

令和4年度財団助成

研究等報告書集

一般財団法人横浜総合医学振興財団

目 次

I わかば研究助成

- ① 黒羽 一 誠 (令和3年度) 1
「精子幹細胞の運命決定に関わるエピジェネティクス関連分子の翻訳制御機構」
- ② 久保 創 介 4
「非小細胞肺癌における microRNA による PD-L1 発現制御機構の検討」
- ③ 古 宮 裕 泰 7
「全身炎症による ALS 病勢促進の機序解明」
- ④ 石 川 祐 11
「カニクイザル精巢を用いた霊長類の体外精子形成法の構築」
- ⑤ 神 卷 千 聡 14
「免疫チェックポイント制御メカニズムの解明」
- ⑥ 浦 手 進 吾 18
「加齢性腎障害における ATRAP とグルタミン代謝の役割と関連性の解明」
- ⑦ 高 山 裕 太 郎 21
「非線形ダイナミクス解析を用いたヒトてんかんネットワークの時系列変容の解明
～定位的頭蓋内脳波記録を用いた検討～」
- ⑧ 佐 治 龍 24
「拡張型心筋症に対する根治的治療薬の開発」
- ⑨ 露 木 翔 (研究途中のため報告書掲載は令和6年度予定)
「ErbB2 (Her2) 過剰発現・Tp53 欠損型胃癌マウスモデルの構築」
- ⑩ 野 上 麻 子 27
「顕性脳症患者の腸内環境の調査と新規治療法の探索」
- ⑪ 大 島 聡 人 30
「BRAF 変異高悪性度神経膠腫の耐性機構獲得機序の解明」

II 新型コロナウイルス感染症研究助成

- ① 西 井 基 継 33
「治療抵抗性の新型コロナウイルス感染症における分子病態解析」
- ② 東 條 健 太 郎 36
「肺胞上皮細胞のネクロシスを起点としたCOVID-19 の重症化機構の解明と治療法
開発」

III がん研究助成

- ① 三宅 勇平 39
「中枢神経系原発悪性リンパ腫の患者由来モデルを用いた治療耐性機序の解明」
- ② 日暮 琢磨 42
「若年性大腸癌のリスク因子としての F.nucleatum の役割の解明と新規予防法の開発」

VI 医療技術研究助成

- ① 田中 瞳（令和3年度） 46
「高齢者療養型施設の誤嚥防止の取り組みと介護職が感じる困難についての実態調査」
- ② 國光 真生 49
「褥瘡創部の細菌叢の乱れ「ディスバイオシス」は創傷滲出液の pH と関連するのか—新規創傷ケアの開発に向けた横断観察研究—」
- ③ TANG DI 53
「周麻酔期看護師が実施した全身麻酔における循環動態は、麻酔科医と比較して同等か？」
- ④ 半沢 友理 58
「周麻酔期看護師が実施する気管挿管の安全性に関する研究」
- ⑤ 保木 みか（研究途中のため報告書掲載は令和6年度予定）
「1 か月未満の児をもつ両親を対象とした育児に関する自己効力感を高めるための看護支援—妊娠期からの継続的な支援—」

V 医学・医療関連事業助成 - R3年度にて助成終了

- ① 藤本 久江（令和2年度） 62
「妊婦の適切な栄養摂取を促進する個別教育プログラムを用いた介入効果」
- ② 佐藤 純人（令和3年度） 65
「ストーマ保有者において非透明ストーマ袋が主観的ウェルビーイングに及ぼす影響に関する研究」

VI 先導的教育事業助成

- ① 藤田 浩司（研究途中のため報告書掲載は令和6年度予定）
「臨床研修医が行う研修の「場」とその後のキャリアに与える効果についての検討:地域医療の観点から」

VII 学生・研修医の学術活動等推進支援助成

- ① 山内 光 70
「臨床救急医学会」参加

② 齋藤岳尋	73
「Wilderness Medical Associates Japan WALS (Wilderness Advanced Life Support) コース」受講	
③ 平林大樹	78
「AO CMF introductory course」受講	
④ 松本舜平	79
「第128回日本解剖学会総会・全国学術集会」参加	
露木莉里衣	82
畠山雄二郎	85
三室純生	88
赤枝誠吾	92
尾澤華	94
川合真紗子	98
佐々木茜	101

VIII 学術講演会開催助成

① 中村京太	104
「世界患者安全の日のイベント」開催	
② 石川浩史	107
「第36回神奈川母性衛生学会学術集会」	
③ 光藤健司	110
「第24回関東ハイパーサーミア研究会・全身ハイパーサーミア研究会合同学術研究会」	

※目次の課題名等は原則研究助成申請時のものです

<わかば研究助成>

精子幹細胞の運命決定に関わるエピジェネティクス関連分子の翻訳制御機構

(報 告 者 名)

黒羽一誠

(共同研究者名も併記)

(所 属 部 科 名)

横浜市立大学医学部 組織学

1. 目 的

細胞運命の決定とその継承は、DNA とヒストンの修飾を中心とするエピジェネティクス制御を介した転写調節で理解されてきた。ヒストン H3 の 9 番目のリジン残基のメチル化修飾(H3K9me)は、Kb(キロベース)から Mb(メガベース)単位の巨大なドメインを形成し、転写を抑制するクロマチン高次構造の形成と核内ゲノム配置に重要な役割を果たしている。生殖細胞の出現から配偶子形成に至る過程においても、H3K9me 化酵素による時期特異的なクロマチン構造の編成がおこる。これまで申請者らは、精子幹細胞が不可逆的に幹細胞活性を喪失する時期と一致して、H3K9me 化酵素量と H3K9me 修飾レベルの上昇、ならびにその導入箇所の変化が一斉に起こることを見出しており、この転換点を「エピジェネティック・チェックポイント」と名付けた。このチェックポイントまでに H3K9me 修飾が正しく行なわれないと、精子への分化が停止して不妊となることから、H3K9me 修飾の確立が幹細胞から精子形成へ向けた不可逆的な運命決定の鍵であると予想される。しかし、この H3K9me 修飾をもたらす H3K9me 化酵素の発現上昇がどのような分子機構で駆動されるのか、については未解明である。これまでに実施してきた RNA-sequencing のデータから、H3K9me 化酵素の mRNA 量は精子幹細胞と分化細胞との間で差異がないことを明らかにしてきた。この結果は、H3K9me 化酵素の発現上昇がその mRNA の転写の増大によるものではなく、転写後の段階で制御されていることを強く示唆していることから、本研究では、H3K9me 化酵素の発現上昇に関わる転写後制御機構を明らかにすることを目的として、下記の 3 点に注目して解析を行った。

2. 方 法

(1) H3K9me 化酵素の発現上昇が、その mRNA の核外輸送、または局在化によって制御されている可能性を検証する

精子幹細胞と分化細胞における H3K9me 化酵素 mRNA の所在を、1 分子 In Situ Hybridization 法により解析した。

(2) H3K9me 化酵素の発現上昇が、精子幹細胞の分化移行に伴う翻訳活性の変化と連動し

ている可能性を検証する

精子幹細胞と分化細胞内で合成された全タンパク質を、tRNA 類似体 (O-propargyl-puromycin)の取り込み量を指標として、Whole Mount 免疫染色法により解析した。また、mTOR(細胞の増殖や成長において中心的な役割を持つリン酸化酵素)が、精子幹細胞の分化移行においても重要な役割を果たすことが知られているので、mTOR の標的因子である 4E-BP1(翻訳開始因子 4E の結合タンパク質 1)のリン酸化レベルの変化も合わせて解析した。

(3) H3K9me 化酵素の発現上昇が、その mRNA の翻訳量の変化によって制御されている可能性を検証する

リボソームプロファイリングを実施し、エピジェネティック・チェックポイントで翻訳制御を受ける遺伝子を網羅的に同定する。この方法は、細胞抽出液を RNA 分解酵素で処理した後、リボソームによって保護された mRNA(リボソームフットプリント)からシーケン斯拉イブラリーを作成し、それをディープシーケンスによって配列決定する方法である。解析された核酸配列は mRNA におけるリボソームの位置(=翻訳状況)を反映する。

3. 結 果

(1) H3K9me 化酵素の発現上昇が、その mRNA の核外輸送、または局在化によって制御されている可能性を検証する

H3K9me 化酵素 mRNA は、運命決定の前後で核内と細胞質のいずれにも存在し(図 1)、P-body やストレス顆粒のような細胞内構造体への集積も観察されないことが明らかとなった。

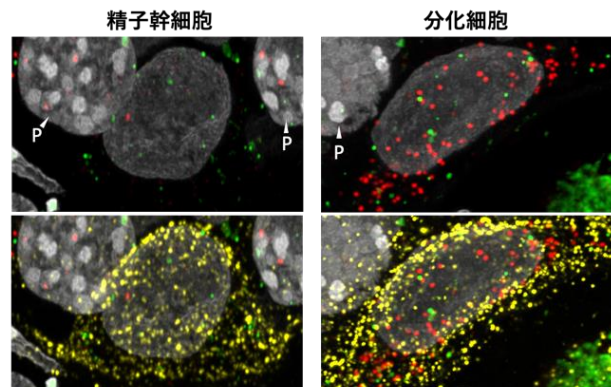


図1 1分子 In Situ Hybridization法によるH3K9me化酵素mRNAの検出。H3K9me化酵素mRNA(緑)と分化マーカーであるKit遺伝子mRNA(赤)を蛍光標識プローブで、細胞の輪郭(黄色)をEカドヘリン抗体、核(灰色)はDAPIにより染色した。P: 隣接するバキテン期の精母細胞

(2) H3K9me 化酵素の発現上昇が、精子幹細胞の分化移行に伴う翻訳活性の変化と連動している可能性を検証する

成熟過程にある精子幹細胞において、タンパク質合成全般が顕著に増加する時期は Stage 7-8 であり、P-4EBP レベルの上昇時期と部分的な相関性が見られた。一方、H3K9me 化酵素量は Stage 7-8 から徐々に上昇し最大値に達するのは Stage 11-12 であり、その他2つ

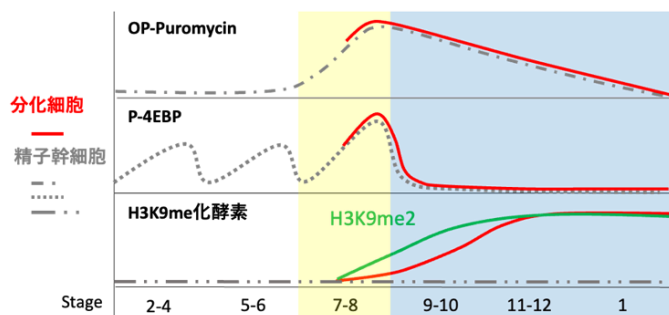


図2 精巣のステージに沿ったOP-Puromycinの取り込み量(上部)、4EBPのリン酸化量(中部)、H3K9me化酵素量とH3K9me修飾量の変動。精細管内では生殖細胞の分化に伴い、周期的な生殖細胞集団のパターン(stage)が形成され、マウスでは12種類に分類される。

の蓄積時期とは明確に「ずれる」ことが明らかとなった(図 2)。

(3) H3K9me 化酵素の発現上昇が、その mRNA の翻訳量の変化によって制御されている可能性を検証する

マウスから純化できる精子幹細胞と分化細胞数はわずかであり、多量の細胞数を必要とする一般的なリボソームプロファイリングのプロトコルは本研究に適用しづらい。従って、実験工程を簡略化し、微量試料に特化したシーケンスライブラリーの調整法を検討するため、精子幹細胞の試験管内培養系-GS細胞-を用いて予備実験を実施した。

RiboLace法(Clamer M. et al., *Cell Rep.*2018)に基づいたFootprint精製と、Rfoot-seq法(Li Q. et al., *Genome Res.* 2022)に基づくライブラリー作成手順を参考として、約5000~25000細胞からシーケンスライブラリーを作成できることがわかった(図 3)。作成したライブラリーは現在解析中である。

4. 考 察

本研究における結果(1~2)より、H3K9me 化酵素の蓄積は、1) mRNA の核外輸送や局在化、2) 精子幹細胞の分化移行に伴うタンパク質合成全般の上昇、および mTOR の活性化、の直接的な影響によって誘導されていないことを示している。これは、H3K9me 化酵素の蓄積が、タンパク質合成全般の変動に付随しているというよりは、何か選択的な制御機構によって達成されていることを示唆する。本研究により、マウスから純化できるレベルの細胞数でリボソームプロファイリング用のライブラリー作成ができるようになったことから、今後この方法を用いることで、H3K9me 化酵素 mRNA の翻訳が選択的に増加していることを示すことができるかもしれない。また、保有する RNA-sequencing のデータと組み合わせることで、精子幹細胞の分化移行で起こる転写後制御を、「翻訳」と「それ以外」の制御に分類でき、複数の制御によって成り立つ機構であることを明らかにできると予想される。

また、最近我々は、長鎖非コードアンチセンス RNA (AS-lncRNA)が、精子幹細胞の分化移行に伴ったクロマチン関連遺伝子の発現変動に機能していることを示すデータを得た。従って、H3K9me 化酵素の蓄積も、AS-lncRNA を介した経路によって達成されている可能性があり、今後はこの可能性も含め解析を進める予定である。

5. 論文及び学会発表

本研究は、全ての調査終了後に学会での発表及び学術誌への投稿を予定している。

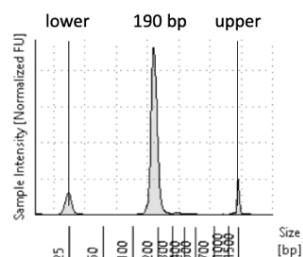


図3 本研究で作成したDNAシーケンスライブラリーのサイズ分布。Tapestation High Sensitivity D1000 を用いて解析した。サイズ分布は、174~200bpであり、予想された190bpにピークを持つ。

<わかば研究助成>

非小細胞肺癌における micro RNA による PD-L1 発現制御機構の検討

久保創介

金子彩美、小林信明、金子猛

横浜市立大学大学院医学研究科 呼吸器病学教室

1. 目 的

免疫チェックポイント阻害剤 (Immune Checkpoint Inhibitor; ICI)である Programmed cell death-1 (PD-1) / Programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) 抗体製剤は、進行期非小細胞肺癌(Non-small cell lung cancer: NSCLC)の重要な治療薬である。この薬剤は、腫瘍組織の免疫逃避に関わる PD-1/PD-L1 経路を阻害することで抗腫瘍効果を発揮する。臨床で利用できる ICI のバイオマーカーとして、腫瘍組織 PD-L1 発現率が知られているが、PD-L1 が高発現 ($\geq 50\%$) であっても奏効しない症例は存在する。腫瘍組織 PD-L1 が十分な効果予測ができない理由として、同一腫瘍組織内でも生検部位により PD-L1 発現が異なること (Munari et al, 2017)、化学療法前後で PD-L1 発現量に変化を生じること (Lacour et al, 2019)、炎症性サイトカインにより PD-L1 発現量が変動することなどが推測されている。そのため、仮に腫瘍組織 PD-L1 発現制御が十分可能となれば、PD-L1 発現を安定化させることで、ICI の治療効果を高める新規免疫療法を確立することにも繋がりうる。

事前検討として、公共データベースで NSCLC の micro RNA (miRNA) の網羅的解析を行ったところ、PD-L1 発現と相関する miRNA 12 種を見出した。本研究では、この 12 種の miRNA の中から、細胞株において PD-L1 発現と相関し、さらには PD-L1 発現を制御する miRNA を同定することを目的とする。

2. 方 法

a) 非小細胞肺癌細胞株における、公共データで同定したmiRNAの発現量の測定

6wellプレートにA549、H460を播種し、37°C、5%CO₂で48hrインキュベートした後に、miRNA easy mini kit (Qiagen)を用いてRNAの精製を行った。Mir-XTM miRNA kit (タカラバイオ)を用いて、cDNA合成を行ったの後にリアルタイムPCRでmiRNAを定量した。Mimic miRNAの導入する実験に関しては、6wellプレートにA549、H460を播種した翌日にOpti-mem mediumとLipofectamine reagentおよびmimic miRNAを加え、48hrインキュベートした。以降は上述した方法でcDNA合成およびリアルタイムPCRを行った。

b) フローサイトメトリーによる細胞株のPD-L1発現率の測定

6wellプレートにA549、H460を播種し、48hrインキュベート後に、抗ヒトPD-L1抗体 (BioLegend) またはアイソタイプコントロール抗体 (BioLegend) を加え、4°C, 30分染色した。PBSで2回洗浄した後に、フローサイトメトリーをFACSCelestaシステム (BD) で行った。FlowJoソフトウェア (BD) を使用してデータを解析し、アイソタイプコントロール抗体を加えたときの蛍光強度を陰性コントロールとし、PD-L1抗体を加えた際に高い蛍光強度を示す陽性細胞集団の割合を測定した。

c) mimic miRNAの導入によるPD-L1発現の変化に関する検討

6wellプレートにA549、H460を播種した翌日にOpti-mem mediumとLipofectamine reagentおよびmimic miRNAを加え、48hrインキュベートした。以降は2-a)で記載した方法でcDNA合成およびリアルタイムPCRを行い、miRNAの定量を行った。また、miRNAの発現とPD-L1発現率の相関関係に関して検討した。

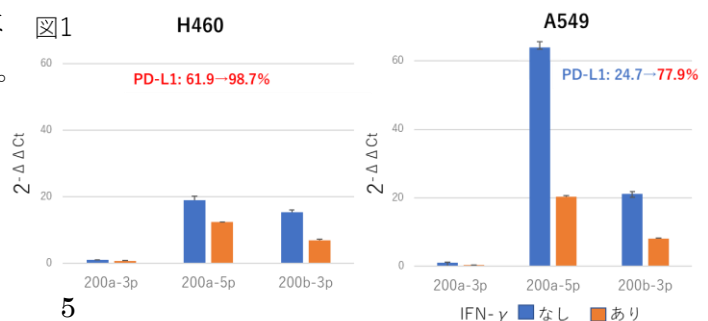
d) 臨床検体を用いた、miRNAの発現量とPD-L1発現率に関する検討

横浜市立大学附属病院および横浜市立大学附属市民総合医療センターのNSCLC患者の化学療法導入前に採取した血清を使用し、デジタルPCR(ddPCR)を用いてmiRNA発現量を測定した。腫瘍組織PD-L1発現率に関しては、日常診療の病理組織診で測定されるPD-L1の免疫組織化学染色の結果を用いた。

3. 結 果

a) 公共データベースで発現していたmiRNA12種のうち、miR3664とmiR4758に関しては、公共データから細胞内の発現量が極めて少ないことが予想されたため除外した。また、mir196a-1とmir196a-2は同一の塩基配列であり、mir196a-2は除外した。残りの9種のmiRNA(miR155、miR200a、miR200b、miR511、miR429、miR196a-1、miR615、miR100、miR410)に関して、A549細胞およびH460細胞の発現量をリアルタイムPCRで測定した。両細胞でPD-L1発現率とmiRNA発現量の逆相関関係が最も明瞭にでていたmiR200a-3p、miR200a-5p、miR200b-3pの3種に注目した(データ未掲載)。

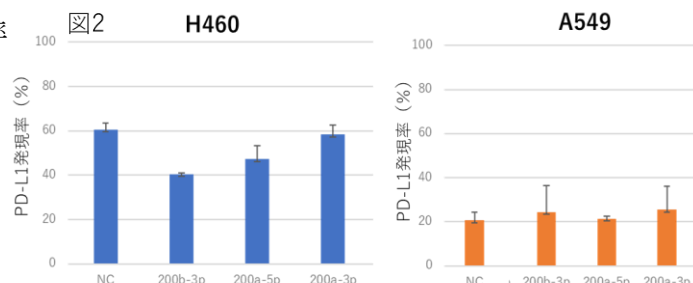
b) A549細胞とH460細胞のPD-L1発現率をフローサイトメトリーで測定した結果、IFN γ 刺激前でそれぞれ24.9%、61.9%、IFN γ 刺激後がそれぞれ77.9%、98.7%であり、どちらの細胞もIFN γ 刺激によりPD-L1発現率が増加していた。また、IFN γ 刺激によりmiRNA200a-5p、200b-3p発現量の低下を認めたが、miRNA



200a-3pは明らかな変化を認めなかった(図1)。

- c) H460細胞において、mimic miR200a-5p、mimic miR200b-3pによるmiRNA過剰発現細胞は、投与しなかった細胞と比較しPD-L1発現率が低下していたが、mimic miR200a-3pの投与ではPD-L1発現率

の明らかな変化は認めなかった。A549細胞では、いずれのmimic miRNAを負荷してもPD-L1発現率に明らかな変化は認めなかった(図2)。



- d) 2023年5月時点で収集していた患者血清15検体を用いて、ddPCRでmiR200a-5pおよびmiR200b-3pの発現量の測定を行った。病理組織検体のPD-L1免疫組織化学染色でPD-L1発現率を確認し、miR200a-5p、200b-3pの発現量との相関をピアソンの相関分析で解析したが、現時点では有意な相関関係を認めることができなかった。

4. 考 察

今回の検討で、細胞株において miR200a-5p、miR200b-3p が PD-L1 発現率と相関関係をもつことが分かった。さらに、IFN- γ による PD-L1 発現の増加、および H460 細胞では mimic による miRNA200a-5p または 200b-3p の増加による PD-L1 発現の低下を認めたことから、PD-L1 と miRNA200a-5p、200b-3p には強い因果関係があることが示唆された。今回の検討では siRNA による miRNA を低下させた際に PD-L1 発現が増加しうるのか検討できておらず、siRNA を用いた miRNA 発現低下の実験を行う予定である。また、A549 細胞では miR200a-5p、miR200b-3p 負荷で PD-L1 発現の変化が認めておらず、細胞株毎に PD-L1 発現を制御する機構が異なる可能性も考えられた。

臨床検体を用いた検討では、現時点では PD-L1 発現率と miRNA 発現量に明らかな相関関係を認めなかった。相関関係をみるのに十分な検体数ではなく、さらに検体数を増やして解析するとともに、特定の臨床背景や病理学的特徴でサブグループ化した際に相関関係を見出すことができるのか、更なる検証を進める。

5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

今回検討した上記内容を含む論文を作成し、現在投稿中である。また、2024年4月3日-5日に開催される日本呼吸器学会総会および2024年5月19日-24日に開催される American Thoracic Society(米国胸部学会)で本研究内容を発表予定である。

<わかば研究助成>

【全身炎症による ALS 病勢促進の機序解明】

古宮 裕泰

共同研究者: 小笠原 陽大, 竹内 英之, 田中 章景

所属部科: 横浜市立大学 神経内科学・脳卒中医学教室

抄録

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、進行性かつ不可逆な神経細胞の変性・脱落を特徴とした難病である。この疾患病態として、従来は神経細胞自体の機能不全や細胞死のみが注目されてきたが、一方で、外傷や感染 (含む・新型コロナ罹患) などの全身炎症に伴って、ALS 病態が加速度的に進行することが知られているが、その機序は未解明である。

本研究では、ALS モデルマウスに対し、細菌感染を模した LPS とウイルス感染を模した Poly-(I:C) の 2 種類の刺激を使用し全身炎症を惹起し、生存期間や運動機能の解析を行った。Poly (I:C) 投与群において、生存期間の有意な短縮と、有意な運動機能の低下を認めた。

本研究においてもウイルス感染を模した Poly (I:C) 群でのみ生存期間が短縮されたことはウイルス感染にともなう type I, II 型インターフェロンの上昇が ALS 病勢促進に関与している可能性を示唆した。また病理学的解析では、Poly (I:C) 群で、循環・浸潤マクロファージの中枢神経内への浸潤増加を認め、循環・浸潤マクロファージの ALS 病態への関与が示唆された。

<わかば研究助成>

【全身炎症による ALS 病勢促進の機序解明】

古宮 裕泰

共同研究者: 小笠原 陽大, 竹内 英之, 田中 章景

所属部科: 横浜市立大学 神経内科学・脳卒中医学教室

1. 目的

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、進行性かつ不可逆な神経細胞の変性・脱落を特徴とした難病である。この疾患病態として、従来は神経細胞自体の機能不全や細胞死のみが注目されてきたが、近年、発生過程で全身に分布し各臓器の自然免疫と恒常性のセンサーを担う単球系細胞が、神経系の恒常性破綻に伴って活性化や浸潤を来すことで、疾患が重篤化することが判明しつつある。その一方で、外傷や感染 (含む・新型コロナ罹患) などの全身炎症に伴って、病態が加速度的に進行することが知られているが、その機序は未解明である。

そこで本研究では、神経系・免疫系・血液系の 3 臓器連関の観点から、特に 3 者連関の担い手である単球系細胞に注目して、全身炎症による ALS 病勢促進の機序解明を目指す。我々が作出した、組織マクロファージと循環・浸潤マクロファージを各々緑色と赤色に生体弁別可能な ALS モデルマウスを用いて、細菌感染やウイルス感染を模した全身炎症を惹起し、各病期で生体分取した単球系細胞の網羅的プロファイル解析を行うことで、疾患調節因子の抽出・同定を行い、ALS の新規病勢バイオマーカーや新規治療法の創出への基盤構築を目指す。

2. 方法と結果

本研究ではすでに作出済みの ALS モデルマウス (Ccr2rfp+/+/Cx3cr1gfp+/+/SOD1-Tg マウス) を使用し以下の実験をおこなった。

1) 細菌感染やウイルス感染を模した全身炎症惹起における刺激閾値の検討

本研究では、全身炎症を惹起の刺激として、LPS と Poly-(I:C) を使用し、腹腔内投与を行った。まず野生型の C57BL/6J マウスを使用し、閾値設定を行った。

LPS に関しては、1 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、20 mg/kg で濃度設定を行った。また、poly-(I:C) に関しても、10 mg/kg、20 mg/kg、40 mg/kg で濃度設定を行い、週 1 回 4 週連続の腹腔内投与を行うことで至適濃度の検討をおこなった。(図 1)

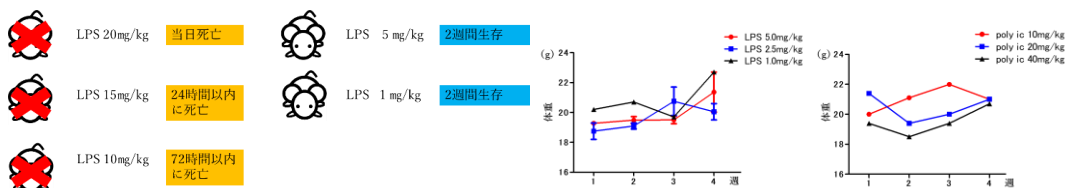


図 1. 全身炎症惹起のための刺激閾値の検討

LPS 10mg/kg～20 mg/kg においては、腹腔内投与後の数日以内に致死し、4週連続の投与には適さなかった。以上より、全身炎症を惹起するための刺激として4週連続投与可能な最大濃度として、LPSは5 mg/kg、Poly (I:C)は40 mg/kgを設定した。

2) 全身炎症にともなう、ALSモデルマウスの生存機能と運動機能解析

ALSモデルマウスであるSOD1 (G93A)-Tg (SOD1-Tg)を使用し、実験を行った。

また、同時に組織マクロファージと循環・浸潤マクロファージを各々緑色と赤色に生体弁別可能なALSモデルマウス (Ccr2rfp+/+/Cx3cr1gfp+/+/SOD1-Tgマウス) を作出し。本研究に利用した。本研究では、発症中期の12週～15週にかけて、全身炎症を惹起するためLPS、poly (I:C)の投与を行った。また、比較対象群にはPBSの投与を行った。運動機能評価として、RotarodテストとWirehangテストを用いた。PBS投与群 (n=34)、LPS投与群 (n=34)、Poly (I:C)投与群 (n=32)で生存期間の比較をおこなったところ、Poly (I:C)投与群において、生存期間の有意な短縮をみとめた。また、運動機能評価においても生存期間と同様に、Poly (I:C)投与群において、有意な運動機能の低下を認めた (図2)。また、病理学的解析では、Poly (I:C)投与群において、循環・浸潤マクロファージはPoly (I:C)群において、PBS投与群、LPS投与群に比して、有意な増加を認めた。

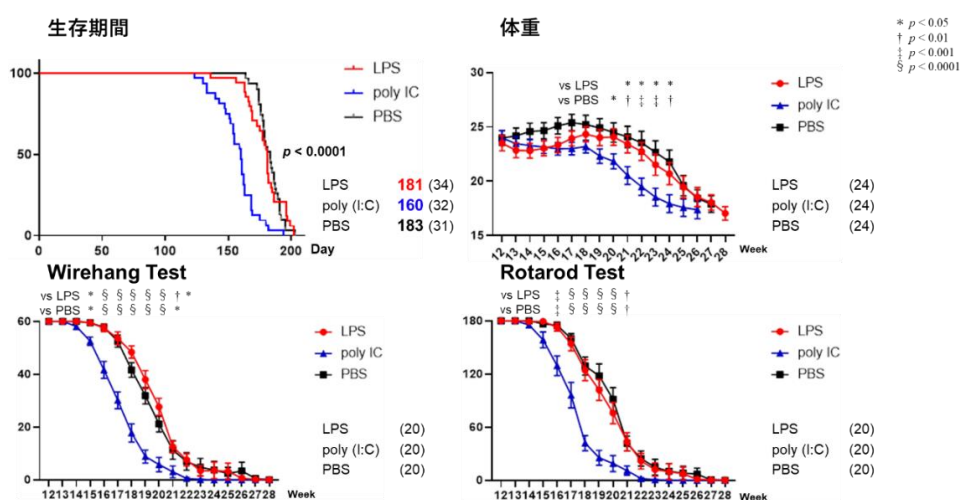


図2 各薬剤投与群における、生存期間、体重、運動機能評価

3. 考察

本研究では、2種類の刺激をもちいてALSモデルマウス発症早期に、全身炎症を惹起し、生存期間解析、運動機能解析、病理学的解析を行った。これまでにALSに関連する危険因子として、コンタクトスポーツなどに伴う反復性頭部衝撃や外傷性脳損傷などが指摘されている¹。また、ALS患者の手術による影響を検討した報告では一時的にALS症状の進行速度の増悪が見られることがある²。これらは外傷や手術侵襲による全身炎症の惹起が神経変性の増悪へ寄与する可能性が疑われている。本研究では全身炎症を惹起するためにLPSとPoly (I:C)の2種類の刺激を使用した。ウイルス感染を模し使用した刺激Poly (I:C)投与

群において、LPS 投与群、PBS 投与群と比して有意な、生存期間の短縮、運動機能の増悪を認めた。既報告によれば、刺激因子の違いにより異なったサイトカインの上昇をみとめることが報告されており、LPS に比し、Poly (I:C)による刺激では type I, II INF が有意に上昇することが知られている³。また、家族性 ALS における原因遺伝子の一つであるオプテニューリン⁴の欠損はウイルス感染時に IFN- β 産生量の増加をもたらすことが知られており、ウイルスへの易感染性が ALS の病勢進行に関与する可能性も示唆されている⁵。本研究においてもウイルス感染を模した Poly (I:C)群でのみ生存期間が短縮されたことは刺激にともなう IFN の上昇が病勢促進に関与している可能性を示唆した。また我々は、ALS モデルマウスの疾患進行にともない、病変部位の腰髄で循環・浸潤マクロファージが増加していることを証明した⁶。また、ALS 患者の剖検脳においても循環・浸潤マクロファージの増加を認めることが示されており⁷、循環・浸潤マクロファージが中枢神経への浸潤が ALS 病態促進因子である可能性が示唆されている。本研究においても、Poly (I:C)投与群における、循環・浸潤マクロファージの有意な増加を認めており、全身炎症にともなう、マクロファージの中枢神経への浸潤がモデルマウスの病勢促進因子である可能性が考えられた。

<論文発表・学会学会発表>

なし

<参考文献>

1. Daneshvar DH, Mez J, Alosco ML, et al. Incidence of and Mortality From Amyotrophic Lateral Sclerosis in National Football League Athletes. *JAMA Netw Open* 2021;4:e2138801.
2. Pinto S, Swash M, de Carvalho M. Does surgery accelerate progression of amyotrophic lateral sclerosis? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014;85:643-646.
3. He Y, Taylor N, Yao X, Bhattacharya A. Mouse primary microglia respond differently to LPS and poly(I:C) in vitro. *Sci Rep* 2021;11:10447.
4. Maruyama H, Morino H, Ito H, et al. Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 2010;465:223-226.
5. Fukushi M, Ohsawa R, Okinaka Y, et al. Optineurin deficiency impairs autophagy to cause interferon beta overproduction and increased survival of mice following viral infection. *PLoS One* 2023;18:e0287545.
6. Komiya H, Takeuchi H, Ogawa Y, et al. CCR2 is localized in microglia and neurons, as well as infiltrating monocytes, in the lumbar spinal cord of ALS mice. *Mol Brain* 2020;13:64.
7. Jara JH, Gautam M, Kocak N, et al. MCP1-CCR2 and neuroinflammation in the ALS motor cortex with TDP-43 pathology. *J Neuroinflammation* 2019;16:196.

<わかば研究助成>

(報告書 様式)

(申 請 書 記 載 の 課 題 名)

カニクイザル精巣を用いた霊長類の体外精子形成法の構築

(報 告 者 名)

石川 祐

(共同研究者名も併記)

共同研究者：小川 毅彦

(所 属 部 科 名)

横浜市立大学大学院 医学研究科 臓器再生医学

1. 目 的

哺乳類の精子は精子幹細胞の増殖と多段階の高度な形態変化を伴う分化を経て形成される。ヒトでは74日間、マウスでは35日間という長期にわたる分化過程を要し、その遺伝子発現は緻密に制御されている。これまで精子形成に関わる遺伝子の機能については遺伝子欠損マウスを用いた解析が主流であり、マウスとヒトで保存されている遺伝子はマウスの知見をもとにヒト精子形成における遺伝子の機能予測が行われてきた。しかし、不妊患者で同定された遺伝子をマウスで欠損しても不妊の表現型を示さないなど、マウスを用いた機能予測だけでは精子形成機構を解明できない例も散見される。近年、生体外において精巣の体外培養法が構築され、マウスおよびラットの精子形成が報告された (Sato et al., *Nature*, 2011; Matsumura et al., *Sci. Rep.*, 2021; Matsumura et al., *Sci. Rep.*, 2023)。げっ歯類の精巣器官培養が成功する一方で、霊長類であるアカゲザルでは免疫不全マウス皮下に新鮮精巣組織を移植すると精子形成ができるものの (Honaramooz et al., *Biol. Reprod.*, 2014)、精子形成効率は極めて低い。さらに、ヒトやサルなど霊長類の凍結精巣組織の *ex vivo* での精子形成、およびその体外器官培養については未だ成功例がない。本研究では、カニクイザルの精巣を *ex vivo* および体外培養を行い、精子形成過程を病理組織学および生化学的に解析できるシステムを構築することを目的とする。

2. 方 法

① 培養に用いるカニクイザル精巣の選別

本研究のため霊長類医科学研究所センター 山海 直 教授から3年齢の未成熟精巣を供与していただいた。当該年齢の精巣が免疫不全マウスへの異種移植や体外

培養に最適な精巣かどうか判断するため、組織染色にて精子形成の進行度を判定する。

② 異種移植を用いたサル凍結精巣の精子形成の検討

カニクイザルの精子形成過程を理解する、また、サル凍結精巣が精子形成能を保持しているかを検討するために、5週齢の免疫不全マウス (C.B-17/IcrHsd-Prkdc^{scid}、日本クレア) の背側皮下3箇所凍結融解したサル精巣を移植した。移植後1ヶ月毎、最長7ヶ月までに組織片を回収する。各発生過程における分子マーカーや組織染色にて評価し、精子形成度合いや鞭毛を伴う精子の有無などを調べる。

③ 体外培養に用いる培地の検討

マウスやラットで得られた知見を応用し、霊長類の精巣に最適な体外培養液の検討を行う。培地のコントロールにはマウスやラットの精子形成で報告されている基礎培地 aMEM (Gibco) に血清成分として AlbuMAX™ I Lipid-Rich BSA (Thermo) を 40 mg/ml 添加した培養液を使用する。サル用としては新たに基礎培地 X を用い、既存の培地との比較を行う。

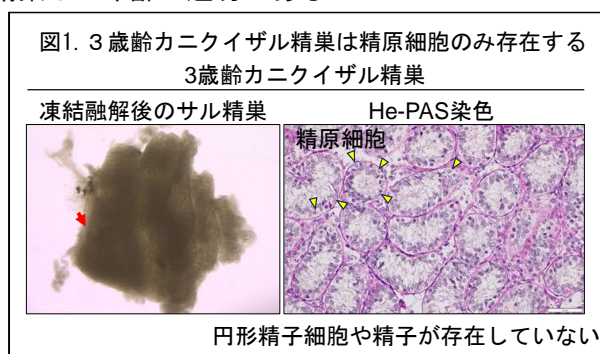
④ 精子形成の評価法の検討

体外培養組織の精子形成を評価するため、既報のマーカータンパク質を用いて蛍光免疫染色を行う (Sharma et al., *PloS One*, 2019)。培養組織中の部位や細胞がどのように変化しているのかについて可視化し、精子形成能を評価する。

3. 結 果

① 培養に用いるカニクイザル精巣は3年齢が適切である

凍結精巣が融解後に精巣の基本構造である精細管を保持しているか確認するために、実体顕微鏡下で観察を行った。その結果、精細管が管構造を保持していることが分かった (図1左、矢印)。Hematoxylin (He)-PAS 染色では、3年齢の精巣に

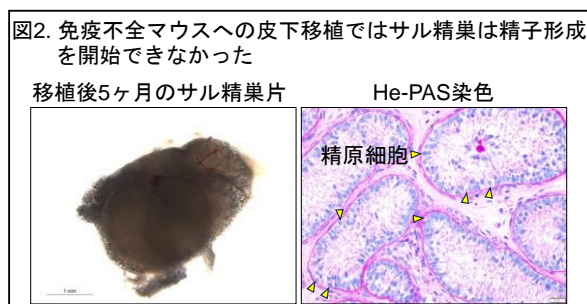


は生殖細胞として精原細胞、支持細胞としてセルトリ細胞のみが観察された (図1右、矢頭)。したがって、3年齢前後のサル精巣を今後の異種移植や培養に用いることにした。

② 免疫不全マウスに移植した凍結精巣は精子形成能を有していた

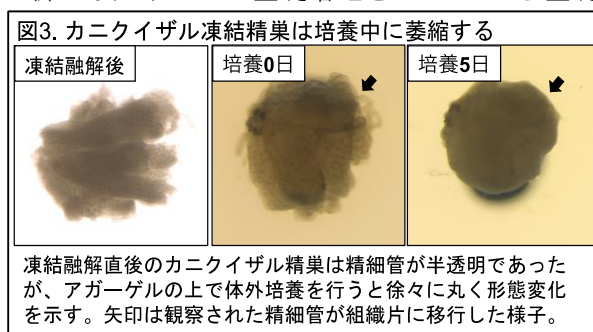
免疫不全マウスへ移植後3~7ヶ月で精巣移植片を回収し、ブアン固定後に He-PAS 染色を行った。その結果、移植後3ヶ月の精巣片の一部で精細管内に精原細

胞から減数分裂に入り始めた精母細胞を認めた。しかし、それ以外の回収した全ての精巣片では精子形成が進行しておらず、精原細胞のままであった(図2)。



③ げっ歯類の体外精巣培養液はサル精巣に適応しない

げっ歯類で確立された培養液がサル精巣の体外培養に適応するか検討するため、40 mg/ml AlbuMAX/aMEM 培地を用いて気相液相境界面培養法(アガロース上に組織片を置き、組織の上面は空気、下面は培養液に触れさせて培養する方法)にて培養を行った(図3)。その結果、培養初日こそ精巣片の精細管が確認されたものの(図3中央)、培養5日目には精細管同士が寄り集まり、組織全体が球状に萎縮した(図3右)。そこで本研究で新たな試みとして基礎培地を aMEM から基礎培地 X に変更し、培養を行った。現時点では、基礎培地 X と血清 Y の組み合わせにおいて精巣片の萎縮をわずかに軽減できることがわかった。



④ 精子形成の評価法の検討

カニクイザル精巣の生殖細胞やセルトリ細胞を蛍光免疫染色で判別するために、ヒト、アカゲザル、ニホンザルで報告されている抗体を用いてカニクイザル精巣に有用かどうか検討した。その結果、生殖細胞、未分化な精原細胞、精母細胞、セルトリ細胞を認識する抗体を選別することができた。

4. 考 察

本研究では、霊長類カニクイザル精巣を体外で精子形成するための培養条件を異種移植、培養デバイス、培養液の観点から検討した。培養液ではサル精巣用に基礎培地 X を採用したが、萎縮の抑制は軽微であり、培養中組織の萎縮に対する薬剤等の併用が必要である。また、依然としてサル精巣の精子形成は進行していないため、更なる培地の改良が必要である。

5. 論文及び学会発表(研究会を含む)

該当なし。

<わかば研究助成>

免疫チェックポイント制御メカニズムの解明

神卷 千聡

小林 信明

横浜市立大学大学院医学研究科 呼吸器病学教室

抄録

肺癌の治療成績は免疫チェックポイント阻害薬(ICI)の開発により進歩したが、ほとんどの症例で ICI 耐性が生じており、新たな課題となっている。臨床で使用される ICI の標的は PD-1/PD-L1 が主であるが、耐性には他の免疫チェックポイント (LAG3、TIM3、TIGIT 等) の関与が指摘されている。これら免疫チェックポイントの発現が制御できれば、更なる治療の改善が期待されるが、その制御機構は不明である。そこで本研究では、フィトヘマグルチニン(PHA)を用いてヒト末梢血単核細胞(PBMC)に免疫チェックポイントの発現を誘導し、肺癌治療で使われる抗癌剤による影響を検証した。ゲムシタビン添加時は免疫チェックポイント分子の発現抑制を認め、この変化の際の RNA-seq データを通じて、JUN の発現上昇に注目した。今後さらに検証を進め、免疫チェックポイント発現に関与する分子を同定し、その制御機構を明らかにすることを目標とする。

<わかば研究助成>

免疫チェックポイント制御メカニズムの解明

神巻 千聡

小林 信明

横浜市立大学大学院医学研究科 呼吸器病学教室

1. 目 的

肺癌は癌による死亡者数で最多であり、治療成績の向上が求められている。近年、肺癌の薬物療法は劇的な変化を遂げ、免疫チェックポイント阻害薬（ICI）が標準治療となった。ICI の成功は免疫チェックポイントが腫瘍免疫で極めて重要であることを示したが、同時に ICI 耐性への対応という課題を突き付けた。免疫チェックポイントには PD-1 以外にも LAG3、TIM3、TIGIT 等複数存在し、ICI 耐性に関わっている。これら複数の免疫チェックポイントの発現機序の解明は新規治療の標的となる可能性や、ICI 治療の治療効果を予測するバイオマーカーになる可能性があり、極めて重要な課題と考えられた。

また、殺細胞性抗癌剤の併用療法が一般的になるにつれ、併用する抗癌剤の種類によって治療効果が異なることが報告されるようになった。このことから、一部の殺細胞性抗癌剤には免疫調節作用がある可能性が示唆されている。本研究では、ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) に免疫チェックポイントの発現を誘導し、肺癌治療で使われる抗癌剤がこの免疫チェックポイントに与える影響を明らかにすることを目標とする。

2. 方 法

(1) ヒト PBMC の調製

健康者より末梢血 20ml を採取し、密度勾配遠心分離により PBMC を分離した。最終細胞濃度を 1×10^6 細胞/ml に調整し、フィトヘマグルチニン (PHA) と共に、5%CO₂ を含む加湿インキュベーター内において 37°C で培養した。

(2) フローサイトメトリーによる免疫チェックポイントの検出

健康者から分離した PBMC を EGFR チロシンキナーゼ阻害薬(EGFR-TKI)、または殺細胞性抗癌剤とともに 37°C でインキュベートした。24 時間後、PHA を添加し、さらに 48 時間インキュベートした。その後、T 細胞及び免疫チェックポイント分子などの細胞外マーカー

を用いて染色した。

(3) RNA-seq

RNA は、RNeasy Mini Kit (QIAGEN) を用いて培養細胞から抽出し、RNA-seq は GeneNex 社で実施した。TruSeq Stranded mRNA Library Prep Kit (Illumina) を用いてライブラリーを調製し、Illumina NovaSeq 6000 プラットフォームでシーケンスを行い、150 bp ペアエンドリードを生成した。シーケンス後、生リードを処理して低品質塩基とアダプターを除去し、参照ゲノムにマッピングした。遺伝子発現レベルは、DESeq2 を用いて定量化および正規化した。結果は R パッケージを用いて可視化した。

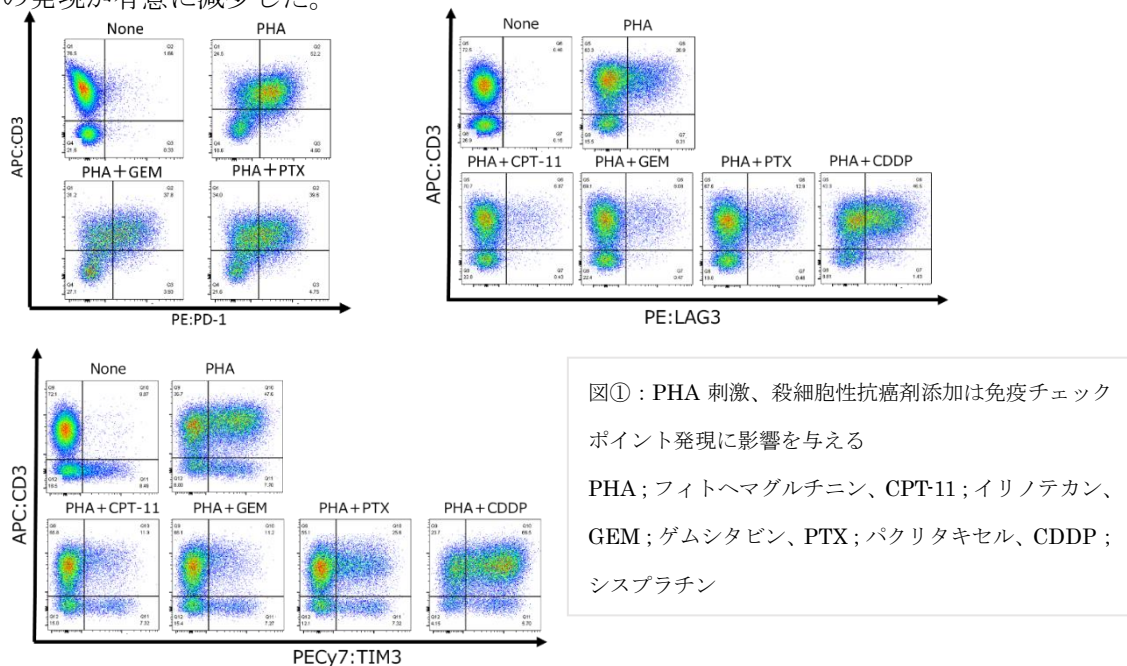
(4) Western-blotting

PBMC から蛋白質を抽出し、SDS-PAGE 電気泳動後、セミドライ型転写装置(BIO Rad)により、PVDF 膜に転写した。1 時間室温で振盪にてブロッッキング後、希釈した抗 JUN 抗体に浸し、4°C で一晩インキュベートした。転写膜を振盪洗浄後、200 倍希釈した二次抗体にて 1 時間室温で静置し、キット説明書に従い反応バンドの検出を行った。

3. 結果

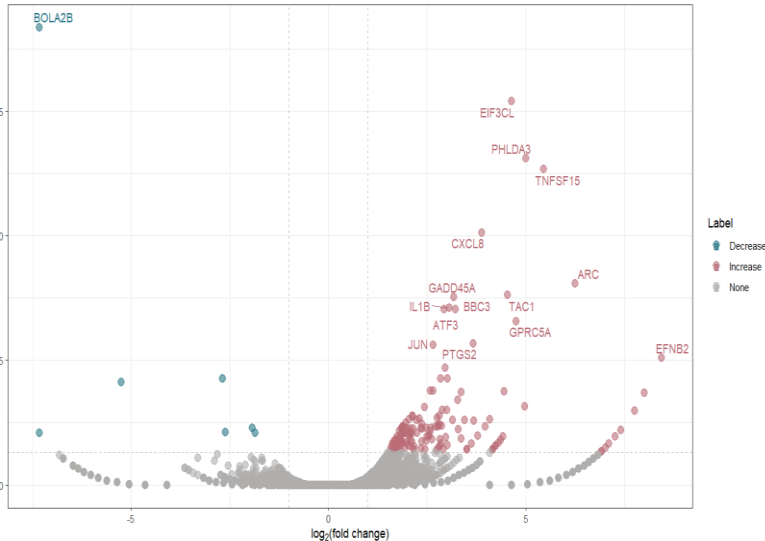
(1) ヒト PBMC 上免疫チェックポイント発現に対する抗癌剤の影響

ヒト末梢血単核細胞(PBMC)を用いて、PHA 刺激に対する T 細胞の免疫チェックポイント発現の解析を行った。PHA は T 細胞において、プログラム細胞死蛋白質 1 (PD-1)、リンパ球活性化遺伝子 3(LAG3)、細胞免疫グロブリンおよびムチンドメイン含有 3 (TIM3) の発現の促進を認めた。これらの PHA による免疫チェックポイント発現促進は一様ではなく、また、肺癌で用いられる抗癌剤が特定の免疫チェックポイントを特異的に抑制することを認めた。ゲムシタビンとイリノテカン存在下では、他の殺細胞性抗癌剤と比較して TIM3 の発現が有意に減少した。



図①：PHA 刺激、殺細胞性抗癌剤添加は免疫チェックポイント発現に影響を与える
PHA；フィトヘマグルチニン、CPT-11；イリノテカン、GEM；ゲムシタビン、PTX；パクリタキセル、CDDP；シスプラチン

(2) ゲムシタビン、パクリタキセルを添加した際のヒト PBMC の RNA-Seq についてヒト PBMC の免疫チェックポイント発現に対する抗癌剤の検討結果を受けて、次にゲムシタビン、パクリタキセルそれぞれの TIM3 発現に対する影響を検討した。PBMC をゲムシタビンまたはパクリタキセルを添加して培養し、その遺伝子発現プロファイルを RNA-seq で解析した。ゲムシタビン投与群とパクリタキセル投与群の間で、発現量の異なる遺伝子について、ボルケーノプロットを作成し、可視化した。



解析の結果、合計 150 個

図②：パクリタキセル投与群(PTX)に対するゲムシタビン投与群(GEM)の遺伝子発現の変化

の異なる発現遺伝子が同定され、パクリタキセル投与群と比較して、ゲムシタビン投与群では 143 個の遺伝子が発現を上昇させ、7 個の遺伝子が発現を下降させた。この異なる発現遺伝子の中で、転写制御因子である JUN に着目した。RNA-Seq の際と同様に、ヒト PBMC をゲムシタビンまたはパクリタキセルを添加して PHA で刺激し、蛋白質を抽出、JUN について Western blotting を行ったところ、各殺細胞性抗癌剤投与により発現に違いがみられた。その変化について、TIM3 発現との関連を JUN inhibitor を添加したフローサイトメトリーで確認したが、一貫性が乏しく今後の検討課題とした。

4. 考 察

ヒト PBMC における PHA 誘導免疫チェックポイント発現に与える各抗癌剤の影響について評価した。特にゲムシタビンとパクリタキセル添加時は、免疫チェックポイント発現の様相が異なっていた。これらについて RNA-Seq で遺伝子発現の差を調べたところ、JUN がゲムシタビン添加時の PBMC で発現が上昇していることに注目した。JUN は Fos と転写制御因子複合体を形成し、TP53 や EGFR 等下流の遺伝子発現制御を介して調節に関与する。JUN の発現はリンパ球の免疫チェックポイント発現を抑制し、抗腫瘍効果を改善することが報告されていることから(Lynn RC, et al. Nature. 2019)、今後もさらなる解析をすすめていく方針である。

5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

現在論文執筆中である。

<わかば研究助成>

加齢性腎障害における ATRAP とグルタミン代謝の役割と関連性の解明

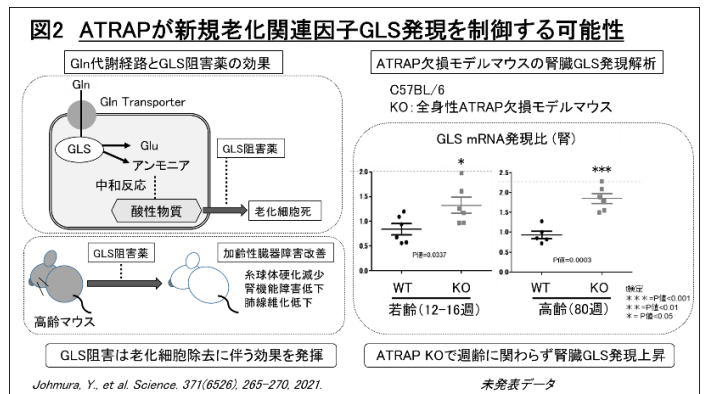
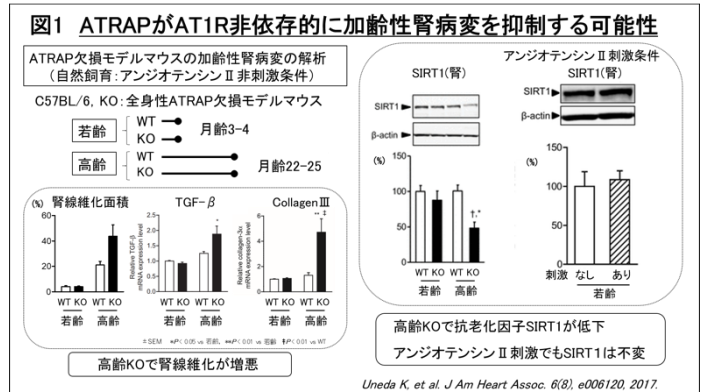
浦手進吾

廣田慧悟 安部えりこ 田中翔平

横浜市立大学附属病院 腎臓・高血圧内科

目 的

これまでに我々は、1型アンジオテンシン II 受容体 (AT1R) 結合タンパク質 (AT1R-associated protein : ATRAP) 欠損が加齢性腎障害を促進させるとともに、この機序に ATRAP の AT1R 非依存的経路が関与することを示した (図 1)。この詳細な機序を解明する端緒として、我々は ATRAP と Glutaminase (GLS) の関連性に着目した。GLS は新規老化関連因子として報告され、GLS 阻害薬は老化細胞除去薬として抗加齢分野で注目されている。予備的検討として、ATRAP 欠損マウスの腎臓において GLS 発現が増加していることが判明した (図 2)。ATRAP と GLS の関連性を明らかにするために、ATRAP とグルタミン (Gln) 代謝の関連性に焦点を当て、中でも特に ATRAP と Gln Transporter の相互作用について解析を進めた。ヒト近位尿細管細胞において免疫沈降法を用いて ATRAP 複合体を抽出し、質量分析で解析することで ATRAP の相互作用タンパク質として 377 種を同定し、その中から 3 種類の Gln Transporter を同定した。ATRAP と Gln 代謝の関連性の足がかりができたことから、本研究では「腎臓において ATRAP 発現調節異常が GLS 機能を介して加齢性腎障害の進行に関与し、ATRAP 発現上方制御は抗腎老化作用を発揮する」と仮説を立てた。本研究では、細胞と生体レベルで加齢性腎障害における ATRAP と GLS の関連性および病態生理学的意義を究明することを目的とした。



方 法

ATRAP と Gln Transporter の相互作用の解析について、FLAG タグ付き HEK293 細胞を用いて、ドキシサイクリン刺激下で ATRAP を発現誘導条件下で、免疫沈降法を用いて ATRAP とそれぞれの Gln Transporter の相互作用を検証する。さらに ATRAP トランスジェニックマウスを用いて、腎臓における Gln Transporter の発現変化についても解析する。次に、細胞レベルで siRNA を用いて ATRAP ノックダウン条件下での Gln Transporter の発現変化を解析する。

結 果

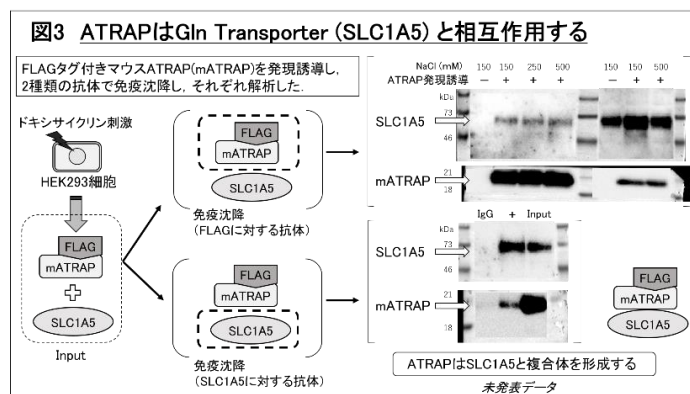
HEK293 細胞で、ドキシサイクリン刺激で FLAG タグ付き ATRAP を発現誘導し、FLAG を対象とした免疫沈降（オモテ試験）をすると Gln Transporter SLC1A5 発現も増加した。次に SLC1A5 を対象とした免疫沈降（ウラ試験）をしても ATRAP 発現を確認し、ATRAP と SLC1A5 は相互作用することを見出した（図 3）。そのほかの 2 種類の Gln Transporter についてもオモテ試験で ATRAP との相互作用を認めた。

次にマウス腎臓において、内在性 ATRAP を対象とした免疫沈降（オモテ試験）で、これら 3 種類の Gln Transporter について発現を見出した。さらに ATRAP トランスジェニックマウス腎臓において、野生型マウスと比較しこれら 3 種類の Gln Transporter について発現増加を認めた。

ヒト近位尿細管細胞(RPTEC)において、siRNA を用いた ATRAP ノックダウン処理後 48 時間後の細胞内タンパク質を回収したウエスタンブロット解析では、これら 3 種類の Gln Transporter について発現低下を認めた。

考 察

細胞レベルで分子的相互作用について免疫沈降法を用いて検証を行い、ATRAP と 3 種類の Gln Transporter における相互作用を見出した。さらに ATRAP 全身性高発現遺伝子改



変マウスの腎臓において、これら 3 種類の Gln Transporter の発現上昇を明らかにし、生体レベルにおいても同様の分子的相互作用の兆候を見出した。これらの結果から ATRAP と Gln Transporter の関連性は明らかにされつつあるが、これら Gln Transporter と GLS との関連性は依然として明らかにされていない。今後、機能的相互作用について解析し、細胞レベルで ATRAP 発現変動条件下における Gln 代謝構成物質の生成量がどのように変化するかなどの検証が必要である。そのために、ATRAP 欠損モデルマウスの若年と高齢個体の腎臓検体をメタボローム解析し、Gln を含めた細胞内代謝産物を網羅的に定量することを検討している。さらに、ATRAP 発現変動マウスなどに対して腎老化実験モデルでの介入実験を行い、ATRAP と Gln 代謝の変化を解析することを検討している。腎臓における ATRAP 発現調節異常が GLS 機能を介して加齢性腎障害の進行に関与することを見出すことができれば、ATRAP 発現上方制御による抗腎老化作用が期待される。

論文及び学会発表

現時点では、この一連の研究において学会発表などの成果発表は行っていない。実験結果が確立した段階で精力的な学会発表、論文発表などの学術的活動を行っていく。

<わかば研究助成>

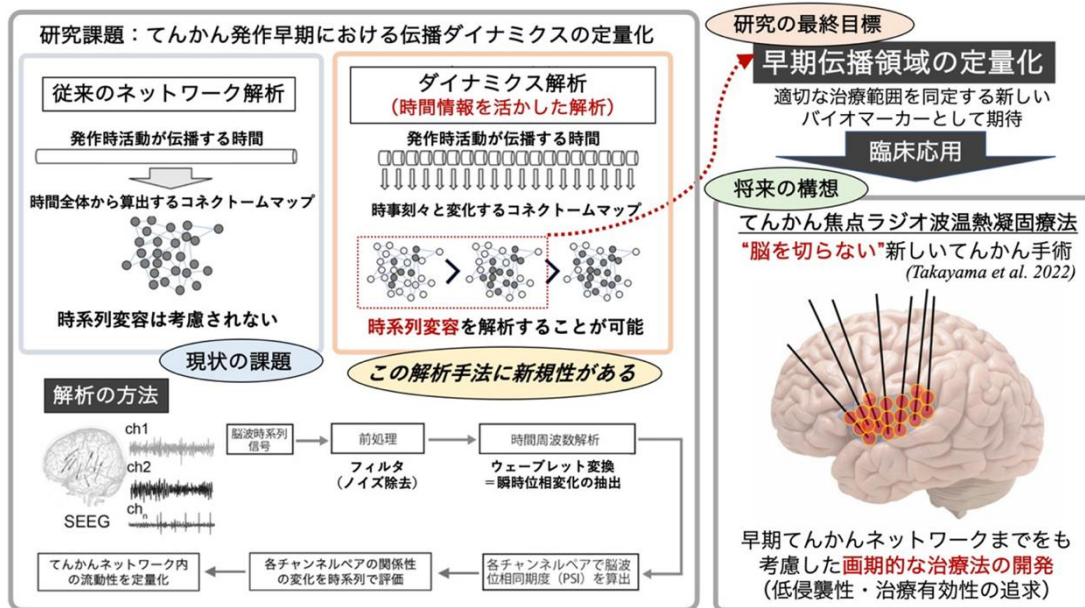
(報告書 様式)

非線形ダイナミクス解析を用いた
ヒトてんかんネットワークの時系列変容の解明
～定位的頭蓋内脳波記録を用いた検討～

高山裕太郎

脳神経外科学教室

1. 目 的



てんかんは「てんかん発作を引き起こす持続性素因を特徴とする脳の障害」と定義される。薬剤抵抗性てんかんに対しは外科治療が有用な選択肢である。てんかん外科治療では、てんかん焦点の正確な同定が重要であり、その過程における頭蓋内脳波記録の有用性が知られている。これまでの頭蓋内脳波記録の有用性と限界を検証する研究の成果により、発作制御のためには発作起始領域だけでなく、定位的頭蓋内脳波 (SEEG) を用いた早期伝播ネットワークの解明が重要であることが示唆された¹⁾。また、SEEG の技術を基盤として提唱・開発を進めてきたラジオ波てんかん焦点温熱凝固療法は、脳の深部であっても、脳を切らずに正確かつ安全に治療できる新しい手術として評価されている。本治療の安全性と有効性を向上させるために、早期伝播ネットワークを考慮した治療プランニングは必須であり、発作早期の神経伝播ダイナミクスの可視化は、将来のてんかん外科治療にとって重

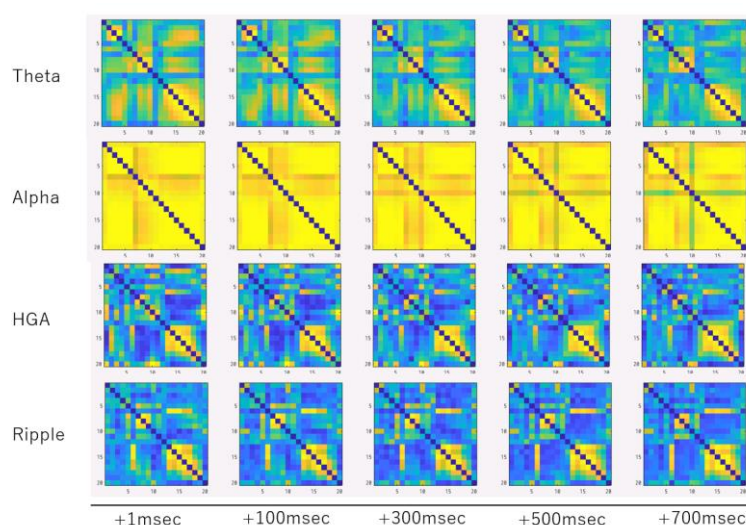
重要な臨床的課題である。この課題を解決するためにネットワーク内流動性 (Network Flexibility: NF)に着目した。ネットワーク構造は内部の Node 間の接続性が流動的に移り変わり続けていることによって安定化するという考え方がある。この流動性を NF と呼ぶ。本研究では NF を解析することで、神経伝播のダイナミクスを可視化し、てんかんネットワーク内において発作時早期に伝播する脳領域 (早期伝播領域) を定量化することが目的である。本研究で試みるてんかん発作早期における神経伝播ダイナミクスの可視化は、今までにない全く新たな視点であり、非常に特色のある研究になると思われる。ミリ秒単位で変調するてんかんネットワークのダイナミクスを可視化は、高い S/N 比を有し、時間・空間分解能に優れた頭蓋内脳波記録を用いて初めて可能となる。特に、てんかんネットワークの存在を前提に電極を留置する SEEG を利用する点が本研究の強みである。その成果を、ラジオ波てんかん焦点温熱凝固療法²⁾の治療計画に応用することで、早期てんかんネットワークまでも考慮した低侵襲かつ有効性の高い画期的な治療法の完成を目指している。

2. 方法

SEEG によって得られる頭蓋内脳波データを短い時間データにエポック化し、それぞれのデータから 2 電極間の関係性を算出し、全電極間の関係性を示すネットワークマトリクスを作成する。マトリクスから定量化される NF の経時データを算出することで、脳内てんかんネットワークダイナミクスの情報を得る。具体的には、薬剤抵抗性てんかん患者を対象に SEEG を施行し、得られた発作時の頭蓋内脳波データを解析対象として、2 電極における脳波の頂点 (山と谷) のタイミングの一致度 (位相同期度: PSI) を計算することで 2 電極間の関係性が算出する。この計算を 5000 ペア程度繰り返すことで、全電極間のネットワーク内流動性(NF)が評価される。この解析により早期てんかんネットワークが定量化され、最終的に早期伝播領域の決定に至る。

3. 結果

現時点でPSIを計算するアルゴリズムが研究成果として完成しており、SEEGを行ったサンプルにおいて、アルゴリズムの検証を開始している。図はその一例であり、記録開始 (1msec) から700msecまでのPSIを20ch x 20chのペアで調べたものである。Theta (4-8Hz)、Alpha (8-13Hz)、HGA



(61-80Hz)、ripple (81-200Hz) のそれぞれの周波数帯域で経時的な変化を算出した。PSIの強さはパワー値としてカラーマップで表示した。全体的にAlpha帯域でのPSIが高いことがわかるが、その他の周波数帯域では電極ペアによってPSIの高いペアと低いペアが存在することがわかった。現時点ではpreliminaryな解析としてアルゴリズムが問題なく使用できるかを調べた段階であるが、今後この解析手法を用いて、発作時早期のPSIを全てのチャンネル間で調べて、ペア同士の関係性の時系列変化を算出する段階へ移行する予定である。

4. 考 察

神経伝播のネットワーク解析には、グラフ理論がよく用いられるが、この手法を用いて得られるコネクトームマップは時間の概念を含んでいないため、脳内ネットワーク可視化において重要なミリ秒レベルの情報が欠落する。そのためミリ秒単位で変化する発作時のてんかんネットワークを扱うことは難しい。この課題を克服するためには、時間情報を活かした状態でネットワーク内の神経伝播ダイナミクスを定量化する必要がある。今回完成したアルゴリズムを用いて、発作開始期の頭蓋内脳波サンプルを用いて周波数帯域ごとのPSIを計算すると特定の電極ペア同士で発作時に同期性が高まる結果が示唆された。これは、てんかん発作開始前はネットワーク内流動性(NF)が高く、神経ネットワーク全体の安定性が保たれているが、発作開始と同時にNFが低下し、神経ネットワークの安定性が破綻するために、発作起始領域で生じた活動が伝播しやすい環境が形成される、とする我々の仮説を裏付ける所見である可能性がある。

5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

今後の追加解析を通じて原著論文の発表を目指している。

本研究課題は横浜総合医学振興財団 2022年度の研究助成の支援を受けて遂行いたしました。この場をお借りして財団の関係者の皆様に深く感謝申し上げます。

<参考文献>

1) Takayama, Y., Ikegaya, N., Iijima, K., Kimura, Y., Yokosako, S., Muraoka, N., Kosugi, K., Kaneko, Y., Yamamoto, T., Iwasaki, M. Single-Institutional Experience of Chronic Intracranial Electroencephalography Based on the Combined Usage of Subdural and Depth Electrodes. *Brain Sci.* 11, 307. (2021).

2) Takayama, Y., Kimura, Y., Iijima, K., Yokosako, S., Kosugi, K., Yamamoto, K., Shimizu-Motohashi, Y., Kaneko, Y., Yamamoto, T., Iwasaki, M. Volume-Based Radiofrequency Thermocoagulation for Pediatric Insulo-Opercular Epilepsy: A Feasibility Study. *Oper Neurosurg (Hagerstown)*, 23, 241-249. (2022).

(申請書記載の課題名)

拡張型心筋症に対する根治的治療薬の開発

(報告者名)

佐治 龍

(共同研究者名も併記)

西井基継, 藩龍馬, 佐藤豪, 岡田泰知, 田村智彦

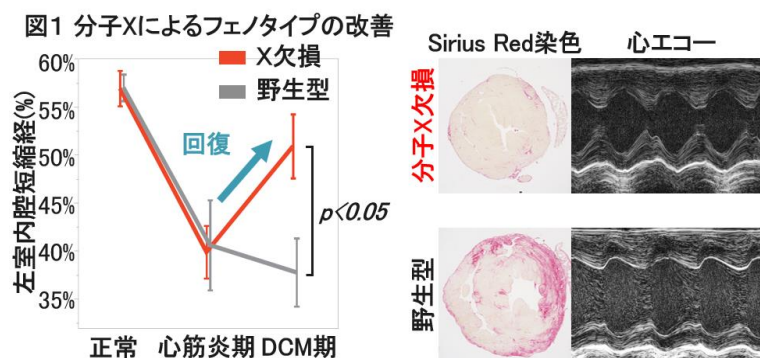
(所属部科名)

救急医学教室

1. 目的

特発性拡張型心筋症(Dilated cardiomyopathy: DCM)は標準的治療に対して抵抗性の心不全病態を呈する代表的な疾患である。根本的治療は、未だに心移植に頼らざるを得ないのが現状である。本邦の深刻なドナー不足を鑑みるに、特発性 DCM の薬物的根治治療の開発は大変意義深い。

特発性 DCM の機序の一つとして、ウイルス性心筋炎から自己免疫性心筋炎に移行し、それが持続することで DCM へ至るものが有力視されている。そこで我々は自己免疫応答と、その後の心臓リモデリングの双方に関わる分子 X に着目した。



予備検討の結果分子 X 欠損マウスに DCM モデルを誘導しても、心筋炎の発症は防ぐことはできなかったが、その後に心機能が回復し DCM へ移行しないということが分かった。すなわち実際に患者が医療機関を受診するであろう心筋炎発症後に治療効果をきたす実臨床に向けた治療標的であることが分かった。

我々はその分子機序をより明らかにするために、モデルマウスの心臓 balk RNA sequence を行った。

2. 方法

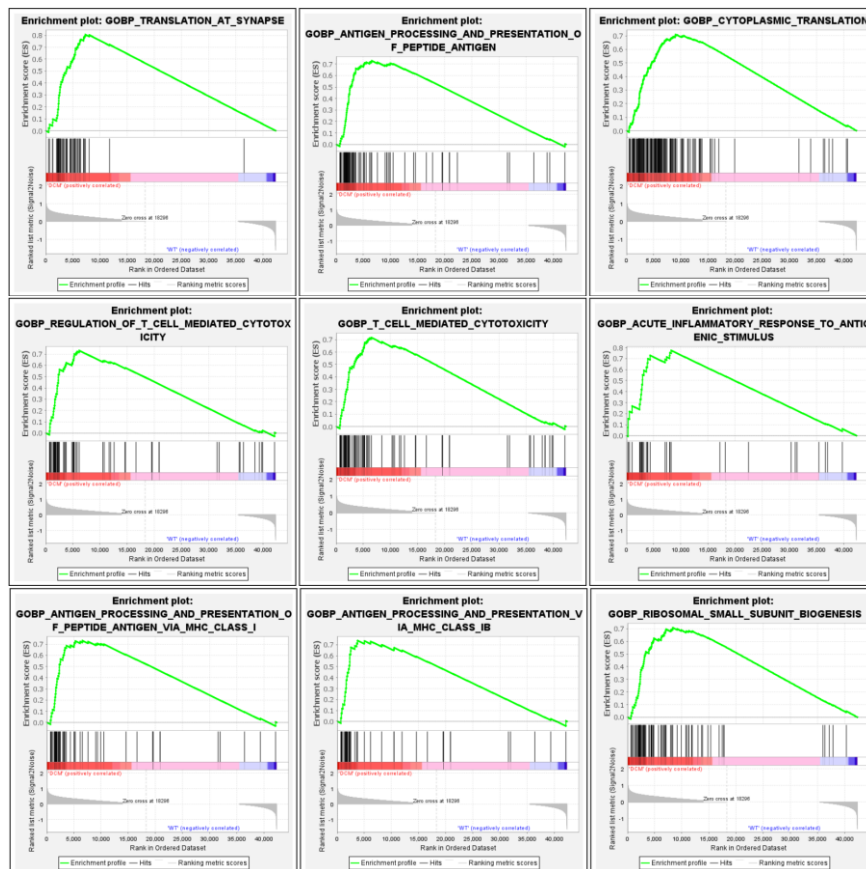
7 週齢雄の Balb/c にミオシンペプチドおよび完全フロイントアジュバント・百日咳毒素を投与して、誘導後 21 日目に心エコーで左室内径短縮率が 45%を下回ったものを自己免疫性心筋炎誘導成功と定義した。誘導成功したマウス 8 匹を、DCM が完成するモデル誘導後 63 日に安楽死させ、心臓を PBS で還流した後に摘出し急速凍結した。その後 NucleoSpin RNA(Takara)を用いて心臓組織から RNA を抽出・精製し、SureSelect XT HS2 mRNA Library Preparation System(Agilent Technologies)を用いて library 調整を行った。

コントロールとしてモデル誘導していない同週数の Balb/c 4 匹からも library 作成を行い、NextSeq 500 Sequencing System SY-415-1001 を用いて RNA sequencing を行った。

解析には GSEA 4.3.2(Gene set enrichment analysis)を用いた。

3. 結果

図 2 DCM モデル群でアップレギュレートされた代表的な gene sets



Gene Ontology 解析の Biological Process 解析を行ったところ、4378 個の gene sets のうち 4177 個が DCM モデル群でアップレギュレートされていた。そのうち 561 個が FDR < 25% であり 499 個が pvalue < 1% であった(図 2)。

逆に 4378 個の gene sets のうち 201 個がコントロール群でアップレギュレートされていた。そのうち 2 個が FDR < 25% であり 5 個が pvalue < 1% であった。

T 細胞の分化制御やそれによる細胞障害といった組織炎症・自己免疫応答に関わる gene sets や、コラーゲンの増加といった線維化に関わる gene sets が DCM モデル群において特にアップレギュレートされていた。さらには、分子 X に関わる gene sets も複数アップレギュレートされていることがわかった。

4. 考 察

特発性 DCM および DCM モデルマウスは T 細胞、特に Th17 細胞が心臓に浸潤して引き起こる疾患だとされており、今回の RNA-sequence 解析もそれに矛盾がない結果であった。さらには DCM モデルマウスでは心臓の高度な線維化をきたすことが分かっており、これらに関わる gene sets がアップレギュレートされていることからモデルの妥当性や解析の妥当性が確認できた。

さらに興味深いことに、分子 X に関わる gene sets も複数アップレギュレートされており、分子 X が DCM 病態進行に関連していることがトランスクリプトーム発現の面からも示唆された。

今後分子 X が病態に関わる機序を解明していくために、分子 X 欠損マウスに DCM モデルを誘導した群と野生型マウスに DCM モデルを誘導した群の比較や、DCM モデルマウスに分子 X 阻害薬を投与した群とプラセボ群での比較を検討していきたい。これにより分子 X の欠損ないし抑制が、自己免疫応答の制御によって病態改善に寄与するのか、心臓組織線維化を制御することによって病態改善に寄与するのか、あるいはその両方なのかを明確にすることが可能になると思われる。

最終的にはそうして見出された分子機序が、ヒト DCM 心筋生検検体でも共通しているかを確認する研究も計画中である。

5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

現在論文投稿準備中である。

<わかば研究助成>

顕性脳症患者の腸内環境の調査と新規治療法の探索

野上 麻子

斉藤聡、米田正人、結束貴臣、小林貴、岩城慶大

肝胆膵消化器病学

本文には次の項目について記載して下さい。また、本文は（図表を含め）A4の用紙3枚程度をお願いします。

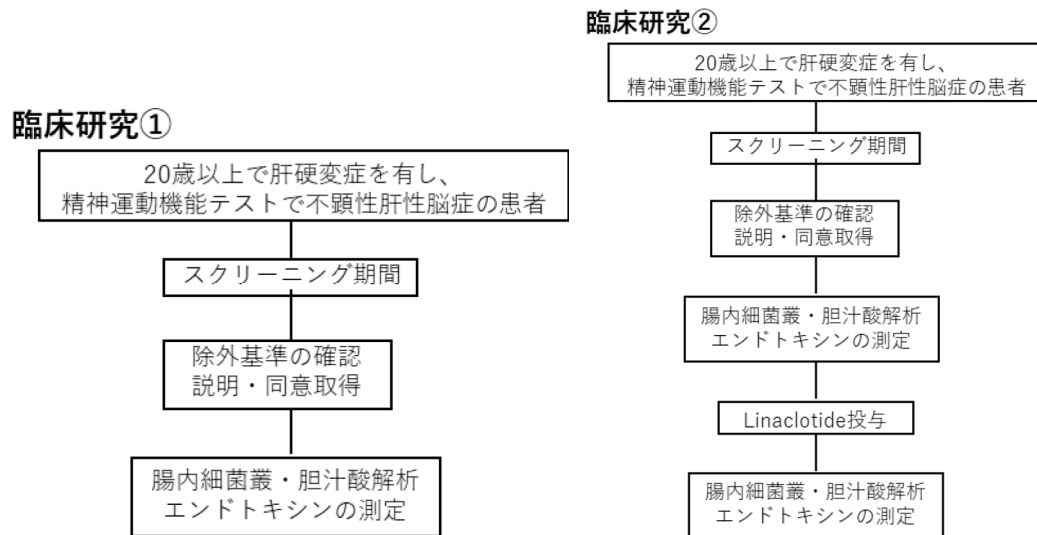
1. 目 的

慢性肝疾患・肝硬変患者において、有意に生活の質（以下 QOL）を低下させる病態に肝性脳症がある。肝性脳症は顕性脳症と不顕性脳症に大別され、顕性脳症に対する治療は確立されている。不顕性脳症であっても QOL の低下をきたすが、確立された治療法はない。肝性脳症患者では、腸管バリアの破綻し、腸内細菌叢の変化が生じ、腸内細菌の産生するアンモニアなど肝内で代謝されない毒性物質が血液脳関門を通過して大脳機能障害を引き起こすとされる。不顕性脳症患者でも腸管バリアの破綻が起きていると報告されており、患者の腸内環境を調査することは本病態の理解を深めるものとなる。本研究で得た知見より不顕性脳症患者に対する QOL 改善のみならず、保険適応を有する治療法の開発へ展開しうる。

2. 方 法

本研究では、以下の2点を明らかにするべく2つの臨床研究を行っている。①精神運動機能テストを施行し不顕性脳症と診断した患者の便を採取し、腸内細菌叢の解析、エンドトキシンの測定を行う。また、同患者に対してラクトースマンニトール試験を行い、腸管の透過性を調べる。②精神運動機能テストを施行し、不顕性脳症と診断した患

者の便を差油脂し、腸内細菌 叢の解析、エンドトキシンの測定を行う。その後、Linaclotide を内服し、その内服前 後で腸内細菌叢・エンドトキシンの量の変化を調べる。



3. 結 果

肝性脳症に対する治療に、合成二糖類の投与がある。合成二糖類は消化されることなく大腸まで到達し、腸内細菌による分解を受けて乳酸等の有機酸となり、腸内のpHを低下させる。その結果アンモニアを産生する腸内細菌が減少するため有効であるとされる。また、有機酸は腸管の運動を促進する作用を持ち、腸内細菌の停滞が解消される。

近年LubiprostoneやLinaclotide、Elobixibatといった新規の緩下剤の開発されてきた。この中には、LubiprostoneやLinaclotideのように腸管バリアに対する保護作用を持つものもあり、有効であると考えた。これらが肝性脳症に対して有効であるか示すには、その腸内環境を調べることが有用と考え、本研究の着想に至った。国外では、Minimal脳症に関するメタ解析が報告されている(Dhiman RK, et al. Clin Gastroenterol Hepatol. 2020;18: 800-812.) リファキシミンや合成二糖類を用いた25報のメタ解析がされており、合成二糖類のみが顕性脳症の発現や血中アンモニア値の低下、QOLの改善に結びついたと結論づけられている。

Linaclotideには、合成二糖類と同様の作用を有する部分もあるため、肝性脳症と診断された患者へのLinaclotideの報告はこれまでになく、我々は前述のとおり特定臨床研究として本研究を進めている。そこから派生し、今回、我々は新たな腸管バリア治療を模索するために、Minimal脳症患者の腸管バリアと関連する腸内細菌を調べることにした。

臨床研究①の現在中間報告を掲載させていただく。Linaclotide を投与した症例において、有害事象のため治療中断となった症例はなかった。Linaclotide を投与したすべての、運動精神機能テストにおいて、投与前と比較し、投与開始後の方が優位に結果の改善を確認された。

臨床研究②については、①の結果判明後に開始予定となっているため、今後追って報告させていただきたい。

これまでの研究結果より、Linaclotide の投与は潜在性肝性脳症の改善に安全かつ有用である可能性が高い。この背景には、腸管バリアの変化が見込まれ、本研究の完遂により更なる解明が可能となる見込みが高い。

4. 考 察

本研究結果より、Linaclotide の投与は、潜在性肝性脳症患者の腸管バリアを改善する可能性が示唆された。Linaclotide はすでに臨床応用されている薬であり、その安全性が高く、腸管バリアの改善につながる因子については、本研究の完遂しより多くの知見を得ることで本研究の安全性・妥当性を検証し、明らかにしていきたい。

5. 論文及び学会発表（研究会を含む）

本研究は現在遂行中であり、終了次第学会発表ならびに論文報告を行う予定ある。

<わかば研究助成>

BRAF 変異高悪性度神経膠腫の薬剤耐性機構獲得機序の解明

大島 聡人

立石 健祐、山本 哲哉

横浜市立大学大学院医学研究科脳神経外科学講座

1. 目的

神経膠腫は最も頻度の高い原発性脳腫瘍のひとつであり、現時点では治療成績の向上につながる画期的な治療法の確立には至っていない。一部の高悪性度神経膠腫 (high-grade glioma, HGG) には BRAFV600E 変異が存在することが知られている。BRAFV600E 変異を伴う HGG は 10-20 代の若年に多く発生し、通常の膠芽腫 (glioblastoma, GBM) と比較して非常に高率に髄液播種をきたし、また予後は 6 ヶ月未満と極めて不良であるなど、分子生物学的な病態解明と治療法の開発が急務である。我々は、BRAFV600E 変異 HGG が治療抵抗性を示す原因として本腫瘍の組織可塑性の高さと、それを誘導する腫瘍微小環境が存在していると仮説を立てた。本研究では、世界に先駆けて樹立した BRAFV600E 変異 HGG ペアモデルを通じて、分子標的治療後の腫瘍微小環境と腫瘍細胞の可塑性を通じた薬剤耐性機構獲得機序の解明を目指している。

2. 方法

当施設にて BRAFV600E 変異 HGG 症例を 2 例経験した。1 例 (YMG62) は分子標的治療に不応、もう 1 例 (YMG89) は分子標的治療に当初は著効も数回の治療後に耐性をきたした。手術時に採取した腫瘍検体 (primary, P) 及び再発時髄液中より採取した播種性病変 (recurrence, R) から細胞株の樹立を図り、いずれも安定株が得られた。またこれらの細胞株から PDX モデルを樹立した。これらのモデルは、①患者腫瘍同様に、髄膜播種を主体とした腫瘍形成を呈する表現型の再現、② BRAFV600E を始めとした遺伝子異常を有する遺伝型の再現、③ *in vitro*, *in vivo* での分子標的治療反応性/抵抗性の再現などを確認しており、臨床像を忠実に再現するモデルである (Sasame J et al. 2022)。

われわれはこれまでの実験過程から、これらの細胞株は通常の GBM の細胞と異なり、周囲組織によって上皮間葉転換 (EMT; epithelial-mesenchymal transition) が容易に誘導されることに気がついた。BRAFV600E 変異 HGG の組織可塑性の高さは、髄液播種の病態や分子標的薬に対する耐性機構獲得に寄与している可能性がある。腫瘍微小環境によって腫瘍細胞の遺伝子発現が変化することで誘導されていると仮説を検証すべく、本研究期間内に以下の実験を実施した。

実験 1. YMG89P の培養細胞では浮遊細胞と接着細胞が混在することから、この現象が EMT を反映していると仮説を立てた。浮遊細胞と接着細胞を分離して、Western blot (WB) 法に

より上皮系マーカー・間葉系マーカーの発現を評価することで、仮説を検証した。

実験 2. YMG89 の初発・再発の腫瘍細胞について、EMT 関連蛋白質の発現の評価を WB 法で行った。また、初発・再発の各々に対して BRAF 阻害薬 (dabrafenib) 治療を 24 時間行い、WB 法で EMT 関連蛋白質の発現の変化を評価した。

実験 3. YMG89P の培養細胞に dabrafenib を 7 ヶ月間にわたって長期治療を施した細胞を樹立した (YMG89P-Dab7mo)。(なお、この細胞株では MEK, BRAF 治療抵抗性に変化しており、YMG89R を模倣した細胞であることが既報で示されている。) これらの細胞株に発現している EMT 関連蛋白質を WB 法で評価した。

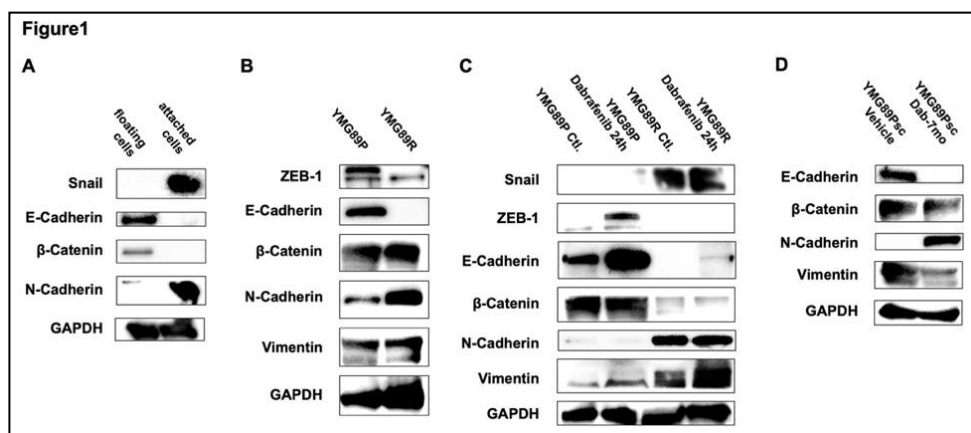
実験 4. BRAF 阻害薬 naïve の患者検体株 (YMG89P) から PDX mouse を作成し、この PDX mouse に vehicle 治療と BRAF 阻害薬 (dabrafenib) 治療を継続的に行った後、安楽死させた。両群の病理組織像を HE 染色および免疫染色で評価し、さらにそれぞれの組織に発現している EMT 関連の蛋白質を WB 法で評価した。

3. 結果

結果 1. 浮遊細胞は上皮系、接着細胞は間葉系マーカーの発現が上昇しており、仮説が裏付けられた (Fig. 1A)。

結果 2. YMG89 では、初発時には epithelial type、再発時には mesenchymal type を示すマーカーの亢進が認められ、再発時には EMT が生じていることが示唆された (Fig. 1B)。一方で、YMG89P, 89R 細胞を dabrafenib で 24 時間治療した細胞では、明らかな EMT の誘導は生じていなかった (Fig. 1C)。この結果から、dabrafenib の治療によって短期的には EMT は誘導されない可能性が示された。

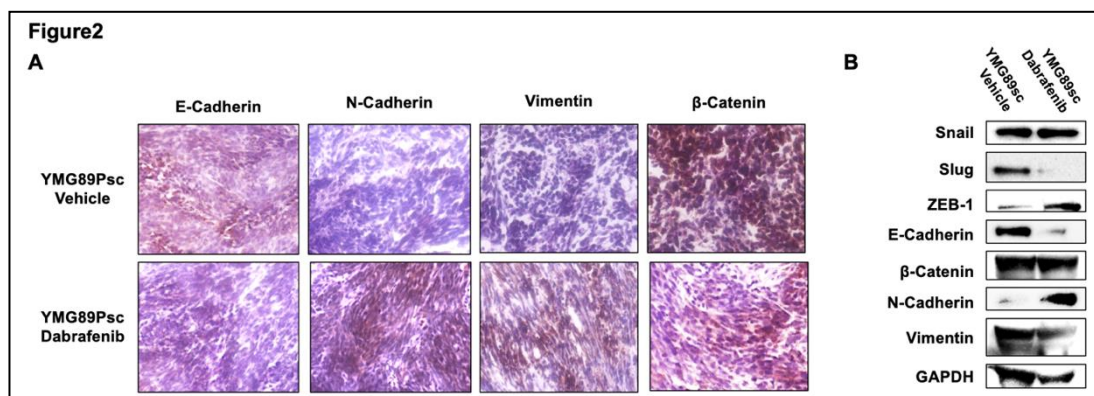
結果 3. YMG89P-Dab7mo 細胞では、上皮系マーカーが減弱し、間葉系マーカーが亢進していることから、YMG89R 同様に EMT を生じていると考えられる結果を得た (Fig. 1D)。実験 1 の結果と合わせると、dabrafenib 治療によって短時間では EMT は誘導されないが、長期間の暴露によって再発時同様の phenotype を示すようになることが示唆された。



結果 4.

病理組織像 (Fig. 2A) : Vehicle 治療群 (対照群) の組織像は epithelial type、dabrafenib 治療群 (治療群) の組織像は mesenchymal type であった。それぞれの組織を上皮系マーカー、間葉系マーカーの免疫組織染色で評価した。組織像の表現系を裏付けるように、対照群では E-cadherin が細胞膜に集積している一方、治療群では N-cadherin, vimentin がそれぞれ細胞膜と細胞質に集積していることが確認された。さらに、 β -catenin は、対照群では細胞膜下に強い染色を示していたが、治療群では細胞質や核内に集積していた。このことから、治療群では β -catenin が細胞膜から遊離し、細胞質および核内に局在していたことは、EMT プログラムを司る遺伝子の発現が誘導されていることが示唆された。

蛋白発現 (Fig. 2B) : WB 法の結果、E-cadherin, N-cadherin は免疫組織化学染色と合致する結果であり、dabrafenib 治療によって EMT が誘導された可能性が示唆された。 β -catenin については、IHC で細胞内局在の変化は捉えられたが、蛋白発現の総量は変化していない結果であった。EMT 誘導に関わる転写因子としては、ZEB-1 の発現が増加していることから、この転写因子が本実験系の EMT を誘導する key molecule である可能性が示唆された。一方で、snail は両群で変化がなく、また slug は治療群発現が低下しているなど、その他の転写因子については一貫した結果は得られなかった。



4. 考察

今回の研究成果によって新たに解明された内容は以下に集約される。

- ・ YMG89 細胞は上皮系を示す浮遊細胞と間葉系を示す接着細胞が混在する腫瘍であり、BRAF 阻害薬の長期間の治療によって EMT が誘導されることが、in vitro, in vivo 実験の結果から示された。このことは、YMG89 細胞が再発時に髄液播種を伴い制御困難となった現象を反映している可能性がある。

- ・ EMT を誘導する因子として数多くのものが知られているが、今回の実験で調査した限りでは、ZEB-1 が候補因子の一つと考えられた。

これらの結果は、BRAF 変異 HGG の薬剤耐性機序として組織可塑性が関わっているという仮説を支持するものである。今後は、この研究結果を基盤として、ZEB-1 を抑制することによって EMT の制御と髄液播種や薬剤耐性化の抑制につながるかを検証していく。

<新型コロナウイルス感染症研究助成>

(治療抵抗性の新型コロナウイルス感染症における分子病態解析)

(西井 基継)

(横浜市立大学医学部救急医学教室)

1. 目 的

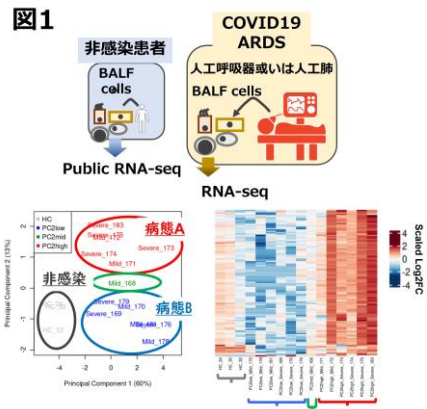
新型コロナウイルス感染により多くの人命が奪われてきた。その主な原因は致死的な呼吸不全を呈する急性呼吸窮迫症候群(ARDS)の発症である。これまで、多くの薬剤が提案され大規模なランダム化比較試験が行われてきた。ほとんどの薬剤が生命予後改善に至らなかったが、デキサメタゾン等のステロイドの有効性が報告されてきた。一方ですべての患者に有効ではなく、その恩恵を享受できない症例も少なくないのが現状である。このような背景から、ARDSの多彩な病態を理解することで個別化治療を行う必要がある。しかしながら、臨床情報のみからでは、病態異質性を捉えることは困難である。そこで、本研究では最近病態解明において盛んに行われているトランスクリプトーム解析に注目し、ARDSの病態異質性の解明を試みた。

2. 方 法

その高い侵襲性から検体サンプル数は限定的であるが、気管支肺胞洗浄液中の血球から次世代 RNA シーケンス解析により数万からなる全 RNA 情報を取得し、高次元データを主成分分析により視覚的にクラスター分類し、その後各クラスターに特徴的な生物学的現象を、遺伝子セット解析を用いて推定した。この際、健常コントロールとしてオープンデータを使用した。各クラスターに特徴的な臨床情報も、クラスター間の有意差を検定することで解析した。

3. 結 果

全トランスクリプトーム情報の主成分分析により ARDS 患者を非感染患者から分別でき、さらに ARDS 患者をいくつかのクラスターに分類することができた(図 1)。各クラスターの特徴を明らかとすべく、生物学的情報分析を行った結果、二つの異なる病態の存在を明らかとした(図 2)。



病態 A は、これまでの免疫応答亢進を主体とした病態である。即ち、気道線毛クリアランス機能の亢進を活用したウイルス感染とその拡散及び RHO-GTPase 経路活性化による血管内皮バリア機能低下を介した免疫細胞の肺胞腔内への移動による免疫応答の亢進が、結果的にウイルスは排除するものの気道肺胞障害、ムチン産生亢進及び線維化による間質肥厚を促進し、物理的ガス交換障害を生じたことが考えられた。一方で、非典型的な病態 B としては、感染ウイルスに対する気道線毛クリアランス機能の低下による肺胞への感染拡大と減弱した免疫応答により、ウイルス複製亢進に伴う過剰な異常タンパク産生亢進による小胞体ストレスと肺胞腔内容血による遊離ヘムに対する免疫細胞を介した排除機構の低下を生

じた。特に II 型肺胞上皮細胞は、小胞体ストレス及び遊離ヘムの影響を受けやすいことが知られている(JCI Insight. 2020, Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2014)。結果的に II 型優位の肺胞上皮細胞障害或いは脱落によるサーファクタント減少による肺胞虚脱からガス交換障害が生じたことが推

	病態A	病態B
免疫応答	>	>
気道線毛形成及び機能	>	>
サイトカインシグナル	>	>
Rho-GTPase経路	>	>
気道肺胞障害	>	>
ムチン産生	>	>
肺間質線維化	>	>
小胞体ストレス障害	<	<
肺遊離ヘム代謝障害	<	<
肺サーファクタント代謝障害	<	<
ガス交換障害	物理的	代謝異常

察された (表 1)。

これらの結果と臨床情報の関連性を解析した結果、病態 A と B 間で年齢、性別、発症から BAL 施行までの期間、血液検査所見(白血球数、リンパ球数、C 反応性タンパク、D-ダイマー及び乳酸脱水素酵素等)、治療法(免疫抑制療法の使用率等)、人工肺使用率及び入院中死亡率に差を認めなかった。

これまでは、健常者や他疾患との相違から ARDS の病態を特徴づける研究が主体であったが(Cell. 2020, Sci Rep. 2020, Nature. 2021, Nat Commun. 2021)、本研究のトランスクリプトーム解析により ARDS 患者間の病態異質性を捉えることに成功した。

4. 考 察

これまで捉えられなかった ARDS の病態異質性を気管支肺胞洗浄液細胞のトランスクリプトーム解析により明らかとした。これまでは、過剰免疫が ARDS の主病態として考えられてきたが、新たな病態として過剰免疫を基盤としない代謝異常によるガス交換障害の存在が示唆された。これらの病態は、治療戦略が異なるものであり、個別化治療の必要性を強調する。今後は、末梢血情報によりこの病態異質性を理解することで、個別化治療の実現性が高まると考えられる。

5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

現在論文執筆中。

肺胞上皮細胞のネクロシスを起点とした COVID-19 の重症化機構の解明と治療法開発

東條 健太郎、玉田 尚

横浜市立大学医学部麻酔科学、杏林大学保健学部

1. 目的

SARS-CoV-2 の感染によって引き起こされる COVID-19 は重症すると急性呼吸促迫症候群 (Acute Respiratory Distress Syndrome: ARDS) を引き起こし、その予後は不良である。重症 COVID-19 の特徴として、感染している SARS-CoV-2 ウイルス量がピークを超えた後に、重症化が進行するという点が挙げられ、ウイルス感染そのものの以外の重症化機構が存在すると考えられている。

我々は、重症 COVID-19 患者の血液の経時的解析から、肺胞上皮細胞の傷害マーカーは入院初日が最も高く、徐々に低下していく一方で、血管内皮傷害マーカーは入院後に増加傾向となることを明らかにしてきた(Tojo et al., Crit Care, 2021)。ARDS における肺胞上皮の傷害機構は様々であるが、細胞死の寄与が大きいと考えられている。また、我々は、LPS 誘導性 ARDS マウスの解析から、肺胞上皮細胞の細胞死はネクロシスが主体であることを明らかにしているが(Tamada et al., Shock, 2020)、アポトーシスとは異なり、ネクロシスは Damage Associated Molecular Patterns (DAMPs) と呼ばれる炎症を惹起する細胞内容物の放出を引き起こし、炎症・臓器障害を増強することが知られている。さらに、明確な細胞死に至る分子シグナル経路をもつアポトーシスと比較し、受動的な細胞死と考えられていたネクロシスの中にも、ネクロトーシスやパイロトーシスといった“制御されたネクロシス”が生じていることが報告され、ARDS による肺胞上皮細胞死にも関与している可能性がわかってきている。

以上の背景を踏まえ、我々は COVID-19 による ARDS では、病初期に制御されたネクロシスをはじめとする肺胞上皮細胞のネクロシスが生じ、DAMPs の放出を介して、COVID-19 の重症化に寄与しているという仮説をたてた。本研究ではこれを明らかにするために、臨床検体、動物モデルを用いて、COVID-19 による ARDS における肺胞上皮細胞死機構を解析するとともに、DAMPs が重症化に寄与しているのか検討を行った。

2. 方法

COVID-19 ARDS 患者の血液，気管支肺胞洗浄液の解析

2020年1月-2021年1月に横浜市立大学附属病院に入院した COVID-19 患者 (ARDS 群, 非 ARDS 群) 及び, 健常コントロールの血清を用いて, 上皮細胞の全細胞死マーカー CK18-M65, 上皮細胞のアポトーシスマーカー CK18-M30, および代表的な DAMPs の一つである HMGB-1 濃度を ELISA 法で測定した。また, 肺組織中での上皮細胞死パターンを解析するために, 2021年4月-2022年1月に同院に入院した COVID-19 による ARDS 患者の気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の CK18-M65, CK18-M30 を測定した。

COVID-19 ARDS マウスモデルの解析

SARS-CoV-2 ウイルスのリコンビナントスパイクタンパク及び合成 dsRNA である poly (I:C) を気管内投与することによって, COVID-19 ARDS マウスモデルを構築した。このモデルが COVID-19 モデルとして成り立っていることを明らかとするために, 肺組織の RNA-seq 解析を行い, SARS-CoV-2 ウイルス感染モデルマウスにおける肺組織の RNA-seq のデータと類似性について比較解析を行った。

次に, 肺胞上皮細胞の細胞死機構を解析するために, BALF 中の total CK18(M65に相当), CK18-M30 及び HMGB-1 濃度を ELISA 法で測定した。さらに, 肺組織からタンパクを抽出した上で, 制御されたネクロシスであるネクロトーシスの実行因子リン酸化 MLKL, パイロトーシスの実行因子である cleaved GSDMD についてウェスタンブロットにて測定を行った。

最後に HMGB-1 を阻害することで COVID-19 ARDS モデルの肺組織傷害を軽減できるか検討するために, anti-HMGB-1 中和抗体を COVID-19 ARDS モデルマウスに投与し, BALF の解析を行った。

3. 結果

COVID-19 ARDS 患者の血液，気管支肺胞洗浄液の解析

COVID-19 患者の血清中では, 健常コントロールと比較し, CK18-M65, CK18-M30 がいずれも有意に増加しており, 特に ARDS 患者において顕著な増加が見られた。上皮細胞死に占めるアポトーシスの割合を示す, CK18-M30/M65 比は健常コントロールでは 98.9% (中央値) [IQR: 83.1-100.0] と殆どがアポトーシスであったのに対して, COVID-19 非 ARDS 患者では 46.7% [IQR: 36.6-80.5], COVID-19 ARDS 患者では 31.5% [IQR: 19.4-43.3] と重症度が上がるにつれて低値となり, ネクロシスが主体となることが示された。また, COVID-19 ARDS 患者の BALF 中の

CK18-M30/M65 比は、27.8% [IQR: 13.3-38.5]と血清中とほぼ同じ値を示しており、血清中 CK18-M30/M65 比は肺胞上皮細胞の細胞死を反映していることが示唆された。同時にネクロシス細胞から放出される代表的な DAMPs である HMGB-1 の血清中濃度は COVID-19 患者で増加しており、特に ARDS 患者で顕著に増加していたことから、重症化に寄与している可能性が示唆された。

COVID-19 ARDS マウスモデルの解析

RNA-seq データの解析の結果、我々の構築した COVID-19 ARDS マウスモデルでは、パスウェイレベルにおいて、感染モデルと類似した遺伝子発現パターンが観察された。COVID-19 ARDS マウスモデルでは著名な肺組織傷害が観察され、BALF 中では CK18-M30, total CK18 が増加していた。さらに、COVID-19 ARDS 患者と同様、CK18-M30/total CK18 比が低値を示し、HMGB-1 濃度も増加していた。

ネクロトーシスの実行因子リン酸化 MLKL, パイロトーシスの実行因子 cleaved GSDMD はいずれも COVID-19 ARDS マウスモデルで増加しており、制御されたネクロトーシスが肺胞上皮細胞死に寄与していることが示唆された。最後に、SARS-CoV-2 スパイクタンパク+poly(I:C)気管内投与から4時間経過後に HMGB-1 中和抗体を経静脈的に投与したところ、肺の組織傷害、バリア破綻が軽減されることが確かめられた。

4. 考察

COVID-19によるARDSでは病初期にネクロトーシスを主体とする肺胞上皮細胞死が生じており、動物モデルの解析から、ネクロトーシスやパイロトーシスといった制御されたネクロトーシスが寄与していることが示唆された。さらに、ネクロトーシス細胞から放出される代表的な DAMPs である HMGB-1 濃度の増加が見られ、動物モデルに対する HMGB-1 中和抗体の投与は重症化を抑制した。以上から、病初期にネクロトーシスに陥った肺胞上皮細胞から放出される DAMPs は COVID-19 の重症化促進因子である可能性があり、有望な治療標的であることが示唆された。

5. 論文及び学会発表

Tojo K, Yamamoto N, Tamada N, Mihara T, Abe M, Nishii M, Takeuchi I, Goto T. Early alveolar epithelial cell necrosis is a potential driver of COVID-19-induced acute respiratory distress syndrome. *iScience*. 2023;26(1):105748. doi: 10.1016/j.isci.2022.105748.

<がん研究助成>

(申請書記載の課題名)

中枢神経系原発悪性リンパ腫の患者由来モデルを用いた治療耐性機序の解明

(報告者名)

¹三宅 勇平

(共同研究者名も併記)

^{1,2}立石 健祐

(所属部科名)

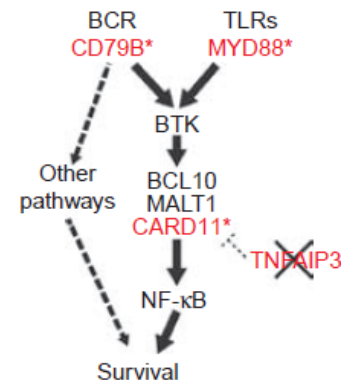
¹横浜市立大学大学院医学研究科 脳神経外科学

²横浜市立大学生命医科学研究科 創薬再生科学研究室

1. 目的

中枢神経系悪性リンパ腫 (Central nervous system lymphoma: CNSL) では、現在の標準治療であるメトトレキサート (MTX) を基盤とした化学療法と全脳照射では50%以上は再発し、さらに白質脳症などの治療合併症は重篤な認知機能障害をきたす。このため治療成績向上と同時に副作用低減の観点からも、CNSL の分子生物学的な機構に基づく標的治療の開発が望まれている。

CNSL では、NF- κ B 経路の過剰な活性化が腫瘍増殖を促進している。その理論に基づき、NF- κ B 経路上流の Bruton's tyrosine kinase (BTK) の阻害薬が臨床応用されたが、早期の耐性化が課題となっている。BTK 阻害薬へ耐性機序として、BTK 下流の分子 CARD11 の活性化に加え、NF- κ B を活性化する様々なシグナルが関与していると考えられ、非常に複雑な経路であることが予想される。



Grommes C, Cancer Discovery 2017

本研究では、CNSL の患者由来腫瘍モデルを用いて、BTK 阻害薬の耐性機序を検証するとともに、耐性機序の解明を通じて新たな治療標的の解明を目指す。

2. 方法

本実験では、CNSL 患者の手術で摘出した腫瘍検体を免疫不全マウスに移植することにより作成した、患者由来腫瘍 patient-derived xenograft (PDX) モデルを使

用する (Tateishi K, Miyake Y (co-first), et.al. Cancer Res. 2020)。

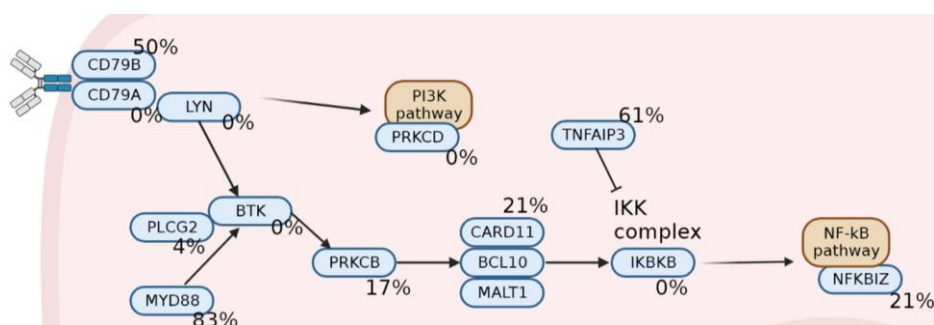
- ・各患者由来腫瘍細胞株に対し、BTK 阻害薬 (ibrutinib) を *in vitro*、*in vivo* で投与し薬剤感受性を測定する。同時に、各細胞株において、NF-kB 経路を中心に発現解析を行う。
- ・全エクソン解析を行い、BTK 阻害薬感受性と遺伝子異常の関連性を検証する。
- ・BTK 阻害薬を用いた患者の臨床経過と、細胞株の感受性を比較する。

3. 結 果

各細胞株の遺伝子異常のまとめ

31 種類の PDX model の作成に成功し、そのうち Epstein-Barr Virus-negative の 28 例を解析対象とした。

すべての細胞株で NF-kB 関連の遺伝子異常を認めた。特に、*MYD88*/*CD79B* といった BTK 上流の遺伝子変異を 8 割に認めた。これらの変異がない症例では、*NFKBIZ* 変異など BTK 下流の遺伝子変異を認めた。



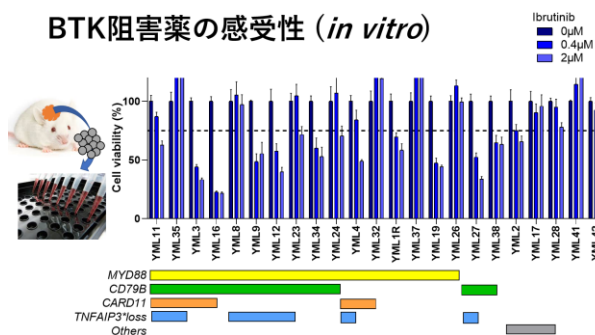
遺伝子異常と BTK 阻害薬感受性のまとめ

細胞株の BTK 阻害薬に対する薬剤感受性は、細胞株依存性であったが、*CARD11*、*TNFAIP*、*BTK* など含め NF-kB 経路に位置する特定の遺伝子異常との相関は見いだせなかった。マウスモデルにおいては、細胞株の感受性と一貫した結果であった。

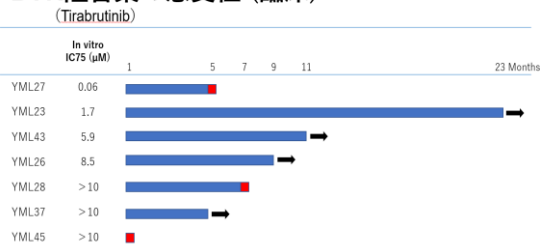
臨床経過と細胞株の感受性の比較

BTK 阻害薬を臨床で使用した例は、28 例中 9 例であったが、患者と細胞株間での BTK 感受性結果の相関は見られなかった。

BTK阻害薬の感受性 (*in vitro*)



BTK阻害薬の感受性 (臨床)



4. 考 察

すべての CNSL 患者由来細胞株において NF- κ B 経路に関わる遺伝子変異を有しており、NF- κ B 経路が腫瘍化に強く関わっていることが示唆された。一方で BTK 阻害薬の感受性は、患者と細胞株で相関が見られなかったことから、遺伝子異常背景のみならず、腫瘍内微小環境や薬剤到達度の違いなどが関与している可能性があると考えられた。マウスモデルによる BTK 阻害薬の耐性機序解明、分子生物学的背景に基づく治療標的の同定など、現状の治療限界の克服を見据えた研究を現在進めている。

5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

論文発表

1. Miyake Y, Tateishi K, Oshima A, et al. A case of midbrain germinoma: A literature review for radiographic and clinical features. *Neuro-Oncology Advances*, 2023, vdad043, <https://doi.org/10.1093/noajnl/vdad043>
2. Oka C, Miyake Y (corresponding), Tateishi K, et al. Thigh leiomyosarcoma-derived brain metastasis with intracerebral hematoma: A case report and literature review. *Surg Neurol Int* 3(14):80, 2023.
3. Sasame J, Ikegaya N, Kawazu M, Natsumeda M, Hayashi T, Isoda M, Satomi K, Tomiyama A, Oshima A, Honma H, Miyake Y, Takabayashi K, Nakamura T, Ueno T, Matsushita Y, Iwashita H, Kanemaru Y, Murata H, Ryo A, Terashima K, Yamanaka S, Fujii Y, Mano H, Komori T, Ichimura K, Cahill DP, Wakimoto H, Yamamoto T, Tateishi K. HSP90 inhibition overcomes resistance to molecular targeted therapy in BRAFV600E mutant high-grade glioma. *Clinical Cancer Research* 28(11):2425–2439, 2022.

学会発表

- 三宅勇平、他. 中枢神経系悪性リンパ腫の患者由来モデルと分子遺伝学的特徴. 第 40 回日本脳腫瘍学会, 2022 年 12 月、千葉.
- 三宅 勇平、他. 中枢神経悪性リンパ腫では RelA/p65 の過剰活性化が FDG 高集積を誘導する. 第 81 回日本脳神経外科学会学術総会, 横浜, 2022 年 9 月.

<がん研究助成>

若年性大腸癌のリスク因子としての *F. nucleatum* の役割の解明と新規予防法の開発

報告者：日暮 琢磨¹

共同研究者：吉原努¹、松浦哲也¹、松本光晴²

1. 横浜市立大学医学部肝胆膵消化器病学
2. 協同乳業株式会社研究所 技術開発グループ

本文には次の項目について記載して下さい。また、本文は（図表を含め）A4の用紙3枚程度にお願いします。

1. 目 的

50代以下の若年発症の若年大腸癌は近年年率2%程度増加しており、1990年の2倍になり現在も増加傾向である。若年大腸癌は社会的/経済的な損失も大きい。若年大腸癌の原因として、肥満、運動不足、食事、腸内細菌、炎症などが相互に作用して影響している可能性が指摘されているがはっきり特定されたものはない。

腸内細菌と大腸癌における研究では、嫌気性菌の、*Fusobacterium nucleatum* (*Fn*)が非大腸癌患者と比較し大腸癌患者の大腸から高頻度に検出されること、癌部で検出される *Fn* の量が予後と相関すること、マウス発癌モデルに *Fn* を投与すると大腸腫瘍が増大すること、などが報告され、*Fn* が大腸癌の発癌/進行に関わっている可能性が示唆されている。*Fn* は元来、口腔内常在菌として知られており、歯周病菌とバイオフィルムを凝集し歯周病の間接的な原因となっている。

我々は、*Fn* は健常人でも大腸癌患者でも口腔からはほぼ100%検出されるが、健常人では大腸での *Fn* の検出頻度が低いことに着目し、大腸癌で検出される *Fn* が口腔内から起因するという仮説を立て検証を行ったところ、組み入れ基準を満たした大腸癌患者14名から、内視鏡を用いて大腸癌組織を採取し、また唾液検体を採取した。大腸癌組織、唾液から選択培地を用いて *Fn* を単離培養し、唾液からは全例 *Fn* が検出された。一方、大腸癌組織からは8名に *Fn* が検出され

た。この大腸癌組織と唾液両方から *Fn* が検出された検体に対して AP-PCR 法で株レベルの識別を行ったところ、75% (6/8 例) で唾液と大腸癌組織の両方で同一株の *Fn* が検出された。本研究は唾液、および大腸癌組織から *Fn* 選択培地を用いて単離培養した後に特異的プライマーを用いて同一性を確認したが、*Fn* は嫌気性菌であり培養が難しいことを加味するとさらに高率に口腔内と大腸癌の *Fn* が一致する、つまり大腸発癌に関わっている *Fn* は口腔内由来である可能性が高いと考えている。

厚生労働省の歯科疾患実態調査によれば、近年はう歯（虫歯）は減少傾向であるのに対して、歯周病は幼少期、学童期から急増しており、歯の喪失原因の現在一位は歯周病であり、現在も多くの罹患者がいる。この歯周病の増加は、若年大腸癌の増加と時期を同じにしており、若年大腸癌増加の原因の一つは歯周病の増加であるという仮説を立てた。

本研究は増加する若年大腸癌のリスクファクターとしての腸内細菌/口腔内細菌の役割の解明と予防法の開発である。

2. 方 法

研究 1

以前の研究で大腸癌組織と口腔内の *Fn* についての株レベルの識別を行った研究において、AP-PCR 法を用いて同一株であると証明した一方で、ゲノムレベルで完全に配列が一致しているかの証明ができていなかった。そこでこれまでの研究で入手していた大腸癌患者の組織と唾液の両方に存在する *Fn* の全ゲノムシーケンスを解析し、これまでに報告していた AP-PCR 法との比較を行った。また歯周病治療の介入モニタリングとして AP-PCR の有用性についても検討した。

研究 2

内視鏡治療を行う予定の患者に対して歯科受診し歯周病検査を行い、唾液、プラークを採取する。また初回内視鏡時に便、大腸組織を採取する。歯周病のある患者はその後歯科で徹底的なプラークの清掃、ブラッシング指導を行い、3 か月間治療を行う。3 か月後に唾液、プラークを採取し、歯周病治療効果を判定し、切除予定の大腸腫瘍を内視鏡治療を行う。その際に再度、便、大腸組織を採取し、菌叢解析および *Fn* の菌量変化を解析した。(図 1)

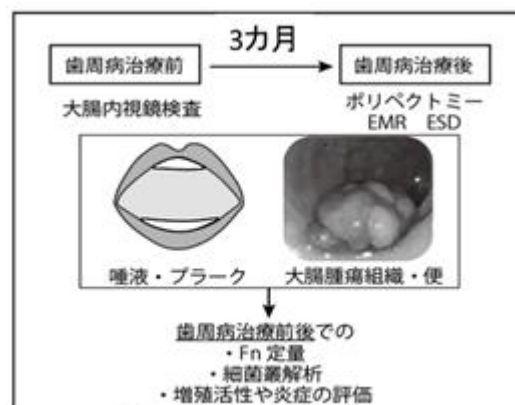


図 1. 本研究のシエーマ

3. 結 果

研究 1 過去の研究において、AP-PCR 法を用いて同一株と判定していた唾液、大腸癌組織中の *Fn* について全ゲノムシーケンスを行った結果、すべての菌株において配列が 100%match (E-value0.0) という結果を得た。これにより、全ゲノムシーケンスより安価で簡便な AP-PCR 法で菌株を判定できることが示された。

さらに研究 2 で歯周病治療を行った症例について治療前後での菌株判定を行うと、歯周病治療が奏功した症例では特定のタイプの *Fn* のバンドが消失しており、歯周病治療によって菌が除去されたことが示された。(図 2) (論文 1)

研究 2 研究に 58 名がエントリー、組み入れ基準を満たした歯周病患者 37 名と歯周病のない 5 名が試験に参加した。歯周病患者の 37 名が 3 か月間の歯周病治療を受け、治療後評価を 30 名が受けた。結果、歯周病が改善した 16 名と改善のなかった 11 名、歯周病なしの 4 名に対して最終解析が行われた。歯周病が改善していた群では便中 *Fn*DNA 量が有意に減少していたのに対し、改善のなかった群では便中 *Fn*DNA 量の変化は認めなかった。図 3

一方で、歯周病の改善ありなしに関わらず、腸内細菌叢および腸内細菌叢の多様性は変化を認めなかった。図 4

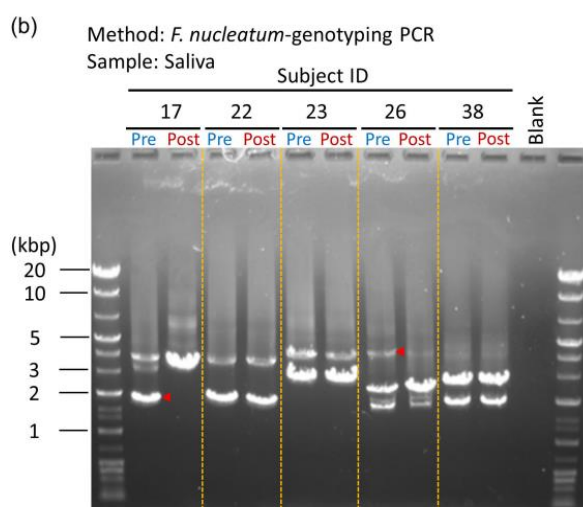


図 2 歯周病治療前後のバンド変化

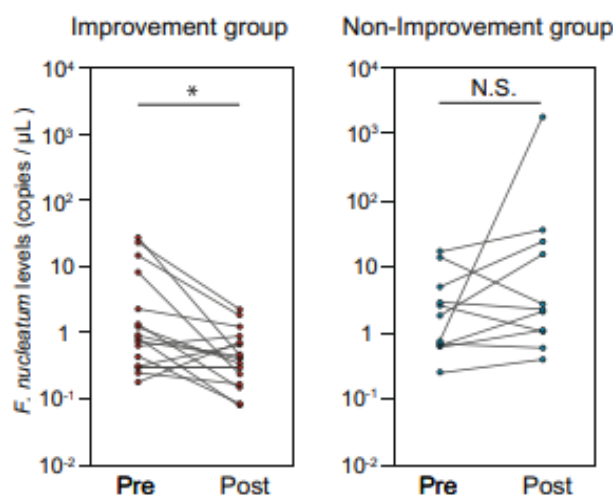


図 3 歯周病治療前後の便中 *Fn*DNA 量の変化

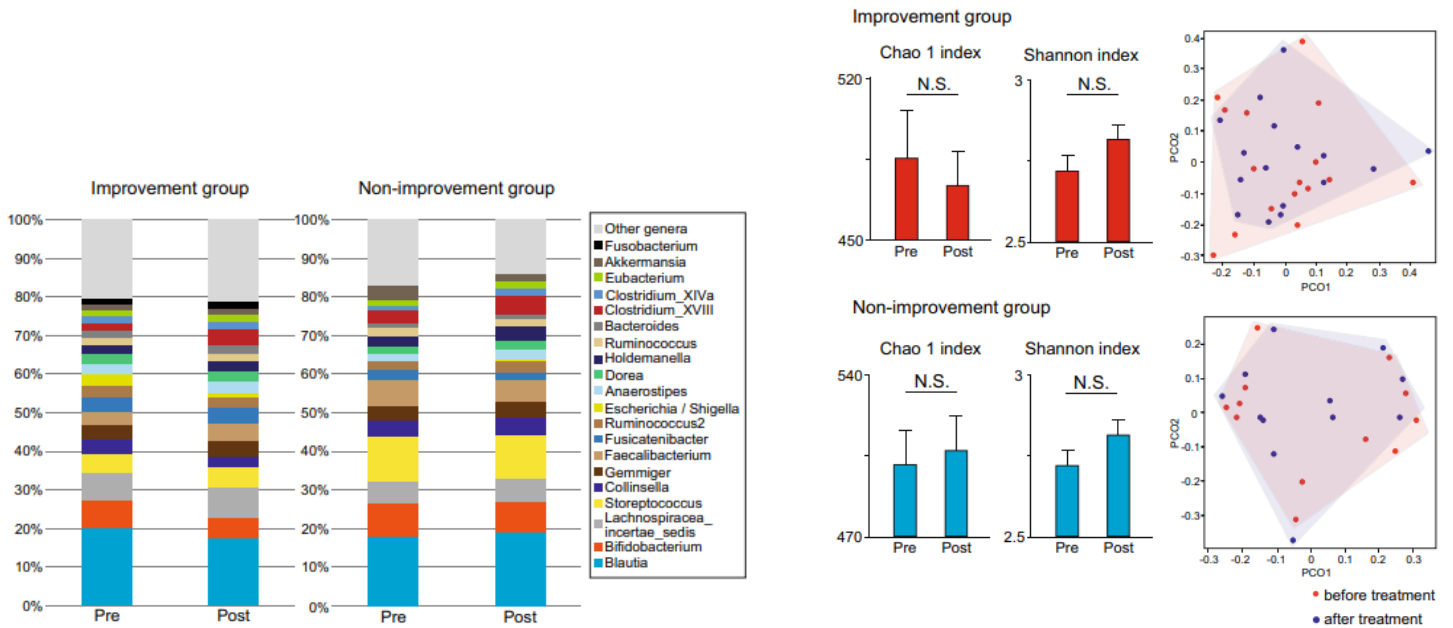


図 4 歯周病治療前後での便中菌叢変化および菌叢多様性の変化

4. 考 察

増加する大腸癌に対して、検診などを含む早期発見早期治療によって一定の効果は出ているが予防においてはまだ十分ではなく、本研究により大腸癌に関わっている *Fn* を口腔ケアからコントロールしていき大腸癌の抑制を目指すというコンセプトは一定の可能性があると思われた。今後は実際の大腸腫瘍をターゲットとして、腸内細菌の制御からの疾病予防が可能かどうかを検討していきたいと考えている。

5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

1. Shimomura U, Sugi Y, Kume A, Tanaka W, Yoshihara T, Matsuura T, Komiya Y, Ogata Y, Suda W, Hattori M, Higurashi T, Nakajima A, Matsumoto M. Strain-level detection of *Fusobacterium nucleatum* in colorectal cancer specimens by targeting the CRISPR–Cas region. *Microbiology Spectrum*. In press.
2. Yoshihara T, Kioi M, Baba J, Usuda H, Kessoku T, Iwaki M, Takatsu T, Misawa N, Ashikari K, Matsuura T, Fuyuki A, Ohkubo H, Matsumoto M, Wada K, Nakajima A, Higurashi T. A prospective interventional trial on the effect of periodontal treatment on *Fusobacterium nucleatum* abundance in patients with colorectal tumours. *Sci Rep*. 2021;11(1):23719. doi: 10.1038/s41598-021-03083-4

<医療技術研究助成>

高齢者療養型施設の誤嚥防止の取り組みと介護職が感じる困難についての実態調査

田中 瞳¹⁾

共同研究者：渡邊 香²⁾ 吐師秀典³⁾

1) 新潟青陵大学 2) 国立看護大学校 3) 特定非営利活動法人 友愛会

1. 目 的

医療・介護関連肺炎は死亡リスクが高く、各国共通の課題である。嚥下障害がある高齢者の肺炎発生率は高く (Hollaar, V. R. Y., et al. 2017)、嚥下障害と栄養不良は誤嚥性肺炎や脱水症状等、精神的・身体的な健康状態の低下と関連していること (Huppertz, V. A. L., et al. 2018)、経口摂取が不十分な人は嚥下困難になる可能性が高いこと (Streicher, M., et al. 2018)、摂食動作の他人への依存が誤嚥の圧倒的な危険因子であること (Langmore, S. E., et al. 1998) が明らかになっている。誤嚥の観察可能な指標はタスクを中心とした介護者の行動中またはそれに続いて起こる可能性が高く、症状が出てから 15～30 秒後に起こる可能性が高いことから、介護者のアプローチが誤嚥の発生に影響を及ぼす可能性が示されている (Gilmore-Bykovskyi, A. L. and N. Rogus-Pulia. 2018)。

高齢者の食事は介助を要する割合が高く、安全な食事支援は介護職にも重要な課題であるが、現場の介護職は食事介助の安全確保が十分できない、誤嚥時の対処方法がわからず、相談相手がいない等、様々な困難を抱え (小浦, 2011)、技術不足や知識不足を訴える介護職も多く、何らかの支援を必要としていることが明らかにされている (遠藤他, 2006) 7が、その内容は明らかになっていない。加えて、現状、地域で高齢者を支える介護職の資格の種類、資格取得の経緯は複雑であり、介護士によって支援技術や判断には差がある。食事・誤嚥予防は施設の種類に関係なく、介護職の困難感が高い介護技術である実態が報告されている (中林, 2018)。

本研究の目的は、高齢者療養施設で利用者の食事支援を行っている介護職への支援を検討するため、介護職が利用者の食事支援場面で感じる困難と影響要因を明らかにすることである。

2. 方 法

新潟県内の高齢者療養施設事業所に勤務する常勤の介護実践者を対象に、2022年8月～9月に調査用紙 850部を配布した。調査項目は先行調査を基に作成した「介護職の食事援助における困難事象」項目、基本属性 (経験年数、資格種別、事業所種別、利用者数他)、

<医療技術研究助成>

食事介助の知識尺度（畠山, 2021）で構成した。回収 106 部のうち、主要評価項目情報が得られなかった 7 部を除く 99 部（有効回答率 11.6%）を解析対象とした。

解析方法は、サンプルサイズが小さく、非正規分布での解析が可能な一般化最小二乗法で探索的因子分析を行った。回転方法はプロマックス法、因子負荷量は 0.4 を基準とした。解析には IBM SPSS. Statistic ver. 26 for Mac を使用した。

3. 結 果

解析対象の概要を述べる。年齢の中央値（四分位範囲）は 43（34-52）歳、女性が 72.7%、高齢者支援に関する経験年数は 13.5（8.0-18.7）年で就業資格は介護福祉士が 80.8%であった。施設種別で最も多かったのは認知症対応型共同生活介護（グループホーム）28.3%、次いで介護老人福祉施設、介護老人保健施設がいずれも 24.2%であり、食事介助の知識尺度得点は 14 点満点で平均 12.46（SD1.45）点であった。

Kaiser-Meyer-Olkin の標本妥当性は.901 で、Bartlett の球面性検定の有意確率は $p = 0.00$ であり、因子分析の価値があると判定、共通性で除外を要する項目がないことを確認した。因子数はスクリープロットと Kaiser-Guttman 基準から 5 を確認ののち、因子の解釈可能性を確認しながら解析し、最終的に因子負荷量 0.4 以上の因子数 4 を採用した。

第 1 因子は誤嚥を起こさないための知識に関連する項目に高い負荷量を示しており「誤嚥防止に必要な知識の不足」とした。第 2 因子は食事支援に関する他の援助者との関わりについての項目に高い負荷量を示しており「食事支援のための職種間連携不足」とした。第 3 因子は学習や習得についての項目であったことから「食事介助に関する学習機会の不足」とした。第 4 因子は食事介助に集中できないことに関する項目に高い負荷量を示しており、「一人の利用者の介助に集中することが不可能」と命名した（表 1.）。これら 4 因子間では特に第 1 因子と第 3 因子（ $r=.665$ ）、第 1 因子と第 2 因子（ $r=.514$ ）で相関が、第 1 因子と第 4 因子（ $r=.429$ ）、第 2 因子と第 3 因子（ $r=.394$ ）で弱い確認された。

4. 考 察

食事支援における介護職の困難事象として 4 つの因子が抽出された。先行して実施したインタビュー調査の結果と比較すると、因子数と命名は異なるが概ね同様の事象が抽出された。高齢者の食事支援にあたっては誤嚥防止が重要な課題であるが、介護職にとっては誤嚥防止に関する知識不足が安全な食事介助を困難にする大きな要因であるといえる。誤嚥防止に関連する知識不足の内容としては、誤嚥時の対処、観察、アセスメントに高い負荷量が確認されたことから、安全な食事支援の実施に向け介護職を支援するにあたっては、この点に注力する必要が示唆された。

第 1 因子である「誤嚥防止に必要な知識の不足」は全因子との相関があったが、第 3 因子「食事介助に関する学習機会の不足」の相関が高かった点から、学習機会の設定や学習者のニーズに沿った学習内容が知識習得の有益な助けになることが期待される。今後、研

<医療技術研究助成>

修機会や参加頻度等との関連を検討したい。

5. 論文及び学会発表（研究会を含む）

本研究結果の学術的報告は未実施である。抽出された因子に関連する要因を確認するため、追加の解析を行ってから報告する予定である。

表1. 介護職の食事支援に関する困難事象についての因子分析結果

因子	項目	因子負荷量			
誤嚥防止に必要な知識の不足	II 7-誤嚥時に適切な対処ができない	0.988	-0.066	-0.070	-0.014
	II 12-嚥下に関する観察方法がわからない	0.978	-0.103	-0.041	0.054
	II 8-全身状態のアセスメントができない	0.971	-0.071	-0.055	-0.132
	II 22-誤嚥に関する観察頻度がわからない	0.943	-0.139	0.024	-0.006
	II 1-誤嚥防止に必要な観察項目がわからない	0.920	-0.015	-0.081	-0.147
	II 6-嚥下状態を正しく観察できていない	0.793	0.226	-0.207	-0.036
	II 11-誤嚥リスク者の食事介助方がわからない	0.759	-0.103	-0.008	0.183
	II 2-利用者の誤嚥時の対処方法がわからない	0.744	-0.041	0.056	0.055
	II 14-嚥下に関する観察内容がわからない	0.735	0.033	0.113	-0.007
	II 13-誤嚥回避の介護知識がわからない	0.695	0.069	0.149	0.021
	II 9-安全な嚥下に必要な体位がわからない	0.695	-0.147	0.180	-0.048
	II 17-誤嚥のアセスメントができない	0.677	0.297	-0.045	-0.054
	II 16-状況から誤嚥リスクを判断できない	0.623	0.203	0.079	0.056
	II 20-咽せ時に落ち着いて観察できない	0.620	0.048	0.163	0.061
	II 21-自分だけでは誤嚥リスクに気付けない	0.616	-0.119	0.362	-0.007
	II 28-嚥下の観察タイミングがわからない	0.611	0.004	0.332	0.046
	II 3-姿勢を正しく整えることができない	0.577	0.009	-0.106	0.228
	II 4-口腔ケアの必要性を説明できない	0.566	0.147	-0.108	0.059
II 25-援助技術の根拠が説明できない	0.566	0.022	0.255	0.091	
II 23-正しい口腔ケア方法を説明できない	0.527	0.251	0.051	-0.007	
II 32-過去の経験から解除に自信が持てない	0.455	-0.061	0.241	-0.068	
II 19-口腔フレイルの評価ができない	0.450	0.204	-0.046	-0.004	
食事支援のための職種間連携不足	II 30-嚥下リスク情報を共有できない	-0.231	0.961	0.143	0.016
	II 31-職員間Comが十分取れない	-0.065	0.928	-0.079	0.000
	II 15-食事介助方法が共通していない	-0.090	0.720	0.063	0.095
	II 5-食事支援の悩みの相談相手がない	0.242	0.662	-0.096	-0.021
	II 29-他職種と連携が図れない	0.009	0.639	0.133	-0.009
II 18-誤嚥防止の学習機会がない	0.357	0.476	-0.014	-0.118	
食事介助に関する学習機会の不足	II 27-食事介助技術を十分習得できていない	0.082	0.041	0.936	-0.028
	II 26-食事介助を系統的に学習していない	0.156	0.115	0.676	-0.013
一人の利用者の介助に集中することが不可能	II 10-一人の利用者の食事介助に集中できない	0.033	0.005	-0.135	1.028
	II 24-食事介助中に落ち着いて対応できない	-0.034	0.023	0.141	0.764

因子抽出法: 一般化された最小2乗

回転法: Kaiser の正規化を伴うプロマックス法

a 6 回の反復で回転が収束しました。

<医療技術研究助成>

褥瘡創部の細菌叢の乱れ「ディスバイオシス」は創傷滲出液の pH と
関連するの—新規創傷ケアの開発に向けた横断観察研究—

國光真生^{1,2}

赤瀬智子¹、仲上豪二郎²

1. 横浜市立大学大学院 医学研究科看護学専攻
2. 東京大学大学院医学系研究科 健康科学・看護学専攻

近年、療養の場が病院から在宅へと移行したことによって、患者自身で簡便に創部状態をアセスメントできる方法が必要とされている。我々は、これまでに創部と創周囲皮膚の細菌叢の類似性が低い状態の「ディスバイオシス」が起きているとき、治癒が遅延する可能性が高いことが明らかにした。ディスバイオシスは創部状態をアセスメントする指標の候補となりうることから、新たな評価指標の確立に向けた第1段階として、本研究は創部・創周囲皮膚間の細菌叢類似性の程度と創傷滲出液 pH の関連を明らかにすることを目的とした。創傷専門訪問診療所において13例の難治性創傷を対象に横断的観察研究を実施した。創底の中心に pH 測定器のセンサを当て、創傷滲出液 pH を測定した。細菌叢の組成は創部および創周囲皮膚からスワブサンプルを採取し、細菌叢解析を実施することで同定した。細菌叢類似性の指標である Weighted UniFrac dissimilarity index の値と創傷滲出液の pH 間のスピアマンの順位相関係数を算出した。その結果、創部・創周囲皮膚間の Weighted UniFrac dissimilarity index と創傷滲出液 pH は有意な正の相関を示した ($\rho = 0.75, p < 0.01$)。このことから、創傷滲出液 pH はディスバイオシスを簡便にアセスメントする指標として用いることができる可能性がある。

<医療技術研究助成>

褥瘡創部の細菌叢の乱れ「ディスバイオシス」は創傷滲出液の pH と
関連するののか—新規創傷ケアの開発に向けた横断観察研究—

國光真生^{1,2}

赤瀬智子¹、仲上豪二郎²

1. 横浜市立大学大学院 医学研究科看護学専攻
2. 東京大学大学院医学系研究科 健康科学・看護学専攻

1. 目 的

褥瘡をはじめとする難治性創傷は、ひとたび発生すると約 50%が 1 年以内に治癒しない (Guest et al., 2018)。一方、療養の場が病院から在宅へと移行することで、自宅で創傷を管理する患者が増加している。したがって、患者自身で簡便に創部状態をアセスメントできる方法が必要とされている。

創部に定着した細菌群集（創部細菌叢）は創傷治癒と関連することが知られている。特に、創部と創周囲皮膚の細菌叢の類似性が低い状態の「ディスバイオシス」が起きているとき、治癒が遅延する可能性が高く (Kunimitsu et al., 2023)、ディスバイオシスは創部状態をアセスメントする指標の候補となりうる。しかし、現在ディスバイオシスを評価する方法は、実験室でのサンプル処理や長時間のデータ解析を要する細菌叢解析のみである。したがって、ベッドサイドでのリアルタイムなアセスメントには用いることができない。そこで我々は創傷滲出液の pH に着目した。腸管や口腔では、細菌が産生する有機酸を介して周囲の pH が変動することで、他の細菌の定着・増殖を制御し常在細菌叢が維持されている。また、創傷滲出液 pH の低下と創部症状の改善の関連が報告されていることから、ディスバイオシス状態の細菌叢になると創傷滲出液 pH が上昇すると着想した。そこで、新たなディスバイオシスの評価指標の確立に向けた第 1 段階として、本研究は創部-創周囲皮膚間の細菌叢類似性の程度と創傷滲出液 pH の関連を明らかにすることを目的とした。

2. 方 法

2-1. 研究デザインと対象者

2023 年 1 月から 3 月まで創傷専門訪問診療所において横断的観察研究を実施した。本施設では神奈川県および東京都の在宅を訪問している。調査施設の訪問診療を受ける、20 歳以上の皮下組織に達する重度の創傷を保有する患者を対象とした。難治性創傷（褥

瘡、虚血性創傷、静脈性潰瘍、手術創) 以外の創傷およびサンプル採取または pH 測定が困難と医師が判断した創傷は除外した。

1-2. データおよびサンプル収集

創傷滲出液 pH の測定には Skin pH Meter (HI 9810372, Hanna Instruments, USA) を用いた。創傷被覆材を剥離した後、創底の中心に pH 測定器のセンサを当てた。必要時デブリードマンを実施し、洗浄剤と水道水を用いて創部洗浄を行った後、創底の中心 (1 cm×1 cm) と創周囲皮膚 (創縁から頭側に 1cm 離れた正常な皮膚 4.4 cm×4.4 cm) を滅菌 0.1% Tween-20 を含む滅菌生理食塩水で湿らせたスワブでぬぐい、細菌叢解析用のサンプルを採取した。創部の画像を撮影し、創部状態に応じて創傷処置を行った。患者および創部に関するデータは診療録から収集した。

1-3. 細菌叢解析

スワブから細菌 DNA を抽出し、16S Barcoding Kit 1-24 (SQK-16S024; Oxford Nanopore Technologies, Oxford) と MinION portable sequencer (Oxford Nanopore Technologies) を用いて塩基配列データを取得した。EPI2ME (Oxford Nanopore Technologies) によってベースコーリングを実施し、Qiime によって多様性解析を行った。細菌叢組成は各細菌が占める割合を示す相対存在量によって評価した。同一患者内の創部・創周囲皮膚間の細菌叢類似性を評価するために Weighted UniFrac dissimilarity index を算出した。この指標は 0 から 1 までの値をとり、0 は 2 つの細菌叢が完全に一致していることを示し、1 に近くなるほど類似性が低いことを示す。

1-4. 統計解析

統計解析は EZR (Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Saitama, Japan) を用いた。連続変数は中央値 (四分位数範囲)、カテゴリ変数は症例数 (%) を示した。Weighted UniFrac dissimilarity index の値と創傷滲出液の pH 間のスピアマンの順位相関係数を算出した。

3. 結果

18 名 (18 例の創傷) がリクルートされ、創傷の種類が対象外であることを理由に 2 例、創部のサイズが小さく、創傷滲出液 pH 測定ができないことを理由に 3 例が除外され、13 名 13 例の創傷が解析に用いられた (Table 1)。対象の年齢の中央値は 80 歳であり、男性が 76.9% を占めた。創傷の種類は虚血性潰瘍と褥瘡が大半を占め、デブリードマンが必要な創傷は 38.5% だった。創傷滲出液 pH の中央値は 7.47 (1.10) だった。

Table 1. 属性		n=13
年齢(歳)		80(8.60)
性別	女性	3(23.1)
	男性	10(76.9)
創傷の種類	虚血性潰瘍	5(38.5)
	褥瘡	5(38.5)
	手術創	2(15.4)
	静脈性潰瘍	1(7.7)
部位	仙骨部	4(30.8)
	下腿	4(30.8)
	その他	5(38.5)
深さ	皮下組織までの損傷	5(38.5)
	皮下組織を超える損傷	6(46.2)
	関節腔、体腔に至る損傷	2(15.4)
外用薬	ヨードホルム	2(15.4)
	精製白糖ポビドンヨード	3(23.1)
	アルプロスタジルアルファデクス	1(7.7)
	カデキソマーヨウ素	2(15.4)
創傷被覆材	アルギン酸カルシウム	1(7.7)
	ハイドロファイバー	3(23.1)
	ガーゼ	7(53.9)
創処置	陰圧閉鎖療法	2(15.4)
	デブリードマン	5(38.5)

連続変数は中央値(四分位数範囲)、カテゴリ変数はn(%)を示した。

13例の創傷における創部と創周囲皮膚の細菌叢組成を Figure 1 に示した。創部細菌叢の優勢細菌は *Staphylococcus* 属 (相対存在量中央値: 45.8%) だった。創周囲皮膚では、*Staphylococcus* 属 (51.6%)、*Finnegoldia* 属 (6.3%) が優勢だった。創部-創周囲皮膚間の Weighted UniFrac dissimilarity index の中央値は 0.34 (0.07) だった。

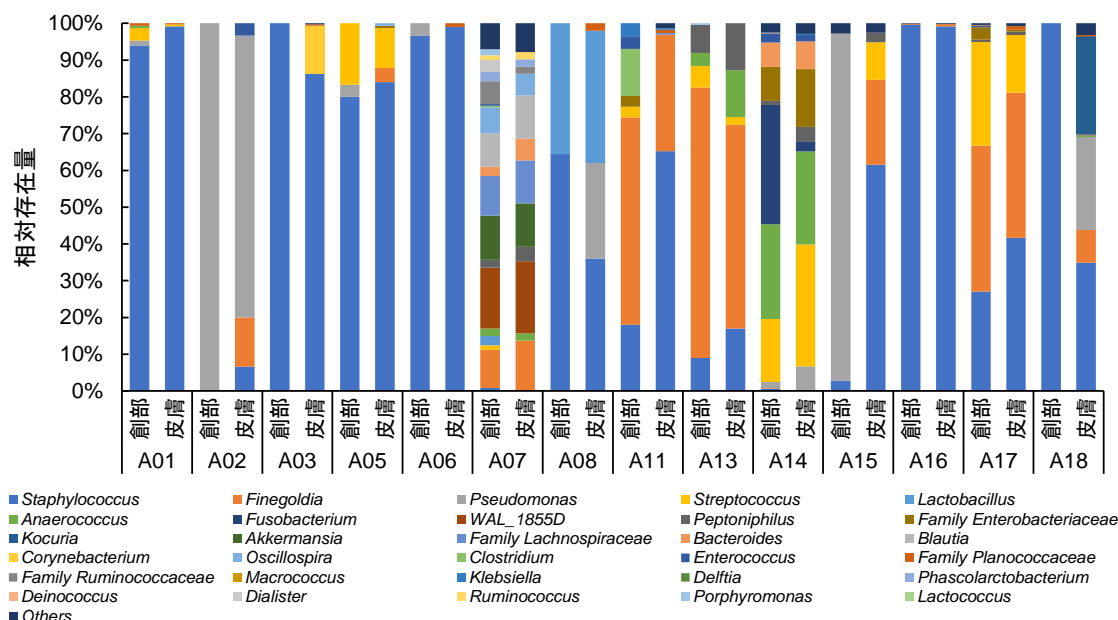


Figure 1. 創部と創周囲皮膚の細菌叢の組成。相対存在量上位 30 の細菌を示した。

Weighted UniFrac dissimilarity index と創傷滲出液 pH は有意な正の相関を示した ($p = 0.75$, $p < 0.01$, Figure 2)。

4. 考察

本研究では重度の難治性創傷において、創部-創周囲皮膚間の細菌叢類似性が高いとき、創傷滲出液は酸性を示し、類似性が低いときはアルカリ性を示した。このことから、創傷滲出液 pH はディスバイオシスを簡便にアセスメントする指標として用いることができる可能性がある。

本研究は横断研究のため、ディスバイオシスの発生と創傷滲出液 pH の上昇の因果関係は不明である。したがって、創傷滲出液 pH は指標にはなりえるが、創部細菌叢を是正するためのターゲットとして使用できるかは明らかではない。今後は縦断研究により、因果関係を明らかにすることを目指す。

5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

保存的治療により創部状態が改善し創部細菌叢が変化した静脈性下腿潰瘍の 1 例. 國光真生, 仲上豪二郎, 木下幹雄, 赤瀬智子, 大江真琴. 第 53 回日本創傷治癒学会 (2023 年 11 月 22 日発表予定、採択)

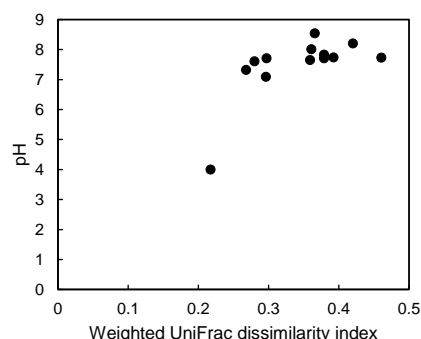


Figure 2. 創傷滲出液 pH と Weighted UniFrac dissimilarity index の散布図

<医療技術研究助成>

周麻酔期看護師が実施した全身麻酔における循環動態は、麻酔科医と比較して同等か？

TANG DI

赤瀬智子

横浜市立大学 大学院医学研究科周麻酔期看護学分野

【目的】周麻酔期看護師が携わる麻酔の安全性を検討するため、全身麻酔中の循環動態に関わる低血圧の累積時間と発生率を、周麻酔期看護師が携わった症例と麻酔科専攻医が管理した症例で比較する。

【方法】A 大学附属病院において 2017～2023 年に周麻酔期看護師が麻酔科専門医の直接指示のもと実施した、侵襲的血压測定を行った全身麻酔症例において、低血圧の累積時間と発生率を、麻酔科専攻医が麻酔科専門医の監督のもとに行った症例と、後ろ向きに比較した。低血圧は平均動脈圧 55mmHg 未満と定義した。PS マッチングで 2 群間にある低血圧の発生に影響する背景情報を調整し、症例数を 1:1 の比率でマッチした。2 群間にある連続変数は Wilcoxon 検定、カテゴリ変数はカイ 2 乗検定を行った。統計的有意水準は $p < 0.05$ とした。

【結果】PS マッチング後、2 群間症例の背景情報の有意差がなくなった。主要評価項目である平均動脈圧 55mmHg 未満の累積時間、副次評価項目である平均動脈圧 55mmHg 未満の発生率は、統計的に有意差がなかった。本研究は、A 大学附属病院の周麻酔期看護師が麻酔科医の直接指示の下で安全に循環管理を実施していることが明らかになった。

<医療技術研究助成>

周麻酔期看護師が実施した全身麻酔における循環動態は、麻酔科医と比較して同等か？

TANG DI

赤瀬智子

横浜市立大学 大学院医学研究科周麻酔期看護学分野

1、背景・目的

近年の麻酔領域の業務拡大に対し、大学院で麻酔のトレーニングを受け、麻酔科医の直接指示の下で術中麻酔管理を行う周麻酔期看護師が育成され、医療現場で活躍している。しかし周麻酔期看護師が管理に携わった全身麻酔の安全性に関する研究はほとんどない。術中低血圧は、全身麻酔における非常に一般的な副作用である。低血圧が発生した症例や低血圧の累積時間が長い症例は術後有害転帰の発生率が高くなることが先行研究で示されている。周麻酔期看護師が携わる麻酔の安全性を検討するため、全身麻酔中の循環動態に関わる低血圧の累積時間と発生率を、周麻酔期看護師が携わった症例と麻酔科専攻医が管理した症例で比較する。

2、方法

A 大学附属病院において 2017 年～2023 年に周麻酔期看護師が麻酔科専門医の直接指示のもと実施した、侵襲的血压測定を行った全身麻酔症例において、低血圧の累積時間と発生率を、麻酔科専攻医が麻酔科専門医の監督のもとに行った症例と、後ろ向きに比較した。低血圧は平均動脈圧 55mmHg 未満と定義した。主要評価項目は平均動脈圧 55mmHg 未満の累積時間、副次評価項目は平均動脈圧 55mmHg 未満の発生率、累積時間 1～10 分、11～20 分、20 分以上それぞれの発生率であった。2 群間の背景情報である基本属性、麻酔・手術情報を調整するため、キャリパーを伴う最近傍マッチング法、2 群の症例数を 1:1 の比率で PS マッチングを行った。マッチング後 2 群にある連続データは正規分布に従わないため、Wilcoxon 検定を行った。またカテゴリ変数はカイ 2 乗検定を行った。統計的有意水準は $p<0.05$ とした。

3、結果

【PS マッチング前】周麻酔期看護師群が 814 症例、麻酔科専攻群は 1796 症例があった。背景情報である BMI, ASA-PS 分類、高血圧の有無、麻酔方法などは統計的に有意差があった。また一部の背景情報の標準化差 (SMD) は 0.1 以上となり、2 群の背景情報に大きな不均衡があることを示している。周麻酔期看護師群の低血圧累積時間の中央値は 4

分、四分範囲は [1 ,14]。麻酔科専攻医群の低血圧の累積時間の中央値は 6 分、四分範囲は [1,21] でした。P<0.001 であるため、統計的に有意差があった。周麻酔期看護師群低血圧の発生率が約 77%、1~10 分の発生率は 47.7%、11~20 分は 10.2%、20 分以上は 19.4%。麻酔科専攻医群低血圧の発生率が約 81%、1~10 分の発生率は 41.6%、11~20 分は 14.7%、20 分以上は 25.1%。P<0.001 であるため、統計的に有意差があった (図 1)。

図 1 : P S マッチング前の背景情報

背景情報	分類	周麻酔期看護師群 n=814	麻酔科専攻医群 n= 1796	p.value	SMD
年齢		68.00 [57.00, 75.00]	69.00 [58.00, 75.00]	0.216	0.059
性別 (%)	女性	357 (43.9)	755 (42.0)	0.408	0.037
	男性	457 (56.1)	1041 (58.0)		
身長 (cm)		162.00 [155.00, 168.15]	162.15 [155.40, 168.20]	0.530	0.036
体重 (kg)		60.65 [52.10, 69.50]	60.05 [51.70, 68.70]	0.228	0.047
BMI		23.17 [20.96, 25.63]	22.91 [20.58, 25.42]	0.030	0.085
高血圧 (%)	あり	319 (39.2)	795 (44.3)	0.017	0.103
	なし	495 (60.8)	1001 (55.7)		
ASA-PS 分類 (%)	1	86 (10.6)	143 (8.0)	0.035	0.090
	2	728 (89.4)	1653 (92.0)		
麻酔方法 (%)	全身麻酔	312 (38.3)	551 (30.7)	<0.001	0.238
	全身麻酔+硬膜外麻酔	430 (52.8)	1144 (63.7)		
	全身麻酔+脊椎麻酔	1 (0.1)	6 (0.3)		
	全身麻酔+伝達麻酔	71 (8.7)	95 (5.3)		
麻酔時間(min)		338.00 [260.25, 465.25]	390.00 [285.00, 543.00]	<0.001	0.280
術式リスク (%)	低リスク	87 (10.7)	91 (5.1)	<0.001	0.445
	中リスク	628 (77.1)	1192 (66.4)		
	高リスク	99 (12.2)	513 (28.6)		
体位 (%)	仰臥位	486 (59.7)	1160 (64.6)	<0.001	0.222
	坐位	5 (0.6)	1 (0.1)		
	碎石位	125 (15.4)	167 (9.3)		
	側臥位	133 (16.3)	284 (15.8)		
	腹臥位	65 (8.0)	184 (10.2)		
手術時間(min)		256.00 [188.00, 373.00]	302.00 [206.00, 452.25]	<0.001	0.240
出血量(ml)		200.00 [40.00, 614.25]	300.00 [61.75, 828.50]	<0.001	0.164
累積時間(min)		4.00 [1.00, 14.00]	6.00 [1.00, 21.00]	<0.001	0.141
累積時間の分類 (%)	0 分	185 (22.7)	334 (18.6)	<0.001	0.218
	1~10 分	388 (47.7)	748 (41.6)		
	11~20 分	83 (10.2)	264 (14.7)		
	20 分以上	158 (19.4)	450 (25.1)		

【P S マッチング後】周麻酔期看護師群と麻酔科専攻群に各 735 症例があった。P S マッチング前に有意差があった背景情報は統計的に有意差がなくなった。2 群間全ての共変量の標準化差 (SMD) が 0.1 以下となり、バランスが取れたことを示している。周麻酔期看護師群の低血圧累積時間の中央値は 4 分、四分範囲は [1 ,14]。麻酔科専攻医群の低血圧の累積時間の中央値は 4 分、四分範囲は [1,16.00] でした。P=0.374,統計的に有意差がなかった。また周麻酔期看護師群低血圧の発生率が約 77%、1~10 分の発生率は 47.1%、11~20 分は 10.5%、20 分以上は 19.9%。麻酔科専攻医群低血圧の発生率が約 79%、1~10 分の発生率は 44.9%、11~20 分は 14.0%、20 分以上は 19.6%。P=0.226,統計的に有意差がなかった (図 2)。

図2：PS マッチングの背景情報

背景情報	分類	周麻酔期看護師群 n=735	麻酔科専攻医群 n= 735	p.value	SMD
年齢		68.00 [56.00, 75.00]	68.00 [57.00, 75.00]	0.760	0.025
性別 (%)	女性	324 (44.1)	328(44.6)	0.875	0.011
	男性	411 (55.9)	407 (55.4)		
身長(cm)		162.00 [155.10, 168.30]	161.30 [155.00, 167.20]	0.221	0.057
体重(kg)		60.80 [52.10, 69.50]	60.00 [51.75, 68.30]	0.219	0.049
BMI		23.15 [20.91, 25.55]	23.18 [20.69, 25.72]	0.581	0.016
高血圧 (%)	あり	283 (38.5)	283 (38.5)	1.000	<0.001
	なし	452(61.5)	452 (61.5)		
ASA-PS 分類 (%)	1	71 (9.7)	75(10.2)	0.794	0.018
	2	664 (90.3)	660(89.8)		
麻酔方法 (%)	全身麻酔	262(35.6)	285(38.8)	0.438	0.086
	全身麻酔+硬膜外麻酔	416(56.6)	392 (53.3)		
	全身麻酔+脊椎麻酔	1 (0.1)	0(0.0)		
	全身麻酔+伝達麻酔	56(7.6)	58 (7.9)		
麻酔時間(min)		342.00 [266.50, 469.50]	338.00 [264.00, 463.50]	0.353	0.044
術式リスク (%)	低リスク	56 (7.6)	60(8.2)	0.911	0.023
	中リスク	585 (79.6)	584(79.5)		
	高リスク	94 (12.8)	91(12.4)		
体位 (%)	仰臥位	449 (61.1)	435 (59.2)	0.615	0.070
	砕石位	96(13.1)	94(12.8)		
	側臥位	125(17.0)	126 (17.1)		
	腹臥位	65(8.8)	80(10.9)		
手術時間(min)		260.00 [193.00, 382.50]	259.00 [186.00, 377.00]	0.253	0.054
出血量(ml)		200.00 [47.50, 607.00]	230.00 [50.00, 623.50]	0.528	0.014
累積時間(min)		4.00 [1.00, 14.00]	4.00 [1.00, 16.00]	0.374	0.023
累積時間の分類 (%)	0分	166 (22.6)	158(21.5)	0.226	0.109
	1~10分	346 (47.1)	330 (44.9)		
	11~20分	77(10.5)	103 (14.0)		
	20分以上	146 (19.9)	144 (19.6)		

4、考察

【PS マッチング前】 2群の平均動脈血圧 55mmHg 未満の累積時間、発生率は統計的に有意差があった。有意差があったのは、2群間の背景情報のバランスが取れていないためと考えます。また周麻酔期看護師群の低血圧の発生率は 77%、麻酔科専攻医群の低血圧の発生率は 81%でした。2群とも低血圧の発生率が高かったが、臨床現場で低血圧は全身麻酔における最も一般的な副作用であることを示唆している。さらに今まで周麻酔期看護師が実施した全身麻酔時の循環管理に関する研究はほとんどなかった。本研究は周麻酔期看護師が実施した全身麻酔時の低血圧の発生率、累積時間の実態を明らかにした。

【PS マッチング後】 2群の低血圧の発生率は先行研究 (69%) より高かった。理由は、血行動態が変動しやすい肝臓切除術、泌尿器外科などの大手術が多かった可能性があると考えられる。研究対象者、研究施設、麻酔管理チームなどによる低血圧の発生率も異なる。また2群の平均累積時間は約 14 分で、先行研究 (12 分) より高かった。理由としては、①血行動態が変動しやすい大手術が多く、手術時間が長かった。②本研究全ての症例は侵襲的血压測定された症例であったためと考える。さらに PS マッチング後 2群の症例数が減少したが、2群全ての背景情報の分布が等しくなり、平均動脈圧 55mmHg 未満の累積時間及び発

生率は統計的に有意差がなかった。本研究は、A 大学附属病院の周麻酔期看護師が麻酔科医の直接指示の下で安全に循環管理を実施していることが明らかになった。

5、論文及び学会発表

第 41 回麻酔・集中治療テクノロジー学会（2023 年 11 月 24 日～25 日）で発表する予定です。

<医療技術研究助成>

周麻酔期看護師が実施する気管挿管の安全性に関する研究

半沢 友理

赤瀬 智子

横浜市立大学大学院医学研究科看護学専攻周麻酔期看護学分野

【背景】周麻酔期看護師が麻酔科医師と協働し実施する気管挿管は麻酔科後期研修医と比較し、術中の合併症の発生に差はなく、術中の安全性が確保されていることが報告されている。しかし、周麻酔期看護師が麻酔科医師と協働し実施する気管挿管に対して術後の影響に至るまでは明らかとなっていない。さらに、気管挿管に関連する合併症発生率を継続して調査し、周麻酔期の医療の質に貢献したかを評価していく必要性が示されている。本研究の目的は、麻酔科医師と協働し周麻酔期看護師と麻酔科後期研修医が実施した気管挿管の術後合併症の発生率を比較し、周麻酔期看護師が麻酔科医師と協働し実施する気管挿管の安全性を評価することである。【方法】2014～2021年に全身麻酔を受けた患者を対象とし、診療記録から、基本属性、気管挿管に関する術後合併症についての情報を収集した。主要評価項目は気管挿管に関する術後合併症の発生率（咽頭痛、嘔声、声帯麻痺、歯牙損傷、誤嚥、低酸素血症、気道損傷）とし、これらの合併症に対し、 χ^2 検定を用い、周麻酔期看護師群と麻酔科後期研修医群を比較した。【結果】両群ともに各術後合併症発生率は低値であった。さらに、低酸素血症、誤嚥、気道損傷などの重症合併症は確認されなかった。【考察】気管挿管の術後合併症について、重症合併症はみられず、先行研究と比較し合併症の発症率が低かったことから麻酔科医師と協働し実施する周麻酔期看護師の気管挿管は安全性が高いと評価する。

周麻酔期看護師が実施する気管挿管の安全性に関する研究

半沢 友理

赤瀬 智子

横浜市立大学大学院医学研究科看護学専攻周麻酔期看護学分野

1. 目 的

A 病院の手術室では、大学院修士課程を修了し麻酔の専門知識を持つ周麻酔期看護師が麻酔科医師と共に協働しながら麻酔導入、気管挿管を実施している。大学院の教育プログラムでは、修士課程修了時には、麻酔科後期研修医 1 年目 3 か月終了程度を目標に周麻酔期看護学専門実習で合計 150 件もの全身麻酔を実施している（赤瀬ら, 横浜看護学雑誌, 2018）。このように大学院の専門教育時から麻酔科医師の指示のもとで気道評価、麻酔導入、気管挿管の実施を実習しているため周麻酔期看護師が実施する気管挿管は経験値が高いが、周麻酔期看護師が実施する気管挿管の安全性に関する検討は少ない。井出らの報告から、周麻酔期看護師が実施する気管挿管は麻酔科後期研修医と比較し合併症の発生に差はなく、術中の安全性が確保されている（井出ら, 手術医学, 2021）。しかし、周麻酔期看護師が実施する気管挿管に対して術後への影響は明らかになっていない。また、周麻酔期看護師の実施する気管挿管に関連する合併症発症率などを継続して調査し、周麻酔期の医療の質への評価をしていく必要性を述べている（井出, 2016）。

本研究は麻酔科医師と共に協働し周麻酔期看護師が実施する気管挿管は、麻酔科後期研修医が実施する気管挿管と術後合併症の発生率を比較し、周麻酔期看護師が実施する気管挿管の安全性を評価することが目的である。

2. 方 法

2014 年 4 月から 2021 年 3 月に、全身麻酔を受けた患者を対象とした。後向き観察研究とし、基本属性（年齢・性別・BMI）、麻酔（気道確保方法・挿管デバイス・気道評価項目）、術後回診（咽頭痛・嘔声・声帯麻痺・歯牙損傷・低酸素血症・誤嚥）情報を収集した。主要評価項目は咽頭痛、嘔声、声帯麻痺、歯牙損傷、誤嚥、低酸素血症、気道損傷とし、これらの合併症に対し、周麻酔期看護師群と麻酔科後期研修医群において χ^2 検定を用い解析した。

3. 結 果

【対象症例】全症例数は 16,044 例であった。このうち周麻酔期看護師群が 4,334 例、後期研修医群に 11,710 例であった。周麻酔期看護師群の 1,523 例、後期研修医群の 6,024 例が除外基準に該当し、周麻酔期看護師群 2,811 例、後期研修医群 5,686 例を研究対象症例とした。

【主要評価項目】気管挿管の術後合併症発生率(7項目)を表2に示す。咽頭痛、嘔声において2群間で統計学的に有意な差がみられた。周麻酔期看護師群で声帯麻痺の発生はみとめなかったが、後期研修医群の発生数は2例(0.04%)であった。術後診療記録からこのうち1例は退院まで経過観察、1例は退院後も継続して外来でフォローアップとなった。また低酸素血症、誤嚥、気道損傷の重症合併症は両群ともにみられなかった。

表2 気管挿管の合併症発生率

		周麻酔期看護師(N=2811)		後期研修医(N=5685)		P値
		発生数	%	発生数	%	
軽症 ↓ 重症	咽頭痛	484	17.22	803	14.12	<.000
	嘔声	86	3.06	126	2.20	0.017
	歯牙損傷	4	0.14	11	0.19	0.579
	声帯麻痺	0	0	2	0.04	0.232
	誤嚥	0	0	0	0	
	低酸素血症	0	0	0	0	
	気道損傷	0	0	0	0	

カイ二乗検定 P<0.05

4. 考 察

気管挿管による咽頭痛、嘔声などの合併症は、全身麻酔後に頻繁にみられ(小山ら,2020,LISA)、咽頭痛の発生率は15~64%(Christensen, A. M., et al.,1994)と報告されている。本研究において、咽頭痛の発生率は周麻酔期看護師群 17.22%、後期研修医群 14.12%で2群間において統計学的に有意な差がみられたが、先行研究と比較し、合併症発生率は低値であった。術後咽頭痛の病因は、主に挿管チューブのカフ、粘膜の乾燥および挿管時の気道粘膜の擦過傷と考えられている。気道粘膜の擦過傷は、全身麻酔中のバックリングや咳嗽により挿管チューブと気道粘膜が擦れ合うことにより生じる(南口ら,2014)。本研究においては、後ろ向き観察研究のため、カフ圧の管理や咽頭粘膜の擦過傷については診療記録の記載がされておらず、不明であった。しかし、King Vision ビデオ喉頭鏡は、Macintosh 喉頭鏡による喉頭展開と比較して、術後咽頭痛の発生率が低いことが示されている(Valencia, J. A., et al.,2016)。本研究において、周麻酔期看護師は McGRATH MAC ビデオ喉頭鏡を使用し麻酔科医とともに視野を確認しながら気管挿管を行っているため、咽頭痛の発生率は先行研究と比較し低値であり、軽症で経過して

いる可能性が考えられる。

嚔声の発生率は 16.1%(松尾ら,2017)～37.1%(栗田ら,2002) と報告がされている。本研究での嚔声の発生率は、周麻酔期看護師群約 3%、後期研修医群約 2% で 2 群間において統計学的に有意な差がみられたが、先行研究と比較し、両群ともに合併症発生率は低かった。嚔声の要因を病態生理から考えると、気管粘膜のびらん、声門浮腫、気道損傷、高いカフ圧があげられる(小山ら,2020)。周麻酔期看護師群の症例は、咽頭痛と同様に記載事項が限られており、診療記録からはその原因が読み取れなかったが、すべて軽症であった。後期研修医群は重度の嚔声(表 4)が 1 例(0.79%)みられ、診療記録からカフ圧の確認がなく、披裂の浮腫があり、嚔声の要因となる所見が一部みとめられた。

歯牙損傷 0.2%(安部ら,2020)、声帯麻痺 0.07～1%(木倉ら,2015)なども同様に先行研究と比較し、合併症の発生は低く、低酸素血症 1.5%(Belze, O. et al.,2021)、誤嚥 8%(Driver, B. E., et al.,2018)、気道損傷 1%(Su, K. et al.,2017)など重症合併症は両群ともにみられなかった。McGRATH MAC ビデオ喉頭鏡と Macintosh 喉頭鏡を比較すると、McGRATH MAC ビデオ喉頭鏡の方が気管挿管成功率、視認度が優れており、Macintosh 喉頭鏡では声帯が確認しにくかった症例に対して McGRATH MAC ビデオ喉頭鏡にコンバートした場合、多くの症例で視野改善がみられたとの報告がされている(糟谷ら,2015)。これらの合併症発生率が低いことは、周麻酔期看護師がシュミレーターを使用した麻酔演習でトレーニングを行い、気管挿管時に麻酔科医と協働し、McGRATH MAC ビデオ喉頭鏡で視野を確認し気管挿管操作をダブルチェックしていることが影響していると考えられる。

本研究は後ろ向き観察研究のため、診療記録から得られる情報に限りがあった。咽頭痛などの症状は患者が自覚しても訴えがない場合や医療者側が軽症症状と判断し診療記録に記載しなかった可能性があるためである。したがって、前向きに調査し気管挿管の安全性についてさらに評価する必要がある。

5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

第 37 回日本手術看護学会年次大会 (開催日 2023 年 10 月 27 日～10 月 28 日) での研究発表を予定している。

<医学・医療関連事業助成>

妊婦に対する個別栄養教育プログラムの効果：日本におけるランダム化比較試験

藤本久江¹

飯田真理子²、竹内翔子²、篠原枝里子²、窪田和己^{2,3}、中村幸代²

1 横浜市立大学大学院医学研究科看護学専攻 健康支援看護学分野 博士後期課程

2 横浜市立大学大学院医学研究科看護学専攻ウィメンズヘルス看護学分野

3 東京大学医学部附属病院 企画情報運営部

1. 目 的

妊娠中の適切な栄養摂取は、母体の健康及び胎児の健康と発育に影響を与える重要な要素の一つである。栄養不足はLow Birth Weight (LBW) や早産のリスクファクターであり、母体の体重増加が少ないと、出生体重は低下する (Ramakrishnan et al, 2012)。日本においては妊婦の栄養不足が明らかとなっており、改善が必要である。具体的にはエネルギー摂取量とエネルギーに含まれる栄養素の中でタンパク質、鉄、葉酸の摂取不足が問題となっている。

妊娠中の女性は児の健康を守るため食事への関心が高まり、健康な食生活を心掛けることから、行動変容の起こりやすい時期といえる。そのため、この時期の栄養教育は妊婦の適切な栄養摂取を促進するのに効果的である (Bianchi et al, 2016)。

本研究の目的は、妊婦の適切な栄養摂取を促進するための Individualized nutrition education (INE) プログラムを実施し、その有効性を評価することである。INE プログラムの有効性を明らかにすることは妊婦の栄養不足の改善へとつながることが期待できる。

仮 説

主要アウトカム：INE プログラムを受けた群は、受けなかった群と比較して、妊娠 32-36 週のタンパク質摂取量が有意に多い。

副次アウトカム：①INE プログラムを受けた群は、受けなかった群と比較して、INE プログラム前後のタンパク質の増加量が有意に多い。②INE プログラムを受けた群は、受けなかった群と比較して、妊娠 32-36 週のエネルギー摂取量および鉄、葉酸の摂取量が有意に多い。

2. 方 法

研究デザイン：層別ランダム化比較試験

研究対象者：選定基準はやせ（非妊娠時 BMI 値 18.5 未満）及び標準体格（BMI 値 18.5 以上 25 未満）の 20～30 歳代の妊婦。除外基準を設け、周産期母子保健センター1 施設にて実施した。

ランダム化：参加者を割付調整因子 BMI とタンパク質摂取量により層別し、介入群（INE プログラム）と対照群（通常ケア）に無作為に割り付けた。盲検化は適用しなかった。

介入：介入群の参加者には、妊娠 12-16 週と妊娠 20-24 週に 30 分間の専用冊子を用いた INE プログラムを実施し、対照群には通常ケアを実施した。INE プログラムの特徴は、妊婦の栄養摂取状況に合わせ、パーソナライズされている点と、妊婦と協同して作り上げる点である。専用冊子を使い、事前に調査した自己の栄養摂取量をもとに、栄養を改善するための課題を明確にし、目標と具体的な対策を考えられるよう支援した。

アウトカム項目の評価：栄養摂取量は、Brief-type self-administered Diet History Questionnaire（BDHQ）を用いて測定した。測定したアウトカムは、共分散分析と t 検定にて 2 群間で比較した。

本研究は横浜市立大学倫理委員会の承認を得て実施した。

3. 結 果

選定基準を満たした 136 名を介入群または対照群にランダムに割付た。割付後に介入群で 2 名、対照群で 3 名が除外となり、最終的な分析対象は介入群 66 名、対照群 64 名の合計 130 名だった。介入群と対照群の間で有意差のある参加者属性はなかった。介入後のタンパク質摂取量は、介入群で 64.7 ± 21.5 g/日、対照群で 59.4 ± 16.9 g/日と介入群が 5.3g/日多かった。介入前のタンパク質摂取量は介入群が 2.1g/日少なかったことから、介入前のタンパク質摂取量を共変量として、共分散分析を行った結果、2 群間に有意差はなかった ($p=0.051$, 95%CI $-0.021-12.4$, effect size 0.03: medium)。

介入前と介入後のタンパク質摂取量の差（増加量）は、介入群で 7.6g、対照群で 0.2g と、2 群間に有意な差が認められた ($p=0.04$, F 4.31, effect size 0.36)。介入後のエネルギー、鉄、葉酸の摂取量は、すべての項目で介入群が対照群に比べ摂取量が多かったが、2 群間に有意差はなかった。

4. 考 察

アウトカムの結果から、本研究の仮説は一部支持された。主要アウトカムである介入後（妊娠 32-36 週）のタンパク質摂取量に 2 群間で差はみとめられなかったが、副次アウトカムである介入前と介入後のタンパク質摂取量の差（増加量）は介入群で有意に多かったことから、介入による効果があった可能性が推測される。介入群

における介入後の増加量は 7.6g/日だった。タンパク質 7.6g とは、食品に置き換えると牛乳 200ml や卵 1 個に含まれる量より多く、鶏むね肉 35g に相当することから、1 日にタンパク質摂取量が 7.6g 増えることは、臨床的に意義のある結果であると考えられる。以上から、INE プログラムを実施することは、妊娠 32-36 週のタンパク質摂取量増加に有用であることが示唆される。妊娠中の栄養教育は、妊婦の行動変容や自己効力感へのモチベーションが高まることが期待される (Dewidar, 2021)。本プログラムは妊婦の栄養摂取状況に合わせパーソナライズし実施するため、妊婦が自身の食生活を理解し、改善課題に気づき自ら行動変容していけるという効果を期待できるプログラムであると考えられる。栄養摂取行動が変化するためには、妊婦本人だけでなく、家族全体での変化が必要であり、妊娠中の適切な栄養に対する意識とサポートを高めるために、妊婦の家族を栄養教育に参加させることが求められる。そのため、今後は、対象者に同居家族（パートナー）を加えるなど、プログラムを修正することでより効果的なプログラムになる可能性があると考えられる。

5. 論文及び学会発表（研究会を含む）

（学会発表）

藤本久江, 飯田真理子, 竹内翔子, 篠原枝里子, 中村幸代: 妊婦の適切な栄養摂取を促進する個別教育プログラムの実行可能性の検討: 予備調査. 第 35 回神奈川県母性衛生学会学術集会, 2022, 2.

（論文発表）学会誌への投稿を予定している。

【引用文献】

- Ramakrishnan, U., Grant, F., Goldenberg, T., Zongrone, A., & Martorell, R. (2012). Effect of women's nutrition before and during early pregnancy on maternal and infant outcomes: a systematic review. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 26, 285–301. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3016.2012.01281.x>.
- Bianchi, C. M., Huneau, J. F., Le Goff, G., Verger, E. O., Mariotti, F., & Gurviez, P. (2016). Concerns, attitudes, beliefs, and information seeking practices with respect to nutrition-related issues: A qualitative study in French pregnant women. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 16(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12884-016-1078-6>
- Dewidar, O., Saad, A., Baqar, A., John, J. C., Riddle, A., Ota, E., . . . Welch, V. (2021). PROTOCOL: Effectiveness of nutrition counselling for pregnant women in low- and middle-income countries to improve maternal, infant and child behavioural, nutritional and health outcomes: A systematic review. *Campbell Syst Rev*, 17(4), e1202. doi:10.1002/cl2.1202

<医学・医療関連事業助成>

ストーマ保有者において非透明ストーマ袋が主観的ウェルビーイングに及ぼす影響に関する研究

佐藤純人

横浜市立大学附属市民総合医療センター 消化器病センター外科

1. 目 的

ストーマは、腸や尿管の一部を体外に出して造設した便や尿の出口（排泄口）であり、結腸を用いた排泄口を結腸ストーマ（コロストミー）、小腸を用いたものを小腸ストーマ（イレオストミー）、尿路を用いたものをウロストミーと呼ぶ。ストーマを保有する理由はさまざまで、大腸癌、炎症性腸疾患などの疾病から交通事故など多岐にわたる。

ストーマ保有者は、ストーマの造設後、排泄機能障害に加え自身のボディイメージの変化、自尊心の低下など、さまざまな身体的、精神的苦痛と共に生活を送る必要がある。海外の報告では、約20%のストーマ保有者はうつ状態、不安や適応障害などの精神的症状を訴えていると報告が、また本邦でも、約半分のストーマ保有者は不安傾向が高く、16%は抑うつ傾向であったと報告がある。

主観的ウェルビーイングとは、幸福感や生活満足度など主観的な心の豊かさを示す概念である。幸福や豊かさの評価には、従来収入や社会的地位といった客観的指標が相応しいとされてきたが、近年は、個人の主観的側面から評価することが重要と考えられるようになった。

本邦では8割のストーマ保有者が、通常、透明ストーマ袋を使用している一方で、海外では対照的に8割のストーマ保有者が不透明なストーマ袋を使用しているといわれている。透明ストーマ袋を使用すると、生活の中において自分自身の排泄物を直視する機会も多い。本研究では、ストーマ袋を不透明化することで、さまざまな身体的、精神的苦痛を持つストーマ保有者に精神的安定や変化をもたらす、主観的ウェルビーイングの改善に寄与することを目的とする。

2. 方 法

主観的ウェルビーイングを改善するための不透明化した新しいストーマ袋を開発する。さらに、透明なストーマ袋を使用しているストーマ保有者を対象に、開発した不透明化ストーマ袋を配布して、主観的ウェルビーイングに関するアンケート調査を実施した。

主観的ウェルビーイングを評価するため、正と負の感情の評価の尺度として優れている The Positive and Negative Affect Schedule (PANAS) (図 1) をアンケートの原案として用い、ストーマ保有者の精神的評価に適した専門性の高いアンケートを作成し実施した。

Item text

I become anxious when the pouch is full
I worry that the pouch will loosen
I feel the need to know where the nearest toilet is
I worry that the pouch may smell
I worry about noises from the stoma
I need to rest during the day
My stoma pouch limits the choice of clothes that I can wear
I feel tired during the day
My stoma makes me feel sexually unattractive
I sleep badly during the night
I worry that the pouch rustles
I feel embarrassed about my body because of my stoma
It would be difficult for me to stay away from home overnight
It is difficult to hide the fact that I wear a pouch
I worry that my condition is a burden to people close to me
I avoid close physical contact with my friends
My stoma makes it difficult for me to be with other people
I am afraid of meeting new people
I feel lonely even when I am with other people
I worry that my family feel awkward around me

図 1 The Positive and Negative Affect Schedule (PANAS)

不透明化したストーマ袋は、デザイン専門学校と協力してまずパウチに貼付するデザインを作成した。所属するデザイナーが候補となるデザイン案を提案し選定した。デザインは、ストーマ保有者が、嗜好に合わせてデザインを選択できるように、ストーマ袋カタログとした。(図 2)



図 2 ストーマ袋カタログ オストメイトはこのカタログから好きなデザインを選ぶことができる

現在国内で流通するストーマ袋のほとんどが海外からの輸入されたものであり、国内で新しいストーマ袋を作成することは困難であった。そのため、本研究ではストーマ袋に貼付できるデザインシールを作成し、不透明化したストーマ袋を開発することとした。高精細印刷を用いて作成されたデザインシールは、安全性、耐圧性、耐水性テストを繰り返し、ストーマ袋にそのシールを貼付することで不透明化したストーマ袋を開発した（図 3）。



図 3 開発中のストーマ袋 耐久性、耐水性テストを繰り返した

3. 結 果

本研究に協力を頂いた透明なストーマパウチを使用しているストーマ保有者は、不透明なストーマ袋を3回、約10日間使用した（図4）。その使用の前後で、主観的ウェルビーイングを評価するアンケート調査を実施し、得られたデータを解析した。



図4 完成したストーマ袋カタログと、不透明デザインストーマの一部

結果はネガティブ情動（Negative Emotion 図5）とポジティブ情動（Positive Emotion 図6）に分けて分析された。それぞれの数値は感情の程度を示している。図5では15例全例で不透明化したストーマ袋を使うことで、ネガティブ情動の程度が減少したことが分かった。また一方でポジティブ情動は増加しており、透明なストーマ袋を不透明化することで、負の感情を減少させ、さらに正の感情を増加させる効果があることがわかった。

Well-Being score using the PANAS questionnaire	<u>Negative Emotion</u>														
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12	#13	#14	#15
Well-Being during transparent stoma pouch	12	34	20	24	16	25	43	21	31	29	20	28	16	26	25
Well-Being during opaque stoma pouch	11	45	16	8	12	22	17	12	21	17	14	27	12	20	24
Well-Being Change	-1	11	-4	-16	-4	-3	-26	-9	-10	-12	-6	-1	-4	-6	-1

図5 ネガティブ情動（Negative Emotion）の数値の変化

Well-Being score using the PANAS questionnaire

Positive Emotion

	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12	#13	#14	#15
Well-Being during transparent stoma pouch	8	8	18	11	8	16	8	14	9	11	13	11	16	8	18
Well-Being during opaque stoma pouch	8	27	27	32	14	16	21	32	11	22	25	17	20	12	20
<u>Well-Being Change</u>	0	19	9	21	6	0	13	18	2	11	12	6	4	4	2

図6 ポジティブ情動 (Positive Emotion) の数値の変換

4. 考 察

NCD (National Clinical Database) の報告では、2011年以降も年間約5000件の直腸切断術が施行されている。ストーマ保有者は、ストーマ造設により排泄機能障害、自身のボディイメージの変化、自尊心の低下など、身体的、精神的な問題と向き合いながら生活することになる。

本研究は、本邦ではストーマ袋の客観的機能が重視され、精神的な研究が欧米より遅れていること、また欧米では約80%が不透明な袋であるのと対照的に、本邦では約80%が透明な袋を使っており、排泄物が見えない不透明な袋を要望する声が高まっている点にも注目した。

そこで、ストーマ袋を不透明化することで、さまざまな身体的、精神的苦痛を持つストーマ保有者に精神的安定や変化をもたらし、主観的ウェルビーイングの改善に寄与することができないかを検討した。精神的な改善の指標として、本研究では主観的ウェルビーイングを用いた。主観的ウェルビーイングの向上は、2015年に国連で採択された「2030年までの持続可能な開発目標 (SDGs: Sustainable Development Goals)」にも重要な達成目標の1つとして挙げられている。

本研究では、不透明化したストーマ袋を開発し、さらに主観的ウェルビーイングの改善を目指すために、デザインを付加した不透明ストーマ袋を開発した。約10日間の使用により、使用者の主観的ウェルビーイングの改善を認めることができた。しかしながら、今回解析できた母数は目標としていた数より少なく今後データの蓄積と解析が必要と考えている。

5. 論文及び学会発表 (研究会を含む)

- ・2022年10月 雑誌「+Designing」 Vol.54
- ・2022年12月 社会福祉法人 聖隷福祉事業団 聖隷浜松病院学会 口演
- ・2023年2月 日本ストーマ・排泄リハビリテーション学会 ポスター発表
- ・2023年2月 静岡新聞 2月6日朝刊
- ・2023年7月 雑誌「Nursing2023年夏号」 Vol.43 No.5
- ・2023年9月 第19回アジア太平洋大腸肛門病学会議 ポスター発表

<学生・研修医の学術活動等推進支援助成>

リサーチクラークシップで研究を行っている内容の最先端の知識を習得するために、
臨床救急医学会の参加

山内 光

医学科 4年

2022年5月26日、27日に大阪国際会議場にて行われた、第25回日本臨床医学会総会・学術集会に横浜総合医学振興団体の助成金の交付を得て参加しました。参加目的はリサーチクラークシップの研究のために、本学会の目的は具体的な救急の臨床現場においてどのようなニーズがあるのかを学ぶこと、「データ driven による救急医療の質改善」というシンポジウムから最新の知見を学ぶことです。学会の様々なシンポジウムに参加し、医療現場でAIを活用するには限定された用途の為にモデルを作成することの大切であることを学びました。また、外傷診療でのCTの利用の是非についての議論から、臨床現場のニーズを感じ取ることが出来ました。本学会に参加したことで、研究へ役立つ知見を得られただけでなく、自身への刺激となり、とても貴重な機会を得ることが出来たと感じています。資金助成をして下さった横浜総合医学振興財団の皆様と救急医学教師の先生方に感謝申し上げます。

<学生・研修医の学術活動等推進支援助成>

リサーチクラークシップで研究を行っている内容の最先端の知識を習得するために、
臨床救急医学会の参加

山内 光

医学科 4年

2022年5月26日、27日に大阪国際会議場にて行われた、第25回日本臨床医学会総会・学術集会に横浜総合医学振興団体の助成金の交付を得て参加しました。

参加目的は4年次のリサーチクラークシップの研究の為に、具体的な救急の臨床現場においてどのようなニーズがあるのかを学ぶこと、「データ driven（主導）による救急医療の質改善」というシンポジウムから最新の知見を学ぶことです。

本学会で注目していた発表は、奈良県立医科大学の川井康之先生の「機械学習による予後予測モデルを用いた救急隊活動目的の作成」でした。この研究の概要は奈良県で生じた心原性院外心肺停止例のデータを基に、Neural Networkで予後予測モデルを作成するというものでありました。作成したモデルを基に、搬送時間と初回除細動時間と、搬送時間と初回薬剤投与時間の間の関係性を、奈良県の特徴が出た形として可視化していたことに驚きました。また、データを集めやすいように救急票をデジタル化していた工夫や、研究結果のフィードバックを救急隊に行い、実際の臨床現場に役立っていることにも感銘を受けました。リサーチクラークシップでの研究を進めるにつれ、AIを実際の医療現場でどのように生かすことが出来るのかが課題であると感じていたので、奈良県という限定された範囲でのデータで、限定された用途の解決のためのモデル作成のアプローチがとても興味深く感じました。

また、外傷診療におけるCTの利用に関するパネルディスカッションでは、CTの利用をするべきか否かについて、先生方の各種取り組みの紹介の後、議論していた様子を聞きました。外傷診療におけるJATECの指針の意義や、CTを利用する際には事前に、利用する基準と受け入れ態勢を作成しておくことが大切であることを学ぶことが出来ました。画像診断領域での、AIの関与する可能性と、その困難さについても感じました。

学会への参加は、今回が初めてであり、救急の臨床現場について多様な業種の方が意見を発表する様子を聞くことができ、とても刺激を受けました。日々の忙しい業務の中、研究に時間を注いでいる先生方や、参加していたその他の学部生を見て、より一層努力を重ねなければならないと。

最後に、資金助成をして下さった横浜総合医学振興財団の皆様と、リサーチクラークシップの間、様々な助言と指導を下さった救急医学教室の先生方、に心から感謝を申し上げ、この報告を締めさせていただきます。

交付金額 37000円

支出

交通費 28780円

宿泊費 9700円

計 38480円



Wilderness Medical Associates Japan WALS コース

齋藤 岳尋

医学研究科看護学専攻 周麻酔期看護学分野 ・ 2年

北海道で開催された WALS (Wilderness Advanced Life Support) コースを受講した。WALS コースとは、山岳地帯や遠洋航海中の船舶、都市部での自然災害といった過酷な環境や根本的な治療まで数時間～数日を要する遠隔地での医療提供を学ぶ教育プログラムである。本コースでは、様々な専門分野の参加者とインストラクターの間で活発なディスカッションが行われ、困難な状況で医療を提供するための多くのアイデアを得ることができた。コース終盤では、夜間の自然災害を想定した大規模シミュレーションが行われ、多数傷病者の捜索救助・医療対応を行なった。このシミュレーションを通して、コース中で学んだ野外医療の知識と技術をどのように現場対応に応用するのか熟考することができた。

診療の補助としての高度な全身管理とウィルダネス状況における恐怖や不安といった人間の反応を支える看護の両側面を兼ね揃えた周麻酔期看護師は、ウィルダネス医療のよき実践家となると感じた。困難な状況であっても目の前の傷病者に必要な看護実践が提供できるよう日々研鑽を積んでいきたい。

Wilderness Medical Associates Japan WALS コース

斎藤 岳尋)

医学研究科看護学専攻 ・ 2年

■ コース概要

2022年10月29日から11月2日の5日間、北海道ニセコ町（ニセコ東急グランヒラフスキー場）で行われた WMA Japan (WMAJ) 主催 WALS (Wilderness Advanced Life Support) コースを受講した。WALS コースとは、山岳地帯や遠洋航海中の船舶、都市部での自然災害といった過酷な環境や根本的な治療まで数時間～数日を要する遠隔地（こうした状況を“ウィルダネス状況”と定義していた）での医療提供を学ぶ教育プログラムである。受講生は外科医、内科医、小児科医、麻酔科医、獣医師、救急看護師など様々であり、本格的な登山・アウトドアアクティビティや国際医療支援の経験を持つ方が多く参加していた。コースの指導は、親団体である WMA International (WMAI) 前カリキュラムディレクターで救急医の David Johnson (DJ) による講義とディスカッションを中心に WMAJ インストラクターや WMAJ 医療アドバイザー（日本人の救急医・精神科医・山岳看護師）によって行われた。連日 8 時 30 分～19 時 00 時頃までの講義＋シミュレーションをこなしつつ、ほぼ連日宿題としてケーススタディが課されるという濃密なコースだった。また希望者には非医療従事者向け最上位コースである Wilderness First Responder (WFR) コースの e-Learning 教材が事前学習用に提供された。

■ コースカリキュラムとコース内容

コースは概ね以下の通り進行した。

【1日目】

オリエンテーション、ウィルダネス医療の概念、傷病者評価システム (PAS)、重要器官系（呼吸器系・循環器系・神経系）の問題、脊椎損傷の評価

【2日目】

筋骨格系、副木（スプリント）固定、脱臼整復、軟部組織、創傷、熱傷、BLS、内科的問題の緊急度評価

【3日目】

高地障害、低体温症、雪崩、凍傷、落雷、感電、溺水、止血、徒手搬送、簡易担架、パッキング、担架搬送、複数傷病者対応シミュレーション

【4日目】

ALS・野外医療・救助資器材、搜索救助、夜間搜索救助・医療活動シミュレーション

【5日目】

毒、咬傷と刺傷、医薬品、医療に関する法、医療キットとファーストエイドキット

このコースの重要な概念として序盤に学ぶのが「リスク vs 利益」という考え方だ。質の高いエビデンスの集積が難しい“ウィルダネス状況”では、限定されたエビデンスや都市部での医療提供のスタンダードを考慮しつつ、目の前の過酷な状況で行える最良の医療を提供する必要がある。例えば、高所から墜落した傷病者の標準的なプレホスピタルケアでは、医療機関までバックボードやスクープストレッチャーで全身固定した上で搬送されることが多い。しかし、同様の対応をヘリコプターが飛行できない天候の標高 3,000m の山岳地帯で完全に適用することは難しい。こうしたウィルダネス状況に対応するために WMAI のカリキュラムでは、脊椎評価テスト（Canadian C-Spine rule や NEXUS に類似した評価法）を教育している。このテストを行うことで都市型救急では全身固定が必要とされる状況でも、「重大な脊椎損傷なし」と判断し、全身固定を行わず即席担架での搬送や傷病者自身の歩行を搬送プランとして選択することができる。当初私はこの評価法をプレホスピタルで実施することに衝撃を受けた。しかし、高地の低温環境で数時間～数日の救助を待つことは低体温症や高地障害のリスクを高め、さらなる天候の悪化によって現場にいる救助者にも二次災害の危険がある。もちろん脊椎評価テストは画像診断に勝るものではなく、このテストの結果によって全身固定を行わないと判断することは一定のリスクがある。しかしながら前述した山岳地帯のような“ウィルダネス状況”では、このリスクを上回る「利益」があり、非常に合理的なツールだと感じた。本コースでは、この脊椎評価テスト以外にもレクチャーやケースディスカッション、シミュレーションなど多くの場面でリスクと利益を天秤にかけて判断することが求められた。コースでは、このリスクや利益をどのように考えるのか様々な専門分野の参加者とインストラクターの間で活発なディスカッションが行われ、ウィルダネス状況で医療を提供するための多くのアイデアを得ることができた。

こうした学びの集大成として4日目の夕方～夜間にかけて night simulation (night sim) が行われた。Night sim では、スキー場で野外音楽フェスの開催中に大雨による幹線道路の土砂崩れが生じ、フェス会場が停電・孤立したという想定で行われた。参加者 13 名は現場の詳細な状況を知らされないまま、現場に最先着する医療・捜索救助チームとして活動することになった。参加者チームは指揮系統の確立、役割分担、携行資器材・医薬品の品目と数のリストアップ、携行方法などの計画・ロジスティックから取り掛かった。その後、約 2 時間かけてグレンデ 2 本分の現場での傷病者の捜索・評価・トリアージ・処置・搬送を実施した。暗くて寒い、何人の傷病者がいるかわからず、リソースも限られているという過酷な状況でのフルスケールのシミュレーションは初めての経験だった。反省点は残るもののシミュレーション後のディスカッションを通して、コース中で学んだ野外医療の知識と技術をどのように現場対応に応用するのか熟考することができた。

■ コース受講からの学び：周麻酔期看護師とウィルダネス医療

私は現在、大学院の周麻酔期看護師教育課程に在籍し、主に手術麻酔関連の実習を行なっている。国内では手術麻酔や手術室外麻酔、麻酔分娩、麻酔科外来などに従事している周麻酔期看護師だが、ヨーロッパでは麻酔看護師が医師とともに救急車に乗り込みプレホスピタルケアに従事している国もある。診療の補助としての高度な全身管理とウィルダネ

ス状況における恐怖や不安といった人間の反応を支える看護の両側面を兼ね揃えた周麻酔期看護師は、ウィルダネス医療のよき実践家となると感じた。困難な状況であっても目の前の傷病者に必要な看護実践が提供できるよう日々研鑽を積んでいきたい。



■ 重度低体温症に対するラッピング



■ バスケットストレッチャーによる搬送訓練



■ 軍用止血帯や外用止血剤の紹介



■ 気管チューブを点滴ルートで固定する方法
テープでは雨風で剥がれてしまうことがある



■ 野外でのトレーニング (WMAJ Facebook より)



■ レクチャー風景 (WMAJ Facebook より)



■夜間シミュレーション (WMAJ Facebook より)



■Night Sim 前のブリーフィング (WMAJ Facebook より)

AO CMF introductory course

平林 大樹

横浜市立大学大学院医学研究科 医科学専攻 ・ 3 学年

【研修の目的】

今回の研修では、顎顔面の外傷に関する基本的な知識と技術の習得を目的としている。座学では基礎的な知識の講義を受け、実習では模型を使用して骨折治療の手技や器具の使用方法を学んだ。以下に、座学と実習で得た内容を報告する。

【座学の内容】

- 1,骨折の手術治療の原則。
 - ・術前の明確な視覚化。
 - ・骨片の整復。
 - ・十分な固定。
 - ・創の閉鎖。
- 2, グループディスカッション
 - ・各症例ごとに口腔外科医と形成外科医により手術治療に関する意見交換を行った。
 - ・日常の診療での疑問点や課題についてディスカッションを行った。
- 3, 手術計画の立案。
 - ・各病院の経験をもとに **facilitator** のアドバイスを取り入れ、手術計画の作成。

【実技実習の内容】

- ・歯牙結紮の方法
- ・顎顔面骨模型を使用して歯牙結紮の手技を学習
- ・骨折の整復方法
- ・下顎骨、上顎骨、頬骨、眼窩底骨折に対する整復方法の実習
- ・プレートのベンディングと固定方法、適切なプレートのベンディングや選択基準、固定方法の実技を習得。

普段経験しない部位の骨折にも対応できるよう、ファシリテーターからの直接のレクチャーを受けながら実習を行った。

多くの外科医との意見交換を通じて、異なる視点から治療方針や手技の確認ができた。

今回の研修は、専門領域の深化とともに、広範で総合的な医療提供の向上につながるものであった。これからも精進し、患者にとって最良の医療を提供できるよう努力していく。

第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会

松本舜平

医学部医学科・3年

私たちは完全内臓逆位のご遺体 2 体の解剖を行った。事前に CT を撮影し、その所見から特に解剖で注意すべき部位について検討した。実際に解剖した結果、ほとんど全ての臓器が完全に鏡像を示しており、完全内臓逆位として矛盾のない結果となった。しかし、単純に左右逆だけでは説明がつかない部位があった。それは心臓で、配置における異常と、心筋の走行における異常がみられた。心臓はほぼ全体が正中線よりも右側に偏って、回転異常もみられた。このような配置異常の成因として、無気肺による説と、心臓の発生異常による説を考えた。解剖を通して一方の説の優位性を示すことはできなかった。心臓の筋層は外層が正常と同様の走行、中層・内層は正常と鏡像を示した。これは外層の形成は左右軸の決定以前に起こるために逆位の影響を受けないためと考えた。他の論文における報告でも心筋の走行は同様であったため、この説は一定の整合性があると言える。

第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会

松本舜平

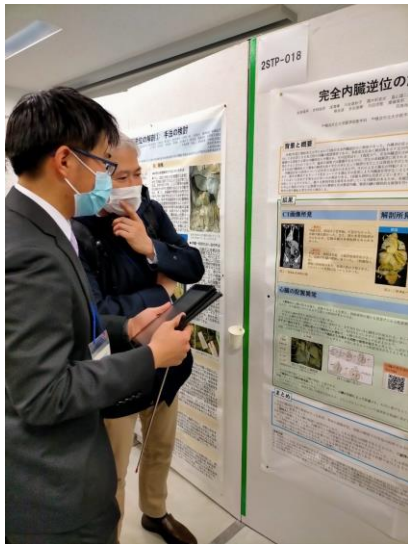
医学部医学科・3年

私たち解剖道場は第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会にて完全内臓逆位の解剖 ①解剖手法の検討 と ②2例の解剖結果について 3/19(日)に学会発表を行った。学会発表では前日入りして発表者 4 人で自分の担当範囲に関してもう一度知識や所見を見直すとともに、実際のポスター発表を想定してリハーサルを念入りに行った。リハーサルでは、ポスターを見に来た人に声をかけ、聴衆の関心に応じて必要十分な説明を短時間で行えるように練習した。質疑応答を想定するのは困難だったが、初心に帰ってどこを掘り下げたくなるか想像した。

当日は私たちの学会発表を行う前に様々な口演に参加した。特に、マイクロ流体デバイスを用いた神経群全体の ALS モデルの創成は非常に興味深かった。また、次世代放射光施設の Nano Terasu の話は非常に難解であったが、物質の情報を様々なスケールで観察できるという素晴らしい技術なのだと分かった。学会には初めての参加だったので、多くの研究者の積極的な質疑を行う姿勢や、活発な議論が印象に残り、大変良い刺激になった。

学会発表では前日のリハーサルの甲斐があり、興味を持った方に次々と発表して、質問対応も行った。完全内臓逆位の解剖が大変稀なことも相まって決められたポスター発表時間が終わった後もかわるがわる興味をもつ人に発表を行った。そこでは、様々な背景を持った研究者から質問を受ける事になった。歯学部の実験室の研究者や腎嚢胞モデルマウスで内臓逆位を研究している方、他大学の医学科 4 年生で内臓逆位の成因に関して新たな説を唱える論文を教えてくれた方など、実に多くの視点での質問を頂いた。実際の解剖の写真でポスターに載せられなかったものも iPad で見せたり、ポスターに解説用の YouTube の QR コードを載せたりするなど、これまでにない工夫を凝らしたことで非常に評価をされる発表にできたと自負している。完全内臓逆位のご献体を奇跡的に頂いて、私たち解剖道場で約 2 年間、解剖して勉強させて頂いた日々には、予定通りにいかないことも多く、本当に様々な苦労もあったが、このように学会発表という形で有終の美を飾れたことはかけがえのない経験となった。

このような経験が出来たのは、医学の発展のためにご献体下さった有美会の方とそのご遺族の厚い御意思のお陰です。解剖道場の活動を様々な面からご指導下さった大保先生、尾野先生、氏様、羽鳥様を始め、関わって下さった多くの先生方にも感謝申し上げます。最後に、解剖道場の学会発表にあたって多大なご支援を賜りました横浜総合医学振興財団の皆様にも厚く御礼申し上げます。



収支報告書

〈交通費〉

4年

露木莉里衣 新幹線 ¥20,400

畠山雄二郎 三室純生 新幹線 ¥42,560

3年

松本舜平 赤枝誠吾 川合真紗子 尾澤華 タクシー ¥5,560

〈交通費＋宿泊費〉

3年

松本舜平 赤枝誠吾 ¥67,400

川合真紗子 尾澤華 ¥67,400

2年

佐々木茜 ¥25,200

〈宿泊費〉

4年

露木莉里衣 ¥33,915

畠山雄二郎 三室純生 ¥37,144

活動参加費、その他

収入 175,000

支出 299,579

第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会

露木莉里衣

横浜市立大学医学科 4年

今回、我々は二体の完全内臓逆位の遺体を解剖する機会に恵まれた。そのうちの一体は従来の方法で解剖を行い、もう一体は内臓一括取り出し法という手法で解剖を行った。内臓一括取り出し法は、舌骨付近の高さで食道と気管を切断し、そこから連なる消化管、肺、心臓、肝臓、膀胱に至るまでの全ての臓器をひとつながりに取り出す方法である。内臓一括取り出し法と従来の解剖手法を比較したところ、前者では立体構造を保ったまま臓器を観察できるといった利点があり、後者では脈管・神経の分布をより詳細に観察できるという利点があった。研究目的に合わせて適切な解剖手法を選択することで、優れた発見と多様な知見が得られ、系統解剖をより有意義なものとすることができると考える。

第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会

露木莉里衣

横浜市立大学医学科 4年

このたび、貴財団にご支援を賜り、東北大学川内キャンパスで開催されました第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会に参加させていただくことができました。

私はこれまで横浜市大医学部の団体、解剖道場に所属しており、解剖に関する学習に取り組んで参りました。今回はじめての対面の学会において、我々が学んだ知見を多くの人に見ていただき、そしてご指導をいただくことができ、このような機会をいただけたことに心から感謝しております。

自身の発表を経験できたことはもちろん、熱意ある他大学の学部生と交流できたことも大変刺激的で、大きな糧となりました。自分と年齢の変わらない学生が真剣に研究に取り組み、興味深い成果を上げている姿を拝見し、尊敬の念を抱きました。今回、同じく学生の部でポスター発表をおこなっていた、新しい友人との貴重な出会いもありました。将来のキャリアについて共に語り合うことができました。偶然私の悩みに関するアイデアを持っておられる人でしたので、悩みを相談をし、新しい視点をいただくことができました。また、自分の詳しくない多彩なテーマに関して丁寧な解説をいただき、最新の知見を得ることができました。

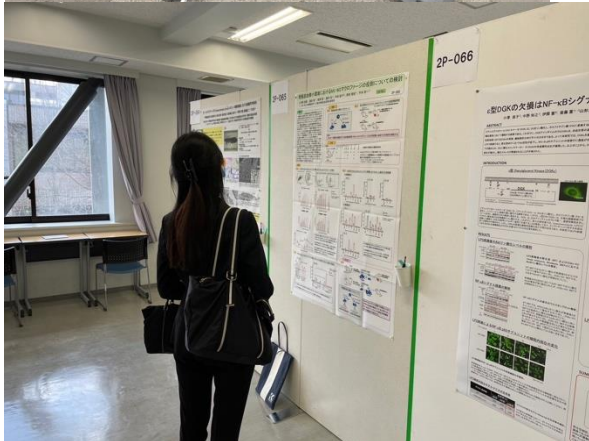
コロナ禍で対面の交流がしばらく途絶えておりましたが、今回このような現地の熱気あふれる参加者の皆様と交流し、新しい学問の道が開ける場所を自分の身をもって肌で感じることができました。そして今回の学会参加により、今後さらに積極的に自分の興味ある学術活動に取り組み、医学に貢献したいという気持ちが強まりました。今回感じた強い気持ちを忘れず、学会発表を支えてくださった皆さまへの感謝に気持ちを胸に、今後もますます精進して参ります。

最後になりましたが、ご支援いただいた貴財団に重ねて厚くお礼申し上げます。

活動の写真を添付いたします。

筆者後列左

筆者右



第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会

畠山雄二郎

横浜市立大学医学部医学科 4 年

この度私たちは第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会に参加し、「完全内臓逆位の解剖 ①手法の検討」というテーマでポスター発表を行いました。学会では講演を聴いたり、ポスターを見たりして、主に分子生物学と神経解剖学の領域の最前線の研究内容を知ることができました。ポスター発表では、聴衆に向かって要点をわかりやすく伝えることを意識して発表を行いました。初めはうまく説明することができませんでしたが、回数を重ねることでわかりやすい説明ができるようになりました。予想以上に反響は大きく、多くの先生方からポスターのレイアウトについてのご意見や、予想もしなかったような質問をいただき、非常に良い勉強になりました。学生同士でお互いの研究について意見を交換する機会があり、他大学の学生と交流を持つことができました。早い段階から研究に携わる学生と交流することで、学修や研究に向けてのモチベーションが高まりました。

第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会

畠山雄二郎

横浜市立大学医学部医学科 4 年

この度私たちは第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会に参加し、「完全内臓逆位の解剖 ① 手法の検討」というテーマでポスター発表を行いました。学会は仙台で行われたため、前日から現地入りをし 2 泊 3 日の行程となりました。学会参加に係る費用は横浜総合医学振興財団様より助成をいただきました。学会初日には様々な講演とポスター発表を見学し、学会ならではのアカデミックな雰囲気を実感することができました。特に公募シンポジウムで発表されていた、破骨細胞の機能の研究が印象に残りました。自分が学習してきた骨細胞の分化メカニズム以外にも、最新の研究では別のメカニズムが発見されていることを知って驚きを覚えたとともに、新たに発見されたメカニズムに関わる分子を標的として薬剤が開発され、新しい治療へと繋がっていくプロセスに感動を覚えました。発表当日にはポスターの貼り付け作業を行い、予行演習をしたのちに本番を迎えました。想像以上に多くの方が発表を聞きに来てくださり、自分の発表に大きな反響があることを嬉しく感じました。ポスター発表は初めての体験でしたが、聴衆に向かってポスターの要点をわかりやすく伝えることを意識して、気負わずに発表することができました。何人かの先生方からアドバイスをいただき、わかりやすいポスターにするにはさらに写真を増やした方が良いということや、内臓逆位では動脈の左右の長さの違いも重要視すべきだということを知りました。また、他大学の学生とお互いに発表練習を行なったことで、他大学の学生がどのような教育を受けていて、どのような研究を行なっているかということを知ることができました。日頃関わることのない学生と意見を交換することは、とても良い刺激になりました。



第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会

三室純生

医学科 4 年

私は一般財団法人横浜総合医学振興財団の援助により、第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会に参加し、様々なことを学んできました。「若手や学生のキャリア上の不安や疑問に応えるシンポジウム」をはじめ多くの講演に参加し、解剖学やそれに関連した医学分野の多くの知見を得ることができました。ポスター発表では実際に私たちの研究を発表し、研究成果を医学界に還元することができました。質問やコメントも多くいただき、私たちの研究の改善点もよくわかりました。他の方の発表も見学させていただき、発表方法が非常に参考になるとともに、新たな知見も得ることができました。懇親会にも参加させていただき、研究者の方々がどのような形で他の研究者と交流し、切磋琢磨していくことができるのかがわかりました。以上のように、今回の学会参加を通して非常に多くのことを学べたため、今後の学習に役立てていきたいと思えます。



第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会

赤枝誠吾

医学科・3年

私は3月18,19,20日に開催された第128回日本解剖学会総会・全国学術集会に解剖道場の一員として参加し、その学部学生セッション（ポスター）において「完全内臓逆位の解剖 ②2例の解剖結果」の発表を行った。

我々は昨年度から今年度にかけての完全内臓逆位の御遺体を2体解剖した事例について発表した。部員一同逆位の御遺体での経験は無かったので、手探りで本学組織学教室の先生方の他、東京医科大学の島田先生の助言を仰ぎながら進めた。

発表当日は、多くの方々に興味を持って頂くことが出来た。説明する際には、それぞれの方に合わせて説明することを心掛け、皆に発表内容を理解していただける様努めた。

また、発表内容についての質問も多く頂き、解剖学の知見を深めることができた。

最後に、この活動は一般財団法人横浜総合医学振興財団の御支援があって実施できたものであり、感謝を申し上げたい。これからもこの活動を通して得たものを糧にしていく。

第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会

赤枝誠吾

医学科・3年

私は3月18,19,20日に開催された第128回日本解剖学会総会・全国学術集会に解剖道場の一員として参加し、その学部学生セッション（ポスター）において「完全内臓逆位の解剖 ②2例の解剖結果」の発表を行った。

我々の発表は昨年度から今年度にかけて行った、横浜市立大学では戦後初となる完全内臓逆位の御遺体を2体解剖した事例について行った。解剖は、2年次の解剖実習で行った事があったが、逆位の御遺体での経験は無かったので、部員一同手探りで本学組織学教室の先生方の他、東京医科大学の島田和幸先生のアドバイスを仰ぎながら進めた。特に、内臓逆位において興味深い所見が多く見られるとされる心筋の解剖においては、島田先生のアドバイスに従って心臓を茹でた所、それぞれの心筋の層の走行を明らかにする事が出来た。

発表当日は、ただでさえ珍しい内臓逆位の御遺体を2体も解剖したこともあって、学生だけではなく、解剖学者の先生方を始めとした多くの方々に興味を持って頂くことが出来た。説明する際には、解剖学者の先生や医学生だけではなく、他の学部の学生などもいた為、それぞれの方に合わせて説明することを心掛け、皆に発表内容を理解して

いただける様努めた。また、発表内容についての質問も多く頂き、内臓逆位を始めとした解剖学の知見を深めることができた。

最後に、この活動は一般財団法人横浜総合医学振興財団の御支援があって実施できたものであり、改めて深く感謝を申し上げたい。これからもこの活動を通して得たものを糧にして、日々の勉学に邁進する所存である。



図 1 発表者一同と本学組織学教室尾野先生(前列左)、東京医科大学島田先生(前列中央)



図 2 学会が行われた東北大学川内北キャンパス

解剖学会で得られた学び

尾澤華

医学部医学科・ 3年

3月18-19日の日程で、仙台で行われた第128回日本解剖学総会・全国学術集会に参加した。その時の活動報告をここに記す。

今回発表することとなった内容は、完全内臓逆位の症例2件である。このような症例が、学生の系統解剖に供されるのは大変稀なことであるため、非常に貴重な機会となった。正解がない中解剖を進めていくのは困難な事も多々あったが、先生方の指導も仰ぎながら、発表のポスター制作まで辿り着くことができた。

私にとって今回が初めての学会参加であったが、同世代の学生たちが活発に議論をし合い、互いの研究から学ぼうとする姿勢に刺激を受けた。また、多くの学生が自らテーマを立案し、研究を進め、発表をしている姿に圧倒された。今回はあくまでも解剖道場の一員という立場での参加であったが、将来は自分の研究テーマを持って取り組みたいと考えるようになった。

このような貴重な機会へのご支援をいただき、財団の皆様には心より感謝を申し上げる。

<学生・研修医の学術活動等推進支援助成>

解剖学会で得られた学び

尾澤華

医学部医学科・ 3年

3月18-19日の日程で、仙台で行われた第128回日本解剖学総会・全国学術集会に参加した。その時の活動報告をここに記す。

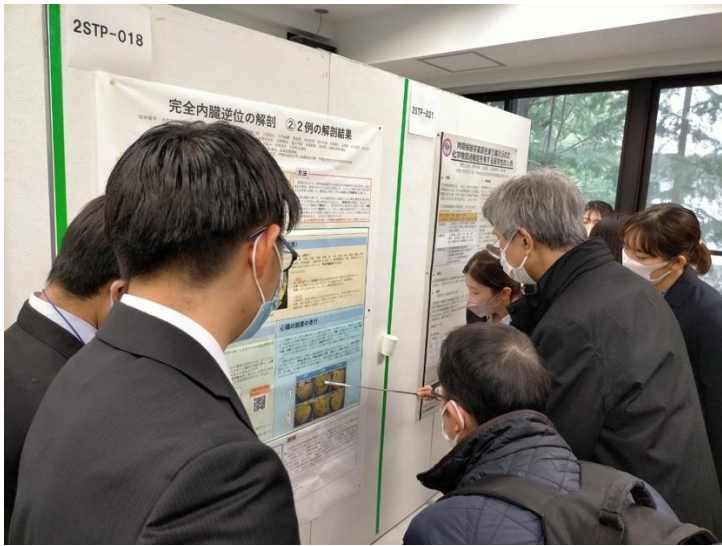
今回発表することとなった内容は、完全内臓逆位の症例2件である。本学で内臓逆位の症例を扱うのは実に珍しく、また、学生の系統解剖に供されることは非常に稀であるため、このような症例を2件も解剖する機会を頂けたのは大変貴重なことであった。

昨年度より、本学の先生方だけでなく外部の先生にもご指導を仰ぎながら、週2回程度のペースで解剖を進めていった。もちろん、一般的な教科書には内臓逆位の解剖の手順などは載っておらず、かなり手探りの状態ではあったが、これまで発表されている内臓逆位に関する論文などを参考にしながら、解剖手法を模索していった。2年生の時に講義で行った系統解剖では、教科書や資料集に載っている内容と、目の前のご献体が一致するかどうか、答え合わせのような形で学びを深めていったが、絶対的な正解が存在しない今回の症例では、「なぜこのような位置にこの臓器があるのか」「なぜこの臓器はこのような形状を示しているのか」など、仲間同士で色々疑問をぶつけ合いながら解剖を行うことができた。このようなプロセスは普段の学習では得難い経験だったと感じる。

また、私にとっては今回が初めての学会参加であったが、同世代の学生たちが活発に議論をし合い、互いの研究から学ぼうとする姿勢に刺激を受けた。また、多くの学生が自らテーマを立案し、研究を進め、発表をしている姿に圧倒された。今回はあくまでも解剖道場の一員という立場での参加であったが、将来は自分の研究テーマを持って取り組みたいと考えるようになった。

このような貴重な機会へのご支援をいただき、財団の皆様には心より感謝を申し上げます。





第 128 回日本解剖学総会・全国学術集会

川合真紗子

横浜市立大学医学部医学科 ・ 3 年

今回、私たちは仙台で行われた日本解剖学・全国学術総会の学生セッションに参加してきました。大学の解剖サークルに所属している 3.4 年生が現地で発表を行い、3 年生は今年度行った 2 例の解剖結果についての内容を発表して参りました。解剖を行ったご献体は 2 例とも完全内蔵逆位の所見が見られるもので、同時に 2 例行うことはとても珍しいことです。

皆様のお力添えのおかげで解剖を進めることができ、研究成果の発表を無事終えることができました。学会におきましては、発表を他大学の先生方や学生の方など多くの方に聞いて頂き、様々な疑問や質問をいただきました。学会での発表を通して、自分たちでは気付かなかった新たな視点を得ることができました。また、医学領域にとどまらない他大学の先生方のご講義や発表、他大学の学生の発表を聞くことができ、刺激を受け、とても貴重な経験となりました。

<学生・研修医の学術活動等推進支援助成>

第 128 回日本解剖学総会・全国学術集会

川合真紗子

横浜市立大学医学部医学科・ 3 年

日時：2023 年 3 月 18 日～19 日

場所：東北大学川内北キャンパス

発表内容

テーマ：完全内蔵逆位の解剖② 2 例の解剖結果

概要：

令和 2 年度に横浜市立大学において 2 体の完全内蔵逆位のご献体があり、解剖を行った。内蔵逆位症とは、胸腹部の内臓が正常に対して左右逆となる先天性の内臓の配置異常である。2 例の解剖に際して、確認しづらい構造の観察を 2 例で補完しあうことを目的として 1 例では「解剖学実習の手引き」に沿って、もう 1 例では内臓一括摘出の方法で行った。解剖前に CT で確認したところ、どちらも内臓が左右逆になっていることが確認でき、実際に解剖を行ってみても、胸腹部の内臓が完全に逆になっている完全内蔵逆位が認められた。

その他の所見として、片方のご献体では心臓の配置異常が見られた。この原因として、心臓の発生の段階で生じたか、無気肺によるもの、という 2 つが考えられる。解剖によってこの原因を突き止めようとしたが、特定はできなかった。

心臓の筋層については、どちらのご献体も心筋の走行は単純に左右逆では説明できなかった。外層の筋層は逆位の影響を受けず、中層・内層は内臓逆位として形成されたと考えられた。

感想

解剖学会に参加させていただけたことは、非常に貴重な経験になりました。

発表準備の段階では、関連する論文を読むことだったり、見やすいポスターを作ることだったり、大変に感じることも多くありました。しかし、このような作業を通して、他人にわかりやすく伝えるにはどのようにすればよいのか、考えることができたと思います。

現地での発表では、他大学の先生方や学生さんの熱心さに圧倒されました。先生方の鋭い質問やご指摘にうまく答えられないのではないかと不安に感じました。しかし、自分たちだけでは思いつかなかったような新たな視点を得ることもでき、とても勉強になりました。

自分たちの発表以外の時間は、先生方のご講義を聞いたり、他大学の学生の方のポスター発表を見て回ったり、他大学の学生の方と交流をしたりしました。先生方のご講義では、普通の大学の授業ではあまり聞くことがないような医工連携のお話だったり、放射光を用いた治療や診断といった最先端のお話だったりを聞くことができ、とても興味深かったです。また、他大学の学生

の方の研究内容も充実していてレベルの高いものばかりで、とても刺激になりました。

このように、学会を通して様々な学びを得ることができました。勉強したことや感じたことを今後の医学の勉強にも生かしていきたいと思います。今回助成してくださった横浜総合医学振興財団の方々に御礼申し上げます。



第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会

佐々木 茜

医学部医学科 2 年

我々は解剖道場に所属しており、2022 年度に 2 体の完全内臓逆位のご献体の解剖を行ないました。その解剖手法や解剖結果についてまとめて、2023 年 3 月 18～20 日に仙台にて開催された第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会でポスター発表をしました。非常に多くの方が足を止めて、我々のポスター発表を聞いてくださり、完全内臓逆位の解剖に対する関心の高さを感じました。

学生でありながら、今回、完全内臓逆位のご献体の解剖に関わることができ、そして、対面で発表する機会に恵まれ、大変貴重な経験でした。仙台での学会参加にあたり経済的支援をしていただいた横浜総合医学振興財団様に、この場を借りて御礼申し上げます。

第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会

佐々木 茜

医学部医学科 2 年

1. 目的

我々は、解剖道場という団体に所属して、課外活動として解剖を行っています。2022 年度は 2 体の完全内臓逆位のご献体の解剖を行ないました。内臓逆位のご献体を学生が、2 体も解剖できる機会に恵まれて非常に貴重な経験でした。この 2022 年度の活動についてまとめ、第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会にてポスター発表を行ないました。本学術集会は新型コロナウイルス感染症対策のため、数年間オンライン開催でしたが、2023 年は仙台の東北大学での現地・対面開催され、多くの先生や学生の前で直接発表することができました。

2. 発表内容

2 体のご献体（ご献体 A、ご献体 B とする）に対して、異なる解剖手法を用いて解剖しました。ご献体 A は「解剖実習の手引き」（南山堂）に従った方法で、ご献体 B は内臓を一括摘出しました。

解剖所見の全体像としては、ご献体 A、B とともに、心臓、肺、肝臓、脾臓、胃、盲腸、虫垂、腎臓、副腎、腎静脈、心臓周囲の大血管、胸管、奇静脈において、臓器の左右逆転が見られ、完全内臓逆位でした。ご献体 A では、心臓が右に偏在しており、異常配置でした。

心臓について、ご献体 A、B、正常心臓を用いて、筋層の走行の比較をしました。内臓逆位の心臓は、A と B はともに同様の筋層の走行を示しました。内臓逆位の心臓は、外層は鏡像を示さず、正常心臓と同様でした。一方、中層・内層については、正常心臓とは異なる筋層の走行で、鏡像型でした。

3. 感想

本学会にてポスター発表したところ、非常に多くの先生や学生が足を止めて熱心に発表を聞いてくださり嬉しかったです。内臓逆位が非常に珍しく、多くの人が関心を持っていることが、よくわかりました。また、実際に内臓逆位の患者さんを診察したことのある先生とお話する機会があり、内臓逆位についての知見を深めることができました。発表を聞いてくださる方と直接交流して話が広がっていくというのは、対面開催だからこそその経験でした。さらに、他の学校の学生の発表を聞き、いろいろな分野の研究に関わっている学生がいることがわかり、刺激を受けました。

最後になりますが、学会開催地である仙台に行くにあたり、経済的支援をしてい

ただいた横浜総合医学振興財団様、ご指導を賜りました先生方にこの場を借りて感謝を申し上げます。本当にありがとうございました。



世界患者安全の日イベントの開催

～「めざせ、おくすりの達人」 知って得する！くすりとの上手な付き合い方～

横浜市立大学附属市民総合医療センター 医療の質・安全管理部 中村京太

■開催期間：2022年9月1日(木)～30日(金)

■開催場所：横浜市立大学附属病院および横浜市立大学附属市民総合医療センター

『世界患者安全の日』は、患者安全を促進すべく、WHO（世界保健機関）加盟国による世界的な連携と行動に向けた活動を行うことを目的に2019年に制定され、毎年9月17日と定められています。

2022年のテーマは「Medication Safety」、スローガンは「Medication Without Harm」。

「くすり」がテーマに選ばれたのは、薬が適正に使用されなかった影響で、健康被害に結びついてしまった事例などが複数報告されており、世界中で課題と考えられているためです。

そこで横浜市立大学附属病院・横浜市立大学附属市民総合医療センターでは、薬を正しく、そして安心・安全に使うきっかけとなるよう、『「めざせ、おくすりの達人」 知って得する！くすりとの上手な付き合い方』と題して、医薬品安全に関する情報を患者さん、市民とともに考える様々なイベントを実施しました。

イベント期間中、開催場所となる大学2病院では、薬についてのパネル展示や入院患者さんへの食札配布などを行いました。また横浜市立大学附属市民総合医療センターでは、感染対策を十分にしたうえでイベントTシャツを着用した学生ボランティア・職員が2日間にわたりチラシやノベルティの配布を行いました。患者さん、市民とともに安全を考える活動は、学生教育・職員教育の観点でも、多くの成果を得られたと感じております。

今回の活動内容はプレスリリースされるとともに、メディア等にも取り上げられ、多くの方に活動内容を知っていただく機会にも恵まれました。

今回イベントに協賛いただきました、横浜総合医学振興財団に心から感謝申し上げます。

<イベント期間中の詳細な活動内容>

1) 病院スタッフ・横浜市立大学学生ボランティアによる情報発信

実施場所：附属病院 2階フロア

センター病院 エントランスホール、メディカルモール

実施日時：附属病院 9月16日(金)

センター病院 9月15日(木)、16日(金) 13時-15時予定

※学生ボランティアによる活動は、センター病院のみ

※2病院併せて1000人へチラシ・ノベルティの配布

2) 薬剤関連のパネル展示

展示場所：附属病院 病院とシーサイドラインをつなぐ連絡通路

センター病院 メディカルモール壁面

展示期間：9月12日(月)～9月22日(木)

展示内容：薬剤関連の情報(薬の正しい使い方等)

3) 入院患者への理解啓発

実施日程：9月16日（金）夕食

実施内容：入院患者対象に『世界患者安全の日』のお知らせと薬剤に関する豆知識 を掲載したチラシを夕食膳で配布

4) ホームページへの掲載

掲載期間：9月1日（木）～9月30日（金）

掲載内容：『世界患者安全の日』イベントのお知らせと薬剤関連の情報(薬の正しい使い方等)

URL：https://www.yokohama-cu.ac.jp/news/2022/WorldPatientSafetyDay_20220901.html

5) 院内職員向けに電子カルテトップ画面への掲載

掲載予定期間：附属病院 8月25日（木）～9月21日（水）

センター病院 8月18日（木）～9月15日（木）

掲載内容：『世界患者安全の日』イベントについて院内職員向けに掲載

6) 広報誌への掲載

掲載予定日：附属病院『With』 2022年11月発刊号

センター病院『十全』 発刊時期については現在調整中

掲載内容：院内外の『世界患者安全の日』の取り組み報告

<イベント開催結果>

- ・チラシ・ノベルティ配布：1,000件超え
- ・ホームページ閲覧数：892件

<新聞記事>

横浜川崎宇都宮・東京多摩地域医療情報誌

オリジナルエ

ホーム 横浜 川崎 相模原・東京多摩 県

金沢区・磯子区版 掲載号：2022年9月29日

正しい薬の知識知って

世界患者安全の日で啓発

社会

横浜国立大学附属病院（金沢区福浦）と同附属市民総合医療センター（南区浦舟町）は9月17日の「世界患者安全の日」にあわせ、薬についての啓発活動を行った。

チラシなどを配る職員と学生ボラ

世界患者安全の日は、世界保健機関（WHO）の総会で医療制度を利用するすべての人のリスクを軽減するために制定された。同センター病院安全管理部に所属し薬剤師でもある勝亦秀樹さんは、今年のテーマが「Medication Safety」と知り、イベントの開催を企画。学生ボランティアと職員がオレンジ色のTシャツを着て、来院した人に向けて薬剤に関する豆知識を掲載したチラシなどを配布した。また、薬剤関連のパネル展示も両病院で行い、薬を安全に使用するため

世界保健機関（WHO）が定めた「世界患者安全の日」（9月17日）を前に、横浜市の市立大付属市民総合医療センターで16日、薬の正しい使い方などの啓発活動が行われた。世界患者安全の日は2019年に始まり、同センター

家族葬・一日葬・直葬 0120-7676

薬の使い方 学生ら啓発 患者安全の日

「は今回初めて、キャンペーンに取り組んだ。今年のテーマは安全な薬の使い方。薬の誤用は健康を害する大きな要因で、防

訪れた人に啓発のチラシを手渡す学生ら（16日、横浜市南区で）

「は世界の総医療費削減にもつながるといふ。この日は、スタッフと病院ボランティアの学生計13人が安全の日のテーマカラーのオレンジ色のTシャツを着て、薬を飲み忘れても2回分を一度に飲まないことなどが書かれたパンフレットやチラシを、来訪者に配って説明した。

同大データサイエンス学部2年豊蔵明さん（20）は「用法や用量などを確認して、薬を正しく使ってほしい」と話していた。

※売新聞 抜粋

さまざまな団体の取り組み

横浜市立大学 附属病院、附属市民総合医療センター

9月1日(木)～30日(金)に『「めざせ、おくすりの達人」 知って得する！くすりとの上手な付き合い方』と題し、患者さんと医療者とのパートナーシップ(協働)をめざした、WPSDイベントを開催しました。

主な内容は下記のとおりです。

- ・病院ホームページ上に、「くすりの基本」をゲーム感覚で学習できるコンテンツなどを掲載
- ・院内各所にパネル展示
- ・入院患者さんを対象に、「薬剤に関する豆知識」を掲載したチラシを食糧で配布
- ・大学生ボランティアと病院スタッフがWPSDイベント用にデザインしたTシャツを着用し、来院者にチラシなどを配布(附属市民総合医療センター)



横浜市立大学HP https://www.yokohama-cu.ac.jp/news/2022/WorldPatientSafetyDay_20220901.htm

<イベントの様子>



<学術講演会開催助成>

令和4年度 学術講演会助成報告書

石川浩史

神奈川県立こども医療センター

副院長・産婦人科部長

第36回神奈川母性衛生学会総会ならびに学術集会

開催日： 2023年2月4日（土）

開催方法： ハイブリッド開催（会場開催+on line 配信）

開催場所： ワークピア横浜 2階（横浜市山下町24-1）

メインテーマ： 医療安全の次の海へ

参加者数： 144名（会場88名 オンライン参加56名）

プログラムは下記の通りである。

時間	項目	その他
9:00~9:05	開会挨拶	
9:10~9:50	一般演題 第I群「優秀演題賞候補」	
10:00~10:20	プレテスト(CLoCMiP®)	
10:20~10:50	会長講演「安心≠安全の産科医療」 ¹⁾	
11:00~12:00	特別講演「脳性麻痺は減っているか？-産科医療補償制度とその周辺データから-」 ^{1) 2)}	
12:00~12:15	ポストテスト(CLoCMiP®)	
12:15~13:00	休憩	理事会
13:05~13:25	総会	
13:30~14:30	教育講演「ヒューマンエラーの認知科学」 ²⁾	
14:35~15:35	教育講演「レジリエント・ヘルスケアと新しい安全のアプローチ Safety-II」 ²⁾	
15:40~16:20	一般演題 第II群「妊娠期・不育」	
16:30~17:20	一般演題 第III群「分娩・産褥期・その他」	
17:30~18:00	表彰式・閉会の挨拶	
オンデマンド配信	一般演題 第IV群「オンデマンド配信」	

ハイブリッド開催であったことから、会場参加88名、オンライン56名と計144名の参加者となった。オンライン併用のため他県からの参加もあり、また、会場での質疑応答も活発に行われた。本学術集会での意見交換を通して、医療安全、母性衛生分野の医療・看護の今後の発展に寄与することが期待された。





<学術講演会開催助成>

令和4年度 学術講演会開催助成 報告書

光藤健司

横浜市立大学大学院医学研究科顎顔面口腔機能制御学（口腔外科学）

第24回 関東ハイパーサーミア研究会 全身ハイパーサーミア研究会合同学術研究会

・開催日：2023年3月18日（土） 14:00-16:30

・開催方法：オンライン

・参加人数：28名

プログラムは以下の通りである（抄録集は別に添付する）

14:00-14:05 関東ハイパーサーミア研究会総会

関東ハイパーサーミア研究会代表世話人：櫻井 英幸（筑波大学放射線腫瘍学）

関東ハイパーサーミア研究会事務局長：高橋 昭久（群馬大学重粒子線医学研究センター）

14:05-14:10 開会挨拶

関東ハイパーサーミア研究会当番世話人：光藤 健司（横浜市立大学・口腔外科学）

14:10-14:50 一般演題（基礎、臨床）

座長：加藤 和夫（明治大学）

高橋 健夫（埼玉医科大学総合医療センター放射線腫瘍科）

1. 「局所加熱可能なマイクロ波エネルギーデバイスの開発 -後方加熱の抑制-」
西舘 嗣海（千葉大学大学院 融合理工学府 博士前期課程 基幹工学専攻 医工学コース）
2. 「加温領域拡大を目的とした形状記憶合金製針電極の開発」
栗原汰一（東洋大学理工学研究科機能システム専攻）
3. 「膝関節腔の深部集中加温を目的とした両脚同時加温アプリケーションタの開発」
田尾多駿人（東洋大学理工学部機械工学科）
4. 「巨大局所進行子宮頸癌に対してハイパーサーミアと組織内照射を併用した化学放射線療法が奏功した1例」
齋藤 高（筑波大学医学医療系放射線腫瘍学）

14:50-15:25 特別講演1（基礎）

座長：高橋 昭久（群馬大学重粒子線医学研究センター）

「ハイパーサーミアにおける加温最適化のための工学的的方法」

黒田 輝（東海大学情報理工学部情報科学科）

15:25-15:30 休憩

15:30-16:05 特別講演2（臨床）

座長：櫻井 英幸（筑波大学・放射線腫瘍学）

「千葉県がんセンターへのハイパーサーミアの導入と短期成績」

千葉 聡（千葉県がんセンター・食道胃腸外科）

16:10-16:15 優秀発表賞授賞式：櫻井 英幸（筑波大学放射線腫瘍学）

16:15-16:20 次期当番世話人挨拶

16:20-16:25 閉会の辞

全身ハイパーサーミア研究会当番世話人：竹内 晃（ルーククリニック）

各演題につき複数の質疑応答があり、活発な学術集会となった。参加はハイパーサーミアの基礎（医学、工学）、臨床に関わる医師、看護師、診療放射線技師、学生、工学系研究者等と多岐にわたり、関東にとどまらず全国から約30名の参加があった。特別講演では工学系基礎および臨床の2題の講演があり、研究会員の知識、技術の向上に寄与したと考える。また、一般演題は4演題と少なかったものの、うち3題は工学系基礎研究者からの将来性を期待させる報告で、活発な討論が行われた。そのうち、特に将来的発展を期待させた一演題に対して優秀発表賞を授与した。

研究会として、今後もハイパーサーミア研究、臨床の発展・普及に貢献し、ひいては国民の健康への一助となるべく発展を目指すことを確認した。



経費内訳：助成金額 30,000 円 特別講師 千葉県がんセンター 千葉聡先生謝礼として
領収書添付いたします。