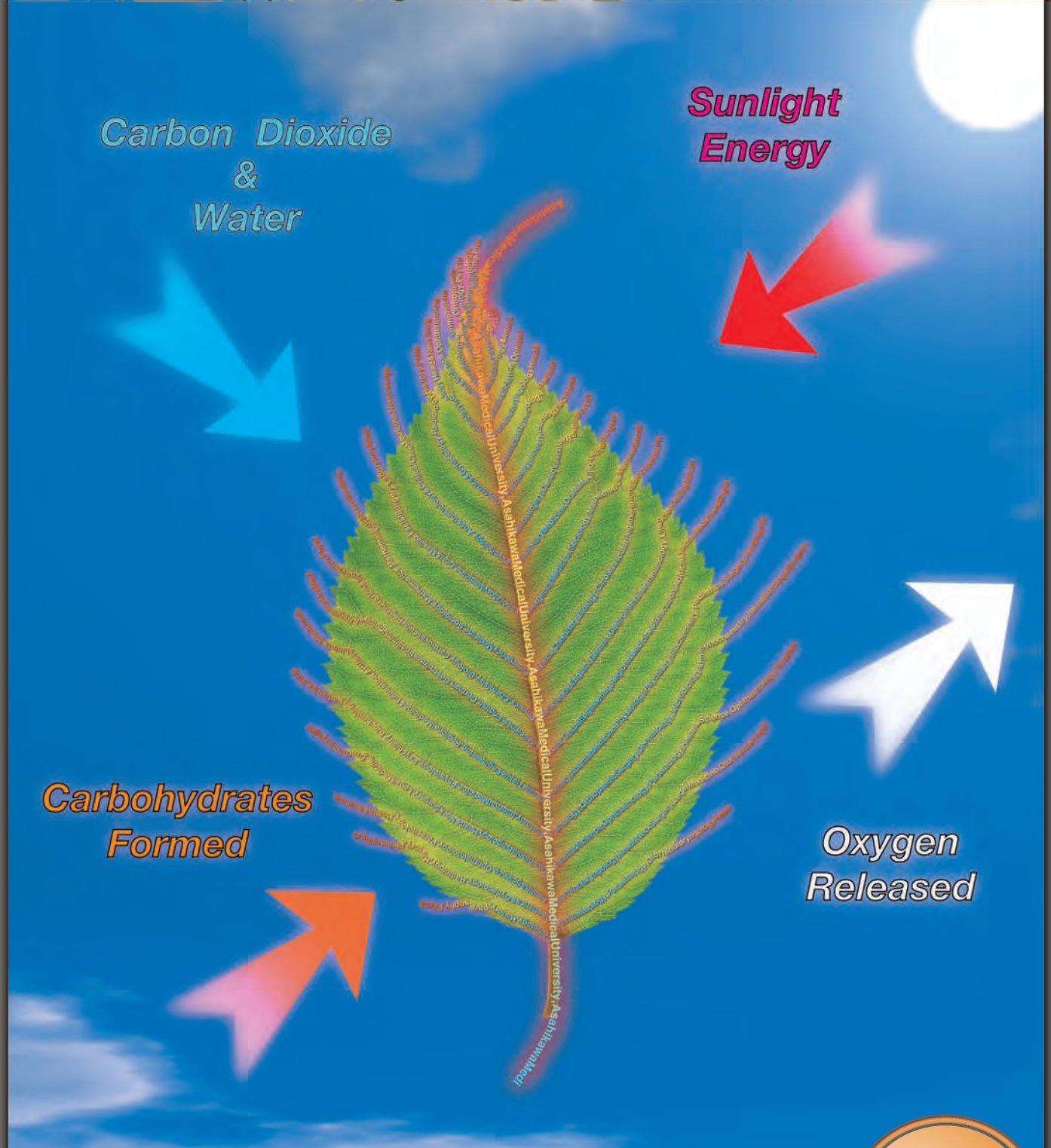


旭川医科大学研究フォーラム



旭川医科大学研究フォーラム 第13巻 (平成25年刊) 目次

依頼論文

旭川医大眼科および医工連携総研講座が行う遠隔医療の実践……………石 子 智 士 2

エッセイ

唾液との関わり……………北 進 一 9

投稿論文

看護技術学習のレディネス形成を目指した技術評価演習での学生の学び
—1年次の状況設定課題終了後のレポート分析—……………一條 明美・神成 陽子・升田由美子 11
臨床看護師の看護実践と道徳的発達との関連……………芹 田 典 子 19

博士学位論文

FLEXOR ACTIVITY BY INTRAMEDULLARY PRESSURE IN RABBIT FEMORAL BONE:
An experimental study on thigh pain after total hip arthroplasty
……………NAKAMURA Toshiki, ITO Hiroshi, ATSUTA Yuji, TANINO Hiromasa,
NISHIMURA Ikuya, MATSUNO Takeo 32
培養ラット脊髄神経細胞における高濃度ブドウ糖によるニューロキニン1受容体の発現亢進
……………石関 哉生・安孫子亜津子・伊藤 博史・平野 史倫・滝山 由美・羽田 勝計 38

依頼稿

- 平成22・23年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題
- 1) 神経障害性疼痛におけるケタミン軟膏の有……………研究代表者 間宮 敬子 50
 - 2) ミクログリアを介した髄鞘再生機序の解明……………研究代表者 田中 達英 51
 - 3) 精子における活性酸素種消去機構の解析……………研究代表者 春見 達郎 52
 - 4) マウスにおける眼内平滑筋の細胞生理学的実験手法の確立と信号伝達経路の研究への展開
……………研究代表者 赤尾 鉄平 53
 - 5) 薬物の鼻腔内投与による脳内神経機能の制御……………研究代表者 宮園 貞治 54
 - 6) ポリフェノール類アントシアニン系化合物の化学構造とヒト癌細胞への生物学的効果との関連性
……………研究代表者 竹内 昌之 56
 - 7) アデノ随伴ウイルスを用いた多段階発癌モデルの研究手法の検討……………研究代表者 山本 雅大 57
 - 8) マタニティヨガの周産期予後改善効果に関する研究……………研究代表者 川西 康之 58
 - 9) アニオントランスポーター発現を指標とした関節リウマチ(RA)治療効果予測法の確立
……………研究代表者 小村 景司 60
 - 10) 造影剤腎症におけるメトホルミン効果についての検討……………研究代表者 滝山 由美 61
 - 11) 術前肝予備力・肝再生能力から見た新しい術前肝機能評価、肝切除基準の確立に関する検討
……………研究代表者 谷口 雅彦 62
 - 12) 腹部手術における術後合併症に対するHMGB1の関与の解明……………研究代表者 渡邊 賢二 65
 - 13) 喉頭ペーシングの改良に関する研究……………研究代表者 野村研一郎 67
 - 14) ヒト男性不妊症と習慣流産の病態解明および臨床医学への応用……………研究代表者 宮川 博栄 68
 - 15) FDG PET/CT後期像撮像による悪性リンパ腫と良性リンパ節との鑑別における有用性の検討
……………研究代表者 中山 理寛 69
 - 16) 補足運動野における機能局在及び代償機能に関する研究……………研究代表者 安栄 良悟 71
 - 17) 脂肪組織由来幹細胞の静脈内投与による骨再生の研究……………研究代表者 竹川 政範 73
 - 18) 血清シスタチンC免疫学的測定法の標準化—血清マトリックススペースの標準品の作製
……………研究代表者 赤坂 和美 75
 - 19) 中学生の脳死・臓器移植に関する意識調査……………研究代表者 森 浩美 77
 - 20) トリプトファン代謝酵素からみた「こころ」と精神疾患の分子機序の解明
……………研究代表者 金井 将昭 79
 - 21) 量子力学的境界の実現法とカシミール効果の考察……………研究代表者 藤井 敏之 82
 - 22) 血管分岐指数減少の網膜微小循環への影響：arteriolar narrowingの原因について
……………研究代表者 高橋 龍尚 83
 - 23) マウスおよびヒト凍結乾燥精子ゲノムの高温耐性獲得に関する研究
……………研究代表者 日下部博一 86
 - 24) 孤発性筋萎縮性側索硬化症における神経細胞死のメカニズムの解析と新規治療薬の探索
……………研究代表者 澤田 潤 88
 - 25) 気管支肺胞幹細胞株の樹立……………研究代表者 佐々木高明 90

平成23年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト型研究課題

毛細血管の新しい役割解明と臨床応用にむけた脈管研究クラスター活動……………川 辺 淳 一 92

イオンチャネル遺伝子迅速解析新規システムの構築とチャネルパシー診断・治療への応用
宮津 基・野口 智弘・佐藤 伸之・丹保亜希仁・高井 章・柏柳 誠・長谷部直幸・岩崎 寛 97

ゆるむ事のない人工関節開発へのブレークスルー……………松野 丈夫・伊藤 浩・谷野 弘昌 100

初学者に対する静脈血採血の教育方法……………神成 陽子・一條 明美・升田由美子 104

JICA地域別研修「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・藤井 智子・伊藤 俊弘・北村久美子 112

学界の動向

日本心臓血管麻酔学会第16回学術大会報告……………岩 崎 寛 123
平成23年度日本遠隔医療学会学術大会 (JTJA2011 ASAHIKAWA) 報告……………廣 川 博 之 126
日本ルーラルナース学会 第6回学術大会を終えて……………北 村 久 美 子 127
日本看護研究学会 第22回北海道地方会学術集会報告……………荒 ひとみ・澤田 裕子・上田 順子 131

学生のページ

マヒドン大学熱帯医学研修プログラムに参加して
……………小林 孝弘・伊藤圭一郎・市丸 千聖・織笠 裕行・岩崎 愛美 135

本学教員執筆書籍の紹介

医学生のための生命倫理……………藤 尾 均 138
判読E R心電図—実際の症例で鍛える—応用編……………長谷部 直 幸 139

旭川医科大学回顧資料 (14) 昭和61年度

医学部附属病院開院10周年 式典と記念誌……………藤 尾 均 140

投稿規程

……………143

編集後記・表紙解説

……………144

依頼論文

旭川医大眼科および医工連携総研講座が行う遠隔医療の実践

石 子 智 士*

【要 旨】

旭川医大眼科および医工連携総研講座が行う遠隔医療の実践のうち、遠隔医療支援、遠隔医療教育、在宅医療支援、遠隔健康管理をとりあげ、現在、我々眼科医が日常的にかかわって行っているものの一部を紹介した。未病のうちから健康管理、病気の早期発見・早期治療、そして通院中から退院後まで、患者にとって「切れ目のない医療支援体制」の構築を我々は目指している。

キーワード 遠隔医療、遠隔医療支援、遠隔医療教育、在宅医療支援、遠隔健康管理

はじめに

昨年、旭川において日本遠隔医療学会学術大会が吉田晃敏学長の主催で開催された。吉田学長による大会長講演では、これまで我々の行ってきた過去・現在の遠隔医療と未来へ向けた方向性が示された。また、「遠隔画像診断－眼科画像を中心として－」というテーマのシンポジウムも行われ、「旭川医大眼科が行う遠隔医療の実践」という演題で講演させていただいた。このシンポジウムの内容を中心に、我々の行っている遠隔医療の一部を紹介したい。

遠隔医療と旭川医大

広大な北海道では、従来から医師の絶対数が不足しており、地域医療における医師確保など医療過疎への対策、都市部と地域との“医療格差”の解消は重要な課題であった。しかしながら、卒後研修制度の改変によって都市部への医師集中が生じると同時に、研修医の大学病院離れによって医局に属する医師が不足し、従来通り大学から地方病院に医師を継続して派遣することが困難となった。このため、地域病院からの医師の撤退を余儀なくされる事態となり、“医師の偏在化”が深刻度を増している。診療科によっては、その地域

に専門医が不在である地域も多く、都市部と地域との“医療格差の拡大”が問題化している。この問題解決の一つの方向性が“遠隔医療”である。

これまで旭川医大では、遠隔医療実践のためのシステム開発ならびにこれを用いた実証実験を行い運用してきた。なかでも、旭川医科大学眼科学講座では、遠隔医療システムの開発と実践を、1994年から行ってきた(図1)。^{1)～7)}



図1 1994年10月21日付 北海道新聞 朝刊

眼科診療には視力値や眼圧値など数値化あるいはグラフ化できる生体情報に加え詳細な画像必情報が必須である。そのため、眼科の診断支援をする場合には、患者から得られた画像情報を鮮明にそしてなめらかな

*旭川医科大学 医工連携総研講座

動画として、さらには奥行情報もとらえられるよう正確に伝送することが重要である。加えて、遠隔医療システムを利用してこれらを行う際には、万全なセキュリティが必要であるのみならず、通信途中で途絶えない事や、災害時の通信確保に関する対策も重要となる。これら医師側からの要求項目実現のため、画像伝送技術の開発と、実際にこのシステムのユーザーとなる眼科医による評価を重ね、遠隔医療システムの開発を行ってきた。^{8) 9)}

医師に対する遠隔医療

1 遠隔医療支援

遠隔医療をその対象に分けて分類した場合、医師に対する遠隔医療と患者に対する遠隔医療に分けることができる。医師に対する遠隔医療では遠隔医療支援と遠隔医療教育を行ってきた。

(1) 遠隔診断支援

遠隔医療支援のひとつ遠隔診断支援では、地域病院の患者に対して眼科医が細隙灯顕微鏡検査および眼底検査を行い、セキュリティを高めた専用回線を用いてリアルタイムで大学病院に伝送した所見から眼科専門医が助言を行ってきた。この際、系統的に鮮明な画像を伝送できる事はもちろんのこと、所見を送る側の眼科医には3次元的構造である眼内の病変領域を正確にとらえそこに焦点を合わせた観察が要求される。これは、得られる所見が、部位によって異なるばかりでなく、照明(図2)やフォーカス(図3)によっても異なるためである。

リアルタイムで遠隔支援を行うと検査の指示をきめ

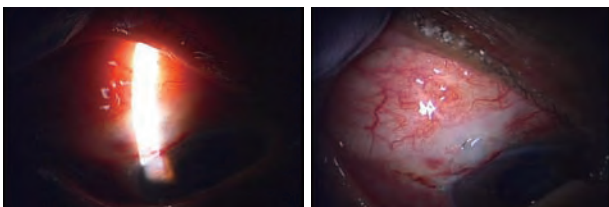


図2 照明による所見の差

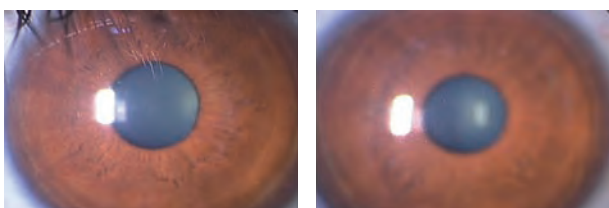


図3 フォーカスによる所見の差

細かに行う事が可能であり、的確に所見をとらえることができるのみならず、送り手側の医師が気が付かなかった所見を指摘できることもある。さらに、次に行うべき検査あるいは治療方針をその場で決定できる場合もある。眼科では、地域病院に勤務する医師が一人医長であることも多く、診察にあたって相談できる相手が近くにいないことも多い。診断に迷った際、大学での診察が必要かどうか躊躇することで、診断や適切な治療の開始が遅れる可能性がある。一方で、安易な大学病院への紹介は患者側にとっては大きな負担となる。具体的には、まず遠距離の移動による時間的・金銭的損失が挙げられる。北海道では地域によって交通機関が必ずしも充実しておらず、路線バスを乗り継いだり、離島からはフェリーに乗って一日がかり、場合によっては泊りがけで大学受診のために移動する必要がある。加えて、大学受診のための休業による損失、さらには患者に付き添う人の負担も憂慮される。リアルタイム遠隔診断支援システムを用いた遠隔診断支援では、診断のために大学病院まで移動しなければならない患者の移動に関連する諸問題を解決してくれる。

(2) 遠隔診療連携

遠隔医療支援のもうひとつのテーマとして、術後患者に対する遠隔診療連携も行っている。緑内障など手術そのものの評価に加え術後の詳細な病状把握と所見に応じた細かい対処が必要な疾患では、手術後の経過が落ち着いたと判断されるまで、しばらくの間主治医のいる大学病院への通院が好ましい。しかしながら、通院にかかわる諸事情のため、遠方の大学に通院することが難しく、早期に地元病院への通院をせざるを得ない患者も存在する。そのような場合には、術後経過の悪化のリスクもあり、主治医のみならず、患者側の心理的不安も大きい。遠隔診療連携は、大学病院で手術を受けた患者が地方病院を受診して検査を受ける際、リアルタイム遠隔診断支援システムを用いて大学にいる主治医が同時に診察を行うものである(図4)。これにより、術後、早期に地元病院への紹介が可能となるため、遠方から病院への受診回数を軽減させることができ、患者の時間的・金銭的負担を軽減する効果がある。また、地元にいながら継続して大学での主治医に診察を受けることによる患者の心理的安心感の向上にも役立っている。



図4 地元病院での術後患者の診察を大学で主治医が同時に診察



図5 遠隔相談システムを用いた症例相談の一例

(3) 遠隔診断システムの問題点とその解決

しかし、このリアルタイム遠隔診断支援システムを運用した経験からいくつかの問題点が明らかとなった。すなわち、結果的に必ずしもリアルタイム遠隔診療支援が必要ではない症例が含まれること、送り手側、支援側双方の時間を合わせて同時に診察する必要があり、そのスケジュール調整に手間がかかること、そして、支援側には時間的拘束が生じるもののそれに見合ったインセンティブがないことである。

このシステムの運用経験から学んだ問題点を解決するため、リアルタイムでの遠隔診断支援を行う前に症例を相談できるシステムが望まれた。しかし、電子メールを利用した場合には、他のメールに埋もれ、返信が遅れる可能性があること、複数への送信では専門毎のメール管理が面倒であること、高画質な画像や動画の添付には制限がありえること、メール交換の経緯を管理しにくいこと、誤って全くの部外者に患者の医療情報を流してしまう可能性があることなど、いくつかの問題点がある。そこで、ネット上に独自の遠隔相談システムを作成し検査結果や画像などと共に症例の相談ができる仕組みを創り上げた(図5)。¹⁰⁾

このシステムを通じて相談を入力すると、相談内容にふさわしい専門外来担当の複数の専門医に相談が入力された旨の通知メールが送られる仕様となっている。支援側医師は、コンピューターを使える環境であればどこにいてもシステムにログインして相談を確認しコメントを入力することが出来る。したがって、場所を問わないため出張先から返答することも可能であり、また、自分の都合の良い時間に返答することが可能であるため、支援側への場所的、時間的拘束がない。

また、このやりとりはログインした全ての医師で共有することが出来るため、コメントに対するコメントなど複数医師によるディスカッションが可能である。さらに、参加メンバーを大学および関連病院の医師に限定しており、身内の中での相談であるため心理的な負担が少なく使いやすい。このシステムを実際に運用してみると、このシステムでの相談だけで、診断および治療方針の決定することもあるため、本来リアルタイムでの遠隔診断支援が必要ではない症例に行く事は無くなった。さらに、リアルタイムでの遠隔診断支援を行うか、早急に大学病院への受診が必要かを判断することができるため、診断に至るための効率の良い方法を選択できるのみならず、遠方からの大学受診が不要である患者を判断することで、患者側の負担を減らす効果がみられた。

また、インターネット上に遠隔診断予約カレンダーのシステムを構築した(図6)。遠隔相談システムでの相談の結果リアルタイムでの遠隔診断が必要となった場合には、日時の調整が必要となる。この際、支援側の診察可能日時を提示しておく、送り手側すなわち地方病院の医師と患者で遠隔診断支援を行う日時を決める際、いちいち支援側医師に確認することなく決定するため手間がはぶけスケジュール調整が容易になった。

以上のような遠隔診断システムの改良を行う事で、現在の我々の遠隔診断支援は、以前と比べ効率よく行えるようになった(図7)。

遠隔医療に関するシステム開発やその立ち上げには、政府からの研究費をはじめとする資金でまかなわれることが多いものの、研究期間の終了とともに、維持費の面からそのプロジェクトが立ちゆかなくなるこ



図6 遠隔予約カレンダー

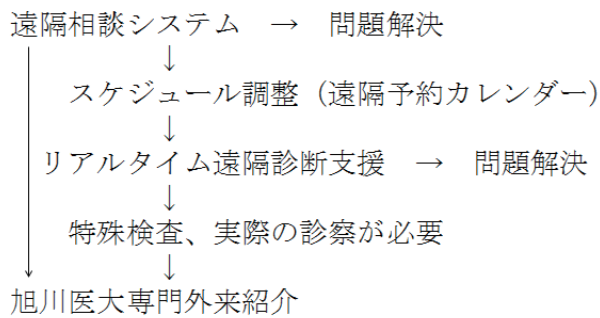


図7 現在の遠隔診断支援の流れ

ともある。システムの維持ができれば、遠隔医療を継続することは可能であるが、支援側医師は、時間的拘束をされるもののそれに対するインセンティブは無く、ほぼボランティアとして遠隔医療支援を行うことになる。そのため、遠隔医療支援を継続して行うためには、支援側へのインセンティブが重要となる。眼科領域の診察行為に関する診療報酬に関して、以前は遠隔での請求は認められていなかった。しかし、平成18年3月28日付医療課事務連絡により、遠隔診断支援の際に行う一部の検査に関して、診療請求が可能となった。すなわち、精密眼底検査、汎網膜硝子体検査、眼底カメラ撮影、細隙灯顕微鏡検査を医師が行う際に、検査の実施と同時に画像情報を送信し、受信側のほかの保険医療機関の医師が診断を行った場合でも、当該検査の点数は算出できるようになった。この場合の診療報酬は送信側の保険医療機関が請求することとなるが、診断等に係る費用については送信側、受信側の保険医療機関における相互の合議に委ねることとなる。旭川医大眼科では、リアルタイム遠隔医療支援を行った際、これら検査の診療報酬を大学側で得

ることを当該医療機関と合意し、支援側にもインセンティブを与える仕組みを構築し運用している。

(4) 遠隔手術支援

遠隔医療支援には、もう一つ、遠隔手術支援が挙げられる。関連病院のいくつかには、手術室に遠隔診断支援システムを繋ぎ、手術顕微鏡からの映像をリアルタイムで大学側に送り、大学にいる医師からの指導を受けることが出来る。これらの施設では、常に使うシステムではないものの、必要に応じていつでもつなげる体制は整っている。

2 遠隔医療教育

医師に対する遠隔医療のもう一つの柱として遠隔医療教育がある。我々が行ってきた遠隔医療相談システムを介した通信記録は、相談された症例に対する診断および治療方針決定までのプロセスを記録したものであり、活きた医療教育の教材となりえる。相談症例毎に、バックナンバーとしてまとめたものを「ライブラリ」に蓄積し、会員が閲覧できるようにする遠隔医療教育システムを作成した。症例の勉強に役立つのみならず、過去の症例と類似の症例に対しては、参照すべきライブラリの番号を連絡し、確認してもらう事で説明の手間も省け経過の予想もつきやすい。また、手術手技に関する動画も残されているため、手術の際にも役立っている。

さらに、遠隔相談システムに研修医を対象とした「勉強会」メニューを新設した(図8)。¹¹⁾

この勉強会では、眼科指導医・専門医が日本眼科学会「専門医試験」を念頭に臨床問題を出題し、参加者



図8 「勉強会」メニューの出題の例

は期限内に解答をネット上にアップロードして答えるものである。各参加者からの解答は、匿名で全ての参加者に公開され、出題者はこれらの解答に解説を加えながら解答する形式をとっている。大学外の離れた研修病院に派遣されている研修医への臨床研修に役立てている。さらに、遠隔システムを用いた医局セミナーの地域病院への伝送も行ってきた。

医師に対する遠隔医療

1 在宅医療支援

患者に対する遠隔医療として在宅医療支援と遠隔健康管理を行ってきた。在宅医療支援として、高齢者や情報機器の操作に不慣れな患者でも容易に操作ができる家庭用情報端末を開発し、手術後の患者が退院後も在宅でフォローアップできる遠隔医療システムを構築した。^{12), 13)} この在宅医療支援が可能となれば、術後早期のフォローアップも在宅で可能となるため、早期に退院が可能となる。そのため、患者側からは、入院に対するストレスからの早期解放や通常の日常生活への早期復帰、さらには付き添う人の負担減少というメリットが生じる。一方、病院側としても、早期退院による他の待機患者の待機期間の短縮が期待でき、入院患者数の増加に伴う収益増が見込まれる。開発当初、ノート型PC、Webカメラなどを用い、市販のWeb会議ソフトウェアでの在宅医療支援を試みた。しかし、従来のPCでは、使用経験を持たない患者にとっては操作が煩雑であり、継続的な使用は困難であった。実際に必要なのは、複雑な操作がいらぬ簡便なシステムであることから、市販の装置を応用することをあきらめ独自に開発することにした。装置は、画面に映し出された情報を見て指で指示ができるタッチパネルでの操作であること、カメラ、スピーカーなど必要な装置と一体化していること、バイタルデータは自動送信できること、小型軽量であり場所をとらないこと、そして、特別な専用回線が不要であることを必要要件として専用端末の開発を行ってきた(図9、10)。¹⁴⁾ 実際には、体重、血圧、血糖など得られたバイタルデータは自動入力、自動送信できるようにし、自覚的・症状の自己評価を行い、その変化をスコア化したり、視力・ゆがみなどの簡易視機能評価ができるようにした(図11)。¹⁵⁾ そして、設定した条件で、問題が生じていると判断された場合にはアラームが主治医に送信される



図9 左は装置の外観、右は画面の一例



図10 装置を用いた通信(大学と患者宅)



図11 左は自覚症状のスコア化、右はゆがみの評価

仕組みも構築した。

さらに、緊急性はないものの患者が主治医に相談したいことがあった場合、それを主治医に伝えるビデオレターも、この装置に組み入れた。患者は専用端末に向かい相談したい内容を話し送信すると、病院側端末にビデオレターがきていることが通知される。主治医からこれに対するメッセージを入力して患者側に送信すると、患者側にメッセージが来たことが通知されるシステムで、メッセージは患者に読み上げることが可能となっている(図12)。

2 遠隔健康管理

患者に対する遠隔医療のもう一つの柱として遠隔健康管理を行っている。疾病の早期発見ならびに予防医学の観点から、住民が自分の健康状態を自己管理できるシステム、ウエルネットリンク (<http://wellnetlink.asahikawa-med.ac.jp>) を開発した(図13)。¹⁶⁾ このウエルネットリンクは、インターネットを利用した健



図 12 在宅医療支援システムの全体像



図 13 ウェルネットリンクの全体構想

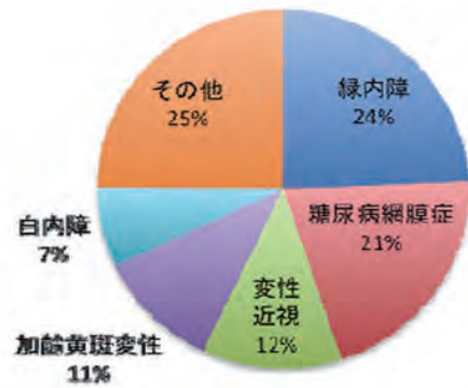


図 14 日本における視覚障害の原因疾患
(0.5 未満の視力) 日本眼科学会 2007 年

康情報管理システムで、自分自身の医療情報を自分で管理するものである。持病などの医療情報や血圧などのデータを自分入力し、いつでもどこでもインターネットにつなげる環境があれば閲覧できるため、旅行中に病院にかかる事態が生じた場合には、詳細な医療情報を確認することが出来る。

さらに、アドバイザーへの相談を入力すると、それに対するアドバイスを閲覧することも出来る。

この遠隔健康管理システムを運用して、現在、留萌市ならびにその近隣住民の健康管理を行っている。「るもい健康の駅」に設置されている無散瞳眼底撮影装置で撮影された眼底像がウェルネットリンクを通じて旭川医大に送られ、眼科専門医からのアドバイスがウェルネットリンク上に書き込まれるシステムで、患者は自宅のPCで、PCを有していない患者は「るもい健康の駅」でそれを見ることが可能となっている。平成22年12月1日から平成23年3月23日まで総務省地域ICT利活用広域連携事業の一環として行われた合計178名354眼の眼底検査では、参加者の56.7%において少なくとも片眼に異常が疑われ、そのうち要眼科受診となったものが56.4%あった。その内訳をみ

ると、白内障や緑内障など、日本における視覚障害(0.5未満の視力)の原因疾患の上位を占める疾患(図14)が疑われていた。

2007年に我が国における視覚障害の現状を日本眼科学会が疫学研究を取りまとめ報告した。

その時点で164万人の視覚障害者、18万8千人の失明者がいると報告された。

このうち視覚障害者の半数は70歳以上であり72%が60歳以上であった。人口の高齢化に伴い、今後2030年には視覚障害者の数は200万人に達すると推測されている。これにより、社会的コストは8兆8千億円、2030年には11兆円かかると推計された。しかし、視覚障害を30%減らせれば6兆円程度に軽減可能であることから、早期診断に対する国民意識の向上、積極的治療、ロービジョンケア、視覚障害に関する研究、そして新しいテクノロジーの導入に前向きに取り組んでいく必要性を訴えている。我々の行っている、ウェルネットリンクを介した眼底画像による遠隔健康アドバイスは、疾病の早期発見ひいては早期治療

につながるものである。自分の健康状態を把握することは、疾病発症のリスクを確認できるのみならず、リスクがあるとわかれば、疾病が発症していない“未病”のうちから健康管理を行い発症のリスクを軽減させることが可能である。したがって、自分に対する健康意識を向上させるのにも役立つものである。

我々が行っている遠隔医療の実践

旭川医大眼科および医工連携総研講座が行う遠隔医療の実践としては、このほかにも海外に対する遠隔支援などの国際貢献がある。ここでは、遠隔医療支援、遠隔医療教育、在宅医療支援、そして、遠隔健康管理をとりあげ、現在我々眼科医が日常的にかかわって行っているものの一部を紹介した。未病のうちから健康管理、病気の早期発見・早期治療、そして通院中から退院後まで、患者にとって「切れ目のない医療支援体制」の構築を我々は目指している。

引用文献

- 1) 吉田晃敏 廣川博之 山上浩志ほか 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 2005 ; 1(1):96-97
- 2) 吉田晃敏 木ノ内玲子 花田一臣ほか 北海道における遠隔医療モデルプロジェクトの実施報告 . 日本遠隔医療学会雑誌 2009 ; 5(2):155-156
- 3) 守屋潔 林弘樹 三上大季ほか 眼科遠隔医療における有効性の検証 . 日本遠隔医療学会雑誌 2009 ; 5(2):157-159
- 4) 吉田晃敏 守屋潔 林弘樹ほか 北海道における遠隔医療の有効性と課題 日本遠隔医療学会雑誌 2010 ; 6 (1) : 48-51
- 5) 守屋潔 山口亨 三上大季ほか 医療連携を促進する遠隔医療システムの有用性の評価 日本遠隔医療学会雑誌 2010 ; 6 (2) : 108-110
- 6) 木ノ内玲子 石子智士 花田一臣ほか 地方病院から旭川医大入院前の患者情報の VPN による送付の有用性 日本遠隔医療学会雑誌 7(2):175-6, 2011
- 7) 山口亨 守屋潔 石子智士ほか 眼疾患における遠隔医療システムの有用性 日本遠隔医療学会雑誌 7(2):216 - 8, 2011
- 8) 林弘樹 三上大季 守屋潔ほか 眼科遠隔医療支援における有効解像度の評価 . 日本遠隔医療学会雑誌 2009 ; 5(2):164-165
- 9) 林弘樹 石子智士 吉田晃敏 眼科手術顕微鏡で撮影した立体 HD 動画像の高品質伝送方法に関する検討 日本遠隔医療学会雑誌 7(2): 219-20, 2011
- 10) 守屋潔 花田一臣 石子智士ほか 北海道における眼科遠隔医療の利用状況分析 日本遠隔医療学会雑誌 8(2):133-136, 2012
- 11) 花田一臣 守屋潔 石子智士ほか 遠隔支援システムを活用した眼科医師教育システムの構築 日本遠隔医療学会雑誌 7(2):211-3, 2011
- 12) 三上大季 守屋 潔 林 弘樹ほか 一般外来患者を対象とした遠隔医療に関する意識調査結果の報告 . 日本遠隔医療学会雑誌 2009 ; 5(2):160-161
- 13) 三上大季 林弘樹 守屋潔ほか 退院患者を対象とした遠隔在宅療養支援システムの研究開発 日本遠隔医療学会雑誌 2010;6(2):111-113
- 14) 亀山大希 守屋潔 三上大季ほか 退院患者の遠隔フォローアップシステムの研究 日本遠隔医療学会雑誌 7(2):191 - 4, 2011
- 15) 三上大季 守屋潔 亀山大希ほか 退院患者向け遠隔在宅医療支援システムの患者による主観評価 日本遠隔医療学会雑誌 7(2):195 - 6, 2011
- 16) 吉田晃敏、林弘樹、三上大季ほか. 携帯電話による本人認証技術を用いた PHR システムの開発 日本遠隔医療学会雑誌 2010 ; 6 (2) : 104-105

エッセイ

唾液との関わり

北 進 一

楽器と唾液

笛やラッパなどの吹奏楽器の場合、吹き口（^{うたぐち}歌口）は唾液に触れるばかりか、吹く息の中の水蒸気が楽器に触れて冷やされ水分となる。そのため、長時間吹奏していると、両方の液が合流して楽器の管の内部を流れ、音質を悪くする。そこで、奏者は時々楽器を上下に振ったり、内部に布を通して、液を除去しなければならない。しかし歌口は適度の量の唾液でぬれている方がよいので、吹奏に先立って歌口をなめる光景を目にすることがある。

ハーモニカの場合は、息を吹くだけでなく、吸うことによってもリードを振動させる。従って、曲が終わるまで口にくわえ続けているため、唾液の影響は甚大である。不注意にも、食後すぐに口を洗わずに吹奏すると、食べかすが吹き口や内部のリードに付着し、音を狂わすと同時にきわめて不潔である。

三弦（三味線）という楽器に直接接触した経験はないが、意外なことに、三味線にも唾液との関係のあることを知った。三味線は演奏中にずれたり動いたりしないように、その胴をしっかりと固定しておく必要がある。そのためには、胴の下面にはゴム布を敷いて置き、胴の上面には胴掛け（表が布、裏は紙）と称するものを掛けて、木製である胴の滑りを防ぐ。この胴掛けの上面を、右腕の下面で押さえ込み、固定して弾く。この時に、押さえ込む右腕の下面、または胴掛けの腕で押さえ込まれる位置に、奏者は何気ないしぐさで、指先でなめた唾液を塗りつける。唾液の粘着性を利用するのだという。

さらに、三味線の胴皮には、^{ぼちかわ}撥皮というかまぼこに似た形の薄い皮がはり付けてある。弾くときに、弦をはじく撥の先が直接当たる所が撥皮であり、これによって高価で貴重な胴皮が破れないように、保護の役

目をする皮である。この撥皮をはがして新しい撥皮とはり替えるときに、また唾液を用いる。ガーゼまたは木綿の布に唾液をたっぷりと含ませ、それで撥皮の周辺部を何回もこする。唾液中には、各種の酵素が含まれているほかに、多種の微生物や細胞も存在しており、これらの微生物や細胞も各種の酵素をもっている。そこで撥皮の周辺から、このような諸酵素をしみ込ませて、撥皮を付着させている糊を溶かす、というのが唾液を用いる理由である。だから、水を使ったのでは効果がまったくない、のだという。

こうして唾液でこすっていると、撥皮がはがれ始めるので、はがれた周辺部を持って撥皮全体をはがし取る。除去部の胴皮の部分は、唾液を含ませたガーゼや布片で何回も拭いて糊の跡を完全に除去する。さらに新しい唾液で拭き、最後に水で拭いて乾燥させる。次いで、新しい撥皮を糊り付ける際に用いる糊であるが、これはもち米のめし粒をヘラでつぶして練ったもの、あるいは鶏卵の白身を使う。撥皮をはる胴皮の位置に、糊を薄くのばし、手早く撥皮を載せ、撥皮全体をしごいて、過剰な糊をはみ出させる。次いで新しい唾液をガーゼに含ませて、はみ出している糊を溶かして拭き去り、乾燥させる。

糊として用いたものが米の澱粉である場合は、唾液に含まれている澱粉分解酵素が、その糊の澱粉を分解して、粘りのない麦芽糖に変えるので、撥皮がはがれる。また糊が卵の白身の場合は、唾液に多数混入している細胞や微生物から出るタンパク質分解酵素が、その糊のタンパク質、殊に粘りの強いムコタンパク質を分解するので、撥皮ははがれる、ということであろうか。

私が10歳の誕生日に、父に買ってもらった竹製の横笛を長いこと愛用していた。これは^{みんてき}明笛と呼ばれるものであった。なぜそう呼ばれるのかのかについては、

何の関心も持たずにいたが、いい歳になった今、その名称の由来が分かったような気がする。

明笛には吹き穴が1個、指穴が6個あり、そのほかにもう1個のやや小さい穴があり、響き穴（響孔）と呼ばれる。響き穴の位置は、吹き穴と、吹き穴に最も近い指穴とのほぼ中間にあった。この響き穴には、竹紙というものを唾液でぬらしてはり付ける。こうして笛を吹くと、その竹紙が振動して音色に妙味を添えるのである。竹紙は竹の幹の中にある薄い紙のようなものであり、私の少年時代は、生薬屋（いまの漢方薬店）で売っていた。ということは、竹紙は薬として用いられていたものであり、収斂作用があるため、傷口に張り付けると絆創膏のような役割を持ったものらしい。

時期は定かではないが、1980年頃の夏、運転中の車のラジオで、中国の横笛の名人の演奏を聴き、驚いた。その音色は正に、少年の日に夢中になって吹いていた明笛とそっくりなのである。名人の用いた横笛は明笛ではなく、その名前は思い出せない。しかし演奏後の解説によれど、やはり響き穴があって、そこに竹紙を唾液で張り付けて奏するのだという。

私の愛用した横笛の明笛という名前の由来は、多分、中国の明の国（1368 ~ 1644年）の時代に生まれたもので、その名が伝来したものであろう、と推定している。

ヒル（蛭）の唾液

中学生時代のこと、級友に農家の息子がおり、親しくしていた。田植えの時期になると、猫の手も借りたくて、稲の田植えやその後の草とりの手伝いをせがまれた。現在ではどこでも田植え機によって、みるみる作業が進行するが、当時は裸足で田んぼに入り、すべてが手作業で苗を植えたので、知らぬ間に脚のすねや腕などにヒルが吸い付き、たっぷりと血を吸われてい

た。

ヒルの唾液腺（頰腺）にはヒルジン（hirudine）という物質があり、これをヒルの唾液の中に分泌して、人の傷口の血液が凝固するのを防ぐので、ヒルは多量の血液を吸うことができる。ヒルジンは、人の血液が凝固するのに必要なトロンビンの働きを、阻止する作用を持つ。一方、人の唾液には、血液中に存在する血液凝固に関与する因子、例えば組織トロンボプラスチン様物質が含まれており、これがトロンビンの形成を促して血液の凝固を速め、傷の出血を止める働きをするのであるが、ヒルの唾液は逆の作用をしている。

昔は、このヒルが医療ヒルとか血吸いヒルの名で、吸血療法に用いられていた。これはわが国では「水蛭」と呼ばれ、生きたままのもの、又は焼いて乾燥させたものが用いられた。生きたままの水蛭は、治療の目的で、患者の身体から血液の一部を抜き取るための、吸血療法（瀉血療法）に応用されている。ヒルによる瀉血、すなわち吸血療法は、浮腫・高血圧・脳出血・心不全などの際に応用されたいが、効果のほどはいかがであったものか。また、多数のヒルの唾液腺を集めてヒルジンを抽出し、乾燥・粉末とした製品もあり、これを生理的食塩水で溶かして、静脈血栓（静脈内で血液が固まること）を予防する目的で、静脈内に注入したり、さらには軟膏の形にして、皮膚の古傷の凝血を取り除くのに用いられている。

ヒルの学名は、ラテン語でヒルド（Hirudo）、英語名ではリーチ（leech）という。ヒルドもリーチも、古い時代には医者を意味していたようだ。これは前述の吸血療法にヒルを用いていたことによるからであろう。しかし、こんな皮肉なことわざもある。Leeches kill with license.（医者どもは免許を得て人を殺す）。ヒルのように人を食べ物にして、財を成していた悪徳医が、昔はいたらしい。

（旭川医科大学名誉教授）

投稿論文

看護技術学習のレディネス形成を目指した 技術評価演習での学生の学び — 1 年次の状況設定課題終了後のレポート分析 —

一條 明美* 神 成 陽 子* 升 田 由美子*

【要 旨】

本研究の目的は、状況設定課題による技術評価演習終了後に学生が記述したレポートから学生の学びの内容を明らかにし、学生の看護技術学習に関するレディネス形成について検討することである。

研究同意のあった看護系大学1年生53名を対象とし、授業で行った技術評価演習終了後のレポートをデータとし、学習状況、学習課題、今後の学習方法、技術評価演習での気づき・学びについて質的記述的に分析した。分析の結果、学生は【学生同士の意見交換】【教科書を活用】【反復練習】などの事前学習を行い、【患者のことを考える】【目的・根拠を考える】【技術の向上】を学習課題ととらえていた。また、【練習不足】【技術が身につけていない】【根拠の重要性】【学習成果】などの気づき・学びがあり、今後の学習方法は【他者と練習・意見交換】【反復練習】【教科書を活用】であった。自らの看護技術学習を客観的に評価し、今後の課題、学習方法を考えることは、レディネス形成を促すことにつながったと考える。

キーワード 看護技術、看護技術習得状況、レディネス、看護学生、動機づけ

I. はじめに

看護基礎教育における看護技術の習得に関しては、その重要性が強調されて久しい。現代の若者にどのようにして技術を習得させるか、看護教員は様々に工夫し、日々の教授活動を行っている^{1) - 8)}。技術を習得するには認知領域、運動領域、精神領域の3方向から教授する必要がある。

看護技術習得には反復練習が必要である。1回の講義・演習で看護技術が身につくことはなく、学生は講義・演習の後に主体的な自己学習、反復練習が必要となる。また、学生個々の学習ニーズに合わせた個別指導が必要な場合もある。低学年の看護学生は自己の看護技術を客観的に見ることはできず、また、他の学生もアドバイスをするには至らない。

本学では、1年次で履修する基礎看護技術学Ⅰで看護の基礎となる共通技術（バイタルサインの観察、感染予防など）と日常生活行動に関する看護技術を教授している。また2年次では基礎看護技術学Ⅱで診療・検査に関する看護技術を教授している。基礎看護技術学Ⅰでは反復練習の動機づけ、個別あるいはグループごとの指導を目的に実習室アワーを設けている。さらに個別指導の機会とすること、実施時点での看護技術の他者評価を受けることを目的に技術チェックを設け実施してきた。

基礎看護技術学Ⅰでは、年間3～5つの看護技術について各単元終了時に技術チェックを実施し、全単元が終了した冬季休業後に、全単元の看護技術を対象に状況設定課題による技術評価演習（以下、技術評価演習）を実施してきた。技術評価演習のねらいは、学生

*旭川医科大学 看護学講座

自身が①看護技術の習得状況および学習内容を確認する、②観察者になることで評価の視点をもつ、③患者体験から安全・安楽について考える、④技術評価演習の学習過程を振り返り自己の学習課題を明確にし、今後の学習方法を具体的に考えることである。そのため、技術評価演習では、教員評価に加えて、観察者（学生）をおき観察者による評価および患者役（学生）による評価を行った。さらに観察者評価と患者役評価および自己評価に基づき、学習状況、学習課題、今後の学習方法、技術評価演習を通しての学びをレポートした。

学生の学習が円滑に進み学習目標が達成されるためには、ある程度のレディネスが備わっていることも必要と考えられる。レディネスとは準備性と訳され、効果的に授業を実施するための発達の・学習的・態度的・社会的準備性を指す⁹⁾。我々は、学生が技術評価演習に向けて学習したことが学生のレディネス形成につながり、さらに専門的な学習となる基礎看護技術学Ⅱが能動的に学べるようになることを目指している。先行研究^{1) - 8)}では、看護技術の教授方法や試験方法に関する報告、学生の学習方法や自己評価に関する報告はある。しかし学生のレディネス形成という視点で考察した研究報告は多くはない。状況設定課題による技術評価演習からの学びについて、看護技術学習のレディネス形成に着目し、検討することで、看護基礎教育の中での看護技術教育の示唆が得られると考える。

Ⅱ. 研究目的

1年次の状況設定課題による看護技術評価演習終了後に学生が記述したレポートから学生の学びの内容を明らかにし、学生の看護技術学習に関するレディネス形成について検討することである。

Ⅲ. 研究方法

1. 対象

看護系大学1年生で状況設定課題による技術評価演習を受けた60名

2. データの収集場所と期間

データ収集場所はB看護系大学で、データ収集期間は2010年2月であった。

3. データ収集方法

1) 技術評価演習終了後、学生は各自が行った看護援助を振り返り、以下の視点でレポートを記述した。

- (1)与えられた看護援助を実施するために必要な観察項目とその根拠
- (2)実施した看護援助の振り返り
- (3)技術評価演習までの事前学習状況
- (4)看護技術を身につけるための自己の課題と今後の学習方法

2) 上記(1)~(4)のうち、(3)(4)の記述をデータとした。なお、技術評価演習の概要を表1に示した。

表1 状況設定課題による技術評価演習の概要

ねらい	<ol style="list-style-type: none"> 1. これまでに学習した看護技術の習得状況、学習内容を確認する 2. 観察者になることで評価の視点をもつ 3. 患者体験から安全・安楽について考える 4. 技術評価演習の学習過程を振り返り自己の学習課題を明確にし、今後の学習方法を具体的に考える
方法	<ol style="list-style-type: none"> ①学生（以降、「実施者」とする）に、事前に11の状況設定課題を提示し、患者の様子をイメージできるよう説明し、学習を促した。「実施者」は技術評価演習当日、教員から指示された課題を実施した ②「実施者」「患者役」「観察者」の3人1組で行った ③1人の実施時間は20分とした ④実施終了後「観察者」「患者役」は、「実施者」が行った看護技術の評価を指定の用紙に記載し、「実施者」へ渡した ⑤「実施者」は技術評価演習終了後、以下の視点でレポートを作成した <ul style="list-style-type: none"> ・指示された看護援助を実施するために必要な観察項目とその根拠 ・実施した看護援助の振り返り ・技術評価演習までの事前学習状況 ・看護技術を身につけるための自己の課題と今後の学習方法
状況設定課題例	<p>例1 患者の様子：患者は二部式病衣を着用している。右半身に麻痺がある。右肘関節に拘縮があるため、運動に制限がある。</p> <p>場面：患者は本日入院した。初回のバイタルサインの観察のため訪室する。</p> <p>例2 患者の様子：長病衣を着用している。衰弱しており、他者の介助がないと体位を変えられない。左前腕より点滴静脈内注射中である。ベッドの両サイドにはベッド柵が設置されている。</p> <p>場面：本日はリネン交換日である。リネン交換実施のために訪室した。</p>

4. 分析方法

舟島の Berelson, B. の方法を参考にした看護教育における内容分析¹⁰⁾に基づき、得られたデータを質的記述的に分析した。

第1段階：以下の4つの問いをたて、問いに対する回答に該当する記述を素データとした。

問1 学生は技術評価演習までにどのような学習をおこなったか

問2 学生の学習課題は何か

問3 学生は今後どのような学習方法で学ぼうとしているか

問4 技術評価演習の気づき・学びはなにか

第2段階：素データから意味内容を損なわないように文脈単位を決定した。さらに問いに対する回答1つのみを含むように、文脈単位を記録単位へと分割した。

第3段階：記録単位を概観し、出現頻度の高い内容(単語)をキーワードとして同一表現の記録単位、表現は少し異なるが意味内容が同一の記録単位、検討を要する記録単位に分類・整理した。

第4段階：第3段階で分類・整理された記録単位群を、上記4つの問いごとに意味内容の類似性に基づいて共通要素を抽出した。

分析は妥当性、信頼性を高めるために看護基礎教育に10年以上従事する教員3名で行った。

5. 倫理的配慮

本研究は研究者が所属する機関でデータ収集を行うこと、学習内容の一部をデータとして使用することから、対象は研究協力を拒否することで学習上何らかの不利益を被るのではないかと懸念することが予測される。そのため、研究協力の依頼は技術評価演習の全過程終了後に行い、以下の内容を口頭と文書で説明し、同意書とレポートの提出をもって、研究協力の同意を得た。

- 1) 研究の参加は自由意思であり、同意しなくても当該科目の成績に影響しないこと
- 2) 研究同意後に同意を撤回でき、研究同意を撤回してもその後の学習活動には影響しないこと
- 3) データはID番号を付け匿名性を確保すること
- 4) データは研究以外に用いないこと
- 5) 研究終了後、データは裁断の上破棄すること
- 6) 研究結果は、学会等での発表および学会誌等へ

投稿すること

IV. 結果

研究に同意のあった1年生53名のレポートを分析した。

レポートから得られたデータは230文脈単位で、問いに対する回答1つのみが含まれた記録単位は618記録単位であった。うち意味内容が不明な22記録単位を除外し、596記録単位を分析対象とした。

1. 学生は技術評価演習までにどのような学習をおこなったか

記録単位は200記録単位、22の共通要素(【 】は共通要素)が抽出された(表2)。共通要素と記録単

表2 学習状況の共通要素 (n=200)

共通要素	記録単位数 (%)
学習期間	51 (25.5)
学生同士の意見交換	34 (17)
教科書を活用	20 (10)
反復練習	19 (9.5)
課題の練習頻度	19 (9.5)
友人と練習	9 (4.5)
より良い方法を考えた	8 (4)
手順等を覚えた	8 (4)
教員・友人に教えてもらった	8 (4)
安全・安楽を考えた	4 (2)
イメージトレーニング	3 (1.5)
患者に合わせた方法を考えた	3 (1.5)
計画的に練習した	2 (1)
家族を相手に練習した	2 (1)
練習後振り返った	2 (1)
復習してから練習	2 (1)
その他	6 (3)

表3 学習状況の記録単位例

共通要素	記録単位 (数)
学習期間	2週間前 (17)
	冬休み明けから (8)
	冬休み中から (6)
	放課後・昼休み (5)
	3週間前から (3)
	1週間前から (3)
	冬休み前から (2)
	10日前から (1)
	その他 (6)

位例を表3に示す。【学習期間】に関する記述が最も多く51記録単位であった。次いで、【学生同士の意見交換】34記録単位、【教科書を活用】20記録単位、【反復練習】、【課題の練習頻度】各19記録単位、【友人と練習】9記録単位、【より良い方法を考えた】【手順等を覚えた】【教員・友人に教えてもらった】各8記録単位、【安全・安楽を考えた】4記録単位、【イメージトレーニング】【患者に合わせた方法を考えた】各3記録単位、【計画的に練習した】【家族を相手に練習した】【練習後振り返った】【復習してから練習】各2記録単位、その他6記録単位であった。その他には【他者を観察した】【苦手な技術を後回し】【プリント・メモを活用】【図書館で調べた】【ポイントをノートにまとめた】【予習と過去の演習を参考に実施】があった。

2. 学生の学習課題は何か

91の記録単位から5つの共通要素が抽出された(表4)。学習課題は【自己の看護行為】と【患者のこと

表4 学習課題の共通要素 (n=91)

共通要素	記録単位 (%)
自己の看護行為	25 (27.5)
患者のことを考える	24 (26.4)
目的・根拠を考える	22 (24.1)
技術の向上	12 (13.2)
観察する	8 (8.8)

表5 今後の学習方法の共通要素 (n=125)

共通要素	記録単位 (%)
他者と練習・意見交換	26 (20.8)
反復練習	17 (13.6)
教科書を活用する	15 (12)
自分なりの学習方法	15 (12)
予習・復習する	11 (8.8)
患者の視点を持つ	9 (7.2)
目的・根拠を考える	6 (4.8)
体を動かして学ぶ	6 (4.8)
安全・安楽を考える	5 (4)
評価する	5 (4)
練習の心構え	3 (2.4)
コミュニケーション	3 (2.4)
援助に必要な知識	2 (1.6)
机上の学習をもとに技術を身につける	1 (0.8)
定期的な自己練習	1 (0.8)

を考える】が各24記録単位で約半数を占めた。他に【目的・根拠を考える】【技術の向上】【観察する】であった。

3. 学生は今後どのような学習方法で学ぼうとしているか

125の記録単位、15の共通要素が抽出された(表5)。今後の学習方法は、【他者と練習・意見交換】【反復練習】【教科書を活用する】【自分なりの学習方法】【予習・復習する】【患者の視点を持つ】【目的・根拠を考える】【体を動かして学ぶ】【安全・安楽を考える】【評価する】【練習の心構え】【コミュニケーション】【援助に必要な知識】【机上の学習をもとに技術を身につける】【定期的な自己練習】であった。

4. 技術評価演習の気づき・学びはなにか

気づき・学びは180の記録単位から29の共通要素が抽出された(表6)。もっとも記録単位が多かった

表6 気づき・学びの共通要素 (n=180)

共通要素	記録単位 (%)
練習不足	22 (12.2)
技術が身につけていない	21 (12)
根拠の重要性	16 (8.9)
学習成果	13 (7.2)
反省	12 (6.7)
専門基礎科目の必要性	9 (5)
効率の悪い練習	9 (5)
患者体験の重要性	7 (3.9)
練習期間の不足	6 (3.3)
評価の不足	6 (3.3)
他者評価の有効性	6 (3.3)
患者に対する視点	6 (3.3)
観察・コミュニケーションが必要	6 (3.3)
反復練習の必要性	5 (2.8)
合格のための練習	5 (2.8)
患者把握の必要性・重要性	4 (2.2)
知識の必要性	4 (2.2)
技術の練習だけでは不足	3 (1.7)
予習・復習の重要性	3 (1.7)
根拠を考えていなかった	3 (1.7)
予習は課題だけだった	2 (1.1)
必要な学習方法	2 (1.1)
丁寧な技術	2 (1.1)
手早さだけでは不十分	2 (1.1)
無駄を減らす	2 (1.1)
その他	4 (2)

のは、【練習不足】次いで【技術が身につけていない】
【根拠の重要性】【学習成果】【反省】【専門基礎科目の
必要性】【効率の悪い練習】【患者体験の重要性】【練
習期間の不足】【評価の不足】【他者評価の有効性】【患
者に対する視点】【観察・コミュニケーションが必要】
などであった。その他には【援助の目的を理解してい
れば自信を持って援助できる】【自分で考え判断する
ことが求められる】【援助の方法工夫できることが分
かった】【技術を学ぶ目的を意識していなかった】が
あった。技術評価演習の気づき・学びの記録単位例を
表7に示す。

V. 考察

1. 学生は技術評価演習までにどのような学習をおこ なったか

学生の記述は【学習期間】に関する内容が最も多かつ
た。今回行った技術評価演習では11の状況設定課題
を事前に学生へ提示している。学生は、提示された学
習をする際、いつから始めるか、計画性を持って取り
組んだことが考えられる。また学生が技術評価演習に
関する学習を振り返った際、具体的な努力を反映する
ものであり記述が多かったと推測する。

具体的な方法では、【学生同士の意見交換】【友人と
練習】【教員・友人に教えてもらった】から学生は一
人ではなく、教員に助言を受けたり、複数の友人と共
に学んでいたことがうかがえる。また、【よりよい方
法を考えた】【患者に合わせた方法を考えた】から、
良い援助のために自己の技術学習を振り返り、検討し
ながら繰り返し練習したと推測する。【教科書を活用】
から、学生は状況設定課題に取り組むことで、これま

で学習してきたこと、看護技術の原理・原則を確認し
ながら、状況設定の患者に適した援助方法を考えてい
た。その中で、安全・安楽の検討、患者に合わせた方
法の検討、が行われたものとする。

2. 学生の学習課題は何か

学生は振り返りを通して【自己の看護行為】への課
題を明らかにしていた。同時に【患者のことを考える】
という、自己の課題を明確にしていた。今回の技術評
価演習では、様々な状況が設定されており、その課題
を行っていく中で、看護援助の対象が患者であることを
再認識したものとする。そして患者に適した看護
援助を提供するには、【目的・根拠を考える】という
ように、それらが明確になっていなければならないと
気づき、その重要性を課題としてとらえていた。技術
評価演習では、患者の状況設定とどのような場面か
について提示している。看護実施場面で、安全に援助を
提供するためには、【技術の向上】とともに【観察する】
が必要であることに気づき、それらを学習課題として
認識していたと考える。

3. 学生は今後どのような学習方法で学ぼうとしてい るか

技術評価演習までの学習状況と同様に【他者と練習・
意見交換】【反復練習】【教科書の活用】が抽出された。
学生は技術評価演習の学習を通し、これらの学習方法
の必要性や有効性を認識したと考える。また、自己の
学習過程を振り返ることによって日々の予習復習の重
要性にも気づいたと思われる。

4. 技術評価演習の気づき・学びはなにか

学生は技術評価演習に向けて繰り返し練習する過程
で、【練習不足】や【技術が身につけていない】ことに
気づいたと考えられる。技術評価演習は、学生が自分
自身の看護技術の習得状況をとらえなおす機会となっ
たと考えられる。未熟な自己を受け止めることは次の
学習へのステップとして重要と考える。また、学生は
学習過程で気づいた自己の課題を達成するために友人
と意見交換したり、教科書を活用するなどして学習を
進め、自己の学習課題や学習方法を明確にしていっ
たのではないかと考える。

【学習成果】は「上手になった」「十分練習した」「自

表7 気づき・学びの記録単位例

共通要素	記録単位 (数)
学習成果	上手になった (4) 十分練習した (3) 自信がついた (2) 観察できるようになった (2) 苦手意識がなくなった (5)
専門基礎科 目の必要性	他の科目と看護を関連させて学習する (3) 病気や専門用語を復習する (2) 解剖生理学と的根拠を理解し練習する (2) 専門基礎科目を学習する (1) 患者の観察・判断には様々な分野の知識が必要 (1)

信がついた」などの記録単位で構成された。学習成果に自ら気づくことができたことは学習意欲につながり、動機づけの強化につながったのではないかと考える。さらに、【専門基礎科目の必要性】が抽出された。専門科目を学ぶ上で専門基礎科目が重要であることは言うまでもなく学生も認識していることではあるが、状況設定課題に取り組むことによってその重要性が再認識されたものとする。

5. 看護技術学習のレディネス形成

大学基準協会¹¹⁾から「看護専門職にあるものは、多様にしかも急速に変化しつつある社会状況を認識し、生涯を通して最新の知識、技術を学習し続ける」と期待される看護専門職像について提言が出された。看護職者は生涯、専門職として学習を続けなければならない。そのためには、看護職になる前、すなわち基礎教育のなかで人間が本来的に持っている自己教育力を発展させる必要がある。自己教育力は自ら学ぼうとする意志・意欲・能力であり、自己教育力を持続させるためには学習のための動機づけが必要である。動機づけには外発的動機づけと内発的動機づけがある¹²⁾。自己教育力の要素である意志・意欲は内発的動機づけと密接な関係があると考えられる。

本研究では、技術評価があるから学習するというように、学生にとって技術評価演習そのものが外発的動機づけになっていた。しかし、繰り返し練習し、学生同士で意見交換する中で、学生は患者を具体的にイメージし、安全・安楽やより良い援助を考えるようになった。これは教員の評価を受けるという外部からの刺激による外発的動機づけが、学生自らの内発的動機づけに変化したことで生じた学習内容や学習方法の変化と考える。さらに、上手になった、自信がついたといった自己肯定感が内発的動機づけを強化したと考える。

また、一定の学習成果を得るためには学習者のレディネスが整っていることが重要であり、古くから Gesell の自然成熟的レディネス観がある。一方、経験や学習から準備状態は形成されるとする Bruner のレディネス観¹³⁾がある。Bruner は、レディネスは形成していくものと考え、その方法としてらせん教育課程がある。Bruner のらせん教育課程は、低年齢の子供に発達段階にふさわしい方法で指導すれば、低年齢の子

供にも高度な教材を理解させることが可能であるとしている。そして低年齢の時にその年齢にふさわしい学習をしておけば、その学習内容が後で高度な学習レベルで再学習する際の助けとなるというものである。

看護基礎教育では卒業までに膨大な知識と技術を学ばなければならない。段階的に効率よく学べるようカリキュラムを工夫しているが、教養科目、専門基礎科目、専門科目の授業が同時並行的に展開される。1, 2 年次での学内での講義・演習が、その後の実習というより高度な学習の際に助けとなるような学習になるためには、臨床での看護実践を踏まえ、我々が実施した状況設定課題による技術評価演習に取り組むことは有効と考える。

学生は外発的動機づけから技術評価演習の学習を開始し、次第に内発的動機づけにより、学習を深めていった。これは学生の内なる変化である。このような変化には、状況設定課題のような学習上の刺激が必要である。状況設定課題による技術評価演習の学びが、その後の学習にどのように貢献したかは現段階では判断できない。しかし、学生の変化から状況設定課題による技術評価演習の学習は、学生のレディネス形成を促したと考える。

VI. 結論

1. 学生は状況設定課題による技術評価演習に取り組むことで、技術の原理・原則、および目的や根拠の重要性に改めて気づいていた。
2. 学生は学習課題を自己の看護行為だけでなく、看護の対象である患者の立場で考えていた。
3. 学生は学習過程を振り返ることで練習不足、技術の未熟さなどに気づき、自らの学習課題や学習方法を考えた。
4. 状況設定課題による技術評価演習に取り組むことで、学生の学習の動機づけは外発的なものから内発的なものへと変化した。
5. 学生は学習成果に気づくことにより、看護技術の学習に対する動機づけを強化させたと考えられた。
6. 上記 1～5 より全単元の看護技術を対象とした状況設定課題による技術評価演習は、学生の看護技術学習に関するレディネス形成を促したと考えられた。

本研究の一部は、日本看護研究学会第 21 回北海道地方会学術集会で発表した。

Ⅶ. 引用文献

- 1) 須田雅美, 田邊三千世, 福田里美, 他: 学生が技術練習後に記載する振り返り用紙から見えてきたこと～看護技術を効果的に習得していくための教員に関わりとは～, 神奈川県立よこはま看護専門学校紀要, 7, 1-6, 2011.
- 2) 野村晴香, 平瀬節子, 坂本雅代, 他: 基礎看護技術習得に向けた自己学習への取り組みの実態, 高知大学看護学会誌, 3(1), 45 - 49, 2009.
- 3) 中島正世, 吉川奈緒美, 市川重子, 他: 基礎看護学における技術試験方法の検討—11 課題の技術試験の結果から—, 横浜創英短期大学紀要, 5, 55 - 61, 2009.
- 4) 藤田佳代子, 弓削なぎさ, 川本利恵子, 他: 清潔援助の技術習得過程における自己評価と学習方略との関係, 産業医科大学雑誌, 30(1), 83 - 95, 2008.
- 5) 平野節子, 野村晴香, 高橋永子, 他: 基礎看護技術の学内演習における学生の困難さと対処行動—グループ学習を活用して—, 高知大学学術研究報告医学看護編, 55, 2006.
- 6) 三宅真由美, 土井英子, 杉本幸枝, 他: A 短期大学看護学生のカリキュラム変更後の援助技術自己評価—チェックリスト使用による役立ちとその課題から—, 新見公立短期大学紀要, 27, 151 - 158, 2006.
- 7) 大川美千代, 佐々木かほる, 金谷悦子, 他: 基礎看護技術習得のための学生の自主的学習活動—学生による教材選択の実態—, 群馬県立医療短期大学紀要, 12, 57 - 67, 2005.
- 8) 吉田礼子, 秋元とし子, 林真理子: 知・技・心の一体化をめざした基礎看護技術習得プログラム—プログラム作成プロセスおよび試行と評価—, 東海大学医療技術短期大学総合看護研究施設論文集, 17-18, 9-19, 2009.
- 9) 杉森みど里, 舟島なをみ: 看護教育学, 第 5 版, 医学書院, 212 - 214, 2012.
- 10) 舟島なをみ: 質的研究への挑戦, 第 2 版, 医学書院, 51-79, 2009.
- 11) 大学基準協会 看護教育研究委員会報告: 21 世紀の看護学教育—基準の設定に向けて—, 財団法人大学基準協会, 2002.
- 12) 吉本均編: 現代授業研究大辞典, 明治図書出版株式会社, 200-201, 1987.
- 13) J.,S., Bruner :The Process of Education, 1963, 鈴木祥蔵, 佐藤三郎訳, 教育の過程, 42 - 69, 岩波書店, 2002.

Experience that nursing students get from the nursing skills assessment practicum aiming to instill readiness for acquiring nursing skills

-Report analysis done after the completion of a specified situation assignment during the first year of college -

ICHIJO Akemi*, KANNARI Yoko*, MASUDA Yumiko*

Summary

The objectives of this study are to describe in detail what nursing students have learned and examine the progress of readiness for acquiring nursing skills by analyzing the reports submitted by students at the completion of the specified situation assignment in the nursing skills practicum.

Fifty-three first year nursing college students who gave written consent for participation were the subjects. Using the reports submitted by the participants after the nursing skills practicum as data, we conducted a qualitative and descriptive content analysis about learning situation, course assignment, future study method, and what they had noticed and learned from the practicum.

Findings from the analysis showed that students had conducted preliminary study, such as 'discussion among students,' 'use of textbooks,' and 'repeated practice.' Students regarded 'thinking about patients,' 'giving serious thought to purpose and reason,' and 'improving skills' as part of their practicum assignment. It was also found that students noticed or learned about 'lack of practice,' 'insufficiency of skill acquisition,' 'importance of evidence,' and 'learning outcome.' Pertaining to future study method, students affirmed the necessity of 'practice and discussion with other students,' 'repeated practice,' and 'use of textbooks.' It is suggested that evaluating one's learning outcome objectively, and considering what and how to learn contributes to the readiness preparation.

Key words nursing skills, situation of nursing skill acquisition, readiness, motivation, nursing students,

* Asahikawa Medical University, Department of Nursing

投稿論文

臨床看護師の看護実践と道徳的発達との関連

芹 田 典 子*

【要 旨】

臨床看護師の看護実践と道徳的発達との関連性を検討するため、中堅看護師6名を対象に、DIT (Defining Issues Test) 日本版—青年期における道徳判断の発達測定のための質問紙—を用いた道徳的発達段階の判定と倫理的な問題を内在させた看護事例を用いた半構造化面接を実施した。

面接の結果、事例の捉え方として“看護師の立場からの判断”と“患者の立場への思慮”という2つの観点が示された。前者は道徳的発達段階の第3段階に多く、後者は第4段階に多い傾向にあった。第4段階にあるケースは、事例に含まれる倫理的な問題への気づきや価値の対立に葛藤しており、患者の思い、専門的価値である看護師の基本的責任、看護行為の基準、看護師の倫理的行為の基準、看護の目的を理解し、患者にとって重要な価値を見極め、調整を図ろうと考えていた。

以上のことから、臨床看護師の看護実践は道徳的発達と関連がある可能性が示唆された。

キーワード 中堅看護師、看護実践、道徳的発達段階、看護倫理

緒 論

近年、医療技術の高度化、在院日数の短縮、患者のQOLや医療安全への知識の高まりなど、様々な医療社会の変化が起こっている。それに伴い人々の健康観、死生観が多様化し、医療、看護へ強い関心が寄せられている。医療者は、患者自身が受けたい治療や療養生活のあり方を選択、決定出来るよう、専門家として患者を支援する役割を期待されている。

このような医療社会の変化は、看護師の働く環境にも大きな影響を与えている。社会の期待に応えられる、高い看護実践能力を持つ人材をいかに育て、質を維持していくのかは看護教育全体の課題である。行政は、「新人看護職員の臨床実践能力向上に関する検討会」(厚生労働省,2003)、「看護教育のあり方に関する検討会」(文部科学省,2003)、「今後の看護教員のあり方に関する検討会」(厚生労働省,2009)で、看護実践

能力の構成要素を明らかにしている。さらに、卒業時、卒後1年と時期を明確にした到達度を提示し、看護実践能力の質を保証する仕組みづくりの検討を課題としてあげている。看護基礎教育のあり方としては、倫理的側面の強化について触れ、看護者には人としての成熟が求められるとまとめている。

看護実践は、根拠に基づいた医療、ケアの提供という科学的な側面を持つと同時に、対象となる患者のその人らしさを追求する倫理的側面を持つ。この二つの側面は、「その人らしく生を全うできるように援助を行う」という看護の目的の前で、矛盾、対立した関係を示す。Fry¹⁾は、「看護ケアを実施する際に、看護で倫理的に何が正しいのかを決定するためには、必ずその患者に関する事実上の知識と一連の価値観を組み合わせる総合的に考える必要がある」と述べている。看護師が、看護実践の中で倫理的な意思決定を行うためには、そこに関わる人々が何に価値を置くのかを理解

*旭川医科大学病院

し、患者にとって最良の選択とは何かを追求することが必要なのである。それゆえに、看護実践は対象となる患者と看護師の人間関係を基盤とし、その人らしく生を全う出来るように援助することを目的とした倫理的活動と言えるのである。

看護師は、日々目の前の患者に対応を求められており、無意識の内に様々な意思決定を行っている。限られた資源、時間の中で「とりあえず」「しょうがない」と結論付けてしまう出来事は多い。しかし、日々の意思決定を意識化し内省を繰り返すことが、倫理的な課題への対処に習熟する機会となる。このように、看護実践に含まれる倫理的な課題を認識し、解決のための行為をすることが看護倫理なのである。

Fry¹⁾ は、看護倫理を看護実践に見出される道徳的現象と位置づけている。道徳は社会における善悪の判断の規準となるものである。現実生活の中で自己の矛盾、他者との矛盾を調整するための拠り所と言える。それゆえに、人間を対象とし、患者、看護師間の人間関係を基盤とする看護実践との関係は深い。看護の目的を達成するためには、道徳を拠り所とし、人間の本質や看護実践に含まれる矛盾、価値の対立と向き合い、折り合いをつけていかなければならない。しかし、看護実践の場面に含まれる倫理的課題への気づきや情報の選択は個人の道徳性によって異なると考えられる。そのため、看護を提供する側の人間の道徳性が看護実践に影響を与え得ると言える。看護師の道徳的発達、看護実践には欠くことの出来ない要素なのである。

個人の価値意識や道徳性は、親のしつけ、学校教育、置かれた環境など多様な場面での体験を通して形成されていく。Kohlberg³⁾ は、人間は幼少期の道徳的慣習に関する知識の獲得に始まり、高い道徳的水準に向かって進んでいくものと述べている。しかし、近年、若者の精神性の弱さ、道徳性の低下が社会的問題として扱われるようになってきている。行政の取組みの中で、人としての成熟が看護実践能力の中核として位置づけられ、教育の強化が必要と認識されていることからわかるように、看護師も例外ではない。人間としての成熟、一般的な道徳性の基盤を強化することは、専門家としての倫理性を学ぶことと同様に重要である。現段階では、臨床看護師の看護実践と道徳的発達との関連は明らかにされていない。そこで本研究では、臨床看護師を対象に看護事例を用いた面接を行い、臨床看護

師の看護実践を倫理的観点から分析すると共に、道徳的発達との関連性を検討することを目的とする。

なお、道徳と倫理は一般的にほぼ同じ意味で用いられているが、本研究では、“道徳”を人間の本質的なあり方についての普遍的な原理、原則を知り、個々の自律、自覚的な判断をもとに社会的行為するものとし、“倫理”は看護実践の場面に特化した道徳的現象という意味で区別して用いている。

方 法

1. 研究対象

総合病院（600床以上）に勤務する臨床経験3年以上（24～29歳）の看護師に研究の趣旨を説明し、調査協力に同意の得られた6名である。

2. 調査期間

平成23年6月から平成23年8月である。

3. データの収集方法

1) 質問紙調査

調査内容は基本的属性、Kohlberg理論に基づいたDIT (Defining Issues Test) 日本版—青年期における道徳判断の発達測定のための質問紙—を用いた質問紙調査である。DITは道徳的葛藤を引き起こす例話を提示し、葛藤をどのような問題として捉えるのかに着目して、あらかじめ用意した選択項目の重要度を問うものである。同様の質問紙は他になく、日本版での妥当性も山岸⁶⁾によって検討されていることから本研究に適していると考えた。

2) 半構造化面接

倫理的な問題を内在させた看護事例を作成し面接ガイドをもとに半構造化面接を行った。事例は患者の基本情報と看護実践の場面の2つに分けて作成した。看護実践能力を測定する尺度は他にもみられるが、本研究では、事例をどのように解釈し、どのような看護実践をしようとするか、対象者の語りから倫理的思考過程を知ることが目的としており面接による調査が適当であると考えた。

(1) 事例の概要

患者の基本情報

A氏（75歳、男性）、年齢相応の理解力の低下はあるが、妻と二人で問題なく生活していた。糖尿病の既

往があり通院していたが、食事療法が適切に行えず、インスリン量を自己判断で調節するなどしておりコントロールは不良であった。ある日、発熱、右下腿に腫れと疼痛があり外来を受診したところ、蜂窩織炎の診断で、入院治療・安静が必要となった。

② 看護実践の場面

入院後、看護師は医師の指示を受けて、患者に床上安静、車椅子移動の必要性を説明したが、患者からは「看護師さんに迷惑をかけないようにします」との返答があるのみであった。患者は、自分のことは自分でやりたいという思いで、1人で歩いてトイレに行き、看護師から「安静は医師の指示ですよ、私が怒られてしまうから車椅子を使って下さい」と再度安静の必要性について説明を受けている。その日の夜、患者は1人で歩いてトイレに行こうとして転倒した。カンファレンスでは、治療にAさんの協力が得られない状況が続くのであればセンサーマットの使用もやむを得ないと話し合っている。

(2) 事例設定の意図

患者の安全を守り、安楽を保つための看護師の介入と、自分のことは自分でやりたいという患者の自立、自律が矛盾、対立している場面である。健康回復や苦痛緩和という看護師の基本的責任を果たすため、どのようなアプローチの方法があるのか、患者を納得させ

るため「安静は医師の指示である、私が怒られてしまう」と伝えた看護師の発言について、様々な捉え方が出てくる可能性がある。また、治療に協力の得られない患者に対してセンサーマットの使用を検討する場面もあり、患者の人権尊重という看護の本質について考える必要のある場面である。

(3) 面接方法

面接内容は逐語録として使用するため録音することを説明し了解を得た。対象者に患者の基本情報、看護実践の場面の順に事例を渡し、内容の把握後に面接を開始した。面接はインタビューガイドに基いて行い、面接者は対象者の反応を観察しながら、対象者が言葉につまるときや、面接目的のためより詳しい説明を求めたいときに介入した。総面接時間は40分程度であった。

4. データの分析方法

1) 質問紙調査

DIT 日本版—青年期における道徳判断の発達測定のための質問紙—で得られた結果を質問紙の得点化の方法に従い、道徳的発達段階の判定を行った(表1)。

2) 半構造化面接

面接内容は逐語録として起こしてデータ化し、以下の分析の観点に基づいてデータを抽出した。

表1 道徳的発達段階の定義

水準：慣習的水準以前		TotalD 得点
第1段階	【罰と服従への志向】 権力への服従と罰を避けることに価値が置かれる。	100 点台
第2段階	【道具主義的な相対的主義志向】 自身の欲求を満たすために他者の欲求を満たすという人間関係の取引が見られる。公平、相互性、平等な分配という要素は含まれているが、それらは常に物質的で実用主義的に解釈される。	200 点台
水準：慣習的水準		
第3段階	【他人同調的、良い子志向】 良い子志向であり、他者に同調し、喜ばせ、助けようとする。多数派の行動あるいは普通の行動という慣習化されたイメージに自分を同調させる。	300 点台
第4段階	【法と秩序志向】 法と秩序を守り、社会的秩序を維持することに価値が置かれる。	400 点台
水準：慣習的水準以降		
第5段階	【社会契約的な法律志向】 第四段階と同様に法を重んじるが、社会的利益についての合理的な考察によって法を変えることも強調される。私的な価値観や見解の相対性を明確に意識し、一致に達するための手続き上の基準を強調する。	500 点台
第6段階	【普遍的な倫理的原則の志向】 普遍的な倫理的原理の志向となり、良心に従って行動するという特性を持つ。	600 点台

得点化の方法:(1) 6つの例話毎に、例話に含まれる葛藤をどのような問題と捉えるか、予め用意された項目に1番から4番まで重要度を付け、その回答にそれぞれ4、3、2、1の得点を与える。(2) 例話別に(1)の得点と選択した項目のstageの値をかけあわせる。さらに全例話で出た得点を合計して全体に対してそのstageがもつ割合を算出する。(3) stageの値と(2)で算出した値をかけて加えた値をTotalDとし、発達段階に換算する。

永野重史編：道徳性の発達と教育 コールバーグ理論の展開，初版，新曜社，1997をもとに著者作成

患者の基本情報からどのような看護が必要と考えているのか

看護実践の中の価値の対立や矛盾をどのように捉えているか

患者理解、事例理解のためどのような情報を必要としているか

自分だったらどのような看護実践を行うか

抽出されたデータの意味内容を損なわないよう概要をまとめ、内容別に命名した。各ケースの事例を解釈する上で前提となる糖尿病看護の認識、事例に含まれる倫理的問題の捉え方、自らの行為を判断するための追加情報、看護介入の具体について解釈し、看護実践に至るまでの思考、判断過程を分析した。さらに、道徳的発達段階および TotalD の得点に基づいて、対象者の看護実践における思考・判断の共通性・相違性について検討した。

5. 信頼と妥当性

面接を行うにあたってプレテストを実施し、質問内容、看護事例が妥当であるか検討、修正し調査を行った。また、研究の全過程において複数研究者のスーパーバイズを受け妥当性の確保に努めた。

6. 倫理的配慮

本研究は、旭川医科大学倫理委員会の承認を得て実施した。対象者には書面で協力の任意性と匿名性、及び結果の公表を説明し了解を得た。

結 果

1. 対象者の概要

対象者6名のうち、5名は女性、1名は男性であった。年齢は24～29歳で、最終学歴は3年課程の専門学校卒が4名、大学卒が2名であった。臨床経験年数は3～7年で、6名全員が糖尿病患者の看護実践の経験を有していた。道徳的発達段階は、第3段階4名、第4段階2名であった。

2. 各ケースの看護実践に関わる思考・判断

分析の観点ごとに表にまとめ結果を示す(表2)。

1) 基本情報から考える看護

全てのケースに共通して【糖尿病管理に関わる看護】、ケース1、2、3、6は【家族に協力を求める】、ケー

ス3、4、6は【苦痛、症状の緩和】、ケース1、5は【患者の安全を守る】、ケース5は【日常生活の支援】【退院後の生活の調整】について考えていた。

全てのケースが、糖尿病管理に関わる知識の確認や指導などの看護が必要であると考えていた。基本情報から考える看護の内容について、各ケースに大きな違いはなかった。

2) 事例に含まれる問題の捉え方

ケース1、2、3、5、6は【担当看護師Bの説明が問題】、ケース1、2、5、6は【担当看護師Bの発言が問題】と考えていた。ケース1、2、3、4、6は【患者の安全を守る】、ケース1、3、5は【Aさんの協力が得られないことが問題】、ケース3、6は【患者の自立・自律性と安全を守るための看護介入に迷い】を感じていた。看護師Bの対応に関するものとして、ケース1、2、3、5、6は看護師Bの説明内容の不足や仕方に問題があり、Aさんに安静の必要性が伝わらなかったと考えていた。さらに、ケース2、6は、Aさんの特徴を理解し、予測性を持った対応が必要であったと考えていた。ケース3においては、看護師Bの安静の必要性の理解が不足している可能性について考えていた。その他に、ケース1、2、5、6は、看護師Bの発言について問題を感じていた。なかでもケース1、2、5は、具体的に看護師Bの発言は迷惑をかけられないと思っているAさんに負担をかけると考えていた。

Aさんについて、ケース1、5は、Aさんの性格や説明の理解が不十分という状況から看護師の介入に協力が得られないことが問題であると感じていた。ケース3は、Aさんが看護師との約束通りに行動しない、危険を体験した後も転倒予防に協力が得られないという事象が問題だと考えていた。

ケース1、2、3、4、6は患者の安全を守ることを考えており、ケース3、4は具体的に転倒予防のためにセンサーマットを設置し、Aさんの安全を確保することがAさんのためになると考えていた。ケース1は他ケースとは異なり、センサーマット設置によって生じる危険から患者の安全を守ることを考えていた。センサーマットの設置について、ケース3、6は患者の自由が無くなることや、監視されるという心理的な負担を与える可能性があることを認識していた。同時に、患者の不利益にならないよう安全、安静を守ることの必要性も認識しており、センサーマット設置に迷いを

表2 各ケースの看護実践に関わる思考・判断

基本情報から考える看護						
データの解釈から得られた内容	ケース1	ケース2	ケース3	ケース4	ケース5	ケース6
糖尿病管理に関わる看護	○	○	○	○	○	○
家族に協力を求める	○	○	○			○
苦痛・症状の緩和			○	○		○
患者の安全を守る	○				○	
日常生活の支援					○	
退院後の生活の調整					○	
事例に含まれる問題の捉え方						
データの解釈から得られた内容	ケース1	ケース2	ケース3	ケース4	ケース5	ケース6
担当看護師Bの説明が問題	○	○	○		○	○
担当看護師Bの発言が問題	○	○			○	○
患者の安全を守る	○	○	○	○		○
Aさんの協力が得られないことが問題	○		○		○	
患者の自立・自律性と安全を守るための看護介入に迷い			○			○
理解力のある患者にセンサーマットは使用しない	○					
患者の自立・自律への気づき		○				
センサーマットの設置に対する迷い		○				
患者の思いを引き出すこと		○				
自らの看護判断の自信のなさ		○				
チームでの統一した看護介入		○				
複数の視点から問題の要因を考える			○			
Aさんが指示を守れないことが問題				○		
看護師は患者をよりよい状態に導くよう介入するべき				○		
看護師の都合が優先					○	
事象に注目している					○	
患者本人から1人で行動した理由を聞く					○	
Aさんが安静度を守れず転倒に至ったことが問題						○
患者・事例内容の理解のために追加で必要としている情報						
データの解釈から得られた内容	ケース1	ケース2	ケース3	ケース4	ケース5	ケース6
Aさんの糖尿病に関する理解		○	○	○	○	○
Aさんの人となり				○	○	○
家族関係の情報と協力の有無	○			○	○	
担当看護師Bの説明内容	○					○
担当看護師Bの説明に対するAさんの反応や理解	○	○				
Aさんの思い		○				○
患者の理解力	○					
担当看護師BのAさんの言葉の理解	○					
担当看護師Bの気持ち		○				
カンファレンスの内容		○				
Aさんの自宅での生活状況			○			
入院時のAさんの生活の自立度			○			
看護師の職場環境					○	
事例に対する看護介入						
データの解釈から得られた内容	ケース1	ケース2	ケース3	ケース4	ケース5	ケース6
Aさんへの説明	○	○				○
患者の安全を守る			○		○	○
環境整備	○			○		
Aさんの反応の観察	○	○				
自宅での生活を含めたAさんの看護			○		○	
糖尿病管理の指導		○			○	
看護師間での情報共有	○					
Aさんからの情報収集	○					
同室の患者・家族からの情報収集	○					
歩行能力のアセスメント	○					
医師との調整	○					
患者・看護師間の信頼関係の形成		○				
Aさんと家族が今後の生き方を考えられるような看護		○				
患者の自立・自律性への支援			○			
患者が行動を改めるような働きかけ				○		
苦痛・症状に対するケア				○		
排泄のケアについての選択肢					○	
Aさんを認める関わり					○	
看護方針の見直し						○
日々の経験から考える手順						○
ストレス軽減のためのケア						○

感じていた。

各ケースが独自に語った内容は、ケース1【理解力のある患者にセンサーマットは使用しない】、ケース2【患者の思いを引き出すこと】【患者の自立・自律性への気づき】【センサーマットの設置に対する迷い】であった。ケース2は、Aさんがセンサーマットを受け入れてくれるのかという不安や、看護師を呼ぶことも嫌がっているAさんに対してセンサーマットを設置することがAさんのストレスになり、糖尿病管理指導や入院生活そのものが上手くいなくなる可能性を考えていた。さらに、カンファレンスで話し合うことを重要視しており【自らの看護判断の自信のなさ】【チームでの統一した看護介入】について考えていた。ケース3【複数の視点から問題の要因を捉える】、ケース4【Aさんが指示を守れないことが問題】【看護師は患者をより良い状態に導くよう介入すべき】と考えていた。ケース4は、患者をより良い状態に導くために、センサーマットを設置すると同時に移動の時は看護師を呼ぶよう説明し、患者の意思で看護師を呼ぶという行為が出来るようになるための介入を考えていた。ケース5は、センサーで患者の行動を察知するほうが、定期的なラウンドより業務がやりやすいと語り、【看護師の都合が優先】していた。さらに【事象に注目している】【患者本人から1人で行動した理由を聞く】について考えていた。ケース6【Aさんが安静度を守れず転倒に至ったことが問題】であった。

3) 患者・事例内容の理解のために追加で必要としている情報

ケース2、3、4、5、6は【Aさんの糖尿病に関する理解】、ケース4、5、6は【Aさんの人となり】、ケース1、4、5は【家族関係の情報と協力の有無】、ケース1、6は【担当看護師Bの説明内容】、ケース1、2は【担当看護師Bの説明に対するAさんの反応や理解】、ケース2、6は【Aさんの思い】に関わる情報を求めている。Aさんに関わる情報として、ケース2、3、4、5、6は、Aさんの糖尿病に関する理解について情報を求めている。なかでもケース2、3、5、6は、糖尿病管理指導の介入方法を検討するため、Aさんのこれまでの糖尿病管理についての情報が必要であると考えていた。ケース2、3は、Aさんの自立、自律性に気づきがあり、Aさんの自分でやりたいという気持ちを活かして看護介入することを考えていた。その他に、ケース4、5、

6は、Aさんの考え方、性格や職業など、Aさんの人となりについての情報を求めている。ケース2、6は共に、Aさんの思いについての情報を求めている。ケース2は患者の自尊心に目を向け、社会的に自立した人が看護師と一緒にトイレに行くのは苦痛であると想像し、Aさんの思いを知って看護介入に活かすことを考えていた。一方、ケース6は、看護介入が困難な患者への対応として、患者の思いを知り、コミュニケーションを取ることを考えていた。

ケース1、4、5は、家族の協力を得ることについて考えており、そのための情報を求めている。ケース1は、家族からAさんに安静度を守るよう指示してもらえればAさんは行動するかもしれないと考え、家族の関係性について情報を求めている。

ケース1、6は、看護師Bの説明について情報を求めている。特にケース6は、看護師Bによる適切な説明があったのかという事実の確認をしようとしていた。看護師Bの適切な説明に対してAさんの同意が得られない場合は、患者の安全を守るという看護師の責任を果たすため、対応を考える必要があると考えていた。その他にケース1、2は、看護師Bの説明に対するAさんの反応や理解について情報を求めている。なかでも、ケース2は、誰でも理由がわからないと安静度は守れないと考え、Aさんが安静の必要性をどう理解して、どう感じているのかを知ることが重要であると考えていた。排泄行為の介助は自尊心を傷つける可能性があると考えており、Aさんの思いに配慮した看護について考えていた。

各ケースが独自に語った内容は、ケース1【患者の理解力】【担当看護師BのAさんの言葉の理解】であった。ケース2は【担当看護師Bの気持ち】について知り、看護師Bの立場から問題を考えようとしていた。また、ケース2は、センサーマットを使うかどうかについて、十分な話し合いが行われたのかという疑問を持ち、【カンファレンスの内容】についての情報も求めている。誰かがカンファレンスで、センサーの使用は患者のストレスになるのではないかと発言出来れば、患者への対応が変わる可能性があると考えていた。ケース3【Aさんの自宅での生活状況】【入院時のAさんの生活の自立度】について考えていた。Aさんの性格やこれまでの生活の様子からAさんの行動を予測し、入院後に求められる生活の変化に適應できるよう介入してい

くことを考えていた。ケース5は、現実的な看護師の対応について考えており、勤務状況、看護師の人数という【看護師の職場環境】に関わる情報を求めている。

4) 事例に対する看護介入

事例に対する看護介入について、ケース1,2,6は【Aさんへの説明】、ケース3,5,6は【患者の安全を守る】、ケース1,4は【環境整備】、ケース1,2は【Aさんの反応の観察】、ケース3,5は【自宅での生活を含めたAさんの看護】、ケース2,5は【糖尿病管理の指導】について考えていた。

ケース1,2,6は、安静の必要性や、Aさんの安全を守るために歩行を見守るといった具体的な看護介入についてAさんに説明することを考えていた。また、ケース2は、Aさんの状況に合わせた具体的でわかりやすい説明が必要であると考えていた。ケース6は、Aさんの反応に合わせて看護介入の方法を変更することや、看護介入にAさんの同意を得るといった認識を持っていた。

ケース3,5,6は、患者の安全を守ることに考えていた。ケース3は、治療上必要な生活の変化や行動制限によって、Aさんに危険が生じないような対応を考えていた。ケース5は、治療が安全に進めば歩行状態も改善するであろうと考え、治療がスムーズに行われるように転倒を予防することを考えていた。ケース6は、Aさんに転倒歴があり、ふらつきが強いという状況に対して転倒予防を考えていた。ケース1,4は、転倒予防として環境整備をすることを考えていた。

ケース1,2は、説明をする時のAさんの反応の観察を考えていた。ケース1は、Aさんの表情や発言を観察して理解が得られたかどうかを判断し、自らの看護介入が有効であったことを看護チームで共有しようとしていた。ケース2は、最初の説明で患者がどう感じたかが、その後の自己管理に影響を与えると考えており、患者の理解やどのように感じたのかを言葉として確認することを重要視していた。

ケース3,5は、自宅での生活を含めたAさんの看護について考えていた。ケース3は、入院前のAさんの生活、退院後の生活についてはAさんの身体機能、住環境、家族や社会的支援、糖尿病管理の継続に至るまで幅広い視野でAさんの看護を捉えていた。ケース5は、糖尿病のコントロールの悪化によって、再び

蜂窩織炎や入院という問題が起きないように退院後の生活改善が必要であると考えていた。ケース2,5は、糖尿病自己管理の指導について考えており、ケース2は、Aさんと家族に対して指導を行うことを考えていた。

各ケースが独自に語った内容は、ケース1【看護師間での情報共有】【Aさんからの情報収集】【同室の患者、家族からの情報収集】【歩行能力のアセスメント】【医師との調整】であった。ケース2は、看護は患者との信頼関係の上に成り立っていると考え、【患者、看護師間の信頼関係の形成】について考えていた。また、既往疾患のコントロールが出来て初めて今後の人生を考えられると語り、【Aさんと家族が今後の生き方を考えられるような看護】を考えていた。ケース3【患者の自立、自律性への支援】Aさんの入院前の生活を知り、患者の持っている力を活かす看護について考えていた。ケース4【患者が行動を改めるような働きかけ】【苦痛、症状に対するケア】、ケース5【排泄のケアについての選択肢】【Aさんを認める関わり】について考えていた。ケース5は、Aさんを認める関わりについて考えていたが、具体的な対応として床上排泄を勧めるなど、患者の自立、自律性についての気づきが見られなかった。ケース6【看護方針の見直し】【日々の経験から考える手順】【ストレス軽減のためのケア】であった。

3. 各ケースの看護実践と道徳的発達

事例に含まれる問題を捉える上で、ケース1【理解力のある患者にセンサーマットは使用しない】、ケース4【看護師は患者をより良い状態に導くよう介入すべき】と考えていた。看護介入について、ケース4は【患者が行動を改めるような働きかけ】を考えていた。ケース5は【Aさんを認める関わり】を考えながらも、床上排泄を進めるなど【排泄のケアについての選択肢】を設けて状況への対処を考えていた。これらのケースは、道徳的発達段階が第3段階にあり、看護師の視点で看護師の都合や判断を語ることが多い傾向にあった。また、事例に含まれる看護行為の基準である、患者の自立、自律性についての気づきはみられなかった。

看護介入の語りにおいて、第3段階の中でも TotalD の得点が最も低いケース1は、【医師との調整】【歩行

能力のアセスメント】を考慮しており、事象への対処として具体的な看護介入の項目を語り、他ケースの語りの視点と相違があった。

事例に含まれる問題を捉える上で、ケース 2、3、6【患者の安全を守る】、ケース 2【患者の自立、自律性への気づき】、ケース 3、6【患者の自立・自律性と安全を守るための看護介入に迷い】を感じていた。ケース 3、6 は、患者の自由がなくなることや監視される辛さと、患者の不利益にならないよう安全を守る必要性の両方を認識し、患者の自立、自律性と安全を守ることとの間に生じる価値の対立を捉えていた。ケース 2 は、A さんに対してセンサーマットを設置することが A さんのストレスになると考えており、センサーマットの使用に迷いを生じているが価値の対立については語っていなかった。ケース 3、6 の道徳的発達段階は第 4 段階であり、ケース 2 は第 3 段階であったが極めて第 4 段階に近い得点であった。これらのケースは、患者の自立、自律性への気づきがあり、ケース 2【患者の思いを引き出すこと】のように、患者の視点を持ち、患者の思いや生活に目を向けた語りが多い傾向にあった。また、追加で求める情報において、これらのケースは、ケース 2【担当看護師 B の説明に対する A さんの反応や理解】【A さんの思い】【カンファレンスの内容】ケース 3【A さんの自宅での生活状況】【入院時の A さんの生活の自立度】ケース 6【担当看護師 B の説明内容】について情報を求めており、問題がなぜ生じているのかという状況理解のための情報を求めていた。

看護介入について、ケース 2【A さんと家族が今後の生き方を考えられるような看護】【患者、看護師間の人間関係の形成】について考えており A さんのその人らしい生き方、看護の前提となる人間関係の形成について語っていた。ケース 3【自宅での A さんの生活を含めた看護】【患者の自立、自律性への支援】について考えていた。ケース 6 は、患者が安楽な状態を保てるよう【ストレス軽減のためのケア】について考えていた。センサーマット設置後の看護介入について語ったのはケース 6 のみであった。これらのケースは第 4 段階もしくは得点が極めて第 4 段階に近く、事例への看護介入を考える上で思考の広がりが見られた。TotalD の得点が最も高いケース 3 は、【複数の視点から問題の要因を捉える】ことについて考えていた。事

例の情報だけで問題を特定せず別の可能性についても考えていた。TotalD が最も低いケース 1 は、看護師 B を若い看護師と捉え、自らが指導的立場に立ち評価、助言することについて考えていた。事例そのものを自分のこととしてではなく、【先輩看護師からの視点】で捉えていた。TotalD の得点の高いケースと低いケースでは事例の捉え方に相違があった。

考 察

看護実践は、科学的な側面と対象となる患者のその人らしさを追求する倫理的側面を持っており、この二つの側面は、その人らしく生を全う出来るように援助するという看護の目的の前で矛盾、対立した関係を示す。臨床看護師は、限られた時間や資源の中で、常にこのような倫理的課題に対処していかなければならない。そのためには、看護実践の場面に含まれる倫理的な問題を認識出来ること、倫理的実践とは何かについて考えを深めていく必要がある。また、看護実践は人間関係を基盤とした倫理的活動であり、看護師はその役割を持つ前に道徳に従う一人の人間である。看護師の道徳的発達が看護実践に与える影響についても考える必要がある。以上のことから、看護事例に含まれる問題の捉え方と倫理性についての検討、さらに追加情報と看護介入の二点から考察し、臨床看護師の看護実践の倫理性について検討し、得られた内容をもとに道徳的発達と看護実践との関連性について検討する。

1. 事例に含まれる問題の捉え方と倫理性の検討

道徳的発達段階が第 3 段階にあるケース 1、4、5 は、看護師の都合、判断を具体的に語りながら A さんの看護を考える傾向にあった。また、看護師 B の説明不足や言い方のまずさという事象に注目しており、看護の基本的責任である患者への説明や同意を得ることについての語りはみられなかった。さらに【A さんが指示を守れないことが問題】という部分では、患者は看護師の介入に協力するべきという認識を持っていることが推察された。これらのケースは、専門的価値である看護の基本的責任や、看護の基盤となる患者との人間関係の形成についての気づきが見られなかったと考えた。

事例の中の看護行為の基準の中に価値の対立が生じるよう意図した場面において、これらのケースは共通

して、患者の自立、自律性についての語りはみられず、専門的価値の中に対立は生じていないと考えられた。また、【理解力のある患者にセンサーマットは使用しない】【看護師の都合が優先】に表されるように、看護師の個人的価値によって問題を解決していくことを考えていた。齊藤ら⁴⁾は、身体拘束の看護事例を用いて、看護師が葛藤を感じながらどのような思考過程で看護実践を行っているのかを調査している。その結果、看護者は自分の思いや価値で援助しようとしていることが多く、患者が大切にしている価値や患者の意思決定の尊重が不足していると述べている。本研究においても同様に、看護師の個人的価値を中心に思考し、患者の自立、自律性への気づきが見られなかったケースがあった。これらのケースは、対象理解、看護実践の場面に関わる人々の価値への気づきが不足しており、“看護師の立場からの判断”という観点から事例を捉える傾向にあった。

道徳的発達が第4段階にあるケース3、6および得点が極めて第4段階に近かったケース2は、患者の思いや生活に目を向け、患者の視点からも看護を語る傾向にあった。また、専門的価値である健康回復、苦痛緩和という看護の基本的責任、患者の安全、安楽、自立、自律という看護行為の基準を認識していたと推測する。さらに、【複数の視点から問題の要因を捉える】ことで、患者の思い、専門的価値という2つの価値の間で優先されるもの、守らなければならないものについて考えていたと思われる。これらのケースは、看護師としての立場に加えて“患者の立場への思慮”という観点からも事例を捉える傾向にあった。

事例の中の看護行為の基準の中に価値の対立を生じるよう意図した場面において、ケース3、6は、センサーマットでAさんの行動を抑制することは、Aさんの生活が一変し、これまでのような自立、自律性が保てない状況になると考えていた。しかし、看護介入にAさんの同意が得られない状況では、転倒して怪我をする、入院期間が延びるなどの患者の不利益になる可能性があるとも考えており、【患者の自立・自律性と安全を守るための看護介入に迷い】を感じていた。ケース3、6は、専門的価値の中に対立を認識していたと考える。ケース2は、センサーマットの設置が、自分のことは自分でやりたいという患者の思いを無視した行為であると考えていたが、その思いが自立、自律性

から発せられたものであるという気づきはなく、ストレスになるという理由で【センサーマット設置に対する迷い】を感じていた。ケース2は、センサーマットが患者に心的負担を与え安楽が保てなくなることや、他の場面で【患者の自立、自律性に気づき】があったが、専門的価値の中に対立は生じていなかったと考える。Fry¹⁾は、「倫理的意思決定の準備として、最初の課題は看護師と患者双方の価値を考慮することである」と述べ、看護実践に含まれる問題を捉えるためには、患者の思い、看護師個人の価値や専門的価値に気が付く必要があるということを示している。本研究の結果、問題を捉える観点が“看護師の立場からの判断”“患者の立場への思慮”の2つ示されたことは、患者の思いや専門的価値への気づきに相違があったためと考える。看護師は自らと異なる価値を持つ人々と関わり、その中で行為するための判断を求められる。場面に関わる人々の価値を十分に考慮することは、患者との人間関係を深め、患者のその人らしい生活を支えるために専門家としての知識、技術をどう活用していくのかを考えるきっかけを得ることである。“患者の立場への思慮”という事例を捉える観点は、倫理的意思決定の前提となると考えられる。

2. 倫理的観点からの看護実践の検討

Fry¹⁾は、「看護ケアを実施する際に、何が倫理的に正しいのかを決定するためには、必ずその患者に関する事実上の知識と、一連の価値観を組み合わせる総合的に考える必要がある」と述べている。看護師が倫理的な意思決定を行い、行為するためには、その場面に関わる人々が何に価値を置くのかを知り、事象を知識と結びつけ、患者にとって最良の選択とは何かを追求することが必要であると言える。ここでは、追加で必要としている情報と看護介入について倫理的観点から検討する。

ケース1、4、5は面接の中で全ての思考が語りきれなかった可能性がある。そのため、倫理的な看護実践について考えていないと断定することは出来ないが、倫理的意思決定の前提である患者の思いや専門的価値への気づきが語りの中にみられなかった。一方、ケース2、3、6は常に倫理的な看護実践について思考しているという断定は出来ないが、看護実践の場面に関わる人々の価値、専門的価値への気づきがあった。この

ことから、ケース2、3、6は、倫理的意思決定の前提を持っていると考えられる。以上のことから、ケース2、3、6の看護実践を倫理的観点から検討する。

事例に登場する人物はAさんと看護師Bの2人のみである。事例に含まれる問題を考える上で、まずはそこに関わる人々の価値を考慮することが必要である。そこで、3つのケースは、Aさんの価値を形成するものとして【Aさんの自宅での生活状況】【入院時のAさんの生活の自立度】【Aさんの思い】【Aさんの人となり】という情報を求めていた。【担当看護師Bの気持ち】についての情報を求めている者もいた。これらのケースは、患者の思い、専門的価値である看護の基本的責任、看護行為の基準のそれぞれの重要性を認識しており、Aさんの性格や行動の傾向からAさんの自立、自律性を捉え、【Aさんの糖尿病に関する理解】を確認した上で、Aさんに適した内容、方法で糖尿病管理指導を調整することを考えていた。安全に治療が受けられること、糖尿病管理の継続を支援する方法について考え、環境の変化や身体機能に注目し、Aさんに危険がないよう【患者の安全を守る】【自立、自律性への支援】を考えていた。さらに、【Aさんと家族が今後の生き方を考えられるような看護】【自宅でのAさんの生活を含めた看護】は、その人らしく生を全う出来るよう援助を行うという看護の目的を理解し、Aさんの入院生活をAさんの生活の一部として捉えていることが推測される。Aさんの人生には、家族が深く関わっていることを認識し、家族を含めた【糖尿病管理指導】を考えているケースもあった。「看護師は看護を提供するに際し、個人、家族及び地域社会の人権、価値観、習慣および精神的信念が尊重されるような環境を目指す」(ICN看護師の倫理綱領, 2005)という、倫理的行為の基準に沿って思考し、倫理的な意思決定を行う上で自らの介入が、Aさんとその家族がより良く生きるための支援に向かっていることを認識していると言える。

看護行為の基準である安全、安楽、自立、自律が対立するよう意図した場面において、ケース2、6は、【Aさんへの説明】を考えていた。【患者・看護師間の信頼関係の形成】をしながら、専門的価値である看護の基本的責任を果たすため、説明内容や方法を工夫して、自分のことは自分でやりたい、人に頼りたくないというAさんの思いを尊重した介入が出来るよう調整す

ることを考えている。また、状況をより詳しく知るために【担当看護師Bの説明内容】について情報を求め、看護師Bによる説明が適切に行われていたのかを確認しようとしていた。さらに、「看護師は、個人がケアや治療に同意する上で、十分な情報を確実に得られるようにする」という倫理的行為の基準(ICN看護師の倫理綱領, 2005)に沿って、【Aさんの反応の観察】【担当看護師Bの説明についてのAさんの反応や理解】を確認し、Aさんに必要な情報が伝わっているか確認することを考えていた。さらに、場面に含まれる価値の中で重要なものは何かを考えるため、【カンファレンスの内容】【Aさんの思い】についての情報を求めていた。センサーマットを使用すべき対象かどうかという判断は適切なのか、社会的に自立しているAさんが、排泄や移動の介助を受けることは自尊心が傷つく可能性があるという考えに基づいた情報収集であったと推測する。

状況理解を行った後、看護行為の基準の中に価値の対立を認識したケース6は、看護師の説明内容が妥当であると確認され、Aさんの協力が得られないという状況であれば、【患者の安全を守る】という看護行為の基準に沿って、センサー類の使用を検討することを考えていた。しかし、行動の監視は患者に心理的な負担を与え、安楽を阻害する可能性があると考え、センサーマットを設置した場合の【ストレス軽減のためのケア】について考えていた。転倒予防にAさんの協力が得られないか【看護方針の見直し】をすることも視野に入れていた。看護行為の基準の中に価値の対立を認識したケース6は、患者にとって最良の選択とは何か迷いながら、患者の思いと専門的価値、専門的価値の中に生じる対立の間で調整を図ろうとしていた。ケース2は、看護行為の基準の中に価値の対立を認識していなかったが、その後も状況を理解するための情報を求めており、Aさんのための看護を考えようとしていた。ケース3は、Aさんの看護実践を考える際、看護介入に同意を得るという段階に止まっていた。事例の情報だけでは、患者の思いを尊重した倫理的な看護実践は行えないと判断し、その後の看護介入については不足した情報を補ってから考えようとしていたと思われる。

Aさんへの看護介入について、【日々の看護から考える手順】を考えていたケースがあった。患者の安全

を守るためにセンサーマットを使うという手段があることを患者に告知し、使用しなければならぬ状況になった時に、患者がセンサーマットを受け入れやすい環境を作ろうと考えていた。患者の特徴や状況に関わらず、スコアシートを活用して、転倒の危険性を客観的に評価し、安全対策が必要な状況に備えることは、日々の手順であると考えられる。細井²⁾らは、臨床における倫理的看護実践の現状を調査し、その結果、日常の臨床現場では、行った行為について、その行為自体を行ったのかどうか問われることが多く、どのように行ったのかという看護師の姿勢を問われることは少ないと述べている。センサーマットは患者の行動を制限する抑制にあたり、説明、設置は慎重に行うべきである。説明をするだけでも患者に威圧感を与え、行動を抑制してしまう可能性もある。センサーマットの設置で患者の転倒が防げれば、患者の安全を守ったという事実は残る。しかし、患者の個性や状況を考慮せずに手順に沿った対応をすることは、先行研究の捉えた看護の現状と類似しており問題があると言える。手順は看護実践を行う上で、患者に必要な援助をもれなく安全に行うための指標となる。看護の質を維持するために、看護師の経験や知識を補うものの一つとして有効に活用するべきである。

3つのケースは共通して、専門的価値である看護の基本的責任、看護行為の基準、看護師の倫理的行為の基準を認識していた。さらに、ケースによって深まりは異なるが、その人らしく生を全うすることを支援するという看護の目的についても考えていたと推測する。Aさんがより良い生活、健康状態にあるために、不足した情報を求めながら、患者の思いと専門的価値、専門的価値の中に生じる対立の間で重要な価値を見極め、調整を図ろうとしていたと考える。

Fry¹⁾は「看護師は、自分がどのように責任を遂行したかということの説明をするときに責務を負う」と述べているが、これらのケースは自らの行為が倫理的であるかどうかという説明はしていなかった。各ケースの語りの中に、看護介入までの思考過程における倫理性が表現し切れなかった可能性がある。また、看護介入について日々の手順を語ったケースも、実際に看護を提供する場面では、患者の思いと専門的価値、専門的価値の中に対立を生じる可能性がある。本研究の結果からは、倫理的知識の有無、看護援助を提供する際

の看護師の倫理性は明らかにされていない。倫理的な看護実践の検討方法についてさらなる検討が必要である。

3. 看護実践と道徳的発達との関連

すでに心理学領域では、道徳性の発達に認知能力や役割取得能力の発達に関連していることが明らかにされている⁵⁾。Kohlberg³⁾も同様に、道徳的発達に関して、認知能力、役割取得能力について述べ、認知的刺激として外部からの教育が可能であるという見解を示している。本研究の結果、道徳的発達段階が第4段階にあるケースは“患者の立場への思慮”の観点から事例を捉える傾向にあり、看護行為の基準である安全、安楽、自立、自律が対立した場面で、看護行為の基準に気づき、看護介入を考える上で迷ったり、価値の対立に葛藤があった。このことから、事例に含まれる問題の捉え方、価値の対立の気づきに道徳的発達が関連していると考えられる。第4段階にあるケースは、他者の立場に立ち、他者の気持ちを押し量り調整を取るという役割取得能力が発達している可能性があり、その能力が“患者の立場への思慮”という観点到繋がったと考える。ケース2は、道徳的発達段階が第3段階であったが、一方で第4段階のケースと同様に“患者の立場への思慮”の観点から事例を捉え、看護行為の基準への気づきがあった。Kohlberg³⁾は、道徳的発達段階は発達の速度に違いはあるとしても常に前進的であること、高次の段階の思考は低い段階の思考をその内に包含、もしくは統合していると述べている。道徳性は、認知的、社会的な刺激によって変化、統合されるものであり、このケース2は道徳的発達の第3段階、第4段階の特徴を合わせ持ち、発達の途上にあると解釈することも可能である。自分と他者の両方の価値を認識して初めて対立が生じ、その中で患者にとって最良の選択とは何かを考えることが、より良い看護実践に繋がると言える。道徳的発達、役割取得能力は、看護実践を考える上で重要な能力であると考えられる。また、第4段階にあるケースは、事例への看護介入において思考の広がりが見られた。Kohlberg³⁾は、道徳的な理由づけを行うためには、認知的に成熟していなければならないと述べている。知的な思考能力、周囲の環境と均衡を取るため論理的に思考し説明するなどの能力の発達が、道徳性の発達に影響することを示している。

道徳的発達段階が第4段階にあるケースは、認知能力が発達している可能性があり、その能力が思考の広がりにも影響している可能性があると考えられる。

結 論

本研究では、臨床看護師の看護実践と道徳的発達との関連性を検討するため、中堅看護師6名を対象に、DIT (Defining Issues Test) 日本版—青年期における道徳判断の発達測定のための質問紙—を用いた道徳的発達段階の判定と倫理的な問題を内在させた看護事例を用いた半構造化面接を実施した。

面接の結果、事例の捉え方として“看護師の立場からの判断”と“患者の立場への思慮”という2つの観点が示された。前者は道徳的発達段階の第3段階に多く、後者は第4段階に多い傾向にあった。第4段階にあるケースは、事例に含まれる倫理的問題への気づきや価値の対立に葛藤があり、患者の思い、専門的価値である看護師の基本的責任、看護行為の基準、看護師の倫理的行為の基準、看護の目的を理解し、患者にとって重要な価値を見極め、調整を図ろうと倫理的な看護実践について考えていた。

以上のことから、臨床看護師の看護実践は道徳的発達と関連がある可能性が示唆された。

しかし、本研究では、対象者数が6名と少ないこと、限られた看護場面の設定であることから、各ケースの倫理的判断や思考を正確に全て引き出すことには限界がある。今後さらに研究を深めていく必要がある。

なお、本研究は平成23年度旭川医科大学大学院医

学系研究科に提出した修士論文の一部を加筆修正したものである。

謝 辞

本研究の趣旨を理解し研究に協力してくださった、施設責任者様、臨床看護師の皆様にご心から感謝申し上げます。また、研究全過程を通じてご指導頂きました、稲葉佳江教授、升田由美子教授に感謝申し上げます。

引用文献

- 1) Fry,S,Johnstone,Mj. 片山範子,山本あい子訳:看護実践の倫理 倫理的意思決定のためのガイド,第3版,日本看護協会出版会,2010
- 2) 細井千晴,小宮亜裕美:臨床における倫理的看護実践の現状—看護師の認識,埼玉小児医療センター医学誌,22(1),50-53,2005
- 3) 永野重史編:道徳性の発達と教育 コールバーグ理論の展開,初版,新曜社,1997
- 4) 齊藤亮子,中原美夏,千崎美登子他:患者の身体拘束は行うべきであったか ブラキ療法後の腓骨神経麻痺患者はリハビリテーションをしようとして転倒した,山形保健医療研究,5,123-128,2002
- 5) 塚本尚子,石川ふみよ,下枝恵子他:看護ジレンマ場面における道徳判断の発達と社会的相互作用の関連性の検討,東京保健科学学会誌,1,7-10,1988
- 6) 山岸明子:青年期における道徳判断の発達測定のための質問紙の作成とその検討,心理学研究,51(2),92-95,1980

Relation of a clinical nurse's nursing practice and moral development

SERITA Noriko*

Summary

In order to investigate the relationship between nursing practice and moral development among clinical nurses, we conducted semi-structured interviews of six mid-level nurses using nursing examples with inherent judgments and ethical problems from moral development stages utilizing the Japanese version of the Defining Issues Test (DIT)—a questionnaire for measuring the development of moral judgment in adolescence. The results of the interviews suggested there were two points of view, judgment from the standpoint of the nurse and consideration toward the standpoint of the patient, as ways of perceiving the examples. The former were common in the third stage of moral development, and the latter were common in the fourth stage. For the cases in the fourth stage, there was an awareness of the ethical problems contained in the examples and a recognition of conflicts in values, and we considered ethical nursing practice by seeking to understand the thinking of the patient as well the basic responsibilities of the nurse, standards of nursing conduct, standards of a nurse's ethical conduct, and the goals of nursing, which are professional values, and ascertain and balance the values important to the patient. Based on the above, it was indicated that the nursing practice of clinical nurses may have a relationship with moral development.

Key words Clinical nurse, Nursing practice, Moral development stage, Nursing ethics

* Asahikawa Medical University

博士学位論文

FLEXOR ACTIVITY BY INTRAMEDULLARY PRESSURE IN RABBIT FEMORAL BONE: An experimental study on thigh pain after total hip arthroplasty

NAKAMURA Toshiki, MD *, ** ITO Hiroshi, MD * ATSUTA Yuji, MD *
TANINO Hiromasa, MD *, ** NISHIMURA Ikuya, PhD ** MATSUNO Takeo, MD *

[ABSTRACT]

Thigh pain often appears after total hip arthroplasty (THA) using a cementless femoral component. It is known that sensory nerve endings exist in the medullary cavity of the bone. The purpose of this study was to investigate, in a rabbit model, whether the pressure on the femoral bone applied from inside the medullary cavity of the femoral bone causes flexion withdrawal reflex.

We loaded pressure on the inside of the medullary cavity of the femoral bone and observed whether muscle activity occurs. The pain resulting from pressure was evaluated by hind limb flexor activity produced by the flexor reflex. An integrated waveform was used to evaluate the degree of muscle activity. For the laboratory-animal models, we prepared the medullary cavity of the rabbits in two ways. In the rabbits with slight reaming, the flexor reflex appeared in low pressure. However, in rabbits with greater reaming, the flexor reflex did not appear, even under high pressure. This suggests that the pain was induced when the sensory nerve endings remained in the inside of the medullary cavity of the femoral bone and the sensory nerve endings were stimulated by the stress.

Key words cementless total hip arthroplasty, thigh pain, flexor reflex, rabbit femoral bone, intramedullary pressure

INTRODUCTION

Thigh pain often appears after total hip arthroplasty (THA) using a cementless stem. The incidence of thigh pain reported in the literature ranges from 1.9%-40.4%^{1,2,3,4,5}.

Two potential mechanisms have been suggested: (1) thigh pain arising from inadequate fit or fixation of the stem within the femoral canal and (2) thigh pain arising from excessive stress concentration in the femur due to change in the femoral flexural and torsional rigidity caused by the stem within the femoral canal⁶. The etiology of thigh pain

is often multifactorial and can be categorized generally into factors related to micromotion at the bone-stem interface, excessive stress transfer to the bone, prosthetic stem characteristics, host bone morphology, and endosteal/periosteal irritation. These factors are likely interrelated and may stimulate the final common pain mediators, the endosteum and periosteum¹.

Because the increase in flexural rigidity and bone stress near the stem tip is thought to contribute to thigh pain^{7,8,9}, we assumed that pressure inside the medullary cavity of the bone near the stem is one factor responsible for thigh

* Department of Orthopaedic Surgery Asahikawa Medical College Asahikawa, Japan

** Graduate School of Information Science and Technology Hokkaido University Sapporo, Japan

pain. It is thought that the stimulated area is the endosteum or periosteum¹⁾. However, it has not been experimentally demonstrated that the pressure inside the medullary cavity of the femoral bone causes the pain.

The purpose of this study was to investigate whether the pressure on the femoral bone of a rabbit applied from inside the medullary cavity of the femoral bone causes flexion withdrawal reflex.

Materials and Methods

Ten Japanese white rabbits weighting approximately 3 kg were used for this study. The rabbits were anesthetized with halothane. Tracheostomy was done to provide artificial ventilation, and the head was fixed in a stereotaxic frame. The cranial bone of the animal was partially removed and suction decerebration was carried out; then, the spinal cord was transected at the most rostral level of the cervical cord and halothane anesthesia was terminated. Throughout the experiments, body temperature was kept at 36 °C with a radiating heat lamp and heartbeat was monitored with electrocardiography. All experiments were performed under the guidelines for animal experiments stipulated at our facility, and the procedures were the same as in our previous study¹⁰⁾.

One hind limb and bilateral fore limbs were strapped to the experimental table. The skin was incised along the greater trochanter, the muscle was released from the greater trochanter, and then the greater trochanter was resected. A balloon catheter (8 Fr) was placed in the isthmus of the cavity of the femoral bone.

Bipolar needle electrodes were placed in the muscle bellies of the flexor of the hip and the knee, and the derived muscle activities were observed by an electrodiagnostic system (Counterpoint, Dantec Medical, Skovlunde, Denmark), as in our previous study¹¹⁾. An integrated waveform was used to evaluate the degree of muscle activity. We confirmed the appearance of muscle activity due to pain reflex from applying a stimulus to the hind limb of the rabbits. After that, we applied pressure inside the medullary cavity of the femoral bone and observed whether muscle activity appeared. The pressure was applied by expansion of the balloon using the injection syringe.

Normal saline solution was used to load the pressure. The load pressure was measured with a pressure sensor (PG-10KU, Kyowa Electronic Instruments, Tokyo, Japan) and recorded by personal computer (Fig. 1).

For the laboratory-animal models, we prepared the medullary cavity of the rabbits in two ways; in Group A, the medullary cavity of the femoral bone of the rabbit was slightly reamed, the reaming was only as large as the size that the balloon could enter (N=5), in Group B, reaming was extensively done from the medullary cavity to cortical bone of the femoral bone (N=5).

In Group A rabbits, we applied low pressure (~ 25 kPa) inside the medullary cavity of the femoral bone and observed whether muscle activity appeared. In Group B rabbits, at first, we applied low pressure (~ 25 kPa) inside the medullary cavity of the femoral bone and observed whether muscle activity appeared. Next, we applied high pressure (~ 200 kPa) inside the medullary cavity of the femoral bone and observed whether muscle activity appeared.

Statistical evaluation of the difference between the two groups was performed using Fisher's exact test for a two by two contingency table.

RESULTS

Before applying the pressure inside the medullary cavity

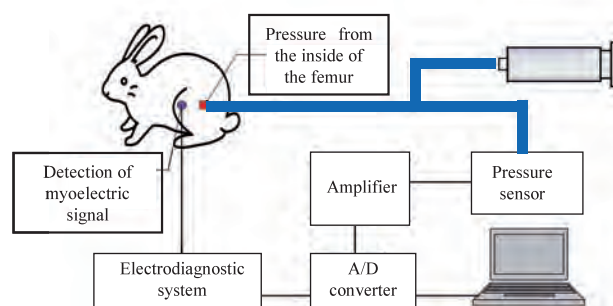


Fig. 1 Pressure was applied by expansion of the balloon by using the injection syringe. Normal saline solution was used to load the pressure. The load pressure was measured with a pressure sensor. The derived muscle activities were observed by an electrodiagnostic system. Both the pressure and the muscle activities were recorded.

of the femoral bone, we confirmed that the rabbits were fully recovered from anesthesia, by observing that hind limb muscle contraction was elicited by the pinch test. Before applying a stimulus to the hind limb of the rabbits, stable slight spontaneous electromyogram activities were observed. When we applied the stimulus to the hind limb of the rabbits, the flexor reflex appeared, and the flexor electromyogram activities increased. After recovering to the original stable slight spontaneous electromyogram activities again, we applied the pressure inside the medullary cavity of the femoral bone.

In all Group A rabbits, the flexor electromyogram activities appeared with low pressure (~ 25 kPa) (Fig. 2). As soon as the pressure was increased to 25 kPa, the flexor electromyogram activities increased. However, the flexor electromyogram activities decreased gradually, although the pressure was kept for about 30 seconds (Fig. 2). After the pressure was decreased to zero and after a brief interval, the flexor electromyogram activities recovered to the original stable slight spontaneous electromyogram activities again (not shown in Figure). The relation between the applied pressure and the flexor electromyogram activities was similar in all five Group A rabbits. After the flexor electromyogram activities recovered to the stable slight spontaneous electromyogram activities, a similar low pressure was repeated in each rabbit from Group A and we observed similar flexor electromyogram activities. In some cases, the flexor electromyogram activities appeared with

the pressure of approximately 15 kPa. We confirmed the same results more than three times in each rabbit. Because we observed the flexor electromyogram activities with low pressure in Group A, we did not apply high pressure.

In Group B, we did not observe the flexor electromyogram activities with low pressure. Even though high pressure (~ 200 kPa) was applied for about 1 minute, we did not observe a significant change in the flexor electromyogram activities. A representative example from Group B with high pressure is shown in Figure 3. The same results were observed in all five Group B rabbits. We observed the same results more than three times in each rabbit.

Throughout all the experiments, body temperature and heartbeat were kept constant.

Under low pressure, the appearance ratio of the flexor reflex in Group A was significantly greater than that in Group B, as determined using Fisher's exact test for a two by two contingency table, $P = 0.00794$.

DISCUSSION

In this study, we experimentally demonstrated for the first time that the pressure on the femoral bone of a rabbit applied from inside the medullary cavity of the femoral bone caused flexion withdrawal reflex. It is known that somatic sensory nerves are distributed in the bone, and that sensory nerve endings exist in the medullary cavity of bone¹²⁾. Our results suggest that the sensory nerve ending of the

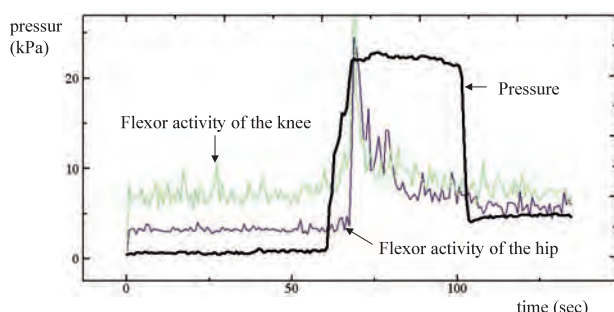


Fig. 2 In Group A rabbits, the flexor reflex appeared with low pressure (~ 25 kPa).

Heavy line: Pressure

Thin dark line: Flexor activity of the hip

Thin light line: Flexor activity of the knee

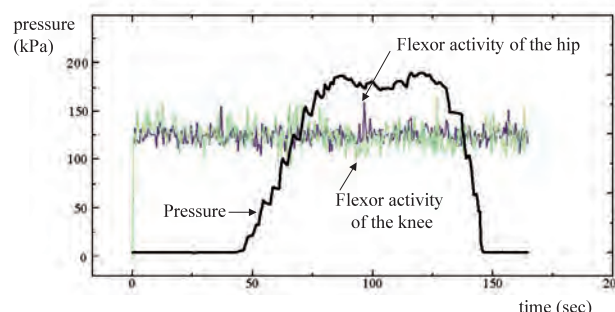


Fig. 3 In Group B rabbits the flexor reflex did not appear, even under high pressure (~ 200 kPa).

Heavy line: Pressure

Thin dark line: Flexor activity of the hip

Thin light line: Flexor activity of the knee

medullary cavity of the femoral bone is a factor of thigh pain.

The incidence of thigh pain using the cementless stem is more frequent than that of the cemented stem. The difference of fixation is thought to be a reason for difference of incidence. Maloney et al. reported that 96% of the patients who had cemented stem reported no or slight pain postoperatively, whereas 24% of the patients who had cementless stem reported mild to severe pain¹³⁾. However, some patients with obviously loosened cemented stems do not experience pain¹⁴⁾. As another reason for the different incidence of thigh pain, we suspect the effects of the heat from cement. Huiskes calculated a necrotic map for the hip and concluded that a larger layer of bone became necrotic in areas adjacent to a concave cement surface¹⁵⁾. We hypothesize that sensory nerve endings that exist in the medullary cavity of bone become necrotic by the heat from cement, and this may be one reason for the less frequent incidence of thigh pain with cemented stem.

According to Seike, the rate of sensory nerve impulses from the medullary branch of tibial nerves increases proportionally to intraosseous pressure in the range from 13.3 to 17.3 kPa, in the tibia of dogs¹⁶⁾. However, the increase of the rate of sensory nerve impulses may not mean that pain occurs. In its classic form, the flexor reflex is elicited most powerfully by stimulation of pain endings¹⁷⁾. In this study, we observed flexor reflex associated with pressure. This suggests that the pain occurred as a result of pressure. In this study, we observed the flexor reflex with a low pressure of approximately 25 kPa. This pressure of approximately 25 kPa does not indicate a threshold value. In this experiment, the muscle activities appeared with pressure of approximately 15 kPa in some cases. The pressure that caused the flexor reflex is a low pressure as in a report from Seike.

The bone-stem interface stresses are about 10 MPa when a load of 3000 N is applied to the head of the stem¹⁸⁾. Therefore, we thought that a low pressure of about 25 kPa might be loaded on the femoral bone from the stem. If the sensory nerve endings exist in the medullary cavity of the femoral bone (between the stem and cortical bone) after THA, thigh pain may occur in all cases. This is clinically

contradictory. We assumed that, during reaming of the medullary cavity, most sensory nerve endings are removed because they are very soft. However, if the sensory nerve endings remain or are regenerated inside the medullary cavity of the femoral bone, pain will be caused.

It has been suggested that thigh pain arises from inadequate fit or fixation of the stem within the femoral canal. Engh et al. reported that in patients with radiographically stable stems, a potential source of thigh pain might be micromotion of the tip of the stem¹⁹⁾. The incidence of thigh pain in stems that are stable by fibrous fixation ranges from 28% to 34%, whereas stems of similar design that are stable with bony ingrowth have an incidence of approximately 8% to 10%^{4,20)}. Whiteside reported that 53% of the patients with a loose distal fit had pain one year postoperatively, whereas 3% of those with a tight distal fit had pain one year postoperatively⁵⁾. Campbell et al. reported that thigh pain correlated with femoral stem subsidence greater than 2 mm and distal periosteal reaction²⁾. This suggests that stem instability seems to be a factor for thigh pain²⁾. The coupling between bone and the cementless stem is achieved through contact stresses between the two, and the contact regions change under load. Because these contact regions are three-dimensional, and wrap around the implant, the contact stresses change substantially while walking and during stair climbing²¹⁾. Viceconti et al. reported that the peak shear stress ranged between 2 and 170 MPa when micromotion of the stem occurred²²⁾. When loosening and micromotion occurs in the stem, pain might be caused by the the following mechanism: the sensory nerve endings remained or were regenerated inside the medullary cavity of the femoral bone near the stem (no stress and no pain), next, the contact regions changed under load and the sensory nerve endings came in contact with the stem, and the sensory nerve endings were stimulated by the stress from loosening and micromotion.

Huiskes reported that subsidence of the stem was not associated with thigh pain¹⁸⁾. In addition, Barrack et al. reported six patients with thigh pain who were found to have rigid fixation and histological proof of good bone ingrowth²³⁾. It has been suggested that excessive stress concentration is a factor for thigh pain. This excessive

stress concentration is caused by changes in the femoral flexural and torsional rigidity caused by the stem within the femoral canal⁶⁾. The structural rigidity of a particular stem is determined by the choice of stem material, stem geometry, and the stem diameter required for rigid fixation. The differences between the stiffness of femoral bone mechanical properties (ie, Young's modulus of bone elasticity = 12 GPa) and the material qualities of stems (Ti-6Al-4V = 117 GPa, cobalt-chromium = 210 GPa) may contribute to thigh pain²⁴⁾. Namba et al. observed reduced stress concentration around the stem tip with the titanium stem compared with the cobalt chrome stem, in their Finite Element analysis⁸⁾. Skinner and Curlin described the flexural rigidity of the stem relative to the bone^{7,25)}. In their study of 101 hips, there was a trend toward less thigh pain with more flexible stems. Vresilovic et al. reported that thigh pain was significantly ($P = 0.014$) influenced by stem size in their series of 297 hips with a 12% incidence of symptoms at 1 year⁶⁾. Arkibeck et al. reported that thigh pain was related to a larger stem size ($p = 0.06$) in their series of 78 hips with a 9% incidence of symptoms at a mean of ten years²⁶⁾. Lavernia et al. reported that patients receiving larger versus smaller stems irrespective of material composition were more likely to report thigh pain at 1 year and 2 years postoperatively; however, this difference was not statistically significant²⁷⁾. The general trend indicated increasing incidence of thigh pain as stem size increased.

In this experiment, the excessive stress was not replicated. We applied pressure of 200 kPa that was approximately one fiftieth of the excessive stress. After this experiment, we applied excessive stress to the cortical bone from inside the medullary cavity of the femoral bone, but the flexor reflex did not appear before fracture. So, we could not determine the reaction from the sensory nerve endings when thigh pain occurs from excessive stress. When thigh pain occurs from excessive stress, it may be the reaction from periosteal sensory nerve endings or other parts on the outside of the femoral bone, without endosteal involvement.

Domb et al. reported on the use of strut cortical allografting for the treatment of recalcitrant enigmatic thigh

pain following THA patients with a well-fixed cemented or cementless stem⁹⁾. The cortical struts were placed on the lateral cortex based at the stem tip corresponding to where the patients experienced their thigh pain in all case. While proof of the periosteum as the pain modulator is lacking, clinical reports of treatment of thigh pain with cortical strut grafting may be successful in part by the denervation of the periosteum during the exposure and graft placement⁹⁾. We propose that the use of strut cortical allografting is an ideal treatment based on two reasons. (1) With the use of strut cortical allografting, the flexural rigidity of the femoral bone increases at the stem tip and excessive stress concentration in the femoral bone is reduced. (2) Denervation of the sensory nerves around the femoral bone may occur during operation.

The limitation of this experiment is that loading conditions did not simulate change in the pressure during walking. Because we wanted to observe the reaction from the sensory nerve endings inside the medullary cavity of the femoral bone by the direct irritation, we applied the pressure only once.

We suggest that the sensory nerve endings of the medullary cavity of the femoral bone are involved in thigh pain, based on the observation of the reaction from the sensory nerve endings inside the medullary cavity of the femoral bone. However, the reaction from the sensory nerve endings of other areas was not evaluated in this study. Thigh pain also may be the reaction from the sensory nerve endings of other regions. The mechanisms proposed from this study are likely to be one of many factors responsible for thigh pain.

References

- 1) Brown TE, Larson B, Shen F, et al: Thigh pain after cementless total hip arthroplasty: evaluation and management. *J Am Acad Orthop Surg* 10:6, 385-92, 2002
- 2) Campbell A, Rorabeck CH, Bourne RB, et al: Thigh pain after cementless hip arthroplasty: Annoyance or ill omen. *J Bone Joint Surg Br* 74:1, 63-66, 1992
- 3) Bourne RB, Rorabeck CH, Ghazal ME, et al: Pain in the thigh following total hip replacement with a porous-

- coated anatomic prosthesis for osteoarthritis: A five-year follow-up study. *J Bone Joint Surg Am* 76,1464-1470, 1994
- 4) Engh CA, Bobyn JD, Glassman AH: Porous-coated hip replacement: The factors governing bone ingrowth, stress shielding, and clinical results. *J Bone Joint Surg Br* 69, 45-55, 1987
 - 5) Whiteside LA, The effect of stem fit on bone hypertrophy and pain relief in cementless total hip arthroplasty. *Clin Orthop* 247:138-147, 1989
 - 6) Vresilovic EJ, Hozack WJ, Rothman RH: Incidence of thigh pain after uncemented total hip arthroplasty as a function of femoral stem size. *J Arthroplasty* 11, 304-311, 1996
 - 7) Skinner HB, Curlin FJ: Decreased pain with lower flexural rigidity of uncemented femoral prostheses. *Orthopedics* 13:1223-1228, 1990
 - 8) Namba RS, Keyak JH, Kim AS, et al: Cementless implant composition and femoral stress: A finite element analysis. *Clin Orthop* 347:261-267, 1998
 - 9) Domb B, Hostin E, Mont MA, et al: Cortical strut grafting for enigmatic thigh pain following total hip arthroplasty. *Orthopedics* 23: 21-24,2000
 - 10) Nakamura S, Atsuta Y: Electrophysiological study on primary afferent properties of a chronic constriction nerve injury model in spinal rats. *J Orthop Sci* 9: 386-391, 2004
 - 11) Ozawa K, Atsuta Y, Kato T: Chronic effects of the nucleus pulposus applied to nerve roots on ectopic firing and conduction velocity. *Spine* 26:24, 2661-2665, 2001
 - 12) Mach DB, Rogers SD, Sabino MC, et al: Origins of skeletal pain: Sensory and sympathetic innervation of the mouse femur. , *Neuroscience* 113:1, 155-166, 2002
 - 13) Maloney WJ, Harris WH: Comparison of a hybrid with an uncemented total hip replacement: A retrospective matched-pair study. *J Bone Joint Surg Am* 72:9, 1349-1352, 1990
 - 14) Mjoberg B: Loosening of the cemented hip prosthesis: The importance of heat injury. *Acta Orthop Scand (Suppl 221):* 1-40, 1986
 - 15) Huiskes R: Some fundamental aspects of human joint replacement. *Acta Orthop Scand (Suppl 185):* 43-180, 1980
 - 16) Seike W: Electrophysiological and histological studies on the sensibility of the bone marrow nerve terminal. *Yanago Acta Medica* 20:3, 192-211, 1976
 - 17) Guyton AC, Hall JE: Text book of Medical Physiology tenth edition, 629-633
 - 18) Huiskes R: The various stress patterns of press-fit, ingrown, and cemented femoral stems. *Clin Orthop* 261:27-38, 1990
 - 19) Engh CA, Culpepper WJ II: Femoral fixation in primary total hip arthroplasty. *Orthopedics* 20, 771-773, 1997
 - 20) Engh CA, Massin P: Cementless total hip arthroplasty using the anatomic medullary locking stem: Results using a survivorship analysis. *Clin Orthop* 249, 141-158,1989
 - 21) Harrigan TP, Harris WH: A finite element study of the effect of diametral interface gaps on the contact areas and pressures in uncemented cylindrical femoral total hip components. *J Biomechanics* 24:1, 87-91, 1991
 - 22) Viceconti M, Brusi G, Pancanti A, et al: Primary stability of an anatomical cementless hip stem: A statistical analysis. *J Biomechanics* 2005 May 28; [Epub ahead of print]
 - 23) Barrack RL, Jasty M, Bragdon C, et al: Thigh pain despite bone ingrowth into uncemented femoral stems. *J Bone Joint Surg Br* 74, 507-510, 1992
 - 24) Dujovne AR, Bobyn JD, Krygier JJ, et al: Mechanical compatibility of noncemented hip prostheses with the human femur. *J Arthroplasty* 8, 7-22, 1993
 - 25) Skinner HB: Isoelasticity and total hip arthroplasty. *Orthopedics* 14, 323-328, 1991
 - 26) Archibeck MJ, Berger RA, Jacobs JJ, et al: Second-generation cementless total hip arthroplasty: Eight to eleven-year results. *J Bone Joint Surg Am*, 83:11, 1666-1673, 2001
 - 27) Lavernia C, D'Apuzzo M, Hernandez V, et al: Thigh pain in primary total hip arthroplasty: The effects of elastic moduli. *J Arthroplasty (Suppl 2)* 19:7, 10-16, 2004

博士学位論文

培養ラット脊髄神経細胞における高濃度ブドウ糖による ニューロキニン1受容体の発現亢進

石 関 哉 生* 安孫子 亜津子* 伊 藤 博 史*
平 野 史 倫* 滝 山 由 美* 羽 田 勝 計*

【要 旨】

知覚過敏は糖尿病発症早期に認められる神経障害の一つである。サブスタンス P による脊髄神経細胞におけるニューロキニン1受容体 (NK1 受容体) の活性化が知覚過敏の原因となっている。これまでにブドウ糖濃度と NK1 受容体発現の関係についての報告はない。我々はラット脊髄神経細胞においてブドウ糖が直接 NK1 受容体発現を引き起こすという仮説を立てた。胎児ラットの脊髄神経細胞を用いてブドウ糖による NK1 受容体発現制御について検討した。高濃度ブドウ糖下においてラット脊髄神経細胞の NK1 受容体発現増加が認められた。プロテインキナーゼ A 阻害薬、プロテインキナーゼ C 阻害薬、アルドース還元酵素阻害薬は NK1 受容体発現に影響を与えなかったが、 α リボ酸は高濃度ブドウ糖による NK1 受容体発現を抑制した。ミトコンドリア由来活性酸素の阻害薬は高濃度ブドウ糖による NK1 受容体発現を抑制した。これらの結果から酸化ストレスが NK1 受容体発現を制御している可能性が考えられた。糖尿病性神経障害による知覚過敏のメカニズムを説明する上で NK1 受容体発現の関与が示唆された。

キーワード 糖尿病性神経障害、知覚過敏、ニューロキニン1受容体、酸化ストレス

Introduction

Hyperalgesia is one of the symptoms of diabetic neuropathy, particularly in the early stages of diabetic neuropathy¹. Substance P (SP) binds to the neurokinin1 (NK1) receptor with high affinity. Therefore, NK1 receptors are believed to be the primary target of SP that is released from neurons during neural transmission. SP activation of NK1 receptors in the spinal cord results in thermal and mechanical hyperalgesia². The increase in SP binding is paralleled by an increase in NK1 receptor immunoreactivity in spinal neurons in the dorsal horn³ and an increase in the mRNA content of the NK1 receptor in the

dorsal spinal cord^{4,5}). Systemic administration of a selective NK1 receptor antagonist attenuates the diabetes-induced mechanical hypersensitivity, which is mediated by central NK1 receptors in the rat⁶); this suggests that the central NK1 receptor may play an important role in diabetes-induced hyperalgesia.

The promoter region of the gene encoding the NK1 receptor contains a cyclic AMP (cAMP)-responsive element (CREB)⁷). Phosphorylation of CREB results in NK1 receptor gene expression. cAMP regulates NK1 receptor expression by phosphorylation of CREB through the activation of protein kinase A (PKA)⁸). Calcitonin gene-related peptide (CGRP) regulates NK1 receptor expression

*旭川医科大学 内科学講座 病態代謝内科学分野

by elevation of intracellular cAMP, resulting in CREB phosphorylation⁹). The appearance of phosphorylated CREB in the nuclei of dorsal horn neurons blocked the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor¹⁰). The activation of NMDA receptors by excitatory amino acids results in elevation of intracellular Ca²⁺. CREB can also be phosphorylated by a Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase¹¹). Thus, second messenger pathways that increase intracellular Ca²⁺ levels as well as cAMP may contribute to increased NK1 receptor expression in the spinal cord through an increase in the mRNA levels of the NK1 receptor.

In the diabetic state, unchecked superoxide accumulation and its resultant increases are induced as follows: increased polyol pathway activity leads to sorbitol and fructose accumulation, NAD(P)H-redox reaction is imbalanced, and changes occur in signal transduction, nonenzymatic glycation of proteins yields advanced glycation of end products, activation of protein kinase C (PKC) inhibits a cascade of stress responses, increased hexosamine pathway flux, and hyperglycemia-mediated superoxide overproduction by mitochondrial electron transport chain¹²⁻¹⁴). Oxidative stress is the result of an imbalance between reactive oxygen species (ROS) and antioxidants such as superoxide dismutase, catalase, glutathione, vitamin C, and vitamin E^{15, 16}). Therefore, increased oxidative stress, which contributes to the pathogenesis of diabetic complications, is the consequence of either enhanced ROS production or attenuated ROS-scavenging capacity that results in tissue damage¹⁴). Oxidative stress induces gene expression, cell proliferation, cell apoptosis, lipid peroxidation, reduction of Na-K-ATPase, and mitochondrial dysfunction¹³).

Hyperalgesia induced by diabetes in rats is attenuated by the administration of selective NK1 receptor antagonists⁶), and other studies have shown that NK1 receptor antagonists can also prevent the development of inflammation-induced thermal and mechanical hyperalgesia^{17,18}). However, the relationship between glucose and NK1 receptor expression has not been reported. We investigated the hypothesis that in the diabetic state, high glucose directly induces NK1 receptor expression in the rat spinal cord cells. Furthermore, we examined the reasons for NK1 receptor overexpression, taking into account diabetes-induced

hyperglycemia and hyperglycemia-induced dysfunction of cellular metabolism.

Methods

Cell culture

Primary cultures of neonatal rat spinal cords were prepared as described previously¹⁹). Spinal cord segments from 1- to 2-day-old neonatal Wistar rats were dissected, fragmented, and dissociated by treatment with 0.25% trypsin in a calcium- and magnesium-free balanced salt solution for 15 min at 37°C. Trypsination was terminated by the addition of fetal bovine serum (FBS). The dissociated cells were centrifuged at 100 ×g for 10 min and resuspended in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) supplemented with 20% FBS and antibiotics (50 U/ml penicillin and 50 µg/ml streptomycin) by repetitive trituration. The cells were centrifuged at 100 ×g for 10 min again and resuspended in the culture medium (DMEM with 20% FBS and antibiotics; 20 ml for approximately 16 spinal cords). The cells were counted, and the cell suspension was diluted to a final concentration of 1.5 × 10⁶ cells/ml.

Ten milliliters of the cell suspension was pipetted into 100-mm diameter Falcon Petri dishes and incubated at 37°C in a 5% CO₂ humidified atmosphere for the time required for maximum attachment of non-neuronal cells. The most enriched neuronal preparation was obtained after 3 h of preplating.

The enriched neuronal cell suspension was centrifuged at 100 ×g for 10 min. Cells were resuspended in the culture medium (DMEM with 20% FBS and antibiotics; 20 ml for approximately 16 spinal cords), counted, and plated at a density of 10⁶ cells per 35-mm poly-L-lysine-coated dish. After 2 h, the cultures were transferred to serum-free medium containing N2 supplement (10 µl/ml, GIBCO), fibronectin (10 µl/ml, GIBCO), bFGF (5 ng/ml, Invitrogen), and antibiotics. The cultures were incubated at 37°C in a 5% CO₂ humidified atmosphere for 8 days.

Immunohistochemistry

After culturing for 8 days, the cells were fixed by immersion in 4% paraformaldehyde in 0.15 M phosphate buffered saline (PBS) (pH 7.3, 4°C) for 20 min. The dishes

were then rinsed 3 times with 0.15 M PBS (pH 7.3) for 5 min each. Normal goat serum (5%) in 0.15 M PBS along with 1% bovine serum albumin (BSA) and 0.5% Tween 20 (pH 7.3, washing buffer) was spotted on the dishes, and these were placed in a humidified box for 30 min at room temperature. The specimens were then incubated overnight at 4°C with a primary antibody containing polyclonal rabbit anti-protein gene product (PGP) 9.5 (1:1000 dilution, N.B. Ultracclone) diluted in 0.15 M PBS with 0.1% BSA and 0.1% Tween 20 (pH 7.3, incubation buffer). The specimens were rinsed 3 times in the washing buffer, followed by incubation with fluorescein-conjugated affinity-purified goat antibody to rabbit IgG diluted at 1:500 (ICN Pharmaceuticals) in the incubation buffer and treatment with the avidin-biotin complex for 30 min at room temperature. The cells were observed by optical and fluorescence microscopy.

RT-PCR analysis

PCR primers were designed as follows: NK1 receptor (665 bp) sense 5' -CTG CTG GAT AAA CTT CTT CAG GTA-3' , antisense 5' -AGG ACA GTG ACG AAC TAT TTT CTG-3' ; CGRP (318 bp) sense 5' -AAG TTC TCC CCT TTC CTG GT-3' , antisense 5' -GGT GGG CAC AAA GTT GTC CT-3' ; GAPDH (532 bp) sense 5' -GGG TGG TGC CAA AAG GGT C-3' , antisense 5' -GGA GTT GCT GTT GAA GTC ACA-3' . Total RNA was extracted from the dishes using the RNeasy Mini Kit (QIAGEN). To prevent DNA contamination, the DNA was digested on a column using the RNase-Free DNase (QIAGEN). The RNA concentration was determined by measuring the absorbance at 260 nm (A260) in an ND-1000 (Nano Drop). One microgram of RNA was diluted in 20 µl of nuclease-free water. The mRNA was reverse transcribed to cDNA by using the TaKaRa RT-PCR Kit according to the manufacturer's instructions.

The resulting cDNA was amplified by PCR using the NK1 receptor primer pairs listed above. The solution was gently mixed, briefly centrifuged, and amplified by a thermal cycler. The PCR conditions for amplifying the NK1 receptor were as follows: 94°C for 5 min and 32 cycles at 94°C for 1 min, 58°C for 1 min, and 72°C for 1 min. The reaction products (10 µl) were then analyzed by

electrophoresis in a 1.5% agarose gel containing 0.05 µl/ml ethidium bromide. The cDNAs for CGRP and GAPDH were amplified by PCR in an identical manner. The PCR conditions were as follows: CGRP 94°C for 5 min and 40 cycles at 94°C for 30 s, 58°C for 30 s, and 72°C for 45 s; GAPDH 94°C for 5 min and 22 cycles at 94°C for 1 min, 58°C for 1 min, and 72°C for 1 min.

Western blot analysis

Cells that had been cultured for 8 days were mixed with 1% sodium dodecylsulfate (SDS) sample loading buffer. Protein concentrations of the samples were measured and calculated using the BCA Protein Assay Kit (Pierce). Estimations were made based on the absorbance at 562 nm. The final concentration of the sample protein was adjusted to 1 mg/ml. Aliquots of the crude lysate containing 40 µg of protein were mixed with 2× SDS sample buffer, heated to 95°C for 10 min, and then electrophoresed on a 10% Bis Tris gel (Invitrogen). The proteins were transferred to a nitrocellulose membrane. After blocking with 5% non-fat dry milk in PBS-Tween 20 (PBST; 0.05% Tween 20 in PBS) for 1 h, the membrane was incubated overnight with anti-NK1 receptor (anti-NK-1R, rabbit polyclonal antibody, 1:2000, Santa Cruz Biotechnology) or anti-β-actin (Monoclonal Anti-β-Actin Clone AC-74, SIGMA). It was then washed 3 times with PBS for 15 min each and incubated for 1 h at room temperature with peroxidase-labeled anti-rabbit antibody (1:2000, Amersham Biosciences) or ECL peroxidase-labeled anti-mouse antibody (1:2000, Amersham Biosciences) in 5% non-fat dry milk. The membranes were washed 3 times with PBS for 15 min each. Antigen-antibody complexes were visualized using ECL Western Blotting Detection Reagents (Amersham Biosciences); the membranes were then analyzed using a luminescent image analyzer (LAS-3000, FUJIFILM).

Measurement of cAMP

Cells were incubated for 8 days. The medium was aspirated from the plate, and the cells were treated with 1 ml of 0.1 M HCl, following which they were incubated for 20 min. The cells were scraped with a cell scraper,

and the mixture was dissociated by pipetting up and down. Subsequently, they were centrifuged at 1000 ×g for 10 min. The supernatant was decanted into a clean test tube. The cAMP assay was performed using a sensitive protein binding EIA kit (Cayman Chemicals).

Dihydroethidium staining

The oxidative fluorescent dye dihydroethidium was used to evaluate the intracellular production of superoxide. Dihydroethidium is a cell-permeable dye that reacts with superoxide ions to form ethidium; this in turn intercalates in the DNA and provides nuclear fluorescence at an excitation wavelength of 520 nm and an emission wavelength of 610 nm. The cells were incubated at 37°C in phenol red-free Hanks medium containing dihydroethidium (10 μmol/l). After 15 min, the cells were rinsed in phenol red-free Hanks medium, and images were obtained by fluorescence microscopy. Fluorescence was detected with a 585-nm long-pass filter.

Data analysis

Data were expressed as mean±SE of multiple experiments. Student's t-test was used to compare between the 2 groups, and ANOVA (Scheffe's F test) was used to compare among more than 3 groups for multiple comparisons. P values < 0.05 were considered statistically significant.

Results

Isolated cells from the spinal cord of neonatal rats were incubated for 8 days; the cells were then stained with PGP 9.5, an antigen specific for neuronal cells. The cells were observed using both optical and fluorescent microscopes (Figures 1a, 1b). To examine the proportion of neuronal cells, we counted all cells and PGP 9.5-immunopositive cells in the same 20 fields. Approximately 85% of total cells were stained with PGP 9.5, and these neuronal cells were used for the following experiments.

NK1 receptor expression was significantly increased in cells cultured in high glucose than in low glucose. We evaluated whether high glucose could induce NK1 receptor expression in cultured spinal cord cells. Cells were treated

with either low glucose (5.6 mmol/l) or high glucose (25 mmol/l) for 8 days. The RNA extracted from these cells was subjected to relative RT-PCR analyses using GAPDH as the internal control. The results show that high glucose treatment (1.235 ± 0.209 , $n = 18$) increased NK1 receptor expression to a greater extent than low glucose treatment (0.821 ± 0.220 , $n = 18$) (Figures 2a, 2b). NK1 receptor expression increased in a time-dependent manner (data not shown). A few NK1 receptors were observed in cells at 2 h after the initial incubation, and their numbers gradually increased in a time-dependent manner. We prepared culture

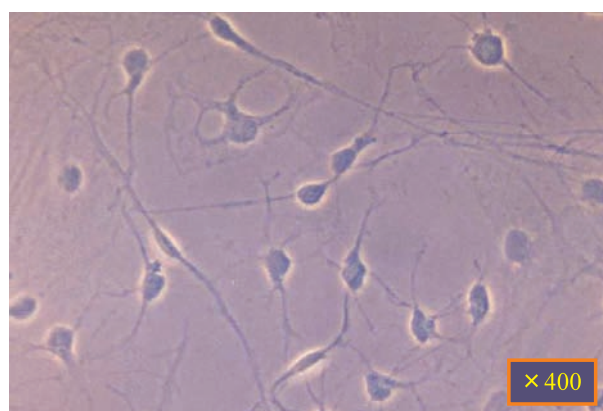


Figure 1a

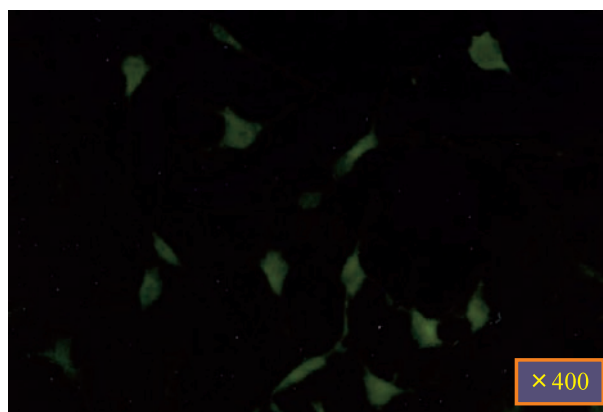


Figure 1b

Figure 1 Immunohistochemistry using PGP 9.5, an antigen specific for neuronal cells. Figure 1a shows the image obtained by an optical microscope, and Figure 1b shows the image obtained by a fluorescent microscope. Neuronal cells stained with PGP 9.5 are visualized in green. Approximately, 85% of total cells were stained with PGP 9.5. Photographs are at 400× magnification.

media containing 5.6 mmol/l, 15.2 mmol/l, 25 mmol/l, and 34.7 mmol/l D-glucose. A significant increase in NK1 receptor expression was observed in cells cultured in 25 and 34.7 mmol/l glucose (Figure 2c).

The increase in NK1 receptor expression due to high glucose was not due to osmotic pressure. The possibility that osmotic pressure increased NK1 receptor expression was excluded by using L-glucose (which is not metabolized

in cells but has osmotic activity). We prepared culture media containing 5.6 mmol/l D-glucose, 25 mmol/l D-glucose, and 5.6 mmol/l D-glucose + 19.4 mmol/l L-glucose. The cells were cultured in each medium for 8 days. The group cultured in 25 mmol/l D-glucose or in 5.6 mmol/l D-glucose + 19.4 mmol/l L-glucose had the same osmotic pressure. NK1 receptor expression was significantly increased in the group cultured in 25 mmol/l D-glucose (0.610 ± 0.133 , $n = 6$), but not in 5.6 mmol/l D-glucose + 19.4 mmol/l L-glucose (0.385 ± 0.162 , $n = 6$) (Figure 2d); this suggests that osmotic pressure does not affect NK1 receptor expression.

We examined NK1 receptor expression by Western blotting. Figures 3a and 3b show that in a protein assay, NK1 receptor expression was increased in high glucose;

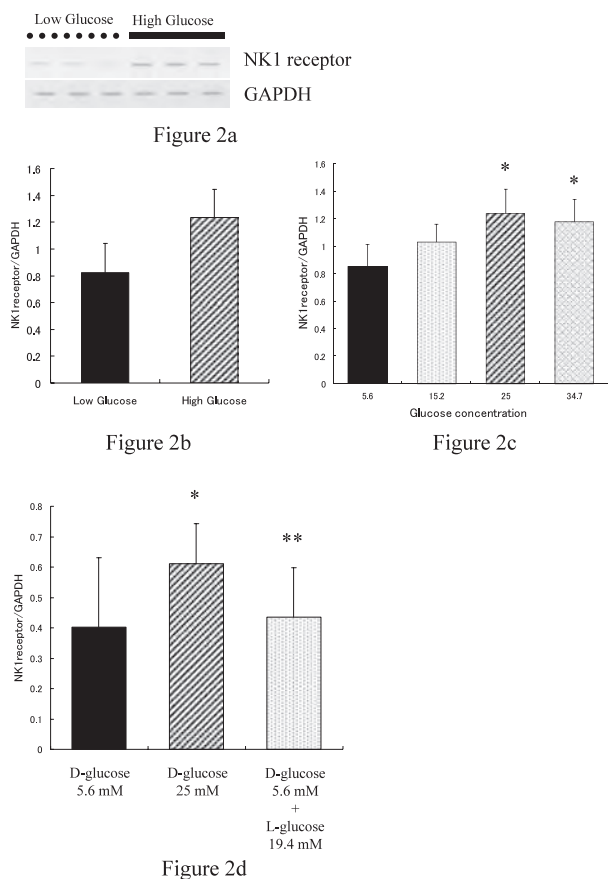


Figure 2 NK1 receptor expression was significantly greater in cells cultured in high glucose than in those cultured in low glucose (a,b). Data are means \pm SE. Densitometric quantification of the corresponding bands was performed using the NIH image software. * $p < 0.01$ vs. low glucose group ($n = 18$). NK1 receptor expression was increased in a concentration-dependent manner (c). * $p < 0.05$ vs. 5.6 mmol/l glucose concentration group ($n = 6$). Increase in NK1 receptor expression due to high glucose was not due to osmotic pressure (d). * $p < 0.05$ vs. 5.6 mmol/l glucose concentration group ($n = 6$). ** $p < 0.05$ vs. 25 mmol/l glucose concentration group ($n = 6$).

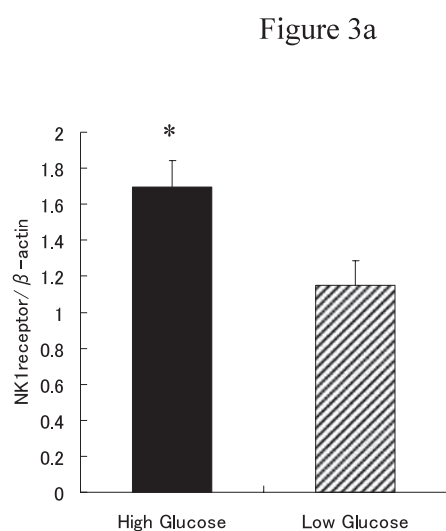
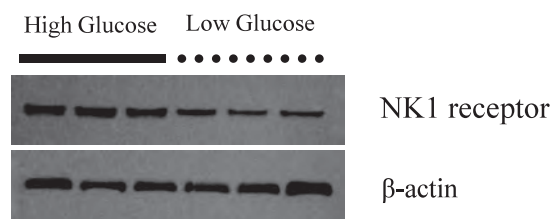


Figure 3 The bands obtained by Western blot analysis of cells treated with high and low glucose concentrations are shown in (a). In a protein assay, NK1 receptor expression was significantly greater in cells cultured in high glucose than in those cultured in low glucose (b). * $p < 0.05$ vs. low glucose group ($n = 6$).

this indicates that NK1 receptor expression was increased in cells treated with high glucose.

Treatment of cultures with dibutyryl-cAMP (dbcAMP) resulted in an increase in NK1 receptor expression. Cells

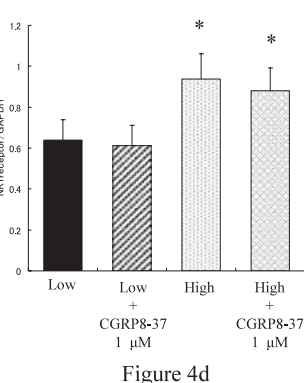
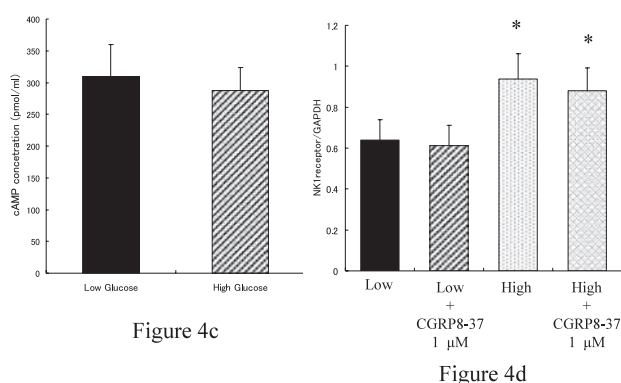
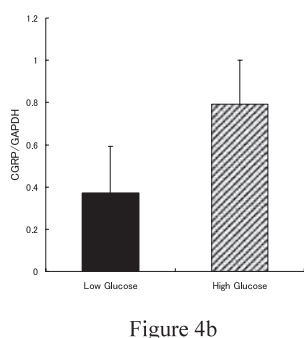
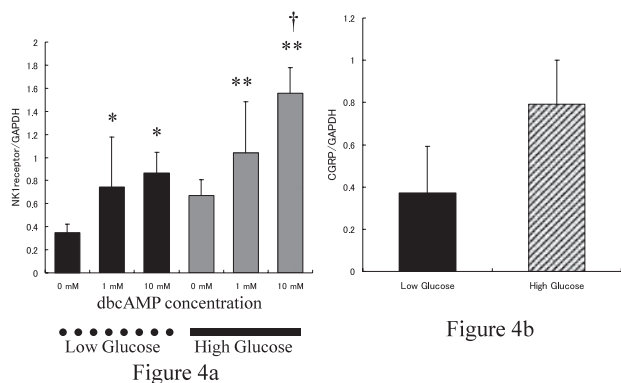


Figure 4 dbcAMP induced the increase in NK1 receptor expression in cells treated with high and low glucose. This increase in NK1 receptor expression occurred in a concentration-dependent manner (a). * $p < 0.01$ vs. untreated low glucose group ($n = 6$). ** $p < 0.01$ vs. untreated high glucose group ($n = 6$). † $p < 0.01$ vs. low glucose group treated with 10 mM dbcAMP ($n = 6$). CGRP expression was significantly greater in cells cultured in high glucose than in those cultured in low glucose (b). * $p < 0.01$ vs. low glucose group ($n = 12$). Intracellular cAMP in cells was not changed by the glucose concentration (c). The increase in NK1 receptor expression due to the high glucose concentration was not suppressed by treatment with CGRP8-37 (d). * $p < 0.05$ vs. untreated low glucose group ($n = 6$).

treated with dbcAMP for 4 h exhibited increased NK1 receptor expression in a concentration-dependent manner. Although this increase was observed in cells treated with high and low glucose, the increase in NK1 receptor expression was significantly greater in cells treated with high glucose than in those treated with low glucose at any dbcAMP concentration. In cultures with high glucose, the increase in NK1 receptor expression after treatment with 1 mM and 10 mM dbcAMP was 155% and 233% that of the nontreated control. In cultures with low glucose, this increase after treatment with 1 mM and 10 mM dbcAMP was 212% and 248% that of the nontreated control (Figure 4a). After treatment with 10 mmol/l dbcAMP, a greater increase in NK1 receptor expression was observed in the high-glucose culture than in the low-glucose culture. In our experiments, NK1 receptor expression in cell culture was further increased by the presence of high glucose after treatment with dbcAMP in a concentration-dependent manner.

Although a greater increase in CGRP was observed in cells cultured in high glucose than in those cultured in low glucose, cAMP was not increased in the cultured cells. We measured CGRP gene expression using RT-PCR, and it had increased in cells cultured in high glucose (Figure 4b). Since an increase in CGRP induces an increase in intracellular cAMP in the cell, which results in NK1 receptor expression, we measured intracellular cAMP using ELISA. The intracellular cAMP amount was not increased in cells cultured in high glucose (Figure 4c). To exclude the possibility that the increase in intracellular CGRP induced NK1 receptor expression, we measured NK1 receptor expression by RT-PCR using a CGRP receptor antagonist (CGRP₈₋₃₇). The increase in NK1 receptor expression due to high glucose was not suppressed by CGRP₈₋₃₇ treatment (Figure 4d).

The increase in NK1 receptor expression due to high glucose was suppressed by antioxidant treatment. To examine the reasons for the increase in NK1 receptor expression, we prepared a culture medium containing a PKA inhibitor (protein kinase A inhibitor 14-22 amide, 10 μmol/l), a PKC inhibitor (staurosporine, 1 μmol/l), an antioxidant (α-lipoic acid (α-LA), 500 μmol/l), and

an aldose reductase inhibitor (ARI, epalrestat, 1 $\mu\text{mol/l}$). The cells were incubated for 7 days and then transferred to a medium containing each inhibitor, following which incubation was carried out for 24 h. The RNA extracted from these cells was subjected to relative RT-PCR analyses using GAPDH as the internal control. The increase in

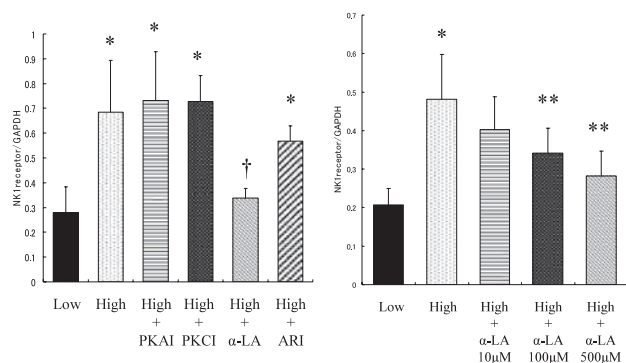


Figure 5a

Figure 5b

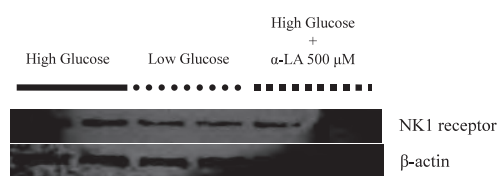


Figure 5c

Figure 5 The increase in NK1 receptor expression due to the high glucose concentration was suppressed by treatment with α -LA (a). We prepared a culture medium containing a PKA inhibitor (protein kinase A inhibitor 14-22 amide, 10 $\mu\text{mol/l}$), a PKC inhibitor (staurosporine, 1 $\mu\text{mol/l}$), an antioxidant (α -LA, 500 $\mu\text{mol/l}$), and an aldose reductase inhibitor (ARI, epalrestat, 1 $\mu\text{mol/l}$). The cells were incubated for 7 days and then transferred to a medium containing each inhibitor and were further incubated for 24 h. * $p < 0.05$ vs. low glucose group ($n = 6$). ** $p < 0.05$ vs. untreated high glucose group ($n = 6$). NK1 receptor expression was suppressed in an α -LA concentration-dependent manner (b). * $p < 0.05$ vs. low glucose group ($n = 6$). † $p < 0.05$ vs. nontreated high glucose group ($n = 6$). The bands observed in Western blot analysis of cells treated with high glucose, low glucose, and high glucose with 500 μM α -LA are shown in (c).

NK1 receptor expression was suppressed by α -LA (Figure 5a). This suppression of NK1 receptor expression was observed to occur in an α -LA concentration-dependent manner (Figure 5b). In a protein assay, the increase in NK1 receptor expression was suppressed by treatment with α -LA (Figure 5c). The increase in NK1 receptor expression was not suppressed by other inhibitors. This result suggests that the increase in NK1 receptor expression was suppressed by an antioxidant.

Oxidative stress was caused by overproduction of ROS by the mitochondrial electron transport chain. To investigate the productivity of ROS in cultured cells, we prepared a culture medium containing the following inhibitors: NADPH oxidase inhibitor (apocynin, 30 $\mu\text{mol/l}$), glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase inhibitor (azaserine, 5 $\mu\text{mol/l}$), and mitochondrial complex II inhibitor that blocks mitochondrial superoxide production (TTFA, 10 $\mu\text{mol/l}$). After incubating the cells for 7 days,

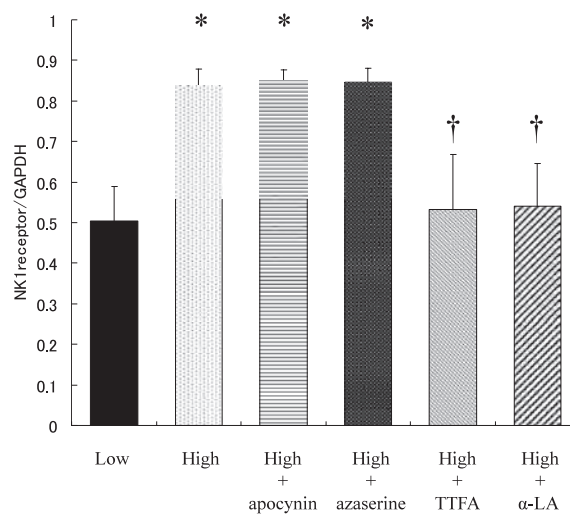


Figure 6 We prepared a culture medium containing the following inhibitors: NADPH oxidase inhibitor (apocynin, 30 $\mu\text{mol/l}$), glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase inhibitor (azaserine, 5 $\mu\text{mol/l}$), mitochondrial complex II inhibitor that blocks mitochondrial superoxide production (TTFA, 10 $\mu\text{mol/l}$), and α -LA, 500 $\mu\text{mol/l}$. The cells were incubated for 7 days and then transferred to a medium containing each inhibitor and were further incubated for 24 h. * $p < 0.01$ vs. low glucose group ($n = 6$). † $p < 0.01$ vs. untreated high glucose group ($n = 6$).

the culture was transferred to a medium containing each inhibitor, and the cells were further incubated for 24 h. The RNA extracted from these cells was subjected to relative RT-PCR analyses using GAPDH as the internal control. The increase in NK1 receptor expression was suppressed by treatment with TTFA and α -LA (Figure 6); however, it was not suppressed by other inhibitors. This result suggests that the elevated intracellular oxidative stress was due to activation of the mitochondrial electron transport chain.

Oxidative stress was increased in cells cultured in high glucose, and this increase was suppressed by α -LA treatment. Using dihydroethidium staining, we determined the oxidative stress in cells cultured in high glucose with or without α -LA treatment. Dihydroethidium staining increased in cells cultured in high glucose, whereas those cultured in low glucose showed low staining levels. The

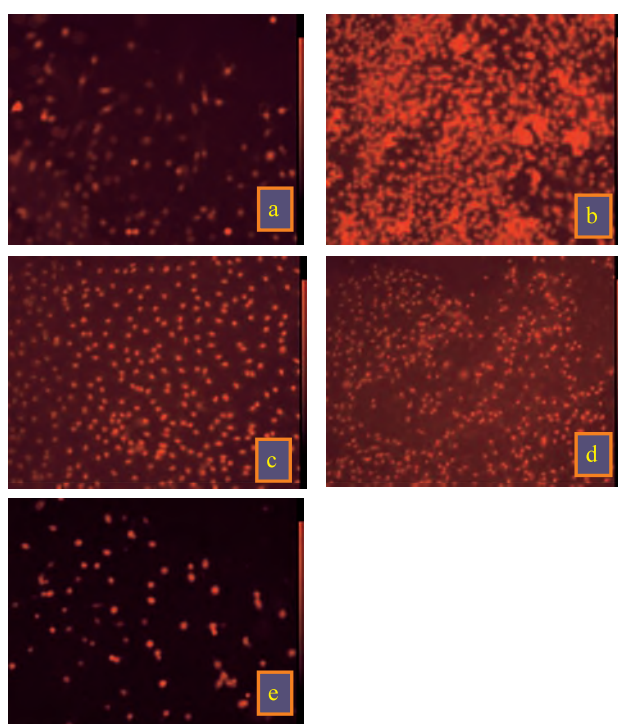


Figure 7 Detection of superoxide production by dihydroethidium staining in cultured cells. Representative results of dihydroethidium staining are shown for cells treated with low glucose (a), high glucose (b), high glucose with 10 μ M α -LA (c), high glucose with 100 μ M α -LA (d), and high glucose with 1000 μ M α -LA (e). Photographs are at 100 \times magnification.

cells cultured in high glucose with α -LA treatment (1000 μ mol/l) showed levels of dihydroethidium staining that were almost similar to those observed in the low-glucose culture (Figure 7); this suggests that the oxidative stress induced by high glucose was suppressed by α -LA.

Discussion

These studies provide evidence that glucose regulates NK1 receptor expression in neonatal rat spinal cord. The increase in NK1 receptor expression is not due to osmotic pressure. Since this increase is suppressed by antioxidants, the increase in NK1 receptor expression may be caused by an increase in intracellular oxidative stress. In our study, the increase in intracellular ROS induced by glucose was derived from the activation of the mitochondrial electron transport chain. We showed that cells cultured under high glucose condition undergo excessive oxidative stress, and this increase in oxidative stress is suppressed by antioxidants. Considering these results, we speculate that high glucose concentration increases NK1 receptor expression through an excessive intracellular oxidative stress. Although our studies do not exclude the possibility that high glucose or oxidative stress inhibits the degradation of mRNA, we showed that in a protein assay, the increase in NK1 receptor expression is observed in cells cultured under high glucose condition; this suggests that NK1 receptor gene expression and the consequent production of NK1 receptor proteins certainly exist. NK1 receptor expression is regulated by cAMP⁸⁾, activation of the CGRP receptor⁹⁾, intracellular Ca²⁺²⁰⁾, activation of the NMDA receptor^{21, 22)}, and Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase¹¹⁾. Thus, second messenger pathways that increase intracellular Ca²⁺ levels as well as cAMP may contribute to increased NK1 receptor expression in the spinal cord through an increase in the mRNA levels of the receptor protein. We showed that high glucose also induces an increase in NK1 receptor expression, which is due to oxidative stress.

The increase in NK1 receptor expression occurring under high glucose conditions is not caused by CGRP and CGRP receptor activation. In our study, CGRP production was also increased in cells treated with high glucose. CGRP and CGRP receptor activation induced NK1 receptor

expression through an increase in intracellular cAMP and PKA activation²³⁾. In our study, intracellular cAMP was not increased in cells treated with high glucose, and the increase in NK1 receptor expression was not suppressed using a PKA inhibitor. Furthermore, the increase in NK1 receptor expression was not suppressed using a CGRP receptor antagonist. These results suggest that the increase in NK1 receptor expression due to high glucose is not related to CGRP receptor activation and its intracellular signaling that leads to NK1 receptor gene expression.

Oxidative stress induces an increase in NK1 receptor expression. Since this is suppressed by antioxidant treatment, oxidative stress may have the ability to induce NK1 receptor gene expression. Although this mechanism was not clarified in our study, oxidative stress has been implicated in the pathogenesis of diabetic complications^{16, 24, 25)}. There is a growing body of literature that links cellular oxidative stress to the activation of mitogen-activated protein (MAP) kinases²⁶⁻³²⁾. The activation of MAP kinases may result in CREB phosphorylation in the NK1 receptor. Another possibility is that oxidative stress induces the increase in intracellular Ca²⁺; this results in phosphorylation of CREB in the NK1 receptor through the activation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase. Since intracellular Ca²⁺ was not measured in our study, we cannot deny the relationship between oxidative stress and intracellular Ca²⁺ concentration. However, it is certain that excessive oxidative stress has the ability to induce NK1 receptor expression.

Spare NK1 receptors may play an important role in the spinal cord in maintaining responsiveness to SP during peripheral inflammation when persistent release of SP contributes to increased excitability of spinal neurons³³⁻³⁶⁾. The spare receptors may be particularly important based on the premise that the recycling of the NK1 receptor through intracellular pathways occurs in response to ligand activation³⁷⁾. Selective antagonists of the NK1 receptor attenuate the mechanical hypersensitivity state in diabetic rats⁶⁾. In diabetic patients, hyperglycemia may induce NK1 receptor expression in neuronal cells in the spinal cord, resulting in hyperalgesia. Our study indicates that antioxidants such as α -LA may constitute an alternative

therapy for diabetes-induced hyperalgesia.

Conclusion

NK1 receptor expression was increased in rat spinal neuronal cells cultured in high glucose. The expression of NK1 receptor was suppressed by antioxidants. This indicates that oxidative stress is involved in the expression of NK1 receptor.

References

- 1) Thomas PK. *Classification, differential diagnosis, and staging of diabetic peripheral neuropathy*. *Diabetes*, **46 Suppl 2**: S54-7, 1997.
- 2) Sweeney MI, Sawynok J. *Evidence that substance P may be a modulator rather than a transmitter of noxious mechanical stimulation*. *Can J Physiol Pharmacol*, **64**(10): 1324-7, 1986.
- 3) Abbadie C, Brown JL, Mantyh PW, et al. *Spinal cord substance P receptor immunoreactivity increases in both inflammatory and nerve injury models of persistent pain*. *Neuroscience*, **70**(1): 201-9, 1996.
- 4) McCarson KE, Krause JE. *NK-1 and NK-3 type tachykinin receptor mRNA expression in the rat spinal cord dorsal horn is increased during adjuvant or formalin-induced nociception*. *J Neurosci*, **14**(2): 712-20, 1994.
- 5) Schäfer MK, Nohr D, Krause JE, et al. *Inflammation-induced upregulation of NK1 receptor mRNA in dorsal horn neurones*. *Neuroreport*, **4**(8): 1007-10, 1993.
- 6) Field MJ, McCleary S, Boden P, et al. *Involvement of the central tachykinin NK1 receptor during maintenance of mechanical hypersensitivity induced by diabetes in the rat*. *J Pharmacol Exp Ther*, **285**(3): 1226-32, 1998.
- 7) Hershey AD, Dykema PE, Krause JE. *Organization, structure, and expression of the gene encoding the rat substance P receptor*. *J Biol Chem*, **266**(7): 4366-74, 1991.
- 8) Abrahams LG, Reutter MA, McCarson KE, et al. *Cyclic AMP regulates the expression of neurokinin1 receptors by neonatal rat spinal neurons in culture*. *J Neurochem*, **73**(1): 50-8, 1999.
- 9) Seybold VS, McCarson KE, Mermelstein PG, et al.

- Calcitonin gene-related peptide regulates expression of neurokinin1 receptors by rat spinal neurons.* J Neurosci, **23**(5): 1816-24, 2003.
- 10) Ji RR, Rupp F. *Phosphorylation of transcription factor CREB in rat spinal cord after formalin-induced hyperalgesia: relationship to c-fos induction.* J Neurosci, **17**(5): 1776-85, 1997.
- 11) Sheng M, Thompson MA, Greenberg ME. *CREB: a Ca(2+)-regulated transcription factor phosphorylated by calmodulin-dependent kinases.* Science, **252**(5011): 1427-30, 1991.
- 12) Baynes JW, Thorpe SR. *Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm.* Diabetes, **48**(1): 1-9, 1999.
- 13) Feldman EL. *Oxidative stress and diabetic neuropathy: a new understanding of an old problem.* J Clin Invest, **111**(4): 431-3, 2003.
- 14) van Dam PS. *Oxidative stress and diabetic neuropathy : pathophysiological mechanisms and treatment perspectives.* Diabetes Metab Res Rev, **18**(3): 176-84, 2002.
- 15) Greene DA, Stevens MJ, Obrosova I, et al. *Glucose-induced oxidative stress and programmed cell death in diabetic neuropathy.* Eur J Pharmacol, **375**(1-3): 217-23, 1999.
- 16) Van Dam PS, Van Asbeck BS, Erkelens DW, et al. *The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications.* Diabetes Metab Rev, **11**(3): 181-92, 1995.
- 17) Sluka KA, Milton MA, Willis WD, et al. *Differential roles of neurokinin 1 and neurokinin 2 receptors in the development and maintenance of heat hyperalgesia induced by acute inflammation.* Br J Pharmacol, **120**(7): 1263-73, 1997.
- 18) Traub RJ. *The spinal contribution of substance P to the generation and maintenance of inflammatory hyperalgesia in the rat.* Pain, **67**(1): 151-61, 1996.
- 19) Deloulme JC, Baudier J, Sensenbrenner M. *Establishment of pure neuronal cultures from fetal rat spinal cord and proliferation of the neuronal precursor cells in the presence of fibroblast growth factor.* J Neurosci Res, **29**(4): 499-509, 1991.
- 20) MacDermott AB, Mayer ML, Westbrook GL, et al. *NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones.* Nature, **321**(6069): 519-22, 1986.
- 21) Coderre TJ, Melzack R. *The contribution of excitatory amino acids to central sensitization and persistent nociception after formalin-induced tissue injury.* J Neurosci, **12**(9): 3665-70, 1992.
- 22) Coderre TJ, Melzack R. *Central neural mediators of secondary hyperalgesia following heat injury in rats: neuropeptides and excitatory amino acids.* Neurosci Lett, **131**(1): 71-4, 1991.
- 23) Parsons AM, Seybold VS. *Calcitonin gene-related peptide induces the formation of second messengers in primary cultures of neonatal rat spinal cord.* Synapse, **26**(3): 235-42, 1997.
- 24) Baynes JW. *Role of oxidative stress in development of complications in diabetes.* Diabetes, **40**(4): 405-12, 1991.
- 25) Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. *Oxidative stress and diabetic vascular complications.* Diabetes Care, **19**(3): 257-67, 1996.
- 26) Guyton KZ, Liu Y, Gorospe M, et al. *Activation of mitogen-activated protein kinase by H2O2. Role in cell survival following oxidant injury.* J Biol Chem, **271**(8): 4138-42, 1996.
- 27) Mendelson KG, Contois LR, Tevosian SG, et al. *Independent regulation of JNK/p38 mitogen-activated protein kinases by metabolic oxidative stress in the liver.* Proc Natl Acad Sci U S A, **93**(23): 12908-13, 1996.
- 28) Huot J, Houle F, Marceau F, et al. *Oxidative stress-induced actin reorganization mediated by the p38 mitogen-activated protein kinase/heat shock protein 27 pathway in vascular endothelial cells.* Circ Res, **80**(3): 383-92, 1997.
- 29) Numazawa S, Yamada H, Furusho A, et al. *Cooperative induction of c-fos and heme oxygenase gene products under oxidative stress in human fibroblastic cells.* Exp Cell Res, **237**(2): 434-44, 1997.
- 30) Yu R, Tan TH, Kong AN. *Butylated hydroxyanisole and its metabolite tert-butylhydroquinone differentially regulate mitogen-activated protein kinases. The role of*

- oxidative stress in the activation of mitogen-activated protein kinases by phenolic antioxidants. J Biol Chem, 272(46): 28962-70, 1997.*
- 31) Clerk A, Michael A, Sugden PH. *Stimulation of multiple mitogen-activated protein kinase sub-families by oxidative stress and phosphorylation of the small heat shock protein, HSP25/27, in neonatal ventricular myocytes. Biochem J, 333 (Pt 3): 581-9, 1998.*
- 32) Wang X, Martindale JL, Liu Y, et al. *The cellular response to oxidative stress: influences of mitogen-activated protein kinase signalling pathways on cell survival. Biochem J, 333 (Pt 2): p. 291-300, 1998.*
- 33) Dougherty PM, Palecek J, Palecková V, et al. *Neurokinin 1 and 2 antagonists attenuate the responses and NK1 antagonists prevent the sensitization of primate spinothalamic tract neurons after intradermal capsaicin. J Neurophysiol, 72(4): 1464-75, 1994.*
- 34) Neugebauer V, Weiretter F, Schaible HG. *Involvement of substance P and neurokinin-1 receptors in the hyperexcitability of dorsal horn neurons during development of acute arthritis in rat's knee joint. J Neurophysiol, 73(4): 1574-83, 1995.*
- 35) Parsons AM, Honda CN, Jia YP, et al. *Spinal NK1 receptors contribute to the increased excitability of the nociceptive flexor reflex during persistent peripheral inflammation. Brain Res, 739(1-2): 263-75, 1996.*
- 36) Thompson SW, Dray A, Urban L. *Injury-induced plasticity of spinal reflex activity: NK1 neurokinin receptor activation and enhanced -A- and C-fiber mediated responses in the rat spinal cord in vitro. J Neurosci, 14(6): 3672-87, 1994.*
- 37) Mantyh PW, DeMaster E, Malhotra A, et al. *Receptor endocytosis and dendrite reshaping in spinal neurons after somatosensory stimulation. Science, 268(5217): 1629-32, 1995.*

High Glucose Increases the Expression of Neurokinin1 Receptors in Cultured Neonatal Rat Spinal Neurons

ISHIZEKI Kanaki *, ABIKO Atsuko*, ITO Hiroshi*
HIRANO Fuminori*, TAKIYAMA Yumi*, HANEDA Masakazu*

Summary

Hyperalgesia is one of the symptoms of diabetic neuropathy, particularly in the early stages of diabetic neuropathy. The activation of neurokinin1 (NK1) receptors in the spinal cord by substance P results in thermal and mechanical hyperalgesia. The relationship between glucose and NK1 receptor expression has not been reported. We investigated the hypothesis that in the diabetic state, high glucose directly induce NK1 receptor expression in rat spinal neuronal cells. We used primary cultures of neonatal rat spinal neurons to elucidate whether NK1 receptor expression is regulated by glucose. NK1 receptor expression increased in cells cultured under a high glucose condition. Although inhibitors of protein kinase A, protein kinase C, and aldose reductase did not affect NK1 receptor expression, α -lipoic acid suppressed it under high glucose conditions. A specific inhibitor of mitochondrial complex II also suppressed the increase in NK1 receptor expression. These results indicate that high glucose increases NK1 receptor expression, which is due to oxidative stress and NK1 receptor expression contributes to mechanisms underlying hyperalgesia in diabetic neuropathy.

Key words diabetic neuropathy, hyperalgesia, neurokinin1 receptors, oxidative stress

* Asahikawa Medical University, Internal Medicine, Division of Metabolism and Biosystemic Science

依頼稿 (報告)

平成 22・23 年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題

1) 神経障害性疼痛におけるケタミン軟膏の有用性

研究代表者 間宮 敬子

はじめに

帯状疱疹後神経痛や頭頸部がんの痛みに代表される神経障害性疼痛は、末梢神経および中枢神経の損傷や機能障害による痛みで、損傷された神経の支配領域の感覚低下やしびれ感が認められるにもかかわらず、その部位の耐え難い疼痛やアロディニアが出現する。このような神経障害性疼痛発症のメカニズムはいまだ不明な点が多く、難治性でありしばしば治療に難渋する。神経障害性疼痛に関する研究は、臨床医学的にも、基礎医学的にも様々な形で行われている。我々の施設ではこの神経障害性疼痛に対して、2004年10月から0.5%のケタミン軟膏を院内で精製し、使用している。また、2008年12月からは1.5%のケタミン軟膏の使用も開始し、帯状疱疹後神経痛、強皮症、脊柱管狭窄症などの難治性疼痛に使用し慢性疼痛患者では良好な治療成績をあげている。今回我々は、がん患者の神経障害性疼痛に対するケタミン軟膏の有用性と神経障害性疼痛モデルラットに対するケタミン軟膏の有用性を研究したので報告する。

癌疼痛に対するケタミン軟膏の有用性

対象と方法

今回、癌疼痛に関して、臨床使用した結果をレトロスペクティブにその効果を検証した。対象は2008年1月から旭川医科大学の緩和ケアチームが関わったがん患者でケタミン軟膏の適応があると医師が判断した17名(男性10名、女性7名。年齢 58.5 ± 15.4)。2008年1月から12月までは0.5%ケタミン軟膏を、以後は1.5%ケタミン軟膏を疼痛領域に1日3~4回塗布した。塗布領域および塗布時間は患者の自由とした。効果はかなり改善、少し改善、変化なし、悪化の

4段階にわけ、患者もしくは医師、看護師が評価した。

結果

17例中痛みが明らかにあった症例は15例、しびれと痛みが少しあった症例1例、しびれだけの症例は1例であった。17例中1例でアロディニアが認められた。ケタミン軟膏の症状改善の発現時間は15分~20分、持続時間は2~3時間であった。著効症例が6例(35.3%)、有効症例は8例(41.2%)、変化なしが3例(23.5%)であった。過度の鎮静、局所の発赤などの副作用は認められなかった。著効例としてはアロディニアがある症例、神経障害性疼痛、化学療法後の手足症候群であった。効果がない例としては、内臓痛、しびれがあげられた。この結果よりケタミン軟膏は慢性疼痛患者だけではなく、癌患者にも効果があることが解った。

(この研究結果はアメリカ麻酔科学会で発表した。)

神経障害性疼痛モデルラットに対するケタミン軟膏の有用性

対象と方法

Sprague-Dawley ラットを使用し、神経障害性疼痛モデル(SNIモデル: J Pain. 2003 Oct;4(8):465-70. Spared nerve injury model of neuropathic pain in the mouse: a behavioral and anatomic analysis. Shields SD, Eckert WA 3rd, Basbaum AI.)を作成した。同様に皮膚を切開し、坐骨神経を確認し、閉鎖したシャム群を作成した。このラットに1.5%ケタミン軟膏、非ケタミン軟膏(軟膏の基材)をラットの後肢に塗布して、hot-plate testによる熱刺激、Von Frey フィラメントによる機械刺激を加えてコントロール値、30分、60分、90分、120分、180分、240分で疼痛閾値を調べた。

結 果

熱刺激の結果は、シャムと基材を塗布した SNL 群では、基材を塗布した SNL 群が有意に疼痛閾値の低下が認められた。ケタミン軟膏群では、コントロール群に比較して、30 分、60 分、90 分の値は有意に疼痛閾値の上昇が認められた。

機械刺激の結果は、シャムと基材を塗布した SNL 群では、基材を塗布した SNL 群が有意に疼痛閾値の低下が認められた。ケタミン軟膏群では、コントロール群に比較して、30 分、60 分、90 分、120 分の値は有意に疼痛閾値の上昇が認められた。

まとめ

これらのことより、1) 神経障害性モデルラットにおいて、ケタミンの局所投与は Von Frey フィラメントによる機械刺激、Hot plate test による熱刺激の疼痛閾値を上昇させる。2) ケタミン軟膏の作用時間はこれまで臨床で患者さまが示唆されていたように、約 2 時間であるということが解った。

なお、ケタミンの血中濃度の測定は現在薬剤部と共同研究を始めており、今後、成果を発表する予定である。

2) ミクログリアを介した髄鞘再生機序の解明

研究代表者 田中 達英

[研究の背景と目的]

脱髄疾患に対する根治療法は存在せず、新規標的分子に対する画期的な創薬が待望されている。治療を困難にしている原因に脱髄後のミエリン再生能の低さが挙げられる。従って、脱髄によって生じた神経障害を回復させるためにはミエリンの再生機序を解明する必要がある。本研究の目的は、脱髄後に病巣に集まるミクログリアに着目してミエリン再生に対する役割を解明することである。

[結 果]

1. ミクログリアは再ミエリン化を促進する

本研究では脳梁特異的に脱髄を誘発できる薬剤、cuprizone を用いた化学脱髄モデルで検討した。cuprizone を含有した飼料をマウスに与えると脱髄が誘導され、脱髄後に通常の飼料に戻すことによって再ミエリン化を誘導することができる。この脱髄モデル

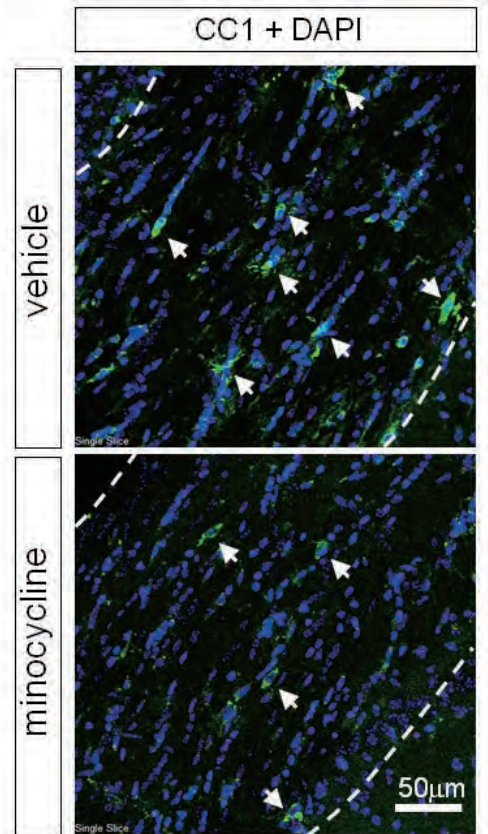


図 1 minocycline が再ミエリン化に及ぼす影響
緑：CC1、青：DAPI

では、cuprizone 投与後に脳梁においてミクログリアの集積が認められる。しかしながら、脱髄後に再ミエリン化を誘導した段階においてもミクログリアは脳梁内に集積していることから、ミクログリアがミエリン形成において積極的に寄与しているのではないかと考えられる。そこで、ミエリン再生を誘導する段階でミクログリアの活性化を阻害剤 (minocycline) で抑制すると再ミエリン化が抑制されるかを検討した。その結果、ミエリン構成因子である MBP, CNPase の発現量が低下することが明らかとなった。また、ミエリンを構成する細胞であるオリゴデンドロサイトのマーカー (CC1) で免疫組織化学的手法を用いて検討した結果、minocycline 投与群で CC1 発現量が減少した (図 1)。これは、ミクログリアがミエリン再生に寄与することを示唆する。

2. ミクログリア由来 CNTF の再ミエリン化に及ぼす影響

では、ミクログリアに発現するどのような因子が

再ミエリン化に寄与しているのであろうか。cuprizoneを用いたこのモデルでは様々なサイトカインや神経栄養因子の発現量が亢進する。我々は、毛様体神経栄養因子 CNTF 発現量が脱髄時期から再ミエリン化時期にかけて亢進することを見出し、また、再ミエリン化の段階で minocycline を投与してミクログリアの活性化を抑制したマウスでは、CNTF の発現が顕著に減少することを見出した。つまり、ミクログリアに発現する CNTF が再ミエリン化に大きく貢献している可能性があることを示唆している。

さらに、CNTF が直接オリゴデンドロサイトの分化に寄与するかを *in vitro* で検討した。オリゴデンドロサイト細胞に recombinant CNTF を処理したものでは未処理群と比較して有意に MBP 発現量が上昇した。すなわち、CNTF はミエリン化を促進することが明らかとなった。

[まとめ]

Minocycline によって脱髄後の再ミエリン化は抑制されるが、その一部はミクログリアからの CNTF 発現量が抑制されるためであることが明らかとなった。

3) 精子における活性酸素種消去機構の解析

研究代表者 春見 達郎

細胞は進化の過程でミトコンドリアを獲得し、ミトコンドリアを細胞内小器官として保持することによって呼吸をおこない、効率的に ATP を合成している。しかし、一方で、ミトコンドリアでは、酸素を取り込むことで活性酸素種 (ROS) が生じる。ROS は、近年、低濃度では細胞間情報伝達分子として働くことも知られているが、その負の作用として脂質の酸化や DNA の障害を引き起こす毒性を持ち、老化や疾患などの原因の一つとして考えられている。一般の細胞内では細胞質に存在する種々の活性酸素種消去酵素系が働き、ROS がミトコンドリアの周辺で分解され、核などに到達しない機構が存在する。

受精を行う雄性配偶子である精子は、卵や他の細胞と異なり、細胞質をほとんど持たないが、ミトコンドリアを核の隣の中片に持ち、活発に呼吸して鞭毛運動を行う。昨年度の「独創性のある生命科学研究助成」により、ラットを用いた実験から、ラット精液におい

て、精漿にも精子にも、強力な ROS 消去活性が存在することを明らかにした (Fig. 1)。本年度はこの ROS 消去機構の分子的基盤を明らかにすることを試みた。

昨年度に引き続き、ROS の消去活性は、ROS の一つである過酸化水素 (H_2O_2) を添加しその減少量を Amplex Red から Resorufin への変換量を基に測定を行った。既に、精漿における ROS 消去活性はカタラーゼに由来することを見出している。一方、洗浄精子における ROS 消去活性の測定の結果では、カタラーゼ阻害剤 (ATZ) ではその活性は部分的にしか阻害せず、水銀を含む *p*-chloromercuribenzoate (PCMB) との併用で完全に阻害することが出来た (Fig. 2)。この結果から、精子に存在する金属イオンによる ROS 消去活性の可能性を調べた。セレンは生体内においてセレノシステインやセレノメチオニンのようなセレノアミノ酸としてタンパク質中に存在することが知られている。精子にはセレノアミノ酸が存在することが報告

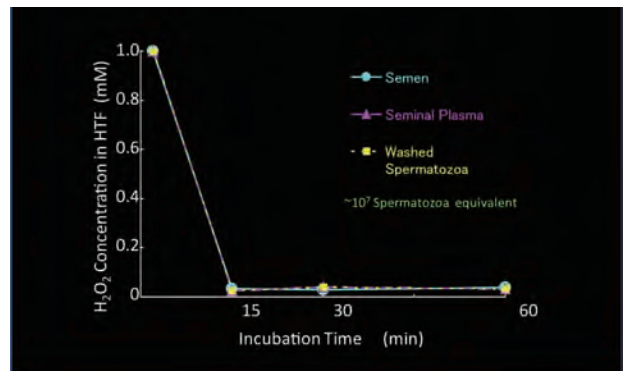


Fig 1 Elimination of H₂O₂ by Rat Semen, Seminal Plasma and Washed Spermatozoa

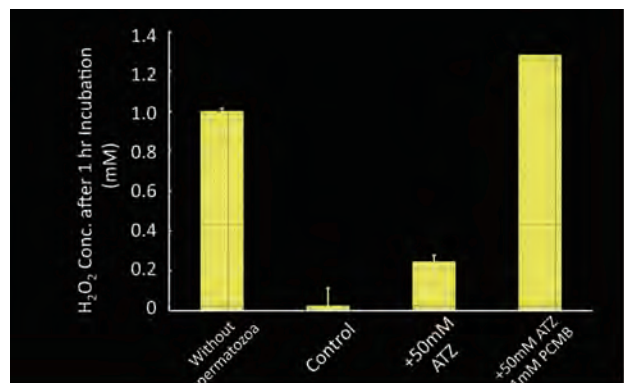


Fig 2 Synergistic Effect of Aminotriazol(ATZ) and pchloromercuribenzoate(PCMB) on H₂O₂ Elimination by Washed Rat Spermatozoa

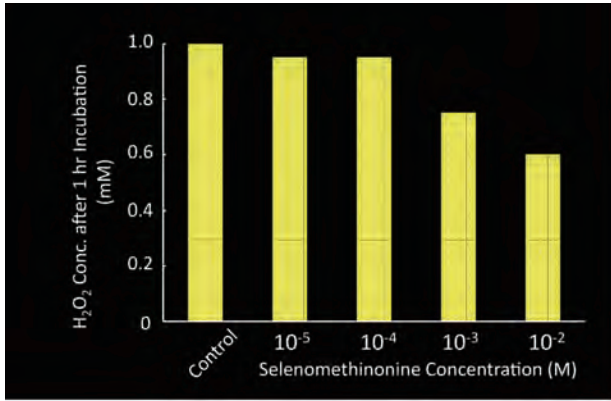


Fig 3 Effect of Selenomethionine on H₂O₂ Degradation

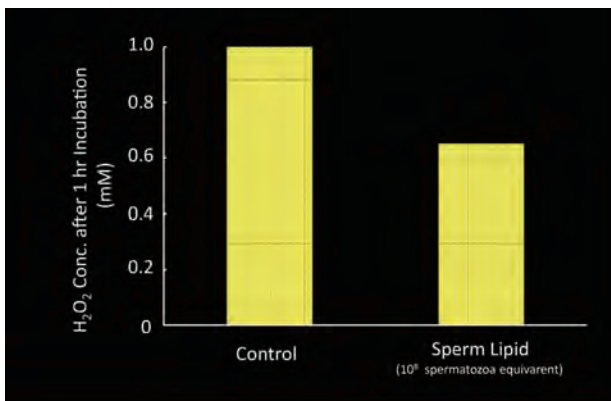


Fig 4 Effect of Extracted Sperm Liquid Fraction on H₂O₂ Degradation

されているため、セレノメチオニンによる過酸化水素の分解を測定した。その結果、1 mM を超える濃度のセレノメチオニンで過酸化水素の分解が認められた (Fig. 3)。本結果によりセレノアミノ酸に ROS 消去活性が認められたが、その必要濃度は高く、生体内におけるセレン濃度は 1 μ M 程度であると報告されていることから、精子に認められる強力な ROS 消去活性がセレンだけに基づくとは考えにくい。

ROS は細胞膜の膜脂質の酸化を生じ細胞に障害を示すことが知られている。細胞膜の脂質は中性脂肪の様なトリグリセリドとは異なり、その多くはリン脂質であり、多価不飽和脂肪酸を多く含んでいる。精子において、過酸化水素が精子細胞膜の酸化に関わるかどうかを明らかにするため、ラット精子からブライ・ダイアー法により膜脂質を抽出し、これに過酸化水素を加えた。その結果、過酸化水素の分解が認められた (Fig. 4)。これは過酸化水素による膜脂質の酸化が起これ、その結果過酸化水素の分解が生じた可能性も有

るが、この過酸化水素の分解は限定的であり、また反応性の低い過酸化水素がリン脂質の不飽和脂肪酸に直接作用するとは考えにくく、過酸化水素が一旦ラジカルに分解されて膜脂質に作用したのではないかと考えられる。

以上の結果をまとめると、精子に存在する強力な ROS 消去活性は、ある一つの要素によるものではなく、カタラーゼ、金属イオン、脂質酸化等の複合的要因が重なり生じている可能性を示唆している。細胞質をほとんど持たない精子において、精子自身が持っている ROS 消去活性、および精子細胞外の精漿中のカタラーゼがミトコンドリアで発生する ROS を消去し、その結果、精子の遊泳や受精に ROS の有害な影響が生じないと考えられる。

本助成によって得られた研究成果は第 52 回米国細胞生物学会 (サンフランシスコ) において以下の演題で発表された。T. Harumi *et. al.*, "Species Specificity of Energy Metabolisms and Mitochondrial Morphology in Mammalian and Fish Spermatozoa".

4) マウスにおける眼内平滑筋の細胞生理学的実験手法の確立と信号伝達経路の研究への展開

研究代表者 赤尾 鉄平

[研究目的]

眼内平滑筋は、目の遠近調節 (毛様体筋) と光量調節 (瞳孔括約筋と散大筋) に必要な微小張力を提供する重要な組織である。眼房水の流出率調節ひいては眼内圧の恒常性維持にも重要な役割を演じており、その異常は緑内障の病因の一つとして注目されている。これらの筋が副交感神経 (毛様体筋と瞳孔括約筋) または交感神経 (瞳孔散大筋) に支配されることは組織学および薬理学的の研究により早くから知られているが、適当な動物実験材料が限られるところから伝達物質の作用機序に関する研究は非常に遅れている。今回の研究では、そのあまりの小ささから本分野では全く用いられてこなかったマウスの眼球を実験材料として使用するための方法を確立することを目指した。

[実験方法]

頸椎脱臼により屠殺した BALB/c オスマウスの眼球から虹彩をリング状に切り出し、U ゲージトランスデューサーにつないで等尺性張力を記録した。専用

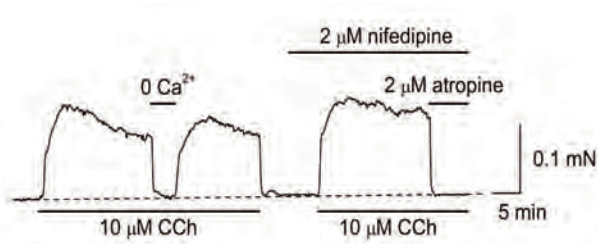


図1 マグヌス法によるマウス瞳孔括約筋の張力測定

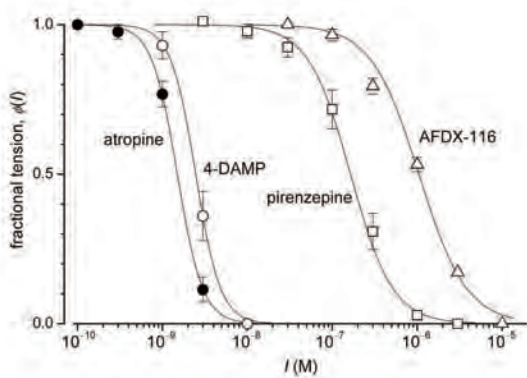


図2 マウス瞳孔括約筋におけるムスカリン受容体拮抗薬の濃度応答曲線

に作成した微小灌流槽（組織槽容量 180 μ L）を用いた。灌流（流速 1.1 mL）には HEPES-Krebs 液（pH 7.4, 36 $^{\circ}$ C）を用いた。生きたマウスの瞳孔径の変化を実体顕微鏡に取り付けた CMOS 赤外線ビデオカメラ（30 fps）を用いて観察した。暗闇で暗順応させたあと、白色 LED（輝度 10^7 cd/m 2 ）を目に照射したときの対光反射の時間経過を記録した。瞳孔経野経時変化は自作解析ソフトを用いてオフラインで解析した。

[結果と考察]

瞳孔括約筋標本は灌流液に carbachol (CCh; 10 μ M) を投与すると比較的はやい立ち上がりの初期相と安定な持続相からなる張力を発生した（図1）。この張力は、われわれが従来用いてきたウシ眼内筋標本の場合に比べ微小（約 1/10）ではあるが十分ペンレコーダで記録可能であった（図1）。持続相において灌流液から Ca $^{2+}$ (2 mM EGTA 添加) を除くと筋は速やかに弛緩した（図1）。各種ムスカリン受容体阻害薬は、CCh による収縮を濃度依存性に抑制した（図2）。ID $_{50}$ 値 (nM) は次のとおり：atropine, 1.1; 4-DAMP, 1.5; pirenzepine, 164; AFDX-116, 1050。この結果は CCh

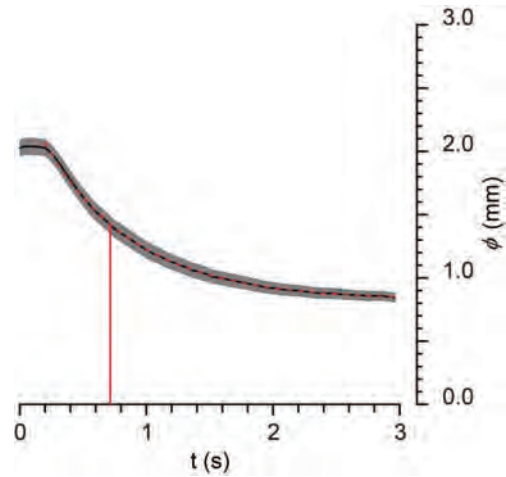


図3 マウス対光反射による瞳孔径変化

による張力発生に関わるムスカリン受容体は M $_3$ 型であることを示している。Nifedipine (1 μ M) は、CCh (10 μ M) による収縮に影響を与えなかった（図なし）。これは、マウス瞳孔括約筋にはウシ毛様体筋と同様に L 型 Ca チャネルが発現していないことを示す結果である。

暗闇で暗順応させたマウスの瞳孔径は 2.1 ± 0.1 mm ($n=12$) であった。白色 LED 光を照射すると 0.2 s の潜時ののち、指数関数的（時定数 0.74 ± 0.12 s）に 0.33 ± 0.03 mm ($n=12$) まで縮瞳した（図3）。この縮瞳記録法は、われわれが計画している各種チャネル遺伝子（TRPC や STIM1/Orai1 など）の遺伝子ノックアウトが眼内筋のムスカリン受容体刺激に対する応答に及ぼす影響を調べる実験に際し、目的にかなった標的遺伝子を決定するための非侵襲的スクリーニングテストに効果的に利用できるものと期待される。

5) 薬物の鼻腔内投与による脳内神経機能の制御

研究代表者 宮園 貞治

[研究目的]

我々の脳は、血液脳関門 (BBB; Blood-Brain Barrier) によって、不要な化学物質の流入から守られている。しかしながら、BBB は脳を標的とする新規医薬品開発において薬物送達を困難にする障壁ともなりうる。嗅覚輸送とは、鼻腔内に投与された薬剤、タンパク質、核酸などが、嗅神経軸索、あるいは嗅神経間隙と脳脊髄液を介して、脳内に送達される経路である。嗅覚輸送のメカニズムには未だ不明な点が多いが、BBB をバイパスし迅速に薬物を脳内へ送達可能な経路であ

る。ただし、この有用性は、毒性物質が直接脳内に送られる可能性があることを意味している。

ロテノンは、ミトコンドリア呼吸鎖複合体-Iの阻害を作用機序とする殺虫農薬であり、哺乳類における腸管吸収、経皮吸収は極めて弱く、環境中での分解が早いことから、比較的 안전한農薬とされてきた。しかし、ロテノンをラット頸静脈内に慢性持続投与することで、黒質ドーパミン作動性神経の脱落を伴うパーキンソン病様症状を呈することが報告された (Betarbet et al., *Nat. Neurosci.*, 3, 1301-1306 (2000))。また、ヒトでもロテノンへの暴露履歴によって、パーキンソン病発症リスクが高まることが報告された (Tanner et al., *Environ. Health Perspect.*, 119, 866-872 (2011))。

そこで本研究では、パーキンソン病発症との関連が示唆されている農薬ロテノンをを用いて、嗅覚輸送を介した脳の脆弱性に関して検討した。

[研究方法]

マウス (雌、BALB/c、3-6 月齢) の右側鼻腔内に、ロテノン (0.6 mg/kg) を一日一回、反復投与することによって、嗅覚輸送を介した嗅球への影響を検討した。嗅球におけるドーパミン作動性神経マーカーである Tyrosine Hydroxylase (TH)、並びにミトコンドリアストレスマーカーである PARK2 の遺伝子発現変化は、RT-PCR によって検討した。嗅覚機能の変化に関しては、Y 字迷路を用いた酪酸忌避行動によって評価した。脳内のドーパミン作動性神経の分布は、抗 TH 抗体を用いた蛍光組織免疫染色により観察した。

[結果および考察]

マウス鼻腔内へのロテノン反復投与を 14 日間行くと、嗅球の有意な委縮が両側性に観察された (図 1、2)。また、Y 字迷路を用いて嗅覚機能評価を行ったところ、ロテノン投与マウスは、7 日間投与群において 25% 酪酸に対する忌避行動を、14 日間投与群においては 25% ならびに 100% 酪酸に対する忌避行動を消失することが明らかとなった。

ロテノンは、細胞内においてミトコンドリア呼吸鎖複合体-Iを阻害し、不完全な呼吸鎖反応により活性酸素 (ROS) 産生を増大する。ROS によって傷害されたミトコンドリアの分解には、PARK2 発現増強を介したミトコンドリア特異的オートファジーが関与す

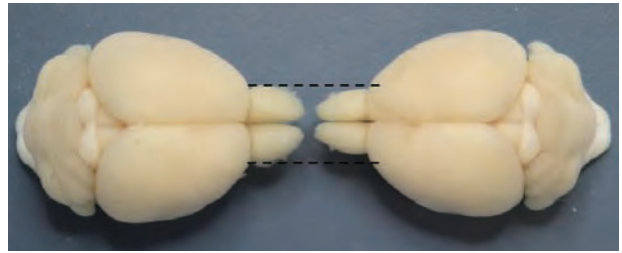


図 1 14 日間鼻腔内ロテノン投与マウス (右) と対照投与マウス (左) の脳

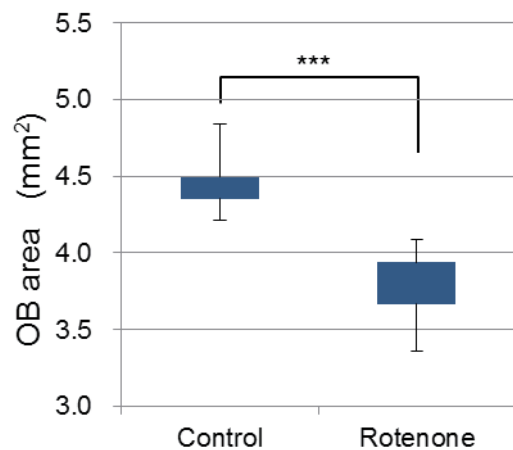


図 2 14 日間鼻腔内ロテノン投与マウス (右) と対照投与マウス (左) の嗅球面積比較 (n=14, p<0.001 by Turkey-Kramer method)

る。そこで、鼻腔内に投与されたロテノンが実際に嗅球に送達されているか否かについて検討するために、嗅球 RNA を用いた RT-PCR によって TH 並びに PARK2 の遺伝子発現を解析した。その結果、投与 1 日後から投与側優位に PARK2 の発現増強が確認され、やがて両側性に発現が増強した。投与 3 日後以降で、同じく投与側優位に TH 発現が減少し、7 日目では両側性に TH 発現の減少が認められた。これらは、ロテノンが嗅覚輸送により嗅球へ送達され、ミトコンドリアストレスを介してドーパミン作動性神経に影響を及ぼしたことを示唆している。

これまでに、ロテノン慢性持続投与動物モデルにおいて、ロテノンは黒質緻密部のドーパミン作動性神経の消失を引き起こし、線条体におけるドーパミン放出量低下がパーキンソン病様症状を惹起すると報告されている。そこで、鼻腔内ロテノン投与が、嗅球におけるドーパミン作動性神経 (A16 細胞群) へどのような

影響を及ぼすかについて、マウス脳・矢状断スライスの抗 TH 抗体染色により検討した。その結果、14 日間反復投与マウスでは、嗅球の糸球体細胞層に存在する A16 細胞群が、ほぼ消失することが明らかとなった。A16 細胞群の消失は、両側性に観察されること、また、線条体においても抗 TH 抗体によるシグナルが減弱することから、鼻腔内に投与されたロテノンは、嗅覚輸送を介して嗅球を傷害し、さらにその影響が広範囲に広がっていくことを示唆している。すなわち、より長期のロテノン鼻腔内投与によってパーキンソン病様徴候が現れるならば、脳が嗅覚輸送を介してドーパミン作動性神経に対する毒性物質に曝されることは、孤発性パーキンソン病の発症リスクとなる可能性がある。また、本研究での、化学物質嗅覚輸送における影響が早期に嗅球で現れるという結果は、毒性物質暴露者の中枢への影響を最小限にするために、早期の嗅覚異常診断が有効であることを示唆している。

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、ご助言頂きました旭川医科大学教育研究推進センター 船越洋教授に深謝いたします。

6) ポリフェノール類アントシアニン系化合物の化学構造とヒト癌細胞への生物学的効果との関連性

研究代表者 竹内 昌之

【研究の背景と目的】

ポリフェノールの一種であるアントシアニンはブドウなどの植物に豊富に含まれる色素成分であり、近年、アントシアニンなどのポリフェノールは動脈硬化の防止など健康増進に効果があるとして注目されている。しかし、ポリフェノールの影響については科学的には未だに不明な点が多い。ポリフェノールと称される物質は一般に糖が結合したものとしていないものの混合物であり、これらを厳密に区別して生物学的効果を観ることはこれまでなかった。そこで、本研究では、アントシアニン系化合物において配糖体型と非配糖体型と比較し、化学構造と生物学的な効果との関連をヒト癌細胞株への癌細胞増殖抑制効果ならびに抗酸化作用について検討した。

【研究方法】

癌細胞株として腸上皮系癌細胞である Caco-2 細胞株を用いた。アントシアニン系化合物の標品として、シアニジンとその配糖体、シアニジン-3-グルコシドとシアニジン-3-ルチノシドとを用いた。更に、シアニジン以外のアントシアニン類として、ペオニジンとその配糖体、ペオニジン-3-グルコシドを用いた。これらの標品を被検物質として用いて、細胞内抗酸化作用ならびに細胞増殖抑制効果を測定した。

細胞内抗酸化作用は DCF 法により検出した。マイクロプレートで培養中の Caco-2 細胞にホルボールエステルで酸化ストレスを与えた後、被検物質を含む無血清培地で 1 時間培養した。その後、細胞内の酸化レベルを DCF の蛍光により測定した。

細胞増殖は WST-8 法により測定した。マイクロプレートで Caco-2 細胞を被検物質を含む培地で 2 日間培養した後、WST-8 を含む培地に交換し、WST-8 の発色を測定した。

【研究結果と考察】

シアニジンは Caco-2 細胞の増殖を顕著に抑制した。一方、シアニジンの配糖体であるシアニジン-3-グルコシドでは細胞増殖の抑制は見られなかった (図 1)。また、シアニジンにより細胞内の酸化レベルは減少した。一方、シアニジン-3-グルコシドでは細胞内の酸化レベルの減少は見られなかった (図 2)。また、シアニジン-3-グルコシド以外の配糖体として、シアニジン-3-ルチノシドを用いた場合でもシアニジン-3-グルコシドと同様の結果を示した (図 3、4)。更に、シアニジン以外のアントシアニン系

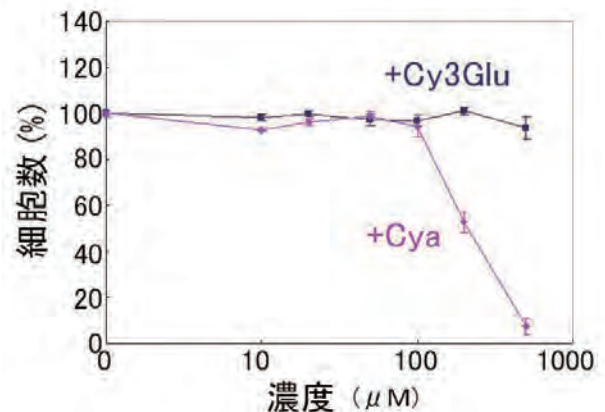


図 1 シアニジンとシアニジン-3-グルコシドの細胞増殖抑制効果

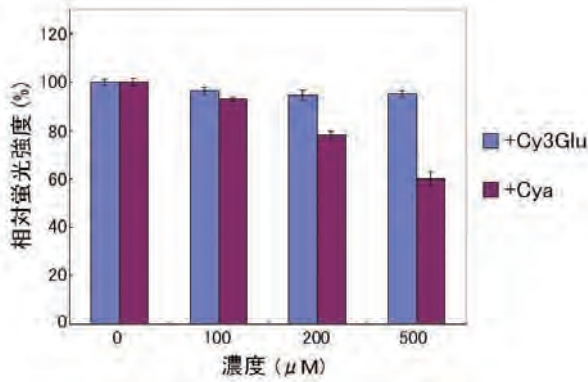


図2 シアニジンとシアニジン-3-グルコシドの抗酸化作用

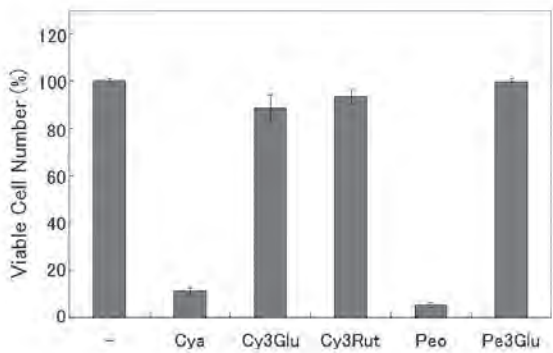


図3 シアニジン、ペオニジンとそれらの配糖体の細胞増殖抑制効果

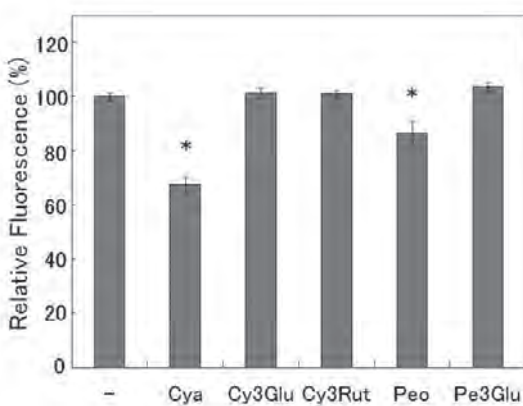


図4 シアニジン、ペオニジンとそれらの配糖体の抗酸化作用

化合物として、ペオニジンとその配糖体、ペオニジン-3-グルコシドを用いて、細胞増殖抑制効果ならびに細胞内抗酸化作用を測定した。ペオニジンとペオニジン-3-グルコシドについても、シアニジンとシアニジン-3-グルコシドの場合と同様の結果を得た

(図3、4)。これらの結果から、アントシアニン系化合物は配糖体型と非配糖体型という化学構造の違いにより、癌細胞株に対して異なる生物学的効果を示すことが強く示唆された。

【参考文献】

Masayuki Takeuchi, Katsuki Ohtani, Yanju Ma, Sanae Kato, Shingo Semba, Tsuyoshi Katoh, Nobutaka Wakamiya, Takanobu Taniguchi. Differential effects of cyanidin and cyanidin-3-glucoside on human cell lines. Food Science and Technology Research, 17: 515-521, 2011

7) アデノ随伴ウイルスを用いた多段階発癌モデルの研究手法の検討

研究代表者 山本 雅大

[背景と目的]

われわれは diethylnitrosamine (DEN) を用いた肝化学発癌マウスモデルを用いて研究している。このモデルは、foci, adenoma などの前癌病変を経て、肝細胞癌に移行する多段階発癌モデルである¹⁾。しかしながら、この多段階発癌メカニズムは不明な点が多いので、その解明のために発癌段階特異的に遺伝子発現を誘導できる実験系を確立する必要があると考え本研究を行った。発癌過程のうち (1) 正常肝細胞が腫瘍化する段階 (initiation) および (2) 腺腫から肝細胞癌に移行する段階 (progression) の2つを検討対象とした。遺伝子発現ベクターは、ウイルス自体が炎症を起こさずかつ1年以上の長期に安定して遺伝子発現を誘導することが可能なアデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus, AAV) を用いた。(1) initiation の段階を標的としたシステムは、正常肝細胞に感染して、肝細胞が腫瘍化する際に遺伝子発現がおこるものが最適と考えた。肝細胞が腫瘍化する際に、alpha-fetoprotein (AFP) の発現がおこることが知られているので、AFP promoter/enhancer 下にマーカー遺伝子を挿入した AAV9 (initiation AAV) を作成し、検討することにした。(2) また、progression の段階を標的としたシステムは、腫瘍肝細胞に特異的に感染して遺伝子発現を誘導するものが最適と考えた。肝腫瘍細胞は、hepatocyte growth factor (HGF) の受容体の c-met が過剰発現していることが知られているので、c-met を介して感染する血清型の変異型 AAV3²⁾ (progression AAV) を用い、腫瘍細胞

に特異的な遺伝子導入を検討することにした。

[方法]

(1) initiation AAV の検討

AFP promoter/enhancer を用いた遺伝子発現系を検討した。AAV がパッケージ可能な遺伝子のサイズは約 5 kbp で、それに比し AFP promoter/enhancer は約 2.7 kbp と大き過ぎる。そのため、3つ存在するマウス AFP enhancer のコア領域のみと promoter を組み合わせた AFP enhancer/promoter 領域が小さい数種類のベクターを作成した。遺伝子発現マーカーとして、分泌型ルシフェラーゼ (Gluc) と蛍光タンパク質 AcGFP を IRES2 配列で繋いだものを用いた。これらプラスミドを DEN 由来肝腫瘍細胞株にトランスフェクションし、遺伝子発現活性を検討する。

(2) progression AAV の検討

CAG プロモータ下に Gluc-IRES2-AcGFP をもつ変異型 AAV3 を作成し、ヒト肝癌細胞株 (Huh7, Hep3B, HepG2) および DEN 肝腫瘍由来細胞株に感染させ遺伝子導入効率を検討した。また、DEN 誘導肝臓腫瘍をもつ5ヶ月齢マウスに 1e12 vg のウイルスを静脈注射し、肝臓腫瘍での AcGFP の発現を検討した。

[結果と考察]

- (1) 様々な AFP enhancer をもつプラスミドを作成した。今後、DEN 誘発肝腫瘍細胞株を用いて、どのプラスミドが遺伝子導入に最適かを検討する。
- (2) AAV3-CAG-Gluc-IRES2-AcGFP を作成した。これらをヒト肝癌細胞株および DEN 肝腫瘍由来細胞株に *in vitro* で感染させ AcGFP を検討したところ、ヒト肝細胞株は3種類検討したうちの HepG2 が、マウス肝細胞株は11株検討して3株で AcGFP の強い発現が認められ、細胞株により遺伝子導入効率にばらつきがあることが明らかになった。また、5ヶ月齢の DEN 腫瘍をもつマウスに AAV3 を静脈注射後12日目まで腫瘍の遺伝子発現を検討したが、腫瘍5個いずれも AcGFP の発現は見られなかった。これら結果より、AAV3 は腫瘍細胞株において遺伝子導入できない株があり、また、実際に DEN 肝腫瘍には感染しないことが分かり、残念ながら AAV3 は progression AAV として利用できないことが明らかになった。

今後、AFP プロモータを用いた initiator AAV の検討を *in vitro* および *in vivo* で検討する。

[謝辞]

変異型 AAV3 作成プラスミドはフロリダ大学の Dr. Arun Srivastava より供与いただきました。

[参考文献]

- 1) Vesselinovitch, S. D. & Mihailovich, N. Kinetics of diethylnitrosamine hepatocarcinogenesis in the infant mouse. *Cancer Res.* 43, 4253-4259 (1983).
- 2) Cheng, B. et al. Development of optimized AAV3 serotype vectors: mechanism of high-efficiency transduction of human liver cancer cells. *Gene Therapy* 1-10 (2011).doi:10.1038/gt.2011.105

8) マタニティヨガの周産期予後改善効果に関する研究

研究代表者 川西 康之

(1) 研究の背景、目的

近年日本の多くの授産施設においてマタニティヨガが実践されており、その効果についても海外から複数の報告が認められる。具体的には、マタニティヨガを介入とする335名を対象とした研究において、ヨガ実践群で①出生体重2500g以上の割合が有意に高い(80% vs. 67%) ②早産が有意に少ない(14% vs. 29%) ③子宮内胎児発育遅延が有意に少ない(21% vs. 36%) といった報告が認められる¹⁾。他に妊娠中のストレス軽減効果²⁾、妊娠高血圧症候群・妊娠糖尿病・子宮内胎児発育遅延の予防効果³⁾などの研究結果も報告されているものの、国内でその学術的な検討はあまり行われていない。

マタニティヨガの実践が周産期予後に影響するメカニズムとしては、妊婦のストレス軽減効果²⁾が期待されることから、以下が考えられている。妊婦がストレスにさらされることで胎児に対し3つの経路で影響を与えるという説であり、1) 子宮・胎盤循環の悪化⁴⁾、2) 母体ストレスホルモンと連動する胎児コルチゾールの上昇⁵⁾、3) 胎盤からの Placental-CRH 分泌による影響⁶⁾である。これら3つの経路が影響し、ストレスによる子宮内胎児発育遅延、早産などが生じる可能性が指摘されている。

現在日本国内では、2500 g未満の低出生体重児の割合が先進国中でも増加の一途をたどっている。低出生体重児が将来的に高血圧、糖尿病、冠動脈疾患発症等の生活習慣病発症割合が高いという成人病胎児起源説⁷⁾を踏まえ、低出生体重児の出生割合を減少させる策を講じていくことは重要な課題である。そこで日本人を対象としてマタニティヨガ実践により周産期予後が改善する可能性が確認された場合に、その介入による低出生体重児の出生割合減少効果が将来的に得られる可能性がある。

現在環境省が主体で行っている「子どもの健康と環境に関する全国調査」(以下エコチル調査)は、10万組の子どもたちとその両親を対象とし、胎児期から13歳になるまで子供の健康状態を追跡し、妊娠中の生活習慣や化学物質曝露といった環境要因が子どもたちの成長・発達にどのような影響を与えるのかを明らかにすることを目的としている。現在旭川医科大学の産婦人科学講座、小児科学講座、健康科学講座において北海道ユニット旭川地区を分担し研究を行っている。

今回、エコチル調査においてマタニティヨガを実践している妊婦がどの程度の割合で存在しているのかを疫学的に調査する。そして、エコチル調査で得られる周産期結果と関連させ、マタニティヨガ実践による周産期予後への影響を明らかにすることを目的として調査を行う。

(2) 研究方法

本研究は環境省「エコチル調査」の北海道ユニット独自追加調査として行っている。エコチル調査北海道ユニットリクルート者の妊婦を対象に、曝露因子としてのマタニティヨガ実践について出産後に自記式質問紙調査を実施している。調査対象をマタニティヨガ実践群と非実践群とに分け、エコチル調査にて得られる周産期予後(出生体重、早産の割合、子宮内胎児発育遅延、妊娠高血圧症候群といった妊娠合併症の有無等)について検討し、その周産期予後への影響を明らかにする事を予定している。

(3) 研究結果

エコチル本調査における周産期データの固定がまだ行われていないため、周産期予後と関連させた解析は

実施できていないが、平成24年8月31日までに得られた調査結果を以下に示す。

エコチル調査北海道ユニットにおいて平成22年2月1日より平成24年8月31日までに3454名の妊婦をリクルートしている。本研究においては、平成24年8月31日までに出産が確認された妊婦1895名に質問票を配布し、1272名より回答が得られた(回答率67.1%)。1272名のうち平成24年9月11日までに回収され、データ入力の完了した1108名分の調査結果を報告する。

1108名のうちマタニティヨガを実践していたのは217名(19.6%)であった。217名のマタニティヨガ学習方法としては、114名(52.8%)が指導者について学習し、93名(43.1%)が本・DVDなどによる自習をしたと回答した。また「マタニティヨガを実践することで子供への愛情が深まりましたか?」という質問に対し、76名(35.0%)が「はい」と答え、119名(54.8%)が「どちらともいえない」、また22名(10.1%)が「いいえ」と回答している。

(4) 考察

事前調査でマタニティヨガ実践者の割合を約5%と仮定していたが、得られた結果は19.6%と想定より多く認められた。回答そのものが得られなかった妊婦がマタニティヨガを実践していないと仮定した場合でも、10%前後の妊婦がマタニティヨガを実践していたと考えられる。またマタニティヨガの実践方法については、指導者についた者と自習した者はおおよそ半数ずつであった。

今後エコチル本調査における周産期データの固定後に、マタニティヨガ実践による周産期予後への影響を解析していく。

引用文献

- 1) S. Narendran, et al. Efficacy of yoga on pregnancy outcome. *J Altern Complement Med* 11 :237-244, 2005
- 2) M. Satyapriya, et al. Effect of integrated yoga on stress and heart rate variability in pregnant women, *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 104 , no. 3 :218-222, 2009
- 3) Rakhshani A, et al. The effects of yoga in prevention of pregnancy complications in high-risk pregnancies:

- A randomized controlled trial, *Prev Med.* Aug 2. [Epub ahead of print], 2012
- 4) Teixeira JMA, et al. Association between maternal anxiety in pregnancy and increased uterine artery resistance index: Cohort based study, *BMJ* :318:153-7, 1999
- 5) Gitau R, et al. Fetal exposure to maternal cortisol, *Lancet* 353:707-708:1998
- 6) Majzoub JA, et al. Placental corticotropin-releasing hormone: Function and regulation. *Am J Obstet Gynecol* 180:S242-S246:1999
- 7) Barker DJ et al. Infant Mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* 1:1077-1081:1986

9) アニオントランスポーター発現を指標とした関節リウマチ (RA) 治療効果予測法の確立

研究代表者 小村 景司

【研究目的】

RAは増殖性滑膜炎を主徴とする難治性慢性炎症性疾患である。増殖滑膜の軟骨・骨組織への侵蝕による関節破壊は進行性かつ非可逆的であり、患者の quality of life の低下に直結することから深刻な社会問題にもなっている。したがって、滑膜増殖の制御と関節破壊の抑制はRA治療の最も重要な課題である。疾患修飾性抗リウマチ薬 (DMARDs) の中でも、メトトレキサート (MTX) は滑膜増殖制御に最も有効性の高いRAの標準治療薬として位置づけられている。さらに国内のコホート研究 (IORRA、REAL、Ninja) の解析結果をもとに、平成23年2月より承認用量の上限が従来の8mg/週から16mg/週まで増量されることとなり、合わせて第一選択薬としての使用も可能となったことから、アンカードラッグとしての重要性は増しており、その一方で増量による副作用出現リスクの管理にもより注意深く対処することが求められている (*Mod Rheumatol* 2007;17:283-9, *Mod Rheumatol* 2011;21:444-8, *Expert Rev Clin Immunol* 2012;8:455-65)。また、近年爆発的展開を見せている生物学的製剤によるRA治療においても、極めて有用な併用薬としての評価が確立されつつある。一方、MTXによるRA治療においては、responder と non-responder が存在する。Non-responder における薬剤投与量の増加は、し

ばしば関節外臓器の重篤な副作用の出現を招来することから治療上の深刻な問題点となっている。しかしながら、これまで関節滑膜におけるMTXの薬物動態・炎症制御機構は不明な点が多く、MTXへの反応性予測は極めて困難であった。近年、ヒト肝臓特異的なMTX細胞内取り込み装置として、有機アニオンのトランスポーターであるLiver-specific anion transporter (LST) -1 が同定された (*J Biol Chem* 1992;267:13361-8, *Gastroenterology* 2001;120:1689-99)。さらに、LST-1と相同性を有するLST-2は、固形消化器癌細胞におけるMTXのトランスポーターであり、がん化学療法への感受性と密接にかかわることが示されている (*Gastroenterology* 2001;120:1689-9)。我々は、培養RA滑膜細胞の一部にLST-2が発現している証左を得、RA滑膜におけるMTX取込み・作用機構を解明する鍵として注目し、本研究ではRA患者由来滑膜細胞におけるLST-2発現様相とMTXへの反応性との関連を明らかにし、LST-2発現を指標としたMTX治療効果予測法開発の基盤を確立することを目的とした。

【実験方法】

1) RA患者由来培養滑膜細胞におけるLST発現解析
JCRBヒト組織バンクより供与されたRA患者由来滑膜細胞 (9症例) 及び変形性関節症 (OA) 由来患者滑膜細胞 (2症例) を用い、LPS、PMAによる刺激の存在・非存在下において、LST-1、-2 mRNAの発現解析をリアルタイムPCR法と通常のRT-PCR法の両者によって検討した。

2) 末梢血単核細胞分画 (PBMC) におけるLST発現解析

RA患者からの滑膜組織入手は困難なことが少なくない。一方、RAの病態形成には患者血液中のT細胞、B細胞、単球・マクロファージが重要な役割を果たしていることが既に明らかとなっており、MTXの治療効果に密接に関与していると考えられている。従って、健康者ボランティアより提供されたPBMCを用いて1)と同様の検討を行った。Ficoll-paque法にてPBMCを分離・培養後、PMAによる刺激の存在・非存在下において、LST-1、-2 mRNAの発現解析をリアルタイムPCR法と通常のRT-PCR法の両者によって検討した。

【結果と考察】

滑膜細胞を低血清培地で12時間培養後、さらにLPS 100 ng/ml、PMA 50 ng/mlの存在・非存在下でそれぞれ6時間、12時間培養した後に、各細胞から全RNAを調整し、mRNA発現解析を行ったが、リアルタイムPCR法ではLST-1、2 mRNAの発現は認められないか、極めて微弱なものであった。同様に健常者ボランティア由来PBMCにおける解析においてもLST-1、2 mRNAの発現は認められなかった。リアルタイムPCR法で使用していたPCRプライマー (TaqMan Gene Expression Assays, Applied biosystems) の検出感度に原因があると判断し、以後の滑膜細胞における検討を通常のRT-PCR法による解析へ変更した。その結果、LST-2 mRNAの発現を確認、LPSでは一部の症例のみ時間依存性の発現増強が認められたが、PMAでは検討したすべての症例で時間依存性の発現増強が確認された。一方、肝臓特異的とされているLST-1 mRNAの発現は認められなかった。今後は、健常者、MTX有効症例、MTX無効症例、およびMTXによる副作用の出現が認められたRA患者のPBMCにおけるLST-2 mRNAの発現様相についてさらなる検討を進めていく予定である。

10) 造影剤腎症におけるメトホルミン効果についての検討

研究代表者 滝山 由美

【研究の背景と目的】

造影剤腎症とは、造影剤の血管内投与後3日以内に血清クレアチニンが25%以上、あるいは0.5 mg/dl以上の増加を引き起こす腎機能障害である。入院中に生じる腎不全原因疾患の第3位であり、特に緊急PCI後では3割近い発症が報告されている。尿細管に取り込まれ血中濃度の数十倍に濃縮された造影剤による直接的尿細管細胞毒性とともに、皮質に比較して低酸素状態下にある腎髄質の血流低下を引き起こすことにより、尿細管再吸収能低下に引き続き糸球体濾過が減少し、急性腎不全となる。腎血流量低下機序としては、adenosine、angiotensin II等の血管収縮作動性物質とNitric Oxide等の血管拡張作動性物質の生成不均衡、また活性酸素種 (ROS) の関与も考えられている。造影剤による腎血流低下は、再吸収・分泌を担い元来酸素需要が高い尿細管細胞を、容易に虚血・低酸素状態

に陥らせる。我々は、メトホルミンが糖尿病性腎症尿細管細胞の低酸素状態を回復し、腎保護的に作用することを明らかにした (*Diabetes* 60, 981-992, 2011)。また最近、ゲンタマイシン腎障害 (*Kidney Int* 77, 861-869, 2010)、虚血腎 (*Am J Physiol Renal Physiol* 301: F1346-1357, 2011) に対するメトホルミンの腎保護効果が報告されている。そこで本研究は、メトホルミンが尿細管細胞の低酸素耐性を誘導し、造影剤腎症において保護的に作用するという仮説を立て、造影剤腎症の病態機構の解明とともに、メトホルミン効果について検討した。

【研究方法】

1. 動物：6週齢雄 Sprague Dawley (SD) rat に Streptozotocin 65 mg/kg を腹腔内投与し、糖尿病モデルラットを作成した。
2. メトホルミン治療：1週間後血糖上昇 (380 ± 95 mg/dl) を確認後、7週齢 STZ 誘発糖尿病 SD rat に対して、metformin (230 mg/kg/day) 混餌を2週間投与した。
3. 造影剤腎症の作成：9週齢の正常血糖・無治療対照群と糖尿病メトホルミン治療群に対して、indomethacin (10mg/kg)、L-NAME (10mg/kg)、造影剤 Ioversol (2.9g/kg) を投与し、24時間後の腎機能、腎組織学的検討を行った。

【結果】

1. 糖尿病メトホルミン治療群では、造影剤投与前血漿クレアチニン値が対照群に比し、高値の傾向が認

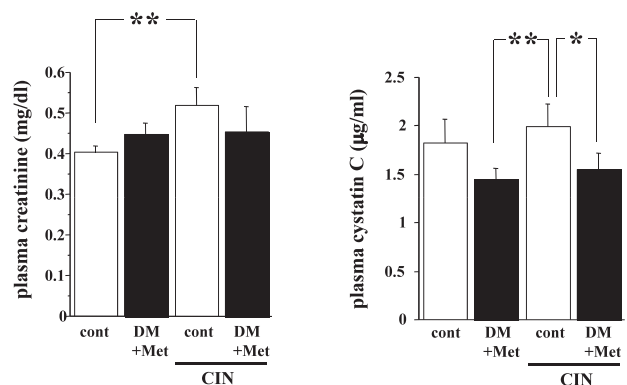


Figure 1. Effects of metformin on renal function in contrast-induced nephropathy.

** , p<0.01, * , p<0.05

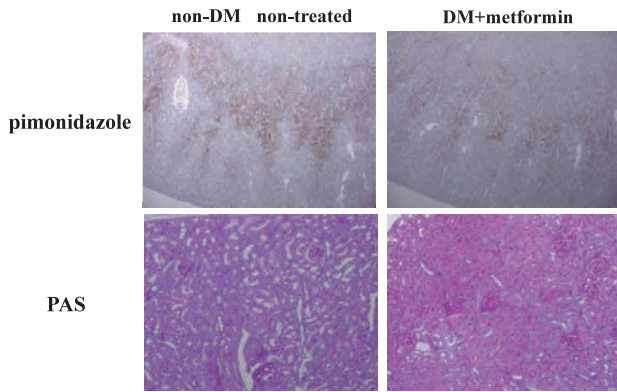


Figure 2. Effects of metformin on tubular injury in contrast-induced nephropathy.

められた (0.40 ± 0.02 vs 0.45 ± 0.3 mg/dl) (Figure 1)。

2. 造影剤投与後血漿クレアチニンは、対照群では有意に上昇したが (0.52 ± 0.05 mg/dl)、メトホルミン治療群では、上昇は認められなかった (0.45 ± 0.06 mg/dl) (Figure 1)。
3. 血漿 Cystatin C は、糖尿病メトホルミン治療群では対照群に比較して低値を示し、造影剤投与後の上昇は両群ともに認められなかった (Figure 1)。
4. 糖尿病メトホルミン治療群は正常血糖対照群に比較して、血糖高値にもかかわらず (HbA1c 3.05 ± 0.24 vs 4.65 ± 0.52)、低酸素マーカー pimonidazole 染色が軽度であった (Figure 2)。
5. 糖尿病メトホルミン治療群では、対照群に比較して尿細管障害が軽度であった (Figure 2)。

[考 察]

STZ 誘発糖尿病 SD rat のメトホルミン治療群においては、メトホルミンによる血糖改善効果が無いにも関わらず、造影剤投与後の pimonidazole 染色と尿細管障害は正常血糖対照群に比較して軽度であった。このことから、造影剤腎症に対して、メトホルミンは血糖降下作用非依存的に、腎組織内低酸素状態、尿細管障害を改善して、腎保護的に作用することが示唆された。更に、メトホルミン治療群では、造影剤投与前血漿クレアチニン値は、対照群に比し軽度高値を呈したが、血漿 Cystatin C 値は低値であった。この二つの腎機能指標の相違より、メトホルミン治療群に認められた造影剤投与前血漿クレアチニン値の軽度上昇は、近位尿

細管細胞 basolateral membrane 上の organic cation transporter (OCT) 2 を介したクレアチニン取り込みに対する、メトホルミンの競合的阻害作用の結果生じるクレアチニン分泌低下によることが推測された。クレアチニン値と異なり、Cystatin C 値では造影剤投与後の腎機能低下が明らかではなかった為、現在、造影剤腎症における両腎機能指標の整合性の検討と、メトホルミン投与量を増量し、その濃度依存性と安全性について、更にはヒト近位尿細管上皮培養細胞 (HRPTEC) を用い、OCT2 を介したメトホルミンの競合的阻害作用について検証中である (平成 24 年度「独創性のある生命科学研究」研究課題「造影剤腎症におけるメトホルミン効果についての検討 その 2」)。

[結 語]

メトホルミン投与は糖尿病モデルラットにおいて、造影剤腎症耐性を示した。メトホルミンは、腎組織内低酸素状態、尿細管障害を改善し、腎保護的に作用した。

11) 術前肝予備力・肝再生能力から見た新しい術前肝機能評価、肝切除基準の確立に関する検討

代表研究者 谷口 雅彦

<背景・目的>

肝臓は臓器の中で唯一再生する臓器である。それ故に肝腫瘍に対する肝切除が可能となる。一般的に肝癌などの肝腫瘍に対する肝切除は腫瘍の局在ならびにその進展度と、肝臓の予備力のバランスでその切除量が決定される。現在までその肝切除基準は幕内らが 1987 年に発表したビリルビン、ICG-R15 等の術前肝予備能を基とする肝切除アルゴリズムが gold standard となっている。しかしながら、肝再生の面から肝切除基準を導いた報告はない。他方、生体肝移植では small for size graft syndrome (以下 SFGS) と呼ばれる病態が存在する。これは重度の肝硬変 (= 門脈圧亢進状態) のレシピエントに対して、正常肝であっても受け皿としてのグラフト (肝臓) の容積が少ないこと (通常は理想肝容積の 35 ~ 40% 以下) による代謝不均衡の結果もたらされる移植後の肝不全状態のことである。すなわち肝容積が十分でないことに起因する肝不全である。我々はこれまでの経験から、SFGS はグラフトの大きさ・年齢、レシピエントの移植前の門

脈圧亢進症の程度に影響されること、すなわち正常肝の再生には先述の3つの因子が重要であることを世界に先駆けて報告してきた¹⁻³⁾。その結果それに対する方策を立てることにより、現在では Child score C (= 重度肝硬変) のレシピエントに理想肝容積の35%のグラフトでも安全に移植できるまでに至っている。また肝腫瘍に対する肝切除においても、我々は正常肝であれば残肝を35~40%以下にすることも十分可能であることが報告してきた⁴⁾。しかしながら、通常の肝切除は障害肝を対象とする。従って肝切除後の肝再生は、術前、術中、術後因子が影響するため不明な点が多く、特に機能的肝再生に対する検討は十分なされていない。

本研究の最終的なゴールは、障害肝において患者個々人の術前全身状態、肝臓の予備力から、許容肝切除量を決定し、肝臓の再生力を考慮した新しい術前肝機能評価、基準を確立することを目的とする。そこでまず教室において施行した肝切除症例において、容積的肝再生、機能的肝再生の意義、それらに与える因子を検討した。

<対象と方法>

2011年1月から2012年8月までに施行した全肝切除症例122例中、1区域以上の肝切除症例50例を対象とし、術前、術後における下記項目の比較検討を行った。

検討1：術前因子間の相互関係の検討

検討2：術前因子別の術後因子に与える影響の検討

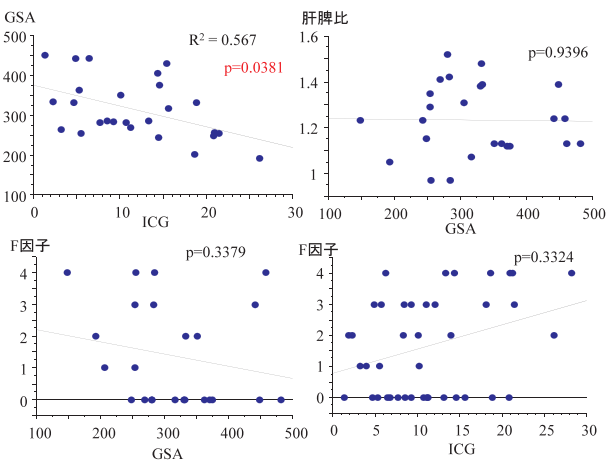


図1

術前因子

- ・患者背景因子 (年齢、性別、背景肝疾患、原疾患)
- ・ICG R15値、Tc-99m-GSAによる肝血流量測定による肝予備能評価
- ・3-D CTによる肝切除量・率、残肝量・率、脾容積
- ・病理標本による肝線維化、脂肪肝の程度

術後因子

- ・3-D CTによる術後2、4週目の肝容積・脾容積 (継続的容積変化率)
- ・術後2、4週目のTc-99m-GSAによる肝血流量、血液生化学検査による肝予備能

<結果>

検討1：術前因子間の相互関係の検討 (図1)

年齢、性別、背景肝疾患 (HBV、HCV、nBnC)、原疾患 (HCC、nonHCC)、CTP score、ICG R15 値、Tc-99m-GSA による肝血流量、3-D CT による残肝率 (残肝量 / 全肝量)、脾容積、病理標本による f 因子 (肝線維化)、肝 / 脾 CT 値 (脂肪肝) を術前因子とし、各2因子間での相関の有無を検討したところ、ICG R15 値と G Tc-99m-GSA による肝血流量のみ正の相関を認めたが (p=0.0381)、それ以外の因子間で相関は認めなかった。

検討2：術前因子別の術後因子に与える影響の検討
上記術前因子別に術後2、4週目の肝容積・脾容積、Tc-99m-GSA による肝血流量、血液生化学検査 (総ビリルビン値、アルブミン値、血小板数、プロトロンビン時間) による肝予備能を比較検討した。

ICG R15 値は術後4週目の GSA 値に有意な影響を与えたが (245.7 ± 104.7 vs 358.4 ± 153.5, p=0.0485)、残肝増大率、術後の肝予備能に有意な影響を認めなかった (図2)。肝線維化は術後4週目の GSA 値 (353.0 ± 137.2 vs 231.1 ± 111.0, p=0.0298)、PT-INR 比 (28POD/pre) (1.06 ± 0.16 vs 1.19 ± 0.21, p=0.0445) に有意な影響を認めたが、残肝増大率 (28POD/pre) には影響を認めなかった (1.19 ± 0.28 vs 1.12 ± 0.14, p=0.6531) (図3)。術前の年齢、脂肪肝、術前 GSA 値、予測残肝容積は術後因子に影響を与えなかった。

<考察・結語>

従来、ICG R15 値は肝予備能を反映すると言われており、肝切除基準の一項目となっているが、同様に

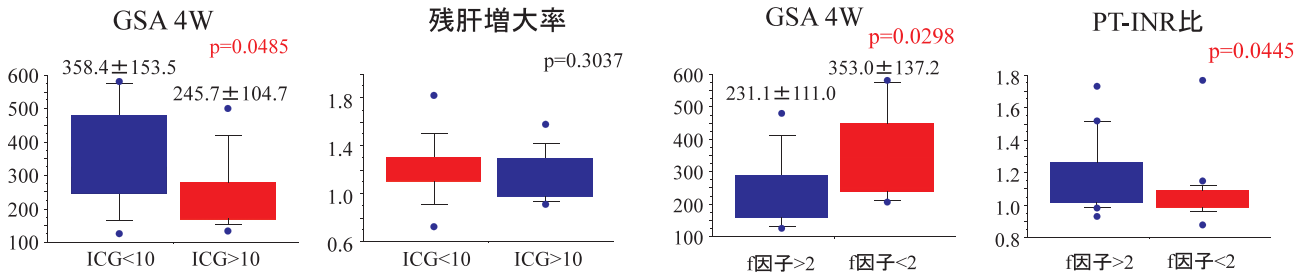


図 2

Tc-99m-GSA による肝血流は術前の肝予備能を反映するのみならず、術後の肝機能も反映し、機能的肝再生の指標となっていた。一方肝容積変化は機能的肝再生を反映しておらず、必ずしも容積的肝再生と機能的肝再生が一致するわけではなかった。

生体肝移植の検討から正常肝の再生には肝容積・年齢、門脈圧（流量）が関与することが明らかとなっている¹⁻³⁾。しかし今回の検討結果から、肝切除術においては肝容積、年齢は肝再生に影響を与える因子ではなく、術前の肝予備能、術前の肝線維化の程度が術後の肝再生に対して強い影響を与えていることが判明した。すなわち、術後の機能的肝再生を術前の残肝容積率から予測することは問題がある。さらに術前の肝線維化は門脈圧に影響することから、門脈圧が肝切除後の肝再生の機序にも影響を与えている可能性は大いにある。

これらのことから、術前の Tc-99m-GSA による肝血流量による肝予備能と肝線維化（あるいは術前の門脈圧）の程度を組み合わせることにより、肝切除後の機能的肝再生率を予測する式を算出できる。今回の検討の結果を基に今後症例数をさらに増やして、これらを加味した新しい肝切除基準を確立したい。

なお、本研究は AHPBA2013 Annual Meeting、ならびに 2013 年日本外科学会集会にて発表する予定である。

<謝 辞>

平成 23 年度「独創性のある生命科学研究」に採択していただき、このような研究の機会を与えて頂きましたことをこの場を借りて厚く御礼申し上げます。

<参考文献>

1) Shimamura T, Taniguchi M, Jin MB, Suzuki T, Mat-

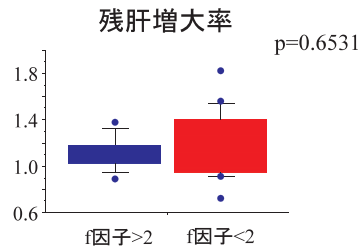


図 3

sushita M, Furukawa H, et al. Excessive portal venous inflow as a cause of allograft dysfunction in small-for-size living donor liver transplantation. *Transplantation proceedings*. 2001 Feb-Mar;33(1-2):1331. PubMed PMID: 11267312.

2) Taniguchi M, Shimamura T, Suzuki T, Yamashita K, Oura T, Watanabe M, et al. Transient portacaval shunt for a small-for-size graft in living donor liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2007 Jun;13(6):932-4. PubMed PMID: 17538989.

3) Oura T, Taniguchi M, Shimamura T, Suzuki T, Yamashita K, Uno M, et al. Does the permanent portacaval shunt for a small-for-size graft in a living donor liver transplantation do more harm than good? *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2008 Jan;8(1):250-2. PubMed PMID: 18093277.

4) Kamiyama T, Nakanishi K, Yokoo H, Kamachi H, Tahara M, Yamashita K, et al. Perioperative management of hepatic resection toward zero mortality and morbidity: analysis of 793 consecutive cases in a single institution. *Journal of the American College of Surgeons*. 2010 Oct;211(4):443-9. PubMed PMID: 20822741.

12) 腹部手術における術後合併症に対する HMGB1 の関与の解明

研究代表者 渡邊 賢二

【研究の背景と目的】

HMGB-1 (High-Morbidity Group Box chromosomal protein 1) はエンドトキシンショックで死亡した患者で血中濃度が増加していることから、遠隔臓器に炎症反応をデリバリーし DIC や MOF を引き起こす原因物質と考えられている。また、DIC の予後とも関連すると言われており、手術ストレスとの関連や術後合併症の予測因子としての有用性についても検討が進められている。本研究は、肝切除における周術期の血清 HMGB1 値の測定を行い、周術期における推移や関連する因子、術後合併症との関係を明らかにすることを目的とする。

【対象と方法】

対象は 2012 年 5 月～8 月に肝切除を施行した 9 例とし、超音波切開凝固装置およびソフト凝固を用いて

肝切除を行った。術中判断で Pringle 法 (15 分間全肝阻血、5 分間解放) を追加した。術後に肝血流阻血再還流障害の予防を目的としてガベキサートメシル酸塩 20mg/kg/day を 2 日間投与した。以下の Time Point (T0; 術前、T1; 麻酔導入直後、T2; 術直後、T3; 術後 1 日目、T4; 術後 3 日目、T5; 術後 5 日目、T6; 術後 7 日目) で採血を行い、血清 HMGB1 値を測定した。

【結果と考察】

これまでの報告では肝切除後の血清 HMGB1 値は術直後から上昇し術後 2 日目まで持続するとされているが、自検例では術後 1 日目を以降に有意な上昇を認めなかった。また、これまでの報告では術後の peak 値が 40ng/ml 程度であるのに対し、自検例では明らかに低い値を示した。この原因として術後に投与したガベキサートメシル酸塩の影響が考えられた。ガベキサートメシル酸塩は肝切除において、炎症細胞の活性を抑制し術後の IL-6 上昇を抑制すると言われており、HMGB1 に対する作用は明らかとされていないが、抗炎症作用により抑制的に作用したと考えられた。

術前・術中因子のうち出血量と手術時間のみが術直後の血清 HMGB1 値と有意な相関を認めたが、肝切除時間や肝血流遮断時間との相関関係は認めなかった。肝切除において肝血流遮断は術中出血の減少には有用だが、虚血再還流に伴う肝機能障害が問題とされている。HMGB1 は組織の阻血再還流に伴い上昇することが明らかとされており、肝阻血においても同様の結果が予測されたが、これに反する結果となった。

自検例では合併症を対象群の 4/9 例 (44.4%) に認めた。合併症の内訳は胆管狭窄 1 例、不明熱 1 例、門

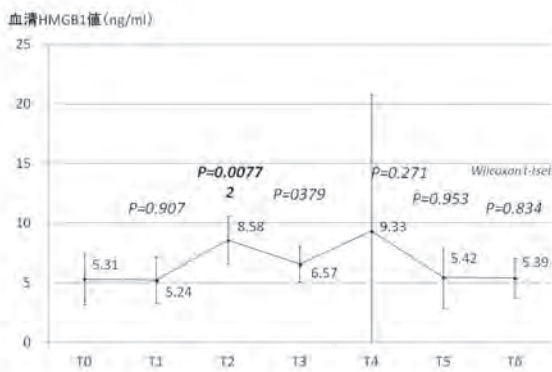


図 1 肝切除の周術期における血清 HMGB1 値の推移

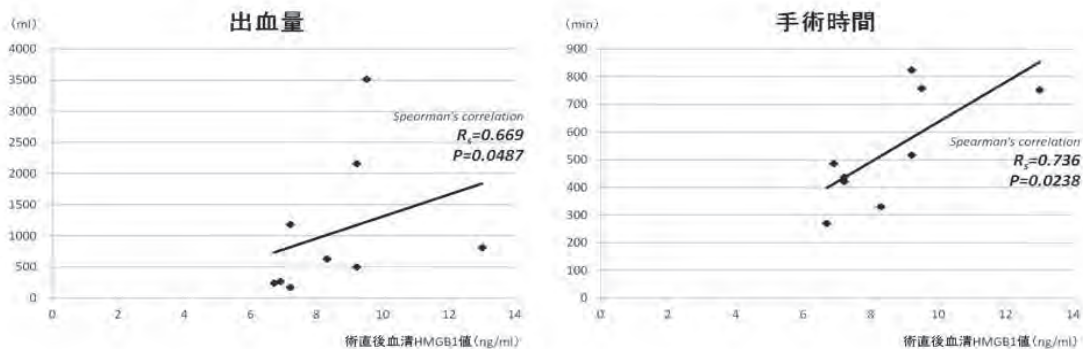


図 2 術直後の血清 HMGB1 値との相関関係
出血量 (右)、手術時間 (左)

表 1 合併症あり群と合併症なし群の比較
術前因子 (上段右)、術中因子 (上段左)、病理組織学的因子 (下段)

術前因子				術中因子			
	合併症なし (n=5)	合併症あり (n=4)	p値		合併症なし (n=5)	合併症あり (n=4)	P値
年齢(歳) (mean±SD)	71.0±5.1	69.5±10.5	0.638 Mann-Whitney	術式 区域切除未満	2	1	1.000 Chi-square test, Fisher exact probability
性別				区域切除以上	3	3	
男性	3	2	0.444 Chi-square test, Fisher exact probability	出血量(ml) (mean±SD)	505.2±421.0	1753.8±1383.0	0.121 Mann-Whitney
女性	2	0		輸血量(ml) (mean±SD)	104.0±143.1	1363.8±2092.4	0.487 Mann-Whitney
疾患				手術時間(min) (mean±SD)	390.4±86.7	714.3±134.9	0.038 Mann-Whitney
肝細胞癌	4	3	1.000 Chi-square test, Fisher exact probability	肝切除時間(min) (mean±SD)	144.2±65.1	161.0±61.4	0.638 Mann-Whitney
その他	1	1		全肝阻血時間(min) (mean±SD)	21.2±25.8	41.4±26.4	0.415 Mann-Whitney
背景肝							
HBV	1	2	0.810 Yates chi-square test				
HCV	1	1					
非B非C	3	1					
Child-Pugh score (mean±SD)	5.00±0	6.00±1.15	0.263 Mann-Whitney				
病理組織学的因子							
	合併症なし (n=5)	合併症あり (n=4)	P値				
最大腫瘍径(cm) (mean±SD)	4.18±2.57	4.03±3.12	0.812 Mann-Whitney				
腫瘍数							
単発	4	3	1.000 Chi-square test, Fisher exact probability				
多発	1	1					
脈管浸潤							
あり	1	3	0.206 Chi-square test, Fisher exact probability				
なし	4	1					
肝線維化							
F0-3	4	2	0.524 Chi-square test, Fisher exact probability				
F4	1	2					

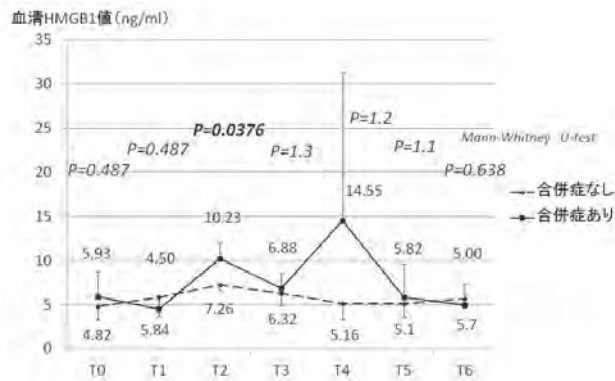


図 3 血清 HMGB1 値の推移 (合併症あり群と合併症なし群の比較)

脈血栓 2 例であった。合併症なし群 (n=5) と合併症あり群 (n=4) との比較では、術前因子 (年齢、性別、原疾患、背景肝、Child-Pugh score) と病理組織学的因子 (腫瘍径、腫瘍数、脈管浸潤の有無、肝線維化) で有意差を認めなかった。術中因子では術式、出血量、輸血量、肝切除時間、門脈遮断時間で有意差を認めず、手術時間のみ有意差を認めた。両群における血清 HMGB1 値を比較したところ、合併症あり群が術直後で有意に高値であり、術直後の血清 HMGB1 値は術後合併症の早期予測因子として有用であると考えられた。抗炎症性薬剤を用いて術後の血清 HMGB1 値を抑制することの意義や、抑制するための適切な薬剤・投

与時期に関しては依然として不明な点が多く、今後さらなる検討が必要である。

13) 喉頭ペーシングの改良に関する研究

研究者代表 野村研一郎

<背景と目的>

喉頭は呼吸、発声、嚥下、気道防御と多彩な機能に関与する重要な臓器である。喉頭運動を制御する内喉頭筋は、迷走神経から分枝する反回神経の支配を受けている。反回神経が悪性腫瘍や外科手術等によって損傷されると声門の開大や閉鎖が起こらない喉頭麻痺の状態となり、喉頭の機能は著しく障害される。反回神経は末梢神経であり神経吻合により比較的容易に再生するが、再生の段階では本来の選択的な筋支配が失われた過誤支配が起こり、呼吸や発声に同期した合目的な喉頭運動は回復しない。臨床上、一側性と両側性の喉頭麻痺では症状は大きく異なる。一側性の麻痺では、発声時に声帯が完全に閉鎖しないことによる発声障害が問題となる。一方で両側性の麻痺では、両側の声帯がほぼ閉鎖した位置で固定し声門が開大しないことによる呼吸困難が問題となる。

近年、障害された生体機能の回復に電気刺激を用いる機能的電気刺激が様々な領域で行われている。我々はこの機能的電気刺激に注目し、麻痺した喉頭の再運動化を目的とした喉頭ペーシングの基礎研究をすすめてきた。以前に我々は両側喉頭麻痺に対する治療として、機能的電気刺激を用いて声門を開大する筋を刺激し声門開大運動の誘発を行う研究を行ってきた。この研究により、埋め込み型の脳深部刺激用の電極を用いた電気刺激によって、ヒトとほぼ同じ大きさの喉頭を有するイヌを用いた実験で、麻痺が無い状態と同様の声門開大運動を誘発できることを確認した¹⁾。

一方で、一側性の喉頭麻痺による発声障害に対しての治療は外科的治療が主に行われている。これらの治療法は麻痺側の声帯を正中位に矯正することが目的で

あり再運動化を可能とするものではない。我々は、一側性の喉頭麻痺に対しても、麻痺側の甲状披裂筋に適正なタイミングで筋収縮を誘発するような電気刺激を加えることができれば、声帯が内転し発声障害を改善することが可能ではないかと考えた。そこで、本研究では声門閉鎖筋を刺激するための新しい形状の電極を考案し、その有効性について実験動物を用いて検討した。

<方 法>

実験にはビーグル犬3頭を用いた。全身麻酔後に前頸部を切開し甲状軟骨を露出し、声帯の高さで0.8cm × 1cmの開窓を行った。埋込んだ電極は直径1mmの電極が、縦に2列、横に4列の合計8個の刺激チャンネルを有する厚さ2mmのシリコン板を用いた。これを開窓部に留置し、刺激パラメーターは周波数40Hzで、パルス幅を0.5ms、1msの2つの条件で刺激強度を変化させた。喉頭の観察は経口的に内視鏡で行い、それぞれのチャンネルを介した電気刺激による声帯の位置を評価した。前交連と刺激側の声帯突起を結んだ線の正中からの角度を計測し、声帯が完全に正中位になる角度を0°とし、開大位をプラス側、過内転位をマイナス側とした。

<結果と考察>

各チャンネルの刺激閾値は、喉頭の背側に存在する4つのチャンネルで閾値が小さく良好な結果であった。パルス幅の違いでは0.5msより1msの方が閾値が小さい傾向にあった。刺激声帯の閉鎖した角度は、両方のパルス幅共に喉頭のも腹側に存在するチャンネル1では、十分な声門閉鎖が得られなかった。一方

n=3, mA (mean±SD)

パルス幅	Ch. 1	Ch. 2	Ch. 3	Ch. 4
0.5ms	2.5mA ±0	1.12mA ±0.10	0.68mA ±0.06	0.68mA ±0.06
1.0ms	2.0mA ±0.4	1.11mA ±0.12	0.68mA ±0.06	0.68mA ±0.06
	Ch. 5	Ch. 6	Ch. 7	Ch. 8
0.5ms	1.45mA ±0.27	0.75mA ±0	0.62mA ±0.62	0.63mA ±0.09
1.0ms	1.43mA ±0.29	0.72mA ±0.02	0.62mA ±0.62	0.63mA ±0.09

図1 各チャンネルの刺激閾値

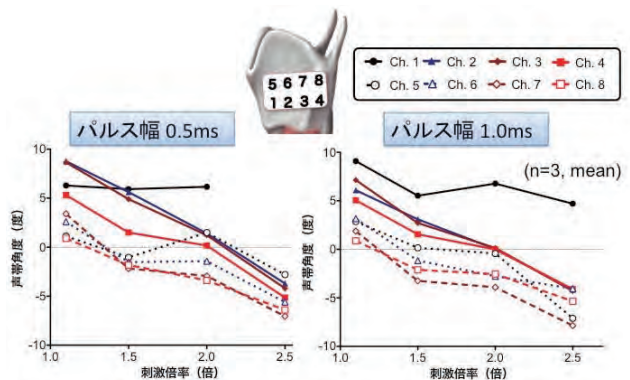


図2 刺激声帯の閉鎖角度

で、後方に存在する刺激チャンネルは、良好な声門閉鎖運動が誘発された。これらの結果は、刺激を行った甲状披裂筋を支配する反回神経前枝は喉頭の背側から進入しているため、より神経に近い電極を介した電極による刺激の方が良好な閉鎖運動を誘発することが可能であったと考えられた。

本研究の結果より埋め込み型の電極により声門閉鎖運動が誘発される事が確認された。

<参考文献>

- 1) Nomura K, Kunibe I, Katada A, et al. Bilateral motion restored to the paralyzed canine larynx with implantable stimulator. *Laryngoscope*. 2010;120(12):2399-409.
- 14) ヒト男性不妊症と習慣流産の病態解明および臨床医学への応用

研究代表者 宮川 博栄

【目的】

近年、日本では不妊症のカップルの頻度は増加傾向にあり、およそ 10-15%のカップルが不妊に悩まされている。女性の社会進出などの理由による晩婚化がその重要な原因の一つとされているが、不妊症の原因の約半数が男性因子とされている。そこで今回男性不妊症特にヒト無精子症の原因遺伝子解明を行うこととした。近年、マウスにおいてマウス Septin12 遺伝子がマウス精子過程において極めて重要な役割を担うことが明らかにされた。そこで我々はヒト SEPTIN12 遺伝子において、無精子症患者のうち組織学的に germ cell をまったく認めない Sertoli Cell Only Syndrome いわゆる SCOS、さらには精子形成過程における減数分裂が停止しているものいわゆる meiotic arrest (MA) に起因するヒト無精子症患者群において解析を行った。

【方法】

まず大学の倫理委員会の承認を得た後に、全て文章によるインホームドコンセントを得て、組織学的に SCOS 及び MA に起因する無精子症と診断された日本人患者、それぞれ 100 名および 30 名さらには妊孕性が確認されている正常コントロール 140 名から血液を採取し、Genomic DNA を抽出した。ヒト SEPTIN12 遺伝子の全ての coding region に隣接するイントロン部位にプライマーを 2 組設定し、nested PCR 法を行い

PCR 産物を精製後ダイレクトシーケンス解析を行うことにより mutation 解析を行った。上記で得られた結果を統計学的に解析しその有意差を検討した。

【成績】

解析の結果、SCOS 患者群では coding region 内に 8 つの single nucleotide polymorphism : SNP1-SNP8 を検出した¹⁾。また MA 患者群では 3 つの SNP: SNP1-SNP3 を検出した²⁾。それぞれを正常コントロール群とゲノタイプ及びアレルの出現頻度を検討したところ、SCOS 群では SNP3, SNP4 及び SNP6 において、また MA 群においては SNP1 において患者群とコントロール群でゲノタイプ、アレルの出現頻度ともに統計学的に有意な差を検出した ($p < 0.001$)。 (図 1 および図 2)

【結論】

本研究によりヒト SEPTIN12 遺伝子がヒト精子形成過程において重要な役割を担うことが強く提言された。

【参考文献】

- 1) Miyakawa H, Miyamoto T, Koh E, Tsujimura A, Miyagawa Y, Saijo Y, Namiki M, Sengoku K. Single-nucleotide polymorphisms in the SEPTIN12 gene may be a genetic risk factor for Japanese patients with sertoli cell-only syndrome. *J Androl*. 2012 May-Jun;33(3):483-7.
- 2) Miyamoto T, Tsujimura A, Miyagawa Y, Koh E, Namiki M, Horikawa M, Saijo Y, Sengoku K. Single nucleotide polymorphisms in the SEPTIN12 gene may be associated with azoospermia by meiotic arrest in Japanese men. *J Assist Reprod Genet*. 2012 Jan;29(1):47-51.

図 1 Genotype and allele frequencies of eight coding single-nucleotide polymorphisms (cSNPs) in the human *SEPTIN12* gene of 100 azoospermic patients with SCOS and 140 control men

SNP	Alteration Nucleotide Amino acid	Genotype frequency		Allele frequency	
		Genotype/Total no. of samples (%)		Minor allele/Total no. of chromosomes (%)	
		(G) SCOS	Controls	(A) SCOS	Controls
		<i>p</i> value	<i>p</i> value		<i>p</i> value
SNP1	192T>C Synonymous	CC 13/100 (13.0)	20/140 (14.3)	C 60/200 (30.0)	93/280 (33.2)
			0.851		0.488
SNP2	204G>C <u>Gln38His</u>	CC 2/100 (2.00)	0/140 (0.00)	C 4/200 (2.00)	0/280 (0.00)
			0.173		0.030
SNP3	210G>A Synonymous	AG 55/100 (55.0)	0/140 (0.00)	A 55/200 (27.5)	0/280 (0.00)
			<0.001*		<0.001*
SNP4	225G>A Synonymous	AG 56/100 (56.0)	3/140 (2.14)	A 56/200 (28.0)	3/280 (1.07)
			<0.001*		<0.001*
SNP5	422C>A <u>Thr111Lys</u>	AC 2/100 (2.00)	1/140 (0.714)	A 2/200 (1.00)	1/280 (0.357)
			0.572		0.574
SNP6	423G>C Synonymous	CG 16/100 (16.0)	0/140 (0.00)	C 16/200 (8.00)	0/280 (0.00)
			<0.001*		<0.001*
SNP7	426C>T Synonymous	TC 3/100 (3.00)	0/140 (0.00)	T 3/200 (1.50)	0/280 (0.00)
			0.071		0.072
SNP8	564G>A Synonymous	AA 12/100 (12.0)	15/140 (10.7)	A 67/200 (33.5)	92/280 (32.9)
			0.922	0.837	

(G) and (A) indicate genotype and allele, respectively. *Statistically significant

図 2 Genotype and allele frequencies of three coding single-nucleotide polymorphisms (cSNPs) in the human *SEPTIN12* gene of 30 azoospermic patients with MA and 140 fertile male controls

SNP	Alteration Nucleotide Amino acid	Genotype frequency		Allele frequency	
		Genotype/Total no. of samples (%)		Minor allele/Total no. of chromosomes (%)	
		(G) MA	Controls	(A) MA	Controls
			<i>p</i> value		<i>p</i> value
SNP1	204G>C <u>Gln38His</u>	CC 2/30 (6.67)	0/140 (0.00)	C 9/60 (15.0)	0/280 (0.00)
			0.030*		<0.001*
SNP2	422C>A <u>Thr111[Thr, Lys]</u>	AC 1/30 (3.33)	1/140 (0.714)	A 1/60 (1.67)	1/280 (0.357)
			0.323		0.322
SNP3	564G>A Synonymous	AA 1/30 (3.33)	15/140 (10.7)	A 12/60 (20.0)	92/280 (32.9)
			0.310		0.063

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

15) FDG PET/CT 後期像撮像による悪性リンパ腫と 良性リンパ節との鑑別における有用性の検討

代表研究者 中山 理寛

<背景>

悪性リンパ腫診断に 18F FDG-PET/CT は多く用いられ、組織型により異なるものの、その集積度は比較的高値を示すことも知られている。早期像の SUVmax を比較することにより悪性リンパ腫病変と良性リンパ節との鑑別ができる可能性があるとの報告¹⁾ がみられ、当院においても同様の検討 (全 143 リンパ節: 悪性リンパ腫病変 82 リンパ節、良性 61 リンパ節) を行っ

たところ、早期像の SUVmax の至適 cut-off value が 5.65 以上で感度 90.2%、特異度 91.8% という結果を得た。一方で SUVmax が比較的低値の場合は良性のリンパ節との両者の鑑別が困難なことも少なくない。

<目的>

良性病変と悪性病変では FDG の体内動態が異なることが知られている。その点を踏まえて今回リンパ節への集積が比較的低値の場合には後期像を撮像することが両者の鑑別に有用な可能性があるという仮説を立てた。そこで当院における前検討を踏まえ、早期像で

SUVmax が6未満であった悪性リンパ腫病変と良性リンパ節を対象に後期像撮像の有用性を検討した。

<対象及び方法>

対象、使用薬剤：当院で施行したFDG-PET/CTが施行された延べ2700名のうち、リンパ節への集積が早期像でSUVmax6未満の病変を含む病理組織学的に悪性リンパ腫と診断された30名の患者、111リンパ節病変（男：女=15：15 年齢33-81才、平均64.6才、疾患の内訳：Hodgkin's lymphoma 2名、diffuse large B cell lymphoma 12名、follicular lymphoma 10名、mantle cell lymphoma 1名NK/T cell lymphoma 1名、その他のT-cell系lymphoma 4名）と、病理組織学的検索または臨床的経過観察によって良性リンパ節と診断されたリンパ節にFDG集積を認めた他疾患患者54名110リンパ節（男：女=26：28 年齢5-79才、平均61.7才、疾患の内訳：リンパ節炎、肺炎、肺気腫、各種悪性腫瘍）を対象とした。全リンパ節のサイズは両群ともに短径15mm未満。全患者のFDG施行前の血糖値は160未満。18F-FDG (2-deoxy-2-fluoro-¹⁸F-D-glucopyranose) を3.7MBq/kg使用した。患者は6時間以上の絶食の後、FDGを静注し、50分後に早期像を、100分後に後期像を撮像した。

撮像機器、撮像条件：撮像機器はDiscovery VCT (GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA) を使用した。CTの撮像条件は、管電圧：120kV、管電流：早期像100mA（後期像50mA）にてauto mAを使用し、回転速度0.6 s/rot、detector collimation 64 x 1.25mm、beam pitch 0.984、section thickness 5.0mm、reconstruction pitch 3.27mmで撮像した。PETについては、画像再構成法は3D-OS-EM (VUE point, GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA) を用いて、2-3min/1bed、3.75mm slice、7-8bedを3D modeで収集した。

画像評価法：各リンパ節に対して関心領域 (ROI) を設定し、設定したROI内の早期のSUVmax (early SUVmax)、後期のSUVmax (delayed SUVmax) を計測し、引き続き、早期と後期のSUVmaxの差分 (delta SUVmax)、及び平均変化率 (RI-SUVmax) を算出した。計算式は以下の通りである。

$$\text{Delta SUVmax}(\Delta\text{SUVmax}) = (\text{delayed SUVmax} - \text{early SUVmax})$$

$$\text{Retention index}(\text{RI-SUVmax}) = \frac{\Delta\text{SUVmax}}{\text{early SUVmax}}$$

統計解析：悪性リンパ腫病変と良性リンパ節の2群に分け両群間におけるearly SUVmax, delayed SUVmax、delta SUVmax、RI-SUVmaxの差をstudent t-testで比較した。

各々の指標における至適cut-off valueをROC曲線を用いて求めた。指摘cut-off valueを用いた時の各指標における感度・特異度を求めた。また、ROC曲線間の有意差をANOVA (DBM MRMC2.2) にて評価した。

<結果>

Student t-test (Table1) の結果、early SUVmaxでは有意差は認められなかったが、このことは早期のSUVのみでは、統計学的にも良性リンパ節との鑑別が困難であることを示していると考えられる。また、delayed SUVmax、delta SUVmax、RI-SUVmaxに関してはP値0.0001未満と非常に高い有意差が認められた。

次に各指標におけるROC曲線 (Figure2) を作成し、至適cut-off pointを求めた (矢印)。至適cut-off pointを用いた時の感度及び特異度はearly SUVmax

Table 1 Student t-test

	Malignant lymphoma	Benign lymph node
early SUVmax	3.32 ± 1.26	3.02 ± 1.02
delayed SUVmax	4.84 ± 1.86	3.77 ± 1.52*
delta SUVmax	1.52 ± 0.84	0.75 ± 0.87*
RI-SUVmax	0.48 ± 0.22	0.25 ± 0.25*

* : P<0.0001

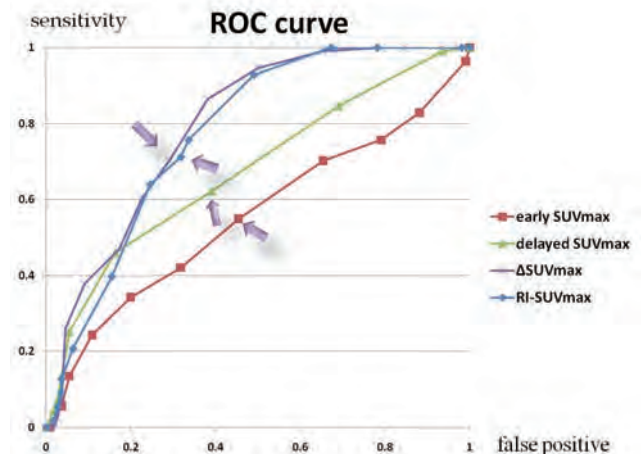


Figure2 ROC curve for percent change in each SUVmax.

(cut-off point SUV>3 感度 55.0 %、特異度 54.5 %)、delayed SUVmax (cut-off point SUV>4 感度 62.2%、特異度 60.9 %) delta SUVmax (cut-off point SUV>1 感度 70.3%、特異度 70.9%)、RI-SUVmax (cut-off point SUV>0.34 感度 71.2%、特異度 68.2%) であり、感度のみならず特異度においても 70% 程度にまで増加した (Table2)。ROC 曲線間の有意差を ANOVA (DBM MRMC2.2) にて評価した。ROC 曲線下面積 (AUC: area under the curve) は Table2 に示した通りで、delta SUVmax,RI-SUVmax に関しては 0.8 弱と一般的に Moderate accuracy の範囲であった。ROC 曲線間では delayed SUVmax、delta SUVmax,RI-SUVmax のすべてにおいて P 値 0.0001 未満と高い有意差が認められた。

<考 察>

FDG-PET/CT は悪性リンパ腫の診断において有効であり、従来の形態的な画像診断と比較し、代謝イメージが加わることで、サイズが 1cm 前後の小さなリンパ節であっても、評価が可能な場合がある²⁾。しかし、炎症等を含めた良性のリンパ節も対しても FDG の集積が非特異的に増加することが、偽陽性の原因となる。悪性リンパ腫に関して早期での SUV のカットオフ値を示した報告³⁾もあるが、実際の臨床ではオーバーラップし、診断に苦慮することが少なくない。後期像を追加することで、悪性リンパ腫診断における感度及び特異度双方の改善が望める。悪性腫瘍は一般的に数時間にわたり集積が増加するといわれており、さらにその集積度と Glut1 の発現率はおそらく関連があると報告されており、良性リンパ節とはそのような点で異なり、後期像でより鮮明になるものと考えられる。

今後は、今回の得られた至適カットオフ値を用いて前向き検定を行い、更に評価する必要があると考えられた。

Table2 ANOVA DBM MRMC2.2

	cut-off value	Sensitivity/Specificity(%)	AUC	P value
early SUVmax	3.0	55.0/54.5	0.562	reference
delayed SUVmax	4.0	62.2/60.9	0.678	<0.0001
delta SUVmax	1.0	70.3/70.9	0.796	<0.0001
RI-SUVmax	0.34	71.2/68.2	0.784	<0.0001

※ AUC : area under the curve

<結 語>

FDG-PET/CT におけるリンパ節への集積が比較的低値の場合には、後期像を追加撮像することで悪性リンパ腫の鑑別診断に有用となる可能性が示唆された。後期像撮像は生検の有無を決定する一助となり得ると考えられた。

<参考文献>

- 1) Kumar A, Dutta R, Kannan U, et al. Evaluation of mediastinal lymph nodes using F-FDG PET-CT scan and its histopathologic correlation. Ann Thorac Med. 2011 Jan;6:11-6.
- 2) Schrepfer T, Haerle SK, et al. The value of (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography for staging of primary extranodal head and neck lymphomas. Laryngoscope. 2010;120:937-44.
- 3) Schöder H, Noy A, et al. Intensity of 18fluorodeoxyglucose uptake in positron emission tomography distinguishes between indolent and aggressive non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 2005 Jul 20;23:4643-51.

16) 補足運動野における機能局在及び代償機能に関する研究

代表研究者 安栄 良悟

<はじめに>

補足運動野 (supplementary motor area: SMA) は、前頭葉の一次運動野前方に存在し特に運動や言語の発動に関与しているとされている。しかしその機能、局在はいまだに未解明の部分が多い。脳神経外科手術における同部の障害は一過性であることが多いにしろ、特に言語障害については数か月に及ぶことがあり、患者の生活レベルを著しく損なうことになる。特に、脳実質内腫瘍切除においては機能温存の考えかたから、従来の運動繊維、言語野のみならず、補足運動システムについても考慮しなければならない。補足運動野での運動機能、言語機能の偏在につき検討した。

<方 法>

① ノーマルボランティアを用いた検討

共同研究者の広島覚により施行。健康人ボランティアをつのり Functional MRI を施行。Finger tapping、reading、verve generation のタスクをかける。同一人物

での前頭葉内側部、補足運動野での言語と運動での反応領域を比較する。

②覚醒下手術でのモニタリング

脳実質内腫瘍の術前に functional MRI、DTI を行い、ナビゲーションにて術中に同期する。覚醒下手術中に電気刺激とタスクを負荷し、脳表のマッピングを行う。この際ナビゲーション上の機能部位との整合性を確認する。補足運動野についてはさらに詳細に整合性を検討し、局在を確認する

尚、術前に患者、家族には十分なインフォームドコンセントを行ったうえで、了承を得ている

<結 果>

- ① 11名の健常人ボランティアからのデータを集積した。これら11人の健常人の reading（言語）と right finger tapping（運動）での補足運動野領域での局在関係を検討すると9例は前方に reading（言語）が局在し、1例は right finger tapping（運動）が前方に、1例がほぼ同じ部分に反応が認められた。補足運動野では言語関連領域が運動関連領域よりも前方に存在することが示された（図1）
- ② SMA 領域に関係する3症例の左前頭葉腫瘍に対し覚醒下手術を行った。症例1および症例2では前方より切除を行っていくと先に発語の症状が出現し、ナビゲーション上に同期させた補足運動野の局在部位に一致した。また症例3では補足運動野の言語、運動それぞれの部分で電気刺激を行ったところ、前方では発語のみの症状を、後方では運動機能の症状も出現し、fMRIにて得られた補足運動野の言語、

運動局在との確かな整合性が認められた。（図2,3）

①②より、補足運動野においては、言語機能が運動機能より前方に局在しており、覚醒下手術に際して発語機能の障害が切除限界の指標となりうることが示唆された。（図4）

<考 察>

手術中に患者を覚醒させ、皮質下電気刺激等による脳機能マッピングを行うことにより、機能を温存しながら病変部を最大限に切除することが覚醒下手術の大きな利点である。従来、皮質脊髄路および言語野を主なモニタリングのターゲットとしている。偽陽性や偽陰性の問題は示されているが、そのほとんどは麻酔覚醒不良によるものや、電気刺激強度不十分なものによる報告である。しかし補足運動野等の領域では、適切な麻酔を含めた手技手順であっても偽陽性をきたす可

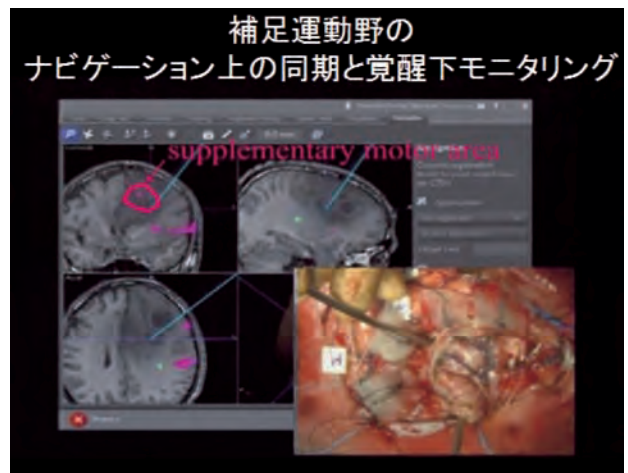


図2

Normal volunteer fMRI		
	Reading	Right finger tapping
test1	ant.	post.
test2	ant.	post.
test3	post.	ant.
test4	ant.	post.
test5	ant.	post.
test6	ant.	post.
test7	ant.	post.
test8	ant.	post.
test9	same	same
test10	ant.	post.
test11	ant.	post.

図1

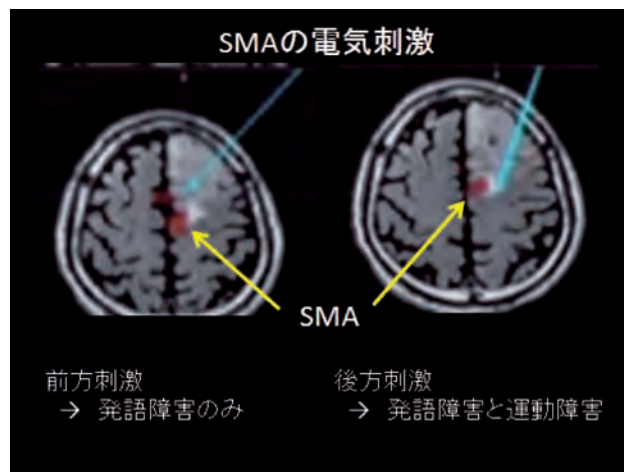


図3

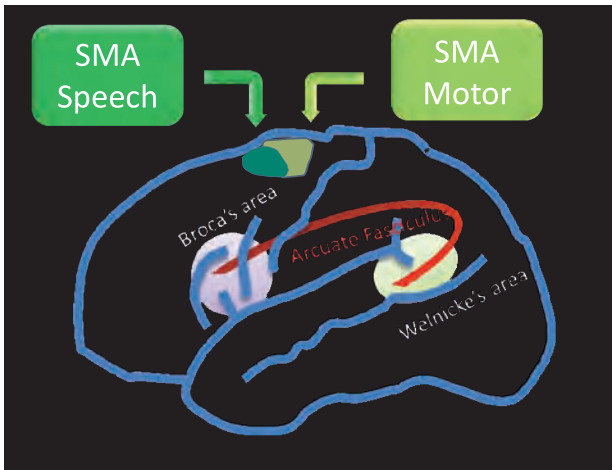


図 4

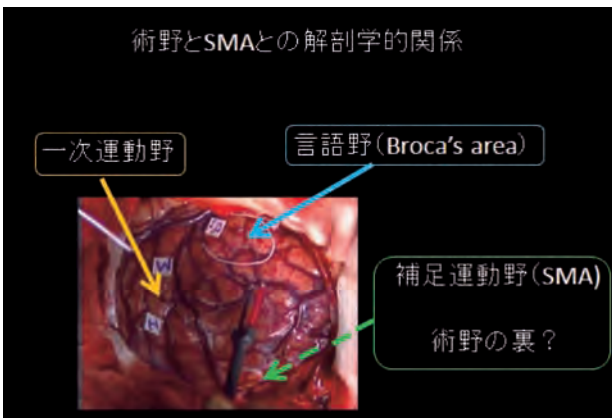


図 5

能性があり病変切除を継続すべきかの判断を迫られることがある。

補足運動野症候 (SMA syndrome) は SMA の切除による一過性の麻痺あるいは言語障害であり、数週間から数か月で症状は改善するとされているが、患者の生活レベルに著しい障害を与えることは否めない。そのため、腫瘍の悪性度、つまり病理学的診断をふまえて同部を切除すべきか否かを症例に応じて検討しなくてはならず、補足運動野に達したという明確な指標が必要になる。さらに、補足運動野は前頭葉内側面にもわたっており、通常の開頭では脳表 (大脳半球間裂側) からの電気刺激が困難であるという問題がある。(図 5)

これまでも、てんかんの手術で大脳半球間裂に電極をおいて、補足運動野の局在を検討した報告や、function MRI での局在分布を報告したものはあるが、実際に覚醒下手術において、その局在を確認した報告はみあたらない。

今回の我々の検討は、優位半球前頭葉腫瘍の切除に際し、覚醒下手術では補足運動野に達したときに、まず前方の発語障害が出現するということが強く示唆され、さらに functional MRI をナビゲーションに同期させることにより、大脳半球間裂側に至らなくとも正確な言語と運動領域を同定することが可能であることを示した。

この結果は、今後、覚醒下手術での腫瘍切除境界ラインの決定に大きく寄与するものと考えられる。

17) 脂肪組織由来幹細胞の静脈内投与による骨再生の研究

研究代表者 竹川 政範

【研究目的】

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。近年、脂肪組織に含まれる体性幹細胞 Adipose derived stem cells (ADSCs) は骨形成細胞、軟骨形成細胞、脂肪細胞に分化することが報告されている。われわれは、これまで ADSCs が in vitro で骨形成細胞に分化すること、in-vivo では骨欠損部の骨形成を旺盛にすることを明らかにした。さらに、ADSCs の静脈内投与は骨創治癒を促進することを明らかにしてきた。しかし、ADSCs の静脈内投与による創傷治癒および骨再生メカニズムは解明されていない。ADSCs の骨再生部での機能を明らかにするためには、投与した細胞の骨再生部での局在を知ることが重要である。今年度は、静脈内投与した ADSCs の骨創部での局在を知り、その機能を明らかにすることを研究目的とした。

【研究方法】

F344 ラットの骨髄から骨髄由来間葉系幹細胞 (BMSC)、脂肪組織から ADSCs を分離した。ADSCs 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 ADSCs 静脈内投与後の投与細胞の局在に関する検討

静脈内投与を行った ADSCs の骨創への分布を検討するために、ADSCs を BrdU で標識し、静脈内投与に使用した。ラット頭頂骨に骨欠損を形成し手術後 3 日目にラット尾静脈から 3×10^5 個の BrdU で標識した

細胞を投与した。対照は頭頂骨に骨欠損のみを形成し、細胞の静脈内投与を行っていないラットとした。評価は手術後2および7日目とした。手術後2および7日目に10%ホルマリンを用いて灌流固定し試料を採取した。静脈内投与を行った細胞の全身臓器への分布を評価するために、肺、肝、小腸、脾臓を摘出し組織標本を作製して免疫組織化学的染色を行い抗BrdU抗体陽性細胞の観察を行った。静脈内投与した細胞の骨創治癒部での局在を知るために、頭頂骨を摘出し10%EDTA液で脱灰後、組織標本を作製した。免疫組織化学的染色の後、骨創治癒部位での抗BrdU抗体陽性細胞の局在を観察した。

②静脈内注入前および静脈内注入後のADSCsの機能発現に関する検討

in-vitroにおいては、培養ADSCsの骨形成細胞への分化および老化に関する遺伝子発現の検討を行った。細胞の骨芽細胞への分化能に関しては、BMSC-P2（継代数2）、P8（継代数8）およびADSCs-P2、-P8を評価した。骨分化能は骨分化マーカーRunx2、オステオカルシンの発現量をReal-time PCR法を用いて測定した。各細胞の老化に関してはP16遺伝子の発現量を解析した。

In-vivoにおいては、ラット頭頂部に形成した骨欠損部での血管および骨形成に関するタンパク発現を免疫組織学的染色を行い検討した。

【結果】

静脈内投与細胞の肺、肝、骨髄等の組織での分布

小腸にわずかであるがBrdU陽性細胞を認めたが、肺、肝臓、脾臓には陽性細胞はみられなかった。

静脈内投与後の骨創部での局在の免疫組織化学的評価

静脈内投与後2日目では、骨創周囲にはBrdU陽性細胞はみられなかった。静脈内投与後7日目では、新生骨形成部内部に多数のBrdU陽性細胞がみられた。陽性細胞は新生骨新生骨内部で骨細胞様および血管腔に局在して血管内皮様であった。新生骨の脳硬膜側表面には骨芽細胞様に陽性細胞が配列する例が見られた。骨欠損部内部には明らかな陽性細胞はみられなかった（写真1,2）。

静脈内注入前および静脈内注入後のADSCsの機能発現

培養ADSCsの骨形成細胞への分化および老化に関する遺伝子発現の検討

Runx2遺伝子の発現では、ADSCsはBMSCと比較して継代を続けても発現量の低下が少ないことが示された。オステオカルシンに関しては骨芽細胞分化誘導培地での培養48時間以内の発現はみられなかった。P16遺伝子の発現に関しては同じ継代数ではBMSCに比較してADSCsは発現量が多かった。同じ培養条件および継代数では、ADSCsに比較してBMSCは細胞老化しにくいことが示唆された。

骨欠損部での血管および骨形成に関するタンパク発現の検討

ADSCs 静脈内投与1週間後 免疫染色写真

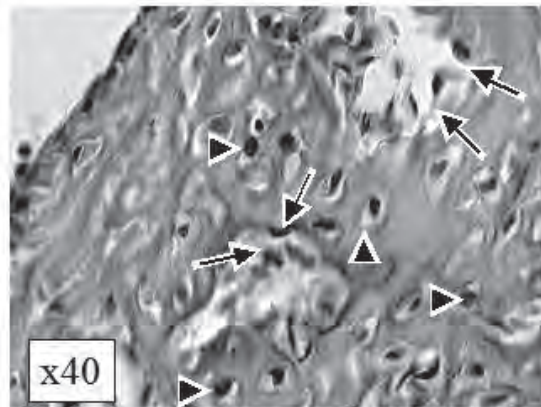
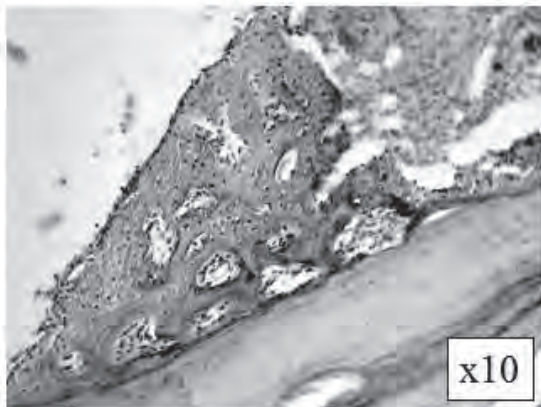


写真1 新生骨形成部にのみ多数の抗BrdU抗体陽性細胞がみられる。

写真2（拡大像） 矢印は血管壁の陽性細胞を示す。矢頭は新生骨内の陽性細胞を示す。

オステオカルシン、TGF β および PDGF は対照と実験群に差はみられなかった。

【考 察】

今年度は、静脈内投与した ADSCs の骨創部での局在を知り、その機能を明らかにすることを目的に本研究を行った。

ADSCs の静脈内注入が骨創の治療を促進する機序の一つとして、注入した細胞が骨創に集簇した後、骨形成細胞に分化して機能する可能性があると考えられた。さらに集簇した ADSCs は骨形成の場において、骨形成細胞分化だけでなく血管形成に関与する細胞へも分化することが示唆された。以上から、静脈内投与した ADSCs は骨創部において骨形成のみならず骨創の治療に関与するあらゆる細胞に分化するなど直接的に作用していると考えられた。近年、移植した細胞によるパラクライン作用に関して報告がなされている。今回の研究では、骨創治療部でのパラクライン作用に関しては明らかにできなかった。

今後、本研究の継続により ADSCs を利用した骨再生治療を低侵襲手術および新たな治療法開発に発展させたいと考えている。

18) 血清シスタチン C 免疫学的測定法の標準化

—血清マトリックススペースの標準品の作製

研究代表者 赤坂 和美

シスタチン C (cys C) は分子量 13,000 の塩基性低分子蛋白質である。近年、内因性 GFR のマーカーとして臨床利用が拡大し、また心血管障害のリスク因子、生命予後の予測因子としても注目されている。その測定は抗原抗体反応に基づく免疫学的測定法による。これまで測定値が測定法間で乖離が見られたが、2010 年に国際標準物質 ERM-DA471 の登場により測定の標準化が進められかなり改善が得られている。この成果も相まって、日本人の eGFR_{cysC} が設定された。しかし先年実施された ERM-DA471 から各社検量物質への値づけにおいてこの国際標準品、検量物質、患者血清との間に免疫学的反応性に比例互換性がわずかに異なる測定法が散見された。そこで新たなプロトタイプ多目的参照標準品 (new ProBio-S) を作製して基本性能を確認し、さらにこれを用いて乖離の原因を探求した。

【方 法】

プロトタイプ参照品作製

概要は図に示す。既に確立された方法に従ってこれまで共同開発してきた、日水製薬に指導して作製した。すなわち ERM-DA471 に準じて native cys C (NovaTeinBio, Lot# P-110104, USA), native beta 2-microglobulin (NovaTeinBio, P-110104) を加えて凍結乾燥仕上げのプロトタイプを作製した。既に購入済みの米国人プール健常者血清遠心後、再度脱脂処理したものを材料に、補体 C3 成分を活性化して C3a 変換、透析後へペスバッファーに至適条件で透析して置き換えた。測定法は Beckman AU680、測定試薬は Nittobo 社を用いた。なお購入の時点で、病原微生物の安全性は確認している。

多目的参照標準品に評価検討

ERM-DA471, 以前作成した recombinant cysC (オリエンタル酵母、滋賀) を添加作製した ProBio-S, 患者プール血清、検量物質について複数回測定して精度、希釈直線性を評価した。

糖化影響効果実験

全てを無菌的に実験した。リン酸バッファーに glucose 600 mg/dl, 300 mg/dl, 100 mg/dl, 0 mg/dl 添加しここに recombinant cysC を最終濃度 5 mg/L になるよう調整し 37°C の条件下で 21 日間培養した。0 日、7 日目、14 日目、21 日目に採取し溶液中の cysC を Nittobo, Eiken, Siemens, Beckman, BioLinks に依頼測定した。糖化指標として Carbonylmethyl lysine (CML) を MBL 社で測定した。

その他の蛋白成分の測定

主な蛋白成分についても Beckman により測定した。



図 1 New ProBio-S

【結果、討論】

Beckman AU680 に関しては上記成分の 5 回連続測定精度の CV 値は ERM-DA471 原液で 3.0%、標準液原液で 0.3%、最高値試料で ProBio-S 0.29% , ProBio-S II 0.35% できわめて良好であった。一方希釈試験では上記の試料、自身の検量線も含め測定値 / 予測値の幅は 0.98 ~ 1.2 ときわめて優れた性能を有することが示された。このことは少なくともこのシステムにおいては、精製 native、サンプルの cys C、recombinant に関わらず測定システムは大きく影響を受けることなく測定可能であることが示された。

1 ml の精製水に溶解後の 24 時間まで一定の時間で測定を行ったが、変動幅は CV で 0.79% に過ぎず、きわめて高い安定性を示した。一方長期安定性は、半年後の測定値は 3 回測定で 5.40 mg/L、標準偏差 0 ときわめて高い長期安定性を示した。なお安全性は購入時点で保障されている。以上のことから、本標準品が新たなシスタチン C 研究に有用であることが示された。

糖化の影響効果の検索に、グルコースを添加し反応性を検討した。非特異的吸着を抑える無菌の超親水性チューブが現在市販されていない、 γ 線照射装置も利用が困難な状況で、さらに CML 測定を目的とするために BSA の添加ができないなどの理由から、超親水性チューブを熱処理して、通常の phosphate buffer をやむなく用いた。予想外に吸着は強く 5 mg/L に調整して 0.5 mg/L 程度まで低下した。容器の熱処理による機能の変化、バッファの選択、蛋白調整濃度調整、希釈用のピペットへの吸着などの問題がある。

このような測定結果の信頼性に課題は残すが、いずれの測定法においてもグルコース濃度 600 mg/dl では 0 mg/dl (コントロール) と比べ、顕著な低下を示し 21 日目は感度限界以下となり、Western blots でもこれを支持するデータを得た。すなわち初日と 14 日目では糖に暴露された cys C はコントロールと比べ反応強度の低下を示し抗原決定位の修飾作用の可能性も疑われた。CML の定量結果ではグルコースが 300 mg/dl 濃度で増加の傾向がわずかに認められるが、ほとんどが感度以下であり確定的ではなかった。今後、より高い濃度設定での検討が必要となる。Western blots に見られるように反応性の増強が添加群には認められる。これは非特異的吸着も含め安定化に糖が作用している可能性がある。非特異的吸着影響を抑え本来の作用を特異的

に検出できる至適条件の設定が必要となる。とりわけバッファの作製がもっとも重要な課題となる。

本標準品はヒト血清ベースとしており、主要蛋白成分はその構造、抗原性が血清に近似している。そこで日常検査で使用される主な成分について測定した。溶解直後、4°C 保存でも 24 時間までいずれも高い安定性が示され検査室内、検査室間のコントロール、サーベイ調査などへの利用の可能性も示された。

シスタチン C 測定標準化を目的に多目的標準物質 (ProBio-S) を作製した。安定性、安全性も含め標準物質として求められる条件を満たしており、本標準物質を用いて測定標準化を推進し問題解決に当たりたい。

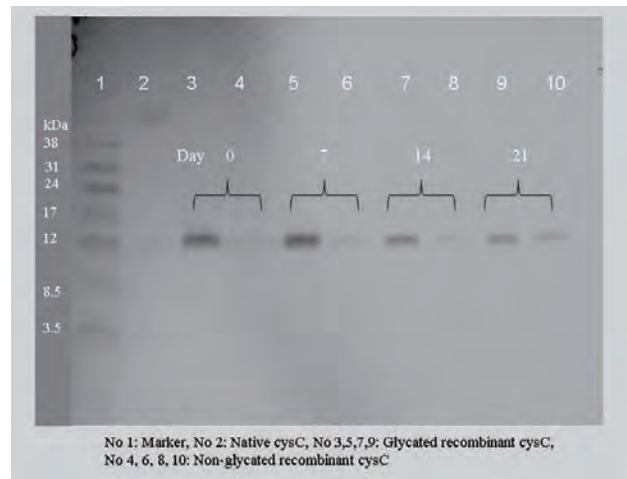


図 2 Western blots による抗原解析

参考文献

シスタチン C の基礎と臨床 臨床病理 60 ; 760-778、2012.

謝 辞

本研究の実施にあたり伊藤 喜久教授の指導をいただきました。作製、測定検討にご協力いただいた研究施設、関連会社に深謝します。

19) 中学生の脳死・臓器移植に関する意識調査

研究代表者 森 浩美

【背景と目的】

2010年7月、「臓器の移植に関する法律の一部を改正する法律（以下、改正法）」が全面的に施行され、15歳未満の子どもの意思が不明な場合でも親の同意があれば脳死での臓器提供が可能となった。「児童(子ども)の権利に関する条約」では子どもの意見表明権や思想・良心・宗教の自由を保障し、日本は1994年に批准している。けれども、日本の脳死臓器移植に関する世論調査の多くは20歳以上を対象に行われ、15歳未満の子どもの意識に焦点をあてた研究は少ないという現状である。本研究の目的は、中学生の脳死臓器移植に関する意識を明らかにすることである。

【研究方法】

1. 研究対象者：北海道、道北・道央地区の中学生
2. 調査期間：2012年7月～9月
3. 調査方法：無記名、自記式郵送調査。調査票は中学校長を通じて配布し、個別郵送法により研究者が直接、回収した。
4. 調査内容
 - 1) 対象者の基本属性：性別、年齢、現在の健康状態、「児童の権利に関する条約」を知っているか否か
 - 2) 入院経験、通院経験、葬式・通夜参列経験、身近な人の死別経験、看病経験などの有無
 - 3) 脳死臓器移植に関する質問：①脳死または臓器移植という言葉聞いた経験、②脳死臓器移植について学校の先生、友達、親と話した経験、①②の回答は「ある」「ない」の2段階、③脳死または臓器移植への関心、回答は「とてもある」から「全くない」の4段階で求め、「とてもある」「少しある」を「ある」、「あまりない」「全くない」を「ない」として分析した。④脳死臓器移植についての考え（内閣府世論調査を参考に作成）、回答は「とてもそう思う」から「全く思わない」の4段階で求め、「とてもそう思う」「思う」を「思う」、「思わない」「全く思わない」を「思わない」として分析した。⑤改正法を知っているか否か、回答は「知っている」「知らない」の2段階、内容に対する賛否、回答は「賛成」「反対」の2段階で求めた。
5. 分析方法：統計解析ソフト SPSS Statistics 20

を用いた。記述統計およびX²検定にて分析した。

6. 倫理的配慮：調査票に親用研究説明書を添付し、親の同意を得てから回答するように中学校長を通じて対象者に伝えた。対象者と親に調査に協力するか否かは自由、匿名性の確保、学校の成績に影響しないなどについて書面で説明し、調査票の回収をもって対象者と親双方の同意が得られたものとした。本研究は旭川医科大学倫理委員会の承認を得て実施した。

【結果】

中学校長へ配布した1370部を中学生への配布数とし、231名から回答が得られた（回収率16.9%）。そのうち基本属性に関する回答がなかった1名を除外し、230名を分析の対象とした（有効回答率99.6%）。

1. 対象者の基本属性

対象者の基本属性は表1に示す。自分の健康状態については「とても良い」102名、「良い」119名、「悪い」7名、「とても悪い」2名であった。「児童の権利に関する条約」については「知っている」39名、「知らない」191名であった。

2. 病気経験や死別経験などの有無

入院経験や定期通院経験などの有無についての結果は表2に示す。

3. 脳死臓器移植という言葉の認知と会話した経験

脳死臓器移植という言葉聞いた経験や会話した経験についての結果は表3に示す。

4. 脳死臓器移植に関する考え

脳死臓器移植に関する考えについての結果は表4に示す。

「脳死での臓器提供を親が判断すること」と「脳死臓器移植に関する対象者の考えを親は知っているか否か」との関連についてX²独立性の検定を行った。その結果、 $p = 0.022$ で有意な関連（ $X^2 = 5.260, df = 1, p < 0.05$ ）があり、「親は対象者の考えを知っていると

表1 対象者の基本属性

	性別		合計
	男性	女性	
1年生	35	44	79
2年生	22	34	56
3年生	40	55	95
合計	97	133	230

表2 病気や死別などの経験

	ある		ない		合計 n
	n	%	n	%	
1. 今までに入院したことがあるか	123	53.5	107	46.5	230
2. 病気やけがなどで定期的に通院したことがあるか	110	47.8	120	52.2	230
3. 一緒に暮らす家族に病気の人があったことがあるか	93	40.4	137	59.6	230
4. 病気の人への看病をしたことがあるか	43	18.7	186	80.9	229
5. 葬式や通夜、墓参りに行ったことがあるか	224	97.4	6	2.6	230
6. 肉親や親しい人を亡くした経験があるか	153	66.5	76	33.0	229
7. 大切に育てた生き物が死んでしまった経験があるか	137	59.6	93	40.4	230

表3 脳死臓器移植という言葉聞いた経験と会話した経験

	ある		ない		合計 n
	n	%	n	%	
1. 脳死という言葉聞いたことがあるか	207	90.9	23	10.0	230
2. 臓器移植という言葉聞いたことがあるか	224	97.4	6	2.6	230
3. 親と話したことがあるか	64	27.8	166	72.2	230
4. 友達と話したことがあるか	20	8.7	210	91.3	230
5. 学校の先生と話したことがあるか	12	5.2	218	94.8	230
6. テレビや新聞、本などで聞いたことがあるか	204	88.7	26	11.3	230

表4 脳死臓器移植に関する考え

質問内容	ある		ない		合計 n
	n	%	n	%	
1. 脳死について関心があるか	100	43.5	130	56.5	230
2. 臓器提供について関心があるか	106	46.1	123	53.5	229
	思う		思わない		合計 n
	n	%	n	%	
3. 心臓が動いていても脳が動かなくなったら人の死と認めて良いと思うか	72	31.2	158	68.7	230
4. 心臓が止まったら人の死と認めて良いと思うか	181	78.7	48	20.9	229
5. 心臓が動いていても脳死と認められたら臓器を提供しても良いと思うか	119	51.7	108	47.0	227
6. 心臓が止まったら臓器を提供しても良いと思うか	160	69.6	68	29.6	228
7. あなた自身は臓器提供を受けたいと思うか	161	70.0	67	29.1	228
8. あなたの気持ちを確認できない場合は脳死での臓器提供はして欲しくないと思うか	126	54.8	103	44.8	229
9. あなたの気持ちを確認できない場合は脳死での臓器提供は親が判断しても良いと思うか	136	59.1	93	40.4	229
10. あなたの脳死臓器移植についての考えを親は知っていると思うか	90	39.1	139	60.4	229

思う」と考え、かつ「脳死での臓器提供は親が判断しても良いと思う」者と、「親は対象者の考えを知らないと思う」と考え、かつ「親に判断して欲しくないと思う」者が有意に多かった(表5)。

5. 改正法の認知と賛否

改正法に関する考えについての結果は表6に示す。「法律内容の賛否」と「脳死臓器移植に関する対象者の考えを親は知っているか否か」との関連についてX²独立性の検定を行った。その結果、p = 0.016で有意な関連(X² = 5.760, df = 1, p < 0.05)があり、「親

表5 親が判断しても良いと親は対象者の考えを知っている

		親は対象者の考えを知っている		合計
		思う	思わない	
脳死での臓器提供は親が判断して良い	思う	度数 61	74	135
		調整済み残差 2.3	-2.3	
	思わない	度数 28	65	93
		調整済み残差 -2.3	2.3	
合計		度数 89	139	228

表6 改正法の認知と賛否

質問内容	知っている		知らない		合計
	n	%	n	%	n
1. 「改正臓器移植法」という法律を知っているか	27	11.7	202	87.8	229
2. 法律では本人の意思が確認できない場合でも、親の同意があれば15歳未満の子どもから脳死での臓器提供ができるようになっているがそのことを知っているか	38	16.5	192	83.5	230
3. 上記2の法律内容についてどのように思うか	賛成		反対		合計
	n	%	n	%	n
	110	47.8	115	50.0	225

表7 親は対象者の考えを知っていると法律内容の賛否

		度数	法律内容の賛否		合計
			反対	賛成	
親は対象者の考えを知っている	思う	度数	37	53	90
		調整済み残差	-2.4	2.4	
	思わない	度数	77	57	134
		調整済み残差	2.4	-2.4	
合計		度数	114	110	224

は対象者の考えを知っていると思う」と考え、かつ「法律の内容に賛成する」者と、「親は知らないと思う」と考え、かつ「法律の内容に反対する」者が有意に多かった(表7)。

【考察】

中学生は脳死や臓器移植という言葉を知ったことがあっても、親と話をしたことがある者は3割弱であり、親との会話において脳死臓器移植はあまり話題にならないことが示された。

また、中学生の4割弱は自分の脳死臓器移植に関する考えを親は知っていると思うと回答していた。そして、中学生は親が対象者の考えを知っていると思うほど対象者の臓器の提供は親が判断しても良いと考える傾向があった。この結果は、中学生が脳死臓器移植に関する意思を明確に持ち、その意思を親に伝えることの重要性を示唆しているといえる。

その一方で、中学生の中には親は対象者の考えを知らないと思うが、対象者の臓器の提供は親が判断しても良いと考える者もいた。その理由については明らかにできなかったが、思春期は親との関係において自立

と依存が共存する時期であるため、このような発達段階の特徴が結果に影響していることも考えられる。

さらに、脳死臓器移植に関心があると回答した中学生は約50%に留まり、改正法については殆どの中学生が知らないと回答していた。この結果は中学生の脳死臓器移植に対する関心の低さや学習の機会の少なさを表している。

今後はさらに調査を進め、中学生の意識を詳細に明らかにすると共に、法律内容の周知など中学生が現状を理解し、明確な意思表示ができるような教育的取り組みを検討することが課題であると考えられる。

20) トリプトファン代謝酵素からみた「こころ」と精神疾患の分子機序の解明

研究代表者 金井 将昭

【研究背景】

近年、社会情勢の悪化等から、うつ病や不安症等の精神疾患が増加しており、大きな社会問題となっている。しかし、これらの精神障害の詳細な病態機序の解明には至っておらず、こころの理解と効果的な治療法の開発が切望されている。一方で、古くからバランスの良い食事と適度な運動は健全な精神発達や精神状態の維持に重要である事が知られている。私達は、情動と密接に関係する食事(栄養)、特に必須アミノであるトリプトファン(Trp)の代謝系に注目している(図1)。うつ病治療薬として、選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)が一定の効果を示す事からも、セロトニン(5-HT)を含めたTrp代謝系が精神疾患の病態機序に寄与する事が推測される。一方で、SSRI等の治療に抵抗する例も数多く存在し、その理由としてTrp代謝系の5%未満を担う5-HT経路が標的となっており、Trpの大部分(90%以上)を代謝す

るキヌレニン (Kyn) 経路を標的とする薬剤の開発が遅れている事が挙げられる (図1)。

近年、Kyn 経路の主代謝物である Kyn の様々な生理機能が明らかになりつつある (図1)。特に、①インターフェロン (IFN) 治療の副作用の一つであるうつ様症状の発症と血中 Kyn 量の増加が相関する事や、② Kyn の腹腔内投与によってうつ様行動が引き起こされる事から、「IFN 惹起性うつ病発症と血中 Kyn 量の増加」との関連性が注目されている。しかし、Kyn 産生の律速段階には Tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO、主に肝臓に発現) と Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO、肝外組織に発現) の2つの酵素が存在するため (図1)、生体内でどちらの酵素が Kyn 産生に重要であるのか?、IFN 惹起性うつ病の発症に重要であるのか? は不明であった。

本研究では、生理的条件下ならびに IFN 投与時における血中 Kyn 量の調節に対する TDO と IDO の *in vivo* での役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】

TDO と IDO の各々の遺伝子欠損マウスならびに野生型同一腹仔を、ヘテロマウス同士の交配によって産出し、15-18 週齢の雄マウスを実験に供した。生理的食塩水またはマウス IFN- γ (5×10^4 IU/head) を各マウスに腹腔内投与し、24 時間後に血漿、肺、肝臓を採取した。C57Bl/6J マウスに四塩化炭素 (CCl₄) を投与し、急性肝炎モデルを作製し、経時的に肝臓ならびに血漿を採取した。また Trp 負荷実験として、C57Bl/6J マウスに生理的食塩水ならびに IFN- γ をプレ投与した後、24 時間後に3種類の濃度の Trp 溶液 (0, 5, 10 mg/kg) を尾静脈投与し、1 時間後に血漿と肺を採取した。Real-time RT-PCR、Western blot 法、酵素活性測定法を用いて、各マウス群の TDO (肝臓) ならびに IDO (肺) の発現変化を解析した。また血中 Trp 代謝物は HPLC-UV/FLD を用いて解析した。

【結果】

生理的条件下 (図2-1) : TDO-KO マウスでは野生型同一腹仔に比べて、血中 Trp 量ならびに Kyn 量が顕著に増加した。一方で、IDO-KO マウスは、野生型に比べて顕著に血中 Kyn 量が減少したが、血中 Trp 量は変化しなかった。

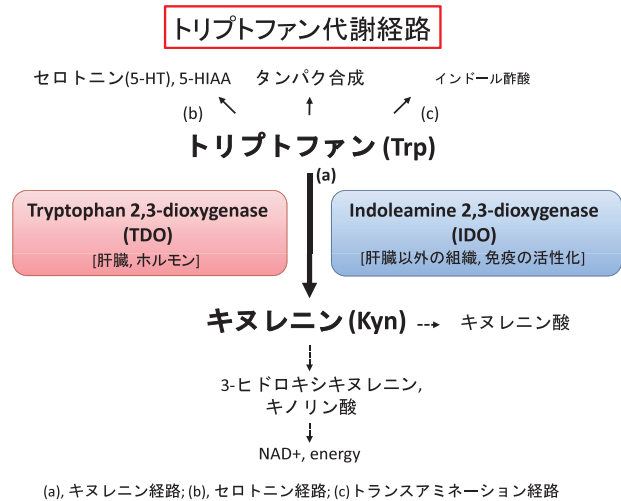


図1

【2-1. 生理的条件下】

vs 野生型マウス

	Trp	Kyn
TDO-KO	↑↑ (x10)	↑ (x2)
IDO-KO	→	↓ (70% down)

【2-2. IFN- γ 投与】

vs 同一-genotype saline投与群

	Trp	Kyn	肺IDO活性	肝TDO活性
WT	↓	↑	↑	→
TDO-KO	↓	↑*	↑	n.d.
IDO-KO	→	→	n.d.	→

*WTに比べてTDO-KOのKynは有意に高値 n.d., 検出不可

【2-3. CCl₄誘発急性肝炎時】

vs 肝炎発症前

	Activity	mRNA	protein
肝臓TDO	↓	↓	↓

【2-4. Trp負荷実験】

血中KYNレベル (肺IDO活性)

	Trp0	Trp5	Trp10
saline	(+)	↑ (+)	↑↑ (++)
IFN	↑↑ (++)	↑↑↑ (+++)	↑↑↑↑ (++++)

図2 結果のまとめ

IFN- γ 投与 (図2-2) : マウス IFN- γ (5×10^4 IU/head) を投与して24時間後には、IDO-KO マウス除くすべての群で、肺の IDO 活性が顕著に増加したが、肝臓の TDO 活性はすべての群で変化しなかった。この時、野生型ならびに TDO-KO マウスでは血中 Trp 量が減少し、血中 Kyn 量が増加した。一方で、IDO-KO マウスでは血中 Trp 量ならびに Kyn 量は変化しなかった。また、IFN 投与後の野生型と TDO-KO マウスの血中 Kyn 量の増加を比較すると、IFN による肺 IDO の活性化は同程度であるにも関わらず、TDO-KO マウスの血中 Kyn 量は有意に増加する事が明らかになった。

CCl₄ 誘発急性肝炎 (図 2-3) : CCl₄ 投与後 24 時間で肝傷害の指標である ALT が顕著に増加し、72 時間まで持続した。CCl₄ 誘発性急性肝炎時 (投与後 24-72 時間) には、肝臓の TDO 活性、TDO 蛋白質 / Tdo mRNA の発現量が減少することが明らかになった。

Trp 負荷実験 (図 2-4) : 生食プレ投与群の各マウス間の肺 IDO 活性には差がないにもかかわらず、投与した Trp 量に依存して血中 Kyn 量が増加した。また、IFN- γ プレ投与群についても、肺の IDO 活性化は各マウスで同程度誘導されるにもかかわらず、投与した Trp 量に依存して有意に血中 Kyn 量が増加した。

【考 察】

1. 生理的条件下 (図 3) : TDO (肝臓) が主に血中 Trp 量を調節する。その Trp 量に応じて、IDO (肝外組織) が血中 Kyn 量を調節することが明らかになった。
2. IFN- γ 投与 (図 4) : IFN- γ 投与による肝臓 TDO の修飾は軽微であるが、IDO は肺 (肝外組織) で顕著に活性化される。そのため、肝外組織の IDO による Trp から Kyn への代謝が増加し、血中 Kyn 量が増加する。IFN- γ 投与による血中 Kyn 量の増加には、IDO の活性化が必須である。
3. 肝炎時 : 肝炎時には肝臓の TDO 活性が減少する。そのため、肝臓での Trp 代謝が減少し、血中ならびに肝外組織への Trp 流出が増加し、肝外組織での

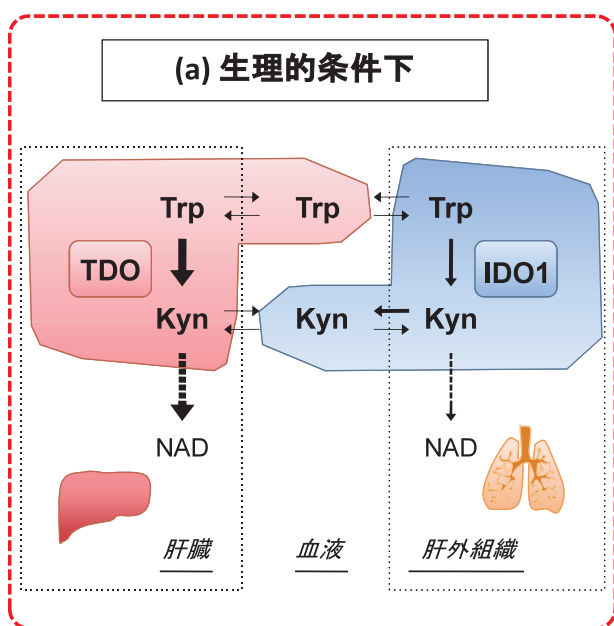


図 3

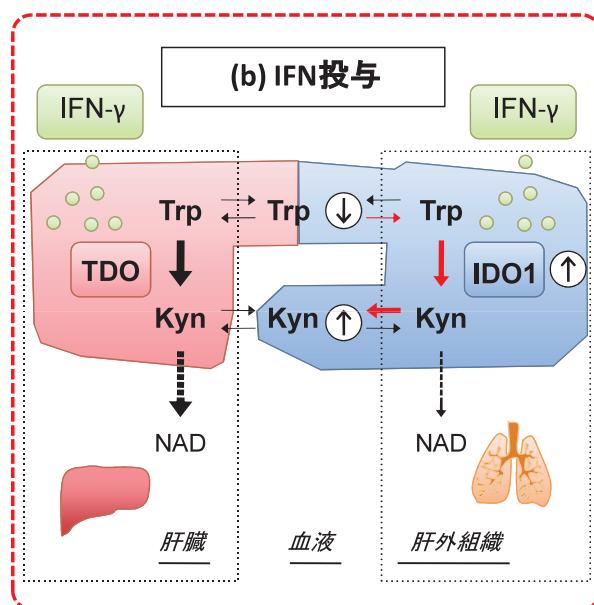


図 4

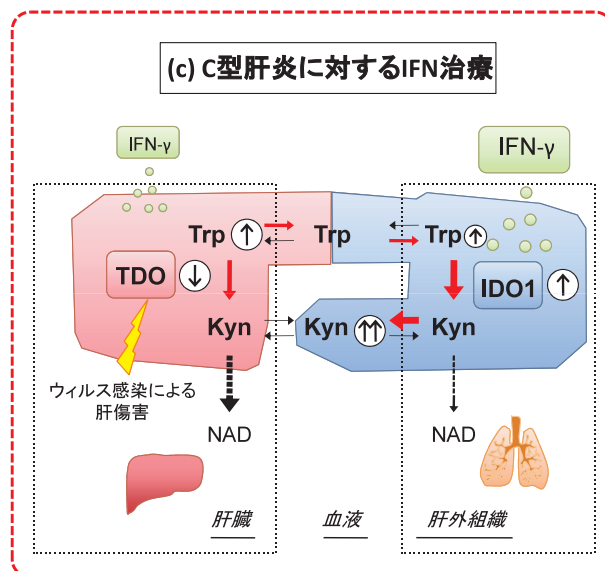


図 5

Kyn 産生を促進する可能性が示唆された。

4. Trp 負荷試験 : IDO 活性が同程度の場合、投与された Trp 濃度に依存して、血中 Kyn 量が増加する事が明らかになった。TDO-KO マウスへの IFN- γ 投与実験の結果と合わせて考えると、血中 Kyn 量の制御には、IDOに加えて、血中 Trp 量とそれを主に制御する TDO も重要である事が示唆された。

以上から、TDO と IDO は、血中 Kyn 量の制御に異なる役割を担っている事が明らかになった。IFN 治療が適応される C 型肝炎では、肝傷害によって TDO 活

性が減少し、それに伴い血中や肝外組織への Trp 流入と Kyn 産生が亢進しやすい環境である事が予想される。IFN 治療が開始されると、肝外組織の IDO が活性化し、さらに Kyn 産生が亢進する事が予想された(図5)。以上から、血中 Kyn 量増加 (IFN 惹起性うつ病) のリスクファクターとして、IDO の活性化、肝臓 TDO 活性の低下、ならびに血中 Trp 量の増加に注意する必要性が唆された。今後、本研究結果を基盤として、「生理的なうつ様行動」や「IFN 惹起性うつ病」に TDO と IDO が寄与するかについて検討したい。

【謝 辞】

本研究は旭川医科大学教育研究推進センター センター長・船越教授ならびにセンター職員の皆様に御協力頂き実施しました。大阪大学 中村敏一教授、川崎医科大学 刀祢教授、大山先生にも御協力頂きました。本研究の一部は平成 23 年度「独創性のある生命科学研究」の御支援により可能になったものです。深く御礼申し上げます。また本成果によって鈴木紘一メモリアル賞 (2011 日本生化学会) を受賞致しました。

21) 量子力学的境界の実現法とカシミール効果の考察

研究代表者 藤井 敏之

[背景と目的]

物体の運動は、その物体のスケールによらず、古典力学によって厳密に記述できると信じられてきた。しかしながら、19 世紀後半から、20 世紀初頭にかけて発見された様々な実験事実により、特に電子や原子のような微視的物体の運動には古典力学では記述できない揺らぎを伴うことが明らかとなった。このような微視的な物体の運動を記述するために発展してきたのが量子力学である。量子力学を用いてはじめて記述できる運動の揺らぎは、量子揺らぎと呼ばれ、古典力学では予想されなかった様々な量子効果を引き起こすことが明らかにされてきた。この量子揺らぎの存在により、我々は微視的な物体の運動に対する理解のみならず、それまで何もない空間であると考えられてきた、真空に対する理解もまた変更を強いられることとなった。揺らぎを取り入れた量子力学的真空は、もはや何もない空間ではなく、絶えず生成と消滅を繰り返す様々な粒子で満たされた空間であると解釈される。この真空

中の粒子の生成と消滅は真空容器の境界壁面に力が作用することを通して観測でき、カシミール効果と呼ばれる(図1)¹⁾。この効果において境界を規定する壁は、これまで古典的なものとして扱われてきた。しかしながら、近年の実験技術の向上により、電子や原子よりもはるかに大きな物体の運動においても、量子力学的効果を観測することが可能となった。量子力学的描像に基づくならば、壁の位置もまた確率的に揺らいでおり、量子力学によって記述する必要がある。このような量子揺らぎを取り入れた境界が、カシミール効果にどのような変更をもたらすのかは自明ではなく、興味を持たれる。そこで本研究では、量子力学的真空境界が引き起こす量子効果を理論的に探索することを目的とする。

[方 法]

これまでに、真空の静的な性質によって引き起こされる静的カシミール効果は、Lamoreaux らによって観測されている²⁾。その一方で、動的効果³⁾については境界壁を光速に近い速さで振動させる必要があるため、未だ観測されていない。そこで近年我々は、実際の真空容器の境界壁を運動させる代わりに、超伝導回路を用いた固体素子上において、動的カシミール効果に類似する現象を実現する方法を提案した⁴⁾。超伝導回路は、実際に境界壁を動かす従来の系に比べて容易に境界を制御することが可能であり、カシミール効果を検証する上で理想的な舞台となると期待される。

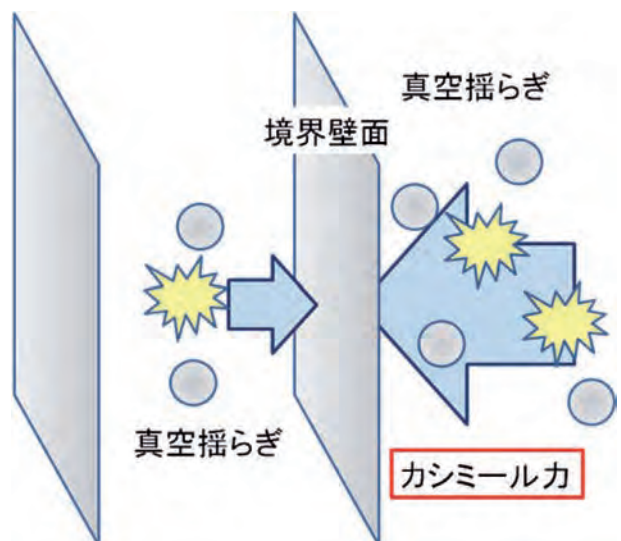


図1 カシミール効果

[結果と今後の展望]

本研究では、超電導回路を用いた固体素子上において、量子力学的に振る舞う仮想的な境界壁を持つ系を提案した。今後は更に、この方法を用いた量子力学的真空境界が引き起こす効果について研究を進めたい。

[引用文献]

- 1) H. B. G. Casimir, *Proc. K. Ned. Akad. Wet.* 51 (1948) 793.
- 2) S. K. Lamoreaux, *Phys. Rev. Lett.* 78 (1997) 5.
- 3) G. T. Moore, *J. Math. Phys.* 11 (1970) 2679.
- 4) T. Fujii, S. Matsuo, N. Hatakenaka, S. Kurihara, and A. Zeilinger, *Phys. Rev. B* 84 (2011) 174521.

22) 血管分岐指数減少の網膜微小循環への影響 : arteriolar narrowing の原因について

研究代表者 高橋 龍尚

[研究の背景と目的]

マイクロオーダーの微小循環領域では、赤血球の振る舞いがミリオーダーの血管内を流れる場合とは異なる特性を示す。その流れの特徴は、赤血球の血管中心軸への移動（シグマ効果）と血漿の流れよりも赤血球の流れが速くなる現象である。これらの現象により微小循環内では、血液の粘性は減少する。これを Fåhræus-Lindqvist effect と呼び、微小循環では機能のうえで重要な役割を果している。我々の先行研究 (Takahashi et al., 2011) では、Fåhræus-Lindqvist effect の生理学的意義を評価するためにシミュレーション実験を行い、コスト関数を用いて微小循環ネットワーク内の血液輸送効率を定量的に評価した。その結果、Fåhræus-Lindqvist effect により血液輸送効率は、その効果が無いものに比べ 44% 効率が良いことが示された。また、血管壁周応力のフィードバック制御の観点からは、粘性による血管抵抗の増加に伴い細動脈側での血管収縮と細静脈側での血管拡張現象が予想された。この現象は、高血圧や動脈硬化時に見られる arteriolar narrowing、nicking、や venular dilation の臨床所見と呼応しているように見える。このことから、流れの血管抵抗に寄与する血管径の変化が微小循環にどのような影響を与え、またその生理学的意義について調査することは、予防・診断・治療効果と評価の面で有用な情報となることが期待される。そこで本研究で

は、網膜微小循環ネットワークモデルを基に血管径の変化が循環動態にどのような影響をもたらすかを数値シミュレーション法を用いて調べた。

[方法]

フラクタル性を有する微小循環血管ネットワークは、2 又対称分岐構造 $r_p^m = r_d^m + r_d^m$ とする。ここで、 r_p, r_d は親血管、子血管の内径を、 m は分岐指数を示す。具体的には、 $r_p^{2.85} = r_d^{2.85} + r_d^{2.85}$ (Takahashi のモデル) と $r_p^{3.00} = r_d^{3.00} + r_d^{3.00}$ (Murray のモデル) のシミュレーション結果を比較検討する。分岐指数 m (2.85 または 3.00) は、ネットワークの構造を規定する。Takahashi のモデルでは、分岐指数 2.85 はフラクタル次元 (1.70) と分岐間距離を与える $l = 7.4r^{1.15}$ のブランチ指数 1.15 の合計である。Murray の分岐指数 3.00 は最適血管モデルより導出される (Murray, 1926)。また、Murray のモデルでは、血管長を $l = 9.084r^{1.00}$ で与える。従って、分岐指数 2.85 の Takahashi のモデルは、3.00 の Murray のモデルに比べ、単位血管長当たりで比較すると血管径が細くなる。また血流動態への影響に焦点を絞るため、ネットワーク全体の血管容積は両モデルで同一になるよう係数 9.084 が決定された。

網膜の血管ネットワークモデルでは、任意の血管枝における血流量 (f_g) と血流速度 (\bar{v}_g) は、次式で与えられる： $f_g(r_g) = \pi r_1^2 v_1 2^{g-1}$ 、 $v_g = v_1 (r_1 / r_g)^2 2^{g-1}$ 。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、 $\mu(r) = 0.043 / (1 + 4.29/r)^2$ は動脈側の血液の見かけの粘性、静脈側 $\mu(r) = 0.046 / (1 + 4.29/r)^2$ である。また、各血管セグメントにおけるヘモダイナミクスは、Poiseuille の式 $\Delta P = 8\mu l f \pi r^4$ より求めた。また、血流に対する血管抵抗は、 $8\mu l f \pi r^4$ と表される。

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 ($d_1 = 2r_1 = 108 \mu\text{m}$) と平均血流速度 ($\bar{v}_1 = 2.055 \text{cm/s}$)、網膜中心静脈直前の細静脈平均直径 ($147 \mu\text{m}$) のみを使用した。ネットワーク全体の計算は、流量の保存則 (conservation of flow) とポワズイユの法則 (Hagen-Poiseuille's law) に従った。詳細は、先行論文に譲る (Takahashi et al., 2009, 2010, and 2011)。

[結果と考察]

Takahashi と Murray の両モデルについて、網膜微小循環ネットワークのトポロジカルな特徴は、細動静

脈ネットワーク共に14世代（オーダー）の血管枝と分岐ポイント、そして 2^{15} 本の毛細血管ネットワークからなる。任意の世代 g における血管枝数は、 2^g 本と表される。細動静脈ネットワーク全体を血液が通過するのに要する“細動静脈平均循環時間 MCT （単に MCT , *mean circulation time*）”は、2.89 秒となった。血管の太さや長さが異なる両モデルで MCT が同じになる理由は、ネットワーク内を流れる総血流量が同じこと、また、ネットワークの総容積が同じことによる。

この関係は、 $MCT = \text{total volume} / \text{input flow}$ と表される。図1は、網膜微小循環ネットワーク内の血流速度と血管径の関係を示している。Murray のモデルでは、血流速度が r^1 に比例するため、血流速度と血管半径は直線関係になる。一方、Takahashi のモデルでは、血流速度が $r^{0.85}$ に比例するため、血流速度と血管半径は幾分曲線を示す。任意の血管サイズにおける血流速度の値は、Takahashi のモデルにおいて Bill (1984) の報告する *in vivo* データとよく一致する。

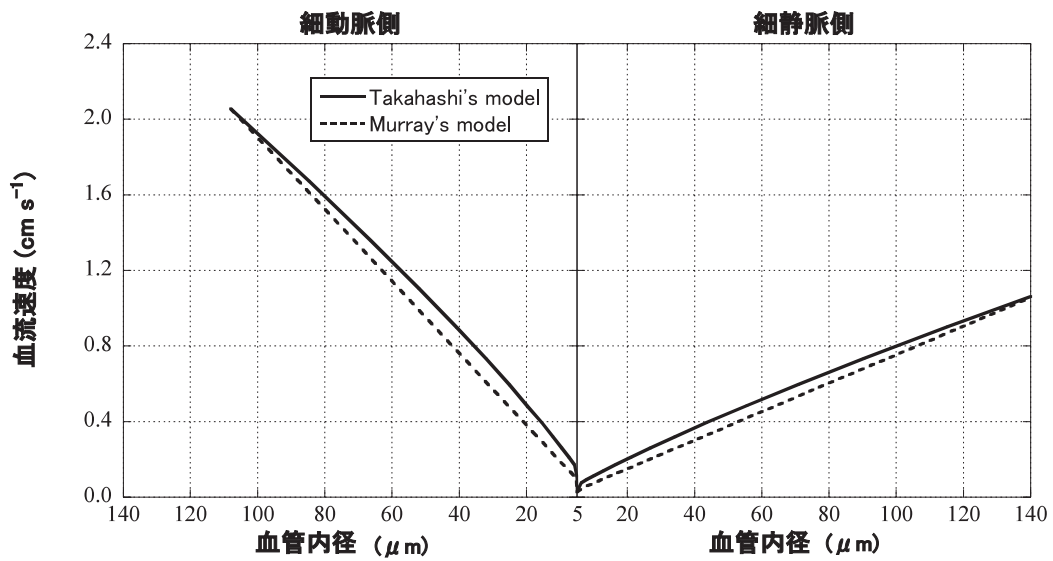


図1 血流速度と血管内径との関係。実線は、Takahashi のモデル ($r_g^{2.85} = r_{g+1}^{2.85} + r_{g+1}^{2.85}$)。点線は、Murray のモデル ($r_g^{3.00} = r_{g+1}^{3.00} + r_{g+1}^{3.00}$)。

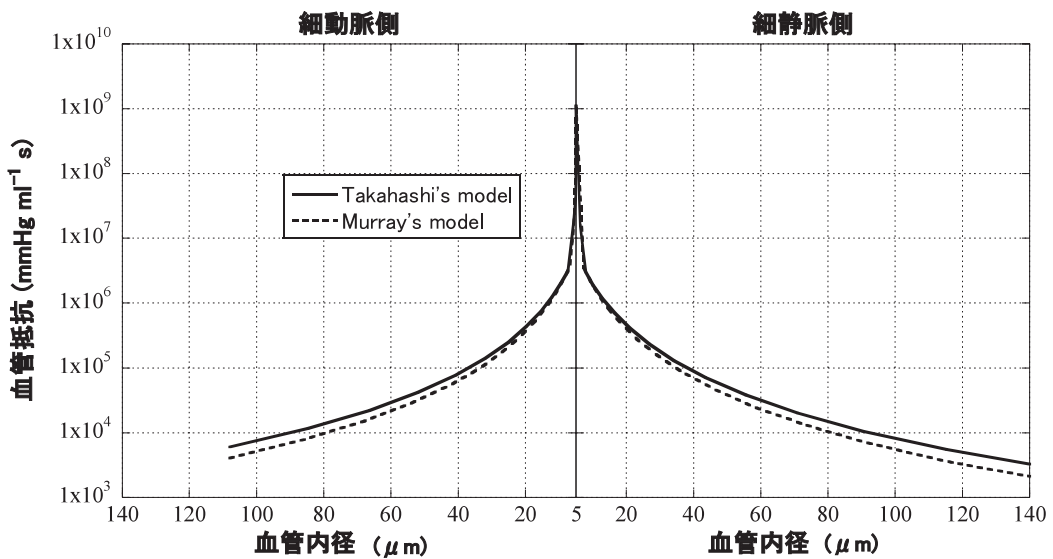


図2 流れに対する血管抵抗と血管内径との関係。実線は、Takahashi のモデル ($r_g^{2.85} = r_{g+1}^{2.85} + r_{g+1}^{2.85}$)。点線は、Murray のモデル ($r_g^{3.00} = r_{g+1}^{3.00} + r_{g+1}^{3.00}$)。

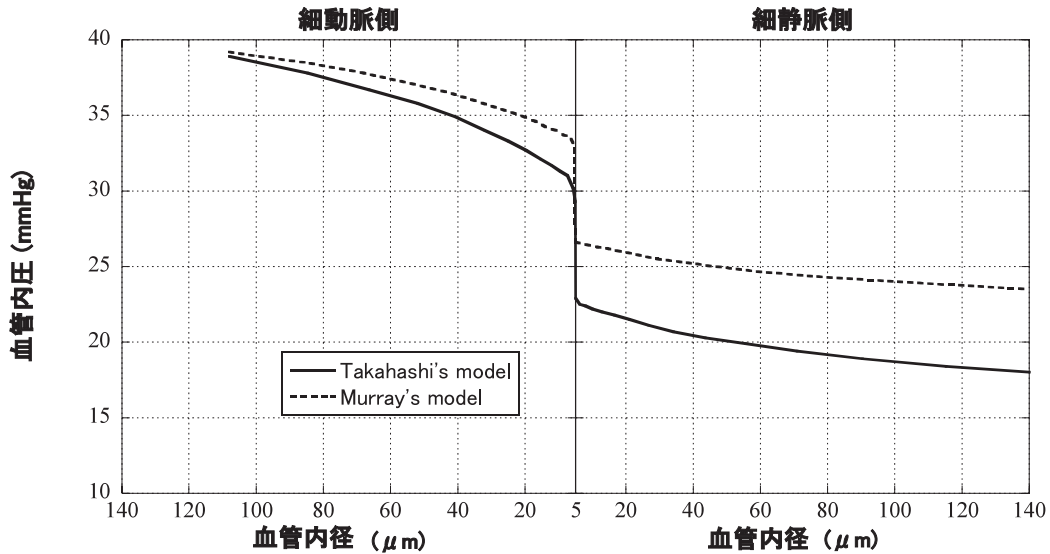


図3 流れに対する血管内圧と血管内径との関係。実線は、Takahashi のモデル ($r_g^{2.85} = r_{g+1}^{2.85} + r_{g+1}^{2.85}$)。点線は、Murray のモデル ($r_g^{3.00} = r_{g+1}^{3.00} + r_{g+1}^{3.00}$)。

図2は、網膜微小循環ネットワーク内の流れの血管抵抗と血管径の関係を示している。両モデル共に血管内径が細くなるに従い細動静脈の抵抗は徐々に増加し、40 μm 付近から急激に増加した。Takahashi のモデルの血管抵抗は、Murray のモデルに比べ20 ミクロン以上の太い血管で僅かに高い値を示した。両モデルの結果は、Zweifach と Lipowsky (1984) のデータに良く一致する。

血管内圧の変化は、細動脈から細動脈末端にかけて緩やかに減少するが、前毛細血管近傍では急激に減少した(図3)。この血圧の減少は、血管径の減少による血管抵抗の増加と血管径依存性に減少する血液の粘性効果(Fåhræus-Lindqvist effect)が主な要因になっている。しかし、前毛細血管では内径が5.1 ミクロンと赤血球サイズに比べ約40%ほど細いため、血管径依存性に減少する血液粘性効果に比べ赤血球の変形と通過による抵抗(inverse Fåhræus-Lindqvist effect)によって、圧損失が顕著になっている。毛細血管ネットワーク以後、静脈系における圧損失は動脈側に比べて低値になっている。毛細血管の径を5 ミクロンに設定したが、後細動脈からの毛細血管の分岐を4分岐並行血管と構成したことにより、後細動脈の断面積に比べ毛細血管網の断面積が大きくなるために圧損失が低く抑えられる結果となっている。Takahashi のモデルでは、平均毛細血管内圧は約25.9 mmHg、Murray のモ

デルの平均毛細血管内圧は29.8 mmHg、共に生理学的数値の範囲内であった。しかし、同一血管径での血圧値の比較では、血管抵抗が高い Takahashi のモデルが Murray のモデルに比べネットワーク全体で低値を示した。

網膜中心動静脈間の圧力差(driving pressure または perfusion pressure)は、網膜微小循環ネットワーク内の血流を維持するために必要な圧力であり、Takahashi のモデルでは灌流圧21 mmHg、Murray のモデルでは灌流圧15.8 mmHgであった。両モデルの灌流圧差は、5.2 mmHg となった。これは、Murray のモデルの平均毛細血管内圧25.9 mmHg が真の値だと仮定した時、網膜微小循環ネットワーク内の同一組織量を同一の血流量によって維持するためには、各世代で相対的に細く長い血管セグメントである Takahashi のネットワークモデルは、Murray のモデルに比べ、平均血圧を約5.2 mmHg 増加させなければならないことを意味する。

臨床的には、血液の粘性が増加する疾患(赤血球増加症、過粘稠血症候群、糖尿病、高血圧症など [Leschke et al., 1990; Razabian et al., 1992])のように、血液の粘性増加に伴う流れの血管抵抗が増加した場合、末梢循環に必要な血流量は灌流圧増加によって維持されなければならない。この時、血管抵抗を減少させる手段として、Poiseuille の式より血管径を拡張させることが考えられるが、本研究の Takahashi のモデルように定

常に血管径が細くなっている場合には、灌流圧増加が唯一の方法となる。生体にとって灌流圧の増減は、毛細血管床での物質交換に最適な血流量と圧の維持が優先されている結果であると考えられる (Renkin, 1984; Zweifach and Lipowsky, 1984)。したがって、毛細血管レベルでの灌流圧や血流量の変動と組織の状態について何らかの方法でモニターすることは、血圧の管理において臨床上重要であることが示唆される。

[結 語]

網膜微小循環ネットワークモデルを基に血管径の変化が循環動態にどのような影響をもたらすかを数値シミュレーション法を用いて調べた。その結果、分岐指数の減少（血管径の減少）したネットワークでは、血管抵抗が増加し各血管セグメントの圧損失が増加した。そのため、毛細血管レベルでの物質交換に最適な灌流圧と流量を維持するには、圧損失に見合う灌流圧の増加が必要となる。臨床応用では、毛細血管床での血圧と血流のモニターが必要であることが示唆された。

[謝 辞]

本研究は、平成 23 年度“独創性のある生命科学研究”研究費助成を頂いた。此に心より感謝申し上げます。

[引用文献]

- Bill, A. Circulation of the eye. In: *Handbook of Physiology. The Cardiovascular System, Microcirculation*, edited by E. M. Renkin, C. C. Michel, and S. R. Geiger. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., sect. 2, vol. 4, chapt. 22, 1984, p. 1001-1034.
- Leschke et al. Blood rheology as a contributing factor in reduced coronary reserve in systemic hypertension. *Am J Cardiol* 65: 56G-59G, 1990.
- Murray, C. D. The principle of minimum work. *Proc Natl Acad Sci USA* 12: 207-214, 1926.
- Razabian et al. Increase in erythrocyte disaggregation shear stress in hypertension. *Hypertension* 20: 247-252, 1992.
- Renkin, E. M. Control of microcirculation and blood-tissue exchange. In: *Handbook of Physiology. The Cardiovascular System, Microcirculation*, edited by E. M. Renkin, C. C. Michel, and S. R. Geiger. Bethesda, MD: Am. Physiol.

Soc., sect. 2, vol. 4, chapt. 14, 1984, pp. 627-687.

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

Takahashi et al. Theoretical analysis of oxygen consumption by vascular walls exposed to hemodynamic stress in the human retinal microvascular network. *Trans Jpn Soc Med Biol Eng* 48: 482-493, 2010.

Takahashi et al. Effects of changes in the apparent viscosity of blood with vessel size on retinal microcirculation: significance of the Fåhræus-Lindqvist effect. *Trans Jpn Soc Med Biol Eng* 49: 533-543, 2011.

Zweifach B. W. and H. H. Lipowsky. Pressure-flow relations in blood and lymph microcirculation. In: *Handbook of Physiology. The Cardiovascular System*, edited by E. M. Renkin and C. C. Michel. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., sect. 2, vol. 4, chapt. 7, 1984, p. 251-307.

23) マウスおよびヒト凍結乾燥精子ゲノムの高温耐性獲得に関する研究

研究代表者 日下部博一

[背景・目的]

哺乳類の精子や細胞を長期間保存する場合、通常は液体窒素による凍結保存が行なわれる。一方、非凍結条件で室温永久保存するための方法として凍結乾燥法が期待できる。しかしながら、マウスの凍結乾燥精子を室温（25℃）で保存した場合、保存開始から1カ月以内で精子の染色体異常が増加する¹⁾。さらに、通常の方法で作製したマウス凍結乾燥精子を50℃で3日間処理すると、DNA 傷害が誘発される^{1) 2)}。本研究では、マウスまたはヒト精子の懸濁液を、多糖類のデンプンまたは耐乾燥剤として知られている二糖類のトレハロースを加えて凍結乾燥した。その凍結乾燥精子に高温ストレス（50℃）を3日間与え、精子 DNA に生じる傷害のレベルを単一細胞ゲル電気泳動法（コメットアッセイ）により調べた。今回はマウス凍結乾燥精子の結果を中心に報告する。

[材料と方法]

1. 精子

7 週齢以上の雄マウス（B6D2F₁）の精巣上体尾部を両側から切除し、2つの切除片を1.2 ml の凍結乾燥

用溶液 [50 mM EGTA + 100 mM Tris-HCl(pH 7.4)]³⁾ に加え、インキュベーション (10 分間、37°C) した。ヒトの精液サンプルは 30 分間インキュベーション (37°C) することによって液化させ、その 0.5 ml を 2 ml の凍結乾燥用溶液を含む 15 ml 遠心チューブの底部に静かに加え、さらに 10 分間インキュベーション (37°C) した。マウスおよびヒト精子ともに、運動精子が豊富な懸濁液の上層から 1 ml を回収し、凍結乾燥に使用した。

2. 化学物質処理と精子凍結乾燥法

マウス精子を凍結乾燥する場合、3 日から 7 日間冷蔵 (4°C) した精子懸濁液に、凍結乾燥用溶液に溶解したトレハロース (Sigma) または馬鈴薯デンプン (ナカライ) を等量加え、その 0.1 ml を凍結乾燥用ガラスアンプル (Wheaton 製) に加えて液体窒素で予備凍結 (1 分) した。ガラスアンプルを凍結乾燥機 (Labconco 製) に装着して真空乾燥 (4 時間、 $40 \times 10^{-3} \sim 80 \times 10^{-3}$ mbar) した後、熔封した。

ヒト凍結乾燥精子の作製には回収した直後の精子懸濁液を用いた。真空乾燥を 1 時間だけ行い、乾燥サンプルにトレハロースと可溶性デンプン (ナカライ) を加えた後、再度凍結乾燥を行った。

必要に応じて、新鮮な精子懸濁液をメチルメタンスルフォネート (MMS) で 2 時間処理 (200 μ g/ml、37°C) することにより、陽性対照群を設けた。

3. DNA 傷害の検出

凍結乾燥精子の DNA 傷害を検出するため、単一細胞ゲル電気泳動法 (コメットアッセイ) の変法^{2) 4)} を行った。凍結乾燥精子を含むガラスアンプルをカットして α -アミラーゼ (ナカライ) 溶液あるいは蒸留水で再加水し、精子懸濁液を得た。50°C の 1% アガロース 70 μ l に精子懸濁液を 30 μ l 加えてよく混和し、スライドガラス上に滴下してカバーガラスをかけた。カバーガラスを除去したスライド標本を細胞溶解液に加えて精子細胞膜やタンパク質を溶解した後、300mM NaOH で 1 分間アルカリ処理を行った。電気泳動は TAE buffer 中で 10 分間 (12V、10 mA) 行ない、精子 DNA の移動を YOYO-1 iodide (インビトロジェン) 染色によって検出した。フリーウェアの解析ソフト (CometScore Freeware version 1.5, TriTek) を用

いて、精子の DNA 傷害のレベル (% tail DNA: percent of DNA in the tail) を測定した。高温ストレス (50°C) を与えた凍結乾燥精子の DNA 傷害性は、Mann-Whitney 検定 ($p < 0.05$) によって新鮮な精子あるいは 4°C で 3 日間冷蔵した凍結乾燥精子と比較された。

[結果および考察]

マウス凍結乾燥精子を 4°C で 3 日間冷蔵した場合、1M トレハロースまたは 2% 馬鈴薯デンプンで作製した凍結乾燥精子は、新鮮な精子および両物質を加えずに凍結乾燥した精子 (無添加) と同等の DNA 傷害レベルを示した (図 1、図 2)。一方、両物質を加えずに凍結乾燥した精子に高温ストレス (50°C) を 3 日間与えると、DNA 傷害レベルが 4°C で冷蔵したときよりも 4 ~ 5 倍に増加した (図 1、図 2)。しかし、1M トレハロースまたは 2% 馬鈴薯デンプンを加えて作製した凍結乾燥精子は、両物質を加えない場合よりも DNA 傷害レベルがおおよそ二分の一程度にまで抑えられたことから (図 1)、両物質には高温ストレスから凍結乾燥精子を守る働きがあり、しかも馬鈴薯デンプンは、耐乾燥剤として知られているトレハロースと同等の能力をもつ可能性も示唆された。

また、トレハロースと可溶性デンプンはヒト凍結乾燥精子に対しても高温耐性を獲得させる可能性が示されたが (データ未掲載)、実験回数が少ないこともあり、今後は可溶性デンプンと馬鈴薯デンプンとの比較も含

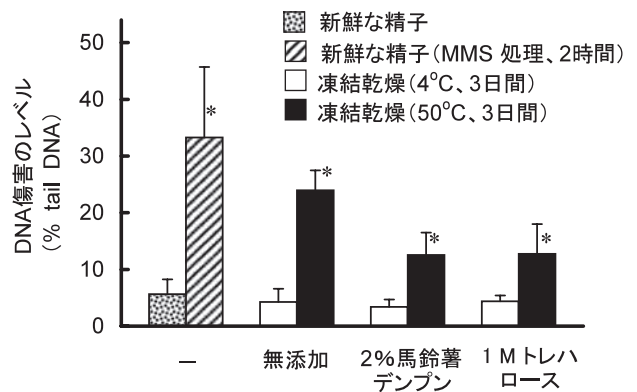


図 1 馬鈴薯デンプンとトレハロースで作製した凍結乾燥精子の高温処理 (°C) による DNA 傷害誘発性 DNA 傷害レベルは、3 回の実験の平均値 (1 実験あたり 100comets) と SD で示す。* Mann-Whitney 検定で有意差 ($p < 0.05$) あり。

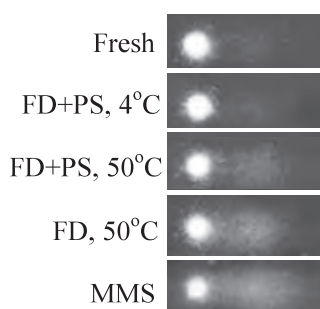


図2 マウス精子のコメット像

Fresh：新鮮な精子、FD：凍結乾燥精子、FD+PS：2%馬鈴薯デンプンで凍結乾燥した精子、MMS：メチルメタンサルフォネートで処理（200 μ g/ml）された新鮮な精子

めた再確認が必要である。加えて、多糖類が本当に凍結乾燥精子に高温耐性を獲得させることができるのかについては、凍結乾燥精子の染色体正常性と受精卵の発生能をみることによって正確に評価できるものと思われる。

[参考文献]

- 1) Kusakabe H: Chromosomal integrity and DNA damage in freeze-dried spermatozoa. *Reprod Med Biol* 10:199-210, 2011.
- 2) Kusakabe H and Tateno H: Characterization of chromosomal damage accumulated in freeze-dried mouse spermatozoa preserved under ambient and heat stress conditions. *Mutagenesis* 26:447-453, 2011.
- 3) Kusakabe H, Kamiguchi Y and Yanagimachi R: Mouse and human spermatozoa can be freeze-dried without damaging their chromosomes. *Hum Reprod* 23:233-239, 2008.
- 4) Kusakabe H and Tateno H: Shortening of alkaline DNA unwinding time does not interfere with detecting DNA damage to mouse and human spermatozoa in the comet assay. *Asian J Androl* 13:172-174, 2011.

24) 孤発性筋萎縮性側索硬化症における神経細胞死のメカニズムの解析と新規治療薬の探索

研究代表者 澤田 潤

【研究成果の概要】

【研究目的】

孤発性筋萎縮性側索硬化症（ALS）の脊髄運動ニューロンでは、グルタミン酸受容体（GluR）のうちAMPA受容体のサブユニットであるGluR2のグルタミン（Q）/アルギニン（R）部位のRNA編集率が疾患特異的・部位選択的に低下していることが報告された。AMPA受容体は4つのサブユニットからなる4量体で、その構成サブユニットに少なくとも1つの編集型GluR2が存在しなければ、Ca²⁺流入が上昇し、細胞死に至ることが知られている。従って、GluR2 Q/R部位のRNA編集率の低下がALSの運動ニューロン死の病態へ深く関与していると考えられている。GluR2 Q/R部位のRNA編集は主に、adenosine deaminase acting on RNA type 2（ADAR2）によって行なわれ、ADAR2活性を上昇させる薬剤はALSにおける運動ニューロン死を阻止しうる可能性があると考えられる。現在まで、抗うつ薬がGluRサブユニットの遺伝子発現量及びRNA編集率を変化させることが報告されている。そこで、GluR2 Q/R部位の編集率測定系を確立し、抗うつ薬の同部位のRNA編集率及びRNA編集に関わる遺伝子の発現への影響を検討し、ALS治療薬となりうる薬剤のスクリーニングをすることを目的とした。

【研究方法】

スクリーニングに用いる培養細胞として、スプライングが行なわれる前のGluR2 Q/R部位のみを含むミニ遺伝子（preGluR2）をHeLa細胞に導入し、人為的に同部位のRNA編集率を50%程度に調節したTet-on HeLa G2m細胞を作成した。抗うつ剤は、選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）はfluvoxamine・fluoxetine・paroxetineの3種、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬（SNRI）ではmilnacipran・reboxetineの2種、三環系抗うつ薬としてamitriptyline・desipramine・imipramineの3種を用いた。また、抗うつ薬以外にも降圧剤や抗生剤、免疫抑制剤などの複数の薬剤の投与も行った。各薬剤を10 μ M以下の濃度で24時間負荷した。

GluR2 RNA 編集率の測定に関して、薬剤負荷後、培養細胞から total RNA を抽出し、逆転写反応により cDNA を作製し、Nested PCR 法を用いて cDNA の GluR2 Q/R 部位を含む領域を増幅させた後、DNA 精製を行い、制限酵素 (Bbv I) による酵素処理を行った。未編集型の GluR2 が存在する場合、編集型 GluR2 では出現しない切断断片が出現することを利用し、その比を測定し、同部位の RNA 編集率を算出した。

mRNA 発現量の測定に関して、GluR2 編集率の有意な上昇を認めた薬剤に関して、Real-Time PCR 法によって、ADAR2 酵素活性を意味する基質に対する酵素の相対発現量比として、ADAR2/preGluR2 比を測定した。

[結果と考察]

1) GluR2 編集率変化

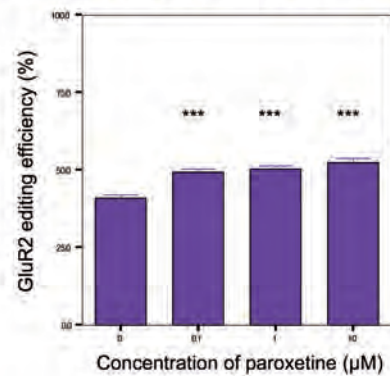
10 μM 以下の paroxetine、fluvoxamine、milnacipran、amitriptyline、desipramine、imipramine で control に対して有意な GluR2 編集率の上昇を認めた。また、降圧剤では Furosemide や Spironolactone、抗生剤では Suramine や Lomefloxacin、免疫抑制剤では Azathioprine の投与で GluR2 編集率の有意な上昇を認めた。(図 1. A; paroxetine B; amitriptyline C; Furosemide D; Spironolactone)

2) mRNA 発現量定量

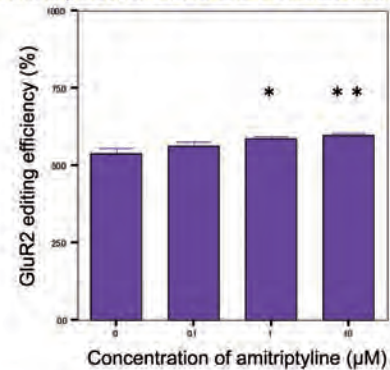
ADAR2 酵素活性を意味する ADAR2 の preGluR2 に対する mRNA 相対発現量比に関して、milnacipran 以外の薬剤で、すべての濃度ではないが、その相対発現量比の有意な上昇が認められた (図 2. A; paroxetine B; amitriptyline)。

Tet-on HeLa G2m 細胞の GluR2 Q/R 部位の編集率を上昇させた薬剤のうち、fluvoxamine、paroxetine、amitriptyline、desipramine、imipramine で、すべての濃度ではないものの ADAR2/preGluR2 の mRNA 発現比の有意な上昇を認め、このうち paroxetine 及び amitriptyline では濃度依存性の傾向を示し、その GluR2 編集率上昇作用は主に基質に対する酵素の発現量比の上昇が関与していると思われた。その他の薬剤の GluR2 編集率上昇作用は基質に対する酵素の相対的発現量比のみでは説明できないため、それ以外の要素が関与している可能性が考えられた。

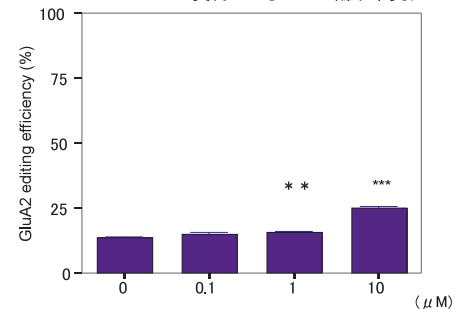
A. Paroxetine負荷によるGluR2 Q/R部位のRNA編集率変化



B. Amitriptyline負荷によるGluR2 Q/R部位のRNA編集率変化



C. Furosemide負荷によるGluR2編集率変化



D. Spironolactone負荷によるGluR2編集率の変化

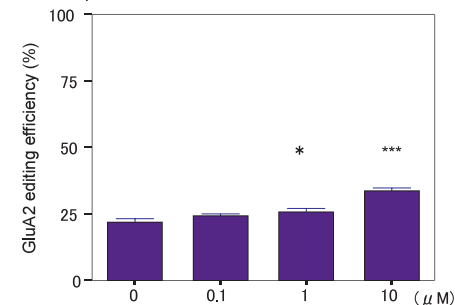
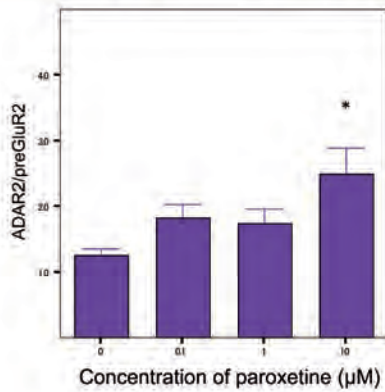


図 1

[まとめ]

Tet-on HeLa G2m 細胞を用い、複数の薬剤による GluR2 Q/R 部位の RNA 編集率の変化についてスクリーニングした。Fluvoxamine、fluoxetine、milnacipran、amitriptyline、desipramine、imipramine、furosemide、

A. Paroxetine投与によるADAR2/preGluR2 mRNA相対発現量比の変化



B. Amitriptyline投与によるADAR2/preGluR2 mRNA相対発現量比の変化

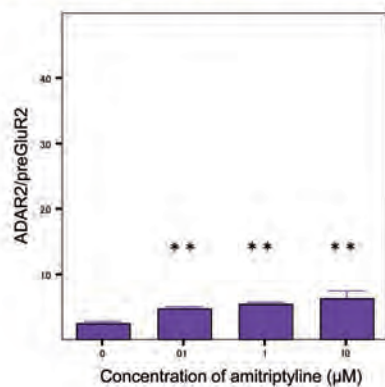


図 2

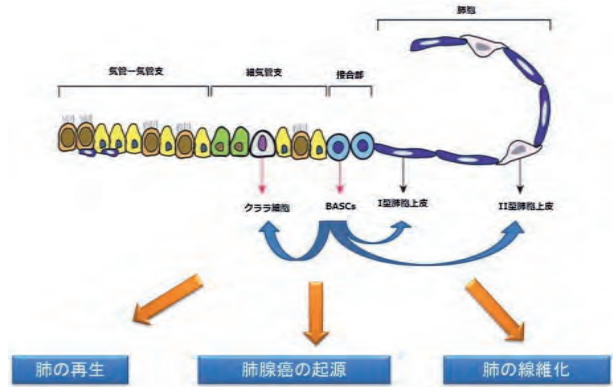
spironolactone、suramine、lomefloxacin、azathioprine に GluR2 Q/R 部位の RNA 編集率の上昇作用を認めた。その機序については不明な点はあるが、ALS の治療薬としての臨床応用の可能性が考えられた。

25) 気管支肺胞幹細胞株の樹立

研究代表者 佐々木高明

【概要】

気管支肺胞幹細胞 (BASCs : bronchio-alveolar stem cells) は肺胞上皮細胞の幹細胞として同定された。さらに BASCs は肺腺癌の発生母地であることが明らかになり、肺癌の発生メカニズム解明の重要な細胞である。しかし、肺の細胞の 0.3% というわずかな分画であり、細胞継代に限りがあり BASCs を用いた研究は限られている。本研究は SV40 large T 抗原遺伝子導入マウスの肺から BASCs を採取することで、BASCs の幹細胞としての特性を保持したまま大量に増殖できる BASCs 細胞株を樹立し、肺の再生、肺がんの発生メカニズム、肺線維症の機序解明のためのリソースを創



出する。

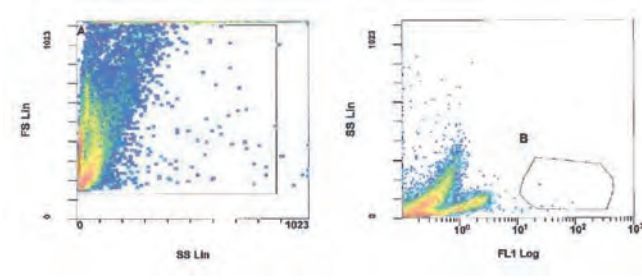
【本研究の学術的背景】

気管支肺胞幹細胞 = BASCs は、2005 年、Kim らによってはじめて単離された¹⁾。肺胞上皮を薬剤で強く傷害すると、細気管支と肺胞道の接合部に存在する細胞から肺胞の再生が起こることが知られていた。これらの細胞はフローサイトメトリーで単離し (CD45-, CD31-, Sca-1+, CD34+ 分画)、肺胞全体の約 0.3% を占める細胞、として同定される。一般に BASCs を含めた幹細胞の培養を行うと、一定期間増殖してから生体内での本来の分化機能を失い、変性を起こす場合が多い。そこで本研究では、BASCs の不死化細胞を得るために作製されたトランスジェニックマウス (温度感受性 SV40 large T 抗原遺伝子導入マウス) を使用する。SV40 large T 抗原の導入による不死化細胞は、その細胞特有の機能を保持するといわれている。また、SV40 large T 抗原の温度感受性変異遺伝子によって不死化された細胞は温度によって、その増殖、および分化が調節される。したがって、BASCs を幹細胞の形質を保持したまま細胞株として大量に増殖させ、肺の再生、肺腺癌の発生機序、肺線維症の発生機序解明などこれまで不可能であった研究のための資材を得ることができる。

【結果と考察】

本研究期間では、BASCs の分離に関して、幹細胞マーカーとして知られる ALDH 発現によって分離するより簡便な方法を検討した。

本法での BASCs 回収率 (肺細胞懸濁液の 0.3-0.4%) は従来の CD45-, CD31-, Sca-1+, CD34+ 分画とほぼ一致し、現在、Matrigel 内での分化誘導による肺胞上皮



	Control	ALDH
#1	0.04%	0.4%
#2	0.03%	0.3%

マーカー発現を確認中である。また、本法がさらに効率よく細胞を傷めず回収する方法を検討し、SV40 largeT 抗原導入マウスから BASCs 細胞株を樹立する予定である。

依頼稿 (報告)

平成 23 年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト型研究課題 毛細血管の新しい役割解明と 臨床応用にむけた脈管研究クラスター活動

川 辺 淳 一*

はじめに

大学補助金の削減と平行して増えていく競争的研究
グラントという状況は、端的にいうと「価値のある大
学」が競争を勝ち抜いて生き残りなさいというメッセ
ージです。すなわち、独法化大学にとって生き残って
いくための本質的な課題の一つは、医学研究活動の充
実が挙げられます。おりしも、研修医制度で若手医師
に研修施設の自由選択が与えられ、大学は「研修場」
としての競争にも晒されることになりました。質の高
い臨床医育成のためにサイエンスの素養習得は必要不
可欠であることは世界の医学教育の常識ですが、この
あたりを理解している賢明な若手医師に対して、大学
の「サイエンス素養育成（経験）」のセールスポイント
を提示できるか？この観点でも、大学における医学
研究活動の充実（これを推進する大学スタッフの育成）
の重要性は非常に高いといえます。

『独創性のある生命科学研究資金援助』制度は、こ
の危機感をうけて打ち出された本学の具体的対策の一
つです。5 年前に「本学の医学研究を盛り上げていこ
う」という研究者同志が集まり、本脈管研究クラス
ター活動が始まりました（図 1）。幸い、本学に、この
熱意を受けとめていただき、21 年度そして 23 年度に
プロジェクト型研究資金援助をしていただきました。

期待に応え、外的競争資金を獲得できる「世界に誇
れる優れた研究」を、人材・資金の限られた地方単科
大学でどのように育てていくか？ 特効薬はなく、打

開策の基本『限られた力の有効な連携』と『優れた研
究シーズの創生』を地道に実践していくことにつつま
す。前者に関して、多くの疾患病態に密接に関与する
脈管研究は、疾患特異性の垣根を越えた研究グルー
プとの連携により、さらに効果的に研究が展開でき
る、あるいは新しい研究シーズが創生しえる研究分野
という特徴があります。現在、脈管研究クラスターを
構成する PI の先生方の所属する講座は、臨床および基
礎講座 8 つに及びますが、具体的な研究対象は異なる
ものの、脈管研究自体の認識や興味について、共通
して高いことが、我々の研究クラスターの『連携』の
強みでもあります。

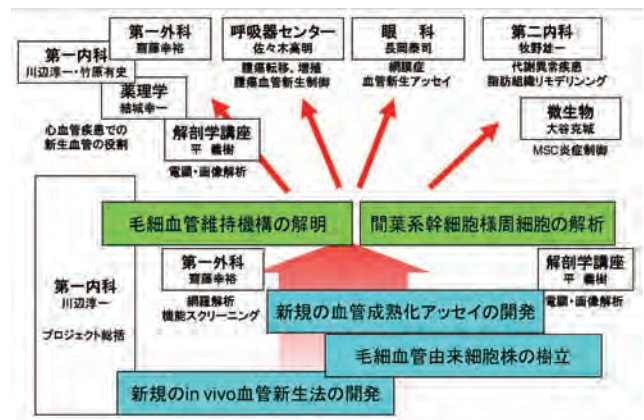


図 1 旭川医科大学 脈管研究クラスター

脈管研究をキーワードに、三つの基礎講座と五つの臨床講
座所属の PI (principle investigator) が連携して、新しい「毛
細血管新生」プロジェクトを創生し、さらに医療開発を目指
して、各専門分野で研究を展開していく。

*旭川医科大学 心血管再生先端医療開発講座

「複数の研究プロジェクトを創生できる幹となるような研究シーズをいかに育てていくか？」 21 年度から進めている我々の研究プロジェクトを概説します。

研究背景

難治性疾患と毛細血管

生体最大の臓器である脈管、その 90% 以上を占める毛細血管。栄養・酸素を組織の隅々に運ぶ毛細血管が適正に維持しなければ、多くの組織が正常に機能維持することは不可能であることは、直観として理解できる。しかし、様々な疾患における毛細血管の重要性が認識されるようになってきたのは、ごく最近のことである。現在では、悪性腫瘍や網膜症はもとより、心不全、動脈硬化性疾患や糖尿病などの代謝性疾患などの難治性慢性疾患の病態にも毛細血管の異常が関与していることが明らかになってきた。

組織リモデリングと毛細血管

組織の多くは再生能があり、これが臓器障害後の治療（再生や代償リモデリング）ばかりでなく、慢性疾患の病態に密接に関わる組織の異常リモデリングをもたらす。組織の再生能を裏付けるように、多くの組織内幹細胞の存在が相次いで報告されている。しかし、その組織内局在や「幹細胞機能」の維持システムについては詳細が不明であり、したがって、組織内幹細胞の臓器再生やリモデリングにおける役割も不明である。最近、毛細血管内皮周囲環境（vascular niche）が幹細胞維持に重要であること、障害組織の再生において、組織実質細胞の再生を担う組織幹細胞のまえに、その幹細胞の足場となる毛細血管の構築が前提条件であることが明らかになってきた。

再生医療と毛細血管

ノーベル賞受賞の山中先生の開発された iPS 細胞によって、再生医療・組織再生への応用の期待が一層高まっている。“幹（実質前駆）細胞の生体導入による臓器再生” という単純なシナリオではないことがわかってきた現在、いわゆる次世代の臓器再生治療法の開発の時代にはいつてきたともいえる。本格的な組織再生療法の開発のためには多くの課題があるが、その中でも本質的な課題のひとつは、組織実質細胞への分化誘導とともに、それぞれの再生組織における毛細血管

を含む脈管系をどのように再構築していくか？ということである。

秘めた毛細血管のポテンシャル

周細胞（Pericytes; PCs）は、脆弱な内皮管腔の外側を囲み、毛細血管として安定した構造をつくり、さらに自ら平滑筋細胞へ分化・増殖し、血管成熟化にも関与することが知られている（図 2）。最近、PCs の中に間葉系幹細胞（Mesenchymal stem cell; MSC）の機能をもつ細胞の存在が明らかにされた。間葉系幹細胞様の周細胞（MSC-PCs）の発見により、毛細血管は、単なる『循環器』でなく『組織リモデリングや再生』にも重要な役割をもち、これらの役割解明は、様々な難治性慢性疾患の病態解明あるいは新規治療の開発、臓器再生医学における応用に繋がるのが期待される（図 2）。

研究内容

毛細血管研究の問題点と打開策

新生血管・毛細血管研究には、研究発展の期待と裏腹に、その進展を阻むいくつかの障害がある。ひとつは、毛細血管は、微小かつ組織内で複雑に分布するため、客観的観察や評価が難しく、研究対象として臓器（二次元に展開する網膜血管）や動物種などの制約が多い。さらに、微小な毛細血管由来の内皮細胞（ECs）や周細胞（PCs）（特に最近発見された MSC-PCs）を

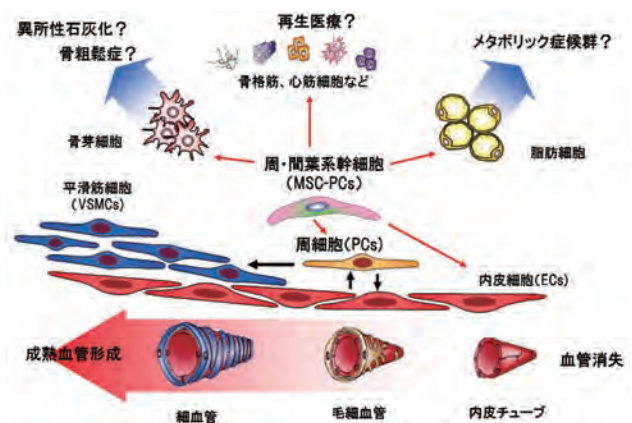


図 2 間葉系幹細胞—周細胞から見てくる新しい毛細血管の役割

毛細血管内皮（ECs）の外側に付着している周細胞（PCs）は、毛細血管の安定化・成熟化に重要な役割を有している。最近、間葉系幹細胞（MSC）の機能を持つ細胞（MSC-PCs）が発見され、有力な組織内幹細胞としての役割が期待される。

選択的かつ効率よく同定・調整する方法がないのが現状である。

我々は、先行する「末梢神経による血管成熟化」研究（平成 21 年度 独創性のある生命科学研究）のなかで、「生体内の末梢組織の毛細血管形成を二次元で観察する方法（CCT angiogenesis assay）」を開発し、マウスの末梢組織の毛細血管形成を客観的に観察することを可能にした（論文 1 投稿中）。さらに、不死化細胞を創れる温度感受性 SV40T 抗原発現マウスの「CCT 毛細血管組織」から内皮細胞 (ECs)、周細胞 (PCs) 細胞株、さらに MSC-PCs 細胞株の樹立に成功した（論文 2 投稿中）（図 3）。我々が独自に開発した「末梢毛細血管観察法」と「末梢毛細血管由来細胞株」という研究ツールを利用して以下のプロジェクトを展開している。

プロジェクト 1 毛細血管維持機構の解明

1-1 新規 *in vitro* 血管新生アッセイ法の開発

従来の *in vitro* 血管新生アッセイは、HUVEC など大血管由来内皮細胞を用いた内皮チュービング形成を評価するもので、今後、必要性が増す内皮・周細胞からなる毛細血管やさらに成熟した血管形成を評価する方法はなかった。また大血管由来内皮細胞と毛細血管由来内皮細胞との特性の違いが知られるようになり、HUVEC を用いた血管新生能評価自体にも大きな問題がでている。我々は、毛細血管由来の ECs および PCs の 3 次元ゲル共培養により、EC チューブの外周に PCs が付着した毛細血管様構造を形成させるシステムを構築した。本方法は、毛細血管由来細胞を利用した成熟血管形成を評価できる新規の血管アッセイ法として、その商品化を目指して開発を進めている（特許申請中、クラボウ株共同研究）。

1-2 血管成熟化を制御する因子の同定

毛細血管の維持さらに成熟化を制御する因子の探索にあたり、毛細血管の安定化・成熟化の過程で重要な内皮細胞と周細胞との相互作用に着目した。上記の血管新生システムを用いて、新生血管内皮と接触して毛細血管を形成している PCs と内皮と接触していない PCs の二群間の遺伝子発現変化をマイクロアレイ (3D gene、東レ) により網羅的解析を行った。毛細血管内皮と接触する PCs 内で有意に変化する新規の遺伝子

を 12 個選定した。さらに SiRNA により候補因子を knock down した PCs を用いた血管新生アッセイによるスクリーニングで、毛細血管形成能が著明に低下する二つの因子を同定している。現在、強制発現システムも利用しながら、*in vivo* での血管新生への影響などの機能解析をすすめている。

プロジェクト 2 MSC-PC 細胞の特性解明

MSC-PCs は、自ら内皮と周細胞に分化して『毛細血管』を形成することができ（図 3）、①脈管器としての循環システムと②幹細胞機能を保持する環境 (vascular niche) を提供することに加えて、③組織幹細胞として実質細胞を供給する細胞でもある。したがって、MSC-PCs は、組織再生の観点でも非常に合目的な幹細胞であり、組織リモデリング研究における重要な研究標的であり、再生医療細胞ツールとしても期待できる（図 2）。

2-1 分化能の程度異なる MSC-PCs ライブラリーの構築

多分化能をもつ MSC-PC 株の中で、長期間継代培養 (60 継代以上) するなかで自然に分化能が低下する細胞株を認めた。この細胞株から再びクローン孫細

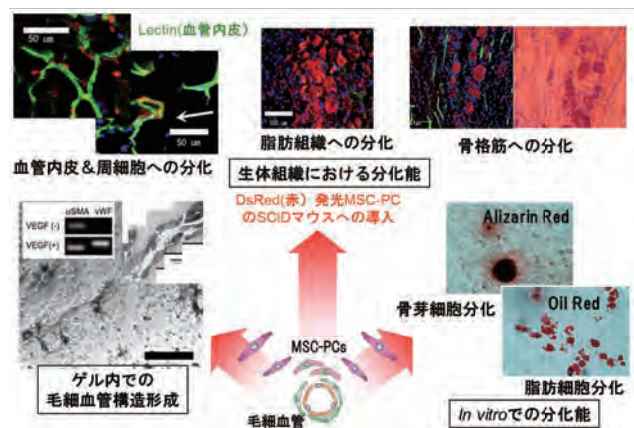


図 3 間葉系幹細胞 (MSC) 機能を有する周細胞株 (MSC-PCs) の樹立

温度感受性 SV40T 抗原発現マウスの末梢毛細血管から、NG2 陽性細胞を精製し、その中から MSC-PCs 細胞株を樹立した。同細胞は、周細胞および MSC としての特徴的な遺伝子プロファイルおよび間葉系細胞への多分化機能を保持している。また、単一の MSC-PCs から、周細胞はもちろん内皮細胞に分化し、成熟した毛細血管構造を構築することができる。

胞株を作成した。この中で、代表的なマーカー遺伝子プロファイルに変化がないものの、多分化能の程度が異なる幾つかの細胞群を作成することができた(図4)。この細胞ライブラリーを用いて分化能という機能特性の差がある二つ以上のクローン細胞群でアレイ比較解析することにより、機能に連関する候補遺伝子の抽出効率が飛躍的に上がることができ、実際に以下の成果がでている。

2-2 MSC-PC 細胞の同定・分離法の開発

MSC-PC 細胞マーカーとして有用な因子選定の条件として、上記細胞ライブラリーを利用したアレイ解析において①MSC 機能が高い MSC-PCs (#7) に特異的に高発現している、②(特に細胞分離用のマーカー候補として)細胞表在の因子 という条件で4つの候補因子を選定した。すでに1つの候補因子について、その特異的抗体を用いたフローサイトメトリ解析により MSC-PCs に発現していることを確認している。現在、FACS システムを用いて、本候補マーカー(抗体)によって選択的に組織から MSC-PCs が分離できるか確認するとともに、残りの細胞マーカー候補因子についても検討している。

2-3 MSC-PC 細胞の幹細胞機能維持を制御する新規因子の同定

「幹細胞機能」の程度((高) MSC#7 ⇔ #3 ⇔ #9 (低)の順列(図4))で変化する遺伝子群をクラスター・パスウェイ解析も考慮しながら、特に核内に局在する転写因子群に注目して、新規の候補因子(15個)を選定した。SiRNA により候補因子を knock down した MSC-PCs の間葉系分化機能アッセイスクリーニングにより、MSC-PCs の分化能に著明に影響(上昇および抑制)を及ぼす4つの新規因子を同定している。

今後、候補因子の過剰発現系も構築し、その分化能への影響を確認していく予定である。

2-4 MSC-PC 細胞による抗炎症作用の解明

癌、メタボリック症候群や動脈硬化症を含め多くの慢性疾患の基盤病態として慢性炎症が注目されている。慢性炎症の普遍的な病理的特徴として『炎症浸潤』と共に『血管新生』があげられる。従来より「炎症細胞の輸送路」という位置づけで認識されている新生血管であるが、MSC-PCs の存在により、慢性炎症における血管新生の新しい役割が示唆される。間葉系幹細胞には、免疫・炎症抑制効果をもつことが知られているが、我々は、一連の網羅解析のなかから、PCs において炎症反応を制御する興味深い因子が強発現していることを見出している。今後、炎症の制御という観点

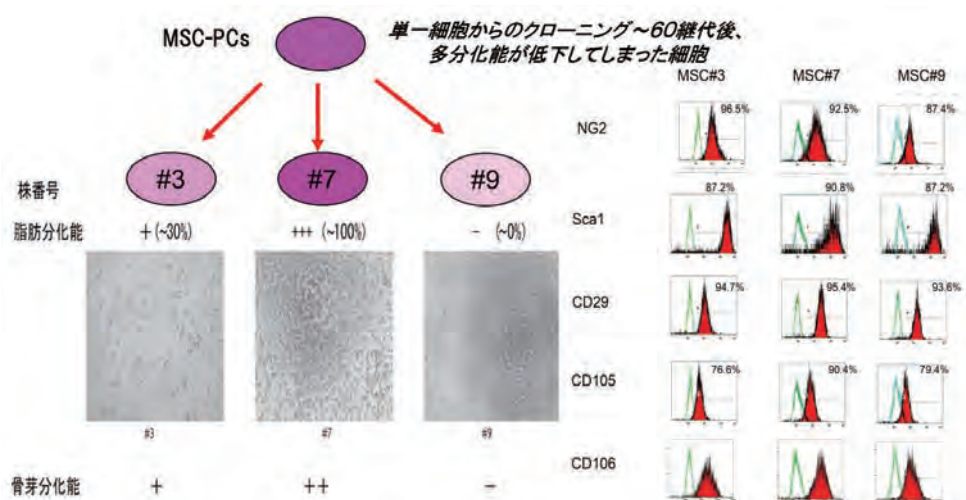


図4 分化能が異なる MSC-PC 細胞株ライブラリーの構築

長期の継代の中で、分化能が低下してきた MSC-PCs クローン細胞から、再度、クローン細胞(娘)株を作成した。この細胞株は、代表的な MSC や PC マーカー遺伝子発現に大きな変化がないものの、高い分化能を保持する細胞株 #7 や、分化能が低下した #3、ほとんど分化能がなくなった #9 などが樹立された。「細胞分化能」指標にしたクローン細胞3群でのアレイ比較解析を行うことにより、幹細胞機能に連関する因子を効率よく選定することができる。

で、慢性炎症における毛細血管の新しい役割の可能性を検証していきたい。

おわりに

本邦も含め多くの先進国の医療社会で重要性が増している難治性慢性疾患の病態解明にむけて血管新生研究は、大変注目されている新興研究分野の一つです。この競争の激しい研究分野において、我々は、独自に開発したツールを駆使して研究展開していこうとしています。我々の研究プロジェクトも、様々な難治性慢性疾患における「臓器再生・リモデリングを制御する分子標的薬剤の開発」から「再生医療にむけた iPS 細胞から MSC-PCs 調製」まで、いろいろな臨床応用に繋がる発展性が期待されます。知的財産センターの尾川直樹先生のご尽力もあり幾つかの民間会社にも興味をもっていただき、現在、①血管新生アッセイ法の開発に関してクラボー株式会社、②本プロジェクト全般に関して、いくつもの臨床薬開発の実績のあるアスピ

オフィーマー株式会社との共同研究契約を結び、資金および技術的支援を得ています。

今後、様々な疾患病態における毛細血管形成制御に関わる新規因子や MSC-PCs の役割について、脈管研究クラスターの各 PI の先生方を中心に各専門分野で、新しい研究シーズとして展開していくことを願っています (図 1)。もちろん、本稿あるいはホームページを見て、本研究テーマに興味をもっていただいた先生との共同研究も大歓迎です。連絡をお待ちしています。

最後になりましたが、我々の研究活動にご理解とご支援をしていただいている吉田晃敏学長ならびに研究戦略・教育支援室の諸先生方、さらに知的財産や産学連携、競争資金獲得活動などで、ご支援していただいている産学連携や研究支援の事務局の多くのスタッフの方々に感謝いたしますとともに、引き続きのご支援をお願い致しますと思います。

依頼稿 (報告)

平成 23 年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト型研究課題 イオンチャネル遺伝子迅速解析新規システムの構築と チャネロパシー診断・治療への応用

宮 津 基* 野 口 智 弘** 佐 藤 伸 之*** 丹 保 亜希仁****
高 井 章* 柏 柳 誠** 長谷部 直 幸*** 岩 崎 寛****

[研究の背景]

イオンチャネルの異常によってある種の疾病が引き起こされる (チャネロパシー)。心臓突然死を引き起こす致死性不整脈が、心筋細胞膜のイオンチャネル遺伝子の先天性の変異によることがよく知られている。一方、薬剤や徐脈などの後天性 (二次性) の不整脈の原因としてチャネル遺伝子の変異がその素因となる例も報告されて、従来、複数の外的要因 (電解質代謝異常や自律神経トーン等) の組合せにより引き起こされたと考えられてきた心血管疾患やその他の頻度の高い疾病が、実はその背景としてイオンチャネル遺伝子異常を含むことが分かってきた。これらの遺伝的要因を迅速に特定することは、個々の疾病に対する診断・治療にとって極めて重要である。更に、これらイオンチャネル遺伝子変異がどの様に不整脈の素因として関与しているかについてはイオンチャネルに対する機能評価システムを用いて検討する必要がある。

[目 的]

本研究計画は、イオンチャネル遺伝子の配列変異と病態との関連の評価を、迅速かつ確実に行うシステムを構築し、各種チャネロパシーの診断法と新しい治療法の開発への展開を図る。

[目 標]

プロジェクトの意図するところは、イオンチャネルに関係する研究を推進している基礎系 2 講座と臨床系 2 講座とが密接に連繋して、総合研究棟改修後の施設のメリットを最大限に活用しながら、イオンチャネルの構造的・機能的解析のための共同実験システムの構築を目指すものである。それにより、国際レベルのチャネロパシーの新しい診断 / 治療法の研究拠点を形成することを目標とする。

[研究成果]

(1) イオンチャネル遺伝子迅速解析システムの構築

まず、2つの生理学講座が中心になって、本プロジェクトの基盤となる解析システムの整備と臨床例への応用のための最適化について検討した。今回のプロジェクトでは、チャネロパシーの原因となる遺伝子変異の同定が必須の作業となる。その際、スクリーニングで認められた遺伝子変異が当該疾患と実際に関与するものか、目立った形質変異をもたらさないサイレントな遺伝子多型に過ぎないのかを鑑別する必要がある。そのためには、正常遺伝子に検出された変異配列を入れ込んだものを培養細胞に発現させ、電気生理学的方法によりチャネルの性質の変化の有無を検出することが基本的ルーティーンとして必須である。これに関し、生理学講座自律機能分野では、目下「緑内障治

*旭川医科大学 生理学講座自律機能分野 **生理学講座神経機能分野

内科学講座 循環・呼吸・神経病態内科学分野 *麻酔・蘇生学講座

療の標的としての伝達物質作動性陽イオンチャネルの同定と機能解析」を遂行し、眼内平滑筋に於いて代謝型受容体を介して活性化される陽イオン選択性チャネルを電気生理学的手法により同定した。また、この分子本体候補である Transient Receptor Potential (TRP) チャネルファミリーの Canonical タイプの数種類が発現していることを遺伝子、蛋白質レベルでそれぞれ確認した。TRPC1, TRPC4 チャネル遺伝子のクローニングに関しては現在進行中であり、今後哺乳類の発現プロモーターにこれらのチャネル遺伝子を挿入し、培養哺乳細胞の一つである CHO 細胞を用いた異所発現系を使用してその機能解析を遂行していく予定である。上記とは別に、心肥大の誘導に関与し心不全治療の新たな創薬標的となり得ると考えられている TRPC3, TRPC6 チャネル遺伝子ノックアウトマウスの心筋細胞におけるチャネル解析についても検討していく予定である。

生理学講座神経機能分野では、「嗅覚障害治療の標的としての TRP チャネル蛋白質の同定と機能解析」を推進した。具体的には、通常末梢の体性感覚神経に発現し機械刺激（細胞膨張や膜伸展）や侵害性熱刺激（ $> 52^{\circ}\text{C}$ ）等によって活性化される Ca^{2+} 透過性チャネルの分子本体である TRPV2 チャネルが、マウス嗅上皮の新生嗅神経の軸索に特異的に局在することを明らかにした。また、急性単離した嗅神経において、TRPV2 チャネルアゴニストは細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させたことから、機能的な TRPV2 チャネルが嗅神経に存在することが明らかとなった。これらの結果は、TRPV2 チャネル、及びそれを介した細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が嗅神経軸索の伸長に関与する可能性を示唆し、TRPV2 チャネルが嗅覚障害治療の新たな標的となり得るだけでなく、TRPV2 チャネルの機能解析が神経再生および神経機能再建への突破口となることも期待される。

これらの研究を通じ、われわれは上記のイオンチャネルに対する機能解析等の基本的ルーティーンに高度に習熟することが出来た。今後、臨床例の解析を迅速に進めるための作業の最適化を目指せばよい段階となった。

(2) 臨床検査からチャネルパシー診断へ

臨床系のグループである内科学（循環内科学/呼吸

/神経病態内科学）では、臨床の視点から「非侵襲的心電図指標を用いた致死的不整脈患者のリスク層別化に関する検討」という内容について、日常的に行われる臨床検査から新規心電図指標の有用性について検討し、致死的不整脈の non-invasive marker の確立を試みた。具体的には、これまで心疾患や不整脈患者の予後予測には心拍変動解析が用いられてきたが、近年、ホルター心電計を用いた QT 動態が心疾患患者のリスク層別化に、より有用である可能性が示唆されていたこと、最近、心電図上の Tpeak-Tend (Tp-e), Tp-e/QT ratio が心筋再分極過程の不均一性を反映する新しい非侵襲的な心電図リスク指標として注目を集めていたことから、これらの新しい心電図指標が、J波症候群（特発性心室細動患者の代表疾患である Brugada 症候群と、J波を呈する早期再分極症候群をまとめたもの）のリスク層別化に役立つか否かを検討した。その結果、心内膜と心外膜における再分極過程の不均一性を反映するとされる Tp-e と Tp-e/QT は、心室細動を合併した J波症候群で有意に増大しており、本疾患のリスク層別化に有用である可能性を明らかにした。

麻酔・蘇生学講座では「ミトコンドリアイオンチャネル分析に基づく吸入麻酔薬の心筋保護作用のメカニズム解析と事前評価法の確立」という内容で、心筋保護作用を示すことが知られている isoflurane などの吸入麻酔薬の心筋における作用機構を明らかにするためのシステムの構築に取り組んだ。今後、モルモット心筋から単離したミトコンドリア内膜膜 (mitosome) における膜電位固定法による電流記録実験を行い、ミトコンドリア内膜に存在する Ca^{2+} 依存性 K チャネル、ATP 感受性 K チャネルに注目し isoflurane の効果をさらに直接的に検討する予定である。

[今後の展開]

日本では年間 6 万人の心臓突然死患者の発生が推計され、その原因として不整脈死が大きな割合を占めるものと推察されている。致死的不整脈の中でも、我が国では、いわゆる特発性心室細動患者の頻度が高く、その代表疾患である Brugada 症候群のスクリーニングとリスク層別化が大きな問題となっている。Brugada 型心電図波型は健診受診者の約 0.5% に認められるが無症候性と症候性の鑑別点は未だ十分に明らかにされていない。一方、これまで正常型と考えられてきた

早期再分極症候群の中にも、心室細動発作を起こす症例の存在が近年報告され、 K_{ATP} チャネルの異常が原因遺伝子の一つとして同定された。この早期再分極症候群の波形も一般人口の約 5-10% に認められるため、両者の心電図波型から突然死予備群をいかに見つけ出すかが重要課題となっていた。

今回、内科学グループが明らかにした新規心電図指標による心室細動症例における $T_{peak-Tend}$ (T_{p-e})、 T_{p-e}/QT ratio の増大所見は、潜在的なチャネロパシーを反映しているものと推察され、今後患者検体を用いた遺伝子解析を行うことにより、病態へのさらなるアプローチが可能になると同時に、非侵襲的に行われる臨床診断からチャネロパシー診断への突破口を与えるものと期待される。

Brugada 症候群と確定した症例の約 2 割に Na チャ

ネル遺伝子 ($SCN5A$) の異常が報告されていることから、遺伝子解析を実際におこなうときには $SCN5A$ を第一標的としてその変異の有無を検討していく。その他、Ca チャネル ($CACNA1C$)、複数の K チャネルの遺伝子についてそれらの変異の有無を確定する必要がある。

チャネル遺伝子の変異が同定できた場合、次の過程として、その変異によってどのようにチャネルの機能が損なわれるのかについて詳らかに解析することが必要となる。最終的には、チャネル機能異常による心筋細胞の活動電位波形への影響と致死的不整脈発生機序を明らかにし、J 波症候群等の致死性不整脈に対する効果的な治療法の開発に活用していきたいと考えている。

依頼稿 (報告)

平成 23 年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト型研究課題 ゆるむ事のない人工関節開発へのブレークスルー

松野 丈夫* 伊藤 浩* 谷野 弘昌*

[背景・目的]

人工股関節置換術は、変形性股関節症・大腿骨頭壊死・関節リウマチによる股関節症・大腿骨頸部骨折などの股関節疾患の疼痛・歩行困難などの症状を改善し QOL を向上させるのに有効な治療法として確立している。その一方、ゆるみや摩耗、脱臼、感染症、インプラントの破損などの原因で再置換術が必要となる問題があり、若年患者への適用が増え平均寿命が伸びていることから、長期成績の更なる改善が望まれている。

人工股関節はその固定方法によって骨セメントを使用するタイプと骨セメントを使用しないタイプ（セメントレス人工股関節）に分けられ、近年はセメントレス人工股関節が主流を占めるようになってきている。近年のセメントレス人工股関節はインプラント金属表面に多孔質構造をもち、多孔質表面に骨が入り込むことによって人工股関節が骨に固着される。通常の人工股関節では多孔質表面に骨が入り込むのに約 8 ~ 12 週要し、骨が入り込むのは多孔質表面の一部分である。従って、人工股関節の長期成績を改善するには、より早期にかつより強固に骨を多孔質表面に誘導するような多孔質表面の改良が望まれる。また、現状の製造方法では、多孔質表面は通常金属母材に接合されているため、多孔質表面自体が剥離するというリスクがあり、仮に骨が多孔質表面に十分入り込んだとしても、必ずしも骨との固着を保証できないという問題を抱えている。さらに人工関節の金属材料として主に使われているのは Co-Cr-Mo 合金とチタン合金であり、チタン合金のほとんどは Ti-6Al-4V 合金である。Ti-6Al-4V 合

金は良好な生体親和性を示してきたが V (バナジウム) と Al (アルミニウム) の生体への影響が懸念されている。本稿では我々の取り組んでいるセメントレス人工股関節開発につき報告する。

[開発への取り組み]

文部科学省は平成 19 年度から「橋渡し研究 (Translational Research) 支援推進プログラム」を実施し、同省が同プログラムを実施するために採択した 6 つの橋渡し研究支援推進プログラムのひとつが札幌医科大学・北海道大学大学院医学研究科・旭川医科大学の 3 医育大学が含まれる「オール北海道先進医学・医療拠点形成プロジェクト」であり、我々のグループが従来から行ってきた人工関節の研究¹⁾を発展させた「ゆるむ事のない人工関節開発へのブレークスルーの橋渡し研究」というシーズが採択され平成 19 年 8 月 1 日 ~ 平成 24 年 3 月 31 日の期間に新材料の開発と治験の入り口までのデータ蓄積を北海道臨床開発機構、旭川医科大学研究支援室などの支援のもと行ってきた²⁾。またこのシーズは我々が共同研究者として参加する経済産業省のスーパー特区「生体融合を可能とする人工関節の患者別受注生産モデルの構築」の一部でもある。この開発を経て文部科学省・旭川医科大学・北海道臨床開発機構の支援のもと平成 23 年 3 月に医薬品医療機器総合機構 (PMDA) にて PMDA 相談を行い平成 23 年 7 月に「股関節機能不全患者に対する新規人工股関節の有効性および安全性の検討」(治験責任者; 伊藤浩教授) という治験計画届書が受付され平成 23 年 11 月から旭川医科大学病院とえにわ病院で医

*旭川医科大学 整形外科・人工関節講座

師主導型治験がはじまった。

[新しい人工関節]

橋渡し研究支援推進プログラムで開発された新しい人工関節を図1に示す。この人工関節は先に述べた問題点を解決するため3つの新しい技術が導入されている。

1. GRAPE Technology の導入；純チタン・チタン合金表面に適切な溝・多孔質がある場合に熱酸化するだけで金属表面にルチル型 TiO_2 が形成され、 Ti-OH 基の存在、局所のイオン濃度変化などにより擬似体液中に浸漬しておくで金属表面にアパタイトが形成されるという新しい技術である^{3,4)}。我々の最近行ったウサギを用いた動物実験においてもその有用性が示されている⁵⁾。このことによって術後早期からインプラントが骨に固着される。この技術は従来用いられた溶射法などによるハイドロキシアパタイトコーティングなどの方法と異なり、母材に何かを接合させたりコーティングさせる事がないため表面処理部は剥離を生じることがなく、さらにこの技術は非常に簡便でありながら強固な改質表面であるという特徴をもつ。
2. 積層造形法の導入；従来の多孔質表面は金属母材にメッシュ、ビーズなどを接合させ作製されていたため剥離の危険があった。積層造形は3次元 Computer Aided Design (CAD) モデルのデータを基に金属粉末に電子ビームを照射し層を積み上げていくので3次元 CAD で設計した複雑な形状を精密に製造することができる。本製造方法はその特徴から製品の試作品・鋳型など少量生産に特化した技術

として優れる。人工関節の場合は患者それぞれに製造するカスタムメイド人工関節の製造に適する可能性があり我々の参加するスーパー特区ではその研究も行っている。また本製造方法では金属母材と多孔質表面を一体ものとしてつくることができ我々の人工関節では多孔質剥離の問題点を解決した。従って安全性の向上に寄与する。

3. 新しいチタン合金 (Ti-15Zr-4Nb-4Ta) の導入；従来使われてきた Ti-6Al-4V は V の細胞毒性が指摘され、Al はチタン合金の耐食性を低下させるなど体内で長期間使用される人工関節等の材料として生体への影響が懸念される。Zr (ジルコニウム)、Nb (ニオブ)、Ta (タンタル) は生体為害性が低く、分極抵抗が高いため耐食性を向上させる金属元素である。従って Ti-15Zr-4Nb-4Ta は生体に優しい金属であると言える。

[治 験]

人工股関節置換術はその有効性と適応の拡大からその症例数は年々増加しており現在国内で年間約 10 万例行われている。人工関節は股関節だけでなく膝関節でも多くの症例で行われており、その医療産業としての規模は国内だけでも年間 1000 億円に達している。しかし国内で使用されている人工関節の 8 割以上が欧米からの輸入品であり、人工股関節の国内技術に基づく治験は今まで数件しか行われていない。本治験は橋渡し研究支援推進プログラムに採択されたゆむ事のない人工関節開発へのブレークスルーの橋渡し研究というシーズで開発された新技術・新規人工股関節の臨床評価とその後の臨床導入を目指すものである。治験プロトコルの詳細は別紙^{6,7)}にゆずり本稿では主に治験の準備・実施状況につき報告する。平成 22 年 5 月に北海道臨床開発機構、ナカシマメディカル、旭川医科大学の 3 者で医師主導型治験を実施することに同意が得られ契約書を交わした。北海道臨床開発機構、旭川医科大学研究協力係を中心に各種手順書の策定や本医師主導型治験の治験実施体制を整備した (図 2)。同時に物理的・化学的な特性、生物学的安全性、機械的安全性、安定性および耐久性、性能の確認、骨内埋植試験といった非臨床試験を実施した (表 1)。数回の事前相談、PMDA 相談を経て非臨床試験終了後に治験実施計画書、治験機器概要書、症例報告書、

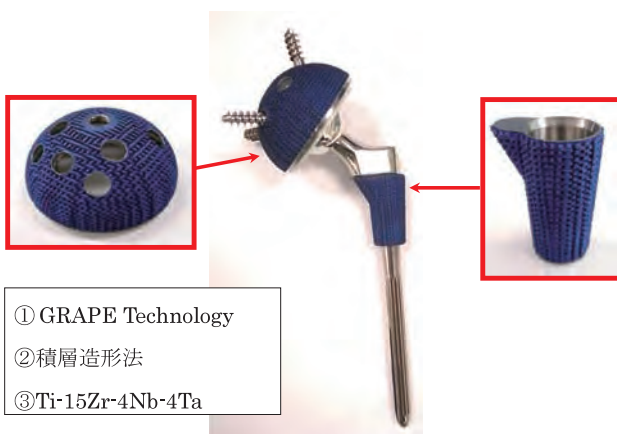


図 1 開発された新しい人工股関節

説明文書および同意文書などを含む治験計画届書をPMDAに申請し平成23年7月に受付され治験を開始した。治験は旭川医科大学病院とえにわ病院の2施設でそれぞれ15例、計30例の手術が行われ主要評価項目として術前の日本整形外科学会股関節スコア（JOAスコア）と術後1年のJOAスコアの改善をヒストリカルデータと比較し臨床的に劣っていないことを実証する。副次項目としてX線学的評価、有害事象、不具合、臨床検査値を検討する。平成23年11月に旭川医大病院で第1例目の手術が行われ旭川医科大学病院では平成24年8月に15例目の手術が終了している。

えにわ病院では8例目の手術まで終了しており（平成24年10月初め現在）平成25年1月までに15例の手術が終了する予定である。術前、術後3か月、6か月、12か月で主要評価項目であるJOAスコアを評価することになっている。比較対象とする過去の報告では術前JOAスコアが平均47.9点で術後12か月で平均86.6点であることから⁸⁾、本治験では術前JOAスコアと比べ術後12か月のJOAスコアが40点以上改善した場合はJOAスコアについて劣っていないと統計上考えられる。現在までの途中経過を図3に示す。JOAスコアは術前平均39.1点であったのが術後3か

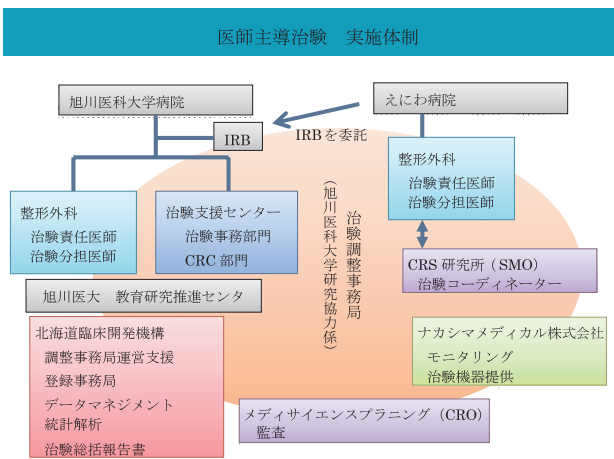


図2 治験実施体制

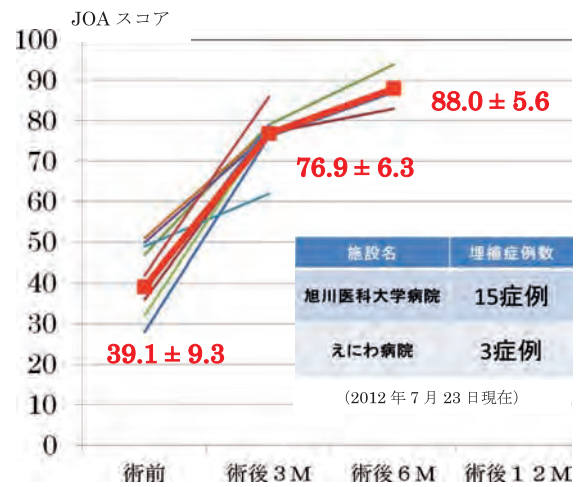


図3 JOAスコア経時変化

表1 非臨床試験

■物理的・化学的特性

試験項目	試験結果
金属組織観察	鍛造材と比較し、造形材ではα相が針状となっていた
化学成分分析	JIS 7401-4を満足していた
結晶相の同定	鍛造材と同様な回折ピーブが認められた
不動態皮膜の安定性 (アノード分極試験)	明確な活性溶解ピークは認められず、不動態域に入っていた
溶出特性	鍛造材と同等以上の溶出特性であった
引張試験	JIS T 7401-4を満足していた
疲労特性	既承認で用いられている原材料規格の範囲内であった

■性能の試験

試験項目	試験結果
外観試験 寸法試験	設計仕様通りである
表面形態観察	設計仕様通りである
骨内埋植試験(ビーグル犬)	既存技術と同等以上の固定力が得られた

■生物学的安全性

試験項目	試験結果
細胞毒性試験	直接法:細胞毒性は認められなかった 抽出法:細胞毒性は認められなかった
感作性試験	感作性は認められなかった
遺伝毒性試験 (染色体異常試験)	染色体異常誘発性は確認されなかった
遺伝毒性試験 (復帰突然変異試験)	突然変異誘起性は認められなかった
骨内埋植試験	4週時点で起炎性は確認されなかった (一部試験継続実施中)

■機械的安全性

試験項目	試験結果
ステムの疲労強度試験	検体に損傷等は見られなかった。
ステムネック部の疲労強度試験	検体に損傷等は見られなかった。
シェルライナのプッシュアウト試験	既承認品と同程度の接続強さを持つ

■安全性および耐久性

試験項目	試験結果
疲労特性、 ステムの疲労強度試験、 ステムネック部の疲労強度試験	同上

月で平均 76.9 点、術後 6 か月で 88.0 点に改善しており順調に JOA スコアが改善している。また本人工股関節に関連する不具合は現在まで発生していない。

今後の予定としては平成 25 年 1 月までにえにわ病院を含む全例の手術を終了し、平成 26 年 3 月までに臨床評価を終了、平成 26 年 11 月までに総括報告書を PMDA に申請し平成 27 年 1 月までに製品としての承認申請の提出を目標としている。北海道臨床開発機構、旭川医科大学研究協力係・治験支援センター、ナカシマメディカルなどの協力のもと上記予定を達成できるよう本治験を今後とも継続していく。

[References]

- 1) 松野丈夫、谷野弘昌、大水信幸ほか 人工股関節置換術 — 弛むことのない人工関節への夢 — 旭川医科大学研究フォーラム 2(1), 30-35, 2001
- 2) 谷野弘昌 オール北海道先進医学・医療拠点形成での役割 旭川医科大学医学部医学科同窓会誌 26, 20-21, 2008
- 3) Sugino A, Ohtsuki C, Tsuru K et al., Effects of spatical design and thermal oxidation on apatite formation on Ti-15Zr-4Ta-4Nb alloy. Acta Biomater 5, 298-304, 2009
- 4) Sugino A, Uetsuki K, Tsuru K et al., Surface topography designed to provide osteoconductivity to titanium after thermal oxidation. Mat Trans 49(3), 428-434, 2008
- 5) 谷野弘昌、西田恭博 早期の骨誘導効果のある新しい技術の比較；GRAPE Technology とアルカリ加熱処理の骨誘導能の評価 日本股関節研究振興財団研究成果報告書 2012
- 6) 松野丈夫、伊藤浩、谷野弘昌 平成 22 年度 独創性のある生命科学研究 プロジェクト型研究課題 ゆるむ事のない人工関節開発へのブレークスルー 旭川医科大学研究フォーラム 12, 96-99, 2011
- 7) 林宏至、伊藤浩、谷野弘昌ほか 股関節機能不全患者に対する新規人工股関節 (AMU001) の有効性および安全性の検討 臨床評価 39(2), 233-237, 2011
- 8) 中村孝志、川那辺圭一、田村治郎ほか アルカリ加熱処理を施したチタンセメントレス人工股関節の治験成績 新しい医療機器研究 9, 59-67, 2004

依頼稿

初学者に対する静脈血採血の教育方法

神 成 陽 子* 一 條 明 美* 升 田 由 美 子*

1. はじめに

静脈血採血は身体的侵襲を伴う看護技術であり、痛みや感染以外にも神経損傷や血管迷走反応などの合併症が起こる危険性がある¹⁾。2004年「看護学教育の在り方に関する検討会」報告書²⁾で示された「看護師教育の技術項目と卒業時到達度」では、静脈血採血は看護師・教員の指導のもとで、モデル人形もしくは学生間で実施できることが卒業時の到達度とされている。学生が卒業時までにはその到達度に達するためには、学内である程度の学習・練習を行うことが必須と考える。

本学科基礎看護学領域では第2学年で開講する基礎看護技術学Ⅱの中で静脈血採血に関する講義および演習を行っており、2003年度より学生間での静脈血採血を実施している。静脈血採血の演習では緊張の高まりから手の震えが出現する学生や、不安や恐怖を言葉として表出する様子がある。土井ら³⁾は、採血演習直前の不安項目では「相手に痛みや不安を与えることについての不安」が最も高いことを報告している。また我々が行った注射準備時に関する研究⁴⁾では、初学者にとって注射針を用いる看護技術には、恐怖心を伴うことが示唆されている。以上より、学生にとって採血針を刺入することや採血針自体を扱うことが静脈血採血に対する緊張や不安を出現させていると推測される。

看護学生が行う静脈血採血に関する研究動向としては、嘉手苺^{5)・6)}らが行った静脈血採血技術を習得するための教育方法の報告、新村ら⁷⁾や佐藤ら⁸⁾の看護学生と看護師の特性を比較した報告、青木ら⁹⁾の学生の学習過程の演習記録の分析についてなどの報告

がある。これらの先行研究では、学生が静脈血採血を安全・正確に実施できるようになるための課題や、学びの内容や行動から初学者の特徴を捉えて教育方法を検討していく必要性が示されている。

静脈血採血のような身体的侵襲を伴う看護技術は、選択する静脈やその静脈付近の神経の走行などの解剖学的知識および起こりうる事故の防止など医療安全に関する知識を持って、対象者に安全・正確に実施する必要がある。また初学者の特徴を踏まえた教育が重要であり、我々はそれらについて検討を重ねている。本稿では、我々が実施してきた初学者に対する安全に配慮した静脈血採血の教育方法を紹介する。

2. 静脈血採血の講義・演習構成

本学科基礎看護学領域では静脈血採血を検査に関する看護技術として教授している。講義・演習構成は、静脈血採血に関する講義、シミュレーターでの静脈血採血演習（演習1回目）、授業時間外に教員の指導を受ける採血実習室アワー、学生間での静脈血採血演習（演習2回目）としている（表1）。学生は3名で1組となり、演習期間中は同一メンバー間で実施者、観察者、患者役を交代しながら学習する。

演習1回目では、学生は静脈血採血の基本動作を部分的に学習した後、一連の動作をシミュレーターに対して実施する。基本動作のうち、採血針を刺入する動作はシミュレーターに対して実施するが、駆血帯を巻く、採血に適した静脈を選択するなどの動作は学生間で実施する。おおむねの学生はこの演習で部分的な動作についての課題を明確にし、シミュレーターから血液を採取することができている。しかし、患者役に対しての説明をせず無言で実施する、想定される神経損

*旭川医科大学 看護学講座

表1 講義・演習構成とそのねらい

内 容	時 間	ね ら い
静脈血採血（講義）	1時間	採血の目的・方法、実施の観察点について理解できる。 採血実施前・実施中・実施後に起こり得る事故について理解し、その防止方法がわかる。
シミュレーターでの静脈血採血演習（演習1回目）	2時間	清潔・安全・正確に静脈血採血（真空採血管）ができる。 1) 静脈血採血の留意点を述べられる。 2) 静脈血採血の練習方法を述べられる。 3) 静脈血採血が出来るようになるめどを立てることができる。
採血実習室アワー（授業時間外）	2時間	シミュレーター演習で明らかになった課題を解決することができる。
学生間での静脈血採血演習（演習2回目）	2時間	清潔・安全・正確に静脈血採血（真空採血管）を実施できる。 自分の採血の技術を評価して、自己の学習課題を明らかにすることができる。 実際に採血を行う、採血をされる体験について、レポートを通し、振り返ることができる。

傷の有無について観察するための問いかけを忘れる、というような傾向がある。この傾向は初めて静脈血採血を行う学生が採血針を刺入することや血液を採取することに集中してしまう結果として考えられ、学生に共通する課題となっている。学生は演習1回目で明らかになった課題を解決することを目的とし、採血実習室アワーで静脈血採血の自己学習を行っている。

演習2回目では、学生間で実際に静脈血採血を行う。指示書（教員が作成したもの）の確認、物品の準備、静脈血採血の実施、検体の運搬、感染性廃棄物の片づけ、が実施内容である。

学習環境の安全性の整備として、演習1回目と採血実習室アワーでは、教員の指導下で学生は学習し、シミュレーターのみで採血針の穿刺を行うこととしている。演習2回目では安全に学生間の静脈血採血を行うため、必ず教員の監視下で静脈血採血を実施させている。また静脈血採血の実施は1度のみ行うこととしている。

学生間の静脈血採血では実施直前に何度も深呼吸をする、患者役の学生への説明の際に声が震えるなど緊張や不安が高まっている様子がある。実施者の緊張や不安は患者役にも伝わりやすいため、教員は実施者と患者役の双方の学生を観察し、心が落ち着くように声を掛けていく。静脈血採血実施時には、教員は学生がどの静脈を選択したか、どのように採血針を穿刺するかについて実際に確認を行っている。学生が判断に迷ったり、間違ったりしている場合は、その場で具体的な助言や指導を行う。学生に実施手順の迷いや過度

な緊張がある場合、教員は学生の実施手順の確認や気持ちの整理をさせるための時間を確保した後、実施するよう指示している。このように教員は学生の様子や行動を観察し、さまざまな面で配慮をすることで、学生間の静脈血採血実施に伴う危険性を低減させている。

例年、静脈血採血実施時に血管迷走神経反応様の症状を呈する患者役の学生が数名いる。教員は事前に学生の既往を把握し、採血実施時には患者役の学生が着席している椅子の隣りに立ち、転落防止に努めている。学生に症状が出現した際の対策としては、採血実施場所の近くにあらかじめ車椅子を配備し、救護用ベッドへ移動できるようにしている。

3. 学生の実施および学習状況から見えてきた課題とそれに対する取り組み

我々はいずれの講義・演習についても、教員内で評価を行い、教育方法について修正を加えている。2003年に学生間で静脈血採血を実施する演習を取り入れてからも同様に教育方法を修正しながら教授している。

学生は静脈血採血のイメージをもちにくいことや、採血管ホルダーなどの操作のポイントをつかみにくい様子があり、それらを理解することが課題となっていた。学生はひとつの動作を行うことに集中しがちとなり、教員からの具体的な助言や指導があっても、それらをすぐに活用し行動を修正することは学生にとって困難であった。この状況は学生の多くに見られており

静脈血採血を学ぶ際に見られる初学者の特徴と考えられた。

前述したとおり、静脈血採血のねらいは「清潔・安全・正確に静脈血採血を実施できる」ことと「自分の技術を評価し、自己の学習課題を明らかにすることができる」としている。また実際に静脈血採血を実施する体験と患者役として実施される体験を振り返ることで、「血液を採取する」静脈血採血技術に留まらず、静脈血採血実施に関する看護師の役割について考えることもねらいの一つとしている。しかし、学生は学習のねらいを頭では分かっている、いざ実施となると「自分が血液を採取できる」ことが目標になる傾向があると思われた。

学生間の静脈血採血実施で血液の採取ができなかった学生は、静脈血採血の再実施を願い出たり、血液を採取できなかったことに対し落胆し、自己の学習課題について冷静に考えることができない様子があった。一方で血液の採取ができた学生には、そのことだけに満足してしまう様子もあった。学生は静脈血採血の実施に向けて学習に臨んでいるが、その学習過程では自

分自身でどのようなことが課題であるのか見出しにくく、助言を受けてもそれを取り入れる事が困難であったり、静脈血採血実施後、自分の課題や必要となる学習については漠然としていることが考えられた。

以上より、学生が安全・確実に静脈血採血を実施でき、自己の課題を明確にできるようになるために、静脈血採血の学習状況から学生にとって難しい内容や動作を抽出し、教育方法および内容について具体的な追加・修正を図った。

1) 静脈血採血の実際をイメージできる学習の必要性

静脈血採血の講義・演習では導入として、静脈血採血を実施している場面の映像を見せ、演習1回目に教員がシミュレーターに対して静脈血採血を行い、血液採取の仕組みについて説明をしていた。しかし真空採血管に血液の流入がない場合、採血針は静脈内に到達していない、あるいは静脈を貫通してしまっていることをなかなか理解できない学生もいた。学生は映像やデモンストレーションを見るだけでは具体的なイメージをもちにくいことがわかった。

そこで学生が静脈血採血の仕組みおよび採血針を刺

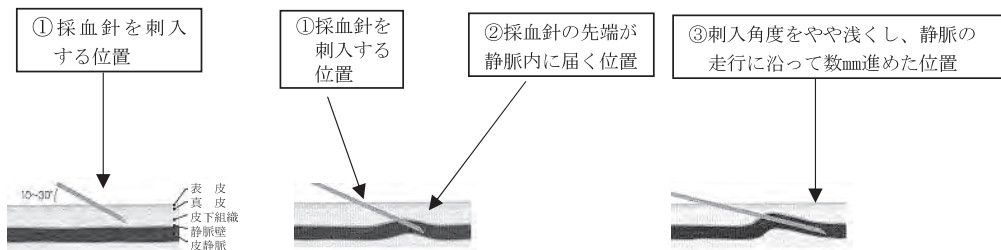


図1 静脈内に採血針を刺入するイメージ

(大阪労災病院看護部：初めての注射と採血，50，メディカ出版，2006 より引用，一部改変)

表2 真空採血管と真空採血の仕組み

1) 採血針の前方針が静脈内に入る。	
2) 採血管を採血管ホルダーに押し込む。	
3) 採血針の後方針が採血管のキャップを突き抜け、採血管の中に入る。	
4) 静脈血が採血管の陰圧に引かれ、採血管内に流入する。	

入するイメージをもち理解できるように、静脈内に採血針を刺入するイメージ（図1）、真空採血管と真空採血の仕組み（表2）を演習資料に掲載した。

2) 採血に適した静脈の選択

教科書において、静脈血採血や静脈内注射を実施される前腕部および肘窩付近の血管走行や神経走行に関する記述は一樣ではない¹⁰⁾。演習1回目に静脈の選択を学生間で行う際、患者役の静脈の走行が教科書通りではないことや、走行に個体差があることから、学生はどの静脈が静脈血採血に適しているか判断に迷い、「目に見える静脈」を選択しようとする傾向があった。

演習で使用する採血シミュレーターは駆血を行わなくても血管が怒張しており、シミュレーターで静脈血採血を行う場合も、学生は視診を頼りに静脈を選択している様子があった。静脈を選択する際に行う触診について助言を行うと、学生は静脈血採血をしようとする静脈を触れてはいるが、静脈の走行や深さの程度の確認を十分に行えていない傾向があった。学生間で行う静脈血採血の際、採血針を刺入しても、静脈の走行に沿って採血針を進めることが困難な様子や、浅く走行している皮静脈に対してほぼ真上の位置から採血針を刺入しようとする様子があった。後者のような場合、採血針は静脈内に到達するが、刺入されている採血針の部分は短く、不安定な状態で静脈血採血を行うことにつながっていた。

以上のことから、学生にとって「安全・確実に静脈血採血を実施できる静脈」の選択や判断が課題であることがわかった。静脈の選択には視診だけに頼らず

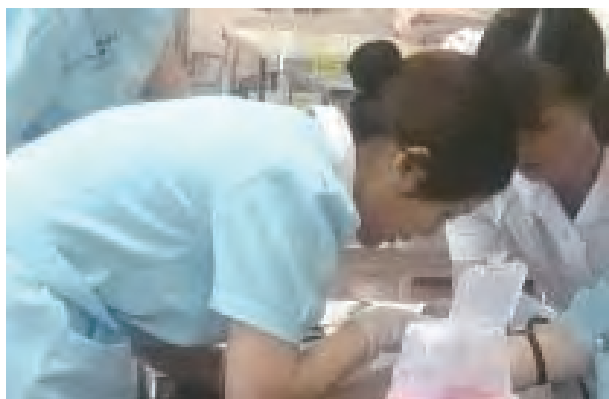


写真1 教員とともに選択した静脈を確認し、助言を受けている学生

触診を用い深さや走行を確認し、静脈血採血に適した太さ、弾力性のある静脈を選択するための助言が必要であると考えられた。

そこで演習1回目と採血実習室アワーの際に、学生間だけで静脈を選択するのではなく、教員は学生が選択した患者役の静脈とともに確認し、採血針の刺入角度・深さ・長さなどの助言および指導を行った。また演習2回目では、学生が患者役に駆血帯を巻き、実際に選択した静脈、採血針を刺入する位置および採血針の先端を静脈内に届かせる位置を教員とともに最終確認した後、静脈血採血を実施させた（写真1）。これらの指導については、専任教員だけではなく非常勤講師を活用し、学生がマンツーマン体制で指導を受けられるように環境を整えた。

演習前に行う講義では上肢の皮静脈の分布形態は非常に変化に富み、多くの解剖学者（生体観察、解剖観察）によっても、走行、開口部位、他の皮静脈との相互関係などで分類方法や基準が異なり¹¹⁾、静脈の走行は個体差があることを説明した。「安全・確実に静脈血採血を実施できる静脈」の理解および選択するためには、その根拠を提示することが必要であると考え、実際の採血の事件事例に合わせ、肘窩付近の皮静脈、皮神経、深層にある血管神経束を解剖学的に説明し、安全に静脈血採血を行うためには静脈の確実な選択が不可欠であることを教授した。

3) 採血管ホルダー・採血管の取り扱い

採血管ホルダー・採血管を正しく取り扱うことは、安全・確実な静脈血採血の実施につながる。学生は採血管ホルダーの適切な把持・保持の仕方がわからず握りしめる、鉛筆のように持つなどの様子や、採血管ホルダーに採血管を押し込む、抜き出す行動がスムーズに行えない様子が見られたため、教員は個別にデモンストレーションや助言を行っていた。しかし、教員の助言後に修正し改善できる学生と助言した直後は修正できていても、シミュレーターに対して静脈血採血の一連の動作を行う際には適切な方法がわからなくなってしまう学生がいた。

採血管ホルダーや採血管は学生にとって、静脈血採血の学習で初めて手にするものである。学生は慣れない器具を扱うことや、それらを扱いながら静脈血採血を行うことに不安があることが考えられた。新村ら

7) は、採血技術の中でも特に穿刺から針先・注射器の固定動作といった巧緻性を要する技術の未習得に不安を抱く初学者に対し、導入となる構えを具体的に提示することについてその効果を示唆している。以上のことから、採血管ホルダー・採血管の正しい取り扱い方法を学生に定着させるためには、その方法を具体的に提示することと繰り返し練習を行える工夫が必要であると考えた。

具体的な提示については採血管ホルダーの把持・保持の仕方と採血管の押し込み・抜き出しに関する操作方法を資料に掲載した。授業時間外に基本を繰り返し、かつ安全に練習できるように「採血練習セット」を考案した。

(1) 採血管ホルダーの把持・保持の仕方

採血管ホルダーは採血針を静脈内に刺入した状態で保持し続けることが必要となる。採血管ホルダーを把持した手指の一部を患者の前腕に触れるように保持すると、触れた部分が支点となり安定する。町田¹²⁾の報告を参考に、採血管ホルダーの把持・保持の方法(写真2)を検討し、資料に掲載した。また採血針を刺入した状態で採血管ホルダーに採血管を押し込み・抜き出しをするための空間をつくる(写真3)ことも必要である。学生は採血針を刺入する緊張から生じる力みがあり、把持・保持に続く採血管の押し込み・抜き出

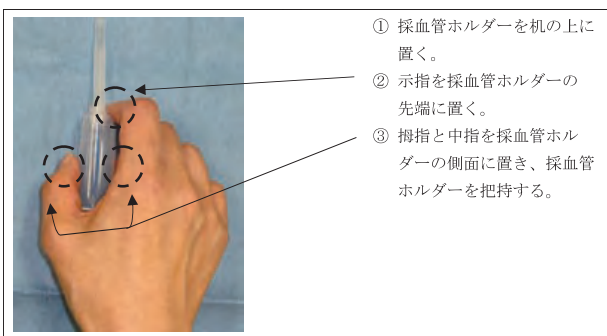


写真2 採血管ホルダーの把持と保持（正面）

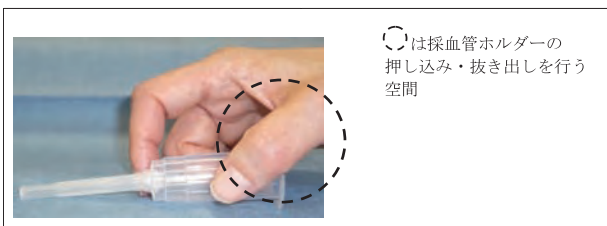


写真3 採血管ホルダー適切な把持と保持（側面）

しが難しいため、掲載した写真に説明を加えた。

(2) 採血管の押し込み方

採血管ホルダーに採血管を押し込む時点では、静脈内に採血針が刺入されている。採血管ホルダーを把持・保持しながら採血管を適切な力・方向で押し込まなければ、静脈内にある採血針の先端がずれる可能性がある。学生は採血管を必要以上に強い力で押し込むため、採血針をさらに刺入させてしまう様子や、採血管を押し込む方向が斜めになっていることに気が付かず、採血針の先端をずらしてしまう様子があった。学生にとって採血管ホルダーを保持しながら、採血管を押し込む動作は難しいことがわかった。採血管の押し込み方(写真4)のポイントを①最初は採血管を採血管ホルダーに少しだけ入れ、②示指を採血管ホルダーの‘つば’にかけ、③拇指は採血管の底の部分にあて、④示指と拇指を合わせるように押し込む、の4点とし、資料に掲載した。また採血管ホルダーの採血管ホルダーにはマーカーで直線の印を付け、押し込む方向のポイントとした。

(3) 採血管の抜き出し方

採血管ホルダーから採血管を抜き出す時点でも、採血針は静脈内に刺入されている。組織内での内出血および採血針の抜針による出血を防ぐためには、採血針の先端が静脈内に固定した状態のまま採血管を抜き出すことが必要である。学生は採血管をそのまま手前に抜き出しており、採血針が静脈内から抜き出てくる傾向があった。採血管の抜き出し(写真5)は採血管を回転させながら行くとその力を調整しやすいため、方法として説明を加え資料に掲載した。

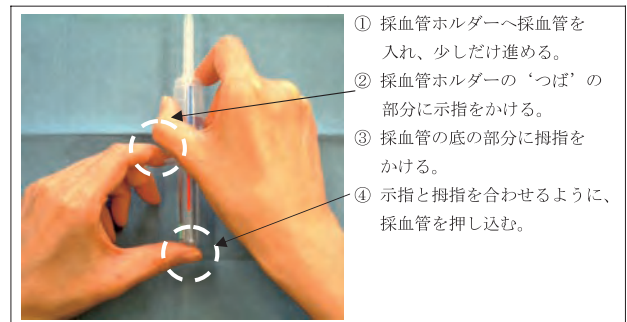


写真4 採血管の押し込み方

(4) 練習用採血セットを取り入れた事前学習課題

「練習用採血セット (採血管ホルダー・採血管)」(写真6, 写真7) は、前述した (1) ~ (3) を学生が繰り返し学習し、採血管ホルダー・採血管の操作を理解し習得できることを目的として考案した。

「練習用採血セット」は学生が学習する場所を選ばず、安全に学習できるように採血針を装着しなかった。また採血管ホルダーの先に採血針が装着されているイメージを持てるように、採血針の前方針のキャップのみを採血管ホルダーに接着剤で固定した。採血管ホルダーの採血針差込口には、輸液セットの中間チューブを約2cmに切断したものを挿入し(写真7)、チューブの上から前方針のキャップをかぶせるように固定した。これにより採血管ホルダーとキャップの接着が補強され、繰り返し練習することを可能とした。学生には練習用採血セットと事前学習課題資料、演習資料を講義開始前に配付し、事前学習資料は静脈血採血の部分的な動作が段階的に学習できるように構成した。資料1に練習用採血セットを用いた事前学習の内容を

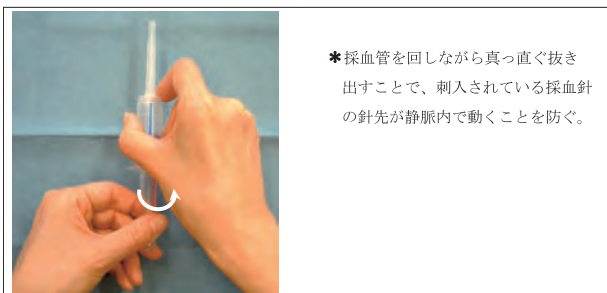
示した(資料1)。

4) グループで学習することの効果

演習1回目から、実習室アワー、演習2回目終了までの間、学生は3名1組の同一グループメンバーで学習を行っている。学生間で行う静脈血採血の演習について、南ら¹³⁾は患者の不安・緊張・苦痛の軽減につながるケア内容や安全・確実な採血技術ポイントとともに採血における人間的側面への援助的なかかわりの重要性について学んでいる、と報告している。我々が行っている教育方法においても、学生はグループ内で採血を受ける患者役割を行うことから、患者の身体的・心理的苦痛を考えるなど、患者としての立場で学習できていた。

シミュレーターを用いる演習1回目の時点から、実施者の学生と患者役の学生の双方には不安や緊張があった。お互いに採血を実施する際の心理状態を主観的に捉えることはできるが、客観的に捉え静脈血採血の実施を行うことは困難であった。そこで我々の教育方法では、3名のグループメンバーで採血の実施者、患者役および観察者を交代で担うこととした。

この利点としては、観察者が静脈血採血の実施について客観的に観察し、実施者へ助言を行えることがある。教員がグループに対して行った助言についても、観察者は客観的な立場で考えられるため、グループメンバーに伝達することを可能としている。観察者として気が付いた点を自分が実施者として静脈血採血を行



*採血管を回しながら真っ直ぐ抜き出すことで、刺入されている採血針の針先が静脈内で動くことを防ぐ。

写真5 採血管の抜き出し方



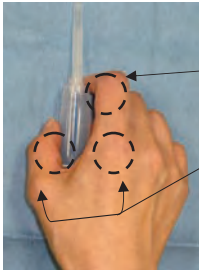

写真6 練習用採血セット

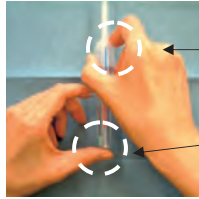
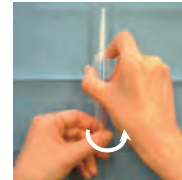


写真7 練習用採血ホルダーの構造

7. 採血の部分行動（ステップA~K）の練習をする。

1) 「採血針を刺入する」「採血管の押し込み・抜き出し」行動の練習をステップ A~H を基に行う。練習は☆Check の内容も確認しながら、何度も繰り返し行う。できるようになったら「チェック」欄に☑する。

	チェック
ステップA ：図「採血管ホルダーの持ち方」および①~③の要領を見て、覚える。	
ステップB ：以下の①~③の要領で「採血管ホルダー」を利き手に持つ。	
 <p>① 採血管ホルダーを机の上に置く。 ② 示指を採血管ホルダーの先端に置く。 ③ 拇指と中指を採血管ホルダーの側面に置き、採血管ホルダーを把持する。</p> <p>☆Check 一度で確実に持てますか？</p>	
 <p>○は採血管ホルダーの押し込み・抜き出しを行う空間</p> <p>☆Check 採血管の押し込み・抜き出しを行う空間がある状態で把持できていますか？</p> <p>図 採血管ホルダーの持ち方</p>	
ステップC ：採血管ホルダーを固定する。	
☆Check 中指・環指・小指のどこかを対象者の上腕へ接地していますか？	
☆Check ステップ B で確認した採血管ホルダーの持ち方が維持されていますか？	

	チェック
ステップD ：以下の①~④の要領で採血管ホルダーへ採血管を真っ直ぐに押し込む。	
 <p>① 採血管ホルダーへ採血管を入れ、少しだけ進める。 ② 採血管ホルダーの「つば」の部分に示指をかける。 ③ 採血管の底の部分に拇指をかける。 ④ 示指と拇指を合わせるように、採血管を押し込む。</p> <p>図 採血管の押し込み方</p> <p>☆Check 採血管ホルダーの青いラインと採血管の赤いラインがびったり重なった状態にしながら押し込んでいますか？</p> <p>☆Check 固定した採血管ホルダーが動いていませんか？</p> <p>*採血管ホルダーへ採血管を真っ直ぐ押し込むことで、刺入されている採血針の針先が静脈内で動くことを防ぐ。</p>	
ステップE ：採血管ホルダーから採血管を回しながら真っ直ぐ抜き出す。	
☆Check 固定した採血管ホルダーが動いていませんか？	
 <p>*採血管を回しながら真っ直ぐ抜き出すことで、刺入されている採血針の針先が静脈内で動くことを防ぐ。</p> <p>図 採血管の抜き出し方</p>	

資料1 練習用採血セットを用いた事前学習の内容（一部抜粋）

う際に活かすこともできる。実施者で助言を受けた後に観察者を行う場合は、その助言を基にグループメンバーが実施する静脈血採血を観察することができる。

このように実施者、観察者、患者役の役割をもち学習し、それぞれの立場から助言を行いながら演習を進めることで、学習内容の定着やグループメンバー間の人間関係の構築が図られると考えている。

4. 実施状況・課題レポートから見えたこと

本学科基礎看護学領域では2003年から学生間の静脈血採血を実施しているが、これまでに神経損傷や動脈穿刺などの事故は起こっていない。また学生が血管迷走神経反応様の症状を呈した場合、迅速に対応し転倒などの事故は起こっていない。

学生間の静脈血採血の実施状況について近年と導入時期を比較してみると、静脈血採血実施時に手が震えるなど緊張している様子は過去も近年も同様に見られている。しかし近年は、教員の助言により適切な方法を思い出し、行動を組み立てられる様子がある。過度の緊張により心の落ち着きを失ったり、動揺により手順や段取りが混乱してしまう学生は減少している印象がある。

静脈血採血実施を振り返る課題レポートでは、ほとんどの学生が実施者として緊張や不安を感じたことを表現していた。一方、患者役としては繰り返し練習を重ねたグループメンバーに対する安心感を表現する学生がいた。また自分が実施できた内容、課題となった内容を判断している表現があった。具体的には、患者役に声掛けは意識して行えたが、静脈の選択の迷い患者を不安にさせてしまったことや不安や緊張から練習ではできたことが練習通りに行えず、今後も繰り返し練習する必要性を感じたことなどである。

静脈血採血に適した静脈の選択や採血針の刺入については、多くの学生が難しいと感じていた。課題レポートでは、今回は教員の助言により行えた、今後は自信がつくまで練習し、経験を積んでいく、など学習の必要性を感じたなどの表現があった。また臨床の場では静脈血採血はすべて一人で行う、自分自身の判断ですべてが決まる、人間を対象に行う行為であるため、責任は重大である、というように看護者としての責任に関しても表現されているものがあった。

毎年約1割程度の学生は、血液の採取ができていなかった。これらの学生のレポートでは、シミュレーターと実際の患者の違いが理解できたことや、知識を

基によく観察する必要性などが表現されていた。学生は血液の採取ができなかった原因を考え、今後の課題を具体的に導き出そうとしていた。

静脈血採血の教育方法を追加・修正しても、学生には不安や緊張、実施の難しさは変わらず存在していることがわかった。しかし、学生の実施状況の様子からは、不安や緊張をある程度にコントロールしていたことが推測され、ほとんどの学生は血液の採取の結果に関わらず、具体的な学習課題を導き出していた。以上のことから、初学者である学生の特徴を踏まえた授業の構成、学生が困難な内容や動作を習得するための方法、演習環境の整備は、患者役の不安や緊張を軽減させることや安全・確実に静脈血採血を行うための学習課題を見出すことの一助となっていることが示唆された。

学生が実際に看護者および患者を体験するという採血実施場面に近い演習を行うことは、看護者としての責任について考える機会となっていた。本学科では学生は第2学年で静脈血採血を学生間で実施した後、臨地看護学実習で患者に対して静脈血採血をすることはない。しかし、学生は実際に自分が患者に静脈血採血を行うために必要な学習課題について考えており、その課題をもとに学内で有効な学習を継続することを可能としていると推測された。

5. 今後に向けて

静脈血採血に関しては学生間で患者役割を行う構成にしているため、これまでと同様にその安全性を確保する必要がある。静脈血採血実施への不安に対しては心の準備を整えさせ、不安を学習能力の向上に転化させる教育的視点が重要¹⁴⁾であるため、静脈血採血に伴う身体的侵襲、学生の緊張や恐怖心などを考慮し、時間外に学習を行う環境を整える、事前学習内容を吟味するなど学習内容や教授方法を洗練させ、その学習効果について検討していく必要がある。

文 献

- 1) 日本臨床検査標準協議会：標準採血ガイドライン (GP4-A2), 学術広告社, 2011.
- 2) 看護学教育の在り方に関する検討会：看護実践能力育成の充実に向けた大学卒業時の到達目標, 2004.

- 3) 土井香代子, 三國和美, 竹本由香里他：「静脈血採血」演習時の学生の不安に関する研究 (第2報), 21-33, 宮城大学看護学部紀要, 2006.
- 4) 一條明美, 升田由美子, 神成陽子他：注射準備時における新リキャップ法の有効性の検討, 76-83, 日本看護技術学会誌, 2009.
- 5) 嘉手苺英子, 棚原節子, 仲宗根洋子他：看護技術の立体像に導かれた採血技術の習得を促す教育方法, 沖縄県立看護大学紀要, 2, 67-75, 2001.
- 6) 嘉手苺英子, 金城忍, 名城一枝他：実際に採血を行う技術チェックの看護技術教育上の意義, 沖縄県立看護大学紀要, 7, 17-24, 2006.
- 7) 新村洋未, 國澤尚子：初学者の採血における注射器把持の構え—熟練者の構えとの比較および手の特性との関連—, 日本看護技術学会第10回学術集会講演抄録集, 203, 2011.
- 8) 佐藤美紀, 大津廣子, 曾田陽子他：看護師と看護学生の静脈血採血時の視線軌跡の違い, 愛知県立看護学部紀要, 17, 7-14, 2011.
- 9) 青木久恵, 窪田恵子, 青山和子他：看護大学生の採血初回時に積極的に用いた図の分析—学生の演習記録から—, 202, 日本看護技術学会第10回学術集会講演抄録集, 2011.
- 10) 高橋康子, 平河勝美, 岡本寿子他：基礎看護技術教育における教科書の内容調査—「静脈血採血」「静脈内注射」の項目の内容に関して—, 36, 15-21, 京都市立看護短期大学紀要, 2011.
- 11) 五味敏昭：特集 採血の安全管理—感染からクレーム対策まで 1.安全・確実な静脈採血 (肘窩) に必要な解剖学の知識, Medical Technology, 38 (1), 14-20, 2010.
- 12) 町田保：特集 採血・静脈注射のエビデンス 安全で確実な採血のために 採血方法とコツ, 臨牀看護, 34(1), 48-54, 2008.
- 13) 南妙子, 岩本真紀, 粟納由記子他：静脈血採血実習における看護学生の学びの分析, 香川大学看護学雑誌, 12(1), 37-46, 2008.
- 14) 池田菜々子, 門間正子, 佐藤千紘他：採血演習における看護学生の不安に関する調査, 第39回日本看護学会集録 (看護教育), 208-210, 2008.
- 15) 大阪労災病院看護部：はじめての注射と採血, メディカ出版, 50, 2006.

依頼稿 (報告)

2012 年度 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* 藤井智子** 伊藤俊弘* 北村久美子***

1. はじめに

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、日本国際協力機構 (JICA) の JICA 北海道が担当し、本学が研修運営を委託され看護学科と医学科健康科学講座所属教員がコースリーダーを務めて 2008 年度から開始された地域別研修事業である。2012 年度の研修は、第 2 期の 2 年目として 2012 年 6 月 26 日から 8 月 10 日 (技術研修期間: 7 月 2 日から 8 月 10 日) のおよそ 6 週間にわたって行われた。

JICA は開発途上国のすべての人々に恩恵が行き渡ることを念頭に置き、相手国の発展段階や国・地域の特性に合わせた援助手段を組合せた支援を展開する日本国の機関である。JICA は、緒方貞子前理事長の下で展開された「Inclusive and Dynamic Development (すべての人々が恩恵を受ける、ダイナミックな開発)」というビジョンを継承し、援助は相手国の全ての人々に恩恵が及ぶことを念頭に置き、ダイナミックな発展に対応したものであるべきだとし、開発途上国が極度に不安定な状態に置かれた段階から持続的発展の段階までをシームレスに支援できる組織へと改革を進めてきたが、2012 年 4 月から前東京大学副学長で国際政治学者である田中明彦新理事長に変わり、さらなる展開の取組が始められている。2000 年に国際連合において 8 つのミレニアム開発目標が設定され、うち 3 つが保健医療分野の目標になっている。これは、WHO のアルマアタ宣言で触れられている、開発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

ことの証であろう。その一方で、民主化の遅れや急速な経済成長に伴う格差の拡大に対して、民主化や格差是正を求める動きが世界の潮流となりつつあるものの、国際紛争やテロの頻発もやむところを知らない。こうした中で、発展途上国を中心とした弱い立場にある一般の多くの人々の生命と人間の尊厳が脅威に晒されている状況にある。

2010 年の研修内容の報告にも書かせていただいたが、アフリカ地域では早魃とそれに伴う食糧難・飢餓が大きな問題となっているうえに、次々に起こる部族・宗教の違いによる紛争が人々の生活基盤を破壊するため、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。アフリカ地域では保健医療従事者と資金の不足により住民への基本的保健医療サービスの有効な展開が困難であり、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である。特に地方では、保健医療行政システムの脆弱さ、保健医療施設へのアクセスの悪さ、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いるうえに、中央と地方との格差が拡大しており早期の解決が希求されている。

本研修は、上記のような課題を抱えるアフリカ諸国の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、JICA が担う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支援の一翼となるものである。

*旭川医科大学 健康科学講座 **看護学講座 ***名誉教授

II. 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北部は、広大な面積の大地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過去がある。しかし第二次世界大戦後の地域保健計画の改革や先人の活躍、さらには本学の開学により道北・道東地域の医師・看護師が増えたことで医療レベルの向上が図られるなど、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も合わせ持っている。しかしながら、少子高齢化や地方の過疎化の進行を背景に、現在においても医療従事者の偏在や、地域当たりの医療機関や医療従事者が十分でないなどの地域特有の問題が現存しており、道や市町村と医療機関・医療従事者の努力が続いている。こうした道北・道東地域が過去および現在に直面してきた課題とその解決の経験は、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している課題と通ずるものがある。ここに旭川医科大学がアフリカ諸国地域向けの JICA 研修に貢献できる理由がある。

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されていたが、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諸国に変更されている。また、本研修コースの認知度の高まりを受けて各国からの研修員定員の増加の要望に応え可能な限りの受け入れを心掛けている。

研修員の応募資格は、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、または中央省庁にあって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、すなわち地域保健行政に責任を持てる立場にある者である。各国 JICA 事務所からの推薦を受けて応募した後に、JICA 北海道と本学研修コーディネーターとによって受け入れ者を決定している。昨年度から募集要項において本研修の対象者を本コースの本来の趣旨に厳密に合わせることを強調し、それに即したアフリカ各国 JICA 事務所からの推薦もあって、本年度も昨年度と同様に研修員の職階が揃い、州レベルの保健行政担当官（7 名）あるいは中央政府

にありながら地域保健行政に係る担当官（6 名）の参加となった。本年度の研修員は、エチオピア（2）、ガーナ（2）、ケニア（1）、レソト（1）、マラウイ（3）、モロッコ（1）、タンザニア（2）、ジンバブエ（1）から計 13 名であった（括弧内は人数）。医療職者は医師 5 名、看護・助産師 2 名、検査技師（環境保健・微生物）2 名であり、他 4 名は保健行政サービス（事務・財務・人材育成など）を担当していた。昨年度まで男性の研修員の割合が高かったが、本年度は女性が 7 名、男性 6 名であった。例年に見られる男性の絶対的なリーダーとなる者はいなく、年齢的に高い女性研修員達が全体をまとめていたように見受けられた。また、研修員の年齢構成がやや高くなったが、年配者が若手をサポートするなどグループとしてのチームワークは良かった。

研修員は皆、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。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、それぞれの国の地方の人々の包括的医療にかかわる課題の解決に大いに期待できる。

3. 研修項目および到達目標

1) 研修の目標

本コースは、講義、演習、視察、総合討論を通して、日本の保健行政に関する基本的理念について制度や組織の歴史の変遷と合わせて、国民の健康保健の課題に対して行われてきた地方保健行政改善のための取組の変遷および現在の状況を把握・理解し参考とすることにより、研修員出身国での健康保健問題解決の一助となることを目指すものである。研修成果の効果判定は、各自が帰国後に取組むことを想定して研修期間中に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、研修最終日に行ったプレゼンテーションで実施した。具体的には、以下に示すごとくである。

- i) 自国や管轄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きているか。
- ii) 地域保健計画に必要な課題設定、課題解決の方法、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の際に必要な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組みの歴史と現状を事例から学び、自国で実施可能な解決策の策定に応用・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し解決すべき課題を抽出できる。
- 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）を作成するとともに、帰国後に中央政府、同僚保健医療職者や地域住民に対する効果的なプレゼンテーション・啓発方法について実践することができる。

4. 研修内容

本研修は1期の3年間と2期2年間の研修員からのニーズ聴取と、1期の研修が終了した後の、2011年1月にコースリーダーである吉田貴彦が研修員のフォローアップを行うためにタンザニアを訪問し3名の研修員の活動拠点で研修の成果を確認するとともに、アフリカの保健・医療の状況を視察した成果をもとに研修内容の改善・再編成を行っている。2012年3月に看護学科のコースリーダーであり、道北のスタディツアーを企画していた北村久美子教授が退職されたことと、道北での受け入れ側の担当者の異動や組織体制の変更などがあったことから見直しを行った。

本研修は、旭川医科大学の施設を中心に行う講義・演習、各現場を訪れての見学からなる実地研修を織交ぜて行うことで理解の促進を図っている。また本年度は、研修員に交代で1日毎の研修内容と考察として“日報、Daily report”の提出を課すことと、研修内容からの6つのトピックスを選び、各国の状況情報を交換し総合討論を行う時間帯として“話題提起とディスカッション、Topic raising & discussion”を設定して実践した。トピックスは、母子保健対策、感染症対策、生活習慣病、環境問題と衛生、病院管理とスタッフ研修、住民の健康教育・学校保健である。研修の全体デザイ

ンは研修日程表を参照されたい。地域保健行政においては地域住民について広く知ることが大切なことから、研修期間を通して課外時間（土日曜日など）に地域イベントなどへの自主的参加など交流の機会が得られるように配慮した。以上より、濃密なスケジュールの研修となった。

1) 地域保健にかかわる広範囲な知識と日本・道北での経験および現状の紹介

アフリカ諸国では、予防・保健、狭義の医療、福祉、学校保健、産業保健、環境衛生などの健康にかかわるサービス提供を担う組織・機関が別個になっておらず全て地域保健行政の管轄にあり、日本の体制と大きく異なっている。そのため保健行政（中央-地方行政組織、包括的医療の提供サービス、保健・医療システムなど）の違いを理解しておくことは、混乱を避け本研修において研修員の自国における地域保健行政に役立つ知識や技術を得るうえで必須であるため研修初期に講義を配置し、その後、地域保健の対象領域別諸テーマとして、感染症対策、母子保健、小児保健、学校保健、成人保健、産業保健、環境保健、病院管理についての講義を日本の過去の状況と対策の事例などを意識しながら展開した。さらに、講義に加えて理解の促進を図る目的で織交ぜて実施した各現場を訪れての実地研修の内容や意義、研修員の反応や様子について以下に記す。

北海道庁保健福祉部、地域保健の指導的な保健行政を行う道立保健所（上川保健所：特に環境・食品検査施設に重点を置いて）、さらに住民への保健サービス提供の場となる市町村保健センター（滝上町、紋別市）を訪れ、それぞれの地域保健行政単位の役割とそこで働く行政職や各種専門職の役割、およびそれらの連携について系統立てて実地で再確認できるように配慮した。しかし、研修員に対し講義で説明し実地見学を繰り返しても、アフリカ諸国と日本の相違についてはなかなか理解し難かった様である。

地域住民に対する保健・福祉サービスの現場として、美瑛町および旭川市において、特別養護老人ホーム、高齢者福祉住宅、多機能型老人グループホーム、指定居宅介護支援事業所、老人デイサービス・センター、個人宅を訪問し多様なサービス提供の現場を見ることが出来た。また、今年度より住民の健康づくり事業として、ICT遠隔保健指導システムを用いた住民への運

動指導を中心とした活動について、札幌の発信元スタジオおよび受信側の滝上町体育館での住民の運動教室の現場を見学することで繋がりを実感できる企画とした。滝上町での健康づくりのための遠隔運動指導では、アフリカでも肥満に基づく生活習慣病の増加の現実がありながらも指導者の不足があることから、研修員の興味は高かった。

日本の医療サービス提供体制（病院・診療所等の治療を主とする狭義の医療機関）の見学も充実させた。最先端医療を担う特定機能病院である旭川医科大学病院、感染症と難病対策に重点をおく国立病院機構旭川医療センター、地域医療の中核を担う地域支援病院である名寄市立総合病院とそのサテライト診療の場としての中川町立診療所の眼科外来、高齢者など医療機関への通院が困難な住民に対して居宅や施設に往診し整形外科診療をする場面などを直接見ることができ、それぞれの機能分担、病診連携などについても学べた。特にアフリカの地域では住民の医療機関へのアクセス困難という共通した課題がある事から研修員にとって往診診療は“outreach”活動として評判が良かった。また、医療科学領域の講義として、病院管理の技術に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、安全・衛生確保に応用できる5S活動（後述）について、実際にアフリカ地域でJICAが展開しているプロジェクト・リーダーを講師として学んだ後、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、職業意識の賦活について、様々な医療機関の実践状況を確認できたことは研修員にとって有益だったと思われる。旭川医科大学が取り組む遠隔医療システムについて吉田晃敏学長から講義を受け、先進的遠隔医療が実現可能とする医学における平等性確保は、現地での経済的な問題が残るものの研修員に夢を与えるものであったと思われる。

学校保健について、中学校を訪れ現役養護教員から活動の実際について学んだ。さらに小学校を訪れ、学校栄養士により学校給食の意義について講義を受け、給食の準備・片付けと清掃の時間を中心に見学することで、小児期からの健康衛生教育、特に栄養と衛生を含めた健康習慣を身につける場としての学校教育の在り方を知る機会とした。また、研修員はそれぞれクラスに配属され給食を児童とともに摂るなど交流の機会を持つこともできた。さらに今年度から、児童福祉の

現場として、滝上町の留守家庭児童会での活動、遠軽町の障害児童生徒の児童自立支援教育施設である北海道家庭学校を訪れることで、日本における地域社会での児童福祉の取組みを学ぶ機会とした。日本人の国民性ともいえる清潔志向が感染症予防の大きな原動力となっており、それらが学校生活などを通して幼いうちから身に付けられていることを研修員は目の当たりにできたことは有意義であったようだ。給食の準備や教室の清掃など児童が教師と共に自ら行うことも驚きの対象であり、責任感・自主性の創造の場ともなっていると理解されたようだ。また、日本の小学校の校庭では馴染みの深い体育授業でも使う遊具のような器具施設類はアフリカ諸国には無いとのことで興味を示していた。

環境衛生領域では浄水場、ゴミ焼却場、廃棄物最終処分場、医療廃棄物処理施設、食品系・草木質系廃棄物からの堆肥化施設、ビン・缶・ペットボトルなどのリサイクル施設、古紙リサイクル施設を見学した。住民の健康と環境保全・衛生維持に直結する地域行政活動が日本の感染症を大きく減らした背景となっていることから衛生確保の重要性と、アフリカ諸国で遅れている廃棄物処理やリサイクルについて環境保護・資源の有効活用の必要性について認識を深めることが出来た。分別・リサイクルすることで廃棄物が収益につながる事を意外なこととして興味を示していた。また、医療廃棄物処理施設ではアフリカ諸国の医療従事者の安全意識の低さから不適切な処理状況にあることを踏まえて熱心な質問があった。

食品衛生管理の現場として食肉検査所と屠畜場を訪問し、食肉の安全性の確保・担保の仕方について講義を受け、屠畜場の衛生管理状況を見学した。これは昨年のタンザニアの地方の屠畜場の状況視察（屋根のみある屋外で土埃、鳥や虫が自由に往来できる場所で行われている）を受けて、比較のために昨年度から実施しているものである。現地では冷蔵施設も整っていない事から食肉などは即日消費されていると思われ健康被害などの問題が大きくなっていないだけと思われたが、人々の健康状態を改善させるためには不潔・清潔の概念を食品や医療現場だけでなく全ての場面で普及させることが急務であると思われる。

産業保健領域の施設として、アフリカ諸国の地方などで役立つものが想定しにくいので、一例として製紙

工場を訪れて、安全への配慮や5 S活動（整理・整頓・清潔・清掃・しつけ）が実践される現場の様子を学んだ。

地域住民活動の見学において、老人デイサービス・センターや留守家庭児童会で研修員と高齢者や児童と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であるが、旭川市国際交流課の調整のもとでの市民の方々によるホームステイ、地域コミュニティや研修コース運営スタッフの協力により、旭川の夏祭りイベントへの参加、地域住民との交流の機会を持つことが出来た。日本の文化、風習などについても体験できたことは保健行政といった人間の生活に密着したサービスを担う者にとって、日本の保健状況の背景を知ることになり、より深い理解が得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、誇りと責任を持って仕事をしているといった印象を持ったようである。

2) 地域保健行政の実践において必要とされる技術に関する演習と発表会

地域保健行政の実践において必要とされる、地域保健にかかわる健康問題に対する疫学調査研究の手法、保健にかかわる課題の抽出・分析および課題解決のための地域保健計画策定のための手法である Project Cycle Management (PCM) 技術、中央政府への効果的なプレゼンテーション能力、地域住民に対する効果的な健康教育の手法などについてグループワーク等による演習によって学んだ。研修前半および研修後半においてアフリカで JICA プロジェクトに携わる講師による指導の機会を設け、本研修中に研修員が策定する地域保健計画アクションプランの制作の支援とした。こうした試みは、研修員が帰国後に取組む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の実践活動に役立つものであったと思われる。研修の最終日に、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に策定した地域保健計画アクションプランを、研修員同士が交替で司会を務めて発表を行った。

5. 反省と今後の方針

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発言が多かった一方で、各自の専門領域の講義や見学の時間が十分でないとの指摘があったが、「地域保健

行政」という本研修のような幅広い業務を担当する研修員に対するグループ研修においては、時間的な制約があるため致し方ない事と考える。大きなテーマを扱う本研修であるが、網羅的な内容となっており充実したカリキュラムであると考えられる。講義や現場見学の全てを真似るのではなく、本研修において修得される基本的な課題の抽出、解決への考え方、実践への企画、改善への評価など PDCA に則った方法を駆使して、研修員それぞれが各講義や見学を通して取得した事柄を、各研修員自らが独自に応用、発展させて各人の専門・担当業務に活かせるようになることが望まれる。研修員とコースリーダー間の事務連絡や、「日報」やアクションプラン案のパワーポイント (PP) ファイルのやりとりを電子メールを介して行った。本研修開始の5年前にはパソコンの操作すらできない研修員がおり、アクションプランのプレゼン資料作成に際してもコースリーダーの教室員がコンピュータ操作やパワーポイント・ソフトの使用や効果的な映像プレゼンテーション作成のノウハウの習得を支援する対応が必要だったことを考えるとアフリカの状況も急速に変わっているものと思われる。

毎日の日報の提出を課したことと並行して、研修後の教室の整理・整頓についても当番制をとったところ、大学職員、コーディネーター、コースリーダーの作業を率先して手伝う者もあり、気配りの気持ちの芽生えが感じられた。これは小学校で教師が子供達と教室の清掃をする姿を新鮮に感じたと言っていた研修員もあったことから、それぞれの国にあって指導的な立場にある研修員が日本の良い風習について触れ一時的であるにしる行動を共にできたことは意義深いものであると考える。

研修員の殆どの者が肥満傾向にあり、大学施設の体脂肪測定機での測定により全員メタボリック症候群に相当した。コースリーダーにより臨時の適正体重の重要性の講義を受けたこともあり、運動習慣と適切な食事の在り方に目覚めた者が少なからずあり（年配女性を中心に）、帰国後も職場通勤での徒歩やジムでの運動、運動器具の購入などの行動変容につながった者もある。生活習慣病が蔓延しつつあるアフリカにおいて保健活動のリーダーになる者の態度としてふさわしく、実際、職場の同僚などにも適正体重の重要性を広めている者もあることが、研修員間のメールのやり取

りからうかがい知ることができる。

6. 終わりに

本研修の目的は、地域保健行政担当者としてアフリカ地域の实情に合わせて住民への直接サービスの在り方について精通し、地域保健行政全体を財政的、人材的、物質的に運営し、さらには地域の健康課題を抽出し解決するために必要な保健計画(アクションプラン)を自国中央省庁に対して効果的にまとめて訴え交渉し連携していくために必要な知識と技能といった行政担当者としての総合的な手腕の修得である。

現実的に日本とアフリカ諸国の国情の違いは大きく、必ずしも日本での現在の状況を教える講義や最先端の施設や機器を見学するだけが良いことではない。過去の日本の状況を知り、どのような努力によって現在の状況まで変わったかを学び、その中から研修員の出身諸国の实情に照らして最も役立つ改善策などを習得してもらう事を一層徹底し、各講師、訪問見学の担当者に研修の趣旨を再確認する事で、より効率の良い研修となるように心掛けていきたいと思う。

2012年度 アフリカ地域 地域保健担当官のための保健行政 研修 日程

月 日	研修内容	担当者	場 所
6月26日(火)	研修生来日、札幌移動	JICA札幌	JICA札幌センター
6月27日(水)	ブリーフィング、ガイダンス、健康診断、日本語研修	JICA札幌	JICA札幌センター
6月28日(木)	ジェネラルオリエンテーション(日本の歴史・文化、社会・教育、政治・経済・行政)	JICA札幌	JICA札幌センター
6月29日(金)	プログラム・オリエンテーション、日本語研修、健診結果説明、自習	JICA札幌	JICA札幌センター
6月30日(土)	フリー		JICA札幌センター
7月1日(日)	PM 札幌から旭川へ移動		*旭川へバス移動
7月2日(月)	11:00 開講式 13:00 オリエンテーション(共通テーマ紹介グループ分け・Today's summary担当決め) 13:15 カントリーレポート発表会(国ごと) 17:00 ウェルカムパーティ	JICA札幌 吉田貴彦・藤井智子・北村久美子 司会:JICA札幌 伊藤俊弘、藤井智子	AMU大会議室 AMU大会議室 AMU大会議室 AMU6F実習室
7月3日(火)	日本における人の健康にかかわる行政の体制と活動概要について学ぶ 9:30 講義 日本の衛生行政・労働行政・環境行政の体制と概要 11:00 講義 日本の国民健康増進対策・疾病対策の変遷と概要 感染症疾患の蔓延防止の対策を学ぶ 13:30 講義 感染症対策の基本 “Standard Precaution” 15:00 講義 感染症の基礎知識(寄生虫感染症対策)	コーディネーター 吉田貴彦 吉田貴彦 教授 コーディネーター 吉田貴彦	AMU小会議室
7月4日(水)	地方における公衆衛生の向上と増進の活動 9:30 講義 地域保健行政の実務(保健所・保健センターの役割) 公衆衛生の第一線機関としての保健所の役割を学ぶ 14:00 講義 保健所における感染症対策 15:00 見学 上川保健所の見学(主に健診機器・検査業務)	コーディネーター 吉田貴彦 堀 幹典 留萌保健所長 コーディネーター 吉田貴彦 谷田光弘 医療参事 上川保健所	小会議室 *タクシー13:30発 上川保健所
7月5日(木)	PCM(プロジェクト・サイクル・マネジメント)の手法を学ぶ 9:00 講義 PCMの手法① Overview / Stakeholder analysis 13:00 講義 PCMの手法② Problem Analysis / Objective Analysis(part1)	コーディネーター 吉田貴彦・藤井智子 半田祐二郎 先生 半田祐二郎 先生	小会議室 小会議室
7月6日(金)	9:00 講義 PCMの手法③ Objective Analysis (part 2) / Alternative Analysis グローバルな視点から結核対策を学ぶ 13:15 講義 結核対策における技術支援・人材育成・政策立案	コーディネーター 藤井智子 結核予防会結核研究所 大角晃弘 先生	小会議室
7月7日(土)	フリー ホームステイ(予定)	JICA旭川デスク(今岡)	
7月8日(日)	フリー ホームステイ(予定) 旭川から札幌へ移動	JICA旭川デスク(今岡)	*札幌へバス移動
7月9日(月)	日本の地域保健・医療における行政機関の役割(地域医療保健福祉に関わる法規、政策、行政組織) 9:00 北海道における保健行政 11:00 北海道における地域医師確保 13:30-16:00 北海道におけるICTを活用した保健指導・運動指導	コーディネーター 北村久美子 北海道庁保健福祉部 吉野邦夫主幹 北海道庁保健福祉部 杉澤孝久医療参事 NPO健康保養ネットワーク 高山晃一事務局長、榎原聡参事	*徒歩移動 北海道庁 北海道庁 NPO健康保養ネットワーク
7月10日(火)	日本のハンセン氏病に対する対応から人権について学ぶ。 9:30 講義 日本のハンセン病対策の変遷と人権侵害 地方での結核予防対策について学ぶ 14:00 講義 北海道における結核予防対策と看護	コーディネーター 北村久美子 北海道はまなすの里 平中忠信代表 コーディネーター 北村久美子	札幌アスペン・ホテル *徒歩移動
7月11日(水)	AM 札幌から旭川へ移動 地域保健活動に役立つ健康データの種類と収集方法、生活習慣病について概観する 健康データ収集の計画・実践・解析 13:30 講義 生活習慣病の基礎 14:30 講義 地域保健活動に役立つ健康データの種類と収集方法 日本の医療提供の概要について学ぶ 15:30 講義 日本の医療提供体制の概要	コーディネーター 吉田貴彦 西條泰明 教授 コーディネーター 吉田貴彦 山口 亮 旭川市保健所長	*旭川へバス移動 小会議室 小会議室
7月12日(木)	9:30 講義 地域保健活動における疫学研究と事例の紹介 11:00 講義 旭川医大病院における病院管理(財政・人事・物品・医療情報) 見学 旭川医大病院の院内見学 感染症対策(清潔・不潔)、外来・入院患者の流れ、入退院センターの機能、医療廃棄物の処理、スタッフのための厚生施設、意見箱、給食システム、外来ブース・病棟の配置など 15:30 話題提起とディスカッション① 共通テーマ「生活習慣病」	西條泰明 教授 病院経営企画部 伊藤廣美副看護部長、辻崎ゆり子副看護部長、河地範子副看護部長、石上番副看護師長 吉田、藤井、西條、伊藤	小会議室 小会議室 小会議室 小会議室
7月13日(金)	日本の保健統計の推移から学ぶ 9:30 講義 日本の保健統計の動向 11:00 講義 地域保健活動における健康データの解析手法 13:30 演習 住民教育に役立つ資料作成 15:30 話題提起とディスカッション② 共通テーマ「感染症」	コーディネーター 藤井智子 望月吉勝 教授 伊藤俊弘 准教授 藤井智子 教授 藤井、伊藤、吉田(逸郎)、中尾、北村	小会議室 小会議室 小会議室 小会議室
7月14日(土)	フリー		
7月15日(日)	フリー		
7月16日(祭)	フリー		
7月17日(火)	日本の母子保健、小児保健、学校保健の概要を学ぶ 9:30 講義 日本の出生の歴史と現状 11:00 講義 日本の小児看護の歴史と現状 13:30 講義 学校保健 養護教諭の役割 15:30 話題提起とディスカッション③ 共通テーマ「母子保健」	コーディネーター 藤井智子 黒田 緑 教授 岡田洋子 教授 渋谷和子 元養護教諭 藤井・伊藤	小会議室 小会議室 小会議室 小会議室 小会議室

月 日	研修内容	担当者	場 所	
7月18日(水)	日本における公衆衛生看護の歴史・時代背景・役割を学ぶ	コーディネーター 藤井智子		
	9:30 講義 日本の公衆衛生看護の歴史	北村久美子 教授	小会議室	
	遠隔ICTを活用した医療の均等化	コーディネーター 吉田貴彦		
	11:00 講義 大学と地域・国際連携	吉田晃敏 学長	遠隔医療センター	
	日本における公衆衛生看護の歴史・時代背景・役割を学ぶ	コーディネーター 藤井智子		
7月19日(木)	13:30 講義 日本の1950～1970年代に活躍した開拓保健師の軌跡	加藤 正子 元開拓保健師・元道立保健師 所保健師 北村久美子教授	小会議室	
	日本における学校保健活動について現場で学ぶ	コーディネーター 吉田貴彦・藤井智子	タシ/タシ/路線バス	
	9:00-11:00 見学 旭川市東光中学校 11:30 見学 北海道教育大学附属旭川小学校 児童と教室で給食、施設見学、学童の授業・活動など見学	中村日出元 校長先生他 西尾直樹 副校長先生他	旭川市立東光中学校 教育大附属旭川小学校	
7月20日(金)	PCM(プロジェクト・サイクル・マネジメント)の手法を学ぶ担当地区の問題を分析することに役立てる	コーディネーター 吉田貴彦		
	9:00 講義 P C Mの手法④ Formulation of Project Design Matrix (Outline) / Summary 演習 アクションプラン作成に向けて	半田祐二郎 先生	小会議室	
	地方中規模病院の管理運営の実態	コーディネーター 吉田貴彦		
	13:30 講義 病院管理学・医療科学の基本 15:00 病院管理学・医療科学のアフリカにおける実例紹介 16:30 話題提起とディスカッション④ 共通テーマ「病院管理・スタッフ教育」 17:00 道北フィールドツアー ガイダンス	半田祐二郎 先生 半田祐二郎 先生 吉田、藤井 吉田、藤井、伊藤	小会議室 小会議室 小会議室 小会議室	
	7月21日(土)	フリー		
7月22日(日)	フリー			
7月23日(月)	地域の結核治療について専門施設の場で学ぶ	コーディネーター 藤井智子	バス	
	10:00 講義・見学 結核医療の変遷と現在の治療、病院と地域の連携・役割	旭川医療センター 藤兼俊明 副院長・山崎泰宏 内科医長	旭川医療センター	
	地域における介護について学ぶ	コーディネーター 藤井智子	バス	
7月24日(火)	14:00 講義 住民にあったケアプランの作成方法とコーディネーターの役割	指定居宅介護支援事業者ケアプラン相談所 中川雅子 代表	ケアプラン相談所	
	9:00～11:00 見学 ケアプランに基づく家庭訪問(旭川市永山地区) 過疎地域における市町村レベルの保健行政について学ぶ 14:00～17:00 見学 名寄市立総合病院	中川雅子 代表 コーディネーター 吉田・藤井・伊藤 名寄市立総合病院 佐古和廣 院長	バス(8:00医大、20ホテル発) 北村先生合流(永山駅11:30) 名寄市立総合病院 *名寄市宿泊・バス	
7月25日(水)	10:30～11:45 見学 サテライトクリニック(中川町立診療所) 14:00～16:00 見学 ICTを活用した健康運動指導 講義 滝上町の健康づくりに関する事業 16:30～17:30 見学・交流 小学校留守家庭児童会	中川町立診療所 滝上町スポーツセンター、他 大石絵理 保健師	バス9:00ホテル発 滝上町 *紋別市宿泊・バス	
	7月26日(木)	9:00 見学 2才児相談、集団遊び・こどもの発達を観察、親への支援・説明 ～12:00 講義 紋別の保健福祉行政・保健師活動 13:00-14:30 講義 過去の結核対策、保健推進員(住民)とともに作りあげる健康地域 15:00-16:30 見学 オホーツク圏における看護師養成機関の役割	紋別市保健センター 大平朱美 保健指導係長 阿部秀子 元保健所保健師 道立紋別高等看護学院 品川由美子 教務主幹	バス8:30ホテル発 紋別市保健センター 紋別市保健センター 道立紋別高等看護学院 *紋別市宿泊・バス
	7月27日(金)	9:00 見学 冬季の北海道の自然環境・暮らしの理解 見学 11:00 見学 遠軽の開拓の歴史を学ぶ 12:00 見学 児童自立支援教育について学ぶ PM 16:00 ホーム・パーティ	北海道立オホーツク流水科学センター 遠軽教会 森下一彦 牧師 北海道家庭学校 熱田洋子 施設長 吉田貴彦	バス8:30ホテル発 バス移動 旭川着17:00 吉田宅
7月28日(土)	フリー			
7月29日(日)	フリー			
7月30日(月)	日本の環境保健と産業保健の概要	コーディネーター 吉田貴彦		
	9:30 日本の環境問題の歴史と環境保健の動向 11:00 地域における産業保健活動の実態 13:30 環境保健行政の実務(上下水処理、廃棄物処理) 15:30 話題提起とディスカッション⑤ 共通テーマ「住民教育・学校保健」	吉田貴彦 教授 伊藤俊弘 講師 吉田・藤井・伊藤・中木	小会議室 小会議室 小会議室 小会議室	
	7月31日(火)	地域保健関連施設(食品保健・環境保健・産業保健)の実務を学ぶ	コーディネーター 吉田貴彦	バス(8:00医大、20ホテル発)
	9:00-12:00 見学・講義 旭川市食肉衛生検査所(と畜場・食肉検査) 13:30-14:30 見学・講義 石狩川浄水場(旭川市水道局)浄水処理施設 15:00-16:30 見学・講義 製紙(製紙工場・紙のリサイクル)	吉田貴彦・伊藤俊弘・中木良彦	旭川市食肉衛生検査所 石狩川浄水場 製紙工場	
	8月1日(水)	地方における医療機関と地域保健業務の連携を学ぶ	コーディネーター 吉田貴彦	バス8:00ホテル発
8月2日(木)	9:00-10:00 町立病院と町保健センターが連携した地域住民の健康管理 10:00-12:30 地域内訪問診療の実態(市街地域、高齢者施設・福祉住宅・個人宅) 13:00 講義 美瑛町における整形外科訪問診療(味戸伸彦医師) 14:00 地域内訪問診療の実態(遠方地域、居宅介護施設) 16:45 総括講義(味戸伸彦医師・藤原裕子看護師他)	吉田貴彦・藤井智子	美瑛町(美瑛町保健センター、美瑛町立病院、美瑛町内各施設)	
	8月2日(木)	地域保健関連施設(環境保健・産業保健)の実務を学ぶ	コーディネーター 吉田貴彦	バス8:15ホテル発
	9:00-11:00 見学 医療廃棄物処理施設・廃棄物リサイクル 13:00-14:30 見学・講義 近文清掃工場(廃棄物焼却場、リサイクル施設) 15:00-16:00 見学・講義 廃棄物最終処分場 19:30 地域交流 旭川夏祭り花火大会(希望者)	吉田貴彦、伊藤俊弘、中木良彦 有志	廃棄物処理業者 近文清掃工場 廃棄物最終処分場 常磐公園河川敷	
8月3日(金)	アフリカにおける保健強化・キャパシティデベロップメント実践に学ぶ	コーディネーター 吉田貴彦		
	9:00-12:00 講義 Health system management with whole systems approach保健システム強化とキャパシティ 13:30-16:00 ティー・ディベロップメント -アフリカの事例を中心に- 16:00 話題提起とディスカッション⑥ 共通テーマ「環境保健・衛生」	杉下智彦 専門官 藤井、吉田	小会議室 小会議室 小会議室	
8月4日(土)	フリー/ 夕方 地域交流 旭川夏祭り(希望者)	有志		
8月5日(日)	フリー			
8月6日(月)	研修のまとめPCMを用いて、担当地域の解決すべき課題を特定し、それに対する保健福祉計画を策定(アクションプラン)する。			
	9:30-12:00 演習 PCMの補足・アクションプラン作成に向けて 13:00-16:00 各自アクションプラン作成	杉下智彦 専門官 吉田、藤井、伊藤	小会議室 小会議室	
8月7日(火)	住民に合わせた啓発方法、組織へのプレゼンテーションを考え実施する。			
	9:30-12:00 各自アクションプラン作成 13:00-16:00 各自アクションプラン作成	吉田、北村、藤井、伊藤	小会議室 小会議室	
8月8日(水)	9:30-12:00 各自アクションプラン作成 13:00-16:00 各自アクションプラン作成	吉田、藤井、伊藤	小会議室 小会議室	
	8月9日(木)	保健福祉計画(アクションプラン)のアピール方法、組織上層部へのプレゼンテーション方法を考え実施する。		
8月9日(木)	9:30-12:00 プレゼンテーション 13:30-16:30 プレゼンテーション 意見交換・講評 17:00 フェアウェル・パーティ	全員 全員	大会議室 居酒屋	
	8月10日(金)	11:00 閉講式 サヨナラパーティ 旭川から札幌に移動	全員	大会議室 小会議室 *札幌へバス移動



開校式



吉田晃敏学長による講義



半田先生による PCM 演習



ディスカッションでのリラックス体操



名寄市立総合病院 (佐古先生)



上川保健所検査室



小学校教室・清掃時間



小学校校庭・体育遊具



食肉衛生検査所



見学先での茶のもてなし



瓶・缶のリサイクル施設



廃棄物最終処分場



ICT を活用した住民への健康づくり教室



留守家庭児童会での交流



グループホームでの往診



グループホームでの琴演奏のもてなし



夏祭りでの交流



大学病院を背景に

学界の動向

日本心臓血管麻酔学会第16回学術大会報告

岩崎 寛*

日本心臓血管麻酔学会第16回学術大会が2011年10月8(土)、9(日)、10(月)の3日間、旭川グランドホテルを会場に開催した(写真1)。

第16回学術大会は、本学会が認定する心臓血管麻酔専門医制度が開始されることに伴い、麻酔科医の更なる専門医の育成・発展と日常の心臓・大血管手術に対する臨床麻酔におけるより高い質の維持を考慮すべく、大会のテーマを「心臓血管麻酔を楽しむ」としました。麻酔科医自身が楽しめる心臓麻酔であることが今後の麻酔科医の将来における発展のキーポイントであると感じているからである。学術集会では招待講演、シンポジウム、ワークショップなど多くに企画がなされた。招待講演は国内外より5名の先生にお願いした。招待講演1は Aman Mahjan (UCLA Cardiac Arrhythmia Center) による「先天性心疾患における術中超音波診断の有用性」で、近年心臓血管麻酔領域で必須の診断手技となっている術中の超音波診断をテーマに小児における先天性心疾患手術麻酔での診断のポイントや手

術手技サポートの要点について解説された。当医局でも新生児や幼児に対する超音波診断のための機器を有しており、その診断のポイントについては大いに参考になった。招待講演2では大北裕神戸大学心臓血管外科教授による「大動脈弁輪拡張、大動脈弁閉鎖不全症に対する動脈基部置換術」、招待講演3では平塚共済病院心臓血管外科高橋政夫先生による「低侵襲に拘った心臓手術および早期麻酔覚醒—麻酔科医と心臓外科医の強い信頼関係をベースに」と題して国内の有数の手術症例数をこなしている著明な循環器外科医により、心臓血管手術における麻酔科医との連携およびその手術進行との関係での役割について、それぞれ大動脈弁手術および冠動脈再建術をテーマに講演して頂いた。また、招待講演4では当講座準教授国澤貞之が留学していたニューヨークで共に臨床を行っていた Alexander Mitthacht (The Mount Sinai Medical Center) を招き「心臓手術における超音波診断」と題して術中超音波診断技術の向上が手術のアウトカムに大きく関与することを具体的な症例呈示にて解説された。招待講演5では当大学保険管理センター川村純一郎教授にお願いして「麻酔と不整脈—自律神経と電解質異常を中心に—」を講演して頂いた。手術中の各種の不整脈に対する診断および薬剤も含めた対応のポイントを麻酔科医に理解できるように解説して頂く好評であった。基調講演として聖路加国際病院心血管センター循環器内科丹羽公一郎先生により「先天性心疾患と今後の方向性」と題して先天性心疾患手術後の長期予後と成人となった後の再手術に焦点を当て麻酔管理上のポイントについて講演頂いた。一方、招請講演としては東海大学鈴木利保教授による「手術室効率化の光と陰—今、病棟が



写真1

*旭川医科大学 麻酔・蘇生学講座

危ない PSN,RRa を用いた安全な病棟管理」和歌山県立医大畑塾義雄教授の「コーチングによる組織マネジメント～医局はどうあるべきか～」と題して、麻酔科医を取り巻く環境および医療安全に焦点を当てて各施設における革新的な取り組みについて講演頂いた。シンポジウムは心臓血管麻酔専門医に必要な脳脊髄の知識、成人先天性心疾患患者の麻酔管理、心臓チームに必要な条件—必要とされる心臓麻酔科医とは—、周術期静脈血栓症、心臓血管麻酔における輸血・血液凝固のトピックス、心保護・臓器保護を考えた心臓麻酔・術後鎮静管理における α - 2 受容体アゴニストの役割の6つ企画され、それぞれの分野に於けるトピックスを取り上げて数名のシンポジストによる講演後に活発な議論がなされた。今回の学術集会のテーマである「心臓血管麻酔を楽しむ」を具体化すべくこれまでにない企画を作成した。まず、国内の心臓血管麻酔に実際に携わっている若手麻酔科医 21 名を選び、臨床教育講演として 30 分程度各得意分野について講演して頂いた。当講座関連からは市立旭川病院山岸昭夫先生「心室中隔欠損患者の周術期管理」旭川医大救急集中治療部鈴木昭広先生「救急領域における TTE・TEE」、国立病院機構東京医療センター杉浦孝広先生「術後心血管合併症」として講演して頂いた。何と言っても最大の目玉企画がウェットラボである。これは豚の摘出心臓を実際に直視、解剖しながら超音波診断との関連画像を学ぶものである（写真2）。この企画を遂行するために当講座では数年前よりアメリカでのレクチャーに医局員（神田浩嗣、朝井裕一、山岸昭夫、吉村学、飯田高史、杉浦孝広、佐藤慎など）を派遣し、講師の

養成を行って準備してきた。募集開始早々定員となりこの企画に対する期待と興味の大きさを感じたが、実際に終了後の参加者より企画の優秀性について賞賛を受け、今後も継続企画を希望する声が多かった。また、超音波診断ハンズオンにおいては旭川医科大学臨床検査・輸血部赤坂和美先生、および中森理江、樋口貴成、柳谷貴子先生の協力に加えて、当講座長島道生、大友重明、丹保亜希仁、高橋圭哉、小野寺美子、五十嵐浩太郎、菅原亜美、松野賢一、林健太郎、田中博志、金木健太郎、鷹架健一、和泉裕巳など多くの旭川医大関連諸先生により好評に終了し当大学の底力をお見せできたものと感じています。その他専門医のための講習、TEEセミナーおよびランチョンセミナーなどが遂行された。

一般演題は 180 題採用し、ポスターや口述にて発表して頂いた。特にポスター会場はこれまでのオープンな会場では十分な議論が出来ていないとの印象があったので、各分野毎に小部屋にての発表形式とした。発表者からは緊張したが十分な静寂の中での議論が可能であったと好評であった。また、会員懇親会も会員自身が楽しめる参加型の会として全員参加によるクイズ形式とした（写真3）。クイズに正解すると来年度のアメリカ心臓血管麻酔学会への参加権などが当たる等の企画および北海道ならではの味覚により参加して戴いた約 840 名の会員に好評であった。

旭川市にて開催された第 16 回日本心臓麻酔学会の年次学術集会に対して、教室員一同、我々自身も楽しみながら、旭川医科大学麻酔蘇生学講座の医局員の心臓血管麻酔科領域に於ける活動を広く国内に示すこと



写真 2



写真 3

が出来たことに加えて、参加して頂いた会員も楽しんで頂けたとの評価を得、成功裏に終了したことは大変嬉しいことでありました。

最後に、本学術集会の開催にあたり、手術の調整など本学よりの暖かいご協力、ご支援に心から感謝申し上げます。

学界の動向

平成 23 年度日本遠隔医療学会学術大会 (JTТА2011 ASAHIKAWA) 報告

廣 川 博 之*

平成 23 年度日本遠隔医療学会学術大会 (JTТА2011 ASAHIKAWA) を、平成 23 年 10 月 14 日 (金)、15 日 (土) の 2 日間、旭川グランドホテルにて、旭川医科大学吉田晃敏学長を大会長として開催しました。今回は、日本ルーラルナーシング学会 (野口美和子理事長) 第 6 回学術大会 (大会長: 北村久美子旭川医科大学教授) と同時開催となりました。

この年の 3 月に東日本を襲った大震災からの復興計画で、遠隔医療分野も大きな役割を担うことが期待されています。このような状況下、本学会では、今一度わが国の遠隔医療の現状を把握し、その上で遠隔医療の新たな姿を議論したいとの思いから、テーマを「遠隔医療の最前線」としました。

テーマに沿い、吉田晃敏大会長が「ICT と医療の融合」と題した大会長講演でこれまでに旭川医大で行われてきた遠隔医療を紹介し、新たな取り組みについて熱く語りました。また、遠隔医療の原点とも言えるテレパソロジー、テレラジオロジー、テレケア、テレカンファレンス・コンサルテーションに関する 4 つのシンポジウムを行い、各分野における現状と将来像について、議論を深めて頂きました。さらに 3 つの分科会報告、34 の一般演題、2 つのランチョンセミナーなど多くのご講演、ご発表を頂きました。

懇親会は学会の楽しみの一つではありますが、今回は動物の行動展示で有名になった旭山動物園での開催と

なりました。1 日目の講演を 15:45 と早々に終了し、動物園閉園後、特別に入園させて頂き、夜の動物園見学、そして園内にあるレストランで情報交換会を行いました。懇親会はチャーターバス移動のため事前登録制にしていたのですが、出発直前に何とか参加させてほしいという要望が多数あり、急遽参加人数を増やさざるを得なくなりました。入場券や料理追加等の手配で多少開始が遅くなりましたが、料理が足りなくなることもなく、ご参加頂いた方々には、十分楽しんで頂けたかと思えます。

参加者は 259 名で、日本ルーラルナーシング学会会員の方々も多くご参加頂きました。全国的な学会を旭川で開催すると、参加者は首都圏開催の半分になるといわれていますが、展示関係 156 名を含めると、415 名と大変多くの方にご参加頂きました。日本ルーラルナーシング学会との同時開催ということで、土曜日の午前中に、大会長講演の他、シンポジウムも行う予定でした。しかし、演者の都合等でいくつかの一般演題を土曜日の午前中に持ってこなければならず、シンポジウムに出席できず残念に思われた方々が大勢いらしたと聞いています。

今回、本学関係者の方々のご指導、ご協力を頂戴し、本大会を無事終えることが出来ました。この場をお借りし、深く感謝申し上げます。

*旭川医科大学 経営企画部

学界の動向

日本ルーラルナーシング学会 第6回学術大会を終えて

北 村 久美子*

2011年10月15日(土)および16日(日)の2日間、日本ルーラルナーシング学会第6回学術集會を旭川で開催させていただきました。参加者は、遠く沖縄はじめ九州、四国、と全国各地から両日で124名のご参加を得て盛會のうちに無事終えることができました。これもひとえにご支援ご協力をいただきました皆様のお陰と厚くお礼申し上げますとともに、結果について簡単にご報告させていただきます。

本学会は、2005年3月に設立された新しい学会です。学会の英語名は、Japan Society of Rural and Remote Area Nursing であり、へき地における看護の研究を推進し日本におけるへき地看護学を確立・発展させへき地の保健医療福祉の向上に寄与することを目的としています。学会設立発起人代表である本学会の理事長は野口美和子教授で学会設立の理由は、次のように示されています(資料)。学会本部事務局は自治医科大学看護学部にあります。

第6回学術集會の取り組みと結果について

第6回学術集會は、初めて日本遠隔医療学会との並列開催となりました。その経緯についてですが、第3回学術集會総会で理事ならびに評議員に選出されてわかったことですが、これからの学会開催予定地は、第4回は群馬、第5回は長崎、第6回は長野ということでした。しかし、長野開催の当番校から都合により開催時期延期の申し出があり、その後の理事会で協議され第6回学術集會は旭川が開催予定地となり担当させていただくことになりました。このことが決定したのは、2009年8月の第4回学術集會総会でした。旭川での開催につき思い巡らせていたところ、2010年



1月7日学会本部事務局渉外担当の永井優子教授から「本学会は、学会開設時から日本遠隔医療学会と交流が続いており関連団体である日本遠隔医療学会会議に出席した際に、旭川での開催は日本遠隔医療学会との合同ではいかがであろうか、との提案がありましたので是非検討して下さい」という連絡を受けました。ただちに、日本遠隔医療学会学術集會大会長となられる吉田晃敏学長に事情をご説明しご相談申し上げご快諾いただいた時は、内心ほっと致しました。本部事務局には「日本遠隔医療学会は10月14日(金)、15日(土)開催であり2日目の15日(土)を並列開催に」と報

*旭川医科大学 名誉教授

日本ルーラルナースング学会設立趣意書
(Japan Society of Rural and Remote Area Nursing)

保健医療の面から見た遠隔地（過疎地域、豪雪地帯、山村、離島等、以下へき地）における医療提供体制の確保は、わが国の医療政策における重要課題です。これまでもへき地保健医療対策の推進、医療計画の導入等により、各都道府県等における計画的な取り組みが求められ、国としてもこれを支援してきています。それにもかかわらず医療の地域偏在は依然として大きな問題です。へき地においては、医師の確保が最優先課題とされますが、保健医療福祉資源が乏しい地域だからこそ、健康の保持増進や住民の主体的な保健活動への支援やチーム医療が重要になります。平成16年2月に地域医療に関する関係省庁連絡会議により出された「へき地を含む地域における医師確保等の推進について」においても、医療水準の向上のために、医師はもちろんのこと、看護師への生涯教育の提供の重要性が述べられています。

へき地で働く看護職の調査について、20数年以上前に駐在保健婦の活動が数件ある程度でした。最近では、看護系大学の増加に伴い、設置されている地域の特徴にあわせて、あるいは看護の行き届いていない部分にも目を向けた結果として、県レベルでへき地における看護活動の質の向上や人材育成に焦点を当てている大学もみられるようになりました。

自治医科大学看護学部では、開設と同時に、へき地に勤務する看護職を対象に調査（平成14～15年度）を行いました。その調査結果から、へき地診療所を利用している患者の中心年代は65歳以上であり、高齢者がその地域に住み続けるために、自立した生活をいかに延長できるか、そのための高齢者に対する看護活動をどう展開していくかということが、へき地における大きな課題であることが明らかになりました。また、全国の傾向と同様、生活習慣病や慢性疾患が多くみられ、そこには地域に特有な食文化や食糧保存の習慣等が関連している場合もあり、その地域の生活状況を考慮しながら、生活習慣病の予防から自己管理まで支援していく看護活動が必要であると考えられました。さらには、地理的状況から二次医療機関、後方支援病院まで遠く、救急時の対応、受診・疾病発見の遅れ、通院負担等の問題、鳥や豪雪地帯等閉ざされた生活が関連していると考えられる精神面の問題、社会資源の活用や社会資源利用に関する住民の意識の特性にも看護が対応していく必要があります。一方、へき地に勤務する看護職は、診療の補助以外に救急時・医師不在時の対応、住民に身近な存在としての相談的役割、関係者・機関と連携しケアチームの一員としての在宅ケアの実施、社会資源利用に関わる援助、地域住民のつながりを把握しそれを活かした看護活動等幅広い活動を実施している状況が明らかになりました。しかし、研修・研鑽の機会が少なく新しい情報が入手しにくいこと、相談できるバックアップ機関やサポート者がいないというサポート体制の不足も明らかになり、へき地に勤務する看護職の研修・サポート体制の構築が課題であると考えました。

このようにへき地に勤務する看護職には、プライマリ・ケアの担い手として、小児から高齢者まで、また慢性期から救命救急、終末期まであらゆる発達段階、あらゆる健康レベル発達障害、あらゆる健康レベルの対象への看護が求められます。幅広い総合的な能力を求められるへき地看護活動のための人材育成、へき地に勤務する看護職のための生涯害を通じた研修・サポート体制が必要であり、このことが地域ケアの水準の向上に資すると考えます。

そこで、私たちは、へき地、並びに、へき地を含む地域の中核病院・保健所に勤務する看護職やルーラルナースングに関心を寄せている教育研究にご意見を伺い、その結果、研究活動を活発にし、その成果をへき地看護の人材育成やへき地における看護実践者の生涯学習に還元していくことが必要との結論に達しました。そして、日本ルーラルナースング学会の設立を提案することとなりました。日本ルーラルナースング学会の目的は、研究の充実のを図り、活発で現実的な意見交換を行い、海外教育研究者との交流も図りつつ、その成果をルーラルナースングに携わる教育研究者・実践者と共有していくことであります。そして、へき地における看護について現在個々になされている研究から得られる知見の統合・体系化を図り、日本におけるルーラルナースングを確立することをめざします。

資料1

告ささせていただきます、10月15日（土）のみ2学会並列開催、10月16日（日）はエクスカッションの企画となりました。本学術集会のテーマは、遠隔地であるへき地・島嶼などにおける医療のあり方を考えると共にそこで暮らす人々の生きる希望、生きる力に寄り添える看護の役割を確認し合いその方向性を展望する機会になることを期待したいと考え、学会のテーマを「へき地、島嶼看護を人々の生きる希望、生きる力に」とさせていただきます。また、特に、2011年3月11日の東日本大震災により被災された多くの皆様のことを思い浮かべ胸が痛むとともに、私たち看護職の仕事で人々の生きる希望、生きる力につながる何かをしなければの気持ちが沸いてきました。

1日目：2学会並列開催、10月15日（土）、

会場 旭川グランドホテル

前日10月14日（金）に行われた日本遠隔医療学会

学術大会開会式には、日本ルーラルナースング学会野口美和子会長からもご挨拶をさせていただきます、当日15日（土）の本学会学術集会の開会式には、日本遠隔医療学会原量宏会長ならびに日本遠隔医療学会学術大会吉田晃敏大会長に来賓のご挨拶をいただきました。双方の学会参加者が両学術集会に参加できるようにプログラムを工夫し、午前の日程は、日本遠隔医療学会大会長講演とシンポジウムの参加が可能となるように、午後の日程は、本学術集会の一般演題33題（口演13題、示説20題）の発表が行われ、参加者は89名でした。

口演は第I群「へき地で暮らす人々の健康を守る活動（4題）」、第II群「へき地の特性を活かした看護活動（4題）」、第III群「へき地における地域ケアシステムとネットワークづくりのための活動（5題）」、示説は第1群「へき地で暮らす人々の健康を守る活動（7題）」、第II群「看護教育・人材育成のための活動（5



題)」、第三群「へき地における地域ケアシステムとネットワークづくりのための活動(8題)」でした。小離島や限界集落、中山間地域、へき地診療所などにおける看護の役割、遠隔医療システムを用いた退院後支援、島嶼であるが故の関係機関との連携協働による活動、看護師派遣制度、島嶼看護教育など広範囲の発表があり、看護がへき地・島嶼における人々の生きる希望・生きる力に、と強く願っている看護観が伝わり熱のこもった活発な討論が行われました。しかし、短い時間運営のため発表者ならびに参加者の皆様の意を尽くした満足ゆく発表と討論には至らなかったのではと大変苦しく思いました。皆様に、発行予定の日本ルーラルナース学会誌の第6回学術集会報告に、ぜひ論文のご投稿下さるよう記載させていただいたところです。アンケートによる参加者の感想として「様々な問題意識からのテーマで大変興味深かった」「現場の方の発表がとても新鮮で改めて考えさせられることばかりであった」「口演発表と示説発表の時間を重ならないように進行されていたので落ち着いて聞くことができた」などがあり、また、初めて日本遠隔医療学会に参加できたことについては、「双方の学会と関連が深く協働の必要性など多くの学びと刺激を得ることができた」「今後も並列開催を望む」などの感想が寄せられ、大変好評で安堵の胸を撫で下ろしました。

尚、同日の一般演題発表に入る前に2011年度日本ルーラルナース学会総会が開かれました。第8回学術集会は石川県での開催が承認され、第7回学術集会は長野県看護大学にて2012年9月15日、16日に開催されることが報告されました。また、学術集会前日10月14日(金)午後には理事会、評議員会が旭川医

科大学看護学科棟を会場に開催されました。その夜は、日本遠隔医療学会の懇親会が予定されており吉田晃敏学術大会長のご厚意により懇親会のご参加のお誘いをいただき役員全員13名が出席させていただきました。懇親会の会場は、旭川旭山動物園で動物たちの夜の勇姿、行動を静かにそっと見せていただきました。両学会の会員同士が和やかな雰囲気の中で北海道の新鮮な味覚を堪能しながら交流を深めることができ、大変有意義な時間を共有できましたことに役員一同、大変満足されたようでした。

第2日目：エクスカーション、10月16日(日)

本学会では第1回学術集会より地域の歴史や文化、人々の暮らしなど地域の実情を知り地域の特徴にあわせた看護活動に触れていただくためエクスカーションが企画されています。そこで、今回も「北海道・道北の歴史、文化、自然を探索する旅」と称してプログラムを企画しました。35名の参加者がありバスで広い上川盆地の秋の紅葉を見ながら回りました。

川村カ子トアイヌ記念館

上川地方を代表するアイヌの旧家として知られる川村家第8代川村カ子トが生前アイヌ民族文化の正しい伝承を目的として大正5年に作った日本最古で唯一の私立アイヌ資料館を訪ねました。秋の刈り取り後の草藁の香がする山里の一軒家を思わせる佇まいでした。

参加者は、記念館に関わる80歳代の女性から幼少の頃から現在までの鮮明な生活体験談に深刻な面持ちで耳を傾け、しばし、北海道の過去の世界にタイムスリップしたかのようにいろいろ尋ね深い関心を寄せていました。

三浦綾子記念館

旭川出身の作家で道北にちなんだ多くの作品を生み出し、外国樹種見本林の静かな場所にある文学館に行きました。ご主人の三浦光世様のお迎えを受け貴重な文学資料のご説明をお聞きする機会に恵まれました。

東川町にて地域看護活動のミーティング

東川町子育て支援センター長・幼児センター園長伊藤和代保健師（教育委員会所属）に東川町における先駆的な地域母子保健の実践報告をしていただきました。東川町の歴史や文化に基づき地域ニーズをキャッチしながら、親・子どもの視点を重視したまちづくりと子育て支援、養育者支援、関係機関との連携による子どもの成長を縦につなぐ途切れない支援などを事業化してきた過程について、また、過去の先輩たちの保健師活動の取り組みが礎となって現在に至っていることなどの紹介がありました。地域に根付いた実践活動に、参加者から活動方法に関する多くの質問が出され、

昼食をとりながらも熱心な交流が続きお陰で実りあるミーティングになりました。その後、旭山動物園に寄り旭川空港、駅前、旭川グランドホテルまでのバス移動で一日が終わりました。

最後に、医療に恵まれないといわれている遠隔地においても、そこで暮らしている人々の生活、健康に責任をもち安心して生活できるように実践者と研究者が幅広い情報交換を行い、へき地における看護がより発展することを期待する次第です。本学術集会の初めての並列開催を盛会裡に終了できましたことは、日本遠隔医療学会学術大会吉田晃敏大会長のご協力・ご支援、そして学会参加者の皆さまのご協力のお陰と心より感謝申し上げます。ご支援を賜りました大学関係者はじめ本部事務局、旭川グランドホテルの皆様にお礼申し上げます。

学界の動向

日本看護研究学会 第22回北海道地方会学術集会報告

荒 ひとみ* 澤田裕子** 上田順子***

平成24年6月2日(土)、旭川医科大学医学部看護学科棟において、日本看護研究学会第22回北海道地方会学術集会が開催されました。

旭川医大病院看護部長上田順子学術集会長のものと「多職種によるチーム医療の推進～多職種ができること、看護職だからできること～」をテーマに、シンポジウムが行われ、その他には、一般演題の発表が行われました。

シンポジウムは、学術集会テーマの中にある「多職種」に注目し、看護以外の分野でご活躍されている方を含め3名のシンポジストにお集まり頂きました。また、研究発表では、15題の一般演題の発表が行われ、予想を上回る演題の申し込みがあり、北海道における看護研究の熱意を感じるものでありました。

昨年に引き続き旭川での開催でしたが、道北は旭川、名寄、道東は北見、道央は、札幌などから看護職およびメディカルソーシャルワーカー、看護学生等が参加し、総参加人数216名という盛大な地方学術集会

となりました。

以下、その一部を報告します。

1. 多職種によるチーム医療の推進

～多職種ができること、看護職だからできること～

上田順子看護部長(旭川医科大学病院)は、学会抄録集の学術集会会長挨拶にて以下のように書いています。

『チーム医療には「専門性志向」、「患者志向」、「職種構成志向」、「協働志向」の4つがあり、目的を達成するために多職種が互いの専門性を尊重し、協働することによりプラスの相乗効果を生むことが期待されています。しかし、これまでは、職種間で役割分担し、自らの専門性を発揮することに重点が置かれ、多職種による連携や協働については十分に実践できていません。また、実際に協働するという事はどういうことか、看護職はどのような役割を担うのか等について職種間で話し合う機会も少なかったように思います。

本学学術集会のシンポジウムでは、チーム医療を実践されている3名のシンポジストから、その活動内容、チーム医療についての考え、看護職に期待する役割のお話を頂きます。そして、「多職種による協働とは何か、看護職だからできることは何か」について基礎教育、病院や施設、地域の皆様とともに語り合い、道北の地域から情報発信できることを期待しています。』(抄録集より抜粋 上田順子)

2. シンポジウム

シンポジウムは、チーム医療を実践されている3名のシンポジスト(下記に紹介)から、チーム医療に



写真1 実行委員とボランティアの皆さん

*旭川医科大学 看護学科 成人看護学 **病院看護部 看護師長 ***病院看護部 看護部長



写真2 上田順子学術集会会長挨拶



写真4 シンポジストの皆さん



写真3 メイン会場

おける各自の活動内容、チーム医療について、そして、看護師に期待する役割などをそれぞれの立場から発言して頂きました。

シンポジスト1；大田哲生氏

旭川医科大学病院リハビリテーション科教授

「リハビリテーション医療における看護師の役割—脳卒中嚥下障害患者の症例を通して—」

大田氏は、はじめにリハビリテーション医療の概念の説明を行いました。そして、リハビリテーション医療は患者の Quality of Life (QOL) の拡大を目標に多くの専門職が関わり、ディスカッションを通して質の向上をはかることが大切であると述べていました。

専門職は各自の能力を発揮して、チーム医療を実践していますが、患者との接点が一番多いのは看護師であり、看護師は重要な立場にあることを指摘していました。そして、リハビリテーション医療をチームで実践する中で看護師が果たす役割の重要性を説明する

ために、脳卒中嚥下障害患者のリハビリテーションが上手くいった例とそうではない例の具体的な症例の紹介がありました。

最後にリハビリテーション医療における看護師の役割について以下のように述べていました。

「患者の一番近くにいる看護師は(1)患者・家族のニーズを的確に把握し、(2)専門の立場からADL(activities of daily living)拡大の可能性を見立て、そして(3)その事実をチームに発信し、(4)病棟で実施することが必要である。医師としては、自由に発言できる環境づくりに努力は惜しまない。看護師にはリハビリテーション医療チームにおける実質的な中心人物としての活躍を期待する。」

シンポジスト2；尾崎孝志氏

旭川医科大学病院医療支援課社会福祉係医療ソーシャルワーカー

「多職種によるチーム医療の推進一人と地域をつなぐ共生社会を目指して—」

尾崎氏は、はじめに Medical social worker (MSW) の仕事(業務)内容について説明がありました。北海道内病院578施設中、MSWを配置している病院は、387施設であり、全体の67%ということでした。

次に、介護における医療履歴の参照など、医療と介護で情報連携すべき状況は多く、情報の共有によるメリットは大きいのだが、両方で共有すべき情報は必ずしも明確化されていないことやMSWは、複雑な医学知識を持ち合わせているわけではないので、理解しにくい現状があることも述べていました。

地域連携、退院支援に伴う診療報酬の改定に伴い、

「退院時共同指導料」として、入院中先の医師又は看護師と退院後の在宅療養を担う医師又は医師の指示を受けた看護師（訪問看護を含む）が、共同で文書にて情報を共有した場合に算定されることによって、チームとしての役割が拡大すること期待していました。そして、共通の目的を持ち、お互いの専門性を活かし合うためには、『お互いを知る＝お互いの仕事の内容を知る』ことが大切であると話していました。「診察から治療、療養生活に至るさまざまな過程で患者とかわるのは看護師であり、今後も寄せられる期待は大きい」と述べていました。

シンポジスト3；峰木裕子氏

北海道総合在宅ケア事業団 当麻地域訪問看護ステーション所長

「在宅療養支援における連携について」

峰木氏は、訪問看護ステーションにおける訪問看護活動から医療機関との連携の実際から、連携・課題について述べていました。

地域で訪問看護を受ける高齢者は、複数のかかりつけ医がいる場合が多く、主治医以外のかかりつけ医（医療機関）や医療機関の外来看護師やMSWへの情報提供と入退院時の病棟の看護師との連携、医療依存度の高い及び終末期の利用者は、退院に向けてカンファレンス、在宅での退院準備、訪問診療医やケアマネージャー、介護サービス事業者との連携、利用者のケアについて医療機関の認定看護師への相談、利用者へ各種助成や制度の紹介や経済的負担の軽減のため行政機関への連絡など多岐に渡っていました。

連携から考えるチーム医療と役割については、在宅で多職種と連携する時、マネジメントを担うキーパーソンが必要であり、地域にどのようなメンバー（サービス事業者や施設、福祉等）がいるのか、どんなスキルを持っているのか、窓口は誰なのか、顔の見える関係の構築が重要であることを強調していました。

「在宅療養の場合、利用者の状態や介護者の状況をアセスメントし、チームの一員である訪問看護師として、医療・介護・福祉の視点を持って利用者・家族を支援していかなければならない。医師や医療機関との連携・調整役としての役割があり、介護や福祉サイドからの期待もあり、利用者の療養生活を総合的に支援

することが重要と考える。最後に、今後の課題として、地域では各々の事業所・施設が点在し、事業者の横のつながりはあっても活動を通してみた時にチームとしての意識がうすいと感じられ、地域でのチームとしての意識を育てていく取り組みが必要である。」と述べていました。

3. 一般演題の発表

一般演題は15題の応募がありました。発表場所は、看護学科講義と講義室の2か所で行いました。

テーマは、①クリティカルパス、②がん看護、③小児看護、④医療事故防止、④終末期看護、⑤クリティカル看護、⑥看護教育、⑦その他でした。参加者は臨床や教育の現場からの報告を熱心に聞き入っていました。

4. おわりに

昨年に引きつづき旭川での開催ではありましたが、多くの人に参加して頂きました。北海道のほぼ中央に



写真5 一般演題発表



写真6 一般演題会場

位置する旭川市は、広い北海道を鑑みますと、道内各地からの交通アクセスが日帰りで行き来できる好条件が影響していたのかもしれませんが。また、最近の天候不順をくつがえす如く、初夏の晴天に恵まれました。

最後にこの学術集会を開催するに当たり運営及びご指導を承りました日本看護研究学会北海道地方会会長の平典子先生及び事務局荻野悦子先生、ご協力いただきました本学の看護学科および病院の皆様に深く感謝いたします。

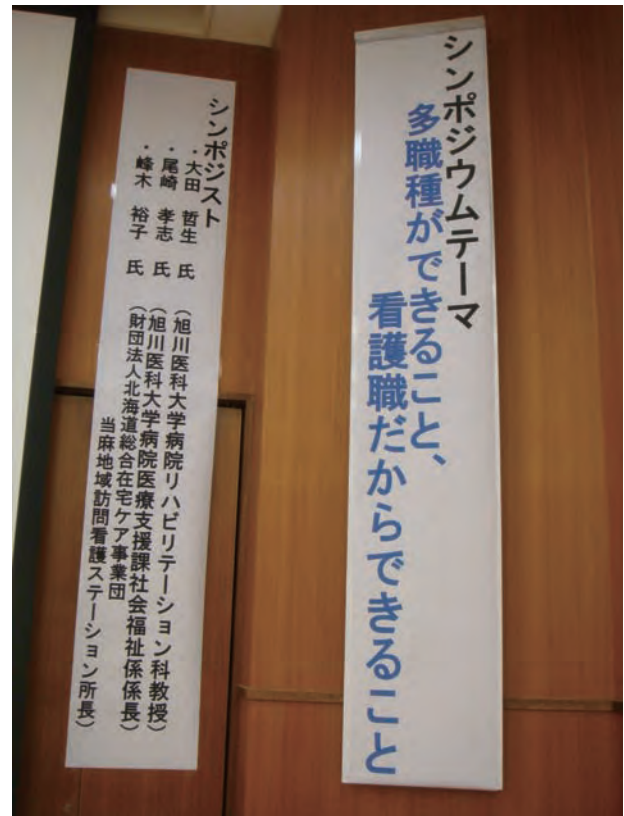


写真7 シンポジウムテーマ

学生のページ

マヒドン大学熱帯医学研修プログラムに参加して

小林 孝弘* 伊藤 圭一郎* 市丸 千聖*
織笠 裕行* 岩崎 愛美*

1. はじめに

マヒドン大学熱帯医学研修プログラムは、タイのマヒドン大学が主催するプログラムで、アジア・欧米をはじめとする国々から学生や医師を募り、4週間に渡って行われる熱帯医学についてのプログラムである。今回は、2012年8月6日から8月31日までの日程で行われた。このプログラムは大きく2つに分かれ、最初の2週間はマヒドン大学にて熱帯の主要な病気（マラリア等）に関する講義を受け、研究室での顕微鏡を用いた学習や、関連施設での体験を行った。後半2週間はタイの地方病院へ赴き、病棟巡回や講義によって熱帯の主要な病気について学習した。旭川医科大学からは毎年数名程度このプログラムに参加しており、今年度は3年生の5名が参加した。

私たちはこのプログラムに参加し、授業や実習によって熱帯における病気の診断・治療法はもとより、タイの現地スタッフ、ドイツ留学生との交流を通して、熱帯医学について多くの成果を得ることができた。以下に、これらの成果をテーマごとに述べるとともに今回の研修における反省や、熱帯医学の将来像を考察していく。

2. 熱帯医学の授業テーマ

最初の2週間の座学では、マラリアやデング熱をはじめ、主要な熱帯における病気について勉強する機会を得た。以下、主な内容について述べることにする。

2-1. Malaria

今回の講義・実習で一番時間を割いたのはマラリア

であった。研修後半に訪れた、タイの南部地方の町ラノーンでは地理的にミャンマーの国境地帯に近く、国境周辺は鬱蒼とした熱帯雨林が広がっている。マラリアは熱帯雨林に住むハマダラカによって主に媒介されるために、必然的にこの地域では多くのマラリア患者が発生する。ラノーンの病院で見たケースでは、ミャンマーからタイへ熱帯雨林を通り出稼ぎに来ていた青年がこの病気に罹患していた。なお、首都・バンコクは、幸か不幸か水質の汚染により、マラリアの流行地域の只中にあるものの、マラリアの流行からは免れている。今後、発展著しいバンコクでは、水質改善がはからずともマラリアの流行に加担するのではないかと危惧している。

以上のとおり、マラリアは熱帯雨林の病気であるために、例えばラノーンの街中でさえもマラリアへの危



参加者一同と、マヒドン大学職員・留学生の皆さん

*旭川医科大学 医学部医学科



授業風景

機感住民からは感じられなかった。(ただし、街中においてもスポット感染は起こりうると現地の医師は説明していた。) マラリアの診断には、まず高熱などの症状からアプローチし、血液塗沫標本を鏡検し確定診断をしているが、ラノーンの病院では鏡検によりマラリアの感染血液を見る機会、およびマラリア感染のケースを多数見る機会を得た。病棟巡回では、熱の出るパターンや症状を実際の現場で目の当たりにできた。特に、治療薬として最も一般的であるキニーネに対する耐性を獲得したマラリアに感染した患者は印象的であった。このような経験は、マラリアの流行がない日本では得難い経験であり、タイに留学した大きな意義であるといえる。

2-2. Dengue

タイのラノーンでは、マラリア、デング熱は身近な病気であるために、まず高熱の患者が来ると必ずしもすべてのケースに言えることではないものの、マラリアもしくはデング熱を疑う。さらに、マラリアのケースでは一度検査によりマラリアが否定されたとしても、後の再検査でマラリアが検出されることがあるために、常にマラリアは念頭に置かれている。また、デング熱は高熱や頭痛などを引き起こし、多くの場合、予後は良好であるが Dengue hemorrhagic fever や Dengue shock など重症なものに移行する場合もあるため、血液検査値でのヘマトクリット値の上昇から血漿漏出の有無を確認することが重要である。

2-3. Filaria

フィラリアではバンクロフト糸状虫症が代表的なもので、発症するとリンパ液の停滞により下肢や陰嚢が膨れ上がる。稲作農家が水を介して感染するというのが一般的なケースであるが、今回訪問した首都バンコク、南部地域ラノーンではケースを確認することはできなかった。しかしシリラート医学博物館では患者のホルマリン漬け組織を観察できた。

3. タイの医療制度について

タイでは30バーツ（日本円で90円程）医療制度という制度が施行されており、国民皆が医療を受けられる。しかし、それを適用している病院は、多くが公立病院（今回お世話になったラノーン病院など）であり、施される医療も多くの私立病院に比べ、費用等の制限があるため、高いレベルの医療をこれらの病院で求めることは事実上難しくなっている。一方で私立病院では高レベルの医療を受けることができる一方で、費用はとて高額である。今回、タイで研修中に体調不良となったために、現地日本人も利用する私立病院を受診したが、日本でかかる無保険での料金とほぼ同程度の日本円がかかった（タイの物価は日本の1/3程度である）。つまり、タイでは最低限の医療は受けられるものの、受けられる医療のレベルは支払う代金次第、という印象があった。今後もタイの医療制度は変わっていくだろうが、少なくとも現在においては医療保険制度が大きな問題を抱えているといえよう。

4. 異文化交流について

今回の研修において、マヒドン大学の OIC（Office of International Cooperation）現地スタッフである日本語が堪能なヌーンさんをはじめスタッフの方には、ホテルの手配をはじめ昼食もご一緒させていただいたりするなど非常にお世話になった。このように OIC スタッフの方にはよくしていただき、まるで日本のようなホスピタリティを感じた。一方で、バンコクやラノーンのホテル従業員の方の対応は全く異なり、喜怒哀楽を素直に示すという、日本ではなかなか見られない接客であった。街中のデパートにおいても店員が席で食事をとっている風景がまま見られた。「衣食足りて礼節を知る」という諺があるとおりに、未だ貧困層が多く社会保障もしっかりしていないタイでは、このような



オーストリア留学生との交流

ホスピタリティもある種仕方のないことと感じた。一方で、これらの対応は日本では単に失礼だと思われる対応ではあるものの、日本では逆にあらゆる仕事に型にはまり過ぎており、それがストレスとなって精神疾患を発症している側面もあると感じた。

今回の研修では、オーストリアおよびドイツ出身の医学生も同じプログラムを受講していた。彼らは4年生であったが、非常に良く勉強しており座学の授業でも折々でよく質問し、授業についても深い理解を得ていた。タイの教授が話される英語は、タイ語のイントネーションが強く反映されており聞きやすいと言えるものではなかったが、他国出身の医学生がしっかりと授業を理解しており、母国語が英語のスピーカーよりも第二外国語として英語を話す人口が多い現代では、多少の訛りがあっても聞き取れるくらいの英語力が求められるのだと感じた。また、タイでは翻訳図書が少ないせいもあり英語の書籍で医学を学ぶ機会が日本より圧倒的に多く、少なくとも英語の語彙力は日本の医学生の比ではなかった。最新の情報は英語で入ってくることが多い。日本の医学生ももっと英語力を磨かなければならないと強く感じた。

5. 全体を通して

タイへの留学は多くの点で有意義であった。まず、日本では目にすることのないマラリアやデング熱など

のケースについて深く学べたことがある。現地の医師の方の説明の下、患者さんに実際に触れ、検査数値にも気を配り、多くのケースに触れることで熱帯の主要な病気についての大まかな理解を得ることができた。一方、今回は熱帯医学学習を主たる目的としたが、実際に現地で生活することで、タイにおける実情も肌で感じる事ができた。宿泊したホテルでは、宿泊者がホテルの部屋に置いておいた物が盗まれるという事件にも遭遇した。研修者一同ショックを受けたが、所変われば常識も変わるということを知った出来事であった。今回の研修では実際にタイを訪れることで、このように日本にいただけでは学習出来ない多くのことを学んでくる事が出来たと考えている。

今後はこれらの経験をもとに、日本においては医学知識の正確な修得に努め、同時に英語学習を継続することで海外に対しての目を持ちつつ、各々興味のある分野への理解を深めていくことを目指したいと考えている。

<謝辞>

今回の研修にあたり、多くが留学助成制度を利用することでこのような貴重な体験を積むことが出来ました。本制度の寄付者の方をはじめ、関係者の皆様に心より御礼申し上げます。



タイの街並み

本学教員執筆書籍の紹介

盛永審一郎・松島哲久編 藤尾 均 ほか執筆

医学生のための生命倫理

丸善出版株式会社 2012年9月30日初版 A5判 262ページ 2800円+税

藤 尾 均

本書はタイトルの通り、医学生向けの生命倫理のテキストブックであり、執筆者は総勢25名に及ぶ。当初、私はメンバーではなく、ある執筆予定者が諸般の事情で降板したためにお鉢が回ってきたという次第である。そんな経緯もあり、執筆について畏友の盛永審一郎氏（富山大学教授）から相談があったときは、あまり気乗りがしなかった。この種の本はすでに多数出版され、私が関係したものだけでも『生命倫理のキーワード』（理想社）や『医療倫理Q&A』（太陽出版）があって、類書は枚挙にいとまがないからである。

正直、お断りしようかとも思ったが、そうしなかったのは、東大の金森修教授・清水哲郎特任教授をはじめとする私以外の豪華執筆陣の顔ぶれに、言い知れぬ魅力を感じたからである。実際、出来上がったテキストの叙述は魅力的である。盛永氏の「まえがき」にもあるように、「個性（^{あく}灰汁）の強い教員たちが情熱をかけて執筆している」ので「全体として統一に欠けるきらいがある」ことは事実であるが、逆に、だからこそ、読者は執筆陣の強烈な個性を存分に味比べできる。「A氏が書いたこの項目をもしB氏が書いていたら、全く異なる内容になっていただろう」と、しばしば思われる。そういう意味でこれほど興味深い本は、類書には見当たらないように思われる。

25名の内訳は、医学部卒業者が4名、その他（主として文学部卒業者）が21名である。また、医学部・薬学部をはじめとする医療系大学や医療機関の所属スタッフが14名、その他が11名である。こうした出身学部や所属先の違い、総じて立場の違いが、意識的にせよ無意識的にせよ、叙述に色濃く反映しているといえる。そういう意味では、国家試験対策等に資するために努めて「客観的」叙述を求めようとする医学生に

としては、いささか期待はずれな本かもしれない。とはいえ、倫理関係の本では所詮、いわゆる「客観的」叙述はあり得ないのだと割り切っていただくしかないようにも思われる。

ともあれ目次を紹介しよう。 — 序章 なぜ生命倫理を学ぶのか 1章 生命倫理の方法と医療倫理 2章 患者の権利と生命倫理 3章 臨床研究の倫理 4章 医師の倫理 5章 臨床倫理 6章 薬害と医療事故 7章 生殖医療と生命倫理 8章 脳死・臓器移植と生命倫理 9章 終末期医療と生命倫理 10章 先進医療と生命倫理

このうち私が関係したのは4章で、本章の叙述を服部健司氏とシェアした。服部氏は旭川医大6期卒業生で、精神科医として活躍しながら早大大学院で哲学を専攻し、現在は群馬大学の医学哲学・医学倫理学の教授である。旭川医大在学中は岡田雅勝教授の薫陶を受けられた。こうして御一緒させていただいたのは奇しき因縁である。

私に与えられた大テーマは「医学教育の歴史と現在・未来」「世界の医学教育と日本の医学倫理教育」「国際医療」であり、どの分野も私の専門とは言い難いが、歴史学者の端くれの立場から、歴史的経緯を踏まえた叙述を心掛けた。ちなみに服部氏が担当した大テーマは、「医療者と倫理」「法令の構成と医師関連法規」「医師の役割と医師法」「世界の医師倫理規定」である。

確かに執筆者の個性（灰汁）の強さはあるが、本書には生命倫理の現状と課題とがコンパクトに整理されていることもまた事実である。医学生だけでなく多くの医療関係者にも、思索の糧として読んでいただければ幸いである。

（旭川医科大学 歴史・哲学）

本学教員執筆書籍の紹介

監訳 岩瀬三紀、佐藤直樹、長谷部直幸 縦 256 × 横 182mm 187 ページ

判読 E R 心電図 – 実際の症例で鍛える – 応用編

西村書店（東京） 2011 年 6 月 30 日発行 定価 3,360 円

長谷部 直 幸

循環器が専門ではない某内科教授が言った。「心電図やレントゲン写真は、ひとたび所見を見落とすと訴えられる危険性は高い。そこで最も重要な事は・・・検査しないことである。」なるほど、しかし救急外来（E R）ではそうは行かない。「昨日先生が診察して帰宅させたあの患者さんですが・・・」というフレーズが、良い結末を伝えるための前置きであることもまず無い。

心電図は、バイタルサインや理学所見と並んで E R の基本であり、決定的な情報を提供してくれる重要な検査である。本書は、多くの E R 心電図を提示しながら、見落としやすい異常、異常を見逃さない判読の工夫について解説している。心電図 1 枚で全てが解決するケースがある反面、心電図では判断しきれない異常があることも事実である。重要なことは、分かろうとする努力であり、その積み重ねが自信につながるのである。学生・研修医はもとより E R に携わる多くの医師にとって必携の解説書である。原本は Dr.Mattu と Dr.Brady の名著“ECGs for the Emergency Physician”である。基本編に次いで出版された応用編であり、左脚ブロックにおける虚血性 S T 変化の解釈など、かなり難易度の高い内容も含んでいる。繰り返し解説される心電図所見を判読するうちに、心電図の判読に自信が持てるようになり、飛躍的な臨床能力の向上が期待

される。

本書は、私の米国留学時代の恩師であるハーバード大学教授、ニューイングランド霊長類研究所 心臓部門の Stephan F Vatner 教授が取り持つ縁で完成したものである。彼のもとには、世界各国から研究者が集まっていたが、時期は異なるものの彼の元で学んだことを縁として、岩瀬三紀先生（トヨタ記念病院副院長）、佐藤直樹先生（日本医科大学准教授）と共著で本書を出版できたことを心から嬉しく思っている。また、私と共に学ぼうとする旭川医大の第一内科循環器の研修医諸君（二村麻美君、平井俊浩君、浅野目晃君、松尾彩君、伊達歩君）にも訳者に加わってもらい、心電図の判読を学びながら本書の作成に携わってもらうことができた。若手の研修医諸君と勉強しながらその課程を本として刊行することは、私のかねてからの夢でもあり、その意味でも本書の刊行は大いなる喜びでもあった。最後に、各研修医に分散した作業を集約し、洗練された翻訳として完成させる作業を担ってくれた佐藤伸之准教授の労をねぎらい、心から感謝の意を表するものである。

本書が、一人でも多くの臨床医の臨床能力の向上に資する事を願ってやまない。

（旭川医科大学 循環・呼吸・神経内科学教授）

旭川医科大学 回顧資料 (14) 昭和 61 年度

医学部附属病院開院 10 周年 式典と記念誌

昭和 61 (1986) 年といえば、4 月 1 日に「男女雇用機会均等法」が施行され、労働現場における男女平等の実現に向けて大きく動き出した年であった。同法施行の勢いにもあずかってか、9 月 6 日には、日本社会党の委員長選挙において、土井たか子候補が当選し、日本の国政史上初の女性党首が誕生した。同党首が発した「やるっきゃない」はこの年の流行語となった。

経済・財政関係の出来事としては、3 月 22 日に日経平均株価が 15013 円と史上初の 1 万 5 千円台に乗ったこと、7 月 7 日、東京外為市場で円が急騰し、終値で 159 円 25 銭となり史上初の 1 ドル 150 円台となったこと、12 月 23 日に自民党税制調査会が「税制改革の基本方針」を決定し、所得・法人・住民税減税の一方で、マル優など非課税貯蓄制度の廃止や売上税導入などが謳われたことが特筆される。ちなみに売上税は、のちに消費税へと衣替えして、3 年後の平成元 (1989) 年 4 月に税率 3 % でスタートした。

災害関係で大書すべきは、11 月 15 日に伊豆大島の三原山がじつに 209 年ぶりに大噴火し、21 日に全島民・観光客に対し島外への避難命令が出されたこと、12 月 28 日に国鉄 (当時) 山陰線の余部鉄橋で回送中の列車 7 両が突風にあおられて転落し、工場を直撃して 6 人が死亡したことであろう。

芸能人関係の大きな話題としては、4 月 8 日、アイドル歌手の岡田有希子 (当時 18 歳) が東京都新宿区の所属プロダクションのビル屋上から飛び降り自殺したことが挙げられる。この報道の後、各地で少年少女の自殺が相次ぎ、2 週間で 29 人が自殺したという。また、12 月 9 日には、コメディアンのとけし (当時 38 歳) が「たけし軍団」11 人とともに講談社の写真週刊誌「フライデー」編集部に押し掛けて乱暴、5 人にけがをさせ、警察に逮捕された。とけしは「愛人問題に絡む取材に抗議するため同編集部を訪れたが、対応が横柄だったので暴れた」、と自供した。以後、各放送局は相次いで彼の出演番組の放送を休止した。

海外に目を転じると、最も注目されるのは、4 月 26 日にソビエト連邦 (当時) のチェルノブイリ原子力発電所で大規模な事故が発生したことである。翌 27 日には北欧諸国で強い放射能を大気中から検出した。

さて、この年の我が旭川医科大学の出来事をみてみよう。4 月 22 日に医学部附属病院に病理部が設置された。11 月には、体育館の部品庫の新営工事 89m²が竣工した。しかし、何ととっても特筆すべきは、この年、医学部附属病院が開院 10 周年を迎えたことである。記念式典は 9 月 6 日に挙行された。当時の雰囲気コンパクトに伝える資料として、B 4 判約 100 ページから成る『旭川医科大学附属病院十年誌』(同記念誌編集委員会編纂、谷川印刷株式会社印刷、同記念行事实行委員会 9 月 6 日発行)がある。式典の当日、列席者に配布されたものと思われる。同誌の「あとがき」の末尾には、編集委員として竹光義治整形外科学講座教授 (当時) のお名前が記されているが、他の編集委員会メンバーや実行委員会メンバーについては記載が見当たらず、詳細は不明である。同誌は鮫島夏樹病院長 (当時) の「開院 10 周年を迎えて」と題する文章に始まり、黒田一秀学長 (当時) の「開院 10 周年に寄せて」、カラーグラビア、病院組織図、病院配置図、各診療科等の沿革、職員録、年表等が続いている。今回は、この資料の中から、「序」の部分 (執筆者不明) と当時の「院内配置図」を転載する。

(旭川医科大学 歴史・哲学)

序

旭川医科大学医学部附属病院は、昭和 51 年 5 月 10 日に設置され、本年 9 月 6 日に開院 10 周年の記念すべき日を迎えることとなった。

本院の蓋世を回顧すると、昭和 36 年から国民皆保険制度が確立されることとなり、これに伴い、医療需要の急速な増加と地域医療水準の向上に資するための無医大県解消計画により、その先陣としての役割を担って昭和 48 年 9 月 29 日に設置された旭川医科大学（医学部）の発足とともに、年次計画により、附属病院開院の胎動が始まった。

昭和 49 年 3 月 27 日の残雪未だ醒めやらぬ日に建物建設を着工し、槌の音が大雪山連峰にこだました。

本院は、各診療科、外来診療棟、中央診療棟、病棟、高エネルギー施設、特殊診療棟などが 6 年がかりで建築され、現在、建面積 8,748㎡、延面積として 44,477㎡の鉄筋コンクリート造り（地上 11 階、地下 1 階）の偉容を市内西神楽の高台に誇るところとなった。顧り見ると昭和 51 年 9 月 22 日に 83.3%に相当する延面積 37,037㎡が竣工し、その概要が膾炙されることとなった。

なお、引き続き 51 年度から 57 年度にかけて 7,440㎡の増築をみたところである。

また、看護婦宿舎にあっては、現在、建面積 1,640㎡、延面積にして 6,015㎡の鉄筋コンクリート造り（地上 5 階 - 190 個室）が完成されているところであるが、51 年度には延面積にして 4,248㎡で現在の 70.6%が竣工し、その後 52 年度および 55 年度において 1,767㎡が増築されたところである。

診療科は、開院時 15 診療科で発足し、昭和 52 年 4 月 18 日に 2 診療科が増設され、当初における年次計画は、予定どおり実現をみるところとなった。また、中央診療施設等は開院時に検査部、手術部、放射線部および材料部の 4 部が置かれ、61 年 4 月 22 日に、これまで内部組織として運営されていた病理部が文部省訓令により定める特殊診療施設の部として設置され、現在の 5 部体制に発展するところとなった。

一方、薬剤部および看護部にあっても、開院時に設置されたところである。

また、本院の目的とする総合的な診療、医療の臨床

教育および研究に資するための所要の組織および運営については、開院時に施行された「旭川医科大学医学部附属病院規程」の規定するところによりなされているところであるが、就中、病院長は医療担当の副学長をもって充てられ、院務を総括している。また、本院の円滑な運営を図るために、病院長、診療科長、中央診療施設等の部長、薬剤部長、看護部長および事務局の総務部長、業務部長をもって構成する運営委員会を設置し、さらには、各種の委員会を縦横に組織しているところである。

現在、病院における定員は、572 人であり、診療関係部門は 481 人、事務部門は 91 人である。前者は、教育職が 93 人、技術・技能等の行政職が 30 人、薬剤師・看護婦等の医療職が 358 人となっている。

しかし、開院に必要な人員年次計画は、昭和 48 年の第一次石油ショックの物価狂乱時代を迎え、翌年には、戦後初の経済成長マイナスとなるなど、これらの財政的余波を受け、当初計画では病院総人員は 644 人とされていたが、計画の見直しにより、580 人に、さらには 575 人という 2 度の修正減を受けたものである。

したがって、その差は、当初比 69 人の減となった。この内訳は、看護部その他の医療関係部門で 51 人、事務部門で 18 人ということとなり、厳しい人員構成とならざるを得なくなった。

なお、事務部門の減は、学年進行中の 51 年 4 月 1 日に事務局と病院事務部の一元化という総務部（庶務課・会計課）、業務部（施設課・医事課）、教務部（学生課・図書課）の 3 部 6 課体制の改革が導入されたことによるものである。

一方、事務局は、その後の定員削減計画の進行に際し、今日までに 30 人の縮減がなされ、行革による波瀾の厳しさを受け、業務の見直し、工夫、改善等の合理化を講じつつも艱の重みに喘いでいるのが現状である。

病床は、当初計画の予算病床数 600 床で現在は、実在病床数として 602 床がある。厚生省認可の経緯から見ると、51 年 10 月 30 日に 327 床で当該年度の 10 床を加えると 56%に相当し、次いで、52 年度 104 床、

53年度 161床の増床が認められるところとなった。

なお、学生の入学定員規模からすれば、当初の100人（昭和54年度からは120人に増募改訂）に対し800床以上というのが、50年7月7日の大学設置審議会からの建議されたところの規模となるが、当該建議において、医学部には、附属病院のほかに学生の臨床教育に当る関連教育病院を置くことができるとされている。更には、附属病院として病床数600床を超える部分については、関連教育病院の教育に使用される病床数をもって充てることができることとされている。この措置は、地域医療水準の向上という命題に対して、臨床医学の急速な発展、専門分化に伴うより充実した臨床医学教育を行うために大学と連携協力して卒前、卒後における臨床教育にあたる病院を設け、その教育効果を得ることが一つの考えとして映ずるところであ

る。

したがって、新設医科大学としての本院もこの制度の適用を受けることとなった。

ともあれ、苦節10年と云われるが、開院初日の外来患者が71名であったことを想起すれば、今日における本院の現状との対比において、病院創設の労苦は並々ならぬものがあったと今昔の感慨一入のものがあるとともに、初代学長山田守英氏をはじめ、学の内外、院の内外の関係各位および地域社会の多くの人々に支えられ、ご支援、ご尽力を賜ったご恩に報いるため、さらに新しい10年、そして21世紀の医療を担う旭川医科大学附属病院としての責務を自覚するとともに、将来構想の具現を誓い、開院10周年記念誌の序とさせていただきます次第である。

院内配置図

		11 F E V		
東 ナ ー ス ス テ ー シ ョ ン	放射線科、脳神経外科 精神科 神経科	10 F E V	精神科 神経科	西 ナ ー ス ス テ ー シ ョ ン
	第一外科、歯科口腔外科	9 F E V	第二外科	
	第一内科	8 F E V	第二内科	
	第三内科	7 F E V	皮膚科、泌尿器科	
	耳鼻咽喉科、眼科	6 F E V	整形外科	
	麻酔科、共通（小児外科）	5 F E V	小児科	
	分娩室、新生児室 未熟児室	4 F E V	産科 婦人科	
(外来) 第一外科、第二外科、泌尿器科、産科 婦人科、麻酔科、歯科口腔外科 検査部、栄養相談	3 F 材 料 部 集 中 治 療 室 E V	手術部		
(外来) 第一内科、第二内科、第三内科 小児科、整形外科、一般血液検査室 放射線部（エックス線診断部門） 輸血室、郵便局	2 F 理 学 療 法 室 工 透 析 室 中 央 診 療 記 録 室 関 連 ホ ー ル E V	薬渡し口、初診受付、再診受付 入退院受付、料金計算窓口 料金支払窓口、薬剤部、看護部 事務室、医事相談		
(外来) 精神科神経科、皮膚科、眼科 耳鼻咽喉科、放射線科、脳神経外科 放射線部（核医学部門）	1 F 救 災 急 患 室 防 災 セ ン タ ー 時 間 外 関 E V	病理部、薬剤部、売店 一般食堂、職員食堂 理・美容室、喫茶室		
機 械 室	B 1 F 基 準 寢 具 室 洗 濯 室、消 毒 室 E V	厨 房		

『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
平成21年 4月28日
平成24年 9月 5日
改正 平成24年 9月21日

投稿資格

1. 投稿者は、本学教員及び本学教員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。
2. 平成16年度以降に博士の学位を授与された者における、当該博士論文掲載の可否については、大学院博士課程小委員会の議に基づき、編集委員会が決定する。

執筆要領

1. 原稿は、日本語又は英語で書かれ、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目安とする。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メモリー等を添える。
3. 原稿には、原則として、500字以内の和文抄録、200語以内の英文の抄録、5個以内のキーワード（和英併記）を付ける。
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、素材及び方法、結果、考察、総括又は結論、謝辞、注及び参考文献、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したものに限り、図表・写真とも、番号と表題を付け、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付ける。
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－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－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－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っては、上記の様式に合わせることを望ましいが、各分野の慣例に従うことでも良い。

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

この冬は例年より雪が多く、また、寒さも厳しいようです。オホーツクの流水も平年に比べ約1ヶ月早く接岸したとか。昨年長く、とても暑かった夏が、懐かしく思い出されます。

さて、旭川医科大学研究フォーラム第13巻をお届けします。本号では原著である投稿論文が2編、依頼論文が1編、博士学位論文が2編、「独創性のある生命科学研究」報告が28編、依頼稿が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、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。ご一読下さい。なお、博士学位論文は本号から掲載することになりました。

大変お忙しい中、ご執筆下さった皆様、並びに査読をご担当下さった先生方にお礼申し上げます。

(H.H)

表紙解説

「それは、空気のような存在だ」という表現を時折、見聞します。「普段あまり意識していないが、それがないと生きていけない」という意味合いかと思えます。現在の地球上における地表付近大気の主成分は、比率が高い順に、窒素：78.1%、酸素：20.95%、アルゴン：0.9%、二酸化炭素：0.04%、水蒸気：1～4%程度、とされています。しかし、誕生直後の地球の大気は、水素、ヘリウムなどの軽い成分であったのが、やがて強い太陽風によって数千万年の間に吹き飛ばされ、その後の火山活動により二酸化炭素とアンモニアが放出されたようです。その時点では、酸素はなかったとされています。やがて、海洋と植物の出現によって、酸素が大量に放出されました。そこで、何が起こっていたか？「光合成 photosynthesis」です。光合成色素（葉緑体）を持つ生物が行う、光エネルギーを化学エネルギーに変換する生化学反応、即ち、光合成をする生物は、ここ数十億年にわたり、光エネルギーを使って水と空気中の二酸化炭素から、炭水化物（糖類）を合成し、酸素を放散し続けていたのです。現在、私たちが生存しているのは、この「光合成」なしにはあり得なかったともいえます。

しかし、人間はその旺盛な生命活動により、酸素を浪費し地球温暖化ガスである二酸化炭素を大量に産出し、現在急激な気候変動に苦しめられており、また、地球上の生命体を紫外線から守ってきたオゾン層の破壊も起きています。では、その多くなりすぎた二酸化炭素を原料にして何かできないだろうか。その視点からたどりついたのが、「人工光合成 artificial photosynthesis」です。これによって、二酸化炭素を減らし、酸素・炭水化物を生産していくことができたならば、どんなに素晴らしいことでしょうか。実は近年、日本でも官（ノーベル賞受賞学者：根岸英一氏ら）・民（トヨタ、パナソニック等）の最高レベルでの研究によって、世界的にも注目すべき成果を上げつつあるとの報に接するとき、自分の血が沸き立ってくるのを感じます。

そのような思いで、一片の葉っぱを見つめていると、主脈（旭川医科大学）から左右に広がっていく葉脈（講座名群）が互いに深く連携しながら、二酸化炭素・水を元に太陽光を一杯に浴びて、炭水化物を蓄積し酸素を放出していく姿は、未来を予感させる「熱い炎」が立ちのぼっているようにも見えてくるのでした。

整形外科学講座 今井 充

本誌の刊行目的と編集方針

〈刊行目的〉

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

〈編集方針〉

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

廣川 博之（経営企画部／副委員長）

藤尾 均（図書館長／委員長）

三好 暢博（英語）

渡部 剛（解剖学講座）

旭川医科大学研究フォーラム 第13巻（通算14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25年2月22日

発行 平成25年2月22日

ASAHIKAWA MEDICAL UNIVERSITY

RESEARCH BULLETIN

VOL. 13

CONTENTS

Commissions	
Telemedicine Conducted by the Department of Ophthalmology and the Medicine and Engineering Combined Research Institute in Asahikawa Medical University.....	ISHIKO Satoshi 2
Essay	KITA Shinichi 9
Submissions	
Experience that nursing students get from the nursing skills assessment practicum aiming to instill readiness for acquiring nursing skills -Report analysis done after the completion of a specified situation assignment during the first year of college -.....	ICHIJO Akemi, KANNARI Yoko, MASUDA Yumiko 11
Relation of a clinical nurse's nursing practice and moral development	SERITA Noriko 19
Doctoral Dissertations	
FLEXOR ACTIVITY BY INTRAMEDULLARY PRESSURE IN RABBIT FEMORAL BONE:	
An experimental study on thigh pain after total hip arthroplasty ...NAKAMURA Toshiki, ITO Hiroshi, ATSUTA Yuji, TANINO Hiromasa, NISHIMURA Ikuya, MATSUNO Takeo	32
High Glucose Increases the Expression of Neurokinin1 Receptors in Cultured Neonatal Rat Spinal Neurons ...ISHIZEKI Kanaki, ABIKO Atsuko, ITO Hiroshi, HIRANO Fuminori, TAKIYAMA Yumi, HANEDA Masakazu	38
Commissions	
2010/2011 Innovative Research in Life Science	
1) Efficacy of Ketamine Ointment	MAMIYA Keiko 50
2) Role of microglia on remyelination	TANAKA Tatsuhide 51
3) Protecting Mechanisms against Reactive Oxygen Species (ROS) in Mammalian Spermatozoa	HARUMI Tatsuo 52
4) Establishment of sensitive cell physiological methods applicable to mouse intraocular muscles and their application to the study of signal transduction mechanisms	AKAO Teppei 53
5) Alteration of brain function by the intranasal administration of chemical compound ...	MIYAZONO Sadaharu 54
6) Relationship between structure of anthocyanins and effects on human cancer cells ...	TAKEUCHI Masayuki 56
7) Development of methods for analysing liver multistep carcinogenesis with adeno-associated virus (AAV)	YAMAMOTO Masahiro 57
8) Effect of yoga on pregnancy outcome.....	KAWANISHI Yasuyuki 58
9) Establishment of the prediction method that used the expression of anion transporter as an index of the therapeutic effect of rheumatoid arthritis	KOMURA Keiji 60
10) Effects of Metformin on Contrast-Induced Nephropathy	TAKIYAMA Yumi 61
11) The analysis of remnant liver function considering liver regeneration after liver surgery	TANIGUCHI Masahiko 62
12) Revealing the Influence of HMGB1 on Postoperative Complication of Abdominal Surgery	WATANABE Kenji 65
13) Motion restored to the paralyzed larynx with implantable stimulator.....	NOMURA Kenichirou 67
14) Analysis of the male infertility and habitual abortion and their application to clinical medicine	MIYAKAWA Hiroe 68
15) Evaluation of dual-time-point 18F-FDG PET/CT for the differentiation between malignant lymphoma and benign lymph nodes.....	NAKAYAMA Michihiro 69
16) Study of functional localization in the supplementary motor area	ANEI Ryougo 71
17) The effect of bone repair by intravenous injection of adipose tissue-derived stem cells	TAKEKAWA Masanori 73
18) Immunoassay Standardization for Serum Cystatin C—preparation of serum Matrix-based Reference material	AKASAKA Kazumi 75
19) A survey of the recognition by junior-high-school students about brain death organ transplantation	MORI Hiromi 77
20) Tryptophan metabolism and higher brain function	KANAI Masaaki 79
21) The study of the implementation of the quantum mechanical boundary and the Casimir effect	FUJII Toshiyuki 82
22) Effects of a decrease in the bifurcation exponent on the human retinal microcirculation	TAKAHASHI Tatsuhisa 83
23) Acquisition of heat-resistant nature in freeze-dried mouse and human spermatozoa ...	KUSAKABE Hirokazu 86
24) Analysis of neuronal death mechanism and search for novel therapeutic agent in sporadic amyotrophic lateral sclerosis.	SAWADA Jun 88
25) Establishment of bronchio-alveolar stem cell lines	SASAKI Takaaki 90
2011 Innovative Research in Life Science	
New Role of Capillary in Tissue Regeneration. — AMU Reserch Cluster for Devlopment of Vascular Reserch and its Clinical Application —	KAWABE Junichi 92
Development of rapid analyzing system for ion channel genes and its application to diagnosis and therapy of channelopathies	MIYAZU Motoi 97
Breakthrough for the development of artificial joint without loosening	MATSUNO Takeo 100
Education Methods for Nursing Students when Performing Their First Venous Blood Specimen Collection	KANNARI Yoko 104
JICA training course JFY2012 “Health Administration for Regional Health Officer for Africa”	YOSHIDA Takahiko / FUJII Tomoko / KITAMURA Kumiko 112
News	IWASAKI Hirishi / HIROKAWA Hiroyuki / KITAMURA Kumiko / ARA Hitomi 123
Students's pages	KOBAYASHI Takahiro 135
Books	FUJIO Hitoshi/ HASEBE Naoyuki 138
Material	FUJIO Hitoshi 140
Editor's Note / Cover Story	144