, Hiroyuki IDA, Toya OHASHI, Hiroshi KOBAYASHI

背景：ムコ多糖症（MPS）II型は Iduronate 2-sulfatase (IDS) の欠損により多臓器にわたってグリコサミノグリカンが蓄積する疾患である。酵素補充療法では神経・骨病変への効果が充分ではないが、先行研究でMPS IIモデルマウスにおいて造血幹細胞を標的としたレンチウイルスを用いた遺伝子治療は神経病変に有効であった。今回の研究は、同様に造血幹細胞を標的とした遺伝子治療がMPS IIの骨病変に効果があるか否かを検討するのが最終目的であるが、今回は治療効果を

反映する surrogate marker の検索を行なった。

方法：8週・20週・28週齢のMPS IIモデルマウスならびに正常マウス（WT）の大腿骨・脛骨などを採取し、それを用いて骨形態評価、骨密度測定を行い、合わせて骨強度試験を行った。また、血清、骨mRNAを用いて骨形成マーカー、骨吸収マーカーの発現を解析した。

結果：20週齢MPS IIマウスにおいてWTと比較して有意に単位骨量・骨梁数が増加しており、骨梁間隙が有意に減少しており、骨密度も有意に増加していた。骨強度試験においてはMPS IIマウスでは破断エネルギーと最大荷重において有意に増加していた。しかし、骨形成・骨吸収マーカーを解析するも有意差を認めるものはなかった。

考察：MPS IIマウスの骨病変は骨形成に傾いている事が判明したが、それを反映する surrogate markerは現在同定されていない。これに関しては本モデルマウスの骨病変が軽症であることがその一因である可能性が考えられたため、現在より重度の骨病変を示すMPS VII型モデルマウスを用いて同様の検討を始めている。また骨形成に傾いたMPS IIマウス骨病変に対する治療介入効果を検討するため、IDSを発現する組換えレンチウイルスベクターを作成し造血幹細胞を標的とした遺伝子治療実験を開始している。

15. 腎臓再生における透析患者由来iPS細胞の有用性

¹東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
再生医学研究部

²東京慈恵会医科大学内科学講座腎臓・高血圧内科

○田尻 進¹・藤本 俊成¹

山中修一郎²・松本 啓²

岡野ジェイムス洋尚¹・横尾 隆²

15. The possibility of kidney regeneration with induced pluripotent stem cells derived from hemodialysis patients. Susumu TAJIRI, Toshinari FUJIMOTO, Shuichiro YAMANAKA, Kei MATSUMOTO, James Hirota OKANO, Takashi YOKOO

目的：腎臓再生における究極の目的は、腎不全患者由来の幹細胞から腎臓を再生することにある。我々は、以前にヒト間葉系幹細胞（hMSCs）を用いた腎臓再生に成功した。しかし透析患者由

来hMSCsと健常者由来hMSCsを比較解析した結果、透析患者由来hMSCsは長時間尿毒症環境に暴露された結果、腎臓再生のツールとして適さない可能性が示唆された。そこで、我々は尿毒症環境をリセットするため透析患者からinduced pluripotent stem cells（iPSc）を樹立し、腎臓再生の有用なツールとなりうるか検討を行った。

方法：東京慈恵会医科大学関連施設で血液透析（HD）を行っている3名の患者血液からiPSc（HD-iPSc）を樹立した。健常群（HC-iPSc）として、再生医学研究部にて樹立した健常人由来iPScおよび理化学研究所とMTAを結び提供してもらった健常人由来iPScを使用した。HD-iPSc、HC-iPScをネフロン前駆細胞（NPCs）へ分化させ、NPCsマーカーおよび血管新生能の比較を行った。さらにマウス胎仔脊髄と共培養を行い、ネフロンへと分化させ、形態学的評価、遺伝子発現比較を行った。

結果：NPCsマーカーとして知られるWT1, PAX2, SIX2の発現はHD-iPSc由来NPCs（HD-NPCs）とHC-iPSc由来NPCs（HC-NPCs）で同程度であった。しかし、血管新生にかかわるVEGFの発現は、HD-NPCsで有意に低下しており、*In vivo*血管新生アッセイキットを用いた実験でも血管新生能はHD群で有意に低下していた。マウス脊髄との共培養でHD-NPCsは良好にネフロンへと分化し、健常群と同程度のネフロン特異的なマーカー発現を認めた。また、HD-NPCsでHC-NPCsに比べ低下していたVEGFは、ネフロン分化後は、健常群と透析群で有意差を認めなかった。

結論：HD-NPCsの段階では血管新生能が低下しており、腎臓再生のツールとして適さない可能性がある。しかし、健常群と同様のネフロン分化能を持ち、そのネフロンは健常群と同様の血管新生能を持つことが推測された。本研究は、HD患者由来のネフロン分化誘導に成功した世界初の報告であり、HD-iPScが腎臓再生の有用なツールであることを示したものである。

16. 湧水中ラドン濃度からみた東京都の地形の特徴

¹東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
アイソトープ実験研究施設

²東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
臨床医学研究所

○堀内 公子¹・箕輪はるか¹

吉澤 幸夫²・朝倉 正¹

16. Geological characteristics of Tokyo based on radon concentrations in spring water. Kimiko HORIUCHI, Haruka MINOWA, Yukio YOSHIZAWA, Tadashi ASAKURA

はじめに：東京都は湧水が水路や水源となり、人の営みにうるおいと安らぎを与えるとともに、災害時の水供給源となる貴重な存在であることから、人が湧水に関心を持ち、湧水の保護と育成を図るよう、また、身近で気軽に散策できるものを対象として名湧水57ヵ所を選定した。（平成15年1月 東京都環境局）

湧水の基礎データとして化学成分の分析が広く行われているが、放射性成分については十分なデータがあるとは言えない。本調査は東京都の選定した湧水のラドン濃度を測定し、地形との関連を考察した。

方法：1Lの細口ポリエチレン瓶を用いて湧水口近くから試料を採取し、トルエンに発光剤2,5diphenyloxazole (PPO)、波長シフト剤4-bis-2-(5-phenyloxazolyl)-benzene (POPOP)を加えて調製したシンチレーター40mlによりラドンを抽出し液体シンチレーションカウンター(LSC-6100アロカ)を用いて測定した。

結果：試料は枯渇して採水出来なかった場所等を除く49ヵ所から採水した。ラドン濃度は0.3 Bq/l(大島分川)～27.03 Bq/l(清水山憩の森)、湧水地点の標高は14m(柳の井戸)～1,173m(獅子口の湧水)の多岐にわたって分布した。

考察：東京都は非常に変化に富んだ地域である。中央部分には武蔵野台地と下町低地が広くひろがり、台地の西側には奥多摩の山々が連なっている。また東京湾を隔てては大島から三宅、八丈を経て小笠原諸島迄含まれている。

湧水の湧出状況を模式的に見ると台地の崖の前面から湧出する崖線タイプと台地上の馬蹄形や

凹地形などの台地形を呈する地形から湧出する谷頭タイプとがある。谷頭タイプの湧水は集水域が広く、湧水量も豊富でラドン濃度が高かった。崖線タイプの湧水はほぼ同じ標高の位置から湧出しラドン濃度が分散したことから集水域や涵養過程に違いがあると推定された。一方台地面は古富士の噴火による火山灰土の堆積した関東ローム層に広く覆われており特に高いラドン濃度を示すものはなかった。

結論：本調査による「東京の名湧水」中のラドン濃度測定結果は、東京の複雑な、特徴ある地形を反映していることがわかった。

17. 多型性膠芽腫における樹状細胞/腫瘍細胞融合ワクチン療法効果にかかわる遺伝子の解析

¹東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
悪性腫瘍治療研究部

²東京慈恵会医科大学脳神経外科学講座

○鎌田 裕子¹・久原 映子¹

赤崎 安晴²・村山 雄一²

本間 定¹

17. Analysis of genes related to effectiveness of a dendritic/tumor fusion cell vaccine in glioblastoma multiforme. Yuko KAMATA, Akiko KUHARA, Yasuharu AKASAKI, Yuichi MURAYAMA, Sadamu HOMMA

我々は多型性膠芽腫の術後再発予防を目的とし、樹状細胞/腫瘍細胞融合ワクチン療法を行ってきた。この治療法は、患者由来の樹状細胞と手術時に得られた腫瘍細胞を融合させたものをワクチンとして使用するものであり、患者個々の腫瘍細胞内の様々な抗原を利用することができる。これまでの検討から通常の治療法とこのワクチン療法を併用することによって、多型性膠芽腫の生存期間が有意に延長することがわかってきた。同時に通常の治療法とワクチン療法の併用症例のなかには生存期間の延長が著明な群と通常治療単独の場合と生存期間の差を認めない群が存在することもわかってきた。生存期間の延長がみとめられた群(ワクチン療法有効群)と無効群の遺伝子発現、遺伝子変異を網羅的に解析し、有効群に特徴的な遺伝子の変化を同定し、樹状細胞/腫瘍細胞融合ワクチン療法の効果予測因子を明らかにするため

に、有効群4例、無効群4例の全エクソン解析および全トランスクリプトーム解析を行った。全エクソン解析から、8例すべてに共通な variant が多数みられた。また、有効群4例のみにみられた variant は4個、無効群のみに見られたものは1個であった。全トランスクリプトーム解析では、有効群で無効群に比べ発現が増加した遺伝子は685個発見された。一方、無効群で発現増加を認めた遺伝子は124個であった。これらの違いが樹状細胞/腫瘍細胞ワクチン療法の効果に影響を与えている可能性が考えられ、ワクチン療法の効果予測因子となる可能性があると考えられた。

18. プロモドメイン阻害薬 I-BET151 耐性 U937 細胞の樹立とその分子生物学的特徴

¹東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
基盤研究施設 (分子遺伝学)

²東京慈恵会医科大学内科学講座腫瘍・血液内科

³東京慈恵会医科大学小児科学講座

菱木光太郎¹・槌谷 恵美¹

阿川 美幸¹・尾崎 幸次¹

荒川 泰弘²・鐘ヶ江裕美¹

秋山 政晴^{1,3}・山田 尚¹

18. Establishment and molecular biological characterization of bromodomain inhibitor I-BET151-resistant U937 cells. Kotaro HISHIKI, Emi TSUCHITANI, Miyuki AGAWA, Kohji OZAKI, Yasuhiro ARAKAWA, Yumi KANEGAE, Masaharu AKIYAMA, Hisashi YAMADA

目的：近年、プロモドメイン (BRD) を介した転写調節と造血器腫瘍の関連が注目されている。とりわけ BRD4 の抑制は白血病細胞の増殖抑制につながる事が報告されており、アセチル化ヒストンと BRD4 の会合を抑制する低分子量化合物 BRD 阻害薬の治療薬としての可能性が研究されている。本研究では、BRD 阻害薬に対する耐性株を作製し、発現変化を検討することで、BRD 阻害薬耐性細胞の増殖抑制機序を探索するとともに、BRD 阻害薬耐性細胞に対する治療効果を示す可能性のある薬剤についても検討を行う。

方法：細胞はヒト骨髄単球性白血病細胞株 U937 を用い、BRD 阻害薬である I-BET151 に対する耐性株 U937 resistance (U937R) を作製した。

薬剤感受性は MTS assay, cell cycle, アポトーシス解析により確認した。網羅的遺伝子発現解析を行い、U937 と U937R との間に差異が認められた遺伝子を検索した。このデータをもとに、pathway 解析や各種 inhibitor を用いた薬剤感受性試験を実施し、耐性株において細胞増殖に関連性のある pathway の検索を行った。また、ウエスタンブロットによりタンパク発現の差異についても検討を行った。

結果：U937 においては I-BET151 が効果的な薬剤感受性を示したのに対し、U937R は 10 μ M の I-BET151 に耐性を示した。U937 と U937R との間に 634 遺伝子の差異が認められた。注目した pathway の 1 つが NF κ b であり、NF κ b の活性化を阻害する IKKi を用いて薬剤感受性試験を行ったところ、U937R にて著明なアポトーシス誘導による薬剤感受性が認められた。さらに、ウエスタンブロットでは、BRD タンパクである BRD2 と BRD4 の発現が U937R において強発現を示していた。また、本研究の過程で、I-BET151 耐性細胞である U937R に対して感受性を示す複数の薬剤も見出したので合わせて報告する。

考察：本研究で U937R は BRD の過剰発現により耐性を獲得したと考えられた。さらに U937R は IKKi に対して著明な感受性を示したことから、I-BET151 に対する耐性獲得機序には NF κ b の活性化が関与していた可能性も強く示唆されたことから、NF κ b 活性化を阻害することにより I-BET151 耐性細胞の治療が可能になると考える。

19. APCA発現モデルラットにおける分子生物学的的手法を用いた新生血管発生機序の解明

¹東京慈恵会医科大学小児科学講座

²東京慈恵会医科大学細胞生理学講座

○伊藤 怜司¹・浦島 崇¹

糸久 美紀¹・藤本 義隆²

河内 文江²・鈴木 詩央¹

森 琢磨¹・飯島 正紀¹

河内 貞貴¹・藤原 優子¹

小川 潔¹・南沢 享²

井田 博幸¹

19. Assessment of biological characteristics for angiogenesis in aortopulmonary collateral artery model rats with left pulmonary artery ligation under a hypoxia environment. Reiji ITO, Takashi URASHIMA, Miki ITOHISA, Yoshitaka FUJIMOTO, Fumie KAWACHI, Shio SUZUKI, Takuma MORI, Masatoshi IJIMA, Sadataka KAWACHI, Masako FUJIWARA, Kiyoshi OGAWA, Susumu MINAMISAWA, Hiroyuki IDA

背景：単心室循環の様な肺血流減少性心疾患では体肺側副血行路（APCA）がしばしば増生し、肺血管床の発育抑制やリモデリングに影響を与え、心室の容量負荷から心不全や胸水の原因となり予後に影響を与えている。一方、APCA発生機序に関する検討は少なく不明な点が多い。我々はAPCA発現動物モデルの作成に成功し検討を進めている。

目的：APCA発現モデルを用いてAPCAの発生機序を明らかにすること

方法：生後5週のSDラット(150～200g)の左肺動脈を結紮し、低酸素環境下(FiO₂ 10%)で飼育した。3週間の飼育後に摘出した肺を用いて組織学的および分子生物学的に評価した。血流量や飼育環境の影響を評価するため、右肺や大気下飼育モデルと比較、および対照ラットと比較を行った。

結果：肺重量は右側で拡大、左側は縮小し上葉が胸郭と癒着、同部位に肉眼的に新生血管(APCA)を認めた。大気下飼育と比較して低酸素飼育モデルで強い発現を認めた。右肺では同様の所見は認めなかった。Microarrayでは、低酸素飼育モデルの左肺でミオシン軽鎖(My11 900倍 vs 対照)を中心とした細胞骨格に由来する遺伝子が増幅し、血管新生因子は変動せず抑制因子が増幅しRT-

PCRも同様であった。免疫染色では同部位でVEGFR-1と共にミオシン軽鎖が強く発現していた。FACS解析では内皮由来stem/progenitor(SP)細胞が左上葉にのみ発現していた。

結論：APCA発現モデルラットを用いて新生血管の発生機序を検討した。新生血管流入部位では細胞遊走にかかわる細胞骨格遺伝子の増幅を認め、免疫染色も同様であった。以上より術後3週では血管新生代償期に至ったと考えられた。また左上葉にSP細胞が検出されたが、肺ではSP細胞が検出されることは少なく、同細胞の遊走メカニズムの検討によりAPCAの発生機序解明の一助となると考えられた。

20. Azithromycin はNADPH Oxidase (NOX) 4の分解亢進を介してTGF-β誘導性筋線維芽細胞分化を抑制する

¹東京慈恵会医科大学内科学講座呼吸器内科

²東京慈恵会医科大学内科学講座外科学講座呼吸器外科

○坪内 和哉¹・荒屋 潤¹

皆川 俊介¹・原 弘道¹

市川 晶博¹・斎藤那由多¹

佐藤奈穂子¹・吉田 昌弘¹

栗田 裕輔¹・小林 賢司¹

伊藤 三郎¹・内海 裕文¹

和久井 大¹・柳澤 治彦¹

橋本 典生¹・石川 威夫¹

沼田 尊功¹・金子 由美¹

浅野 久敏²・山下 誠²

尾高 真²・森川 利昭²

中山 勝敏¹・桑野 和善¹

20. Azithromycin suppresses transforming growth factor β-induced myofibroblast differentiation by promoting degradation of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 4. Kazuya TSUBOUCHI, Jun ARAYA, Shunsuke MINAGAWA, Hiromichi HARA, Akihiro ICHIKAWA, Nayuta SAITO, Nahoko SATO, Masahiro YOSHIDA, Yusuke KURITA, Kenji KOBAYASHI, Saburo ITO, Hirofumi UTSUMI, Hiroshi WAKUI, Haruhiko YANAGISAWA, Mitsuo HASHIMOTO, Takeo ISHIKAWA, Takanori NUMATA, Yumi KANEKO, Hisatoshi ASANO, Makoto YAMASHITA, Makoto ODAKA, Toshiaki MORIKAWA, Katsutoshi NAKAYAMA, Kazuyoshi KUWANO

背景・目的：筋線維芽細胞からなる早期線維化

巢の形成は、特発性肺線維症（IPF）の重要な病態である。NADPH oxidase 4（NOX4）によるROS産生は、TGF- β の筋線維芽細胞分化誘導過程に関与している。IPF患者肺の早期線維化巣においてNOX4発現の亢進が認められ、NOX4は治療標的の一つと考えられている。そこで、azithromycin（AZM）の抗線維化作用について、NOX4発現量制御の点から検討を行った。

方法：ヒト肺線維芽細胞を用い、TGF- β の筋線維芽細胞分化誘導作用に対する、AZMの効果を検討した。また、AZMの抗線維化作用について、BLM肺臓炎マウスモデルを用いて検討した。

結果：*In vitro*の検討では、AZMはTGF- β による筋線維芽細胞分化誘導作用を抑制した。またAZMはTGF- β によるNOX4蛋白発現とROS産生の亢進も抑制した。プロテアソーム阻害剤MG132による検討から、AZMがNOX4蛋白の分解を亢進させることが明らかとなった。AZMはE3 ligaseのcarboxyl terminus of Hsc70-interacting protein（CHIP）発現を増加させることでNOX4のコピキチン化を誘導し、さらに20Sプロテアソーム活性も亢進させた。AZMはプロテアソーム以外のタンパク質制御機構への作用も有し、lysosomeの酸性化阻害によりautophagyを抑制し、またunfolded protein response（UPR）を亢進させた。ATG5 siRNAによるオートファジー阻害ではCHIPの発現を、またUPRを誘導するTunicamycin刺激では20Sプロテアソーム活性亢進を認め、AZMはautophagy抑制によりCHIP発現を増加させ、UPR誘導によりプロテアソーム活性を亢進させると思われた。AZMはautophagyを抑制するも、筋線維芽細胞分化は誘導せず、mitophagy障害の指標である、ミトコンドリア由来ROSの増加もミトコンドリアの機能障害も認めなかった。*In vivo*の検討で、BLM肺臓炎マウスモデルに対し、day7よりAZMを腹腔内投与したところ、day21における肺線維化とNOX4蛋白発現の誘導抑制が認められ、ホモジネート肺ではCHIP発現の増加および20Sプロテアソーム活性の亢進が示された。

結論：AZMは、タンパク質制御機構への作用とそのクロストークの結果、プロテアソームでのNOX4分解を選択的に亢進させることで抗線維化作用を示すと考えられた。

21. 膵 α 細胞におけるグルカゴン分泌はPKC δ 依存性に制御される

東京慈恵会医科大学内科学講座糖尿病・
代謝・内分泌内科
塩崎 正嗣・藤本 啓
宇都宮 一典

21. Glucagon secretion from pancreatic α cells is regulated in a protein kinase C δ -dependent manner. Masatsugu SHIOZAKI, Kei FUJIMOTO, Kazunori UTSUNOMIYA

背景：膵 α 細胞から分泌されるグルカゴンは2型糖尿病の病態に大きく関与する。単離膵 α 細胞において低および高グルコース応答性にグルカゴン分泌は惹起されるが、生体内では高グルコース応答性グルカゴン分泌はインスリンにより抑制されている。一方、糖尿病患者では高血糖にもかかわらずグルカゴンが抑制されないグルカゴンの奇異性分泌が認められ、糖尿病における膵 α 細胞からのグルカゴン分泌の詳細な分子機序は不明な点が多い。近年、膵 α 細胞からのグルカゴン分泌に novel protein kinase C（PKC）の関与が報告された。

目的：novel PKCの1つであるPKC δ に注目し、膵 α 細胞におけるPKC δ 依存性グルカゴン分泌の分子機序を検討した。

方法：グルカゴン分泌 α TC1細胞を用いて①低グルコース（1 mM グルコース濃度）②高グルコース（25 mM グルコース濃度）の条件下におけるグルカゴン分泌を検討した。グルコース濃度とPKC δ mRNA発現量の連関を検討した。グルカゴン分泌におけるPKC δ の関与を検討するため、PKC δ の阻害剤rottlerinおよびレンチウイルスベクターを用いてshPKC δ を α TC1細胞に移入することによりPKC δ を特異的にノックダウンし、グルカゴン分泌におけるPKC δ の働きを検討した。

結果： α TC1細胞において低および高グルコース応答性にグルカゴン分泌が亢進した。PKC δ mRNA発現パターンはグルカゴン分泌の増加パターンと一致することから、グルカゴン分泌にPKC δ が関与することが示唆された。PKC δ 阻害剤は低および高グルコース応答性のグルカゴン分泌を抑制した。さらに α TC1細胞のPKC δ を特異的にノックダウンすると、低および高グルコース応答性のグルカゴン分泌は抑制された。以上から、

α TC1細胞における低および高グルコース応答性のグルカゴン分泌はPKC δ 依存性に制御されることが強く示唆された。

結論： α TC1細胞におけるグルカゴン分泌はPKC δ 依存性に制御された。膵 α 細胞のPKC δ を分子標的としたグルカゴン分泌調節を行う新規糖尿病治療が考えられた。

22. Prokineticin 2シグナル伝達の阻害はコラーゲン誘導性関節炎マウスの関節炎を抑制する

東京慈恵会医科大学内科学講座リウマチ・膠原病内科

伊藤 晴康・野田健太郎
黒坂大太郎

22. Inhibition of prokineticin 2 signaling lessens the severity of arthritis in collagen-induced mice. Haruyasu ITO, Kentaro NODA, Daitaro KUROSAKA

目的：我々は以前より関節リウマチの病態に血管新生が関与していることを報告してきた。Prokineticin 2 (PK2)は血管新生関連因子の一つで、近年、炎症性サイトカインの産生にも関与していることが報告されている。我々は関節リウマチのモデルであるコラーゲン誘導性関節炎 (CIA) マウスの関節炎部でPK2の発現が上昇していることを報告した。一方、PK2の受容体であるProkineticin receptor 1 (PKR1)とProkineticin receptor 2 (PKR2)の発現についてはわかっていない。そこで今回、CIAマウスの関節炎部におけるPKR1, PKR2の発現について検討した。さらに、PK2シグナル伝達の阻害がCIAマウスの関節炎の重症度を抑制するかについて検討した。

方法：CIAマウスの関節部におけるPK2, PKR1, PKR2 mRNA発現をreal-time PCR法により測定した。PKR1, PKR2タンパクの発現を免疫組織学的方法により解析した。PK2 antagonistを関節炎発症前のCIAマウスに投与し、関節炎の推移を投与群と非投与群と比較した。関節炎は関節炎点数で評価した。

結果：CIAマウスの関節炎部でPK2とPKR2の発現量が上昇していた。さらに、PK2とPKR2の発現量は関節炎点数と強い相関関係があった。PKR1は増殖滑膜組織に浸潤した好中球で、PKR2は増殖滑膜組織のマクロファージ様細胞で発現し

ていた。PK2アンタゴニストの投与により、関節炎の重症度が低下した。

結論：PK2の受容体であるPKR1, PKR2はCIAの関節炎部で発現していた。さらにPK2のシグナル伝達の阻害が関節炎の重症度を抑制した。これらの結果はPK2シグナルが関節炎の病態形成に強く関与している可能性があることを示唆している。

23. iPS細胞由来培養表皮を用いた脊髄髄膜瘤の胎児治療

¹東京慈恵会医科大学産婦人科学講座

²国立成育医療研究センター再生医療センター
細胞医療研究部

³国立成育医療研究センター周産期・母性診療センター

梶原 一紘^{1,2}・和田 誠司³
左合 治彦³・岡本 愛光¹
梅澤 明弘²

23. Antenatal treatment of myelomeningocele with 3-dimensional skin by using induced pluripotent stem cells. Kazuhiro KAJIWARA, Seiji WADA, Haruhiko SAGO, Aikou OKAMOTO, Akihiro UMEZAWA

目的：脊髄髄膜瘤は神経管の閉鎖障害に起因する先天奇形であり、脊髄が羊水中に暴露される。羊水は胎便を含み、アルカリ性であるため神経を障害し、出生時には不可逆的神経障害が存在する。そのため露出した脊髄を覆う胎児手術が行われ、神経障害は低減された。しかし子宮を大きく切開することによる母体の重篤な合併症が存在するため、より低侵襲な治療が望まれている。そこで我々は羊水からiPS細胞を樹立し、皮膚系列への分化誘導を行うことで胎児期に自家細胞移植をするという新たな治療法を開発するため研究を行った。

方法：まず始めにもっとも一般的な胎児疾患であるダウン症候群と重症胎児疾患である双胎間輸血症候群に着目し、これらの患者より羊水を回収した。得られた羊水由来細胞にエピソーマルベクターで遺伝子導入を行い、ES細胞様のコロニーをピックアップし継代した。特性解析の完了したiPS細胞をレチノイン酸とBMP4を用いてケラチノサイトへと分化誘導した。誘導したケラチノサイトは空気暴露法で2週間培養し、培養表皮を作

製した。この培養表皮を脊髄髄膜瘤モデルラット (Jcl:SD) の妊娠18-19日目に移植を行い、出生後に皮膚の再生を評価した。

結果：ダウン症候群と双胎間輸血症候群のいずれの羊水からもiPS細胞を樹立できた。このiPS細胞は未分化マーカーを発現し、*in vitro*と*in vivo*で分化多能性を有していた。羊水由来iPS細胞はレチノイン酸とBMP4で効率良くケラチノサイトへ分化誘導された。三次元培養によって積層化したケラチノサイトはKRT14やP63等の表皮マーカーを発現していた。三次元培養を行った表皮を移植した脊髄髄膜瘤ラット胎仔では、皮膚欠損部の大きさは治療しない群と比較して有意差を認めなかったが、移植した培養表皮は生後も残存し、欠損部を覆っていた。

結論：この治療法は低侵襲で、早期の治療を可能にする脊髄髄膜瘤の新たな胎児細胞治療法になり得る可能性が示唆された。

24. C型肝炎ウイルス感染における宿主microRNAの網羅的発現機能解析

東京慈恵会医科大学臨床検査医学講座
 政木 隆博・中村まり子
 目崎 喜弘・松浦 知和

24. Comprehensive expression profiling and functional analysis of host microRNAs during hepatitis C virus infection. Takahiro MASAKI, Mariko NAKAMURA, Yoshihiro MEZAKI, Tomokazu MATSUURA

目的：C型肝炎ウイルス (HCV) は高率に持続感染し、肝硬変を経て肝細胞癌を合併する公衆衛生上極めて重要な病原ウイルスである。HCVの感染増殖は肝臓に高発現しているmicroRNA-122 (miR-122) に大きく依存しており、HCV RNAはmiR-122と相互作用することにより増幅可能となる。一方で、miR-122は肝臓の恒常性維持、脂質代謝等の制御において生理的に重要な役割を担っている。また、近年ではmiR-122による肝発癌抑制作用が指摘されている。HCV RNAとmiRNAの相互作用は宿主遺伝子発現を制御する正常なmiRNA機能を攪乱する原因となり得るが、HCV感染時のmiRNA発現やその機能の詳細は明らか

になっていない。今回、HCV感染細胞におけるmiRNAの網羅的発現プロファイリングとその機能解析を目的とした。

方法：HCV (J6/JFH1株) 感染、非感染の肝癌由来細胞株Huh7.5.1からRNA抽出後マイクロアレイを施行し、HCV感染に伴い発現変動した宿主mRNAおよびmiRNAを網羅的に解析した。マイクロアレイ結果の検証は定量RT-PCR法で行なった。miRNA機能は、内在性標的遺伝子の発現もしくはmiRNAの標的配列をレポーター遺伝子の3'非翻訳領域に有するルシフェラーゼレポータープラスミド導入後のルシフェラーゼ活性を指標に解析した。

結果：マイクロアレイの結果、miR-122を含む代表的なmiRNAの発現はHCV感染後も不変か軽度上昇に留まったが、それらの標的mRNA発現は感染後有意に上昇しており、定量RT-PCRでも同様の結果を得た。miRNA阻害剤は標的mRNA発現を増強したが、HCV感染との相加的な作用は観察されなかった。HCV感染細胞では過剰量の合成miRNA導入後も標的mRNA発現の上昇が抑制されなかったのに対して、HCV構造タンパク質を欠くサブゲノミックレプリコン細胞では発現上昇が有意に抑制された。

考察：感染細胞ではHCV RNAがスポンジとして機能し、宿主標的遺伝子に対するmiR-122機能を障害しているという報告がある。しかし、本マイクロアレイの結果は、HCV感染によりmiR-122だけでなく他のmiRNA機能も障害されている可能性を示唆するものであり、HCV感染細胞とサブゲノミックレプリコン細胞の比較から、この過程にHCV構造タンパク質が関与している可能性が考えられた。

結語：HCVによる宿主miRNA機能抑制とその分子機構を示した。とくに、抗発癌作用を有するmiR-122機能の抑制は肝発癌機序の知見としても期待される。

25. 肺炎等による褥瘡の誘発

ホームクリニックなかの
 °今泉 忠芳

25. Decubitus induced by pneumonia and other factors. Tadayoshi IMAIZUMI

褥瘡の発生について、局所の問題や栄養状態などが考えられている。今回、褥瘡を誘発したと思われる肺炎等の例を提示し、褥瘡発生について考察した結果を報告する。

対象と方法

対象:褥瘡 (with Decubitus) 10例 (男性M 5例, 女性F 5例, 平均年齢86.8歳), 褥瘡なし (with no Decubitus) 14例 (M 5例, 平均年齢79.6歳, F 9例, 平均年齢84歳) を対象とした。対象はすべて6ヵ月以上ねたきりである。

対象の基礎疾患:褥瘡例;脳梗塞後遺症3, パーキンソン症候群3, 脳挫傷後遺症1, 左大腿骨頸部骨折1, 悪性症候群1. 褥瘡なし例;脳梗塞後遺症5, 脳出血後遺症2, 廃用症候群3, 症候性癲癇1, 認知症1, 前頭側頭変性症1.

褥瘡誘発症状:褥瘡発生に先立って生じた症状。褥瘡なしの例は肺炎を挙げ、肺炎後も褥瘡発生のみられなかった例である。

血液検査とBMI:対象について、アルブミン (Alb), ヘモグロビン (Hb), 総コレステロール (TCHO), およびBMIの測定をおこなった。

結果:褥瘡誘発症状;肺炎5, 癲癇発作1, ショック1, 胃瘻造設1, 悪性症候群1, 左大腿骨頸部骨折1, がみられた。症状から褥瘡発生まで4~10日であった。褥瘡なし例;肺炎回数1~6, その以前, 以後に褥瘡発生はみられなかった。血液検査とBMI;褥瘡例と褥瘡なし例のあいだに差はみられなかった。

考察:褥瘡発生に先立ったと思われる症状を褥瘡誘発症状とした。その症状のなかで肺炎が多く, 発熱の関与も考えられる。同じねたきりでも, 多くの場合肺炎による褥瘡の誘発はみられない。褥瘡例は褥瘡発生の準備状態にあり, 肺炎を契機としてそれが発生したものと考えた。褥瘡発生において, 栄養状態 (Alb, Hb, TCHO, BMI) は関与していないことが示唆された。

要約:褥瘡を発生しやすい状態にある例では褥

瘡誘発症状を契機として, 褥瘡を発生するのではないかと思われた。

26. 東京慈恵会医科大学附属病院人間ドック受診者の生活習慣病データは一般国民に比べ良好か

¹東京慈恵会医科大学大学院医学研究科健康科学

²東京慈恵会医科大学附属病院新橋健診センター

³東京慈恵会医科大学附属病院晴海健診センター

°和田 高士¹・加藤 智弘²

加地 正伸³

26. Are data on lifestyle-related diseases in Jikei Ningen Dock examinees better than those in the general public? Takashi WADA, Tomohiro KATO, Masanobu KAJI

目的:厚生労働省よりメタボリックシンドロームに着目した特定健康診査の主要項目の結果 (ナショナルデータベース以下NDB) が開示されている。東京慈恵会医科大学附属病院の新橋健診センター (以下新橋) ならびに晴海健診センター (以下晴海) では, 特定健康診査を包括して人間ドックを実施している。当人間ドック受診者の健康状態を明らかにするために, 特定健康診査の主要項目について, 最新版の平成22年度NDB (40~74歳) と新橋・晴海の同年度同年齢層の異常該当率を比較検討し, 特徴を明らかにすることを目的とした。

方法:予防医学上重要なことは, いかに異常者を減らすことである。そこで, NDB (約2,200万人), 新橋 (6,155名)・晴海 (1,735名) のBMI25以上, 腹囲85 cm以上, 収縮期血圧140 mmHg以上, 拡張期血圧90 mmHg以上, LDLコレステロール160 mg/dL以上, HDLコレステロール40 mg/dL未満, 中性脂肪300 mg/dL以上, 血糖126 mg/dL以上の該当率 (服薬者含む) について, 男女別, 5歳刻みの年齢群で比較した。なお異常該当者数が1群当たり10例未満の場合は検討対象外とした。

結果:NDBに比較して新橋・晴海の男性喫煙率は10ポイントほど低く, 女性は同等であった。服薬率は降圧薬 (NDB20%, 新橋19%, 晴海21%), 脂質改善薬 (同順12%, 13%, 11%), 糖代謝改善薬 (4%, 5%, 6%) であったがNDBの

年齢層別服薬率が不明のため比較はできない。NDBと比較した結果、晴海男性の腹囲の異常率が高かった。血糖を除いた項目は、男女とも新橋、晴海データはNDBよりおおむね良好であった。とくに収縮期血圧の異常該当率は約半分であった。

考察：今回の結果は新橋・晴海の保健指導体制が優れているためとは必ずしも言えず、一般国民より健康志向が強い、所属する会社等での保健指導の影響などもある。さらに血糖126 mg/dL以上が、NDBと同等もしくは上まっているという問題が浮き彫りにされた。

結論：おおむね東京慈恵会医科大学附属病院人間ドック受診者の生活習慣病は良好にコントロールされていた。しかし、耐糖能異常に対する指導を今後強化する課題があることも判明した。

27. 急性心不全の血漿BNP濃度に対する肥満の抑制効果について：共分散構造分析を用いた検討

東京慈恵会医科大学内科学講座循環器内科
 °木下 浩司・川井 真
 南井 孝介・小川 和男
 井上 康憲・吉村 道博

27. Potent effect of obesity on suppression of plasma b-type natriuretic peptide levels in patients with acute heart failure: An approach using covariance structure analysis. Koji KINOSHITA, Makoto KAWAI, Kosuke MINAI, Kazuo OGAWA, Yasunori INOUE, Michihiro YOSHIMURA

目的：心不全の診断から治療評価に対する指標として役立つ、血漿B型ナトリウム利尿ペプチド(B-type natriuretic peptide：BNP)濃度を、制御している因子は多く存在する。なかでも肥満はBNP分泌抑制すると考えられているが、十分な検討はなされていない。その理由は体重を構成する因子には、BNP値を上昇させる“体液過剰”とBNP値を低下させる“肥満(脂肪蓄積)”が存在するためである。今回、急性心不全患者の入院時と治療後のBNP値を継時的に見ることで、“真の肥満(脂肪蓄積)”がBNP値に与える影響を検討した。

方法：急性心不全(372症例)の治療前後にお

いて、治療前の体格指数(BMI)を肥満と体液貯留の総合的指標として、治療後のBMIを真の肥満の指標として捉え、共分散構造分析(IBM SPSS AMOS ver.23)を含む統計学的な解析を行った。

結果：重回帰分析では、治療前後でそれぞれBMIと血漿BNP濃度は負の相関を示した。しかし、肥満(治療後BMI)による急性期血漿BNP濃度への影響は不明であり、理論的パスモデルを構築して共分散構造分析を行った。最適モデルでの治療前Log BNPに対する直接的影響力は、治療後Log BNP(標準化直接効果 β :0.484)、治療後BMI(β :-0.506)、入院時BMI(β :0.374)であり、入院時Log BNPに対し入院時BMIは正の相関を、治療後BMIは負の相関を認めた。

結論：高度の統計手法を用いて、入院時BMIは体液貯留の要素を多く含んでいること、肥満が入院時血漿BNP濃度を強く抑制していることが明らかとなった。BNP上昇を伴う体重増加症例は“見かけ上肥満”にみえても体液貯留が主病態である可能性が高く、利尿剤使用などで体重低下をきたす可能性は高い。一方で心不全兆候を呈しているにもかかわらずBNP値が低値である場合、“真の肥満(脂肪蓄積)”がBNP値上昇を抑制している可能性があり、十分な注意が必要と思われた。

28. 我が国の維持血液透析患者における血清尿酸値と全死亡率, 心血管イベントによる死亡率との関連

¹東京慈恵会医科大学内科学講座腎臓・高血圧内科

²東京慈恵会医科大学内科学講座総合診療内科

菅野 直希¹・丸山 之雄¹

西川 元¹・前田 靖子¹

高根 紘希¹・高橋 康人¹

西尾信一郎¹・小林 千紗¹

高橋 大輔¹・木戸口 慧¹

本田 康介¹・森澤 紀彦¹

遣田 美貴¹・三井 理華¹

原 洋一郎¹・疋田 美穂¹

林 文宏¹・石川 匡洋¹

徳留 悟朗¹・大野 岩男²

栗山 哲¹・横尾 隆¹

28. A lower serum level of uric acid is associated with all-cause mortality and cardiovascular mortality among patients receiving hemodialysis in Japan. Naoki SUGANO, Yukio MARUYAMA, Hajime SAIKAWA, Yasuko MAEDA, Koki TAKANE, Yasuhito TAKAHASHI, Shinichiro NISHIO, Chisa KOBAYASHI, Daisuke TAKAHASHI, Satoshi KIDOGUCHI, Kosuke HONDA, Norihiko MORISAWA, Miki YARITA, Ayaka MITSUI, Yoichiro HARA, Miho HIKITA, Fumihiko HAYASHI, Masahiro ISHIKAWA, Goro TOKUDOME, Iwao OHNO, Satoru KURIYAMA, Takashi YOKOO

目的：高尿酸血症は慢性腎臓病の危険因子であることは知られており、我々もすでに報告している。しかし、腎代替療法を受けている患者において、高尿酸血症が心血管イベントの発生や致死率の危険因子になるのか否かは、いまだ一定の見解がない。今回我々は維持血液透析患者において、血清尿酸値が全死亡や心血管イベントによる死亡に対しどのような影響を及ぼすのかについて検討した。

方法：2011年までに日本透析医学会のregistryに登録されていた週3回の維持血液透析患者222,434人に対し2012年までの新規死亡や他の合併症等のイベント発生例を抽出し検討した。

結果：全死亡数は18,775人、心血管イベントでの死亡数は8,094人であった。全死亡率および心血管イベントでの死亡率はベースの尿酸値が高いほど低値であった。多変量ロジスティック回帰分析では、尿酸値8.1 mg/dl以上では6.4 mg/dl未満に

比し全死亡のリスクは男性で0.745倍 (95%CI, 0.6753-0.8207), 女性で0.8333倍 (95%CI, 0.7206-0.9636), 心血管イベントでの死亡リスクも男性で0.7202倍 (95%CI, 0.6266-0.8278), 女性で0.8575倍 (95%CI, 0.7029-1.0462) であった。高尿酸血症治療薬内服有無での層別解析では、内服群では尿酸値と生命予後の間に一定の関連性はなく、多変量ロジスティック回帰分析では、尿酸値が6.1 mg/dl以下においては死亡率が減少した。

結論：我が国の血液透析患者において、血清尿酸値低値は全死亡、心血管イベントによる死亡率が高まることが示された。また、血液透析患者に対する高尿酸血症治療薬の内服は、生命予後の関連性への影響が示唆されるものの、今後更なる検討が必要である。

29. 多能性をもつ adipo-cytokine による再生医療の可能性

¹医療法人社団優慈会佐々木病院

²医療法人社団土合会セントラルクリニック

³日本歯科大学生命歯学部

栗原 邦弘¹・佐々木優至¹

渡辺 美隆²・石川 博³

29. Regenerative therapy with autogenous adipocytokines. Kunihiro KURIHARA, Masashi SASAKI, Yoshitaka WATANABE, Hiroshi ISHIKAWA

目的：新しい治療法、新薬の開発をめざして

方法：脂肪細胞は様々なサイトカイン、ケモカイン、を放出する。それらの多くは生理活性物質として作用している。個々の脂肪細胞に分離することで、サイトカインの放出は身体の成長期に近い細胞活性レベルとなる。このことに着目し、大腿骨近位部骨折、腰部椎体骨折（骨粗しょう症の範疇と診断）の方々にボランティアとして同意を頂（ご本人、ご家族を含む）、脂肪細胞を自己血清を用いて培養し、その培養液をご本人に静脈投与する。

症例：第1例は2011年3月に大腿骨頸部骨折手術時に手術創部より約10gの脂肪組織を採取し、脂肪細胞を分離・培養する。14日後に初回培養液投与を行った。

以後2012年9月までに骨折症例38症例に同様に培養液投与を行った。これらの投与症例の経過

中に消化器系の活性，頭髮の変化，疼痛，炎症，等の改善を認めたことより，対象疾患を拡大し，慢性閉塞性肺疾患，Ⅱ型糖尿病，多発性関節リウマチ，変形性関節症，等に行ってきた。

結果：骨折症例38例中，再骨折を明らかに確認したのは2例（5.3%）であった。他の症例についても供覧する。

考察：脂肪細胞を自己血清で培養し，多種のサイトカインを含む培養液には関節の腫脹，疼痛，等局所の炎症所見の改善，朝のこわばりの改善を得ている。さらに，糖尿病性あるいは慢性下腿潰瘍の治癒を得た結果より，血管新生を誘導し創傷治癒促進が得られた。紅斑性狼瘡の皮膚病変に著効を示した症例では免疫，アレルギー，にかかわるサイトカインの存在も示唆された。

結語：ボランティアとしてご協力頂いた多くの方々により adipo-cytokine の多能性を確認することが得られた。しかし個々のサイトカインの更なる assay が求められる。

新しい治療法，新薬の開発に，追試研究が行われることを望む。

30. 喉頭摘出後，音声獲得を目的とした新しいユニット編成

¹東京慈恵会医科大学形成外科学講座

²東京慈恵会医科大学耳鼻咽喉科講座

³東京慈恵会医科大学附属病院看護部

⁴東京慈恵会医科大学附属病院言語療法士

○石田 勝大¹・岸 慶太¹

兒玉 浩希¹・小林 俊樹²

濱 孝憲²・須田 稔士²

結束 寿²・西谷友樹雄²

森 恵莉²・鈴木三千代³

内山 鮎美³・浅沼 允恵³

松下 菜美³・今川 記恵⁴

近藤由似子⁴

30. Voice restoration after total laryngectomy.
Katsuhiko ISHIDA, Keita KISHI, Hiroki KODAMA,
Toshiki KOBAYASHI, Takanori HAMA, Toshihito
SUDA, Hisashi KESSOKU, Yukio NISHIYA, Eri MORI,
Michiyo SUZUKI, Ayumi UCHIYAMA, Mitsue
ASANUMA, Nami MATSUSHITA, Norie IMAGAWA,
Yuiko KONDO

喉頭，下咽頭癌の治療で喉頭全摘を行う場合が

ある。2015年度全国で年間約650例，東京慈恵会医科大学附属病院（当院）で2015年度23例行っている。喉頭全摘を行うと術後に失声，嗅覚の損失を余儀なくされる。患者のQuality of Lifeを向上させるため，まず患者に意思伝達を行うためのさまざまな方法を医療サイドは提供する必要がある。その方法とは食道発声法，ボイスプロテーゼ法，電気喉頭，筆談が挙げられる。どの方法も長所，短所があり，患者個々に適した最適な方法を医療サイド側で選択する必要がある。しかし各施設での症例数が未だ多くない事もあり，病院単位でチーム医療に取り組んでいる施設はきわめて少ない。今回当院で行っている音声獲得を主の目的としたチーム医療，とくに近年盛んに取り入れられているボイスプロテーゼ法に関して紹介する。

術前より患者に対して失声の代替方法を耳鼻咽喉科腫瘍班，形成外科医師，外来看護師でオリエンテーションを行う。手術終了し退院後に再び同様のオリエンテーションを外来看護師が中心に行う。患者背景，生活環境を考慮しつつ，患者自身の意見を重視し失声の代替方法を決定する。ボイスプロテーゼ法は音声の獲得が容易で，さらに電気喉頭よりも音声の質が良い反面，日々のメンテナンス，患者が負担するコスト面での問題がある。また日々の管理を怠ると，逆に挿入部位の炎症や，誤嚥性肺炎などの合併症を併発する場合があることより，患者が誰でも同様の方法を受けられるわけではない。よって医師，看護師，言語療法士と面談のもとボイスプロテーゼ法の選択を行っている。挿入後は日々の管理法，リハビリテーション，デバイスの選択などを言語療法士と看護師で選択，患者への指導を定期的に施行している。当院では2014年よりボイスプロテーゼの挿入を導入している。現場の実際と音声獲得の成績，現在建設中の新外来棟を見据えた編成などを報告する。

31. 右左シャント診断における新規頸部貼付型プローブと経頭蓋超音波の比較試験

¹東京慈恵会医科大学内科学講座神経内科

²東京慈恵会医科大学附属病院放射線部

³東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター

医用エンジニアリング研究部

○三村 秀毅¹・荒井あゆみ²

比嘉 瞳¹・田邊 真希¹

佐藤 健朗¹・恩田亜沙子¹

池田 雅子¹・松野 博優¹

小松 鉄平¹・作田 健一¹

坂井健一郎¹・寺澤 由佳¹

平井 利明¹・大本 周作¹

豊田千純子¹・窪田 純³

井口 保之¹

31. Comparative study of a novel probe and transcranial Doppler ultrasonography for the diagnosis of right-to-left shunt. Hidetaka MITSUMURA, Ayumi ARAI, Hitomi HIGA, Maki TANABE, Takeo SATO, Asako ONADA, Masako IKEDA, Hiromasa MATSUNO, Teppei KOMATSU, Kenichi SAKUTA, Kenichiro SAKAI, Yuka TERASAWA, Toshiaki HIRAI, Shusaku OMOTO, Chizuko TOYODA, Jun KUBOTA, Yasuyuki IGUCHI

目的：経頭蓋超音波（TCD）は微小栓子検出や右左シャント（RLS）検索に有用であるが、日本人の高齢者では側頭骨の超音波透過性が低く、栓子検出が困難なことが多い、今回我々は、ほぼ全例で超音波が透過する頸部血管で栓子検出を行う為に開発した貼付け型プローブ（PSUP）を用いてTCDと同時にRLS検索を行い、PSUPの臨床的有用性を検証した、

方法：対象は入院時のRLSスクリーニング検査で、中大脳動脈においてコントラスト剤由来の微小栓子（cMES）が1個以上認められた脳梗塞もしくは一過性脳虚血発作の患者である、PSUP（周波数2 MHz、繰り返し周波数5,000 Hz、サンプルボリューム7 mm）を被験者の頸部に貼付し、左総頸動脈血流波形を良好に描出できる位置と深度を探索した後にサージカルテープで固定した、また、TCDを側頭部に固定し、左中大脳動脈血流を測定可能な位置と深度を設定した、生食に空気を攪拌して作製したコントラスト剤を右肘静脈より静注し、バルサルバ負荷なし1回、負荷あり

3回のモニタリング中に検出されるcMES数をカウントし、TCDとPSUPで比較した、

結果：12例の患者（男性11例、年齢中央値49歳）を登録した、1例でTCDとPSUPの電気的な干渉が強く波形が不鮮明であり、1例でPSUPによるモニタリング4回中1回でバルサルバ負荷時の波形が減弱したが、その他は問題なく同時に測定が可能であった、cMES数はすべての症例でPSUPの方がTCDより有意に多かった（cMES総数；PSUP 340個、vs. TCD 203個、 $p=0.002$ ）、

結論：PSUPによる頸部血管における右左シャント検索は、TCDよりもcMES検出数が多く、日本人特に側頭骨ウインドウが不良な高齢者において臨床的に有用である、

32. 東京慈恵会医科大学疫学研究会による茨城県常陸太田市に於ける健康調査と生活習慣改善の取り組み（第9報）

¹東京慈恵会医科大学疫学研究会

²大東文化大学スポーツ・健康科学部健康科学科

³茨城県常陸太田市保健福祉部健康づくり推進課

⁴茨城県常陸大宮保健所

⁵中央労働災害防止協会労働衛生調査分析センター

⁶東京慈恵会医科大学環境保健医学講座

○知野 俊文¹・井瀧 亮¹

南 高岳¹・太田 真²

佐藤 芳孝³・藤枝 隆⁴

清水 英祐⁵・柳澤 裕之⁶

32. Health survey and improvement of lifestyle habits in Hitachiōta City, Ibaraki Prefecture (ninth edition). Toshifumi CHINO, Ryo ITAKI, Kougaku MINAMI, Makoto OTA, Yoshitaka SATO, Takashi FUJIEDA, Hidesuke SHIMIZU, Hiroyuki YANAGISAWA

背景・目的：疫学研究会は、東京慈恵会医科大学の学生によるクラブ活動団体であり、医学生・看護学生が所属している、当研究会では活動目標の一つに、「医療過疎地域の特性を考え、住民自らが健康意識を持ち、健康管理が出来るように働きかけるとともに健康寿命が延長するようお手伝いする」ことを掲げている、2007年夏季より茨城県常陸太田市下宮河内町で活動しており、今回は2015年度（昨年度）の活動内容について紹介する、

方法：下宮河内町は、総世帯数約150世帯、人口400名余である、昨秋この町の住民の中で訪問を受入れた31世帯36人を対象に健康相談を行った、学生3~4名と同窓（医師・看護師）1名、地域の薬剤師・薬学部生1名という班構成で家庭訪問を行い、学生が主導的立場で健康診査結果の説明と健康相談活動を行った、

結果：主な健康診査データを集計し、BMI、収縮期血圧、HDL-C、HbA1cについて年齢区分別に過去3年間の変動、全国平均値との比較を行った、70歳以上において、過去3年間の変動を見ると、(1)BMIは女性で改善、(2)収縮期血圧は男性でやや悪化、(3)HDL-Cは男性で改善したが女性で悪化、(4)HbA1cは男女共に変化なしということであり、悪化している項目がいくつかあるものの、全体的に見ればやや改善していると言える、また、全国平均と比べると、(1)BMIは女性で低値、(2)収縮期血圧は男女共に低値、(3)HDL-Cは男女共に低値、(4)HbA1cは男女共にやや低値となっており、HDL-C以外の項目はほとんど全国平均より健康的な数値であった、

結論：以上より、過去3年間の健診結果において、大きな改善は見られなかったものの、多くの項目で全国平均より健康的な値を維持しており、学生を主体とした健康指導による成果があったと言える、今後は、とくに全国平均より低値であったHDL-C値を改善すること、また、より多くの家庭で訪問を受け入れていただけるよう努力することが必要である、

33. 東京慈恵会医科大学整形外科学講座における透析脊椎症の術後成績：生命予後と患者満足度

東京慈恵会医科大学整形外科学講座

○梶原 隆義・曾嶋 茂
木田 吉城・丸毛 啓史

33. Life expectancy and satisfaction in patients with dialysis associated spondylosis after spinal surgery. Takayoshi KAJIWARA, Shigeru SOSHI, Yoshikuni KIDA, Keishi MARUMO

透析脊椎症57例（平均年齢：65歳、透析期間：17年）の手術成績、生命予後について調査した。

13例で複数回の手術が行われていたが、おおむね満足いく結果が得られていた。死亡例は22例で、術後1年以内の早期死亡例は3例であった。Kaplan-Meier法による5年生存率は67.9%、50%生存率は6~7年であり、手術介入が生命予後に与える影響は少ない。周術期の管理は大変であるが、患者のQOLを考慮すると積極的に手術をすべきである。

34. 階層クラスター分析およびMahalanobis-Taguchi法を用いた査定率・査定額の検討

東京慈恵会医科大学附属病院医療保険指導室

○中島 尚登・長澤 薫子
加藤 里香・島海弥寿雄
横田 邦信

34. An investigation of the assessment rate and the amount assessed with a class-cluster analysis and the Mahalanobis-Taguchi method. Hisato NAKAJIMA, Kaoko NAGASAWA, Satoka KATO, Yasuo TORIUMI, Kuninobu YOKOTA

目的：平成27年度の学校法人慈恵大学では經常収入の90.3%が医療収入であり、診療報酬の査定率・査定額は大学の収支への影響が大きい。よって東京慈恵会医科大学附属病院の診療科別査定率を検討し、査定率・査定額の改善について考察した。

方法：①平成26年度および27年度の、診療科別の月別査定率および査定額を用い、層別クラスター分析により、査定率および査定額が乖離した診療科を分類した。

②Mahalanobis-Taguchi法により、相関係数の逆行列を用いるMahalanobisの距離(MD)を計算し、 $MD > 1.5$ を査定率および査定額が乖離している診療科として抽出した。

③平成27年度の、診療科別入院および外来検査の月別査定額を用いて査定状況を検討し、査定額の多い検査項目を明らかにした。

結果：①層別クラスター分析より、査定率および査定額がともに乖離したのは平成26年度5診療科、平成27年度3診療科であった。また査定率のみは平成26年度3診療科、平成27年度4診療科、査定額のみは平成26年度5診療科、平成27年度5

診療科であった。

②MDにより、査定率および査定額がともに乖離したのは平成26年度5診療科、平成27年度3診療科であった。また査定率のみは平成26年度5診療科、平成27年度6診療科、査定額のみは平成26年度6診療科、平成27年度8診療科であった。

③平成27年度の外来検査では、個別ではDダイマー、超音波検査、HbA1c、包括項目では内分泌学的検査、肝炎ウイルス関連検査の査定額が高額であった。

結論：査定率の高い診療科は幅広い傷病名の確認を、査定額の高い診療科は項目の単価が高いため、高点数にとくに注意を要する。これらの診療科では材料価格が高額である特定保険医療材料の査定が多かった。また査定率および査定額の年度別改善状況はMDの低下で評価可能である。

35. 肺癌に対する胸腔鏡手術：安全な手術と治療成績向上への取り組み

東京慈恵会医科大学附属病院呼吸器外科

塚本 遥・柴崎 隆正
森 彰平・浅野 久敏
山下 誠・尾高 真
森川 利昭

35. Thoracoscopic lung resection for lung cancer: Our efforts to achieve a safe operation and to improve treatment results. You TSUKAMOTO, Takamasa SHIBAZAKI, Shohei MORI, Hisatoshi ASANO, Makoto YAMASHITA, Makoto ODAKA, Toshiaki MORIKAWA

はじめに：胸腔鏡手術の優れた点は身体に負担が少ない低侵襲手術である。最近のさらなる技術の進歩は精密な手術操作を可能にした。低侵襲という恩恵だけに留まらず、開胸手術をしのぐ厳密な手術で安全性、根治性を含めた治療成績の向上という新たな可能性を示すようになった。

目的：東京慈恵会医科大学附属病院呼吸器外科（当科）での肺癌に対する胸腔鏡手術の治療成績を提示し安全な胸腔鏡手術手技の実現について論じる。

方法：1996年から2015年の間に当科で施行した肺癌に対する手術1,113例を対象として胸腔鏡

手術（TS群）757例と開胸手術（OS群）356例の治療成績を比較した。

結果：手術時間TS/OS：中央値226/236分（ $p=0.696$ ），出血量：80/160ml（ $p<0.0001$ ），術後在院日数：7/13日（ $p<0.0001$ ），術後合併症：95例（12.6%）/76例（21.3%）（ $p=0.0002$ ）。開胸手術への変更を47例（6.3%）（肺動脈剥離困難18例，出血16例など）に要した。全生存率83.3%/70.5%（ $p<0.0001$ ），無病生存率86.7%/72.5%（ $p<0.0001$ ）。TS群で出血量と術後合併症発生の減少を示した。TS群では重篤な肺合併症（肺炎，無気肺）が少なかったが軽微な気腫遷延は多かった。術後在院日数の著明な短縮を実現した。開胸手術と同等の予後を示した。開胸術への変更例では肺動脈に関連する操作に伴う原因が多かった。

結論：当科での肺癌に対する胸腔鏡手術は安全性を実現し開胸手術をしのぐ短期治療成績を示した。症例の経験，蓄積を続け長期的な治療成績のさらなる向上をはかる。

36. 東京慈恵会医科大学附属柏病院臨床倫理委員会及び臨床倫理コンサルテーションチームの活動について

¹東京慈恵会医科大学附属柏病院臨床倫理委員会

²東京慈恵会医科大学附属柏病院臨床倫理コンサルテーションチーム

三浦 靖彦^{1,2}・荒井 賞枝²
井上 可奈^{1,2}・卯津羅雅彦^{1,2}
勝俣はるみ^{1,2}・相馬 陽一¹
高橋 直人^{1,2}・長谷川 謙¹
古川はるこ^{1,2}・古谷 伸之²
宮城久仁子^{1,2}・山崎 薫^{1,2}
吉田 博¹

36. Clinical Ethics Committee and Clinical Ethics Consultation in The Jikei University Kashiwa Hospital. Yasuhiko MIURA, Takae ARAI, Kana INOUE, Masahiko UZURA, Harumi KATSUMATA, Youichi SOUMA, Naoto TAKAHASHI, Yuzuru HASEGAWA, Haruko FURUKAWA, Nobuyuki FURUTANI, Kuniko MIYAGI, Kaoru YAMAZAKI, Hiroshi YOSHIDA

はじめに：東京慈恵会医科大学附属柏病院（当院）では、平成26年6月に臨床倫理委員会および

臨床倫理コンサルテーションチームを立ち上げた。

臨床倫理委員会の設置の際に、その下位組織として、臨床倫理コンサルテーションチームを設置した。臨床倫理に関する依頼があった際には、可及的速やかに臨床倫理コンサルテーションチームが、情報の収集および一次アドバイスを依頼者に与え、そのアドバイス内容の妥当性について、臨床倫理委員会が監査する体制を作った。

開設以来約2年が経過したので、これまでの活動内容を振り返るとともに、今後の課題について検討した。

活動内容：2年間に16件の臨床倫理相談があった。相談の概要は、自己決定能力についての問題、救急搬送患者の治療方針について、等が多数を占めた。当院の臨床倫理コンサルテーションの特徴として、チームの一員が緩和ケアチームに所属していることから、緩和ケアチームが介入した患者については、基本的に全員に倫理的アドバイスがされているため、がん患者の治療方針についてのコンサルテーションが少ない。

考察：平成28年6月に開催した臨床倫理委員会において、過去の振り返りを行うとともに、現時点における問題点について検討した。以下、現時点における問題点および対策について記述する。

- ・臨床倫理についての教職員全体への周知が十分でない

- ・助言の効果についての振り返りを行うためにも、相談症例のアウトカムをタイムリーに入手する。

- ・地域連携センター、地域がん拠点病院事業、総合診療部主催のセミナー等との共催により、年2-3回の講演会において、臨床倫理的な話題を提供してきたが、これを継続するとともに、さらに、臨床倫理そのものを学ぶ小勉強会を定期的で開催し、教職員だけでなく、地域の医療・介護従事者の基本的スキルの向上に努める。

- ・チームメンバー、委員のスキル向上のために、各地で開催される臨床倫理に関する講習会情報を逐次提供する。

37. 東京慈恵会医科大学歯科における薬剤関連顎骨壊死 (MRONJ) 患者の実態調査

東京慈恵会医科大学歯科
 高山 岳志・秋山 浩之
 加藤友莉奈・押岡 弘子
 小泉 桃子・高倉 育子
 林 勝彦

37. Clinical investigation in our department of patients with medication-related osteonecrosis of the jaw. Takeshi TAKAYAMA, Hiroyuki AKIYAMA, Yurina KATO, Hiroko OSHIOKA, Momoko KOIZUMI, Ikuko TAKAKURA, Katsuhiko HAYASHI

目的：ビスフォスフォネート (Bisphosphonate, 以下BP) 製剤は、固形癌の骨転移や腫瘍随伴性の高カルシウム血症、多発性骨髄腫などの骨関連事象の予防や治療、また骨粗鬆症などの骨代謝疾患の治療に広く用いられている。しかし、その有害事象であるBP製剤に関連した顎骨壊死 (Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: BRONJ) は、一度発症すると壊死組織の掻爬や抗菌薬などの治療には反応しにくく難治性である。また、近年、BP製剤とは作用機序の異なる抗RANKL抗体製剤 (デノスマブ) や、血管新生阻害薬 (ベバシズマブ, スニチニブ) などの新規治療薬に関連した顎骨壊死の報告も散見され、薬剤関連顎骨壊死 (Medication-related osteonecrosis of the jaw: MRONJ) と総称されるようになった。今回、東京慈恵会医科大学附属病院歯科 (当科) でのMRONJ発症状況を調査した。

対象・方法：調査対象は、2014年1月から2016年1月に当科を受診し、MRONJと診断した24例とした。年齢、性別、原疾患 (骨粗鬆症または悪性腫瘍病名)、薬剤名、薬剤開始時期から顎骨壊死発症時までの投与期間、ステロイド使用の有無、糖尿病の既往の有無、抗腫瘍薬による化学療法の有無、発症契機、顎骨壊死の発症部位、stage分類、加療内容、顎骨壊死発症後の薬剤継続の有無について、担当医がプロトコールに記入した。なお、MRONJの診断は、米国国際顎顔面外科学会 (AAOMS) により定義された診断基準に沿って行った。

結果：24例のうち原疾患は乳癌、前立腺癌の患者が多く14例だった。投与経路は注射剤が18

例、経口剤が6例で、そのうち新規治療薬単体投与は7例であった。部位別では下顎が20例、上顎が4例で、ほぼ全例でリスクファクターのうち化学療法、ステロイド療法、糖尿病のいずれかを認めた。stage分類では、Iが4例、IIが14例、IIIが6例だった。発症契機としては、自然発症が14例、外科処置後が10例であった。

考察：骨吸収抑制薬や血管新生阻害薬の投与中患者では、顎骨への外科的侵襲や細菌感染などがMRONJ発症に深く関与している可能性が示唆される。そのため、これらの薬剤投与前に抜歯などの外科処置を完了することや、投与中は定期的な歯科受診や口腔管理を徹底し、口腔内感染症に留意する必要がある。

38. 東京慈恵会医科大学附属第三病院における多発性嚢胞腎・遺伝性腎疾患遺伝カウンセリング外来開設とその経過報告

¹東京慈恵会医科大学附属第三病院腎臓・高血圧内科

²東京慈恵会医科大学附属第三病院医療連携室

○花岡 一成^{1,2}・上田 裕之¹

加藤順一郎¹・田中 舞¹

中島 章雄¹・高橋 大輔¹

中村 幸生²

38. A report on the opening of an outpatient clinic of genetic counseling for polycystic kidney disease and genetic renal diseases at The Jikei Daisan Hospital. Kazushige HANAOKA, Hiroyuki UEDA, Junichiro KATO, Mai TANAKA, Akio NAKAJIMA, Daisuke TAKAHASHI, Yukio NAKAMURA

背景：多発性嚢胞腎は、両側腎臓に嚢胞が多数形成し、腎障害進行のため約半数の患者が透析など腎代替療法を受ける遺伝性疾患である。同時に脳動脈瘤や大腸憩室など全身合併症を有し、日本での推定患者数は約5～10万人である。東京慈恵会医科大学（本学）では2005年、附属病院（本院）に日本初の多発性嚢胞腎専門外来を開設し、現在は附属第三病院（当院）も含めて約500人の患者が受診している。

遺伝カウンセリング外来開設の経緯：多発性嚢胞腎の診療では結婚・妊娠、子供、遺伝子解析などの遺伝カウンセリング希望がある。従来、通常診療で遺伝カウンセリング（無償）を実施してき

たが、時間的な制約もあり、十分に要望に応えることができなかった。現在まで本学には遺伝子診療部門がなく、外にも腎臓領域の遺伝カウンセリングを行う医療機関はほぼ皆無で、多発性嚢胞腎に対する遺伝カウンセリングを実施する環境整備が急務であった。当院では2015年9月1日より自費診療の遺伝カウンセリング外来を開設した。当院受診の患者のほか、かかりつけ主治医からの紹介患者を対象に医療連携室で診療予約を調整し、総合医療支援センター面談室で実施している。

カウンセリング実施のまとめ：2015年9月1日より2016年7月30日までの10ヵ月間で、13名の遺伝カウンセリングを実施。クライアントの平均年齢44.4歳、男5名、女8名。紹介元は附属病院2名（15.4%）、附属第三病院2名（15.4%）、その他9名（69.2%）。クライアント単独4名（30.8%）、同伴者あり9名（69.2%）（平均0.92名）。疾患発症者11名（84.6%）、未発症者2名（15.4%）。疾患：多発性嚢胞腎12名（92.3%）、ミトコンドリア病1名（7.7%）。希望のカウンセリング内容は遺伝一般、疾患概念、経過、予後、生活上の注意、治療について（80%以上）、結婚・妊娠、子への遺伝、腎移植（15～40%）であった。これまでに遺伝子解析を6名（46.2%）に実施。実施時間は平均1時間30分。

まとめ：本邦初となる遺伝性腎疾患の遺伝カウンセリング診療を開始した。慈恵以外の医療機関で診療を受けている患者の希望も多く、本外来が診療の質を高めるとともに、新たな患者の紹介にもつながることがわかった。

39. フェムトセカンドレーザーが有用であった難症例白内障手術の2症例

東京慈恵会医科大学眼科学講座

○牧野 輝美・小川智一郎

常岡 寛

39. Femtosecond laser-assisted cataract surgery in complicated cases. Terumi MAKINO, Tomoichiro OGAWA, Hiroshi TSUNEOKA

目的：フェムトセカンドレーザー併用白内障手術（以下FLACS）は、従来術者の手によって行われていた創口作成・前囊切開・核分割などを、

前眼部長干渉断層像 (OCT) で得られた設計図を基にコンピューター制御下でフェムトセカンドレーザーを用いて行うことによって、超音波乳化吸引術 (以下PEA) をより安全で正確にする術式である。チン小帯断裂、成熟白内障などの難症例では、前囊切開で連続環状囊切開 (以下CCC) を成功させることが術中合併症のリスクを下げるうえで重要であるが、術者の高い技量が要求される。今回、このような難症例白内障に対しFLACSを行うことで正確なCCCが作成でき、安全に手術が施行できた2症例を経験したので報告する。

症例1: 50歳男性。2ヵ月前からの左眼視力低下を主訴に来院。核と後囊下の白内障を認めた。FLACSにてCCCおよび核分割を施行した後に、PEAにて核の乳化吸引を行ったところ、6時から9時方向に硝子体脱出、チン小帯断裂の存在を確認した。レーザーにてCCCが完成していたため、カプセルエキスパンダーを使用しPEA再開。水晶体囊拡張リング挿入後、眼内レンズを挿入して手術を終了した。術後、矯正視力は1.2であり経過良好である。

症例2: 38歳女性。1年半前からの右眼視力低下を主訴に来院し、成熟白内障を認めた。フェムトセカンドレーザーにてCCCを完成させたのちに、核と皮質を吸引除去して多焦点眼内レンズ挿入し、術中合併症なく手術を終了した。術後、遠方裸眼視力1.5、近方裸眼視力1.0であり、経過良好である。

考按: チン小帯脆弱や成熟白内障のような難症例に対しFLACSを行うことで、術中合併症の発生を減少させ安全に白内障手術を行えるため、FLACSは患者QOLの向上に非常に有用な術式であると思われる。

40. 精巣悪性混合性胚細胞性腫瘍における卵黄囊腫瘍に関する免疫組織化学的検討

東京慈恵会医科大学附属病院病理解剖部

寺田 怜菜・鶴飼なつこ

佐藤 峻・鷹橋 浩幸

40. Immunohistochemical analyses of yolk sac tumor component in testicular malignant mixed germ cell tumor. Rema TERADA, Natsuko UKAI, Shun SATO, Hiroyuki TAKAHASHI

目的: 日常の病理診断では、精巣悪性混合性胚細胞性腫瘍における卵黄囊腫瘍成分の診断の際に、ほかの胚細胞性腫瘍との鑑別を目的としてAFPを用いた免疫染色が行われる。しかしながら、AFP陰性となる卵黄囊腫瘍も少なくなく、診断に難渋することもある。一方、近年、卵黄囊腫瘍に感度の高いマーカーとしてGlypican3が注目されている。そこで今回、卵黄囊腫瘍の診断におけるAFPとGlypican3の有用性を比較、検討した。

方法: 症例は2000～2007年に東京慈恵会医科大学附属病院にて高位精巣切除術を施行され、卵黄囊腫瘍成分を含むと診断された精巣腫瘍15例。それぞれの症例から、HE染色で典型的な卵黄囊腫瘍の組織像を示す領域を1ヵ所以上、計47ヵ所抽出した。それぞれの領域についてAFP、Glypican3の免疫染色を施行し、各々の抗体の陽性率を比較、検討した。

結果: それぞれの抗体の陽性率は、Glypican3が80.9% (38ヵ所)、AFPが44.7% (21ヵ所)であった。Glypican3とAFPの双方陽性が42.6% (20ヵ所)、Glypican3のみ要請が38.3% (18ヵ所)、AFPのみ陽性が2.1% (1ヵ所)、いずれの抗体も陰性の症例が17.0% (8ヵ所)であった。

考察: Glypican3はAFPと比較して陽性率が高く、AFP陰性の症例でも多くで陽性となった。よって、Glypican3はAFPと比較して、より有用な卵黄囊腫瘍のマーカーとなりうると思われる。

41. ロービジョン者をソーシャルサポートにつなげるための道筋と俯瞰的視点：初年次医学・看護学教育における試み

¹東京慈恵会医科大学分子生物学講座

²国立研究開発法人理化学研究所多細胞システム形成研究センター網膜再生医療研究開発プロジェクト

³東京慈恵会医科大学眼科学講座

°大城戸真喜子¹・仲泊 聡^{2,3}

41. A “bird’s-eye view” connecting low-vision patients to social support: an approach in the medical education program at The Jikei University School of Medicine. Makiko OKIDO, Satoshi NAKADOMARI

背景:ロービジョンとは、視覚に障害を受け「見えにくい」「まぶしい」「視野が狭くて歩きづらい」など日常生活の不自由さをきたしている状態を示す。歩行訓練などの生活訓練や職業訓練で生活を再構築する視覚リハビリテーション（視覚リハ）は、一般の病院で行われているリハとはしくみや制度が違う。そのため、病院で始めることができないこと、また、どの施設でどの訓練が受けられるのかがわかりにくいことなどから、一般のリハに比べて、医療から橋渡しをしにくいことが問題となっている。さらに、その連携が各地の事情に合わせて模索されているなか、この状況は複雑さを増している。

目的と方法：このような状況を俯瞰的視点で捉えることのできる将来の医療-福祉連携の担い手の育成を目指し、2007年度より医学科1年生の「医学総論Ⅰ演習」でロービジョンをテーマに「福祉や盲学校との関わりあい」「医療をとりまくしくみや制度」を取り上げる試みを始めた。さらに、2012年度からは医学科・看護学科1年生の共修授業「医療総論演習」において、視覚障害当事者、関連施設等の職員や医療連携室から招いた講師とディスカッションを行った。それら演習の前後で学生の意識の変化について、リアクションペーパーを用いて評価を行った。

結果と考察：初年時の医療系学生の俯瞰的視点を刺激するためには、紙面上のシミュレーションや患者の生の声を通して、患者が置かれている社会的状況への「気づき」や、次のステップにつなげる「気づき」を得ることが重要であると考えら

れた。2013年に仲泊（前国立障害者リハビリテーションセンター病院第二診療部長）が開設したロービジョン支援ホームページでは、支援に関する情報とともに、約20の質問に答えることで必要な支援を判定する『ファーストステップ』が提供され、ロービジョンを専門としない関係者にも必要な情報が得られるようになっている。現在、医療と視覚リハを含む障害者支援との連携は、地域ごとに特色ある制度が構築されつつあり、地域の医療連携室を介して視覚リハへつなぐ実例が増えていくことが推察される。

42. 看護部 総合周産期母子医療センター人材育成タスクフォース活動報告

東京慈恵会医科大学附属病院看護部

°小澤かおり・佐藤 恵
梅木 妙・田村 宏美
内藤 安子・及川 香織
吉原 章子

42. Activity report: Women’s and Children’s Medical Center task force for human resource development during the perinatal period. Kaori OZAWA, Megumi SATO, Tae UMEKI, Hiromi TAMURA, Yasuko NAITO, Kaori OIKAWA, Shoko YOSHIHARA

目的：総合周産期母子医療センター2019年11月開設を機会とした看護部人材育成計画内容を明らかにする。

方法：総合周産期母子医療センターでのありたい看護を具現化し、人材育成計画を立案する。

結果：

《総合周産期母子医療センター人材育成タスクフォース活動》

I 目的：総合周産期母子医療センター開設に向けて、さまざまな段階にある母子に全力を尽くしてバトンをつなぎ心のこもった支援ができる人材を育成する。

II 教育・支援目標；1. 妊娠、妊婦・胎児、出産、退院調整、育児、地域連携のすべてのプロセスをチーム連携でサポートする構造と各専門職者の役割を理解し、幅広い看護実践力をみにつけることができる。2. 母子・家族の個別性を捉え、

それに応じることと母子の安全を守ることの双方から判断できる力をもつことができる。3. もてる力で生まれてきた子と母を中心とした家族すべてが、自らの持てる力を発揮し、社会の支援も受けながらいきいきと生活できるよう支援する調整ができる。4. 『生まれてこなかったいのち』『生まれてから育つことができなかつたいのち』に寄り添い、母と家族をささえることができる。5. 他施設の良質な医療とマネジメントの実際を見て、今後の運営や人材育成の基盤づくりに参画できる。6. 明るく活気ある職場づくりのリーダーシップをとり、医療チームメンバーと一枚岩になることができる。

Ⅲ教育・支援内容：1.新採用者教育計画2. 他院研修計画3. はぐくみプロジェクトの支援4. 院内トレーディングの支援5. 4病院トレーディング6. Fナイチンゲール著作抄読会事例検討会の支援7. マネジメント力、コミュニケーション力向上の支援8. 専門看護師、認定看護師の必要分野の検討と育成、採用人数の査定

結論：新病院開設にむけ、看護部 総合周産期母子医療センター人材育成タスクフォース活動案をもとに、計画・実施・評価を繰り返し、目的に照らした人材育成を行う。

43. 東京慈恵会医科大学附属病院で施行した生体肝移植 18例の検討

東京慈恵会医科大学附属病院肝胆膵外科

高野 裕樹・柴 浩明
中瀬古裕一・春木孝一郎
鈴木 文武・恩田 真二
坂本 太郎・後町 武志
脇山 茂樹・宇和川 匡
石田 祐一・矢永 勝彦

43. Living donor liver transplantation: an institutional experience of 18 cases. Yuki TAKANO, Hiroaki SHIBA, Yuichi NAKASEKO, Kouichiro HARUKI, Fumitake SUZUKI, Shinji ONDA, Taro SAKAMOTO, Takeshi GOCHO, Shigeki WAKIYAMA, Tadashi UWAGAWA, Yuichi ISHIDA, Katsuhiko YANAGA

肝移植は他に治療法のない末期肝不全状態に対する根治的治療であり、肝炎ウイルス、薬剤、自

己免疫などに起因する肝硬変や急性肝不全など多くの疾患が適応となる。また硬変合併肝癌に対しては、慢性肝疾患と癌を同時に根治できる手技として注目されている。

1960年代の初めから開始された肝移植は、現在までに世界で10万例以上が行われ、末期肝不全に対する標準治療となっている。本邦では1989年に1例目の生体肝臓移植が行われ、現在までに施行された肝移植はそれぞれ生体肝臓移植7800例、脳死肝臓移植350例となっている。東京慈恵会医科大学附属病院（当院）では2007年より生体肝移植を開始し、現在までに18例の生体肝移植を行った。

レシピエントの平均年齢50.3歳（16-65歳）、男女比は7:11と女性が多く、ドナーは続柄親、兄弟、子であり、平均年齢は41.7歳（18-66歳）、男女比9:9であった。レシピエントの原疾患は原発性胆汁性肝硬変（PBC）が10例と最多となっている。また18例中2例にはミラノ基準内の肝細胞癌の合併を認めていた。ABO血液型不適合は、18例中2例であった。レシピエント、ドナーともに術後重篤な合併症を認めず、レシピエントの術後在院日数は30.5日と短く、ドナーも術後10.5日で退院し、全員が早期に術前状態に復帰している。レシピエントは原疾患の再発による死亡2例を含むが、レシピエントの5年生存率は、当院では82.5%（全国で77.4%）と良好であった。

当院における肝移植の成績は短期予後で極めて良好であり、長期予後でも全国的に見て良好であった。今回、当院での課題や今後の取り組みにつき文献的考察を加えて報告する。

44. ニボルマブ投与中止13ヵ月後もCRを維持した線維形成性黒色腫の肺転移例

¹東京慈恵会医科大学皮膚科学講座

²東京慈恵会医科大学形成外科学講座

○金谷 瑠奈¹・延山 嘉真¹

伊藤 宗成¹・伊東 慶悟¹

谷戸 克己¹・中川 秀己¹

石田 勝大²

44. Case of desmoplastic melanoma with lung metastasis in which complete response was maintained for 13 months after cessation of nivolumab. Runa KANAYA, Yoshimasa NOBEYAMA, Munenari ITOH, Keigo ITO, Katsumi TANITO, Hidemi NAKAGAWA, Katsuhiko ISHIDA

ニボルマブ（ヒトIgG4モノクローナル抗PD-1抗体）は免疫チェックポイント阻害剤である。同薬剤の持続投与により切除不能stage IIIおよびstage IVの悪性黒色腫に対して、奏効率40%であることが報告された。従来の化学療法と比べ、顕著に奏効率が優れていることから、2014年7月に本邦で切除不能悪性黒色腫に対する治療薬として承認された。一方、complete response (CR) を得たのち、投与を中断した場合、CRが維持されるかどうかは知られていない。今回、われわれは、ニボルマブ投与中止13ヵ月後もCRを維持している線維形成性黒色腫（desmoplastic melanoma）の1例を経験した。47歳，白人男性。初診の1ヵ月前より出現した右耳前部の結節性病変を主訴に東京慈恵会医科大学附属病院皮膚科を受診した。初診時，直径10 mm，ドーム状に隆起する一部褐色調の硬い紅色結節がみられた。ダーモスコピー像で，白色領域周囲に不規則に拡張した毛細血管を認め，一部同心円状に褐色調の領域がみられた。組織学的検索にて線維形成性黒色腫であることが，また，センチネルリンパ節生検にて右耳下腺リンパ節への転移が確認された。Stage IIIA (T4aN1aM0) と判断し，拡大切除術に加えて頸部リンパ節郭清術を施行後，Feron療法（インターフェロンβ 300万単位/回，局所注射，10回/1コース）を5コース施行した。術後7ヵ月で多発肺転移が確認され，stage IV (T4aN1aM1b) と診断し，ニボルマブ（1回2 mg/kg，3週間隔，経静脈投与）を開始した。ニボルマブ3コース投与後，

complete response (CR) を獲得したが，grade 2の腎障害やgrade 1の甲状腺障害，grade 1の肝障害が出現し，患者の希望により治療を中断した。ニボルマブ投与中止13ヵ月後現在，CRを維持している。

45. 卒前画像診断教育におけるe-learning materialとしてのCase Matchの活用について

東京慈恵会医科大学放射線医学講座

○藤井百合子・佐久間 亨

川上 剛・太田 智行

渡辺 憲・渡嘉敷唯司

福田 国彦

45. Case Match as an e-learning material for an undergraduate radiology education. Yuriko FUJII, Toru SAKUMA, Go KAWAKAMI, Tomoyuki OHTA, Ken WATANABE, Tadashi TOKASHIKI, Kunihiko FUKUDA

目的：今回の卒前教育カリキュラム改革において，坐学の時間を短縮し臨床実習の拡充が図られることとなった。カリキュラム改革が円滑に行われるためには，学生の自己学習環境の整備も必要である。放射線医学講座では画像保存通信システム（Picture Archiving and Communication Systems：PACS）の端末を利用した類似症例検索システム（SYNAPSE Case Match）を学生の画像診断教育に利用している。現在，学生が閲覧できる端末は図書館に設置された8台である。また，学生のCase Match活用を促進させるために，このシステム内に納めた症例を平成27年度臨床医学IIの後期試験の画像診断の出題の対象とすることを予め伝達した上で，試験問題として出題した。本研究の目的は自己学習e-learning materialとしてのCase Matchの有用性を学生へのアンケート調査をもとに分析することである。

方法：Case Matchに登録した教育用症例の中から152症例を選出して，平成27年度臨床医学IIの後期試験の試験対象とし，画像診断の問題46問中28問（追試験を含めると69問中41問）を出題した。学生には2015年の夏からCase Matchの症例の中から出題することをmsメールで数回にわたり伝達し周知を図った。試験終了後に，Google

Formを使用し、msメールでe-learning materialとしてのCase Matchについてのアンケート調査を行った。

結果：5年生121名に対してアンケートを行い77名から回答が得られた。その結果、どのように閲覧したかについては、自分ひとりが24.7%、仲間と閲覧が15.6%、自分ひとりと仲間との混合が59.7%であった。Case Matchから試験問題を出題したことについては、76.6%の学生が良かったと答え、その83.1%はCase Matchを通して沢山の画像を見ることができたからと回答した。出題対象をCase Matchの152症例に設定したことについては、77.9%がこの程度が丁度良かったと回答した。閲覧端末については、図書館以外の学内でも閲覧できると良いが74%、自分の携帯端末でも閲覧できると良いが70.1%であった。

結論：自己学習環境の整備の一環として導入したe-learning materialを学生に積極的に活用させるには、魅力的なe-learning materialの開発と導入、学生が活用し易い環境の構築、自己学習の成果を学生評価の中に盛り込むことが必要である。