

平成21年度共同研究結果報告書

学校法人 順正学園
九州保健福祉大学

学校法人 順正学園

建学の理念

学生一人ひとりのもつ能力を最大限に
引き出し引き伸ばし、社会に有為な
人材を養成する。

加野



共同研究結果報告書に寄せて

「研究者の個性」と「研究の成り行き」

学 長 和田 明彦

「研究」には、「疫学研究」もあれば、「細胞レベルの研究」もある。1937年ノーベル医学・生理学賞に輝いたアルバート・セント・ジェルジは、「発見とは、万人の目に映るものを見て、誰も考えなかったことを考えることである」との名言を遺した。ルイ・パスツールも、「偶然は、準備のできていない人を、助けない」「観察の場では、幸運は、待ち受ける心構え次第である」と表現した。

ジョン・スノウは、1848年、ロンドン市街に下水道を整備することをビクトリア女王に提言、コレラの蔓延を防止、公衆衛生学の父と評されている。当時、コレラは、空気感染すると信じられていた。スノウは、コレラ患者発生地域とテムズ川からの特定の水道会社の給水地域が一致することを発見、コレラの経口感染説を証明した。ロバート・コッホが、コレラ菌を発見する（1883年）よりも、30年前の快挙であった。スノウは、1853年、ビクトリア女王のクロロホルムによる無痛分娩を成功させた世界初の麻酔科専門医でもある。

明治16年、軍艦「龍驤」は太平洋横断の練習航海に出た。乗員378名は、和食・白米、脚気患者169名、死亡23名、「患者多し、航海できぬ、金送れ」、ハワイで1ヶ月静養し帰国した。海軍軍医総監・高木 兼寛は、「脚気の栄養説」を予見した。翌明治17年、明治天皇に上奏し、軍艦「筑波」に洋食を搭載、「龍驤」と同じ航路の航海、乗員333名は「病者一人もなし、安心あれ」、無事帰国した。陸軍軍医総監・森 鷗外、日本政府は、「脚気の伝染病説」、東京帝国大学は、「脚気菌」を発見と報告した。明治27年、日清戦争、陸軍では、脚気死者3944名（戦死・戦傷者の3倍）、明治37年、日露戦争、陸軍では、脚気死者27000名（戦死者の半分）という悲惨な状況を露呈した。海軍は、脚気を予防し、東郷 平八郎はバルチック艦隊を日本海海戦で撃破した。

不思議なことに、高木 兼寛は、「脚気の栄養説」を証明したが、それ以上、深く病因を追求せず、「疫学研究」に留まった。明治43年、鈴木 梅太郎は、脚気の予防成分に興味を抱き、米ぬかから「オリザニン（ビタミン B1）」を分離するも、日本医学界から排撃された。精白米と脚気の因果関係を明らかにしたオランダ人エイクマンと微量必須栄養素の存在を予見したイギリス人ホプキンスが、1929（昭和4）年、ノーベル医学・生理学賞に輝いた。1943（昭和18）年、鈴木 梅太郎は、文化勲章を授与した。

「研究」の世界は、客観的であるが、「研究者」「研究の成り行き」は、驚く程、個性的である。

目 次

共同研究結果報告書に寄せて

学 長 和田 明彦

共同研究結果報告

- ①高齢者のQOL向上に向けた福祉のまちづくりに関する研究
社会福祉学部 臨床福祉学科 三宮 基裕 他 . . . 1
- ②本学の自殺予防に関する教育研究
社会福祉学部 子ども保育福祉学科 加藤 由美 他 . . . 3
- ③高齢者に対する園芸療法が脳波および心身機能に及ぼす影響に関する基礎研究
保健科学部 作業療法学科 小浦 誠吾 他 . . . 5
- ④汎用的技能の向上を目指す協働型実習の構築に関する研究
保健科学部 言語聴覚療法学科 原 修一 他 . . . 7
- ⑤ストレス―ストレス反応過程に影響を与える個人的要因とストレス反応の
心理学・生理学的評価についての研究
保健科学部 臨床工学科 梶原 佳子 他 . . . 9
- ⑥虚血性急性腎不全時におけるnestin陽性細胞の動態に対する交感神経の関与
保健科学部 臨床工学科 近藤 照義 他 . . . 11
- ⑦糖尿病患者のバイパス血管におけるセロトニン反応性増大メカニズムの解明
薬学部 薬学科 山本 隆一 他 . . . 13
- ⑧プリオン蛋白のコンフォメーション変化と神経毒性に及ぼす金属の影響
薬学部 薬学科 川原 正博 他 . . . 15
- ⑨1, 3 双極子環化反応を用いるClausenamide類の合成研究
薬学部 薬学科 鳥や尾 篤 他 . . . 17
- ⑩新規酸化ストレス測定システムを用いた動脈硬化症患者の血管内皮障害の検討
薬学部 薬学科 佐藤 圭創 他 . . . 19
- ⑪宮崎県地域特産品柑橘類由来成分による炎症制御を標的とするメタボリック
シンドローム予防・改善法開発
薬学部 薬学科 吉田 裕樹 他 . . . 21
- ⑫オルソゴナルグリコシル化法による新規分子ツールの創製
薬学部 薬学科 大塚 功 他 . . . 23
- ⑬大麻主成分テトラヒドロカンナビノール(THC)、カンナビジオール(CBD)
およびカンナビノール(CBN)代謝における内分泌攪乱作用に関する研究
薬学部 薬学科 山本 郁男 他 . . . 25
- ⑭ウィルス感染マウスにおいて酸化チタン暴露により特異的に影響を受ける
疾患関連因子の探索
薬学部 動物生命薬科学科 渡辺 渡 他 . . . 27
- ⑮新しいヒトナイーブTリンパ球(CD4+CD45RA+CD93+細胞)の
同定と臨床検査への応用
薬学部 動物生命薬科学科 池脇 信直 他 . . . 29

編集後記

「高齢者の QOL 向上に向けた福祉のまちづくりに関する研究」

三宮 基裕¹⁾, 井上 孝徳¹⁾, 川崎 順子²⁾

1) 九州保健福祉大学・社会福祉学部・臨床福祉学科

2) 九州保健福祉大学・社会福祉学部・スポーツ健康福祉学科

1. はじめに

これまでの福祉のまちづくりは、バリアフリーのようなハード面と福祉サービスなどのソフト面がそれぞれのアプローチで進められてきた。しかし QOL の維持・向上の視点に立てば、これらは一体的に進めることでより効果を発揮するものである。超高齢社会を向かえ、本格的に福祉のまちづくりに取り組んでいく必要がある今日、高齢者の QOL 向上にむけた福祉のまちづくりの方策を見出すことは急務の課題である。

本研究は、高齢化の進展が著しい中山間農村地域に居住する単身高齢者を対象に、地域生活として外出行動に注目してその実態を明らかにし、高齢者の QOL 評価と関係づけ、外出行動の特徴から QOL を高める要件を抽出することで、高齢者の QOL 向上に向けた福祉のまちづくりの課題を明らかにすることを目的とする。

2. 研究方法

宮崎県美郷町 A 区に居住する単身高齢者の家庭を訪問し、地域生活についてのヒアリング調査を実施した。調査項目は、①基本属性(性別・年齢・就業状況・移動手段など)②家族関係(子どもや親族との付き合い)③外出行動(目的・頻度・移動手段など)④交流関係(訪問・来訪の状況)⑤緊急時の対応(生活の不安・緊急連絡先)である。

あわせて WHO QOL26 の質問紙を用いて QOL 評価を行った。ただし、研究の趣旨を勘案し、Q11、Q17、Q21、Q26 を除く 22 項目について回答を得た。

対象者は、自力での外出が可能であることを

条件として、A 地区の社会福祉協議会に選定していただいた。

調査時期は 2009 年 12 月から翌年 2 月である。

3. 結果

1) 調査対象者の概要

調査対象者数は、男性 5 名、女性 14 名の計 19 名である。

平均年齢は、男性 79.0 歳、女性 76.3 歳で男性がやや高く、全体では 77.0 歳であった。

就業(収入を得ている仕事)をしているのは 12 名で、業種は農業が 10 名(うち全委託 2 名、一部委託 4 名)、山仕事が 1 名、小売業が 1 名で、7 名は無職である。

身体状況は全く問題のない者は 5 名で、14 名は、足元不安定のほか、股関節や膝関節痛、糖尿病など何らかの問題を抱えている。

普段の移動においては 10 名が福祉用具を使用しており、杖やシルバーカーが主である。

2) 外出時の移動手段

外出の移動手段では、自動車を運転するのは 3 名、バイクは 1 名で、15 名は徒歩である。

公共交通機関の利用は、タクシー利用が 7 名、コミュニティバス利用が 5 名で、路線バスを利用するのは 1 名のみであった。

送迎してもらっているのは 10 名で、子どもや親族のほか、地域住民に頼む者もいる。

3) QOL 評価

図 1 は、QOL 評価の各質問項目について、全対象者の平均点(各問とも 5 段階評価で最低 1 点最高 5 点として平均点を算出)を示したものである。

評価が最も高いのは Q15(外出する程度)の 4.74 であり、次いで Q22(友人の支え) 4.53、Q20(人間関係の満足度)・Q9(生活環境の健康度) 4.21 であった。

一方、評価が最も低いのは Q25(交通便の満足度) 2.74 で、Q4(医療の必要度) 3.16、Q12(現金資産の所有) 3.26 と続く。

WHO QOL26 では、全 26 の質問項目の性質から「I 身体的領域」「II 心理的領域」「III 社会的関係」「IV 環境」「全体」の 5 つの領域に各質問項目を整理している。この領域ごとの平均点をみると、最も高いのは III 社会的関係(4.37)で、最も低いのは全体(3.58)であった。

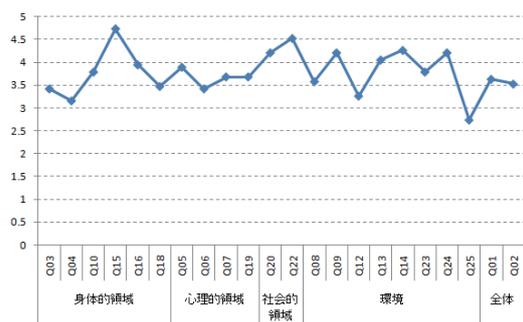


図1 QOL評価点 (平均)

4) QOL 評価によるクラスタ分析

各調査対象者について、前述の5つの領域の平均点を用いてクラスタ分析を行うことで、QOL 評価に特徴のあるグループの抽出を試みた。分析には PASW Statics 18 を用いた。

Ward 法によるクラスタ分析の結果、3つのクラスタを得ることができた。それぞれのグループについて5領域の平均点をみると、【グループ1】はすべての領域で平均点が高く、逆に【グループ3】はすべての領域で平均点が低かった。また、【グループ2】はI身体的領域とIII社会的関係の評価が高いが、おおむね1と3の中間的なグループであった。

5) 外出行動の特徴

(1) 外出目的と頻度

外出の目的には、多くの対象者に共通するものとして、買い物、金融などの諸手続き、通院、交流活動があり、人により異なる外出としてサロン活動やクラブ活動、ボランティア活動などがある。

買い物や交流活動は月に3・4度以上の比較的頻度の高い行動で、通院や諸手続きは月に1・2度程度の頻度の低い活動である。

サロン活動や地区活動も月に1・2度程度が多くなっている。

(2) グループでみた外出行動の特徴

表1はすべての対象者について外出目的ごとにその頻度を示したものである。

グループをまとまりとして概観すると、買い物や諸手続き、通院、交流活動はグループ間に差は見られないが、差が認められるのはサロン活動や地区活動などで、QOL 評価の高い【グループ1】に属する者に多くみられる。また、QOL 評価の低い【グループ3】は総じて外出の目的が少なく、その頻度も低くなっている。

表1 外出目的と頻度

グループ	ID	買い物	手続き	通院	農作業	家屋等の管理	交流活動	サロン活動	クラブ活動	生産活動	地区活動	地区の行事	ボランティア活動	温泉	趣味活動
1	1.1	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	1.2	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	1.4	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	1.5	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	1.8	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	1.9	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	1.16	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
2	2.3	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	2.12	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	2.15	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	2.18	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	2.19	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	2.7	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	2.11	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
3	3.10	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	3.14	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	3.17	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						
	3.17	◎	○	△	◎	◎	◎	○	◎						

【凡例: ● 週に3度以上, ◎ 月に3-4度以上, ○ 月に1-2度以上, △ 月に1回未満】

4. 考察

以上より、中山間農村地域に居住する高齢者には QOL 評価の高い者と低い者が存在し、QOL に高評価を与える要件として、多様な外出目的とその頻度があり、低評価を与える要件として交通環境と経済力があると推察される。

中山間地域では高齢化が進み公共交通手段も縮減され、身体的な何らかの問題を抱える高齢者にとって自動車などの徒歩圏外への移動手段を持ちえない場合はその活動範囲が制限され、その結果、外出目的やその頻度が減り QOL の低下につながるものと考えられる。

子どもや地域住民に送迎を頼む者もいるが、仕事をしている子どもへの気遣いや、たびたびの住民への依頼に気兼ねをする意見も聞かれ外出を控える方もおられた。一方で公共交通機関は時間的に限定されるだけでなく金銭的にも余裕がなく利用が控えられている。そのため、外出は通院などどうしても必要な場合にまとめて用事を済ませるといった、非常に限定されたものとなっている。

したがって、高齢者の QOL 向上に向けた福祉のまちづくりにおいて、経済的に安価で時間的にも融通の利く交通システムの確立と生活行動圏内での多様な外出機会の提供が必要である。

調査に協力いただいた、A 地区の社会福祉協議会ならびに調査対象者に深謝いたします。

本研究は文科省科研費平成 21 年度若手研究 (B)「農村高齢者の QOL 向上に向けた福祉のまちづくり計画に関する研究」(課題番号: 20234567) の一部として実施した。

本学の自殺予防に関する 教育研究

加藤 由美¹ 下津 咲絵¹ 加藤 雅彦²
倉内 紀子³
九州保健福祉大学

- 1 社会福祉学部・子ども保育福祉学科
- 2 薬学部・動物生命薬科学科
- 3 保健科学部・言語聴覚療法学科

研究目的

日本の自殺死亡率（人口 10 万人当たりの自殺者数）は、平成 18 年は 23.7 であり、比較的高い水準にある¹⁾。都道府県別自殺死亡率で、宮崎県は、平成 19 年が 34.6 で第 2 位、平成 20 年が 32.1 で第 4 位と高率である¹⁾。一方、大学における自殺予防教育の実践報告は稀有である。よって、本学において自殺予防教育を試みた。死にたいほどの困難時における生き方、すなわち強いストレスへの対処法に関し、ゲストに語っていただき、学生自身の中にある生きる強さについて自ら気付かせることを教育の目的とし、この教育を評価した。

研究方法

保健科学部全学科および薬学部動物生命薬科学科において配置されている平成 21 年度 1 年次後期「エンカレッジ教育」（2 単位 30 時間 15 回）において、困難時のストレス対処法を提示し学生に考えさせる自殺予防教育を表 1 のとお

表 1 自殺予防教育の授業

授業	内容	回数
①	自殺予防の概説	1
②	ゲスト 6 名によるストレス対処法の提示	5
③	②に関する班内レポートの作成、提出	5
④	③の発表、意見交換、レポートの作成、提出	3
⑤	最終回（15 回目）：全体のまとめ	1

り行った。ゲストは、地元県会議員、地元消防署長、地元大企業部長、地元神楽会会員、本学理事長および同学長とした。受講学生全 33 名

は、1 班 6 または 7 人の全 5 班に分けられた。1 回の②の次に③ 1 回を行った。②、③の組み合わせを数回行った後、他班の学生の意見を知る目的で④を行った。レポートの様式は、次のとおりとした。

〈様式 1〉ゲストはどう乗り越えたか？（③で作成・提出）

ゲストの困難（ストレス）※	ゲストの乗り越え方
1. . . .	1. . . .

※ 様式 2 の※と同じである。

〈様式 2〉ゲストと同じ局面で、自分や班員はどう乗り越えようとするか？（③で作成・提出）

ゲストの困難（ストレス）※	自分の乗り越え方
1. . . .	1. A さん B さん

※ 様式 1 の※と同じである。

〈様式 3〉感想など（③および⑤で作成・提出）

1. . . .
2. . . .

〈様式 4〉他班の様式 2 に対する意見（④で作成・提出）

（ゲスト名）班名、方法番号	意見
（〇〇さん）〇班の方法〇

第 1 回授業と最終授業において、受講学生を対象に、神村らによって作成されたストレス対処方法を測定する質問紙 Tri-axial Coping Scale (TAC-24)²⁾ による調査を実施し、同様に実施した対照群（未受講の 1 年生 91 名）との比較により達成度を評価した。

最終授業において、受講学生を対象に、本学授業評価としての「授業アンケート」を実施した。大学共通 14 問および筆者が独自に加えた 2 問、全 16 問とし、各問 5 点満点とした。共通 14 問については、平成 21 年度後期の全学 255 科目の「授業アンケート」と比較した。

結果

様式 2 右欄「自分の乗り越え方」の全回答数は、71 であり、1 班平均 14.2 であった。この全回答のうち、「後追いつく」、「遺書を書く」、

「死ぬ方法を考える」等、自殺または自殺の準備と認められる回答が6あった。

最終授業で提出された様式3「感想など」の全回答数は、31であり、「知らなかった様々な生き方を知った」に相当する回答が8であり、最多であった。

様式4「他班の様式2に対する意見」は、全26あり、そのうち、様式2で回答された自殺の準備に対する反論、すなわち「自殺の準備は困難を乗り越える方法ではない」に相当する意見が5みられた。なお、この反論は、④で口頭発表された。

TAC-24の回収率は、受講学生が87.9% (29/33)、未受講の学生が96.7%(88/91)であった。介入群(受講学生)と対照群(未受講の学生)について、授業前後のTAC-24各因子の平均値と標準偏差、分散分析の結果は、表2のとおりであり、授業前後でTAC-24の5因子について、5%および10%水準で全て有意差がなかった。

表2 教育前後のTAC-24各因子の平均値、標準偏差および分散分析の結果

因子	群	実施前		実施後		交互作用
		平均	標準偏差	平均	標準偏差	
情報収集	対照群	10.49	2.80	11.14	2.74	n.s.
	介入群	8.93	2.55	9.41	2.61	
肯定的解釈	対照群	10.48	2.55	11.06	2.72	n.s.
	介入群	10.14	2.55	10.10	2.37	
回避的思考	対照群	8.96	2.52	8.73	2.66	n.s.
	介入群	9.07	2.37	9.66	2.73	
気晴らし	対照群	10.61	2.94	10.98	2.81	n.s.
	介入群	8.90	3.05	9.62	2.53	
カタルシス	対照群	10.46	3.00	11.30	2.62	n.s.
	介入群	10.31	2.35	10.45	2.53	

「授業アンケート」の回収率は、87.9% (29/33)であった。第5問「教員の話し方は分かりやすかったか？」が4.3点、および第10問「授業内容はシラバスの到達目標(この教育の目的)に達したか？」が4.4点であり、平成21年度後期全学より5%水準で有意に高かった。第15問「様々な分野の方々の話を聞いて良かったか？」は、平均4.6点であり、全16項目中、最高点であった。第16問「未受講の学生の受講を勧めたいか？」は、平均が3.6点であ

った。

考察

様式2で求めた「自分の乗り越え方」は、1班6または7人であることを考えると、おおむね1人2つ以上回答しており、授業中にテーマについて考えた学生が多かったと推測している。

自殺の準備に対する反論や「授業アンケート」第10問の高得点から、学生自身が自己の強さや弱さに気付く機会を与えられ、教育目的が果たされたことが示唆された。

様式3における「知らなかった様々な生き方を知った」との感想や「授業アンケート」第15問の高得点から、年配者によって語られた経験が学生に受け入れられたと考えている。

TAC-24の結果から、強いストレスを回避する力を養う段階までは至らなかった。ストレス回避能力や自殺を予防する自己能力を育成することに即効性を求めることは困難であると思料している。

受講学生は、卒業後、医療機関におけるコメディカル・スタッフや動物病院でペットロスを扱う者となり、自殺予防やストレス回避法をクライアントに伝達する立場となる。したがって、「授業アンケート」第16問における低得点の理由については、今後調査し、自殺予防教育を伝達教育とする可能性について検討する必要性を感じる。

この自殺予防教育は、勇気あるゲスト6名によるストレス対処法の提示により、学生自身に自分の強さや弱さに気付く機会を与えることができ、教育目的の達成が示唆された。

謝辞

貴重なお話を賜りました6名のゲストの皆様方に、心より感謝申し上げます。

文献

- 1) 厚生労働省：人口動態統計年報 主要統計表(最新データ、年次推移). 2010年1月.
<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/suii06/index.html>
- 2) 神村栄一他：対処法略の三次元モデルの検討と新しい尺度(TAC-24)の作成, 筑波教育相談研究, 33. 1995年

高齢者に対する園芸療法が脳波および心身機能に及ぼす影響に関する基礎研究

小浦誠吾¹⁾, Steven Snyder²⁾, 金子芳一³⁾, 内川義和⁴⁾, 小川敬之¹⁾, 押川武志¹⁾

¹⁾九州保健福祉大学保健科学部作業療法学科

²⁾九州保健福祉大学社会福祉学部臨床福祉学科

³⁾九州保健福祉大学保健科学部臨床工学科

⁴⁾九州保健福祉大学保健科学部視機能療法学科

研究目的

園芸療法は、多くの高齢者になじみのある作業活動であり、安心して継続的に「おだやかな生命」を感じることができる唯一の療法とされる。園芸療法で期待される多面的な効用には、屋外に出て新鮮な外気を吸うなど、ただその場にいたり参加するだけでもそれなりの効用が期待できる。

しかしながら、レクリエーションとしての活動ではなく、心身のリハビリテーションとして実施する場合は、それなりの効用では不十分である。参加するだけで得られる効用に加えて、病気や症状および上肢の動きや関節の可動域 (ROM) 訓練などの専門的知識や臨床経験による経験知を有した作業療法士が、作業療法の技法として活用することで、多様なゴールを目指すアクティビティとして有用性が高まる。

そこで、園芸療法で実施する園芸活動が脳波など機能的・精神的・心理的及びシーティング状況変化など身体的にどのような影響を及ぼすのかを検証し、基礎データの確立を目指した。

研究方法

本学作業療法学科学生 16 名 (男性 8 名, 女子 8 名 平均年齢 22.12±2.68 歳) を対象に行った。研究に用いる作業は①園芸で使用する混合土を作る意味のある作業 (以下 S: Soil stir), ②乾いたタオルを使用した人工的なワイピング動作 (以下 W: Waiping), ③意味のない摩擦の少ない軽量アイロンかけ運動 (以下 I: Iron) を行った。

前額面の脳波測定は脳波測定器 (alphatec-IV), 心拍数の測定にはハートレートモニター (Polar RS800CX) 客観的なストレス値の測定には酵素分析装置 (唾液アミラーゼモニター), 各作業の主観的気分は疼痛評価指標である VAS (Visual Analogue Scale), および臀部の接触面積, 座圧, 圧力中心移動の測定は圧分布測定装置 (XSENSOR Technology Corporation 製 X3MEDICAL ver5.0) を用い, それぞれ活動前の評価 (BL) と活動後の評価を行った。

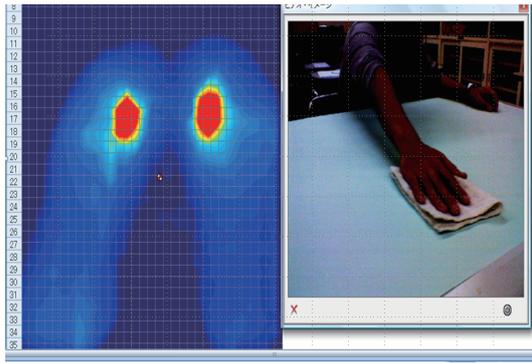
統計方法は, 統計ソフト SPSS による多重検定 (Steel-Dwass) またはスピアマンの相関係数を用いた。



第1図 学生実験写真 ①混合土を作る意味のある作業 (S) 時の被験者 (簡易脳波測定器, 座圧分布計, HR モニター装着)

結果

いずれの活動中においても, 座位時の臀部の全体圧力の中心の移動距離はわずかであり, 各作業間の有意差もみられないことから, 作業中の体幹は全ての作業で安定していた。また, 両臀部の接触面積, 左右臀部の最高圧力, 左臀部および右臀部の圧力の中心の移動距離および接触面積も, 作業間での有意差は認められなかった。しかし, S における右臀部の最高圧力が有意差はないものの活動中に減少する傾向が認められ, 全体の圧力中心は 40% の学生が左に移動する傾向が他の作業よりも強く認められた。つまり, S は他の作業よりも左加重の意識が働いた可能性が示唆され, より大きな面積で作業をしようとした可能性がある。



第2図 PC同時処理時における座圧分布計の測定状況（手の動きと座圧測定がリンクしている状態）

α 波優占率は、Sのみが活動前の基準値（BL）より有意に増加（ $p < 0.05$ ）し、 β 波はBLよりも全ての作業で有意に低下した。 β 波低下の有意水準はIおよびSは5%レベルであったのに対しSのみは1%レベルで低下した（Fig. 3）。活動の慣れによるデータの変動を軽減するために実施した逆の順番での実験においても同様の傾向が認められた。

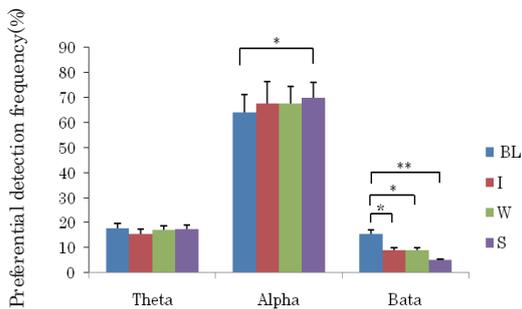


Fig 3 Absolute powers in OTS of three type occupation activity The difference in the alpha and beta band between the groups is statistically significant(Mann-Whitney U-test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

SのVAS(気分)は、Iより有意に高く（ $p < 0.05$ ）、Wとの有意差は認められなかった。活動中の心拍数は、S、W、I間に有意差は認められなかったため、各作業間の負荷は同等であるものと考えられた。また、意味も目的も明確でない作業であるIのみは、活動前より活動中が有意に増加した。

各指標の相関をみると、IおよびWの β 波と唾液アミラーゼなどでやや強い相関がみられた。Sは、 β 波とVAS(気分)においてかなり強い負の相関が認められ、またVAS(気分)と唾液アミラーゼにおいてやや強い正の相関が認められ、 α 波においても他の脳波との弱い負の相関がみられた。

	θ 波	β 波	総 α	VAS	アミラーゼ
θ 波変化%		-0.21	-0.31	0.06	0.26
β 波変化%	-0.21		-0.23	-0.64	-0.06
総 α 波変化%	-0.31	-0.23		0.13	-0.20
VAS変化量	0.06	-0.64	0.13		0.46
アミラーゼ変化量(KU/L)	0.26	-0.06	-0.20	0.46	

第1表 Sにおける各指標の相関

($\pm 0.0 \sim 0.2$: 無相関, $\pm 0.2 \sim 0.4$: やや弱い相関, $\pm 0.4 \sim 0.6$: やや強い相関, $\pm 0.6 \sim 0.8$: かなり強い相関)

考察

Sは意味理解や作業の目的理解が容易であり、作業中に心地よい土の感触を触覚で感じ土の粒子の軌跡を視認することによる成果の確認も得やすいため、IやWと比べて作業に夢中・没頭でき、結果として α 波の増加と β 波の減少を示し、唾液アミラーゼ量の低下とVAS(気分)の爽快感を有意に高めたものと考えられる。これは、意味のある園芸作業は、作業による身体的な疲労への意識よりも、作業を行うことで得られる多面的な効用を得ることが容易な作業であることを示唆するものであろう。園芸など意味・目的が明確な作業活動は、作業自体に興味関心(面白さ)を持ち夢中になりやすく、より明確なリハビリテーションが期待できる技法となるものと期待された。

本研究は、平成21年度学校法人順正学園九州保健福祉大学の学内共同研究費の助成を受け、さらに一部は科学研究費基盤研究(C)平成21-23年度(研究課題番号21500531)の助成を受け、研究を遂行した。

引用文献

- 1) Fisher A: Uniting Practice and Theory in an Occupational Framework, Am F OT. 52(7): 509-521, (1998)
- 2) Toshiyasu Inumaru, Hiroko Kai et al., Muscle coordination of the upper extremity in sanding motion, J. Tsuruma Health Science Society Kanazawa University 31(1). 27-33, (2007)
- 3) 澤田辰則, 建木健, 藤田さより, 松原麻子: 意味のある作業が前頭前野に及ぼす影響. 作業療法. 28(4), 367-375, (2009)

汎用的技能の向上を目指す協働型実習の構築に関する研究

原 修一¹⁾ 立石 修康²⁾ 砂子澤 裕³⁾
九州保健福祉大学・保健科学部
1) 言語聴覚療学科 2) 作業療学科
3) 臨床工学科

はじめに

保健科学部では、「保健科学部カリキュラム検討委員会」を組織し、学部共通の目的を達成するための4学科共通のコミュニケーション・スキルに関する教育システムを検討してきた。中央教育審議会の答申「学士教育の構築に向けて」（文部科学省 2009）では、学生が向上すべき学士力の一つとして、コミュニケーション・スキル、数量的スキル、情報リテラシー、論理的思考力、問題解決力を含む「汎用性のある基礎的な能力（以下汎用的技能）」を提言している。本学部ではこの答申を踏まえ、専門性を他学科へ提供する、他学科から専門的情報を収集して自己の専門性の向上に活かす、模擬症例を通して学科の垣根を越えて学生同士が論議する中で「マルチタスクなコミュニケーション・スキル」を学ぶことの必要性を検討した。そしてこの教育方略として、「コミュニケーション・スキルアップ実習」を平成21年度よりカリキュラムに導入している。

本研究は学科の壁を越えた汎用的技能の向上を目指す本協働型実習を通じ、学生の自己のコミュニケーション・スキル向上への取組に対する主観的自己評価を実施する。そしてその問題点について検討し、教育システムを更に充実させることを目的とする。

研究方法

1. コミュニケーション・スキルアップ実習

対象は、保健科学部2年次生 110名。

4学科学生が混成された小グループ（1グループ約10名）を設定し、4学科の各専門性に関連する課題（例：耳栓を装着し聴覚障害を模擬的に体験する）を実施した。実習の事

前学習として、各学科で課題に関連する障害（例：聴覚障害）の概要や障害により生ずる問題点を学習し、他学科学生に説明が可能となるように資料や器材を準備させた。課題は、各コマで各学科の学生がグループ毎に課題の進行を担当し、障害の体験（全学生）、障害の概要と問題点の説明（各学科担当学生）、体験の中で感じた問題点や対応についての討議（全学生）を行った。その中で本実習は、他学科学生と信頼関係を築き、相手を尊重する態度を示す、協働を促進する態度を示す、自分の役割を果たし協働の相手に貢献する等のパートナーシップの重要性について学ぶことを目標とした（図1）。

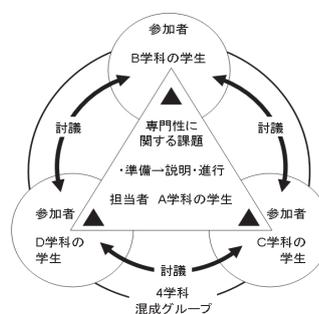


図1 コミュニケーション・スキルアップ実習のスキーマ

2. 評価票を用いた学生の自己の取組に対する主観的自己評価（以下学生評価）

学生評価は、マークシートを用いた評価票を用いた。評価は、5段階の成績評価基準（非常に良くできた～全くできなかった）を多面的に明らかにした、45項目から構成される。（表1）。

評価項目は、実習における役割を勘案し、「説明者としての回答項目」と「被説明者としての回答項目」の2つの大項目を設定した。中項目として、「説明者としての回答項目」では説明のための準備、説明の実施（専門領域の用語を用いずに、わかりやすい話し方で説明できる、相手を励ますことができる等）、質疑応答、課題発見の4項目を設定した。一方「被説明者としての回答項目」では、説明の受講における態度（曖昧な点について質問をする、等）、他職種に対する認識（他職種の専門性に敬意を払う、等）、課題発見に関する項目を設定した。

分析では、「説明者としての回答項目」は、4学科全体における傾向を、「被説明者としての回

答項目」は、実習各コマにおける回答傾向を検討した。

表1 学生評価の評価項目

A.説明者としての回答項目	
説明の準備(4項目)	テキストや用具の準備、説明計画や練習など
説明の実施(15項目)	平易な用語使用や相手の様子を察知すること、臨機応変な対応など
質疑応答(5項目)	質問の要約や応答など
課題発見(2項目)	説明者としての課題と長所
B.被説明者としての回答項目	
説明の受講(8項目)	理解に努めることや合いの手をいれること、質問することなど
他職種の認識(5項目)	他職種への敬意やチーム医療の理解など
課題発見(2項目)	被説明者としての課題と長所
C.共通回答項目	
学究姿勢(4項目)	勉学や専門性に対するモチベーションや学術的課題の認識など

結果

1. コミュニケーション・スキルアップ実習の実施

平成21年6月下旬から7月下旬までに、講義「キャリア教育」内に、5コマ(1コマ90分)を当該実習として設定した。各コマでは、担当学科は表2のようなテーマ・内容を持って実習を実施した。

表2 コミュニケーション・スキルアップ実習の内容

コマ	担当学科	実習課題
1	—	オリエンテーション、準備
2	作業療法学科	片麻痺患者の運動の特徴
3	言語聴覚療法学科	聴覚障害者の聴こえ
4	視機能療法学科	視野障害者の見え方
5	臨床工学科	バイタルサインの測定

2. 学生評価

① 説明者としての学生の評価

「説明の準備」項目では、「必要な図表や用具を準備する」、「事前に練習する」の質問項目において、「非常に良くできた」と回答した者は、それぞれ62名(56.3%)であった。「説明の実施」の質問項目では、「非常に良くできた」と回答した者は、「相手の質問を理解する」(45名, 40.9%)「相手の傾聴に対して敬意を表する」(36名, 32.7%)が多かった。一方、「非常にできなかった」の回答が多かった質問項目は、「他学科のグループメンバーの名前を覚える」(22名, 20.0%)、「不安や自信のなさを表情に出さない」(16名, 14.5%)等であった。「課題発見」の項目では、説明者としての「自分自身の課題を発見する」に「非常に良くできた」と回答した者は

40名(36.3%)であったが「自分自身の長所を発見する」は23名(20.9%)であった。

② 被説明者としての学生の評価

「説明の受講」では、「説明を理解しようと努める」「説明者の努力に敬意を払う」は、「非常に良くできた」に回答する者の割合は各コマにおいて6割から8割であった。しかし、「曖昧な点について質問する」「解らないことを解らないという」等、自ら質問や意見を述べることに関する質問項目は、「非常に良くできた」と回答した者の割合は、全コマで2割以下であった。

「他職種の認識」では、「他職種の専門性に敬意を払う」、「他職種の理解が自らの専門性向上につながることを知る」の質問項目では、「非常に良くできた」と回答した者の割合は、各コマにおいて5割から7割であった。

考察

学生の自己評価では、他学科学生と信頼関係を築き、相手を尊重する態度を示すことや、専門的見地の紹介で、資料を利用しつつ自己の役割を果たし協働の相手に貢献する項目では、肯定的回答をする者の割合は多かった。しかし、説明の際に不安な表情を出さないことや、被説明者として曖昧な内容に対し質問により解決するといったような、コミュニケーション・スキルを自ら具体的に発揮しなければならない場面では、学生の自己評価は低い傾向にあった。

今後の教育システムの課題として、学生評価の項目や実習内容を改訂しつつ、コミュニケーション・スキルを追跡的に評価する。そして評価データを用いて各学生のポートフォリオを構築し、学生がコミュニケーション・スキルにおける長所や短所を知り、かつ学生と教員同士がコミュニケーション・スキル向上のための目標設定を行えるようなシステム作りを行っていくことが考えられる。

文献

・中央教育審議会. 学士課程教育の構築に向けて(答申). 文部科学省, 2009.

ストレスラー-ストレス反応過程に影響を与える個人的要因とストレス反応の心理学的・生理学的評価についての研究

梶原佳子¹⁾ 鶴紀子²⁾

- 1) 九州保健福祉大学・保健科学部・臨床工学科
- 2) 九州保健福祉大学・社会福祉学部・臨床福祉学部

研究目的

ストレス課題負荷に対する自律神経系の反応特性は automatic response specificity とされ個体固有と課題固有のものがある。¹⁾ ストレス状況での生体の反応は自律神経系の活動の変化として把握され交感神経機能の亢進と副交感神経機能の抑制が報告されている。²⁾

自律神経系活動の指標として無侵襲、簡便で有用とされているのが心拍変動(heart rate variability; HRV)と指尖容積脈波(blood volume pulse; BVP)である。心拍変動の解析においては、HRVのパワースペクトルを0.20-0.35Hzの周波数付近にピークを持つ高周波成分(high frequency component; HF)と0.05-0.20Hzにピークを持つ低周波成分(low frequency component; LF)に分離可能である。呼吸変動と関連するHFは副交感神経活動の指標として、圧受容体系と関連するLFは交感神経活動と副交感神経活動を反映することから、LF/HFを交感神経系活動の指標として用いることができる。³⁾ 指尖容積脈波の振幅(BVP amplitude)は末梢血管の収縮を示す脈波であり、交感神経系活動の計測方法の一つである。

本研究では課題によるストレス反応の違いと心理学的指標と生理学的指標の関連を明らかにすることを目的として研究を行った。

研究方法

参加者は心臓血管障害の既往症のない5人で平均年齢は19.2歳(±0.45)であった。参加者に

対しては倫理的配慮として研究の目的と方法、個人情報とプライバシーの保護について説明し文書で同意を得た。

参加者は心理学的指標測定として事前に抑うつ尺度(Self-rating Depression Scale(Z-SDS)⁴⁾、日常いらいらごと尺度(Daily Hassles Scale(DHS)⁵⁾、対処行動尺度 Stress Coping Scale(SCS)⁵⁾、特性不安尺度 State Trait Anxiety-Trait(STAI-T)⁶⁾の評定を行い、試行の前後に状態不安尺度(STAI-S⁶⁾)の評定を行った。

生理学的指標の計測装置として Thought Technology 社製の ProComp Infinity System を用いた。心電図(electrocardiogram; ECG)は標準肢誘導で電極を装着し、指尖容積脈波 blood volume pulse (BVP) は対象者の非利き手の第3指に BVP-Flex/Pro センサを装着し、すべて座位で測定を行った。

参加者に検査の概要を説明し心理学的評定を行った後、機器の装着状態に慣れるため3分間閉眼で安静を保つよう指示した。ストレス負荷課題には日常生活ストレスに近い認知的ストレスとして、スピーチ課題(3分間)、ストループ課題(2分間)、計算課題(1分間×10試行)を行い最後に3分間の閉眼安静時間を保つよう指示した。

解析は、心理学的評価については各尺度の基準に従って得点化を行った。生理学的評価については ProComp Infinity System で BVP の振幅(BVP-amp)、心拍数(HR)、HF成分を前パワ一値の合計(total power)で除した%HF、LF/HFを各課題の最初の1分間とアーチファクト部分を除外した連続する1分間(ストループ課題のみ30秒間)の平均値から算出した。

統計解析は各算出値について BVP-amp、HR、HF、LF/H の生理学的指標について、課題遂行時と課題後の変化については Wilcoxon の符号付順位検定を行った。またこれら各指標と心理学的評定値の相関については Spearman の順位相関係数を用いた。

結果

生理学的指標についてスピーチ、ストループ、計算の各課題遂行時と課題遂行前後の閉眼安静時の変化を Fig. 1 に示した。スピーチ課題時では課題遂行後と比較して有意に HR が上昇し HF が低下していた。

各指標と心理学的評価との関連では、抑うつ

と遂行前のHR($\rho = .98, p < .01$)、スピーチ課題時のHR($\rho = .98, p < .01$)、計算課題時のHR($\rho = .98, p < .01$)、特性不安とスピーチ課題時のHF($\rho = .90, p < .05$)、日常いらいらごと得点とスピーチ課題時のHF($\rho = .98, p < .01$)との間にそれぞれ有意な相関が見られた。心理学的評価間では抑うつと情動的対処行動($\rho = .95, p < .05$)に有意な相関が見られた。

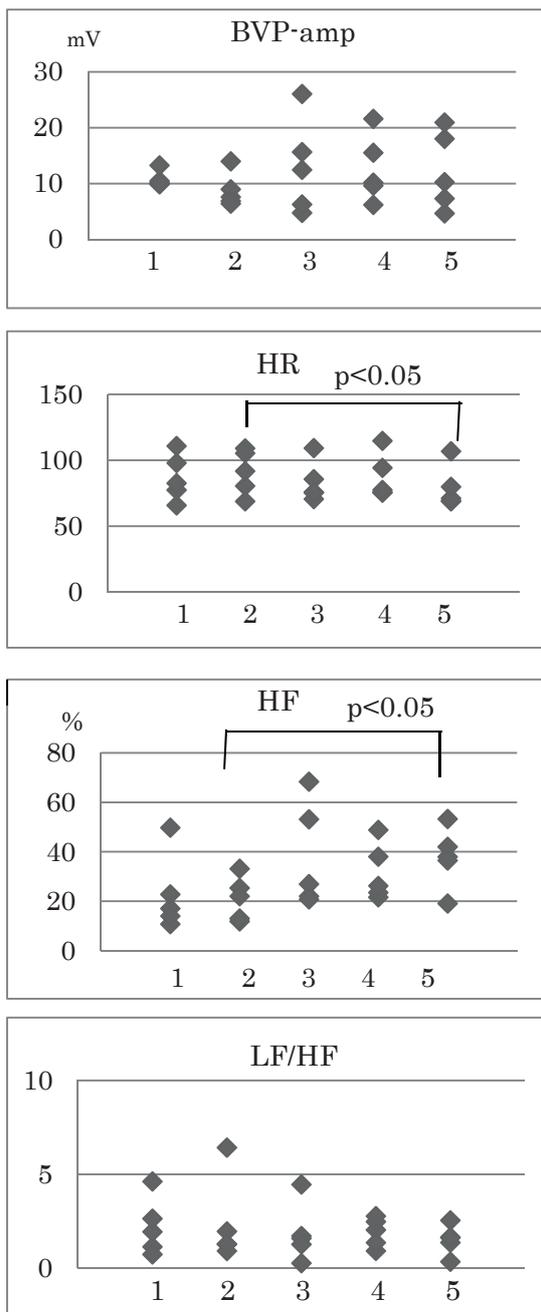


Figure 1 Scattergram to visualize results of the analysis for physiological stress response of each participant. BVP-amp = blood volume

pulse amplitude, HR = heart rate, HF = high frequency, LF/HF = low frequency/ high frequency. 1: pre-task period, 2: during speech task, 3: during stroop task, 4: during calculation task, 5: post-task period.

考察

本研究ではストレス課題負荷に対する生理学的反応と日常的ストレスの心理学的な評価の関連について課題遂行中と遂行後の自律神経系の活動指標の変化を測定し心理学的指標との関連を検討した。ストレス課題についてはスピーチ課題時に心拍数が増加し副交感神経系の活動が低下していた。スピーチ課題は他の課題と比較して対人的緊張を惹起させストレス負荷がより大きいことが示唆された。心理学的指標と生理学的反応の関連においては不安や日常的ストレス評価が副交感神経系の活動を低下させ、抑うつ傾向の低さが複数課題で心拍数の上昇と関連していたことからストレス認知反応の個人差が示唆された。またストレス状況で情動的に対処する傾向が抑うつを高める可能性が推察された。

本研究ではストレス課題とその違いによる生理学的反応と個人的特性との関連が示唆された。今後の課題として対象者を増やすことでより詳細な検討が可能になると考えられる。

引用文献

- 1) Akselrod, S., Gordon, D., Ubel, F. A. et al. 1981 Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: A quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science*, **213**, 220-222.
- 2) Mulder, G. & Mulder, L. J. M. 1981 Information processing and cardiovascular control. *Psychophysiology*, **14**, 392.
- 3) Wenger, M. A., Clemence, T. L., Colman, M. A. et al. 1961 Automatic response specificity. *Psychosomatic medicine*, **23**, 185-193.
- 4) Zung, W. W. 1965 A self-rating depression scale. *Achieves of General Psychiatry*, **12**, 63-70.
- 5) 宗像恒次 1996 最新行動科学からみた健康と病気. メヂカルフレンド社, 260.
- 6) 清水秀美・今栄国晴 1981 STATE-TRAIT ANXIETY INVENTORY の日本語版(大学生用)の作成. *心理学研究*, **54**, 215-221.

虚血性急性腎不全における nestin 陽性細胞の動態に 対する交感神経の関与

近藤 照義¹⁾, 高村 徳人²⁾
九州保健福祉大学・保健科学部・臨床工学科¹⁾,
薬学部・薬学科・臨床薬学第二講座²⁾

研究目的

急性腎不全（急性尿細管壊死）において、皮質と髄質の境界部の尿細管上皮細胞が壊死した後、尿細管の再生が誘起されることが知られている。また、尿細管の再生に組織幹細胞としての性質をもつ数種の細胞が腎臓に存在することが報告されている。それらのひとつの候補として、正常な腎臓髄質の間質に存在する nestin 陽性細胞が注目されている。この細胞は虚血再灌流後、腎乳頭から尿細管上皮細胞の壊死・再生が行われる皮質・髄質境界部へ移動する可能性が示唆されているが、nestin 陽性細胞が尿細管の再生にどのように関与しているのかは不明である。一方、肝臓のグリッソン鞘周囲の結合組織に存在する oval cell は肝細胞と胆管上皮細胞に分化する肝臓の組織幹細胞のひとつであり、oval cell の再生能は交感神経によって調節されていることが明らかにされている。しかしながら、このような神経による再生調節機構が nestin 陽性細胞にも存在するのかは不明である。そこで、本研究では nestin 陽性細胞が組織幹細胞としてどのような特徴を有しているのか、また、尿細管再生過程において神経調節機構が存在するのかを検討した。

研究方法

1) GFP 発現骨髄細胞移植マウスを用いた腎臓における nestin 陽性細胞の由来

予め 400 cGy の放射線照射を照射した生後 2 日以内の野生型マウス (C57BL/6) に 緑色 蛍光タンパク質 (GFP) トランスジェニックマウス由来の骨髄細胞を経静脈的に移植し、GFP 発現骨髄細胞移植マウスを作製した (久留米大学医学部解剖学講座中村桂一郎教授との共

同研究)。約 4 ヶ月後に腎臓の nestin 免疫染色を行い、nestin 免疫陽性細胞に GFP の発現が認められるのかを調べた。

2) 腎臓虚血再灌流モデルの作成と外科的除神経

雄性 SD ラット (8~10 週齢) において、非外傷性クリップを用いて左側腎動静脈を 45 分間閉塞した後、クリップを除去し再灌流を行った。右腎は虚血再灌流処置以外を左腎と同様に施した対照として用いた。1 日、2 日、1 週、3 週後に、nestin とマクロファージのマーカーである ED 1、筋線維芽細胞のマーカーである α -SMA、線維芽細胞のマーカーである vimentin、造血幹細胞のマーカーである CD34、間葉系幹細胞のマーカーである CD133 のいずれかとの免疫二重染色を施した。一部のラットでは腎臓虚血再灌流を行う 2 週間前に、左側腎門部で腎動静脈に伴行している交感神経を結合組織とともに除去する外科的交感神経除神経を施し、虚血再灌流後 2 日に、nestin 免疫染色を行った。右腎は除神経を施さずに虚血再灌流のみを行った。

結果

GFP 発現骨髄細胞移植マウスの腎臓において、nestin の免疫活性は腎小体の足細胞のみならず腎乳頭や皮質近傍の髄質外層に存在する少数の細胞に観察された。これらの nestin 陽性細胞には、GFP の蛍光は稀にしか認められなかった (図 1)。正常ラットの腎臓において、nestin の免疫活性はマウスと同様に足細胞のみならず腎乳頭や髄質外層の少数の細胞に見られたが、虚血再灌流 1 日後 nestin 陽性細胞の増加が観察された。虚血再灌流 2 日後では更に nestin 陽性細胞の数の増加と nestin 免疫活性の増強が認められたが、虚血再灌流 1 週間後では nestin 陽性細胞の数と nestin 免疫活性は減少した。虚血再灌流 2 日後の腎臓において、nestin 陽性細胞の一部のものには α -SMA (図 2) と vimentin、の免疫活性の共存が認められたが、他のマーカーとの共存は観察されなかった。除神経後に虚血再灌流を行った場合、除神経を施さずに虚血再灌流のみを行った腎臓と比較して nestin 陽性細胞の出現は減少した (図 3)。

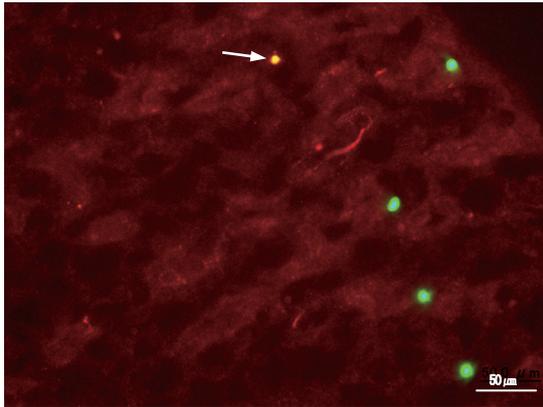


図1. GFP発現骨髄細胞移植マウスの腎臓
nestin 陽性細胞 (赤色) は稀に GFP (緑) の共存を示した (黄色; 矢印)。

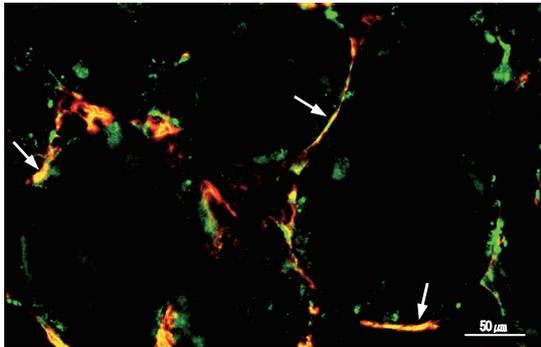


図2 虚血再灌流2日後の髄質外層
nestin 陽性細胞 (緑色) の一部のものに α-SMA, (赤色) の共存 (黄色; 矢印) が認められる。

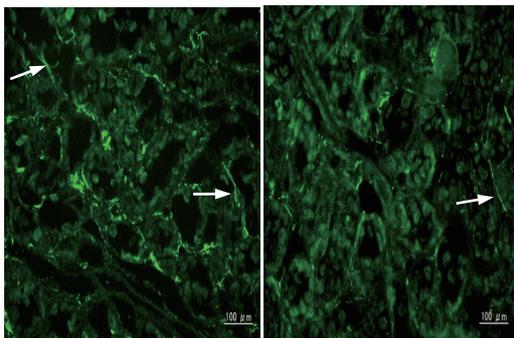


図3 虚血再灌流2日後の髄質外層
左図は除神経を施していない腎臓、右図は除神経を施した腎臓。矢印は nestin 陽性細胞を示す。

考察

GFP 発現骨髄細胞移植マウスを用いた実験において、GFP の蛍光を発する nestin 陽性細胞がほとんど認められなかったことから、髄質に存在する nestin 陽性細胞は骨髄幹細胞由来ではなく組織幹細胞に属する可能性が強く示唆された。虚血再灌流2日後に尿細管の再生が誘起されている部位で nestin 陽性細胞は増加し、それらの細胞には α-SMA と vimentin の免疫活性の共存が認められたことから、nestin 陽性細胞は尿細管の再生のみならず間質の線維化にも関与している可能性が考えられる。また、除神経によって nestin 陽性細胞の出現が抑制されるという興味ある所見を得たが、この意義に関しては今後更なる検討が必要である。

文献

1. Oliver JA, Maarouf O, Cheema FH, Martens TP, Al-Awqati Q. The renal papilla is a niche for adult kidney stem cells. *J Clin Invest* 114: 795-804, 2004
2. Patschan D, Michurina T, Shi HK, Dolff S, Brodsky SV, Vasilieva T, Cohen-Gould L, Winaver J, Chander PN, Enikolopov G, Goligorsky MS. Normal distribution and medullary-to-cortical shift of nestin-expressing cells in acute renal ischemia. *Kidney Int* 71: 744-754, 2007
3. Kim K, Lee KM, Han DJ, Yu E, Cho YM. Adult stem cell-like tubular cells reside in the corticomedullary junction of the kidney. *Int J Clin Exp Pathol* 1: 232-241, 2008
4. Takayama T, Kondo T, Kobayashi M, Ohta K, Ishibashi Y, Kanemaru T, Shimazu H, Ishikawa F, Nakamura T, Kinoshita S, Nakamura K-I. Characteristic morphology and distribution of bone marrow derived cells in the cornea. *Anat Rec* 292: 756-763, 2009

「糖尿病患者のバイパス血管におけるセロトニン反応性増大メカニズム」

山本 隆一、金井 祐、松尾 徳子
九州保健福祉大学・薬学部・薬学科

研究目的

我々は、臨床にフィードバックできる研究を目指して、病態と血管反応性の関連という観点から研究を進めている。虚血性心疾患は心筋虚血により発症する心筋障害であり、狭心症と心筋梗塞に代表される。これら冠動脈疾患の主な外科的手術として冠動脈バイパス手術が行われるが、使用する血管の術中および術後の血管れん縮の防止と術後の血栓性閉塞・狭窄の軽減が、バイパスグラフト血管の長期開存率ならびに予後良好な長期成績をもたらすとされている。¹⁻⁴ 一方、セロトニン (5-HT) は活性化した血小板より遊離され、血栓の形成に重要な役割を演じるとともに血管平滑筋のれん縮を引き起こすことが報告されている。従って、動脈硬化や糖尿病などの病態血管平滑筋に着目し、5-HT 等に対する血管反応性を薬理的に詳細に検討することは、バイパス手術後の予後改善のための新規薬物導入に繋がる。糖尿病患者の心臓バイパス手術において、使用するグラフトが術中および術後に血管れん縮を起こしやすく、^{5, 6} 予後を悪化させる可能性が高いことが知られている。我々は、糖尿病患者のバイパスグラフト血管では、非糖尿病患者に比し、5-HT による血管収縮作用が有意に増強されることを見出した。さらにこの糖尿病群の血管反応性増強作用には、5-HT_{2A} および 5-HT_{1B} 受容体の両者が関わっていることを明らかにしたが、そのメカニズムについては解明されていない。よって本申請研究では、糖尿病患者のバイパス血管の 5-HT に対する血管反応性増大のメカニズムを薬理的

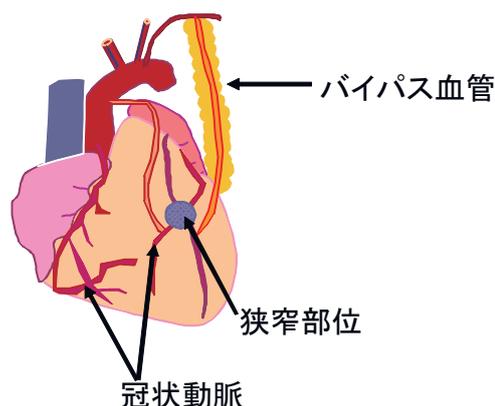


図1 冠動脈バイパス血管

に検証した。

研究方法

ヒト血管は、宮崎県 A 病院心臓外科から、患者の同意が書面により得られた場合にのみ、心臓バイパス手術後の余剰血管の提供を受け、Krebs-Henseleit 栄養液中に保存して氷冷下に本研究室に移送、直ちに実験に供した。得られた摘出内胸動脈および大伏在静脈リング状標本の張力変化は、マグヌス法で測定し、等尺性に記録した。

上記の実験は、すべて糖尿病患者群と非糖尿病患者群で比較検討した。

結果

1. 摘出内胸動脈および大伏在静脈における 5-HT による血管収縮反応は、非糖尿病群に比較して糖尿病群において有意に増強していた。また、この増強作用は、特に 5-HT の低濃度で著明であった。一方、KCl による血管収縮反応においては、両群の間に有意な差を認めなかった。
2. 摘出内胸動脈および大伏在静脈において、サルボグレラート (5-HT_{2A} 受容体拮抗薬) および SB224289 (5-HT_{1B} 受容体拮抗薬) は、いずれも両群で 5-HT による血管収縮反応を有意に抑制し、無処置糖尿病群で観察された有意な 5-HT 反応性増強を共に消失させた。
3. 摘出内胸動脈および大伏在静脈において、塩酸ファスジル (Rho-kinase 阻害薬) は、両群で

5-HT による血管収縮反応を有意に抑制し、無処置糖尿病群で観察された有意な 5-HT 反応性増強を消失させた。

考察

本研究結果より、糖尿病患者において、冠動脈バイパス血管の 5-HT に対する血管反応性が有意に増強していること、この増強作用には、5-HT_{2A} および 5-HT_{1B} 受容体の両受容体が関与することが示唆された。さらに、血管反応性増強の細胞内メカニズムとして、Rho-kinase を介した細胞内シグナル系の増強が関与している可能性が示唆された。糖尿病患者における冠動脈バイパス血管反応性増大には、5-HT 受容体刺激後に活性化される Rho-kinase を介する選択的な細胞内シグナルトランスダクションの増幅が関与している可能性が示唆された。

特に、今回の実験結果は、糖尿病患者での冠動脈バイパス手術において、5-HT_{2A} および 5-HT_{1B} 受容体拮抗薬の併用使用および Rho-kinase 阻害薬が、グラフトの長期開存率を高める可能性を示唆するものであると考えられる。

文献

1. Mills NL, Bringaze WL. Preparation of the internal mammary artery graft. Which is the best method? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1989; **98**: 73-79.
2. Sarabu MR, McClung JA, Fass A, Reed GE. Early postoperative spasm in left internal mammary artery bypass grafts. *Annals of Thoracic Surgery.* 1987; **44**: 199-200.
3. Blanche C. and Chaux A. Spasm in mammary artery grafts (letter). *Annals of Thoracic Surgery.* 1988; **45**: 586.
4. Von Segesser L, Simonert F, Meier B, Finci L and Faidutti B. Inadequate flow after internal mammary-coronary artery anastomoses. *Journal of thoracic and Cardiovascular Surgery.* 1987; **35**: 352-354.
5. Grapow MT, Reineke DC, Kem T, Müller-Schweinitzer E, Carrel T, Eckstein FS. Human internal thoracic arteries from diabetic

patients are resistant to endothelial dysfunction. *Fundamental and Clinical Pharmacology.* 2009; **23**: 567-572.

6. Sessa C, Morasch MD, Friedland M, Kline RA. Risk factors of atherosclerosis and saphenous vein endothelial function. *International Angiology.* 2001; **20**: 152-163.

プリオン蛋白のコンフォメーション変化と神経毒性

川原 正博、定金 豊、横山 祥子、戸泉 文江
九州保健福祉大学・薬学部・薬学科

研究目的

プリオン病は、ヒトではクロイツフェルト・ヤコブ病、牛では牛海綿状脳症(BSE)などとして現れる神経難病である。イギリス、アメリカ、日本をはじめ多くの国々では牛海綿状脳症が発症しており、ヒトへ感染することが考えられるため、検査に及ぼす労力は大きい。また、プリオン病は潜伏期が長く一旦発症すると治療法がないため、予防・治療薬の開発が急務とされている。

プリオン病は、アルツハイマー病などと同様なコンフォメーション病の一種であり、プリオン蛋白の高次構造変化がその毒性及び発症に重要な働きを示す。申請者は、科研費課題「亜鉛による神経細胞アポトーシスにおける細胞内カルシウム・ホメオスタシスの役割」(平成19-20年度)の研究の過程で、培養ラット海馬初代培養神経細胞に対するプリオン蛋白の毒性が、銅・亜鉛などの金属によって影響されることを見いだした。継続科研費課題「亜鉛による虚血性神経細胞死におけるカルシウムと小胞体ストレスの関与」(平成21年度採択)では、亜鉛による神経細胞死メカニズムを明らかにすることを目的としている。

そこで、本共同研究では、亜鉛・銅とプリオン蛋白神経毒性との関連について焦点を絞り、分析学講座(川原・定金)の持つペプチドの構造解析、細胞毒性試験技術と、製剤学講座(横山・戸泉)の持つペプチド-膜の相互作用をAFM(原子間力顕微鏡)により観察する技術とのコラボレーションにより、プリオン蛋白の金属によるコンフォメーション変化と毒性メカニズムに及ぼす金属の影響を明らかにすることを目的とする。また、神経細胞をプリオン蛋白の神経毒性から保護する物質の探索をも目的とする。

研究方法

プリオン蛋白は感染性が非常に強いため、通常の実験設備で取り扱うことは困難である。そこで、神経毒性を持ちβシート構造をとることが報告されている断片ペプチドPrP106-126を固相法により合成して、実験に用いた。

ペプチドの高次構造変化(βシート構造形成)は、CDスペクトル解析により解析した。また、βシート構造と特異的に結合して蛍光を発することが報告されているthioflavinTを用いて、定量化を行った。さらに、ペプチド多量体の微細構造をAFMにより観察した。AFMの結果については、繊維の太さを画像解析することによる判定的解析を行った。

ラット大脳皮質・海馬初代培養神経細胞は、ラット18胎児より大脳皮質あるいは海馬を摘出し、酵素処理により分散させた後、1週間以上培養することによって得られた。この培養神経細胞に培養約2週間後、ペプチド溶液を添加し、3日後の細胞生存率をLDH法により観察した。

PrP106-126は、37°Cで3~7日間incubateする(aging)ことによって、βシート含量が増加することが、CDスペクトルおよびthioflavinT法によって観察されており、Agingの結果、神経毒性も大幅に増強されることが我々やその他の研究結果から明らかになっている。そこで、様々な金属をaging過程で共投与し、金属が細胞毒性並びにコンフォメーション変化に及ぼす影響について検討した

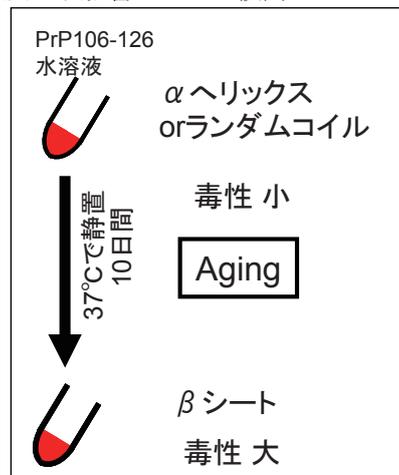


Fig. 1 PrPのaging処理

結果および考察

銅、亜鉛などの金属を aging 過程において共存させ、conformation 変化及び神経毒性に与える影響について観察した結果、鉄(Fe²⁺、Fe³⁺)、アルミニウム(Al³⁺)ではほとんど毒性に変化はなかったが、銅(Cu²⁺)、亜鉛(Zn²⁺)では、細胞生存率は有意に上昇し、これらの金属によって PrP の細胞毒性が抑制されていることが判明した。

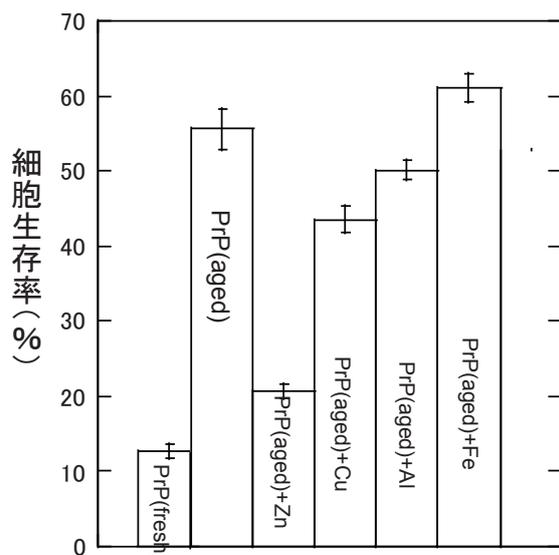


Fig.2 PrPの神経細胞死に対する金属の影響

さらに、Cu²⁺および Zn²⁺は thioflavinT 法によるβシート構造形成を有意に抑制することも判明した。

また、AFMによって、PrP106-126はagingによってアミロイド細線維を形成するが、Cu、Znによって形成される線維の太さが低下することが判明し、線維形成が阻害されることが明らかとなった。

今回の共同研究の、多分野を総合した結果から、CuおよびZnがプリオン病の発症に関与することが示唆された。今後さらに、そのメカニズムについて検討する予定である。

文献

- 1) 小山 裕也, 永田 哲也, 定金 豊, 大塚 功, 戸泉 文江, 横山 祥子: プリオン蛋白による培養細胞に対する亜鉛および銅の影響、日本薬学会第130年会要旨集(2010)
- 2) 川原正博: アミロイド形成蛋白の高次構造変化と神経毒性に及ぼす金属の影響、第20

回日本微量元素学会シンポジウム「微量元素と生理機能:メタロミクス研究の新展開」要旨集(2009.07.02-03、東京).

- 3) Koyama H, Sadakane Y, Kawahara M: Effects of zinc and copper on conformational changes and neurotoxicity of prion fragment peptide (PrP106-126), 金属の関与する生体関連反応シンポジウム (SRM2010) 要旨集.

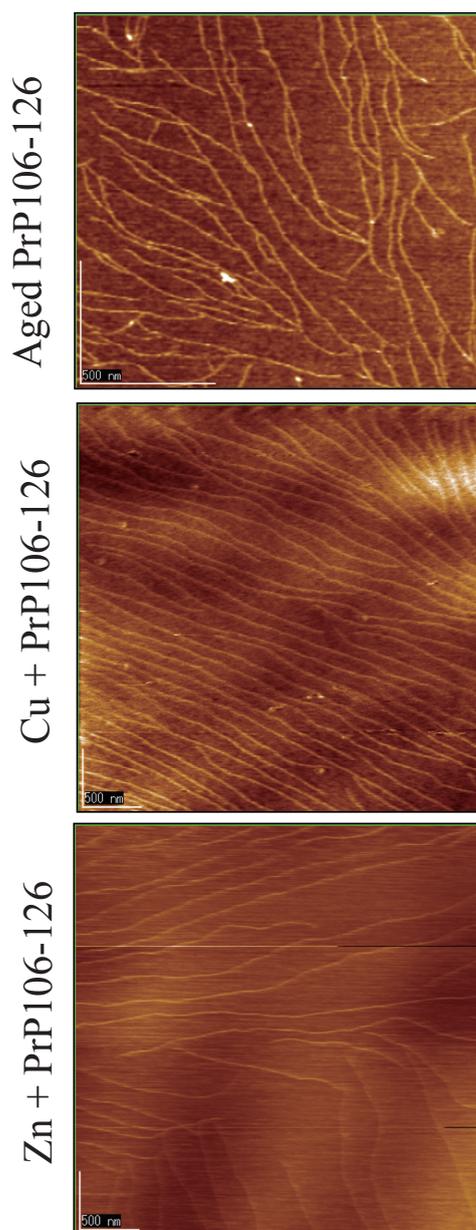


Fig. 3 AFMにより観察されたアミロイド細線維像

「1,3-双極子環化反応を用いる Clausenamide 類の合成研究」

鳥や尾 篤¹⁾, 渡邊 暁子²⁾, 坂本 正徳³⁾, 山崎 哲郎²⁾

九州保健福祉大学・薬学部¹⁾ 薬学科・医薬品化学研究室²⁾ 薬学科・薬化学講座,³⁾ 動物生命薬科学科・薬品製造学研究室

【はじめに】 (-)-Clausenamide は *Clausenialansium skeel* から単離された、高度に置換された γ -lactam 化合物であり、長期記憶を改善する化合物として、アルツハイマー治療薬への期待がなされている。(-)-Clausenamide は 1 μ M/L で神経成長因子 (NGF) 5 μ g/L と同等のコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) 活性を有し、また、神経栄養効果があることが知られている。¹⁾ 一方、同様な γ -lactam 骨格を有する化合物として、プロテアソーム阻害剤である (+)-lactacystin などもあることから、これら一連の化合物群に対する効率的合成法の開発が精力的に行われている (Fig.1).

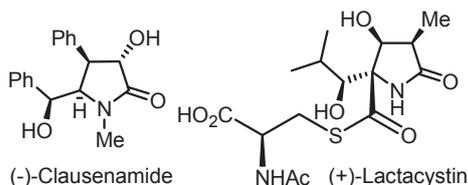
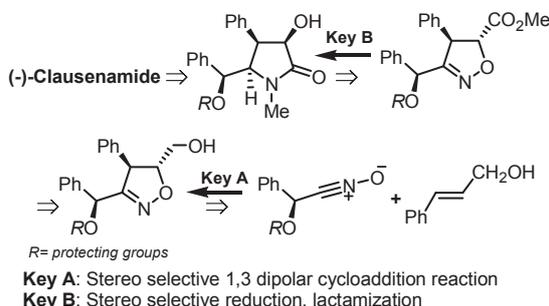


Fig. 1

しかしながら、天然物合成には多段階反応を有する物が多く、その骨格構築は容易ではない。また、clausenamide の全合成はほとんど報告されておらず、その立体構築法に問題を抱えている。²⁾ そこで、今回我々は種々の誘導体が合成可能なキラルニトリルオキシドの1,3-双極子環化反応、続く立体選択的還元反応を鍵反応とする (-)-clausenamide の新規合成法を計画した。本合成法を確立するためには、①1,3-双極子環化反応を鍵反応とする基本骨格の構築、②環化体からの立体選択的な還元反応と γ -lactam 化を行わなければならない。

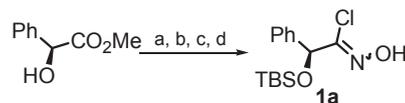
以下、これまでに得られた知見について報告する (Scheme 1)。



Scheme 1

【双極子環化反応を鍵反応とする骨格の構築】

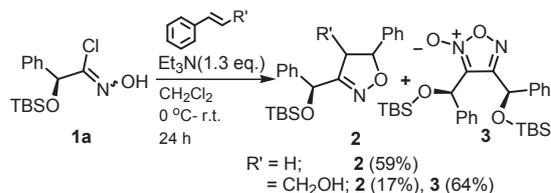
まず、鍵反応となるキラルニトリルオキシドの1,3-双極子環化反応に着手した。すなわち市販の *L*-マンデル酸メチルを出発原料に用い、水酸基の保護、還元、続くオキシム形成と次亜塩素酸ブチルによるクロロ化を行い、ニトリルオキシド前駆体 **1a** を通算収率 91% で合成した (Scheme 2)。



Reagent and conditions: (a) TBSCl, I₂, 1-methylimidazole, CH₂Cl₂, -78 °C- r.t.; (b) DIBAL-H, toluene, -78 °C;(c) NH₂OH HCl, NaHCO₃(aq), EtOH-H₂O, r.t.; (d) ¹Butyl hypochlorite, CH₂Cl₂, -78 °C- r.t.

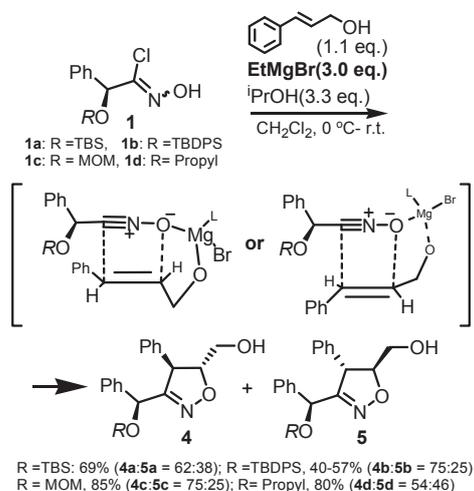
Scheme 2

次に、ニトリルオキシドの反応性を調べるため種々のオレフィンとの環化反応を検討した。その結果、塩基として Et₃N を用いた場合、ニトリルオキシドとスチレンとの反応では良好な収率で環化成績体 **2** を与えるものの、シナミルアルコール以外では **2** はほとんど得られずフロキササン **3**⁴⁾ が主生成物となることが分かった。また、**1a** を dipolarophile 非共存下 Et₃N で処理すると **3** が 60% の収率で得られることから、環化反応を円滑に進行させるためには、**3** の生成を抑える必要があることが示唆された (Scheme 3)。



Scheme 3

3 の生成を抑える目的で金政らにより報告されている方法を用い、⁵⁾ 環化反応における位置および立体選択性について詳細に検討した。その結果、シンナミルアルコール存在下、**1a** を EtMgBr と 2-プロパノールで処理したところ、環化反応は速やかに進行し、位置化学が制御された環化成績体 **4a**, **4b** が 62 : 38 の混合物として 69% の収率で得られた。また、TBS 基を TBDPS 基に変換した基質 **1b** で同様な反応を行ったところ、その立体選択性が 75 : 25 まで向上した。このことから、Mg 金属の効果により環化反応における位置化学が制御され、前駆体 **1** のアルコールの保護基により、立体選択性が左右されることが明らかとなった。そこで、保護基が大きく異なる基質 **1c**, **1d** を用いて環化反応を検討したところ、MOM 基を用いた場合、TBDPS 基と同等の選択性ではあるもののフロキサンをほとんど与えず 85% と良好な収率で環化成績体 **4c**, **5c** が得られることを見いだした。**4c** と **5c** はカラムクロマトグラフィーで容易に分離可能である (Scheme 4)。

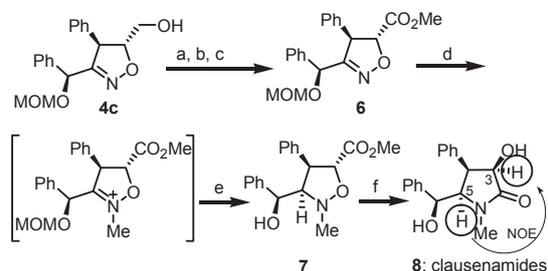


Scheme 4

MOM 基の立体選択性の発現は、*rr*プロピル基を有する基質 **1d** を同様な反応条件に伏すと、その選択性が 54:46 まで低下することから、MOM 基への Mg 金属の配位効果が重要だと考えている。現在、**4c** は X 線結晶構造解析が可能な化合物へと導き、昭和薬科大学薬学部薬化学研究室の田村修教授に構造解析を依頼している。先生のご厚意により、近い内に立体化学が決定できるものと思われる。

【立体選択的還元と Clausenamamide 類の合成】

(-)-Clausenamamide の合成を達成するには、環化体から立体選択的に還元反応を行わなければならない。紙面の都合上、詳細については割愛するが、優先的に得られた環化体 **4c** から導いたエステル体 **6** を *N*-メチル化、続く Zn(BH₄)₂ による還元を行うと MOM 基の脱保護を伴いながら還元体 **7** が単一の立体異性体として 63% の収率で得られた。**7** の立体化学は **7** を Zn, 酢酸で処理し、clausenamamide 類 **8** に導いた後、5 位から 3 位のプロトンに NOE が観測されたことから、その立体化学を決定した (Scheme 5)。



Reagent and conditions: (a) DMP, CH₂Cl₂, r.t.; (b) NaClO₂, NaH₂PO₄, 2-methyl-2-butene, ^tBuOH-H₂O, r.t.; (c) TMSCH₂N₂, C₆H₆-MeOH, 3 steps 91%; (d) (CH₃)₂OBF₄, CH₂Cl₂, r.t.; (e) Zn(BH₄)₂, THF, -78 °C, 63%; (f) Zn, AcOH-H₂O, 90 °C, 66%.

Scheme 5

以上、我々は 1,3-双極子環化反応を鍵反応とする clausenamamide 骨格の簡便合成法を確立した。今後、X 線結晶構造解析の結果から (-)-clausenamamide の全合成を行い医薬品化学へと展開していきたいと考えている。

【引用文献】

- (a) Liu, S. L.; Zhang, J. T. *Acta pharm. Sin.* **1998**, *33*, 254.; (b) Feng, Z.; Li, X.; Zheng, G.; Huang, L. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2112.
- Fukuda, N.; Sasaki, K.; Sastry, T. V. R. S.; Kanai, M.; Shibasaki, M. *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 1220.
- (a) Hartwig, W.; Born, L. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4352.; (b) Yakura, T.; Matsumura, Y.; Ikeda, M. *Synlett* **1991**, 343.; (c) Roberts, S. M. et. al. *Chem. Commun.*, **1998**, 1159.
- For froxan formation, see; Bode, J. M.; Carreira, E. M. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6410.
- Kanemasa, S. et. al. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2324.

「新規酸化ストレス測定システムを用いた動脈硬化症患者の血管内皮障害の検討」

佐藤 圭創¹⁾, 田中 直子²⁾
 九州保健福祉大学・薬学部¹⁾ 薬学科・感染症治療学研究室²⁾ 薬学科・薬理学第一講座

研究目的

酸化ストレスは、三大成人病など様々な疾患の発症・進展に関与することから、フリーラジカルにより引き起こされる酸化ストレスに対する正確なバイオマーカーの発見と測定法の開発が求められている。我々は、電子スピン共鳴法を改良し、新しいバイオマーカーとして、特異度と感度が高いだけでなく、簡便でかつ汎用性に富むキット及び酸化ストレス測定システムの確立を進めてきた。この方法は、酵素学的系、細胞学的系から、患者全血までの酸化ストレスの正確な計測が可能となる。そこで、この方法を用いて、動脈硬化性病変における血管内皮障害の酸化ストレス状態を基礎から臨床までシームレスに評価することを目的とする。

研究方法

申請者と同仁化学研究所で開発した、反応速度が速い、安定性が高い、脂溶性が高いなどの、優れた特性をもつ新規ラジカル捕捉剤 5-diphenylphosphoryl-5-methyl-pyrroline-N-oxide (DPPMPO) および一酸化窒素測定剤 2-(4-Carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide (C-PTIO) を用いる。この試薬で電子スピン共鳴法を行い、血管内皮細胞に存在する xanthine oxidase, nitric oxide synthase, NADPH oxidase などの酵素学的系、培養血管内皮細胞系、動脈硬化患者の血液系で生成されるラジカル ($O_2^{\cdot-}$, $\cdot NO$, lipid-radical etc.) を測定する^{1,2,3)}。

結果

今回の研究期間内に終了した部分について記載する。まず、我々の発明した測定システム (図

1) が、酵素学的系 (図2)、細胞系 (図3)、臨床の患者などの血液 (図4) で測定できるかどうかの確認を行った。その結果、本システムが、xanthine oxidase を用いた酵素学的フリーラジカル産生系 (図2)、ヒト好中球を用いたフリーラジカル産生系 (図3)、臨床の患者などの LPS 刺激血液および脂質過酸化物質添加血液 (図4) などの測定で有用であることを確認した。

図1 ESRスピントラップ抽出法

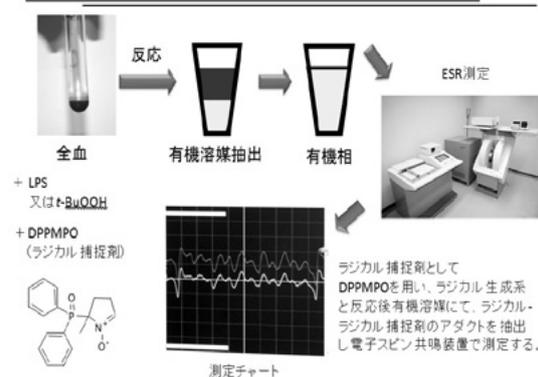


図2 酵素を用いた検討

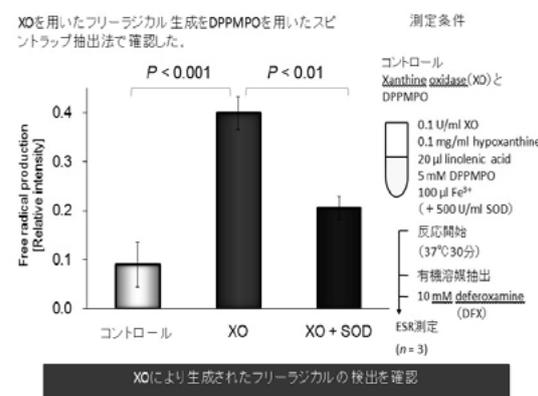


図3 細胞を用いた検討

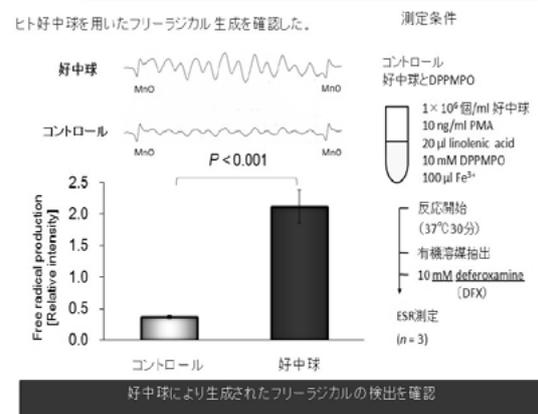
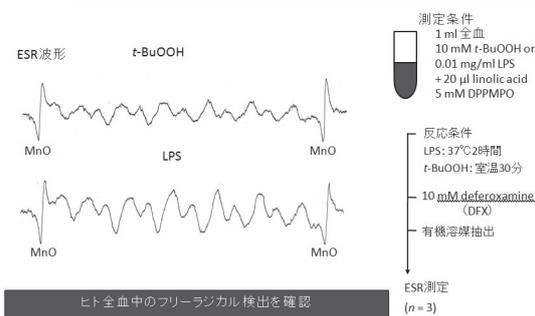
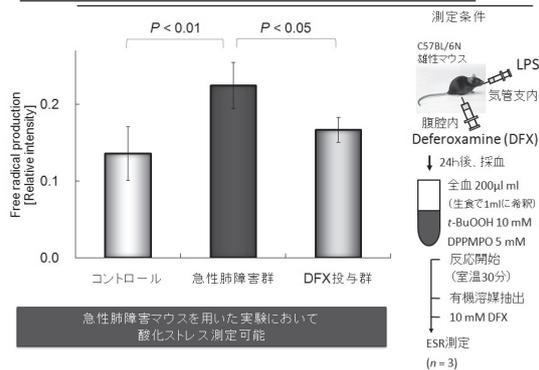


図4 ヒト全血を用いた測定



次に、このシステムが真に *in vivo* の系で、可能かどうかを確認するために、LPS を経気道的に投入した、マウス急性肺障害モデルで、血液中のフリーラジカル生成を検討した。その結果、*in vivo* 実験でも、本方法を用いた解析が可能であることを確認した (図 5)。

図5 急性肺障害マウスの酸化ストレス測定



さらに、これらの測定が実際の臨床患者において使用できるか検討するために、フリーラジカル生成が亢進している可能性が高いインフルエンザ感染患者の血液を用いて検討した。その結果、図 6 に示すように、インフルエンザ感染患者においてラジカル生成が亢進していることが確認された。

続いて、動脈硬化症の患者と健常成人での比較検討を行ったが、炎症のレベルが小さいためか今回の測定では、有意な差はみとめられなかった (図 7)。

考察

今回の研究で、まず、我々の開発したシステムで、フリーラジカル生成が、酵素学的系、細胞学的系、動物実験系、フリーラジカルが大量に生成されるヒトインフルエンザウイルス感染系

で確認された。このことは、本システムが、様々な疾患病態や基礎研究に応用できる可能性を示唆した。我々の、今回の研究では、動脈硬化患者の血液では、有意な差が認められなかったが、これには、サンプル数の問題、治療の問題、軽度な炎症による軽度なラジカル産生を検出するための更なる感度向上を含めた、測定システムの改善がひつようであると考えられた。今後は、サンプルサイズを拡大し、有意差が出れば、どのラジカル生成システムが主に働いているのかの検討をしていく方針である。

図6

全血抗酸化活性に対するインフルエンザ感染の影響

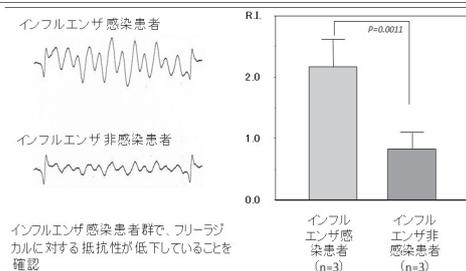
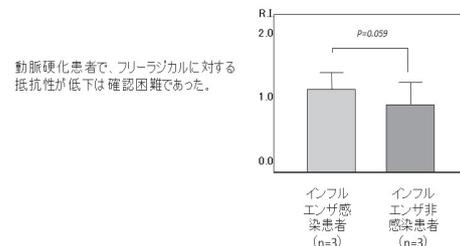


図7

動脈硬化患者における全血抗酸化活性の検討



文献

- Sato K., Kadiiska M.B., Ghio A.J., Corbett J., Fann Y.C., Holland S.M., Thurman R.G., Mason R.P.: The FASEB J. 16:1713-1720 (2002)
- Sato K, Tashiro Y, Chibana S, Yamashita A, Karakawa T, Kohrogi H.: Biol Pharm Bull. 31, 1855 -9 (2008)
- Miyamoto Y, Iwao Y, Tasaki Y, Sato K, Ishima Y, Watanabe H, Kadowaki D, Maruyama T, Otogiri M.: FEBS Lett. (2010) in press

「宮崎県地域特産品柑橘類由来成分による炎症制御を標的とするメタボリックシンドローム予防・改善法開発」

吉田 裕樹¹⁾、甲斐 久博¹⁾

松野 康二¹⁾、河野 大順²⁾

1)九州保健福祉大学薬学部薬学科

2)九州保健福祉大学 QOL 研究機構

研究目的・はじめに

近年の肥満を起因とするメタボリックシンドローム患者の増加に対して、病態予防・改善法を開発することは国民の健康維持の観点から重要な課題である。また、国民医療費増大の現状を鑑みると、安価で身近な食品の機能評価を通して、新たな保健機能食品の開発を行うことは、社会的貢献度も高いと考える。

メタボリックシンドロームの病態基礎は、肥満に伴う脂肪組織における炎症性変化の増悪であることが知られている¹⁾。我々はこれまでに、マウス 3T3-L1 脂肪細胞を用いて、炎症モデルの1つである TNF- α 投与による炎症性因子 (FFA, IL-6 など) の分泌誘導に対して、柑橘類フラボノイドのヘスペレチンとナリンゲニンが抑制効果を発揮することを示した²⁾。

本研究では、宮崎県地域特産品の柑橘類果実に注目し、その柑橘類の摂取が健康維持に寄与しうるか検証するため、果皮および果肉由来成分の抽出・分離精製を行い、さらに脂肪細胞における炎症性因子の発現・分泌に対する影響を検証した。

研究方法

1. 柑橘類果実

宮崎県地域特産品柑橘類果実は、宮崎県東臼杵農林振興局の仲介のもと地元農家より 40kg 購入した。

2. 抽出・分離精製

柑橘類果実は図 1 に示すように外果皮、果汁、

種子および内皮に分け、80%エタノールおよび酢酸エチルで抽出を行った。

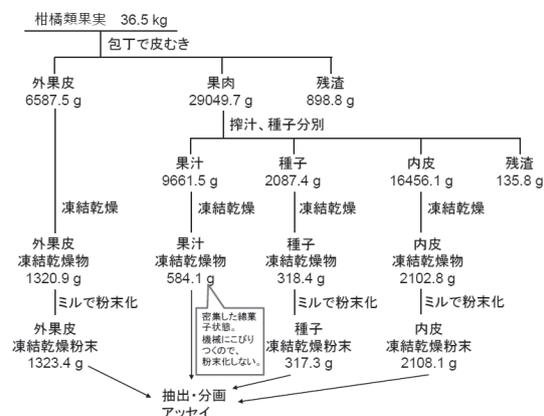


図 1 柑橘類果実の部位分け

3. 活性測定

3T3-L1 細胞を常法に従い前駆細胞から脂肪細胞へ分化させ、柑橘類果実由来成分を前投与した後、脂肪細胞の炎症モデルの1つである TNF- α 刺激を行い各種測定実験に用いた。培養液中への FFA 分泌量は、ACS-ACO 酵素法により測定した。mRNA 発現量は、細胞より total RNA を抽出した後、RT 反応および Real-time PCR を行い測定した。

結果

宮崎県地域特産品柑橘類果実の各部位由来成分が、脂肪細胞の炎症性変化に影響を与えるか検証するため、80%エタノールで抽出した各部位由来成分 (100 μ g/mL) を前投与した後、TNF- α 刺激を行い、FFA 分泌量を測定した。その結果、外果皮由来成分のみ顕著に TNF- α 誘導性 FFA 分泌を抑制した (図 2)。

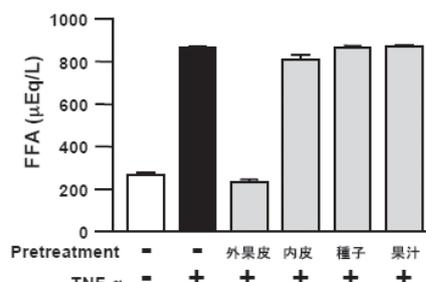


図 2 TNF- α 誘導性 FFA 分泌に対する柑橘類果実の各部位由来成分の効果

また、80%エタノール抽出外果皮由来成分は、用量依存的に TNF- α 誘導性 FFA 分泌を抑制した (図3)。

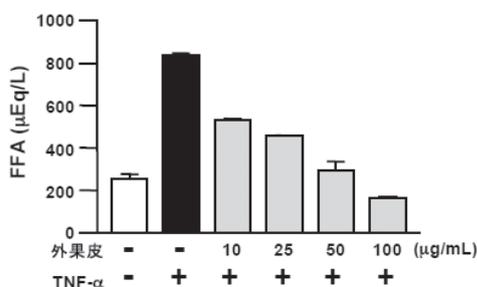


図3 TNF- α 誘導性 FFA 分泌に対する外果皮由来成分の用量依存的効果

次に我々は、酢酸エチル抽出外果皮由来成分が TNF- α 誘導性 FFA 分泌に影響を与えるか検証した。その結果、酢酸エチル抽出成分は、80%エタノール抽出成分よりも低濃度で FFA 分泌抑制効果を示した (図4)。

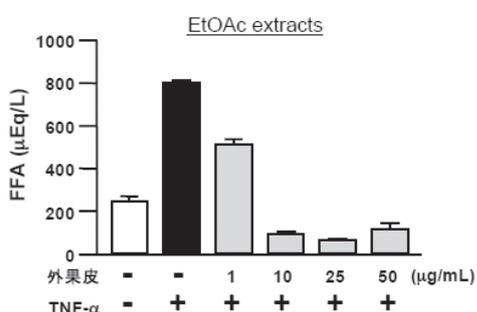


図4 TNF- α 誘導性 FFA 分泌に対する酢酸エチル抽出外果皮由来成分の効果

80%エタノールおよび酢酸エチル抽出外果皮由来成分が、脂肪細胞の炎症制御に関与する分子の発現変動に影響を与えるか検討するため、Real-time PCR を行った。その結果、80%エタノールおよび酢酸エチル抽出物は、TNF- α 誘導性の TLR2 発現量増加を抑制した。また、両抽出物は、Adiponectin および PPAR γ の TNF- α 誘導性発現量低下を抑制した。さらに、酢酸エチル抽出物は、TNF- α 誘導性の MCP-1 発現量増加を抑制した (図5)。

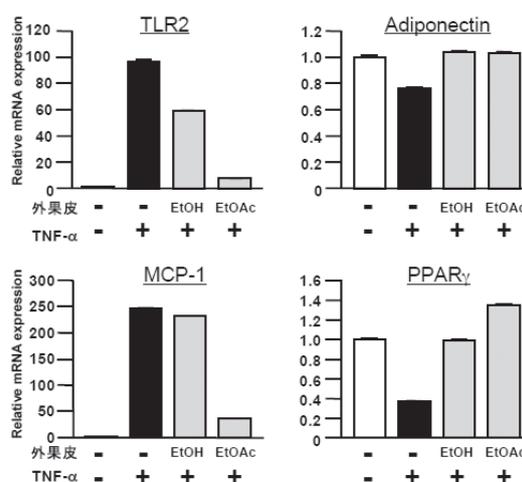


図5 脂肪細胞における炎症制御関連分子の TNF- α 誘導性発現量変動に対する外果皮由来成分の効果

考察

本研究において、宮崎県地域特産品柑橘類由来成分が、脂肪細胞の炎症制御に影響を与える可能性を示した。現在、我々は、80%エタノールおよび酢酸エチル抽出成分を HPLC 等により分画・精製し、活性成分の同定を試みており、数種類の候補物質を絞り込んでいる。今後、これら候補物質が脂肪細胞の炎症制御に関与するか検証する予定である。また、本研究では *in vitro* による基礎的検討を行ったが、*in vivo* レベルの効果を検討することで、身近な食品因子による病態予防・改善につなげたいと考える。

文献

- 1) Metabolic syndrome: evaluation of pathological and therapeutic outcomes. Miranda PJ, et al, Am Heart J. 2005 Jan;149(1):20-32.
- 2) Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. Trayhurn P, et al, Br J Nutr. 2004 Sep;92(3):347-55.
- 3) The citrus flavonoids hesperetin and naringenin block the lipolytic actions of TNF-alpha in mouse adipocytes. Yoshida H, et al, Biochem Biophys Res Commun. 2010 Apr 9;394(3):728-32.

オルソゴナルグリコシル化法による新規分子ツールの創製

大塚功、佐久嶋明世、樋口真里
九州保健福祉大学 薬学部 薬学科

研究目的

生体内における細胞認識に関する現象に、様々な形で細胞表層の糖鎖が関与することが明らかとなり、その機能解明は、生体と疾患との関わりを知る上で必要不可欠である¹⁾。しかし、糖鎖は、その構造が複雑であることから、核酸やタンパク質が自動合成される現在においても確立した合成法を見出せていない。また、糖鎖はタンパク質との親和性が $10^{-6}\sim 10^{-4}$ M程度と低いものが多く、糖鎖の結合を頼りに結合タンパク質を見つけ出すことは不可能とされている。このような背景により、核酸、タンパク質と比較して糖鎖の研究がこれまで遅々としてきた。これら問題を解決して研究を加速させるには、生物界に存在する複雑な糖鎖を効率よく化学合成し、タンパク質との高親和性を発揮する分子ツールの開発は必須であると考えられる。

今回申請者は、タンパク質との高親和性を発揮する新規分子ツールの開発を目指す(図1)。オルソゴナルグリコシル化法は最も効率よく糖鎖を合成することができる優れた手法である²⁾。また、光反応基を利用した光アフィニティーラベル法は、極めて高い選択性及び効率性により特定の分子を認識することができる³⁾。さらに、化学合成で得られた糖鎖をリガンドとして付け替えることで、あらゆる糖鎖とタンパク質の相互関係が明らかとなり、その機能解明に繋がるものと期待できる。

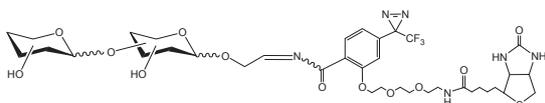


図1 糖鎖リガンドを持った光反応基による新規分子ツール

研究方法

オルソゴナルグリコシル化法の特徴は、それぞれが重なり合わない独立した系(オルソゴナル)からなる二種類の官能基を互いに活性化して、合成を進めていく点である。具体的には、条件Aにおいて官能基Xを活性化させたとき、官能基Yは不活性状態であるが、条件Bで官能基Yを活性化した場合、官能基Xは活性化されず保持された状態を保つ。これを繰り返すことで、理論上糖鎖は限りなく伸長されていく(図2)。この概念は、ある過程の連続性を基礎とする系において、最も合理的であり重要であると考える。

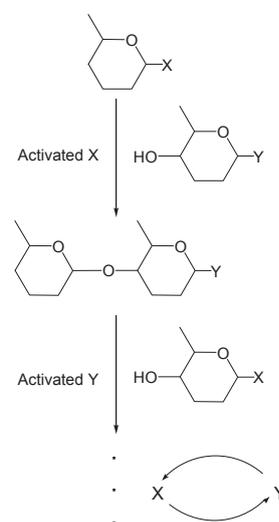


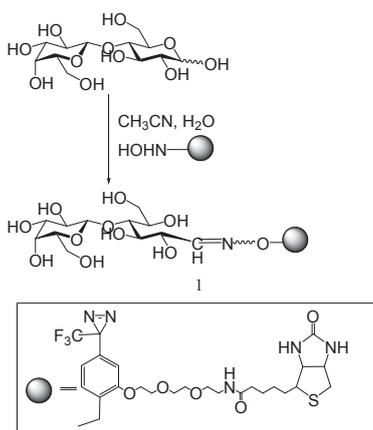
図2 オルソゴナルグリコシル化法による糖鎖合成

本研究課題を実施するに当たり、オルソゴナルグリコシル化法で合成した糖鎖と光反応基を結びつけるための方法論を確立する必要がある。これにより、本研究では分子ツール開発のための基礎研究と位置づけ、この部分の合成に着手した。

結果

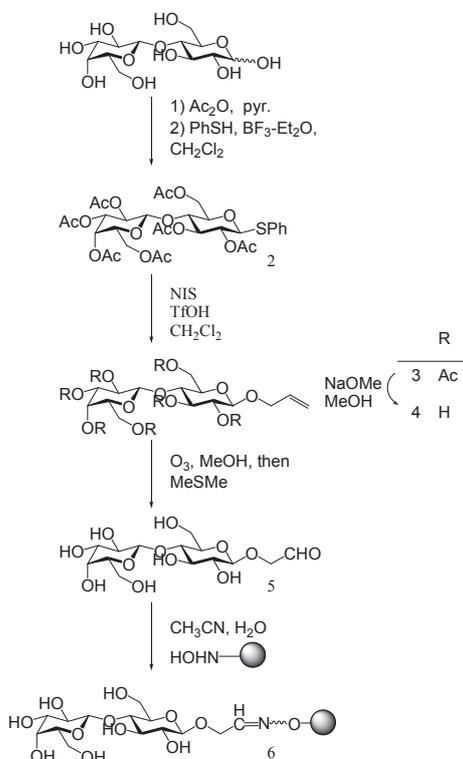
1. 分子ツールの合成

光反応基による糖鎖機能解明法はすでに開発されているものの、従来法では糖鎖と光反応基の縮合時に還元末端糖が開環してしまい、このことがタンパク質との認識に大きな影響を及ぼすことが問題となっていた⁴⁾(Scheme 1.)。今回、我々は、この問題の克服を目指し、新たな合成ルートの開発を試みた。



Scheme 1. 糖鎖機能解明を目指した光反応基を持った分子ツールの合成-1

D-ラクトースをアセチル化し、還元末端にSPh基を導入した2を用いて、アリルアルコールと縮合させることで3が得られた。合成した3は、NaOMeを用いて脱保護した後、オゾン分解により、アリルリンカーの末端が-CHO基に変換した4へと導いた。4は、糖鎖リガンドとして、アフィライト-CHO (生化学工業)と縮合させ、目的とする分子ツールが合成された(Scheme 2)。



Scheme 2. 糖鎖機能解明を目指した光反応基を持った分子ツールの合成-2

2. 光反応基による糖鎖-タンパク質認識能の解明

合成した1及び5を用い、タンパク質との認識能の比較をウエスタンブロッティング法により行った⁵⁾。その結果、SDS-PAGEから得られたバンドより、①と②を比較すると、②は①より濃く発色しており、リガンド5の方が1よりも強くSBAレクチンと結合していることが示唆される。この結果は、⑤、⑥、さらに拮抗阻害としてラクトースを添加した系(③、④、⑦、⑧)においても同様であったことから、閉環型糖鎖の方がタンパク質との認識能が高いと判断できる(図2)。

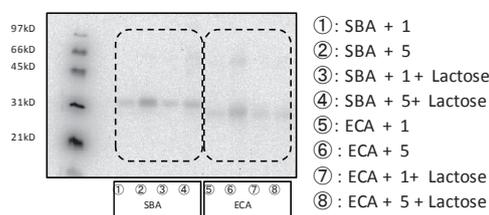


図2 糖鎖の違いによるタンパク質認識能の違い
→還元末端糖が開環することで認識能が低下する

考察

本研究課題の基礎的部分として還元末端が開環した糖鎖リガンドの合成法を確立した。

還元末端糖が開環することで、タンパク質に対する認識能に格段の向上がみられた。このことから、レクチンは糖鎖全体を認識していることが示唆される。

今後は、有機化学的手法を駆使することで、糖鎖リガンドを合成し、あらゆる糖鎖-タンパク質の機能解明を目指していきたい。

文献

- 1) Varki, A., *Glycobiology*, **3**, 97–130 (1993).
- 2) Ohtsuka I., et al., *Carbohydr. Res.*, **341(10)**, 1476–1487 (2006).
- 3) Sadakane Y., *YAKUGAKUZASSHI*, **127(10)**, 1693–1699 (2007).
- 4) Hatanaka, Y., et al. *J. Org. Chem.*, **65**, 5639–5643 (2000).
- 5) Hatanaka, Y., et al. *Carbohydr. Res.*, **294**, 95–108 (1996).

「大麻主成分テトラヒドロカンナビノール(THC)、カンナビジオール(CBD)およびカンナビノール(CBN)代謝における内分泌攪乱作用に関する研究」

山本 郁男

九州保健福祉大学・薬学部・動物生命薬科学科
宇佐見則行

九州保健福祉大学・薬学部・薬学科

岸 信行

九州保健福祉大学・QOL 研究機構

【はじめに】

大麻の三大主成分 THC (Tetrahydrocannabinol)、CBD (Cannabidiol) および CBN (Cannabinol) を主とするカンナビノイドは、シトクロム P450 (CYP) により酸化を受け、種々の活性代謝物を生成し、母化合物と同程度あるいはそれ以上の様々な薬毒理作用を示すことが明らかとなっている¹⁾。しかしながら、生体内におけるその毒性発現機構は複雑であり、完全な解明はなされていない。特にステロイド代謝においては大麻主成分の構造がステロイド骨格に酷似していることとあいまって、CYP による酸化部位が同一であることが指摘されている。したがって、カンナビノイド代謝とステロイド代謝には相互に深く関係しており、その結果として内分泌攪乱作用を惹起する可能性がある (Fig. 1)。

我々はこれまでに幻覚作用を示さない CBD が、生体内において THC に変換されること^{1,2)}、また内分泌攪乱物質様作用³⁾についても一部明らかにしている。また、CYP19 (アロマターゼ) により THC および CBD が芳香環化され CBN に変換されることを報告した⁴⁾。

今回は CYP19 の関与するアンドロステロン (AND) およびテストステロン (TES) および

17 α -hydroxysteroiddehydrogenase (17 α -HSD) の関与するアンドロステロン (AND) およびエストロン (E1) の代謝に及ぼすこれら主要カンナビノイドの影響について検討した。

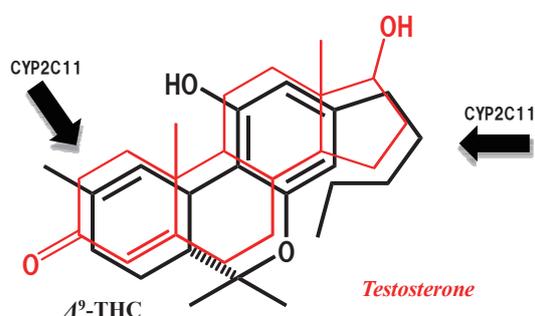


Fig. 1 Chemical structures compared with Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) and testosterone

【研究方法】

A. CYP19 および 17 α -HSD によるステロイド代謝に及ぼす THC、CBD および CBN の影響
100 μ M Steroids (androsterone; AND, testosterone; TES および estrone (E1)) を、25 pmol Human CYP19 (BD Biosciences, MA, U.S.A.) あるいは 0.2g e.q. rat liver microsomes (17 α -HSD 活性), 0.1 mM NADPH, 50 μ M cannabinoids (THC、CBD および CBN) を含む 100 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.25 mL 中、37 $^{\circ}$ C で 30 分間反応した。反応終了後、反応混液を酢酸エチル 3 mL で抽出、有機層をエバポレート、ethanol 100 μ L に溶解、その 20 μ L を GC/MS に注入し分析を行った。

B. GC/MS 測定条件

装置 : Agilent 6890N GC/JMS-AMSUN200、カラム : HP-5 (0.25 mm i.d. X 30m, 膜厚 0.25 μ m)、カラム温度 : 180-280 $^{\circ}$ C (10 $^{\circ}$ C/min で昇温)、注入口および検出器温度 : 300 $^{\circ}$ C、イオン化 : 70 eV、キャリアーガス (流速) : He (1mL/min) の条件下測定を実施した。

【結果・考察】

TES を基質とした CYP19 によるアロマターゼ活性阻害率は、THC、CBD、CBN により各々 16、60、46% であり、AND では各々 7、73、79%

Table 1 Inhibition of CYP19 (aromatase) by THC, CBD and CBN

	<i>Androstendione to estrone (E1)</i>		<i>Testosterone to estradiol (E2)</i>	
	<i>μmol/mg protein</i>	<i>% of control</i>	<i>μmol/mg protein</i>	<i>% of control</i>
<i>Control</i>	<i>48.4 ± 5.9</i>	<i>100.0 ± 12.2</i>	<i>11.7 ± 1.3</i>	<i>100.0 ± 12.3</i>
<i>THC</i>	<i>44.8 ± 5.9</i>	<i>92.6 ± 12.2</i> **	<i>9.9 ± 0.1</i> **	<i>84.2 ± 0.6</i> **
<i>CBD</i>	<i>12.9 ± 7.6</i> *	<i>26.6 ± 15.7</i> *	<i>4.6 ± 1.2</i> *	<i>39.6 ± 11.4</i> *
<i>CBN</i>	<i>10.3 ± 3.0</i> **	<i>21.3 ± 6.1</i> **	<i>6.3 ± 2.1</i> **	<i>54.1 ± 19.3</i> **

* < 0.05, ** < 0.01 (v.s. control)

Table 2 Inhibition of 17β-hydroxysteroid dehydrogenase (17β-HSD) by THC, CBD and CBN

	<i>Androstendione to testosterone</i>		<i>Estrone (E1) to estradiol (E2)</i>	
	<i>μmol/mg protein</i>	<i>% of control</i>	<i>μmol/mg protein</i>	<i>% of control</i>
<i>Control</i>	<i>104.6 ± 3.7</i>	<i>100.0 ± 3.6</i>	<i>116.9 ± 9.1</i>	<i>100.0 ± 7.8</i>
<i>THC</i>	<i>81.3 ± 16.9</i>	<i>77.7 ± 16.2</i>	<i>90.8 ± 10.9</i>	<i>77.7 ± 9.4</i>
<i>CBD</i>	<i>81.7 ± 2.0</i> **	<i>78.1 ± 2.0</i> **	<i>82.0 ± 4.0</i> **	<i>70.1 ± 3.5</i> **
<i>CBN</i>	<i>81.6 ± 11.9</i> *	<i>78.0 ± 11.4</i> *	<i>91.6 ± 6.5</i> *	<i>78.3 ± 5.6</i> *

* < 0.05, ** < 0.01 (v.s. control)

であった。CBD および CBN は CYP19 による両活性に対して有意な阻害を示した。一方、AND を基質とした 17α-HSD 活性阻害は、THC、CBD、CBN によりすべて約 20%、E1 では各々 22、30、22% と有意な阻害を示した。このことは、大麻乱用者では、これらカンナビノイドが性ホルモンの生成に何らかの影響を及ぼしていると考えられる。

今後、代謝物を含めたマリファナ成分の内分泌攪乱物質様作用を明らかにするため、エストロゲン受容体との相互作用を検討する。

【文献】

1) I. Yamamoto, K. Watanabe, T. Matsunaga, T. Kimura, T. Funahashi, H. Yoshimura, "Pharmacology and Toxicology of Major

Constituents of Marijuana — On the Metabolic Activation of Cannabinoids and Its Mechanism", *J. Toxicol. TOXIN REVIEWS*, **22**, 577-589 (2003).

2) I. Yamamoto, K. Nagai, K. Watanabe and H. Yoshimura, A Novel Metabolite, an Oxepin Formed from Cannabidiol with Guinea-pig Hepatic Microsomes, *J. Pharm. Pharmacol.*, **47**, 683-686 (1995).

3) K. Watanabe, E. Motoya, N. Matsuzawa, T. Funahashi, T. Kimura, T. Matsunaga, K. Arizono, I. Yamamoto, Marijuana extracts possess the effects like the endocrine disrupting chemicals, *Toxicology*, **206**, 471-478 (2005).

4) 宇佐見則行、井本真澄、岸 信行、山本郁男、渡辺和人、ヒト CYP19 による主要大麻成分の代謝、日本法中毒学会第 28 年会 (金沢)、講演要旨集, 122-123 (2009).

ウイルス感染マウスにおいて酸化チタン暴露により特異的に影響を受ける疾患関連因子の探索

渡辺 渡¹、清水 寛美²、紺野 克彦¹、広瀬 明彦³

九州保健福祉大学・薬学部・¹動物生命薬科学科、²薬学科 ³国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験センター

はじめに

産業用ナノマテリアルは近年、急速にその種類や生産量が増加しつつあるが、その物理化学的特性を考慮した有害性評価手法の開発が急務となっている。特に、2004年頃にカーボンナノチューブやフラーレン (C60) に対する *in vivo* 研究で有害性を示唆する報告がなされてから、国内外ともにナノマテリアルの健康影響問題に注目が高まっている¹⁾。本研究では、住宅建材、化粧品などに幅広く使用されているナノマテリアルである酸化チタン(TiO₂)に着目し、RSウイルス感染マウスモデルを用いて、酸化チタン暴露により変動する疾患に関連する因子の探索を行うことを目的とした。

研究方法

酸化チタンサンプルA (アナターゼ型) あるいはR (ルチル型) を phosphate-buffered saline (PBS) に超音波破碎機を用いて懸濁して、BALB/c マウス (雌; 6週齢) に麻酔下で経鼻投与した。4日後、RSウイルス A2株 (3 × 10⁵PFU) を同様に麻酔下で経鼻感染させた。感染対照 (mock infection) マウスには同様にPBSを投与した。ウイルス感染5日後に麻酔下で脱血させ、マウス気道にカテーテル経由で冷PBSを注入し、肺洗浄液(BALF)を取得した。その後、肺を無菌的に摘出し液体窒素中で急速凍結し、使用時まで-80℃で保存した。なお、マウスは一群7匹以上を設定した。

BALF中のIFN-γの定量は、eBioscience社

製の Mouse IFN-γ ELISA キットを用いて添付のプロトコールに準じて行った。また、肺組織中の RANTES 遺伝子の発現量は、リアルタイム RT-PCR 法により行った²⁾。

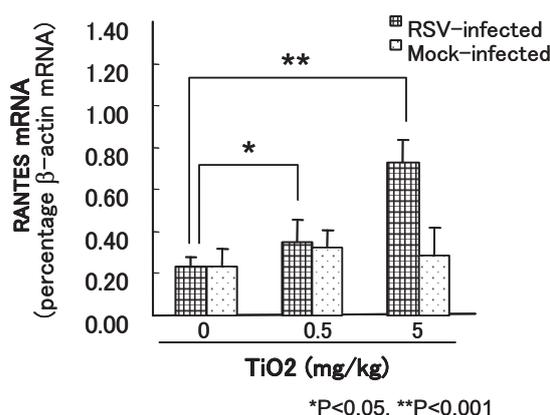
ウイルス感染マウス肺の病理組織学的な検討は、中性ホルマリン中で固定後、(株)札幌総合病理研究所に委託した。

結果

アナターゼ型の酸化チタンサンプルAについて評価を実施した。サンプルA 0.5, 5 mg/kg 投与群において、RSウイルス感染により引き起こされる肺炎の代表的マーカーとして知られているIFN-γについて、BALF中のレベルを定量した。その結果、サンプルA投与群でのBALF中のIFN-γレベルは、対照群(0 mg/kg)と明確な差は認められなかった(結果は示さず)。また、解剖時における摘出肺の所見でも今回検討した酸化チタンサンプルA投与による肺炎の重篤化は認められなかった。そこで、遺伝子発現レベルからの検証を行うこととし、肺炎の増悪化に関与し、かつ臭素化難燃物暴露で顕著に発現レベルが上昇することを私たちが報告した²⁾炎症性ケモカイン RANTES の遺伝子について検討した。

肺組織中の RANTES mRNA 量は、ハウスキーピング遺伝子のβアクチン mRNA 量で標準化して表した (図-1)。

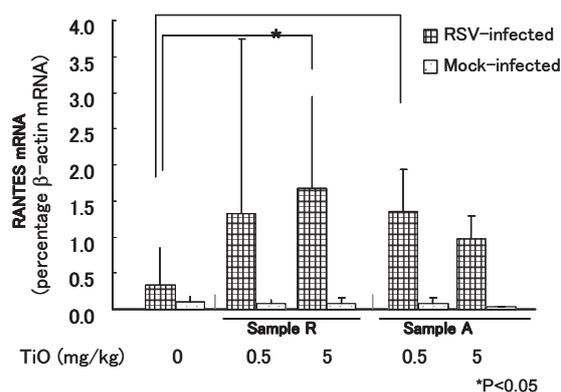
図-1 Effects of TiO₂ exposure on the levels of RANTES mRNA in lung tissues of Mock or RSV-infected mice



RSウイルス感染マウスにおいて、酸化チタンサンプルAを投与することで、RANTES mRNA量が有意に上昇していた。一方、ウイルス非感染マウスではRANTES遺伝子の発現上昇は認められず、酸化チタンサンプル投与による影響はRS

ウイルス感染病態に選択的であることが示唆された。これらの結果を確認するため、ルチル型酸化チタンサンプルRを含めて、追実験を行った(図-2)。

図-2 Effects of TiO₂ exposure on the levels of RANTES mRNA in lung tissues of Mock or RSV- infected mice *



サンプルAおよびR投与群では、RSウイルス感染時に有意にRANTES遺伝子の発現上昇が確認された。酸化チタンサンプルの相違(AもしくはR型)は結果に強く反映されなかったが、酸化チタンの投与によりRSウイルス感染病態が影響を受けることが明らかとなった。なお、各群からマウスを選抜して病理組織検査を委託したが、酸化チタン暴露による影響は認められなかった(結果は示さず)。

考察

今回の研究により、酸化チタンナノ粒子を暴露し、RSウイルスを感染させたマウスでは、肺組織中の炎症性ケモカインRANTESの遺伝子発現が有意に上昇していること、そして非感染マウスでは影響しないことを見出した。RSウイルス感染病態はヒトとマウスで大きな相違がなく、かつ宿主の免疫状態を強く反映することに注目して、私たちは本モデルにて環境化学物質の免疫毒性を評価する方法を開発した³⁾。そして従来、免疫系への影響が明確になっていなかった臭素化難燃物質の作用を明らかにしてきた^{2), 4), 5)}。それらの研究では、IFN- γ を筆頭にBALF中のサイトカインレベルの変動が重要な評価因子であった。しかしながら、今回の研究では、初期の段階でサイトカインのタンパク質レベルの変動では評価が難しいと判断し、遺伝子発現レベルでの実験から、酸化チタンの感染病態へ

の影響を見出した。今後、酸化チタンのRANTES誘導のメカニズムを解明することで、ナノマテリアルの新しい安全性評価のマーカーを見出すことが期待される。その為にRANTESに関与する細胞種を同定し、そして直接的あるいは間接的な作用機序を分子レベルで明らかにする必要がある。

謝辞

本研究の実施に際して、生化学第二講座黒川教授、澤村助手、日野研究補助員の多大なるご協力に感謝いたします。

文献

- 1) Chen, H. W., Su, S. F., Chien, C. T., Lin, W. H., Yu, S. L., Yang, P. C. Titanium dioxide nanoparticles induce emphysema-like lung injury in mice. *FASEB. J.* (2006) 20, 1732-1741.
- 2) Watanabe, W., Shimizu, T., Hino, A., Kurokawa, M. Effects of decabrominated diphenyl ether (DBDE) on developmental immunotoxicity in offspring mice. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* (2008) 26, 315-319.
- 3) Watanabe, W., Shimizu, T., Hino, A., Kurokawa, M. A new assay system for evaluation of developmental immunotoxicity of chemical compounds using respiratory syncytial virus infection to offspring mice. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* (2008) 25, 69-74.
- 4) Watanabe, W., Shimizu, T., Sawamura, R., Hino, A., Konno, K., Hirose, A., Kurokawa, M. Effects of tetrabromobisphenol A, a brominated flame retardant, on the immune response to respiratory syncytial virus infection in mice. *Int. Immunopharmacol.* (2010) 10, 393-397.
- 5) Watanabe, W., Shimizu, T., Sawamura, R., Hino, A., Konno, K., Kurokawa, M. Functional disorder of primary immunity responding to respiratory syncytial virus infection in offspring mice exposed to a flame retardant, decabrominated diphenyl ether, perinatally. *J. Med. Virol.* (2010) 82, 1075-1082.

新しいヒトナイーブTリンパ球(CD4+CD45RA+CD93+細胞)の同定

池脇信直¹⁾ 園田徹²⁾

九州保健福祉大学・¹⁾薬学部・動物生命薬科学科
²⁾保健科学部・作業療法学科

【目的】

ヒトナイーブTリンパ球 (CD4+CD45RA+細胞) は、主に胎児血液細胞 (臍帯血細胞) に数多く存在する¹⁻³⁾。この細胞は未熟で分化能が高いため、この細胞分画の移植は各種疾病の治療に応用できると考えられている。しかし、ナイーブTリンパ球は均一な細胞集団ではないため、治療効果と安全性を向上させるためには、新しい均一なナイーブTリンパ球が求められている。

我々は、自主開発し米国で特許を取得したCD93抗体、さらに既存のCD4抗体およびCD45RA抗体を組み合わせることで、臍帯血細胞中に新しいナイーブTリンパ球 (CD4+CD45RA+CD93+細胞) を発見した。本研究は、この新しいナイーブTリンパ球の性状に関して報告する。

【材料と方法】

抗体: 自主開発のPE標識CD93抗体 (mNI-11)⁴⁾、FITC標識CD3抗体 (UCHT1)、FITC標識CD19抗体 (89B)、FITC標識CD45RA抗体 (2H4)、FITC標識CD45RO抗体 (UCHL-1)、APC標識CD4抗体 (13B8.2) を用いた。

細胞: 臍帯血細胞、健康成人末梢血細胞 (提供同意済み) を用いた。

フローサイトメトリー (FACS) 法: 常法に従って細胞に抗体を反応させ、リンパ球分画にゲートをかけ、陽性細胞を解析した。

【結果】

臍帯血細胞由来のCD3+リンパ球 (T細胞) は、mNI-11抗体によって認識されるCD93が強く発現していたが、CD19+リンパ球 (B細胞) にはCD93

は全く発現していなかった (図1)。一方、健康成人末梢血細胞由来のCD3+リンパ球 (T細胞)、CD19+リンパ球 (B細胞) にはCD93は全く発現していなかった (図2)。

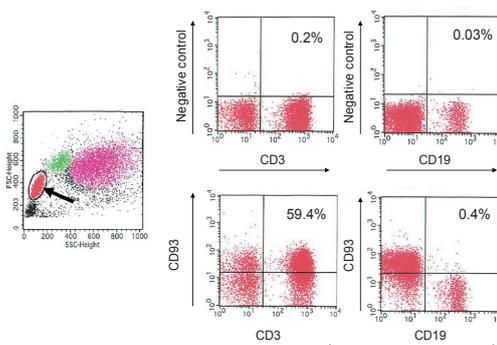


図1. 臍帯血細胞由来 CD3+リンパ球 (T細胞) および CD19+リンパ球 (B細胞) 表面上のCD93の発現 (左図の矢印はリンパ球分画)

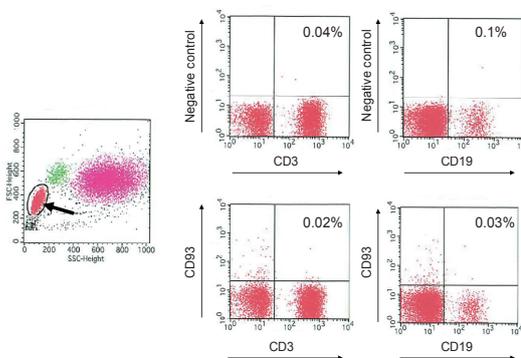


図2. 健康成人末梢血細胞由来 CD3+リンパ球 (T細胞) および CD19+リンパ球 (B細胞) 表面上のCD93の発現 (左図の矢印はリンパ球分画)

さらに、臍帯血細胞由来のナイーブリンパ球 (CD45RA+細胞) にはmNI-11によって認識されるCD93が強く発現していたが、メモリーリンパ球 (CD45RO+細胞) にはCD93は全く発現していなかった (図3)。

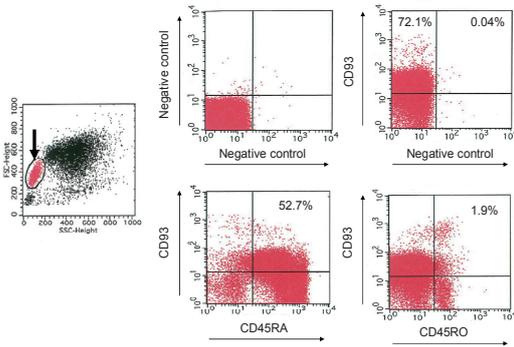


図3. 臍帯血細胞由来ナイーブリンパ球 (CD45RA+細胞) およびメモリーリンパ球 (CD45RO+細胞) 表面上の CD93 の発現 (左図の矢印はリンパ球分画)

また、結果には示さないが、健常成人末梢血細胞由来のナイーブリンパ球 (CD45RA+細胞) およびメモリーリンパ球 (CD45RO+細胞) には CD93 は全く発現していなかった。

一方、臍帯血細胞由来のナイーブTリンパ球 (CD4+CD45RA+細胞) には mNI-11 抗体で認識される CD93 が強く発現していることがわかった (図4)。

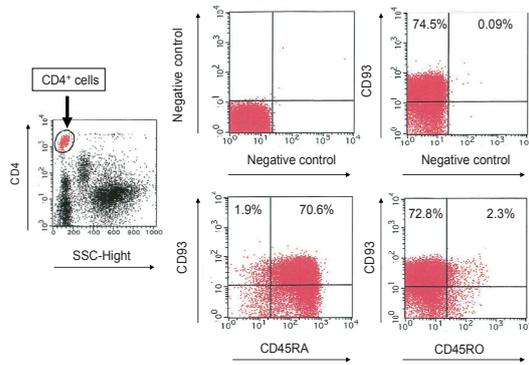


図4. 臍帯血細胞由来ナイーブTリンパ球 (CD4+CD45RA+細胞) 表面上の CD93 の発現 (左図の矢印はCD4+細胞)

【考察】

ヒトナイーブTリンパ球は、主に臍帯血細胞に数多く存在する。この細胞は各種外来抗原の刺激によってメモリーTリンパ球に分化し、生体の免疫システムを維持している¹⁻³⁾。しかしながら、ナイーブTリンパ球の詳細な免疫機能を

解析するためには、均一な新しいナイーブTリンパ球の同定が求められている。そこで、我々は自主開発した CD93 抗体 (mNI-11) を用いたマルチカラーFACS法を利用し、均一で新しいナイーブTリンパ球の同定を試みた。

CD93 (分子量 100 kDa) は、主に単球・顆粒球・血管内皮細胞・造血幹細胞に発現し、初期の生体防御システムに重要な役割を演じている⁴⁻⁷⁾。本研究の結果から、臍帯血細胞由来のナイーブTリンパ球 (CD4+CD45RA+細胞) には CD93 が強く発現していることが判明した。すなわち、臍帯血細胞には均一な新しいナイーブTリンパ球 (CD4+CD45RA+CD93+細胞) が存在していることが理解できる。このTリンパ球の免疫機能は現時点では明らかではないが、おそらく新規の抑制性Tリンパ球ではないかと推測している。今後、regulatory T (CD4+CD25+Foxp3+) リンパ球⁸⁾との関連性を検討することが重要であると考えられる。

これらの研究成果は、新規性および優位性に優れ、さらに将来は臨床検査・再生医療の分野での応用の可能もあることから社会的貢献度は極めて高いと考えられる。

【文献】

- 1) Hassan, J., Reen, D. J. *Immunology* 90:397, 1997.
- 2) Seddiki, N., Santner-Nanan, B., Tangye, S. G., et al. *Blood* 107: 2830, 2006.
- 3) Ikewaki, N., Yamao, H., Kulski, J. K., et al. *J. Clin. Immunol.* 2010 (in press).
- 4) Ikewaki, N., Inoko, H. *J. Leukoc. Biol.* 59: 697, 1996.
- 5) Tenner, A. J. *Immunobiology* 199: 250, 1998.
- 6) McGreal, E. P., Ikewaki, N., Akatsu, H., et al. *J. Immunol.* 168: 5222, 2002.
- 7) Greenlee, M. C., Sullivan, S. A., Bohlson, S. S. *Curr. Drug Targets* 9:130, 2008.
- 8) Wing, K., Ekmark, A., Karlsson, H., et al. *Immunology* 106: 190, 2002.

平成21年度共同研究報告書

編集後記

最近、大学に対する社会的な期待が「研究より教育」へと変化しているような気がします。こうした変化は社会そのものの多様化・複雑化に関連して生じている現象といえますが、大学における教育の本質を探る試みが失われては大学としての意味がありません。「研究に基づく教育の実践」こそ真の大学教育であるという自負を持って研究活動に取り組みたいものです。

大学に対する社会的期待の変化によって、研究そのものも当然変わらなければなりません。その方向性の一つが「学際的研究」ということになるでしょう。異なる専門領域間における共通テーマへの挑戦こそ学際的研究の意義でもあり、その研究スタイルが共同研究の姿といえます。

本学では、教育のエビデンスとして実践される学際的研究の推進という考えのもとで、積極的に共同研究を推奨し毎年多額の研究費が配分されています。平成21年度は23件の申請がありましたが、そのうち15件が共同研究費の恩恵にあずかることができました。本報告書はそうして実施された共同研究の成果をまとめたものですが、今後の研究活動に少しでもお役に立つことができると幸いです。

最後に、本報告書の出版にあたりご尽力いただいた、加計美也子理事長・総長ならびに和田明彦学長に感謝申し上げます。

教育開発・研究推進中核センター
研究推進部門長 福本安甫

平成 21 年度共同研究結果報告書

平成 22 年 9 月

編集発行 学校法人順正学園 九州保健福祉大学
教育開発・研究推進中核センター研究推進部門
〒882-8508 宮崎県延岡市吉野町 1714 番地 1
電 話 0982-23-5555 (代表)

<非 売 品>

