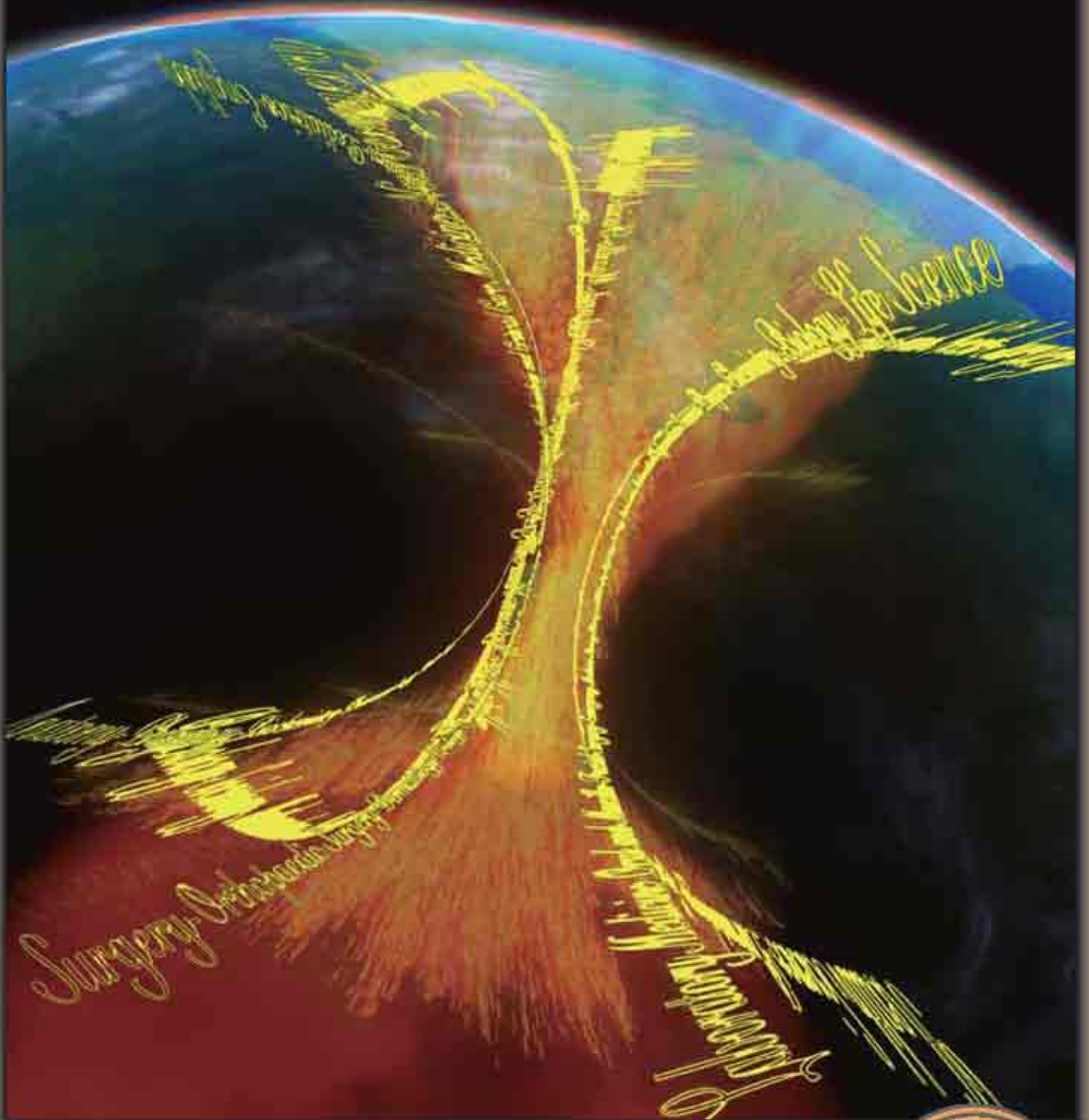


# 旭川医科大学研究フォーラム



旭川医科大学研究フォーラム

第九巻第一号

2009年3月号

Asahikawa Medical College Research Bulletin

2009  
Mar.  
Vol. 9 No. 1

# 旭川医科大学研究フォーラム 第9巻第1号 (平成21年3月刊) 目次

## 依頼論文

青年期のこころの健康と保健看護活動……………	作 宮 洋 子	2
LEC ラットならびにウィルソン病患者における尿中銅の状態……………	宍戸 直美・中山 憲司・中村 正雄	11

## エッセイ

コート上の研究史 ―中央研究施設に感謝をこめて―……………	片 桐	一	24
-------------------------------	-----	---	----

## 投稿論文 (原著・査読済み)

旭川医科大学病院における手術部物品管理システムに関する分析……………	柴山 純一・平田 哲・瀬川 澄子	26
------------------------------------	------------------	----

## 投稿論文 (研究報告・査読済み)

環境整備における状況設定型学習を体験した看護学生の学び……………	升田由美子・一條 明美・高岡 哲子	34
----------------------------------	-------------------	----

## 依頼稿

平成19年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題

1) ヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG) による損傷神経再生の促進……………	研究代表者 村上 公一	45
2) 精子運動時のエネルギー代謝の多様性と普遍性の解析……………	研究代表者 春見 達郎	46
3) 視機能研究におけるモデル実験動物としての駆除指定動物アライグマの利用……………	研究代表者 大日向 浩	49
4) がん化学療法施行中に生じる味覚障害の発生機構解明……………	研究代表者 神山 直也	50
5) 慢性炎症性腸疾患の病態に関与するチロシンキナーゼの同定……………	研究代表者 仙葉 慎吾	51
6) HPV18型 E7 蛋白質と動原体蛋白質 CENP-C の結合とその機能解析……………	研究代表者 玉川 進	52
7) 自然免疫における骨髓系細胞の MDL-1/DAP12 シグナルの検討……………	研究代表者 青木 直子	54
8) ホルムアルデヒド含有食品摂取によるパイエル板を中心とした粘膜免疫系への影響……………	研究代表者 中木 良彦	56
9) 慢性腎臓病患者におけるメタボリックシンドロームの関与 ―アディポサイトカインを標的とする新たな治療戦略―……………	研究代表者 中川 直樹	57
10) 小腸インクレチン細胞における転写および分泌調節機構の解明……………	研究代表者 藤田 征弘	58
11) 肝臓における内因性抗菌物質発現プロファイルの解析……………	研究代表者 大竹 孝明	59
12) Frequent association of congenital cytomegalovirus infection with developmental disabilities in children who were asymptomatic during neonatal stage……………	研究代表者 古谷野 伸	61
13) 静脈グラフト内膜肥厚における MMP2 の役割……………	研究代表者 内田 恒	67
14) 間接軟骨表層部分損傷に対する細胞治療 (cell based tissue engineering) における基礎研究……………	研究代表者 阿部 里見	68
15) 皮膚脂腺細胞におけるポドプラニン (PDPN) 分子の役割……………	研究代表者 本間 大	69
16) 中脳排尿抑制部位からの遠心性投射について……………	研究代表者 沼田 篤	70
17) 旭川医科大学ぶどう膜炎外来におけるぶどう膜炎の原因疾患の内訳……………	研究代表者 木ノ内玲子	72
18) 精神保健看護学実習での「対象の理解」についての学び ―A 大学看護学科4年生の実習終了後のレポートから―……………	研究代表者 沖野 公子	73
19) アミロイドペプタペプチドの修飾とその性質解明……………	研究代表者 宍戸 直美	75
20) マウス精子を用いる単一細胞ゲル電気泳動法 (コメットアッセイ) および染色体分析法による遺伝的障害の検出感度比較……………	研究代表者 日下部博一	77
[JICA] の新「アフリカ地域 地域保健行政官のための保健行政」コース受け入れについて……………	北村久美子・吉田 貴彦	79
DMAT (Disaster Medical Assistant Team) 災害医療支援チームの活動……………	藤 田 智	89

## 学会の動向

第17回日本臨床環境医学会学術集会を終えて……………	高 後 裕	95
第23回日本乾癬学会学術大会を終えて……………	飯 塚 一	97
「第36回日本磁気共鳴医学会大会」を終えて……………	田 中 邦 雄	98
第43回日本高気圧環境・潜水医学会学術総会を終えて……………	郷 一 知	101

## 本学教員執筆書籍の紹介

生命倫理への招待改訂3版 (塩野 寛・清水恵子)……………	清 水 恵 子	105
人工股関節置換術 THA のすべて ―安全確実な手術のために……………	伊 藤 浩	107

## 旭川医科大学回顧資料(10) 昭和57年度

北海道地区大学体育大会が本学主管により旭川で開催……………	藤 尾 均	108
-------------------------------	-------	-----

## 投稿規程

……………		110
-------	--	-----

## 編集後記・表紙解説

……………		111
-------	--	-----

## 依頼論文

# 青年期のこころの健康と保健看護活動

作 宮 洋 子\*

### 【要 旨】

本稿は青年期を囲む心理社会的な現状を整理し、今後の保健看護活動に取り組むために必要な課題や方策を著者がまとめたものである。

近年、我が国では、青年期の問題行動や事件など社会問題となっていることから、まず青年期の現状への理解が必要となる。

社会の発展や急激な変化、不安定さなどの要因は青年に影響すると考えられるが、近年、青年期の自殺による死亡率が上昇しており、先進主要国との国際比較においても日本の青年期の自殺は第一位を示していることから、早急な対策が必要となっている。

青年期は心身の変化や発展を遂げる時期であり、変化している社会での体験を通じて、新しい自己を見いだしていくための期間である。

精神保健看護活動としては、看護の対象としての理解もち、他関連分野の専門職と連携しながら、発達を遂げるためのさまざまな対応や青年期を囲む周囲の者への啓発を行うとともに、健康増進に向けての相談体制の充実を図ることが必要である。

**キーワード** 青年期、自我同一性、社会性、人間関係、精神保健看護

## 1 はじめに

著者は本年4月から本学看護学科教員として精神保健看護学分野を担当している。

近年、特に、経済の進展や情報伝達の急激な社会状況の変化に伴い、人間の生活やこころの健康状況も変化しており、こころの健康を保って生きていくことの重要性を痛感している。

精神保健看護学においては、現状でのライフサイクルごとの精神保健、対象の発育発達への支援、健康障害、健康回復、リハビリテーション、さらには地域精神保健活動などさまざまな側面から人々の精神保健看護の在り方や方法論を検討している。

検討の結果、各ライフサイクルの保健施策や問題解

決への対応の取り組みが進められていることを確認した。

しかしながら、少子高齢社会の現況で必要とされる対応として、特に、乳幼児期、学童期を経ての青年期と高齢者のメンタルヘルスに関する今後の保健活動で顕在化しているニーズを見出した。

思春期や青年期は心身の変化の真ただ中にあり、家族や周囲の者との人間関係や友人関係で悩みや問題などが生じやすいことが指摘されており、一方、国の「21世紀における母子保健の国民運動計画」においても主要課題として思春期の保健対策や健康教育が推進されていることもあり、青年期の健康支援の重要性から優先度としては高い。

著者は本学に赴任する以前は県保健所の保健師とし

\*旭川医科大学 医学部看護学科看護学講座

て地域保健に従事し、思春期や青年期の者への保健相談や事業対応の経験があるが、対象となる青年を地域で把握することや他事業とのウエイトの配分などにおいて取り組み上の難しさがあった。

現状では、若者のこころ健康の問題は、一般的にも事件や社会問題としての関心に止まらず、重要で身近な問題としての意識されてきていると思われる。

そこで、本稿では青年期の心理社会的な事象や発達課題について概観し、青年期の見守りや保護、さらに健全発達に向けての保健看護活動に関する私論を述べたい。

## 2 「青年期」の出現と現況

「青年期」の出現は産業革命以後の18世紀後半のヨーロッパからであり、日本では明治維新後の19世紀の終わりごろからであるといわれている。

青年はすぐには労働に従事せず、「学校教育の中で庇護され、文化・知識・技能の習得する」<sup>1)</sup>ようになり、教育の期間は高校、大学と延長され、多数の成年が青年期の時間を過ごすようになった。

青年期は、青年が大人になるため、社会に出るためのいわば猶予期間として社会的にも認められるようになってきた。

この期間を準備期間として、青年は心身を健康に発達させ、自己の存在を意識し、自分と社会の関係を考え、役割行動の実行を試みる。また、自己の生き方について考え、職業選択や結婚など自己の人生を決定していく。

青年の未来は大きな可能性を秘めており、目的に向

かって生き生きと豊かな青年期を過ごすことが重要である。

社会からの成年への期待は大きい。しかし、就労形態の多様化、情報化社会の進展等の社会の変化や発展に見合った多くのことを学ばなければならず、青年が成長を逃げていく過程では難しいことも多々あると思われる。青年は自分の意志で、自分の生き方を決定していくことになるが、実際には、社会の片隅におかれ、モラトリアムは棚上げされ、生活の時間やゆとりを奪われる結果となってしまうことも危惧される。

## 3 青年期という期間

青年期は子どもから大人に移行する時期であると考えられている。その始期は第二性徴が生ずるころからあり、過去においては、終期は成人に達するころまでとして理解されていた。しかし、1978年ころまでには精神科医や心理学者の間では、心理社会的な発達を考慮して「30歳まで青年期を延長」<sup>2)</sup>して考えることへの一定の見解が示されており、現状では青年期の終期はおおよそ30歳前後の時期がふさわしいとされている。

青年期の期間は、小学校高学年から30歳ごろまでの約20年が該当するが、このこどもから大人になるまでの20年もの期間をひとくくりにして表現してしまうことには困難さがあると思われる。そこでいくつかの段階として青年期の変化する姿がとらえられている(表1)。

学齢期に所属する学校への入学、卒業という場面を超えて、学習目標の区切りがめやすとなり、学校の就

表1 「青年期」の年代区分

年 代 区 分		年 代	
学 齢 期 の 分 類	青年期前期 (early adolescence)	中学生の年代	
	青年期中期 (middle adolescence)	高校生の年代	
	青年期後期 (late adolescence)	大学生の年代	
笠原嘉による分類 (1977年) <sup>1)</sup>	青年期前半 (middle adolescence)	13、14歳から16、17歳まで	
	青年期後半 (late adolescence)	17、18歳から22、23歳まで	高校の後半から大学卒業頃まで
	プレ成人期 (young adult)	22、23歳から30歳前後まで	大学卒業前後の年齢から30歳頃まで

学期間ごとに青年期をとらえることが出来る。大学卒業後から30歳ごろまでは、高度化した社会に対応するためのプレ成人期としてとらえることができる(図1)。

また、精神医学の adolescence psychiatry と呼ばれる領域は、子どもから大人への移行期として「第二次性徴出現の頃から21~22歳までの年代」<sup>3)</sup>が、対象年齢とされている。さらに、22、23歳ごろからは「成人型の单相うつ病、分裂病の妄想型が多発してくる」という臨床事実<sup>2)</sup>があるとの指摘もあり、概ねこの頃からプレ成人期に移行するものと考えられる。

一方、機能的な面では身体的生物学的側面と心理社会的側面からの見方がある。身体的生物学的な変化を「思春期」(puberty)としてとらえ、心理社会的学的変化は心理面、社会面での変化などより多面的なとらえ方をするとき用いられる。

思春期は身体的な大きな変化として始まり、青年期前半では身体的変化とともに心理的不安定さがみられる。青年期後半は身体的な変化がほぼ逃げられ、行動は活発化し、行動範囲が拡大する。自己の自立や将来への漠然とした不安や葛藤で悩むことも多い。プレ成人期では、青年期後期の体験をさらに発展させて、自己の確立とともに友人関係、職業選択、職場の人間関係、恋愛と結婚など社会的関係が形成されていく。

青年は自己の身体的変化に戸惑いつつも、行動的になっていく半面、自己の内面に目が行きがちとなり、自己の大人としての内的な葛藤に悩む様子も見られる。

#### 4 周囲との関係性の重要性

友人関係では初めは同性の集団をつくり、共に行動するが、小学生から中学生の時期にかけては同性の特定の友人との関係形成が重要であり、これは親以外の信頼できる他人との関係形成という点で発達の意義をもつ。

異性に対する感情や恋愛も現実的なものとなることもあるが、まだ社会的な責任の能力が伴わないため安定した関係を築くことが困難でもある。

親との関係においては、両親からの距離をとりはじめようになり、両親への依存性は少しずつ減少していく。しかし、内面的には親に対するイメージや信頼や尊敬する気持ち、愛着に変化はないといわれている。

親は少しずつ成長し、離れていく姿に不安を感じる。青年の変化を認めて受容するとともに青年が独立した人格を形成しつつあることへの配慮や見守りの姿勢が必要とされる。

親と青年の思いや願いが異なることがあり、両者の思い違いは青年を不安にさせ、不安を表出できないことからそれは怒りの感情に変化する。また、親からの指示、支配的な態度は青年の反発を生じ、攻撃的行動になることもある。青年と親の相互関係は重要であり、関係性の形成には日常生活のなかでの適切なコミュニケーションが不可欠である。

学業においては進学のための学習や受験の準備などを通して、自己の進路に向き合うことになっていくが、自己を過小あるいは過大に評価する傾向が現われたり、親からの大きな期待からの負担感を抱いたりすることもある。

友人や親、その他周囲との関係において、青年期の不安定さや動揺が落ち着きその人らしさが獲得されてくる。児童期から発達した新しい自己との同一性を受け入れていくようになる。

#### 5 青年期の発達課題

青年期での自己同一性の確立が重要な発達課題であり、自己同一性の形成がうまくなされていないと、将来の性格形成において、不確定な自己としてとどまり、不安定な要素を内在させるといわれている。



図1 青年期の区分

自己同一性は青年が行動し、社会との接触を通して学習することによって形成されてゆき、社会との関係の中に自己の存在が位置づけられていることの意識が明確になることで得られる。

青年はこの時期に、一人の人として、他者とは別の、自分の人生を生き延び、成長発達している自己のその立場や置かれている状況は変化していても連続した自分の存在を認識できること、そして、自分が大切と感じる他者達から自分自身がするのと同様に認められ、承認されているという感覚を得ることが大切である。

自己同一性の確立は、時代の文化、社会経済状況などに影響されつつ、自己を社会の中に投じて、そこから新たな成長や発展した、再統合された新しい自分を認めることである。

自己同一性の確立が円滑に過ぎない場合、無気力や職業選択への迷い、自己の存在に対する疑問などが生じ、大人になりきれずにとどまってしまうことであると言われている。

自己同一性の確立を困難にするものとしては、核家族化による家族員の減少、兄弟の減少の中での対人関係形成のための人との接触やコミュニケーションによる意志の伝達や交流の問題が考えられる。

青年が自立するまでには、多くの困難をどのように克服して生きていったらいいのか、大人はこの重要な時期をどのように見守り、助けていくことが必要か、ということが重要となる。それには、大人は青年の大人になりきれないもどかしさからの心の葛藤を思いやり、同者で主張し、語りあい、分かりあうことが必要である。家庭においても同様である。その際、その主張するにふさわしい相手、時、場所が選ばなければならない。大人はこのような機会を用意することが必要である。青年が発達課題を達成するために必要な仕組みを再構築していく必要があると考えられる。

## 6 自殺予防

日本における自殺死亡者は1998年以降、年間約3万人前後の状態推移しており、自殺予防は大きな問題となっている。

青年期の自殺数の年次推移をみると、全体的には横ばい状態(図2)を示しており、男性では20~29歳代でわずかに減少(図3)し、女性では20~29歳代でわずかに増加(図4)している。自殺死亡率では、2004

年に15~24歳代、25~34歳代それぞれにおいて男女共に急上昇している(図5、6)。

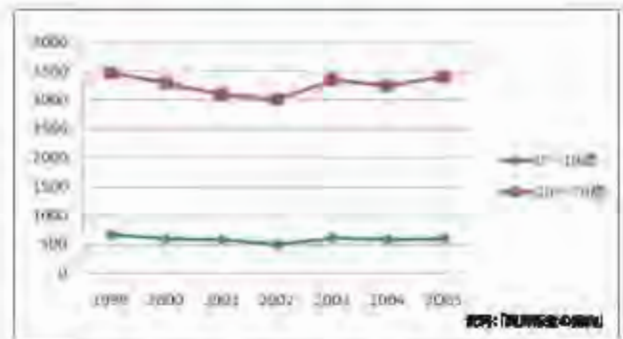


図2 青年期自殺者数の推移(総数)

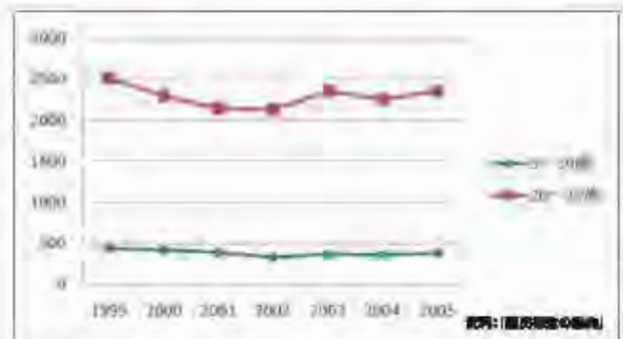


図3 青年期自殺者の推移(男)

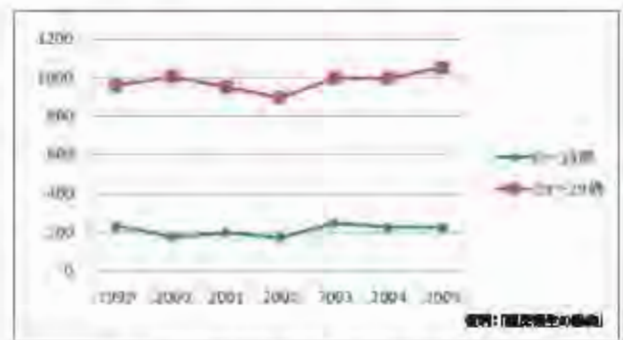


図4 青年期自殺者の推移(女)

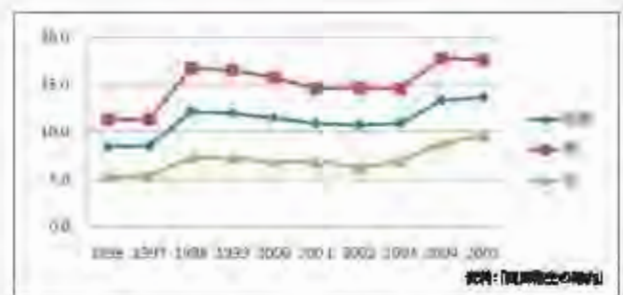


図5 自殺死亡率の推移(15~24歳)

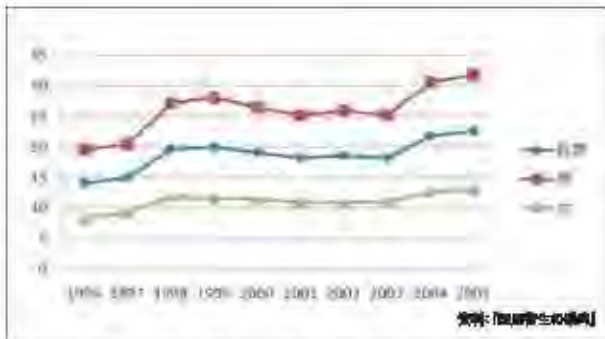


図6 自殺死亡率の推移 (25~34歳)

また、青年期の全死亡中の自殺による死亡割合は、20歳~24歳代では2002年に自殺が最も多くなり、25~29歳代では、1995年以降は自殺の死亡割合が最も高くなっている(表2)。

青年期の自殺死亡の国際比較では、2007年の日本の前自殺死亡率(人口10万対)は24.0であり、世界第9位と報告されている(世界保健機構(WHO))。

また、アメリカ、フランス、ドイツ、ハンガリー、イタリア、スウェーデン、イギリス、オーストラリア、日本の主要国9カ国との2005年の比較では、15~24歳代、25~34歳代の同年代において、死亡率第一位であり、特に同年代ともに女性の自殺が急上昇している(図7~12)。

青年期の自殺の原因は警察庁の遺書による死因の統計によると、約3割が病気、健康問題、2割が学校問題であり、病気や生活・経済の問題、男女関係の問題

などがあった(図13~16)。職業別では、未成年は学生・生徒が約7割、無職者が約2割となっており、20歳代では有職者と無職者がともに4割程度で、学生・生徒が1割強とされている。

青少年の特徴として、心理的に不安定な時期であり、防衛機制の未熟さもあり、衝動的に行動してしまうこ

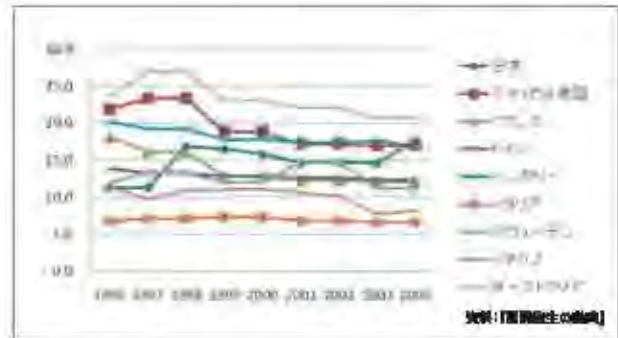


図8 自殺死亡率(15~24歳・男)の国際比較

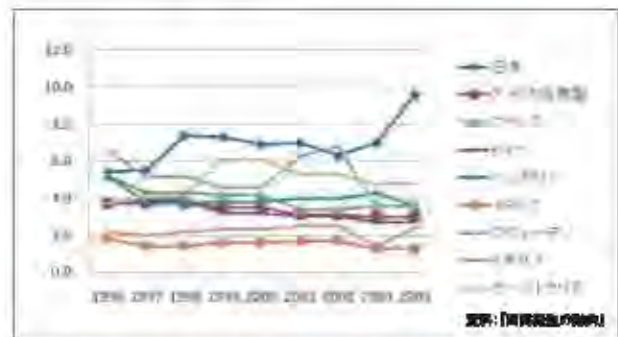


図9 自殺死亡率(15~24歳・女)の国際比較

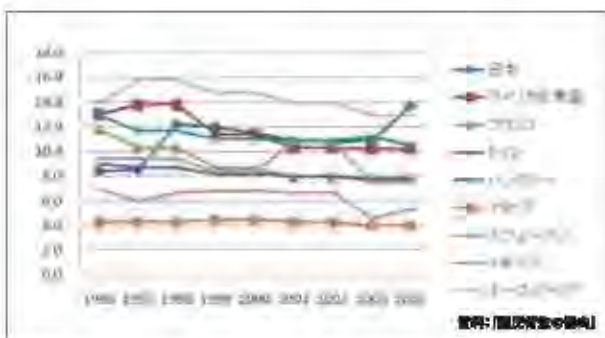


図7 自殺死亡率(15~24歳)の国際比較

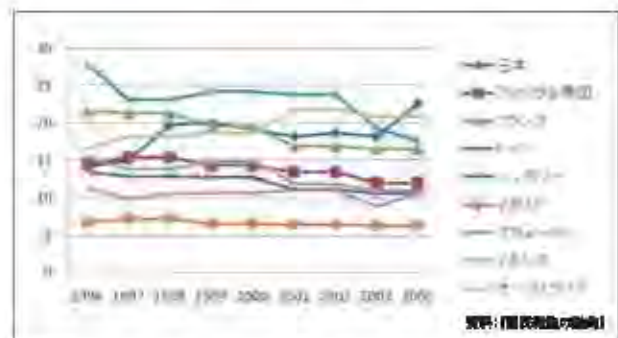


図10 自殺死亡率(25~34歳)の国際比較

表2 全死亡中の自殺による死亡割合第1位の年次推移

	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
15~19歳	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故
20~24歳	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	不慮の事故	自殺	自殺	自殺	自殺
25~29歳	不慮の事故	自殺	自殺	自殺	自殺	自殺	自殺	自殺	自殺	自殺	自殺

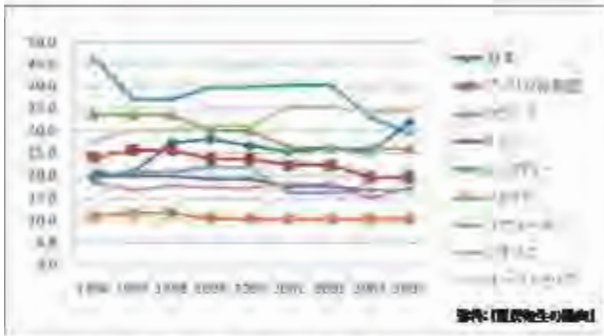


図11 自殺死亡率(25~34歳・男)の国際比較

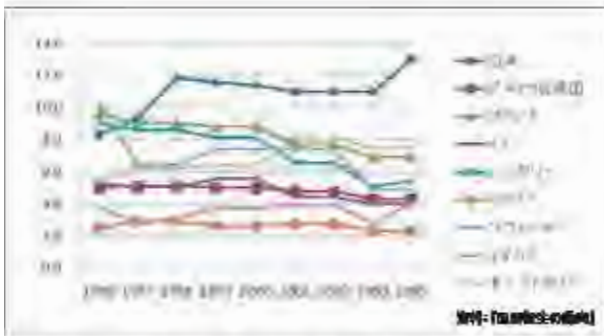


図12 自殺死亡率(25~34歳・女)の国際比較

とやいじめ問題の解決の手段として自殺にいたってしまうこともあるといわれている。

自殺予防対策は青少年の健全な育成とともに国の重要施策となっており、文部科学省では、命を大切にする教育や教育相談体制の充実、いじめ問題を通じて、児童生徒の自殺予防の取り組みが行われている。

自殺予防の充実のためには児童生徒の自殺の特徴や傾向を分析して学校現場の対応方策について検討を行う「児童生徒の自殺予防に向けた取り組みに関する検討会」(平成18年8月より開催)や「子どもの自殺予防のための取組みに向けて(第一次報告)」(19年3月)がある。これに引き継ぎ平成19年度は「児童生徒の自殺予防に向けた取り組みに関する調査研究」を実施し、教育現場への自殺予防プログラムやマニュアル開発等が進められている。

毎年、4千人もの若者が自殺によって生命を失っていることは大きな問題である。他先進国の施策を参考とし、自殺予防対策の一層の推進が必要である。

### 7 青年期保護のための諸制度

現状での青年期に関連ある保健福祉関連の法律では、児童福祉法が18歳までを対象年齢としている。また、学校保健法は学校教育の対象への保健管理や健康教育等がなされている。就労者は労働安全衛生法に基づき健康管理が行われる(表3)。

青年期の約20年間の変化や発達の意味は大きく、しかもその変化が心理社会的側面において、青年と社会の関係のもちかたや青年の心の内面との関係性の問題として存在していると考えられる。さらに経済や病気などの健康問題として自殺の問題にもつながっており青年期のこころの健康問題は複雑である。

教育、行政分野での取り組みが推進されているが、

表3 健康を守るための諸制度

年代区分		年齢	法律・医療費助成制度など					
出生前期	胎児期	胎児	母子保健法(昭和40年制定)に基づく母子の各種健康診査他	児童福祉法(昭和22年公布)に基づく小児慢性特定疾患医療費助成(一部は20歳まで)	学校保健法(昭和39年公布)に基づく保健管理・健康教育など	労働安全衛生法(昭和47年施行)に基づく働く人の健康管理	特定疾患(45疾患のみ対象)医療費の助成	感染症予防法(平成11年施行)に基づく感染症の予防
小児期	新生児	出生~4週						
	乳児期	~1歳						
	幼児期	~6歳						
学童期	小学生	~12歳						
	思春期 小学生(高学年)							
児童期・青年期	中学生	~15歳						
	高校生	~18歳						
青年期	大学生 社会人	~20歳						
成人期	青年期 大学生(成人) (成人)	20~29歳						
	壮年期	30~49歳						
	中年期	50~64歳						
高齢期	高齢期(前期)	65~74歳						
	高齢期(後期)	75歳~						



それらの実施状況も踏まえて、青年期の生命とこころの健康保持のための制度の充実強化が必要である。特に、学校保健や産業保健の健康管理の対象とならない青年への相談支援体制、相談窓口の設置や健康情報の提供が必要であると考えられる。

## 9 精神保健看護活動の発展に向けて

青年期を対象とした精神保健看護としては、青年の特性や現状から、以下6つの活動推進が必要であると考えられる(表4)。

まず第1は、健康な者も含めて様々な健康状態の青年を対象とし、発達や発育を支援することである。青年が、自己の発達を受容し、発達段階の特徴を理解し、対応について個別に柔軟に対応できるようにしていくことである。看護アセスメントにおいて成長や発達を妨げるような青年の行動がみられる場合は、看護介入が必要になる。

第2は、青年期の発達や自立を阻害したり困難にしている状況について把握し、その要因を取り除くよう図ることが必要である。相談機能を充実させ、青年の不応反応を検証し、問題の解決を図る。

第3は、疾病を予防し、健康への回復を図ることで

ある。性行動が活発になってくることから、性感染症への知識をもち予防行動をとることや、どこに、どのような相談窓口があるか、どのような支援が受けられるかの情報提供が必要とされる。

第4は、青年期の自立の促進、アイデンティティの形成促進、日常生活の営みができるように図ることが必要である。

青年のこれらの作業の必要性を青年と親、青年を囲む者への教育的支援を行う。

第5は、健康の増進のための健康教育を行うことである。喫煙、薬物、性行動、避妊、自殺予防相談や健康教育、保健行動をとるための情報提供が不可欠である。また、青年には健康な暮らしや栄養摂取、怒りや不安、ストレスへの対処、葛藤の解決などの健康教育が必要である。

第6は、健康を守るための環境整備の推進を図ることである。対人関係をどのように築いていくか、青年期のこころの健康に関する啓発活動の推進、見守り体制をどのように構築するかが重要である。このための関係者連携やさらに必要な対応策の検討が必要であると考えられる。

表4 青年期精神保健看護活動の内容

	看護の機能	活動への取り組みや支援内容
1	健康の様々な状態の者への支援を行い、正常な発達を支援する。	・身体の成長や変化の受容
2	発達を阻むものや病気の原因となる要因を除去する。	・悩みや健康に関する相談 ・相談窓口に関する情報提供と対応
3	疾病の予防、早期発見、健康回復への支援を行う。	・早期の受診や相談 ・感染の不安の除去 ・性行動や性感染症予防に関する理解
4	自立を促進し、日常生活への営みができるように支援する。	・親や他の大人との心理的依存、情動面からの独立 ・男性的、あるいは、女性的な社会的役割の達成 ・母性や父性をはぐくみ、結婚や家庭生活の準備 ・自己の行動などの指針となる価値観や社会倫理観の獲得、観念の発達 ・あたらしい自己の存在への意識 ・あたらしい人間関係を築き、協調、発展させていく。 ・職業に就くための準備
5	健康増進のための健康教育、啓発を行う。	・心身の健康保持増進への意識づけ ・健康情報の提供 ・青年期の特性についての健康教育
6	健康を守るための環境整備を推進する。	・関連機関との連携 ・さらに必要とされる対応策の検討

## 10 終わりに

青年期の看護ケアは、社会心理的な発達過程をとらえつつ、青年の多様な個性を尊重しての看護ケアを行うことが必要である。

また、発達課題やこころの健康問題をかかえる青年期の若者を看護の対象として再認識するとともに看護ケアを集積して、新たな青年期健康支援の体系を整えることが重要である。

青年期への有効な看護支援と具体的ケアの方法を明確にし、その有効性を実証すること、ケアの成果を出していく努力が必要であると考えます。

## 引用文献

- 1) 心理科学研究会編：心理科学への招待，初版，有斐閣，31，2004
- 2) 笠原 嘉：青年期，31版，中央公論新社，199-200，2003
- 3) 小此木啓吾，深津千賀子，大野 裕編：心の臨床家のための精神医学ハンドブック，改訂版，創元社，332，2007

## 参考文献

- 1) 福島 章：青年期の心，初版，講談社現代新書，1992
- 2) 小此木啓吾：モラトリアム人間の時代，10版，中央公論社，1978
- 3) 坂田三充編：思春期・青年期の精神看護，1版，中山書店，2005
- 4) Erik H Erikson：Identity-Youth and Crisis，1968，岩瀬庸理，アイデンティティ 青年と危機，金沢文庫，2003
- 5) Erik H Erikson：Identity and the Life cycle，W・W・NORTON & COMPANY，1902
- 6) 小川捷之，斎藤久美子，鎌幹八郎編：臨床心理学体系 ライフサイクル，初版，金子書房，1994
- 7) 鎌幹八郎：青年期におけるアイデンティティ，こころの科学，82，28-31，1998
- 8) 斎藤誠一編：人間関係の発達心理学 青年期の人間関係，初版，培風館，2000
- 9) 内閣府：青少年白書 青少年の現状と施策，平成19年版，2007
- 10) 内閣府：自殺対策白書，平成19年版，2007
- 11) 厚生労働省：厚生労働白書，平成19年版，2007
- 12) 高橋祥友：自殺予防，初版，岩波新書，2007
- 13) 厚生統計協会：国民衛生の動向，1998-2007

## Mental Health Nursing For Young People

SAKUMIYA Yoko\*

---

### Summary

The object of this article is to present the existing mental Health state of young people, and to describe how to nursing care. Adolescence stage imply the period between childhood and adulthood,

In this stage, they grown up in his body and psychosocial skills, and they achieve that they has subordinated their childhood identification to a adulthood it.

If there is factor or evidence that disturb adolescent development, nursing care must present. them.

To promote mental health nursing, we must to receive their various consultation from young people, and promote health education and provide information which prevent infectious disease, control their anger and stress management.

**Key words** adolescence, identity, sociality, human relationship, psychiatric mental health nursing

---

\*Department of Nursing Asahikawa Medical College

## 依頼論文

# LEC ラットならびにウィルソン病患者における尿中銅の状態

宍戸直美\* 中山憲司\*\* 中村正雄\*

### 【要 旨】

本研究ではウィルソン病患者ならびに LEC ラットにおける尿中の銅量および銅の性質を検討した。ラット由来の全ての尿試料と、幾つかの患者から提供された尿試料で Cu (II) の ESR シグナルが観測されたが、健康ボランティアから採取した試料からはこのシグナルが観測されなかった。Cu (II) シグナル強度は銅濃度にほぼ比例した。LEC ラットでは10週、17週、21週と週齢が進むのに対応して Cu (II) シグナル強度、総アミノ酸量が増加した。アミノ酸量は常に銅量の100倍以上であり、これに対し総グルタチオン量は僅かであった。尿試料の測定でも Cu (II) シグナル強度ならびに水酸ラジカル生成能は ICP-MS により決定した銅濃度にはほぼ比例した。尿試料を分子量限界5000程度のろ過にかけても ESR の分析結果は変わらなかった。尿試料の分析で観測された ESR シグナルは、高分子には結合せず、酸化還元活性のある状態の銅の出現に由来し、シグナル強度は肝ないし腎からの銅のオーバーフローの度合いを示すだろう。

**キーワード** 銅、ESR、LEC ラット、活性酸素種、尿、ウィルソン病

## Introduction

Copper is one of the transition elements that can catalyze the production of reactive oxygen species (ROS) in what is called the Fenton reaction; regulation of copper levels in the body is, therefore, important<sup>[1]</sup>. Copper is absorbed by amino acids, circulated mainly as ceruloplasmin (Cp) or with albumin, stored with metallothioneins (MTs), and excreted mainly into the bile or urine, saliva and hair<sup>[2]</sup>. Copper absorption competes with Zn<sup>2+</sup><sup>[3]</sup> or any excess amino acids<sup>[4]</sup> and absorption is inhibited by MTs<sup>[5,6]</sup>.

The Long-Evans Cinnamon rat (LEC rat) provides a model of Wilson's disease (WD) caused by mutations in the ATP7b gene<sup>[7,8]</sup>, which result in abnormal accumulation of copper in tissues such as the liver or kidneys, in an age-dependent manner. In the LEC rat, acute hepatitis develops spontaneously about 4 months after birth, with

clinical features similar to those seen in human fulminant hepatitis, sometimes a feature of WD. This hepatitis can be prevented by treatment with copper-chelating agents such as D-penicillamine (D-Pc), which facilitate the excretion of copper. Zn<sup>2+</sup>-treatment is also thought to be effective because of its effect upon the induction of MTs. MTs in rat livers sequester Cu to prevent Cu-dependent oxidative stress and scavenge oxygen radicals<sup>[9]</sup>.

We investigated changes in the amount and species of copper using LEC rat livers before and after the onset of hepatitis<sup>[10,11]</sup>. However, methods used to measure liver-copper levels inflict heavy stress on model animals and even more so on patients. Urine, however, is non-invasively collectable; the present study, therefore, was undertaken to determine copper levels and copper species in urine from WD patients and LEC rats.

\*旭川医科大学 一般教育 化学 \*\*北海道立衛生研究所

## Materials and Methods

### Collection of Urine from Rats<sup>[12]</sup>

LEC rats (2 male and 2 female) were fed a laboratory diet and tap water *ad libitum*. At 10, 17 and 21 weeks after birth (described briefly as 10-week-old, 17-week-old and 21-week-old, respectively), urine samples of over 5 milliliters were collected into tubes continuously over a 12-hour period; these were screened and cooled on ice. Samples were frozen and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until use. LEC rats' conditions were classified as: 10-week-old, before jaundice; 17-week-old, just before jaundice; 21-week-old, after the onset of jaundice. Wistar rats (2 male and 2 female) at 10 weeks after birth were treated as the control.

### Urine Samples from WD Patients

Urine samples from WD patients just after diagnosis were withdrawn as spot urine in the following way: from patient A, 5 months before ( $n=2$ ) and after ( $n=29$ ) D-Pc treatment; from patient B, 4 days before and after D-Pc treatment; from patient C, D and E, one sample each before D-Pc treatment. Urine samples from healthy child and adult volunteers were also collected as spot urine.

Holo-Cp was detected by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit with an anti-human Cp monoclonal antibody (Nissho Inc., Japan).

### Copper Analysis

Copper concentrations were determined with an ICP-MS spectrometer, SPS4500 (Yokogawa Analytical Systems, Japan). Statistical analysis was carried out using a Microsoft Excel add-in-tool.

Cu(II) in urine was detected directly with an ESR spectrometer, JEOL JES-TE300 with 100 kHz modulation at room temperature with a quartz flat cell. Both intact samples and those after ultrafiltration with Millipore ULTRAFREE<sup>®</sup>-MC (5,000 NMWL filter unit) were analyzed. The presence of several kinds of ligands for copper in urine was examined<sup>[13,14]</sup>. The calibration curve for the determination of copper concentrations was made with a copper-glutamate (Cu-Glu) mixture (0-0.2 mM  $\text{CuCl}_2$  and 3-20 mM glutamate in 10 mM phosphate buffer, pH 7.0) as a copper-amino acids complex standard. A Mn(II) marker as reference was also used to calculate the

parameters  $g_0$  and  $A_0$ , and to estimate the ESR signal intensity. The instrumental conditions were: frequency, 9.42 GHz; power, 8.0 mW; modulation amplitude, 1 mT; time constant, 10 sec; scan rate, 6.7 mT/min.

Cu(II) was also analyzed with an ion meter equipped with a cupric electrode, Model 720A (Thermo Orion). Calibration was performed with 25 ml of 1, 10 and 100  $\mu\text{M}$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  with stirring.

### Amino Acids

Total concentrations and compositions of amino acids were determined with an autoanalyzer, Pico-Tag/AccQ-Tag amino acids analysis system (Waters) equipped with Pico-Tag Column ( $3.9 \times 300$  mm) and UV-detector for PITC-derivatives (254 nm).

### Glutathione

Total glutathione (GSH + GSSG) concentrations were determined as fluorescent derivative with *o*-phthalaldehyde<sup>[15]</sup>. Aliquots (10 or 50  $\mu\text{l}$ ) of samples were added to 2ml of 0.1 M NaOH then reacted with 20  $\mu\text{l}$  of *o*-phthalaldehyde solution (10 mg/ml ethanol) and left for 15-30 min. Fluorescence (Ex. 350 nm, Em. 420 nm) was measured with a Shimadzu RF-5300 spectrofluorometer.

Detection of reduced glutathione (GSH) was attempted using Ellman's reagent, 5,5'-dithiobis -2-nitrobenzoic acid (DTNB).

### Ascorbate, Protein, Glucose and pH

The presence of ascorbic acid, protein and glucose and pH were measured using test paper, Pretest 4bII (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan); the former three parameters reflect DCIP reduction, tetrabromophenol blue binding and glucose oxidase-peroxidase-*o*-tolidine coloration, respectively.

### Cp Activity<sup>[16]</sup>

Cp oxidizes *o*-dianisidine at pH 5.5, and products appear purple (molar absorption coefficient at 540 nm is  $9.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) in strong acid (final 6 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Aliquots (25  $\mu\text{l}$ ) of samples were added to 375  $\mu\text{l}$  of 0.1 M sodium acetate buffer (pH 5.0) and incubated for 5 min at  $30^{\circ}\text{C}$ , then reacted with 0.1 ml of *o*-dianisidine solution (0.25%) and left for 1 min (not reacted) or 15-30 min (reacted). Reactions were stopped and color developed with 1.0 ml of 9 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Increase of absorbance at 540 nm was

measured with a Shimadzu MPS-2000 spectrophotometer.

### **ESR-Spin Trapping of Oxygen Radicals with DMPO**

Reactions of the urine or copper-complex with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> or D-Pc were observed by the ESR spin-trapping method using 5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide (DMPO) as the spin trap<sup>[17]</sup>. The reaction mixture (130 μl) contained 65 μl of urine or Cu-Glu (0.2 mM CuCl<sub>2</sub> and 3 mM Glu in 10 mM phosphate buffer, pH 7.0), 100 mM DMPO and 1 mM trientine, HgCl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> or D-Pc, respectively. DMPO-adducts were observed at room temperature with a quartz flat cell. A Mn(II) marker as reference was used to calculate the ESR signal intensity. The instrumental conditions were: frequency, 9.42 GHz; power, 2.0 mW; modulation amplitude, 0.1 mT; time constant, 0.3 sec; scan rate, 2.5 mT/min.

## **Results**

### **Copper in urine**

Copper excretion into the urine analyzed by ICP-MS increased with the age of the LEC rats as expected. The ESR signal due to Cu(II) was observed in all urine samples from the LEC rats (Fig. 1Ab-d) and Wistar rats (Fig. 1Aa). In all urine samples, pH was neutral or weakly alkaline. The intensity of the Cu(II) signal in the urine increased in an age-dependant manner in the case of the LEC rats. Fig. 1Ac indicates that the LEC rats had already excreted large amounts of copper just before the onset of jaundice.

The ESR signal intensity highly correlates with the ESR signal height under conditions where the special ligand is dominant<sup>[10,11]</sup>, which makes the signal line width constant. The intensity of the Cu(II) signal in the urine was proportional ( $r^2=0.93$ ) to the concentrations of copper determined with ICP-MS (Fig. 2A): 21-week-old,  $156 \pm 56$  μM, n=2 (male only); 17-week-old,  $48 \pm 30$  μM, n=4; 10-week-old,  $14 \pm 6$  μM, n=4).

Compared to standard Cu(II) solutions, these ESR spectra of urine from the rats resemble that of the copper-amino acid complex, at least the 1N3O, 2N2O and/or 3N1O chelating pattern (Table I)<sup>[18]</sup>; although measurements of the ESR signal at room temperature used to result in less variation in  $g_0$  value and in a narrower  $A_0$  without weak ligands like AcOH, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> etc.<sup>[14]</sup>. The

relative affinity of amino acids and chelating agents for Cu are shown in Fig. 3. In order to obtain maximum intensity, the ligand-metal ratio had to be over 10. There was no significant differences in the ESR spectra of the copper complexes in the following amino acids: Ala, Glu, Gly, His and Lys, while it was noted that N-α-acetylation of Lys changed the ESR spectra of the Cu-Lys complex (data not shown).

An identical ESR signal due to Cu(II) was observed in several urine samples from patient A (Fig. 1B) and patient B (data not shown), in contrast with the data from healthy child and adult volunteers' samples: Cu in their urine were under the detection limit with both ICP-MS and ESR. In these patients, the intensity of the Cu(II) ESR signal increased after D-Pc treatment. In the case of patient A, the extensive excretion of Cu continued 2-3 days after a single dose of D-Pc treatment. The intensity of the Cu(II) signal in the urine was proportional to the concentrations of copper determined with ICP-MS to a certain extent (Fig. 2B). However, no signal was detected when Cu concentrations were less than 20 μM and there was a difference in the ratio of ESR signal intensity/ ICP-MS value ( $p<0.05$ ) between Fig. 2A and Fig. 2B (n=30,  $r^2=0.34$ ). No effects of the Hg-treatment and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treatment of the urine samples were observed. Ultrafiltration (Mr limit: ca.5,000) of the urine had no effect upon either the intensity or the spectrum of the Cu(II) signal. These results indicate that the urine samples contained neither MTs nor Cu(I)<sup>[10,11]</sup> but the existence of oligopeptides (whose complex with copper resembles Cu(II)-amino acids), the interference effect of carbonate or carboxylic acids (which reduce the ESR signal height), and the presence of some ESR-silent species of up to 20 μM of Cu could not be denied.

### **Amino acids and protein concentrations in urine**

The concentrations of total amino acids in the urine increased with age in the case of the LEC rat. In all cases, the concentrations of total amino acids were 2 orders of magnitude higher than the concentrations of copper. A marked increase in amino acid concentrations was observed at the onset of hepatitis, whereas no specific amino acids (e.g. His could be expected), that correlated with copper concentrations, were observed (Table II). Protein concen-

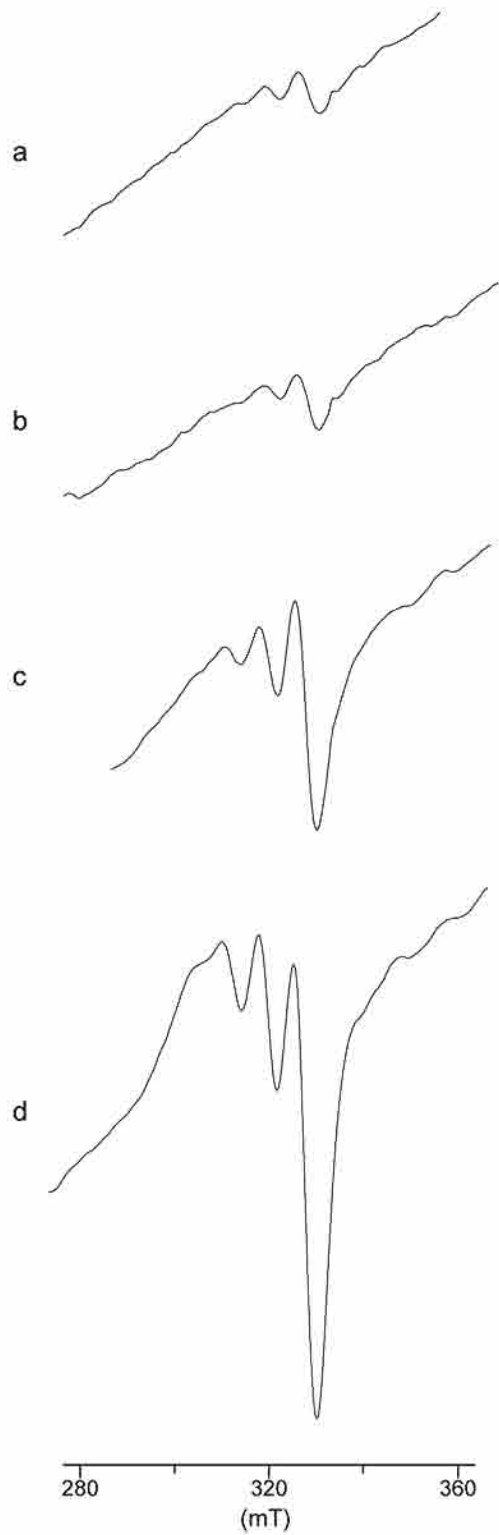


Fig. 1A

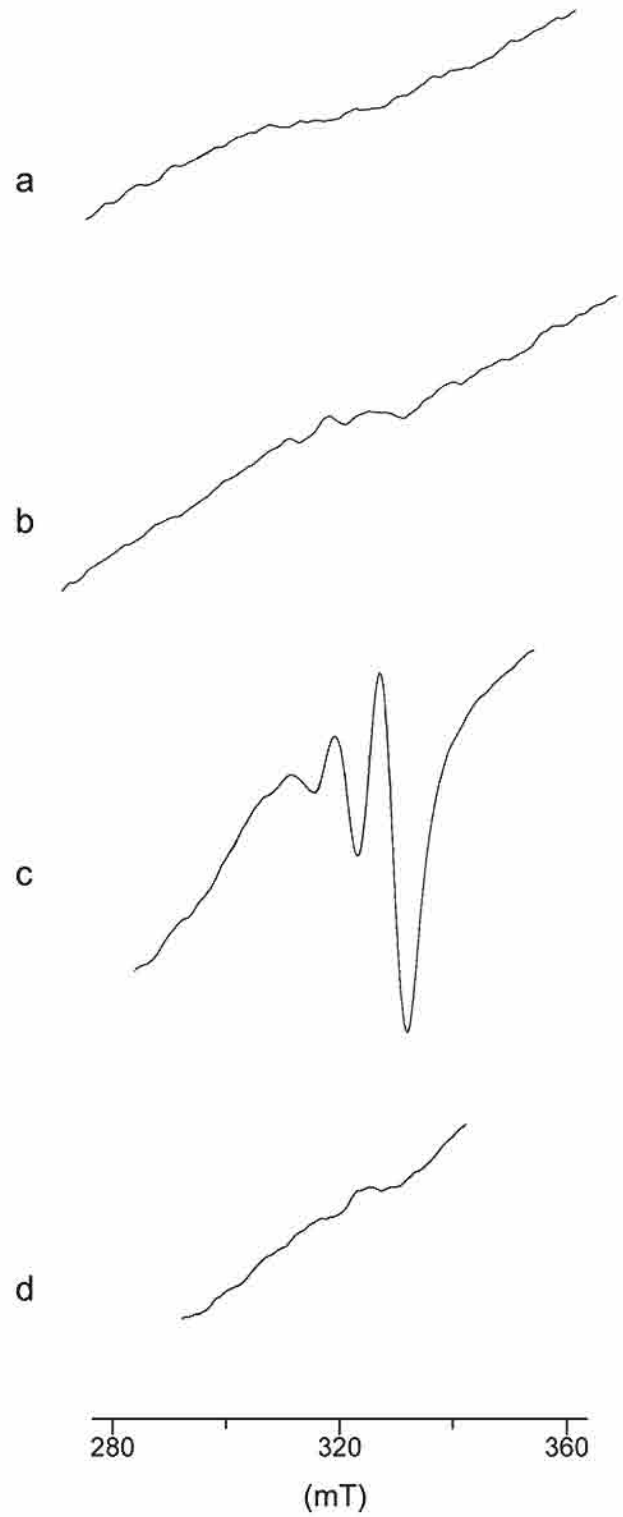


Fig. 1B

Fig. 1. ESR spectra due to Cu(II).

A, ESR spectra of urine from 10-week-old Wistar (a), 10-week-old LEC (b), 17-week-old LEC (c) and 21-week-old LEC (d) male rats.

B, ESR spectra of urine from patient A before (a) and 2 (b), 6 (c) and 17 weeks (d) after D-Pc treatment.

The experimental conditions are described in Materials and Methods.

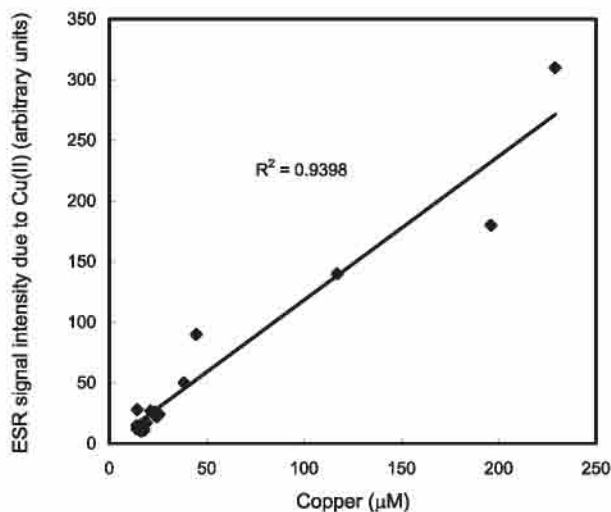


Fig. 2A

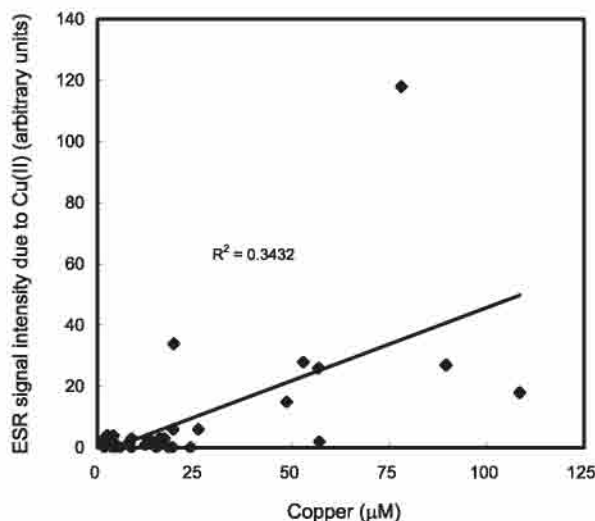


Fig. 2B

Fig. 2. Correlation between concentrations of copper and ESR signal intensity due to Cu(II) in urine from rats (A) and from WD patient (B). Statistical analysis was carried out using Microsoft Excel add-in-tool.

Table I. ESR parameters of Cu(II).

The parameters  $g_0$  and  $A_0$  were calculated by measuring Mn(II) marker as reference.

Ligand	Ligand/Cu	$g_0$	$A_0$ (mT)
Gly	10	2.05	7.2
trientine	1.1	2.01	8.3
GSSG	2	2.05	7.5
D-Pc dimer	1.2 -6	2.06	7.5
GSH	>3		
D-Pc	>3		
SIGMA Cp		2.05	7.2
LEC rats' urine		2.04	6.9 -8.5
Urine from patients		2.04	6.9-8.3

trations were under the detection limit.

Similarly, no specific amino acids, which correlated with copper concentrations, were found in the case of WD patients. The concentrations of total amino acids were 2-3 orders of magnitude higher than the concentrations of copper. However, amino acid concentrations in the urine from patient A increased after D-Pc treatment and were maintained after the decrease in Cu-levels (data not shown).

#### Glutathione in urine

The concentration of total glutathione (GSH + GSSG) in the urine increased with aging in the LEC rats (Table III).

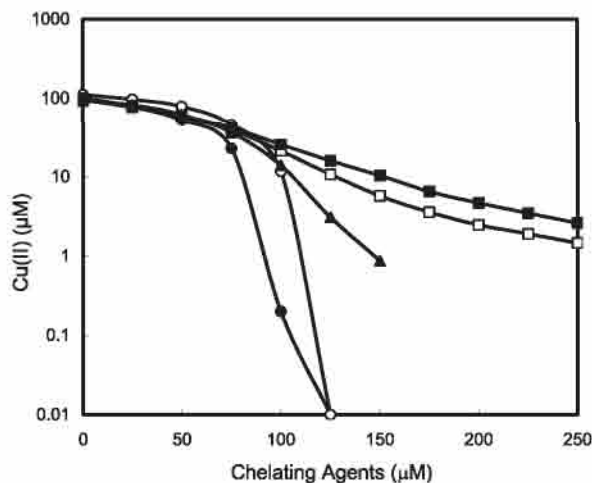


Fig. 3. Copper binding to chelating agents. Reaction mixture contained 0.1 mM  $\text{CuCl}_2$  in 5 mM HEPES (pH 7.0). Copper concentrations were measured in the absence or presence of varied concentrations of EDTA (●), GSSG (○), His (▲), Glu (□) or Ala (■).

No DTNB-reducing activity in the urine samples was observed. The results indicate that glutathione increased with the increasing concentration of Cu in the urine samples, however, no high correlation between glutathione levels and the concentration of Cu was observed.

In the case of WD patients, glutathione concentrations were also low ( $299 \mu\text{M} \pm 136 \mu\text{M}$ ,  $n=17$ ) before and after D-Pc treatment, as were Cu concentrations, and no reducing



Table II. Content of amino acids in urine from rats (n=1) and from patient A.

Abbreviations are: 21WCM, 21-week-old male LEC rat; 17WCM, 17-week-old male LEC rat; 10WCM, 10-week-old male LEC rat; 10WWisM, 10-week-old male Wistar rat.

Amino acids	Concentrations (mM)					Patient A (SD, n=13)	
	21WCM	17WCM	10WCM	10WWisM			
phospho-Ser	1.16	0.00	0.00	0.08	0.17	(0.24)	
Asp	0.08	0.01	0.17	0.36	0.03	(0.03)	
Glu	6.70	0.04	0.23	0.78	0.18	(0.13)	
aminoadipic acid	0.24	0.40	0.03	0.24	0.05	(0.02)	
hydroxy-Pro	0.00	0.00	0.00	0.00	nd		
phenethylamine	0.36	0.06	0.42	0.68	0.09	(0.06)	
Ser	4.30	0.21	0.06	0.11	0.10	(0.12)	
Gly	3.83	1.84	0.15	0.37	0.90	(0.48)	
Gln	14.77	0.00	0.01	0.10	0.25	(0.14)	
beta-Ala	0.42	0.00	0.03	0.23	0.06	(0.03)	
sarcosine	0.26	0.11	0.20	0.38	0.06	(0.04)	
taurine	15.57	0.25	0.37	0.94	1.09	(0.52)	
His	2.08	0.08	0.03	0.08	0.50	(0.27)	
gamma-aminobutylic acid	0.02	0.02	0.01	0.04	0.03	(0.01)	
citrulline	2.88	0.05	0.03	0.06	0.45	(0.30)	
Thr	10.74	15.24	0.05	0.10	0.09	(0.06)	
Ala	2.34	0.00	0.22	0.45	0.23	(0.11)	
beta-aminoisobutylic acid	0.19	0.20	0.03	0.05	2.04	(0.99)	
carnosine	0.00	0.14	0.00	0.00	0.12	(0.10)	
Arg	0.31	0.05	0.08	0.09	0.01	(0.01)	
Pro	0.84	0.14	0.16	0.64	0.03	(0.02)	
1-methyl-His	0.92	0.06	0.02	0.00	0.38	(0.40)	
Asn	0.00	0.02	0.00	0.00	0.25	(0.10)	
3-methyl-His	0.26	0.00	0.01	0.03	0.10	(0.13)	
ethanolamine	0.52	0.00	0.21	0.31	0.69	(0.38)	
alpha-aminobutylic acid	0.37	0.34	0.02	0.05	0.05	(0.05)	
Tyr	1.26	0.02	0.04	0.05	0.09	(0.05)	
Val	0.73	0.04	0.05	0.06	0.03	(0.02)	
Met	1.15	6.66	0.06	0.14	0.10	(0.06)	
cysteic acid	0.17	0.03	0.09	0.11	0.08	(0.01)	
cystine	1.47	0.07	0.09	0.25	0.08	(0.05)	
Ile	0.45	0.01	0.04	0.05	0.06	(0.03)	
Leu	0.72	0.06	0.07	0.06	1.34	(0.87)	
hydroxy-Lys 1	0.04	0.20	0.01	0.03	0.02	(0.01)	
hydroxy-Lys 2	0.02	0.03	0.00	0.02	0.07	(0.03)	
Phe	0.39	0.13	0.06	0.05	0.04	(0.02)	
Trp	0.07	0.00	0.04	0.07	1.32	(0.99)	
ornithine	0.15	0.00	0.00	0.00	0.05	(0.02)	
Lys	0.36	0.00	0.05	0.07	0.04	(0.02)	

Table III. Contents of glutathione and amino acids in urine from rats.

Abbreviations are the same as shown in Table II.

Subjects	Concentrations (mM)			
	21WCM	17WCM	10WCM	10WWisM
Total copper	0.196	0.044	0.014	0.014
GSH + GSSG	0.56	0.23	0.09	0.18
Total amino acids	76.1	26.5	3.18	7.09

activity of DTNB was observed. The correlation between total glutathione levels and the concentration of Cu was also lower.

#### *Ascorbic acid and Cp activity in urine*

Fresh urine samples before jaundice contained millimolar concentrations of ascorbic acid while only those urine samples from 21-week-old LEC rat had slightly reduced DCIP after storage at  $-80^{\circ}\text{C}$ . A urine sample from a 21-week-old LEC rat contained detectable amounts of glucose. None of the urine samples oxidized *o*-dianisidine.

Concentrations of Cp in human urine samples analyzed by ELISA were around 1 nM. Thus, the ratio of Cp to copper was too low to find any correlation between the concentrations of Cp and copper.

#### *Redox activity of Cu in urine*

To further confirm whether copper in urine is not bound tightly, the effects of chelating agents on urine were studied (Fig. 4A). The addition of trientine into urine immediately changed the Cu(II) ESR spectra to that of a Cu(II)-trientine complex. D-Pc and GSH eliminated the Cu(II) signal in urine. However, the effect of D-Pc was temporary and the original spectra reappeared at 30 min after the addition of 1 mM D-Pc. Disulfide of D-Pc or GSSG had no effect upon the Cu(II) ESR spectra in the urine. Similar effects of chelating agents upon the Cu-Glu mixture (1:15) were also observed (Fig. 4Bb). The ESR spectra of urine from patients also resembled that of the copper-amino acid complex (e.g. Cu-Gly) although slightly differ from that of the urine of the rats.

ROS produced by samples were measured as DMPO-OH. Both urine (from a 21-week-old LEC rat,  $\text{Cu}=0.2\text{ mM}$ ) and the Cu-Glu mixture (or Cu-His, Cu-Gly,  $\text{CuCl}_2$ ) produced a weak DMPO-OH signal in the reaction with  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Fig. 5Aa and Ba). On the other hand, the D-Pc-induced DMPO-OH signal developed in the presence of urine or the Cu-Glu mixture (or Cu-His, Cu-Gly,  $\text{CuCl}_2$ ) (Fig. 5Ab and Bb), however, the reaction was finished completely at 10 min after the reaction had started. GSH-induced DMPO-OH production was not observed. Similarly, neither trientine-induced nor  $\text{HgCl}_2$ -induced DMPO-OH production was observed.

Similar observations were obtained when urine from a

21-week-old LEC rat was replaced by Cu-containing urine from patient A in the experiment system mentioned above.

## Discussion

We showed that Cu(II) was detectable as an ESR signal in all urine samples from rats and some urine samples from WD patients. In some cases, an ascorbate-like signal was also observed simultaneously, although no DCIP-reducing activity was detected. The concentration of ascorbate in human urine would, naturally, vary with the diet. However, even if we take this into consideration, ascorbic acid would not disrupt the ESR signal intensity due to Cu(II) or the determination of copper concentrations. The present findings are completely different from our previous report on liver-copper status, where we found that it was almost always bound to MTs and GSH and thus reduced<sup>[11]</sup>; copper in the liver is redox-inactive while copper in the urine seems not to be.

Observed ESR spectra indicate that a plausible candidate for the ligand of copper in urine could be amino acids, at least those without macromolecules. The relative affinity of amino acids and chelating agents for Cu(II) are shown in Fig. 3. The affinity of amino acids for copper is slightly lower than chelating agents like EDTA (logK values at neutral pH are 6 for Gly etc., 9 for His and 18 for EDTA, respectively). Titration experiments with ESR revealed that the ratio of Glu/Cu required is over 3 for maximal intensity of the signal, whilst the ratio of trientine/Cu is 1. The ratio of amino acids to copper in the urine was about 100, hence enough to form a complete copper-amino acid complex. It is possible that no competing ligands in the urine exist. However, diabetic urine contains high amounts of protease, which would result in peptiduria and aminoaciduria<sup>[19]</sup>. If present in the urine, peptide bonds in polypeptides, such as thioneins, would not be better ligands than the free alpha amino- and carboxyl-groups in the amino acids. The concentrations of glutathione and protein were rather found to be lower than the amino acids. The addition of GSSG (at physiological concentration) into the urine did not change the ESR spectra of urine. The results agree with the relative affinity of amino acids and chelating agents for copper (Fig. 3). Reaction of the Cu(II)-amino acid complex with GSH or

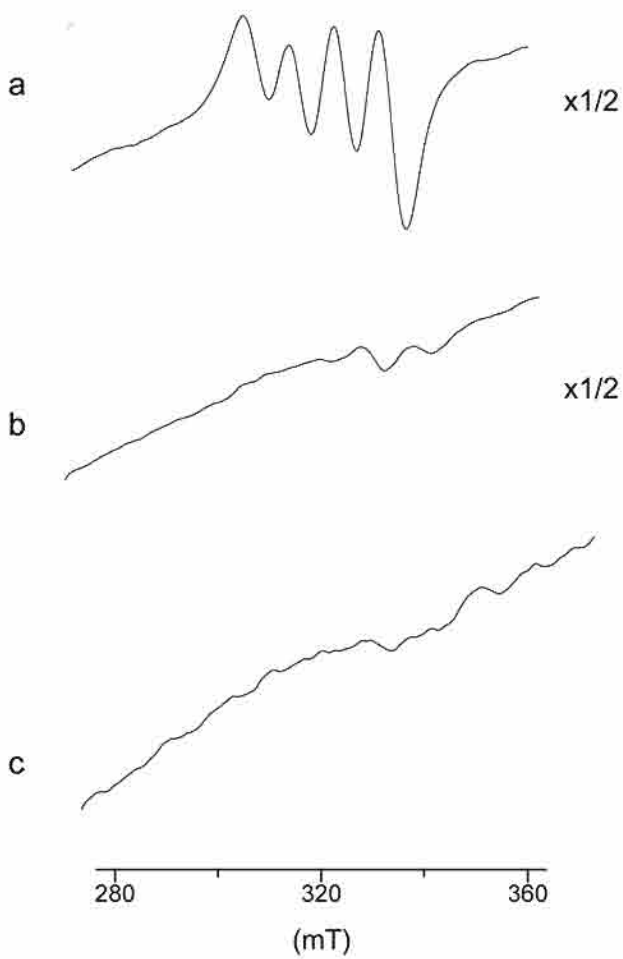


Fig. 4A

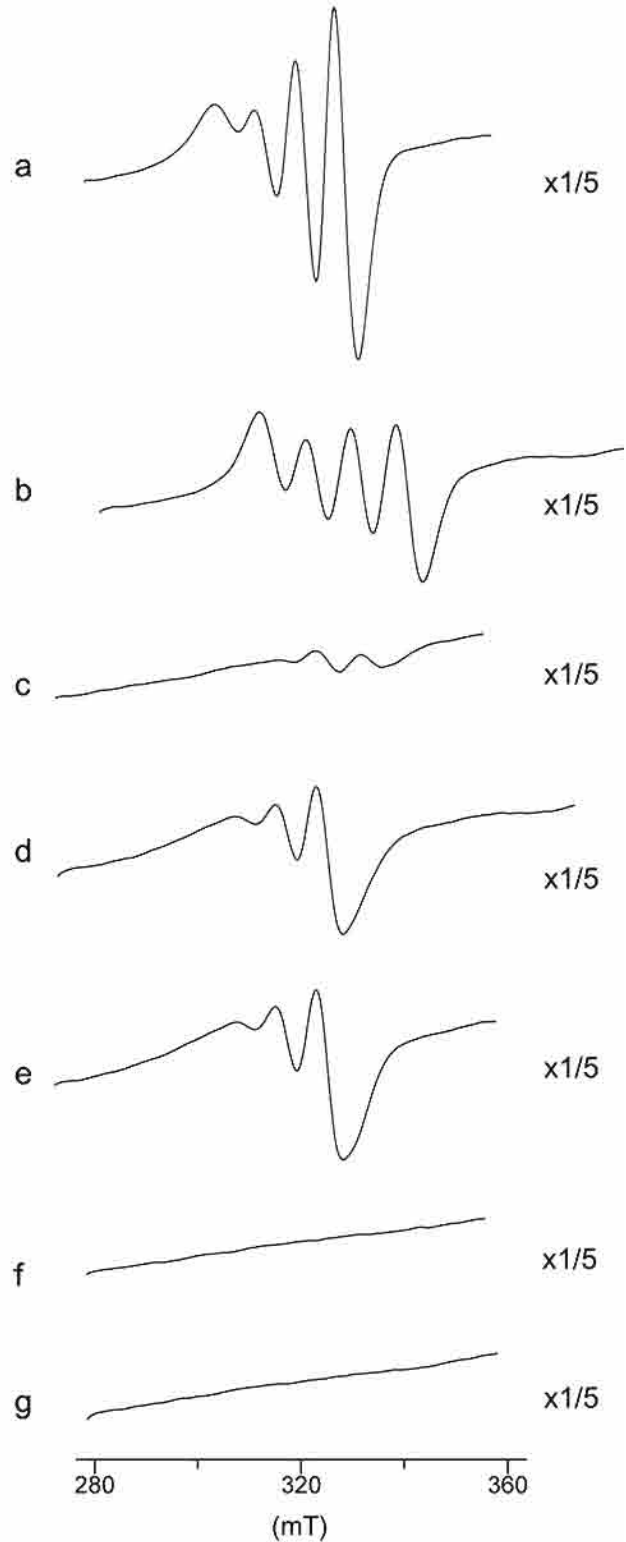


Fig. 4B

Fig. 4. Effects of chelating agents upon ESR spectra due to Cu(II).

A, ESR spectra of urine from 21-week-old LEC rats. Spectra of urine samples in the presence of 1 mM trientine (a), 1 mM D-Pc (b) or 1 mM GSH (c) were recorded as Fig. 1Ad.

B, ESR spectra of Cu-Glu complex: a, 0.2 mM CuCl<sub>2</sub> and 3 mM Glu in 10 mM phosphate buffer (pH 7.0); b, (a) + 1 mM trientine; c, d, (a) + 1 mM D-Pc (1 min, 30 min after mixing); e, (a) + 1 mM D-Pc disulfide; f, g, (a) + 1 mM GSH (1 min, 30 min after mixing).



Fig. 5. Hydroxyl radical formation in the reaction of  $H_2O_2$  (a) or D-Pc (b) with urine (A) or Cu-Glu complex (B).

Spectra were recorded immediately after mixing the urine sample from a 21-week-old LEC rat (containing 0.1 mM copper as the final concentration) or a Cu-Glu complex with DMPO solution. Details of these ESR-spin trapping experiments are described in Materials and Methods.

D-Pc was followed by the ESR method. A complete loss of the Cu(II)-amino acid signal required a 3 fold molar excess of GSH and a 10 fold molar excess of D-Pc to Cu(II). One-electron oxidation of thiol compounds by Cu(II) was confirmed by the formation of DMPO-thiyl radical adduct. It has been documented that the D-Pc thiyl radical is more unstable than the GSH thiyl radical under aerobic conditions<sup>[20]</sup>. Cu(II)-amino acid and -adenine complexes are redox active<sup>[21-23]</sup>. With the addition of ascorbic acid into the Cu-Glu mixture (or Cu-His, Cu-Gly,  $CuCl_2$ ), ascorbate radicals signals were observed (unpublished data); co-

mpatible with the finding that no substantial amounts of ascorbate are found in LEC rat urine. Hydroxyl radicals were detected during the reduction of the Cu-Glu mixture with  $H_2O_2$  or D-Pc (Fig. 5). Cu-His instead of Cu-Glu also gave the same results. Furthermore, urine from the rats or WD patients produced hydroxyl radicals in the reaction with  $H_2O_2$  in those cases that contained copper. Again, these results suggest that copper in urine might be redox active.

The proline effect on liver failure of the LEC rat has already been explained<sup>[24]</sup>. In general, amino acids most abundant in human urine are Gly, His, Lys and Gln. Our results indicate that, when specific pattern of amino acids was not observed, no special event such as degradation of collagen or MTs had taken place with the onset of hepatitis. With respect to removing the copper, there were no significant differences among amino acids on chelating copper at a neutral pH because the ESR spectra of the copper-amino acid complexes were not affected by the molecule side chains but only by N- $\alpha$ -acetylation.

LEC rats share a common feature with patients of WD: a deficiency in ATPase 7B, a copper transporter. In fact, WD is often initially diagnosed as hepatitis. On the other hand, monitoring urine copper, serum holo-Cp, Kayser-Fleischer ring, etc. may support the diagnosis of the disease. One of the characteristics of WD is an increase of copper excretion into the urine ( $>1.6 \mu\text{mol/day}$ )<sup>[25]</sup> and the ESR-detectable level of copper is over 10  $\mu\text{M}$ . In the present study, ESR-detectable copper was observed only during D-Pc treatment; in particular, extensive excretion of Cu was observed between 4 and 10 weeks after the beginning of treatment. This observation matches with the mention in other previous reports<sup>[26]</sup>. Small, basal excretion of Cu up to 20  $\mu\text{M}$  seemed to occur and the level could be varied by diet. Moreover, inpatients had meal restrictions since they were hospitalized. Thus, the effectiveness of the diagnosis at an early stage using ESR would not be high in WD. Genetic diagnosis, combined with mass screening using a urine Cp test<sup>[27, 28]</sup>, might be the only definite way at present to detect the disease before onset.

Renal failure in LEC rats and WD patients may occur because of heavy metal toxicity on the proximal tubule, as

proposed by Nomiyama K *et al.*<sup>[29]</sup>, inversely urinary copper may be the result of oxidative stress in the case of type 2 diabetes mellitus<sup>[30,31]</sup>. The abnormal accumulation of copper with age in LEC rat tissue is associated with an increase of redox active copper, causing oxidative stress<sup>[9,32]</sup>. Copper-and iron-induced Fenton reactions, which lead to the formation of hydroxyl radicals, may play an important role in the damage to the liver and kidneys. D-Pc could amplify this through production of ROS in the reaction between copper reduced by D-Pc and oxygen, besides encouragement of copper excretion. However, the amounts of both D-Pc and D-Pc dimer in any urine samples were below detection limits by mass-spectrometry analysis (unpublished data) and ESR analysis. Because excretion of Cu-D-Pc complex into the urine could not be proved from our data, the problem of D-Pc (participation upon renal failure and acceleration of Cu excretion) remains unclear.

Absence of Cp activity in the urine has not yet been proven, because measurement was performed after storage at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Below zero degrees Celsius, inactivation of Cp may occur. Assuming that inactivation does not occur, the copper in urine would be predominantly Cp-free, in contrast with blood in which it is nearly all bound up as Cp. Protein was detected neither in the urine samples from 21-week-old LEC rats nor in the urine samples from WD patients. Attempts to determine urinary MTs<sup>[33-37]</sup> indicate that the maximum amount of urinary MTs would be several nanomolars, which is insufficient to bind all the copper molecules that exist in urine (at maximum a few micromolars) even if MTs had been extensively induced by accumulated copper in the WD patients or LEC rats. In this study, the ligand(s) for Cu in the urine samples could not be identified although the majority of Cu is macromolecule-free, loosely bound and redox-active.

In conclusion, Cu(II) was detectable as an ESR signal in all the urine samples from rats and some of the urine samples from WD patients. The observed ESR spectra of urine could be attributed to the emerging of macromolecule-free copper that is redox-active and the ESR signal intensity of urine due to Cu(II) may indicate the degree of Cu-overflow from the liver and/or kidneys.

## Acknowledgements

We appreciate Ms. Eriko Shinokawa and Mr. Hiroaki Akutsu (Central Laboratory for Research and Education, Asahikawa Medical College) for their analysis of the amino acids and Mr. Simon Bayley and Ms. Sharon Hanley (Fundamental Education, Asahikawa Medical College) for proof reading the manuscript.

## References

1. Halliwell B and Gutteridge JM: Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal* **219**: 1-14, 1984.
2. Turnlund JR: Human whole-body copper metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition* **67**: 960S-964S, 1998.
3. Wapnir RA and Lee SY: Dietary regulation of copper absorption and storage in rats: effects of sodium, zinc and histidine-zinc. *Journal of the American College of Nutrition* **12**: 714-719, 1993.
4. Wapnir RA: Copper absorption and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* **67**: 1054S-1060S, 1998.
5. Hall AC, Young BW and Bremner I: Intestinal metallothionein and the mutual antagonism between copper and zinc in the rat. *Journal of Inorganic Biochemistry* **11**: 57-66, 1979.
6. Pena MM, Lee J and Thiele DJ: A delicate balance: homeostatic control of copper uptake and distribution. *The Journal of Nutrition* **129**: 1251-1260, 1999.
7. Wu J, Forbes JR, Chen HS and Cox DW: The LEC rat has a deletion in the copper transporting ATPase gene homologous to the Wilson disease gene. *Nature Genetics* **7**: 541-545, 1994.
8. Tanzi RE, Petrukhin K, Chernov I *et al.*: The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. *Nature Genetics* **5**: 344-350, 1993.
9. Sato M and Bremner I: Oxygen free radicals and metallothionein. *Free Radical Biology & Medicine* **14**: 325-337, 1993.
10. Nakamura M, Nakayama K, Shishido N, Yumino K

- and Ohyama T: Metal-induced hydroxyl radical generation by Cu(+)-metallothioneins from LEC rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **231**: 549-552, 1997.
11. Shishido N, Nakayama K, Takazawa A, Ohyama T and Nakamura M: Cu-metallothioneins (Cu(I)<sub>8</sub>-MTs) in LEC rat livers 13 weeks after birth still act as anti-oxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **387**: 216-222, 2001.
  12. Nakayama K, Takasawa A, Terai I, Okui T, Ohyama T and Tamura M: Spontaneous porphyria of the Long-evans cinnamon rat: an animal model of Wilson's disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **375**: 240-250, 2000.
  13. Sugiura Y: Newly synthesized sulfhydryl- and imidazole-containing tripeptides with a specific copper-binding site. *Inorganic Chemistry* **17**: 2176-2182, 1978.
  14. Rakhit G, Sarker B: Electron spin resonance study of the copper(II) complexes of human and dog serum albumins and some peptide analogs. *Journal of Inorganic Biochemistry* **15**: 233-241, 1981.
  15. Hissin PJ and Hilf R: A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical Biochemistry* **74**: 214-226, 1976.
  16. Schosinsky KH, Lehmann HP and Beeler MF: Measurement of ceruloplasmin from its oxidase activity in serum by use of o-dianisidine dihydrochloride. *Clinical Chemistry* **20**: 1556-1563, 1974.
  17. Finkelstein E, Rosen GM and Rauckman EJ: Spin trapping of superoxide and hydroxyl radical: practical aspects. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **200**: 1-16, 1980.
  18. Peisach J and Blumberg WE: Structural implications derived from the analysis of electron paramagnetic resonance spectra of natural and artificial copper proteins. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **165**: 691-708, 1974.
  19. Sozeri E, Feist D, Ruder H and Scharer K: Proteinuria and other renal functions in Wilson's disease. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)* **11**: 307-311, 1997.
  20. Winterbourn CC and Metodiewa D: Reactivity of biologically important thiol compounds with superoxide and hydrogen peroxide. *Free Radical Biology & Medicine* **27**: 322-328, 1999.
  21. Pecht I and Anbar M: Oxidation of bis (bipyridyl) copper(I) ions by oxygen and by hydrogen peroxide. *Journal of the Chemical Society A* **8**: 1902-1904, 1968.
  22. Bruston F, Vergne J, Grajcar L, Drahi B, Calvayrac R, Baron MH and Maurel MC: Copper-adenine catalyst for O<sub>2</sub> production from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **263**: 672-677, 1999.
  23. Ueda JI, Hanaki A, Hatano K and Nakajima T: Autoxidation of ascorbic acid catalyzed by the copper(II) bound to L-histidine oligopeptides, (His)<sub>i</sub> Gly and acetyl-(His)<sub>i</sub> Gly (i=9, 19, 29). Relationship between catalytic activity and coordination mode. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)*, **48**: 908-913, 2000.
  24. Hawkins RL, Mori M, Inoue M and Torii K: Proline, ascorbic acid, or thioredoxin affect jaundice and mortality in Long Evans cinnamon rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* **52**: 509-515, 1995.
  25. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 17<sup>th</sup> Ed; Section 1, Nutritional disorders; Chapter 4, Mineral deficiency and toxicity.
  26. Nakayama K, Saito A, Nishimura K, Katsura E, Ichihara N, Suzuki T, Kouguchi H, Katoh Y, Sawada Y, Tamura M, Honma H, Kobayashi K, Ariga T, Fujieda K and Aoki T: Mass screening for Wilson's disease by automated assays at the legal 3-year-old medical health care examination. *Journal of Japanese Society of Mass-Screening* **15**: 43-46, 2005.
  27. Nakayama K, Saito A, Nishimura K, Katsura E, Ichihara N, Suzuki T, Kouguchi H, Katoh Y, Sawada Y, Tamura M, Honma H, Kobayashi K, Ariga T, Fujieda K and Aoki T: Mass screening for Wilson's disease by automated assays at the legal 3-year-old medical health care examination. *Journal of Japanese Society of Mass-Screening* **15**: 43-46, 2005.
  28. Nakayama K, Saito A, Nishimura K, Katsura E, Ichihara N, Sawada Y, Tamura M, Honma H, Kanzaki S, Itami T, Ohtake A, Ikegami K and Tsuruga Y: Auto-analysis of urinary ceruloplasmin by latex agglutination assay. *Journal of Japanese Society of Mass-Screening* **15**: 59-64, 2005.

29. Nomiya K, Nomiya H, Kameda N, Tsuji A and Sakurai H: Mechanism of hepatorenal syndrome in rats of Long-Evans Cinnamon strain, an animal model of fulminant Wilson's disease. *Toxicology* **132**: 201-214, 1999.
30. Hong CY and Chia KS: Markers of diabetic nephropathy. *Journal of Diabetes and its Complications* **12**: 43-60, 1998.
31. Ito S, Fujita H, Narita T, Yaginuma T, Kawarada Y, Kawagoe M and Sugiyama T: Urinary copper excretion in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Nephron* **88**: 307-312, 2001.
32. Koizumi M, Fujii J, Suzuki K, Inoue T, Inoue T, Gutteridge JMC and Taniguchi N: A marked increase in free copper levels in the plasma and liver of LEC rats: an animal model for Wilson disease and liver cancer. *Free Radical Research* **28**: 441-450, 1998.
33. Sato M, Nagai Y and Bremner I: Urinary excretion of metallothionein-I and its degradation product in rats treated with cadmium, copper, zinc or mercury. *Toxicology* **56**: 23-33, 1989.
34. Folch J, Ortega A, Cabre M and Panernain JL: Urinary levels of metallothioneins and metals in subjects from a semiindustrialized area in Tarragona Province of Spain. *Biological Trace Element Research* **63**: 113-121, 1998.
35. Tang W, Kido T, Gross WA, Nogawa K, Sabbioni E and Shaikh ZA: Measurement of cadmium-induced metallothionein in urine by ELISA and prevention of overestimation due to polymerization. *Journal of Analytical Toxicology* **23**: 153-158, 1999.
36. Kabzinski AKM: Quantitative determination of Cu-thionein from human fluids with application of solid-phase extraction on covalent affinity chromatography with thiol-disulphide interchange support. *Biomedical Chromatography* **14**: 160-165, 2000.
37. Suzuki KT, Someya A, Komada Y and Ogra Y: Roles of metallothionein in copper homeostasis: responses to Cu-deficient diets in mice. *Journal of Inorganic Biochemistry* **88**: 173-182, 2002.

---

## Determining the status of copper in the urine of Long-Evans Cinnamon rats and patients with Wilson's disease

SHISHIDO Naomi\* NAKAYAMA Kenji\*\* NAKAMURA Masao\*

---

### Summary

We attempted to determine copper levels and copper states in the urine of WD patients and LEC rats. ESR signals due to Cu(II) were observed in all urine samples from the LEC and Wistar rats and in some urine samples from the WD patients but not in the urine samples of healthy human volunteers. There was a good correlation between the intensity of the Cu(II) signal and Cu levels. The intensity of the Cu(II) signal and amino acid contents in urine increased with age in the case of LEC rats. In all cases, the concentrations of total amino acids were 2 orders of magnitude higher than the concentrations of copper, and the content of total glutathione was considerably less than that of amino acids. The intensity of the Cu(II) signal in the urine and the amount of hydroxyl radical formation were proportional to the concentrations of copper determined with ICP-MS. Ultrafiltration (Mr limit: ca.5,000) of urine samples did not alter the results of the ESR analysis. Observed ESR spectra of urine may be attributed to the emergence of macromolecule-free, redox-active copper, while the ESR signal intensity in the urine due to Cu(II) may indicate the degree of Cu-overflow from the liver and/or kidneys.

**Key words** Copper; ESR; Long-Evans Cinnamon rat; Reactive oxygen species; Urine; Wilson's disease

---

\*Department of Chemistry, Asahikawa Medical College, Asahikawa

\*\*Hokkaido Institute of Public Health, Sapporo



## エッセイ

### コート上の研究史 — 中央研究施設に感謝をこめて —

片 桐 一

夏の暑い日曜日（平成20年7月27日）、心待ちにしていた第29回会長杯争奪テニス大会（旭川医大職員硬式庭球部主催）に参加させていただきました。第7回大会（昭和61年）から退職時まで会長としてお世話していた関係で、その後会長から声をかけていただき、年一回のお手合わせを楽しんでいます。ここには、旭川医大の事務職員はもとより、3つの中央研究施設の職員も参加しており、在職時代にもどって昔の数々の研究の話、大学運営の話をし、テニスのコートから離れたところを思い出します。

私が旭川医大に赴任した時（昭和49年、1974年）、ヒト白血球にHLAと呼ばれる血液型があり、この血

液型抗原が人の臓器移植の成否を決める重要な物質である事が明らかにされました。このHLA抗原の化学的性状と機能の解析を進めようと、遠い先を夢見ながら研究を準備しました。研究材料として培養細胞とマウスを用い、研究方法は当時最も鋭敏で精度の高いRadioimmuno assay、そして放射性同位元素を用いた細胞障害反応、細胞増殖反応を用いる事にしました。路筋が決まると、ひたすら走るのが研究者で、私の前教授でした板倉克明先生からは、「へたな研究体むに似たり」とよく言われました。その時「へたな鉄砲も数撃てば当たる」と信じて働いたものです。

内分泌研究分野で、放射性同位元素標識ホルモンと



第23回会長杯テニス大会（平成14年）

抗体との反応による精度の高い研究が行われており、その方法を利用して標識 HLA 抗原と抗体との反応により ng 単位で HLA 分子の解析が出来、HLA 分子には大きく 2 種類 (クラス I 分子群とクラス II 分子群) が存在する事を明らかにしました。そして HLA クラス I 分子、クラス II 分子には非常に多くの型 (多型性) があり、それぞれの個人を特徴づける分子である事がわかり、ヒト集団内で HLA 型が完全に一致する確率は 20 万人に 1 組の割合です。

RI 研究施設が稼働しだし、放射性同位元素を扱う研究は施設を利用して行いました。注意に注意を重ねても、インキュベータ内に放射性同位元素をこぼしたりし、そのたびに K 技官、N 技官から厳しく指導されました。

指導の成果は、同位元素の取り扱いばかりでなく、N 技官とペアを組んで出場した第 12 回会長杯テニス大会 (平成 3 年) で準優勝し、そして第 23 回大会 (平成 14 年) で優勝しました。気心の通じ合えた結果です。今年の大会では、1 勝 3 敗の成績で、試合当日に初めてお会いしてペアを組んで下さいました S さんに感謝しています。

個人を特徴づける HLA の多型は、HLA 分子のアミノ酸配列の差に由来し、そして多型部分に結合する内在性および外来性ペプチドを選択している事が明らかになりました。このペプチドの選択は免疫応答の有無を支配しています。日本人に高頻度に見られる HLA-DR4 型及び HLA-DR9 型に結合するペプチドの重要なアミノ酸配列 (モチーフ) を決定した K 女史、F 氏の研究には、皆が興奮したものです。自然結合ペプチド及び白樺花粉ペプチドのアミノ酸配列の決定には、機器センターの A 技官の協力により質量分析計を存分に

使わせていただきました。テニス大会で N 技官と対戦するたびに、質量分析計の高精度化を目指し、機器の更新をするよう助言をいただいています。遺伝子解析の機器の重要性とともに、蛋白質、ペプチドの解析機器は、医学分野の研究に欠かせないもので、一段と充実される事を願っています。

私は、現在民営の抗体作製及びマウスの生殖工学、飼育を専門とする研究所に顔を出し、若い研究者を叱咤激励しています。北海道の研究施設での遺伝子改変マウスの作製、胚細胞及び受精卵の保存等々の技術は日増しに進歩しています。この進歩は日本実験動物技術者協会支部長として活躍している、旭川医大の動物実験施設 S 技官によるところが大きく、旭川医大動物実験施設の名を広め、頼もしく思っています。医療への応用を目指した研究には動物実験が益々重要になるでしょう。

これまでの医学・医療の発展は、大学の研究を基盤としたものです。医療崩壊の建て直しに全学をあげて取り組んでいる中であっても、研究の芽は養われ、大きな成果が生まれる事を期待します。基礎研究棟の改修工事が始まったようです。新しい研究室で、新しい機材をそろえ、これまで以上に中央研究施設を活躍し、旭川医大の研究は一層発展するでしょう。

職員のテニス同好会が 29 年の長きにわたり継続されたのは、職員と幹事の会の熱意の賜物です。在職時、学生の硬式テニス部から依頼があり、幾度か教務部学生課にお願いしたラバーコートの張り替え修理は、まだ行われていないようです。他大学との交流試合も行われます。来年の第 30 回会長杯争奪テニス大会では、新しいコートで試合をしたいものです。

(旭川医科大学名誉教授・元副学長)

投稿論文 (原著)

# 旭川医科大学病院における手術部物品管理システムに関する分析

柴山 純一\* 平田 哲\*\* 瀬川 澄子\*\*\*

## 【要 旨】

本研究は、手術部における材料セット化による供給と使用状況、および、手術における収益、費用状況について検討することを目的とした。

その結果、2007年度の材料セット供給状況は、セット種類で440種、年度末登録セットのうち61.6%が実際に使用され、全手術の97.6%に供給が行われており、業務の効率化、手術準備時間短縮に効果をあげている。また、1手術当たりで使用した材料の状況を分析すると、セット内で準備された材料60.5件のうち40.7件が使用され、さらにセット外として9.8件が使用されていた。セット内物品使用率は67.3%で、前年度54.4%と比較すると向上しており、内容見直しの効果が表れていた。

手術部における収益、費用状況では、手術1件当たり収入は43.4万円、直接費用は25.2万円で収支差額は18.1万円のプラスとなっていた。また、手術時間と収入の関係を分析すると、手術時間とともに収入は多くなっているが、単位時間当たり収入で比較すると、長時間手術に比べ短い手術ほど高くなっており、高度な技術、機器を使用することが多い長時間手術における診療報酬の技術料評価に課題を残しているといえる。

**キーワード** 材料管理、材料セット化、手術原価、手術収支

## I. はじめに

少子高齢化、経済の低成長への移行、国民生活や意識の変化を背景に、医療制度の構造改革が進められ、診療報酬のマイナス改定や機能分化と施設連携の推進等、病院を取り巻く環境は変化している。また、DPC (Diagnosis Procedure Combination; 診断群分類) による診療報酬の包括化が導入され、これらに対応するための経営データは重要となり、経営の視点が収入からコスト管理へと移行し、経営資源が効率的に適切なコストで運営されているかを検証する必要性が増してきている。

このなか、診療材料費のうちの多くを消費し、包括化のもとにおいても出来高で評価される手術部門の機能強化と管理が、今後の急性期病院経営を左右すると

言っても過言ではない。本院においては、手術の質向上、麻酔・看護業務の効率化、リスクマネジメントを目的とし「手術部患者情報管理システム」と「手術部物品管理システム」が導入され、経営管理においても活用されている。「手術部患者情報管理システム」では、手術スケジュール、術中麻酔情報、生体情報モニタ、看護記録、人工心肺記録、および、映像情報が管理され、また、これと連動した「手術部物品管理システム」は、物品管理、材料セット化による供給業務支援、実績入力をもとにした術式別収支計算の3つの要素から構成されている。

## II. 目 的

手術部における材料セット化による供給と使用状況、および、手術における収益、費用状況について検討す

\*旭川医科大学病院 経営企画部 \*\*旭川医科大学病院 手術部 \*\*\*旭川医科大学病院 看護部

ることを目的とする。

### Ⅲ. 方 法

#### 1. 手術部物品管理システムについて

本システム化のねらいは、特に複数部門で使用されているものに効果を発揮する SPD (Supply Processing & Distribution; 物品の供給と管理) 化に加え、使用量・金額の多い手術部においての入庫、使用、在庫管理の徹底を図り、術式別材料のセット化による準備業務の効率化と、手術別使用実績入力によるセット別材料使用状況の把握、および、実績をもとにしたセット内容の定期的見直し、手術スケジュールとセット化をリンクさせた管理による材料の欠品リスク予防にある。また、実績入力と医事請求、手術時間等から把握できる手術別収支の算出と分析である。特に本院では、材料の準備・後処理等の間接的看護業務負担の削減(本来業務の推進)を図るとともに、手術終了後、次の手術開始までの時間短縮と、実績をベースとした柔軟な術式別セットの更新が可能となるよう運営面も考慮したシステム化を検討した。

#### 1) 物品管理

「手術部物品管理システム」における物品管理では、預託在庫物品を含む特定保険医療材料と、単価500円以上の一般診療材料を対象に入庫、検収時に品目情報、ロット情報(UCC/EAN128)を含むバーコードシールを発行し、手術後に回収された未使用物品と追加使用物品のバーコードを入力し、手術別に使用した材料の実績と在庫状況、発注情報の管理を行っている。

#### 2) 材料セット化による供給業務

材料セット化による供給業務は、手術スケジュールと術式別セットマスタ、手術オーダによる使用器材から、出力される材料の「セット票」に基づき準備を行う。本院では、術式別の基本セットに個々の必要物品を追加して準備を行い、手術後の使用状況と追加使用情報の入力による実績に応じ、術者や術式別にセットマスタの組み換えが行いやすいようにしている。このセットをもとにした手術前の材料準備は委託化により行われている。

#### 2. 手術部における収益、費用状況についての検討

術式別収支は、手術時間、執刀医・助手、看護師の人数、別途入力される医薬品の使用実績をもとに直接費用を算出し、医事請求からの収入情報をあわせ各手

術別に計算している。現段階では、費用には特定保険医療材料を除く500円未満の一般診療材料費、医師・看護師の準備、術前・後訪問等の人件費、医師・看護師以外の人件費、建物・機器の減価償却費、光熱水費、委託費等の経費は含まないものとしている。

収支の計算は手術毎に算出し、月別、診療科、術式別に集計される。また、物品別使用実績、術式セット使用実績、不動在庫一覧も出力できるようになっている。

### Ⅳ. 結 果

#### 1. 手術件数、手術時間の状況

本院の手術件数は年々増加しており、2006年度実績は5,603件、2007年度5,996件と推移している。特に国立大学法人化以降の伸びは大きく、法人化前年の2003年度を100とする2007年度比は143.7となっている。また、2007年度実績における要求度内訳では、臨時手術が18.7%、予定臨時3.3%と定期以外が22.0%を占め、救急患者の増加等による臨時手術の割合が伸びている。

1件当たりの平均手術時間は、2006年度119分、2007年度117分となっており、両年度をあわせた時間区分別割合をみると、1時間未満が全体の42.5%、1～2時間が25.6%、2～4時間19.0%、4～6時間7.0%、6～8時間3.2%、8時間以上2.6%となっていた。

#### 2. 材料セット化による供給と使用状況

##### 1) 材料セット化とセット供給(セットによる材料準備)状況

手術部物品管理システム導入前には135のセットが既に存在していたが、検討を重ね、2006年4月時点における登録セット種類は522、延べ品目数は20,471となった。その後、2007年4月時点で681、延べ28,186品目、2008年4月には714種類、30,453品目へと増加している。

供給・使用実績をまとめると表1のとおりとなり、2006年度の供給では、セット種類で424種、延べセット数は5,647セット、品目数は延べ224,528、物品数は316,591となっていた。全手術の97.9%にセット供給が行われ、登録されているセットのうちの62.3%が実際に供給されていた。2007年度には、セット種類で440種、延べセット数は6,168セット、延べ品目数259,437、物品数373,126と、手術件数の増加に伴い使用されるセット数、物品数ともに増加していた。また、

年度末現在で登録されているセットのうちの61.6%が実際に使用されていた。

2) 使用状況

供給に対し使用した物品の状況は、2006年度延べ172,357、2007年度251,279となっており、セット供給物品延べ数(準備された数)に対する使用率は、2006年度54.4%、2007年度67.3%となっていた。さらに、セット外で使用された物品数は2006年度延べ63,726、2007年度60,505であった。

2006年度の状況を手術件数1件当たりに換算すると、セット内で準備された材料56.1件のうち30.5件が使用され、セット外として11.3件が使用されていたことになる。2007年度では、セット内準備60.5件のうち40.7件が使用され、さらにセット外として9.8件が使用されていた。2006年度の状況と2007年度を比較すると、平均準備数が56.1件から60.5件へと4.4件増加したが、使用物品数が30.5から40.7件へと10.2件増加し、物品使用率も54.4%から67.3%へと増加していた。また、セット外として使用される物品数が減少していた。

セット外の使用物品延べ数は、セット内物品の1/3強から1/4程度と少ないが、金額では3倍以上となる使用量が少なく高額物品をセット外としている現状がある。

セット内の物品別に使用率をみると、図1に示すとおり2006年度では全く使用しなかったものが延べ3,844件で全体の20.3%を占め、0~20%未済が1,558件(8.2%)、20~40%未済1,791(9.5%)を占めてい

表1 材料の供給・使用実績

	年間実績		1セット当たり	
	2006年度	2007年度	2005年度	2007年度
年度末現在登録セット数	681	714	—	—
供給セット数	424	440	—	—
供給セット延数	5,647	6,168	—	—
供給品目延数	224,528	259,437	39.8	42.1
供給物品延数	316,591	373,126	56.1	60.5
使用物品延数	172,357	251,279	30.5	40.7
物品使用率(%)	54.4	67.3	—	—
セット外使用品目延数	16,921	16,963	3.0	2.8
セット外使用物品延数	63,726	60,505	11.3	9.8

1セット当たり供給物品延数とは、セット内で準備された件数を示し、使用物品延数は、セット内使用件数を示す

た。さらに使用率が100%を超える物品も375件存在していた。2007年度では、全く使用しなかったもの3,033件(16.5%)、0~20%未済が901件(4.9%)、20~40%未済927(5.0%)、100%を超える物品154件となり、考察でも述べる使用実績をもとにしたセット内容の見直しにより、2006年度に比べ20%未済や100%以上の件数割合が減少していた。

3. 手術部における収益、費用状況

1) 手術収入

収支を算出した手術数は、2006年度5,376件(総手術件数5,603件)、2007年度5,698件(手術件数5,996件)で、手術総収入は2006年度23億300万円、2007年度24億9,900万円となっていた。2007年度においては本院における総収入の18.3%が手術部における収入であり、経営面においても大きな機能を果たしている。

1件当たり収入区分別の件数をみると、20万円未満の手術が全体の43.2%を占めており最も多く、次いで20~40万円未済が25.7%、40~60万円未済13.0%、100~200万円未済が7.4%の順となっていた。

2) 手術1件当たり収入、費用

手術1件当たり収入は、2006年度42.8万円、2007年度43.9万円と、年度を比較すると1件当たり1.0万円増加していた。直接費用は、2006年度25.4万円、2007

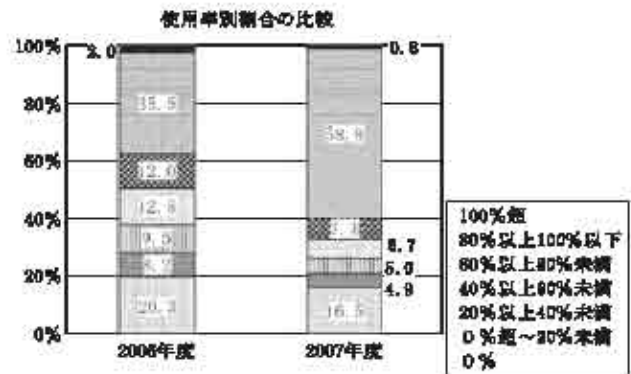


図1 使用率別物品数割合の比較

表2 収支算出手術件数と総手術収入・費用

	2006年度	2007年度
手術台帳からの総手術件数(件)	5,603	5,996
収支算出手術件数(件)	5,376	5,698
総手術時間(時間)	10,681	11,074
総手術収入(百万円)	2,303	2,499
総直接費用(百万円)	1,364	1,429

手術収入構成比 (2006, 2007年度)

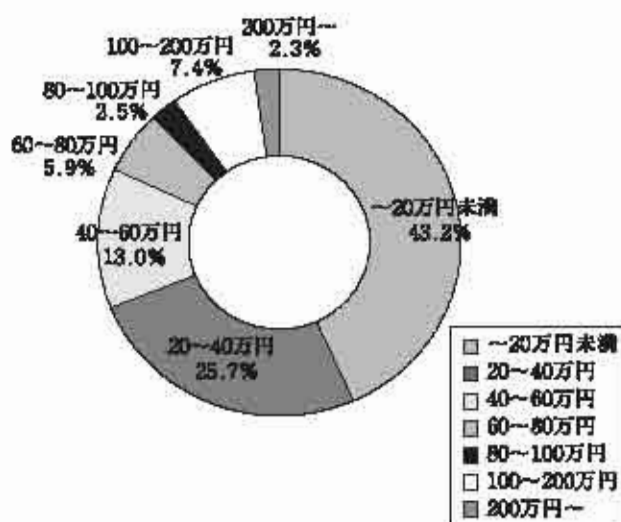


図2 手術収入構成比

年度25.1万円で3,000円減少していた。

2年間を平均した1件当たり手術収入の内訳をみると、手術・手技料が22.6万円 (収入の52.2%)、麻酔料7.7万円 (17.8%)、特定保険診療材料9.5万円 (21.9%)、薬剤料3.5万円 (8.1%)、合計43.4万円となっており、直接費用構成は、直接人件費が5.9万円 (直接費用のうちの23.6%)、特定保険診療材料費8.8万円 (35.0%)、医薬品費2.5万円 (10.1%)、その他材料費7.9万円 (31.3%)、合計25.2万円で、手術1件当たりの収支差額は18.1万円のプラスとなっていた。

3) 術式別収入、費用

収入、直接費用は個々の手術別に算出されているが、これらを術式別にまとめ、症例数が多く特徴あるものをみてみると、図4に示すとおり「大腿-足関節動脈バイパス」(144症例) 1件当たり平均収入は73.3万円、直接費用は58.4万円であった。収入内訳は、手術・手技料33.1万円 (収入の45.2%)、麻酔料16.0万円 (21.9%)、特定保険医療材料13.6万円 (18.6%)、薬

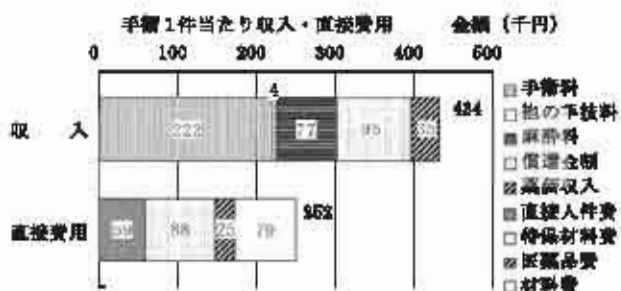


図3 手術1件当たり収入、直接費用

剤料10.5万円 (14.4%) となっており、費用は、直接人件費18.9万円 (直接費用の32.4%)、特定保険医療材料費14.1万円 (24.1%)、医薬品費7.1万円 (12.1%)、材料費18.3万円 (31.4%) と、特定保険医療材料と一般材料を合わせた材料費が費用うちの55.5%と多くを占めていた。

「超音波乳化吸引術+眼内レンズ移植術」(1,333症例) では、図5のとおり収入20.9万円、直接費用11.8万円で、収入では手術料が85.1%を占めていた。費用では材料費の割合が高く、直接費用のうちの71.6%を占めており、収入面では手技料に含まれている一般材料費が収支に大きく影響している現状が分かった。

4) 診療科別収入、費用

診療科別手術収入は、第1外科が最も多く全体収入のうち40.1%を占め、次いで整形外科13.8%、眼科12.5%の順で、これら3診療科で全手術収入の2/3を占めていた。収入内訳をみると、手技料の割合が多いのは眼科、第2外科、皮膚科、産科婦人科で、特定保険材料の割合は整形外科、第1外科が多く診療科により差が表れていた。

直接費用は第1外科、整形外科、第2外科、眼科の順に多く、収支差額をみると、第1外科が最も多くの収益を上げ、眼科、整形外科、第2外科が次いでいた。収入に対する費用の割合をみると、特定保険材料費は

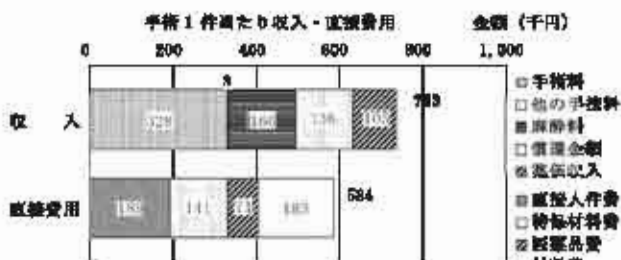


図4 手術1件当たり収入、直接費用 (大腿-足関節動脈バイパス)

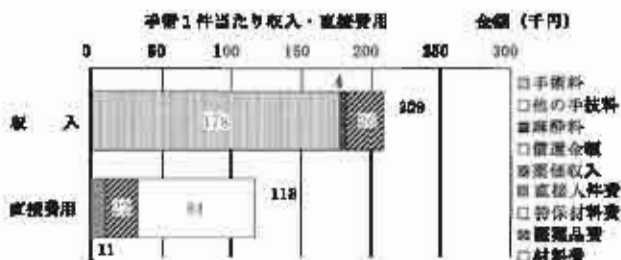


図5 手術1件当たり収入、直接費用 (超音波乳化吸引術+眼内レンズ移植術)

整形外科、第1外科の割合が高く、材料費は眼科、産科婦人科、第2外科が高くなっていった。

また、手術1件当たりの収入をみると第1外科、脳神経外科、整形外科、第2外科の順に多く、収支差額をみると脳神経外科、第1外科、整形外科の順となり、脳神経外科は手術1件当たりの収入が多く、眼科は総収入が多いという特徴がみられた。

### 5) 手術時間と収入

手術時間区別に1件当たり収入をみると、手術1時間未満が17.5万円、1~2時間34.8万円、2~4時間58.5万円、8時間以上193.7万円となっていた。また、手技・麻酔収入についても、図7に示すとおり1時間未満13.3万円、1~2時間25.2万円、8時間以上

121.0万円と、どちらも手術時間とともに収入は多くなっていった。

手術収入は、手技料、時間外や小児等の加算、麻酔料の技術的収入と特定保険医療材料、薬剤料から構成され、手技料は手術術式ごとに収入(点数)が決めている。一方で手術時間をみると、30分未満のものから10時間を越えるものまで行われている。そこで、手術時間と収入の関係を分析すると、手術時間と収入、および、手術時間と手技・麻酔料の技術収入の間には、それぞれ  $r=0.59^{**}$ 、 $r=0.68^{**}$  と有意な相関を有し、統計的にも時間とともに収入が多くなっていることがわかった。また、収支差額についても  $r=0.43^{**}$  と手術時間との相関がみられた。



図6 診療科別収入・直接費用、手術1件当たり収入・直接費用

### 1件当たり手術・麻酔収入、1時間当たり手術・麻酔収入

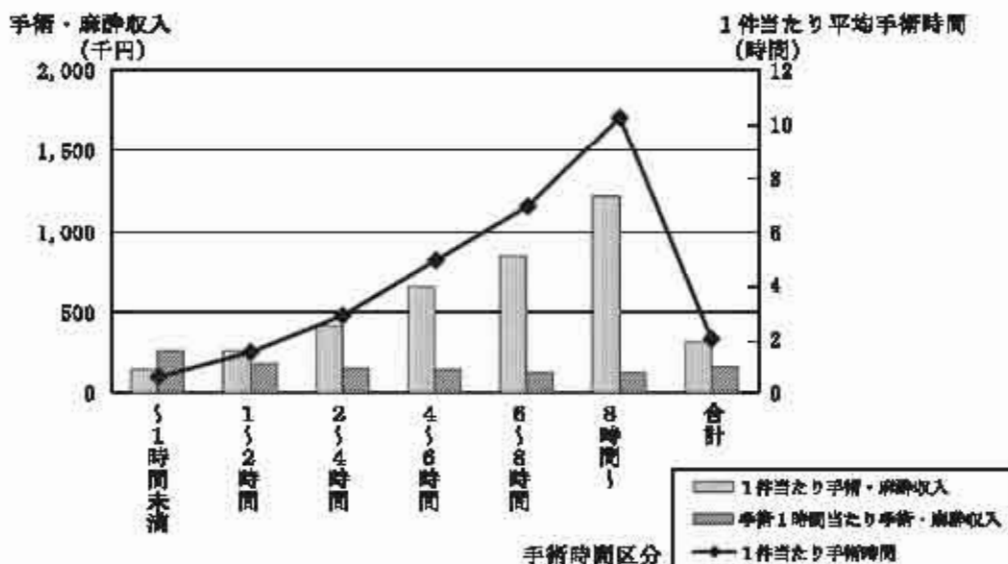


図7 手術時間区分別1件当たり手技・麻酔収入、1時間当たり手技・麻酔収入

## V. 考 察

### 1. 材料セット化供給による業務の効率化

手術部における看護師の業務を分析した結果、術後の後片付け、衛生材料の準備等に業務時間のうちの10.7%を費やしていたが<sup>1)</sup>、セットをもとにした手術前の材料準備、手術後の使用実績入力とセット外追加使用情報の入力をシステム化し、委託化したことにより、間接的看護業務負担の削減が図られている。実際に2007年度では全手術の97.6%にセット供給が行われており、業務の効率化、手術準備時間短縮に効果をあげている。

### 2. 使用率による材料セットの見直し

2006年度におけるセット化により準備された材料の平均使用率は54.4%であったが、セット別にセット内物品の使用状況を検討した結果、セット内物品使用率20%未満が5種、20~40%未満が43種存在していた。

物品使用率の低いセット内容の見直しを目的とし、20回以上使用した68セットを対象にセット内物品別の使用状況を分析すると、20%未満が延べ997品目存在し、また、100%を越える品目が73品目存在していた。これらに関し、リスクマネジメント上必要な物品等を考慮しながらセットから削除、または、準備数の削減を行った。また、使用率が100%を越える物品については準備数の追加を図る見直しを行った。その結果、2007年度の平均使用率は67.3%と、2006年度と比較し向上しており、セット内物品の使用率を比較してみても、20%未満の品目割合が2006年度28.6%から2007年度21.3%へ、100%越の割合も2.0%から0.8%となり、見直しの効果が表れたといえる。

### 3. 手術1時間当たり収入

診療科別手術収入では、第1外科、整形外科、眼科が多く、手術1件当たりで比較すると、第1外科、脳神経外科、整形外科の順となっていた。さらに、手術時間1時間当たり収入としてみると、第1外科、整形外科、眼科、脳神経外科の順となり、手術件数1件当たりでは脳神経外科が、手術時間1時間当たりでは時間の短い手術の割合が多い眼科が高く、診療科による差がみられる。

手術時間と収入、および、時間と手技・麻酔料の間には相関が認められたが、時間区分別に手術1時間当たりでの手技・麻酔収入を分析してみると、1時間未

満が24.9万円、1~2時間17.4万円、2~4時間14.6万円、8時間以上11.8万円と、時間とともに1時間当たり収入は少なくなっており、単位時間当たりで比較すると、時間の長い手術に比べ短い手術ほど高くなっていることがわかった。同様の分析を手術時間と収支差額について行った場合も同じ結果となり、手術1時間当たり収支は、1時間未満が16.4万円、1~2時間11.3万円、2~4時間8.4万円、8時間以上6.5万円と、例えば手術室1室を1日稼働させる等同じ時間で行うのであれば、時間の長い手術よりも短い手術を多く実施したほうが利益は多くなるという結果となった。長時間におよぶ手術は、血管外科や脳神経外科等の診療科が多く、また、複数診療科がチームとなって行うもの、患者のリスクが高い手術、高額な機器を使用するものが多く、これらについては診療報酬における技術料においても評価されるべき点であると考えられ、技術、時間、機器等の減価償却を含めたコスト面を合わせた検討、評価が必要であるとみられる。

## VI. 結 論

手術部における材料セット化による供給と使用状況、および、手術における収益、費用状況について検討することを目的とし、以下の結果を得た。

- 2008年4月時点で714種類のセットが登録されており、2007年度には全手術の97.6%に供給が行われ、登録のうちの61.6%、440種が実際に使用されていた。
- 2007年度の材料の状況は、1手術当たり60.5件がセット内として準備され、そのうち40.7件を使用し、さらにセット外として9.8件が使用されていた。
- 手術1件当たりの平均収入は43.4万円、直接費用は25.2万円で、収支差額は18.1万円のプラスとなっていた。
- 物品使用率の低いセットについて、20回以上使用したセットを対象に内容の見直しを行った結果、2007年度の平均使用率は67.3%と、2006年度54.4%と比較し向上しており、また、セット内物品の使用率を比較してみても、20%未満の品目割合が28.6%から21.3%へと減少し、見直し効果が表れた。
- 手術時間と収入、および、手術時間と手技・麻酔収入の間には有意な相関を有し、手技・麻酔料のいわゆる技術収入は、手術時間とともに多くなっている。



しかしながら、単位時間当たりで比較すると短時間手術を多く実施したほうが利益は多く、高度な技術、機器を使用することが多い長時間手術における診療報酬の技術料評価に課題があることが考察された。

## 謝 辞

本研究をまとめるにあたり、システムの開発・運営にご尽力をいただいた株式会社ミックス小林靖志、高橋広純、神宮史人の各氏に深く感謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) 柴山純一, 平田 哲, 瀬川澄子, 社本忍, 廣川博之, 神宮史人; 診療材料管理システム化の検討(第一報) - 院内SPDの導入と手術部物品管理システム化へ向けた分析 -, 17年度大学病院情報マネジメ
- 2) 平田 哲, 瀬川澄子, 宗万孝次, 柴山純一, 神宮史人, 小林靖志; 術式別原価計算システムから見える手術室の効率的経営, 日本手術医学会誌, Vol.28 No.2 22-25, 2007年
- 3) 柴山純一, 平田哲, 小守林訓, 藤本茂樹, 小林靖志, 高橋広純, 神宮史人; 手術部門システムによる病院経営効率化の実際, 新医療, No.395 2007年11月号114-117, 2007年
- 4) 平田 哲, 瀬川澄子, 井戸川みどり, 若井真冬子, 藤原由紀恵, 大槻伸子, 柴山純一, 神宮史人, 高橋広純, 小林靖志; 手術部物品管理システムデータを用いたセット化器材の見直し, 日本手術医学会誌, Vol.29 No.1 25-28, 2008年

---

# Analysis of the Surgical Material Management System at the Operation Department of Asahikawa Medical College Hospital

SHIBAYAMA Junichi\* HIRATA Satoshi\*\* SEGAWA Sumiko\*\*\*

---

## Summary

The objective of this study is to discuss the current situation of supply and use of surgical material sets, and the situations of income and expenses for each surgical procedure.

As a result, it was found that in fiscal 2007, 440 kinds of surgical material sets, that is, 61.6% of registered sets as of the end of the year, were actually used, and supplied for 97.6% of all surgeries. This indicates that surgical material sets contribute to the streamlining of processes and the shortening of preparation time for each surgery. When surgical materials used for each surgery were analyzed, it was found that 40.7 out of 60.5 surgical materials in a set were used on average and 9.8 materials not included in a set was used on average. The rate of use of surgical materials in a set was 67.3%, which is higher than 54.4% in the previous year, showing the effects of re-selection of surgical materials in sets.

With regard to the income and expenses at the operation department, the average income per surgery was 434,000 yen, the primary cost was 252,000 yen, and the balance was +181,000 yen. In addition, the analysis of the relation between surgery hours and income indicates that as surgery hours increase, income increases, but income per unit time is higher in shorter operations than in longer operations. It can be said that there remain some problems with the estimation of technical fees in the medical service fee system for longer operations, in which advanced techniques and apparatus are used.

**Key words** Medical material management, Packaging of medical materials, Surgical costs, Income and expenditure due to surgery

---

\*Asahikawa Medical College Hospital, Department of Management Planning

\*\*Asahikawa Medical College Hospital, Surgical Operation Center

\*\*\*Asahikawa Medical College Hospital, Nursing Department

投稿論文 (研究報告)

## 環境整備における状況設定型学習を体験した看護学生の学び

升田 由美子\* 一條 明美\* 高岡 哲子\*\*

### 【要 旨】

本研究は、基礎看護技術の授業において状況設定型学習を体験した看護学生の学びを明らかにすることを目的とした。対象は4年制大学の看護学科1年生で、生活環境に関する講義を受講した59名のうち研究協力に同意が得られた58名であった。状況設定は「車椅子を使用し、床上排泄をしている患者が検査のため不在である」とし、学習課題は「患者のベッド周囲の環境整備を行う」とした。この課題は11名~12名のグループで行い、実施後は、この課題での学びをレポートして提出させた。

学びのレポートを検討した結果、得られた素材は265文脈で、16のカテゴリーと4つのコアカテゴリーが抽出された。コアカテゴリー「学び」には9つのカテゴリーと51のサブカテゴリーが内包されていた。

抽出された9カテゴリーは、学習目標を網羅した内容であった。環境整備そのものには関係ない【グループワークの効果】が特徴的に抽出されていた。状況設定型学習は、学生に講義法で得た知識の強化を含めて様々な学びを与えたことが明らかとなった。

**キーワード** 状況設定型学習、環境整備、看護学生

### I. 研究目的

看護師の看護実践能力向上は、現在の看護教育に求められている課題である。国民の求める質の高い看護の提供のために看護基礎教育の内容充実が指摘されている<sup>1)</sup>。本学においても、卒業時に最低限習得が必要な看護基本技術であり臨地看護学実習全領域に共通する項目70項目(平成17年度現在)を定めている。ここでは、日常生活援助に対する看護技術が列記されており、中でも最初にあるのが「環境整備ができる」である(表1)。

環境整備(あるいは環境調整)とは、対象者が生活する空間を対象者にとって適切で生活しやすいように整えることである。入院患者の場合は、主に病床と病室が整備される対象となる。環境整備の重要性はNightingale, F.の「看護覚え書」に強調されており、「看

護とは、新鮮な空気、陽光、暖かさ、清潔さ、静かさを適切に保ち、食事を適切に選択し管理すること—こういったことのすべてを、患者の生命力を最小にするように整えることを意味すべきである<sup>2)</sup>」と表現されている。

本学では看護学科第1学年の基礎看護学Iにおいて、「看護覚え書」に基づいて環境整備の重要性を概念として学習する。さらに同じく第1学年に基礎看護技術学Iの単元「生活環境」で健康生活のための環境、対象者に適した環境整備を具体的に学び、看護技術としてベッドメイキング及びリネン交換を習得することを到達目標としている。

この単元「生活環境」は看護技術学習のスタートであり、1年生は4人1組となって基礎看護学実習室で学習に取り組む。学習に際しては、臨地看護学実習を見据えて、実在する病院の病室・病床を映像で提示す

\*旭川医科大学 医学部看護学科 \*\*名寄市立大学 保健福祉学部看護学科

表1 日常生活に対する看護基本技術

## 一般目標：

日常生活に対する看護基本技術を修得する。

## 到達目標：

- 1) 環境整備（ゴミ箱のゴミ、床頭台、ベッド、オーバーテーブル、ロッカー）ができる。
- 2) 重症（就床）患者のシーツ交換ができる。
- 3) 就床患者の朝・夕の洗面（髭剃り、整髪等）ができる。
- 4) 自分で歯ブラシを使用できない就床患者の口腔ケアができる。
- 5) 対象に合った方法で入浴またはシャワー浴の介助ができる。
- 6) 対象に合った方法で洗髪ができる。
- 7) 全身清拭及び手浴・足浴を行うことができる。
- 8) 陰部洗浄ができる。
- 9) 対象に合った方法で寝衣着脱の援助ができる。
- 10) 重症（就床）患者の寝衣を交換することができる。
- 11) 対象に合った方法で食事介助ができる。
- 12) 就床患者の便器使用を介助できる。
- 13) 就床患者の尿器使用を介助できる。
- 14) オムツ交換ができる。
- 15) 摘便ができる。
- 16) 安楽な体位を保持できる。
- 17) 良肢位を保持できる。
- 18) 重症患者（片・両麻痺を含む）の体位変換を行うことができる。
- 19) 重症患者（片・両麻痺を含む）への看護用具（円座・エアマットレス・体交枕等）の適切な使用ができる。
- 20) 歩行器や松葉杖使用患者を安全・安楽に移動させることができる。
- 21) 車椅子使用患者を安全・安楽に移乗・移送することができる。
- 22) ストレッチャーで患者を安全・安楽に移乗・移送することができる。

るなど、学生が病室・病床をイメージしやすいようにしている。実際の病室の場合、枕元にはタオルがおかれ、床頭台上はテレビや私物、オーバーテーブルには湯のみ、薬袋、擦式手指消毒薬など、入院生活に必要なものが所狭しと置かれている。しかし、大学の実習室内は実際の病室よりも空間が広く、また当然ではあるが患者も存在しない。床頭台もオーバーテーブルも清潔であり、私物はなく、いつも同じ場所にある。そのため、対象者をイメージして演習をするように言葉で促しても、対象者のイメージさえもはっきりとっていない1年生は、患者が存在していないかのようなベッドメイキング及びリネン交換を行ってしまう傾向がある。

一方、1年次に履修する基礎看護学実習、2年次に

履修する看護過程論実習では病室に行っても対象者の生活環境を観察することができず、もちろん環境整備も行えない学生が多い。対象者によっては十分に環境が整えられており看護者からの介入が不要な場合もある。ここで問題なのは学生が対象者の生活環境に関して必要な観察とアセスメントができていないことである。また看護過程論実習は患者1名を受け持つ実習であるため、学生は何度も対象者の病室に訪問し、ベッドサイドで長時間過ごすことも多い。にもかかわらず、目の前にあるすっかり氷の溶けた氷枕に気づかず、カバーがずれた毛布もそのままにしている。

このような状況が生じる原因を基礎看護技術教育に携わる教員間でディスカッションしたところ、学生は看護技術である「ベッドメイキング」「リネン交換」

は授業で課題を設けて行っているが、「環境整備」は実習室では行っていないために実行できないのではないか、という意見が出た。環境整備の必要性は学んでいるが実習室内では体験していないため、実際の病床環境でもできないということである。

そこで、学生に臨地看護学実習における環境整備の実施をイメージ化させることを目的として、模擬病床を用いた環境整備の演習を企画・実施し効果を挙げた。

これまでも学内演習を効果的に行うためのさまざまな試みが多数報告されている<sup>2-7)</sup>。しかし、環境整備（あるいは環境調整）に関する具体的な実施報告は少ない。

本研究は、日常生活援助技術に含まれる環境整備の単元で行った、状況設定型学習を体験した看護学生の学びを明らかにし、今後の教育プログラムの検討における基礎資料を得ることを目的とした。

## Ⅱ. 研究方法

### 1. 対象

4年制大学であるA医科大学の看護学科1年生で、基礎看護技術学Ⅰの単元「生活環境」に関する講義を受講した59名であった。

### 2. データ収集場所と調査期間

データ収集場所は北海道内にあるA医科大学医学部看護学科で、データ収集期間は2006年7月～8月であった。

### 3. データの収集方法

1) 基礎看護技術を学ぶ科目である基礎看護技術学Ⅰの単元「生活環境」の学習終了後に、模擬病床を提示し、環境整備を実施してもらう。「生活環境」の講義（1時間）とベッドメイキングの演習（4.5時間）は終了した状況であった。

2) 状況設定は「車椅子を使用し、床上排泄をしている患者の病室である。患者が検査のため不在である」とした（写真1、2）。シーツが乱れ、ごみや食後の箸などが放置された状況を強調した病床環境とした。

3) 学習課題は「患者のベッド周囲の環境整備を行う」とした。

4) この課題は11名～12名のグループで行った。

5) 課題実施後、他のグループの実施状況を観察した。

6) 実施後に、単元のまとめとして、この課題を実施



写真1



写真2

して学んだことをレポートして提出させた。

レポート課題は「環境整備を実施しての学び」とし、学生番号と氏名を記した表紙を付けるように説明した。レポートの分量・枚数についての指定は行わなかった。レポートの提出期限は1週間後とし、レポート回収箱に提出する旨を課題の説明時に同時に説明した。

### 4. データ分析

分析の段階は以下のとおりである。分析手順の参考例は表2に示す。

- ①対象者の「環境整備」レポートの文脈を整理し、素材とする。
- ②その素材には便宜上連続番号と、ID番号をつける。
- ③文脈の意味内容の類似性に従い分類し、【サブカテゴリー】、【カテゴリー】、【コアカテゴリー】をそれぞれ抽出する。
- ④分類は基礎看護技術学Ⅰを担当した教員3名で附録して行う。
- ⑤抽出された学びを検討する。

表2 レポートの分析手順の参考例

No.	ID	素 材	文 脈 の 整 理	抽出 有無	一 致 不一致	サブカテゴリー	カテゴリー
235	ID49-3	温度や湿度のほかに、目に見えない環境因子に「匂い」があります。患者は床上排泄を行っており、横シートも汚れていたことから、実際は排泄物の匂いがしているはずなので換気を行わなければならないと思います。	換気をおこなわなければならない。	抽出	一致	換気の実施	安楽な環境づくり
76	ID15-3	また、技術だけでなく、どのようにしたら患者さんが快く日常生活を送れるのかを常に考えて行動することが大切であると気づいた。	患者が快く日常生活を送れるのかを常に考えて行動することが大切である。	抽出	不一致	患者の一日を快適にする	安楽な環境づくり
136	ID28-12	環境整備をすることは、患者さんに快適な環境で、気持ちよく毎日を送っていただけるようにするために、とても大切なことだと改めて実感した。	環境整備をすることは、患者に気持ちよく毎日を送ってもらうためにも重要なことである。	抽出	一致	患者の一日を快適にする	安楽な環境づくり
31	ID6-7	自然治癒力を高めるためには、患者さんに不快な思いをさせず、できるだけストレスを与えない環境を作ることが大切であると考えます。	患者に不快な思いをさせず出来るだけストレスを与えない環境を作ることが大切である。	抽出	一致	ストレスを与えない環境	安楽な環境づくり
37	ID7-5	そのためには看護師が患者さんの症状・年齢・どのような治療をしているのかを把握し、どのような環境であれば患者さんにとってよいのかを考える必要がある。	患者にとって良い環境を考えることが必要である。(良い環境を考えることの重要性)	抽出	一致	良い看護を行うために考える	考える重要性
92	ID18-4	看護師にとって大切な役割である。	環境整備は看護師にとって大切な役割である。	抽出	一致	環境整備は大切な役割	看護師の役割
145	ID31-2	つまり、やってはいけないことは明確に存在するが、やるべきことは自分で考えて行わなくてはならないため、常に患者の状態を把握している必要があるということにつながるのである。	常に患者の状態を把握している必要がある。	抽出	一致	観察の重要性	看護師の役割

### 5. 倫理的配慮

本研究は、学習内容の一部を使用することと、事前に承諾書をとらないことで学生に与える心理的・身体的負担は極めて低いと考える。しかし、研究者の所属機関でデータ収集を行うため、研究協力を拒否することで学習上あるいは評価上で何らかの不利益をこうむるのではないかと懸念することも予測できる。そのため、この研究への参加を拒否しても評価にはまったく関係がないこと、また研究への参加を中断することにおいて不利益をこうむらないこと、データは個人情報保護のためにID番号をつけて匿名で処理し、厳重に

保管・管理することを、レポート提出後2か月経過した課外に、口頭及び文書を用いて説明し、協力を依頼した。個人を特定しないために、レポートの表紙を外した状態で処理することを約束した。協力してもよいと考えたものは、同意書に署名し、研究者に提出するように求めた。同意書の提出をもって、研究参加の同意を得たと判断した。

### Ⅲ. 結 果

59名のうち研究協力を同意が得られた58名から提出された学びのレポートを分析した。

1. 環境整備からの学び

学びのレポートから得られた素材は265文脈であった。これらの素材を分析した結果、15の【カテゴリー】と4つの『コアカテゴリー』が抽出された(表3)。コアカテゴリー『感想』『事実』『目標』『学び』のうち、本研究ではコアカテゴリーの『学び』に焦点を当てて分析を行った。

環境整備を実施しての『学び』を分析した結果、9の【カテゴリー(サブカテゴリー数)】と51の[サブカテゴリー(文脈数)]が抽出された。以下カテゴリーを【 】,サブカテゴリーを[ ]で示し、サブカテゴリー内に文脈数を( )で示す(表4)。

カテゴリーは【安楽な環境づくり(5)】【考える重要性(5)】【環境整備の困難さ(6)】【技術習得の重要性(3)】【看護師の役割(11)】【患者に確認する重要性(5)】【グループワークの効果(4)】【心配りの重要性(2)】【個別の重要性(10)】であった。

【安楽な環境づくり】はどのような環境が安楽であり、どうやってそれを実現するかに関する[安全の確保(2)][換気の実施(2)][患者の一日を快適にする(4)][ストレスを与えない環境(2)][清潔な環境(1)]の5つのサブカテゴリーによって構成され

表3 「環境整備」のレポートから抽出されたカテゴリーとコアカテゴリー

カテゴリー	コアカテゴリー
実践前の思い	感想
全体の感想	
観察した内容	事実
実践内容	
ナイチンゲールの引用	目標
今後の学習の方向性	
安楽な環境づくり	学び
考える重要性	
環境整備の困難さ	
看護師の役割	
患者に確認する重要性	
技術習得の重要性	
グループワークの効果	
心配りの重要性	
個別の重要性	

ていた。

【考える重要性】は[考えようとする気持ちを持つ(1)][行動の振り返りをするの大切さ(1)][効率よく行うために考える必要がある(1)][対処法を考える(1)][良い看護を行うために考える(2)]の5つのサブカテゴリーによって構成されていた。

【環境整備の困難さ】は実施してみて難しかったことである[援助者によって実施が異なる(4)][考えを形に表すことは難しい(1)][環境整備は難しい(4)][環境は健康に影響する(1)][患者にとって良い環境とは奥が深い(1)][手を出してよい範囲の検討(1)]の6つのサブカテゴリーによって構成されていた。

【技術習得の重要性】は[基本的な援助技術の必要性(2)][根拠の重要性(5)][練習が必要である(4)]の3つのサブカテゴリーによって構成されていた。

【看護師の役割】は[看護師の大切な役割(2)][観察の重要性(15)][患者がすごしやすい環境の提供(1)][患者が求める生活環境の提供(1)][知識を深めることの重要性(2)][適切に行うことの重要性(2)][病室を快適に保つ(1)][広い視野を持つことの重要性(2)][変化に気づく(3)][療養環境の提供(1)][看護に必要な感性や人間性を磨く(3)]の11のサブカテゴリーによって構成されていた。

【患者に確認する重要性】は[観察とコミュニケーションの大切さ(2)][患者ニーズの尊重(7)][患者に許可を得て行う(8)][患者の満足度が重要(5)][病室は生活スペースである(1)]の5つのサブカテゴリーによって構成されていた。

【グループワークの効果】は[意見交換の重要性(10)][グループによる視点の違い(6)][グループワークの難しさ(1)][大人数でも気づくことが出来ないこともある(1)]の4つのサブカテゴリーによって構成されていた。

【心配りの重要性】は[心配りが大切である(2)][細かいことに配慮する必要性(9)]の2つのサブカテゴリーによって構成されていた。

【個別の重要性】は[多くの状況を予測する(1)][患者とコミュニケーションをとる(4)][患者にあった環境づくり(14)][患者の評価をうける(5)][固定観念を持たない(1)][宗教の違いも考える必要がある(1)][状況に応じた対応(3)][自立への理解

表4 環境整備の課題を実施しての対象の学びの内容

カテゴリー	サブカテゴリー	文脈数
安楽な環境づくり	安全の確保	2
	換気の実施	2
	患者の一日を快適にする	4
	ストレスを与えない環境	2
	清潔な環境	1
考える重要性	考えようとする気持ちを持つ	1
	行動のふり返りをする事の大切さ	1
	効率よく行うために考える必要がある	1
	対処法を考える	1
	良い看護を行うために考える	2
環境整備の困難さ	援助者によって実施が異なる	4
	考えを形に表すことは難しい	1
	環境整備は難しい	4
	環境は健康に影響する	1
	患者にとって良い環境とは奥が深い	1
	手を出してよい範囲の検討	1
看護師の役割	看護師の大切な役割	2
	観察の重要性	15
	患者が過ごしやすい環境の提供	1
	患者が求める生活環境の提供	1
	知識を深めることの重要性	2
	適切に行うことの重要性	2
	病室を快適に保つ	1
	広い視野を持つことの重要性	2
	変化に気づく	3
	療養環境の提供	1
	看護に必要な感性や人間性を磨く	3
患者に確認する重要性	観察とコミュニケーションの大切さ	2
	患者ニーズの尊重	7
	患者に許可を得て行う	8
	患者の満足度が重要	5
	病室は生活スペースである	1
技術習得の重要性	基本的な技術援助の必要性	2
	根拠の重要性	5
	練習が必要である	4
グループワークの効果	意見交換の重要性	10
	グループによる視点の違い	6
	グループワークの難しさ	1
	大人数でも気づくことが出来ないこともある	1
心配りの重要性	心配りが大切である	2
	細かいことに配慮する必要性	9
個別の重要性	多くの状況を予測する	1
	患者とコミュニケーションをとる	4
	患者にあった環境づくり	14
	患者の評価をうける	5
	固定観念を持たない	1
	宗教の違いも考える必要がある	1
	状況に応じた対応	3
	自立への配慮	2
	対象理解の重要性	12
	プライバシーへの配慮	1



(2) [対象理解の重要性 (12)] [プライバシーへの配慮 (1)] の10のサブカテゴリーによって構成されていた。

## IV. 考 察

### 1. 環境整備からの学び

#### 1) 「環境整備」及び「環境」に対する認識

本研究で得られたコアカテゴリーは『感想』『事実』『目標』『学び』であった。本研究では、研究目的を「状況設定型学習を体験した看護学生の学びを明らかにすること」としていることより、『学び』に分類される9カテゴリーに焦点を当てて考察を行う。

分析において抽出された9カテゴリーは、事前に検討していた学習目標を網羅した内容であり、ねらい通りの学習効果が得られていた。

【個別の重要性】【患者に確認する重要性】は、私物の置き場所などを悩むことで患者に確認しなければならないことに直面したため、特徴的に抽出されたものとする。これらは対象者を意識していなければ表れない表現である。課題では雑駁な条件しか提示していないことから、対象者に確認したいという気持ちが出てきたと推測できる。岩本ら<sup>8)</sup>による、学生と看護師の病床環境整備に関する意識を比較した調査では、学生の意識が低かった項目は「空調・音への配慮」「患者の状況に応じて実践すること」と述べられている。学生が患者のもつ個別性に注目することができていたのは、状況設定型学習の効果の1つと考える。

【安楽な環境づくり】には、[安全の確保][換気の実施][患者の一日を快適にする][ストレスを与えない環境][清潔な環境]のサブカテゴリーが含まれている。このうち、「換気」「清潔」はNightingale, F.が示した物理的環境の改善ポイントである<sup>9)</sup>。学生は講義で学習した看護理論を活用し、安楽な環境を考えたといえる。また、「快適」「ストレス」などの心理社会的状態も安楽な環境に影響するととらえている。人間という看護の対象を考えるときには、常に身体・心理・社会的の各側面から考えることが必要であり、既習の知識を活用して環境整備を行っていたと考えられる。

【環境整備の困難さ】は「環境整備は難しい」という感想、[援助者によって実施が異なる]という実施者の考え方によって環境整備の方法も結果も異なっ

ているという多様性、考えた結果を行動化する難しさなどが含まれていた。これらは後述する【個別の重要性】と深く関連しており、対象者の状況により適した環境が異なること、同じ状況でも個々の実施者の考え・判断が結果に大きく影響することを、実施を通じて実感したものである。看護実践、看護技術ともにたった一つの「正解」があることはまれである。場面・状況に応じて多様な「正解」すなわち看護実践があるということが実感されたものであろう。

【考える重要性】【心配りの重要性】のカテゴリーは、環境整備を実施するに当たっての実施者の姿勢を示している。【考える重要性】では、実施のあらゆる段階で「よく考えなくてはならない」という記述が見られた。考える、すなわち思考することによって、対象者に適した環境を判断し、行動がスムーズになり、実施したことを評価することが可能であることを表現していた。【心配りの重要性】では、[細かいことに配慮する必要性]が9文脈と他のサブカテゴリーと比較して文脈数が多かった。環境整備という看護実践を通し、ベッドレールの有無やギャッチアップの角度といったベッドの状態、オーバーテーブルやゴミ箱の位置、箸やタオルの置き場所といった様々なレベルでの個別性あるいは対象の好みにまで配慮することの重要性に着目したといえる。これは紙上患者でのシミュレーションや単純な看護技術の演習では到達できない、状況設定型学習を体験したことによる学びの一つの成果である。

#### 2) 「看護技術」および「看護の学習」に関する認識

【技術習得の重要性】は、科学的根拠に基づいた看護技術を身につけることの重要性を示すカテゴリーである。サブカテゴリー [根拠の重要性] には、環境整備の実践を通して、看護の行動すべてにはそれを行うための理由が必要なことに気づいたということが表現されている。根拠に基づいた看護実践の必要性を繰り返し学生に伝えていることを、シミュレーションとはいえ実際の病床環境を整備することで実感したと考えられる。[基本的援助技術の必要性][練習が必要である]は環境整備という看護技術を実践するためには、ベッドメイキングという基本的看護技術が習得できていることが必須であり、その基本的技術習得には練習が欠かせないことを示していた。学生は平素から看護には看護技術が必要であるということを理解している。課

題を遂行することを通してその思いが強化されていくのである。他に看護技術の必要性を強化する機会として臨地看護学実習が挙げられる。目の前にいる対象者に自分が思い描く看護を実践したいのだが、看護技術の未熟さゆえに思い通りにはできない。そして学生は「もっと看護技術を練習しなくてはならない」と必ず評価あるいは反省する。実習の回数・時間が少ない現状では、学習強化の機会も減少している。このことから、状況設定型学習の活用は学生の看護技術学習を推進する役割をもつといえる。

看護技術学習に関するもう一つのカテゴリーである【グループワークの効果】は、1年生の比較的早い時期の学生の特徴を示している。サブカテゴリー【意見交換の重要性】は文脈数が10と多い。グループ学習とは、あるテーマに基づいていくつかのグループに分かれて学習することであり、一斉学習と比較して学生が意見を述べ、学習活動をする機会が多く、学生間の相互の啓発により主体的な学習が期待できるといった利点がある<sup>10)</sup>。グループ学習を体験した学生は、意見交換や討論すること、自分ひとりでは考え付かないこと、チーム医療を引き合いに出しての多角的視点の大切さなどを挙げている。学年の進行とともにグループワークという学習形態は多用され、目新しいものではなくなる。しかし1年生にとってはグループで学習するのは初めての体験であり、大変新鮮に受け止めている。グループで取り組む状況設定型学習は、新しい学びのスタイルを学生に定着させる効果もある。

【患者に確認する重要性】のカテゴリーは、【患者ニードの尊重】【患者に許可を得て行う】【患者の満足度が重要】といったサブカテゴリーからなる。いずれのサブカテゴリーも、看護の受け手すなわち患者の立場に立って物事を考え、判断することを含んでいる。看護サービスの受益者である患者に、サービスである環境整備の内容を確認することを重要視している。看護実践の評価基準として患者評価は重要である。一方で、まだ看護に関する学習・知識が不足しているために、自分自身では十分に判断しきれないという問題を内包している。

【個別の重要性】で14文脈と最も多かったサブカテゴリー【患者にあった環境づくり】は、その患者、すなわち対象者にあった環境を考えることの重要性を表している。看護技術を実践するうえで、「安全・安楽・

自立」と並んで重要な事柄は個別性の尊重である。状況設定された対象者の環境整備を考えるうえで、少ない条件とはいえある「対象者」を考えるときにはその個別性に注目する。その体験からこのサブカテゴリーが発生していると考えられる。【対象理解の重要性】も12文脈と多かった。このサブカテゴリーでは、その患者を理解していないと患者にあった環境を整えられないので、患者のことをよく知る必要があるとしている。対象理解の重要性は、アセスメント能力、疾患・病態に関する知識、コミュニケーションスキルの獲得などの学習の必要性を認識する好機である。状況設定型学習は看護技術実践能力の向上のみならず、他の分野の学習に対するモチベーション上昇につながる。

【看護師の役割】は11サブカテゴリーからなり、もっとも多様なサブカテゴリーと文脈数をもつ。なかでも【観察の重要性】は15文脈と最も多い文脈数であった。「看護は観察に始まり、観察に終わる」というように、看護実践を行うにあたっては観察が大変に重要である。状況設定された場面での環境整備を通して、学生は観察の重要性を再確認し、またそれが看護師の役割として表現された。【看護師の大切な役割】【患者がしやすい環境の提供】【患者が求める生活環境の提供】【病室を快適に保つ】【療養環境の提供】の各サブカテゴリーは、環境整備が看護師の重要な役割であることを指し示している。その一方で【変化に気づく】【広い視野を持つことの重要性】【看護に必要な感性や人間性を磨く】など、看護師のあるべき姿、理想像を投影するような意見もあった。

### 3) 1年生の特徴

本研究では、環境整備を実施後「環境整備から学んだこと」をレポートする課題を素材とした。環境整備そのものに着目して、重要あるいは困難に感じた項目が挙がることを予想していた。

結果を見ると、上記の項目に合わせて「看護」あるいは「看護師」に関するカテゴリーや「グループワーク」といった学習方法そのものに関するカテゴリーが抽出された。これは看護を学び始めて日の浅い初学者であるがゆえに表出したカテゴリーと考える。大学1年生はまだ大学での学習方法や看護の学習方法を模索・体験している時期である。そのため、新しい学習方法に興味を持ち、レポート内容に取り上げたと推測する。その中で環境整備そのものには関係ない【グルー

ワークの効果】が特徴的に抽出されていた。1年生である対象者は、高等学校などの学習経験も含めて講義法には慣れているが体験から学ぶことには慣れていない。つまり、【グループワークの効果】が抽出された理由は、初学者である対象者が一人では解決できない困難の解決法として、討議法を積極的に活用したことが影響したものと考えられる。グループ学習の利点は前述したが、特に看護技術の学習において自分たちで討議しながら最善の方法を導き出す体験が印象に残ったといえる。今後の学習では、学生同士で討議し、効果的な援助方法を導き出すことが求められる。状況設定型学習の体験はその際に役立つ内容である。

また、「初年時教育」という視点からも状況設定型学習は有効といえる。「初年時教育」とは、「高校（と他大学）からの円滑な移行を図り、学習および人格的な成長に向けて大学での学問的・社会的な諸経験を“成功”させるべく、主に大学新生を対象に総合的に作られた教育プログラム」と定義されている<sup>11)</sup>。ここでいう“成功”とは、大学進学によって学生が目指している教育上の目標、また個人的な目標の実現に向けて順調に進んでいることを意味する<sup>11)</sup>。本学科は医学部看護学科であり、個人的な目標の1つには看護師・保健師国家試験を受験して資格を得ることがあげられる。漸進型カリキュラムを採用している本学科において、基礎看護技術学Ⅰは1年次に開講される看護専門科目として位置づけられる。この科目の学習を通して、これから先に開講する看護専門科目の学習の仕方を学んでいるのである。状況設定型学習は看護専門科目の中心である臨地看護学実習に向けた有機的学習形態と考える。

状況設定型学習という形式は、それまで机上で学んでいた患者を学生にとって身近な存在にし、対象者の個性を具体的に考える機会となった。また、グループで取り組んだことは新たな学習方法に対する新鮮な体験であった。いずれもが以降の学習を良い方向に押し進める原動力となることが期待できる。演習は学生が主体的に学習する要素をもち、多種多様に展開できる学習形態である<sup>10)</sup>。演習は学生が状況と関わりながら実践的に経験する場として重要な位置を占める学習方法<sup>10)</sup>であり、看護技術教育ではいかにこの演習を企画していくかが重要と考える。

以上のように、状況設定型学習は学生に講義法で得

た知識の強化を含めて様々な学びを与えていた。よって今後は幅広く状況設定学習を導入することと、その学習法の評価について検討する必要がある。

## 2. 今後の課題

本研究の対象は看護大学1年生であるため、病院で生活する対象者、病院で生活するというのもまだ十分に理解していない。状況設定型学習はこのような時期の学生によく適合した形式であると考えられる。

卒業前あるいは卒業生に対して行った調査では、療養生活環境調整の実施割合は、80%以上と高い割合を示している<sup>12-17)</sup>。この看護技術は「臨地実習において学生が行う基本的な看護技術」<sup>18)</sup>の水準1（教員や看護師の助言・指導により学生が単独で実施できるもの）とされる。いずれの臨地実習においても学生が環境整備をする機会に恵まれているといえる。

佐々木らによる看護短大3年生を対象とした調査<sup>19)</sup>では、実習中に環境整備を毎日あるいは時々実施した学生は90%以上であったが、環境整備の意義が意識化される学習の機会は少なかったため、学生の環境整備に対する意識を喚起するようなかかわりが必要であると述べている。2年次以降の学習、臨地看護学実習において、環境整備の意義を考えた上で意識して実施できるように、1年次の学習内容の強化と継続的な学習機会の提供を考慮していきたい。

## V. 結 論

1. 状況設定型学習は、看護技術習得という学習目標に到達するための効果的な学習方法であった。
2. 環境整備の実施を通して、学生は環境整備の重要性、看護の個別性、看護師の役割などを学習していた。また、グループワークという学習方法を肯定的に評価していた。

本研究は、第33回日本看護研究学会学術集会で発表したものを論文にまとめた。

## VI. 引用文献

- 1) 厚生労働省：医療提供体制のビジョン，2003.
- 2) Nightingale, F.: Notes on Nursing: What It Is and What It Is Not, New Edition, 1860, 湯植ます, 薄井坦子, 小玉香津子, ほか 看護覚え書, 第6版, 14-15, 現代社, 2000.
- 3) 前田節子, 山本敬子: 実践知につなげる技術教育

- 環境測定・体験学習を取り入れた学内演習の試み、看護展望, (33)3, 337-343, 2008.
- 4) 末次典恵, 大池美也子, 道面千恵子: 模擬患者参加による基礎看護技術試験の課題と概要, 看護展望, (33)5, 523-528, 2008.
- 5) 登喜和江: 実践を見据えた体験型の基礎看護技術教育, 看護展望, (33)6, 618-623, 2008.
- 6) 大原美香: 実感的に納得した理解を促す教育技法, *Quality Nursing*, 5(7), 26-31, 1999.
- 7) 岡本響子: 基礎看護技術「生活環境」における学習効果を高めるための授業の工夫—生活環境を体験的に学習させた授業過程を振り返る—, 中国四国地区国立病院機構・国立療養所看護研究学会誌, 1, 78-81, 2005.
- 8) 岩本美代子, 後神珠代, 都甲裕美, 他: 「生活」に視点をおいた病床環境を整える看護に関する意識—学生と看護師の比較—, 旭川荘研究年報, 36(1), 16-21, 2005.
- 9) 前掲2) 43.
- 10) 藤岡完治, 堀喜久子編: 看護教育講座3 看護教育の方法, 102-110, 医学書院, 2002.
- 11) 濱名 篤, 川嶋太津夫編: 初年次教育—歴史・理論・実践と世界の動向—, 3, 丸善, 2006.
- 12) 平松知子, 津田朗子, 稲垣美智子, 他: 金沢大学において看護学生が入学から卒業までに実施した看護技術, 金大医保つるま保健学会誌, 31(2), 75-79, 2007.
- 13) 末永由理, 今泉郷子, 清水佐智子, 他: 臨地実習における看護基本技術の体験及び修得状況, 川崎市立看護短期大学紀要, 10(1), 11-18, 2005.
- 14) 原田秀子, 田中周平, 中谷信江, 他: 成人看護学実習における技術経験の実態と課題—2005年度の技術経験状況から, 山口県立大学看護学部紀要, 11, 45-52, 2007.
- 15) 杉本幸枝, 土井英子, 中山亜弓: 「基本的な看護技術の水準」における経験度からみた看護技術演習の検討, 新見公立短期大学紀要, 27, 57-65, 2006.
- 16) 大川百合子, 太田知子, 草場ヒフミ: 看護学実習における実習過程評価と看護技術の経験との関係, 南九州看護研究誌, 5(1), 67-73, 2007.
- 17) 松岡治子, 常盤洋子, 神田清子: 看護学専攻第5期生の臨地実習における看護基本技術の到達度—4期生との比較による検討—, 群馬保健学紀要, 25, 157-164, 2004.
- 18) 厚生労働省: 看護基礎教育における技術教育のあり方に関する検討会報告書, 2003.
- 19) 佐々木真紀子, 石井範子, 長谷部真木子: 臨地実習における看護技術の教育上の課題—「環境整備」の学習状況の分析から—, 秋田大学医学部保健学科紀要, 11(1), 68-74, 2003.

# The Learning Gained by Nursing Students through a Simulated Clinical Setting in Environmental Structuring

MASUDA Yumiko\*, ICHIJO Akemi\*, TAKAOKA Tetsuko\*\*

---

## Summary

The aim of this study was to identify the learning gained by nursing students through a simulated clinical setting in a class of a fundamental nursing techniques course. Of 59 freshman nursing students on a four-year college course, 58 agreed to cooperate in this study as subjects. The situation in the simulated clinical setting involved a wheelchair patient who used in-bed toileting and had left the bed for a examination; the learning task was to improve the patient's bedside environment. The students addressed the task and submitted reports on what they learned from it.

As materials from the task reports, 265 contexts were collected, of which 169 that described what students had learned through the task were treated as the data to be analyzed. As a result of data analysis, nine categories and 51 sub-categories were extracted.

All the learning goals were included in the extracted categories. The results were characterized by the effects of learning in groups. This study clarified that learning by experiencing a simulated clinical setting provided students with a variety of learning effects, including enhancement of the understanding of knowledge acquired in lectures.

**Key words** a simulated clinical setting, environmental structuring, nursing students.

---

\*Asahikawa Medical College, Department of Nursing

\*\*Nayoro City University, Faculty of Health and Welfare Science, Department of Nursing

## 依頼稿 (報告)

# 平成19年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題

### 1) ヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG) による 損傷神経再生の促進

研究代表者 村上 公一  
吉田 成孝

#### [背景・目的]

末梢神経は軸索損傷等の神経傷害に対して、生存・再生し機能回復が可能であるが、脳・脊髄といった中枢神経系では神経傷害に対して脆弱であり、機能回復には至らない。この理由として、末梢神経損傷においてのみ発現し、神経再生を促進する因子の存在が考えられる。

我々は現在までに、末梢神経損傷においてのみ発現上昇を認める因子として、糖蛋白の一種であるシンデカン-1 (syndecan-1) を見出している。

シンデカン-1 は神経細胞に対し生存効果を持つ種々の栄養因子の共受容体として機能することが既に知られている。このことから、シンデカン-1 の発現を認めない中枢神経において損傷時にシンデカン-1 を導入することにより、機能回復を促進させることが可能ではないかと考えている。

そこで本研究では末梢神経傷害時のシンデカン-1 の発現を詳細に検討し、また、シンデカン-1 による中枢神経損傷の治療の可能性を検討した。

#### [内容・方法]

1. 実験モデル作成：末梢神経損傷モデルとして、舌下神経切断マウスを用いた。また中枢神経損傷モデルとして、赤核脊髄路切断マウスおよび脊髄損傷 (圧挫損傷) マウスを用いた。脊髄損傷マウスは8週間の行動評価をおこなった。
2. RT-PCR 法：マウス舌下神経切断後1、3、7、14、28日後の舌下神経核を採取し、RT-PCR 法によりシンデカン-1 mRNA の発現を定量的に検討した。

3. 組織学的検討：マウス舌下神経切断後1、3、7、14、28日後の延髄を採取し、in situ hybridization 法によりシンデカン-1 mRNA の発現を検討した。またシンデカン-1 特異的抗体を用いた免疫組織化学をおこなった。

4. 脊髄損傷に対するシンデカン-1 の効果の検討：マウスに脊髄損傷 (圧挫損傷) を加え、同時にアデノウイルスベクターを用いてシンデカン-1 の遺伝子導入をおこなった。その後8週間の行動評価をおこなった。

#### [結果・成果]

##### 1. 損傷神経におけるシンデカン-1 の発現

舌下神経損傷マウスを用いて、シンデカン-1 の発現を RT-PCR 法および in situ hybridization 法で検討した。損傷のない舌下神経においては全く発現を認めないが、神経切断により7日目をピークとする強い発現を認めた (図1)。



図1 損傷舌下神経核を用いた RT-PCR。

(ATF-3 は神経損傷のマーカ、GAPDH は内部調整として使用)

また、シンデカン-1 に特異的な抗体を用いた免疫染色においても、これらと同様の結果が得られた。さらに、シンデカン-1 が神経損傷部に順行性に輸送され、切断端に局在していることも確認された。

一方、中枢神経損傷 (脊髄損傷・赤核脊髄路切断モデル) では、軸索損傷を受けた神経細胞ではシンデカ

ン-1の発現を認めなかった。

以上の結果より、神経損傷に対するシンデカン-1の発現上昇は、末梢神経特異的であり、これが末梢神経再生に関与している可能性が示唆された。

## 2. 脊髄損傷に対するシンデカン-1の効果の検討

前述の結果より、シンデカン-1が損傷神経の再生に関与している可能性が示唆された。そこで、シンデカン-1の発現上昇が認められなかった脊髄損傷において、シンデカン-1を強制的に発現させることにより、機能回復を図ることが可能かどうか検討した。

我々はシンデカン-1の導入により、種々の生存因子が効率的に損傷神経に作用し、軸索再生が促進され、運動機能が改善されると予想していた。しかし、結果は逆であり、シンデカン-1導入群の方がコントロール群に比し運動機能の回復が遅延する傾向を示した。一方、慢性期における運動機能はコントロール群と差はなかった(図2)。

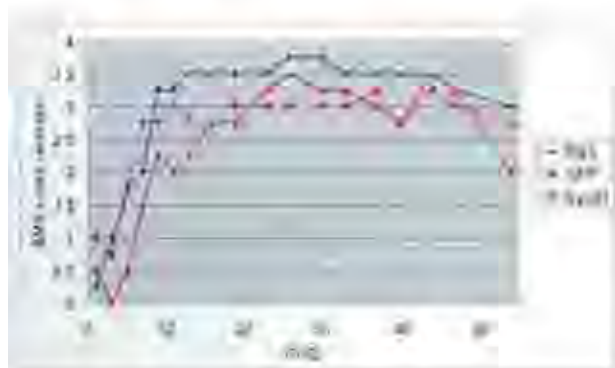


図2 シンデカン-1投与群 (Synd1) とコントロール群 (PBS, GFP) の運動機能の推移。急性期においてシンデカン-1投与群の機能回復が遅延している。

### 【考 察】

本研究により、末梢神経損傷ではシンデカン-1が発現するが、中枢神経損傷では発現しないことが示された。このことから、シンデカン-1が損傷神経の再生に寄与している可能性が示唆された。

しかし、シンデカン-1が発現しない脊髄損傷において、シンデカン-1を強制発現させると、急性期の運動機能の回復が遅延した。我々はこの理由を以下のように考えた。本来神経細胞に結合するはずの成長因子などが、強制発現したシンデカン-1にトラップさ

れ、その拡散性が低下した。その為、栄養因子が十分に神経細胞に結合することができなくなり、神経再生の遅延が生じ、その結果機能回復が遅延した。したがって、単純にシンデカン-1を発現するだけでは、脊髄損傷における機能回復は困難であるとの結論となった。

## 2) 精子運動時のエネルギー代謝の多様性と普遍性の解析

研究代表者 春見 達郎

精子は種の保存のため、卵との受精を行うことだけに特化した細胞である。すなわち、精子に含まれる構造体は卵に供与する半数体の染色体を持つ核、運動器の鞭毛、運動エネルギーを供給するためのミトコンドリア、そして魚類以外の動物に存在する先体である。卵に向かうための鞭毛運動に必要な大量に消費されるATPを生み出すため、精子にはエネルギー基質が必要となる。一般に細胞が利用できるエネルギー基質は糖、脂質、およびアミノ酸である。ヒトも含めた哺乳類精子の場合、精漿に含まれるフルクトースなどの糖が利用されることが知られている。

一方、海産や淡水産の動物では、放出された精子は水中で希釈されるため、その遊泳に必要なエネルギー基質は自らの細胞内に求めなければならない。これまで、魚類精子の遊泳時のエネルギー代謝はほとんど明らかにされていなかった。本研究では、独立行政法人水産総合研究センター北海道区水産研究所およびハワイ大学柳町隆造博士の協力を得て、春に産卵期を迎える魚種3種(ニシン、クロガレイ、マツカワ)の精子の遊泳時のエネルギー代謝を解析した。

各魚種の精巢から精子を採取し、海水に懸濁し遊泳させ、精子遊泳前後のATPおよびグルコース(グリコーゲン)含有量、ビデオ撮影による精子運動性の解析、そして密閉型酸素電極を用いて精子呼吸活性の測定を行った。運動性の解析の結果、ニシン精子は海水に懸濁しても遊泳を開始せず、ニシン卵を海水中に懸濁し、その外被物質を溶け込ませた「卵処理海水」で遊泳を開始した。一方、クロガレイとマツカワ精子は、海水に懸濁するとすぐに活発な遊泳を開始したが、前者の精子はほぼ1分以内に運動を止め、後者の精子は5分以上遊泳を続けていた(図1)。この時、精子のATP含有量は、クロガレイ精子では遊泳開始後約5分で枯渇していたのに対して、マツカワ精子では遊泳

開始後30分でも約40%のATP量を保持していた。ニシン精子は遊泳前後ともに精子内にATPがほとんど存在しなかった。

各精子の呼吸活性を調べたところ、ニシンおよびマツカワ精子では遊泳時、活発な呼吸が認められたのに対して、クロガレイ精子では遊泳時に呼吸活性は認められなかった(図2)。また、遊泳前後の精子グリコーゲン含有量を計測したところ、ニシン、クロガレイ精子ともにグリコーゲンを含有していなかったのに対して、マツカワ精子では遊泳前、高いグリコーゲン含有量を示し、30分の遊泳後でも約40%のグリコーゲンを保持していた(図3)。

さらに、精子の遊泳運動に対する、各種エネルギー代謝阻害剤の効果を調べた。解糖系阻害剤としてヨード酢酸 (IAA) を、ミトコンドリア(呼吸)阻害剤として Antimycin A と CCCP を用いた。ミトコンドリア阻害剤は、ニシン精子の呼吸も遊泳運動を阻害した(図4、表1)。一方、海水に懸濁しても呼吸活性を示さなかったクロガレイ精子(図2)の運動性にミトコンドリア阻害剤は効果を示さなかった(表1)。マツカワ精子に Antimycin A を加えると、呼吸活性には強い阻害効果を示したが(図4)、精子の遊泳運動には阻害効果を示さなかった(表1)。

以上の結果をまとめると、精子の遊泳にはATPが必ず必要であることには間違いは無いが、遊泳時のエネルギー代謝は魚種によって非常に大きな多様性があることが明らかになった(結論)。すなわち、精子遊泳時にミトコンドリアが働いてATPが産生されることが必須な種(ニシン)、精子遊泳時にミトコンドリアがほとんど機能しておらず(呼吸せず)精子内に貯蔵しているATPを利用する種(クロガレイ)、精子遊泳時には内在性のグリコーゲンを消費しミトコンドリアが働いてATPを産生しているにもかかわらず、精子鞭毛運動には遊泳前の精子内に貯蔵しているATPを利用している種(マツカワ)、が存在する。

本助成による研究成果は41st Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction (2008年5月、米国コナ市)にて以下の演題で発表された。T. Harumi *et al.*, "Diversity of Motility in Fish Spermatozoa Depends on Distinct Energy Metabolism"

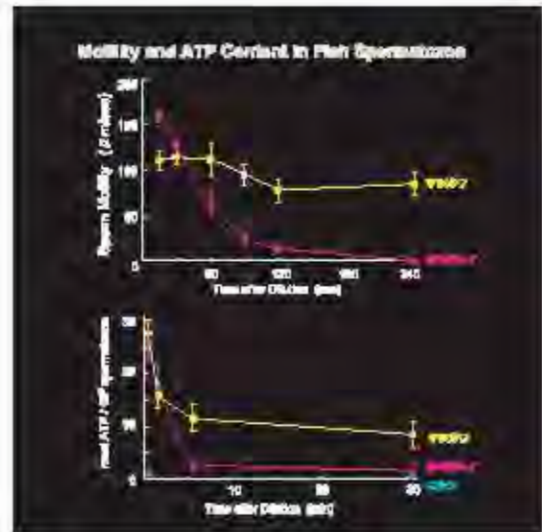


図1

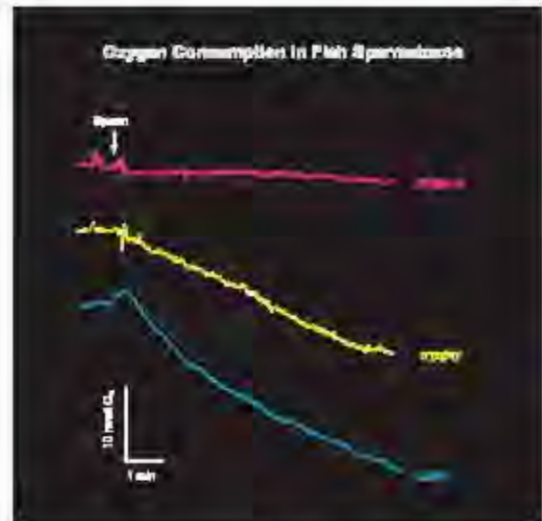


図2

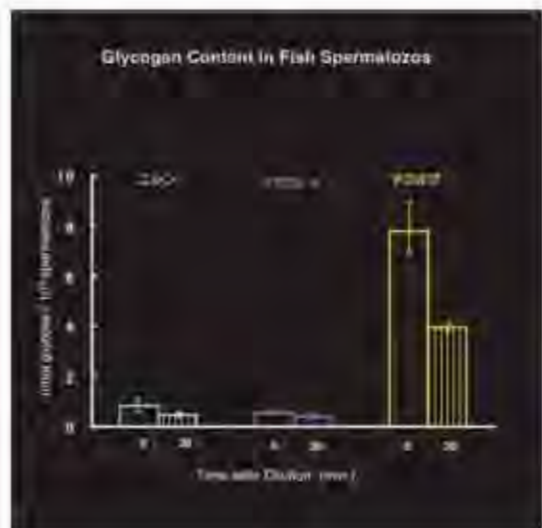


図3



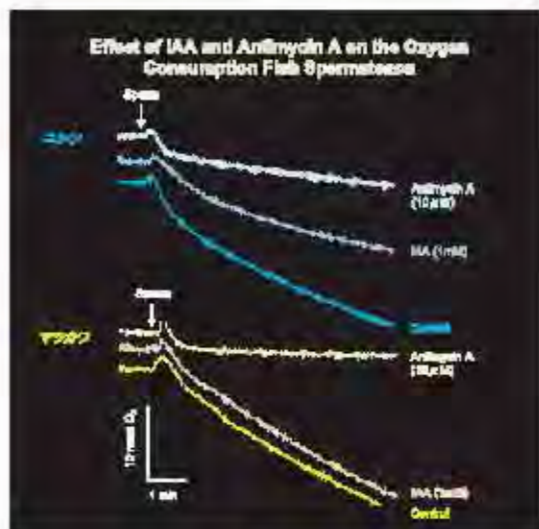


図 4

Effect of IAA, Anilmycin A and CCCP on the Motility of Fish Spermatozoa

	Control 100 μM	IAA 10 μM	Anilmycin A 10 μM	CCCP 10 μM
運動性	++++	++	++	+
運動経路	+	+	+	+
運動時間	++	++	++	+
運動距離	++	++	++	+

++ ほとんどの精子が直線に遊泳する  
 + 僅かな数の精子が遊泳する  
 精子の遊泳は認められないが、目撃り観察が困難している  
 すべての精子が全く動かない

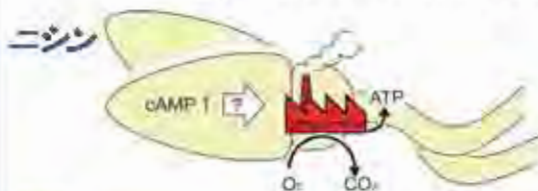
IAA: Indole-3-acetic acid → 植物生長調節剤  
 Anilmycin A → ミトコンドリアの膜を脱離した状態  
 CCCP: Carbonyl cyanide m-trifluoromethoxyphenylhydrazone → 呼吸抑制剤

AW: 人工海水  
 Egg treated SW: 卵を処理した海水 (100 eggs for 10 ml of AW)

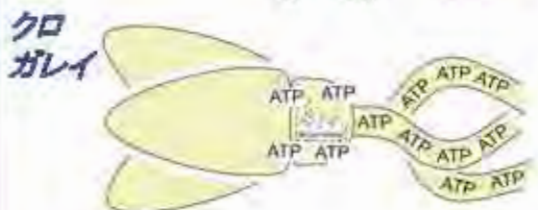
表 1

## 結 論

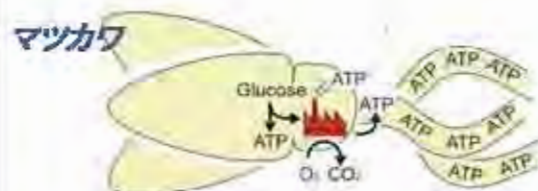
精子の運動性やエネルギー産生機構、および代謝経路は魚の種によって大きく異なっている。



遊泳前の精子にはATPがほとんど存在しない。精子遊泳時にはミトコンドリアが作り出すATPがエネルギー基質として必須である。



遊泳前の精子には十分なATPが存在する。精子遊泳時にはこれを利用し、ミトコンドリアはほとんど機能していない。



遊泳前の精子には十分なATPが存在し、精子遊泳時にはこれを利用する。精子内には解糖系やミトコンドリアによるATP産生系が存在し、機能しているが、これらの経路は精子の運動には寄与しない。

### 3) 視機能研究におけるモデル実験動物としての臨床規定動物アライグマの利用

研究代表者 大日向 浩

#### 【研究の背景と目的】

北米原産の食肉目アライグマは、夜行性動物に特徴的な棒細胞を主とする発達した網膜と莖長類以外で最も発達した遠近調節能をもつとされるが、視機能に関する学術的科学研究論文がわずか数報しかない。ヒトやサル眼球検体の入手が困難な中、本種は平成16年制定の通称「外来生物法」により侵略的外来種として数多く捕獲駆除されているため、有望な実験材料となる可能性がある。本研究は、北海道で多数捕獲駆除される野生アライグマの眼球を用い、視覚・遠近調節機能研究のための実験系を確立することを目的とする。

#### 【研究方法】

アライグマの捕獲は、北海道大学地域システム科学講座アライグマ研究グループ代表の阿部豪博士に依頼した。個体を殺処分後、摘出した眼球から切り出した毛様体の凍結保存試料を用いて mRNA を抽出し、RT-PCR 法により、5' RACE-と 3' RACE-cDNA を作製した。両 cDNA を用い、TRPC 型陽イオンチャネルの mRNA の有無を PCR 法にて検討した。さらに、TRPC 蛋白質は mRNA 抽出後の破砕液を用い、Immunoblot 法にて調べた。

#### 【研究成果】

当別町内のトラップで捕獲された成獣（図1：雄、4.5kg）を殺処分後、眼球を摘出した（図2）。夜間に十分な視覚を得る必要あるアライグマは夜行性動物に特徴的な広い瞳孔と大きなレンズを持っていた（図2 & 3）。

この成獣の眼球のサイズは1.3cm前後（図2）であり、成人の1/2弱程であった。眼球を前後半分に切り開き、内側からレンズを外して毛様体組織（図4の白



図3 レンズを摘除した眼球 図4 毛様体組織

く半透明で細長い環状部が毛様体）を注意深く取り出した。

毛様体平滑筋の筋束幅は細く（図4）、摘出筋束を用いた筋収縮（張力）実験は当面困難であると判断した。そこでまず、毛様体組織（平滑筋を主とし、色素細胞、線維芽細胞、血管、神経が分布する結合組織）で発現している収縮調節関連蛋白質の分子解析を行うため、組織を一度-80℃で凍結保存した後、片眼分の毛様体組織から mRNA を抽出し、5' RACE-と 3' RACE-cDNA を作製した。

当教室では、ウシ、ブタ、モルモットなどの毛様体筋を含む種々の平滑筋組織で TRP 型陽イオンチャネル（TRPC 亜型）のいくつかが発現していることを RT-PCR 法と免疫蛍光染色による組織学的方法により確認している。そこで、アライグマ毛様体における TRPC の各サブタイプの発現の有無や程度を調べた。

視機能関連分子の遺伝子解析の研究報告がまったく見られないアライグマでは、TRPC 遺伝子配列は報告されていない。そのため、他の動物種の TRPC 遺伝子配列データを比較して、塩基配列の保存性の高い領域をアライグマも共有する TRPC mRNA 配列と予想し、各 TRPC サブタイプの遺伝子検出・増幅に用いる PCR 用のプライマーペアを決定した。各 TRPC サブタイプペアを用いた PCR 産物の予想塩基サイズはそれぞれ、TRPC1 (369塩基対)、TRPC2 (206塩基対)、TRPC3 (525塩基対)、TRPC4 (304塩基対)、TRPC5 (275塩基対)、TRPC6 (290 & 835塩基対)、TRPC7 (1090塩基対)であった。

今回作製したアライグマ 5' RACE-と 3' RACE-cDNA を鋳型として、上記 TRPC プライマーペアを用いた PCR を行った（図5、SYBR-Gold 蛍光染色後の階調反転像済み）。予想した PCR 断片のサイズ通りの PCR 産物は、5種類の TRPC (TRPC1, 3, 4, 5, 6) で検出された（図5、白線の黒塗り▲）。一方、



図1 捕獲された成獣アライグマ 図2 摘出した眼球

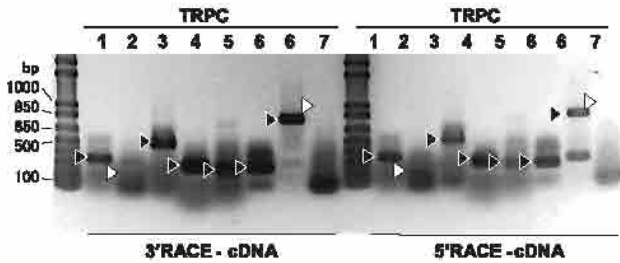


図5 PCR産物のアガロースゲル電気泳動像

TRPC2とTRPC7は今回のプライマーとPCR条件では増幅されなかった(図5、白抜き△)。

次に、今回 mRNA 抽出後の組織破砕液中の蛋白質を SDS ゲル電気泳動で分離後、抗 TRPC (抗 TRPC1、3、4、4/5、6N 末端、6C 末端、3/6/7) 抗体を用いた Immunoblot を行った。mRNA 抽出後の試料を用いたため各蛋白質は部分分解を受けているのか、予想分子量域にバンドは見られなかったが、抗 TRPC1、4/5、6N 末端抗体では分子量 50Kd 前後の部位に明瞭なバンドが検出された。

[考察]

日本には棲息していなかったアライグマは、人気アニメの影響で70年代からペットとして輸入後、遺棄や逃亡などにより野生化していった。幅広い環境への高い適応力と旺盛な繁殖力、さらには天敵が不在である日本では急速に数を増し、40を超える都道府県で棲息が確認されている。雑食性で食欲旺盛なため、農作物のみならず生態系に致命的な打撃を与える恐れがある他、狂犬病やエキノコックス症のなどを媒介することも懸念されている。2007年度の捕獲数は2306匹と年々急増(図6、北海道庁発表データより)し、農作物被害も農林水産省の2006年度調査では少なくとも16都道府県で計約1億6400万円に上り、北海道は兵庫県について被害額が多いと報告された。現在、道内の生態系からの排除を目指し、環境省や北海道、旭川市でも捕

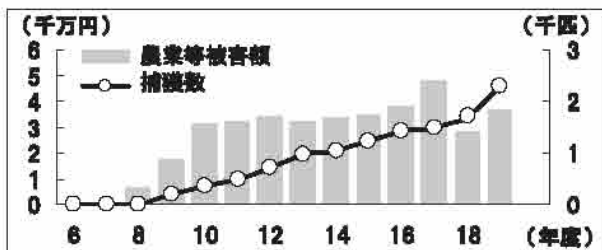


図6 道内でのアライグマの捕獲数と農業被害額

獲が実施されるようになった。

アライグマの捕獲を依頼した阿部博士らのグループは、「アライグマが在来生態系に及ぼす影響評価と根絶の実現可能性の検討」を共通テーマに道内の若手研究者で構成され、2004年5月から毎年多くのアライグマを捕獲処分している。捕獲後は毛皮や食肉などの商業需要が見込めないため、同グループでも感染症等の検査用血清や食性調査用の消化管、年齢査定用の頭骨、繁殖状況推定用の子宮、DNA用被毛・筋などを採取しているが、十分に検体を活用しきれない悩みを持つ。

このように、侵略的外来種である野生化アライグマは少なくとも今後何年かにわたって実験動物として無償かつ豊富な個体数での提供を受けることが可能であり、TRPCを始めとした網膜、眼内筋における視覚・遠近調節に重要な各種蛋白の遺伝子解析が可能であること、さらには毛様体筋の単離細胞における収縮調節に關与する受容体作動性陽イオンチャンネルと信号伝達機構の電気生理学的検討に有用な実験系となりうる事が明らかとなった。

[まとめ]

視機能研究のモデル実験動物として、野生化アライグマの利用の可否を検討した。眼球から毛様体組織の摘出が比較的容易なこと、本組織の mRNA 抽出や cDNA 作製が容易に行えることが確かめられ、実際に本組織において mRNA レベルで少なくとも 5 種類 (TRPC1、3、4、5、6) の TRPC が発現していることを明らかにできた。本種の視機能研究への利用は駆除後の有効利用のみならず、視機能研究の有用な実験系として期待できる。

4) がん化学療法施行中に生じる味覚障害の発生機構解明

研究代表者 神山 直也

[背景と目的]

抗がん剤の副作用は多岐にわたっているが、その中のひとつに味覚障害がある。味覚障害は化学療法施行中の患者の3割から4割が経験しており、味が全く感じられない「味覚消失」を経験する患者も多い。身体活動に制限の多いがん患者にとって食事は数少ない楽しみであり、味覚障害は生活の質を大きく損なうものである。しかしながらがん化学療法時の味覚障害は悪

液質などが病態によるもの、唾液分泌の減少など他の抗がん剤副作用によるもの、食思不振による亜鉛摂取量の減少によって生じる亜鉛欠乏性のものなどさまざまな要因が複合しているとされ、その発生機構の詳細はほとんど明らかになっていない。

したがって本研究では、がん化学療法施行中に生じる味覚障害のうち、特に抗がん剤が味覚受容に及ぼす影響を明らかにすることで、がん化学療法中に特徴的な味覚障害発生機構の解明を目指すものである。

### 【研究成果】

まず、実験動物を用いて味覚障害を観測するための実験系の構築を試みた。実験は旭川医科大学動物実験施設の自家繁殖 BALB/c マウス成体を使用し、学内の動物実験等の実施に関する規程に従って行った。味物質には味覚研究における代表的な苦味物質である塩酸キニーネを用いた。塩酸キニーネ水溶液 (キニーネ水) に対する感受性はマウスの系統差が大きいことが知られている。そのためまず自由摂水条件下における 2 瓶選択法により、マウスが忌避するキニーネ水の濃度を検討した。次に抗がん剤として広く用いられているシスプラチン (CDDP) をマウスに投与し、キニーネ水に対する摂水行動の変化を観察した。図 1 に示すように、CDDP 投与群では初回投与から 4 日後に一過性の

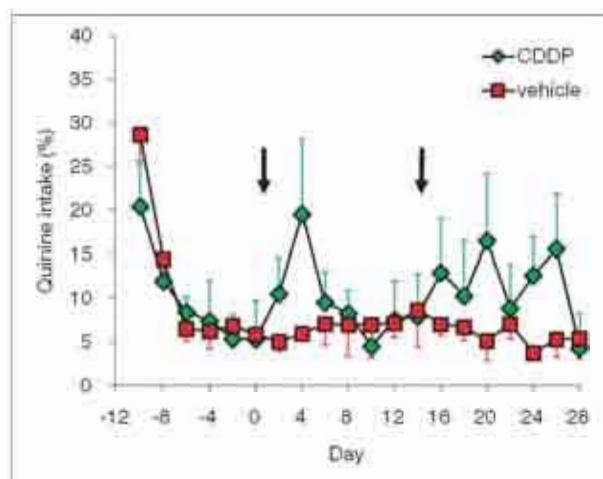


図 1 2 瓶選択法によるマウスの 0.3 mM キニーネ水選択率に対するシスプラチン (CDDP) 投与の影響。図中矢印はシスプラチン (10 mg/kg i.p) の投与スケジュールを示す。シスプラチン投与後、苦味に対する忌避反応が減弱する傾向が見られた。

忌避反応の減弱傾向がみられ、2 回目の投与ではさらに長期間にわたって忌避反応の減弱傾向がみられた。しかし忌避反応に変化の生じるマウスは CDDP 投与群のなかでも一部にとどまり、変化のみられない個体が多かった。現在、新生細胞のマーカーである BrdU を投与し、味蕾内細胞のターンオーバーを観察するため、味蕾を観察しやすい有乳頭の組織切片作成や、味情報を伝える一次ニューロンが投射している延髄孤束核の興奮性について c-fos 免疫染色を用いることなどを検討している。現在までにすすめてきた検討の段階では、CDDP を投与した個体の味覚障害の有無については不明だった。今後は 2 瓶選択法を用いることで忌避反応に変化が生じている状態にあるマウスを選択することで、味覚障害発生に伴う特異的な変化を見出していきたい。

### 5) 「慢性炎症性腸疾患の病態に關与するチロシンキナーゼの同定」

研究代表者 仙業 慎吾

#### 【目的】

慢性炎症性腸疾患は、潰瘍性大腸炎とクローン病を代表とする一群の消化管疾患であり、消化管の炎症が緩解・再燃を繰り返しながら慢性に経過する。病因については遺伝的素因や環境因子に加え、免疫要因の関与が重要と考えられているが、その詳細については不明である。

本研究では、チロシンキナーゼを網羅的に検出できるユニークなマルチキナーゼ抗体を用いて、腸管の免疫防御において機能しているチロシンキナーゼの中で、炎症性腸疾患特異的に発現が増加あるいは減少しているものを同定することを目的とする。

#### 【方法】

潰瘍性大腸炎のモデルには、マウスに oxazolone を注腸投与して大腸炎を誘導するモデルを用いた。Balb/c マウスに 150 $\mu$ l の 1% oxazolone を注腸し、投与後 2 日後に解剖して結腸を摘出した。結腸遠位部からの上皮組織の調製は以下の手順に従って行った。摘出した結腸遠位部を 5 mm 四方に細断し、PBS で洗浄して血液などの不純物を除いた。これを 30 mM EDTA を含む PBS 中で震盪し上皮を解離させた後、上皮を遠心分離によって回収した。上皮中に混入しているリ

ンパ球を除くため、調製した上皮を 35% Percoll を含む PBS に懸濁後、500 g で 20 分間遠心分離後、Percoll 表面上に浮いている上皮細胞を回収した。調製した上皮細胞を 5 倍量の抽出バッファーでホモジナイズし、その遠心上清を抽出液として実験に用いた。大腸炎誘導によって起こる大腸上皮抽出液中のチロシンキナーゼ量の変化を、チロシンキナーゼ群において 1 次構造が保存されている領域をエピトープとして開発したチロシンキナーゼ群特異的なモノクローナル抗体 (YK34) を用いたウェスタンブロットにて解析した。

**【結果】**

Balb/c マウスに 1% の oxazolone の注腸することによって、下痢や血便などの大腸炎の症状が認められた。生存率は 60% (n = 10) であった。結腸を摘出したところ、結腸の遠位部に炎症が見られ、結腸全体の長さがコントロールに比べ短くなっていることが確認された。

正常および大腸炎発症マウスから大腸上皮を単離し、その抽出液中のチロシンキナーゼの発現量を YK34 を用いたウェスタンブロットで解析した。YK34 は抽出液中の様々な分子量のタンパク質と結合し、これらの結合シグナルのうち、少なくとも 5 つのシグナルの強度が大腸炎の誘導によって上昇していることが明らかとなった。

大腸炎の誘導によって発現量に変化したチロシンキナーゼの等電点を知るために、大腸上皮抽出液を等電点電気泳動と SDS-PAGE からなる 2 次元電気泳動で展開した後、YK34 を用いたウェスタンブロットを行った。図 1 に示すように、大腸炎の誘導によって 4

つの結合シグナル (等電点と分子量 (kDa) の組み合わせが 5.3 と 150、5.8 と 110、5.5 と 80、6.3 と 42) の強度が大きく上昇した。また、等電点が 6.2 で分子量が 50 kDa のシグナルの強度は大腸炎の誘導によって減少した。

**【考察と今後の展望】**

本申請では、炎症性腸疾患の病態形成メカニズムを理解するために、チロシンキナーゼに焦点を当てて、その発現量の変化をチロシンキナーゼを網羅的に検出できる抗体 (YK34) を用いて調べた。大腸上皮抽出液中には YK34 と結合するタンパク質が複数種存在したことから、上皮細胞にはいくつかのチロシンキナーゼが存在していることがわかる。このうち、大腸炎の誘導によって少なくとも 4 種のチロシンキナーゼの発現量が上昇し、1 種の発現量が減少していることが明らかとなった。このことは、大腸上皮細胞におけるチロシンキナーゼが腸粘膜機能に関与し、潰瘍性大腸炎の病態とも関連している可能性が示唆される。

本研究で見いだされた大腸炎発症に関与しているチロシンキナーゼの活性を特異的に阻害する薬剤は、潰瘍性大腸炎の極めて有効な治療薬となりうる。このような薬剤の開発のためには、これらのチロシンキナーゼを同定することが不可欠である。今後、これらのチロシンキナーゼを質量分析で同定し、大腸上皮由来の培養細胞を用いてチロシンキナーゼと大腸炎の病態形成の関連を明らかにする予定である。

**6) HPV 18 型 E7 蛋白質と動原体蛋白質 CENP-C の結合とその機能解析**

研究代表者 玉川 進  
山本 雅大  
柳沼 裕二  
小川 勝洋

**【研究目的】**

ヒトパピローマウイルス (HPV) は、パポーパウイルス科に分類され、皮膚以外にも口腔、生殖器などの扁平上皮に接触感染し、腫瘍を形成する。1970 年代より遺伝子の塩基配列に基づいた型別が行われ、現在、100 種類以上の型に分類されている。HPV のうち約半数 (HPV 1, 5, 8, 14, 20, 21, 25, 47 型等) は皮膚型と呼ばれ、手や足などの皮膚に感染し乳頭腫を形

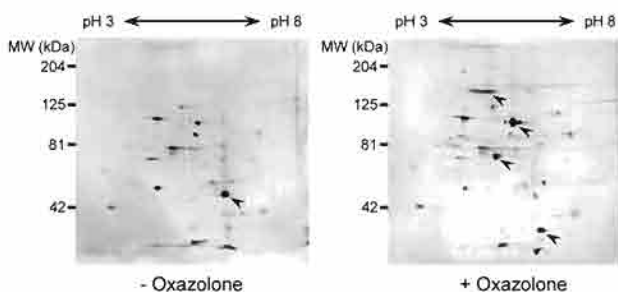


図 1 大腸上皮抽出液の 2 次元電気泳動とウェスタンブロットによる解析。  
大腸炎の誘導によって強度が変化したシグナルを矢印で示した。

成する。その他の型 (HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 41-45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 70型) は性器・粘膜型と呼ばれ、生殖器に感染し、尖圭コンジローマの原因となる場合もあり、また、子宮頸癌との関連も注目されている。HPV の癌化のメカニズムについては、HPV の E6, E7 蛋白が癌蛋白質の性質を備え、細胞の不死化に参与していることが報告されている。現在 HPV はローリスク型とハイリスク型に分類されている。ローリスク型の HPV は、尖圭コンジローマや乳頭腫との関連が認められている。一方、ハイリスク型の HPV は尖圭コンジローマからほとんど検出されないが、子宮頸部の高度前癌病変や子宮頸癌組織内から検出されている。特に近年は若年者の HPV 感染が問題となり、近い将来、若年者の子宮頸癌の増加が危惧されている。従って本研究ではハイリスク型の HPV18 型 E7 の詳細な機能を検討するために HPV18 型 E7 と結合する蛋白質の同定を行った。

**【研究方法】**

Yeast Two-Hybrid system による HPV18 型 E7 と相互作用する遺伝子の同定

a) HPV18E7DNA の plasmid pDEST32 へのクローニング

子宮頸癌細胞株 HeLa S3 細胞から DNA を抽出し、PCR 法にて HPV18E7 DNA を合成し plasmid pDEST32 へ、大腸菌の DH5 $\alpha$  を用いてサブクローニングする。得られた plasmid pDEST32-HPV18E7 が実際に導入された遺伝子産物を発現しているか否かを、Western blot 法にて確認する。

b) fetal brain cDNA library の plasmid pPC86 へのクローニング

fetal brain mRNA は life technology 社より購入したランダムプライマーとロックドッキングオリゴ (dT) 25 d (A/C/G) プライマーを用いて cDNA を合成する。合成された cDNA に EcoRI-NotI-SaII アダプターを付加する。得られた cDNA を plasmid pPC86 へ大腸菌の DH5 $\alpha$  を用いてサブクローニングし、pPC86-fetal brain cDNA library を作製する。

c) pDEST32-HPV18E7 の酵母 MaV203 への transformation

Competent MaV203 を作成後、常法に従って plasmid pDEST32-HPV18E7 を用いて transformation し、SC-

Leu plate にてコロニー MaV203 (pDEST32-HPV18E7) の選別を行う。

d) pPC86-fetal brain cDNA library の MaV203 (pDEST32-HPV18E7) への transformation

12.5 $\mu$ g の pPC86-fetal brain cDNA library plasmid を用いて酵母 MaV203 (pDEST32-HPV18E7) の transformation を行い、25枚の 15cm SC-Leu-Trp-His+3AT plate 上で 30 $^{\circ}$ C にて 60 時間培養し、replica clean を行ってさらに 30 $^{\circ}$ C にて 72 時間培養し、増殖するコロニーを以下の実験に用いる。

e) HPV18E7 と相互作用する候補遺伝子の単離

得られたコロニーを SC-Leu-Trp plate 上で 30 $^{\circ}$ C にて 48 時間培養後、replica clean を行って、選択培地である SC-Leu-Trp-Ura plate, SC-Leu-Trp+0.2%5FOA plate, SC-Leu-Trp-His+3AT plate, さらに X-Gal Assay のためのナイロン膜を上に載せた YPAD plate 上で 30 $^{\circ}$ C にて 24 時間培養する。他の 3 種類の選択培地は replica clean を行って、さらに選択培地上で 30 $^{\circ}$ C にて 48 時間培養する。SC-Leu-Trp-Ura plate, SC-Leu-Trp-His+3AT plate 上で発育し、SC-Leu-Trp+0.2%5FOA plate 上で発育しないコロニーが HIV18E7 と相互作用する候補遺伝子である。

**【成績】**

1 : HPV 型 18 E7 蛋白と相互作用する遺伝子としてヒト胎児脳 cDNA ライブラリーから  $9.5 \times 10^6$  個の transformants をスクリーニングした。pPC86 vector の insert の外側の primer を用いて PCR を行い、fragment size の等しいもの同士を HaeIII, AluI による切断パターンを比較し (Figure1)、最終的に 14 個の候補遺伝子を同定した。

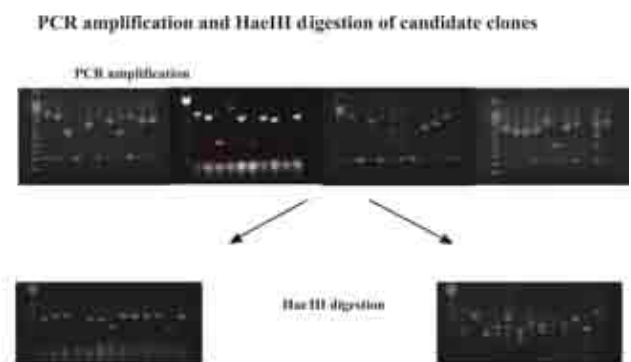


Figure 1

- 2: HPV型18 E7 蛋白と相互作用する遺伝子として同定した14個の候補遺伝子のうち、既知の遺伝子として、Rb, p130, Dna J protein も含まれていた。
- 3: HPV型18 E7 蛋白の新規の interactor として動原体の構成成分である CENP-C を同定した。
- 4: HPV18 型 E7 蛋白と CENP-C 蛋白の結合には E7 の CR2 領域、CENP-C の C 末領域が重要であることを明らかにした。
- 5: CENP-C はローリスク型の 4, 6, 11 型の E7 とは結合しなかったが、ハイリスク型の 16, 18, 55 型の E7 とは結合した。この結合は coimmunoprecipitation にても確認された (Figure 2)。
- 6: 少数例の検出ではあるが、婦人科癌で CENP-C 遺伝子にミスセンスミューテーションが認められた (Figure 3)。

**【考 察】**

体細胞の細胞周期において最も顕著な変化が観察さ

れるのはM期である。酵母においてはわずか30分程度、哺乳動物細胞でも1時間くらいの時間のあいだに染色体凝集、染色体集合、染色体分離、細胞質分裂とめまぐるしい動きが観察される。なかでも染色体とスピンドル間の結合をモニターしている紡錘体形成チェックポイントはセントロメア上の構造体であるキネトコアで生じておりその制御は多彩な因子の秩序だった挙動によって実現されている。染色体数の不安定性は多くの癌細胞に見いだされる共通の特徴で、均等な染色体分配を維持する監視機構(スピンドルチェックポイント)の失活が、染色体数の異常(anuploidy)を引き起こし、癌化、あるいは癌の進行に深く関与することが指摘されている。その中でも動原体を介する異常と中心体を介する異常がスピンドルチェックポイントの破壊として解析されている。我々は動原体の内層を構成するセントロメア蛋白のひとつである CENP-C と HPV18 型 E7 蛋白質が相互作用し、CENP-C の機能を阻害する可能性を明らかにした。CENP-C はM期において、倍加した染色体の動原体に紡錘糸が付着し、正確に均等に染色体を各々の極に分配するのに関与している。従来より HPV18 型 E7 蛋白質を発現させると anuploidy を誘発することが知られており、従って HPV 18 型 E7 蛋白質と CENP-C の結合により、CENP-C の機能が障害され anuploidy が生じると考えられる。以上より動原体の構成蛋白質である CENP-C は癌における anuploidy 発生に重要であることを明らかにした。

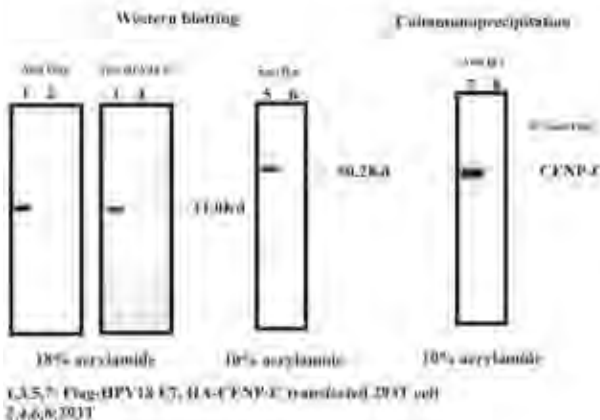


Figure 2

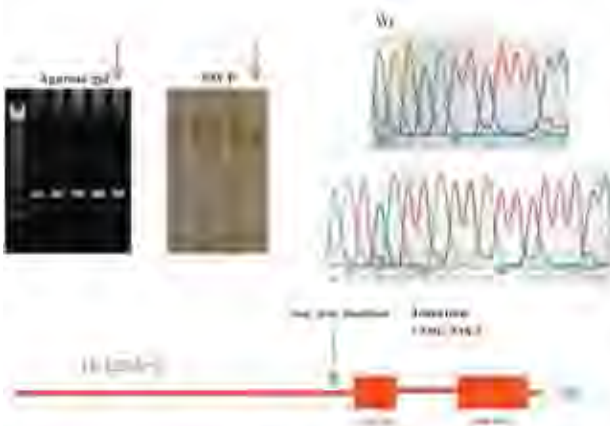


Figure 3

**7) 自然免疫における骨髄系細胞の MDL-1/DAPI2 の検討**

研究代表者 青木 直子

MDL-1 はCタイプレクチンファミリーに属するII型膜蛋白で、ロングフォーム(MDL-1L)とショートフォーム(MDL-1S)の二種類のバリエントを有し、主として単球やマクロファージに発現する(図1)。MDL-1のリガンドは未だ不明であるがそのシグナルは会合分子であるDAPI2のITAMモチーフから伝達されることが報告されている。我々はCTLL-2変異株からDAPI2のクローニングを行って以来、現在まで一貫してDAPI2とその会合分子について研究を重ねてきた。我々が過去に報告したDAPI2による単球のマクロファージ系細胞への分化誘導は、MDL-

MDL-1/DAP12 を介したシグナルがマクロファージの分化や活性化に関わっていることを示唆するものである(1,2)。また、マクロファージが免疫応答の中心となるゼイモザンによるマウス肝臓の肉芽腫形成モデルやマウス結核感染モデルについても DAP12 を介したシグナルが重要な役割を果たすことを報告した。マウス結核感染モデルでは著明な MDL-1 の上昇が認められ、自然免疫においてマクロファージ上の MDL-1/DAP12 が何らかの関与をしている可能性が考えられる(3,4)。Chen らはごく最近デング熱ウイルスの感染防御に MDL-1 が非常に重要な役割を担っていることを報告した(5)。以上より、MDL-1 の機能について検討することは各種感染防御への新たな治療戦略を考える上で重要である。

図 2 に示すように MDL-1 の機能を検討するために我々はアルメニアンハムスターを用いて、N354.1, N20.7, N16.10 の三種類の抗マウス MDL-1 モノクローナル抗体を樹立した。N354.1 は MDL-1L のみを N20.7, N16.10 は MDL-1L/S の両方を認識する。MDL-1 はいずれのアイソフォームも脾臓、骨髄、マクロファージなど免疫系臓器を中心に発現が認められ、特に骨髄ではその発現は非常に強いものとなっている。これらの臓器とは違って胸腺、リンパ節では MDL-1 の発現はほとんど認められなかった。また特記すべきことはマクロファージにおける MDL-1 は骨髄におけるものよりも低い分子量であり、これは糖鎖などの修飾の違いが関与しているのではないかと考えられた。次に我々は骨髄中のどの細胞サブセットが MDL-1 を発現しているかを検討した(図 3)。MDL-1 は骨髄中の Gr-1+CD11b+ の好中球に非常に強く発現していることが明らかとなった。このとき骨髄幹細胞においては MDL-1 の発現は認められなかった。チオグリコレートをマウスに腹腔注射することにより誘導された好中球においても MDL-1 の強い発現が認められた(図 3)。

MDL-1 は DAP12 との会合が知られているが今回我々はさらに DAP12 のほかにやはり NK レセプターに会合するシグナル分子として知られている DAP10 との会合についても検討を行った(図 4) 興味深いことに MDL-1L, MDL-1S の二つのアイソフォームはともに DAP12 のみならず DAP10 にも会合することが明らかとなった。DAP12 と DAP10 はそれぞれ下流のシ

グナル伝達経路が違うことよりこの二つの会合分子の使い分けによって MDL-1 の機能が調節されている可能性が考えられる。

次に MDL-1 の機能を検討するために 32Dcl3 を用いて MDL-1 刺激によるサイトカインの産生能を検討した。32Dcl3 はモノサイト系の細胞株であり、G-CSF 刺激により好中球へ分化することが知られている。32Dcl3 は無刺激の状態では MDL-1 の発現は認められないが G-CSF 刺激により好中球への分化につれて MDL-1 の発現が増強する。この細胞表面上の MDL-1 を架橋することにより mRNA レベルで IP-10, RANTES, MDC の発現の上昇が認められた。さらに TLR 4 のリガンドである LPS を同時に刺激に加えることにより、synergistic に RANTES と MDC の著明な発現が認められた(図 5)。TLR は自然免疫に非常に重要な役割を果たしているため、MDL-1 は TLR と協同して感染防御など自然免疫に何らかの役割を果たしていることが示唆される。また、IP-10, RANTES はタイプ 1 免疫応答に MDC はタイプ 2 免疫応答に密接な関わりがあると言われているため MDL-1 は自然免疫のみならず獲得免疫にも関与している可能性がある。今後は DAP12, DAP10 による会合分子の使い分けによる MDL-1 の機能の差、また未だ不明である MDL-1 のリガンドの検索などを行っていく予定である。

1. Aoki N, Kimura S, Takiyama Y, Atsuta Y, Abe A, Sato K, Katagiri M. The role of the DAP 12 signal in mouse myeloid differentiation. *J Immunol.* 2000 Oct 1;165(7):3790-6.
2. Aoki N, Kimura S, Oikawa K, Nochi H, Atsuta Y, Kobayashi H, Sato K, Katagiri M. DAP12 ITAM motif regulates differentiation and apoptosis in M1 leukemia cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002 Feb 22;291(2):296-304.
3. Nochi H, Aoki N, Oikawa K, Yanai M, Takiyama Y, Atsuta Y, Kobayashi H, Sato K, Tateno M, Matsuno T, Katagiri M, Xing Z, Kimura S. Modulation of hepatic granulomatous responses by transgene expression of DAP12 or TREM-1-Ig molecules. *Am J Pathol.* 2003 Apr;162(4):1191-201.
4. Aoki N, Zganiacz A, Margetts P, Xing Z. Differential regulation of DAP12 and molecules associated with DAP12 during host responses to mycobacterial infec-



tion.Infect Immun. 2004 May;72

5. Chen ST, Lin YL, Huang MT, Wu MF, Cheng SC, Lei HY, Lee CK, Chiou TW, Wong CH, Hsieh SL. CLEC5A is critical for dengue-virus-induced lethal disease. Nature. 2008 May 29;453(7195):672-6. Epub 2008 May 21

## 8) ホルムアルデヒド含有食品摂取によるパイエル板を中心とした粘膜免疫系への影響

研究代表者 中木 良彦

### 【研究背景と目的】

食品添加物としての使用が禁止されているホルムアルデヒド (FA) は、様々な条件のもとで食品に含有している可能性があり、自然食品中にも含まれる無視できない物質である。国外ではビールや水産品に添加されていたことや国内においても養殖ふぐの寄生虫駆除目的に FA の薬浴が不正に行われていたことが報道されている。

従来 FA の経口毒性に関する動物実験では、飲料水に FA 水溶液を用いて長期経口曝露した場合、胃粘膜の変化、過形成、胃炎等上部消化管の傷害を観察したが下部消化管では明らかな病変を認めなかったと報告している。一方で我々は、低濃度 FA 添加飼料を用いた経口曝露マウスより、下部消化管において消化管内残渣から高濃度の遊離 FA を検出、および腸内細菌数の減少という下部消化管への影響を発見した。つまり投与方法の違いにより毒性の発現が異なることが明らかとなった。腸内細菌減少が免疫系など様々な全身影響を与えることが示唆されることから、食品の安全性確保のために FA 含有食品の毒性 (若しくは安全性) についての研究の必要性が高まっていた。そこで、我々は FA 含有食品を想定した FA 添加飼料を実験動物に投与し、腸管の粘膜免疫の中心であるパイエル板 (PP) リンパ球への影響を中心に解析した。

### 【研究方法】

B6C3F1 雌性マウスに FA 添加飼料 (100 mg/kg/day 相当) を作成し、50日間経口投与した。投与期間終了後、粘膜免疫の中心となる IgA 抗体について、新鮮糞便、血液、および PP 細胞培養上清中の IgA 量を ELISA 法にて測定した。免疫応答の変容については、脾細胞を用いたリンパ球 subpopulation の解析、消化管粘膜免疫系の評価に PP リンパ球の subpopulation の

解析を行った。ヘルパー T 細胞のバランスは PP 細胞培養上清中の IL-4 および IFN- $\gamma$  を ELISA 法にて測定した。粘膜免疫機構に影響を与えるエンドトキシンは小腸および大腸をエンドトキシンフリー水で洗浄し、洗浄液中のエンドトキシン量を測定した。

### 【研究成果と考察】

脾細胞リンパ球の subpopulation 解析 (リンパ球種類毎の分布数を調べる) では、CD4 陽性リンパ球、CD8 陽性リンパ球、および CD4/CD8 比の何れもコントロール群、曝露群間に有意な差を認めなかった。一方、消化管の PP リンパ球の subpopulation 解析では、CD8 陽性リンパ球が曝露群で有意に減少し ( $p < 0.05$ )、CD4/CD8 比が曝露群で有意に増加した ( $p < 0.05$ )。CD4 陽性リンパ球、および B220 陽性リンパ球は両群間で差を認めなかった。PP 細胞の mitogen 刺激後の培養上清中のサイトカイン分泌量は、曝露群で IL-4 がやや多く検出されたものの有意差はなかった。IFN- $\gamma$  は両群間に差を認めなかった。消化管免疫の中心的な役割を担う IgA 産生・分泌量は、コントロール群に比較して曝露群の血清中で有意に低下 ( $p < 0.001$ ) し、糞便中においても減少傾向 ( $p < 0.1$ ) を示した。PP においては有意差を認めなかった。消化管洗浄液中のエンドトキシン濃度は、小腸では両群間に差を認めなかった (コントロール群:  $0.93 \pm 0.88$  pg/ml、曝露群:  $0.56 \pm 0.77$  pg/ml)。大腸では曝露群で対照群に比較してエンドトキシン濃度が有意に低下した ( $p < 0.01$ )。

脾細胞のリンパ球 subpopulation では FA 曝露による変化を認めなかったが、局所の粘膜免疫の最前線である PP 細胞では、免疫亢進状態を示した。FA 経口曝露による腸内細菌の減少による免疫系への影響は局所の粘膜免疫系で明らかとなった。しかしながら粘膜免疫系は局所とはいえ、産生された免疫グロブリンは全身の血管系を通じて homing により再度粘膜に戻り全身の粘膜から分泌される。このことは FA 曝露による影響が、細菌の減少した下部消化管のみならず全身に及ぶ可能性を示唆した。

粘膜免疫において重要な IgA 抗体を、初期に影響を受けると想定される PP、PP から全身に移行する血液 (血清)、血液中から元の粘膜に戻る Homing 後に消化管内に分泌されたものを近似した糞便の 3 サンプル

ルについて定量した。糞便中の IgA が減少傾向にとどまり有意差を認めなかった点については消化管内に分泌された後、排便までの過程で様々な要因に修飾されて差が不明瞭になった可能性がある。しかしながら血清 IgA の有意な減少から FA 経口曝露による粘膜免疫への影響が明らかとなった。血清中の IgA の産生・分泌量の減少から、分化増殖に影響する消化管内のエンドトキシンを測定したが、今回の結果からはエンドトキシン濃度と IgA 産生・分泌の減少との関連性は明らかにはならなかった。従来より腸内細菌減少により即時型アレルギーが誘発されやすいと報告されているが、今回の研究ではヘルパー T 細胞のタイプバランスには影響を認めなかった。PP でのサイトカイン産生については今後の詳細な解析が必要である。

**[まとめ]**

以上のように我々が意図しない濃度の FA を含有する食品が市場に出回る可能性があり、その食品の摂取を想定した動物実験において粘膜免疫系への影響が示唆されたことから、更なる食品中の FA 含有量に対する安全性の評価検討が望まれる。

**9) 慢性腎臓病患者におけるメタボリックシンドロームの関与**

**—アディポサイトカインを標的とする新たな治療戦略—**

研究代表者 中川 直樹  
長谷部直幸

**[研究目的]**

近年、糖尿病、高血圧などの増加に伴い慢性腎臓病 (CKD) 患者が増加している。特に血液透析患者数は年々増加の一途をたどり現在26万人を超え、かかる医療費も既に1兆2千億円 (国民総医療費の約4%) に達し、その死亡原因は依然心血管疾患に関連するものが多い。一般人口においては、メタボリックシンドローム (MetS) が心血管疾患発症の重要な危険因子として注目されているが、CKD 患者における MetS およびアディポサイトカインを介する病態形成機序には不明な点が多い。

本研究では、CKD 患者、特に血液透析患者における内臓肥満型肥満の現状、および血清アディポネクチン、腫瘍壊死因子 (TNF- $\alpha$ )、高感度 CRP レベルなどのアディポサイトカインとの関連を検討し、CKD 患

者における MetS の病態形成意義を解明し、新たな治療戦略を構築することを目的とした。

**[研究方法]**

当院および関連病院において、慢性血液透析患者 217名 (男性128名、平均年齢63歳) を対象に、臍レベル CT 画像上の内臓脂肪面積 (Visceral fat area: VFA) および皮下脂肪面積 (Subcutaneous fat area: SFA) を測定し、内臓脂肪型肥満の頻度を検証する。次に、VFA と、SFA、腹囲、BMI、血圧、脂質、糖代謝等の各種パラメータとの関連を検討する。さらに、血清総アディポネクチン濃度、高分子量アディポネクチン濃度、TNF- $\alpha$ 、高感度 CRP を ELISA で測定し、内臓脂肪面積との関連を検討し、血液透析患者における MetS の病態解明を目指した。

さらに、レニン・アンジオテンシン系阻害薬、カルシウム拮抗薬、スタチンの内服による内臓脂肪型肥満およびアディポサイトカインへの影響を検討し、血液透析患者における MetS に対する治療戦略の確立を目指した。

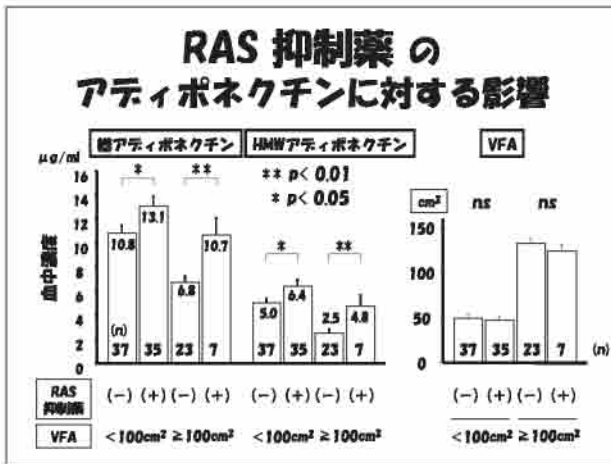
**[結果]**

CT 画像を用いた VFA および SFA を測定した結果、2005年4月に発表された我が国の MetS 診断基準である VFA  $\geq 100\text{cm}^2$  の内臓脂肪蓄積型肥満は、男性で30%、女性では18%に認めた。さらに、VFA が  $100\text{cm}^2$  に相当する BMI は男性で  $22.6\text{kg}/\text{m}^2$ 、女性で  $23.5\text{kg}/\text{m}^2$ 、と男女とも一般人口における肥満の定義 (BMI  $\geq 25\text{kg}/\text{m}^2$ ) より低い数値を示した。一方、VFA が  $100\text{cm}^2$  に相当する腹囲は、男性で  $85.1\text{cm}$ 、女性で  $88.6\text{cm}$  とわが国の MetS の診断基準に近似した値を示した。

VFA と各因子との相関では、VFA は、いずれも有意に、SFA (R=0.614)、BMI (R=0.630)、腹囲 (R=0.711)、血清中性脂肪 (TG) (R=0.474)、性 (男=1、女=0) (R=0.181) と正の、HDL-C (R=-0.338)、血清総アディポネクチン値 (R=-0.499) および高分子量アディポネクチン値 (R=-0.511)、透析歴 (R=-0.181) とは負の相関を示した。さらに重回帰解析の結果、VFA に対し、SFA、腹囲、性、TG、高分子量アディポネクチン値が、有意な説明変数として採択された。

さらに RAS 抑制薬内服群では、非内服群に比し、

内臓脂肪型肥満の有無に関わらずアディポネクチンが有意に高値を示したが、Ca拮抗薬内服群・非内服群の間には有意差は認めなかった(図)。



図

**[結論]**

透析患者においても内臓脂肪型肥満とアディポネクチンは優位な負の相関を示した。RAS抑制薬は降圧作用のみならず、アディポネクチンを上昇させ、臓器保護効果を示す可能性が示唆された。

**10) 小腸インクレチン細胞における転写および分泌調節機構の解明**

研究代表者 藤田 征弘

**[はじめに]**

GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) と GIP (Glucose-dependent insulinotropic polypeptide) は小腸から分泌される腸管ホルモンで、食事由来の刺激により小腸のL細胞 (GLP-1) とK細胞 (GIP) から門脈血中に分泌され、膵臓ランゲルハンス島のβ細胞からそれぞれのG蛋白共役性受容体を介して血糖依存性にインスリンの合成及び分泌を促進する。GLP-1、GIPは様々な生理活性をもち、糖代謝の恒常性維持などにおいて非常に重要な役割を果たしている。しかしインクレチン分泌細胞の転写調節やインクレチン分泌を誘発する機構はあまり解明されていない。糖尿病を代表とする糖代謝異常の治療の新しいアプローチに応用するため、本研究ではインクレチン分泌細胞の分化・転写メカニズムを解明し、さらに分泌促進のメカニズムを明らかにしようと試みた。

**[結果1 転写調節]**

免疫組織学的検討では、GIP陽性細胞は常に転写因子のPax6、Pdx1を共発現していた。ヒト、ラット十二指腸においてPdx1はGIP陽性細胞だけでなく多くの粘膜上皮細胞で陽性であった。このことは、Pdx1のみではGIP発現に不十分であることを示唆している。一方Pax6の発現はほぼGIP陽性細胞に限定されていた。ラット空腸では、Pdx1はGIP陽性細胞にのみ発現していた。回腸では約30%のGLP-1陽性細胞がGIPを共発現しており、それらはPax6、Pdx1とも陽性であった。このことはPdx1がGLP-1の発現を抑制しないことを示している。一方、GLP-1陽性GIP陰性細胞ではPax6のみ陽性で、Pdx1は発現していなかった。興味あることにマウス網膜でもGIPの免疫染色陽性細胞を認め、GIP陽性細胞はPax6とPdx1を共発現していた。小腸内分泌細胞株であるSTC-1では、Pax6、Pdx1の発現を免疫染色およびRT-PCRで認めたが、IEC-6ではすべて陰性だった。human GIPプロモーターによるルシフェラーゼアッセイでの検討では、STC-1はIEC-6に比較し40倍のGIP転写活性を示した。IEC-6ではPax6及びPdx1の強制発現によって、それぞれ6倍及び4倍のGIP転写活性が上昇した。また、STC-1においてGIP-184からGIP-145のプロモーター切断によって転写活性は90%低下した。STC-1において優性阻害型Pax6、Pdx1の強制発現はGIP転写活性をそれぞれ約70%、20%抑制した。ゲルシフト法によりPax6及びPdx1が近位GIPプロモーター(-193/-138)に結合することを確認した。一方、Pax6の強制発現はプログルカゴンの転写活性を25倍上昇させたが、Pdx1は上昇させなかった。STC-1において優性阻害型Pax6はプログルカゴン転写活性を約70%抑制したが、優性阻害型Pdx1は転写活性に影響を与えなかった。

**[結果2 分泌調節]**

小腸の内分泌細胞 (K細胞、L細胞) から分泌されるGIP、GLP-1などのインクレチンホルモンは食事(糖や脂質)依存性に分泌され、それらのホルモンは血糖依存性にインスリン分泌を促進する。K細胞、L細胞に舌と同じ味覚受容体の発現が報告され、特に甘味受容体のT1R2+T1R3およびalpha-gustducinといったシグナル伝達系が発現していると報告されている。In

*in vitro* では、人工甘味料であるスクラロースがインクレチンの分泌を促進したと報告がある。一方、経口インスリン分泌促進剤のミチグリニドは膵 Langerhans 島  $\beta$  細胞上の SU 受容体、ATP 感受性  $K^+$  Channel (SUR1/Kir6.2) を介して速効性、短時間にインスリン分泌促進作用を発揮するが、GIP や GLP-1 産生細胞にも  $\beta$  細胞型の SUR1/Kir6.2 が発現されている事が最近報告されている。今回正常ラットを用いて甘味料とミチグリニドのインクレチン分泌促進作用の有無について検討した。

ミチグリニドナトリウム塩を経口にて正常ラットに投与した。非絶食下ラットに単回投与を行ったが経口または腹腔内投与と同様の血糖降下作用を認めた(約 50% 低下)。経口ブドウ糖試験 (2g/kg) に比較し、ミチグリニドをブドウ糖と同時に経口負荷することで血糖値は著明に低下した。(125mg/dl vs 53mg/dl 2 時間値)。また、その際のインスリン頂値はミチグリニドを同時負荷にて約 2.5 倍上昇した (0.34ng/ml vs 0.81 ng/ml)。これらの実験によりミチグリニドが正常ラットの糖代謝に十分影響を与えていることが明らかとなった。陽性コントロールであるブドウ糖経口負荷時で、GIP の血中濃度は負荷後 10 分でピークに達し基礎値の約 4 倍に達した。ミチグリニド単独経口投与と対照(蒸留水)単独投与を行い比較検討したが、ミチグリニド群と対照群では GIP 値に有意差を認めなかった。

組織学的検討ではラット小腸で alpha-gustducin と GIP の共発現を認めた。甘味料の生理学的検討には、スクラロース、サッカリン、ステビア、D-トリプトファンを用いた。腹腔内ブドウ糖負荷試験 (IPGTT) と経口での甘味料の共負荷の実験で、いずれの甘味料も IPGTT 単独と比較して血漿ブドウ糖濃度曲線を改善しなせず、経口ブドウ糖でのブドウ糖濃度の頂値より有意に高かった。したがって、これらの甘味料はインクレチンの分泌を促進していない可能性が考えられた。それを明らかにするため絶食ラットにブドウ糖または甘味料の単回経口投与を行って GIP を測定したが、ブドウ糖のみ GIP 分泌を促進し甘味料では GIP の血中濃度は変化しなかった。

[まとめ]

転写調節機構では Pax6 並びに Pdx1 がともに GIP

遺伝子発現に重要な転写因子であることが示唆された。一方分泌促進機構の解明では、糖尿病治療ターゲットとしての“インクレチン分泌促進化合物”を見いだすことができず、今後の検討・研究課題となった。

[謝辞]

今度、“独創性のある生命科学研究”の学内資金より研究費を賜ったことに非常に感謝しております。さらに今回の研究に University of British Columbia の Timothy J. Kieffer 教授から多大なご指導を頂いたことを心より感謝いたします。

11) 肝臓における内因性抗菌物質発現プロファイルの解析

研究代表者 大竹 孝明

[研究背景と目的]

現在、生体防御システムにおける内因性抗菌ペプチドの重要性が証明されている臓器は病原微生物暴露の多い消化管と皮膚領域である。しかし、肝組織も常に経門脈的または経胆道的に病原微生物や食物抗原の侵入、暴露の危険にさらされており、これら病原微生物、食物抗原の大循環への侵入阻止のために、特に肝の細網内皮系細胞の自然免疫機能が重要な役割と担っていると考えられている。実際に末期肝硬変ではこの機能低下と肝内シャントがあるため、しばしば bacterial translocation が起こり、致命的な特発性細菌性腹膜炎や敗血症の危険にさらされる。つまり感染防御において肝臓は腸管粘膜と同様に重要な臓器であり、生体防御機構の「最前線」である腸管に対して「セカンドライン」の役割を担っていると言える。

我々は肝臓における自然免疫エフェクター分子である内因性抗菌ペプチドの発現が肝の病態生理に重要な役割を担っているという仮説を立て、肝臓の自然免疫関連分子の発現を解析した。

[研究方法]

1. ヒト正常肝組織および肝細胞癌組織における微生物構成分子認識受容体 Toll-like receptor (TLR) の発現を RT-PCR 法で検討した。
2. 正常マウス肝組織における内因性抗菌ペプチド (AMP) の発現を RT-PCR 法と免疫組織化学染色法で検討した。

3. 健常人および肝疾患患者における血清中 pro-hepcidin 濃度に関して ELISA 法で検討した。

4. 高脂肪食負荷マウスまたはレプチン遺伝子欠損過食マウス (ob/ob) の脂肪肝モデルマウスにおいて AMP、TLR の自然免疫関連分子の発現の変化についてマイクロアレイを用いて検討した。

[研究成果と考察]

1. 肝組織における Toll-like receptor (TLR) 発現の検討

病原微生物構成分子認識受容体である TLR の発現に関してヒト肝細胞癌組織 (HCC) と正常肝組織で検討した。TLR3~8、10 の発現は認められたが、TLR1、2、9 の発現は認めなかった (図1)。また、マイクロアレイを用いた正常マウス肝組織での検討では細菌の構成分子である flagellin を認識する TLR5、一本鎖 RNA を認識する TLR8 の発現が高いことが明らかとなった。

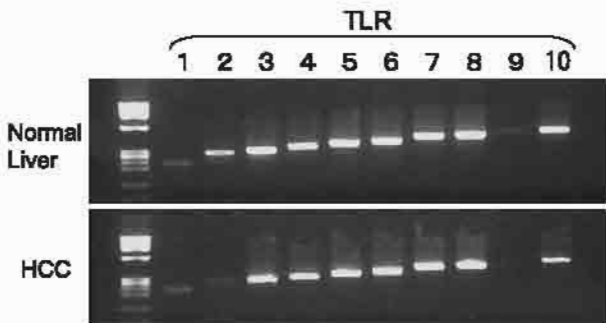


図1 肝組織における Toll-like receptor の発現

2. 肝組織における内因性抗菌ペプチド (AMP) 発現の検討

正常マウス肝組織における自然免疫エフェクター分子 AMP の発現を RT-PCR で検討した。cathelicidin の cramp は RT-PCR では発現を認めず、鉄代謝調節因子でもある hepcidin に関しては hepcidin-1、-2 (hepc1、2) ともに発現を確認した (図2)。AMP の蛋白発現を免疫組織化学染色法で検討したところ、cramp は肝組織中に存在する好中球に発現を認めるのみであったが、hepc1 は肝細胞の細胞質内に発現を確認した。また、マイクロアレイでの検討ではα-defensin では腸管型α-defensin の cryptdin-3、12 の発現が、β-defensin ではβ-defensin-1、2 の発現が高いことが明らかとなった。

3. 血清中 pro-hepcidin の検討

AMP 発現と肝疾患の関係に関して、hepcidin の発現について検討した。hepcidin は鉄代謝調節因子でもあることから、健常人において血清中 pro-hepcidin 濃度は血清 ferritin 値と正の相関傾向を認めるが、様々な成因と進行度の慢性肝疾患において、血清 pro-hepcidin 濃度は血清 ferritin 値に関係なく発現低下傾向を認めた。特に成因に関係なく線維化の進行した肝硬変症で血清 pro-hepcidin は低下していた (図3)。

4. 脂肪肝モデルマウスにおける自然免疫関連分子の発現の変化

高脂肪食負荷マウスまたは ob/ob マウスの脂肪肝モデルマウスにおいて TLR および AMP 等の自然免疫関連分子についてその発現をマイクロアレイを用いて検討した結果を示す (表1)。高脂肪食負荷マウスの肝臓において TLR の発現の変化は認めないが、cryptdin 6、10、β-defensin 3、4 の発現低下を認めた。ob/ob マウスにおいては flagellin を認識する TLR 5 の発現低下を認めた。また、エフェクター分子では cryptdin 3、5、13、β-defensin 3、5、6 の発現が低下し、cryptdin 12 の発現が亢進していた。

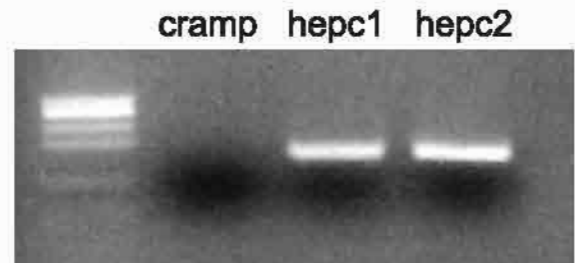


図2 肝組織における内因性抗菌ペプチドの発現

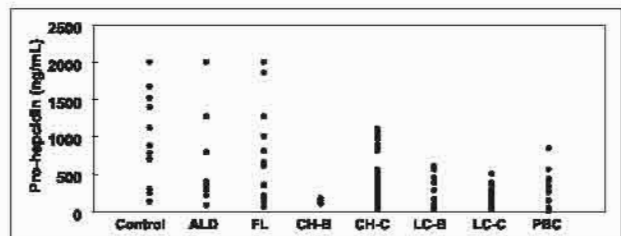


図3 各種肝疾患における血清中 pro-hepcidin 濃度

Control: 健常人、ALD: アルコール性肝障害、FL: 非アルコール性脂肪肝、CH-B: B型慢性肝炎、CH-C: C型慢性肝炎、LC-B: B型肝硬変、LC-C: C型肝硬変、PBC: 原発性胆汁性肝硬変

表1 脂肪肝モデルマウスにおける自然免疫関連分子発現の変化

	Description	High fat diet-load mouse		ob/ob mouse			
		Log2Ratio(Ch1/Ch2)	Expression	Log2Ratio(Ch1/Ch2)	Expression		
Recognition	Toll-like receptor	1	-0.79758482	-0.050601044			
		2	-0.606402068	0.837277119			
		3	-0.08038706				
		5	-0.012632066	-1.000678915	↓		
		6	0.407303572	0.95857421			
		8	0.338955534	0.47424759			
		9		0.325568818			
		Antimicrobial peptide	cryptdin	1	-0.533747062	-0.491156582	
				3	-0.14981761	-1.231967992	↓
4	-0.655783421						
5	-0.423784937			-1.732147588	↓		
6	-2.421301468				↓		
7	0.663896517			-0.021143851			
10	-1.980484701			-0.376507749			
12	0.160747163		2.178146582	↑			
13			-1.077503018	↓			
Beta defensin	1		0.07199301	0.283250378			
	2		-0.175805687	0.476347164			
	3		-1.032157471	-1.203457207	↓		
	4		-1.693807355	0.480602846			
	5		-1.162098425	↓			
	6		-2.102881568	↓			
	7	-0.928559539					
Hamp		0.595032482	0.945800454				

肝組織に微生物構成分子認識受容体である TLR3~8, 10 の発現およびエフェクター分子 AMP である  $\alpha$ -defensin、 $\beta$ -defensin、hepcidin が発現を認めることから、肝組織においても自然免疫機構が機能し、AMP が生体防御に重要な役割を担っていることが推察される。今回の検討では全肝組織における各遺伝子の発現を検討したが、今後は肝組織を構成する肝細胞、胆管細胞、類洞内皮細胞、各種類洞間質細胞の細胞分画別発現の検討が必要と考えられる。

肝疾患における自然免疫系の関与に関する検討では、肝疾患患者血清中 hepcidin の発現が肝障害度の進行に伴い低下する可能性が示唆された。このことから、肝障害の進展・重症度と自然免疫機能の障害の関連性が示唆された。今回検討した2つのマウス脂肪肝モデルでは TLR の発現変化はほとんど認めないが、AMP のいくつかの発現変化を認められた。全体に発現抑制となっており、脂肪肝における自然免疫の抑制が、腸管から bacterial translocation に対する肝障害感受性増大の原因になっている可能性が示唆された。

[まとめ]

本研究の見解は肝組織においても皮膚や腸管粘膜と同様に自然免疫系が重要な役割を担っていることが示された。さらに自然免疫系の変化が非アルコール性脂肪性肝疾患の病態や慢性肝疾患の重症度と深く関わっている可能性が示唆された。

12) Frequent association of congenital cytomegalovirus infection with developmental disabilities in children who were asymptomatic during neonatal stage

研究代表者 Shin Koyano  
Naoki Inoue  
Tsunehisa Nagamori  
Kenji Fujieda

**[Keywords]** congenital CMV infection, developmental disability, hearing loss, intracranial calcification, retrospective diagnosis, dried umbilical cord

[Abstract]

**Objective.** Cytomegalovirus (CMV) is the most common cause of congenital infection and causes late-onset neurological disorders, such as sensorineural hearing loss. This study aimed to clarify the impact of congenital CMV infection on developmental disabilities and to identify clinical features of CMV-associated cases.

**Study design.** CMV DNA was assayed by PCR in dried umbilical cord specimens obtained from 20 Japanese children with developmental disabilities of unknown cause. Severity of the disability was scored by Wechsler Intelligence Scale for Children Third Edition (WISC-III) or the standard Japanese methods, and hearing capability was

evaluated by auditory brain-stem response.

**Results.** Of the 20 cases, 2 severe, 2 moderate, and 1 mild cases were CMV positive. Intracranial calcification and hearing defects were observed in 4 and 3 of the 5 cases, respectively. CMV-associated clinical manifestations were not observed at birth, but their developmental delay became apparent within 1 year after birth.

**Conclusion.** Congenital CMV infection proved to be associated with a significant proportion of developmental disability cases without other known causes. Many CMV-associated manifestations are late-onset and independent from hearing deficits, thus it is critical to detect congenital infections in the perinatal period.

#### [Introduction]

Cytomegalovirus (CMV) is one of the most common causes of intrauterine infection. The prevalence of congenital CMV infection ranges from 0.3 to 2.4 % of live births in developed countries.<sup>1</sup> Approximately 10% of infected neonates are symptomatic at birth, with symptoms including petechiae, jaundice, hepatosplenomegaly, and microcephaly.<sup>2</sup> Although most infected neonates are asymptomatic, more than 10% of these children ultimately develop CMV-linked auditory, neurological and behavioral problems.<sup>3,4</sup> Neurological problems associated with congenital CMV infection may include mental retardation, autism, learning disabilities, cerebral palsy, and epilepsy.<sup>5,6</sup> Neuroimaging of children with congenital CMV has identified a variety of brain abnormalities, such as intracranial calcification, ventricular enlargement, hydrocephalus, cortical atrophy, and porencephaly.<sup>7</sup> CMV-associated irreversible damage to the central nervous system and to hearing have also been demonstrated in mouse and guinea pig models.<sup>8,9</sup>

Retrospective diagnosis for congenital CMV infection depends on the availability of preserved materials that are collected at birth, such as dried blood spots used for genetic screening.<sup>10-12</sup> The amounts of CMV DNA in dried blood spots, especially from asymptomatic cases, are small.<sup>13</sup> We have taken advantage of the wide availability of dried umbilical cords in Japan for retrospective diagnosis of congenital CMV infection.<sup>14</sup> We found that 15% of cases

of severe sensorineural hearing loss (SNHL) could be ascribed to congenital CMV infection, and in at least a half of CMV-related cases SNHL developed after the age of 6 months.<sup>15</sup>

The full spectrum of developmental disabilities due to congenital CMV infection has not been fully defined. Thus, this study aimed to clarify the impact of congenital CMV infection on developmental disabilities and to identify clinical features of CMV-associated cases.

#### [Methods]

**Study subjects.** Twenty patients with developmental disabilities, developmental quotient (DQ) score; less than 70, were enrolled. Enrollment was based on exclusion of cases of known causes, including Down's syndrome and other chromosomal abnormalities, genetic defects in metabolism or hormones, difficult delivery with complications such as fetal distress, and the mother being under drug or alcohol influence. This study was approved by the Ethical Committee of Asahikawa Medical College and National Institute of Infectious Diseases, and informed consent was obtained from parents of all enrolled cases.

**Evaluation of developmental quotient (DQ) and hearing capability.** Developmental disability was evaluated by Wechsler Intelligence Scale for Children Third Edition (WISC-III) or standard Japanese methods for young children, i.e. Enjouji and New-Kyoto-style.<sup>16</sup> In the Enjouji method, DQ scales are calculated based on a list of queries in 6 categories (body movements, manipulations with hands, activity of daily living, personal relations, speech skills, understandings of language) to evaluate whether patients can perform particular skills and physical movements required for ordinary living at the level of their normal peers.<sup>5</sup> These questionnaires are similar to 'The Ages and Stages Questionnaires' (ASQ). (Paul H Brookes Publishing Co., Baltimore, MD). Severity of developmental delay was classified into five categories: severe DQ<35, moderate DQ 35-49, mild DQ 50- 69, boarder DQ 70-84, and normal DQ>85. Severe cases usually need assistance for daily life, such as taking meals, physical movement, and defecation.

Hearing defects were determined by the Auditory

Brain-stem Response (ABR) test.

**Detection of CMV in dried umbilical cords by PCR assay.** Approximately 50 µg of total DNA was extracted from 25 mg of dried umbilical cords using QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Valencia, CA) according to the vendor's protocol.

Conventional PCR for detection of CMV was done with the following primer set that targets CMV immediate early (IE) gene: 5'-gcTGCGGCATAGAATCAAGGAGCA and 5'- ggTTGGTGGTCTTAGGGAAGGCTGAG (the viral sequence is capitalized). Twenty-five microliter reactions contained 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1 mM of dNTPs, 0.4 mM of each primer, 1.25U of Taq polymerase, and 500 ng of extracted DNA. Thermocycling conditions were as follows: 94°C for 3 min, and 35 cycles of 94°C for 30 sec, 72°C for 2 min, and a final extension at 72°C for 20 min.

The real-time PCR assays for the CMV UL83 gene and for the human albumin gene were performed as described previously.<sup>15</sup> The real-time PCR assays were done blindly at National Institute of Infectious Diseases.

**Genotyping.** CMV genotyping was done as described<sup>17, 18</sup>.

[Results]

**Identification of CMV-positive cases.** This study included 20 patients with developmental disability who attended to or were referred to the Asahikawa Medical College. Nine of them had hearing defects and at least 8 of them experienced >1 episode of seizure. CMV DNA was detected in the dried umbilical cord specimens obtained

from 5 patients both by conventional PCR and real-time PCR (Table 1).

**Clinical characteristics of the CMV positive cases.** All of the cases were from full-term pregnancies and none had low birth weight. Clinical findings were as follows:

**Case 1.**<sup>14</sup> Since some clinical manifestations, such as tachypnea and lack of spirit were observed at birth, neonatal infection was suspected and antibiotics were given for 8 days. The child was discharged from the hospital with no developmental concerns. However, his body weight did not increase well and spasticity of his extremities gradually emerged 1 month after birth. At 6 years of age, his developmental delay went to so severe (mental DQ 23, motor DQ 22) that assistance was required for daily life. His hearing ability has been normal but epileptic seizure has appeared.

**Case 2.** No clinical abnormalities, including hearing defects, were observed during the neonatal period. At 5 months after birth, head control was absent, spasticity of her extremities gradually emerged, and a progressive hearing defect developed.

**Case 3.** The child was normal during neonatal period. Although head control was seen at age of 4 months, he could not maintain a sitting position at 10-months. Hearing loss developed at around 1 year. The child was hyperactive, probably due to unbalanced mental and motor DQs (26 and 81, respectively); he also had epilepsy.

**Case 4.** There were no clinical symptoms during the neonatal period. However, head control was absent at 5-months, and she developed mild spasticity of her

Table 1. Characteristics of late-onset developmental disability cases with congenital CMV infection.

Case no.	Sex	Developmental disability		Current age	Other findings		CMV diagnosis		CMV genotype				
		onset	severity		hearing defect	Intracranial calcification	age	copy no.#	gB	gN	gO	gH	UL144
1	M	1 mo	severe	6 yr	-	+	1 yr	4.5x10 <sup>3</sup>	1	4c	5	2	A
2	F	5 mo	moderate	5 yr	+	+	1 yr	1.0x10 <sup>3</sup>	1	4b	4	1	C
3	M	10 mo	mild	4 yr	+	+	2 yr	1.5x10 <sup>3</sup>	3	4a	3	1	C
4	F	5 mo	severe	17 yr	+	+	14 yr	6.5x10 <sup>3</sup>	1	1	1a	1	B
5	F	12 mo	moderate	10 yr	-	-	7 yr	3.2x10 <sup>2</sup>	1	2	2b	1	A

+:present, -:absent #: CMV genome copy numbers/,g cellular DNA in dried cord specimens



extremities before the age of 1 year; the first epileptic seizure occurred at 14 months. Her mental and motor IQs were 17 and 6, respectively, at 14 years of age. She necessitates assistance for daily life. She has developed bilateral hearing loss.

**Case 5.** There were no clinical signs during the neonatal period. At 1 year of age, she could not maintain a sitting position.

**Neuroimaging of CMV positive cases.** Intracranial calcification was detected by computed tomography (CT) in 4 of the 5 patients. Porencephaly and intracranial calcification were seen in the case 1 (Fig. 1). In contrast, case 2 had less severe developmental disability in the absence of calcification in the brain CT and hearing defect.

**Relationship of viral load and genotypes with clinical symptoms.** Viral loads in dried umbilical cord specimens are shown in Table 1. There was no obvious relationship between the severity of clinical symptoms and the viral loads, although the number of cases is insufficient enough for robust analysis. To see whether particular CMV genotype(s) might be associated with developmental disabilities, genotypes of the glycoprotein B (gB), gN, gO, gH, and UL144 genes were determined. All five cases have different gN/gO linkage groups<sup>18</sup>, and there was no obvious relationship of genotypes with clinical outcome (Table 1).



**Figure 1.** The brain computed tomography of Case 1 showed porencephaly (arrowhead) and intracranial calcification (arrow) at age of 4 months.

**[Discussion]**

In this study, we identified congenital CMV infection in 5 out of 20 children with developmental disability. Although this was a small study, the proportion of CMV-associated cases was much higher than would have been expected based on the population prevalence of congenital CMV infections. During neonatal period, none of the 5 children had any CMV-associated clinical manifestations. Their developmental disabilities began to manifest from 1 to 12 months of life, and some of them have developed both physical and mental deficits. This progressive development of disability in children who were congenitally infected but asymptomatic as newborns provides further evidence for the need of implementing newborn screening programs for congenital CMV infection.<sup>13</sup> Separately from the cases described above, during the last few years, we have observed 4 children with symptomatic CMV infections who had petechiae, liver dysfunction, intrauterine growth retardation, and other symptoms. Although 3 of them developed hearing loss and 2 had developmental delays, one of them has been free of sequela for 4 years, indicating that symptomatic infection does not always presage neurological sequela.

Follow-up studies of congenitally infected symptomatic cases demonstrated a high frequency of developmental and/or neurological abnormalities, including microcephaly, psychomotor retardation, seizures, and SNHL.<sup>7,19,20</sup> However, developmental delay was documented in less than 5% of asymptomatic cases.<sup>21-27</sup> Viral loads in blood have been reported to be associated with hearing loss, systemic CMV disease, and long-term outcome,<sup>24,25</sup> and DNAemia <1000 copies per 10<sup>5</sup> polymorphonuclear leukocytes has a negative predictive value of 95%.<sup>23</sup> Viral DNA loads in umbilical cord specimens of the developmental disability cases described in this study were not apparently higher than for asymptomatic cases we analyzed previously.<sup>13,15</sup> Previous studies indicated that infant outcome was related neither to trimester of maternal infection nor to duration of urinary excretion.<sup>21,20</sup> In children with symptomatic congenital CMV infection, microcephaly at birth was the most specific predictor of mental retardation and major motor disability,<sup>28</sup> but the predictor of developmental delay

in asymptomatic cases remains to be determined.

Involvement of congenital CMV infection in children with neurological abnormality has been identified by demonstration of CMV DNA in dried blood spots. For example, such analyses revealed congenital CMV infections in both of two cases with abnormal white matter lesions along with SNHL,<sup>12</sup> 4 of 10 cases with malformations of cortical development,<sup>31</sup> and a case with pachygyria<sup>32</sup>. We demonstrated that dried umbilical cords that are kept as family heirlooms in Japan have advantages for retrospective diagnosis of cases with SNHL.<sup>15</sup> Using this method, congenital CMV infection in a case with various central nervous system disorders was identified by others.<sup>33</sup> To our knowledge, our study is the first retrospective study that systematically evaluated the contribution of congenital CMV infection to developmental delay.

Our results suggest that the scope of contribution of neonatal CMV infections to the societal burden of developmental disabilities may have been seriously underappreciated. The Metropolitan Atlanta Developmental Disabilities Surveillance Program found that serious developmental disabilities affect approximately 2% of school-age children and are lifelong conditions that incur substantial financial and societal costs<sup>35</sup>. In addition, the National Health Interview Survey in the US estimated that prevalence of developmental disability was 0.76%.<sup>36</sup> In Japan, the Governmental Survey in 2006 described that there were at least 11,000 patients with severe physical disability due to neurological disorders. Although the exact proportion of developmental disability without known etiologies is not officially documented, Yeargin-Allsopp et al. reported that over 50% of mental retardation children among 10-year-old had no definite causes<sup>34</sup>, and from our clinical experience the proportion of cases with unknown etiology is estimated around 80% of all with developmental disability including mild cases. Since congenital CMV infection was detected in 5 out of 20 cases in this study, the frequency of cases with developmental disability due to congenital CMV infection could be much greater than previously suspected; a larger study will be certainly required to more accurately ascertain the frequency of these events.

In conclusion, this study demonstrated at first time that asymptomatic congenital CMV infection is a significant cause of developmental disability.

[References]

1. Peckham C, Tookey P, Logan S, Giaquinto C. Screening options for prevention of congenital cytomegalovirus infection. *J Med Screen* 2001; 8: 119-124.
2. Pass RF, Stagno S, Myers GJ, Alford CA. Outcome of symptomatic congenital cytomegalovirus infection: results of long-term longitudinal follow-up. *Pediatrics* 1980; 66: 758-762.
3. Fowler KB, Dahle AJ, Boppana SB, Pass RF. Newborn hearing screening: will children with hearing loss caused by congenital cytomegalovirus infection be missed? *J Pediatr* 1999; 135: 60-64.
4. Williamson WD, Demmler GJ, Percy AK, Catlin FI. Progressive hearing loss in infants with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Pediatrics* 1992; 90: 862-866.
5. Malm G, Engman ML. Congenital cytomegalovirus infections. *Semin Fetal Neonatal Med* 2007; 12: 154-159.
6. Jones CA. Congenital cytomegalovirus infection. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2003; 33: 70-93.
7. Bale JF Jr, Bray PF, Bell WE. Neuroradiographic abnormalities in congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Neurol*. 1985; 1: 42-47.
8. Katano H, Sato Y, Tsutsui Y, Sata T, Maeda A, Nozawa, N, et al. Pathogenesis of cytomegalovirus-associated labyrinthitis in a guinea pig model. *Microbes Infect* 2007; 9: 183-191.
9. Tsutsui, Y., Kosugi, I., Kawasaki, H., Neuro-pathogenesis in cytomegalovirus infection: indication of the mechanisms using mouse models. *Rev Med Virol* 2005; 15: 327-345.
10. Barbi M, Binda S, Primache V, Caroppo S, Dido P, Guidotti P, et al. Cytomegalovirus DNA detection in Guthrie cards: a powerful tool for diagnosing congenital infection. *J Clin Virol* 2000; 17: 159-165.
11. Barbi M, Binda S, Caroppo S, Calvario A, Germinario C, Bozzi A, et al. Multicity Italian study of congenital

- cytomegalovirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25: 156-159.
12. Haginoya K, Ohura T, Kon K, Yagi T, Sawaishi Y, Ishii KK, et al. Abnormal white matter lesions with sensorineural hearing loss caused by congenital cytomegalovirus infection: retrospective diagnosis by PCR using Guthrie cards. *Brain Dev* 2002; 24: 710-714.
  13. Inoue N, Koyano S. Evaluation of screening tests for congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: 182-184.
  14. Koyano S, Araki A, Hirano Y, Fujieda K, Suzutani T, Yagyu K, et al. Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection using dried umbilical cords. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 481-482.
  15. Ogawa H, Suzutani T, Baba Y, Koyano S, Nozawa N, Ishibashi K, et al. Etiology of severe sensorineural hearing loss in children: independent impact of congenital cytomegalovirus infection and GJB2 mutations. *J Infect Dis* 2007; 195: 782-788.
  16. Nakai K, Suzuki K, Oka T, Murata K, Sakamoto M, Okamura K, et al. The Tohoku Study of Child Development: A cohort study of effects of perinatal exposures to methylmercury and environmentally persistent organic pollutants on neurobehavioral development in Japanese children. *Tohoku J Exp Med* 2004; 202: 227-237.
  17. Yan H, Koyano S, Inami Y, Yamamoto Y, Suzutani T, Mizuguchi M, et al. Genetic variations in the gB, UL144 and UL149 genes of human cytomegalovirus strains collected from congenitally and postnatally infected Japanese children. *Arch Virol* 2008; 153: 667-674.
  18. Yan H, Koyano S, Inami Y, Yamamoto Y, Suzutani T, Mizuguchi M, et al. Genetic linkage among cytomegalovirus glycoprotein N (gN) and gO genes, with evidence for recombination from congenitally and postnatally infected Japanese infants. *J Gen Virol* 2008; 89: 2275-2279.
  19. Boppana SB, Fowler KB, Vaid Y, Hedlund G, Stagno S, Britt WJ, et al. Neuroradiographic findings in the newborn period and long-term outcome in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Pediatrics* 1997; 99: 409-414.
  20. Bradford RD, Cloud G, Lakeman AD, Boppana S, Kimberlin DW, Jacobs R, et al. Detection of cytomegalovirus (CMV) DNA by polymerase chain reaction is associated with hearing loss in newborns with symptomatic congenital CMV infection involving the central nervous system. *J Infect Dis* 2005; 191: 227-233.
  21. Yow MD, Williamson DW, Leeds LJ, Thompson P, Woodward RM, Walms BF, et al. Epidemiologic characteristics of cytomegalovirus infection in mothers and their infants. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 1189-1195.
  22. Numazaki K, Fujikawa T. Chronological changes of incidence and prognosis of children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection in Sapporo, Japan. *BMC Infect Dis* 2004; 4: 22.
  23. Lanari M, Lazzarotto T, Venturi V, Papa I, Gabrielli L, Guerra B, et al. Neonatal cytomegalovirus blood load and risk of sequelae in symptomatic and asymptomatic congenitally infected newborns. *Pediatrics* 2006; 117: e76-e83.
  24. Ivarsson SA, Lernmark B, Svanberg L. Ten-year clinical, developmental, and intellectual follow-up of children with congenital cytomegalovirus infection without neurologic symptoms at one year of age. *Pediatrics* 1997; 99: 800-803.
  25. Ahlfors K, Ivarsson SA, Harris S. Report on a long-term study of maternal and congenital cytomegalovirus infection in Sweden. Review of prospective studies available in the literature. *Scand J Infect Dis* 1999; 31: 443-457.
  26. Kumar ML, Nankervis GA, Jacobs IB, Ernhart CB, Glasson CE, McMillan PM, et al. Congenital and postnatally acquired cytomegalovirus infections: long-term follow-up. *J Pediatr* 1984; 104: 674-679.
  27. Williamson WD, Percy AK, Yow MD, Gerson P, Catlin FI, Koppelman ML, et al. Asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. Audiologic, neuroradiologic, and neurodevelopmental abnormalities during the first year. *Am J Dis Child* 1990; 144: 1365-1368.
  28. Boppana SB, Fowler KB, Pass RF, Rivera LB, Bradford RD, Lakeman FD, et al. Congenital cy-

tomegalovirus infection: association between virus burden in infancy and hearing loss. *J Pediatr* 2005; 146: 817-823.

29. Noyola DE, Demmler GJ, Nelson CT, Griesser C, Williamson WD, Atkins JT, et al. Early predictors of neurodevelopmental outcome in symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 2001; 138: 325-331.
30. Noyola DE, Demmler GJ, Williamson WD, Griesser C, Sellers S, Llorente A, et al. Cytomegalovirus urinary excretion and long term outcome in children with congenital cytomegalovirus infection. *Congenital CMV Longitudinal Study Group. Pediatr Infect Dis J* 2000; 19: 505-510.
31. Zucca C, Binda S, Borgatti R, Triulzi, Radice L, Butte C, et al. Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection and cortical maldevelopment. *Neurology* 2003; 61: 710-712.
32. Malm G, Grondahl EH, Lewensohn-Fuchs I. Congenital cytomegalovirus infection: a retrospective diagnosis in a child with pachygyria. *Pediatr Neurol* 2000; 22: 407-408.
33. Ikeda S, Tsuru A, Moriuchi M, Moriuchi H. Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection using umbilical cord. *Pediatr Neurol* 2006; 34: 415-416.
34. Yeargin-Allsopp N, Murphy CC, Cordero JF, Decouff P, Hollowell JG. Reported biomedical causes and associated medical conditions for mental retardation among 10-year-old children, metropolitan Atlanta, 1985 to 1987. *Dev Med Child Neurol* 1997; 142-149.
35. Boyle CA, Yeargin-Allsopp M, Doernberg NS, Holmgren P, Murphy CC, Schendel DE. Prevalence of selected developmental disabilities in children 3--10 years of age: the Metropolitan Atlanta Developmental Disabilities Surveillance Program. *MMWR* 1996; 45 (No. SS-2)
36. Larson SA, Lakin KC, Anderson L, Kwak Lee N, Anderson D. Prevalence of mental retardation and developmental disabilities: estimates from the 1994/1995 National Health Interview Survey Disability Supplements. *Am J Ment Retard* 2001; 106:231-252.

(本研究内容は *Clinical Infectious Diseases* に掲載予定である。)

### 13) 静脈グラフト内膜肥厚における MMP2 の役割

研究代表者 内田 恒

#### [研究背景と目的]

静脈グラフトの長期開存はグラフト内膜肥厚により規定され、急速な平滑筋細胞や細胞外蛋白成分の内腔への集積が血流を障害し閉塞原因となる。近年、細胞外マトリクスメタロプロテアーゼ (MMPs) が血管組織の re-modeling や内膜肥厚に大きな関与を来すことに注目が集まっており、中でも特に MMP2 が吻合後早期の平滑筋細胞の血管内腔への移動に深く関与することに我々は着目し、吻合部内膜肥厚形成における MMP2 の役割を解明することを目的とした。

#### [研究方法]

MMP2+ (wild type) と MMP2- (MMP2 ノックアウトマウス) マウスの左総頸動脈—内頸静脈間に端側吻合で動静脈シャントを作成し、3週間後に病変部を観察し、局所組織 pro-MMP2、activated-MMP2 活性をゼラチンザイモグラムで計測した。

#### [結果]

このモデルの内膜肥厚病変は主に静脈側に認められ、この病変部位は主に平滑筋細胞で構成され ( $\alpha$ -actin 免疫染色)、マクロファージ (Mac-3 免疫染色) はわずかしかないことを確認した。MMP2-/-、MMP2+/+ マウス各15匹に動静脈シャントを作成し全て生存し3週後には全例開存していた。局所組織の pro-MMP2、activated-MMP2 が上昇していることをゼラチンザイモグラムで確認した (Fig 1)。吻合部の上下で 5  $\mu$ m の厚さで100 $\mu$ m 毎に切片を作成し MMP2-/- マウスでは

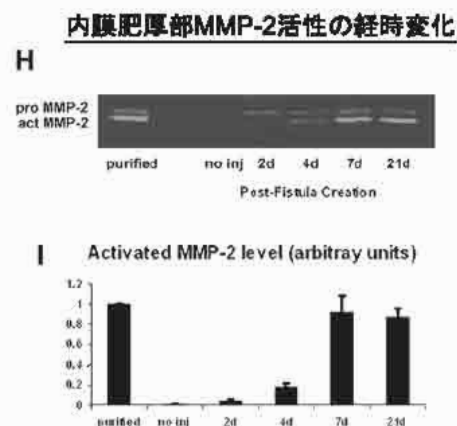


Fig. 1

MMP2<sup>+/+</sup> マウスと比較して明らかに吻合部内膜肥厚形成が少ないことを確認した (Fig 2)。このことから、吻合後早期の内膜病変形成に MMP2 が重要な関与をしていることが明らかになった。

シャント部内膜肥厚病変量と狭窄度  
MMP-2<sup>+</sup> vs MMP-2<sup>-/-</sup>

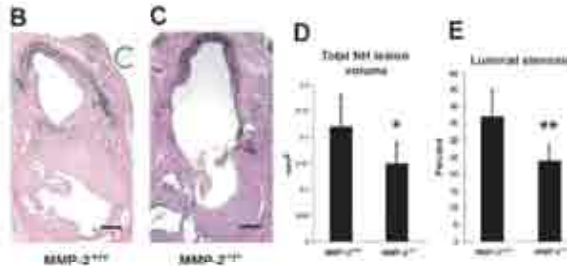


Fig. 2

**[まとめ]**

MMP2<sup>+/+</sup> と MMP2<sup>-/-</sup> マウスに動脈シャントを作成し、MMP2<sup>-/-</sup> マウスに有意に内膜肥厚病変が少なく、狭窄率も低いことを示し、MMP2 が実際臨床的に静脈吻合部病変形成に重要な関わりをすることを証明した。術後早期の平滑筋細胞遊走能抑制が強力な内膜肥厚予防となることが示唆され、MMP2 阻害剤、MMP2 作用発現に必要とされる β3 インテグリン阻害剤などの選択的薬剤投与により内膜肥厚制御が実現できる可能性がある。

**14) 関節軟骨表層部分損傷に対する細胞治療 (cell based tissue engineering) における基礎研究**

研究代表者 阿部 里見  
熊地 仁

**[背景]**

関節軟骨は自己修復能力に乏しい組織であり、ひとたび損傷すると変性が進行し変形性関節症をひき起こす。特に表層の部分損傷に対しては有効な治療手段が確立していない為、若年者の外傷後の変形性関節症は世界の関節外科医にとって最大の課題となっている。

近年、再生医療、tissue engineering の進歩により、関節軟骨細胞を培養し増殖させ骨軟骨欠損部に移植する技術が臨床応用され始めている。また、関節軟骨細胞を、間葉系幹細胞 (MSC) より分化させることも可能となり、これらの技術を用いて、関節軟骨損傷に対する治療への研究が試みられている。しかし、増殖

させる細胞数に限りがあること、二次的な手術が必要なこと、軟骨分化の制御が困難であること、完全な硝子軟骨での再生が期待できないことなどの問題がある。

本研究の最終的な目的は、関節軟骨表層の部分損傷に対する細胞治療 (cell based tissue engineering) を確立することである。

これまでの研究で我々は、関節軟骨細胞が in vitro において免疫学的に寛容であり、活性化したリンパ球の増殖をも抑制する特性を有することを発見してきた。このような免疫学的特性は、軟骨細胞の前駆細胞である MSC において、世界中の多施設によって確認、報告がなされており、我々は間葉系の細胞に共通して保持された特性ではないかと考えている。

この特性は、同種軟骨細胞移植への可能性を秘め、前述した細胞数や二次的手術の問題を解決することにつながる。また、細胞移植における炎症性細胞の遊走や炎症性サイトカインの産生の抑制に関与し、移植細胞の生着や移植細胞分化にプラスに働くと考えられる。

**[目的]**

今回の研究の目的は、関節軟骨細胞と MSC の免疫特性を直接比較することである。MSC は骨髄のみならず半月、関節滑膜、関節内脂肪組織などにも存在することが知られている為、様々な組織から採取した MSC 様細胞を比較した。

更に、関節軟骨細胞が、炎症性サイトカインである IL-2 の産生にどのような影響を与えているかを調べた。

**[方法]**

文書にて同意を得て、人工関節置換手術時に切除し破棄される関節内組織から①軟骨細胞、②髄内から MSC、③半月や④滑膜組織より MSC 様細胞を単離、培養した。(1)採取した細胞の表面抗原を Flow cytometry にて測定した。(2)それぞれの細胞 (1x10<sup>5</sup>、2x10<sup>4</sup>、4x10<sup>3</sup>) と同種他家末梢血単核球細胞(PBMC、5x10<sup>5</sup>)を共培養し、リンパ球増殖試験を行った。(3)それぞれの細胞と CD3/CD28 で活性化した CD4+ T 細胞を(2)と同様の比で共培養し、活性化 CD4+T 細胞の増殖抑制試験を行った。(4)PBMC を用いたリンパ球増殖アッセイ (MLR) を、軟骨細胞の有無条件下で行い、培養上清中の IL-2 を ELISA にて測定した。

(5)同時に PBMC 上の CD25 (IL-2 レセプター) の発現を Flow cytometry で測定した。

**[結果]**

(1)関節軟骨細胞および異なる組織から採取した全ての細胞群は、CD34(-)、CD45(-)、CD80(-)、CD86(-)、CD73(+)、CD90(+)、CD105(+)、CD166(+)、CD44(+ )であり、報告されている MSC の表面抗原と同等の発現パターンを示した。

(2)Stimulation Index (S.I.)>10を同種免疫反応陽性と定義すると、同一個体の異なる組織から採取した全ての細胞において、統計学的な有意差なく、S.I.<10以下であり、同種他家免疫反応を惹起しないことを示した。(Figure 1)

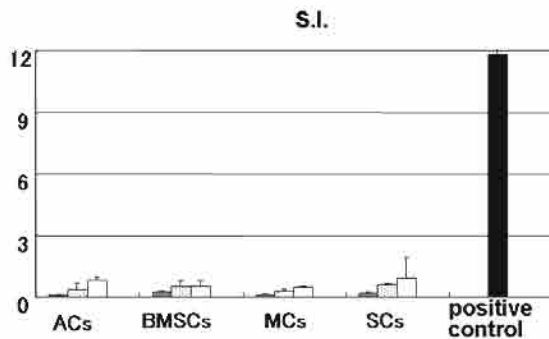


Figure 1 他家  $5 \times 10^5$  PBMCs を各 stimulator cells  $1 \times 10^5$  (gray bar)、 $2 \times 10^4$  (dots bar)、 $4 \times 10^3$  (white bar) と共培養した結果を S.I. で示したものの。ACs：関節軟骨細胞、BMSCs：bone marrow stromal cells、MCs：半月細胞、SCs：滑膜細胞。

(3)同一個体の異なる組織から採取した全ての細胞 ( $1 \times 10^5$ ) において、共培養した活性化 CD4+T細胞 ( $5 \times 10^5$ ) はその増殖が抑制された。個体間において各々の細胞の抑制効果にばらつきがみられた為、骨髄由来間葉系幹細胞が最も抑制効果があるとはいきれなかった。

(4)いずれの比でも、軟骨細胞有無で、IL-2 産生に差はなかった。

(5)軟骨細胞有で MLR 試験を施行した場合、軟骨細胞の比率が多いほど PBMC 上の CD25 (IL-2 レセプター) の発現は抑制されていた。(Figure 2)

CD3/CD25 positive rate

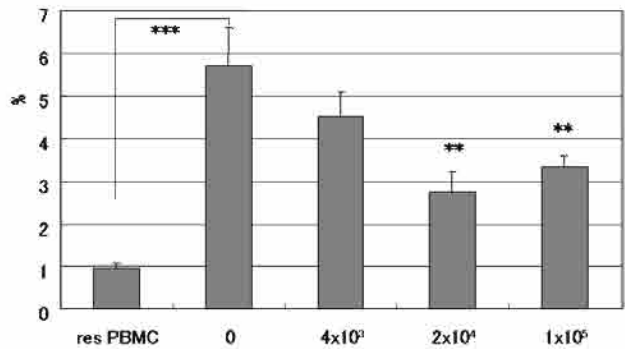


Figure 2 PBMC を用いた MLR を  $4 \times 10^3$ 、 $2 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^5$  軟骨細胞有の条件下で行ったときの PBMC 上の CD3 と C25 の発現を Flow cytometry で測定し、比率で示したものの。

**[考察]**

関節軟骨、滑膜、関節内脂肪、半月の組織内には、MSC と同様の表面抗原を維持し、MSC と同様の免疫学的特性を持つ細胞が存在することを示した。今後の再生医療への応用が期待される。また、関節軟骨細胞が単核球上の IL-2 レセプターの発現を抑制することが認められ、免疫寛容のメカニズムや細胞移植時の炎症反応の解明の糸口になると考えられる。

**15) 皮膚脂腺細胞におけるポドプラニン (PDPN) 分子の役割**

研究代表者 本間 大

**[研究の目的]**

現在の細胞生物学研究において、あらゆる組織における幹細胞研究は非常に注目されている。皮膚の幹細胞研究では、特に表皮において、Green らによる表皮角化細胞の培養法確立を先駆けとして、一義的には広範囲の皮膚欠損状態、広範囲熱傷に対する培養表皮移植として実際に臨床応用が進んでいる。さらには先天性表皮水疱症などの遺伝性皮膚疾患に対する遺伝子治療の対象としても研究が進んでいる。一方、皮膚の構成要素のひとつである皮膚付属器、すなわち、脂腺や汗腺においては今のところ、分化度を有したままの幹細胞の簡便な一次培養法は確立されておらず、幹細胞研究の大きな障壁となっているのが現状である。

ヒト脂腺においては、これまでに、Zouboulis ChC らが不死化脂腺細胞ラインを確立し研究を進めている

が、使用は限定されており、新しいラインの確立が望まれていた。このたび、われわれは米国 University of Massachusetts Medical School, Lyle S. 博士から新規不死化脂腺細胞 SebE6E7 の譲渡をうけ、この細胞のもつ性質、PDPN 分子の発現パターンおよび発現調節について検討した。

#### [研究結果]

##### (1) 正常皮膚組織における PDPN 分子の発現分布について

正常頭皮組織において免疫組織蛍光染色を行ったところ、真皮リンパ管に陽性所見がみられるが、表皮では、あきらかな発現は見られない。一方、脂腺から毛包の最外層（脂腺基底細胞および外毛根鞘）に陽性パターンを示した。

##### (2) SebE6E7 細胞の脂腺細胞としての分化の検討および不死化表皮角化細胞である HaCaT 細胞との比較検討。

次に、脂腺の研究において SebE6E7 細胞が適切か否かを検討するために、SebE6E7 細胞における各種表皮マーカー、脂腺マーカーの発現についてウェスタンブロットを用いて検討した。対照として不死化表皮角化細胞である HaCaT 細胞を使用した。表皮への分化マーカーであるインボルクリンの発現は HaCaT に、PDPN 分子は SebE6E7 細胞により強い発現を認めた。蛍光細胞染色においても同様の発現パターンを呈した。また、脂質染色の一つである Nile Red 染色では、SebE6E7 細胞のうち大型の細胞で脂質分布が多いことが確認された。

##### (3) SebE6E7 細胞における PDPN 分子の発現調節機構の検討。

SebE6E7 細胞における PDPN 分子の発現調節について検討したところ、PDPN は細胞密度上昇、TGFβ 刺激により発現上昇したが、Rho-kinase 阻害剤である Y27632 の投与で発現低下がみられた。IFNγ は表皮角化細胞の分化に関与することが知られているが、SebE6E7 細胞における PDPN 発現調節への関与は明らかでなかった。

#### [まとめ]

PDPN 分子はノックアウトマウスの解析などからリンパ管形成に関与することが明らかとなってきている。

しかしながら、このマウスは生後すぐに死亡してしまうことから、他の機能についてはあまり明らかとなっていないのが現状である。皮膚においても、PDPN はリンパ管のマーカーとして利用されてきたが、最近、いくつかのグループが脈管以外に脂腺や表皮基底層の一部に発現がみられることを報告している。今回の我々の検討でも、PDPN は正常脂腺や外毛根鞘に発現することが明らかとなり、皮膚付属器の恒常性維持に関与する可能性が示唆された。また、我々はヒト脂腺由来不死化脂腺細胞である SebE6E7 細胞を用いて PDPN 分子の発現調節に関する検討をおこない、サイトカインや種々のシグナルにより発現調節が行われる可能性が明らかとなった。ヒト脂腺における PDPN 分子の機能については不明な点が多く、今後、アデノウイルスベクターなどを用いた遺伝子導入を行い、PDPN 分子の脂腺細胞での機能解析を進める必要があると考えている。

##### 16) 中脳排尿抑制部位からの遠心性投射について

研究代表者 沼田 篤

#### [背景と目的]

Barrington (1921) らはネコで中脳を含めて除脳しても基本的な排尿反射は障害されないのに対し、橋を含めて除脳するか橋吻側部で上小脳脚の腹内側核を両側性に破壊すると尿閉を生じることを見いだした。さらに、橋の一部には電気刺激にて排尿を誘発する部位が明らかになり、この部位は橋排尿中枢とよばれ、青斑核アルファに相当すると言われている。また青斑核アルファに隣接する青斑下核の電気刺激にて膀胱収縮は抑制され橋蓄尿中枢といわれている。しかし、近年、ネコや、ラットにおいて中脳の中心灰白質 (Periaqueductal grey; PAG) に興奮性アミノ酸を微量注入する化学的刺激や微小電気刺激によって、膀胱の収縮を誘発することが確認されており<sup>1)</sup>、中脳における排尿の調節機構の解明が進められている。われわれは中脳吻側の中心灰白質の外縁に電気刺激にて膀胱収縮を抑制する部位が存在することを報告した<sup>2)</sup>。また、最近の PET を用いたヒトでの検討においても蓄尿期に PAG で脳血流増加が認められている<sup>3)</sup>。

今回われわれは、N-methyl-D-aspartate (NMDA) による化学的刺激で中脳の抑制部位を求めたのちに、順行性のニューロトレーサーである Biocytin を用いて中

脳排尿抑制部位からの意心性投射について検討した。

【研究成果】

10匹の除脳した成ネコを使用した。除脳後、自律性膀胱収縮を確認してから中脳背側より電極を刺入し、微小電気刺激にて膀胱収縮を抑制する部位を探索した。7匹では電気刺激 (Electrical stimulation; ES) のみで中脳排尿抑制部位を同定し、Biocytin を注入した (ES 群)。他の3匹では電気刺激に続いてNMDAを用いた化学的刺激 (Chemical stimulation; CS) により中脳排尿抑制部位を同定し、Biocytin 注入した (ES+CS 群)。CS で抑制反応を認めた3匹のうち、1匹は膀胱収縮が完全に抑制され消失したが、残り2匹は膀胱収縮圧が低下するのみであった (Fig.1)。Biocytin 注入6~10時間後に経心的に灌流固定後に脳幹を取り出し、凍結切片を作成して streptavidin conjugated Alexa Fluor®488 で Biocytin を標識し、蛍光顕微鏡で観察した。



Fig.1 PAG の電気刺激により自律性膀胱収縮を抑制した部位にNMDAを微量注入すると膀胱収縮は完全に抑制された。

Biocytin 注入部位は、5匹ではPAG背外側、他の5匹はPAGの腹外側に認められた。ES群のうちの2匹は橋排尿促進部位 (PMC) が標識されていたが、ES+CS群ではいずれもPMCは標識されなかった (Fig.2)。

すべてのネコにおいて赤核と小脳は標識されたが (Fig.3)、中脳排尿促進部位、橋排尿抑制部位、黒質は標識されなかった。

CSは神経細胞のみ刺激する一方、ESは神経細胞と神経線維の両者を刺激する。ES+CS群ではPMCは標識されなかったため、中脳排尿抑制部位は直接にはPMCを抑制していないことが示唆された。また、中脳排尿促進部位、橋排尿抑制部位、黒質を介した膀胱収縮抑制反応ではないことが示唆された。以上より、

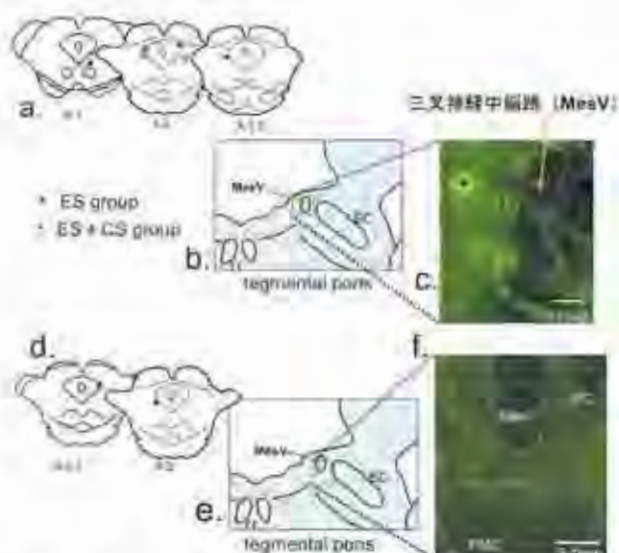


Fig.2 a,d. PAGのbiocytin注入部位。c. biocytinをa.に注入したとき、中脳被蓋の三叉神経中脳路の内側にbiocytinを認めた。f. biocytinをd.に注入したとき、中脳被蓋の三叉神経中脳路の腹側にbiocytinを認めた。同部位は橋排尿中枢に一致する。BC: 上小脳脚、PMC: 橋排尿中枢

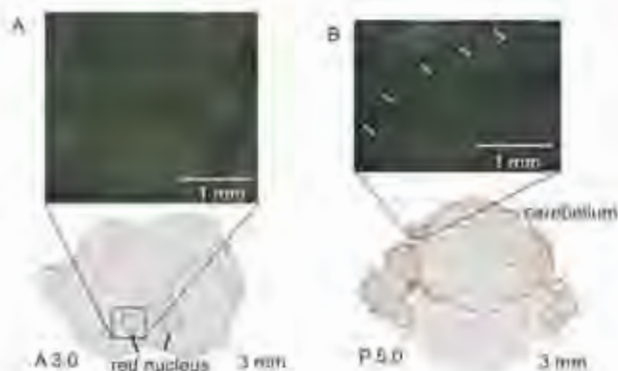


Fig.3 すべての検体において赤核と小脳にbiocytinの集積を認めた。

中脳排尿抑制部位による膀胱収縮の抑制は、赤核と小脳を介する反応であることが示唆された。

【文献】

1) Taniguchi N, Miyata M, Yachiku S, Kameko S, Yamaguchi S, Numata A. A study of micturition inducing sites in the periaqueductal grey of the mesencephalon. J Urol 168: 1626-1631, 2002.  
2) Numata A, Iwata T, Iuchi H, Taniguchi N, Kita M,



Wada N, Kato Y, Kakizaki H. Micturition-suppressing region in the periaqueductal grey of the mesencephalon. *Am J Regul Integr Comp Physiol* 294: R1996-R2000, 2008.

3) Matsuura S, Kakizaki H, Mitsui T, Shiga T, Tamaki N, Koyanagi T. Human brain region response to distention or cold stimulation of the bladder: a positron emission tomography study. *J Urol* 168: 2035-2039, 2002.

## 17) 旭川医科大学ぶどう膜炎外来におけるぶどう膜炎の原因疾患の内訳

研究代表者 木ノ内玲子

### [研究目的]

旭川医科大学付属病院は日本最北の医科大学付属病院であり、内因性ぶどう膜炎の原因疾患の内訳も他の地域と違いを示す可能性が高い。これを明らかにし、地域による偏りの理由を考察するとともに、ぶどう膜炎の原因検索の効率化に応用する。また、原因不明のぶどう膜炎の治療に参考にできるか検討する。

### [研究成果の概要]

#### [研究方法]

2001年4月から2008年5月に当科を初診し、その後ぶどう膜炎外来に受診した内因性ぶどう膜炎患者117例を対象とした。患者カルテからレトロスペクティブに検討を行った。サルコイドーシスの診断は、厚生省特定疾患の診断基準に基づき行い、組織診断群と臨床診断群の内訳も検討した。

### [結果]

#### 1. 受診者数・年齢・性別

対象患者は男性43例、女性74例で、男女比は1:1.7で女性が多かった。初診時年齢は全体で5歳から83歳で平均年齢は52±17.4歳(平均値±標準偏差)、男性では10歳から83歳で平均年齢51.3±16.4歳、女性では5歳から79歳で平均年齢52.8±18.1歳であった。年齢別分布は60歳代を大きなピーク、20歳代を小さなピークとした二峰性の分布を示した。

#### 2. ぶどう膜炎の形態

両眼性が93例(80%)、片眼性24例(20%)であった。炎症部位は前眼部25例(21%)、中間部3例(3%)、後眼部25例(21%)、汎ぶどう膜炎73例(62%)

であった。

#### 3. 病型分類

各病型の頻度では、サルコイドーシスが37例(31%)と最も多く、フォクト・小柳・原田病(以下原田病)が8例(7%)、ベーチェット病が5例(4%)で、3大内因性ぶどう膜炎で40%以上を占めていた。その他としてヘルペス性角膜虹彩炎4例(3%)、急性網膜壊死3例(3%)、潰瘍性大腸炎とHLA-B27関連急性前部ぶどう膜炎2例(2%)と続き、ライター症候群、虹彩異色性虹彩毛様体炎、MEWDS、HLA-B27関連急性前部ぶどう膜炎、Leber星芒状視神経網膜炎、強膜ぶどう膜炎、悪性リンパ腫、角膜内皮炎・虹彩炎、水晶体過敏性ぶどう膜炎、間質性腎炎が各1例で1%であった。原因不明は46例(39%)をしめていた。

#### 4. サルコイドーシス

サルコイドーシスの診断のついたぶどう膜炎症例は37例で、男性9例、女性28例で女性が男性の3倍であった。年齢は全体で23歳から71歳で平均年齢は51.6±15.6歳、男性では23歳から63歳で平均年齢39.4±15.3歳、女性では25歳から71歳で平均年齢55.5±13.7歳であった。男性は20歳代で4例と最も多く、女性では60歳代12例が多かった。

サルコイドーシスによるぶどう膜炎は両眼性が36例(97%)、片眼性1例(3%)であり、ほとんどが両眼性であった。炎症部位は前眼部3例(8%)、中間部0例(0%)、後眼部2例(5%)、汎ぶどう膜炎32例(87%)であった。両眼性汎ぶどう膜炎全体でサルコイドーシスの占める割合は32/66(48%)で女性の両眼性汎ぶどう膜炎のうちサルコイドーシスが占める割合は25/44(56%)であった。

サルコイドーシスの診断は組織診断群22例、臨床診断群が15例であった。組織診断は皮膚からが9例で最も多く、次いで肺8例、縦隔リンパ節3例、腋下リンパ節と筋が各1例であった。

### [考察]

受診時平均年齢は九州大学からの内因性ぶどう膜炎の報告(日眼会誌108:694-9, 2004)と比較すると本研究のほうが10歳高齢である。年齢分布は九州大学の報告でも二峰性を示しているが、高齢側のピークは50歳台となっており、本研究の高齢側のピーク60歳代

より若い。

病型分類では同報告ではサルコイドーシス8.6%、ベーチェット病8.6%、原田病6.5%であり、2003年1年間の41大学のぶどう膜炎症例の内訳 (JJO 51: 41-4, 2007) ではサルコイドーシスは13.3%、原田病6.7%、ベーチェット病6.2%、で原田病の占める割合は当院と大差なく、ベーチェット病は当院でやや少なく、サルコイドーシスは当院では31%を占めており著しく多くなっている。その他の頻度の少ないぶどう膜炎の全体に占める割合は当院とこれらの報告と大きな違いはなく、分類不能の占める割合が九州大学の報告より19%少なくなっている。当院ではサルコイドーシスの占める割合が多く、それにより分類不能の割合が少なくなっていると考えられる。

サルコイドーシス患者症例は男性が若年に多く、女性は中高年に多いとされており今回の結果でも同様の結果が見られ、サルコイドーシスぶどう膜炎の性別による年齢分布は他施設と同様の特徴を示した。

今回の結果より、当院ぶどう膜炎外来受診の内因性ぶどう膜炎患者の原因疾患として他施設に比べサルコイドーシスの割合が突出して多いことが明らかとなった。これより、ぶどう膜炎の原因検索を本院で行う場合、特徴的所見より原因が明らかな症例以外は、まず、サルコイドーシスの可能性を考慮し検査を行い、他の疾患の鑑別を行うことにより、効率的に検査が進められると考えられる。本研究で皮膚からの生検により診断がついた症例が多いことより、呼吸器のチェックに加え、皮疹の有無の確認とその生検は非常に有用といえる。

本研究で全体の両眼性汎ぶどう膜炎のうち48%を、女性の両眼性汎ぶどう膜炎のうち56%をサルコイドーシスが占めていた。原因不明の両眼性汎ぶどう膜炎、特に女性の両眼性汎ぶどう膜炎でぶどう膜炎の所見がサルコイドーシスによるものに矛盾しない症例においては、サルコイドーシスぶどう膜炎の治療方針に準じて治療を行い、また随時、呼吸器や皮疹の有無の確認を繰り返すことにより診断につながる可能性があると考えられる。

本院ぶどう膜炎外来でサルコイドーシスの割合が、他の報告に比較して多かった理由は不明であるが、地域の特長とも考えられ、今後研究を進めていく予定である。

## 18) 精神保健看護学実習での「対象の理解」についての学び

—A大学看護学科4年生の実習終了後のレポートから—

研究代表者 沖野 公子  
石川 千恵  
内山 寛美

### 【研究成果の概要】

#### 1) 研究背景と目的

精神保健看護学実習（以下、実習）における学生の学びに関する研究はこれまでもいくつか行われている。コミュニケーションに焦点を当て分析したもの<sup>1)</sup>や、学生の記録物からの学びを内容分析したもの<sup>2)</sup>等がある。しかし、学生が対象をどのように理解したかについての研究は少ない。今回は学生が実習で対象をどのように理解し何を学んだと感じているのかを明らかにする事を目的に研究を行った。

#### 2) 研究方法

A大学看護学科の4年生で平成19年5月～9月に実習を終了した60名の学生に、研究の趣旨説明と協力を依頼した。対象となる「2週間の実習での学び」のレポートは、実習課題のため記名式であるが、協力しなくても成績には関与しないことや個人が特定されないようにプライバシーの配慮を充分に行うこと、研究目的以外には使用しないこと等を説明し、承諾を得た（印刷の読みとれた59名のレポートを対象とした）。質的帰納法的研究であり、自由記載のレポート内容を詳細に判読し、「対象の理解」として読み取れる文脈を抽出してデータとし、データの意味する事をコードとして捉えた。類似するコードをサブカテゴリー化し、さらに、意味の類似するサブカテゴリーをカテゴリーとしてまとめ名称をつけた。分析過程において、精神看護学領域での質的研究に習熟した研究者に指導を受け、精神科の臨床経験が7年以上で学生指導に関わっている研究者3名で検討した。

#### 3) 研究結果

抽出された107データは、28のサブカテゴリーに分類された。サブカテゴリーから最終的に【理解のための観察の重要性】、【個別性・多様性の理解】、【多角的な視点からの理解】、【実際に接して理解することの大切さ】、【相互関係での理解の深まり】、【人として見る大切さ】、【家族の重要性】、【対象を取り巻く社会の理解】の8カテゴリーに集約された（表1）。カ

テゴリーを【 】, サブカテゴリーを〈 〉、コードを「 」で引用した。

4) 考察

観察の重要性については、先行研究でも述べられているが、則包らは実習後のレポートの内容分析から、学生が対象理解をどのように行っているかを「知識的理解・感性的理解・体験的理解」の三つの枠組みを用いて分析しており、観察の重要性は「知識的理解」に含めている<sup>3)</sup>。本研究では、実際にデータなどの客観的情報からはつかみにくい「心を病んだ人」を理解するためには、表情や言動や生活状況などから注意深く観察することが重要であるとの学生の気づきを大切に、【理解のための観察の重要性】というカテゴリーとした。

【個別性・多様性の理解】では、症状の多様性を、患者と関わる事で学んでいた。そこで、学生は、〈個別性の大切さ〉に気づき、【判断基準がないからこそその人の価値観や考え方、発達段階や生活背景までも含めた個人の特性を見極めることの大切さ】を学ぶことが可能となったと考えられる。

そこで、患者と接して【個別性・多様性の理解】が出来たからこそ、その個別性や多様性に対応できる【多角的な視点からの理解】が求められることを学んだと考えられる。遠藤も、このように全体的相対的な視点

を持ちながら、患者像が豊かになればなるほど、学生は「カルテ情報でイメージした患者さん」や「問題探しをする自分の目的のために存在している患者さん」という枠から脱して、健康な部分も、そうでない部分も持った、そうでしかありようのない目の前の患者を理解するようになる<sup>4)</sup>と述べているが、本研究でもそれが明らかとなった。

上記の学びを元に、【実際に接して理解することの大切さ】として、14のサブカテゴリーにあるように様々な学びの広がりへと発展している。患者の病気の部分だけではなく健康な部分である〈患者の持つ力の発見〉が可能となり、〈患者の生活のしづらさ〉や〈日常生活への支障〉にまで考えが至るようになっていく。また、〈患者の言動の意味〉を患者の側から考えようとしている。これも、遠藤<sup>4)</sup>の見解と一致する。さらに、患者の側から考えた結果〈幻聴の背景にあるもの〉や〈症状隠蔽の現状〉や〈言語化することの難しさ〉などにも思いが及んだと考えられる。ここで、特筆すべきは〈患者の体験している感情〉を学んだ学生が多いことである。川野も、実習で学生は病気をもつ患者の苦しみは、自分の想像をはるかに越えるものであることに気づき、安易に「患者のことがわかった」などと言えるものではないことが理解でき、病気の体験で苦しんでいる患者心理の奥深さに気づく体験の1つにな

表1 対象の理解

n=107

カテゴリー	サブカテゴリー	コード例	カテゴリー	サブカテゴリー	コード例
理解のための観察の重要性 (20)	注意深い観察が重要 (19)	不安を察出できず抱え込んでしまっている患者もいるので、不安を抱え込んでいないか見極める観察力が必要である 表情や言動をよく観察することが重要で、その患者をよく知らないとは変化がわからない 患者の心の中は見えないが、表情・しぐさ・生活状況そのものから患者の思いを感じ取る「観察」ことが大切である	実際に接して理解することの大切さ (44)	患者の持つ力の発見 (3)	気遣いの出来る患者を知った 意外で楽しそうに行事に参加する患者を見てこんなこともできるんだと感じた
	客観的で冷静な把握 (1)	症状がデータでわかるものではないからこそ、客観的かつ冷静に患者の状態を把握する責任がある		患者の生活のしづらさ (4)	人との距離をうまく保てず、繊細で傷つきやすい コミュニケーションの困りにくさが、そのまま生活のしづらさとなっていると学んだ
個別性・多様性の理解 (23)	症状の多様性 (4)	同じ統合失調症でも人により症状は異なっている		日常生活への支障 (4)	精神症状が日常生活にどう影響しているかを見る事が大切である
	個別性の大切さ (1)	個別性の大切さについて考えた		患者の言動の意味 (8)	「つらい」「だるい」という身体的な訴えが何を意味しているか考えなくてはならないと気づいた 患者の歯舌の意味が理解できるようになった
多角的な視点からの理解 (10)	個人の特性を見極めること (18)	基準がないからこそ、患者個人の特性が大切になってくる 個々の患者によって異なるため、それぞれの患者の傾向や状態を把握することが欠かせない		患者の変化 (2)	患者と接することで日々の変化がわかった
	多角的な視点での捉え (10)	一つの情報だけを見るのではなく、多角的な視点で捉え、総合的に患者の状態を考える必要がある		患者の体験している感情 (13)	精神疾患や症状のために、コミュニケーションが困難なのはどんなに不便で辛いものだろう 幻聴や妄想自体ではなくそれによる辛さを働く事が大事である 強迫行為をやめられない辛さを間接的に感じて
相互関係での理解の深まり (2)	変化していく患者と自分 (2)	家族と関わることで、二週目と一週目では患者の笑顔に違いを感じた		幻聴の背景にあるもの (1)	幻聴には、患者自身が出来ないという思いが反映されているのではないのか
人として見ることの大切さ (4)	一人の人として見る (1)	病気が原因だけを見るのではなく、一人の人間として見ることの大切さを実感した		症状隠蔽の現状 (1)	退院したいために症状を言わない患者がいることを知った
	一人の生活者として見る (1)	患者を一人の生活者として捉え、生活についての話を聞いていく事が大切である		安心とストレス (1)	患者は入院することで安心とストレスがある
	疾患を抱えた人として見る (1)	精神疾患にばかり目を向けるのではなく、精神疾患を抱えた人間である事を忘れないようにしたい		言語化することの難しさ (1)	患者は自分の辛さや恐怖を言葉として表現することが難しい
	その人自身を見る (1)	症状だけでなくその人自身を観ていく姿勢が求められる		人生の経緯 (1)	様々な人間模様を見る事ができた
家族の重要性 (3)	患者の家族の重要性 (3)	患者の一番の支えは家族である 家族と患者の両方に対して敬意を持って関わる事が大切である		疾患理解の深まり (2)	接することで統合失調症という疾患についての理解を深めた
対象を取り巻く社会の理解 (1)	社会の受け入れ困難の理解 (1)	家族や地域の方の受け入れがどれだけ困難なのかを少し理解できた		接しなれないとわからない (2)	実際に患者の様子を見て自分が感じたことをアセスメントして柔軟に考える事が大切である
				患者イメージの変化 (1)	メディアからのマイナスイメージを持っていたが、接することで観て繊細で感性的な人に変化した

る<sup>5)</sup>と述べているが、本研究でもその体験がなされていることが明らかとなった。

患者は変化する。それは、相互関係によるものであり、【相互作用での理解の深まり】とした。患者の変化を喜びと出来た学生は、観察者としてではなく看護師としての本当の基本を学んでいると考える。このような学生は、教員が特別に助言をしなくても、次に何をしたらいいのかを患者から学んでいくことができるのである。

さらに本研究では、『病気や問題だけを見るのではなく、1人の人間として見ることの大切さを実感した』り『精神疾患を抱えた人間であることを忘れないようにしたい』と【人として見ることの大切さ】の学びができていたことの意味は大きい。そこから、【家族の重要性】や【対象を取り巻く社会の理解】へと繋がり、患者は1人ではなく家族や社会の中で生きている事を関わりの中から気づけたことは、対象を理解するうえで貴重な学びであると考ええる。

#### 5) 本研究の限界と今後の課題

本研究は、学生の自由記載のレポートから抽出したものであり、「対象の理解」についても、学生が特に印象に残った内容を中心に述べていると考えられるため、今回抽出された「対象の理解」の学びが全てとして判断することには限界がある。今後は、信頼性や妥当性の検討を視野に入れた研究を行うとともに、「対象の理解」だけでなく学生が実習で対象と関わる事で何を学んでいるのかを明らかにしていきたい。

#### [引用文献]

- 1) 村方多鶴子・太田知子：精神看護学実習におけるコミュニケーション技術を通しての学び—実習終了後のレポートから—, 南九州看護研究誌, 5(1), 75-81, 2007
- 2) 折山早苗：精神看護学実習における学生の「学び」の内容分析と看護過程の有効性, 日本看護研究学会雑誌, 30(1), 137-144, 2007
- 3) 則包和也・白石裕子：精神看護学臨地実習における学生の対象理解の特徴 レポートの内容分析から, 日本精神科看護学会誌, 45(2), 232-236, 2002
- 4) 遠藤淑美：精神疾患患者への看護とはどのようなものか 患者をとらえ直すことから始めよう, 看護教育, 49(7), 584-587, 2008

5) 川野雅資：精神看護臨地実習, 第1版、医学書院, 40-43, 2007

#### 19) アミロイドベータペプチドの修飾とその性質解明 研究代表者 央戸 直美

##### [背景と目的]

アルツハイマー病 (AD) などの神経変性疾患の高齢者が急増し、社会問題になっている。これら神経変性疾患には、老人斑の蓄積や神経原繊維変化が認められる。老人斑や神経原繊維変化には酸化ストレス発生の痕跡が強く認められる。申請者らは遷移金属の触媒する脂質過酸化反応と活性酸素種 (ROS) 生成反応をモデルとし、アミロイドベータペプチド (A $\beta$ 、図1) 自体は反応を抑制する、すなわち抗酸化作用を示すことを明らかにした<sup>[1,2]</sup>。しかし抗酸化剤は遷移金属の存在で逆に酸化的に働くことがある。A $\beta$ も抗酸化作用の発現によりそれ自身が酸化修飾される。この修飾されたA $\beta$ の性質を明らかにするため、各種の酸化的条件を用いて、A $\beta$ の修飾箇所の解明ならびに修飾されたA $\beta$ の毒性評価を試みた。

##### [方法]

- ①A $\beta$ の特異的修飾：A $\beta$ の毒性発現のモデルとして、扱い易いA $\beta$  25-35が使用されている。これはA $\beta$  1-42の疎水性部分である。一方、A $\beta$ の親水性部分について、遷移金属に対しては抗酸化的に働く事を確認している。これらA $\beta$ の部分ペプチドを処理した反応生成物について、主に起こるであろう付加反応を、分子量の増加として質量分析 (MALDI-TOF-Mass) で確認した。この反応条件を基にA $\beta$  1-42を同様に処理し、修飾を質量分析で確認した。
- ②A $\beta$ の毒性測定：A $\beta$ の毒性発現は、単量体のA $\beta$ がoligomerを経て不溶性の沈着物となることで説明される。現在ではdimerやより大きなoligomerが細胞内小器官に変性を与えるモデルが報告されている。Aggregationの進行は、それらに取り込まれたチオフラビンTの蛍光強度増大で観測される。NativeなA $\beta$  1-DAEFRHDSGY<sup>16</sup>EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM<sup>35</sup>VGGVVIA<sup>42</sup>

図1 A $\beta$ 1-42のアミノ酸配列。N端側が親水性でC端側が疎水性である。

42をコントロールとして、(a) 親水性領域を修飾した Aβ 1-42、(b) 疎水性領域を修飾した Aβ 1-42、の aggregation を、チオフラビン T の取り込み測定から比較した。

[結果]

本研究では Aβ の修飾箇所の解明ならびに修飾された Aβ の毒性評価を試みた。結果を表 1 にまとめて示す。

- ① Aβ の特異的修飾：Aβ 1-42、Aβ の疎水性部分ペプチド (Aβ 25-35) ならびに Aβ の親水性部分ペプチド (Aβ 1-12、Aβ 1-16、Aβ 1-28) をそれぞれ各種条件で処理した反応生成物について、修飾の有無を質量分析 (MALDI-TOF-Mass) で確認した。結果、親水性部分の修飾はフェリルミオグロビン (フェリル Mb) によって起こり Tyr10 を介した dimer や trimer を生成すること、一方疎水性部分の修飾はほぼ等モルの次亜塩素酸で起こり特異的な (Met35 の) 酸化となることを見出した。また修飾部位が不明であるが、第 2 相薬物代謝酵素を誘導することから着目した食品成分のスルフォラファンも Aβ を修飾する事を確認した。
- ② Aβ の毒性測定：Aβ の毒性発現は、単量体の Aβ が oligomer を経て不溶性の沈着物となることで説明される。Aβ の凝集の進行は、それらに取り込まれたチオフラビン T の蛍光強度増大で観測される。結果、fer-rylMb 処理では Aβ 25-35 では凝集阻害したが Aβ 1-42 には無効、次亜塩素酸処理では Aβ 25-35 を等モルで、Aβ 25-35 も約 2 倍量で凝集阻害した。スルフォラファン処理は凝集を阻害しないか寧ろ促進した。

表 1 Aβ の修飾とその性質

酸化剤	フェリル Mb	次亜塩素酸	スルフォラファン
修飾部位	親水性部位 <sup>1</sup>	疎水性部位 (Met35)	不明 (一級アミノ基と推定)
構造解析 (MALDI-MS)	Tyr 含むペプチドで dimer/trimer <sup>2</sup>	Met 含むペプチドで [分子量+16]ピーク	Aβ 1-42は断片化他は付加
凝集性の測定 (チオフラビンT法)	Aβ 25-35で阻害 <sup>3</sup> Aβ 1-42で微増	阻害 <sup>2</sup>	Aβ 25-35、Aβ 1-42で影響なしか微増

<sup>1</sup> Aβ 25-35 単独では疎水性部位も修飾した。  
<sup>2</sup> di-Tyr の蛍光生成も確認した。  
<sup>3</sup> 光散乱 (Ex. 300 nm, Em. 608 nm) も低下することを確認した。

[考察]

ミオグロビンは過酸化水素存在下でフェリル Mb となりペルオキシダーゼ活性を示すことが知られている。近年脳神経系にニューログロビンというヘモグロビンやミオグロビンと進化的に同種のヘムを持った酸素運搬体が存在することが報告された。また、AD でミクログリアが活性化されミエロペルオキシダーゼ活性が検出されること、またミクログリアと老人斑は局在がオーバーラップしているとの報告がある。繊維化した Aβ によるミクログリアの誘導と異常活性化が疑われ、AD 脳では炎症性の酸化剤 (フェリルニューログロビン、ミエロペルオキシダーゼ系で生成する次亜ハロゲン酸) の生成亢進が予想されるが、後者と Aβ との反応生成物は凝集性が低いことから老人斑形成には寄与しないと考えられる。「フェリルニューログロビン生成→Aβ の oligomer 生成」のスキームでは、症状と老人斑の量との間に相関がないケースを「アミロイド内因説」により説明できる、すなわち「老人斑形成→ミクログリア異常活性化=ミエロペルオキシダーゼ活性誘導→老人斑分解；ミクログリアの活性化不全の場合は老人斑残存」とすると、老人斑の有無に関わらず Aβ は細胞内小器官の機能異常を引き起こすと考えている。今回幾つかの食品成分について、比較的分子量かつ脳脊髄液関門を通過する可能性ありとして着目し、Aβ の分解促進が可能かどうか検討した。結果、第 2 相薬物代謝酵素を誘導することから着目したプロコラー・芽キャベツ成分のスルフォラファン (分子量 177) とニンニク・タマネギ成分のアリルイソチオシアネート (分子量 99) については、いずれも Aβ と反応すること、また各種ペルオキシダーゼ活性に対する穏やかな阻害を確認したが、Aβ との反応生成物は凝集能を保持したままであり老人斑の直接的な消去活性については望めない。今後は、フェリルニューログロビン生成源 (過酸化水素生成源) を特定し、また親水性部分でクロスリンクした Aβ 1-42 がミエロペルオキシダーゼ系で分解されるか確認する。今回チオフラビン T 法で評価できなかった親水性部分ペプチドの dimer/trimer が毒性を持つ可能性を、培養細胞系を用いて評価することも必要である。

[謝辞]

質量分析は旭川医科大学実験実習機器センター・阿

久津弘明氏に測定および解析上の助言を頂きました、深く感謝申し上げます。

## [文 献]

- 1) M. Nakamura, N. Shishido, A. Nunomura et al., Three histidine residues of amyloid beta peptide control the redox activity of copper and iron, *Biochemistry*, 46 (44), 12737-12743 (2007)
- 2) T. Hayashi, N. Shishido, K. Nakayama et al., Lipid peroxidation and 4-hydroxy-2-nonenal formation by copper ion bound to amyloid-beta peptide, *Free Radical Biology & Medicine*, 43 (11), 1552-1559 (2007)

## 20) マウス精子を用いる単一細胞ゲル電気泳動法 (コメットアッセイ) および染色体分析法による遺伝的傷害の検出感度比較

研究代表者 日下部博一

### [研究の背景および目的]

コメットアッセイ (comet assay) は、スライドグラス上で細胞をアガロースゲルに包埋し、電気泳動法によって細胞の DNA 損傷のレベルを解析する方法である。近年、哺乳類精子を用いるコメットアッセイが、環境変異原研究や生殖生物学の分野で普及しつつある。

一方、精子の DNA 損傷を検出するための、最も直接的で確実な方法は、受精卵の第一卵割中期で染色体分析を行うことである。ただしこの方法は、多くの未受精卵とその供給原である雌動物個体を多数必要とし、一度の実験で同時に複数の検体を取り扱うことが難しいという側面もある。

コメットアッセイには、細胞 DNA の二本鎖切断のみを検出するニュートラル法<sup>1)</sup>と、細胞 DNA の一本鎖切断、二本鎖切断および alkali-labile site を検出できるアルカリ法<sup>1), 2)</sup>がある。本研究の最終的な目的は、コメットアッセイと染色体分析法における精子 DNA 損傷の検出感度の比較であったが、今回はその初段階としてこれら二種類のコメットアッセイの変法を考案した。

### [材料と方法]

#### 1. 精 子

7 週齢以上の週齢をもつ雄マウス (B6D2F<sub>1</sub>) の精巢上体尾部を切除し、1.4 ml の PBS に加えて終え 10

分間 37℃ でインキュベーションした。精子懸濁液を、過酸化水素 (ナカライ) で 1 時間から 2 時間処理 (37℃) した。

#### 2. コメットアッセイ

##### (1) 包 埋

70℃ のホットプレート上で加温したスライドグラス (マツナミ) 上に、PBS で 1% の濃度に調製したアガロース (融点: 35~37℃、LO3 「TAKARA」、タカラバイオ) 溶液を 30μl 滴下し、スミアした。1% アガロース溶液 (70μl) に精子懸濁液 (30μl) を加えてよく混和し、これをスミア済みのスライド (40℃ から 50℃) 上に滴下した後、すぐにカバーグラスをかけ、ゲルを固化させた。

##### (2) 細胞溶解

カバーグラスを除去したスライド標本を、氷冷した細胞溶解液 [1% Triton X-100 (Sigma)、2.5 M NaCl、10 mM Tris-HCL (pH 10)、100 mM EDTA-Na (pH 8.0)、10 mM Dithiothreitol (DTT, Fluka)、0.1 mg/ml Proteinase K (Sigma)] に加え、2 時間 (4℃) および 1 時間 (37℃) 処理した。

アルカリ法によるコメットアッセイの場合、細胞溶解液には Proteinase K を加えなかった。

##### (3) 電気泳動

アルカリ法においては、電気泳動前にスライド標本を 300 mM NaOH (1 mM EDTA-Na 入り、pH 12~13) で 1 分間処理し、TAE (Tris-acetate EDTA buffer, Sigma) に加えて中和した。

ニュートラル法およびアルカリ法ともに、電気泳動用緩衝液には TAE を用いた。サブマリンタイプの電気泳動槽 (Model BE-520、BIO CRAFT) に TAE を加え、電圧および電流の強さをそれぞれ 25V、10 mA に設定した。スライド標本を加え、室温下で 2 分~5 分間電気泳動を行なった。

##### (4) 固定と染色

スライド標本を 100% エタノールに加え、10 分以上固定した後、自然乾燥させた。YOYO-1 iodite (インビトロジェン) で染色した。

#### 3. 第一卵割中期における染色体分析

過酸化水素で処理した精子をマウス未受精卵に ICSI 法<sup>3)</sup>により注入し、第一卵割中期の受精卵の染色体標本作製<sup>4)</sup>した。標本をギムザ染色し、通常の染

染色体分析を行った。

**【結果および考察】**

ニュートラル法の場合、過酸化水素処理の有無や泳動時間の長さに関係なく、他の精子集団とは明らかに異なる「漏斗型」のDNA移動を持つ精子が、低頻度で出現した(図1 a、b)。なお、同一個体からの精子で、電気泳動時間を2分と5分に設定したスライド標本をそれぞれ2枚(計4枚)観察したところ、精子4000個中31精子(0.8%)が「漏斗型」を示した。この「漏斗型」の出現頻度は、精子DNA損傷の自然誘発を部分的に反映していると思われる。

ニュートラル法では、過酸化水素で処理(1 mM)した精子のDNA損傷を検出できなかったのに対し、アルカリ法を用いた場合は、2分間という短い泳動時間であるにもかかわらず、コメットの尾の長さの違いをはっきりと区別できた(図2 a、b)。なお、同濃度で処理した精子を未受精卵に注入し、第一卵割中期で染色体分析を行ったところ、受精卵の9割(56個中50個)に構造的染色体異常が認められた(図2 c)。このことから、精子には多くのDNA損傷が生じているにもかかわらず、ニュートラル法ではそれを検出できず、電気泳動前の1分間だけアルカリ処理を行うだ

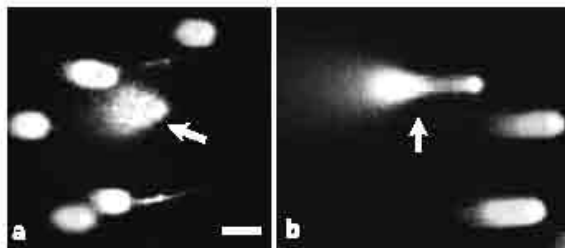


図1 ニュートラル法で観察された「漏斗型」のコメット(矢印)  
a : 2分間の泳動; b : 5分間の泳動  
Bar : 50  $\mu$ m

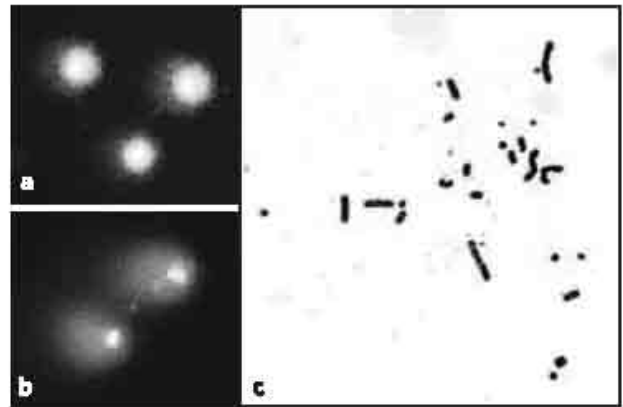


図2 過酸化水素処理(1 mM)した精子の傷害  
a : 溶媒対照(アルカリ法、泳動時間: 2分)  
b : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 処理(アルカリ法、泳動時間: 2分)  
c : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 処理(第一卵割中期染色体の断片化)

けでDNA損傷の検出感度が飛躍的に高まることが確認できた。

**【参考文献】**

- 1) Baumgartner A, Cemeli E and Anderson D: The comet assay in male reproductive toxicology. *Cell Biol Toxicol* 25:81-98, 2009.
- 2) Tice RR, Agurell H, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu JC and Sasaki YF: Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing. *Environ Mol Mutagen* 35:206-221, 2000.
- 3) Kimura Y and Yanagimachi R: Intracytoplasmic sperm injection in the mouse. *Biol Reprod* 52:709-720, 1995.
- 4) Kamiguchi Y and Mikamo K: An improved, efficient method for analyzing human sperm chromosomes using zona-free hamster ova. *Am J Hum Genet* 38:724-740, 1986.

## 依頼稿 (報告)

# 『JICA』の新「アフリカ地域 地域保健行政官のための保健行政」 コース受け入れについて

北村 久美子\* 吉田 貴彦\*\*

## 1. はじめに

世界全人口の約83%を占める発展途上国は、人口の増加や貧困、保健医療や教育などの社会的基盤の未整備、環境破壊など多くの問題を抱えている。先進国と発展途上国の健康水準の格差は著しく、最近では、経済危機や民族紛争、自然災害などにより、格差は拡大する傾向さえみられる。このような状況に対して、わが国の保健衛生行政が単に国内の課題のみを捉えて国民の生活を健康で豊かなものとするに寄与できた時代は過ぎ、現在は国際的視野のもとに、地球規模で取り組むべき課題もますます増加している<sup>1)</sup>。

「国際保健は、人々の健康に影響を与える要因およびその改善のための方策について体系的な比較を行う」(バッシュ Basch.P.F) と考えられ、各国の保健医療の格差是正のための具体的な国際協力が行われている。国際協力の基本的な枠組みとして、政府開発援助 (ODA: Official Development Assistance) があり、わが国の国民1人当たりの ODA 負担額は約1万円で先進国22カ国中15位である(2005年)。また、ODAは「贈与」や「政府貸付」からなる二国間協力と、国際機関への出資、拠出からなる多国間の協力で大別される。保健医療分野では二国間協力として「贈与」に相当し、さらに、病院、看護学校、水道などの建設や医療資材の整備などを行う返済義務のない「無償資金協力」と、主として独立法人国際協力機構(以下 JICA という)が人材育成と技術移転を目的として行う「技術協力」に分類される<sup>2)</sup>。わが国の二国間の協力を地域別にみると、歴史的、経済的つながりの深いアジアへの協力が36.6% (2005) を占めており、次に、中東、アフリカ、中南米と続いている。

リカ、中南米と続いている。

今回、二国間協力として保健医療分野におけるアフリカ地域への国際協力に関わる機会を与えられたのでその概要を報告する。

## 2. 研修要請の背景

本学では、2003年度より国際交流事業の一環として JICA 委託研修「母子保健人材育成」コースを受け入れていた経緯があり、2006年度に実施した北海道における地域特性の国際協力への有効活用調査<sup>3)</sup>において、私が特に道北地域保健医療に関し提言していたこともあり、2007年7月、Japan International Cooperation Agency Sapporo International Center (以下 JICA 札幌とする) から西アフリカ地域との二国間協力に関する受け入れの打診があった。道内で日本における保健行政を基盤にした保健行政官のための研修の実施が可能かどうかについて意見、感想を求められた。そこでは、西アフリカ地域から寄せられたニーズに基づく研修内容が提示(表1)され、本学より日本の保健行政体系、保健行政機関のしくみ、保健行政機関で活躍する保健医療職の現状、さらに道内における過去、現在の保健師活動ならびに医師の職種で活躍する保健所長の業務などの情報提供を行った。

その後、JICA 札幌から正式に旭川医科大学で地域保健看護分野と健康科学分野の共働による研修の受け入れにつき要請があった。これに対し、関係者と協議をし前向きに受け入れる方向で東京所在の JICA 本部に提出する「地域別各研修(西アフリカ地域)新設案件提案書」(以下、提案書という)作成に協力することとなり、外務省で採択されれば2008年度(平成20年

\*旭川医科大学 看護学講座 \*\*旭川医科大学 健康科学講座



表1 西アフリカ地域ニーズに基づく研修内容

<p>研修コース (仮) <b>「西アフリカ地域保健担当官のための保健行政」</b></p> <p><b>コース目標</b></p> <p>地方保健行政機関地域保健担当行政官が、保健センター・地域保健師等によるサービス提供や住民参加活動促進に資する具体的な計画を策定できるようになるとともに実践的な実施監督能力が改善される。</p> <p>※想定成果品：担当地域の地域保健改善計画案</p> <p><b>背景</b></p> <p>ガーナやシエラ・レオナでは、地方保健行政機関の下、地方病院や保健センター、さらには保健ポストが設置されており、特にアウト・リーチ活動によるプライマリー・ヘルスケアサービスの提供や予防啓発には保健センター・ポストの地域保健師が重要な役割を果たしている。また、それら活動には、コミュニティにいる保健ボランティアや保健委員会の協力も不可欠である。そのため、限られた財政的・人的資源の中で持続的な地域保健システムを確立するため、地域保健担当行政官には、住民参加活動促進を含めた効果的、効率的な地方保健計画の策定やその地域保健師による実施を監督する能力の改善が求められている。</p> <p><b>主な対象者</b></p> <p>地域保健行政機関地域保健担当官</p> <p><b>希望割当国・地域</b></p> <p>西アフリカ地域英語圏諸国</p>
---

JICA 札幌作成 2008. 8

度) から3年間の研修を受け入れる方針が定められた。

提案書作成にあたっては、西アフリカ地域からのニーズに応えられるように、北海道あるいは当大学が持つリソースをいかに結びつけて企画することが重要な鍵となった。そのため、まず西アフリカ地域の健康問題の実態、保健行政の概要などを把握することに努めた。JICA 札幌から送られてきた資料、雑誌など既存の資料から、判明したことはおおよそ次のとおりであった。

1. マラリア、結核、エイズ (HIV/AIDS) など感染症による死亡率が高い。
2. 乳児死亡率、5歳未満幼児死亡率、妊産婦死亡率が高い。
3. 慢性的な栄養失調、不衛生な水を利用している。
4. 住民の感染症など健康問題に対する知識不足と予防に関する意識が低い。
5. 未成熟な保健行政、劣悪な保健サービスへのアクセス。
6. 地域保健行政への住民参加意識が低い、など。

そこで、研修内容の構成として、「日本が過去に経験してきた感染症、特に結核対策を中心とした専門的知識の普及をはじめ行政機関、医師、保健師などの関

係職種の活動、住民組織活動として成果を上げ今日に至っていること」を基盤として、具体的な研修項目、実施形態を検討した。その結果、研修の概要は地域別研修 (西アフリカ地域) 案件要旨、新設案件目標、単元目標と研修内容とした (表2)。

JICA 札幌から修正・加筆を求められ完成した提案書は、2007年8月末に東京のJICA本部に提出され同年12月18日にJICA札幌から、つぎの内容の回答が届いた。

「西アフリカ地域、地方行政官のための保健行政研修は、提案後、第三者評価委員会を経て、評価5段階中、5の評価が下り、来年度から3年間、実施することになりました。外務省でこれから確認の協議が行われますが、まず間違いなく実施される運びとなります。つきましては、近々本件の①受入時期、期間、②研修カリキュラムについて打ち合わせをさせていただきたくメール致しました。」

以上の経過により、はじめての二国間協力の研修受入れを担当することとなり「西アフリカ地域保健担当官のための保健行政」のコースによる国際貢献が開始されることになった。

表2 協力の枠組み

案件要旨	国家レベルの政策から地方における保健所や保健師の役割や連絡体制を学び、保健システム強化のキーパーソンである地方保健行政官の育成を行う。	
案件目標	地方保健行政機関地域保健担当官が、保健セクター・地域保健師等によるサービス提供や住民参加活動推進に資する具体的な計画を立案できるとともに、実施監督機能が改善される。	
案件目標の指標	作成した地域保健計画の構成と内容を評価する。具体的には i) 自国や所属地域の保健医療にかかる現状分析ができているか。 ii) 地域保健計画に必要な課題設定、課題解決の方法、評価などの基本要素が理解できているか。	
上位目標	作成した地域保健計画の実践を通じて、西アフリカ諸国において、基礎的医療サービスが改善される。	
単 元 目 標 と 研 修 内 容		
単元目標 と 研修内容	単 元 目 標	研 修 内 容
単元1	日本の保健・医療・福祉政策の内容と行政の役割を理解し、参考とすることによって、自国の効果的な政策を考える基礎が形成される。	日本の保健・福祉にかかわる法規・政策。日本における国—都道府県—市町村の行政組織の構造。都道府県の保健福祉政策。市町村の保健福祉政策。地域の健康計画策定のプロセスでの市町村・保健所の役割分担。地域の健康計画策定のプロセスに関わる人々の役割。
単元2	地域保健計画の策定に必要な知識と技術を習得する。	地域保健計画に対する理念・理論。地域住民の健康課題の抽出と順位づけの手法。地域住民の健康課題ごとの分析・評価の手法。健康課題を考察する際の参考情報収集・新規情報の調査方法。健康課題解決策に対する効果の評価のための疫学的調査手法。実施可能な保健福祉計画作成。
単元3	北海道における課題解決の取り組みの歴史を事例から学び、自国での実施可能な解決案を展望することができる。	事例についての講義（特に感染症の課題、妊産婦の課題、栄養の課題など西アフリカ諸国に多い課題に焦点をあてつつ、北海道で蓄積されてきた課題解決の事例や、北海道特有の過酷な気象条件、広域性による医療過疎の特例を踏まえた取り組みの事例）。事例提示に基づいた事例研究演習。
単元4	研修員の担当地域における解決すべき健康課題を特定できる。	自国・担当地域の住民の健康に関するデータの整理、課題分析。
単元5	自国の現在の地域保健計画における問題点を踏まえ、地域保健計画（アクションプラン）を作成するとともに、帰国後地域への啓発方法を考案する。	自国の地域保健計画の問題点を踏まえた地域保健計画の作成、研修で立案した地域保健計画の推進のために関係する職種や住民に合わせたプレゼンテーション方法、住民や関係職種への啓発方法、住民の意識を変える働きかけ等の技術。

地域別研修（西アフリカ地域）新設案件提案書（JICA 札幌作成一部抜粋）2007. 8



表3 平成20年度 アフリカ地域 地域保健担当官のための保健行政 研修 日程

月日	研修内容	月日	研修内容
1週目 旭川医科大学	7月7日 (月) 11:00 開講式 13:00 オリエンテーション(病院・研究棟・看護学科棟 見学/白衣・靴採寸) 14:00 カントリーレポート発表会 17:00 ウェルカムパーティ	4週目 旭川医科大学フィールドワーク	7月28日 (月) 10:00 講義 道北病院の結核医療歴史の変遷、病院と地域の連携・役割 13:30 講義 住民にあったケアプランの作成の方法とコーディネーターの役割
	7月8日 (火) 9:00 講義①感染症の基礎知識(世界の流行状況など) 10:30 講義②感染症の基礎知識(寄生虫感染など) 13:30 講義③感染症の基礎知識(感染制御の実際) 15:00 講義④感染症への公衆衛生的対応		7月29日 (火) 9:00 ケアプラン作成及び家庭訪問 9:30 事例1 家庭訪問(4人) 豊岡 10:45 事例2 家庭訪問(4人) 緑ヶ丘 14:00 講義 鷹栖町の保健福祉まちづくり —市町村レベルの保健行政の役割—
	7月9日 (水) 9:00 講義①日本の保健所の役割 13:30 講義②日本の感染症対策の変遷 15:00 講義③現在の保健所の結核対策(歴史、DOTS)		7月30日 (水) 9:00 西興部村長 行政概要 10:00 上興部老人クラブ交流会 —住民へ暮らしの今昔インタビュー— 11:30 脳ドック見学 13:00 予防接種(三混、BCG) 地域医師、保健師と懇談 村の健康管理、保健師活動、学校保健など 14:00 清流の里(知的障害者更生施設)見学 興楽園(特別養護老人ホーム)見学 15:30 IT夢館、木夢館見学「田圃マルチメディア」 村の情報通信(健康システム)の概要
	7月10日 (木) 9:00 講義 日本の公衆衛生看護の歴史 13:30 講義 保健師の役割		7月31日 (木) 9:00 講義 紋別地域における住民の健康管理活動 —戦後から今日までの体験— 13:30 講義 紋別市における保健福祉行政 現在の紋別市の保健師活動 15:15 道立紋別高等看護学院 見学 —道東北地域看護職充足目的で設立— 16:00 道立紋別保健所長の役割(マネジメント)について講義と意見交換
	7月11日 (金) 9:00 講義 PCMの手法、担当地区の問題分析 13:30 講義 PCMの手法、担当地区の問題分析		
2週目 JICA札幌センター	7月14日 (月) 9:30 講義 北海道庁保健福祉部の役割(道レベルの保健行政の役割) 11:00 見学 札幌市立病院高度感染症棟の役割 14:30 講義 開発途上国での感染症対策	8月1日 (金) 9:00 紋別市の自然環境・産業と人々の暮らし	
	7月15日 (火) 9:00 講義 財団法人結核予防会の役割 Part 1 全国的な活動内容 研究内容 14:00 講義 財団法人結核予防会の役割 Part 2 北海道での役割 結核予防対策と看護	8月4日 (月) 9:00 PCMを用いて、担当地域の解決すべき課題を特定し、アクションプランを作成する。	
	7月16日 (水) 9:30 講義 北海道立衛生研究所の役割 14:00 講義 北海道立江別保健所における結核、感染症対策の実際 住民への啓発活動の方法と技術	8月5日 (火) 9:00 PCMを用いて、担当地域の解決すべき課題を特定し、アクションプランを作成する。 13:00 講義 学長「大学と地域・国際連携」 14:00 各自アクションプラン作成に向け準備	
	7月17日 (木) 9:00 講義 日本のハンセン病対策の変遷と人権侵害 13:30 講義 保健システム強化とキャパシティーディベロップメント —アフリカの事例を中心に—	8月6日 (水) 9:00 プレゼンテーション 準備 13:30 プレゼンテーション 準備 意見交換	
	7月18日 (金) 9:00 講義 結核予防対策と具体的解決策(ディスカッション含む) 13:30 カンファレンス 中間報告会	8月7日 (木) アクションプランのアピール方法、組織上層部、住民に合わせた啓発方法を考え実施する。 9:00 プレゼンテーション 13:30 プレゼンテーション 意見交換	
3週目 旭川医科大学	7月21日 (月) 海の日	8月8日 (金) 11:00 閉講式・サヨナラパーティ	
	7月22日 (火) 9:00 講義 日本の保健統計の動向 10:40 講義 思春期への性教育の手法 13:20 講義 日本の出産の歴史と現状 15:00 講義 日本の小児看護の歴史と現状		
	7月23日 (水) 9:00 講義 保健福祉計画策定の基礎知識 13:30 講義 疫学の知識		
	7月24日 (木) 9:30 講義 疫学・保健統計の知識 13:30 講義 環境保健		
	7月25日 (金) 9:00 カンファレンス/ディスカッション 13:30 講義 日本の1950年代に活躍した開拓保健師の軌跡 16:00 フィールドワークのオリエンテーション		

PCM : Project Cycle Management

#### 4. 研修の成果・評価

研修終了後に JICA 札幌が実施した研修員による評価をみると、

1)、質問「単元目標(表2)を達成しましたか(4段階評価、4は十分に達成)」では、下表のとおりであった。

Q1. Have you achieved Expected Module Outputs?

評価点	←←Full Achieved 達成		Unachieved→→ 未達成 (人数)		
	4	3	2	1	無回答
単元1	4	3	0	0	0
単元2	6	1	0	0	0
単元3	5	2	0	0	0
単元4	5	2	0	0	0
単元5	5	1	0	0	1

2)、質問「研修で得た日本の知識・経験は帰国後、役に立つと思いますか」では、

- 業務に直接的に活用できる。(2名)
  - 直接的に活用することはできないが、業務に応用できる。(5名)
- であった。

また、自由記述による主な内容は、以下のとおりであった。

- 利害関係者分析・目的的分析の必要性、中間評価会においてインプットとアウトプットの関連付けを行い、最終評価においてはアウトプットがどのようにプロジェクトの目的に、そして目的がどのようにプロジェクト目標につながるかを示す。(ガーナ)
- 保健の問題分析のための知識・スキルを習得し、アクションプラン作成で活用した。問題分析やアクションプラン作成のスキルは、帰国後、自国のスタッフと共有する。ここで学んだことは自国の地区活動計画に取り入れていく。(ガーナ)
- アフリカおよび日本で学んだ事柄を通じた能力開発はエビデンスに基づく。(ガーナ、ナイジェリア)
- 自国ではPCMのスキルは十分になく、その結果、問題分析、プロジェクト・デザインがうまくできていない。今回学んだスキルを自国の同僚と共有し、プロジェクト/プログラムの計画プロセスを改善していきたい。(シエラレオネ)
- 自国では保健活動に関する地域の意識は低い。鷹栖

町、西興部村、紋別市の3市町村でのフィールドワークの経験を、保健活動における地域参加を促すために適用していけると思う。(リベリア)

- 自国では保健サービスの分野、特に地域ベースの保健制度において、日本が50年前に経験した同じ道を辿っている。今は正しい道を進み、いつかは日本の状態に行き着くと信じている。(ガーナ)
- 資金の限界と低い技術水準のため、学んだことを確実に適用するのは容易ではない。しかしながら、状況の許す限りは適用していこうと思う。(ガーナ)

研修期間中、研修員は常に自国の現状と対比させながら、講師あるいは視察先に対して積極的に質問し、終了時には必ず誰かが立ち上がって謝辞を述べていたのが印象深かった<sup>4)</sup>。その内容は、研修カリキュラムを振り返る(評価する)うえで大いに役立つ内容であったように思われる。

研修員参加型のカリキュラムになるよう、適時カンファレンスを行うことにより、研修員のニーズの“ずれ”を察知し、研修プログラムを修正、補足することもあった。例としては、実際に北海道の保健行政の経験者として元北海道保健環境部長・現職の北海道立保健所長(両者本学出身者)に、急遽、研修終盤に保健行政における実施監督者(管理者)として実践報告を依頼し対応していただいた。研修員は中央ならびに地方の実施監督者の責務はもとより、特に現職の保健所長には、勤務先の保健所に出向いての講義と質問に対応していただくことができたこともあり、「今後もメール交換しましょう」とE-mailをとりかわすなど、本研修のニーズと適合し、大変満足感を得られていた。研修員は、「具体的な保健計画策定ができ、保健システムを構築したいこと」「実践的な保健行政管理者としてマネジメント能力を高めたいこと」を強く求めているように伺えた。このとき、はじめてJICA札幌が本大学所在地の地域性等を踏まえ本研修を要請された意図を理解することができた。

また、研修員は学校保健行政に対して深い関心を寄せており、地方の学校視察を検討したが、児童生徒が夏期休暇中のため実施出来なかったのが悔やまれる。JICA国際協力専門員杉下氏は、「西アフリカ地域では、感染症の問題と施設分娩は約4割という母子保健の問題が大きく、親は子供たちに保健システムを構築することを期待していると思う」と述べていた。今後は、

健康に対する子供たちへの啓発活動の取り組みなど地域保健行政と連動させて学校保健行政を研修内容に含めることも必要であると思われる。

わが国の地域保健活動の歴史を振り返ると、第二次世界大戦後の困窮した状況下でありながら行政と住民が協力し合って、深刻な感染症や母子保健の問題に取り組み、特に行政の一員として地域に入り込み活動した保健師の役割は大きい<sup>5)</sup>。このように、日本における1945（昭和20）年代、1955（昭和30）年代の社会情勢や生活環境、保健師活動が現在のアフリカ地域と共通していることも伺えた。日本の保健行政に位置づき地域住民の生活に密着した公衆衛生看護活動あるいは公衆衛生医として地域保健医療活動の経験を、今後も継続して発展途上国に提示していくことも必要と思われる。

以上のことから、今後本研修の企画においては、これらの点を十分に考慮した内容とする必要がある。2008年8月29日 JICA 札幌との研修終了後の打合せ（評価会）では、「はじめての研修で非常に好評であった」との評価を受けたが、初年度でありアフリカ地域の実態ならびに研修員のニーズに対して手探りの状態で実施した研修であることは否めず、評価を踏まえ研修カリキュラムをより精練させていくことが今後の課題であると思われる。

## 5. おわりに

本研修は、非常に多くの方々のご協力・ご厚意を頂いて、無事終えることができたことに、今あらためて感謝の気持ちで一杯である。開拓精神をもちたくまし

く生き抜いてきた地方の老人クラブの皆様には、道民が昔主食としていたイモ団子を手作りで再現して研修員とともに食しながら、お互いにこれまでの生き様、家族について談笑したり、オホーツク海一面に広がる流水の氷点下の世界を体感したほか、茶会などで一般の家庭を訪問させていただいたり、盆踊りで町内会の皆様と一緒に踊ったり…と、貴重な草の根交流を行い、お互いに初めての出会いをとおして友好を深めていた。

本学がアフリカ地域との二国間協力を通して、より一層連携が強化されることを望み、双方の交流が有意義なものとなるよう願っている。

最後に、本研修にご協力いただきました研修協力機関・施設ならびに関係者そして地域の方々に心より厚く御礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) 厚生統計協会：国民衛生の動向，第54巻第9号，28-35，2007
- 2) 奥山則子編：国際協力と地域看護—地域看護学概論—，175-194，医学書院，2008
- 3) 中村研一・小磯修二・佐藤有・山崎幹根・北村久美子他：3-4 保健医療，「北海道の地域特性の国際協力への有効活用調査（調査報告書）」，67-74，独立行政法人国際協力機構札幌国際センター，2007.9
- 4) 「オホーツク新聞」 2008年8月3日付け朝刊 第三面
- 5) 島内節編：地域看護と国際化—地域看護学総論—，209-239，医学書院，2001

## 研修のスナップ



杉下智彦国際協力専門員（医師）と



加藤正子元開拓保健師を囲んで



廣栖町の保健衛生担当職員と



上興部老人いこいの家にて





日本伝統文化茶道を学んだ後で



原田智史教員保健所長を囲んで

依頼稿 (報告)

# DMAT (Disaster Medical Assistant Team) 災害医療支援チームについて

藤田 智\*

## 1. 救急医療

現在私たち救急部が行っている医療は、救急隊、他院からの要請に基づき患者を受け入れるという形態で行っている。要請を受けると、担当科、担当部署と連絡を取りながら、受け入れ体制を構築しほぼ万全の体制を整えて傷病者が運ばれてくるのを待つという体制である。当然当院に搬送されるまでの間は、救急隊等に「お任せ」というのが現状である。

日本においては、119番に電話してから、救急車が到着するまで平均約6分、病院到着まで平均約20分と報告されている。一般的に重傷外傷においては、受傷後1時間以内に根本的治療を開始することが救命率を上げるといわれている。ということは、病院の救急外来における残り時間は、約40分しかなく、その間に初療を行い、手術室等を準備してもらい、各科が手術体制になるということは相当ハードルの高い目標となる。そのため、早く初療を開始する目的で、ドクターカー、ドクターヘリの運用が行われるようになってきた。(写真1) また、初療を早く始めるという観点から、互換の下の医療 (Confined space medicine) も注目を浴びている。災害現場に入っていってできる医療を表1に示す。手のかかること、複雑なことはもちろんできないものの、気道、呼吸、循環の安定化、精神的なサポート、疼痛コントロールなど重要な治療が行うことができる。特に点滴を行うことによって、クラッシュシンδροームの症状を軽減できることから、最近は災害現場においてクラッシュシンδροームによって心停止になる患者は激減している。



写真1 ドクターヘリ

表1 災害現場で行うことのできる医療

1. 気道の確保
2. 酸素投与
3. 止血
4. 輸液
5. 薬剤投与
6. 精神的介護
7. トリアージ
8. その他

## 2. 災害医療

傷病者が、医療スタッフ、医療資源に比べて多数いる状態というのが救急医療との大きな違いとなる (図1)。大事故災害の例を表2に示す。例えば地震を例にとると、病院自体が被害にあい、病院のスタッフも被災者となっている状況では、約3割のスタッフしか病院に集まらないといわれている。当然ライフラインも途絶し、病院内にある資機材もすぐに底をつくこと

\*旭川医科大学 救急部



図1 災害医療

表2 大事故災害の分類

1. 自然災害または人為災害
自然災害 自身、洪水、火災、噴火、津波、 旱魃、凶作
人為災害 交通災害、産業災害、マスギャザ リング、テロ災害、発砲事件
2. 単純災害または、複合災害
インフラストラクチャー（道路、病院、通信網） は本来の機能を有している
インフラストラクチャーに被害が及んでいる
3. 代償性災害または、非代償性災害
追加の人的、物的資源の動因により負傷者に対 処できる
需要が供給能力を下回る
追加動員された医療資源でも負傷者数に十分対 応できない
需要が供給能力を上回る Disaster, Catastrophe

が想像される。そのような状況で、病院内にいる患者さんを守るとともに、外から搬入されてくる傷病者にも対応を迫られることになる。また逆に、外で救出を待つ患者さんへの対応を要請される可能性もある。

日本においては、阪神淡路大震災が、近年における大規模災害の代表といえる。人口約153万人の神戸市において、死者、重軽傷者合わせて約5万人の傷病者が出ている。人口約35万人の旭川市において考えると、約11500人の傷病者が突然出現することになる。それらの傷病者が、大学を始めすべての医療機関に地震発生直後より押し寄せることになるということ想像することが出来るでしょうか？というよりも我々はそれに備える必要があるのです。もちろん病院には職員は

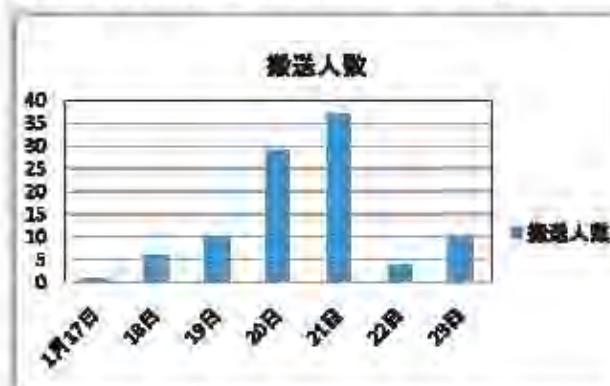
表3 阪神淡路大震災における、傷病者、死亡者数

死傷者	1月17日	3283名(60%)
	5:46~6:00	1368名(25%)
	6:00~12:00	410名(7.5%)
	12:00~24:00	
	1月18日以降	410名(7.5%)
小計		5471名
重傷者		10683名
軽傷者		33109名
合計		49263名

3割程度しかいないという状況です。

阪神淡路大震災のときは多くの病院、医療スタッフがそのような状態でごんばったのですが、後から考えてみると、その地域だけでごんばるといのはやはり無理があったらうというのが結論でした。その地域に外から医療スタッフを送り込む、傷病者を安全な地域に送り出すということを行えばもっと、もっと多くの方が助かったらうといわれています。表4は、阪神淡路大震災の際に航空搬送された症例を経時的に示しています。初日にはわずか1例、1週間でも全傷病者の0.33%しか航空搬送が行われなかったことを示しています。もちろん陸路での搬送は行われましたが、多くの道路が寸断された状態で、何人の人がまともに搬送されたかは不明です。そこで、傷病者を被災地から出す、足りない医療スタッフを送り込むという目的でDMATが作られました。

表4 阪神淡路大震災のときの航空搬送症例数



### 3. DMAT (Disaster Medical Assistant Team)

DMATとは、大地震及び航空機・列車事故といった災害時に被災地に迅速に駆けつけ、救急治療を行うための専門的な訓練を受けた医療チームの事です。現在全国で511チームがあります(2008年9月28日現在、北海道では9施設)。阪神淡路大震災では、多くの傷病者が発生し医療の需要が拡大する一方、病院も被災し、ライフラインの途絶、医療従事者の確保の困難などにより被災地内で十分な医療も受けられずに死亡した、いわゆる「避けられた災害死」が大きな問題として取り上げられました。自然災害に限らず大規模な集団災害において、一度に多くの傷病者が発生し医療の需要が急激に拡大すると、被災都道府県だけでは対応困難な場合も想定されます。このような災害に対して、専門的な訓練を受けた医療チームを可及的速やかに被災地に送り込み、現場での緊急治療や病院支援を行いつつ、被災地で発生した多くの傷病者を被災地外に搬送できれば、死亡や後遺症の減少が期待されます。このような災害医療活動には、平時の外傷の基本的な診療に加え、災害医療のマネージメントに関する知見が必要です。この活動を担うべく、厚生労働省の認めた専門的な訓練を受けた災害派遣医療チームが日本DMATです。DMATは災害の急性期(概ね48時間以内)に活動できる機動性を持った、専門的な訓練を受けた災害派遣医療チームで、5名で1つのチームを形成します。メンバーとしては、医師、看護師、事務官、薬剤師等からなります。医師、看護師の役割はもちろん医療を中心に行うこととなりますが、事務官の仕事は、通信、支援、物資の確保、情報の収集など多岐にわたり、まさに優秀な事務官の存在がそのチームの質を決めるといっても過言で無いほど重要な役割を担っています。

DMATの任務は、①被災地内での医療情報の収集と、伝達、②災害現場でのトリアージ、応急処置等、③被災地内の病院における診療の支援、④近隣、域内搬送における消防ヘリ、救急車等の中での患者の監視、必要な処置、⑤広域搬送拠点臨時医療施設(Staging Care Unit [SCU])における患者安定化処置、搬出トリアージ、⑥広域医療搬送での航空機内における患者の監視、必要な処置などがあげられています。

DMATは、表5に示すような災害が発生した場合、

表5 DMATに待機命令が出される場合

1. 東京都23区で震度5強以上の地震が発生した場合
2. その他の地域で震度6弱以上の地震が発生した場合
3. 津波警報(大津波)が発表された場合
4. 東海地震注意情報が発表された場合

厚生労働省を通じて待機命令が出されます。DMATの派遣要請は、被災地の都道府県の要請に基づくものですが、通常はこの意思決定が遅いことが多いため、DMATチーム自体の判断により自発的に活動することもあります。

DMATは厚生労働省からの待機命令に対して、出動可能かどうかの返事をする事から活動が始まります。所属する病院の病院長の許可のもと、基本的には、自前の救急車で、48時間何の援助がなくとも活動できる装備(食料等も含む)で、被災地へ駆けつけます。(北海道のチームが東京に向かう場合には、飛行機で仙台、小牧空港に降りたのち車両を調達することになります)現場に最初に着いたチームは、現地での本部を立ち上げるとともに情報収集にあたり、後続のチームを指揮することとなります(統括DMAT)。後続のDMAT隊は、統括DMATの指示及び消防本部の指示のもとに、一部は被災地内の医療施設へ応援として駆けつけます。(中国の地震の際の日本医療チームはこの形で働いた)また、一部は、被災地に入り、初期トリアージの仕事を行うものと、瓦礫の下の医療を行うものとに分けられます。さらに、域内での患者搬送(災害現場から、地域内の病院への搬送、病院から、ステージングケアユニット(航空搬送するために空港などに設けられる医療施設)への搬送)を行うもの、ステージングケアユニットにおいて、航空搬送へ耐えられるように治療を行いながら、航空搬送のためのトリアージを行うもの、傷病者と一緒に航空機、ヘリコプターに乗り込み域外への搬送に付き添うものなどが大きな仕事となります。表6に航空搬送の適用基準を示します。医療チーム、航空搬送のための飛行機、ヘリコプターを集めるとともに、ステージングケアユニットを立ち上げ、域内の病院等から傷病者を集め、域外に送り出すとなると最低でも8時間はかかるといわれてい

表6 航空搬送の適用基準

8時間以内に搬送	24時間以内に搬送
気道出血 大量血胸、気胸でair leakの酷いもの 心嚢液貯留 腹腔内液体貯留 骨盤骨折（不安定型） 腹膜刺激症状 大動脈の損傷 気管気管支損傷 横隔膜損傷 GCS≤13で 意識レベルの低下 瞳孔不同 片麻痺 頭蓋骨開放骨折 急性硬膜外血腫 急性硬膜下血腫 中硬膜動脈、静脈洞を横切る骨折	多重長幹骨骨折 重症軟部組織損傷 安定型骨盤骨折 GCS≤13 出血素因を持つ頭部外傷 気管挿管を必要とする頭部外傷頭 蓋底骨折

ます。逆にいうと重症度が高くすぐに手術等が必要な傷病者は、域内での治療が必要になります。航空搬送をされた傷病者が着く空港はさまざまであるが、そこでもステージングケアユニットが設置されます。被災地外に置かれる SCU は、自衛隊等の航空機により広域医療搬送された患者について、転送される医療機関の調整と転送のためのトリアージを行うことを業務とします。また、必要に応じて患者の症状の安定化処置を図ります。もしも東京で大地震が起こったときには、何も被害の無い北海道に大勢の患者さんが航空搬送されてくる可能性があるということです。

#### 4. 旭川医科大学病院 DMAT の活動状況

DMAT 隊員になるためには、災害拠点病院等に勤務していること、厚生労働省が定める講習会を都道府県からの推薦を受けて受講すること。その講習会で定められた以上の成果を上げることが義務付けられています。もちろんこのほかにも、外傷の初療が行えること、外傷、心肺蘇生、トリアージなどを理解していること、消防組織、メディカルコントロールについても知識があることなどが要求されますが、一番大事なのはやる気だと思います。

当院には、現在2隊のDMATチームがあります。隊員の内訳は、医師4名、看護師4名、事務職員2名です。最初の活動は、2006年11月に起きたサロマの竜巻のときです。サロマの竜巻事故の時には9名の死亡者、21名の重傷者が出ました。このときは、厚生労働省からの待機命令を受けたのち、旭川医大DMATは当院の高規格救急車に乗ってサロマへ出動しました。このときは幸いにも現場活動が思ったよりも早く終了したため、我々は現地に入ることなく、帰還しています。その後、大雪山忠別湖トライアスロン、オホーツク100kmマラソンに医療班として参加することによって訓練を行なっています。トライアスロン競技においては、水泳中に心停止になった傷病者を蘇生して大学まで搬送した経験もあります。さらに、今年は洞爺湖サミットがあったことから、DMATチームの一員として、我々は千歳空港で待機していました。千歳空港の滑走路のそばで各国首脳が乗った飛行機が離陸するたびに滑走路付近で消防車、救急車ともに待機して万が一に備えていました。また、空港でのテロを警戒してNBA担当チームとともに、万が一テロがあった場合には、クールゾーン（バイオテロ、科学手と党の被害が及ばない地域）で活動する予定になっていました。

幸い何事も我々が担当している地域では何事も起こりませんでした。全国のDMATチームと交流することができ有意義な2日間でした。表7はサミットで使用された、Medical record, 患者報告様式です。Medical recordは、トリアージタグと同様な記載方式になっており、割と使いやすいものです。患者報告様式は、まさにサミット専用といったもので、対象患者種別という項目で、一番に挙げられているのが各国の首脳、次に夫人・上級シェルパ、各国政府、マスコミ、警察・

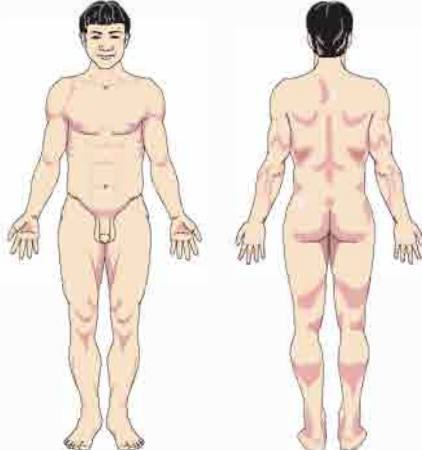
警備、住民、医療班と続いています。政府が考えているそれぞれの重要度がこれからもわかるというものでした。

また、災害においては、他の施設との協力のもとに活動することも多いことから、本年は、日本赤十字社北海道・東北支部の災害訓練にDMATチームとして参加をしました。

今後は、北海道の他のDMAT隊との協調を図るため、北海道としての活動を計画中です。

表7 サミットのときに使用された医療記録用紙、患者別報告様式  
MEDICAL RECORD

記載者名：

医療班名		
対応日時 7月 ____日 ____時 ____分		
対応場所（都市名、建物名等）：		
氏名	年齢 歳、 性別 男・女 生年月日 年 月 日	
国籍・所属：		
連絡先：		
主訴：		
現病歴：		
現症		
呼吸		回/分、SPO2 %
脈拍		回/分 整・不整
血圧		/ mmHg
治療内容：		
診断（又は症状名）：		
転帰・方針：		

### 患者別報告様式

1. 対応日・時間

\_\_\_月 \_\_\_日 \_\_\_時 \_\_\_分

2. 対象患者年齢・性別

\_\_\_歳 ( 男性 女性 )

3. 対象患者種別

首脳 夫人・上級シェパ 各国政府 マスコミ 警察・警備 住民  
医療班 その他 ( )

4. 対象患者国籍

日本 アメリカ フランス ドイツ イギリス イタリア ロシア  
カナダ その他 ( )

5. 対象患者対応言語

日本 英・米 フランス ドイツ イタリア ロシア 中国  
その他 ( )

6. 受診経過

直接 (Walk-in) 救急搬送 別のサミット医療機関からの転院搬送  
その他 ( )

7. 事象種別

内因性疾患 外因性疾患 その他 ( )

8. 病名

( )

9. 急病種別 (複数チェック可)

発熱 消化器 循環器 呼吸器 脳神経 泌尿器 整形 皮膚  
眼科 精神 慢性疾患 産婦人科 外傷 中毒 その他 ( )

10. 外傷種別

交通 転落 転倒 自傷 その他 ( )

11. 処置・治療内容

診察のみ 投薬 注射 点滴 手術 その他 ( )

12. 処置・治療の対応 (診療医の種別)

一般的な救急事例で一般救急医による対応が可能 専門医へのコンサルトを必要とした  
専門医による治療を必要とした

13. 傷病程度

外来 入院 (一般) 入院 (ICU) 転院搬送 ( うち別のサミット医療機関へ転院搬送 )  
その他 ( )

14. 保険支払方法 保険証あり 個人負担 トラブルあり ( )

## 学界の動向

# 第17回日本臨床環境医学会学術集会を終えて

高 後 裕\*

2008年7月4日(金)および5日(土)の2日間にわたって、第17回日本臨床環境医学会 学術集会が旭川で開催されました。

日本臨床環境医学会は、環境と疾患のかかわりに関する研究の発展を促進し、疾患の予防と治療に努めるために設立された学会です。その研究分野は中毒、アレルギー、内分泌、自律神経など多分野にまたがり、環境問題と臨床医学の接点を主題としています。そのため、医療関係者のみではなく、他領域の人材を含めた幅広い学会の創造を目標としています。

その日本臨床環境医学会の記念すべき第1回の学術集会は、今回と同じ北海道の旭川市で開催されました。今回はそれから数えて第17回目となり、4年ぶりに旭川での開催となりました。

本学術集会は、これまでに環境ホルモン、シックハウス症候群など、社会で大きな問題となった環境と健康に関する諸課題に対して、臨床医学・社会医学・基礎医学・行政・環境や建築に関わる企業など、幅広い分野に所属する多くの医師・研究者等が一堂に会して情報交換を行ってきた、極めて学際的な場になっています。第1回学術集会の開催から、本学会から発信された情報が、それらに関する研究と諸問題の解決に多くの寄与をしてきたことは言うまでもありません。

本年度の第17回学術集会のメインテーマは、「環境と疾患の関わりを考える」というものでした。北海道の旭川での開催にもかかわらず、東京をはじめとした全国からの参加をいただき、この2日間で約100名もの参加者を迎え、活発な議論が交わされました。

シンポジウムは、旭川医科大学健康科学講座の吉田貴彦教授と、本学会の立ち上げにご尽力された北里大

学の石川哲名誉教授の司会によって、「臨床環境医学の近未来」と題して行われました。「新しい環境中物質、繊維・粒子状物質による生体影響へのアプローチ」、「環境化学物質によるアレルギー疾患の増悪」、「シックハウス症候群への適切な対応をめざして」、「健康快適な室内環境づくりをめざした臨床環境医学における学際的研究」といった内容が取り上げられ、各分野の最先端の情報を御講演いただき、それらに対して活発な意見交換が行われました。

特別講演としては、徳島大学から曾根三郎先生をお招きし、アスベストとの関係を含め最近社会的にも非常に注目度の高い「悪性胸膜中皮腫」に関して御講演をいただきました。悪性中皮腫の臨床的な特徴から、今後の分子学的レベルでの治療戦略について、多岐にわたり解説していただきました。

一般演題は2日間にわたって計32題の発表がなされました。非常に幅広い分野からの演題でありましたが、演題毎に活発な議論が繰り広げられました。毎回のことながら、議論に熱が入り、時間に追われながらの発表もしばしばでした。改めて本学会が携わる分野が極めて広いことを再認識させられました。

7月5日(土)の午後には、学術集会に引き続いて「市民公開講座」が開催されました。北里大学大学院薬学研究科公衆衛生学講座・教授の坂部貢先生に司会をお願いし、「住まいの環境と健康一体によい家、わるい家」と題して、「シックハウス症候群：過去と現在」、「居住環境とアレルギー」、「室内光環境と健康増進・知的生産性の向上」について各分野の第一人者の先生方から御講演をいただきました。休日の午後にもかかわらず、多くの一般の方に聴講に来ていただき、なか

\*旭川医科大学 内科学講座（消化器・血液腫瘍制御内科学分野）



には2時間程度かけて旭川まで来られている方もおられ、居住環境の問題に対する関心の高さがうかがわれました。

講演内容も非常に身近な話題に則った内容で、環境と人、またそれらに対する環境医学との関わりについて、非常にわかりやすく、また時に面白く解説していただきました。

近年、本学会が関与する諸課題はますます多くなってきており、それらへの社会的関心も高まっている印象を受けた2日間でありました。来年度以降も本学術

集会によって様々な分野の研究者達が幅広く情報交換を行い、少しでも多くの問題解決につなげ、社会的に貢献をしなくてはならないと改めて気持ちを奮い立たせる学術集会となりました。

来年度の第18回の学術集会は、2009年7月3日(金)と4日(土)の2日間にわたって、川崎医科大学衛生学の大槻剛巳教授を会長として岡山市の山陽新聞社本社ビル・さん太ホールにて開催されることが決定しています。さらに多くの皆様の参加を心より期待しています。

## 学界の動向

# 第23回日本乾癬学会学術大会を終えて

飯塚 一\*

去る9月5日、6日の両日、旭川グランドホテルにおいて第23回日本乾癬学会が開催されました。好天にも恵まれ、全国から多数の会員にお集まりいただき、参加者数は400人を突破しました。学会の後は、引き続き全国各地の患者会である乾癬の会も開かれ、活発な討論となりました。

慢性難治性皮膚疾患の代表とされる乾癬ですが、アトピー性皮膚炎と比べ、一般の認知度は必ずしも高いとはいえません。現在、わが国には約10万人の患者がいると考えられ、しかも患者数は徐々に増加傾向にあります。増加要因としてメタボリック症候群との関連も示唆されており、今後の検討課題です。

治療面では、この30年の間に、PUVA療法、レチノイド、シクロスポリン内服、活性型ビタミンD3外用薬、narrowband UVB紫外線療法と選択肢は大幅に広がってきています。さらに、近年の抗TNF- $\alpha$ 製剤、また抗IL12,23p40抗体など生物学的製剤の優れた臨床効果は、Th17細胞を主役とするTIP-DC (TNF- $\alpha$ , iNOS-producing-dendritic cell) 学説を産み出し、乾癬の病態理解は、この1-2年で大きな変動期を迎えています。

これは、ちょうど一昔前、シクロスポリンの乾癬に対する劇的な効果が見出され、乾癬のT細胞学説につながった激動期の様相に非常によく似ています。私たちは、ようやく皮膚を場とする乾癬の病態論に、確固とした基盤を得たように思いますし、依然として候補の段階にとどまる乾癬の疾患遺伝子座も、おそらく近い将来、この関連で意義が解明されるものと期待されます。当教室は、初代、大河原章、北海道大学名誉教授の時代から、乾癬の研究を続けてきており、この機会に、乾癬学会を開催することができたことは大変ありがたいことと関係各位に感謝しています。

一方で、本学会を通じての感想は、わが国における乾癬の治療が、まだまだ満足できるものとはいえないということで、患者QOLを加味した治療法の選択は、乾癬に苦しむ患者さんたちにとって極めて重要な課題であり、乾癬の診療に携わっているわれわれ皮膚科医は、今後も地道な努力が必要でしょう。1992年の本学会を契機に結成され、今や全国規模で広がりつつある「患者の会」の期待にも応えていきたいものです。この分野での多くの発表は、患者さんとともに、治療に携わっている多くの医師の切実な想いが、現われたものと考えられます。

今回の学会では、James Krueger先生 (Rockefeller大学) に乾癬の病因と生物学的製剤についての御講演をいただき、John Koo先生 (UCSF)、Kenneth Gordon先生 (Northwestern大学) に、乾癬治療についての最新の情報を御講演いただきました。お三方とも極めて明快な御講演で聴衆に大きな感銘を与えました。さらに、「乾癬の研究と治療の新展開」と題して近年の急速な研究と治療の進歩を、各分野の第一人者の先生にまとめていただき、また日本発の世界に誇る業績である活性型ビタミンD3については、過去、現在、未来というテーマでシンポジウムも組ませて頂きました。

学会期間中のイブニングトークとしては、旭山動物園、小菅正夫園長先生に御講演をお願いし大変好評でした。学会後、全国的に有名になった旭山動物園を経由して帰られた方も多かったようです。

このように第23回、乾癬学会は盛会裏に終わりましたが、これからも、患者さんの役に立つ乾癬のより良い治療をめざして、教室員一同、病態解明を含め、努力していく所存です。最後に、学会を通じ、いろいろ御配慮いただいた関係各位に深謝申し上げて、御報告とさせていただきます。

\*旭川医科大学 皮膚科学講座

## 学界の動向

# 「第36回日本磁気共鳴医学会大会」を終えて

田 中 邦 雄\*

去る9月11日(木)～13日(土)の3日間、旭川市民文化会館を主会場として、第36回日本磁気共鳴医学会大会を開催したので、大会の様子などを紹介したい。

第20回大会が1992年に札幌市で開催されて以来、16年ぶりに2度目の北海道での開催となる。筆者が大学院学生として、北海道大学応用電気研究所(現電子科学研究所)メディカルトランスデューサ部門において阿部善右衛門先生(故人)の指導の下で、「NMRによる無侵襲生体計測法に関する研究」に携わって以来、ほぼ40年になる。研究開始当初、NMRは医学分野ではほとんど知られていない手法であった。その後、磁気共鳴医学が誕生して30年以上が過ぎ、今日まで絶え間のない目覚ましい発展を続け、基礎・臨床医学においてなくてはならない画像診断法としての地位を築いている。本大会では、これまでのMRIの目覚ましい発展を振り返り、これからの発展につながるよう、「さらなる飛躍に向かって」という大会テーマを掲げた。このテーマに基づいてシンポジウム1件、パネルディスカッション4件、特別講演2題、教育講演9テーマなどを通じて、新たな磁気共鳴医学が進むべき方向性を探求することを念頭にプログラムの企画を行なった。また、大会の中核をなす一般演壇は過去最多の552題が寄せられた。大会に併せて、MRI装置メーカーを含む12社による機器展示も行なわれた。また、旭川グランドホテルを会場にランチョンセミナー7件、イブニングセミナー1件が開催された。さらに、大会3日目終了後の午後、第11回市民公開講座を開催した。なお、大会3日間を通じて約1,300名の参加者があった。

大会第1日目の午前中、第34回大会から続く国際交流の一環として、本学会初の日韓合同シンポジウム



「Recent advance of brain MRI: with emphasis on function related imaging」が行なわれた。延世大学の Tae-Sub Chung 教授と京都府健康福祉部の成瀬昭二先生を座長に日韓から3名ずつの計6名の演者から、最先端の研究発表が行なわれた。発表テーマおよびシンポジストは、① Function-structure relationships in the human brain: Plasticity revealed by functional neuroimaging、定藤規弘(生理学研究所)、② Human brain activation associated with visual sexual arousal: fMRI at 3 Tesla, Gwang-Woo Jeong (Chonnam National University)、③ Neurotransmitter MR imaging in neuropsychiatric disorders、佐々木真理(岩手医科大学)、④ In vivo detection of apoptotic area by proton MR spectroscopy and manganese enhanced MRI, Ki-Soo Kim (Asan University)、⑤ MR tractography: Assessing sensorimotor fibers、山田 恵(京都府立医科大学)、⑥ Practical neurotractography: Fiber tracts of motor system, Seung-Koo Lee (Yonsei University) であり、脳中枢神経系の機能画像を中心に最新の研究成果の紹介と討論が行なわれた。その後、脳幹部領域の

\*旭川医科大学 実験実習機器センター

3T MRI、MR 造影剤、Gd 造影剤による NSF の 3 件のランチョンセミナーが開催された。引き続き山梨大学の荒木 力教授を座長に、海外招聘特別講演としてオランダ F. C. Donders Center for Cognitive Neuroimaging の David Norris 教授に、「Functional MRI, perfusion and diffusion」と題して、超高分解能機能画像計測法を始め 7T の超高磁場を用いての diffusion, perfusion 画像計測に関する最新の研究成果を紹介して頂いた。Norris 教授は筆者が文部省在外研究員として、臨床用 MRI 装置を最初に開発した英国のアバデーン大学医用物理・生体工学部門に滞在したとき以来の友人で、10 年振り 2 度目の旭川来訪である。その後、パネルディスカッション 1 「わが国の MRM の現況と課題」が聖マリアンナ医科大学中島康雄教授の座長の下、5 名のパネリストによる発表が行なわれた。乳腺 MRI の関心が高まっているものの、認知度の低さや検査態勢不足、撮像法の不統一性などの課題が示された。また、教育講演 I 基礎①「イメージング」、II 心血管・肺、III 腹部の 2 テーマが開講され、各会場とも多数の参加者があり盛況であった。なお、一般演題の発表も午前・午後と開始された。口頭発表として肝（造影-1、2）、心大血管、女性生殖器、脳・脊髄、骨・軟部組織など 16 セッション、104 題が発表された。また、午後には大ホールホワイエなどで 13 セッション、128 題のポスター発表も行なわれ、各会場とも熱気にあふれた発表、討論が繰り広げられた。終了後、旭川グランドホテルでイブニングセミナーが行なわれ、新しい水-脂肪抑制法である IDEAL に関する講演がウイスコンシン大学の Scott Reeder 先生により、同時通訳つきで行なわれ多数の参加者を得た。

大会第 2 日目の午前中は、パネルディスカッション 2 「3TMRI の現状と課題—腹部領域を中心に」が熊本大学の山下康行教授の座長の下、6 名のパネリストにより発表が行なわれた。わが国ではすでに 100 台を越す 3T 装置が稼動しており、 $T_1/T_2$  コントラストや造影剤 (SPIO, Gd-EOB-DTPA)、DWI、MRA、MRCP に関する 1.5T 装置との比較検討結果の発表があった。腹部領域においては 3T 装置に適した撮像法が必要とされ、それによれば 1.5T と同等またはそれ以上の描出能・診断能が得られ、今後その有用性が期待される。教育講演は IV 基礎②スペクトロスコピーと V 軟骨部（関節・腫瘍）の 2 テーマが開講された。一般演題は

肝（造影-3）、脳・脊髄-3、4 など 10 セッション、53 題の口頭発表が行なわれた。また、ポスター発表は心大血管-2（心疾患他）、画像処理・データ処理など 6 セッション、58 題の発表があった。ランチョンセミナーは 4 会場で EOB・プリモビスト造影剤、乳腺、前立腺 MRI/MRS、Gd 造影剤の安全性、脳幹部 MRI などの講演が行なわれ、各会場とも盛況であった。午後の最初は国内招聘特別講演として、筆者が座長を務め本学学長の吉田晃敏先生に「ICT と医療の融合」と題してご講演いただいた。これまでの先生の遠隔医療への取組が紹介されたテレビ放送の VTR を交えて、最新の情報通信技術をいち早く医療に取り入れ、遠隔医療システムの構築をされてきたこれまでのご研究の一端をご紹介いただいた。その後、パネルディスカッション 3 「臨床 MRS の現状と将来」が徳島大学の原田雅史教授と放射線医学総合研究所の小島隆行先生の座長のもとで、4 名のパネリストによる発表と 2 名の指定発言が行なわれた。脳腫瘍や急性期脳梗塞の MRS の有用性とその意義、前立腺の MRS の診断と治療への有用性と問題点などが示された。MRI に MRS を加えることによる診断的価値の向上などが指摘された。また、教育講演 VI 脊椎・脊髄と VII 中枢神経①の 2 テーマが開講された。一般演題は肝-4（造影-4）、-5（造影-5）など 11 セッション、70 題の口頭発表が行なわれた。ポスター発表は肝-3（DWI・他）、脳・脊髄-2（3T）など 7 セッション、66 題が行なわれた。なお、大会第 1 日目と第 2 日目のポスターセッション全 252 題の中から、学術奨励賞（大会長賞）として以下の 10 題が選定された。①高原太郎（ユトレヒト大学）「Unidirectional MPG を用いた Diffusion-weighted MR Neurography 同士の差分による末梢神経の選択的描出」、②藤吉兼浩（慶応大学）「制限拡散を利用した脊髄損傷の経時的解析～DTT および q-space imaging を用いて」、③工藤與亮（岩手医科大学）「SWI を用いた定量的脳血流マップの開発」、④山田雅之（藤田保健衛生大学）「マンガン神経トレーニング法 (MEMRI tract-tracing) による霊長類視覚伝導路の描出と網膜神経分布の解析」、⑤宮坂尚幸（東京医科歯科大学）「 $B_0$  mapping を用いた自動 shimming 法の開発とマウス脳 1H-MR spectroscopic imaging への応用」、⑥五月女悦久（日立製作所）「一つのコイルで直交検波 (QD) が可能な表面コイルの開発」、⑦磯田治

夫 (浜松医科大学) 「脳動脈瘤の 3D cine pc MRI 流体解析とこれを境界条件とした計算流体力学の比較」、⑧正島啓吾 (慶応大学) 「高分解能 High b-value 多軸拡散計測による視交差神経走行追跡」、⑨大山徳子 (北海道大学) 「27例の心サルコイドーシスの心 MRI: 遅延造影 MRI 分布の検討」、⑩渡邊康晴 (明治国際医療大学) 「C6 培養細胞への Mn の影響と培養液の  $^{13}\text{C}/^1\text{H}$  スペクトルによる解析」。第 2 日目夜の懇親会の席上で授賞式が行なわれ、賞状と副賞が贈られた。

大会第 3 日目、パネルディスカッション 4 「検査目的から考える MR 撮像技術の工夫」が札幌医科大学附属病院の板東道夫先生と勤医協中央病院の信田修彦先生の座長のもとで行なわれた。4 名の MR 専門技術者の認定を受けた診療放射線技師さんにより、脳神経領域、関節系・軟部組織、下肢血管系・非造影、躯幹部拡散強調画像を対象にそれぞれに対応する撮像のポイントが紹介された。多数の技師さんの参加により、熱心な討論が繰り広げられていた。また、教育講演Ⅷパルス系列・新技術: “Practical 3.0 T” およびⅨ中枢神経②の 2 テーマが開講された。一般演題は口頭発表のみで、肝-7 (撮像技術・他)、心大血管-6 (下肢 MRA)、fMRI、分子イメージングなど 12 セッション、66 題の発表が行なわれた。最終日にもかかわらず、各会場とも最後まで大勢の参加者により活発な討論が行なわれていた。大会 3 日間を通じて天候に恵まれ、発表の合間を利用して旭山動物園に出かけた人も多数いたにもかかわらず、各会場とも多数の参加者があり、活発な大会となった。特に一般演題に関しては、2008 年 1 月から臨床使用が可能となった新しい肝特異性造影剤「Gd-EOB-DTPA (EOB・プリモビスト)」に関する演題が集中したことが特筆される。口演、ポスター含めて 40 題がこの造影剤に関する発表であった。至

適撮像法と描出能の検討、1.5 T と 3.0 T 装置での比較検討、従来の造影剤との比較検討結果などの発表があり、その有用性や今後の課題などが熱心に議論されていた。また、従来 MRI は撮像時間などから不得手とされていた心・大血管系の演題も多数寄せられ、6 セッションと脳・脊髄の 4 セッションを越す構成となった。また、Gd 造影剤による腎性全身性線維症の副作用の報告もあり、非造影 MRA 撮像技術も注目された。なお、本学からは放射線科および循環器内科の先生方から 9 件の発表が寄せられた。

最終日の午後、大会に併催される第 11 回市民公開講座を開催した。一般市民の方々に MRI 検査への理解を深めていただくことを目的に行なっているもので、好天の土曜日の午後にもかかわらず百名近い参加を得た。本学放射線科の油野民雄教授の司会のもとで、まず本学放射線科の山田有則先生に「MRI ってどんな検査?」と題してご講演頂いた。MRI の原理から検査内容、役割などを大変わかりやすくお話を頂き、市民からの率直な質問にもわかりやすくお答え頂いた。引き続き、旭山動物園園長の小菅正夫先生に「地球環境と動物—絶滅危惧種の保存と旭山動物園の取り組み—」と題して特別講演を頂いた。環境破壊と野生動物の保護など、普段お聞きできない大変貴重なご講演を頂き、皆さん大変感銘を受けられた様子であった。

3 日間に亘る熱心な発表と活発な討論が繰り広げられ、大会のテーマである「さらなる飛躍に向かって」につながる大会になったのではないかと考えている。

最後に、本学会大会の開催にあたり、多大なご支援、ご協力を頂いた放射線医学教室の諸先生はじめ、実験実習機器センター職員ならびに関係各位に心よりお礼を申し上げます。

## 学界の動向

# 第43回日本高気圧環境・潜水医学会学術総会を終えて

郷 一 知\*

### 【はじめに】

2006年の秋、沖縄での本学会総会で、理事会から2008年の総会を旭川で開催してもらえないかという話を頂いた。本学の本格的な高気圧酸素治療は歴史は短いですが、一日3～5名の慢性疾患の高気圧酸素治療のほか、一酸化炭素中毒や減圧症などの緊急を要する治療にも携わっている。今後の学会の発展と共に本学の高気圧酸素治療の展開上のメリットも考えお引き受けすることにした。

2008年10月31日と11月1日に旭川グランドホテルを会場として第43回日本高気圧環境・潜水医学会学術総会を開催した。特別講演2題、招請講演2題、教育講演1題を含め、約80題の演題の応募を頂き、4つのシンポジウムの他、パネルディスカッションとワークショップをそれぞれひとつずつ企画した。

### 【高気圧酸素治療とは】

減圧症の治療や、最近では「ベッカムチェンバー」を通じてご存知の方もいるかと思うが、高気圧酸素治療の適応や治療の実際には馴染みが少ない方が多いと思うので、簡単な紹介をする。

通常の1気圧の環境でも酸素を吸入すればヘモグロビンの酸素含量はすぐ飽和状態となる。高気圧酸素治療は2気圧から5気圧程度の高気圧下で高濃度酸素を吸入することで、飽和されたヘモグロビンに加え、液体としての血液の溶解酸素濃度を上昇させ組織修復を図る治療法である。

加圧のためのタンクには一人用の「1種」と多人数用の「2種」があり、呼吸循環動態が不安定な患者さ



んの治療には医療スタッフの立会いが不可欠になるので「2種」が必要になる。また、状態が安定している患者さんでも1度に多数の治療が可能な「2種」は、時間の制約が小さく、1度に多数の治療を必要とすることもある一酸化炭素中毒には大変有用である。本学の装置は最大14名収容可能な「2種」装置である。

適応疾患は、保険適応上、救急的なものと非救急的なものに分けられている(表1)。海外では、このほかに重症感染症、多発外傷、糖尿病性虚血肢に有効とされ、欧州、米国では巨大な治療装置も建設されている。

### 【日本高気圧環境・潜水医学会の背景と現状】

本学会は日本高気圧環境医学研究会として昭和41年に発足し、43年からは日本高気圧環境医学会として活動を続けてきた。平成19年の第42回総会から社団法人

\*旭川医科大学 救急医学講座

表1 本邦における高気圧酸素治療の適応疾患

救 急 的 適 応 疾 患	非 救 急 的 適 応 疾 患
ア 急性一酸化炭素中毒その他のガス中毒（間歇型を含む）	ア 放射線又は抗癌剤治療と併用される悪性腫瘍
イ ガス壊疽	イ 難治性潰瘍を伴う末梢循環障害
ウ 空気塞栓又は減圧症	ウ 皮膚移植
エ 急性末梢血管障害	エ スモン
a 重症の熱傷又は凍傷	オ 脳血管障害、重症頭部外傷又は開頭術後の運動麻痺
b 広汎挫傷又は中等度以上の血管断裂を伴う末梢血管障害	カ 一酸化炭素中毒後遺症
オ ショック	キ 脊髄神経疾患
カ 急性心筋梗塞その他の急性冠不全	ク 骨髄炎又は放射線壊死
キ 脳塞栓、重症頭部外傷若しくは開頭術後の意識障害又は脳浮腫	
ク 重症の低酸素性脳機能障害	
ケ 腸閉塞	
コ 網膜動脈閉塞症	
サ 突発性難聴	
シ 重症の急性脊髄障害	

として名称を日本高気圧環境・潜水医学会と改めた。昭和44年の第4回総会は札幌で和田壽郎教授、昭和58年の第18回も札幌で古川幸道教授が開催されており、今回は25年ぶり3回目の北海道での開催となる。

高気圧酸素治療は、減圧症の治療として職業的ダイバーを多く抱える地域や、炭鉱災害後の治療として炭鉱の多い地域で初期の運用が始まった。また、大型のタンクは、呼吸循環を停止に近い状態にして手術を行なうための手段のひとつとして、実験的に運用された。北海道は、そのすべての条件を備える地域だったため、全国的に見ても多くのタンクを備える地域となっている。急性期の脳障害に適応が取得されたことや、急性期の治療には高い保険点数が設定されたことも高気圧酸素治療が普及した一因となっている。

一方で、治療用タンクは一旦事故を起こすと爆発という形で多数の犠牲者を出す。本学会はそのような事故防止のための教育の整備という使命も果たしてきた。医学会一般の使命が安全の保証、医療の質の保障、専門医や専門の臨床工学士の認定を含むようになりつつある現在、本学会も高気圧酸素治療に携わる医師や技

士の教育と認定を任務のひとつとするようになりつつある。

現在の高気圧酸素治療の適応は、EBMが提唱されるようになる以前からのものであるため、適応の追加・削減が提言されるようになってきた。このような気運を受け、本学会の学術委員会と医療情報委員会・保険委員会は、適応の見直しや保険点数のあり方等を協議することを大きな任務とするようになった。

**【今回総会のテーマ】**

本邦の高気圧酸素治療の推移を俯瞰すると、今は、過去の治療成績や適応の是非を、新たな基準を以って見直す時期であると同時に、これまでに適応となっていなかった病態や疾患に対する本治療を確立していくべき転換期と考えられた。そこで、2008年の第43回総会のテーマを「新たな地平線を見つめて」として過去の評価と未来のビジョンを確立するための機会とすることとした。

治療の適応の他にも、保険上の取り扱い、認定医制度、技師の認定、教育のありかた等、ちょうど転換期

に差し掛かりつつあるため、これらを意識したシンポジウム等を企画したつもりである。

### 【特別講演】

特別講演のひとつは、第4回総会会長を担当された和田壽郎先生にお願いした(図1)。和田先生は心臓移植で高名だが、高気圧酸素治療の将来性にもいち早く注目された方で、札幌医科大学には早い時期から「2種」装置が導入され、装置内での手術等の応用技術が検討されていた。和田先生は現在もお元気だが、講演を全て口演とするのはご負担になるとのことであったので、「心臓外科医としての半世紀」という肉声入りの30分のDVDを用意していただいた。DVDによる講演の前後にコメントを頂くという形式をとった。北海道における初期の心臓外科や高気圧酸素治療から、未来に向けて私共に望まれることまでの感動的なお話を頂いた。

ふたつめの特別講演は本学会理事長の眞野喜洋先生にお願いした。和田先生のお話が黎明期からこれまでとすると、眞野先生のご講演は「HBOT(高気圧酸素治療)の今後の方向性について」と題した未来を見据

えたものであった。高気圧酸素治療の新たな領域への応用や、本邦の高気圧酸素治療の体系をどのようにするかということをお示しいただいた。ナノバブル水という高圧高熱の条件でのみ製造可能な特殊な液体が、生体の組織保護や保存に非常に有用で、今後の発展が期待されるという、ある意味衝撃的な成果も紹介いただいた。

### 【招請講演】

招請講演には本学法医学教室の清水恵子教授と外科学講座の稲葉雅史准教授をお願いした。

清水先生には、法医学の立場から見た一酸化炭素中毒のご講演をお願いした。一酸化炭素中毒に対する高気圧酸素治療は、常陸であるかのように扱われてきたが、エビデンスがあるのかという議論や、遅延型・間歇型の症状に効果はどうか、という議論が出現してきた折、今後の方針を確立する参考にさせていただこうとお願いしたものである。

稲葉先生には「糖尿病合併足部潰瘍、壊疽に対する治療法の選択」をお願いした。この分野は外科的治療が主流で、本学の外科学教室はその最先端を走っている。最近、この領域にも内科的治療や血管内治療及び再生医療の導入が急速である。高気圧酸素治療も注目を集め、欧米ではその臨床使用が急速に拡大している分野であり、時宜を得たご講演を頂いた。

### 【教育講演】

一酸化炭素中毒の治療は高気圧酸素治療に携わる者にとって非常に重要で、しかも、議論続出の分野である。地道な全国調査を継続するなど、この分野のエキスパートの一人である佐賀大学の滝健治教授に「CO中毒の現状と高気圧酸素療法」を全く新たな視点からご講演いただいた。出席した者にとって積極的治療を継続する上で勇気付けられるお話であった。

### 【シンポジウム、パネルディスカッション、ワークショップ】

シンポジウムは「技師認定更新に関わる問題点」、「ダイビングの安全基準」、「糖尿病性・難治末梢動脈疾患に対する高気圧酸素治療」、「高気圧酸素治療のEBM」とさせていただき、現状の分析と今後の展望・方針を各分野のエキスパートにお示しいただいた。議論いた



図1 和田壽郎先生ご夫妻；旭山動物園にて



だいた多くのことが、近日中に実行に移されていくであろうと確信させられた。

パネルディスカッションでは外傷・感染、骨・軟部組織損傷の高気圧酸素治療の指針の最新の知見をディスカッションいただいた。この領域への応用は湾岸戦争等を通じていわゆる“war injury”に対する効果等で注目されている。ヨーロッパでは、外傷に高気圧酸素治療を応用するため、ICUを包含するような巨大な施設の建設も行われている。

ワークショップでは、装置そのものの見直しはできないものかと、メンテナンスの費用を小さくする方法や、安価に運用できる装置の検討など現実的な発表のほか、2種装置の小型化、移動式の2種装置など近未来的な発表も頂いた。

### 【一般演題】

一般演題には現在の高気圧酸素治療における問題点、工夫、知見、結果分析の他、抗がん剤との併用療法、網膜動脈閉塞に対する治療、重症感染症に対する治療、重症肺炎に対する治療など意欲的な発表が見られた。

技術的な発表にも、ダイビング時の気相・液相の基礎的研究、減圧症の成因についての基礎的研究、全く新たな炭酸ガス除去装置の開発、ダイバーの安全対策のための新たな組織作り等、未来に向けた基礎研究や技術開発に関するものが多く見られた。

一般演題のうち優れたものには、その榮譽をたたえ、最優秀賞・優秀賞が授与された。会員懇親会の場で授与式を行い、多数の会員の皆様に紹介させて頂いたのでここにも掲載させて頂く。

〔最優秀発表賞〕

田中 克之君 川崎市立多摩病院脳神経外科

演題：高気圧酸素状態における3次元腫瘍モデルを用いた抗癌剤感受性増強作用

〔優秀発表賞〕

松本 章君 旭川医科大学医学部歯科口腔外科学講座

演題：高気圧酸素療法を併用して治療した下顎骨骨髓炎の臨床的検討

〔優秀発表賞〕

増田 将秀君 (株)川崎造船潜水艦設計部機装設計G  
演題：閉鎖環境下における炭酸ガス除去技術

### 【高気圧酸素療法の今後の課題】

高気圧酸素治療用のタンクは初期投資が多額だけではなくメンテナンスにも費用がかかり、その解決策が模索されている。保険適応となる疾患は見直しを迫られるものが多い。また、救急的適応疾患と非救急的適応疾患では保険請求の金額差が大きすぎるため、タンクの維持や医師や技師の雇用と技術の維持が困難になりつつあるという問題も抱えている。

このような現状から、装置そのものの見直し、適応疾患の見直し、保険体系の見直し、医師・技師の教育と認定が喫緊の課題となっている。

一方、外傷、感染、糖尿病等の新たな適応や、腫瘍に対する効果など新たな分野への応用も期待されている。本邦における高気圧酸素治療が欧米諸国に遅れをとることなく発展できるよう、その環境を整えていくのが今後の私共の課題と考えている。

### 【おわりに】

本邦の高気圧酸素治療の将来性を改めて実感できる総会となったと思っている。今後も本会を通じたエビデンスの集積と新たな展開を期待したい。

## 本学教員執筆書籍の紹介

塩野 寛・清水恵子 著

### 生命倫理への招待改訂3版

南山堂 定価1,995円(税込)

清水 恵子

医学の進歩に伴い、「ヒトの死」及び「ヒトの生」に対して、医学が積極的に介入するようになって久しい。誕生に関わる問題だけに限ってみても、「人工妊娠中絶」、「胎児診断による生死の選別」、「男女の生み分け」、「減数手術」は、医学がヒト誕生前にその「生を絶つこと」に関与する問題である。また、「人工授精」、「体外受精」、「顕微授精」等は、「ヒトの生」に対する積極的な医学的介入である。

医学が、生命誕生や生を絶つことに手が届くようになると、単に医学だけでは解決できない多くの問題が浮き彫りにされてくる。例えば、「ヒトはいつから人であるのか」、「人格を持った人とは何か」、「人格を失った人とは何か」、「生命の質に差をつけて良いのか」、「ヒトが活着しているとは何か」、「ヒトの死とは何か」、「臓器移植時の脳死と臓器移植をしない場合の脳死で、死亡時刻の違いは現在のままで良いのか」、「意識のない植物状態の患者は人格を持ったヒトなのか」、「自分の意志で死を選びたいから、延命治療はいらない」という問題など……。今まで論じられてこなかった、死の定義、尊厳死、安楽死といった「死」に関わる問題が、山積となって噴き出してきている。昔は寿命を全うする治療が絶対視されていた。しかし、医学が進歩した現在、「延命治療の是非」という形で、「死期の選択」が論じられるようになってきた。

加えて、医療に伴う諸事情に関して、患者の自己決定権と医師の裁量権という問題が浮き彫りにされるようになった。以前、日本人の医師と患者の関係は、いわゆる「あ・うん」の呼吸であり、医師は専門家として一番良い方法を決めて提供し、患者も「全て、お任せします」……といった付き合いの時代が長かった。「ヒポクラテスの誓い」にも認められる様に、古代よりそういった患者-医師関係が、習わしでもあった。

しかし、近年、患者の自己決定権の認知度向上もあって、患者からインフォームド・コンセントを得た上で行われる医療が、広く行き渡るようになってきた。この広がりには、患者の権利意識向上と平行して生じた、インフォームド・コンセントを争点とした民事裁判による判例等の蓄積によって、法理としても後押しされている。

これらの気風を受けて、医師・歯科医師、薬剤師、看護師などの医療関係者に加えて、宗教学、哲学、倫理、法学、心理学、医療経済学、分子生物学の各分野の人々からなる生命倫理学会が設立されている。また、最近の医学部や看護学部の授業の中には、生命倫理、医療倫理あるいはインフォームド・コンセント論として登場している。

生命倫理・医療倫理は、時代の流れと共に変化していくものである。人々の意識や科学技術の進歩は、常に変化しており、恒久的なものではないことは自明の理である。

この本では生命倫理の流れを「はじめ」として、①生命誕生と医学の介入（人工授精、体外受精、顕微授精、再生医療とクローン人間、生殖技術と新しい倫理問題、生殖技術の商品化、日本の現状）、②生を絶つことへの医学の介入（胎児とヒト、人工妊娠中絶、選別出産、減数手術）、③死への医学の介入（死とは、脳死の生命倫理、人殺しの死、安楽死、尊厳死、医療と宗教・エホバの証人）、④生と死のケア（ターミナル・ケア、ホスピス、ターミナル・ケアとQOL、看護からみた生と死のケア、死の臨床）、⑤インフォームド・コンセント（パターナリズム、医師の裁量権、病名告知、末期医療と告知、看護とインフォームド・コンセント、法律からみたインフォームド・コンセント、インフォームド・コンセントの裁判例、新薬の開

発と倫理問題、遺伝子診断の応用と人権)、⑥医療と法と倫理(医療行為と倫理、医の倫理と法、看護と倫理、看護と法、看護業務と医療事故、医療事故の防止)について記述した。

2001年1月に初版を出版して、今まで改訂3版に達している。当初、この分野での初学者向けの書籍が少なかったこともあり、2006年からは駿台文庫の医療系

学部受験対策小論文用参考書に一部記載され、受験生へ推薦されている。また、医学部、看護学部はもとより、文学部、法学部、理工学部、獣医学部での一般教育用教科書として、広く採用されていると出版元から聞いている。

多くの人に本書を読んで頂き、ご意見、ご叱責を頂けたら著者らの望外の喜びである。

## 本学教員執筆書籍の紹介

松野 丈夫 編集

# 人工股関節置換術 THA のすべて - 安全・確実な手術のために

メジカルビュー社 定価16,800円(税込)

伊 藤 浩

本書は人工股関節置換術 (THA) をオールラウンドに取り扱った1冊であり、主にこれから THA を学ぶ研修医の方々、そして実際に THA を術者として始めようとしている研修医の方々のために執筆されました。あらゆる手術進入法および種々の機種の手術法に対応していることから、実際面で、特に手術手技の面で大いに参考になると思います。

まず、THA の歴史、基本的な解剖に始まり、皮切、進入、器具の選択と取り扱い方、具体的な手術手技、後療法から合併症の対策まで、手術一連の流れを詳細に、フルカラーのイラスト・写真で解説しています。基本的なセメント使用およびセメントレスの THA だけでなく、最近注目されている最小侵襲手術 MIS THA、人工頭置換術、さらにはインフォームドコンセントやクリニカルパスなど周術期全般をカバーしています。

我が国において THA が行われるようになってから、未だ40年程度に過ぎません。THA が始められた当初は「人工関節の弛み loosening」という概念がなかったため、THA の長所である疼痛軽減、可動域の回復という日常生活上の利点のみが強調され、将来的に THA が弛むかもしれないことに対して何の疑問ももたずに手術が行われていました。しかしその後 THA の弛みが多発し、現在までの40年間、THA の「弛み loosening」に対する戦いが展開されてきました。弛みに対する臨床的、基礎的研究がさかんに行われ、THA 機種の形状、各コンポーネントの設置角度、セメンティングの良否などの差による弛み発生率の違いなどについて、研究が重ねられました。弛みが問題となり始めた当初、発想の基本にあったのは「セメント病 cement disease」という言葉に代表される様に、セ

メントを弛みの原因とする単純な誤った発想でした。しかしその後の多くの研究が積み重ねられ、弛みの原因が関節面から発生するポリエチレン摩耗粉にあるということが判明しました。その間、セメンティング方法の改良がなされ、セメント非使用 THA も開発されました。そして THA が行われ始めた当初と比較し、格段に安定した中・長期成績が得られるようになりました。

この様に使用機種や手術手技の問題が解決されつつある現在、いかに適切な手術手技ならびに短い手術時間で THA を行うかが術者側の大きな問題となっています。最短且つ的確な進入路で正確なコンポーネントの設置さえ行えば、25年から30年の THA の耐久性が期待できます。しかし我が国における THA に関してのまとまった手術書は少なく、特にこれから術者として THA を行いたいと考えている若手の先生方への示唆に富んだ、解りやすい教科書と言える本はほとんど見出せません。本書では実際の臨床の場で日々 THA を行っている整形外科医が、THA の各種手術進入法、セメンティング法を含めた各コンポーネントの設置法および固定法についてポイントを挙げながら、イラストや術中写真を多用して解りやすく説明しました。また、近年盛んに行われるようになった最小侵襲手術 MIS THA、ナビゲーション手術、手術時間の短縮方法や在院日数の短縮に直接影響を与えるクリニカルパスの設定、術後リハビリテーションの問題についても章を設けました。

本書はこれから THA を志す、あるいは現在取り組んでおられる先生方にとって最も役に立つ教科書の一つであると著者らは自負しており、是非ともお手元に置いていただきたいと思います。

## 北海道地区大学体育大会が本学主管により旭川で開催

昭和57(1982)年といえば、2月に大規模な人災が立て続けに起こった年として思い出される。すなわち、8日に東京のホテルニュージャパンの客室から火災が発生して死者32人を出した。スプリンクラーの不備など消防法違反がもたらした人災であった。さらに翌9日には、日航機が羽田沖で墜落し、死者24人を出した。こちらは労務管理の不備に起因する人災であった。機長の誤った操縦に由来する「逆噴射」がこの年の流行語となった。

11月には、「和の政治」を標榜してきた鈴木善幸に代わって、「戦後政治の総決算」を掲げ自他ともに「タカ派」を任じていた中曽根康弘が首相に就任した。案の定というべきか、翌年早々には、日米「運命共同体」発言や日本列島「不沈空母」発言などがあって物議をかもした。

12月には、電電公社(現NTT)がテレホンカード使用の公衆電話を開設した。それまで公衆電話は小銭の持ち合わせがないと全く利用できなかったことを思えば、カード式公衆電話の出現は画期的な出来事ではあったが、携帯電話が普及して街中から公衆電話がほとんど姿を消した現在からみると、いささか滑稽の感もあろう。

さて、この昭和57年は、本学にとっては開学10年目にあたる年であった。翌年に開学10周年を控えていたことから、同年1月27日の教授会において、開学10周年記念行事企画委員会を設けることが提案され、委員会の役割や構成メンバーなどが審議・了承された。同委員会は直ちに記念事業の検討に入り、同年9月22日の教授会において、行事内容が決定されるとともに、同委員会は開学10周年記念行事実行委員会に改組された。記念行事は、①式典及び祝賀会、②記念冊子の編集、③記念講演、④記念植樹とし、開催日は翌昭和58年の大学祭予定期間6月16日~20日の前後とされた。

この記念行事が実際にどのように行われたか、その詳細は、昭和58年度回顧資料として次号のこのコーナーで改めて紹介する。

ところで、この昭和57年の7月には、学生のスポーツ系課外活動において画期的な出来事があった。それは、北海道地区大学体育大会が本学の主管により旭川で開催されたことである。

昭和29年度を第1回として毎年継続開催されてきた北海道地区大学(短大も含む)体育大会に、本学も昭和49年度の第21回大会より参加してきた。この時の参加大学は41校(男子の部31校、女子の部23校)、実施された種目は男子12種目(陸上競技、硬式野球、準硬式野球、軟式庭球、バスケットボール、バレーボール、サッカー、卓球、バドミントン、柔道、剣道、弓道)、女子6種目(陸上競技、軟式庭球、バスケットボール、バレーボール、卓球、バドミントン)であった。その後、昭和50年度の第22回大会より女子剣道、52年度の第24回大会より男子ハンドボールが加わった。同体育大会は道内国立大学が順次に主管校となって開催されてきたが、昭和57年度の第29回が、わが旭川医科大学の主管で7月に開催されたわけである。

当時の本学では、このような大規模な大会の主管は未経験であり、動員できる教職員・学生の数も少なく、しかも、主導となるべき体育教官は専任として配置されていなかったことなどから、準備は不安に包まれた中で進行したようであるが、幸い、旭川市の各種競技連盟の全面的な協力を得て開催にこぎつけることができた。

大会長は黒田一秀(学長)、大会委員長は小野寺壮吉(副学長、厚生補導委員会委員長、内科学第一講座教授)、副委員長は原田一典(厚生補導委員会副委員長、歴史教授)・谷本周太郎(事務局長)・高橋恵一(教務部長)、大会参与は小泉堅治(総務部長)・工藤健市郎(業務部長)・岡崎フサ子(看護部長)の諸氏であった。

大会の期日や種目・会場・委員長は下表のとおりであった(『旭川医科大学十年史』より一部改変のうえ転載)。  
(歴史・哲学 藤尾 均)

第29回 (昭和57年7月) 北海道地区大学体育大会開催期日・種目・会場・委員長

(○: 競技日)

番号	開催種目名	性別	開 会 式	開催期日					会 場	種目別大会委員長
				16 (金)	17 (土)	18 (日)	19 (月)	20 (火)		
1	陸上競技	男・女			○				旭川市陸上競技場	美甘 和哉 (生物学教授)
2	硬式野球	男		○		○	○	旭川工業高等専門学校野球場	石橋 宏 (法医学講座教授)	
				○	○			旭川実業高等学校野球場		
3	準硬式野球	男		○		○	○	旭川医科大学野球場	坂井 英一 (内科学第一講座助教授)	
				○	○			旭川工業高等学校野球場		
4	軟式庭球	男		○				旭川医科大学テニスコート	小野 一幸 (解剖学第一講座教授)	
		女		○				近文公園庭球場		
5	バスケットボール	男		○	○	○		旭川大学高等学校第1体育館	竹光 義治 (整形外科学講座教授)	
		女		○	○	○		旭川大学高等学校第2体育館		
6	バレーボール	男		○	○			旭川市総合体育館	奥野 晃正 (小児科学講座助教授)	
						○		旭川大学体育館		
		女		○	○	○		旭川大学体育館		
7	サッカー	男		○	○	○		旭川医科大学サッカー場	水戸 迪郎 (外科学第二講座教授)	
				○	○			旭川工業高等専門学校サッカー場		
8	卓球	男			○			旭川医科大学体育館	高村 孝夫 (泌尿器科学講座助教授)	
		女			○			道立旭川高等看護学院体育館		
9	バドミントン	男		○	○			旭川工業高等専門学校第1体育館	山下 裕久 (附属病院第一内科講師)	
		女		○	○			旭川工業高等専門学校第2体育館		
10	柔道	男			○			旭川市総合体育館第3・4体育室	平山 隆三 (附属病院整形外科講師)	
11	剣道	男・女			○			北海道東海大学武道場	森 茂美 (生理学第二講座教授)	
12	弓道	男・女				○		旭川医科大学弓道場	黒島 晨汎 (生理学第一講座教授)	
13	ハンドボール	男		○	○	○		北海道東海大学体育館	平野日出征 (英語助教授)	

# 『旭川医科大学研究フォーラム』投稿規程

平成12年 5月25日

平成13年 2月 5日

改正 平成21年 2月 9日

## 投稿資格

1. 投稿者は、本学教官および本学教官から推薦され編集委員会の承認を受けた者とする。

## 投稿原稿

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

## 原稿の提出

1. 図表を含めてオリジナル原稿1部、コピー2部を編集委員会に提出する。
2. 夏号（6月発行）掲載分は3月10日、冬号（12月発行）掲載分は9月10日を締め切りとする。

## 原稿の掲載

1. 原稿の採否は、編集委員会が選んだ、査読員（レフェリー）による査読の結果を踏まえ、編集委員会が決定する。査読員は原則として学外者とする。

## 執筆要領

1. 原稿は、日本語または英語で書かれ、研究目的・方法・結果・考察など、論文としての体裁が整っているものでなければならない。
2. 原稿は、原則としてパソコン又はワープロによって作成し、日本語の場合は400字詰原稿用紙に換算して30～35枚程度、英語の場合はほぼそれに匹敵する情報量をめやすとする。投稿の際には、定められたフォーマットで印字した原稿にフロッピーを添える。

フロッピーの標準形式

・媒体	3.5インチ2 HD	・形式	MS-DOS (1.44MB) フォーマット
・ファイルの形式	文字	MS-DOS	テキストファイル
	図表等		画像データをデジタル情報として提出可能な場合 (画像フォーマット： EPS, JPEG, TIFF, PICT, BMP)
3. 原稿には、500字以内の和文抄録、200語以内の英文抄録、5個以内のキーワード(和英併記)をつける。
4. 原稿の記載順序は原則として、表題(和英併記)、著者名、所属部局名、要旨(和英)、キーワード(和英)、緒言、素材および方法、結果、考察、総括または結論、謝辞、注および参考文献、図表説明とする。
5. 数字は算用数字を用い、単位は原則としてCGS単位による。特殊な単位を用いるときは、簡単な説明を加える。
6. 図表は本文とは別に1枚ずつ作成し、そのまま印刷可能なように明瞭に描く。写真は、原則としてモノクロで鮮明に紙焼きしたものに限る。図表・写真とも、番号と表題をつけ、裏には論文名・著者名を明記する。また、本文中の挿入すべき箇所の右欄外にその位置を指定する。
7. 前項の規定にかかわらず、カラー写真の掲載が論文としての価値を著しく高めると著者が判断した場合は、当該写真のカラー掲載を申し出ることができる。
8. 人名・地名に原語を用いるほかは、文中の外国語にはなるべく訳語をつける。
9. 引用・参考文献とその記載方法は次の基準による。
  - ① 主要文献のみを、本文中の引用・参照順に1)、2)、3)のように番号を付したうえで示し、対応本文の右上に同一の番号を記す。
  - ② 雑誌については、著者名：論文題名、雑誌名、巻(号)、頁一頁、年号(西暦)の順に書く。Index Medicus所載の雑誌については、その慣用略称を用いる。
  - ③ 単行書については、著者名：論文題名、書名、編集者名、版、発行所、頁一頁、年号(西暦)の順に書く。
  - ④ 訳本は、原著者名：原書名(版)とその発行年次、訳者名、書名、頁一頁、発行所、年号(西暦)の順に書く。
  - ⑤ 著者複数の場合は、主著者を含め3名までを記載し、その他の共著者は‘et al’または‘ほか’として取り扱う。
10. 人文・社会科学あるいは語学関係の論文にあつては、上記の様式にあわせることが望ましいが、各分野の慣例に従うことでもよい。

## 校 正

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

編 集 委 員 会

## 編 集 後 記

第9巻1号の旭川医科大学研究フォーラムをお届けします。本号では平成19年度に採択された「独創性のある生命科学研究」プロジェクトの研究報告を特集しました。研究代表者の皆さんには要領よくまとめていただきましたので、本号を読むことにより本学で行われている最先端の研究の一端を短時間で知ることができます。また、依頼論文2編、査読済み論文2編、エッセイ1編、JICAやDMATに関する依頼稿、学界の動向、書籍紹介、旭川医科大学回顧資料など、盛りだくさんの内容で、読み応えがあります。大変お忙しい中、執筆してくださった先生方、また、査読をご担当くださった先生方には厚くお礼申し上げます。

最近、北海道選出で大臣であった国会議員が、海外での記者会見の言動が不適切であったとのことで、大臣を辞めるということがありました。健康状態が良くなかったとされていますが、ちょっとした油断や過ちが、それまでその人が築きあげてきた全てのものを失うきっかけになるかもしれない、ということを示しています。このことは、政治の世界だけでなく、研究、医療を含むあらゆる分野に当てはまることと思います。十分、気をつけたいと思います。

(H.H)

### 表紙解説

プレートテクトニクス (plate tectonics) は、プレート理論ともいい、1960年代後半以降に発展した地球科学の学説。地球の表面が何枚かの固い岩板 (プレートと呼ぶ) で構成されており、このプレートが対流するマントルに乗って互いに動いていると説明される。地球は半径約6,500kmであるが、その内部構造を物質的に分類すると外から順に、地殻 (深さ約10km~30km)、上部マントル (~約670km)、下部マントル (~約2,900km)、外核 (外部コア: ~約5,100km)、内核 (内部コア) の層構造になっている。マントルは定常的に対流しており、一定の場所で上昇・移動・沈降している。プレートはその動きに乗って移動しているが、プレート境界部では造山運動、火山、断層、地震等の種々の地殻変動が発生している。(Wikipedia 参照)

このマントルの対流による、数億年単位で上昇・移動・沈降を繰り返していく地球内部各層の動きですが、その表面の薄皮一枚の上で生活を営んでいく生物にとっては、その地球活動一つ一つが「生死の境目」であるとともに、しかし、それなくしての「現在の世界 (地球) の姿」もなかったことを考えるとき、地球中心部から上昇してくるマントル (溶岩) と、共に湧き上がってくる「講座名群」の姿が見えてくるのでした。

整形外科学講座 今井 充



## 本誌の刊行目的と編集方針

### 〈刊行目的〉

旭川医科大学の教官・研究生・大学院生等の学術研究の成果を広く公表するとともに、これを他大学・研究機関等が刊行する類誌と積極的に交換することにより、学術交流を推進し、本学の発展に寄与することを目的とする。

### 〈編集方針〉

投稿論文の採否は、編集委員会が委嘱した学外の審査員による査読の結果を踏まえ、同委員会が決定する。このほか、医学医療従事者等の生涯学習に資するため、編集委員会が執筆を依頼した論文等を、同委員会で点検のうえ掲載する。刊行は原則として6月と12月の年2回とする。

なお、編集委員会は、刊行後すみやかにインターネットの本学ホームページ及び学術成果リポジトリ AM CoR に本誌全文を掲載する。

平成13年7月（制定）

平成19年7月（一部修正）

旭川医科大学研究フォーラム編集委員会

### 編集委員（五十音順）

石川 一志（看護学講座）  
伊藤 亮（寄生虫学講座）  
内藤 永（英語）  
廣川 博之（経営企画部／副委員長）  
藤尾 均（図書館長／委員長）

## 旭川医科大学研究フォーラム 第9巻第1号(通算10号)

編集者 旭川医科大学研究フォーラム編集委員会  
発行者 国立大学法人 旭川医科大学 代表 吉田 晃敏

〒078-8510 旭川市緑が丘東2条1丁目1番地1号

TEL 0166-65-2221

FAX 0166-68-2229

印刷 平成21年3月18日

発行 平成21年3月31日

**ASAHIKAWA MEDICAL COLLEGE  
RESEARCH BULLETIN  
VOL. 9 NO. 1**

**CONTENTS**

**Commissions**

- Mental Health Nursing For Young People .....SAKUMIYA Yoko 2  
 Determining the status of copper in the urine of Long-Evans Cinnamon rats  
 and patients with Wilson's disease .....SHISHIDO Naomi / NAKAYAMA Kenji / NAKAMURA Masao 11

- Essay .....KATAGIRI Makoto 24

**Submissions**

- Analysis of the Surgical Material Management System at the Operation Department of  
 Asahikawa Medical College Hospital ...SHIBAYAMA Junichi / HIRATA Satoshi / SEGAWA Sumiko 26  
 The Learning Gained by Nursing Students through a Simulated Clinical Setting  
 in Environmental Structuring .....MASUDA Yumiko / ICHIO Akemi / TAKAOKA Tetsuko 34

**Commissions**

2007 Creative research in the field of life science -Project

- 1) The effect of heparan sulfate proteoglycans (HSPGs) on nerve regeneration ...MURAKAMI Kouichi 45
- 2) Diversity of Motility in Fish Spermatozoa Depends of Distinct Energy Metabolism ...HARUMI Tatsuo 46
- 3) Use of pest raccoons as a laboratory animal model for visual function study.....OHINATA Hiroshi 49
- 4) Mechanisms of taste disorder in cancer chemotherapy .....KAMIYAMA Naoya 50
- 5) Identification of Protein-Tyrosine Kinases in the Mouse Crypt Cells of the Drug-Induced  
 Ulcerative Colitis Model. ....SMBBA Shingo 51
- 6) Human papillomavirus 18E7 protein binds to centromere protein C .....TAMAKAWA Susumu 52
- 7) Expression and functional role of MDL-1 (CLEC5A) in mouse myeloid lineage cells...AOKI Naoko 54
- 8) Formaldehyde exposure in food affected mucosal immune system .....NAKAGI Yoshihiko 56
- 9) The Impact of the metabolic syndrome on chronic kidney disease :  
 A new therapeutic strategy targeting adipocytokines for chronic kidney disease...NAKAGAWA Naoki 57
- 10) Regulation of Transcription and Secretion in Gut Incretin-producing cells .....FUJITA Yukihiko 58
- 11) Analysis of the profile of endogenous antimicrobial molecule in the liver .....OHTAKE Takaaki 59
- 12) Frequent association of congenital cytomegalovirus infection with developmental disabilities  
 in children who were asymptomatic during neonatal stage .....KOYANO Shin 61
- 13) Vein graft failure is associated with MMP-2-dependent smooth muscle cell motility ...UCHIDA Hisashi 67
- 14) Immunological study for cell-based tissue engineering of articular cartilage .....ABE Satomi 68
- 15) Role of Podoplanin (PDPN) in sebocytes .....HONMA Masaru 69
- 16) Efferent projections from micturition suppressing region  
 in the periaqueductal gray of the mesencephalon .....NUMATA Atsushi 70
- 17) Incidence of Endogenous uveitis at Asahikawa Medical College Hospital .....KINOUCHI Reiko 72
- 18) The importance of students' understanding of patients in Mental Health and  
 Psychiatric nursing practice: from the follow-up report by the fourth year students...OKINO Kouko 73
- 19) Chemically- or enzymatically- modified amyloid beta peptides and their properties ...SHISHIDO Naomi 75
- 20) Sperm chromosome analysis and single cell gel electrophoresis  
 assay (comet assay) using mouse spermatozoa .....KUSAKABE Hirokazu 77

- New JICA program "Health Administration for Regional Health Officer For Africa"  
 .....KITAMURA Kumiko / YOSHIDA Takahiko 79

- DMAT (Disaster Medical Assistant Team) .....FUJITA Satoshi 89

- News.....KOHGO Yutaka / IIZUKA Hajime / TANAKA Kunio / GOH Kazutomo 95

- Books .....SHIMIZU Keiko / ITOH Hiroshi 105

- Material .....FUJIO Hitoshi 108

- Editor's Note / Cover Story..... 111