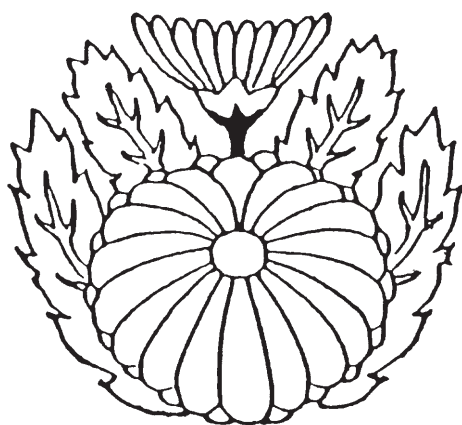


2023年度
東京慈恵会
総合医学研究センター
研究年報



公益社団法人 東京慈恵会

序

この度、2023年度東京慈恵会総合医学研究センター研究年報 第39号が発刊される運びとなった。大変お忙しいなか、ご執筆戴いた諸先生方には心より感謝申し上げる次第である。

公益社団法人東京慈恵会の事業の大きな柱の一つとして位置付けられる、医学振興事業の嚆矢は心臓センターの開設で、1978年にまで遡る。その後研究部門の拡充が計られ、現在の東京慈恵会総合医学研究センターの名称のもとに各研究部門が置かれるようになったのは1985年である。2014年には、東京慈恵会は一般社団法人から公益社団法人へと移行したが、その定款においても医学振興事業の推進が明確に打ち出されている。

2023年度は、成人病研究部、感染防御研究部、生理学研究部、遺伝子治療研究部の4医学研究部門が設置されており、それぞれの研究テーマに沿って鋭意研究が進められている。これら研究部門の在り方に関しては、紆余曲折があり、このことについては2021年度研究年報「序」において触れられているのでご参照願いたい。本研究年報には、2023年度の研究成果が詳細に報告されており、社会への貢献を目指して例年に倣って国立国会図書館にも納める予定である。多くの方々に読んで戴ければ幸いである。

本総合医学研究センターの事業は当初より民間団体からの経済的ご支援により成り立っており、現在は一般社団法人霞会館様、同昭和会館様より多大なご援助を戴いている。この場をお借りして深甚なる感謝を申し上げる次第である。

2024年6月1日

公益社団法人 東京慈恵会
総合医学研究センター
センター長 羽野 寛

2023年度
東京慈恵会総合医学研究センター
研 究 概 要

生理学研究部	竹 森 重
感染防御研究部	金 城 雄 樹
遺伝子治療研究部	小 林 博 司
成人病研究部	安 保 雅 博
	荒 屋 潤

慈恵看護専門学校	東 條 克 能
----------	---------

2023年度
東京慈恵会
総合医学研究センター 研究年報
目次

序

生理学研究部	竹 森 重	1
感染防御研究部	金 城 雄 樹	9
遺伝子治療研究部	小 林 博 司	17
成人病研究部	安 保 雅 博	25
	荒 屋 潤	33

慈恵看護専門学校	東 條 克 能	41
----------	---------------	----

生理学研究部

竹 森 重

研 究 概 要

骨格筋線維上を伝搬する伸長波と収縮波のハイスピードカメラ観察

1. 伸長波の検出

収縮する筋肉は「筋音」を発する。これは多数の運動単位が発生する圧波が重畳して生体筋表面に起こす振動である。活動電位が重畳する筋電現象とは異なり、筋音は筋の運動単位群の機械的活動による信号であるから、筋疲労や神経筋疾患に伴う筋の収縮性の直接評価につながると期待される。

現在までの多くの研究では随意的に収縮させた筋から体表面で記録される筋音を解析対象としている。筋音の源となる圧波は細胞膜上の終板から活動電位より速く伝搬する伸長波（機械的縦波）と活動電位を追って遅く伝搬する収縮波の二つの要素からなるとする説が、単一運動単位の収縮に伴う生体皮膚上での圧波測定から提唱されている。生理的な筋細胞の収縮時において筋節はほぼ等容積を保つことが知られており、筋節を伸縮させる二つの波がいずれも筋線維の太さ変化を随伴すると考えられるからである。すなわちこの説では、終板部で先行する収縮による長軸方向の筋節短縮は筋細胞周囲径の拡大を伴う一方で、遠位部でまだ収縮していない筋節は機械的に受動伸展され、筋細胞周囲径の縮小を起こす。そして収縮部と未収縮部の境界が収縮波の伝搬に連れて終板から両側の遠位部に移動していくことになるとしている。

この説の検証においては、筋線維上を伝搬する速い伸長波と収縮波が確かに存在するかどうかを確認する必要がある。とくに筋線維上を伝播する、収縮波より速い伸長波の存否を直接観測で確認することがぜひとも必要である。本研究ではこの速い伸長波をハイスピードカメラで直接検出することを目的とした。

実験標本には、筋細胞が太く形態変化が捉えやすいことから、カエルの縫工筋を使用した。標本は起始・停止部の骨端部を含めた縫工筋と大腿神経のみのものとし、大腿骨やその他の軟部組織はすべて切除した。室温25℃のリンゲル液中にて神経や筋を傷つけないように注意しながら骨端部に固定ピンを通した後、絹糸で固定台と張力トランス

デューサに結び付け、大腿神経上に刺激電極を設置した。刺激はパルス幅0.5 msの単一刺激とし、収縮が起こる最小電圧を選んで活動する運動単位の数をも最小にした。収縮中に標本のねじれが生じないように標本の位置と角度を微調整した上で、筋長を徐々に変えて張力が最大となる至適長を決定し、至適長に筋長を保って実験を行った。

観察では筋表面の動きを画像上で検出しやすくするために、幅20-30 μ m程度のカーボン粒子を筋表面に複数付着させ、その動態を実体顕微鏡に接続したハイスピードカメラ(30,000 fps)で記録した。カーボン粒子の動きが始まるタイミングを筋線維に沿って画像上で解析した。

解析の結果、収縮波の伝播に先行する伸長波の伝播が確かに存在することが分かった。カーボン粒子の位置と、その点で伸長が始まったタイミングの関係から、伸長波の伝播速度を求めてみると9~10 m/s程度であることがわかった。収縮波が到達したタイミングの評価は難しいが、同一の実験環境でカエルの縫工筋上を伝播する活動電位の速度を計測したところ、室温で5~6 m/sであったことも、伸長波が収縮波に先行であることを裏付けた。

ヒトの骨格筋の筋音から推定された伸長波の伝播速度は30 m/s程度で、筋線維上の活動電位の伝播速度の10倍程度で速さと想定されている。伸長波を観測しやすくするために、両生類の生理的な温度よりも高い温度で実験をしていることなどが、この相違のもとになっているのであらうと考えられるが、具体的な要因の解明は今後の課題である。

2. 圧迫による伸長波の伝播阻害

伸長波が確かに既収縮部から未収縮部に伝播する機械的な縦波であることを確認するために、筋標本の一部を針金で圧迫して観測を行った。期待した通り、圧迫部より遠位の部分への伸長波の伝播が阻害され、時間差をもって圧迫部より遠位での伸長波の伝播が再開した。圧迫部より神経筋接合部側での伸長波の伝播速度と、圧迫部より遠位での伸長波の伝播速度はおおむね一致した。実験後に行ったアセチルコリンエステラーゼ染色から見積もった神経筋接合部の位置から圧迫部までの距離を推定し、圧迫部での伸長波の遅れ時間を神経筋接合部から圧迫部までの収縮波伝播に要した時間と考えて、収縮波の伝播速度を求めると、1~3 m/s程度だった。活動電位の伝播速度より少し遅い見

積もりとなったが、針金で圧迫した筋表面より深部での機械的な縦波の伝播を抑制し切れていなかった効果などがその要因として考えられる。

今後は筋細胞周囲経の変化を計測して、運動単位での筋音の発生源が伸長波と収縮波に伴う筋線維の太さ変化であるとする前述の説の直接検証を目指して、筋標本をより細い筋線維束とし、その中の筋線維の太さと筋節長の変化から筋節の容積変化を算出して、筋節が確かに等容積性に振舞っているかどうかを検討することを計画している。

研 究 業 績

原著論文

1. Ishii S, Oyama K, Kobirumaki-Shimozawa F, Nakanishi T, Nakahara N, Suzuki M, Ishiwata S, Fukuda N. Myosin and tropomyosin-troponin complementarily regulate thermal activation of muscle. J Gen Physiol 2023; 155(12): Epub 2023 Oct 23.

学会発表

1. 寺西奈保美、中原 直哉、竹森 重. 除神経後の自発運動量変化を自動測定評価する-深層学習システムの試用-. 第175回日本体力医学会関東地方会. 2023年9月（山梨）.
2. Yamaguchi M, Kurihara T, Nakahara N, Yamauchi H, Hirano K, Yamaguchi M, Yamazawa T, Ohno T, Takemori S, Yagi N. Structural and functional property of the rabbit extraocular muscle studied by X-ray diffraction experiment and tension measurement.
3. 平野和宏、山内秀樹、中原直哉、山口眞紀、竹森重. 萎縮筋に対する収縮様式と収縮強度がシグナルタンパク活性と筋節内微細構造に及ぼす影響. 第28回日本基礎理学療法学会学術大会. 2023年12月（広島）.
4. 平野 和宏、山内 秀樹、中原 直哉、山口 眞紀、林 友則、竹森 重. 軽度萎縮筋に対する収縮様式と収縮強度がシグナルタンパク活性とサルコメア構造に及ぼす影響. 第101回日本生理学会大会. 2024年3月（福岡）.
5. 山内 秀樹、竹森 重. 非荷重で萎縮するラットヒラメ筋のポリアミン代謝. 第101回日本生理学会大会. 2024年3月（福岡）.

6. 寺西奈保美、中原 直哉、竹森 重. 除神経後マウスの運動量変化-深層学習を用いた検出システムの応用-. 第101回日本生理学会大会. 2024年3月（福岡）.
7. 中原 直哉、山内秀樹、山口 眞紀、林 友則、平野和宏、竹森 重. 赤筋における血流を保った状態でのX線サルコメア構造解析. 第101回日本生理学会大会. 2024年3月（福岡）.

感染防御研究部

金 城 雄 樹

研 究 概 要

成人の侵襲性肺炎球菌感染症由来菌株の細菌学的・免疫学的解析

肺炎は本邦での主な死因の1つであり、市中肺炎、医療・介護関連肺炎、院内肺炎に分類される。肺炎球菌は、市中肺炎および医療・介護関連肺炎の原因菌として最も多い細菌である。肺炎球菌は中耳炎や副鼻腔炎の起炎菌としても重要であり、時に菌血症や髄膜炎などの侵襲性肺炎球菌感染症（invasive pneumococcal diseases; IPD）を起こす。年齢別のIPD罹患率は5歳未満および65歳以上で多く、5歳未満では1歳前後が特に多い。

肺炎球菌はグラム陽性球菌であり、二つの菌が隣接した像を示すことが多いことから、グラム陽性双球菌と特徴づけられる。肺炎球菌の菌体表層に存在する莢膜は、好中球やマクロファージなどの食細胞の貪食に抵抗性を示す主な病原因子である。肺炎球菌は莢膜の主な構成成分であるポリサッカライドの構造の違いにより、約100種類の血清型に分類される。

現在用いられているワクチンは莢膜ポリサッカライドを用いたワクチンであり、23種類の血清型の莢膜ポリサッカライドを含む23価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン（23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine; PPSV23）と13種類の血清型の莢膜ポリサッカライドと変異型毒素タンパクを結合した13価肺炎球菌結合型ワクチン（13-valent pneumococcal conjugate vaccine; PCV13）が、それぞれ65歳以上成人および小児に対して定期接種されている。小児では肺炎球菌ワクチンの定期接種導入によりIPD罹患率の低下を認めた。しかし、近年、小児および成人において肺炎球菌ワクチンに含まれない血清型（非PCV13、非PPSV23）によるIPDが増加している。

私達は肺炎球菌ワクチンの効果を明らかにすることを目指し、国立感染症研究所との共同研究にて、成人IPD症例から分離された肺炎球菌株を用いて細菌学的・免疫学的解析を行なった。肺炎球菌に対する感染防御には、好中球やマクロファージなどの食細胞による貪食殺菌が重要であり、そのためには抗体結合および補体結合による菌のオプソニン化が重要である。私達はヒトPPSV23免疫血清、ウサギ補体、成人IPD症例由来菌

株を用いて、菌株に対する免疫血清（抗体）を介した補体C3の沈着について解析を行なった。本解析は、2020年度に導入された免疫学的解析装置一式（ハイブリッド高速冷却遠心機など）およびフローサイトメーターを用いて行なった。国立感染症研究所所から成人IPD由来菌株を入手し、昨年度までに確立した実験系を用いて、成人IPD由来菌株に対する抗体依存性補体沈着活性について解析を行なっている。現在、血清型毎の抗体依存性補体沈着活性について、継続的に解析を行い、結果を分析している。今後も本解析を継続し、肺炎球菌ワクチンの効果について細菌学的・免疫学的観点から明らかにしたい。

新規肺炎球菌ワクチンによる免疫応答および感染防御効果の解析

近年、小児および成人において肺炎球菌ワクチンに含まれない血清型（非PCV13、非PPSV23）によるIPDが増加していることから、肺炎球菌の血清型に依存しない幅広い感染防御効果をもたらす新規ワクチンの開発が求められている。私達は、ほとんどの肺炎球菌に認められる肺炎球菌表層蛋白A（pneumococcal surface protein A; PspA）と強力な免疫賦活作用のある糖脂質をアジュバントとして用いた新規肺炎球菌ワクチンの感染防御効果および防御免疫機構の解析を行った。新規PspA・糖脂質ワクチンによる免疫応答を明らかにするため、2020年度に導入された免疫学的解析装置一式（ハイブリッド高速冷却遠心機、PCR システムなど）を用いて、本ワクチンを免疫したマウスから免疫細胞を採取し、免疫応答の解析を行なった。本ワクチン免疫マウスでは糖脂質を用いたことで濾胞性ヘルパーNKT細胞（NKT_{FH}）という特徴的なリンパ球が誘導され、抗原特異的IgG抗体産生の増強をもたらすことが明らかになった。また、新規PspA・糖脂質ワクチン免疫マウスでは、肺炎球菌感染防御に重要なIgG抗体産生が長期間持続することで、感染防御効果が持続することが示唆された。

また、新規PspA・糖脂質ワクチン免疫による抗体産生の増強において、NKT細胞およびNKT_{FH}細胞が重要な役割を担うことが示唆されたことから、NKT細胞の活性化およびNKT_{FH}細胞の誘導をもたらす機序の解析を行なった。その結果、Gr-1陽性細胞がNKT細胞の近傍に局在し、新規PspA・糖脂質ワクチン免疫後早期にインターロイキン-27（IL-27）を産生することにより、NKT細胞のミトコンドリア代謝を促進させることで、NKT_{FH}細胞分化に必要な十分なエネルギー獲得に作用することを見出した。さらに、

Gr-1陽性細胞の時期特異的IL-27産生は活性化NKT細胞が産生するインターフェロン γ (IFN γ) に依存しており、NKT細胞の機能分化の誘導は活性化NKT細胞自身によって制御されていることが示唆された (Kamii, Hayashizaki et. al. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 2024)。

引き続き、本ワクチンによる免疫応答を解明することにより、IgG抗体産生の増強および肺炎球菌感染防御効果の持続をもたらすワクチンの開発に繋げたい。

二次胆汁酸による閉塞胆管ステント由来腸球菌のバイオフィルム形成と凝集の促進

閉塞性黄疸は、腫瘍などにより胆汁の流れが滞り、ビリルビンが体内に蓄積した状態であり、胆管炎・敗血症などの感染症を引き起こす。これらの治療・予防のため、胆管にステントを挿入する治療が行われるが、ステントは時に早期閉塞し、胆管炎が再発することが課題である。近年、腸内微生物叢の一部の菌が胆管ステントの閉塞に関与している可能性が指摘されているが、具体的なメカニズムは不明である。私達は、本学内視鏡医学講座（炭山和毅主任教授）との共同研究で、バイオフィルムを介した胆管ステントの閉塞メカニズムを理解するために、閉塞胆管ステントから菌を分離培養し、それらのバイオフィルム形成能を評価した。

閉塞性黄疸患者から胆管ステントを回収し、その内部でのバイオフィルムの存在を確認するため、近年、細菌学講座で開発したバイオフィルム透明化法 (Sugimoto, Kinjo Commun. Biol. 2023) を用いて観察した。その結果、閉塞した胆管ステント表面や内腔中心部でグラム陽性球菌やグラム陰性桿菌を含む複数の菌によるバイオフィルムの形成が確認された。次に、閉塞胆管ステントの内容物を血液寒天培地で培養したところ、様々な形状のコロニーが発育した。性状の異なるコロニーを分離培養し、生化学試験や16S rDNAの配列から菌種の同定を行った結果、バンコマイシン耐性株を含む腸球菌が高頻度に同定された。そこで、これらの腸球菌に着目し、*in vitro*においてバイオフィルム形成能を評価した結果、分離した株では、グルコースや塩化ナトリウムを添加したBrain Heart Infusion培地でバイオフィルムの形成量が増加する頻度が高いことを見出した。次に、胆管ステント内では胆汁酸がバイオフィルム形成に影響を与えることが予想されたため、胆汁酸存在下でのバイオフィルム形成能を評価したところ、二次胆汁酸で

あるデオキシコール酸やリトコール酸の存在下でバイオフィルムの形成や菌の凝集が増加することがわかった。以上より、二次胆汁酸による腸球菌のバイオフィルム形成や菌の凝集の誘導が胆管ステント閉塞の一因である可能性が示された。第140回成医学会総会にて、本研究に関する発表が優秀学生ポスター賞を受賞した（高泉優, 他）。

細胞外アミロイド線維Curliの産生における分子シャペロンDnaKのヌクレオチド交換因子GrpEの必須性の解析

Curliは大腸菌のバイオフィルム形成に重要な役割を果たす細胞外アミロイド線維である。Curliの主要成分であるCsgAは、翻訳後、Sec経路によってペリプラズムに輸送され、外膜に局在するCsgG輸送体によって菌体外へ分泌される。これまでに、①分子シャペロンDnaKがCurliの産生に必須であること（Arita-Morioka *et al.* 2015）、②DnaKが細胞質でのCsgAの凝集を抑制し、ペリプラズムへの輸送を助けること（Sugimoto *et al.* 2018）、③DnaKと協調して働く3つのJドメインタンパク質のうちDnaJとCbpAがCurli産生において相補的に機能することを報告した（Sugimoto *et al.* 2021）。本研究では、DnaKのヌクレオチド交換因子であるGrpEのCurli産生における必須性を検討した。

大腸菌C600株（野生株）とDA259株（*grpE*欠損株）をCongo Red含有寒天培地上で培養し、Curliの産生を評価した結果、野生株のコロニーのみがアミロイド線維に特徴的な赤色を呈した。プラスミドを用いて*grpE*を相補したが、*grpE*欠損株のCurliの産生は回復しなかったことから、*grpE*欠損株のゲノム上に*grpE*以外の遺伝子の変異や欠損が存在する可能性が示唆された。PCRおよび次世代シーケンス解析でCurli関連遺伝子の存在の有無を調べたところ、*csgABCDEFGF*の欠損が判明した。そこで、CsgABCDEFGF共発現プラスミドを*grpE*欠損株に導入し、Curliの産生を評価した結果、Curliの産生が認められた。また、GrpEに結合できないDnaK変異体発現プラスミドを*dnaK*欠損株に導入するとCurliの産生が回復した。

以上の結果より、DnaKはCurliの産生に必須だが、GrpEは必須ではないことが判明した。本研究により、GrpE非依存的なDnaKの生理機能を示唆された。本研究は第106回日本細菌学会関東支部総会にて、若手優秀発表賞を受賞した（奈良 萌子、他）。

研 究 業 績

原著論文

1. Kamii Y, Hayashizaki K, Kanno T, Chiba A, Ikegami T, Saito M, Akeda Y, Ohteki T, Kubo M, Yoshida K, Kawakami K, Oishi K, Araya J, Kuwano K, Kronenberg M, Endo Y, Kinjo Y. IL-27 regulates the differentiation of follicular helper NKT cells via metabolic adaptation of mitochondria. Proc Natl Acad Sci U S A. 2024; 121 (9):e2313964121.

総説

1. 林崎浩史, 金城雄樹. iNKT細胞による感染防御. 臨床免疫・アレルギー科. 80 (3):305-310. 2023年9月

著書

1. 金城 雄樹. グラム陽性偏性嫌気性球菌. アクチノミセス属（放線菌属）. 敗血症の病態. 標準微生物学 第15版（錫谷 達夫・松本 哲哉 編集）137-138, 250-253, 586-588. 東京, 医学書院, 2024年2月

学会発表

1. 千葉明生, 金城雄樹. （口頭発表）黄色ブドウ球菌の細胞壁のアセチル化は壁タイコ酸を減少させる. 第97回日本感染症学会総会学術講演会・第71回日本化学療法学会学術集会 合同学会. 2023年4月, 横浜.
2. 林崎浩史, 上井康寛, 菅野俊生, 樗木俊聡, 遠藤裕介, 金城雄樹. （口頭発表）IL-27はミトコンドリア代謝促進を介して濾胞性ヘルパーNKT細胞分化を制御する. 第32回 Kyoto T Cell Conference. 2023年6月, 京都.
3. 杉本真也, 山中邦俊, 金城雄樹. （口頭発表）ペリプラズムにおけるアミロイド線維形成タンパク質CsgAの分解機構. 第19回21世紀大腸菌研究会. 2023年6月, 鶴岡.

4. 山田ほのり, 千葉明生, 佐々木優子, 猿田健, 馬場有夢, 小貫友暉, 金城雄樹. (口頭発表) 黄色ブドウ球菌の色素staphyloxanthinの蓄積による影響. 第37回バイオフィルム学会学術集会 2023年8月, 松戸.
5. 林崎浩史, 上井康寛, 菅野俊生, 遠藤裕介, 川上和義, 金城雄樹. (口頭発表) 濾胞性ヘルパーNKT細胞の分化誘導機構の解明. 第34回日本生体防御学会学術総会. 2023年9月, 京都.
6. 杉本真也. (宿題報告) バイオフィルム透明化法iCBiofilmの開発と透明化ライブセルイメージングへの応用. 第140回成医会総会. 2023年10月, 東京.
7. 高泉優, 杉本真也, 古橋広人, 二口俊樹, 一志公夫, 炭山和毅, 金城雄樹. (ポスター発表) 二次胆汁酸による閉塞胆管ステント由来腸球菌のバイオフィルム形成と凝集の促進. 第140回成医会総会. 10月, 東京.
8. 金城雄樹. (教育講演) バイオフィルム感染症研究の現状と今後の展開. 第72回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第70回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会 2023年10月, 東京.
9. 奈良萌子, 大瀧琴音, 藤田かのん, 重盛林太郎, 杉本真也, 金城雄樹. (口頭発表) 細胞外アミロイド線維Curliの産生におけるDnaK/Hsp70シャペロンのヌクレオチド交換因子GrpEの必須性の解析. 第106回日本細菌学会関東支部総会. 2023年10月, 松戸.
10. Koji Hayashizaki, Yasuhiro Kamii, Toshio Kanno, Masato Kubo, Toshiaki Ohteki, Kazuyoshi Kawakami, Yusuke Endo, Yuki Kinjo. (口頭発表) The metabolic adaptation is necessary for iNKT cells to differentiate into the follicular subset, which is regulated by Gr-1⁺ cells. 第52回日本免疫学会学術集会. 2024年1月, 千葉.

遺伝子治療研究部

小 林 博 司

研 究 概 要

当研究部では主にライソゾーム病と悪性腫瘍に対する遺伝子治療法の開発を行っている。ライソゾーム病とは、細胞内小器官であるライソゾームに存在する酵素の機能不全を原因とする遺伝性の疾患群であり、50種類以上の疾患から構成される。酵素欠損のため分解されなかった各種基質がライソゾーム内に蓄積することにより様々な臓器障害を来し、中枢神経症状を含む多彩な症状を全身性に呈する疾患が多い。現在、一部のライソゾーム病に対しては組換え酵素製剤を用いた酵素補充療法が確立されており、内臓への有効性が示されている一方で中枢神経系などへの効果は乏しく、より効果的な治療法の開発が望まれている。また、酵素補充療法は頻回な点滴投与が必要となる点や薬価が極めて高額である点なども課題であり、1度の治療介入で長期間有効性をもたらす遺伝子治療はこれらを解決し得る治療法と考えられる。当研究部では、レンチウイルスベクター及びアデノ随伴ウイルスベクター（AAV）を用いる治療法を中心に研究および開発を進めている。

ライソゾーム病に対する遺伝子治療

MPS IIに対する*ex vivo*遺伝子治療法の実用化研究

MPS IIはイズロン酸-2-スルファターゼ（IDS）の遺伝的欠損により生じるX連鎖性のライソゾーム病である。これまで当研究部では、レンチウイルスベクターを用いて正常な遺伝子を造血幹細胞に導入し移植する造血幹細胞遺伝子治療の研究を進めており、MPS IIモデルマウスを用いてその有効性を確認してきた。現在、本治療法の実用化を目指し、完全閉鎖式自動細胞調製装置CliniMACS Prodigyを用いた遺伝子導入ヒト造血幹細胞の製造方法の検討を進めており、今年度は遺伝子導入効率の検討を行った。自動細胞数計測装置Countess3などを用いて計測したヒトCD34陽性細胞の細胞数に基づきレンチウイルスを感染するにあたり、ウイルス感染効率を高める試薬として知られているシクロスポリンH、レンチブーストおよびプロスタグランジンE2を比較した。その結果、

従来のレトロネクチンコート法に比べ、全ての試薬で有意に感染効率の上昇を認めた。その中でも最もレンチウイルスベクターの感染に寄与した試薬はシクロスポリンHであった。本試薬を新たに用いることでCliniMACS prodigyでの遺伝子導入効率が高まることが期待されることから、今後検討を行っていく。

GM1-gangliosidosisに対するAAV遺伝子治療法の開発

通常、ライソゾーム酵素は血液脳関門（BBB）を通過できないため中枢神経系には到達しない。近年、トランスフェリン受容体に対する抗体（TfR）とライソゾーム酵素を融合することでBBB通過能が付与されることが明らかとなったことから、我々はTfR融合ライソゾーム酵素遺伝子を作成し、遺伝子治療への応用性を検討した。GM1-gangliosidosisは β galactosidase (β gal) 酵素の欠損により主に脳へ基質が蓄積する疾患であり、現在までに有効な治療法は存在しない。我々はTfR融合 β gal発現AAVを用いたGM1-gangliosidosisモデルマウスの遺伝子治療を試みた。正常 β gal遺伝子搭載AAVを投与した群では末梢組織でのベクター依存的酵素活性の上昇を認めたが、脳では酵素活性の上昇が殆どなかった。一方、TfR融合 β gal発現AAVを投与した群は末梢組織での酵素活性上昇に加え、脳での有意な活性上昇が認められた。さらに脳組織および実体顕微鏡システム(Leica社S9D、J-scope社CCDカメラシステム、HOZAN社L-703など)条件下においてマイクロサージャリーでマウス脳脊髄液を微量採取し、脳脊髄液中の酵素活性解析や蓄積基質解析を行った。その結果、脳組織における蓄積物質の完全な正常化を確認した。現在はヒトへ応用可能なベクター作成に向け、LEDトランスイルミネーター(BioTools社Lti-ExMB)を用いて新たなAAV作製用プラスミドを構築している。

Pompe病に対する*ex vivo* LV遺伝子治療法の開発

Pompe病は酸性 α -グルコシダーゼの遺伝的欠損により生じる常染色体潜性遺伝形式のライソゾーム病で、主に筋組織のライソゾーム内にグリコーゲンが蓄積することで起こる進行性の筋疾患である。酵素補充療法により生命予後は改善するものの、筋組織への酵素の取り込み効率が悪いことが問題となっている。上記TfR融合技術はBBB通過能が向上するだけでなく、筋組織を含めたトランスフェリン受容体を発現する組織への取り込み能も上昇する。そこでTfR融合GAAを発現するレンチウイルスベクターを用

いてPompe病マウスの*ex vivo*遺伝子治療法の開発を行っている。本年はレンチウイルスベクターに搭載するプロモーターの選定を行っており、LEDトランスイルミネーター(BioTools社Lti-ExMB)を用いてレンチウイルスベクター作製用プラスミドを構築し、*in vitro*での比較検討を行っている。

研 究 業 績

原著論文

- 1) Shimada Y, Ishii N, Higuchi T, Goto M, Ohashi T, Kobayashi H. A novel preclinical model of mucopolysaccharidosis type II for developing human hematopoietic stem cell gene therapy. Gene Ther. 2023; 30(3-4): 288-96.

著書

- 1) 小林博司. 第一章総論 遺伝子治療① 概論 衛藤義勝, 奥山虎之責任編集. ライソゾーム病-最新の病態、診断、治療の進歩- 改訂第2版. 東京: 診断と治療社, 2023. 10.20 発行 診断と治療社 p.133-6
- 2) 小林博司. IV遺伝子治療 5. 造血幹細胞遺伝子治療—ライソゾーム病 日本医師会雑誌 第152巻特別号(1) 遺伝を考える 2023年6月15日発行 p253-8
- 3) 小林博司. ポンペ病の病態、診断、治療法の開発 別冊医学のあゆみ 遺伝性神経・筋疾患-診療と研究の最前線 2023年10月20日発行 P89-97
- 4) 嶋田洋太. 第1章 総論:Aライソゾーム病の基礎 7 ライソゾーム膜蛋白と機能異常. 衛藤義勝, 奥山虎之責任編集. ライソゾーム病—最新の病態, 診断, 治療の進歩— 改訂第2版. 東京: 診断と治療社, 2023. p.34-7
- 5) 嶋田洋太. 第1章 総論:Dライソゾーム病の治療 12 遺伝子治療③—レンチウイルス遺伝子治療. 衛藤義勝, 奥山虎之責任編集. ライソゾーム病—最新の病態, 診断, 治療の進歩— 改訂第2版. 東京: 診断と治療社, 2023. p.140-3

講演

- 1) 小林博司. ライソゾーム病に対する治療開発. 第7回神経代謝病研究会. 東京. 6月.
- 2) 小林博司. 遺伝子治療の現状と未来. 第45回日本小児遺伝学会. 教育講演2 (EL-2) 東京, 1月.

- 3) 小林博司. IEMの過去・現在・未来 第45回日本小児遺伝学会. ランチョンセミナー3 東京, 1月.
- 4) Hirohi Kobayashi Research and Development of Gene Therapy for Mucopolysaccharidosis type II. (C5-3) Work shop 6: Gene Therapy for LSD. The 6th International Forum of Lysosomal Disorders. Tokyo, 2023. April .t
- 5) 小林博司. レンチウイルスベクターを用いた造血幹細胞遺伝子治療の現状と課題 第65回日本小児神経学会. シンポジウム120-1 岡山, 5月.
- 6) 小林博司. ライソゾーム病に対する治療開発. シンポジウム：トランスレーショナルリサーチのすすめ 第7回神経代謝研究会 宇都宮, 6月.
- 7) 小林博司. ムコ多糖症II型に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療の実用化に向けた研究開発. 第26回日本ムコ多糖症研究会. 東京, 8月.
- 8) 小林博司. Pompe病の診断と治療法の開発. 第39回小児神経懇話会. On Line, 8月.
- 9) 嶋田洋太. Gene therapy targeting hematopoietic stem cells for LSD. 国際ライソゾーム病フォーラム・日本遺伝子細胞治療学会～サテライトシンポジウム～遺伝病遺伝子治療シンポジウム 2023～. 東京, 9月.
- 10) Hiroshi Kobayashi, Symposium22 Inherited Metabolic Diseases, Research and Development of Gene Therapy for Lysosomal Storage Diseases. Human Genetics Asia (日本人類遺伝学会 第68回大会), Tokyo, 2023.10.

学会発表

- 1) Saki Matsushima, Sayoko Iizuka, Masafumi Kinoshita, Haruna Takagi, Shunsuke Iizuka, Kota Ohtsuki, Atsushi Imakiire, Shinichiro Okamoto, Takashi Nagashima, Takashi Higuchi, Yohta Shimada, Hiroyuki Hioke, Hiroyuki Sonoda, Ayako M. Watabe, Toya Ohashi, Hiroshi Kobayashi. (Poster) Gene therapy for GM1 gangliosidosis mediated by AAV vector carrying BBB-penetrable enzyme. American Society of Gene and Cell Therapy 26th Annual meeting. Los Angeles, May.
- 2) 赤岡宗紀, 柳垣充, 春木孝一郎, 古川賢英, 石崎俊太, 恒松雅, 奥井紀光, 松本倫典, 坂本太郎, 後町武志, 池上徹. レンバチニブ耐性肝細胞癌におけるマイトファジーの亢進. 第82回日本癌学会学術総会. 横浜, 9月.

- 3) 樋口孝, 嶋田洋太, 松島小貴, 小林博司, (シンポジウム) ムコ多糖症遺伝子治療: EX VIVO GENE THERAPY FOR MPSII, 国際ライソゾーム病フォーラム〜日本遺伝子細胞治療学会サテライトシンポジウム〜遺伝病遺伝子治療シンポジウム 2023〜, 東京, 9月.
- 4) 嶋田洋太, 樋口孝, 松島小貴, 小林博司. レンチウイルスベクターによる遺伝子治療. GENE THERAPY TARGETING HEMATOPOIETIC STEM CELLS FOR LSD サテライトシンポジウム〜遺伝病遺伝子治療シンポジウム 2023. 東京, 9月.
- 5) 嶋田洋太, 樋口孝, 松島小貴, 大橋十也, 小林博司. レンチウイルスベクターによるライソゾーム病の遺伝子治療. シンポジウム5 Genetic disease 第29回日本遺伝子細胞治療学会. 大阪, 9月.
- 6) 松島小貴, 飯塚佐代子, 木下正文, 高木春奈, 飯塚俊輔, 大月孝太, 今給黎厚志, 樋口孝, 嶋田洋太, 藺田啓之, 大橋十也, 小林博司. (口頭) 血液脳関門通過型酵素発現AAVによるライソゾーム病中枢神経症状に対する遺伝子治療. 第29回日本遺伝子細胞治療学会学術集会. 大阪, 9月.
- 7) 松島小貴, 飯塚佐代子, 藤崎亜耶子, 小長野貴子, 樋口孝, 嶋田洋太, 小林博司. 血液脳関門通過型酵素発現レンチウイルスベクターによるライソゾーム病に対する遺伝子治療. 第140回成医会総会. 東京, 10月.
- 8) 石井瑛啓, 嶋田洋太, 小長野貴子, 小林博司. 遺伝子治療への応用を目指した高活性型ライソゾーム酵素の開発. 第140回成医会総会. 東京, 10月.
- 9) 嶋田洋太, 藤崎亜耶子, 松島小貴, 小長野貴子, 飯塚俊輔, 木下正文, 樋口孝, 藺田啓之, 大橋十也, 小林博司. 組織移行能向上型酵素を用いたポンペ病に対する造血幹細胞遺伝子治療の有効性解析. 第64回日本先天代謝異常学会. 大阪, 10月.

成人病研究部

安保雅博

研 究 概 要

経頭蓋磁気刺激治療の作用解明と治療効果に関する研究

1. 研究背景

脳卒中による片麻痺は、6か月以降は回復が見込めないことから、診療報酬に治療期限が設定されており、医療保険での診療は制限されている。これは、「6か月の壁」といわれ、多くの障害者が医療保険を終了した後、社会福祉サービスを使って生活自立を図る流れをたどることは知られている。しかし、さらなる機能回復や能力向上を希望する6か月を経過し診療報酬算定期限を超えた患者から問い合わせは後を絶たない。当講座は、世界に先駆けて反復性経頭蓋磁気刺激法による運動麻痺の治療改善効果を示し、臨床導入を果たした。そして、これまでに多くの片麻痺患者の上肢機能、言語機能の改善を果たしている。

現在行っている研究は、低頻度rTMS治療による脳の構造の変化に関する研究、上肢麻痺に対する作業療法の上肢麻痺の改善に伴う体幹・下肢機能の変化とそれを高め、定着化させる運動療法の開発に関する研究、物理療法併用による効果の研究、失語症患者に対する治療効果の検証である。

2. rTMS治療と上肢麻痺回復過程における構造的神経ネットワークの変化に関する研究

脳卒中後の運動麻痺に対する治療として、脳神経科学の知見を応用したニューロリハビリテーションが盛んに行われるようになったが、個々の治療が運動麻痺を改善に導くメカニズムに関しては未だ解明されていない。低頻度rTMS治療と集中的作業療法（OT）の併用療法を受けた患者における構造的神経ネットワーク（structural neural network）の変化を調べるべく、治療の前後でDiffusion Tensor Imaging (DTI)とThree-Dimensional T1-Weighted Imaging (3D T1WI)を行い、DTIで得られたデータに対して、数学理論に基づいたグラフ理論解析（graph theoretical analysis）を適用させ、脳の構造的

神経ネットワークの接続性に関連する尺度を計算した。結果、左片麻痺の患者において治療実施に伴い、障害側の帯状回峡における構造的神経ネットワークの接続性の有意な上昇と、障害側の中心後回における接続性の有意な低下が示され、運動機能の回復過程において低頻度rTMS治療とOTの併用療法が障害側大脳半球の運動に関わる領域の機能的な役割を高めるように作用することが示唆される結果を得ている¹⁾。

3. 異常歩行改善につなげる併用する運動療法の開発

当講座では、明確となった上肢麻痺の改善は、体幹や下肢機能へ影響する可能性が高いという見解を持っており、これまでに上肢麻痺に対するrTMS治療と明確なエビデンスに基づく運動療法を組み合わせることにより異常歩行の改善作用があることを報告している。当講座の持つ運動療法の治療概念は、位置エネルギーの操作により効率的な運動エネルギーを生み出すものであり、従来行われてき患者が意識して大脳による随意的コントロールをすることを繰り返すことで定着を図る運動学習理論ではない。物理的操作により異常歩行を改善させ、反復学習させるという手法を開発している。1つ目は斜面の板の上で足関節背屈位の肢位で立位を保持させる斜面板上立位保持トレーニング（Standing on Slant-board Training：SST）である²⁾。片麻痺は半身機能の低下、特に感覚障害により麻痺側下肢への荷重を困難にし、患者が体重心を前方へ運ぶことを難しくさせる。SSTは対重心を前方へ変位させる作用があり、患者が随意的に体重心を前方へ移動することをサポートすることが可能である。

2つ目は上肢帯背面固定歩行トレーニングである。麻痺側上肢を背面に固定することにより、歩行に必要な上肢の振りを出現させることが可能である。rTMS治療との併用により、rTMS治療により得られる上肢帯の緊張軽減が体幹回旋を容易にすることで上肢の懸垂が出現、改善する可能性が期待される。この運動療法も患者の随意的なコントロールを必要とせず、上肢帯の背面での固定を行った歩行練習を繰り返すことで、普段麻痺側上肢を背面まで振り上げることができない患者が体幹回旋の向上により体験することになり、結果的に上肢帯の固定を解除しても体幹の回旋が高まったまま歩行できるようになる。

4. 本年の研究成果

2021年より研究計画を立案し、今年度より現在取り組んでいる運動療法の、「ハムストリングスの強化によりぶん回し歩行を改善させるトレーニング」である。片麻痺患者は、麻痺脚のつま先が床面に引っかかるのを防ぐために下肢を外に大きく振り回す、いわゆるぶん回しをもって歩行する。これは片麻痺患者の異常歩行の一つとして知られる。足を振り出すのに必要な機能は、股関節屈曲と足関節の背屈に加え、膝関節屈曲の3つが必要である。股関節屈曲や足関節背屈に対する治療は広く行われてきたが、膝関節屈曲運動を高める運動療法は検証されていない。これは、膝関節屈曲運動が極めて難しい難易度の高い運動であることがあげられ、いたずらに強化することは共同運動パターンを増強する可能性があると考えられてきた。しかし、共同運動が出現しており、rTMS治療により過度な上肢の緊張が緩和した患者にとっては、むしろ体幹の回旋や下肢の機能を分離させて動かす絶好の機会となりえる。ハムストリングスの収縮が可能な患者であれば、ハムストリングスを最大限強化することで、ぶん回し現象を消失させることができると考え、研究を進めてきた。患者はハムストリングスの強化を随意的に行うことで、その後の歩行では無意識的にぶん回しが減少すると考えている。治療効果

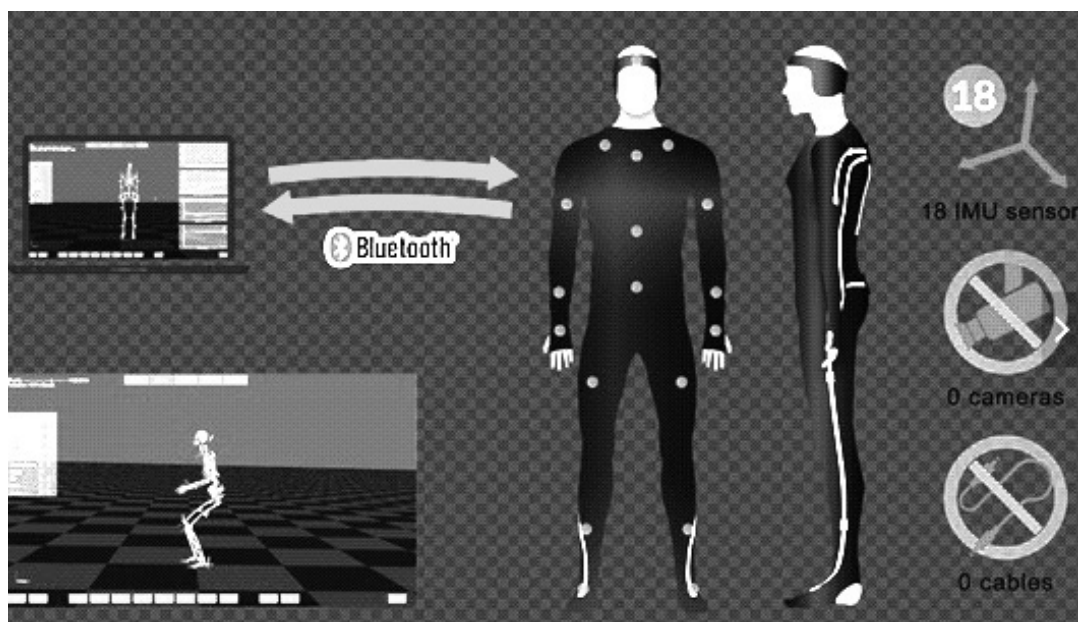


図1 加速度感知型マーカーレス三次元動作解析装置E-skin meva（Xenoma社製）

の判定には加速度感知型マーカーレス三次元動作解析装置E-skin meva（Xenoma社製）を利用している。「ハムストリングスの強化によりぶん回し歩行を改善させるトレーニング」については、2023年10月に京都で開催された日本スティミュレーションセラピー学会において発表³⁾しており、2024年3月発刊予定の機関誌、「Japanese Journal of Stimulation Therapy」に原著論文として採択されている（2024年3月発刊予定）⁴⁾。

5. 2024年度の活動方針

2023年8月に、rTMS治療に併用する運動療法についてまとめた総説論文⁵⁾を報告しており、これを受けて2024年度からは、当院に入院するrTMS治療患者に対して、これまで検証してきた3つの運動療法を処方として取り入れ実践する。なかでも、「上肢帯背面固定歩行トレーニング」と「ハムストリングスの強化によりぶん回し歩行を改善させるトレーニング」の2つの運動療法について、科学的検証を中心に研究を進める。症例の蓄積により治療対象の明確化と、効果の持続期間を示すことを主眼に置く。上肢帯背面固定歩行トレーニングは、現在のところ学会発表にとどまっているため、上肢の懸垂並びに体幹の回旋を高めることを治療目的とする患者に対して症状や上肢帯固定時間の関係による治療効果の違いをリサーチし、症例数の蓄積をもって治療効果を明確にする計画を立て、2025年度以降の科研費申請を視野に入れて準備を進める。また、「ハムストリングスの強化によりぶん回し歩行を改善させるトレーニング」は、即時効果に関する研究報告を済ませたため、rTMS治療との併用療法として論文発表につなげる予定である。

rTMS治療と動作解析の研究以外にも、ボツリヌス治療による槌指の治療効果に関する症例研究報告⁶⁾を行った。2024年度はさらに難治症例や特異的症状を示す患者に対するrTMS治療の作用についても、三次元動作解析装置を用いたシングルケースデザインによる報告を行うことを計画する。現在、一般的には示されていない肩関節伸展位での痙縮を認める症例に対するrTMS治療と作業療法を併用した痙縮軽減を歩行における上肢懸垂の変化にて確認しており、現在投稿中である。今後は症例ベースの研究報告にも力を注ぎ、広くrTMS治療の効果を示したいと考えている。

6. 文献

- 1) Kimura I, Senoo A, Abo M: Changes in Structural Neural Networks in the Recovery Process of Motor Paralysis after Stroke. Brain Sci 14, 197: 2024.
- 2) 中山恭秀, 坂本大悟, 安保雅博: 斜面板上立位保持トレーニングが歩行に及ぼす作用に関する基礎研究: 健常者歩行における後効果. Japanese journal of stimulation therapy 3(1), 49-53 : 2023.
- 3) 中山恭秀, 坂本大悟: ハムストリングス筋力強化が歩行時ぶん回しに及ぼす影響. 第5回日本スティミュレーションセラピー学会, 京都, 2023年, 10月.
- 4) 中山恭秀, 坂本大悟, 安保雅博: ハムストリングスの筋力強化が歩行時ぶん回しに及ぼす影響～即時効果の検証～. Japanese journal of stimulation therapy, (印刷中) .
- 5) Nakayama Y, Abo M : Physical Therapy Combined with Transcranial Magnetic Stimulation Therapy: Treatment Practice Considering the Effect of Reducing Upper Limb Spasticity on Gait. Physical Therapy Research 26(2), 44-49: 2023.
- 6) M.Takekawa T, Chino T, Yamada N, Watanabe S, Abo M, Sengoku R. Multimodal treatment, including extracorporeal shock wave therapy, for refractory chronic tension-type headache: a case report. J Med Case Rep 31,17(1),478: 2023.

成人病研究部

荒屋潤

研 究 概 要

慢性閉塞性肺疾患（COPD）および特発性肺線維症（IPF）は、根本的な治療がなく終末期呼吸不全に至る予後不良な難治性呼吸器疾患である。いずれも加齢と細胞老化の亢進が病態進展に寄与する老化関連呼吸器疾患であり、我々はこれまで不適切なオートファジー活性やミトコンドリア異常の関与を報告してきた。オートファジーはリソソーム依存性の細胞内蛋白・小器官分解系であり、代謝や恒常性維持に作用する。不適切なオートファジーは、様々な機序により、COPD病態及びIPF病態を悪化させる可能性がある。我々は、ミトコンドリア恒常性維持機構を中心とした病態解明から、オートファジー・リソソーム系制御の中心的な転写因子であるTranscription factor EB(TFEB)に注目したアプローチによる新規治療法の開発までを検討課題としている。

Micapによるミトコンドリア恒常性維持機構に関する検討

Mitochondria-eating protein (Micap)はストレス下でp53により発現誘導されるミトコンドリアタンパク質である。p53は最も重要ながん抑制遺伝子であり、ストレスに応答する転写因子として、細胞周期停止、DNA修復、細胞死、細胞老化誘導などの機能を制御している。つまりp53誘導性タンパク質Micapも細胞機能維持で重要な役割を果たす可能性がある。実際、Micapは傷害ミトコンドリアで誘導され、傷害ミトコンドリアからのmROS産生を抑制してミトコンドリアの恒常性維持や品質管理に作用すると考えられているが、その機序は十分には解明されていない。そこで我々はCOPD病態での、喫煙刺激によるミトコンドリア障害や細胞老化の亢進に、Micapによるミトコンドリア恒常性維持機構が関与する可能性を考え検討を進めた。まずは分離培養した気道上皮細胞（HBEC）と、COPDおよび正常肺組織の肺ホモジネートを用いてMicapの発現量を検討し、結果COPD由来HBECおよびCOPD肺における発現低下を観察した。次にHBECを用いてたばこ抽出物（CSE）刺激を行ったところ、Micap発現上昇を認めた。Micapはp53の下流遺伝子であり、CSE刺激はp53活性化を誘導する可能性がある。CSEによる

Micap発現誘導へのp53の関与はp53ノックダウンの検討により証明された。COPD肺におけるMicap発現低下の病態への関与を明らかにするため、Micapノックダウンによる検討を行った。CSE刺激によるROS産生と細胞老化誘導は、Micapノックダウンにより有意な増加を認めた。さらにミトコンドリア機能への影響をFlux analyzerにより検討した。CSE刺激とMicapノックダウンは、それぞれOCR及びATP合成を抑制したが、その抑制はMicapノックダウンで顕著に認められた。次にマウスCOPDモデルを作成し検討した。半年間の喫煙暴露は肺気腫様変化を誘導し、野生型と比べてMicapノックアウトマウスでの有意な増悪を認め、細胞老化の亢進も確認された。以上検討から、COPD肺におけるMicap発現低下が、ミトコンドリア障害、ミトコンドリアROS産生、細胞老化亢進により病態進展に寄与している可能性が示唆され、COPD病態の一端が解明されたと考えられる。しかしながら、Micapのミトコンドリア恒常性維持における実際の役割や、COPDでの発現低下の機序は明らかでなく、今後の検討課題と考えている。

PemafibrateによるTFEB発現誘導による新規治療法の開発

オートファジーはオートファゴソーム形成による分解対象の隔離と、その後のリソソームとの融合によるオートライソソーム形成を一連の流れとして機能する。このオートファジー・リソソーム系制御の中心的な調節転写因子がTranscription factor EB(TFEB)である。TFEBはリソソームの生合成、リソソーム内の酵素産生や、酸性化、オートファジータンパク発現、オートファジー・リソソーム融合をも制御する重要な転写因子であると考えられている。これまでの検討からTFEB発現誘導・活性化が、オートファジー・リソソーム系の亢進により、老化関連呼吸器病態を改善する可能性が報告されている。肺線維症モデルである変異型 $\alpha 1$ アンチトリプシンを発現するトランスジェニックマウスにおいて、異常タンパク蓄積による肺線維化進行が、TFEB過剰発現により改善することが示されている。またCOPDモデルでも、Peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) 活性化薬であるGemfibrozilにTFEB発現誘導作用があり、gemfibrozil投与によりオートファジー活性は亢進し、喫煙暴露による細胞老化やCOPDモデルの改善が認められることが報告されている。このようにTFEB発現誘導・活性化は、COPD・IPFの治療法開発で有望な標的となる可能性はある。PPAR α はTFEB発現誘導の中心的な転写因子であり、TFEB発現誘導による治療法を確立する上で重要な分子と言える。

我々は本邦で開発された選択的PPAR α modulatorであるPemafibrateに着目し、TFEB発現誘導・活性化により、オートファジー活性を亢進させ、細胞老化を抑制することで、IPF・COPD病態を抑制する有効な治療となりうるかどうかを明らかにすることを目的に検討を行った。我々の構築したシングルセルRNAseqデータを用いて検討した結果、IPF・COPDの肺上皮細胞、特に肺胞II型上皮細胞（ATII細胞）における著明なTFEB発現低下を認めた。次に培養細胞HBECを用いて検討し、CSE刺激がTFEB発現及び核内への移行を誘導し、TFEBをノックダウンすることでCSEによるオートファジー活性化が抑制され、細胞老化誘導が亢進することが明らかになった。つまり喫煙刺激によるTFEB活性化がオートファジー誘導により細胞老化に対して抑制的に作用していることが示唆された。次にPemafibrateの作用機序の検討を行った。Pemafibrateは濃度依存性にTFEB発現を誘導し、オートファジーを活性化した。CSE刺激により誘導されるオートファジー、特にミトコンドリア選択的なマイトファジー活性化をPemafibrateは増強させ、同時に細胞老化を抑制した。TFEBノックダウンにより、Pemafibrateのマイトファジー誘導および細胞老化抑制は認められなくなり、つまりPemafibrateのこれらの作用の一部は、TFEB発現誘導を介することが明らかになった。次に喫煙暴露COPDモデル及びマウスブレオマイシン肺線維症モデルに対するPemafibrateの有効性を検討した。COPDモデルとして、6か月間の喫煙暴露により、有意な肺胞径の拡大と、閉塞性呼吸機能障害を認め、肺気腫様病変の進展を確認した。Pemafibrateの混餌投与により、いずれの指標も明らかな改善を認めた。また喫煙暴露により誘導された細胞老化の亢進も、Pemafibrate投与により抑制された。免疫組織学的な検討では、特に肺上皮細胞においてTFEB発現の増加が観察された。PemafibrateによるTFEB発現誘導が、抗細胞老化作用により、肺気腫様病態進展を抑制している可能性が示唆された。IPFモデルで、ブレオマイシン投与により、形態学的及びヒドロキシプロリン測定により肺線維化が誘導され、Pemafibrateの混餌投与により有意な抑制が認められた。本研究結果からはPPAR α modulatorが高脂血症治療薬としてだけではなく、TFEB発現誘導によりCOPDやIPFに対する新規治療薬となりうる可能性が示されたと考えている。今後は呼吸器疾患治療薬として、吸入療法など、肺局所療法の開発が重要な課題と考えている。

研 究 業 績

原著論文

1. Exploratory analysis to predict pneumonitis during durvalumab consolidation therapy for patients with locally advanced non-small cell lung cancer from proteomic profiling of circulating extracellular vesicles. Torasawa M, Horinouchi H, Yagishita S, Utsumi H, Okuda K, Takekoshi D, Ito S, Wakui H, Murata S, Kaku S, Okuma K, Matsumoto Y, Shinno Y, Okuma Y, Yoshida T, Goto Y, Yamamoto N, Araya J, Ohe Y, Fujita Y. *Thorac Cancer*. 2023 Oct;14(29):2909-2923.
2. Clinical significance of para-carinal air cysts in patients with pleuroparenchymal fibroelastosis: The relationship with pneumomediastinum and pneumothorax. Yamakawa H, Sato S, Ohta H, Takatsuka M, Kusano K, Kawabe R, Oba T, Akasaka K, Amano M, Araya J, Sasaki H, Matsushima H. *Clin Respir J*. 2023 Aug;17(8):805-810.
3. Fibroblast-derived Extracellular Vesicles Induce Lung Cancer Progression in the Idiopathic Pulmonary Fibrosis Microenvironment. Fujita Y, Fujimoto S, Miyamoto A, Kaneko R, Kadota T, Watanabe N, Kizawa R, Kawamoto H, Watanabe J, Utsumi H, Wakui H, Minagawa S, Araya J, Ohtsuka T, Ochiya T, Kuwano K. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2023 Jul;69(1):34-44.
4. The usefulness of change in CT score for evaluating the activity of Mycobacterium abscessus (Mab) pulmonary disease (Mab-PD). Shinfuku K, Hara H, Takasaka N, Ishikawa T, Araya J, Kuwano K. *PLoS One*. 2023 Feb 8;18(2):e0281103.

5. Frailty and muscle weakness in elderly patients with asthma and their association with cumulative lifetime oral corticosteroid exposure. Ryu K, Fukutomi Y, Nakatani E, Iwata M, Nagayama K, Yano K, Nakamura Y, Hamada Y, Watai K, Kamide Y, Sekiya K, Araya J, Kuwano K, Taniguchi M. *Allergol Int.* 2023 Apr;72(2):252-261.

総説

1. Divergent roles of the Hippo pathway in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis: tissue homeostasis and fibrosis. Kizawa R, Araya J, Fujita Y. *Inflamm Regen.* 2023 Sep 21;43(1):45.
2. Drugs against metabolic diseases as potential senotherapeutics for aging-related respiratory diseases. Matsubayashi S, Ito S, Araya J, Kuwano K. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023 Apr 3;14:1079626.

慈恵看護専門学校

東 條 克 能

研 究 概 要

教育課題

看護実践力につなげるための看護学生の看護技術力の向上

看護学生の情報通信技術（ICT）を活用するための基礎的能力の育成

1. はじめに

看護師は、対象の健康の維持、あるいは健康の回復を目指し、対象が望む生活を営めるよう支援する専門職である。専門職としての看護実践力を身につけるためには、臨地実習での体験が重要となる。このため臨地では、臨地実習指導者の協力を得ながら受持ち患者を通して可能な限り技術体験の機会が持てるよう調整を行っている。しかし、実際には体験の機会そのものが少なく、中でも身体侵襲を伴う技術の習得には工夫を要する技術も多いため、学内でのシミュレーターやトレーニング機材等を用いて学生が自ら学習できるよう学習環境を整えることがより重要となっている。

本校は、（一社）昭和会館より毎年多くの機器の寄贈を受け、看護基礎教育における学習に欠かせない物品として講義、演習で幅広く活用させていただいている。

2023年度は、血糖測定器25台、タブレット端末10台を寄贈いただいた。

看護学生がこれらの器材を使って学び、技術を繰返し体験し学習することによって、看護に必要な知識の理解と看護技術習得が期待できると考え、ここに報告する。

2. 活用状況

- 1) 血糖測定器（テルモメディセーフフィットMS-FR201B 25台、テルモメディセーフファインタッチⅡ MS-FT2R 16本）

糖尿病に罹患する患者は、年々増加傾向にある。糖尿病患者は、血糖の変動を自己測定することにより血糖のコントロールに図っている。そのため看護師は、患者の血糖測定の実施と患者の技術修得時の実践に対するサポートを行う必要がある。

本校では、2年次の学科目「看護における臨床判断2」で血糖測定の技術を習得している。また、受け持ち患者を通して臨地実習指導者の指導のもと血糖測定を実施している。受け持ち患者に対し血糖測定を実施する前には、看護教員の指導によるトレーニングを行っている。身体侵襲を伴う技術であり、学生は緊張しながらも繰り返し実施することで技術を身につけている。2023年度3年生に対し行った調査では、卒業時における看護技術到達度の調査項目「簡易血糖測定ができる」に対し、86.4%ができると回答し一定の成果を得た。

2) Surface Go 4 (SSD 128GB,メモリ8GBモデル) 9台 付属品(ソフトウェア等) 充電保管庫(タブレットPC保管庫ES—M2 2 C/TN) 1台

学科目「日常生活の援助技術演習(1年生)」では、学生が教員の技術のデモンstrーション見ることに加え、本校がオリジナルで作成した技術動画をタブレット端末から視聴し、技術の習得に臨んでいる。また、演習の時間中、学生同士で技術を撮影し、改善点を確認しながら実施していた。

学科目「精神看護技術演習(2年生)」で、協働学習時に使用した。電子黒板とタブレット端末を連動させ、グループ内での討議内容や課題の報告を行う。学生は、タブレット端末使用の手技をすぐに修得し、自身の学びをプレゼンテーションした。他の学生は、その学習内容に関心を寄せ、学びを深めていた。

2科目の授業アンケートの自由記載には、「自分の身体の動きを客観的に捉えることができ改善すべき点の把握もわかりやすい」「何度も繰り返し、出来ることが良い」「授業内で集中して臨めた」「自分たちでまとめた学習内容の整理がスムーズに出来た」と述べていた。

学科目「医療安全と臨床看護技術(3年生)」では、患者の安全を考えた看護の実践を検討する際、グループワークで使用した。グループ毎に実践の振り返りを行い、患者の安全を意識した看護実践力について討議し、結果を共有した。演習後の授業アンケートの自由記載には「自分の技術の改善点がより明確になる」「演習後の統合実習に役立てる内容でよかった」「実習に臨む前の学習として良い」と述べていた。

タブレット端末を使用した学習方法の効果は、得られたと考えられる。

今後も技術修得に向け学内でのシミュレーターやトレーニング機材の使用と協働学習

を行う際、情報端末を用いた授業、演習を展開し、学生の技術力の向上、ICTを活用するための基礎的能力を養っていきたいと考えている。

〔非売品〕

2023 年度
東京慈恵会 総合医学研究センター
研 究 年 報

発 行 日 2024 年 6 月 1 日
発 行 者 高 木 公 寛
編集責任者 羽 野 寛
発 行 所 公益社団法人 東京慈恵会
〒105-8461 東京都港区西新橋3-25-8
電話 03 (3431) 0427

印刷・製本 株式会社 アイワエンタープライズ

