

関西医科大学

病態分子イメージングセンター

令和3（2021）年度～令和6（2024）年度
研究成果報告書

第6号

目 次

目 次	1
I. 令和3（2021）年度～令和6（2024）年度の研究課題	2
II. 各課題の「研究成果報告書の概要」・「病態分子イメージングセンターに係る業績」	9
解剖学講座	9
生理学講座	16
医化学講座	21
薬理学講座	27
病理学講座	32
微生物学講座	35
iPS・幹細胞再生医学講座	37
衛生・公衆衛生学講座	42
法医学講座	47
分子遺伝学部門	50
神経機能部門	57
侵襲反応制御部門	62
生体情報部門	64
モデル動物部門	69
ゲノム編集部門	72
がん生物学部門	75
細胞機能部門	82
内科学第一講座	84
内科学第三講座	91
心療内科学講座	96
神経内科学講座	97
上部消化管外科学講座	101
肝臓外科学講座	103
胆膵外科学講座	114
乳腺外科学講座	118
小児外科学講座	120
外科学講座	122
形成外科学講座	127
皮膚科学講座	131
腎泌尿器外科学講座	133
眼科学講座	135
耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座	136
生物学教室	143
物理学教室	145

I. 令和3（2021）年度～令和6（2024）年度の研究課題

【研究部門別の課題件数】

神経部門	21 課題
がん部門	25 課題
代謝部門	23 講座

【研究課題一覧】

講座・教室等	事業推進者	実施年度	研究部門	研究課題名
解剖学講座	北田容章	令和3年～ 令和4年	神経部門	哺乳類や両生類を用いた分子イメージングによる正常及び病理組織解析
		令和5年～ 令和6年	神経部門	両生類からヒトまでの動物種を用いた分子イメージングによる正常及び病理組織解析
生理学講座	中村加枝	令和3年	神経部門	情動による意思決定の変化の神経メカニズムの解明
		令和4年	神経部門	霊長類におけるセロトニン・ドパミンによる認知機能の制御
		令和5年～ 令和6年	神経部門	異なる情動コンテキストによる意思決定メカニズムの解明
医化学講座	小林拓也	令和3年	神経部門	異常感覚を伴う神経可塑的变化とその病態に関する研究
		令和4年～ 令和6年	神経部門	慢性疼痛に関与する分子の同定・作用機序の解明
薬理学講座	中邨智之	令和3年	代謝部門	弾性線維形成の分子機構の研究
		令和4年	代謝部門	細胞外マトリックス線維形成の加齢変化に関する研究
		令和5年～ 令和6年	代謝部門	細胞外マトリックスの形態形成・老化・疾患における役割の研究

講座・教室等	事業推進者	実施年度	研究部門	研究課題名
病理学講座	蔦幸治	令和3年～ 令和6年	がん部門	網羅的遺伝子解析技術を用いた各種腫瘍における再発・治療効果予測、原因遺伝子の同定
微生物学講座	大隈和	令和3年～ 令和6年	がん部門	高度ヒト化マウスを用いた HTLV-1 キャリアからの ATL 発症過程の解析
iPS・幹細胞 再生医学講座	人見浩史	令和3年	代謝部門	iPS・幹細胞を用いた分化誘導法と分子イメージングを用いた評価法の開発：細胞移植・再生医療への応用
		令和4年～ 令和6年	代謝部門	iPS・幹細胞を用いた分化誘導法と分子イメージングを用いた評価法の開発
iPS・幹細胞 応用医学講座	六車恵子	令和3年～ 令和6年	神経部門	多能性幹細胞からの脳組織の構築およびその破綻に関する研究
衛生・公衆 衛生学講座	神田靖士	令和3年～ 令和5年	代謝部門	感染症の新規診断法の開発と骨粗鬆症に対する漢方製剤治療メカニズムの解明
		令和6年	代謝部門	開発途上国における感染症の予防と糖脂質代謝異常および骨粗鬆症の予防に関する研究
法医学講座	橋谷田真樹	令和3年	代謝部門	次世代シーケンサーの法医学的応用
		令和4年～ 令和6年	代謝部門	次世代シーケンサーを用いた法遺伝学研究
分子遺伝学 部門	植田祥啓	令和3年～ 令和6年	がん部門	リンパ節のホーミングの分子機構に関する研究
神経機能部門	小早川令子	令和3年～ 令和5年	神経部門	人工冬眠・生命保護作用を利用した創薬技術の開発
		令和6年	神経部門	in vivo ライブイメージングを用いた腕傍核における感覚統合原理の解明

講座・教室等	事業推進者	実施年度	研究部門	研究課題名
侵襲反応制御部門	廣田喜一	令和3年～ 令和4年	代謝部門	酸化ストレスがミトコンドリアの機能・動態に及ぼす影響の探求
	松尾禎之	令和5年	代謝部門	細胞内エネルギー代謝におけるレドックス関連分子の機能解明
	小早川高	令和6年	代謝部門	人工冬眠・生命保護作用を利用した創薬技術の開発
生体情報部門	松田達志	令和3年～ 令和6年	代謝部門	Arf-mTORC1 軸を介した免疫制御機構の解明
モデル動物部門	村山正承	令和3年～ 令和6年	がん部門	疾患モデルマウスを用いた免疫疾患発症機序の解明
ゲノム編集部門	徳弘圭造	令和3年～ 令和5年	がん部門	マウス受精卵を用いた迅速・高効率ノックインマウス作製法の構築
		令和6年	がん部門	マウス受精卵を用いた片アレ変異誘導法の開発
がん生物学部門	坂本毅治	令和4年～ 令和6年	がん部門	がん微小環境制御に関わる分子の生理的・病理的役割の解明
細胞機能部門	小原圭吾	令和3年	神経部門	海馬神経回路の光イメージング

講座・教室等	事業推進者	実施年度	研究部門	研究課題名
内科学第一講座	伊藤量基	令和3年	がん部門	ヒト樹状細胞によるさまざまな病態関連応答の解明と新たな難病治療戦略の開発
		令和4年	がん部門	ヒト樹状細胞によるがん治療戦略の開発と機序解明【JAK 阻害による I 型インターフェロン産生抑制メカニズムの解明】
		令和5年	がん部門	ヒト樹状細胞によるがん治療戦略の開発と機序解明、移植後 GVHD における樹状細胞と制御性 T 細胞の作用機序解明
		令和6年	がん部門	ヒト樹状細胞によるがん治療戦略の開発と機序解明、Mint3 を標的とした移植片対宿主病に対する新規制御法の開発のための基礎的研究
内科学第二講座	塩島一朗	令和3年、 令和4年、 令和6年	代謝部門	膵β細胞における non-canonical Wnt シグナルの役割
内科学第三講座	長沼誠	令和3年～ 令和4年	がん部門	消化器がん発症・転移に関するバイオマーカーの開発
		令和5年	がん部門	消化器がん病態・病因を解明するためのバイオマーカーの開発
心療内科学講座	蓮尾英明	令和6年	神経部門	心身症を客観的に評価できるマーカーの同定
神経内科学講座	薬師寺祐介	令和3年	神経部門	①パーキンソン病モデルラットを用いた 大脳基底核神経回路の可塑性の研究 ②筋委縮性側索硬化症へのフリーラジカル抑制効果の予測因子の探索 ③神経磁界計測装置の臨床応用を目的とした基礎的データの収集・解析 ④脳卒中・認知症リスクを層別化する脳微細血管障害スコアモデルの構築
		令和4年～ 令和6年	神経部門	難治性神経疾患における神経・筋微細構造破綻・再生メカニズム解明に関する探索的研究

講座・教室等	事業推進者	実施年度	研究部門	研究課題名
上部消化管 外科学講座	山崎誠	令和6年	がん部門	食道癌に対する予後改善を 目指した研究
肝臓外科学 講座	海堀昌樹	令和6年	がん部門	肝胆道外科における基礎 および臨床研究の推進と遂行
胆膵外科学 講座	里井壯平	令和6年	がん部門	胆膵領域癌に対する短期・長期 予後因子の検討と新規治療法 の開発
乳腺外科学 講座	矢内洋次	令和6年	がん部門	遺伝性乳癌卵巣癌症候群の 乳癌発症機構の解明による 予防的乳房切除の指標確立と 新規治療法の開発
小児外科学 講座	中村弘樹	令和6年	がん部門	ヒルシュスプルング病に おける、消化管神経回路異常と パネート細胞による腸管免疫 の関連性についての検証
外科学講座	海堀昌樹	令和3年	がん部門	フタロシアニン化合物を用い た難治性癌に対する近赤外線 カメラを用いた診断および治 療
		令和4年	がん部門	大腸癌に対する抗がん剤内包 PCLファイバーメッシュを用い た革新的治療の検討 (Innovative study with treatment of the anti- cancer drug containing PCL fiber mesh in the colorectal cancer)
		令和5年	がん部門	ICG-Lipo を用いたヒト乳癌診 断・治療技術の開発
形成外科学 講座	覚道奈津子	令和3年～ 令和6年	代謝部門	皮膚・軟部組織の創傷治癒、 組織再生における分子イメー ジングによる病態解明と診断 治療への応用

講座・教室等	事業推進者	実施年度	研究部門	研究課題名
皮膚科学講座	谷崎英昭	令和3年	神経部門	痒みを伴う皮膚疾患における神経・サイトカインネットワークに関する検討
		令和4年～ 令和5年	神経部門	痒み誘発刺激における神経伝達分子イメージングと刺激伝達機構の解明
		令和6年	神経部門	痒み誘発刺激における神経伝達分子イメージングと刺激伝達構造の解明
腎泌尿器 外科学講座	木下秀文	令和3年	がん部門	腎癌および膀胱癌に関する分子学的病態解析
	谷口久哲	令和4年	がん部門	分子イメージングを用いた、泌尿生殖器疾患の病態解明と実臨床への応用
		令和5年～ 令和6年	がん部門	腎泌尿生殖器疾患における分子イメージングを用いた病態解析と低侵襲治療の効果の解析
眼科学講座	高橋寛二	令和3年	代謝部門	齧歯類の網脈絡膜新生血管を科学する
	高橋寛二	令和4年	代謝部門	塩基性線維芽細胞増殖因子遺伝子改変マウスを用いた脈絡膜新生血管動物モデルの作成
	高橋寛二	令和5年	代謝部門	血小板由来成長因子遺伝子改変マウスを用いた酸素誘導網膜症モデルの作成
	盛秀嗣	令和6年	神経部門	血管内皮増殖因子改変マウスへの新規抗新生血管薬の投与による血管退縮作用の検討
耳鼻咽喉科・ 頭頸部外科学講座	岩井大	令和3年	神経部門	嗅覚障害マウスモデルを用いた好酸球の機能的役割の検討
	神田晃	令和4年	代謝部門	好酸球性気道炎症と加齢性難聴に対する新しい治療戦略の開発
	鈴木健介	令和5年～ 令和6年	がん部門	頭頸部腫瘍に対する新しい分子標的薬併用放射線療法の開発

講座・教室等	事業推進者	実施年度	研究部門	研究課題名
物理学教室	楠本邦子	令和3年	代謝部門	X線吸収微細構造(XAFS)分光による細胞外代謝物に含まれる微量元素の分布と化学状態の可視化
		令和4年	代謝部門	X線吸収(吸収端および広域)と可視光散乱分光法による細胞外代謝物に含まれる重金属の分布と化学状態の可視化
		令和5年	代謝部門	X線吸収微細構造法と可視光散乱分光法を応用した細胞外代謝物に含まれるメタロームの可視化の試み
		令和6年	代謝部門	分光イメージングによる細胞外代謝物のメタローム解析とメタローム物質の記録メディアへの応用
生物学教室	平野伸二	令和3年	神経部門	神経系におけるプロトカドヘリンの機能と役割の解明
		令和4年～ 令和6年	神経部門	神経系形成におけるプロトカドヘリンの機能と役割の解明

研究成果報告書（研究概要）

講 座 等 名	解剖学講座	事業推進者名	北田容章																		
所 属 部 門	神経部門																				
研究課題名	哺乳類や両生類を用いた分子イメージングによる正常及び病理組織解析 両生類からヒトまでの動物種を用いた分子イメージングによる正常及び病理組織解析																				
キーワード	ヒト、マウス、イモリ、再生生物学、幹・前駆細胞、腫瘍細胞																				
講座内の本プロジェクト参加研究者数	8 名																				
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> <table><tr><td>研究参画者</td><td>役割</td></tr><tr><td>北田容章</td><td>プロジェクト総括</td></tr><tr><td>大江総一</td><td>腫瘍細胞病態解析</td></tr><tr><td>林 真一</td><td>両生類・哺乳類細胞解析</td></tr><tr><td>小池太郎</td><td>哺乳類・ヒト細胞解析</td></tr><tr><td>中野洋輔</td><td>ヒト細胞解析</td></tr><tr><td>関 亮平</td><td>両生類・哺乳類細胞解析</td></tr><tr><td>岩下 洸</td><td>哺乳類細胞解析</td></tr><tr><td>佐藤勇輝</td><td>哺乳類・ヒト細胞解析</td></tr></table>				研究参画者	役割	北田容章	プロジェクト総括	大江総一	腫瘍細胞病態解析	林 真一	両生類・哺乳類細胞解析	小池太郎	哺乳類・ヒト細胞解析	中野洋輔	ヒト細胞解析	関 亮平	両生類・哺乳類細胞解析	岩下 洸	哺乳類細胞解析	佐藤勇輝	哺乳類・ヒト細胞解析
研究参画者	役割																				
北田容章	プロジェクト総括																				
大江総一	腫瘍細胞病態解析																				
林 真一	両生類・哺乳類細胞解析																				
小池太郎	哺乳類・ヒト細胞解析																				
中野洋輔	ヒト細胞解析																				
関 亮平	両生類・哺乳類細胞解析																				
岩下 洸	哺乳類細胞解析																				
佐藤勇輝	哺乳類・ヒト細胞解析																				
<研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）> 本講座では両生類からヒトまでの動物・細胞を用い、その分子イメージングを通じてそれぞれの動物種の正常機能を明らかにすると共に、各種疾患モデルにおける病態解析あるいは新規治療法開発に資する知見を得ることを目的に研究を行った。その成果として業績欄に示す論文を発表した。それらのうち主要なものについて以下に取り上げ、その概要と共に記す。 2021 年度 Distribution, fine structure, and three-dimensional innervation of lamellar corpuscles in rat plantar skin. Koike T, Ebara S, Tanaka S, Kase M, Hirahara Y, Hayashi S, Oe S, Nakano Y, Kitada M, Kumamoto K. Cell Tissue Res. 2021 Dec;386(3):477-490. doi: 10.1007/s00441-021-03525-5. Epub 2021 Sep 25. PMID: 34562148 本研究では、ラット足底の真皮乳頭に分布する層板小体の分類、分布および神経支配様式を明らかにした。哺乳類真皮乳頭に一般的に存在するマイスナー小体はラットでは確認されておらず、単純小体が存在することが光学・電子顕微鏡観察により明らかとなった。これらは肉球に集中し、特に突出部に高密度で分布する一方、他の部位ではほとんど見られなかった。軸索トレーシングの結果、単一軸索が複数の単純小体を支配していることが判明した。行動解析からは単純小体が接地頻度の高い部位に対応して配置されていることが示唆された。感覚受容器が器官の機能的特性に応じて効率的に配置されていることが明らかとなった。 Cpeb1 expression is post-transcriptionally regulated by AUF1, CPEB1, and microRNAs. Oe S, Hayashi S, Tanaka S, Koike T, Hirahara Y, Kakizaki R, Sakamoto S, Noda Y, Yamada H, Kitada M. FEBS Open Bio. 2022 Jan;12(1):82-94. doi: 10.1002/2211-5463.13286. Epub 2021 Nov 8. PMID: 34480525 CPEB1 は CPE をもつ多くの mRNA の翻訳を制御している。本研究では、CPEB1 発現制御機構を明らかにするために CPEB1 3' UTR を有するレポーター mRNA の発現解析をおこなった。その結果、CPEB1 が自身の mRNA の 3' UTR に結合しその翻訳を抑制すること、3' UTR を介した AUF1 依存的 RNA 分解が起こること、AUF1 非存在下では miR-145a-5p と let-7b-5p が 3' UTR に結合し RNA 分解と翻訳抑制を担うこと等を明らかにした。これらの結果から、CPEB1 の発現は AUF1、CPEB1、microRNA によって多段階的に転写後制御されていることが示唆された。																					

2022 年度

Cytoplasmic Polyadenylation Element-Binding Protein 1 Post-transcriptionally Regulates Fragile X Mental Retardation 1 Expression Through 3' Untranslated Region in Central Nervous System Neurons.

Oe S, Hayashi S, Tanaka S, Koike T, Hirahara Y, Seki-Omura R, Kakizaki R, Sakamoto S, Nakano Y, Noda Y, Yamada H, Kitada M. *Front Cell Neurosci.* 2022 Apr 15;16:869398. doi: 10.3389/fncel.2022.869398. eCollection 2022. PMID: 35496917

脆弱 X 症候群 (FXS) は、FMR1 遺伝子の欠損により生じる遺伝性精神疾患である。本研究では、神経細胞において CPEB1 が FMR1 mRNA と共局在し相互作用すること、CPEB1 発現抑制により FMR1 発現レベルが上昇し神経細胞における FMR1 翻訳産物の局在異常が引き起こされることを明らかにした。FXS モデル細胞では、CPEB1 発現抑制によりミトコンドリア関連遺伝子の mRNA 量が上昇し細胞内の熱ショック蛋白質ファミリー A メンバー 9 の分布異常が改善した。これらの結果は、CPEB1 が 3' UTR を介して FMR1 発現を転写後制御していること、そして CPEB1 発現抑制がミトコンドリア機能に影響を及ぼすことを示唆している。

Sulfatide with ceramide composed of phytosphingosine (t18:0) and 2-hydroxy FAs in renal intercalated cells.

Nakashima K, Hirahara Y, Koike T, Tanaka S, Gamo K, Oe S, Hayashi S, Seki-Omura R, Nakano Y, Ohe C, Yoshida T, Kataoka Y, Tsuda M, Yamashita T, Honke K, Kitada M. *J Lipid Res.* 2022 Jun;63(6):100210. doi: 10.1016/j.jlr.2022.100210. Epub 2022 Apr 16. PMID: 35439525

腎集合管の介在細胞は、アンモニアと水素イオンの排泄を通じて体内の酸塩基平衡を維持している。本研究では、この排泄機能に硫酸化糖脂質であるスルファチドが重要な役割を果たしていることを世界で初めて明らかにした。質量顕微鏡や電子顕微鏡の解析により、3 個の水酸基を持つ特殊なスルファチド分子種が介在細胞に特異的に存在し、排泄機能に寄与していることが示された。スルファチドが欠如すると介在細胞に形態異常が生じ、アンモニアの排泄が障害され、尿管管性アシドーシスを引き起こす可能性が示唆された。ヒトの腎組織でも組織特異的な分布が確認され、腎疾患の病態解明にも貢献する重要な知見である。

Establishment of neural stem cell culture from the central nervous system of the Iberian ribbed newt *Pleurodeles waltl*.

Seki-Omura R, Hayashi S, Oe S, Koike T, Nakano Y, Hirahara Y, Tanaka S, Kitada M. *Dev Growth Differ.* 2022 Dec;64(9):494-500. doi: 10.1111/dgd.12820. Epub 2022 Nov 17. PMID: 36308507

本研究では、高い再生能力をもつ有尾両生類の一種であるイベリアトゲイモリ (*Pleurodeles waltl*) の神経幹細胞の培養方法を検討した。まず、標準的な神経幹細胞培養法をベースとした手法にて、脳および脊髄から得た細胞を培養すると球状の細胞塊が得られた。その細胞塊を構成する細胞は増殖活性を示すと同時に、複数の神経幹細胞マーカーを発現していた。また、細胞塊に分化誘導をかけると、神経細胞・アストロサイト・オリゴデンドロサイトという複数の神経系の細胞種が生じた。以上の結果から、イベリアトゲイモリの中樞神経系から神経幹細胞を分離・培養する手法が新たに確立されたと考えられる。

2023 年度

OLIG2 is an in vivo bookmarking transcription factor in the developing neural tube in mouse.

Hayashi S, Oe S, Koike T, Seki-Omura R, Nakano Y, Hirahara Y, Tanaka S, Ito T, Yasukochi Y, Higasa K, Kitada M. *J Neurochem.* 2023 May;165(3):303-317. doi: 10.1111/jnc.15746. Epub 2023 Jan 12. PMID: 36547371

本研究では神経幹細胞の増殖、運動神経とオリゴデンドロサイトの分化を制御する転写因子 OLIG2 が M 期においても染色体に結合するブックマーク機能があることを明らかにした。フォトブリーチアッセイの結果、OLIG2 の移動速度は低く、染色体に対する分子結合が強いことが示唆

された。またその結合様式は OLIG2 の N 末とヒストン H3 を介していることが明らかになった。本研究により、OLIG2 が生体におけるブックマーク因子として働くことが明らかになり、転写因子を介した細胞記憶の伝承と関わることが示唆された。神経やグリア細胞の発生・再生における OLIG2 の役割を解明する一助となった。

OLIG2 translocates to chromosomes during mitosis via a temperature downshift: A novel neural cold response of mitotic bookmarking.

Hayashi S, Seki-Omura R, Yamada S, Kamata T, Sato Y, Oe S, Koike T, Nakano Y, Iwashita H, Hirahara Y, Tanaka S, Sekijima T, Ito T, Yasukochi Y, Higasa K, Kitada M. *Gene*. 2024 Jan 15;891:147829. doi: 10.1016/j.gene.2023.147829. Epub 2023 Sep 23. PMID: 37748631

本研究では転写因子 OLIG2 が神経幹細胞で温度感受性を示し、低温環境下でのみ染色体局在を示すことを新たに見出した。OLIG2 の 117 番目のグルタミン酸がリジンに置き換わった変異体 (E117K) では低温応答が消失することを見出し、更に野生型と E117K 変異体トランスクリプトーム解析の結果、Neuro peptide Y などの神経保護因子の発現に関与することが明らかになった。これらの所見は、神経幹細胞における OLIG2 による低温特異的遺伝子発現制御を示唆している。本研究により、神経幹細胞の OLIG2 を介した低温応答性増殖・細胞死・神経/グリア細胞の分化制御因子とその分子メカニズムが明らかになったことで、中枢神経系神経保護戦略の新たな基盤的知見が見出された。

2024 年度

CD34 distribution in C-fiber low threshold mechanoreceptors in the mouse dorsal root ganglion and spinal cord.

Koike T, Sato T, Oe S, Hayashi S, Seki-Omura R, Nakano Y, Iwashita H, Sato Y, Hirahara Y, Kitada M. *Brain Res*. 2025 Jan 1;1846:149227. doi: 10.1016/j.brainres.2024.149227. Epub 2024 Sep 8. PMID: 39255903

末梢神経系に存在する C 線維低閾値機械受容器 (C-LTMR) は、CD34 mRNA を発現することが報告されている。本研究では、CD34 タンパク質の分布を後根神経節 (DRG) および脊髄において解析した。C8 および L4 DRG では、CD34 は VGLUT3 単独陽性または VGLUT3 と TH の二重陽性ニューロンに多く見られたが、C4 および L1 DRG ではほとんどが二重陽性であった。CD34 陽性ニューロンは、脊髄後角第 II 層深層の腹側に終末を形成するが、手掌・足底皮膚由来の入力領域である後角内側には分布しなかった。これらの結果は、CD34 が C-LTMR の神経回路維持に関与する可能性を示唆している。

MicroRNA-505-5p/-3p Regulates the Proliferation, Invasion, Apoptosis, and Temozolomide Resistance in Mesenchymal Glioma Stem Cells by Targeting AUF1.

Oe S, Kakizaki R, Sakamoto S, Sato T, Hayashi M, Isozaki H, Nonaka M, Iwashita H, Hayashi S, Koike T, Seki-Omura R, Nakano Y, Sato Y, Hirahara Y, Kitada M. *Mol Carcinog*. 2025 Feb;64(2):279-289. doi: 10.1002/mc.23842. Epub 2024 Nov 8. PMID: 39513659

間葉系神経膠腫幹細胞 (MES-GSC) は神経膠腫の再発、転移、治療抵抗性等に大きく関与する事が知られている。本研究では、MES-GSC において miR-505-5p/-3p が高発現すること、その発現抑制により増殖促進、浸潤抑制、薬剤耐性低下、アポトーシス促進を示すことを明らかにした。さらに、miR-505-5p/-3p は AUF1 の 3' UTR に結合しその発現を抑制すること、AUF1 過剰発現により miR-505-5p/-3p 依存的な増殖・浸潤・薬剤抵抗性の表現型が改善されることを見出した。これらの結果は、MES-GSC において miR-505-5p/-3p が AUF1 発現を抑制することでがん進展に関与することを示唆している。

※適宜、行を追加してください。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	解剖学講座	事業推進者名	北田容章
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) ※全て査読有り Otsuka-Yamaguchi R, <u>Kitada M</u>, Kuroda Y, Kushida Y, Wakao S, Dezawa M Isolation and characterization of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in <i>Xenopus laevis</i> Stem Cell Res, 53:102341, 2021 Maruyama M, <u>Nakano Y</u>, Nishimura T, Iwata R, Matsuda S, Hayashi M, Nakai Y, Nonaka M, Sugimoto T PC3-Secreted Microprotein Is Expressed in Glioblastoma Stem-Like Cells and Human Glioma Tissues Biol Pharm Bull, 44(7):910-919, 2021 <u>Hayashi S</u>, Suzuki H, Takemoto T The nephric mesenchyme lineage of intermediate mesoderm is derived from Tbx6-expressing derivatives of neuro-mesodermal progenitors via BMP-dependent Osrl function Dev Biol, 478:155-162, 2021 村田 紘未, <u>田中 進</u>, 岡田 英孝 子宮内膜の脈管構造と免疫寛容に携わる脱落膜化子宮内膜間質細胞の転写制御機構の解明 関西医科大学雑誌, 72:11-16, 2021 Hisamatsu Y, Murata H, Tsubokura H, Hashimoto Y, <u>Kitada M</u>, <u>Tanaka S</u>, Okada H Matrix Metalloproteinases in Human Decidualized Endometrial Stromal Cells Curr Issues Mol Biol, 43(3):2111-2123, 2021 Murata H, <u>Tanaka S</u>, Hisamatsu Y, Tsubokura H, Hashimoto Y, <u>Kitada M</u>, Okada H Transcriptional regulation of LGALS9 by HAND2 and FOXO1 in human endometrial stromal cells in women with regular cycles Mol Hum Reprod, 27(11):gaab063, 2021 <u>Koike T</u>, Ebara S, <u>Tanaka S</u>, Kase M, <u>Hirahara Y</u>, <u>Hayashi S</u>, Oe S, <u>Nakano Y</u>, <u>Kitada M</u>, Kumamoto K Distribution, fine structure, and three-dimensional innervation of lamellar corpuscles in rat plantar skin Cell Tissue Res, 386(3):477-490, 2021 Takizawa N, <u>Tanaka S</u>, Nishimoto K, Sugiura Y, Suematsu M, Ohe C, Ohsugi H, Mizuno Y, Mukai K, Seki T, Oki K, Gomez-Sanchez C. E Matsuda T Familial Hyperaldosteronism Type 3 with a Rapidly Growing Adrenal Tumor: An In Situ Aldosterone Imaging Study Curr Issues Mol Biol, 44(1):128-138, 2022 Oe S, <u>Hayashi S</u>, <u>Tanaka S</u>, <u>Koike T</u>, <u>Hirahara Y</u>, Kakizaki R, Sakamoto S, Noda Y, Yamada H, <u>Kitada M</u> Cpebl expression is post-transcriptionally regulated by AUF1, CPEB1, and microRNAs FEBS Open Bio, 12(1):82-94, 2022 <u>Oe S</u>, <u>Hayashi S</u>, <u>Tanaka S</u>, <u>Koike T</u>, <u>Hirahara Y</u>, <u>Seki-Omura R</u>, Kakizaki R, Sakamoto S,			

Nakano Y, Noda Y, Yamada H, Kitada M

Cytoplasmic Polyadenylation Element-Binding Protein 1 Post-transcriptionally Regulates Fragile X Mental Retardation 1 Expression Through 3' Untranslated Region in Central Nervous System Neurons

Front Cell Neurosci, 16:869398, 2022

Miyagawa T, Tanaka S, Shimada M, Sakai N, Tanida K, Kotorii N, Kotorii T, Ariyoshi Y, Hashizume Y, Ogi K, Hiejima H, Kanbayashi T, Imanishi A, Ikegami A, Kamei Y, Hida A, Wada Y, Miyamoto M, Takami M, Kondo H, Tamura Y, Taniyama Y, Omata N, Mizuno T, Moriya S, Furuya H, Kato M, Kato K, Ishigooka J, Tsuruta K, Chiba S, Yamada N, Okawa M, Hirata K, Kuroda K, Kume K, Uchimura N, Kitada M, Kodama T, Inoue Y, Nishino S, Mishima K, Tokunaga K, Honda M

A rare genetic variant in the cleavage site of prepro-orexin is associated with idiopathic hypersomnia

NPJ Genom Med, 7(1):29, 2022

Nakashima K, Hirahara Y, Koike T, Tanaka S, Gamo K, Oe S, Hayashi S, Seki-Omura R, Nakano Y, Ohe C, Yoshida T, Kataoka Y, Tsuda M, Yamashita T, Honke K, Kitada M

Sulfatide with ceramide composed of phytosphingosine (t18:0) and 2-hydroxy FAs in renal intercalated cells

J Lipid Res, 63(6):100210, 2022

中野洋輔, 大江総一, 林真一, 小池太郎, 関亮平, 北田容章

医用画像を用いた学生自身による三次元像再構築とその教育効果の可能性

関西医科大学雑誌, 72:35-41, 2022

Seki-Omura R, Hayashi S, Oe S, Koike T, Nakano Y, Hirahara Y, Tanaka S, Kitada M

Establishment of neural stem cell culture from the central nervous system of the Iberian ribbed newt *Pleurodeles waltl*

Dev Growth Differ, 64(9):494-500, 2022

Kurebayashi S, Koike T, Mori T, Yamada H

Amount of energy consumption during physical activity is a key element in the analysis of neurogenesis in the adult mouse hippocampus

びわこ健康科学, 1:41-49, 2022

Sato Y, Narasaki I, Kunimoto T, Moriyama Y, Hashimoto C

The complete dorsal structure is formed from only the blastocoel roof of *Xenopus* blastula: insight into the gastrulation movement evolutionarily conserved among chordates

Dev Genes Evol, 233:1-12, 2023

Iwashita H, Sano M, Kawaguchi M, Chiba A

N-acetyl-5-methoxykynuramine enhance object location and working memory performances via modulating CaMKII, ERK and CREB phosphorylation

Neuroreport, 34(5):299-307, 2023

Iwashita H, Sano M, Chiba A

Effects of endogenous and exogenous N-acetyl-5-methoxy kynuramine on object recognition memory in male C3H mice

Horm Behav, 150:105329, 2023

Hayashi S, Oe S, Koike T, Seki-Omura R, Nakano Y, Hirahara Y, Tanaka S, Ito T, Yasukochi

Y, Higasa K, Kitada M
 OLIG2 is an in vivo bookmarking transcription factor in the developing neural tube in mouse
 J Neurochem, 165(3):303-317, 2023

Sano M, Iwashita H, Suzuki C, Kawaguchi M, Chiba A
 Effects of melatonin on phosphorylation of memory-related proteins in the hippocampus and the perirhinal cortex in male mice
 Neuroreport, 34(9):457-462, 2023

Kashima M, Komura R, Sato Y, Hashimoto C, Hirata H
 A resource of single-cell gene expression profiles in a planarian *Dugesia japonica*
 Dev Growth Differ, 66(1):43-55, 2023

Li G, Wakao S, Kitada M, Dezawa M.
 Tumor suppressor let-7 acts as a key regulator for pluripotency gene expression in Muse cells
 Cell Mol Life Sci, 81(1):54, 2024

Hayashi S, Seki-Omura R, Yamada S, Kamata T, Sato Y, Oe S, Koike T, Nakano Y, Iwashita H, Hirahara Y, Tanaka S, Sekijima T, Ito T, Yasukochi Y, Higasa K, Kitada M
 OLIG2 translocates to chromosomes during mitosis via a temperature downshift: a novel neural cold response of mitotic bookmarking
 Gene, 891:147829, 2024

Watanabe K, Maruyama Y, Iwashita H, Kato H, Hirayama J, Hattori A
 N1-Acetyl-5-methoxykynuramine, which decreases in the hippocampus with aging, improves long-term memory via CaMKII/CREB phosphorylation
 J Pineal Res, 76(1):e12934, 2024

Koike T, Sato T, Oe S, Hayashi S, Seki-Omura R, Nakano Y, Iwashita H, Sato Y, Hirahara Y, Kitada M
 CD34 distribution in C-fiber low threshold mechanoreceptors in the mouse dorsal root ganglion and spinal cord
 Brain Res, 1846:149227, 2025

Oe S, Kakizaki R, Sakamoto S, Sato T, Hayashi M, Isozaki H, Nonaka M, Iwashita H, Hayashi S, Koike T, Seki-Omura R, Nakano Y, Sato Y, Hirahara Y, Kitada M
 MicroRNA-505-5p/-3p Regulates the Proliferation, Invasion, Apoptosis, and Temozolomide Resistance in Mesenchymal Glioma Stem Cells by Targeting AUF1
 Mol Carcinog, 64(2):279-289, 2025

Ishiyama M, Gotoh H, Oe S, Nomura T, Kitada M, Ono K
 Glycogenolysis-Induced Astrocytic Serp1 Expression Regulates Neuroinflammatory Effects on Hippocampal neuron
 Mol Neurobiol, 62(2):1373-1387, 2025

Hikosaka M, Parvez MSA, Yamawaki Y, Oe S, Liang Y, Wada Y, Hirahara Y, Koike T, Imai H, Oishi N, Schalbetter SM, Kumagai A, Yoshida M, Sakurai T, Kitada M, Meyer U, Narumiya S, Ohtsuki G
 Maternal immune activation followed by peripubertal stress combinedly produce reactive microglia and confine cerebellar cognition
 Communications Biology, 8(1):296, 2025

<図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数)

<学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月)
中野洋輔, 田中進, 林真一, 大江総一, 北田容章

グリオーマ進展過程において、腫瘍微小環境を形成するミクログリアのサブタイプは経日的に変化する

第 127 回日本解剖学会総会・全国学術集会, Web 開催, 2022 年 3 月

平原幸恵, 蒲生恵三, 小池太郎, 大江総一, 林真一, 関亮平, 中野洋輔, 岩下洸, 佐藤勇輝, 北田容章

末梢神経におけるスルファチド分子種の機能的多様性の解析

第 129 回日本解剖学会総会・全国学術集会, 那覇, 2024 年 3 月

Hayashi S, Seki-Omura R, Sato Y, Oe S, Koike T, Nakano Y, Iwashita H, Ito T, Yasukochi Y, Higasa K, Kitada M

Chromosomal localization of transcription factor during mitosis were conserved between mammalian and amphibians

Salamander Meeting 2024, Hiroshima, 2024.7

Sato Y, Hayashi S, Seki-Omura R, Oe S, Koike T, Nakano Y, Iwashita H, Hirahara Y, Kitada M

OLIG gene family in urodele amphibians

Salamander Meeting 2024, Hiroshima, 2024.7

Seki-Omura R, Hayashi S, Oe S, Sato Y, Koike T, Nakano Y, Iwashita H, Hirahara Y, Kitada M

Isolation and characterization of neural stem cells from the central nervous system of *Pleurodeles waltl*

Salamander Meeting 2024, Hiroshima, 2024.7

岩下洸, 大江総一, 佐藤輝英, 林真一, 小池太郎, 関亮平, 中野洋輔, 佐藤勇輝, 北田容章

A study of alterations in bile acids levels and their role in the infarct area of a mouse model of ischemic stroke

APPW2025 (第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本整理学会/第 98 回日本薬理学会合同大会), 千葉, 2025 年 3 月

小池太郎, 大江総一, 林真一, 関亮平, 中野洋輔, 岩下洸, 佐藤勇輝, 北田容章

Observation of glial cells surrounding the stem process of small-sized DRG neurons: A volume electron microscopic study

APPW2025 (第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本整理学会/第 98 回日本薬理学会合同大会), 千葉, 2025 年 3 月

大江総一, 柿崎梨緒, 阪本純加, 佐藤輝英, 林美樹夫, 磯崎春菜, 埜中正博, 岩下洸, 林真一, 小池太郎, 関亮平, 中野洋輔, 佐藤勇輝, 平原幸恵, 北田容章

MicroRNA-505-5p/-3p regulates the proliferation, invasion, apoptosis, and temozolomide resistance in mesenchymal glioma stem cells by targeting AUF1

APPW2025 (第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本整理学会/第 98 回日本薬理学会合同大会), 千葉, 2025 年 3 月

<特許申請・取得状況>

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	生理学講座			事業推進者名	中村加枝
所属部門	神経部門				
研究課題名	異なる情動コンテキストによる意思決定メカニズムの解明				
キーワード	サル、報酬、嫌悪刺激、ドパミン、セロトニン、背側縫線核、扁桃体、線条体				
講座内の本プロジェクト参加研究者数				8名	
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞					
生理学講座	教授	中村加枝	実験の遂行と解析・統括		
	同 講師	安田正治	実験の遂行と解析		
	同 講師	上田康雅	実験の遂行と解析		
	同 助教	倉岡康治	実験の遂行と解析（2024年3月末まで）		
	同 助教	石井宏憲	実験の遂行と解析		
	同 助教	王 亜偉	実験の遂行と解析（2024年8月より）		
	同 講師	武藤 恵	実験の遂行と解析		
	同 講師	林 美樹夫	実験の遂行と解析		
＜研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）＞					
1）ストレス下での意思決定行動変化の神経メカニズムの解明					
強いストレスの存在下では、ヒト・動物において不適切な行動が起こりうる。一方で、ストレス下であってもそれを乗り越えて正しい意思決定を導く、すなわちレジリエンスのしくみも生体は持ち合わせている。その神経基盤のひとつとして、セロトニン神経系の重要性が指摘されているが、その具体的なメカニズムは不明である。我々はまず、2頭のマカクサルに、視覚刺激と嫌悪刺激と報酬に関連付けるパブロフ方条件付けを行った。さらに、2つのターゲットから報酬と関連付けられたターゲットを選ぶ意思決定課題を訓練した。そして、この課題の試行間に条件づけられた視覚刺激を提示し、異なる情動下で同じ行動課題を行う実験系を確立した。					
その結果、嫌悪刺激の予測による瞬きや瞳孔径増大・心拍数増大という自律神経系の変化が確認された。さらにセロトニン細胞が分布している背側縫線核の神経活動を記録したところ、嫌悪情動下でも正しく行えたときとそうでなかった場合の神経活動が異なることが確認された。結果については現在論文化を行っている。					
2)外側腕傍核における内受容・外受容感覚の統合のメカニズムの探求					
本研究の目的は、内臓感覚をはじめとする身体内部の感覚入力が、どのような神経機構により情動や認知行動に影響を与えるのかを明らかにすることにある。これまでに、2頭のマカクサルを用いて、内臓感覚信号の主要な中継核とされる結合腕傍核の電気生理学的な同定を行った。また古典的条件付けを用いて情動状態を制御し、その情動状態に応じて活動を変化させる多数の神経細胞を結合腕傍核ニューロンを同定した。さらに、頸部迷走神経に電気刺激用の電極を設置し、情動表現を持つ多くの結合腕傍核ニューロンが迷走神経の電気刺激に対し、興奮（以下、興奮タイプ）もしくは抑制性（以下、抑制タイプ）の応答を示すことを見出した。さらに、マルチコンタクト電極を用い、このサルに対して、より高密度な神経活動記録を実施し、計285個の結合腕傍核ニューロンのうち60%以上が迷走神経刺激に対する応答を示					

し、その大多数が興奮タイプであることを明らかにした。これらのニューロンの神経活動を古典的条件付け下で計測したところ、抑制タイプと比較して興奮タイプの方が、情動状態に応じた神経活動の変化をより多く示した。加えて、種々の情動状態下での認知課題遂行時にも神経活動記録を行ったところ、サル意思決定に依存して神経活動を変化させるニューロンが多数観察され、その割合は抑制タイプで最も多かった。これらの結果は、情動・意思決定・内受容感覚といった複数の情報が結合腕傍核において統合的に処理されている可能性を強く示唆している。

3) 時間制限下での意思決定行動の変化

ヒトや動物は日々様々な時間制約の中で行動選択を行っている。制限時間が短いことはストレスフルではあるが、生体はそれに合わせて仕事のスピードや目標設定、やり方を柔軟に変えていく必要がある。本研究は脳のどのような仕組みによってこの柔軟性が実現されているかを明らかにすることを目的としている。本研究ではマカクサルを用いて制限時間付き多報酬採餌課題を開発した。時間制限が長い場合は報酬を全て回収することができるが、時間制限が短い場合は回収する報酬の数を妥協し、しかしその中で獲得総量を最大化するため戦略を変える必要がある。実験の結果、サルが時間制約に応じて柔軟に目標設定と戦略を切り替えることが明らかとなった。サルは単に運動速度を上げたり、大報酬のみを狙ったりするのではなく、小報酬を上手に組み合わせながら移動経路長を抑えつつ総報酬量を最大化できる経路選択の最適化を行っていた。制限時間が短い場合には価値の低い報酬をスキップし機会損失を許容していたが、ドーパミン D2 型受容体選択的阻害剤を全身投与するとこの機会損失の評価プロセスに問題が生じ不必要なスキップを多発することが分かった。これらの成果について現在論文に投稿中である。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講座等名	生理学講座	事業推進者名	中村加枝
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 1) 中村 加枝, 石井 宏憲, 安田 正治・【意思決定と行動選択の神経科学】セロトニンと意思決定・Clinical Neuroscience・(査読無)・39(8):979-983 (2021) 2) Kuraoka K, Nakamura K・Facial temperature and pupil size as indicators of internal state in primates・Neuroscience research・(査読有)・175:25-37 (2022) 3) 中村加枝, 石井宏憲, 安田正治・様々な視点から意思決定を考察する 薬理学的な視点から・精神科・(査読無)・41(4):500-507 (2022) 4) Hatta M, Kaibori M, Matsushima H, Yoshida T, Okumura T, Hayashi M, Yoshii K, Todo T, Sekimoto M・Efficacy of a third-generation oncolytic herpes simplex virus in refractory soft tissue sarcoma xenograft models・Mol Ther Oncolytics・(査読有)・25:225-235 (2022) 5) Kaibori M, Matsui K, Hayashi M・Theranostics Using Indocyanine Green Lactosomes・Cancers・(査読有)・14(15):3840 (2022) 6) Shoji T, Hayashi M, Sumi C, Kusunoki M, Uba T, Matsuo Y, Hirota K・Sevoflurane Does Not Promote the Colony-Forming Ability of Human Mesenchymal Glioblastoma Stem Cells In Vitro・Medicina・(査読有)・58(11):1614 (2022) 7) Sakaguchi T, Sumiyama F, Kotsuka M, Hatta M, Yoshida T, Hayashi M, Kaibori M, Sekimoto M・Levosimendan Increases Survival in a D-Galactosamine and Lipopolysaccharide Rat Model・Biomedicines・(査読有)・10(12):3161 (2022) 8) 林 美樹夫・がん幹細胞を標的とした経口抗癌剤の開発・Medical Science Digest・(査読無)・49(4):211-213 (2023) 9) Taketo M・Activation of adenosine A₁ receptor potentiates metabotropic glutamate receptor 1-mediated Ca²⁺ mobilization in the rat hippocampal marginal zone・Brain Res・(査読有)・1821:14858101-14858112 (2023) 10) Kuraoka K, Nakamura K・Differential and temporally dynamic involvement of primate amygdala nuclei in face animacy and reward information processing・bioRxiv・(2024) 11) 林 美樹夫・BIOLOGY TOPICS がん幹細胞を標的とする抗癌剤・Bio Clin・(査読無)・39(8):710-712 (2024) 12) Reiji Tanaka, Kei Watanabe, Takafumi Suzuki, Kae Nakamura, Masaharu Yasuda, Hiroshi Ban, Ken-Ichi Okada, Shigeru Kitazawa・An easy-to-implement, non-invasive head restraint method for monkey fMRI・Neuroimage・(査読有)・285 (2024) 13) Arima Y, Nakamura K, Mori K, Hashimoto S, Wakida M, Ishii H, Hase K・Eye movements during measurements of visual vertical in the post-stroke subacute phase・12(1):ENEURO・(査読有)・0279-24.2024 (2025) 14) Oe S, Kakizaki R, Sakamoto S, Sato T, Hayashi M, Isozaki H, Nonaka M, Iwashita H, Hayashi S, Koike T, Seki-Omura R, Nakano Y, Sato Y, Hirahara Y, Kitada M・MicroRNA-505-5p/-3p Regulates the Proliferation, Invasion, Apoptosis, and Temozolomide Resistance in Mesenchymal Glioma Stem Cells by Targeting AUF1・Mol Carcinog・(査読有)・64(2):279-289 (2025) 15) 石井 宏憲, 倉岡 康治・【関わり合う脳】他者と関わる脳 他者の行動戦略に対応した自己の行動戦略決定・生体の科学・(査読無)・76(1):7-11 (2025) <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) なし <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) 1) Koji Kuraoka, Kae Nakamura・Dominant processing of social, rather than reward information in the lateral nucleus of primate amygdala・44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience			

- Society・神戸市・2021年7月
- 2) Masaharu Yasuda, Yasumasa Ueda, Kae Nakamura・Dynamic interaction between emotional and cognitive signal in primate dorsal raphe nucleus・44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society・神戸市・2021年7月
 - 3) Kae Nakamura・Serotonin Brain and beyond・神経科学先端セミナー・つくば市・2021年11月
 - 4) 安田 正治, 中村 加枝・サル外側腕傍核における情動と認知行動の神経表現・NEURO2022・沖縄・2022年7月
 - 5) Kae Nakamura, Masaharu Yasuda・The primate model of decision making under stress・NEURO2022・沖縄・2022年7月
 - 6) 石井宏憲, 中村加枝・制限時間依存的な意思決定戦略切替えメカニズムを研究するためのサルの新規採餌課題・NEURO2022・沖縄・2022年7月
 - 7) 林美樹夫・がん幹細胞に特異的なイオンチャネルを標的とした抗癌剤の開発・第13回スクリーニング学研究会・東京・2022年11月
 - 8) 林美樹夫・ムコリピンを標的とした脳腫瘍治療薬の開発・第10回TR推進合同フォーラム・ライフサイエンス技術交流会・福岡・2023年2月
 - 9) Kuraoka, K, Nakamura, K・Differential and temporally dynamic involvement of primate amygdala nuclei for social and reward information processing・The 100th Anniversary Annual Meeting of The Physiological Society of Japan・京都・2023年3月
 - 10) 武藤恵・海馬辺縁体のI型代謝型グルタミン酸受容体によるCa²⁺動員・日本生理学会 第100回記念大会・京都市・2023年3月
 - 11) Hayashi M・A novel drug for cancer stem cell-specific ion channels・日本生理学会第100回記念大会・京都・2023年3月
 - 12) 林美樹夫・がん幹細胞特異的イオンチャネルを標的とした抗癌剤の創出・分子輸送学セミナー・弘前・2023年4月
 - 13) Kuraoka, K. and Nakamura, K・Modulation of time perception by the emotional context in primate・The 46th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society・仙台市・2023年8月
 - 14) 石井 宏憲, 船水 章大, 中村 加枝・Systemic D1R and D2R antagonists administration arrested/accelerated action initiation in a time pressure-dependent manner in a monkey performing a multiple reward foraging task・The 46th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society・仙台市・2023年8月
 - 15) M. YASUDA, K. NAKAMURA・Neuronal representation of emotion in the monkey parabrachial nucleus・Society for Neuroscience 2023 Annual Meeting・Washington, D.C., USA・2023年11月
 - 16) Koji Kuraoka, Kae Nakamura・Differential and temporally-dynamic involvement of primate amygdala nuclei for social and reward information processing・Society for Neuroscience 2023 Annual Meeting・Washington D. C., USA・2023年11月
 - 17) 大江総一, 佐藤輝英, 林美樹夫, 磯崎春菜, 岩下洸, 林真一, 小池太郎, 関亮平, 中野洋輔, 佐藤勇輝, 平原幸恵, 北田容章・LncRNA MANCR is involved in the maintenance of the malignant phenotype of glioma stem cells・第46回日本分子生物学会年会・神戸・2023年12月
 - 18) 林美樹夫・ムコリピンを標的とした脳腫瘍治療薬の開発・第11回TR推進合同フォーラム・ライフサイエンス技術交流会・福岡・2024年1月
 - 19) 上田康雅, 中村加枝・ストレス強度によって起こるサルの行動変容と、それに対する大脳基底核の関与・令和5年度 大脳基底核機能研究会・高槻市・2024年3月
 - 20) 武藤恵・幼若海馬におけるI型代謝型グルタミン酸受容体機能の増強・第101回日本生理学会大会・北九州市・2024年3月
 - 21) 林美樹夫・がん幹細胞特異的ムコリピンを標的とした抗癌剤の創出・日本薬学会第144年会・横浜・2024年3月
 - 22) 林美樹夫, 埜中正博・がん幹細胞のLG代謝解析と脳腫瘍への治療応用・第1回L-Glucose研究会・弘前・2024年4月
 - 23) 岩村晴香, 埜中正博, 日笠幸一郎, 小森裕美子, 林美樹夫, 浅井昭雄・VANG2とGRHL2のヘテロミスセンス変異を認めた脊髄脂肪腫の1例・第52回日本小児神経外科学会・富山・2024

年 6 月

- 24) Ishii H., Funamizu A, Nakamura K・Antagonizing dopamine D1 and D2 receptors caused a delay in the initiation of hasty action and an excessive compromise on opportunity loss in monkeys foraging multiple rewards with time limits・The 47th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society・福岡・2024 年 7 月
- 25) 石井宏憲・時間を巧く使うサル、追われるサル～時間制約と採餌経路選択・学術変革領域研究 (B) コントラリアン生物学の創生主催シンポジウム「集団における個とは？集団内多様性のダイナミクスを考える」・札幌・2024 年 9 月
- 26) 石井宏憲・逆張り心理はサルにも存在する？・学術変革領域研究 (B) コントラリアン生物学の創生主催シンポジウム「集団における個とは？集団内多様性のダイナミクスを考える」・札幌・2024 年 9 月
- 27) 林 美樹夫・がん幹細胞を標的とした抗癌剤の開発・九州大学オープンイノベーションワークショップ・福岡・2024 年 10 月
- 28) 林 美樹夫・がん幹細胞を標的とした抗癌剤の開発・第 12 回 TR 推進合同フォーラム・ライフサイエンス技術交流会・福岡・2024 年 10 月
- 29) 松島英之, 海堀昌樹, 八田雅彦, 林 美樹夫, 藤堂具紀・難治性肉腫移植マウスにおける第三世代遺伝子改変単純ヘルペスウイルスの腫瘍抑制効果・第 2 回日本ウイルス療学会・東京・2024 年 11 月
- 30) 大江総一, 柿崎梨緒, 阪本純加, 佐藤輝英, 林美樹夫, 磯崎春菜, 埜中正博, 岩下洸, 林真一, 小池太郎, 関亮平, 中野洋輔, 佐藤勇輝, 平原幸恵, 北田容章・MicroRNA-505-5p/-3p regulates the proliferation, invasion, apoptosis, and temozolomide resistance in mesenchymal glioma stem cells by targeting AUF1・APPW2025 (第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本生理学会/第 98 回日本薬理学会合同大会)・千葉・2025 年 3 月
- 31) Mikio Hayashi・Targeting mucolipin in cancer stem-like cells・APPW2025 (第 130 回日本解剖学会・第 102 回日本生理学会・第 98 回日本薬理学会 合同大会)・千葉 2025 年 3 月
- 32) Nakamura, K・Visuo-Vestibular Integration Supported by Eye Movements in Stroke Patients with Unilateral Spatial Neglect-Implication from Studies in the Primate Macaque・Women Pioneers in Motor Control・第 130 回日本解剖学会・第 102 回日本生理学会・第 98 回日本薬理学会 合同大会 (APPW2025)・幕張メッセ (千葉)・2025 年 3 月
- 33) Nakamura, K・Frontiers in Neurophysiology: Visuo-Vestibular Integration Supported by Eye Movements in Stroke Patients with Unilateral Spatial Neglect -Implication from Studies in the Primate Macaque・東京科学大学 seminar・東京・2025 年 3 月
- 34) Megumi Taketo・Ca²⁺ mobilization by metabotropic glutamate receptors in neonatal hippocampal marginal zone・APPW2025 (第 130 回日本解剖学会・第 102 回日本生理学会・第 98 回日本薬理学会 合同大会)・千葉市・2025 年 3 月

<特許申請・取得状況>

- 1) 発明の名称：窒素含有化合物、前記窒素含有化合物を含む組成物、及び腫瘍悪性度の予測マーカー、出願番号：特願 2021-055869, PCT/JP2022/14962, WO 2022/210524 A1、出願日：2021 年 3 月 29 日、出願人：学校法人関西医科大学、発明者：林美樹夫, 池田幸樹, 岩田亮一
- 2) 発明の名称：窒素含有化合物、前記窒素含有化合物を含む組成物、及び腫瘍悪性度の予測マーカー、出願番号：特願 2022-160708, PCT/JP2023/036077, WO 2024/075736 A1、出願日：2022 年 10 月 5 日、出願人：学校法人関西医科大学、発明者：林美樹夫, 池田幸樹, 岩田亮一

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	医化学	事業推進者名	小林拓也
所属部門	神経部門		
研究課題名	慢性疼痛に関与する分子の同定・作用機序の解明		
キーワード	慢性疼痛、神経再生、脊髄、構造解析		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	7名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞			
小林 拓也（研究統括）、片野 泰代（疼痛関連分子のプロテオミクス解析）、寿野 良二（GPCR の構造生物学）、中川 学（生化学分析）、西田 和彦（脊髄投射神経の発生学的解析）、井上 明俊（掻痒の中枢性感作機構）、前野 寛大（高圧 NMR 解析）			
＜研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）＞			
プロスタグランジン受容体は GPCR ファミリーに属し、プロスタグランジン PGE₂ と結合するサブタイプは 4 種類ある（EP1、EP2、EP3、EP4）。GPCR は大きく分けて 4 種類の G タンパク質（Gi/o、Gs、Gq/11、G12/13）と共役し、EP1 は Gq/11、EP2/EP4 は Gs、EP3 は Gi/o と共役する。今回、医化学講座では、クライオ電子顕微鏡による単粒子解析法によりプロスタグランジン受容体 EP3 と G タンパク質（Gi）ヘテロ三量体からなるシグナル伝達複合体 3 次元構造を解明した。構造情報を基にして EP3 と G タンパク質の相互作用部位が明らかになり、相互作用する部位のアミノ酸変異体について薬理的解析を行うことで、EP3 のシグナル伝達に重要な部位を解明した。また、Gs と共役するプロスタグランジン受容体サブタイプの EP2 および EP4 のシグナル伝達複合体構造と EP3 シグナル伝達複合体構造を比較し、対応するアミノ酸の置換変異体について薬理的解析を行い、G タンパク質特異的に重要なアミノ酸とその部位を見出した。EP2、EP3、EP4 と同様に、サブタイプによって Gi/o または Gs と異なる G タンパク質に共役する他の GPCR としてドーパミン受容体があり、そのシグナル伝達複合体でも同じ位置のアミノ酸が G タンパク質と相互作用していた。このアミノ酸による G タンパク質選択性は様々な GPCR にも共通している可能性があることが示唆された（Suno R., et al, <i>Cell Reports</i>, 2022）。 慢性疼痛疾患の一つである神経障害性疼痛モデルを用いて、これまでの研究により機械的アロディニアを有意に減弱させる関連分子として BEGAIN を脊髄後角から同定した。BEGAIN は脳に高発現する分子として報告されるがその機能は不明のままであった。慢性疼痛時には、末梢あるいは中枢で感作が生じることで、触覚を痛覚と認識する異常感覚や、組織損傷治癒後も継続する慢性疼痛が生じる。中枢性の感作は、中枢神経系の可塑的变化によることが理解されており、記憶・学習のモデルである LTP の関連分子と共通の分子機序が報告されてきた。これらの研究背景から、医化学講座では BEGAIN の脳内における発現分布を明らかにし、慢性疼痛と共通の分子機序を有する記憶・学習への BEGAIN の寄与を明らかにすることを目的とし、組織学的および行動学的解析による研究を行なっている。今回、BEGAIN-iCre-driver マウスを用いることで、脳内の BEGAIN の発現分布の可視化に成功した。さらに電子免疫染色法を用いた解析から、海馬における BEGAIN は、興奮性のシナプス後部に局在することを明らかにした。慢性疼痛では、シナプスタンパク質群による可塑的变化が生じることが多くの研究から示されている。そして、この可塑的变化は記憶・学習におけるいくつかの分子機序と関連する。BEGAIN-KO マウスを用いた行動解析を行うことで、BEGAIN が慢性疼痛だけでなく、記憶・学習にも寄与するシナプスタンパク質であることを明らかにした（Katano T. et al, <i>Sci. Rep.</i>, 2023）。			

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	医化学講座	事業推進者名	小林拓也
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) Masuda A, <u>Nishida K</u>, Ajima R, Saga Y, Bakhtan M, Klar A, Hirata T, Zhu Y. A global gene regulatory program and its region-specific regulator partition neurons into commissural and ipsilateral projection types. <i>Science Advances</i> 10(21), eadk2149 (2024) 査読あり 西田和彦、<u>松村伸治</u>、<u>小林拓也</u> 内臓痛特有の痛みをもたらす脊髄後角神経回路の探索 <i>Medical Science Digest</i> 50(8) 40-41 (2024) 査読なし Yokoi S., <u>Suno R.</u>, Mitsutake A., “Structural and Computational Insights into Dynamics and Intermediate States of Orexin 2 Receptor Signaling.” <i>J Phys Chem B</i> doi: 10.1021/acs.jpcc.4c00730, 1228, 2024, 査読あり Imamura K., Akagi K., Miyanoiri Y., Tsujimoto H., Hirokawa T., Ashida H., Murakami K., Inoue A., <u>Suno R.</u>, Ikegami T., Sekiyama N., Iwata S, <u>Kobayashi T.</u>, Tochio H., “Interaction modes of human orexin 2 receptor with selective and nonselective antagonists studied by NMR spectroscopy.” <i>Structure</i> S0969-2126(23)00449-5., (2024) 査読あり Suno-Ikeda C., Nishikawa R., Suzuki R., Iwata S., Takai T., Ogura T., Hirose M., Inoue A., Asai E., Kise R., Sugita Y., Kato T., Nagase H., Saito T., Katayama K., Inoue A, Kandori H., <u>Kobayashi T.</u>, <u>Suno R.</u> “Structural and Dynamic Insights into the Biased Signaling Mechanism of the Human Kappa Opioid Receptor” <i>bioRxiv</i> 2024.04. 11.588819 (2024) 査読あり Katayama K. and <u>Suno R.</u> “Holistic concepts in GPCR dynamics”, <i>Biophys Physicobiol.</i>, (21) 1, e210011. (2024) 査読あり <u>Ryoji Suno</u> “Exploring Diverse Signaling Mechanisms of G Protein-Coupled Receptors through Structural Biology” <i>J Biochem.</i> (2024) 査読あり Hagihara H, Shoji H, Hattori S, Sala G, Takamiya Y, Tanaka M, Ihara M, Shibutani M, Hatada I, Hori K, Hoshino M, Nakao A, Mori Y, Okabe S, Matsushita M, Urbach A, Katayama Y, Matsumoto A, Nakayama KI, Katori S, Sato T, Iwasato T, Nakamura H, Goshima Y, Raveau M, Tatsukawa T, Yamakawa K, Takahashi N, Kasai H, Inazawa J, Nobuhisa I, Kagawa T, Taga T, Darwish M, Nishizono H, Takao K, Sapkota K, Nakazawa K, Takagi T, Fujisawa H, Sugimura Y, Yamanishi K, Rajagopal L, Hannah ND, Meltzer HY, Yamamoto T, Wakatsuki S, Araki T, Tabuchi K, Numakawa T, Kunugi H, Huang FL, Hayata-Takano A, Hashimoto H, Tamada K, Takumi T, Kasahara T, Kato T, Graef IA, Crabtree GR, Asaoka N, Hatakama H, Kaneko S, Kohno T, Hattori M, Hoshiba Y, Miyake R, Obi-Nagata K, Hayashi-Takagi A, Becker LJ, Yalcin I, Hagino Y, Kotajima-Murakami H, Moriya Y, Ikeda K, Kim H, Kaang BK, Otabi H, Yoshida Y, Toyoda A, Komiyama NH, Grant SGN, Ida-Eto M, Narita M, Matsumoto KI, Okuda-Ashitaka E, Ohmori I, <u>Katano T.</u>, Tanaka T, Yoshihara Y, Igarashi, Hayashi M T, Ishikawa K, Yamamoto S, Nishimura N, Nakada K, Hirotsune S, Egawa K, Higashisaka K, Tsutsumi Y, Nishihara S, Sugo N, Yagi Y, Ueno N, Yamamoto T, Kubo Y, Ohashi R, Shiina N, Shimizu K, Higo-Yamamoto S, Oishi K, Mori H, Furuse T, Tamura M, Shirakawa H, Sato D X, Inoue Y U, Inoue T, Komine Y, Yamamori T, Sakimura K, and Miyakawa T. Large-scale animal model study uncovers altered brain pH and lactate levels as a transdiagnostic endophenotype of neuropsychiatric disorders involving cognitive impairment, <i>eLife</i> 12 RP89376 2024年3月 査読あり 角井美穂, 前野寛大, 新規食品高圧加工法の開発と産業応用について. 日本高圧力学会誌「高圧力の科学と技術」査読有, 34(2), 89-95, 2024. Pezzotti G, Zhu W, Aoki T, Miyamoto A, Fujita I, <u>Nakagawa M.</u>, <u>Kobayashi T.</u> Raman Spectroscopic Analysis of Steviol Glycosides: Spectral Database and Quality Control Algorithms, <i>Foods</i> (Basel, Switzerland) 査読有, 13(19),pp.3068, 2024 <u>Nishida K.</u>, <u>Matsumura S.</u>, Uchida H, Abe M, Sakimura K, Badea T, <u>Kobayashi T.</u> Brn3a controls the soma localization and axonal extension patterns of developing spinal dorsal horn neurons. <i>PLoS ONE</i> 18(9) e0285295 (2023) 査読あり			

Katano T, Konno K, Takao K, Abe M, Yoshikawa A, Miyakawa T, Sakimura K, Watanabe M, Ito S & Kobayashi T, Brain-enriched guanylate kinase-associated protein, a component of the post-synaptic density protein complexes, contributes to learning and memory, *Sci Rep*, 13(1):22027, 2023.12 査読あり

前野覚大, 高圧力が秘める可能性ー食品加工技術への応用と細菌芽胞不活性化の分子機序解明にむけてー, 温古知新, 査読なし, 60, 85-94, 2023.

中川学, 前野覚大, 超高压処理に対するテンペの性状変化について. 日本テンペ研究会誌, 査読なし, 19, 10-14, 2023.

寿野 良二、清水（小林）拓也、「プロスタグランジン受容体の構造生物学」、生物物理、63巻、1号 p.16-20、2023

Nishida K, Matsumura S, Kobayashi T. Involvement of Brn3a-positive spinal dorsal horn neurons in the transmission of visceral pain in inflammatory bowel disease model mice. *Front. Pain Res.* 3:979038 (2022) 査読あり

Asada H., Im D., Hotta Y., Yasuda S., Murata T., Suno R, Iwata S., “Molecular basis for anti-insomnia drug design from structure of lemborexant-bound orexin 2 receptor.” *Structure*, doi: 10.1016/j.str.2022.11.001., S0969-2126(22)00450-6, (2022) 査読あり

Suno R., Sugita Y., Morimoto K., Takazaki H., Tsujimoto H., Hirose M., Suno-Ikeda C., Nomura N., Hino T., Iwasaki K., Kato T., Iwata S., Kobayashi T. ” Structural insights into the G protein selectivity revealed by the human EP3-G_i signaling complex.” *Cell Reports*, 40(11), 111323 (2022) 査読あり

Ogiso H., Suno R., Kobayashi T., Kawami M., Takano M., and Ogasawara M. “A Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Method to Study the Interaction between Membrane Proteins and Low-Molecular-Weight Compound Mixtures.” *Molecules*, 27(15):4889 (2022) 査読あり

Terufumi Yoshida, Masaki Kaibori, Nanami Fujisawa, Mariko Ishizuka, Fusao Sumiyama, Masahiko Hatta, Hisashi Kosaka, Kosuke Matsui, Kensuke Suzuki, Tomoya O. Akama . Tayo Katano, Kengo Yoshii, Mitsuhiro Ebara and Mitsugu Sekimoto. Efficacy of Nanofiber Sheets Incorporating Lenvatinib in a Hepatocellular Carcinoma Xenograft Mode. *Nanomaterials*, 2022-04 DOI: 10.3390/nano12081364 査読あり

前野覚大, 高圧力が秘める可能性ー食品加工技術への応用と芽胞殺菌の分子機序解明への挑戦ー, 日本テンペ研究会誌, 査読なし, 17, p1-11, 2022.

中川学, 前野覚大, 広瀬直人, 多良間島産ササゲをもちいたテンペ（第2報）, 日本テンペ研究会誌, 査読なし, 18, 6-11, 2022.

Suzuki K., Katayama K., Sumi Y., Nakagita T., Suno R., Tsujimoto H., Iwata S., Kobayashi T., Shibata N., Kandori H., “Vibrational analysis of acetylcholine binding to the M2 receptor.” *RSC Advances*, 11,12559-12567 (2021) 査読あり

Katayama K., Suzuki K., Suno R., Kise R., Tsujimoto H., Iwata S., Inoue A., Kobayashi T., Kandori H., “Vibrational spectroscopy analysis of ligand efficacy in human M₂ muscarinic acetylcholine receptor (M₂R).” *Communications Biology*, 4:1321, (2021) 査読あり

Okamoto HH, Miyauchi H, Inoue A, Raimondi F, Tsujimoto H, Kusakizako T, Shihoya W, Yamashita K, Suno R, Nomura N, Kobayashi T, Iwata S, Nishizawa T, Nureki O., “Cryo-EM structure of the human MT1-Gi signaling complex.”, *Nat Struct Mol Biol.*, 28(8):694-701, (2021) 査読あり

Nojima S, Fujita Y, Terakado Kimura K., Nomura N., Suno R., Morimoto K., Yamamoto M., Noda T., Iwata S., Shigematsu H., Kobayashi T., “Cryo-EM Structure of the Prostaglandin E Receptor EP4 Coupled to G protein”, *Structure*, 29(3),252-260.e6, (2021) 査読あり

「創薬に貢献する GPCR の構造解析」寿野 良二、月刊 細胞、Vol. 53, No. 5, 45-48, 2021

Suzuki K, Iwai H, Utsunomiya K, Kono Y, Kobayashi Y, Bui D. V., Sawada S, Yun Y, Mitani A, Kondo N, Katano T, Tanigawa N, Akama T, Kanda A, Combination therapy with lenvatinib and radiation significantly inhibits thyroid cancer growth by uptake of tyrosine kinase inhibitor. *Experimental Cell Research*, **398**(1):112390, 2021. DOI: 10.1016/j.yexcr.2020.112390 査読あり

Akasaka K. and Maeno A., Proteins in wonderland: the magical world of pressure. *Biology*, 査読有, 11(1):6, 2021.

<図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数)

寿野良二、清水 (小林) 拓也、「さまざまなプロスタグランジン受容体構造から見えたシグナル伝達の分子機構」、クライオ電子顕微鏡ハンドブック、NTS、2023 年

赤坂一之、前野覚大、朝倉書店、高圧力の科学・技術辞典（部分執筆）、2022、480 頁

<学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地（海外の場合は国名と都市名）・発表年月)

Chiyo Suno-Ikeda, Ryo Nishikawa, Riko Suzuki, Seiya Iwata, Tomoyo Takai, Takaya Ogura, Mika Hirose, Akitoshi Inoue, Eri Asai, Ryoji Kise, Yukihiko Sugita, Takayuki Kato, Hiroshi Nagase, Tsuyoshi Saito, Kota Katayama, Asuka Inoue, Hideki Kandori, Takuya Kobayashi, Ryoji Suno “Structural and Dynamic Insights into Human Kappa Opioid Receptor signaling” Molecular Pharmacology, Gordon Research Conference, "Harnessing the Power of Advanced Multimodal Approaches to GPCR Drug Discovery", Ventura Beach Marriott, Feb 16-21 (2025)ポスター

Tayo Katano, Akari Yoshikawa, Manabu Abe, Kenji Sakimura, and Takuya Kobayashi. Identification of functional molecules interacting with BEGAIN in neuropathic pain. Neuro2024, July 24-27, 2024, Fukuoka, Japan.

Tayo Katano, Akari Yoshikawa, Kohtarou Konno, Kazuhiko Nishida, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Masahiko Watanabe, and Takuya Kobayashi. The type of neuron which express neuropathic pain related-protein BEGAIN in the spinal dorsal horn. FENS Forum 2024, June 25-29, 2024, Vienna, Austria

井上 明俊、高井 朋代、廣瀬 未果、寿野 千代、加藤 貴之、寿野 良二、小林 拓也・摂食・代謝を制御するボンベシン受容体 BRS-3 シグナリング複合体のクライオ電子顕微鏡単粒子解析・第 47 回日本分子生物学会年会・福岡・2024 年 11 月

P.N. Sunilkumar, 前野 覚大, 赤坂 一之, High-pressure NMR detection of low-populated functional sub-states in E. coli dihydrofolate reductase (ec-DHFR): The use of non-linear pressure shifts in the backbone 15NH and 1HN resonances. 第 65 回高圧討論会, 岩手県盛岡市, 2024 年 11 月.

吉川明里、片野泰代、阿部学、崎村建司、小林拓也、オキサリプラチン誘発性神経障害性疼痛における CASK-interacting protein 1(Caskin1)の役割、第 97 回 日本生化学会大会, 2024.11, 横浜

片野泰代、神経障害性疼痛におけるシナプス分子 BEGAIN の役割、生理学研究所 痛み研究会 2023, 2024.1

Tayo Katano, Kotaro Konno, Keizo Takao, Manabu Abe, Akari Yoshikawa, Tsuyoshi Miyakawa, Kenji Sakimura, Masahiko Watanabe, Seiji Ito, and Takuya Kobayashi. Functional characterization of brain enriched guanylate kinase associated protein (BEGAIN) in the hippocampus, Neuroscience IBRO 2023, 2023.9, Granada, Spain

Suno R., Sugita Y., Morimoto K., Takazaki H., Tsujimoto H., Hirose M., Suno-Ikeda C., Nomura N., Hino T., Iwasaki K., Kato T., Iwata S., Kobayashi T. “Structural insights into the human Prostaglandin E receptor EP3-G_i signaling complex.” GPCR workshop, Hawaii, U.S. (2023)ポスター

寿野良二「バイアスドリガンドによるヒト κ オピオイド受容体シグナル伝達の構造的洞察」、第 46 回日本分子生物学会、2023 年 12 月 6 日-8 日

片野泰代、吉川明里、小林拓也、BEGAIN-KO マウスを用いた脊髄後角 PSD 画分での比較プロ

テオミクス解析 Comparative proteomic analysis in the PSD fraction of the spinal dorsal horn between wild-type and BEGAIN-KO mice. 第 96 回 日本生化学会大会, 2023.10, 福岡

片野泰代、神経障害性疼痛関連分子を介した病態機序の解明と鎮痛薬開発の展望、第 42 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム, 2023.09, 東京

Tayo Katano, Yoshiki Yasukochi, Akari Yoshikawa, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Koichiro Higasa, Takuya Kobayashi、Transcriptome analyses in the spinal dorsal horn after spared nerve injury (SNI) in the BEGAIN-KO mice、BEGAIN-KO マウス脊髄後角における神経障害性疼痛時の網羅的発現変動分子解析、第 46 回日本神経科学大会, 2023.8, 仙台

寿野良二、Structural and dynamic insights into the biased signaling mechanism of the kappa opioid receptor, 生理学研究会 2023、2023 年 11 月 28 日-29 日

寿野良二「Structural insights into human kappa opioid receptor signaling by biased ligand」第 61 回日本生物物理学会（名古屋）、2023 年 11 月 14 日-16 日

中川 学、前野 寛大、テンペの超高压処理、日本テンペ研究会 2023 年度大会、秋田県, 2023 年 8 月

太田美穂、新宅賀洋、中川学、東城博雅、伊藤嘉記、発酵大豆テンペ（tempe）摂取前後の QIIME2 による菌叢解析、第 21 回日本機能性食品医用学会、沖縄、2023 年 12 月

寿野良二「G 蛋白質共役受容体の多様な機能発現機構の構造生物学的解明」東京理科大学研究推進機構 総合研究院 2023 年度 生物環境イノベーション研究部門・公開シンポジウム 2023 年 10 月 27 日

寿野良二「プロスタグランジン受容体の構造解析によるシグナル伝達機構の解明」、日本薬学会第 143 年会（札幌）、2023 年 3 月 26 日

寿野良二「プロスタグランジン受容体シグナリング複合体から見えてきた G タンパク質選択性の分子機構」第 17 回 GPCR 研究会 2022 年 11 月 18 日

片野泰代、今野幸太郎、高雄啓三、阿部学、崎村建司、宮川剛、渡辺雅彦、伊藤誠二、小林拓也、Involvement of BEGAIN in memory formation as an excitatory postsynaptic protein in the hippocampus. 海馬シナプス後肥厚部タンパク質 BEGAIN の海馬依存的な記憶形成への関与 NEURO2022 / 第 45 回日本神経科学大会、沖縄、日本, 2022 年 6 月 30 日-7 月 3 日

寿野良二「構造生物学的技術による GPCR の多様なシグナル伝達機構の解明」、第 95 回 日本生化学会（名古屋）、2022 年 11 月 9 日

寿野良二「創薬に資する GPCR の構造生物学」異分野融合による精神神経疾患の新規治療標的に基づいた創薬研究、Neuro 2022, 2022 年 6 月 30 日

Miho Kakui, Akihiro Maeno, Kazuyuki Akasaka, Kenji Kanaori., High pressure processing on Japanese lunch products containing multiple ingredients. HPBB2022, Copenhagen (Denmark), 2022 年 7 月

中川 学、前野 寛大、廣瀬 直人、多良間島産ササゲをもちいたテンペ（第 2 報）、日本テンペ研究会 2022 年度大会、東京都, 2022 年 7 月

太田美穂、新宅賀洋、中川学、東城博雅、伊藤嘉記、発酵大豆テンペ（Tempe）摂取による腸内菌叢の変化、第 20 回 日本機能性食品医用学会総会、京都市、2022 年 12 月

寿野良二「ヒトプロスタグランジン受容体 EP3-G タンパク質複合体の構造解析」第 59 回日本生物物理学会年会 GPCR 研究における新たなコンセプトと創薬への示唆 2021 年 11 月 25 日

西田和彦、松村伸治、小林拓也 Analysis of visceral pain transmission in the spinal dorsal horn using a dextran sodium sulfate-induced colitis model. 第 44 回日本神経科学大会 神戸 2021 年 7 月 29 日

寿野良二「ヒトプロスタグランジン E2 受容体 EP3-G タンパク質複合体のクライオ電子顕微

鏡単粒子解析」第 21 回日本蛋白質科学会年会 細胞内機能を支配する蛋白質分子機能の多様性・特異性・協調性の動的制御機構 2021 年 6 月 18 日

寿野良二、杉田 征彦、森本 和志、辻本 浩一、廣瀬 未果、寿野-池田 千代、日野 智也、野村 紀通、岩崎 憲治、加藤 貴之、岩田 想、小林 拓也 「ヒトプロスタグランジン E2 受容体 EP3-G タンパク質複合体のクライオ電子顕微鏡単粒子解析」、日本蛋白質科学会、オンライン、2021 年 6 月

Katano, T., Abe, M., Watanabe, M., Sakimura, K. and Kobayashi, T. Comparative analyses of neuronal activation in the spinal dorsal horn for mechanical allodynia after Spared nerve injury between wild-type and BEGAIN-knockout mice. The 1st CJK international Meeting / The 44th Annual meeting of the Japan Neuroscience, Kobe, Japan, July 28-31, 2021

前野覚大, 高圧力が秘める可能性ー食品加工技術への応用と芽胞殺菌の分子機序解明への挑戦ー, 日本テンペ研究会 2021 年度大会, 大阪, 2021 年 8 月

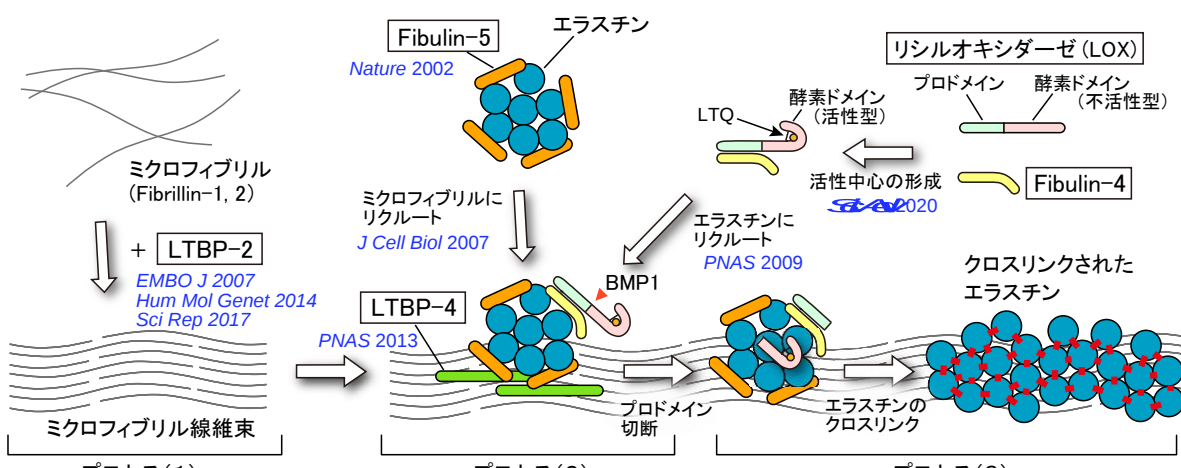
Maeno A., Real-time high-pressure NMR observation of dipicolinic acid leakage: A crucial step for inactivation of bacterial spore. 22nd International Society of Magnetic Resonance Conference, Osaka, 2021 年 8 月

太田美穂, 中川学, 新宅賀洋, 東城博雅, 伊藤壽記, 発酵大豆テンペ(Tempe)摂取による便通改善作用とその評価, 第 19 回日本機能性食品医用学会総会, (オンライン開催) 2021 年 12 月

<特許申請・取得状況>

申請 : 中川 学 P-230009, 加工用乾燥食材及び加工用乾燥食材の製造方法, 2023 年 9 月 25 日

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	薬理学講座	事業推進者名	中邨智之
所属部門	代謝部門		
研究課題名	細胞外マトリックスの形態形成・老化・疾患における役割の研究		
キーワード	細胞外マトリックス、弾性線維、fibulin-4、lysyl oxidase		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	4名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞			
中邨智之	プロジェクトの統括		
赤間智也	遺伝子変異マウスの作成		
富川直樹	動物実験、遺伝子改変マウスの表現型解析		
村部知里	実験補助、siRNA ライブラリーによるスクリーニング		
＜研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）＞			
研究の背景			
細胞外マトリックスは、細胞が自らの外側に作る構造物であり、組織の強度を司るコラーゲン線維や伸縮性を司る弾性線維などが組み合わさって組織の物理的特性を決定している。中でも弾性線維は伸び縮みする肺・動脈・皮膚などに多くあり、その劣化・断裂が肺気腫・動脈中膜硬化・皮膚のたるみなどの直接原因となるため、弾性線維の形成・維持の機構解明は高齢化社会における極めて重要な課題である。			
弾性線維形成には（１）マイクロフィブリルという線維の束が形成され、（２）エラスチンタンパク質がマイクロフィブリルに沈着し、（３）エラスチンどうしが架橋される、というプロセスがある。我々はそれぞれのプロセスに必要な分泌タンパク質（弾性線維形成タンパク質）を見出し、報告してきた（図１）。中でも Fibulin-4 という弾性線維形成タンパク質は、エラスチンの架橋酵素であるリシルオキシダーゼ Lysyl Oxidase（LOX）が活性型になるために必須であることを最近見出した。以前我々は Fibulin-4 の平滑筋特異的コンディショナルノックアウトマウスが上行大動脈瘤をきたすことを報告したが、Fibulin-4 そのものが大動脈で果たす役割については未だよくわかっておらず、これらが LOX 活性化不全で説明できるのかどうかもわかっていない。			
			
図1. 申請者が明らかにしてきた弾性線維形成の分子機構。(1)マイクロフィブリルは LTBP-2 存在下で安定な線維束となる（眼以外の組織では LTBP-4 も関与）。(2) Fibulin-5 はエラスチンと結合し、その自己凝集を促進するとともにマイクロフィブリル上の LTBP-4 へエラスチンをリクルートする。(3) Fibulin-4 はリシルオキシダーゼ (LOX) のプロドメインと結合し、LOX 酵素活性中心の形成に関与し、LOX をその基質であるエラスチンにリクルートする。基質近傍でプロドメインが切り離され活性化した LOX はエラスチンを架橋し、伸縮性のある弾性線維ができる。			
研究の目的			
1. Fibulin-4 機能消失による大動脈瘤発症機構の解明			
これまでの我々の研究から Fibulin-4 は LOX 前駆体に結合して LOX が銅イオンを取り込むために			

必須の役割をはたすことがわかっているが、Fibulin-4 は分泌タンパク質であるため細胞外での Fibulin-4 の未知の役割 (LOX とは無関係) がある可能性もある。ここでは「Fibulin-4 による LOX 活性化が低下すると大動脈瘤になる」という仮説を立て、これを検証する

2. 弾性線維形成に影響を与えるタンパク質の探索

本講座で確立された独自の弾性線維形成評価系と siRNA ライブラリーによるスクリーニングを用いて、発現抑制が弾性線維形成に影響する遺伝子を網羅的に検索・同定し、その遺伝子産物 (タンパク質) の機能を明らかにすることを目的とする。特に発現抑制が弾性線維形成を促進するタンパク質の探索は弾性線維再生のための標的分子となることが期待できる。

研究成果

1. Fibulin-4 機能消失による大動脈瘤発症機構の解明

Lox flox マウスを SM22-Cre Tg マウスと掛け合わせて動脈平滑筋特異的に LOX 産生を抑制する *Lox* SMKO マウスを作製したところ、上行大動脈瘤を発症した。*Fbln4* SMKO マウスは、*Fbln4* の片方を null にしておかないと上行大動脈瘤にならなかったが、*Lox* SMKO マウスは *Lox* が flox/flox でも flox/null でも上行大動脈瘤を発症し、とくに flox/null で作製した *Lox* SMKO マウスは *Fbln4* SMKO マウスで見られなかった下行大動脈の顕著な蛇行などより強い表現型を示していた。従って、以後は *Lox* flox/flox と SM22-Cre Tg マウスの掛け合わせにより作製した *Lox* SMKO を比較に用いた。

透過型電顕で動脈弾性板を比較したところ、*Fbln4* SMKO、*Lox* SMKO いずれも菲薄化した弾性板が数多く重なっており、同様の弾性板の形成不全がおこっていることがわかった。Fibulin-5 ノックアウトマウスや LTBP-4 ノックアウトマウスでみられる弾性板形成不全とは全く形態が異なっており、*Fbln4* SMKO と *Lox* SMKO の弾性板形成不全が同様のメカニズムでおこっていることが示唆された。

生後 14 日、90 日での mRNA の発現変化を RNAseq で比較したところ、*Fbln4* SMKO と *Lox* SMKO の大動脈はよく似た変化を示した。いずれも筋収縮や細胞骨格に関与する遺伝子の発現が低下し、細胞遊走・増殖、細胞外マトリックス、免疫反応に関与する遺伝子の発現が発現が上昇していた。既報では *Fbln4* SMKO マウス大動脈で *Ace* と *Thbs1* の発現が上昇しており病態にも関与しているとされているが、*Lox* SMKO マウス大動脈でもこれらの発現が上昇していた。

既報では *Fbln4* SMKO マウスの上行大動脈瘤は ARB であるロサルタン投与により予防できるとされる。当初我々はこれを再現できずかなりの労力とコストを無駄にしたが、ロサルタンのメーカーを変更することで再現できるようになった。メーカーによってロサルタンの何が違うのかは不明であるが、医科学実験において頻用される薬物であるため、広く共有されるべき知見と考える。現在 *Lox* SMKO マウスへのロサルタンとカルシウム拮抗薬投与を行っており、ロサルタンでは *Lox* SMKO マウスの上行大動脈瘤もある程度予防できること、それが血圧下降には依存しないことが確認できつつある。

2. 弾性線維形成に影響を与えるタンパク質の探索

約 1 万の対象遺伝子のうち、(1)2 種類以上の siRNA によるノックダウンでヒト皮膚線維芽細胞の作る弾性線維が増えたもの、(2)1 種類の siRNA によるノックダウンでしか弾性線維増加がみられないがそれが顕著なものを選び出した。

次に、これらの cDNA をクローニングし、レンチウイルスに組み込んだ (6 kb を超える cDNA についてはレンチウイルスによる発現が弱かったためこの方法でのオフターゲット効果除外はできなかった)。siRNA によるノックダウンの翌日にレンチウイルスを感染させ、弾性線維形成が消失するかどうかを調べた。また、これらの遺伝子ノックダウン、およびレンチウイルスによる cDNA 過剰発現が弾性線維構成タンパク質、弾性線維形成タンパク質の発現に及ぼす影響を qPCR で確認したところ、多くはエラスチン遺伝子等の発現変化をもたらすことを見出した。まだすべての検証が終わっていないが、最終的には数十の弾性線維形成抑制因子候補が同定される見込みである。これらの中では転写因子・転写調節因子が最も多かったが、酵素、トランスポーター、細胞外マトリックスタンパク質、受容体も含まれていた。市販の阻害薬が入手できるものについてはその弾性線維再生効果を検討中である。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	薬理学講座	事業推進者名	中邨智之
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 1. Makino T, Kagoyama K, <u>Murabe C</u>, <u>Nakamura T</u>, Shimizu T. Association of Development of Solar Elastosis with Increased Expression of Fibrillin-1, LTBP-2 and Fibulin-4 in Combination with Decreased Expression of LTBP-4. Acta Derm Venereol (レフェリー有) 101(1):adv00372, 2021. doi: 10.2340/00015555-3738. 2. Nonaka M, Mabashi-Asazuma H, Jarvis DL, Yamasaki K, <u>Akama TO</u>, Nagaoka M, Sasai T, Kimura-Takagi I, Suwa Y, Yaegashi T, Huang CT, Nishizawa-Harada C, Fukuda MN, Development of an orally-administrable tumor vasculature-targeting therapeutic using annexin A1-binding D-peptides. PLoS One (レフェリー有) 6;16(1):e0241157, 2021. doi: 10.1371/journal.pone.0241157. eCollection 2021. PMID: 33406123 3. Hoshino H, <u>Akama TO</u>, Uchimura K, Fukushima M, Muramoto A, Uehara T, Nakanuma Y, Kobayashi M., Apical Membrane Expression of Distinct Sulfated Glycans Is a Characteristic Feature of Ductules and Their Reactive and Neoplastic Counterparts. J Histochem Cytochem. (レフェリー有) Sep;69(9):555-573, 2021. doi: 10.1369/00221554211035730. PMID: 34328046 4. Kogami A, Fukushima M, Hoshino H, Komeno T, Okoshi T, Murahashi M, <u>Akama TO</u>, Mitoma J, Ohtani H, Kobayashi M., The Conspicuousness of High Endothelial Venules in Angioimmunoblastic T-cell Lymphoma Is Due to Increased Cross-sectional Area, Not Increased Distribution Density. J Histochem Cytochem. (レフェリー有) Oct;69(10):645-657, 2021. doi: 10.1369/00221554211048551. PMID: 34617807 5. Kojima M, Sugimoto K, Kobayashi M, <u>Ichikawa-Tomikawa N</u>, Kashiwagi K, Watanabe T, Soeda S, Fujimori K, Chiba H. Aberrant Claudin-6-Adhesion Signaling Promotes Endometrial Cancer Progression via Estrogen Receptor α. Mol Cancer Res. (レフェリー有) Jul;19(7):1208-1220, 2021. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-20-0835. 6. Yamazaki M, Sugimoto K, Mabuchi Y, Yamashita R, <u>Ichikawa-Tomikawa N</u>, Kaneko T, Akazawa C, Hasegawa H, Imura T, Chiba H. Soluble JAM-C Ectodomain Serves as the Niche for Adipose-Derived Stromal/Stem Cells. Biomedicines. (レフェリー有) Mar 10;9(3):278, 2021. doi: 10.3390/biomedicines9030278. 7. Kawata T, Muramatsu K, Shishito N, <u>Ichikawa-Tomikawa N</u>, Oishi T, Kakuda Y, Akiyama Y, Yamaguchi K, Sakamoto M, Sugino T. EMID1, a multifunctional molecule identified in a murine model for the invasion independent metastasis pathway. Sci Rep. (レフェリー有) Aug 12;11(1):16372, 2021. doi: 10.1038/s41598-021-96006-2. 8. Chiba H, <u>Ichikawa-Tomikawa N</u>, Imura T, Sugimoto K. The region-selective regulation of endothelial claudin-5 expression and signaling in brain health and disorders. J Cell Physiol. (レフェリー有) Oct;236(10):7134-7143, 2021. doi: 10.1002/jcp.30357. 9. Terajima M, Taga Y, <u>Nakamura T</u>, Guo HF, Kayashima Y, Maeda-Smithies N, Parag-Sharma K, Kim JS, Amelio AL, Mizuno K, Kurie JM, Yamauchi M: Lysyl hydroxylase 2 mediated collagen post-translational modifications and functional outcomes. Sci Rep (レフェリー有) 12(1):14256, 2022. Doi: 10.1038/s41598-022-18165-0. 10. Miyawaki N, Toyota T, Higasa K, <u>Nakamura T</u>, Furukawa Y. Successful pregnancy and delivery in a young-onset hypertrophic cardiomyopathy patient with a novel doublet-base substitution in the MYH7 gene. J Cardiol Cases (レフェリー有) 27(1):8-11, 2022. doi: 10.1016/j.jccase.2022.09.010. 11. Takeda-Uchimura Y, Nishitsuji K, Ikezaki M, <u>Akama TO</u>, Ihara Y, Allain F, Uchimura K, Beta3Gn-T7 Is a Keratan Sulfate β1,3 N-Acetylglucosaminyltransferase in the Adult Brain. Front Neuroanat. (レフェリー有) Feb 9;16:813841, 2022. doi: 10.3389/fnana.2022.813841. PMID: 35221933 12. Murahashi M, Kogami A, Muramoto A, Hoshino H, <u>Akama TO</u>, Mitoma J, Goi T, Hirayama A, Okamura T, Nagaya T, Kobayashi M., Vascular E-selectin Expression Detected in Formalin-fixed, Paraffin-embedded Sections With an E-selectin Monoclonal Antibody			

- Correlates With Ulcerative Colitis Activity. *J Histochem Cytochem.* (レフェリー有) Apr;70(4):299-310, 2022. doi: 10.1369/00221554221085336. PMID: 35253509
13. Yoshida T, Kaibori M, Fujisawa N, Ishizuka M, Sumiyama F, Hatta M, Kosaka H, Matsui K, Suzuki K, Akama TO, Katano T, Yoshii K, Ebara M, Sekimoto M., Efficacy of Nanofiber Sheets Incorporating Lenvatinib in a Hepatocellular Carcinoma Xenograft Model. *Nanomaterials* (Basel). (レフェリー有) Apr 15;12(8):1364, 2022. doi: 10.3390/nano12081364. PMID: 35458072
 14. Takeda-Uchimura Y, Ikezaki M, Akama TO, Nishioka K, Ihara Y, Allain F, Nishitsuji K, Uchimura K. Complementary Role of GlcNAc6ST2 and GlcNAc6ST3 in Synthesis of CL40-Reactive Sialylated and Sulfated Glycans in the Mouse Pleural Mesothelium. *Molecules.* (レフェリー有) Jul 16;27(14):4543, 2022. doi: 10.3390/molecules27144543. PMID: 35889417
 15. Ariga Y, Low S, Hoshino H, Nakada T, Akama TO, Muramoto A, Fukushima M, Yamauchi T, Ohshima Y, Kobayashi M. Expression and Clinical Significance of Spi-B in B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Histochem Cytochem.* (レフェリー有) Oct;70(10):683-694, 2022. doi: 10.1369/00221554221130383. Epub 2022 Sep 28. PMID: 36169277
 16. Ichikawa-Tomikawa N, Sugimoto K, Kashiwagi K, Chiba H. The Src-Family Kinases SRC and BLK Contribute to the CLDN6-Adhesion Signaling. *Cells,* (レフェリー有) Jun 23;12(13):1696, 2023. doi: 10.3390/cells12131696.
 17. Nakamura, T. Purification of endogenous lysyl oxidase (LOX) from MEF cell culture. Bio-protocol Preprint. Bio-protocol (レフェリー有) bio-protocol.org/prep2763, 2023. DOI: 10.21769/p2763
 18. Fujiwara K, Inoue T, Kimoto A, Zixian J, Tokuhiko K, Yasukochi Y, Akama TO, Cai CL, Shiojima I, Kimura H, Yoshimura SH, Nakamura T, Hirai M; Spatial organizations of heterochromatin underpin nuclear structural integrity of ventricular cardiomyocytes against mechanical stress. *Cell Rep* (レフェリー有) 43(12): 115048, 2024. doi: 10.1016/j.celrep.2024.115048.
 19. Hoshino H, Chen YY, Inoue D, Yoshida Y, Khoo KH, Akama TO, Kobayashi M. Expression of low-sulfated keratan sulfate in non-mucinous ovarian carcinoma. *Glycobiology.* (レフェリー有) Mar 19;34(1):cwad056, 2024. doi: 10.1093/glycob/cwad056. PMID: 37440446
 20. Takeda-Uchimura Y, Ikezaki M, Akama TO, Ihara Y, Allain F, Nishitsuji K, Uchimura K. GlcNAc6ST2/CHST4 Is Essential for the Synthesis of R-10G-Reactive Keratan Sulfate/Sulfated N-Acetyllactosamine Oligosaccharides in Mouse Pleural Mesothelium. *Molecules.* (レフェリー有) Feb 7;29(4):764, 2024. doi: 10.3390/molecules29040764. PMID: 38398516
 21. Hoshino H, Inoue D, Shinagawa A, Yoshida H, Shigeto S, Matsuda K, Akama TO, Yoshida Y, Kobayashi M. Establishment of a human ovarian clear cell carcinoma cell line mutant in PIK3CB but not PIK3CA. *Hum Cell.* (レフェリー有) Jul;37(4):1184-1193, 2024. doi: 10.1007/s13577-024-01058-x. PMID: 38573494
 22. Inoue D, Hoshino H, Chen YY, Yamamoto M, Kogami A, Fukushima M, Khoo KH, Akama TO, Yoshida Y, Kobayashi M. Structural Elucidation and Prognostic Relevance of 297-11A-Sulfated Glycans in Ovarian Carcinoma. *Lab Invest.* (レフェリー有) Apr 4;104(6):102057, 2024. doi: 10.1016/j.labinv.2024.102057. PMID: 38582455
 23. Muramoto A, Hoshino H, Inamura S, Murahashi M, Akama TO, Terada N, Kobayashi M. Expression of podocalyxin potentially decorated with low-sulfated keratan sulfate in human testicular embryonal carcinoma. *J Histochem Cytochem.* (レフェリー有) Jul;72(7):453-465, 2024. doi: 10.1369/00221554241265162. Epub 2024 Jul 25. PMID: 39051568

<図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数)
該当なし

<学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月)

1. 中邨智之:「皮膚老化に伴う弾性線維再生能喪失のしくみ ～弾性線維形成因子のはたらきと加齢による発現変化～」第 22 回日本抗加齢医学会総会 招待講演 (大阪国際会議場、大阪、2022 年 6 月 18 日)
2. 中邨智之:「弾性線維の形成と再生の分子メカニズム ～弾性線維形成タンパク質の役割と加齢皮膚での変化～」第 73 回日本皮膚科学会中部支部学術大会 特別講演 (富山国際会議場、2022 年 10 月 29 日)
3. 中邨智之:「ECM 架橋の新たな調節機構 ～Lysyl Oxidase 活性化における Fibulin-4 の役割～」第 95 回日本生化学会 招待講演 (名古屋国際会議場、2022 年 11 月 11 日)
4. 植草 泰智、小林 基弘、中邨 智之、赤間 智也:「組換え体抗硫酸化糖鎖抗体の効率的産生の検討」第 41 回日本糖質学会年会 (大阪大学、吹田市、2022 年 10 月 1 日)
5. 植草 泰智、中邨 智之、赤間 智也:「HEK293T 細胞による抗糖鎖モノクローナル抗体産生法の確立」第 96 回日本生化学会大会 (マリンメッセ福岡、福岡市、2023 年 11 月 1 日)
6. 富川直樹、中邨智之:「大動脈の形態における Fibulin-4 とリシルオキシダーゼの役割」第 1 回大動脈研究会 (国立循環器病センター、吹田市、2023 年 11 月 18 日)
7. 中邨智之:「弾性線維再生薬の分子標的探索 ～マトリックス創薬への第一歩～」エラスチン・関連分子研究会第 7 回学術集会 (東北大学、仙台、2023 年 11 月 23 日)
8. 中邨智之:「細胞外マトリックスのクロスリンクと大動脈瘤」第 56 回日本結合組織学会学術大会 シンポジウム (つくば国際会議場、つくば、2024 年 6 月 15 日)
9. 富川直樹、中邨智之:「特発性肺線維症モデルマウスにおける肺線維化への LOXL4 の関与」第 56 回日本結合組織学会学術大会 (つくば国際会議場、つくば、2024 年 6 月 15 日)
10. 赤間智也、林美樹夫、中邨智之:「マウス脳に移植したグリオーマ細胞から血中に流出する糖タンパク質の同定」第 43 回日本糖質学会年会 (慶應大学、横浜市、2024 年 9 月 14 日)
11. 赤間 智也、中邨 智之:「母一胎児組織間を移行する血中糖タンパク質」第 97 回日本生化学会大会 (パシフィコ横浜、横浜市、2024 年 11 月 7 日)
12. 中邨智之:「呼吸器疾患における細胞外マトリックスの役割」第 70 回日本病理学会秋期特別総会 日本肺病理学会 (JPPS) コンパニオンミーティング (日本教育会館、東京、2024 年 11 月 8 日)
13. Tomoyuki Nakamura, Chisato Murabe: Identification of negative regulators of elastic fiber formation. International Symposium on Morphogenesis by Non-Cellular Materials (Kyoto University, Kyoto, Nov 25, 2024)
14. 中邨智之:「弾性線維再生薬の標的分子候補の探索」エラスチン・関連分子研究会第 8 回学術集会 (相鉄グランドフレッサ東京ベイ有明、東京、2024 年 12 月 1 日)
15. 富川直樹、中邨智之:「Fbln4 欠損による大動脈瘤発症には LOX が関与する」エラスチン・関連分子研究会第 8 回学術集会 (相鉄グランドフレッサ東京ベイ有明、東京、2024 年 12 月 1 日)

<特許申請・取得状況>

該当なし

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	病理学講座	事業推進者名	薦幸治
所属部門	がん部門		
研究課題名	網羅的遺伝子解析技術を用いた各種腫瘍における再発・治療効果予測、原因遺伝子の同定		
キーワード	肺癌、扁平上皮癌、光免疫治療、子宮頸部腺癌、乳癌、オルガノイド		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	10 名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 薦 幸治：病理学講座 教授 「研究の統括」、「研究計画の立案」 内田克典：病理学講座 診療教授 「研究計画の立案」、「データの収集、解析」 平野博嗣：病理学講座 診療教授 「研究計画の立案」、「データの収集、解析」 田中 亨：病理学講座 学長特命教授 「研究計画の立案」、「データの収集、解析」 仲矢丈雄：病理学講座 准教授 「研究計画の立案」、「データの収集、解析」 松浦 徹：病理学講座 講師 「研究計画の立案」、「データの収集、解析」 吉田真子：病理学講座 講師 「研究計画の立案」、「データの収集、解析」 野田百合：病理学講座 講師 「研究計画の立案」、「データの収集、解析」 厚海奈穂：病理学講座 助教 「研究計画の立案」、「データの収集、解析」 査 林君：病理学講座 大学院生 「データの収集、解析」			
<研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）> 肺腺癌（LUAD）は、肺癌の大部分を占め、組織学的特徴に基づいて 5 つの主要なサブタイプに分類される。サブタイプごとに臨床的特徴、予後、および治療への反応が異なる。本研究では、細胞間接着エネルギーの変動が LUAD のサブタイプ特異的な形態形成を引き起こすことを示した。我々は、Cellular Potts Model (CPM) によるコンピュータシミュレーションを用いて、乳頭状 LUAD サブタイプの形態を再現した。シミュレーションおよび実験的検証により、細胞間接着エネルギーの変化によって、乳頭状構造から微小乳頭状または充実型のサブタイプに類似した構造へと形態が変化することが明らかになった。注目すべきことに、遺伝子発現の差異解析により、細胞接着に関連する遺伝子のサブタイプ特異的な発現が明らかになった。微小乳頭状サブタイプで発現が上昇していた ITGA11 遺伝子をノックダウンすると、LUAD 細胞株 PC9 から形成されたスフェロイドの形態が変化した。本研究は、LUAD のサブタイプ間における組織を構成する物理的な力の違いを通じて、遺伝子変異や遺伝子発現が患者の予後に及ぼす影響を示した。			
遺伝性乳癌卵巣癌症候群（HBOC）では、乳癌発症前に予防的に乳房を切除するリスク低減乳房切除術（RRM）が推奨されているものの、乳癌発症リスクを判断するための客観的指標が存在しない。そこで、nCounter Analysis System（nanoString 社）を用いた網羅的遺伝子発現解析によりマーカー分子の探索を試みた後、RT-qPCR 法および免疫組織化学染色法による検証を加えた。その結果、BRCA1 および BRCA2 変異陽性乳癌に共通して発現上昇する分子が多数認められた一方、BRCA2 変異陽性乳癌において特異的に高発現する分子が存在した。今後、このようなマーカーを複数組み合わせることにより、HBOC 女性の乳癌発症リスクを高精度に予測できると考える。			
頭頸部癌では、扁平上皮癌の発癌・分化機序の解明と、腫瘍特異的因子の探索を行った。免疫組織化学や三次元空間解析を行い、扁平上皮癌と前癌病変に特異的な「表層分化」には、細胞死のひとつである Necroptosis の機序が関わり、腫瘍では毛髪形質が獲得されている可能性が明らかとなった。また、Necroptosis 関連因子をターゲットとした前向きコホート試験の結果、患者の早期同定に有用な体外診断薬である可能性が示された。また口腔癌患者切除標本上で、治療標的因子[抗体薬物複合体因子(B7-H4/ITCNI)や免疫チェックポイント関連因子(PD-1/CD274)]の発現解析を行い、既存に比して予後との相関性が高い新規治療評価法が樹立された。さらに、口腔癌患者検体の遺伝子品質と病理形態画像との対比を行い、遺伝子品質保持のための検体保存・採取法を樹立した。今後は、本研究で有用性が示されたマーカーに対して、さらなる分子・形態解析を進め、体外診断薬の樹立と評価法について検討予定である。 また予後不良頭頸部癌に対する光免疫治療効果予測をオルガノイドと患者末梢血で検証した。			

近赤外光線免疫療法（NIR-PIT）は、IR700 を結合させた抗体を用い、近赤外光（NIR）照射によって標的細胞の細胞膜に致死的な損傷を与える治療法である。理論上、NIR-PIT は癌細胞に直接的な損傷を与えるのみならず、損傷細胞から免疫原が拡散することにより免疫活性化も誘導するとされている。しかし、NIR-PIT 治療後の患者における抗腫瘍免疫の状態を把握することは困難である。そこで本研究では、がんオルガノイドと免疫細胞の共培養系を用いて、患者の抗腫瘍免疫を推定することを試みた。NIR-PIT 治療前に頭頸部癌患者からがんオルガノイドを作製し、治療前後に採取した末梢血単核球（PBMC）と共培養を行った。共培養後における癌細胞の死亡割合を測定した結果、NIR-PIT 治療後に採取した PBMC との共培養において、癌細胞死の割合が有意に上昇した。このことは、NIR-PIT によって抗腫瘍免疫が活性化されたことを示唆している。さらに、本実験結果は実際の患者の病状の経過とも一致しており、本共培養系が患者の抗腫瘍免疫状態を反映している可能性が示された。現在 NIR-PIT 治療効果と癌ゲノムの関係を調べている。

子宮頸部腺癌には、腫瘍マーカーが存在しないため予後不良とされていた。本研究では、子宮頸部腺系腫瘍特異的因子に焦点を当て、子宮頸部腺癌患者由来の細胞と組織に対して、網羅的に免疫組織/細胞化学や三次元空間解析を行った。結果、核内転写因子 **HNF4α/HNF4A が腫瘍特異的因子であることが判明**した。核内転写因子 HNF4α/HNF4A はHPV ウイルス感染の有無に関わらず、前癌状態から頸管腺に過剰発現する性質を有していた。今後は HNF4A の分子伝達系の解析を行い、子宮頸部腺癌患者の早期発見ならびに予後改善に有用なスクリーニングキットの開発予定である。

上記の研究を行うための**癌オルガノイドのバンク化**を行っている。これまでに胆膵外科、上部消化管外科、乳腺外科、耳鼻咽喉科・頭頸部外科、消化器肝臓内科、産科・婦人科、小児科、呼吸器腫瘍内科から患者手術残余試料の提供を受けて、隣接正常部位と癌 30 種類程度、300 検体以上のオルガノイドを KMU バイオバンク、もしくは病理学講座に保存して研究に用いている。一部の検体（～10 検体程度）についてはゲノム解析（全エキソームシーケンス）を行っている。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	病理学講座	事業推進者名	薦幸治
＜雑誌論文＞（著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年） 1. <u>Linjun Zha</u>, <u>Toru Matsu-ura</u>, James P. Sluka, Tomohiro Murakawa, <u>Koji Tsuta</u>・Morphological basis of the lung adenocarcinoma subtypes・iScience・査読有・27・109742・2024 2. <u>Noda Y</u>, Sakagami T, Suzuki K, Fujisawa T, Yagi M, Iwai H, <u>Tsuta K</u>・Direct specimen collection during routine operation improves nucleic acid quality in genetic analysis samples for head and neck tumors: A retrospective study・Pathol Res Prac・査読有・252・54943・2023 3. Andrew E. Rosselot, Miri Park, Mari Kim, <u>Toru Matsu-ura</u>, Gang Wu, Danilo E. Flores, Krithika R. Subramanian, Suengwon Lee, Nambirajan Sundaram, Tayloe R. Broda, Heather A. McCauley, Jennifer A. Hawkins, Kashish Chetal, Nathan Salmonis, Noah F. Shroyer, Michael A. Helmrath, James M. Wells, John B. Hogenesch, Sean R. Moore, Christian I. Hong・Ontogeny and function of the circadian clock in intestinal organoids・The EMBO Journal・査読有・41・E106973・2021 4. Kang Kug (Paul) Lee, <u>Toru Matsu-ura</u>, Andrew E. Rosselot, Taylor R. Broda, James M. Wells, Christian I. Hong・An integrated microfluidic bubble pocket for long-term perfused three-dimensional intestine-on-a-chip model・Biomicrofluidics・査読有・15・014110・2021 ＜図書＞（著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数） 特になし ＜学会発表＞（発表者名・発表標題・学会名・開催地（海外の場合は国名と都市名）・発表年月） 1. <u>松浦 徹</u>, 阪上智史, 藤澤琢郎, 八木正夫, 薦 幸治・頸部癌オルガノイドを用いた近赤外光線免疫治療後の癌免疫賦活化の証明（ポスター）・第 83 回日本癌学会学術集会・2024 年 10 月 2. 藤本晶巳, <u>野田百合</u>, 薦 幸治・癌抑制タンパク質 X の新規子宮頸部腺癌スクリーニングマーカーとしての有用性について・第 54 回日本臨床細胞学会秋期大会. 名古屋・2024 年 03 月 30 日 3. <u>野田百合</u>, 阪上 智史, 鈴木健介, 藤澤 琢郎, 岩井 大, 薦 幸治・Necroptosis 関連因子 X は口腔腫瘍性病変の新規分化関連因子ならびに有用な腫瘍スクリーニングマーカーとなりうる・第 34 回日本臨床口腔病理学会総会・学術大会. 大阪・2023 年 8 月 24 日 4. 朝倉 力, <u>松浦 徹</u>, 那須厚則, 池田幸樹, 奥山哲矢, 中竹利知, <u>吉田真子</u>, 厚海奈穂, 薦 幸治・関西医科大学（KMU）オルガノイドバンクの取り組み（ポスター）・第 23 回日本再生医療学会・2023 年 3 月 5. <u>那須厚則</u>, <u>松浦 徹</u>, 朝倉 力, 池田幸樹, 奥山哲矢, 中竹利知, <u>吉田真子</u>, 厚海奈穂, 薦 幸治・関西医科大学（KMU）オルガノイドバンクの取り組み（ポスター）・第 13 回スクリーニング学研究会・2022 年 11 月 ＜特許申請・取得状況＞ 1. 関連特許：特願 2021-076213、発明の名称：口腔腫瘍性病変の検出方法、検査試薬、検査キット、及び治療用組成物 2. 関連特許：特願 2024-231908、発明、発明：子宮腺系腫瘍病変の検出方法、検出装置、及び検出プログラム			

研究成果報告書（研究概要）

講 座 等 名	微生物学講座	事業推進者名	大隈和
所 属 部 門	がん部門		
研究課題名	高度ヒト化マウスを用いた HTLV-1 キャリアからの ATL 発症過程の解析		
キーワード	HTLV-1, ATL, ヒト化マウス		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	5 名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞ 大隈 和 (教授)：研究の統括 竹之内 徳博 (准教授)：統計解析 上野 孝治 (助教)：ウイルスの解析 大高 時文 (助教)：ヒト化マウスの解析 中嶋 伸介 (助教)：ヒト化マウスの解析			
＜研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）＞ 成人 T 細胞白血病（ATL）は、ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型（HTLV-1）に感染した細胞ががん化する難治性の血液疾患である。本研究は ATL 発症前の HTLV-1 感染細胞に対して、分子標的薬 X が有効であるかを、ヒト化マウスを用いた HTLV-1 感染動物モデルで評価した。 ヒト化マウスに HTLV-1 を感染後、分子標的薬 X を投与した。経時的に採血を実施し、感染の指標としてプロウイルス量（PVL）、CD4⁺T 細胞数、HAS-Flow 解析を行った。HAS-Flow 解析は CADM1 と CD7 の 2 つのマーカーの組み合わせで、HTLV-1 感染細胞を識別する解析である。また、マウスの脾臓から HTLV-1 感染細胞を精製し、RNA-seq などの遺伝子解析を実施した。さらに分子標的薬 X が感染細胞の増殖を抑制するか、細胞増殖マーカーである Ki67 の発現をフローサイトメーターで測定した。 薬剤投与群は、感染 3 週間後における PVL、CD4⁺T 細胞数、および HTLV-1 感染細胞率（CADM1 陽性率）の増加が、非投与群と比べて有意に抑制されていた。また、薬剤投与群は、HTLV-1 感染からの生存期間が非投与群と比較して延長した。遺伝子発現解析から、薬剤投与群は非投与群と比較して、感染細胞におけるがん抑制遺伝子の発現が上昇した。薬剤投与群の感染細胞は Ki67 の発現が非投与群と比べて有意に低下していた。以上の結果から、分子標的薬 X は HTLV-1 感染細胞におけるがん抑制遺伝子の上昇、および細胞増殖を抑制することで、感染を抑制することが示唆された。 ヒト化マウスは MHC のミスマッチにより獲得免疫応答が弱いことが問題である。そこで、ヒト化に用いる免疫不全マウス（NOG マウス）に、ヒト MHC である HLA-A02 を遺伝子導入したマウス（NOG-A02 Tg マウス）をヒト化した。このヒト化マウスが、従来のヒト化マウスに比べて HTLV-1 の感染を抑制するか検討した。 ヒト化した NOG マウスと NOG-A02 Tg マウスに HTLV-1 を感染させ、経時的に採血を実施し、PVL と CD4⁺T 細胞数を測定した。また、HTLV-1 の遺伝子である Tax を認識する T 細胞レセプターを有する細胞傷害性 T 細胞（CTL）を HLA-A02:01 Tax テトラマー染色で検出し、血液、脾臓、リンパ節におけるウイルス抗原特異的な CTL を測定した。 ヒト化 NOG-A02 Tg マウスは、PVL や CD4⁺T 細胞数の増加がヒト化 NOG マウスに比べて抑制された。また、ヒト化 NOG-A02 Tg マウスは感染後の生存期間が延長した。各臓器における Tax テトラマー陽性細胞の割合は、ヒト化 NOG マウスに比べてヒト化 NOG-A02 Tg マウスにおいて高い傾向が見られた。 これらの結果から、ヒト化 NOG-A02 Tg マウスはウイルス抗原特異的な CTL 応答が増強することにより、HTLV-1 の感染を抑制することが示唆された。今後、ヒト化 NOG-A02 Tg マウスは、CTL を誘導するワクチンの開発に用いられることが期待される。			

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	微生物学講座	事業推進者名	大隈和
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 1. <u>Nakajima S</u>, <u>Okuma K</u>. Mouse Models for HTLV-1 Infection and Adult T Cell Leukemia, <i>Int J Mol Sci.</i>, 査読有, 24(14):11737, 2023 Jul 21 2. Fukuhara T, Ueda Y, Lee SI, <u>Odaka T</u>, <u>Nakajima S</u>, Fujisawa JI, <u>Okuma K</u>, Naganuma M, Okazaki K, Kondo N, Kamioka Y, Matsumoto M, Kinashi T., Thymocyte Development of Humanized Mice Is Promoted by Interactions with Human-Derived Antigen Presenting Cells upon Immunization, <i>Int J Mol Sci.</i>, 査読有, 24(14):11705. 2023 Jul 20 <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) 1. <u>大隈和</u>、<u>中嶋伸介</u>、科学評論社、臨床免疫・アレルギー科、2024 年、pp. 275-281 <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) 1. <u>大高時文</u>、<u>李成一</u>、<u>中嶋伸介</u>、<u>山岸誠</u>、<u>登坂充</u>、<u>鈴木佳子</u>、<u>本間大輔</u>、<u>上野孝治</u>、<u>竹之内徳博</u>、<u>内丸薫</u>、<u>藤澤順一</u>、<u>大隈和</u>、ヒト化マウスモデルにおける EZH1/2 阻害剤 Valemetostat の HTLV-1 感染抑制効果、日本 HTLV-1 学会、東京、2024 年 2. <u>大隈和</u>、<u>手塚健太</u>、<u>中嶋伸介</u>、<u>後藤元人</u>、<u>高橋利一</u>、<u>李成一</u>、<u>大高時文</u>、<u>伊藤守</u>、<u>浜口功</u>、ヒト化 NOG-A2 マウスを用いた HTLV-1 持続感染モデルの開発、日本 HTLV-1 学会、東京、2022 年 3. <u>Odaka T</u>, Yamagishi M, Mizuike J, Honma D, Lee SI, <u>Nakajima S</u>, <u>Ueno T</u>, Uchimaru K, <u>Okuma K</u>, Fujisawa JI., Valemetostat, an EZH1/2 inhibitor, suppresses HTLV-1 infection in a humanized mouse model, International Conference on Human Retrovirology, Montreal, Canada, 2022 4. <u>大高時文</u>、<u>山岸誠</u>、<u>水池潤</u>、<u>本間大輔</u>、<u>李成一</u>、<u>中嶋伸介</u>、<u>上野孝治</u>、<u>内丸薫</u>、<u>大隈和</u>、<u>藤澤順一</u>、HTLV-1 感染ヒト化マウスにおける EZH1/2 阻害剤 Valemetostat の HTLV-1 感染抑制効果、日本 HTLV-1 学会、熊本、2021 年 <特許申請・取得状況> 該当なし			

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	iPS・幹細胞再生医学講座	事業推進者名	人見浩史
所属部門	代謝部門		
研究課題名	iPS・幹細胞を用いた分化誘導法と分子イメージングを用いた評価法の開発 ：細胞移植・再生医療への応用		
キーワード	iPS 細胞、分化誘導法、評価法開発、再生医療		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	13名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 人見浩史（教授）：研究全般の指導及び統括 服部文幸（研究教授）、白水泰昌（准教授）、 松岡由和（講師）、山下裕美（助教） 藤岡龍哉、中塚隆介、加藤憲、保田真宏、 岡野舞、大谷雄一、金川竜也、Long Luong ：実験計画の立案及び実施			
<研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）> ヒト iPS 細胞を用い、腎臓および内分泌領域における再生医療を目指した基礎研究、心臓再生医療の高度化を目指した基礎研究、造血・免疫系細胞の再生医療研究を行った。 1) iPS 細胞による腎臓および内分泌領域再生医療の実現 再生医療における腎臓・内分泌細胞の臨床応用を目的として、病態解明と新規治療法開発を行っている。既にヒト iPS 細胞からエリスロポエチン産生細胞を分化誘導することに成功している。また、iPS 細胞から独自の方法で誘導した副甲状腺ホルモン産生細胞を用い、骨ミネラル代謝異常の病態解明と新規治療法の開発を行っている。このように開発したヒト iPS 細胞由来細胞を生体に導入することにより、内分泌ホルモンを生理的に補充する治療法の開発を行っている。患者自身の体細胞から樹立され、ほぼ無限に増殖する能力を有する多能性幹細胞である iPS 細胞を用いることで、免疫抑制の必要が少ない内分泌ホルモン産生細胞を大量に作製することが可能であり、今後も需要の増す内分泌疾患や腎性貧血の治療に対して有効な手段になりうると考えている。 2) 疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態解明と治療法開発 患者から iPS 細胞を樹立し、病態解明と治療法開発を行っている。独自に樹立したヒト iPS 細胞を、様々な臓器の細胞に分化誘導し、疾患モデルを作製した。従来、ヒトの病気を体外で再現することは難しいとされてきたが、新たに作製したヒト iPS 細胞を用いた病態モデルで、病気の機序解明を行っている。実際には、臨床講座と協力し、本学附属病院および関連病院に通院する結節性硬化症やシトリン欠損症などの患者から、疾患特異的 iPS 細胞を樹立した。これまで十分検討されていない疾患に対して、病態解明と新規治療法開発を行っている。 3) iPS 細胞による心臓再生医療の高度化 ヒト iPS 細胞を用いた心臓再生医療の高度化を目的とした基盤技術開発と、臨床応用で必要とされる技術革新を目指している。企業との共同研究を通じて、iPS 細胞自動培養・自動分化装置を開発している。また、基礎研究の充実として、心臓の創傷治癒反応を制御する技術を開発した。これらの研究プロジェクトを列記する。 1. iPS 細胞由来心筋細胞を用いた重度心不全治療方法の開発 2. 心房細動の再生医療技術を用いた治療方法の開発 3. iPS 細胞を用いた再生医療全般に応用できる安全性向上方法の開発			

4. 心臓の創傷治癒反応の網羅的解析と再生医療への応用
5. iPS 細胞を用いたナノメディスンの開発
6. iPS 細胞の多種組織分化、創薬・健康促進分野への Translation
7. AI を搭載した次世代多能性幹細胞自動培養装置の開発
8. モノクローナル抗体を用いる心房梗塞の臨床検査法の開発
9. ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた、新型コロナウイルス感染に関する研究

4) 医療技術イノベーション

ヒト iPS 細胞を利用しながら、希少・難病治療方法・薬剤の開発を行っている。また、コロナウイルス感染症後遺障害のメカニズム解析と治療方法の開発を行っている。また、運動と健康増進の関連性メカニズムと予防医療の開発を目指し、ヒト iPS 細胞を利用した研究を実施している。さらには、皮膚と掻痒のメカニズム解析と新規治療方法の開発を目指して、ヒト iPS 細胞を利用した研究をしている。最後に、ヒト iPS 細胞を応用した形成的再生医療の実現を目指した基礎研究を行っている。

5) iPS 細胞による造血系・免疫系の再構築および疾患病態解明と新規治療法開発

ヒト iPS 細胞由来造血幹細胞の分化誘導法を開発している。さらに制御性 T 細胞の再生を目指し研究を行っている。これらの研究成果を用いた病態モデル作製や、疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態の再現により、免疫疾患や白血病の病態解明と新規治療法を開発をしている。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	iPS・幹細胞再生医学講座	事業推進者名	人見浩史
<雑誌論文> (著者名・論文タイトル・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 1. <u>Matsuoka Y</u>, <u>Nakatsuka R</u>, <u>Fujioka T</u>. Automatic Discrimination of Human Hematopoietic Tumor Cell Lines using a Combination of Imaging Flow Cytometry and Convolutional Neural Network. <i>Hum Cell</i> 34:1021-1024, 2021. レフェリー有 2. <u>服部 文幸</u>. ヒト iPS 細胞に由来する若齢および加齢様の性質を示す積層および立体皮膚オルガノイドの作製 <i>コスメトロジー研究報告</i> 29:164-166, 2021. 3. <u>山下 裕美</u>, <u>服部 文幸</u>. ミトコンドリア量と ALCAM の組み合わせによるヒト多能性幹細胞由来肝細胞の精製法 <i>月刊 細胞</i> 53:712-713, 2021. レフェリー無 4. Ito A, Okada T, Minato N, <u>Hattori F</u>. Possible internal viral shedding and interferon production after clinical recovery from COVID-19: Case report <i>Front Med (Lausanne)</i> 9:959196, 2022. レフェリー有 5. <u>Bando K</u>, <u>Yamashita H</u>, Tsumori M, Minoura H, Okumura K, <u>Hattori F</u>. Compact automated culture machine for human induced pluripotent stem cell maintenance and differentiation <i>Front Bioeng Biotechnol</i> 10:1074990, 2022. レフェリー有 6. Ishigaki M, <u>Hitomi H</u>, Ozaki Y, Nishiyama A. Exposing intracellular molecular changes during the differentiation of human-induced pluripotent stem cells into erythropoietin-producing cells using Raman spectroscopy and imaging <i>Sci Rep</i> 12:20454, 2022. レフェリー有 7. Araki-Sasaki K, <u>Kanagawa T</u>, <u>Matsuoka Y</u>. HCE-T cells express cornea-specific differentiation marker, PAX6 protein <i>Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol</i> 260:4015-4017, 2022. レフェリー有 8. Nishimoto R, Kodama C, <u>Yamashita H</u>, <u>Hattori F</u>. Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Keratinocyte-Like Cells for Research on Protease-Activated Receptor 2 in Nonhistaminergic Cascades of Atopic Dermatitis <i>J Pharmacol Exp Ther</i> 384:248-253, 2023. レフェリー有 9. <u>人見 浩史</u> iPS 細胞の臨床応用「これまで」と「これから」 <i>日本慢性期医療協会誌</i> 31:33-39, 2023. レフェリー無 10. <u>Hattori F</u>. A Novel Cell Injection Method with Minimum Invasion <i>J Vis Exp</i> (194), e65260, 2023. 11. <u>Hanafusa Y</u>, Shiraishi A, <u>Hattori F</u>. Machine learning discriminates P2X7-mediated intracellular calcium sparks in human-induced pluripotent stem cell-derived neural stem cells <i>Sci Rep</i> 13(1):12673, 2023. レフェリー有 12. <u>Yasuda Y</u>, <u>Kato T</u>, <u>Okano M</u>, <u>Yamashita H</u>, <u>Matsuoka Y</u>, <u>Shirouzu Y</u>, <u>Fujioka T</u>, <u>Hattori F</u>, Tsuji S, Kaneko K, <u>Hitomi H</u>. Efficient protocol for the differentiation of kidney podocytes from induced pluripotent stem cells, involving the inhibition of mTOR <i>Sci Rep</i> 13:20010, 2023. レフェリー有 13. <u>Nakatsuka R</u>, <u>Kato T</u>, Zhang R, Uemura Y, Sasaki Y, <u>Matsuoka Y</u>, <u>Shirouzu Y</u>, <u>Fujioka T</u>, <u>Yamashita H</u>, <u>Hattori F</u>, Nozaki T, Ogata H, <u>Hitomi H</u>. The induction of parathyroid cell differentiation from human induced pluripotent stem cells promoted via TGF-α/EGFR signaling <i>Stem Cells Dev</i> 32:670-680, 2023. レフェリー有 14. <u>Yamashita H</u>, <u>Hattori F</u>. Application of Live Mitochondria Staining in Cell-Sorting to Purify Hepatocytes Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells <i>J Vis Exp</i> (202), e65777, 2023. 15. <u>Bando K</u>, <u>Yamashita H</u>, <u>Hattori F</u>. An Automated Culture System for Maintaining and Differentiating Human-Induced Pluripotent Stem Cells <i>J Vis Exp</i> (203), e65672, 2024. 16. Nguyen TT, Nguyen DH, Nguyen TC, <u>Luong LH</u>. Bidirectional Glenn operation without cardiopulmonary bypass: Single center experience and results <i>Asian Cardiovasc Thorac Ann</i> 32:5-10, 2023. レフェリー有 17. <u>人見 浩史</u>, <u>中塚 隆介</u>. iPS 細胞由来内分泌細胞を用いた新規治療法開発 <i>BIO Clinica</i> 38:992-996, 2023. レフェリー有			

18. Okano M, Yasuda M, Shimomura Y, Matsuoka Y, Shirouzu Y, Fujioka T, Kyo M, Tsuji S, Kaneko K, Hitomi H. Citrin-deficient patient-derived induced pluripotent stem cells as a pathological liver model for congenital urea cycle disorders *Mol Genet Metab Rep* 40:101096, 2023. レフェリー有
19. Inomata Y, Kawatani N, Yamashita H, Hattori F. Lgr6-expressing functional nail stem-like cells differentiated from human-induced pluripotent stem cells *PLoS ONE* 19:e0303260, 2023. レフェリー有
20. Long LH, Fujioka T, Craig TJ, Hitomi H. Long term outcome of C1-esterase inhibitor deficiency *Asian Pac J Allergy Immunol* 42:222-232, 2023. レフェリー有
21. Okumura H, Hayashi M, Yamashita H, Hattori F. Establishment and characterization of an induced pluripotent stem cell line from a Japanese cystic fibrosis patient with homozygous 1540del10 CFTR mutation *Genes Dis* 12:101506, 2024. レフェリー有
22. Kato T, Nakatsuka R, Zhang R, Uemura Y, Yamashita H, Matsuoka Y, Shirouzu Y, Fujioka T, Hattori F, Ogata H, Sakashita A, Honda H, Hitomi H. The role of glial cells missing 2 in induced pluripotent stem cell parathyroid differentiation *Tissue Cell* 92:102634, 2025. レフェリー有
23. 加藤 憲, 人見 浩史, 本田 浩一. 腹膜中皮細胞の再生 *腎と透析* 96:455-459, 2024. レフェリー有

<学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月)

1. 人見 浩史. 慢性腎臓病に対する iPS 細胞由来内分泌細胞を用いた新規治療開発 第 94 回日本内分泌学会学術総会 オンライン学会 2021 年 4 月
2. 人見 浩史, 片桐 直子, 前 伸一, 小高 真希, Li Lei, 山本 拓也, 西山 成, 長船 健二 ヒト iPS 細胞から分化誘導した EPO 産生細胞を用いたレチノイン酸による EPO 産生制御機構の解明 第 94 回日本内分泌学会学術総会 オンライン学会 2021 年 4 月
3. 加藤 憲, 中塚 隆介, 溝渕 正英, 本田 浩一, 緒方 浩顕, 人見 浩史 iPS 細胞の副甲状腺細胞分化に影響を与える因子の解明 第 5 回日本 CKD-MBD 研究会 学術集会・総会 オンライン学会 2021 年 5 月
4. 中塚 隆介, 加藤 憲, 緒方 浩顕, 人見 浩史 iPS 細胞からのヒト副甲状腺細胞分化誘導法の開発と分化細胞の同定 第 5 回日本 CKD-MBD 研究会 学術集会・総会 オンライン学会 2021 年 5 月
5. 保田 真宏, 加藤 憲, 加藤 正吾, 木全 貴久, 藤岡 龍哉, 辻 章志, 人見 浩史, 金子 一成 特発性ネフローゼ症候群における mTOR の役割の解明: ヒト iPS 細胞由来ポドサイトを用いた検討 第 56 回日本小児腎臓病学会学術集会 高知市 2021 年 6 月
6. 人見 浩史 腎臓疾患から iPS 細胞の作製とその活用法 第 30 回日本小児泌尿器科学会総会・学術集会 大阪市 2021 年 7 月
7. 中塚 隆介, 加藤 憲, 野崎 中成, 人見 浩史 ヒト iPS 細胞より分化した副甲状腺細胞の同定と EGFR シグナル抑制による過形成抑制 第 140 回日本薬理学会近畿部会 奈良市 2021 年 11 月
8. 澤田 俊輔, 山下 裕美, 松岡 由和, 白水 泰昌, 藤岡 龍哉, 人見 浩史, 伊泊 眞央, 切東 真子, 安井 大樹, 後藤 倫子, 兒島 由佳, Linh Manh Nguyen, Dan Van Bui, 鈴木 健介, 尹 泰貴, 濱田 聡子, 小林 良樹, 八木 正夫, 神田 晃, 岩井 大, 服部 文幸 放射線治療による唾液腺機能不全に対するヒト iPS 細胞を用いた細胞移植療法 第 22 回日本再生医療学会学術集会 京都市 2022 年 3 月
9. 保田 真宏, 岡野 舞, 加藤 憲, 藤岡 龍哉, 辻 章志, 人見 浩史, 金子 一成 特発性ネフローゼ症候群における mTOR の役割の解明: ヒト iPS 細胞由来ポドサイトを用いた検討 第 125 回日本小児科学会学術集会 郡山市 2022 年 4 月
10. 保田 真宏, 岡野 舞, 加藤 憲, 藤岡 龍哉, 辻 章志, 人見 浩史, 金子 一成 mTOR 阻害薬を用いた iPS 細胞から腎糸球体上皮細胞への効率的な平面培養誘導法の開発 第 57 回日本小児腎臓病学会学術集会 宜野湾市 2022 年 5 月
11. 保田 真宏, 岡野 舞, 加藤 憲, 藤岡 龍哉, 辻 章志, 人見 浩史, 金子 一成 mTOR 阻害薬を用いた iPS 細胞から腎糸球体上皮細胞への効率的な平面培養誘導法の開発 第 65 回日本腎臓学会学術総会 神戸市 2022 年 6 月

12. 人見 浩史 ヒト iPS 細胞由来内分泌細胞を用いた新規治療法開発 第 26 回日本心血管内分泌代謝学会学術集会 京都市 2022 年 10 月
13. 人見 浩史 iPS 細胞の臨床応用「これまで」と「これから」 第 30 回日本慢性期医療学会 京都市 2022 年 11 月
14. 人見 浩史, 加藤 憲, 保田 真宏 ヒト iPS 細胞を用いた腹膜中皮細胞の誘導 第 58 回日本小児腎臓病学会学術集会 高槻市 2023 年 6 月
15. 保田 真宏, 岡野 舞, 加藤 憲, 加藤 正吾, 木全 貴久, 藤岡 龍哉, 辻 章成, 人見 浩史, 金子 一成 特発性ネフローゼ症候群における mTOR の役割の解明:ゲノム編集ヒト iPS 細胞由来ポドサイトを用いた検討 第 58 回日本小児腎臓病学会学術集会 高槻市 2023 年 6 月
16. 金川 竜也, 松岡 由和, 佐々木 香る, 人見 浩史 膠様滴状角膜ジストロフィ患者由来 iPS 細胞を用いた疾患モデルの作製 第 33 回日本サイトメトリー学会学術集会 金沢市 2023 年 7 月
17. 松岡 由和 CD34 抗原の発現は SCID-repopulating cell の活性に必須ではない 第 33 回日本サイトメトリー学会学術集会 金沢市 2023 年 7 月
18. 澤田 俊輔, 山下 裕美, 鋪田 弘樹, 坂本 由紀, 服部 文幸, 兒島 由佳 放射線治療による唾液腺萎縮に対するヒト iPS 細胞を用いた細胞移植療法の基礎的研究 第 68 回日本口腔外科学会総会・学術大会 大阪市 2023 年 11 月
19. 人見 浩史, 岡野 舞, 下村 由衣, 金子 一成 シトリン欠損症患者由来 iPS 細胞を用いた尿素サイクル異常症の病態肝モデル作成 第 144 回日本薬理学会近畿部会 高槻市 2024 年 3 月
20. 中塚 隆介, 加藤 憲, 野崎 中成, 人見 浩史 ヒト iPS 細胞を用いた副甲状腺細胞分化誘導法の開発 第 23 回日本再生医療学会総会 新潟市 2024 年 3 月
21. 岡野 舞, 保田 真宏, 下村 由衣, 白水 泰昌, 松岡 由和, 藤岡 龍哉, 人見 浩史 先天性尿素サイクル異常症の病態肝モデルとしてのシトリン欠損症患者由来人工多能性幹細胞 第 23 回日本再生医療学会総会 新潟市 2024 年 3 月
22. 人見 浩史, 加藤 憲 iPS 細胞を用いたヒト腹膜中皮細胞の誘導法開発 第 8 回黒潮カンファレンス 米子市 2024 年 9 月
23. 人見 浩史 iPS 細胞を用いて臨床応用につながる基礎医学研究を行う第 8 回黒潮カンファレンス 米子市 2024 年 9 月
24. 保田 真宏, 加藤 憲, 谷山 佳宏, 人見 浩史 ヒト iPS 細胞を用いた腹膜中皮細胞の分化誘導法開発 第 54 回日本腎臓学会西部学術大会 姫路市 2024 年 10 月
25. 松岡 由和 ヒト造血幹細胞において CD34 抗原の発現は長期(数年以上)の造血再構築に必要である 第 47 回日本造血・免疫細胞療法学会 大阪市 2025 年 2 月
26. Hollers E, Yu Y, Long LH, Hitomi H, Richwine K, Grim K, Craig T. Muscle instability possibly associated with Hereditary Angioedema AAAAI/WAO Joint Congress San Diego, CA, USA 2025 年 2 月
27. 人見 浩史, 大谷 雄一, 金川 竜也, Long Luong, 岡野 舞, 保田 真宏, 松岡 由和, 白水 泰昌, 中塚 隆介, 加藤 憲 iPS 細胞を用いたヒト腹膜中皮細胞の誘導法開発と腹膜透析への応用 第 24 回日本再生医療学会総会 横浜市 2025 年 3 月
28. 保田 真宏, 岡野 舞, 加藤 憲, 加藤 正吾, 藤岡 龍哉, 辻 章志, 人見 浩史, 金子 一成 特発性ネフローゼ症候群におけるポドサイトの mTOR の役割について:疾患 iPS 細胞の樹立と病態モデルの作製 第 24 回日本再生医療学会総会 横浜市 2025 年 3 月

<特許申請・取得状況>

1. 副甲状腺細胞の作製方法 特開2021-69345
2. 多能性幹細胞から腹膜中皮細胞を分化誘導する方法 PCT/JP2022/007960
3. 内分泌ホルモン遺伝子発現検出細胞 特許出願番号: 特願2022-148782

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	衛生・公衆衛生学	事業推進者名	神田靖士
所属部門	代謝部門		
研究課題名	「感染症の新規診断法の開発と骨粗鬆症に対する漢方製剤治療メカニズムの解明」 「開発途上国における感染症の予防と糖脂質代謝異常および骨粗鬆症の予防に関する研究」		
キーワード	結核診断、miRNA、漢方製剤、骨粗鬆症、デング熱、オオウメガサソウ		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	6名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 甲田勝康 教授 研究の統括 神田靖士 准教授 大学院生などの研究指導並びに新規結核診断法の開発 下埜敬紀 講師 結核診断に用いる尿中の miRNA の捕集法とバイオマーカーの探索 村上由紀 講師 植物抽出物や漢方薬を用いた機能性評価に関する研究 ラーマニーガオ ペーオペット 研究員 ラオスにおけるサンプリングとデング熱の予防と吸虫症の診断に関する研究 クワンファン センカムニョン 大学院生 結核診断のための新規抗原の有用性の検討			
<研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）> <u>活動性結核の新規診断法の開発</u> 発展途上国でも簡便迅速にできる活動性結核の新たな迅速スクリーニング法の開発を目指して、採血によらず簡便に採取できる尿を検体とする手法の開発に着手した。近年ガンの診断にも応用されているマイクロ RNA（miRNA）に着目し、現在までに次世代シーケンサーにより活動性結核患者と健常者の miRNA 発現の網羅的解析を実施した。その結果活動性結核患者において健常者と比較して有意に変動する 7 種類の miRNA をバイオマーカー候補として同定し、既に国内特許を取得（特許第 7599756 号「結核感染試料のスクリーニング方法及びこれに用いるプローブセット」）し、現在移行国（インド、中国、米国など）への特許出願中である。さらに、工学的視点からは、日本企業と連携して粉体表面制御技術を応用したナノフィルターを開発し、尿中の微量 miRNA を安定かつ高効率に捕集する技術的基盤を構築した（移行国への特許出願中）。活動性結核のスクリーニング法として確立するために、尿中の微量 miRNA の高効率な捕集法を企業と共同で開発し、その技術の特許として出願した。この技術を用いて主に発展途上国において使用可能で迅速・安価な小型デバイスを用いた国際的に通用する検査法の社会実装を目指す。			
<u>オオウメガサソウエキスの化粧品原料としての有効性の検討</u> 我々は、これまで化粧品への有効性成分の探索を目的として、色素沈着の原因となるメラニン合成を抑制する成分のスクリーニングを行ってきた。 先行研究により B16 メラノーマ細胞を用いた in vitro 実験でイチヤクソウ科のオオウメガサソウ (<i>Chimaphila umbellata</i>) のエキス（以下エキス）にはメラニン産生抑制作用を示すことが分かった。次にその効果を更に高めるため、乳酸・グリコール酸共重合体（PLGA）ナノ粒子に着目した。PLGA ナノ粒子に封入された成分は皮膚浸透性や効果持続性、細胞内導入性を高めうることが既に報告されており、DDS への応用が期待されている。そこで PLGA ナノ粒子にエキスを封入した試料を用いメラニン産生抑制作用を評価したところ、エキス単独よりも同濃度で更に抑制作用を示した。 また、in vivo において 6 名の被験者にエキスを含有した美容液を 6 ヶ月間塗布した結果、全体的に皮膚状態が改善されたが特に高いシワ改善効果が認められた。さらに、毛乳頭細胞の賦活化や毛包形成遺伝子発現量の増加も認められ、エキスが皮膚および頭皮において多様な有効性を発現しうるポテンシャルを有することが示唆された。			
<u>漢方製剤の骨粗鬆症予防に対する有効性の検討</u> 我々は、これまで婦人科領域でよく処方される漢方製剤の有効性と作用機序の解明を目的とし			

て研究を行ってきた。

今回、人參養榮湯と温経湯、加味逍遙散および加味帰脾湯の4製剤について、骨粗鬆症予防に対する効果を検討するため、RAW264 細胞およびマウスモデル（RANKL 誘導による骨量減少モデルならびに卵巣摘出による閉経後骨粗鬆症モデル）を用いて検討を行った。

RAW264 細胞を用いた破骨細胞分化誘導実験においては、いずれの漢方製剤も破骨細胞分化を抑制する効果が認められた。なかでも温経湯が最も顕著な効果を示したため、その作用機序の詳細な解析を行った結果、温経湯は Blimp1-Bcl6 及び NF- κ B シグナル伝達経路を介して破骨細胞形成を抑制すること、さらに破骨細胞のアポトーシスを促進する作用を有することが明らかとなった。

また、マウスモデルを用いた検討では、加味逍遙散および温経湯、特に温経湯において、大腿骨の海綿骨量の減少や骨梁数の減少を有意に抑制し、同時に破骨細胞数の増加を抑制する効果が認められた。

以上の結果から、4 種類の漢方製剤はいずれも骨粗鬆症の進行を抑制する可能性を有し、なかでも温経湯は骨粗鬆症予防において効果的であると期待される。

植物由来ステビア配糖体の長期摂取の血糖スパイクと耐糖能への影響の検討

近年、血糖コントロールや肥満予防を目的とした砂糖代替品の需要が高まっている。中でも植物由来の非糖質系甘味料であるステビア配糖体は、血糖値への影響が少なく、安全性が高いとされているが、長期摂取による影響については不明な点も多い。本研究では、ステビア配糖体を主成分とする砂糖代替品（SS）の継続摂取がマウスの血糖動態や体重変化に及ぼす影響を検討した。C57BL/6 マウスを用いた単回投与試験では、SS 投与によって血糖値の上昇は認められず、血糖スパイクを抑制する効果が示唆された。さらに、CD-1 マウスに 16 週間 SS を含む飲水を自由摂取させた長期摂取実験では、ショ糖群と比較して SS 群は体重増加が抑制され、随時血糖値や耐糖能試験（IPGTT）においても血糖上昇が抑えられていた。これらの結果より、SS には血糖コントロール改善効果があると考えられた。

機能性要因として、ステビア配糖体によるインスリン分泌促進作用や、糖アルコール・食物繊維の代謝調節効果が考えられた。一方、投与量はヒトの一日摂取許容量を上回っており、長期摂取における安全性評価の必要性も示された。SS の継続摂取は血糖コントロール改善に有効である可能性がある。

デング熱媒介蚊の殺虫剤抵抗性機構に関する研究

我々は、デング熱予防を目的としたデング熱を媒介蚊であるネッタイシマカのベクターコントロール研究と殺虫剤抵抗性機構の解明についてラオスを調査地として行ってきた。

ベクターコントロール研究では、農村部の貯水容器に幼若ホルモンを処理した樹脂製剤を 27 ヶ月間設置し、その効果について介入村・非介入村の住民の IgG 抗体レベル（ELISA 法）とネッタイシマカ幼虫発生率により評価した。結果として、介入村では抗体レベルの有意な低下（ $p < 0.01$ ）と、ネッタイシマカ幼虫の発生率の減少が認められた一方、非介入村ではこれらについての変化は認められませんでした。本研究より、本樹脂製剤によるベクターコントロールが住民のデング熱感染を減少させることが期待できることを示した。

一方、殺虫剤抵抗性の研究では、まず初めにラオス中部 3 都市で採取したネッタイシマ幼虫にバイオアッセイを実施し、有機リン系・ピレスロイド系殺虫剤には高い抵抗性を、Bti へは高い感受性を示すことを明らかにした。次に、ピレスロイド類に対する抵抗性機構について明らかにするために共力剤を用いたバイオアッセイと Na チャネル遺伝子の遺伝子型解析を行った。その結果、地域によってピレスロイド類に対する抵抗性機構は異なり Xaythany 地域では Na チャネル遺伝子の kdr 変異の関与が、Khounkhamo・Thakhek 地域では CYP450 酵素活性の増大がそれぞれ抵抗性において重要な役割を果たしていることを明らかにした。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	衛生・公衆衛生学講座	事業推進者名	神田靖士
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) - Ishida T, Matsui H, Matsuda Y, Hosomi R, Shimono T, Kanda S, Nishiyama T, Fukunaga K, Yoshida M. Oyster (<i>Crassostrea gigas</i>) Extract Attenuates Dextran Sulfate Sodium-Induced Acute Experimental Colitis by Improving Gut Microbiota and Short-Chain Fatty Acids Compositions in Mice. Foods (Basel, Switzerland) レフェリー有, 11(3):373, 2022 - Tanaka G, Hagihara N, Hosomi R, Shimono T, Kanda S, Nishiyama T, Yoshida M, Fukunaga K. Dietary Alaska Pollock Protein Attenuates the Experimental Colitis Induced by Dextran Sulfate Sodium via Regulation of Gut Microbiota and Its Metabolites in Mice. Metabolites. レフェリー有 12(1):44, 2022 - 村上由希、方 軻、王 澤蘊、下埜敬紀、神田靖士、西山利正。 漢方製剤のエストロゲン様作用と破骨細胞分化因子誘発による骨量減少モデル動物における改善効果の検討。 産婦人科漢方研究のあゆみ、レフェリー有、(38):80-86, 2022 - 方 軻、村上由希、王 澤蘊、下埜敬紀、神田靖士、西山利正。 In vitro における漢方薬の破骨細胞に対する抑制作用の検討 産婦人科漢方研究のあゆみ、レフェリー有、(38):39-47, 2022 - Ishida T, Matsui H, Matsuda Y, Shimono T, Kanda S, Nishiyama T, Hosomi R, Fukunaga K, Yoshida M. Dietary Oyster (<i>Crassostrea gigas</i>) Extract Ameliorates Dextran Sulfate Sodium-Induced Chronic Experimental Colitis by Improving the Composition of Gut Microbiota in Mice. Foods (Basel, Switzerland) レフェリー有, 11(14):2032, 2022 - Fang K, Murakami Y, Kanda S, Shimono T, Dang AT, Ono M, Nishiyama T. Unkeito Suppresses RANKL-Mediated Osteoclastogenesis via the Blimp1-Bcl6 and NF-κB Signaling Pathways and Enhancing Osteoclast Apoptosis. International journal of molecular sciences. レフェリー有。23(14):7814, 2022 - Lamaningao P, Kanda S, Shimono T, Kuroda M, Inthavongsack S, Xaypangna T, Nishiyama T. Reduction in Anti-Dengue Virus IgG Antibody Levels with the Use of a Larvicide for Vector Control in Rural Lao People's Democratic Republic. Tropical medicine and infectious disease. レフェリー有。8(1):20. 2022 - 方 軻、村上由希、神田靖士、下埜敬紀、Dang Tuan ANH、大野充昭、西山利正。 温経湯による閉経後骨粗鬆症治療のための新たな展望：エストロゲン様作用と破骨細胞分化の調節 関西医科大学雑誌。レフェリー有。74:1-5、2023 - 村上由希、方 軻、木村貴博、下埜敬紀、神田靖士、西山利正。 卵巣摘出マウスにおける漢方薬の骨減少抑制効果、 産婦人科漢方研究のあゆみ。レフェリー有。39:13-19、2023 - 村上由希, Khouanheuang Sengkhayong, 下埜敬紀, 後藤知佐, 松永範久, 西山利正, 神田靖士。 ステビア配糖体を含有した代替砂糖の持続的な摂取がマウスの体重と耐糖能に与える影響 天然甘味料ステビア配糖体の健康への影響に着目して 日本健康医学会雑誌。レフェリー有。33(1):2-12 2024			

<図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数)

該当なし

<学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月)

1. 保坂直樹、神田靖士、下埜敬紀、西山利正.
骨髄細胞からの $\gamma \delta$ T 細胞の産生 -iPS 細胞由来胸腺上皮細胞を用いて-.
第 111 回日本病理学会総会. 神戸市. 2022/04/14
2. 村上由希、方 軻、木村貴洋、下埜敬紀、神田靖士、西山利正
卵巣摘出マウスにおける漢方薬の骨減少抑制効果.
第 41 回産婦人科漢方研究会学術集会. 京都市. 2022/09/04
3. Lamaningao Pheopphet,、下埜敬紀、神田靖士、黒田真里子、Inthavongsack Somchit、Xaypangna thonelanh、西山利正.
Reduction in Anti-Dengue Virus IgG Antibody Leves in a Rural Area of the Lao people's Democratic Republic Due to the Use of a Larvicide for Vector Control.
第 63 回日本熱帯医学会大会. 別府市. 2022/10/09
4. 方 軻、村上由希、神田靖士、下埜敬紀、Dang Tuan Anh、大野充昭、西山利正
温経湯は Blimp1-Bcl6 および NF- κ B シグナル伝達経路を介して RANKL 刺激による破骨細胞形成を抑制し、破骨細胞のアポトーシスを促進させる
第 45 回日本分子生物学会年会. 千葉県. 2022/12/01
5. 安河内彦輝、下埜敬紀、神田靖士、上野孝治、宮下修行、甲田勝康、藤澤順一、大隈 和、神田晃、西山利正、大橋 順、中森 靖、日笠幸一郎
ゲノム解析に基づく北河内医療圏における新型コロナウイルス変異株の時空間分布解
日本進化学会第 25 回沖縄大会 沖縄 2023. 8
6. 木村貴博、村上由希、細見亮太、下埜敬紀、神田靖士、西山利正
婦人科処方漢方薬の骨形成に対する影響
第 42 回産婦人科漢方研究会学術集会 鹿児島 2023. 9
7. 保坂直樹、神田靖士、下埜敬紀、西山利正
骨髄細胞からの $\gamma \delta$ T 細胞の誘導 -iPS 細胞由来胸腺上皮細胞を用いて-
第 55 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会 福岡 2023. 9
8. 木村貴博、村上由希、細見亮太、下埜敬紀、神田靖士、西山利正
温経湯、加味逍遙散の骨芽細胞分化促進作用の検討
第 32 回日本健康医学会総会 大阪 2023. 11
9. 神田靖士、真砂佳広、村上由希、西山利正
サナギタケ (*Cordyceps militaris*) が有するエストロゲン作用
第 32 回日本健康医学会総会 大阪 2023. 11
10. Sengkhamyong K, Murakami Y, Goto C, Matsumaga N, Nishiyama T, Kanda S
Long-term supplementation with Stevia compound impacts the physiology of mice
第 32 回日本健康医学会総会 大阪 2023. 11
11. 木村貴博、小林きらら、神田靖士、越智綾香、笹井愛子、辻本広行、後藤知佐、松永範久、西山利正
オオウメガサソウのメラニン産生抑制効果が乳酸・グリコール酸共重合体 (PLGA) ナノ粒子化により増強される
第 1 回日本化粧品技術者会学術大会 埼玉 2023. 12
12. 木村貴博、村上由希、細見亮太、福永健治、下埜敬紀、神田靖士
卵巣摘出による閉経モデルマウスにおける婦人科処方漢方薬の作用
第 43 回産婦人科漢方研究会学術集会 福岡市 2024. 9. 1
13. Sengkhamyong K, Shimono T, Murakami Y, Lamaningao P, Seumlavanh S, Kanda S The challenge of developing new rapid tests for tuberculosis disease.
Joint Congress on Global Health 2024 2024. 11. 16
14. Lamaningao P, Sengkhamyong K, Kanda S
Producing of the soluble recombinant protein from *Opisthorchis viverrine* liver fluke for the advance in the immunodiagnostic method.
Joint Congress on Global Health 2024 2024. 11. 16

＜特許申請・取得状況＞

1. 「検査キット及び検査方法」

特願 2016-60798（出願日：2016 年 3 月 24 日）

特許第 6742773 号（登録日：令和 2 年 7 月 31 日）

出願者：西山利正、神田靖士

本特許は感染症の診断を行う際に尿に標的物質が含まれていることを高感度に検出可能であり、検査に要する作業を簡便且つ迅速に行うことの可能な検査キットを提供する。

2. 「結核感染の検査方法」

特願 2020-107042 号（出願日：2020 年 6 月 22 日）

出願者：神田靖士、西山利正、下埜敬紀

次世代シーケンサーで得られた結果から結核患者で変動する miRNA を候補として挙げた。本研究は更に網羅的解析からこれらの候補 miRNA の検証を行うとともに多検体での定量的解析から結核感染に特異的 miRNA を絞り込む。また診断キットとして製品化を行うために上記の特許第 6742773 号「尿を検体とした検査法」をしようしてキット化を目指す。

3. 「結核感染試料のスクリーニング方法及びこれに用いるプローブセット」

特願 2021-207106 号（出願日：2021 年 12 月 21 日）

PCT/JP2022/046903（出願日：2022 年 12 月 20 日）

移行国への出願（出願日：2024 年 6 月 5 日）

日本、OAPI(アフリカ諸国)、インド、シンガポール、中国、アメリカ

特許第 7599756 号（登録日：2024 年 12 月 6 日）

出願者：神田靖士、西山利正、下埜敬紀

本研究は多数の検体試料を、結核感染の陽性可能性試料と陰性可能性試料とに分別するスクリーニング方法に関し、特に、尿を検体試料として、一検体あたりのコストを抑制しつつ簡易にスクリーニングできるスクリーニング方法、及び検査用プローブセットに関する。

4. miRNA の捕集方法、捕集用メンブレンフィルター、捕集用メンブレンフィルターユニット、及び捕集用キット

特願 2022-182299（出願日：2022 年 11 月 15 日）

PCT/JP2023/040901（出願日：2023 年 11 月 14 日）

移行国への出願(出願日：2025 年 4 月 17 日)

日本、ヨーロッパ (EU)、インド、シンガポール、中国、アメリカ

発明者：神田靖士、下埜敬紀

被検体から採取された液体検体からヌクレオチド鎖を捕集する方法であって、液体検体と、キャプチャープローブ結合カチオン性高分子修飾 PLGA ナノ粒子とを接触させることと、液体検体と接触したキャプチャープローブ結合カチオン性高分子修飾 PLGA ナノ粒子からヌクレオチド鎖を回収することとを含み、前記キャプチャープローブ結合カチオン性高分子修飾 PLGA ナノ粒子は、PLGA を含むナノ粒子のコアと、コアの表面を覆うカチオン性高分子を含む被覆層と、被覆層に結合したキャプチャープローブを備え、キャプチャーはオリゴヌクレオチドである。

5. ヌクレオチド鎖の捕集方法、捕集用メンブレンフィルター、捕集用メンブレンフィルターユニット、及び捕集用キット

特願 2024-082825（出願日：2024 年 5 月 21 日）

PCT/JP2025/018456（出願日：2025 年 5 月 21 日）

発明者：神田靖士、下埜敬紀

被検体から採取された液体検体から miRNA を捕集する方法であって、液体検体と、キャプチャープローブ結合カチオン性高分子修飾 PLGA ナノ粒子とを接触させることと、液体検体と接触したキャプチャープローブ結合カチオン性高分子修飾 PLGA ナノ粒子から miRNA 回収する方法。

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	法医学講座	事業推進者名	赤根敦
所属部門	がん部門		
研究課題名	次世代シーケンサーを用いた法遺伝学研究		
キーワード	次世代シーケンサー，法医学，マイクロハプロタイプ，心筋ミトコンドリアDNA(mtDNA)解析		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	2名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 橋谷田真樹：実験，および解析の実施 赤根 敦：実験の総括			
<研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）> 1. マイクロハプロタイプ(micro haplotype, MH)マーカーの法医学的研究 マイクロハプロタイプマーカーとは、短いDNA領域に少なくとも2つ以上のSNPが存在しているマーカーのことである。法医学で個人識別に用いられている short tandem repeat (STR) マーカーでは困難な混合試料解析において、MHは有効なマーカーであると報告されている。まずは、日本人120人について、マイクロハプロタイプ74マーカーをmassive parallel sequencingで分析し、その多型解析を行った。さらに、意図的に混合試料を作成・解析し、STR解析との違いについて検討した。 日本人120人のDNA試料を用いてMH-74 Plex Research PanelによりマルチプレックスPCRを行い、ライブラリを作成した。Ion Chef Systemで前処理を行い、Ion Gene Studio S5 Systemでデータを取得後、HID_Microhaplotype_Research_PluginV1.5で型を判定した。多型解析にはオンラインツールSTRAFを用い、power of discrimination(PD), Gene Diversity(GD), Polymorphic information contents(PIC), Probably of matching(PM), Observed Hetero zygous (Hobs), probability of exclusion(PE), typical paternity index(TPI)を計算した。また、同ツールでHardy-Weinberg 平衡検定(有意水準0.05)をおこない、ボンフェローニ補正後に判定した。次に実験的に作成した混合試料の解析については、3名(A, B, C)のDNAを用い、それぞれA:B(1:1, 3:1, 9:1, 19:1), A:B:C(1:1:1, 3:2:1, 8:1:1, 9:9:2)の計8種類の混合試料を調整した。MHは1ngをテンプレートとしてMH-74 Plex Research Panelにより増幅を行い、ライブラリを作成した。Ion Chef Systemで前処理後、Ion Gene Studio S5 Systemでデータを取得し、HID_Microhaplotype_Research_Plugin v1.5で型を判定した。またSTRはGlobalFilerを用いて解析を行なった。なお、この研究は関西医大の倫理委員会の承認を得ており、使用した試薬・機器はすべてThermo Fisher Scientific社製である。 日本人120人のマイクロハプロタイプを解析した結果、総合同値確率は8.07×10^{-50}と算出された。各ローカスにおけるアレルの数は2～12(平均4.7)を示し、PDは0.080～0.958となった。74マーカーのうち多型性に乏しいもの含まれるが、その他、法医学的有効性を示す指標は次の通りである。GD:0.041～0.860, PIC:0.040～0.840, PM:0.042～0.920, Hobs:0.042～0.825, PE:0.002～0.646, TPI:0.522～2.857と算出された。また、すべてのローカスでHardy-Weinberg 平衡を			

満たしており、MH マーカーは個人識別に有効であることが確認され、日本人におけるデータベースを作成することができた。

人工的に作成した混合試料について、STR 解析の結果では A:B(9:1)や A:B:C(8:1:1)で B や C のアレルの欠失が散見されるようになり、19:1 や 9:9:2 でその数が増大した。一方、MH ではいずれの割合においてもアレル欠失がほとんど見られなかった。STR では検出できない割合の混合試料からも MH では型判定が可能であり、混合試料の解析に非常に有効であることが確認された。しかし、既報では混合の割合に応じてリード数が得られたと報告があったが、今回はそれほど正確な割合の結果は得られなかった。従って実務への応用にはより多くのデータの集積が必要であると思われる。

2. 心筋におけるミトコンドリア DNA(mtDNA)解析

ミトコンドリア DNA(mtDNA)に変異が存在すると、ミトコンドリア病を発症することが知られている。先天性の変異であれば乳幼児から症状が見られるが、年齢を重ねた後に発症することもある。これは時間が経過するとともに変異を持つ mtDNA の数が増加するためであり、特に心臓でこれが起きると心筋症の症状が出ると考えられている。心臓突然死の解剖例を中心に、同一人物の心筋と血液の mtDNA 変異を観察し、心筋での変異が疾患の原因と考えられるかどうかを検討した。

当大学での解剖例のうち、1 歳以下の乳幼児突然死 9 例、19~90 歳の突然死を含む成人 6 例を解析した。解剖中に採取した心筋（中隔部位）、および心臓血からそれぞれゲノム DNA を抽出し、Precision ID mtDNA Whole Genome Panel を用いて mtDNA 全領域の増幅を行い、Ion Chef System で前処理後、Ion Gene Studio S5 System でデータを取得した。得られたシーケンスデータは、Converge ソフトウェアで参照配列(rCRS)との変異解析を行った。なお、この研究は関西医大の倫理委員会の承認を得ており、使用した試薬・機器はすべて Thermo Fisher Scientific 社製である。

心筋と血液で全く同じ配列を示したのは 15 例中 3 例のみであったが、病原となる mtDNA 変異は観察されなかった。しかし、ATP8 遺伝子エクソン中に塩基置換があるものが 1 例（4M、就寝中の突然死）観察された。他の解析例においても、心筋と血液間でのヘテロプラスミーや心筋内でのヘテロプラスミーの存在が複数例で観察されており、突然死に心筋の mtDNA 変異が関与している可能性が示唆された。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講座等名	法医学講座	事業推進者名	赤根敦
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 1. X.Guan, T.Ohuchi, <u>M.Hashiyada</u>, M.Funayama.Age-related DNA methylation analysis for forensic age estimation using post-mortem blood samples from Japanese individuals. Legal Medicine 査読有 Vol 53, November, 2021. https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2021.101917 2. <u>Masaki Hashiyada</u>, Hiroaki Nakanishi, Minoru Asogawa, Atsushi Akane, Kazuyuki Saito, Hayato Miyachi, Motoki Osawa.Removal effect of DNA contamination by hydrogen peroxide plasma compared to ethylene-oxide gas. Legal Medicine 査読有 Vol 54, February 2022. https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2021.102009 3. 竹森杏奈, 眞鍋 翔, <u>橋谷田真樹</u>, 赤根 敦, 大内 司, 関 雪てい, 舟山真人. 74 マイクロハプロタイプマーカーを用いた日本人における多型解析. DNA 多型 査読有 vol30;96-99:2022 <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) なし <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) 1. 橋谷田真樹, 中西宏明, 大澤資樹, 眞鍋 翔, 松本智寛, 大林将弘, 赤根 敦. プラズマ滅菌による DNA コンタミネーション除去効果—EOG 滅菌との比較—. 第 105 次日本法医学会学術全国集会. 福岡. 2. 竹森杏梨, 眞鍋 翔, 橋谷田真樹, 大内 司, 関 雪婷, 舟山真人, 赤根 敦. 74 マイクロハプロタイプマーカーを用いた日本人における多型解析. DNA 多型学会第 30 回学術集会. WEB 開催. 3. 橋谷田真樹, 眞鍋 翔, 大林将弘, 榎本祐子, 松本智寛, 赤根 敦, 74 マイクロハプロタイプマーカーによる混合試料解析の検討. 第 106 次日本法医学会学術全国集会. 名古屋. 4. 橋谷田真樹 2023/06/08 最近の Y-STR, Y-SNP の話 第 107 次日本法医学会学術全国集会. 小田原 5. 橋谷田真樹, 眞鍋翔, 榎本祐子, 大林将弘, 松本智寛, 赤根敦. 法医解剖例におけるミトコンドリア DNA 解析の意義. 第 107 次日本法医学会学術全国集会. 小田原 6. 関雪てい, 大内司, 橋谷田真樹, 舟山真人 2023/06/08 The report on age-related Differential DNA methylation areas in human bones and blood samples. 第 107 次日本法医学会学術全国集会. 小田原. <特許申請・取得状況> なし			

研究成果報告書（研究概要）

講 座 等 名	分子遺伝学部門	事業推進者名	植田祥啓
所 属 部 門	がん部門		
研究課題名	リンパ節のホーミングの分子機構に関する研究		
キーワード	ケモカイン、抗原受容体、インテグリン、細胞移動		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	3 名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞ 木梨達雄・教授（研究統括）2023 年 3 月まで 植田祥啓・准教授（胸腺内動態） 上岡裕治・講師（リンパ球動態） 近藤直幸・講師（免疫シナプス） 池田幸樹・助教（薬剤探索）2023 年 3 月まで 福原貴太郎・研究員（リンパ球動態）2023 年 3 月まで 堀谷俊介・研究員（リンパ球動態）2023 年 3 月まで			
＜研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）＞ 1. リンパ球の極性形成（前後形成）は組織内、組織間移動における運動性や方向性に重要な役割を果たす。低分子 G タンパク Rap1 はリンパ球のインテグリンを活性化して接着を誘導する分子であるが、極性形成における役割は明らかでない。我々は Rap1 欠損 T 細胞を単離してケモカインで刺激し、極性形成をイメージストリームと人工知能により定量した。F 正常型に比べ、Rap1 欠損 T 細胞においては、極性形成の効率が低下し、一方、Rap1 の不活性化を誘導する RapGAP のノックアウトでは自発的に極性形成をすることがわかった。よって Rap1 はケモカインによる T 細胞の極性形成過程に重要な役割を果たしていると考えられる。細胞の後端の伸長には低分子 G タンパク RhoA によるミオシンの活性化とそれによる張力が必要である。Rap1 欠損 T 細胞におけるミオシンの活性化を検討したところ、Rap1 欠損 T 細胞では RhoA の活性化およびミオシンの軽鎖のリン酸化・後方への局在が低下した。逆に RapGAP のノックアウトでは basal の RhoA の活性化、ミオシン軽鎖のリン酸化が亢進していた。よって RhoA の制御およびミオシンの活性化・局在の破綻が Rap1 の欠損 T 細胞の極性形成異常に関与する可能性がある。Talin1 は Rap1 の下流でインテグリンに結合し活性化する因子である。我々は Talin1 がインテグリンの非依存的に極性形成を促進することを見出した。Talin1 欠損マウスでは矯正形成が阻害されるが RhoA の活性化を変えずにミオシンのリン酸化に必要であることが明らかとなった。今後 Rap1 や Talin1 による RhoA とミオシンの活性化のメカニズムを検討する予定である。(Ueda et al. <i>iScience</i> 2023) 2. Rap1 は GEF によって活性化され、GAP により不活性化される。生体内における GAP の Rap1 不活性化の重要性は未だ解明されていない。我々は、ノックアウトモデルにより Rap1 不活性化タンパク質である Rasa3 と Sipal がリンパ球輸送の重要な調節因子であることを明らかにした。T 細胞における Rasa3 と Sipal の欠損のより、恒常的に Rap1 が活性化され、インテグリンリガンドにおける自発的な接着を誘導した。これと関連してインテグリン LFA1 や Rap1 依存的に Rasa3・Sipal 二重欠損 T 細胞は毛細血管床への強固な接着により肺に捕捉された。欠損 T 細胞はリンパ節への侵入の過程は正常である一方で、スフィンゴシン-1-リン酸に対するより強い走化性反応示すにもかかわらずリンパ節からの移出は著しく遅延しました。二光子顕微鏡によりリンパ洞内の欠損 T 細胞の動態を観察したところ、変異 T 細胞はリンパ洞内で高い運動性を維持し、リンパ節実質への頻繁な逆戻りを引き起こすことが明らかとなった。(Horitani et al. <i>Frontier in Immunology</i> 2023) 3. ヒト化マウスにおける免疫応答は、一般的に非効率的である。我々は以前、放射線照射を受けた成体免疫不全マウス（IBMI-huNSG マウス）の骨髄内に CD133 陽性臍帯血細胞を注入すること			

でヒト化マウスを作製し、HTLV-1 に対する機能的な免疫応答を誘導できることを示したが、そのメカニズムは未だ解明されていない。ヒトの MHC の遺伝子導入によりヒト科マウスの免疫応答が促進されていることが報告されていることから、我々は、ヒトおよびマウスの MHC 拘束性の役割に焦点を当て、IBMI-huNSG マウスにおける胸腺細胞の発達を解析した。

IBMI-huNSG マウスは正常な発達プロファイルを示したが、胸腺の構造に異常が見られた。免疫付与後、CD205 陽性樹状細胞 (DC) を含む HLA-DR 陽性細胞の増加に伴う胸腺細胞の増殖促進により、胸腺髄質様領域が拡大した。HLA-DR に対する中和抗体で免疫した IBMI-huNSG マウスの胸腺を器官培養したところ、CD4 単核陽性胸腺細胞が HLA-DR 依存的に増殖することが示された。成熟末梢 T 細胞は、ヒト末梢血単核細胞と共培養したところ、アロ反応性増殖を示した。免疫 IBMI-huNSG マウスの胸腺の生体イメージングでは、ヒト由来胸腺細胞と樹状細胞 (DC) が Rap1 の活性化に伴う動的な接着性接触を示すことが明らかになった。免疫による HLA-DR 陽性細胞の増加がヒト化マウスにおける HLA 拘束性胸腺細胞の増殖を促進すると考えられる。(Fukuhara et al. *Int J Mol Sci.* 2023)

4. 白血球の一つである T 細胞は我々の体の中で絶えず循環し、免疫監視を行っている。リンパ節へのホーミングにおいては血中を流れる T 細胞とリンパ節血管内皮との間では、まず「セレクトインと糖鎖」の結合によって“ローリング”とよばれる弱い接着が起こり、次に接着分子インテグリンによる強い接着によって数秒以内に T 細胞が血管内で停止接着する。この過程で接着制御因子 Rap1 が活性化し、その下流のシグナル伝達分子である Talin1 および Kindlin-3 がインテグリン細胞内領域に結合すると考えられている。しかし、血流環境下の接着制御や異なるインテグリンにおける制御の相違についてはこれまで不明であった。さまざまな T 細胞特異的遺伝子改変マウスを用いて *in vivo* 解析を行ったところ、Rap1 と Talin1 はホーミングに必須であったのに対して、Kindlin-3 の欠損効果は 50%程度だった。また、Kindlin3 欠損 T 細胞は細い内径の高内皮細静脈 (HEV) への接着が阻害された。次に血管内皮との接着過程を正確に測定するために、疑似血管評価系を樹立し解析した。LFA1 と ICAM1 の組み合わせで調べたところ、ICAM1 のみではローリングは起こらないが、糖鎖修飾された CD34 のみと比較して、CD34 と ICAM1 の両方が存在することでローリングの頻度が亢進した。Rap1 活性化および Talin1 の局在を検出する蛍光イメージングの手法を用いて詳細に解析した結果、slow rolling の開始時に LFA1 が ICAM1 と Talin1 にほぼ同時に結合し、Rap1 活性化因子 RasGRP2 および C3G によって瞬時に Rap1 が活性化すること、Talin1 が Rap1 の活性化に必要なが、Kindlin-3 は必要ないことがわかった。一方、ケモカイン刺激による停止接着には Rap1、Talin1、Kindlin-3 が必要であった。これらのことから「outside-in シグナル」と「inside-out シグナル」が同時に起こることで Rap1 が活性化し、Talin1 と ICAM1 に結合した LFA1 は、低親和性から slow rolling に適した中親和性に変化し、ケモカイン刺激によってさらに Rap1 が活性化されると、Talin1 と Kindlin-3 によって高親和性へ変化することが示唆された。実際、Rap1 不活化因子である Rasa3 および Sipal を欠損した T 細胞では Rap1 が活性化したが、LFA1 は高親和性に変化せず、膜上の ICAM1 に結合すると高親和性結合することがわかり、LFA1 の親和性変化に「outside-in シグナル」と「inside-out シグナル」が同時に必要であるモデルが考えられた。一方、腸管に発現する MAdCAM1 とインテグリン $\alpha 4 \beta 7$ との組み合わせでは、MAdCAM1 のみでローリングと一部停止接着が起こり、ケモカイン刺激で停止接着が増加した。 $\alpha 4 \beta 7$ /MAdCAM1 によるローリングには Rap1、Talin1、Kindlin-3 は不要であった。興味深いことに、Rasa3 および Sipal の欠損によって Rap1 が活性化した T 細胞では、流れのない状態では $\alpha 4 \beta 7$ /MAdCAM1 による接着が亢進したが、流れがある状態ではローリング・停止接着が阻害されるという、LFA1/ICAM1 と逆の現象を発見した。解析の結果、 $\alpha 4 \beta 7$ は LFA1 と異なり、Rap1 の活性化によって高親和性に変化していることがわかった。高親和性 $\alpha 4 \beta 7$ は結合速度・解離速度がともに遅いことが報告されており、これらのことが流れ存在下で MAdCAM1 に結合できない原因と推察された。 $\alpha 4 \beta 7$ は MAdCAM1 に結合すると自動的にローリングに適切な親和性 (中親和性) に変化し、ケモカイン刺激で Rap1 が活性化することによって高親和性結合となり停止すると考えられ、「outside-in シグナル」から「inside-out シグナル」への連続したプロセスが $\alpha 4 \beta 7$ によるローリングから停止に必要なことが分かった (Kamioka et al. *Cell Reports* (2023))。

5. 接着分子インテグリン LFA1 ($\alpha L / \beta 2$) は T 細胞上に発現し、同じく T 細胞上に発現する TCR が抗原提示細胞 (APC) 上の異物由来ペプチド・MHC 複合体 (pMHC) を認識することにより活性化し、LFA1 のリガンドである ICAM1 と結合することにより、T 細胞と抗原提示細胞の間に特殊な細胞接

着構造（免疫シナプス, Immunological Synapse, IS）を形成する。IS は数時間にわたる持続的な TCR の抗原認識による T 細胞の増殖を促進する装置として働き、獲得免疫の初期段階を制御する重要な働きを担う。IS では、接着面中央に TCR/pMHC のクラスター（central supramolecular adhesion complex, cSMAC）があり、それを取り巻くように LFA1/ICAM1 が分布する peripheral SMAC（pSMAC）が形成される。近年の近藤らの研究から、cSMAC に近接して MTOC や小胞などの細胞内オルガネラが IS に再配置し、それらは LFA1 の活性化依存的に誘導されることを解明していたが、その制御機構の詳細は不明であった（Kondo *et al.* (2017) *Mol. Cell. Biol.* 00424-16）。本研究では、その理解の基盤となる LFA1 活性化シグナルの詳細解明を目指して実験を行った。

LFA1 の活性化は双方向的な 2 種類のシグナル経路、inside-out と outside-in シグナル経路により制御されている。一般的には inside-out 経路は TCR やケモカイン刺激に端を発し、LFA1 の活性化因子である Rap1 の活性化やその下流にある talin1（Tln1）と kindlin-3（Kin3）の LFA1 への結合を促すことで LFA1 を活性化する経路であり、outside-in 経路はその後、活性化した LFA1 と細胞骨格を繋げ LFA1 の活性型を安定化させる経路である。先ず初めに、各々の双方向性シグナルの LFA1 活性化における重要性を調べる目的で、Tln1 や Kin3 をリンパ球内で一分子レベルで可視化できる全反射顕微鏡を用いた実験系を立ち上げ、各種刺激依存的な接着面近傍での分子動態の変化を調べたところ、inside-out 刺激による Tln1/Kin3 の変化は僅かであったが、outside-in 刺激により Tln1/Kin3 は LFA1 への結合頻度と結合時間を大きく上昇させることが分かった。更なる解析から、outside-in シグナルにより Rap1 も強く活性化し、LFA1 自身も接着面に強く蓄積することが明らかになった（Kondo *et al.* (2021) *Sci. Signal.* eabf2184）。Outside-in シグナルの作用機序を調べる目的で LFA1 を安定な可視化可能なリンパ球を作製し超解像顕微鏡を用いて outside-in 刺激による細胞内 LFA1 の変化を調べたところ、LFA1 は刺激依存的に細胞内でクラスター化することを発見した（Kondo *et al.* (2024) *PNAS Nexus* pgae332）。さらに、LFA1 のクラスターに共局在する分子群を探索したところ、興味深いことに、オートファジーにおけるオートファゴソームの制御因子である LC3 が共局在することが明らかになった。LC3 の欠損は outside-in 刺激依存的な LFA1 のクラスター化を阻害し、LFA1 依存的接着も低下させたことから、LC3 は新規の LFA1 制御因子であることが明らかになった（Kondo *et al.* (2025) *Nat. Commun.* 1343）。今後、この新規 LFA1 制御機構が IS の形成や細胞内オルガネラの再配置にどのように寄与しているのかを精査していく予定である。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	分子遺伝学部門	事業推進者名	植田祥啓
＜雑誌論文＞（著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年） （原著） 2024 年 (R6 年度) 1. Fukui K, Murakawa T, Hino N, <u>Kondo N</u>, Yano T, ATP binding controls the molecular function of bacterial MutS2 by mediating closure of the dimeric clamp structure., <i>Structure</i>. https://doi.org/10.1016/j.str.2025.03.003 レフェリー有 2. <u>Kondo N</u>, Mimori-Kiyosue Y, Tokuhiko K, Pezzotti G, <u>Kinashi T</u>, The autophagy component LC3 regulates lymphocyte adhesion via LFA1 transport in response to outside-in signaling, <i>Nature Communications</i>,16, Article number: 1343. Feb 2025, https://doi.org/10.1038/s41467-025-56631-1. レフェリー有 3. Fukui K, <u>Kondo N</u>, Murakawa T, Baba S, Kumasaka T, Yano T. dUTP pyrophosphatases from hyperthermophilic eubacterium and archaeon: Structural and functional examinations on the suitability for PCR application, <i>Protein science</i>, 2024Nov;33(11):e5185 doi: 10.1002/pro.5185.5 レフェリー有 4. Tran QTH, <u>Kondo N</u>, Ueda H, Matsuo Y and Tsukaguchi H, Altered Endoplasmic Reticulum Integrity and Organelle Interactions in Living Cells Expressing INF2 Variant, <i>Int. J. Mol. Sci.</i> 2024, 25(18), 9783; https://doi.org/10.3390/ijms25189783Submission , September 2024 レフェリー有 5. <u>Kondo N</u>, <u>Ueda Y</u>, <u>Kinashi T</u>, Low-affinity LFA1-dependent outside-in signaling mediates avidity modulation via the Rabin8-Rab8 axis, <i>PNAS Nexus</i>, Volume 3, Issue 8, August 2024, pgae332, https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgae332 レフェリー有 6. Nguyen LM, Kanda A, <u>Kamioka Y</u>, Tokuhiko K, Kobayashi Y, Yun Y, Bui DV, Chu HH, Le NKT, Suzuki K, Mitani A, Shimamura A, Fukui K, Dombrowicz D, Iwai H. Mouse eosinophil-associated ribonuclease-2 exacerbates the allergic response. <i>Allergy</i>. August 2024 DOI: 10.1111/all.16061 7. Sato K, Teranishi S, Sakaue A, Karuo Y, Tarui A, Kawai K, Takeda H, <u>Kinashi T</u>, Omote M. Rhodium-catalyzed homo-coupling reaction of aryl Grignard reagents and its application for the synthesis of an integrin inhibitor, <i>Beilstein journal of organic chemistry</i>, 20:1341-1347, June 2024 2023 年度 (R5 年度) 8. Kobayashi S, <u>Kondo N</u>, Tomiyama T, Nakamura N, Masuda M, Matsumoto Y., Honzawa Y, Tahara T, Ikeura T, Fukui T, Okazaki K, Naganuma M. Intravenous injection of tumor extracellular vesicles suppresses tumor growth by reducing the regulatory T cell phenotype, <i>Cancer immunology, immunotherapy: CII</i> 72(11):3651-3664, 2023/11 9. Takeuchi K, Senda M, <u>Ikeda Y</u>, Okuwaki K, Fukuzawa K, Nakagawa S, Sasaki M, Sasaki AT, Senda T. Functional molecular evolution of a GTP sensing kinase: PI5P4Kβ, <i>The FEBS journal</i>, 290(18):4419-4428, 2023/09 10. <u>Ueda Y</u>, Higasa K, <u>Kamioka Y</u>, <u>Kondo N</u>, <u>Horitani S</u>, <u>Ikeda Y</u>, Bergmeier W, Fukui, Y, <u>Kinashi T</u>. Rap1 organizes lymphocyte front-back polarity via RhoA signaling and talin1. <i>iScience</i>, 2023 Jul 11;26(8):107292. eCollection 2023 Aug 18., DOI: 10.1016/j.isci.2023.107292, 2023/07 レフェリー有 11. Horitani S, <u>Ueda Y</u>, <u>Kamioka Y</u>, <u>Kondo N</u>, <u>Ikeda Y</u>, Naganuma M, <u>Kinashi T</u>. The critical role of Rap1-GAPs Rasa3 and Sipal in T cells for pulmonary transit and egress from the lymph nodes, <i>Frontiers in</i>			

immunology, 14:1234747, 2023/07 レフェリー有

12. Fukuhara T, Ueda Y, Lee SI, Odaka T, Nakajima S, Fujisawa JI, Okuma K, Naganuma M, Okazaki K, Kondo N, Kamioka Y, Matsumoto M, Kinashi T. Thymocyte Development of Humanized Mice Is Promoted by Interactions with Human-Derived Antigen Presenting Cells upon Immunization, *International journal of molecular sciences*, 24(14):11705, 2023/07 レフェリー有
13. Ueda H, Tran QTH, Tran LNT, Higasa K, Ikeda Y, Kondo N, Hashiyada M, Sato C, Sato Y, Ashida A, Nishio S, Iwata Y, Iida H, Matsuoka D, Hidaka Y, Fukui K, Itami S, Kawashita N, Sugimoto K, Nozu K, Hattori M, Tsukaguchi H. Characterization of cytoskeletal and structural effects of INF2 variants causing glomerulopathy and neuropathy, *Scientific reports*, 13(1):12003, 2023/07
14. Kamioka Y, Ueda Y, Kondo N, Tokuhiko K, Ikeda Y, Bergmeier W, Kinashi T. Distinct bidirectional regulation of LFA1 and $\alpha 4\beta 7$ by Rap1 and integrin adaptors in T cells under shear flow, *Cell reports*, 42(6):112580, 2023/06 レフェリー有

2022 年度 (R4 年度)

15. Thuy H, Ueda H, Tran L, Kondo N, Tsukaguchi H. High-Resolution Imaging of Inter-Organellar Interaction and Vesicle Trafficking in Live-Cells Expressing the INF2 Variants. *Journal of The American Society of Nephrology*. 2022;33:413-.

2021 年度 (R3 年度)

16. Ikeda Y, Hirayama A, Kofuji S, Hirota Y, Kamata R, Osaka N, Fujii Y, Sasaki M, Ikeda S, Smith EP, Bachoo R, Soga T, Sasaki AT. SI-MOIRAI: A new method to identify and quantify the metabolic fate of nucleotides, *J Biochem.*, 2021. 7, Online ahead of print. 2022 Jan 7;170(6):699-711. DOI:10.1093/jb/mvab077. レフェリー有
17. Kondo N, Ueda Y, Kinashi T., Kindlin-3 disrupts an intersubunit association in the integrin LFA1 to trigger positive feedback activation by Rap1 and talin1, *Sci Signal.*, 2021, Vol 14, Issue 686. DOI: 10.1126/scisignal.abf2184 レフェリー有

<図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数)

該当なし

<学会発表> (発表者名・発表タイトル・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月)

2024 年 (R6 年度)

1. ◎Ueda Y, Kondo N, Kamioka Y, Kinashi T, Small-GTPase Rap1 and downstream integrin activators talin1 and kindlin-3 are required for efficient proliferation of T cells independently of LFA1, The 53st Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, December 5, 2024, [WS23-18-P], Nagasaki
2. ◎近藤 直幸, 植田 祥啓, 木梨 達雄, 低親和性型インテグリン LFA1 が誘導する Rabin8-Rab8 シグナル伝達経路の発見, 第 47 回日本分子生物学会、2024 年 11 月 28 日 [2P-399]、福岡
3. ◎近藤直幸, スプラ蛋白質工学が目指すものとその確立に向けた共同研究体制の構築、第 47 回日本分子生物学会、2024 年 11 月 28 日 [2F-08]、福岡

2023 年度 (R5 年度)

4. ◎Ueda Y, Higasa K, Kamioka Y, Kondo N, Horitani S, Ikeda Y, Bergmeier W, Fukui Y, Kinashi T. “Rap1-

Talin1 axis facilitates front-back cell polarity independent of talin1 binding to integrins in lymphocytes.” The 52nd Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2024 Jan.17-19(WS10-07-P), Chiba. (ポスター)

5. ◎Horitani S, Ueda Y, Kamioka Y, Kondo N, and Kinashi T. “Rap1-GAPs Rasa3 and Sipal are required for pulmonary transit and egress from the lymph nodes in T cells.” The 52nd Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2024 Jan.17-19(WS10-08-O/P), Chiba. (口頭・ポスター)
6. ◎Kamioka Y, Ueda Y, Kondo N, Kinashi T. “Distinct bidirectional regulation of integrins by Rap1, talin1 and kindlin-3 in T cells under shear flow.” The 52nd Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2024 Jan.17-19(WS27-02-P), Chiba. (ポスター)
7. ◎近藤直幸, 清末優子, 木梨達雄 「オートファゴソーム含有因子 LC3 によるリンパ球細胞接着面へのインテグリン LFA1 輸送の制御」日本生化学会大会、2023 年 10 月 31 日—11 月 1 日 (1P-302)、福岡 (ポスター)
8. ◎トランチュイフォンクイン, 近藤直幸, 塚口裕康 “Cytoskeleton-Organelle Interaction in Cells Expressing INF2 Variants that Cause Glomerulopathy and Peripheral Neuropathy.” 日本生化学会大会、2023 年 10 月 31 日—11 月 1 日 福岡

2022 年度 (R4 年度)

9. ◎Kinashi T. “Recent progress of integrin research and integrin-targeted therapeutics for immune diseases.” The 51st Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2022 Dec.8 (C04-01), Kumamoto. (招待講演)
10. ◎Kondo N, Kamioka Y, Ikeda Y, Ueda Y, Kinashi T. “Distinct binding properties of integrin adaptors talin1 and kindlin-3 to LFA1 and $\alpha 4$ integrins modulate adhesive responses in static and shear-flow conditions.” The 51st Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2022 Dec.9(WS22-09-O/P), Kumamoto. (口頭・ポスター)
11. ◎Ueda Y, Higasa K, Kamioka Y, Kondo N, Horitani S, Ikeda Y, Fukuhara T, Fukui Y, Kinashi T. “Rap1 facilitates cell polarization via RhoA signaling in T cells.” The 51st Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2022 Dec.9(WS17-09-O/P), Kumamoto. (口頭・ポスター)
12. ◎Kamioka Y, Ueda Y, Kondo N, Ikeda Y, Kinashi T. “Subsecond Rap1 activation by outside-in signaling of LFA1/ICAM1 interactions strengthens L-selectin mediated rolling of T cells.” The 51st Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2022 Dec.9(WS22-17-P), Kumamoto. (ポスター)
13. ◎Horitani S, Ueda Y, Kamioka Y, Kondo N, Ikeda Y, Fukuhara T, Naganuma M. and Kinashi T. “The critical role of Rap1GAPs in T cell recirculation and egress from lymph node.” The 51st Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2022 Dec.7(WS01-18-P), Kumamoto. (ポスター)
14. ◎Ikeda Y, Takeda H, Kinashi T. “A Design of integrin-miniature for novel therapeutics against virus infections.” The 45th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2022 Dec. 1 (2P-674), Chiba (ポスター)

2021 年度 (R3 年度)

15. ◎N. Kondo, Y. Ueda, T. Kinashi, Kindlin-3 breaks of integrin LFA-1 inhibitory clasp to promote positive feedback activation of LFA-1 by talin1 and Rap1, The 50th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2021 Dec.8 (1-C-WS3-18-P), Nara.

16. ◎Y. Ueda, K. Higasa, Y. Kamioka, N. Kondo, T. Kinashi, Rap1 facilitates T cell polarity via spatial regulation of MLC and ARAP1, The 50th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology ,2021 Dec.8 (1-D-WS4-19-P), Nara.
17. ◎Y. Kamioka, Y. Ueda, N. Kondo, T. Kinashi, Differential requirement of Rap1 and integrin adaptors for distinct modalities of T cell adhesion under shear flow, The 50th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology ,2021 Dec.8 (1-C-WS3-17-O/P), Nara.
18. ◎池田 幸樹, インテグリンとインテグリン結合性タンパク質間の相互作用の定量化, 第 44 回日本分子生物学会年会(The 44th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan),2021 Nov. 2[2LBA-073], 横浜
19. ◎近藤 直幸, 細胞内アダプタータンパク質の一分子動態計測によるインテグリン LFA-1 活性化機構の解明, 第 94 回日本生化学大会(The 94th Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society), 2021 Nov 3 [1T13e-05 (P-682)], Web 開催

<特許申請・取得状況>

該当なし

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	神経機能部門	事業推進者名	小早川令子
所属部門	神経部門		
研究課題名	人工冬眠・生命保護作用を利用した創薬技術の開発		
キーワード	人工冬眠、生命保護、先天的恐怖臭		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	9名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞			
人工冬眠・生命保護作用誘発原理の解明の実施：小早川令子、小早川高、松尾朋彦、林勇一郎、安田亜衣子、金河大、唐麗君、松田烈士、山田新太郎			
＜研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）＞			
1. 先天的恐怖臭による人工冬眠・生命保護状態の誘導メカニズムの解明			
生物は生命の危機に瀕した際、潜在的な生体防御能力を発揮することが知られている。たとえば、冷水への顔面浸漬によって三叉神経が刺激されることで誘発される「潜水反射」や、強い恐怖により迷走神経が活性化される「迷走神経反射」は、人においても顕著な生理変化を引き起こすことが知られている。これらは進化的に獲得された生命防御機構と考えられているが、未だ臨床応用には至っていない。			
本研究では、生命維持と密接に関連する「先天的恐怖」に着目した。我々は、捕食者由来の恐怖誘導物質TMT(2,4,5-トリメチル-3-チアゾリン)を化学的に最適化し、人工的に強力な恐怖反応を誘導するチアゾリン誘導体(TFOs)を開発した。TFOsはマウスにおいて顕著な低体温、低代謝、低酸素抵抗性を誘導し、致死的低酸素下での生存期間を延長させ、虚血再灌流モデルの損傷も軽減することが明らかになっていたが、これらの生理応答に関わる分子メカニズムは不明であった。			
我々の以前の研究により、TFOが誘導する先天的恐怖行動は、嗅覚経路と三叉神経経路の2つの異なる経路によって制御されることが示唆されていた。TRPA1は、からしやわさびの辛み成分であるAITC、化学刺激物質のホルマリン、炎症によって発生する4HNEやH ₂ O ₂ などの内因性刺激など様々なシグナルを感知して痛みや危機情報を脳に伝えるアラームセンサーと考えられている。これらの知見を発展させ、我々はTRPA1が危機状態を感知するセンサーとして機能するのみでなく、危機状態の生存確率を上昇させる保護作用の誘導も担うのではないかと仮定した。この仮説に基づいた様々な実験を実施した結果、tFOは三叉神経および迷走神経に存在するTRPA1を介して感知され、情報は脊髄三叉路核(Sp5)および孤束核(NTS)に伝達されることで、低体温、低代謝、低酸素耐性といった生理反応を誘導することが明らかとなった。さらに、TRPA1およびSp5/NTS活性を指標とすることで、既知のTFOよりも約10倍の致死的低酸素環境での生存延長効果を持つ新規化合物の同定にも成功した。これらの成果は、TRPA1が単なる危険センサーではなく、先天的恐怖に基づく生理応答の司令塔として機能し、極限環境下での生存能力の獲得に重要な役割を果たすことを示すものである。			

2. 疾患モデル動物に対するTFOの治療効果の検討

我々は、TFOが脳梗塞モデル、皮膚虚血再灌流モデル、低酸素障害モデルに対する治療効果を持つことをすでに報告していた。これに加え、本研究ではエンドトキシンショックモデルおよび心筋梗塞モデルに対するTFOの治療効果を検討した。

まず、エンドトキシンショックモデルにおいてTFOの代表的な化合物である2-Methylthiazoline (2MT)が循環および腸管血流に与える影響を検討した。ウサギを用いてコントロール群、LPS群、2MT群、LPS-2MT群を作成し、平均動脈圧(MAP)、心係数、乳酸値、上腸間膜静脈(SMV)血流、空腸粘膜組織血流を240分間にわたり評価した。LPS単独群ではMAPと粘膜血流が低下したが、2MT併用によりこれらは有意に改善した。特に空腸粘膜血流は90～180分および240分で有意な回復を示し、対照群と同等のレベルまで回復した。この結果は、末梢血管を収縮させることでMAPを上昇させるノルエピネフリンとは異なり、2MTが末梢組織の灌流改善を伴って循環を維持する可能性を示唆する。2MTはエンドトキシンショックにおける循環維持および腸管組織の虚血改善に有用である可能性が示唆された。

次に、マウスを用いて左前下行枝(LAD)結紮による心筋I/Rモデルを作成し、再灌流前に2MTを皮下投与した。24時間後に評価を行ったところ、2MT投与群では左室駆出率(EF)が有意に維持され、梗塞サイズも有意に減少した。また、血中心筋トロポニン(cTnI)濃度や心筋内の酸化ストレス指標も2MTにより抑制された。マイクロアレイ解析により、これらの変化は遺伝子発現レベルでも支持された。2MTは一過性の軽度な体温低下を誘導し、数時間以内に自然回復した。心筋のメタボローム解析では、2MTが酸化ストレスの軽減に寄与するようエネルギー代謝を抑制的に制御することが示唆された。さらに、18F-FDG PET/CTにより褐色脂肪組織の代謝活性が抑制され、心筋細胞におけるミトコンドリア呼吸および解糖系活性も低下していた。2MTの全身投与は、軽度かつ可逆的な低体温を介して心筋のエネルギー需要を抑制し、心I/R障害に対する保護効果を示した。これらの結果は、2MTを用いた薬剤誘導型低体温療法が重度虚血性心疾患に対する補助治療として有望である可能性を示唆している。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講座等名	神経機能部門	事業推進者名	小早川令子
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 1. <u>Matsuo T</u>, Isosaka T, <u>Hayashi Y</u>, Tang L, Doi A, <u>Yasuda A</u>, Hayashi M, Lee CY, Cao L, Kutsuna N, Matsunaga S, Matsuda T, Yao I, Setou M, <u>Kanagawa D</u>, Higasa K, Ikawa M, Liu Q, <u>Kobayakawa R</u>, <u>Kobayakawa K</u>. Thiazoline-related innate fear stimuli orchestrate hypothermia ad anti-hypoxia via sensory TRPA1 activation. <i>Nat Commun.</i> 12: 2074, 2021 2. Nishi M, Ogata T, <u>Kobayakawa K</u>, <u>Kobayakawa R</u>, <u>Matsuo T</u>, Cannistraci CV, Tomita S, Taminishi S, Suga T, Kitani T, Higuchi Y, Sakamoto A, Tsuji Y, Soga T, Matoba S. Energy-sparing by 2-methyl-2-thiazoline protects heart from ischaemia/reperfusion injury. <i>ESC Heart Fail.</i> 9(1): 428-441, 2021 3. Onoe A, Muroya T, Nakamura F, Ikegawa H, Kuwagata Y, <u>Kobayakawa R</u>, <u>Kobayakawa K</u>. Effects of 2-methyl-2-thiazoline (2MT) on circulatory dynamics and intestinal vascular system in rabbits with endotoxic shock. <i>Shock</i>, 58(4): 341-347, 2022 4. Asaba A, Nomoto K, Osakada T, <u>Matsuo T</u>, <u>Kobayakawa K</u>, <u>Kobayakawa R</u>, Touhara K, Mogi K, Kikusui T. Prelimbic cortex responds to male ultrasonic vocalizations in the presence of a male pheromone in female mice. <i>Front Neural Circuit</i>, 16: 956201, 2022 5. <u>Hayashi Y</u>, <u>Kobayakawa K</u>, <u>Kobayakawa R</u>. The temporal and contextual stability of activity levels in hippocampal CA1 cells. <i>Proc Natl Acad Sci U S A</i>. 120 (17): e2221141120, 2023 6. Fujimoto S, Leiwe MN, Aihara S, Sakaguchi R, Muroyama Y, <u>Kobayakawa R</u>, <u>Kobayakawa K</u>, Saito T, Imai T. Activity-dependent local protection and lateral inhibition control synaptic competition in developing mitral cells in mice. <i>Dev Cell</i>. 58(14): 1221-1236. e7, 2023 <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) 1. <u>小早川高</u>・中外医学社・Clinical Neuroscience・2022-5・p680-681 2. <u>小早川高</u>・羊土社・実験医学・2023 年・vol.41, No.4, p564-571 3. <u>小早川高</u>・羊土社・実験医学・2024 年・vol. 41, No.20, p3415-3422 <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地(海外の場合は国名と都市名)・発表年月) 口頭発表 1. <u>Ko Kobayakawa</u>・Artificial hibernation/life-protective state induced by thiazoline-related innate fear odors via sensory TRPA1 activation・第 44 回日本神経科学大会・2021 年 7 月 30 日 2. <u>Tomohiko Matsuo</u>, Tomoko Isosaka, <u>Reiko Kobayakawa</u>, <u>Ko Kobayakawa</u>・Molecular and neural mechanism of life-protective effects induced by thiazoline-related innate fear odors in mice・第44回日本神経科学大会/CJK 第1回国際会議・2021 年 7 月 28-31 日 3. <u>小早川高</u>・匂い分子による人工冬眠・生命保護状態の誘導・低酸素研究会 2021・2021 年 9 月 4 日 4. <u>Ko Kobayakawa</u>・Artificial hibernation/life-protective state induced by thiazoline-related innate fear odors・日本味と匂学会第 55 回大会・2021 年 9 月 22～24 日			

5. 小早川 令子・先天的恐怖臭が誘導する人工冬眠・生命保護作用・第74回日本自律神経学会総会・2021年10月23日
6. 林勇一郎・海馬CA1細胞の活性レベルの時間・文脈依存性・第45回日本神経科学大会・2022年7月3日
7. 小早川 高・嗅覚刺激による恐怖情動の制御・第8回がん代謝研究会・2022年7月19日
8. 松尾 朋彦・Artificial innate fear-evoking odorant activates a TRIP11-Sp5/NST-PBN pathway and induces systemic hypothermia, hypometabolism, and hypoxic resistance・日本味と匂学会第56回大会・2022年8月22～24日
9. 小早川 高・先天的恐怖臭刺激で潜在的な保護作用を誘導する感覚創薬技術・日本食品免疫学会第18回学術大会・2022年11月8-9日
10. 松尾 朋彦・Life-protective state induced by artificial innate fear-evoking odorants・第19回国際シンポジウム“味覚嗅覚の分子神経機構”・2023年3月18日-19日
11. 小早川 令子・先天的恐怖臭刺激により人工冬眠・生命保護状態を誘導する感覚医学・創薬技術・第101回日本生理学会大会・2024年3月30日
12. 小早川 令子・先天的恐怖臭刺激が誘導する人工冬眠・生命保護状態・第77回日本自律神経学会総会・2024年10月25日-26日

ポスター発表

1. Yuichiro Hayashi・Constrained NMF-based extraction method of calcium activity from wide-field volumetric imaging data・第44回日本神経科学大会・2021年7月31日
2. 林勇一郎・The spatial context representation in the medial prefrontal cortex・第46回日本神経科学大会・2023年8月1日-4日
3. 林勇一郎・The organization of spatial coding in the hippocampal CA1 area・生理研シナプス研究会・2023年10月19-20日
4. 松田 烈士、小早川 令子、小早川 高・グリア摂動による新たな休眠様低代謝状態誘導法の開発・第97回日本薬理学会・2023年12月14日
5. 松尾 朋彦、林勇一郎、小早川 高、小早川 令子・アセチルコリン経路を介した中脳腕膀核による低酸素耐性の制御・第47回日本神経科学大会・2024年7月23日～27日
6. 林勇一郎、小早川 高、小早川 令子・広大な空間における歯状回細胞の場所細胞特性・第47回日本神経科学大会・2024年7月23日～27日
7. 松田 烈士、小早川 令子、小早川 高・自律神経機能におけるアストロサイトの役割・第47回日本神経科学大会・2024年7月23日～27日

<特許申請・取得状況>

13. 小早川 高、小早川 令子、「感覚刺激性向精神薬」、PCT/JP2021/28583 (2021年8月2日)
14. 小早川 高、小早川 令子、「認知症又はせん妄の予防又は治療剤」、特願 2024-084662(2024年5月24日)

15. 小早川高、小早川令子、「神経変性疾患の予防又は治療剤」、特願 2024-084662(2024 年 5 月 24 日)

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	侵襲反応制御部門	事業推進者名	松尾禎之
所属部門	代謝部門		
研究課題名	細胞内エネルギー代謝におけるレドックス関連分子の機能解明		
キーワード	酸化ストレス、酸素代謝、ミトコンドリア、炎症		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	1名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞ 松尾禎之（講師，分子・細胞生物学的解析）			
＜研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）＞ 1. ポリサルファイド（H2Sn）が細胞機能に与える影響の探究 硫化水素（H2S）は、神経伝達調節、血管弛緩、酸化ストレスからの細胞保護、抗炎症など様々な作用を持つシグナル分子として機能している。しかし、その作用メカニズムの詳細は未だ解明されていなかった。新規シグナル分子として最近注目を集めているポリサルファイド（H2Sn）が生体内で H2S から酸化反応により生成されることが示され H2S の作用の一部を担っているという報告も存在する。H2Sn がミトコンドリアを標的として生体内の低酸素感知機構を攪乱することにより低酸素誘導性の転写因子 HIF の活性化を阻害することを見だし、その成果を原著論文として公開した。 2. 喫煙による子宮内膜での低酸素誘導性因子の活性化の探究 喫煙（CS）は、癌を含む多くの致死性の障害の発生に寄与する主要な要因である。ヒトの子宮内膜に及ぼす喫煙の影響について低酸素誘導因子（HIF）-1α 活性化の制御機構を検討した。ヒト初代子宮内膜間質細胞と不死化細胞株（KC02-44D）において、CS 抽出物（CSE）は活性酸素種レベルを上昇させ、HIF-1α タンパク質の安定化を促進すること、また網羅的遺伝子発現解析により CSE が HIF-1α 依存性の遺伝子発現を誘導することを明らかにした。HIF-1α は CSE による細胞ストレス、炎症、子宮内膜リモデリングに重要な役割を果たしている可能性が示唆され、研究成果を原著論文として公開した。 3. ミトコンドリア活性測定による新たな精子品質評価指標の確立 細胞内エネルギー代謝は生体の機能と密接に結びついており、広範な研究領域において細胞内代謝経路が注目を集めている。ヒト精子においては精子中片部にあるミトコンドリアが精子運動のエネルギーを産生する。本研究では従来の品質評価基準である運動率・生存率等の機能検査指標に加え、ヒト精子のミトコンドリアにおける酸素代謝を指標とした新たな定量的かつ客観的評価手法の確立を目指した。細胞外フラックス解析技術をヒト精子に応用し、ミトコンドリアにおける酸素消費量および解糖活性の測定を試みた。測定プレートに精子を固定するためのコーティング基材、および測定に使用する培地組成の最適化により、生きた精子を用いて細胞内エネルギー代謝をリアルタイムかつ非侵襲的に測定する手法を確立した。さらに脱共役剤や電子伝達阻害剤に対する応答を解析することにより、予備呼吸能等のミトコンドリアの機能評価が可能となった。本手法を用いて検体の保管温度が精子の代謝に及ぼす影響を検討したところ、低温（4℃）にて3時間保管した検体の運動率は対照群（室温保管）と比較して低下したが、ミトコンドリア呼吸および解糖能は正常に保たれていた。従来の運動率・生存率等の機能検査指標に加え、精子の品質管理における新たな定量的かつ客観的評価手法として発展が期待される。			

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	侵襲反応制御部門	事業推進者名	松尾禎之
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) Hashimoto Y, Tsuzuki-Nakao T, Kida N, <u>Matsuo Y</u>, Maruyama T, Okada H, Hirota K. Inflammatory Cytokine-Induced HIF-1 Activation Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition in Endometrial Epithelial Cells. Biomedicines. レフェリー有 2023;11(1):210. Yoshida T, Okumura T, <u>Matsuo Y</u>, Okuyama T, Michiura T, Kaibori M, Umezaki N, Bono H, Hirota K, Sekimoto M. Activation of transcription factor HIF inhibits IL-1beta-induced NO production in primary cultured rat hepatocytes. Nitric Oxide. レフェリー有 2022;124:1-14. Taniguchi H, <u>Matsuo Y</u>, Shimoi K, Yoshimura M, Hirota K, Kinoshita H. Establishment of a novel assessment of the quality of human spermatozoa measuring mitochondrial oxygen metabolism. BMC Res Notes. レフェリー有 2022;15(1):123. Shoji T, Hayashi M, Sumi C, Kusunoki M, Uba T, <u>Matsuo Y</u>, Hirota K. Sevoflurane Does Not Promote the Colony-Forming Ability of Human Mesenchymal Glioblastoma Stem Cells In Vitro. Medicina (Kaunas). レフェリー有 2022;58(11):1614. Kadonosono T, Miyamoto K, Sakai S, <u>Matsuo Y</u>, Kitajima S, Wang Q, Endo M, Niibori M, Kuchimaru T, Soga T, Hirota K, Kizaka-Kondoh S. AGE/RAGE axis regulates reversible transition to quiescent states of ALK-rearranged NSCLC and pancreatic cancer cells in monolayer cultures. Sci Rep. レフェリー有 2022;12(1):9886. Uba T, <u>Matsuo Y</u>, Sumi C, Shoji T, Nishi K, Kusunoki M, Harada H, Kimura H, Bono H, Hirota K. Polysulfide inhibits hypoxia-elicited hypoxia-inducible factor activation in a mitochondria-dependent manner. Mitochondrion. レフェリー有 2021;59:255-66. <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) なし <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) 吉田明史, 奥村忠義, <u>松尾禎之</u>, 奥山哲矢, 道浦 拓, 海堀昌樹, 梅寄乃斗香, 坊農秀雅, 廣田喜一, 関本貢嗣 転写因子 HIF の活性化はラット初代培養肝細胞における IL-1 誘発の NO 産生を抑制する第 78 回日本消化器外科学会 函館 2023 年 7 月 Maiko Kakita-Kobayashi, Hiromi Murata, Akemi Nishigaki, Naoko Kida, Tomoko Tsuzuki-Nakao, <u>Yoshiyuki Matsuo</u>, Kiichi Hirota, Hidetaka Okada. Thyroid hormone facilitates in vitro decidualization of human endometrial stromal cells via thyroid hormone receptors 第 65 回 日本甲状腺学会学術集会 大阪 2022 年 11 月 <特許申請・取得状況> なし			

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	生体情報部門	事業推進者名	松田達志
所属部門	代謝部門		
研究課題名	Arf-mTORC1 軸を介した免疫制御機構の解明		
キーワード	mTORC1、免疫制御、小胞輸送制御因子、Arf ファミリー		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	3 名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 松田達志（准教授）：研究の総括 住吉麻実（助教）：線維芽細胞・T 細胞における Arf 経路の役割解明 小谷唯（研究員）：マスト細胞・B 細胞における Arf 経路の役割解明			
<研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）> ADP-ribosylation factor (Arf)は Arf1-6 から成る低分子量 G タンパク質ファミリー分子であり、細胞の恒常性維持に必須な小胞輸送を制御することが知られている。また、ショウジョウバエ由来培養細胞を対象にした siRNA ライブラリースクリーニングにより、mTORC1 経路の活性化に関与する可能性が示唆されている。しかし、従来得られているこれらの知見は、培養細胞を対象とした過剰発現や阻害剤を用いた解析に依拠しており、高次生命現象の過程でどのような生理機能を担っているかについては、驚くほど知見が少ない。例えば、Arf 阻害剤である Brefeldin A は <i>in vitro</i> で T 細胞からのサイトカイン分泌阻害に用いられるが、個体レベルの免疫応答において Arf 経路が果たす役割は不明であった。そこで、Arf 経路の生理的役割を明らかにすべく、Arf の免疫細胞特異的ノックアウトマウスの樹立に取り組んだ。令和 3 年～6 年は特に T 細胞とマスト細胞に焦点を当て、Arf 経路の欠損が及ぼす影響の検証に取り組んだ。また並行して、B 細胞特異的 Arf 欠損マウスの樹立と、線維芽細胞をモデルとした自然免疫応答における Arf 経路の解析にも着手している。 T 細胞においてどのファミリーメンバーが発現しているかを qPCR によって評価したところ、Arf1 と Arf6 が高いレベルで発現していることが明らかとなった。そこで、T 細胞特異的 Cre 発現マウスである Lck-Cre と Arf1-flox マウス・Arf6-flox マウスをそれぞれ交配することで、T 細胞特異的な Arf1 欠損マウス（以下、Arf1-TK0）・Arf6 欠損マウス（以下、Arf6-TK0）を樹立した。驚くべきことに、Arf1-TK0・Arf6-TK0 は、何れも T 細胞分化に目立った変化は認められず、BrefeldinA 処理で認められるようなサイトカインの産生阻害も一切観察されなかった。この表現型は Arf1-TK0 と Arf6-TK0 を交配して得られる Arf1/6-TK0 マウスにおいても同様であった。そこで Arf1/6-TK0 を用いて、さらに Arf 欠損が T 細胞機能に及ぼす影響を調べた。すると、ヘルパーT 細胞の中でも特に Th17 細胞と呼ばれるサブセットが関与す			

ることが知られる実験的自己免疫生脳脊髄炎 (EAE) の発症が著しく抑制されていることが明らかとなった。そこで、同じく Th17 細胞が関与する、Rag2-KO マウスへのナイーブ CD4⁺ T 細胞移入大腸炎誘発モデルを用いて Arf 欠損の影響を調べたところ、予想どおり、Arf 欠損ナイーブ CD4⁺ T 細胞を移入した Rag2-KO マウスでは、大腸炎の発症が完全に抑制されていた。一方で、Th1 細胞による細胞内寄生菌 (*Leishmania major*) の排除や Th2 細胞を介した腸管寄生線虫 (*Heligmosomoides polygyrus*) に対する感染抵抗性は野生型マウスと比肩しうるレベルで保持されており、T 細胞の Arf1/Arf6 を標的とすることで、感染抵抗性を保持したままで自己免疫病態を抑制しうる可能性が強く示唆された。詳細な解析の結果、Arf 欠損ナイーブ CD4⁺ T 細胞は活性化過程において高頻度でアポトーシスを起こすこと、ならびにアポトーシス誘導因子である Bim の高発現がその背景に存在することが明らかとなった。このことが *in vivo* における病的な Th17 細胞の出現を抑制し、ひいては免疫病態の抑止に繋がっているものと考えられる。その後の解析から、Arf 欠損 T 細胞における Bim の発現上昇には ER stress 経路によって誘導される CHOP が関与する可能性が示唆されつつあり、現在、Arf 欠損によって ER stress 亢進が誘導されるメカニズムを検証中である。

アレルギー反応のエフェクター細胞として知られるマスト細胞は、骨髄細胞を IL-3 共存下に培養することで *in vitro* で分化誘導可能である。Arf ファミリーの発現を調べたところ、T 細胞と異なり Arf1 が突出して高発現していたため、Arf1 がマスト細胞分化に関与する可能性を考え、タモキシフェン誘導性に目的の遺伝子を欠損可能な CreER^{T2} マウスと Arf1-flox マウスを交配して得られたマウス (以下、Arf1-CreER^{T2}) 由来の骨髄を対象に解析を行った。分化誘導のごく初期からタモキシフェンを加えると、CreER^{T2} マウス由来の骨髄を対象とした場合でも全ての細胞が死滅することが判明したため、マスト細胞への分化が方向付けられる培養開始後 2 週間の時点でタモキシフェン処理により Arf1 を欠損させるプロトコルを採用した。その結果、タモキシフェン処理した CreER^{T2} マウス由来マスト細胞に比して、タモキシフェン処理した Arf1-CreER^{T2} マウス由来マスト細胞の出現頻度は著しく減少することが明らかとなった。その後の解析から、Arf1 欠損マスト細胞における生存維持シグナルは正常である一方、IL-3 刺激に伴う mTORC1 経路の活性化に障害が見られ、それに伴い細胞増殖能が著しく低下していることが分かった。現在、Arf1 欠損に伴う mTORC1 シグナル低下の原因を探索中である。

B 細胞における Arf ファミリーの発現を調べたところ、T 細胞と同様に Arf1 と Arf6 が高発現していたことから、B 細胞特異的な Arf1 欠損 (以下、Arf1-BK0) マウスならびに Arf6 欠損 (以下、Arf6-BK0) マウスの樹立に取り組んだ。得られたマウスの血中抗体価を測定したところ、Arf6-BK0 マウスでは IgM・IgA レベルの若干の低下が認められたものの、IgG サブクラスの抗体価は野生型マウスと同程度に保たれていた。一方、Arf1-BK0 マウスにおいては IgG サブクラスの抗体価が激減しており、実際、各種のタンパク質抗原で免疫した際の抗原特異的抗体産生能が著しく障害されていることが明らかとなった。詳細な解析の結果、抗原感作に伴いリンパ節で形成される胚中心が Arf1-BK0 マウスでほとんど認められず、その結果、抗体産生が障害されているものと推察された。現在、Arf1 欠損に伴う胚中心形成障害の分子機序

の解明に取り組んでいる。

自然免疫応答に Arf 経路が関与しているか否か、マウス胎児線維芽細胞 (MEF) を用いて解析に取り組んだ。MEF をリポ多糖 (LPS) で刺激することで IL-6 に代表される各種炎症性サイトカインの発現が誘導されるが、Arf1 欠損 MEF を LPS 刺激した際に分泌される IL-6 は野生型マウス由来 MEF に比べて数百倍に亢進されていることが明らかとなった。興味深いことに、同じく IL-6 産生を誘導することの知られる TNF α で Arf1 欠損マウス由来 MEF を刺激した際には、若干の産生上昇は確認されたものの、LPS 刺激で見られたような著しい増強は観察されなかった。現在、Arf1 欠損に伴う IL-6 産生増強が LPS 刺激に特異的なものか、検証を進めている。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講座等名	生体情報部門	事業推進者名	松田達志
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) (以下全てレフェリー有) 1) Mai Ito, Nobuhiro Tanuma, <u>Yui Kotani</u>, Kokoro Murai, Ayumi Kondo, <u>Mami Sumiyoshi</u>, Hiroshi Shima, <u>Satoshi Matsuda</u>, and Toshio Watanabe. Oncogenic K - RasG12V cannot overcome proliferation failure caused by loss of Ppp6c in mouse embryonic fibroblasts. <i>FEBS Open Bio</i> 14: 545-554, 2024. 2) Linh Tran Nguyen Truc, <u>Satoshi Matsuda</u>, Akiko Takenouchi, Quynh Tran Thuy Huong, <u>Yui Kotani</u>, Tatsuhiko Miyazaki, Hiroaki Kanda, Katsuhiko Yoshizawa, and Hiroyasu Tsukaguchi. Mechanism of cystogenesis by Cd79a-driven, conditional mTOR activation in developing mouse nephrons. <i>Sci. Rep.</i> 13: 508, 2023. 3) <u>Yui Kotani</u>, <u>Mami Sumiyoshi</u>, Megumi Sasada, Toshio Watanabe, and <u>Satoshi Matsuda</u>. Arf1 facilitates mast cell proliferation via the mTORC1 pathway. <i>Sci. Rep.</i> 12: 22297, 2022. 4) Narumi Nakada-Honda, Dan Cui, <u>Satoshi Matsuda</u>, and Eii Ikeda. Intravenous injection of cyclophilin A realizes the transient and reversible opening of barrier of neural vasculature through basigin in endothelial cells. <i>Sci. Rep.</i> 11: 19391, 2021. 5) Masato Maruyama, Yousuke Nakano, Takuya Nishimura, Ryoichi Iwata, <u>Satoshi Matsuda</u>, Mikio Hayashi, Yuki Nakai, Masahiro Nonaka, and Tetsuo Sugimoto. PC3-Secreted Microprotein Is Expressed in Glioblastoma Stem-Like Cells and Human Glioma Tissues. <i>Biol. Pharm. Bull.</i> 44: 910-919, 2021. <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) 該当なし <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) 1) <u>Yui Kotani</u>, <u>Mami Sumiyoshi</u>, Madoka Ozawa, Tomkoya Katakai, and <u>Satoshi Matsuda</u>. B cell-intrinsic Arf1 plays a pivotal role in germinal center formation. 第 53 回日本免疫学会学術集会・長崎・2024 年 12 月 4 日 2) <u>Mami Sumiyoshi</u>, Yoichi Maekawa, and <u>Satoshi Matsuda</u>. The Arf pathway is required for the survival of CD8⁺ T cells stimulated with strong TCR signal. 第 53 回日本免疫学会学術集会・長崎・2024 年 12 月 3 日 3) <u>住吉麻実</u>, 飯島大貴, 伊藤量樹, 渡邊利雄, <u>松田達志</u>・自然免疫応答における低分子量 G タンパク質 Arf1 の役割・第 47 回日本分子生物学会年会・福岡・2024 年 11 月 28 日 4) <u>小谷 唯</u>, <u>住吉 麻実</u>, 渡邊 利雄, <u>松田 達志</u>・B 細胞特異的 Arf1 欠損マウスにおける抗体産生不全の分子基盤・第 33 回 Kyoto T Cell Conference・京都・2024 年 6 月 14 日 5) <u>Yui Kotani</u>, <u>Mami Sumiyoshi</u>, Madoka Ozawa, Tomoya Katakai, and <u>Satoshi Matsuda</u>. Arf1 regulates germinal center B cell differentiation in draining lymph nodes. 第 52 回日本免疫学会学術集会・千葉・2024 年 1 月 19 日			

- 6) Mami Sumiyoshi, Yui Kotani, and Satoshi Matsuda. The Arf pathway maintains T cell survival during activation by modulating the level of mTORC1 signal. 第 52 回日本免疫学会学術集会・千葉・2024 年 1 月 18 日
- 7) 住吉 麻実, 小谷 唯, 渡邊 利雄, 松田 達志・Arf-mTORC1 軸の破綻に伴うアポトーシス亢進機構の解明・第 32 回 Kyoto T Cell Conference・京都・2023 年 6 月 18 日
- 8) Mami Sumiyoshi, Yui Kotani, and Satoshi Matsuda. Arf pathway plays a critical role in metabolic reprogramming during T cell activation. 第 51 回日本免疫学会学術集会・熊本・2022 年 12 月 8 日
- 9) 小谷 唯, 住吉 麻実, 笹田 萌未, 小澤 まどか, 片貝 智哉, 渡邊 利雄, 松田 達志・Arf1-BKO マウスでは Germinal Center B 細胞が消失する・第 45 回日本分子生物学会年会・千葉・2022 年 12 月 1 日
- 10) 住吉 麻実, 松尾 禎之, 小谷 唯, 笹田 萌未, 渡邊 利雄, 松田 達志・Arf によるミトコンドリアの機能制御と T 細胞の生存維持・第 31 回 Kyoto T Cell Conference・京都・2022 年 5 月 28 日
- 11) Mami Sumiyoshi, Yui Kotani, Yoichi Maekawa, and Satoshi Matsuda. T-lineage specific Arf-deficient mice are susceptible to Leishmania major infection. 第 50 回日本免疫学会学術集会・奈良・2021 年 12 月 8 日
- 12) 住吉 麻実, 小谷 唯, 笹田 萌未, 鈴江 一友, 金保 安則, 渡邊 利雄, 松田 達志・Arf 欠損 T 細胞における TCR 刺激依存的なアポトーシス亢進の分子機構・第 44 回日本分子生物学会年会・横浜・2021 年 12 月 1 日
- 13) 小谷 唯, 住吉 麻実, 笹田 萌未, 渡邊 利雄, 松田 達志・肥満細胞における低分子量 G タンパク質 Arf1 の機能解明・第 44 回日本分子生物学会年会・横浜・2021 年 12 月 1 日
- 14) 住吉 麻実, 小谷 唯, 笹田 萌未, 前川 洋一, 下川 周子, 金保 安則, 渡邊 利雄, 松田 達志・Arf は活性化 T 細胞の生存維持に重要である・第 30 回 Kyoto T Cell Conference・京都・2021 年 10 月 8 日

<特許申請・取得状況>

・特願 2023-004713 「液性免疫応答の制御剤、B 細胞の胚中心 B 細胞への分化制御剤、IgG1+B 細胞の細胞死の制御剤、液性免疫応答の制御組成物、B 細胞の胚中心 B 細胞への分化制御組成物、IgG1+B 細胞の細胞死の制御組成物、液性免疫応答の制御候補物質のスクリーニング方法、B 細胞の胚中心 B 細胞への分化の制御候補物質のスクリーニング方法、および IgG1+B 細胞の細胞死の制御候補物質のスクリーニング方法」

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	モデル動物部門	事業推進者名	村山正承
所属部門	がん部門		
研究課題名	疾患モデルマウスを用いた免疫疾患発症機序の解明		
キーワード	疾患モデルマウス、遺伝子改変マウス		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	8 名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞ 村山正承（講師）：研究の総括、疾患モデルマウスの解析 紀熙華（KMU 博士研究員）：疾患モデルマウスの解析 上野宏樹（研究員）：疾患モデルマウスの解析 塚本理央（student assistant）：疾患モデルマウスの解析 藤吉祥子（student assistant）：疾患モデルマウスの解析 土井一輝（student assistant）：疾患モデルマウスの解析 田中詩枝菜（student assistant）：疾患モデルマウスの解析 李成一（准教授・動物実験管理者）：実験動物飼育共同施設の運用・管理			
＜研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）＞ 生命現象の理解や疾患発症機構の解明・治療法治療薬開発のために遺伝子改変マウス・疾患モデルマウスが用いられている。前報告までに導入した関節リウマチモデルマウス；コラーゲン誘導関節炎、多発性硬化症モデルマウス；実験的自己免疫性脳脊髄炎、尋常性乾癬モデルマウス；イミキモド誘導乾癬などの各種疾患モデルマウス及び遺伝子改変マウスを用いて疾患発症機構の解析を実施した。 また、近年には遺伝子改変ラットの作製とバイオリソースとしての維持も重要な課題となってきた。CRISPR/Cas9 に代表されるゲノム編集技術により、従来よりも短時間で、より簡便で効率的に遺伝子操作が可能となり、数多くの疾患モデル動物が作製されている。これらの貴重な遺伝資源（主に、マウス）を維持管理するために、また不慮の感染事故等から回復するためにも、本学における速やかで効率の良いバックアップ技術の確立とその技術の改良を進めてきた。近年、ラットにおいても生殖工学技術が開発されつつあり、本学においても IVF（精子と未受精卵を用いた試験管内受精技術）による遺伝資源ラットの導入の技術を確認しておく必要がある。さらに、マウスおよびラット生殖工学の技術は、CRISPR/Cas9 によるゲノム編集技術の基盤となることから、本学における遺伝資源マウス・ラットの開発体制の確立を試みている。マウスおよびラットの IVF 胚へ CRISPR/Cas9 によるゲノム編集（TAKE 法）、マウスおよびラットの自然交配胚へ直接 CRISPR/Cas9 によるゲノム編集（GONAD 法）によるいくつかのゲノム編集マウス（Tyr-KO）およびラット（Tyr-KO、Pax6-KO）を作製できた。この体制の確立は、学内研究の活性化や系統維持に寄与できるものと考えられる。 以下に、公開済みの研究成果の概要を示す。			
論文			
1. <u>Murayama MA</u>, Arimitsu N, Shimizu J, Fujiwara N, Takai K, Okada Y, Hirotsu C, Takada E, Suzuki T, Suzuki N. Dementia model mice exhibited improvements of neuropsychiatric symptoms as well as cognitive dysfunction with neural cell transplantation. <i>Exp Anim</i>. 2021 Aug 6;70(3): 387-397. 2. <u>Murayama MA</u>, Arimitsu N, Shimizu J, Fujiwara N, Takai K, Ikeda Y, Okada Y, Hirotsu C, Takada E, Suzuki T, Suzuki N. Female dominance of both spatial cognitive dysfunction and neuropsychiatric symptoms in a mouse model of Alzheimer’s disease. <i>Exp Anim</i>. 2021 Aug 6;70(3): 398-405. 3. <u>Murayama MA</u>[#], Chi HH[#], Matsuoka M, Ono T, Iwakura Y*. The CTRP3-AdipoR2 Axis Regulates the Development of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Suppressing Th17 Cell Differentiation. <i>Front Immunol</i>. 2021 Dec 2;12:607346. 4. <u>Murayama MA</u>, Takada E, Takai K, Arimitsu N, Shimizu J, Tomoko S, Suzuki N. Nicotine treatment regulates PD-L1 and PD-L2 expression via inhibition of Akt pathway in HER2-type breast cancer cells. <i>PLoS One</i>. 2022 Jan 27;17(1):e0260838. 5. <u>Murayama MA</u>[*]. Nicotine treatment shows the therapeutic effect for imiquimod-induced psoriasiform dermatitis in alpha 7-nicotinic acetylcholine receptor-independent manner. <i>Translat Regulat Sci</i>. 2022 Apr;4(1):5-11. 6. Iwayama T, Iwashita M, Miyashita K, Sakashita H, Matsumoto S, Tomita K, Bhongsatiern P, Kitayama			

- T, Ikegami K, Shimbo T, Tamai K, Murayama MA, Ogawa S, Iwakura Y, Yamada S, Olson LE, Takedachi M, Murakami S. Plap-1 lineage tracing and single-cell transcriptomics reveal cellular dynamics in the periodontal ligament. *Development*. 2022 Oct 1;149(19):dev201203.
7. Fukuhara T, Ueda Y, Lee SI, Odaka T, Nakajima S, Fujisawa JI, Okuma K, Naganuma M, Okazaki K, Kondo N, Kamioka Y, Matsumoto M, Kinashi T. Thymocyte Development of Humanized Mice Is Promoted by Interactions with Human-Derived Antigen Presenting Cells upon Immunization. *Int J Mol Sci*. 2023 Jul 20;24(14):11705.
 8. Koma T, Odaka T, Lee SI, Doi N, Kondo T, Okuma K, Fujisawa JI, Adachi A, Nomaguchi M. Humanized mice generated by intra-bone marrow injection of CD133-positive hematopoietic stem cells: application to HIV-1 research. *Front Virol*. 2023 Jun 30; 3:1192184.
 9. Shirai T, Nakai A, Ando E, Fujimoto J, Leach S, Arimori T, Higo D, van Eedem FJ, Tulyeu J, Liu YC, Okuzaki D, Murayama MA, Miyata H, Nunomura K, Lin B, Tani A, Kumanogoh A, Ikawa M, Wing JB, Standley DM, Takagi J, Suzuki K. Celastrol suppresses humoral immune responses and autoimmunity by targeting the COMMD3/8 complex. *Sci Immunol*. 2023 Mar 31;8(81):eadc9324.
 10. Murayama MA*. Complement C3 deficient mice show more severe imiquimod-induced psoriasiform dermatitis than wild-type mice regardless of the commensal microbiota. *Exp Anim*. 2024 Oct 23;73(4):458-467.

学会発表

11. 鈴木登, 村山正承, 高田えりか, 高井憲治, 有光なざさ, 廣津千恵子. 腫瘍免疫での免疫チェックポイントに対するニコチンの影響. 喫煙科学研究財団令和2年度研究発表会. 東京都. 2021年9月2日. 口頭発表(Web開催).
12. 高岩郁江, 川村清久, 李成一, 平野伸二, 木梨達雄. マウス肺パストツレラ菌感染事故における経過と対応(主に、エンロフロキサシン治療について). 第55回日本実験動物技術者協会総会. 岐阜市. 2021年10月14日～16日
13. 村山正承, 徳弘圭造, 福田尚代, 上岡祐治, 植田祥啓, 岩井大, 神田晃, 埜中正博, 岩田亮一, 林美樹夫. 免疫システム完全ヒト化モデル動物の開発及び応用を目指した基礎研究. 第5回関西医科大学学術祭. 大阪府. 2021年11月5日. 口頭発表.
14. 大高時文, 山岸誠, 水池潤, 本間大輔, 李成一, 中嶋伸介, 上野孝治, 内 薫, 大隈和, 藤澤順一. HTLV-1 感染ヒト化マウスにおける EZH1/2 阻害剤 Valemestostat の HTLV-1 感染抑制効果. 第7回日本 HTLV-1 学会学術集会. 熊本市. 2021年11月5-7日
15. 村山正承. 変形性関節症の治療法開発を目指した、軟骨細胞増殖制御機構の解明. 第5回関西医科大学学術祭. 大阪府. 2021年11月5日. ポスター発表.
16. Tokifumi Odaka, Makoto Yamagishi, Jun Mizuike, Daisuke Honma, Sung-il Lee, Shinsuke Nakajima, Takaharu Ueno, Kaoru Uchimar, Kazu Okuma, Jun-ichi Fujisawa. Valemestostat, an EZH1/2 inhibitor, suppresses HTLV-1 infection in a humanized mouse model. 20th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses(HTLV22) (WEB, Melbourne)2022年5月8日
17. 村山正承. 疾患モデルマウスを用いた神経変性・免疫疾患の発症機構の解明および治療薬・治療法開発. 第69回日本実験動物学会総会. 宮城県. 2022年5月18-20日. 口頭発表(奨励賞受賞 招待講演).
18. 村山正承, 紀 熙華, 岩倉洋一郎. CTRP3-AdipoR2 は Th17 細胞分化を制御して多発性硬化症モデルを抑制する. 第69回日本実験動物学会総会. 宮城県. 2022年5月18-20日. ポスター発表.
19. Murayama MA. The development of Behcet's disease model mice by antigen peptides. Tri-lab Joint Symposium 2022. "In Vivo Research for Innovation and Biomedical Science Using Genetically Modified Mice". 栃木県, 2022年10月21-22日. 口頭発表(招待講演).
20. 大隈和, 手塚健太, 中嶋伸介, 後藤元人, 高橋利一, 李成一, 大高時文, 伊藤守, 浜口功. ヒト化 NOG-A2 マウスを用いた HTLV-1 持続感染モデルの開発. 第8回日本 HTLV-1 学会学術集会 東京 2022年11月5日.
21. 大高時文, 李成一, 中嶋伸介, 上野孝治, 藤澤順一, 大隈和. HTLV-1 感染ヒト化マウスを用いた ATL 発症における腸内細菌叢の関与. 第75回日本細菌学会関西支部総会 京都 2022年11月19日.
22. 村山正承. 乾癬発症における補体 C3a/C3aR の役割の解明. 第70回日本実験動物学会総会. 茨城県, 2023年5月24-26日. ポスター発表.
23. 村山正承. 表皮角化細胞の表皮恒常性維持機構に着目した、nAChRs による乾癬治療薬・治療法の開発. 令和4年度助成研究発表会. 東京都, 2023年7月20日. 口頭発表.
24. 村山正承. 免疫学の基礎から RP 研究の最前線へ～生物学的製剤の開発を目指して～. 再発性多発軟骨炎(RP)患者会シンポジウム 2023. 東京都, 2023年11月3日. 口頭発表(招待講演).

25. 村山正承. 常在細菌叢非依存的に補体 C3 欠損マウスはイミキモド誘導乾癬が増悪化する. 第 71 回日本実験動物学会総会. 京都府, 2024 年 5 月 29-31 日. ポスター発表.
26. 浅井健宏, 王辰, 藤井渉, チェンバーズ ジェームズ, 内田和幸, 村山正承, 小川修平, 小川道永, 久和茂, 岩倉洋一郎, 小川哲弘, 角田茂. 遺伝子欠損マウスを用いたオートファジー進行過程に果たす RNase T2 の機能の解析. 第 167 回日本獣医学会学術集会, 北海道, 2024 年 9 月 10-13 日. 口頭発表(**優秀発表賞候補演題**), ポスター発表.

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	ゲノム編集部門	事業推進者名	徳弘圭造
所属部門	がん部門		
研究課題名	マウス受精卵を用いた迅速・高効率ノックインマウス作製法の構築		
キーワード	ゲノム編集, CRISPR/Cas9		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	1 名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞ 徳弘 圭造（学長特命准教授）研究の取りまとめ・実験の遂行と解析			
＜研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）＞ 長鎖 DNA を受精卵に挿入する方法は、従来の ES 細胞を使った方法に比べてまだ効率が低く、改善の余地がある。我々は「Cas9-mSA BIO-PCR-donor CRISPR system」を使って、より効率的に長鎖 DNA ノックインマウスを作る方法の確立を目指した。 実験では、IRES-Venus (1.5Kbp)、Halo tag (0.9Kbp)、ヒト多能性関連遺伝子 1 (1.2Kbp)、2 (1.0Kbp) の挿入を試みるために、ビオチン化した PCR 産物を用いて受精卵へのインジェクションと偽妊娠マウスへの移植を行った。この手法は最新のものであり、必要な Cas9-mSA mRNA やタンパク質は市販されていないため、Addgene から入手したプラスミドを使って mRNA を作製する必要があった。Cas9 の mRNA 作製でよく使われるのは mMESSAGE mMACHINE kit (Invitrogen) であるが、非常に高価なため、最初は安価な CUGA in vitro Transcription Kit (ニッポンジーン) を使用した。しかし、この方法で生まれた 30 匹のマウスのテールサンプルを用いた遺伝子型解析では、ノックインマウスは一匹も得られなかった。CUGA キットはキャップ構造やポリ A 鎖を付加しないため、卵子内での Cas9-mSA の発現量が不十分だったと考えられる。 そこで、Cas9-mSA の発現を向上させるために、HiScribe T7 ARCA mRNA Kit (New England Biolabs) を使用してキャップ構造とポリ A 鎖が付加された mRNA を合成し、インジェクションを行った。この改良により、生まれた 5 匹のマウスのうち、Halo tag のノックインマウスを 1 匹得ることができた。さらに、ヒト多能性関連遺伝子 1 と 2 についてもノックインマウスの作製に成功した。しかし、IRES-Venus のノックインマウスは作製できなかった。これは、挿入する遺伝子の長さが効率を低下させたことや、使用した受精卵が C57BL6 系統であったために発生率が高くなかったことなどが原因と考えられる。 これまでの実験から、Cas9-mSA-BIO-PCR donor system が長鎖 DNA ノックインマウスの作製に有効であることがわかった。そこで、この手法をさらに改良して、より簡便にノックインマウスを作製する方法の確立を目指した。 長鎖 DNA をドナー DNA として用いる際の最大の課題は、マイクロインジェクションが必要となり、時間効率が非常に悪いことである。この問題を解決するため、一度に多数の受精卵に材料を導入できるエレクトロポレーション (EP) 法の活用を検討した。EP で長鎖 DNA の挿入が可能になれば、ノックインマウス作製にかかる費用と労力を大幅に削減できる。しかし、EP を利用した受精卵でのゲノム編集には、2 本鎖 DNA を使用したノックインの効率が極めて低いという問題がある。体外受精で得た受精卵に EP でゲノム編集を行う場合、酸性タイロイド溶液で透明帯を薄くして 2 本鎖 DNA の通過を促進する方法があるが、生体内 (in vivo) ゲノム編集ではこの方法を適用できない。この問題に対処するため、透明帯構成タンパク質 ZP3 の片方のアレルに変異 (Zp3+/-) を導入し、透明帯の薄い卵子 (透明帯の厚み Zp3+/-: 6.2±1.9μm, Zp3+/-: 2.5±1.2μm) を利用することを試みた。また、組み換え効率を高めるために、受精前後に高発現する遺伝子 Omt2b の C			

末端に P2A-Cas9-mSA を挿入したノックインマウスを作製した。これにより、受精卵内のタンパク質濃度の向上と均一化を図り、効率の向上を目指した。しかしながら、これらの方法を用いてもエレクトロポレーションによる長鎖ノックインマウスの作製はできなかった。今後は、高効率かつ透明帯を通過できる AAV（アデノ随伴ウイルス）を用いた手法を検討したいと考えている。

病態分子イメージングセンターに係る業績

[illegible]

研究成果報告書（研究概要）

講 座 等 名	がん生物学部門	事業推進者名	坂本毅治
所 属 部 門	がん部門		
研究課題名	がん微小環境制御に関わる分子の生理的・病理的役割の解明		
キーワード	がん、微小環境、炎症		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	7 名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 坂本 毅治（研究の統括） 田中 伯享（研究の遂行） 森 汐莉（研究の遂行） 赤松 香奈子（研究の遂行） Vu Duc Anh（研究の遂行） 生駒 龍興（研究の遂行） 山奥 隆示（研究の遂行）			
<研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）> 空間・一細胞トランスクリプトーム解析による大腸がん発がん過程での免疫抑制機構の解明 腺腫から孤発性大腸がん（colorectal cancer, CRC）への進行を促進する細胞間相互作用因子は未だ明らかになっておらず、それが患者の生存率の向上を妨げている要因となっている。私たちは、腺腫と癌を含む早期大腸がん 5 症例および進行大腸がん 1 症例を対象に空間トランスクリプトミクス解析を行った。腫瘍微小環境（TME）内の細胞間相互作用を明らかにするために、単一細胞レベルでの共局在解析に深層生成モデルを用い、さらに単一細胞トランスクリプトームデータと組み合わせ、CRC 患者における臨床的意義を評価した。その結果、大腸がん細胞は腺腫とがんの移行部位において制御性 T 細胞（Treg）と共局在していることが明らかになった。早期の発がん過程において、腺腫およびがん上皮細胞と Treg との共局在に基づく細胞間相互作用の推定により、腫瘍上皮細胞から Treg に送られる代表的なシグナル分子としてミッドカイン（midkine, MDK）が浮上した。また、MDK 高発現の CRC 細胞と SPP1 陽性マクロファージおよび間質細胞との相互作用が、TME 内の免疫抑制機構の基盤であることが示された。さらに、MDK の受容体として Syndecan-4（SDC4）を同定し、それが上皮細胞と Treg との共局在と関連していることが分かった。最後に、大腸がんの臨床データセットを用いた解析により、MDK および SDC4 の発現上昇は、全生存率の低下と相関することが示された。以上の結果より、MDK は、Treg による腫瘍増殖に対する免疫寛容に関与しており、MDK を介した TME 形成は、大腸がんの早期診断および治療における有望な標的となる可能性が示された。これらの研究成果について、EBiomedicine 誌に論文発表を行った。			
肝細胞がん発症における Mint3 の役割の解明 Mint3 は、好氣的 ATP 産生を促進し、その結果として低酸素誘導因子 1（HIF-1）の核内移行と血管新生関連遺伝子の活性化を引き起こすことが知られている。ただし、Mint3 がいつ、どのように活性化されるのか、また肝細胞がん（HCC）の発がんに関与しているかどうかは明らかではなかった。本研究では、外科的に切除された HCC 組織における Mint3 の発現を解析した。さらに、Mint3 のノックダウンが			

患者由来 HCC 細胞株におけるスフェロイド形成能および免疫不全マウスにおける皮下腫瘍形成に与える影響を評価した。また、化学物質による HCC 発生モデルを用いて、Mint3 ノックアウトマウスにおける発がん抑制効果も検討した。その結果、Mint3 は高分化型 HCC において過剰に発現しており、血管新生が顕著でないにもかかわらず HIF-1 標的遺伝子の活性化が認められた。Mint3 のノックダウンは、患者由来 HCC 細胞株において HIF-1 標的遺伝子の発現を抑制し、スフェロイド形成能を低下させた。また、免疫不全マウスにおいても皮下腫瘍の形成が抑制された。さらに、N-ニトロソジエチルアミン (DEN) または DEN と CCl₄を用いて誘導された HCC モデルにおいて、Mint3 ノックアウトマウスでは対照マウスと比較して HCC の発生が著しく抑制されていた。以上の結果から、Mint3 は腫瘍が低酸素状態に至る前の早期 HCC の段階において、HIF-1 標的遺伝子を活性化することにより発がんに必要な役割を果たしていることが明らかとなった。本研究により、Mint3 は、HCC の早期発生を防ぐための分子標的となり得ることが示された。これらの研究成果について、*International Journal of Molecular Sciences* 誌に論文発表を行った。

Mint3 によるトリプルネガティブ乳癌の薬剤抵抗性機構の解明

トリプルネガティブ乳がんは、ホルモン受容体や HER2 というタンパクの発現がみられないタイプの乳がん、乳がん全体の 15-20%を占める。トリプルネガティブ乳がんはホルモン受容体や HER2 といった治療標的となり得るタンパクを発現していないため、トリプルネガティブ乳がんの治療には細胞傷害性抗がん剤を用いた化学療法が用いられる。しかしながら、トリプルネガティブ乳がんは高い再発率と再発後の急速な進行を示すため化学療法による最終的な治療成績は芳しくない。また、一般的に抗がん剤のスクリーニングで用いられる細胞培養実験でトリプルネガティブ乳がんの効果を示した抗がん剤が、生体ではそれほど効果を示さないことがある。トリプルネガティブ乳がんの化学療法に対する抵抗性には様々なメカニズムが関わっており、このことがトリプルネガティブ乳がんの治療を困難にしていると考えられる。通常の細胞培養の環境と異なり、生体ではがんは酸素や栄養が限られた厳しい環境にある。そこで、本研究では細胞内酸素センサーの調節に関わりがんの悪性を促進する Mint3 に着目し、トリプルネガティブ乳がん Mint3 の発現を抑えた際に抗がん剤への抵抗性が変化するかどうかについて細胞培養実験とマウスへの腫瘍移植実験で解析を行った。その結果、細胞培養実験では Mint3 の発現を抑えても抗がん剤への抵抗性は変化しなかったが、マウスに移植した腫瘍では Mint3 の発現を抑えることで、細胞傷害性抗がん剤のドキソルビン、パクリタキセルに対する抵抗性が減少し、化学療法によりトリプルネガティブ乳がん腫瘍の増殖を顕著に抑制出来ることを見出した。

そこで Mint3 を抑えることでトリプルネガティブ乳がん腫瘍の中でどのような変化が起こるかについて遺伝子発現解析を行ったところ、マウスに移植したトリプルネガティブ乳がん腫瘍で Mint3 を抑えると、HSP70 などストレス耐性に関わる遺伝子の発現の低下が観察された。さらに、ヒトのトリプルネガティブ乳がん手術検体でも Mint3 の発現と HSP70 の発現が正に相関すること、HSP70 を阻害することで Mint3 を抑えた時と同様に抗がん剤がトリプルネガティブ乳がん腫瘍に効きやすくなることを明らかにした。続いて、なぜトリプルネガティブ乳がん腫瘍で Mint3 を抑制すると HSP70 などの発現が低下するかについてメカニズムの詳細な解析を行った。Mint3 は低酸素に適応する際に重要な役割を果たす HIF-1 という転写因子を活性化し、解糖系と呼ばれる酸素に依存しないエネルギー代謝を促

進することが知られる(Tanaka N et al., Biomedicines, 2023)。代謝産物の解析を行った結果、トリプルネガティブ乳がんは酸素・栄養の豊富な培養液中にいる状態に比べ、生体ではより解糖系に依存して細胞のエネルギー源である ATP を作っており、Mint3 を抑えることでトリプルネガティブ乳がんの ATP レベルが顕著に低下することが明らかとなった。この ATP レベルの低下により、トリプルネガティブ乳がん腫瘍では AMPK の活性化および mTOR シグナルの低下が起き、mTOR シグナルにより活性化され HSP70 などのストレス耐性遺伝子の発現を促す転写因子 HSF-1 の活性が低下し、HSP70 の発現が低下することが明らかとなった。

本研究により、これまでトリプルネガティブ乳がんの生体での抗がん剤抵抗性について、エネルギー代謝が重要な役割を果たすことが明らかとなった。また、その制御に Mint3 が関わり、Mint3 を抑えることで、化学療法に抵抗性を示すトリプルネガティブ乳がんを化学療法が効くように変化させることが出来ることが分かった。今回の発見により、Mint3 を標的とした薬剤やその下流のイベントに関わる分子の阻害剤と細胞傷害性抗がん剤を併用することで、より効果的なトリプルネガティブ乳がんの治療法の開発が期待される。上記の結果について、*Cell Death & Disease* 誌に論文を発表、プレスリリースを行い、日経バイオテク ONLINE (2023/12/18)、QLifePro (2023/12/27)、日本経済新聞 (2023/12/29) にて紹介記事が掲載された。

尿路上皮がんにおける Mint3 の発現と機能の解明

膀胱がんは泌尿器系で最もよく見られるがんであり、2020 年には世界で 57 万 3 千人が新規に膀胱がんと診断され、21 万人が膀胱がんによって亡くなっている。膀胱がんの 90%以上が尿路上皮がんの組織型を示し、治療にはシスプラチン・ゲムシタビンなどの細胞傷害性抗がん剤が長らく使用されてきたが、治療成績は芳しくなかった。近年、免疫制御薬や分子標的治療薬が尿路上皮がんに対して適用され、一部には治療成績の改善がみられたが未だに多くの制限があるため、既存治療薬とは作用機序の異なる新たな治療標的が切望されている。そこで我々は、本学腎泌尿器外科学講座、病理学講座との共同研究で尿路上皮がんにおける Mint3 の発現と機能の解明を行った。臨床検体を用いた免疫組織化学染色解析では上部尿路上皮がんと膀胱がんの 2 つの異なるコホートにおいて Mint3 高発現は予後不良と相関することが明らかとなった。そこで、Mint3 が実際に尿路上皮がんの悪性形質に寄与しているかについて、ヒト膀胱がん細胞株を用いて検討を行った。まず、Mint3 に対する shRNA を安定発現するレンチウイルスベクターをヒト膀胱がん細胞株に導入し、Mint3 ノックダウン(KD)細胞を作製し、細胞機能について解析した結果、膀胱がん細胞では Mint3 KD により HIF-1 転写活性が低下し、解糖系機能、コロニー形成能、細胞運動・浸潤能が低下した。続いてヒト膀胱がん RT112 細胞の nude マウス皮下移植実験を行ったところ、Mint3 KD により腫瘍増殖が有意に抑制された。Mint3 KD 細胞の腫瘍組織では HIF-1 標的遺伝子の発現が低下し、腫瘍血管(CD31)と細胞増殖(Ki67)マーカー陽性細胞の減少およびアポトーシス(cleaved caspase-3)マーカー陽性細胞の増加が観察された。次に RT112 腫瘍に対して、細胞傷害性抗がん剤ゲムシタビンと Mint3 阻害剤 Naph の投与実験を行った。その結果、ゲムシタビンと Naph の併用は他群に比べて有意に腫瘍増殖を抑制した。Naph とゲムシタビン併用の上乗せ効果について検討を行った結果、腫瘍血管や細胞増殖には特に上乗せ効果が見られなかった一方、アポトーシスマーカーについては併用により顕著に増加が認められた。以上の結果から、尿路上皮がん

において Mint3 は予後不良因子であり、治療標的になり得ることが明らかとなった。これらの研究成果について、*Clinical and Translational Discovery* 誌に論文発表を行った。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	がん生物学部門	事業推進者名	坂本毅治
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) *: corresponding author. 1. Nishitani M, Okada H, Nio K, Hayashi T, Terashima R, Iida N, Shimakami T, Takatori H, Honda M, Kaneko S, <u>Sakamoto T*</u>, Yamashita T*. Mint3 as a Molecular Target Activated in the Early Stage of Hepatocarcinogenesis. Int J Mol Sci. 査読有. 26, 1430, 2025. 2. Hashimoto M, Kojima Y, <u>Sakamoto T*</u>, Ozato Y, Nakano Y, Abe T, Hosoda K, Saito H, Higuchi S, Hisamatsu Y, Toshima T, Yonemura Y, Masuda T, Hata T, Nagayama S, Kagawa K, Goto Y, Utou M, Gamachi A, Imamura K, Kuze Y, Zenkoh J, Suzuki A, Takahashi K, Niida A, Hirose H, Hayashi S, Koseki J, Fukuchi S, Murakami K, Yoshizumi T, Kadomatsu K, Tobo T, Oda Y, Uemura M, Eguchi H, Doki Y, Mori M, Oshima M, Shibata T, Suzuki Y, Shimamura T*, Mimori K*. Spatial and single-cell colocalisation analysis reveals MDK-mediated immunosuppressive environment with regulatory T cells in colorectal carcinogenesis. EBioMedicine. 査読有. 103, 105102, 2024. 3. <u>Tanaka N#</u>, Okada H#, Yamaguchi K, Seki M, Matsubara D, Gotoh N, Suzuki Y, Furukawa Y, Yamashita T, Inoue J, Kaneko S, <u>Sakamoto T*</u>. Mint3-depletion-induced energy stress sensitizes triple-negative breast cancer to chemotherapy via HSF1 inactivation. Cell Death Dis. 査読有. 14, 815, 2023. (#: equally contributed) 4. <u>Tanaka N*</u>, <u>Sakamoto T*</u>. MT1-MMP as a Key Regulator of Metastasis. Cells. 査読有. 12, 2187, 2023. 5. <u>田中 伯享*</u>, <u>坂本 毅治</u>, RAS 遺伝子を中心としたがん治療戦略の確立、生体の科学. 査読有. Vol. 74 No. 4 p289-294, 2023. 6. <u>坂本 毅治*</u>, <u>田中 伯享</u>, 植松 崇之、マクロファージにおける酸素センシング機構調節分子 Mint3 の炎症性疾患・がんでの役割、サイトメトリリーサーチ. 査読有. 32 巻 2 号 p. 1-9, 2023. 7. <u>Tanaka N</u>, <u>Sakamoto T*</u>. Mint3 as a Potential Target for Cooling Down HIF-1-Mediated Inflammation and Cancer Aggressiveness. Biomedicines. 査読有. 11, 549, 2023. 8. Ikeda J#, Ohe C#, <u>Tanaka N#</u>, Yoshida T, Saito R, Atsumi N, Kobayashi T, Kinoshita H, Tsuta K, <u>Sakamoto T*</u>. Hypoxia inducible factor-1 activator munc-18-interacting protein 3 promotes tumour progression in urothelial carcinoma. 査読有. Clin Transl Discov. 3, e158, 2023. (#: equally contributed) <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) なし <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) 1. <u>森汐莉</u>, <u>Vu Duc Anh</u>, <u>赤松香奈子</u>, 安河内彦輝, 日笠幸一郎, <u>坂本毅治</u>. CRISPR/Cas9 ライブラリーを用いた卵巣癌のアノキス耐性遺伝子の探索. 第 47 回日本分子生物学会年会、福岡市、2024 年 11 月.			

2. Vu Duc Anh, 坂本 毅治, 森 汐莉. Exploring genes involved in anoikis resistance in ovarian cancer using the CRISPR/Cas9 libraries. 第 83 回日本癌学会学術総会. 福岡市. 2024 年 9 月.
3. 生駒 龍興, 坂本 毅治, 森 汐莉. 膀胱癌発がんモデルにおける Mint3 が及ぼす影響. 第 83 回日本癌学会学術総会. 福岡市. 2024 年 9 月.
4. 田中 伯享, 坂本 毅治. KRAS 阻害剤による HIF-1 α の発現制御機構. 第 83 回日本癌学会学術総会. 福岡市. 2024 年 9 月.
5. Vu Duc Anh, 田中伯享, 坂本毅治. CRISPR/Cas9 ライブラリーを用いた卵巣がんのアノイキス耐性に関わる遺伝子の網羅的探索. 第 33 回日本がん転移学会学術集会・総会. 奈良市. 2024 年 6 月
6. 生駒龍興, 森汐莉, 坂本毅治. Mint3 が膀胱癌の発がんから転移を促進させる. 第 33 回日本がん転移学会学術集会・総会. 奈良市. 2024 年 6 月.
7. 田中伯享, 坂本毅治. KRAS 阻害剤による HIF-1 α の翻訳制御. 第 28 回日本がん分子標的治療学会学術集会. 東京都江東区. 2024 年 6 月.
8. 田中伯享, 坂本毅治. KRAS 阻害剤による HIF-1 α の発現制御機構. 第 46 回分子生物学会年会. 神戸市. 2023 年 12 月.
9. Noritaka Tanaka, Takeharu Sakamoto. The potential effect of KRAS inhibitors on tumor microenvironments AACR-NCI-EORTC INTERNATIONAL CONFERENCE ON MOLECULAR TARGETS AND CANCER THERAPEUTICS 2023. アメリカ合衆国 (ボストン). 2023 年 10 月.
10. 坂本毅治. 細胞内酸素センシング調節機構を標的としたがん・炎症の制御. 第 64 回日本組織細胞化学会総会・学術集会. 千代田区. 2023 年 10 月.
11. 田中伯享, 坂本毅治. KRAS 阻害剤に対する耐性化と EMT に関する解析. 第 32 回日本がん転移学会学術集会・総会. 仙台市. 2023 年 7 月.
12. 田中伯享, 坂本毅治. KRAS 阻害剤による HIF-1 α 発現制御メカニズム. 第 27 回日本がん分子標的治療学会学術集会. 佐賀市. 2023 年 6 月.
13. Noritaka Tanaka, Takeharu Sakamoto. The collateral effects of KRAS inhibitors on tumor microenvironment. The 26th JFCR-ISCC. 江東区. 2022 年 12 月.
14. 田中伯享, 坂本毅治. がんにおける低酸素応答関連因子に対する KRAS 阻害剤の影響. 第 45 回日本分子生物学会年会. 千葉市. 2022 年 12 月.
15. 坂本毅治, 田中伯享, 山口貴世志, 松原大祐, 古川洋一. Mint3 の抑制は in vivo でトリプルネガティブ乳がんを化学療法感受性にする. 第 45 回日本分子生物学会年会. 千葉市. 2022 年 12 月.
16. 金森茜, 村上善則, 井上純一郎, 坂本毅治. Mint3 は膵癌で HIF-1 を介して SKP2 を制御する. 第 81 回日本癌学会学術総会. 横浜市. 2022 年 10 月.
17. 池田純一, 田中伯享, 齊藤亮一, 小林恭, 木下秀文, 坂本毅治. Mint3 は尿路上皮癌における予後不良因子である. 第 81 回日本癌学会学術総会. 横浜市. 2022 年 10 月.

18. 田中伯享, 坂本毅治. KRAS 阻害剤ががん微小環境のリプログラミングにおよぼす影響に関する解析. 第 81 回日本癌学会学術総会. 横浜市. 2022 年 9 月.
19. 岡田光, 山下太郎, 坂本毅治, 金子周一. Mint3 は高分化型 AFP 陰性肝細胞癌に対する新規治療標的因子になり得る. 第 81 回日本癌学会学術総会. 横浜市. 2022 年 9 月.
20. 坂本毅治, 田中伯享, 山口貴世志, 松原大祐, 古川洋一. Mint3 阻害は in vivo でトリプルネガティブ乳がんを化学療法感受性にする. 第 81 回日本癌学会学術総会. 横浜市. 2022 年 9 月.
21. 坂本 毅治, 田中 伯享. 化学療法誘導性肺転移の新規メカニズム. 第 31 回日本がん転移学会学術集会・総会. 京都市. 2022 年 7 月.
22. 田中伯享, 坂本毅治. KRAS 阻害剤に対する耐性と転移能に関する解析. 第 31 回日本がん転移学会学術集会・総会. 京都市. 2022 年 7 月.
23. 田中伯享, 坂本毅治. KRAS 阻害剤ががん微小環境に与える影響に関する検討. 第 26 回日本がん分子標的治療学会学術集会. 金沢市. 2022 年 6 月.
24. 坂本毅治, 植松崇之. 酸素センシング機構によるマクロファージ機能制御のがん、炎症性疾患における役割. 第 32 回日本サイトメトリー学会学術集会. オンライン. 2022 年 5 月.

<特許申請・取得状況>
なし。

研究成果報告書（研究概要）

講 座 等 名	細胞機能部門	事業推進者名	小原圭吾
所 属 部 門	神経部門		
研究課題名	海馬神経回路の光イメージング		
キーワード	神経回路、海馬、イメージング、シナプス		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	5 名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 小原圭吾（研究総括、研究遂行担当） 金谷のり子（研究遂行、研究支援） 加藤梨絵（研究支援） 林美樹夫（研究遂行） 武藤恵（研究遂行）			
<研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）> 令和 3（2021）年度においては、我々が開発した Cre リコンビナーゼと FLP リコンビナーゼを用いた反発分離的遺伝子導入技術「BATTLE」の改良型の開発を行なった。さらに反発分離的遺伝子導入技術「BATTLE」をマウス海馬の CA1, CA2, CA3, 歯状回領域において適用することによって、それらの領域に存在する様々な神経細胞の形態を可視化し、それらの領域の細胞多様性に関して解析をおこなった。さらに、従来技術である膨張顕微鏡との複合技術である「BATTLE-1EX」をマウス海馬に適用することによって、マウス海馬の CA1, CA2, CA3, 歯状回領域における多様なシナプスの全体像形態の高精細な可視化をおこない、それらのシナプスの詳細で高精細な全体構造が明らかになった。			

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	細胞機能部門	事業推進者名	小原圭吾
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) Matsuo T, Isosaka T, Hayashi Y, Tang L, Doi A, Yasuda A, <u>Hayashi M</u>, Lee CY, Cao L, Kutsuna N, Matsunaga S, Matsuda T, Yao I, Setou M, Kanagawa D, Higasa K, Ikawa M, Liu Q, Kobayakawa R, Kobayakawa K. Thiazoline-related innate fear stimuli orchestrate hypothermia and anti-hypoxia via sensory TRPA1 activation. Nat Commun 12(1): 2074, 2021. 査読あり Maruyama M, Nakano Y, Nishimura T, Iwata R, Matsuda S, <u>Hayashi M</u>, Nakai Y, Nonaka M, Sugimoto T. PC3-secreted microprotein is expressed in glioblastoma stem-like cells and human glioma tissues. Biol Pharm Bull 44(7): 910–919, 2021. 査読あり <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) 無し <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) (発表者: ◎<u>武藤 恵</u>・発表標題: 幼若海馬におけるI型代謝型グルタミン酸受容体の機能・学会名: 第99回日本生理学会大会・開催地: 仙台市/ オンライン配信 (ハイブリッド開催)・発表年月: 2022年3月) <u>Hayashi M</u>, Hoque KM・Accessory cholera enterotoxin activates KCNQ channels in intestinal epithelial cells.・学会名: 第99回 日本生理学会大会・開催地: 仙台市/オンライン配信 (ハイブリッド開催)・発表年月: 2022年3月 <特許申請・取得状況> 窒素含有化合物、前記窒素含有化合物を含む組成物、及び腫瘍悪性度の予測マーカー、出願番号: PCT/JP2022/14962、提出日: 2022年3月28日、出願人: 学校法人関西医科大学、発明者: <u>林美樹夫</u>, 池田幸樹, 岩田亮一			

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	内科学第一講座	事業推進者名	伊藤量基
所属部門	がん部門		
研究課題名	① ヒト樹状細胞による免疫治療戦略の開発と機序解明 ② 移植後 GVHD における樹状細胞と制御性 T 細胞の作用機序解明 ③ 造血器疾患におけるリアルワールドデータ解析による、最適化治療のための基盤研究		
キーワード	樹状細胞 IFN JAK 阻害薬 GVHD リアルワールドデータ解析		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	6 名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 伊藤量基 研究統括：主任教授 佐竹敦志 大学院生指導教官：准教授 堀田雅章 臨床データ集計・統計解析：助教 吉村英晃 臨床データ集計・統計解析：助教 NDIAYE LEON AMATH（ンジャイ・レオン・アマス） 大学院生 斎藤 陵 大学院生 辻 良平 大学院生			
<研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）> ①本研究は JAK 阻害薬のサイトカイン遮断による有効性と副作用の作用機序を、免疫カスケードの基点となる「樹状細胞」を対象とした切り口から解明することにある。申請者は、ヒト樹状細胞サブセットを純化・単離する手法を確立し、研究対象としてきた実績がある。Th 分化誘導能や抗ウィルス防御能を持つ 2 つの樹状細胞サブセットの持つ免疫制御能に対する影響を解明することで、JAK 阻害薬の表裏一体の有効性/副作用を一元的に解明することを目的とする。JAK 阻害薬 Ruxolitinib の臨床血中濃度は 0.6-3μM であり、臨床的血中濃度の Ruxolitinib は、pDC の生存率や IFN-α 産生を抑制する一方、mDC に対する Th1-誘導能抑制効果は比較的低く、Th-2 誘導能は、Th1 に比較するとより強く抑制されることが判明した。本研究のデータから、Ruxolitinib は pDC の I 型 IFN 産生能を強く抑制することでウイルス感染を誘発する原因になっていると考えられる。一方で、と mDC の Th2 誘導能を抑制出来ることから、JAK 阻害薬のアトピー性皮膚炎などのアレルギーへ作用機序の裏付けとなるデータが得られた。 ②同種造血幹細胞移植後に生じる移植片対宿主病（GVHD）の病態解明と新規免疫調節療法の開発に向けた基礎研究を精力的に行ってきた。とくに、免疫調節薬レナリドミドの GVHD に対する効果について検討した研究では、早期投与が T 細胞の腸管への病的な浸潤を抑制することを明らかにし、腸管 GVHD を標的とした GVHD の予防・軽減に有効である可能性を示した。この成果は 2022 年に国際誌に報告（Tsubokura ら, Immunity, Inflamm and Disease. 2022）している。また、慢性 GVHD モデルを用いた研究では、IL-2 とタクロリムスの併用が濾胞性ヘルパー T 細胞（Tfh）の分化を抑制し、全身性エリテマトーデス様病態、特にループス腎炎に対して治療効果を示すことを見出し、2024 年に Frontiers in Immunology 誌に発表した（Nasa ら, 2024）。これらはいずれも GVHD 病態の多様性に対応した新たな免疫介入の可能性を示唆するものであり、マウスモデルを活用した免疫学的解析を通じて、臨床応用に直結する重要な知見を提供するものであると考える。今後も GVHD の新たな効果的制御法と抗腫瘍免疫との両立を目指した、トランスレーショナル研究を推進していく予定である。 ③当院における様々な造血器疾患の臨床症例を集計し、また統計解析することにより、現在のリアルワールドデータを解析して、それぞれの疾患における最適化治療のための基盤データを集積し、多くの雑誌に報告した。			

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	内科学第一講座	事業推進者名	伊藤量基
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 以下、すべて査読有り <u>Tomoki Ito</u>, Tomohiko Kamimura, Toru Kiguchi, Koji Kato, Risa Takenaka, Mariko Kobayashi, Ayumi Ito, Mizu Sakai & Koji Izutsu. Venetoclax treatment for chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic leukemia in Japan: post-marketing surveillance Int J Hematol. 2024 Nov;120(5):613-620. Naokazu Nakamura, Nobuyoshi Arima, Teruhito Takakuwa, Satoshi Yoshioka, Kazunori Imada, Kentaro Fukushima, Masaaki Hotta, Shin-ichi Fuchida, Junya Kanda, Nobuhiko Uoshima, Yuji Shimura, Hirokazu Tanaka, Kensuke Ohta, Satoru Kosugi, Hideo Yagi, Satoshi Yoshihara, Ryosuke Yamamura, Yoko Adachi, Hitoshi Hanamoto, Hirohiko Shibayama, Naoki Hosen, <u>Tomoki Ito</u>, Chihiro Shimazaki, Akifumi Takaori-Kondo, the Kansai Myeloma Forum. Efficacy of elotuzumab for multiple myeloma deteriorates after daratumumab: a multicenter retrospective study. Ann Hematol. 2024 Dec;103(12):5681-5690. Keiki Nagaharu, Eiko Ohya, Yoko Edahiro, Yoshinori Hashimoto, <u>Tomoki Ito</u>, Akihiko Gotoh, Mika Nakamae, Fumihiko Kimura, Michiaki Koike, Keita Kirito, Hideho Wada, Kensuke Usuki, Takayuki Tanaka, Takehiko Mori, Satoshi Wakita, Toshiki I. Saito, Akiko M. Saito, Kazuya Shimoda, Toshiro Kurokawa, Akihiro TomitaHitoshi Kiyoi, Koichi Akashi, Itaru Matsumura, Katsuto Takenaka, Norio Komatsu, Kohshi Ohishi, Isao Tawara, Yuka Sugimoto. Correction to: Predictive significance of high neutrophil ratio for thrombosis in myeloproliferative neoplasms: JSH-MPN-R18 subanalysis. Ann Hematol. 2024 Oct;103(10):4349-4350. Keiki Nagaharu, Eiko Ohya, Yoko Edahiro, Yoshinori Hashimoto, <u>Tomoki Ito</u>, Akihiko Gotoh, Mika Nakamae, Fumihiko Kimura, Michiaki Koike, Keita Kirito, Hideho Wada, Kensuke Usuki, Takayuki Tanaka, Takehiko Mori, Satoshi Wakita, Toshiki I. Saito, Akiko M. Saito, Kazuya Shimoda, Toshiro Kurokawa, Akihiro Tomita, Hitoshi Kiyoi, Koichi Akashi, Itaru Matsumura, Katsuto Takenaka, Norio Komatsu, Kohshi Ohishi, Isao Tawara & Yuka Sugimoto. Predictive significance of high neutrophil ratio for thrombosis in myeloproliferative neoplasms: JSH-MPN-R18 subanalysis. Ann Hematol. 2024 Sep;103(9):3535-3541. Kensuke Usuki, Takuro Kameda, Noriaki Kawano, <u>Tomoki Ito</u>, Yoshinori Hashimoto, Kotaro Shide, Hiroshi Kawano, Masaaki Sekine, Takanori Toyama, Hiromitsu Iizuka, Seiichi Sato, Masanori Takeuchi, Junzo Ishizaki, Kouichi Maeda, Michikazu Nakai, Kiyoshi Yamashita, Yoko Kubuki & Kazuya Shimoda. Prevalence of chromosome 8p11.2 translocations and correlation with myeloid and lymphoid neoplasms associated with FGFR1 abnormalities in a consecutive cohort from nine institutions in Japan. Int J Hematol. 2024 Jun;119(6):722-727. Shimazu Y, Kanda J, Takakuwa T, Onda Y, Fukushima K, Hotta M, Fuchida SI, Uoshima N, Shimura Y, Tanaka H, Ohta K, Shibayama H, Kosugi S, Yagi H, Yoshihara S, Hosen N, <u>Ito T</u>, Shimazaki C, Matsumura I, Kuroda J, Takaori-Kondo A, Hino M. The impact of renal function on initial therapy in transplant-ineligible multiple myeloma patients. Ann Hematol. 2024 Aug 21. doi: 10.1007/s00277-024-05934-2. Yutaka Shimazu, Junya Kanda, Teruhito Takakuwa, Yoshiyuki Onda, Kentaro Fukushima, Masaaki Hotta, Shin-Ichi Fuchida, Nobuhiko Uoshima, Yuji Shimura, Hirokazu Tanaka,			

Kensuke Ohta, Hirohiko Shibayama, Satoru Kosugi, Hideo Yagi, Satoshi Yoshihara, Naoki Hosen, Tomoki Ito, Chihiro Shimazaki, Itaru Matsumura, Junya Kuroda, Akifumi Takaori-Kondo, Masayuki Hino.

The impact of renal function on initial therapy in transplant-ineligible multiple myeloma patients.

Ann Hematol. 2024 Dec;103(12):5639-5649.

Yutaka Shimazu, Junya Kanda, Yoshiyuki Onda, Shin-ichi Fuchida, Kensuke Ohta, Yuji Shimura, Satoru Kosugi, Ryosuke Yamamura, Mitsuhiro Matsuda, Hitoshi Hanamoto, Yoko Adachi, Naoyuki Anzai, Masaaki Hotta, Kentaro Fukushima, Hideo Yagi, Satoshi Yoshihara, Yasuhiro Tanaka, Teruhito Takakuwa, Hirokazu Tanaka, Hirohiko Shibayama, Nobuhiko Uoshima, Naoki Hosen, Tomoki Ito, Chihiro Shimazaki, Itaru Matsumura, Junya Kuroda, Akifumi Takaori-Kondo & Masayuki Hino.

The lymphocyte/monocyte ratio predicts the efficacy of isatuximab plus pomalidomide in multiple myeloma patients

Cancer Immunol Immunother. 2024 May 17;73(7):135

Yutaro Nasa, Atsushi Satake, Ryohei Tsuji, Ryo Saito, Yukie Tsubokura, Hideaki Yoshimura, Tomoki Ito. Concomitant use of interleukin-2 and tacrolimus suppresses follicular helper T cell proportion and exerts therapeutic effect against lupus nephritis in systemic lupus erythematosus-like chronic graft versus host disease

Front Immunol. 2024 Apr 11;15:1326066.

Masataka Kuwana, Tomoki Ito, Shugo Kowata, Yoshihiro Hatta, Katsumichi Fujimaki, Kensuke Naito, Shingo Kurahashi, Toshiya Kagoo, Kazuki Tanimoto, So Saotome, Yoshiaki Tomiyama. Long-term treatment with fostamatinib in Japanese patients with primary immune thrombocytopenia: An open-label extension study following a phase 3 placebo-controlled, double-blind, parallel-group study

Am J Hematol. 2024 Feb;99(2):E55-E59.

Yu Abe, Shiro Kubonishi, Masaki Ri, Masaki Iino, Kazutaka Sunami, Tomoki Ito, Masafumi Fukaya, Toshiyuki Kitano, Sho Ikeda, Shuichi Ota, Taiga Kuroi, Noriyoshi Iriyama, Tatsuro Jo, Masaaki Adachi, Daigo Akahane, Tatsuyuki Kai, Yoichi Kohara, Norimitsu Kadowaki, Teruaki Katayama. An observational study of once-weekly carfilzomib in patients with multiple myeloma in Japan (Weekly-CAR study) . Future Oncol. 2024 Feb 29. doi: 10.2217/fon-2023-0834.

Shosaku Nomura, Takehito Taniura, Jun Ichikawa, Ayako Iwama, Tomoki Ito. Risk of Atherosclerosis Due to HMGB1-dependent Platelet-derived Microparticles in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus.

Clin Appl Thromb Hemost. 2024 Jan-Dec;30:10760296241302082.

Yutaka Shimazu, Junya Kanda, Satoru Kosugi, Tomoki Ito, Hitomi Kaneko, Kazunori Imada, Yuji Shimura, Shin-ichi Fuchida, Kentaro Fukushima, Hirokazu Tanaka, Satoshi Yoshihara, Kensuke Ohta, Nobuhiko Uoshima, Hideo Yagi, Hirohiko Shibayama, Ryosuke Yamamura, Yasuhiro Tanaka, Hitoji Uchiyama, Yoshiyuki Onda, Yoko Adachi, Hitoshi Hanamoto, Ryoichi Takahashi, Mitsuhiro Matsuda, Takashi Miyoshi, Teruhito Takakuwa, Masayuki Hino, Naoki Hosen, Shosaku Nomura, Chihiro Shimazaki, Itaru Matsumura, Akifumi Takaori-Kondo & Junya Kuroda.

Efficacy of elotuzumab for multiple myeloma in reference to lymphocyte counts and kappa/lambda ratio or B2 microglobulin. Sci Rep. 2023; 13: 5159.

Mariko Futamura, Yoshio Ozaki, Hidehiko Makino, Saki Tsujimoto, Minoru Shigesaka, Akihiro Tanaka, Keiko Shimamoto, Yonsu Son, Tomoki Ito, Shosaku Nomura. Anti-MDA-5 Antibody-positive Dermatomyositis after Allogeneic Bone Marrow Transplantation for Acute Transformation of Chronic Myelogenous Leukemia. Intern Med. 2023 Apr 1;62(7):1081-1087.

Aya Nakaya Hirohiko Shibayama Nobuhiko Uoshima Ryosuke Yamamura Satoshi Yoshioka Kazunori Imada Yuji Shimura Masaaki Hotta Toshimitsu Matsui Satoru Kosugi Hitoshi Hanamoto Hitoji Uchiyama Satoshi Yoshihara Shin-Ichi Fuchida Yoshiyuki Onda Yasuhiro Tanaka Kensuke Ohta Mitsuhiro Matsuda Junya Kanda Adachi Yoko Miki Kiyota Eri Kawata Ryoichi Takahashi Kentaro Fukushima Hirokazu Tanaka Hideo Yagi Teruhito Takakuwa Naoki Hosen Tomoki Ito Chihiro Shimazaki Akifumi Takaori-Kondo Junya Kuroda Itaru Matsumura Masayuki Hino.

Impact of cytogenetic abnormalities in symptomatic multiple myeloma; a Japanese real-world analysis from Kansai Myeloma Forum. Leuk Res Rep. 2023 Nov 17;20:100395.

Shosaku Nomura, Jun Ichikawa, Toshiki Shimizu, Yoshihisa Ishiura, Masaya Okada, Kazuyoshi Ishii, Tomoki Ito.

Association of High Mobility Group Box-Protein 1 and Platelet-Microparticles in Patients After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Clin Appl Thromb Hemost. 2023 Jan-Dec;29:10760296231193398.

Shosaku Nomura, Akira Shouzu, Takehito Taniura, Yoshinori Okuda, Seitaro Omoto, Masahiko Suzuki, Tomoki Ito, Nagaoki Toyoda. Effects of Tofogliflozin and Anagliptin Alone or in Combination on Glucose Metabolism and Atherosclerosis-Related Markers in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. Clin Pharmacol. 2023 May 25;15:41-55.

Yuji Shimura Hirohiko Shibayama Aya Nakaya Ryosuke Yamamura Kazunori Imada Hitomi Kaneko Hitoshi Hanamoto Shin-Ichi Fuchida Hirokazu Tanaka Satoru Kosugi Miki Kiyota Toshimitsu Matsui Junya Kanda Masato Iida Mitsuhiro Matsuda Nobuhiko Uoshima Masaru Shibano Takahiro Karasuno Tsuneyoshi Hamada Kensuke Ohta Tomoki Ito Hideo Yagi Satoshi Yoshihara Chihiro Shimazaki Shosaku Nomura Masayuki Hino Akifumi Takaori-Kondo Itaru Matsumura Yuzuru Kanakura Junya Kuroda. Real-world data on induction therapy in patients with transplant-ineligible newly diagnosed multiple myeloma: retrospective analysis of 598 cases from Kansai Myeloma Forum. Int J Hematol. 2023 Nov;118(5):609-617.

Shuji Uno, Shuichi Midorikawa, Kei Inoue, Daisuke Ichikawa, Tomoki Ito, Junya Kuroda, Kenshi Suzuki. Survival outcomes among patients with multiple myeloma in the era of novel agents: exploratory assessment using an electronic medical record database in Japan. PLoS One . 2023 May 31;18(5):e0285947

Choi, I., Okada, M., Ito, T. Real-world data from yttrium-90 ibritumomab tiuxetan treatment of relapsed or refractory indolent B-cell non-Hodgkin's lymphoma: J3Zi Study. Ann Hematol. 2023 May;102(5):1149-1158

Yutaka Shimazu , Junya Kanda , Hitomi Kaneko, Kazunori Imada, Ryosuke Yamamura, Satoru Kosugi, Yuji Shimura, Tomoki Ito, Shin-ichi Fuchida, Hitoji Uchiyama, Kentaro Fukushima, Satoshi Yoshihara, Hitoshi Hanamoto, Hirokazu Tanaka, Nobuhiko Uoshima, Kensuke Ohta, Hideo Yagi, Hirohiko Shibayama, Yoshiyuki Onda , Yasuhiro Tanaka, Yoko Adachi, Mitsuhiro Matsuda, Masato Iida, Takashi Miyoshi, Toshimitsu Matsui, Ryoichi Takahashi, Teruhito Takakuwa, Masayuki Hino, Naoki Hosen, Shosaku Nomura, Chihiro Shimazaki, Itaru Matsumura, Akifumi Takaori-Kondo, Junya Kuroda and The Kansai Myeloma Forum. Monocyte or white blood cell counts and 2

microglobulin predict the durable efficacy of daratumumab with lenalidomide. *Ther Adv Hematol.* 2022 Dec 13;13:20406207221142487. doi: 10.1177/20406207221142487. eCollection 2022.

Masataka Kuwana, Tomoki Ito, Shugo Kowata, Yoshihiro Hatta, Katsumichi Fujimaki, Kensuke Naito, Shingo Kurahashi, Toshiya Kagoo, Kazuki Tanimoto, So Saotome, Yoshiaki Tomiyama, R788-1301 Investigators. Fostamatinib for the treatment of Japanese patients with primary immune thrombocytopenia: A phase 3, placebo-controlled, double-blind, parallel-group study. *Br J Haematol.* 2023 Mar;200(6):802-811. doi: 10.1111/bjh.18582. Epub 2022 Dec 5.

Yoko Edahiro, Tomoki Ito, Akihiko Gotoh, Mika Nakamae, Fumihiko Kimura, Michiaki Koike, Keita Kirito, Hideho Wada, Kensuke Usuki, Takayuki Tanaka, Takehiko Mori, Satoshi Wakita, Toshiki I. Saito, Akiko Kada, Akiko M. Saito, Kazuya Shimoda, Yuka Sugimoto, Toshiro Kurokawa, Akihiro Tomita, Yoshinori HashimotoKoichi Akashi, Itaru Matsumura, Katsuto Takenaka, Norio Komatsu. Clinical characteristics of Japanese patients with polycythemia vera: Results of the JSH-MPN-R18 study. *Int J Hematol* 2022. 116: 696-711.

Yukie Tsubokura, Hideaki Yoshimura, Atsushi Satake, Yutaro Nasa, Ryohei Tsuji, Tomoki Ito, Shosaku Nomura. Early administration of lenalidomide after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation suppresses graft-versus-host disease by inhibiting T-cell migration to the gastrointestinal tract. *Immun Inflamm Dis.* 2022 Sep;10(9):e688. doi: 10.1002/iid3.688.

Onda, Yoshiyuki; Kanda, Junya; Kaneko, Hitomi; Shimura, Yuji; Fuchida, Shin-Ichi; Nakaya, Aya; Ito, Tomoki; Yamamura, Ryosuke; Tanaka, Hirokazu; Shibayama, Hirohiko; Shimazu, Yutaka; Uchiyama, Hitoji; Yoshihara, Satoshi; Adachi, Yoko; Matsuda, Mitsuhiro; Hanamoto, Hitoshi; Uoshima, Nobuhiko; Kosugi, Satoru; Ohta, Kensuke; Yagi, Hideo; Kanakura, Yuzuru; Matsumura, Itaru; Hino, Masayuki; Nomura, Shosaku; Shimazaki, Chihiro; Takaori-Kondo, Akifumi; Kuroda, Junya. Real-world effectiveness and safety analysis of carfilzomib-lenalidomide-dexamethasone and carfilzomib-dexamethasone in relapsed/refractory multiple myeloma: a multicenter retrospective analysis. *Ther Adv Hematol.* 2022 Jun 24;13:20406207221104584. doi: 10.1177/20406207221104584. eCollection 2022.

Tomoki Ito, David Sanford, Ciprian Tomuleasa, Hui-Hua Hsiao, Leonardo José Enciso Olivera, Anoop Kumar Enjeti, Alberto Gimenez Conca, Teresa Bernal del Castillo, Larisa Girshova, Maria Paola Martelli, Birol Guvenc, Cat N. Bui, Alex Delgado, Yinghui Duan, Belen Garbayo Guijarro, Cynthia Llamas, Je-Hwan Lee. Healthcare resource utilization trends in patients with acute myeloid leukemia ineligible for intensive chemotherapy receiving first-line systemic treatment or best supportive care: A multicenter international study. *Eur J Haematol.* Mar 17. doi: 10.1111/ejh.13769. 2022

Chikashi Yoshida, Takeshi Kondo, Tomoki Ito, Masahiro Kizaki, Kazuhiko Yamamoto, Yoshihiro Miyamoto, Yasuyoshi Morita, Tetsuya Eto, Yuna Katsuoka, Naoki Takezako, Nobuhiko Uoshima, Kazunori Imada, Jun Ando, Takuya Komeno, Akio Mori, Yuichi Ishikawa, Atsushi Satake, Junichi Watanabe, Yoshiko Kawakami, Tetsuo Morita, Ikue Taneike, Masahiko Nakayama, Yinghui Duan, Belen Garbayo Guijarro, Alexander Delgado, Cynthia Llamas, Hitoshi Kiyoi: Real-world treatment patterns and clinical outcomes in patients with AML in Japan who were ineligible for first-line intensive chemotherapy. *Int J Hematol.* 2022 Jul;116(1):89-101.

Yoshinori Hashimoto, Tomoki Ito, Akihiko Gotoh, Mika Nakamae, Fumihiko Kimura, Michiaki Koike, Keita Kirito, Hideho Wada, Kensuke Usuki, Takayuki Tanaka, Takehiko Mori, Satoshi Wakita, Toshiki I. Saito, Akiko Kada, Akiko M. Saito, Kazuya Shimoda, Yuka Sugimoto, Toshiro Kurokawa, Akihiro Tomita, Yoko Eda, Hirokoichi Akashi, Itaru Matsumura, Katsuto Takenaka, Norio Komatsu: Clinical characteristics, prognostic factors, and outcomes of patients with essential thrombocythemia in Japan: The JSH-MPN-R18 study. *Int J Hematol.* 115:208-221. 2021

Masaaki Hotta, Atsushi Satake, Hideaki Yoshimura, Shinya Fujita, Yuta Katayama, Shuichi Ota, Hitoshi Hanamoto, Tatsuo Oyake, Shigeki Ito, Masaya Okada, Takahisa Nakanishi, Tomoki Ito, Kazuyoshi Ishii, Shosaku Nomura: Elevation of Early Plasma Biomarkers in Patients with Clinical Risk Factors Predicts Increased Nonrelapse Mortality after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transplant Cell Ther.* 27: 660. e1-e8. 2021

Masaaki Hotta, Tomoki Ito, Akiko Konishi, Hideaki Yoshimura, Takahisa Nakanishi, Shinya Fujita, Atsushi Satake, Shosaku Nomura: Multiple myeloma with central nervous system relapse early after autologous stem cell transplantation: a case report and literature review. *Intern Med* 60; 463-468. 2021

Tsujimoto S, Ozaki Y, Ito T, Nomura S: Usefulness of cytokine gene polymorphisms for the therapeutic choice in Japanese patients with rheumatoid arthritis. 14: 131-139. 2021

Teruhito Takakuwa, Kensuke Ohta, Eiji Nakatani, Tomoki Ito, Hitomi Kaneko, Shin-Ichi Fuchida, Yuji Shimura, Hideo Yagi, Hirohiko Shibayama, Junya Kanda, Hitoji Uchiyama, Satoru Kosugi, Hirokazu Tanaka, Eri Kawata, Nobuhiko Uoshima, Jun Ishikawa, Masaru Shibano, Takahiro Karasuno, Maki Shindo, Yoshifumi Shimizu, Kazunori Imada, Yuzuru Kanakura, Junya Kuroda, Masayuki Hino, Shosaku Nomura, Akifumi Takaori-Kondo, Chihiro Shimazaki, Itaru Matsumura: Plateau is a prognostic factor of lenalidomide therapy for previously treated multiple myeloma. *Hematological Oncology.* 39:349-357. 2021

Aya Nakaya, Hirohiko Shibayama, Eiji Nakatani, Yuji Shimura, Satoru Kosugi, Hirokazu Tanaka, Shin-Ichi Fuchida, Junya Kanda, Nobuhiko Uoshima, Hitomi Kaneko, Kazunori Imada, Kensuke Ohta, Tomoki Ito, Hideo Yagi, Satoshi Yoshihara, Masayuki Hino, Chihiro Shimazaki, Akifumi Takaori-Kondo, Junya Kuroda, Itaru Matsumura, Yuzuru Kanakura, Shosaku Nomura: Significance of maintenance therapy after HDT/ASCT in symptomatic multiple myeloma: A multicenter retrospective analysis in Kansai Myeloma Forum. *eJHaem.* 2:765-773. 2021

Shosaku Nomura, Misao Abe, Manabu Yamaoka, Tomoki Ito: Effect of cytokine gene polymorphisms on platelet reactivity in Japanese patients with immune thrombocytopenia. *Journal of Blood Medicine* 12 421-429. 2021

Akiko Konishi, Misao Abe, Manabu Yamaoka, Atsushi Satake, Tomoki Ito, Shosaku Nomura: Analysis of HLA haplotype and clinical factors during hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Immunol.* Jun;66:101376. 2021

Shosaku Nomura, Takehito Taniura, Tomoki Ito: Extracellular vesicle-related thrombosis in viral infection. *Int J Gen Med* 13: 559-567. 2020

Vien Phan, Tomoki Ito, Muneo Inaba, Yoshiko Azuma, Kayoko Kibata, Noriko Inagaki-Katashiba, Akihiro Tanaka, Atsushi Satake, Shosaku Nomura: Immunomodulatory drugs

suppress Th1-inducing ability of dendritic cells but enhance Th2-mediated allergic responses. Blood Adv. 4: 3572-3585. 2020

Minoru Shigesaka, Tomoki Ito, Muneo Inaba, Kai Imai, Hideki Yamanaka, Yoshiko Azuma, Akihiro Tanaka, Hideki Amuro, Tohru Nishizawa, Yonsu Son, Atsushi Satake, Yoshio Ozaki, and Shosaku Nomura: Mycophenolic acid, the active form of mycophenolate mofetil, interferes with IRF7 nuclear translocation and type I IFN production by plasmacytoid dendritic cells. Arthritis Res Ther. 22: 264. 2020

Takahisa Nakanishi, Tomoki Ito, Shinya Fujita, Atsushi Satake, Akiko Konishi, Masaaki Hotta, Hideaki Yoshimura, Shosaku Nomura: Refractory chronic lymphocytic leukemia with central nervous system involvement: a case report with literature review. J Blood Med 11: 487-502. 2020

Aya Nakaya , Takae Kohara, Hirohiko Shibayama, Yoshiyuki Onda, Junya Kanda, Hitomi Kaneko, Kazunori Imada, Toru Kida, Satoru Kosugi , Jun Ishikawa, Ryosuke Yamamura, Yutaka Shimazu, Hirokazu Tanaka, Shin-Ichi Fuchida, Yuji Shimura, Miki Kiyota, Katsuya Wada, Tomoki Ito, Nobuhiko Uoshima, Hideo Yagi, Satoshi Yoshihara , Kensuke Ohta, Chihiro Shimazaki, Masayuki Hino, Akifumi Takaori-Kondo, Junya Kuroda, Itaru Matsumura, Yuzuru Kanakura , Shosaku Nomura, Kansai Myeloma Forum Investigators: Retrospective multi-center study of adolescent and young adult (AYA) multiple myeloma in Kansai Myeloma Forum registry. Int J Hematol 112: 435-438. 2020

Aya Nakaya, Shinya Fujita, Atsushi Satake, Takahisa Nakanishi, Yoshiko Azuma, Yukie Tsubokura, Ryo Saito, Akiko Konishi, Masaaki Hotta, Hideaki Yoshimura, Kazuyoshi Ishii, Tomoki Ito, Shosaku Nomura: Evaluation of azacitidine in patients with transplant-ineligible myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes in a Japanese clinical setting. Oncol Let 19: 1317-1321. 2020

Atsushi Satake, Akiko Konishi, Yoshiko Azuma, Yukie Tsubokura, Hideaki Yoshimura, Masaaki Hotta, Takahisa Nakanishi, Shinya Fujita, Aya Nakaya, Tomoki Ito, Kazuyoshi Ishii, Shosaku Nomura: Clinical efficacy of mogamulizumab for relapsed/refractory aggressive adult T-cell leukemia/lymphoma: a retrospective analysis. Eur J Haematol 105: 704-711. 2020

Yoshinori Hashimoto, Tomoki Ito, Yasuhiro Tanaka, Aya Nakaya, Shinya Fujita, Atsushi Satake, Takahisa Nakanishi, Akiko Konishi, Masaaki Hotta, Hideaki Yoshimura, Kazuyoshi Ishii, Akiko Hashimoto, Toshinori Kondo, Hiromi Omura, Isaku Shinzato, Takayuki Tanaka & Shosaku Nomura: Comparison of starting doses of anagrelide as a first-line therapy in patients with cytoreductive therapy-naïve essential thrombocythemia: difference between starting at 0.5 and 1.0 mg/day. Int J Hematol. 112: 33-40. 2020

Ryoichi Iwata, Joo Hyoun Lee, Mikio Hayashi, Umberto Dianzani, Kohei Ofune, Masato Maruyama, Souichi Oe, Tomoki Ito, Tetsuo Hashiba, Kunikazu Yoshimura, Masahiro Nonaka, Yosuke Nakano, Lyse Norian, Ichiro Nakano, Akio Asai: ICOSLG-mediated regulatory T-cell expansion and IL-10 production promote progression of glioblastoma. Neuro Oncol. 22: 333-344. 2020

<図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数)

なし

<学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月)

<特許申請・取得状況>

なし

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	内科学第三講座	事業推進者名	長沼誠
所属部門	がん部門		
研究課題名	消化器がん病態・病因を解明するためのバイオマーカーの開発		
キーワード	消化管がん、慢性炎症、発癌メカニズム		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	9 名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 長沼誠 研究全体計画、統括 富山尚 研究全体計画、大腸がん転移に関与する分子メカニズム研究 福井 俊朗 腸炎関連大腸癌モデルマウスの早期腫瘍性病変解析による腫瘍発生と癌幹細胞の性質についての検討 田原 智満 バレット食道と食道腺癌に集積する DNA メチル化の網羅的解析に関する研究 四十万谷 拓也 バレット食道と食道腺癌に集積する DNA メチル化の網羅的解析に関する研究 松本 泰司 腸炎関連大腸癌モデルマウスの早期腫瘍性病変解析による腫瘍発生と癌幹細胞の性質についての検討 小林三四郎 大腸がん転移に関与する分子メカニズム研究 浦上 富生 潰瘍性大腸炎合併大腸癌のマウスモデルを用いた発癌メカニズムの検討 佐野 泰樹 大腸癌発症に関与する潰瘍性大腸炎重症化における活性化血小板単球複合体の関与に関する研究			
<研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）> 1 潰瘍性大腸炎合併大腸癌のマウスモデル作成 慢性炎症に伴う大腸癌発症の機序を解明するために、従来の AOM/DSS マウスモデルとは異なる、TGF-β-II/AOM マウスを用いて、潰瘍性大腸炎患者に多い平坦型大腸癌を発生するモデルを作成した。免疫組織学的検討では腫瘍部において、β-Catenin、Ki67、Sox9 の発現が認められた。さらには AOM の投与量を増加させ、投与時期を遅らせることで発癌率は上昇した。 発癌したマウスは発癌しなかったマウスよりも大腸炎の程度が強い傾向がある点や発生した腫瘍が平坦病変が多い点などが、本動物モデルは潰瘍性大腸炎合併大腸癌の動物モデルとして有用な可能性が示唆された。 2 腸炎関連大腸癌モデルマウスの早期腫瘍性病変解析による腫瘍発生と癌幹細胞の性質についての検討 腸炎関連大腸癌モデルマウスにおける腫瘍発生部位に関する報告は少ないことより、今回増殖・腫瘍マーカー（β-catenin、Sox9、Ki67、Cyclin D1、CDK4）や癌幹細胞マーカー（Bmi1）、pSmad2/3L-Thr の発現を過去の成果と照らし合わせることで、pSmad2/3L-Thr を用いた腫瘍発生の局在部位やメカニズムに関する研究をおこなった。全ての腫瘍病変は粘膜層の一部に限局し、粘膜表面は凹凸も認められなかった。 腸炎関連大腸癌モデルマウスの大きな腫瘍病変と同様に、300 μm 以下の小腫瘍では β-catenin は腫瘍細胞全体の核または細胞質に陽性、Sox9 はびまん性に腫瘍全体の核に陽性、Ki67 と Cyclin D1 は腫瘍細胞の一部の核に陽性、CDK4 は核陽性細胞が腫瘍内に点在していた。pSmad2/3L-Thr を用いた二重染色でも同様に、pSmad2/3L-Thr は核および細胞質に陽性の細胞が腫瘍内に点在し、pSmad2/3L-Thr 陽性細胞は β-catenin、CDK4、Bmi1 は陽性であったが Ki67 は陰性であった。非腫瘍部の正常腺管では腺底部に pSmad2/3L-Thr 陽性細胞は点在していた。小腫瘍は大腸粘膜上層に多く認められた。腺管腫瘍に対しても同様の染色を行い小腫瘍と比較したが、いずれの染色結果も小腫瘍と同様であり、腫瘍腺管の全細胞が核または細胞質に β-catenin 陽性で腫瘍腺管内に極少数の pSmad2/3L-Thr 陽性細胞が認められた。1 腺管腫瘍も大腸粘膜内で上層に多く認められた。 腸炎関連大腸癌モデルマウスにおいて腫瘍発生初期病変を確認し性質を解析した。腸炎関連大腸癌では腸炎の正常組織幹細胞による再生機転と同様、腫瘍化した癌幹細胞が出現・増殖し、腫瘍病変が増大していくものと考えられた。さらに pSmad2/3L-Thr は非腫瘍部では正常組織幹細胞マーカーに、腫瘍部では癌幹細胞マーカーに合致する所見が本研究にても再確認された。			

3 制御性 T 細胞を介した細胞外小胞の大腸癌転移抑制に関するメカニズム解明に関する研究

大腸癌の肺転移モデルマウスを作成し、細胞外小胞 (TEVs) が生体内の腫瘍にもたらす変化を、生命予後に密接に関係するとされる腫瘍周囲の制御性 T 細胞 (Treg) のフェノタイプに着目し解析した。

ナノトラッキング解析、電子顕微鏡、Western Blotting により、培養上清から EVs を回収できていることを確認した。病理標本組織では転移性肺腫瘍マウスへの Colon-26-EVs 投与群が、PBS 投与群と比べて、肺腫瘍量の低下がみられた。蛍光免疫染色では腫瘍周囲や腫瘍内には我々が着目した FoxP3 陽性 T 細胞の他に、CD3、CD4、CD8、B220、CD11b、CD11c 陽性細胞が存在することを確認した。Colon-26-EVs 投与群では PBS 投与群に比し Treg /CD4 の割合の低下 ($P < 0.05$) を認めた。フローサイトメトリーでは、Colon-26-EVs 投与群で Treg の免疫チェックポイント分子 PD-1、GITR、T 細胞活性化マーカー CD69 の発現低下が認められ、これらの発現の低下は TEVs 用量依存的であった。ASB-EVs の投与でも Colon-26-EV と同様に Treg の PD-1、GITR、CD69 の低下がみられたが、非腫瘍性細胞株である 3T3-EVs では、それらの発現の低下は認めなかった。PKH26 で蛍光ラベルした Colon-26-EVs を経静脈投与したところ、肺の CD11b+CD11c+細胞への取り込みが増加していた。

以上より TEVs は肺組織内で、CD11b+細胞 (CD11b+DC あるいは間質マクロファージ) に多く取り込まれたこと、脾臓 CD11b+細胞と Colon-26-EVs との共培養上清が Treg の PD-1 発現を *in vitro* で低下させたことなどから、この転移性肺腫瘍マウスモデルでの TEVs 投与による腫瘍増殖抑制は、CD11b+による癌ワクチン効果および、CD11b+細胞による間接的な Treg のフェノタイプ抑制が惹起されたことが要因となっていることが示唆され、腫瘍免疫を促進させる可能性が考えられた。

4 バレット食道と食道腺癌に集積する DNA メチル化の網羅的解析に関する研究

食道腺癌は欧米諸国における食道癌の半数以上を占めており、日本でもその発生率は増加傾向である。食道腺癌の発生母地とされるバレット粘膜は、その長さが発癌リスクに関連するが、本邦の食道腺癌はバレット粘膜長が短い Short segment Barrett's esophagus (SSBE) 合併例をしばしば認め、その発癌分子メカニズムの検討は十分でない。遺伝子メチル化に代表されるエピゲノム異常は、癌化の重要なメカニズムであり、前癌状態でも認められる。本研究では日本人のバレット食道、食道腺癌における分子異常をエピゲノムの観点より検討する目的で、臨床検体を用いた網羅的エピゲノム解析を行った。候補遺伝子の解析では *N33*, *DPYS*, *SLC16A12* のメチル化レベルは N group に対し ADJ group, T group で有意に高かった。また、これら 3 遺伝子のメチル化状態は互いに有意な相関関係を認めた。3 遺伝子のメチル化の平均値 Z-score を発癌初期に関わるメチル化異常の指標とし、バレット食道の臨床病理学的因子との関連を検討した結果、癌の合併 (ADJ group) がメチル化に関わる独立因子として同定された。ゲノムワイドメチル化解析では ADJ・T group では N group に対し遺伝子転写開始領域 1kb 以内を中心にメチル化の高度集積が認められ、同領域の高メチル化サイト数はテロメア短縮と有意な関連を認めた。N group に対し ADJ group, T group で高メチル化を来した遺伝子のそれぞれ 1/4, 1/3 が公的データ上の、バレット腺癌における発現抑制遺伝子と一致しており、それらの遺伝子群は Gene Ontology 解析により biosynthetic/metabolic process との有意な関連を認めた。本研究より、網羅的メチル化解析により、バレット食道と食道腺癌に認められるメチル化異常は遺伝子転写開始領域に集中し、特定の機能を有する遺伝子群の発現低下に関わる可能性が示唆され、DNA メチル化異常がバレット食道、食道腺癌の分子バイオマーカーのみでなく、分子標的治療や化学予防に繋がる可能性が期待された。

5 大腸癌発症に関与する潰瘍性大腸炎重症化における活性化血小板単球複合体の関与に関する研究

潰瘍性大腸炎の慢性炎症を母地とした大腸癌が発生することが知られており、本疾患の重症化や難治化に関するメカニズムを明らかにすることは重要である。潰瘍性大腸炎において、血小板が活性化していることが報告されているが、その病態生理学的意義は十分に解明されていない。特に血小板活性化マーカーと粘膜炎症の重症度との関連、および血小板-単球複合体 (PMC) 形成が粘膜炎症に及ぼす影響については詳細な検討がなされていないため、本研究では UC の病態解明

と新規治療標的の同定を目指した。潰瘍性大腸炎患者では健常対照者と比較して血小板上の CD62P 発現が有意に上昇しており、重症例でその発現が有意に高かった。血小板単球複合体 (PMC) についても内視鏡的重症例で割合が高いこと、腸管粘膜の検討では、PMC は主として粘膜欠損部位に集積しており、その数は粘膜損傷の深度に応じて有意に増加することが確認された。さらには治療により内視鏡的粘膜寛解に至った患者では、3 ヶ月後に PMC の有意な減少を認められた。以上より、CD62P を介した PMC 形成は粘膜炎症の進展に重要な役割を果たしており、治療効果の指標としても有用である可能性が示唆された。一方、寛解後も血小板活性化が持続していることから、寛解維持療法の重要性が示唆された。本研究より CD62P をターゲットとした治療法は慢性炎症を制御することにより、大腸癌発生予防としての chemoprevention として有用な可能性が示唆された。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	内科学第三講座	事業推進者名	長沼誠
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) Miyamoto S, <u>Fukui T</u>, Horitani S, Tanimura Y, <u>Matsumoto Y</u>, Suzuki R, Takahashi YU, Kishimoto M, <u>Tomiyama T</u>, Nishio A, Okazaki K, <u>Naganuma M</u>. Linker Threonine-phosphorylated Smad2/3 Is a Biomarker of Colorectal Neoplastic Stem-like Cells that Correlates With Carcinogenesis. Anticancer Res. 2021 Oct;41(10):4789-4799. (査読あり) <u>Uragami T</u>, Ando Y, Aoi M, <u>Fukui T</u>, Matsumoto Y, Horitani S, <u>Tomiyama T</u>, Okazaki K, Tsuneyama K, Tanaka H, <u>Naganuma M</u>. Establishment of a Novel Colitis-Associated Cancer Mouse Model Showing Flat Invasive Neoplasia Dig Dis Sci. 2023 May;68(5):1885-1893. (査読あり) <u>Shijimaya T</u>, <u>Tahara T</u>, Yamazaki J, Matsumoto Y, Nakamura N, Takahashi Y, <u>Tomiyama T</u>, <u>Fukui T</u>, Shibata T, <u>Naganuma M</u>. Comprehensive DNA methylation profiling of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma in Japanese patients. Mol Carcinog. 2023 Aug;62(8):1191-1200. (査読あり) <u>Matsumoto Y</u>, <u>Fukui T</u>, Horitani S, Tanimura Y, Suzuki R, <u>Tomiyama T</u>, Honzawa Y, Tahara T, Okazaki K, <u>Naganuma M</u>. A Short-Term Model of Colitis-Associated Colorectal Cancer That Suggests Initial Tumor Development and the Characteristics of Cancer Stem Cells Int J Mol Sci. 2023 Jul 20;24(14):11697. (査読あり) <u>Kobayashi S</u>, Kondo N, <u>Tomiyama T</u>, Nakamura N, Masuda M, Matsumoto Y, Honzawa Y, <u>Tahara T</u>, Ikeura T, <u>Fukui T</u>, Okazaki K, <u>Naganuma M</u>. Intravenous injection of tumor extracellular vesicles suppresses tumor growth by reducing the regulatory T cell phenotype. Cancer Immunol Immunother. 2023 Nov;72(11):3651-3664. (査読あり) <u>Tahara T</u>, <u>Shijimaya T</u>, Yamazaki J, Kobayashi S, Horitani A, Matsumoto Y, Nakamura N, Okazaki T, Takahashi Y, <u>Tomiyama T</u>, Honzawa Y, Fukata N, <u>Fukui T</u>, <u>Naganuma M</u>. Fusobacterium Detected in Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma Tissues Cancer Invest. 2024 Jul;42(6):469-477. (査読あり) <u>Shijimaya T</u>, <u>Tahara T</u>, Yamazaki J, Kobayashi S, Matsumoto Y, Nakamura N, Takahashi Y, <u>Tomiyama T</u>, Fukui T, Shibata T, <u>Naganuma M</u>. Microbiome of esophageal endoscopic wash samples is associated with resident flora in the esophagus and incidence of cancer. Sci Rep. 2024 Aug 22;14(1):19525. (査読あり) <u>Sano Y</u>, <u>Tomiyama T</u>, Yagi N, Ito Y, Honzawa Y, <u>Tahara T</u>, Ikeura T, <u>Fukui T</u>, Shimoda S, <u>Naganuma M</u>. Platelet activation through CD62P and the formation of platelet-monocyte complexes are associated with the exacerbation of mucosal inflammation in patients with ulcerative colitis. Sci Rep. 2024 Nov 14;14(1):28055. (査読あり) <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) 特になし <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地(海外の場合は国名と都市名)・発表年月) <u>浦上富生</u>, <u>安藤祐吾</u>, <u>長沼誠</u> 平坦な浸潤性腫瘍を形成する大腸炎関連癌の新規マウスモデルの確立 第58回日本消化器免疫学会総会 京都 2021年7月 <u>小林三四郎</u>, <u>富山尚</u>, <u>長沼誠</u> 大腸癌エクソソームがもたらす生体内での腫瘍免疫変化の解析 第58回日本消化器免疫学会総会 京都 2021年7月			

Kobayashi S, Tomiyama T, Naganuma M. Intravenous injection of colon cancer extracellular vesicles suppresses tumor growth with dampening regulatory T cell phenotype. UEGW2021
ウィーン、ドイツ 2021 年 10 月

Tahara Tomomitsu, Shijimaya Takuya, Nishimon Shuhei, Kobayasi Sanshiro, Matsumoto Yasushi, Nakamura Naohiro, Okazaki Takashi, Tomiyama Takashi, Takahashi Yu, Fukata Norimasa, Fukui Toshiro, Naganuma Makoto Endoscopic findings related to injury to the muscle layer, increasing the incidence of non-cardiac chest pain after endoscopic submucosal dissection for esophageal squamous cell carcinoma Digestive Disease Week 2023, シカゴ 米国 2023 年 5 月

四十万谷 卓也, 田原 智満, 松本 泰司, 中村 尚広, 高橋 悠, 長沼 誠
Methylome sequence による日本人バレット食道腺癌及び背景バレット食道に蓄積する遺伝子メチル化の網羅的解析 第 31 回日本消化器関連学会週間 (JDDW2023KOBÉ) 神戸 2023 年 11 月

Sano Y, Tomiyama T, Naganuma M. Platelet activation and platelet-monocyte interactions correlate with mucosal inflammation and disease severity in ulcerative colitis UEGW2023 コペンハーゲン デンマーク 2023 年 10 月

四十万谷卓也, 田原智満, 中村尚広, 高橋悠, 富山尚, 本澤有介, 深田憲将, 福井寿朗, 長沼誠 バレット食道の発癌に係わる粘膜内細菌叢の変化とその要因 第 110 回 日本消化器病学会総会 徳島 2024 年 4 月

四十万谷卓也, 田原智満, 長沼誠 Magnifying narrow-band imaging features of Barrett's esophagus in relation to their Microbiome composition 第 107 回 日本消化器内視鏡学会総会 東京 2024 年 5 月

Takuya Shijimaya, Tomomitsu Tahara, Makoto Naganuma Integrated analysis of mucosa-associated microbiome and host genotoxic changes in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma sequence Digestive Disease Week 2024, ワシントン DC 米国 2024 年 5 月

佐野泰樹, 富山尚, 長沼誠 潰瘍性大腸炎患者における内視鏡重症度別にみた血小板 CD62P の活性化動態 第 15 回日本炎症性腸疾患学会 学術集会 東京 2024 年 11 月

<特許申請・取得状況>
特になし

研究成果報告書（研究概要）

講 座 等 名	心療内科学講座	事業推進者名	蓮尾英明
所 属 部 門	神経部門		
研究課題名	心身症を客観的に評価できるマーカーの同定		
キーワード	心身医学的アプローチ、アトピー性皮膚炎、エクソソーム		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	4 名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞ 蓮尾英明 心療内科学講座心療内科 教授 富山尚 消化器学講座 病院准教授 西山順滋 心療内科学講座総合診療科 講師 藤井良平 心療内科学講座 大学院生			
＜研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）＞ ・2024 年度に病態分子イメージングセンター研究費申請を行った。 ・課題名「デルファイ変法を用いた非薬物的心身医学的アプローチの概念の構築」の研究計画を立て、2024/02/02 に本学倫理審査委員会の承認を得た。本学が中心となり、日本皮膚心身症学会の連携のもとに、アトピー性皮膚炎へ非薬物的心身医学的アプローチのデルファイ研究を行った。現在論文作成中の段階である。 ・課題名「心身症傾向のあるアトピー性皮膚炎への心身医学的アプローチによるエクソソーム変化の探索」の研究計画を立て、2024/12/09 に本学倫理審査委員会に申請、2025/05/19 に審査を受ける予定である。本研究の目的は、血清由来エクソソームがストレス関連疾患治療のバイオマーカーになる可能性を探索することである。具体的には、心身症傾向のあるアトピー性皮膚炎患者を対象に、初回の前述のデルファイ研究で推奨された心身医学的アプローチ前後でエクソソームを含む免疫系の変化を単群前後比較により探索的に評価する。免疫系の評価は、血清由来エクソソーム内に含有される microRNA(miRNA)を用いたマイクロアレイによる遺伝子解析およびその定量化を通じて評価を行う。 予想以上に審査までの日がかかったため、進捗はやや遅れている状況である。			

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	神経内科学講座	事業推進者名	薬師寺祐介
所属部門	神経部門		
研究課題名	難治性神経疾患における神経・筋微細構造破綻・再生メカニズム解明に関する探索的研究		
キーワード	磁界装置、パーキンソン病、アミロイド血管症		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	13名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 薬師寺祐介（教授）：研究を統括する 金子鋭（准教授）：研究計画の立案や結果の解析、論文執筆を行う 高橋牧郎（神経難病医学講座教授）：研究課題全般に取り組む。 國枝武伸（准教授）：研究課題全般に取り組む。 中村正孝（病院准教授）：研究課題全般に取り組む。 三宅浩介（助教）：研究課題全般に取り組む。 阪本宏樹（助教）：研究課題全般に取り組む。 中山健太郎（助教）：研究課題全般に取り組む。 植木秀伍（助教）：研究課題全般に取り組む。 村上綾（病院助教）：研究課題全般に取り組む。 池田宗平（大学院生）：研究を遂行し、データの解析を行う。 銅山達哉（大学院生）：研究を遂行し、データの解析を行う。 森川正康（大学院生）：研究を遂行し、データの解析を行う。			
<研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）> <u>磁界計測装置の装置開発・改良を目的とした基礎データの収集と解析</u> 整形外科学講座と共同で、東京科学大学(旧：東京医科歯科大学)、金沢工業大学、株式会社リコーとの産学連携により開発中の新しい検査機器「磁界計測装置」を用いて、装置の開発および改良を目的とした基礎データの収集と解析を行った。本装置は、生体内の神経活動によって発生する微弱な神経・筋磁界を体外から無侵襲で検出し、体内の電流分布として再構成・可視化することが可能である。今回の研究により、神経軸索内外の電流を可視化できるようになり、従来の検査では測定が困難であった神経軸索内を伝播する電流も評価可能になった。得られた結果は、これまでの神経生理学的知見と良く一致しており、本装置が信頼性の高い新たな検査ツールとなる可能性を示唆している。 <u>パーキンソン病患者由来の iPS 細胞を用いたドパミン神経変性の病態の解明</u> パーキンソン病 (PD) 患者における中脳ドパミン神経の異常を解析するために、遺伝子異常を有する患者由来の iPS 細胞、比較対象として患者血縁由来の iPS 細胞、およびこれまでに樹立済みの健常者由来の iPS 細胞を用いて解析を行った。iPS 細胞の樹立は iPS・幹細胞応用医学講座との共同研究で実施した。これらの iPS 細胞を SFEBq 法の改良版によりヒト中脳オルガノイドへと分化誘導し、中脳ドパミン神経の発生や成熟過程における差異を組織学的に解析した。 それぞれの iPS 細胞株から分化誘導したオルガノイドは、誘導開始後 2 週間で神経幹細胞へ分化し、神経管に類似した構造が確認できた。また、神経管の底板に発現する転写因子の発現も確認できた。誘導開始後 4 週間で、中脳領域の特徴を持つ細胞（FOXA2 陽性、LMX1A 陽性）が存在し、中脳ドパミン神経（TH 陽性）も存在していた。中脳ドパミン神経について患者と健常者を比較し、中脳ドパミン神経の発生過程に差異があることを確認した。 PD 関連の遺伝子異常によるドパミン神経の異常は胎生期から始まっている可能性が示唆された。			

ヒト剖検脳における脳内アミロイド β 沈着と硬膜アミロイド β 沈着との関連性の検討

6例の剖検脳を用いて、脳実質内アミロイド β ($A\beta$) 沈着と硬膜 $A\beta$ 沈着との関連を検討した。結果として、3例で硬膜CAAを、2例で硬膜結合組織への $A\beta$ 沈着を認めた。特に上矢状静脈洞近傍の硬膜においては $A\beta$ 沈着が顕著であり、遠位部では沈着は見られなかった。この所見は、マウスで報告されている硬膜リンパ管を介した $A\beta$ 排泄経路の存在を支持するものであり、ヒトにおいても同様の排泄機構が存在する可能性が示唆された。

原発性脳出血連続例に潜在する医原性脳アミロイド血管症の疫学的・臨床的特徴の検証

近年、開頭手術、頭部外傷、屍体硬膜移植後に、数十年の潜伏期間を経て発症する医原性脳アミロイド血管症(iCAA)が注目されている。本研究では、原発性脳出血で入院した全1221症例のうち、iCAAが疑われる症例の頻度と臨床的特徴を検討した。頭部CTにて過去の手術痕を認めた症例は56例であり、そのうち脳葉に血腫を認めたものは30例であった。ロンドン大学が提唱するiCAAの診断基準案に照らして検討した結果、possible iCAAに該当した症例は3例であった(原発性脳出血全体の0.25%)。iCAAは従来55歳未満でのCAAの原因とされていたが、近年では高齢者での発症例も報告されている。本研究でも3例中2例で55歳以上であった。これにより、iCAAは高齢発症の脳出血の原因としても考慮されるべきであることが示唆された。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	神経内科学講座	事業推進者名	薬師寺祐介
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) Ono S, Nakamura M, Morikawa M, Doyama T, Kunieda T, Kaneko K, Tanaka K, Takahashi M, Kondo T, Yakushiji Y. Immunotherapy-responsive parkinsonism and anosmia in anti-NMDA receptor encephalitis with seropositive NMOSD: A case report. Journal of the neurological sciences 査読有 472: 123447 2025.3 Nakamura M, Tsuge A, Miyake K, Kunieda T, Kusaka H, Yakushiji Ypp. Neuropathologic findings in a patient with hemiparkinsonism and hemiatrophy syndrome. Neuropathology 査読有 44(6):432-439 2024 Nakayama K, Kohara N, Paku M, Sato S, Nakamura M, Ando M, Taniguchi S, Ishihara M, Tani Y, Itakura T, Saito T, Yakushiji Y. Visualization of axonal and volume currents in median nerve compound action potential using magnetoneurography. Clinical neurophysiology 査読有 152:57-67 2023 Tohge R, Kaneko S, Morise S, Oki M, Takenouchi N, Murakami A, Nakamura M, Kusaka H, Yakushiji Y. Zonisamide attenuates the severity of levodopa-induced dyskinesia via modulation of the striatal serotonergic system in a rat model of Parkinson's disease. Neuropharmacology 査読有 198: 108771 2021 <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) なし <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地(海外の場合は国名と都市名)・発表年月) Doyama T, Murakami A, Ikeda S, Nakahara J, Nakamura M, Yakushiji Y. Association between amyloid-β deposition in the dura mater and brain. 12th Korea-Japan Joint Stroke Conference Oosaka 2025.3 Doyama T, Murakami A, Ikeda S, Nakahara J, Nakamura M, Yakushiji Y. Association between amyloid-β deposition in the dura mater and brain. 9th International CAA conference Munich, Germany 2024.10 森川正康, 村上綾, 銅山達哉, 池田宗平, 三宅浩介, 武田純一, 中村正孝, 國枝武伸, 高橋牧郎, 埜中正博, 薬師寺祐介 原発性脳出血連続例における医原性脳アミロイド血管症: 単一施設後ろ向き調査 第50回日本脳卒中学会学術集会 大阪 2025.3 中山健太郎, 幸原伸夫, 佐藤慎司, 山本祐輔, 朴正旭, 安藤宗治, 齋藤貴徳 磁界計測装置を用いた単一運動単位電流の可視化 第54回日本臨床神経生理学会学術大会 札幌 2024.10 池田宗平, 田中淳, 西原正志, 緒方敦之, 吉川正章, 井手俊宏, 鈴山耕平, 江里口誠, 原英夫, 薬師寺祐介 髄液バイオマーカーと MRI を用いた混合型脳内 出血の背景病理推定 : HAGAKURE 研究 第49回日本脳卒中学会学術集会 横浜 2024.3 中山健太郎, 幸原伸夫, 中村正孝, 佐藤慎, 朴正旭, 薬師寺祐介, 齋藤貴徳 神経磁界計測装置を用いた collision の可視化 第53回日本臨床神経生理学会学術大会 福岡 2023.11 國枝武伸, 武田純一, 吉村晋一, 宮田真友子, 阪本宏樹, 森勢論, 三宅浩介, 中村正孝, 薬師寺			

祐介 M2 閉塞に対する Mechanical Thrombectomy の是非 第 39 回日本脳神経血管内治療学会学術集会 京都 2023. 11

池田宗平, 薬師寺祐介, 田中淳, 西原正志, 緒方敦之, 吉川正章, 井手俊宏, 鈴山耕平, 江里口誠, 原英夫 高血圧・アミロイド関連脳小血管病マーカーの臨床的意義を探索する脳卒中登録研究(HAGAKURE)プロトコル STROKE2023 横浜 2023. 3

中山健太郎, 幸原伸夫, 中村正孝, 佐藤慎司, 朴正旭, 安藤宗治, 板倉毅, 谷口慎一郎, 齋藤貴徳, 薬師寺祐介 末梢神経磁界からみた活動電位の伝搬 第 33 回日本末梢神経学会学術集会 東京 2022. 9

峠理絵, 金子鋭, 竹之内徳博, 薬師寺祐介 Anti-dyskinetic effects of tandospirone and zolmitriptan in a rat model of Parkinson's disease. 第 63 回日本神経学会学術大会 東京 2022. 5

中山健太郎, 幸原伸夫, 佐藤慎司, 朴正旭, 安藤宗治, 板倉毅, 谷口慎一郎, 中村正孝, 薬師寺祐介, 齋藤貴徳 上腕部における正中神経の活動電位と容積電流 - 神経誘発磁界を用いた検討- 第 51 回日本臨床神経生理学会学術大会 仙台 2021. 12

中村正孝, 中山健太郎, 片岡優子, 森勢論, 村上綾, 國枝武伸, 金子鋭, 薬師寺祐介 Immunohistochemical analysis of BRCA1 in Parkinson's disease 第 62 回日本神経病理学会総会学術研究会 WEB 2021. 5

中村正孝, 中山健太郎, 片岡優子, 森勢論, 村上綾, 國枝武伸, 金子鋭, 薬師寺祐介 Immunohistochemical analysis of BRCA1 in Parkinson's disease 第 62 回日本神経学会学術大会 京都 2021. 5

<特許申請・取得状況>

なし

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	上部消化管外科学講座	事業推進者名	山崎誠
所属部門	がん部門		
研究課題名	食道癌に対する予後改善を目指した研究		
キーワード	食道癌　オルガノイド　支持療法　リハビリテーション		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	3名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 山崎　誠（研究責任者） 張野　誉史（研究分担医） 山本　宣之（研究分担医）			
<研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）> ●食道癌オルガノイドを用いた免疫チェックポイント阻害薬の効果予測モデルの確立 現在、複数種類の抗癌剤や免疫チェックポイント阻害薬（ICI）が食道癌に対して保険適用となっているが、どの薬剤が患者に最適であるか予測する有用なツールは確立していない。本研究では、患者由来のオルガノイドを用いて薬剤の効果予測モデルを確立する。ICIの効果予測には末梢血単核細胞（PBMC）の共培養系を用いて、免疫治療の再現を in vitro で実走する。患者に最適な薬剤のスクリーニング技術を開発し、加えて採取した腫瘍組織、PBMC、オルガノイドを用いた網羅的解析を通じて、バイオマーカーの探索、免疫動態の解明、新規治療ターゲットの同定に取り組む。令和6年度には1名の患者由来のオルガノイドとPBMCを用いたICIの効果比較、4名の患者由来オルガノイドを用いた5-FUの効果比較を行うことができた。令和7年度はサンプル数、薬物の種類を増やして実験を展開する予定である。			
●食道癌周術期新規支持療法の開発に向けた研究 切除可能な進行食道癌における標準治療は術前化学療法+外科手術とされている。化学療法による有害事象から身体機能の低下を来した場合、手術治療の合併症や術後の予後にも悪影響を及ぼすとの報告がなされるようになり、術前の化学療法中の栄養運動療法をはじめとする支持療法が重要になっている。そこで、リハビリテーション学部や耳鼻咽喉頭頸部外科との共同研究で化学療法中の新規支持療法の開発を行っており、現在多施設共同の前向きランダム化比較試験や食道がん患者における多面的機能評価を用いた前向きコホート研究では筋力・呼吸筋力・嚥下機能評価などのデータを網羅的に収集し周術期の身体機能の変化や術後合併症の発症との関連などの研究を行っている。			
●食道癌患者の就労支援に関する研究 食道癌患者を対象に、治療後の社会生活（就労）状況などにも着目し、どのような因子が就労に影響するかを同定し、治療後の社会復帰にむけた介入の糸口にすることを目的とし、長期生存者（がんサバイバー）における食道癌患者の身体機能、生活機能評価も行っている。現在、基盤データを集積するとともに、がんサバイバーのQOL向上に向けた介入戦略の方向性を検討する予定である。			

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	上部消化管外科学講座	事業推進者名	山崎誠
＜雑誌論文＞（著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年） 2024 年度に講座独立により当該研究を開始したため、研究中である。			
＜図書＞（著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数） 2024 年度に講座独立により当該研究を開始したため、研究中である。			
＜学会発表＞（発表者名・発表標題・学会名・開催地（海外の場合は国名と都市名）・発表年月） 2024 年度に講座独立により当該研究を開始したため、研究中である。			
＜特許申請・取得状況＞ 2024 年度に講座独立により当該研究を開始したため、研究中である。			

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	肝臓外科学講座	事業推進者名	海堀昌樹
所属部門	がん部門		
研究課題名	肝胆道外科における基礎および臨床研究の推進と遂行		
キーワード	肝細胞癌 肝内胆管癌 肝門部領域胆管癌 胆嚢癌 コンバージョン手術		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	13 名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞ 海堀昌樹：研究立案・研究統括 松井康輔：：データ収集・解析・論文作成 山本栄和：：データ収集・解析・論文作成 小坂久；：データ収集・解析・論文作成 木口剛造：データ収集・解析・論文作成 石崎守彦：データ収集・解析・論文作成 松島英之：データ収集・解析・論文作成 三井哲史：データ収集・解析・論文作成 井ノ上恭子：データ収集・解析・論文作成 高田守康：データ収集・解析・論文作成 Lai Thanh Tung：基礎研究実施・解析・論文作成 Ngyuen Van Khanh：基礎研究実施・解析・論文作成 Hoang Duong Hai：基礎研究実施・解析・論文作成			
＜研究概要 2024 年度の研究成果について＞ 肝胆道疾患、特に肝細胞癌および胆道癌に対し、外科治療を基盤とする集学的治療戦略の最適化を目的に、臨床・基礎研究の両面から積極的に取り組んだ。臨床研究では、アテゾリズマブ＋ベバシズマブ併用療法後の conversion surgery の有効性を検証する多施設共同研究を主導し、手術適応拡大の可能性について検討を行い、その成果は複数の国内主要学会で報告した。 進行肝細胞癌を対象とした研究では、cachexia index、dNLR、GNRI といったバイオマーカーを用いた予後予測モデルの構築に取り組むとともに、免疫関連有害事象の発現リスクに関する解析も実施し、Oncology, Cancer Medicine, Journal of Clinical Oncology, Liver Cancer などの国際誌において研究成果を発信した。また、胆道癌領域においては、GEM＋CDDP＋S-1 療法と conversion surgery の成績に関する後ろ向き解析により、切除不能上部胆道癌の予後に寄与する治療戦略を国内主要学会で方向し、日本外科学会誌の Surgery Today で論文報告した。肝内胆管癌に対する腹腔鏡下肝切除の安全性・有効性や、術後補助化学療法の意義についても多施設共同で検証し、得られた結果を国内主要学会で報告した。 基礎・応用研究の面では、Drug Delivery System 技術を応用したレンバチニブ内包ナノファイバーシートの開発を進め、肝臓に対する革新的な局所治療法の実用化に向けた基盤を構築した。また、conversion surgery 後の病理組織を用いた免疫微小環境の解析にも着手し、臨床と基礎の橋渡しとなるトランスレーショナルリサーチの展開を強化している。 また、若手医師・研修医の育成にも注力し、複数の演題が学会賞を受賞するなど、教育的成果も顕著であった。			

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	肝臓外科学講座	事業推進者名	海堀昌樹
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 原著論文 1. Cachexia Index as a Prognostic Indicator in Patients with Unresectable hepatocellular Carcinoma Receiving Atezolizumab and Bevacizumab Therapy. Nguyen KV, Matsui K, Kosaka H, Matsushima H, Yamamoto H, Lai TT, Inoue K, Takada M, Tada F, Hiraoka A, Hatanaka T, Tada T, Kumada T, Kato H, Yoshii K, Yamaguchi T, Shimoda S, Naganuma M, Kaibori M. Oncology. 2025 Mar 28:1-12. 2. Impact of Diabetes Mellitus and Obesity Comorbidities on Survival Outcomes after Hepatocellular Carcinoma Resection: A Multicenter Retrospective Study. Shinkawa H, Kaibori M, Ueno M, Yasuda S, Ikoma H, Aihara T, Nakai T, Kinoshita M, Kosaka H, Hayami S, Matsuo Y, Morimura R, Nakajima T, Nobori C, Ishizawa T. Liver Cancer. 2024 Aug 20;14(1):80-91. 3. Prospective Survey of Postoperative Pain in Japan: A Multicenter, Observational Study. Kaibori M, Yoshii K, Lai TT, Matsushima H, Tatsuishi W, Inada R, Matsugu Y, Komeda K, Asakuma M, Tanaka K, Sato H, Yamada T, Miyasaka T, Hasegawa Y, Matsui R, Takehara K, Ko S, Yamato I, Washizawa N, Taniguchi H, Kimura Y, Ishibashi N, Akagi Y, Hiki N, Higuchi T, Shingai T, Kamei T, Okamoto H, Nagakawa Y, Takishita C, Kohri T, Matsui K, Nabeya Y, Fukatsu K, Miyata G. J Clin Med. 2025 Feb 10;14(4):1130. 4. The Current Status of Tumor Markers as Biomarkers in the Era of Immunotherapy for Hepatocellular Carcinoma: Alpha-Fetoprotein Alone Is Not Sufficient. Hiraoka A, Kudo M, Tada T, Hatanaka T, Kakizaki S, Kariyama K, Ohama H, Tsuji K, Ishikawa T, Takaguchi K, Itobayashi E, Toyoda H, Matono T, Yata Y, Ogawa C, Naganuma A, Tani J, Atsukawa M, Nishimura T, Tajiri K, Kawata K, Kosaka H, Kuroda H, Hirooka M, Nishikawa H, Tada F, Nakamura S, Kanayama Y, Nouso K, Tanaka H, Tanaka K, Imai M, Tsutsui A, Nagano T, Aoki T, Koshiyama Y, Morishita A, Itokawa N, Okubo T, Arai T, Fukunishi S, Noritake H, Nakamura Y, Yoshida O, Enomoto H, Kaibori M, Hiasa Y, Kumada T; Real-life Practice Experts for HCC. Oncology. 2025 Feb 3:1-13. 5. Evaluation of Treatment Outcomes Using dNLR and GNRI in Combination Therapy With Atezolizumab and Bevacizumab for Hepatocellular Carcinoma. Naganuma A, Kakizaki S, Hiraoka A, Tada T, Hatanaka T, Kariyama K, Tani J, Atsukawa M, Takaguchi K, Itobayashi E, Fukunishi S, Tsuji K, Ishikawa T, Tajiri K, Toyoda H, Ogawa C, Nishikawa H, Nishimura T, Kawata K, Kosaka H, Hirooka M, Yata Y, Ohama H, Kuroda H, Matono T, Aoki T, Kanayama Y, Tanaka K, Tada F, Nouso K, Morishita A, Tsutsui A, Nagano T, Itokawa N, Okubo T, Arai T, Imai M, Nakamura S, Enomoto H, Kaibori M, Hiasa Y, Kudo M, Kumada T. Cancer Med. 2025 Jan;14(2):e70618. 6. Geriatric nutritional risk index and newly developed scoring system as prognosis prediction for unresectable hepatocellular carcinoma patients treated with lenvatinib. Ohama H, Hiraoka A, Tada T, Hirooka M, Kariyama K, Tani J, Atsukawa M, Takaguchi K, Itobayashi E, Fukunishi S, Tsuji K, Ishikawa T, Tajiri K, Ochi H, Yasuda S, Toyoda H, Ogawa C, Nishimura T, Hatanaka T, Kakizaki S, Shimada N, Kawata K, Naganuma A, Kosaka H, Matono T, Kuroda H, Yata Y, Tanaka H, Nishikawa H, Shibata H, Tada F, Nouso K, Morishita A, Tsutsui A, Nagano T, Itokawa N, Okubo T, Arai T, Imai M, Koizumi Y, Nakamura S, Iijima H, Kaibori M, Hiasa Y, Kumada T. Sci Rep. 2025 Jan 2;15(1):72. 7. The Prognostic Impact of Adipophilin Expression on Long-Term Survival Following			

Liver Resection in Patients with Colorectal Liver Metastases. Lai TT, Ishida M, Kosaka H, Matsui K, Matsushima H, Yamamoto H, Kiguchi G, Nguyen KV, Inoue K, Takada M, Kato H, Hirose Y, Yoshii K, Kaibori M. *Cancers (Basel)*. 2024 Nov 14;16(22):3827.

8. Efficacy of durvalumab plus tremelimumab treatment for unresectable hepatocellular carcinoma in immunotherapy era clinical practice. Hiraoka A, Tada T, Hirooka M, Kariyama K, Tani J, Atsukawa M, Takaguchi K, Itobayashi E, Fukunishi S, Tsuji K, Ishikawa T, Tajiri K, Ohama H, Toyoda H, Ogawa C, Nishimura T, Hatanaka T, Kakizaki S, Kawata K, Naganuma A, Kosaka H, Matono T, Kuroda H, Yata Y, Nishikawa H, Imai M, Aoki T, Ochi H, Tada F, Nakamura S, Nakamura Y, Nouse K, Morishita A, Itokawa N, Okubo T, Arai T, Tsutsui A, Nagano T, Tanaka K, Tanaka H, Koshiyama Y, Kanayama Y, Noritake H, Enomoto H, Kaibori M, Hiasa Y, Kudo M, Kumada T; RELPEC Group and HCC 48 Group. *Hepatol Res*. 2025 Mar;55(3):444-453.

9. Risk Factors for Adhesive Small Bowel Obstruction After Liver Cancer Surgery. Yukawa N, Yamada T, Ichikawa D, Aoyama T, Kataoka K, Shioya T, Tamura T, Shimoyama R, Fukazawa A, Kumamoto K, Yamashita N, Hasegawa S, Saito S, Takemasa I, Fujita F, Taniai N, Kaibori M, Yoshida H. *Cancer Diagn Progn*. 2024 Nov 3;4(6):689-695.

10. Lenvatinib versus Sorafenib Second-Line Therapy in Patients with Hepatocellular Carcinoma Progressed to Atezolizumab plus Bevacizumab: A Retrospective Real-World Study. Persano M, Casadei-Gardini A, Tada T, Suda G, Shimose S, Kudo M, Rossari F, Yoo C, Cheon J, Finkelmeier F, Lim HY, Presa J, Masi G, Bergamo F, Amadeo E, Vitiello F, Kumada T, Sakamoto N, Iwamoto H, Aoki T, Chon HJ, Himmelsbach V, Iavarone MA, Cabibbo G, Montes M, Foschi FG, Vivaldi C, Soldà C, Sho T, Niizeki T, Nishida N, Steup C, Bruccoleri M, Hirooka M, Kariyama K, Tani J, Atsukawa M, Takaguchi K, Itobayashi E, Tsuji K, Ishikawa T, Tajiri K, Ochi H, Yasuda S, Toyoda H, Ogawa C, Nishimura T, Hatanaka T, Kakizaki S, Shimada N, Kawata K, Hiraoka A, Tada F, Ohama H, Nouse K, Morishita A, Tsutsui A, Nagano T, Itokawa N, Okubo T, Imai M, Kosaka H, Naganuma A, Koizumi Y, Nakamura S, Kaibori M, Iijima H, Hiasa Y, Mascia L, Foti S, Camera S, Piscaglia F, Scartozzi M, Cascinu S, Rimini M. *Oncology*. 2024 Oct 11:1-13.

11. Disease Etiology Impact on Outcomes of Hepatocellular Carcinoma Patients Treated with Atezolizumab plus Bevacizumab: A Real-World, Multicenter Study. Rossari F, Tada T, Suda G, Shimose S, Kudo M, Yoo C, Cheon J, Finkelmeier F, Lim HY, Presa J, Masi G, Bergamo F, Amadeo E, Vitiello F, Kumada T, Sakamoto N, Iwamoto H, Aoki T, Chon HJ, Himmelsbach V, Iavarone M, Cabibbo G, Montes M, Foschi FG, Vivaldi C, Soldà C, Sho T, Niizeki T, Nishida N, Steup C, Hirooka M, Kariyama K, Tani J, Atsukawa M, Takaguchi K, Itobayashi E, Fukunishi S, Tsuji K, Ishikawa T, Tajiri K, Ochi H, Yasuda S, Toyoda H, Ogawa C, Nishimura T, Hatanaka T, Kakizaki S, Shimada N, Kawata K, Hiraoka A, Tada F, Ohama H, Nouse K, Morishita A, Tsutsui A, Nagano T, Itokawa N, Okubo T, Imai M, Kosaka H, Naganuma A, Koizumi Y, Nakamura S, Kaibori M, Iijima H, Hiasa Y, Persano M, Foti S, Camera S, Stefanini B, Scartozzi M, Cascinu S, Casadei-Gardini A, Rimini M. *Liver Cancer*. 2024 Apr 10;13(5):522-536.

12. Predictive factors and survival outcome of conversion therapy for unresectable hepatocellular carcinoma patients receiving atezolizumab and bevacizumab: Comparative analysis of conversion, partial response and complete response patients. Hatanaka T, Kakizaki S, Hiraoka A, Tada T, Hirooka M, Kariyama K, Tani J, Atsukawa M, Takaguchi K, Itobayashi E, Fukunishi S, Tsuji K, Ishikawa T, Tajiri K, Toyoda H, Ogawa C, Nishikawa H, Nishimura T, Kawata K, Kosaka H, Naganuma A, Yata Y, Ohama H, Kuroda H, Matono T, Aoki T, Kanayama Y, Tanaka K, Tada F, Nouse K, Morishita A, Tsutsui A, Nagano T, Itokawa N, Okubo T, Arai T, Imai M, Nakamura S, Enomoto H, Kaibori M, Hiasa Y, Kudo M, Kumada

- T; Real - life Practice Experts for, HCC (RELPEC) Study Group, and, HCC 48 Group (Hepatocellular Carcinoma Experts from 48 Clinics in Japan). *Aliment Pharmacol Ther.* 2024 Nov;60(10):1361-1373.
13. Clinical Outcomes and Histologic Findings of Patients With Hepatocellular Carcinoma With Durable Partial Response or Durable Stable Disease After Receiving Atezolizumab Plus Bevacizumab. Shen YC, Liu TH, Nicholas A, Soyama A, Yuan CT, Chen TC, Eguchi S, Yoshizumi T, Itoh S, Nakamura N, Kosaka H, Kaibori M, Ishii T, Hatano E, Ogawa C, Naganuma A, Kakizaki S, Cheng CH, Lin PT, Su YY, Chuang CH, Lu LC, Wu CJ, Wang HW, Rau KM, Hsu CH, Lin SM, Huang YH, Hernandez S, Finn RS, Kudo M, Cheng AL. *J Clin Oncol.* 2024 Dec;42(34):4060-4070.
 14. Prognostic impact of combination therapy with gemcitabine and cisplatin plus S-1 and subsequent conversion surgery for initially unresectable upper biliary tract cancers. Kosaka H, Matsui K, Ikeura T, Ito T, Ohe C, Kono Y, Matsushima H, Yamamoto H, Sekimoto M, Kaibori M. *Surg Today.* 2025 Mar;55(3):351-359.
 15. Efficacy of lenvatinib and transarterial chemoembolization combination therapy in patients with hepatocellular carcinoma administered an insufficient dose of early lenvatinib. Promsorn P, Yamaguchi T, Kosaka H, Aoi K, Yoshida K, Matsushima H, Matsui K, Shimoda S, Kaibori M, Naganuma M. *Mol Clin Oncol.* 2024 Jul 10;21(3):63.
 16. Hepatic arterial infusion of autologous CD34+ cells for hepatitis C virus-related decompensated cirrhosis: A multicenter, open-label, exploratory randomized controlled trial. Nakamura T, Masuda A, Kako M, Enomoto H, Kaibori M, Fujita Y, Tanizawa K, Ioji T, Fujimori Y, Fukami K, Hazama T, Iwamoto H, Kako Y, Kobayashi K, Koga H, Nagafuji K, Ohtake T, Suzuki H, Takashima T, Tsukiyama T, Uojima H, Yamahara K, Yamakado K, Yamamoto H, Yoh K, Yoshihara S, Kawamoto A, Nishiguchi S, Kobayashi S, Torimura T, Kawaguchi T. *Regen Ther.* 2024 May 4;27:455-463.
 17. Safety of immune checkpoint inhibitors in patients aged over 80 years: a retrospective cohort study. Ikoma T, Matsumoto T, Boku S, Motoki Y, Kinoshita H, Kosaka H, Kaibori M, Inoue K, Sekimoto M, Fujisawa T, Iwai H, Naganuma M, Tanizaki H, Hisamatsu Y, Okada H, Kurata T. *Cancer Immunol Immunother.* 2024 May 11;73(7):126.
 18. Outcomes of patients with hepatocellular carcinoma treated with atezolizumab plus bevacizumab in real-world clinical practice who met or did not meet the inclusion criteria for the phase 3 IMbrave150 trial. Tada T, Kumada T, Hiraoka A, Hirooka M, Kariyama K, Tani J, Atsukawa M, Takaguchi K, Itobayashi E, Fukunishi S, Nishikawa H, Tsuji K, Ishikawa T, Tajiri K, Koshiyama Y, Toyoda H, Ogawa C, Hatanaka T, Kakizaki S, Kawata K, Ohama H, Tada F, Nouse K, Morishita A, Tsutsui A, Nagano T, Itokawa N, Okubo T, Arai T, Nishimura T, Imai M, Kosaka H, Naganuma A, Matono T, Aoki T, Kuroda H, Yata Y, Koizumi Y, Nakamura S, Enomoto H, Kaibori M, Hiasa Y, Kudo M; Real - life Practice Experts for HCC (RELPEC) Study Group; Hepatocellular Carcinoma Experts from 48 clinics in Japan (HCC 48) Group. *Aliment Pharmacol Ther.* 2024 Jul;60(2):233-245.
 19. Adverse Events as Potential Predictive Factors of Activity in Patients with Advanced HCC Treated with Atezolizumab Plus Bevacizumab. Persano M, Rimini M, Tada T, Suda G, Shimose S, Kudo M, Rossari F, Yoo C, Cheon J, Finkelmeier F, Lim HY, Presa J, Masi G, Bergamo F, Amadeo E, Vitiello F, Kumada T, Sakamoto N, Iwamoto H, Aoki T, Chon HJ, Himmelsbach V, Iavarone MA, Cabibbo G, Montes M, Foschi FG, Vivaldi C, Soldà C, Sho T, Niizeki T, Nishida N, Steup C, Bruccoleri M, Hirooka M, Kariyama K, Tani J, Atsukawa M, Takaguchi K, Itobayashi E, Fukunishi S, Tsuji K, Ishikawa T, Tajiri K, Ochi H, Yasuda

S, Toyoda H, Ogawa C, Nishimura T, Hatanaka T, Kakizaki S, Shimada N, Kawata K, Hiraoka A, Tada F, Ohama H, Nouse K, Morishita A, Tsutsui A, Nagano T, Itokawa N, Okubo T, Imai M, Kosaka H, Naganuma A, Koizumi Y, Nakamura S, Kaibori M, Iijima H, Hiasa Y, Foti S, Camera S, Piscaglia F, Scartozzi M, Cascinu S, Casadei-Gardini A. *Target Oncol.* 2024 Jul;19(4):645-659.

20. Clinical usefulness of newly developed prognostic predictive score for atezolizumab plus bevacizumab for hepatocellular carcinoma. Ohama H, Hiraoka A, Tada T, Hirooka M, Kariyama K, Hatanaka T, Tani J, Takaguchi K, Atsukawa M, Itobayashi E, Nishimura T, Tsuji K, Tajiri K, Ishikawa T, Yasuda S, Toyoda H, Fukunishi S, Ogawa C, Kakizaki S, Shimada N, Naganuma A, Kawata K, Kosaka H, Kuroda H, Matono T, Yata Y, Ochi H, Tada F, Nouse K, Morishita A, Itokawa N, Okubo T, Arai T, Tsutsui A, Nagano T, Yokohama K, Nishikawa H, Imai M, Koizumi Y, Nakamura S, Iijima H, Kaibori M, Hiasa Y, Kumada T; Representing the Real - life Practice Experts for HCC Study Group with Hepatocellular Carcinoma experts from 48 clinics in Japan (RELPEC/HCC 48 Group). *Cancer Rep (Hoboken).* 2024 Apr;7(4):e2042.

21. Impact of body mass index on the prognosis of unresectable HCC patients receiving first-line Lenvatinib or atezolizumab plus bevacizumab. Rimini M, Stefanini B, Tada T, Suda G, Shimose S, Kudo M, Finkelmeier F, Yoo C, Presa J, Amadeo E, Genovesi V, De Grandis MC, Iavarone M, Marra F, Foschi F, Tamburini E, Rossari F, Vitiello F, Bartalini L, Soldà C, Tovoli F, Vivaldi C, Lonardi S, Silletta M, Kumada T, Sakamoto N, Iwamoto H, Aoki T, Himmelsbach V, Montes M, Hiraoka A, Sho T, Niizeki T, Nishida N, Steup C, Hirooka M, Kariyama K, Tani J, Atsukawa M, Takaguchi K, Itobayashi E, Fukunishi S, Tsuji K, Ishikawa T, Tajiri K, Ochi H, Yasuda S, Toyoda H, Ogawa C, Nishimura T, Hatanaka T, Kakizaki S, Shimada N, Kawata K, Tada F, Ohama H, Nouse K, Morishita A, Tsutsui A, Nagano T, Itokawa N, Okubo T, Arai T, Imai M, Kosaka H, Naganuma A, Koizumi Y, Nakamura S, Kaibori M, Iijima H, Hiasa Y, Persano M, Camera S, Foti S, Aldrighetti L, Cascinu S, Casadei-Gardini A, Piscaglia F. *Liver Int.* 2024 May;44(5):1108-1125.

22. Laparoscopic and open minor liver resection for hepatocellular carcinoma with clinically significant portal hypertension: a multicenter study using inverse probability weighting approach. Shinkawa H, Kaibori M, Kabata D, Nakai T, Ueno M, Hokuto D, Ikoma H, Iida H, Komeda K, Tanaka S, Kosaka H, Nobori C, Hayami S, Yasuda S, Morimura R, Mori H, Kagota S, Kubo S, Ishizawa T. *Surg Endosc.* 2024 Feb;38(2):757-768.

23. Comparative analysis of the therapeutic outcomes of atezolizumab plus bevacizumab and lenvatinib for hepatocellular carcinoma patients aged 80 years and older: Multicenter study. Hatanaka T, Kakizaki S, Hiraoka A, Tada T, Hirooka M, Kariyama K, Tani J, Atsukawa M, Takaguchi K, Itobayashi E, Fukunishi S, Tsuji K, Ishikawa T, Tajiri K, Ochi H, Yasuda S, Toyoda H, Ogawa C, Yokohama K, Nishikawa H, Nishimura T, Shimada N, Kawata K, Kosaka H, Naganuma A, Yata Y, Ohama H, Kuroda H, Aoki T, Tanaka K, Tanaka T, Tada F, Nouse K, Morishita A, Tsutsui A, Nagano T, Itokawa N, Okubo T, Arai T, Imai M, Koizumi Y, Nakamura S, Kaibori M, Iijima H, Hiasa Y, Kudo M, Kumada T; Real - life Practice Experts for HCC (RELPEC) Study Group, and HCC 48 Group (hepatocellular carcinoma experts from 48 clinics in Japan). *Hepatol Res.* 2024 Apr;54(4):382-391.

24. The impact of the COVID-19 pandemic on hepatocellular carcinoma diagnosis and treatment in Japan: A multicenter collaborative observational study. Murai K, Hikita H, Kodama T, Kaibori M, Nishimura Y, Tatsumi T, Yamada T, Kanto T, Mochida S, Takehara T. *Hepatol Res.* 2024 May;54(5):439-450.

25. Kosaka H, Matsui K, Ikeura T, Ito T, Ohe C, Kono Y, Matsushima H, Yamamoto H,

Sekimoto M, Kaibori M.

Prognostic impact of combination therapy with gemcitabine and cisplatin plus S-1 and subsequent conversion surgery for initially unresectable upper biliary tract cancers. Surgery Today. (レフェリー有) 2025 Mar;55(3):351-359.

<図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数)
なし

<学会発表> (発表者名・発表タイトル・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月)
特別講演

1. NST 医師・歯科医師教育セミナー ステージ8 周術期栄養管理法の新たな潮流/海堀昌樹/日本外科代謝栄養学会第 61 回学術集会/2024. 7. 27 (大阪)
2. NST 医師・歯科医師教育セミナー ステージ9 急性期重症患者の栄養療法/海堀昌樹/日本外科代謝栄養学会第 61 回学術集会/2024. 7. 27 (大阪)
3. 外科医が考える肝細胞癌の集学的治療/海堀昌樹/埼玉東部 明日の肝細胞癌治療を考える会/2024. 9. 5 (埼玉)
4. 肝細胞癌の‘今’～更なる向上を目指して/海堀昌樹/北河内肝がんセミナー/2024. 12. 21(大阪)
5. 肝胆道外科領域における栄養療法について/海堀昌樹/第 32 回近畿輸液・栄養研究会～腸管を活用する～/2024. 12. 14(大阪)
6. がん薬物療法と Drug Delivery System: レンバチニブ内包ナノファイバーシートの開発
吉田明史、海堀昌樹、藤澤七海、石塚まりこ、住山房央、八田雅彦、小坂久、松井康、荏原充宏、関本嗣嗣. The Journal of Kansai Medical University. 75, 2025.

一般発表演題

1. SF-35-7 切除不能胆道癌に対するトリプレッドを中心とした薬物療法における外科手術/小坂久、松井康輔、山本栄和、松島英之、関本貢嗣、海堀昌樹/第 124 回日本外科学会定期学術集会/2024. 4. 19 (愛知)
2. S10-3 Sequential hepatic vein embolization following portal vein embolization before right-sided major hepatic resection/Tung Thanh Lai, Hisashi Kosaka, Kosuke Matsui, Hideyuki Matsushima, Hidekazu Yamamoto, Khanh Nguyen Van, Yasuhiro Ueno, Shuji Kariya, Masaki Kaibori/The 37th Congress of the Pan-Pacific Surgical Association-Japan Chapter in Sapporo, Hokkaido/2024. 5. 17 (北海道)
3. S10-4 The role of the Cachexia index in the long-term outcome of advanced HCC patients treated with Atezolizumab plus Bevacizumab/Nguyen Van Khanh, Tung Thanh Lai, Hisashi Kosaka, Kyoko Inoue, Moriyasu Takada, Kosuke Matsui, Hideyuki Matsushima, Hidekazu Yamamoto, Atsushi Hiraoka, Takeshi Hatanaka, Masaki Kaibori/The 37th Congress of the Pan-Pacific Surgical Association-Japan Chapter in Sapporo, Hokkaido/2024. 5. 17 (北海道)
4. SII-2-5 切除不能胆道癌に対する免疫チェックポイント阻害薬を含む 3 剤併用薬物療法の治療効果/小坂久、松井康輔、松島英之、木口剛造、石崎守彦、山本栄和、海堀昌樹/第 45 回癌免疫外科研究会/2024. 5. 23-24 (横浜)
5. 04-4 当院における進行肝細胞癌に対するデュルバルマブ/トレメリムマブ併用療法使用の検討/山本栄和、松島英之、木口剛造、石崎守彦、小坂久、松井康輔、海堀昌樹/第 45 回癌免疫外科研究会/2024. 5. 23-24 (横浜)
6. SP-4 外科医になるために/大東拓哉、山本栄和、松島英之、石崎守彦、小坂久、松井康輔、海堀昌樹/第 49 回日本外科系連合学会 学術集会/2024. 6. 6 (東京)
7. 0-46 切除不能 HCV 由来肝細胞癌に対する Atezolizumab+Bevacizumab 療法における SVR の功績/大濱日出子、平岡淳、多田俊史、海堀昌樹、森下朝洋、黒田英克、糸林詠、厚川正則、畑中健、能祖一裕、柿崎暁、島田紀朋、西川浩樹、田尻和人、高口浩一、豊田秀徳、日浅陽一、熊田卓/第 60 回日本肝臓学会総会/2024. 6. 13 (熊本)
8. 0-50 脈管侵襲もしくは肝外転移のある BCLC-C におけるアテゾリズマブ/ベバシズマブ併用

- 療法の成績—多施設共同研究—/山本淳史、熊田卓、多田俊史、平岡淳、谷丈二、厚川正則、高口浩一、糸林詠、辻邦彦、石川達、豊田秀徳、畑中健、柿崎暁、大濱日出子、能祖一裕、黒田英克、的野智光、海堀昌樹、日浅陽一、工藤正俊/第60回日本肝臓学会総会/2024.6.13(熊本)
9. 0-52 2次以降薬物療法におけるアテゾリズマブ/ベバシズマブ併用療法の予後にはAFPと肝予備能が関連している/松田一樹、熊田卓、多田俊史、平岡淳、谷丈二、厚川正則、高口浩一、糸林詠、辻邦彦、石川達、豊田秀徳、畑中健、柿崎暁、大濱日出子、能祖一裕、黒田英克、的野智光、海堀昌樹、日浅陽一、工藤正俊/第60回日本肝臓学会総会/2024.6.13(熊本)
10. M0-78 アテゾリズマブ/ベバシズマブ併用療法投与例の早期死亡に関わるリスク因子の検討/青江佳歩、熊田卓、多田俊史、平岡淳、狩山和也、谷丈二、厚川正則、高口浩一、糸林詠、辻邦彦、豊田秀徳、畑中健、柿崎暁、大濱日出子、能祖一裕、海堀昌樹、飯島尋子、日浅陽一、工藤正俊/第60回日本肝臓学会総会/2024.6.14(熊本)
11. M0-83 切除不能肝細胞癌に対する薬物治療をシークエンシャルに行うために必要な肝予備機能の検討/山口隆志、青井一憲、諏訪兼彦、山科雅央、吉田勝紀、山敷宣代、松島英之、小坂久、松井康輔、海堀昌樹、下田慎治、長沼誠/60回日本肝臓学会総会/2024.6.14(熊本)
12. M0-86 切除不能肝細胞癌に対する全身薬物療法の臨床像：15年間の変遷/辻本優梨、熊田卓、平岡淳、多田俊史、谷丈二、厚川正則、高口浩一、糸林詠、辻邦彦、豊田秀徳、畑中健、柿崎暁、大濱日出子、能祖一裕、海堀昌樹、飯島尋子、日浅陽一、工藤正俊、西川浩樹/第60回日本肝臓学会総会/2024.6.14(熊本)
13. R004-3 Efficacy and safety of liver resection in super elderly patients with hepatocellular carcinoma/Hidekazu Yamamoto, Hideyuki Matsushima, Morihiko Ishizuka Hisashi Kosaka Kosuke Matsui, Masaki Kaibori/第36回日本肝胆膵外科学会・学術集会/2024.6.28(広島)
14. JKP-1 Impact of neo-glasgow prognostic score based on albumin-bilirubin grade for prognostic prediction following hepatectomy of hepatocellular carcinoma/Hisashi Kosaka, Masaki Kaibori/第36回日本肝胆膵外科学会・学術集会/2024.6.29(広島)
15. 026-3 Laparoscopic hepatectomy may be feasible for peripheral type of intrahepatic cholangiocarcinoma/Hisashi Kosaka, Kosuke Matsui, Morihiko Ishizuka, Hideyuki Matsushima, Hidekazu Yamamoto, Masaki Kaibori/第36回日本肝胆膵外科学会・学術集会/2024.6.29(広島)
16. 05-5 当院における切除不能進行肝細胞癌へのアテゾリズマブ+ベバシズマブ治療後 Conversion surgery の治療成績/山本栄和、松島英之、木口剛造、石橋守彦、小坂久、松井康輔、海堀昌樹/第60回日本肝癌研究会/2024.7.12(兵庫；姫路)
17. 09-2 Child-Pugh B 切除不能肝細胞癌に対する Durvalumab+Tremelimumab 療法の初期治療経験/大濱日出子、平岡淳、多田俊史、畑中健、谷丈二、小川力、高口浩一、糸林詠、厚川正則、辻邦彦、田尻和人、豊田秀徳、矢田豊、黒田英克、石川達、海堀昌樹、能祖一裕、日浅陽一、工藤正俊、熊田卓/第60回日本肝癌研究会/2024.7.12(兵庫：姫路)
18. 011-4 Atezolizumab+Bevacizumab に対する肝予備能・腫瘍マーカー/進行度による予後予測スコア(IMBALI-De score)/大濱日出子、平岡淳、海堀昌樹、中村進一郎、谷丈二、糸林詠、能祖一裕、黒田英克、厚川正則、畑中健、西川浩樹、柿崎暁、島田紀朋、筒井朱美、今井径卓、川田一仁、的野智光、福西新弥、日浅陽一、熊田卓/第60回日本肝癌研究会/2024.7.13(兵庫：姫路)
19. 012-2 Atezolizumab+Bevacizumab 治療を受けた胃食道静脈瘤を合併した肝細胞癌患者における有害事象の検討/多田藤政、大濱日出子、多田俊史、狩山和也、谷丈二、厚川正則、高口浩一、糸林詠、福西新弥、石川達、田尻和人、豊田秀徳、小川力、畑中健、柿崎暁、川田一仁、海堀昌樹、飯島尋子、日浅陽一、熊田卓/第60回日本肝癌研究会/2024.7.13(兵庫：姫路)
20. 012-4 アテゾリズマブ/ベバシズマブ併用療法例における progressive disease 様式とアウトカムの関係/多田俊史、熊田卓、平岡淳、豊田秀徳、畑中健、柿崎暁、能祖一裕、海堀昌樹、日浅陽一、工藤正俊/第60回日本肝癌研究会/2024.7.13(兵庫：姫路)
21. [P014] 一般演題 14 肝臓：肝・脾・門脈その他 P014-7 障害肝での脾機能亢進症に対する秘蔵摘出における血小板数と肝機能に与える影響/松島英之、小坂久、山本栄和、松井康輔、海堀昌樹/第79回日本消化器外科学会総会/2024.7.17(山口：下関)
22. [P038] 一般演題 038 肝臓：BR 肝癌 2 P038-3 門脈侵襲を伴う進行肝細胞癌における外科的治療戦略/山本栄和、松島英之、石崎守彦、小坂久、松井康輔、海堀昌樹/第79回日本消化器外

科学会総会/2024. 7. 17 (山口：下関)

23. [P040] 一般演題 040 P040-3 肝臓：高難度低侵襲肝切除2 当科での腹腔鏡下系統的肝切除における肝静脈アプローチの工夫/松井康輔、松島英之、小坂久、山本栄和、海堀昌樹/第 79 回日本消化器外科学会総会/2024. 7. 17 (山口：下関)

24. OS4-5 進行肝細胞癌に対する Atezolizumab+Bevacizumab 療法における irAE 肝障害発症予測の試み/田中一成、辻邦彦、平岡淳、多田俊史、畑中健、狩山和也、糸林詠、高口浩一、矢田豊、川田一仁、石川達、厚川正則、黒田英克、田尻和人、柿崎暁、海堀昌樹、日浅陽一、飯島尋子、工藤正俊、熊田卓/第 30 回日本肝がん分子標的治療研究会/2024. 7. 26 (東京)

25. OS11-3 当院における進行肝細胞癌に対するデュエルマブ/トレメリムマブ併用療法の有効性の検討/山本栄和、松島英之、木口剛造、石崎守彦、小坂久、松井康輔、海堀昌樹/第 30 回日本肝がん分子標的治療研究会/2024. 7. 27 (東京)

26. OS12-1 リアルワールドにおける phase3IMbrave150 試験基準内外例におけるアウトカムの検証/多田俊史、熊田卓、平岡淳、豊田秀徳、畑中健、柿崎暁、能祖一裕、海堀昌樹、日浅陽一、工藤正俊/第 30 回日本肝がん分子標的治療研究会/2024. 7. 27 (東京)

27. PL2-6 肝臓に対するアテゾリズマブとベバシズマブ併用療法後のコンバージョン症例の治療成績：コンバージョン症例は PR 症例より良好で、CR 症例と同等か？/畑中健、柿崎暁、平岡淳、狩山和也、多田俊史、豊田秀徳、糸林詠、高口浩一、石川達、辻邦彦、厚川正則、谷丈二、大濱日出子、田中一成、長沼篤、黒田英克、海堀昌樹、工藤正俊、熊田卓/第 30 回日本肝がん分子標的治療研究会/2024. 7. 27 (東京)

28. M056-3 Sequential hepatic vein embolization following portal vein embolization before right-sided major hepatic resection/Tung Thanh Lai, Hisashi Kosaka, Kosuke Matsui, Hideyuki Matsushima, Hidekazu Yamamoto, Khanh Van Nguyen, Yasuhiro Ueno, Shuji Kariya, Masaki Kaibori/The 36th Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery/2024. 7. 28-29 (広島)

29. RS4-1 inter-Laennec approach による頭尾側方向の肝静脈剥離による術中ナビゲーションの工夫/木口剛造、松島英之、小坂久、山本栄和、松井康輔、海堀昌樹/第 18 回肝臓治療ナビゲーション研究会/2024. 9. 7 (東京)

30. RELIABLE PERFORMANCE OF MALBI GRADE-BASED RISK MODELS FOR PREDICTING THE PROGNOSIS OF PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA RECEIVING ATEZOLIZUMAB PLUS BEVACIZUMAB: COMPARATIVE ANALYSIS OF 13 RISK MODELS/T. Hatanaka, S. Kakizaki, A. Hiraoka, T. Tada, K. Kariyama, J. Tani, H. Toda, M. Kaibori, A. Naganuma, Y. Yata, H. Kuroda, K. Nouse, T. Kumada/United European Gastroenterology Week Vienna/2024. 10. 12-15

31. LM02-2 主肝静脈に近接する腫瘍に対する inter-Laennec approach による頭尾側方向の肝静脈剥離方法/木口剛造、松島英之、小坂久、山本栄和、松井康輔、海堀昌樹/第 18 回肝臓内視鏡外科研究会・第 16 回膵臓内視鏡外科研究会/2024. 11. 20 (栃木)

32. L04-2 当院におけるロボット支援下肝切除の特性に基づいたアプローチとその短期成績/小坂久、木口剛造、山本栄和、松島英之、松井康輔、海堀昌樹/第 18 回肝臓内視鏡外科研究会・第 16 回膵臓内視鏡外科研究会/2024. 11. 20 (栃木)

33. RS3-4 切除不能肝門部胆管癌に対する集学的治療により根治切除し得た一例/松本杏、小坂久、松井康輔、大東拓哉、松島英之、木口剛造、山本栄和、海堀昌樹/第 86 回日本臨床外科学会学術集会/2024. 11. 21 (栃木)

34. O59-6 肝切除後難治性胆汁漏れに対する治療戦略/山本栄和、松島英之、木口剛造、石崎守彦、小坂久、松井康輔、海堀昌樹/第 86 回日本臨床外科学会学術集会/2024. 11. 22 (栃木)

35. RS19-5 切除不能進行肝細胞癌における Conversion surgery の経験/大東拓哉、山本栄和、松島英之、木口剛造、石崎守彦、小坂久、松井康輔、海堀昌樹/第 86 回日本臨床外科学会学術集会/2024. 11. 22 (栃木)

36. O132-5 ロボット肝切除の欠点とその対策法としての力学的に最適化した肝離断方法/木口剛造、小坂久、松島英之、山本栄和、松井康輔、海堀昌樹/第 86 回日本臨床外科学会学術集会/2024. 11. 23 (栃木)

37. 外科医からみた肝細胞癌の治療戦略～Conversion surgery を目指して～/海堀昌樹/肝細胞癌治療の Next Stage/2024. 12. 3 (大阪)

38. OS7-4 BCLC stage A における Atezolizumab + Bevacizumab 療法の有用性/田中一成、辻邦彦、平岡淳、多田俊史、畑中健、的野智光、狩山和也、糸林詠、高口浩一、矢田豊、川田一仁、

- 石川達、厚川正則、黒田英克、田尻和人、柿崎暁、海堀昌樹、日浅陽一、工藤正俊、熊田卓/第31回日本肝がん分子標的治療研究会/2025. 1. 18(岡山)
39. OS9-3 アテゾリズマブ/ベバシズマブ併用療法例における borderline resectable HCC のアウトカム/多田俊史、熊田卓、平岡淳、豊田秀徳、畑中健、柿崎暁、能祖一裕、海堀昌樹、日浅陽一、工藤正俊/第31回日本肝がん分子標的治療研究会/2025. 1. 18(岡山)
40. OS9-4 Atezolizumab + Bevacizumab 併用療法を施行した切除不能肝細胞癌 1000 例のリアルワールドデータ/多田藤政、多田俊史、畑中健、柿崎暁、狩山和也、小川力、豊田秀徳、矢田豊、石川達、越智裕紀、大久保知美、高口浩一、辻邦彦、的野智光、谷丈二、黒田英克、西村貴士、海堀昌樹、日浅陽一、熊田卓/第31回日本肝がん分子標的治療研究会/2025. 1. 18(岡山)
41. OS9-5 ELIXIR study Final Analysis: Real-World Efficacy and Safety of Atezolizumab + Bevacizumab in Japanese Patients with Unresectable HCC/廣岡昌史、山下竜也、竹原徹郎、相方浩、葛谷貞二、池田公史、森口理久、山本紘司、加藤直也、阪森亮太郎、土谷薫、平岡淳、中野聖士、谷丈二、永井英成、本村健太、海堀昌樹、森本学、長谷川潔、上嶋一臣/第31回日本肝がん分子標的治療研究会/2025. 1. 18(岡山)
42. OS10-4 Durvalumab + Tremelimumab 療法/ Durvalumab 単独療法の治療効果に対する肝機能の影響/大濱日出子、平岡淳、多田俊史、畑中健、谷丈二、小川力、高口浩一、糸林詠、厚川正則、辻邦彦、田尻和人、豊田秀徳、矢田豊、黒田英克、石川達、海堀昌樹、能祖一裕、日浅陽一、工藤正俊、熊田卓/第31回日本肝がん分子標的治療研究会/2025. 1. 18(岡山)
1. 肝細胞癌に対する化学療法後 conversion surgery の治療成績/山本栄和、松嶋英之、木口剛造、石崎守彦、小坂久、松井康輔、海堀昌樹/第52回近畿肝臓外科研究会/2025. 1. 25(大阪)
2. インターレックアップアプローチによる安全な肝静脈剥離/木口剛造、松嶋英之、小坂久、山本栄和、松井康輔、海堀昌樹/第52回近畿肝臓外科研究会/2025. 1. 25(大阪)
- シンポジウム
1. SY7-1 代用皮膚を用いた日侵襲的なドレーン固定方法の安全性と有効性/松嶋英之、石崎守彦、小坂久、山本栄和、松井康輔、海堀昌樹/第49回日本外科系連合学会 学術集会/2024. 6. 6(東京)
2. SY9-5 肝切除後難治性胆汁漏に対する IVR を組み合わせた治療戦略/山本栄和、松嶋英之、石崎守彦、小坂久、松井康輔、狩谷秀治、海堀昌樹/第49回日本外科系連合学会 学術集会/2024. 6. 6(東京)
3. SY03-5 Comparison of surgical outcomes between laparoscopic and open anatomical liver resection of hepatocellular carcinoma: A multicenter study based on propensity score matching analysis/Hiroji Shinkawa, Masaki Kaibori, Masaki Ueno, Satoshi, Yasuda, Hisashi Ikoma, Tsukasa Aihara, Takuya Nakai, Takeaki Ishizawa/第36回日本肝胆膵外科学会・学術集会/2024. 6. 29(広島)
4. ES-7 切除不能肝細胞癌に対するデュエルマブ+トレメリムマブ併用療法の初期治療成績と免疫関連有害事象/的野智光、平岡淳、多田俊史、狩山和也、谷丈二、厚川正則、高口浩一、石川達、豊田秀徳、小川力、田中一成、西村貴士、畑中健、柿崎暁、川田一仁、黒田英克、矢田豊、海堀昌樹、工藤正俊、熊田卓/第60回日本肝癌研究会/2024. 7. 12(兵庫：姫路)
5. SY1-1 脈管侵襲を伴わない単発肝細胞癌に対する肝切除術後早期肝外再発予測と対数化 AFP 値の意義/新川寛二、海堀昌樹、上野昌樹、安田里司、生駒久視、相原司、中居卓也、木下正彦、小坂久、速水晋也、松尾泰子、森村怜、中島隆善、登千穂子、石沢武彰/第60回日本肝癌研究会/2024. 7. 12(兵庫：姫路)
6. SY4-6 肝癌に対するアテゾリズマブとベバシズマブ併用療法のコンバージョン治療：その予測因子と治療成績/畑中健、柿崎暁、平岡淳、狩山和也、多田俊史、豊田秀徳、糸林詠、高口浩一、大濱日出子、田中一成、長沼篤、黒田英克、海堀昌樹、熊田卓/第60回日本肝癌研究会/2024. 7. 13(兵庫：姫路)
7. SY5-5 多施設共同研究からみる肝内胆管癌に対する腹腔鏡下肝切除の現状/小坂久、上野昌樹、新川寛二、米田浩二、相原司、生駒久視、安田里司、森治樹、中居卓也、海堀昌樹/第60回日本肝癌研究会/2024. 7. 13(兵庫：姫路)
8. SY7-3 多施設共同研究からみる肝内胆管癌に対する外科治療と術後補助化学療法の現状/Hisashi Kosaka, Masaki Ueno, Masahiko Kinoshita, Koji Komeda, Tsukasa Aihara, Hisashi Ikoma, Satoshi Yasuda, Haruki Mori, Takuya Nakai, Masaki Kaibori/第79回日本消化器学会総

会/2024. 7. 19 (山口：下関)

9. 肝 S6-8 肥満と糖尿病の併存と肝細胞癌術後長期成績と関連/新川寛二、海堀昌樹、石沢武彰/第 28 回日本肝臓学会大会/2024. 11. 1 (兵庫：神戸)

10. VS1-6 内視鏡技術認定試験における不合格ビデオと審査コメントから学んだ安全性の徹底/松島英之、木口剛造、石崎守彦、小坂久、山本栄和、松井康輔、海堀昌樹/第 86 回日本臨床外科学会学術集会/2024. 11. 21 (栃木)

ワークショップ パネルディスカッション

1. WS-03-5 大腸癌肝転移に対する最適な補助治療の設定：多施設共同後ろ向き研究化からの提案/上野昌樹、米田浩二、中居卓也、小坂久、生駒久視、森治樹、安田里司、新川寛二、川井学、海堀昌樹/第 124 回日本外科学会定期学術集会/2024. 4. 18 (愛知)

2. WS-24-6 肝臓手術における術中トラブルとその対処法/松井康輔、松島英之、中島隆善、小坂久、山本栄和、海堀昌樹/第 124 回日本外科学会定期学術集会/2024. 4. 20 (愛知)

3. WS-25-5 当院における肝細胞癌に対する治療戦略—Conversion surgery を目指して—/山本栄和、松島英之、小坂久、松井康輔、関本貢嗣、海堀昌樹/第 124 回日本外科学会定期学術集会/2024. 4. 20 (愛知)

4. PD5-10 切除不能進行肝細胞癌における Conversion surgery の臨床的意義/山本栄和、松井康輔、海堀昌樹/第 60 回日本肝臓学会総会/2024. 6/14 (熊本)

5. WS10-8 切除不能胆道癌に対する triplet を中心とした薬物療法とその後のコンバージョン手術の意義/小坂久、池浦司、海堀昌樹/第 60 回日本肝臓学会総会/2024. 6. 14 (熊本)

6. WS04-9 Proposal Process of Oncological Resectability Criteria for Hepatocellular Carcinoma in the Era of Novel Systemic Therapies/Keiichi Akahoshi, Junichi Shindoh, Minoru Tanabe, Shunichi Arizumi, Susumu Eguchi, Yukiyasu Okamura, Masaki Kaibori, Shoji Kubo, Mitsuo Shimada, Akinobu Taketomi, Nobuyuki Takemura, Hiroaki Nagano, Masafumi Nakamura, Kiyoshi Hasegawa, Etsuro Hatano, Tomoharu Yoshizumi, Itaru Endo, Norihiro Kokudo/第 36 回日本肝胆膵外科学会・学術集会/2024. 6. 29 (広島)

7. WS09-3 The preoperative staging system may forecast a borderline resectable intrahepatic cholangiocarcinoma/Hisashi Kosaka, Msaki Ueno, Masahiko Kinoshita, Koji Komeda, Tsukasa Aihara, Yusuke Yamamoto, Satoshi Yasuda, Haruki Mori, Takaya Nakai, Masaki Kaibori/第 36 回日本肝胆膵外科学会・学術集会/2024. 6. 29 (広島)

8. PD5-3 大腸癌肝転移の Borderline resectable とは？Beppu score に基づいた検証/上野昌樹、小坂久、米田浩二、中居卓也、安田里司、森治樹、新川寛二、生駒久視、川井学、海堀昌樹/第 79 回日本消化器学会総会/2024. 7. 18 (山口：下関)

9. WS8-6 門脈圧亢進症合併肝細胞癌に対する腹腔鏡肝切除は術中出血量と合併症を低減させる/新川寛二、海堀昌樹、中居卓也、上野昌樹、安田里司、生駒久視、森治樹、米田浩二、石沢武彰/第 79 回日本消化器外科学会総会/2024. 7. 19 (山口：下関)

10. WS3-5 本邦外科手術における周術期管理の現状について/海堀昌樹、松島英之、佐藤弘、谷口英喜、真貝竜史、松井亮太、嵩原一裕、眞次康弘、鷺澤尚宏、米田浩二、朝隈光弘、郡隆之、長谷川豊、比企直樹、樋口格、山田岳、宮坂俊光、亀井尚、岡本宏史、赤木由人、石橋生哉、鍋谷圭宏、木村豊、高済峯、山戸一郎、永川裕一、瀧下智恵、稲田涼、吉井健悟 (日本外科学代謝栄養学会周術期管理委員会ワーキンググループ) /日本外科代謝栄養学会第 61 回学術集会/2024. 7. 25-27 (大阪)

11. PD19-1 主要血管浸潤を有する肝内胆管癌の resectability status に関する多施設共同研究/小坂久、上野昌樹、新川寛二、米田浩二、相原司、山本有祐、安田里司、森治樹、海堀昌樹/第 86 回日本臨床外科学会学術集会/2024. 11. 23 (栃木)

ポスター (デジタルポスター含む)

1. 肝 P-13 直接作用型抗ウイルス薬投与によりウイルス学的著効後に指摘された C 型肝炎関連肝細胞癌手術後再発の検討：後ろ向き多機関共同研究/田中肖吾、野田剛広、米田浩二、安田里司、上野昌樹、森治樹、小坂久、森村玲、新川寛二、小林省吾、速水晋也、生駒久視、石沢武彰、海堀昌樹/第 28 回日本肝臓学会大会/2024. 10. 31 (兵庫：神戸)

2. 肝 P-74 切除不能肝細胞癌に対するデュルバルマブ+トレメリムマブ併用療法の初期治療成績/的野智光、平岡淳、多田俊史、狩山和也、谷丈二、厚川正則、高口浩一、石川達、豊田秀徳、

小川力、田中一成、西村貴士、畑中健、柿崎暁、川田一仁、矢田豊、海堀昌樹、工藤正俊、熊田卓/第28回日本肝臓学会大会/2024.10.31（兵庫：神戸）

3. 肝P-81 切除不能肝癌へのDurvalumab+Tremelimumab治療のChild-Pugh B患者での初期成績/大濱日出子、平岡淳、多田俊史、畑中健、谷丈二、小川力、高口浩一、糸林詠、厚川正則、辻邦彦、田尻和人、豊田秀徳、矢田豊、黒田英克、石川達、海堀昌樹、能祖一裕、日浅陽一、工藤正俊、熊田卓/第28回日本肝臓学会大会/2024.10.31（兵庫：神戸）

4. 肝P-82 Atezolizumab+Bevacizumabに対する予後予測スコア(IMABALI-De score)/大濱日出子、平岡淳、海堀昌樹、多田俊史、谷丈二、糸林詠、能祖一裕、黒田英克、厚川正則、畑中健、西川浩樹、柿崎暁、島田紀朋、筒井径卓、川田一仁、的野智光、福西新弥、日浅陽一、熊田卓/第28回日本肝臓学会大会/2024.10.31（兵庫：神戸）

5. 腹腔鏡下肝切除における右肝静脈止血操作時にガーゼが肺動脈に迷入した一例/和田寛大、松島英之、小坂久、山本栄和、松井康輔、海堀昌樹、関本貢嗣/第79回日本消化器学会総会/2024.7.19（山口：下関）

<特許申請・取得状況>

なし

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	胆膵外科学講座	事業推進者名	里井壯平
所属部門	がん部門		
研究課題名	胆膵領域癌に対する短期・長期予後因子の検討と新規治療法の開発		
キーワード	Near-infrared photoimmunotherapy, Pancreatic ductal adenocarcinoma, Peritoneal Dissemination, EpCAM, IR700		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	9名		

＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞

里井 壯平(主任教授)；研究立案、総括、解析、検証。

橋本 大輔(准教授)；研究立案、総括、解析、検証。

松井 雄基(大学院)；実験、検証、解析。

山木 壮；実験、検証、解析。

松村 和季；実験、検証、解析。

宮崎 秀隆；実験、検証、解析。

池田 裕二；実験、検証、解析。

TSYBULSKYI DENYS(大学院)；実験、検証、解析。

Nguyen Thanh Sang(大学院)；実験、検証、解析。

＜研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）＞

膵癌は代表的な難治癌であり世界的に罹患数が増加していることが問題視されている。特に腹膜播種を有する患者の予後は極めて不良である。我々はこれまで継続して膵癌腹膜播種に対する臨床研究を行っており、腹腔内化学療法の実施共同研究などを通じて治療成績を徐々に改善させてきた。近年新たな癌治療として光免疫療法が注目されており、2022年に関西医科大学に光免疫医学研究所が開設された。

本研究は膵癌腹膜播種に対する新たな治療ターゲット（膜タンパク）に対し、光免疫療法を確立することを目的とする。また、本研究により治療法が確立されれば、膵

癌以外のあらゆる癌種の腹膜播種症例に対し応用できる可能性があり、期待される成果は非常に大きいと考えられる。本研究では新規ターゲットに対する光免疫療法薬剤を開発しその効果

を *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* にて検証する。我々はすでに

膵癌腹膜播種病巣に発現している膜タンパクを nCounter analysis system を用いて網羅的に mRNA を解析した。膵癌腹膜播種標本 44 症例、陰性コントロールとして正常腹膜組織 4 例をもとに、膜タンパク 80 種を解析し、その結果 mRNA を 3 種類同定した(図 1 A.EpCAM, B.FAP,C.MMP-14)。図 1.Volcano plot では横軸 0 以上が腹膜播種症例に多く存在する mRNA で

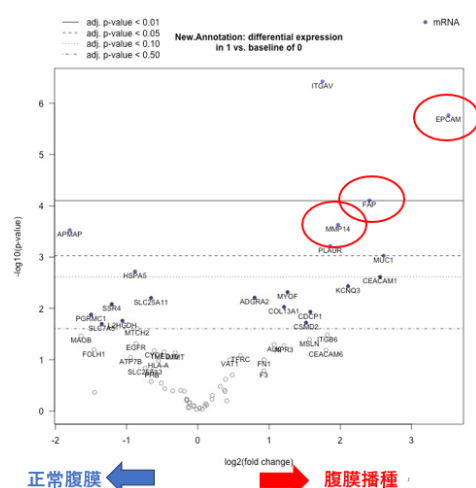


図 1. nCounter analysis system 検索結果

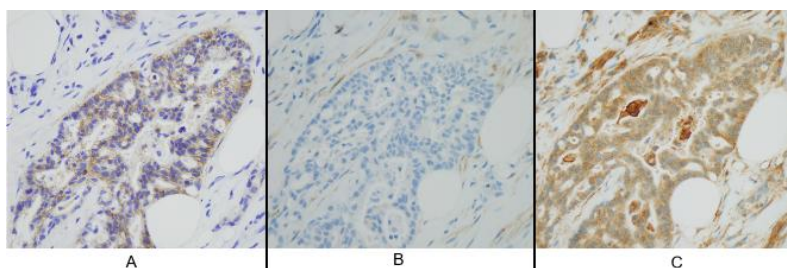


図 2.新規ターゲット候補 3 種の免疫染色

あり、縦軸の数値が上がるほど有意性が高まる。A,B,C は正常腹膜と比較し、有意に膀胱癌腹膜播種組織に多く存在する mRNA となる。これら mRNA から生成されるタンパクに対し免疫染色を行ったところ、全て癌細胞の膜タンパクとして存在していることが確認され、いずれのターゲットも光免疫療法として使用できる可能性が示唆された(図 2)。まずは、膀胱癌腹膜播種に最も特異的に高発現している EpCAM を用いることとした。EpCAM 抗体に光感受性物質である IR700 を結合させ、EpCAM-IR700 結合体を精製し、以降研究を行った。

I. in vitro における研究

作成した薬剤(EpCAM-IR700 結合体)と既存のターゲットである EGFR-IR700 結合体の膀胱癌細胞株への結合を、光学顕微鏡を用いてそれぞれ確認した(図 3)。青色が核、緑色が薬剤を示しているが、EpCAM-IR700 結合体は EGFR-IR700 結合体と比較し明らかに強力に細胞膜上に結合していることがわかる。投与条件は両群ともに統一されている(10 μ g/ml で投与し 1 時間後に撮像)にもかかわらず、EpCAM-IR700 結合体では非常に良好な結合を認めた。

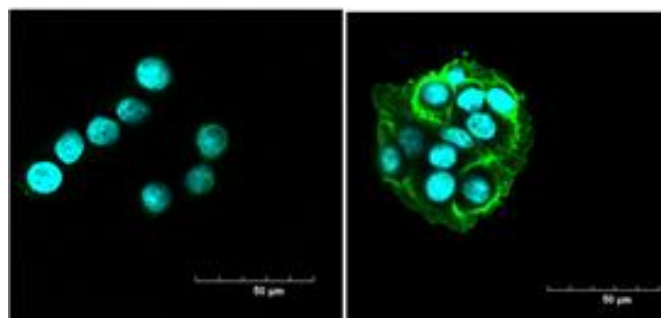


図 3. 光学顕微鏡写真. 左 ; EGFR-IR700. 右 ; EpCAM-IR700.

次に、EpCAM-IR700 結合体と既存の EGFR-IR700 結合

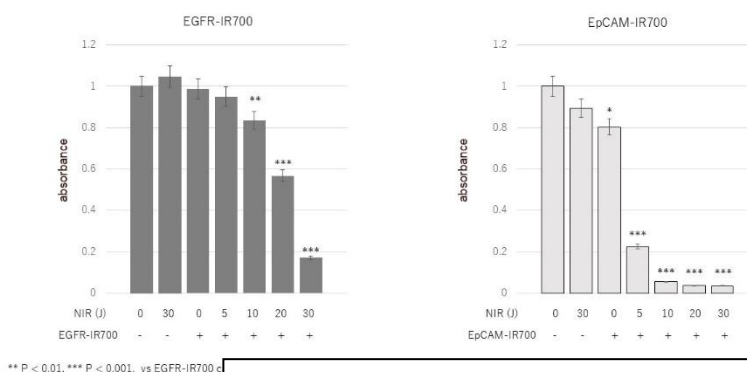


図 4. 光免疫療法. 左 ; EGFR-IR700. 右 ; EpCAM-IR700.

体を用いて、膀胱癌細胞株に光免疫療法を行い、

それぞれの治療効果を検証した。①コントロール群,②近赤外線照射のみの群(30J),③薬剤のみの投与群,④光免疫療法群(薬剤+近赤外線 5J),⑤光免疫療法群(10J),⑥光免疫療法群(20J),⑦光免疫療法群(30J)に分けて行った。EGFR-IR700 において 5J では治療効果が得られなかったにも関わらず、EpCAM-IR700 ではほとんどの膀胱癌細胞が死滅していた。光量を上げていくに伴いさらに殺細胞効果を認め、その効果は既存の EGFR-IR700 と比較し顕著であった(図 4)。In vitro において、EGFR-IR700 と新規に作成した EpCAM-IR700 の治療効果の比較は良好な結果が得られたことから、in vivo への移行を計画している。

II. in vivo における研究

まずは膀胱癌細胞株皮下腫瘍モデルに対する光免疫療法の治療効果を検証する。実験計画は以下の通りである。①コントロール群、②薬剤(EpCAM-IR700)投与のみの群、③近赤外線照射のみの群、④治療群(EpCAM-IR700 (100 μ g)+近赤外線照射で各グループ 5 匹ずつ、合計 20 匹のマウスを使用する。治療群は薬剤投与後 24 時間後に 1 回目の近赤外線照射を 50J/cm²で行い、48 時間後に 2 回目の照射を 100J/cm²で行う。以降観察期間に入りおよそ 3 週間、

腫瘍ボリュームを計測する。腫瘍ボリュームは長径(mm)×短径(mm)×短径(mm)×0.5 で求める。次に、膵癌腹膜播種モデルマウスを用いて実験を行う。治療効果判定は治療後の生存曲線 (Kaplan-Meier 曲線)、IVIS Imaging System による画像評価、および治療対象の肉眼的、顕微鏡的、病理学的所見にて判定する。病理学的所見では、全腫瘍面積における損傷面積のパーセンテージとして計算し、治療効果を判定する。また薬剤に暴露され近赤外線が照射された他の臓器 (肝臓、脾臓、腸管、内生殖器など) や正常腹膜、血管といった組織を観察し、組織の崩壊など有害事象発生の有無を確認する。既に、膵癌細胞株を用いた腹膜播種モデルの作成は完了している。BALBc-nu/nu 雌 5 週に膵癌細胞株を腹腔内投与し作成する。図 5 は膵癌細胞株を腹腔内投与 6 週間後に IVIS Imaging System を用い評価したものである。腹腔内全体に腫瘍による発光が確認された。その後、腹腔内観察した結果、多数の腸間膜播種を認め(図 6)、さらに Hematoxylin-Eosin 染色にて病理評価を行ったところ、膵癌細胞株による播種であることが確認された。

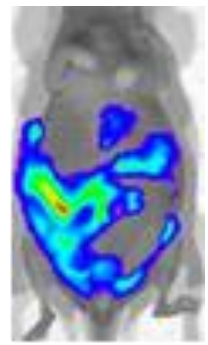


図 5. IVIS Imaging System



図 6. 膵癌腹膜播種モデル

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	胆膵外科学講座	事業推進者名	里井壯平
<学会発表>（発表者名・発表標題・学会名・開催地（海外の場合は国名と都市名）・発表年月） Yuki Matsui, Title: A macroscopic peritoneal dissemination model of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) in mice using PANC-1 cell line, 第36回 日本肝胆膵外科学会学術集会, 広島国際会議場, 2024/6/29 Yuki Matsui, Title: Exploration of Targets for Photoimmunotherapy and Development of Novel Therapy for Peritoneal Dissemination of Pancreatic Cancer, 2025 Annual Pancreas Club Meeting, San Diego USA, May 3 2025			

研究成果報告書（研究概要）

講 座 等 名	乳腺外科学講座	事業推進者名	矢内洋次
所 属 部 門	がん部門		
研 究 課 題 名	遺伝性乳癌卵巣癌症候群の乳癌発症機構の解明による予防的乳房切除の指標確立と新規治療法の開発		
キ ー ワ ー ド	遺伝性乳癌卵巣癌症候群、乳癌、オルガノイド		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	6 名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 高田正泰：乳腺外科学講座 教授 「研究の統括」、「研究計画の立案」 木川雄一郎：乳腺外科学講座 診療講師 「データの収集、解析」 矢内洋次：乳腺外科学講座 診療講師 「研究計画の立案」、「データの収集、解析」 遠藤香代子：乳腺外科学講座 病院助教 「データの収集、解析」 多田真奈美：乳腺外科学講座 病院助教 「データの収集、解析」 平井千恵：乳腺外科学講座 病院助教 「データの収集、解析」			
<研究概要（令和 5（2023）～令和 6（2024）年度の研究成果について）> 遺伝性乳癌卵巣癌症候群（HBOC）では、乳癌発症前に予防的に乳房を切除するリスク低減乳房切除術（RRM）が推奨されているものの、乳癌発症リスクを判断するための客観的指標が存在しない。そのため、乳癌発症リスクを判断するための客観的指標となるマーカー分子の探索を実施した。 まず、HBOC 女性の手術検体の乳癌組織と正常乳腺（非腫瘍部）組織 / 予防切除行った乳房の正常乳腺組織から total RNA を抽出し、nCounter Analysis System（nanoString 社）を用いて網羅的遺伝子発現解析を実施し、候補となるマーカー分子を同定した。そして、RT-qPCR 法および、TCGA データベース解析、GTEx データベース解析による検証を加えた。その結果、BRCA1 および BRCA2 変異陽性乳癌に共通して発現上昇する分子が多数認められた。一方、BRCA2 変異陽性乳癌において特異的に高発現する分子が存在した。 次に、遺伝子発現解析の結果から、BRCA1/2 とともに高発現していることが判明した 2 分子について、免疫組織化学染色を実施した結果、腫瘍部特異的な染色を認め、タンパク質の発現を確認した。また、その内の一つの分子に関しては、正常部位で脂肪細胞と、炎症細胞が強く染色されていた。 現在、TMA 作製準備中であり、TMA 作製した後、同定された候補となるマーカー分子の染色を順次行っていく予定である。 このようなマーカーを複数組み合わせることにより、HBOC 女性の乳癌発症リスクを高精度に予測できると考える。 また、HBOC 女性の手術検体の乳癌組織と正常乳腺（非腫瘍部）組織 / 予防切除行った乳房の正常乳腺組織の手術余剰検体からオルガノイドの作製を試み、樹立に成功している。今後オルガノイドを用いて、さらなる検討を行う予定である。			

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	乳腺外科学講座	事業推進者名	矢内洋次
＜雑誌論文＞（著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年） なし。 ＜図書＞（著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数） なし。 ＜学会発表＞（発表者名・発表標題・学会名・開催地（海外の場合は国名と都市名）・発表年月） 矢内洋次、吉田真子、佐藤智佳、島田咲、平井千恵、多田真奈美、遠藤香代子、木川雄一郎、蔦幸治、高田正泰・Search for breast cancer risk predictors in hereditary breast and ovarian cancer syndrome using comprehensive gene expression analysis・Seoul-Kansai-Kyoto Breast Cancer Seminar 2024・大阪・2024年11月9日 ＜特許申請・取得状況＞ なし。			

研究成果報告書（研究概要）

講 座 等 名	小児外科学講座	事業推進者名	土井崇
所 属 部 門	神経部門		
研究課題名	ヒルシウスプルング病における、消化管神経回路異常とパネート細胞による腸管免疫の関連性についての検証		
キーワード	ヒルシウスプルング病、パネート細胞		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	6名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 土井崇 研究全体の計画・予算管理・論文の統括 中村弘樹 実験実施、研究全体の計画・予算管理・論文の統括 田中里奈 検体採集、検体管理 青木望実 データ解析補助 佐竹良亮 関連論文等の収集 奥坊斗規子 関連論文等の収集			
<研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）> ヒルシウスプルング病モデルマウスでのパネート細胞の形態学的評価。 実験動物には、ヒルシウスプルング病モデルマウスとしてヒルシウスプルング病原因遺伝子であるエンドセリンレセプターB のノックアウトマウスと、その同腹子をコントロールマウスとして用いる。このH病モデルマウスの平均生存期間は3-4週でヒルシウスプルング病関連腸炎を引き起こすことがわかっている。このヒルシウスプルング病モデルマウスでは、コントロールマウスに比べ、小腸においてパネート細胞の分布に有意な差はないものの、出生後20日を過ぎ腸炎を起こす頃からパネート細胞内のsPLA2の発現が低下することが報告されており、パネート細胞における何らかの質的な異常が示唆されている。生後10、16、22日における、ヒルシウスプルング病モデルマウスの無神経節腸管と有神経節腸管と、コントロールマウスでは肛門側から同距離となる腸管を摘出し、腸粘膜の染色（HE染色、Calretinin染色、PAS染色）を行い腸炎の進展を評価するとともに、パネート細胞の同定の準備を行った。 その後、αディフェンシンの存在を示すために、マウスのαディフェンシンに対する抗 cryptdin抗体を使用した免疫染色を行い、腸組織を光学顕微鏡観察、共焦点レーザー顕微鏡観察および電子顕微鏡観察することでパネート細胞の形態学的評価、腸炎の進展評価、パネート細胞およびαディフェンシンの発現の差異を実証する。			

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	外科学講座	事業推進者名	海堀昌樹
所属部門	がん部門		
課題名	大腸癌に対する抗がん剤内包 PCL ファイバーメッシュを用いた革新的治療の検討		
キーワード	大腸癌、PDT 療法		
講座内の本プロジェクト参加研究者数		9名	
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞			
関本貢嗣	研究統括		
海堀昌樹	研究立案・研究統括・論文作成指導		
小塚雅也	実験・解析		
八田雅彦	実験・解析		
石塚まりこ	実験・解析・論文作成		
奥村忠義	実験・解析		
梅寄乃斗香	実験・解析		
吉田史明	実験・解析		
住山房央	実験・解析		
＜研究概要（2022 年度の研究成果について）＞			
【研究目的】			
分子標的薬であるレンバチニブは、切除不能な進行性肝細胞癌(HCC)に対して高い奏効率を示す。ポリε-カプロラクトン（PCL）は薬物と共通の溶媒を用いるとエレクトロスピンニング法によって薬剤を内包したナノファイバーとなり、薄くて柔軟な PCL シートを織ることができるため臨床応用に適した材料である。本研究では、レンバチニブ内包 PCL シートが、Drug Delivery System (DDS)としてマウス HCC モデルにおいて抗腫瘍効果を発揮するかを検討した。			
【研究方法】			
レンバチニブ内包シートは約 1mg のレンバチニブを 14 日間で徐放するように設計し開発した。1mg は 10mg/kg/day（ヒト HCC で 8mg/day に相当）のレンバチニブを 14 日間マウスに経口投与した量の約 32.5%である。ヒト HCC 細胞株 HuH-7(5 × 10 ⁶ /100 μL)をマウスの皮下へ移植、また HuH-7-Luc(5 × 10 ⁶ /500 μL)を腹腔内に移植したマウスモデルを用いてレンバチニブ PCL シートの有効性を検討した。皮下腫瘍モデルではレンバチニブ PCL シートとレンバチニブ経口投与での抗腫瘍効果を比較検討するため、腫瘍体積、体重、血清レンバチニブ濃度を 14 日間経時的に測定した。またレンバチニブ PCL シート挿入部位による抗腫瘍効果とレンバチニブ血中濃度を比較検討した。腹膜播種モデルを用いて、レンバチニブ PCL シートの生存期間延長効果を検討した。			
【結果】			
HuH-7 皮下移植モデルでは、レンバチニブ PCL シート群が無治療群および経口投与群と比較し有意に腫瘍増殖を抑制した (P<0.05)。また、その抗腫瘍効果はシート群で経口投与群より有意であった (P<0.05)。レンバチニブ PCL シートでは血清中のレンバチニブ濃度はシート挿入後 24 時間かけて緩やかに上昇し、その後の 14 日間においてレンバチニブ濃度を維持していた。異なる 3 か所のシート挿入部位によらずレンバチニブの血中薬物濃度を維持し同様の抗腫瘍効果を示した。病理学的解析では、レンバチニブ PCL シート群では対照群と比べて細胞分裂が有意に抑制され、微小血管の面積と密度が少なく、血管の内径は狭かった (P<0.05)。腹膜播種モデルではレンバチニブ PCL シートは治療開始後 30 日での生存率を向上させた (P<0.01)。			
【考察】			
本研究では、経口投与量の 32.5%に相当する 1mg のレンバチニブを含有するシートが挿入位置にかかわらず、レンバチニブの血清濃度を維持し、十分な抗腫瘍効果を示すことが確認された。シートから徐放された薬剤が真皮の毛細血管から効率よく吸収されたことにより、血清中のレンバチニブ濃度が維持され抗腫瘍効果が発揮されたと考える。播種結節に対する作用機序として、循環血液中のレンバチニブが腹膜の毛細血管を通じて効果を発揮することが考えられた。マウスは皮下組織層が薄く、真皮と腹膜が近接しているため、シートから徐放されたレンバチニブが腹膜			

を通じて、あるいは腹水への移行によって播種結節に直接作用した可能性も考えられる。本試験では、レンバチニブの減量とシートの徐放性を利用し、急激なレンバチニブの血清中濃度の上昇を抑えつつ、抗腫瘍効果を示す濃度を維持した。今回の実験では、副作用への影響を評価できなかったが、薬剤の総投与量の減少が副作用の発生を抑制した可能性があり追加実験が望まれる。PCL シートは、現在、超音波、磁場、熱中性子、近赤外線などを用いた遠隔制御方法が報告されている。体外からシートの薬物放出を調整する方法や、形状を工夫して容易に抜去する方法が開発されれば、臨床応用が進むと思われる。さらに、シートの皮下挿入だけでなく、皮膚パッチなどの新しい治療デバイスの開発も検討できる。レンバチニブシートは十分な抗腫瘍効果を示し、進行性 HCC に対する有効な新規 DDS となる可能性が示唆された。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	外科学講座	事業推進者名	海堀昌樹
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 1. Yoshida T, Kaibori M, Fujisawa N, Ishizuka M, Sumiyama F, Hatta M, Kosaka H, Matsui K, Suzuki K, Akama TO, Katano T, Yoshii K, Ebara M, Sekimoto M. Efficacy of Nanofiber Sheets Incorporating Lenvatinib in a Hepatocellular Carcinoma Xenograft Model. <i>Nanomaterials (Basel)</i>. 15;12(8):1364., 2022 2. Yoshida T, Okumura T, Matsuo Y, Okuyama T, Michiura T, Kaibori M, Umezaki N, Bono H, Hirota K, Sekimoto M. Activation of transcription factor HIF inhibits IL-1β-induced NO production in primary cultured rat hepatocytes. <i>Nitric Oxide.</i>, 124(1), 2022. 3. Sakaguchi T, Sumiyama F, Kotsuka M, Hatta M, Yoshida T, Hayashi M, Kaibori M, Sekimoto M., Levosimendan Increases Survival in a D-Galactosamine and Lipopolysaccharide Rat Model., <i>Biomedicines</i>, 10(12):3161, 2022. 4. Ishizuka M, Kaibori M, Sumiyama F, Okamoto Y, Suganami A, Tamura Y, Yoshii K, Sugie T, Sekimoto. Photodynamic therapy with paclitaxel-encapsulated indocyanine green-modified liposomes for breast cancer. <i>M. Front Oncol.</i> 2024 2. 吉田明史、海堀昌樹、藤澤七海、石塚まりこ、住山房央、八田雅彦、小坂久、松井康輔、荏原充宏、関本嗣嗣., がん薬物療法と Drug Delivery Syetem: レンバチニブ内包ナノファイバーシートの開発, <i>The Journal of Kansai Medical Univerity.</i> 75, 2025. <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) なし <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) 1. 肝切除ラット敗血症モデルを用いたプロトンポンプ阻害薬 omeprazole の肝保護効果の検討と臨床応用/小塚雅也、橋本祐希、中竹利知、八田雅彦、奥山哲矢、奥村忠芳、海堀昌樹、関本貢嗣/第 77 回日本消化器外科学会総会/2022. 7. 21 (横浜) 2. 小塚雅也、橋本祐希、中竹利知、八田雅彦、吉田明史、海堀昌樹、関本貢嗣., ラット初代培養肝細胞を用いた肝障害モデルにおけるオルプリノン抗炎症・肝保護効果の検討/第 123 回日本外科学会定期学術集会, 東京, 2023. 4. 27. 3. 吉田明史、海堀昌樹、藤澤七海、石塚まりこ、住山房央、八田雅彦、小坂久、松井康輔、荏原充宏、関本貢嗣., 肝細胞癌異種移植モデルにおけるレンバチニブ内包ナノファイバーシートの有効性/第 123 回日本外科学会定期学術集会, 東京, 2023. 4. 27. 4. 小塚雅也、橋本祐希、中竹利知、八田雅彦、吉田明史、奥山哲矢、海堀昌樹、関本貢嗣., 肝切除ラット敗血症モデルを用いたオルプリノンの抗炎症・肝保護効果の検討/第 78 回日本消化器外科学会総会, 函館, 2023. 7. 12. <特許申請・取得状況> ■吉田先生発明者 特許 (審査中) 発明の名称: 抗がん剤含有シート 出願番号: 特願 2022-010349 出願日: 令和 4 年 1 月 26 日 審査請求日: 令和 6 年 11 月 27 日 発明者: 海堀先生、吉田明史先生、在原様 (物質・材料研究機構)			

研究成果報告書（研究概要）

講 座 等 名	外科学講座	事業推進者名	海堀昌樹
所 属 部 門	がん部門		
	ICG-Lipo を用いたヒト乳癌診断・治療技術の開発		
キ ー ワ ー ド	光線力学的療法（PDT）、インドシアニンググリーン（ICG）、蛍光イメージングシステム		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	6名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞ 関本貢嗣：研究統括 海堀昌樹：企画立案・研究統括・論文作成指導 住山房央：実験・評価 梅寄乃斗香：実験・評価 石塚まりこ：実験・評価・論文作成 松井雄基：実験・評価 青木望実：実験・評価 田中里奈：実験・評価 Denys Tsybulskyi：実験・評価 小坂久：実験・評価			
＜研究概要＞ 乳癌は女性で最も多い悪性腫瘍であり、その罹患率と死亡率は世界的に増加の一途を辿っている。乳癌の約 75%はホルモン受容体陽性であり、内分泌療法単独または外科的治療、化学療法、分子標的治療、放射線療法と併用されてきた。乳癌は比較的予後の良い悪性腫瘍であるが、転移再発乳癌の 10 年生存率は 20%程度であり、特に局所進行例では皮膚浸潤による出血や疼痛、悪臭などで QOL を著しく低下させる症例が少なくない。光線力学的療法（PDT）には、光増感剤を投与し、正常組織に大きなダメージを与えることなく腫瘍細胞にダメージを与える低侵襲な治療法である。体表に近い乳癌は PDT の良い適応であると考えられるが、乳癌に対する PDT の効果は未だ限定的である。我々は、パクリタキセル（PTX）を封入したインドシアニンググリーン（ICG）修飾リポソーム（ICG-Lipo-PTX）を開発した。ICG-Lipo-PTX はリポソームの特性により腫瘍に特異的に集積する。ICG の熱効果や光線力学的効果、照射による PTX の局所放出により、抗腫瘍効果だけでなくがん免疫の誘導が期待される。本研究では、ICG-Lipo-PTX の乳がんに対する抗腫瘍効果を検討した。 【研究方法】 ヒト乳癌細胞 KPL-1 を皮下移植した異種移植モデルマウスを用い、ICG-Lipo-PTX の抗腫瘍効果を検討した。ICG-Lipo-PTX、ICG-Lipo、または生理食塩水を腹腔内に投与し、蛍光イメージングシステム（IVIS）を用いて蛍光強度を測定した。腫瘍内温度、腫瘍体積、腫瘍組織の壊死面積も比較した。次に、BALB-MC マウス乳がん細胞を両側鼠径部に皮下移植した同種移植モデルにおいて、癌免疫の誘導を検討した。ICG-Lipo-PTX を腹腔内投与し、片側のみ PDT を行った。IVIS で測定した蛍光強度と両側の腫瘍体積を比較した。サイトカイン分泌能も脾細胞を用いた ELISPOT 法で評価した。 【結果】 異種移植モデルにおいて、PDT 中の蛍光強度と温度は、ICG-Lipo-PTX と ICG-Lipo では腫瘍部の方が非腫瘍部より有意に高かった。腫瘍部位の蛍光強度は、2 回の照射で非照射部位と同じレベルまで減少した。ICG-Lipo-PTX 群では PDT 後、腫瘍の増殖が有意に抑制され、腫瘍の壊死領域の割合が他の群より高かった。同種移植モデルでは、ICG-Lipo-PTX 群の 14 日目の腫瘍増殖は、PDT 側だけでなく非 PDT 側でも有意に抑制された。また、ICG-Lipo-PTX 群ではインターフェロン-γ とインターロイキン-2 の分泌が亢進し、インターロイキン-10 の分泌は抑制された。 【考察】 ICG-Lipo-PTX を用いた PDT 療法は乳癌に対する有効な治療法であると考えられる。			

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	外科学講座	事業推進者名	海堀昌樹
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 1. Ishizuka M, Kaibori M, Sumiyama F, Okamoto Y, Suganami A, Tamura Y, Yoshii K, Sugie T, Sekimoto M. Photodynamic therapy with paclitaxel-encapsulated indocyanine green-modified liposomes for breast cancer. <i>Front Oncol.</i> 14:1365305, 2024. 2. Yoshida T, Sakai K, Kaibori M, Ishida M, Tanaka S, Kubo S, Nakai T, De Velasco MA, Matsushima H, Tsuta K, Sekimoto M, Nishio K. Downregulated expression of PBRM1 in sarcomatoid hepatocellular carcinoma. <i>Oncol Lett.</i> 26;27(3):124. 2024. 3. 吉田明史、海堀昌樹、藤澤七海、石塚まりこ、住山房央、八田雅彦、小坂久、松井康、荏原充宏、関本嗣嗣. がん薬物療法と Drug Delivery Syetem: レンバチニブ内包ナノファイバーシートの開発, <i>The Journal of Kansai Medical Univerity.</i> 75, 2025. <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) なし <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地(海外の場合は国名と都市名)・発表年月) 1. 小塚雅也、橋本祐希、中竹利知、八田雅彦、吉田明史、奥山哲矢、海堀昌樹、関本貢嗣, 肝切除ラット敗血症モデルを用いたオルプリノンの抗炎症・肝保護効果の検討, 第78回日本消化器外科学会総会(函館), 2023. 7. 12. 2. 小塚雅也、橋本祐希、中竹利知、八田雅彦、吉田明史、海堀昌樹、関本貢嗣/ラット初代培養肝細胞を用いた肝障害モデルにおけるオルプリノン抗炎症・肝保護効果の検討, 第123回日本外科学会定期学術集会(東京), 2023. 4. 27. 3. 吉田明史、海堀昌樹、藤澤七海、石塚まりこ、住山房央、八田雅彦、小坂久、松井康輔、荏原充宏, 肝細胞癌異種移植モデルにおけるレンバチニブ内包ナノファイバーシートの有効性、関本貢嗣/第123回日本外科学会定期学術集会(東京), 2023. 4. 27. <特許申請・取得状況> なし			

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	形成外科学講座	事業推進者名	覚道奈津子
所属部門	代謝部門		
研究課題名	皮膚・軟部組織の創傷治癒、組織再生における分子イメージングによる病態解明と診断治療への応用		
キーワード	再生 再建 創傷治癒 組織 細胞 皮膚 脂肪 骨 軟骨 神経 血		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	10名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 統括責任者：覚道奈津子 実施責任者：日原正勝、益岡弘、光井俊人、松岡祐貴、岡本茉希 研究実施者：永田 勲、平尾太祐、國枝桜子、Huan Li			
<研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）> 当講座では、生理的および病的創傷治癒過程を分子レベルで検証し、さまざまな組織再生因子の付加により、病的な創傷治癒を生理的な過程へと近づける取り組みを進めている。特に、病態分子イメージングを用いて創傷治癒のダイナミクスを可視化し、明確な改善や治癒に関与するエビデンスを構築している。 これらの基礎的知見を応用し、より効果的かつ精度の高い臨床治療・再建へとつなげることを目指している。 2021 年度：再生医療の基盤構築と幹細胞研究の深化 2021 年度は、再生医療における中核的な技術である脂肪組織由来幹細胞（adipose-derived stem cells：ASCs）を用いた組織再生の可能性について集中的な研究を行った。 ASCs の多分化能の検証 ASCs が骨、軟骨、脂肪といった複数の細胞系統に分化可能であることを in vitro で再確認し、再生医療における応用の汎用性を強調するエビデンスを得た。これにより、形成外科領域における再建手術の補助的手段としての有望性が高まった。 ASCs と成熟脂肪細胞の混合比に関する研究 脂肪注入の生着率向上を目的とし、ASCs と成熟脂肪細胞の混合比を検討した結果、特定の比率で混合することにより、移植後の細胞生存率と組織再構築の効率が向上することを見出した。これは脂肪移植術の成功率を左右する重要な知見であり、今後の臨床応用に直結する成果といえる。 2022 年度：成長因子利用と保存技術の改良による治療法の汎用化 2022 年度は、生体由来治療材料の保存性と操作性の向上に焦点を当てた研究が進展した。特に多血小板血漿（platelet-rich plasma：PRP）の応用研究が顕著であった。 PRP のフリーズドライ保存法の評価 PRP は、組織修復を促進する多種の増殖因子を含み、創傷治癒促進に有用とされるが、保存安定性に課題があった。本年度の研究では、活性化後の PRP と、フリーズドライ保存された PRP とを比較し、保存後も同等の細胞増殖促進効果を維持することを確認。長期保存・流通が可能となることで、臨床応用の幅が大きく広がる可能性が示された。 法制度への対応準備開始 再生医療等安全性確保法に則った臨床応用を見据え、PRP および ASCs を用いた治療の学術的・			

倫理的枠組みの整備を進めた。これにより、今後の臨床研究・届出体制に向けた実行基盤が整いつつある。

2023 年度：バイオマテリアルと組織工学技術の応用拡大

2023 年度は、組織再生に関する物理的・構造的アプローチの研究が進展し、新たな治療材料と工学的技術の臨床応用に向けた成果が得られた。

高圧脱細胞化によるスキャフォールド開発

200MPa という高圧処理により、皮膚組織から免疫原性の原因となる細胞成分を除去する方法を確立。得られた脱細胞マトリックスは、自己細胞の再播種による再建材料（スキャフォールド）としての応用が可能であり、免疫拒絶を抑制した皮膚再建技術の実現に寄与する。さらに、軟部組織や血管など他組織への応用も視野に入れている。

毛髪再生へ向けた 3 次元ラット髭培養モデルの開発

5 週令ラット、3 5 週令ラットの髭をマイクロ顕微鏡下で毛根をつけて抜去し、3 次元培養を試みた。PRP 添加、FGF-7 添加により髭の伸長を認め、毛根細胞における Ki-67 陽性細胞の増加を認めた。今後、遺伝子発現解析を行う予定としている。

2024 年度：保存技術革新と再生医療臨床展開への最終整備

2024 年度は、再生医療の臨床実装に向けた技術的・制度的な環境整備と、細胞保存に関する革新的技術の開発が進められた。

電場負荷による細胞・組織保存法の開発

細胞および組織を特定の電場条件下で保存することで、長期保存時の生存率や機能維持が向上することを示した。これにより、輸送や長期保存に伴う機能低下を回避できる可能性があり、再生医療や移植医療における保存技術として画期的な手法となり得る。現在、関連技術の特許申請も行われている。

今後の展望

以上の成果を基に、今後は各技術の有効性と安全性のさらなる検証、ならびに標準化と臨床導入に向けた多施設共同研究を進める予定である。形成外科学が担う再建医療の領域において、再生医療技術を安全かつ効果的に実装していくための中心的役割を果たしていきたい。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	形成外科学講座	事業推進者名	覚道奈津子
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) <u>Fukui M</u>, <u>Matsuoka Y</u>, <u>Taketani S</u>, Higasa K, <u>Hihara M</u>, Kuro A, <u>Kakudo N</u> Accelerated Angiogenesis of Human Umbilical Vein Endothelial Cells Under Negative Pressure Was Associated With the Regulation of Gene Expression Involved in the Proliferation and Migration Annals of plastic surgery レフェリー有 89・e51-e59・2022 <u>Fukui M</u>, <u>Hihara M</u>, Takeji K, <u>Matsuoka Y</u>, <u>Okamoto M</u>, Fujita M, <u>Kakudo N</u> Potent Micrografting Using the Meek Technique for Knee Joint Wound Reconstruction Eplasty レフェリー有 23・e14・2023 <u>Sun Z</u>, <u>Fukui M</u>, <u>Taketani S</u>, Kako A, <u>Kunieda S</u>, <u>Kakudo N</u>. Predominant control of PDGF/PDGF receptor signaling in the migration and proliferation of human adipose-derived stem cells under culture conditions with a combination of growth factors Experimental and therapeutic medicine 27(4)・156・2024 <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) なし <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地(海外の場合は国名と都市名)・発表年月) <u>福井充香</u>, <u>Lai Fangyuan</u>, <u>Sun Zhongxin</u>, 光井俊人, <u>日原正勝</u>, <u>覚道奈津子</u> 脂肪幹細胞における多血小板血漿の細胞遊走効果 第31回日本形成外科学会基礎学術集会 岡山県岡山市 2022年10月 <u>覚道奈津子</u>, 國枝桜子, <u>福井充香</u> 脂肪組織の解剖と脂肪幹細胞の特性：脂肪移植における意義 第32回日本形成外科学会基礎学術集会 東京都千代田区 2023年10月 <u>松岡祐貴</u>, <u>福井充香</u>, <u>日原正勝</u>, 光井俊人, 辛川 領, <u>覚道奈津子</u> 動脈硬化モデルラットの大腿動脈における血管攣縮の特徴：攣縮の誘発と血管拡張剤による攣縮抑制効果の検討 第32回日本形成外科学会基礎学術集会 東京都千代田区 2023年10月 <u>福井充香</u>, 松崎 貴, <u>孫 仲金</u>, <u>國枝桜子</u>, <u>覚道奈津子</u> マウスの髭器官培養方法の確立および髭伸長における PlateMax の促進効果 第32回日本形成外科学会基礎学術集会 東京都千代田区 2023年10月			

Natsuko Kakudo, Fangyuan Lai

Platelet-rich plasma enhances the proliferation of human adipose stem cells through multiple signaling pathways

第 32 回日本形成外科学会基礎学術集会

東京都千代田区

2023 年 10 月

孫 仲金, 竹谷 茂, 福井充香, 國枝桜子, 覚道奈津子

Synergistic effect of VEGF on the PDGF-dependent proliferation of human adipose-derived stem cells

第 32 回日本形成外科学会基礎学術集会

東京都千代田区

2023 年 10 月

Sakurako Kunieda, Michika Fukui, Zhongxin Sun, Atsuyuki Kuro, Natsuko Kakudo

Systematic analysis of beneficial effects of platelet lysates on human adipose-derived stem cells

第 33 回日本形成外科学会基礎学術集会

東京都港区

2024 年 10 月

Yuki Matsuoka, Michika Fukui, Masakatsu Hihara, Toshihito Mitsui, Ryo Karakawa

Characterization of vasospasm in femoral arteries of arteriosclerotic model rats: Induction of vasospasm and negative effect of the vasodilator treatment on the spasm releasing

第 33 回日本形成外科学会基礎学術集会

東京都港区

2024 年 10 月

<特許申請・取得状況>

なし

研究成果報告書（研究概要）

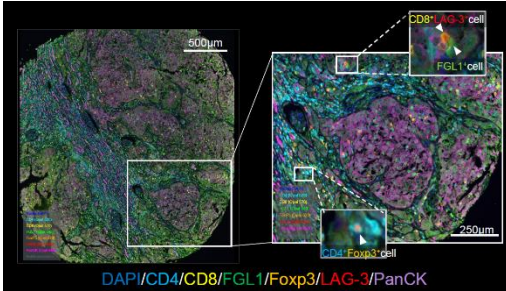
講座等名	皮膚科学講座	事業推進者名	谷崎英昭
所属部門	神経部門		
研究課題名	痒み誘発刺激における神経伝達イメージングと刺激伝達構造の解明		
キーワード			
講座内の本プロジェクト参加研究者数	3名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞			
岸本泉 研究の立案、実行			
田嶋安紀 //			
谷崎英昭 研究の立案、統括			
＜研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）＞			
1. はじめに			
痒みのメカニズムはまだ解明されていない部分が多く、特に神経伝達や刺激伝達の構造に関しては詳細に明らかにする必要がある。しかし、痒みと一口に言っても、実際には多くの異なる伝達物質が関与しているため、どの痒み伝達物質をターゲットにするかを特定することが最初の課題となる。それを基に、神経伝達イメージングをどの物質に対して行うかが決まるが、現状では技術的な問題により、イメージングの研究はまだ十分に実施できていないという状況にある。一方で、我々が取り組んでいる疾患として慢性特発性蕁麻疹がある。この疾患は、局所的な痒みが発生することが多いが、時にはその痒みが全身に広がることもあり、痒みの伝達メカニズムを明確に理解することが治療法の改善に繋がると考えている。慢性特発性蕁麻疹の病態解明は、痒みの伝達経路を神経伝達イメージング技術を使って解明すべき重要な課題であり、我々はこの研究を進めてきた。			
2. 研究目的と背景			
慢性特発性蕁麻疹における痒みのメカニズムは完全には解明されていない。従来、肥満細胞からのヒスタミン放出が主な原因とされ、これにより局所的な痒みや膨疹が引き起こされることは広く認識されている。しかしながら、我々はこの研究で、ヒスタミンだけでなく、肥満細胞と同様の性質を持ちながらも全身を循環する好塩基球にも注目した。好塩基球は、肥満細胞と似たメカニズムで免疫反応に関与し、痒みや炎症の媒介に重要な役割を果たすと考えられている。したがって、好塩基球が慢性特発性蕁麻疹の病態においてどのように関与しているのかを解明することは、痒みメカニズムを理解するために重要なステップだと考えた。			
3. 研究方法と結果			
最初に、ヒト組織での好塩基球の動態を観察したが、背景にある条件や個体差が大きいため、比較実験が難しく、マウスモデルでの実験に切り替えた。マウスを用いた研究では、接触皮膚炎モデルを使用し、抗原暴露部位における好塩基球の浸潤を確認することができた。この結果から、好塩基球が皮膚における炎症反応に直接関与している可能性が示唆された。次に、IgE 依存性アレルギーマウスモデルを使用し、好塩基球が抗原と共に速やかにリンパ節に移動し、そこから全身に広がるメカニズムを明らかにした。この結果から、好塩基球が慢性特発性蕁麻疹における全身的な痒みの発生に深く関与していることが示唆された。			
4. 今後の展望			
現在、局所に移行した好塩基球によるヒスタミンの脱顆粒やサイトカインの放出について研究を進めている。これらが神経伝達にどのように影響を与え、痒みの伝達に関与するのかについて、今後は神経伝達イメージングを利用した詳細な検討を行う予定だ。神経伝達イメージング技術がこの研究に組み込まれることで、痒みの伝達経路がより明確に解明され、慢性特発性蕁麻疹の治療法に新しい視点を提供できると期待している。また、好塩基球をターゲットにした治療法の開発が進めば、痒みの軽減だけでなく、患者の生活の質の向上にも繋がる可能性があると考えている。			

病態分子イメージングセンターに係る業績

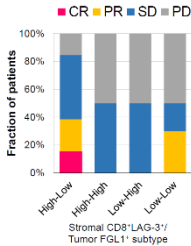
講 座 等 名	皮膚科	事業推進者名	谷崎英昭
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 1. Ma N, <u>Kishimoto I</u>, <u>Tajima A</u>, Kume N, Kambe N, <u>Tanizaki H</u>. The decrease in peripheral blood basophils in a mouse model of IgE-induced inflammation involves their migration to lymph nodes. J Dermatol Sci. 2024 Nov;116(2):61-69. doi: 10.1016/j.jdermsci.2024. 2. <u>Kishimoto I</u>, Ma N, Takimoto-Ito R, Nakashima C, Otsuka A, Wall AF, <u>Tanizaki H</u>, Kambe N Decreased peripheral basophil counts in urticaria and mouse model of oxazolone-induced hypersensitivity, the latter suggesting basopenia reflecting migration to skin Frontiers in Immunology, doi.org/10.3389/fimmu.2022.1014924, 2022 3. Takimoto-Ito R, Ma N, <u>Kishimoto I</u>, Kabashima K, Kambe N The Potential Role of Basophils in Urticaria Frontiers in Immunology, 13: 883692, 2022 <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) 1. <u>Kishimoto I</u>, Ma N, Kambe N, <u>Tanizaki H</u>. Basopenia during the symptoms of chronic spontaneous urticaria reflects migration of basophils from the peripheral blood to the skin. 1st international societies for investigative dermatology meeting. JAPAN.2023May10-13 2. <u>岸本 泉</u>, 馬 尼, 神戸直智, <u>谷崎英昭</u> The migration of circulating basophils to the skin is involved in the mechanism of basophil depletion in chronic spontaneous urticaria. 47th JSID 長崎 2022 年 12 月 3. <u>岸本 泉</u>, 馬 尼, <u>谷崎 英昭</u>, 中嶋 千紗, 大塚 篤司, 神戸 直智 蕁麻疹の活動期に見られる好塩基球減少に関する動物モデルからの検証 第 70 回日本アレルギー学会学術大会 横浜 2021 年 10 月 <特許申請・取得状況>			

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	腎泌尿器外科	事業推進者名	谷口久哲
所属部門	がん部門		
研究課題名	「腎癌および膀胱癌に関する分子学的病態解析」 「分子イメージングを用いた、泌尿生殖疾患の病態解析と実臨床への応用」 「腎泌尿生殖疾患における分子イメージングを用いた病態解析と低侵襲治療の効果の解析」		
キーワード			
講座内の本プロジェクト参加研究者数	23名		
<研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）> 【上部尿路上皮癌の低侵襲治療適応予測モデルの開発】 非転移性上部尿路尿路上皮癌 (UTUC) の標準治療は、膀胱カフ切除を伴う根治的腎尿管摘出術 (RNU) である。近年、低リスク UTUC に対し、尿路内視鏡治療 (EM) が行われるようになってきている。しかし、EM は局所再発や進行率が比較的高いため避けられる傾向があるため、RNU が最終的な治療戦略として好まれることが多い。このため、低リスク UTUC を正確に層別化するモデルを確立することが急務となっている。EM の最もよい適応とされる low-grade, non-muscle-invasive (LG-NMI) UTUC を現存のモデルよりより予測できる方法の開発を試みた。まず、UTUC 診断時に行う尿管鏡 (URS) の組織病理標本の検討をおこった。URS と RNU の grade の一致性の検討を行った所、URS で Gx/normal または low grade と分類された症例では、high grade へのアップグレード率が 63.5% も認めた。この不一致率の改善を、免疫染色で行うことができないか検討を行った。しかしながら、Ki-67, p53 といった免疫染色では不一致率を改善する有用なマーカーであることは示すことはできなかった。また、筋層浸潤を診断する CT 検査と RNU 組織病理標本間でも高率の不一致を認めた。画像診断・URS の grade の全体的な分布をみても単一の臨床分類だけでは LG-NMI UTUC の予測は困難であることがわかり、複数の因子を統合したモデルの方がよりの確な予測が可能であるが示唆された。このため我々は、臨床分類を統合した LG-NMI UTUC を予測するノモグラムを作成した。このノモグラムは既存のモデルより LG-NMI UTUC をよりの確に予測でき、また EM を実施した患者の予後層別化の可能であった。 【尿路上皮癌の新規免疫チェックポイントターゲットの検討】 PD-1 (L1) 阻害薬の投与を受けた UC 患者の公開 RNA-seq データを使用し、LAG-3 発現と PD-1 (L1) 阻害薬の抗腫瘍効果との相関性について検証した。その結果、LAG-3 高値群では低値群と比較して PD-1 (L1) 阻害薬の腫瘍縮小効果が高く、また生存期間も有意に延長していた。さらにそのサブ解析を行うと、LAG-3 高値群であっても LAG-3 のリガンド（腫瘍側）である Fibrinogen-like protein 1 (FGL1) が高い場合は低く場合に比べると PD-(L)1 阻害薬の腫瘍縮小効果は低く、生存期間も短かった。本結果は、当院にて PD-1 阻害薬の投与を受けた mUC 23 症例の組織を用いて多重免疫組織化学染色で検討を行った結果、同様な傾向が認められた (図 1)。以上の結果から、LAG-3-FGL1 pathway による免疫逃避機構が活性化し、PD-(L)1 阻害薬に対する治療抵抗性が惹起された可能性があると考えられた。			



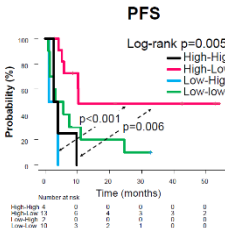
Fraction of patients



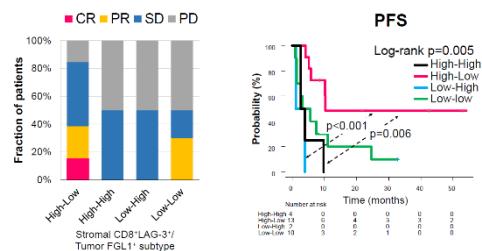
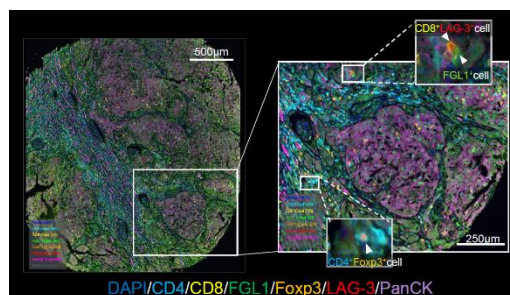
Stromal CD8+LAG-3+/Tumor FGL1+ subtype	CR	PR	SD	PD
High-Low	~10%	~10%	~40%	~40%
High-High	~10%	~10%	~40%	~40%
Low-High	~10%	~10%	~40%	~40%
Low-Low	~10%	~10%	~40%	~40%

PFS

Log-rank p=0.005



Stromal CD8+LAG-3+/Tumor FGL1+ subtype	High-High	High-Low	Low-High	Low-Low
Number at risk	0	4	3	2
High-High	0	0	0	0
High-Low	0	0	0	0
Low-High	0	0	0	0
Low-Low	0	0	0	0



病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	腎泌尿器外科	事業推進者名	谷口久哲
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) <u>Nakamoto T</u>, <u>Yoshida T</u>, Katayama S, Ohe C, Kawaura T, Horii S, <u>Ikeda J</u>, Kono Y, Murota T, Kitawaki T, Araki M, <u>Kinoshita H</u>, Development and Validation of a Preoperative Nomogram for Endoscopic Management Decision Making in Upper Urinary Tract Urothelial Carcinoma, Annals of Surgical Oncology, 査読あり, 31, pp.1393-1401, 2023 年 11 月 <u>Nakamoto T</u>, <u>Yoshida T</u>, ASO Author Reflections: Endoscopic Management of Upper Urinary Tract Urothelial Carcinoma: A Preoperative Nomogram, Annals of Surgical Oncology, 査読あり, 31(2), pp.1412-1413, 2023 年 11 月 <u>Nakamoto T</u>, <u>Yoshida T</u>, Shiga T, <u>Taguchi M</u>, <u>Mishima T</u>, Kawakita S, Murota T, <u>Kinoshita H</u>, Re-salvage focal low-dose rate brachytherapy for local recurrence of prostate cancer after salvage focal low-dose rate brachytherapy, IJU Case Reports, 査読あり, 7(1), pp.68-72, 2023 年 11 月 <u>Taniguchi H</u>, <u>Takizawa N</u>, <u>Kinoshita H</u>, Prevalence and risk factors for overactive bladder symptoms in patients with artificial urinary sphincter, Scientific Reports, 査読あり, 14(2), pp.20332-20332, 2024 年 2 月 <u>Yoshida T</u>, <u>Nakamoto T</u>, Atsumi N, Ohe C, <u>Sano T</u>, Yasukochi Y, Tsuta K, <u>Kinoshita H</u>, Impact of LAG-3/FGL1 pathway on immune evasive contexture and clinical outcomes in advanced urothelial carcinoma, Journal for ImmunoTherapy of Cancer, 査読あり, 12(7), e009358, 2024 年 7 月 <u>Taniguchi H</u>, <u>Shimada S</u>, <u>Kinoshita H</u>, Matsuda T, Relationship between Serum Testosterone Levels and Diagnosis of Late-Onset Hypogonadism in Patients Visiting an Outpatient Clinic, Hinyokika Kyo, 査読あり, 70(7), pp.207-211, 2024 年 7 月 <u>Kiyota S</u>, <u>Yoshida T</u>, <u>Nakamoto T</u>, <u>Jino E</u>, <u>Mishima T</u>, <u>Kinoshita H</u>, Efficacy of immune checkpoint inhibitor combination therapy prior to nephrectomy in advanced renal cell carcinoma: A retrospective pilot study, BJUI Compass, 査読あり, 5(10), pp.957-960, 2024 年 10 月 <u>Ikeda J</u>, Ohe C, <u>Yoshida T</u>, <u>Nakamoto T</u>, Saito R, Tsuta K, <u>Kinoshita H</u>, Prognostic impact of lymph node invasion levels in patients with bladder cancer undergoing radical cystectomy and pelvic lymphadenectomy, Oncology Letters, 査読あり, 28(5), pp.517, 2024 年 11 月 <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) <u>Yoshida T</u>, <u>Kinoshita H</u>, 日本レーザー医学会, Photodynamic Diagnosis-guided Ureteroscopic Surgery for Upper Urinary Tract Tumors, 2024 年 1 月, 6 ページ <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) <u>池田純一</u>、<u>高山太希</u>、<u>中本喬大</u>、<u>谷口久哲</u>、<u>木下秀文</u>, 当院における前立腺癌に対するトリプレット療法の初期使用経験, 日本泌尿器腫瘍学会第 9 回学術集会, 横浜, 2023 年 10 月 <u>吉田崇</u>、<u>中本喬大</u>、<u>厚海奈穂</u>、<u>大江知里</u>、<u>池田純一</u>、<u>安河内彦輝</u>、<u>薦幸治</u>、<u>木下秀文</u>, LAG-3/FGL1 の発現は尿路上皮癌における免疫チェックポイント阻害薬の効果と関連する, 第 61 回日本がん治療学会学術集会, 横浜市, 2023 年 10 月 <u>谷口久哲</u>、<u>吉田崇</u>、<u>池田純一</u>、<u>高安健太</u>、<u>大杉治之</u>、<u>佐野剛規</u>、<u>滝澤奈恵</u>、<u>矢西正明</u>、<u>木下秀文</u>, Hood Technique がロボット支援前立腺全摘除術の術後尿禁制に与える効果に関する検討, 第 37 回日本泌尿器内視鏡・ロボティクス学会総会, 米子, 2023 年 11 月 <u>滝澤奈恵</u>, 副腎腫瘍手術に必要な解剖, 第 37 回日本泌尿器内視鏡・ロボティクス学会総会, 米子市, 2023 年 11 月 <u>滝澤奈恵</u>、<u>元木佑典</u>、<u>中本喬大</u>、<u>吉田崇</u>、<u>高安健太</u>、<u>大杉治之</u>、<u>矢西正明</u>、<u>木下秀文</u>, 当院における転移性副腎腫瘍に対する腹腔鏡下副腎摘除術の検討, 第 36 回日本内視鏡外科学会総会, 横浜市, 2023 年 12 月			

研究成果報告書（研究概要）

講 座 等 名	眼科	事業推進者名	盛秀嗣
所 属 部 門	代謝部門		
研究課題名	血管内皮増殖因子改変マウスへの新規抗血管新生薬の投与による血管退縮作用の検討		
キーワード	血管内皮増殖因子,抗 VEGF 薬		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	6 名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 眼科学講座 大学院生 山本優一 眼科学講座 大学院生 横田開人 眼科学講座 大学院生 服部雄基 眼科学講座 講師 盛秀嗣 眼科学講座 研究助手 遠山桂子 眼科学講座 秘書 河井美香			
<研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）> 眼科領域では血管内皮増殖因子（vascular endothelial growth factor;VEGF）の関連疾患として加齢黄斑変性、網膜静脈閉塞症、糖尿病網膜症、未熟児網膜症等が挙げられる。これらの疾患は抗 VEGF 薬の硝子体腔内投与で視力予後は非常に改善されたが、それでも失明に至ることがあり、継続的な投与が必要となる。現在の治療によって完全にこれらの疾患を治癒させることはできておらず、新たな治療アプローチの登場が望まれている。そこで我々は、抗がん剤として研究されている 2-メトキシエストロジオールに注目した。2-メトキシエストロジオールはエストロゲンの 2 次代謝物質で血管内皮細胞のアポトーシス誘導作用を有すること知られている。人を対象とした臨床研究では副作用が少ないことが証明されている。2-メトキシエストロジオールは in vivo の実験で眼内の新生血管を退縮させる報告はあるが、まだまだ研究実績は乏しい。 本研では網膜視細胞に VEGF-A 蛋白質が発現し網膜新生血管が発現する VEGF-A のトランスジェニック（Tg）マウスと野生型マウスを用いて、2-メトキシエストロジオールを経口で投与して、マウス用の光干渉断層血管撮影機器(optical coherence tomography angiography ;OCTA)、フルオレセイン蛍光眼底造影を用いて、新生血管の退縮・発達を測定し、更に免疫染色などの組織学的アプローチと組み合わせ、VEGF が継続的に過剰発現する特殊環境下での 2-メトキシエストロジオールの有用性を明らかにすることを目的とする。8 週齢の VEGF-A 遺伝子改変マウスに funakoshi らの投与量を参考文献（funakoshi.et al, Exp Eye Res, 83(5), 1102-7, 2006）として 2-メトキシエストロジオールを 30 mg/kg 50mg/kg 75mg/kg 毎日の経口投与を 2 週間行い、追加で 100mg/kg の高容量の投与も試みた。それぞれで体重減少などの副作用の発現は認めなかったが、新生血管は数の減少などは認めることができなかった。理由として考えられるのは、経口投与による眼内移行性の問題や VEGF 過剰発現のため、抑制経路の不適、網膜新生血管の個体差により評価が難しいことなどが考えられる。現在は網膜に直接影響するように、硝子体投与を検討している。			

研究成果報告書（研究概要）

講 座 等 名	耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座	事業推進者名	神田晃
所 属 部 門	代謝部門		
研究課題名	好酸球性気道炎症と加齢性難聴に対する新しい治療戦略の開発		
キーワード	好酸球 / EDN / アレルギー / 喘息 / 好酸球性副鼻腔炎 / mEAR2 / 2 型気道炎症		
講座内の本プロジェクト参加研究者数		8 名	
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞ 神田晃（教授）：研究計画の立案、データ解析、論文執筆 小林良樹（准教授）：研究の遂行、データ解析、論文校正 尹泰貴（講師）：研究の遂行、データ解析 鈴木健介（准教授）：研究の遂行、論文校正 岩井大（教授）：研究の統括 三谷彰俊（助教）：研究の遂行 Chu Hong Hanh（大学院生）：研究の遂行 Nguyen Manh Linh（大学院生）：研究の遂行			
＜研究概要（令和 4（2022）年度の研究成果について）＞ 好酸球は喘息や好酸球性副鼻腔炎をはじめとした気道炎症において中心的役割を果たすが、その作用機序は多面的であり、未解明な部分が多い。特に、好酸球が持つ炎症促進機能と免疫制御機能のバランスがどのように制御されているのかは十分に理解されていない。また、加齢性難聴は高齢化社会における主要な感覚障害であり、その進行は不可逆的で有効な治療法がない。加齢に伴う内耳の構造変化や神経変性、慢性的な炎症応答、免疫老化が関与するとされているが、それらの因果関係や病態形成過程については未だ明らかになっていない。これらの課題に対し、我々は以下の研究を行ったのでその成果について報告する。 1) 好酸球における CD69 シグナルの機能解析 CD69 は、活性化した T 細胞や自然免疫細胞の表面に発現する早期活性化マーカーであり、免疫応答の制御にも関与するとされる。しかしながら、好酸球における CD69 の機能については十分な理解が得られていない。本研究ではその役割を分子レベルで明らかにすることを目的とし、マウスの好酸球において CD69 のシグナル伝達がどのような生物学的応答を引き起こすのかを検討した。IL-5 トランスジェニックマウスの脾臓から抽出した好酸球に対し、クロスリンキング法を用いて CD69 を刺激したところ、好酸球から抗炎症性サイトカインである IL-10 の産生が顕著に誘導された。また、同時にアポトーシスも促進されることが観察された。さらに、シグナル伝達経路の解析により、IL-10 の産生には Erk1/2 経路、アポトーシスの誘導には JNK 経路が関与していることが明らかとなった。これにより、CD69 が単なるマーカーではなく、好酸球の活性制御に直接関与する機能性分子であることが示された (Dan Van Bui and Linh Manh Nguyen, et al. Biomolecules 2024)。本研究により、好酸球が持つ自己制御的機構の一端が明らかとなり、過剰な免疫応答を抑制するための機構としての CD69 の役割が示唆された。また、IL-10 の産生による抗炎症作用やアポトーシスの誘導を介した好酸球の機能抑制が、慢性炎症の制御に有効である可能性が示唆された。これらの知見は、アレルギー性疾患、自己免疫疾患、さらには好酸球関連疾患に対する新規治療戦略の構築に貢献するものであり、今後の臨床応用が期待される。 2) 好酸球特異的リボヌクレアーゼ mEAR2 によるアレルギー反応機構の解明 好酸球由来のリボヌクレアーゼ (Eosinophil-associated ribonuclease: EAR) は、これまでに免疫調節機能や抗ウイルス作用が報告されてきたが、その一部である mEAR2 については詳細な機能が明らかにされていなかった。本研究では、マウスモデルを用いて、mEAR2 の発現がアレルギー反応に与える影響を解析し、分子レベルでの病態解明と新規治療標的の探索を行った。mEAR2 の発現が高まると、気道過敏性や好酸球の気道への浸潤、さらには IL-4 や IL-5 といった Th2 型サイトカインの産生が顕著に増加した。一方で、mEAR2 を遺伝的に欠損させた遺伝子改変マウスで			

は、これらのアレルギー症状が著しく抑制された。このことから、mEAR2 がアレルギーの病態を増悪させる因子であることが明らかとなった (Linh Manh Nguyen and Akira Kanda, et al. Allergy 2024)。mEAR2 は好酸球性気道炎症の病態に関わる分子として、アレルギー性疾患の進行に寄与している可能性が示された。特に、mEAR2 の抑制によってアレルギー反応が軽減されるという知見は、mEAR2 を標的とする新たな分子標的治療の可能性を示唆している。今後は、ヒトにおける対応分子の同定や、阻害剤の開発を通じて、アレルギー疾患の個別化医療や予防への応用が期待される。

3) 若齢マウス由来リンパ球移入による加齢性難聴進行抑制効果の解明

加齢性難聴 (ARHL) の病態には、内耳の有毛細胞やシナプスの変性、慢性的な炎症、免疫老化 (Immunosenescence) といった要因が複合的に関与していることが報告されている。一方で、若齢個体の免疫細胞が老化個体の免疫環境を改善することにより、加齢に伴う機能低下を抑制できる可能性が示唆されている。本研究では、老化関連マウスモデル (SAMP1) に若齢マウス由来のリンパ球を移入し、聴性脳幹反応 (ABR) を用いた聴覚機能評価、内耳組織の形態解析および免疫学的解析を併用し、ARHL の進行抑制効果を検討した。その結果、リンパ球移入群では対照群と比較して、ABR 閾値上昇が抑制され、加齢に伴う聴覚低下が遅延したことが確認された。さらに、内耳の炎症性サイトカインの発現レベルが低下し、酸化ストレスや神経シナプスの変性が軽減されることが明らかとなった (Akitoshi Mitani, et al. Experimental Gerontology 2023)。

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座	事業推進者名	鈴木 健介
所属部門	がん部門		
研究課題名	頭頸部腫瘍に対する新しい分子標的薬併用放射線療法の開発		
キーワード	甲状腺癌、NIS、レンバチニブ、I-131、MAPK 経路阻害剤		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	11 名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞ 鈴木健介（准教授）：研究計画の立案、研究の遂行、データ解析、論文執筆 岩井大（教授）：研究の統括 小林良樹（准教授）：論文校正 尹泰貴（非常勤講師）：研究の遂行、データ解析 三谷彰俊（助教）研究の遂行 神田晃（教授）：論文校正 福井研太（大学院生）：研究の遂行、データ解析 嶋村晃宏（大学院生）：研究の遂行 Le Thi Kieu Nhi（大学院生）：研究の遂行 Ho Dang Quan（大学院生）：研究の遂行 Khuc Thi Tai Linh（大学院生）：研究の遂行			
＜研究概要（令和 5（2023）～令和 6（2024）年度の研究成果について）＞ 分化型甲状腺癌（乳頭癌および濾胞癌）は一般に予後良好とされるが、進行例では局所再発や遠隔転移を生じ、高リスク群の 10 年生存率は 60～70%にとどまる。再発・転移性甲状腺癌に対しては放射性ヨウ素（I-131）内用療法や、レンバチニブなどの分子標的薬が主に単独で用いられるが、その効果は限定的であり、新たな治療法の開発が求められている。本研究では、I-131 治療に抵抗性を示す難治性甲状腺癌に対し、分子標的薬と I-131 の併用による新たな治療法を確立することを目的として基礎的実験を行った。特に、甲状腺癌細胞への I-131 取り込みに重要なナトリウム・ヨウ素共輸送体（sodium / iodine symporter: NIS）に着目し、その発現と機能を促進する分子標的薬について MAPK 経路阻害薬を中心に選定した。また、レンバチニブが有する腫瘍血管正常化作用および血管新生阻害作用を治療に応用するため、レンバチニブの投与期間による腫瘍への RI 集積の変化を動物実験で検討した。			
（１）甲状腺癌に対する I-131 とレンバチニブ併用療法の検討 ① I-131 とレンバチニブの併用による細胞増殖抑制効果の検討（<i>in vitro</i>）： K1 細胞または K1 細胞にナトリウム-ヨウ素共輸送体（sodium-iodide symporter: NIS）をコードする SLC5A5 遺伝子を導入し NIS を強発現させた細胞（K1-NIS）に対し、I-131（3.7MBq/ml、30 分間）とレンバチニブ（20μM、6 日間）の投与を行い、単独群、併用群における細胞増殖抑制効果をコロニー形成アッセイにて比較検討した。K1、K1-NIS いずれの細胞株においても I-131 とレンバチニブの併用によりコロニー形成は有意に抑制されたが、特に K1-NIS においてその効果は顕著であった。これより、NIS を発現する甲状腺癌において、特に併用療法の効果が高くなることが示唆された。			
② 甲状腺癌モデルマウスを用いた併用療法による抗腫瘍効果の検討（<i>in vivo</i>）： K1-NIS 細胞（5M）を皮下に移植した NOD/SCID マウスを A. コントロール、B. レンバチニブのみ（10mg/kg/日、経口投与）、C. I-131 のみ（3.7MBq、経静脈投与）、D. I-131+レンバチニブの 4 群に分け、各群における経時的な腫瘍体積計測および摘出時の腫瘍重量により抗腫瘍効果を比較検討した。甲状腺癌モデルマウス（K1-NIS を皮下に移植した NOD/SCID マウス）を用い、I-131 とレンバチニブの併用療法の抗腫瘍効果を検討した。併用療法群では他の治療群と比べ腫瘍体積が有意に縮小し、腫瘍重量も有意に軽かった。これより、併用療法による高い抗腫瘍効果が示唆された。			
（２）甲状腺癌細胞に対する MAPK 経路阻害薬の I 取り込みに及ぼす効果の検討（<i>in vitro</i>）： I-131 抵抗性の甲状腺癌細胞株（K1）、および I-131 感受性のある細胞株（K1-NIS）に対し、MAPK			

経路の阻害作用を有する分子標的薬（セルメチニブ、ダブラフェニブ、トラメチニブ）を2日間投与した後に、細胞内への I 取り込みを評価した。薬剤処理後の細胞に I-125 (*in vitro* で一般的に用いられる) を投与し、シンチレーションカウンター (WIZARD1480) を用いて I-125 取り込み (CPM) を解析した。次に、上記の分子標的薬投与後の細胞から Maxwell® を用いて RNA を抽出し、NIS をはじめとした I-131 の取り込みに関わる分子 (TSHR、Tg、TP0、Pax8) の発現を qPCR (Rotor gene Q) にて解析した。NIS の発現強度が異なる複数の細胞 (K1、K1-NIS) を用いた *in vitro* 実験において、NIS の発現強度と放射性ヨウ素 (I-125) の取り込みの間に正の相関があることを確認した。また、MAPK 経路阻害剤の一つであるトラメチニブの投与により、K1、K1-NIS いずれにおいても、細胞内への I-125 取り込みの増強を認めた。さらに、qPCR ではトラメチニブ投与による NIS 遺伝子の発現亢進が認められた。

(3) レンバチニブ投与による腫瘍への RI 取り込みの解析 (*in vivo*)

K1-NIS 細胞 (5M) を皮下に移植した NOD/SCID マウスに対し、レンバチニブ (10mg/kg/日) を2日間、または5日間経口投与したのち、I-123 (*in vivo* イメージングで一般的に用いられる) を尾静脈より投与し、SPECT/CT (small animal micro-SPECT scanner) を用いて *in vivo* イメージングを行った。甲状腺癌モデルマウス (K1-NIS を皮下に移植した NOD/SCID マウス) を用いた *in vivo* 実験では、レンバチニブ投与期間により腫瘍への放射性同位元素 (RI) の集積がダイナミックに変化することを明らかにした (図 3)。これより、レンバチニブの腫瘍血管正常化作用および血管新生阻害作用により、レンバチニブの投与期間により腫瘍への RI 集積が変化することが示唆された。

本研究の成果により、特に NIS を発現する甲状腺癌においては、I-131 とレンバチニブの併用による相乗効果が *in vitro* と *in vivo* の双方において示されたが、I-131 抵抗性甲状腺癌に対する併用療法の効果についてはさらなる検討が必要である。今後はレンバチニブの腫瘍血管正常化作用にも着目し、MAPK 阻害剤とレンバチニブの併用により腫瘍への I-131 集積を亢進させ、治療効果を最大化するための基礎的検討を継続する予定である。本研究の発展により、再発・転移性甲状腺癌に対しても延命効果に留まらず根治できる可能性がある。また、併用療法の相乗効果が強ければ、低用量の I-131 による外来通院治療が可能となり、より多くの患者に恩恵をもたらせることが期待される。

病態分子イメージングセンターに係る業績

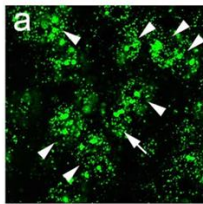
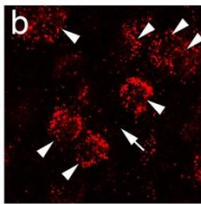
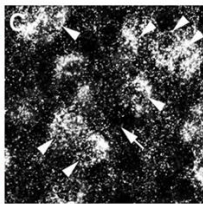
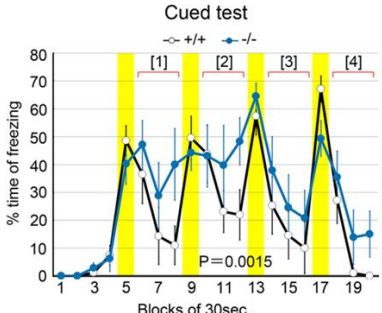
講座等名	耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座	事業推進者名	鈴木健介、神田晃
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) 1. Dan Van Bui, <u>Linh Manh Nguyen</u>, <u>Akira Kanda</u>, <u>Hanh Hong Chu</u>, <u>Nhi, Kieu Thi Le</u>, <u>Yasutaka Yun</u>, <u>Yoshiki Kobayashi</u>, <u>Kensuke Suzuki</u>, <u>Akitoshi Mitani</u>, <u>Akihiro Shimamura</u>, <u>Kenta Fukui</u>, Shunsuke Sawada, David Dombrowicz, <u>Hiroshi Iwai</u>. CD69 signaling on eosinophils induces IL-10 production and apoptosis via the Erk1/2 and JNK pathways, respectively. <i>Biomolecules</i> 2024, 14(3), 360 査読あり 2. <u>Linh Manh Nguyen</u>, <u>Akira Kanda</u>, Yuji Kamioka, Keizo Tokuhira, <u>Yoshiki Kobayashi</u>, <u>Yun Yasutaka</u>, Dan Van Bui, <u>Hanh Hong Chu</u>, <u>Nhi Kieu Thi Le</u>, <u>Kensuke Suzuki</u>, <u>Akitoshi Mitani</u>, <u>Akihiro Shimamura</u>, <u>Kenta Fukui</u>, David Dombrowicz, <u>Hiroshi Iwai</u>. Mouse eosinophil-associated ribonuclease-2 exacerbates the allergic response. <i>Allergy</i>. 2024;00:1–5. DOI: 10.1111/all.16061 査読あり 3. <u>Yoshiki Kobayashi</u>, <u>Hanh Hong Chu</u>, Dan Van Bui, <u>Yasutaka Yun</u>, <u>Linh Manh Nguyen</u>, <u>Akitoshi Mitani</u>, <u>Kensuke Suzuki</u>, Mikiya Asako, <u>Akira Kanda</u> and <u>Hiroshi Iwai</u>. The Neutralization of the Eosinophil Peroxidase Antibody Accelerates Eosinophilic Mucin Decomposition. <i>Cells</i> 2023, 12, 2746. https://doi.org/10.3390/cells12232746 査読あり 4. <u>Akitoshi Mitani</u>, <u>Hiroshi Iwai</u>, Muneo Inaba, Dan Van Bui, Toru Miwa, <u>Linh Manh Nguyen</u>, <u>Chu Hong Hanh</u>, Tomofumi Sakagami, <u>Kensuke Suzuki</u>, <u>Yoshiki Kobayashi</u>, <u>Yasutaka Yun</u>, Yuuki Sugita, <u>Akira Kanda</u>. Inoculation of Lymphocytes from Young Mice Prevents Progression of Age-Related Hearing Loss in a Senescence-Associated Mouse Model. <i>Experimental Gerontology</i> 177; 112184, 2023 Apr 25; Doi: 10.1016/j.exger.2023.112184. 査読あり 5. 鈴木 健介, 岩井 大, 宇都宮 啓太, 河野 由美子, 小林 良樹, 尹 泰貴, 三谷 彰俊, 福井 研太, 酒井 遥, 谷川 昇, 神田 晃: レンバチニブ併用放射線療法による新たな甲状腺癌治療の可能性. 関西医科大学雑誌 73 : 1–5, 2022. DOI: https://doi.org/10.5361/jkmu.73.1 査読あり 6. 尹 泰貴, 神田 晃, 小林 良樹, Bui Van Dan, 鈴木 健介, 三谷 彰俊, <u>Linh Manh Nguyen</u>, 八木 正夫, 朝子 幹也, 岩井 大. 好酸球性副鼻腔炎における活性化好酸球の役割. 日本鼻科学会会誌 61 (1) : 242–244, 2022 査読あり 7. <u>Hanh Hong Chu</u>, <u>Yoshiki Kobayashi</u>, Dan Van Bui, <u>Yasutaka Yun</u>, <u>Linh Manh Nguyen</u>, <u>Akitoshi Mitani</u>, <u>Kensuke Suzuki</u>, Mikiya Asako, <u>Akira Kanda</u>, <u>Hiroshi Iwai</u>. CCL4 regulates eosinophil activation in eosinophilic airway inflammation. <i>Int. J. Mol. Sci.</i> 2022, 23(24), 16149; https://doi.org/10.3390/ijms232416149 査読あり 8. <u>Kensuke Suzuki</u>, <u>Hiroshi Iwai</u>, Keita Utsunomiya, Yumiko Kono, Tadashi Watabe, <u>Yoshiki Kobayashi</u>, Dan Van Bui, Shunsuke Sawada, <u>Yasutaka Yun</u>, <u>Akitoshi Mitani</u>, <u>Kenta Fukui</u>, Haruka Sakai, <u>Hanh Hong Chu</u>, <u>Nguyen Manh Linh</u>, Noboru Tanigawa and <u>Akira Kanda</u>. Efficacy of Combination Therapy with Lenvatinib and Radioactive Iodine in Thyroid Cancer Preclinical Model. <i>Int J Mol Sci</i> 2022, 23(17), 9872. https://doi.org/10.3390/ijms23179872 査読あり 9. <u>Yoshiki Kobayashi</u>, <u>Hanh Hong Chu</u>, <u>Akira Kanda</u>, <u>Yasutaka Yun</u>, Masami Shimono, <u>Linh Manh Nguyen</u>, <u>Akitoshi Mitani</u>, <u>Kensuke Suzuki</u>, Mikiya Asako, <u>Hiroshi Iwai</u>. CCL4 10. functions as a biomarker of type 2 airway inflammation. <i>Biomedicines</i> 2022, 10(8), 1779; https://doi.org/10.3390/biomedicines10081779 査読あり 11. Terufumi Yoshida, Masaki Kaibori, Nanami Fujisawa, Mariko Ishizuka, Fusao Sumiyama, Masahiko Hatta, Hisashi Kosaka, Kosuke Matsui, <u>Kensuke Suzuki</u>, Tomoya O. Akama, Tayo Katano, Kengo Yoshii, Mitsuhiro Ebara and Mitsugu Sekimoto. Efficacy of Nanofiber Sheets Incorporating Lenvatinib in a Hepatocellular Carcinoma Xenograft Model. <i>Nanomaterials</i> 2022, 12(8), 1364; https://doi.org/10.3390/nano12081364 査読あり <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) 該当なし			

<学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月)

1. 嶋村晃宏、尹泰貴、小林良樹、神田晃、朝子幹也、岩井大. アレルギー疾患マウスモデルに対するガレクチン1の抗炎症作用の解明. 第73回日本アレルギー学会学術大会・京都・2024年10月
2. 小林良樹、八木直人、嶋村晃宏、尹泰貴、朝子幹也、神田晃、岩井大. 気道局所における好酸球生存延長メカニズムの検証. 第73回日本アレルギー学会学術大会・京都・2024年10月
3. 尹泰貴、神田晃、嶋村晃宏、河内理咲、森田瑞樹、朝子幹也、岩井大. 新規の scRNA-seq 手法を用いて可視化することができた組織中好酸球の発現遺伝子解析. 第63回日本鼻科学会・東京・2024年9月
4. 鈴木健介、岩井大、小林良樹、尹泰貴、福井研太、三谷彰俊、神田晃. アフタヌーンセミナー 難治性甲状腺癌に対するレンバチニブと放射線併用療法の可能性. 第4回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会・枚方・2024年4月
5. 尹泰貴、神田晃、小林良樹、鈴木健介、三谷彰俊、森田瑞樹、河内理咲、嶋村晃宏、福井研太、朝子幹也、岩井大. シンポジウム JIAIO 広がる好酸球性疾患を阻止する Type 2 炎症に関わる免疫細胞の活性化とその意義. 第4回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会・枚方・2024年4月
6. 岩井大. 会長講演 免疫老化阻止による抗加齢対策—加齢性難聴の予防. 第4回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会・枚方・2024年4月
7. 小林良樹. シンポジウム JIAIO 広がる免疫治療とその展開 難治性 type 2 気道炎症の問題点と抗体製剤という切り札. 第4回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会・枚方・2024年4月
8. Suzuki K, Iwai H, Utsunomiya K, Kono Y, Watanabe T, Kobayashi Y, Yun Y, Mitani A, Fukui K, N.M. Linh, Kanda A. Antitumor effects of combination therapy with lenvatinib and radioactive iodine in thyroid cancer preclinical model. 7th Congress of European ORL-HNS Congress. Dublin, June 16, 2024
9. 三谷彰俊、岩井大、Nguyen Manh Linh, Le Thi Kieu Nhi, 嶋村晃宏、福井研太、尹泰貴、鈴木健介、小林良樹、神田晃. naive T 細胞供給による加齢性難聴の予防と機序の解明. 第40回ニューロサイエンス研究会・滋賀・2023年8月
10. 三谷 彰俊、嶋村晃宏、日高浩史、岩井 大. C57BL/6 マウスを用いた胸腺移植による加齢性難聴予防の検討. 学会等名第33回日本耳科学会・埼玉・2023年11月
11. 三谷彰俊、杉田侑己、岩井大. 老人性難聴の予防—基礎研究から見えてくるもの. T 細胞機能改善による加齢性難聴予防—臨床応用を目指して—. 第32回日本耳科学会・横浜・2022年10月
12. 小林良樹、神田晃、尹泰貴、朝子幹也、岩井大. 好酸球性ムチンと抗 EPX 抗体の関連性の検証. 第72回日本アレルギー学会・東京・2023年10月
13. 尹泰貴、神田晃、小林良樹、嶋村晃宏、福井研太、朝子幹也、岩井大. Type 2 炎症における Galectin-1 の発現とその機能. 第3回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会・和歌山・2023年4月
14. Linh MN, Kanda A, Kamioka Y, Tokuhiko K, Yun Y, Bui DV, Hanh HC, Nhi KT, Kobayashi Y, Suzuki K, Mitani A, Iwai H. Mouse eosinophil-associated ribonuclease-2 (mEAR2) promotes airway hyperresponsiveness and lung inflammation in the house dust mite induced allergic asthma model. 第40回耳鼻咽喉科ニューロサイエンス研究会・滋賀・2023年8月
15. 尹泰貴、神田晃、小林良樹、阪本大樹、嶋村晃宏、朝子幹也、岩井大. 好酸球性副鼻腔炎組織中の ILC2 の存在とその活性化. 第61回日本鼻科学会・金沢・2022年10月
16. 小林良樹. ミニシンポジウム: Type2 気道炎症における biomarker としての CCL4. 第71回日本アレルギー学会・東京・2022年10月
17. 鈴木健介. 核医学 新たな治療戦略 甲状腺癌に対するレンバチニブと RAI の併用療法. 第34回日本内分泌外科学会・つくば・2022年6月

＜特許申請・取得状況＞
該当なし

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	生物学教室	事業推進者名	平野 伸二
所属部門	神経部門		
研究課題名	神経系形成におけるプロトカドヘリンの機能と役割の解明		
キーワード	プロトカドヘリン、カドヘリン、神経回路形成、情動、自閉症		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	5 名		
<研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）> 平野伸二 研究全般 計画立案、論文執筆 上村允人 プロトカドヘリンの解析全般、計画立案、論文執筆 岡野圭子 分子生物学的解析、生化学的解析 鈴木信太郎 カドヘリンの解析 中藤美織 実験補助			
<研究概要（令和3（2021）～令和6（2024）年度の研究成果について）> 細胞接着分子カドヘリンおよびプロトカドヘリン(Pcdh)分子群は神経回路形成やシナプスの可塑性などに関与していると考えられており、それらのうちのいくつかは自閉などの関連遺伝子であることが知られている。本研究では、マウスの神経回路形成や神経活動の分子機構を明らかにするために、プロトカドヘリンを中心として機能解析を行った。 まず、神経系におけるプロトカドヘリン9の役割を明らかにするために、脳における発現分布を調べ、そのノックアウトマウスの組織的な解析と行動解析を行った (Uemura et al. Sci Rep, 2022)。その結果、プロトカドヘリン9は扁桃体の恐怖消去ニューロンで発現し（図1）、恐怖の消去、つまり正（快）の情動反応に関与することを明らかにした（図2）。また、海馬ニューロンのシナプスの可塑性に関与していることも明らかにした。一方、プロトカドヘリン1についても扁桃体で発現し、社会性行動の低下（負の情動反応）に関与しているという興味深い結果を得ており（図1： Hirano et al. 米国神経科学会 2018）、神経系におけるプロトカドヘリン1の機能解析も進めている。			
Pcdh9  Ppp1r1b  CaMKII  Cued test 			
図1 Ppp1rb⁺ 恐怖消去ニューロンでの Pcdh9 の発現 図2 恐怖条件づけテスト			
また、培養細胞を用いて古典的カドヘリンと細胞外基質に関する解析を行った。その結果古典的カドヘリンがなくてもフィブロネクチンなどの特定の細胞外基質により上皮が形成されることが、さらに古典的カドヘリンが上皮の細胞間接着などを安定化させていることを明らかにした (Suzuki et al. Cell Tissue Res 2021)。 共同研究においては、イタリアの研究グループとともにプロトカドヘリン9が海馬のシナプス可塑性と神経機能の関与していることを明らかにした (Miozzo et al. 2024)。また、ベルギーの研究グループとともに、プロトカドヘリン10ががん抑制遺伝子としての活性があることを明らかにした (Kleinberger et al. BMC cancer, 2022)。			

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	生物学教室	事業推進者名	平野 伸二
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) <u>Shintaro T Suzuki</u>, Shuichi Obata, Miwako Fujiwara, Jun-Ichi Fujisawa, <u>Shinji Hirano</u>, Specific substrates composed of collagen and fibronectin support the formation of epithelial cell sheets by MDCK cells lacking α-catenin or classical cadherins. Cell Tissue Res レフェリー有・385(1):127-148, 2021 <u>Masato Uemura</u>, Tamio Furuse, Ikuko Yamada, Tomoko Kushida, Takaya Abe, <u>Keiko Imai</u>, Soichi Nagao, Moeko Kudoh, Katsuhiko Yoshizawa, Masaru Tamura, Hiroshi Kiyonari, Shigeharu Wakana, <u>Shinji Hirano</u>. Deficiency of protocadherin 9 leads to reduction in positive emotional behaviour. Sci Rep. レフェリー有・13;12(1):11933・2022 Irene Kleinberger, Ellen Sanders, Katrien Staes, Marleen Van Troys, <u>Shinji Hirano</u>, Tino Hocheppied, Kelly Lemeire, Liesbet Martens, Christophe Ampe, Frans van Roy, Innovative mouse models for the tumor suppressor activity of Protocadherin-10 isoforms, BMC Cancer レフェリー有・5;22(1):451.・2022 Miozzo F, Murru L, Maiellano G, di Iasio I, Zippo AG, Zambrano Avendano A, Metodieva VD, Riccardi S, D'Aliberti D, Spinelli S, Canu T, Chaabane L, <u>Hirano S</u>, Kas MJH, Francolini M, Piazza R, Moretto E, Passafaro M.J., Disruption of the autism-associated Pcdh9 gene leads to transcriptional alterations, synapse overgrowth, and defective network activity in the CA1. J. Neurosci. レフェリー有・18;44(50):e049124・2024. <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) 該当なし <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) 該当なし <特許申請・取得状況> 該当なし			

研究成果報告書（研究概要）

講座等名	物理学教室	事業推進者名	楠本邦子
所属部門	代謝部門		
研究課題名	2021 年度：X 線吸収微細構造(XAFS)分光による細胞外代謝物に含まれる微量元素の分布と化学状態の可視化 2022 年度：X 線吸収（吸収端および広域）と可視光散乱分光法による細胞外代謝物に含まれる重金属の分布と化学状態の可視化 2023 年度：X 線吸収微細構造法と可視光散乱分光法を応用した細胞外代謝物に含まれるメタロームの可視化の試み 2024 年度：分光イメージングによる細胞外代謝物のメタローム解析とメタローム物質の記録メディアへの応用		
キーワード	細胞外代謝物, DOPA,メタローム, 分光法, XAFS		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	1 名		
＜研究組織（本プロジェクトに参加する研究者等のリストおよびそれぞれの役割）＞ 楠本邦子 全て			
＜研究概要（令和 3（2021）～令和 6（2024）年度の研究成果について）＞ 淡水に生息するシジミ（<i>Corbicula</i> spp.）の貝殻は、外套膜から分泌される細胞外代謝物で生成される。貝殻は、石灰質層とその最表面にある数から十数ミクロン程度の厚さの有機物膜（殻皮）で構成されている。貝殻は、幼生殻を起点として弧を描くように成長するので、殻皮も年輪のように日々成長し、剥離や溶解が起きても自己再生することはない。<i>Corbicula</i> の殻は一日約 20 μm 成長する。また、その色は生息環境に強く依存することが知られており、貝殻が黒色のシジミは泥質の水底で、黄色は砂質の水底で生息するとされている。また、石灰質層にも原因不明の色の変動がみられる。しかし、これまで、<i>Corbicula</i> の生息環境がどのように貝殻の形成に影響を与えるのかについて研究されたことはなかった。 プロジェクト参加者は、殻の色から個体の生育環境や感染症の有無などの健康状態、さらには、生息してきた環境変動を読み出すことを目指している。そのため、<i>Corbicul</i> の殻皮や石灰質層中の特徴的な物質の化学状態や分子構造を、主に分光法を用い、詳細に調べている。 先行研究として、ピノスガイなど寿命の長い貝や貝の化石などに含まれる放射性同位体や成長線の長さの変動から気候の長期変動を読みとろうという研究はある。しかし殻の色から個体の健康状態や生息環境を読み解こうという試みは他にはない。 (1) 細胞外代謝物に含まれる黒色化物質の同定（2021-2022 年度） 2019 年度から続けてきた電子プローブマイクロアナライザーと Fe の K 吸収端 X 線吸収微細構造（X-ray absorption fine structure: XAFS）での分析結果をまとめ、殻皮の黒色化原因物質が、カテコールと Fe の錯体であることを明らかにした。これらの結果をまとめ、Journal of structural biology に投稿し、2023 年 3 月に受理された。 (2) 細胞外代謝物に含まれる黒色化物質の形成メカニズムの解明（2023-2024 年度） 黒色化の原因物質であるカテコールと Fe の錯体の分子構造をラマン分光法、赤外吸収分光法および O の K 吸収端 XAFS で詳細に調べた。その結果、殻皮は、<i>Corbicula</i> の代謝物であるチロシンを由来とする L-3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン（DOPA）のカテコール基が互いに架橋することで形成されたことを明らかにした。この結果から、カテコールと Fe の錯体は DOPA-Fe 錯体であり、native の殻皮の色は黄色であることが示された。 殻皮内での DOPA-Fe 錯体の分布状態や分子構造から、DOPA-Fe 錯体は、未反応のカテコール基が、水環境から殻皮の中に拡散によって運ばれた溶存態の有機態 Fe 錯体とリガンド交換し、形成されると			

いうモデルを提案した。我々の提案している DOPA-Fe 錯体の形成メカニズムは、これまで不明であった殻の色の多様性も説明できる。DOPA-Fe 錯体には、モノ体、ビス体、トリス体が存在し、その可視光領域での光吸収特性は大きく異なる。これらの分子構造は生成時の環境の pH により決定される。よって、黄色の native の殻皮に、環境ごとに異なる分子構造の DOPA-Fe 錯体が形成されることで、見た目の色が黒色化するのである。これは、泥質環境では殻皮は黒色を帯び、砂質環境では黄色を帯びることも説明できる。泥質環境には砂質環境よりも溶存態の有機態 Fe 錯体が多く存在していることから、より多くの DOPA-Fe 錯体を形成でき、黒色化が進行すると考えられる。これらの結果をまとめ、**Metallomics** に投稿し、2024 年に受理された。

今後、殻皮だけではなく、石灰質層の色変動に影響を与える代謝物について研究を進める。石灰質層の形成に影響を与える物質や因子を見つけ出し、バイオミネラリゼーションの核生成と結晶成長のコントロール法の解明を目指す。

病態分子イメージングセンターに係る業績

講 座 等 名	物理学教室	事業推進者名	楠本邦子
<雑誌論文> (著者名・論文標題・雑誌名・レフェリー有無・巻・ページ・発行年) (1) <u>Takemoto K</u>, Murakami M, Ueno Y, Bamba D, Yamagishi H.・Formation mechanism of iron-catechol complexes in the colored periostracum of <i>Corbicula</i> spp・Metallomics・査読有・16・mfae055・2024. (2) <u>Takemoto K</u>, Murakami M, Tabuchi M, Ohta T・Spectroscopic studies for identifying the chemical states of the periostracum of the <i>Corbicula</i> species in Lake Biwa・Journal of structural biology・査読有・1215・107944・2023. (3) <u>竹本邦子</u>・琵琶湖集水域の環境メタロミクス (8) 蛍光 X 線 XAFS による琵琶湖産シジミの殻皮に含まれる微量物質の化学形態の解明・金属・査読無・192・630-635・2022. <図書> (著者名・出版社・書名・発行年・総ページ数) (1) <u>竹本邦子</u>・X 線吸収微細構造 (XAFS) 分光法による琵琶湖産シジミの殻皮に含まれる微量元素の化学形態と局所構造の解明・琵琶湖集水域の環境メタロミクス—元素で知る地域環境—・アグネ技術センター・299 ページ (うち 33-46 ページ分担執筆) <学会発表> (発表者名・発表標題・学会名・開催地 (海外の場合は国名と都市名)・発表年月) (1) <u>竹本邦子</u>, 山岸弘奈・軟 X 線 XAFS によるシジミの殻皮中の酸素の局所構造解析・第 38 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム・つくば市・2025 年 1 月 (2) <u>竹本邦子</u>, 村上昌孝, 上野義弘, 馬場大哉・シジミの貝殻の色から見た底質環境: 黒色の由来と生成メカニズム・日本水処理生物学会第 60 回大会・姫路市・2024 年 11 月 (3) <u>竹本邦子</u>, 村上昌孝, 上野義弘, 馬場大哉・シジミの貝殻はなぜ黒いのか・第 33 回日本バイオイメージング学会・東京・2024 年 9 月 (4) <u>Kuniko Takemoto</u>, Masataka Murakami, Masao Tabuchi, Daiya Bamba, Toshiaki Ohta・Characterization of the Iron Metallome of <i>Corbicula</i> Species in Lake Biwa・Goldschmidt2023・フランス・リヨン・2023 年 7 月 (5) <u>竹本邦子</u>, 村上昌孝, 田淵雅夫, 馬場大哉, 太田俊明・分光法によるシジミの殻の色を決める因子の解明・日本貝類学会令和 5 年度 (創立 95 周年記念) 大会・舟橋市・2023 年 6 月 (6) <u>竹本邦子</u>・軟 X 線 XAFS による <i>Corbicula</i> sp.の殻皮中の酸素と鉄の局所構造解析・2023 年度 SR センター研究成果報告会・草津市・2023 年 6 月 (7) <u>竹本邦子</u>, 村上昌孝, 田淵雅夫, 馬場大哉, 太田俊明・シジミの貝殻の色を決定する殻皮の分光学的手法による分析・第 57 回日本水環境学会年会・松山市・2023 年 3 月 (8) <u>竹本邦子</u>・関西医大, 田淵雅夫・名古屋大シンクロトロン光研究センター, 太田俊明・立命館大 SR センター・XAFS 法による琵琶湖産シジミの殻中の黒色物質の同定・2023 年 1 月 (9) <u>竹本邦子</u>, 村上昌孝, 馬場大哉・共鳴ラマン分光法によるシジミの殻皮黒色原因物質同定・第 56 回日本水環境学会年会・富山市 (オンライン)・2022 年 03 月 (10) <u>竹本邦子</u>・光原圭, 太田俊明・軟 X 線吸収分光法による生体試料中の硫黄含有色素の同定の試み・2019 年度・2020 年度立命館大学 SR センター 研究成果報告会・草津市 (オンライン)・2021 年 6 月 <特許申請・取得状況> 無			