

wa T, Aizawa Y, Tanaka Y, Iio E, Kumada T, Iwakiri K. (Poster) Efficacy and safety of glecaprevir/pibrentasvir in patients with severe renal impairment in Japan: a prospective, multicenter study (KTK 49 Liver Study Group). The International Liver Congress 2019. Vienna, Apr.

- 16) 加藤慶三, 安部 宏, 坪田昭人. (シンポジウム 10: 肝硬変の診断と治療の最前線) 肝性脳症に対する rifaximin 使用例の予後の検討. 第 105 回日本消化器病学会総会. 金沢, 5 月.
- 17) 河野惟道, 厚川正則, 肥田 舞, 吉田祐士, 大久保知美, 新井泰央, 岩下 愛, 糸川典夫, 近藤千紗, 加藤慶三, 島田紀朋, 坪田昭人, 岩切勝彦. (口頭) NAFLD 患者の vitamin D 代謝の特徴~vitamin D 介入試験の結果も含めて~. 第 55 回日本肝臓学会総会. 東京, 5 月.
- 18) 立花利公. (顕微鏡技術チュートリアル: 電子顕微鏡観察のための生物試料作製法の基礎とトラブルシューティング) 動物試料について. 日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会. 名古屋, 6 月.
- 19) 立花利公, 五十嵐 (武内) 寛子, 沼部幸博. (ポスター) ヒト歯肉線維芽細胞および歯周靭帯細胞に対する禁煙に対する喫煙炎症反応の影響. 日本顕微鏡学会第 62 回シンポジウム. さいたま, 11 月.
- 20) Takeuchi-Igarashi H, Kubota S, Tachibana T, Numabe Y. (Poster) Matrix remodeling response of human periodontal tissue towards fibrosis upon nicotine exposure. Global Symposium on Challenges and Solutions of Periodontal and Implant Therapy. Taipei, Nov.

実験動物研究施設

教授: 嘉糠 洋陸 寄生虫感染と衛生動物学
講師: 櫻井 達也 分子寄生虫学

教育・研究概要

I. アフリカトリパノソーマと宿主およびベクターとの相互作用に関する研究

アフリカトリパノソーマ症はツェツェバエ (*Glossina* spp.) によって媒介される人と家畜の致死性の原虫感染症である。アフリカトリパノソーマ原虫は、細胞表面蛋白質の高頻度な抗原変異により宿主の免疫を回避する。このため、アフリカトリパノソーマ症に有効なワクチンは存在しない。原虫の発育ステージ間の細胞分化は、アフリカトリパノソーマ症制御法を開発する上で有望な標的と目されるが、その分子メカニズムは未解明である。我々は全発育ステージの *in vitro* 培養が可能な *Trypanosoma congolense* を用いて、ベクターステージから宿主ステージへの細胞分化の分子メカニズムの解明を目指している。原虫が宿主に感染した後の感染動態を経時的に解析するために、レポーター遺伝子であるルシフェラーゼ遺伝子と enhanced green fluorescent protein (EGFP) 遺伝子を導入したベクターステージ虫体を作成した。今後、この組換え原虫を用いた *in vivo* イメージング解析を通じて、原虫の宿主体内での感染動態解析やワクチン候補分子の評価実験などを展開する予定である。

II. コモンマーモセットの術後悪心嘔吐 (Post Operative Nausea and Vomiting: PONV) に関する研究

コモンマーモセット *Callithrix jacchus* は、ヒトとの遺伝学的相同性が高く、高度な社会性をもつ小型霊長類である。マーモセットでは麻酔合併症として導入時および覚醒時にしばしば嘔吐が認められる。我々はこれまでに多変量解析によってマーモセットにおける PONV のリスク因子の探索を行い、吸入麻酔、長時間の全身麻酔などで有意に嘔吐しやすくなることを見出した。さらに、嘔吐のコントロールを目的として、ニューロキニン 1 受容体拮抗薬であるクエン酸マロピタントを加えた麻酔プロトコルを検討した。その結果、術前のマロピタント投与により、注射麻酔と吸入麻酔いずれにおいても有意に嘔吐を抑制することが明らかになった (第 66 回日本実験動物学会総会ポスター発表)。引き続き異なる

機序の制吐剤について検討を継続している。

Ⅲ. アミノ酸摂取量の調整によるマラリア制御の可能性

マラリアは最も重要な寄生虫感染症の1つであり、薬剤耐性株の出現などから、この疾病に対する新規の予防・治療法の確立が強く望まれている。マラリア原虫は大部分のアミノ酸生合成経路を欠損しており、増殖に必要なアミノ酸の一部を感染宿主の血漿から得ている。宿主とマラリア原虫との相互作用についての理解を深めるため、我々は宿主の血漿に含まれる遊離アミノ酸の網羅的な組成（血漿アミノグラム）をメインパラメータとし、栄養学的知見に基づくマラリア制御の可能性を検討している。脳性マラリアのモデルマウスとしても使用されるC57BL/6Jを用いたこれまでの解析から、イソロイシン欠損食の投与による血漿アミノグラムの変化により、脳に寄生する原虫数は変化しないにも関わらず、マウスの生存率が上昇する結果を得ている（＝脳性マラリアトランス）。興味深いことに、ギムザ染色を施したマウスの血液塗抹について、蛍光顕微鏡を用いて丁寧に観察したところ、イソロイシン欠損食群において、赤血球の直径が小型化していることを見出した。一方で、イソロイシン不含培養液を用いて熱帯熱マラリア原虫を培養したところ、同様の変化は認められなかった。これらは、イソロイシン欠損食の投与が赤血球の成熟過程に影響し、赤血球が小型化した結果、感染宿主に脳性マラリアトランス能が付与された可能性を示唆する。現在は、マウスモデルを用いて、イソロイシン欠損状態が宿主赤血球の大きさおよび脳性マラリアの重症度に与える影響について検討している。

「点検・評価」

1. 施設

実験動物研究施設では、in vivo 研究に不可欠な実験動物の飼育管理だけにとどまらず、洗練された動物実験環境の提供を研究者に行い、またさらに動物実験の立案や手技などに関するコンサルテーションに応じている。2019年度の実験動物研究施設利用登録者は、臨床系23講座、基礎系15講座、総合医科学研究センター15部門等からあわせて868名（2020年3月31日時点）であり、前年度と比べて約60名増加した。この傾向は数年来続いており、本学で実施される医科学研究において、実験動物研究施設の果たす役割と重要性が年々増していることを表していると考えられる。当施設では、本学の研

究者が動物実験を行うためのコアファシリティとして、多様化するin vivo研究技術や実験動物種の飼養に対応すると同時に、実験動物福祉の基本理念である3Rsの精神に則って、より少ない動物数で低侵襲的に高機能な解析が実施可能な環境の整備を推し進めている。嘉穂洋陸施設長の指示のもと、櫻井達也講師が中心となって、高性能in vivoイメージング機器群や実験動物用麻酔器等の実験機器の使用環境の整備と動物飼育室・実験室のスペースの更なる有効活用を推し進め、施設の高機能化を図っている。また、ユーザー対応の充実の一環として、新規施設利用者に対する施設利用説明会（2009年度より開催）を2回、動物実験に不慣れな研究者を対象とした基礎的な動物実験手技の技術講習会（2010年度より開催）を6回開催した。

2. 教育

大学院医学研究科では、共通カリキュラムにおいて実験動物学の講義および動物実験実習を担当したほか、大学院生の要望に応じ各自の研究課題の中で必要な動物実験の計画立案や手技の指導を随時行った。学部教育について、櫻井講師が、コース研究室配属で配属となった2名の医学部生（3年生）を担当し、6週間にわたり実験を実施したほか、コース外国語Ⅲのユニット「医学英語専門文献抄読Ⅰ」でも2名の医学部生（3年生）を担当し、科学論文の読み方、特に構成や特有の英語表現等について解説した。また、医学部生（3年生）を対象としたコース臨床基礎医学のユニット「寄生虫と感染」の講義およびユニット「寄生虫学実習」の一部を担当した。医学生が研究室配属や選択実習において動物実験に関わる機会が増えていることなどから、今後も施設教員が医学科カリキュラムに積極的に参加し、持てる専門知識・能力を発揮することで、引き続き学部教育に貢献していただくことが望まれる。

また、当施設専任教員は、獣医学の専門知識を有する委員として本学動物実験委員会の運営に参画し、動物実験委員長の統轄下に、本学動物実験規程に基づいて行われる動物実験教育訓練および動物実験計画書審査の講師・審査員を担当した他、随時、動物実験計画申請者からのコンサルテーションに応じた。

3. 研究

研究概要に示したように、施設教職員が各々の専門領域の下で研究活動を展開した。また、施設利用者との共同研究も積極的に行い、学会発表等を行った。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Kawahata K, Cordeiro IR, Ueda S, Sheng G, Moriyama Y, Nishimori C, Yu R, Koizumi M, Okabe M, Tanaka M. Evolution of the avian digital pattern. *Sci Rep* 2019; 9(1): 8560.

III. 学会発表

- 1) 小泉 誠, 牟田佳那子, 太田裕貴, 岡野ジェイムス洋尚. (ポスター) コモンマーモセットにおける術後悪心嘔吐傾向と予防法の検討. 第66回日本実験動物学会総会. 福岡, 5月. [第66回日本実験動物学会総会抄録集 2019: 118]
- 2) 山崎愛理沙, 中村達朗, 宮部貴子, 平田暁大, 井上理香子, 小林幸司, 宮崎悠介, 石上暁代, 兼子明久, 小泉 誠, 太田裕貴, 岡野ジェイムス洋尚, 村田幸久. (ポスター) マーモセット消耗症候群における尿中脂質代謝産物の産生プロファイル. 第66回日本実験動物学会総会. 福岡, 5月. [第66回日本実験動物学会総会抄録集 2019: 33]

アイソトープ実験研究施設

教授：尾尻 博也 放射線診断学
教授：朝倉 正 がんの生化学
講師：箕輪はるか 放射線化学・生物

教育・研究概要

I. プロテアソーム阻害剤耐性細胞の上皮間葉転換 (EMT) 誘発機構の解明

子宮内膜がん細胞 Ishikawa は、プロテアソーム阻害剤 Epoxomicin (EXM) に対して耐性を獲得 (Ishikawa/EXM) することで EMT を誘発し、miR200 の発現低下に伴い ZEB1 発現を誘導し E-cadherin の発現が消失した。このことは、Ishikawa/EXM に miR200 を導入することで、ZEB1 の発現が抑制され E-Cadherin の発現が回復したことから明らかであった。Ishikawa/EXM は dual specificity protein phosphatase 6 (DUSP6) の発現が消失し、ERK1/2 のリン酸化が亢進していた。ERK1/2 のリン酸化亢進により FOS like 1, AP-1 transcription factor (FOSL1) の発現が亢進した。FOSL1 の発現を制御することにより FOSL1 が miR200 の発現を抑制していることがわかった。

一方、Ishikawa/EXM で CD44 の発現亢進が見られ、Ishikawa 細胞ではその発現は見られなかった。Ishikawa に CD44 を過剰発現させると、DUSP6 の発現が消失した。これに伴い FOSL1 の発現と miR200 の発現抑制、ZEB1 の発現亢進が観察された。

これらのことから、CD44 の発現のない Ishikawa では DUSP6 発現により ERK1/2 のリン酸化レベルは低下し、FOSL1 の発現低下に伴い miR200 が発現し ZEB1 の発現が抑制され、E-cadherin が発現した。一方、Ishikawa/EXM ではがん幹細胞化することにより CD44 が発現し、CD44 による DUSP6 発現抑制が ERK1/2 のリン酸化レベルを亢進し、FOSL1 の発現を誘発した。その結果、miR200 が消失し ZEB1 の発現に伴い E-cadherin の発現が抑制された。

II. 薬剤耐性がん細胞に対するクルクミンおよびプロドラッグ型クルクミン (CMG) による化学療法

腸がんの約 40% に認められている KRAS 遺伝子変異は、オキサリプラチンに対する治療抵抗性の要因であると考えられており、この治療抵抗性のメカ