

様式 4

京都府公立大学法人若手研究者・地域未来づくり支援事業研究成果報告書
(ホームページ用)

	(所 属)	(職名・学年)	(氏 名)
研究者 (研究代表者)	北部医療センター 泌尿器科	助教	松ヶ角 透
研究の名称	高齢者のフレイル・サルコペニアと排尿機能との関連についての検討		
研究の キーワード (注 1)	サルコペニア、フレイル、排尿障害		
研究の概要 (注 2)	<p>総務省統計局によると平成 25 年現在 65 歳以上の高齢者は 3186 万人に到達し総人口の約 25 % を占めるまでになった。京都丹後医療圏においてはとくに高齢化率が 35.3% (平成 27 年度) と全国平均 (26.7%) を大きく上回っている。高齢者における問題点として認知機能の低下や歌詞筋力の低下などと関連して虚弱 (Frailty) と筋肉量の低下 (Sarcopenia) がある。これに加えて排尿機能の低下、特に失禁はこれらのマーカーになると我々は考えている。全身筋肉量と排尿障害 (低活動膀胱・尿失禁) との関連はこれまでに報告がなく Sarcopenia と排尿障害との関連が示されれば筋力の増加・維持によって排尿機能の改善からバルンカテーテル管理の患者を減少させ寝たきり患者数の減少を導き、今まで引きこもりがちであった高齢者の外出を促すこと他者との交流の機会を増やすことを可能とし高齢者の生活意欲の向上などが期待出来る。これは今後の高齢化問題</p>		

	を、丹後医療圏ひいては日本の健康寿命を高齢者の ADL の向上を解決する道標の一つとなりうる今までに報告のない研究であると考えられた。
研究の背景	平均寿命は年々延長の推移を呈しているが、平均寿命と健康寿命との間には10年近い解離がある。健康寿命を延長させることは現在の社会的急務であると考えられる。上記研究の概要に述べたようにSarcopenia/ frail と排尿障害との関連が示されれば筋力の増加・維持によって排尿機能の改善からバルンカテーテル管理の患者を減少させ寝たきり患者数の減少を導き、今まで引きこもりがちであった高齢者の外出を促すこと他者との交流の機会を増やすことを可能とし高齢者の生活意欲の向上などが期待出来る。この相関・関連を明らかにすることが解決の一つと考えられた。
研究手法	京都府立医科大学附属病院、京都府立医科大学附属北部医療センターにおいて泌尿器科、神経内科、整形外科を受診した50歳以上の男女ならびに現在進行中である丹後生き生き長寿研究対象者を対象とする。

	<p>調査項目：国際前立腺症状スコア(International Prostate Symptom Score 以下IPSS), Visual analogue Score (以下VAS), 過活動膀胱症状スコア(Over Active Bladder symptom Score以下OABSS)のアンケート調査, 握力測定, 超音波検査（残尿測定, 前立腺重量）, 可能であれば体成分分析にて水分・脂肪・筋肉量の測定を行なう(InBody270 ®, InBody Japan). 腹部CTが測定開始の3ヶ月以内であればL3のレベルの骨格筋面積（身長補正值）、膀胱重量を測定する</p>
研究の成果 (実現できた研究の質の向上又は地域振興の内容等)	<p>全身の筋肉量と排尿障害との相関関係を調査し, 有意な相関が明らかとなるようであれば筋力増強を目指したリハビリテーションにて高齢者の排尿状況を改善させることができるとなる. このことにより高齢者の外出を促し, 他者との交流の機会を増やすことで行動意欲やADLの向上などが期待出来る. またバルンカテーテル管理の患者の減少させることで寝たきり患者数を減少させることで更なる健康長寿を目指した医療を展開出来ると考えられる.</p> <p>現状では症例数が少なくプレリミナリーデータではあるが、握力が反映する全身筋肉量と排尿状態は正の相関を認める可能性がある.</p>

今後の期待	高齢者のADL向上に向けてバルンカテーテル抜去の診断基準の一つとして機能可能となるようなスキルの確立を目標とする。
研究発表 (注3)	来年度の泌尿器科総会、排尿機能学会等での発表を予定している。

- 注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。
- 注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。
- 注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。
- 注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。
- 注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。

様式 4

京都府公立大学法人若手研究者・地域未来づくり支援事業研究成果報告書
(ホームページ用)

	(所 属)	(職名・学年)	(氏 名)
研究者 (研究代表者)	消化器内科学/感染病態学	助教(併任)	廣瀬 亮平
研究の名称	次世代局注液開発に向けたレオロジー解析		
研究の キーワード (注 1)	粘膜下層注入材 (SIM) , ヒアルロン酸ナトリウム(HA), レオロジー		
研究の概要 (注 2)	<p>消化管癌の内視鏡治療件数は年々増加しており、内視鏡治療技術の更なる発展が今後の課題である。「粘膜下層への局所注射による粘膜隆起の形成」は内視鏡治療上重要なステップであり、「十分な高さの粘膜隆起形成」「粘膜隆起の長時間持続」は安全・確実な腫瘍切除を行う上で重要な要素である。現在ヒアルロン酸ナトリウムが国内で広く使用されているが、今後はより優れた粘膜隆起の高さや持続時間を示し且つ安価な次世代局注液の開発が望まれる。今回我々はそのような次世代局注液の開発を目的とした。</p> <pre> graph TD A[次世代局注液の臨床導入] --> B[高性能] B --> C[内視鏡治療技術の向上] C --> D[低薬価] D --> E[次世代局注液の使用率上昇] E --> F[治療時間の短縮] F --> G[合併症発生率の低下] G --> H[医療コストの削減] </pre> <p>我々は次世代局注液の研究開発に先立ち、内視鏡治療時のヒト消化管により近い環境を再現する新規ex vivoモデルを開発し、既存の局注液の性能(粘膜下隆起高・隆起持続時間)を詳細に評価した。併せて各局注液の粘弾性の評価を行い、粘弾性の各指標と局注液性能の相関を分析し、性能を決定づける最重要因子(指標)を同定した。次に局注針使用時における各種局注液の局注圧を測定し、局注圧と粘弾性の相関を分析した。それらの結果から局注が可能で最も高性能な局注液(すなわち次世代局注液)の粘弾性特性を明らかにした。我々はレオロジーの視点からみた次世代局注液開発の基礎を提供した。</p>		
研究の背景	<p>近年、消化管癌(胃癌・食道癌・大腸癌)に対する内視鏡治療件数は年々増加しているが、同時に高度な治療技術を要する内視鏡治療困難例(腫瘍径が大きい・粘膜下層に線維化がある・治療の難しい部位に腫瘍が存在する)も増加している。内視鏡治療困難例が安全かつ短時間で治療可能となるように更なる内視鏡治療技術の発展が今後の課題である。消化管癌に対する内視鏡治療は現</p>		

	<p>在、内視鏡的粘膜切除術(EMR)・内視鏡的粘膜下層剥離術(ESD)の2つの手技が国内で施行されている。</p> <p>いずれの手技においても、粘膜下層に生理食塩水などの局注液を注入し粘膜を隆起させる「局注(local injection)」が非常に重要なステップとなる。局注による「十分な高さの粘膜隆起形成」「粘膜隆起の長時間持続」は安全・確実な手技(腫瘍切除)を行う上で非常に重要な要素であり、特に内視鏡治療困難例に対しては治療の成否そのものを左右する。現在、内視鏡治療用の高性能な局注液として0.4%ヒアルロン酸ナトリウムが広く使用されている。従来から使用されていた生理食塩水に比して局注液の性能は高い反面、薬価は100倍以上と高価である。また内視鏡治療適応拡大のため治療困難症例が増加しており、より高性能な局注液の開発が望まれる。(下図参照)</p>																														
	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th><th>膨隆の高さ</th><th>膨隆の持続時間</th><th>組織障害性</th><th>薬剤コスト</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>生理食塩水(0.9%)</td><td>低い</td><td>短い</td><td>小</td><td>安価</td></tr> <tr> <td>高張食塩水(10%)</td><td>中間</td><td>中間</td><td>大</td><td>安価</td></tr> <tr> <td>高張ブドウ糖液(50%)</td><td>中間</td><td>中間</td><td>大</td><td>安価</td></tr> <tr> <td>ヒアルロン酸ナトリウム(0.4%)</td><td>高い</td><td>高い</td><td>小</td><td>高価</td></tr> <tr> <td>開発を目指す局注液</td><td>非常に高い</td><td>非常に高い</td><td>小</td><td>安価</td></tr> </tbody> </table>		膨隆の高さ	膨隆の持続時間	組織障害性	薬剤コスト	生理食塩水(0.9%)	低い	短い	小	安価	高張食塩水(10%)	中間	中間	大	安価	高張ブドウ糖液(50%)	中間	中間	大	安価	ヒアルロン酸ナトリウム(0.4%)	高い	高い	小	高価	開発を目指す局注液	非常に高い	非常に高い	小	安価
	膨隆の高さ	膨隆の持続時間	組織障害性	薬剤コスト																											
生理食塩水(0.9%)	低い	短い	小	安価																											
高張食塩水(10%)	中間	中間	大	安価																											
高張ブドウ糖液(50%)	中間	中間	大	安価																											
ヒアルロン酸ナトリウム(0.4%)	高い	高い	小	高価																											
開発を目指す局注液	非常に高い	非常に高い	小	安価																											
研究手法	<p>① ヒアルロン酸ナトリウム(HA)や新たに研究開発が行われている新しい粘膜下層注入材(SIM)はいずれも高粘性の局注材であるが(Yandrapu H, et al. Gastrointest Endosc 85(4): 693-699, 2017.)、一方で、粘弾性のどの指標(e.g. viscosity, elasticity)によりSIMの性能(粘膜下隆起高・隆起持続時間)や局注のしやすさ(局注圧)が決定づけられているか未だ解明されていない。この指標が解明されれば、HAに置き換わる次世代SIMの開発スピードは飛躍的に上昇する。また、実際のヒトの消化管内においてSIMの粘膜下隆起高や持続時間を同条件で測定するのは困難であり、SIM間の性能の詳細な比較はブタ胃切片によるex vivoモデルを使用することが多い。このex vivoモデルがよりヒト消化管に近い環境を再現するよう改良されれば、粘膜下隆起高や持続時間をより精密に測定することができる。それによってSIM間の客観的で詳細な性能比較が可能となり、次世代SIMの開発に大きく貢献する。</p> <p>試験検体(ブタの切除胃検体)に一定の張力を加える新しいex vivoモデルを開発した。従来モデル(ブタ胃切片はピンで固定)と新規モデルにおいて、SIMをブタ胃切片の粘膜下組織に注入し、粘膜下隆起の高さ(SEH)を経時的に測定した。その結果、新規モデルを用いて得られたSEHの標準偏差は従来モデルを用いて得られたものより低くなり、新規モデルはSIMのSEHを正確に測定できることを示した。</p> <p>② 上記の新規モデルを用いてSIMの性能(SEH)および粘膜下注入の容易さ[注入圧力(IP)]を評価し、SEHまたはIPに最も影響を与えている粘弾性パラメータを同定した。</p> <p>SEHと低周波数域(0.1rad/s)の損失係数との間に最も強い正の相関が認め</p>																														

	<p>られた。またIPと高周波数域(10rad/s)の損失係数との間に最も強い正の相関が認められた。SIMの性能と注入のしやすさを決定する粘弾性パラメータを特定し、次世代SIMの理想的な粘弾性特性を明らかにした。これらの結果より、従来のSIMであるHAなどのニュートン流体(角周波数の増加により損失弾性率が急激に増加する)の特性をもつSIMより、非ニュートン流体(角周波数の増加により損失弾性率がほとんど増加しないショット・プラスチック流体)の特性をもつSIMの方が、同じIPの条件ではSIMの性能が高くなることが予想された。実際のSIMの性能評価(SEHの測定)では、非ニュートン流体のSIMは、ニュートン流体のSIMよりも著しく高いSIM性能を有していた。</p>
研究の成果 (実現できた研究の質の向上又は地域振興の内容等)	<p>本研究課題の成果は下記の2点である。</p> <p>① 開発された新規ex vivoモデルは均一条件下での正確なSEH測定と各種SIMの性能の詳細な比較を可能にし、次世代SIMの開発に貢献する。</p> <p>② 次世代SIM候補の材料の粘弾性データからその材料のSIMとしての性能が正確に推定する事が可能となり、次世代SIMの開発に貢献する。</p>
今後の期待	<p>研究成果①②に基づいて、高性能な次世代局注液の開発を行う。</p> <p>開発を目指す次世代局注液の臨床導入により内視鏡治療技術が向上すれば、今まで内視鏡治療専門施設で行っていた内視鏡治療の一部が一般消化器科医院・病院でも施行可能となり、近年の内視鏡治療件数増加への解決策として期待される。また内視鏡治療困難例が安全かつ短時間で治療可能となれば、内視鏡治療専門施設自体での1日当たりの治療件数増加も期待できる。現在、高分子化合物の材料メーカーとの共同研究を開始し、今春はAMED ACT-MSへの応募も行っている。</p>
研究発表 (注3)	<ol style="list-style-type: none"> Hirose R, Nakaya T, Naito Y, Daidoji T, Dohi O, Yoshida N, Yasuda H, Konishi H, Itoh Y. Identification of the critical viscoelastic factor in the performance of submucosal injection materials. Materials Science & Engineering C, 94:909-919, 2019. Hirose R, Daidoji T, Naito Y, Dohi O, Yoshida N, Yasuda H, Konishi H, Nakaya T, Itoh Y. Detailed setup methodology of a new ex vivo model for evaluation of endoscopic submucosal injection materials performance. Journal of Visualized Experiments, (140), e58029, 2018. Hirose R, Nakaya T, Naito Y, Daidoji T, Yasuda H, Konishi H, Itoh Y. Development of a new ex vivo model for evaluation of endoscopic submucosal injection materials performance. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 79:219-225, 2018.

注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。

注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。

注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。

注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。

注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。

様式4

京都府公立大学法人若手研究者・地域未来づくり支援事業研究成果報告書 (ホームページ用)

	(所 属)	(職名・学年)	(氏 名)
研究者 (研究代表者)	消化器内科	助教	瀬古裕也
研究の名称	京都市内と京都府北部地域における脂肪肝とサルコペニアの実態と遺伝的背景および生活習慣に関する研究		
研究の キーワード (注1)	NAFLD, NASH, PNPLA3, サルコペニア		
研究の概要 (注2)	京都府立医科大学消化器内科外来および北部医療センター消化器内科外来を受診した脂肪肝患者においてPNPLA3遺伝子多型が脂肪肝の病態形成に寄与する機序を肝生検組織、血液検体を用いて検討する。さらに体組成計にて体脂肪量、骨格筋量を含む体組成も評価する。		
研究の背景	<p>脂肪肝はメタボリックシンドロームの肝での表現型とされており、近年肝障害の原因として本邦でもっとも大きな問題となっている。脂肪肝形成の背景にはインスリン抵抗性があり、同様の背景をもつ2型糖尿病や脂質異常症、高血圧症と密接なかかわりがある。糖代謝、脂質代謝には肝臓のほかに筋肉が大きくかかわっており筋肉でのインスリン抵抗性の上昇が脂肪肝にも関与していることが示唆されている。また、脂肪肝関連遺伝子としてPNPLA3遺伝子多型が同定され、肝脂肪化、肝線維化、肝発がんに寄与することが報告してきた。</p> <p>一方、近年筋肉量および筋力低下によって定義されるサルコペニアが注目されている。サルコペニアには加齢に引き続いて起こる一次性サルコペニアと疾患関連の二次性に分けられるが肝疾患は二次性サルコペニアの原因の一つとしてあげられており、2016年には日本肝臓学会より肝疾患におけるサルコペニア判定基準が発表された。</p> <p>脂肪肝形成には、体脂肪の増加と骨格筋量の低下が寄与しているがこれらは相乗効果があり、体重増加による活動量の低下がさらに体脂肪を増加、骨格筋量の低下を招くという悪循環となる。効果的な薬物治療がない脂肪肝においては食事療法と運動療法が中心となるが、個々の合併症や身体強度を考慮した食事運動療法の確立が期待されている。</p>		

研究手法	<p>京都府立医科大学附属病院消化器内科を受診し、肝生検にて脂肪肝と診断された205例におけるPNPLA3遺伝子多型の頻度、および肝病態との関連を検討した。</p> <p>さらに2014年1月から2017年10月の間に当科にてNAFLDと診断され筋肉量測定を施行した347例において検討した。体組成はInBody720を用いて測定した。</p>
研究の成果 (実現できた研究の質の向上又は地域振興の内容等)	<p>京都府立医科大学附属病院消化器内科を受診し、肝生検にて脂肪肝と診断された205例におけるPNPLA3遺伝子多型の頻度を検討した。PNPLA3 CC/CG/GGは18.0%/40.5%/41.5%であった。NAFLDのリスク因子とされるGの保因者は合計82.0%であり、欧米の頻度(41%)と比較して有意に高値であった。本邦では遺伝的素因としてNAFLDのリスクが高く、このことが非肥満にも関わらずNAFLDを発症することの原因となっていることが予想される。</p> <p>PNPLA3遺伝子多型と肝病態との関連について検討した。肝線維化stage3, 4の線維化進展例はPNPLA3 CC群では0例、CG群で9.6%、GG群では17.6%とリスクに伴い増加していた。これまで報告されていたように本コホートにおいてもPNPLA3遺伝子多型はNAFLDの発症のみならず線維化進展にも寄与していることが明らかになった。</p> <p>次にサルコペニアと肝病態との関連につき検討した。2014年1月から2017年10月の間に当科にてNAFLDと診断され筋肉量測定を施行した347例において検討した。体組成はInBody720を用いて測定した。サルコペニアの診断は肝臓学会の診断基準に則り骨格筋量を身長の二乗で除したSkeletal muscle mass index(SMI)を用いた。サルコペニア症例は27例(12.3%)で認めた。男性においてはSMIは年齢に伴い徐々に低下していたが、女性では60歳を機に有意な低下が見られた。また、サルコペニアは肝線維化との関連が報告されているが、本コホートではstage0/1/2/3/4でそれぞれ14.8%/10.1%/6.1%/21.1%/21.4%と線維化が軽度の症例でも筋肉量が低下している症例が見られた。</p> <p>また、1年間の食事運動療法前後で体組成を測定し得た139例で体組成の変化と肝機能の推移との相関を検討した。1年間の経過でAST、ALT、γGT Pは有意に改善していた。またBMIも有意に低下していたが同時にSMIも低下していた。多変量解析ではALT改善に寄与する因子として、骨格筋量/体脂肪量比 (Skeletal muscle mass/body fat mass ratio: SF ratio)が抽出された。これまでNAFLDの治療指標としてBMI低下が推奨されてきたが、肥満の多いNAFLD患者においては体重減少により筋肉量も同時に低下することが多いことがわかった。特に筋肉量低下が大きい女性や高齢者の指導においては筋肉量維持にも配慮した運動療法の重要性が示唆された。</p>

	本研究では、サルコペニアとPNPLA3遺伝子多型との間には明らかな関連は認めなかった。また京都市内と北部地域においては高齢化による影響はあるもののNAFLDの罹患率やサルコペニアの合併においては有意な差は見られなかった。
今後の期待	NAFLDの進展には環境因子の他にPNPLA3遺伝子多型が関与することが明らかになった。このことにより多数かつ多様な病態の集合である脂肪肝患者において肝硬変、肝癌へと進展する高リスク群の囲い込みの一助となることが期待できる。 また今後高齢化が進むことが予想されるが、脂肪肝患者は低活動性などサルコペニアのリスクが高いと考えられる。本研究では京都市内と北部地域においてNAFLD、サルコペニアのリスク因子の違いは見出せなかつたが、さらなる詳細な生活習慣や腸内細菌叢などを合わせた検討が今後必要である。
研究発表 (注3)	第54回日本肝臓学会総会 The International Liver Congress 2019 Seko Y, Itoh Y et al. J Gastroenterol. 2018 ;53(3):438-448. Mizuno N, Seko Y, Itoh Y, et al. J Gastroenterol. 2019 Feb;54(2):160-170.

注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。

注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。

注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。

注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。

注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。

様式 4

京都府公立大学法人若手研究者・地域未来づくり支援事業研究成果報告書
(ホームページ用)

	(所 属)	(職名・学年)	(氏 名)
研究者 (研究代表者)	法医学	教授	池谷 博
研究の名称	医師主導による死因究明の社会的効果と遺族の心のケアの実践		
研究の キーワード (注 1)	承諾解剖, 死因究明推進, 遺族の心のケア		
研究の概要 (注 2)	<p>警察が取り扱う異状死体のうち、事件性が無く捜査が終了したにも関わらず、死因不詳の遺体に関して、検案医の判断により、京都府立医科大学で承諾解剖を実施し、死因診断を行った。合わせて遺族に死因説明を行うとともに、専門家による心のケアを実施した。</p>		
研究の背景	<p>京都府は近畿で最も解剖率が低い県であるが、我々の行った京都府を対象とする調査では、近年独居高齢者等の多死社会に突入しつつあり、死因の分からぬ遺体が非常に増えてきている (Isolation and unnatural death of elderly people in the aging Japanese society. Nomura M, McLean S, Miyamori D, Kakiuchi Y, Ikegaya H. Sci Justice. 2016 Mar;56(2):80-3)。</p> <p>現在、突然死などにおいて、警察主導で死体見分（検視）がなされて事件性無しと判断された場合には、警察が死因究明のための検査（解剖検査など）の実施権限を有しているため、検案医師は外表から目視すること（検案）のみで死因診断を行っている。そのため、検案医師は、その死因診断に関して疑問を感じることが少なくないが、不明確な死因のままで死亡診断書（死体検案書）を発行せざるを得ない状況である。</p> <p>一方で、遺族も不明確な死因診断に納得せず、事故や災害の判断や、大学等に死因究明の依頼をすることが少くないが、遺体の搬送費のねん出ができず、そのまま泣き寝入りとなる状況であった。また、家族が突然死したショックが非常に大きいにもかかわらず、専門家による遺族の心のケアは全くなされていない。</p>		

研究手法	<p>本研究では、警察の検視の後に事件性無しとされ、捜査終了した案件に対して、検案した医師が解剖検査の要否を判断することにより、検案のみの場合と解剖検査を行った場合でどの程度死因が変化するかを調査した。</p> <p>また、解剖後に遺族の心のケアを実践し、遺族の心情の変化について数か月後にアンケート調査を行う。</p> <p>正確な死因診断と遺族の心のケアが、どのような社会的効果や遺族の心情への効果をもたらすのか評価し、京都府立医科大学で現在構想中の死因究明に関する新しい試み（承諾解剖）の実施の有効性を事前に評価するとともに、実施で予想される問題点の洗い出しを行った。</p>
研究の成果 (実現できた研究の質の向上又は地域振興の内容等)	<p>採択からの実施期間が短かったことや、解剖に必要な機器の故障に関して、代替機器購入が認められなかつたことから、途中で中止せざるを得なかつたが、本事業により4件の承諾解剖を行うことができ、以下の成果が得られた。</p> <ul style="list-style-type: none"> ① 本来であれば死因究明なされなかつた症例の承諾解剖の実施により死因が確定し、検案のみの場合と比べてはるかに正確な死因診断が可能であった。検案医や警察に対しても結果をフィードバックすることで、検案業務や検視業務の向上に生かすことができた。 ② 医師からの直接の説明に対して遺族が十分に納得していくことができ、「死因究明を行つて良かった」との感想を得ることができた。 ③ 看護師・臨床宗教師が医師に引き続いて遺族と話をすることで、医師の説明が実はよく分かっていなかつたという事柄が判明し、更なる追加の説明ができたことや、医師とは違った観点から遺族に対応し、遺族の心のケアをすることも相まって、本事業に対する遺族の満足度は非常に高かつた。本事業が終了した後も引き続き遺族の心のケアを行っていく予定である（一定期間後にアンケート調査を実施予定）。 ④ 医師が遺族に直接死因を説明することで、遺族がどのような説明を欲しているか理解することができ、今後の説明方法の向上につながると予想される。 ⑤ 監察医制度を廃止し、近畿管区で最低の解剖率となつてゐる京都府において、本事業により承諾解剖の手順を試行錯誤し、完成できたことは非常に大きな成果であった。

今後の期待	<p>以上の成果は京都府警察からも高く評価られており、承諾解剖の取り組みの継続を強く要望されている。現在、京都府および京都府警察と承諾解剖の継続実施について協議を行っており、今後この事業の成果を生かし、京都府が行う死因究明推進（死因究明推進法）政策の一つとして、承諾解剖が継続して実施されることを期待する。</p>
研究発表 (注3)	<p>第1回京都府死因究明推進協議会にて報告した。 今後、関係各所へのアンケート調査の結果を待って、法医学関連の学会にて成果を発表予定である。</p>

- 注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。
- 注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。
- 注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。
- 注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。
- 注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。

樣式 4

京都府公立大学法人若手研究者・地域未来づくり支援事業研究成果報告書

(ホームページ用)

(所 属)	(職名・学年)	(氏 名)
研究者 (研究代表者)	感染病態学	助教
研究の名称	寄生虫に「共生」するウイルスが寄生虫の病原性を高めるメカニズム	
研究の キーワード (注 1)	寄生虫、共生ウイルス、リーシュマニア	
研究の概要 (注 2)	<p>ヒトに対して粘膜破壊や肝脾腫を引き起こすリーシュマニア原虫には、共生しているウイルスが存在していることが知られている。この共生ウイルスは、リーシュマニアの病原性に影響を与えていたという報告が存在するが、その詳細な機構については明らかとなっていない。そこで、本研究では、寄生原虫に共生する2本鎖RNA (dsRNA)ウイルスを持つ/持たないリーシュマニア原虫を作出し、病原性を比較・解析することによって、共生ウイルスが病原性に与える影響を調べた。</p>	
研究の背景	<p>リーシュマニア症などに代表される寄生原虫症は、粘膜破壊や肝脾腫、激しい下痢症などを引き起こし、時に致死的となるため、世界的に問題となっている。</p> <p>近年、これら原虫(単細胞の寄生性真核生物)の多くに、2本鎖RNA(dsRNA)ウイルスが共生していることが明らかとなった。さらに、dsRNAウイルスが存在すると、原虫の宿主に対する病原性が上がるということが一部のリーシュマニア原虫において報告された(Ives et al., <i>Science</i>, 2011)。その機構の一端として、原虫内のdsRNAウイルスが宿主のToll様受容体(TLR)と反応し、炎症反応が活性化することで病状を悪化させると考えられている。また、トリコモナス原虫においては、共生ウイルスが、原虫の表面抗原の変化に関与しているという報告も存在する(Khoshnan and Alderete., <i>J Virol</i>, 1994)が、その詳細はまだ明らかになっていない。</p> <p>我々は、この機構は他の原虫共生dsRNAウイルスにおいても引き起</p>	

	<p>こされている可能性が高いと考えた。また、<u>原虫共生dsRNAウイルス</u>が、<u>原虫の遺伝子発現調節に関わるのではないか</u>ということを予想した。</p> <p>共生ウイルスの影響を正確に調べるためにには、原虫株間の遺伝的背景の差による影響をなくすため、<u>同株の原虫から、共生ウイルスを持つ原虫、共生ウイルスを持たない原虫</u>をそれぞれ単離し、病原性を比較する必要がある。しかし、今まで、原虫からウイルスを除去する手段が存在しなかったことから、本分野に関する知見は少なかった。</p> <p>そこで、本研究では寄生原虫に共生する 2 本鎖 RNA (dsRNA) ウィルスの有無のみ異なるリーシュマニア原虫を作出し、共生ウイルスが原虫の遺伝子発現に与える影響を調べることを目的とした。</p>
研究手法	<p>本研究は以下の方法で行った</p> <p>① [共生ウイルスを持つ/持たない原虫のクローニング] RdRp阻害剤と原虫を共培養し、クローニングを行った。クローニン後の株からRNAを抽出し、RT-qPCRにより、原虫中の、原虫共生ウイルス数を確認することで、共生ウイルスを持つ原虫と持たない原虫を得た。</p> <p>② [トランスクリプトームによる原虫の遺伝子発現比較解析] 共生ウイルスが原虫の遺伝子発現に影響を与えるか調べた 原虫のトランスクリプトーム 共生ウイルスの存在する/しない原虫それぞれ10^7個からRNAを抽出した。RNAを抽出した後は、トランスクリプトーム解析を行い、共生ウイルスの存在する/しない原虫の遺伝子発現を比較した。</p>
研究の成果 (実現できた研究の質の向上又は地域振興の内容等)	<ul style="list-style-type: none"> ・ RNA 依存的 RNA ポリメラーゼ(RdRp)阻害薬を用いて、遺伝的背景が同一だが、共生ウイルスの有無のみが異なるリーシュマニア原虫を単離した RdRp阻害剤と原虫を共培養し、クローニングを行った。クローニン後の株からRNAを抽出し、RT-qPCRにより、原虫中の、原虫共生ウイルス数を確認した。その結果、遺伝的背景が同一であり、共生ウイルスの有無のみが異なるリーシュマニア原虫を得ることに成功した。 ・ 共生ウイルスが原虫の遺伝子発現に影響を与えるか、網羅的な解析を行った 共生ウイルスの存在する/しない原虫それぞれ10^7個からRNAを抽出した。その後、共生ウイルスの存在する/しない原虫の遺伝子発現を比較するため、トランスクリプトーム解析を行った。 興味深いことに、リーシュマニア原虫に存在するウイルスは、プロマスティゴート期（昆虫に存在しているステージ）の原虫において、原虫の遺伝子発現に大きな影響は与えていないことが明らかとなった。しかし、原虫自体の増殖率は変化していた。

今後の期待	<p>今後は、アマスティゴート期（哺乳類に感染するステージ）の原虫における共生ウイルスの影響を詳細に調査していく予定である。</p> <p><u>リーシュマニアについて、共生ウイルスを持つ原虫から、共生ウイルスを持たない原虫を作り出した。その原虫を用いて、共生ウイルスが原虫に与える影響およびそのメカニズムを、トランスクリプトームを用いて包括的に調べる</u>今後の研究は、原虫共生ウイルスの存在意義や、原虫感染戦略の理解へ大きく貢献することが可能となる。</p> <p>本研究において、原虫共生ウイルスが関与する宿主の自然免疫の役者が明らかになった後は、より詳細に<u>原虫共生ウイルス—原虫—宿主哺乳類細胞の関係</u>を調べていき、原虫病の理解と撲滅につなげていく予定である。</p>
研究発表 (注3)	<ol style="list-style-type: none"> 1) F. Murakoshi, A. Saito-Ito, K. Kato, Y. Matsumoto, T. Nakaya, Detection and phylogenetic analyses of symbiotic dsRNA viruses of protozoan parasites. The 15th Asian-Pacific Congress for Parasitic Zoonoses. 8/21 Daegu Korea. 2) 村越ふみ、七戸新太郎、林美和、田中悠太郎、三條場千寿、松本芳嗣. 原虫共生dsRNAウイルスの探索と薬剤による除去. 第161回日本獣医学会学術集会 9/11～9/12 茨城. つくば市. 3) F. Murakoshi, S. Shichinohe, M. Hayashi, Y. Tanaka, C. Sanjyoba, Y. Matsumoto, T. Nakaya. Adenosine analog inhibits replication of protozoan endogenous dsRNA virus: Leishmania virus (LRV2) and Cryptosporovirus (CSpV1). 第66回日本ウイルス学会学術集会 10/28-10/30 京都. 4) Fumi Murakoshi. Detection and phylogenetic analyses of protozoan parasite and its symbiotic viruses. JSPS Core-to-Core Program 3rd Scientific Seminar 10/31 Kyoto. 5) 村越ふみ、佐藤開、三條場千寿、松本芳嗣、中屋隆明「原虫共生ウイルスの有無における原虫の遺伝子発現比較解析」第88回日本寄生虫学会大会 3/15-3/16 長崎. 6) Fumi Murakoshi. The Matryoshka-type strategy of human pathogens and Japanese challenges of the elimination of parasitic diseases. 外務省日露草の根交流招待講演 3/18-3/23. ロシア. サンクトペテルブルク.

様式4

京都府公立大学法人若手研究者・地域未来づくり支援事業研究成果報告書
(ホームページ用)

	(所 属)	(職名・学年)	(氏 名)
研究者 (研究代表者)	女性生涯医科学	病院助教	古株 哲也
研究の名称	エストロゲン関連受容体を標的としたCRISPR/Cas9搭載アデノ随伴ウイルスベクターによる子宮体癌新規治療法の確立		
研究の キーワード (注1)	子宮体癌、エストロゲン関連受容体、CRISPR/Cas9		
研究の概要 (注2)	<p>子宮体癌はエストロゲン依存性疾患であるが、エストロゲン受容体（ER）を標的としたホルモン療法は確立していない。エストロゲン関連受容体（ERR）はERと生物学的活性を一部共有する一方で、内因性リガンドを持たないオーファン受容体である（図1）。申請者らはこれまでにERRが子宮体癌における腫瘍増殖・浸潤転移・血管新生・アポトーシス誘導を強力に制御していることを発見し、報告した（<i>Oncotarget</i>, 2016, Matsushima, Kokabu et al.）。これらの基礎研究からERRを標的とした治療が従来のホルモン療法と異なった作用機序を持つと考えられた。本研究では子宮体癌細胞にCRISPR/Cas9搭載アデノ随伴ウイルスベクター（AAV）を用い、ERRを標的とした遺伝子導入を行うことで、妊娠能温存を視野にいれた新規治療法の分子基盤確立を目的とした。</p> <p>AF1: Activation function 1, DBD: DNA binding domain, LBD: Ligand binding domain, ER: Estrogen receptor, ERE: Estrogen response element, ERRE: Estrogen-related response element</p>		

図1 ER α とERR α の構造的特徴

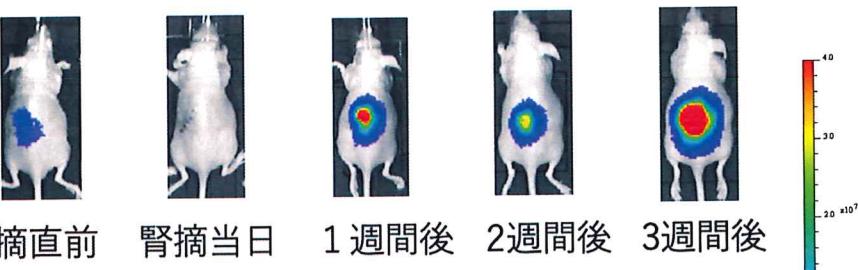
研究の背景	<p>子宮体癌は罹患率、死亡率ともに増加し、新規治療法が求められている。子宮体癌はホルモン依存性疾患であるがERを標的とした治療の有効性は確立しておらず、より複雑なホルモン伝達系の存在が示唆される。申請者らは以前よりエストロゲン関連受容体(ERR)に注目してきた。ERRはERと類似した構造を持ち、生物学的活性をERと共有する。その一方で内因性リガンドが存在しないオーファン受容体である(図1)。申請者らはこれまでにERRが子宮体癌の進行例および高悪性度症例で高発現し、腫瘍増殖・浸潤転移・血管新生・アポトーシス誘導を強力に制御していることを証明した(<i>Oncotarget</i>, 2016, Matsushima, <u>Kokabu et al.</u>)。これらの基礎研究はERRを標的とした治療が従来のホルモン療法と異なった作用機序を持ち、子宮体癌の新規治療として期待できることを確証づけた。しかしERRとERの間に存在する複雑なクロストークやERRによる治療抵抗性獲得への関与などERRの機能解明には多くの課題が残る。とりわけERとの相互作用を紐解くことはエストロゲン依存性疾患である子宮体癌の特性を理解する上で不可欠であり、新規治療戦略を確立するに当たりこれらに対する学術的関心は高い。</p>
研究手法	<p>まず先行実験としてERRのinverse agonistであるXCT790を用い、ERRの腫瘍制御機構を評価する。その上で子宮体癌のcell lineにCRISPR/Cas9搭載AAVを用いてERRを標的とした遺伝子導入を行い、細胞増殖、浸潤・進展、血管新生やアポトーシスなどに対する効果をluciferase assay, RT-PCR, WST-8 assay, colony formation assay, flow cytometry, western blotting等を持ち検証する。In vitroでの評価が終わり次第、子宮体癌細胞株移植xenograftを用い、in vivoにおける抗腫瘍効果を免疫組織学的に評価する。</p>
研究の成果 (実現できた研究の質の向上又は地域振興の内容等)	<p>子宮体癌細胞株とERRのinverse agonistであるXCT790を用いて、ERRの腫瘍制御機構について検証した。まずERRの転写活性を抑制することをluciferase assayで確認した後、WST-8 assayおよびcolony formation assayでXCT790の細胞増殖抑制を証明した。そして子宮体癌で高頻度に異常活性化しているPI3K/Akt/mTORシグナル伝達系において、XCT790がmTORの抑制やakt, mTOR, p70S6Kのリン酸化を抑制することをwestern blotで明らかにした。またflow cytometryと免疫蛍光法を用いてXCT790がG2期停止を誘導することを示し、G2/M check pointで作用するwee1やリン酸化cdc2の抑制を確認した。さらにin vivoでは子宮体癌細胞株移植xenograftを作成し、XCT790が体重減少を惹起することなく、腫瘍進展および細胞増殖や血管新生を抑制することを証明</p>

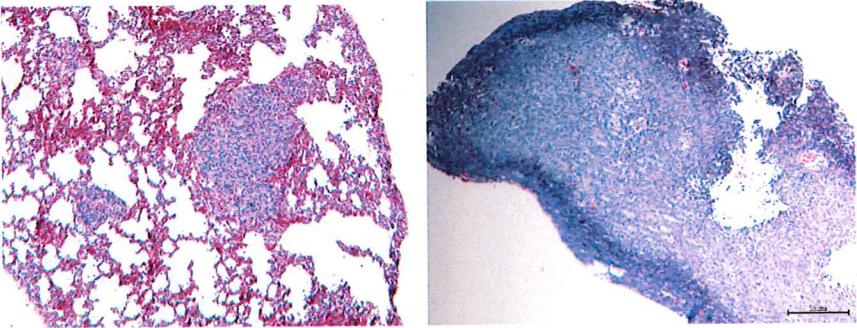
	し、報告した (<i>Cellular Oncology</i> , 2019, <u>Kokabu et al.</u>)。これらの分子的背景を元に、現在CRISPR/Cas9を用い子宮体癌細胞でERRのノックダウン細胞を確立し、その抗腫瘍効果およびエストロゲン伝達系への影響および腫瘍制御機構を評価中である。
今後の期待	既知のERRを標的とした治療薬はERRへの抑制効果が弱いことや安全性の点から全身投与が困難などの問題点がある。一方でCRISPR/Cas9搭載AAVによる遺伝子編集は比較的容易かつ高効率であること、また近年の遺伝子治療臨床試験の多くがウイルスベクターであり、臨床応用を視野に入れた治療への早期移行が可能と考えられる。すなわち、若年早期子宮体癌症例においては妊娠能温存が期待できる。また将来的には delivery system の開発により、進行・再発症例の治療や予後改善に大きく寄与すると期待できる。
研究発表 (注3)	<p>論文 Antitumor effect of XCT790, an ERα inverse agonist, on ERα-negative endometrial cancer cells. Kokabu T, Mori T, Matsushima H, Yoriki K, Kataoka H, Tarumi Y, Kitawaki J. <i>Cell Oncol.</i> 2019; 42(2): 223-235.</p> <p>学会発表 2018年 2018年10月 European Society for Medical Oncology 2018 congress Estrogen-related receptor α as a potential molecular target for endometrial cancer therapy 2018年9月 17th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society Estrogen-related receptor alpha mediated pathway as a potential therapeutic target for uterine endometrial cancer</p>

様式4

京都府公立大学法人若手研究者・地域未来づくり支援事業研究成果報告書
(ホームページ用)

	(所 属)	(職名・学年)	(氏 名)
研究者 (研究代表者)	小児外科	大学院生 4年	竹内 雄毅
研究の名称	神経芽腫微小残存病変モデルにおけるMEK阻害剤の効果検討		
研究の キーワード (注1)	神経芽腫, MEK阻害剤, 微小残存病変, minimal residual disease		
研究の概要 (注2)	<p>神経芽腫は、頭蓋外小児固形悪性腫瘍で最も頻度の高い疾患である。集学的治療の進歩により全体としての治療成績は向上しているが、高リスク群の3年生存率は約40%と未だ予後不良で、新規治療法が求められる。再発神経芽腫では80%近くに細胞増殖をコントロールするRAS/RAF/MEK/ERK経路(以下、本経路)に関わる遺伝子異常が起こっていることが報告され(Eleveld TF et al. Nat Genet, 2015), 我々やその他のグループによつて本経路の亢進した神経芽腫に対するTrametinibやCobimetinibといったMEK阻害剤の <i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> の治療効果が報告されている。</p> <p>しかしながら、我々の先行研究における <i>in vivo</i> の予備実験では、腫瘍サイズが大きくなつてから投与開始しても抗腫瘍効果が得られないことが確認され、臨床応用する際には、現行の治療などによる腫瘍サイズの縮小後あるいは切除後に再発予防として用いることが望ましいと考えられた。</p> <p>そこで、今回申請する研究においては、微小残存病変モデルを作成し、一般的なxenograftモデル(primary tumorモデル)とのMEK阻害剤の治療効果の違いを解析し、より適切なMEK阻害剤投与開始時期の設定を目指す。</p>		

研究の背景	<p>我々の先行研究において、神経芽腫xenograft modelに対してMEK阻害剤が抗腫瘍効果を示すことを報告している。しかし、これまで報告してきた腫瘍モデルはあくまでprimary tumorを反映したモデルに過ぎず、神経芽腫で予後不良とされている高リスク群や再発神経芽腫を対象とした実験モデルとは乖離がある。</p> <p>Jacksonらは、マウスの腎上極に神経芽腫細胞を移植したxenograftにおいて腫瘍全摘後に微小残存病変が存在し、後に再発を来すことを報告している。このような微小残存病変モデルでは、一般的なxenograftモデルよりも実臨床におけるMEK阻害剤の治療ターゲットに即した観察が可能と考えられる。</p>
研究手法	<p>ホタルルシフェラーゼ遺伝子を導入した神経芽腫細胞株SK-N-ASをヌードマウスの左腎上極に移植した後、2週間後に腎摘出術を行い、IVISイメージングシステムを用いてその後の経過を観察した。</p>
	<p>腎摘出時には腫瘍の検出がほぼできなかつたが、時間経過とともに腫瘍が局所再発し、リンパ節転移や肺転移を來したものも認められた。以上のことより、神経芽腫細胞株を用いて微小残存病変モデルマウスを作成し得た。現在はこのモデルマウスにMEK阻害剤であるTrametinibの投与を腎摘出術後2日目から行い、腫瘍の局所再発や転移などがないかIVISイメージングシステムを用いて経過観察中である。</p>
研究の成果 (実現できた研究の質の向上又は地域振興の内容等)	 <p>腎摘直前 腎摘当日 1週間後 2週間後 3週間後</p> <p>図1:微小残存病変モデルマウスのIVISイメージングシステムでの経過観察 (Trametinib非投与)</p>

	 <p>図2：微小残存病変モデルマウスの肺転移（左）および縦隔リンパ節転移（右）（H&E染色）</p>
今後の期待	実臨床に則したモデルであり、初回手術後に微小残存病変から再発をきたす経過を継時的に捉えることができた。今後、MEK阻害剤投与の効果判定をおこなっていくことで、手術後の補助療法としての位置付けで、MEK阻害剤が微小残存病変に対して治療効果を発揮するかどうか検証していきたいと考えている。
研究発表 (注3)	2018/11/14 日本小児血液・がん学会@京都

注1 「研究のキーワード」欄には、ホームページ閲覧者が、研究内容のイメージをつかめるように、キーワードとなる用語を3個から5個程度、記述すること。

注2 「研究の概要」欄には、ホームページ閲覧者の理解の助けとなるように、写真、表、グラフ、図などを用いて、作成すること。

注3 「研究発表」欄には、論文、学会発表、ニュース・リリース等について記述すること。

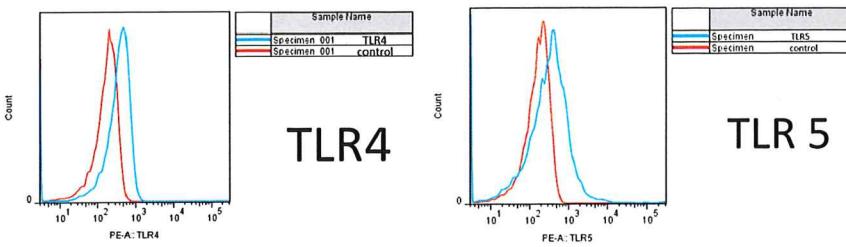
注4 研究成果が「知的財産」の発明に該当する場合は、ホームページでの公表により、新規性の喪失となるため注意すること。

注5 本書は、A4サイズ3ページ以内とすること。

様式 4

京都府公立大学法人若手研究者・地域未来づくり支援事業研究成果報告書 (ホームページ用)

	(所 属)	(職名・学年)	(氏 名)
研究者 (研究代表者)	京都府立医科大学大学院 医学研究科泌尿器外科学	大学院生 博士課程・2年	宮下 雅亜
研究の名称	Toll 様受容体刺激による $\gamma\delta$ T 細胞の活性化及び泌尿器がんに対する抗腫瘍効果の検討		
研究の キーワード	泌尿器がん、免疫療法 $\gamma\delta$ T 細胞、Toll 様受容体		
研究の概要	<p>当教室ではこれまで泌尿器がんに対する自然免疫担当細胞、$\gamma\delta$T細胞による新規免疫療法の可能性を示してきた。今回、さらに$\gamma\delta$T 細胞を活性化させ、抗腫瘍効果を増強させる因子としてToll様受容体 (Toll-like receptor : TLR) に注目した。TLR はウイルスや細菌の構成成分を認識し、I型インターフェロン (IFN) や炎症性サイトカイン産生を誘導することで、自然免疫において重要な役割を果たしている。従来TLR を介する刺激は、樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞に作用し、その効果を発揮するとされていたが、近年細胞障害性T 細胞やナチュラルキラー細胞に対しても直接的に作用し活性化させることが報告されている。上記を踏まえ、ヒト末梢血から <i>ex vivo</i> 培養するTLR を刺激し得られる$\gamma\delta$T 細胞の活性化および泌尿器がんに対する抗腫瘍効果を検討する目的に本研究を実施した。</p>		

研究の背景	<p>これまで、転移性泌尿器がんに対する治療として、抗癌剤治療や分子標的治療が確立されてきたが、いずれも効果が十分とはいえず、また一部の治療では重篤な有害事象が出現する危険性も問題とされている。これらのことから転移性泌尿器がんに対するより安全で確実な治療法の開発は急務の課題であり、近年泌尿器がんに対する自然免疫担当細胞、$\gamma\delta$T細胞による新規免疫療法の可能性を示してきた。今回、免疫賦活効果が報告されている Toll 様受容体 (TLR ; Toll-like Receptor) 刺激による $\gamma\delta$T 細胞の活性化及び抗腫瘍効果の増強効果について検討した。</p>
研究手法	<p>① $\gamma\delta$T 細胞の <i>ex vivo</i> 培養 ヒト末梢血から末梢血単核球を分取、ゾレドロン酸 (ZOL ; Zoledronic acid) 処置ののち IL-2 存在下で11日間培養し $\gamma\delta$T 細胞を採取する。</p> <p>② $\gamma\delta$T 細胞における各種TLR 発現の確認 ①の方法で得られた $\gamma\delta$T 細胞における TLR2, 4, 5 の発現を、フローサイトメトリー法 (FCM ; flow cytometry) で確認する。</p> <p>③ TLR リガンドが $\gamma\delta$T 細胞に及ぼす影響の検討 ①と同様の方法で末梢血単核球を培養開始し、培養9日目で TLR リガンドを培養液中に添加。11日目に細胞を回収し FCM を用いて $\gamma\delta$T 細胞分画の割合を通常培養時と比較し検討する。</p> <p>④ TLR 刺激が及ぼす $\gamma\delta$T 細胞の抗腫瘍効果への影響を検討 CFSE 染色で標識した前立腺がん細胞株に ZOL を前処置したうえで、③ の培養方法で得た $\gamma\delta$T 細胞を共培養、PI 染色による細胞死評価を FCM を用いて行い、通常培養で得た $\gamma\delta$T 細胞での場合と比較検討する。</p>
研究の成果 (実現できた研究の質の向上又は地域振興の内容等)	<p>① $\gamma\delta$T 細胞の <i>ex vivo</i> 培養 研究手法①で示した方法を用いることで、$\gamma\delta$T 細胞を CD3 陽性・TCR$\gamma\delta$ 陽性細胞として採取することができ、約2400倍に大幅増幅された。</p> <p>② $\gamma\delta$T 細胞における各種TLR 発現の確認 <i>ex vivo</i> 培養した $\gamma\delta$T 細胞における TLR の発現をフローサイトメトリー (FCM ; Flow cytometry) で検討した。結果、TLR4 と TLR5 が軽度発現していた。</p> 

	<p>③ TLR リガンドが$\gamma\delta$T 細胞に及ぼす影響の検討</p> <p>$\gamma\delta$T 細胞の <i>ex vivo</i> 培養時に TLR4 ならびに TLR5 のリガンドである LPS (Lipopolysaccharide)、および Flagellin を <i>ex vivo</i> 培養時に添加し培養効率の変化を検討した。結果、TLR リガンドの添加によっても培養効率の変化は認められなかった。</p> <p>④ ③の培養方法で作製した$\gamma\delta$T 細胞を用いて前立腺がん細胞に対する抗腫瘍効果を検討した。結果、従来の <i>ex vivo</i> 培養方法で得た$\gamma\delta$T 細胞と、抗腫瘍効果に変化は認められなかった。</p> <p>以上より、今回は免疫賦活効果が報告されている Toll 様受容体刺激は$\gamma\delta$T 細胞の活性化及び抗腫瘍効果の増強効果に影響を与えない、という結果であった。しかし、この研究過程における様々な評価系 (FCM により$\gamma\delta$T 細胞の表面受容体を探索する、$\gamma\delta$T 細胞に特定のリガンドを作用させたうえでがん細胞に対する抗腫瘍効果を検討する、など) の確立は今後の更なる$\gamma\delta$T 細胞による新規免疫療法に関する研究の質向上に大きく貢献したと思われる。</p>																																																																							
今後の期待	<p>今回、Toll 様受容体刺激による$\gamma\delta$T 細胞の抗腫瘍効果増強は認められなかつたが、本研究の過程で ZOL を併用することで様々な前立腺がん細胞株に対する$\gamma\delta$T 細胞の抗腫瘍効果が確認できた。</p> <table border="1"> <caption>Data extracted from the bar chart showing Cytotoxicity (%) vs E/T ratio for each cell line under ZOL(-) and ZOL(+) conditions.</caption> <thead> <tr> <th rowspan="2">Cell Line</th> <th rowspan="2">E/T ratio</th> <th colspan="2">Cytotoxicity (%)</th> </tr> <tr> <th>ZOL(-)</th> <th>ZOL(+)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="4">LNCaP</td> <td>0</td> <td>~5</td> <td>~5</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>~10</td> <td>~50***</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>~15</td> <td>~85***</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>~20</td> <td>~85***</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">C4-2</td> <td>0</td> <td>~5</td> <td>~5</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>~10</td> <td>~55***</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>~15</td> <td>~80***</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>~25</td> <td>~85***</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">C4-2B</td> <td>0</td> <td>~10</td> <td>~10</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>~15</td> <td>~50***</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>~15</td> <td>~80***</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>~25</td> <td>~80***</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">PC3</td> <td>0</td> <td>~5</td> <td>~5</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>~5</td> <td>~15***</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>~10</td> <td>~75***</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>~10</td> <td>~85***</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">DU145</td> <td>0</td> <td>~5</td> <td>~5</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>~5</td> <td>~10***</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>~5</td> <td>~30***</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>~5</td> <td>~40***</td> </tr> </tbody> </table> <p>ns : not significant ***P < 0.001</p>	Cell Line	E/T ratio	Cytotoxicity (%)		ZOL(-)	ZOL(+)	LNCaP	0	~5	~5	1	~10	~50***	10	~15	~85***	20	~20	~85***	C4-2	0	~5	~5	1	~10	~55***	10	~15	~80***	20	~25	~85***	C4-2B	0	~10	~10	1	~15	~50***	10	~15	~80***	20	~25	~80***	PC3	0	~5	~5	1	~5	~15***	10	~10	~75***	20	~10	~85***	DU145	0	~5	~5	1	~5	~10***	10	~5	~30***	20	~5	~40***
Cell Line	E/T ratio			Cytotoxicity (%)																																																																				
		ZOL(-)	ZOL(+)																																																																					
LNCaP	0	~5	~5																																																																					
	1	~10	~50***																																																																					
	10	~15	~85***																																																																					
	20	~20	~85***																																																																					
C4-2	0	~5	~5																																																																					
	1	~10	~55***																																																																					
	10	~15	~80***																																																																					
	20	~25	~85***																																																																					
C4-2B	0	~10	~10																																																																					
	1	~15	~50***																																																																					
	10	~15	~80***																																																																					
	20	~25	~80***																																																																					
PC3	0	~5	~5																																																																					
	1	~5	~15***																																																																					
	10	~10	~75***																																																																					
	20	~10	~85***																																																																					
DU145	0	~5	~5																																																																					
	1	~5	~10***																																																																					
	10	~5	~30***																																																																					
	20	~5	~40***																																																																					
研究発表	特になし																																																																							