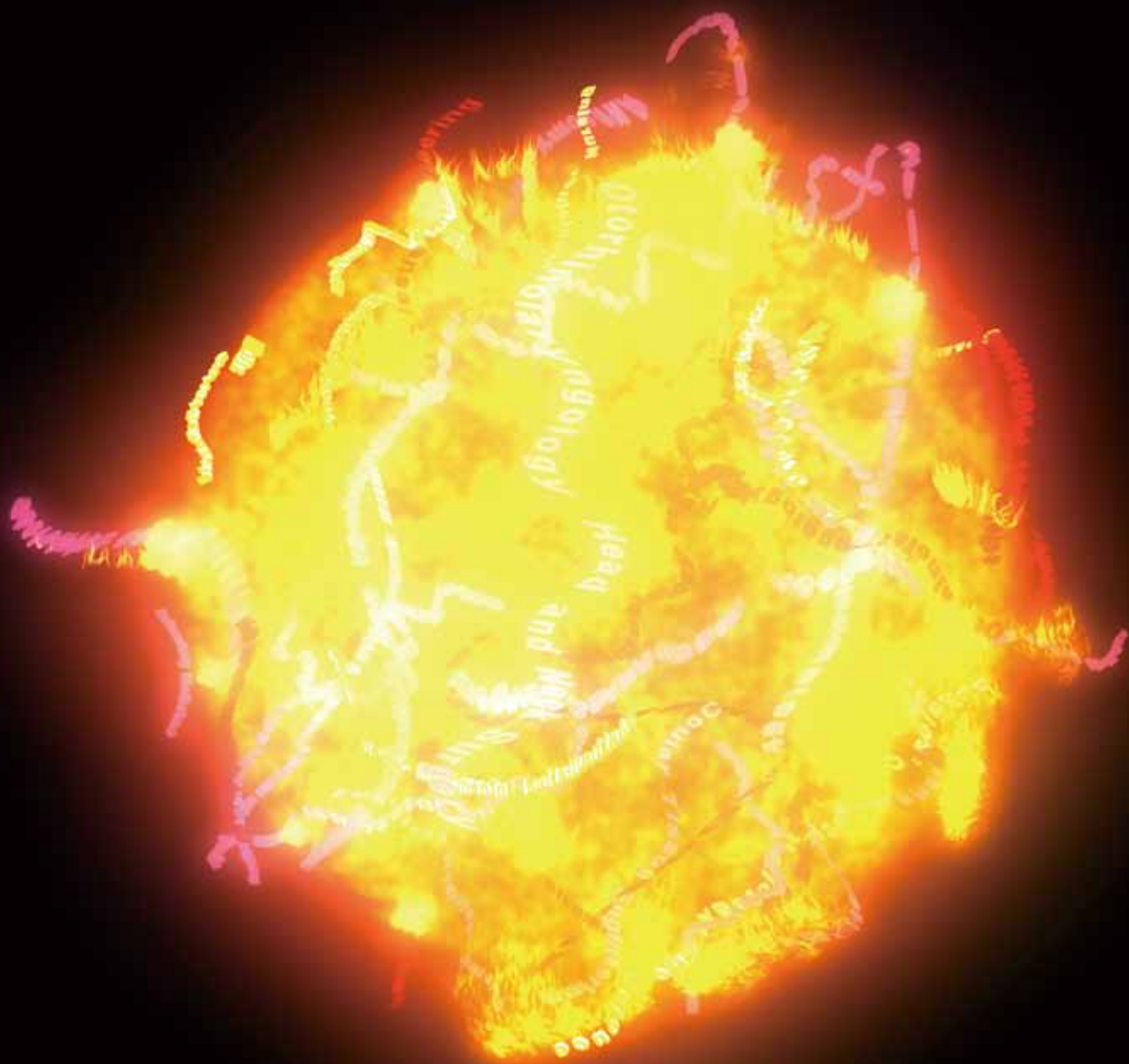


旭川医科大学研究フォーラム



Asahikawa Medical University Research Bulletin

2011
Feb.
Vol.11

旭川医科大学研究フォーラム 第11巻 (平成23年刊) 目次

依 頼 論 文

Ca ²⁺ ポンプメカニズムとその異常による病態……………	鈴木 裕	2
データ集積に基づく手術部運営システムの構築と実践 …平田 哲・宗万 孝次・本間 敦・林 達哉・国沢 卓之・柴山 純一		14
テレパソロジー —10年間の軌跡—……………	三代川 齊 之	21
自律神経活動と心疾患 —特に不整脈発生との関連—……………	川 村 祐一郎	37

エッセイ

自己山林によるカラマツ住宅建設の顛末……………	谷 本 光 穂	46
-------------------------	---------	----

依 頼 稿

平成21年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題		
1) 脱髄および再髄鞘化におけるニューロシンの発現意義およびその作用機序 ……研究代表者	田中 達英	48
2) 細胞内小器官表面の微細構築と分子局在を総合的に捉える 新たな顕微鏡観察技法の開発……………研究代表者	渡部 剛	49
3) 平滑筋におけるCRACチャネル構成タンパク質ORAI1の機能と制御分子の解明 ……研究代表者	宮津 基	50
4) 非イオン性界面活性剤によるイオンチャネル阻害機構……………研究代表者	野口 智弘	51
5) 生体組織の機能保持メカニズムの解明 —軟体動物表皮色素胞の運動能持続とATP合成活性の追跡—……………研究代表者	加藤 早苗	53
6) 脳虚血傷害におけるプロスタグランジンE ₂ -EP ₄ シグナル系の役割解明と治療への応用…研究代表者	小島 史章	54
7) シラカバ花粉症に関わる末梢血T細胞の特異性と動態解析……………研究代表者	佐藤 啓介	55
8) コレクチンCL-P1の発生における役割解明……………研究代表者	大谷 克城	57
9) 食品に含まれるホルムアルデヒドが腸内免疫機構に及ぼす影響……………研究代表者	中木 良彦	58
10) 重症虚血性心疾患患者における血管内皮機能異常と 血管内皮前駆細胞Sirt-1発現調節、EPC機能異常との関連……………研究代表者	太田 久宣	59
11) A drug for diabetic multiple organ complications……………研究代表者	滝山 由美	61
12) 低酸素環境下に置かれるがん細胞の再酸素化による増殖能・浸潤能の変化……………研究代表者	笹島 順平	63
13) 神経性間欠跛行を再現するfictive実験モデル……………研究代表者	熱田 裕司	66
14) 掌蹠膿疱症発症メカニズムの解明 (及び治療法の開発)……………研究代表者	村上 正基	67
15) 前立腺肥大症患者の膀胱血流障害について—造影超音波検査を用いた検討……………研究代表者	和田 直樹	68
16) 網膜動脈硬化と全身性動脈硬化の関連性の検討……………研究代表者	佐藤 栄一	69
17) ヒト無精子症原因遺伝子群の網羅的解明および新たな男性不妊症診断法の開発……………研究代表者	佐藤 恒	71
18) ラット脳虚血モデルにおける脳内への薬物直接投与の有効性について—Ⅱ……………研究代表者	佐藤 正夫	72
19) 脂肪組織由来幹細胞を使用した骨再生に関する研究……………研究代表者	竹川 政範	73
20) 尿エキソソーム検査法確立のための基礎的検討……………研究代表者	河端 薫雄	75
21) CD69抗原の自己免疫発症における役割……………研究代表者	木村 昭治	76
22) 学生の手洗い動作と手洗い結果の検証—効果的な手洗い教育に向けて—……………研究代表者	升田由美子	78
23) ヒト網膜微小循環ネットワークの血管壁酸素消費量と血管壁応力分布……………研究代表者	高橋 龍尚	80
24) 銅酸化物高温超伝導体の電気伝導度の電子数密度依存性……………研究代表者	本間 龍也	81
25) アミロイドベータペプチド (A β) は抗酸化能発現により化学修飾を受ける……………研究代表者	中村 正雄	83
26) 細胞膜コレステロールを除去した精子利用による チャイニーズハムスター体外受精法の確立……………研究代表者	立野 裕幸	84
27) 出血後水頭症の分子病態の理解と治療戦略への応用……………研究代表者	岡本 年男	86
28) PGE ₂ による心筋幹細胞の増殖・分化制御機構の解明……………研究代表者	竹原 有史	88
平成21年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題		
本学における脈管研究クラスター構築と臨床応用にむけた戦略的脈管研究の推進 ……………研究代表者	川辺 淳一	90
平成21年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題		
Kallikreinを標的とした新規診断薬および治療薬の開発—神経および皮膚疾患への臨床応用に向けて— ……………研究代表者	板東 良雄・岸部 麻里・鈴木 康博	94
JICA「アフリカ地域 地域保健担当官のための保健行政」コース……………吉田 貴彦・北村久美子		98
「JICA母子保健研修コース」について—看護過程を応用した問題解決の試み—……………黒田 緑		107

追 悼

追悼 岩元 純 先生……………	石 川 一 志	111
郷先生を偲ぶ……………	藤田 智・赤坂 伸之	115
追悼 藤枝憲二 先生……………	棚 橋 祐 典	119

学界の動向

第49回日本核医学会学術総会報告……………	油 野 民 雄	123
第15回日本糖尿病眼学会報告……………	石 子 智 士	125
「第79回日本寄生虫学会大会」を終えて……………	伊 藤 亮	127
第88回北海道医学大会 腫瘍系分科会 (第95回北海道癌談話会例会) を終えて……………	谷 口 隆 信	129

学生のページ

旭川エリア合同学生自主組織「はしっくす」に関して……………	佐藤 裕基・土岐 圭佑・鈴木 美紗	130
-------------------------------	-------------------	-----

本学教員執筆書籍の紹介

小児・新生児診療ゴールデンハンドブック……………	梶 野 浩 樹	133
シリーズ移動知 第二巻 身体適応—歩行運動の神経機構とシステムモデル……………	高草木 薫	134

談 話 室

看護教育における編入学制度……………	黒 田 緑	136
--------------------	-------	-----

旭川医科大学回顧資料 (12) 昭和59年度

旭川医科大学保健管理センターの設置……………	藤 尾 均	140
------------------------	-------	-----

投稿規程

……………		142
-------	--	-----

編集後記・表紙解説

……………		143
-------	--	-----

依頼論文

Ca²⁺ ポンプメカニズムとその異常による病態

鈴木 裕*

【要 旨】

Ca²⁺ ポンプは細胞膜および小胞体膜に存在し、ATP 分解に共役して Ca²⁺ を細胞質から細胞外および小胞体内腔に能動輸送し、細胞質 Ca²⁺ 濃度を（細胞休止状態の）きわめて低いレベルに設定する。これにより Ca²⁺ 貯蔵庫としての小胞体機能、すなわち刺激に応じた Ca²⁺ 放出、新規合成タンパク質の折りたたみなどの翻訳後修飾やゴルジ体への輸送などの機能を可能にし、細胞の生存と Ca²⁺ による機能調節に必須の機能を果たす。本酵素の異常は、細胞接着異常による皮膚異常角化症、発がん、糖尿病、骨格筋弛緩異常、心機能異常、アルツハイマー病、など細胞及び Ca²⁺ ポンプアイソフォーム特異的な様々の重篤な細胞異常や病態発症の原因となり、また密接に関係している。我々は、Ca²⁺ ポンプについて、酵素学・タンパク質化学・構造学的研究を展開してその作動機構を明らかにし、さらに、得られた基本的理解に基づき、細胞 Ca²⁺ ホメオスタシス異常とそれによる細胞異常・病態の発症機序理解のための分子基盤を与えることを目的に研究を進めている。本総説では、これまでの成果、さらに本学平成 21 年度「独創性のある生命科学研究」助成金により得られた新知見を含め、現在の本分野における展開を紹介したい。

キーワード Ca²⁺ ポンプ、小胞体、エネルギー変換、Ca²⁺, Mn²⁺ ポンプ、ダリエー病

1 はじめに

Ca²⁺ ポンプ、Na⁺, K⁺ ポンプ、H⁺, K⁺ ポンプ、Cu ポンプ、Ca²⁺, Mn²⁺ ポンプは共通の ATP 分解反応機構でそれぞれの特異的なカチオンを能動輸送する。その過程で ATP の γ -リン酸を特異的な Asp 残基に転移して自己リン酸化中間体（auto-Phosphorylated intermediate）を形成するので P-type ATPase と呼ばれている。この代表的メンバーである Ca²⁺ ポンプすなわち Ca²⁺-ATPase は形質膜と小胞体膜に存在し、ATP 加水分解に共役して、Ca²⁺ を数千倍の濃度勾配に逆らい細胞外あるいは小胞体内腔にくみ上げる¹⁻¹¹⁾（図 1）。これらのポンプは基本的に 10 回膜貫通蛋白であり、大きな細胞質領域は 3 つのドメイン（N, P, A）を形成する。ATP アデノシン部分の結合ポケットは N ドメインに、自己リン酸化部位は P ドメインに存在し、輸送され

る Ca²⁺ の結合部位は膜貫通ヘリックス M4, M5, M6, M8 上の残基から形成される。50Å も離れた触媒（ATP 分解）部位（細胞質領域）とカチオン結合部位（膜貫通領域）の間でのエネルギー共役は大きな構造変化、すなわち 3 つの細胞質ドメインの大きな動きと膜貫通ヘリックスの再配置を介した相互応答による（図 2）。

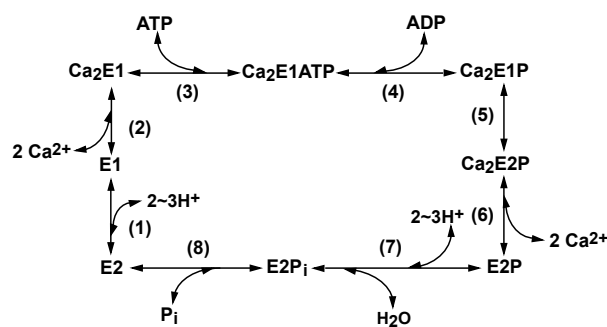


図 1 Ca²⁺-ATPase による Ca²⁺ 輸送反応サイクル

*生化学講座機能分子科学分野

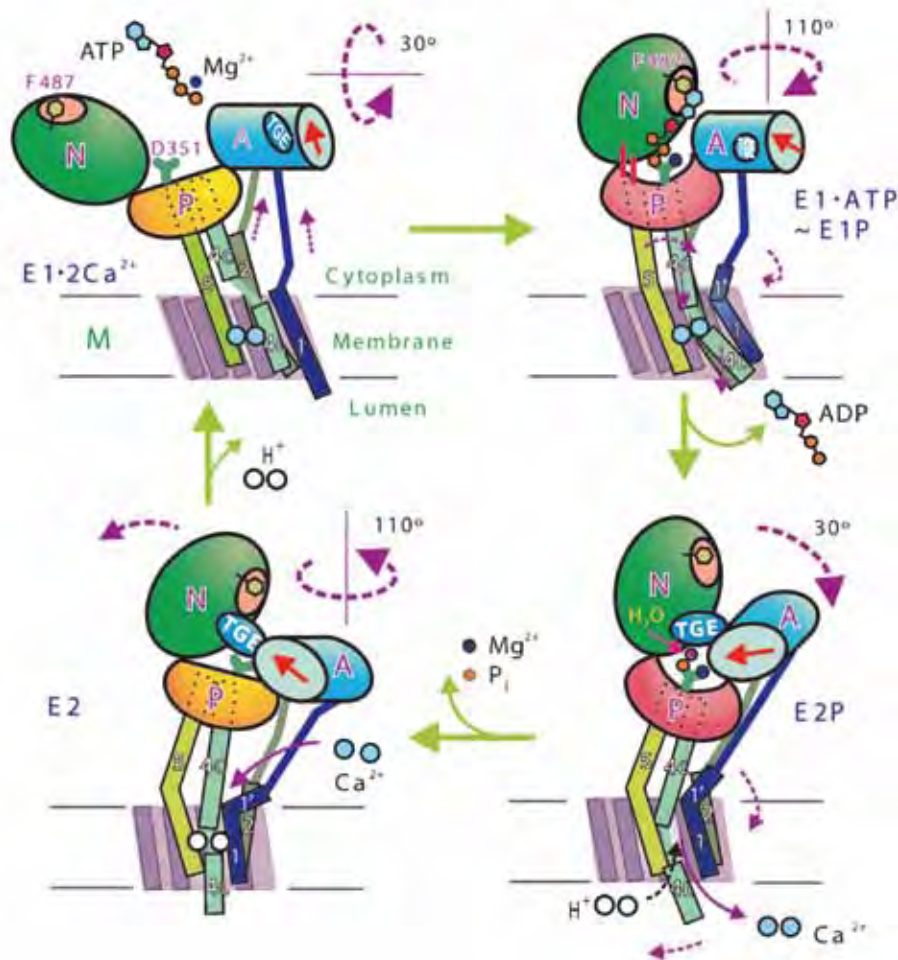


図2 Ca^{2+} 輸送反応サイクルにおける Ca^{2+} -ATPase 構造変化³⁵⁾

Ca^{2+} ポンプは他の Ca^{2+} 排出系（例えば Na^{+} , Ca^{2+} 交換輸送系）に比べて、 Ca^{2+} -ATPase は輸送する Ca^{2+} に対する親和性が顕著に高く、従って細胞休止時の低い細胞質 Ca^{2+} 濃度を厳密に設定する。小胞体 Ca^{2+} -ATPase はまた、 Ca^{2+} シグナル形成のための Ca^{2+} ストアとしての小胞体機能や小胞体内腔で起こる様々な Ca^{2+} 依存性プロセスを可能にする。1962 年、江橋とリップマンにより筋弛緩因子として機能する筋小胞体 Ca^{2+} ポンプが発見されて以来、普遍的な細胞内プロセス制御因子としての“カルシウム説”が発展した¹²⁾。我々は迅速に分解してしまうリン酸化中間体についてその安定なアナログを開発し、その構造特性を明らかにするとともに結晶構造解析に供してきた¹³⁻¹⁸⁾。また部位特異的変異による構造－機能連関の解明に貢献している¹⁹⁻³¹⁾。そして豊島らにより次々に解かれている筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase の原子レベルの反応中間体アナログの立体構造³²⁻³⁷⁾ とこれまでに蓄積してきた酵

素学的情報とに基づき、ポンプ作動機構の理解が急速に深まり、これにより Ca^{2+} -ATPase のみならず P-type ATPase ファミリーが担う細胞イオンホメオスタシス制御の分子機序の理解が進んでいる。

細胞の生存と機能に必須である Ca^{2+} -ATPase の異常はアイソフォーム依存的に、発がん、糖尿病、高血圧、皮膚異常角化（細胞分化異常）、筋弛緩障害、神経細胞異常、アルツハイマー、平滑筋細胞過増殖、心機能異常など様々の重篤な病態に密接に関連する。そのうち特に、非筋細胞タイプの SERCA2b アイソフォーム変異による皮膚異常角化症（ダリエー病）で遺伝子解析が進んでいる^{25, 27, 38-43)}。これまでに世界 150 以上の家系で原因変異が明らかとなった。変異は各家系に依存して分子の様々な領域に存在しており、いわゆる hot spot はない（図3）。従って、病態とその発症機序を分子レベルから理解するには、 Ca^{2+} ポンプの構造と機能を残基レベルで深く理解すること、そしてそれ

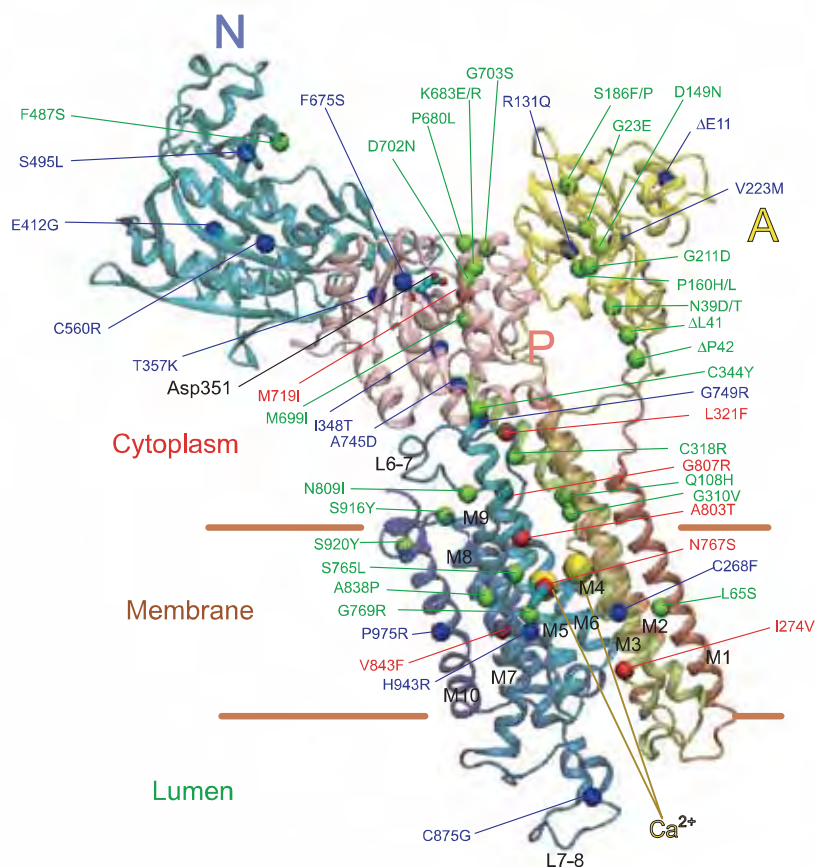


図3 解析したダリエー病51家系の変異箇所²⁷⁾

に基づき各家系の変異がどのような異常を Ca^{2+} ポンプタンパクに与えるかを解明することが必要である。我々は、報告されたミスセンス変異のほとんどすべてについて、それぞれが Ca^{2+} ポンプタンパクに与える異常を解析した。そして各家系の変異に依存して、タンパクの発現と機能において様々な内容と程度の異常が起こること、さらに、ごく僅かな Ca^{2+} 動態異常が発症をもたらすであろうことを明らかとした。本稿では、 Ca^{2+} ポンプ作動の分子機構をまず概説し、 Ca^{2+} ポンプ異常と様々な病態、ダリエー病の原因となるポンプ分子異常、ヘイリー・ヘイリー病の原因となるゴルジ体 Ca^{2+} , Mn^{2+} -ATPase についての基本的知見⁴⁴⁾を紹介する。

2. アイソフォーム

形質膜 Ca^{2+} -ATPase (Plasma membrane Ca^{2+} -ATPase (PMCA) ; 127-145kDa) と小胞体 Ca^{2+} -ATPase (sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) ; 105-115kDa) はそれぞれ4つおよび3つの異なる遺伝

子群によりコードされ、さらに組織・分化段階に依存した alternative splicing により多数のアイソフォームを形成する²⁾。PMCA は長いC末端細胞質領域にカルモジュリン結合部位を有しており、カルモジュリンによる制御を受ける。PMCA 1bと4bは全ての細胞で発現する house-keeping アイソフォームで、PMCA2と3の特にa型は脳、骨格筋、心筋など興奮性の細胞で発現する。b型はC末端にPDZ結合ドメインを有する。SERCA1a(成体型)と1b(新生児型)は骨格筋の速筋で発現し、2a(997残基)は心筋と骨格筋遅筋の主要なアイソフォームで平滑筋でも発現する。2bはほとんど全ての細胞で発現し、非筋細胞や平滑筋では主要な (house-keeping) アイソフォームである。骨格筋と心筋における1aと2aの発現量はきわめて高く筋小胞体蛋白全量の50-70%であり、迅速な筋弛緩を可能にしている。SERCA2bではN末端から993残基までの配列は2aと共通であるが、さらにヒトで45残基長い。この長いC末端領域は疎水性が高く11番目の膜貫通ヘリックスを形成する。2bは、1aや2aに比

べ、 Ca^{2+} 結合部位の Ca^{2+} 親和性が 2 倍ほど高く従って僅かに低く細胞質 Ca^{2+} 濃度を設定する。また Ca^{2+} 輸送速度は 1/2 程度と遅い。非筋細胞アイソフォームとしてのこれら 2b の機能特性は、2b のみが有する 11 番目の膜貫通ヘリックスの影響である⁴²⁾。SERCA3 には C 末端の長さが異なる 5 種 (a~e) のアイソフォームがあり、N 末から 993 残基は同一であるが、それに続く C 末端領域の配列と長さ (5-50 残基) は異なる。SERCA3 は常に 2b と共に非筋細胞で発現するが、発現レベルは顕著に組織に依存し、小脳プルキンエ細胞、結腸上皮細胞、肺及び気管上皮細胞、リンパ系細胞、膵 β 細胞など活発な Ca^{2+} 動態を持つ細胞などでのみ発現する。SERCA3 は 1 と 2 に比較して 1.5 倍程度高い比活性を持つが、 Ca^{2+} 親和性は 5 倍程度低い。おそらく活発な Ca^{2+} 動態に迅速に対応するための特性であろう。SERCA3 はまた、小胞体内腔に蓄積した Ca^{2+} による阻害に対して極めて感受性が低く、従って内腔 Ca^{2+} をより高いレベルに設定し、特定細胞プロセスを可能にすると考えられている。SERCA2b と 3 がどのように役割を分担するのか、局在・小胞体の区画化と共に重要な問題である。

3. 反応機構

小胞体 Ca^{2+} -ATPase の輸送反応サイクルでは、まず輸送される 2 個の細胞質 Ca^{2+} が協同的に高親和性部位 (輸送部位, $K_d = \sim 0.5 \mu\text{M}$) へ結合することによって ATPase が活性化され (ステップ 1-2、図 2)、次いで MgATP ($K_d = \sim 5 \mu\text{M}$) からリン酸基が Asp351

に転移し自己リン酸化中間体 (EP) が形成する (ステップ 3-4)。この EP は ADP と反応して ATP を再生できる ADP 感受型 (E1P) で、この E1P 形成に伴い輸送部位の Ca^{2+} は膜の両側からアクセスできない閉塞された状態となる (E1PCa_2)。次に大きな構造変化が起こり E1P は ADP 非感受型の E2P に異性化する (図 1)。これに伴い輸送部位は内腔側を向き親和性が数千分の 1 に低下し Ca^{2+} が内腔に放出される (ステップ 5-6)。E2P では特異的水分子によるアシルリン酸結合への攻撃が起こり加水分解される (ステップ 7-8)。このサイクルは 1 秒あたり最大 ~50 回転し、EP 異性化 (ステップ 5) が律速である。なお、 Ca^{2+} 放出に伴い内腔側から H^+ が Ca^{2+} 配位子に結合し、次のサイクルで細胞質側に放出されるので厳密に言えば Ca^{2+} -ATPase は $\text{Ca}^{2+}, \text{H}^+$ ポンプである。形質膜 Ca^{2+} ポンプでは、高親和性 Ca^{2+} 結合部位が 1 つであるため輸送される Ca^{2+} は ATP 1 分子あたり 1 個であり、カルモジュリン結合により活性化される。

4. Ca^{2+} 結合型および非結合型リン酸化中間体構造アナログの開発

我々は筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase の各リン酸化中間体の安定な構造アナログを、メタルフッ素を用いて開発した (Table 1)¹³⁻¹⁸⁾。 Ca^{2+} -ATPase のリン酸化および加水分解反応はともに "in-line-associative" な機序による。 AlF_x (AlF_3 あるいは AlF_4^-) ではその配位化学的性質として、アルミニウムにフッ素が平面状に、その両 apical 側から酸素 (リン酸化部位 Asp351 側鎖と、

Table 1 Ca^{2+} -ATPase 反応中間体の安定な構造アナログの開発

	Intermediate states in Ca^{2+} transport cycle								
	$E2$ (no Ligands)	$E1\text{Ca}_2$	$E1\text{Ca}_2\cdot\text{ATP}$	$E1\text{PCa}_2\cdot\text{ADP}^\ddagger$ $E1\text{PCa}_2\cdot\text{ADP}$	$E1\text{PCa}_2$	$E2\text{PCa}_2$	$E2\text{P}$	$E2\text{P}^\ddagger$	$E2\cdot\text{P}_i$
Stable analog	$E2$ or $E2(\text{TG})$	$E1\text{Ca}_2$	$E1\text{Ca}_2\cdot\text{AMPPCP}$	$E1\text{Ca}_2\cdot\text{AlF}_4^-\cdot\text{ADP}$ $E1\text{PCa}_2\cdot\text{AMPPN}$	$E1\text{Ca}_2\cdot\text{BeF}_3^-$	$E2\text{Ca}_2\cdot\text{BeF}_3^-$	$E2\cdot\text{BeF}_3^-$	$E2\cdot\text{AlF}_4^-$	$E2\cdot\text{MgF}_4^{2-}$
Reference	13, 14, 33	13, 14, 32	14	14, 47	17	18	16	16	13, 16
References for Crystal structures	33	32	34, 45	34, 45, 47	(—)	(—)	37, 47	37, 46, 47	35

TG; thapsigargin

ADP β リン酸あるいは H_2O) が配位して反応遷移状態に相似な bipyramidal 構造を形成する。 BeF_3^- のベリリウムは三つのフッ素のほかにもう一つの配位子、例えばアスパラギン酸残基側鎖の酸素を直接配位した tetrahedral 構造 $-O-BeF_3^-$ を形成する。そこでアシルリン酸 (Asp351 に共有結合したリン酸) の相似構造となる。開発した Ca^{2+} 結合型 $E1Ca_2 \cdot BeF_3^-$ および非結合型の $E2 \cdot BeF_3^-$ は、それぞれリン酸化反応生成物 $E1PCa_2$ および Ca^{2+} 放出直後の $E2P$ 基底状態のアナログであることが、これら複合体の特性解析からも明確に帰属された^{16,17)}。 MgF_4^{2-} は tetrahedral 構造をとるが、マグネシウムはベリリウムとは異なり、酸素 (例えば Asp351 側鎖酸素) には直接配位できないので非共有結合型リン酸 Pi の相似構造となる。実際、 MgF_4^{2-} は Ca^{2+} 非結合型の $E2$ と複合体を形成して加水分解生成物複合体 ($E2 \cdot Pi$) のアナログ $E2 \cdot MgF_4^{2-}$ 形成するが、 Ca^{2+} 結合型の $E1Ca_2$ とは複合体を形成できない。 $E1Ca_2$ の ATP による Asp351 リン酸化反応 ($E1PCa_2$ 形成) には Pi との非共有結合状態が存在しないことと一致する。これらメタルフッ素と Ca^{2+} -ATPase の複合体は 1 ヶ月保存しても崩壊しない極めて安定な複合体である¹⁵⁾。

開発した各アナログを用いて、ミリ秒オーダーで迅速に遷移・分解してしまうがゆえにこれまで解析できなかった各リン酸化反応中間体の構造-機能特性を生化学的に解明した¹³⁻¹⁸⁾。その結果、まず、 Ca^{2+} 輸送過程で細胞質の3つのドメインは顕著に異なる4種の集合状態を変化することが明らかとなった^{13,14)}。 $E1PCa_2$ では3つのドメインは離れているが、ATP が結合すると N-P ドメインが閉じて (ATP で架橋され) リン酸基転移が起こる (ステップ 3-4)。EP 異性化と Ca^{2+} 放出 (ステップ 5-6) ($E1PCa_2 \rightarrow E2PCa_2 \rightarrow E2P + 2Ca^{2+}$) という Ca^{2+} 輸送において最も重要なプロセスの実態は、A ドメインが 90 度以上も大きく回転し P ドメインに強く結合して最もコンパクトな集合状態を形成すること、それにより Ca^{2+} 輸送部位の構造 (すなわち膜貫通ヘリックス配置) が大きく変化して Ca^{2+} の脱閉塞と放出が引き起こされる、というものであることが分かった。 $E2P$ 加水分解 (ステップ 7-8) 過程では、3 ドメインは弱い集合結合状態となる。これらの成果により、細胞質ドメインの大きな動きとそれに共役した Ca^{2+} 輸送部位の変化、というエネルギー変

換の本質が明らかとなった。

さらに、 Ca^{2+} 非結合型安定構造アナログ $E2 \cdot BeF_3^-$ 、 $E2 \cdot AlF_4^-$ 、 $E2 \cdot MgF_4^{2-}$ の特性解析¹⁶⁾ からは、 $E2P$ 加水分解反応 ($E2P + H_2O \rightarrow E2P^\ddagger \rightarrow E2 \cdot Pi \rightarrow E2 + Pi$) 過程で、触媒部位における僅かな構造変化に伴い Ca^{2+} 放出路が閉じて内腔 Ca^{2+} の細胞質への漏れ出しを防ぐ構造が獲得されることが分かった。すなわち $E2P$ 基底状態 ($E2 \cdot BeF_3^-$) では内腔 Ca^{2+} ゲートは Ca^{2+} 放出直後の開いた状態であり、遷移状態 $E2P^\ddagger$ および $E2 \cdot Pi$ ($E2 \cdot AlF_4^-$ および $E2 \cdot MgF_4^{2-}$) では閉じた状態となり内腔 Ca^{2+} の輸送部位へのアクセス (漏れ出し) を防ぐ構造が形成されるのである。生化学的解析により予測されたこれら各中間体構造特性は、実際各アナログの結晶構造により原子レベルで解明されている。

5. 結晶構造解明：中間体の原子構造モデルから明かされた Ca^{2+} 輸送の仕組み

東京大学・分子細胞生物学研究所の豊島らにより各中間体の安定構造アナログの結晶化と原子構造解明が次々になされ、輸送機能の理解が大きく進展した³²⁻³⁷⁾。P-type ATPase 研究のみならず、膜蛋白結晶化と構造解明、生体エネルギー転換機構解明、細胞イオンホメオスタシスとその異常による病態発症機序理解の分子基盤、といった観点からも画期的成果である。反応ステップごとの細胞質ドメインの動きとそれに共役した Ca^{2+} 輸送膜貫通ヘリックスの再配置の実態、リン酸化および加水分解反応とそれらに共役した Ca^{2+} 閉塞と脱閉塞、内腔放出路開閉の仕組みが原子レベルで解明された。そして豊島らはこれら膨大な原子レベル情報に基づき、 Ca^{2+} 輸送とエネルギー変換機構について見事な解釈を行なっている¹⁰⁾。図 2 はそれらを包括したモデルであるが、さらに詳細については、原著や総説だけでなく豊島研究室のホームページ情報をぜひ参照されたい。構造変化の様子が連続したムービーとして紹介されている。また豊島らの原子レベルの情報は、 Ca^{2+} 配位、ATP 結合およびリン酸基転移、アシルリン酸加水分解と攻撃水分子の配位、さらに触媒補因子 Mg^{2+} の結合について、残基および原子レベルの情報を与えたことは言うまでもない。さらに豊島らは、心筋および骨格筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase を制御するホスホランバンおよびサルコリピンの Ca^{2+} -ATPase への結合構造を解明し、制御とその異常による病態の

分子基盤を確立している^{48, 49)}。また Ca^{2+} -ATPase・脂質二重膜・溶媒の全体の系についてのナノ秒オーダーでの分子動力学シミュレーション研究も発展させ、新たな観点からポンプ機構の理解を深めているだけでなく、この手法が遺伝子変異と病態発症を理解するための極めて強力なツールであることを明確に示している⁵⁰⁾。他方、 Na^+, K^+ -ATPase や Cu -ATPase の結晶構造解明も進め、P 型 ATPase の共通性と相違について原子レベルの理解を深めている⁵¹⁻⁵³⁾。

6. Ca^{2+} -ATPase の 部 位 特 異 的 変 異 と $E1\text{PCa}_2$ アナログおよび $E2\text{PCa}_2$ アナログ開発によりさらに深まる理解

$E1\text{PCa}_2$ アナログとして $E1\text{Ca}_2\cdot\text{BeF}_3^-$ の開発と安定化に我々は成功した¹⁷⁾。この結晶構造解析は現在待たれるところであるが、我々の構造特性解析によれば、リン酸化反応遷移状態 $E1\text{PCa}_2\cdot\text{ADP}^\ddagger$ ($E1\text{Ca}_2\cdot\text{AlF}_4^-\cdot\text{ADP}$) から $E1\text{PCa}_2$ ($E1\text{Ca}_2\cdot\text{BeF}_3^-$) が形成する過程で、A および P ドメインの配置がかなり変化すること、それに伴い輸送部位は Ca^{2+} 閉塞状態を保ちながらその構造を変化させることが明らかとなった。これらの変化により、次の EP 異性化における大きな変化を生起させるための構造が $E1\text{PCa}_2$ に備わるのである。

さらに我々は、 $E2\text{PCa}_2$ の構造アナログとして $E2\text{Ca}_2\cdot\text{BeF}_3^-$ の開発に成功した¹⁸⁾。 Ca^{2+} 放出直前の $E2\text{PCa}_2$ という中間状態の存在は仮定されていたのみでありその実体は不明であった。 Ca^{2+} 放出 ($E2\text{PCa}_2 \rightarrow E2\text{P} + 2\text{Ca}^{2+}$) がきわめて迅速であるためである。我々は、このプロセスに必須な残基領域を見出し、部位特異的変異によりこの $E2\text{PCa}_2$ 状態を安定化し同定した²²⁻²⁹⁾。特に、A/M1 リンカー (A ドメインと M1 を連結するループ) にアミノ酸を挿入して長くすると、 Ca^{2+} 放出が完全にブロックされることを発見し、これにより $E2\text{PCa}_2$ を始めてトラップすることに成功した²⁸⁾。そこで A/M1 リンカーを長くした変異体に BeF_3^- を結合させることにより、 $E2\text{PCa}_2$ アナログの $E2\text{Ca}_2\cdot\text{BeF}_3^-$ を開発したのである。これらの成果により、適切な長さの A/M1 リンカーを持つ野生型では Ca^{2+} 放出のための構造変化 ($E1\text{PCa}_2 \rightarrow E2\text{PCa}_2 \rightarrow E2\text{P} + 2\text{Ca}^{2+}$) がどのような仕組みで生起するかが分かった。すなわち、 $E1\text{PCa}_2 \rightarrow E2\text{PCa}_2$ で A ドメインが大きく回転して P ドメインの上に動きドッキングする

ことにより A/M1 リンカーは引っ張られ“緊張”した状態になること、この緊張により次の $E2\text{PCa}_2 \rightarrow E2\text{P} + 2\text{Ca}^{2+}$ では A ドメインと P ドメインが引き下げられて傾き、それにより膜貫通ヘリックスにも傾きが生じて Ca^{2+} 結合部位の親和性が低下するとともに内腔放出路が開くのである。さらに、この構造変化の結果、A-P ドメイン間に新たな特異的相互作用が形成してコンパクトな集合状態となつて、 Ca^{2+} を放出した $E2\text{P}$ 基底状態構造が安定化されることを明らかにした²²⁻²⁹⁾。 $E1\text{Ca}_2\cdot\text{BeF}_3^-$ とともに $E2\text{Ca}_2\cdot\text{BeF}_3^-$ の結晶構造解明が待たれるが、これらにより我々の予測が検証され、能動輸送の仕組みが原子レベルでさらに深く理解されるであろう。

7. Ca^{2+} ポンプ異常と病態

Ca^{2+} ポンプは細胞質と小胞体内腔の Ca^{2+} 動態を整えることによりそれぞれの区画で起こる様々な細胞プロセスに必須の役割を果たし、また細胞質 Ca^{2+} 過増大によるアポトーシスを未然に防ぐ。従って当然ながらその異常はアイソフォーム特異的に重篤な病態をもたらす。SERCA1 変異による機能欠損はプロデュー病 (常染色体劣性遺伝、運動後の骨格筋弛緩障害)⁵⁴⁾ を、SERCA2 の変異は 2b 型を発現する皮膚表皮角化細胞の細胞間接着異常によるダリエー病 (常染色体優性遺伝角化異常症)^{25, 27, 38-43)} を発症させる (8 章)。なお、心筋では SERCA2 遺伝子から 2a 型アイソフォームが形成・機能するにもかかわらず、ダリエー病患者は心機能異常を伴わない。ダリエー病モデル $\text{SERCA}^{2+/}$ ノックアウトマウスモデルでは、やはり心筋収縮・弛緩機能は僅かに低下するだけだが、一方、皮膚・胃・食道・口腔粘膜・舌・などの扁平上皮では (異常角化ではなく) 加齢と共に細胞がん化が極めて多く観察され、 Ca^{2+} 動態異常とがん化の直接の関連性が指摘されている⁵⁵⁾。

ヒトがんでは、組織依存的に PMCA や SERCA の各アイソフォーム、各種 Ca^{2+} チャネルの発現量が大きく変動していることが観察され、やはり Ca^{2+} 動態変化による細胞周期・アポトーシス・増殖の制御異常とがん化との関連が指摘され、ポンプやチャネルの発現調節を指針としたがん治療が検討されている⁵⁶⁾。またペプチドを結合した SERCA 阻害剤ダプシガージン誘導体が開発され、前立腺がんではその細胞内特異

的プロテアーゼにより阻害剤を活性化させてアポトーシスを引き起こすという戦略の治療が検討されている^{57, 58)}。

ヒトで SERCA2a の発現量の大きな変化は心機能異常と、また SERCA2b の発現量変化は平滑筋組織・血管の過増殖と密接に関連していることが観察され、これら病態の治療戦略としてやはり SERCA2a および 2b の発現量調節が検討されている^{56, 58-60)}。心筋では、特に SERCA2a とその制御蛋白ホスホランバンの量比に注目し、遺伝子導入により SERCA2b の発現量を増大させてホスホランバンのポンプ抑制を相対的に弱める、あるいはアンチセンス DNA / RNA によりホスホランバンの発現量を低下させることにより、心機能を改善できることが培養細胞や動物モデルで示されている⁵⁹⁾。

一酸化窒素 NO は、SERCA2b の Cys674 のグルタチオン修飾を介して Ca^{2+} ポンプ機能を活性化し平滑筋弛緩を促進するとともに、平滑筋細胞遊走を抑制すると指摘されている⁶¹⁾。NO のこの作用は cGMP / PKG 依存性カスケードとは異なる仕組みである。高血糖、高コレステロール血症、アテローム性動脈硬化などの病態では、蓄積した酸化物により Cys674 の（不可逆的）酸化が起り、NO による平滑筋遊走の抑制が阻害されて病態を悪化させると考えられている。

早期発症型家族性アルツハイマーの大部分は、小胞体膜蛋白プレセニン（プロテアーゼ）の変異を原因としたアミロイド β 蛋白の異常凝集によるが、このプロテアーゼ機能欠損に加え、プレセニン変異による Ca^{2+} 動態異常がアルツハイマー発症に関わっていることが、最近指摘されている。⁶²⁻⁶⁴⁾。すなわち正常プレセニンは小胞体からの Ca^{2+} リークを惹起させて小胞体の Ca^{2+} オーバーロードを防ぎ Ca^{2+} ホメオスタシス維持に機能すること、従ってその機能欠損は小胞体 Ca^{2+} オーバーロードと細胞質への過剰 Ca^{2+} 放出を招いて Ca^{2+} 動態異常によるアミロイド β 蛋白の異常凝集促進をはじめとする様々な異常を悪化させ、さらにアポトーシスを引き起こす、というものである。正常プレセニンのこの機能は、SERCA2b との直接相互作用により⁶⁵⁾、 Ca^{2+} ポンプを Ca^{2+} リークチャネルとして機能させることによると予想されている^{66, 67)}。

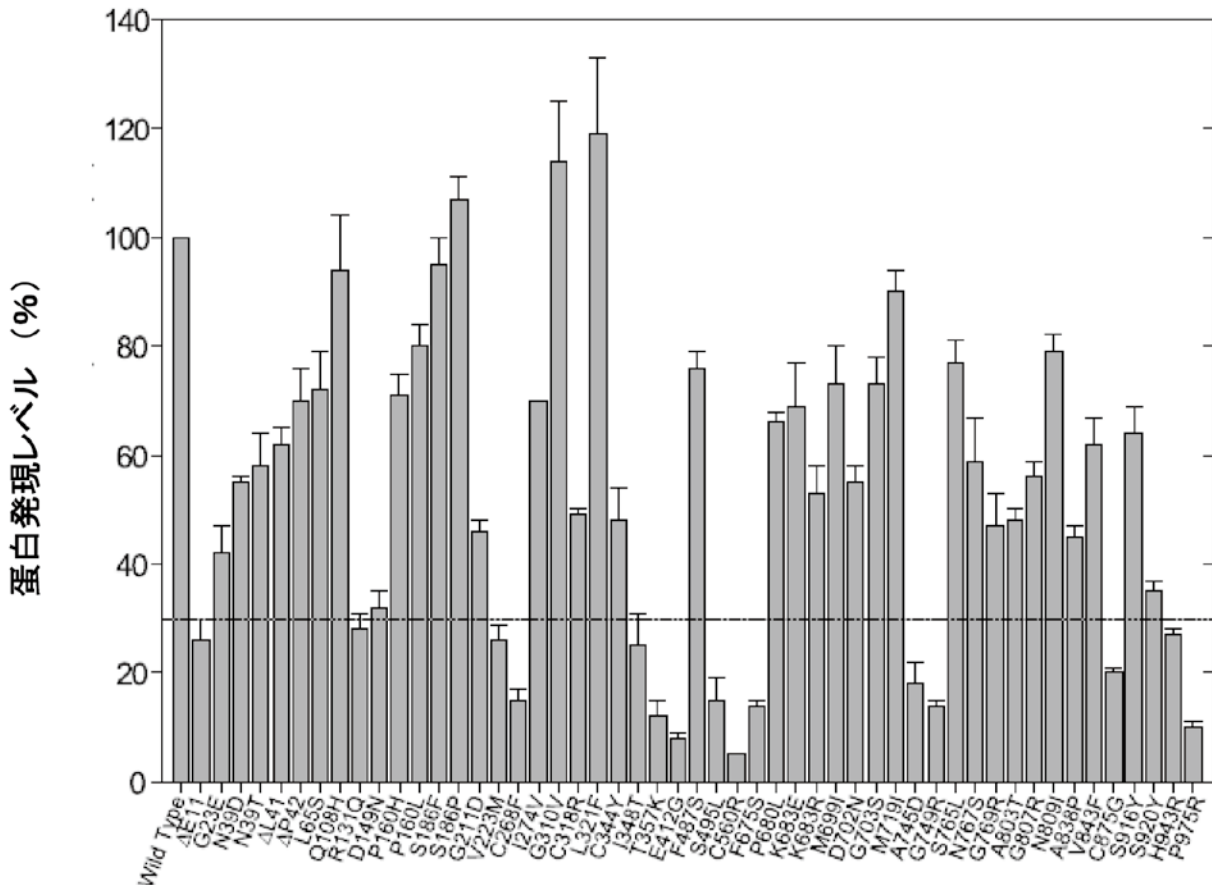
限られた非筋細胞でのみ発現する SERCA3 の発現異常は、組織依存的に発がん、インスリン非依存型糖

尿病 (NIDDM)、高血圧の発症要因の一つであると示唆されている⁵⁶⁾。聴覚・平衡感覚受容器である有毛細胞不動毛には PMCA2 が多量に発現するが、この遺伝子変異により実際、聴覚と平衡感覚・運動に重篤な障害が起こることが動物モデルで観察されている^{68, 69)}。老化と共に発現が減少する SMP30 蛋白は PMCA の活性化因子であり、従って PMCA の活性低下が細胞老化の一因であると示唆されている⁷⁰⁾。また老化促進因子として SERCA のシステイン残基酸化によるポンプ機能低下が指摘されている⁶¹⁾。

8. ダリエー病解析

ダリエー病は SERCA2b 異常により発症する常染色体優性遺伝性角化異常症で、皮膚表皮角化細胞間の接着異常による異常角化と棘融解という組織学的変化を呈する（皮膚症例については、例えば DermIS (Dermatology Information System) の Web site 参照）。発症期は小児期から思春期と遅い。興味深いことに精神遅滞などの症状を伴う場合がある。1999 年にダリエー病原因遺伝子として SERCA2b が同定されて以来、ダリエー病家系の遺伝子解析が世界各国で進められている³⁸⁻⁴¹⁾。SERCA を原因とする病態の中ではダリエー病の解析が顕著に進んでおり、現在までにヨーロッパ・アジアの約 150 家系以上で解析され、 Ca^{2+} ポンプ分子の全域に渡り、家系毎に異なる変異が存在することが明らかとなった。日本人における異常は我々が始めて報告した⁴⁰⁾。150 家系のうち約 6 割程度ではミスセンス変異であり、しかも ATP 分解や Ca^{2+} 結合に必須ではない残基の変異がほとんどであった。そこで我々はミスセンス変異の 51 家系（図 3）について、それぞれの変異が Ca^{2+} -ATPase 蛋白の発現と機能に与える影響を解析した^{25, 27)}。ポンプ蛋白のどのような内容の、そしてどの程度の異常が細胞病態を引き起こすか、細胞 Ca^{2+} 動態異常と病態を理解するためのよいモデルとなるからである。各家系の変異を導入した SERCA2b cDNA を培養動物細胞に transfect し、ポンプ蛋白発現と発現したポンプの機能を野生型と比較解析した。

結果は次のようなものであった。15 の変異体蛋白は mRNA レベルが野生型にほぼ等しいにもかかわらず殆ど発現せず、品質管理システムにより迅速に分解されている可能性が示唆された（図 4）。発現し



ダリエー病変異体

図 4 ダリエー病変異体の発現レベル²⁷⁾

た他の 36 変異体のうち、29 変異体ではその ATPase 活性がほぼ完全に阻害されていた (図 5)。高い ATPase 活性を示した 7 変異体のうち 4 変異体 (N767S, A803T, G807R, V843F) では Ca^{2+} 輸送活性がほぼ完全に消失しており、ATP 分解と Ca^{2+} 輸送が脱共役していた (図 6)。51 家系のうちのこれら 48 家系の変異体では、このように Ca^{2+} 輸送活性が完全に消失しており、従ってこれらの家系では haploinsufficiency により病態に陥ることが分かった。興味深いことに残りの 3 つの変異体 I274V、L321F、M719I は、一見正常な Ca^{2+} 輸送活性と蛋白発現量を保持し、正常に小胞体に局在していた。これら 3 変異は偶然ではあるが、我々が日本で始めて行なった遺伝子解析で見出されたダリエー病 3 家系のものであった^{25, 27, 40)}。詳細な速度論的解析の結果、これらの 3 変異体は、 Ca^{2+} 輸送における 1) Ca^{2+} 親和性の 2~3 倍程度の僅かの低下 (L321F, M719I)、2) ~20-30% 程度の僅かの速度低下 (I274V、

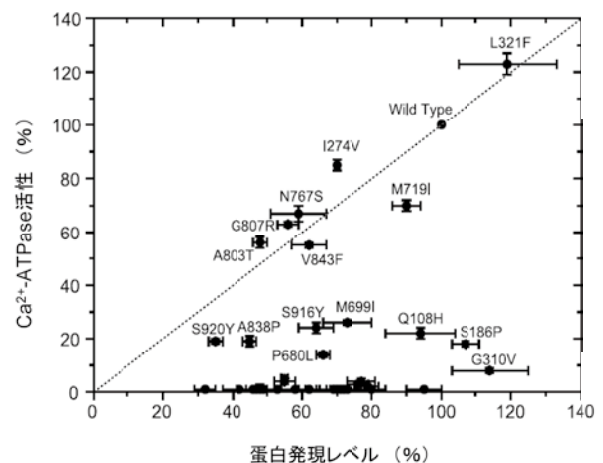


図 5 ダリエー病変異体の Ca^{2+} -ATPase activity 活性と発現レベル²⁷⁾

M719I)、3) 高濃度 Ca^{2+} による阻害に対する感受性低下 (L321F)、のいずれかあるいは複合的な異常を保持していた²⁵⁾ (Table 2)。1) の異常は細胞質 Ca^{2+} の設

定レベルが僅かに高くなることを意味し、2) は Ca^{2+} シグナルへの対応速度が僅かではあるが不十分であることを意味する。3) の変異体は小胞体内腔に蓄積された Ca^{2+} によるポンプのフィードバック阻害に対して感受性が低く、従って内腔 Ca^{2+} レベルを異常に高く設定してしまうことを意味する。51 家系変異の解析から、このように全く異なる内容と程度の Ca^{2+} 動態異常が病態を引き起こすであろうことが分かった。細胞は極めて厳密な Ca^{2+} 制御、微妙な Ca^{2+} 動態のチューニングを必要としている。さらに我々は上記 3) の異常、すなわち小胞体内腔の異常な高 Ca^{2+} レベル設定とこの変異 L321F を有するダリエー病家系の特異的付随症状である重篤な精神症状との関連を指摘し

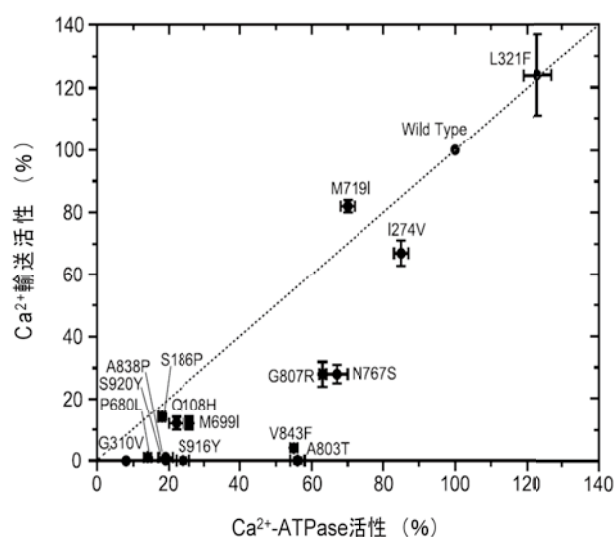


図 6 ダリエー病変異体の Ca^{2+} 輸送活性と Ca^{2+} -ATPase activity 活性²⁷⁾

た。これら 51 のミス変異による異常の速度論的機能解析はまた、 Ca^{2+} ポンプにおけるエネルギー共役機構の理解に深く貢献した。

9. ゴルジ体 Ca^{2+} , Mn^{2+} ポンプ

ダリエー病によく似た皮膚症状を呈するヘイリー・ヘイリー病は、P 型 ATPase メンバーのゴルジ体 Ca^{2+} , Mn^{2+} ポンプ遺伝子 ATP2C1 の変異を原因とする。このポンプは Ca^{2+} だけでなく Mn^{2+} をゴルジ体に汲み上げるが、一方、皮膚組織における局在や細胞における役割など、このポンプについては基本的理解がなされていなかった。そこで我々はヒト正常表皮について解析し、ゴルジ体 Ca^{2+} , Mn^{2+} ポンプは表皮基底層細胞に局在して発現しており、その分化（角化）により形成した有棘層には発現していないことを発見した⁴⁴⁾。さらに、培養ヒト角化細胞に分化刺激を与えて分化させてもゴルジ体 Ca^{2+} , Mn^{2+} ポンプの発現は低下しないが、RNA-interference によりゴルジ体 Ca^{2+} , Mn^{2+} ポンプ発現を抑制すると細胞が分化（角化）することを証明した。これらにより、表皮基底層角化細胞に発現するゴルジ体 Ca^{2+} , Mn^{2+} ポンプは、細胞分化開始シグナル（すなわちゴルジ体 Ca^{2+} , Mn^{2+} ポンプ発現抑制シグナル）が現れるまで、角化細胞を未分化の状態に保つ役割を果たすことを始めて明らかにした⁴⁴⁾。さらに、高い Mn^{2+} 特異性を有するイオノフォアを用いて、ゴルジ体内腔の特に Mn^{2+} レベルの低下が角化の開始に重要であることを示した。これらの発見は、細胞分化プロセスとその異常の分子機序について全く新しい観点からの理解を与えたものであり、今後の研究展開が

Table 2 3つのダリエー病変異体の反応速度論的機能異常特性と症状^{25, 27)}

Kinetic properties of Darier's mutant						Symptoms in Pedigree	
	Expression level (%)	ATPase activity (%)	Ca^{2+} transport activity (%)	$K_{0.5}$ for cytoplasmic Ca^{2+} activation (μM)	$K_{0.5}$ for luminal Ca^{2+} -induced feedback inhibition (mM)	Skin	Neuropsychiatric manifestations
Wild type	100	100	100	0.12	4		
I274V	97.4	63.7	65.0	0.11	4	Mild, onset at age 20, eruption mainly on frontal chest. No DD symptoms in his children.	non
L321F	81.8	100.4	94.8	0.27	>50	Severe, onset at age 20, eruption diffusely on central trunk. Nearly the same symptoms in her daughter.	Neuropsychiatric disorder and behavior problems, also in her daughter.
M719I	88.2	69.4	68.4	0.31	6	Moderate, onset at age 20, eruption mainly on central trunk. No DD symptoms in his children.	non

期待されている。

10. 終わりに

Ca^{2+} ポンプや Ca^{2+} , Mn^{2+} ポンプについての理解がこのようなに進み、これらの異常による多様な病態を分子レベルから理解するための基盤が確立してきている。もちろん今後細胞レベル、組織・臓器レベルで知見を集積する必要がある。他方、PMCA や SERCA の細胞内局在機序、非筋細胞内での SERCA2b と SERCA3 の機能分担、各 Ca^{2+} ポンプと他蛋白との相互作用およびその役割、など今後明らかにすべき細胞レベルの基本的課題が多く残されている。また P 型 ATPase ファミリー全体の基本的課題として、輸送カチオン特異性のみならず、各ポンプの速度論的特性とそれを与える構造基盤を比較・解明することが必須である。何故なら、これらの各分子特性により各カチオンの濃度勾配が適切に設定され、細胞全体のイオンホメオスタシスが形成・維持されるからである。

謝 辞

共同研究者の旭川医科大学生化学講座機能分子科学分野・大保貴嗣、山崎和生、Danko Stefania、Wang Guoli (現、中国医科大学)、Liu Xiaoyu (現、大連医科大学)、吉田雅紀 (現、同志社大学) の各氏、ならびに旭川医科大学皮膚科学講座・飯塚一教授、佐藤克彦氏、宮内勇貴氏 (現、花王 (株)) に御礼申し上げます。本研究の一部は、旭川医科大学・平成 20 年度「独創性のある生命科学研究」、ならびに日本学術振興会・学術創生研究「P 型イオンポンプによる能動輸送機構の構造的解明」(研究代表者・東京大学分子細胞生物学研究所・豊島近教授) により可能となったものであり、ここに深く感謝いたします。

文 献

- 鈴木裕 (2002) シリーズ・バイオサイエンスの新世紀 (感覚器官と脳内情報処理) **12**, 121-128
- 鈴木裕 (2003) 生化学 **75**, 1215-1224
- 鈴木裕 (2005) 生物物理 **45**, 16-21
- 鈴木裕 (2006) 膜 **31**, 120-126
- 鈴木裕、山崎和生、大保貴嗣、Stefania Danko (2010) YAKUGAKU ZASSHI **130**, 179-189
- 鈴木裕 (1998) 蛋白質核酸酵素 **43**, 1610-1621
- 鈴木裕 (2002) 蛋白質核酸酵素 **47**, 1947-1948
- 鈴木裕 (2010) 膜 **35**, 印刷中
- Toyoshima, C., and Inesi, G. (2004) *Annu. Rev. Biochem.* **73**, 269-292
- Toyoshima, C. (2008) *Arch. Biochem. Biophys.* **476**, 3-11
- Toyoshima, C. (2009) *Biochim. Biophys. Acta* **1793**, 941-946
- Ebashi, S. and Lipmann, F. (1962) *J. Cell Biol.* **14**, 389-400
- Danko, S., Daiho, T., Yamasaki, K., Kamidochi, M., Suzuki, H., and Toyoshima, C. (2001) *FEBS Lett.* **489**, 277-282
- Danko, S., Yamasaki, K., Daiho, T., Suzuki, H., and Toyoshima, C. (2001) *FEBS Lett.* **505**, 129-135
- Yamasaki, K., Daiho, T., and Suzuki, H. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 13615-13619
- Danko, S., Yamasaki, K., Daiho, T., and Suzuki, H. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 14991-14998
- Danko, S., Yamasaki, K., Daiho, T., and Suzuki, H. (2009) *J. Biol. Chem.* **284**, 22722-22735
- Daiho, T., Danko, S., Yamasaki, K., and Suzuki, H. (2010) *J. Biol. Chem.* **285**, 24538-24547
- Daiho, T., Suzuki, H., Yamasaki, K., Saino, T., and Kanazawa, T. (1999) *FEBS Lett.* **444**, 54-58
- Daiho, T., Suzuki, H., Yamasaki, K., Saino, T., and Kanazawa, T. (1999) *J. Biol. Chem.* **274**, 23910-23915
- Daiho, T., Yamasaki, K., Saino, T., Kamidochi, M., Satoh, K., Iizuka, H., and Suzuki, H. (2001) *J. Biol. Chem.* **276**, 32771-32778
- Kato, S., Kamidochi, M., Daiho, T., Yamasaki, K., Gouli, W., and Suzuki, H. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 9624 - 9629
- Daiho, T., Yamasaki, K., Wang, G., Danko, S., Iizuka, H., and Suzuki, H. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 39197-39204
- Yamasaki, K., Daiho, T., Danko, S., and Suzuki, H. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 2202-2210
- Sato, K., Yamasaki, K., Daiho, T., Miyauchi, Y., Takahashi, H., Ishida-Yamamoto, A., Nakamura, S., Iizuka, H., and Suzuki, H. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 35595-35603

- 26) Wang, G., Yamasaki, K., Daiho, T., and Suzuki, H. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 26508-26516
- 27) Miyauchi, Y., Daiho, T., Yamasaki, K., Takahashi, H., Ishida-Yamamoto, A., Danko, S., Suzuki, H., and Iizuka, H. (2006) *J. Biol. Chem.* **281**, 22882-22895
- 28) Daiho, T., Yamasaki, K., Danko, S., and Suzuki, H. (2007) *J. Biol. Chem.* **282**, 34429-34447
- 29) Yamasaki, K., Wang, G., Daiho, T., Danko, S., and Suzuki, H. (2008) *J. Biol. Chem.* **283**, 29144-29155
- 30) Liu, X., Daiho, T., Yamasaki, K., Guoli, W., and Suzuki, H. (2009) *J. Biol. Chem.* **284**, 25190-25198
- 31) Yamasaki, K., Daiho, T., Danko, S., and Suzuki, H. (2010) *J. Biol. Chem.* **285**, in press, doi:10.1074/jbc.M110.183343
- 32) Toyoshima, C., Nakasako, M., Nomura, H., and Ogawa, H. (2000) *Nature* **405**, 647-655
- 33) Toyoshima, C., and Nomura, H. (2002) *Nature* **418**, 605-611
- 34) Toyoshima, C., and Mizutani, T. (2004) *Nature* **430**, 529-535
- 35) Toyoshima, C., Nomura, H., and Tsuda, T. (2004) *Nature* **432**, 361-368
- 36) Obara, K., Miyashita, N., Xu, C., Toyoshima, I., Sugita, Y., Inesi, G., and Toyoshima, C. (2005) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **102**, 14489-14496
- 37) Toyoshima, C., Norimatsu, Y., Iwasawa, S., Tsuda, T., and Ogawa, H. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 19831-19836
- 38) Sakuntabhai, A., Ruiz-Perez, V., Carter, S., Jacobsen, N., Burge, S., Monk, S., Smith, M., Munro, C. S., O'Donovan, M., Craddock, N., Kucherlapati, R., Rees, J. L., Owen, M., Lathrop, G. M., Monaco, A. P., Strachan, T., and Hovnanian, A. (1999) *Nature Genet.* **21**, 271-276
- 39) Ruiz-Perez, V. L., Carter, S. A., Healy, E., Todd, C., Rees, J. L., Steijlen, P. M., Carmichael, A. J., Lewis, H. M., Hohl, D., Itin, P., Vahlquist, A., Gobello, T., Mazzanti, C., Reggazzini, R., Nagy, G., Munro, C. S., and Strachan, T. (1999) *Hum. Mol. Genet.* **8**, 1621-1630
- 40) Takahashi, H., Atsuta, Y., Sato, K., Ishida-Yamamoto, A., Iizuka, H., and Suzuki, H. (2001) *J. Dermatol. Sci.* **26**, 169-172
- 41) Wada, T., Shirakata, Y., Takahashi, H., Murakami, S., Iizuka, H., Suzuki, H., and Hashimoto, K. (2003) *Br. J. Dermatol.* **149**, 185-188
- 42) Dode, L., Andersen, J. P., Leslie, N., Dhitavat, J., Vilsen, B., and Hovnanian, A. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 47877-47889
- 43) Pani, B., and Singh, B. B. (2008) *Cell. Mol. Life Sci.* **65**, 205-211
- 44) Yoshida, M., Yamasaki, K., Daiho, T., Iizuka, H., and Suzuki, H. (2006) *J. Dermatol. Sci.* **43**, 21-33
- 45) Sørensen, L-M. T., Møller, J. V., and Nissen, P. (2004) *Science* **304**, 1672-1675
- 46) Olesen, C., Sørensen, L-M. T., Nielsen, C., Møller, J. V., and Nissen, P. (2004) *Science* **306**, 2251-2255
- 47) Olesen, C., Picard, M., Winther, A.-M. L., Gyrup, C., Morth, J. P., Oxvig, C., Møller, J. V., and Nissen, P. (2007) *Nature* **450**, 1036-1042
- 48) Toyoshima, C., Asahi, M., Sugita, Y., Khanna, R., Tsuda T., and D.H. MacLennan (2003) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **100**, 467-472
- 49) Asahi, M., Sugita, Y., Kurzydowski, K., Leon, S. D., Tada, M., Toyoshima, C., and MacLennan D.H. (2003) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **100**, 5040-5045
- 50) Sugita, Y., Miyashita, N., Ikeguchi, M., Kidera, A., and Toyoshima C. (2005) *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 6150-6151
- 51) Shinoda, T., Ogawa, H., Cornelius, F., and Toyoshima, C. (2009) *Nature* **459**, 446-450
- 52) Ogawa, H., Shinoda, T., Cornelius, F., and Toyoshima, C. (2009) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **106**, 5800-5805
- 53) Tsuda, T., and Toyoshima, C. (2009) *EMBO J.* **28**, 1782-1791
- 54) MacLennan, D.H. (2000) *Eur. J. Biochem.* **267**, 5291-5297
- 55) Liu, L.H., Boivin, G.P., Prasad, V., Periasamy, M., and Shull, G.E. (2001) *J. Biol. Chem.* **276**, 26737-26740
- 56) Monteith, G. R., McAndrew, D., Faddy H. M., and Roberts-Thomson, S. J. (2007) *Nat. Rev. Cancer* **7**, 519-530
- 57) Christensen, S. B., Skytte, D. M., Denmeade, S. R., Dionne, C., Moller, J. V., Nissen, P., and Isaac, J. T. (2009) *Anti-Cancer Agent. ME.* **9**, 276-294
- 58) Yatime, L., Buch-Pedersen, M. J., Musgaard, M.,

- Morth, J. P., Winther, A.-M. L., Pedersen, B. P., Olesen, C., Andersen, J. P., Vilsen B., Schiøtt, B., , Palmgren, M. G., Møller, J. V., Nissen, P., and Fedosova, N. (2009) *Biochim. Biophys. Acta* **1787**, 207-220
- 59) Periasamy, M., Bhupathy, P., and Babu, G. J. (2008) *Cardiovasc. Res.* **77**, 265–273
- 60) Lipskaia L., Hulot, J-S., and Lompre, A-M. (2009) *Eur. J. Physiol.* **457**, 673-685
- 61) Tong, X-Y., Evangelista, A., and Cohen, R. A. (2010) *Curr. Opin. Pharmacol.* **10**, 133-138
- 62) Tu, H., Nelson, O., Bezprozvanny, A., Wang, Z., Lee, S-F., Hao, Y-H., Serneels, L., De Strooper, B., Yu. G., and Bezprozvanny I. (2006) *Cell*, **126**, 981–993
- 63) Thinakaran, G., and Sisodia, S. S., (2006) *Nat. Neurosci.* **9**, 1354-1355
- 64) Demuro, A., Parker, I., and Stutzmann G. E. (2010) *J. Biol Chem*, **285**, 12463–12468
- 65) Green, K. M., Demuro, A., Akbari, Y., Hitt, B. D., Smith, I. F., Parker, I., and LaFerla, F. M. (2008) *J. Cell Biol*, **181**, 1107–1116
- 66) Green, K. N., and LaFerla, F. M. (2008) *Neuron* **59**, 190-194
- 67) Jin, H., Sanjo, N., Uchihara, T., Watabe, K., St George-Hyslop, P., Fraser P. E., and Mizusawa H. (2010) *J. Alzheimer's Dis.* **20**, 261–273
- 68) Street, V.A., McKee-Johnson J.W., Fonseca, R.C., Tempel, B.L., and Noben-Trauth, K. (1998) *Nature Genet.* **19**, 390-394
- 69) Takahashi, K., and Kitamura, K. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **261**, 773-778
- 70) Inoue, H., Fujita, T., Kitamura, T., Shimosawa, T., Nagasawa, R., Inoue, R., Maruyama, N., and Nagasawa, T. (1999) *Clin. Exp. Nephrol.* **3**, 261-267

依頼論文

データ集積に基づく手術部運営システムの構築と実践

平 田 哲* 宗 万 孝 次* 本 間 敦**
林 達 哉* 国 沢 卓 之* 柴 山 純 一***

【要 旨】

1976 年の旭川医大病院開院以来 27 年ぶりの手術部再開発に合わせ、手術部運用の効率性・安全性を考え、手術部運営の部門システムを立ち上げた。その内訳は、手術部患者情報管理システム、内視鏡外科統合システム、手術部物品搬送システム、手術部物品管理システム、術中迅速病理診断システムである。構築の上では、システムの IT 化は一つのツールに過ぎなく、施設などのハードの面と人や運用といったソフトの面の連携が非常に重要であった。手術室はチーム医療を代表する職場で、各職種の連携が重要である。それぞれのシステムには、多くの手術部内の職種の方の専門性とアイデアがぎっしり詰まっている。

内視鏡外科統合システムや術中迅速病理診断システムは外科手術の質の向上に貢献した。手術部は、高額診療請求が行われる部署である一方で、高い器械、器材、医療材料を使用する部署でもある。不良在庫の発生等には十分注意しなければならない。鋼製小物や医療材料の供給システムは、鋼製小物の利用頻度や手術材料の準備以外に、在庫管理、手術原価計算、物品ロット管理など、蓄積されたデータを根拠として、安全で効率的な手術部運営を行っていくように構築し、手術件数の増加もこれらのシステムがあって、対応できたと考えられる。

キーワード 手術室、手術室経営、情報管理、物品搬送、物品管理

I. はじめに

2000 年手術部に赴任し、その翌年から病院の再開発に合わせ、手術部の再開発プランの立案をすることになった。当時の問題点として、設備の老朽化や清潔・不潔のゾーニングが不明瞭、動線の交叉の不具合などの指摘があった。また備え付けの放射線機器・顕微鏡などの機器の老朽化や手術術式の変化による新しい手術機器の導入も求められている状況もあった。2004 年の国立大学の法人化における病院運営の変化、診断群分類包括評価による医療費の定額支払い制度 (Diagnosis Procedure Combination: 以下 DPC) の導入も決定していた。全国の国立大学病院も、医育機関として手術医療の進歩や救急の稼働への期待などが高まり、手術室の役割が大きくなっていくことが考えられ

た。手術件数も国立大学病院では 10 年前に比較し、平均 1.5 倍となっている。本院でも 10 年前の 2000 年度は 3645 件であったが、平成 21 年度は 6362 件と 1.75 倍の急激な増加となり、病院経営上、手術部運営の重要性が増してきている (図 1)。

また、再開発プラン立案の時期は、国立大学法人化、DPC 導入による経営上の影響も病院運営にどう変化するか模索状態であった。手術部機能の複雑化や業務の増大が考えられ、今後、具体的にはマンパワーの問題、手技・機器・薬品・医療材料の複雑化、鋼製小物管理の問題、手術支出・収入の高額化などの問題が表面化してくると思われた。特定機能病院では、DPC による入院の包括評価を導入した場合、出来高払いである手術部門の収益が経営的に重要であると想定していた¹⁾。

*旭川医科大学病院手術部 **旭川医科大学病院手術部ナースステーション ***旭川医科大学病院経営企画部

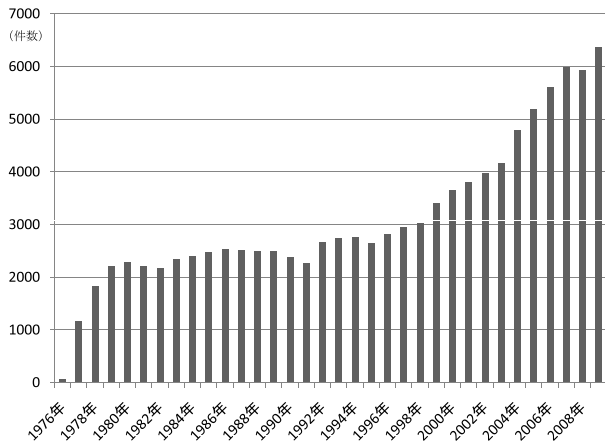


図 1 旭川医大病院の総手術件数の推移

手術部の再開発プランのコンセプトは、患者も、先生方も、スタッフも守る『安全な手術室』、『開かれた手術室』、『手術部門機能の強化』の3点であり、病院の経営向上に大きく貢献することは目的であった。手術部再開発と並行して、以下の手術部内システムの構築をすすめた。

- a. 手術部患者情報管理システム（生体情報のIT化と手術画像の共有化）
- b. 内視鏡外科統合システム
- c. 手術部物品搬送システム
- d. 手術部物品管理システム
- e. 術中迅速病理診断システム

Ⅱ. 導入したシステム

a. 手術部患者情報管理システム

このシステムは患者生体情報のIT化と手術画像撮影・保存の2本柱で構築されている。コンセプトは、『透明性の高い手術室』、『安全性の向上』、『麻酔の標準化と向上』、『スタッフの作業環境の向上』、『経営面の解析が可能』の5点である。情報は、病院情報システム(HIS: hospital information system)から患者情報や手術予定情報など、インターフェースを返して、手術部患者情報管理システムに情報を受け、バイタルなどの術中生体情報や看護支援データ、薬剤使用情報、手術画像情報などを作成していく。それらの情報はWEB配信にて、HISに返す形になっている。

最近の手術では内視鏡下手術や他の手術でも手術画像をモニターで確認しながら進行する手術も多くなり手

術画像の撮影・保存なども考慮しなければならない。画像の共有化は術者のみならず、麻酔科医師、スタッフなども手術の進捗状況が把握でき、安全確保の上でも有用である。また撮影した画像は記録編集され、学生教育や学会等の研究活動に利用されている。手術部内の医学生、看護学生の実習でも、従来、深い視野で見えにくかった場面も大きく見ることが可能となり、教育的に非常に有用である。全ての術野画像を3ヶ月間、サーバに保存することが可能である。インシデント発生の場合での手術画像の取り扱いに関する問題もあり、本院では手術部委員会において、管理責任体制、画像利用許可範囲、インフォームド・コンセントの内容など院内ルールを明確にした。

b. 内視鏡外科統合システム

多くの分野の手術で術後創部痛の軽減した低侵襲化が求められ、傷の小さな内視鏡外科手術の比率が上昇している。内視鏡外科手術では特殊な専用機器が必要であり、手術準備にも時間と労力がかかるため、2つの手術室に専用の内視鏡外科統合システムを導入した。内視鏡外科統合システムは、気腹器、光源、CCDコントローラとそれらをコントロールするコンピュータを搭載したシステムであり、専用のシーリングペンダントに搭載されている。内視鏡外科統合システムはKarl Storz社OR-1で、術野画像は本邦初の30インチ液晶モニターを用い、従来、手術室内を暗くしていた内視鏡手術であったが、明るい手術室環境での手術も可能となった。本手術室に導入後、国内の各施設からの問い合わせがあり、その後、多くの国内の施設で同様のモニターが使用されるようになった。また、可動式内視鏡外科統合システム(Olympus社、ENDO-alpha)も2セット導入し、全ての手術室内で内視鏡外科手術が可能となった。また画像撮影および保存するシステムは全て壁周りに収納した。

c. 手術部物品搬送システム

手術時に使用する鋼製小物(手術器具)の搬送のために導入されたシステムであり、コンセプトは、『材料部からの長い搬送経路への対策』、『清潔領域内での運用の効率化』、『低騒音と低振動』、『鋼製小物の利用数の把握』である。手術予定に合わせ、クリーンスペースである外周廊下の天井側を走行している。材料部か

ら洗浄滅菌された器材を、バーコード化したコンテナに入れ、一旦ストッカー（倉庫）に保管する。オーダーリングにあわせ、自動搬送ロボット（石川島播磨重工業製トランスライナー：図2）が各手術室へ搬送している⁶⁾。本システムはHISに連動し、24時間稼働で定期手術のみならず臨時手術を含め全ての手術に対応ができる。各部屋からも操作が可能であり、緊急時にはセットを準備する手術室を変更することも容易に出来るようになっている。



図2 搬送装置（トランスライナー）

外周廊下は清潔区域であり、手術の準備が次々となされ、ターンアラウンドタイムの短縮がはかられた。本システムの導入効果として、手術器械の準備業務時間の短縮が図られ、スタッフの肉体的、精神的負担も軽減した。使用した手術材料等の履歴から、欠品情報が明確化し、手術器材の正確な配分が可能となった。鋼製小物の新規購入と更新については、院内の材料部委員会にて、各診療科の要望も含め検討してきた。セットの追加・内容の変更については、手術部および材料部スタッフの日々の業務より検討されてきた。すなわち鋼製小物の不足のために、手術日や入室時間を変更している場合が続く場合には、事務と相談し、適宜、追加購入を要求してきた。しかし、そこにはこれまで利用頻度の数的根拠はなかった。本手術部で使用している主な鋼製小物のセットは111種類あり、利用頻度は本システムによって、各手術室への搬送回数の履歴が残る。たとえば、本院では、手術に使用する鋼製小物の血管外科基本セットは従来4セット有していた。2006年の秋頃までは平均使用頻度は月10数回であったが、秋からの救急体制の強化により、同セットを使用する手術も増加することが見込まれ、2007年2月

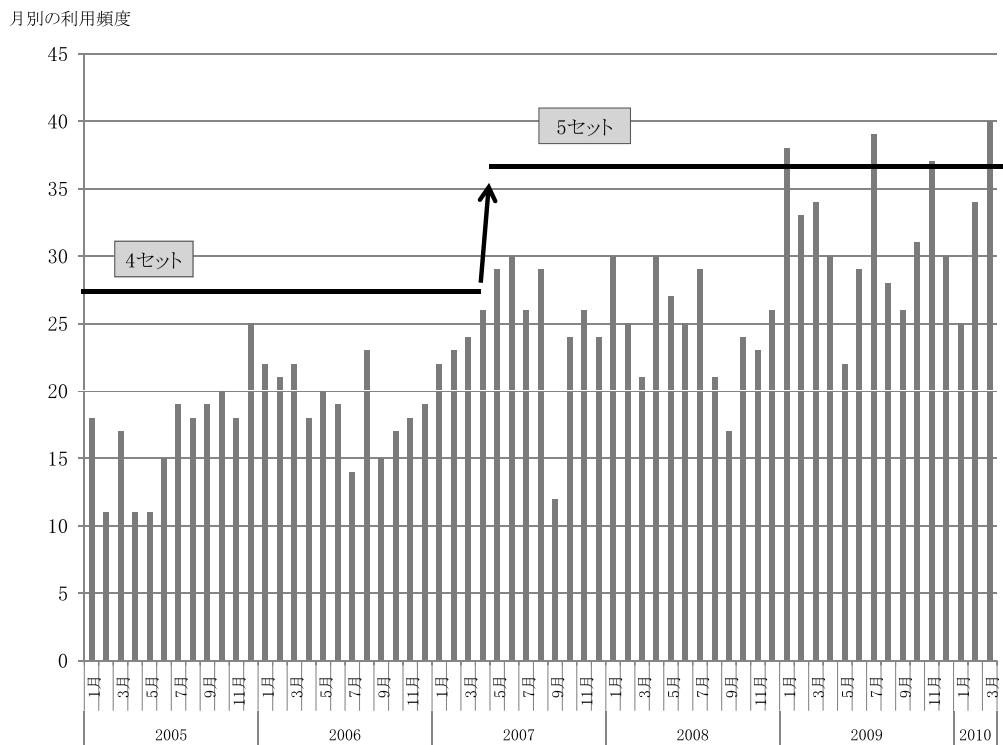


図3 血管外科基本セット数

に1セット追加した。その後の利用頻度は平均で20数回となり、1セット追加購入が有効であったことがわかる(図3)。

d. 手術部物品管理システム(図4)

手術部の物品管理にかかる問題点としては看護業務・看護助手支援の問題と、物品管理業務支援の問題があった。看護業務面では、手術部内の物品管理責任が明確でない、医療材料の準備、後片付け業務が煩雑であったという点があった。物品管理業務面からは、消費情報(在庫状況・欠品情報)が不明、患者単位でコスト(収支)が把握できない、50%以上の材料がマスタに存在しないため、消費情報が発注源別でわからない。などの問題があった。また、手術部門の日常の問題点では、預託在庫の問題(立会い業務の問題)、在庫管理・不良在庫の問題、ロット管理(滅菌期限管理など)などの問題もあった。

これらの問題を解決することを意識し、手術部物品管理システムを導入した^{2),3),4),5)}。このシステムは、病院情報システム(HIS)および手術部患者情報管理システム(ORSYS)の間で情報のやり取りがなされ、患者情報や術式情報にあわせ、医療材料のセット準備を行うためのシステムである。データに基づいた安心感のある看護師・看護助手業務支援が可能となり、看護師、看護助手の術前準備、物品に関わる雑務、術後の片付けなどの実質的な業務削減がはかられた。このシステムは基本的にはバーコードを用いた物品管理システムで、業務支援として術式別の材料セット準備・供給回収をおこない、術式別原価管理データ集計をおこなうことが可能となった(図4)。特徴はシステムだけの導入ではなく、運用面も考慮した専任外注職の予算化もおこい人員を確保したことである。したがって、

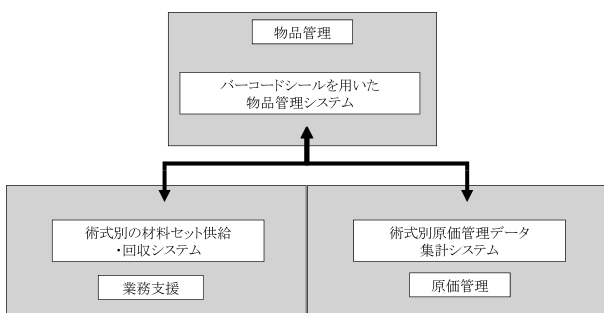


図4 手術部物品管理システム(MASTY-OR)の構築

このシステム運用には、手術部スタッフの直接的な労力は必要としていない。

今回のシステム導入による効果としては、看護業務支援として、データに基づいた安心感のある業務支援が可能となり、看護師の術前準備・術後片付け作業が軽減した。物品管理業務支援としては、システムにより手術材料の標準化がおこなわれ、システム導入による効果として収支分析が可能となった。すなわち、支出情報としては人件費、薬品購入費、特材購入費、一般材料購入費が入力され、収入情報として手術料、麻酔料、その他の手技料、薬価、償還金額が入れられる。手術料、麻酔料、その他の手技料などの請求情報は、医事課より約1ヵ月後に手術ごとの請求額データが入力され、人件費は手術に入った医師、看護師数と手術時間、在室時間から算出可能とした。ただし、建物や大型医療機器などの減価償却費や部屋ごとの光熱費などは入っていない。この結果、本手術部で行われた全手術収支、診療科別収支(図5)、術式別収支、術者別収支などが計算でき、院内職員への情報提供と経済性の認知がもたらされることとなった。また、術式ごとの使用材料の標準化も可能となった。定期的に手術で使用了材料などのデータを院内に提示し、適正な物品管理や在庫管理に利用可能となり、術式別に材料費支出の割合も集計できるようになった(図6)。システムにより標準化されたデータ(セット表・物品特性・手術段階・在庫情報・材料使用実績)が得られ、その他に滅菌期限管理(滅菌期限の把握、ロット管理情報)も可能となった。医療材料の全体消費量、高額な医療材料が特に多い手術部において、診療経費を管

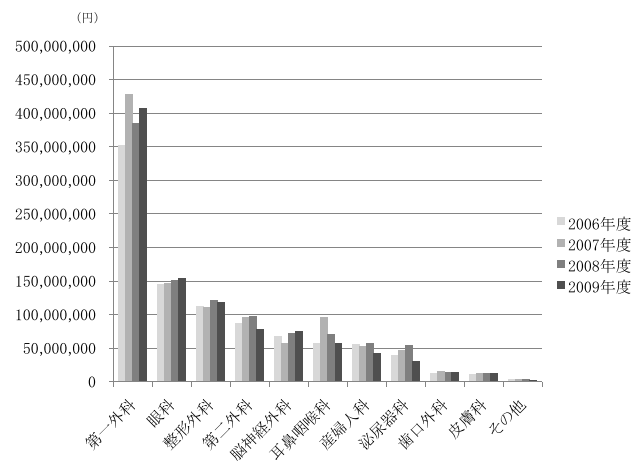


図5 診療科別収支の変動(年度別)

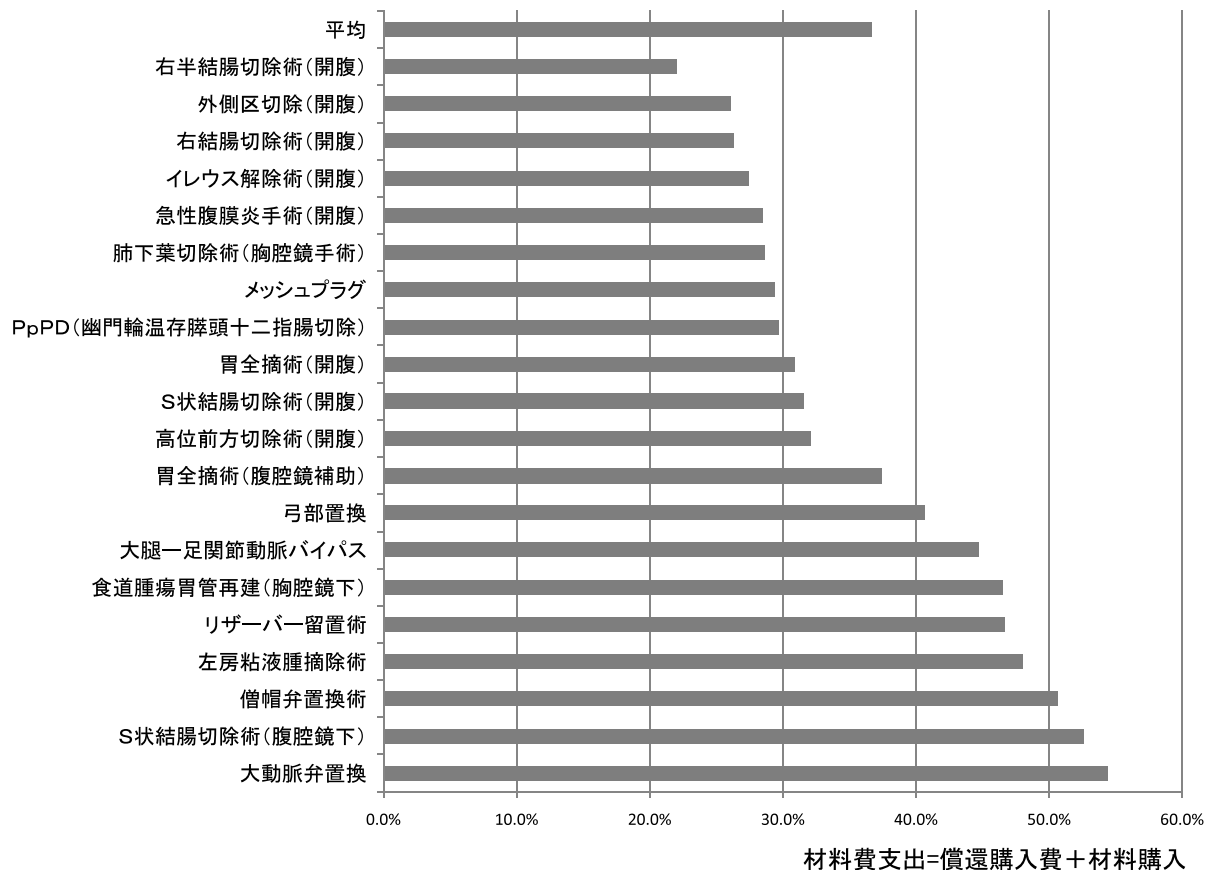


図6 術式別の材料費支出の割合

理することは、単に費用削減ということに留まらず、物品管理業務の省力化と手術スケジュールに合わせた在庫の確保による欠品リスクマネジメントに通ずる意義も大きく、医療の質を上げるうえでも重要である。

e. 術中迅速病理診断システム

手術の低侵襲化と質の向上のために、腫瘍外科手術において術中迅速病理診断の機会が増える可能性が考えられた。以前は病理部と手術部の距離が離れていたが、今回の再開発で、同じ3階フロアに位置することにより、標本移動の動線が改善し、血液や体液が手術部以外に汚染する危険も回避できた。同システムは本邦初の試みであり、病理診断室から手術部のサーバに顕微鏡画像データが送られ、そこから各手術室の映像表示モニタに映像が出される。また、各手術室の映像や術野画像はサーバから逆に病理診断室に送られる。手術の質の向上と手術室運用に貢献できたと考えられる。このシステムでは特殊なニコンのCOOLSCOPEという箱型の接眼レンズの無い顕微鏡を導入した。画像はPCモニタ上に表示され、ピントは自動調整され

る。対物レンズは、x5 と x20 あるが、追加機能として、光学的機構とデジタルズーム機構により最大 x1000 ぐらいまでの像も観察可能となっている。システムの導入効果は、顕微鏡画像情報の共有化により、画面を見ながらディスカッションも可能となり、迅速診断の内容が理解しやすくなった。

Ⅲ 考 察

以前の大学病院では、手術時の経済性を考えずに手術をしていた時代もあった。しかし今は医療経済を考えずに、手術する執刀医はいない。本院でも 1990 年代後半より増加が続き、10 年前の 2000 年度は 3645 件であったが、平成 21 年度は 6362 件と 1.75 倍の急激な増加となった(図1)。病院経営上、手術部運営の重要性が増してきている。

今回の再開発に合わせ、いくつかの手術部内のシステムを運用と連携させながら構築した。使用した鋼製小物や医療材料などの利用頻度が明確となった。また医療材料では使用した個々のロット管理もなされ、滅菌期限切れなどの防止に役立っている。術式ごとに使

用された材料も集計でき、たとえば、循環器外科や肝臓、脾臓外科手術での使用した特殊縫合糸の種類とコストなどを調査可能となった^{7), 8)}。手術部位感染防止を目的として使用する吸収性縫合糸の使用状況なども調べ報告し、これらの結果から関係部署に、適正な手術手技料、加点などを要求することができる根拠を作成することができた。手術部は、多くの術式での材料、薬剤などの利用状況をきちんと把握し、改善を図っていくことが大切である。

院内にある銅製小物の保守管理のための予算や、新規購入などの予算は、多くの施設で材料部と手術部の更新計画などを病院に提示し、病院トップの承諾をえて確保される。年間 6000 件の手術件数レベルの本院においては、銅製小物の資産は 4 から 5 億円になると思われるが、保有している銅製小物の正確な資産金額は多くの病院で明確ではない。手術器具はその利用頻度やその特徴から少なくとも数年から 10 年程度で更新をしていかなければならない。そのような更新計画も現場スタッフの経験だけでなく、根拠ある数値が必要となる。今回導入した搬送システムでは、使用頻度が明確に履歴に残り、更新や新規購入計画の基礎データとなっている。医療材料の全体消費量、高額な医療材料が特に多い手術部において、診療経費を管理することは、単に費用削減ということに留まらず、物品管理業務の省力化と手術スケジュールに合わせた在庫の確保による欠品リスクマネジメントに通ずる意義も大きく、医療の質を上げるうえでも重要である。

他の内視鏡外科統合システムや術中迅速病理診断システムは、手術医療の質の向上に直接的に大きく貢献している。このようなシステムの導入は再開発などの施設の改修や新築の際に運用面と並行して構築することが可能である。そのような機会はそうないが、手術部スタッフや関連する部署の職員の皆さんのご協力で実現できた。

IV. 結 論

手術部運用の効率性・安全性を考え、手術部運営の部門システムを立ち上げた。システムの IT 化は一つのツールに過ぎなく、構築の上では建物や器械などの

ハードの面と人や運用といったソフトの面の連携が非常に重要であった。手術室はチーム医療を代表する職場で、各職種の連携が重要である。内視鏡外科統合システムや術中迅速病理診断システムは外科手術の質の向上に貢献した。銅製小物や医療材料の供給システムは、銅製小物の利用頻度や手術材料の準備以外に、在庫管理、手術原価計算、物品ロット管理など、蓄積されたデータを根拠として、安全で効率的な手術部運営をおこなえている。

参考文献

- 1) 中田精三：手術部における使用器材費用から見た術式の検討. 手術医学; 24: 113-117, 2003
- 2) 山上浩志、柴山純一、平田 哲ほか：経営基盤を強固にする物流・経営・管理会計システム. 旭川医科大学病院での経営管理システム基盤の構築. 新医療. 58-61, 2006
- 3) 柴山純一、平田哲、瀬川澄子ほか：診療材料管理システム化の検討（第 1 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ント部門連絡会議論文集. 92-95, 2006/11/25
- 4) 平田 哲、瀬川澄子、宗万孝次ほか：術式別原価計算システムから見える手術室の効率的運営. 日本手術医学会誌 28 巻 22-25, 2007
- 5) 柴山純一、平田 哲、子守林 訓ほか：手術部部門システムによる病院経営効率の実績. 新医療. 114-117, 2007
- 6) 山本和則、病院内物流システムの紹介. 包装技術 6. 546-55, 2003
- 7) 田林暁一、高木眞一、平田哲ほか：心臓血管手術時に使用する特殊縫合糸使用実態の他施設調査. 日本外科学会雑誌 第 108 巻 第 3 号 153, 2007
- 8) 國土典宏、兼松隆之、平田哲ほか：肝臓手術と脾臓手術における特殊縫合糸使用実態に関する他施設調査－経営的側面からの考察. 日臨外会誌 68(5), 1077-1081, 2007

Construction and the practice of the section system of the operation department based on data accumulation

HIRATA Satoshi*, SOMAN Kohji*, HONMA Atsushi**, HAYASHI Tatsuya* and
KUNISAWA Takayuki*, SHIBAYAMA Junichi***

Summary

We started up the section system of the operating room (OR) management in consideration of the efficiency and the safety of the OR operation. The system consists of the clinical information management system in OR, the integrated endoscopic surgery system, auto-transfer supply system, the OR article stock and control section and the pathological diagnosis system.

For the establishment of the system to integrate these sections, the information technology (IT) was a mere tool and it was considered important that the linkage of the software as personnel management with the hardware as equipment is mandatory.

As the OR is the workplace representing the team medical care, the cooperation among different teams is necessary with the help of the staff's expertise and idea.

For instance, the cooperative work of both the integrated endoscopic operation system and the pathological diagnosis system led to the immediate improvement of the quality of the surgery.

On the other hand, a great deal of money claim for the diagnosis and treatment is performed in the OR by using and spending expensive apparatus, tools, and materials, so we have to be aware of the generation of the dead stock.

We were able to operate the OR not only by assuming the logistics based on the usage frequency and the kind of the operation materials but also by reckoning the stock control, the operation cost accounting and the management of the lot of the articles.

Key words OR, Surgical operation management, Information management, Operation materials transportation,
Operation materials management

* Asahikawa Medical University Hospital, Surgical Operation Center

** Asahikawa Medical University Hospital, Nursing Department

*** Asahikawa Medical University Hospital, Department of Management Planning

依頼論文

テレパソロジー —10 年間の軌跡—

三代川 齊 之*

【要 旨】

本学における遠隔医療は、1994 年本学初の遠隔医療実験が眼科学講座において成功したことから始まりました。5 年後の 1999 年には全国初の遠隔医療センターが本学に開設され、2000 年には本学最初のテレパソロジー（遠隔画像病理診断）が遠隔医療センター内病理診断室と名寄市立総合病院との間で実施されました。この症例以来既に 10 年の歳月が経過したことになります。開始当初に経験した数多くのトラブルを克服しながら現在まで 480 件のテレパソロジーを経験してきましたので、開始当初の問題点と現在までのテレパソロジー症例の総括をさせて頂きます。また、10 年間の経験を通じて感じてきたテレパソロジーに内包する問題点や今後の展望についても考案させて頂きます。

キーワード 遠隔医療、テレパソロジー、問題点、将来展望、病理専門医

1 はじめに

遠隔医療とは、「映像を含む患者情報の伝送に基づいて遠隔地から診断、指示などの医療行為（Telemedicine）及び医療に関連した行為（Telecare）を行うこと」（#1）と定義されています。

これは平成 12 年度（旧）厚生省科学研究費補助金・医療技術評価総合研究事業として、（財）医療情報システム開発センターが推進した「医療情報技術の総合的評価と推進に関する研究」の遠隔医療に関する研究班がその報告書の中で定義したものです¹⁾。この定義にはいくつかの特徴があります。第一に、「映像を含む」としていることです。遠隔医療という医療形態が映像伝送を利用することではじめて可能となる新しい医療形態であるという認識の下での定義なのです。第二に、遠隔医療には在宅医療支援も含められるべきであるとの考え方から「遠隔地から」という言葉のみで、特に発信元や発信先が医療機関であるか否かを規定していません。第三に、「医療行為及び医療に関連した行為」

という表現にして「医療行為」のみとせず、「遠隔医療」が福祉との接点をも扱うことを想定しています。第四に、伝送と医療行為とが即時的に行われる必要性がないことです。例えば、X 線写真の読影のようにバッチ処理後にまとめて読影し、翌日あるいは数日後に読影結果を送信側に返送することも可能であるということです。

ではこのような遠隔医療の定義は日本だけのものな

#1

遠隔医療の定義

日本：「医療情報技術の総合的評価と推進に関する研究」班研究報告書

「映像を含む患者情報の伝送に基づいて遠隔地から診断、指示などの医療行為（telemedicine）及び医療に関連した行為（telecare）を行うこと」

米国：「Telemedicine Related Activities, 11 July 1996」(CDRH)

The delivery and provision of health care and consultative services to individual patients and the transmission of information related to care, over distance, using telecommunications technologies, and, incorporating the following activities:

- i. Direct clinical, preventive, diagnostic, and therapeutic services and treatment, including procedures where a provider may be present with the patient, and clinical training and consultative clinical Grand Rounds, if used for decision making regarding the clinical care of a specific patient.
- ii. Consultative and follow-up services.
- iii. Remote monitoring, including the remote reading and interpretation of results of patient's procedures.
- iv. Rehabilitative services.
- v. Patient education provided in context of delivering health care to individuals.

*旭川医科大学病院病理部

のでしょうか？

米国の医療行政を所管する Food and Drug Administration (FDA) の Devices and Radiological Health (CDRH) 部局では米国における遠隔医療 (telemedicine) を監督しており、“telemedicine” を下記のように5項目の具体的内容を添えて定義しています²⁾。

The delivery and provision of health care and consultative services to individual patients and the transmission of information related to care, over distance, using telecommunications technologies, and, incorporating the following activities:

- i . Direct clinical, preventive, diagnostic, and therapeutic services and treatment, including procedures where a provider may be present with the patient, and clinical training and consultative clinical Grand Rounds, if used for decision making regarding the clinical care of a specific patient.
- ii . Consultative and follow-up services.
- iii . Remote monitoring, including the remote reading and interpretation of results of patient's procedures.
- iv . Rehabilitative services.
- v . Patient education provided in context of delivering health care to individuals.

両国とも「普遍的」「伝統的」定義であり、いずれも国内での定義として受け入れられているものと考えられます。

これに対し、米国における遠隔医療に関する協議会の一つ American Telemedicine Association (ATA) は、HP のなかで、将来的な情報通信技術革新に対応すべく下記のようなより幅広い定義を提唱しています³⁾。

“Telemedicine is the use of medical information exchanged from one site to another via electronic communications for the health and education of the patient or health-care provider and for the purpose of improving patient care.”

即ち「どのような情報」が「どのような仕方で伝送」

され、そうした情報が「どのように利用されるかに拠らない」包括的な定義で、例えば、伝送された患者のデータがコンピューターによって解読・分析される場合であっても、それが患者のケアの質を高めるものであれば「telemedicine」として各種保険適用の範囲内として認められるべきであるという考え方です。将来的に、日本でもこのような定義の医療関連行為をも含んでいく可能性はあるものと考えられます。

さて、日本における最初の遠隔医療に関する実験は、1971 年の和歌山県での心電図伝送実験が臨床応用実験とされています。以後数々の遠隔医療実験が試みられてきましたが、本学においても 1994 年、眼科学講座が余市の病院との間で遠隔医療に成功しています⁴⁾。1996 年には厚生省の「遠隔医療に関する研究」班が立ちあげられ、東大の開原成允先生を主任とした病理診断関連部門の遠隔医療実験も展開されることとなりました。その研究班の提言を基に、1997 年には医師法第 20 条の解釈が拡大されることとなり、実際に目の前で患者様を見なくとも遠隔地で画像伝送を通して医療行為を行うことが可能となりました。これを期に遠隔医療が実験的なものから実践的なものへと変革して行きました。その間、本学においては眼科学講座を中心に遠隔医療実験が積極的に行われており、その実績により 1999 年全国初の大学内遠隔医療センターが開設されることとなりました。病理部が参画する病理診断関連部門の遠隔医療は 2000 年より遠隔医療センター内病理診断室にて開始されることとなります (#2)。

病理診断関連部門の遠隔地医療を「Telepathology (テレパソロジー)」と言いますが、一般的には略して「テレパソ」と呼んでいます。肉眼画像や顕微鏡画像などの病理画像をコンピューターと通信ネットワークを用いて遠隔地に伝送して病理診断やコンサルテーションを行うものです。送信側は組織検体の肉眼像や顕微鏡像・患者情報などをコンピューターを介して送信し、受信側はコンピューターのモニター画面を見て病理診断をすることとなります (#3)。このテレパソロジーは、主に遠隔病理画像診断、特に術中迅速病理診断 (Gefrierschnitt [独], Frozen [英]) を対象として実施されることが多いのですが、その他にも病理医間での画像コンサルテーションやセカンドオピニオン、遠隔地

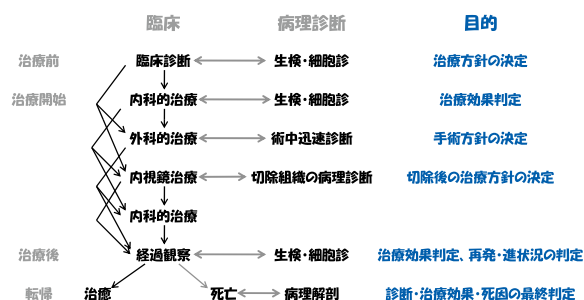
#2

日本の遠隔医療の歴史

- 1971年** 和歌山県内でのCCTVおよび電話線を用いた映像による患者の診察・心電図伝送及びFAXによる文章伝送実験
- 1972年** 電電公社による関東通信病院と青森通信病院間の患者の問診、透視、撮影及び姿勢制御等のX線TV遠隔診断実験
- 1974年** 長崎大学のCCTVによる病院間テレカンファレンス
- その後
沖縄県 静止画像を用いた僻地包括医療情報システム構築実験
長野県諏訪中央病院 CATV網を利用した在宅治療支援システム構築実験
東大・慶応大学・京都府立大学・東北大学 テレパノ実験開始
- 1994年** 旭川医大眼科初の遠隔医療に成功(旭川医大⇄余市)
- 1996年** 厚生省「遠隔医療に関する研究」班(高木幹夫班 主任:関原成允)
- 1997年** 厚生省 医師法第20条の解釈の拡大により遠隔医療を認める
- 1999年** 本学附属病院遠隔医療センター開設
- 2000年** 本学遠隔医療センターにてテレパノロジー開始

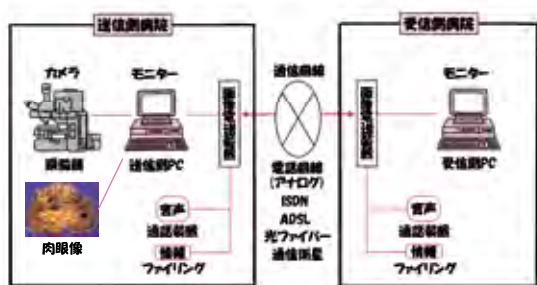
#5

臨床と病理診断の関係



#3

病理画像伝送はどうやるの？



#4

テレパノで出来ること

- 遠隔病理画像診断
- 特に術中迅速診断
- 遠隔病理画像コンサルテーション
- 遠隔症例検討会
- 遠隔病理画像教育
- 遠隔病理画像セカンドオピニオン

の病院間での症例検討会や教育への活用も実際に行われています (#4)。

ところで「病理診断とは?」「どのような時にする検査?」「術中迅速病理診断って?」と問われてきちんと正解を答えられる人はどれくらいいるのでしょうか?医療関係者でも難しい質問かもしれません。少な

くとも米国では一般の 90% の人がかなり正解に近いところまで説明できるそうですが、日本ではきちんと説明できる人は 10% 以下というアンケート結果があるくらいです。

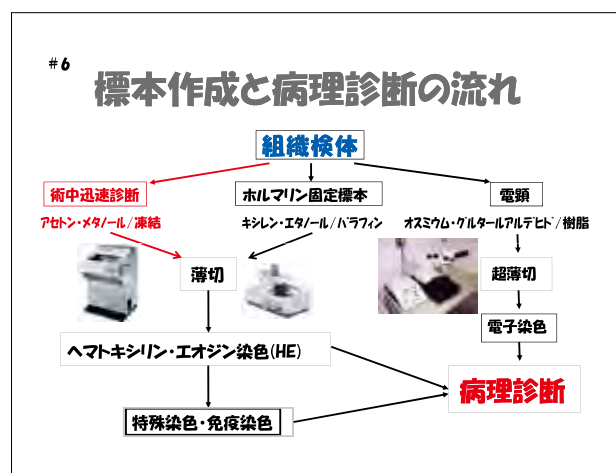
病院ではどのような時に病理検査をしているのかを治療との関係で示します (#5)。右側にあるようにその時々で病理検査の目的も変わることとなります。では、病理診断がどのようにされているかと言うと、臨床の先生方が検査の一部として組織の一部を齧り取ってくる生検材料や治療の一環として行われる外科的治療により摘出された臓器材料といった組織検体を、通常はホルマリン固定し、5 μm 程に薄切し、HE 染色して顕微鏡で見て診断します。HE 標本だけで診断が付かない時は、特定の細胞を特定の色に染め分ける特殊染色や特定の抗原・蛋白質を有する細胞を染め分ける免疫染色といった特殊な染色を活用して診断します。また、ある特定の疾患では細胞内外の超微小構造物が診断の鍵となる場合があり、そのような疾患を疑った場合は超微小構造を検討できる電子顕微鏡による電顕診断をすることとなります。さらに、「本当に癌なのかどうか?」「癌が取り切れているか?」「癌のリンパ節への転移はないか?」などの問題を解決するために外科手術の最中に組織の一部をとって凍結標本を作成し HE 染色のみで診断することもあります (#6)。手術中に 20 分程の短時間で標本作製から病理診断までを行うことから「術中迅速病理診断 (迅速診断)」と呼ばれています。術中迅速病理診断は、手術中に良性疾患か悪性疾患かなどの判定も可能ですので手術回数の減少・患者様の精神的負担や経済的負担

の軽減・医療費の軽減にも寄与することが知られています（#7）。実際、肺の結節性悪性病変に関しての試算では、術中迅速病理診断ができて1期手術で済む場合と胸腔鏡下手術と開胸手術の2期手術の治療が必要な場合で1症例につき約60万円、医療統計に基づいた胸腔鏡下肺切除術の年間症例数の1割が悪性腫瘍と仮定すると年間約200億円～250億円の医療費削減に繋がるのです⁵⁾。肺の結節性病変だけでもこの額ですから全臓器となると桁違いの医療費削減に貢献できる検査であることが判るかと思えます。

当院の迅速診断は、病理部内の迅速診断室で標本作成、診断がなされます。当院の迅速診断室にはいくつかの国内初の工夫がなされています⁶⁾。第一に、検体は手術部の廊下にある専用窓口から病理部迅速診断室にいる病理医のもとに直接手渡されます。その場で肉眼写真撮影可能で、臨床医との直接の情報交換も出来るようになっていきます（#8）。臨床医は手術部から出

る必要がないため改めて手洗いをする必要がありません。このシステムは米国の有名な大病院では手術部内に手術室と同数の病理診断室が廊下を挟んで並んでいるような病院が多いため普通に行われていることですが、本邦の国立大学法人の附属病院では初のことでした。第二に、迅速診断室では本学の遠隔医療センターの画像伝送システムを活用し手術室の全景や術野映像を確認出来ます。手術の進行状況をチェックできることにより迅速診断用の検体が何時ごろ提出されるか想定することが可能です。さらには、診断結果の根拠となる顕微鏡画像を手術室の執刀医に直接画像配信することが可能で、結果を口頭連絡するばかりでなく、手術室と迅速診断室で顕微鏡画像を見ながらディスカッションすることが可能となっています（#9の一番左側のモニターが顕微鏡画像用モニター）。

では、病理医のいない病院では迅速診断は出来ないのでしょうか？「否」、凍結標本作製設備と画像伝送



#7 術中迅速病理診断

- ◆ 手術などで、すぐに診断結果が欲しい場合に利用される組織検査方法で、通常の組織検査と違って、組織を凍らせて薄切標本を作製
- ◆ 手術中の病理診断結果に基づいて、手術範囲を決めたい、より適切な手術方法を選択することができる。たとえば肺に腫瘍があるとき、迅速病理診断の結果、ガンとわかれば肺切除手術などを行い、良性であれば大掛かりな手術をしないですむ。術中に良性悪性を判断できれば手術回数も少くなるので、術中迅速病理診断は患者様の負担や医療費の低減に寄与する。



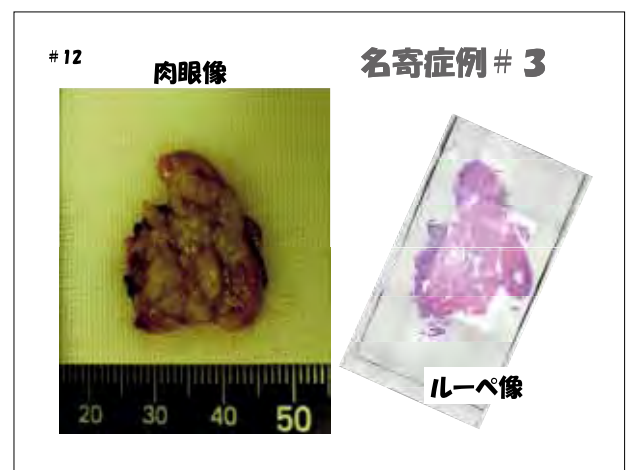
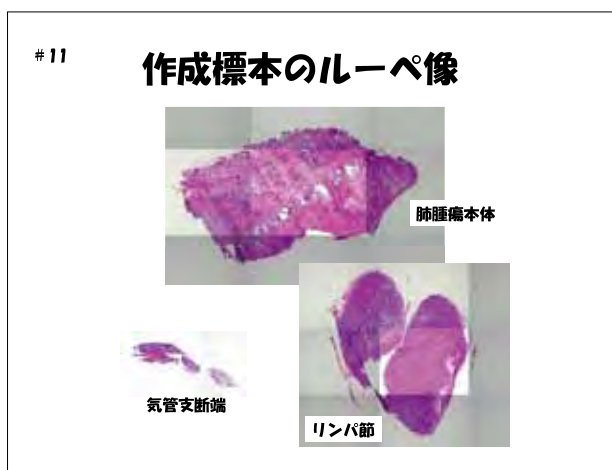
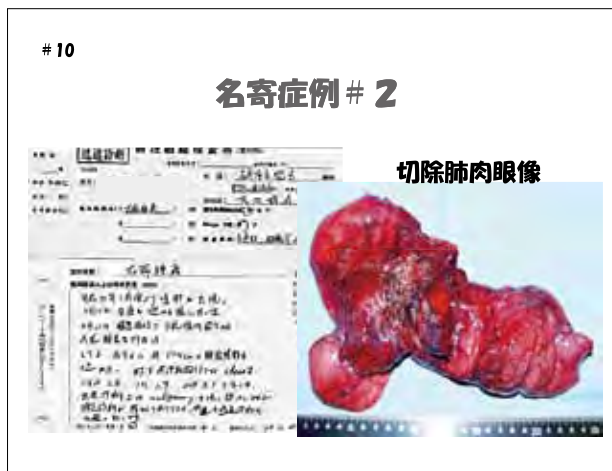
設備および標本を作製できる検査技師がいればテレパソロジー（テレパソ）により可能となります。但し、術中迅速病理診断は、通常の病理組織診断と異なりホルマリンによる細胞固定を省略し凍結状態で作成するため薄切技術に熟練している必要があります。ほとんどの細胞は胞体内に約 90% の水分を有しています。薄切時も組織検体は凍結状態であるため細胞は体積が非凍結時の 1.1 倍程になっておりちょっとした刺激で細胞膜が破れやすい状態となっています。凍結状態での薄切では検体の一部が標本とならないことや検体の一部が挫滅して所見が取れないようなことも往々にしてあり、綺麗な標本を作成するには十分に標本作製技術を習得した検査技師が細心の注意を払って作成する必要があるのです。

それでは、ここでテレパソ開始時の名寄市立総合病院の数症例を検証してみます。

最初は肺癌の症例（名寄症例 #2）です。顕微鏡の最少倍率（ルーペ像）の画像が送られてくる前に依頼書と切除標本の肉眼写真がまず送られてきます（#10）。この症例では腫瘍本体、気管支断端、肺門リンパ節の 3 検体が術中迅速診断用に標本作製されました（#11）。それぞれの標本の確認に 15 ~ 20 分ほどの画像取り込み時間と標本を乗せ換えるたびにタイムラグ 5 分程かかり、画像取り込み枚数 45 枚、診断時間合計 90 分程を要しました。標本も傷が付いていたり検体の一部が標本になっていないのが判ります。特に気管支断端は全周が検体として提出されたのですが標本に出来たのは約 1/3 周の部分のみであることが判ります。

2 番目の症例は、膀胱癌の腫瘍本体と断端検索の症例でした（名寄症例 #3）。この時は断端に関しては標本作製に慣れたのか肉眼像とルーペ像にさほどの形の差がありません（#12）。しかし、顕微鏡（低倍）で見ると標本の傷や凍結による細胞の破壊、組織の挫滅が明らかです（#13）。腫瘍本体は所見も取りやすい比較的きれいな標本となっていました。標本 2 枚で取込画像 62 枚、所要時間 60 分を要しています。

3 番目の症例は、胃癌の口側断端検索の症例（名寄症例 #4）。しかも依頼書によれば生検診断で por（低分化腺癌、赤粋部分）です（#14）。低分化腺癌の場合、single cell level での間質浸潤もありうるので慎重な診断が必要になります。提出検体は口側断端 6cm 程の組織です。本院の病理部技師は 6cm 程の検体であればロール状にして 1 枚の標本として作製できるのですが、送信側の技師さんは標本作製に不慣れたためもあ

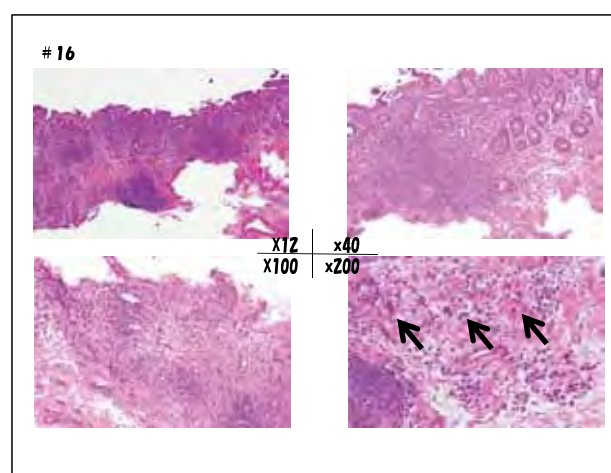
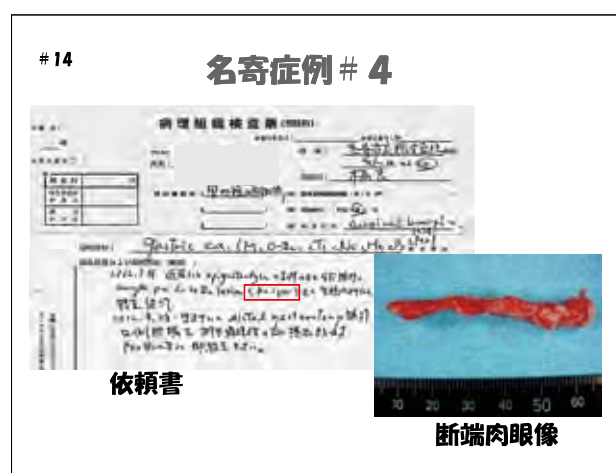
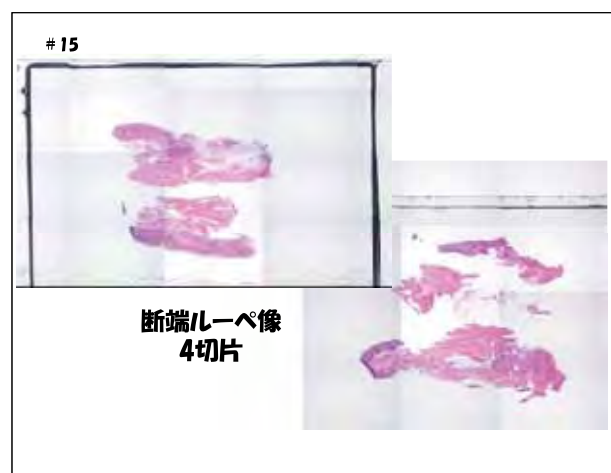
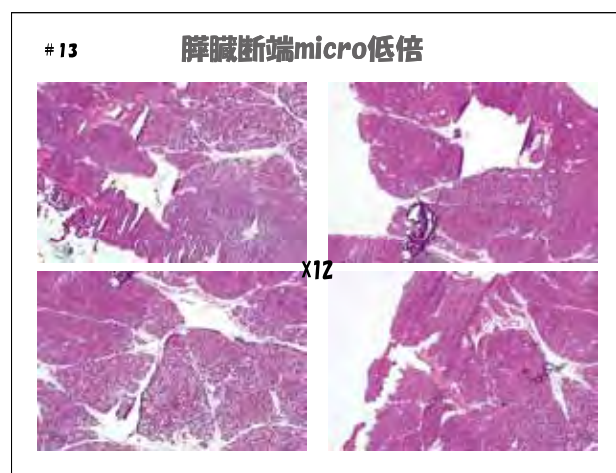


り検体を4分割し2ブロックとしています(#15)。しかも、全ての検体で検体の一部が標本になっていません。当初の危惧通り single cell level での間質浸潤が問題となる症例でした。200倍の高倍で右下→にあるように炎症細胞が低分化の癌細胞浸潤か判定に迷う細胞が確認されました(#16)。最終的に断端陽性と診断するまでに67枚の画像を取り込み65分の診断時間を要しています。

4番目の症例は、膵癌断端の症例(名寄症例#5)。肉眼像とルーペ像に大きな差があることがお判りになると思います(#17)。顕微鏡で観察すると薄切した標本が捲り上がり何重にも重なり合っていたり(#18上2枚)、凍らせ過ぎて組織間隙が出来ていたり(#18左下)、膵管上皮細胞や腺房細胞が壊れていたり(#18右下)となかなか診断に難渋しそうな標本でした。テレパソ診断は「断端陰性」でしたが、解凍永久標本ではテレパソ時に標本となっていなかった部分が標本と

して含まれていました(#19赤線□)。そしてその部分に神経周囲転移が確認され、診断が「断端陽性」と変更になった症例です(#19左下黒矢印)。青の□の部分は腫膵管断端ですが、解凍永久標本では異型上皮の増殖像も確認できます(#19右下)。

迅速診断では標本の質が診断に大きな影響を与えることが判っていますので、迅速診断終了後凍結標本作製した検体を解凍しホルマリンで固定し、再度HE標本作成し直し診断します。テレパソの検体も同様に解凍ホルマリン固定検体を本院病理部に搬送してもらい解凍標本作成後再検鏡再診断しています。テレパソ開始当初の5症例に関しまとめてみました(#20)。名寄市立総合病院のテレパソ1例目は機械操作の不慣れのために回線トラブルとなり回復できずに標本作製までで中止となりました。2例目、3例目、4例目の症例では幸いなことに診断の変更はありませんでしたが、上述のように5例目の症例でテレパソ診断を解凍

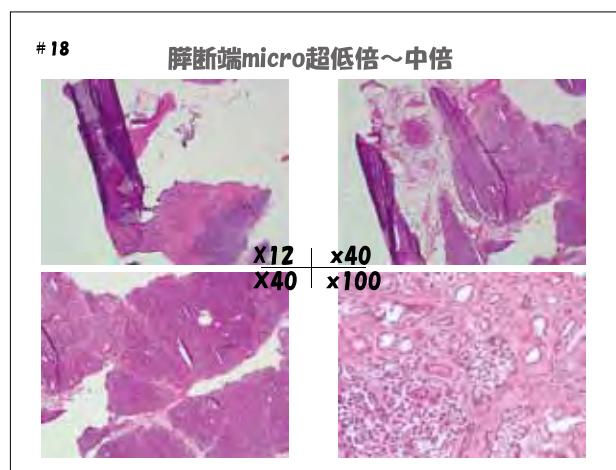
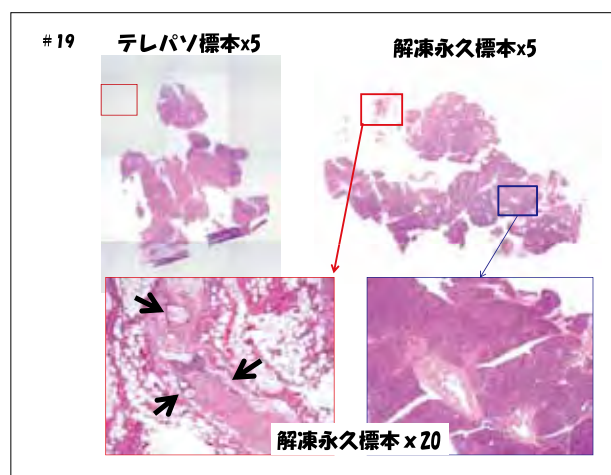
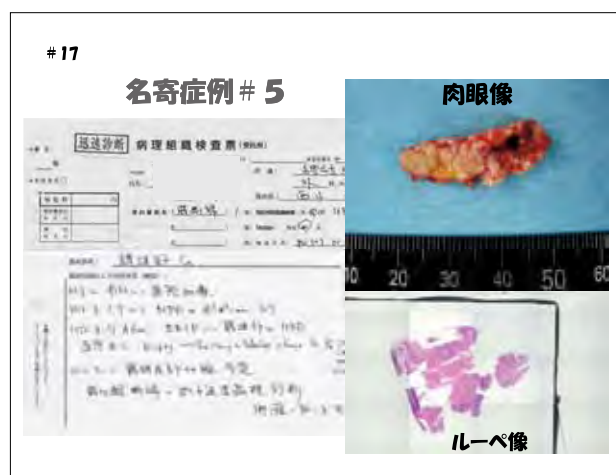


標本で訂正させて頂きました。画像取り込み枚数、診断所要時間等を見てもみると、初期のテレパソの問題点がいくつか明らかになってきます (#21)。

第1に臨床サイドのテレパソロジーに対する期待の大きさです。通常の迅速診断のように早く正確な診断がもたらされると期待しているようで、#2の症例のように検体が3種類（肺腫瘍本体、気管支断端、肺門リンパ節）でしかも大きな検体で標本作製が難しいものを出すと、#4の症例のように低分化腺癌の断端検索といった画像取り込み枚数が膨大になる可能性のある要求をしてきました。初期の5症例を経験した時点で名寄市立総合病院の外科系の先生方と問題点の検討を行いました。画像取り込みに時間が掛るというテレパソの最大の弱点を理解できていないことが浮き彫りになりました。検討を通じて使用しているテレパソシステムの問題点に関して認識をして頂き、何でも通常の迅速診断と同じように出来るわけではないこと

を理解して頂きました。さらに、症例 #4 のような低分化腺癌の断端検索やリンパ節転移検索の依頼に対しては迅速凍結標本を用いた免疫染色を行い、異型上皮細胞有無の確認を行うことにもなりました。現在まで断端検索・リンパ節転移検索で14例にケラチン抗体による免疫染色を迅速診断時に活用しています (#27)。

第2に一番重要な標本の質の問題です。症例 #2 ~ #5 のルーベ像や低倍の顕微鏡画像で判るように標本の質が悪いことが診断の信憑性に大きな影響を与えているのです。症例 #5 のように肝心な部分が標本になっていなければ解凍標本で確認した時に診断が異なることは当然でしょう。また、症例 #2 のように気管支断端の1/3しか標本になっていない場合「あくまでも検索できた範囲での結果です」と強調する必要があります。標本作製技師の技術的習熟度の問題がテレパソ診断に重大な影を落としているのです。当院では送信側病院の病理標本作製担当技師を定期的に技術指導することとしましたが、常時病理標本作製をしているわけ



#20

テレパソ開始当初の実態

症例番号	施行日	標本枚数 (検体数)	画像取 込枚数	診断所要 時間(分)	診断変更
1	4/18	回線トラブル中止			
2	4/19	3 (3)	45	90	無
3	4/27	2 (2)	62	60	無
4	4/28	2 (4)	67	65	無
5	5/11	1 (1)	43	45	有

ではないのでやはりその時々で標本の質にばらつきが出ます。

そこで、当院の病理部ではこの凍結薄切標本の質の問題に逸早く取り組み Cryofilm 法というユニークな迅速標本作製法を開発しました⁷⁾。名寄症例 #2 で気管支断端を凍結標本にしたものと当部で開発した Cryofilm 法で作成した当院の気管支断端検索症例の標本の質の差は歴然としています。当院の症例では気管支の膜様部はブロック作成時から欠損しているため標本上確認できませんが、全周の 5/6 の軟骨部はすべて標本となっています (#22)。当然気管支粘膜の上皮もきちんと顕微鏡で確認出来ます。本法は、透明な粘着テープを利用し荒削りした凍結ブロック表面にテープを密着させたままクリオスタット（凍結薄切装置）で薄切するという方法で (#23)、検体の隙間を埋める基材と検体をバラバラにならなくするというものです。特に乳腺組織のように脂肪成分が多い組織やセンチネ

ルリンパ節のように 1 ブロック中の検体数が多くなる標本作製には威力を発揮します。センチネルリンパ節のブロックを用いて従来法と比べると Cryofilm 法で作成した標本ではすべての組織片が綺麗に標本となっているのに対し従来法では基材のみが薄切され肝心なリンパ節切片が剥がれ落ちていることが判ります (#24)。乳癌のセンチネルリンパ節の確認では 3 個のリンパ節を 2mm 間隔で 2 割・3 割・4 割とし計 9 個の組織片として 1 ブロックとしています。従来法ではばらばらになりやすいこのような凍結ブロックでもすべての組織片が綺麗に標本となり、その中で微小転移巣がしっかり確認出来ることが判ります (#25)。

凍結検体の一部が標本とならなかったり、肝心な部分が傷になっていたり、切片が捲れあがっていたり、重なっていたりすると診断自体が出来ないことになります。このように標本の質により病理診断の信憑性がかなり違ってくる現状がお判りになったことと思います。現在、我々は、Cryofilm 法を全国の凍結標本を作

#21

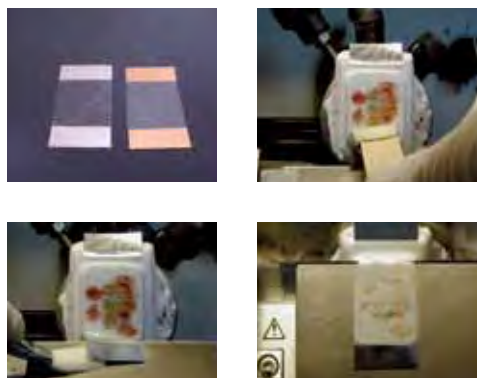
テレパソ開始当時の問題点

- 臨床サイドの期待の大きさ
- 標本の質
- ハード・ソフト面



拘束時間
診断の信憑性

#23



#22

標本の質

名寄症例#2



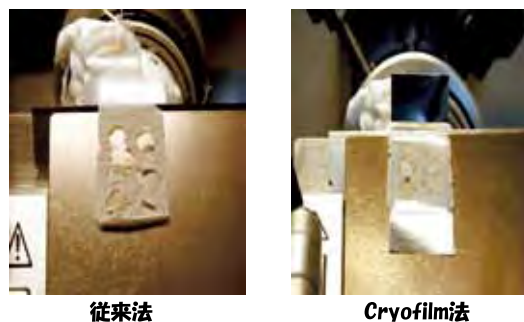
凍結標本

凍結ブロック

当部で開発したCryofilm Method

#24

従来法とCryofilm法の薄切標本



従来法

Cryofilm法

成している病理検査室に普及させるべく努力をしていますが、本法が普及すれば標本の質の問題で診断の信憑性を失うようなことは避けられると考えています。

第3の問題となったのが、ハード・ソフト面の問題です。当初のテレパソシステムとして、名寄市立総合病院がオリンパスの Olmicos/W、市立根室病院がニコンの T2000 というシステムを導入したのですが、いずれも ISDN の回線を利用する機種でした。両機種とも指定した場所と倍率で顕微鏡画像を一括取込後、電話回線を利用して伝送するタイプですが、画像取込時間・伝送時間とも期待よりも遅く複数枚の画像取込を指定すると想像以上の時間が掛ってしまいました。当初は診断側も不慣れなため取込画像枚数も多く、拘束時間の問題にも関わってきました。また、回線の接続不良や標本を乗せ換える度にコンピューターがフリーズするなどソフト面の問題も経験しました。特にニコンの T2000 は回線接続不良やフリーズ、ピンボケ画

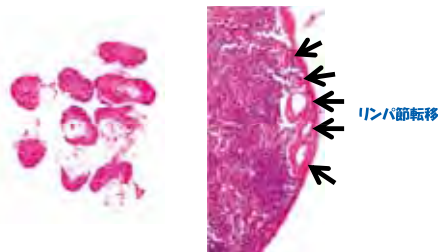
像を伝送するなど問題の多い機種で、1年後ソフトを T 2000 R にバージョンアップしたにもかかわらず接続不良・フリーズのためにテレパソを中止したことも幾度も経験致しました (#27)。

テレパソ開始当初の大きな問題点は以上の3点でしたが、これらの問題から派生する問題も生じてきました。それぞれの問題点の中でも述べてきましたが、回線トラブルを修復している間臨床サイド・病理サイドともに拘束時間が増加しました。標本の質を画像枚数でカバーするため画像取込時間・画像伝送時間がかかりさらに拘束時間が長くなったのも事実です。標本の質の問題から診断の信憑性の問題も生じてきました (#21)。これら多くの問題を送信側の協力と運用面での工夫で何とか乗り越え、平成 22 年 3 月時点で道内 4 医療機関とテレパソを実施しています^{8,9)}。

次に、テレパソ開始当初からのデータを検討してみ

#25

Cryofilm法で作成したセンチネルリンパ節標本



Crioilmを用いた術中迅速組織標本作製
病理と臨床 Vol. 28 (2), 2010

#27

送受信異常・免染回数

	名寄市立	根室市立	釧路孝仁会	北見日赤	合計
実施件数	109	59	110	138	
接続トラブル	19	42	3	2	66
トラブル率	17.4%	71.2%	2.7%	1.4%	13.8%
診断中止	1	16	0	1	18
中止率	0.9%	27.1%	0.0%	0.7%	3.8%
免疫染色	14	-	-	-	14
免染率	12.8%	-	-	-	2.9%

使用システム 根室市立病院: Nikon T2000R
名寄市立・孝仁会・北見: Olympus Olmicos/W

#26

テレパソ依頼件数の年次推移

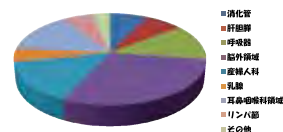
	名寄市立病院	根室市立病院	孝仁会記念病院	北見赤十字病院	合計
開始日	2000/4/18	2000/5/29	2002/9/10	2004/10/22	
2000年	26 (1)	16 (4)	—	—	42
2001年	13	10 (3)	—	—	23
2002年	11	5 (1)	9	—	25
2003年	17	9 (6)	23	—	49
2004年	7	8 (2)	28	4 (1)	47
2005年	9	3	22	21	55
2006年	11	5	24	40	80
2007年	4	0	21	52	77
2008年	6	2	13	12	33
2009年	4	1	19	9	33
2010年	1	0	11	4	16
合計	109 (1)	59 (16)	170	138 (1)	480 (18)

2010. 4. 20現在

#28

10年間の臓器別依頼件数

	名寄	根室	孝仁会	北見	合計
消化管	12	10		12	34
肝臓	19	5		11	35
呼吸器	44	11	24	1	80
脳神経	29		146	7	182
産婦人科		2		46	48
乳腺		18		6	24
耳鼻咽喉科領域		8		41	49
リンパ節	12	5		10	27
その他	2			10	12
合計	118	59	170	144	491



ました。

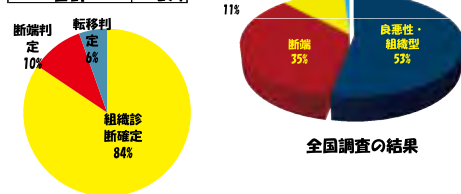
関連4 医療機関のテレパソ開始時からの年次別実施件数を示しています。括弧内は回線トラブル等でテレパソ自体を中止した件数です（#26）。この表で分かる通りいずれの施設においても実施件数の伸び悩み傾向が明らかです。この原因となったのがテレパソ開始当初の送受信異常回数の多さ（#27）と標本の質による診断の信憑性および拘束時間の問題でした。送受信異常回数はニコン T 2000 Rが異常に多く 42 回、実にトラブル率 71.2% で、うち 16 回は途中で中止となっています。中止率 27.1%。こんなに中止しているようでは使い物にならないと臨床サイドが利用しなくなるのも当たり前です。オリンパスのシステムは名寄市立総合病院の開始当初こそ回線トラブルがありましたが、2 年後からは安定運用が可能となり、後発病院の釧路孝仁会記念病院と北見日赤病院では数回ずつとなっています。なんとか許容範囲内で収まっていると思いた

いところですが。しかしながら、開始当初のこの回線トラブルは確実に臨床サイドの信用を失墜させるに十分でした。さらに、開始当初は診断側も伝送画像のみでの診断が不慣れなため丁寧に診なければと画像枚数が多くなりがちで、そのために診断時間も迅速診断の時間の範囲をはるかに超えることとなりました。勿論臨床サイドには診断時間がかかる旨は伝えてありましたが、待機時間・拘束時間が想像以上に長く、臨床サイド・病理サイドいずれも「これで術中迅速診断と言えるのか？」と疑問を覚えたものでした。待機時間・拘束時間の問題も臨床サイドの信用失墜には十分な動機となりました。いずれにしても回線トラブルも含め時間がかかり過ぎて、診断も標本の質が悪いから当てにならないのでは利用件数が減少するのも仕方ありません。唯一実施件数で健闘しているのが、釧路孝仁会記念病院です。こちらは脳神経外科の脳腫瘍と呼吸器外科の肺癌が対象となっているため検体が小さく凍結標本作製も比較的容易で、診断時間も画像伝送時間を含

29

直近5年間の目的別件数

組織診断確定	248
断端判定	30
転移判定	16
合計	294



31

病理部医師正診率

	名寄	根室	孝仁会	北見	合計
総件数	96	43	166	16	322
許容診断件数	2	4	5	2	13
誤診件数	2	0	3	0	5
許容診断率 (%)	97.92	100	98.19	100	98.45
正診率 (%)	95.83	90.70	95.18	87.50	94.41

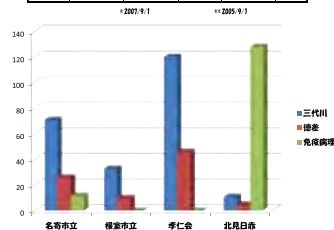
直近5年間の正診率 $100 - ((3+1)/294) \times 100 = 98.64\%$

鳥取大学 96.80%

30

診断医別診断件数

	名寄市立	根室市立	孝仁会	北見日赤	合計
三代川	71	33	120	11	235
徳幸	26	10	46	5	87
免渡病理	12	0	0	128	140
合計	109	43	166	144	462



32

黎明期テレパソの問題点

インフラストラクチャー

- 1) 通信回線の速度
- 2) 画像解像度と圧縮
- 3) 静止画 vs 動画
- 4) 異機種間の交信

運用面での問題

- 1) 検体採取部位の決定
- 2) 標本の質
- 3) 画像の選択
- 4) 病理医のスケジュール
- 5) 有効性と安全性の検討
- 6) 患者への説明
- 7) 診断の責任と所在
- 8) 診断記録の保存
- 9) 診断用語の標準化
- 10) 診断報酬の配分
- 11) 依頼側臨床医と病理医との信頼関係

めても 15 分以内と迅速診断の役目をしっかり果たせていることから毎年コンスタントにテレパソの依頼が来ています。

各病院からのテレパソの依頼を臓器別にまとめてみました (#28)。各病院の特性や診療科との絡みもありますが、釧路孝仁会記念病院は脳外科領域と呼吸器の検体に特化していることが判ります。やはりテレパソに適した目的・臓器が限定されるべきなのかもしれません。

直近 5 年間では 294 件のテレパソロジーを実施しましたが、その目的としては組織診断確定が最も多く 84%、残り 16% が断端や転移の判定でした (#29)。全国調査のデータでは良悪判定・組織型確定が 53%、断端検索・転移判定合わせて 46% ですから本院のデータと多少の隔たりがあるようですが、このデータも釧路孝仁会記念病院のテレパソが大きく影響していま

す。釧路孝仁会記念病院は脳腫瘍が検体の大部分を占めているためです。脳腫瘍は術前の生検組織診断ができません。従って術中での組織診断確定が目的となります。また、呼吸器も肺癌（疑）症例ばかりなので良悪判定・組織型決定が目的となるからです。

視点を換えて、診断側から検討してみました。

まず、診断医別の実施件数です (#30)。当初、テレパソの診断は全て遠隔医療センター内の病理診断室で行い、担当は病理部医師でしたが、平成 17 年の新病理部移転に伴いテレパソ診断室が病理部内に設置されたことを機に、病理学講座免疫病理分野の病理医がテレパソの一部を分担するようになりました。北見日赤病院のテレパソ症例は平成 17 年 9 月より、名寄市立総合病院のテレパソ症例は平成 19 年 9 月より病理学講座免疫病理分野の病理医が診断しています。10 年間で、病理部医師 2 名が 322 件、病理学講座免疫病理

33

テレパソロジー利用の評価

- 地域医療にとても貢献している 45.5%
- 地域医療に貢献している 36.4%
- 今後地域医療に貢献するようになる 13.6%
- 今後も地域医療に貢献しない 4.5%

35

次期テレパソシステム



34

テレパソが普及しない理由

1. 経済的問題
2. 技術的問題



考えられる対策

- 初期投資に対する経済的支援
- 術中迅速病理診断の活用
- 新たな画像伝送システムの活用

36

なぜテレパソが必要なのか？

テレパソロジーの意義 医療の質の担保および均沾化

- 病理医の絶対数の不足
- 病理医の都市部への偏在
- 北海道の医療圏の広さ

分野病理医が140件、合計462件診断しています。10年間の実施総件数は480件でしたが18件の中止事例がありましたので診断件数は462件となります。

次に、テレパソ正診率を検討してみました(#31)。病理学講座免疫病理分野病理医が診断したテレパソ症例に関しては、解凍標本の結果を直接当該病院に配信しているため病理部で解凍標本の診断をチェックすることができません。そこで病理部医師に関してテレパソ正診率を検討しました。テレパソ時の診断と解凍標本での診断が異なった症例の中で、良悪の判定を含め診断を訂正するほどではないが診断の追加や組織所見の訂正や追加が必要になった症例を「許容診断」、明らかに結果の訂正が必要となった症例を「誤診」としテレパソ正診率を計算してみました。許容診断率、正診率は以下の式により求めました。

許容診断率(%) =

$\{ (\text{総件数} - \text{誤診件数}) / \text{総件数} \} \times 100$

正診率(%) =

$\{ (\text{総件数} - \text{誤診件数} - \text{許容診断件数}) / \text{総件数} \} \times 100$

過去10年間では正診率94.41%と他大学に比較して若干低値となりましたが、技術面でも運用面でも手技的に安定してきた直近5年間のデータで見ますと98.64%と他大学の正診率を若干上回る数値となっています。これには、開始当初の回線トラブルや標本の質が影響している可能性が考えられます。診断の信憑性を疑われていた受難の時期はやはり誤診や許容診断が多かったことが窺われます。

最後に、社会的な側面からテレパソをとらえたいと思います。

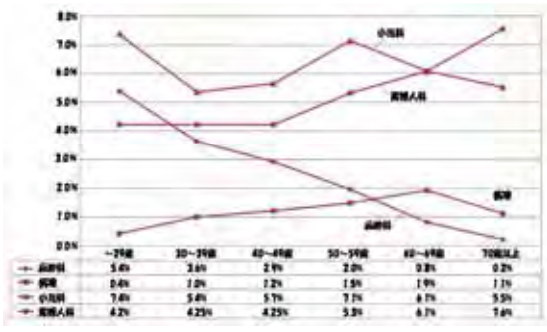
1990年代後半、旧厚生省の支援のもと全国的にテレパソの機器導入が進み、大学病院が中止となつてそ

#37 診療科別医師数の日米比較

診療科	医師数	割合	人口10万人当たり	診療科	医師数	割合	日米比
Internal Medicine	161,921	25.6%	70,400	内科	74,764	29.9%	1.66
Pediatrics	66,829	10.3%	28,917	小児科	14,481	5.8%	0.50
Family Medicine	64,701	10.2%	28,131	—	—	—	—
Psychiatry	45,444	7.2%	19,758	精神科	15,460	6.2%	0.78
Radiology	38,132	6.0%	16,579	放射線科	4,710	1.9%	0.28
Gynecology & Obstetrics	37,057	5.9%	16,172	産婦人科	12,400	5.0%	0.77
Surgery	35,629	5.6%	15,293	外科	22,868	9.3%	1.50
Anesthesiology	32,531	5.1%	14,144	麻酔科	4,087	2.4%	0.43
Orthopaedic Surgery	21,478	3.4%	9,338	整形外科	18,572	7.4%	1.99
Pathology	20,960	3.2%	8,739	病理診断科	1,960	0.8%	0.23
Emergency Medicine	19,607	3.1%	8,675	—	—	—	—
Spinal Medicine	18,385	2.9%	7,912	麻痺	72,468	5.0%	1.56
Urology	10,512	1.7%	4,570	泌尿器科	5,941	2.4%	1.30
Otolaryngology	10,165	1.6%	4,420	耳鼻咽喉科	9,174	3.7%	2.08
Dermatology	9,814	1.6%	4,267	皮膚科	7,628	3.1%	1.79
Physical Medicine & Rehabilitation	6,604	1.0%	2,871	リハビリテーション科	1,456	0.6%	0.51
Preventive Medicine	6,491	1.0%	2,822	—	—	—	—
Plastic Surgery	5,863	0.9%	2,549	形成外科	1,650	0.7%	0.65
Thoracic Surgery	5,493	0.9%	2,475	呼吸器外科・心臓血管外科	2,546	1.4%	1.43
Allergy & Immunology	4,275	0.7%	1,859	アレルギー科	186	0.1%	0.10
Neurological Surgery	4,241	0.7%	1,844	脳神経外科	6,241	2.5%	3.38
Others	7,318	1.2%	3,182	その他	29,722	12.0%	9.15
Total	632,818		275,151	総数	249,576		0.91

2007年統計

#39 各年代に占める絶滅危惧種診療科医師割合



#38 都道府県別病理専門医数

都道府県	病理専門医数	A/D	人口10万人当たり	都道府県	病理専門医数	A/D	人口10万人当たり	都道府県
1 青 森	68,476	6,847	46.9	26 香 川	27	1,491,841	1,479	56.5
2 岩 手	82,580	8,258	54.7	27 徳 島	108	1,295,625	1,498	59.5
3 宮 城	2,991,589	299,159	369	28 高 知	22	1,420,681	1,516	53.2
4 秋 田	7,063,942	706,394	531	29 山 梨	19	1,223,779	1,550	56.3
5 山 梨	761,121	76,112	46.6	30 水 戸	138	8,291,679	1,561	55.8
6 山 梨	1,868,863	186,886	56.8	31 山 梨	22	2,032,744	1,720	56.6
7 山 梨	1,000,864	100,086	56.0	32 山 梨	14	886,890	1,780	47.1
8 山 梨	2,879,717	287,972	51.6	33 山 梨	20	2,217,007	1,580	49.7
9 山 梨	2,125,661	212,566	55.4	34 山 梨	24	1,745,261	1,460	52.9
10 山 梨	1,214,670	121,467	52.0	35 山 梨	23	1,394,610	1,440	53.4
11 山 梨	2,184,850	218,485	56.5	36 山 梨	24	1,429,604	1,470	52.2
12 山 梨	3,789,801	378,980	56.9	37 山 梨	20	1,154,129	1,724	51.4
13 山 梨	6,081,388	608,139	52.4	38 山 梨	19	5,611,521	1,746	52.6
14 山 梨	2,214,674	221,467	51.9	39 山 梨	12	5,091,670	1,812	51.7
15 山 梨	1,802,125	180,212	53.8	40 山 梨	20	1,217,624	1,591	49.6
16 山 梨	1,257,210	125,721	55.5	41 山 梨	16	886,964	1,470	48.6
17 山 梨	1,264,563	126,456	53.2	42 山 梨	15	2,445,467	2,004	49.4
18 山 梨	1,475,959	147,596	51.6	43 山 梨	17	815,460	2,080	56.9
19 山 梨	2,446,023	244,602	53.7	44 山 梨	13	449,464	2,334	55.6
20 山 梨	5,591,881	559,188	52.0	45 山 梨	24	1,114,304	2,449	51.9
21 山 梨	2,370,983	237,098	52.4	46 山 梨	42	1,400,640	2,121	54.2
22 山 梨	8,740,136	874,013	51.0	47 山 梨	216	12,432,584	2,004	51.1
23 山 梨	1,274,127	127,412	51.7	48 山 梨	34	1,177,122	2,080	50.5
24 山 梨	1,165,321	116,532	48.4	49 山 梨	2,003	17,144,100	1,470	52.8

2008年10月1日現在

#40

「遠隔医療」の医療上の意義

医療の地域格差の解消
医療の効率化
患者サービスの向上
移動体と病院間
国際医療協力

テレパソロジーの意義
医療の質の担保および均沾化

それぞれの地域でテレパソが実験的に実施されるというテレパソ黎明期が訪れました。しかし、実際にテレパソを開始してみるとインフラストラクチャーの問題、運用面での問題など様々な問題が内包されていることが明らかになりました（#32）。関連企業の努力や病院間での協力体制の構築により多くの問題は解決されていたのですが、2000年代から次第にテレパソからの撤退病院が増えて行きました。現在は、北海道・東北・関東・近畿・中国・九州といった各地域でいくつかのネットワークが存在し、それぞれが地道に実績を重ねている状態です。

テレパソの評価は病院によっても異なると思いますが、病理学会の統計では概ね地域医療に貢献しているとの評価を受けています（#33）。また、個々の症例に関してもテレパソが有用であったという症例報告が学会等でも報告されています^{10,11}。また、将来的にも有用であろうという期待がもたれていますが、その普及はなかなか進んでいません。先にも述べたようにテレパソの黎明期、実験的に参加していた病院の多くが2000年代に撤退して行ったのです。その理由として2つの大きな問題点が指摘されています（#34）。

まず、第一に経済的問題です。テレパソは遠隔医療の中でも逸早く診療報酬請求対象の医療行為として認められましたが、その保険点数は送信側病院にとっては凍結標本作製機器・テレパソ関連機器・回線整備費といった初期投資を担保するに十分な点数とは言えません。初期のテレパソシステムでも送受信双方で1,000万円以上の初期投資が必要でした。最近になり顕微鏡画像を動画で送信できる比較的安価なテレパソ装置が開発されましたが、比較的安価と言っても送受信双方のシステム合計で1,500万円以上、機能が充実した分逆にシステム価格は上がってしまいました。また、画像伝送システム以外でも凍結標本作製に係る初期投資も300万円以上必要です。この初期投資の問題を解決するには、保険点数自体を数倍とするか、導入機器を廉価にするかなのですが、将来的に保険点数が上がったとしても数倍になることは考え辛く、関連機器も新機能や付加価値が付くためなかなか価格が下がらないのが現状です。さらに、テレパソの頻度を増やしていくことも考えられますが、手術を手掛けている医療機

関がどれだけ術中迅速病理診断を必要と感じているか不明です。手術症例のほぼ全例術中迅速病理診断を実施している米国に比べ、本邦では術中迅速病理診断の頻度自体が少ない状況にあるため、送信側病院にとって初期投資が負担になることが考えられます。従って、テレパソの普及には、初期投資経費に対する援助や初期投資を数年で回収できその後収益にも寄与出来るような国や自治体の経済的支援体制の整備が急務と考えます。また、手術症例全例とは言わないまでも術中迅速病理診断の頻度を増やし治療に結びつける医療体制の再構築も必要です。

第二の理由がシステムの技術的問題ですが、病理診断医はテレパソ診断に際しても実際の顕微鏡で見ているような精細画像やスムーズな操作性を期待しているのですが、そのような機能を有する最新機種は価格も高価です。先に触れた動画画像を送受信できるシステムはこのような病理医の要求をほぼ満たす理想なシステムではあるのですがやはり初期投資としてはコストパフォーマンスの壁を打ち破るだけのインパクトはありません。最近では、従来のテレパソシステムとは方向性の異なるシステムをテレパソに利用する動きがあります。まず、デジタル顕微鏡を用いたシステムです。デジタル顕微鏡で観察している視野をそのままLAN回線を利用して遠隔地で観察するというものです。観察視野も遠隔操作出来、従来のテレパソ専用機器と使用上の差異は余りありません。もう一つの方法は、バーチャルスライドを利用したシステムです。バーチャルスライドとは標本全体をデジタル情報化してPC端末上で自由に拡大縮小して観察できるものですが、デジタル顕微鏡と比べて高価であることが欠点です。バーチャルスライドのデジタル情報も専用ビューアーさえあればLAN回線を通じて遠隔地で自由に観察可能となります。いずれもデジタル画像の観察による診断となりますが、従来のテレパソ専用器がアナログ画像を1視野ずつデジタル化して伝送し再度アナログ画像に戻して観察するというシステムに比べ、時間もかからず画像も鮮明であるというメリットがあります。一方、いずれのシステムもLAN回線を利用するため情報漏洩防止対策・情報管理が重要になること、いずれもテレパソ専用器として開発された機器ではないので診断結果の入力画面がなく診断記録の保存に関する運用面

の工夫が必要となることがデメリットといえます。

本院で導入したオリンパスの Olmicos/W とニコンの T2000R も導入から 10 年以上が経過し、その間ハードの故障も経験し、ソフトのバージョンアップも行いながらテレパソを実施してきました。残念ながらこの 10 年の間に企業運営の観点から 5 年前にニコンが、続いて 2 年前にオリンパスがテレパソ関連事業から撤退することが決定し、現有システムでの運用が困難な状況となりました。そこで本院では、送信側病院にとって最も経済的負担の少ないデジタル顕微鏡を利用した新たなテレパソシステム構築を行いました。関連病院にはニコンの Coolscope (#35) と VPN と LAN 回線を導入して頂きました。また、昨年度には総務省および北海道庁の支援のもと遠軽厚生病院にもこの新システムでテレパソ回線を新たに開設しました。懸念される問題に対しては、情報管理には VPN を利用し、診断記録の保存には現在使用中の病理診断支援システムによる結果入力と診断書を 5 分以内に FAX 送信するという運用面での工夫で対応しています。今後このシステムを活用し、関連 5 医療機関とのテレパソ件数を増やしていければと考えております。

さて、では何故、回収の見込みのない初期投資をしてまでもテレパソが必要なのでしょうか？本院の実践しているテレパソは術中迅速病理診断です。断端や転移の有無の確認ばかりでなく良悪判定・組織型決定のために行っていることはテレパソの目的の項で述べてきました。テレパソで術前に診断の付いていない病変部の診断を行い、それにより手術様式が変更になることも間々あります。地方の医療機関であっても都会の大病院と遜色のない手術を実践して患者様を救いたいという思いも正確な診断があつてこそで、病理診断は正確な診断、最終診断を意味します。病理診断は医療の質を担保する非常に大事な医療行為なのです。しかしながら、本邦においてはこの病理診断を行える病理専門医が非常に少ないのが問題で、しかも大都市の大学病院や大病院に勤務する病理専門医が大部分を占めているという現状があります。さらには、広大な医療圏を抱える北海道では都市間の移動も他府県から比べると時間的・経済的負担を伴います (#36)。術中迅速病理診断をテレパソで実施することで病変部の正確な

診断を可能とし、病理医のいない医療機関であっても都会の大病院と遜色のない手術を実践することが可能となるばかりでなく、地方の患者様の時間的・経済的負担軽減にも貢献できます。

テレパソを普及させなければいけない背景には病理専門医が少ないという問題があるのですが、米国と日本でどれ程の差があるか各診療科別で比較したデータがあります (#37)。米国では医師の 3.2% が病理医であるのに対して日本では 0.8% しか病理医はいません。人口比にすると、米国では人口 10 万人に対し約 9 人の病理医がいるのに対し、日本では 10 万人に対して 1.5 人しかいません。日本でもリハビリテーション科や形成外科あるいはアレルギー科の医師数は病理医より少ないのですが、これらの診療科は単科で対象疾患が限られているのに対し、病理医は全ての科の病気を対象としているため絶対数の不足という事態に陥っているのです。都道府県別に病理専門医の数を見てみると、一県に 10 人の病理専門医がいない県が 3 県もあります (#38)。北海道は 99 人と比較的病理専門医数は多いのですが、3 大学に勤務している病理専門医が多いことや人口比・医療圏の面積比でみた場合必ずしも十分な病理専門医がいるとは言えません。さらに悪いことに、病理医の高齢化が進んでいることも問題となっています。日本全体で病理専門医の平均年齢は 51.9 歳。20 歳代の病理専門医は 40 人にも満たない状態です。いまや病理医は医師の中の絶滅危惧種とさえ揶揄されています (#39)。この状態を打破するための有効な手段がテレパソでもあるわけで、将来的にますます利用される機会が増えることが予想されます。そのためにも初期投資を出来るだけ抑えられる医療環境と迅速診断ばかりでなく通常の病理診断も含めた病理業務の ICT 化を積極的に推し進めなければいけない時代になっているのだと痛感します。

医療圏の広大な北海道以外でも離島の多い地方や医療機関の少ない地域でも遠隔医療は有効な医療手段と考えられます。医療の地域格差の解消、医療の効率化、患者サービスの向上といった遠隔医療本来の意義を達成するためばかりではなく、将来的には自動車や飛行機などの移動体と病院間の情報交換や国際医療貢献などの分野で遠隔医療の技術がさらに有効活用されることが期待されます (#40)。我々がこの 10 年間実践し

てきた術中迅速病理診断のテレパソは遠隔医療の一部門にすぎませんが、医療の質の担保および均沾化という観点からも、今後とも道内ばかりではなく日本の諸地域さらには海外の諸地域の医療機関とも積極的に交流しテレパソの輪を広げて実践して行きたいと考えています。

参考文献

- 1) 「医療情報技術の総合的評価と推進に関する研究」報告書（平成 12 年度）
- 2) “Telemedicine Related Activities, 11 July 1996” CDRH report 1996
- 3) Linkous JD : Toward A Rapidly Evolving Definition of Telemedicine. (www) Available from: <http://atm-eda.org/> (6.7.2001)
- 4) 吉田晃敏 他：旭川医科大学が推進している遠隔医療 過去・現在、日本遠隔医療学会雑誌 Vol.1(1), 2005
- 5) 佐々木毅：病理診断と診療報酬、病理と臨床 Vol.27（臨時増刊）, 2009
- 6) 平田哲 他：新しい術中迅速病理診断システムの導入 日本手術医学会誌 Vol.26(4), 2005
- 7) 佐渡正敏 他：Cryofilm を用いた術中迅速組織標本作製、病理と臨床 Vol.28(2), 2010
- 8) 三代川斉之：遠隔医療 - 現状と課題—テレパソロジー— 第 26 回日本プライマリ・ケア学会 2003.06（札幌）
- 9) 三代川斉之 他：テレパソロジーの現状・課題・対策と当院における工夫 第 1 回遠隔医療研究会 2003.07（旭川）
- 10) 清水紀之 他：肺癌手術におけるテレパソロジーの有用性 第 55 回日本胸部外科学会 2002.10（福岡）
- 11) 越湖進 他：テレパソロジーを併用した肺癌手術の経験 第 55 回日本胸部外科学会 2002.10（福岡）

Telepathology : The track for a decade.

MIYOKAWA Noayuki *

Summary

Telemedicine at Asahikawa Medical University Hospital had started in 1994, Department of Ophthalmology had succeeded telemedical experiment for the first time in our university. In 1999, 5 years later of the start of our telemedicine, the nation's first "Telemedicine Center" had opened in our university hospital. In April 2000, the first telepathology had performed between the pathological diagnosis room in our Telemedicine Center and Nayoro City Hospital. Since this case already ten years has elapsed. Until now, for ten years, we had performed 480 telepathology cases with overcoming numerous difficulties in the beginning of telepathology. Here I reported the summary of our experiments, the issues involved in telepathology and the prospects for the future of telepathology.

Key words Telemedicine, Telepathology, Issues involved in telepathology, Prospects for the future of telepathology, Diagnostic pathological specialists

* Department of Surgical Pathology, Asahikawa Medical University Hospital

依頼論文

自律神経活動と心疾患 — 特に不整脈発生との関連 —

川 村 祐一郎*

【要 旨】

自律神経系はさまざまな循環病態と関連するが、特に不整脈においては修飾因子としてその関与が大きい。心拍変動パワースペクトル解析は心拍の「ゆらぎ」を解析して、副交感神経系の指標として高周波成分（HF）、交感神経系の指標として、低周波成分（LF）と HF の比（LF/HF）を求め、様々な生態現象への自律神経系の関与を検討する、簡便かつ非侵襲的な方法で、不整脈を含めた種々の病態のメカニズム・治療効果の解析に临床上広く用いられるに至っている。経皮的カテーテル心筋焼術（カテーテルアブレーション）は不整脈基質そのものを焼灼し根治せしめる心臓カテーテル手技であり、近年飛躍的に進歩を遂げているが、本術式の心臓自律神経機能に与える影響は少なくないと考えられ、治療効果・合併症の両面から今後検討を重ねていくべき問題である。

キーワード 自律神経系、不整脈、心拍変動

はじめに

自律神経系（交感神経系ならびに副交感神経系）は、日常の循環動態の調節に関与するほか、さまざまな循環器疾患においてその発生、病態、治療、予後に密接に関係している¹⁾。なかでも不整脈は、多くの循環器疾患において自覚症状の主たる要因となりうるのみならず、心室頻拍・心室細動など生命に直接影響を及ぼすものも存在する。この不整脈発生における自律神経系の関与は、他の循環病態にも増して大きなものである。本稿では、自律神経系と不整脈発生の関連について総括するとともに、この方面における筆者らの研究の一部を紹介する。

自律神経系受容体の機能と細胞内情報伝達系

交感神経は α と β 受容体を介して心臓・血管機能の調節をつかさどっている。 α 受容体は α_1 と α_2 受容体のサブタイプ、 β 受容体は β_1 から β_3 までのサブタイプに分類される。 α_2 および β_3 の受容体の存在は心臓では認められていない。一方副交感神経系はニコチン

ン性受容体（神経性・筋肉性）とムスカリン性受容体に分けられ、後者のうち M_2 受容体が心臓に分布している¹⁾。

図1は交感神経系 β_1 受容体にノルエピネフリン（NE）が結合した際の細胞内情報伝達機構を示したものである。NE の結合により促進性 G 蛋白（Gs）を介して細胞膜の内側にある adenylyate cyclase を活性化し

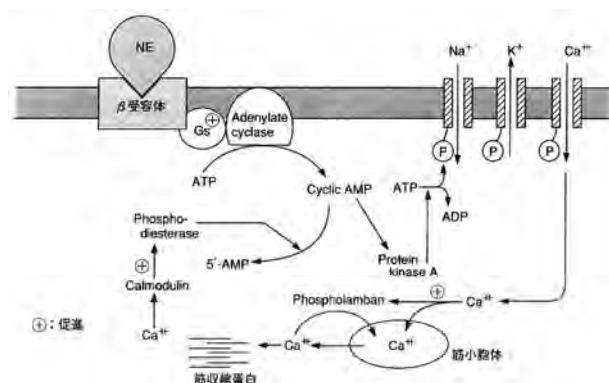


図1 交感神経系 β_1 受容体にノルエピネフリンが結合した際の細胞内情報伝達機構（文献1）より引用）。

*旭川医科大学保健管理センター

て ATP から cyclic AMP を作り、これが protein kinase A を介して膜にある各種イオンチャネルをリン酸化して Ca イオンの細胞内流入などを促す。その結果心筋収縮力増加、心拍数増加などの現象が発現される。一方 NE は交感神経終末への再取り込み、血流による拡散、酵素 [monoamine oxidase (MAO), catechol - o - methyl transferase (COMT)] による代謝により効果が消褪する。このように、交感神経系効果発現のためにはセカンドメッセンジャー (cyclic AMP) を介する酵素反応を経なければならず、また COMT の活性が低いなどの理由から、効果発現・消褪に時間がかかる。そのため、交感神経系による迅速な循環動態の調節は困難である。

一方、図 2 は副交感神経系 M_2 受容体にアセチルコリン (ACh) が結合した際の細胞内情報伝達機構を表している。ACh の結合により抑制性 G 蛋白 (Gs) を介して K チャネルの開口および adenylate cyclase 活性の抑制が生じる。ACh の結合による K チャネルの開口は即時的であり、また ACh を分解するアセチルコリンエステラーゼは細胞外に高濃度に存在するため分解も直ちに生じる。したがって副交感神経系の効果発現・消褪に要する時間は交感神経系のそれとは異なり短く、2 ~ 3 拍ごとの動的な心拍数の調節が可能である。

このように、交感神経系による循環動態調節には時間を要し、副交感神経系によるそれは迅速であることは、自動車の運転におけるアクセルとブレーキの関係になぞらえられる。アクセルを踏んでも直ちに時速 60km が 100km にならないように、交感神経系が作動したとしても心拍数がたとえば 60/分から 100/分に到達するには時間がかかり漸増的である。これに対し、

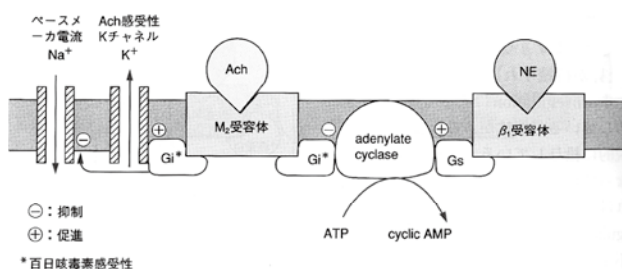


図 2 副交感神経系 M_2 受容体にアセチルコリンが結合した際の細胞内情報伝達機構 (文献 1) より引用)。

ブレーキ (副交感神経系) は踏むと直ちにスピードが低下する。このことは自律神経系による循環動態を理解する上で重要である。

心拍変動パワースペクトル解析による自律神経系機能の解析

生理的現象にせよ病的現象にせよ、それに対する自律神経系の関与を検討しようとする場合、交感神経系のトーンと副交感神経系のトーンを独立して測定することが望ましいが、これは容易なことではない。例えば血圧や心拍数は交感・副交感のバランスの産物であり、血中カテコラミンの測定は交感神経副腎髄質系 (sympathetico - medullar system) 全体の活性を現しているものの、純粋な交感神経活動の指標とはいえない。

正常人の安静時の心拍や血圧は一見規則正しいリズムを維持しているようであるが、実は様々の「ゆらぎ」が存在する。このゆらぎを心拍変動とよぶ。心拍変動は様々の要因による心拍のゆらぎの総和であり、各々の要因を分析することは必ずしも容易ではない。しかし 1980 年代頃より、心拍変動に限らず生体に生じる変動現象を周波数に分けて分析する方法 (スペクトル解析) が開発されてきた^{2,3)}。これは、あたかも光の成分 (色) をプリズムによって分けるが如く、複数の波からなる変動をその成分 (周波数 = スペクトル) に分解し各成分の強さ (振幅 = パワー) として表わす方法である (図 3)。

心拍変動のスペクトル解析は、ある程度長時間の心拍媒体、すなわち臨床上よく用いられる 24 時間心電図 (Holter 心電図) 記録などを用いて行うことができ

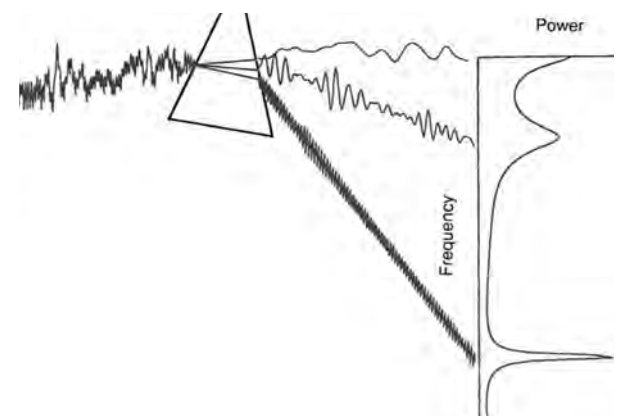


図 3 スペクトル解析の原理。

る。これらのデータベースに高速フーリエ変換、最大エントロピー法などの操作を行い、スペクトルごとのパワーを求める（心拍変動パワースペクトル解析）。その詳細は成書にゆずるが、いずれにせよ、ヒトの心拍変動には2つの周波数に主要なピークが存在することが多くの研究により明らかとなった^{3,4)}。その1つは0.04-0.15Hz, 多くは0.10Hz 近傍にピークを持つ低周波成分 (Low frequency : LF) で、いま1つは0.15-0.40Hz, 多くは0.25Hz 近傍にピークを持つ高周波成分 (High frequency : HF) である。図4は臨床例において記録した心拍変動パワースペクトル解析の実図であり、LF および HF のピークが明瞭に示されている。それではこの2つの成分のメカニズムは何であろうか。

A : HF の発生機序 (図5)

迷走神経 (V) の心臓への遠心路の活動は、呼吸中枢

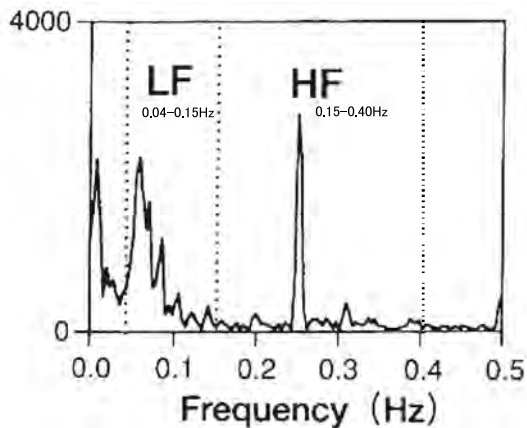


図4 心拍変動パワースペクトル解析の実図。

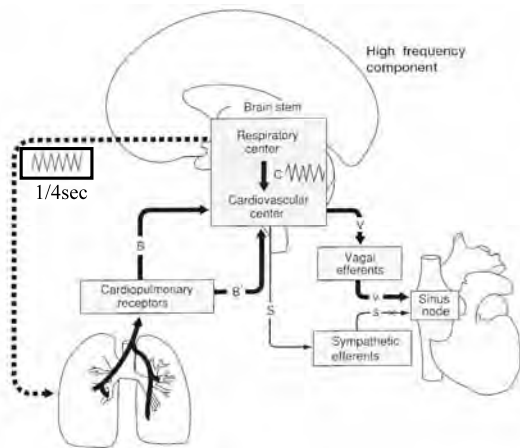


図5 HF の発生機序 (文献5) より改変)。

からの干渉(C)と末梢からの反射性入力(B, B')によって呼吸性変動を示し、それが洞結節に伝えられて HF となる。よって HF は古典的には respiratory sinus arrhythmia : RSA とも呼ばれる⁵⁾。HF のピークが0.25Hz 近傍であるということは、要するにヒトの安静時呼吸数が概ね 15 回 / 分、つまり 4 秒に 1 回 (0.25 回 / 秒) であることと相同である。もちろん交感神経 (S) 活動にも呼吸性変動はあるが、前述のアクセルとブレーキの比喻で示した如く、交感神経系は迅速な変動を伝達しえない。よって HF のピークの振幅 (= パワー) はほぼ純粋に迷走神経系 (副交感神経系) のトーンスを表わしていると考えてよい。

B : LF の発生機序 (図6)

古くから、血圧の変動には Mayer wave (いわゆる 10 秒リズム) という 10 秒周期の変動がみられることが知られている^{6,7)}。すなわち 0.1 回 / 秒 (0.10Hz) のリズムで、これが圧受容体の求心路 (A, A') を介して迷走神経 (V) および交感神経 (A) の洞結節への遠心路の活動に反映され、LF となる。従って LF は古典的には Mayer wave sinus arrhythmia : MWSA とも呼ばれる。Mayer wave の発生機序には諸説があるが、血管運動性交感神経活動による血管収縮反応の振動であることは確認されている。すなわち LF の原動力は交感神経活動ではあるが、洞結節への伝達においては繰り返し述べる如く迷走神経 (V) の活動が優位であるので、LF のパワーは交感・迷走の混合成分であると一般には考えられている。

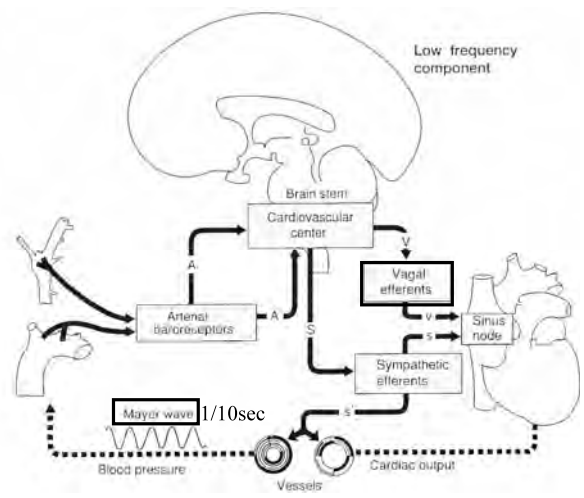


図6 LF の発生機序 (文献7) より改変)。

以上述べてきた如く、HF は生体におけるほぼ純粋な副交感神経系のトーンスを表わしているものと考えられ、これを抽出できたことは画期的と思われる。一方 LF は主に交感神経系のトーンスを表わすが、上述のごとく「混合成分」でもあるので、LF を HF で除する (LF/HF) という操作を行い、これを交感神経系活動の指標とすることが多い。これら HF および LF/HF を臨床上の自律神経活動の Golden standard とすることには異論を唱える向きもある。そもそも洞結節の変動が果たして心臓以外の臓器への自律神経活動をも表わしているかという点では疑問もある。しかしながら前述のごとく、心拍変動パワースペクトル解析は Holter 心電図という全く非侵襲的な方法により反復測定が可能であり、また優れたソフトウェアも開発されていることから、臨床に広く用いられるに至っている。

心室頻拍発生への自律神経の関与と、薬物の効果

図 7 は、致死的不整脈の 1 つとしてよく知られる心室頻拍 (ventricular tachycardia : VT) の心電図である。こういった不整脈の発生には、1) 不整脈発生の基質、2) 引き金、とともに 3) 修飾因子 (環境因子と言い換えても良い) の 3 つの要因が相互に関連している (図 8)。1) の例としては心筋梗塞のような虚血性心疾患における傷害心筋、2) の例としては期外収縮のような異常活動電位があげられる。そして 3) は言い換えればホメオスタシスの障害であるが、その代表として電解質異常などとともに自律神経系の破綻があげら

れる。この 3 要素がいかなる割合で相互関連しているかは個々の症例により異なる。

筆者らは、24 時間心電図記録中に偶然 VT が記録された例において、その発生直前のパワースペクトル解析を行った⁸⁾。その結果、多くの例で、HF の著しい減少ないしは消失に引き続いて VT が出現していることが明らかとなった (図 9)。心拍数を早め、酸素消費量を増し、不整脈発生に促進的に (アクセルの如く) 働く交感神経系に対し、副交感神経系 (迷走神経) は、抑制的に (ブレーキの如く) 言い換えれば保護的に働く系なので、そのトーンスを現す HF の低下は保護系の破綻を意味し、不整脈発生につながるということは容易に理解できる。

こういった症例の治療法としては、抗不整脈薬の投与とともに、交感神経 β_1 遮断薬の使用が一般的である。すなわち薬剤で副交感神経系のトーンスを高めることは困難なので、逆に攻撃因子 (交感神経系) をブロックしようという考えである。しかしながら興味深いことに、前述のような HF 低下に伴い VT が出現する症例では、 β_1 遮断薬の使用により HF の日内変動の振幅が減少、すなわち HF の極端な低下が抑制され、これも治療効果の発現 (VT の消失) に関連することが明らかになった (図 10)⁸⁾。

以上示した如く、不整脈発生の 3 要因のうち、3) の修飾因子としての自律神経系の関与が大きい場合には、これに対する薬物的介入はきわめて有効である。

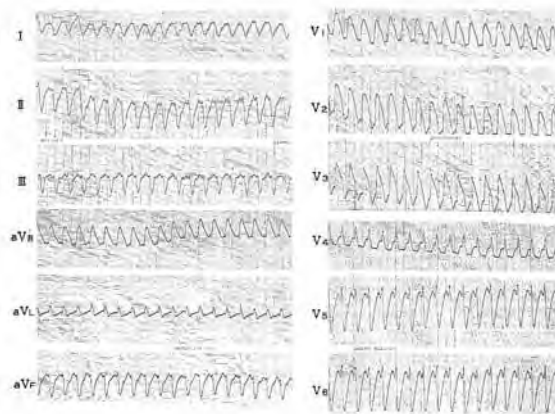


図 7 心室頻拍 (VT) の心電図。

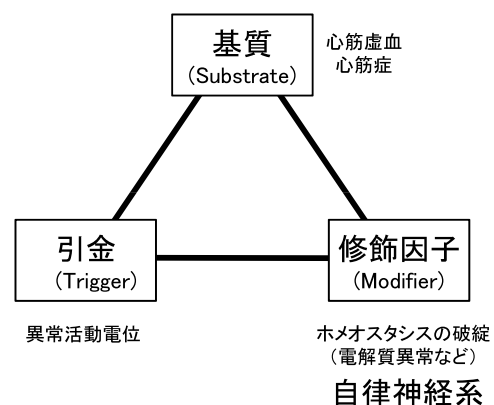


図 8 不整脈発生に関わる 3 つの要因。

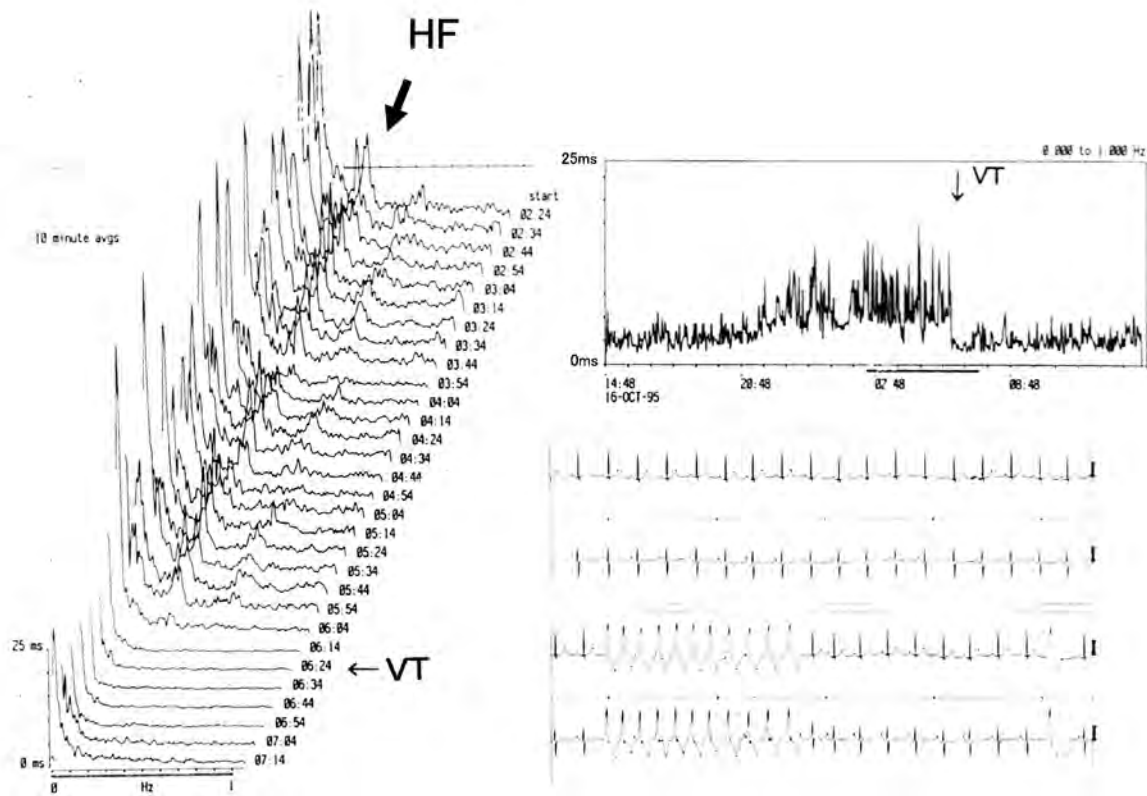


図9 24時間心電図記録中のVT発生。左図で、10分ごとのパワースペクトル解析において、6時14分に急速にHFが低下しVTが生じた。右上図はこれをグラフ化したもの。右下図は実際に記録されたVTの心電図。

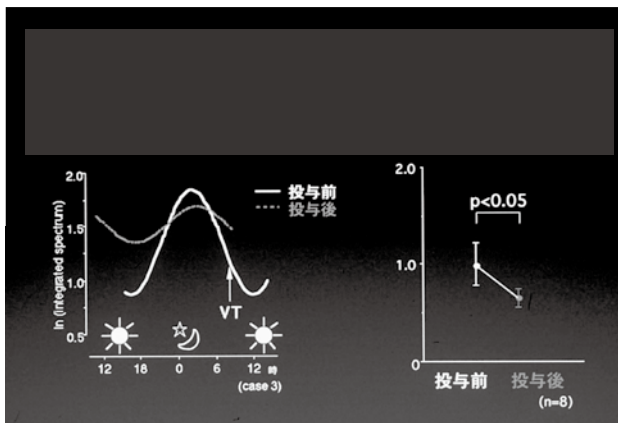


図10 β_1 遮断薬の有効性を示す臨床例。左図で、薬剤投与前にはHFの日内変動の振幅が極めて大きく、早朝の著明な落ち込みに伴いVTが出現したが、投与後は振幅が減少し落ち込みも小さくなり、VT発生は抑制された。右図は β_1 遮断薬が有効であった8例の検討で、投与後HF日内変動の振幅は有意に減少している。

心房細動のカテーテルアブレーションに伴う自律神経機能障害

しかしながら、最も本質的・理想的な不整脈の治療は1)の不整脈発生の基質に対する治療すなわち「不整脈の発生源そのものを除去してしまうこと」に他ならない。そのため不整脈基質に対する手術療法が発展を遂げてきた。近年、開胸を伴わず、心臓カテーテルを用いて不整脈基質を約50℃前後の熱で焼灼して根治する経皮的カテーテル心筋焼術（カテーテルアブレーション）が飛躍的に発展を遂げており、旭川医科大学病院でも、循環器内科において筆者らのグループを中心に実績を上げてきている。本術式は当初、発作性上室性頻拍など比較的根治の容易な不整脈の治療に限定されていたが、近年、三次元マッピング装置の普及により不整脈基質の同定がより正確となり、上述のVTや心房細動 (atrial fibrillation : AF) など複雑な不整脈への応用が可能となった。

AFは高血圧・肥満などの生活習慣病の進展や人口

の高齢化に伴い罹患率がしだいに増加している不整脈である（図 11）。心不全の原因となり、また左心房内血栓の形成から脳梗塞に代表される動脈血栓塞栓症を引き起こすことでも臨床上重要である。近年の心臓電気生理学の発展により、AF は高率（約 80%）に肺静脈を起源とすることが明らかとなってきた⁹⁾。したがって 4 本の肺静脈の周囲にカテーテルアブレーションを施す「肺静脈隔離術」が AF の標準的根治術として確立されつつある。

しかしながら、どの手術手技にも言えることではあるが、カテーテルアブレーションにも低頻度ながら合併症の可能性はある。その一つに自律神経障害があげられる。図 12 はイヌ心を前面 (A) および後面 (B) から俯瞰した図であるが¹⁰⁾、心臓に分布する迷走神経系のシナプス（神経節）は古典的にはここに示される 3 か所すなわち上大静脈—大動脈間 (SVC-Ao)、右肺静脈 (RPV) および下大静脈—左心房間 (IVC-LA) の脂肪体 (fat pad : FP) 内に存在するとされる。このうち右肺静脈脂肪体 (RPVFP) はもっぱら洞結節に節後線維を送っているとされ、ためにこれの障害は洞調律への迷走神経コントロールの破綻を来す可能性がある。前述のごとく AF に対する肺静脈隔離術は肺静脈周囲へのカテーテルアブレーション手技であり、洞結節支配迷走神経線維の傷害が合併症としておきる可能性がある。このことを検証するため、筆者らはイヌ左心房肺静脈近傍にカテーテルアブレーションを施行し、その前後での迷走神経機能を比較した¹¹⁾。迷走神経機能の指標としては、これまで述べてきたパワースペクトル解析における HF は実験系の安定性などの問題から適用が困難であったため、頸部迷走神経幹の電気刺激による洞周期の延長（洞停止）の程度を指標とした。結果は図 13、14 に示したごとくで、頸部迷走神経幹刺激により得られた洞周期の延長（洞停止時

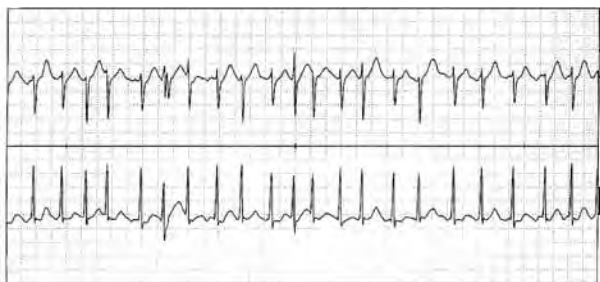


図 11 心房細動 (AF) の心電図。

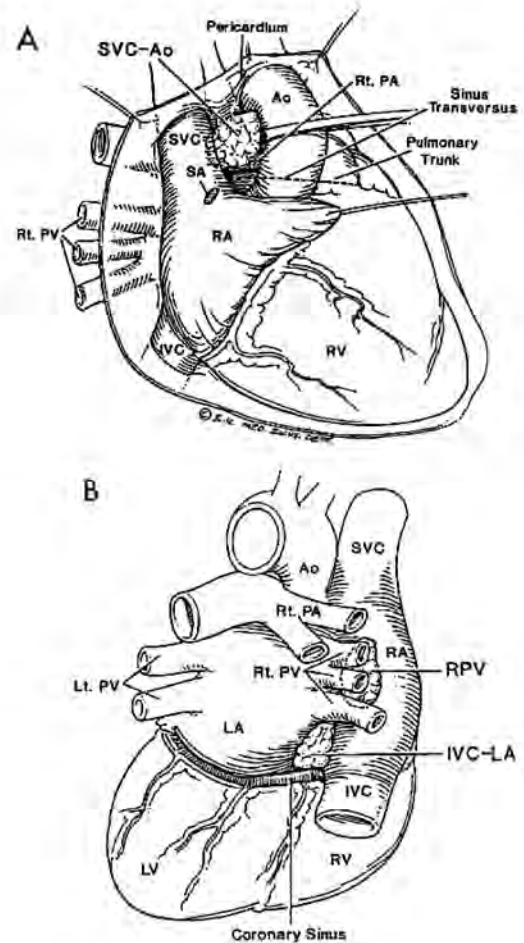


図 12 イヌ心迷走神経節を含む脂肪体 (fat pad) の位置 (SVC-Ao, RPV, IVC-LA) を示した模式図（文献 10）より引用）。

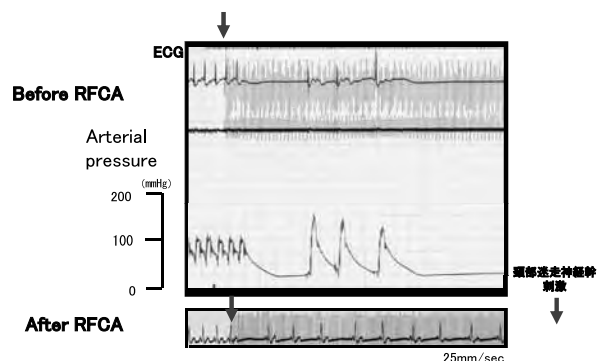


図 13 右肺静脈アブレーションによる、頸部迷走神経幹電気刺激効果の変化を示す実図。アブレーション前 (Before RFCA) にみられた洞停止は、アブレーション後 (After RFCA) に著明に減弱している（文献 11）より改変）。

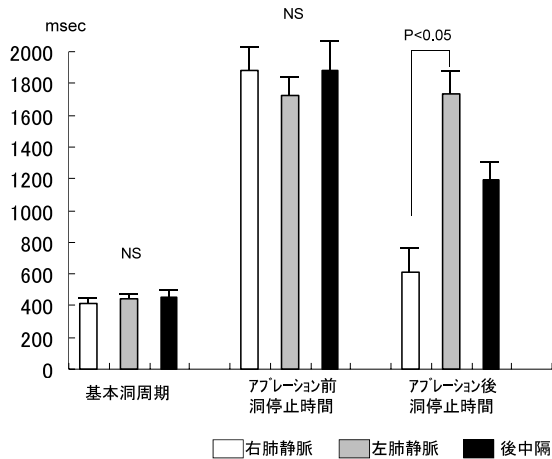


図 14 3つの異なった部位へのアブレーション前後での、頸部迷走神経幹刺激により得られた洞停止時間の差異 (各群 n=7)。右肺静脈アブレーション後の洞停止抑制は左肺静脈アブレーション後 (ほとんど抑制されていない) に比し有意に大であった。しかしながら完全な抑制すなわち基本洞周期のレベルには到達していない (文献 11) より改変)。なお「後中隔」は発作性上室性頻拍を模して右心房後中隔へアブレーションを施した結果であり、右肺静脈と左肺静脈の中間的な迷走神経障害が示されている。

間)は、右肺静脈アブレーション後著しく抑制される一方、左肺静脈アブレーションにはほとんど影響を受けなかった。すなわち主として右肺静脈アブレーションにおいて洞結節支配迷走神経系の障害が生じることが明らかとなった。このことにはおそらく解剖学的に RPVFP が右肺静脈に近接していることが関係している。しかしながらここで、洞停止時間は著しく抑制されたものの完全ではない (図 14 の白抜き棒の、「基本周期」と「アブレーション後」の比較; わずかに後者が高い) ことは注目すべきで、これはアブレーションの不完全性を示している可能性もあるが、この後 RPVFP に hexamethonium を注入し、完全に節遮断を行った後にもこの差は消失しなかったことから、RPVFP を経由する経路以外にも洞結節支配迷走神経系の経路が存在する可能性が考えられる。この結果は古典的概念にはやや反する。しかし臨床的にはカテテルアブレーションにより迷走神経が刺激されていると考えられる箇所は図 15 のごとく意外に多数存在することも知られてきており¹²⁾、ヒトとイヌの解剖学的差異という問題は別にしても、迷走神経節は従来知られているよりも広範に心表面に分布している可能性は高い。この分野における未知の部分は大きく、今後の研究の累積が待たれる。

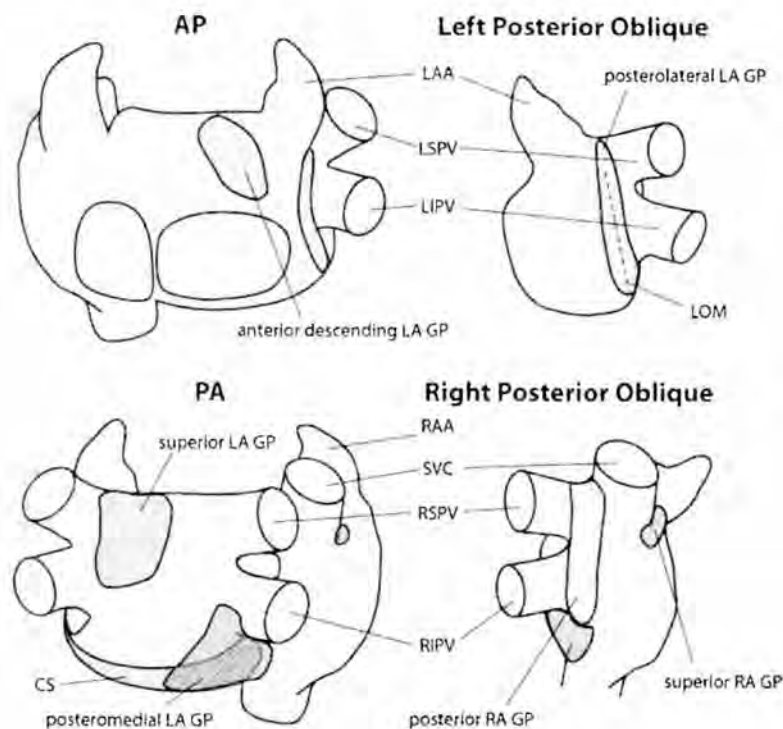


図 15 ヒトにおける心外面の迷走神経節の分布 (臨床電気生理学的検討に基づく推定) (文献 12) より引用)。

おわりに

自律神経活動と心疾患、特に不整脈疾患との関連につき、筆者らの研究結果も交えて概説した。心臓に対し、交感神経系は促進的（攻撃的）に、副交感神経系（迷走神経系）は抑制的（保護的）に働く系である。あたかも自動車におけるアクセルとブレーキのごとく、両者が正しいバランスを保つことにより生理的状态が維持される。迷走神経系の破綻は重症不整脈をはじめとする種々の心臓発作に修飾因子として関与する。心拍変動パワースペクトル解析の指標である HF は非侵襲的な手技により心臓迷走神経活動を単独に抽出する画期的なパラメーターであり、心臓疾患の予後、易発作性、薬物効果などの推定・判定がある程度可能である。カテーテルアブレーションは近年飛躍的に進歩を遂げている不整脈根治術であるが、本術式と自律神経機能との関連も、合併症の問題も含め今後検討を重ねていく必要がある。

参考文献

- 1) 井上博：循環器疾患と自律神経機能。医学書院、1996
- 2) Akselrod S, Gordon D, Ubel FA, et al. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation : A quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* 213 : 220-222, 1981
- 3) Pomeranz B, Macauley RJB, Caudill MA, et al. Assessment of autonomic function in humans by heart rate spectral analysis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 248 : H151-H153, 1985
- 4) Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S, et al. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of symptho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circ Res* 59 : 178-193, 1986
- 5) Bernston GG, Cacioppo JT, Quigley KS. Respiratory sinus arrhythmia: Autonomic origins, physiological mechanisms, and psychophysiological implications. *Psychophysiology* 30 : 183-196, 1993
- 6) Penaz J. Mayer waves : History and methodology. *Automedica* 2 : 135-141, 1978
- 7) Madwed JB, Albrecht P, Mark RG, et al. Low-frequency oscillation in arterial pressure and heart rate : A simple computer model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 256 : H1573-H1579, 1991
- 8) 川村祐一郎、赤坂和美、横山亜由美、他：発作直前に心拍変動の低下を示し、 β 遮断薬が有効であった特発性心室頻拍の1例。循環科学：17;1110-1113,1997
- 9) Haisaguerre M, Jais P, Shah DC, et al. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats origination in the pulmonary veins. *N Engl J Med* 339 : 659-666, 1998
- 10) Ardell JL, Randall WC. Selective vagal innervation of sinoatrial and atrioventricular nodes in canine heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 251 : H764-H773, 1986
- 11) Kamada S, Kawamura Y, Iida Y, et al. An experimental study on the site dependency and mechanism of vagal denervation following radiofrequency catheter ablation for supraventricular arrhythmias including atrial fibrillation. *Int heart J* 49 : 493-506, 2008
- 12) Nademanee K, Lockwood E, Oketani N. et al. Catheter ablation of atrial fibrillation guided by complex fractionated atrial electrogram mapping of atrial fibrillation substrate. *Journal of Cardiology* 55 : 1-12, 2010

Autonomic Nervous System and Cardiovascular Disorder

KAWAMURA Yuichiro, MD.*

Summary

Autonomic nervous system plays several significant rolls on controlling cardiovascular system, especially in the mechanism of cardiac rhythm disorder. Spectral analysis of heart rate variability is a popular and non-invasive strategy to investigate the magnitude of sympathetic and parasympathetic power affecting on the occurrence of life-threatening arrhythmias and other cardiovascular events. Radiofrequency catheter ablation is a promising radical therapy for several arrhythmias with a clinical significance. However, this strategy could have both beneficial and disadvantageous effect on the cardiac autonomic nervous system, for which further experimental and clinical research are needed.

Key words Autonomic nervous system, heart rate variability, arrhythmias

* Health Administration Center

エッセイ

自己山林によるカラマツ住宅建設の顛末

谷 本 光 穂

定年が真近に迫った頃、定年後はスローライフを楽しもうと旭川市の隣町である比布町に、すぐ近くが水田になっている里山風の土地約 0.5 ヘクタールを準備した。その土地には樹齢が 50 年と 60 年で樹高 30 メートルの立派なカラマツの植林木が鬱蒼と繁っている。ちょうど神楽岡公園の中にいるような感じである。林の中に入ると、木の匂いが漂い、静けさと共に空気が澄んでいるような感覚になり爽やかなリラックスした気分になる。ストレスは解消され、NK 細胞が確かに増えてくるという感覚が実感される。近くに国道 40 号線が、反対側には高速道路（道央自動車道）の比布 JCT もあるが、車の騒音は一切聞こえない。森林の周辺には、雪解け時期には可憐なカタクリの花が咲き乱れ、わらび、たらの目、ウドなど山菜がいくらかでもあり、私のような初心者でもすぐに目に付き、春先の山菜取りが実に楽しい。また、秋には落葉キノコが発生し、近郊からも大勢きのこ狩りに来ているようだ。このような環境に囲まれた場所に自宅建設を思い立った。まず、100 本程のカラマツを伐採し敷地を確保した。伐採は近くの当麻森林組合にお願いした。しかし、カラマツは伐採してもすぐには建材として使えないこと、ねじれ、たわみなど癖があるので自然乾燥、強制乾燥をしなければならないこと、建築資材として使えるようになるには数年を要することなどを始めて知った。

しかし、上川総合振興局南部森林室（旧上川支庁南部森づくりセンター）や、上川支庁（当時）から十勝支庁（当時）へ転勤になった知人などから「新月伐採」という言葉を始めて知らされた。「新月伐採」とは冬の新月近くに伐採したカラマツ材は腐りにくい、暴れにくい、狂いがないなど長期乾燥等しなくても建材として十分使用可能となるそうだ。ヨーロッパの木こり達（特にドイツ、オーストリア）では昔からこの

ような智慧を持っているという話である。このような「新月伐採」法で生産された木材をノイモントホルツ（Neumond holt）と呼んでいる。私は一昨年（2008）年の 12 月の新月一週間前に「新月伐採」し、その効果を納得すべく、このホルツの小片の試料を道立林産試験場（西神楽）に持ち込み同森林室と同試験場共同で、ヤング率、含水率の測定をした。翌年の夏、更に伐採しその小片も比較のため測定を行った。含水率の結果は、平均（芯材と辺材）49%減っていたことが分かり、素晴らしい方法だと感心もし、納得もした。

さて、この伐採した原木を製材しなくてはならない。それにしても、自己山林のカラマツを使ってマイホームを建てるなんて、なんとも贅沢であり、また、気持ちのいいものだ。しかし、残念ながらカラマツを専門に製材、乾燥し建材として供する施設は旭川近郊には皆無であることがわかり、すっかり慌てた。同森林室からの助言もあって製材は上富良野の製材所で賃挽き（他人の木材と区別するために製材装置を借り切って行う）、人工乾燥は帯広の製材所で同様に乾燥釜を借り切って行った。

外国産の材木は安価に手に入るが、今回は地産地消に拘った。地産地消といえば、農業分野でよく言われているが、これはフード・マイレージ（FM）つまり、食材の重量×移動距離の数値が小さいほうがエコロジ的に優しいとされている。実は、林業分野でも同様の概念があり、ウッドマイレージ（WM）というものがある。これは、材木重量（トン）×移動距離（キロメートル）で定義されるようである。この量は、物理学では仕事量に相当する。つまり、移動する前にこの材木は消費するのにこれだけのエネルギーを持っているということの意味する。当然、この数値が小さいほうが環境やエコロジ的には望まれる。従って外国産の木材の利用よりも国内の材木の利用を推奨する

し、地元のものの利用がより環境に良いというわけである。私の場合は地産地消というよりも、自産自消のほうが適切であろうし、WMの値は相当小さくなることになる。私が自前のカラマツ材に拘った理由は実はここにあるのである。昨年は、同森林室主催のフォーラムで“自己山林を活用したカラマツ住宅建築への挑戦”と題して熱く喋ったりした。

カラマツの家には不思議な魅力がある。それは、木目の美しさや独特の匂いかもしれないし、あるいは、木のもつ吸湿放湿のせいかもしれない。でもやはり自然な素材だからだと思う。カラマツは「ねじれやすい」「ヤニが多い」と言われており、一昔前まで、住宅建材には向かないとされ、ほとんどのカラマツ材は「梱包材」や「パレット」としてしか使われていなかったが、現在では人工乾燥技術の発達により住宅建材としても用いられるようになってきている。しかし、その製材技術は旭川近郊では十勝地方が非常に充実しており、上川地方はまだまだ遅れているようである。それにしても「仕事量」とか「エネルギー」、「ポテンシャル」といった量の概念については、あまり理解されていないようである。例えば「エネルギー」は「力」であるとか「エコ」とは「節約」であるといった程度の理解の仕方のようなのである。エコポイントとかエコ住宅とか「エコ」という言葉は氾濫しているが、皆さん結構深く考えるのが苦手ようで、若いときの科学教育が如何に大切かと切実に感じた。特にエネルギーとかポテンシャルとは何かを十分理解することが大切であると感じていた。今年の春、旭川西高校の先生よりこの度文部科学省のスーパーサイエンスハイスクール（SSH）指定校になったので物理の講義を担当して欲しいという要請があった。この事業は理数系教育の充実と国際性を育てることを目的としており、全て英語のテキストを使用、例えば数学や生物、化学ではそれぞれ「SS mathematics I」、「SS biology I」、「SS chemistry I」という科目名になっている。しかし、物理では「SS energy I」で、physicsではなくenergyになっている。先生の話から、特に「エネルギー」に的を絞って講義して欲しいという要望であった。私はこれ幸いと快く引き受けたわけである。講義の初日は「なぜ世界一でなきゃダメですか？」、「二位じゃダメですか？」今ではすっかり有名になったこのフレーズをテーマに科学とは何か、科学者の研究に対する姿勢等について討論したり、日本の

ノーベル賞受賞者の話をしたりしてスタートし、現在結構楽しくやっている。講義を通じて、「エネルギー」の概念が正しく理解されるよう講義内容の改善や教材開発など、いま、頭をひねりつつ奮闘している。

さて、カラマツ住宅の話に戻るが、私の身内の不幸や、建設を手がけてくれことになっていた工務店の社長さんが亡くなったこと、地盤調査の結果から想定外のかんりの補強をしなければならなくなったことなどが重なり、地鎮祭の準備までしたけど残念ながら計画を断念する羽目になってしまった。まさに青天の霹靂、真夏の世の夢となってしまった。しかし、軟弱な地盤でも小さな規模なら大丈夫だろうと思い、簡単なコテージを建てることに変更した。カラマツの建材はふんだんにあるので、オールマイカラマツ 100%を目指して建てることにした。垂木（たるき）、貫（ぬき）、胴縁（どうぶち）といった壁（珪藻土などの内壁や外板壁）の下地部分もカラマツ材を使用、更に玄関ドアもマイカラマツで作ってもらうことにした。また、シックハウスからの被害を避けるために建材は全て無垢材を使用することにしている。今やっと着工にこぎ着け、今年の初冬には完成をみる予定である。

ところで、「新月伐採」の効果を調べるために西神楽にある道立林産試験場の協力によって、建材の強度、含水率など様々な測定をしたわけであるが、試験をするにあたって試験場職員である若い木材の研究者と連絡を取ったとき、その研究者は「新月伐採」効果については非常に懐疑的に考えているようで、話が食い違うこともしばしばあった。

研究者は常に旺盛な知的好奇心をもって、そして、社会的要請が何処にあるかを常に考えながら問題を取り上げ、その問題解決によって社会的貢献の効果を見定め、努力してもらいたい。研究で解決したことは氷山の一角で、真実はまだまだ闇の中ということも自覚してもらいたい。特に、若い研究者にはこのような努力を精一杯してもらいたいし、そのような努力が出来る環境を周りのものは是非作ってあげてほしいと切実に思っている。

今後数年かけて、生まれてこの方一度も経験のない枝打ちや下草刈などを行い、カラマツ林をゆっくりと楽しみながら整備し、快適なスローライフを思いっきり楽しもうと思っている。

依頼稿 (報告)

平成 21 年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題

1) 脱髄および再髄鞘化におけるニューロシンの発現意義およびその作用機序

研究代表者 田中 達英

[研究の背景と目的]

多発性硬化症に代表される脱髄疾患の病因は現時点では不明であり、その根治療法は存在しない。患者は長期にわたり神経障害に苦しむため、効果的な治療法の開発が急務である。一方で脱髄疾患に対する、より有効な治療法の開発のためには、どのようなメカニズムで脱髄が起こるのかという問題を解決することが重要である。

これまで、多発性硬化症モデルマウス (EAE) の脱髄部位周囲においてセリンプロテアーゼの一つ、ニューロシン (別名 kallikrein 6, 以下 KLK6 と略す) の発現が髄鞘 (ミエリン) 形成細胞であるオリゴデンドロサイトで惹起されることを見出し、KLK6 は脱髄に対して非常に重要な因子であることが示唆されている。しかしながら、KLK6 を介したその詳細な作用機序については不明な点が多い。

そこで、本研究では KLK6-KO マウスを用いて髄鞘に及ぼす KLK6 の詳細な作用機序の解明を目指した。

[結果と考察]

1. WT および KLK6-KO マウスにおけるミエリン構成因子の発現量

0.2% cuprizone 含有飼料をマウスに与えると脳梁において徐々に脱髄が進行する。本研究ではまず、WT (8-10 週齢雌性 C57BL/6-KLK6^{+/+}) および KLK6-KO マウス (8-10 週齢雌性 C57BL/6-KLK6^{-/-}) に 0.2% cuprizone を 6 週間投与し、ミエリン構成因子 (MBP, CNPase) の発現量を蛋白質レベル、遺伝子レベルで比較した。WT では脱髄とともに MBP および CNPase の発現量が減少していたのに対し、KLK6-KO マウス

では減少の程度が少なかった。また、成熟型オリゴデンドロサイトの数も WT と比較して有意に多かった。

0.2% cuprizone 6 週間投与による脱髄の特徴の一つとして、投与終盤 (5-6 週目) における自発的な再ミエリン化がある。投与 6 週において KLK6-KO マウスのミエリン構成因子発現量が高いのは、脱髄が軽減されているのか、それとも自発的な再ミエリン化が促進されているのかを検討するため、経時的な変化を調べたところ、KLK6-KO マウスにおいて MBP および CNPase 遺伝子発現量は投与後 2 週間で WT と同程度減少するものの、その後の過程では WT と比べて発現の上昇がより顕著であった (図 1)。これは、cuprizone 投与 2 週以降に KLK6-KO マウスの方が WT よりも自発的な再ミエリン化が亢進されることを示唆している。

2. 再ミエリン化におけるミクログリアの役割

では、なぜ KLK6-KO マウスでは自発的な再ミエリン化が促進されるのだろうか。本研究では、組織の修復や再生に重要な働きを担うミクログリアの機能に着目した。Cuprizone を用いた本モデルでは 3-6 週にか

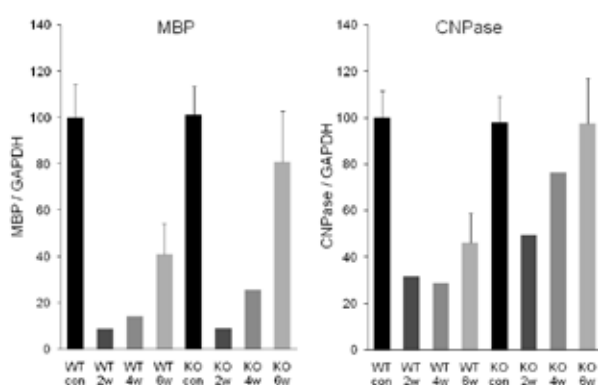


図 1 WT と KLK6-KO におけるミエリン構成因子の発現量

けて脱髄が顕著に誘導される脳梁においてミクログリアが集積し、様々なサイトカインや growth factor を分泌することにより、脱髄後の自発的な再ミエリン化に寄与することが報告されている。興味深いことに、KLK6-KO マウスでは WT と比べてミクログリアの活性化が早期に促進される傾向にあった。ミクログリアは中枢神経系において不要となったデブリスを貪食する機能を保持しているが、再生の観点からすれば、傷害によって形成されるデブリスの除去がその後の再生にとって重要なステップとなる。事実、cuprizone 投与 6 週目では WT よりも KLK6-KO マウスにおいてミクログリアの貪食能が亢進していることが、CD68 抗体を用いた免疫染色により明らかとなった (図 2)。

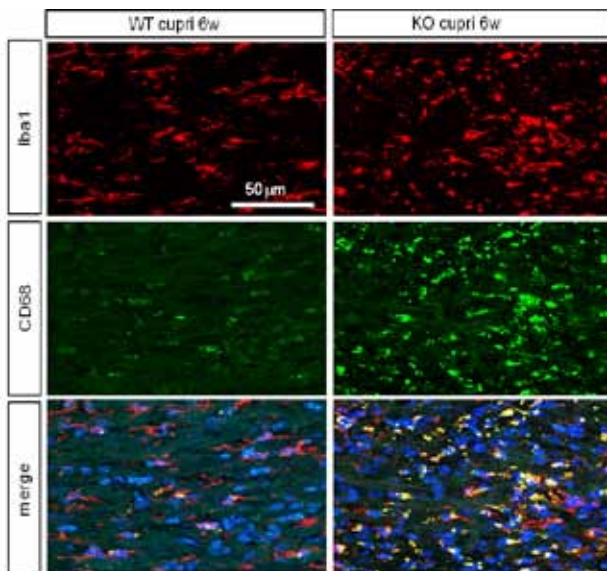


図 2 WTKLK6-KO における貪食能の比較

Iba1, ミクログリアのマーカー。CD68, リソソーム膜に発現し、その発現は貪食能と相関する。

[まとめ]

脱髄後に起こる自発的な再ミエリン化過程には活性化ミクログリアから遊離される組織保護的な因子に加えて、不要なデブリスの貪食が重要である。この過程において KLK6 はミクログリアの活性化を阻害して、再ミエリン化への移行を遅らせている可能性がある。今後、更なる詳細な分子機序の解明する予定である。

2) 細胞内小器官表面の微細構築と分子局在を総合的に捉える新たな顕微鏡観察技法の開発

研究代表者 渡部 剛

[研究の背景と目的]

一般に、生体の 3 次元的な微細構築の把握には走査型電顕 (SEM) 観察が適しているが、従来の SEM 観察標本作製法では、下垂体前葉など多種類の内分泌細胞が混在する組織中で特定の細胞を正確に同定し解析することは困難であった。そこで、本研究では、この標本作製法を改良することで、複雑な細胞構成からなる組織標本上で特定の細胞を正確に同定し、さらにその細胞内の内膜系小器官の立体構築を SEM で自在に観察できる技法を開発した。

[研究方法]

組織標本の固定と氷晶形成防止処理：8 週齢の Wistar 系雄ラットを 0.5% グルタルアルデヒドと 0.5% パラフォルムアルデヒドを含む 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で灌流固定し、切除した下垂体組織を細切後、1% 四酸化オスミウム溶液で浸漬固定した (1 時間、4℃)。固定された下垂体組織は、0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で洗浄後、1.84 M sucrose - 20% PVP を含む 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) に浸漬して氷晶形成防止処理を行った。

凍結組織標本の切削と任意の組織準超薄切片の取得：氷晶形成防止処理を施した下垂体組織は、凍結超薄切片作製用試料ホルダーに載せ、液体窒素で急速凍結した後、凍結切削ユニットを装着したウルトラミクロトーム (Leica UC7) により -80℃ の低温環境下で薄切した。得られた 1 μ 厚の凍結組織切片は、あらかじめシリコーティングを施したスライドガラス上で伸展させ、トルイジンブルーによる組織染色および抗下垂体前葉ホルモン抗体を用いた免疫組織化学染色に供した。一方、組織切片を切削した後に残された組織ブロックは、ミクロトームから脱着し、上記の氷晶形成防止液中に再び浸漬して解凍した。

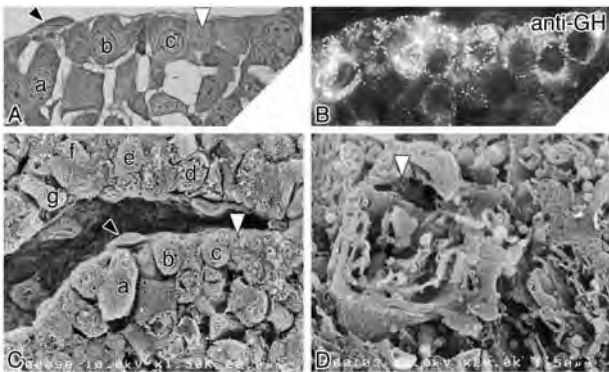
オスミウム浸軟処理による SEM 観察標本の作製：凍結切片取得後、解凍した下垂体組織ブロックは、0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で洗浄後、0.1% 四酸化オスミウム溶液に浸漬して、細胞内膜系小器官の追固定と細胞質成分の溶出処理 (浸軟処理) を行った (72 時間、25℃)。浸軟処理後、下垂体組織を再び 1% 四

酸化オスミウム溶液で浸漬固定し（1時間、4℃）、さらに、0.1M リン酸緩衝液（pH 7.4）で洗浄後、1%タンニン酸および1%四酸化オスミウム溶液に浸漬して導電処理を行った。導電処理を施した下垂体組織標本は、さらに常法に従って脱水、臨界点乾燥、金属蒸着処理を行い、走査型電子顕微鏡で観察した。

[研究結果]

今回作製した下垂体組織標本で対応する部位の光学顕微鏡像（A（トルイジンブルー染色像）、B（抗 GH 抗体による蛍光免疫染色像））と SEM 観察像（C（低倍像）、D（高倍像））を右下図に示した。

SEM 観察標本の断面に隣接する凍結切片を一般染色し光学顕微鏡で観察すると、SEM 観察標本で観察される細胞を正確に同定することができた（図 A および C の a、b、c）。さらに、隣接切片を免疫染色したところ、この領域には GH 産生細胞が集積していた。そこで、対応する下垂体組織断面を SEM で倍率を上げて観察すると、板状のゴルジ層板を有する球形のゴルジ装置が観察され、GH 細胞におけるゴルジ装置の微細構造の立体的な特徴が明らかになった（図 A、C、および D、白矢頭）。



[まとめ]

今回の研究では、透過型電顕観察のための凍結超薄切片法のプロトコルをオスミウム浸軟標本作製に応用することによって、従来の DMSO 割断法に匹敵する SEM 観察用標本が作製できた。この方法を用いれば、従来の DMSO 割断法ではこれまで困難であった、SEM 観察視野と対応した組織切片の採取ができ、多種類の細胞からなる複雑な生体組織中で目的の細胞を正確に同定して、その細胞内小器官の立体的な微細構

造を解析できる。さらに免疫組織化学標識のタイミングや反応条件を工夫することで、将来的には、SEM 観察用の組織標本上で直接的に分子局在を可視化する方法にまで、この技法を発展させたい。

3) 平滑筋における CRAC チャネル構成タンパク質 ORAI 1 の機能と制御分子の解明

研究代表者 宮津 基

[背景と目的]

Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} (CRAC) チャネルは小胞体 (ER) Ca^{2+} 貯蔵からの Ca^{2+} 放出により活性化される形質膜に存在する Ca^{2+} 透過性のチャネルであり、T-細胞の活性化に必須である。この CRAC チャネルの主要な構成蛋白質である Orail 蛋白質は、301 アミノ酸からなる膜 4 回貫通型の膜蛋白質で、既知の電位依存性 Ca^{2+} チャネルや TRP 陽イオンチャネルとはまったく異なる構造を持つ新規の蛋白質である。

本研究計画は、自律神経系の効果器である平滑筋に注目し、交感神経刺激、あるいは副交感神経刺激に応じて収縮する平滑筋において、Orail ファミリー蛋白質と CRAC チャネルとの関連、その制御機構の分子実体の解明を目指す。

[研究方法]

平滑筋は副交感神経系の効果器であるウシ毛様体から摘出した。酵素処理で単離後、短期培養した毛様体筋細胞を用い、Fluo-4 蛍光法により細胞内濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) の変動を記録した。上記と同様のウシ毛様体筋において電位固定法により全膜電流を測定した。Orail、STIM1 の発現の検討には RT-PCR 法と免疫細胞蛍光顕微鏡法を用いた。小胞体 Ca^{2+} 貯蔵の枯渇との関連性について、小胞体の Ca^{2+} 放出薬 caffeine と小胞体 Ca^{2+} ポンプ阻害薬である thapsigargin の効果について検討した。

[結 果]

機能的な CRAC チャネルがウシ毛様体平滑筋に存在するかどうかを検討するために、小胞体のライアノジン受容体作動薬である caffeine の効果について検討した。最初に、単離した毛様体筋の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ に対する caffeine の効果について検討すると、caffeine (5-20 mM) の細胞外灌流とともに、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ はピーク状に上昇し、30 秒以内にプラトー相に移行した。細胞外液

Ca^{2+} 除去後も前者は観察されたが、後者は消失した。また、非選択性陽イオンチャネルのブロッカーである La^{3+} により後者は抑制され、細胞外からの Ca^{2+} 流入の関与が示唆された。

毛様体筋細胞を -50 mV の膜電位固定下で *caffeine* 灌流すると、内向き電流が惹起された。ムスカリン刺激によって活性化される2つの非選択性陽イオンチャネルの中で、この電流はコンダクタンスの小さい NSCCS のみの開口によるものであることがわかった。

小胞体 Ca^{2+} ポンプ阻害薬である *thapsigargin* を $0.3\text{--}1 \mu\text{M}$ の濃度で2–5分間処理し、続いて *caffeine* で刺激すると、*caffeine* の洗い流した後も NSCCS 電流が維持された。同様な実験を $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 測定で検討すると、持続性の Ca^{2+} 上昇が *caffeine* の洗い流した後も維持された。同様に、ムスカリン刺激後において NSCCS 電流、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇が維持された。

筋組織から抽出したトータル RNA を用いた RT-PCR により、STIM1、Orail の蛋白質翻訳領域の全長 cDNA を増幅した。定量的 PCR 法を用いてその発現量を検討すると、STIM1 の mRNA の発現が Orail より多く検出された。

毛様体筋細胞を免疫染色するためにジギトニンにより膜透過性処理をした後、無固定下で免疫細胞染色を行った。STIM1 タンパク質、Orail タンパク質の両者が平滑筋マーカーである α -アクチン陽性細胞に発現していることがわかった。また、底面側の形質膜標本を使用して Orail の免疫染色を行うと、 α -アクチン陽性形質膜中にその発現が観察された (図1)。

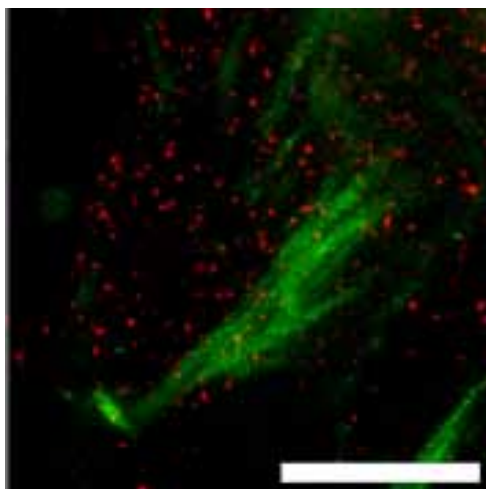


図1 毛様体平滑筋の形質膜中における Orail の局在
Orail (赤) α -アクチン (緑) スケール、 $10 \mu\text{m}$

[考 察]

ウシ毛様体平滑筋において $[\text{Ca}^{2+}]_i$ と単一細胞全電流の測定から、*caffeine* により活性化され、*thapsigargin* によりその活性化が維持される CRAC チャネル電流が確認された。興味深いことに、ムスカリン刺激によって活性化される非選択性陽イオンチャネルの一つ (NSCCS) が CRAC チャネルである可能性が強く示唆された。また、CRAC チャネルを構成する分子である Orail、その調節分子である STIM1 蛋白質の両者が毛様体平滑筋に非常に豊富に発現していることがわかった。

[まとめ]

副交感神経の効果器であるウシ毛様体平滑筋においても STIM1・Orail から構成される CRAC チャネルが持続的筋収縮の維持などの生理的役割を担っていることが期待される。

4) 非イオン性界面活性剤によるイオンチャネル阻害機構

研究代表者 野口 智弘

[研究目的]

非イオン性界面活性剤 Cremophor EL (CrEL) は、さまざまな疎水性化合物を可溶化する溶解補助剤として幅広く用いられている。例えば、抗癌剤パクリタキセルや免疫抑制剤シクロスポリンの製剤に CrEL は含まれている。これらの製剤の投与ではときに副作用として神経障害 (感覚鈍麻、異痛、痛覚過敏、てんかん等) の発生が問題となる。これらの製剤に共通の溶媒として使用されている CrEL と神経障害の関連は従来より指摘されてきた。神経障害には神経の興奮性を決定する電位依存性イオンチャネルの機能異常が関与する。しかしながら、CrEL がイオンチャネルの機能にどのような影響を与えるのかはこれまでほとんど調べられていない。

本研究ではヒト神経芽腫細胞株 SH-SY5Y にホールセルパッチクランプ法を適用し、CrEL が電位依存性 Na^+ チャネル電流および K^+ チャネル電流にどのような作用を及ぼすかを検討した。その結果、CrEL はチャネル電流を減少させるだけでなく、電流のカイネティクスも変化させることを見出した。これらの解析から CrEL は細胞膜への作用を通じてイオンチャネルの立

体構造に影響を与える可能性が示唆された。

[研究方法]

SH-SY5Y 細胞は通常濃度の半分である 5% 牛胎児血清を含んだ DMEM 培地中で培養された。血清濃度を下げることにより、細胞の分化を誘導した。実験に用いる 1 週間前には 4 μ M aminopterin を培地に加え、未分化細胞の増殖を抑制した。顕微鏡下で神経突起の伸長を指標として、分化した細胞を選び、ホールセルパッチ電流を記録した。細胞外液に CrEL を加えたときの電流の変化を調べた。

[結果および考察]

CrEL は濃度依存的に電位依存性 Na^+ チャネル電流 (I_{Na}) および遅延整流性 K^+ チャネル電流 (I_{K}) を抑制した (図 1)。低濃度の CrEL (<10 ppm) は I_{Na} を選択的に抑制するが、CrEL 濃度が高くなるにつれて (>1000 ppm)、その抑制効果は I_{Na} よりむしろ I_{K} の方により強力に発揮される。 I_{Na} は活動電位を発生させる電流成分であり、 I_{K} は上昇した活動電位を静膜電位へ引き戻す成分である。したがって、CrEL 濃度が低いときには I_{Na} のみが抑制されることから活動電位は発生しにくくなり、CrEL 濃度が高いときには I_{Na} より I_{K} の方が大きく抑制されることから活動電位は発生しやすくなる。これらの結果は、薬剤の繰り返し投与による CrEL 蓄積の進行が神経細胞の興奮性を単純に抑制するのではなく亢進させる可能性もあることを示唆している。このことは、CrEL を含む製剤の使用が重なるにつれて感覚の麻痺だけでなく、ピリピリした痺れや刺すような痛みが生じてくる機序に関係するかもしれない。

CrEL は I_{K} の振幅を減少させるだけでなく、その不活性化過程を加速した (図 2)。SH-SY5Y 細胞の I_{K} は通常、比較的大きなふたつの時定数 (~300 ms、~3000 ms) を持つ不活性化過程を示した (図 2B、上段)。しかし、1000 ppm CrEL 存在下では I_{K} の不活性化過程は比較的小さなみつつの時定数 (~20 ms、~200 ms、~1400 ms) によって表された (図 2B、下段)。時定数の減少は CrEL が I_{K} の不活性化を促進することを示す。また、CrEL 存在下では不活性化過程における時定数の数がひとつ増えたことから、CrEL が電位依存性 K^+ チャネルのとりうる不活性化状態の数を少

なくともひとつ増やすことを示唆している。すなわち、CrEL は電位依存性 K^+ チャネルの開口状態から不活性化状態への立体構造変化に影響を与える。非イオン性界面活性剤である CrEL は両親媒性であることから、細胞外液中から細胞の脂質二重膜に挿入されると考えられている。この細胞膜に挿入された CrEL は膜の流動性を変化させる。一方、X 線結晶解析は細胞膜中の電位依存性イオンチャネルが周囲の脂質分子と密接に結合していることを支持しており、分子動態シミュレーションはチャネル開口によって脂質二重膜の変形が生じることを予測している。本実験の結果は、CrEL がこのような膜-チャネル相互作用に介入することによって、 K^+ チャネルの立体構造変化に影響を与える可能性を示唆している。

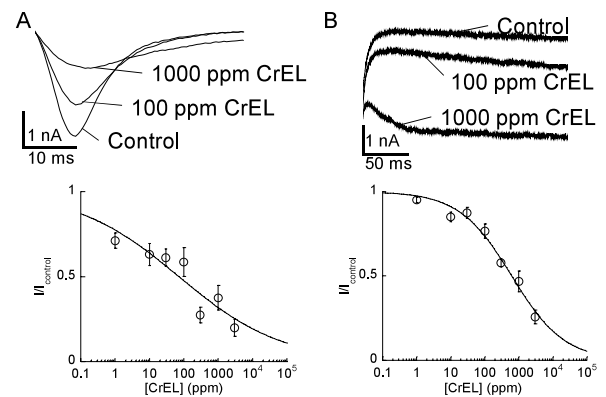


図 1 CrEL 濃度に依存したチャネル電流阻害。A、 Na^+ チャネル電流 (上) と濃度抑制曲線 (下)。B、 K^+ チャネル電流 (上) と濃度抑制曲線 (下)。

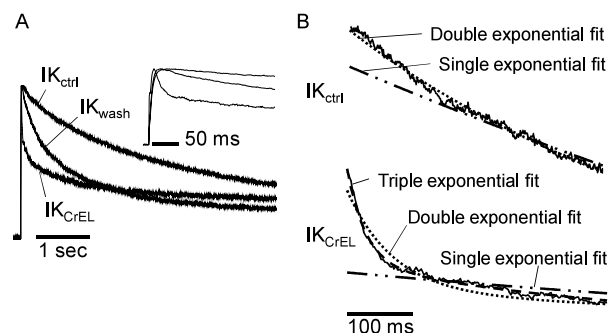


図 2 CrEL による K^+ チャネル電流不活性化過程の修飾。A、CrEL の有無における不活性化過程の比較。B、不活性化過程のカーブフィット。

5) 生体組織の機能保持メカニズムの解明—軟体動物 表皮色素胞の運動能持続と ATP 合成活性の追跡—

研究代表者 加藤 早苗

【研究の背景と目的】

個体の死後においても末梢組織機能が持続する現象は、哺乳動物を含む多細胞生物に共通して見られる。本研究では末梢組織の細胞運動に着目してその死後変化を追跡し、運動能維持に効果的な組織保存条件を検討し、末梢組織における機能保持メカニズムを解明しようとした。

軟体動物頭足類スルメイカ外套膜表皮に存在する色素胞は刺激に応答して拡大収縮運動をする。その一連の動きはコンマ数秒～数秒と速く（図1）、神経伝達物質を添加した溶液に浸漬することで制御可能で、膜処理など組織や細胞に負荷をかけるような特殊な方法の必要がないことから、研究材料として用いた。

これまで行ってきた基礎的研究により、外套膜表皮の色素胞運動を死後数十時間持続できる保存条件を見出している。本研究では、ATP 合成系の活性を追跡し、色素胞運動能持続性との関係を明らかにしようとした。

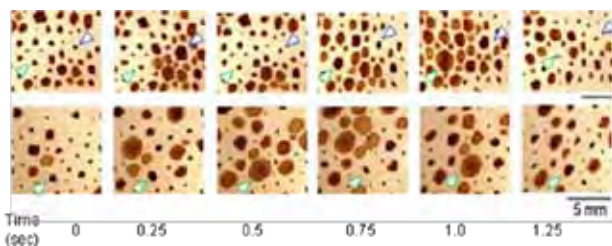


図1 スルメイカ外套膜表皮色素胞運動。各々の色素胞がコンマ数秒～数秒で拡大収縮している。△マークで示したのは同一の色素胞。

【研究方法】

神経切断により即殺したスルメイカ *Todarodes pacificus* の外套膜表皮を、海洋生物用リングル液に浸漬し、5℃で保存した。

浸漬保存液から経時的に取り出した外套膜および剥離表皮をリングル液で満たしたチャンバーに入れ、CCD カメラを搭載した実態顕微鏡下にセットし、色素胞運動を撮影し、画像解析した。運動刺激となるグルタミン酸(L-Glu)やGABAは各々リングル液に添加、pH7.0 に調製してチャンバー溶液とし、これら薬剤に

対する反応性を検討した。

また、外套膜表皮のホモジェネートを調製・分画し、膜画分の呼吸鎖酵素活性を測定した。

【研究結果及び考察】

外套膜表皮をリングル液に浸漬保存したところ、保存 36 時間までは表皮色素胞は活発な拡大収縮運動が観察されたが、それ以降は動きが鈍化する傾向にあった。表皮中の呼吸鎖（電子伝達系）酵素のうち、特に complexI に焦点を絞って活性測定を行ったところ、保存 30 時間までは初期値と同レベルの活性を維持していたが、それ以降は活性低下する傾向にあった（図2）。この残存活性が 40% を下回る表皮試料では運動能を保持した色素胞は 2 割に満たず、complexI の活性低下と運動能消失に相関があると考えられた。

次いで、神経伝達物質による色素胞運動誘発実験を行った。L-Glu を添加したチャンバー溶液に表皮試料を浸漬すると、色素胞は拡張し（図 3A 左）、表皮の有色面積 (CI) が増加した。続いて L-Glu の代わりに GABA を添加したチャンバー溶液に浸漬したところ、L-Glu によって拡張した色素胞は収縮し、CI も低値に戻った（図 3A 右、3B）。一方、電子伝達系阻害剤に数時間浸漬して ATP を枯渇させた表皮を試料として用いたところ、L-Glu によって色素胞は拡張するもの

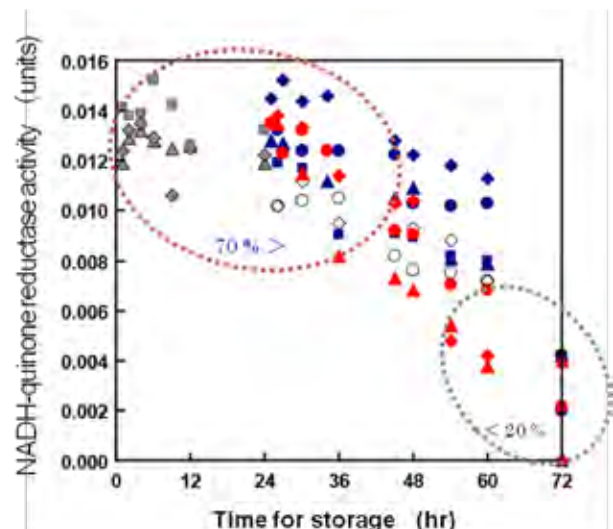


図2 表皮保存中の呼吸鎖酵素活性変化。赤点線で示した範囲の表皮試料においては 70% 以上の色素胞が運動能を持続し、一方グレー点線で示した範囲の試料においては 20% 以下の色素胞しか運動能を保持していなかった。

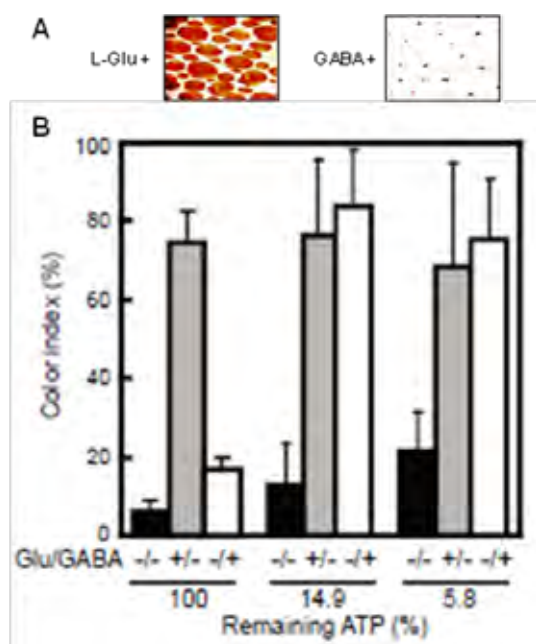


図3 表皮組織中のATP合成阻害が色素胞運動に及ぼす影響。

- A. 色素胞はL-Gluにより拡張し、GABAにより収縮した。
- B. 呼吸阻害剤添加によりATP量が低下した表皮の色素胞はL-Gluにより拡張するものの、GABAによる収縮は阻害された。

の、GABA溶液に浸漬しても拡張した色素胞が収縮することはなかった。

以上より、ATPは色素胞収縮に必須であると結論し、組織中のATPが枯渇すると拡大→収縮の運動ステップが阻害させるため、収縮の繰り返し運動が阻害されると結論した。

【謝 辞】

平成21年度 旭川医科大学独創性のある生命科学研究に採択して頂いたことに感謝致します。本研究の遂行に多大なる御協力を頂いた北海道立工業技術センター 研究開発部 木下 康宣 博士、吉岡 武也 博士に深謝致します。

6) 脳虚血傷害におけるプロスタグランジン E_2 - EP_4 シグナル系の役割解明と治療への応用

研究代表者 小島 史章

背景と目的

脳卒中は、悪性新生物、心疾患に次いで死亡原因となる疾患である。また、本疾患は要介護状態となる原因疾患の第1位であり、その後遺症による医療費の増加も大きな社会問題となっている。現在、脳梗塞急性期の治療薬として国際的に有効性が認められているものに血栓溶解薬があるが、その恩恵を受けることのできる患者は全体の5%に満たない。そのため、脳梗塞の病態形成機構の解明や有効な新しい治療法の開発は急務といえる。近年、これまでとは異なるアプローチとして、炎症制御の観点からの脳梗塞治療が期待されている。

プロスタグランジン E_2 (PGE_2) は、標的細胞に存在する4種類の特異的受容体 (EP_1 , EP_2 , EP_3 , EP_4) を介し、多彩な作用を発揮する生理活性脂質である¹⁾。脳虚血状態において、虚血周辺部位での PGE_2 の過剰産生が認められており²⁾、脳梗塞を含む脳血栓症の病態形成における PGE_2 の役割が注目されている。実際、 PGE_2 の産生に関わる酵素である $COX-2$ ³⁾ やその下流で PGE_2 の産生に特異的に働く末端酵素である膜型 $PGES-1$ ⁴⁾ を欠損するマウスでは、中大脳動脈閉塞モデルでの脳梗塞サイズが、対照群に比べ減少することが報告されている。

一方、各 EP 欠損マウスを用いた検討では、 PGE_2 は EP_1 ⁵⁾ および EP_3 ⁶⁾ を介して脳傷害的な作用を発揮するのに対して、 EP_2 ⁷⁾ を介して脳保護的な作用を示すという相反する作用が報告されている。これは、脳虚血時に産生された PGE_2 が、その受容体亜型のいずれと結合するかにより、傷害の増強および軽減の両方の作用を発揮する可能性を示唆する。しかし、脳に高発現する EP_4 の脳血栓症病態形成における役割については、これまで詳細な検討がされていない。そこで本研究は、 EP_4 を欠損させたマウスを用いて、脳梗塞の病態形成における PGE_2 - EP_4 系の役割を解明することを目的とした。

方 法

6～12週齢の雄性野生型マウスおよび EP_4 欠損マウスを用いて、脳虚血の病態を反映する脳血栓症モデ

ルを対象とした解析を行った。先端部 4 mm に太さ 0.2 mm となるようにシリコンコーティングを施した、長さ 1.5 cm の 8-0 縫合糸モノフィラメントを作製した。次いで、麻酔下でマウスの左外径動脈を結紮したのち、左内頸動脈を経由して中大脳動脈に楔入して血流を遮断し、脳血栓症モデルを作成した。虚血は、レーザードップラー血流計を用いて確認した。脳虚血障害の程度は、神経症状の観察（運動機能障害の程度：Neurological deficit score を 5 段階に評価）、中大脳動脈支配領域とその辺縁領域の血流量の測定、梗塞サイズの測定（1 mm 厚に脳をスライスし Triphenyl Tetrazolium Chloride (TTC) によって染色）によって評価した。なお、解析は、虚血 24 時間後の開頭時にフィラメントが中大脳動脈を閉塞していることが実体顕微鏡下で確認できた個体について行った。また、現在もっとも可能性の高い抗炎症の脳細胞標的と考えられるミクログリアの初代純培養系を用いて、炎症性虚血関連因子の発現に及ぼす特異的 EP₄ アゴニストおよびアンタゴニストの効果をリアルタイム RT-PCR 法により解析した。

結果と考察

虚血直後の中大脳動脈支配領域とその辺縁領域の血流量はともに 野生型マウスと EP₄ 欠損マウスで同等に低下していた。また、虚血 24 時間後の中大脳動脈支配領域とその辺縁領域の血流量についても、野生型と EP₄ 欠損マウスで同等に低下しており、両群間に差異を認めなかった。虚血 24 時間後に摘出した脳をスライスして TTC 染色を施行したところ、EP₄ 欠損マウスの大脳全球のサイズに対する脳梗塞領域の割合 ($20.5 \pm 1.3\%$, $n=24$) は、野生型マウス ($20.2 \pm 0.9\%$, $n=28$) と同程度であった。さらに、虚血 24 時間後における Neurological deficit score についても、EP₄ 欠損マウス (1.6 ± 0.2 , $n=25$) と野生型マウス (2.0 ± 0.2 , $n=29$) の両群間に有意な差を認めなかった。

一方、我々はミクログリアの初代純培養系を用いて、炎症性虚血関連因子のひとつである血管内皮増殖因子 (VEGF) の発現に及ぼす EP₄ アゴニストおよびアンタゴニストの効果について検討をおこなったところ、野生型マウス由来のミクログリアにおける VEGF の mRNA 発現が、EP₄ アゴニスト (ONO-AE1-329: 10^{-10} - 10^{-6} M) による 3 時間の刺激で、その用量に依存して増強されることを見出した。この作用は、EP₄

欠損細胞ならびに EP₄ アンタゴニスト (ONO-AE3-208: 10^{-6} M) の共存下で培養した野生型細胞では認められなかったことから、EP₄ を介した反応であると考えられる。本研究によって、脳内 PGE₂ が、EP₄ を介してミクログリアにおける VEGF の発現を増強するように制御する可能性が示唆された。

文 献

- 1) Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol Rev.* 79: 1193-226, 1999
- 2) Nogawa S, Zhang F, Ross ME, et al. Cyclooxygenase-2 gene expression in neurons contributes to ischemic brain damage. *J Neurosci.* 17: 2746-55, 1997
- 3) Iadecola C, Niwa K, Nogawa S, et al. Reduced susceptibility to ischemic brain injury and N-methyl-D-aspartate-mediated neurotoxicity in cyclooxygenase-2-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 98: 1294-9, 2001
- 4) Ikeda-Matsuo Y, Ota A, Fukada T, et al. Microsomal prostaglandin E synthase-1 is a critical factor of stroke-reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci USA.* 103: 11790-5, 2006
- 5) Kawano T, Anrather J, Zhou P, et al. Prostaglandin E₂ EP₁ receptors: downstream effectors of COX-2 neurotoxicity. *Nat Med.* 12: 225-9, 2006
- 6) Ahmad M, Ahmad AS, Zhuang H, et al. Stimulation of prostaglandin E₂-EP₃ receptors exacerbates stroke and excitotoxic injury. *J Neuroimmunol.* 184: 172-9, 2007
- 7) McCullough L, Wu L, Haughey N, et al. Neuroprotective function of the PGE₂ EP₂ receptor in cerebral ischemia. *J Neurosci.* 24: 257-68, 2004

7) シラカバ花粉症に関わる末梢血 T 細胞の特異性と動態解析

研究代表者 佐藤 啓介

【目 的】

抗原暴露によって微少変動を示す末梢血中の抗原特異的 T 細胞を、V β 鎖を指標にした遺伝子発現解析を用いて特異的クローンを検出することを目的とした。

【方 法】

I. シラカバ花粉抗原 / ペプチド刺激による末梢血 CD4⁺T 細胞の CDR3 領域遺伝子によるクローナリティ解析

末梢血より比重遠心法にて単核球を分離し、CD4⁺T 細胞を単離した。抗原ペプチド+放射線照射した抗原提示細胞を加え 7 日間培養後、T 細胞より mRNA を抽出し 1st strand cDNA を作製した。それらを鋳型として 31 種類のヒト T 細胞受容体 β 鎖 (TCRVB) 特異的プライマーを用い、PCR にて増幅後、2 % アガロースゲル電気泳動で分離した。目的のバンドを切り出し、遠心分離法を用いて遺伝子を溶出、クローニングベクターに組み込み、培地上のコロニーから 48 個の遺伝子クローンをランダムに選択し、CDR3 領域遺伝子配列を決定した。

II. シラカバ花粉症患者末梢血液中の CD4⁺T 細胞のクローナリティ解析

花粉飛散期の患者 5 名 (RAST スコア 3 以上) より末梢血単核球を比重遠心法で分離し、上記と同様の方法で TCRV β 鎖 CDR3 領域の遺伝子配列を決定した。

【結 果】

患者 P1 末梢血単核球のシラカバ花粉抗原刺激、シラカバ花粉主要抗原 Bet v1 の T 細胞エпитープ p141 ペプチド刺激で、CD4⁺T 細胞の V β レパートリー発現遺伝子解析では、V B 21 の遺伝子バンドに特異的増幅がみられた。このクローナリティを解析した結果、花粉の粗抽出液、ペプチド抗原刺激に反応する共通するクローンとして、CASS(VB21) - PDQL(NDN) - BJ2-1* というクローン遺伝子 (以下クローン PDQL) を同定した (図 1)。花粉飛散時期における患者末梢

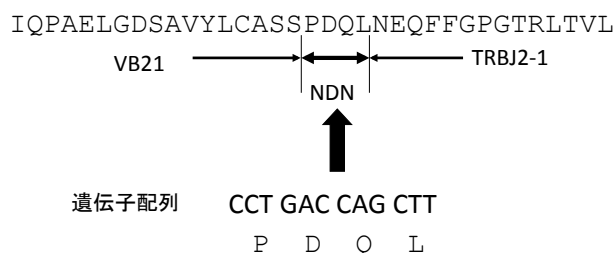


図 1 シラカバ花粉抗原 / Bet v1 ペプチド刺激に反応したクローン PDQL における CDR3 領域のアミノ酸配列

血中 T 細胞の変動について検討するために、白樺花粉飛散期前後の 9 週間、毎週、患者 P1 より末梢血 CD4⁺T 細胞を分離し、その mRNA を抽出した。末梢血刺激により特異的増幅のみられた VB21 に着目し、その変動を遺伝子レベルで解析した。花粉飛散前 (4 月 7 日) に、特異的クローン (PDQL) は VB21 クロノタイプ中 5.88% みられた。さらに花粉飛散前の 4 月 21 日に 19.3% と上昇し、飛散期初期の 5 月 6 日には 70% に達した。5 月 19 日には 100% になったが、その 8 日後の 5 月 27 日には、24.2% と減少し、6 月 2 日には検出されなかった (図 2)。患者 P2 ~ P6 までの 5 名について、同様の方法で、VB21 クローナリティを解析し、クロノタイプの頻度を検討したところ、クローン PDQL は、患者 P3 (7.41%), P5 (11.29%) で増加がみられた (表 1)。

【考 察】

31 種類存在する T 細胞レパートリーの中で VB21 を有する T 細胞の頻度は、2.8-5.6% 程度である。そのため VB21 内でクローンの頻度が 10% 増加しても末梢血全体を用いた細胞レベル (FACS など) で T 細胞クローン増加を検出するのは難しい。今回検出した T 細胞クローン PDQL は、患者 P1, P3, P5 の末梢血中で花粉飛散期に増加していることが判明し、花粉症の発症・維持に関与していることが推察された。この実験系では、末梢血中の微少な特異的クローンとその変動、患者間共有クローンを同定することができた。今後、これらの T 細胞クローンを末梢血より分離し、詳細な機能と性質 (サイトカイン産生、細胞表面分子) を解析することにより、花粉症の診断、制御、治療にも役

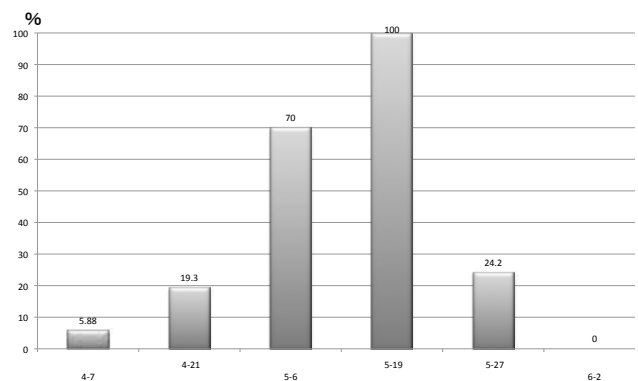


図 2 患者 P1 末梢血 CD4⁺T 細胞の VB21 レパートリー内 PDQL クローンの頻度

表 1 患者末梢血 T 細胞における VB21 のクローン (CDR 3)

P2	%	P3	%	P4	%	P5	%	P6	%
LFSEGR	4.0	LIGAS	11.1	PRLAGVA	3.4	PGTD	29.0	LSFT	6.6
AFWGA	4.0	PDQL	7.4	FNFGLS	3.4	PDQL	11.3	LAAGP	4.9
		LVGGSVR	5.6	PSGLG	3.4			LDRAD	4.9
		LRTVG	3.7					LWDN	4.9
		LGGA	3.7					SSRG	4.9
		LVG	3.7					DDRQGS	3.3
								KGRGNA	3.3
								FLSGP	3.3
								LGGSG	3.3
								LGLA	3.3

立てることができると考えられる。

8) コレクチン CL-P1 の発生における役割解明

研究代表者 大谷 克城

[研究の背景と目的]

コレクチンは、その構造の内部にコラーゲン様構造とカルシウム要求性の糖認識領域を持ち、糖認識領域によって微生物などの異物の糖鎖を認識して排除する自然免疫を担う分子である。ヒトにおいては、肝臓で産生され血液中に分泌される MBL、肺胞の構成成分である SP-A や SP-D が知られ、生体防御因子として、重要な役割を担っていると考えられている。我々は、コレクチンについての研究の過程において、新規コレクチン遺伝子 CL-P1 を発見した (Ohtani, K., et al. *J Biol Chem*, 2001)。従来知られているコレクチンは、何れも分泌蛋白であるが、CL-P1 は、膜結合型蛋白で、その構造、発現部位そして機能も異なることを明らかにした。CL-P1 の構造は、スカベンジャー受容体 SR-AI と非常に類似した構造をしており、血管内皮細胞に膜蛋白として恒常的に発現していることがわかった。*in vitro* での機能解析結果、コレクチンとしての機能であるカルシウム依存的な糖結合やスカベンジャー受容体としての機能として、酸化 LDL のエンドサイトーシス、酵母 (真菌) や細菌のファゴサイトーシス (Jang, S., Ohtani, K., et al. *J Biol Chem*, 2009) を明らかにしている。また、*in vivo* での機能解析の結果、ゼブラフィッシュを用いた遺伝子ノックダウンにより血管形成不全や形態形成不全を見出した (投稿準備中)。以上の解析結果から CL-P1 は、従来の自然免疫機能とは異なる生命に必須の重要な機能を有することが示

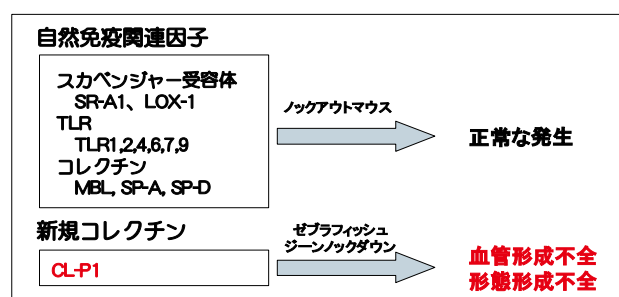
唆されることから、CL-P1 の生理的な役割を明らかにするためにノックアウトマウスの作製を試みた。

[研究方法]

1. CL-P1 遺伝子ノックアウトマウスの作製

129 マウスよりゲノム DNA を精製し、CL-P1 遺伝子を含む領域をクローニングしてエクソン-イントロンの構成を確認した。ターゲティングベクターに短腕側 2 kb、長腕側 5 kb 以上を目安にネオマイシン耐性遺伝子挿入箇所を検索し、ターゲティングベクターを作成した。制限酵素により直線化したターゲティングベクターを E S 細胞に遺伝子導入を行い、相同組換えを起こしたかどうかを PCR およびサザンブロットングで判定した。

ノックアウトされた遺伝子をもつ E S 細胞を培養し、胚盤胞期の受精卵にできる腔にマイクロマニピュレーターを用いて E S 細胞を注入し、キメラマウスを得た。得られたキメラマウスを C57BL/6/J マウスと交配し、目的遺伝子が生殖系へ伝播したキメラの特定と、ヘテロマウスの獲得を行った。さらに



新規コレクチン CL-P1 には自然免疫機能以外の生命に必須の重要な機能を有するのではないか

ヘテロマウス同士の交配を行い CL-P1 ノックアウトマウスの作成を試みた。

2. 胎生期の解析

胎生期の検討は交配後の妊娠子宮を取り出し、マウスの形態と胎盤の変化を顕微鏡観察するとともに、胚のゲノム DNA を用いて PCR およびサザンブロットリングにより遺伝子型解析を行った。

3. ノックアウトマウスの系の保存

ヘテロマウスを用いた受精卵および精子を凍結保存することにより系の保存を行った。

[結 果]

129 マウス由来 ES 細胞への CL-P1 targeting vector 遺伝子の相同組換えに成功し、胚盤胞期の胚にマイクロインジェクションした結果 2 系統のキメラマウスを得た。ヘテロマウスは雌雄ともに、成長や形態はまったく通常マウスとの間に差異は見られなかった。さらにヘテロマウス同士の交配を行い CL-P1 ノックアウトマウスの作成を試みた結果、中期発生段階(7.5 日胚、10.5 日胚)において、CL-P1 欠損マウスを確認することが出来なかった。

[考 察]

CL-P1 ノックアウトマウスの作成を試みたが、CL-P1 完全欠損マウスは、胎生致死であることが明らかになった。通常、血管や心臓などの形成不全による胎生致死は、10.5 日胚前後でおこることが報告されているが、7.5 日胚でも生存胚が得られなかったことから、7.5 日胚以前にすでに胎生致死がおこっていることが示唆された。初期発生段階で CL-P1 が重要な役割を担う事実は、ゼブラフィッシュを用いたジェンノックダウンにおける検討結果と矛盾せず、より高等な哺乳動物での CL-P1 遺伝子の新たな役割が明らかになる可能性を示唆していると考えられる。今後、胎生致死が本遺伝子の欠損によるものであることの裏付けのためにトランスジェニックマウスを作製し、交配による表現型の回復を確認する必要がある。また、さらなる個体レベルでの検討のため、胎生致死となる遺伝子でも検討可能な Cre-loxP システムによるコンディショナルノックアウト技術により再度ノックアウトマウス作製を試みる必要があると考えられる。

[参考文献]

- ・ Jang S, Ohtani K, Fukuoh A, Yoshizaki T, Fukuda M, Motomura W, Mori K, Fukuzawa J, Kitamoto N, Yoshida I, Suzuki Y, Wakamiya N.: Scavenger receptor collectin placenta 1 (CL-P1) predominantly mediates zymosan phagocytosis by human vascular endothelial cells. *J Biol Chem.* 284 (6) : 3956-65, 2009
- ・ Suzuki Y, Ohtani K, Wakamiya N.: The novel collectins, CL-L1, CL-P1, CL-K1. Collagen-related lectins in innate immunity, *Research Signpost*, 85-102, 2007.
- ・ Ohtani K, Suzuki Y, Eda S, Kawai T, Kase T, Keshi H, Sakai Y, Fukuoh A, Sakamoto T, Itabe H, Suzutani T, Ogasawara M, Yoshida I, Wakamiya N.: The membrane-type collectin CL-P1 is a scavenger receptor on vascular endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 276 (47) : 44222-8, 2001.

9) 食品に含まれるホルムアルデヒドが腸内免疫機構に及ぼす影響

研究代表者 中木 良彦

[研究背景と目的]

ホルムアルデヒド (FA) は劇物に指定され、International Agency for Research on Cancer において Group 1 (ヒトに対する発がん性あり) に指定されている物質である。一方で、FA は食品添加物としての使用が禁止されているものの、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物質である。しかしながら、FA は自然食品中にも含まれる以外に、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魚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た。従来の動物実験は、ラットへの低濃度 FA 水溶液を用いた長期経口曝露により、胃粘膜の過形成や炎症を観察したが下部消化管では明らかな変化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。Mazmanian SK(2005) らは、腸内が無菌のマウスは IL-4 が増加し、IFN- γ が減少し Helper T cell のバランスを乱すという報告をし、腸内細菌の減少する FA 曝露においても免疫機構への影響が懸念された。そこ

で、FA 含有食品を想定した FA 添加飼料を実験動物に投与し、腸内細菌数減少による影響について、小腸の Peyer 板の粘膜免疫機構を中心に解析した。さらに、抗生剤であるカナマイシンを経口投与して意図的に腸内細菌を減少させたマウスの結果と比較することにより、FA による免疫異常が FA の直接の影響か、腸内細菌減少を介した影響であるかを検討した。

[研究方法]

B6C3F1 雌性マウスを FA 曝露群、カナマイシン群、およびコントロール群各 8 匹に分け、FA 曝露群には 100 mg/kg/day の曝露量になるように調整した FA 添加飼料を、カナマイシン群、およびコントロール群には通常飼料 (FA 無添加) を与えた。また、カナマイシン群には 30 mg/kg/day の投与量になるように調整したカナマイシン溶液を飲料水として与え、FA 曝露群、およびコントロール群には蒸留水を与えた。曝露期間は 50 日とした。曝露期間終了後、新鮮糞便中の IgA 量を測定し、糞便の培養により糞便中の大腸菌数を比較した。その後、マウスを安楽死させ採血、消化管、脾臓の摘出を行い、パイエル板細胞、および脾細胞の浮遊液を調整した。脾細胞およびパイエル板のリンパ球は、蛍光抗体で染色し、フローサイトメトリーを用いてリンパ球のサブセットを解析した。血液サンプルからは、血清中の免疫グロブリンを ELISA 法で測定した。各々の結果を FA 曝露群、カナマイシン群、およびコントロール群間で、一元配置分散分析または Kruskal-Wallis 検定を行い、有意な場合 ($p<0.05$) には、さらに Bonferroni 検定を用いて比較した。一方で、消化管粘膜の組織標本を作成し、パイエル板の微細構造の変化を電子顕微鏡にて検討した。

[結 果]

新鮮糞便の大腸菌の培養では、FA 曝露群、カナマイシン群ともコントロール群に比較して有意に大腸菌数の減少が認められた ($p<0.01$)。血清 IgA は、FA 曝露群、カナマイシン群とも有意に減少した ($p<0.01$)。パイエル板リンパ球の subpopulation 解析では、FA 曝露群とカナマイシン曝露群で CD4/CD8 比の有意な高値を示した ($p<0.05$)。電顕像では FA 曝露群では、コントロール群と比して、腸絨毛の表面が滑らかな構造を呈した。さらに、パイエル板の微細構造を観察する

と FA 曝露群では、コントロール群と比して、リンパ球の密度が低くなり、アポトーシスを呈する細胞が数多く観察された。

[考 察]

FA 添加飼料の経口摂取により、血清 IgA 濃度の減少やパイエル板リンパ球の CD4/CD8 比の増加及び電子顕微鏡像などから免疫異常を認め、消化管粘膜におけるアレルギーや経口免疫寛容への影響が示唆された。パイエル板リンパ球の subpopulation 解析において、FA 曝露群で特に CD8 陽性リンパ球数の有意な減少を認めたことから、電子顕微鏡像でのアポトーシスを呈する細胞は CD8 陽性のリンパ球である可能性が考えられた。つまり、FA の曝露により、CD8 陽性リンパ球のアポトーシスが誘導され、その結果としてリンパ球密度の低下と CD4/CD8 比の高値となったことが示唆された。この点については、実際にリンパ球のアポトーシスが起きていることを検証する必要がある。FA 曝露によって引き起こされた免疫異常は、今回測定した項目のうち有意差を認めた何れの項目においても、FA 曝露群、カナマイシン群の変化が一致したことから、FA 添加飼料の曝露で認められた血清中の IgA 減少などの免疫応答の変容は、FA の直接的な毒性の影響ではなく、腸内細菌数の減少の結果として二次的に起きたものと示唆された。我々は過去に FA 経口曝露により消化管内のエンドトキシン濃度が減少することを把握しており、今後は従来の報告を含めて腸内細菌が産生する物質と消化管の粘膜免疫機構との関係を精査する必要がある。

10) 重症虚血性心疾患患者における血管内皮機能異常と血管内皮前駆細胞 Sirt-1 発現調節、EPC 機能異常との関連

研究代表者 太田 久宣

[研究目的]

重症虚血性心疾患、とりわけ急性心筋梗塞 (AMI) においては、再灌流療法の進歩により著しい急性期予後の改善が果たされている。しかし、メタボリックドミノによる動脈硬化を背景に発症する本病態では、最善の急性期治療を受けても患者の予後は一様ではなく、患者 QOL の改善には個々に応じた急性期治療から慢性期へと継続した治療戦略が必要である。中でも腎機

能障害を有する心血管疾患患者の生命予後は不良であり、心腎連関の概念からも動脈硬化を基盤とする心血管疾患患者の腎機能特に初期病態を反映する尿中微量蛋白の有無は重要である。この中でもとりわけAMI発症急性期に尿中アルブミン増加の観察される症例では短期生命予後が不良であることが報告されている。我々は2007～2008年に当院に入院したAMI患者について急性期蛋白尿の有無と、亜急性期のBNP値並びに心疾患イベントによる予後との関連性を検討した(n=40)。その結果、急性期蛋白尿の出現群では蛋白尿非出現群、擬陽性群と比較し、有意にBNPが高値で2年生存率が不良であった。微量アルブミン尿は腎糸球体血管系内皮障害に基づく微細構造異常の指標であり、特に糖尿病患者においては動脈硬化性疾患発症の前段階から出現し、全身の動脈硬化進展とともに進行、酸化ストレスや炎症性サイトカインの動員などにより再内皮化の障害とともに非可逆性障害へと進展、腎糸球体内圧を上昇させ血圧上昇、RA系の亢進をきたし心血管イベントの発症を導くと考えられる。しかし、こうしたAMI急性期の蛋白尿がどのような機序でAMIの長期予後と関連しているかは未だ明らかではない。

AMIをはじめとする重症虚血性心疾患において、動脈硬化巣の進展は血管内皮にかかる様々な外的要因のみならず、障害内皮の機能障害、再内皮化の異常も大きな要因である。血管内皮前駆細胞(EPC)は骨髄から末梢血に動員され、障害内皮の修復、虚血組織での血管新生に重要な役割を果たす。EPCの機能異常は、正常な内皮修復、血管新生を妨げ、結果更なる動脈硬化巣の進展を助長すると予想されるが、虚血性心疾患患者におけるEPCの機能異常に関しての詳細な検討は未だ明らかではない。Sirt1は長寿遺伝子とも言われ、加齢、酸化ストレスに伴う種々の細胞障害にたいし保護的に働く酵素として注目されているが、近年Notchシグナルを介して神経幹細胞分化に関与することが報告され、EPCの内皮分化、機能制御にも重要な働きを担っていると考えられる。本研究の目的は、重症虚血性心疾患患者由来EPCの機能異常(血管新生作用)を明らかにし、この機能異常に寄与する因子としてSirt1に着目、Sirt1の発現調節と虚血性心疾患患者の内皮機能異常について検討することである。

[研究方法]

対象：発症24時間以内に再灌流療法を行ったAMI患者

測定項目：①尿中アルブミン排泄率(UAER:24時間蓄尿):300～30mg/日;微量アルブミン尿群、<30mg/日;正常群 ②頸動脈エコーによるPlaque score ③AMI患者由来単核球(フローサイトメトリー):CD34、AC133、Flk1陽性細胞 ④AMI患者由来early EPC: a. Flk1陽性細胞比による内皮細胞分化効率 b. Sirt1、PGIS、SDF-1遺伝子発現(定量的real-time PCR) ⑤急性期血漿中PTX3濃度

方法：AMI来院後、直ちに炎症マーカーである血漿中PTX3濃度、48時間以内にUAERを測定する。また①48時間以内と②7日目に末梢血30mlを採取、単核球分画におけるCD34、Flk1陽性細胞の骨髄からの動員を評価する。さらに、この分画を体外培養しearly EPCを樹立する。次いで各細胞よりmRNAを抽出し、定量的real-time PCR法にてSirt1、PGIS、SDF1遺伝子の発現量調節を定量的評価する。これらEPCの量的・質的機能及びその可塑性を、上記3群間において比較検討を行う。副次評価項目として頸動脈エコーにてプラークスコアの評価を行う。

[結果と考察]

2010年1月から7月までの間に20例のAMI患者が入院し、そのうち19例を対象に検討を行った。これらを正常群(n=12, 63.8±16.1歳)、微量アルブミン尿群(n=7, 64.7±11.1歳)に分け、各群を比較した。患者背景では、Peak CPK、MBがそれぞれ3431 vs 2754 IU/l、290 vs 227 IU/lと大きな差はなかったが、正常群ではKillip III以上が0%であったのに対し、微量アルブミン尿群では42.9%と、来院時状態が重篤であるものの割合が高かった。48時間以内の循環血中CD34+Flk1+細胞数は各群で同様であったが、7日目では48.3 vs 68.9 cells/104と微量アルブミン尿群で高い傾向にあった(図1)。しかし、7日目の細胞分画から分離したe-EPCにおけるSirt1、SDF1のmRNA発現量を比較すると、いずれも正常群において高値を示した(図2)。頸動脈プラークスコアは5.1 vs 8.0であった。これらの結果から、AMI急性期に微量アルブミン尿を呈する群は、正常群と比較し循環血中へのCD34+Flk1+細胞の動員は増加するが、e-EPCにおけ

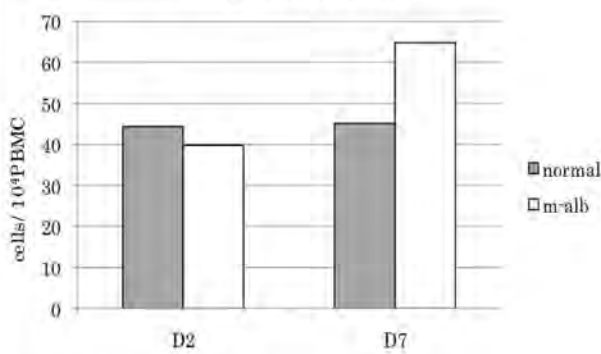


図1 CD34⁺Flk1⁺

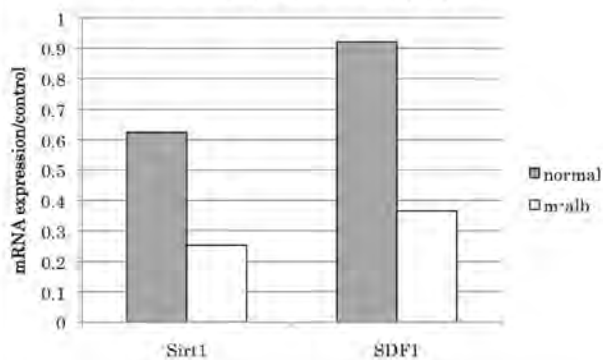


図2 EPC の各 mRNA 発現

る Sirt1, SDF1 遺伝子の発現は低下しており、EPC 機能が低下している可能性が示唆された。

[まとめ]

急性心筋梗塞の急性期において、微量アルブミン尿を呈する群は、正常群に比べ循環血中への CD34⁺Flk1⁺ 細胞の動員が増加しているが、e-EPC における Sirt1 や SDF1 の mRNA 発現は低下しており、EPC 機能が低下している可能性がある。今後さらに症例数を蓄積し、検討を進めていく予定である。

11) A drug for diabetic multiple organ complications

研究代表者 滝山 由美

[研究の背景と目的]

糖尿病性腎症、糖尿病網膜症、糖尿病性神経障害で知られる microvascular complications と、脳梗塞、心筋梗塞等を含む macrovascular complications に対する予防と治療は、糖尿病治療の最終目的といって過言ではなく、その有効性は患者の QOL と共に、医療経済に大きく影響を与える。これら全糖尿病合併症に対して効果的に作用する一創薬の開発は、現実的な goal とは考え難いのが現状であり (*Nature Rev Drug Discovery* 8:417-429, 2009)、現在までのところ、糖尿病網膜症における抗 VEGF 療法に、一定の有効性が確立しているのみである。我々は、現在までの糖尿病性腎症研究において、糖尿病治療薬であるピグアナイド剤メトホルミンが、ヒト尿細管細胞における低酸素誘導 HIF-1 α 蛋白発現と HIF-1 α 標的遺伝子である VEGF、Glut-1、PAI-1 の発現を抑制し、更に低酸素耐性を誘導し腎保護的に作用することを発見、また 2 型糖尿病モデルラットにおいて、メトホルミンが糖尿病腎組織における HIF-1 α 蛋白発現と線維化を抑制、尿中アルブミン排泄を減少させることを確認した (*under revision*)。これらメトホルミンの腎保護的効果は、以前より作用機構として報告されている AMPK 活性化作用非依存的であり、ミトコンドリア呼吸鎖抑制による ATP 産生抑制、酸素消費量の減少、また活性酸素種 (ROS) 産生低下によるものであり、これら作用機序から、ミトコンドリアと酸化ストレスを標的とする合併症治療薬として位置付けられる。メトホルミンは、UKPDS34、UKPDS80 により、糖尿病関連死と全死亡率の低下、更に大血管合併症の改善作用を有することが明らかとなり、その多様な作用と多くの標的臓器の存在より、血糖降下作用を超えた臨床薬理効果 (beyond glucose control) が考えられている。メトホルミンによる HIF-1 α 蛋白発現抑制効果は、retinal epithelial ARPE-19 cells において報告があるが (*BBRC* 324:1197-1202, 2006)、VEGF の neovascularization 抑制による糖尿病網膜症予防・治療効果、また、低酸素耐性、線溶系の改善 (PAI-1 発現低下)、ROS 産生抑制作用は、大血管合併症に対しての予防・治療効果を期待させる。そこで、本研究は、糖尿病合併症の病態構成臓器として、糖尿病腎においてメトホルミンにより制御される

遺伝子発現を解析し、その標的遺伝子と共に、新規糖尿病合併症遺伝子の発見を目的とする。

[研究方法]

1. 2型糖尿病性腎症モデルラット：Male Zucker diabetic fatty rats (ZDF/Gmi-*fa/fa*)

Leptin 受容体変異により、高脂血症、初期の高インスリン血症、高血圧、肥満、2型糖尿病と進行性の腎症を呈する。6週齢より糸球体では巣状に、また尿細管間質の広範囲に脂質が蓄積し、進行性の podocyte 障害、18週齢では巣状、分節性の糸球体硬化、尿細管間質障害を認めることが報告されている (*Kidney Int* 57: 167-182, 2000)。そこで、9週齢の本モデルラットを用い、コントロール群 (male heterozygous : ZDF/Gmi-*+/fa*, lean littermates)、未治療糖尿病群 (ZDF/Gmi-*fa/fa*)、メトホルミン投与群としてメトホルミン混餌を 250 mg/kg/day、8週間投与後、腎臓を採取し OCT コンパウンド包埋凍結標本を作成した。

2. Laser Captured Microdissection (LCM) で採取後のサンプルを用いた Gene Chip 解析 (Affymetrix GeneChip、Rat Gene 1.0 ST Array)

凍結組織切片上において LCM により捕捉した近位尿細管細胞より (Figure 1. lower panel)、total RNA 抽出後 cDNA を合成し、発現解析に必要なまでに増幅。

濃縮、断片化、蛍光標識後に、アレイ内のプローブとハイブリダイズさせ、サンプルの蛍光シグナルを測定した。ラット間 (糖尿病 vs コントロール、メトホルミン治療 vs 糖尿病) の遺伝子群の発現について、GeneSpring GX Version 11.0.2 (Agilent Technologies) を使用して解析を施行した。

[結果と考察]

1. 治療・観察開始時9週齢未治療 ZDF ラット随時血糖 411 mg/dl、HbA1c 3.9%、メトホルミン治療ラット 随時血糖 452 mg/dl、HbA1c 4.6 % と糖尿病の発症を確認。メトホルミンの血糖改善効果による遺伝子発現への影響を避けるため、8週間治療後、組織採取時 17 週齢未治療糖尿病 ZDF ラット (HbA1c 8.3 %) より高血糖を呈したメトホルミン治療ラット (HbA1c 8.9%) を検討対象とした。(コントロールラット HbA1c 3.2%)
2. 糖尿病ラット腎髄質と傍髄質領域皮質において増強の見られた HIF-1 α 蛋白発現は、メトホルミン治療により減弱していた (Figure 1. upper panel)。
3. 3群間における 27342 の遺伝子発現について、Rat Gene 1.0 ST Array を用いて解析検討した (Figure 2)。コントロール群に比較して糖尿病未治療群では、47 遺伝子、またメトホルミン治療群と糖尿

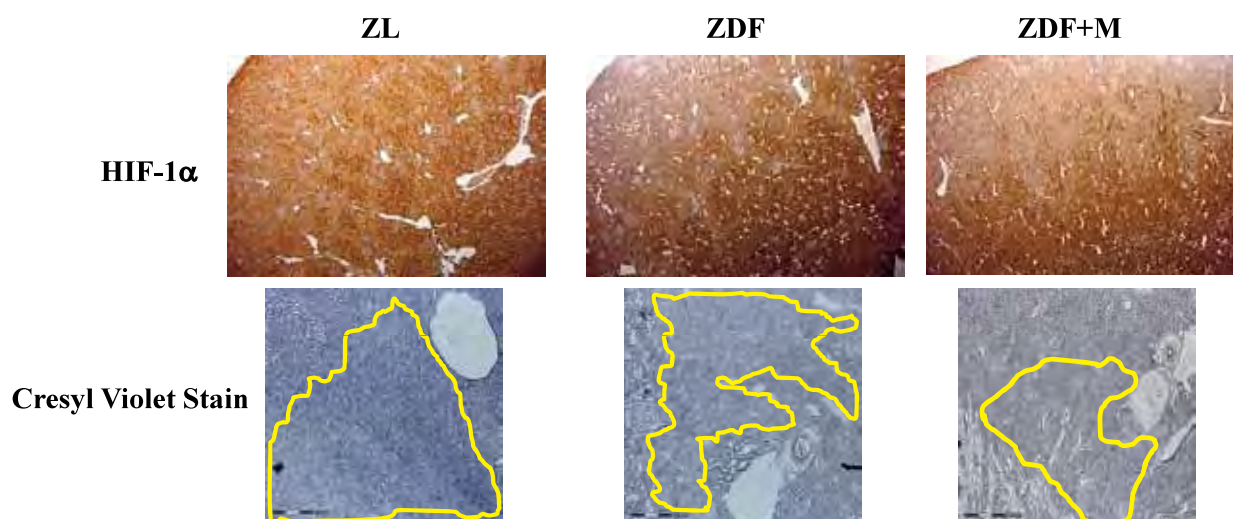


Fig.1 Immunohistochemistry of HIF-1 α and light micrographs of sections from kidneys stained with cresyl violet in experimental animals.

ZL : Lean control, ZDF : ZDF rats, ZDF+M : ZDF rats treated with metformin (250 mg/Kg/day) for 8 weeks at 17 weeks of age. Immunopositive cells appear brown as a result of 3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride colorimetric reaction. The proximal tubular cells in cortical juxtamedullary region were captured by LCM.

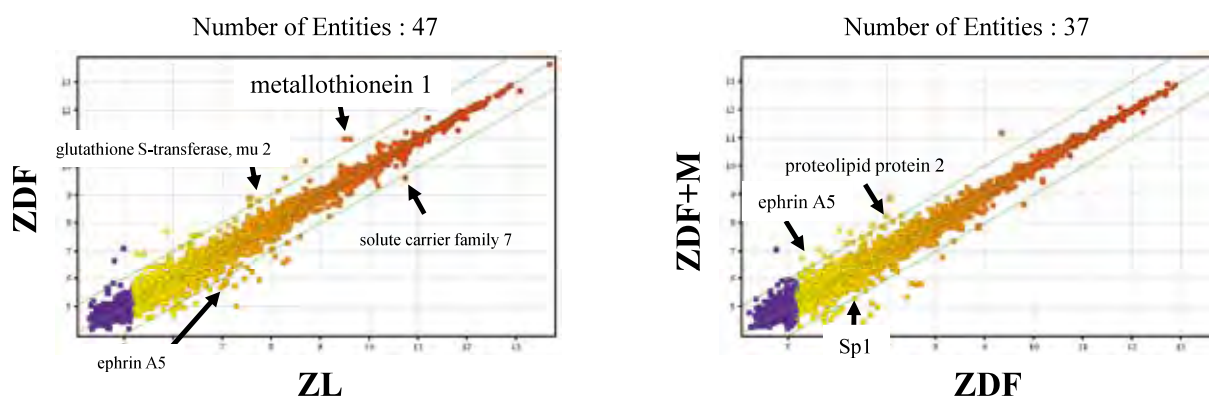


Fig. 2 Genes up- or down-regulated by metformin treatment in proximal tubular cells of ZDF rats.

47 genes were changed by more than twofold in ZDF rats vs lean control rats.

Metformin treatment up-or down-regulated 37 genes, compared with those in non-treated ZDF rats.

ZL : Lean control, ZDF : ZDF rats, ZDF+M : ZDF rats treated with metformin (250 mg/Kg/day)

病群間では、37 遺伝子発現について 2 倍以上の差を認めた。これら遺伝子群には、糖尿病性腎症関連因子として既に明らかとなっているものも含まれており、コントロールと比較して、未治療糖尿病ラットにおいて 2.83 倍の発現増加が認められた Metallothionein は、虚血性腎障害モデルラットにおいて低酸素により発現が増強し、ERK/mTOR pathway を介し、HIF-1 蛋白とともに HIF-1 標的遺伝子の発現を増強することが報告されている (*Kidney Int* 75: 268-277, 2009) 本研究の糖尿病性腎においても、Metallothionein が同様の機序により HIF-1 α 蛋白発現を増強している可能性が考えられる。また、糖尿病ラットにおいて発現が減少し、メトホルミン治療により発現増強を呈した ephrin A5 は、ストレプトゾトシン誘導妊娠糖尿病モデルマウス胚における発現増強の報告があり (*Endocrine J* 55:317-323, 2008)、本研究において自然発症 2 型糖尿病モデルラットにおいても発現の変動が見られたことから、高血糖惹起性尿細管障害の病態に関与することが示唆される。

[結 語]

Microarray analysis により、コントロール、糖尿病、メトホルミン治療の 3 群のラット腎近位尿細管細胞における遺伝子発現に差が認められた。今後、これら新規糖尿病合併症遺伝子候補について、糖尿病性腎症モデルラット腎における発現様式の検討とともに、近

位尿細管培養細胞を用い発現制御機構の解明を進め、diabetic multiple organ complications の治療標的としての可能性についての検討を予定している。

12) 低酸素環境下に置かれるがん細胞の再酸素化による増殖能・浸潤能の変化

研究代表者 笹島 順平

【研究背景と目的】

近年、癌治療の分野において急激な発展を見せている血管新生阻害薬は、腫瘍血管を破壊することにより酸素・栄養供給を断ち、癌を死滅させるというコンセプトのもと考えられた。その一方で、低酸素環境は癌細胞の浸潤・転移能や薬剤耐性を誘導し、悪性化に関与するといわれており、血管新生阻害による低酸素化が、癌の悪性度を助長する可能性も以前から指摘されていた。

我々は代表的な難治がんである膵癌に培養骨髄単核球を移植することにより、がん微小環境のリモデリングを誘導することができることを報告した⁽¹⁾。膵癌の微小環境は著明な線維化と異常血管網に由来する低酸素環境が特徴的であり、培養骨髄単核球移植により、線維化と低酸素環境の解除が誘導される。また驚いたことに膵癌の増殖についても一時的な抑制が認められた。低酸素環境が癌の悪性化に関与することは報告されているが、低酸素環境の解除によって癌の悪性度を規定する要素にどのような影響が及ぶのかは明らかにはされていない。そこで本研究では低酸素環境下に順

化したがん細胞が再び通常酸素環境に暴露されることによっておこる増殖能・浸潤能・薬剤耐性能の変化を検討することを目的とした。

【研究方法】

(1) 長期低酸素培養

低酸素ワークステーション (INVIVO₂400) を用いて継代および培地交換を含む全ての培養行程を 1-5 % O₂ 下で培養した。培養にはヒト膵癌細胞株 KP1N と膵がん自然発症マウス (Pdx1-Cre;LSL-Kras^{G12D};p53^{lox/+}) より樹立した膵癌細胞株 NB490 および NB508 を使用した。14 日以上培養したのち、以下の検討を行った。

(2) 増殖能の評価

96 穴プレートに低酸素環境に順化させたがん細胞を播種。そのまま低酸素環境においたものと通常酸素環境に戻したものを培養し、WST8 Assay にて増殖能の変化を評価する。

(3) 浸潤能の評価

低酸素環境に順化した細胞と、低酸素環境から通常酸素環境に戻した後 3 日培養した細胞について、8 μ

m ポアサイズのトランスウェルを用いて既報⁽²⁾の通り、Invasion Assay を行い、浸潤能の評価を行う。

(4) 薬剤耐性関連遺伝子発現解析

RT - PCR により、薬剤耐性関連遺伝子として MDR1/ABCG2 の発現の解析を行う。

【研究結果】

(1) Reoxygenesis による増殖能の変化

Figure 1 に 5%O₂、Figure2 に 1%O₂ 環境下に順化させた後に施行した WST8 Assay の結果を示す。5%、1% のいずれにおいても Reoxygenesis によってその増殖能は抑制された。

(2) Reoxygenesis による浸潤能の変化

Figure 3 に 1%O₂ 環境下に順化させた後、20%O₂ 環境下に戻して 3 日経過した後にに行った Invasion Assay の結果を示す。浸潤能については Reoxygenesis による変化は認められなかった。

(3) RT - PCR による薬剤耐性関連遺伝子発現解析結果

Figure 4 に薬剤耐性関連遺伝子発現の解析結果を示す。MDR1 および ABCG2 の発現は Reoxygenesis によ

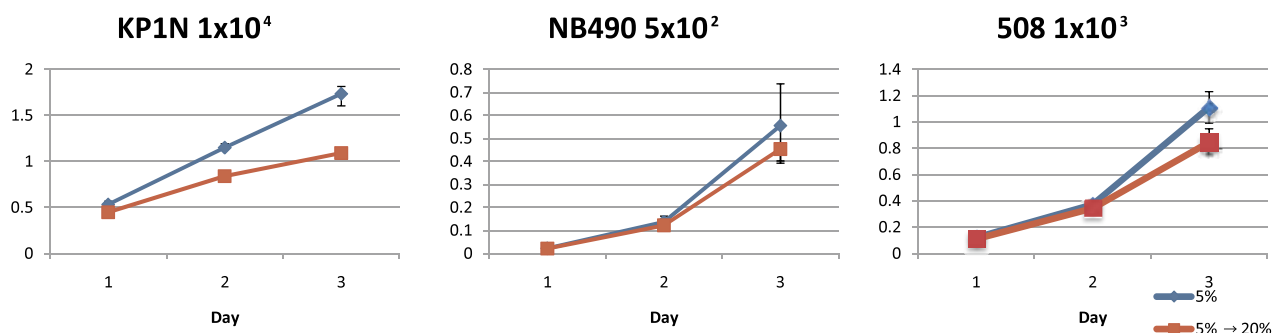


Figure1 5%O₂ 順化細胞の Reoxygenesis による増殖能の変化 (WST8 Assay)

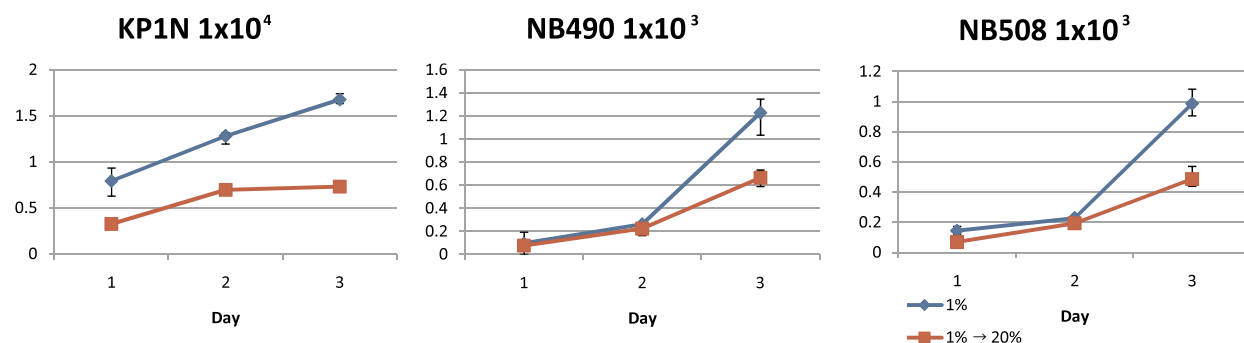


Figure2 1%O₂ 順化細胞の Reoxygenesis による増殖能の変化 (WST8 Assay)

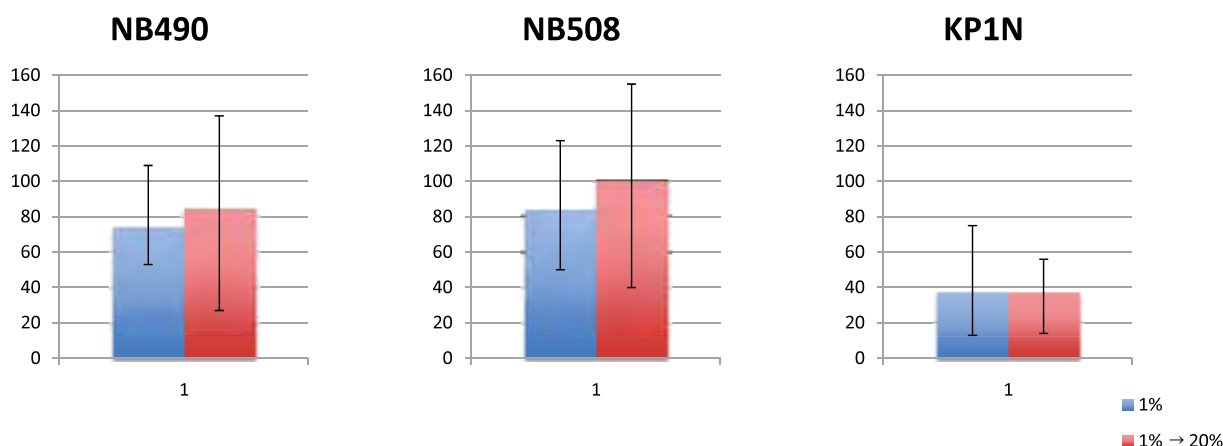


Figure3 1%O₂ 順化細胞の Reoxigenation による浸潤能の変化 (Invasion Assay)

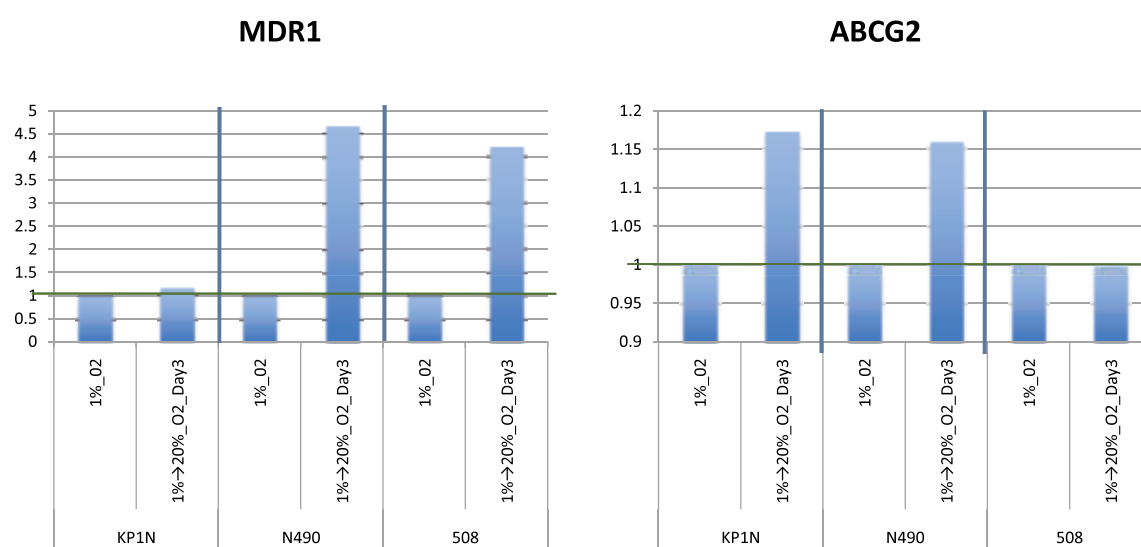


Figure4 1%O₂ 順化細胞の Reoxigenation による薬剤耐性関連遺伝子発現の変化 (RT-PCR)

り逆に亢進する結果を認めた。

【考 察】

Reoxigenation による癌の悪性度を規定する因子に対する影響は増殖能については抑制、浸潤能については変化なく、薬剤耐性については亢進する結果となった。これは in vitro での検討であり、体内の酸素環境を考えると、20%O₂ は通常酸素というよりむしろ高酸素環境下にあると考えられ、in vivo では異なる結果となる可能性があり、さらなる検討が必要と考えられる。本研究成果の一部は Cancer Research 誌に報告した⁽¹⁾。

【文 献】

- (1) Sasajima J, Mizukami Y, Sugiyama Y, et al. Transplanting normal vascular proangiogenic cells to tumor-bearing mice triggers vascular remodeling and reduces hypoxia in tumors. *Cancer Res* 70: 6283-92 (2010)
- (2) Knutson JR, Iida J, Fields GB, et al. CD44-related chondroitin sulfate proteoglycan, a cell surface receptor implicated with tumor cell invasion, mediates endothelial cell migration on fibrinogen and invasion into a fibrin matrix. *Mol Biol Cell* 7(3):383-96 (1996).

13) 神経性間欠跛行を再現する fictive 実験モデル

研究代表者 熱田 裕司

[研究の背景と目的]

腰部脊柱管狭窄症による神経性間欠跛行は起立・歩行で下肢異常感覚が増強し座位で症状軽減する動的な症状発現様態が特徴的である。前屈姿勢での歩行や自転車では下肢症状は出現しないため、姿勢に関連する狭窄部位の馬尾圧迫増強が症状発現の必要条件と考えられる。我々はこれまで下肢に生ずる異常感覚を知覚神経の異常活動として評価する実験系を用いてきた。これをさらに推し進め、実際には歩行運動をさせずに狭窄部位の圧迫増強を用いて神経性間欠跛行に相当する神経機序を再現できるか検討した。

[研究方法]

実験には体重 200g の雄 Wistar ラットを用いた。ハロセン麻酔下に腰椎を露出し、L3/4 レベルの硬膜外背側に 1x2x4mm のシリコン片を挿入した。創閉鎖後動物を 7 日間飼育して解析に用いた。20 匹にこの処置を行い腰部脊柱管狭窄群とし、10 匹は無処置対照群とした。動物をハロセン麻酔下に人工呼吸管理とし、筋弛緩剤で非動化した上で局所凍結法による除脳処置を加えた。動物の頭部と脊椎を固定し、一側後肢を展開して切断した腓腹神経中枢端より逆行性神経活動を導出した。次いで脊椎に予め挿入したシリコンを露出した。測定側後肢の坐骨神経近傍には刺激用針電極を装着した。これらの処置後ハロセンは停止して無麻酔とした。導出した神経活動はスパイク頻度 (spikes/s) で連続表示した。計測に際しては先ず安静時活動を観察した後、マニピュレータに装着した圧迫子でシリコンを 0.5mm 脊椎腹側へ向かって押し進めることにより硬膜管に 60 秒間圧迫を加え神経活動の変化を観察した。この試験を 5 分間の間隔を置いて 3 回繰り返して再現性を確認した後、次に硬膜管圧迫と同時に坐骨神経に電気刺激 (30Hz, 0.1ms, 2mA) を同時負荷して神経活動の変化を解析した。腰部脊柱管狭窄群の 6 匹については人工呼吸の吸気を 100% 酸素に変換した上で硬膜管圧迫の反応を観察するとともに、人工呼吸器を停止して窒息同時負荷の影響も観察した。予めシリコンを挿入しなかった対照群においては腰部脊柱管狭窄群と同様の腰椎レベルで馬尾を露出して同様の試験を行った。

[研究結果]

腰部脊柱管狭窄群 20 匹のうち 17 匹において神経活動の特徴的な反応パターンを認めた。この 17 匹の反応パターンをまとめると、硬膜管圧迫開始前の安静時活動は平均 139 spikes/s で安定していた。圧迫開始直後には神経活動には変化は生じないが、開始後 4-30 秒 (平均 12 秒) より神経活動が漸増し圧迫終了時に平均 733 spikes/s に達した。圧迫解除後には神経活動は速やかに漸減して圧迫開始前の活動に戻った。このような圧迫による神経活動増強反応は繰り返してもほぼ同様に生じ、最大活動頻度の変動は 10% 以内であった (図 1)。

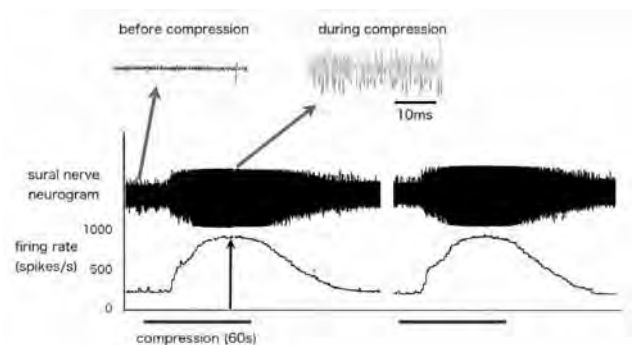


図 1 シリコン圧迫による腓腹神経活動の反応様式 (本文参照)。2 回の繰り返し反応例を示す

次にこれらの 17 匹について硬膜管圧迫と同時に坐骨神経刺激を加えると最大活動頻度は坐骨神経刺激を加えない場合と比較して平均 150% に有意に増大した。圧迫のみで生じた反応をもとに高濃度酸素投与の影響を観察すると、最大活動頻度は平均 59% に有意に減少した。一方窒息負荷では最大活動頻度は平均 128% に有意に増大した。腰部脊柱管狭窄群の他の 3 匹は硬膜管圧迫により漸増性の神経活動増強は生じなかった。また坐骨神経刺激を同時に加えても神経活動の変化は生じなかった。対照動物 10 匹においても腰部脊柱管狭窄群の 3 匹と同様に硬膜管圧迫単独および坐骨神経刺激の同時負荷でも神経活動の変化は生じなかった。

[考 察]

腰部脊柱管狭窄群の 85% の動物において、健常動物とは全く異なる神経活動の反応が認められた。その

変化パターンは共通しており、硬膜管の圧迫により下肢異常感覚の起源となる知覚神経の異常活動が遅発性に増強してゆき圧迫解除により消退する。このことは腰部脊柱管狭窄症患者的の脊髓造影にて従来観察されているように、腰部伸展によって狭窄が増強することが症状発現の要因であることと一致する。そしてその変化様式は坐骨神経の電気刺激によってより顕著となることは、歩行負荷が増強因子として間欠跛行に関わることを説明するものである。一連の反応が繰り返し再現されることも臨床症状と一致する。高濃度の酸素投与は硬膜管圧迫による反応を抑制するとともに窒息による低酸素状態が反応を増強する現象は、馬尾における循環動態がこの反応に関わることを強く示唆するものである。これらのことから本実験系は神経性間欠跛行の病態解明、そして薬物などの効果を評価するにあたって有用性が高いと考えられる

【結 論】

今回確立した実験モデルにおいて神経性間欠跛行に関わる神経機序を再現できたと考える。

14) 掌蹠膿疱症発症メカニズムの解明（及び治療法の開発）

研究代表者 村上 正基

【研究目的】

掌蹠膿疱症は手掌・足底に生じる無菌性膿疱を主徴とする慢性・再発性・難治性皮膚疾患である。1958年に本邦で本疾患概念が受け入れられ、以後今日まで多数の報告がなされているものの、未だ本疾患の本態・原因については明らかではない。病巣感染説（扁桃起源説）・金属アレルギー説などが報告されているが、これらの原因と推察される物質除去を行っても多数の再発患者が存在し、本疾患が一元的に説明できないことを示している。

特徴的臨床症状から本症の発症に表皮内汗管が関与していると仮定し、表皮内汗管をターゲットとした皮膚自然免疫機構の破綻が本疾患の発症機序に寄与するかどうかについて検討を行った。

【研究方法】

Informed consent を取得した掌蹠膿疱症患者 15 例を対象に各種実験を施行した（旭川医科大学倫理委員会

承認済み）。

- 1) 手掌部水疱内容物を採取し、汗抗菌ペプチドの cathelicidin (hCAP-18/LL37) 及び dermcidin の発現を調べた。cathelicidin は好中球内顆粒及び炎症状態のケラチノサイトから発現されることが知られているため、膿疱中及び末梢血中の顆粒球内 mRNA 発現量の検索と皮膚生検サンプルを用いて病理組織学的並びに免疫組織化学的に検索を施行した。
- 2) LL37 は自己 DNA と結合して plasmacytoid DC (pDC) の TLR9 に対する ligand として機能し、pDC の活性化や IFN- α 産生を引き起こす (Lande, R. et al. Nature 2007) ことを踏まえて、掌蹠膿疱症における TLR9 の局所における関与を検索するため、免疫組織化学及び qRT-PCR による検討を行った。
- 3) Sweden の共同研究グループより表皮内汗管内及び汗管周囲に Langerhans cell 及び Th17 細胞の有意な浸潤が認められるという報告 (Hagforsen E, et al, BJD 2010) を受けて、掌蹠外病変を生じた患者を対象に、血清中の cytokine profile を検索し、Th17 関連 cytokine と掌蹠外病変形成との関連について検討した。

【結果・考察】

- 1) 水疱内容物を用いた cathelicidin, dermcidin に対する western blotting, dot blotting により両者の存在が確認された。さらにこの cathelicidin が水疱内に混在する好中球由来あるいは水疱周囲のケラチノサイト由来でないことは realtime PCR 及び免疫組織化学にて証明され、掌蹠膿疱症の水疱は表皮内汗管に発生することを世界で初めて示すことができた。この研究内容は後述する研究業績 (1)-1 に掲載された。
- 2) 水疱天蓋表皮サンプルを用いて TLR-9 の発現に関して RT-PCR にて mRNA の発現を確認した後、realtime PCR にて正常表皮と発現量に関する相対定量を行ったところ、病変部水疱天蓋表皮において発現量の増加が認められた。さらに免疫組織化学により、病変部表皮内で TLR9 発現が増強していることも確認され、本疾患の局所病態に自然免疫機構の関与が示唆された。現在、ほかの自然免疫機構の関与について追加検索中である。
- 3) 急性増悪にて掌蹠外病変を生じた患者血清を経

時的に採取し、Th17 関連 cytokine profile の検討を ELISA にて施行した。一過性の TNF- α の増加に引き続いて、IL-23, IL-17, IL-8 の増加が認められ、IFN- γ , IL-6 の増加は認められなかった。このことは、本症例の急性増悪因子として一過性の TNF- α 高値を引き起こすような病態が生じて psoriasiform eruption として掌蹠外病変を生じた可能性が示唆され、結果として尋常性乾癬類似の皮膚病変を呈しうることが判明した。しかしながら、その直接原因については検索した範囲内では同定するには至らなかった。この結果については現在 (1)-2 として論文投稿中である。

【結 語】

掌蹠膿疱症の発症メカニズムの一部を、自然免疫学的見地から解明しうる可能性を見いだすことができた。これらの結果を基に、今後はさらに詳細な自然免疫系からみた掌蹠膿疱症の病態解析を進めて、治療法の開発へ発展させることを計画している。

【研究業績】

(1) Original publications

1. Murakami M, Ohtake T, Horibe Y, Ishida-Yamamoto A, Morhenn VB, Gallo RL. Acrosyringium is the main site of the vesicle/pustule formation in palmoplantar pustulosis. *J Invest Dermatol* 2010; 130(8):2010-2016.
2. Murakami M, Ishida-Yamamoto A, Honma M, Takahashi H, Iizuka H. Th17 cell-related cytokines are correlated with disease activity of extensive skin lesions in palmoplantar pustulosis (submitted and under review).

(2) Abstracts for international meetings

1. Murakami M, Ishida-Yamamoto A, Gallor RL, and Iizuka H. Palmoplantar pustulosis shows the disorganization of sweating. 34th Annual Meeting of The Japanese Society for Investigative Dermatology, Fukuoka, Japan, Dec 4-9, 2009.
2. Murakami M, Ishida-Yamamoto A, Vera Morhenn, Gallo RL, and Iizuka H. Acrosyringium is a target of vesicle/pustule formation in palmoplantar pustulosis (pustulosis Palmaris et plantaris). Concurrent Sessions on 40th Annual ESDR Meeting, Helsinki, Finland, Sep

8-11, 2010.

15) 前立腺肥大症患者の膀胱血流障害について—造影超音波検査を用いた検討

研究代表者 和田 直樹

【背景と目的】

過活動膀胱 (OAB) とは尿意切迫感を主症状とする症状症候群であり、その原因は多岐にわたる。前立腺肥大症 (BPH) による下部尿路閉塞に伴った OAB の病態生理に膀胱虚血が関与していることが研究されてきているが、臨床場における下部尿路閉塞と OAB との関連についての報告は少ない。今回は造影超音波検査を用いて BPH と膀胱の血流障害についての関連を検討した。

【方 法】

経尿道的前立腺切除術 (TURP) を施行する BPH 患者 32 名を対象として前向きに検討を行った。術前に国際前立腺症状スコア (IPSS)、超音波による前立腺重量測定 (PV)、尿流測定 (UFM)、Pressure-flow 検査 (PFS) そして造影超音波検査 (CDUS) を施行した。また術後 3 ヶ月目で IPSS、UFM および CDUS を施行した。CDUS は尿意を感じない程度の尿が貯留した状態でを行い、超音波造影剤レボピストを静注し、膀胱側方の膀胱血管を観察し (Figure 1)、resistive index (RI: $V_{max}-V_{min}/V_{max}$) を算出し、左右の平均値を用いた。

【結 果】

若年正常群 (n=10、平均 25 歳) と比べて、BPH 群



Figure 1

では RI が高値であった (0.564 vs 0.403, $p<0.001$)。PV が 60ml 以上の患者では 60ml 未満の患者より RI が高値であり (0.604 vs 0.529, $p=0.01$)、PFS による閉塞度が強い V 以上の患者群では、IV 以下の患者群と比較して RI が高値であった (0.615 vs 0.538, $p=0.02$)。TURP による平均切除重量は 26g であり、IPSS (21.2 → 5.6, $p<0.001$)、最大尿流率 (8.0ml/sec → 19.7ml/sec, $p<0.001$) はいずれも術後有意に改善した。全体として TURP 後 RI に有意な減少を認めた (0.564 → 0.450, $p<0.001$, Figure 2)。また前立腺切除重量と術前後の RI 変化量との間には有意な相関を認めた ($r=0.515$, $p<0.01$, Figure 3)。術後 IPSS で尿意切迫感のある群 ($n=12$) では、ない群 ($n=20$) に比べて RI の減少が軽度であった (0.068 vs 0.142, $p<0.05$)。

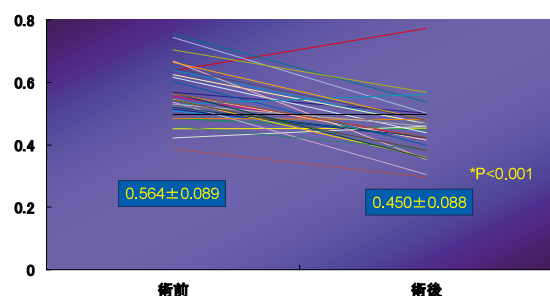


Figure 2

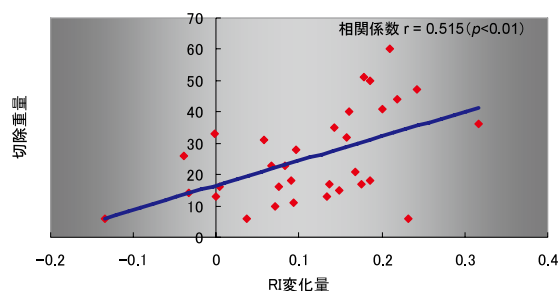


Figure 3

【考 察】

BPH 患者では膀胱血管抵抗が強く、TURP による閉塞解除によって減少する。下部尿路閉塞が起こることによって膀胱平滑筋の増殖などの形態学的変化が起こることは知られており、膀胱壁の肥厚や膀胱重量の増加が引き起こされる。それに伴って膀胱血管の圧迫や相対的な膀胱血流の減少が低酸素状態を作り出し、膀胱排尿筋の機能異常を引き起こすことで OAB が生じると考えられている。今回の検討においても TURP 後の尿意切迫感が残存していた患者では RI の減少効果が少なかったことから、BPH 患者に対する TURP 後の尿意切迫感の改善や残存には膀胱虚血の改善が重要な factor となっている可能性がある。また前立腺重量や下部尿路閉塞の程度によって RI が高値であり、TURP による切除重量と RI の減少効果との間に相関を認めたことから、膀胱血管抵抗の増加には前立腺の腫大そのものが関与している可能性があり、下部尿路症状の有無に関わらず前立腺腫大があれば予防的治療の対象とすべきかもしれない。

【結 論】

膀胱血管抵抗は前立腺重量や閉塞の程度に伴って増加する。TURP で切除した前立腺重量に伴い血管抵抗の減少を認め、減少効果の程度が術後尿意切迫感の改善に寄与する。よって膀胱血管抵抗の増加は TURP 後の尿意切迫感残存の一要因である。

16) 網膜細動脈硬化と全身性動脈硬化の関連性の検討

研究代表者 佐藤 栄一

【研究背景と目的】

近年、生活習慣病を原因とする死亡は、日本人全体の約 3 分の 1 にものぼると推計され、生活習慣病の予防、早期発見、早期治療は重要となっている。平成 20 年から開始された特定検診において、血糖・脂質・血圧・肥満の 4 項目が基準該当者のうち医師が必要と認めた者は、眼底検査が必要となっている。しかしながら、眼底検査で評価する Keith-Wagener 分類と網膜細動脈硬化度の関連性は十分に解明されてなく、また、Keith-Wagener 分類と心血管疾患との関連性は、これまでの報告では一致した見解が得られていない。本研究では、レーザードップラ眼底血流計を用いて網膜循環を測定し、血管抵抗指数を算出することで網膜

動脈硬化を定量的に評価し、定性的評価（眼底検査）との関連性を検討する。更に、全身性の動脈硬化を Augmentation Index で評価し、網膜細動脈硬化と全身性動脈硬化の関連性を検討した。

【研究方法】

旭川医科大学眼科外来を受診し、本研究に同意を得られた患者 38 人を対象とした。対象の内訳には高血圧（18 人）、糖尿病（16 人）、網膜静脈分枝閉塞症（BRVO）（16 人）が含まれた。眼底検査は検眼鏡検査と眼底写真撮影で行い、Keith-Wagener（KW）分類を行った。網膜循環測定はキャノン社のレーザードップラ眼底血流計を用いて、網膜細動脈の血流量を算出した。また、網膜細動脈の収縮期と拡張期血流速度の比から血管抵抗指数の指標の 1 つである Pulsatility ratio を算出し、KW 分類によるグレードと比較検討した。ただし、BRVO 患者は罹病眼の僚眼を対象とした。全身性の動脈硬化測定にはオムロンコーリン社の血圧脈派検査装置 HEM9000AI を用いて Augmentation Index を計測した。

Keith-Wagener 分類、網膜循環動態、Augmentation Index の各パラメーターを比較検討し、網膜細動脈硬化と全身性動脈硬化の関連性を検討した。

【結 果】

KW-I は 22 名、KW-II は 16 名であった。表に示すように、網膜細動脈の血管径、血流速度、血流量は KW-I 群と KW-II 群の間に有意差を認めなかった。

また、Pulsatility ratio(PR) は、KW-I 群： 3.2 ± 0.7 、KW-II 群： 3.6 ± 0.6 で両群間に有意差を認めなかった。Augmentation Index(AI) は、KW-I 群： 85.2 ± 10.3 、KW-II 群： 89.4 ± 7.8 で有意差を認めなかった。

次に、BRVO 患者や糖尿病患者における PR と AI に着目し、相関について検討した。BRVO 患者の PR と AI は $r=0.514$ 、 $p=0.0495$ で有意な相関を認めた。一方、糖尿病患者の PR と AI は $r=-0.314$ 、 $p=0.2538$ で有意な相関は認めなかった（図）。

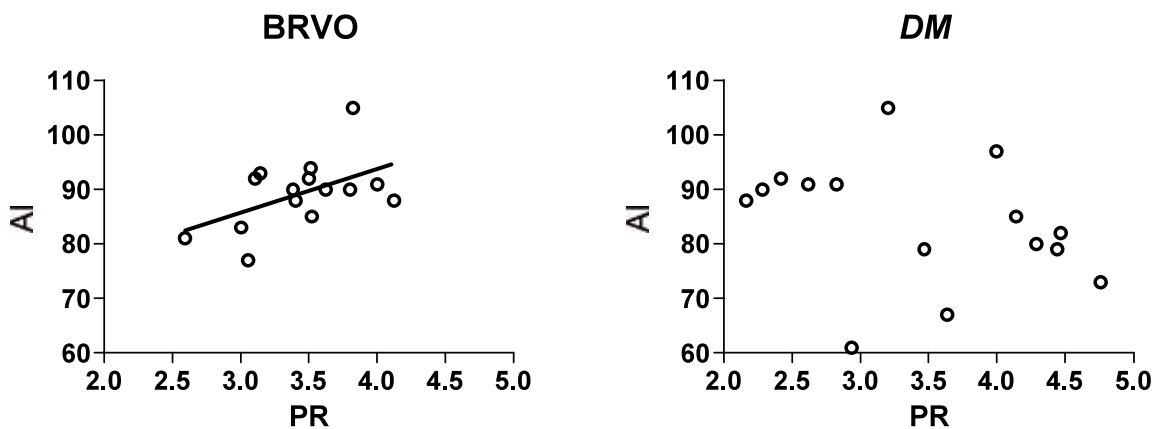
【まとめ】

本研究においては、網膜血管の KW 分類と、Pulsatility ratio、あるいは Augmentation Index には関連を認めなかった。つまり、眼底検査から得られる網膜血管の形態評価と、網膜血管壁の硬化、または、全身

表 年齢、血圧、網膜循環の比較

	KW-I	KW-II	p-value
n	22	16	
年齢 (歳)	59 ± 10	57 ± 11	0.8245
収縮期血圧 (mmHg)	134 ± 17	135 ± 23	0.6832
拡張期血圧 (mmHg)	72 ± 10	71 ± 11	0.8301
心拍数 (beat/min)	72 ± 14	73 ± 8	0.7621
網膜血管径 (μm)	108.9 ± 12.3	114.8 ± 17.0	0.4544
血流速度 (mm s^{-1})	37.0 ± 10.3	40.1 ± 8.6	0.3776
網膜血流量 ($\mu\text{l min}^{-1}$)	10.7 ± 3.9	12.6 ± 3.6	0.1030
Pulsatility Ratio	3.2 ± 0.7	3.6 ± 0.6	0.1786
Augmentation Index	85.2 ± 10.3	89.4 ± 7.8	0.2035

Mann-Whitney' s U test



PR: Pulsatility Ratio、AI: Augmentation Index、BRVO: 網膜静脈分枝閉塞症、DM: 糖尿病

図

の動脈硬化には関連性を認めない可能性が示唆された。しかしながら、本研究では、症例数が少ないため、今後は症例数を増やし、更なる検討が必要であると考えている。BRVO の原因の 1 つに、動脈硬化が挙げられるが、本患者においては、網膜細動脈の硬化と全身の動脈硬化の関連性が示唆された。一方、糖尿病患者では、血管障害は様々な要因が関わるため、そのような関連が認められなかったものと推測する。生体で唯一直接観察できる網膜血管の循環動態を測定することで、定量的に評価し、動脈硬化を評価できる可能性が示唆された。

17) ヒト無精子症原因遺伝子群の網羅的解明および新たな男性不妊症診断法の開発

研究代表者 佐藤 恒

今日、日本の最も深刻な社会問題のひとつに間違いなく少子化問題が存在する。しかしながら、その原因の一つとして近年先進国では不妊症患者が増加の一途をたどっていることは一般にはあまり認識されていない事実であり、現在およそ 10 から 15% のカップルが不妊に悩まされている。さらに今日までの体外受精（特に顕微授精）に代表される不妊治療のめざましい

進歩により、その成果は着実に進歩が認められるものの、男性不妊症特に成熟精子を全く有してない、いわゆる非閉塞性無精子症は現在でも不妊治療の大きな壁となっている。ヒト無精子症の原因として以前より、Y 染色体上の部分的欠失ことに AZF 領域の欠失が報告されている。しかしながら、今日までこの領域においてヒト無精子症の原因遺伝子として同定されたのは、DAZ, RBMY 及び USP9Y のわずか 3 つにすぎない。近年、我々はその遺伝子変異により無精子症を引き起こす新たな遺伝子ヒト SYCP3 を同定した。特筆すべき点はこの SYCP3 はヒト 12 番染色体に位置している点である。ヒト SYCP3 は AZF 領域以外で同定された最初の無精子症原因遺伝子である。さらに我々はその後ヒト常染色体上に位置する MEI1, PARP-2 さらには MEISETZ 遺伝子がヒト精子形成に関与することを証明してきた。

以上に代表される今日までの研究成果より、私はヒト常染色体上にも多数の無精子症原因遺伝子が存在すると確信している。

近年、マイクロアレイ法により、10 個のヒト精子形成候補遺伝子が報告され、そのうちの 하나가ヒト SPATA17 遺伝子である。我々はこのヒト SPATA17

Table 1 Genotype and allele frequencies of three coding single nucleotide-polymorphisms (cSNPs) in the human SPATA17 gene in 18 azoospermic patients with meiotic arrest, control individuals and 20 azoospermic patients with SCOS. HWE Hardy-Weinberg equilibrium

SNPs	Alterations		Genotype frequency			Allele frequency		
	Nucleotide	Amino acid	Genotype/total no of Sample (%)			Minor allele/total no of the chromosomes (%)		
			(G) Meiotic Arrest	Controls	SCOS	(A) Meiotic Arrest	Controls	SCOS
			<i>p</i> value			<i>p</i> value		
SNP1	340G/A	Tyr/Cys	GA 4/18(22.2)	7/96(7.29)		G 4/36(11.1)	7/192(3.65)	
				0.071			0.0762	
SNP2	429T/C	Synonymous	TC 2/18(11.1)	24/96(25.0)				
				0.235				
			TT 0/18(0.00)	2/96(2.08)		T 2/36(5.56)	28/192(14.6)	
				1.00			0.183	
SNP3	608G/A	Synonymous	GA 6/18(33.3)	31/96(32.3)	3/20 (15.0)			
				0.337	0.461			
			GG 6/18(33.3)	3/96(3.13)	17/20(85.0)	G 18/36(50.0)	37/192(19.3)	3/40 (7.5)
				0.00026*	0.014		0.00022*	0.0024*

(G) and (A) reveal genotype and allele, respectively.

*Statistically significant

遺伝子の異常が減数分裂異常に起因するヒト無精子症と関与しているかどうかを解析した。対象は組織学的に減数分裂停止に起因する無精子症と診断された日本人患者 18 名と正常コントロール 96 名である。これらにおいてヒト SPATA17 遺伝子の coding region 及び隣接するイントロン部位をダイレクトシーケンス解析により、mutation 解析を行った。その結果、いずれの患者においても mutation は認めなかったものの、coding region 内に 3 つの single nucleotide polymorphism いわゆる SNP を検出した。この 3 つの SNP において患者群およびコントロール群においてゲノタイプ、アレルの出現頻度を比較検討した。解析の結果 SNP1 と SNP2 においては両者に有意差を認めないものの、SNP3 においては患者群とコントロール群においてゲノタイプ、アレルの出現頻度ともに有意な差を検出した。さらに SCOS 群 20 名とも有意な差を認めた (Tab1)。

本研究により、ヒト SPATA17 遺伝子がヒト精子形成、特にその減数分裂過程において重要な役割を担うことが示唆された。

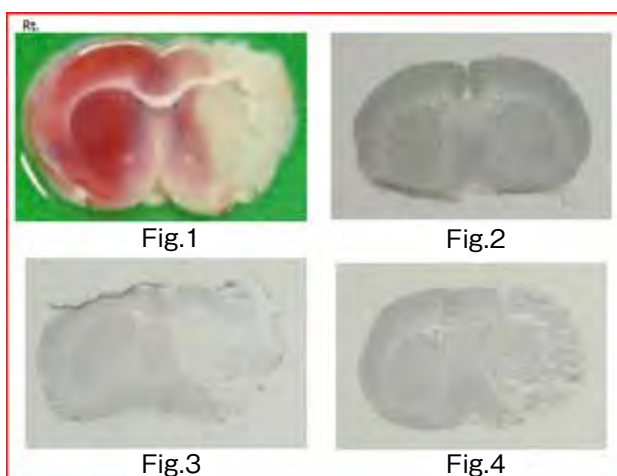
18) ラット脳虚血モデルにおける脳内への薬物直接投与の有効性について～Ⅱ

研究代表者 佐藤 正夫

脳梗塞の急性期治療は、通常経静脈的に薬物投与を行うが、時に血流再開を目的に動脈経由で行う場合もある。しかし、血流が再開されないで循環障害をきたしている領域には薬物が到達せず、これらの領域はいずれ脳梗塞を呈する。そこで、脳梗塞に陥る前に、脳保護薬を脳虚血ペナンプラ領域に直接投与することで脳梗塞巣の体積縮小効果が得られることを前号において示した。今回は、脳梗塞巣の縮小効果を、¹⁴C-deoxyglucose を用いた autoradiogram にて確認することを目的とした。

成熟 Wister ラット (345 - 390g) を用いて実験を行った。脳内に投与する薬物は、前号同様現在臨床で脳梗塞治療に使用されている脳保護薬エタラボンを使用した。脳梗塞を作成した後エタラボンを直接注入したが、手技については前号同様、ハロセン麻酔下に左開頭を行い左中大脳動脈を選択的に凝固・切離し、左中大脳動脈切離 30 分後に脳虚血ペナンプラ領域にエタラボン 1 μ l (6mg/ml の濃度で pH7.2 に調整

し 1 μ g/ μ l とした) を定位脳装置を用いて 1 回のみ注入した (注入部は bregma より左方 4.5mm、深さ 2.0mm)。脳梗塞巣の糖代謝をみるため、脳梗塞発症 24 時間後に RI(¹⁴C-deoxyglucose) を注入した。脳を摘出すべく、事前にハロセン麻酔下に右大腿動脈・静脈にそれぞれマイクロチューブを挿入した後、下半身を石膏を用いて台座上に固定した。脳梗塞作成時より絶食とし、RI (1 個体あたり 825mBq の ¹⁴C-deoxyglucose) を生理的食塩水にて希釈して 1ml としたものを大腿静脈より注入した。注入して 2 分後、3 分後、5 分後、10 分後、15 分後、20 分後、25 分後、30 分後、35 分後、45 分後と RI カウント及び血糖値測定に用いる血液を大腿動脈より採取した。45 分後の血液採取を終了後断頭し、摘出脳を - 20℃ にて保存した。摘出脳をクライオスタットを用いて 20 μ m ごとに切片をつくり、200 μ m ごとにカバーガラス上にスライスした切片を設置した。嗅球先端部を除いた大脳半球から脳幹部 (橋) まで切片が載ったカバーガラスを台紙上に固定し 7 日間かけて高感度フィルムを用いて感光させた。フィルム現像後、画像解析装置を用いて糖代謝を評価した。2%TTC 溶液にて脳梗塞巣の範囲を示したもの (Fig. 1) と autoradiogram を行った正常脳 (Fig. 2)、脳梗塞 (ラジカット未使用) 例 (Fig. 3)、ラジカット有効例 (Fig. 4) を以下に示す。Autoradiography においては、糖代謝が残存している箇所はグレーの領域として描出し代謝の低下とともに色調が薄くなっている。摘出脳の凍結に際し、脳梗塞が完成している領域は脳浮腫により膨化し、一部組織の融解がはじまるため、切片作成時には凍結した水成分の乾燥化により空洞化していた (Fig. 3 及び Fig. 4)。



ラジカット有効例 (Fig. 4) は、脳梗塞を生じていない正常脳 (Fig. 2) と比べると、糖代謝が保たれている領域は少ないものの、2% TCC 溶液にて確認した左中大脳動脈閉塞による脳梗塞巣 (Fig. 1) と比べ、糖代謝が保たれている領域が明らかに広く存在していた。脳梗塞コントロール群との差は、現在実験継続中にて統計処理を行える個体数となっていないが、ラジカット使用群は、本来脳梗塞となるべき大脳皮質の 30% 以上が正常脳の糖代謝に近い状態となっていて、大脳基底核部においても同様の傾向であった。今後も実験を継続し、脳保護薬の脳内直接投与の有効性を示していきたい。

19) 脂肪組織由来幹細胞を使用した骨再生に関する研究

研究代表者 竹川 政範

【研究目的】

組織工学的方法を用いた細胞治療は、骨再建・再生を低侵襲で効率良く行うために有用であると考えられる。近年、脂肪組織に含まれる体性幹細胞 Adipose derived stem cells (ADSC) が多分化能を有することが報告され、脂肪組織は骨髓に比較して低侵襲で採取が可能な組織なため再生医学に応用する幹細胞として有望視されている。われわれは、これまで ADSC は骨髓由来間葉系幹細胞 (MSC) に比較して *vitro* では骨芽細胞への分化が悪いが、*vivo* では同様の骨形成をすることを報告してきた。これは、ADSC と MSC では骨芽細胞への分化過程と多分化能に違いがあるためと我々は考えている。本研究は、ADSC の骨芽細胞への分化過程と適切な移植時期の関係を明らかにすること、手術に変わる方法として静脈注射など低侵襲の移植方法を開発することを目指した。

【研究方法】

F344 ラットの脂肪組織から ADSC を分離した。ADSC および BMSC は FCS 添加 DMEM により培養した。培地にデキサメタゾン、 β グリセロリン酸、ビタミン C を添加し骨芽細胞分化誘導培地とした。

1. ADSC の骨芽細胞への分化過程の研究

ADSC および MSC を骨芽細胞分化誘導培地において 0 日、3 日、5 日、7 日、14 日間培養し研究に使用した。細胞の骨形成細胞への分化程度の評価のために、組織化学的にアルカリフォスファターゼ染色 (以

下 ALP)、石灰化物の形成を評価するためにフォンコッサ染色を行った。骨分化マーカーであるオステオカルシン (OC)、オステオポンチン (OP)、オステオネクチン (ON) の発現を免疫組織染色により評価した。

2. 細胞移植時期の検討

ラット頭頂骨に 4x4mm の円形の骨欠損を形成した後に、移植材料を埋入した。コラーゲンスポンジに MSC および ADSC を 3×10^5 個播種し骨芽細胞への分化誘導培地で 0 日、7 日、14 日間培養後移植を行った。コラーゲンスポンジのみを埋入した群を対照とした。移植後 28 日目に試料採取を行った。X 線による骨形成の評価はソフテックスを用い、母骨および移植床の超微細構造学的観察は走査型電子顕微鏡を用いた。組織学的な観察を光学顕微鏡で行った。

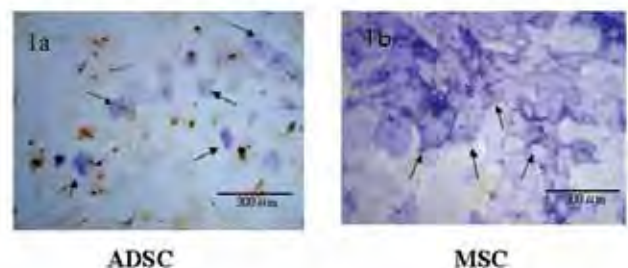
3. 静脈注射による低侵襲細胞移植方法の検討

研究 2 で行った方法と同様に骨欠損を形成し、細胞を播種しないコラーゲンスポンジを埋入した。埋入 3 日後、ラット尾静脈から 3×10^5 個の MSC および ADSC を注射した。評価は研究 2 と同様に行った。

【結 果】

ADSC の骨芽細胞への分化過程の研究

ALP は MSC では分化 14 日目に多数の細胞に発現していたが、ADSC での発現は少なかった (写真



アルカリフォスファターゼ陽性細胞(↑)はMSCに比較してADSCでは少ない

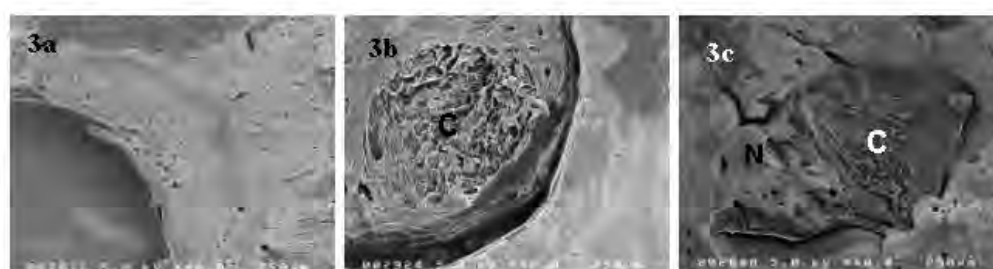
写真 1 分化 2 週目アルカリフォスファターゼ染色

1a,1b)。フォンコッサ染色では、分化培養日数が 7 日目では石灰化物は不明瞭だが、14 日目になると明らかとなった。MSC に比較して ADSC は石灰化物の形成量が少なかった。免疫組織学的検索では、MSC の OC、OP、ON の発現が 3 日、5 日、7 日と増加したのに比較して ADSC は各時期における骨分化マーカーの発現が弱く 14 日目でも発現しない例も見られた。



コントロール 分化2週ADSC移植 未分化ADSC静注
未分化ADSC静注例および分化2週ADSC移植例ではコントロールと比較して骨欠損部(*)の縮小が見られる。

写真2 移植後4週目 X線像



コントロール 未分化ADSC移植 未分化ADSC静注
コントロールに比較して未分化のADSCを静脈注射した例では母骨から旺盛な新生骨(N)形成がコラーゲンスポンジ(C)上に見られる

写真3 移植後4週目 SEM像

細胞移植時期および低侵襲細胞移植方法の検討

X線学的所見 (写真 2a,2b,2c)

細胞移植群

未分化 ADSC 移植および 14 日分化移植例ではコントロールと比較して明らかな骨欠損部の縮小を認めた。MSC 移植群ではコントロールと比較して骨欠損部の縮小は見られなかった。

静脈注射群

未分化 ADSC および MSC 静脈注射例では骨欠損部の明らかな縮小が見られた。ADSC 分化 14 日静脈注射例ではコントロールに比較して良好な骨欠損の縮小が見られた。

SEM 所見 (写真 3a,3b,3c)

細胞移植群

ADSC 移植群では、移植物の脱落は見られなかった。ADSC 分化 14 日例の移植物表面の石灰化物は MSC 例と比較して多かった。

静脈注射群

MSC および ADSC の静脈注射例では移植物の脱落例はなかった。未分化 ADSC 静脈注射例では他の群と比較して移植物表面に旺盛な新生骨形成が見られた。

光学顕微鏡所見

細胞移植群

未分化の MSC 移植例ではコラーゲンスポンジ内部に類骨様の組織が見られた。ADSC および MSC ともに分化 7 日が分化 14 日移植に比較して新生骨の形成が不良であった。ADSC および MSC 分化 14 日移植例の移植床内部はコントロールと比較して血管および紡錘形の細胞を多く含んだ緻密な線維性の組織で充満されていた。

静脈注射群

未分化の MSC 静脈注射例では、移植床内部には担体のコラーゲンスポンジが見られた。ADSC 分化静脈

注射 7 日、14 日例では分化 14 日移植例に比較して新生骨形成は劣っていた。

【考 察】

本研究の結果から、ADSC は MSC に比較して *in-vitro* での骨形成細胞への分化は悪いが、*in-vivo* では ADSC は MSC と比較して骨欠損部位では良好な骨形成を生じる事が明らかとなった。これは、我々の細胞の皮下組織への移植実験結果と同様であった。従来から ADSC は多分化能を有する細胞を含むことが知られている。本研究結果の ADSC を 14 日間分化して移植を行った例で、移植床内部において未分化間葉系細胞および血管が多数認められることから、ADSC は血管形成など創傷治癒に関与している細胞を多数含んでいる可能性が示唆された。今後 ADSC の創傷治癒に関与する細胞への分化に関する研究も必要と考えられた。

ADSC の細胞移植時期の検討では、分化 7 日より 14 日に良好な骨形成が得られた。骨欠損部に細胞を移植する場合、ALP 発現以後に分化させて移植することが必要である。

低侵襲細胞移植方法の検討では、未分化 ADSC の静脈投与は骨欠損部位の骨膜性骨形成を促進することが示唆された。細胞治療による骨再生には移植細胞の生着、増殖、分化、機能発現が必須である。未分化 ADSC は障害部位に生着し創傷治癒、骨形成に有利な細胞であると考えられた。細胞が目的の部位に生着し機能するかに関しては、GFP 陽性細胞の利用などさらなる検討が必要である。未分化 ADSC 静脈注射が骨創の治癒に有用であれば、骨形成細胞への分化誘導時間が短縮でき、血清、成長因子などの他の生物由来因子を排除できる可能性があるため臨床応用がより現実的になると考えられる。以上から、脂肪由来体性幹細胞による骨再生研究を進めることで、骨欠損の修復・再建に新たな治療法の開発が期待できる。

20) 尿エキソソーム検査法確立のための基礎的検討

研究代表者 河端 薫雄

【研究成果の概要】

<背景と目的>

エキソソームはエンドソームに起源を持つ脂質二重膜小胞であり、多胞エンドソーム (multivesicular body; MVB) 内に含まれている小胞 (直径 40-100

nm) が細胞外環境 (体液・培養液) に放出されたものである。エキソソームの産生・放出は、外部刺激 (例えば P2X7-R) に応答してセラミド・スフィンゴミエリンを介し増強する。エキソソームの機能としては、放出する細胞と近隣細胞との細胞間情報伝達、プリオン・レトロウイルスの伝搬、抗原提示等が報告されている。

エキソソーム膜・内部には、細胞で発現されているタンパク質・mRNA・microRNA の一部が含まれる。特定細胞由来のエキソソームはその細胞に特徴的なタンパク質を含み、エキソソーム含有蛋白の解析から特定の病態が把握できることを示唆する。

本研究では尿中エキソソームを検体とする新たな検査法の確立を目的として、その基礎検討をおこなう。さらに病態検査上の意義を RNA 検査、蛋白検査の両面から検討する。

<研究方法・目的>

健康人尿を用い、以下の方法を応用して分離同定法をまず確立する。これを基礎に尿中エキソソームの動態分析を行い、生理・病態関連成分を同定し、病態検査上の意義を明らかにする。

1. 限外ろ過 (スピンカラム) 法によるエキソソームの簡易精製

ポアサイズの異なる Nanomembrane concentrator (pore size 13 ~ 200 nm) を用いてエキソソーム (直径 40-100 nm) の簡易精製を試みる。

2. ラテックス凝集法を応用した簡易精製法の開発

抗体をラテックス・磁器ビーズに感作してエキソソーム簡易精製法を試みる。

<研究結果>

遠心法 (15,000 rpm 後の上清) と限外ろ過法 (分子量 10 万 kd) の組み合わせにより、尿エキソソーム (直径 40-100 nm) 分画の濃縮が可能であった。この分画に含まれる podocalyxin を western blot 法にて解析した。健康人尿 10 ml 程度から得られる濃縮分画を用いた場合、podocalyxin を western blot 法にて検出できた。一部の検体では分子量の異なるバンド (アイソフォーム?) を確認できた。

エキソソームには MHC クラス I の発現が報告されている。クラス I 抗体-ラテックス粒子によりエキソ

ソームを濃縮し、この分画に含まれる podocalyxin を western blot 法にて解析した。この濃縮・解析法では podocalyxin は検出できなかった。

<考察・展望>

エキソソームに含まれる podocalyxin の解析から、このタンパク質を測定する臨床検査の可能性が示唆される。エキソソーム内部には mRNA・microRNA が含まれているといわれる。今後これらの意義を明らかにしていきたい。

21) CD69 抗原の自己免疫発症における役割

研究代表者 木村 昭治

研究背景および目的

ウイルス性スーパー抗原に対する in vivo での活性化を種々のマウス系統を用いて観察中に A/WySnJ マウスがリンパ球活性化を示すにも拘らず膜表面 CD69 の発現が見られないことを見いだした。CD69 抗原はレクチンファミリーに属する II 型の膜タンパクでありリンパ球活性化に伴って膜に発現される抗原としてよく知られているがその機能はよく分かっていない。本研究計画の目的は A/WySnJ マウスの CD69 発現異常とそれによる免疫反応への影響を検討することによって CD69 の機能を知ること、今回は途中経過としてその前半部分を報告する。

材料および方法

A/WySnJ マウスは友成久平教授（福井大学免疫学講座）より供与された。A/J マウスは三協ラボラトリー

より購入した。何れも 6 ~ 10 週令のマウスを用いた。抗 CD69 抗体は B-D 社より、抗 CD25(PC61-5.3) は ATCC より購入、抗 Ly6.1E (SK70.94) は自家製である。FITC ラベル抗ハムスター Ig 抗体は Jackson Research 社から、FITC ラベル抗マウス Ig 抗体は DAKO 社から購入した。FACS 解析用の活性化リンパ球はリンパ節細胞を ConA 2 μ g/ml, IL-2 50u/ml の存在下で 2 日間培養したものを用いた。RT-PCR 試薬はベーリンガー社のものを使用した。PCR 用プライマーは北海道システムサイエンスに依頼した。

FACS、PCR、塩基配列決定は常法に従って行った。

結果と考察

A/WySnJ マウスがリンパ球活性化に伴い CD69 抗原の膜発現を示さないことを確認するため、in vitro で活性化されたリンパ球を用い膜表面での発現を抗 CD69 抗体による FACS 解析で検討した。Fig 1 A に示されるように A/WySnJ に CD69 の発現は全く見られなかった。リンパ球活性化そのものは CD25 と Ly6.1E の発現があることで確認されている (Fig1B)。次に発現欠損のメカニズムを検討するため mRNA 産生を RT-PCR で検討した。A/J マウスにおいては 2 本のバンドが観察されたが A/WySnJ マウスでは A/J マウスの短いバンドに相当するサイズの本のみがみられた (Fig2)。それぞれのバンドの塩基配列を調べると A/J マウスの長い方は既報の CD69 に一致し、短い方はその exon 2 を欠くアイソフォームをコードするものであった。A/WySnJ のバンドは A/J の短い方の塩基配列と同一であった (Fig 省略)。exon 2 は膜貫通

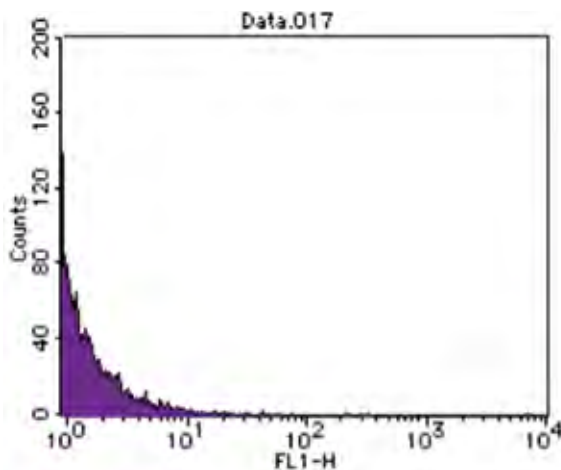


Fig.1A Expression of CD69

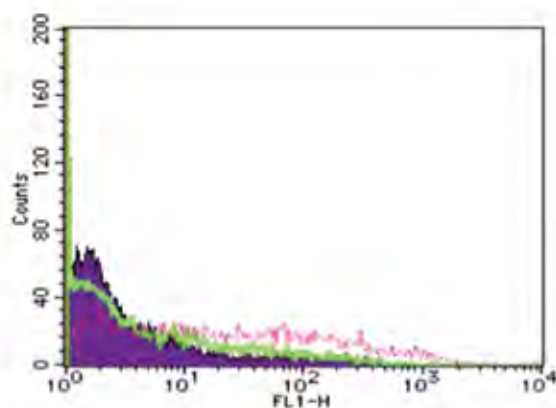


Fig.1B Expression of Ly6.1E and CD25

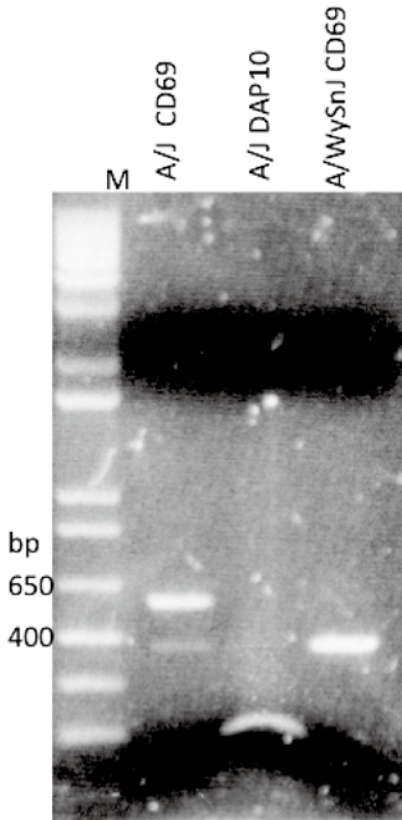


Fig.2 CD69 mRNA expression in A/WySnJ mouse

部をコードしており膜局在に必須である。このことから A/WySnJ に CD69 の膜発現が見られないのは膜貫通部を欠くためと考えられる。その理由として exon 2 部分の欠失、特定の選択的スプライシング、スプライシング異常などが考えられるため intron/exon 境界領域の塩基配列を調べた。Fig 3 に示されるように intron1-2 と exon2 の境界部分 (intron のアクセプターサイト) の配列が AA (A/J では AG) となっており intron1-2 がスプライスアウト出来なくなり、intron1-2, exon 2, intron2-3 がスプライスアウトされ exon 2 を欠く mRNA が産生されると考えられる。

A/J マウスでは選択的スプライシングによって 2 種類の CD69 mRNA が産生されることが判明したがスプライシングパターンが細胞系列特異的か否かを培養細胞株を用いて検討した (BRRVTC1, CTL, CgCBJ, 2B4-11 は T 細胞、M12.C3, 93-4 は B 細胞、R453 は顆粒球、416B は骨髓球系の前駆細胞、P388 はマクロファージ、1029, 8050, 8072 は骨髓球系、0131, 8112, 8057 は巨核球系の細胞株である)。種々の細胞株で 2 種の mRNA が観察され細胞系列によりスプライシングが決まっている訳ではないがそれらの相対的な量には細胞株間で

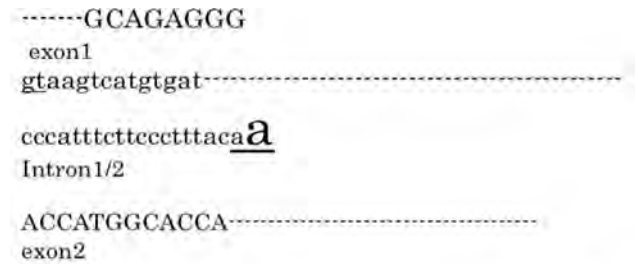


Fig.3 mutation at intron/exon bounday in A/WySnJ mouse

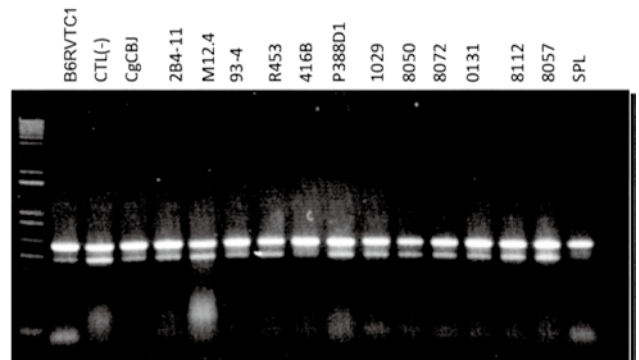


Fig.4 CD69 mRNA expression in a variety of cell lines

多少の差があり細胞のタイプによりスプライシングの調節が行われているようである (Fig 4)。

実際に exon2 を欠く mRNA がタンパクをコードするか、もしそうであればその局在はどうか、を調べるため FLAG 付加の発現コンスとラクトを作製し 293T 細胞で一過性の発現をウェスタン法にて検討した。細胞上清および細胞溶解物から産物が免疫沈降され少なくとも遺伝子導入系では分泌されることが示された (Fig 省略)。

A/WySnJ マウスでは自己抗体の産生や腎病変など自己免疫疾患の症状を経年とともに表現することが報告されているが我々は CD69 発現欠損と抑制性 T 細胞の量的、質的制御の喪失との関連を考えている。natural Treg 細胞 (CD25+Foxp3+) の A/WySnJ と A/J マウスとの FACS による比較ではその頻度には差はみられなかった (Fig 省略)。今後、効果細胞との混合培養でその機能を確認する必要がある。また、TGF- β 1 などによる誘導性 Treg に関しても同様の観察を行うこと、何らかの因子による個体間の差を考慮して蛋白尿や抗 DNA 自己抗体の量との相関を検討することが必要である。

22) 学生の手洗い動作と手洗い結果の検証—効果的な手洗い教育に向けて—

研究代表者 升田由美子

【研究目的】

本学の看護基礎教育において、学生は入学直後より看護技術としての手洗いを学習し、また知識として手洗いの重要性を教授している。血圧測定や注射のような看護技術は、初めて学ぶことであり、習得のために積極的に努力をする。しかし、手洗いは誰もが幼少期より清潔行動の一つとして行っているものであり、独自の手洗い方法が習慣化している。このことより学生は手洗いを習得しやすい技術としてとらえ、正しい手洗い方法の習得を阻んでいると予測される。以上の状況を踏まえると、看護技術としての手洗い教育を基礎教育の段階でより意図的に実施することが必要といえる。

看護技術としての手洗いを教授する場合、実際に手を洗う行為が適切に行えるようになるという教育の成果が求められる。ここでいう適切な手洗いとは、洗いきれのない手洗いを意味する。また、看護技術としての手洗いを習得するということは、単に正しい動作や順序で洗うことにとどまらず、どこを洗いきれやすいのか、どのように手をこすり合わせるのが効果的なのか等の知識に基づいた手洗いを行えることである。従ってより効果的な看護技術教育を行うためには、手洗い動作とその結果の2点からの検証が必要である。

本研究は、初学者の手洗いの特徴を明らかにするために、学生の手洗い行動における手洗い動作と手洗い結果との関連を分析することを目的とする。

【研究方法】

研究対象：手洗いに関する講義・演習が終了している、研究協力の得られた1年次看護学生 6名

実施方法：手洗い方法は講義・演習で学んだ方法で行うよう実施直前に対象者に指示し、手洗いを実施してもらう。洗いきれは蛍光ローションを用いて視覚的に観察可能な状態とする。手洗い動作はビデオカメラ2台を用いて撮影する。手洗い終了後、手洗い評価専用の蛍光ランプに手をかざしてもらい、研究者が洗いきれを肉眼で確認しデジタルカメラで撮影する。

手洗い動作は、撮影したビデオ画像を動作解析ソフト「V1Home2.0」(インタラクシス社)のスロー再生機能を用いて、手洗い動作を対象者ごとに以下の視点から観察する。

1) 摩擦動作と摩擦回数：各部位について、手を擦り合わせる動作を観察し、一方向への摩擦を1回として数える。

2) 手洗い動作の時間：手洗いに要した時間をビデオカメラの時間表示機能を用いて測定する。

分析方法：学生の手洗いの摩擦動作、摩擦回数、洗いきれについて、先行研究¹⁾を参考に手指・手掌・手背を9つの部位に分けて観察した。9つの部位は①手関節部、②拇指周囲、③手掌中央部、④手背中央部、⑤小指側中手根部周囲、⑥四指指間部、⑦四指、⑧指尖部、⑨爪周囲である。観察した結果は部位別の洗いきれ、摩擦に関する回数・時間・動作として数値化し、単純集計後に手洗い動作と洗いきれの関係を検討した。

倫理的配慮：対象となる学生に、①研究協力は自由意思によるものであり強制ではない、②データは匿名性が確保され、成績には一切関係しない、③研究協力はいつでも辞退でき、辞退に伴う不利益はない、④ビデオ撮影は対象となる学生に許可を得て行い、研究終了後は処分される、⑤得られたデータは本研究以外には使用しないこと、を口頭および文書で説明し、同意を得た。

【結 果】

調査は2010年8月に行い、期間中に協力の得られた看護学科1年次学生6名を対象とした。

1. 手洗い動作

手洗いの動作を観察し、手指区分別の摩擦回数を計測した。手指区分別の摩擦回数は表1に示した。手洗い時間は平均 89.2 ± 24.6 秒であった。

2. 洗いきれ

対象者全員に洗いきれた部位があった。手指区分別に見た洗いきれ部位は表2に示した。洗いきれが多かった部位は拇指周囲と四指指間部、四指、指尖部であった。

【考 察】

摩擦動作が多かった手掌中央部は、手洗い動作のう

表 1 手指区分別摩擦回数 (回)

摩擦部位		平均回数	標準偏差
手関節部	右	9.3	± 4.3
	左	7.8	± 3.7
拇指周囲	右	7.8	± 6.5
	左	12.5	± 9.5
手掌中央部		49.2	± 18.3
手背中央部	右	27.7	± 21.7
	左	23.3	± 13.4
小指側中手根部周囲	右	3.0	± 7.3
	左	1.7	± 2.7
四指指間部		49.5	± 29.0
四指	右	5.3	± 8.5
	左	12.8	± 10.3
指尖部	右	55.5	± 34.1
	左	53.5	± 56.1
爪周囲	右	13.2	± 16.8
	左	8.2	± 13.7
手指全体を包む	右	0.7	± 1.6
	左	0.2	± 0.4
計		341.2	± 93.8

表 2 手指区分別洗い残し (人)

洗い残し部位		洗い残しの あった人数
手関節部	右	0
	左	0
拇指周囲	右	6
	左	5
手掌中央部	右	3
	左	3
手背中央部	右	1
	左	1
小指側中手根部周囲	右	1
	左	1
四指指間部	右	4
	左	6
四指	右	5
	左	5
指尖部	右	5
	左	5
爪周囲	右	2
	左	2

ち最初にこすり合わせる部位であることから、洗い忘れることが少ない。四指指間部と指尖部はいずれも洗い残しやすい部位であるため、意識して摩擦が行われている。小指側中手根部周囲や手指全体の摩擦回数が少ないのは、教科書にある標準的な手洗い行動²⁾に

これらの部位に関する摩擦動作が記載されていないためと考えられる。拇指周囲と四指指間部、四指、指尖部は摩擦回数が比較的多い部位にも関わらず、ほぼ全員に洗い残しがあった。つまり、摩擦はしているが効果的な方法にはなっていないことを示唆している。手指の構造は複雑であり、摩擦といっても手指の皮膚を密着させ適切な圧力でこすり合わせることは容易ではない。

今後は対象者数を増やして初学者の手洗いの傾向を分析していきたい。

【参考文献】

- 1) 田野英里香：看護学生の手洗い行動に関する分析－低学年次高学年次の学生間の比較から－，札幌医科大学大学院保健医療学研究科修士論文。
- 2) 竹尾恵子監修：看護技術プラクティス，第2版，91，学習研究社，2009。

23) ヒト網膜微小循環ネットワークの血管壁酸素消費 量と血管壁応力分布

研究代表者 高橋 龍尚

[研究の背景と目的]

近年、顕微鏡観察下における計測技術の進歩により、微小循環領域での酸素輸送と酸素拡散現象の定量化が可能となり、血管運動時および末梢循環調節時の血管壁酸素消費量に関する研究が注目されている。通常、微小循環調節は、血管壁平滑筋による血管収縮や血管拡張の動的変化（運動）によってなされている。血管壁運動は、血圧、血管径、血管壁厚などのパラメータが決まれば、物理法則が成立する系として数学的に取り扱うことが可能となる。本研究では、この網膜血管分岐ネットワークと循環パラメータを用い、血中酸素分圧（酸素飽和度）のネットワーク分布と血管壁（内皮細胞と血管平滑筋細胞）による酸素消費量の分布および総量を推定する。これまで生理学の常識では、血管壁による酸素消費量は無視できるものとされてきた。しかし、内皮細胞は様々な生理活性物質・血管作動性物質を産生し循環調節に重要な役割を果たしている。また、血管平滑筋は筋原性の緊張を通して autoregulation に重要な役割を果たしている。したがって、血管壁の仕事量・エネルギー消費量についての定量化は、生理学上重要な情報といえる。本研究では、平滑筋の仕事量に比例する酸素消費量を考慮するため血管壁応力（circumferential wall stress）を推定する。また血管拡張物質（nitric oxide）産生に影響を及ぼす血管壁せん断応力（shear stress）の推定も行う。

[方法]

網膜の血管ネットワークモデルは、 $D_p^{2.85}=D_d^{2.85}+D_d^{2.85}$ （ D は血管内腔径）の関係を持つ母血管と 2 本の娘血管からなる 2 又対称性分岐のフラクタル構造を用いた [Takahashi et al. 2009]。また、分岐間の距離は、 $L=7.4r^{1.15}$ （ r 、血管半径； L 、セグメント長）とする血管径の関数で定義された。血管径のべき乗指数 2.85 は、フラクタル次元（1.70）とブランチ指数（1.15）の合計からなる。任意の血管セグメントにおける血流量 $\dot{Q}_g$ 、血流速度 $\bar{v}_g$ 、血管壁せん断応力 τ_w は次式で与えられる： $\dot{Q}_g(r_g)=\pi r_1^2 \bar{v}_1/2^{g-1}$ 、 $\bar{v}_g=\bar{v}_1(r_1/r_g)^2/2^{g-1}$ 、 $\tau_w=\mu(r) \cdot \dot{\gamma}(r)$ 。ここで、 2^{g-1} は分岐順位（order, g ）で表される同順位の血管数、 $\mu(r)=0.043/(1+4.29/r)^2$ は

液の見かけの粘性、 $\dot{\gamma}_w(r)=4\bar{v}_g/r_g$ は血管壁 shear rate（血流の速度こう配）である。血管壁平滑筋の仕事量に比例する酸素消費量を算出するために、血管壁周応力 [circumferential wall stress, $\sigma_w=P_t(r) \cdot r/w$, P_t は血管内外圧力差、 w は血管壁の厚さ] を求め、それを平滑筋細胞の単位容積あたりの酸素消費量と各血管容積との積に掛けた。さらに、それらの値についてネットワークの全血管について積分を行った。また、血管内腔表面積と内皮細胞厚の積により内皮細胞容積を算出し、それに単位容積当たりの内皮細胞酸素消費量値を掛け、ネットワークの全血管について積分を行った。ネットワークの微小循環領域全体の酸素消費量は、ネットワークの流入・流出血管の細動静脈酸素較差と血流量の積から算出した（Fick's Principle）。シミュレーションでは、網膜中心動脈分岐直後の細動脈の平均直径（ $d_1=2r_1=108 \mu m$ ）と平均血流速度（ $\bar{v}_1=2.055 cm/s$ ）、網膜中心静脈直前の細静脈平均直径（ $147 \mu m$ ）のみを使用した。ネットワーク全体の計算は、質量の保存則（conservation of mass flow）とポワズイユの法則（Hagen-Poiseuille's law）に従った。

[結果と考察]

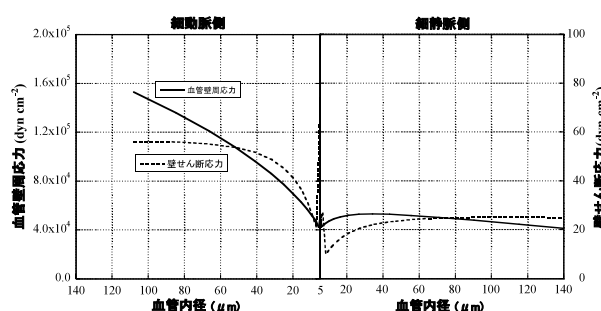


図 1 血管壁周応力とせん断応力のネットワーク内分布と血管径の関係

図 1 は、血管壁周応力とせん断応力の血管径に対する分布を示している。細動脈内のせん断応力は、約 40 ミクロンまではほぼ一定であるが、そこから前毛細血管まで急激に減少する。毛細血管でのせん断応力は、一過性に上昇する。これは、赤血球のサイズが血管径よりも大きいためにそこを通過するのに生じるメカニカルな抵抗の上昇による。後毛細血管細静脈では再びせん断応力は増加するが、細動脈のそれに比べ低値を示す。血管壁周応力は、細動脈から前毛細血管まで減少

し、毛細血管ではわずかな増加を示した後、細静脈側ではほぼ一定の値を示す。細動脈に比べ細静脈の血管壁周応力が小さいのは、圧損失が血管径／血管壁厚の比率を上回るためである。

血管壁内腔表面積／血管壁容積のネットワーク積分値は網膜流入第1細動脈部位では $3.7 \times 10^2 \text{ cm}^{-1}$ 、毛細血管レベルでは $8.0 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ であった。この毛細血管レベルの大きな数値は、構造上（設計デザイン上）物質交換の効率を高める効果があり、機能の観点からその意義が理解される。図2は内皮細胞と血管平滑筋細胞のネットワーク内酸素消費量分布を示している。内皮細胞の酸素消費量は、血管が細くなるに従って徐々に増加した。一方、平滑筋の酸素消費量は、血管径が減少すると共に減少した。血管壁の厚さと血管壁周応力の減少により、血管サイズの減少と共に平滑筋酸素消費量は減少することになる。内皮細胞酸素消費量と平滑筋細胞酸素消費量の合計である血管壁酸素消費量は、内皮細胞酸素消費量依存的に血管サイズ減少の影響を上回る血管数の増加によって、太い細動脈と太い

細静脈から毛細血管に向けて増加し、毛細血管レベルで最大となった（図3）。

網膜微小循環ネットワーク全体の血管壁（内皮細胞と血管平滑筋）が消費する酸素量は、 $1.63 \times 10^{-7} \text{ ml O}_2/\text{s}$ であった。ネットワークの構成別では、細動脈側は $7.59 \times 10^{-9} \text{ ml O}_2/\text{s}$ 、毛細血管領域は $1.42 \times 10^{-7} \text{ ml O}_2/\text{s}$ 、細静脈側は $1.40 \times 10^{-8} \text{ ml O}_2/\text{s}$ であった。また血管ネットワークを含む網膜血管床全組織が消費する酸素は $8.61 \times 10^{-6} \text{ ml O}_2/\text{s}$ であった。したがって、ネットワーク全体の血管壁が消費する酸素は、組織全体の約1.9%であった。これは、微小循環領域に輸送される酸素の多くが、血管壁ではなく周りの組織で消費されることを示している。また、ネットワーク全体についての血管平滑筋の酸素消費量は、内皮細胞のそれに比べ1～2桁少ないことが明らかになった（図2）。内皮細胞の役割は平滑筋に比べ多岐にわたるため、内皮細胞の容積が比較的少ないにもかかわらずエネルギー消費が多いと考えられる。

[引用文献]

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

[発表論文]

Tatsuhisa Takahashi et al.: Theoretical analysis of oxygen consumption by vascular walls exposed to hemodynamic stress in the human retinal microcirculatory network. Trans Jpn Soc Med Biol Eng 48: 481-492, 2010 (in press).

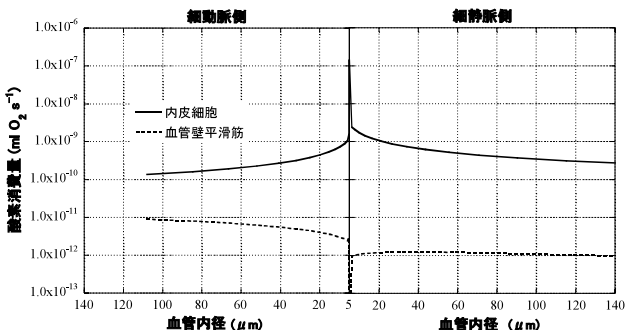


図2 内皮細胞及び血管壁平滑筋細胞の酸素消費量と血管径の関係

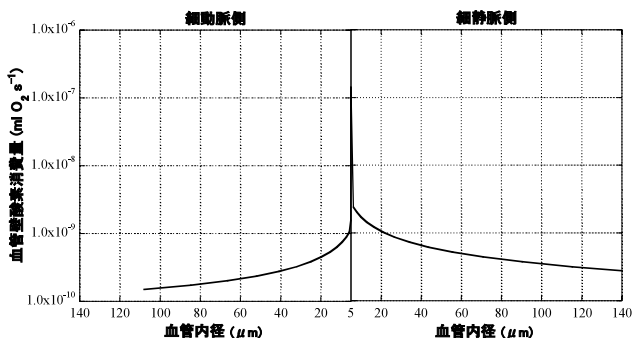


図3 血管壁酸素消費量のネットワーク内分布と血管径の関係

24) 銅酸化物高温超伝導体の電気伝導度の電子数密度依存性

研究代表者 本間 龍也

[背景 & 目的]

1986年の液体窒素の沸点（77 K = -196℃）でも超伝導現象が観測できる銅酸化物高温超伝導体（以下、銅高体）の発見以来、ほぼ四半世紀が経過した。この間、多くの実験結果が蓄積されている。しかし、超伝導現象が現れる超伝導転移温度（ T_c ）は、1993年に発見された水銀系銅酸化物の135 K (= -138℃)を最後に現在に至るまでこの温度を越す T_c を持つ新物質は発見されていない。

銅高超体は、結晶の a 軸と b 軸方向に平行な面 (ab 面) に銅と酸素原子からなる銅一酸素面 (CuO 面) と希土類と酸素原子からなる面 (CR 面) とが両面に垂直な c 軸方向に積層した構造を持つ。 CuO 面は超伝導を含む電気伝導を担うのに対し、 CR 面が絶縁層となるため、試料全体の電気伝導や超伝導に強い異方性が現れる。 CuO 面も電子が不足すれば絶縁性、逆に過剰になれば金属性を示す。 CuO 面の電子数を適度に保つと超伝導が現れる。従って、 CuO 面当たりの電子数 (電子数密度) を正確に知ることは重要である。しかし、 CR 面での元素置換や酸素量変化によって電子数密度を変えられるが、その値を正確に知ることはできなかった。

本研究代表者は、最近、銅高超体の電子数密度を正確に測定する方法 (電子スケール) を提案した^[1,2]。本研究では、この電子スケールを用い、既存の実験結果を基に銅高超体の c 軸方向と ab 面方向の電気伝導度の厳密な電子数密度依存性を明らかにし、新たな知見を得ることを目的とする。

[方 法]

提案している電子スケールは、ある測定量を含んでいれば既存のデータからさえ解析によっても電子密度を決定することができる。そこで、解析可能な 71 文献 (24 物質) を選び出し、物質毎、報告しているグループ毎に c 軸電気伝導度と ab 面電気伝導度の値

を正確に読み取り、電子スケールで決めた電子数密度との関係を調べた。本報告では、 c 軸電気伝導度の結果の一部を議論する。尚、 ab 面電気伝導度の詳細は論文に投稿中である。

[結果 & 考察]

図 1 (a) は室温 (290 K = 17°C) での c 軸電気伝導度 ($\sigma_c(290)$) の電子数密度 (p_u) 依存性を示す。 p_u は、各々の物質の T_c が最高となる数密度で規格化した値である。縦軸の $\sigma_c(290)$ は対数目盛りで示す。記号の色の違いは物質群の違いを表す。物質群ごとに大きさは異なるが、 $\sigma_c(290)$ は傾きの同じ 5 本の直線関係で表され、指数関数的に変化していることが分かる。図 1(b) は、 $p_u=1$ での $\sigma_c(290)$ の値 ($\sigma_c^{\text{opt}}(290)$) で規格化した $\sigma_c(290)$ と p_u の関係を表す。 $\sigma_c(290)/\sigma_c^{\text{opt}}(290)$ は $0.2 < p_u < 1$ の範囲で赤線で示す 1 本の直線で近似できることが分かる。 $\sigma_c^{\text{opt}}(290)$ は CuO 面間の距離 (又は CR 面の厚み) に強く依存していた。 $0.2 < p_u < 1$ の範囲では、どの物質も超伝導が発現し最高の T_c まで発達していた。従って、 c 軸方向の電気伝導は、 CuO 面間距離と超伝導の発達に密接な関係があると判断できる。

[まとめ]

銅高超体の中でも超伝導を示す物質にだけ σ_c と p_u の間に普遍的な関係があることを見つけた。詳細につ

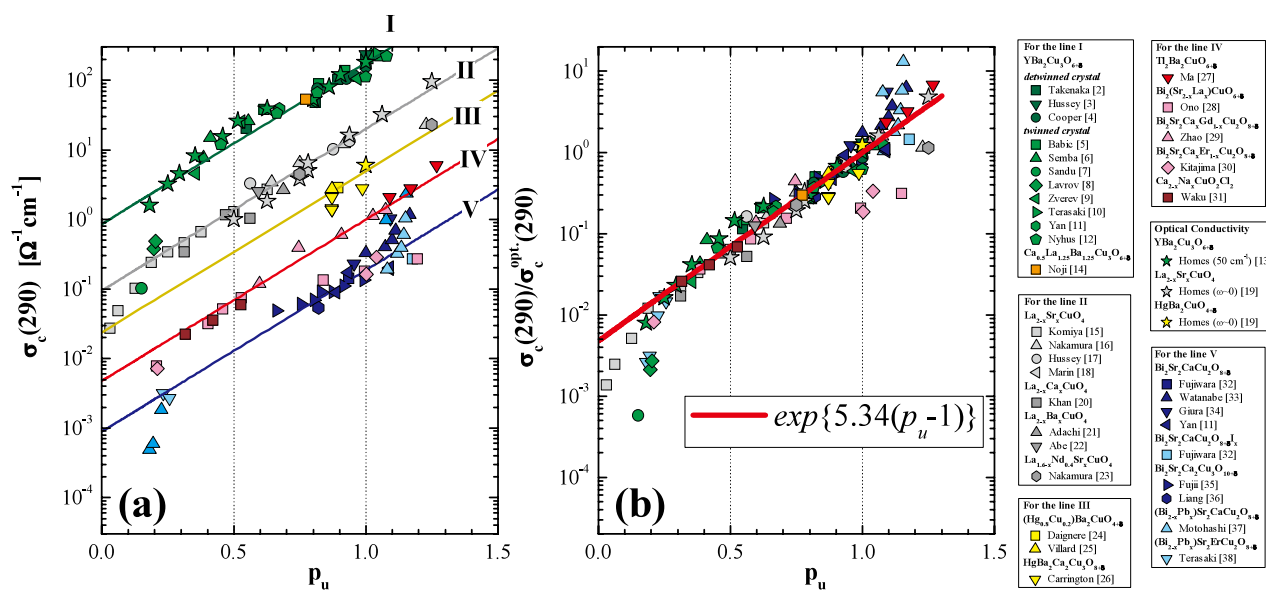


図 1 c 軸電気伝導度の p_u 依存性。引用したデータの詳細は投稿論文を参照のこと^[3]。

いては、現在論文に投稿中である [3]。

[謝 辞]

末尾になりましたが、平成 21 年度“独創性のある生命科学研究”に採択して頂きましたことに感謝申し上げます。

[参考文献]

- [1] T. Honma et al., “Universal intrinsic scale of the hole concentration in high- T_c cuprates”. *Physical Review B* 70, 214517 (2004).
- [2] T. Honma & P.H. Hor, “Unified electronic phase diagram for hole-doped high- T_c cuprates.” *Physical Review B* 77, 184520 (2008).
- [3] T. Honma & P.H. Hor, “Universal scaling of the c-axis dc conductivity for the underdoped high-temperature cuprate superconductors”. *Solid State Communications* 150, 2314 (2010).

25) アミロイドベータペプチド (A β) は抗酸化能発現により化学修飾を受ける

研究代表者 中村 正雄

[研究目的]

アルツハイマー病 (AD) は加齢に伴い、脳への老人斑 (SPs) の沈着が特徴である。SPs は主にアミロイドベータペプチド (A β) (A β 1-42, A β 1-40) で構成され、高い濃度の遷移金属 (鉄、銅) および亜鉛を含んでいる。老人斑には酸化ストレスの痕跡が見いだされ、神経変性による AD の発症との関連が指摘されている。本研究では抗酸化物としての A β に注目し、様々な酸化ストレスに対してどのように反応し、構造変化するかを明らかにする。

[研究方法]

酸化的分子種との反応による A β の構造変化

長さの異なる A β (A β 1-12, A β 1-16, A β 1-28, A β 1-40, A β 1-42) を以下の酸化ストレス (酸化的分子種) で処理し、A β の構造変化を MALDI-TOF で検討した。

(a) 遷移金属 (Cu^{2+} , Fe^{3+})、(b) 活性酸素種 (水酸ラジカル、次亜塩素酸)、(c) 脂質過酸化反応 (advanced glycation end products, HNE, ONE)

実験は HEPES 緩衝液を用い中性 (pH 7.0)、25℃で行った。

[結 果]

1. A β (A β 1-12, A β 1-16, A β 1-28, A β 1-40, A β 1-42) を以下の酸化ストレス (酸化的分子種) で処理した。50 μM の A β を含む溶液に当モルの Cu^{2+} または Fe^{3+} を加え、 H_2O_2 非存在下または存在下で反応させた。

Cu^{2+} と H_2O_2 の共存下では A β に帰属する主ピークに加え +16Da のピークが現れる。

Cu^{2+} 単独または Fe^{3+} を加えた場合は有意の +16 Da のピークは認められない。

2. A β と次亜塩素酸との反応。

A β の C 端側に存在する Met35 が次亜塩素酸と特異的に反応することを報告した。A β 25-35 または全長 A β (A β 1-40, A β 1-42) では塩素化は検出されず、Met35 の sulfoxide 型が確認された。A β 1-12 を 5-10 倍量の次亜塩素酸と反応させると A β 1-12 のピークのほか +35 Da、-45 Da のピークがあらわれ一つの塩素が結合するほか、分解反応が併発する事がわかる。A β 1-12 の塩素化は生成物を LC / MS 法で解析すると Tyr10 で起こることが明らかとなった (図 1)。

3. A β と脂質過酸化物 (advanced glycation end products, HNE, ONE) との反応

A β 1-12 を 5-10 倍量の ONE (oxononanal) と反応させると、A β 1-12 のピークのほか +118 Da、+136 Da、+154 Da、+276 Da、+292 Da、+308 Da のピークが観測された。これは A β 1-12 にそれぞれ一分子 (+154 Da) 又は 2 分子 (+308 Da) の ONE が結合すると考えられる。この反応と同時に脱水やシッフ塩基の形成が起こると推定される。

A β 1-40 と ONE の反応でも +118 Da、+136 Da、+154 Da のピークが観測された。HNE、ONE の持つ二重結合に親核的な付加反応が知られており (マイケル反応)、A β のアミノ基やイミダゾール基と HNE、ONE との反応が推定できる。

[結 論]

A β の N 端側に Cu^{2+} に特異的な結合部位の存在が知られている (3N1O)。今回、 H_2O_2 存在下で部位特

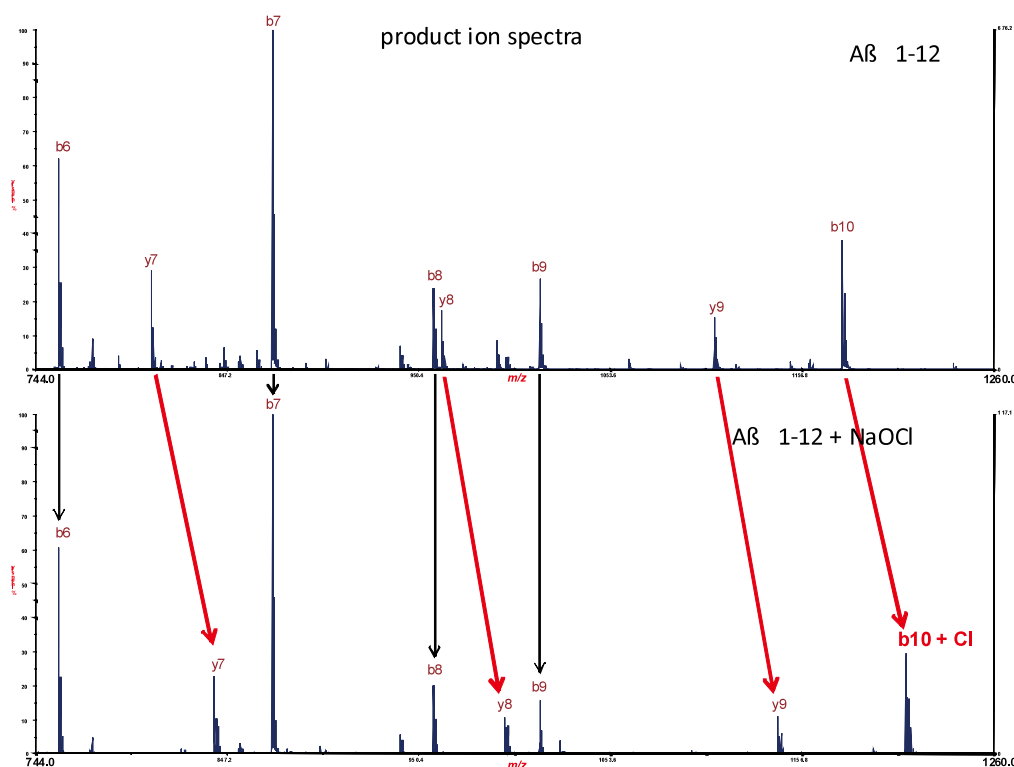


図1 Aβ 1-12 および Aβ 1-12 の塩素化物の MS スペクトル

異的な His の酸化による、酸素原子の導入が観測された。Fe³⁺ では同様の結果を得られず、Cu²⁺ による部位特異的な化学修飾が起こる。Aβ と次亜塩素酸との反応では、Met35 が次亜塩素酸と特異的に反応し sulfoxide 型が確認された。Met35 が存在しない Aβ (Aβ 1-12、Aβ 1-16) では Tyr10 への一塩素化が認められた。Aβ と脂質過氧化物 (HNE, ONE) との反応ではアミノ基または His 残基へのマイケル付加反応が確認された。

以上から、Aβ が種々の活性酸素種と反応し、化学修飾されることが明らかとなった。

[参考文献]

- 1) Specific reaction of Met 35 in amyloid beta peptide with hypochlorous acid. Nakamura M, Shishido N, Nunomura A, Smith MA, Perry G, Akutsu H, Hayashi T. *Free Radic Res* 44(7), 734-741 (2010)
- 2) Intraneuronal amyloid beta accumulation and oxidative damage to nucleic acids in Alzheimer disease. Nunomura A, Tamaoki T, Tanaka K, Motohashi N, Nakamura M, Hayashi T, Yamaguchi H, Shimohama S, Lee HG, Zhu X, Smith MA, Perry G. *Neurobiol Dis* 37(3), 731-737 (2010)

- 3) Reexamining Alzheimer's Disease: Evidence for a Protective Role for Amyloid-beta Protein Precursor and Amyloid-beta. Castellani RJ, Lee HG, Siedlak SL, Nunomura A, Hayashi T, Nakamura M, Zhu X, Perry G and Smith MA. *Journal of Alzheimer's Disease*, 18(2), 447-452 (2009)
- 4) Nucleic acid oxidation in Alzheimer disease. Moreira PI, Nunomura A, Nakamura M, Takeda A, Shenk JC, Aliev G, Smith MA and Perry G. *Free Radical Biology & Medicine*, 44(8), 1493-1505 (2008)

26) 細胞膜コレステロールを除去した精子利用による チャイニーズハムスター体外受精法の確立

研究代表者 立野 裕幸

[研究の背景と目的]

チャイニーズハムスターは、染色体数が 22 本と少なく、その形態的特長も明瞭なため、染色体研究の有用なモデル動物である。この動物を利用して、配偶子 (卵子・精子) や受精卵における染色体異常の生成機序について多くの成果が報告されている。

これまでの研究では、受精卵作製のために体内受精法が用いられてきた。この方法では、通常、雌 1 匹あたり 10 個程度の受精卵しか採取できず、十分なデー

タを集めるためには多数の動物を使用しなければならない。そのため、研究効率だけでなく実験動物の適正使用という点からも、一度に多数の受精卵作製が可能な、簡便で成功率の高い体外受精法の開発が求められてきた。

体外受精の成功の鍵は、精子に受精能獲得を誘起し、先体反応を確実に起こさせることである。多くの研究によって、受精能獲得は、精子頭部の細胞膜からのコレステロールの遊離が引き金となって起こることが明らかになっている。実際に、マウス精子をメチル- β -シクロデキストリン ($M\beta CD$) で処理し、細胞膜のコレステロールを除去すると比較的容易に先体反応が誘起され、体外受精が成立する。

本研究の目的は、 $M\beta CD$ による精子細胞膜のコレステロール除去法を利用してチャイニーズハムスターの体外受精法を確立し、この動物をモデルに、配偶子や受精卵の染色体研究をさらに発展させるための技術基盤をつくることである。

[研究方法]

実験には、本学で繁殖・維持されているチャイニーズハムスター（旭川コロニー：CHA）を使用した。成熟雄（4～6月齢）の精管から精子を採取し、1 mM の $M\beta CD$ を含む培養液（TYH）中で2時間培養（37℃、5%CO₂）した。精子の処理に合わせ、生殖腺刺激ホルモン（PMSG-hCG）によって過排卵処理された成熟雌（同齢）の卵管膨大部から顆粒膜細胞に包まれた卵子を採取した。それらを TYH 培養液中に移し、ただちに $M\beta CD$ 処理精子を媒精した。媒精後4時間目に第二極体の放出を確認し、30時間目に2細胞期への発生を調査して受精の成否を判定した。同時に、顆粒膜細胞の受精に及ぼす影響を調査するために、ヒアルロニダーゼ酵素によって顆粒膜細胞を取り外した卵子に対しても同様に媒精を行った。また、精子 DNA に対する $M\beta CD$ の影響を調査するために、 $M\beta CD$ 処理精子に由来する受精卵の染色体分析を行った。

[研究結果]

チャイニーズハムスター精子の先体は比較的大きいため、特別な染色をせずに位相差顕微鏡下で容易に識別できる（図1A）。 $M\beta CD$ で処理した精子の多くでは、

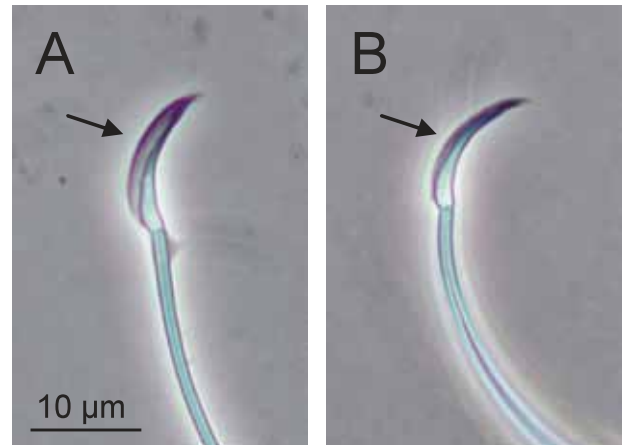


図1 ハムスター精子頭部（矢印は先体を示す）

A：未処理精子

B： $M\beta CD$ 処理精子

先体がかなり薄くなっており、先体反応を起こしていることが明らかになった（図1B）。

顆粒膜細胞で包まれた卵子に対する $M\beta CD$ 処理精子の受精成績は極めて良好で、その受精率（96.6%：n=116）は未処理精子を利用した対照群の結果（36.3%：n=91）に比べて明らかに高かった（図2A）。一方、顆粒膜細胞を取り外した卵子を使った場合には、対照群、 $M\beta CD$ 処理群ともに受精卵は得られなかった。 $M\beta CD$ 処理精子に由来する受精卵は正常に分割して2細胞期へ発生し、その形態も正常であった（図2B）。

$M\beta CD$ 処理精子に由来する受精卵（n=101）の染色体を分析した結果、構造的染色体異常と異数性異常の頻度はともに5%であった。これらの頻度は、体内受精法で作製した受精卵の染色体異常頻度（構造異常：2.8%、異数性：3.2%）と同様であった。この結果から、 $M\beta CD$ の精子 DNA に及ぼす影響はほとんど無いと考えられる。

[考 察]

本研究において、チャイニーズハムスター精子においても $M\beta CD$ によって容易に先体反応が誘起され、効率良く受精卵を作製できることが明らかになった。 $M\beta CD$ を利用した体外受精法では、精子の操作も簡単で、常に安定した受精成績が得られることから、この方法は受精現象の研究手段としても有用である。今回の結果で興味深いのは、 $M\beta CD$ によって先体反応を誘起したとしても、最終的に精子が受精能力を発

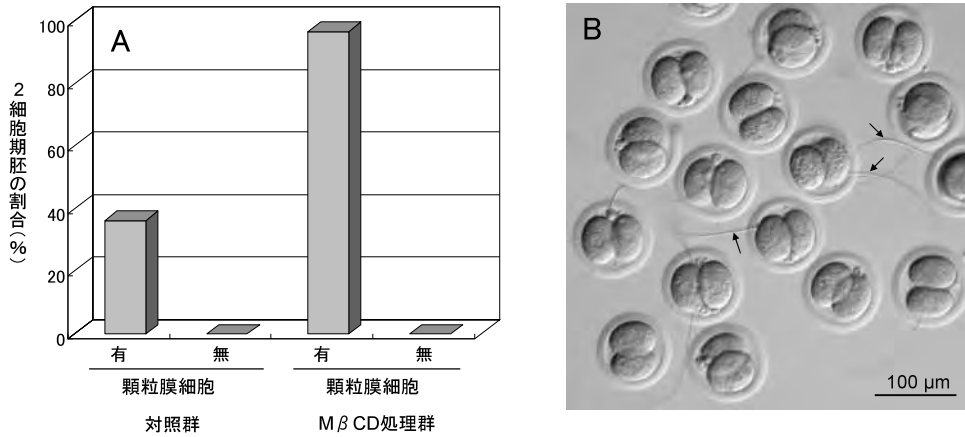


図2 MβCD 処理精子を用いた体外受精の結果

A：受精率、B：2細胞期胚。矢印は受精した精子の尾部

揮するには顆粒膜細胞が不可欠であったことである。精子受精能に対する顆粒膜細胞の機能解析、および MβCD 処理精子に由来する受精卵の発生解析が今後の重要課題である。

[参考文献]

1. Tateno H: Chromosome analysis of mouse zygotes produced by intracytoplasmic injection of spermatozoa exposed to acrosome reaction inducing agents methyl-β-cyclodextrin and calcium ionophore A23187. J Assist Reprod Genet, 27: 41-47, 2010.
2. Tateno H, Kamiguchi Y: In vitro fertilisation of Chinese hamster oocytes by spermatozoa that have undergone ionophore A23187-induced acrosome reaction, and their subsequent development into blastocysts. Zygote 4: 93-99, 1996.

27) 出血後水頭症の分子病態の理解と治療戦略への応用

研究代表者 岡本 年男

[研究背景と目的]

出血後水頭症 (posthemorrhagic hydrocephalus: PHH) は、脳室内出血 (intraventricular hemorrhage: IVH) に引き続いておこる交通性水頭症で、早産児の生命予後や神経学的予後を左右する最も重篤な合併症の一つである。現在、脳室 - 腹腔内シャント術が唯一の確立された治療法であるが、早産児は外科的侵襲に耐えられないため、より侵襲の少ない治療法の開発が望まれている。

そこで我々が注目したのは、PHH を発症した新生児には、脳室拡大の進行が停止・軽快する症例と、脳室拡大が進行しシャント術に至る症例とが存在することである。この違いを明らかにできれば新たな治療法の開発につながると考えた。

近年 PHH の発症機序として、IVH 後に炎症性サイトカインである transforming growth factor (TGF) - β1 が髄液中に放出され、その作用で細胞外マトリックス (extracellular matrix: ECM) が増殖し、髄液吸収障害が生じることが報告されている。一方、増殖した ECM 分解の中心的役割を果たすのが、matrix metalloproteinases (MMPs) である。MMPs の中で代表的な MMP-9 は TGF-β1 によって誘導される ECM 蛋白の分解作用を有している。以前我々は、正常新生児 3 名、クモ膜下出血 2 名および PHH 3 名の髄液中 MMP-9 活性を検討し、髄液中 MMP-9 活性が高いのは PHH 児のみであり、その中でも脳室拡大が軽快した 2 症例の方がシャント術に至った 1 症例に比べて MMP-9 活性が高かったことを報告した。一方、hepatocyte growth factor (HGF) は MMP-9 の発現を誘導することによって ECM の分解促進作用を有することが知られている。したがって、PHH の軽快例では髄液中 MMP-9 及び HGF が上昇していると考えられる。本研究では、PHH の症例数を増やして髄液中 MMP-9 および HGF 濃度を測定し、PHH の病態の相違によってこれらの濃度に違いがないかどうかを検討することで、先行研究の結果を検証するとともに、MMP-9 および HGF が PHH の病態にどのような役割を果たすのかを解明すること

を目的とした。

[研究方法]

PHHを発症し、治療目的で反復腰椎穿刺または脳室外ドレナージを施行した13例を対象とした。髄液一般検査、細菌検査を行った残検体を-80℃で保存し、髄液中MMP-9濃度をsandwich-enzyme immunoassay

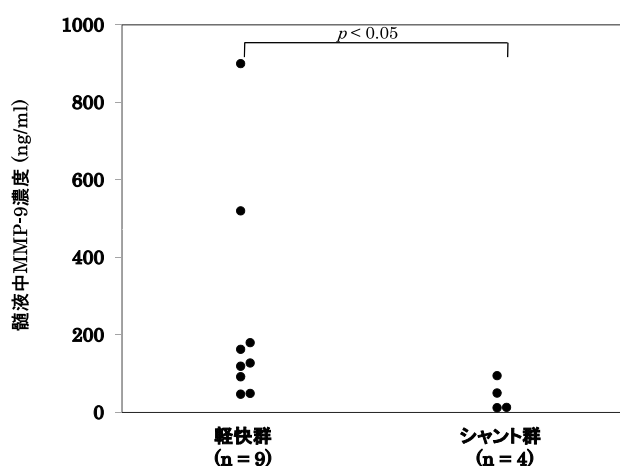


圖 1 髓液中 MMP-9 濃度

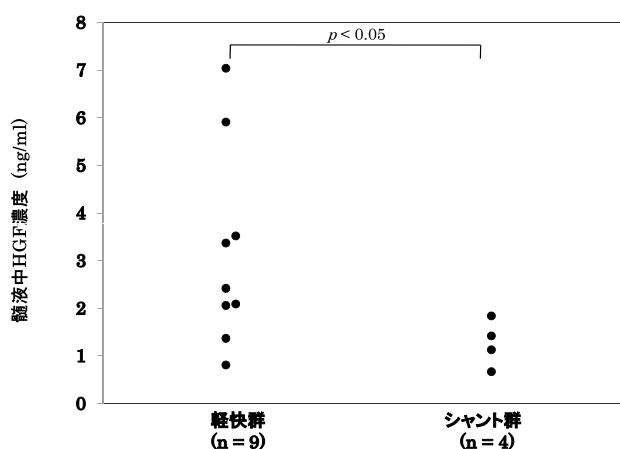


図2 髄液中 HGF 濃度

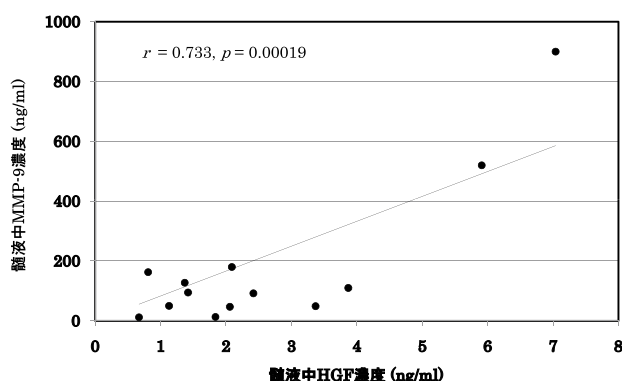


図3 髄液中 MMP-9 濃度と HGF 濃度の関係

(EIA) 法で、HGF 濃度を enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) 法で測定した。経過中に脳室拡大が停止し軽快するものを軽快群、脳室拡大が軽快せずシャント手術に至るものをシャント群とし、病態の相違による MMP-9 および HGF 濃度の違いを Mann-Whitney *U* test にて検討した。また、髄液中 MMP-9 濃度と HGF 濃度の相関について Spearman's correlation coefficient by rank test にて検討した。本研究にあたっては患者家族に十分な説明を行い、同意を得た。

[結 果]

PHH 13 例中、軽快群 9 例、シャント群 4 例であった。髄液中 MMP-9 及び HGF 濃度は、いずれも軽快群の方がシャント群に比べ有意に高値であり、軽快例の MMP-9 中央値は 128 ng/ml (47-900)、HGF 中央値は 3.37 ng/ml (0.81-7.04) で、シャント例の MMP-9 中央値は 50 ng/ml (13-110)、HGF 中央値は 1.42 ng/ml (0.67-3.87) であった。(図 1、2)。また、髄液中 MMP-9 濃度と HGF 濃度は有意な正の相関を示した ($r = 0.733, p < 0.001$) (図 3)。

[考察]

本研究の結果より、PHH の病態において髄液中 MMP-9 および HGF は脳室拡大停止・軽快に重要な役割を果たしていると考えられた。また、MMP-9 と HGF は有意な正の相関を示し、過去に報告されているように HGF が MMP-9 を誘導している可能性が示唆された。今回の研究成果を元に今後更に PHH 軽快例の病態解明が進めば、HGF や MMP-9 を用いたシャント手術に代わる新たな治療法の開発に繋がる可能性がある。

[発表論文]

Okamoto T, Takahashi S, Nakamura E, Nagaya K, Hayashi T, Shirai M, Fujieda K. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 and hepatocyte growth factor in the cerebrospinal fluid of infants with posthemorrhagic hydrocephalus. *Early Human Development* 2010; 86: 251-54.

28) PGE2 による心筋幹細胞の増殖・分化制御機構の 解明

研究代表者 竹原 有史

【研究成果の概要】

【研究目的】

心筋幹細胞 (Cardiac stem cells:CSC) はサイトカイン放出と心筋分化を心筋再生の機序として心機能を改善する最も期待されている新規の細胞である。しかし、細胞単独治療では梗塞組織での生着能、分化能には限界があり、細胞移植治療の効果を最大限に発揮することが困難である。従って、心筋幹細胞の生着、増殖、分化能を著しく亢進させる新しい細胞内機序の解明、およびそれに基づく新規の治療法の開発が必須である。プロスタノイドは、生態の様々な炎症反応、酸化ストレスに中心的役割を果たし、特に動脈硬化、左室リモデリング進展の key molecule として PGE2 がその病態に関与していることが知られている。近年、PGE2 を介した血液幹細胞の発生・増殖制御機構の発見を契機に幹細胞における PGE2 の増殖・分化機構に関する知見が集約されつつあるが、心筋幹細胞に関しては未だ全くの不明である。本研究の目的は、PGE2 を介した心筋幹細胞の増殖及び分化機構を明らかにすることである。

【研究方法】

WT マウス (C57/B6, 8W : WT-CSC) 及び EP4 受容体ノックアウトマウス (EP4^{-/-}-CSC) 心臓よりコラゲナーゼ処理及び percoll による比重分離法により CSC を含む細胞分画を抽出した。次いで、Mouse Sca-1-

FITC ビーズによる MACS sorting により、Sca-1⁺-CSC を単離、10% FBS を含む DMEM/F12 培地において、recombinant mouse b-FGF 40ng/ml の存在下に細胞培養を行った。増殖した WT-CSC 及び EP4^{-/-}-CSC は FACS 法にて CD29, CD106, CD90 陽性かつ CD45 陰性を、RT-PCR 法にて CSC 特異的な転写因子発現として ES マーカー : Nanog, Oct3/4, Sox-2, Rex-1 及び初期心筋分化因子 : NKX2.5, GATA4 の発現を確認した。また、EP4 受容体発現は RT-PCR 法にて確認した。Sca-1⁺-CSC の PGE2 を介した心筋幹細胞の増殖及び分化機構を明らかにするために、以下の実験を行った。

A. WT、EP4^{-/-} マウスにおける心臓内 Sca-1⁺-CSC 数並びに CSC 増殖能評価

B. EP4 アゴニスト (AE1-329) 投与による細胞増殖能評価

【結果と考察】

WT マウスでは EP4 受容体が他のプロスタノイド受容体に比し高発現していた (図 1)。WT 及び EP4^{-/-} マウスでは CSC の転写因子発現は同様であったが、心重量あたりの Sca-1⁺-CSC 数は、EP4^{-/-} マウスにおいて著明に減少していた (図 2)。EP4^{-/-}-CSC は WT-CSC に比し bFGF 添加による細胞増殖能が有意に低下しており、第 3 継代細胞で既に増殖限界を迎えていた



図 1

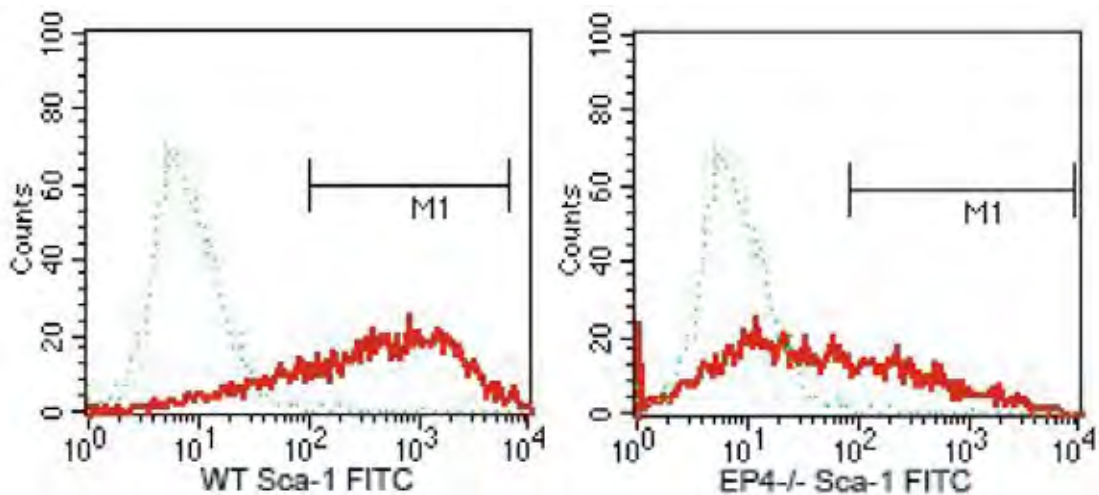


図 2

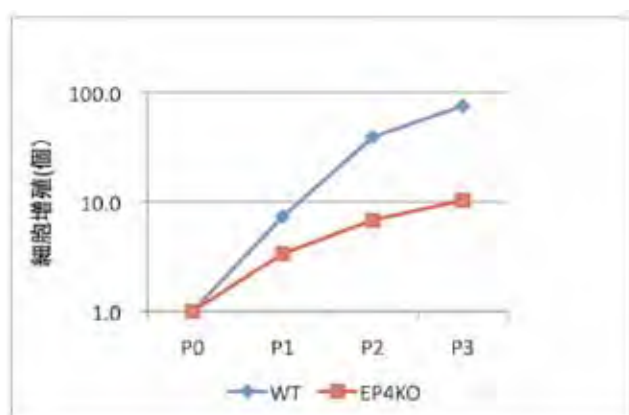


図 3

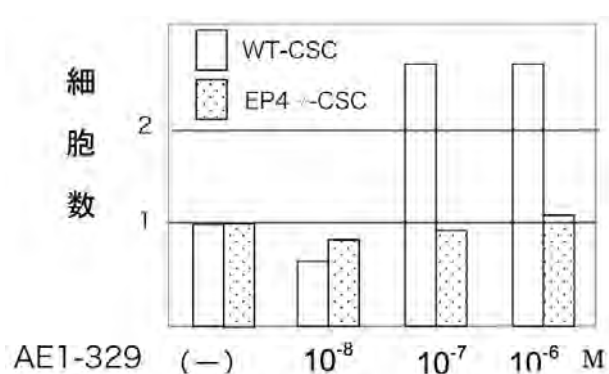


図 4

(図3)。更に WT-CSC は EP4 受容体特異的アゴニストである AE1-329 刺激により濃度依存性に増殖が促進されたが、EP4^{-/-}-CSC では全く増強効果は全く認められなかった。

[まとめ]

マウス心臓内の Sca-1 陽性心臓幹細胞は EP4 受容体を発現し、EP4 受容体ノックアウトマウスでは心臓内 Sca-1 陽性細胞が野生型に比べ減少していることから、マウス心臓発生と PGE2 関与が示唆された。さらに、EP4 受容体ノックアウトマウス心臓由来 Sca-1 陽性心臓細胞の増殖能は野生型に比べ著しく低下しており、EP4 受容体刺激による細胞増殖増強効果が EP4 受容体ノックアウトマウスでは全く見られないことより、PGE2 が Sca-1 陽性心臓幹細胞の増殖機構に深く関与していることが示唆された。

依 頼 稿 (報告)

平成 21 年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題 本学における脈管研究クラスター構築と 臨床応用にむけた戦略的脈管研究の推進

川 辺 淳 一*

はじめに

高齢化社会、欧米食化に伴い増加の一途をたどる心血管系疾患、癌に対する有効な治療法の開発の社会的要請は高い。脈管新生再生や、その制御による心血(脈)管系疾患、癌治療という先端医療分野は、これらの難治疾患治療法の打開策として注目されている。多くの疾患、病態に密接に関与する脈管という質・量ともに重要な臓器を対象とする研究は、疾患特異性の垣根を越えた他講座や分野との連携により、さらに効果的に新しい研究シーズが創生しうる研究分野でもある。これまで、本学における脈管研究に携わる若手研究

医師を中心とした小さな連携活動を行ってきたが、このたび大学から本支援をうけ、基礎系講座－臨床系講座も含む体系だった脈管研究連携活動(クラスター)を運営していくことになった。

本研究クラスターを構成する研究医メンバー(Principle Investigator(PI))は、それぞれ競争外的資金を獲得しつつ、各所属の講座において独自の研究プロジェクトを運営している(図1)。本クラスター活動の目的は、各PIのプロジェクトの効率よい運営と発展(共同研究も含め)に寄与することはもちろん、今後、将来の有効な治療法として期待できる(外的資金が提供される魅力的な)本大学オリジナルの研究シー

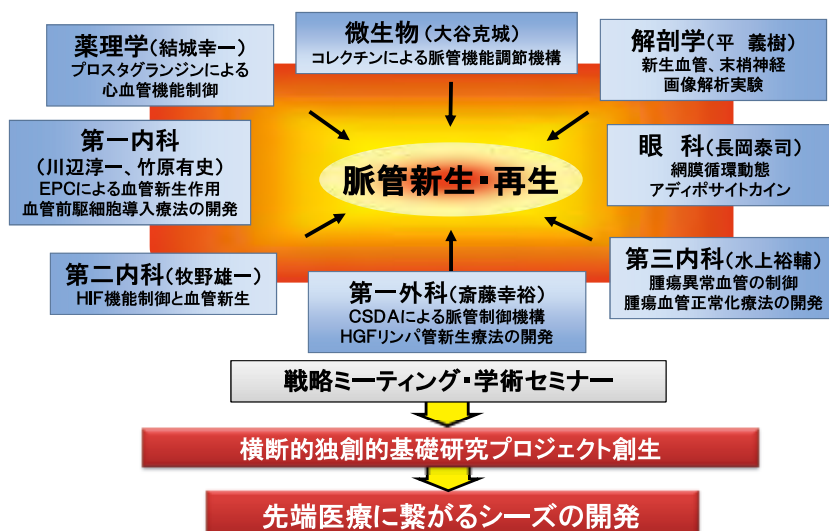


図1 旭川医科大学・脈管研究クラスター構想

脈管研究をキーワードに三つの基礎医学講座および五つの臨床講座所属のPIが連携して、各PI自身のプロジェクトをより効果的に運営し、新しい脈管新生・再生に関する研究シーズの開拓とその臨床応用を目指した研究運用をしていく。

*心血管再生先端医療開発講座

表 1 定期学術セミナーの開催

平成 22 年 1 月 29 日	大谷篤志先生 (京都大学 眼科講座)	網膜疾患への幹細胞治療 Alternative or Conventional?
平成 22 年 2 月 26 日	高倉信幸先生 (大阪大学 微生物研究所)	血管新生過程における 血管成熟化の分子機構の解明
平成 22 年 4 月 23 日	大場雄介先生 (北海道大学 病態医科学分野)	蛍光蛋白質を用いたイメージングとその応用
平成 22 年 5 月 21 日	中神啓徳先生 (大阪大学 健康発達医学)	血管新生治療のトランスレーショナル リサーチを目指して
平成 22 年 6 月 18 日	柿沼由彦先生 (高知大学 生理学分野)	非中枢性細胞内アセチルコリン産生系がもつ 多様な生物学的意義について
平成 22 年 8 月 20 日	山下 潤先生 (京都大学 再生医科学研究所)	ES 細胞及び iPS 細胞を用いた心血管分化再生研究 - 基礎研究から臨床応用に至る領域横断的アプローチ -
平成 22 年 8 月 25 日	石森直樹先生 (北海道大学 循環器内科)	動脈硬化性疾患における ナチュラルキラー T 細胞の果たす役割

ズを開発していくことである。この目的のための我々の本年度の活動と成果を報告し、かつ今後に向けた抱負について述べたい。

I. 研究者の interaction の場の構築

独創的科学研究を実践していく上で、異なる研究背景をもつ研究者同士の情報や意見交換の環境は非常に重要である。特に、地方大学が抱える情報不足というハンディキャップを克服するためにも、「限られた情報、知識、実験技術など」を共有、集約、融合するための一層の努力と工夫は必要不可欠である。

(1) 学術セミナーの開催

本資金援助を背景に、我々の活動に「必要な」国内外の革新的な研究を進める研究者講師を自由に選定・招聘した定期的学術セミナーを開催している（表 1）。

これらの活動をきっかけに、貴重な情報交換はもちろん、実験技術、実験材料・資料提供などの連携協力活動が行われている。また、本セミナーは、本大学大学院博士課程の講義として認可され、若手研究者の啓蒙の場としても活用されている。今後も学外施設との共同研究にも繋がる「化学反応」の機会の場を提供していく。

(2) 戦略会議の開催

各研究分担者が出席し、研究内容、進行状況などを

提示、報告する会議を逐次開催している。研究上の疑問点、実験上の問題点など自由な議論をするなかで、各 PI プロジェクトの運営活動の効率化にも寄与し、新たな研究着想の場となるよう努めている。

II. 脈管研究クラスター発の研究プロジェクト創生にむけて

本研究クラスター発の「共同研究プロジェクト」第一弾として進行している『新生血管成熟における末梢神経の役割解明と臨床応用にむけた基礎研究』について紹介する。

癌や網膜症の病態はもちろん、最近では動脈硬化や心不全といった心血管系疾患の病態においても、組織内の「新生血管の形成異常」が重要な役割をもつことが明らかになってきた。一方、将来の本格的な再生医療にむけては、臓器内の「成熟した脈管構築」が必要である。したがって、癌や動脈硬化性疾患、網膜症など加齢関連疾患の新しい治療法や再生医療の開発のうえで、従来の脈管内皮細胞を対象とした「脈管新生」研究に加えて、「血管の成熟化、正常化」に関する基礎研究の重要性が今後ますます増している。

(1) 新生血管観察法の開発

様々な臓器、病態で起こる微小な血管新生を適切に観察する方法は限られており、特定の実験動物や臓器を利用した研究がほとんどである。

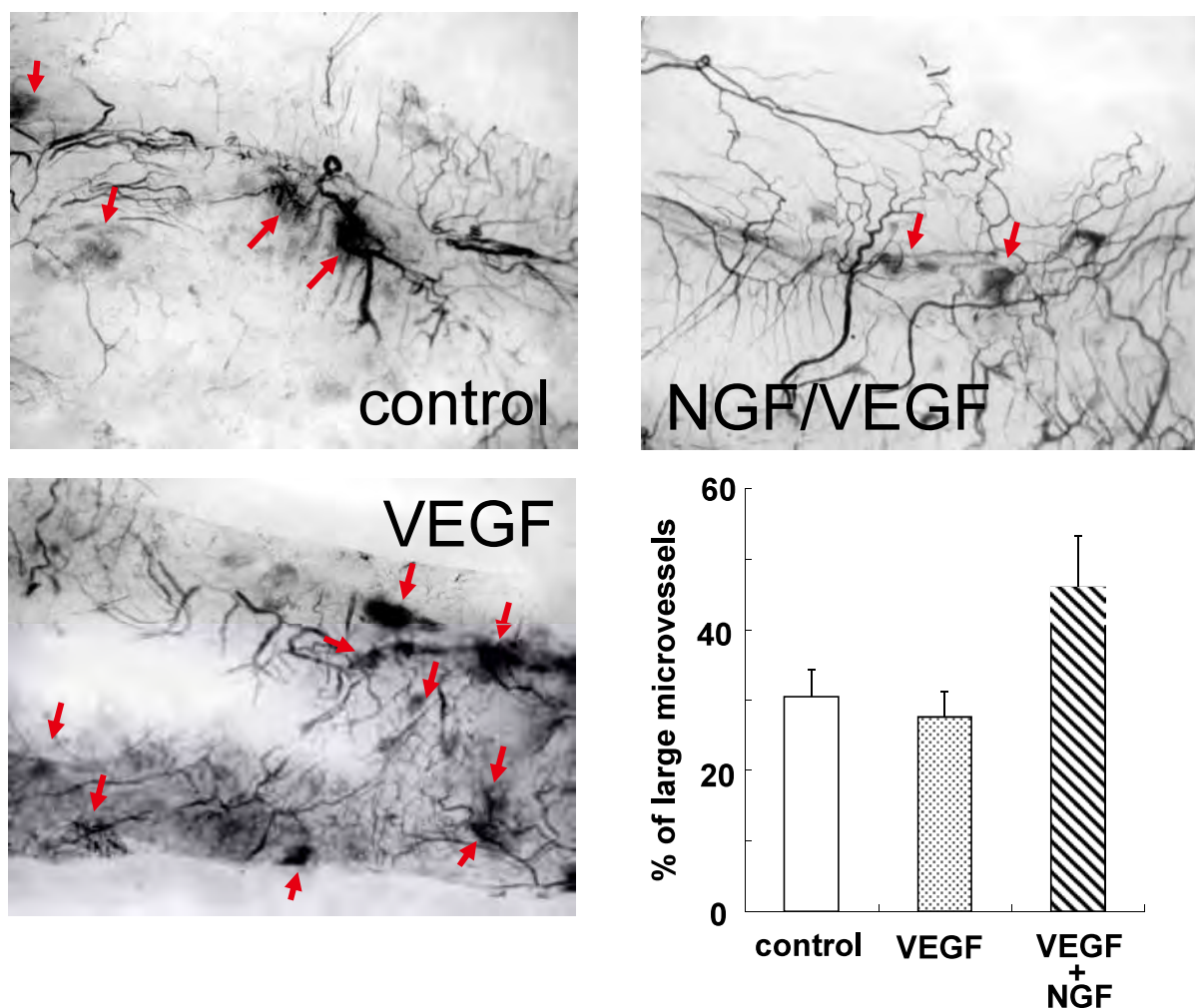


図2 血管新生における神経増殖因子（NGF）の効果

障害血管周囲の vasa vasorum 血管新生形成は、同部位に内皮増殖因子（VEGF）徐放ゲルを留置することにより促進する。増強した新生血管は、血管径も細く、血管から血液の滲み出し（矢印）が著明に亢進している。しかし、神経増殖因子（NGF）を添加することにより、新生血管の径は大きくなり、血管の透過性異常も改善した。なお、NGF の効果は、Hydroxy-dopamine で末梢神経を抑制すると消失する。

動脈硬化血管の外膜に存在する血管を栄養する微小血管（vasa vasorum;VV）の異常形成が、プラークの増悪や不安定化に関与することが推測され、その病態解明が急がれている。我々は、Collagen-coated tube (CCT) を障害血管周囲に留置することにより、障害血管の VV 新生血管を CCT 薄膜上に形成させる方法を開発した（川辺 第一内科 PI）。我々の開発した新生血管アッセー法は VV 血管新生の伸長度や血管透過性など in vivo 血管新生の質・量の評価や詳細な免疫組織学的解析に利用することが可能である。この独自の新規血管アッセー法を用いて、末梢神経再生が新生血管の成熟化に重要であるという知見を得ることができた（図2）。

（2）末梢神経画像解析

詳細な組織学的解析が可能な新生血管組織を準備することができた。しかし、基本的に末梢神経繊維の同定および解析は困難であり、それが故に、末梢神経の働きに関して見逃されていることも多いといえる。

本大学の平義樹、墓地本宇己両先生（解剖学講座（渡辺剛教授））の連携協力のもと、従来、主に血管緊張調節を担うと考えられていた血管周囲末梢神経が、これまでの常識に反して、血管内皮細胞外側に周細胞が部分的に覆っているような新生血管の極早期に、すでに末梢神経線維が再生分布していることを明らかにした。これにより、血管新生における血管周囲末梢神経の新しい役割という着想にいたった。

(3) 新生血管由来細胞株の樹立

新生血管成熟機構を解析する上で、血管成熟に関与する細胞群の機能解析実験系が必須である。しかし、新生血管自体が微小組織であり、実験のため十分量の新生血管構成細胞群を調整することは技術的に困難である。

我々は、生体組織の微少細胞の不死化（細胞株化）を可能にする温度感受性 SV40 抗原発現マウスを用いて、血管の成熟化、安定化に重要な役割を果たす細胞群（内皮細胞、周細胞、末梢神経由来のシュワン細胞）を精製し、現在、それらの細胞株を作成している。これらの細胞を利用し、細胞間の相互作用など詳細な機能解析実験を行っていく。

(4) 血管新生関連細胞株を用いた血管新生および血管成熟機構の解明

新生血管由来内皮細胞、周細胞（および、その周辺未分化細胞）の共培養システムと、細胞増殖・血管新生アッセイ系を組み合わせ、血管成熟機構の解明研究とともに、血管新生・成熟化に関与する新規遺伝子探索を計画している。齋藤幸裕先生（第一外科 PI）、中神啓徳先生（大阪大学、本研究学術セミナー講師）との連携のもと、HVJ-E を基盤とした High Throughput Screening 法を用いてスクリーニングしていく。

現在、障害血管周囲の vasa vasorum 新生血管システムを用いて研究展開しているが、これは血管新生成熟・安定化を制御する新規遺伝子も含めた新しい知見を見出していくための一つの突破口である。これら新しい知見を基に、各 PI の研究分野の様々な疾患病態に対して検証し、各 PI の独自研究シーズとして発展させていく。

III. 本脈管研究クラスター活動のこれから

旭川医科大学が大学であり続けるために、優れた臨床医養成と共に独創的研究成果の発信とその臨床応用、先端医療を実践していく必要がある。我々の脈管研究連携の活動の中から、「ワクワク」するような大学研究環境と研究シーズが創生されること。この一連の活動が、年々厳しさが増していく外的資金の獲得や学術的に大学の価値を高めていく一助になることを願っている。

(1) トランスレーショナルリサーチへの発展

脈管再生医学研究分野は、特に bench（基礎研究）と bedside（臨床）間をダイナミックかつ密接に動く分野でもある。本研究活動も、立ち上げた研究シーズをどれだけ臨床応用にむすびつけていけるかという点で最終的な真価が問われる。他大学との共同研究もふくめて、臨床研究から前臨床試験などの研究フェーズを実践しているメンバーも多数おり、その経験を最大限に生かしながら、本大学オリジナルの研究シーズを成長展開していきたい。

(2) 先端医療のための体制確立にむけて

トランスレーショナル研究の実践においては、研究シーズの開発と共に、本学における Cell Processing Center などの先端医療実践のための体制作りも重要である。先端医療、再生医学に関連する本学他研究グループとも連携をとりながらオール旭川医大の研究チームによる先端・再生医療シーズの充実と共に、再生医療時代のニーズに対応しうる技術と知識を身につけた若手医学研究者の育成の一助となる活動をしていきたい。

依頼稿 (報告)

平成 21 年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題 Kallikrein を標的とした新規診断薬および治療薬の開発 －神経および皮膚疾患への臨床応用に向けて－

研究代表者： 板 東 良 雄 (解剖学講座 機能形態学分野)
共同研究者： 岸 部 麻 里 (2 輪草センター・皮膚科学講座)
鈴 木 康 博 (国立病院機構 旭川医療センター)

[研究の背景]

(1) 多発性硬化症 (Multiple Sclerosis: MS)

多発性硬化症 (MS) は中枢神経系における炎症性脱髄性疾患であり、再発および寛解を繰り返す自己免疫疾患と考えられている。中枢神経系において髄鞘を形成するオリゴデンドロサイトが炎症などによって傷害されると脱髄および軸索障害が惹起され、麻痺などの様々な神経症状が現れると考えられているが、発症機序の解明には至っていない。また、根治療法と呼べる治療はなく、急性期の対症療法しか存在しない。

本症の罹患者数は年々増加傾向にあり、最近では約 8-9 人 /10 万人と推定されている。特記すべきは旭川・十勝地方の罹患者率が極めて増加していることである¹⁾。さらに発症年齢が 20-30 歳代と若く、女性に好発することから患者の QOL のみならず、出産や子育てへの不安から少子化などの社会的な問題にも影響を及ぼしている。したがって、早期発見につながる診断薬ならびに効果的な治療法の開発は切に望まれている。

(2) カリクレイン (Kallikreins: KLKs) と KLK6

現在 15 種類程度のカリクレイン分子が同定されており、ファミリーを形成している。そのうち、KLK6 および KLK8 はともに本学解剖学講座の吉田成孝教授らによって同定されたものである^{2,3)}。KLK6 は中枢神経系に特異的に発現するカリクレインファミリーに属する因子であるが²⁾、マウス実験的自己免疫性脳脊髄炎モデル (EAE) や脊髄損傷モデルにおいて脱髄時をピークとしてオリゴデンドロサイトから KLK6

が分泌されることを現在までに我々は明らかにしてきた^{4,5,6)}。また、KLK6 がミエリン構成蛋白質である MBP を分解する活性を持つことも報告されており^{7,8)}、KLK6 が多発性硬化症における脱髄の標的分子となる可能性も示唆されている。一方、皮膚においても KLK6 の発現は認められおり⁹⁾、乾癬のような皮膚疾患への関与も示唆されている。

[目 的]

KLK6 を標的分子とした多発性硬化症ならびに乾癬に対する新規治療法および診断法の技術シーズを開発することを目的とし、臨床応用を実現するために連携企業を獲得することを本プロジェクトの達成目標とした。

[プロジェクト期間とプラン]

本プロジェクトの目標達成までの期間を平成 21 年から平成 24 年までの 3 年程度に設定した。まず、最初の 2 年を、多発性硬化症や乾癬における KLK6 の基礎研究を中心に展開し、3 年目は産学連携共同研究に発展させるというプロジェクトを提案した。

[研究方法]

本稿では誌面の関係により、代表者が中心となって展開した研究成果のみを報告する。

(1) KLK6-/- マウスの作成

KLK6 の多発性硬化症の病態への関与を検討するために、KLK6-/- マウスを作成した。

(2) 多発性硬化症モデル(EAEモデル)の作成と臨床評価

Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) は多発性硬化症のマウスモデルとして確立されており、本研究では 6-8 週齢の KLK6 野生型雌マウス (KLK6+/+) および KLK6-/- 雌マウスにミエリン構成蛋白の一つである MOG₃₅₋₅₅ のペプチドをアジュバンドとともに皮下注射により免疫することによって多発性硬化症様の病態を作成した。臨床的評価は麻痺の程度を指標に以下のようにスコア化した(0: 症状なし 1: 尻尾の緊張消失 2: 片側後肢の麻痺 3: 両側後肢の麻痺 4: 自力歩行不可 5: 致死)。

(3) 血液脳関門破綻の評価

免疫後 10-12 日後の尾静脈から Evans Blue を注入し、2 時間後に脊髄を取り出し、Evans Blue の脊髄への取り込みを吸光計にて測定し、定量化した。

(4) 蛋白抽出およびウェスタンブロッティング

EAE 発症ピーク時(免疫後 20 日目)のマウス脊髄を採取し、蛋白を抽出した。抽出した蛋白はアクリルアミドゲルにて展開し、PVDF 膜に転写した後、各種抗体を用いてウェスタンブロットを行った。ゼラチンザイモグラフィはゼラチンを含むアクリルアミドゲルにて蛋白抽出液を展開し、定法にしたがって MMP-2 および MMP-9 の活性化を可視化した。また、MMP-9 活性化アッセイは pro-MMP-9 のリコンビナント蛋白をリコンビナント KLK6 (rKLK6) あるいは不活性化型 KLK6 (mutant KLK6) と 37℃ で反応させ、反応液をアクリルアミドゲル上で展開した。PVDF 膜に転写した後、MMP-9 抗体を用いてウェスタンブロットを行った。

[研究結果]

(1) KLK6 が EAE 発症に及ぼす影響

KLK6+/+ マウスおよび KLK6-/- マウスを MOG ペプチドにて免疫し、EAE を発症させたところ、KLK6-/- マウスにおいて EAE 発症が遅延し、症状も軽減した(図 1)。また、髄鞘染色によっても臨床症状と一致した形態学的変化が認められた (data not shown)。つまり、KLK6+/+ マウスでは脊髄白質において EAE 発症により脱髄が認められたが、KLK6-/- マウスでは脱髄が抑制されていた。さらに、組織学的検討により EAE 発症時に炎症細胞の脊髄内への浸潤や炎症部位へのマイ

クログリア/マクロファージの集積が KLK6-/- マウスでは認められなかった (data not shown)。

(2) Evans Blue による血液脳関門 (BBB) 破綻の評価

KLK6-/- マウスでは EAE 発症が少し遅延したことから、末梢から脊髄内への炎症細胞の浸潤に KLK6 が何らかの影響を及ぼす可能性が考えられたため、BBB 破綻について検討した。Evans Blue は通常、BBB を超えることが出来ないため、脊髄が染色されることはない。そこで、発症前にマウス尾静脈から色素を注入し、脊髄を観察した。KLK6+/+ マウスでは Evans Blue の色素が脊髄に浸透し、脊髄が青色を呈しているが、KLK6-/- マウスでは青色を呈していなかった(図 2)。つまり、KLK6-/- マウス脊髄における BBB 破綻が抑制されていることが示唆された。

(3) KLK6 を介した BBB 破綻のメカニズムの検討

MS や EAE モデルにおいて BBB 破綻を誘導する分子として Matrix Metalloprotease-9 (MMP-9) が同定されている。そこで、EAE モデルにおける MMP-9 の活性化について検討した(図 3)。KLK6+/+ マウスにおいては MMP-9、MMP-2 および MMP-12 が EAE 発症とともにそれぞれ誘導されたが、KLK6-/- マウスでは認められなかった(図 3A)。また、MMP-9 の基質であるゼラチンを含んだアクリルアミドゲルを用いてゼラチンザイモグラフィにて MMP-9 の活性化を検討したと

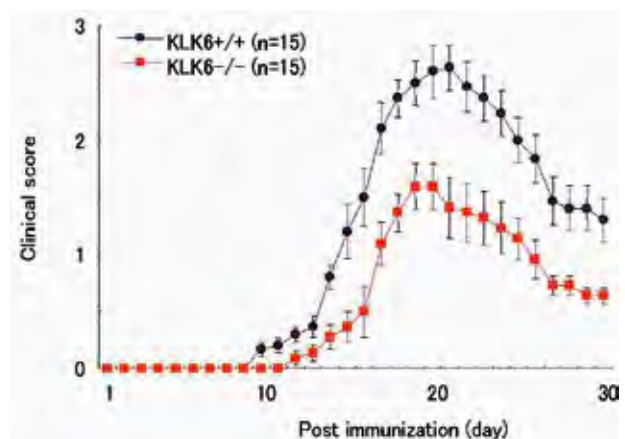


図 1 KLK6 が EAE 発症に及ぼす影響

KLK6+/+ および KLK6-/- マウスに EAE を発症させ、その臨床症状を記録した。KLK6-/- マウスでは EAE 発症が有為が遅延し、EAE の症状も軽減した。

ころ、KLK6+/+ マウスの EAE 発症時の脊髄サンプルでのみ MMP-9 の活性化が認められた(図 3B)。次に、KLK6 が MMP-9 に直接作用するか否かについて、リ

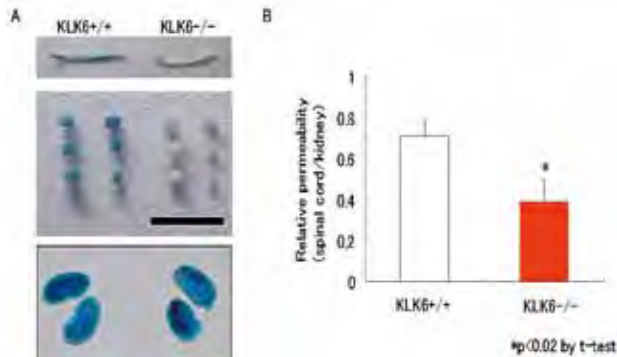


図2 KLK6 の血液脳関門 (BBB) に及ぼす影響
EAE 作成後 10-12 日 (pre-clinical stage) において、マウス尾静脈より evans blue 色素を注入した (A)。KLK6+/+ マウス脊髄では BBB が破綻しているが、KLK6-/- マウスでは BBB の破綻が抑制されていた (B)。

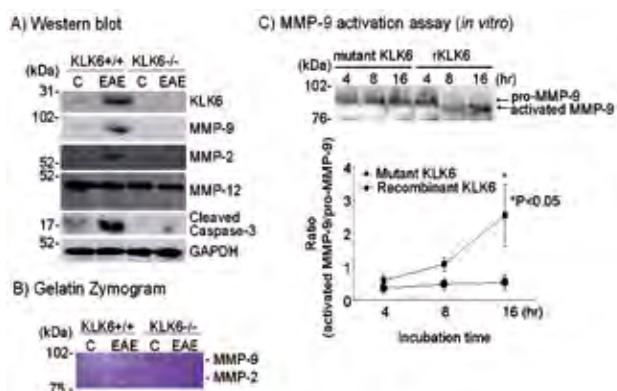


図3 KLK6 は Matrix Metalloprotease-9 (MMP-9) を基質とし、脱髄病態を増悪させる。
A: MMP-2, MMP-9 および MMP-12 は脱髄の病態に関与していることが示唆されており、EAE 発症時にも発現は誘導される。しかしながら、KLK6-/- マウスにおいては、これら分子の活性は認められない。B: MMP-2 および MMP-9 の活性化を示すゼラチンザイモグラフィ。KLK6-/- マウスでは EAE による活性化が認められない。C: リコンビナント KLK6 蛋白によるリコンビナント pro-MMP-9 の活性化。KLK6 は in vitro において MMP-9 を切断する活性があることが示唆された。

コンビナント蛋白を用いた in vitro の系で検討を行ったところ、リコンビナント KLK6 は pro-MMP-9 を活性化したが、不活性化型の mutant KLK6 では MMP-9 の活性化型を検出できなかった(図 3C)。このことから、少なくとも in vitro の系においては、KLK6 が MMP-9 を活性化する可能性があることが示唆された。つまり、KLK6 が MMP-9 を活性化し BBB の破綻を促進している可能性が示唆された。

(4) 活性化型 KLK6 検出法の開発

本研究において、炎症反応を伴った脱髄に KLK6 が極めて敏感に反応する可能性が示唆された。また、オリゴデンドロサイトから分泌されるという極めてユニークなプロテアーゼであることから、検出システムの感度を上げることによって診断薬へ応用出来る可能性も考えられる。しかしながら、現状では活性化型 KLK6 を特異的に検出する方法はなく、非活性化型と活性化型をともに検出せざるを得ない。そこで、実際に病態形成に関与していると想定される活性化型 KLK6 のみを特異的に認識する抗体の作成ならびに検出法の開発に関して(株)免疫生物学研究所と共同研究を開始した。KLK6 は N 末端の一部が切断されることにより活性化型 KLK6 となることが知られているため、N 末端の切断部位近辺の配列を用いたペプチド抗体を作成している。ヒトおよびマウス活性化型 KLK6 の検出システムは早ければ来年早々にはプロトタイプが開発され、動物モデルおよび臨床サンプル (MS 患者の脳脊髄液等) を用いて、このシステムの評価および改良を行っていくことを予定している。

[まとめ]

本研究結果において、オリゴデンドロサイトから分泌される KLK6 が病変周囲の炎症細胞やグリア細胞に影響を及ぼし、炎症細胞の中枢神経内への浸潤を促すことによって脱髄病態を増悪させる可能性を示唆された。このように本プロジェクトによって KLK6 を介した脱髄機序が少しずつ明らかになりつつあるが、まだまだ未解明な部分も多く残されており、今後の研究によってその全貌を明らかにしていきたい。

また、患者様の同意のもとに脳脊髄液などのサンプルの保存も同時に進めている。特に旭川医療センター (道北病院) 院長の箭原修先生や脳神経内科部長の木村隆先生には全面的に御協力頂いている。同院内での倫

理委員会での審査を経て順調に保存サンプル数も増えてきている。

本プロジェクトの最終目標はKLK6を標的とした診断薬ならびに治療薬の開発への応用であるが、これらの目標を達成するためには企業との連携が必須であると考えられる。幸いにも連携企業を獲得出来たことにより、当初の研究計画よりも早期に活性化型KLK6の特異的検出法を確立できるかも知れない。また、先日行われた神経科学・神経化学合同学会（Neuro2010）の発表においても、数社の製薬会社の研究開発の方々が関心を示してくれており、今後このような企業と創薬に向けた共同研究を展開できればと考えている。

本プロジェクトもまだまだスタートしたばかりであり、今後の展開が重要になってくると考えられるが、共同研究者とより一層の連携を深めつつ、関係講座の諸先生方にもご指導を頂きながら、プロジェクト達成に向けて研究開発に邁進していきたいと考えている。

[謝 辞]

このような大変貴重な機会を与えて頂きました吉田晃敏学長ならびに本研究を採択して頂きました研究戦略・教育支援室および教育研究評議会の諸先生方にこの場を借りて深謝申し上げます。また、本研究プロジェクトを温かく見守って下さり、的確なアドバイスを頂いている解剖学講座の吉田成孝教授に感謝申し上げます。さらに(株)免疫生物学研究所との共同研究を開始するにあたり、知財センターの尾川直樹先生、産学連携係の長谷川幸江様をはじめ事務局の多くの方々にもご尽力頂きました。共同研究をこのようにスムーズに開始出来たのはひとえに大学を挙げてサポートして頂いたからと感じております。この場を借りて感謝申し上げます。

[参考文献]

- 1) Kira J., Multiple Sclerosis in the Japanese Population. *Lancet Neurol.* 2(2): 117-27, 2003.
- 2) Yamanaka H., He XP., Matsumoto K., Shiosaka S., Yoshida S. Protease M/neurosin mRNA is expressed in mature oligodendrocytes. *Mol Brain Res.* 71: 217-224, 1999.
- 3) Yoshida S., Taniguchi M., Hirata A., Shiosaka S. Sequence analysis and expression of human neuropsin cDNA and gene. *Gene* 213: 9-16, 1998.
- 4) Terayama R., Bando Y., Takahashi S., Yoshida S. Differential Expression of neuropsin and protease M/neurosin in oligodendrocytes after injury to the spinal cord. *Glia* 48: 91-101, 2004.
- 5) Terayama R., Bando Y., Jiang YP., Mitrovic B., Yoshida S. Differential expression of protease M/neurosin in oligodendrocytes and their progenitors in an animal model of multiple sclerosis. *Neurosci. Lett.* 382: 82-87, 2005.
- 6) Bando Y., Ito S., Nagai Y., Terayama R., Kishibe M., Jiang YP., Mitrovic B., Takahashi T., Yoshida S. Implications of protease M/neurosin in myelination during experimental demyelination and remyelination. *Neurosci. Lett.* 405: 175-180, 2006.
- 7) Blaber SI., Scarisbrick IA., Bennett MJ., Dhanarajan P., Sceavy MA., Jin Y., Schwartz MA., Rodriguez M., Blaber M. Enzymatic properties of rat encephalon-specific protease. *Biochemistry* 41: 1165-1173, 2002.
- 8) Scarisbrick IA., Blaber SI., Lucchinetti CF., Genain CP., Blaber M., Rodriguez M. Activity of a newly identified serine protease in CNS demyelination.
- 9) Kishibe M., Bando Y., Terayama R., Nishikawa K., Takahashi H., Hashimoto Y., Ishida-Yamamoto A., Jiang YP., Mitrovic B., Perez D., Iizuka H., Yoshida S., Kallikrein 8 is involved in skin desquamation in cooperation with other kallikreins. *J. Biol. Chem.* 282, 8, 5834-5841, 2007.

依 頼 稿 (報告)

JICA「アフリカ地域 地域保健担当官のための保健行政」コース

吉 田 貴 彦* 北 村 久美子**

1. 背 景

本研修コース「アフリカ地域 地域保健担当官のための保健行政 (Health Administration for Regional Health Officer for African Countries)」は、2008 年度から開始された日本国際協力機構 (JICA) 札幌国際センターが担当し、本学に研修運営を委託された研修事業の 3 年目の研修として、2010 年 6 月 29 日から 8 月 14 日 (技術研修期間: 7 月 5 日から 8 月 13 日) にかけて行われた。

2000 年に国際連合においてミレニアム宣言に基づいて 2015 年までに達成を目指す 8 つのミレニアム開発目標が設定された。このうち 3 つが保健医療に関する分野の目標である。世界的な格差の拡大に端を発する国際紛争やテロの頻発と、それに対する武力介入が有効な解決策となっていない現状から、発展途上国への基礎生活分野での支援の重要性が再認識されつつある。アフリカ地域は過去の過剰放牧と焼き畑農業により拡張した砂漠化した大地とその周辺での降雨のアンバランスから旱魃とそれに伴う食糧難・飢餓が大きな問題となっている。これに加えて、アフリカ諸国では長年続いた紛争により生活基盤が破壊された国が数多くあるなど、世界の中でも社会的に不安定要素の多い困難な地域となっている。さらに保健医療従事者の不足と資金不足により住民に対する基本的な保健医療サービスが展開できない困難さが重なり、母子保健の脆弱さや感染症の脅威にさらされるなど保健医療領域の改善は必須の案件となっている。特に地方においては、保健医療施設が遠いための保健医療スタッフおよび住民のアクセスの悪さ、交通・輸送システムの不備による患者移送・物品輸送の困難さ、保健医療行政シ

ステムの脆弱さによる必要資材の配備不良やスタッフの意識の低さ等々の問題が山積しており、早期の解決が希求されている。こうしたことから日本政府もアフリカ地域における保健医療領域での貢献を重要視しており、その現われとして 2008 年 5 月に横浜で開催された第 4 回アフリカ開発会議 (TICADIV) の際に、アフリカに対して 5 年間に 10 万人の保健人材の研修を実施することを表明している。JICA はその実現のために、現地のニーズに合わせた様々な保健分野の研修、特に、自助と自決の精神に則って達成されるべき欠くことのできない包括的保健医療の実現のために必須とされる人材育成のための研修支援を展開している。本研修は、上記のように当事国のみならず世界の安定のためにも早期の課題解決が望まれているアフリカ諸国に対する保健医療分野の人材育成研修に位置付けられる。特に地方在住の住民への保健サービス提供の最前線に立つ地域保健業務に携わる担当官の質の向上を図ることを目的としている。

以下に、3 年目の完成年度となった本研修コースについて報告させていただく。

1.1. 本研修の概要

1. 研修の意義と旭川医科大学の役割

本学が位置する北海道の北部地域は、かつて、広大な面積のなかに人口が散在し保健医療施設が不十分なために保健状態の脆弱な地域であった。しかし第二次世界大戦後の地域保健計画の改革によって、地域保健体制と住民への保健医療サービスの向上に成功した経験を有している。一方、先人の努力により大きく改善された保健状況にあるものの、現在でも地域当たりの医療機関や医療従事者が少ないといった地域特有の問

題が現存しており、各自治体とその医療機関・医療従事者の努力が続いている。こうした北海道の北部の諸地域が過去および現在に直面してきた問題に対する対応の経験は、土地の広大さや医療機関へのアクセスの困難さなど現在アフリカ諸国が直面する問題の解決に役立つことが期待される。これが、北国の旭川医科大学が南国であるアフリカ諸国の為の JICA 研修を受託した大きな理由である。

2. 研修対象者（研修員の参加資格要件）

研修に参加できる対象国は、2008 年度の開始当初は西アフリカ地域の英語圏の諸国としていたが、2 年目より他のアフリカ地域からの強い要望により全アフリカ地域を対象とした英語圏の諸国に変更されている。

研修に参加する研修員は、公衆衛生分野の知識を持ち地域保健行政分野の実務経験を有し地域保健管理の実務を担当する地域行政官かそれに準ずる者、または地域保健管理計画の立案にかかわる行政官かそれに準ずる者である。各国からの応募の後に、JICA 札幌と本学研修コーディネーターとによって人選されて受け入れ者が決定されている。本年は、ガーナ、ナイジェリア、リベリア、タンザニア、エチオピア、ケニア、ウガンダ、南アフリカの 8 カ国から 11 名の研修生が参加して行われたが、過去 3 年間の研修員について表 1 にまとめる。

本研修の主たる対象者は地域保健担当官であるが、例年、数名がどちらかというと中央省庁に近い組織に

属している者があった。研修内容が地域住民に対するサービス提供の質の向上を大目標として進められるため、必ずしも中央省庁の行政官にはなじまない面があるのは止むを得ない。しかし、そうした研修員も地方保健担当官の指導的立場にあることを認識し、本研修の目的に沿った研修内容に対応していた。研修員は非常に熱心で意欲的であり、講義や視察において内容・状況をよく理解し質問も多く、優れた研修態度であった。今年度の各自の地域保健計画（アクションプラン）成果プレゼンテーションにおいて研修員が互いの司会進行を担当したところ、非常に優れた進行手腕を見せた。こうした指導的な立場にあり、かつ運営能力がある研修員がさらに本研修において自国の地域保健課題を解決する知識と技術を修得し得たことは、非常に有意義なことと思われる。

3. 研修項目および到達目標

1) 研修の目標

本研修の目標は、講義、演習、視察を通して、日本の保健行政に関する基本的な理念や歴史、制度、現状を理解するとともに、各自国の地方保健行政の改善のための取組に必要な知識と技術を修得することにより、研修員の自国における保健医療に関する課題の解決の一助とすることを目指すものである。研修成果の効果判定は、研修員各自が作成した地域保健計画（アクションプラン）の構成と内容について、プレゼンテーションによる説明を受けて実施した。具体的な評価項目は以下のとおりである。

表 1 受け入れ研修員の出身国と人数

国名	2008 年度		2009 年度		2010 年度		累計
	男性	女性	男性	女性	男性	女性	
エチオピア			1		2		3
ガーナ	1	2	2		2		7
ケニア			1	1		1	3
リベリア	1	1	1		1	1	5
ナイジェリア	1	1	2			1	6
シェラレオネ	1						1
南アフリカ						1	1
タンザニア			1		1		2
ウガンダ					1		1
計	4 ケ国		6 ケ国		8 ケ国		9 ケ国
	8 名		9 名		11 名		28 名

- i) 自国および担当地域の保健医療にかかる現状分析と課題抽出、優先順位付けができていないか。
- ii) 地域保健計画 (アクションプラン) の策定に必要な課題設定、課題解決の具体的方法、必要資源等の選定と確保の方法、効果判定のための評価法などの基本要素が理解できているか。

2) 単元目標

本研修には単元が設定されており、その到達目標は以下のとおりである。

- i) 日本の保健・医療・福祉政策の内容と関連行政の体制と役割を理解し参考とすることによって、自国における効果的な保健医療政策を考える素地を形成する。
- ii) 地域保健計画の策定に必要とされる知識と技術を修得する。
- iii) 北海道における地域保健医療に関する課題解決の取り組みの歴史と現状について事例から学び、自国で実施可能な解決策の策定に反映することができる。
- iv) 研修員の担当地域における住民の健康に関する諸状況を把握し解析することで、解決すべき健康課題を抽出できる。
- v) 自国の現在の地域保健活動における問題点を踏まえ、課題を解決するための地域保健計画 (アクションプラン) を作成することが出来るとともに、帰国後に関係する保健医療者や地域住民に対する効果的なプレゼンテーションを含めた啓発方法について実践することができる。

4. 研修内容

研修の内容は、①地域保健活動が包含する広い範囲にかかわる知識と情報について主に日本、北海道の北部地域がたどった過去および現在の経験を紹介する講義、実地見学、②研修生が自国において地域保健計画 (アクションプラン) を策定するために必要な技術とプレゼンテーション能力を修得することを支援する講義および演習、③自国における保健問題を解析し対策に結びつける疫学調査研究手法と統計解析の講義と演習などの内容に区別される。研修内容を記したカリキュラムを表2に示す。

- 1) 地域保健にかかわる広範囲な知識と日本・道北での経験の紹介

日本全体の保健行政の体制と実務概要、地方における保健・衛生の実務活動、日本の保健統計から疾病構造の変化、日本の公衆衛生活動の歴史・時代背景・役割について総論的に学んだ。地域保健活動の中心として活躍する保健師の役割について、特に昭和20年か30年代にかけて北海道の地方で活躍した開拓保健師が地域の住民を訪問して歩き地道なデータ収集とその解析結果に基づいて実施した対策が地域住民の健康度の向上につながった事例を聞いたことは大きな成果であったと思われる。

地域保健の対象領域別諸テーマとして、母子保健、小児保健、学校保健、産業保健、環境保健について講義をとおして日本の過去から現在までの時代状況に合わせて取組まれた事例を交えて学んだ。過去の日本がそうであり、アフリカ諸国ではまだ高い死亡率である感染症については必須のテーマである。感染性疾患の世界的現状と日本における対策、日本のハンセン病対策との変遷と人権問題、日本の結核予防対策の特徴について講義を受けた。学校保健は2年目から、産業保健と環境保健は3年目の今年度から追加した項目である。アフリカ諸国の国民に対する保健サービスの提供体制は、専門組織に分化している日本と大きく異なり、ほぼ全ての領域にわたって地域保健体制が担うことから、研修員から要望が大きかったことに対応したものである。地域の医療提供についても同様に地域保健体制が担うことから、本年より新たに医療科学の領域の講義を加えた。病院管理の技術について日本企業での業務管理手法であるPDCAサイクルに基づく運営手法と、5S活動について学び、医療従事者の安全確保、衛生向上、院内感染防止などの安全意識の向上について学び研修員にとって得るものが大きかったようである。

実際の地域保健医療の現場を訪問しての視察について、1週間の道北フィールドワークの他、随時、それぞれの講義に対応させて実地を訪れ、学んだ知識や技術について実務者から説明を受けることは有意義であったと思われる。

公衆衛生行政にかかわる自治体の活動について、北海道本庁および保健所 (上川保健所、紋別保健所) や住民サービスの場となる市町村保健センター (鷹栖町、西興部村、紋別市) での様々なレベルの機関を視察し、そこで従事する行政職、保健従事者の役割について学

— 101 —

ぶことができた。西興部村では予防接種や保健師の健康相談、健康教育の現場も視察できた。保健財政管理について北海道本庁、鷹栖町にて行政担当者からの説明を受けることができ、保健管理業務をも担当する研修員にとって得るものが大きかった。福祉領域の活動では、指定居宅介護支援事業所を視察しその後、ケアマネジャー保健師に同伴し家庭訪問による実践活動を見るとともに、市町村での福祉サービスとの連携について理解を深めた。学校保健の場として旭川市立東光中学校と西興部村立中学校を訪問し生徒の学校生活を視察し、養護教諭の働きについて見聞きすることで年少者への健康衛生教育の重要性に認識を新たにし印象深いものとなったようである。旭川を代表する製紙産業、木工産業、鉄工機械製造業を訪問し、従業員の健康と安全を守るための5S（整理・整頓・清潔・清掃・しつけ）活動の状況や、作業環境管理や作業管理の在り方など産業保健活動について学ぶことが出来た。また、環境保健の一環として、水道水浄水施設や廃棄物焼却施設など住民の健康と環境保全に直結する地域活動が日本の感染症を大きく減らした背景にあることを理解していた。医療廃棄物処理施設ではアフリカでの不適切な処理状況を踏まえて熱心に質問がなされていた。リサイクル施設（ビン缶、プラスチック、古紙、粗大ごみ）においては廃棄物が資源に変わることを目の当りにし印象深い視察となったようである。

医療機関についても様々な種類とレベルを視察した。高度先進医療の現場として旭川医科大学病院、地方中規模病院の管理運営について美瑛町立病院、僻地の医療機関として西興部村診療所を訪問した。医大病院の入退院受付では、退院後に社会サポートが必要となると想定される患者が入院する際に保健福祉支援を担当する地域の担当部署と連携した受入れ準備が開始されるシステムがあることなどに興味向けられていた。美瑛町立病院では病院を訪れることが困難な遠方の高齢者が地域集会所等に集まるところを医師が往診して診療するなどの現場にも同行することができ意義深い機会となった。また、地域における結核対策を行う場として、結核予防会、結核療養所機能を持つ旭川医療センター（旧国立療養所道北病院）、医療機関と地域の連携を担う保健所などを訪問し説明を受けることで、諸機関による地域の連携・役割について系統立てた学習ができた。

遠隔医療システムについて、吉田晃敏学長から本学が持つ先進的遠隔医療が実現する医学における平等性の確保について講義を受け、研修員は夢の実現に感銘を受けたようである。また、西興部村における地域テレビの情報通信を活用した健康管理システムについても見る事が出来た。経済的な問題が残るが、将来的な可能性についても知る機会が得られたことは意義深かったと思われる。

地域住民活動について、西興部村老人クラブで研修員と高齢者が交流する機会が得られた。さらに公式なカリキュラム以外に、研修コース運営スタッフ、地域住民有志、国際交流活動を行う旭川医科大学学生サークル（IFMSA エクスチェンジなど）メンバーの好意により、旭川地域における夏祭りイベントへの参加、地域住民や学生との交流の機会が多く設定された。日本の文化、風習などについて体験できたことで理解が進められたものと考えられる。研修員は、日本人に対して、几帳面で時間を厳守し勤勉、礼儀正しくもてなしの心に厚い、といった印象を持ったようである。

2) 地域保健計画を策定するために必要な技術とプレゼンテーション能力の修得

研修前半に Project Cycle Management (PCM) についてアフリカ地域での保健活動に経験が豊かな講師から講義をうけ、アフリカを想定した仮想発展途上国の保健事例をもとに、課題の抽出に始まり解決のための地域保健計画を作成するグループワークを行った。さらに、研修後半において講義および演習で学んだ PCM 実践力を確かなものとするために、タンザニアにおいてプロジェクトに携わる講師の指導のもと、研修員の1名が取組む課題をサンプルとして PCM 手法をもちいて地域保健計画を策定することを演習として実施した。こうした試みは、研修員が帰国後に現存する問題に対処する上で有意義であり好評であった。

研修コースを通して学んだ知識や日本の事例と PCM 手法をもとに、研修員の出身国であるアフリカにおける保健強化・キャパシティディベロップメントの実践に携わる講師から活動内容を聞く機会が得られたことは、それぞれの帰国後の地域保健計画の策定と住民への保健サービス展開に向けて大きな手本となったと思われる。

最終週において、研修員各自が自らの担当地域の保健問題について優先的かつ実施可能性のある課題を抽

出しその解決のための地域保健計画を立てる演習を行った。政策決定権を持つ上司等への説明や地域住民への啓発などに役立つプレゼンテーション技法についても修得に努めた。

3) 現実の保健問題に対処する疫学調査研究と統計解析の技術の修得

地域保健活動に役立つ健康データの種類、実際の健康データ収集の計画・実践・解析についての講義と、データを使った解析について演習を行った。アフリカから本学に留学している大学院生によって糸虫感染症についての調査研究の事例を学んだ。また、筆者の中国における砒素中毒についてのフィールド調査と中毒改善・予防についての対策展開にかかわる研究調査の事例の紹介も行った。

5. 反省と今後の方針

本研修は3年間の予定期間を終了したが、来年度以降に継続されるならば、今までに改良を加えつつ蓄積したノウハウを活かした研修を行いたいと考えている。

研修員全員がアフリカ諸国から参加していることから、公式のカリキュラムの中で互いの国の情報共有、ディスカッションの時間確保を求める研修生からの要望を受け止め、従来週末のカンファレンスにおいて当該週の研修を振り返り反省をおこなうために設定してきた時間帯を利用し、順に全員の研修員の地域保健計画作成に対して全員で討論できる時間帯としても活用したいと考えている。

研修員が地域保健担当官であることから、地域住民に対する保健サービスの提供者となるスタッフを多く指導・監督する立場にあるため住民への直接サービスの在り方について精通することは必須であることと合わせて、地方の保健医療組織全体を運営（財政的、人材的、物的に）するための行政官としての手腕に相当する知識と技能と、自国の中央省庁との交渉・連携に必要な知識と技能を増し加える研修内容が付加されるならば、非常に優れた研修コースとなると思われる。北海道の地方で行われている一事業に過ぎない中で、こうした改善を行い得るか、カリキュラム編成と講師陣の確保が実現可能かどうかかわからないが、極力改善に努めたいと考える。

6. 終わりに

本研修は今年度で3年間の一区切りを迎えた。当初の日本とアフリカ諸国の地域保健の扱う範囲の相違から、研修期間中に修正と追加が必要となり改善しつつ実施してきたが、3年間の中ではほぼ完成形に近い研修内容となったと考えている。研修員からは本研修で得られた知識や技術の殆どが自国での担当業務に直接活用出来るものであるとの回答が得られおおむね好評であり、運営に携わったものとして安堵している。将来的に、研修員がそれぞれの担当地域の健康問題について地道な調査研究を行う事が出来て、課題解決の方法を策定し、そこに住民の積極的な参加が得られて地域全体の健康度が高められ、地域の幸福と活性化に役立つ活動につながることを期待したい。

研修コース開会式



ウェルカムパーティでの学生との交流



PCM 演習の半田講師と



PCM 手法の演習



演習における活発な討論



大角講師による講義「海外と日本の結核対策の比較から学ぶ」



産業保健活動の現場視察



サテライトキャンパス “HI・RO・BA” にて



地域介護活動の視察



道北フィールドワーク 西興部町



道北フィールドワーク 上興部町



美瑛町立病院にて



女性研修員と北村教授



ホームパーティ



サマーフェスティバルにて学生と交流



アクションプラン・プレゼンテーション



研修コース閉講式



大学病院を背景に



依頼稿 (報告)

「JICA 母子保健研修コース」について －看護過程を応用した問題解決の試み－

黒 田 緑*

1. はじめに

日本の母子保健の水準は目覚ましい向上を遂げた。その理由として戦後の復興期から水準の向上が始まったと言われることが多い。しかし、実は戦前から行われていた地道で地域に根差した母子及び家族に対する働きかけにより、着実に水準は向上していた。一方、世界に目を向けると、現代においても発展途上国では貧困や女性差別などを原因とする妊産婦や乳幼児の深刻な健康問題が存在する。

2000 年 9 月に開催された国連ミレニアム・サミットで、平和と安全、開発と貧困、環境、人権とグッドガバナンスなどの国連の明確な方向性を提示した国連ミレニアム宣言を採択した。さらに、国際開発目標とを統合し、ミレニアム開発目標 8 つを 2015 年までに到達すべき目標として掲げた。8 つの目標のうち目標 4 は「乳幼児死亡率の削減」、目標 5 は「妊産婦の健康の改善」と、発展途上国の遅滞している母子保健の水準の向上を目標として掲げた。

JICA (Japan International Cooperation Agency) 独立行政法人、国際協力機構は、ミレニアム開発目標を達成するための活動として、国内外において母子保健プロジェクト活動を展開している。世界各地の発展途上国で、看護職を対象とした助産技術の向上のための研修や日本の母子健康手帳の普及など母子保健サービス分野での活動が数多く行われている。その内の国内における活動の一つとして、当看護学科では母子保健領域に携わる看護師・助産師の人材育成を目的とした研修を実施している。

旭川を含む北海道の道北・道東地域は、広大な面積に人口が分散し、保健施設の密度や母子保健指標が低

い地域であったが、地域に根ざした看護職の育成、情報の活用により母子保健の向上に成功してきた。これらの取り組みを紹介することで、開発途上国における母子保健に携わる看護職に有益な研修が提供できるとの判断から、JICA 札幌国際センターの募集・協力の下、母子保健研修を行っている。

2. 対象国とその現状

平成 15 年から 5 年間の研修を実施し 47 名の研修員を受け入れた。また、それまでの研修をふまえ平成 20 年より 3 年間の研修を実施し、今年で 36 カ国、82 名の研修員を受け入れた。研修員の出身地域はアジア・アフリカ・大洋州・中東・中南米等の世界各地域におよぶ。表 1

世界で最も母子保健指標が低いアフガニスタンの現状は、都市部では医学的適応の無い帝王切開が高率に行われ、不適切な帝王切開手術後の管理のために感染症で命を落とす女性が多い。また、地方では専門家の介助のない自宅出産が 7 割を占め、産婦は危険にさらされている。看護職を目指して入学する学生たちは、教育環境の劣悪さのために学習途上で退学することはまれではないという。

女性性器切除の風習があるスーダンでは、産婦は出産時の大出血を免れたとしても、産後には傷の痛さで身動きが制限され、裂傷部位の清潔も保てない。数少ない出産施設では、出産数が多く産後 2 時間で退院させられる。退院後、裂傷部位からの感染のために敗血症で命を落とす産婦が多いという。

パプアニューギニアでは、十分な教育を受けた助産師の数が少なく、各地域に短期間の教育による出産介助者を増やすことを当面の目標としている。また、出

*旭川医科大学看護学科

表1 国別の研修員数 (2003~2010)

2003~2007 (5年間)								
年度	アジア	大洋州	中央 アジア	コーカ サス	中東	アフリカ	中南米	計
'03~'07	7	7	1	1	3	18	10	47
2008~2010								
2008	2	3	0	0	3	2	2	12
2009	3	2	0	0	1	2	3	11
2010	2	3	0	0	4	2	1	12
総計	14	15	1	1	11	24	16	82

表2 2008 研修員各国の乳幼児死亡率 (出生 1,000 対)、妊産婦死亡率 (出生 100,000 対) 一覧

国名	乳幼児死亡率	妊産婦死亡率	国名	乳幼児死亡率	妊産婦死亡率
日本 (2008)	4	3.5	パプアニューギニア	69	730
アフガニスタン	257	1,600	ウルグアイ	14	25
パレスチナ	27	—	ザンビア	148	590
カンボジア	90	461	スーダン	109	1,100
インド	69	301	シリア	16	65
マーシャル	36	74			

産時の衛生材料等の必要物品も十分ではなく苦慮している現状である。

カンボジアでは、地域から搬送された出血などの異常産婦について、その原因や対応が分からず、予防的対応ができていない状態であるという。産科学的知識が不足する現状にある。

比較的母子保健指標の良好なウルグアイでは、母親は出産後新生児の健診のためには医療施設を訪れるが母親自身の産後の健診をほとんど受けず、やはり感染症の罹患が多いという。

シリアでは未受診妊婦が多く、いかに妊婦に健診を受けさせることができるかが課題であるという。

各研修員の抱える問題は、母子保健領域という共通点はあるが様々である。環境、文化、習慣、社会経済など多様な現状の中にある母子に関する問題を、より良い状況へ導くための解決策はやはり多様であり、そのような環境にいる研修員自身が考え、見出すことが解決への近道であると考えた。

物の援助や他者からの指示を待つのではなく、身近な問題から研修員が主体的に解決の糸口を見出し、具

体策を考え評価を繰り返しながら目標を一步一步達成できるような思考や行動を身につけることが重要と考え、これを本研修の軸とした。

3. 看護過程を応用した問題解決の試み

看護には、対象者が有する様々な課題を解決するための問題解決思考がある。いわゆる看護過程 (Nursing Process) である。対象者の問題の分析・評価は、その問題の原因の明確化およびそれに影響を及ぼすプラスあるいはマイナスの要因を査定し、影響要因の除去や軽減をするための援助の方向性を考えることである。次に、到達可能な目標の設定と目標を達成するための具体策を策定し実施後評価する。看護過程をらせん状に繰り返すことで複雑な問題へ対応する、これが看護領域で看護過程を展開する意義である。

これまでの母子保健コース研修では、PCM (Project Cycle Management) という問題解決手法を用いてアクションプランを作成した。PCM とは、JICA のプロジェクト活動などで広く用いられている開発協力プロジェクトを効果的・効率的に運営管理する方法である。母

子分野だけではなく多様な分野の援助活動に用いられている。しかし、PCM 手法そのものを理解することに時間を要すること。問題の分析が十分にされにくいこと。その結果、実施可能な具体的アクションプランを作成することが困難であることを感じていた。一方、研修員の特性は、人の健康問題を解決することを業とする看護職集団であること。また、何らかの問題解決手法あるいは問題解決思考は身につけていると予想したこと。彼らが帰国後に求められる活動は、やはり人を対象とした看護職としての活動を展開すること。これらを考え合わせ、日本の看護領域で日常的に使われる看護過程を応用した問題解決思考をアクションプラン作成の手法として活用することを試みた。

本研修に用いるために応用した点を以下に示す。

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

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

次項に本年試みた問題解決過程日本語版を掲載した表3。研修を進めながら修正をくわえたが、今後さらに修正していく予定である。

4. 研修結果

研修は、日本の母子保健に関する実情や発展過程などの座学から始まり、旭川市を中心とする地域の助産所、病院、保健所など母子保健管理体制、日本の看護教育と助産師教育の講義・見学実施。旭川医科大学病院での卒後教育の講義・見学、院内感染対策の講義・演習の実施。道東・道北の母子保健の現状と対策の実地見学を行った。研修の進行に伴い問題解決過程を進め、最後にアクションプラン作成と評価に取り組んだ。

研修終盤のアクションプラン発表では、上述した研

修員各国の現状を踏まえた具体策が次々と発表された。今年の発表内容の特徴は、出産後になおざりにされている母体の健康の維持をテーマとしたものが多かった。昨年との違いは、計画の具体性が増し地道ではあるが、実行可能性を予期できる内容であった。（コースリーダー）



写真1 北見市消防本部にて、母子救急体制の見学時



写真2 日赤北海道看護大学での講義風景

表3 母子保健コースの問題解決過程

アセスメント (現状分析)	問題 (課題) 抽出	目標	具体策	実施	評価
①各研修員を取り巻く母子保健に関する現状を明記する。 i 国レベル ii 地域レベル iii 研修員の組織レベル (iv 個人レベル) ②研修員の置かれた立場により、対応可能なレベルをアセスメントする。(現状に対する研修員の対応レベルの判断) ③現状を形成している原因と要因の明確化。 要因とは、原因の中での重要な項目。 例：知識の欠如 組織化など ④現状を左右する因子の抽出とその関連の明示。 i 社会の価値観、倫理観、民族性、宗教 ii 社会の健康生活上の習慣や医療に対する価値観 iii 地域社会の物理的問題 例：経済、アクセスなど iv 教育背景など ⑤予測できる今後の状態の明確化 現状のままの推移によって考えられる状態の明示。 ⑥望ましい状態と活動の方向性の考察 効果が上がる活動にするための対象の選定 (組織・人) に基づき、研修員が関わることで達成可能な状況を考察し、研修員自身が活動可能な母子保健対策の方向性を明らかにする。	①原因と母子保健活動上の問題あるいは課題を明記する。 組織に起因する問題と健康活動内容に起因する問題を判別する。 組織、健康教育改善活動など i 組織関係 優先順位の高いものから挙げる。 ii 健康活動内容 優先順位の高いものから挙げる。 ①達成目標 (長期目標) ・達成目標評価年月日 (他者への継続もありうる) ・達成状況 具体的基準を明示 ②到達目標 (短期目標) ・到達目標評価月日 (研修員自身による) ・到達状況 具体的評価基準を明示 数値 内容など	①達成目標 (長期目標) 達成の可能性のある長期的な目標 * 最終的に組織的取り組みを目標とすることが望まれる。 ②到達目標 (短期目標) 評価可能な到達の可能性のある望ましい状態 <評価基準> 目標達成の成否を判定するための具体的判定基準 ①達成目標 (長期目標) ・達成目標評価年月日 (他者への継続もありうる) ・達成状況 具体的基準を明示 ②到達目標 (短期目標) ・到達目標評価月日 (研修員自身による) ・到達状況 具体的評価基準を明示 数値 内容など	<具体策としての要件> ①研修員の地域の特殊性を考慮しているか ②目標達成のための優先順位は妥当か ③経済背景を考慮し、かつ計画は具体的か いつどこで誰に (個人、集団あるいは組織) 誰が何をどのように予算の見通しなど ④研修員が実施できる可能性はあるか <具体策の内容の整理> ①研修員自身が行う活動は何か ②他者 (組織も含む) の能力を活用する活動は何か ③評価方法まで考慮した内容か	現地で	①達成目標、到達目標それぞれに設定した評価基準に基づく評価をする。 i 数量的評価 ii 質の評価 組織の改善、対象者の理解度、行動変化、地域の取り組み行動など (評価方法の作成を含む) ②目標は、評価基準と照らし合わせて達成できたか否か。 i 達成できたのは、どのようなことが関連して達成できたか。 ・今後このまま計画続行か ・修正の上計画続行か ・さらによくするための計画があるか ii 達成できなかったのはどのような要因により達成できなかったか。 ・現状分析の不適切 ・目標設定の妥当性の問題 ・具体策の適切性の問題 ・具体策遂行に際して起こった問題の如何 ・評価不能など ③問題解決過程では予測できなかった事柄の関与はあるか。 ④これら評価を基に、計画を改善し実施する。

追 悼

追悼 岩元 純 先生

石 川 一 志*

本学医学部看護学科教授、日本生理学会評議員、米国生理学会会員 岩元純先生は、平成 21 年 12 月 31 日にご逝去されました。行年 59 歳でした。ここに謹んでご冥福をお祈りいたします。

看護学科で約 12 年間ご一緒させて頂きましたので、生理学の門外漢ではありますが、先生を偲び、教育・研究における先生の主なご功績を、便宜上 4 期に分けて紹介させていただきます。

第Ⅰ期：秋田大学～産業医科大学時代

岩元純先生は 1950 年、長崎県諫早市でお生まれになりました。1970 年 5 月 15 日、秋田大学医学部に第 1 期生として入学されました。1976 年 3 月に同校を卒業、同年 5 月、秋田大学医学部大学院医学研究科博士課程に入学し、生理学講座で小谷野速雄先生に師事されました。この間、胃に分布する迷走神経内の知覚神経を同定し、また、腹腔神経節におけるシナプス連絡の様式を研究されました。

1981 年 6 月、国立長崎中央病院の臨床研修医（小児科、新生児科）となり、1983 年 6 月からは長崎大学医学部附属病院に小児科医員として勤務されました。

1983 年 9 月、長崎大学熱帯医学研究所の助手に採用され、小坂光男先生の下で、発熱とそれに続く解熱の機序を研究されました（1983、1984a）。また、除脳ウサギを用いて、視床下部の体温調節中枢と、中脳・脳幹など視床下部以外の体温調節能の違いを検討されました（1984b、1985、1986）。その成果は *Tropical Medicine* 25 ~ 28 巻に掲載されています。

1986 年 7 月からは、産業医科大学助手として、白

木啓三先生の下で、水中での様々な生体反応（体温調節や血圧調節、自律神経活動など）に関する環境生理学的な研究を行われました（*Am. J. Physiol.* 1989、1990；*J. Appl. Physiol.* 1988a, b、1990）。一方で、当時発売されたばかりの予測式電子体温計の精度を、白金温度計や水銀体温計などと比較し、臨床的な有用性を明らかにされました（臨床体温 1987a, b、1988、1989）。また、新生児の食道温について研究され、肛門温では測定不能な発熱の早期発見法を開発されました（臨床体温 1990）。

第Ⅱ期：米国留学時代

産業医科大学在職中の 1988 年 9 月、岩元先生は客員研究員（Visiting Research Assistant Professor）として、米国ニューヨーク州立大学（SUNY）バッファロー校医学部生理学部門の JA Krasney 教授の下へ留学されました。地図で見ますと、バッファロー市はエリー湖の東の湖畔に位置し、カナダの国境に隣接しており、ナイアガラ滝がすぐ近くにあります。カナダは物価が安く、たびたび車でひとっ走りして国境を越え、ショッピングモールで買い物をされたということをお聞きしたことがあります。バッファローの水はかなり先生に合ったらしく、近所の人たちを集めて頻繁にパーティーを開いていたようです。研究の面でも、精力的に実験された様子を生き生きと語っておられました。高山病の際の脳の病態生理学が研究の主題で、無麻酔のヒツジを用いて、長時間の低酸素刺激による脳浮腫の成因を解明されました（*Am. J. Physiol.* 1991、*J. Appl. Physiol.* 1991）。また、低酸素による脳血流および脳代謝の増加が一酸化窒素（NO）依存性である

*看護学科准教授

ことを明らかにし (J. Cereb. Blood Flow Metab. 1991 ; FASEB J. 1992)、メチレンブルーや L- ニトロアルギニンがこの増加を阻害することを発見されました (J. Appl. Physiol. 1992a, b)。

1991 年 9 月からは、同校医学部小児科学講座新生児部門病態生理学分野の研究助教授 (Research Assistant Professor) の職を得て、バッファローで研究を継続されました。以後、「生体における一酸化窒素 (NO) の産生とその機能」が研究の主要なテーマになってきます。まず、NO が胎児肺の血流を増加させることを明らかにし、その作用が還元ヘモグロビンによって効果的に阻害されることを発見されました (J. Appl. Physiol. 1993)。NO によって生成するメトヘモグロビン量が血液の酸素飽和度によって変動することや、培養血管内皮細胞で産生される NO の定量が可能であることなどを報告されました (Respir. Physiol. 1994a, b)。呼気 NO が運動によって増加することを定量的に明らかにされたのもこの時期でした (Respir. Physiol. 1994c)。

話はちょっと飛びますが、1998 年、RF Furchgott、LJ Ignarro、F Murad の 3 人が、「循環器系における信号伝達分子としての一酸化窒素 (NO) の発見」によって、ノーベル医学生理学賞を受賞しました。この受賞を契機に、多くの研究者によって、生体内での NO の多彩な生理活性が、一層明らかにされるようになりました。先生は先見の明があったと言ふべきか、機を見るに敏だったと言ふべきか、前述のように、既に研究のテーマとして NO を取り上げておられました。

第 III 期：本学医学科時代

1994 年 4 月、岩元先生は、本学医学部生理学第一講座の助教授として旭川に赴任されました。着任されるとすぐに「一酸化窒素 (NO) 研究会」を立ち上げ、本学の臨床講座に所属する先生方や、東海大学の先生方と共に、さまざまな臓器における NO の作用を、病態生理学的に解明する共同研究を開始されたと聞いています。共同研究を通じて、先生方の学位論文の指導も行われたようです。NO 研究会によって以下のようなことが究明されました。1) リアルタイムで連続的に呼気 NO を測定する機器を開発し、これを用いて測定した結果、呼気に鼻腔で産生される NO が混入し、この鼻腔 NO が運動によって減少すること

(Eur. Respir. J. 1996)、また、鼻腔の上皮細胞が、通気中の O₂ を基質として、この NO を合成すること (Appl. Physiol. 2002)、2) ウサギ角膜の一酸化窒素合成酵素 (eNOS) を免疫組織化学的に証明し、NO が角膜上皮で産生され、角膜の浮腫に関係すること (Nitric Oxide 1997)、3) 主にウサギ摘出灌流肺標本を用いて実験した結果、肺や気道の上皮によって産生される NO が、肺循環の調節に関与すること (J. Appl. Physiol. 1999 ; 2001a, b ; 2002)、4) 敗血症モデルラットにおいて、化学発光法と新たに開発したガス・パージ法を用いて研究した結果、肝細胞で産生された NO が拡散し、高濃度の腹腔内 NO として検出されたこと (Nitric Oxide 1998)、また、低容量の大腸菌の菌体成分 (L P S) による NO が、炎症の初期に肝細胞保護作用を有し (SHOCK 2000)、この作用により、致死量の D- ガラクトースアミンによる急性肝障害が予防されること (Int. J. Colorectal Dis. 2002)、などです。

第 IV 期：本学看護学科時代

1998 年 4 月、岩元先生は本学医学部看護学科 (開設 1996 年) の教授に昇任されました。先生は、形態機能学の講義及び生体観察実習、疾病論などをコーディネートされましたが、生体観察実習は、脳波、心電図、呼吸・血圧調節、腎機能、骨学、脳観察、解剖実習見学などの項目で構成されています。この実習は他の看護系大学には例を見ない充実したもので、岩元先生が力を入れて計画されたものでした。

業績紹介からはちょっと脱線しますが、初めて先生と親しくお話をさせて頂いた際、座談の名手という印象を受けました。大変な読書家で、豊富な読書量を背景に話題が尽きることはなく、会話が楽しくて、時間があっという間に過ぎたことを思い出します。古今東西の音楽に精通されており、教育・研究を精力的に行われる傍ら、学内の職員の皆さんによる女性合唱団「ソルフェージュ」や、市内の混声合唱団「ベニ・ウン・クル」の指揮もされていました。「ソルフェージュ」が音楽会に出場する際には、指揮のほか、練習指導、選曲、編曲も担当されていたと聞いています。岩元先生と「ソルフェージュ」は、「北海道うたごえ祭典」で推薦され、ほぼ毎年、日本各地で開かれる「全国うたごえ祭典」に、北海道代表として出場していました。「旭川合唱祭」、「旭川アカペラ合唱祭」などにも出場し、

時には先生自らリコーダー奏者として演奏されたこともあり。また、旭川市社会福祉協議会理事や小・中学校のPTA副会長を務められ、ボーイスカウトの隊長として小・中学生隊員を引き連れてキャンプをされたこともあったようです。

看護学科に移られた当初は、講師の先生に園芸療法を指導され、その活動はたびたびマスコミに取り上げられ、一躍脚光を浴びました。一方で、NOの共同研究も続けられ、医学部の先生方の学位指導も継続されていました。その成果として、1) NOは自然解熱時の熱放散機構を活性化するメディエーターであり、L-アルギニンの利用が熱放散機構の活性化にとって重要であること(臨床体温 2002、2003)、2) 新しく開発されたNO反応色素を用いた蛍光法(DAF2-DA法)による研究の結果、肝細胞保護効果を発揮するNOの産生源として、肝実質細胞自身が大きく寄与していること(J. Surg. Res. 2004)、3) 漢方薬の大建中湯が、ペプチド性の知覚神経伝達物質CGRPとその受容体を介して、結腸の血流を増大させること(J. Surgical Res. 2008)、などを報告されました。

先生は皆でにぎやかに活動することを好まれました。不思議に先生の周りには大勢の人達が集まってくるのでした。食堂で学生と歓談しながら食事をされているお姿を、何度も拝見しました。研究室には常に大勢の人が出入りしていました。卒業研究や修士論文の研究は、厳しく且つ情熱を持って指導されていましたが、時に情熱が噴出し、その間、学生や院生は一言も口を挟めず、畏まって傾聴しているという場面にたびたび遭遇しました。ただし、指導した学生や大学院生は、最後まで、時には就職まで、徹底的に面倒をみられました。1991～2008年度まで、計53人の学生に、25題の卒業研究を指導されました。大学院が設置(2000年)されて以来、13人の修士課程の大学院生に論文指導をされました。以下に修士論文も含めた看護研究の成果を簡単に紹介します。

1) 児童における正しい血圧測定の方法(小児保健研究 2004)や、自動血圧計の特徴(日本看護技術学会誌 2008)を研究され、また、予測式電子体温計の測定手法を詳細に報告されました(臨床体温 2006a)。2) 高齢者におけるサウナ浴や入浴による身体的、心理的效果を明らかにされました(臨床体温 2004、2006b)。3) 育児期の母親における種々の育児

困難感は、そのタイプにより、深部体温、心拍数、前額皮膚温と良く相関し、自律神経の機能と密接に関係することを示されました(臨床体温 2005)。4) 多くの母親が子供の発熱に対して正確な知識を持っていないことを、1089名を対象にしたアンケート調査によって示されました(臨床体温 2006c；小児保健研究 2006)。同様に、小児科の看護師にも知識と経験のばらつきを認め(名寄市立病院誌 2007)、解熱効果が期待できない冷却ジェルシートの多用傾向について報告されました(名寄私立大学紀要 2008)。

2005年頃から、花王の蒸気温熱シート(めぐリズム蒸気温熱パワー)を用いた温罨法の研究を始められました。この一連の研究で、5) 長時間の腹部温罨法は、便秘の改善(臨床体温 2007a)や月経に伴う諸症状の緩和(臨床体温 2007b)に顕著な効果があること、6) 尿失禁症状を有する女性高齢者への腰部温罨法は、種々の自律神経性調節を介して失禁頻度と排尿回数の減少をもたらす(臨床体温 2008)、過活動膀胱の治療への可能性があること(臨床体温 2009a)、7) 肩甲部の温罨法は、局所皮膚血流のみでなく、深部の筋血流も増加させ、全身の循環改善の効果があること(臨床体温 2009b)、8) 温罨法による筋血流と皮膚血流の増加は、痛みの緩和と有意な相関を示し、筋血流増加は「こり」の緩和と、皮膚血流増加は「はり」の緩和と相関したことから、肩の「こり」と「はり」は、異なった発生メカニズムによる独立した症状であること(臨床体温 2009c)、などを明らかにされました。

温罨法の研究が軌道に乗り始めた2006年(平成18年)、先生に大腸がんが発見され、4月に急遽摘出手術が行われました。その後、肝臓と肺に転移が見つかり、肝臓2回、肺1回の計3回の手術を受けられましたが、寝込むとそのまま起き上がれなくなると言って、退院するとすぐにまた教育・研究生活に復帰されました。抗がん剤の注入ピンを上着の内ポケットに入れて、研究指導を続けておられました。副作用で、手がしびれ、物を食べると尖った氷を食べているように冷たくて痛いと言っておられました。この感覚異常から、感覚神経に興味をもたれ、一過性温度受容体電位チャンネル(TRPチャンネル)の研究を始められました(J. Physiol. Sci. 2009)。病気をされてからは、入院されているときと学会出席のとき以外、土、日や祝日も研究室に出ておられました。

2007 年春、日本看護技術学会第 8 回学術集会の会長に推挙され、大会を主催されることになりました。その後、注入ピンを内ポケットに忍ばせて、黙々とその準備にいそしんでいる先生のお姿を拝見しました。学術集会は、2009 年 9 月 26, 27 日の両日、旭川市大雪クリスタルホールと神楽市民交流センターを会場に開催されました。先生はこの学会の冒頭のキーセッション I で、「ひとびとの生命・生活・希望を支える看護の技」と題して講演されました。看護技術に対する先生の基本的な姿勢を伺うことができますので、ちょっと長くなりますがその一部を引用します。

—看護と看護技術という概念の関係を考えてみると、目的と手段のように捉えがちになります。(中略)、しかし、看護技術をもっと包括的で幅広い概念、すなわち「心技一体のわざ」としてとらえなおすと、「看護技術」という言葉が、過不足なく看護を支える総合的な技術であるということが分かります。(中略)、Art の部分がナイチンゲールの言葉を礎としており、「Nursing Art = 看護技術」が「心技一体の技 (わざ)」を指しているのです。さて、アートが技 (わざ) であるということを、もう少しだけ具体的に説明すると、レベルの高い観察力、洞察力、知識、実行力、共感力ということが出来ます。そして、実際に行われる看護

の技の最大のものが日常生活援助であり、これに医療上の援助が加えられることになります。日常生活援助は、肉体的にも精神的にも援助がなされなければなりませんし、人々の生活をより充実して尊厳のあふれるものにするために、必要なことを可能な限り実践することを目指すべきでしょう—

学会を主催されてわずか 2 ヶ月あまり後の 2009 年 12 月 8 日、肝機能が急激に低下し、岩元先生は急遽当大学付属病院に 5 回目の入院をされました。連絡事項を伝えるため、週一回お見舞いを兼ねて病棟にお邪魔しました。腹水で苦しそうにされていましたが、暮れも押し迫った 28 日にお会いしたときには、おなかもあり膨れておらず、体が一回り小さくなったような感じを受けました。表情はたいそう穏やかでした。小康を得られたのかと思い、年明けに再度来室することを告げて辞したのですが、そのとき交わした会話が最後でした。無論、先生は検査のデータを見て、その時点での自分の状況を正確に把握されておられたのでしょう。穏やかな表情は、この世の一切を愛惜しつつ、あらゆる執着や無念の想いを乗り越えられた、澄明な心境を映したものだっただのかもしれない。岩元純先生、安らかにお眠り下さい。

追 悼

郷先生を偲ぶ

藤 田 智* 赤 坂 伸 之*

郷先生の活動のフィールドはあまりにも多岐に渡っていたため私一人ではすべてを網羅することは難しいと考え、第一外科の赤坂先生と二人で思い出を書かせていただくことにしました。

心臓外科医としての郷先生

郷先生の訃報をお聞きした時は、皆さんも大変驚かれた事と思いますが、私もまさに真っ白になったとしか言いようがありませんでした。それからの数日間の出来事は昨日のここのように思い出されます。このような形で、私が皆さんに郷先生の偉大な業績や、その高潔なお人柄をお語りすることは、大変僭越ではありますが、19年間、同じ、`術野`で仕事をさせて頂いたものの務めと信じ、`郷伝説`の一端を紹介させていただきます。

郷先生は江別の外科開業医の御長男としてお生まれになりました。意外にも、幼少のころは体が弱く、本ばかり読んでいた子供であったと本人はおっしゃっていました。小学校高学年のころからスポーツに目覚められ、特にスキーとバスケットに興味を持たれて、スキーではその後、準指導員の資格までを取られていました。バスケットは中学から始めて、札幌南高時代には全道選抜チームの一員でした。高校3年生の夏に当時の留学制度を利用して、アメリカのネバタ州の高校に留学されました。このときは英語の勉強はもちろんですが、実はバスケットで何とかしてやろうという気持ちがあったに違いないと私は思っております。残念ながらコーチの方針と合わなかったため、アメリカの高校のチームには残れずに気落ちした郷先生は、悪い友達とも付き合って、アメリカならではの経験もされ

たようです。(数年前、当時のガールフレンドが日本に訪ねてこられました。もちろん奥様も御存じです。)帰国後は北大医学部に入学され、バスケットでは医学部のレベルに飽き足らず、全学でもプレーされインカレにも出場されていたとのことです。卒業後は外科医をめざし、北大第2外科に入局されました。初期研修は、帯広厚生病院で、その時、現在第一外科助教授の稲葉先生と御一緒に研修され(飲み歩かれ)、お二人の御交友はその後も長く続かれていました。北大に戻られてからは、当時の心臓グループの長であった酒井圭輔先生(札幌啓仁会病院)の最新の心臓手術に興味をもたれ、心臓外科医としての道を歩きは始めました。残念ながら北大では思うような研修をする機会がなく、医局の反対にあいながらも、単独で再び留学し、見事にアメリカ心臓外科の最高峰の一つであるメーヨクリニックのレジデントに採用され、そこで心臓外科医としての基礎を学ばれました。メーヨクリニック退職後も、アメリカ各地の病院を歩き回り、勉強されたとのことです。特筆すべきはその時すでに幼馴染であった奥様と結婚されており、お二人の小さいお子さんと一緒に各地を転々とされたそうで、奥様の御苦労はいかほどとかと思われましたが、後にお話しをお聞きすると、「私はアメリカが好きだったので、楽しくて楽しくてしょうがなかった!」とお話しされ、大変驚きました。

帰国後まもなく、久保元学長の御高配により、郷先生が旭川医科大学に赴任されました。ただ、郷先生には晴天の霹靂だったようで、当時の北大の教授から旭川行き話を聞いて医局に戻ったら、医局員は全員知っていて、知らないのは俺だけだったとよくお話し

*救急部

ていました。本人にとって決して本意ではない人事であったのかもしれませんが、当時 37 歳くらいで、アメリカ留学から帰国間もない郷先生を我々が迎える事が出来たのは本当に幸運でした。

平成 3 年 11 月に郷先生が赴任されましたが、当時の大学では、現在とはまったく違い、学内、学外から心臓の患者の紹介がほとんどない状態で、郷先生にとっては、まさにゼロからのスタートでした。私は平成 4 年から郷先生と一緒に仕事をさせて頂くことになりましたが、今でも忘れられないのは当時小児科の岡先生から、動脈管開存症の患者さんをご紹介していただくことになり、手術自体は簡単におわったのですが、呼吸、嚥下障害を持ったお子さんで術後は大変苦労しました。その後も高度肺高血圧合併の心室中隔欠損症の患者さんなどを救命する事が出来、徐々に信頼を得る事が出来ました。第一内科からの紹介も約 1 年後で、その当時トピックであった、弁形成術を成功させる事が出来、やっと紹介してもらえるようになりました。ただ、人口過少地域にあるという旭川医科大学の立地性の問題や、現在とは違い救急や緊急手術のなどの対応が著しく困難であった当時の大学の事情もあり、症例数を飛躍的に増加させることは困難でした。ただその中で、小児の大血管転位に対する Jattenn 手術や、大動脈縮窄の直接吻合術、新生児の総肺静脈還流異常症の手術などで、数は少なくとも着実に成功を収めることができました。一方その間、名寄を始め室蘭、そして根室の病院で、第一外科関連の施設での開心術の立ち上げに奔走され、全道を走りまわっておられました。郷先生の術者として特筆すべき点は、分業化が進んでいるこの世界で、小児から、成人の疾患はもとより、大血管外科に至るまで多くの分野の手術をされ、それぞれの面で国内の大きなセンターと遜色ない成績を残されたことにあります。特に手術が困難な小児手術症例数は 19 年間で約 700 人以上に及び、一人一人が思い出に残る貴重な症例であります。

このような多種類の症例に対応できたのは、どのような緊急手術でも対応できるように、常に新しい情報を仕入れ、手術への準備を怠りなくする、ゆるぎない研究熱心さのたまものでした。さらに、郷先生は手術だけでなく、術後もベッドサイドを離れずに患児に向き合い、徹夜明けでもベッドサイドでうとうとしながら、何か変化があれば、すぐに的確な処置をされてい

ました。後年、後継者育成の面からのご自分が何でもやるのは良くないと考えられたのか、付きっきりになることは止めてされましたが、夜中にこそっと、何度も様子を観に来られ、何かあったらすぐに手助けするという無言のメッセージを出してられました。それは救急部を立ち上げ、部長の重責を任せてからも、その御姿勢は変わっておりませんでした。

一方、国際学会では *natives speaker* と同様の英語を話され、本当の *discussion* のできる数少ない日本人の一人であり、また多くの英文文献を投稿されておられました。現場で患者さんを第一に考えて診療する姿勢で多数の医師を指導し、学生さん相手にも忙しい合間を縫って、ダビンチコードを英文で読むユニークなご指導されたりするなど、旭川医大で誰よりも忙しい方でしたが、すべての面に手を抜くようなことはありませんでした。

さらに、一時は病院長補佐としても活躍され、問題山積みであった外来を現在の機能的な形にされたり、自ら救急部を立ち上げられと、短期間に多数の患者と救急車が来院して、救命救急センター化を実現させたことなど、語りつくせぬ実績を残されたことは言うまでもありません。そこにはいわゆる医局や大学の従来の枠にこだわらない先見の明と、たとえ対立する関係であってもあくまでも一緒にやっというところとされる融和性があり、一人の医師としても、指導者としても経営者としても卓越された存在であったことは皆さまがご存じのとおりです。

このようなお仕事ぶりからは お体を悪くして当然と思われますが、50 歳ぐらいまではバスケットで鍛えた、体育会系の体力を存分に振舞われていました。一転、数年前からはすっぱりと禁煙し、自然な減量をされ、ご健康にも気をつけていらっしゃる様子が窺え、私共も安心して矢先の出来事でした。

手術中、特に心臓の手術の時は、6-8 時間ぐらいかかる長い手術が多いのですが、本当に集中を要するのは心臓が停止している 2-3 時間です。その他の間は、郷先生はもととお話し好きであるのか、回りの緊張を和ませようと意識されたのか、術者の時も、助手としてご指導されている時も、よくお話をされてました。郷先生の話題は大変豊富で、ご専門の心臓外科の具体的な技術に関することはもちろん、それに携わる古今東西にかかわる人々の人物論から、留学時代の生

活上での面白い話、国際学会でのいろいろなエピソード（旧体制下のロシアでホテルの部屋を夜中に抜け出しお酒を飲み、街に出た、トルコで白タクにひっかかりそうになった）、宇宙のあり方を始め物理学にも詳しく、中国の古典的な出来事や、アメリカの小説の話などまさに博学多才のお方でした。一方観るスポーツに関しては軽度のヤクルトファンであるくらいでありご興味はないようでしたが、F1グランプリだけは例外で、いろいろ話をされるのですが、残念ながらあまり話についていけない人がなくて、もの足りなかったようにお見受けしました。芸能界に関しては全くご興味がないようでしたが、一度だけ、夜中にたまたまやっていたドラマを観られたのか、ポツリと「酒井のり子さんて、きれいだね。」と言われたことがありました。その後の一連の出来事を知らないまま逝かれてしまった郷先生がどのように思われたか、将来是非お聞きしたいと思っております。

郷先生が急逝されてから早や半年が過ぎました。あっという間の半年であったと思います。

郷先生とは、私が旭川医大の麻酔科に呼んで頂いてからのお付き合いとなりますが、はじめは、麻酔科医と、心臓外科医として手術室で、覆布を挟んで、「心臓の張りはどうですか？」などという会話からスタートしたのではないかと思います。郷先生が救急医学講座の教授になられた後で、旭川医大の古い手術室のラウンジで、「先生は救急とか好きですか？」と突然質問されたのが、その後、郷先生の下で働かせて頂くことになったきっかけでした。

郷先生の下で働かせて頂くことになったとき、

郷先生「先生は何をしたいですか？」

藤田「オブジョブトレーニングを広げたい」

郷先生「それは大切なことなのでぜひやって下さい。応援しますよ」

と言う会話があった後は、色々と好きなことをやらせていただけてきました。JATECと言う外傷初療のコースを北海道で4年以上開いていない状態が続いていたときに、

藤田「このコースは必要と思うのでぜひ北海道で開きたいのですが問題は赤字になると言うことが最初からわかっていることです。」と相談したときには、

郷先生「大事なことなのでお金は気にしないでいいですよ」と言っていただきました。そのおかげで北海道でもコースが開催できるようになり、その後は、旭川医大だけではなく、北海道大学、札幌医科大学とも協力して、毎年コースを開催できるようになりました。

メディカルラリーといって、医療従事者がチームを組んで、色々な課題（外傷、多重傷病者、NBCテロ）に取り組み技能、チームワーク等を競い合う競技会があります。

藤田「チーム医療を意識付けるためにメディカルラリーをやりたいので、先生発起人をお願いします」

郷先生「それはいいことだから引き受けますよ」と郷先生に引き受けていただいてから北海道メディカルラリーは今年第5回目を迎えました。

大規模災害に対して、DMAT (Disaster medical assistant team) と言って、医師、看護師、事務職がチームを組んで、災害の起きていない地域から、災害の起きているところへ応援に行くと言う厚生労働省が取り組んでいる事業があります。

藤田「旭川医大もこれに参加しませんか？」

郷先生「いいね、僕も隊員になるよ」と言っていた旭川医大にもDMATチームが出来上がり、今年は、防災の日に自衛隊の飛行機に乗って岡山まで行くほどになりました。郷先生がいらっしゃれば、きっと僕が自衛隊の飛行機に乗るとおっしゃったのではないかと思います。

郷先生が亡くなられてから、色々な仕事を代理としてやらせていただいています。地域医療連携室のMSWの方と色々な病院を回り、患者の受け入れをお願いすることもそのひとつです。忙しかった郷先生がこんなにも色々な病院を回られていたと聞いたときには驚きました。また、ドクタージェットの事業が本年9月に行われるのですが、行く先々で郷先生が提案されていた事業がようやく本格化しました、ぜひ旭川医大もお願いします。と言われます。本学にも救命救急センターが出来上がることになりましたが、これも郷全盛の悲願のひとつでした。色々な問題が山積する中、郷先生であつたらどうしたんだろうかと考えながら仕事を進めていますが、たまには郷先生からお返事がないときもあり、きっと天国でもお忙しいのだらうな

と思っています。この救命センター化推進のために郷先生は北海道等の救急関係の協議会、役員等を色々とされていました。これを全部やっていたの？と思うほど色々なお仕事をこなしていられたようです。色々なところに代理ででると、あちこちに郷先生の匂いが残っています。こんなことは郷先生がやられていな

いだろうと思うような仕事にもやはり郷先生の匂いが残っているようです。

これからは、郷先生の香を探すことが、すなわち色々な仕事を進めていくことになると考えています。先生の夢を我々がひとつでも叶えられるようみんなががんばりたいと思います。

追 悼

追悼 藤枝憲二 先生

棚 橋 祐 典*

旭川医科大学小児科学講座教授 藤枝憲二先生が平成 22 年 3 月 19 日に逝去された。藤枝憲二先生は、昭和 22 年 3 月 29 日に北海道札幌市に生まれ、昭和 46 年 3 月に北海道大学医学部を卒業、その後北海道大学医学部付属病院にて臨床研修（小児科）を受けられた。昭和 51 年 3 月に北海道大学大学院医学生理系を修了され、医学博士の学位を授与された。その後、北海道大学医学部付属病院にて小児科医員として勤務され、昭和 52 年 9 月からカナダの Children's Hospital of Winnipeg、米国 NIH の Endocrine Research and Reproduction Branch に留学され、昭和 56 年 4 月に帰国し、札幌厚生病院小児科医長、北海道大学医学部小児科助手、同大学小児科講師を経て、平成 12 年 11 月に旭川医科大学小児科学講座教授に就任された。

藤枝先生は、小児科学、特に小児内分泌学・代謝病学を専門とし、多くの研究業績を挙げられた。本稿では心からの追悼の意を込めて先生のその偉大な業績を振り返ることとしたい。

先生の研究テーマの中心は大学院、外国留学時代から一貫して「副腎」であった。特に先天性副腎疾患や性分化疾患に関しては、臨床的研究のみならず、分子遺伝学的研究に力を入れられ、本邦における先天性副腎疾患の遺伝子異常を数多く同定し、病態解明に寄与された。さらに、P450 oxidoreductase (POR) 異常症という新たな疾患概念を打ち立てる分子基盤を世界に先駆けて発見された。このように藤枝先生は、副腎・性分化異常症の臨床および研究に関しては日本のみならず世界の第一人者であった。それらの数多くの研究業績の中から臨床的研究と分子遺伝学的研究のうち、代表的なものを紹介することとする。

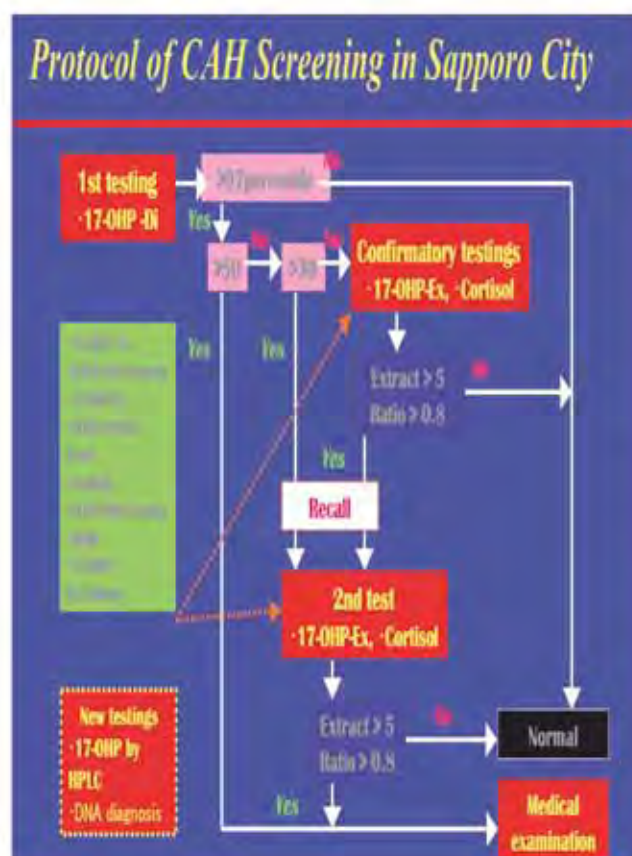
1. 先天性副腎過形成症に対する新生児マススクリーニング体制の構築・確立

先生が留学から帰国され北海道大学小児科に勤務されていた時代には、まず先天性副腎過形成症のマススクリーニングに関して先駆的な臨床研究がなされた。先天性副腎過形成症は副腎皮質におけるステロイドホルモン合成に関わる酵素の先天的な欠損によって起こるため、放置されれば急激な副腎不全によって死亡する疾患である。この難病を克服するためには、早期診断とステロイド補充のできるだけ早期の治療開始がきわめて重要であった。そのような理由から、先生はこの副腎皮質過形成症における新生児マススクリーニング体制の確立を神奈川県立こどもセンターの先生方とともに日本で最初に取り組みされた。

生後 5 日の新生児から採取された濾紙血からマーカーとなるステロイド中間産物である 17OHP を測定するために、まず先生は 17OHP 抗体を精製され、そのアッセイ系を確立された。さらにこの 17OHP 測定値とコーチゾル値を組み合わせ、スクリーニングするという方法を確立した。この方法は副腎皮質過形成症のマススクリーニングのプロトタイプとして（札幌方式）、現在までに全国に広く普及し、本症の早期診断・治療の進歩に大きく寄与している。なお、欧米小児内分泌学会にて本症におけるマススクリーニングのコンセンサスミーティングに先生は日本の代表として出席し、世界からも高く評価された。

先生は分子生物学的解析法をいち早く取り入れて、

*小児科学講座



副腎疾患に対する分子遺伝学的解析から新たな知見を得た。特に、副腎不全を呈する疾患の病因・病態に多様性があることを明らかにした。

副腎不全を呈する疾患には、ステロイド生合成障害、副腎形成障害、副腎破壊によるものがある。このうちステロイド生合成障害を呈する疾患（副腎皮質過形成症）が多くみられ、そのうち発症頻度が高いものは先天性 21 水酸化酵素欠損症であるが、次に多くみられるのがステロイド生合成の律速段階の異常であるリポイド過形成症であり、先生はこの疾患について精力的に解析をおこない、その病態に多様性があることを明らかにされた。さらには、21 水酸化酵素欠損症に類似するが、新規の先天性副腎過形成症に分類される疾患単位として、P450 oxidoreductase (POR) 異常症を世界で初めて先生らによって提唱された。

2. リポイド過形成症について分子遺伝学的検討

本症は、ステロイドホルモン合成の律速段階にある

コレステロールよりプレグネノロンへのステロイド合成過程が先天的に障害されるために発症する。その病因として、1995 年に ACTH に反応して生成されるコレステロール輸送に関わる StAR がその責任遺伝子として同定された。さらに 2001 年にコレステロール側鎖切断酵素 (P450scc) の異常も同定され、リポイド過形成症は StAR と P450 scc 二つの異常によって発症する疾患であることが明らかにされた。現在まで同定されている症例のなかで、StAR 異常症が主に同定され、P450scc 異常症はきわめて稀である。

1) StAR 異常症

従来、本性は副腎および性腺におけるすべてのステロイドホルモンが合成できることから生後早期から重篤な副腎不全症状が現れ、外性器は遺伝的性に関わらず女性型を呈する疾患と考えられていた。しかし、StAR 異常症の中中に古典型の他に遅発型と思われる症例が同定され、さらには外性器異常のない症例が見いだされ病態の多様性があることが明らかになった。先生はこのような症例を報告し、その病態の多様性には残存活性の違いなどがあるのではないかと考察を加

え、StAR 異常症の病態解明に貢献した。

また、本症における日本人の遺伝子異常をまとめ、報告した。現在までに StAR 遺伝子異常として 20 種類を超える変異が同定されているが、日本人では 9 種類を超える変異が同定された。そのうちエクソン 7 のコドン 258 が終止コドンに変わる変異 (Q258X) をホモあるいはヘテロで有する患者が約 70% にみられることを明らかにした。さらに、同じ変異が韓国人患者でも多くみられることが、疾患の起源が同じであるこ

とが示唆されている。

2) コレステロール側鎖切断酵素 (P450_{scc}) 異常症

P450scc は胎盤に存在し、妊娠継続に必須なプロゲステロンの産生に関与するため、従来は P450scc 異常症が存在しないと考えられていた。先生らは、その軽症例が見いだされたことをきっかけに、P450scc の遺伝子解析をおこない変異を報告した。現在までに 7 症例が同定されているが、これらは 1 症例を除き、いずれも軽症例で遅発型の副腎不全発症を示している。先生が報告した一例はそのプロトタイプとなる貴重な症例であった。

3. P450 oxidoreductase (POR) 異常症という新たな疾患概念の確立

P450 oxidoreductase (POR) は、ミクロソームの電子伝達を支配し、すべての P450 酵素あるいは複数の非 P450 酵素の補酵素としてはたらき、これらの酵素の活性化に必須である。この POR の異常により、POR 支配下の P450 酵素の複数型異常症が起こることが先生らによって世界で初めて明らかにされ新規の疾患単位として確立された。

従来 Antley-Bixler 症候群は、頭蓋骨早期癒合、上

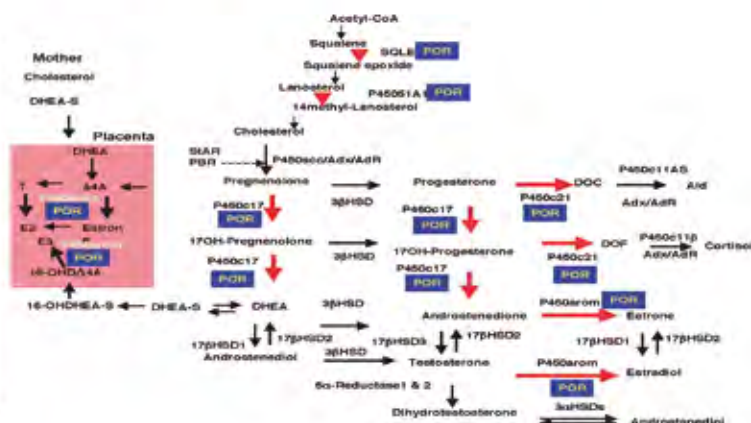
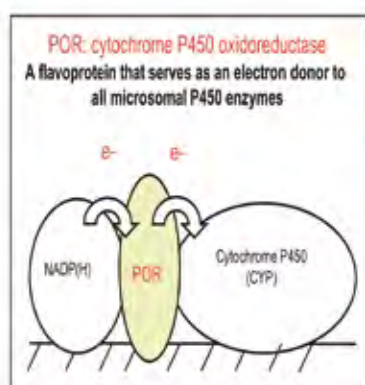


P450 Oxidoreductase 欠損症
男女共通の性分化異常を招く
先天性副腎過形成症に分類される新規遺伝子疾患

FJück C, Tajima T, Pandey AV, Arlt W, Okuhara K, Verge CF, Jabs EW, Mendoca BB, Fujieda K, Miller WL:

Mutant P450-oxidoreductase causes disordered steroidogenesis with and without Antley-Bixler syndrome

Nat Genet 35:228-230, 2004



腕骨橈骨癒合などの先天性骨系統疾患をもち、さらに外陰部異常を伴い、しばしば軽症の副腎不全ともなう症例とそうではない症例が報告されていた。このうち、外陰部異常をともしないものは常染色体優性遺伝形式を示し、FGFR2 のヘテロ変異が同定されていた。

一方、外陰部異常をともしない、しばしばステロイド合成異常を合併し、常染色体劣性の遺伝形式を呈する疾患の病因は不明であった。先生は、このような症例を経験し、この POR に着目して、直ちに遺伝子解析をおこなったところ、POR 遺伝子異常を世界で初めて同定し、この疾患の責任遺伝子であることを確定した。この業績は 2004 年 *Nature Genetics* に発表された。

その後、先生は日本人における POR 異常症の全国調査を統括され、以下の重要な知見をもたらした。その報告では、① POR の FAD ドメインに存在する R457H 変異が多くみられる ②臨床症状では、副腎不全、外陰部異常、性腺機能低下、先天性骨系統疾患(頭蓋骨早期癒合、上腕骨橈骨癒合など)、患者妊娠母体では男性化などがみられる ③副腎病変は、通常の生活では副腎不全症状をみることはないがストレス下で顕在化する ④骨異常に関しては、ある程度残存酵素活性の程度と相関することが示される。これらの知

見は、POR 異常症の早期診断と病態解明に大きく貢献することとなった。

以上のように、藤枝憲二先生の研究業績は、副腎疾患の病態解明および治療体制の確立において輝かしいものがある。同時に先生は、長年厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業の「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班の研究代表者として研究班をまとめ、稀少疾患である副腎酵素欠損症、先天性副腎低形成症、アジソン病、偽性低アルドステロン症、グルココルチコイド抵抗症、原発性アルドステロン症を対象疾患に全国調査を行い、診断の手引き、治療の手引きを作成し、難治性疾患の医療行政に多大な業績を残した。

さらに、学会活動では、日本小児内分泌学会、日本内分泌学会、日本小児科学会において精力的に活動された。日本小児内分泌学会では理事長として、国内外の多施設共同研究の促進、若手研究者の育成、国際交流の促進に特に力を注ぎ、小児内分泌学の臨床・研究面において多くの貢献をされた。

最後に、藤枝憲二先生のご冥福を心からお祈りして、この稿を終わらせていただく。

学界の動向

第 49 回日本核医学会学術総会報告

油 野 民 雄*

平成 21 年 10 月 1 日（木）～ 3 日（土）、旭川市民文化会館と旭川グランドホテルを会場として、第 49 回日本核医学会学術総会と第 29 回日本核医学技術学会総会学術大会を合同開催した。

これら二つの学会の合同開催は、前年の千葉市幕張メッセでの開催から実現したものであり、今回が二回目である。合同開催のメリットは、核医学診療（がん、脳血管障害や認知症を含む脳神経疾患、心臓疾患、その他の疾患などラジオアイソトープを用いた診断と治療）に従事する医師と技師、および関連する臨床医学・分子生物学・生化学・数学・物理学・工学・薬学・情報科学・予防医学といった幅広い分野の研究者などの関係者が一堂に会して、核医学の更なる発展に向けた実りある議論ができることである。開会式では、「核医学医師と技師とのフュージョン」を念頭に、日本核医学会学術総会会長の油野民雄と高橋正昭・日本核医学技術学会総会学術大会会長（中村記念病院）とが、それぞれ「核医学診療歴 37 年の出会い」と「合同開催にあたって～ 30 年の技師生活を振り返ってみると～」の講演を行い、核医学の更なる発展には核医学医師と核医学技師の密接な協力関係が不可欠であることを強調した。

今回の合同開催のメインテーマを「核医学－再発見と技術革新」とした。分子イメージングや CT や MRI の形態画像と PET や SPECT の機能画像とのフュージョン（融合）といった最新的话题を取り上げるとともに、PET 検査が脚光を浴びている一方で施行頻度がやや減少した感を抱かせる SPECT 検査の有用性を再強調できるようなテーマも取り上げた。また、次代の核医学を担う後継者の育成に繋げる意味で、将来有望な

若手核医学医師のなかから六名を選び、領域を定めずに、現在取り組んでいる研究を自由に発表してもらうシンポジウムを企画した。さらに、日常の核医学診療で最も多く使用されているラジオアイソトープは Tc-99m であるが、昨今の世界的な Tc-99m 供給の逼迫状況を受け、「Tc-99m 製剤を用いる核医学診療－クライシスから学ぶ教訓と今後－」の緊急合同ワークショップを急遽開き、Tc-99m 安定供給の問題に関する注意喚起を行った。

一方、今回の合同開催が地方都市である旭川で行われたことから、「旭川からの情報発信」をテーマとして二つの特別講演を企画した。旭山動物園の小菅正夫名誉園長による「地球環境と動物－地球危機種の保存と旭山動物園の取り組み－」と、本学の吉田晃敏学長による「ICT と医療の融合」である。「地方から全国への、更に全国から海外への情報発信」のかたちで、将来への生き残りをかけた旭川の取り組みが紹介された。

リーマンショックに起因した世界的不況下および新型インフルエンザ蔓延期に開催された学会であったが、全国から 1,700 名を超える参加者がみられ、また天候にも恵まれ、さらに西川将人・旭川市長による開催都市を代表した歓迎の挨拶も得られ、主催者側としては成功裡に終了したと思っている。

なお学会終了後翌週の 10 月 10 日（土）午後、旭川大雪クリスタルホールで市民公開講座を開催した。「がん診療における核医学～その最前線」をテーマとして、我が国の死因の第一位である“がん”を取り上げた。最初に、市民にとって馴染みの薄いと思われる「核医学」に対して、「核医学診療って、なーに？」という

*旭川医科大学放射線科

タイトルで、核医学の概念を分かり易く説明した。引き続き、「PET-CT によるがんの診断」のタイトルで、がんの画像診断で昨今話題となっている PET/CT を取り上げた。最後に、「ラジオアイソトープによるがんの治療」のタイトルで、放射線治療の一つの方法であ

る内用照射療法を紹介した。今回、40 名近い参加者が得られたが、「旭川市で PET/CT による検診も受けられないのか。」といった質問などが飛び出し、市民公開講座でも主催者側の意図した結果がほぼ得られたと思っている。

学界の動向

第 15 回日本糖尿病眼学会報告

石 子 智 士*

第 15 回日本糖尿病眼学会総会を、旭川医科大学吉田晃敏学長を会長に、平成 21- 年 12 月 5 日（土）、6 日（日）の両日、名古屋国際会議場で開催致しました。今回は、第 48 回日本網膜硝子体学会総会ならびに第 26 回日本眼循環学会との合同で、Nagoya Ophthalmic Week (NOW) 2009 の一部として開催されました。



本学会は、日本臨床眼科学会の専門別研究会から発展した学会です。眼科医のみならず内科医など糖尿病とその合併症に関する医師およびケアを行う看護師などの医療者を対象としており、眼科領域の医療者のみを対象とした専門学会とは趣が異なり、多角的な視点から糖尿病を学ぶことのできる学会として位置づけられています。

今回の特別講演は、東京大学の門脇孝先生にお願いしました。「糖尿病の成因と治療戦略—網膜症を含めて」と題した講演で、将来のテーラーメイド医療や再生医療の展望にも触れながら糖尿病に関する最新の情

報を伺うことが出来ました。この分野では世界的権威の先生ですが、我々眼科医が講演を聞く機会はなかなか無く、会員からも好評でした。

本学会独自のシンポジウムは、「眼科医のための知ってもらいたい糖尿病合併症」で、旭川医大の羽田勝計先生と名古屋大学の中村二郎先生にオーガナイザーをお願いしました。腎症、神経障害の診断と治療、糖尿病および合併症の実態に関する大規模研究の概説など、網膜症以外の糖尿病合併症についての勉強をさせて頂きました。これらは、他の眼科の学会ではなかなか聞けない内容であり、糖尿病眼学会ならではのシンポジウムと思います。

また、コメディカルを対象とした研修シンポジウムは「エンパワメントは心である」で、済生会新潟第二病院の安藤伸朗先生と東京都済生会中央病院の松岡健平先生にオーガナイザーをお願いしました。心療内科的あるいは心療眼科的アプローチにより、如何にして糖尿病患者と向き合うかという問題を、今一度我々医療従事者に問いかける内容でした。

さらに、3 学会合同シンポジウムの一つとして、「糖尿病網膜症—病態研究と治療の進歩—」を、東京女子医大の岩本安彦先生と山形大学の山下英俊先生にオーガナイザーをお願いして行いました。糖尿病網膜症に関する病態研究、診断と治療の進歩、そして遺伝素因について最新の情報を学ぶことができました。

本学会と合同で開催された日本網膜硝子体学会では、優秀な若い研究者に与えられる「田野 Young Investigator's Award」を、旭川医大の長岡泰司先生と大阪大学の辻川元一先生が受賞されました。長岡先生はすでにこの分野の第一人者ですが、これからの

*旭川医科大学 医工連携総研講座

眼循環学会発展にいかに関心されているかが伺えます。

また同様に合同で開催された日本眼循環学会のシンポジウムのひとつ「薬物と眼循環」では、旭川医大眼科の高橋淳士先生が「内服薬、点眼薬による眼循環への影響」について講演しました。

3学会合同教育セミナーとして、「眼底画像診断の進歩」をテーマに、「蛍光眼底造影検査」、「OCT（光干渉断層検査）」、そして「最新検査」の3つのセミナーを行いました。眼科臨床で古くから使われている検査法から最新の検査法まで、基本を見直しこれらの検査をどのように使いこなすのか、そして新しい検査法で何がわかるようになったのかを知ることができるものでした。このうち「最新検査」のひとつとして、私もSLO（走査レーザー検眼鏡）に関する講演をさせていただきました。

共催セミナーとしては、3学会全体で2つのモーニングセミナーと9つのランチョンセミナー、4つのイ

ブニングセミナー、そしてフェアウェルセミナーがありました。私もモーニングセミナーに呼ばれ、最新のSD-OCTに関する講演をさせていただきました。

今回、3つの学会を合同で開催いたしましたが、日本糖尿病眼学会は会員数約900名、日本網膜硝子体学会は約2,500名、日本眼循環学会は約450名の会員を有しています。糖尿病眼学会総会単独開催では例年700～900名の参加人数のところ、今回は全体で1,717名の参加を頂きました。ここにあらためて、第15回日本糖尿病眼学会総会開催のため本学関係者から頂いたご支援、ご協力に、心から感謝致しますとともに、本学会を盛会裡に終了できましたことを厚くお礼申し上げます。

なお、平成23年度遠隔医療学会学術大会を、「遠隔医療の最前線」のテーマのもと、旭川医科大学吉田晃敏学長を会長として、平成23年10月14日（金）、15日（土）旭川グランドホテルを会場に開催いたします。御支援の程、何卒よろしくお願い申し上げます。



合同開催した3学会の各大会長と事務局長・スタッフ

学界の動向

「第 79 回日本寄生虫学会大会」を終えて

伊 藤 亮*

平成 22 年 5 月 20, 21 日、旭川市大雪クリスタルホールを会場として第 79 回日本寄生虫学会大会をお世話した。昭和 61 年（1986 年）に第 55 回大会が北海道大学獣医学部の大林正士教授によって北海道大学（札幌）で開催され、24 年ぶりの北海道での、また旭川では初めての大会開催となった。教室員全員がそれぞれの役割を分担し、手作りの学会を盛り上げたことにまず、感謝したい。

約 300 人近い参加者のもと、2 日間朝から夕方まですべての発表を口演とした。若手研究者の研究推進、活性化を目的とする若手研究者ベストプレゼンテーション賞コンペを第 1 日目の午前の部に振り当て、出席者全員の投票により優秀賞 3 人を選出した。午後の部は昼食をはさんで、評議会、総会、表彰式、一般講演と続き、本大会の目玉である英国人研究者 2 名による特別講演を懇親会直前に実施した。2 日目も学会員への公募提案に基づく 2 つのワークショップ（顆粒球－寄生虫感染における好酸球と好塩基球－、パイオイメージングによる寄生虫－宿主間の動態可視化の新展開）を夕方の閉会式直前の時間帯に実施した。特別講演 2、ベストプレゼンテーション賞候補演題 9、ワークショップ演題 10、一般講演 155、計 176 演題が発表され、充実した質疑応答が交わされた。多くの参加者からは最初から最後まで珍しく大会に参加したという感想が多く寄せられた。これは大会第一日目に比較的面白い発表が集中することを避けたプログラム作成の成果と判断している。内容が充実した口演が多く、また若手研究者、さらに海外からの留学生の発表も多く、国際色豊かな大会であった。プログラム委員会の委員の先生方に感謝である。

ベストプレゼンテーション賞コンペでは、マラリアをはじめとする原虫疾患から蠕虫疾患までを網羅する形で、分子生物学、生化学、免疫学、進化学的成果が報告された。寄生現象、寄生虫の生存戦略と宿主の防御戦略のせめぎ合いが分子、遺伝子、自然免疫、新しいナチュラルヘルパー細胞の同定と寄生虫感染防御における機能、共進化といった観点から論じられた。投票により、慶応大学医学部の茂呂和世さん (The role of natural helper cell in *Nippostrongylus brasiliensis* infection) はじめ 3 人が受賞した。

特別講演者として、英国王立熱帯医学協会・前副会長、現 WHO 結核その他の治療薬評価委員会委員長、寄生虫学関係の専門誌 *Experimental Parasitology* 編集長の John R Horton 教授とサルフォード大学 Philip S Craig 教授（前 WHO エキノコックス症非公式作業部会・部会長）に、それぞれ *Putting protozoan diseases into perspective as neglected diseases, Re-emergence of cestode zoonoses* と題する講演をお願いした。Horton 教授はケンブリッジ大学医学部卒業、外科医としての研鑽を積み、いくつかの若手外科医に与えられる賞を頂いた後、基礎医学、感染症、特に寄生虫疾患に関する治療薬開発に転向された。エキノコックス症の治療薬であるアルベンダゾール（エスカゾール）の開発責任者として有名であり、伊藤とは 1993 年以来旧知の仲である。

Craig 教授は獲得免疫機構における T 細胞を発見した Graham F Mitchell 教授（メルボルン大学ワルター・エリザホール医学研究所寄生虫部・部長）、条虫感染におけるワクチン研究で有名な Mike D Rickard 博士（メルボルン大学獣医学部）と条虫感染免疫学に関す

*旭川医科大学寄生虫学講座

る研究を展開し、条虫感染における疫学研究への免疫診断法の導入、特に糞便内抗原検出研究のパイオニアとして活躍してきている。伊藤がメルボルン大学に留学した1985年以来の研究仲間である。米国立衛生研究所(NIH-RO1)研究費「感染症の伝播生態、疫学研究：中国におけるエキノコックス症伝播生態、疫学研究」(2000年から5年+3年、計8年間)の代表者であり、伊藤は免疫診断、遺伝子解析の責任者としてNIH-RO1プロジェクトに参加した。現在も、NIH-RO1プロジェクトの総まとめ的な論文を共著論文として準備している段階である。また、伊藤が代表である幾つかの文科省、学術振興会研究費による「アジアにおけるエキノコックス症、囊虫症対策研究」にも協力者として参加しており、本年10月23日からの中国四川省チベット民の居住地域におけるテニア症、囊虫症疫学調査にも招聘する。

お2人には全く異なる寄生虫疾患、原虫病と蠕虫症それぞれについて地球規模での問題点を話していただき、参加者の認識、特に地球規模での問題点についての認識を新たにさせていただいたと確信している。

大会直前にアイスランドの火山噴火が深刻化し、イギリスのみならずヨーロッパ全域で空港閉鎖になり、特別講演者の来日が危ぶまれたが、Horton教授は予定通りにヒースロー空港を、Craig教授は1日遅れでリバプール空港発をマンチェスター空港発に切り替えて脱出できたことは奇跡的であった。旭川空港でお2人の元気な顔を見るまでは気が気でなかった。

会期をいつにするか、会場をどこにするか、参加会員数が何人ほどになるか等を教室員がシミュレーションし、その資料を学会理事会に提出し、大会費を決定した。晴れの日が多い平日(週末を旭山動物園を楽しんでもらう)という設定で、5月20、21日に大会を、20日夕方からの懇親会を北海道らしくバーベキュー主体に、クリスタルホール中庭(ただし、雨天の場合は変更)で実施することにした。しかし、20日当日

の朝方まで雨が残り、夕方の懇親会をホール中庭から屋内に場所を変更さざるを得なかったが、屋内会場に入りきれないほどの会員が参加し、盛会に終わったことも感謝である。吉田晃敏学長には、札幌出張直前の超多忙な中、懇親会に参加していただき、歓迎の挨拶をしていただいた。ここに改めて御礼申し上げます。大会場の周辺にレストラン等が少なく、大会2日間とも、主催者側として弁当を参加者全員分準備したことも参加者から好評を得た。

2005年7月に文科省科学技術振興調整費により「エキノコックス症、囊虫症に関する国際会議」(旭川医科大学研究フォーラム 2005; 6 (1): 84-86; *Parasitology International* 2006; 55 Supplement: 1-312)を寄生虫学講座でお世話した経験が十分に生かされたと判断している。2010年から新たに振興調整費による「アジア・アフリカ科学技術協力の戦略的推進、国際共同研究の推進：難治性寄生虫病に関する遺伝子診断法の開発」が展開されることになっており、国際共同研究をさらに発展させ、同時に国内外で手作りの会議を計画しないといけない模様である。今回の学会主催の経験を基にこれらの会議も乗り越えられると信じている。

今回の大会開催にあたり、旭川で初めての寄生虫学会大会であったにもかかわらず、本学の先生方に招待状を差し上げることを失念したことは私の大失態であった。本学内での寄生虫学講座の研究・教育活動の重要性をさらにご理解いただくうえでも、また主に寄生虫学、熱帯医学を専門とする大会参加者の先生方と学内の先生方との旧交を温めていただく折角の機会を設営できなかったことをお詫びします。

難治性寄生虫疾患、特にエキノコックス症、脳囊虫症に関する *only one* の寄生虫学講座の継続的な総合的研究の展開を可能にした本学からの支援、特に久保良彦第5代学長並びに吉田晃敏第7代学長に感謝し、学会報告とさせていただきます。

学界の動向

第 88 回北海道医学大会 腫瘍系分科会 (第 95 回北海道癌談話会例会) を終えて

谷 口 隆 信*

北海道癌談話会は昭和 49 年に設立され、癌の研究や診療・治療に携わる会員の交流を通して、北海道における癌の研究や臨床の発展を目指してきました。北海道の医系 3 大学が持ち回りで担当して参りましたが、今回旭川医科大学生化学講座が主幹となり、2008 年 9 月 6 日(土)に、第 88 回北海道医学大会 腫瘍系分科会(第 95 回北海道癌談話会例会)を旭川医科大学看護学科大講義室にて開催致しました。

演題は、特別講演 1 題と一般演題 25 題の計 26 題で、特別講演は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)の高後教授による「消化器癌のリスクファクターとその対策」を御願ひ致しました。胃癌や大腸癌をはじめとする消化器癌は肺癌と並ぶ主要な癌であり、その予防について、最新の分子レベルの知見に基づき、紹介して頂きました。

また、全体を次のように 7 つのセッションに分け(プログラム進行順)、それぞれの座長を旭川医科大学の若手の先生方に御願ひ致しました。

1. 腫瘍免疫
竹内 助教(生化学講座 細胞制御科学分野)
2. 血管内皮前駆細胞
水上 先生(内科学講座 消化器・血液腫瘍制御内科学分野)
3. 化学療法
鳥本 先生(腫瘍センター)
4. 腫瘍化機序 1
河野 先生(外科学講座 消化器病態外科学分野)
5. 腫瘍幹細胞
片山 先生(耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座)
6. 腫瘍化機序 2
柳沼 先生(病理学講座 腫瘍病理分野)
7. 腫瘍化機序 3
大崎 先生(呼吸器センター)

興味深い演題に対して活発な討論が行われ、盛会となりましたこと、あらためて、演者や座長の先生方に御礼申し上げますとともに、裏方となって準備・運営を支えてくれました教室員に深く感謝致します。

*旭川医科大学 生化学講座 細胞制御科学分野

学生のページ

旭川エリア合同学生自主組織「はしっくす」に関して

佐藤 裕基* 土岐 圭佑** 鈴木 美紗*

1. はじめに

旭川ウェルビーイング・コンソーシアム学生会議「はしっくす」は、母体となる旭川ウェルビーイング・コンソーシアムの設立から約半年後の平成 21 年 4 月より活動を開始している。旭川ウェルビーイング・コンソーシアムの構成校である、旭川医科大学、旭川大学・同女子短期大学部、北海道教育大学旭川校、東海大学旭川キャンパス、旭川工業高等専門学校（以下、連携校とする）の学生が連携し、プロジェクトを推進することが大きな特徴の一つである。

本稿では、この「はしっくす」の約 1 年半の取り組みを振り返ると共に、学生や若者がどのように旭川という「地域」に対して貢献できるかを考えたい。

2. 各プロジェクトの状況について

これまで「はしっくす」では、いくつかのプロジェクトを企画・遂行してきた。ここでは、代表的なプロジェクトをまとめながら、「はしっくす」の活動に対するレビューとしたい。

2-1. 「学生による学生のためのキャンパスフェスタ」の開催

このプロジェクトは、中高生にとって、大学生や短大生、高専生の実際の生活は、みえづらい場面があるというニーズからスタートした。中高生にとって高等教育機関への入学は一つの「受験」としての意義があると同時に、新しい「生活」のスタートでもある。これまでは、どちらかといえば「受験」に比重をおいた「学校紹介」が行われる場面が多かったが、このプロジェクトでは、逆に「学校生活」の方を中心とした形式で

企画した。高等教育機関の実際の学生が企画を主催することにより、学生の「生の声」を伝えようという考えた。

実際の学生生活がイメージできれば、自ずと受験に対するモチベーションの向上につながると同時に、最近話題となっている高校・大学・短大・高専への橋渡しとしての役割を一部担うことも可能になると考えた。

実施においては、各連携校の学生が、学生生活や教育機関での勉強・実習の様子を伝える展示や企画を行うと同時に、その一部を実際に体験する「アクティビティ」、さらに各連携校の教員による模擬講義を行った。

各連携校とも、学校行事などの時期が必ずしも一致しておらず、かつ中学・高校の行事なども加味すると、実際の開催日程が定まりづらかったものの、各校の学生と教職員の協力により、「具体的な学生生活をイメー



図 1 平成 21 年度の『学生による学生のためのキャンパスフェスタ』の様子

*旭川医科大学 医学部医学科 **北海道教育大学大学院 教育学研究科

ジできた」と回答する参加者、そして「次回も参加したい」と回答する参加者が9割を超えるなど、中高生が、地域の高等教育機関に興味をもち、進学を選択肢として大きく浮上したことが明らかとなった。

2-2. 「全道連携ゴミ拾い」への参画および主催

「全道連携ゴミ拾い」は、札幌、江別の2地域と「はしっくす」が合同となって企画した取り組みである。「ゴミ拾い」自体、現在道内でも様々な地域で行われているが、実際に「ゴミ拾い」が環境向上に役立つ、あるいは環境問題を解決する糸口になっていると感じられる場面が少ない。それは、「ゴミ拾い」自体が地域（ローカル）を主体とする取り組みである一方で、環境問題はグローバルな問題であるからである。

この「ローカルな取り組み」と「グローバルな問題」を結びつけ、北海道全体としての環境問題の解決を図り、なおかつ、「ゴミ拾い」という実際の行動と「環境問題」という（地理的、分野的に）広い視野を身につけようと、「はしっくす」と上記2地域を加えて行った。

上記の目標を達するためには、「同じ時間を全道で共有する」ということが、（肉眼では見えない）各地域を結ぶために必要であると思われ、平成22年5月8日に道内3地域で一斉にゴミ拾いを行うこととした。また、各地域が持続的に環境を向上させる（あるいは維持する）ためのワークショップを行うこととした。これは「キレイな（町・地域名）を作るキャッチフレーズ」を作るワークショップとして、ゴミ拾いにひき続いて行った。

「はしっくす」では、これまでゴミ拾いに関し多くの実績を残している東神楽町の共催、協力を得て、当日も東神楽町民の皆様と河川敷の清掃活動を行った。また、ワークショップで決定したキャッチフレーズについては、東神楽町の町長である川野恵子氏に手渡され、町役場に掲示していただくこととなった。

これまでも「学生主体のゴミ拾い」は全国各地で行われてきたが、「ゴミ拾い」という行動と、その背後に存在する環境問題や、個々人の意識に踏み込んだ企画は少なく、この点では本プロジェクトは評価できると考えている。しかし、実際には、このような環境活動は継続性を持つことが重要であり、今後の取り組みが実ってこそ、はじめて今回のプロジェクトが評価可



図2 平成22年度の『全道連携ゴミ拾い』の様子

能となるものと思われる。

2-3. 「あさひかわミュージックフェスタ」の開催

地域の人々にとって、高等教育機関の研究内容や学生の活動内容は不透明な部分も多いことが考えられ、今後、それらの面をさらに広く地域の人々に発信していく役割を「はしっくす」では、担うことが出来ると考えた。そこで「はしっくす」では、「音楽」を通した取り組みを通して、高等教育機関に通う学生の活動の特徴や成果を地域の人々に知っていただき、学生活動の内容を明らかにしたいと考えた。

このプロジェクトは平成22年6月26～27日に、旭川平和通買物公園4条通8丁目付近を会場とし行った。参加団体は、旭川市内の高等教育機関に所属している軽音楽部や吹奏楽団、各種アンサンブル団体、よさこいサークルなど13の音楽系団体等が日頃の練習成果を披露した。

この企画を実施し、最も評価すべき点としては、聴衆から、「良い演奏だったよ。」「大学生も頑張っているね。」などといった言葉を多く頂いたことであるが、今後に向けては、演奏環境の整備（特に音量について、周囲の店や聴衆、通行人への配慮の必要性）、宣伝方法の工夫などが挙げられる。

このプロジェクトでは、多くの地域の方と直に触れ合うことができ、学生活動の内容を一面的ではあるが、地域の方々に知っていただく絶好の機会であった。このプロジェクトにより、学生活動の内容に透明性が増し、地域の理解が得られ、地域と大学の繋がりが深まることはもちろんのこと、「音楽の街・旭川」の一端



図3 平成22年度の『あさひかわミュージックフェスタ』の様子>

を担う行事への発展を期待したいところである。

2-4. 旭川市新駅舎の一次開業イベントへの参画

旭川市の駅舎は、平成22年10月10日に新駅舎へと移行するが、その際の地域の取り組みの一環として、「はしっくす」が市民1000人程度の写真を撮影し、旧駅舎、新駅舎、そして旭川の象徴である「あさひばし」の写真をモザイク画（数千タイトルの写真を集合させた絵）として飾るという企画を、旭川市と共同で行った。

市民1000人の写真を収集するため、「はしっくす」では、各連携校、旭川市主催の行事などに参加し、市民の写真を撮影した。

新駅舎のオープン（平成22年10月10日）の際には、このモザイク画の除幕式を行い、縦5m、横15mの画として、新駅舎の仮壁に数カ月にわたって展示された。

2-5. 他のプロジェクト・ワークショップなど

各連携校の学生は、それぞれ特色あるカリキュラムの下に勉強を重ねているが、これらを融合・一体的に活動へ導くことにより、一つの大きなプロジェクトを遂行することが可能になると考えられる。そこで「はしっくす」では、連携校学生向けのワークショップやセミナーを行うことにより、連携各校の学生のスキルアップや他分野への幅広い興味を養うことを目指している。

これまで、「はしっくす」では、水問題、地球温暖化など環境問題に関するワークショップを開き、かつ実際に「打ち水」を行う企画を立案するなど、ワーク

ショップで得た知識を、スキルや行動として表現できるよう一連の取り組みを進めた。学際的な分野も広がりを見せつつある今、このようなワークショップで得る知識は、スキルとともに重要視されることが予想され、「はしっくす」がその一つの「場」として活用されうると考えている。

3. これからの展望と課題

これまで、「はしっくす」では、旭川市、東神楽町などと連携してプロジェクトを行ってきた。他にも地域のNPO法人や、他大学の学生団体、他にも多くの団体と提携しながら取り組みを進めてきた。これまで、地域との連携であっても、高等教育機関が複数存在する旭川市においては「どこへ声をかけていいかわからない。」などと言った声が聞かれていた。それらのニーズを「はしっくす」という一つのプラットフォームを通じてを汲み上げることにより、「地域に潜在的に存在するニーズ」と「地域で活躍したいと考えている学生」とが出会うことが可能となったと考えられる。また学生の視点から見てみると、学生自身が取り組んでみたいと思っているプロジェクトに関し（逆にそれらを相談すべき場所がないこともあって）これまで、このような社会と学生との接点と、それによるプロジェクトの遂行と評価は、連続的な成果として捉えづらい側面があった。

今回、「はしっくす」により、社会と学生とが有機的につながり、さらに学生の力が一つの「資源」となりうるるとすれば、社会側と学生側のニーズが上手にマッチすることが可能なはずである。そして、一見ばらばらで小規模に見える企画同士が連携しあって、一つの大きなプロジェクトを形成することもまた可能であろう。

この取り組みを維持・発展させるためには、「はしっくす」のような一つのプラットフォームが必要であると同時に、継続的・連続的な取り組みが必要とされている。「学生」は、数年の身分である場合が多く、多くの学生組織にとって、継続性は潜在的に大きな課題である。それは「はしっくす」も例外ではなく、各提携先と歩調を併せて、「はしっくす」も発展し続けられるようなシステムの構築が重要であると考えられる。

本学教員執筆書籍の紹介

藤枝憲二・梶野浩樹編集 縦 173 × 横 104mm 518 ページ

小児・新生児診療ゴールデンハンドブック

南江堂 2009 年 7 月 25 日発行 税込価格 4,725 円

梶 野 浩 樹

小児科診療の特徴は、成長・発達する存在である「子ども」、すなわち新生児から思春期年齢までを対象とし、体も心も、また頭の先から足の先まで診る点にある。さらに、病気に悩む子供とそれを取り巻く家族の状況やその背景にある社会情勢・保健福祉制度まで考えなければならない診療科であり、それらに関する幅広い見識を必要とする。日常診療においてそれらの知識を身近に参照・再確認できるものがあれば有用であり、このハンドブックはそのために白衣のポケットにも入るコンパクトなマニュアルとして、小児科医や研修医が小児科の日常診療の座右の書として活用できる本を目指して編集された。旭川医科大学小児科学教室には、内分泌・糖尿病・腎臓、循環器、神経、血液・腫瘍、感染・免疫、新生児という専門グループがあり、それらのスタッフが何度も話し合いを持ち、本書の内容を練り上げた。

本書は第1章「小児科診療へのアプローチ」、第2章「小児科診療の実践」、第3章「新生児科診療の実践」、第4章「小児保健」、そして「付録」から構成される。ポケットサイズでありながら、小児プライマリー

ケアに携わる医師に求められる病態、診断、検査、治療、薬剤の知識が必要十分に網羅されている。全章を通じて、きれいな図表、重要文献、ガイドライン、関連ホームページが適宜示されていて、最後の「付録」では、小児体格指標、検査基準値、各種計算式、医療制度、小児薬用量、輸液組成の記述も充実させた。

新臨床研修医制度の開始とともに、小児科や産科をはじめとする多くの診療科の医師の不足・偏在が明らかになった。一方、医療の専門化・高度化とともに患者側に「いつでも、どこでも、質の高い医療を受けたい」という要望が強くなった。それらの状況変化を受けて、小児科専門医でなくとも患者を十分に満足させる質の高い小児プライマリーケアを提供することが必要になってきた。しかし、現在の小児科の知識は内科全領域に匹敵する膨大さであり、小児プライマリーケアに関わる医師の多くは、その標準的医療がわかりやすく記載されたコンパクトなガイドブックを希求しているに違いない。本書がそれらの医師にとって有用な一冊として愛用されることを願っている。

本学教員執筆書籍の紹介

編著 荻原直道、高草木薫、土屋和雄

縦 21.4 × 15 (単行本) 332 ページ

シリーズ移動知 第二巻

身体適応－歩行運動の神経機構とシステムモデル

オーム社 2010 年 3 月 10 日発行 税込価格 5,040 円

高草木 薫

この本は、医学系（生物学系）ならびに工学系大学院生向きに編纂した参考書である。「移動知（Mobiligence; Mobility + Intelligence）」という聞き慣れない名前が付いているこの本に、違和感を持つ方も多いかと思う。移動知という言葉は造語である。工学系の研究者は新しい用語を創ることを好む様である。すでに、ウィキペディアにも掲載されており、Mobiligenceを知っている欧米の工学研究者も随分と増加した。一方、医学系は基本的に保守的であり、新たな用語を創ることを嫌う傾向がある。

この本が出版されることになった理由は、文科省科研費特定領域「身体・脳・環境の相互作用による適応的運動機能の発現－移動知の構成論的理解－（平成17年度－22年度）」において、生物・医学系と工学系の研究者がその垣根を越えてお互いの研究分野に相互乗り入れを果たして「適応的な運動機能を理解して、これを構築する」ための学問領域を創造しようという志があったことに起因する。

では、なぜ生物系と工学系からなる学問領域が必要なのだろうか？特に運動制御に関する生物学的な研究アプローチは大きく2つに分かれる。1つは、神経機構の詳細を解析する「要素解析的アプローチ」である。そして、もう1つは、環境の変化に対して誘発される動物行動の変化から、その背景に存在する神経機構を推定するという「全体論的な研究アプローチ」である。しかし、いずれを用いても、運動制御の仕組みを十分に理解することは難しい。なぜなら、得られた研究成果やその意義は、あくまでも考察（推論）の域に過ぎず、運動制御における必要条件の一部を抽出したに過ぎないからである。それでは、どのような手

続きが必要なのか？考え方はシンプルである。生物学的研究による成果をもとに「運動機能を構築」すること（構成論的理解）ができた時にはじめて運動制御の一部を解明したと言える。つまり、解析により抽出した必要条件が十分条件であるか否かを検証する手続きが必須なのである。

シリーズの第二巻として位置づけられているこの本は、歩行運動に焦点を当てて、前半は「歩行に関わっている脳神経研究者による歩行の仕組み」、そして後半は「歩行ロボットの構築や歩行シミュレーションを積極的に実施している工学研究者による歩行運動の構成論的理解」について解説している。特に前半では、日本における歩行の脳神経学的研究に従事する第一線研究者が、古典的でありながらも極めて重要な知見と最新の研究知見とを、異なる分野の研究者あるいは大学院生にも容易に理解できるように解説している。そして、後半は工学研究者が、前半の脳神経生理学的知見を随所に盛り込み、新たな歩行制御の仕組みと歩行ロボットの未来に繋がる知見を紹介している。

シリーズ移動知は、全四巻から構成されている。第一巻は、移動知－適応行動生成のメカニズム、第二巻は、身体適応－歩行運動の神経機構とシステムモデル、第三巻は、環境適応－内部表現と予測のメカニズム、そして、第四巻は、社会適応－発現機構と機能障害、である。どの巻も、生工融合研究から生まれた新規性の高い内容により構成されており、非常に読み甲斐がある。特に、第二巻は、増刷を繰り返しており、非常に多くの工学研究者、生物学的研究者、そして、理学療法士などリハビリテーション医療従事者にも非常に多く読まれている。「工学的に適応的な歩行ロボットを

創り上げること」と「失った歩行を取り戻すためのリハビリテーション」の基本原理には共通の仕組みがあ

る。それは、「身体・脳・環境の相互作用により生み出される」ことを多くの読者が感じるであろう。

(脳機能医工学研究センター)

【談話室】

看護教育における編入学制度

黒 田 緑

1. 概 要

看護系大学で現在行われている3年次編入学制度は、看護教育の大学化に至るまでの過渡期の制度として、多数の短期大学等卒業生の高等教育を希求するニーズを充足するものであった。

看護系大学における編入学の始まりは、わが国で2番目の設立となる看護大学、聖路加看護大学が、昭和51年に初めて短期大学卒業生を対象とした学士取得のための3年次編入学制度を始めた。当時の看護系大学は、昭和27年開設の高知女子大と昭和39年学部開設の聖路加看護大学と昭和50年に国立大学としては初めて看護学部として発足した千葉大学との3大学のみであった。看護を目指す者に高等教育を受ける機会はほとんど無い状況であった。

その後も、看護教育は医療技術短期大学などの3年間の短期大学教育を主流とする時代がしばらく続いた。大学教育を求める短大卒業生にとって、編入学制度は看護の高等教育を受けることができる制度として社会的なニーズが高かった。

昭和50年開設の千葉大学以降、看護系大学は漸増したが、平成3年まで看護系大学数は11校の状態が続いた。しかし、平成4年以降、看護教育の高等化を後押しする社会状況を反映し、毎年6～15校の看護系大学が新設されるようになった。その結果、平成21年現在では178校（180課程）に増加した（表1）。

看護教育の大学化は、地方自治体による新たな看護系大学の設立や医療技術短期大学の4年制大学化などを理由として最近の15年間に急速に加速した（表1）。それに伴い、看護教育の多くの部分を大学教育が担う

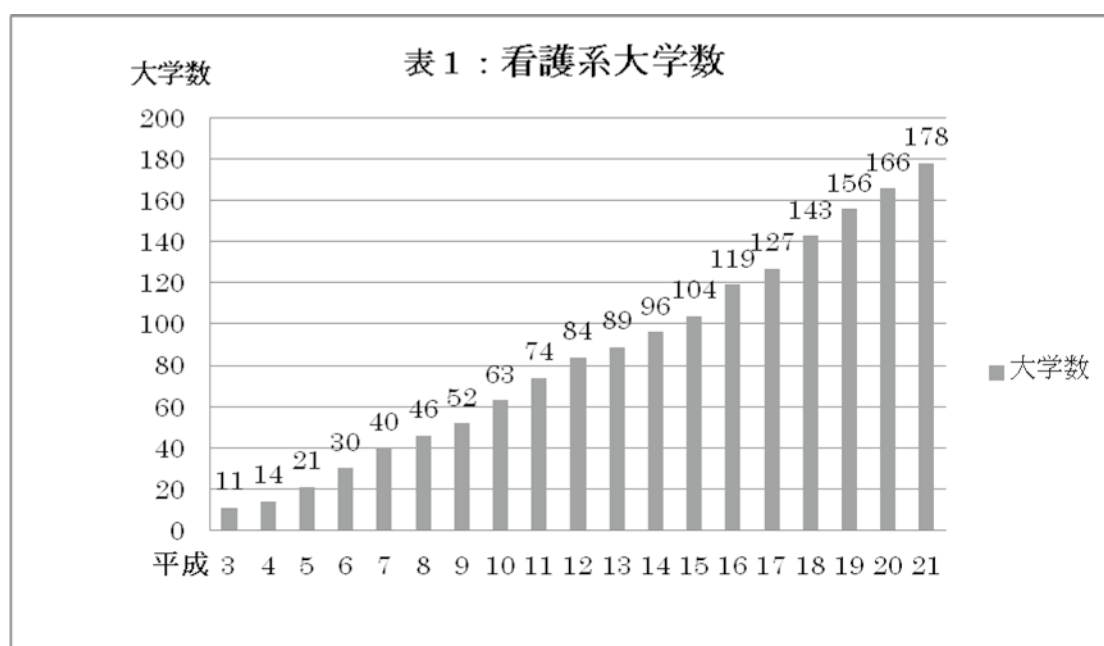


表1 看護系大学数の推移（平成21年度全国国立大学法人助産師教育専任会議特別講演資料より）

こととなり（表2）、高等教育の機会が急増し短期大学卒業生自体が減少した。

最初に編入学制度を取り入れた聖路加看護大学は、1998年に当初の3年次編入の編入学制度を終了し、1997年より大学卒業生を対象とした2年次編入の学士編入学を開始した。

現在、公立・私立の看護系大学では2年次編入の学士編入学制度を実施している所を表した（表3）。

2. 編入学制度

1) 編入学制度とは

教育課程の一部を省いて途中から履修すべく他の種類の異なる学校に入学することで、途中年次への入学と解されている。現行制度上、大学への編入学は、短期大学、高等専門学校、及び一定の要件を満たす専修学校専門課程等の卒業者に認められている。

（関係法令：学校教育法第108条第7項、第122条、第132条等）

学士入学とは、大学などで学士号取得者及びその予定者を対象とした編入学制度である。学士編入ともいう。看護系大学においては、特に私学の場合は大学の理念に基づき、どちらの編入学制度をも選択可能である。しかし、大学生人口の増加やキャリア志向が強

いいま、学士入学は社会のニーズを反映しており、多様な経験や知識を有する学生の看護系大学志向は看護職層の充実に寄与すると考える。各大学が地域社会のニーズに鑑み、独自に選択される事が望まれる。

3. 編入学制度の実態

1) 旭川医科大学における編入学（平成21年度現在）

(1) 医学科における2年次学士編入学

医学科における編入学は、上記のいわゆる学士編入である。他大学において学士号を取得した者が、医学の専門知識を修得し医師国家試験の受験資格を得るための教育制度である。

(2) 看護学科における3年次編入学

看護学科の編入学は、看護に関する専門教育を短大や専修学校で修得し、看護師国家資格を有して入学する、主に学士取得のための制度である。

上記（1）と（2）は編入学と一括されるが、教育内容とその目的は全く異なるものである。

（1）医学科においては、学士編入生に対して専門教育を行う。

2学年後期からの（通年の英語を除く）全ての

表2 平成21年国家試験合格者数

（平成21年度全国国立大学法人助産師教育専任会議特別講演資料より）

職種	合格者	大卒合格者
看護師	45,784名	9,488名（20.7%）
保健師	11,773名	10,859名（92.2%）
助産師	1,741名	698名（40.1%）

（注）助産師の大卒合格者数には、大学院・大学専攻科卒者を含めていない

表3 2008年度2年次編入実施の看護系大学一覧

2007.9.1 新宿セミナー

	大学名	学 科	募集定員
私 立	慶応義塾大学	看護学科	5名
	聖路加看護大学	看護学科	20名
	北里大学	看護学科	若干名
	東海大学	看護学科	若干名
	甲南女子大学	看護学科	15名
	九州看護福祉大学	看護学科	若干名
公 立	大阪府立大学	看護学科	10名
	大阪市立大学	看護学科	10名

必修科目をレギュラー生と同様に授業を受ける。
必修科目 165 単位。

(2) 看護学科においては、専門教育を除いた大学人としての一般教育を行う。

3 年次に編入するが、レギュラー生が修得すべき必修科目 109 単位中約 25 単位余りの授業を受ける。認定される科目により、履修科目は各人が異なることとなる。

近年、看護学科の 3 年次編入学生の入学希望者

は減少傾向にある。また、短大卒業生ではなく専修学校卒業生がほとんどである。

2) 全国国立大学法人における編入制度に関する現状
(全国国立大学法人助産師教育専任教員会議でのアンケート調査結果)

全国国立大学法人助産師教育専任教員会議とは、助産教育に携わる教員の全国的会議で毎年 1 回行われる。会議の目的は国立大学法人における助産師教育の課題を協議し、相互理解と協力のもとで助産師教育の

「看護系国立大学 35 校の 3 年次編入学制度についてのアンケート結果」

1) 表 4 3 年次編入学制度の実施状況

H21.7.3

大学名	有	無	大学名	有	無	大学名	有	無
A 大学	○		M 大学	○		Y 大学		
B 医科大学	○		N 大学	○		Z 大学	○	
C 大学			O 大学	○		AB 大学	○	
D 大学	○		P 大学	○		CD 大学	○	
E 大学	○		Q 医科大学	○		EF 大学		○
F 大学	○		R 大学	○		GH 大学	○	
G 大学	○		S 大学	○		IJ 大学	○	
H 大学	○		T 医科大学	○		KL 大学		
I 大学		○	U 大学			MN 大学		
J 大学	○		V 大学	○		OP 大学		
K 大学	○		W 大学			QR 大学		○
L 大学	○		X 大学	○				

注：空欄は無回答、口頭では全大学の意見を聴取している。

2) 表 5 3 年次編入学の概要と今後の考え方

H21.7.3

1 学年定員数	最少～最多	60~80 名
編入学定員数	全校	10 名
編入学生の学歴	ほぼ短大卒	1 校
	ほぼ専修学校卒	15 校
	上記、半々	12 校
	無記入・その他	3 校
定員充足状況	充足せず	1 校
充足への対応	成績優先	6 校
	定員充足優先、成績の如何を問わない(含む 2 次募集)	6 校
	応募は充足している	5 校
制度継続に関する意見	制度要検討	20 校
	(内、廃止の方向)	(11 校)
	継続	7 校

向上をはかることである。助産師教育と編入学制度との関係の協議もあり、この会議に参加した大学から編入学についての意見を聴いた。

4. 考 察

国立大学法人看護系大学（以下、大学）の中には、その地域性を考慮し編入学制度の実施継続を考えている大学が存在する。

しかし、20 大学が看護系大学の数の充実や地域格差の減少および受験生の教育背景の変化等の理由により、編入学制度の再考を必要とし、そのうち廃止の方向を検討している大学が過半数ある（表5）。これら検討課題は全国的課題であり、社会の教育状況の変化に即した受験生のニーズを充足する方向性を考える必要がある。

一方、平成 21 年 7 月に改正された保健師助産師看護師法に基づき、看護師教育の充実と助産師教育および保健師教育の充実が各大学に求められている。

看護教育は、当初専門学校から開始された歴史的な背景がある。看護師国家資格を取得する教育機関の種

類は、看護教育の歴史そのものを表しており統一されておらず多岐にわたる。これら歴史の中の編入学制度は、看護教育の大学化の実現に至るまでの過程において、高等教育を求める看護職にとって意義のある制度であった。しかし、看護教育の高等化を基盤とし、さらに上の大学院教育を志向することが現実になった現在、編入学制度そのものの根本的評価が必要な時期に至ったと考える。

参考文献

1. 小山田恭子：平成 21 年度全国国立大学法人助産師教育専任会議特別講演資料、2009
2. 九州大学：「編入制度に関するアンケート結果（事前調査回答含む）九大にて実施」、2009.7
3. 聖路加看護大学：本学のあゆみ 沿革
4. 千葉大学：理念・歴史
5. 大森文子：大森文子が見聞した看護の歴史、看護教育の大学化、日本看護協会出版会、2003
6. 文部科学省：学校教育法 第 9 章大学、第 10 章高等専門学校、第 11 章専修学校

（看護学科）

旭川医科大学 回顧資料 (12) 昭和 59 年度

旭川医科大学保健管理センターの設置

昭和 59 (1984) 年といえば、明けて早々、当時の中曽根康弘首相が現職首相として戦後初めて年頭に靖国神社を参拝した。5 月には自民党安全保障調査会が防衛費の対 G N P 1 パーセント枠の見直しに着手し、同じ日、日・米・豪・カナダ・ニュージーランドが参加して環太平洋合同軍事演習 (リムパック'84) が始まった。総理のこのようなタカ派的な手法は国の内外から強い批判を浴びた。その一方で中曽根内閣は、8 月には日本専売公社、12 月には電電公社の民営化のための法案をそれぞれ可決・成立させ、行財政改革の本丸に突き進んでいった (民営化は翌年 4 月)。

この年の事件・犯罪に眼を向けてみよう。1 月には週刊誌「週刊文春」が貿易商の三浦和義氏をターゲットに「疑惑の銃弾」と題する記事の連載を開始し、以後、いわゆる「ロス疑惑」報道がテレビや雑誌で過熱していった。3 月には大阪で現金 1000 万円を奪う銀行強盗事件が発生したが、犯人は現職の警部補であった。同じ 3 月、江崎グリコ社長が自宅で誘拐され、製品に毒物を混入し食品企業を相次いで脅迫する「グリコ・森永事件」の発端となった。7 月には、熊本市の食品業者が製造した「辛子れんこん」によるボツリヌス菌中毒が全国に及び、死者は 11 人を数えた。

この年の 5 月には NHK が衛星総合テレビ放送を開始した。11 月には日本銀行が 15 年ぶりに新札 3 種を発行した。図柄は 1 万円札が福沢諭吉、5000 円札が新渡戸稲造、1000 円札が夏目漱石であった。ヒット曲には「ワインレッドの心」(安全地帯)、「北の螢」(森進一)、「もしも明日が…」(わらべ)、「涙のリクエスト」(チェッカーズ) など、ヒットした映画には「お葬式」(伊丹十三監督)、「風の谷のナウシカ」(宮崎駿監督)、「インディ・ジョーズ=魔宮の伝説」(スティーブン・スピルバーグ監督) など、流行語には「スキゾ・パラノ」「軽チャー」「くれない族」などがあつた。

さて、わが旭川医科大学に眼を向けると、この年の特筆すべき出来事としては、4 月に保健管理センターが運営を開始したことがあげられる。そこに至るまでの経緯を振り返ってみよう。

昭和 58 (1983) 年 2 月、当時の厚生補導委員会において保健管理センター設置要求に必要な事項について検討が開始された。文部省基準や既設大学の資料を参考にして概算要求の原案などが着々と準備された。同年 10 月には、設置された場合のことを考えて具体案を検討する段階となり、石井兼央副学長・内科学第二講座教授 (当時) を委員長とするメンバー 5 名の小委員会が発足し、同委員会は頻回の会議を持って保健管理計画および規程の原案を作成した。

12 月の厚生補導委員会では、この規程案に沿って、協力を求める医師・専任教官などについて審議され、大筋として次のことが了承された。(1) 健康相談を実施する方向で考える。(2) 健康相談室を設けるが、これについては病院側の協力を得ることが条件となる。(3) 専任教官は学生の健康管理に熱意を持ち、精神衛生面についても対応できる人とする。

翌昭和 59 (1984) 年 1 月、大蔵省 (当時) からセンター設置の予算が内示された。定員は講師 (カウンセラー) 1 名、看護婦 (現在の呼称では看護師) 1 名であった。この内示に基づき、2 月の委員会では、上記 (3) の教官は心理学専攻で実務経験のある人が望ましいとの見解に達した。さらに 3 月の教授会において、「旭川医科大学保健管理センター規程」および「旭川医科大学保健管理センター運営委員会規程」が制定された。

そして 4 月 12 日、めでたく同センターが設置され、所長代理に石井副学長が就任した。5 月 1 日にはセンター保健婦 (現在の呼称では保健師) として玉川憲子技官が発令された。8 月 1 日、初代所長に保坂明郎眼科学講座

教授（当時）が就任した。初年度の予算はわずか48万円であったが、翌昭和60（1985）年度からは約250万円の予算が計上されるようになった。初年度から昭和63年度までの5年間にわたる学生のセンター利用状況等については、センター発行の『保健管理センター年報』創刊号（1990年1月刊）に詳述されている。その中から当時の統計資料2点を下に引用する。

初年度の保健管理センター運営委員会のメンバーは14名で、委員長は保坂所長（当時）が務めた。委員は、山村晃太郎衛生学講座教授（厚生補導委員会委員）、小野寺壮吉内科学第一講座教授（附属病院運営委員会委員）、宮岸勉精神医学講座教授（同）、大河原章皮膚科学講座教授（教務委員会委員）、美甘和哉生物学教授（同）、岩渕次郎心理学教授（厚生補導委員会委員）、出光尚敏総務部長、高橋恵一教務部長のほか、センター非常勤医師5名からなっていた（いずれも肩書きは当時のもの）。

施設（総面積220平方メートル）の工事は10月に着工し、新築完成したのは翌昭和60（1985）年の3月9日のことであった。同月には専任のカウンセラーとして酒木保講師が着任し、ここによりやく同センターのソフト・ハード両面がいちおう完備された。ちなみに、センター設置に合わせて制定された上述の規程および運営委員会規程は、センター設置から約27年が経過した平成23（2011）年1月においても、基本線においてはほとんど変更を加えられないまま命脈を保ちつつけている。

なお、本稿の執筆にあたっては、学外事象の事実関係は『新訂版 昭和・平成史年表』（平凡社2009年）、学内事象の事実関係は広報誌「かぐらおか」第42号（1985年1月1日付）所収「保健管理センター所長に就任して」（保坂明郎初代所長執筆）に依拠した。
（歴史・哲学 藤尾 均）

図1 内科検診受検率（学部）

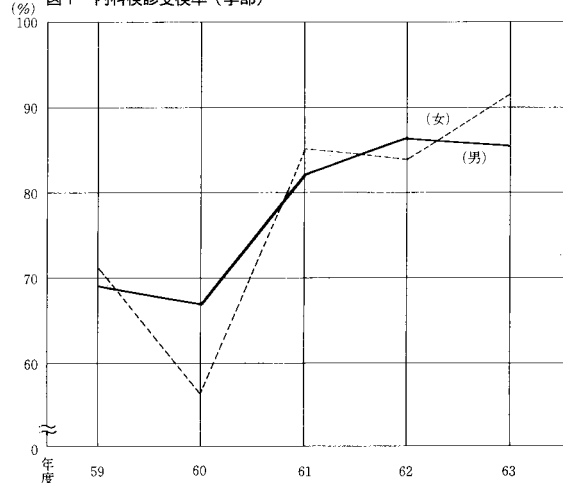
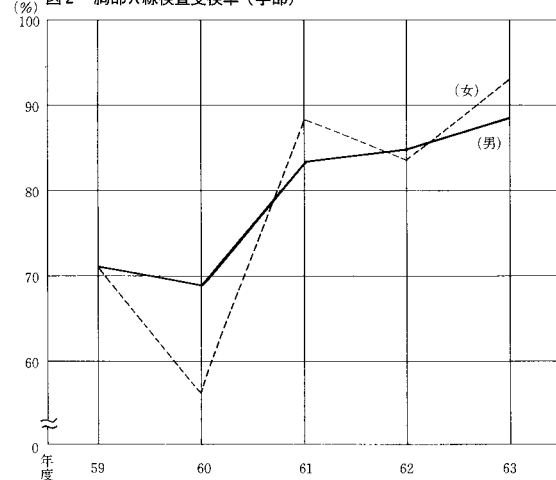


図2 胸部X線検査受検率（学部）



（お詫びと訂正）

前号の記事「回顧資料（11）」には、開学10周年記念行事の一環として行われた「記念植樹式」について、その担当責任者が森茂美生理学第二講座教授（当時）であった旨、記載されていますが、これは誤りで、正しくは小野一幸解剖学第一講座教授（当時）でした。御指摘くださった小野一幸名誉教授に深謝申し上げ、ここにお詫びし訂正いたします。

『旭川医科大学研究フォーラム』 投稿規程

平成12年 5月25日

平成13年 2月 5日

平成21年 2月 9日

改正 平成21年 4月28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. 原則として12月発行の年1回とし、締め切りについては当該年度の第1回編集委員会で決定する。

原稿の掲載

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

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CD、USBメモリーまたはフロッピー等を添える。

・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、 画像フォーマットはEPS, JPEG, TIFF, PICT, BMP とする。
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

記録的な猛暑と言われた夏もいつの間にか終わり、冬になりましたが、この原稿を書いているクリスマス間近の現在、例年より雪が少ないようです。猛暑の影響なのでしょうか。

さて、旭川医科大学研究フォーラム第11巻をお届けします。本号では原著である投稿論文がなかったものの、依頼論文が4編、「独創性のある生命科学研究」報告が31編、JICAの研修報告が2編、エッセイ、学界の動向、学生のページ、本学教員執筆書籍紹介、談話室、旭川医科大学回顧資料など盛りだくさんの内容になっています。また、昨年度、看護学講座岩本純教授、救急医学講座郷一知教授、小児科学講座藤枝憲二教授が逝去されました。先生方のご研究の業績を講座の先生にご執筆頂きました。大変お忙しい中、ご執筆下さった皆様にお礼申し上げます。

昨年発行の本誌編集後記にも書きましたが、編集委員会では多くの皆様からの論文のご投稿をお待ちしています。投稿論文は査読済み論文となります。よろしくお願い申し上げます。

(H.H)

表紙解説

太陽は、怖い。昔から太陽を仰ぎ見るとき、眩しさの向こうに、その燃えさかる様と途方もない熱さを感じてきました。地球から太陽まで光で8.3分かかると言われます。1億5,000万km。その中心温度は、 $15.7 \times 10^6 \text{K}$ であり、表面はおよそ6,000 K。日常生活の中で実感できる熱さが、せいぜい都市ガスの炎:2000度弱であることを思うと、異常な高温に怖れを感じます。

燃料は水素であり、中心核において熱核融合によってエネルギーが取り出される。太陽の半径は約70万kmあり、地球の約110倍。内側から、中心核、放射層、対流層、光球、彩層、コロナより構成される。光球より上層の光透過性の高い部分を太陽大気と呼ぶ。プラズマ化した太陽大気上層部は太陽重力による束縛が弱いため、惑星間空間に漏れ出している。海王星軌道まで及ぶこれを太陽風と呼び、オーロラの原因ともなっている。(Wikipedia参照)

普段何気なく、身に受けている太陽の日差しの加減は、地球上の生物にとって絶妙です。また、太陽からの距離、水が固体・液体・気体として存在できること、大気存在できる程よい重力……。途轍もない数の偶然の果てに、私たちの命があることを思うとき、太陽に対する想いが畏怖ばかりでなく、畏敬の念にも変わってくるのです。そのような想いを抱きながら、太陽を見つめると、コロナをまとった講座名群が互いに熱核融合反応を起こしながら、放射されていく様が眩しく目に飛び込んでくるのでした。

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。刊行は原則として年1回12月とする。

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

平成13年7月（制定）

平成19年7月（一部修正）

平成21年4月（一部修正）

旭川医科大学研究フォーラム編集委員会

編集委員（五十音順）

石川 一志（看護学講座）

牛首 文隆（薬理学講座）

田中 剛（ドイツ語）

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11巻（通算12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23年2月22日

発行 平成23年2月22日

ASAHIKAWA MEDICAL UNIVERSITY

RESEARCH BULLETIN

VOL. 11

CONTENTS

Commissions

Molecular mechanism of Ca-pump and diseases caused by its defects	SUZUKI Hiroshi	2
Construction and the practice of the section system of the operation department based on data accumulation	HIRATA Satoshi	14
Telepathology: The track for a decade	MIYOKAWA Naoyuki	21
Autonomic Nervous System and Cardiovascular Disorder Health Administration Center	KAWAMURA Yuichiro	37

Essay	TANIMOTO Mitsuho	46
-------	------------------	----

Commissions

2009 Innovative Research in Life Science		
1) Role of neurosin on the demyelination and remyelination	TANAKA Tatsuhide	48
2) A new microscopic technique for observation of the surface ultrastructure and molecular distribution of cellular organelles.)	WATANABE Tsuyosi	49
3) Function and regulation of the Orail protein as a molecular component of calcium release-activated channels in smooth muscles	MIYAZU Motoi	50
4) Modulation of Voltage-Gated Ion Channels on SH-SY5Y Neuroblastoma by Non-Ionic Surfactant, Cremophor EL	NOGUCHI Tomohiro	51
5) A search for mechanism of postmortem maintenance of tissue function. - Retention of chromatophores motility and ability of ATP synthesis, in molluscan.-	KATOU Sanae	53
6) The roles of the prostaglandin E ₂ -EP ₄ signaling in cerebral infarction and its clinical application; a study using mice lacking the EP ₄	KOJIMA Fumiaki	54
7) Analysis of specificity and dynamics for Birch pollen-related peripheral blood T cells	SATOU Keisuke	55
8) Functional analyses of collectin CL-P1 in development	OOTANI Katsuki	57
9) Formaldehyde exposure in food affected intestinal immune system	NAKAGI Yoshihiko	58
10) Relationship between Expression of Sirt1 in Endothelial Progenitor Cells and Endothelial Dysfunction in Severe Ischemic Heart Disease	OOTA Hisanobu	59
11) A drug for diabetic multiple organ complications	TAKIYAMA Yumi	61
12) Evaluation of the effect of reoxygenation to malignant potential in pancreatic cancer.	SASAJIMA Junpei	63
13) Fictive experimental model of neurogenic intermittent claudication	ATSUTA Yuji	66
14) The search for the pathogenesis of palmoplantar pustulosis	MURAKAMI Masamoto	67
15) Analysis of bladder vascular resistance before and after prostatic surgery in patients with BPH	WADA Naoki	68
16) Correlation between retinal arteriole-stiffness and systemic atherosclerosis	SATOU Eiichi	69
17) Identification of the genes causing azoospermia in human & Establishment of the novel diagnostic methods in male infertility	SATOU Hisashi	71
18) Efficacy of direct intracerebral drug administration in brain ischemic model of rats	SATOU Masao	72
19) The adipose tissue-derived stem cells for bone regenerative medicine	TAKEKAWA Masanori	73
20) Study on assay for human urinary exosomes	KAWABATA Isao	75
21) The role of CD69 in development of autoimmune disease	KIMURA Syouji	76
22) Hand Washing Motion of Nursing Students -Relation to Hand Washing Motion with Missed Washing Area-	MASUDA Yumiko	78
23) The distributions of vascular oxygen consumption and circumferential wall stress in the human retinal microvascular network.	TAKAHASHI Tatsuhisa	80
24) Universal scaling of <i>c</i> -axis dc conductivity for the underdoped high-temperature cuprate superconductors	HONMA Tatsuya	81
25) A β undergoes chemical modification by functioning as antioxidants	NAKAMURA Masao	83
26) Establishment of in vitro fertilization technique with cholesterol -removed spermatozoa in the Chinese hamster	TATSUNO Hiroyuki	84
27) Matrix metalloproteinase-9 and hepatocyte growth factor in the cerebrospinal fluid of infants with posthemorrhagic hydrocephalus: Toward the development of novel therapeutic strategies for posthemorrhagic hydrocephalus	OKAMOTO Toshio	86
28) Genetic modification of PGE ₂ regulates proliferation of Sca-1-positive cardiac stem cells.	TAKEHARA Naofumi	88
2009 Innovative Research in Life Science		
Research Cluster for Development of Vascular Research and their Clinical Application in Asahikawa Medical University.		
The development of a novel therapeutic and diagnostic strategy for Multiple Sclerosis	KAWABE Junichi	90
-Implications of Kallikrein 6 in neurological and skin diseases-	BANDOU Yoshio	94
JICA Training Course JFY2010 "Health Administration for Regional Health Officer for Africa"	YOSHIDA Takahiko • KITAMURA Kumiko	98
JICA Training Course of Maternal and Child Health - A Trial of Problem Solving Method Applying Nursing Process -	KURODA Midori	107

Condolences	ISHIKAWA Katsushi / FUJITA Satoshi • AKASAKA Nobuyuki / TANAHASHI Yusuke	111
News	ABURANO Tamio / ISHIKO Satoshi / ITOU Akira / TANIGUCHI Takanobu	123
Students's pages	SATOH Hiroki	130
Books	KAJINO Hiroki / TAKAKUSAKI Kaoru	133
Column	KURODA Midori	136
Material	FUJIO Hitoshi	140
Editor's Note / Cover Story		143