

第69回北関東医学会総会

特 別 講 演

父性ミトコンドリア選択的オートファジーとミトコンドリア DNA の母性遺伝

群馬大学生体調節研究所生体膜機能 佐藤 美由紀

ミトコンドリアはエネルギー生産を担う細胞内小器官であり、内部に独自の DNA (mtDNA) を持つ。mtDNA には電子伝達系の構成因子などミトコンドリア機能に必要な因子がコードされており、その変異はミトコンドリア病や遺伝性糖尿病の発症、ガンの悪性化、老化などに関連することが報告されている。mtDNA の興味深い特徴として、ヒトを含む多くの生物で母方のみから子孫に受け継がれる現象が知られている。この遺伝様式は母性遺伝と呼ばれ広く認知されていたが、その分子機構はよくわかっていなかった。われわれはモデル生物である線虫 *C. elegans* を用いた解析から、受精卵において精子由来の父性ミトコンドリアがオートファジー(自食作用)と呼ばれる分解機構によって

選択的に分解されること、またこの分解が mtDNA の母性遺伝を成立させるために必要であることを見出した (Sato & Sato, Science, 2011)。また、類似の仕組みがマウスやショウジョウバエでも報告され、保存された仕組みであることが示唆されている (Politi, et al., Dev. Cell, 2014; Rojansky, et al., Elife, 2016)。さらにわれわれは、オートファジーアダプター・ALLO-1 と TBK1 ファミリーキナーゼ・IKKE-1 が父性ミトコンドリアの認識と特異的分解を制御することを見出している (Sato, et al., Nature Cell Biol., 2018)。今回は、これら因子を介した父性ミトコンドリアの選択的分解機構について、哺乳類細胞における選択的オートファジー経路との比較も交えながら紹介したい。

食道癌外科治療の進歩とこれからの展望

群馬大学大学院医学系研究科消化管外科学 佐伯 浩 司

食道癌に対する外科手術はこの 20 年で大きく変化した。私が外科医になったころの食道癌手術は、大きな開胸・開腹創を伴う大侵襲手術であり、術後は数日間 ICU で人工呼吸管理を行うのが常であった。その後、胸腔鏡や腹腔鏡などの鏡視下手術が普及し、食道癌手術にも低侵襲化の波が一気に押し寄せた。National Clinical Database によれば、全国で行われている食道癌手術における鏡視下手術の割合は、今や 7 割に迫ろうとしている。さらに 2018 年には食道癌手術に対するロボット手術が保険適応となり、Robotic Surgery の時代が到来した。2021 年の当科における食道癌手術のうち、ロボット手術を含めた鏡視下手術の施行割合は 100% であり、従来の開胸手術から完全に置き換わった。また近年、術前術後補助療法にも新たな展開が見られた。臨床試験の結果、術後補助療法としての免疫チェックポイント阻害剤、術前補助療法としての Docetaxel + CDDP +

5FU 療法の有効性が示され、それらが標準治療と位置付けられた。これら食道癌周術期治療の進歩も、食道癌手術の予後改善に大きく寄与してきた。

食道癌患者は、全身に基礎疾患を有することが多く、また経口摂取障害に伴い低栄養状態をきたしている場合もあるため、前向き臨床試験に登録できないいわゆる“エリート症例”は限られ、臨床試験によってもたらされたエビデンスとリアルワールドが乖離しがちという現状がある。また、食道癌手術治療成績の向上には、チーム医療も重要な要素となる。当科の検討においても、周術期管理における口腔内衛生環境スコアの改善が術後肺炎発生率を有意に低下させることがわかった。しかし、このようなチーム医療の有用性を科学的に検証することは難しく、エビデンス構築はこれからの課題と言える。

成長期野球選手の健全な野球環境構築の包括的な取り組み

群馬大学大学院保健学研究科リハビリテーション講座 田 鹿 毅

群馬大学大学院保健学研究科リハビリテーション講座（群馬スポーツリハビリテーション研究会）、群馬大学整形外科が協力して、群馬県成長期野球選手（小学生、中学生、高校生）が、安全、健全な野球環境で活動を行えるよう、以下の取り組みを行ってきましたので本講演でご紹介します。

【全国高等学校野球選手権大会群馬県大会メディカルサポート】

2002 年第 84 回大会から行われています。①選手の疲労蓄積に伴う投球障害を予防する目的にてクーリングダウン、コンディションチェックの施行、②選手の外傷発症時、会場における病人、負傷者の救急診療対応を行っています。

【群馬県高校野球投手メディカルチェック】

2002 年度オフシーズンから行われています。毎年約 140 人の高校野球投手を対象に全身コンディションチェック（特に肩関節・肘関節）を行い、改善が必要と思われるコン

ディションに対しては理学療法指導を行っています。選手には毎日の練習状況、体調状況を日記形式に記録できるような野球ノートを配布し、選手自ら体調を把握し、管理するよう指導を行っています。また野球指導者に対し、メディカルチェック報告会を開催し、結果をフィードバックし、日々の野球指導活動に活用してもらっています。

【成長期スポーツ障害検診】

2012 年度オフシーズンから行われています。小・中学生野球選手を対象とし（毎年 300～400 人）、成長期スポーツ障害（野球肩、野球肘、腰椎分離症、オスグッドシュラッター病）のスクリーニングを行っています。超音波を用いて野球肘、オスグッドシュラッター病の早期発見に努めています。スポーツ障害が疑われた選手に対しては、医療機関の二次検診受診指導を行っています。また野球指導者、保護者に対し検診結果をフィードバックするとともにスポーツ障害の予防について指導しています。

センスの良い看護師育成のための看護学教育をめざして

群馬大学大学院保健学研究科看護学講座 上 星 浩 子

看護教育に携わってきた中で、単に専門的知識や技術だけでなく、看護師がもつべく資質というか、何かが欠けてきたような気がする。実際に学内において成績もよく、計画したことを着実にこなすいわゆる優等生と言える学生が臨地実習で患者と信頼関係が築けず、実習困難となることがある。一方、知識や経験の乏しい学生が患者を笑顔にし、精神的安寧や疾病の回復促進に繋げることもある。そのような学生に対し、教員や指導者は「いい看護をする。看護のセンスが良い。」と表現することがある。「看護のセンスとは何か」。ファッションやスポーツ界でセンスという用語は使われてきたが、看護界においてその概念は明らかにされていない。そこでセンスという外来語の歴史やどのように使用されているか、さらに看護教員や看護師を対象に調査を行ってきた。看護センスは、「単に“感じる”“気づく”という感性や専門的な知識、技術に基づき実践するだけな

く、対象の状態や想いを根底に複合的な視点から看護の対象を捉え、その人らしくいられるために必要な行為を効果的に実践できる能力」と定義した。つまり常並みの看護を単に提供しているのではセンスが良いとは言えない。専門的看護実践能力はもちろんのこと、現象や物事の感じを微妙な点まで感じ、対象の想いに沿った看護をより良く提供できる能力ではないかと推測する。

看護は対象のニーズを見極め、必要なケアを提供することであり、動的に変化する。そもそも同じ疾患であっても 1 人として同じ人はいないため、提供する看護も違う。質の高いテーラーメイドな看護を提供するためには、センスの良い看護師を育成することが看護教育において重要課題であるといえる。

本講演では今まで行ってきた研究結果とセンスの良い看護師育成のための支援や今後の課題について検討したい。

ループス腎炎の診断・治療の進歩

群馬大学大学院医学系研究科腎臓・リウマチ内科学分野 廣村桂樹

ループス腎炎 (LN) は全身性エリテマトーデスにおける重要な臓器障害である。可能な限り腎生検を実施し、組織型に基づいた治療が推奨される。腎組織分類については、2003年に従来のWHO分類を改訂したISN/RPS 2003年分類が発表され長らく使用されてきた。しかし、びまん性LN腎炎 (IV型) における分節性と全節性のサブクラスについて、当教室の報告も含めたメタ解析が実施され、サブクラスによる腎予後に差が見られないことが明らかとなった。このサブクラスの廃止なども含めて、ISN/RPS分類2018年改訂が提案され、現在、新改訂分類の臨床的有用性について検証がなされている。わが国のLNの予後については、これまで我々の教室も含めて単施設からの報告のみであり、全国調査はなされていなかった。そこで我々は日本腎臓学会の日本腎生検レジストリーの二次研究として、2007年～2012年に腎生検が実施されLNと診断された498名のデー

タを全国27施設より収集し解析した。観察期間中央値64ヶ月において腎死 (血清Cr倍 or 末期腎不全) は36名 (7.2%)、死亡 (5.6%) であり、海外に比べて日本人の予後は良好であることが明らかになった。治療に関しては、2009年に報告されたALMS試験によりシクロホスファミドとミコフェノール酸モフェチル (MMF) がほぼ同等の有効性が示され、両者がLNの標準治療となった。しかし治療反応性が不十分な患者もおり、新規生物製剤等を標準治療に併用する多くのランダム化比較臨床試験が実施されている。これまでのところ、タクロリムス、ベリムマブ、ボクロスボリンと標準治療薬との併用療法の有用性が順次報告され、治療選択肢が増えている。当教室でもMMFとタクロリムスの併用療法の有効性を報告している。以上、本講演では当教室における研究成果も含め、LNの診断・治療の進歩について解説する。

同窓会推薦講演

肺の気腫化と線維化：相違点と類似点

群馬大学附属病院呼吸器・アレルギー内科 前野敏孝

人が生きていくためには、呼吸を行い肺で酸素を取り込み二酸化炭素を排出する必要があります。肺は常に外来の空気に触れており、日々の生活の中でウイルス・細菌・抗酸菌・真菌などの感染の危険に晒されているとともに、タバコ・大気汚染などの有害物質にも曝露される危険があります。加齢とともに肺は傷害を繰り返し、慢性閉塞性肺疾患（COPD）や間質性肺炎などを発症し、労作時の息切れに苦しんでおられる患者さんが多くいらっしゃいます。

慢性閉塞性肺疾患（COPD）は、長期的な喫煙曝露により肺気腫・慢性気管支炎を生じ、閉塞性障害をきたす疾患です。間質性肺炎の代表格である特発性肺線維症は、明確な原因は定まっていますが、肺が線維化することにより拘束性障害をきたす疾患です。このように述べると COPD と特発性肺線維症は全く異なる疾患ということになりますが、実は両者には類似点も多いのです。特に、共に加齢に伴い発症が増加すること、共に喫煙がリスクであることは、

大きな類似点として挙げられます。しかしながら、結果として生じている表現型は肺気腫と肺の線維化という全く異なったものとなってしまっています。

呼吸器内科の道に進んでから、この類似点もあるにも関わらず相違がある肺気腫と肺の線維化に興味を持ち、それぞれの研究を行ってきました。実際に、同じ患者さんの肺の中でも、肺気腫と線維化の両方を認めること（気腫合併肺線維症 *combined pulmonary fibrosis with emphysema*）も珍しいことではなく、肺気腫の研究、肺の線維化の研究、のたどり着く先には同じゴールがあるのでは、との思いで日々取り組んできました。

肺の気腫化と線維化、結果としての表現型に大きな相違が生じてしまうメカニズム、未だに完全には解明されてはいませんが、国内外でこれまでに明らかになってきたことを、細胞老化・細胞死・オートファジーといった点に特に着目しながら講演させていただきます。

奨励賞受賞講演

「高齢者にやさしい」放射線がん治療確立のための個別最適化研究

群馬大学腫瘍放射線学 安達 彰子

放射線治療は手術や薬物療法が困難な高齢者にも適応となることが多いことから、超高齢化社会を迎える本邦において重要性が高まっている。放射線治療を高齢者にとってさらに「やさしい」治療とするためには、高齢者特有の身体状況や社会的事情に配慮した治療戦略の個別最適化が重要である。これに関して、膀胱癌および子宮頸癌について研究を行い、下記の成果を得た。

成果①：筋層浸潤膀胱癌に対する根治的放射線治療においては骨盤全体への照射が標準治療とされているが、下痢などの有害事象を生じやすく、栄養予備能の低い高齢者にとっては治療完遂が難しい場合や、全身状態の悪化を招く場合がある。本研究では高齢者膀胱癌 19 例の後方視的解析により、骨盤内リンパ節転移陰性例においては標準法より縮小した照射野でも非再発率を維持しつつ重篤な有害事象の発生頻度を低減可能であることを明らかにした。

成果②：子宮頸癌に対する根治的放射線治療では骨盤へ

の体外照射と子宮腔内への小線源治療の併用が標準治療とされている。高齢者における骨盤照射では、リスクに応じて総腸骨領域を省いた照射野としている。また、子宮は閉経・加齢変化により高度に萎縮するため、放射線源を子宮腔内に配置することにより線源周囲に急峻な線量勾配を生む小線源治療においては、閉経・加齢変化を考慮した治療標的体積の個別最適化が必要である。本研究では高齢者 I-II 期子宮頸癌 19 例への小線源治療の後方視的解析により、旧来の画一的な線量処方では過線量であり直腸障害のリスクが高いこと、ならびに同室 CT 画像を活用した個別化線量処方とすることで、根治線量を投与しつつ直腸線量を低減可能であることを明らかにした。

以上の成果は高齢者に対する放射線治療の個別最適化のための重要な基盤情報となる。この度、荣誉ある北関東医学会奨励賞を賜ったことを励みとし、今後も「高齢者にやさしい」放射線がん治療確立のために努力したい。

急性期褥瘡におけるアペリン/APJ シグナルの役割と治療への応用について

群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学 群馬大学医学部附属病院皮膚科 山崎 咲保里

褥瘡（床ずれ）は高齢者や体動困難な患者にしばしば生じる皮膚疾患であり、外力による物理的ダメージと虚血により生じるが、虚血再灌流障害も発生機序に関与することが示唆されている。アペリンは G 蛋白共役型受容体 (GPCR) である APJ のリガンドであり、アペリン/APJ シグナルは循環動態の調整、血管新生、脂肪細胞機能などの様々な機能に関わっている。近年の報告ではアペリン/APJ シグナルが酸化ストレスを抑制し、腎臓・心臓・脳の虚血再灌流障害によって生じる組織損傷を防ぐことが示されている。そこで、我々は、褥瘡形成における虚血再灌流障害に対するアペリン/APJ シグナルの役割や制御機構、治療応用について検討した。

まず、褥瘡モデルマウスを用いて、褥瘡部位の皮膚ではアペリンが増加し、主に血管内皮細胞より分泌されることを明らかにした。次に、モデルマウスの褥瘡部位にアペリンを皮下投与したところ、皮膚潰瘍の形成が有意に抑制さ

れた。アペリンの皮下投与によって、虚血再灌流障害による血管障害、低酸素が改善し、アポトーシスも抑制されることが示唆された。また、アペリン投与によって炎症細胞浸潤や炎症性サイトカイン・成長因子にも影響を与えることが示された。in vivo, in vitro でアペリンが虚血再灌流障害による酸化ストレス障害、それによるアポトーシスを間接的・直接的に抑制する可能性も示した。

更に、アペリン/APJ シグナルを活性化させる物質として、APJ のバイアス型アゴニストである MM07 に着目した。アペリンと同様に褥瘡モデルマウスへ MM07 投与を行ったところ創傷面積が有意に縮小した。

以上より、アペリンや MM07 による褥瘡（皮膚虚血再灌流障害）の抑制効果と機序を明らかにした。アペリンや MM07 は、褥瘡の早期に投与することで、褥瘡の潰瘍形成や拡大を抑えることができる治療薬につながる可能性が示唆された。

脂肪肝の予後改善を目指した診断と治療の解析

群馬大学大学院医学系研究科 消化器・肝臓内科学／高崎総合医療センター 総合診療科・内科 植原 大介

近年、世界的に肥満を背景とした生活習慣病やメタボリック症候群の増加が問題となっており、本邦でも肥満者の増加が社会的問題となっている。肥満者は、脂肪肝を合併することが多いが、脂肪肝には早期治療を要する非アルコール性脂肪肝炎（NASH）と比較的予後が良い単純性脂肪肝（NAFL）が含まれている。両疾患は、治療や予後が異なり、早期に適切な鑑別が重要となる。これまで、欧米に肥満者が多かったため、研究も欧米が中心となっていた。しかし、アジア系民族では肥満が同程度であっても、欧米人に比して生活習慣病の合併頻度が高く、早期に治療介入が必要であることが報告されており（J Gastroenterol. 2008; 43: 86-92）、さらに日本人の高度肥満患者に NASH 合併が高頻度であることも報告されている（J Gastroenterol. 2016; 51: 281-289）。現在、脂肪肝の鑑別・確定診断のゴールドスタンダードは肝生検であるが、観血的検査であることや

対象となる患者数が多く、実臨床で診断に苦慮する症例も経験される。

今回、日本人における脂肪肝の診断と治療の検討を行った。まず、診断については、日常診療範囲の血液検査項目を人工知能 AI により解析し、精度が高く非侵襲的な NASH 診断アルゴリズムを報告した。（World J Hepatol. 2018; 934-943）また、治療法についても検討し、高度肥満に対して行われている減量外科治療が、体重減少だけでなく肥満関連健康障害である肝機能障害の長期的な改善にも有効であることを報告した。（Obes Surg. 2019; 1195-1201）現在は、肥満患者の血中代謝物を測定し、各疾患の病態解明と診断に有効なバイオマーカーの解析を行っており、さらに侵襲性が低く、精度の高い診断方法を検討している。

今後も、これまでの研究を発展させ、増加傾向にある脂肪肝の予後改善へ貢献していきたい。

Rasch model analysis of the Indonesian version
of the World Health Organization Disability Assessment Schedule (WHODAS 2.0)

Background & Aims: The Indonesian version of WHODAS 2.0 has been validated using the Classical Test Theory (CTT) approach. However, the CTT has some limitations, leading to erroneous conclusions. To overcome the limitation of CTT, the Rasch model analysis has been developed. Thus, this study evaluated the construct validity of the Indonesian version of WHODAS 2.0 among persons with physical impairment using the Rasch model analysis.

Methods: We used the data of self-administered WHODAS 2.0 and WHOQOL-BREF (an instrument to measure subjective well-being) from 212 participants with physical impairment in Bandung, Indonesia. The seven indicators of Rasch model analysis were used: (1) Fit statistics; (2) Unidimensionality; (3) Response category function; (4) Reliability and separation; (5) Person-item mean difference and targeting; (6) Differential item functioning (DIF); (7) Convergent validity.

Results: (1) The average outfit mean square (MnSq) of the 36-item and 32-item versions of WHODAS 2.0 were 0.99 ± 0.28 and 0.99 ± 0.24 , respectively (the data fit the Rasch model). However, item 'D2.5 walking a long distance such as a kilometre' and item D4.5 'sexual activity' were identified as misfitting items in both versions (infit or outfit MnSq > 1.4);

(2) The variance explained by measures of the 36-item and the 32-item versions were 49.0% (multidimension) and 56.7% (unidimension), respectively; (3) The response category function of both versions did not fully satisfy the Rasch model's expectations; (4) Both versions' reliability and separation index were excellent (Cronbach's alpha > 0.90 and a separation index > 2); (5) The 36-item version's item difficulty level was less appropriate (person-item mean difference = 1.84 logit and targeting = 64%) than the 32-item version (person-item mean difference = 0.96 logit and targeting = 70%); (6) In the 36-item version, item D2.5 showed DIF for assistive device usage status (DIF contrast = -0.66, $p = 0.002$). In the 32-item version, item D4.5 showed DIF for marital status (DIF contrast: 0.99, $p = 0.011$); (7) A strong correlation between the WHODAS 2.0 and WHOQOL-BREF ($r > 0.60$) established their convergent validity.

Conclusion: The Indonesian version of the 32-item version of WHODAS 2.0 has acceptable construct validity in a physical impairment sample in Indonesia. Further analysis would be necessary to guarantee the construct validity assessment results of the 36-item version of WHODAS 2.0.

ワークショップ

より良いがんゲノム医療をめざして

塚本 憲史

(群馬大医・附属病院・腫瘍センター)

第3期がん対策推進基本計画で「がんゲノム医療」は、取り組むべき重点項目の一つに位置づけられている。これは主に生検や手術などで採取されたがん組織のDNAを用いて、大量のゲノム情報を短時間で得られる「次世代シーケンサー」で、1回に100以上の遺伝子を同時に調べる「がん遺伝子パネル検査」を行い、その結果を患者の状態に合った治療を行うものである。

当院では医療事故の影響で取り組みが遅れたが、2021年4月1日にがんゲノム医療連携病院に指定され、6月28日から院内患者を対象にがんゲノム外来を開始した。2022年4月から院外症例も受け入れを開始し、これまでに40例以上の患者さんに対応してきた。標準治療がない、あるいは、標準治療終了見込みの進行固形癌で、全身状態の良い患者を対象としているが、結果が出るまでの1か月余の間に全身状態が急激に悪化することもある。検査結果は国立がん研究センターと合同で行う専門家会議（エキスパートパネル）で評価、治療方針を決めているが、当院でも独自に検討会を前日に行い本番に備えている。遺伝子パネル検査により約半数で何らかの治療薬が提示されているが、保険適用薬が見つかった1例を除くと、国立がん研究センターで行なわれている治験、臨床試験に参加する必要がある、実際に同院を受診したのは2例のみである。

がんゲノム医療では、診察を行う医師のほかに、バイオインフォーマティクスの専門家、患者との橋渡しをするコーディネーター、データの管理・国立がんセンターとの連絡を行う事務、治験・臨床試験情報を得るCRCなど多職種が関与する。そのスタッフ育成のほか、病理部の拡充、遺伝性腫瘍が疑われた時の遺伝子診療部との連携、遺伝カウンセリング体制整備など今後の課題も多い。

ゲノム医科学研究の実際とその応用

秦 健一郎 (群馬大医・分子細胞生物学)

従来、疾患の遺伝学的解析といえば、稀な遺伝性疾患や先天異常症候群などが主な対象であった。しかし、近年の解析技術の発展、特に大量配列解析技術が普及したことにより、通常の染色体検査では見つからないような微細なゲノム異常を検出することが可能となった。その結果、これまで「原因不明」とされてきた症例でも、確定診断あるいは未知病因の同定や、治療方針の決定に役立つ知見が得られる可能性が開けてきた。これらの成果は、がんゲノム医療として社会実装が進みつつあり、希少疾患・難病分野でもAMEDによりIRUD事業 (Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases, 網羅的遺伝子解析による未診断疾患の病因

解明を目指す事業)が行われている。本発表では特に、ゲノム医学の観点から、ヒトゲノムと疾患に関する基礎医学的知見、あるいは解析技術の背景とその応用方法を、自験例を交えて概説する。これらの解析になくてはならない次世代シーケンサーは、「遺伝子変異の同定」といった使い方が注目されがちだが、その本質は「冗長性と定量性」に支えられた技術であり、このような特徴を生かした1細胞解析・マイクロバイーム解析・エピゲノム解析、等への応用も併せて紹介したい。また、網羅的遺伝子解析を行っても、未だにおよそ6~7割は確定診断に至らず、次の一手が模索されている。見逃されている未知の病因の一つとして、エピゲノム (ゲノムを介さずに「遺伝」する不思議な現象)の関与が挙げられ、今後の展望として紹介する。

ゲノム医療における遺伝子診療部の役割

山田 正信

(群馬大医・附属病院・遺伝子診療部)

平成12年ある施設で実施された多数例の無断遺伝子検査などが問題となり、科学技術会議生命倫理委員会から「ヒトゲノムに関する基本原則」が提言されました。群馬大学医学部附属病院の遺伝子診療部は、遺伝子診断などの際に発生する倫理的諸問題に対し、大学病院全体として検討する場が必要であろうと、平成13年に遺伝子診療部運営委員会を発足し、平成14年4月に外来が開設され20年以上の歴史があります。

遺伝子診断は、通常の血液検査と異なり、異常 (変異)があると、多くの血縁者が内包されるという特徴を持つ究極の個人情報です。また、生まれた時から変わること無く、次世代の子供さんにも遺伝するという特徴もあります。したがって、遺伝子診療部で扱う領域には、産婦人科領域の出生前診断や昨今一部が保険適応となった着床前診断、習慣性流産、NIPTや小児科のDuchenne型筋ジストロフィー症に代表される難病や遺伝病、成人では、家族性腫瘍や神経難病、マルファン症候群、頻度の高い神経線維腫症1型、クラインフェルター症候群など数多くの疾患があります。

2003年にはヒトゲノムプロジェクトが完了し、2005年に次世代シーケンサー (NGS) が開発され、ゲノム医療は、単一の遺伝子診断ではなく、網羅的にすべての遺伝子配列を決定し、その一部の情報を使用する時代になりました。したがって遺伝子診断のスピードが上がったのと同時に、偶発的に予想しなかった遺伝子変異 (二次的所見)が見つかる事も問題になっています。

患者さんは遺伝や遺伝子診断に関する種々の不安や診断後の将来への不安などがあります。そこで疾患を持って受診している方 (発端者)には、主治医が遺伝カウンセリングを行う事が原則になっています。遺伝カウンセリングと

は、「疾患の遺伝学的関与について、その医学的影響、心理学的影響および家族への影響を人々が理解し、それに適応していくことを助けるプロセスである」と定義づけられています。遺伝子診療部では、保因者（変異があるが未発症）の遺伝子診断への遺伝カウンセリングなどを担当しています。したがって、近年のがんゲノム医療で生殖細胞系の変異が認められた場合なども対象となります。

本講演では、広くゲノム医療における遺伝子診療部の役割について概説する予定です。

神経難病におけるゲノム医療

池田 佳生 （群馬大院・医・脳神経内科学）

脳神経内科では、頭痛疾患やめまい、しびれといった common disease、高齢化社会を迎えて患者数が急増している認知症疾患、メタボリック症候群や生活習慣病と関連の深い脳卒中、さらにパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、脊髄小脳変性症、多発性硬化症、重症筋無力症といった、いわゆる神経難病など幅広い疾患の診療を担当している。神経難病は発症原因の解明および治療法の確立がされていない神経疾患の総称であり、この中には多くの遺伝性神経疾患が包含される。

遺伝性神経疾患は、ひとたび発症すると常に進行性であり、高度の運動障害や高次脳機能障害などを生じて日常生活に多大な影響を及ぼす。幼少期に発症して、成人する前に寝たきり状態へ移行する疾患もあり、患者および家族の身体的・心理的・経済的負担は極めて大きい。このため、これらの神経難病患者を支える社会福祉制度の確立と共に、臨床的効果の高い治療法の開発が待ち望まれている。

1990年代以降に加速した分子遺伝学的研究の発展により、脳神経内科領域の多くの単一遺伝子疾患の原因遺伝子および分子病態が解明されてきた。その成果を踏まえて一早く臨床現場におけるゲノム医療が展開されており、病因遺伝子変異に由来する病的なメッセンジャー RNA を標的として、その分解作用やスプライシング調節作用により治療効果を発する、画期的な疾患修飾療法が実臨床で適用可能になっている。本講演では、脊髄性筋萎縮症に対するヌシネルセンやデュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するビルトラルセンといったアンチセンス核酸を用いた治療および、家族性アミロイドポリニューロパチーに対するパチシラン（siRNA）といった核酸医薬品の臨床的有効性について紹介したい。

一 般 演 題

1. 膜型分子 SIRP α によるミクログリア活性化制御

水谷 瑠依¹, 尾池 恵摘¹, 今井 武史¹
 正林 大地¹, 今田 治子¹, 榛澤 春哉¹
 浦野江里子¹, 神宮 大輝², 林 由里子²
 大西 浩史¹

(1 群馬大院・保・生体情報検査科学)

(2 群馬パース大院・保健科学研究科)

【背景と目的】 脳内免疫細胞ミクログリアは、損傷を感知して定常状態から活性化状態へ変化し、損傷組織の除去と修復に重要な役割を果たす。ミクログリアには多様な活性化状態が存在するが、近年、DAM (Disease-associated microglia) や WAM (White matter-associated microglia) と呼ばれる特殊な活性化ミクログリアが報告され、アルツハイマー病など神経変性疾患の病態に対する保護的作用が注目されている。私たちの研究グループでは、ミクログリアに発現する膜蛋白質 SIRP α の欠損により、白質でミクログリアが活性化し、脱髄モデルの病態が軽減することを見出し、SIRP α シグナルの欠損が DAM や WAM のような保護的ミクログリアを誘導する可能性を想定している。本研究では、SIRP α 欠損が DAM や WAM の誘導に必須である受容体型膜蛋白質 TREM2 の発現に与える影響について解析を行い、SIRP α が DAM や WAM などの保護的ミクログリア活性化を制御する可能性を検討した。

【材料と方法】 ミクログリア特異的 SIRP α ノックアウトマウスの脳から凍結切片を作製し、TREM2 およびミクログリアのマーカー Iba1 に対する特異的抗体で二重蛍光染色を行い、ミクログリアに発現する TREM2 の染色性を、コントロールマウスと比較検討した。

【結果】 現在までに、一部の白質領域で SIRP α 欠損による TREM2 発現増加の傾向がみられており、さらに詳細な解析を進めている。

【考察と結語】 ミクログリアに発現する SIRP α は、TREM2 の発現を抑制することで、DAM や WAM 様の保護的ミクログリアの誘導を負に制御するチェックポイント分子として機能する可能性が考えられる。

2. SIRP α 欠損マウスにおける脳内ミクログリア活性化領域の解析

尾池 恵摘¹, 水谷 瑠依¹, 今井 武史¹
 今田 治子¹, 正林 大地¹, 榛澤 春哉¹
 浦野江里子¹, 神宮 大輝², 林 由里子²
 大西 浩史¹

(1 群馬大院・保・生体情報検査科学)

(2 群馬パース大院・保健科学研究科)

【背景と目的】 私たちの研究グループは、中枢神経系のマクローファージであるミクログリアに発現する膜タンパク質

SIRP α が、リガンドである別の膜タンパク質 CD47 と相互作用し、ミクログリアの活性化を抑制することを見出している。SIRP α を欠損したマウスの脳内では、ミクログリアの活性化マーカーである CD11c を発現する特殊なミクログリアが白質においてのみ特異的に増加する。このことから SIRP α 欠損によるミクログリア活性化には白質環境が関与する可能性が考えられる。一方、SIRP α 欠損マウスにおける CD11c 陽性ミクログリアの出現頻度は、白質領域毎に違いがみられる。本研究では、SIRP α 欠損によるミクログリア活性化に関わる白質因子の同定を目指し、CD11c 陽性ミクログリアが高頻度で出現する白質領域のマッピングに取り組んだ。

【材料と方法】 ミクログリア特異的 SIRP α KO マウスから凍結脳組織切片を作製し、特異的抗体を用いた蛍光免疫組織染色により CD11c 陽性ミクログリアを可視化し、蛍光顕微鏡を用いて観察した。

【結果】 これまでの解析の結果、脳室付近や海馬采、視交叉などで高頻度に CD11c 陽性像が認められている。

【考察と結語】 SIRP α 欠損による CD11c 陽性ミクログリア出現には領域特異性が認められた。ミクログリア活性化頻度が高い白質領域は、他の領域とは性質の異なるホットスポットであり、SIRP α によるミクログリア活性化制御の分子メカニズム理解に手がかりを与えることが期待される。

3. SARS-CoV-2 nsp1 の N 末端側 8 アミノ酸残基欠損の病原性への影響

上野 栞, 高橋 龍樹, 清水 健太
 杉浦 嘉郎, 神谷 亘

(群馬大院・医・生体防御学)

【背景と目的】 SARS-CoV-2 は主にヒトに感染するプラス鎖 RNA エンベロープウイルスであり、2019 年に発生してから世界中に広まり、現在に至るまで多数の健康的、社会的損害を与えてきた。一般に RNA ウイルスは変異が起こりやすく、SARS-CoV-2 に関しても世界中で多変異株が分離され現在までに報告されている。国内分離された SARS-CoV-2 変異株の報告も多く存在し、その内の一つに I-004 株が報告されている。今回我々は、I004 株における nsp1 蛋白質の N 末端側 8 アミノ酸残基欠損変異に注目し、8 アミノ酸が欠損することによる nsp1 蛋白質機能およびウイルス性状への影響を明らかにした。

【材料と方法】 SARS-CoV-2 の WK521 株 (武漢株) と I-004 株の遺伝子を鋳型として武漢株の nsp1 (wt) と 8 アミノ酸欠損 nsp1 (del-8) 発現プラスミドを構築した。作製した nsp1 発現プラスミドとレポータープラスミドを培養細胞に発現させ、ルシフェラーゼアッセイとノーザンブ

ロットティングを行い、ルシフェラーゼの酵素活性または mRNA の発現を検出することで、nsp1 の蛋白質合成阻害能と RNA 分解能を評価した。

次に、ウイルス増殖における 8 アミノ酸欠損の影響を検討するために、細菌性人工染色体による遺伝子操作系を用いて wt と del-8 の組換え SARS-CoV-2 を作製し、培養細胞に感染させウイルスの増殖能を比較した。また、ウイルスゲノム複製のみを評価できる、レプリコン cDNA を作製し、培養細胞にトランスフェクションしゲノム複製量を比較した。さらに、del-8 組換えウイルスの個体での増殖性と病原性を比較するためにハムスターを用いて肺組織における病理組織学的解析を行った。

【結果】 ルシフェラーゼ酵素活性とその RNA 量は、wt を発現しているサンプルにおいて顕著に減少した。同様に、del-8 を発現しているサンプルにおいても減少した。また、レプリコンアッセイ系と組換えウイルスを用いた解析では、del-8 のサンプルでは wt に比べてウイルス RNA 量と感染性ウイルス粒子量が少ないことがわかった。さらに、ハムスター感染実験では、肺組織におけるウイルス RNA 量と感染性ウイルス量が、del-8 ウイルス感染肺組織では、wt ウイルス感染肺組織と比較して顕著に減少していた。病理組織学解析により、del-8 ウイルス感染個体の肺において、炎症細胞浸潤および間質性肺炎像が wt 感染個体の肺組織と比較し軽度であることがわかった。また、肺組織におけるウイルス抗原陽性細胞数も少ないことがわかった。

【考察と結語】 nsp1 は宿主の蛋白質合成阻害能、mRNA 分解促進能をもち、これらの活性部位としてそれぞれ K164/H165, R124/K125 の 2 つのアミノ酸領域が知られている。今回実施したルシフェラーゼアッセイとノーザンブロットの結果から 8 アミノ酸領域は nsp1 の蛋白質合成阻害能、mRNA 分解促進能には影響しないことがわかった。これは、8 アミノ酸領域が 32~40aa であり活性部位のアミノ酸領域と異なることに起因していると考えられた。

しかしながら、組換えウイルスを用いた感染実験では del-8 で有意なウイルスゲノム、感染性粒子および肺組織内の抗原検出量の減少が認められ、8 アミノ酸がウイルス増殖能あるいは効率に関与していることが考えられた。また、wt 感染に比べて del-8 感染ハムスター肺組織での炎症細胞浸潤と間質性肺炎の程度が減少していたことから、nsp1 における 8 アミノ酸領域は病原性に関与する可能性が示唆された。今後、nsp1 の 8 アミノ酸の機能、また 8 アミノ酸欠損ウイルスの性状を明らかにすることで SARS-CoV-2 の病原性解明につながると考えられる。

4. がん組織に局在するバクテリアが産生する硫化水素は抗がん剤誘導がん細胞死を阻害するか？

城田 美穂¹, 瀧川 雄太², 永井 聖也²
奥石 一郎²

(1 群馬大医・保・検査技術科学)

(2 群馬大院・保・生体情報検査科学)

【背景と目的】 がん組織は嫌気的な条件下にあり、がん組織にはかなりの頻度でバクテリアが局在することが明らかにされている。また、これらのバクテリアはシステインを基質にして硫化水素を産生する。硫化水素の機能に抗酸化機能があり、とりわけ抗がん剤治療におけるがん細胞の生存への寄与が危惧される。本研究では、グルタチオンペルオキシダーゼ 4 の阻害剤 RSL3 で処理したがん細胞株 HT1080 のフェロトーシス細胞死への硫化水素ならびに多硫化水素の影響を評価するとともに、がん組織におけるバクテリアによる硫化水素産生の痕跡を定量評価するための手法の開発について報告する。

【材料と方法】 がん細胞株 HT1080 を用い、フェロトーシス誘導および阻害実験を行った。硫化水素、多硫化水素およびペプチジルポリサルファイドの定量評価は、電気化学検出器を装着した HPLC により行った。

【結果】 RSL3 で処理した HT1080 細胞を硫化水素、二硫化水素および三硫化水素存在下で培養したところ、フェロトーシス細胞死が顕著に阻害された。興味深いことに、これら三つの化合物は、化学量論的に等分子数で等価の阻害効果を発揮した。また、Erastin 誘導フェロトーシス細胞死に対し、いずれの化合物も細胞死阻害効果を示した。

【考察と結語】 フェロトーシス細胞死は α -トコフェロールで阻害されること、フェロトーシス細胞死に 15-リポキシゲナーゼが関与していることが明らかにされている。以上の結果より、硫化水素は脂質由来ラジカルに対するラジカルスカベンジ作用によりフェロトーシス細胞死を抑制すると考えられた。硫化水素はラジカルスカベンジ反応により自身がラジカル種となり、ラジカルラジカル付加反応により高度に重合した多硫化水素となる。これら多硫化水素は細胞内タンパク質中スルフヒドリル基にサルフェン硫黄を転移することから、組織切片中ペプチジルポリスルフィドの測定法の開発についても報告する。

5. 授乳期 PFOS 曝露の老年期における影響

二ノ宮彩音¹, 天野 出月¹, 範島 旭²
鯉淵 典之¹

(1 群馬大院・医・応用生理学)

(2 早稲田大・人間科学学術院)

【背景と目的】 発達障害の発症率が増加傾向にあることが知られている。その一因として、周産期の環境化学物質曝露影響が指摘されている。我々はこれまで有機フッ素化合物の一種であるペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) に注目し、授乳期 PFOS 曝露マウスが若年期に認

知機能及び協調運動の低下を引き起こすことを報告してきた。しかし、老年期における影響は不明である。そこで本研究では、授乳期に PFOS 曝露された初老マウスモデルを作出し、PFOS 曝露と加齢の影響の解析を試みた。

【材料と方法】 授乳期に PFOS (1 mg/kg bw) または PBS を曝露し、仔マウスが生後 365 日を迎えた時点で、学習・記憶、不安、活動性、社会性行動に関する行動学的テストバッテリーを行なった。

【結果】 学習課題である視覚弁別課題試験では、比較対照群と PFOS 曝露群の間に有意差はなかったが、いずれも加齢に伴う学習曲線の低下を認めた。また、物体位置再認識試験では PFOS 曝露群での成績の低下を認めた。また、不安の評価として行った、高架式十字迷路試験、明暗探索試験、ガラス玉覆い隠し試験では、いずれの試験でも対照群と曝露群の間に有意差は認めなかった。社会性行動の評価法である三部屋式社会性行動試験でも有意差を認めなかった。

【考察と結語】 行動学的解析では、記憶学習試験で授乳期 PFOS 曝露群は対照群と比較して若年期と同様に成績の低下傾向を示したが、加齢による相乗効果は認めなかった。一方で、若年期同様、授乳期 PFOS 曝露による不安様行動や社会性行動への影響は見られなかった。今後は、授乳期 PFOS 曝露群の初老期の海馬における形態学的、分子生物学的変化の検討を予定している。

6. 看護職のためのセルフコンパッション・トレーニングに関する文献検討

澤邊 理緒, 近藤 浩子

(群馬大医・保健学科)

【背景と目的】 セルフコンパッションとは、自分自身への優しさ、思いやりを意味する。セルフコンパッションを育むことは、共感疲労によって消耗しやすい看護職のバーンアウトを予防し、メンタルヘルスを高める。そのトレーニングには、2.5 時間×8 週間の Mindful Self-Compassion (MSC) プログラムがある。しかし研修日程や宿題の負担が大きいため、看護職にとってより実用的なプログラムが求められている。ここでは最近開発された短縮版プログラムを中心に、セルフコンパッションの育成に関する文献検討を行った。

【材料と方法】 データベース CINAHL と MEDLINE から、「self-compassion」と「nurse」を Abstract に含む学術論文を検索し、これにハンドサーチを加えてセルフコンパッションに関する介入研究を抽出した。文献を精読し、プログラム内容とその効果、主要な知見について整理した。

【結果】 5 文献が選定された。うち 3 文献は MSC を 1 時間×6 週間に短縮した Self-Compassion for Healthcare Communities (SCHC) プログラムの研究であった。プログラムの主な内容は、自己批判を軽減してコンパッションの考え方を体得すること、今ここにあることに注意を向ける

マインドフルネスのワークであった。これらを定着させる方法として、研修参加者相互のリフレクション、研修後のフォローアップ、また宿題ではなく仕事場で困難が生じた時に練習をする方式が採られていた。研修効果は、介入後のみならず、介入 3ヶ月後まで持続していたことが、self-compassion scale 等による評価で統計的に示されていた。研修参加率も高かった。なお全プログラムを 1 日で実施した場合も、同様の効果が得られていた。一方、他 2 文献は、Compassionate Mind Training (CMT) の研究、および看護学生対象の Compassionate Mind Model (CMM) の研究であった。

【考察と結語】 短期間の研修プログラムでも、セルフコンパッションを育む効果は認められ、その効果はフォローアップにより維持できることが示唆された。定期的な研修時間の確保が難しい看護職には、研修のための特別な時間を最小限にし、現場でできるスキル定着のための工夫を取り入れたプログラムを作成することが実用的、かつ有用であると考えられる。

7. 2 型糖尿病患者の食事療法継続を促進・阻害する要因に関する文献研究

福田 姫乃¹, 伊藤 紫苑¹, 高橋さつき²

(1 群馬大医・附属病院)

(2 群馬大院・保健学研究科)

【背景と目的】 本研究は、2 型糖尿病患者の食事療法継続を促進・阻害する要因を文献研究にて明らかにし、患者の食事療法継続にむけた看護師の関わりを検討することを試みた。

【材料と方法】 データベースは医中誌 Web を用い、検索キーワードは「糖尿病 -2 型 / シソーラス用語」と「食事療法 / シソーラス用語」、検索期間は過去 5 年間 (2016 年 5 月～2021 年 5 月)、論文種類は原著論文として、文献検索を行った。その中から、2 型糖尿病患者の食事療法継続を促進・阻害する要因について、記述している論文を抽出した。論文を精読して当該記述箇所を抽出し、Berelson の内容分析を用いて分析した。本研究は文献研究であり、倫理的配慮には該当しない。

【結果】 6 編の論文を得た。分析の結果、促進要因は 8 カテゴリで、【食事摂取量を工夫して減らす】、【周囲の協力が得られる】、【ストレスが溜まらないようにする】、【意欲向上に繋がる取り組みを行う】などであった。阻害要因は 14 カテゴリで、【食事療法を継続するための気持ちや知識の面で準備が整っていない】、【食事内容や食事時間の工夫が難しい】、【独居や周囲に協力者がいないため自分一人では対処できない】、【疲れやストレスから間食、大食いをしてしまう】、【食事療法の努力が血糖コントロールに繋がらない】などであった。

【考察と結語】 促進要因と阻害要因は対になっているものが多く、看護師は患者が抱える阻害要因に対して良く理

解し支援することで、食事療法継続の促進要因に繋がると考えられた。具体的には、患者の食事療法継続に対するストレスや不安を傾聴し受け止めた上で、患者の従来の食習慣や食事療法への理解度、阻害要因を確認し、協力者の有無や周囲の状況をふまえ、今後の生活や食事療法が前向きに捉えられるよう患者と一緒に対処行動や継続して実践できる食事療法の工夫を考え、その支援を継続していくことが必要である。

8. ケンフェロールはカルシポトリール外用誘導アトピー性皮膚炎様皮膚炎マウスの皮膚炎を改善する。

Bolor Nasanbat, Akihiko Uchiyama,
Syahla Nisaa Amalia, Yuta Inoue,
Yoko Yokoyama, Sachiko Ogino,
Ryoko Torii, Mari Hosoi and
Sei-ichiro Motegi

(Department of Dermatology, Gunma University Graduate School of Medicine)

【背景と目的】 アトピー性皮膚炎は寛解と改善を繰り返す慢性の皮膚炎症性疾患である。ケンフェロールは天然に存在するフラボノイドであり抗酸化作用や抗炎症作用などの効果を有する。しかし、ケンフェロールによるアトピー性皮膚炎への治療効果は未だ明らかでない。今回我々はケンフェロール投与によるアトピー性皮膚炎への影響及びその機序を解明することを目的とした。

【材料と方法】 カルシポトリール外用によるアトピー性皮膚炎様皮膚炎マウスモデルを用いた検討を行った。野生型マウスを用いてコントロール群とケンフェロール投与群における皮膚炎の重症度と経皮的水分蒸発量 (TEWL) の計測を行った。皮膚組織を用いた組織学的検討でフィラグリリンや TSLP の発現及び炎症細胞浸潤について評価した。また IL-4, IL-13 の発現量を qPCR 法とフローサイトメトリー法で検討を行った。

【結果】 ケンフェロール投与群ではカルシポトリール外用誘発性の皮膚炎の重症度、TEWL および炎症細胞浸潤がコントロール群と比較して有意に抑制された。さらにケンフェロール投与によりカルシポトリール外用によって低下したフィラグリリンの発現が改善した。さらに TSLP や IL-4, IL-13 の発現もカルシポトリール投与によって軽度減少する傾向があった。

【考察と結語】 今回の実験結果から、ケンフェロールはカルシポトリール外用によるアトピー性皮膚炎様皮膚炎を炎症反応の抑制やバリア機能障害の改善により改善した可能性が示唆された。ケンフェロールはアトピー性皮膚炎の新たな治療薬となる可能性が期待される。

9. 液体窒素療法における効果的な実施方法の検討

—酸化ストレスと組織炎症の関与について—

石川 真衣, 関口 明子, 小坂 啓寿
井上 裕太, 内山 明彦, 茂木精一郎

(群馬大院・医・皮膚科学)

【背景と目的】 液体窒素療法は、皮膚科診療において不可欠な治療手段であり、凍結融解サイクルを繰り返して組織に損傷を与えることでウイルス性疣贅や良性腫瘍を除去することを目的として行われる。解凍段階における手法として、本邦では凍結部位を指先で温めて急速解凍することがしばしば行われているが、有効性は解明されていない。本研究では、液体窒素療法モデルマウスを用いて液体窒素療法における急速解凍の効果を評価し、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】 液体窒素を染み込ませた綿棒を用いて、マウスの背部皮膚およびマウス悪性黒色腫を凍結する。その後、指先で温めて急速解凍する群と、コントロールとして無処理で自然解凍する群を設定して比較検討した。

【結果】 液体窒素療法後に生じる皮膚潰瘍は、急速解凍により拡大した。液体窒素療法により真皮に浸潤した CD3 + T 細胞, 好中球, およびアポトーシス細胞は、急速解凍を行うことで増加した。OKD48 トランスジェニックマウスを使用して液体窒素療法後に誘導される酸化ストレスを視覚化したところ、急速解凍により酸化ストレスの亢進がみられた。液体窒素後に浸潤する好中球はネトーシスを起こしていることも明らかにした。マウス悪性黒色腫に液体窒素療法を行ったところ、急速解凍した腫瘍の増殖は、自然解凍した腫瘍よりも有意に抑制された。液体窒素療法を行なった腫瘍部位に浸潤した CD3 +, CD8 + T 細胞, 好中球, およびアポトーシス細胞数は、急速解凍により増加した。

【考察と結語】 液体窒素療法を行う際には、凍結組織の急速解凍処置を行うことで、好中球およびリンパ球の浸潤が増加し、組織酸化ストレスが増強し、より強い組織破壊がもたらされることが示唆された。液体窒素療法による強力な効果を必要とする場合には、凍結部位を急速に解凍することが有効な手段の一つであると考えられた。

10. SIRP α コンディショナル KO マウスにおける Cre 発現に伴う Cx3cr1 遺伝子ヘテロ欠損の影響の解析

今井 武史¹, 水谷 瑠依¹, 尾池 恵摘¹
富山 飛鳥¹, 榛澤 春哉¹, 正林 大地¹
今田 治子¹, 浦野江里子¹, 神宮 大輝²
林 由里子², 大西 浩史¹

(1 群馬大院・保・生体情報検査科学)

(2 群馬パース大院・保健科学研究科)

【背景と目的】 貪食抑制受容体 SIRP α は、中枢神経系ではミクログリアと神経細胞に高発現する。タモキシフェン (TAM) 依存性 Cre リコンビナーゼ (CreERT2) をミクロ

グリアで発現する Cx3cr1-CreERT2 マウスと SIRPa-flox マウスを交配して作製したマイクログリア特異的 SIRPa 欠損マウス (SIRPa cKO マウス) は, 老化による運動学習機能低下に抵抗性を示すことを見出しているが, この SIRPa cKO マウスでは, CreERT2 が Cx3cr1 遺伝子座にノックインされており Cx3cr1 遺伝子ヘテロ欠損となっている. Cx3cr1 遺伝子欠損マウスでは脳機能の低下が報告されていることから, SIRPa cKO マウスの行動解析の結果が Cx3cr1 遺伝子欠損に影響を受ける可能性がある. 本研究ではコンディショナルノックアウトマウスの CreERT2 遺伝子導入に伴う Cx3cr1 ヘテロ欠損の影響について検討した.

【材料と方法】 SIRPa cKO マウス, および SIRPa-flox 遺伝子を持たない Cx3cr1-CreERT2 マウスとそれぞれの対照群を準備し, それぞれに行動解析を行った. TAM 投与の有無についても検討した.

【結果】 TAM を投与しない SIRPa cKO マウスにおいて, 運動学習機能の低下傾向がみられ, この傾向は TAM 投与で改善した. Cx3cr1 遺伝子ヘテロ欠損のみでは, 運動学習障害や海馬認知機能の低下は確認されなかった.

【考察と結語】 報告されていた Cx3cr1 遺伝子欠損に伴う脳機能の低下は, 今回の実験では再現せず, SIRPa cKO マウスの解析結果に Cx3cr1 ヘテロ欠損の影響はないと考えられた. TAM を投与しない SIRPa cKO マウスが示した運動学習機能の低下傾向は, SIRPa-flox 遺伝子の存在に依存しており, 想定外の SIRPa 遺伝子組換えが影響している可能性が考えられる.

11. 抑制型転写共役因子 NCoR1/SMRT の中枢神経系における役割の解明

天野 出月, 二ノ宮彩音, 鯉淵 典之

(群馬大院・医・応用生理学)

【背景と目的】 抑制型転写共役因子である NCoR1/SMRT は, 甲状腺ホルモン (TH) による遺伝子発現調節に関与していることが知られている. TH は周産期の神経発達に大きく関与することから, NCoR1/SMRT もまた中枢神経系において重要な役割を担っていることが考えられる. 近年, NCoR1 の遺伝子異常により自閉症スペクトラム障害 (ASD) を発症した症例報告もされており, 中枢神経系における役割の解明が期待されている.

【材料と方法】 Cre/loxP システムを用いて神経特異的な NCoR1/SMRT コンディショナルノックアウトマウスを作成した. 作出した本モデルマウスを用いて行動テストバッテリーを行った. 活動量, 日内リズムの評価としてホームケージアクティビティの観察を, 不安の評価として高架式十字迷路試験, 毛繕い試験を, 社会性行動の評価として三部屋式社会性行動試験, 記憶学習試験として視覚弁別課題を行った.

【結果】 ダブルノックアウトマウスが生後まもなく死亡することから, シングルノックアウトマウスを用いて行

動テストバッテリーを施行した. NCoR1 ノックアウトマウス (NKO), SMRT ノックアウトマウス (SKO) マウスともに対照群と比較して, 活動量の低下を認めた. また, 不安行動の評価では, SKO マウスが有意に毛繕い行動 (不安様行動) の増加を示したが, 他の試験では差を認めなかった. 社会性行動試験では NKO マウスの新奇マウスへの嗜好性の低下及び, SKO マウスの社会的新奇性の低下を認めた. 記憶学習試験では NKO マウスで学習時間の短縮を認めた.

【考察と結語】 本研究で明らかにしたノックアウトマウスの表現型の一部は ASD に類似した変化を来した. 今後, 分子生物学的実験により NCoR1/SMRT の解析をすすめていく.

12. 食餌中の糖質・脂質比が肥満糖尿病における膵β細胞脱分化と脂肪肝に及ぼす影響

雷 暁, 石田 恵美, 堀口 和彦

吉野 聡, 松本 俊一, 山田英二郎

山田 正信

(群馬大院・医・内分泌代謝内科学)

【背景と目的】 近年, 糖尿病膵においてβ細胞脱分化現象が発見され, β細胞機能不全の一因として注目されている. β細胞脱分化は, 肥満糖尿病マウスにおいて食事制限で改善する. そこで, 1) 食事制限のうち, 脂質と糖質どちらの減量がβ細胞脱分化へ寄与したか, 2) 食事制限による他臓器での代謝変化がβ細胞脱分化に影響するか, の2点からβ細胞脱分化のメカニズムに迫った. 2型糖尿病の代謝異常は脂肪肝に強い関連があり, 肝の代謝状態に応じて分泌され, 膵島増殖に関与する SerpinB1 など, 肝を通じて摂取栄養素と膵β細胞機能をつなぐ連関が予想される. 本研究では, 糖質/脂質比の異なる食餌で肥満糖尿病マウスにカロリー制限を行い, 脂肪肝と膵β細胞脱分化への影響を解析した.

【材料と方法】 db/db マウスに, 高脂質・低炭水化物食でのカロリー制限 (HF 群) と高炭水化物・低脂質食でのカロリー制限 (HC 群) を加え, 通常食群 (Ad 群) と肝・膵の表現型を比較した.

【結果】 耐糖能は HF 群, HC 群ともに Ad 群より同程度に改善したが, 肝臓中の脂質は HF 群より HC 群で多かった. 肝臓の RNA sequence では, HF 群より HC 群で脂質代謝・細胞増殖関連遺伝子, グルタチオン還元酵素などが多く誘導されていた. qPCR 法でも, SCD1, HMGCR などの脂肪代謝マーカーの発現は HC 群で高かった. HF 群より HC 群で低下する遺伝子として, SerpinA 群などが検出された. 膵臓の免疫染色では, HC 群は HF 群よりβ細胞脱分化マーカーを多く発現しており, 膵島肥大を認めた.

【考察と結語】 肥満糖尿病マウスでは, 糖質/脂質比の高い食餌は肝臓の脂質合成を亢進し, 総摂取カロリー減少にも関わらず, 肝脂肪蓄積が解消されず, 肝でのインスリン

抵抗性等で膵島が代償性に肥大し、 β 細胞脱分化に繋がった可能性が考えられる。肥満糖尿状態では、食餌中の糖質/脂質比により、脂肪肝も β 細胞脱分化もともに影響を受けることが示唆された。

13. がん患者特有の悪臭成分ジメチルトリスルフィドは抗がん剤誘導がん細胞死を阻害するか？

齊藤 夏奈¹, 永井 聖也², 輿石 一郎²

(1 群馬大医・保・検査技術科学)

(2 群馬大院・保・生体情報検査科学)

【背景と目的】 皮膚がんおよび乳がんの創傷部位から発する悪臭物質がジメチルトリスルフィドであり、その産生ががん組織に局在する細菌によることが明らかにされた。ジメチルトリスルフィド (DMTS) は、キャベツ、玉ねぎ、ブロッコリー等に含まれ、ゼロ価の硫黄 (サルフェン硫黄) の供与体である。当研究室では、がん細胞の酸化ストレス誘導によるフェロトーシス細胞死を DMTS が抑制することを明らかにした (Food Chemistry, 2021)。この結果は、仮に、がん組織に細菌が局在し DMTS を産生する場合、抗がん剤治療によるがん細胞死を阻害し、がん細胞を生存させる可能性がある。本研究では、シスチントランスポーターの阻害剤である Erastin によるフェロトーシス細胞死への DMTS の阻害機序の解明、ならびにがん組織における DMTS 産生の痕跡を明らかにするための手法の開発について報告する。

【材料と方法】 がん細胞株 HT1080 を用い、フェロトーシス誘導および阻害実験を行った。がん細胞の生存の鍵を握るグルタチオン (還元型および酸化型) の高感度定量は蛍光検出 HPLC により行った。

【結果】 DMTS は Keap1 のスルフヒドリル基を修飾することで Nrf2 による転写因子の活性化を誘導し、シスチントランスポーターならびにグルタチオン合成酵素の発現を促進する。Erastin は HT1080 のグルタチオンを枯渇させるが、Erastin 処理でグルタチオンの枯渇した HT1080 を DMTS で処理したところ、顕著なグルタチオン濃度の上昇が認められ、細胞死が阻害された。

【考察と結語】 DMTS のフェロトーシス細胞死抑制機序として Nrf2/Keap1 系を介したグルタチオンの再生が関係していることが明らかとなった。がん組織における DMTS 産生の痕跡として、細胞内機能性たんぱく質のシステイン残基の修飾を定量的に解析する方法の開発についても報告する。

14. 核内受容体アゴニスト中共役ポリエーテル構造の異性化における多硫化水素の役割について

相内 彩伽¹, 瀧川 雄太², 輿石 一郎²

(1 群馬大医・保・検査技術科学)

(2 群馬大院・保・生体情報検査科学)

【背景と目的】 核内受容体のアゴニストとして作用する

脂質過酸化物類縁体は共役ポリエーテル構造を有するが、その立体構造の異性化はその生物作用を左右する。我々は、15-リポキシゲナーゼ (15-LOx) と多価不飽和脂肪酸との反応で生成する脂質過酸化物類縁体は Cis/Trans 型の共役ポリエーテル構造を有するが、脳神経系に存在することが知られている多硫化水素を共存させると Trans/Trans 構造体が産生されることを見出した。本研究では、15-LOx 反応産物の異性化が、(1) 15-LOx 反応の Stereospecificity の低下によるものなのか、(2) 反応生成物と多硫化水素との直接反応によるものなのかについて検討した。

【材料と方法】 モデル反応系として、大豆由来 15-LOx、多価不飽和脂肪酸としてリノール酸、多硫化水素として二硫化水素および三硫化水素を用いた。反応生成物の同時定量は二波長 UV 検出 HPLC を用いて行った。

【結果】 生成する HpODEs, HODEs および OxoODEs の異性化率は OxoODEs が最も高く 100 μ M 三硫化水素存在下では 80% を超えた。生成物の時間変化を追跡したところ、酵素反応の停止後も異性化が進行することが明らかになった。また、本反応系にラジカルスカベンジャーである Trolox を添加したところ、濃度依存的に異性化が抑制された。

【考察と結語】 これらの結果より、多硫化水素存在下 15-LOx とリノール酸との反応により生成する過酸化物類縁体の異性体生成は、反応生成物と多硫化水素の直接反応により進行し、この異性化にラジカル反応が関与することが明らかとなった。さらに、本発表では、レチノイド X 受容体 (RXR) の内因性アゴニストである 9-Cis-レチノイン酸の産生について、多硫化水素による All-Trans-レチノイン酸の異性化の可能性について報告する。

15. 特定時期における膵内分泌細胞の運命変換機序の解明

佐藤 隆史, 中川 祐子, 深石 貴大

福中 彩子, 藤谷与士夫

(群馬大・生調研・分子糖代謝制御)

【背景と目的】 膵ランゲルハンス島 (ラ氏島) はインスリンを産生する β 細胞をはじめとする数種の内分泌細胞で構成されている。ラ氏島では、膵ポリペプチド (Pancreatic polypeptide; PP) を産生する γ 細胞がわずかの割合を占めており、この PP をコードする Ppy 遺伝子はこの細胞に特異的に発現する。PP やその産生細胞である γ 細胞の生理的意義は未だ不明とされているが、我々のグループは、Ppy 遺伝子座に Cre をノックインしたマウス (Ppy-Cre) と、Cre 依存的に蛍光タンパク質を発現するレポーターマウスを交雑し、Ppy 発現細胞の系譜追跡を行なったところ、 γ 細胞だけでなく δ , β , α などを含むすべての内分泌細胞が Ppy 遺伝子の発現を経て分化することを見出し、これが分化後の β 細胞の不均一性に寄与することを見出した。(Fukaishi T. et al., 2021) 本研究では、この Ppy 発現細胞からの各種内分泌細胞の分化時期を特定するため新たにマウス遺伝学

による解析系を構築した。

【材料と方法】 本研究では、この Ppy 発現細胞からの各種内分泌細胞の分化時期を特定するため、tamoxifen 誘導型 Cre を PP 細胞特異的に発現するノックインマウス (Ppy-CreERT2) を作製し、これに Cre 依存的なレポーターである Rosa26tdTOMATO マウスを交雑させ、出生後の各生育段階で tamoxifen 誘導後 Ppy 発現細胞の運命追跡を行った。

【結果】 出生後の Cre を誘導し各段階で tamoxifen 誘導後 β 細胞に分化した Ppy 陽性細胞系譜の割合をカウントした結果、 γ 細胞以外の細胞への分化の頻度は生後 2 週まで出生後の比較的早い時期でより高く、成熟後の 10 週齢では極めて低いことが明らかになった。また、胎児期など更に早い段階での解析を容易にするため、比較的生殖毒性の低いテトラサイクリンで誘導可能な Tet-ON system で、運命追跡の系を新たに構築すべく Ppy 遺伝子座に rtTA を挿入したマウスの作製を行っている。

【考察と結語】 以上の結果から、 β 細胞をはじめとする膵内分泌細胞の一部は、器官形成や器官成熟の過程で Ppy 遺伝子の発現経て分化成熟するものと考えられた。現在、この分化系譜の詳細な役割を解明すべく、マウス遺伝学的手法を基盤としたさらなる解析を進めている。また現在構築中の Tet-ON system を用いた解析系は CreER の系よりもさらに簡便に時期特異的な遺伝子欠損ならびに導入遺伝子の発現誘導による γ 細胞機能解析を可能にすると期待している。

16. 精神科訪問看護における看護師の家族ケアの困難に関する文献検討

小西美里^{1,2}, 近藤 浩子¹

(1 群馬大院・保健学研究科)

(2 群馬県立県民健康科学大・看護学部)

【背景と目的】 精神科訪問看護の対象は、精神障害者とその家族であり、訪問看護師には家族も含めた質の高いケアが求められている。しかしながら、訪問看護師が、家族の抱える問題にどう支援すれば良いのか分からないと困惑している現状が報告されている (飯村ら, 2009)。そこで、本研究は、精神科訪問看護を実施する看護師の家族ケア上の困難の特徴を明らかにし、精神科訪問看護の家族ケアの質向上に向けた課題を検討することを目的とする。

【材料と方法】 医中誌 Web 版の原著論文から、キーワードを「精神科訪問看護」「訪問看護師」「家族」「困難」「課題」として文献を抽出した。そのうち文献検討、事例報告、研究目的に合致しないものを除外し、精神科訪問看護の家族ケアの現状や困難さが示されている文献を選定して、看護師の家族ケア上の困難を類似性により整理した。

【結果】 選定した 20 文献は、精神科訪問看護の現状調査が 7 件、看護師の困難さや思いを解明した調査が 10 件、看護師の困難の対処や乗り越えた体験を解明した調査が 3 件であった。訪問看護師の家族ケア上の困難には、【家族の

理解不足に関する困難】【精神的問題をもつ家族への対応に関する困難】【家族間の関係調整に関する困難】【家族との関係構築に関する困難】があった。訪問看護師は、利用者の疾患や支援の必要性の理解が得られない家族や、利用者に過干渉や批判的な態度をとる家族への対応に困難さを抱えていた (林, 2010, 谷口ら, 2015)。さらに、家族との関わり方や支援方法に苦慮する看護師の現状 (小野田, 2011) も示されていた。

【考察と結語】 訪問看護師の家族ケア上の困難には、家族の理解不足、精神的問題をもつ家族への対応等の 4 つの特徴があった。よって精神科訪問看護の家族ケアの質向上に向けた課題として、利用者の疾患や支援の必要性に対する家族の理解を促すこと、そのために様々な問題をもつ家族の特性に合わせた対応力を養う訪問看護研修の提供が重要であることが示唆された。

17. 慢性腎臓病患者の病に対する思いの研究

—テキストマイニングによる分析—

金子 芽生¹, 岡 美智代², 松本 光寛²

高橋さつき², 宮崎 香那³, 常松 花音¹

吉田 莉紗¹, 遠藤 千波⁴, 片桐 舞花⁵

猪熊 綾子⁶, 戸塚亮太郎⁶, 白土菜津実⁷

廣村 桂樹¹

(1 群馬大医・附属病院)

(2 群馬大院・保健学研究科)

(3 群馬県済生会前橋病院)

(4 上尾中央総合病院)

(5 長岡赤十字病院)

(6 群馬大院・保・博士前期課程)

(7 群馬大院・保・博士後期課程)

【背景と目的】 本研究の目的は、「聞き書き」で語られた慢性腎臓病 (以下、CKD) 患者の語りに、どのような言葉が多く用いられているのか、言葉と言葉の繋がりや関係についてテキストマイニングによって分析することで、CKD 患者が抱える病への思いを数量的に明らかにすることである。これらを通して、CKD 患者の思いを尊重した支援方法の示唆を得る。

【材料と方法】 研究対象者は「聞き書き」を受けた保存期 CKD 患者 7 名、透析患者 21 名。「聞き書き」での語りを逐語録に起こし、「病への思い」についての語りを選定しコード化した。分析は Text Mining Studio Ver6.4 を使用し、基本情報、単語頻度解析、係り受け頻度解析を行った。

倫理的配慮：群馬大学人を対象とする医学系研究倫理審査委員会にて承認を得た。(試験番号：HS2017-064, HS2017-256, HS2018-156)

【結果】 保存期 CKD 患者では、単語頻度解析の結果、名詞では【病気】が、形容詞では【こわい】【大変】【仕方ない】【嫌】が、動詞では【生きる】が、係り受け頻度解析では、〈病気—知る+したい〉が最も多く抽出された。

透析患者では、単語頻度解析の結果、名詞では【透析】が、形容詞では【辛い】が、動詞では【気を付ける】が、係り受け頻度解析では、〈透析—覚悟できる、嫌、時間、続ける、痛い、来る〉が最も多く抽出された。

【考察と結語】 保存期CKD患者は自身の病気について興味関心があると同時に、病気についてもっと知りたいという思いがあると考えられた。また、病気と向き合い1日でも長く生きたいという前向きな思いがあることが考えられた。

透析患者は、透析や自己管理などの治療に対して辛い思いがあることが考えられた。透析治療に対しては、透析による疼痛や時間的制限に対して苦痛が生じていることが考えられた。

18. 慢性腎臓病患者における聞き書きへの思いのテキストマイニング分析：カードと冊子による介入の比較

宮崎 香那¹、岡 美智代²、松本 光寛²
高橋さつき²、金子 芽生³、常松 花音³
吉田 莉紗³、遠藤 千波⁴、片桐 舞花⁵
猪熊 綾子⁶、戸塚亮太郎⁶、白土菜津実⁷
廣村 桂樹³

- (1 群馬県済生会前橋病院)
- (2 群馬大院・保健学研究科)
- (3 群馬大医・附属病院)
- (4 上尾中央総合病院)
- (5 長岡赤十字病院)
- (6 群馬大院・保・博士前期課程)
- (7 群馬大院・保・博士後期課程)

【背景と目的】 「聞き書き」とは対象者のレジリエンスを高めることを目的とした介入である。その方法は、対象者の語りを、誕生日カードのようなカードにその人らしさが現れている言葉を記載する方法と、冊子にしてお渡しする方法がある。本研究では慢性腎臓病（CKD）患者への「聞き書き」の2つの介入方法の相違による影響を明らかにすることである。

【材料と方法】 CKD患者が語り手、看護師と看護学生が聞き手になり「聞き書き」を実施した。その際、CKD患者へのカードによる聞き書き介入群（カード群とする）と、冊子による聞き書き介入群（冊子群とする）の受け取り後の思いについて語られた言葉を、テキストマイニングにて分析・比較した。本研究ではこの聴取した内容を逐語録に起こし、カード群と、冊子群に分けてコード化しText Mining Studio Ver6.4にてテキストマイニング分析を行った。

倫理的配慮：群馬大学人を対象とする医学系研究倫理審査委員会にて承認を得た。（試験番号：HS2017-064, HS2017-256, HS2018-156）

【結果】 カード群は21名であり、名詞の単語頻度解析では【カード】【自分】、動詞の単語頻度解析では【見る】【書

く】の単語の出現頻度が高かった。冊子群は7名であり、名詞の単語頻度解析では【冊子】【自分】、動詞の単語頻度解析では【読む】【話す】の単語の出現頻度が高かった。

【考察と結語】 名詞の単語頻度解析の結果から、聞き書きは両群に共通して自分の強みに気づき自己肯定感を高める効果があること、自分のことを知ってほしいという思いを叶える効果があると考えられる。さらに、聞き書き介入は医療者が介入することで、治療を継続していく上で自分の周りにはこういう人たちがいるんだという安心感、心強さを感じ信頼関係の構築につながることも推測される。

動詞の単語頻度解析の結果から、聞き書きカードは繰り返し見てもらいやすいこと、聞き書き冊子は自分の世界に入って自分の考えや言動を深く見つめ直すことができると考えられる。

19. がん患者の終末期医療処置に対する看護師のジレンマへの倫理調整

松本 幸姫^{1,2}、角田 明美²、大谷 貴子²
明石 直樹³、瀬沼麻衣子⁴、塚越 徳子⁴
京田亜由美⁴、近藤 由香⁴

- (1 群馬大院・保・博士前期課程)
- (2 群馬大医・附属病院・看護部)
- (3 群馬大医・附属病院・血液内科)
- (4 群馬大院・保健学研究科)

【背景と目的】 A氏（80歳代、男性）は悪性リンパ腫の中枢神経再発により認知機能低下がみられ、妻がA氏の推定意思による代理意思決定を行っていた。A氏は看取りも視野に入れ療養型病院へ転院予定であったが、転院前に輸液目的の中心静脈カテーテルを留置するか否かについて家族と共に検討が行われていた。終末期であるA氏に侵襲を伴う処置を行うかどうかへの看護師のジレンマに対して、倫理的問題解決に向けた調整を行った。

【材料と方法】 がん看護専門看護師コースの学生として倫理調整を行った。1. 関係者との面談による医療倫理の4原則を用いた問題の明確化と、2. 看護カンファレンスによる検討を行った。倫理的配慮として、説明文書を用いてA氏の家族に説明を行い、介入および発表に対して承諾を得た。

【結果】 1. 主治医、病棟看護師、A氏、妻と面談を行い、中心静脈カテーテル留置に関するそれぞれの思いや考えを抽出し、問題を整理した。その結果、輸液が必須と考える主治医（善行の原則）末梢ルート穿刺の負担を減らしたい家族（無危害の原則）の価値に、リスクについて家族の理解に疑問がある看護師（無危害の原則・自律尊重の原則）の価値の違いによるジレンマが生じていたことが明らかとなった。2. 看護カンファレンスで、倫理的問題の共有とA氏および家族に対する最善の支援について検討した。その後、主治医と意見交換を行い、医師と看護師がそれぞれ大切にしている考えを共有し、チームとして問題に

取り組めるように関わった。最終的に、A 氏の延命治療はしない考えを尊重し、処置はせずに転院することとなった。

【考察と結語】 医療倫理の 4 原則を用いて関係者の考えを整理したことで、倫理的ジレンマ解消に向けた効果的なカンファレンスを行うことができ、主治医と看護師間の相互理解を深めることができた。倫理的問題に対して多職種で検討していくことの重要性が明らかとなった。

20. ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼの活性測定を可能にする基質の合成

鈴木 里彩¹, 須藤 豊², 奥石 一郎¹
柴田 孝之¹

- (1 群馬大院・保健学研究科)
(2 高崎健康福祉大・薬学部)

【背景と目的】 ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ (DPD) は、抗がん剤である 5-フルオロウラシル (5-FU) を代謝する酵素である。DPD 活性が正常の場合、投与された 5-FU の約 90% は不活化するが、DPD 活性を欠損すると大部分が未変化で体内に残り、死を含む重篤な副作用を引き起こす。よって、5-FU の投与前に DPD 活性を調べる必要がある。しかし、DPD 活性をスクリーニング検査する技術は未だ開発されていない。DPD 活性測定を難しくする要因の 1 つは、DPD 生成物の吸光度法による検出が難しいことである。そこで本研究では、DPD 生成物の吸光度検出を可能とするような DPD 基質の合成、およびこれを用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法による DPD 活性測定を試みた。

【材料と方法】 6-プロモ-1-ヘキサノールを出発原料として、水素化ナトリウムと 4-メトキシベンジルクロリドを加えて終夜攪拌をした。次に、マロン酸ジエチルを加えて加熱攪拌し、その後エタノール溶液中で尿素と加熱還流を行った。また、別の経路として、ジプロモブタンを出発原料として炭酸カリウムとニトロフェノールで同様の操作を行った。合成した化合物は、NMR と ESI-MS にて構造決定した。

【結果】 バルビツール酸の 5 位に、アルキルリンカーを介して芳香族性の官能基である 4-メトキシフェニル基が結合した化合物を白色粉末として得た。同様に、リンカー末端に 4-ニトロフェニル基が結合した化合物を淡黄色粉末として得た。これらの結果より、ウラシル前駆体であるバルビツール酸誘導体に UV-active な官能基を連結した化合物を収率よく合成できたといえる。

【考察と結語】 今後は、これらの化合物に 6 位カルボニル基の還元を行い、目的のウラシル誘導体を合成する。合成後は、直ちに DPD 反応に供し、これらが DPD の基質と成り得るか、DPD 生成物の吸光度を測定するのみで DPD 活性を算出できるか、等を詳細に検討する予定である。

21. 大腸上皮幹細胞ニッチである DCS 細胞の細胞系譜解析

青柳 瑠南^{1,2}, 小田 司¹, 宮内 英治¹
齋藤 貴之³, 佐々木伸雄¹

- (1 群馬大・生調研・
粘膜エコシステム制御)
(2 群馬大医・保・検査技術科学)
(3 群馬大・保健学研究科)

【背景と目的】 腸管上皮細胞は、カラダの中で最もターンオーバー速度が速く、陰窩底部に存在するごく少数の幹細胞によってそれが担われている。幹細胞の恒常性維持には、その微小環境 (ニッチ) が重要であり、大腸上皮幹細胞では、Reg4 + Deep Crypt Secretory (DCS) 細胞がニッチとして同定されている。興味深いことに DCS 細胞は大腸上皮幹細胞から産出されるが、DCS 細胞がどのような運命決定を受け、分化するかについては未だ不明である。そこで、本研究では DCS 細胞の運命決定機構を究明することで、組織恒常性機構の新しい知見を見出すことを目的とする。

【材料と方法】 腸管上皮を構成する細胞系譜は、栄養などを吸収する吸収系細胞と粘液・ホルモンなどを放出する分泌系細胞の 2 種類に大別することができる。まず我々は分泌系細胞への分化を完全に抑制することができる Atoh1 遺伝子条件付きノックアウト (cKO) マウスを用いて、腸管上皮における DCS 細胞の発生を観察した。本研究の Atoh1 cKO マウスでは、成体マウスにタモキシフェンを注射することで腸管上皮特異的に Atoh1 の機能を欠失できる。対照群や Atoh1 cKO マウス腸管上皮を HE・PAS で染色、ならびに DCS 細胞の特異的マーカーである抗 Reg4 抗体を利用した免疫組織化学染色を行い、DCS 細胞の発生過程を時空間的に観察した。

【結果】 Atoh1 cKO マウスにタモキシフェン注射した後、1, 3, 7, 10, 14 日目の大腸上皮を回収し、Reg4 + 細胞を指標に DCS 細胞数をカウントした。その結果、対照群と比較して Atoh1 cKO マウスの大腸上皮では、タモキシフェン注射後 3 日目から Reg4 + DCS 細胞数の顕著な減少が見られ、7 日目には Reg4 + DCS 細胞が完全に消失していた。

【考察と結語】 分泌系細胞の分化マスター遺伝子である Atoh1 ノックアウトマウスにおいて、Reg4 + DCS 細胞が完全に消失したことから、DCS 細胞は分泌系細胞の 1 種である可能性が示唆された。今後は、Reg4 + 細胞の系譜を直接追跡できるマウスを作製し、DCS 細胞の発生過程を長期間にわたり観察する予定である。

22. 温度感受性 TRPV4 チャンネルによる乾癬の病態制御機構の解明

Syahla Nisaa Amalia, Akihiko Uchiyama,
Hritu Baral, Chisako Fujiwara,
Yuta Inoue, Yoko Yokoyama,
Sachiko Ogino, Ryoko Torii,
Mari Hosoi and Sei-ichiro Motegi
(Department of Dermatology, Gunma
University Graduate School of Medicine)

【背景と目的】 乾癬は免疫機能の異常により生じる皮膚の炎症性疾患である。温度感受性 Transient Receptor Potential (TRP) チャンネルの1つである TRPV4 は表皮細胞や神経線維、免疫細胞に発現する。近年、我々はヒト乾癬の皮疹部で TRPV4 の発現が亢進することを見出し、その病態への関与が考えられた。本研究では未だ解明されていない TRPV4 による乾癬の制御機構を解明することを目的とした。

【材料と方法】 イミキモド外用誘導乾癬様皮膚炎モデルを用いて野生型 (WT) マウスと TRPV4 遺伝子欠損 (KO) マウスおよび TRPV4 アンタゴニスト投与による皮膚炎の重症度を比較した。皮膚炎部の皮膚組織を用いた組織学的検討、炎症性サイトカインの発現について検討を行った。また TRPV4 による表皮細胞における増殖能、ATP 産生能について *in vivo*, *in vitro* での検討を行った。

【結果】 TRPV4 遺伝子欠損マウスでは乾癬様皮膚炎の重症度が有意に軽減し、表皮細胞の増殖能、ATP 産生能、炎症性サイトカイン (IL-17A, IL-17) の発現、炎症細胞浸潤、神経線維の延長および神経ペプチドの発現が野生型マウスと比較して有意に抑制された。さらに TRPV4 アンタゴニスト投与によって乾癬様皮膚炎は有意に抑制された。

【考察と結語】 TRPV4 は表皮の増殖や ARP 産生、神経ペプチドの産生などを介して IL-23/Th17 経路を活性化し、乾癬の病態を制御する可能性が示唆された。TRPV4 は乾癬の治療に関する新たな創薬のターゲットとなる可能性が期待される。

23. 食食抑制受容体 SIRPα の遺伝子多型と造血器腫瘍病態との関連解析

堀 鮎香, 後藤 七海, 齋藤 貴之
大西 浩史

(群馬大院・保・生体情報検査科学)

【背景と目的】 マクロファージに高発現する膜型分子 SIRPα は、食食標的上の膜型分子 CD47 と相互作用して、マクロファージ食食を抑制する。一部のがん細胞は CD47 を高発現し、CD47-SIRPα シグナルにより食作用を抑制して排除を免れると考えられており、中和抗体などを用いて、CD47-SIRPα 結合阻害によるがん細胞排除が試みられている。SIRPα の細胞外にはイムノグロブリン様ドメイン (IgD) があり、N 末端 IgD が CD47 と相互作用する。この N 末端

IgD にはアミノ酸置換を伴うミスセンス遺伝子多型が集中しており、CD47-SIRPα シグナルの作用に個体差を生み出し、がんの発症や病態へ影響する可能性があるが詳細は明らかではない。本研究では、造血器腫瘍 [多発性骨髄腫 (MM)、急性骨髄性白血病 (AML)、骨髄異形成症候群 (MDS)] の患者において、SIRPα 遺伝子の 1 塩基遺伝子多型 (SNP) を手がかりに N 末端 IgD ドメイン構造の違いを解析し、SIRPα の多様性と造血器腫瘍の病態との関連を検討した。

【材料と方法】 MM 患者 (133 名)、AML 患者 (112 名)、MDS 患者 (121 名) と健常者 (117 名) を対象に PCR-RFLP 法で SIRPα 遺伝子の SNP (rs1057114) を解析した。

【結果】 これまでの解析では 3 つの疾患について健常者との間でアレル頻度に有意な差は認められていない。現在、各疾患の臨床背景と SIRPα 遺伝子型の違いについてさらに解析を進めている。

【考察と結語】 本研究により、食食制御因子の遺伝子多型と造血器腫瘍病態との関連について、新たな知見が得られることが期待される。

24. マウスモデルを用いた慢性期シャーガス病治療薬の探索

古川 眞衣, 鬼塚 陽子, 西島 良美
齊尾 征直, 嶋田 淳子

(群馬大院・保・生体情報検査科学)

【背景と目的】 *Trypanosoma cruzi* はシャーガス病を引き起こす細胞内寄生原虫である。シャーガス病の慢性期では心臓及び消化管などで重篤な症状を引き起こす。これらの症状は免疫介在性炎症疾患であるという説が提唱されているが、それに対する薬剤開発はほとんど行われていない。現在、治療にはベンズニダゾール (BZL) とニフルチモックスの 2 種類しかなく、どちらも長期投与が必要であり、副作用の発生頻度が高く慢性期への効果が低いため、新薬の開発が強く必要とされている。本研究では治療薬候補として抗炎症作用が期待される化合物 X を用いて *in vivo* における抗炎症作用の検討を行った。

【材料と方法】 C57BL/6 マウスに *T. cruzi* Y 株を 1×10^5 parasites 腹腔投与した。感染マウスを Control 群、BZL 投与群、化合物 X 投与群に分け、感染後週に 3 回経口投与を行った。投与開始から 8 週間後、マウスを解剖し、作製した心臓病理切片から組織学的解析を行った。加えて、その病理標本から線維化を定量解析した。また、心臓組織における免疫細胞マーカーや炎症性サイトカインマーカーの発現、原虫量を qPCR を用いて解析した。測定結果は Dunnet の検定を用いて多重分析を行った。

【結果】 病理標本の定量解析では化合物 X 投与群は Control 群と比較し HE 染色のリンパ球の浸潤量、Masson-Trichrome 染色の線維化で減少傾向がみられた。また、心臓組織を用いた qPCR では Control 群と比べ化合物 X 投

与群で CD4 陽性 T 細胞遺伝子発現量が減少傾向であった。

【考察と結語】 化合物 X 投与群は *T. cruzi* 感染マウスの心臓で CD4 陽性 T 細胞遺伝子発現量、リンパ球の浸潤量、線維化に減少傾向が見られたため、心筋炎を抑制する効果があると考えられる。しかし、化合物 X は急性期よりも慢性期に効果があると予想されており、急性期と慢性期の移行期である感染 8 週での解析では有意差が出にくかったと考えられる。そこで、化合物 X の慢性期への効果を解析するため、さらに長期間の経口投与を行い心エコーを用いた心機能の評価による化合物 X の抗炎症作用の検討を行った。

25. 前橋市内のケアマネジャーから把握した地域在住の介護保険利用者の死亡・急変時の状況

龍崎 直子¹, 高柳 亮², 下田 隆也²
寺島 祐子³, 下田 晶子⁴, 小川 葉子⁵
須田 旬子⁶, 剣持 淳子⁷, QIJUN YAN⁷
牛久保美津子⁷

- (1) おうちで療養相談センターまえばし)
- (2) 前橋市医師会)
- (3) あなたサポート)
- (4) 上武呼吸器科内科病院)
- (5) 済生会前橋病院)
- (6) 群馬中央病院老人保健施設)
- (7) 群馬大院・保健学研究科)

【背景と目的】 各自治体による地域包括ケアシステムの構築が進んでいる。本研究は、地域住民が住み慣れた地域で最期まで暮らせるように、前橋市内のケアマネジャー(ケアマネ)から地域在住の介護保険利用者の死亡と急変時の状況を把握することを目的とした。

【材料と方法】 前橋市内の居宅介護支援事業所等 155 か所に勤務するケアマネを対象にした無記名式オンライン調査を令和 4 年 4 月に実施し 164 名より回答を得た。うち令和 3 年度の利用者の中に死亡者がいたと回答した 133 名を分析対象とした。分析項目は、回答者の基本属性、令和 3 年度に死亡した利用者の死亡場所、訪問診療と訪問看護の利用状況、自由意見等で構成した。責任著者の所属する大学の倫理委員会より承認を得た。

【結果】 1. 回答者概要：年齢は 40 歳代と 50 歳代が各 3 割、ケアマネ経験 10 年以上が 105 名 (79.0%)、勤務先が居宅介護支援事業所 111 名 (83.5%) であった。2. 死亡場所について：「病院死がいた」と回答したケアマネは 108 名 (81.2%) であった。うち「在宅看取り希望であったが病院死の利用者がいた」と回答したケアマネは 23 名であった。3. 救急対応について：令和 3 年度に救急車で入退院を繰り返した利用者が「いる」との回答は 69 名 (42.1%) より得られた。うち「訪問診療医なし」との回答は 5 割、「訪問看護の利用なし」は約 3 割、「両方なし」は 2 割であった。緊急入院の理由は心不全悪化、誤嚥性肺炎、転倒による骨

折が多かった。在宅サービスの追加等で新たな再入院対策をしているとのことであった。

【考察と結語】 在宅死を希望し病院死となった利用者は少なくない。本人の意向に沿った最期を迎えられるよう、病状悪化の際の対応について、医療と介護の連携強化が重要である。

26. 腹部への鈍的外傷により S 状結腸部分拡張部の破裂を来した小児の 1 例

福田 治紀¹, 佐野 利恵¹, 早川 輝^{1,2}
高橋遥一郎³, 窪 理英子¹, 武井 宏之⁴
徳江 浩之⁵, 小湊 慶彦¹

- (1) 群馬大院・医・法医学)
- (2) カロリンスカ研究所・腫瘍病理)
- (3) 筑波大・医学医療系法医学)
- (4) 群馬大医・附属病院・放射線科)
- (5) 群馬大医・附属病院・

放射線診断核医学)

【背景と目的】 死後コンピューター断層撮影 (PMCT) は、法医学分野で幅広く利用されている。今回 PMCT に基づく 3 次元再構成画像および解剖結果の統合が、腸管破裂を惹起した腹部への鈍的外力の作用機序の推定に有用であった症例を報告する。

【材料と方法】 4 歳の男児。遊び時間に保育園の園庭で泣きながら倒れているところを発見され、腹痛の訴えがあり病院を受診した。宿便が見られたため便秘を疑われ、便秘薬を処方され帰宅した。症状改善なく徐々に意識レベルの低下、7 時間後に心肺停止状態となり 9 時間後死亡が確認された。監視カメラの映像からは車のハンドルを操作するかのようにフラフープを持って走っていた際、前方に倒れたと考えられた。フラフープが腹部に直撃した疑いがあり死因究明のため司法解剖が行われた。

【結果】 PMCT では腹腔内遊離ガス、腹水等の腹膜炎を示唆する所見と S 状結腸の部分的拡張と便の貯留を認められた。

外表検査では腹部に明らかな出血等の外傷は認めなかったが、内景検査では腹壁の軟部組織内出血を認めた。S 状結腸は部分的に拡張し、腹壁の軟部組織内出血と対応した部に破裂部があり腹膜炎を認めた。

病理組織学的検査では S 状結腸の拡張部は炎症を認めたが、それ以外は正常な組織像を示し Hirschsprung 病の所見を認めなかった。

【考察と結語】 腹部の 3 次元再構成画像にフラフープ画像を加えた融合画像を作成し剖検所見と比較したところ、腹部への鈍的外力作用により、部分的に拡張した S 状結腸が脊椎との間で圧迫され、腸管破裂が惹起されたと考えられた。

以上より死因は腹部打撃に基づく S 状結腸部分拡張部の破裂による腹膜炎であり、フラフープの腹部への打撃に

よって生じたと考えられた。

本症例ではPMCTに基づく融合画像と解剖結果とを比較することで、外力作用の機序が明らかとなり死因の検証に有用であった。

27. Mir-143/145はTGF- β 1による糸球体上皮細胞障害に関与している

田部井彬史, 坂入 徹, 大石 裕子

渡辺 光治, 中里見征央, 浜谷 博子

池内 秀和, 金子 和光, 廣村 桂樹

(群馬大院・医・腎臓・リウマチ内科学)

【背景と目的】 TGF- β 1は糖尿病性腎臓病を始めとした糸球体疾患の糸球体上皮細胞障害に関与している。また、我々は以前、TGF- β 1が、細胞の正常機能維持に必要な転写因子WT1を低下させることにより、糸球体上皮細胞の障害を惹起させる可能性があることを報告した。microRNA(miR)は、19-25塩基の内因性の一本鎖ノンコーディングRNAで、主にターゲット遺伝子の転写後発現抑制を行っている。本研究の目的は、TGF- β 1によるポドサイト障害に関与するmiRを同定することである。

【材料と方法】 TGF- β 1を作用させたヒト培養糸球体上皮細胞とTGF- β 1を作用させないコントロールのヒト培養糸球体上皮細胞のそれぞれからRNAを抽出し、miR-microarrayを行った。

【結果】 miR-microarrayの結果、TGF- β 1を作用させた糸球体上皮細胞において、コントロールと比べ最も発現量の差が大きかったmiRはmiR-143であった(log₂スケールで2.33倍の増加、 $p=0.000077$)。この結果を定量的RT-PCRで検証したところ、培養ヒト糸球体上皮細胞において、TGF- β 1の作用により時間依存性、濃度依存性にmiR-143は有意に増加することが確認された。miR-143とクラスターを形成し、同様の制御が予測されるmiR-145も解析したところ、同様に有意に増加した。機能的意義をみるためにレンチウイルスベクターで培養ヒト糸球体上皮細胞にmiR143/145をそれぞれ強制発現したところ、いずれもWT1が低下した。さらに、TGF- β 1の下流のSmadシグナルとmTORシグナルを阻害することにより、TGF- β 1によるmiR-143/145の増加及びWT1の減少が抑制された。最後に2型糖尿病性腎症モデルのdb/dbマウスの単離糸球体でのmiR-143/145の発現を解析したところ、正常コントロールマウスと比べいずれも有意に増多していた。

【考察と結語】 miR143/145は、TGF- β 1によりSmadシグナルとmTORシグナルを通して増加し、TGF- β 1によるWT1低下を仲介することで、糖尿病性腎臓病でのポドサイト障害に関与している可能性がある。miR-143/145の発現を直接的あるいは間接的に抑制することによる糖尿病性腎臓病をはじめとした糸球体疾患の治療の開発が期待される。

28. ヒト肝組織のSirius Red染色におけるリンモリブデン酸前処理の非特異的染色性低減効果の検討

百足 ゆい, 小林さやか, 西島 良美

齊尾 征直

(群馬大院・保・生体情報検査科学)

【背景と目的】 今回我々はPicrosirius Red染色(PSR)の際に、リンモリブデン酸で前処理を行うことの有用性を検討したので報告する。

【材料と方法】 ヒトの原発性肝癌の非癌部組織3例を用いた。PSRとリンモリブデン酸前処理シリウスレッド染色(PMA-PSR)時における核の非特異的染色性を比較した。またVirtual slide scanner(VSS)で標本全体の画像をVirtual slide dataとして取り込み、各染色法におけるSirius Red(SR)陽性領域の陽性率をWhole slideで解析した。

さらに未染色とPMA単独染色標本における紫外線の5分間照射およびVSS光源の10回曝露による色調変化を検討した。

【結果】 PSRと比較してPMA-PSRにおいて核の非特異的染色性が抑制された(核の非特異的染色を認めた症例; PSR:3症例/3症例中, 100%, PMA-PSR:0症例/3症例中, 0%)。またSR陽性領域は、PSRが0.45%に対し、PMA-PSRは1.23%と約2.73倍の値が得られたが、t検定では有意差は認められなかった(PSR vs PMA-PSR, P 値=0.2050)。さらにPMA単独染色では5分間の紫外線照射で標本が青変し、VSS光源の10回曝露においても標本の青変が確認された。

【考察と結語】 我々の見出したPMAで前処理するPSR染色法では核の非特異的染色性が抑制できるため、Whole slideデータを解析する際に、前処理を用いないPSR染色法より正確に膠原線維の定量を行うことができる。統計学的な有意差は得られなかったが、SR陽性領域の陽性率は、PMA-PSRではPSRと比較して3例全てがPSRよりも高値であった。したがって今後症例数を増やして検討を行うべきと考えられた。

またPMAは紫外線やVSS光源によって青変しないPMAにかわる物質の検討が必要である。

29. 温度感受性TRPV4チャネルによる皮膚創傷治癒の制御機構の解明

バヤルマー タイワンバト, 山崎咲保里

内山 明彦, 荻野 幸子, 横山 洋子

細井 真理, 鳥居 良子, 茂木精一郎

(群馬大院・医・皮膚科学)

【背景と目的】 温度感受性Transient Receptor Potential(TRP)チャネルは身体の様々な部位に発現し、温度や化学的・物理的刺激で活性化し様々な生態機能を制御する。TRPチャネルの一つであるTRPV4は表皮細胞に高発現し、皮膚のバリア機能や炎症性サイトカイン産生の制御に関与することが知られている。しかし、TRPV4による皮膚創傷

治癒の制御機構については未だ明らかとなっていない。本研究ではそれを解明することを目的とした。

【材料と方法】 野生型 (WT) マウスと TRPV4 遺伝子欠損 (KO) マウスを用いて皮膚創傷治癒モデルの実験を行った。皮膚潰瘍部の皮膚組織を用いて組織学的検討 (再上皮化, 肉芽形成) を行った。またマウス表皮初代培養細胞を用いて遊走能に関する *in vitro* の検討を行った。TRPV4 による表皮細胞の MAP キナーゼの制御および線維芽細胞のコラーゲン産生に関してウエスタンブロット法, qPCR 法で検討を行った。

【結果】 TRPV4 KO マウスでは創傷後 3~8 日において創傷治癒が有意に遅延した。組織学的検討において

TRPV4KO マウスでは創傷部位における再上皮化や肉芽組織の形成, 1 型コラーゲン量や α SMA 陽性細胞数が WT マウスと比較して有意に減少した。*In vitro* の検討において TRPV4KO マウス由来表皮細胞の遊走能は WT マウス由来表皮細胞と比較して有意に減少した。TRPV4 アンタゴニスト (HC-067047) 刺激によって表皮細胞における ERK のリン酸化および線維芽細胞による mRNA レベルでの 1 型コラーゲンや α -SMA の発現が有意に減少した。

【考察と結語】 TRPV4 は皮膚創傷治癒において MAP キナーゼを亢進させることで表皮細胞の遊走や線維芽細胞の分化や 1 型コラーゲンの産生を制御することで創傷治癒を促進させる可能性が考えられた。