

Ashikava Medical University Research Bulletin

2014 Feb. vol.14

# 旭川医科大学研究フォーラム 第14巻 (平成26年刊) 目次

依	頼論な					
	エキノ	コックス幼虫のカテプシン様システインペプチダーゼ 迫	東仁・		亮	2
	医学部	卒前教育の変遷と国際認証に向けた方向性······ 蒔田 デの本質とは - 歴史から意思決定支援まで···· 環についての最新の知見····	芳男・		裕靖	13
	綾和ケ	アの本質とは-歴史から意思決定文援まで	- [2th]	部泰		19
슬미구	稍脵1倍 540円3	環についての取新の知見 <b>F記念エッセイ</b>	· T	川傾	11 司	26
剧 · 依	L4U周3 「看護 頼 和	学科」設置の頃の思い出	・清	水 哲	f 也	30
IX.	旭川医	『  科大学図書館所蔵「関場・鮫島文庫」の概要  ・24年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題	・藤	尾	均	36
		・24年度「短間性のある生命科学研究」個別研究課題 先天性甲状腺機能低下症の分子遺伝学的基盤の解明 研究代 歯髄幹細胞を用いた網膜移植治療法の確立(新しい幹細胞移植の開発)	表者	松尾公	美浩	43
	۷)		·表去	高宮	央	45
	3)	小脳に好発現するcytochrome P450 isoformの同定・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・		及川	賢輔	47
		ミクログリア由来CNTFを介したミエリン再生機序の解明研究代		田中	達英	48
	5)	実験内分泌学的手法を活用した小胞体関連分解制御機構の解明 研究代		暮地本		49
	6)	遺伝子ノックアウトマウスを用いた眼内平滑筋の収縮メカニズムの解明				
		研究代	:表者	赤尾	鉄平	50
	7)	匂いとフェロモンの神経情報処理基盤・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	表者	野口	智弘	50
		連続投与した際のONO-1301の抗血小板作用の薬理学的解析 研究代表による 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150		柏木	仁	52
		アデノ随伴ウイルスを用いた肝多段階発癌モデルの研究方法の検討… 研究代好中球、肺胞マクロファージ、腹腔マクロファージ活性化におけるMDL-10		山本	雅大	53
	10)	好中球、加旭マグロファーン、腹腔マグロファーン估性化におりるMDL-10 研究代	ノが成形 ・	○ 仅司 吉木	直子	54
	11)	遺伝子改変マウスを用いたコレクチンCL-K1の形態形成における役割解析	1201	F /N	[四]	54
	11/	SEA   SS	表者	森 傾	≹── 良IS	56
	12)	マタニティヨガの周産期予後改善効果に関する研究 研究代		川西	康之	57
	13)	食品中に含まれるホルムアルデヒドが消化管免疫および発がんに及ぼす影響	鄞			
			表者	中木	良彦	58
	14)	次世代シーケンサーを用いたヒト寄生性テニア科条虫の宿主特異性規定因う	₽の探			
	15)	腸内細菌由来の新規線維化抑制物質を用いた新しい治療薬開発の前臨床試験	寅	柳田	哲矢	60
	10)	研究代 は、		嘉島	伸	61
	16)	生体肝移植における免疫抑制剤代謝酵素群の遺伝子変異と薬物血中濃度との	)関理		[訂 雅彦	co.
	17)	糖尿病網膜症におけるAGEs・RAGEの網膜循環への関与の検討 研究代		谷口 佐藤	雅/ 栄一	62 65
		鼻性NK/T細胞リンパ腫におけるEBウイルスmicroRNAの機能解析… 研究代		駒林	優樹	66
		ヒト男性不妊症と習慣流産の病態解明および臨床医学への応用 研究代		上田	寛人	69
		SUVナビゲーターによる最大SUV測定の精度に関する検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・		沖崎	貴琢	69
	21)	頸動脈狭窄病変における、血行流体力学的wall shear stressに対する生体防	御反區	広が及り	ぎす	
		病変増悪因子に関する研究 研究代	表者	三井	宣幸	71
	22)	脂肪組織由来幹細胞の静脈内投与による骨再生の研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	表者	竹川	政範	73
	23)	高齢者の認知機能向上プログラムの効果に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	表者	作並里		75
	24)	スポーツ障害 (ジャンパー膝) の特異的動作の解析 研究代	表者	小原	和宏	77
	25)	非対称分岐血管ネットワークモデルによる網膜微小循環へモダイナミックス	\ \=======	中桥	호텔 시간	70
	26)	内側型変形性膝関節症に対する足底板の効果 研究代	衣石	高橋 吉田	龍尚 直樹	78 80
	20) 27)	孤発性筋萎縮性側索硬化症における神経細胞死のメカニズムの解析と新規が	· なる			00
	21)		1次 未	澤田	潤	81
		アテロコラーゲンシートを用いた心筋幹細胞移植法の確立 研究代		島村	浩平	83
		年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト型研究課題	I book			
	抑制	性マクロファージの機能発現に関わる分子基盤の解明東 寛・小林 寛・小林 的電気刺激による喉頭の動的機能再建に関する研究	博也・	木村	昭治	85
	(残形 	的電気刺激による喉頭の動的機能再建に関する研究 承認を目標とした蛍光内視鏡システムによる臨床研究の展開 大崎 『	25.7由	· 厅田	彰博	88
	来尹 IIC A	母訟で日保とした虫儿内倪親システムによる臨床研先の展開 入崎 → 母子保健研修	・ 担	ТТ ТТ	周良 緑	91 94
		現場の	2555	Щ	N/JC	94
			俊弘・	北村夕	入美子	101
学界	アの動向			,_,,		
	日本麻	酔科学会第60回学術集会を終えて	…岩	崎	寛	108
	第23回		大	崎 育		109
336 -		日本看護診断学会学術大会を終えて原口眞紀子・升田由	手子・	上田	順子	113
字刍	とのペー					
		学で学んだこと―Elective Program in Tropical medicineに参加して―吉村 昭人・鍬本 龍一・福井 理予・古川理紗子・小松美	貴子・	篠原	征史	117
平于	<b>一级貝勒</b> 西郊西	<b>丸筆書籍の紹介</b> 像診断スタンダード	直	橋 康	₹ 二	120
	麻酔の		・鈴	市 居		120
旭川	左毛  -	- 学问顧答料(15)昭和62年度			1 14	141
, '	下田晶	久教授が第3代学長に就任	藤	尾	均	123
投程	高規 程		• • • • • • •			126
編集	ほ後記・	表紙解説	· • • • • • •			127

## 依頼論文

## エキノコックス幼虫のカテプシン様システインペプチダーゼ

追 康仁\* 伊藤 亮\*

## 【要 旨】

多包条虫 Echinococcus multilocularis の幼虫感染に起因するエキノコックス症(多包虫症)は、北半球に広く分布している人獣共通寄生虫症であり、日本では北海道で流行している。エキノコックス幼虫は、ヒト体内で数十年にわたり寄生することが出来るが、その生存メカニズムは殆ど不明である。原虫、吸虫、線虫の研究により、寄生虫のペプチダーゼ、特にシステインペプチダーゼは、寄生虫の生存戦略に関与し、その病原性の発現に深く関与していることが明らかとなっている。しかしながら、エキノコックスが属する条虫に関しては、その知見が殆どなく、まさに無視された研究領域であった。本稿では、著者らが明らかにしたエキノコックス幼虫カテプチンL様ならびにカテプシンB様システインペプチダーゼの酵素学的な特徴について紹介したい。

キーワード エキノコックス幼虫、カテプシンL様、カテプシンB様、組換え酵素、酵素性状

#### 1. はじめに

四類感染症の一つであるエキノコックス症は、条虫類である多包条虫 Echinococcus multilocularis の幼虫ステージである包虫の寄生に起因する疾患であり、新興・再興感染症として重要である。現在日本では、その分布は北海道にほぼ限局されているが、本州への拡大が懸念されている。また、世界的にも多包条虫の拡大傾向が報告されている<sup>1)</sup>。好発部位は肝臓が最も多く、ほかに肺、脳、骨髄などにも寄生する。ヒトへの感染は、多包条虫の虫卵(六鉤幼虫)を偶発的に経口摂取することにより成立する。六鉤幼虫は門脈を経由し各組織に生着した後、無性生殖的に小嚢胞を形成しながら増殖(腫瘍様病変)し、各器官の機能障害を引き起こす<sup>2)</sup>。

臨床症状は通常感染後約10年経過しないと、ほとんど出現しない。早期、特に無症状期、の確定診断や治療は、予後の観点から見た場合とても重要である。 患者の約1/3は胆汁うっ滞性黄疸を発症し、約1/3は心窩部痛を訴える。残りの患者は、疲労、体重減少、 肝肥大などの症状の診察の際に見つかる<sup>3)</sup>。

本症の根治的な治療法は外科的処置により病巣を完全に摘出すること以外無い。完全に摘出が出来なかった場合、包虫組織は増殖を継続し再発する。術後や手術が不可能な場合は、寄生虫細胞の微小管形成阻害剤であり、エキノコックス幼虫の増殖抑制作用があるベンジミダゾール系製剤(アルベンダゾール、メベンダゾール)を用いた化学療法が適用される。しかしながら、化学療法剤の効果は一定ではなく、かつ寄生虫の殺滅作用も観察されないため、根治治療剤としては期待できず、新たな化学療法剤の開発が急務となっている3)。

ペプチダーゼ(タンパク質分解酵素、ペプチド結合加水分解酵素)は、寄生虫の、病原性、宿主免疫応答からの回避、必須栄養の取り込み、宿主組織への侵入、などに関与する極めて重要な分子である<sup>4)</sup>。ペプチダーゼは、触媒機構の違いにより、システインペプチダーゼ、セリンペプチダーゼ、アスパラギン酸ペプチダーゼ、カルオニンペプチダーゼ、ケルタミン酸ペプチダーゼに分類される。その内、蠕

<sup>\*</sup>旭川医科大学 寄生虫学講座

虫では、システインペプチダーゼが特に重要であると 考えられている $^{4-6}$ 。

蠕虫では、吸虫である肝蛭 Fasciola hepatica、ウェ ステルマン肺吸虫 Paragonimus westermani、マンソン 住血吸虫 Schistosoma mansoni、線虫である胃捻転虫 Haemonchus contortus、で盛んに解析が行われている。 肝蛭システインペプチダーゼは、コラーゲン $^{7}$ 、イ ムノグロブリン $^{8)}$ 、キニノーゲン $^{9)}$ を分解すること、 また、ヒトやヒツジT細胞上のCD4分子を分解しT 細胞としての機能を消失させること 10) が報告されて いる。ウェステルマン肺吸虫のシステインペプチダ ーゼは、イムノグロブリンを分解すること <sup>11)</sup>、また、 好酸球に作用し脱顆粒反応を促進することにより、好 酸球の機能を破壊し、炎症反応を低下させているこ と 12) が報告されている。マンソン住血吸虫や胃捻転 虫では、その栄養源である赤血球ヘモグロビンのシス テインペプチダーゼによる分解が報告されている <sup>13-</sup> 15)。この様にシステインペプチダーゼは寄生虫が生存 するために極めて重要な役割を担っていることから、 化学療法剤の標的分子やワクチン候補抗原と考えられ ている 16-19)

エキノコックス幼虫はヒト体内で数十年以上も生存している。したがって、エキノコックス幼虫のペプチダーゼも、宿主免疫回避や栄養取込みの観点より、重要であると推察される。しかしながら、エキノコックス幼虫の詳細なペプチダーゼの解析が行われていなかった。なぜなら、宿主組織内で胚層細胞の外生出芽により浸潤しながら発育、増殖するため<sup>20)</sup>、実験動物より摘出した寄生虫組織内には多数の宿主細胞が混在しており、高品質な寄生虫材料を調整が困難であったためである。そこで、著者は、エキノコックス幼虫システインペプチダーゼの遺伝子をクローニングした後、組換え酵素を発現させ、その酵素学的な性状の解析を行った<sup>21,22)</sup>。本稿では、その特徴について紹介したい。

## 2. エキノコックス幼虫カテプシン L 様システイン ペプチダーゼ: EmCLP1 および EmCLP2

# EmCLP1,EmCLP2 遺伝子のクローニング及び一次構造

真核生物ペプチダーゼの活性中心の構造は高度に保存されているため、そのアミノ酸配列を基にした縮

合プライマーを用いた PCR 法により、その遺伝子を クローニングできる <sup>23)</sup>。システインペプチダーゼに は、QGQCGSCW ならびに YWIVKNSW のアミノ酸 配列が保存されている。そこで、その配列より設計したプライマーを用い、エキノコックス幼虫 cDNA より、システインペプチダーゼの一部分をクローニングした。その後、それをプローブとして cDNA ライブラリーをスクリーニングすることにより、最終的に2種類のシステインペプチダーゼのクローニングに 成功した。塩基配列解析の結果、両システインペプチダーゼはリソソームカテプシンペプチダーゼであるカテプシン Lの相同分子である事が判明し、それらを EmCLP1 ならびに EmCLP2 と名付けた <sup>21)</sup>。

それらの一次構造より予測される基質結合部位、特 に基質特異性を決定する S2 ポケット (図1)、を構 成するアミノ酸残基は興味深いものであった。シス テインペプチダーゼの S2 ポケットの形成には、結晶 構造解析より、67、68、133、157、160 および 205 番 目(プロセッシング後の成熟パパインのアミノ酸番号 に対応)のアミノ酸残基が関与していることが明らか となっている<sup>24, 25)</sup>。カテプシンLでは、67番目のア ミノ酸残基(S3ポケットに近接)は、通常ロイシン のような疎水性アミノ酸が存在する。しかしながら、 EmCLP1 では、その位置に親水性かつ負荷電を持つア スパラギン酸が存在していた (表1)。この様な荷電 したアミノ酸が基質結合部に存在しているシステイン ペプチダーゼとして、イヌ回虫カテプシンL様ペプ チダーゼ $^{26)}$ 、マウスおよびラットのカテプシン $R^{27}$ 28) のみが知られており、ヒトでは知られていない。 S2ポケットに於けるアスパラギン酸の役割につては、 未だ不明である。しかし、カテプシンRの立体構造 予測より、S3ポケットに近接するアスパラギン酸が

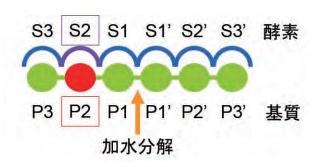


図1 酵素のS2ポケットが基質特異性に関与する

表1 S2ポケットを構成するアミノ酸残基

Residues*	Papsin	EmCLP1 <sup>b</sup>	EmCLP2b	Human cathepsin L	Human cathepsin K
-67	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Tyr
68	Pro	Met	Met	Met	Met
133	Val	Ala	Ala	Ala	Ala
157	Val	Leu	Leu	Leu	Leu
160	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala
205	Ser	Met	Leu	Leu	Len

"パパインのアミノ酸残基番号 bMcGrathの報告20)に従い推定した

タンパク質のN末端のアミノ基の認識を可能にし、dipeptidyl aminopeptidase(タンパク質のN末端より2アミノ酸残基ずつ切断する活性を持つ)としての活性を持つ可能性が示唆されている $^{27}$ 。一方、EmCLP2では、S2ポケットを構成するアミノ酸残基は、カテプシンLのそれらよりは、カテプシンKのそれらに類似していた。これらの差異より、EmCLP1および EmCLP2 に寄生虫特有の酵素活性が存在する可能性が示唆された。

#### 2) EmCLP1.EmCLP2 の発現と局在

EmCLP1 および EmCLP2 に対するモノクローナル 抗体を用いて、エキノコックス幼虫抽出抗原および分 泌・排泄液に対してイムノブロット解析を行った。その結果、両酵素が蛋白質レベルで発現していること、 また、一部が分泌されていることが明らかとなった。 興味深いことに、TritonX-114 相分離法により膜蛋白 質画分を調製しイムノブロット解析をしたところ、 EmCLP2 が検出され、その一部が寄生虫細胞膜に結合 している可能性が示唆された。

エキノコックス幼虫での局在を解析するために、免疫組織染色を行った。その結果、両酵素とも胚層、繁殖胞および原頭節で発現していることが確認できた。 EmCLP1 に関しては、原頭節での発現は確認できたが、 その染色性は他の部位に比してかなり弱いものであった。

#### 3) EmCLP1,EmCLP2 の酵素学的性状

EmCLP1 ならびに EmCLP2 の酵素学的性状を解 析するためには、ジスルフィド結合を介した正常な 立体構造の構築が必要なため、酵母 Saccharomyces cerevisiae 株を用いた発現系で組換え酵素を調製し た。組換え酵素を精製した後、まずは、弱酸性下(pH 5.0) で複数の合成ペプチド基質 Z-P3-P2-P1-MCA (P1 ~ P3 は任意のアミノ酸、P3 を欠く基質もある)を 用いて基質特異性につていて解析した(図3)。前述 したように、システインペプチダーゼの基質特異性 は、そのS2ポケットに結合するアミノ酸により規定 される。つまり、それに結合する基質部である P2部 に異なるアミノ酸残基を持つ基質を用いることで、基 質特異性を解析することが出来る。その結果、両酵 素とも Z-Leu-Arg-MCA (カテプシン K/S/V の基質) および Z-Phe-Arg-MCA(カテプシン B/L の基質)に 対して分解活性を示した。また、EmCLP1 は Z-Val-Val-Arg-MCA(カテプシン S/L の基質)や Z-Arg-Arg-MCA (カテプシンBの基質) に対しても弱い水解

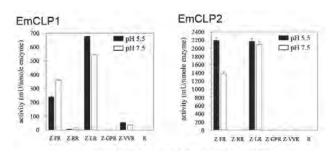


図3 EmCLP1 および EmCLP2 の基質特異性

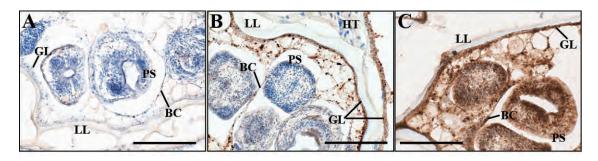


図2 EmCLP1 および EmCLP2 の局在

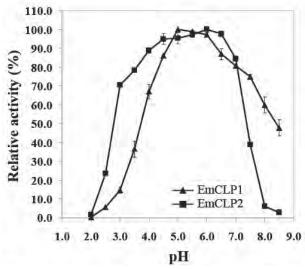
A, 陰性コントロール; B, EmCLP1; C, EmCLP2

PS, 原頭節;GL, 胚層;BC, 繁殖胞;LL, 角皮層;HT, 宿主組織 Scale bar=100um 活性を持っていた。哺乳類カテプシンLは、Z-Phe-Arg-MCAに対する水解活性を最も強く示し、次にZ-Leu-Arg-MCAに対して水解活性を示す。しかしながら、EmCLP1およびEmCLP2はZ-Leu-Arg-MCAに対してより強い水解活性を示した。以上のことより、EmCLP1およびEmCLP2は、一次構造上はカテプシンLに類似しているが、基質特異性に関しては、カテプシンS/Kに類似している事が示唆された。

EmCLP1 および EmCLP2 の Z-Phe-Arg-MCA に対する至適 pH の解析を擬一時反応条件下(反応中の基質 濃度が、酵素のその基質 Km 値よりも十分低い)で行ったところ、それぞれの至適 pH は 5.0 および 6.0 であった。しかしながら、中性領域を含む広範な pH で水解活性を示していた。EmCLP1 および EmCLP2 は、イムノブロット解析より、エキノコックス幼虫内とともに、幼虫外に分泌されていることが明らかとなっていることや、中性領域でも酵素活性を有していることより、ライソゾーム酵素としてだけではなく、細胞外酵素としての機能も持っていることが示唆された。ただし、中性領域での安定性に関する解析によるさらなる裏付けが必要である。

#### 4) EmCLP1, EmCLP2 によるタンパク質分解活性

EmCLP1 ならびに EmCLP2 のタンパク質分解活性に関して、液性分子基質としてヒトイムノグロブリン G およびウシ血清アルブミン、また、細胞外マトリックス分子基質として I 型および IV 型コラーゲン、フィブロネクチンを用いて解析を行った。その結果、EmCLP1 および EmCLP2 は全ての基質を分化する活



**図4** EmCLP1 および EmCLP2 の pH プロファイル

性を有していること、その分解活性は、弱酸性下の方 が高い傾向にあることが明らかとなった。

哺乳類のカテプシンLはI型コラーゲンの非螺旋性であるトリペプチド部のみを切断でき、3重螺旋領域を切断できない。 $^{29)}$ 。つまり、I型コラーゲンを細かく切断するとこはできない。それに対し、 $^{EmCLP1}$ ならびに $^{EmCLP2}$ はI型コラーゲンの3重螺旋構造領域を細断していた。この様な、分解活性を示す哺乳類カテプシンとして、破骨細胞で産生され分泌されているカテプシン $^{K}$ が知られている。 $^{I}$ 型コラーゲンはプロリンの割合が高く、カテプシン $^{K}$ はそのプロリンを $^{S2}$ ポケットで認識し、切断していると示唆されている。 $^{29)}$ 。 $^{EmCLP1}$ ならびに $^{EmCLP2}$ は、 $^{Cm}$ 0リンを $^{P2}$ 1部に持つ基質を切断することが出来なかったことより、カテプシン $^{K}$ 2とは異なる部位で、 $^{I}$ 2型コラーゲンを切断していると推察された。

# 3. エキノコックス幼虫カテプシン B 様システインペプチダーゼ: EmCBP1 および EmCBP2

# EmCBP1,EmCBP2 遺伝子のクローニング及び一次構造

エキノコックス幼虫のシステインペプチダーゼに関する知見を増やすために、新規システインペプチダーゼのクローニングを試みた。方法は、エキノコックス幼虫カテプシンL様ペプチダーゼと同様であるが、今回は、EmCLP1 および EmCLP2 の塩基配列情報を基に、活性中心の保存アミノ酸配列部の縮合プライマーを設計し、PCR に供した。予測されるサイズのPCR 産物をクローニングした後、48 クローンについて塩基配列を決定した。その結果、4 種類のシステインペプチダーゼをコードする遺伝子がクローニングされた。データーベースを検索した結果、2 種類はEmCLP1 および EmCLP2 と同一で有り、他の2 種類は新規の遺伝子であることが明らかとなった。全長をrapid amplification of cDNA ends (RACE) 方によりクロ

表2 S2ポケットを構成するアミノ酸残基

Residues*	Human cathepsin B	EmCBP1 <sup>b</sup>	EmCBP2 <sup>b</sup>	SmCB16	SmCB2
76	Pro	Pro	Pro	Leu	Pro
173	Ala	Asp	Азр	Ser	Asp
198	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly
200	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala
245	Glir	Asp	Asp	Glu	Asp

■ヒトカテプシンBのアミノ酸残基番号 McGrath の報告<sup>24)</sup>に従い推定した ーニングし、それらの塩基配列を解析したところ、両システインペプチダーゼはリソソームカテプシンペプチダーゼであるカテプシン B の相同分子である事が判明し、それらを EmCBP1 ならびに EmCBP2 と名付けた  $^{22)}$ 。

EmCBP1 および EmCBP2 には、活性中心のアミ ノ酸と共に、カテプシンBの特徴的構造であり、 dipeptidyl carboxypeptidase 活性(タンパク質の C 末端 より2アミノ酸残基ずつ切断する活性)を与えるオク ルーディングループ<sup>30)</sup> も保存されていた。また、カ テプシンBのS2ポケットの形成には、結晶構造解析 より、76、173、198、200 および 245 番目 (プロセッ シング後のヒトカテプシンBのアミノ酸番号に対応) のアミノ酸残基が関与していることが明らかとなって おり24、それらのアミノ酸残基は比較的種間で保存 されている。EmCBP1 および EmCBP2 に特徴的な点 として、ヒトやマウスなどのカテプシンBでは、173 番目のアミノ酸残基は非極性のアラニンであるのに対 し、EmCBP1 および EmCBP2 では親水性かつ負荷電 を持つアスパラギン酸が存在している事が見出された が、その基質特異性に関する役割については不明であ る。

#### 2) EmCBP1,EmCBP2 の発現と局在

EmCBP1 および EmCBP2 に対するモノクローナル 抗体を用いて、エキノコックス幼虫抽出抗原および分 泌・排泄液に対してイムノブロット解析を行った。そ の結果、エキノコックス幼虫カテプシン L 様システ インペプチダーゼ同様に、両酵素が蛋白質レベルで発 現していること、また、一部が分泌されていることが 明らかとなった。 エキノコックス幼虫での局在を解析するために、免疫組織染色を行った。その結果、両酵素とも胚層、繁殖胞および原頭節で発現していることが確認できた。これも、エキノコックス幼虫カテプシンL様システインペプチダーゼと同様であった。

#### 3) EmCBP1,EmCBP2 の酵素学的性状

酵母 Pichia pastoris を用いた発現系で発現させた 組換え EmCBP1 ならびに組換え EmCBP2 の酵素学的 性状の解析を行った。EmCBP1 は、Z-Phe-Arg-MCA > Z-Val-Val-Arg-MCA > Z-Leu-Arg-MCA の順で高分 解活性を示した。また、Z-Gly-Pro-Arg-MCA (カテ プシン K の基質) や Z-Arg-Arg-MCA (カテプシン B の基質) に対しても弱いながらも、分解活性を示し た。同様な基質特異性を EmCBP2 も有していた (図 6)。EmCBP1とEmCBP2の基質特異性に関して特 徴的な点として、カテプシンB特異的基質である Z-Arg-Arg-MCA に対する水解活性の低さが挙げられ る。Z-Phe-Arg-MCA と Z-Arg-Arg-MCA に対する酵 素反応の速度定数  $(k_{cat}/K_m)$ 、すなわち分解しやすさ、 を比較してみると、EmCBP1では Z-Phe-Arg-MCAの 速度定数が Z-Arg-Arg-MCA の速度定数の 93 倍であ り、EmCBP2では137倍であった。哺乳類カテプシン Bでは、速度定数比は10以下で有り、両基質に対し てほぼ同程度の分解活性を示す事が知られている 31)。 EmCBP1 および EmCBP2 の一次構造で特徴的な点と しては、S2ポケットを構成する173番目のアミノ酸 が、中性のアミノ酸残基ではなく親水性かつ負荷電性 のアスパラギン酸である事が挙げられる。同様なアミ ノ酸残基を持つカテプシンB(SmCB2)がマンソン 住血吸虫 Schistosoma mansoni で報告されている。また、

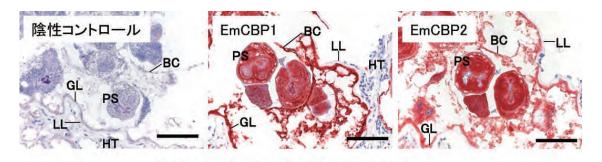
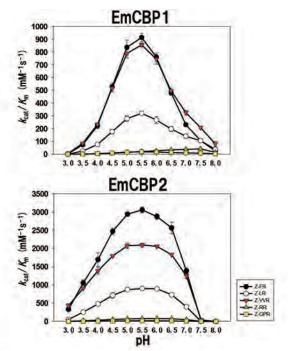


図5 EmCBP1 および EmCBP2 の局在

PS, 原頭節:GL, 胚層:BC, 繁殖胞:LL, 角皮層:HT, 宿主組織 Scale bar=100μm



**図6** EmCBP1 および EmCBP2 の基質特異性と pH プロファイル

 $S.\ mansoni$  では別のアイソフォーム(SmB1)も報告されているが、それの 173 番目のアミノ酸は中性のセリンである。SmB1 と SmB2 の速度定数を解析すると、SmB1 の速度定数比は 12 であり、SmB2 の速度定数比は 80 である 32 。つまり、これらの結果より、173 番目のアミノ酸残基が基質特異性に関与している可能性が示唆される。

EmCBP1 および EmCBP2 の至適 pH の解析を擬一 時反応条件下で行ったところ、共に至適 pH は 5.5 で あった。また、EmCLP1 および EmCLP2 と同様に、 中性領域を含む広範な pH で水解活性を示していた。 EmCBP1 および EmCBP2 は、エキノコックス幼虫外 に分泌されていることより、ライソゾーム酵素として だけではなく、細胞外酵素としての機能も持ってい ることが示唆された。しかしながら、EmCBP2の分 解活性が、生理的 pH に近似する pH 7.5 条件下で急激 に低下する現象が観察された。そこで、EmCBP1 お よび EmCBP2 の中性 pH 領域 (pH 6.5, 7.0, 7.5) にお ける酵素活性の安定性について解析した。その結果、 EmCBP1 は pH 7.5 で酵素活性の不活化が観察され、 その半減期は約5分であった。EmCBP2は、調べた 全てのpHで不活化が観察され、pH 6.5での半減期は 30分、pH 7.0での半減期は2分、pH 7.5での半減期 は 10 秒であった。この結果より、中性 pH に感受性を示す EmCBP1 および EmCBP2 が細胞外酵素として活性を有していない可能性が示唆された。エキノコックス寄生部位は常に炎症反応が生じているが、炎症反応は組織の酸性化を促すことが知られている  $^{33)}$ 。 また、ある種のがん細胞から分泌されカテプシン B は、細胞外のヘパリンと相互作用することにより、弱アルカリ条件下で酵素活性が安定化することが知られている  $^{34.35)}$ 。したがって、EmCBP1 および EmCBP2 は、試験管内の実験では中性 pH での酵素失活が観察されたが、 $in\ vivo\$ では細胞外酵素としての役割を果たしているかもしれない。

#### 4) EmCBP1.EmCBP2 によるタンパク質分解活性

EmCBP1 ならびに EmCBP2 のタンパク質分解活性に関して、液性分子基質としてヒト免疫グロブリン G およびヒト血清アルブミン、また、細胞外マトリックス分子基質として I 型および IV 型コラーゲン、フィブロネクチンを用いて解析を行った。その結果、両酵素共に全ての基質を分解する活性を有していることが明らかとなった。

哺乳類カテプシン B もカテプシン L と同様に、I 型 コラーゲンの非螺旋性であるトリペプチド部のみを切断できる  $^{29)}$ 。これに対し、EmCBP1 および EmCBP2 は I 型コラーゲンの 3 重螺旋領域を細断でき、この活性は EmCLP1 および EmCLP2 と同様であった。

#### 4. エキノコックス幼虫における役割

EmCLP1、EmCLP2、EmCBP1、EmCBP2 は、 至 適 pH が酸性であり、イムノグロブリン、アルブミン、コラーゲン、フィブロネクチンなどを含むタンパク質に対する広範な分解活性があることより、リソソーム内酵素としての機能を有しており、エキノコックス幼虫の栄養摂取のためのタンパク質代謝に関与していることが考えられる。

また、寄生虫細胞外へ積極的に分泌されていること より、細胞外酵素としての役割も持ち、以下の現象に 関与している可能性が示唆される。

#### ①栄養取り込み促進

エキノコックスが属する条虫は消化管が退化しているために無く、栄養をその体表面から吸収する必要がある。したがって、分泌された酵素が宿主タンパク質を分解し低分子化することにより、体表からの栄養吸

表3 エキノコックス幼虫カテプシン様ペプチダーぜの性状

	EmCLP1	EmCLP2	EmCBP1	EmCBP2
分子サイズ(kDa)	25.8 26.1	27.0 31.1	25.5 24.5	29.9 27.0
発現局在	胚層 繁殖胞 原頭節 分泌	胚層 繁殖胞 原頭節 分泌	胚層 繁殖胞 原頭節 分泌	胚層 繁殖胞 原頭節 分泌
pH 中性域での活性	+	+	+	±
液性分子分解 イムノグロブリン アルプミン	++	+++	++	+
細胞外マトリックス分解 I 型コラーゲン IV 型コラーゲン フィブロネクチン	++	+++	+	+
速度定数 k <sub>cat</sub> /K <sub>m</sub> (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) Z-Phe-Arg-MCA Z-Arg-Arg-MCA	794±13 N.D.	13081±406 N.D.	$1627 \pm 49$ $18 \pm 0.1$	$2638\pm23$ $19\pm0.4$

N.D.: not done

収を促進している可能性が示唆される。

#### ②宿主組織浸潤

線虫や吸虫のいくつかの種では、宿主組織内にシステインペプチダーゼを分泌し、それらがコラーゲンやフィブロネクチンなどの細胞外マトリックスを分解することにより、寄生虫の宿主組織内の移動に関与することが報告されている<sup>7.36.37)</sup>。エキノコックス幼虫は、その胚層細胞が外生出芽様式で宿主組織内に浸潤することにより包虫の発育や増殖が促される<sup>20)</sup>。エキノコック幼虫カテプシンL様ならびにカテプシンB様システインペプチダーゼが、細胞外マトリックス分子の分解活性を有していることより、それらが宿主組織の結合織や基底膜を脆弱化し、エキノコックス幼虫胚層細胞の組織浸潤を促進する可能性が示唆される。

#### ③免疫回避

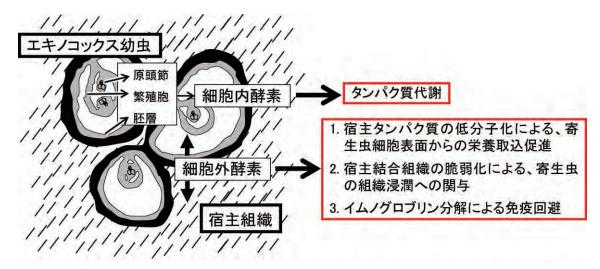
エキノコックス幼虫は、宿主のイムノグロブリンを寄生虫 Fc レセプターを介して非特異的に寄生虫の小胞嚢表面に結合することが出来る 38-40。つまり、イムノグロブリンで寄生虫体をマスクすることにより、また、イムノグロブリン Fc 領域を介したエフェクター機能を減弱化することにより、宿主免疫から介していると考えられている。このイムノグロブリン結合活性とカテプシン L 様ならびにカテプシン B 様システインペプチダーゼのイムノグロブリン分解活性により、宿主による免疫攻撃を逃れている可能性が示唆さ

れる。

## 5. テニア科条虫のペプチダーゼ

テニア科条虫は、①発育に長時間要する、②宿主特 異性が強く、代替宿主の導入が困難である、③試験管 培養法が確立されていないなどの理由により、生物学 的特性の研究は殆ど行われていない。したがって、ペ プチダーゼに関する知見は限られている。

Echinococcus multilocularisでは、筆者が報告した ペプチダーゼ以外に、炎症誘発性のケモカインであ るエオタキシンを分解し、カルシウムを補因子と するシステインペプチダーゼが報告されている <sup>41)</sup>。 Echinococcus granulosus では、酵素活性に関する詳細 な解析はなされていないが、アミノペプチダーゼ<sup>42)</sup> およびメタロペプチダーゼ<sup>43)</sup> の存在が報告されてい る。また、Taenia soliumでは、幼虫より分泌されたシ ステインペプチダーゼが、試験管内でヒトリンパ球集 団の中から CD4 陽性細胞を枯渇させる活性を持つこ と $^{44}$ 、また、ヒトCD4陽性細胞のアポトーシスを誘 導する活性を持つこと <sup>45)</sup> が報告されている。さらに、 カテプシンL様ペプチダーゼの遺伝子クローニング と酵素性状に関する報告がなされ、イムノグロブリン やウシ血清アルブミンを分解できるが、コラーゲンを 分解できないこと 46) が明らかとなっている。Taenia crassiceps では、イムノグロブリンを分解するシステ



**図7** エキノコックス幼虫におけるカテプシン様ペプチダーゼのと役割(推測)

インペプチダーゼが見出されている<sup>47)</sup>。

以上のように、テニア科条虫より分泌されるペプチ ダーゼは、宿主免疫応答を撹乱する活性を持っており、 それが十年以上に渡るヒトへの寄生を可能にしている 要因の一つかもしれない。

#### 6. おわりに

エキノコック幼虫カテプシンL様ならびにカテプシンB様システインペプチダーゼの酵素活性性状は全て試験管内の実験で得られたものであり、宿主内で実際どの様な機能を有しているのか全くの不明である。したがって、宿主内での機能を明らかにするために、寄生虫酵素特異的な阻害剤の開発や遺伝子ノックアウトシステムの確立が必要である。また、他のペプチダーゼに関しても解析する必要がある。

#### 参考文献

- Eckert J, Conraths FJ, Tackmann K. Echinococcosis: an emerging or re-emerging zoonosis? Int J Parasitol 2000;30:1283-1294.
- 2) McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. Lancet 2003;362:1295-1304.
- 3) Pawlowski, Z.S., Eckert, J., Vuitton, D.A. et al. Echinococcosis in 2001;humans:clinical aspects, diagnosis and treatment. In.
- 4) Sajid M, McKerrow JH. Cysteine proteases of parasitic organisms. Mol Biochem Parasitol 2002;120:1-21.
- 5) McKerrow JH, Caffrey C, Kelly B, Loke P, Sajid

- M. Proteases in parasitic diseases. Annu Rev Pathol 2006;1:497-536.
- 6) Robinson MW, Dalton JP, Donnelly S. Helminth pathogen cathepsin proteases: it's a family affair. Trends Biochem Sci 2008;33:601-608.
- 7) Berasain P, Goni F, McGonigle S, Dowd A, Dalton JP, Frangione B, Carmona C. Proteinases secreted by *Fasciola hepatica* degrade extracellular matrix and basement membrane components. J Parasitol 1997;83:1-5.
- 8) Berasain P, Carmona C, Frangione B, Dalton JP, Goni F. *Fasciola hepatica*: parasite-secreted proteinases degrade all human IgG subclasses: determination of the specific cleavage sites and identification of the immunoglobulin fragments produced. Exp Parasitol 2000;94:99-110.
- 9) Cordova M, Jara J, Del Nery E, Hirata IY, Araujo MS, Carmona AK et al. Characterization of two cysteine proteinases secreted by *Fasciola hepatica* and demonstration of their kininogenase activity. Mol Biochem Parasitol 2001;116:109-115.
- 10) Prowse RK, Chaplin P, Robinson HC, Spithill TW. Fasciola hepatica cathepsin L suppresses sheep lymphocyte proliferation in vitro and modulates surface CD4 expression on human and ovine T cells. Parasite Immunol 2002;24:57-66.
- 11) Chung YB, Yang HJ, Kang SY, Kong Y, Cho SY. Activities of different cysteine proteases of *Paragonimus* westermani in cleaving human IgG. Korean J Parasitol

- 1997;35:139-142.
- 12) Shin MH, Chung YB, Kita H. Degranulation of human eosinophils induced by *Paragonimus westermani*secreted protease. Korean J Parasitol 2005;43:33-37.
- 13) Brady CP, Dowd AJ, Brindley PJ, Ryan T, Day SR, Dalton JP. Recombinant expression and localization of *Schistosoma mansoni* cathepsin L1 support its role in the degradation of host hemoglobin. Infect Immun 1999:67:368-374.
- 14) Caffrey CR, McKerrow JH, Salter JP, Sajid M. Blood 'n' guts: an update on schistosome digestive peptidases. Trends Parasitol 2004;20:241-248.
- 15) Rhoads ML, Fetterer RH. Developmentally regulated secretion of cathepsin L-like cysteine proteases by *Haemonchus contortus*. J Parasitol 1995;81:505-512.
- 16) Dalton JP, Neill SO, Stack C, Collins P, Walshe A, Sekiya M et al. *Fasciola hepatica* cathepsin L-like proteases: biology, function, and potential in the development of first generation liver fluke vaccines. Int J Parasitol 2003;33:1173-1181.
- 17) Barr SC, Warner KL, Kornreic BG, Piscitelli J, Wolfe A, Benet L, McKerrow JH. A cysteine protease inhibitor protects dogs from cardiac damage during infection by *Trypanosoma cruzi*. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:5160-5161.
- 18) Abdulla MH, Lim KC, Sajid M, McKerrow JH, Caffrey CR. Schistosomiasis mansoni: novel chemotherapy using a cysteine protease inhibitor. PLoS Med 2007;4:e14.
- 19) Alcala-Canto Y, Ibarra-Velarde F, Sumano-Lopez H, Gracia-Mora J, Alberti-Navarro A. Effect of a cysteine protease inhibitor on *Fasciola hepatica* (liver fluke) fecundity, egg viability, parasite burden, and size in experimentally infected sheep. Parasitol Res 2007;100:461-465.
- 20) Thompson RCA. Biology and systematics of Echinococcus; In: Thompson, R.C.A., Lymbery, A.J. (Eds.), Echinococcus and Hydatid Disease. CAB International, Wallingford, UK, pp. 1750..
- 21) Sako Y, Yamasaki H, Nakaya K, Nakao M, Ito A. Cloning and characterization of cathepsin L-like peptidases of *Echinococcus multilocularis* metacestodes.

- Mol Biochem Parasitol 2007;154:181-189.
- 22) Sako Y, Nakaya K, Ito A. Echinococcus multilocularis: identification and functional characterization of cathepsin B-like peptidases from metacestode. Exp Parasitol 2011;127:693-701.
- 23) Sakanari JA, Staunton CE, Eakin AE, Craik CS, McKerrow JH. Serine proteases from nematode and protozoan parasites: isolation of sequence homologs using generic molecular probes. Proc Natl Acad Sci U S A 1989;86:4863-4867.
- 24) McGrath ME. The lysosomal cysteine proteases. Annu Rev Biophys Biomol Struct 1999;28:181-204.
- 25) Turk B, Turk D, Turk V. Lysosomal cysteine proteases: more than scavengers. Biochim Biophys Acta 2000;1477:98-111.
- 26) Loukas A, Selzer PM, Maizels RM. Characterisation of Tc-cpl-1, a cathepsin L-like cysteine protease from *Toxocara canis* infective larvae. Mol Biochem Parasitol 1998;92:275-289.
- 27) Sol-Church K, Frenck J, Bertenshaw G, Mason RW. Characterization of mouse cathepsin R, a new member of a family of placentally expressed cysteine proteases. Biochim Biophys Acta 2000;1492:488-492.
- 28) Sol-Church K, Picerno GN, Stabley DL, Frenck J, Xing S, Bertenshaw GP, Mason RW. Evolution of placentally expressed cathepsins. Biochem Biophys Res Commun 2002;293:23-29.
- 29) Garnero P, Borel O, Byrjalsen I, Ferreras M, Drake FH, McQueney MS et al. The collagenolytic activity of cathepsin K is unique among mammalian proteinases. J Biol Chem 1998;273:32347-32352.
- 30) Musil D, Zucic D, Turk D, Engh RA, Mayr I, Huber R et al. The refined 2.15 A X-ray crystal structure of human liver cathepsin B: the structural basis for its specificity. EMBO J 1991;10:2321-2330.
- 31) Hasnain S, Hirama T, Tam A, Mort JS. Characterization of recombinant rat cathepsin B and nonglycosylated mutants expressed in yeast. New insights into the pH dependence of cathepsin B-catalyzed hydrolyses. J Biol Chem 1992;267:4713-4721.
- 32) Caffrey CR, Salter JP, Lucas KD, Khiem D, Hsieh I, Lim KC et al. SmCB2, a novel tegumental cathepsin B

- from adult *Schistosoma mansoni*. Mol Biochem Parasitol 2002;121:49-61.
- 33) Kellum JA, Song M, Li J. Science review: extracellular acidosis and the immune response: clinical and physiologic implications. Crit Care 2004;8:331-336.
- 34) Almeida PC, Nantes IL, Chagas JR, Rizzi CC, Faljoni-Alario A, Carmona E et al. Cathepsin B activity regulation. Heparin-like glycosaminogylcans protect human cathepsin B from alkaline pH-induced inactivation. J Biol Chem 2001;276:944-951.
- 35) Roshy S, Sloane BF, Moin K. Pericellular cathepsin B and malignant progression. Cancer Metastasis Rev 2003:22:271-286.
- 36) Rhoads ML, Fetterer RH. Extracellular matrix degradation by *Haemonchus contortus*. J Parasitol 1996;82:379-383.
- 37) Smooker PM, Jayaraj R, Pike RN, Spithill TW. Cathepsin B proteases of flukes: the key to facilitating parasite control? Trends Parasitol 2010;26:506-514.
- 38) Ali-Khan Z, Siboo R. *Echinococcus multilocularis:* distribution and persistence of specific host immunoglobulins on cysts membranes. Exp Parasitol 1981;51:159-168.
- 39) Alkarmi TO, Alshakarchi Z, Behbehani K. *Echinococcus multilocularis*: the non-specific binding of different species of immunoglobulins to alveolar hydatid cysts grown in vivo and in vitro. Parasite Immunol 1988:10:443-457.
- 40) Baz A, Carol H, Marco M, Casabo L, Jones F, Dunne D, Nieto A. Fc-binding molecules specific for human

- IgG1 and IgG3 are present in *Echinococcus granulosus* protoscoleces. Parasite Immunol 1998;20:399-404.
- 41) Mejri N, Gottstein B. Echinococcus multilocularis metacestode metabolites contain a cysteine protease that digests eotaxin, a CC pro-inflammatory chemokine. Parasitol Res 2009;105:1253-1260.
- 42) McManus DP, Barrett NJ. Isolation, fractionation and partial characterization of the tegumental surface from protoscoleces of the hydatid organism, *Echinococcus granulosus*. Parasitology 1985;90:111-129.
- 43) Marco M, Nieto A. Metalloproteinases in the larvae of Echinococcus granulosus. Int J Parasitol 1991;21:743-746.
- 44) Molinari JL, Mejia H, White AC Jr, Garrido E, Borgonio VM, Baig S, Tato P. *Taenia solium*: a cysteine protease secreted by metacestodes depletes human CD4 lymphocytes in vitro. Exp Parasitol 2000;94:133-142.
- 45) Tato P, Fernandez AM, Solano S, Borgonio V, Garrido E, Sepulveda J, Molinari JL. A cysteine protease from *Taenia solium* metacestodes induce apoptosis in human CD4+ T-cells. Parasitol Res 2004;92:197-204.
- 46) Li AH, Moon SU, Park YK, Na BK, Hwang MG, Oh CM et al. Identification and characterization of a cathepsin L-like cysteine protease from *Taenia solium* metacestode. Vet Parasitol 2006;141:251-259.
- 47) Baig S, Damian RT, Morales-Montor J, Olecki P, Talhouk J, Hashmey R, White AC Jr. Characterization of excretory/secretory endopeptidase and metallo-aminopeptidases from *Taenia crassiceps* metacestodes. J Parasitol 2005;91:983-987.

## Cathepsin-like cysteine peptidases of *Echinococcus multilocularis*

SAKO Yasuhito\* ITO Akira\*

#### **Summary**

Alveolar echinococcosis, caused by the larval stage of *Echinococcus multilocularis*, is a serious parasitic disease of humans in Northern hemisphere countries in the higher latitudes. *E. multilocularis* metacestodes survive for many years in human host, however the survival mechanism is under unclear. Biochemical studies of protozoan, nematode and trematode parasites have revealed that peptidases, especially cysteine peptidases, are key molecules of pathogenicity of parasites and facilitate evasion from host immune responses, essential nutrient uptake, and tissue penetration. In contrast, a few studies of peptidase of cestode parasite *E. multilocularis* have been performed. Here, I introduce the characteristics of cathepsin L- and cathepsin B-like cysteine peptidases of *E. multilocularis*.

**Key words** *Echinococcus multilocularis* larvae, cathepsin L-like, cathepsin B-like, recombinant enzyme, enzymatic characteristics

<sup>\*</sup> Asahikawa Medical University

## 依頼論文

## 医学部卒前教育の変遷と国際認証に向けた方向性

蒔 田 芳 男\* 井 上 裕 靖\*

## 【要 旨】

本稿では、21世紀を前にして全国的に導入された新しいカリキュラムの概要(CBT、OSCE に代表される共用 試験の導入、診療参加型臨床実習および初期臨床研修制度導入への布石としての医学教育モデル・コア・カリキュラムの策定)を歴史的に振り返り、卒前医学教育内容決定の手順を示す。現行の医学科「2009 カリキュラム」の特徴を示す。次に私たちが直面している二つの新しい潮流を記載する。一つは、中教審答申にも盛り込まれた「プロセス基盤型教育」から「アウトカム基盤型教育」への教育理論の変遷の流れである。もう一つは、現在対応が迫られている医学部学部教育の国際基準での認証の流れである。本学が置かれている状況を解説することで、これからの医学教育改革の方向性を考えてみたい。

キーワード プロセス基盤型教育、アウトカム基盤型教育、医学教育モデルコア・カリキュラム、 診療参加型実習、ECFMG、WFME、グローバル・スタンダード

#### はじめに

旭川医科大学は、新設医科大学として昭和48年(1973年)に山形大学医学部、愛媛大学医学部とともに誕生した。この中でも単科大学として発足した本学は、教養部をもつ総合大学と異なり、新しいカリキュラムが採用されていた。これは、旭川医科大学建設の基本構想に記載された「楔型カリキュラム」<sup>1)</sup>である。第1学年から第6学年までを有機的に連結一貫させた医学教育を特徴としてきた。このカリキュラムは、基礎教育、基礎医学および臨床医学等の全課程を楔型に結ぶ教育システムであり、その時点では斬新なものであった。しかし時代は新しい医師像、教育像を求めて変遷してゆき、旭川医科大学のカリキュラムも変更に変更を重ねている。

## 21 世紀を前にして全国的に導入された新し いカリキュラム<sup>2)</sup> とは

医学の急速な進歩や医療の拡大によって医学教育に

おける知識量は膨大に増加した。中でも卒前教育の到達目標は必然的に高められ、従来の系統講義が主体の知識注入型教育では広範囲、高度な医学知識、技術を習得させることが困難になった。このような背景から2000年を迎える直前に国内においても多くの大学でカリキュラム改革が行われたのは周知の事実である。このカリキュラム変更で導入された新しいコンセプトは以下のものに集約される。

(1) 統合型カリキュラムの編成(旧態依然の講座割の講義体系にとらわれない講義体系)(2) 自学自習態度の涵養(チュートリアル教育,早期体験学習(early exposure)の導入等)などである。つまり、座学中心主義の日本の教育手法の変革に時期であった。

## 卒前臨床教育の充実のための準備

教育手法の改革と同時進行で卒前臨床教育充実の ための方策も検討されるようになった。これは、日 本の医学生の卒業時の到達レベルが諸外国に対して 低すぎるという指摘に対応するものである。ここで

<sup>\*</sup>旭川医科大学 教育センター

取られた方策は、診療参加型臨床実習(CCS: Clinical ClerkShip: ) の導入のために、診療参加型臨床実習開始時の到達目標の策定、その評価法の確立である。

従来、日本の医学部の教育課程にはガイドラインがなく、習得すべき知識量は青天井状態に膨れ上がるのみであった。しかしながらこの状態では、臨床実習開始前の知識、技能、態度を測定することはできない。また全国一律に試験を実施運営することはできない。この状態の突破口として、臨床実習開始前と卒業時の2段階における到達目標明示型の「医学教育モデル・コア・カリキュラム」3)の作成が進められ平成13年3月に公開された。このモデル・コア・カリキュラムの内容は、各医学部・医科大学の教育内容の70%程度を占める基盤的内容であるとされ、30%は各医学部独自のカリキュラムを運用するように求めるものである。

次に臨床実習開始前の学生を評価するための基盤つくりが開始される。この実施のための医療系大学共用試験実施評価機構<sup>4)</sup>が設置され、平成 14 年から CBT (Computer Based Testing)、OSCE (Objevtive Structured Clinicalskill Examination)のトライアルが開始され、平成 18 年度から正式実施に移行した。現在では、全医学部が参加しており、この試験の通過が学年の進級要件となる大学は 80%を超える<sup>5)</sup>。この方向性は更に進展し、全国医学部長病院長会議が CBT ついて一定の合格ラインを示し、この水準を超えることがStudent Doctor の称号付与と CCS 参加の要件になることを提示した。平成 25 年度からトライアルが行なわれ、平成 26 年度正式実施の予定である<sup>6)</sup>。

必然的に、医学部卒業時の到達目標も整備された。これは、初期臨床研修を受ける卒業生の到達レベルを一定にする目的をも兼ね備えていた。しかしながら、初期臨床研修の導入前後では、知識量の評価を基盤とする医師国家試験の改革は行われず、国家試験 OSCEの導入も見送りになり現在に至っている。

# 全国医学部・医科大学のカリキュラムのトレンド

このような改革の流れの中、多くの医学部・医科大学が改革に乗り出した。講座の枠を超えた「統合カリキュラム」、自学自習の学習態度を涵養するための「チュートリアル教育」、保健・医療・福祉の現場に早

期に触れることで学習意欲を保つ目的の「早期体験学習」、医療面接や身体診察技術などの基本的臨床能力を身につけるための「臨床実習序論」などさまざな用語が使用されている。上記のキーワードは、医学部・医科大学の中期計画、年度計画などの書面のキーワードになっているはずである。このような講座横断的な卒前教育の構成が必要になったこともあり、全国の医学部・医科大学に医学教育センターが設置されるようになった。図1に平成22年3月改訂の「医学教育モデル・コア・カリキュラム」の概念図を示す。

# 卒前医学教育の大枠は、いつどこで決定されるのか?

現在、卒前医学教育の項目を決定しているのは、文 部科学省の「モデル・コア・カリキュラム」である。 この内容は、必須項目であり、学部教育の70%程度 の内容とされ30%は各医学部・医科大学の自主性に 任せると記載されている。平成13年に医学教育モデ ル・コア・カリキュラムは、決定公開された。その後 常設の改訂委員会(連絡調整委員会<sup>7)</sup>)が設置され、 初回の改訂が平成19年度に行われた。2回目が平成 22年度(平成23年度3月)に行われ、ほぼ3年に一 回の改訂が行われている。一方、厚生労働省医道審議 会医師分科会医師国家試験改善委員会も4年に1回の 報告書8)を提出している。この報告書は、報告時点 から2年後の医師国家試験の大枠を決定するものであ る。今回の報告では、医師国家試験出題基準は、医学 教育モデル・コア・カリキュラムとの整合性を保つた めに卒業時の到達目標と合わせる方向で検討される方 針が示されている。また、医師国家試験の出題分野の 構成表であるブループリントの弾力的な運用も盛り込 まれている。

このように、卒前医学教育は文部科学省、医師国家 試験は厚生労働省の縦割りの常識が壊れつつあり、整 合性を持つ方向で改訂が進んでいる。

#### 旭川医科大学の 2009 カリキュラム

平成19年(2007年)11月14日に当時の学長補佐4名連名による旭川医科大学教育改革グランドデザイン<sup>9)</sup>が公開された。この報告書では、医学教育の改善・充実に関する調査研究協力者会議の報告書、中教審答申「新しい時代における教養教育の在り方について」、

#### 医学教育モデル・コア・カリキュラム(H13.3策定、H19.12、H23.3改訂) ○学生が卒業時までに身に付けておくべき、必須の実践的診療能力(知識・技能・態度)に関する到達目標を明確化 ○履修時間数(単位数)の3分の2程度を目安としたもの(残り3分の1程度は各大学が特色ある独自の選択的なカリキュラムを実施) ○冒頭に「医師として求められる基本的な資質」を記載、患者中心の医療および医療の安全性確保も明記 ○医学の基礎となる基礎科学については、別途「準備教育モデル・コア・カリキュラム」として記載 選択的なカリキュラム(学生の履修時間数(単位数)の3分の1程度) 教養教育 ※各大学が理念に照らして設置する独自のもの(学生が自主的に選択できるプログラムを含む) 医学教育モデル・コア・カリキュラム (学生の履修時間数(単位数)の3分の2程度) 医師とし 求められる基本的な資質 文 社 C医学一般 D 人体各器官の 診察の基本 物理現象と 会科学・ 生命現象の科学(再掲) 個体の反応 正常構造と機能、 物質の科学 診察法 病態、診断、治療 個体の構成と機能 病因と病態 生命現象 基本的診療手技 の科学 数 F診療の基本 E 全身におよぶ -000 診療科臨床実習 学・ 晋 情報の科学 症状・病態からのアプローチ (内科系、外科系、教急医推 前の 生理的変化、病態、 人の行動 語学教育など 診断、治療 基本的診療知識 基本的診療技能 地域医療臨床実習 と心理 E A 基本事項 医の原則 医療における安全性確保 コミュニケーションとチーム医療 課題探求・解決と学習の在り方 B 医学・医療と社会 社会・環境と健康 地域医療 疫学と予防医学 生活習慣と疾病 保健、医療、福祉と介護の制度 死と法 診療情報 臨床研究と医療

図1 コアカリキュラム概念図

本学の教育の理念、教育の目標及びアドミッション・ポリシー、学生卒業生へのアンケート、教職員アンケートの結果を踏まえて、本学での教育改革の方向性を示したものであり、これに沿う形で「医学科 2009 カリキュラム」が構成された。リメディアル教育の充実、本学入試での地域枠導入と連動した地域医療教育の充実、技能態度教育の拡充、弾力的な臨床実習の運営、医学教育モデル・コア・カリキュラムとの整合性を保っための新規科目の創設が盛り込まれた。

結果として、一年次理科3科目のリメディアル教育の整備、休業時期を利用して行われていた早期体験実習 I、II、地域医療実習の正規時間への組み込み、チュートリアル教育の再編(一年次の問題解決型を、一年次学習スキル修得型二年次問題解決型に分割)、卒業時の態度技能評価のための Advanced OSCE 導入に向けてのトライアルの開始、臨床疫学、医療安全、健康弱者のための医学、腫瘍学などの科目の新設が盛り込まれ現在に至っている。

## 新しい流れ1 アウトカム基盤型教育

平成17年度から大学の機関別認証10)が進行して いることはご存知であると思う。本学は、国立大学と して独立行政法人 大学評価・学位授与機構 11) による 認証を受けている。この制度は、最低7年に一度は受 審すべき大学としての質を保証する制度である。一巡 目が昨年度をもって終了し、平成24年から二巡目に 入っている。一巡目の大きな課題は、履修内容の明確 化と判定の厳格化あった。多くの大学でシラバスが整 理され、単位の実質化のための履修単位の上限の導入 (CAP 制度)、GPA(Grade Point Average) 制度の導入な どが行われた。本学は、平成19年に受審している。 平成24年度から開始された二巡目では、平成20年に 中央教育審議会が取りまとめた学士課程教育の構築に 向けて(答申)<sup>12)</sup>が色濃く反映されている。3つの ポリシー(アドミッション・ポリシー、カリキュラム・ ポリシー、ディプロマ・ポリシー) の整備、学習者の ベンチマークの測定とカリキュラムへの反映、アセス

メント・ポリシーの作成などが評価基準に盛り込まれている。この教育理論の根底のあるのがアウトカム基盤型教育である。従来のプロセス基盤型教育との違いを模式的に図2に示す。医学部の教育内容でいうと、学習すべき項目は「医学教育モデル・コア・カリキュラム」に記載されているが、効果的な学習のための順次性については記載がない。また、到達度の記載はあるが評価の方法は記載されていない。料理で言えば、料理の要素が書かれているだけである。料理のレシピや出来上がりの判定は、各大学が責務を負う形になっている。今回の機関別認証では、このレシピが存在し、出来上がりを測定し、問題点を改善するのための方策が準備されていることが問われていると言っても過言ではない。

## 新しい流れ2 医学部学部教育の国際基準で の認証

現在、医学教育関係者では「2023年問題」とし



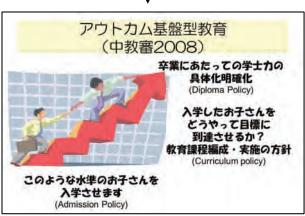


図2 プロセス基盤型教育とアウトカム基盤型教育 の違い

て取り上げられている問題をご存知だろうか?これは、平成22年(2010年)9月21日にアメリカECFMG(Educational Commission for Foreign Medical Graduate)が発表した内容で「2023年からECFMGの受験資格として、質保証を受けた医学部・医科大学の卒業を必須とする」<sup>13)</sup>というものである。医学部・医科大学の教育の質保証と現状の機関別認証評価はどのような関係にあるのだろうか?機関別認証評価は、大学としての水準を評価するものであり、医学部・医科大学のカリキュラムの質保証を目指したものではない。この時点では、我が国には医学教育の質を保証する基準もなければ認証団体もないのが実情であった。

この状況に対して平成23年10月20日全国医学部 長病院長会議は、定例の記者会見の中で「医学部・医 科大学の教育評価に関わる検討会しの立ち上げ、委 員長に東京医科歯科大学医歯学教育システム研究セ ンター奈良信雄教授をあてると発表した<sup>14)</sup>。認証基 準は、国際医学教育連盟(WFME: World Federation od Medical Education) が作成している卒前医学教育グロ ーバル・スタンダードを用いることが決定され、平成 25年7月30日に日本医学教育学会から日本版が公開 された<sup>15)</sup>。また、認証母体として日本医学教育認証 評価協議会 (JACME: Japanese Accreditation Council for Medical Education) が設立され平成25年度中に2校の 認証トライアルが実施される計画になっている <sup>16)</sup>。 実は、この WFME が提唱するグローバル・スタンダ ードも教育理論としてのアウトカム基盤型教育に基づ いたものなのである。

#### 国際認証に向けたロードマップ

今回取り上げた「医学教育モデル・コア・カリキュラム」「医師国家試験改善委員会」「機関別認証評価」「2023年問題」などのキーワードの関連性を表に示す。 平成 23年に「医学教育モデル・コア・カリキュラム」「医師国家試験改善委員会」の報告書が出たばかりではあるが、大きな変遷の前段階にいることをご理解いただけると思う。 認証基準である WFME グローバル・スタンダードの日本版も平成 25年7月に公開された。各医学部・医科大学は対応表の作成しカリキュラム変更への準備を開始することになる。これに基づくカリキュラム変更時期(表中、矢印で示す)は、次期の「医学教育モデル・コア・カリキュラム」「医師国家試験

						2013110			
	日本 相川医大関連 国内の動向								
	旭川医								
	カリキュラム改定作業	大学評価· 学位授与 機構	質保証体制	医師国家試験改革	コアカリの改定	-1-1-1			
		機関別評価	プログラム評価						
2011				報告書(H23,6,9)	報告書(H23,3)				
2012				実施(予備試験での 日本語OSOEの実施)					
2013	2015カリキュラム策定		WFME(日本版)発表 JACME設立 第一回認証開始						
2014	2015カリキュラム策定	旭川医大 第2回受審年	年間10校の認証						
2015	2015カリキュラム開始			次期報告書	次期報告書				
2016	2年生			実施					
2017	8年生								
2018	4年生								
2019	5年生			次期報告書					
2020	6年生			実施					
2021	2015カリキュラムでの 卒業	旭川医大 第3回受審年	•						
2022	100								
2023						ECFMGC 受験資格 制限開始			

表 各キーワードに対応するためのロードマップ

改善委員会」の報告書が重なることになり、制度改革 も含めた大規模な変更への対応も要求されるかもしれ ない。

#### 終わりに

「患者のたらい回し」「プライマリケア」が社会問題となった時期から日本の医学教育は大きく変化し続けている。初期臨床研修制度の必修化、医学教育モデル・コア・カリキュラムの作成、診療参加型臨床実習のための CBT、OSCE の導入の第一段階が終了した。これからアウトカム基盤型教育に基づいたカリキュラムの作成と運用、そして WFME グローバル・スタンダード日本版による認証を受ける必要がある。「患者のたらい回し」「プライマリケア」の問題は改善傾向にはあるが、「地域医療の崩壊」、「専門医の不在」など新しい社会問題になってきている。今回の二つの新しい流れは外圧的要素が少なくないが、日本の医療を変え

るための基礎になるものと確信している。教育センターとしては、社会の要請に答える医療人を育成するためにも、この二つの新しい流れを乗り切り、新しい旭川医科大学を創造していくための準備を進めていきたいと考える。

#### 引用文献

- 1)旭川医科大学十年史 旭川医科大学10周年誌編 集委員会編、ぎょうせい、札幌、17-20、1985.
- 2) 医学教育白書(2006年版('02~'06))、日本医学教育学会編、篠原出版新社、東京、2006.
- 3) 医学教育モデル・コア・カリキュラム (平成22年改訂版) http://www.mext.go.jp/b\_menu/shingi/chousa/koutou/033-1/toushin/1304433.htm
- 4) 医療系大学共用試験実施評価機構 http://www.cato.umin.jp/
- 5)全国医学部長病院長会議:わが国の大学医学部(医

- 科大学)白書 2009、257, 全国医学部長病院長会議、 2009
- 6) 共用試験合格者認定手続きについて(お願い)、 全医・病会議発第140号、全国医学部長病院長会議、 平成25年7月1日
- 7) モデル・コア・カリキュラムの改訂に関する連絡 調整委員会(平成22年度)
  - http://www.mext.go.jp/b\_menu/shingi/chousa/koutou/033-1/index.htm
- 8) 医師国家試験改善検討部会報告書 http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000001f1cf. html
- 9) 旭川医科大学教育改革のためのグランドデザイン http://www.asahikawa-med.ac.jp/bureau/gakusei/grand\_ design\_20071114.pdf
- 10) 学校教育法第109条
- 11)独立行政法人大学評価·学位授与機構 http://www.niad.ac.jp/index.html

- 12) 学士課程教育の構築に向けて(答申)中央教育審議会
  - http://www.mext.go.jp/b\_menu/shingi/chukyo/chukyo0/toushin/1217067.htm
- 13) Medical School Accreditation Requirement for ECFMG Certification

  http://www.ecfmg.org/annc/accreditation-requirement.
- 14) 奈良信雄:医学教育機関認証制度発足に向けて、 全国医学部長病院長会議 第9回定例記者会見 http://www.ajmc.umin.jp/23.10.20-1%20.pdf
- 15) 世界医学教育連盟(WFME)グローバルスタンダード準拠医学教育分野別評価基準日本版【正式版】http://jsme.umin.ac.jp/ann/jmse\_an\_130730\_WFME.html
- 16) 文部科学省高等教育局医学教育課 医学教育をめ ぐる諸問題 全国医学部長病院長会議、平成25年 1月25日.

## 依頼論文

# 緩和ケアの本質とは-歴史から意思決定支援まで

阿 部 泰 之\*

## 【要 旨】

緩和ケアの源流はホスピスに見出すことができる。しかしその後、概念としても実践としても広がりを持つに至った。緩和ケアと、いわゆる疾患に対する「治療」との違いは、疾患そのものにアプローチするのではなく、疾患により生じた問題にアプローチするということであり、この2つのアプローチが車の両輪のように連動することは、どんな医療の場面においても必要である。日本では、緩和ケアはがんを中心に広まっている。緩和ケアを含んで包括的にがん医療を行うことによるメリットも判ってきている。患者の意思決定をいかに支援するか、ということも緩和ケアの一部であり、我が国においても、今後十分な議論を行っていくべきである。

**|キーワード**| 緩和ケア、包括的がん医療、意思決定支援、アドバンス・ケア・プランニング

#### はじめに

当初、私に与えられたテーマは「緩和ケアの現状」でした。しかし、温故知新という言葉の通り、現状を語るには、その歴史も見直す必要があります。そこで本論では、緩和ケアの歴史を紐解くことで、現在まで、またこれからも緩和ケアに底流し続ける本質を見出してみたいと思っています。

なるべく偏りなく概要を述べるつもりですが、他の全ての文章がそうであるように、本論もあくまで「私」という主観から見た緩和ケアを述べるという限界を持ち合わせています。ご了解のうえお読みいただければ幸いです。

#### 緩和ケアの歴史

緩和ケアの源流は"ホスピス"に見出すことができます。ホスピスは中世西ヨーロッパにあった「休息の場」であり、主にはエルサレムへの巡礼者や、十字軍の遠征の際に使われていたとされています。"hospice"の語源はラテン語の"hospitium"であり、原義は「客人(hospes)をもてなす場」です。同じく

hospitium を語源とする言葉に、もてなしの意味を持つ hospitality や、病院 hospital もあります。実際に、これらの巡礼者や兵士の中には、病気になったり、傷を負ったりした人もおり、そういった人たちを分け隔てなく、もてなし、世話をしていたわけで、たしかに現在の病院のような役割も担っていたようです。

#### 3名のパイオニア

緩和ケアを語る際には、3名の重要なパイオニアの 話をしなければなりません。3名の女性、それぞれが 先駆的な働きをしました。時代は変わった今でも彼女 たちから学ぶべきことが多くあります。

先ほど紹介した中世のホスピス、それから時代が進んだ 19 世紀、アイルランドに「近代ホスピスの母」と呼ばれる人が登場します。マザー・メアリー・エイケンヘッドです。彼女は当時イギリスの植民地下であったアイルランドにおいて、家の戸口で死んでいく同胞を見るに見かね、せめて死の間際に安息の場が与えられるようにと、「ホーム」と呼ばれる場所を提供し続けました<sup>1)</sup>。この「ホーム」には、階級や主義、国籍、宗教がどのようなものであっても、まったく公平

<sup>\*</sup>旭川医科大学病院 緩和ケア診療部

に扱うという崇高な理念がありました。どんな人であっても、死に臨んだ際には人間は平等であるという考えがあったということだろうと思います。これは、現代の緩和ケアの実践にも貫かれている姿勢です。

現代的なホスピス・緩和ケアの始まりはデイム・シシリー・ソンダース(1918-2005)の開設したセント・クリストファー・ホスピスだと言われています。彼女は看護師として医療人生をスタートさせましたが、まもなく持病の背部痛の悪化により、看護業務につくことをあきらめます。その後、アルマナー(現在のMSW)の道を志し、多くの進行がん患者の声を聴く中で「トータル・ペイン」として患者の苦痛をとらえることを見出しました。また、痛みをコントロールすることの重要性に気付き、それを達成するために39歳にして自ら医師となり、現在のWHOのがん性疼痛治療法の基礎となる研究や実践を行いました。その後、1967年に近代ホスピスの第一号であるセント・クリストファー・ホスピスを開設しました。

シシリー・ソンダースの姿勢は彼女の書いた文章によく表れています。「勇気を示しながら逆境を乗り越えていく人々に出会うのは、我々にとっての名誉である。このような出会いのための最良の方法は身体的な不快さを改善する技術を発展させることである。そして、患者が心の中の苦痛を分かち合う特権を与えてくれるなら、我々の関心は身体的な問題から、心の中の苦痛を除くことへと向いていく。多くのことができないかもしれないが、我々は少なくとも患者のそばにいることができる。」<sup>2)</sup>まずは痛みなどの身体症状をよくする医療技術を磨こう、そのうえで心に寄り添っていくことが大切であると述べています。

現在、医療において EBM が重視され、その反発として人間的な医療が叫ばれることがありますが、シシリー・ソンダースがしたことは、そのどちらかではなく、その両方、進化する医科学と、普遍的な人間愛を統合することでした。この両者のバランスは、現代医療に携わる我々こそよく考えていかなければいけないことだと思います。

次に紹介すべき人物はエリザベス・キュブラー・ロス (1926-2004) です。彼女はスイスに生まれ、スイスの医学部を卒業しましたが、すぐに渡米、米国で精神科医として職に就きました。シシリー・ソンダースとキュブラー・ロスはほぼ同時代に生きた人で、ソン

ダースが英国のホスピス・緩和ケアのパイオニアとすれば、ロスは米国のホスピス・緩和ケアのパイオニアと認識されています。キュブラー・ロスは『On Death and Dying』(日本語訳:『死ぬ瞬間』)という本を 1969年に著して有名になりました。この本自体を知らなくても、死を前にした者は "否認 – 怒り – 取り引き – 抑うつ – 受容"のように心理反応が進むという「死の受容プロセス」をどこかで見たことのある方は多いのではないでしょうか。(医師国家試験にも頻出する知識です)本には、この死の受容プロセスのことが記載されています。その後、死にゆく人のための施設「センター」の開設に力を入れるなど、米国においてのホスピスの礎を作った人です。

キュブラー・ロスというと、「死の受容プロセス」 のことばかりが取り上げられますが、彼女の本当のメ ッセージはこの本のまえがきに現れています。「私の 願いは、この本を読んだ人が"望みのない"病人から 尻込みすることなく、彼らに近づき、彼らが人生の最 後の時間を過ごす手伝いができるようになることであ る。そうしたことができるようになれば、その経験が 病人だけではなく自分にとっても有益になりうるとい うことがわかるだろうし、人間の心の働きについて多 くを学ぶことができ、自分たちの存在のどこがいちば ん人間らしい側面であるかがわかるだろう。」<sup>3)</sup>彼女 はけっして「死の受容プロセス」の発見を声高に発表 したかったのではなく、この本を通じて特に医療に関 わる者が、死を前にした人や死そのものに、逃げずに 立ち向かい、そして患者から学ぶことを言いたかった のではないかと思います。

こうして見ると、時代や場所は違えども、3名のパイオニアが示唆していたことはほぼ一緒であることがわかります。全ての人に訪れるはずの「死」でもって人間を差別しないこと、最期のときまでその人の尊厳が保たれるように関わること、そして死にゆく人からこそ学ぶことが多いということ、です。1960-70年代に起こったホスピス運動はまさにこの文脈で行われたムーブメントでした。1960年代といえば、公民権運動や女性解放運動も盛んになった時代です。この一致は偶然ではありません。こういった時代の流れの中、死の臨床や医療やケア全体において、患者を差別せず、その人の尊厳を保つことを強く志向したパラダイムがホスピスであり緩和ケアです。

#### 緩和ケアというもの

しかしながら、現状まだまだ「緩和ケア」という言葉の周辺には混乱が残っています。少し整理しておくことにしましょう。

#### ・緩和ケア Palliative Care

まず、緩和ケアの定義としてよくとりあげられ るのは WHO の緩和ケアの定義です。現在有効な のは2002年のものになります。「Palliative care is an approach that improves the quality of life of patients and their families facing the problem of associated with lifethreatening illness, through the prevention and relief of suffering by means of early identification and impeccable assessment and treatment of pain and other problems, physical, psychosocial and spiritual.」<sup>4)</sup> これが原文です。 私なりに和訳すれば、緩和ケアというのは「Life を脅 かす疾患に関わる問題に直面している患者と家族のク オリティ・オブ・ライフを改善するアプローチ」であ り、「痛み、その他の身体的、心理社会的、スピリチ ュアルな諸問題の早期かつ確実な診断、早期治療と対 応によって苦痛の予防と苦痛からの解放を実現」する ものであるとなるでしょう。この WHO 定義が現在、 一番スタンダードな緩和ケアの定義と言っていいと思 います。

この定義で押さえておきたいのは、まず疾患や時期 でその必要性を限っていないこと(緩和ケア #終末期 ケアです)、QOL が指標であること、患者のみならず 家族も含まれることです。しかし、もっとも緩和ケア の本質を表している部分はどこかと問われれば (これ に答えることが緩和ケアとは何かをもっとも表すこと になるでしょう)、私は迷わず「・・に関わる問題・・」 の部分だと答えます。緩和ケアは疾患に関わる問題に 対処しようといっているのですね、疾患そのものでは なく。この点が他の医療の本質的な方向性である「疾 患を治す、疾患をコントロールする」ということとの 大きな違いです。緩和ケア(という考え)としては、 それを一旦脇に置いて、その疾患に伴って生じる問 題、困ったこと自体にフォーカスするということなの です。これは疾患自体をコントロールすることを否定 しているのではありません。疾患自体を治そうとする アプローチも必要、でも緩和ケアのアプローチも必要 なのです。この2つのアプローチが車の両輪のように

有機的に連動することによって、質の高い医療を提供 することができるのです。

#### 緩和ケアをめぐる言葉

緩和ケアと関連する他の言葉についてもおさらいを しておくことにします。

#### ・ターミナルケア Terminal Care

1950-60 年に英国や米国で提唱された考え方です。 前述したソンダースやロスの時代です。人が死に向か う過程を理解して、医療のみではなく人間的な対応を する必要性を主張しました。このときはまだ終末期と いう「時期」に焦点があたっていたということになり ます。"ターミナル"という言葉は欧米でもイメージ が悪く、あまり使われなくなっているようです。終末 期のケアを表すときには後述のエンドオブライフ・ケ アが使われるようになっています。

#### ・ホスピスケア Hospice Care

主に1960年代からの英国のホスピスでの実践をも とに提唱された考え方です。全人的アプローチ、全人 的ケアという考え方がその中枢にあります。

#### ・支持療法 Supportive Care

1980年代、米国や欧州においてがん治療から発展した考え方です。治療に伴う副作用の軽減や、リハビリテーションなど、抗がん治療自体ではない様々な治療的アプローチのことを指しています。

#### ・エンドオブライフ・ケア End-of-Life Care

1990年代から北米において、高齢者医療と緩和ケアを統合するような形で提唱されるようになった考え方です。北米においても"緩和ケア"という言葉はがんやエイズを対象としたものという認識が強いようです。WHOの定義のように、緩和ケアのアプローチはがんに限らないわけで、エンドオブライフ・ケアは、がんのみならず認知症、脳血管障害、慢性臓器不全など幅広い疾患を対象とすることを志向しています。

## 日本の緩和ケア: がんとの関わり

おそらく我が国において、緩和ケアと聞けば「がん」を思い浮かべる人がほとんどでしょう。北米においてもその状況は同じだということも既述しました。しかし、これまで見てきたように、緩和ケアの対象はがんだけではありません。我が国ではおそらく下記の2つの医療体制上の理由が大きく影響し、緩和ケア=がん

という雰囲気ができたと考えられます。

日本で初めてのホスピスは1981年、静岡県の聖隷三方原病院にできました。その次が大阪の淀川キリスト教病院です。その後、1990年の診療報酬改定の際に、「緩和ケア病棟入院料」が作られました。これによりホスピス・緩和ケア病棟の運営が診療報酬上も担保されたことになります。1990年には全国で5施設120床程度であったものが、それから20年ちょっとたった現在、約260施設5000床を超える緩和ケア病棟が承認済みです。しかし、これは現在まで続いていますが、緩和ケア病棟入院料を算定できる疾患はがんとAIDSだけです。日本は圧倒的に前者の患者数が多いため、実質、がんにのみ緩和ケアが認められているような格好になってしまったというわけです。

さらに2006年には「がん対策基本法」という法律 ができました。国民の最大の死因であるがんの対策に ついて、行政、医療、国民が一体となって取り組むこ とを謳った法律です。同法に基づくがん対策推進基本 計画において、がん罹患後早期から緩和ケアの実施が 重点課題として盛り込まれました。"盛り込まれた" というよりは、「すべてのがん診療に携わる医師が研 修等により、緩和ケアについての基本的な知識を習得 する」ことが "義務"として掲げられました<sup>5)</sup>。多く の方が「緩和ケア」という言葉をよく聞くようになっ たのは、2007年あたりからではないでしょうか?な にせ"法律""義務"ですので、影響力は多大です。 この法律の制定が日本で緩和ケアが広まる変曲点とな ったのは明らかです。しかしその反面、緩和ケアとい う言葉ががんとセットにされる傾向を強めることにも 大きな影響を与えたと思われます。

これから日本の緩和ケアは、数だけではなく質を担保すること(制度に牽引されて短期間で広がったため、残念ながら緩和ケアと名乗るのもお恥ずかしい施設もありますし、活動の実態がほとんどなく「緩和エア」とでも言うべきチームもあります)、そしてがん以外の疾患に対して緩和ケアを広げていくことが重要となってくると思われます。

## がん緩和ケア

上述のように、がんに対する緩和ケアは緩和ケアの一部にすぎませんが、がん医療において緩和ケアが重要であることに違いはありません。ASCO(アメリカ

臨床腫瘍学会)も「がん患者に対するケアの責任は、診断のその時から病気の全過程にわたってオンコロジストにある。適切な抗がん治療に加えて、がん医療の全段階での症状マネジメントや心理的サポート、死が近い時期のケアが必要である」旨を1998年に提言しています。がん医療の始まりから最後まで、いわゆる抗がん治療と緩和ケアが並行して行われることが大切です。このようにして行われるがん医療は、包括的がん医療モデルといわれます。しかし最近まで、がん医療を包括的に行うべき(≒緩和ケアもきちんと行うべき)ということは、あくまでスローガンとして言われてきました。

2010年に New England Journal of Medicine に投稿された 1 つの論文は大きなインパクトを与えました 6 。米国ボストンの Massachusetts General Hospital (MGH)で行われたこの研究では、非小細胞肺がんの患者さんを早期から緩和ケアを意図的に行う群と、従来通り主治医が必要と判断したときのみ緩和ケアを導入する群に分け、比較検討が行われました。結果、早期から緩和ケアが行われた群は、不安や抑うつの程度が低く、QOL が高く、さらに約3か月の生命予後の延長が認められました。3か月の予後延長が例えば新規の抗がん剤でもたらされたとしたら大変なニュースです。それだけの効果が早期から緩和ケアを導入することで得られたということですので、それはちょっとした騒ぎになるはずです。

では、何がよかったのでしょうか。もしくはここで行われた緩和ケアとはなんだったのでしょうか。その後の報告をみると、ひとつの可能性がうかび上がってきます。簡単にいうと、緩和ケアが介入し患者さんの意思決定を支援したことにより、適切な時期に抗がん剤の投与が中止となり、終末期近くの抗がん治療が抑制されることによって予後が延長されたという結論です。ここにおいて、緩和ケアの本質的な役割として意思決定の支援が浮かび上がってきました。

#### 意思決定の支援

我々は日々、小さなものから大きなものまで様々な 意思決定を行いながら生きています。人生に数ある意 思決定の中でも、病気になり治療や療養を決めること は大きな意思決定に入るでしょう。それが自分の命や 人生を揺るがすものであれば尚さらです。医療現場に おいては、このような意思決定が日々繰り返されていることになります。医療者には患者さんの意思決定を 支援することが求められますが、けっして十分とは言えません。

個人主義の強い北米においては、病名や病状が正直 に伝えられ、さぞ十分な意思決定支援が行われている とお思いでしょう。しかし、意外とそうではなく、北 米においても日本と同じように、患者さんは十分に医 療者と話し合えず、病気が悪化し不安が解消されない まま、療養に困難を抱えています。そこで活きてくる のが緩和ケアのパラダイムです。どんな時期、どんな 状況においても、その人の QOL や尊厳を保つべく対 処するのが緩和ケアですから、そのサポートの中には 当然、意思決定支援が含まれます。実際にカナダで働 く緩和ケア医に話を聞いたことがあるのですが、仕事 の多くを意思決定支援が占めているようでした。この 事実は北米においても全ての医療者が十分に患者さん の意思決定支援をできているわけではないことの裏返 しです。とはいえ、日本と大きく違うのは、このこと が医療の重要なテーマとして議論されていることで す。特に治癒が見込めない疾患が進行していくような 状況で、自分の最期のことを含む話し合いはシビアな ものになりますが、そうした話し合いのフレームワー クも整備されてきています。

#### Advance Care Planning

その中のひとつ Advance Care Planning (ACP) について紹介します。

ACP は「将来の意思決定能力の低下に備えて、今後の治療・療養に関する意向、代理意思決定者などについて患者・家族とあらかじめ話し合うプロセス」 (NHS のガイドライン<sup>7)</sup>を参考に筆者が要約したもの)と定義されます。

ACP は 1990 年代に、米国においてその必要性が議論されるようになった意思決定支援の方法論のひとつです。米国ではそれ以前に事前指示(Advance Directive:以下 AD)、つまり「自分が意思決定できなくなったときの医療行為と、代理意思決定者の文書による表明」を推進してきていました。しかし、ADの有効性については否定的な指摘がなされるようになり、SUPPORT 研究<sup>8)</sup> のような大規模な study においても、AD のみの聴取では DNR のオーダー率や病院

等リソースの利用コストに至るまで、介入群とコントロール群になんら違いがないことが示されました。 ACP は、その後、意思決定支援の在り方を模索する中で生まれたといっても過言ではありません。

ADとACPの違いは多くありますが、重要なのは次の一点に集約されます。それは、ADは自分1人が書類を作成することで成立してしまうのに対し、ACPは医療者、患者、代理意思決定者(多くの場合家族)が協働作業としての話し合いを行うことを重要視している点です。大切なのは話し合いのプロセス自体ということです。ADの表明だけではなくACPという枠組みで話し合いが行われることで、患者さんの自己コントロール感が高まるという報告や、希望する療養場所が叶えられることで病院死が減少したといった報告がみられるようになりました。2010年にはACPに関するランダム化比較試験9)において、ACPの介入群で終末期における患者と家族の満足度が上昇すること、また患者の死後の家族の不安、抑うつが軽減されることが示されました。

このように ACP が有用であることが判明しつつあります。しかし ACP は決定的な限界も持ち合わせています。そもそも AD は患者の自己決定権を尊重する流れから発生したものです。医師によるパターナリズムからの脱却=アンチパターナリズムの流れを汲むもので、その点は ACP も同じです。少々乱暴な言い方になりますが、要するに「意思決定ができるうちに患者に決めておいてもらおう」ということであって、つまり ACP も "自己決定ありき"という引力圏から逃れされてはいない概念なのです。

自己決定を原則とする考え方の限界は、我々が、自分で決めたくないという患者さんや、誰かに決めてほしいという患者さんと出会ったときに露呈します。自己決定を尊重すること、つまり自律の尊重は現代医療において重要な原則であることは間違いありません。しかし、世の中には「自分では決められない」「誰かに決めてもらいたい」という価値観を持つ人も存在します。実際に厚生労働省の終末期医療に関する調査<sup>10)</sup> において「自身が治る見込みがない病気になった場合、病名や見通し(治療期間、余命)について知りたい」人は一般集団の77%であり、約10%は「知りたくない」と答えています。また、「治る見込みがなく、死期が近いときに、延命医療を拒否することをあ

らかじめ書面に残しておき、本人の意思を直接確かめられないときはその書面に従って治療方針を決定する (≒リビングウィル)」という考え方については、59% が賛成していますが、35%は書面までは必要がないと答え、3%と少数であるが賛成できないと回答した人もいます。この質問自体はADに近い考え方であるものの、万人にACPを適用すれば「知りたくない」「決められない」人に対しても自己決定を強要し、その人の尊厳を奪うことは確実です。

我々は医療における意思決定において自己決定による個人主義の限界を超えることを求められています。

## 自己決定を超えた全人的医療へ

世の中はますます当事者中心、自己決定全盛の社会になってきているように思われます。医療の世界もインフォームド・コンセントの考えが広まり、患者さんを中心に据えた医療が模索されています。もちろん、この流れは基本的には喜ばしいものであって、患者の権利保護として一定の役割を果たしていると思います。しかし、一方で「情報を与えて、あとは患者の自由」というような患者への治療選択の責任転嫁ともとれる流れも生んでしまいました。これは社会が医療者ー患者関係をpaternalistic modelかinformative modelかという二元論でしか捉えられていないことに起因していると考えられます。つまり、我々は思考・思想の転換を迫られているのです。

ではどう考えたらいいのでしょうか。紙面の都合上、 精緻な論理は立てられませんが、緩和ケアという考え 方にヒントがあるように思われます。今は「自己決定」 という決定方法が一番素晴らしいという風潮がありま す。しかし、前述したように自分で決められない、決 めたくない人も一定数存在します。その人にとって自 己決定はむしろ毒となってしまいます。我々は知らず 知らずのうちに自己決定とか自律とか、その概念を大 事にするようになってしまっているのではないでしょ うか。目の前にいる患者さんではなく。そこで緩和ケ アのパラダイムが活きてきます。患者さんの QOL を 指標にする、尊厳を失わせないために、"その人にと っての"最善とは何かを考えるのが緩和ケアです。自 己決定は1つの決定方法です。人に決めてもらう決定 方法があってもいいし、その中間ぐらいのものがあっ てもいいのです。その人らしい決定方法で決めればい いのではないでしょうか。その人らしさを知るには全人的なアプローチをしなければなりません。そうして深い関係ができることで、強い信頼関係のあるよき意思決定、あるべき意思決定の支援ができるのではないでしょうか。MGHで行われた緩和ケアもこういうことだったのかもしれません。

## おわりに

緩和ケアの歴史に始まり、現在個人的にも重要視している意思決定支援の話でまとめました。若干無理なつながりの部分もあったかもしれませんが、これは私自身が緩和ケアに身を置いて臨床現場で感じ、考えてきた順番です。本質を見いだせたかどうかは自信がありませんが、まさに今、現場で必要とされていることを書くことができたのではないかと思います。これを読まれた方にも何かしらの気づきが生まれることを願っています。

## 文 献

- 1) 岡村昭彦:未来の生命のために「岡村昭彦集」5、 筑摩書房、p397、1989
- 2) Cicely Saunders and Mary Baines: Living with Dying (Second Edition)、1989、 武田文和 訳: 死に向かって生きる、p iii v 、医学書院、1990
- 3) Elisabeth Kübler-Ross: On Death and Dying、1969、 鈴木晶 訳: 死ぬ瞬間 死とその過程について、 p5-6、中央公論新社、2001
- 4) WHO Definition of Palliative Care. Genova, Switzerland: World Health Organization, 2002. Available at:http://www.who.int/cancer/palliative/definition/en/Accessed August 30, 2013
- 5) 沖代奈央、恒藤暁: 我が国の緩和ケアの現状と課題、日臨 68、745-755、2010
- 6) Temel JS, Greer JA, Muzikansky A, et al: Early palliative care for patients with metastatic non-small cell lung cancer, N Engl Med 363, 733-742, 2010
- 7) Advance Care Planning: A Guide for Health and Social Care Staff. National End of Life Care Programme, Web site. Available at: http://www.endoflifecareforadults.nhs. uk/assets/downloads/pubs\_Advance\_Care\_Planning\_guide.pdf . Accessed August 30, 2013
- 8) A controlled trial to improve care for seriously ill

hospitalized patients. The study to understand prognoses and preferences for outcomes and risks of treatments (SUPPORT). The SUPPORT Principal Investigators, JAMA 274, 1591-8, 1995

9) Detering KM et al: The impact of advance care

planning on end of life care in elderly patients: randomised controlled trial, BMJ 340, c1345, 2010

10) 厚生労働省「終末期医療に関する調査」結果 Available at:http://www.mhlw.go.jp/shingi/2008/10/dl/ s1027-12e.pdf Accessed August 30, 2013

## 依頼論文

## 網膜循環についての最新の知見

十川健司\*

## 【要 旨】

循環調節を知る上で、非侵襲的に血管を観察できるのは生体内で網膜以外にない。血管を直接観察できる網膜は、この分野の研究に非常に適した臓器である。我々が日常診察で観察している網膜血管は、生理学的にみると細動脈・細静脈である。細動脈は厚い平滑筋を有しており、別名抵抗血管といわれ、全身血圧を規定する因子である末梢血管抵抗の大部分を司る重要な臓器である。この細動脈の血管緊張の程度により全身血圧は変動し、組織への血流供給が決定する。よって、この部位の調節機構は非常に重要である。この項では網膜循環の調節機構として大切な4つの機構(代謝性、筋原性、血流依存性、神経性調節機構)を解説し、最後に網膜循環の自己調節機構について説明する。

#### 網膜循環調節

#### a) 代謝性調節機構

代謝性調節とは組織局所の代謝活動、あるいは組織より放出される代謝産物(H<sup>+</sup>、CO<sub>2</sub>、乳酸、アデノシンなど)の濃度によって血管平滑筋の緊張が調節される。網膜は酸素消費量が生体で最大の組織であり<sup>1)</sup>、酸素分圧の変化によって血流量が鋭敏に増減する。特に、100%酸素吸入による血中酸素分圧の上昇に対し、脳血流は10%程度しか減少しないのに比べ、網膜血流量は約50%も減少する<sup>2)</sup>。

#### b) 筋原性調節機構

細動脈では血管内から血管壁に圧が加わると血管壁が収縮し、逆に圧が低下すると血管壁が拡張することが知られている(Laplace の定理)<sup>3)</sup>。つまり、血管内圧が上昇して血管壁を伸展させると壁張力が増加するが、これを血管が感知して血管が収縮し、壁張力を一定に保つのである。このことを筋原性調節と呼ぶ。我々は健常人を対象にして、寒冷刺激を与えることにより一過性に血圧を増加させ、レーザードップラー眼底血流計を用いて網膜動脈の反応性を評価し、一過

性の血圧上昇(=血管内圧上昇)に対して圧依存性に網膜血管が収縮して、一過性に増加した血流量が元のレベルに戻ることを証明した<sup>4)</sup>。これにより、網膜動脈では筋原性調節機構が自己調節機構に重要な働きをしていることが明らかとなった。

#### c) 血流依存性調節機構

血流依存性調節機構には血管内皮からの血管拡張因子のひとつである、一酸化窒素(NO)が重要な働きをしていることが分かっており、この反応は血管内皮機能を反映するとされている。血流依存性調節機構を説明する上で大切なのは、ずり応力(シェアストレス)という概念である。シェアストレスとは血管内を血液が流れると、その接線方向にかかる力のことをいう(図1)。血流量が増加し、シェアストレスが増加した場合、血管内皮がこれを感知し、血管が拡張しシェアストレスを元のレベルに戻す。逆に血流量が低下し、シェアストレスが低下した場合はその逆の反応が起こる(図2)。このように血流量を変化させることにより、シェアストレスを一定に保つ調節機構のことを血流依存性調節機構と呼ぶ。Kuoらは、微小循環調節はこれらの代謝性、筋原性、血流依存性調節機構の3つのメカニ

<sup>\*</sup>旭川医科大学 眼科学講座

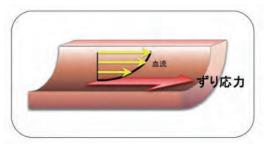


図1 ずり応力(シェアストレス)

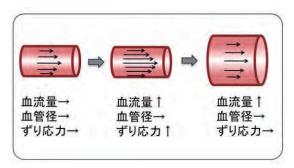


図2 血流依存性調節機構

ズムが時間的かつ空間的に協調して働いているという 考えを提唱した (図4) 10)。たとえば、組織で低酸素 が起こった場合、乳酸や CO2 などの組織最終代謝産 物が放出され、それを感知した小口径の細動脈が拡張し、血流量が増加する。それにより血管内圧の低下が 引き起こされ、そのすぐ上流にある中口径の細動脈では筋原性代謝性調節により血管が拡張して血流量はさらに増加する。すると今度はさらに上流にある大口径の細動脈では血流量の増加を血管内皮細胞が感知して、血管内皮由来拡張因子を放出して血管が拡張し、血流量はさらに増加する。こうして3つの調節機構が 合目的に調節され、組織の低酸素を代償するように血流量を増加させている 11)。

内科領域では、上腕動脈を駆血後に解放させ、一過性の血流量増加に対する前腕動脈における拡張反応(Flow-Mediated Vasodilation; FMD)を測定し、血管内皮機能を非侵襲的に評価している<sup>5)</sup>。糖尿病や高血圧患者などの全身疾患を有する患者における FMD 値の低下が近年多数報告されている<sup>6)</sup>。眼科領域では、我々は近年糖尿病網膜症の病期が進む程 FMD 値が低下することを明らかにした(図3)<sup>7)</sup>。さらに我々は、網膜静脈分枝閉塞症を有する患者でも FMD 値が低下することも報告した<sup>8)</sup>。しかしながら、FMD 値の評価はあくまでも比較的太い血管である上腕動脈の血管内皮機能を非

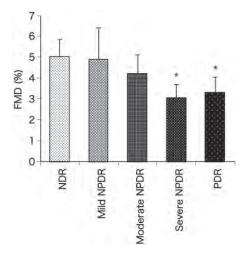


図3 糖尿病網膜症とFMDの関係



**図4** 細動脈における組織代謝需要増加時の反応性血流増加とそのメカニズム(Kuo L et al. Endothelial modulation of arteriolar tone. News in Physiological Science 7: 5-9, 1992 より改変)

侵襲的に評価する方法は未だ確立されていない。

網膜における血流依存性調節機構を評価するために、我々はネコを対象とし、レーザードップラー眼底血流計を用いて血管径と血流速度を測定し、シェアストレスの指標であるずり速度を算出して、低酸素付加時における網膜血流増加反応にこの血流依存性調節機構が関与していることを、網膜循環で初めて明らかにした<sup>9)</sup>。今後、臨床的に血流依存性調節の評価が可能になれば、網膜血管内皮機能を臨床的に評価できることになりうる。

#### d)神経性調節機構

自律神経による血流調節は非常に重要な因子であり、脈絡膜や毛様体には神経支配があり、神経性の調節が強く働くと考えられるが、ヒトやサルでは網膜血管には神経支配がほとんどないとされ、網膜循環においては直接の神経性調節は働いていないと考えられる。しかし、交感神経  $\alpha$  受容体( $\alpha$  1 は血管収縮)や  $\beta$  受容体( $\beta$  2 は血管拡張)の存在は確認されており、実際にノルアドレナリンなどの液性因子による調節はある程度は受けていると考えられる。実際に、 $\beta$  ブロッカーであるチモロール点眼による網膜血流低下も報告されており  $\alpha$  122 、緑内障点眼薬の網膜循環への影響を考えるうえで重要である。

### 網膜の血流自己調節機構

中枢神経調節の影響が強い腸管や皮膚などとは異な り、脳、冠、腎臓などの重要臓器には組織局所で血流 量を調節できる機構が備わっている。これは広義の血 流量の自己調節機構(autoregulation)といわれる(図 5)。autoregulation は生体の恒常性の維持に関与して いる。たとえば、血圧の上昇時に高い圧で送り込まれ た血流をそのまま毛細血管に流してしまうと、毛細血 管は破綻してしまう。それを防ぐメカニズムとして、 autoregulation が存在していると考えられている。この autoregulation は生体にとって生命維持に重要な臓器に のみ存在するといえる。生体においては、1930年に 腎臓で初めて autoregulation が存在することが報告さ れた。また、網膜にもこの autoregulation が存在する ことが知られており、眼科領域でも autoregulation と いう言葉が頻繁に用いられているが、定義が曖昧であ ることが多い。網膜循環で言えば、血中酸素濃度の上 昇で血流が減少し、逆に血中酸素濃度の低下や二酸化 炭素濃度の上昇によって血流量が増加することが知ら れており<sup>12)</sup>、これらも広い意味では autoregulation 機 構のひとつに含まれる場合もある。しかし、脳循環領 域で定義されている様に 13)、狭義の autoregulation と は、神経やホルモンの影響を受けないで、組織還流圧 の変動に対して組織の血流を一定に維持する機序のこ とをさす。

Robinson らはレーザードップラー血流計を用い、 健常人3人を対象にして、血圧上昇時の網膜血流速 度を測定し、平均血圧が115mmHg(41%増加)ま でならば網膜血流速度は一定に保たれることを報告した $^{14)}$ 。以後、長らくこの論文が網膜循環における autoregulation の証拠とされてきた。しかし、この研究では対象はわずか3人で、しかも血流速度しか評価しておらず、最も重要なパラメーターである血流量の変化は評価されていない。そのため、網膜循環の autoregulation のメカニズムは未解明であった。

我々は、全身血圧を上昇させる生理的負荷である寒冷刺激を与えて、レーザードップラー血流計を用いて網膜循環動態の変化を経時的に評価した<sup>4)</sup>。すると負荷後平均血圧は15%増加し、それに伴い血流速度も増加し、一過性に網膜血流量が増加した。この後、圧の上昇を感知して網膜動脈が収縮し、網膜血流を一定に保つというダイナミックな変化が起こることを見いだした。以上より、網膜動脈の収縮反応が網膜循環のautoregulationにおいて重要な働きをしていることが明らかとなった。

最近我々は、血圧を急激に上昇させた際の網膜循環 動態の変化を、ネコを用いて詳細に評価した15)。こ の実験では、負荷前と比して60%を超える急激な全 身血圧の上昇に伴い、網膜血流量は血圧上昇前と比較 して有意に増加した(図6)。Autoregulation の上限を 超える過度の全身血圧の上昇に対しては網膜血流が増 加するが、興味深いことに、血管内皮拡張物質である 一酸化窒素の合成を阻害すると、網膜血流の増加が消 失した。この理由として、血管内圧の増加に対する筋 原性調節による血管収縮よりも、血流依存性調節によ る血管拡張が相対的に優位に作動した結果であると考 察している。 血流依存性調節は血管内皮にかかるシ ェアストレスを一定に保とうする調節反応であること から、autoregulation の範囲を超える過度の全身血圧上 昇に対しては、血流を一定に保とうとするあまり、血 管内皮に負荷がかかりすぎることを回避する合目的な 循環調節反応と考えられる。

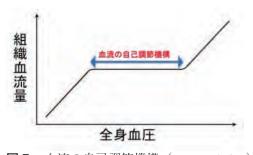


図5 血流の自己調節機構 (autoregulation)

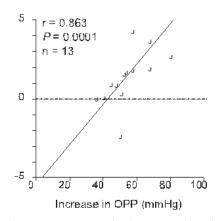


図6 急激な血圧上昇時の網膜血流量 (RBF) の変化

#### おわりに

網膜組織の活発な代謝活動を支えるべく、網膜血流は様々な生理的循環調節機構によって生体の需要に応じて合目的に調節されていることが明らかとなった。言い換えると、このような網膜循環調節機構の障害は、重篤な網膜組織障害につながっている可能性がある。糖尿病網膜症をはじめとする網膜硝子体疾患における網膜循環動態を正確に評価し、循環改善による新しい治療法の確立にも役立てると考えている。

## 参考文献

- 1) Saari, J.C., 1987. Metabolism and photochemistry in the retina. In: Moses, R.A., Hart, W.M. (Eds.), Adler's Physiology of the Eye. Clinical Application. Mosby, St Louis, pp. 356-373.
- 2) Izumi N, Nagaoka T, Sato E et al. Role of nitric oxide in regulation of retinal blood flow in response to hyperoxia in cats. Invest Ophthalmol Vis Sci 49(10): 4595-4603, 2008.
- 3) Bayliss WM. On the local reactions of retinal wall to changes of internal pressure. J Physiol 28(3): 220-231, 1902.
- 4) Nagaoka T, Mori F, Yoshida A. Retinal artery response to acute systemic blood pressure increase during cold pressor test in humans. Invest Ophthalmol Vis Sci 43(6): 1941-1945, 2002.
- 5) Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ et al.; International Brachial Artery Reactivity Task Force.

- Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 39: 257–265, 2002.
- 6) Nair BM, Viswanathan V, Snehalatha C, Mohan RS, Ramachandran A. Flow mediated dilatation and carotid intimal media thickness in South Indian type 2 diabetic subjects. *Diabetes Res Clin Pract* 65:13–19, 2004.
- 7) Sogawa K, Nagaoaka T, Tanano I et al. Association between diabetic retinopathy and flow-mediated vasodilation in type 2 DM. Curr Eye Res: 37(5) 446-451,2012.
- 8) Tanano I, Nagaoka T, Sogawa K et al. Impaired systemic vascular endothelial function in patients with branch retinal vein occlusion. Curr Eye Res: 38(1) 114-118. 2013.
- 9) Nagaoka T, Sakamoto T, Mori F et al. The effect of nitric oxide on retinal blood flow during hypoxia in cats. Invest Ophthalmol Vis Sci 43: 3037-3044, 2002.
- 10) Kuo L, Davis MJ, Chilian WM, Endothelium dependent flow-induced dilation of isolated coronary arterioles. Am J Physiol 259: H1063-100, 1990.
- 11) Kuo L, Chilian WM, Davis MJ. Interaction of pressure and flow-induced responses in porcine coronary resistance vessels. Am J Physiol 261: H1706-1715, 1991.
- 12) Riva CE, Pournaras CJ, Tsacopoulos M. Regulation of local oxygen tension and blood flow in the inner retina during hyperoxia. J Appl Physiol 61: 592-608, 1986.
- 13) Johnson PC. Review of previous studies and current theories of autoregulation. Circ Res 14-15: I2-I9, 1964.
- 14) Robinson F, Riva CE, Grunwald JE et al. Retinal blood flow autoregulation in response to an acute increase in blood pressure. Invest Ophthalmol Vis Sci 27: 722-726, 1986.
- 15) Nakabayashi S, Nagaoka T, Tani T et al. Retinal arteriolar responses to acute severe elevation in systemic blood pressure in cats: role of endothelium-derived factors. Exp Eye Res 103: 63-70, 2012.

## 創立 40 周年記念エッセイ

## 「看護学科」設置の頃の思い出



元 学長 (1991年7月~1997年6月) 清 水 哲 也

## はじめに

去る平成 25 (2013) 年 11 月 5 日は、旭川医科大学の開学 40 周年記念日でした。当日、旭川グランドホテルで開催された記念行事に文部科学大臣代理としてご出席くださったのは、大臣官房審議官(高等教育局ご担当)の中岡氏でした。式典の際、印象的だったのは、同氏が、「地域医療に身を挺して貰うために道内高校からの受験生にスープレマシィを付与するという本学の入試制度については、学生の学力低下をきたすのではないかと懸念するには及ばない(ちなみに平成25 年の「国試」の合格率も国立大学中で最高位を占めていた)」、という藤尾副学長の「プレゼン」を、まるで学生がノートをとるように熱心にメモされていたことでした。

その中岡氏と挨拶を交わした際、私に対して、「あなたは何代目の学長さん?」とのお尋ねがあり、「4代目です」と申し上げると、「いつから、いつまでですか?」と問われ、「1991年から1997年にかけて、2期6年間です」と答えますと、「6年間の学長時代にもっとも苦労された問題は何ですか」と問われました。私は即座に「看護学科設置関連です」と答えました。「どうして?」との質問に、私は以下のように答えました。

#### 看護学科設置に向けて

設置の準備にあたり、文部省(当時)の医学教育課の看護学科担当の課長補佐から、「大学院教官適任者(いわゆる「マル合」教官)は、看護要員としての国家資格に加えて、論文が20はないと・・・」とのご

指摘をいただきました。そこで、アメリカの看護大学 に留学中の日本人ナースに声をかけ、「何とか旭川医 大の看護学科「マル合」教官として就任をお願いした い」と申し上げたところ、「札幌なら考えますが、旭 川は極寒の地なのでしょう?」とお断りを食らうとい った厳しい状況でした。が、そうこうしているうちに、 東大医学部保健学科出身で、イギリス留学中の英文論 文10編がすべて筆頭著者という、願ってもない候補 が見つかり、一般教育の教授が定年ご退職になった後 任の席を充当させて頂いて、その方を医学部教授とし てお迎えできることになり、ご着任が実現しました。 ところが、この教授を足がかりに「マル合」教官少な くとも数名を、と種々努力している最中に、件の教授 がお好きな登山で骨折され、ご退職されるという、余 りにも不幸なアクシデントに見舞われる仕儀となって しまいました。しかし、幸いその後任者として、臨床 看護に経験豊富なパワーのある適任者が見つかり、こ の方が中心となって、ようやくスムーズに教員探しが 軌道に乗ることとなったのです。

#### 病院看護職員の欠員問題

一難去ってまた一難。今度は、本学附属病院における看護職員の欠員問題が発生しました。看護部より提案された暫定案は、ICUを閉鎖し、産科・婦人科病棟と小児科病棟の病床の50%も一時的に閉鎖するというものでした。「北海道新聞(道新)」は第一社会面に、「旭川医大病院、看護婦不足のためICUを全面閉鎖」という見出しで大々的に報道し、医大病院は、まさに重大な局面を迎えるに至りました。

何故そのような事態になってしまったのかと申しま すと、札幌市が早々に打ち上げた病棟数の「総枠規制」 に触発された札幌の一部の私的医療機関が、一斉に「駈 けこみ増床」に走り、病床数の増加は自動的に看護定 員の増員を必要とするために、まさにわが旭川医大病 院看護部が「草刈場」と化してしまったからでありま す。

悪いことは重なるもので、看護要員が医大病院に魅 力を感じなくなった要因の一つに、看護婦宿舎の「居 住性」の劣悪さがありました。

まだ国の財政事情が第一次オイルショックから充分 に回復していなかった頃ですから、各部屋にトイレや バスルームがなく、各階ごとに共同トイレや共同シャ ワー室が置かれているといった状況で、若い女性がそ の「劣悪さ」に我慢できる筈はありませんでした。あ たかも櫛の歯を引くように入居者は減少し、遂には看 護婦宿舎の入居率は20%台となり、まことに惨憺た る状況に陥りました。

このように、私が学長に就任して最初に着手したの は「カリキュラム」の改革などではなく、宿舎の居住 性改善という緊急課題になって仕舞いました。

## 看護婦宿舎対策

さっそく当時の樫野事務局長と一緒に上京し、文部 省(当時)の文教施設部の担当官に実状を説明致しま したが、担当官曰く「学長さん、築17年にしかなら ない宿舎の改装は認められません、東大病院や北大病 院の看護婦宿舎の方が、はるかに老朽化しており、旭 川医大ばかりを優先させる理由は全くありません」、 と一蹴されてしまいました。しかし、宮沢賢治よろし く「雨ニモマケズ、風ニモマケズ」とばかりに、「こ れは看護定員確保対策の一環なのです」と「北海道新 聞」のコピーなどを持参して粘り強い交渉を続けてい るうちに、担当官も次第に理解を示し始め、遂に「補 正予算」の獲得に成功いたしました。

これによって、2室を合わせて1室にすることによ って1部屋の床面積を一挙に2倍にするという、まこ とに画期的な案が認められ、各室に850万をかけて、 バス、トイレ、システムキッチン、洗濯機用スペース を設置し、かくして、100室の1DKマンションの完 成をみ、この工事だけでも実に8億5000万の巨費を

置の設置が要望されておりましたので、熱感作照明装 置も廊下に取り付けられ、宿舎は名実ともに一新しま した。これによって、市内の1DKマンションや札幌 方面に姿を消しておりました看護師さん達も、次第に 再就職・再入居を開始し、驚くべき短時間のうちに入 居率が90%台に跳ね上がり、欠員問題も一挙に解決 をみるに至ったのでした。

#### 医学部看護学科卒の看護要員の素晴らしさ

私事にわたって大変恐縮ですが、私の5歳の孫が、 昨年末、急に高熱を発し、慌てて小生が孫を連れて救 急部を受診しましたが、若い看護師さん達の穏やかな、 そして品のある対応に、「高等教育」の大切さを肌で 感じました。

まさに、医学部看護学科「設置」の意義を痛感いた しました。私の立場(元学長)に言及しない、一市民 としての受診でありましたが、品性豊かな温かい言葉 づかいで接してくださり、深い感動を覚えました。上 述のように、平成8(1996)年の看護学科「設置」に 至るまでには、オーバーに表現すれば「マル合」教官 の獲得に「血を吐く」ような苦労をしましたが、それ が報われたという想いを、心底、抱きました。



看護学科棟

要しましたが、さらに従来から不審者に対する防犯装



**看護学実習風景** (平成 12 年)

## 旭川医科大学 40 年のあゆみ



創設準備室スタッフ



仮校舎 (正面玄関)



旭川医科大学創設準備室から 旭川医科大学へ看板の掛けかえ



昭和48年度入学式(第1回)

昭和47年 7月1日 旭川医科大学創設準備室設置 昭和48年 9月29日 旭川医科大学設置 11月5日 第1回入学式挙行 昭和50年 4月1日 附属病院創設準備室設置 昭和51年 5月10日 医学部附属病院設置 昭和54年 4月1日 大学院医学研究科設置 平成8年 4月1日 医学部看護学科設置 平成12年 4月1日 大学院医学研究科を大学院医学系研究科に改称 大学院医学系研究科に修士課程看護学専攻を設置 平成15年 11月5日 開学30周年記念式典举行 平成16年 4月1日 国立大学法人旭川医科大学発足 アドミッションセンターを入学センターに改組 平成17年 8月1日 医学部附属病院検査部、輸血部を臨床検査・輸血部 に統合 11月1日 医学部附属病院を旭川医科大学病院に改称 11月7日 病院点滴センター設置

平成18年 1月1日 病院地域医療総合センター設置

4月1日 医学科基礎医学1大講座及び12講座を5大講座及び 4講座に、臨床医学19講座を2大講座及び14講座に 再編

病院理学療法室を理学療法部に改組

病院光学医療診療部設置

11月8日 教育センター設置

平成19年 1月1日 病院感染制御部設置 5月1日 病院腫瘍センター設置

平成20年 2月13日 病院診療技術部設置 5月15日 病院呼吸器センター設置

平成21年 7月8日 病院緩和ケア診療部設置 8月1日 病院栄養管理部設置

9月9日 臨床シミュレーションセンター設置

12月1日 泌尿器科学講座を腎泌尿器外科学講座に改称

12月9日 病院入退院センター設置 2月17日 地域医療教育学講座設置

3月24日 脳機能医工学研究センター設置

情報処理センターを情報基盤センターに改称

4月21日 知的財産センター設置

10月1日 病院救急部を救命救急センターに改組

平成23年 4月1日 教育研究推進センター設置

動物実験施設、実験実習機器センター、放射性同位元素研究施設を教育研究堆進センターの技術支援部

に改組

5月1日 病院リハビリテーション科設置 11月1日 病院乳腺疾患センター設置

病院理学療法部をリハビリテーション部に改組

平成24年 10月1日 地域がん診療連携講座設置

11月14日 病院透析室を透析センターに改組

平成25年 11月5日 開学40周年記念式典挙行

平成22年

創立 40 周年記念行事パンフレットより

## 学長挨拶



第七代学長 **吉 田 晃 敏** 

今から40年前の1973年・昭和48年に、旭川医科大学は「地域医療に根ざした医療、福祉の向上」を旗印に、開学しました。 遡ること4年前の昭和44年頃から、当時の北海道議会では、医師充足の恒久対策について、様々な議論が交わされるようになり、その過程で、新たな国立医科大学の誘致話も浮上。医大誘致に名乗りをあげたのは、旭川、釧路、深川、帯広、函館の5市で、特に、旭川市、釧路市、深川市の3市は、熱い誘致合戦を繰り広げました。

その結果、昭和46年8月、当時の堂垣内尚弘北海道知事が「用地、教授、解剖体の確保、開学当初の代替附属病院施設などの諸事情を総合的に判断して、場所を旭川市とする。」と、北海道議会で報告。北海道として、旭川市に国立医科大学を誘致することが正式に決定します。

知事の決断を受けて、当時旭川市長だった五十嵐広三氏(のちの官房長官)が、堂垣内知事ら道内関係者と足並みをそろえ、 自民党三役、文教制度調査会、文教部会、文部省(現文部科学省)、大蔵省(現財務省)、北海道開発庁(現国土交通省)などに、 積極的に医大誘致を働きかけました。

これらの陳情が功を奏し、国は、北海道の厳しい医療環境と医大の必要性を理解するに至り、昭和47年1月、「昭和47年度予算」編成に係る大臣折衝で、「国立医大創設準備費」が内示され、国立医科大学が旭川市に設置されることが正式に決定しました。

こうして、地域医療に軸足を置く北海道第二の国立大学医学部を持つ旭川医科大学が昭和 48 年 11 月に開学。第一期生として新設大学の門をくぐった 100 人のうちの一人が、私でございました。

その後40年の間に、平成8年設置の医学部看護学科を含め、4,500名を超える卒業生を輩出し、地域医療の第一線での活躍を始め、国内外の医療機関、研究機関、行政機関など、幅広い分野へと活動の範囲を広げています。

平成16年4月には、国が主導する大学の法人化政策の下で、旭川医科大学も国立大学法人として新たなスタートを切りました。少子高齢化が加速し、大学を取り巻く環境も厳しさを増す中で、いま国は、学長のリーダーシップの下で、全ての国立大学が、機能強化に向けて積極的に取り組むことを求めています。

この機能強化におけるひとつの柱が、ミッションの再定義です。すなわち、大学の設置目的を明確にし、公的教育機関としての存在意義を、外部からよく見えるようガラス張りにするということです。

旭川医科大学医学部医学科が掲げる「ミッション」は、以下の通りです。

- 1. 旭川医科大学の建学の理念に基づき、地域医療に根ざした医療・福祉の向上に貢献する医師・研究者等の養成を積極的に 推進する。特に、道内の高校や医療機関と連携し、地域医療に対する強い意欲・使命感を持った学生の積極的な受入れを 推進する。
- 2. 北海道の医療支援の実績から発展した遠隔医療の研究、高齢化に対応した脳機能医工学研究の推進等、地域特性に対応した様々な研究を始めとする研究の実績を活かし、先端的で特色ある研究を推進し、新たな医療技術の開発や医療水準の向上を目指すとともに、次代を担う人材を育成する。
- 3. 橋渡し研究支援拠点として、基礎研究成果の臨床への応用を強力に推進することにより研究成果の実用化を図り、日本発のイノベーション創出を目指す。
- 4. 北海道と連携し、道内の地域医療を担う医師の確保及びキャリア形成を一体的に推進し、広大な北海道の医師偏在の解消に貢献する。
- 5. 地域がん診療連携拠点病院、救命救急センター、地域周産期母子医療センター、地域災害拠点病院等として、地域医療の中核的役割を担う。

関学 40 年という節目を迎えた今、本ミッションにもありますように、地域医療の拡充という原点にもう一度立ち戻りながら、 教育・研究・医療の更なる発展、そして、意欲ある医療人の育成に力を尽くして参る所存です。

新たに掲げた "使命 (ミッション)" の重みを胸に、次の 10 年に向けた新たなスタートを切る旭川医科大学を、引き続きご 支援くださいますよう、何卒よろしくお願い申し上げます。

創立 40 周年記念行事パンフレットより

## 同窓会会長挨拶

#### 医学科同窓会長

## 千 葉 茂

(旭川医科大学医学部精神医学講座教授 第1期生)

#### 看護学科同窓会長

## 水島峰子

同窓会を代表して、旭川医科大学開学 40 周年を心よりお慶び申し上げます。

私ども第一期生が1973年に入学した時から40年、また、最初の卒業生によって医学部医学科同窓会が設立されてから34年の歳月が経ちました。

同窓会設立の目的は、会員相互の親睦を図るとともに、母校の発展ならびに医学の進歩に寄与することであります。これまでに、母校の開学 10 周年、20 周年、および 30 周年記念行事への参画、本学学生のスポーツ・文化活動に対する援助などを行ってまいりました。2009 年には、同窓会設立 30 周年を記念して、記念式典・祝賀会、日野原重明先生による講演会開催などの記念事業、記念誌発刊も行っております。現在、本会は会員数 3,500 名を超える大きな組織に成長し、また、会員の診療・教育・研究活動は道内にとどまらず国内外へとますます広がりを見せております。

本会がこのように発展できましたのは、母校はもちろん、行政や医学・医療、地域社会、その他さまざまな分野の皆様からいただいた多大なご指導ご鞭撻の賜物であり、この場をお借りして心から感謝申し上げる次第でございます。

結びに、吉田晃敏学長のもとで 40 歳という節目を 迎えた母校の誕生日を本会一丸となってお祝い申し上 げます。 この度、旭川医科大学が創立 40 周年を迎えられましたことを、心よりお祝い申し上げます。旭川医科大学は、オイルショックのさなかである昭和 48 年にスタートしたと、聞き及んでおります。私たち看護学科一期生の多くは、その 4 年後の昭和 52 年に生まれました。看護学科の開設は、さらに 18 年後の平成 8 年になります。

4年制国立大学で看護学を専門的に学べるということで、本学を志望した同級生が数多くおりました。開学当初は、まだ看護学科の校舎がなく、医学科の施設を使用させて頂きました。さらに私達には先輩が居ないため、様々な面で医学科の皆様方にご援助頂きました。おかげ様で本同窓生も、まもなく1,000名に達します。なかには、看護師として海外派遣に従事する者、開業し助産師として地域のお産を支える者、より深く看護を極めたいと本学大学院にもどる者、そして教壇に立つ者…と様々です。

卒業後、このように多様な場で活動できるのは、医療の第一線で活躍し続ける諸先輩方と関係各位の皆様の暖かなご支援によるものと、同窓会員を代表し心から御礼を申し上げます。

これからも私たちは、研鑽を積み専門性を深めてい く所存でおります。今後ともご指導ご鞭撻を賜わりま すようお願い申し上げます。

結びに、開学 40 周年記念を契機とし、旭川医科大学のますますのご発展を心から祈念しお祝いの言葉といたします。

## 創立 40 周年記念行事(平成 25 年 11 月 5 日(火))式次第

## ■記念講演会 15:00~16:00

●開 会

●学長挨拶 旭川医科大学長 吉田晃敏

●講師紹介

●講演 選路加国際メディカルセンター理事長 旭川医科大学元参与 日野原 重 明

●花束贈呈

閉 会

## ■記念式典 17:15 ~ 18:20 (\* 代理出席者が代読)

●開式の辞

●学長式辞
 地川医科大学長
 吉田晃敏
 下村博文\*
 北海道大学総長
 山口佳三\*
 北海道知事
 高橋はるみ\*

旭川市長 西川 将人

●祝電披露

●社会貢献報告 学長補佐 (国際交流・地域連携) 吉 田 貴 彦

副学長、図書館長、入学センター長 歴史・哲学教授 藤 尾 均

副病院長、手術部教授 平 田 哲

●閉式の辞

## ■記念祝賀会 18:30~20:00

●開 宴

●学長挨拶 旭川医科大学長 吉田晃敏 元財団法人国立旭川医科大学 設置協力会理事 ●来賓祝辞 伊 藤 義 郎 札幌医科大学長 島本和 明 北海道医師会長 長 瀬 清 旭川市医師会長 山下裕 久

●鏡 開き

●祝 杯 第4代旭川医科大学長 清 水 哲 也●スピーチ 第6代旭川医科大学長 八 竹 直

旭川医科大学医学部医学科同窓会長 千 葉 茂 旭川医科大学医学部看護学科同窓会長 水 島 峰 子

●万歳三唱 第5代旭川医科大学長 久保良彦

●閉 宴

# 依頼稿

# 旭川医科大学図書館所蔵「関場・鮫島文庫」の概要

# 藤 尾 均\*



数為夏樹氏 写真 1



写真 2



写真3

## はじめに

「関場・鮫島文庫」は旭川医科大学が2012年12月に鮫島夏樹名誉教授(写真1)から寄贈を受けた医学関係古書籍などのコレクションである。本稿は、本学図書館貴重書室に保管されている同文庫の概要を、代表的古書籍などの写真とともに紹介したものである。

# 「関場・鮫島文庫」とは

旭川医科大学は2012年12月、鮫島夏樹名誉教授(元副学長・病院長・外科学第一講座教授)から、1400点余に及ぶ医学関係古書籍その他の、貴重なコレクションの寄贈を受けた。このコレクションは、江戸時代に日本あるいは中国(明・清)で刊行された和漢書が中心であるが、古いものは安土桃山時代に遡る。また、オランダ語・ドイツ語・英語で記された洋古書や明治時代以降に刊行された日本語書籍も、合わせて100冊ほど含まれている。さらに、このコレクションは、嵐山甫安(1633~1693)以来の外科の名門である嵐山家に代々引き継がれてきた、カテーテル・はさみ・浣腸器などの外科器具一式も含んでいる。

この文庫は、もとは、後述する関場不二彦(理堂、 写真2)のコレクションであったことから、寄贈を受けた本学で、鮫島名誉教授の御意向も踏まえたうえで 「関場・鮫島文庫」と命名した。

## 関場不二彦(理堂)の略歴

関場不二彦 (1865 ~ 1939) は幕末に会津 (福島) で生まれた。1882 (明治 15) 年に東京大学医科大学 (現

<sup>\*</sup>旭川医科大学 図書館長



写真 4



写真5



写真6



写真7

在の東大医学部)に進学し、初代の外科教授スクリバに師事して俊才と謳われた。卒業後、スクリバの助手を経て30歳そこそこで北海道に渡り、札幌病院副院長となった。やがて札幌に関場医院を開業、これが発展して北海病院、さらに北辰病院となった。北辰病院は現在の札幌社会保険総合病院の前身である。病院運営のかたわら北海道医師会・札幌医師会の初代会長を歴任するなど、文字通り北海道医学界の重鎮であった。極めて煩瑣な日常業務のかたわら医史学者としても活躍し、著書に『西医学東漸史話』(1933 (昭和8)年刊)などがある。蔵書家としても有名であった。理堂は彼の号である。

ちなみに、旭川生まれの作家三浦綾子(1922~1999)の小説に『塩狩峠』があるが、その「藻岩山」の章には関場不二彦に関する言及がある。主人公の永野信夫は、恋人で肺結核・カリエスを患っている吉川ふじ子の身を案じ、「札幌で一番の名医」に診せたいと望んでいる。

「おばさん、札幌で一番の名医と言ったら、どこの医者なんでしょうね。」

食事のあとの茶をすすりながら信夫が聞いた。下宿 の主婦は五十過ぎた未亡人で、息子が小学校の教師を していた。息子は今夜宿直で姿が見えない。

「あんた、永野さん、体がどこか悪いのですか」 驚いたように尋ねた。

「いいえ、ぼくは悪くはありません……」

信夫は言葉を濁した。

「それなら安心ですけど。この札幌には三十人以上も 医者がおりますが、そりゃ何と言っても北辰病院の関 場先生が評判いいですよ。|

即座に下宿のおかみは答えた。北辰病院の関場不二 彦と言えば、だれも知らぬ者のないほど有名である。 脈をとってもらっただけで、病気がなおるという患者 もあった。

むろん、この叙述は三浦綾子の創作であり、会話そのものはフィクションであるが、「名医」「評判いい」「有名」などの語は関場不二彦の実像を十二分に反映していると思われる。史実に基づいた彼の生涯と業績を知るうえで現在もっとも入手しやすいのは、札幌社会保険総合病院の前院長である秦温信氏による評伝『北

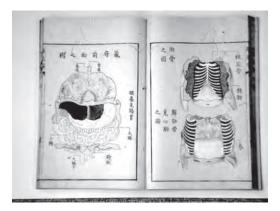


写真8



写真9



写真 10



写真 11

辰の如く 関場不二彦伝』(北海道出版企画センター 2011 (平成 23) 年刊) である。ちなみに著者の秦氏は 2012 年 12 月に旭川医大で開催された「関場・鮫島文庫」オープン・セレモニーに出席され、そのわずか 2 か月後の 2013 年 2 月、急逝された。

## 本学への寄贈のいきさつ

鮫島夏樹名誉教授の御母堂が関場不二彦の義理の姪であった縁で、関場の死後、その蔵書の一部(主として医学関係の古書籍)は、夏樹氏の御尊父(関場龍水、元北辰病院長)の所蔵となった。御尊父亡きあとは、それを夏樹氏が継承し大切に管理してこられた。しかし、夏樹氏の御親族にはこのコレクションを継承する御意志がないため、この度、夏樹氏が、長年にわたって自ら教育・研究・診療にあたられた旭川医科大学に寄贈してくださった。寄贈先として、北海道大学図書館・国際日本文化研究センター(京都)なども候補にあがったようであるが、最終的には、保存・管理用の貴重書室を新設する(写真3)など熱意を示した旭川医科大学を選んでくださった。深く感謝申し上げる次第である。

# 旭川医大が「関場・鮫島文庫」を所蔵できた 意義

医学部をもつ日本の大学における、医学貴重書コレクションとしては、国立大学では医史学者富士川游(1865~1940)の旧蔵書から成る京都大学の「富士川文庫」など、私立大学では医事法制の大家であった山崎佐(1888~1967)の旧蔵書を収録した順天堂大学の「山崎文庫」など、新設医科大学では華岡青洲(1760~1835、後述)関係の文書に特化した旧島根医科大学(現島根大学医学部)の「大森文庫」などが有名である。「関場・鮫島文庫」は、それらと並び称されるべき貴重な「お宝」である。

旭川医科大学にとって2013(平成25)年は、開学40周年という記念すべき年であった、しかも翌2014年(本年)は、本学図書館が増築(総面積は約960㎡)および既存部分全面改修に向けて動き出した年である。これらを前にした2012年に、本学図書館は国内外に誇れる貴重なコレクションを入手することができたわけであり、関係者の感慨もひとしおである。とりわけ、何世紀にもわたって日本の本州以南の伝統的医

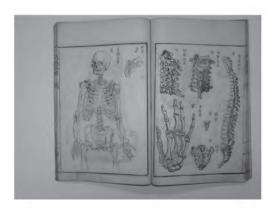


写真 12

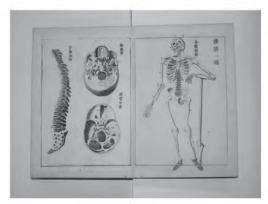


写真 13



写真 14



写真 15

療文化とは切り離されたかたちで医療活動が展開されてきた北海道の、しかも、歴史の浅い新設医科大学に、江戸時代以前の医学貴重書が多数集結した意義は大きい。今後、これらの貴重な資料は、教育・研究に生かすだけでなく、展示会などのかたちで広く地域社会に公開し、地域貢献にもつながるようにしていきたい。

## 「関場・鮫島文庫」の資産価値

「関場・鮫島文庫」所収の和漢書を、刊行された時期によって大まかに分類すると、

- (1) 安土桃山時代~江戸時代最初期の書籍 数冊 (和 漢伝統医学関連)
- (2) 江戸時代前半の書籍 200 余冊 (ほとんどが和漢 伝統医学関連)
- (3) 江戸時代後半の書籍 900 余冊 (ほとんどが西洋 医学関連)
- (4) 明治から昭和の初期までの書籍 200 余冊 (ほとんどが西洋医学関連、活字印刷ハードカバー) となる。

これらにつき、札幌市のある古書店に資産価値の見積もりを依頼したところ、コレクション全体で8桁の値段がついた。冊単位で見積もっても意味がないのでセット単位(たとえば、後述する有名な『解体新書』は5冊で1セット)でみると、1セット数万円程度のものから数十万円程度のものまでが大半である。しかし、一部に7桁台の値段のついたものもある。最も高価なものは、今からちょうど400年前、江戸時代最初期の1613(慶長18)年に吉益匡明が著した『換骨抄』である。吉益流の秘伝を記した処方録・薬物効能書のようなもので、「乾」「坤」2帖で1セット、新書判程度の大きさの、合わせてわずか30ページほどの、現代風にいえばパンフレットのようなものである(写真4・写真5)。

# 「関場・鮫島文庫」の概要

繰り返しになるが、この「関場・鮫島文庫」は、江戸時代の和漢書を中心とする医学関係貴重書コレクションである(ほかに前述の通り、洋書や外科器械一式があるが、ここでは紙数の都合で説明を割愛する)。和漢書については、鮫島名誉教授自らが編纂された『関場理堂文庫・和漢医籍目録および注解』(北海道医療新聞社 2006 年刊・非売品)に一応の紹介があるが、



写真 16



写真 17



写真 18



写真 19

同書に収録されていない書籍若干と、収録されてはいるが本学寄贈前に現物が行方不明になっているもの若干とがあり、この『目録および注解』には補訂が必要となっている。現在、その補訂作業が鮫島名誉教授の手により進行中である。

そのような事情もあり、全貌の詳しい紹介は他日を 期し、ここでは、江戸時代後半(1750年代以降)の 和書のうち、医学史的に重要なものだけを紹介する。

## 1750 年頃~ 1800 年頃の重要和書

この時期に刊行された医学関係の和書は、主として解剖書である。医学史的にとりわけ重要なのは、①山脇東洋『蔵志』全2冊、②河口信任『解屍編』全1冊、③本木良意『和蘭全躯内外分合図』全2冊、④杉田玄白ほか訳『解体新書』全5冊、⑤大槻玄沢訳『重訂解体新書』全14冊であろう。

山脇東洋(1706~1762)は丹波(京都)の医家に生まれ、長じて伝統医学の古医方を学んだが、やがてその内景説に疑問を抱くようになった。1754年、幕府の許可を得て死刑囚を解剖し観察した。その成果を1759年に刊行した図録が『蔵志』全2冊である。これは本邦初のオリジナルな人体解剖書である(写真6・写真7)。

河口信任(1736~1811)は肥前(佐賀) 唐津に生まれ、 長じて長崎で南蛮流外科を学んだ。1769年、幕府の 許可を得て死刑囚を解剖し、その観察成果を1772年、 『解屍編』全1冊として刊行した。これは日本で2番 目に古いオリジナル人体解剖書である(写真8・写真 9)。

本木良意(1628~1697) は長崎のオランダ通詞(通辞)の家に生まれた。長じて、オランダ商館医から入手したドイツ人レメリンの解剖書のオランダ語訳を翻訳(翻案)した。これは1681年に完成した日本初の翻訳(翻案)西洋解剖書であったが、刊行されず、永らく埋もれていた。約90年を経た1772年、周防(山口)の医師鈴木宗伝が、これを『和蘭全躯内外分合図』全2冊として刊行した。図版の多くがいわゆる立体解剖図譜になっており、この工夫が施されている日本最初の解剖書である(写真10)。ちなみにヨーロッパでは、「近代解剖学の父」と称されるアンドレアス・ヴェサリウス(1514~1564)が1543年に刊行した『ファブリカ』(通例『人体構造論』と訳される)に、す



写真 20



写真 21



写真 22

でにこの工夫がみられる。

杉田玄白(1733~1817)は若狭(福井)小浜の医家に生まれた。長じて、オランダ語解剖書『ターヘル・アナトミア』の挿絵が江戸の刑場で実見した解剖体とよく似ていることに感銘し、前野良沢・中川淳庵らと相談して翻訳を決意した。そして1774年に刊行したのが『解体新書』全5冊である(写真11・写真12)。これが西洋医学普及の起爆剤となった。玄白の晩年の回想録に『蘭学事始』がある。

大槻玄沢(1757~1827)は一関(岩手)の医家に生まれた。長じて江戸に出て杉田玄白の私塾に学び、オランダ語は前野良沢に学んだ。玄沢の名はこの2人の師から1字ずつをとったものである。1790年、玄白から『解体新書』の改訂を命ぜられて作業に着手した。改訂が完了したのは1804年であった。刊行はさらにはるかに遅れた1826年で、『重訂解体新書』全14冊となった。『解体新書』の木版画に対し、これは原本『ターヘル・アナトミア』と同じく銅版画である(写真13)。

# 1800 年頃~幕末の重要和書

1800年頃から日本の医学界は、内科・外科・産科・ 眼科などの分野に急速に専門分化していった。それに 伴い、専門分化した医学書も続々刊行された。さらに は、国民の識字率の急速な向上や外国からの脅威の増 大に伴い、いわゆる「家庭の医学」関連や軍陣医学関 連の書物も出回り始めた。また、幕末には外国との往 来の活発化により海外からコレラなど感染症がしばし ばもたらされたが、その対策のための書も現れ始めた。 重要な和書として、①賀川玄廸『産論翼』全2冊(産 科)、②片倉鶴陵『産科発蒙』全4冊(産科)、③杉田 立卿『眼科新書』全6冊(眼科)、④本庄普一『眼科 錦囊』正続全6冊(眼科)、⑤華岡青洲『乳岩辨』(写 本)全1冊(外科)、⑥平野重誠『病家須知』全8冊(家 庭の医学)、⑦平野重誠『軍陣備要 救急摘方』正続 2冊(軍陣医学)、⑧緒方洪庵『虎狼痢治準』全1冊(公 衆衛生)を紹介しよう。

賀川玄廸(1739~1779)は出羽(秋田)横堀の 医家に生まれ、長じて京都に上って産科医賀川玄悦 (1700~1777)の弟子となり、後に彼の養子となった。 1775年、師の『産論』の不備を補った『産論翼』全2 冊を刊行し、いわゆる賀川流産科の隆盛に貢献した。 ちなみに師の玄悦は正常胎位を世界に先駆けて発見した人物として知られる(写真 14・写真 15)。

片倉鶴陵(1751~1822)は相模(神奈川)津久井に生まれた。長じて京都で賀川玄廸の弟子となった。1800年、『産科発蒙』を刊行したが、これには、オランダの産科図や、イギリスの産科書から採った産科鉗子の図を載せ、日本で初めて産科鉗子の使用法を紹介した文献である(写真16・写真17)。

杉田立卿(1787~1845)は杉田玄白の次男として 江戸に生まれ、長じて若狭小浜の藩医となった。西洋 眼科を専門とし幕府天文台訳員も兼任した。オースト リアのブレンキが著した眼科書のオランダ語訳を重訳 して1812年に刊行したのが、『眼科新書』全6冊であ る(写真18)。

本庄普一(1798~1846)は本庄(埼玉)の医家に生まれ、長じて諸国を遍歴した後、本庄で内科·外科・眼科を開業した。1829年、『眼科錦嚢』全4冊を刊行した(写真19)。これと『続眼科錦嚢』全2冊は、19世紀日本の眼科書のバイブル的存在である。角膜・網膜・水晶膜・葡萄膜など現代でも使われている眼科学関係の用語を確立したのは彼の功績である。

華岡青洲(1760~1835)は紀伊(和歌山)の医家に生まれ、長じて京都で古医方・カスパル流外科などを学び東西の医学に通じた。帰郷して開業。麻酔薬の開発に尽力し、チョウセンアサガオやトリカブトを主成分とした全身麻酔薬「通仙散」を開発した。これを用い、1804年、全身麻酔による手術(乳癌摘出手術)に世界で初めて成功した。『乳岩辨』は弟子が師の手術の模様を図入りでしたためた写本であって刊本ではない(写真 20)。

平野重誠(1790~1867) は江戸の武家に生まれた。 長じて将軍の主治医多紀元簡に学んだが、官職には就 かず、終生、町医として活躍した。1832年、日本初 の家庭医学百科・家庭看護指導書『病家須知』全8冊 を刊行した(写真21)。また、1853年~56年にかけ て『軍陣備要 救急摘方』正続2冊を刊行し、応急処 置の仕方を解説した(写真22)。

緒方洪庵(1810~1863)は備中(岡山)生まれ。 長じて江戸・長崎で蘭学を学び大坂で開業した。 かたわら蘭学の適塾(緒方塾)を設け、大村益次郎、福沢諭吉らの俊才を多数輩出した。 種痘の普及に尽力し、のち幕府に招かれ奥医師 兼 西洋医学所頭取とし て活躍した。 コレラが大流行しつつあった 1857 年、オランダの医書から抜粋し翻訳して刊行したのが『虎狼痢治準』である。予防対策などを紹介している。文字だけで図などはない。

# まとめに代えて "温故知新"

以上みてきたように、江戸時代後半は、全国各地の数多の俊才が医学を志し、江戸・大坂・長崎等で研鑚を深め、救命活動を実践して医学・医療の向上に尽力した時期であった。そうした先人たちのたゆまぬ努力の基礎の上に明治維新以降の日本の医学・医療の発展があり、今日の隆盛がある。先人たちの努力の跡に触れ、彼らの労苦を偲び、彼らに感謝の念を抱くとともに、ひいては医学・医療のいっそうの発展への情熱をはぐくむには、「関場・鮫島文庫」は恰好の教材である。まさに「温故知新」のための教材である。

# おわりに 「関場・鮫島文庫」に関する本学 図書館の動向と展望

前述の『関場理堂文庫・和漢医籍目録および注解』 の改訂・充実は現在、鮫島名誉教授の手で精力的に進 められている。その完成のあかつきには、それを受け て、さらに筆者(藤尾)が『関場・鮫島文庫全解題』(仮 題)を作成することとしている。洋書や明治期以降の 書籍も含め「関場・鮫島文庫」所収資料のすべてにわ たって、サイズ、紙質、巻数、頁数、刊行年、内容梗 概、その他をまとめたものとなる予定である。

すでに本学図書館サイトには「関場・鮫島文庫」紹介ページが設けられ、内容も定期的に更新されている。また、折に触れて展示会を実施し、一般公開している。 今後ますます回数を増やしていきたい。

この文庫は学内外研究者からの閲覧希望を受付けている。希望日時・閲覧目的などを明記した書類により審査し、図書館職員立会いのもと貴重書室内で閲覧していただくというものである。寄贈者である鮫島名誉教授とのお約束により、館外持ち出しは厳禁としている。学術目的で積極的に活用されることが鮫島名誉教授の願いである。及ばずながら筆者も、医史学者の端くれとして紹介と研究に邁進していきたい。

# 依頼稿(報告)

# 平成23・24年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題

1) 先天性甲状腺機能低下症の分子遺伝学的基盤の解明

研究代表者 松尾 公美浩

#### 【はじめに】

分子遺伝学的解析技術の進歩により、先天性甲状腺機能低下症の原因が明らかになりつつあり、これまで PAX8, TPO, TSHR など様々な原因遺伝子が同定されてきた。また、近年さらに DEHALI, DUOX2, DUOXA2といった新たな原因遺伝子が同定されているが、先天性甲状腺機能低下症全体においてどの程度遺伝子異常が同定されるか、その全体像についてはまだ十分な検討がなされておらず、それを明らかにすることは診療方針決定の上でも有用と考えられる。

そこで、先天性甲状腺機能低下症症例を対象に、これまで報告されている原因遺伝子について網羅的解析を行い、その分子遺伝学的基盤の解明を図る。

#### 【対象と方法】

- (対象) 先天性甲状腺機能低下症マススクリーニング 陽性で、かつその後の病型診断にて原因・病型 が判明した63例(1組の兄弟例を含む)
- (方法) インフォームドコンセントを得た後、末梢 血リンパ球から genomic DNA を抽出した。甲状 腺機能低下症原因遺伝子として報告されている PAX8, TSHR, DUOX2, TPO, DEHAL1, DUOXA2 遺 伝子について PCR - ダイレクトシークエンス法 にて遺伝子解析を行った。また、変異が同定さ れた症例について臨床病型の評価を行った。

#### 【結 果】

先天性甲状腺機能低下症は大きく、甲状腺形成異常 (異所性、無形成、低形成)と甲状腺ホルモン合成障 害に分類される。これに一過性甲状腺機能低下症(一 過性高 TSH 血症含む)を加え、各臨床病型別症例数 について表 1 に示す。

遺伝子解析について、形成異常の原因となる PAX8 については甲状腺形成異常を対象に、合成障害の原因となる DUOX2, TPO, DEHAL1, DUOXA2 については甲状腺ホルモン合成障害、一過性甲状腺機能低下症(一過性高 TSH 血症含む)を対象として解析を行った。なお、TSHR については合成障害を呈するが、甲状腺サイズは正常から低形成まで様々であるため全例を対象とした。

その結果、表 2 に示すように計 14 例において遺伝子変異を同定した。内訳は PAX8 ヘテロ接合性変異 1 例 , TSHR ヘテロ接合性変異 3 例 (1 組の兄弟例含む),DUOX2 ヘテロ接合性変異 6 例 ,複合ヘテロ接合性変異 2 例 , TPO ヘテロ接合性変異 3 例。このうち、症例No.11 において DUOX2, TPO の digenic mutation を認めた。DEHAL1, DUOXA2 について変異は同定されなかった。

## 【考 察】

甲状腺形成異常 27 例のうち 1 例 (3.7%) ずつにそれぞれ PAX8 変異、TSHR 変異を同定した。このほか、

#### 表 1 臨床病型別症例数

(1)甲状腺形成異常 ①異所性 ②低形成 ③無形成	22 4 1
(2)甲状腺ホルモン合成障害	28
(3)一過性甲状腺機能低下症 (含、一過性高TSH血症)	8

臨床病型 変異 新規/既報 No. 遺伝子 1 低形成 PAX8 p.[R31H];[=] 既報 2\* 既報 低形成 **TSHR** p.[R450H];[=] 合成障害 既報 3\* **TSHR** p.[R450H];[=] 4 合成障害 **TSHR** p.[R450H];[=] 既報 5 合成障害 DUOX2 p.[Q202fsRX92(:)D735N] 新規/新規 一過性 p.[D513N(;)R1039Q] 新規/新規 6 DUOX2 7 合成障害 DUOX2 p.[L12fsWX4];[=] 新規 8 一過性 DUOX2 p.[I133N];[=] 新規 合成障害 p.[A366G];[=] 新規 9 DUOX2 10 合成障害 DUOX2 p.[R411K];[=] 新規 合成障害 p.[R541W];[=] 新規 11 DUOX2 TPO p.[E917K];[=] 新規 12 一過性 DUOX2 p.[R1110Q];[=] 既報 13 一過性 TPO p.[R38H];[=] 新規

p.[G776D];[=]

表2 同定された遺伝子変異と臨床病型

14

甲状腺ホルモン合成障害 28 例のうち 2 例 (7.1%) に TSHR 変異、3 例 (10.7%) に TPO 変異、5 例 (17.9%) に DUOX2 変異を同定した。病型で見ると、一過性甲状腺機能低下症 8 例のうち 3 例 (37.5%) に DUOX2 変異を同定した。

合成障害

TPO

今回の検討において、これまで最も頻度が高いと考えられてきた TPOより DUOX2 変異をより高頻度に認めたことは、DUOX2 遺伝子が先天性甲状腺機能低下症の主要な原因遺伝子である可能性を示唆している。DUOX2 変異症例の臨床病型は一過性甲状腺機能低下症(軽症例と考えられる)から合成障害までバリエーションに富んでいたが、変異の頻度が一過性甲状腺機能低下症においてより高かったことをふまえるとDUOX2 変異では軽症な表現型を示すものが多いと考えられた。

DUOX2 ヘテロ接合性変異の表現型は正常から一過性甲状腺機能低下症と思われるが、合成障害を呈する例もあった。このような症例においては他の遺伝子異常が関与している可能性があり、実際1例において、DUOX2, TPO digenic mutation を同定した。今後さらに他の原因遺伝子解析を行い、先天性甲状腺機能低下症の分子遺伝学的基盤を解明を進める。

#### 【まとめ】

今回、先天性甲状腺機能低下症の分子遺伝学的基盤 の解明を目的として、マススクリーニング陽性者を対 象に原因遺伝子 PAX8, TSHR, DUOX2, TPO, DEHALI, DUOXA2 の網羅的解析を行った結果、DUOX2 変異を高頻度に同定した。この変異は一過性甲状腺機能低下症においてより多く同定された。以上より、DUOX2 は先天性甲状腺機能低下症、特に軽症例における主要な原因遺伝子であると考えられた。

新規

<sup>\*2,3</sup>は兄弟例

# 2) 歯髄幹細胞を用いた網膜移植治療法の確立(新しい幹細胞移植の開発)

研究代表者 高宮 央

#### [目 的]

哺乳類において、成熟した網膜細胞は自己再生能を 始んど有さない。近年、増加している糖尿病網膜症や 加齢黄斑変性、遺伝性疾患の網膜色素変性症は網膜を 傷害し永久的な視力障害を引き起こすが、現在のとこ ろ網膜傷害に対する有効な治療法は無い。この傷害部 位を正常網膜に置き換えて視力回復を図る網膜移植治療は、重篤な視力障害を抱える人々にとって希望の光 と成り得る治療法である。しかし、これまでに多くの 網膜移植に関する研究が行われて来たが、未だ実用に は至っていない。その最大の理由は有用なドナー細胞 が存在しないことである。今回我々は、幹細胞を高率 に含み再生医療分野で話題となっている歯髄細胞を使 用し、その有用性と可能性について検討した。

#### [方 法]

# 1 動物と歯髄細胞の抽出

GFP(green fluorescein protein)陽性マウス(バックグランド:C57BL/6マウス(Okabe, 1997)、生後2-4ヶ月)から歯髄細胞を取り出し、野生型C57BL/6マウス(生後2-4ヶ月)に網膜移植をした。ペントバルビタールの過剰投与による安楽死の後、GFP陽性マウスの下歯から歯髄組織を出しコラゲナーゼ I 酵素(3 mg/ml Worthington Biochemical, Lakewood, NJ)およびデスパーゼ酵素(4 mg/ml エーディア、東京)によって分離して歯髄細胞を得た。

#### 2 網膜移植前グリオトキシン治療

野生型マウスにグリオトキシン(Sigma, St. Louis, MO)を前投与してグリオーシスを抑制することでドナー細胞の生着率向上を図った。この方法は米国ハーバード大学 - スケペンス眼研究所、Chen 博士の下で我々が開発した方法である。

### 3 歯髄細胞の網膜移植

グリオトキシン治療後 2 日目に GFP 陽性歯髄細胞  $(1 \times 10^4 \sim 10^5 / \mu 1 \text{ } \text{ } 2 \text{ } \mu 1)$  をマイクロピペットニードルを用いて野生型マウスの網膜下に移植した。

#### 4 網膜移植の評価

移植後の2週および3週目の網膜凍結切片(12 μ m) を作製し、GFP 陽性歯髄細胞の形態学的変化を組織学 的に検討した。また同じ切片を用いて視細胞マーカーである抗リカバリン抗体(Millipore Temecula, CA)を用いた IHC を行った。

#### [結 果]

網膜移植後2週および3週目の網膜切片において移植したGFP陽性細胞を認めた。その多くは網膜下腔に存在し、網膜内まで侵入した細胞は少数であった(図1)。(GCL:神経節細胞層、INL:内顆粒層、ONL:視細胞層、RPE:網膜色素上皮層、矢印のgreen細胞:移植した歯髄細胞、White Bar=30 μ m)

網膜移植の際に硝子体腔に出た GFP 陽性歯髄細胞は索状構造(図2矢印)を形成し生存していた。以前に我々が行った脂肪細胞移植とは異なり、網膜表層に接着し突起を伸展させた GFP 陽性細胞は観察されなかった(図2)。(green の索状:移植した歯髄細胞、White Bar=30 μm)

一部の GFP 陽性細胞は網膜外層に観察された。視細胞層には突起を伸展させ、視細胞様の形態を有する細胞が認められた(図 3)。

(GCL: 神経節細胞層、INL: 内顆粒層、ONL: 視細胞層、White Bar=30  $\mu$  m)

抗リカバリン抗体を用いた免疫組織化学法視細胞層において一部の GFP 陽性細胞はリカバリン(視細胞マーカー)を発現していた(図 4)。(INL: 内顆粒層、ONL: 視細胞層、Red: リカバリン陽性細胞、White Bar=30  $\mu$  m)

#### [考 察]

歯髄は神経堤由来の細胞<sup>1)</sup>であるため、他の間葉系幹細胞に比べて神経系細胞への分化が優れていると考えられる。近年、歯髄細胞を用いた神経再生に関する研究報告が散見され、歯髄幹細胞はこの分野で注目されつつある幹細胞であるが、これまでに歯髄細胞を用いた網膜再生の研究報告はない。

今回我々が初めて網膜移植のドナー細胞として歯髄 細胞を用いその有用性を検討した。本研究では GFP 陽性マウスの歯髄細胞を野生型マウスの網膜下に移植 し、移植後の形態学的変化を観察した。移植後、網膜 下に多数の GFP 陽性歯髄細胞が観察されたが、その 多くは形態学的変化に乏しかった(図 1)。一方、硝 子体腔では GFP 陽性歯髄細胞が集合し索状構造を形 成し GFP を強発現していた(図 2)。これらの結果より、硝子体腔は歯髄細胞が生存し易い環境にあり長期生存が可能な空間であると考えられた。しかし、移植後の形態学的変化に関しては網膜下腔および硝子体腔のどちらにおいても、その変化は乏しかった。近年、マウスの脳に移植した歯髄幹細胞において、その細胞自体には形態学的変化を認めなかったという報告がなされた<sup>2)</sup>。今回の我々の研究においても、網膜移植した歯髄細胞の形態学的な変化は乏しかったことから、歯髄細胞自体の網膜細胞へ分化能は高くないことが示唆された。一方、移植した歯髄細胞によって既存の脳細胞の潜在的な増殖能および分化能が活性化され脳細

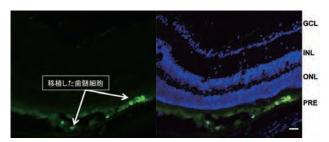


図1 網膜移植をした歯髄細胞(右図は DAPI 染色)

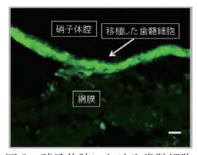


図2 硝子体腔における歯髄細胞

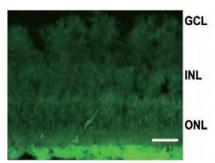
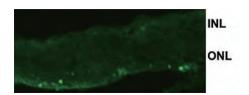


図3 網膜内に進展した歯髄細胞



胞の再生を促すことが可能であったとする報告がなされた<sup>2)</sup>。従って、脳細胞と同様に、網膜においても歯髄細胞移植によって既存網膜の増殖能や分化能が活性化することで網膜の再生が誘導される可能性が考えられる。更に近年、脊髄損傷モデルや脳梗塞モデルにおいて歯髄幹細胞移によって機能回復に成功したという報告<sup>3-4)</sup>もあり、今後は歯髄細胞移植後に生じる網膜細胞の分化、増殖そして再生に関する検討を行う必要があると考える。

現在 iPS 細胞を使用した再生医療の研究は盛んに行われ、今まさに臨床応用が行われようとしているところではあるが、現実には未だ多くの解決すべき課題を抱えている。iPS 細胞に比べて歯髄幹細胞を含めた内在性幹細胞は安全面において秀でており、その取り扱いも容易であるため、今後の再生医療において大きな可能性を秘めている細胞といえる。中でも歯髄細胞はこれからの神経系再生医療の有用なアイテムの一つなり得る細胞である。更なる研究を進めその有用性について検討していく必要ことが、今後の再生医療の発展にとって重要であると考える。

### [文献]

- 1) Gronthos, S et al. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97:13625–13630.
- 2) Huang, AH et al. Putative dental pulp-derived stem/ stromal cells promote proliferation and differentiation of endogenous neural cells in the hippocampus of mice. Stem Cells. 2008;26:2654-63.
- 3) Sakai, K et al. Human dental pulp-derived stem cells promote locomotor recovery after complete transection of the rat spinal cord by multiple neuro-regenerative mechanisms. J Clin Invest. 2008;122: 80-90.
- 4) Yamagata, M et al. Human Dental Pulp-Derived Stem Cells Protect Against Hypoxic-Ischemic Brain Injury in Neonatal Mice. Stroke. 2013;44:551-4.

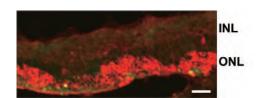


図4網膜移植した歯髄細胞(右)と抗リカバリン抗体を用いた免疫組織化学法(左)

# 3) 小脳に好発現する cytochrome P450 isoform の 同定

研究代表者 及川 賢輔

#### [研究の背景と目的]

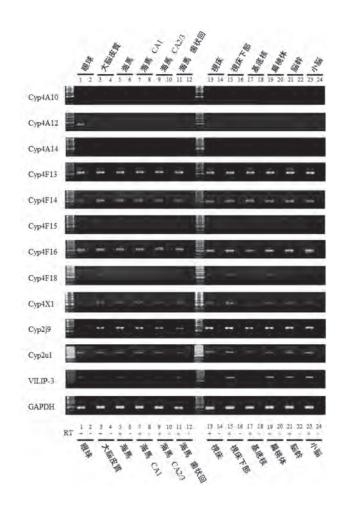
EF-hand カルシウム結合モチーフを有する蛋白群 である neuronal calcium sensor family の visinin-like proteins (VILIPs) group に属する蛋白は、網膜光受 容体細胞や神経細胞に好発現し、カルシウム情報 伝達系に関わっている (Burgoyne. Nat Rev Neurosci. 2007)。VILIPs group の中でも, Visinin like protein-3 (VILIP-3 別名 Hpcall) は、中枢神経組織、特に小 脳のプルキンエ細胞、網膜その他の末梢組織に発現 しているが、その細胞生理学的機能あるいは標的蛋 白に関しては不明である。我々はマウス VILIP-3 の 標的蛋白が cytochrome  $b_5$  (Cy $b_5$ ) に結合することを 見出した (Oikawa et al. J Biol Chem. 2004)。 さらに NADH-cytochrome  $b_5$ -reductase  $(b_5R)$  と  $Cyb_5$  の結合を、 VILIP-3がカルシウム依存性に調節することを確認し た(未発表)。Cyb<sub>5</sub> および b<sub>5</sub>R は、cytochrome P450 (Cyp) とともに、microsomal monooxygenase complex (MMO) を小胞体で構成している。以上の結果から、VILIP-3 が Cyp 酵素系の作用をカルシウム依存性に調節して いる可能性が示唆された。しかしながら、単酸化酵素 としての Cyp は多数の isoform を有する大きなファミ リーで、基質の種類や機能も多岐にわたる。VILIP-3 の MMO 調節機構をさらに詳細に解析するためには、 終末酵素としての Cyp の isoform を特定することが必 要である。そこでわれわれは VILIP-3 と同様の組織分 布を示す Cyp を RT-PCR を用いて探索することにし た。

## [研究方法]

マウス眼球および脳の各部位から total mRNA を抽出し,エイコサノイド産生に関与する Cyp に焦点を絞って RT-PCR を施行し,それぞれの mRNA 発現分布を検討した。

#### [結 果]

Cyp 4F family (Cyp4F13, Cyp4F14, Cyp4F16), Cyp 4X1, Cyp2j9, Cyp2u1 の mRNA は、脳組織の広い領域で発現していた。その中で Cyp2u1 は小脳に比較的強い発現がみられた。しかしながら VILIP-3 と同一



の分布を示す isoform を見出すことはできなかった。 Cyp4A family は脳組織には発現を認めなかったが、 Cyp4A12 は眼球における発現がみられた。

#### 「考察]

 $Cyb_5$ は Cyp を始めとする多種多様な酸化酵素への電子の供給源であり、アラキドン酸を経由するエイコサノイドの産生、ステロイドの産生、異物の代謝などに関与している(Schenkman and Jansson Pharmacol. Ther. 2003)。本研究ではエイコサノイド産生に関与する Cyp の mRNA 発現について検討したが、その発現分布状況から終末酵素を特定することはできなかった。今後はニューロステロイド産生に関与する Cyp の分布状況や質量分析を利用したメタボロームの解析など別のアプローチで、VILIP-3 の関与する酵素系特定を試みる予定である。

# 4)ミクログリア由来 CNTF を介したミエリン再生 機序の解明

研究代表者 田中 達英

### [研究の背景と目的]

脱髄疾患に対する根治療法は存在せず、新規標的分子に対する画期的な創薬が待望されている。治療を困難にしている原因に脱髄後のミエリン再生能の低さが挙げられる。従って、脱髄によって生じた神経障害を回復させるためにはミエリンの再生機序を解明する必要がある。本研究の目的は、脱髄後に病巣に集まるミクログリアに着目してミエリン再生に対する役割を解明することである。

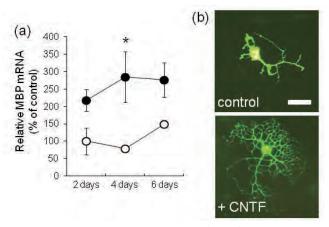
#### [結 果]

# 1. ミクログリアの機能を抑制すると再ミエリン化が 抑えられる

本研究では脳梁特異的に脱髄を誘発できる薬 剤、cuprizone を用いた化学脱髄モデルで検討した。 cuprizone を含有した飼料をマウスに与えると脱髄が 誘導され、脱髄後に通常の飼料に戻すことによって再 ミエリン化を誘導することができる。この脱髄モデル では、cuprizone 投与後に脳梁においてミクログリア の集積が認められるが、再ミエリン化を誘導した段階 においてもミクログリアは脳梁内に集積していること から、ミクログリアがミエリン形成において積極的に 寄与しているのではないかと考えた。そこで、ミエリ ン再生を誘導する段階でミクログリアの活性化を阻害 剤 (minocycline) で抑制すると再ミエリン化が抑制さ れるかを検討した。その結果、ミエリン構成因子であ る MBP, CNPase の発現量が低下することが明らかと なった。また、ミエリンを構成する細胞であるオリ ゴデンドロサイトのマーカー (CC1) で免疫組織化学 的手法を用いて検討した結果、minocycline 投与群で CC1 発現量が減少した。これは、ミクログリアがミ エリン再生に寄与することを示唆する。

# 2. ミクログリア由来 CNTF は再ミエリン化に寄与する

では、ミクログリアに発現するどのような因子が 再ミエリン化に寄与しているのであろうか。cuprizone を用いたこのモデルでは様々なサイトカインや神経栄 養因子の発現量が亢進する。我々は、毛様体神経栄養 因子 CNTF は脱髄時期から再ミエリン化時期にかけ



**図1** オリゴデンドロサイトの分化に対する CNTF の 効果

て発現量が亢進することを見出し、また、再ミエリン 化の段階で minocycline を投与してミクログリアの活 性化を抑制したマウスでは、CNTF の発現が顕著に減 少することを見出した。つまり、ミクログリアに発現 する CNTF が再ミエリン化に大きく貢献している可 能性がある。

さらに、CNTFが直接オリゴデンドロサイトの分化に寄与するかを *in vitro* で検討した。オリゴデンドロサイト細胞に recombinant CNTF を処理したものでは未処理群と比較して有意に MBP 発現量が上昇し(図la)、また、CNTF 処理群では、より分化の進んだ形態をとることが明らかになった(図lb)。すなわち、CNTF はミエリン化を促進することが明らかとなった。

#### [まとめ]

Minocycline によって脱髄後の再ミエリン化は抑制 されるが、その一部はミクログリアからの CNTF 発 現量が抑制されるためであることが明らかとなった。

#### [文献]

Tanaka T, Murakami K, Bando Y, Yoshida S. Minocycline reduces remyelination by suppressing ciliary neurotrophic-factor expression after cuprizone-induced demyelination. J. Neurochem. 127: 259-270, 2013

# 5)実験内分泌学的手法を活用した小胞体関連分解制 御機構の解明

研究代表者 暮地本 宙己

#### [目 的]

小胞体で生合成される蛋白が機能を果たすにはシャペロンの作用を受けて正しい三次構造をとることが必要であり、異常な三次構造となった蛋白は小胞体関連分解(ERAD)と呼ばれる機構により細胞質で分解・除去される。本研究では、GnRH 受容体への刺激を介して蛋白生合成が制御される LH/FSH 産生細胞を用いて、ERAD 関連分子局在と小胞体の微細構造の変化を細胞の機能状態に応じて検討した。

## [方 法]

Wistar 系雄ラットの背部皮下に GnRH agonist の Leuprolide acetate および buserelin や GnRH antagonist である Antide などを単剤で充填した浸透圧ポンプを移植した後、経時的に灌流固定を行い下垂体を摘出して O.C.T compound (光顕用)、Epon 樹脂 (光顕用及び透過電顕観察用)、LRW 樹脂 (電顕免疫組織化学用)に包埋した組織試料を作成した。さらに小胞体の立体的な微細構造を観察するためオスミウム浸軟処理を施した走査電顕観察用試料を作成した。以上の試料を用いて光顕・電顕免疫組織化学および走査電顕観察を用いた形態学的解析を行った。

#### [結 果]

Leuprolide acetate および buserelin 持続投与1日目に LH/FSH 産生細胞において一過性に管状細網構造をとる特殊な小胞体(ER patch)が出現した。antide 持続投与後には ER patch は出現しなかった。ER patch には小胞体シャペロンである BiP や calnexin が集積するとともに、ERAD 関連分子 HRD1 が集積した。一方で、小胞体からゴルジ装置への輸送小胞形成に関与する分子 Sec16 や小胞体 - ゴルジ装置間の移行コンパートメントに局在する ERGIC-53 は、ER patch に一致する局在を示さなかった。さらに GnRH agonist 持続投与後 ER patch が出現した LH/FSH 産生細胞でオートファジー制御蛋白である P62 の発現が増強するとともに、オートファゴソームの膜を形成する機能分子 LC3 がER patch に隣接した集積を示した。電子顕微鏡観察により ER patch に隣接して細胞質が分画された膜構造

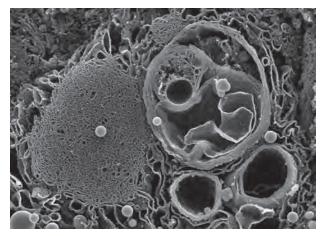


図 リュープロレリン投与1日後のLH/FSH 細胞の走 査電顕像

膜が集積した管状細網構造をとる特殊な小胞体に 隣接して、細胞質が分画された膜系構造物が出現し ている。

が出現していることが明らかとなった (図)。

#### 「考察]

GnRH 受容体を介した細胞内シグナル伝達経路の活性化により LH/FSH 細胞で分泌蛋白生合成・分泌が過度に促進された結果、異常な三次構造をとる分泌蛋白の量が増え、その処理を担う ERAD に関係する小胞体分画のみが集積して ER patch を形成すると考えられた。同時期に ERAD とは異なる分解系であるオートファジーも活性化され、ERAD と協同して異常蛋白の分解を担っている可能性が考えられた。

#### [文献]

 Bochimoto H, Koga D, Sakai Y, Hira Y, Hosaka M, Ushiki T, Watanabe T: Sustained treatment with a GnRH agonist (leuprorelin) affects the ultrastructural characteristics of endomembranous organelles in male rat pituitary gonadotropes. Archives of Histology and Cytology, in press

# 6)遺伝子ノックアウトマウスを用いた眼内平滑筋の 収縮メカニズムの解明

研究代表者 赤尾 鉄平

### [研究目的]

これまで我々は、地域の屠殺場から供与されるウシ 眼球から摘出した組織を用いて眼内平滑筋の機能調節 に関する研究を行ってきた。昨年度の本申請において、 遺伝子改変が容易で各種変異体がすでに多数存在する マウス眼球の実験への導入を目的とした研究を開始 し、その結果、マウス眼内平滑筋の実験に有望な遺伝 子改変マウスを選別するスクリーニング法の確立、マ ウス眼内平滑筋張力測定、形態変化測定を確立するに 至った。

今年度はその実験系を用い、遺伝子ノックアウトマウスを導入し、眼内平滑筋の収縮メカニズムの解明に向けた研究を行った。現在、我々はウシ毛様体筋における実験により、この筋収縮の発生源である Ca²+流入が単位コンダクタンスの異なる 2 種類の非選択性陽イオンチャネル(NSCCS と NSCCL)を介することを示すとともに、それらの分子候補としての TRPC1、TRPC3、TRPC4、TRPC6 や Orail などの発現を確認している。TRPC 分子種の解明として、他の平滑筋内でよく発現している TRPC3,6 のノックアウトマウスを用いて眼内平滑筋の機能評価を行った。

#### [実験方法]

#### [結果と考察]

縮瞳開始、縮瞳速度において TRPC3,6 はワイルドタイプと比較して大きな変化は見られなかった(図 1)。しかしながら、光刺激を 30 秒当て続けた結果の最終的な瞳孔径は TRPC6 のノックアウトマウスの瞳孔径は  $0.38 \pm 0.04$  mm(n=20)であった、これはワイルドタイプのマウスの  $0.30 \pm 0.03$  mm(n=15)と比較して優位に拡大していた(図 2)。この事からマ

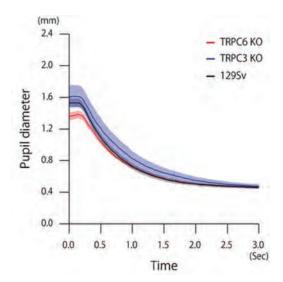


図1 マウス対光反射による縮瞳径の開始直後の経時変化

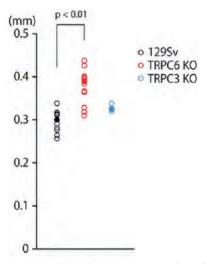


図2 マウス対光反射による30秒後の瞳孔径

ウス瞳孔括約筋の収縮持続相に必要な 細胞外からの  $Ca^{2+}$  流入に TRPC6 が関与している可能性があることが示唆される。

# 7) 匂いとフェロモンの神経情報処理基盤 研究代表者 野口 智弘

#### [研究目的]

匂いとフェロモンは、独立だが並列して走るふたつの嗅覚経路―主嗅覚系と鋤鼻系―によって受容される(図 1A)。主嗅覚系の一次中枢である主嗅球(Main olfactory bulb, MOB)と鋤鼻系の一次中枢である副嗅球(Accessory olfactory bulb, AOB)では同様の層構造と細胞(出力神経と介在神経)から構成されているが、

これらは似て非なる情報処理を行っていると推察されている。主嗅球の出力神経は僧帽細胞と房飾細胞の二種類に分類されるが、副嗅球の出力神経は形態的には僧帽細胞とも房飾細胞とも区別できないため、まとめて僧帽房飾細胞と呼ばれている。この副嗅球の出力神経の興奮性は僧帽細胞と房飾細胞のどちらに近いのか、あるいはどちらとも異なっているのか、現在まで明らかではなかった。副嗅球の出力神経は主嗅覚系や他のあらゆる感覚系と異なり、皮質を介さずに情動中枢である扁桃体へ直接投射している。この点からも副嗅球出力神経の興奮性は興味深い。

本研究では、マウス副嗅球出力神経を吻側(AOBr)と尾側(AOBc)で分け、それらの電気的興奮性を主嗅球の出力神経(MOBm、MOBt)と比較した(図1B)。その結果、副嗅球出力神経(AOBr、AOBc)の発火頻度は主嗅球主力神経(MOBm、MOBt)の半分程度であることが明らかになった。この発火頻度の違いにより、刺激強度の違いを検出する様式が主嗅球と副嗅球では異なっている可能性を見出した。

#### [研究方法]

本実験における動物の取り扱いは旭川医科大学における動物実験等の実施に関する規定に準じた。深麻酔下に置いた BALB/c マウス(6カ月齢以上)を氷冷した Sucrose-based ACSF で心臓潅流後、断頭し、脳を取り出した。嗅球を含む前脳部の傍矢状断スライス標本(200 $\mu$ m)を作製し、スライスパッチクランプ法を用いて個々の神経細胞から活動電位を記録した(図2A)。

#### [結果および考察]

各嗅球の出力神経は注入電流の増大とともに発火頻度を上昇させた(図2B)。副嗅球出力神経の発火頻度は最大でも主嗅球のものの半分程度であった(図2C)。これは膜時定数(=膜容量×膜抵抗)の差(図2D)によるものと考えられる。副嗅球の細胞は膜の脱分極に時間がかかるために発火頻度が低く抑えられている可能性がある。また、副嗅球吻側と尾側の細胞には発生部位の違いはあるが、興奮性の観点からはこの両者に顕著な違いは見られない。

このような発火頻度の違いが注入電流量(刺激強度)の識別に与える影響を相互情報量を用いて解析し

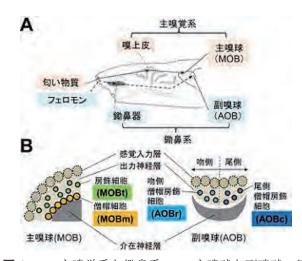


図1 A. 主嗅覚系と鋤鼻系。B. 主嗅球と副嗅球の層構造と出力神経。主嗅球(MOBm、MOBt)と副嗅球吻側(AOBr)の細胞は発生段階において同由来だが、副嗅球尾側(AOBc)の細胞は由来が異なる。

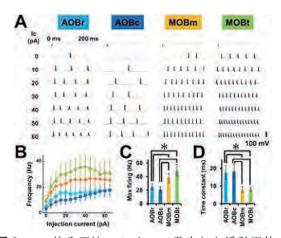


図 2 A. 注入電流 Ic によって発生した活動電位。最上段は Ic のタイムコース。左端の数字は注入電流量。B. 発火頻度と注入電流量の関係。AOBr (●)、AOBc (■)、MOBm (◆)、MOBt (▲)。各31 細胞。平均値±95% 信頼区間。C. 最大発火頻度の違い。D. 膜時定数の違い。\*, p < 0.05: ANOVA, Scheffe's post-hoc test.

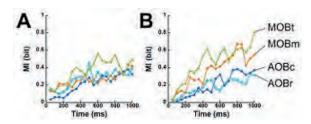


図3 A. 0 pA (刺激無) と5 pA (刺激有) の電流を 注入したときの発火頻度から計算した相互情報量 (MI) 変化。MI の上昇に伴って電流量の違いが識 別可能になる。B. 注入電流量 25 pA と 30 pA の MI 変化。

た。その結果、副嗅球は刺激の有無の識別(0 pA と 5 pA)では主嗅球と同様であるが(図 3A)、刺激の強度の識別(25 pA と 30 pA)では主嗅球より検出力が低いことが分かった(図 3B)。このことは、匂いの検出では濃度の変化が重要であるのに対して、フェロモンの検出では分子の有無が重要であることを反映しているものと考えられる。

# 8) 連続投与した際の ONO-1301 の抗血小板作用の 薬理学的解析

研究代表者 柏木 仁

#### [目 的]

血小板は、トロンボキサン(TX) $A_2$ とプロスタグランジン(PG) $I_2$ によりその機能が調節されている。  $PGI_2$  受容体(IP)のアゴニストは、血小板凝集抑制作用を持つが、連続投与によりその作用が容易に減弱することが知られている。一方、研究代表者は、IP アゴニスト様作用と  $TXA_2$  合成酵素阻害作用を併せ持った ONO-1301をマウスに連続投与しても、血小板凝集抑制作用が減弱しないことを見出した。そこで本研究は、IP アゴニストの連用に伴う作用減弱の機序を解明することを目的に、連続投与した際の ONO-1301 の抗血小板作用を解析した。

#### [方 法]

マウスに ONO-1301、ベラプロスト(IP アゴニスト)もしくはオザグレル( $TXA_2$  合成酵素阻害薬)を経口投与して 2 時間後に多血小板血漿(PRP)を調製し、コラーゲンで惹起した血小板凝集に及ぼす各試薬の影響を検討した。また、マウスから洗浄血小板と血漿を調製し、cAMP 産生量と  $TXB_2$ ( $TXA_2$ の安定代謝物)濃度を測定した。

## [結 果]

#### ONO-1301 の血小板凝集抑制作用

ONO-1301 は、コラーゲンで惹起した血小板凝集を 濃度依存的に抑制し、その  $IC_{50}$  値は 460 nM であっ た。また、代表的な IP アゴニストであるベラプロス トを用いて検討した結果、その凝集抑制作用の効力 は ONO-1301 よりも高く、 $IC_{50}$  値は 6.8 nM であった。 一方、IP 欠損マウスの血小板を用いて検討した結果、 ONO-1301 とベラプロストの凝集抑制作用はほぼ完全 に消失した。

#### ONO-1301 による cAMP 産生量の増加

マウスから洗浄血小板を調製して細胞内 cAMP 量を 測定した結果、ONO-1301、ベラプロスト共に cAMP 量を有意に増加させた。また、この cAMP 量の増加は、 IP 欠損マウスにおいてほぼ完全に消失した。

### ONO-1301 の TXA。 合成酵素阻害作用

ONO-1301の  $TXA_2$  合成酵素阻害作用のみを評価するため、IP 欠損マウスから調製した洗浄血小板の  $TXB_2$  量を測定した。ONO-1301 は、アラキドン酸の添加により誘導された  $TXB_2$  量の増加を濃度依存的に抑制し、その  $IC_{50}$  値は  $12~\mu$  M であった。また、  $TXA_2$  合成酵素阻害薬であるオザグレルを用いて同様に検討した結果、その  $IC_{50}$  値は  $3.4~\mu$  M であった。

# ONO-1301 の血小板凝集抑制作用に及ぼす連続投与 の影響

ベラプロストをマウスに連続で経口投与した結果、その血小板凝集抑制作用は経時的に減弱して 10 日目にほぼ消失した。一方、ONO-1301 の血小板凝集抑制作用は、連続投与しても 10 日間保持されていた。また、オザグレルのマウス血小板に対する凝集抑制作用は、非常に弱いものではあったが連続投与しても 10 日間保持されていた。

### ONO-1301 の連続投与による cAMP 産生量の変化

ベラプロストを連続で投与したマウスから洗浄血小板を調製し、ベラプロストとフォルスコリン(アデニル酸シクラーゼ活性化薬)で産生を誘導した cAMP量を測定した結果、連続投与により cAMP量の増加は有意に抑制された。また、予想に反して、ONO-1301を連続で投与した場合もベラプロストとフォルスコリンによる cAMP量の増加は有意に抑制された。

## ONO-1301 の連続投与による血漿 TXB<sub>2</sub> 濃度の変化

ベラプロストを連続で投与したマウスから血漿を調製して  $TXB_2$  濃度を測定した結果、連続投与により  $TXB_2$  濃度は有意に増加していた。一方、ONO-1301 を連続投与しても  $TXB_2$  濃度の有意な増加は認められなかった。

#### [考 察]

ONO-1301 は、血小板凝集と  $TXA_2$  産生を濃度依存的に抑制したが、血小板凝集抑制作用は主に IP を介したものであることが明らかとなった。ベラプロスト

は、連続投与により血小板凝集抑制作用が経時的に 減弱し、cAMP 産生量も減少していた。一方、ONO-1301 は、連続投与しても血小板凝集抑制作用が保持 されていたが、cAMP 産生量の減少はベラプロストと 同程度に認められた。よって、連続投与による IP の 脱感作機序としてこれまで報告されている受容体数の 減少等は、ベラプロストだけではなく ONO-1301 を投 与した場合にも起きていることが考えられる。また、 ONO-1301 とベラプロストを投与したマウスの血漿を 用いた検討により、ベラプロストを連続で投与した場 合にのみ血漿 TXA2 産生が亢進していることが明らか となった。以上の結果より、IPアゴニストを連続で 投与した場合には、TXA2の産生量が増加することに より血小板凝集抑制作用が減弱し、ONO-1301 はこの TXA2産生量の増加を抑えることにより、連続投与に よる作用減弱を回避していることが示唆された。

# 9)アデノ随伴ウイルスを用いた肝多段階発癌モデル の研究方法の検討

研究代表者 山本 雅大

#### [目 的]

我々は、変異原性肝発癌物質であるジエチルニトロソアミン(DEN)や非変異原性肝発癌物質である四塩化炭素を用いたマウス肝化学発癌モデルを用いて、多段階発癌メカニズムの研究を行っている。化学発癌モデルは高率に再現性良くマウス肝臓に腫瘍を誘導できる良い方法であるが、腫瘍細胞の遺伝子発現を人為的に変化させることが困難で、発癌におけるそれら遺伝子発現の役割を検討することが難しい。そのため、我々は本研究課題において、アデノ随伴ウイルスを用いて腫瘍細胞で遺伝子発現を誘導する系の確立を検討した。

多段階発癌モデルでは、はじめに正常肝細胞が腫瘍細胞に変化し、次にそれが癌化するというように、多段階的に発癌がおこる。正常肝細胞が腫瘍細胞に変化する際に遺伝子発現が起こるように、腫瘍で発現が亢進している alpha-fetoprotein (AFP) プロモーター・エンハンサーで遺伝子が発現する系について検討する。また、腫瘍化した肝細胞が癌化する段階を検討するために、腫瘍に特異的に感染するとされている変異型AAV3 を検討する。

#### [方 法]

AFPプロモーター・エンハンサーは全体で約2.7 kbpと大きく、5 kbp以上の大きさの遺伝子を挿入するとウイルス作製効率が低下するとされているAAVには不向きである。そこで、マウスAFPエンハンサーは3つのコア部位からなるため、このコア部位のみを使ってエンハンサーを短縮したものを作製し、蛍光蛋白質 Aequorea coerulescens green fluorescein protein (AcGFP)を下流につなげ、そのプロモーター活性について DEN 誘発マウス肝腫瘍細胞株を用いて検討した。

変異型 AAV3 は hepatocyte growth factor (HGF) 受容体の c-Met 蛋白を介して感染する肝腫瘍特異的な AAV として報告されている <sup>1)</sup>。 CAGGS プロモーター下に AcGFP をつなげた変異型 AAV3 と正常肝細胞に感染する AAV9 を作製し、in vitro でマウス DEN 誘発肝腫瘍細胞株に感染させ検討した。更に、in vivo でウイルスをマウスに静脈注射し、初期(4-5ヶ月齢)と後期(8-9ヶ月齢)の DEN 腫瘍および四塩化炭素誘発肝腫瘍(AAV9 のみを検討)における感染効率を検討した。

#### [結 果]

マウス DEN 誘発肝腫瘍細胞株のうち AFP 高発現株と低発現株について AFP プロモーター・エンハンサー全長とエンハンサーのコア部分にしたものをリポフェクション法で導入し AcGFP の発現を検討したが、非常に発現が弱く、AFP の発現との関連性は見られなかった。

DEN 誘発肝腫瘍細胞株 11 株に変異型 AAV3 と AAV9 を感染させ AcGFP の発現を検討したところ、 AAV3 は 3 株に強い発現を認め、AAV9 は 4 株に弱い発現を認めた。

DEN 誘発肝腫瘍を持つマウスに変異型 AAV3 を静脈注射し、10日後に AcGFP の発現を検討したが、腫瘍および正常細胞には発現は見られなかった。一方、同様に AAV9 で検討したところ、驚くべきことに、正常肝細胞に比べ腫瘍に強く・高率に AcGFP のシグナルが見られ、これは DEN 腫瘍の初期および後期どちらでも同様であった(図1)。また、四塩化炭素を33週間投与して誘導した肝腫瘍においては、AAV9による AcGFP の発現誘導は個々の腫瘍によりばらつ

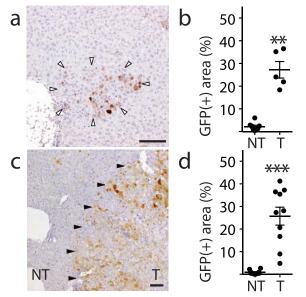


図 1 AAV9 は DEN 腫瘍に効率よく感染する (a) 4-5ヶ月 DEN 腫瘍の GFP 免疫染色、(b) 定量結果腫瘍部 (白矢頭) に高い陽性率をしめしている。 (c) 8-9ヶ月 DEN 腫瘍の GFP 染色、(d) 定量結果 非腫瘍部 (NT) に比べ腫瘍部 (T, 黒矢頭より右) に高い陽性率を示している。 scale bar: 100 μm. mean ± SEM \*\*: p<0.01, Mann-Whitney U-test, \*\*\*: p<0.001, Student's t-test with Welch's correction.

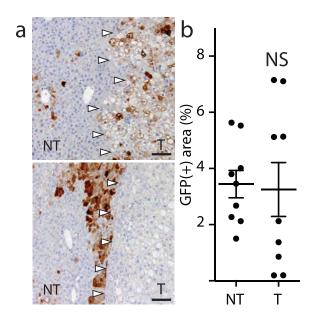


図2 AAV9の四塩化炭素誘発肝腫瘍への感染効率は腫瘍によりばらつきがある (a) GFP 免疫染色 上図に示すように高率に感染する腫瘍 (T, 矢頭右)もあれば、下図に示すように感染効率が低い腫瘍もある。(b) 定量結果 腫瘍により GFP 陽性率にばらつきがあり、非腫瘍部と腫瘍部で有為な差がない。NT: 非腫瘍部, T: 腫瘍部, scale bar: 100 μm. NS: p>0.05, Student's t-test.

きがあり、正常部に比較して腫瘍で有為な発現の亢進 は見られなかった(図2)。

#### [考 察]

AFP プロモーター・エンハンサーを用いた検討に関しては、AFP 高発現株においても弱い発現しか観察されず、うまく機能していないことが分かり、改善する必要があると考えた。

変異型 AAV3 は、腫瘍特異的に感染することが期待されていたが、in vitro では確かにいくつかの DEN 誘発肝腫瘍株において高率に感染したものの、in vivo においては、全く機能しなかった。

AAV9は、正常肝細胞に感染することが期待されていたが、予期せず DEN 誘発肝腫瘍の初期および後期病変どちらにも高率に感染することが新たに明らかになった。一方、四塩化炭素誘発腫瘍においては、腫瘍により感染効率にばらつきがあり、四塩化炭素誘発肝発癌モデルでは有用なベクターとなり得ないことが分かった。

AAV9 が DEN 腫瘍に高い効率で感染することが分かり、DEN 誘発肝発癌モデルの解析に有用なウイルスベクターとなることが期待される。今後、発癌に関連する遺伝子を発現する AAV9 ベクターを作製し、その遺伝子の DEN 誘発発癌過程における役割を明らかにしてゆきたいと考えている。

#### [文献]

- 1) Cheng B *et al*.: Development of optimized AAV3 serotype vectors: mechanism of high-efficiency transduction of human liver cancer cells. *Gene Therapy*. 19, 375-384 (2012)
- 10) 好中球、肺胞マクロファージ、腹腔マクロファージ活性化における MDL-1 の機能と役割について 研究代表者 青木 直子

#### [目 的]

Myeloid DNAX activation protein 12 (DAP12) -associating lectin 1 (MDL-1, CLEC5A) は好中球やマクロファージに発現するレクチン型の II 型膜タンパクである。ロングフォーム (MDL-1L) とショートフォーム (MDL-1S) の二種類のバリアントを有し、リガンドからのシグナルは会合分子である DAP12 の

ITAM モチーフまたは DAP10 の YXXM モチーフを介 して細胞質内へ伝達される。平成22年度旭川医科大 学「独創性のある生命科学研究」のサポートを受け 我々はMDL-1に対するモノクローナル抗体を樹立し、 骨髄系細胞における MDL-1/DAP12 シグナルに関する 基礎的な検討を行った $^{1,2)}$ 。その結果 MDL-1 は好中 球やマクロファージに強く発現しており、DAP12の みならず DAP10 にも会合することが明らかとなった。 ケモカインの産生においては Toll like receptor (TLR) が MDL-1 シグナルにたいして相乗的に作用している ことを見いだした。さらに平成23年度旭川医科大学 「独創性のある生命科学研究」のサポートを受け、我々 はマウス急性肺胞障害モデルを確立し、急性肺胞障害 の治療ターゲット分子としての MDL-1 が TNF-  $\alpha$  な どの炎症性サイトカインに重要な役割を担っているこ とを明らかにした<sup>3)</sup>。今回研究では引き続きマウス急 性肺胞障害モデルを使用し、好中球、肺胞マクロファー ジ、腹腔マクロファージにおける MDL-1 の機能と役 割について検討を行った。

#### [方 法]

- ① 急性肺胞障害モデルの肺胞洗浄細胞に対する MDL-1 刺激と炎症性サイトカインの相乗効果の検討: C57BL/6 マウスに LPS150 μgを経鼻的に投与し急性肺胞障害モデルを作成し Day 3 に肺胞洗浄液を採取した。肺胞洗浄細胞を抗 MDL-1 抗体 N20.7 とハムスター IgG で刺激を行い 3 日間培養した。培養時にRANTES, GM-CSF, IL-12, IFN-γ, TNF-αを 5ng/ml で添加し、培養上清中の TNF-αを ELISA にて解析した。
- ② 炎症性サイトカインによる好中球、マクロファージでの MDL-1 発現の検討:マウス骨髄細胞(好中球主体)と腹腔マクロファージを採取し IFN- $\gamma$ 、 TNF- $\alpha$ 、IL-17, IL-33, IL-4 (5ng/ml)を添加し 40 時間培養を行った。骨髄細胞は  $5 \times 10^6$  個/サンプル、腹腔マクロファージは  $4 \times 10^6$  個/サンプルを使用し抗 MDL-1 抗体 N16.10を用いて免疫沈降を行った。免疫沈降物は非還元下で抗 MDL-1 抗体 N16.10 を使用し Western blotting を行った。

#### [結 果]

PBS, IL-12, IFN-γ添加群ではいずれもハムスター IgG 刺激に比して高い TNF-α 産生を認めたが、特に

- IFN-y 添加群では MDL-1 と IFN-y による相乗効果が認められた。
- ② 好中球を主体とする骨髄細胞では各種サイトカイン刺激ではあまり発現量に変化は認められなかったが、腹腔マクロファージでは IFN-γ、TNF-a 添加により強い MDL-1 の発現量の増加が認められた。また IL-33 でも MDL-1 の発現量の増加が認められた。 IL-17 ではほとんど変化なく IL-4 ではむしろ発現量は減弱した。

## [考察]

マクロファージは LPS や IFN-yにより活性化される M1 型マクロファージと IL-4 や IL-13 により活性化される M2 型マクロファージの二種類に大別される。M1 型マクロ ファージは IL-12 や TNF-αなどの炎症性サイトカインを産 生し、病原体の排除などに寄与すると考えられる。一方 M2 マクロファージは IL-10 を産生し、寄生虫感染や創傷 治癒、癌の転移などに関わっている。今回肺胞洗浄細胞 での TNF-α産生が IFN-γと MDL-1 刺激で相乗的に増強 されたこと、また、IFN-γ、TNF-αにより腹腔マクロファー ジで MDL-1の発現量が増強したこと、IL-4ではむしろ 減弱したことにより MDL-1 は M1 マクロファージに強く発 現している可能性がある。我々はMDL-1Lが分子量によっ て45kDの好中球型とそれよりも若干分子量が低めのマク ロファージ型の二つのバリアントにわかれることを指摘し てきた。好中球型 MDL-1 の発現に関しては各種サイトカ イン添加による変化があまり認められないため、好中球と マクロファージに発現している MDL-1 には機能的差異が ある可能性がある。今後さらなる検討が必要である。本 研究は一連のテーマとして実施し以下に掲載された。松 田佳也、北海道医学雑誌 88 (4-5):133-140。

#### [文献]

- 1) 旭川医科大学研究フォーラム 2009 Mar vol.9 No.1 p54-56
- 2) Aoki N, Kimura Y, Kimura S, Nagato T, Azumi M, Kobayashi H, Sato K, Tateno M. Expression and functional role of MDL-1 (CLEC5A) in mouse myeloid lineage cells J Leukoc Biol. 2009 Mar;85 (3):508-17.
- 3) 旭川医科大学研究フォーラム 2011 Feb vol.12 No.1 p71-72

# 11) 遺伝子改変マウスを用いたコレクチン CL-K1 の 形態形成における役割解析

研究代表者 森 健一郎

#### [目 的]

コレクチンは、その内部構造にカルシウムイオン 依存性の糖認識領域と、コラーゲン様領域を持つタ ンパクの総称であり、自然免疫分子として広く研究 が進められている。新規コレクチン CL-K1 (collectin kidney-1) は、細菌、真菌などと結合し、補体活性化 を誘導することが報告されており、従来のコレクチン 同様、自然免疫に関わる分子とであると考えられている。

CL-K1と補体活性化因子 MASP-3の遺伝子変異が口唇裂、口蓋裂、頭蓋骨癒合症、学習障害、生殖器や膀胱、腎臓の異常をきたす疾患、3 MC 症候群の原因であると 2011 年に報告された。これは、自然免疫に関与する分子が、器官形成に寄与していることを示す、初めての報告であった。我々は、現在、CL-K1ノックアウトマウスを作成し、器官形成期における、CL-K1の機能解析を行っている。その中で、CL-K1ヘテロマウス同士の交配で得られたノックアウトマウスは、同時期に誕生したワイルドマウス・ヘテロマウスと比較し、低体重であることを確認している。このことから、CL-K1が哺乳動物の器官形成期において、自然免疫以外の機能を有していることを示唆している。

CL-K1 が器官形成期において、どのような働きをするかを明らかにするために、本研究では、胎生期における CL-K1 遺伝子発現を定量 PCR と免疫組織染色で検討した。

## [方 法]

マウス胎生7日目、11日目、17日目及び成獣肝臓の CL-K1 mRNA の発現を定量 PCR により解析した。 定量 PCR は、Premium Total RNA (タカラバイオ) から random hexamer を用いて cDNA 合成後、TaqMan® Gene Expression Assays を利用し、7500 Real Time PCR System (ライフテクノロジーズ) により行った。

胎生 17.5 日の胚切片は以下の方法で作成した。10 週齢 C57BL/6J 雌マウスに、妊馬血清性性腺刺激ホルモン腹腔投与 48 時間後、ヒト絨毛性性腺刺激ホルモンを腹腔投与し、交配能を確認した雄マウスと共飼育 した。12 時間後膣栓を確認し妊娠 0.5 日とした。妊娠 17.5 日に母獣を安楽死後、胎仔を摘出し、4%パラホルムアルデヒドで 48 時間固定した。脱水・脱脂、パラフィン包埋後、薄切、伸展し、スライドガラス上に密着させた。検出には一次抗体としてウサギ抗 CL-K1 ポリクローナル抗体を、二次抗体としてAlexa488 conjugated goat anti-rabbit 抗体を用いた。核染は TO-PRO-3 により行い、BIOREVO(キーエンス)により蛍光観察を行った。

#### [結 果]

定量 PCR による遺伝子発現検討の結果、CL-K1 遺伝子は、胎生後期になるにつれ発現が亢進し、成獣肝臓においてさらに高値を示すことを確認した。また、CL-K1 同様肝臓で合成され血中に分泌されるコレクチン MBL は、胎生 11 日目をピークとする発現亢進が見られたが、それ以降の発現亢進は見られなかった。成獣肝臓での mRNA 量を比較すると、CL-K1 の発現量は MBL と比べ約 1/2 の発現量であることが分かった。

抗 CL-K1 抗体を利用した 17.5 日胚の免疫組織染色の結果、CL-K1 は鼻腔粘膜上皮、口蓋、口唇、心筋、血管平滑筋、消化管内腔等で発現が高く、また大脳、小脳、肺、肝臓、膵臓、腎臓、副腎などの器官で発現することが明らかとなった。

# [考 察]

コレクチン CL-K1 は、成体において様々な微生物と結合し、感染防御に関与することが推測されているが、胎生期マウスは、無菌状態下の子宮内で着床後の原腸形成と器官形成を行うため、通常では胎仔が積極的に免疫分子を発現することはないと考えられている。

しかし、マウスの胎生期における CL-K1 mRNA の発現及び免疫組織染色の結果、CL-K1 遺伝子が器官形成期に発現していることが明らかになり、ヒトの遺伝子変異の報告同様、発生において器官形成に重要な役割を担う可能性が推測された。

現時点での予測される機能としては、原始線条期 (6.5日)以降の細胞移動、細胞分化への関与であり、 胎生11.5日以降で始まる、骨格筋、顔面、口蓋、舌、 食道、胃、腸、肝臓、膵臓等の各器官形成に関する機 能が考えられる。

CL-K1は MASP と相互作用し、in vitro で補体系を活性化することにより、自然免疫に関与している可能性が報告されているが、in vivo の器官形成期におけるその分子メカニズムは明らかになっていない。今後CL-K1 ノックマウスを用いて胎生期における CL-K1の生理的機能を解明していきたいと考えている。

#### [参考文献]

- 1) Keshi H, *et al.* Identification and characterization of a novel human collectin CL-K1. *Microbiol. Immunol.* 50:1001-1013, 2006.
- 2) Hansen S, *et al.* Collectin 11 (CL-11, CL-K1) is a MASP-1/3-associated plasma collectin with microbial-binding activity. *J Immunology*. 185: 6096-6104, 2010.
- 3) Yoshizaki T, *et al*. Comparison of human blood concentrations of collectin kidney 1 and mannan-binding lectin. *J Biochem*. Epub ahead of print, 2011.
- 4) Rooryck C, *et al.* Mutations in lectin complement pathway genes COLLEC11 and MASP1 cause 3MC syndrome. *Nature Genetics*. 43: 197-203. 2011.

# 12) マタニティヨガの周産期予後改善効果に関する 研究

研究代表者 川西 康之

#### [目 的]

マタニティヨガ実践の効果について、海外からは周 産期予後と関連するとの報告がある。具体的には、ヨ ガ実践群で対照群と比較し低出生体重児の割合が少な いことや、早産の割合が少ないといった報告<sup>1)</sup>、また 妊娠高血圧症候群、子宮内胎児発育遅延の予防効果が あるとの報告<sup>2)</sup> が認められるが、国内からはそのよ うな報告は認められていない。

マタニティヨガの実践が周産期予後に影響するメカニズムは明らかとなっていないが、マタニティヨガ実践による妊婦のストレス軽減効果<sup>3)</sup>が報告されてことから、以下が考えられている。妊婦がストレスにさらされると、子宮・胎盤循環の悪化<sup>4)</sup>母体コルチゾールと連動する胎児コルチゾールの上昇<sup>5)</sup>胎盤からのPlacental-CRH 分泌<sup>6)</sup>により、胎児に影響を与え、子宮内胎児発育遅延、早産などが生じる可能性が指摘されている。

日本人を対象とした調査報告は認められていないが、その実践により周産期予後が改善する可能性が本研究により確認された場合、その積極的な介入により、さらに周産期予後を改善する効果が将来的に得られる可能性がある。

環境省が行っている「子どもの健康と環境に関する全国調査」(以下エコチル調査)は、全国10万組の親子を対象とし、胎児期から13歳になるまで子供の健康状態を追跡し、妊娠中の環境要因が子どもたちの成長・発達に与える影響を明らかにすることを目的としている。現在旭川医科大学の産婦人科学講座、小児科学講座、健康科学講座において北海道ユニットセンターの旭川地区を分担し研究を行っている。

今回、エコチル調査北海道ユニットセンターにおいて、マタニティヨガ実践妊婦の割合を疫学的に調査し、エコチル全体調査で得られる周産期結果と連結させ、その周産期予後への影響を明らかにすることを目的として調査を行う。

## [方 法]

本研究は「エコチル調査」北海道ユニットセンターの独自追加調査として行っている。北海道ユニットセンター参加者を対象に、マタニティヨガ実践について出産後に自記式質問票調査を実施している。調査対象をマタニティヨガ実践群と非実践群とに分け、エコチル全体調査にて得られる周産期予後(出生体重、分娩週数、子宮内胎児発育遅延、妊娠高血圧症候群といった妊娠合併症の割合等)について検討し、その周産期予後への影響を明らかにする事を予定している。

#### [結果]

エコチル全体調査における周産期データの固定が行われていないため、周産期予後と連結させた解析は実施できていないが、平成25年10月18日までに得られた調査結果を以下に示す。

エコチル調査北海道ユニットセンターにおいて平成22年2月1日より平成25年9月30日までに6,635名の参加者を得た。本研究では、平成25年9月12日までに出産が確認された妊婦4,401名に質問票を配布、2,923名より回答を得た(回答率66.4%)。そのうちデータ入力の完了した2,166名分の集計結果を報告する。

2.166 名のうちマタニティヨガを実践していたのは

437名(20.2%)であった。学習方法としては、248名(57.5%)が指導者に習い、180名(41.8%)が本・DVD などによる自習をしたと回答した。平均実践週数、一週間平均の実践回数、一回の平均実践時間はそれぞれ 12.8  $\pm$  8.0 週間、2.2  $\pm$  1.8 回 / 週、54.7  $\pm$  29.5分で、実践内容として身体運動、呼吸法、瞑想を行った者は、426名(97.9%)、360名(82.8%)、188名(43.2%)であった。また「マタニティヨガを経験して、今回出産されたお子様に対し愛情が深まったと感じますか?」という質問に対し、「はい」「どちらともいえない」「いいえ」と回答した者はそれぞれ 166名(38.2%)、226名(52.1%)、42名(9.7%)であった。

### [考察]

マタニティヨガ実践者は20.2%で、前回途中集計とほぼ同じ割合(19.6%:平成24年8月31日時点)を示した。今後エコチル調査では平成26年3月まで、北海道ユニットセンターとして8,250名の登録を予定しており、参加者の全出産終了後にデータ固定が予定されている。本研究では今後も調査を続け、固定後のデータと連結させ、マタニティヨガ実践による周産期予後への影響を解析していく事を予定している。

## [文献]

- 1) S. Narendran, et al. Efficacy of yoga on pregnancy outcome. J Altern Complement Med 11, 237-244 (2005)
- 2) Rakhshani A, et al. The effects of yoga in prevention of pregnancy complications in high-risk pregnancies: A randomized controlled trial, Prev Med 55 (4), 333-40 (2012)
- 3) M. Satyapriya, et al. Effect of integrated yoga on stress and heart rate variability in pregnant women, International Journal of Gynecology and Obstetrics 104, no. 3, 218-222 (2009)
- 4) Teixeira JMA, et al. Association between maternal anxiety in pregnancy and increased uterine artery resistance index:Cohort based study, BMJ 318, 153-7 (1999)
- 5) Gitau R, et al. Fetal exposure to maternal cortisol, Lancet 353, 707-708 (1998)
- 6) Majzoub JA, et al. Placental corticotropin-releasing hormone:Function and regulation. Am J Obstet Gynecol

180, S242–S246 (1999)

- Barker DJ et al. Infant Mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. Lancet 1, 1077-1081 (1986)
- 13) 食品中に含まれるホルムアルデヒドが消化管免疫および発がんに及ぼす影響

研究代表者 中木 良彦

#### 「研究背景と目的」

近年、違法な食品添加物や食品の偽装表示などの問 題が報道機関に取り上げられ、国民の食に対する安全 性への関心が高くなり、安全性を示す正確な情報が重 要となった。その中で、食品添加物としての使用が禁 止されている劇物のホルムアルデヒド(FA)は、様々 な条件のもとで食品に含有されている可能性があり、 また、自然食品中にも含まれる安全性の上で無視でき ない物質である。また、2012年5月には利根川系の 浄水場で取水した水から工場排水と塩素が反応して発 生したと考えられる FA が検出され、意図しない FA の産生による生体への曝露の危険性の考慮が必要と なった。従来のFAの経口曝露による毒性に関する研 究は、急性中毒に関する報告が中心であったが、我々 は低濃度 FA を添加した飼料を実験動物に与えた時に 消化管、特に下部消化管において消化管内残渣から高 濃度の遊離 FA を検出し、さらに遊離した FA が下部 消化管の大腸菌の減少をもたらす事を既に報告した。 一方で、FA の発がん性に関する研究は、吸入曝露に よる鼻咽腔がんの危険因子として注目されている反 面、経口曝露による消化管やその他の臓器の発がん性 についての検証は不十分であった。

以上のことから食品中に含まれる FA の消化管への 影響について、免疫異常および発がん性の 2 点につい て、FA 添加食品を用いた経口曝露実験から FA の安 全性を再評価すること目的に研究を実施した。

#### [研究方法]

B6C3F1 雌性マウスを FA 曝露群とコントロール群各8匹にランダムに分け、FA 曝露群には食品中に含まれる FA 濃度を想定した曝露量が 100 mg/kg/day になるように調整した FA 添加飼料を、コントロール群には通常飼料(FA 無添加)を与えた。飲料水には FA 曝露群、コントロール群ともに蒸留水を与えた。曝露

期間は50日とした。曝露期間終了後、マウスを安楽 死させ採血、および消化管の摘出を行い、Peyer 板細 胞の浮遊液を調整した。Peyer 板のリンパ球は、蛍光 抗体で表面抗原を免疫染色し、フローサイトメトリー を用いてリンパ球のサブセットを解析した。

一方で、FAの長期経口曝露の影響をみるために B6C3F1 雌性マウスをFA 曝露群とコントロール群に 各8匹にランダムに分け、FA 曝露群には同様のFA 添加飼料を6ヶ月与えた。曝露期間終了後、マウスを 安楽死させ脾臓の摘出を行い、摘出した脾臓から脾リ ンパ球を抽出し、PI 染色後にフローサイトメトリー を用いて細胞周期の解析を実施した。

各々の結果は FA 曝露群、コントロール群間で、 Mann-Witney U 検定を行い、検定において p< 0.05 を 有意な差があると判断した。

#### [結果]

Peyer 板リンパ球の subpopulation 解析において、コントロール群に比較してホルムアルデヒド添加飼料群の CD8 陽性細胞の有意な減少(p<0.05)と、CD4/CD8 比の有意な高値を示した(p<0.05)。Peyer 板を中心とした小腸および大腸の HE 染色による組織像では、今回の曝露条件では明らかながん細胞や異型細胞を認めなかった。電顕像では FA 曝露群では、コントロール群と比して、腸絨毛の表面が滑らかな構造を呈した(図 1)。さらに、Peyer 板の微細構造を観察すると FA 曝露群では、コントロール群と比して、リンパ

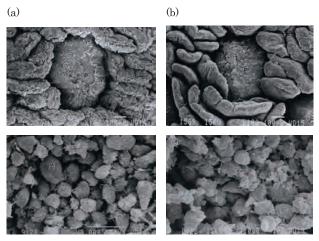


図1 マウス小腸の電子顕微鏡像

(a) コントロール群、(b) FA 曝露群

P: Peyer 板 IV: 腸絨毛 M: マクロファージ

L:リンパ球 AP:アポトーシス細胞

球の密度が低くなり、アポトーシスを呈する細胞が数多く観察できた。脾細胞リンパ球の細胞周期の解析では、DNA aneuploidy と考えられる2つの独立したG0/1 ピークが観察された。

#### [考 察]

Peyer 板リンパ球の subpopulation 解析において、FA 曝露群で CD8 陽性リンパ球数の有意な減少を認めたこと、電子顕微鏡像でのリンパ球の密度の低下から、電子顕微鏡像上のアポトーシスを呈する細胞は CD8 陽性の細胞傷害性 T 細胞もしくはサプレッサー T 細胞であることが示唆された。一般に消化管細胞のアポトーシスの制御には酪酸の存在が関与していると考えられ、酪酸は経口摂取された食物線維が腸内細菌により産生されることから、FA 曝露による下部消化管の大腸菌などの減少による腸内細菌叢の変化、つまり酪酸を産生する細菌類が増加した可能性が考えられた。

今回の実験における細胞周期の解析では、Peyer 板リンパ球数が不十分で解析困難であったため、脾臓のリンパ球のデータのみとなったが、DNA aneuploidyが観察されたことは FA の発がん性を示唆するものであった。しかしながら、サンプルを採取した時期が約30週齢であったことは自然発生のがんによる可能性があることから、Peyer 板リンパ球を含めた DNA aneuploidy 解析の追試が必要である。

#### [まとめ]

我々が意図しない高濃度のFAを含有する食品の摂取を想定した動物実験において腸内細菌を介した粘膜免疫系への影響が示唆された。今後は従来の報告を含めて腸内細菌が産生する物質と消化管の粘膜免疫機構や発がんとの関係を精査し、FAを含有する食品に関する安全性評価の検討が望まれる。

# 14) 次世代シーケンサーを用いたヒト寄生性テニア 科条虫の宿主特異性規定因子の探索

研究代表者 柳田 哲矢

#### [目 的]

寄生虫の中には、限られた宿主にしか寄生しないものがいる。この「宿主特異性」は、多様な生活様式を持つ寄生虫達の基盤的な特性である。また、感染経路や病害性を規定することから、公衆衛生学的にも医学的にも重要な性質である。一方で、どのようにして1対1の密接な相互関係が生み出されたのかは、生物進化の観点からも興味深い。この宿主特異性は、古くより研究者の興味を引いてきた課題ではあるが、寄生虫と宿主両方の持つ因子が複雑に絡み合うことで規定されるため、規定因子の特定は困難である。

テニア科に属し、ヒトの消化管に寄生する無鉤条虫とアジア条虫は、それぞれウシとブタを中間宿主とする明確な宿主特異性を持つ。両種とも衛生状態の良くない発展途上国を主に蔓延しているが、日本国内でも、2011年にブタの生レバーを主な感染源とするアジア条虫の集団感染例が報告されている¹)。この2種は、進化的に非常に近縁であり、種間交雑を起こすことが知られている²)。3)。種間交雑により生まれた個体およびその子孫(以降、交雑体と称する)がウシとブタのどちらを中間宿主とするのかは明らかになっていないが、ゲノムの混ざり具合によって寄生相手が変わると予想される。そこで本研究では、無鉤条虫とアジア条虫ならびにその交雑体のゲノム情報を比較することによって、宿主特異性を規定する遺伝因子の探索を試みた。

#### [方法]

ゲノム解析に用いた次世代シーケンサー(Illumina:HiSeq)は、3μg以上のDNAを必要とする。そのため、まず保有している無鉤条虫とアジア条虫ならびに交雑体のゲノムDNA溶液から、解析に供するサンプルの選定を行った。予算上の制限から、2サンプルを選定し、解析対象とした。解析は、北海道システムサイエンス株式会社へ外注した。塩基配列データは、Paired-End法100塩基読み取りによって取得した。1レーンで2サンプル解析し、得られたリードデータはインデックスタグを用いて検体ごとに振り分けた。

#### [結 果]

世界各地で採集した寄生虫標本から抽出して冷凍保存していたゲノム DNA 溶液は、DNA の総量が 3 μgに満たないものが多く、十分量あるものについてもDNA の断片化が起きるなどしてゲノム解析には不適であった。そのため、冷凍保存されていたインドネシア由来の無鉤条虫と、韓国由来の交雑体から新たにゲノム DNA を抽出し、解析に用いた。次世代シーケンサーを用いたゲノム解析の結果、無鉤条虫については約11Gb、交雑体については12.5Gb の塩基配列データが得られた。得られた塩基配列データについては、全ゲノム情報が公開されている有鉤条虫の配列データを参照配列とし、比較解析を行っている。

#### [考 察]

宿主特異性を規定する遺伝子群の絞り込みには、純粋な無鉤条虫とアジア条虫、ならびに中間宿主(ウシかブタ)が明らかな交雑体から得られたゲノム情報を比較することが必要になる。しかしながら、本研究で用いた次世代シーケンサーでは解析に最低でも  $3 \mu g$  の DNA 量が必要であったため、数多く保有している DNA 溶液を解析に用いることができなかった。今後これらの DNA 標本を利用するためには、より少量の DNA 量で解析を行うことのできる機種の選定が必要になる。

本研究ではまず、インドネシア由来の無鉤条虫と、韓国由来の交雑体の標本から新たに DNA を抽出して解析を行った。純粋なアジア条虫については、台湾由来の寄生虫標本を入手することができたため、今後はこの虫体から新たに DNA を抽出し、解析を行う予定である。また、2013 年 3 月にラオスで行った疫学調査により、交雑体に感染した患者が見つかった。今後は、この患者が住む集落で飼育されているブタとウシそれぞれから交雑体を採取し、比較解析に供することを予定している。なお、得られた塩基配列データについては比較解析を行っている最中であり、現時点では報告に値するだけの結果は得られていない。

本研究による成果は、近縁な寄生虫種間で異なる宿 主特異性を規定する因子の新しい探索法として、広く 利用できると期待される。

#### [文献]

- Yamasaki H: Current status and perspectives of cysticercosis and taeniasis in Japan. *Korea. J. Parasitol*. 51, 19-29 (2013)
- 2) Yamane K, Suzuki Y, Tachi E, Li T, Chen X, Nakao M, Nkouawa A, Yanagida T, Sako Y, Ito A, Sato H and OkamotoM: Recent hybridization between Taenia asiatica and *Taenia saginata*. *Parasitol*. *Int.* 61, 351-355 (2012)
- 3) Yamane K, Yanagida T, Li T, Chen X, Dekumyoy P, Waikagul J, Nkouawa A, Nakao M, Sako Y, Ito A, Sato H and Okamoto M: Genotypic relationships between *Taenia asiatica*, *Taenia saginata* and their hybrids. *Parasitology 140*, 1595-1601 (2013)

# 15) 腸内細菌由来の新規線維化抑制物質を用いた新 しい治療薬開発の前臨床試験

研究代表者 嘉島 伸

## [目 的]

クローン病や潰瘍性大腸炎などの慢性炎症性腸疾患では、腸管障害が反復して起こることにより高率に腸管組織の線維化をきたし、腸閉塞などの重篤な合併症を引き起こす。線維化の形成・維持には TGF  $\beta$  や CTGF の発現増加が密接に関係しているとされており  $^{(1)}$   $^{(2)}$  、これらの分子の発現を制御することにより線維化の軽減が期待される。我々はこれまで、乳酸菌由来活性物質である長鎖ポリリン酸が急性炎症モデルにおける腸管障害を改善することを明らかにしてきた  $^{(3)}$  。本研究では慢性腸炎モデルにおける腸管障害や線維化に対するポリリン酸の改善効果を検討する。

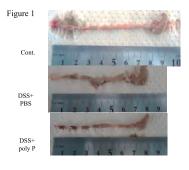
## [方 法]

3% DSS 自由飲水を5日間、その後、蒸留水自由飲水を30日間行い、慢性腸炎モデルマウスを作製した。ポリリン酸は DSS 投与開始後25日目から注腸投与した。コントロール群、DSS 単独投与群、DSS およびポリリン酸投与群の3群において、腸管粘膜からサンプルを回収し、RT-PCR、ウエスタンブロットにより各遺伝子の発現を検討した。

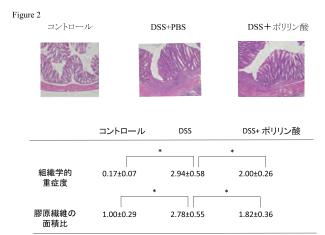
#### [結 果]

① DSS 単独投与群ではコントロール群に対し有意に

腸管が短縮しており、ポリリン酸投与により腸管短縮は改善した(Figure1)。またポリリン酸投与群では粘膜下層~筋層にかけての浮腫,炎症細胞浸潤、線維化が軽度であった(Figure2)。② DSS 単独投与群では炎症性のメディエーターであるである IL-1  $\beta$ 、TNFa、IFN  $\gamma$  (RT-RCR で検討)、pNF  $\kappa$  B (ウエスタンブロットで検討)が過剰に発現していたが、ポリリン酸を投与することで発現が抑制された(Figure3)。③ DSS 単独投与群では TGF  $\beta$  1、SMAD4、CTGF の発現量が







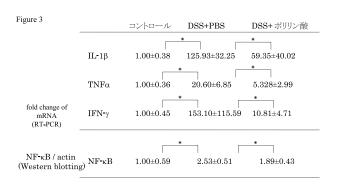


Figure 4



Western blotting

増加しており、ポリリン酸注腸投与によりこれらの発現量は有意に低下した(ウエスタンブロットで検討)(figure4)。

#### [考察]

ポリリン酸は慢性腸炎モデルにおける腸管障害や線 維化を改善した。その機序として炎症性サイトカイン および線維化促進分子の発現抑制が関与していた。ポ リリン酸は慢性腸炎における腸管障害や線維化に対す る新たな治療薬になりうると考えられた。

#### [文献]

- 1) Ghosh AK, Yuan W, Mori Y, et al. Smad-dependent stimulation of type I collagen gene expression in human skin fibroblasts by TGF-beta involves functional cooperation with p300/CBP transcriptional coactivators. Oncogene 2000;19:3546-55.
- 2) Mori T, Kawara S, Shinozaki M, et al. Role and interaction of connective tissue growth factor with transforming growth factor-beta in persistent fibrosis: A mouse fibrosis model. J Cell Physiol 1999;181:153-9.
- 3) Segawa S, Fujiya M, Konishi H, et al. Probiotic-derived polyphosphate enhances the epithelial barrier function and maintains intestinal homeostasis through integrin-p38 MAPK pathway. PLoS One 2011;6:e23278

# 16) 生体肝移植における免疫抑制剤代謝酵素群の遺 伝子変異と薬物血中濃度との関連性の検討

代表研究者 谷口 雅彦

#### [背 景]

タクロリムスやシクロスポリン等の免疫抑制剤は、 その体内動態に個体内変動が認められることが知られ ており、薬物血中濃度モニタリング(TDM)に基づ

く投与設計が必須とされている。その理由として、移 植患者によっては多量の免疫抑制剤を服用しても血中 濃度が上昇しない症例が存在し、移植後拒絶反応やそ れによる graft loss の可能性もあることによる。他方、 少量の免疫抑制剤にて血中濃度が異常高値になる症例 もあり、このような症例では脳症(タクロリムス脳 症) 等も危惧される。これらの薬剤の体内動態に変動 を及ぼす因子として、腸管に発現している P- 糖蛋白 (MDR1) や、腸管や肝組織に発現している薬物代謝 酵素チトクローム P450 (CYP) 3A4 や CYP3A5 の一 塩基多型 (SNP) による酵素活性の変化が示唆されて いる 1-4)。すなわち、遺伝子変異によって各分子の酵 素活性が変化することで免疫抑制剤の代謝が亢進、ま たは遅延し、薬物血中濃度に影響を及ぼすと考えられ る。これらの SNP 情報による酵素活性の変化を事前 に把握することができれば、例えば生体肝移植の場合、 移植前にドナーが決定していることから移植前に免疫 抑制剤の体内動態を予測し、至適免疫抑制剤の選択、 投与量の調整を行うことが可能となる。さらに、移植 後に処方されることが多い薬剤(プロトンポンプ阻害 薬や抗真菌薬など)についても、これら分子の SNP 情報による酵素活性の変化が示唆されていることから 5)、副作用発現予測や薬効評価の予測なども可能とな る。

#### [目 的]

- 1. 免疫抑制剤の体内動態に関与する遺伝子変異検査 を行い、各分子の SNP 情報と薬物血中濃度の関連 性を明らかにする。
- 2. 得られた SNP の情報から、肝移植前に免疫抑制 剤の体内動態を予測し、免疫抑制剤の投与量の調整 を可能にできるかを検討する。

## [対象と方法]

対象: 当院で施行した生体肝移植症例: 3 例

- 1. インフォームドコンセントを得た後、移植術時に採取されるレシピエント小腸片(Roux-en-Y吻合部)、ドナー肝組織片の余剰部分を液体窒素で凍結後、組織中より DNA 抽出キットを用いてゲノム DNA を抽出する。同時に末梢血も採取し、同様の手法でゲノム DNA を抽出する。
- 2. ゲノム DNA から SNP 部位を含む部位を特異的に

増幅させるプライマーを人工合成し、PCR 反応にて 増幅後、SNP 部位領域を特異的に切断する制限酵素 を用いて PCR 産物を切断後、アガロース電気泳動 を行い、SNP 判定を行う。

- 3. タクロリムス投与を開始した翌日より連日、投与 直前に採血を行い(トラフ値)、化学発光免疫測定 法(CLIA 法) により全血中濃度を測定し、薬物血 中濃度をモニタリングする。
- 4. 移植後に用いられる免疫抑制剤の血中濃度と投与 量比 (C/D 比) を算出し、これら分子の遺伝子変異 との関連性を検討する。

#### [結果]

## 検討1:一塩基多型(SNP)による酵素活性の変化

免疫抑制剤、抗真菌剤に影響を及ぼすとされる代表的な SNP による酵素活性の変化を各症例別に示す。

case A	CYP3A5	CYP2C19
donor	*1/*3	*2/*3
recipient	*1/*3	*1/*2
case B	CYP3A5	CYP2C19
donor	*1/*3	*1/*2
recipient	*3/*3	*1/*1
case C	CYP3A5	CYP2C19
donor	*1/*3	*1/*1
recipient	*1/*3	*1/*2

Case A では CYP3A5 はドナー肝でヘテロ(酵素活性あり)、レシピエント小腸でもヘテロであった(酵素活性あり)。一方、CYP2C19 においては、ドナー肝でヘテロ(機能欠損)、レシピエント小腸でヘテロ(酵素活性あり)であった。

Case B においては、CYP3A5、CYP2C19 ともにドナーでヘテロ(酵素活性あり)、一方レシピエントでは CYP3A5 でホモ(機能欠損)、CYP2C19 でホモ(酵素活性あり)であった。

Case C では CYP3A5 はドナー、レシピエントともにヘテロ(酵素活性あり)である一方で、CYP2C19はドナーがホモ(機能欠損)、レシピエントがヘテロ(酵素活性あり)であった。

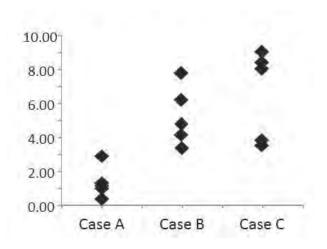
### 検討 2: 免疫抑制剤の体内動態の検討

図 1 に移植後  $6 \sim 10$  日までのタクロリムスの血中 濃度 / 投与量比(C/D)を、図 2 に移植後  $15 \sim 19$  日 までのタクロリムスの C/D を示す。移植直後の  $6 \sim$  10日までは case A にて C/D 比は低く、case B, C にては高い傾向であった。一方、移植後  $15\sim19$ 日での C/D 比は case A は移植直後と同様であったが、case B にて下がる傾向にあった。Case C においてはデータのばらつきを認めた。

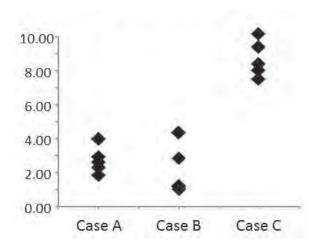
## [考 察]

本研究では、免疫抑制剤、抗真菌剤に影響を及ぼすとされる代表的な SNP による酵素活性の変化と免疫抑制剤の体内動態との関連性について検討した。一般的に CYP3A5 は主にタクロリムス、CYP2C19 はボリコナゾールの代謝に影響を強く与えると言われている。

まず、タクロリムスの代謝に関して、Case A では CYP3A5 はドナー肝で酵素活性あり、レシピエント小 腸でも酵素活性あり、共に酵素活性を有することから



**図1** 移植後6~10日目のC/D比



**図2** 移植後 16~20 日目のC/D比

タクロリムスの血中濃度が上昇しづらいことが予想さ れたが、C/D 比も移植10日目まで、20日目までのい ずれも低い傾向にあり、予想と一致していた。Case B においては、CYP3A5はドナーで酵素活性あり、一方 レシピエントでは CYP3A5 で機能欠損であった。こ れまでの報告からすでに、タクロリムスの代謝に関し ては移植直後の6~10日まではレシピエントの小腸 での代謝が優位とされるが、移植後15日以降はドナー 肝での代謝が優位になると言われている<sup>1)</sup>。その報告 通り、移植10日目までC/D比は高く、15日以降では 低くなる傾向にあった。Case CではCYP3A5はドナー、 レシピエントともに酵素活性あることからタクロリム スは血中濃度が上昇しづらいころが予想されたが、C/ D比は移植10日目まではデータにばらつきがあり、 20 日目まででは高い傾向にあった。これは case C は 再移植症例であり、術前に肝不全の状態から移植を 行ったことから全身状態の悪化がタクロリムスへの代 謝に影響を及ぼしたものと思われる。

抗真菌剤と SNP情報の関係については、今回 case A と case B においてボリコナゾールを投与したため、この 2 症例のみの検討となるが、ボリコナゾールの代謝に強く影響すると言われる CYP2C19 に関しては、case A においてレシピエント小腸で酵素活性あり、ドナー肝で機能欠損であった結果から、ボリコナゾールの血中濃度は上昇しやすいことが予想された。事実本症例では、ボリコナゾールの著明な血中濃度上昇のために中断を余儀なくされた。他方、case B ではレシピエント・ドナーとも酵素活性あり、血中濃度は平均的であることが予想され、実際にも血中濃度の上昇は認めなかった。

今後さらに症例を蓄積して検討する必要があるものの、本研究の結果からタクロリムス、ボリコナゾールともに移植前の SNP 情報と実際の血中濃度の推移は関連がある可能性が高い。従って、移植前からの薬物の体内動態が予想できることから、事前に拒絶反応や真菌感染症に対する対策が可能となる。今後は SNP情報と拒絶反応、肝機能障害との関連性についても検討していきたい。

#### 「謝辞]

平成24年度「独創性のある生命科学研究」に採択していただき、このような研究の機会を与えて頂きま

したことをこの場を借りて厚く御礼申し上げます。

#### [参考文献]

- 1) Fukudo M. [Individualized dosage regimen of immunosuppressive drugs based on pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis]. Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. 2007 Jul;127 (7):1081-9. PubMed PMID: 17603267.
- 2) Hosohata K, Masuda S, Yonezawa A, Katsura T, Oike F, Ogura Y, et al. MDR1 haplotypes conferring an increased expression of intestinal CYP3A4 rather than MDR1 in female living-donor liver transplant patients. Pharmaceutical research. 2009 Jul;26 (7):1590-5. PubMed PMID: 19267185.
- 3) Uesugi M, Masuda S, Katsura T, Oike F, Takada Y, Inui K. Effect of intestinal CYP3A5 on postoperative tacrolimus trough levels in living-donor liver transplant recipients. Pharmacogenetics and genomics. 2006 Feb;16 (2):119-27. PubMed PMID: 16424824.
- 4) Goto M, Masuda S, Kiuchi T, Ogura Y, Oike F, Okuda M, et al. CYP3A5\*1-carrying graft liver reduces the concentration/oral dose ratio of tacrolimus in recipients of living-donor liver transplantation. Pharmacogenetics. 2004 Jul;14 (7):471-8. PubMed PMID: 15226679.
- 5) Hosohata K, Masuda S, Yonezawa A, Sugimoto M, Takada Y, Kaido T, et al. Absence of influence of concomitant administration of rabeprazole on the pharmacokinetics of tacrolimus in adult living-donor liver transplant patients: a case-control study. Drug metabolism and pharmacokinetics. 2009;24 (5):458-63. PubMed PMID: 19881258.

# 17) 糖尿病網膜症における AGEs・RAGE の網膜循環への関与の検討

研究代表者 佐藤 栄一

#### [目 的]

蛋白糖化反応の最終過程で生成される最終糖化生成物(advanced glycation end products: AGEs)は、加齢や高血糖などにより組織に蓄積される。以前、我々は増殖糖尿病患者の角膜内に、AGEs が増加していることを初めて明らかにし<sup>1)</sup>、眼組織への AGEs 蓄積と糖尿病網膜症との関連の可能性を示した。AGEs が血管壁に蓄積すると、動脈硬化性変化をもたらすことが知られている。AGEs は糖尿病網膜症患者の網膜組織・血管に蓄積し、網膜症発症・進展に関与を示す報告がある。しかしながら、AGEs と網膜循環動態との関係については未解明である。

本研究では、糖尿病網膜症の網膜循環障害の病態を解明するために、AGEsの一つであるペントシジンに着目し、それらが網膜循環にどのように関わっているかを明らかにすることを目的とする。具体的には、2型糖尿病患者の血中ペントシジン濃度を測定し、網膜血流の関係を検討する。

表 血液検査の結果

	control	DR(-)	DR(+)
ペントシジン ( $\mu$ g/ml)	$0.044 \pm 0.0097$	$0.047 \pm 0.012$	$0.057 \pm 0.015$
血糖値(mg/dl)	$126.3 \pm 43.7$	$173.4 \pm 93.2$	$138.5 \pm 44.5$
HbA1c(%)		$7.5 \pm 2.7$	$7.6 \pm 1.4$
総コレステロール(mg/dl)	$210 \pm 29$	$187 \pm 41$	$177 \pm 34$
中性脂肪(mg/dl)	$120 \pm 22$	$112\pm53$	96 ± 32
HDLコレステロール(mg/dl)	$60 \pm 21$	59 ± 14	58 ± 16
LDLコレステロール(mg/dl)	128 ± 19	$112\pm36$	$103 \pm 35$

### [方 法]

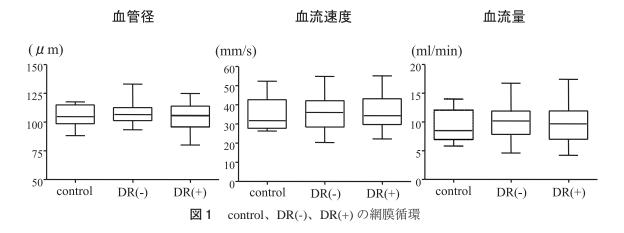
対象は、糖尿病なし10名 [control 群] (平均年齢;64歳、男/女4:6)、2型糖尿病患者42名(平均年齢;61歳、男/女性:20:22)である。2型糖尿病患者の内訳は、網膜症なし [DR (一) 群]:22名(平均年齢;61歳、男/女性;9:13)、網膜症あり;20名 [DR (+)群] (平均年齢;61歳、男/女性;11:9)であった。網膜循環測定にはキャノン社製のレーザードップラ眼底血流計を用いて、網膜血管径、血流速度を測定し網膜血流量を算出した。また、収縮期血流速度と拡張期血流速度の比から、血管硬化の指標である Pusatility ratio を算出した。静脈血を採血し、血糖値、HbA1C、コレステロール値を測定した。また、血漿ペントシジン値を ELISA 法で測定した。

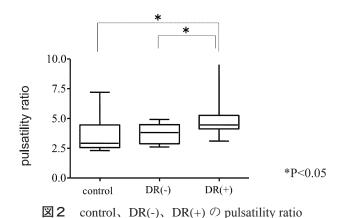
#### [結 果]

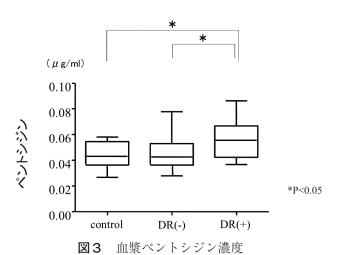
血液検査の結果を表に示す。網膜血管径、血流速度、血流量は、各グループ間に有意差を認めなかったが(図 1)、Pusatility ratio は DR (+) 群で高値であった(p < 0.05)(図 2)。血漿ペントシジンは control 群:0.044  $\pm$  0.010  $\mu$  g/ml (平均値  $\pm$  標準偏差)、DR (—) 群:0.045  $\pm$  0.012  $\mu$  g/ml、DR (+) 群:0.057  $\pm$  0.015  $\mu$  g/ml で、DR (+) 群が有意に高値であった(p < 0.05)(図 3)。血漿ペントシジンは Pusatility ratio と有意な正の相関関係を認めた(r= 0.419, p=0.016)(図 4)。

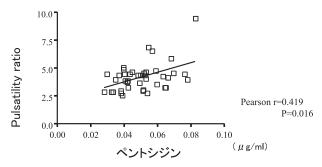
#### 「考察]

本研究において、網膜血管径、血流速度、血流量はコントロール群、DR (一) 群、DR (+) 群の3群間で差を認めなかったが、血管硬化の指標である Pulsatility ratio は DR (+) で有意に高値であった。一般









**図4** 糖尿病患者のペントシジン濃度と pulsatility ratio の関係

に、Pulsatility ratioの増加は血管抵抗の増加、あるいは、血管コンプライアンスの低下を示唆する。従って、眼環流圧が一定であると仮定した場合、血管抵抗が増加すると、血流量が減少することとなる<sup>2)</sup>。本研究では、3 群間の網膜血流量には有意差がなっかたことから、Pulsatility ratio が増加していた DR(+)患者は、網膜血管のコンプライアンスが低下していた、すなわち網膜血管が硬化していることが考えられた。

糖尿病患者において、血漿ペントシジンと Pulsatility ratio が正の相関関係を認めた。このことは、ペントシジンが網膜血管壁に蓄積し、血管コンプライアンスを低下(壁硬化)させ、ペントシジンが高値ほど、血管壁硬化が進行し、糖尿病網膜症発症・進行に関与することが推測された。

本研究により、AGE は網膜動脈を硬化させ、糖尿 病網膜症の発症・進展に関与している可能性があると 考えられた。

### [文献]

- 1) E. Sato, F. Mori, S. Igarashi et al. Corneal advanced glycation end products increase in patients with proliferative diabetic retinopathy. Diabetes Care 24, 479–482 (2001)
- 2) E. Sato, G.T. Feke, M.N. Menke, J.W. McMeel. Retinal haemodynamics in patients with age-related macular degeneration. Eye, 20, 697–702 (2006)

# 18) 鼻性 NK/T 細胞リンパ腫における EB ウイルス microRNA の機能解析

研究代表者 駒林 優樹

### [研究背景と目的]

microRNA(miR) は、タンパクをコードしない 22 塩 基程度の短鎖 RNA であり標的遺伝子 mRNA の3'非 翻訳領域に結合し、タンパクへの翻訳を抑制すること で遺伝子発現を調節している。近年発癌のメカニズム のひとつとして microRNA の発現異常が様々な癌で報 告されている。しかし、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫の病 態における microRNA の役割についてはほとんど解明 されていない。また本疾患は、EB ウイルス関連腫瘍 である。この EB ウイルスにも microRNA が存在する ことが明らかになっており、EBV-microRNA はウイル ス感染の維持に必要であり、さらに宿主の遺伝子発現 の調節も行っていることが報告されてきている。した がって、本疾患において EB ウイルス microRNA が宿 主であるヒトの遺伝子発現を調節し、発癌に関与して いる可能性がある。本研究は、これらの EB ウイルス microRNA の分子生物学的意義を検討することにより 鼻性 NK/T 細胞リンパ腫における EB ウイルスの microRNA の発癌への関与を調べることを目的とする。

### [研究方法]

患者検体として当科で鼻性 NK/T 細胞リンパ腫と診断された 13名の腫瘍組織を使用した。また健常人 8名より得られた検体を用いた。全検体はインフォードコンセントを得た後、治療前に採取された。細胞株は、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株として SNK6、SNK1、SNT8 を用いた。その他、EBV 陽性 NK 細胞株として KAI3、YT を、EBV 陰性 NK 細胞株として KHYG1 を、EBV 陽性 B 細胞株として Raji をそれぞれ使用した。

- 1. 鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株より RNA を抽出し、EBV-microRNA についてマイクロアレイ解析を行った。さらに候補 microRNA について、患者検体および細胞株での発現を realtime-PCR 法により解析した。
- 2. 候補 microRNA の標的遺伝子について microRNA の標的遺伝子データベースである TargetScan を用いて検索した。候補標的遺伝子については、3' UTR レポーターベクター、microRNA mimic を用いたレポーターアッセイで検証を行った。
- 3. 鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株 SNK6 に候補 microRNA mimic および inhibitor をエレクトロポレーション法により核酸導入し標的遺伝子の発現の変化をウェスタンブロット法で解析した。さらに microRNA 導入株におけるアポトーシス細胞の変化について Annexin V/PI 染色を用いて検討した。

#### [結果と考察]

- 1. マイクロアレイ解析の結果、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株において複数の EBV-microRNA が発現していることが確認された(図 1)。このうち 3 株ともに高発現を認めた ebv-miR-BART22 に注目し、さらに発現解析を行った。realtime-PCR 解析では、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株を含めた EBV 陽性細胞株において ebv-miR-BART22 の発現を認めた(図 2A)。また、腫瘍組織において高発現を認めたが、正常 NK 細胞および鼻粘膜組織には発現を認めなかった
- 2. TargetScan を用いた ebv-miR-BART22 の標的遺伝子の検索の結果、癌抑制遺伝子である PDCD4 が同定された(図 3)。Hela 細胞に microRNA mimic および PDCD4 3'UTR レポーターベクターをコトランスフェクションし、レポーターアッセイを行った結果、control mimic と比較し miR-BART22 mimic 導入株においてルシフェラーゼ発現が抑制され、PDCD4が ebv-miR-BART22 の標的遺伝子であることが示唆された(図 3)。
- 3. 次いで鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株 SNK6 にebv-miR-BART22 の mimic および inhibitor を核酸導入し、PDCD4 発現の変化を検討した。その結果、miR-BART22 mimic 導入により PDCD4 発現は低下し、一方 inhibitor 導入により PDCD4 発現は増強した(図 4)。以上より鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株

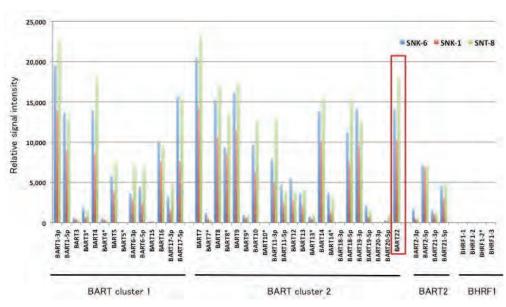


図1 鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株における ebv-microRNA の発現

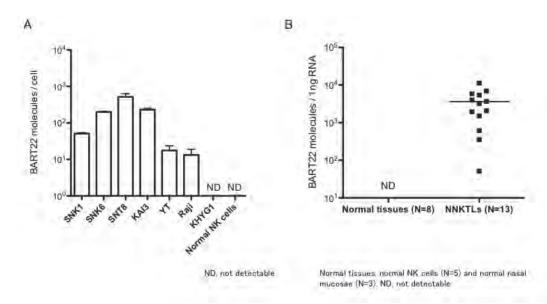


図2 鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株および腫瘍組織における ebv-miR-BART22 の発現

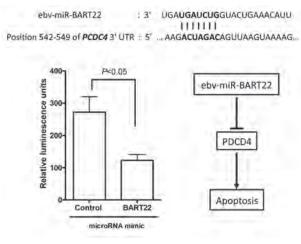
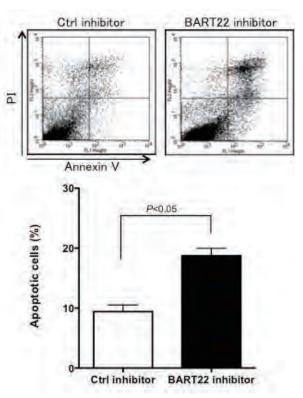


図3 Ebv-miR-BART22の標的遺伝子検索



**図4** miR-BART22 mimic および inhibitor 導入による PDCD4 発現の変化

においても ebv-miR-BART22 が PDCD4 発現を制御 することが確認された。またアポトーシス解析では、 ebv-miR-BART22 inhibitor 導入株において control 導入株と比較し、アポトーシス細胞の割合が有意に増加していた(図 5)。



**図5** miR-BART22 inhibitor 導入によるアポトーシスの変化

以上の結果より、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞において ebv-miR-BART22 は、癌抑制遺伝子である PDCD4 を抑制的に制御することによりアポトーシスを抑制し、本疾患の病態に関与している可能性が示唆された。

# 19) ヒト男性不妊症と習慣流産の病態解明および臨床医学への応用

研究代表者 上田 寛人

#### [目 的]

今日、日本の最も深刻な社会問題の一つとして間違 いなく少子化問題が存在する。現在日本では、約10 から15%のカップルが挙児希望をもちながら不妊に 悩まされている。今日までの体外受精、顕微授精さら には TESE-ICSI 法に代表される不妊治療のめざまし い進歩により、不妊治療の成果は着実に進歩が認めら れるものの、男性不妊症特に精巣内にすら成熟精子を 全く有してない、いわゆる非閉塞性無精子症は現在で も不妊治療の大きな壁となっている。多くの患者が遺 伝学的な素因を示唆されているものの、その原因のほ とんどは今なお明らかにされていない。ヒト無精子症 の原因として以前より、Y染色体上の部分的欠失こと に AZF 領域の欠失が報告されている。しかし、今日 までこの領域においてヒト無精子症の原因遺伝子とし て同定されたのは、DAZ, RBMY 及び USP9Y のわず か3つにすぎない。

近年、マイクロアレイ法 を用いた解析により、SCOS 組織においてその発現量が低下しているいくつかの遺伝子群が同定された。 その一つにヒト LRWD1遺伝子がある。LRWD1遺伝子は 647個のアミノ酸をコードしており、1つの LRR (leucine-rich repeat)と4つの WD40 (tryptophan-aspartic acid) domain を有する。マウスにおいてマウス Lrwd1遺伝子がマウス精子過程に関与しているのではないかといわれている。そこで我々はヒト LRWD1において、組織学的に SCOS に起因するヒト無精子症患者群において解析を行った。

## [方 法]

まず大学の倫理委員会の承認を得た後に、全て文章によるインホームドコンセントを得て、組織学的に SCOS に起因する無精子症と診断された日本人患者 100 名さらには妊孕性が確認されている正常コントロール 100 名から血液を採取し、DNA を抽出した。ヒト LRWD1 遺伝子の全ての coding region に隣接するイントロン部位にプライマーを設定し、nested PCR 法を行いダイレクトシークエンスにより mutation 解析を行った。得られた結果を統計学的に解析しその有意差を検討した。

## [結 果]

解析の結果、SCOS 患者群では coding region 内に 3 つの single nucleotide polymorphism: SNP1-SNP3 を検出した。正常コントロール群とゲノタイプ及びアレルの出現頻度を検討したところ、SCOS 群では SNP1 及び SNP2 において、コントロール群とゲノタイプ、アレルの出現頻度ともに統計学的に有意な差を検出した (p < 0.05)。

#### [考 察]

本研究によりヒト LRWD1 遺伝子がヒト精子形成過程においてに重要な役割を担うことが強く提言された。

# 20) SUV ナビゲーターによる最大 SUV 測定の精度 に関する検討

研究代表者 沖崎 貴琢

#### [目 的]

FDG-PET を用いて診断する際には、病変の最大 SUV を評価することが有用である場合が多い  $^{1)-4)}$ 。 しかしながら、 3 次元的に存在する病変の最大 SUV を適切に測定するには、労力と時間が必要である  $^{5)}$ 。 今回我々は、最大 SUV を簡便に測定するためのユーザインターフェイス(SUV ナビゲータ:図 1)を考案した。今回の研究の目的は、この SUV ナビゲータによる最大 SUV 測定における正確性を検討することである。

#### [方 法]

悪性腫瘍が疑われて FDG PET/CT を施行した 50 名、

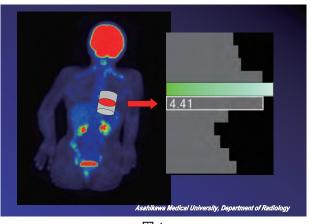


図 1

349 病変を対象とし、複数の核医学専門医が機器メーカより提供されている従来型の読影環境と SUV ナビゲータを使用した読影環境でそれぞれ独立して読影を行い、それぞれの環境下で測定された最大 SUV を比較した。両者が一致した場合にはその SUV を真の最大 SUV とし、乖離があった場合にはそれぞれの環境で再測定を施行して真の最大 SUV を得た。

PET/CT は当院に導入されている GE 社製 Discovery VCT によって撮像された。PET 画像は 1 ベッドあたり 2 から 3 分で、1 人の患者あたりでは 7 ないし 8 ベッドの範囲を 3D モード収集で撮像が施行された。スライス厚は 3.3mm、マトリクスサイズは 192x192であった。CT は吸収補正及び解剖学的な情報を付与する目的で PET の撮像直前に施行され、管球圧は 120kV、50-100mA で患者の体格によって自動設定されたパラメータが使用された。撮像時のスライス厚は 5.0mm で、PET に合わせてスライス厚 3.27mm に再構成された。PET 画像と CT 画像はカメラに付属しているワークステーション上で fusion された。画像再構成 アルゴリズムは 3D-OSEM を用いた。

SUV ナビゲータはマイクロソフト社製の Visual studio 2010 上で PET/CT ビューアに組み込む形で我々が 開発した。

最大 SUV の比較に際しては、統計解析上、非独立な変数の平均値の差の検定法として student の t- 検定を用いた。

#### [結果]

真の SUV に対して、正しく測定できたのは、従来型の読影環境では全体の 71.6%、SUV ナビゲータを用いると 99.7% であった (図2)。従来型の読影環境

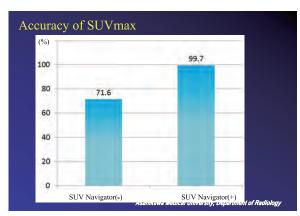


図2

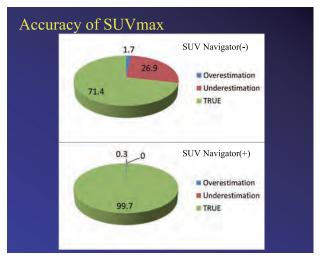


図3

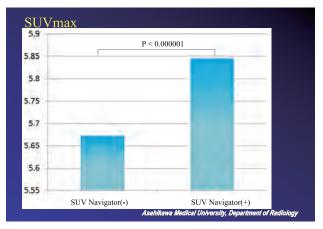


図4

で正しく最大 SUV を測定できなかった 28.6% の内訳は、値を過大評価したものが 1.7%、過小評価したものが 26.9% であった。これに対して、SUV ナビゲータを用いて正しく最大 SUV を評価できなかったのは 1 例のみ、全体の 0.3% であった(図 3)。最大 SUV を比較すると、従来型の読影環境では 349 病変の平均は  $5.67 \pm 48.7$  であったのに対して SUV ナビゲータを用いると  $5.85 \pm 52.5$  となり、統計学的に有意な差が認められた(p < 0.000001: 図 4)。

### [考 察]

人間の目が知覚可能な色と階調には限界があるので、最大 SUV を測定するためには、放射線科医は頻回にウィンドウ幅とウィンドウレベルを変更して観察を行い、病変中で最大 SUV を示す部位を特定する事が必要であるが、この操作には多大な労力と時間が要

求される。SUV ナビゲータは 3 次元的に最大 SUV を示す部位を一目で探索できることから、これらの作業を大幅に省力化できる。今回の結果が示すように、このインターフェイスを用いることによって、集積の定量的評価がより正確に施行できる可能性が示唆された。従来型の読影環境では病変の広がりが大きい場合、また複数の病変が集簇している場合などで正しく最大 SUV を示す部位を同定できず、集積を過小評価することがあったが、SUV ナビゲータを用いる事で正確な値を取得することが可能であった。特に治療前後の効果判定や予後の評価には正確な SUV の測定は重要であり、このインターフェイスは患者及び臨床医にとってメリットがあるものと考えられた。

#### [文献]

- 1) Avril N, Sassen S, Roylance R. Response to therapy in breast cancer. J Nucl Med 2009;50(Suppl 1):55S-63S. doi: 10.2967/jnumed.108.057240. Epub 2009 Apr 20.
- 2) de Geus-Oei LF, Vriens D, van Laarhoven HW, van der Graaf WT, Oyen WJ. Monitoring and predicting response to therapy with 18F-FDG PET in colorectal cancer: a systematic review. J Nucl Med 2009;50(Suppl 1):43S-54S. doi: 10.2967/jnumed.108.057224.
- 3) Hicks RJ. Role of 18F-FDG PET in assessment of response in non-small cell lung cancer. J Nucl Med 2009;50(Suppl 1):31S-42S. doi: 10.2967/jnumed.108.057216. Epub 2009 Apr 20.
- 4) de Langen AJ, Vincent A, Velasquez LM, et al. Repeatability of 18F-FDG uptake measurements in tumors: a metaanalysis. J;53(5):701-8. doi: 10.2967/jnumed.111.095299. Epub 2012 Apr 10.
- 5) Lee JR, Madsen MT, Bushnel D, Menda Y. A threshold method to improve standardized uptake value reproducibility. Nucl Med Commun 2000;21(7):685-90.
- 21) 頸動脈狭窄病変における、血行流体力学的 wall shear stress に対する生体防御反応が及ぼす病変増悪因子に関する研究

研究代表者 三井 宣幸

#### [はじめに]

頸動脈狭窄病変のプラーク増悪因子に関し Naghavi らは、病理組織学的評価から5つの Major criteria と6

つの Minor criteria を報告した。近年では、血行力学的プラーク増悪因子が指摘され、数値流体力学(computational fluid dynamics:CFD)による血流動態シミュレーションが注目されている。しかし CFD 解析は、モデルが鋼体で流入する血流速・流量・血液粘性度が一様と条件を仮定しており、血管は弾性を持ち血流速・流量が変動する生体への応用としてはクリアすべき問題が山積している。そこで我々は、実際の血流方向及び血流速を反映した MRI 撮像法の1つである位相コントラスト(Phase contrast: PC)法を用いて血行動態評価を行ったので報告する。

#### [研究目的]

頸動脈狭窄病変に関し、外因子となる血流により発生する "ずり応力 "(shear stress) に着目し、血管壁に及ぼす影響 (wall share stress: WSS) を流体力学的分野からイメージング・解析する事でその増悪因子に関し画像評価だけでなく病理学的立場から解明する事を最終目的とする。

#### [研究方法]

当科ではPC法によるMRIのDICOMデータ解析を、3D/4D解析ソフトのAVIZO®(Maxnet 社)を用いて行っている。AVIZO®は定性的な3次元画像構成ソフトであるが、PC法では信号輝度が血液流速を反映し、ベクトル情報が収集されているため本ソフトを用いても血行動態の定量化が可能と考えた。しかし、本法は検証されたものはなく基礎的な検討が必要と考え、先ずは以下の方法で流速・流量の精度評価を行う事とした。

正常頸動脈の血流速・血液量の測定を、ボランティアと頸動脈狭窄病変患者の健側 7 例を対象として行った。エコー検査にて時間平均血流速度・時間平均血流量・収縮期最高血流速度を計測し、PC 法による AVI-ZO® 解析から平均速度・平均血流量・最高速度を算出して、比較・検討を行った。PC 法の MRI 撮像条件は、FOV:250, Matrix:192x192, Voxel size:2.6x2.6x2.4mm, VENC:150cm/sec とし撮像した。

#### [結 果]

AVIZO®では、3D-TOF法にて撮像した MRA 画像 に PC 法で撮像したベクトル表示画像をフュージョン する事で流速方向を可視化する事が出来る。しかしそ

の元となっている画像から流速変化を計測できるため これを用いて、流速度変化を計測し平均流速・平均流 量を算出した(fig.1)。

① エコー検査による時間平均血流速度と PC 法による平均速度の比較.

平均速度に関しては、線形的に近似しているものの、 $R^2$ =0.06417と相関関係は得られなかった。(fig.2-A)

② エコー検査による時間平均血流量と PC 法による 平均通過血液量の比較 . (fig.2-B)

平均通過血液量に関しては、 $R^2$ =0.64733 と線形性 の相関関係が得られ、ピアッソン相関係数は 0.80457 で p 値 < 0.001 であった。

③ エコー検査による収縮期最高血流速度と PC 法による最高血流速度の比較.

最高速度に関しても、R<sup>2</sup>=0.57826と線形性の相

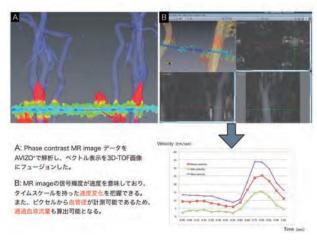


fig.1

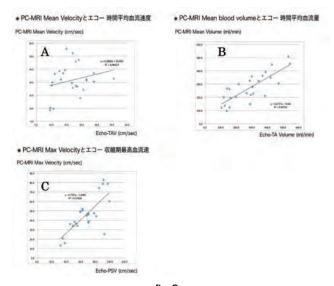


fig.2

関関係が得られ、ピアッソン相関係数は 0.76043 で p 値 < 0.001 であった。(fig.2-C)

以上より、時間平均血液流速に関してはエコー検査 と相関が得られなかったが、時間平均血液流量と最高 速度に関して相関が得られる結果となった。

#### [考 察]

本研究では時間平均血液流量に関して相関を得られたが、時間平均血液流速に相関が得られなかった。通常血流は、血管弾性力、血液粘性、拍動変化、血圧変化等の様々な要因により、層流と乱流が混在し流れている(fig.3-a)。エコー検査では、乱流の状態はあまり反映されず、平均化されて流速変化として計測されてしまう(fig.3-b)。しかし、PC 法で撮像した流速度は、ボクセル1つ1つに流速度とベクトル情報を持っているため乱流を反映する計測値となり、血管断面のボクセル値を平均化し算出しても計測値にバラツキが生じたものと考える。

ベクトル情報を応用し、乱流の評価を行った。任意 の時間で近接するベクトル接線を連続させイメージン

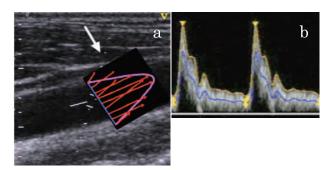


fig.3

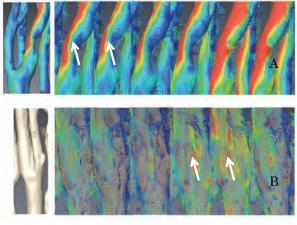


fig.4

グする事が AVIZO®では可能である。Tim Tらは、低い WSS と OSI(oscillatory share index)は、狭窄増悪 因子として指摘している。本研究でも、狭窄部に発生する乱流は流速が停滞しており、過去の文献を指示する結果であったと考える(fig.4-A)。また、正常血管で狭窄病変が見られないにもかかわらず流速の速い乱流が見られた(fig.4-B)。狭窄病変の発症要因を示唆しているが、本研究期間内で解明する事は出来なかった。

#### 「結語]

PC 法を用いた流体解析において、既存エコー検査と比較して基礎的な精度評価を行った。本研究結果から、血行動態解析として十分に評価可能と考えられ、今後は内頸動脈血栓内膜剥離術にて採取したプラークの病理解析と合わせて血行動態による、狭窄増悪因子の解明に期待ができた。また、ピクセル値から接触面積が算出でき WSS の算出を示唆し、本研究結果は脳動脈瘤の破裂因子研究への広がりを示した。

#### [謝 辞]

本研究を遂行するにあたり、頸動脈エコー検査検者 を担当して頂いた臨床検査部 赤坂 和美先生に感謝 致します。

## 22) 脂肪組織由来幹細胞の静脈内投与による骨再生 の研究

研究代表者 竹川 政範

#### [目 的]

細胞治療は骨再建・再生を低侵襲で効率良く行うために有用である。近年、脂肪組織に含まれる体性幹細胞 Adipose derived stem cells (ADSCs) が骨形成細胞、軟骨形成細胞、脂肪細胞に分化することが報告されている。われわれは、これまで ADSCs の静脈内投与は骨創治癒を促進することを明らかにした。しかし、ADSCs の静脈内投与による創傷治癒および骨再生メカニズムは解明されていない。ADSCs の骨再生部での機能を明らかにするためには、投与した細胞の骨再生部での局在を知ることが重要である。今回われわれは、静脈内投与した ADSCs の骨創部での局在を明らかにし、さらに ADSCs が骨創部に集蔟する機構について検討することを研究目的とした。

#### [方 法]

## 1. ADSCs 静脈内投与後における骨再生部での局在 に関する検討

ラット頭頂骨に骨欠損を形成し、BrdUで標識した F344 ラット由来 ADSCs の静脈内投与を骨欠損形成 3 日目に行った。静脈内投与後の細胞の全身への分布を 肺、肝、骨髄等の組織での分布を組織学的に評価した。 さらに、静脈内投与後の骨創部での局在を免疫組織化 学的に評価した。

- 2. 静脈内注入前の ADSCs の機能発現に関する検討 in vitoro の研究: 骨芽細胞分化誘導培地で ADSCs を培養後、ADSCs の骨形成に関する遺伝子発現を Runk2、Osterix、オステオカルシンにより検討した。
- 3. 静脈内投与を行った ADSCs が骨創治癒部に集蔟 する機構の検討

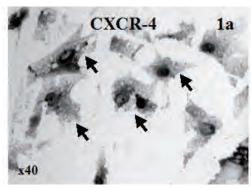
in vitoro の研究では、ADSCs の PDGF- a および CXC chemokine receptor 4 (CXCR4) の発現を免疫組 織科学的に検討した。In vivo の研究では、骨創部に おける High mobility group protein 1(HMGB-1) および Hypoxia Inducible Factor-1 (HIF-1) の発現を免疫組織 化学的に検討した。

#### [結 果]

ラット頭頂骨に骨欠損を形成し、BrdUで標識したF344ラット由来ADSCsを静脈内投与した後の、肺、肝、骨髄等の組織でのADSCsの分布を免疫組織学的に評価したが、投与後1週目には明らかなBrdU陽性細胞はみられなかった。ADSCsを静脈内投与した後の骨創部での局在を免疫組織化学的に評価したところ、投与後1週目には新生骨形成部の骨形成細胞、血管、骨細胞にBrdU陽性細胞がみられた。ADSCs静脈内投与後2および4週目には、BrdU陽性細胞は新生骨形成部の骨膜細胞および骨細胞にみられたが1週目と比較して減少していた。

培養 ADSCs の骨形成に関する遺伝子発現を Runk2、Osterix、オステオカルシンにより検討したところ、骨芽細胞分化誘導培地で培養後早期に Runk2 および Osterix の遺伝子発現の上昇がみられたが、48 時間後でもオステオカルシンの発現はみられなかった。

培養細胞の免疫染色の結果、ADSCs は PDGF- a 陽性、CXCR4 陽性であることが確認された(写真 la、lb)。

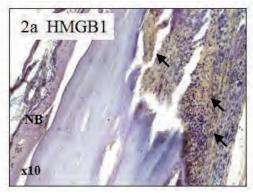


**写真 1a** 矢印は CXCR4 陽性の ADSCs を示す



**写真 1b** 矢印は PDGF- α 陽性の ADSCs を示す

写真1 ADSCs の免疫組織化学染色



**写真2a** 矢印は HMGB1 陽性部をしめす。 骨および骨膜には陽性部はみられ なかった。NB: 新生骨

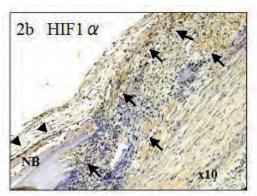


写真2B 新生骨形成部の骨芽細胞(矢頭) および骨欠損部(矢印)に HIFl a 陽性部がみられた。NB: 新生骨

写真2 手術後1週目 (ADSCs 静脈内投与後4日目) の免疫組織化学染色

#### 手術後骨欠損部組織の免疫組織学的観察

手術後1週目では、HMGB1陽性部は骨欠損部にみられた。HIF1は新生骨形成部の骨芽細胞および骨欠損部に陽性部がみられた(写真2a、2b)。手術後2週目には、HMGB1は骨欠損部および新生骨周囲骨膜にみられたが、HIF-1の陽性部はみられなかった。手術後4週目には、HMGB1の陽性部分は新生骨形成部の一部にのみみられた。HIF-1の陽性部は認めなかった。

#### [考 察]

本研究の結果から、ADSCs は骨形成細胞に分化する能力を有していること、および静脈内投与を行った ADSCs は骨創部に集まることが明らかとなった。しかし、静脈内投与を行った ADSCs が骨創治癒部に集 
蔟する機構については未知な部分が多く、これらが骨 
創治癒部に集まる機構について明らかにする必要と考

えた。われわれは、静脈内投与を行った ADSCs が骨 創治癒部に集まる機構は、創傷治癒部への骨髄由来 幹細胞が遊走する機構が関与しているのではないか と仮説を立て、High mobility group protein 1(HMGB-1) と PDGF- a 陽性培養細胞の関連性、および Hypoxia Inducible Factor-1 (HIF-1) の関与した SDF-1/CXCR4 陽性細胞の関連性について検討を行った。

HMGB1 は多彩な作用を有するタンパク質である。 最近、HMGB1 は組織修復において炎症を抑制し、骨 髄から組織再生に必要な幹細胞の動員に関与している ことが知られている。HMGB1 は組織損傷が生じると 局所から分泌され、骨髄から PDGF- a 陽性細胞を動 員し損傷部に遊走させる作用に関与していることが報 告されている。本研究結果では ADSCs は PDGF- a 陽 性培養細胞であること、骨創において HMGB1 が発現 していたことから骨創治癒部に ADSCs を集合させる メカニズムに関与していると考えられた。

低酸素誘導因子(Hypoxia Inducible Factor、HIF)は 細胞に対する酸素供給が不足状態に陥った際に誘導さ れてくるタンパク質であり、転写因子として機能する ことが知られている。皮膚および骨などの損傷部位で HIF-1 の発現増強が Stromal cell –derived factor-1 (SDF-1) の発現に関与している事が知られている。また、 BMPゲルを皮下に埋入した骨誘導実験では、埋入後 7日目のゲルの周囲組織に SDF-1 の遺伝子発現が増強 することで骨形成、血管形成を促進させると報告され ている。これは、CXCR4のリガンドである SDF-1の 発現により、CXCR4 陽性細胞が SDF-1 発現部に集積 誘導を生じる可能性を示唆したものである。今回の 結果から、手術による骨損傷によって HIF-1 の発現が 増強し、SDF-1 が局所で発現することで、静脈内投与 によって循環している SDF-1 のレセプターを有する CXCR4 陽性の ADSCs が骨創に集まり創傷治癒に関 与したと考えられた。以上から、静脈内投与を行った CXCR4 陽性の ADSC は、SDF-1 の発現によって骨損 傷部位に遊走した後に骨形成細胞および血管形成細胞 へと分化したと考えられた。今回の研究では、静脈内 投与を行った ADSCs が骨創部に集まるメカニズムに 関して検討を行いその一部を解明する手がかりを得る ことができた。しかし、ADSCs の骨形成細胞および 血管形成細胞へ分化する直接的作用について研究を進 めることはできたが、遊走した ADSCs の骨欠損部で のパラクライン作用に関しては明らかではない。今後、 静脈内投与により骨創部に集合した ADSCs のパラク ライン作用について検討を行う予定である。本研究の 継続により ADSCS を利用した骨再生治療を低侵襲手 術および新たな治療法開発に発展させたいと考えてい る。

#### [文献]

- 1) 金田安史: 体内細胞動員による再生治療. Drug delivery system. 27, 246-256 (2012)
- 2) Otsuru S, Tamai K et al. Circulating bone marrow-derived osteoblast progenitor cells are recruited to the bone-forming site by CXCR4/SDF1 pathway. Stem Cells. 26, 223-234 (2008)

## 23) 高齢者の認知機能向上プログラムの効果に関する研究

研究代表者 作並 亜紀子

#### [目 的]

65歳以上に占める認知症高齢者の将来推計は、2010年9.5%、2015年10.2%、2025年12.8%と見込まれている<sup>1)</sup>。

2005年の介護保険法改正で、予防重視型システムへの転換がはかられ、介護予防事業は、市町村が65歳以上の第1号被保険者を対象として、要介護状態等を予防する事業となった。

先行研究では、アルツハイマー病について、有酸素運動<sup>2)</sup>が抑制因子となることが示されている。また、文章を読む、知的なゲームをするなどの知的な生活習慣<sup>3/4)</sup>や対人接触頻度<sup>5)</sup>も認知症の発症の抑制に関わっていることも明らかになっている。谷口ら<sup>6)</sup>は37名の在宅高齢者を対象に、教室(身体活動と知的活動)を実施した結果、身体活動の増加は身体機能に寄与し、知的活動の増加は認知機能と心理的機能に寄与し、身体活動のみでなく、知的活動にも力点を置いた内容が効果的であることを示唆した。

我々、老年看護学領域(教授:服部ユカリ)では、 平成23年6~10月に地域住民を対象として、週1回全18回の認知機能向上教室(内容:ウォーキングと 知的活動)を開催し、介入前後の認知機能及び社会活動に関連する過ごし方満足度の比較を行ったところ、 注意分割機能が介入前に比べて介入後が有意に上昇した。しかし、対象数が10名であったため、市町村の 介護予防事業の一環として、認知機能向上プログラム を実施することにより、対象数を増やし、このプログラム評価を行うこととした。

本研究の目的は、認知機能向上プログラムが認知機能・生理的コスト指数・社会活動に関連する満足度の向上に効果があるかを明らかにすることである。

#### [方 法]

(1) 対象

要介護認定を受けていない 65 歳以上の高齢者

(2) 期間

平成 25 年 5 月 22 日~ 11 月 7 日、平成 26 年 5 月~ 11 月予定

(3) 認知機能向上教室の内容

ウォーキングと知的活動を組み合わせて実施する。ウォーキングは、東京都老人総合研究所開発の地域型認知症予防プログラム<sup>7)</sup> に基づき、各自の体調に合わせて早歩きを1日30分、週5回を目標とし、毎日ウォーキングの時間と歩数を記録し、週1回の教室で課題達成度などについて話し合うプログラムである。介入前後に、生理的コスト指数を計算する。知的活動は、6名程度で1グループとなり、携帯電話のカメラ機能またはデジタルカメラで、参加者同士で決めたテーマを基に、各自で写真を撮りプリントアウトし、文章を付けて写真集を作成するプログラムである。

本プログラムの特徴は、次の2点である。

- ①認知機能の低下の予防効果が明らかなウォーキングと知的活動を組み合わせている。
- ②参加者が楽しみながら実施でき習慣化が期待できる活動であり、教室終了後も参加者が生活の中で認知機能を向上できる活動の1つとして継続できる。
- (4) 効果およびプログラム評価の方法

介入前後の2時点でファイブ・コグ等を集合調査法 で実施し、評価する。

#### (5) 調査内容

- ①ファイブ・コグ:一般高齢者用の集団式認知機能 検査で、5つの認知機能(記憶、注意、言語、視 空間認知、思考)を測定する検査で、加齢関連認 知低下のスクリーニングに用いられる。
- ② Simple Cognitive test: 軽度認知障害 (MCI: mild cognitive impairment) をスクリーニングする。
- ③主観的健康観:現在の健康状態を主観的に評価する。
- ④老研式活動能力指標:地域で独立した生活を営む上で必要とされる活動能力を測定するための尺度。
- ⑤いきいき社会活動チェック表:高齢者を対象とした社会活動レベルを評価する。
- ⑥社会活動に関連する過ごし方満足度尺度:高齢者 の社会活動全般の過ごし方の満足度を把握する。

#### (6) 分析方法

統計ソフト IBM SPSS Statistics 20 を使用する。得点の前後比較はファイブ・コグは対応のある t 検定、その他は Wilcoxon 符号付順位検定により分析する。有意水準 5%未満とする。

#### (7) 倫理的配慮

対象者に文書と口頭で研究の趣旨や個人情報の厳守について説明後、調査への同意を確認し同意書に署名を得た。また、同意撤回書を対象者に渡し、同意の撤回も受け付けた。本研究は旭川医科大学倫理委員会の承認(承認番号 1471)を受けた。

#### [結果]

本研究における認知機能向上教室は平成25年10月18日現在継続中のため、介入前に実施したファイブ・コグの結果を示す。

平均年齢は  $76.3 \pm 5.5$  歳、男性 21 名、女性 37 名であった。ファイブ・コグの平均は、文字位置照合課題  $19.2 \pm 9.0$ 、手がかり再生課題  $13.7 \pm 5.8$ 、時計描画 課題  $6.8 \pm 1.0$ 、動物名想記課題  $15.7 \pm 4.2$ 、共通単語 課題  $10.2 \pm 3.7$  であった。

#### [考察]

大藏ら<sup>8)</sup> の要介護認定に該当しない地域在住高齢者(介入群:平均年齢71.6 ± 5.5 歳)を対象とした研究の介入前の平均(介入群:文字位置照合課題18.9 ± 9.1、手がかり再生課題14.7 ± 5.5、時計描画課題6.5 ± 1.2、動物名想記課題15.1 ± 4.8、共通単語課題10.1 ± 3.7)と比べて、本研究では、平均年齢が4.7歳、ファイブ・コグの5項目のうち手がかり再生課題は大藏ら<sup>8)</sup> の方が高く、その他は本研究の方が高かった。

本研究の結果の分析は、平成 26 年度の認知機能向 上教室を実施後に行う。

#### [文献]

- 1) 日本経済新聞社:日本経済新聞, http://www.nikkei.com/article/DGXNASDG 2400T U2A820C1MM0000/
- 2) Laurin D, Verreault R, Lindsay J, et al: Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. Archives of neurology, 58: 498-504, 2001.
- 3) Wilson RS,Mendes De Leon CF,Barnes LL,et al:Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease.Journal of American Medical Association, 287(6): 742-748,2002.
- 4) Verghese J,Lipton RB,Katz MJ,et al:Leisure activities and the risk of dementia in the elderly. The New England journal of medicine, 348: 2508-2516, 2003.

- 5) Fratiglioni L, Wang HX, Ericsson K, et al: Influence of social network on occurrence of dementia; a community-based longitudinal study. Lancet, 355: 1315-1319, 2000.
- 6) 谷口優,小宇佐陽子,新開省二,他:身体活動ならびに知的活動の増加が高齢者の認知機能に及ぼす影響 東京都杉並区における在宅高齢者を対象とした認知症予防教室を通じて ,日本公衆衛生雑誌,56(11):784-794,2009.
- 7) 矢冨直美, 宇良千秋: 「地域型認知症予防プログラム」実践ガイド, 中央法規, 2009.
- 8) 大藏倫博, 尹智暎, 真田育依, 他: 新転倒・認知 症予防プログラムが地域在住高齢者の認知・身体 機能に及ぼす影響 - 脳機能賦活を意図した「スク エアステップ」エクササイズの検討 - , 日本認知 症ケア学会誌, 9(3): 519-530,2010.

## 24) スポーツ障害(ジャンパー膝)の特異的動作の解析

研究代表者 小原 和宏

#### [目 的]

各々のスポーツ種目によって選手たちは特異的動作の習得が必要になる。その動作を習得する際、選手は同一動作を反復練習する必要があり、特に技術を求められるスポーツでは、その動作を引退するまで続ける傾向にある。よって、このような特異的動作の繰り返しは、スポーツ障害の原因になり得る。しかし、特別高いパフォーマンスを発揮する一流アスリート全員に発症するわけではない。一方で、1週間に2~3回程度の練習をしている学生スポーツ選手に発症することがある。そこで、「練習量や競技パフォーマンスに依存しない特異的動作が存在する」という作業仮説を立てた。今回は三次元動作解析装置を用い、バレーボールアタックジャンプの踏切動作に着目し、障害群と健常群における動作の比較検討をした。

#### [対 象]

比較的競技レベルの高いバレーボール選手 14 ~ 24 歳 (平均 18.4 歳)、合計 10 名を対象とした。両膝ともに症状を有しない健常膝群は 5 例 (男性 3 例、女性 2 例)、スパイクジャンプ動作踏切時に一側膝にのみ

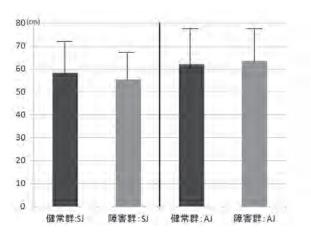
疼痛を有し膝蓋腱の膝蓋骨付着部内側部に圧痛を認めた群(以下障害群)は、合計5例(男性3例、女性2例)であった。4例は左膝罹患。1例は右膝罹患であったが、右膝罹患の選手は他の4選手と異なりアタックジャンプにおいて逆足助走であった。

#### [方 法]

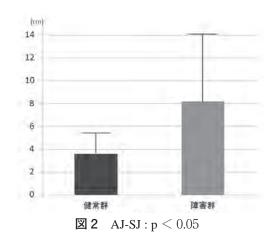
3次元動作解析装置(VICON370)を用いた。カメラ5台、床反力計(AMTI 社製)を2枚用い、サンプリング周波数は60Hzとした。反射マーカーを肩峰、大転子近位、大腿前面、大腿骨内外側顆部、脛骨内外側顆部、下腿前面、足関節内外側果部、第5中足骨骨頭に左右対称に付け、静止立位、SJ(立位からしゃがみ込みジャンプ)、AJ(助走を付け両足で踏み込みジャンプ)のデータを取得した。床反力ベクトルとマーカーを結んだ直線を視覚化し、膝関節と床反力ベクトルの位置関係を観察した。解析ソフトBodyBuilder(OXFORD METRICS 社製)でプログラムを作成し、ジャンプ高、膝関節伸展モーメント、膝関節外内反モーメントを算出した。統計はMann-WhitneyのU検定を用いた。

#### [結 果]

AJ 踏切時で健常膝群の両側において床反力ベクトルは膝関節の内側を通過していたが、障害群の患側では外側を通過していた。SJ と AJ の高さにおいて、障害群と健常群に有意差を認めなかった(図 1)が、AJと SJ の高さの差(cm)は優位差を認めた(図 2)。伸展膝関節モーメントにおいては有意差を認めなかった



**図1** ジャンプ高 SJ: p=0.4647 AJ: p=0.7541



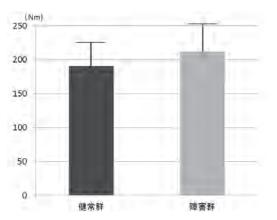


図3 伸展膝関節モーメント (+: 伸展): p = 0.1172

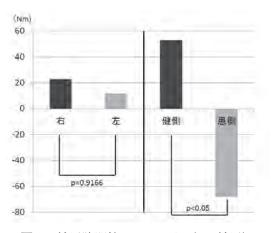


図4 外反膝関節モーメント (+:外反)

(図3)。健常群では全例両側共に外反膝関節モーメントを呈していたが、ジャンパー膝群の全例において患側では内反膝関節モーメントを、健側では外反膝関節モーメントを呈しており、障害群では患・健側において有意差を認めた(図4)。

#### [考察]

バレーボール選手のジャンパー膝発症要因として先

行研究では、SJ、AJが高く跳べる、ジャンプ回数の 多いポジションである $^{1)}$ 、柔軟性に乏しい $^{2)}$  などが あげられる。Lianらは、ジャンプ高を測定し、反動 付きジャンプで高く跳べる選手にジャンパー膝が多い としており<sup>1)</sup>、遠心性収縮の関係を示唆している。し かし、今回の研究においては、障害群において、SJ よりもAJの方が高く跳べる傾向にあるが、伸展膝関 節モーメントにおいては健常群と有意差を認めない結 果となった。一方で、障害群の患側においては、AJ の踏切時には全例内反膝関節モーメント呈していた。 これは、伸展膝関節モーメントを呈しながら内反膝関 節モーメントを発する状態にあるため、膝蓋腱の内側 に負荷が集中することになる。この負荷が繰り返し生 じることで、膝蓋腱内側縁に炎症・圧痛のあるジャン パー膝が発症すると考えた(図5)。内反膝関節モー メントを改善するためには、膝関節のアライメント補 正と床反力ベクトルの方向を変化させる必要があると 考えており、今後の研究課題とする予定である。

#### [文献]

- 1) Lian O et al:Characterisitics of the leg extensors in male volleyball players with jumper's knee. Am J Sports Med, 24: 380-385, 1996.
- 2) 坂西英夫: ジャンパー膝. 臨床スポーツ医学, 8: 188-192, 1991.

## 25) 非対称分岐血管ネットワークモデルによる網膜 微小循環へモダイナミックス

研究代表者 高橋 龍尚

#### [研究の背景と目的]

これまで独創性のある生命科学研究費を頂き、ヒト網膜微小循環ネットワークモデル(二叉対称分岐血管ネットワークモデル)の構築、微小循環内血液粘性減少効果(Fåhraeus-Lindqvist effect)の生理学的意義、血管径 - 血管長とヘモダイナミックスの関係について研究を行ってきた。二叉対称分岐血管ネットワークモデルでは、血流に関するパラメータについては血管径の関数で表現できることを示した。しかし、実際に生体でみられる血管ネットワークは、二叉対称分岐ばかりではなく、多くは非対称の血管分岐構造を有するネットワークである。そこで、本研究では、二叉対称分岐血管ネットワークモデルを非対称分岐血管ネットワークモデルを非対称分岐血管ネットワークモデルを非対称分岐血管ネットワークモデルを非対称分岐血管ネット

ワークモデルに拡張・発展させ、血圧分布を含めたへ モダイナミックスの一般式を導出し、血行動態の微小 循環ネットワーク内分布の解析を試みた。

#### [方 法]

非対称分岐ネットワークモデルは、分岐ごとに  $r_{M}^{m}=r_{s}^{m}+r_{I}^{m}$  (式1) とする規則で成り立つ構造を有し. 終末細動脈まで繰り返された。ここで、 $r_M$ 、 $r_s$ 、 $r_L$ は 親血管,細い子血管,太い子血管の内径を示し,m(= 2.85) は分岐指数を示す。血管セグメント (分岐間の 血管長)は、 $l=7.4r^{1.15}$ で与えられた。網膜血管床の フラクタル次元は1.70。分岐指数 m は, 1.15 + 1.70 の合計 2.85 である。また、細い子血管と親血管の直 径比を、 $R_{SM}$ で定義する。非対称分岐ネットワーク は、R<sub>S/M</sub> がそれぞれ 0.5、0.6、0.7、0.78 となる 4 種類 のモデルを作成した。理論上、細い子血管と太い子血 管の関係は、(式1)より一義的に決まる。その関係 (非対称性)を定量的に示す指標として, SI (symmetry index,  $r_i/r_i$ ) を定義した。したがって、非対称分岐ネッ トワークの構成は、 $(R_{SM}, SI)$ が(0.5, 0.52), (0.6, 0.66), (0.7, 0.82), そして (0.78, 1.00) となる 4 組であった。 尚, (R<sub>S/M</sub>, SI) が (0.78, 1.00) となる構成は, 二叉対 称分岐ネットワークである。

毛細血管ネットワークは、4本の並行する真正毛細血管から成り、直径は5ミクロン、長さは500ミクロンと仮定する。細静脈のネットワークは細動脈ネットワーク同様に定義された。

Fåhraeus-Lindqvist effect を考慮した血液の粘性変化は、細動脈側が、 $\mu$  (r)=0.043/(1-4.29/r) $^2$ ,静脈側が  $\mu$  (r)=0.046/(1-4.29/r) $^2$  で与えられた。各血管セグメントにおけるヘモダイナミックスは、Poiseuille の式  $\Delta P$ =8 $\mu$ lf/ $\pi r^4$  より上流側から下流側へと連続的に求めた。

シミュレーションでは、網膜中心動脈分岐直後の細動脈の平均直径( $d_I$ = $2r_I$ = $108~\mu m$ )と平均血流速度( $\dot{v}_I$ =2.055cm/s)、網膜中心静脈直前の細静脈平均直径( $147~\mu m$ )のみを使用した。ネットワーク全体の計算は、流量の保存則(conservation of flow)とポワズイユの法則(Hagen-Poiseuille's law)に従った。詳細は、先行論文に譲る(Takahashi et al., 2009, 2010, and 2011)。

#### [結果と考察]

網膜中心動脈分岐直後の第 1 細動脈の平均半径を  $r_I$ , その平均血流速度を  $v_1$  とおくと,任意の細い子血管  $(オーダーg番目,g \ge 2)$  の血管径は, $r_{Sg}=(1/2)^{-2.85}(\mathbf{R}_{SM})$   $(g-2)r_I$  と表される。また,血流量は  $f_{Sg}=1/2(\mathbf{R}_{SM})^{2.85(g-2)}f_I$ , 血流速度は  $\dot{v}_{Sg}=(1/2)(1/2)^{2.85}(\mathbf{R}_{SM})^{0.85(g-2)}\dot{v}_1$  と表される。同様に,任意の太い子血管(オーダーg番目, $\mathbf{g} \ge 2$ ) の血管径は  $r_{Lg}=(1/2)^{-2.85}(\mathbf{R}_{LM})^{(g-2)}r_I$ ,血流量は  $f_{Lg}=(1/2)$   $(\mathbf{R}_{LM})^{2.85(g-2)}f_I$ ,血流速度  $\dot{v}_{Lg}=1/2(1/2)^{2.85}(\mathbf{R}_{LM})^{2.85(g-2)}\dot{v}_1$  と表される。

これらの式は、任意の血管における血流量、血流速度は、その血管径の関数であることを示している。更には、分岐ごとに流量の保存則を守るとことによって、ネットワークの対称性・非対称性にかかわらず任意の血管における血流量、血流速度は、その血管径の関数で記述できることを意味している。この事実は、これまでのネットワークモデルでは明らかにされていなかった。一般に使われているネットワークモデルは、血管径による分類ではなく、単に分岐番号による血管順位による半定量的なものであった(Strahler's ordering method)。そのため、従来のネットワークモデルは、分岐ごとの流量の保存則を満足せず、それが致命的な欠点であり、延いては微小循環研究の発展を停滞させる要因となった。

平均循環時間(MCT, mean circulation time)は,網膜中心動脈から流入した血液が網膜中心静脈まで到達するのに要する時間である。対称分岐ネットワークの MCT は 2.886 秒であった。非対称分岐ネットワークの MCT は (SI=0.52) が 2.869 秒,(SI=0.66) が 3.162 秒,(SI=0.82) が 2.964 秒であった。本研究の非対称分岐ネットワークモデルで得られた数値は,文献に報告されているヒト網膜循環の MCT 実測値  $2.7 \sim 4.9$  秒(Riva and Schmetterer, 2008)と良く一致している。また,同一組織に見られる血流の heterogeneityは(Bassingthwaighte et al., 1989),この血流の経路長と MCT の違いに関係している可能性がある。

図 1 は血管内圧の細動静脈分布を示している。SI = 0.52 の非対称性が高い分岐ネットワークから対称分岐ネットワークへと圧損失が大きくなった。終末細動脈内圧は、(SI=0.52) が 33.9 mmHg、(SI=0.66) が 33.0 mmHg、(SI=0.82) が 31.8 mmHg、そして (SI=1.00) が 29.3 mmHg であった。図が示すように血管内圧は、

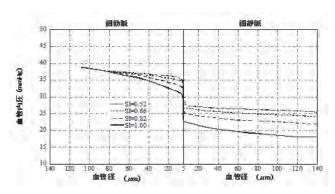


図1 血管内圧と血管内径との関係

血管径の関数だけでは記述することはできない。すなわち網膜中心動脈からの入力圧から分岐ごとの圧損失を経路をたどりながら求めなければならない。血管内圧の動静脈分布において、同一組織の同一径を有する血管群にもかかわらずバラつきがあるのは、非対称分岐に伴う血流経路の違いによることが示された。

#### [謝辞]

本研究は,平成24年度"独創性のある生命科学研究"研究費助成を頂いた。此に心より感謝申し上げます。

#### [文献]

Bassingthwaighte JB, King RB, Roger SA: Fractal nature of regional myocardial blood flow heterogeneity. Circ Res 65: 578–590, 1989.

Riva CE, Schmetterer L: Microcirculation of the ocular fundus. In: Tuma RF, Durán WN, Ley K. (eds) Handbook of Physiology. Microcirculation. San Diego: Am. Physiol. Soc., 2008, Chapt. 16, p. 735–765.

Takahashi et al: A mathematical model for the distribution of hemodyamic parameters in the human retinal microvascular network. J Biorheol 23: 77–86, 2009.

Takahashi et al: Theoretical analysis of oxygen consumption by vascular walls exposed to hemodynamic stress in the human retinal microvascular network. Trans Jpn Soc Med Biol Eng 48: 482–493, 2010.

Takahashi et al: Effects of changes in the apparent viscosity of blood with vessel size on retinal microcirculation: significance of the Fåharaeus-Lindqvist effect. Trans Jpn Soc Med Biol Eng 49: 533–543, 2011.

#### [研究成果 論文]

Matsuo T, Watanabe S, Nakakubo M, Takano H, Takahashi T: Form and function of arterial bifurcations in various parts of the animal body. Artificial Life Robotics, (in press)

#### [研究成果 著書]

Tatsuhisa Takahashi: Microcirculation in Fractal Branching Networks. Tokyo, Springer, 2014. ISBN 978-4-431-54507-1

#### [特許申請]

「視力評価装置, 視力評価方法, およびプログラム」 特許出願中(整理番号 1157424032)

## 26) 内側型変形性膝関節症に対する足底板の効果 研究代表者 吉田 直樹

#### [目 的]

内側型変形性膝関節症(内側型膝 OA; Osteoarthritis) の治療法は大きく外科的療法と保存的療法に分けられ、保存的療法には、薬物療法(関節内注射、内服)、 物理療法、運動療法、装具療法がある。

装具は膝装具(硬性・軟性)と足の裏に外側が高く なった楔状の中敷きを充てる外側楔状足底板に大き く分けられる。装具療法の主な目的は、内側型膝 OA における疼痛の生体力学的因子である内反モーメン ト(膝関節を内反させようとする力)を減少させるこ とである。これまで内側型膝 OA に対して足底板の効 果については数多く報告されているが、一定の見解を 得るに至っていない。足底板効果に批判的な論文も少 なくない<sup>1)</sup>。膝 OA に対する足底板使用方法について は、介入方法に統一性はなく、装着時間も様々である 2)。本来足底板は立位時の効果を目的としたものであ るが、これまでの報告では装着時間と介入時間とは必 ずしも一致していない。そこで今回歩数計を用いて足 底板装着下での歩行量を計測し、それを立位での活動 量とする。本研究では、立位活動量と内側型膝 OA に 対する足底板の効果の関係を調べる。

#### [方 法]

1、対象: 歩行を移動手段としている 50 歳以上、膝 の痛みが VAS(visual analog scale)3 以上かつ膝のレ ントゲン所見で、Kellgren-Lawrence grade が 2 以上

#### 写真



外側楔状足底板

屋内用シューズ (万歩計設置)

の者とする。また過去1カ月以内に関節内注射治療を受けていない人を対象とする。除外基準は、MMSE(Mini Mental State Examination) が23点以下、BMI(Body Mass Index) が34以上で他の神経疾患や骨関節疾患を有するものとする。研究内容に同意が得られた患者を無作為に介入群・対照群に振り分ける。

- 2、介入方法: 両群とも屋内用シューズを用意して、介入群には両側に5°で長さはMTP(metatarsopharangeal) 関節までの外側楔状足底板(写真)、対照群には両側フラット足底板を設置する。両群足底板はPEライトとEVA(Ethylene-Vinyl Acetate) の2層構造で、硬度をdurometer 52単位とした。踵の部分に取り付けたポケットの中に、万歩計(CITIZEN peb PW700) を患者から確認できないように設置する。(写真) 両群患者にはできる限り屋内用靴を履いて活動をするように指導する。
- 3、評価方法/解析:1カ月間の歩数、痛み評価: VAS、大腿四頭筋筋力 (等尺筋力; kg)、Laquesne Index、WOMAC(Western Ontario and McMaster Universities)、ADL(Activities of Daily Living) 評価の FIM(Function Independence Measure)、そして QOL(Quality of Life) 評価の SF-36を1カ月に1回評価を行う。両側の膝に痛みを認める場合は、痛みが強い方の膝を対象とする。同程度の痛みである場合は、膝レントゲン上関節裂隙の狭い方の膝を対象に評価を行う。また、以前より NSAIDs(Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs)を服用していた者は、NSAIDs(ロキソプロフェンナトリウム)を頓服(1回 60mg)で対応し、その使用頻度を記録する。さらに、6分間歩行距離と膝レントゲンで Kellgren-Lawrence grade、

FTA(femorotibial angle)、Ahlbäck grade は初回時と終了時に評価を行う。Mann-Whitney U test (p<0.05) 等の解析方法を用いて、年齢・疾患等の因子を調整し、統計分析を行う。

#### [文献]

- 1) Bkaer K. et al: A randomized crossover trial of a wedged insolo for treatment of knee osteoarthritis.

  Arthritis Rheum. Apr;56(4):1198-203 (2007)
- 2) Barrios JA. et al: Mechanical effectiveness of lateral foot wedging in medial knee osteoarthritis after 1 year of wear. May;31(5):659-64 (2013)

## 27) 孤発性筋萎縮性側索硬化症における神経細胞死 のメカニズムの解析と新規治療薬の探索

研究代表者 澤田 潤

#### 【研究成果の概要】

#### [研究目的]

孤発性筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の脊髄運動ニ ユーロンでは、グルタミン酸受容体(GluR)のうち AMPA 受容体のサブユニットである GluR2 のグルタ ミン (Q)/ アルギニン (R) 部位の RNA 編集率が疾患特 異的・部位選択的に低下していることが報告された。 AMPA 受容体は4つのサブユニットからなる4量体 で、その構成サブユニットに少なくとも1つの編集型 GluR2が存在しなければ、Ca<sup>2+</sup>流入が上昇し、細胞死 に至ることが知られている。従って、GluR2 Q/R 部位 の RNA 編集率の低下が ALS の運動ニューロン死の病 態へ深く関与していると考えられている。GluR2 Q/R 部位の RNA 編集は主に、adenosine deaminase acting on RNA type 2 (ADAR2) によって行なわれ、ADAR2 活性 を上昇させる薬剤は ALS における運動ニューロン死 を阻止しうる可能性があると考えられる。現在まで、 抗うつ薬が GluR サブユニットの遺伝子発現量及び RNA 編集率を変化させることが報告されている。そ こで、GluR2 Q/R 部位の編集率測定系を確立し、抗う つ薬の同部位の RNA 編集率及び RNA 編集に関わる 遺伝子の発現への影響を検討し、ALS 治療薬となり うる薬剤のスクリーニングをすることを目的とした。

#### [研究方法]

スクリーニングに用いる培養細胞として、スプ

ライシングが行なわれる前の GluR2 Q/R 部位のみを含むミニ遺伝子 (preGluR2) を HeLa 細胞に導入し、人為的に同部位の RNA 編集率を 50% 程度に調節した Tet-on HeLa G2m 細胞を作成した。抗うつ剤は、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) は fluvoxamine・fluoxetine・paroxetine の 3 種、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (SNRI) では milnacipran・reboxetine の 2 種、三環系抗うつ薬として amitriptyline・desipramine・imipramine の 3 種 を 用いた。また、抗うつ薬以外にも降圧剤や抗生剤、免疫抑制剤、抗てんかん薬などの複数の薬剤の投与も行った。各薬剤を  $10~\mu$ M 以下の濃度で 24 時間負荷した。

GluR2 RNA 編集率の測定に関して、薬剤負荷後、培養細胞から total RNA を抽出し、逆転写反応により cDNA を作製し、Nested PCR 法を用いて cDNA のGluR2 Q/R 部位を含む領域を増幅させた後、DNA 精製を行い、制限酵素 (BbV I)による酵素処理を行なった。未編集型の GluR2 が存在する場合、編集型GluR2 では出現しない切断断片が出現することを利用し、その比を測定し、同部位の RNA 編集率を算出した。

mRNA 発現量の測定に関して、GluR2 編集率の有意な上昇を認めた薬剤に関して、Real-Time PCR 法によって、ADAR2 酵素活性を意味する基質に対する酵素の相対発現量比として、ADAR2/preGluR2 比を測定した。

### [結果と考察]

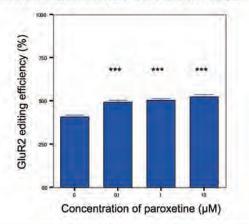
#### 1) GluR2 編集率変化

10 μM 以下の paroxetine、fluvoxamine、milnacipran、amitriptyline、desipramine、imipramine で control に 対して有意な GluR2 編集率の上昇を認めた。また、降圧 剤 で は furosemide や spironolactone、losartan、抗生剤では suramine や lomefloxacin、免疫抑制剤では azathioprine、抗てんかん薬では topiramate の投与で GluR2 編集率の有意な上昇を認めた。(図1. A; paroxetine B;amitriptyline C; Furosemide D; Spironolactone)

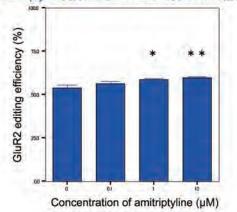
#### 2)mRNA 発現量定量

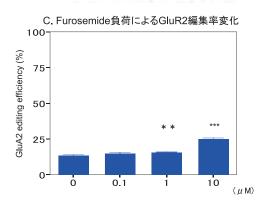
ADAR2 酵素活性を意味する ADAR2 の preGluR2 に対する mRNA 相対発現量比に関して、milnacipran 以外の薬剤で、すべての濃度ではないが、その相

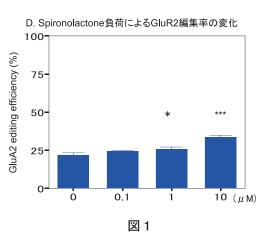
#### A. Paroxetine負荷によるGluR2 Q/R部位のRNA編集率変化



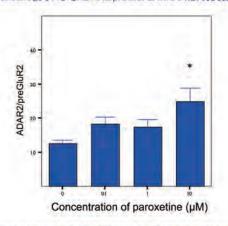
#### B. Amitriptyline負荷によるGluR2 Q/R部位のRNA編集率変化



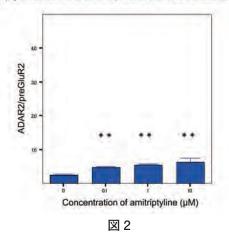




#### A. Paroxetine投与によるADAR2/preGluR2 mRNA相対発現量比の変化



B. Amitriptyline投与によるADAR2/preGluR2 mRNA相対発現量比の変化



対発現量比の有意な上昇が認められた(図 2. A; paroxetine B; amitriptyline)。

Tet-on HeLa G2m 細胞の GluR2 Q/R 部位の編集率を上昇させた薬剤のうち、fluvoxamine、paroxetine、amitriptyline、desipramine、imipramine で、すべての濃度ではないものの ADAR2/preGluR2の mRNA 発現比の有意な上昇を認め、このうち paroxetine 及び amitriptyline では濃度依存性の傾向を示し、そのGluR2 編集率上昇作用は主に基質に対する酵素の発現量比の上昇が関与していると思われた。その他の薬剤の GluR2 編集率上昇作用は基質に対する酵素の相対的発現量比のみでは説明できないため、それ以外の要素が関与している可能性が考えられた。

#### [まとめ]

Tet-on HeLa G2m 細胞を用い、抗うつ薬や抗生剤、降圧剤などによる GluR2 Q/R 部位の RNA 編集率の変化についてスクリーニングした。Fluvoxamine、fluoxetine、milnacipran、amitriptyline、desipramine、

imipramine、furosemide、spironolactone、losartan、suramine、lomefloxacin、azathioprine、topiramate に GluR2 Q/R 部位の RNA 編集率の上昇作用を認めた。その機序については不明な点はあるが、ALS の治療薬としての臨床応用の可能性が考えられた。

## 28) アテロコラーゲンシートを用いた心筋幹細胞移植法の確立

研究代表者 島村 浩平

#### [目 的]

傷害心筋への再生医療の補助療法として移植環境へのサイトカイン徐放投与等が有用と考えられている。現在までに線維芽細胞増殖因子(bFGF)の生体吸収性ゼラチンハイドロゲルによる徐放投与が臨床応用されているが、シートの強度や非医療材料であるため標準治療への応用に困難がある。本研究の目的は、臨床使用されている医療用アテロコラーゲンを改良し細胞移植治療用製剤や心臓手術時の心機能改善製剤として開発することである。

#### [方 法]

同モデルにおいて、幹細胞移植効果を促進する bFGF徐放投与製剤としてアテロコラーゲンシート(インテグラン®) と生体吸収性ゼラチンハイドロゲルシートを用い治療効果を比較した(図 1)。心筋虚血モデルは全身麻酔後、開胸によりラット心臓左冠動脈を 45 分間結紮した後、再還流させて作成した。再還流後、 $100~\mu g$  のヒトリコンビナント bFGF を各々のシートに含浸させた徐放シートを虚血心全面に貼布し心膜で固定、閉胸した。翌日と 4 週間後に心エコー図で左室駆出分画を評価、その後摘出心における心筋梗



図1 ゼラチンシートとアテロコラーゲンシート

塞巣を評価した。

#### [結 果]

プラセボ (n=4)、bFGF- ゼラチンハイドロゲル (FGF-G;n=4)及びbFGF-アテロコラーゲン (FGF-C;n=4)をラット心筋虚血再灌流モデルに移植した。プラセボでは dayl 及び day28 において LVEF の低下を認めたが、FGF-G 及び FGF-C 群では、day28 において LVEF の改善が観察された(図 2)。心筋切片において、プラセボ群に比し、FGF-G 及び FGF-C 群で梗塞巣の縮小が示唆された(図 3)。

#### [考 察]

再生医療は重症心不全患者の新たな治療として期待されている。骨髄細胞等による細胞移植が既に臨床応用されているが、標準治療としては確立されていない<sup>1,2)</sup>。種々の要因が考えられるが、大きな課題として移植細胞死が挙げられる。細胞シート等も考案されているが、心外膜移植の細胞シートは心筋再生より細胞由来のサイトカインが心機能改善に寄与している<sup>3)</sup>。このように障害心に対する細胞増殖性サイトカインは心機能改善効果とともに、細胞移植療法の補助療法としても有効性が示唆されている<sup>4)</sup>。今回、我々はbFGFの徐放投与が虚血再還流心の心機能改善に有効

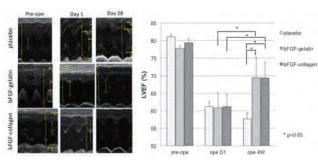


図2 bFGF 徐放による心機能改善

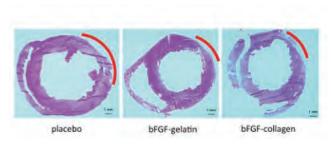


図3 bFGF 徐放による梗塞サイズ

であることを明らかにした。さらに、サイトカイン徐放投与の足場として従来のゼラチンより実臨床への外揮性の高いアテロコラーゲンも有用である可能性が高いことを示した。これは一つには種々の心臓外科手術時に心機能改善薬としてサイトカイン徐放製剤を治療の選択枝に加えることを可能にすると考えられる。さらに今回の研究期間では細胞療法との併用療法の検討までは至らなかったが、今後の検討でその有用性が明らかになれば充分その可能性も拓けるものと考えられる。

#### [文献]

- Bartunek J, et al. The consensus of the task force of the European Society of Cardiology concerning the clinical investigation of the use of autologous adult stem cells for repair of the heart. European Heart Journal. 2006.27, 1338–1340
- 2) Makkar RR et al. Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. Lancet. 2012;379(9819):895-904.
- 3) Kawamura M et al. Feasibility, safety, and therapeutic efficacy of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte sheets in a porcine ischemic cardiomyopathy model. Circulation. 2012;126(11 Suppl 1):S29-37.
- 4) Takehara N et al. Controlled Delivery of Basic Fibroblast Growth Factor Promotes Human Cardiosphere-Derived Cell Engraftment to Enhance Cardiac Repair for Chronic Myocardial Infarction. J Am Coll Cardiol. 2008;52(23):1858-6

## 依頼稿(報告)

## 平成24年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト型研究課題 抑制性マクロファージの機能発現に関わる分子基盤の解明

東 寛\* 小林博也\*\* 木村昭治\*\*\*

#### 背 景

マクロファージは活性化されると、大きく二つの性質を持つものに分化する。これを macrophage polarization 呼び、一方を M1 type、他方を M2 あるいは、classically activated macrophage および alternatively activated macrophage という。M1 type は、IFN-γ 単独あるいはそれと TNF-a や GM-SCF 等のサイトカイン、LPS 等の細菌由来の刺激により誘導される。一方、M2 type は、Th2 サイトカインである IL4, IL13 等により誘導される。M1 type が antimicrobial/inflammatory response を荷なっているのに対して M2 type は、その対局として anti-inflammatory 作用とともに組織修復にも重要な役割を荷なっているとされている。

Tumor associated macrophage (TAM) は M2 のフェノタイプを持ち、担がん状態の宿主で、特に腫瘍周辺に集積し、腫瘍免疫応答を抑制することが知られている。 M2 type macrophage に関連するもう一つの細胞群として、immunosuppressive macrophage (Mis) がある。肺胞マクロファージの一部あるいは mycobacterial infection、protozoal infection において見いだされることが古くから報告されており、これも強力な T 細胞増殖抑制効果をもっている $^{1}$ )。

Myeloid derived suppressor cell (MDSC) は、様々な病的状態(癌、感染等)において生体内に出現し、強力な T 細胞機能抑制を誘導する、未熟な骨髄由来細胞の不均一な細胞集団と定義される。腫瘍組織周辺に存在する MDSC は、TAM と同じく腫瘍特異的 T 細

胞の抑制に関与している。実際、MDSCの一部は in vivo で TAM に変化するとの報告もある $^{2}$ )。現状では、MDSC の機能を如何にコントロールするかは免疫学における重要な研究課題の一つとなっている $^{3}$ )。

MDSC, TAM そして Mis はいずれも M2 polarization 側に位置するものと考えられており、実際これらの細胞群の T 細胞増殖抑制の機序には幾つかの共通点がある。例えば、作用の発現に NO が関与していること、多くの場合、抑制効果の発現には cell-to-cell contact が必要な事などである  $^{1,4,5,6)}$ 。しかしながら、cell-to-cell contact に関与する分子基盤に関しては、MDSC 側および T 細胞側とも未だ明らかにされていない。

我々はラットにある種のリポソームを投与すると、脾臓内に強力な T 細胞増殖抑制効果を持つマクロファージが誘導されること見いだした<sup>7)</sup>。その作用機序を解析した結果、抑制効果の発現に NO が関与していること、かつ cell-to-cell contact が必要であることを見いだした。即ち、誘導される Mis は、その作用機序からは、既に報告されている MDSC(あるいは TAM)細胞群との共通点を有する。この系を用いれば、T 細胞増殖抑制効果を持つ Mis そして MDSC 細胞群に特徴的に発現している遺伝子群および cell-to-cell contactに関与する分子を見いだすことができると考えられる

#### 方 法

#### 1. ラットへの操作

リポソームをラットに投与後、脾臓を摘出し、リポ

<sup>\*</sup>旭川医科大学 小児科学講座 \*\*病理学講座(免疫病理分野) \*\*\*看護学講座

ソーム貪食細胞を CD11b/c をマーカとし、磁気ビーズを用いて純化した。純化した脾細胞分画から RNA を抽出し、DNA マイクロアレイ解析の為の試料とした。コントロールは生理食塩水を静注したラットから採取した脾臓を用いて作成した。

## 2. DNA マイクロアレイによる遺伝子プロファイル の解析

上記のように抽出した RNA をから Low Input Quick Amp Labeling Kit (Agilent Technologies) を用い cDNA の合成と cRNA のラベルと増幅をおこなった。ラベルした cRNA をマイクロアレイ (whole rat, 44,000 gene, Agilent Technologies) にアプライし、ハイブリダイゼーションをおこなった。マイクロアレイの洗浄と乾燥後、Agilent Technologies Microarray Scanner を用いてスキャンした。得られた数値化データはグローバルノーマライゼイションによってアレイ間の補正をおこなった。生理食塩水 i.v. 後とリポソーム i.v 後の結果を比較し、前者と比較して 2.6 倍以上発現量の差がみとめられた場合を有意と判定した。

#### 結果および考察

#### 1. CD11b/c陽性細胞の純化結果

磁気ビーズを用いた純化操作により CD11b/c + 細胞の割合は数%から 50% 前後に高めることができたので、当該細胞集団の遺伝子発現プロファイルをよく反映することができるものと判断した。

#### 2. 遺伝子プロファイルの解析結果

遺伝子発現量をコントロールと比較した結果、2回の実験で2回とも Fold increase が2.6 以上であったものが168 遺伝子あった。

その中から、数個の遺伝子についての結果を表にした (表1)。

表 1

	Exp. 1	Ехр. 2
Mmp14	57.2	51.3
Col9	37.4	46.43
ApoE	16.8	9.8
IL-18bp	11.39	13.1
IL-1α	5.6	9.9
CD276	5.27	7.21

ApoEメッセージの増加は、貪食したリポソームの構成成分である脂質を代謝する為には、必須の反応であると考えられる。ApoEメッセージの増強が観察されたことから、回収した細胞群が、目的の細胞を十分に含んでいたことを示しているものと考えられる。

Mmp14 と Ccl9 はいずれの実験でも非常に強い発現の増強を認めたが、その意義については不明である。

CCL9 は主にマクロファージから産生され、その受容体が CCR1 である。実験結果から、リポソーム貪食細胞が、CCR9 を産生して、CCR1 を発現している細胞を集積する作用を発揮する事が推測できる。

IL-1  $\alpha$  は主としてマクロファージから産生されるものであり、リポソーム投与後の CD11b/c + 細胞群で遺伝子発現の増強を認めていることが示されたが、IL-1  $\beta$  のメッセージの増強は認めなかった。

IL18bp もマクロファージから産生され、IL18と結合することにより、IL-18の IFN-γの産生増強効果を減弱する作用を有する。この事が、T細胞増殖抑制にどのように関与しているのかは、不明である。

いずれにしても、CCL9, IL-1a, IL-18bp はいずれもマクロファージの産生する物質であり、我々の実験系における immuno suppressive macrophage を特徴的づける遺伝子発現パターンを示しているものと思われる。

CD276 は、B7-H3 分子と同じものであり、免疫応答の制御に関わる分子である。その機能に関しては、T細胞機能を促進するという報告と抑制するという相反する2つの報告がある<sup>8)</sup>。我々の系においては、B7-H3 がT細胞の増殖を抑制する事に関与している可能性があるので、今後 B7-H3 の役割について、検討を進めて行きたいと考えている。

## 参考文献

- 1) Tomioka H, Tatano Y, Maw WW, Sano C, Kanehiro Y, Shimizu T. Characteristics of suppressor macrophages induced by mycobacterial and protozoal infections in relation to alternatively activated Ms macrophages. Clinical and Developmental Immunology 2012 doi:10.1155/2012/635451.
- Mantovani A, Sica A, Allavena P, Garlanda C, Locati M. Tumor-associated macrophages and the related myeloid-derived suppressor cells as a paradigm of the

- diversity of macrophage activation. Human Immunology 70: 325-330, 2009.
- 3) Osbrand-Rosenberg S, Sinha P. Myeloid-derived suppressor cells: linking inflammation and cancer. J Immunol 182 4499-56, 2009.
- 4) Dugast AS, Haudebourg T, Coulon F, et al. Myeloid-derivedd suppressor cells accumulate in Kidney allograft tolerance and specifically suppress effector T cell expansion. J Immunol 180:7898-7906, 2008.
- 5) De Wilde V, Van Rompaey N, Hill M, et al. Enodoxin-induced myeloid-derived suppressor cells inhibit alloimmune responses via hemeoxygenase-1. J Transplant 9:2034-2047, 2009.
- 6) Gabrilovich D, Kusmartsev S. STAT 1signaling

- egulates tumor-associated macrophage mediated T cell depletion J Immunol 174:4880-4891, 2005.
- 7 ) Takahashi D, Azuma H, Sakai H, et al. Phagocytosis of liposome particles by rat spelnic immature monocytes makes them transiently and highly immunosuppressive in ex vivo culture conditions. J Pharmacol Exp Ther 337:42-49, 2011.
- 8) Leitner J, Klauser C, Pickl WF, Stockl J, Majdic O, Bradet AF, Kreil AP, Dong C, Yamazaki T, Zlabinger G, Pfistershammet K, Steinberger P. B7-H3 is a potent inhibitor of human T-cell activation: No evidence for B7-H3 and TREML2 interaction. Immunology 39: 1754-1764, 2009.

## 依頼稿(報告)

# 平成24年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト型研究課題機能的電気刺激による喉頭の動的機能再建に関する研究

片田彰博\*

## 1. 機能的電気刺激とは

機能的電気刺激(functional electrical stimulation: FES)は微小な電気刺激を用いて生体の障害された機能を回復させる治療法であり、様々な分野での臨床応用が進んでいる(表1)。FES は感覚機能の回復を目的とした感覚系 FES と運動機能の回復を目的とした運動系 FES に大別される。感覚系 FES では高度難聴者に対する人工内耳システムが既に広く普及している。また、心臓のペースメーカーも FES の一種である。運動系 FES は整形外科領域を中心に、脳卒中や脊髄損傷などの中枢性運動麻痺患者における四肢の運動機能回復をめざした研究がおこなわれている。我々は、この運動系 FES を障害された喉頭機能の回復に応用するための研究をすすめている。

#### 2. 喉頭の動的機能再建

喉頭は生命維持に必須である呼吸、嚥下、気道防御などに関与する重要な臓器であり、その機能は合目的な声帯の運動によって維持されている。声帯運動を制御する内喉頭筋は、迷走神経から分枝する反回神経の

#### 表1 機能的電気刺激の研究領域

循環器科領域:心臓ペースメーカー 耳鼻咽喉科領域:人工内耳による聴覚機能の回復 脳神経外科科領域:難治性疼痛、不随意運動症に対する脳深部刺激療法 整形外科領域:脊髄損傷後の上肢、下肢の運動機能の回復 泌尿器科領域:脊髄損傷後の膀胱機能障害における排尿調節 眼科領域:人工視覚システム、網膜電気刺激による視覚回復 支配を受けており、この神経が外傷、悪性腫瘍、外科 手術などによって損傷を受けると声帯に麻痺が生じ る。その結果、発声運動、嚥下運動、気道防御反射が 障害され、患者の OOL は著しく低下することになる。

末梢神経である反回神経は再生能力があり、障害を受けた部分の神経吻合や神経移植によって麻痺している筋に神経の再支配を誘導することが可能である。しかし、反回神経は声帯を内転させる筋肉(声門閉鎖筋)を支配する神経線維と外転させる筋肉(声門開大筋)を支配する神経線維の両方を含んでおり、それぞれの神経線維は神経束の中を混在して走行している。そのため、神経吻合や移植による再支配は新しく伸長した神経線維が本来支配していた筋とは異なる筋を支配してしまう"過誤支配"の状態となる。その結果、仮に筋の再支配を効率的に誘導することができたとしても、呼吸、発声、嚥下などに同期した合目的な声帯運動は回復せず、声帯は固定したままとなる。

現在の喉頭麻痺に対する治療は、固定している声帯の位置を手術によって偏位させることで、障害された機能の改善を期待するものである。この声帯の位置や喉頭の形態を変化させる手術治療は、声帯運動そのものを回復させるのではないことから"静的機能再建"であると言える。声帯を内転させる甲状軟骨形成術、披裂軟骨内転術、また声帯を外転させる声門開大術は、それぞれが十分な治療成績を挙げている反面、治療によって必ず犠牲となる機能があり、患者に与える侵襲や QOL 向上の観点からも、治療法としては決して完璧なものとはいえない(表2)。我々は、現在の治療

<sup>\*</sup>旭川医科大学 耳鼻咽喉科·頭頸部外科学教室

	呼吸機能	発声•嚥下機能
甲状軟骨形成術 披裂軟骨内転術	悪化	改善改善
声門開大術 声帯切除術	改善	悪化
機能的電気刺激を用いた 動的機能再建	改善	改善

表2 現在の治療法と動的機能再建の比較

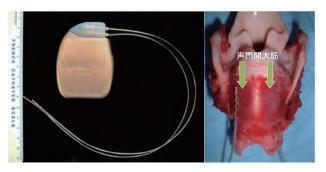


図1 埋め込み型電気刺激装置と声門開大筋刺激用電極

法の欠点を克服し、従来の発想にはなかった声帯運動 そのものを回復させる機能的電気刺激を用いた喉頭機 能の"動的機能再建"の確立を目指している。

### 3. 声門開大運動の誘発による呼吸機能の改善

両側反回神経麻痺よって両側の声帯運動が障害され ると、吸気時に声門が開大しなくなり、喘鳴を伴う吸 気障害が生じる。症状が強い場合には声門開大術や気 管切開術が必要となるが、これらの術式は気道を外科 的に開大させるものであり、気道抵抗が低下して吸気 が容易になる反面、音声が悪化したり気管カニューレ が必要になるといった問題を生じる。この両側の声帯 麻痺に対して FES で声門開大運動を誘発する試みは、 我々と米国 Vanderbilt 大学の Zealear 教授が共同で研 究を展開中である<sup>1)</sup>。我々はイヌの両側声帯麻痺モデ ルを用いて、埋込型電気刺激装置 (implantable pulse generator: IPG) に接続した脳深部刺激用の電極を声門 開大筋である後輪状披裂筋と輪状軟骨の間に留置し、 一定のサイクルで声門開大運動を誘発することに成功 した<sup>2,3)</sup>。このシステムに用いられている IPG は左右 の声門開大筋を別々に刺激できるように、2本の刺激 電極が接続されている(図1)。このFESシステムは、 動物本来の呼吸とは全く同期していないが、動物の自 発的な嚥下や呼吸を障害することはなく、誘発された



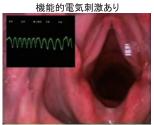


図2 両側声帯麻痺における声門開大運動の誘発

声門開大運動によって動物の耐運動能が著明に改善することも確認されている<sup>4)</sup>(図2)。また、長期間の電気刺激による筋線維への影響も非常にわずかであり、動物実験レベルでは有効性と安全性が確認されていることから、臨床応用されるのも間近であると思われる。

#### 4. 声門閉鎖運動の誘発による音声障害の改善

一側性の声帯麻痺では麻痺側の声帯が内転しないた め、発声時の声門間隙が大きくなり気息性の嗄声を生 じる。現状では音声改善を目的に、声帯内注入術、甲 状軟骨形成術、披裂軟骨内転術などの手術がおこなわ れている。我々は、甲状軟骨形成術の際に甲状軟骨内 にシリコンブロックを留置するのと同様の方法で声門 閉鎖筋刺激用電極を留置し、麻痺声帯に声門閉鎖運動 を誘発して音声障害を改善させるための基礎実験もお こなっている。その第一段階として、効率的に声門閉 鎖筋を刺激するための埋め込み型電極を試作した(図 3)。さらに、イヌの一側反回神経麻痺モデルを作成し、 試作した電極を声門閉鎖筋である甲状披裂筋の表面に 留置して、FES による声門閉鎖運動の誘発が可能であ るかを確認した。その結果、この電極によって麻痺し ている声帯に声門閉鎖運動が誘発できることが確認さ れた (図4)。

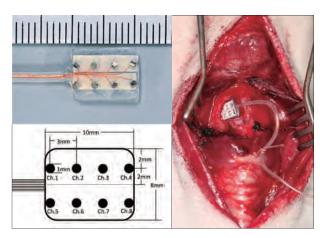


図3 声門閉鎖筋刺激用電極





機能的電気刺激なし

機能的電気刺激あり

図4 一側声帯麻痺における声門閉鎖運動の誘発

#### 5. これからの展望

現在の医用電子機器の技術水準をもってすれば、咽頭や喉頭の運動を制御している小さな筋肉を低侵襲で安全に刺激できるデバイスを開発することは決して無理難題ではないと思われる。しかし、FESが喉頭機能障害に対する新しい治療として臨床応用されるには、単にハードウェアを開発するだけではなく、誤作動のない安全性の高い刺激アルゴリズムの構築や、安全なFES デバイスの埋め込みや設置技術の確立が必要であろう。そのためには、喉頭機能障害の詳細な病態解明に加えて、医学と工学のより密接な連携が必要不可欠であると考えている。

### 参考文献

- 1) Zealear D.L. et al.: Electrical pacing of the paralyzed human larynx. Ann Otol Rhinol Laryngol 105: p689-693, 1996.
- 2) Katada A. et al.: Evaluation of a deep brain stimulation electrode for laryngeal pacing. Ann Otol Rhinol Laryngol 117: p621-629, 2008.
- 3) Zealear D.L. et al.: Rehabilitation of bilaterally paralyzed canine larynx with implantable stimulator. Laryngoscope 119: p1737-1744, 2009.
- 4) Nomura K. et al.: Bilateral motion restored to the paralyzed canine larynx with implantable stimulator. Laryngoscope 120: p2399-2409, 2010.

## 依頼稿(報告)

## 平成24年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト型研究課題 薬事承認を目標とした蛍光内視鏡システムによる臨床研究の展開

大崎能伸\*竹山周良\*\*

#### はじめに

生体に 405nm 付近の青色可視光を励起光として照射すると、組織を構成する成分に応じて様々な波長の 蛍光を発生する。人体組織から発生する蛍光は極めて 微弱なため、カラーで観察するには高い感度が要求される。本研究は、その人体から発生する微弱な蛍光を 内視鏡を使用して観察するための内視鏡用高感度カラー蛍光カメラを開発することを目的とし、最終的には 薬事法の承認を得て医療機械として販売することを目 標としている。

カメラの感度を増加するには、いくつかの方法がある。しかし、いずれの手段を行っても、カメラの感度 を限界まで増加すると技術的に様々な問題が生じてくる。

画像情報を電気信号に変える入力装置に CCD イメージセンサーが用いられる。CCD は charged-couples device の略称で、簡単にいうと太陽電池の小型版みたいに理解される。CCD イメージセンサー上には 10 万-1000 万以上の受光素子が配置されている。CCD イメージセンサーは光の強さを電気信号に変換する装置なので、色情報を得るためには工夫が必要である。色情報の採り方には、赤、緑、青(RGB)の三色のフィルターを通した3種の画像からカラーを得る3板式カラーカメラと、それぞれの受光素子に RGB フィルターを乗せた単板式カラーカメラに大別される。コンパクトデジタルカメラには単板式 CCD カメラが載っているので、CCD の表面は虹色に輝いて見える。3板

式カラーカメラはテレビカメラなど、大型の高品位カメラみ用いられる。私たちが開発してきた内視鏡用カラー蛍光カメラの第一号機では感度を高めた冷却増感 CCD の前で回転式 RGB フィルターを装着した、順次式を採用したために大きな本体になった。単板式カラー CCD は小型軽量であるが、RGB 情報のそれぞれに対する面積が減るために感度に難がある。しかし、内視鏡で観察するためには小型軽量が望ましいので、新しいカラー蛍光カメラでは単板式 CCD を採用することにした。

カメラの感度を増加させると、ノイズが強くなる。ノイズを減らす工夫を上手にしなければ、画像のフォーカスが甘くなるなど画像の品質に支障をきたす。感度を増加する一つの手段として、顕微鏡写真撮影装置でよく使用される画像の重ね合わせ技術がある。これはフォーカスを保って感度を上げる良い方法ではあるが、内視鏡観察では動画が主であるため、時相のずれが起こると使用できない。ノイズを減らしてフォーカスを保ったうえでカラーバランスを崩さずに感度を上げることが極めて難しい。しかも、高感度カラー画像を動画として取得することはさらに技術的にハードルが高い。また、本研究では光源装置に新たな問題が生じたために、これに対する解決策も必要になった。

## 肺癌での内視鏡カラー蛍光診断システム開発 の歴史

肺癌は、その発生部位によって中心型と末梢型に区別される。末梢型肺癌とは肺の周辺に発生する肺癌で、

<sup>\*</sup>旭川医科大学 呼吸器センター教授 \*\*客員教授

組織型は腺癌が多い。末梢型肺癌は進行するまで症状が出ないことが多く、胸部エックス線写真や CT によって発見されることが多い。中心型肺癌は、気管から気管支が分かれたあたりから少し肺に入るまでの気管支の表面にできる肺癌で、扁平上皮癌が多い。中心型の肺癌は血痰や長引く痰で見つかることもあるが、診断のためには気管支鏡検査が必須である。中心型肺癌は治療した後に再発したり、初めとは異なる場所に新たに発生することも多く注意が必要である。

早期の中心型肺癌は正常の気管支粘膜との区別が難しく、気管支鏡で詳しく見ても見つからないことがしばしばある。肺癌の危険性が高く、痰の中に怪しい細胞が見つかった例で気管支鏡で見ても異常が分からない場合は、到達できるすべての気管支から細胞を採取して癌を探すというような検査も行われていた。蛍光気管支鏡は、このように通常の検査では見つからない病変を検索するために開発された。

人体の組織から発生する蛍光は、人体の組織を構成する物質から発生し、気管支粘膜などの主な組織は正常であると 520nm 程度の緑色の自家蛍光が観察される。正常組織からの自家蛍光の大部分はコラーゲンや nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADP)、flavin-adenine dinucleotide (FAD) などが発生源とされている。一方、癌病変部では、粘膜上皮の肥厚、自家蛍光物質の減少、蛍光吸収物質の増加などにより緑色の自家蛍光が減弱したり発生する蛍光色調が変化する。この蛍光の減弱や波長の変化を画像化して観察するのが蛍光気管支鏡の原理である。

本研究で最初に作製した内視鏡用カラー蛍光観察システムの PDS-2000 では、300W の内視鏡用キセノン光源のフィルターを装着して平均 405nm の波長の励起光を選択し、ファイバースコープのライトチャンネルから照射する。励起光の波長は、蛍光の観察時はPDS-2000 のために設計されたフィルターにより選択的に減弱される。励起光の波長以外については 400nmから 700nm まで観察することができる。カラー蛍光カメラにはオリンパス OES (Olympus endoscopic system) アタッチメントが装着され、気管支鏡だけではなく、種々のファイバースコープや胸腔鏡、腹腔鏡などの光学視管も装着できる。

蛍光観察システムを開発する当初は、開発中 の新規ポルフィリン誘導体を利用した蛍光診断 (photodynamic diagnosis, PDD) を目的としていた。 PDS-2000 は非常に感度が高く、カラー特性に優れたシステムに仕上がって、自家蛍光診断の目的でも使用できることが明らかになった。 PDS-2000 を使用した我々の自家蛍光観察による気管支早期病変の検出に関する臨床的な検討の結果、自家蛍光診断を用いると通常の気管支鏡検査よりも早期病変の発見率が54.1%から89.1%に有意に上昇したことを報告した。また、異常蛍光として認識された気管支壁の前癌病変では、すでに癌遺伝子の異常を認めることを報告した。

PDS-2000 は蛍光観察システムとしては優れた性能を示したが、カメラボックスが大きく操作性は劣っていた。そこで、PDS-2000 に組み込んだシステムを見直して、操作性が優れた次世代機を開発することにした。次世代機ではカラー画像に優れた小型で感度の高い CCD を使用することにして、手のひらに収まるサイズを目指した。新しい PDS は白色光内視鏡観察、自家蛍光観察、フォトダイナミック診断、赤外蛍光観察ができることから PDS-TriMode はファイバースコープのみならず、胸腔鏡や腹腔鏡にも装着することができる。

## PDS-TriMode の開発以降に生じた問題に対する取り組み

PDS-TriMode は優れた可能性をもつシステムである が、蛍光内視鏡システムで薬事承認を目指すためには、 製造と販売を視野に入れた企業の協力が不可欠であ る。PDS-TriMode を製品にすることを考えた場合、ど うしても避けられない問題が少なくとも3点あった。 一つは、市販用の高感度カラー蛍光カメラその物の開 発である。この開発のためには前述した技術的な問題 を解決できる技術力を持ったメーカーとの共同研究が 不可欠である。幸い、国内の高感度 CCD カメラのト ップメーカーであるフローベル社とクラボウ社が協力 してくれることになり、現在市販器を開発している。 市販器ではPDS-TriMode の性能を引き継ぎ、軽量で 操作性の良いものを目指している。カメラの解像度と 感度が向上し、動画はハイビジョンに変更される予定 である。CCDカメラの感度を上げることは機器の軽 量化と反する作業であるが、現在は詰めの段階に入っ ている。

2つ目の問題は、蛍光カメラに接続する内視鏡の性

能に関してである。近年の内視鏡はビデオスコープが 主流で、ファイバースコープのシェアは少なくなって きている。私たちの蛍光システムは高性能の高感度カ メラを開発するという側面を持つので、初めから内視 鏡の先端にカメラを入れることは想定していなかっ た。したがって、観察する画像の質は使用するファイ バースコープの性能に左右され、これが決まらなけれ ばどの程度の画像性能が出ているのか判断できない問 題があった。これを解決するために、世界の内視鏡ト ップメーカーのオリンパスに最高画像性能をもった気 管支ファイバースコープ試作機の製造を依頼した。こ のファイバースコープは外径が6mmで、生検チャン ネルは1.4mmと操作性は犠牲になった部分もあるが、 観察画像は素晴らしい性能を持つ。現在は、PDS-TriMode と組み合わせて使用しており、ビデオスコー プに匹敵する解像度を示している (図1)。

第3の問題点は内視鏡用光源についてである。PDS-2000、PDS-TriModeとも300Wの内視鏡用キセノンライト光源を観察用白色光と蛍光用励起光に用いていたために、既存の光源を購入して改造する必要があった。これを解決するために、LED装置の国内トップメーカーであるCCS社と専用光源の共同研究を開始した。現在は、新たに開発した青色LED光源を蛍光用光源に用い、さらに白色光源もLED化するための作業中である。

## 蛍光観察システムを用いた新たな臨床研究の 展開

現在、我々のグループでは蛍光内視鏡観察システムを用いた二つの臨床研究が進行中である。一つは、5アミノレブリン酸を用いたPDDの研究で、呼吸器センター外科で進行中である。もう一つは、旭川医療センターと呼吸器センター内科の共同研究で、気管支鏡を用いた早期気管支病変の発見に関する臨床第Ⅱ相研究である。いずれも、旭川医科大学倫理委員会の承認を得て進行中である。

近々、我が国で5アミノレブリン酸(5ALA)が脳腫瘍での蛍光診断に保険収載される。5ALA は経口的に投与されたのち、癌病巣に集積してプロトポルフィリン-IX(PP-IX)に代謝される。PP-IXを青色可視光で励起すると赤色の蛍光を発生する。悪性脳腫瘍では、この蛍光を観察して癌病巣を取り除く治療が保険

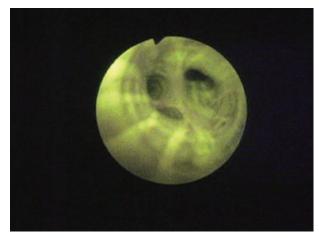


図1 新しく試作した帰還しファイバースコープを使用した気管支粘膜の自家蛍光観察写真。以前の画像に比べ解像度と色調の再現性が改善した。

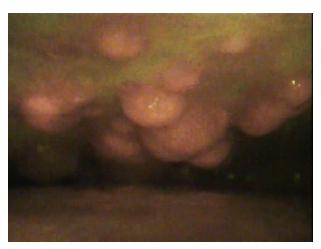


図2 5ALA を内服した後の臓側胸膜病変の蛍光観察。緑の自家蛍光を背景に、小隆起病変に取り込まれた PP-IX の赤色蛍光が観察されている。

診療で行えるようになる。5ALA は肺癌や胃癌などのほとんどの悪性腫瘍に取り込まれるので、脳腫瘍以外でも蛍光診断に応用できる。呼吸器センター外科では、胸部悪性腫瘍の開胸手術症例で術前に5ALA を経口投与して、術中に壁側胸膜、臓側胸膜の微小病変が発見できるかについて臨床研究を行っている。現在まで、10 例近くの症例が集積され、術前にわからなかった胸膜転移や、術中の観察では発見が難しかった播種病変が観察されている(図2)。

内科での臨床研究は、気管支癌のハイリスク症例を 対象とした前癌病変や早期癌の発見を試みるものであ る。倫理委員会の承認が得られ、症例の登録が開始さ れたところである。

## 依頼稿(報告)

# 2013 年度 JICA 母子保健研修

黒田緑\*

#### 1. はじめに

平成15年度より開始された、世界の発展途上国の母子保健領域に従事する看護職を対象とした「母子保健」研修は、第3節11年間の研修をもって終了しました。本研修はJICA(Japan International Cooperation Agency)独立行政法人、国際協力機構が実施する母子保健事業の一環として、JICA札幌(現、JICA北海道)が発展途上国の母子保健分野の看護職を募集し、研修機関との協力の下で行われた事業です。国連ミレニアム開発目標の達成に向けて取り組む各国の母子保健状況改善の一助となることを目的に始められた研修です。

開始当初 5年間の第 1 節研修、その後 3年間を各節 とし計 3 節 11 年、延べ 42 カ国 115 名の研修員を受け入れました。(表 1)

研修員の特徴は、世界各国から1名ないし2名が参加し、約12名の研修員で構成されます。同じ国から継続して参加する場合やそうでない場合などがあります。

研修の特徴は、様々な状況にある研修員が抱える問題を研修員自身が問題解決の主体となり、講義・見学・ 演習で得た知識や思考過程を取り入れ、解決のための プラン作成を導く手助けをする研修にしました。

#### 2. 母子保健研修の中心軸

これまでの母子保健コース研修では、PCM(Project Cycle Management)という問題解決手法を用いてアクションプランを作成しました。PCMとは、JICAのプロジェクト活動などで広く用いられている開発協力プ

ロジェクトを効果的・効率的に運営管理する方法です。母子分野だけではなく多様な分野の援助活動に用いられています。しかし、PCM 手法そのものを理解することに時間を要すること。問題の分析が十分にされにくいこと。その結果、実施可能な具体的アクションプランを作成することが困難であることを感じていました。一方、研修員の特性は、人の健康問題を解決することを業とする看護職集団であること。帰国後活動は、人を対象とした活動を展開すること。これらを考え合わせ、日本の看護領域で日常的に使われる看護過程を応用した問題解決思考をアクションプラン作成の手法として活用することを試みました。

本研修に用いるために応用した点は、

- ①アセスメント (現状分析) は、母子保健に関する 国の現状から俯瞰すること、および自身の組織 や地域の現状との両方から見る。
- ②問題抽出は、組織に起因する問題かあるいは健康 教育活動に起因する問題かを判別する。
- ③目標は長期及び短期目標を明示すること。評価基準は、目標の達成を評価するために不可欠である。
- ④具体策は、地域の特性を考慮しているか。また、 研修員が実施可能か。
- ⑤研修中に作成したモニタリング方法を用いて、評価基準に照らし達成の可否の評価をする。

その上で、目標の妥当性、実施の有効性、効率性(費用対効果)、インパクトの有無と程度、自立発展性はどうかなどを評価する。

の①から⑤が挙げられます。

この手法を用いて、各研修員の自国における問題の

<sup>\*</sup>旭川医科大学 看護学科

分析からアクションプラン作成までは、研修員も担当 者も相当の時間と集中力を要しました。

しかし、実施可能なプランであること、目標達成の 可能性のあるプランであることは、帰国後の活動報告 から読み取れました。

本年の試みとして、目覚ましい帰国後活動をしている、2010年度カンボジア研修員、リダ氏を講師として招き、活動の実際や工夫したこと、そしてその結果としての母子保健指標の改善を紹介する企画をしました。

#### 3. 帰国後研修員の本研修への起用

選ばれた研修員は 2010 年度 JICA 母子保健研修に カンボジア国立母子保健センターから参加した Ms Oung Lida。当時は国立母子保健センター分娩部門責 任者でした。

わが国での研修時アクションプランは「産後出血の 防止」「フリースタイル出産の実施」などであり、特 に妊産婦死亡の原因となる「産後出血防止」を主なテー マとしていました。

彼女の帰国後活動の一部をスライドで掲載します。 (スライド:帰国後活動)

帰国後のリダ氏の活動は目覚ましく、幸運にも彼女が所属する国立母子保健センターを基点とする JICA プロジェクトの支持もあり、着実にアクションプランの実践を積み重ねていました。そして、本年来日時は、カンボジア助産師協会の副会長、研修部門アドバイザー、国立母子保健センター副看護部長の立場についていました。

2010年、帰国後活動視察のためにカンボジアを訪れた際、リダ氏は分娩室責任者として、産後出血防止および出血時の対応のためのプロトコール作成とスタッフへの周知、フリースタイル出産実現のために環境整備とスタッフ教育、および産婦の個々の問題に対応するために看護過程を分娩室スタッフに伝える努力をしていました。

3年後の本年、その後の活動の成果およびカンボジ ア看護界にとってなくてはならない存在であること が、彼女の報告から理解出来ました。

#### 4. リダ氏の研修員への関わり

リダ氏への期待は、研修員のアクションプラン作成

において適切で実行可能なプランを導くアドバイスが 得られることにもありました。

事実、アクションプラン作成に苦慮している研修員 に、先輩研修員として、また同様な国状にある看護職 として、実践に基づく極めて適切なアドバイスを提供 してくれました。

本年、帰国後研修員の招聘講義を企画しましたが、 本研修が各年で途切れるのではなく、先達の経験を後 の研修に活かすことができたことにより、研修の有効 性が実感できました。各人の力は小さいものですが、 継続と連携は大きな力になることを確信できた研修で した。

#### 5. おわりに

2000年9月、国連において発表されたミレニアム開発宣言は、8つのミレニアム目標のうち2つが母子保健に関わる目標です。乳幼児死亡率の低下と妊産婦の健康状態の改善です。開発途上国におけるこれら母子保健指標の劣悪さは、貧困、栄養失調、感染症、教育普及率の低さなどが要因とされています。

旭川を含む北海道、特に道北・道東地域は広大な面積と人口の分散、医療施設の少なさなど、開発途上国の実情と相似する部分があります。そのなかで地域に根差した看護職の育成、連携の構築などにより母子保健の向上に成功してきました。このような道北・道東における看護行政システム、人材育成を紹介することで、開発途上国における看護職の人材育成、地方における看護職と行政職との連携などについて有益な研修を提供することを目的に始まりました。

その間、様々な工夫を企画しました。研修の柱には、 看護過程を応用した問題解決思考を据え、研修員が自 国の問題を解決するための思考過程を伝えることに力 を注ぎました。その上、①臨床看護体験、②元シニア ボランティアによる講義及びアクションプラン作成支 援、③帰国後研修員による帰国後活動の実際の講義及 びアクションプラン作成支援などです。

研修員による評価では、単元目標はじめ、研修参加 者からの学び、視察や実習など直接的経験を得る機会 を得られたこと、講義やテキストへの満足度の高い評 価が得られました。とりわけ、アクションプラン作成 までに至る助言やファシリテーションは満足度が高い ものでした。 研修最終年に取り入れた、帰国後研修員による帰国 後活動の実際の報告およびアクションプラン作成指導 は、研修員間の連携と研修の積み重ねを実感すること ができ、今後の活動の継続性が予感できるものでした。 途中から引き継いだ母子保健研修ですが、JICA 北海道、学内及び学外のご協力いただいた皆様に感謝の 気持ちとともに報告を終了いたします。

表 1 JICA 「母子保健」コース 研修員出身国一覧(平成 15 年度~平成 25 年度)

	アジア		大洋州 中央アジア コーカサス 中東 アフリカ			中南米		計								
	カンボジア	1	パプアニューギニア	2						į	カメルーン	1	ジャマイカ	2		
平成15		i I								Ì	エリトリア	1		İ	1	
年度 2003		; 								i	モザンピーク	2		i	10	
										1	ルワンダ	1		! !		
₩ #16	ラオス	1					グルジア	1		!	エジプト	1		:		
平成16 年度	モンゴル	1								!	ニジェール	1		!	9	
2004		İ								İ	タンザニア	4		İ		
	バングラデシュ	1 1	パプアニューギニア	3					アフガニスタン	<u> </u>	モロッコ	1	ベリーズ	<u>.</u>		
平成17 年度	ネパール	1								i		İ	ボリヴィア	2	11	
2005		i								i		i	グアテマラ	1		
		:								!	ベナン	1	ボリヴィア	1		
平成18		!								!	ブルキナファソ	1	ドミニカ共和国	1	-	
年度 2006		!								1	ケニア	2	エルサルバドル	1	8	
2000		<u> </u>								į	タンザニア	1			-	
平成19	バングラデシュ	l <sub>1</sub>	パプアニューギニア	2	ウズベキスタン	1			シリア	<u>.</u> I 1	エジプト	1	ペルー	<u>l</u> 1		
年度 2007	ネパール	1 1							アフガニスタン	1 1		; 		i I	9	
	バングラデシュ	1	マーシャル	1					アフガニスタン	<u>;</u>	スーダン	1	ハイチ	1		
平成20 年度	カンボジア	1	パプアニューギニア	2					シリア	! 1	ザンビア	1	ウルグアイ	1		
2008		!							パレスチナ	1		-		<del>`   '</del>		
	カンボジア	1	マーシャル	1					アフガニスタン	! 1	スーダン	1	ハイチ	1 1		
平成21 年度	インド	1	パプアニューギニア	1						İ	ザンビア	i —	ホンジュラマ	1	11	
2009	バングラデシュ	1								i	,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	İ	ウルグアイ	1	-	
	カンボジア	1	マーシャル	1					アフガニスタン	1 1	スーダン	1	ウルグアイ	1 1		
平成22 年度	インド	1	パプアニューギニア						シリア	2	ザンビア	1	3,000	<u>;                                    </u>	12	
2010		<u> </u>		_					パレスチナ	1	,,,,,			<u> </u>	-	
	モンゴル	2							,	+ -	ナイジェリア	2	ベネズエラ	1 1	1	
平成23 年度	ラオス	1				 		 		i i	ナミビア	2		<u>:                                    </u>	11	
2011	パキスタン	1								<del>i</del>	ジンバブエ	2		İ		
	バングラデシュ	2	パプアニューギニア	1						<del>!</del>	777.5	<u> </u>	ベネズエラ	1		
	インド	1	,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,							į –				į .	-	
平成24	ラオス	2				-		-		!		-		!	-	
年度 2012	モンゴル	2								<u> </u>				<u> </u>	11	
2012	ネパール	1 1				 		 		<u> </u>		l I		<u> </u>	-	
	パキスタン	1 1								<u> </u>		<u> </u>		<u>;                                    </u>	-	
		<del>.</del>	パプアニューギニア	1			コソボ(ヨーロッパ)	1		i		<u>:</u> 	ボリヴィア	<del>:      </del>	-	
		<u>:</u>	////- <del>1</del>	'			コンハ(コーロッハ)	<u> </u>		1		-	パリ・フィア	<u>  1</u>	-	
	カンボジア インド	1 1				-		-		į.		-		<u> </u>	-	
平成25 年度		1								<u> </u>		<u> </u>		<u> </u>	11	
平度 2013	ラオス	<u> </u>						<u> </u>		<del> </del>		<u>                                       </u>		<u>                                       </u>	<b>∤</b> ''	
	モンゴル	1								!		<u> </u>		<u> </u>	-	
	ネパール	1						! 		-		<u> </u>		<u> </u>	-	
=1	パキスタン	1	47		4				44	<u>!</u>	20	<u> </u>	10	<u>:                                    </u>	4	
計	35		17		1		2		11		30		19		115	

## Difficulties and Effort for MCH in Cambodia through action plan

Prepare by Ms Oung Lida
Vice President of Cambodia Midwives Association
Advisor of Training Unit
Vice Director of Nursing Division
The National Maternal and Child Health Center

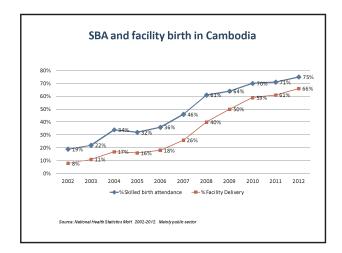
#### Main Health Problem in Cambodia

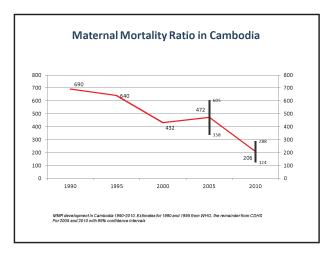
#### <u>Mother</u>

- Hemorrhage
- Eclampsia
- Infection
- Unsafe Abortion

#### <u>Infant</u>

- Respiratory infection
- Diarrhoea
- Dengue fever
- Sever malnutrition





### I-Difficulties in Cambodia for MCH

- ☐ Shortage of midwives at some health centers of remote areas. Health Center in the remote area has only one midwife.
- ☐ The midwives lack of technical skill for midwifery care, especially the young midwives just graduated from midwifery school.

### II-Difficulties in Cambodia for MCH

- ☐ Low access for caring the pregnant women. Not only pregnant women also including midwives.
- ☐ Low rural income(including cost and distance of service)and low literacy.
- ☐ Traditional beliefs (during pregnant).

### Presentation action plan

- 1. Steering committee meeting.
- 2. Clinical nursing meeting.
- 3. Nursing division meeting.
- 4. Monthly meeting with all midwives.

### Implementation

- National Maternal and Child Health Center. (Delivery unit and Maternity unit)
- 1. In-service training course.
- 2. Provincial supervision.
- 3. National Conference.
- 4. Midwives Co-ordination Alliance Team Meeting.

#### 1-National maternal and Child Health Canter

- Two weeks once.
- Select topic and presentation

We did through by

- Presentation
- Case study
- Observe with the real case



#### Real observation in the delivery room



## 2-In-services training course

- Normal delivery
- Postpartum haemorrhage
- Abnormal delivery
- Mother class
- Antenatal care check up

## 3-Provincial supervision

- Questionnaire
- · Practice on model
- Feedback
- Discussion

Topic for doing:

- Normal birth
- · Fill partograph
- · Management PPH
- ANC
- Management of eclampsia severe and crises eclampsia



## How to control the baby head and protect the perineum on model.



## How to check the sign of pre eclampsia.

ANC check up in the health center.

- Practice with real woman.
- Observation
- Question and Answer.



## Discussion time to improve the skill



## 4-National Conference

In during that I turned back I did 3 times already.

- 1. In 2010. Guide for midwifery care in normal birth
- 2. In 2011. Free position in labor.
- 3. In 2012. Management postpartum haemarrhage.



### 平成25年度「母子保健」コース日程

実施期間:平成25年5月13日(月)~平成25年6月21日(金)

月日	曜日	時間	研修内容	平.   講師・担当者名(職位・敬称略)	成25年5月10日   場所
/	- 12.	11:00~11:30	開講式	JICA北海道	大会議室
10 F		13:30~14:00 14:00~14:30	研修準備:白衣•靴採寸	学科事務	小会議室
5月13日	Я	15:00~14:30 15:00~16:45	研修準備:看護学科棟見学 研修準備:Job Report発表準備	杉山さちよ  望月吉勝	看護学科棟 大講義室
		17:30~	Welcome Party	404号室他教員	6階実習室
5月14日	火	9:30~15:00	Job Report発表	JICA北海道	大講義室
5月15日	水	9:30~12:00 13:30~	ガイダンス: 母子保健コースの進め方 Nursing Processに基づく問題解決の説明	黒田緑	小会議室
5月16日	木	9:30~12:00 13:30~	Nursing Processに基づく問題解決 1. 現状の共有 旭川市長表敬訪問	黒田緑 JICA北海道	小会議室
5月17日	金	9:30~ 13:30~	Nursing Processに基づく問題解決 2. 問題の抽出	黒田緑	小会議室
5月20日	月	9:30~ 13:30~	日本の現状1:日本の母子保健の概要 日本の現状2:日本の母子保健の各論	黒田緑	小会議室
5月21日	火	9:30~ 13:30~	日本の現状3:日本の母子保健の各論 日本の現状4:日本の医療制度	黒田緑 木村昭治	小会議室
5月22日	水	9:30~ 14:00~	母子保健活動1:森Hospital*あゆる助産院見学 母子保健活動2:訪問開業助産	森産科婦人科・あゆる助産院 高槻友子助産師	小会議室
5月23日	木	9:30~ 13:30~	母子保健活動1:森Hospital・あゆる助産院見学 見学後ディスカッションおよび共有事項のまとめ/助産技術:安全な出産	森産科婦人科・あゆる助産院 黒田緑	小会議室 5F実習室
5月24日	金	10:00~11:00 13:30~	日本の医療活動1:新生児の看護 日本の医療活動2:周産期母子センター見学(病棟・NICU)	本村勅子師長 阿部明美師長•本村勅子師長	小会議室 医大病院
5月27日	月	9:30~	日本の看護教育1:日本の教育制度、看護教育	作宮洋子	小会議室
5月27日		13:30~	日本の看護教育2:当学科の教育の概要		小伝議至
		9:30~10:10 10:20~11:00	日本の看護教育3:当学科の教育の実際(基礎) 日本の看護教育4:当学科の教育の実際(小児)	升田由美子   岡田洋子	小会議室
5月28日	火	11:10~12:00	日本の看護教育5:当学科の教育の実際(母性)	黒田緑	小女硪主
		13:30~14:30	日本の看護教育6: 当学科の教育の実際(助産)	黒田緑	遠隔医療センター
5月29日	水	15:00~ 9:30~15:30	学長講演 日本の看護教育7:臨地実習の実際(母性・小児領域)	吉田学長     各臨地実習担当者	医大病院
5月30日	木	9:00~12:15 15:00~	  日本の医療活動3:旭川医科大学病院院内教育(講義)  静脈注射の研修見学	  上田順子看護部長  黒崎明子副看護部長	小会議室 医大病院
5月31日	金	10:00~11:00	日本の医療活動4:臨床看護体験(1時間)	黒崎明子副部長・臨床担当者	医大病院
07]01Д	312	13:30~	臨床看護職との意見交換会(見学をふまえて) 小児保健1:小児医療	黒田緑 長屋建医師	小会議室
6月3日	月	9:30~ 13:30~	活動評価1:疫学調査の方法	望月吉勝	小会議室
6月4日	火	9:30~ 13:30~	小児保健2:小児看護 日本の看護教育8:当学科の教育の実際(地域)	岡田洋子 藤井智子	小会議室
6月5日	水	9:30~ 13:30~	日本の現状5:保健・医療・福祉制度・プライマリヘルスケア 地域保健活動1:地域母子保健技術	北村久美子 杉山さちよ	小会議室 6階実習室
6月6日	木	9:00~ 13:30~16:00	地域保健活動2:旭川保健所概要、4ヵ月児健診見学、質疑 小児保健3:北海道療育園見学	菅野尚子•中村恵里子	旭川保健所 北海道療育園
6月7日	金	9:30~	感染予防対策:院内感染予防	平瀬美恵子師長	シュミレーションセン
6月8日	±	13:30~ 10:00~12:00	研修員の帰国後活動の実際 アクションプラン作成指導	リダ氏   リダ氏	外小会議室 小会議室
				黒田	
6月10日	月	10:00~12:00 14:00~	北海道の地域母子保健の現状と対策1:道東の母子保健の現状と助産師の大学院教育(日本赤十字北海道看護大学 柳原真知子 教授)   北見市消防一周産期救急体制の講義および見学(吉村浩司 救命救急士)	黒田緑	北見市
		9:30~	北海道の地域母子保健の現状と対策2:斜里町総合保健福祉センター見学		
6月11日	火	13:30~	斜里町国民健康保険病院見学 担当:茂木千歳保健師  その後、羅臼町へ移動	黒田緑	斜里町
		9:30~11:30	  北海道の地域母子保健の現状と対策3:羅臼町町役場、国保診療所		
6月12日	水	午後	副町長 鈴木日出男、担当 長内保健師 他帰路	黒田緑	羅臼町
6月13日	木	13:30~	活動評価2:疫学調査の方法(研修員のアクションプランに基づく)	望月吉勝	小会議室
6月14日	金	9:30~ 13:30~	Nursing Processに基づく問題解決 3. action plan作成	黒田緑	小会議室
6月17日	月	9:30~ 13:30~	Nursing Processに基づく問題解決 3. action plan作成 Nursing Processに基づく問題解決 4. モニタリングおよび評価	黒田緑	小会議室
6月18日	火	9:30~16:00	Nursing Processに基づく問題解決 4. モニタリングおよび評価	黒田緑	小会議室
6月19日	水	9:30~16:00	Power Point 作成	黒田緑	小会議室
6月20日	木	9:00~12:00 13:30~15:30	Action Plan発表 評価会	JICA北海道	大会議室
6月21日	金	11:00~	閉講式 Farewell Party	JICA北海道	大会議室
				7-71	ダー 黒田 緑

コースリーダー 黒田 緑

## 依頼稿(報告)

# 2013 年度 JICA「アフリカ地域 地域保健担当官のための 保健行政」コース〜受け入れ6年目を終えて〜

藤 井 智 子\* 吉 田 貴 彦\*\* 伊 藤 俊 弘\*\* 北 村 久美子\*\*\*

#### 1. はじめに

2008年度(平成20年度)から始まった本研修コース「アフリカ地域 地域保健担当官のための保健行政 (Health Administration for Regional Health Officer for African Countries)」は、独立行政法人国際協力機構 (JICA) 札幌国際センターが担当し、本学に研修運営を委託され実施するものである。協力年限は3年であったが、一期目の最終年度である2010年度研修終了後、引き続き研修の依頼を受け2011年度から二期目がスタートし、今年度がその最終年であった。最初は西アフリカ地域に限定で8人の研修生から始まった本研修であったが、2年目より他のアフリカ地域からの強い要望により地域が拡大し、6年経過した現在、合計13カ国、累計66人の研修生が本学で研修を積んだことになる(表1,図1)。

2000年9月、国連総会(ミレニアムサミット)に おいてミレニアム開発目標(Millennium Development

表1 受け入れ研修員の出身国と人数

		2008	2009	2010	2011	2012	2013	累計
北	モロッコ					1	1	2
西	ガーナ	3	2	2	3	2	2	14
	ナイジェリア	2	2	1				5
中	リベリア	2	1	2				5
部	シェラレオネ	1						1
	エチオピア		1	2	2	2	2	9
	ケニア		2	1		1	1	5
東部	タンザニア		1	1	3	2	2	9
部	ウガンダ			1				1
南	マラウイ				1	3	2	6
部	ジンバブエ				3	1	1	5
	レソト					1	2	3
	南アフリカ			1				1
	合計	8	9	11	12	13	13	66
	D HI	4カ国	6カ国	8カ国	5国	8カ国	8カ国	13 カ国

Goals; MDGs) が採択された。そこでは、1990年を基準値として、2015年までに達成することを目指す8つの目標が提示されている。そのうち3つは保健に関わる目標であり、乳幼児死亡率の削減、妊産婦の健康状態の改善、及びエイズ、マラリア、その他感染症対策が掲げられている。しかし、2015年の評価年が近づいている今、未だアフリカ諸国の多くは目標達成の困難に直面している。子どもの福祉の極めて重要な指標の一つである5歳児未満死亡率(出生1000人あたりの死亡数)の2011年の推定値が高かった国をみると、100以上の値を示した国は24カ国あり、そのうち23カ国がアフリカ諸国であった1)。MDGsでは、1990年と比較して5歳未満児の死亡率を2015年までに3分の1に削減するとしているが、改善されてはいるもののサハラ以南のアフリカ諸国では4割減に



図1 研修員の出身国

<sup>\*</sup>旭川医科大学 看護学講座 \*\*健康科学講座 \*\*\*名誉教授

とどまっており、特に西・中部アフリカは依然厳しい数値である(表 2)。また妊産婦の健康状態、エイズ等の状況も世界と比較すると厳しい現実である(表 3)。こうした状況から日本もアフリカ地域における貢献を重視しており、2013年6月に横浜で開催された第5回アフリカ開発会議(The Fifth Tokyo International Conference on African Development; TICAD V)において、MDGs の達成に向けた努力をさらに加速化するべきでありその実現に向け格差の解消、保健システムの強化が必要であると表明している $^2$ )。

本研修の対象者は主に地方の保健行政を担う者たちである。アフリカの地方は、当然のことながら中央に比べ更に保健医療従事者の不足および予算不足が深刻で保健行政が脆弱という医療問題を抱えている。それは日本も同様で特に本学の位置する道北地域は広大な面積に人口が分散し人材確保が困難な地域であり、人々の健康を守るためにはより工夫が要求され、現在でもなお各自治体や医療機関の努力が続いている状況である。このような経験を伝え共有することは、開発途上国における地方の問題解決の手がかりになると考える。

地域住民の要求にかなった持続可能な地域保健システムを提供するには、適切な行政、保健計画の策定・ 実施が必要とされる。よって本研修は、地域保健計画 策定に重要である地域保健行政官の地域保健問題にか かる地域保健計画策定を支援することを目的として実 施するものである。

以下、6年目の本年度研修報告をさせていただく。

表25歳児未満死亡率(出生1000人中)の前進の速度

	年	1970	1990	2000	2011
ア	サハラ以南	236	178	154	109
フリ	東部・南部	214	162	135	84
カ	西・中部	259	197	175	132
	日本	18	6	5	3
	世界	141	87	73	51

p95,136-139 からデータを一部抜粋 1)

表3 アフリカの各保健指標 2011年

				-	
		成人の HIV 感染率(%)	平均余命	合計特殊 出生率	妊産婦 死亡率*
ア	サハラ以南	4.8	55	4.9	500
フリ	東部・南部	7.0	56	4.5	410
カ	西・中部	2.6	53	5.3	570
	日本	< 0.1	83	1.4	5
	世界	0.8	69	2.4	210

pl23, pl31 からデータを一部抜粋  $^{1)}$ 

\*2010年調整値

#### 2. 2013 年度研修の概要

#### (1) 研修期間

2013年6月25日~8月10日(47日間)

(うち技術研修期間:7月1日~平成25年8月8日、 39日間)

#### (2) 対象国および参加研修員人数

エチオピア(2)、ガーナ(2)、ケニア(1)、レソト(2)、マラウイ(2)、モロッコ(1)、タンザニア(2)、ジンバブエ(1) の13名であった。(カッコ内は人数)医療職者は医師3名、看護・助産師1名、であり、他9名は保健行政サービス(事務・管理・財務・人材育成など)を担当していた。

#### (3) 研修目標

本コースは、講義、演習、視察、総合討論を通して、 我が国の保健行政に関する基本的理念について制度や 組織の歴史的変遷と合わせて、地方保健行政の取組の 変遷および現在の状況を把握・理解し、参考とするこ とにより、研修員出身国での健康保健問題解決の一助 となることを目指している。各自が作成した地域保健 計画 (アクションプラン) の構成と内容について、プ レゼンテーションによる説明を受けて評価している。 具体的には、i) 自国や所属地域の保健医療にかかる 現状分析ができているか、ii) 地域保健計画に必要な 課題設定、課題解決の方法、評価などの基本要素が理 解できているかである。最終的に、地域の保健医療行 政担当官が所掌地域の保健医療計画および行政サービ スの向上に資する具体的かつ実現可能な改善提案を提 出し、帰国後、所属組織において検討され実践するこ とを期待している。

#### 3. 研修内容および達成度

#### (1) 単元目標

研修目標を達成するための単元目標を5点あげた。 単元目標毎に研修内容を講義、演習、視察、ディスカッション別に整理した(表4)。

#### (2) 研修デザインと主な内容

全体のデザインとしては2012年度とほぼ同様で、6週間の設定のうち、最初に研修員の自国での役割の位置づけ、国、地方の課題についてカントリーレポートとして報告することから始まり、本学内での講義、演習、3泊4日の道北スタディツアーや各現場を視察す

表4 カリキュラム全体の構成

	研修方法						
単元目標	講義 主なテーマ	演習	視察 道北スタディーツアー (3 泊 4 日 ) 含む	交流 ディスカッション			
①日本の保健・医療・福祉の体制と 制度について学ぶ。	・日本の衛生・労働・環境行政、健康増進・疾病対策 ・日本の環境保健・産業保健、環境保健行政 ・日本の感染症対策・寄生虫対策・結核対策 ・日本の医療供給体制の概要 ・日本の保健統計の動向 ・日本の社会福祉・介護保険制度 ・日本のハンセン病対策の変遷と人権侵害 ・日本の健康診断事業 ・日本の公衆衛生看護・開拓保健師の歴史 ・日本の出産の歴史と現状 ・日本の小児看護の歴史と現状 ・大学と地域・国際連携(学長) ・生活習慣病の基礎 ・学校保健と養護教諭の役割		旭川医科大学病院 - 入退院センター - 外来 感染予防 - シミュレーションセンター - 遠隔医療センター 旭川市内の小中学校の保健 室、授業、活動見学	ウェルカムパーティ ホームステイ ホームパーティ学生と の交流 地域交流 フェアウェルパーティ ディスカッション 《テーマ》 ①感染症・衛生状態 ②非感染性疾患			
②地域保健サービス提供計画の策定 ス提供計画本的第二 に必要と技術を習得 する。	・地域保健行政の役割 ・旭川医大病院の管理(財政・人事、物品・医療情報) ・地域保健活動に役立つ健康データの種類と収集方法 ・住民教育の方法と資料作成 ・枝幸町の保健福祉行政、財政のしくみ・予算編成 ・美瑛町の保健医療福祉システム ・住民に合ったケアプランの作成 ・食材廃棄物のリサイクルと土壌改良 ・オ・ツク圏の看護師養成機関の役割 ・冬季の北海道の自然環境・暮らし ・児童自立支援教育	地域保健活動における保健活動における解析手法		③病院管理・スタッフ 教育 ④母子保健 ⑤環境保健・衛生			
③北海道の地域の 健康課題への解決 策について事例か ら学ぶ。	・北海道の保健行政・政策・財政、医師確保 ・旭川医療センターの結核医療の変遷と地域における 役割 ・枝幸町保健師活動の変遷 ・紋別市の母子保健活動の実際 ・過去の結核対策、保健推進員と共に作りあげる地 域 ・旭川ウェルビーイングコンソーシアムの概要・地域 連携		旭川医療センター病棟 名寄市立総合病院 枝幸町国保病院 枝幸町役場 ICT を活用した指導に参加 美瑛町立病院整形外科訪問 診療、美瑛町保健福祉セン ター、美瑛町保健福祉施設 見学 紋別市保健センター - 三歳児健康診査見学				
④国や地域の個別 の健康課題を特定 する技術を学ぶ。	<ul><li>PCMの手法</li><li>保健システム強化とキャパシティーディベロップメント</li><li>アフリカの事例を中心に -</li></ul>	P C M の実際 カントリーレ ポート発表会 (国別)					
⑤④の課題に基づく地域の保健活動についての企画の作成・上申と地域コミュニティでの展開について学ぶ。	to the state of th	PCM ア ク ションプラン 作成に向けて アクションプ ランのプレゼ ンテ ー ショ ン・意見交換					
医療機関(旭川医科大学 合病院、枝幸町国保病院 学校・大学:(旭川市立 医療大学 藤女子大学	上川保健所 苫小牧保健所 旭川市保健所 延研究所・北海道支部複十字総合健診センター 产病院、旭川医療センター、美瑛町立病院、名寄市立総	北海道オホーツ NPO 健康保養 日本製紙株式会 旭川市食肉衛生 旭川振興公社房 北海道家庭学校	E検査所、 産棄物課 グリーンティック	ス 近文清掃工場			

ることで理解を促進する形をとった。以下 2013 年度 新たなものを中心に述べる。

研修の前半は講義を中心に、日本の保健医療・地域

保健行政にかかわる法体系、研修員の自国での健康課題を分析していくための基礎知識として保健統計の技術や保健計画策定の過程で有効とされるプロジェクト

サイクルマネジメント (PCM) の演習を入れた。また、日本の戦後間もない時期に地域保健活動の中心的な役割を担っていた開拓保健師の活動の講義を組んだ。研修員の母国の衛生状態に近く、地域に出向いて住民と共に汗する姿は活動の参考に大いになったと思われる。

研修の中盤では、道北スタディツアーを組み、地方 保健行政の仕組みの理解のために、市・町など行政の サイズによる課題の取り組みの違いやそこで働く行政 職、各種専門職の役割を学ぶ機会を入れた。今年度新 たに視察に加わった枝幸町においては、事務職の課長 より財政の仕組み、予算編成、町の保健師からは20 数年かけて作り上げた地域保健医療福祉システムの講 義を受けた。また、ICTを活用した健康づくり支援な ど、地域の現状に合わせたより実践的な活動を見学し た。システムは一朝一夕にはできないこと、住民との 信頼関係を築きながらねばり強く時間をかけ活動する 保健師のメッセージに研修員たちは感銘を受けまた励 まされていた。専門職の人材不足の中、地域医療の中 核を担う名寄市立総合病院と枝幸国保病院との病院連 携や機能分担についても学べた。スタディツアーの最 終日には旭川大学短期大学部で、離乳食の講義を受け た。乳幼児の栄養改善が難しい地域において、地域の 産物を活かした栄養の取り方の工夫を考える一助と なった。

母子保健に関する課題が大きいアフリカにおいても、肥満などの生活習慣病の課題がみられ、アクションプランでは感染症や母子保健の課題のみならず生活習慣病予防のプランも報告されている。研修員は自国においては保健行政のリーダーであり管理する役割を担っている。リーダー自ら自分の健康を守り指導していく立場であることから研修中に自分の健康を振り返る機会になるよう、研修の初日と終日の2回、体重、体脂肪率、腹囲を測定、その変化を確認した。また初日に万歩計を渡し、生活を振り返るきっかけをつくった。このことで運動習慣や食事のあり方に関心を寄せるようになり研修中に4kgの減量に成功した者もいた。

昨年度から1日単位で研修内容をまとめる"日報 daily Report"と研修内容からトピックスを選び、各国の状況の情報交換・討論を実施し活発な討議がなされている。研修の合間には、日本や日本での生活にな

じんでもらえるよう、ウェルカムパーティ、ホームスティ、地域の祭りや花火大会への参加なども企画した。本年度新たな取り組みとして、国際保健に興味のある医学生を交えてディスカッションを行い双方にとってよい影響をもたらした。学生にとって日本とまったく違うアフリカの現状を聞くことは日本の良さや課題に気づくきっかけとなり、国際的視点を含めた広い視野で今後学んでいく動機づけになったと考える。

後半は、食品、環境、産業保健を中心に視察し、人々の健康を守るための衛生確保の重要性と環境保護・資源の有効活用の必要性を学んだ。終盤は研修最終日のアクションプラン作成に向け各自アイディアを練り作業を行った。研修の集大成として、研修員が司会を務めアクションプランをプレゼンテーションし活発なディスカッションがなされた。

#### (3) 研修の達成度

研修終了後に、研修生に単元目標ごとに自己評価をし、意見を書いてもらっている(表5)。自己評価による達成度測定の結果、A(達成した)またはB(ほぼ達成した)の回答が多く、ほぼ全員が達成する成果が上げられた。単元目標⑤のみ無回答者が7名だった。自由記載にアクションプランを精査し、地域で活用されるファイナルプランとなるにはもっと時間が必要だったと意見があり、熟考する時間が足りないと感じていたようだった。

今年度のアクションプランのテーマは、効果的な保 健医療サービスを提供するためのミーティングの在り 方、病院管理、職員の生活習慣病の予防、母子保健医 療サービスの向上、人材育成プラン等多様であった。 夢物語ではなく、課題を分析し、実現可能な方法の提 案、評価やモニタリングの指標も取り入れたものに なっていた。

このように、講義、演習、視察を通し、保健行政に 関する基本的理念を公衆衛生ならびに公衆衛生看護の 歴史や制度を通して把握し、地方行政改善のための取 り組みを多角的に学ぶことができた。その結果、自国 の地域のアクションプラン作成の基礎力を身につける ことができたと考える。

#### 4. 終わりに

二期目の最終年を迎え、研修内容は毎年微調整され

表5 目標の達成度

単元目標		←達成	未達用	無回答	
半儿日际	Α	В	С	D	無凹台
① 日本の保健・医療・福祉の体制と制度について学ぶ。	10	3	0	0	0
② 地域保健サービス提供計画の策定に必要な基本的な知識と技術を習得する。	9	4	0	0	0
③ 北海道の地域の健康課題への解決策について事例から学ぶ。	11	2	0	0	0
④ 国や地域の個別の健康課題を特定する技術を学ぶ	10	3	0	0	0
⑤ ④の課題に基づく地域の保健活動についての企画の作成・上申と、地域コミュニティでの	3	3	0	0	7
展開について学ぶ					

- 感染症についての内容は重要。その対策と医療機関のシステムはわが国における指針となるだろう。
- ・日本の結核予防対策、最新の設備と有能な人材による総合的な健康診断に感銘を受けた。 ・様々な訪問により日本の保健業務がどのように運営されているか理解できた。
- ・PCM およびリーダーシップについての時間が十分ではなかった。この内容はアクションプラン作成および行政能力の向上に貢 献する貴重なものである。
- ・PCM と病院管理についての講義はわが国におけるプログラム実施をサポートするための手段と指針になるだろう。
- ・健康問題に関する講義は大変実践的で的を得ている。
- ・結核は未だわが国にとって主要な健康問題であり、日本の経験を学ぶことはわが国の結核コントロールへの取り組みに貢献する。
- ・日本の衛生環境が高レベルにある理由を理解できた。 ・清潔さが人々の健康と環境にとって重要である。
- ・日本とわが国の保健行政の違いを理解できた。日本の優れた点を採択・採用し、わが国の保健行政へ修正して適用したい。
  - ・日本人は公衆衛生について理解しており、健康的な活動を行い、自分の健康は自分で守る意識が根付いていると思われる。
  - ・医療従事者は科学的根拠により公衆衛生の問題を認識している。
  - ・養護教諭システムや学校給食プログラムを通じ日本では子どもの頃から健康的な生活様式を学ぶ。日本人が健康であることの秘 訣はこのような社会システムによる。
  - ・わが国における記録の保持や保健情報管理体制は脆弱である。日本の方法を適用することで改善するだろう。ほとんどの病院は ほぼ理想的な状態であった。
  - ・枝幸町ではアフリカで多くみられる中央集権化されたシステムではなく独立した自治体として小さい町ながらうまく機能してい るようにみえた。
  - ・チームワーク、共有された目的、問題解決が重要なポイントだった。
  - ・アクションプランを精査し、地域で活用されるファイナルプランとなるにはもっと時間が必要だった。

見直されてきた。研修生は保健行政の最前線にいると はいえ各々の資格や経験が違うことからも幅広い内容 が盛り込まれ充実したものとなっている。研修中は活 発なディスカッションが重ねられ、新しい知識を吸収 する意欲に溢れ、同じアフリカ大陸の研修生という ことで終始一体感のある雰囲気であったように思う。 "You have everything!" アフリカの方々は日本の保健 医療の素晴らしさをいつも感動を持ってこちらに伝え てくれた。彼らの言葉から自分たちが当たり前だと 思っていた日本のシステムが実は先輩の弛まぬ努力の 上に作り上げられそこで活動させていただいているこ とに気づかされ、またこちらも学ばされた研修であっ

パソコンの操作もままならずキーボードをたたくと ころからスタートしたアフリカの研修員との出会いか ら6年経過した2013年、すべての研修員がパソコン

またはタブレットを自在に駆使しながら研修する姿を みて急速なアフリカの発展を感じた。しかし道具は浸 透しても健康課題においてはまだまだ改善の余地があ る。研修員は自国においては優秀なリーダーであり、 今後は道具を駆使しながら、人づくりに力を注ぎ自国 発展のために活躍してほしいと願っているところであ る。

最後に、多くの関係機関、施設等の関係者、学内関 係者に多大なるご協力を頂き、よりよい研修となりま したことに深く感謝申し上げます。

#### 引用・参考文献

- 1) ユニセフ (国連児童基金):世界子供白書 2013
- 2) 外務省: 第5回アフリカ開発会議 http://www. mofa.go.jp/mofaj/area/ticad/tc5/



PCMで課題分析の演習 半田祐二郎教授と



旭川医大シミュレーションセンターでの体験



元開拓保健師、加藤正子さんを囲んで



旭川大学短期大学部、豊島琴恵教授から離乳食の講義



上川保健所試験検査室での研修



東光中学校での保健室見学



JICA 杉下専門官の演習風景



旭川教育大学付属旭川小学校での子どもたちから歓迎



美瑛町立病院 整形外科訪問診療、味戸伸彦医師と



荒屋吉雄枝幸町長 表敬訪問 村上伸保保健福祉課長、工藤裕子保健師



ICT を活用した地域における住民の健康づくりに参加 枝幸町



旭川市食肉衛生検査所にて

## 学界の動向

# 日本麻酔科学会第60回学術集会を終えて

岩崎 寛\*

日本麻酔科学会第60回学術集会は2013年5月23 日(木)-25日(土)に札幌市のロイトン札幌、ホテ ルさっぽろ芸文館、札幌教育文化会館および札幌プリ ンスホテル (国際館パミール) にて無事に開催するこ とが出来ました。今回のテーマは「今一度、知識に知 恵を加えて社会貢献を考える」とし、特別講演とし て「日本における麻酔科学の誕生とその後の発展 | 松 木明知先生、「薬物乱用―大麻から漢方薬まで一症例 報告を予防に活用する」内藤裕史先生、そして「当た り前の暮らしを求めて」作家倉本聰様にお願い致しま した。医学生初期研修医のための特別企画として倉本 聴様が運営されている富良野グループに所属する俳優 さんにお願いして「コミュニケーションのスキルアッ プのために必要なこと」を企画させて頂きました。ま た、今回は特に会員による発表を重要視し、ポスター 発表は全て個室化された中での発表、討論と致しまし た。会場は、少し分散することになり参ましたが、日 本麻酔科学会の学術集会の参加者数(有料参加者)は 7491 名、医学生・初期研修医は 454 名そして名誉会 員 42 名の参加にて熱気ある学術集会となったと思っ ております。また、会長企画として世界の筋弛緩関連

研究の最先端の著明な研究者による教育的シンポジウムおよび発表にも多くの若手麻酔科医の参加を戴きました(写真1)。また、この学述集会に特別講演として参加して頂いたスエーデン・カロリンスカ大学麻酔科 Lars I Eriksson 教授(写真2)には学術集会の後に旭川医大に寄って頂き特別講演「適切な筋弛緩回復とは」と題して、またマイアミ大学のS Hao 教授(写真3)には疼痛制御に関する最近の話題「」につきお話いただき懇親を深めた。旭川医大の皆様、特に手術の制限にご協力頂いた外科系の先生方のご理解の中で無事に第60回学術集会を終えさせて頂きましたことを深く感謝申し上げます。



写真2



写真3



\*旭川医科大学 麻酔·蘇生学講座

## 学界の動向

# 第23回 日本光線力学学会学術集会「光が拓く未来の医療」

大 崎 能 伸\*

2013年6月7日と8日に旭川グランドホテルにおいて、第23回日本光線力学学会を主催しました。学会のテーマは「光が拓く未来の医療」と決め、ポスターの写真は、私の知人である田本君子様のご主人の田本實様が第56回写真道展で環境大臣賞/道展大賞を受賞された作品を使わせていただきました(図1)。ちなみに、6月末に主催した肺癌診断会・画像診断セミナーでは奥様の写真を使用させていただきました。6月初旬の旭川市は春から初夏への季節の変わり目で、新緑が深まり自然の息吹があふれかえる季節です。北海道の特徴が現れる良い季節ではありますが、気候までは事前に準備するというわけにはいきません。しかし、当日は幸い天候に恵まれ、2日間とも爽やかな晴れの日が続きました。

光線力学学会は、光の照射によって増感効果を示す 薬剤と、光の照射装置を組み合わせた光線力学療法や 光線力学診断の研究成果の報告や情報交換をする学会 です。ポルフィリン誘導体を投与すると癌病巣に集積 し、ここに赤色の可視光を低エネルギーレーザとして 照射すると癌病巣が選択的に破壊されます。この治療 法を光線力学療法 (Photodynamic therapy, PDT) と呼び ます (図2)。光線力学療法では正常部の傷害が少な く、合併症を持つ患者や高齢者の癌治療にとても優れ た治療法とされます。また、癌病巣に集積したポル フィリン誘導体に励起光を照射して、癌病巣から発生 する強い赤色の蛍光を観察する診断法を光線力学診 断 (Photodynamic diagnosis, PDD) といいます。我が国 での光線力学療法の臨床応用は早く、1980年には世 界最初の光線力学的治療が行われています。この治 療の開発が始まったのは、1960年代にメイヨークリ



図1 第23回日本光線力学学会学術集会のポスター

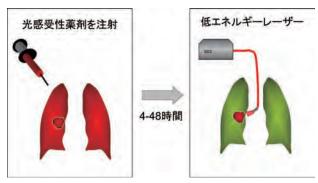


図2 光線力学療法の原理。光線力学療法では腫瘍親和性光感受性物質であるポルフィリン誘導体を経静脈的に投与します。ポルフィリンは、腫瘍細胞には高い親和性を示し、正常組織のおよそ4倍取り込まれます。この差を利用して、4-48時間後にレーザーを照射して治療します。

ニックのLipsonらがヘマトポルフィリン誘導体を開発したことに始まります。その後、ヘマトポルフィリン誘導体は様々な改良がおこなわれて、現在でも光増

<sup>\*</sup>旭川医科大学 呼吸器センター

感薬として用いられています。1978年に東京医科大学外科学第一講座の加藤治文先生が、ロズウェルパークメモリアルインスチチュートの Dougherty 教授と光線力学療法の臨床応用の共同研究を開始されました。東京医科大学での犬肺癌モデルを使った内視鏡的光線力学療法の前臨床試験が始まり、その有効性と安全性が確認されました。そして1980年に世界で初めて74歳の男性の右上葉気管支に発生した2mmの早期扁平上皮癌が治療され、完治しました。この症例は1982年にChestに掲載されています(Hayata, Y. et al., Chest, 82:10-14,1982)。その後、早期肺癌の標準的治療法の一つとして普及してきました。

1982年に厚生省がん助成金研究班(早田班)の研究が東京医科大学外科学第一講座の早田義博教授のもとに開始され、1986年には加藤先生が引き継いで加藤班となりました。この研究班によって、我が国での光線力学療法の基礎および臨床的研究が精力的に行われました。その成果を基に1989年から1992年にわたって世界で最初のフォトフリンとエキシマダイレーザーによる光線力学療法の第Ⅱ相多施設共同臨床試験が行われました。光線力学療法の有効性と安全性が確認されて、1994年に厚生省の認可をうけ、1996年に保険収載されました。

私が旭川医科大学を卒業したのは1980年で、その 後1984年から2年間道北病院(現在の旭川医療セン ター) に勤務し、1986年に旭川医科大学に助手(現 在の助教)に採用されました。当時の第一内科の坂井 英一助教授は早田班の班員で、内視鏡検査室には臨床 研究が行われていたアルゴンダイレーザーが置かれて いました。私の手元には1983年に医学書院から出版 された早田先生と Dougherty 先生が監修された Lasers and Hematoporphyrin Derivetives in Cancer の初版本があ りますが、表紙をめくると E. Sakai の署名があります。 アルゴンダイレーザーは出力が弱いために、レーザー の照射時間が長く、光線力学治療は患者にはもちろ ん、医師にも厳しい治療でした。20分ほどの照射だっ たと思いますが、当時の性能の悪い気管支ファイバー スコープに照射用のファイバーを入れて、目を保護す るゴーグルをかけてピンポイントで病変部を照射する のは腕が重くなってかなりつらいものでした。患者さ んは局所麻酔のみで、動くこともできませんでした。 1986年に大学に戻ってからは呼吸器グループで一番

後輩だったこともあって、光線力学療法は主に私の仕事でした。

日本光線力学学会の第一回学術集会は平成3年に早 田義博先生と加藤治文先生の両先生が会長として東京 で開催されました。第2回は旭川医科大学第一外科に おられた中島進先生が会長として旭川市で開催されて います。第4回が北海道大学電子科学研究所の竹村健 先生、第10回が当時岩見沢市立病院脳外科におられ た金子貞男先生が会長で開催され、私の第23回が北 海道で4度目の開催となりました。北海道での光線力 学療法の基礎研究と臨床研究は当時から盛んで、中島 進先生は新しいポルフィリン誘導体の開発と臨床応用 に早くから取り組んでおられます。故竹村先生はポル フィリン誘導体に赤色レーザー光を照射したときの殺 細胞効果の解析を続けられていました。私もお話を 伺ったことがありますが、物理学の難しいお話でとて も理解できなかったことを憶えています。金子先生は 脳腫瘍に対する光線力学療法に取り組んでおられま

光線力学療法は体に優しく、高い効果が得られる優 れた治療法です。しかし、我が国では、対象になる疾 患が少ないことから、困難な事態が生じています。我 が国での光線力学療法は、肺癌、表在性食道癌、表在 性胃癌、子宮頸部初期癌および過形成、加齢黄斑症が 保険適応となっています。旭川医科大学では、肺癌、 食道癌、子宮頸癌の治療経験があります。薬剤は、フォ トフリン、レザフィリンと眼科用のビジュダインが保 険収載されていますが、肺癌以外に使用できる薬剤は フォトフリンだけです。フォトフリンでの治療には高 価なエキシマダイレーザー装置が必要で、3500万円 以上しますしメインテナンスに年間 100 万円以上かか ります。さらに困ったことに、エキシマダイレーザー のメーカーがメインテナンスを中止してしまいまし た。旭川医科大学病院のエキシマダイレーザー装置も 廃棄されてしまいました。レザフィリンを用いた光線 力学療法では 750 万円程の PD レーザー装置を用いま すが、肺癌治療専用で他の部位に使用することができ ません。薬事法に違反するから照射装置が提供されな いのです。レーザー照射装置が無いために、日本では 適応疾患の中でレザフィリンと PD レーザーを用いた 肺癌治療しかできません。肺癌での対象になる疾患は、 気管支表層の早期がんで、その症例数は極めて少ない

のです。光線力学療法の対象になる疾患のなかでは子 宮頸癌の症例数が多く、妊孕性を保つ良い治療法とさ れています。現在はレザフィリンの対象疾患を広げる ために、子宮頸癌、胃癌、食道癌の臨床試験が進行し ており、脳腫瘍は試験の結果に基づいて近々適応疾患 に含まれます。

日本光線力学学会の直前にソウルで世界光線力学学会が開催され、参加する機会を得ました。世界の光線力学療法は、対象疾患の拡大、新規薬剤の開発、基礎研究の発展の方向性を持っています。世界で行われている光線力学療法は、良性皮膚疾患、悪性皮膚疾患、歯肉炎、網膜病変、種々の悪性腫瘍など様々な疾患に対して試みられています。更に、中国では欧米で販売されているポルフィリン誘導体の類似品を合成して、光線力学療法に使用しています。中国人研究者の発表後の質疑で、日欧米で認可されているビジュダインとどこが違うのかと質問されて、「中国ではビジュダインが高いので安い薬剤を合成した」と答えて顰蹙をかっていました。

さて、この様な情勢の中で第23回日本光線力学学

会を開催する機会をいただきましたので、テーマを大 きく2方向に定めました。一つは我が国での適応拡大 に向けた臨床研究の情報交換です。臨床研究に関する シンポジウム「PDT の適応拡大」では、肺病変に対 する新たな内視鏡治療の開発、タラポルフィリンナト リウム (レザフィリン) を用いた外来通院による肺が ん光線力学的治療、婦人科領域における PDT の適応 拡大に向けて、悪性脳腫瘍に対する光線力学的治療、 レザフィリンによる胆管癌の光線力学的治療の検討、 食道がん化学放射線療法後のタラポルフィリンナトリ ウムおよび半導体レーザーを用いた PDT の適応拡大、 胃癌 PDT は生き残れるか?の7題が発表され、各分 野での今後の展開が大いに期待されました。もう一つ のテーマは基礎研究を通じた新しい光線力学療法の 開発についてで、「Photodynamic Antimicrobial Chemo therapy-(PACT)の開発」と「細菌、ウイルスに対す る PDT の研究成果」を取り上げました。いずれも病 原微生物に対する光線力学療法に関する発表です。 PACT は物理的な滅菌ができない器具や生体の表層の 感染症の治療に期待されている技術です。旭川医科大



図3 学会終了時の集合写真。前列中央が加藤治文 JPA 会長、その向かって右側に大崎、中島進先生、 左側に Ann 先生。

学でも私たちのグループが新規ポルフィリン誘導体の 開発や、照射光源の開発を行って研究をリードしてい ます。これらの分野も競争が激しいのですが、世界の トップランナーとして頑張っていきたいと思っていま す。

特別講演は3題企画しました。特別講演1ではオハ イオ州立大学胸部外科の Patrick Ross 先生が 「Spectrum of Application of PDT to Thoracic Oncology」と題して、 ご自身の施設での肺癌に対する PDT について講演し ていただきました。アメリカでの PDT は根治的治療 としてはもちろん、気道病変の治療や他の治療法と組 み合わせた応用など幅広く適応されており、PDTの 優れた特性を巧みに利用していることが理解できまし た。特別講演2では、旭川医科大学病院で世界初めて 指先型パルスオキシメーターを臨床応用した中島進先 生が「光が拓く医療への貢献」と題して、パルスオキ シメーターの開発の秘話から現在進行している新規増 感剤の TONS504 を用いた PACT まで歴史を追って解 説してくださいました。いつもながら、中島先生の研 究に前向きなお姿や後輩を大きく育てようという気概 にあふれた素晴らしいご講演でした。特別講演3はソ ウルの国際光線力学学会会長の Wong Shick Ann 先生 が、韓国での婦人科悪性腫瘍の PDT 例を数多くご提 示され、現状について報告してくださいました(図3)。 懇親会は西川将人市長ならびに吉田晃敏学長にご出 席いただき、日本光線力学療法学会の加藤治文 Japan



図4 打ち上げ後の2次会にて。向かって左から大崎、 Ross 先生、中川さん、Ann 先生。後列左から南先生、 佐々木先生。

Photodynamic Association (JPA) 会長をはじめ、幹事と会員の皆さん、非会員の学会参加者、飛び入りの方々とともに和やかな雰囲気で行われました。最終日は呼吸器センタースタッフと打ち上げの会を行い、Ross 先生、Ann 先生も参加していただきました。大いに盛り上がり、市内の居酒屋で二次会を行って(図 4)、そのあとカラオケに突入したようです。両先生は時間の合間に旭岳に登ってきたそうです。学会に参加した方々の記念品として、是非、旭川市の地場の製品をお持ち帰りいただきたいと考えていましたので、旭川の老舗店製の染め物の風呂敷を用意いたしました(図 5)。

1日半のあっという間の期間でしたが、とても充実 した学会を開催することができました。お手伝いいた だいた皆様、ご支援をいただいた旭川医科大学第一内 科同門会をはじめとする皆様に心からお礼を申し上げ ます。





図5 記念品としてお渡しした旭川市近藤染工場の風 呂敷。下段は第23回日本光線力学学会学術集会 のプログラム右は第39回肺癌診断会および画像 診断セミナーのプログラム。

## 学界の動向

# 第19回 日本看護診断学会学術大会を終えて

原 口 填紀子\* 升 田 由美子\*\* 上 田 順 子\*\*\*

平成25年6月22日(土)および23日(日)の2日間、 旭川市民文化会館、旭川グランドホテルにおいて、旭 川医科大学病院上田看護部長を大会長とし、第19回 日本看護診断学会学術大会を開催いたしました。

学会のテーマは「チーム医療と看護診断」で、大会長講演、特別講演 2 題、教育講演 4 題、シンポジウム 2 題、学習コーナー、ミニ講演会「ひろば」を企画しました。その他、交流セッションと事例セッションを開催し、一般演題は、口演 28 演題、示説 26 演題が発表されました。本学術大会が北海道で開催されるのは初めてでしたが、全国から 1176 名の看護師、教員、看護学生の方々に参加いただき、盛況のうちに終えることができました。開催にあたり、ご支援ご協力をいただきました皆様に、お礼を申し上げますとともに、結果についてご報告させていただきます。

# I. 第 19 回日本看護診断学会学術大会の取り組みと結果

日本看護診断学会は、適切な看護を行うために看護 診断ならびに介入・成果に関する研究・開発・検証・ 普及ならびに会員相互の交流を推進し、同時に看護診 断に関する国際的な情報交換や交流を行うことによっ て、看護の進歩向上に貢献することを目的としていま す。

1995年に第1回学術大会を、松木光子大会長が名 古屋で開催しました。その後、1998年に第4回学術 大会を菊池登喜子大会長が仙台で、2002年に第8回 学術大会を新道幸恵大会長が青森で開催し、東北・北 海道での開催は11年ぶり、北海道では初の開催でし た。 2011年5月に、上田順子看護部長が日本看護診断学会理事長小田正枝先生より第19回日本看護診断学会学術大会長の委嘱を受け、開催地を北海道旭川市としました。学会のテーマは、「チーム医療と看護診断」としました。上田順子看護部長は、学会抄録の巻頭言に「複雑・高度化する医療の現場では、多職種の専門性を尊重した協働・連携するチーム医療は不可欠です。看護職は何をするのか、看護の専門性とは何かを可視化し、多職種や社会に発信することが必要です。チーム医療の推進にむけて看護職への期待が高まっている今こそ、診断の根拠が明確で、共通用語となる看護診断の意義を発信するチャンスと考えます。」と学会のテーマについて述べています。

## 1. 6月22日(土): 大会1日目

### 1) 旭川市民文化会館

メイン会場である大ホールでは、大会長講演、特別 講演 I、教育講演 I・II、シンポジウム I が開催されました。



会場:旭川市民文化会館

\*旭川医科大学 看護部 副看護部長 \*\*旭川医科大学 看護学科 教授 \*\*\*旭川医科大学 看護部 看護部長



教育講演 I 細田満和子氏

大会長講演は「挑む!チーム医療に生かす看護診断」をテーマに、上田順子看護部長がご講演されました。 1992年に旭川医科大学病院で看護診断を導入してからの、看護診断の活用と定着への取り組み、チーム医療で看護診断を活用することの意義について臨床での事例を混じえてお話し頂きました。

特別講演 I は「看護診断開発の国際化」をテーマに、NANDA-International 次期理事長 上鶴重美氏に、看護診断開発への責任、既存の看護診断の見直し、世界に通じる専門用語へ、診断概念を特定する意義、グローバル展開と組織・人材開発についてご講演頂きました。

教育講演 I は「チーム医療とは何か」をテーマに、 星槎大学共生科学部教授 細田満和子氏 にご講演頂きました。チーム医療は「専門性志向」「患者志向」 「職種構成志向」「協働志向」の4つに分類されること、 「チーム医療」は看護診断に活かすものであり、看護診断は「チーム医療」に活かせるものであることについて述べられていました。

教育講演Ⅱは「チーム医療の将来像」をテーマに、 札幌市立大学看護学部副学長・看護学部長 中村惠子



教育講演Ⅱ座長 升田由美子氏



シンポジウムI

氏に、チーム医療のありかた、厚生労働省の「チーム 医療推進会議」から見えるチーム医療の将来像につい てご講演頂きました。

シンポジウム I は、「看護診断をいかに個別性のある看護実践につなげるか」をテーマに臨床の立場、看護教育の立場から 4 名のシンポジストに発言して頂きました。臨床の立場からは、札幌医科大学附属病院看護副部長 佐々木純子氏に「看護診断教育の院内研修の現状と個別的な看護実践に向けて」、旭川医科大学病院看護師長 金田豊子氏に「看護診断のシステム化と定着に向けた取り組みに」ついて発表して頂きました。看護教育の立場からは、聖隷クリストファー大学看護学部教授 渡邉順子氏に「看護学士課程における看護過程と看護診断のカリキュラムデザイン」、日本赤十字北海道看護大学看護学部教授 河原田榮子氏に「看護基礎教育における看護診断を取り入れた講義・演習・実習の実際」について発表して頂きました。

### 2) 旭川グランドホテル

こちらの会場では研究助成報告、交流セッション、 事例セッション、学習コーナー、ミニ講演会が開催されました。

研究助成報告は、「精神看護領域における看護診断導入に関する全国実態調査 平成19年度と24年度の比較」について、帝京大学医療技術学部教授 白石壽美子氏より発表されました。

日本看護診断学会の理事が企画した3つの交流セッション、2つの事例セッションが開催されました。いずれも、多くの参加者が集い学習を深め、意見交換の場となりました。



学習コーナー

学習コーナーは、看護診断についてのちょっとした 疑問・質問について、語り合い交流を深めることを目 的に企画しました。講師は日本看護診断学会の江川隆 子理事に依頼し、「今さらきけない看護診断のはなし」 というテーマで開催し、100名を超える大勢の方に参 加して頂きました。江川理事は、看護上の問題の範疇、 看護診断と看護ケアの考え方、医療問題と看護問題に ついて述べられ、看護診断の基礎を学ぶ場となりまし た。

ミニ講演会は、北海道旭川という地域の特色をいかした「ひろば1」「ひろば2」を企画しました。「ひろば1」は「三浦綾子、道ありき」のテーマで、三浦綾子記念文学館特別研究員 森下辰衛氏よりご講演頂きました。「ひろば2」は「旭山動物園 いのちを伝える」のテーマで、旭山動物園園長 坂東元氏にご講演頂きました。両者ともに、いのちや人の生き方、そして医療につながる内容であり、大変好評でした。

### 2. 6月23日(日): 大会2日目

## 1) 旭川市民文化会館

メイン会場である大ホールでは、特別講演 II、教育講演 II、教育講演 II、教育講演 IV、シンポジウム II が開催されました。

特別講演Ⅱは「米国のチーム医療と看護診断」をテーマに、アイオワ大学 阿部典子氏にご講演頂きました。 米国におけるチーム医療の動向、チーム医療における 看護師の役割と看護診断について述べられ、看護はその専門性をどのように発揮すべきか改めて考えさせられました。

教育講演Ⅲは「クリティカルケア領域のチーム医療 と看護診断」をテーマに、北里大学大学院教授 黒田



事例セッション



特別講演Ⅱ 阿部典子氏

裕子氏にご講演頂きました。

教育講演Ⅳは「レジリエンスを学ぶ」をテーマに、 三育学院大学名誉教授 本郷久美子氏にご講演頂き、 レジリエンスの語源と使用法、レジリエンスという特 性について学ぶことができました。

シンポジウムⅡは「チーム医療の中でどのように看 護の専門性を発揮するか」というテーマで、4名のシ ンポジストに発表して頂きました。看護部の立場から 東北公済病院看護部次長 熊谷恒子氏に「看護診断を どのように浸透させ、多職種と看護診断を共有してい るか | について発表していただき、地域看護専門看護 師の立場から淀川キリスト教病院 三輪恭子氏に「退 院支援・地域連携における多職種協働の実際」、皮膚 排泄ケア認定看護師の立場から旭川医科大学病院看護 師長 日野岡蘭子氏に「チーム医療の中でどのように 看護の専門性を発揮するか」について発表して頂きま した。また、医師の立場から旭川医科大学病院血管外 科 内田 恒氏に「虚血肢治療におけるチーム医療の 取り組み」発表して頂き、薬剤師の立場から京都大学 医学部附属病院 薬剤部長 松原和夫氏に指定発言し て頂きました。チームカンファレンスなどで、多職種



シンポジウムⅡ

が看護診断を参考にしている例もあり、多職種と協働 していく中で、看護の専門性や看護診断の意味を伝え ることの重要性を再認識することができました。

### 2) 旭川グランドホテル

こちらの会場では、5つの交流セッション、事例セッション、2つの共催セミナーが開催されました。

事例セッションは、看護診断には不可欠であるアセスメントについて初心者の人達も学習できることを目的に、大会企画として開催しました。講師は上鶴重美氏、河原田榮子氏に担当して頂き、180名の方々が参加され、熱気にあふれたセッションとなりました。

### 3. 一般演題の発表

一般演題の発表は、大会2日間を通して旭川市民文 化会館で行いました。「看護診断の実践・評価」「特定



一般演題発表:口演

領域の看護診断」「教育」「電子カルテ・教育」などに 関する口演 28 演題、示説 26 演題が発表されました。 臨床や教育の現場から多数の方にご参加頂き、多くの 意見交換の場となりました。

## Ⅱ. おわりに

今回、北海道では初の開催で、旭川医科大学病院看護部でも初めての学会開催でした。大会長ならびに運営スタッフ一同、不安な思いを抱えながら学会当日を迎えましたが、全国から多くの方々に参加して頂き、看護診断を通じて交流を深め、学びの場とすることが出来ました。最後に、第19回日本看護診断学会学術大会を開催するあたり、運営およびご指導を承りました日本看護診断学会理事長の小田正枝先生、及び企画委員の皆様、ご協力いただきました本学の病院および看護学科の皆様に深く感謝いたします。



## 学生のページ

# 海外留学で学んだこと

## ―Elective Program in Tropical medicine に参加して―

吉 村 昭 人\* 鍬 本 龍 一\* 福 井 理 予\* 古 川 理紗子\* 小 松 美貴子\* 篠 原 征 史\*

### 1. はじめに

今夏、私達(医学科6名)はタイのマヒドン大学で行われました Elective Program in Tropical medicine に参加させていただきました。このプログラムを通して多くの事を学び、またそれ以外の活動を通しても様々な文化や人々に触れられたことは大変貴重な経験でした。ここですべてを語ることは出来ませんが、このプログラムを通して特に印象に残ったことを中心に書きたいと思います。

## 2. プログラムでの学び(前半)

このプログラムは主に熱帯医学についての知識や見 聞を広めることが主な目的であり、4週間あるプログ ラムを前半の2週間と後半の2週間に区切って行われ ました。前半の2週間はマヒドン大学とその付属病院 における講義がメインであり、付属の病院では熱帯地 域に多くみられるマラリアやデング熱などの症例を中 心に ward round (病棟実習) も行われました。マラリ アやデング熱などは日本ではあまり見られませんが、 タイや熱帯地域では患者数が多い病気です。とりわけ 高熱が続いて診療に来る患者に対しては真っ先に疑う 病気であり、今回のメインテーマでした。またその他 では Melioidosis (類鼻疽(症)) など、あまり日本で は聞きなれない病名も出てきており、講義の後、ホテ ルに着いてから色々と調べて改めて学ぶ機会も多かっ たです。今回私達が実習全体を通して感じたことです が、医学知識に関しては多分に不足していたというこ とです。先生の説明を聞いていても英語と知識の壁に

よって、理解が困難であることが多々ありました。歯 痒い思いも多かったですが、今回学んだマラリアとデ ング熱の2つの疾患について、わかる範囲で簡潔にま とめてみます。

### (1) Malaria

今回のメインテーマでもあり講義・実習で一番時間 が割かれていました。マラリアは熱帯雨林に住むハマ ダラカによって主に媒介されるために、それらの地域 では多くのマラリア患者が発生します。加えて他国 (例えばミャンマーなど) からタイへ熱帯雨林を通っ てきて感染するケースも多いようです。今回もミャン マー付近の国境地帯の熱帯雨林で数日を過ごした30 歳前後の青年に感染が認められていました。私たちも 夜には森林付近には近付かないように注意を受けまし た。こうした森林地域に存在するため、首都バンコク ではマラリアは流行していないようです。これはバン コクの水質の汚染にも一因があるようでした。マラリ アの診断には、まず高熱などの症状からアプローチし、 血液塗沫標本を鏡検し確定診断をしているが、マヒド ン大学にはマラリアを始めとして、多くの寄生虫に関 する資料が用意されており、顕微鏡で確認することが できました。丁度3年生前期に寄生虫学実習を終えた ばかりであり、再度学習する機会を持てました。また ward round では、熱の出るパターンや症状を実際の現 場で目の当たりにしました。このような経験は、マラ リアの流行が無い日本では得難い経験であり、タイに 留学した大きな意義であるといえます。加えて今後 益々グローバル化が進む中で、人やモノの流れもより

<sup>\*</sup>旭川医科大学 医学部医学科

ー層増えることも予想され、日本でも今後は鑑別診断 が重要になってくるのではないかと感じました。

### (2) Dengue

マラリアと並んで今回多く取り上げられていたのがデング熱です。丁度デング熱のプログラムも Elective program と並行して行われており、各国の医師や研究者と共に回ることができました。タイの国境に近い地域では、デング熱やマラリアは身近な病気であるために、高熱の患者が来るとデング熱やマラリアを疑います。デング熱は高熱や頭痛などを引き起こし、多くの場合、予後は良好であるが Dengue hemorrhagic feverや Dengue shock など重症なものに移行する場合があります。症状以外でも血液検査を行ってヘマトクリット値の上昇を確認したり、問診を行うことが大切だということでした。

## 3. プログラムでの学び(後半)

後半の二週間は地方(今回はナコーンサワン)の病院に行き、そこでも病棟を回ったり、あるいはPrimary care unit を見学させてもらえる機会がありました。加えて、在宅医療の現場も見る機会があり、自宅で感染症の治療を続けている中年の女性や、100歳を超える女性の高齢者の方を診ることができました。ナコンサワンでは、バンコクの大学病院とはまた違う、より地方の実情を垣間見ることが出来たように思います。このように、4週間のプログラムを通して大学病院から地方の在宅医療まで各々の現場を見ることができ、その違いを肌で感じることが出来ました。地方の



ナコンサワンの病院でお産の見学をした時の一枚

病院では病室にクーラーが無い病棟がほとんどであるなど、今まで経験したことがないような環境に驚きもしましたが、そうした日本とは違う海外の事情を見て医療の質や量の違いも感じられました。まだ私は日本での臨床実習を受けていませんが、その際には今回の経験と照らし合わせて比較しながら学びたいと考えています。プログラム全体を通しては、知識や英語力の壁もあり、臨床知識として学んだ量は日本にいるときに比べて正直少なかったかもしれないです。しかし、これを糧としてもっともっと貪欲に学びたいという気持ちが芽生えました。この気持ちを忘れずに今後も精進していくつもりです。

## 4. 他国の留学生との触れ合いを通して

上記以外の部分では、日本以外から来ている海外からの留学生からは多くの刺激を受けました。留学生の内訳はヨルダンから1人(医師)、オーストリアから6人(学生)、インドネシアから5人(学生)であり、学年も3年~6年とまちまちでした。

まず、彼らと対峙して感じたのは自分の英語力の絶対的な不足でした。読み書きはある程度何とかできましたが、リスニングとスピーキングに関しては大いに改善する必要があると感じました。彼らは英語力もあり、先生の説明に対しても積極的に質問をしていました。

先程も少し述べましたが、もうひとつ感じたのは留 学生の知識量の多さです。先生の説明に対して私は知 識の不足をひしひしと感じていましたが、留学生の医 学知識は豊富であり、先生の説明にもついていってい ました。ヨルダンの医師とオーストリアの学生は学年 も上であったが、しかしインドネシアの学年は3年生 であり、彼らの多くは理解していたように感じました。 これも同様に身を引き締めるものでした。やはり医学 知識や理解があった上での英語力が必要であり、これ からの学習により励まねばと痛感しました。実際に彼 らのカリキュラムや参考書を見せてもらう機会があり ましたが、オーストリアの学生は熱帯医学の厚い参考 書を英語で学んでいました。またインドネシアのカリ キュラムを聞くと私達3年生が現在やっていることは 2年生の時に既にやっているとのことでした。これら のカリキュラムの違いが良いか悪いかは別として、実 際に臨床に関する知識は必ずこれから必要になるので



ホームパーティでの集合写真

より一層の努力が必要であると感じました。

## 5. その他

講義以外の活動としてタイの文化や人々にも触れることが出来ました。王宮見学や水上マーケットなどはタイの文化や生活を感じさせてくれるものでした。タイの食事や(多くのものは辛い)や言葉の問題も大きかったですが、短い期間でも多くの経験が出来ました。

言葉の問題に関しては、大学内や病院の先生は英語を 学んでいる人が多かったです。しかし一歩外に出ると そこは英語が全く通じない世界が広がっていました。 これは今後他の国や地域に留学するに際しても、実際 に暮らすとなると、やはり現地の言葉は学ぶ必要があ り、その言語を使えて初めて現地の人々とより密接な 関係を築けると感じました。

最後に全体的な感想として、今後自らがどの地域で 診療を行うか、さらにはどの分野を専門分野とするか で学ぶ事項は大きく変わっていくと感じました。勿論 ベースとなる医学知識は必須です。しかし、すべての 事項に関してすべてを深く学ぶことはほぼ不可能で しょう。今回タイで実習をして感じたことは、自分が 将来どこで何を目的として働いていくかをもっと考え る必要があり、それが将来への大切な布石となるとい うことでした。

最後になりますが、今回の留学には本学の諸先生や 学生支援課の方々など、本当に多くの方々にご尽力い ただきました。改めてすべての方々に感謝の意を表し このレポートの締めとさせて頂きたいです。



Elective Program の集合写真

## 本学教員執筆書籍の紹介

# 高橋雅士、上甲 剛、高橋康二、栗原泰之、田中伸幸 編集 **胸部画像診断スタンダード**

メディカルインターナショナル 2013 年 3 月 25 日初版 A 5 版 334 ページ 税込価格 6300 円

高 橋 康 二

最近の医学における画像診断学の急速な進歩、診療における重要性の増加、領域の細分化に伴い、非常に多くの画像診断の書籍が出版され、書店においても広いスペースを占めるようになっています。胸部画像診断の領域においても、すでに多くの優れた教科書が出版されている。その様な状況下、今回、我々が刊行した「胸部画像診断スタンダード」は、従来の教科書とは異なる全く新しいコンセプトのもとに企画、執筆された教科書といえます。

日本胸部放射線研究会 (JSTR: Japanese Society of Thoracic Radiology) は、日本医学放射線学会の中の胸部放射線科医の学術集団であり、実際の活動を支えているのが NPO 法人日本胸部放射線医学研究機構であります。この JST R のなかに、2010 年秋、胸部放射線診断の発展を目指して研究教育リエゾンが設置され、胸部放射線診断医教育プログラム選定タスクフォースが結成されました。その活動の一環として、胸部画像診断を学ぶ際の標準的指標となる成書が必要であるとの要望に基づき本書の出版が企画されました。

従来の教科書と一線を画するこの教科書の特徴とし

て、1) 日本の胸部放射線医学のプロフェッショナル 集団である JSTR の主だったメンバーが直接執筆、監 修を行っていること。2) 医学放射線学会専門医研修 ガイドライン 2012 年度版に準拠した内容であること。 があげられます。

本書は、放射線医学専門医試験および診断専門医試験を目指す放射線科医師のテキストとして、また日常診療で胸部画像に接する呼吸器科医、内科医、研修医の先生方においても、要点を整理した包括的な教科書となっています。各項目は基本的に見開き2ページにまとめられており、臨床事項、画像診断の要点に加えて病態生理・病理像について記載されている点が、画像所見を病態生理と対応させて理解するという本書の特徴となっています。またガイドラインに準拠し、各項目には基本的水準である「放射線専門医レベル」か、一歩進んだ「診断専門医レベル」かが示してあり、効率よく試験対策が出来るように配慮されています。本書がこれらの目的のために効率よく使用され、多くの医師が胸部画像診断を学ぶ際の一助となることを編集委員の一人として心から祈っております。

(旭川医科大学病院 放射線部)

## 本学教員執筆書籍の紹介

## 鈴木昭広・岩崎寛 編集

# 麻酔の前に知っておきたい手術手順と麻酔のコツ

羊土社 2013年6月10日 第1版発行B6変型判 255ページ 3,800円+税

鈴木昭広

旭川医科大学麻酔科蘇生科は全国の麻酔科の中でもactivityが高く、教室員が和気あいあいと楽しそうに働いていることで有名である。その背景には心臓麻酔や神経ブロック、気道管理や超音波、筋弛緩などの独自色の強いセールスポイントがあること、さらに学生評価講義でも常に上位にランクインしている講義上手な教室員らが学会講演や各種ワークショップの講師を務めることが多々あるため、旭医麻酔科の存在感を広くアピールしていることがあげられよう。その魅力を感じとった全国の麻酔科医が短期間当麻酔科で短期研修を行い、超音波の資格試験を取得したのちに学んだノウハウを持ち帰っていくことが定着し、これまでに数多くの国内留学者を受け入れ、旭川医大の種を全国に広め続けている。

今回紹介する羊土社の書籍「麻酔の前に知っておきたい手術手順と麻酔のコツ」は、当教室の activity を牽引する若手麻酔科医、ならびに当教室で研修をして地元に戻った人、また教室員と縁の深い全国の麻酔科医とで執筆した「キョクイ流」の麻酔指南書といえる。

編者の鈴木は麻酔科医生活 17 年を経て、今の旭川医大麻酔科に+ a の魅力を付加し、かつ今後必ずや必要となるであろう集中治療を学ぶべく、一度手術室の世界から出て、手術の前そして手術後の世界を垣間見ることを決意した。そこで救急集中治療医学講座への配属を願い出、教室の仲間たちの理解を得て 40 歳を過ぎてから 5 年間の修業期間をいただくことができた。初期研修制度もなく、専門科への直接入局がほとんどの卒業生の進路だった時代に麻酔科に入局し、専門性を高めることだけに邁進してきた自分にとって、手術室の外に広がる未知の世界は刺激に溢れ新鮮であったと同時に、逆に今まで過ごしてきた手術室内の出来事が宝の山であることに気づかされることとなった。

麻酔科医は手術麻酔ではせいぜい1日に多くても10名に満たない患者としか向き合うことはない。大学は長くて challenging なケースも多く、1日に1名の患者ということもざらである。これは外来や病棟患者を抱える麻酔科医以外の医師たちが、数十人から時には百人近い患者と日々向き合うのとはきわめて対極的である。しかしそれだけに、麻酔科医は1例1例と深く向き合うことで、目の前にライブで広がる手術や、患者のヒストリー、各種の画像所見やカルテ内容から、実に様々なことを濃厚にかつコンパクトに学ぶことができる非常に恵まれた職種なのである。

救急外来や ICU での生活では、緊急処置の際のド レーン留置や固定など、いままで術場で何度も見てい たはずなのに自分では自信を持ってできない自分に気 づき、診断も済んで答えのある放射線画像を見慣れた 自分が、サラの写真をみて的確な診断を行う能力が不 足していることに気づかされた。手術を行うための麻 酔を実施するだけの受け身生活ではなく、手術を介し て病気と手術を学ぶ能動的な麻酔を実践することで、 日々の麻酔は自分を麻酔科医としてのみならず、ひと りの医師として成長させる大きな力を秘めていること を再認識させられたのだ。自分の日々の行動を変化さ せることで、麻酔科医の持てる潜在能力を今以上に、 かつ術場の外でもいつでも役に立てることができるよ うに拡張することができることを実感したのである。 「1つの症例ともっと密に関わりあう重要性」、この気 付きを自分だけで留めておかず、仲間の麻酔科医にも 伝えたい、という思いから本書籍のアイデアは生まれ た。手術の流れを知ることで、麻酔は今以上に楽しく 有意義な勉強の場にもなる。さっそく、鈴木が研修医 向け雑誌「レジデントノート」の連載記事を執筆させ ていだたいている関係から、羊土社のつてを利用して 企画を持ち込み、教室と教室 OB ともいえる仲間たち

の執筆協力を得て"メイド・イン・キョクイ"的な書籍刊行が実現した。書籍はこれを記念し、岩崎教授が会長を務めた日本麻酔科学会の開催日を狙って発行されることとなった。新しい旭川医大麻酔科の魅力を全国に知らしめる一石となったと考えている。

また、本書は主に初期研修医をターゲットに作成され、初期研修時代に麻酔科を回った医師に麻酔科の魅力をもっと伝える原動力となることを期待しているの

だが、研修医だけではなく、術場看護師にも人気があるようで思わぬ副産物となった。機会があれば改訂を重ね、今回盛り込めなかった心臓麻酔など、より踏み込んだ手術と麻酔のコツを紹介できればと目論んでいる。卒業生OBの皆さんの周囲の麻酔科医、初期研修医や術場ナースに是非ご紹介いただけると幸いである。

(旭川医科大学 麻酔・蘇生学講座)

## 旭川医科大学 回顧資料(15) 昭和62(1987)年度

# 下田晶久教授が第3代学長に就任

昭和62(1987)年度の出来事を回顧してみよう。

年度初日にあたる4月1日、日本国有鉄道(国鉄)が110余年の歴史に幕を閉じて分割・民営化され、JR東日本など11法人および国鉄清算事業団が発足した。一方、自動車交通網の面では、9月9日に東北自動車道・首都高速道路が連結し、青森・熊本間2000余キロが完通した。

5月3日、兵庫県西宮市の朝日新聞阪神支局に覆面男が侵入し発砲、記者1人が死亡し1人が重傷を負った。 憲法記念日に起きた、暴力によるこの言論封殺事件は、「言論の自由」を謳う憲法への重大な挑戦として、朝日 新聞社だけでなくマスコミ界がこぞって犯人検挙に向けた大キャンペーンを展開した。しかし、犯人もその背後 関係もいまだに不明である。

7月29日、東京高裁は、ロッキード事件の被告である田中角栄元首相らの控訴を棄却した。被告側は直ちに最高裁へ上告した。それに先立つ7月4日、自民党田中派の重鎮であった竹下登は、すでに田中派の面々の多くを従えて「経世会」を結成していた。事実上の派閥「竹下派」の結成であった。キングメーカーとも言われ隠然たる実力を保持していた田中角栄も、こうしてその影響力を徐々に退化させていった。

10月19日、すでに5年近くにわたって自民党総裁の座にあった中曽根康弘が、自民党の3人の実力者である竹下登・安倍晋太郎・宮沢喜一の中から竹下を次期総裁に指名、これを受けて31日の臨時党大会において竹下が総裁に決定し、11月6日に召集された臨時国会において竹下内閣が成立した。

それに先立つ9月18日、宮内庁は昭和天皇の腸疾患を発表した。同22日、天皇は宮内庁病院に入院し手術を受けた。同日の閣議では、国事行為は皇太子明仁が代行することが決められた。10月25日、皇太子は天皇の名代で沖縄国体に出席した。今にして思えば、昭和はすでに1年余を残すのみとなっていたのである。

この年は史上空前の株価乱高下の年でもあった。1月30日には初の2万円台を記録していた日経平均株価であったが、10月20日にはニューヨーク市場暴落を受けて3800円を超える過去最大の下げ幅を記録した。しかし翌21日には反騰し、2000円を超える最大の上げ幅となった。

11月29日には、大韓航空機がミャンマー上空で突如として行方不明になった。数日後にバーレーンで逮捕され韓国に連行された北朝鮮の金賢姫(キム・ヒョンヒ)が、翌昭和63(1988)年1月15日、金正日の指令で同機を爆破したことを自供した。

医学関連の話題に目を転じると、最大の朗報としては、10月12日に利根川進博士に日本人初のノーベル生理学・医学賞が授与されたことが挙げられる。とはいえ同博士がアメリカのマサチューセッツ工科大学の教授であったため、手放しで快哉を叫ぶ声のほかに、日本人の頭脳流出を残念がる声や、アメリカの研究環境をうらやましがる声などもマスコミを賑わせた。他方、9月22日には、厚生省(当時)の研究班が、血友病患者の38.8%が輸入血液製剤でエイズ感染しているというショッキングなデータを発表した。この大規模感染は、ほどなく「薬害エイズ」として刑事事件にまで発展することになる。

文化面では、「時代の波」を意識させられた出来事として、大正時代に澤田正二郎によって旗揚げされ一世を 風靡した劇団「新国劇」が、人気低迷のため辰巳柳太郎・島田正吾の提案により9月7日の総会で70年の幕を 閉じたことが特筆される。

この年の流行語には、映画「マルサの女」(伊丹十三監督)が一躍有名にした、国税局査察官を指す語「マルサ」のほか、「目が点になる」「ピンポーン」などがあった。流行歌では、「命くれない」(瀬川瑛子)、「雪国」(吉幾三)、「無錫旅情」(尾形大作)などがヒットし、演歌が最後の煌めきを示した年であった。映画では「マルサの女」を

はじめ、「ハチ公物語」などがヒットした。

年が改まった 1988 (昭和 63) 年の 3 月 13 日には、世界最長 53.9 キロメートルを誇る海底トンネルである青函トンネルが開通している。

さて、この1987 (昭和62) 年度に我が旭川医科大学では、7月1日付けで第3代学長が誕生した。1949 (昭和24) 年に北大医学部を卒業し、同助手・講師などを経て、1973 (昭和48) 年に旭川医大が開設された当初から病理学第一講座教授を務めていた、下田晶久氏である。

今回の回顧資料として挙げるのは、学長就任当初に広報誌「かぐらおか」に掲載された、「就任にあたって」と題する文章である。冒頭部で下田学長は本学を、「最早 "新設医大"の域を脱して、言わば青年期に入った大学」と位置づけている。この文章中で、「全国的な医師過剰の予測が明確となり、養成数の逓減が打ち出された今」という表現に出逢う。誰しも「隔世の感」を禁じ得ないであろう。

(旭川医科大学 歴史・哲学 藤尾 均)

=回顧資料=

# 就任にあたって

学長下 田 晶 久

黒田前学長の任期満了ご退官の後を受け、第3代学長として、卒業生累計897名、大学院課程博士57名を送り出した旭川医科大学を、7月1日付けでお預かりする事になった。思えば昭和54年春、初めての卒業式に社会の耳目が集まり、同時に大学院が開設されて初の入学者10名を迎え入れた頃の事は、副学長として初代山田学長のお手伝いをする立場にあった為か未だに記憶に新しい。その頃に較べると現在の旭川医大は、上記の数字を見ただけでも最早"新設医大"の域を脱して、言わば青年期に入った大学と言えるであろう。ここに至るまでに関学以来13年余りの月日が経っているが、その間に払われた教職員・同窓生、学生等全ての人々の努力の賜物として本学の今日がある事を思う時、一層の発展を期して舵取りさせて戴く重責を痛感する次第である。

一般に学問の府としての大学には、研究と教育と言う二つの機能が求められている。研究には、時流に左右されない純粋な学理の追求から、その時代々々における社会の要請に直接応える研究まで選択の幅は広い。これらの研究活動にも必然的に、次の世代を担う人材を育てる教育行為が含まれていることは言うまでもない。一方、狭義の高専教育機関と位置付けられる大学の教育は、学生に職能を身に付けさせる専門教育を目指している。戦後我が国の社会の高等教育志向がもたらした大学の急増が、今ようやく反省期を迎え、大学の自己評価を求める声が高まって来た。評価の基準は何かと言う事になると論議の多いところであろうが、本来大学が備えるべき二つの機能のそれぞれについて問うと同時に、両者の均衡の程度も問われなければなるまい。加えて医科大学の場合は、教育・研究に欠かせない附属病院が即地域住民に開かれた医療提供の場となっており、日常の診療行為も亦評価の対象となる。そうして終局的には、卒業生一人々々の活動に現れる成果こそ最も重要を評価対象であろう。

言い替えると、大学の知的生産には、学問的成果や技術開発と共に、専門的能力を備えた人作りがあると言えよう。医科大学の場合は特に後者を大切に考えなければなるまい。それは卒業までに6年間、研修医として2年間、さらに2・3年の経験を積んで初めて独り立ちするのが医師の一般的なコースであり、新鮮を感覚と情熱を抱いて入学する若人の多くが、多感な青年期の十年余りを過ごす場となっているからである。孟母三遷の故事に俟つ迄もなく個人の生い立ちはその環境に左右される処が大きい。医師は、疾患そのものを対象とするに留まらず、疾患を持つ患者を全人的に癒やさねばならない。それに相応しい人間性を培う場が医科大学である点に思い

を致すとき、その環境作りの重要性が浮かび上がって来る。

他方、旭川医大を取り巻く外部環境の一つに北海道の医療事情がある。この地に新設が決定した要件の一つであった道北地方の医療過疎もこれに含まれる。医師養成に要する年月を思えば、未だ々々求めに応ずる人材を貯えるには至っていないと考えられるが、少なくとも総合的な医師配置のルール作りに、本学も積極的に参画すべき時期に来ていると思われる。大学の側からは、卒後教育の延長線上に据えるべき問題でもあろう。これにはもとより道内他大学との密接を連携が必要であり、簡単な事とは思われないが、全国的な医師過剰の予測が明確となり、養成数の逓減が打ち出された今と成っては、道民の不安と苛立ちを和らげる施策の一翼を担う為にも急がねばなるまい。

"青年期の大学"それは何と快い響きを持つ言葉であろう。未来に向けての無限の可能性を感じさせる。しかし、同時に未熟さを容認する表現でもある。その明るい未来は、これまでに築き上げられた土台の上に着実を思考と行動を積み続ける、現在の努力があって初めてもたらされる事を銘記したい。創設期の本学キャンパスには重粘土が露出し、植樹も緑化も容易に受け付けない劣悪を地質との対応に悩まされて来たが、努力の甲斐あって近頃ようやく樹々に生長の兆しが見え始めた。自然環境でさえ、工夫と努力によって改善出来る事例を身近に体験した今、学の内外を問わず教育・研究・診療上の環境整備を、教職員各位をはじめ同窓生諸氏と共に精一杯進めて行きたいと願うものである。学生諸君もどうか日々の充実を志してこれに応えて戴きたい。

# 『旭川医科大学研究フォーラム』投稿規程

平成12年5月25日 平成13年2月5日 平成21年2月9日 平成21年4月28日 平成24年9月5日 改正 平成24年9月21日

## 投稿資格

1. 投稿者は、本学教員及び本学教員から推薦され編集委員会の承認を受けた者とする。

## 投稿原稿

- 1. 投稿原稿は、未発表の原著論文(事例・症例・調査報告等も含む)及び研究報告とし、それぞれの内容は以下のとおりとする。
  - ①原著論文:研究論文のうち、研究そのものが独創的で、新しい知見が論理的に示されており、医学・看護 学等の知識として意義が明らかであるもの。
  - ②研究報告:資料的価値が高く、研究結果の意義が大きく、医学・看護学等の発展に寄与すると認められるもの。
- 2. 著作物の内容をデジタル化してハードディスク等の記録媒体に蓄積することにより、インターネット上で 公開する。

### 原稿の提出

- 1. 図表を含めてオリジナル原稿1部、コピー2部を編集委員会に提出する。
- 2. 原則として12月発行の年1回とし、締め切りについては当該年度の第1回編集委員会で決定する。

### 原稿の掲載

- 1. 原稿の採否は、編集委員会が選んだ、査読員(レフェリー)による査読の結果を踏まえ、編集委員会が決定する。査読員は原則として学外者とする。
- 2. 平成16年度以降に博士の学位を授与された者における、当該博士論文掲載の可否については、大学院博士課程小委員会の議に基づき、編集委員会が決定する。

## 執筆要領

- 1. 原稿は、日本語又は英語で書かれ、研究目的・方法・結果・考察など、論文としての体裁が整っているものでなければならない。
- 2. 原稿は、原則としてパソコンによって作成し、日本語の場合は 400 字詰原稿用紙に換算して  $30\sim35$  枚程度、英語の場合はほぼそれに匹敵する情報量を目安とする。投稿の際には、定められたフォーマットで印字した原稿に CD、USBメモリー等を添える。
- 3. 原稿には、原則として、500字以内の和文抄録、200語以内の英文の抄録、5個以内のキーワード(和英併記)を付ける。
- 4. 原稿の記載順序は原則として、表題(和英併記)、著者名、所属部局名、要旨(和英)、キーワード(和英)、 緒言、素材及び方法、結果、考察、総括又は結論、謝辞、注及び参考文献、図表説明とする。
- 5. 数字は算用数字を用い、単位は原則としてCGS単位による。特殊な単位を用いるときは、簡単な説明を加える。
- 6. 図表は本文とは別に1枚ずつ作成し、そのまま印刷可能なように明瞭に描く。写真は、原則としてモノクロで鮮明に紙焼したものに限る。図表・写真とも、番号と表題を付け、裏には論文名・著者名を明記する。また、本文中の挿入すべき箇所の右欄外にその位置を指定する。
- 7. 前項の規定にかかわらず、カラー写真の掲載が論文としての価値を著しく高めると著者が判断した場合は、 当該写真のカラー掲載を申し出ることができる。
- 8. 人名・地名に原語を用いるほかは、文中の外国語にはなるべく訳語を付ける。
- 9. 引用・参照文献とその記載方法は次の基準による。
  - ① 主要文献のみを、本文中の引用・参照順に1)、2)、3)のように番号を付したうえで示し、対応本文の右上に同一の番号を記す。
  - ② 雑誌については、著者名:論文題名、雑誌名、巻(号)、頁 頁、年号(西暦)の順に書く。Index Medicus 所載の雑誌については、その慣用略称を用いる。
  - ③ 単行書については、著者名:論文題名、書名、編集者名、版、発行所、頁 頁、年号(西暦)の順に書く。
  - ④ 訳本は、原著者名:原書名(版)とその発行年次、訳者名、書名、頁 頁、発行所、年号(西暦)の順に書く。
  - ⑤ 著者複数の場合は、主著者を含め3名までを記載し、その他の共著者は 'et al' または 'ほか' として取り扱う。
- 10. 人文・社会科学あるいは語学関係の論文にあっては、上記の様式に合わせることが望ましいが、各分野の慣例に従うことでも良い。

### 校正

1. 校正は、著者が行う。校正に際しては編集委員会が認めたものを除き、原稿の改変を行ってはならない。 編集委員会

# 編集後記

この冬は南岸低気圧が立て続けに関東地方を襲い、交通が完全に麻痺し、陸の孤島と化したところもありました。また、北上して北海道にもかなりの被害が出ました。羽田空港などで足止めされた旭川医大の教職員も、私を含め大勢いるようです。数十年に一度、あるいは百年に一度という災害がこのところ頻繁に生じているような気がします。

さて、旭川医科大学研究フォーラム第 14 巻をお届けします。本号では依頼論文が 4 編、「独創性のある生命科学研究」報告が 28 編、依頼稿が 3 編、エッセイ、学界の動向、学生のページ、本学教員執筆書籍紹介、旭川医科大学回顧資料などこれまでと同様、盛りだくさんの内容になっています。しかしながら、原著に相当する投稿論文が本号ではありませんでした。査読付き論文となります。皆様の積極的な投稿を期待します。

末筆ながら、大変お忙しい中、ご執筆下さった皆様にお礼申し上げます。

(H.H)

## 表紙解説

その呼び方は、「水、みず:日本語」、「water: 英語」、「aqua: ラテン語」、「ワッか:アイヌ語」等々、言語によって様々ですが、生物にとって不可欠の物質であることにかわりはありません。自ら動くことのできない植物は根から摂取し、動物は水を求める中でその形態を進化させてきました。特に、人間にとっては、全体重の $60\sim70\%$ 程度が水分であるという事実と共に、その発展の歴史の中で、飲料水、農業・工業用水、発電(蒸気タービン)など、あらゆる局面において欠かせない物質となっています。

19 世紀初頭より、化学式で H<sub>2</sub>O と標記されてきたこの物質は、いったいどこから地球上にもたらされたのでしょうか。 かつてアポロ 15 号と 17 号が月から持ち帰った岩石を分析した結果、地球と月の「水の水素: 重水素の比率」が 同じであることが判明しました (2013 年、NASA 発表)。 これは、本フォーラム誌(通算 7 号表紙)にて以前ご紹介した「地球と月の誕生: ジャイアント・インパクト説」を裏付けることとなりました。 更に、 古い隕石の組成物質の 比率とも一致したのです。 地球と月のみならず、太陽系全体が形成される中で、「水」が誕生していったと考えられます。 数十億年をかけた、なんとも壮大なドラマです。

通常、私たちが「水」を意識したとき思い描くのは、何でしょう? 今の季節であれば、氷、雪、あるいは、海、川、湖、雨など、固体か液体の状態が多いかと思います。しかし、ご存知のように水: $H_2O$  には、3つの態があります。すなわち、固体:氷、液体:水、ともう一つ、気体:水蒸気(実際は目に見えない)です。この3つの状態の $H_2O$ が存在するハビタブルゾーン(生命居住可能領域)は、太陽系では地球しかないようですが、最新の研究によると、地球と同じような環境を持つ惑星(ハビタブルゾーン)が、銀河系だけでも数十億個あるのではないかと推測されています。自分たちと同じような生命体が、どこかに存在するかもしれない。不思議な気持ちです。

そんな想いを抱きながら本号表紙に目を移すと、大雪山を思わせる峰々に頂いた氷雪が、やがて春を待っていたかのように、溶け水となって谷を下り、木々の芽を息吹かせながら、川となって滝壺に吸い込まれていくのでした。 そして、ふたたび、天日を浴びながら、空高く昇っていく水蒸気。

そんな「水:H2O(講座名群)の循環」の大パノラマが展開されていくのでした。

整形外科学講座 今井 充

## 本誌の刊行目的と編集方針 ~~~~

### 〈刊行目的〉

旭川医科大学の教官・研究生・大学院生等の学術研究の成果を広く公表するとともに、これを他大学・研究機関等が刊行する類誌と積極的に交換することにより、学術交流を推進し、本学の発展に寄与することを目的とする。

## 〈編集方針〉

投稿論文の採否は、編集委員会が委嘱した学外の審査員による査読の結果を踏まえ、同委員会が決定する。このほか、医学医療従事者等の生涯学習に資するため、編集委員会が執筆を依頼した論文等を、同委員会で点検のうえ掲載する。刊行は原則として年1回12月とする。

なお、編集委員会は、刊行後すみやかにインターネットの本学ホームページ及び学 術成果リポジトリ AM CoR に本誌全文を掲載する。

平成13年7月(制定)

平成19年7月(一部修正)

平成21年4月(一部修正)

旭川医科大学研究フォーラム編集委員会

## 編集委員(五十音順)

石川 一志 (看護学講座)

柏栁 誠 (生理学講座)

寺本 敬 (数 学)

廣川 博之 (経営企画部/副委員長)

藤尾 均 (図書館長/委員長)

# 旭川医科大学研究フォーラム 第14巻 (通算15号)

編集者 旭川医科大学研究フォーラム編集委員会

発行者 **国立大学法人 旭川医科大学** 代表 吉田 晃敏

〒078-8510 旭川市緑が丘東2条1丁目1番地1号

TEL 0166-65-2221 FAX 0166-68-2229

印 刷 平成26年2月22日 発 行 平成26年2月22日

# ASAHIKAWA MEDICAL UNIVERSITY RESEARCH BULLETIN VOL. 14

# **CONTENTS**

Commissions	
Cathepsin-like cysteine peptidases of Echinococcus multilocularis	2
Recent progress in medical education in Japan, for WFME global standards MAKITA Yoshio, INOUE Hiroyasu  The essence of polliative care, its history and supporting decision making	13 19
New Findings of Retinal CirculationSOGAWA Kenii	26
The essence of palliative care -its history and supporting decision-making· ————————————————————————————————————	
	30
Commissions	0.0
An Outline of "Sekiba-Samejima Library" owned by Asahikawa Medical University Library. FUJIO Hitoshi 2011/2012 Innovative Research in Life Science	36
1) Understanding the molecular genetic basis of congenital hypothyroidism ·······MATSUO Kumihiro	43
2) Retinal transplantation of dental pulp cells as a new donor cellTAKAMIYA Akira	45
2) An utilization of SLIV nevigotor interfere for precise measurement of SLIV on E. 19 EDG DET/CT	
OIKAWA Kensuke	47
4) Role of microglia-derived CNTF on remyelination TANAKA Tatsuhide  5) New approaches to understanding the mechanism of EP associated degradation by using experimental	48
5) New approaches to understanding the mechanism of ER-associated degradation by using experimental techniques in endocrinology	49
6) Flucidation of the contractile mechanism of intraocular smooth muscle using gene knockout mice	
A I/ A O T	50
7) Divergent Firing Properties of Output Neurons between Main and Accessory Olfactory Bulbs.  NOGUCHI Tomohiro	50
8) An anti-platelet effect of ONO-1301 after repeated administration KASHIWAGI Hitoshi	52
9) Development of Adeno-associated virus (AAV)-induced gene expression system in mouse	
liver tumor model	53
10) The functional role of MDL-1 in the activation of neutrophils, alveolar macrophages, and peritoneal macrophages)	54
11) Analysis of Knock-out mice to determine the role of Collectin CL-K1 during developmental stage	34
11) Analysis of Knock-out mice to determine the role of Collectin CL-K1 during developmental stage.  MORI Kenichiro	56
12) Effects of prenatal yoga on perinatal outcomes	57
13) Formaldehyde exposure in food affected intestinal immune system and carcinogenesis	FO
NAKAGI Yoshihiko 14) Specification of the determinants for host specificity of human-infecting Taenia tapeworms by the	58
comparative genomics using next generation sequencerVANAGIDA Tetsuva	60
15) Pre-clinical study on the development of a new drug for the treatment of intestinal fibrosis using	
15) Pre-clinical study on the development of a new drug for the treatment of intestinal fibrosis using probiotics-derived molecule	61
living donor liver transplantation	62
17) Correlation Between Plasma AGEs • RAGE and Retinal Hemodynamics in Patients With Type 2	02
17) Correlation Between Plasma AGEs • RAGE and Retinal Hemodynamics in Patients With Type 2 Diabetes SATO Eiichi	65
18) The function of Epstein-Barr virus-encoded microRNAs in nasal NK/T-cell lymphoma  KOMABAYASHI Yuhki	CC
19) Analysis of the cause on male infertility and habitual abortion and their application to clinical medicin	66
13/Amarysis of the cause of male infertinty and habitual abortion and their application to efficient medicing	69
20) "An utilization of SUV navigator interface for precise measurement of SUV on F-18 FDG PET/CT."	
OKIZAKI Atsutaka	. 69
21) Research of progression factors on response to hemodynamic Wall shear stress in the Carotid artery stenos	71
22) The effect of bone repair by intravenous injection of adipose tissue derived stem cells	' 1
······TAKEKAWA Masanori	73
23) Effect of the cognitive function improvement trial	75 77
24) Analysis of the specific motion of the sports injuries (jumper's knee) ············OBARA Kazuhiro 25) Hemodynamics in asymmetrical branching networks of the human retina ···TAKAHASHI Tatsuhisa	77 78
26) Lateral wedge insoles for medial knee osteoarthritis: the dose-effect relationship YOSHIDA Naoki	80
27) Analysis of neuronal death mechanism and search for novel therapeutic agent in sporadic	
amyotrophic lateral sclerosis. SAWADA Jun 28) Establishing methods of utilizing atelocollagen sheet for cardiac stem cell transplantation	81
28) Establishing methods of utilizing atelocollagen sheet for cardiac stem cell transplantationSHIMAMURA Kohei	83
2012 Innovative Research in Life Science	
Molecular analysis of the mechanism for inhibitory function of immunosuppressive macrophage	0-
Functional electrical stimulation restores mobility of the paralyzed larynxKATADA Akihiro	85 88
Development and clinical investigation of color fluoro-endoscopic dyagnosis system to obtain the	00
Drugs, Cosmetics and Medical Insturuments Act approvalOHSAKI Yoshinobu	91
Drugs, Cosmetics and Medical Insturuments Act approval  JICA Maternal and Child Health Training Course  KURODA Midori	94
Review of 6th JICA Training Course Health Administration for Regional Health Officer for African Countries	
FUJII Tomoko, YOSHIDA Takahiko, ITO Toshihiro, KITAMURA Kumiko NewsIWASAKI Hiroshi / OHSAKI Yoshinobu / HARAGUCHI Makiko / MASUDA Yumiko / UEDA Junko	101 108
Students's pages	117
Students's pages YOSHIMURA Akihito Books TAKAHASHI Kohji / SUZUKI Akihiro Material FUJIO Hitoshi	120
Material FUJIO Hitoshi	123
Editor's Note / Cover Story Forth	127