

課題番号 : 27指6001

研究課題名 : 疾病の治療方法、保健医療のEBMに資する研究14

主任研究者名 : 湯尾 明

分担研究者名 : 湯尾 明、宇田川陽秀、南本亮吾、亀山征史、忽那賢志、山元 佳、森野英里子、西島 健、大熊喜彰、飯倉元保

キーワード : 脂肪組織、FDG-PET/CT、メチオニンPET、新興再興感染症、水痘・带状疱疹、結核、テノホビル、シスチノーシス、気管支サーモプラスティ

研究成果 :

●高度肥満患者において内臓・皮下脂肪特異的に変化する遺伝子群について、脂肪組織における生物学的・機能的意義を検証し、肥満の成因の探索や、肥満に関連した糖尿病・代謝障害のメカニズムの解明、治療法の開発を行う。初年度は、モデルマウスにおける候補遺伝子解析を行った

●FDG PET/CT 検査は、骨髄腫患者の全身の評価を行うことができる。今回、形質細胞の腫瘍性増殖を、アミノ酸代謝と DNA 合成を指標とした新たな PET/CT で評価し、病状評価と治療開始の指針とすることができるかどうかを評価した。

●メチオニンPETは放射性壊死と再発の鑑別に信頼されている。実際には2割弱でfalse positiveを生じている。(part I)では、遅延像を追加すればwashoutされる様子が分かるだろうという動態解析に基づく戦略を立て、(part II)では、てんかんを起こしている場合に神経細胞の発火によりアミノ酸代謝が起こるのではないかと考えた。実証されれば、てんかんの場合に、より正確な診断につなげることができる。てんかんという新たなメチオニンPETの用途も開発される。

●新興再興感染症の早期探知システムを確立することで、従来見過ごされていた感染症を積極的に探知し、渡航者の発熱疾患の中でこれまで診断に至らなかった症例を確定診断することで、当センターにおける希少・重要な感染症を早期に検出出来る体制を構築し、わが国における輸入感染症および新興・再興感染症の疫学情報を得る。

●水痘および带状疱疹患者におけるウイルスの空中への拡散状況をエアサンプラーで回収したサンプルをリアルタイムPCRにより定量的に評価した。室内外気、病型などによるウイルス量の差を解析し、水痘带状疱疹ウイルス感染症に対する最適な院内感染対策方法を検討した。

●全ゲノムシーケンス (WGS) 解析を利用し、結核集団感染の事例分析と難治性結核例の臨床微生物学的検討を行った。日本語学校における結核集団感染事例を対象に、WGS 解析を利用し、1) 真の集団感染か、2) 他の解析法との結果比較し、3) 臨床情報、疫学情報と統合して、4) 結核対策の改善点を探った。難治性結核の検討では、持続排菌例を対象に抗菌薬の長期投与による選択圧が菌に与える影響について、重症結核を対象に結核菌の細菌学的特徴について、再発例を対象に再燃例か再感染例かについて検討した。

●テノホビルは世界で最も使用される抗 HIV 薬・抗 B 型肝炎薬だが、副作用として腎障害が知られる。TDF 腎障害の主体は尿細管障害で、尿細管障害が先行し、後に腎機能障害が発症するため、尿細管マーカーが TDF 腎機能障害の有用なマーカーとなる可能性がある。当研究は、TDF による腎障害の軽減、特に 1) 既存の尿細管マーカーの腎機能予測における有用性と、2) 新たな診断・評価バイオマーカーの確立を目的とする。

●シスチノーシスは、リソソーム内のシスチントランスポーターであるシスチノシン (CTNS) 遺伝子の変異により引き起こされる、難治性の常染色体性劣性疾患である。有効な根治療法はなく、早期診断によるシステアミンの早期投与が発症の遅延・症状軽減に有効であり、腎移植やシステアミンを服用すれば、少なくとも 40-50 歳代まで十分な QOL が得られる。本研究では日本では正確な患者数さえ把握されていない、シスチノーシスの診断体制を整え、日本における発症頻度を明らかにすることを目的とする。

●重症喘息患者の半数以上は最大限の薬物療法でもコントロール不良である。欧米では気管支平滑筋を加温する新規非薬物治療である気管支サーモプラスティ導入で増悪減少、QOL 改善などの良好な成績が報告されている。本年 4 月より日本でも本治療が施行可能となった。日本人喘息患者での気管支サーモプラスティの有効性や安全性の検討、高齢者重症喘息に対する有効性や安全性の検討、治療効果予測因子の検討を行う予定である。

Subject No. : 27指6001

Title : Title : Clinical studies on Evidence-based medicine (EBM) for medical treatments and healthcare

Researchers : Akira Yuo, Haruhide Udagawa, Ryogo Minamimoto, Masashi Kameyama, Satoshi Kutsuna, Kei Yamamoto, Eriko Morino, Takeshi Nishijima, Yoshiaki Okuma, Motoyasu Iikura

Key word : visceral and subcutaneous fat, FDG-PET/CT, Methionine PET, emerging re-emerging infectious diseases, Varicella-Zoster virus, tuberculosis, tenofovir, cystinosis, bronchial thermoplasty

Abstract :

- We identified differentially expressed genes in visceral and subcutaneous fat in morbidly obese subjects, and are now investigating functional and pathological roles of these genes.
- Using FDG-PET/CT, We evaluate the MM lesion with new PET tracers regarding amino acid metabolism and DNA synthesis if they can use for staging and management of MM
- (part I) Our strategy based on kinetics to improve Methionine PET (MET PET) accuracy is simply to add a delayed image. (part II) We hypothesized that epileptic firing may promote amino acid metabolism. The theory may improve MET PET accuracy for the tumor causing secondary epilepsy. Furthermore, MET PET may acquire another application of epilepsy.
- This study aims to establish an early detection system of the emerging re-emerging infectious diseases, and obtain the epidemiological information of imported infectious diseases and emerging and re-emerging infectious diseases in Japan.
- We measure atmosphere viral load of Varicella-Zoster virus (VZV) by quantitative PCR both inside and outside a private sickroom where a patient with VZV infection such as varicella or shingles stay. To detect the factors of increasing atmosphere viral load, we analyze clinical features of patients with VZV infection.
- We performed case analyses of tuberculosis outbreaks in addition to a clinical microbiological study of refractory tuberculosis using whole genome sequencing.
- This research aims to alleviate of tenofovir-nephrotoxicity, especially by 1) establishing the utility of already-existing tubular marker for prediction of tenofovir -renal dysfunction, and 2) the utility of anew tubular marker.
- We have established a high sensitivity method using LC/MS/MS system with Intrada Amino Acid column for determination of the leukocyte cystine. The level of cystine in the leukocyte of cystinosis model rats was significantly higher than those of control rats. Cystine concentrations in white blood cells were also measured in cystinosis patients. Quantification of cystine using LC/MS/MS with Intrada Amino Acid column provides a high sensitivity method for the diagnosis of cystinosis.
- We are planning to elucidate the effectiveness and safety of bronchial thermoplasty on Japanese asthmatic patients including elderly severe populations, and the predictors of effectiveness of this treatment.

Researchers には、分担研究者を記載する。

本研究班は、主任研究者1名、分担研究者9名、合計10名によって推進されてきた。

それぞれの分担研究者が独立して各専門分野における重要研究課題を推進し、主任研究者は一部の（主に事務的な）プロセスで全体を統括した。いずれの分担研究者も当初の計画を順調に推進し、幅広い成果を上げた。研究班は病院の若手医師が中心で、彼らは臨床現場の診療の担い手であるが、研究マインドも十分に稼働させて、疾病の解明、診断法や治療法の開発など、有意義な臨床研究を推進することができた。

●ヒト高度肥満者の内臓脂肪・皮下脂肪における網羅的遺伝子発現解析と、肥満・糖尿病の病態の探索

（分担研究者：宇田川 陽秀）

●¹⁸F-FDG, ¹¹C-MET,¹¹C-4DST PET/CTによる骨髄腫病変の評価の比較検討

（分担研究者：南本 亮吾）

●¹¹C]メチオニン PET の新たな可能性

（分担研究者：亀山 征史）

●新興再興感染症の早期探知システム確率のための前向き研究

（分担研究者：忽那 賢志）

●水痘、帯状疱疹の個室隔離における室内外の大気中水痘帯状疱疹ウイルスのウイルス量に関する検討

(分担研究者:山元 佳)

●全ゲノムシーケンス解析を利用した結核集団感染の事例分析と難治性結核例の臨床微生物学的検討

(分担研究者:森野 英里子)

●抗HIV・B型肝炎薬テノホビルの腎機能障害に関する研究

(分担研究者:西島 健)

●日本におけるシスチノーシス(シスチン蓄積症)発症頻度の解明と診断基盤の確立

(分担研究者:大熊 喜彰)

●重症喘息患者に対する気管支サーモプラスティの治療効果予測因子の検討

(分担研究者:飯倉 元保)

多くの分担研究が臨床研究であるため、研究初年度の本年度は、症例収集の準備、倫理委員会申請、等の作業が行われたが、既に症例の収集を開始して解析を行っている分担研究者も見られた。本格的な研究展開は次年度からと考えれる。

課題番号 : 27指6001

研究課題名 : ヒト高度肥満者の内臓脂肪・皮下脂肪における網羅的遺伝子発現解析と、肥満・糖尿病の病態の探索

主任研究者名 : 湯尾明

分担研究者名 : 宇田川陽秀

キーワード : 高度肥満、糖尿病、トランスクリプトーム解析、

研究成果 : 肥満人口は2013年に世界で21億人となっており、日本でも食生活の欧米化や過食により増加し、男性31%、女性22.2%が肥満となっている。肥満は、2型糖尿病をはじめ多くの疾患のリスク因子となり、国民の健康増進の上で介入すべき最も重要な病態である。しかしながらヒト肥満の治療は食事療法・運動療法が中心で、その効果は不十分でありかつ長期間持続しないことが多く、また有効な薬物もきわめて限られている。肥満における脂肪組織は、量だけでなく、分布による生物学的な違いが注目され、日本人が白人に比して、肥満度が小さくても健康障害を生じやすい原因の一つとして、内臓脂肪を蓄積しやすいことも想定されている。したがって内臓脂肪、皮下脂肪の特徴を明らかにすることは、日本人の肥満や、糖尿病など代謝疾患の病態解明に必須であるが、ヒトではほとんど解明されていない。そこで、本研究課題では、ヒト高度肥満患者の内臓脂肪や皮下脂肪組織の網羅的遺伝子発現解析から得られた遺伝子について、ヒト脂肪組織標本におけるタンパク発現や血清中の濃度を測定し評価すると共に、肥満・糖尿病モデルや *in vitro* の細胞系で機能を検証する。さらに、候補遺伝子の改変マウスの機能解析を行うことで、肥満の成因となる因子の探索や、肥満誘導糖尿病発症に関連する因子やメカニズムの解明をおこなう。

本年度は、ヒト高度肥満患者の内臓脂肪と皮下脂肪組織のトランスクリプトーム解析から、皮下脂肪組織に比較して内臓脂肪組織で発現の高い遺伝子リストの中から、分泌タンパク質 (*Protein X, Y*) や転写因子 (*TF α , β , γ*) など内臓脂肪組織で特徴的な分子に着目した。これら遺伝子の発現は、肥満・糖尿病モデル *ob/ob* マウスと高脂肪食 (HFD) マウスの大網脂肪 (Ome)、腸管膜脂肪 (Mes)、精巣上体脂肪 (Epi) と皮下脂肪組織 (Sub) を摘出し、RNA を抽出した後に、TaqMan 法による定量 PCR で測定した。

図1に示す通り、分泌タンパク質である *Protein X* mRNA 発現は、HFD マウスの Ome で有意な増加が認められた。一方、高度肥満モデルである *ob/ob* マウスでは、Ome での発現増加は認められなかったが、Sub と Epi での発現が有意に低下した。*Protein Y* mRNA 発現は、HFD マウス、*ob/ob* マウスの Epi と Mes では有意に低下したが、Ome では有意に増加した。以上より *Protein X* と *Y* は、体重の増加と共に、大網脂肪組織で発現が誘導される分子である事が示唆された。

次にヒト皮下脂肪に比較して内臓脂肪組織で顕著に高い発現を示した転写因子 *TF α , β , γ* のマウス脂肪組織での発現を図2に示す。

HFD マウスの Ome における *TF α , β , γ* 発現に有意な変化は認められなかったが、Sub, Mes, Epi の多くで発現が低下した。一方、高度肥満モデルの *ob/ob* マウスにおける *TF α , β , γ* の発現は、Mes, Epi で低下し、Ome では有意に増加することが認められた。従って、これら転写因子は、病的な体重増加により、特に大網脂肪組織で発現が誘導されることが示唆された。

以上より、体重の増加と共に、内臓脂肪の大網脂肪組織で特徴的に発現が誘導される分泌タンパク質と転写因子を同定した。今後、これら分子の脂肪細胞分化前後における機能的意義を *in vivo*, *in vitro* にて解析する。

図1 HFDとob/obマウスのProtein X & Y mRNAの発現

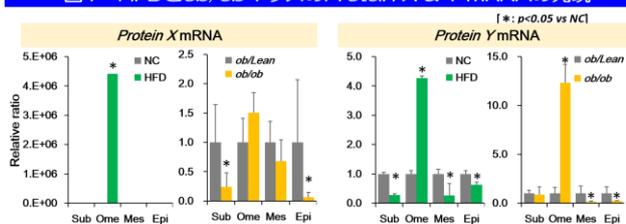
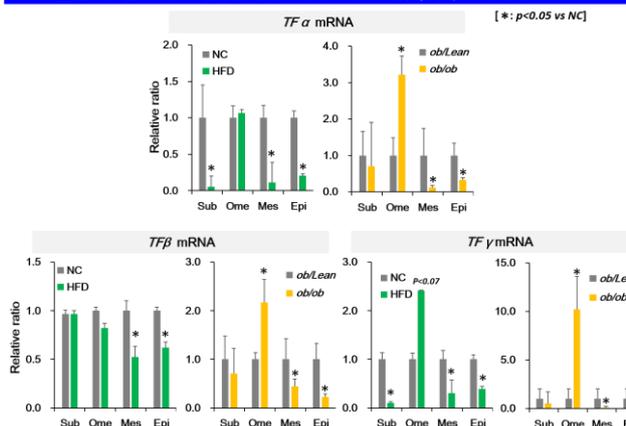


図2 HFDマウスとob/obマウスのTF α , β , γ mRNAの発現



¹⁸F-FDG, ¹¹C-MET, ¹¹C-4DST PET/CTによる骨髄腫病変の評価の比較検討

分担研究者: 国立国際医療研究センター 放射線核医学科 南本 亮吾

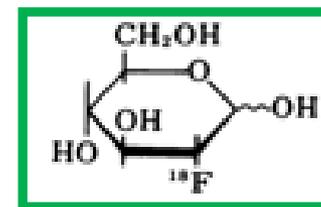
背景: 骨髄腫病変の評価には、単純X線写真、CT、MRIなどの**形態画像**に加え、**機能画像**である **FDG-PET/CT**(以下FDG)も有用であることが分かってきた。また、病変数の評価において、**MET(メチオニン)-PET/CT**(以下MET)や4DSTがFDGよりも有用である可能性も報告されている。

目的: 骨髄生検の結果との対比による、3種(FDG, MET, 4DST)PET/CTの診断能の評価、またPET所見と**予後との評価**による比較を行い、骨髄腫におけるPET診断の向上を目指す。

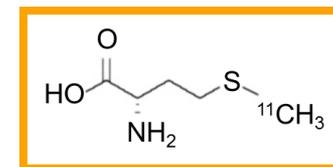
対象: 対象は、臨床的に多発性骨髄腫と診断された患者で、初回の活動性評価(治療前)の患者、または多発性骨髄腫の患者で再ステージングを行う患者とする。

方法:

- ① 3種(FDG, MET, 4DST)PET/CTを一週間以内に施行し Durie&Salmon Plusシステムにより病期診断を比較する。
- ② 3種(FDG, MET, 4DST)PET/CTと全身MRIとの診断能の比較を行う。
- ③ 治療前後に撮像可能なグループについて、化学療法前と後で幹細胞移植前に3種のPETを施行し、評価可能病変の集積の変化を比較する。追跡調査によって3年後におけるPFS(Progression free survival)やOS(Over all survival)を確認し、各種PET/CT所見、治療前後における集積変化との比較を行う。



FDG



MET



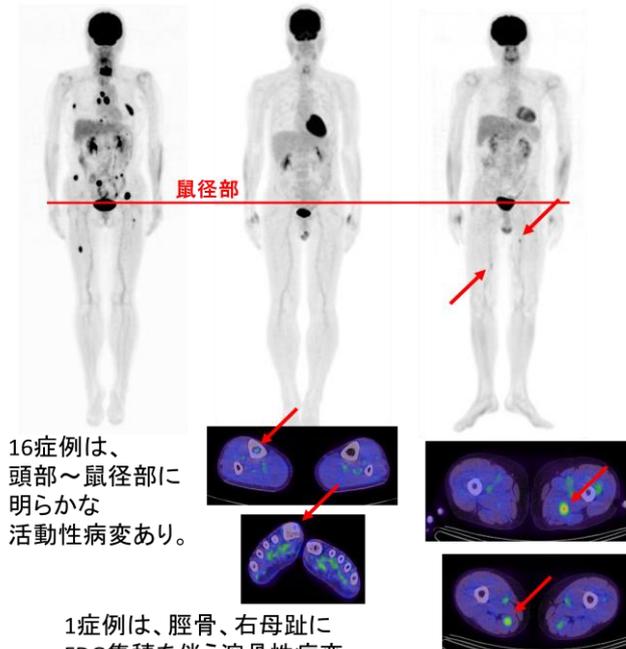
4DST

成果報告:

多発性骨髄腫のFDG PET/CT検査の撮像範囲の検討:pilot study (2015年日本核医学会総会にて発表)

現在、当院では、頭頂～足先までの全身の撮像をしているが、メリットとしては髄外病変も含め、全身の評価ができるが、デメリットとしては、①撮像に時間がかかる(30分)、②疼痛の症状が強い場合は長時間じっと寝ているのがつらいことがあげられる。多発性骨髄腫に対して必要十分な撮影範囲について基準になるデータはない。

全身撮像を実施し、下肢に明らかなMM病変のある患者18例(2011年8月～2015年1月、男性10例、女性8例、平均年齢62.6歳)において、撮像範囲を鼠径部までに変更した場合に、「その症例に活動性病変がある」という診断に変更があるかどうかを検討した。



16症例は、頭部～鼠径部に明らかな活動性病変あり。

1症例は、脛骨、右母趾にFDG集積を伴う溶骨性病変

1症例は、大腿近位部・遠位部の皮下に髄外病変を疑うFDG集積と軟部影が認められた。

撮像範囲	活動性病変ありと診断できた割合
全身	100 %(18/18)
膝まで	94.4 %(17/18)
鼠径部まで	88.8 %(16/18)
鼠径部+[足に症状ありor足に病変を指摘されている場合は足まで]	88.8 %(16/18)

今回の検討では、「下腿のみ」に病変のある人は18例中1例のみであった(6%)。この1例を除き、下肢(大腿、下腿)に病変のある人はすべての症例で頭部～鼠径部に病変があった。撮像範囲を膝までとしても骨髄腫の診断には影響がないと考えられる。

課題番号 : 27指6001

研究課題名 : 疾病の治療方法、保健医療のEBMに資する研究14 -- メチオニン[11C]メチオニン PET の新たな可能性

主任研究者名 : 湯尾 明

分担研究者名 : 亀山征史

キーワード : メチオニン PET, 脳腫瘍再発、放射性壊死、てんかん

研究成果 :

(part I)

炭素 11 標識メチオニンによる PET 診断は、脳腫瘍の放射線治療後の放射線壊死と再発の鑑別診断に有用であることが数多く報告されている。しかし、報告されている診断精度は臨床的に十分信頼に足る精度とは言い難いのが実情である。診断精度の向上のために、メチオニン PET の解析方法、特に遅延像を利用したメチオニンの集積の動態変化を調べることにより、腫瘍細胞によるアミノ酸代謝により細胞内にとどまるメチオニンと、壊死組織における BBB の破綻に伴い組織内に拡散して取り込まれた後に再び Washout されるメチオニンを区別し、遅延像において再発巣ではメチオニン集積が高値となったまま持続ないし更に集積亢進し、壊死巣では集積が低下し、両者の違いが遅延像でより明瞭になることを期待して評価方法の検討をおこなう。

脳メチオニン撮像において、再発と放射線壊死の鑑別を必要とする症例にたいし、遅延像を追加した。一部の症例では早期像での評価と遅延像を追加したときの評価が異なる症例があり、それらの一部について、有効性が確かめられた。

初期の経験を世界脳外科学会、日本核医学会にて発表した。

(part II)

脳腫瘍や radiation necrosis にてんかんが合併することがある。

また、今までの報告から、神経活動に伴いメチオニンが集積するとすればうまく説明がつく症例がある。そこで、純粋なてんかんに対しメチオニン PET を行い、神経活動にともないメチオニンが集積するかどうかを確かめることにした。

てんかんに対する MET PET を 3 例(うち 2 例は当院神経内科から)行った。

NTT 東日本病院からの紹介患者については、片側の海馬に集積を認めた。

課題番号 : 27指6001
研究課題名 : 新興再興感染症の早期探知システム確立のための前向き研究
主任研究者名 : 湯尾明
分担研究者名 : 忽那賢志

キーワード : 新興再興感染症、早期診断
研究成果 :

本研究課題のために、以下の2つの研究を倫理委員会に申請し承認を得た。
2016年1月より開始しており、順調に症例登録が行われている。

1. multiplex PCRを用いた本邦における旅行者下痢症の疫学に関する研究

研究開始日: 2016年1月12日

症例登録状況: 56例 (目標登録数100例)

2. multiplex PCRを用いた本邦における海外渡航後の発熱疾患の疫学に関する研究

研究開始日: 2016年1月4日

症例登録状況: 12例 (目標登録数50例)

2016年度は、本研究課題に関してさらに、

- ・multiplex LAMP法を用いた熱帯感染症の診断法の開発
 - ・multiplex PCRを用いた本邦における海外渡航後の呼吸器疾患の疫学に関する研究
- の2つを倫理委員会に提出し開始する予定である。

本研究の成果として以下の4つの研究を発表した。

1. Kobayashi T, Kutsuna S, Hayakawa K, et al. An Outbreak of Food-Borne Typhoid Fever Due to *Salmonella enterica* Serotype Typhi in Japan Reported for the First Time in 16 Years. *Am J Trop Med Hyg.* 2016 Feb 3;94(2):289-91.
2. Shinohara K, Kutsuna S, Takasaki T, et al. Zika fever imported from Thailand to Japan, and diagnosed by PCR in the urines. *J Travel Med.* 2016 Jan 18;23(1). pii: tav011.
3. Matono T, Kutsuna S, Koizumi N, et al. Imported Flood-Related Leptospirosis From Palau: Awareness of Risk Factors Leads to Early Treatment. *J Travel Med.* 2015 Nov-Dec;22(6):422-4.
4. Tsuboi M, Kutsuna S, Kato Y, Nakayama E, Shibasaki K-i, Tajima S, et al. Autochthonous chikungunya fever in traveler returning to Japan from Cuba. *Emerg Infect Dis.* 2016 Sep. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2209.160603>

また *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* に以下の論文がアクセプトされている。

Katanami Y, Kutsuna S, Morita M, et al. Six Cases of Paratyphoid Fever due to *Salmonella Paratyphi A* in Travelers Returning from Myanmar between July 2014 and August 2015.

国際医療研究開発費（若手育成型） 2015年度中間報告
課題番号：27指6001

- 研究課題名：水痘、带状疱疹の個室隔離における室内外の大気中水痘带状疱疹ウイルスのウイルス量に関する検討
- 主任研究者名：湯尾 明
- 分担研究者名：山元 佳

<研究概要>

- 対象組み入れ開始：2015年11月1日（終了予定：2017年7月31日）
- 対象：当センター入院中の水痘あるいは带状疱疹の急性期と診断される患者
- 集計項目：個室の陰圧の有無、病型、患者の臨床情報
- 検査項目：患者のエントリー時に水疱と咽頭のぬぐい液を採取し、室内大気、室外大気をエアサンプラーにより回収する。
回収した検体のrealtime PCR法によりそのウイルス量を定量

組み入れ症例と結果

- 2015年度組み入れ症例数: 8例
- 年齢中央値52歳
- 病型: 帯状疱疹4、播種性帯状疱疹2、水痘2
- 基礎疾患(重複あり):
治療中の固形癌2、膠原病1、その他(ネフローゼ症候群1、IP1)
- 免疫抑制薬使用: 4
- 治療開始から検体採取までの日数(中央値): 2日
- 発疹出現から検体採取までの日数(中央値): 4日

VZV viral load [Med(IQR)]	水疱 (copies/ μ L)	咽頭 (copies/ μ L)	室外気 (copies/1000L大気)	室内気 (copies/1000L大気)
全体	1.2×10^5 (3.0×10^3 - 2.0×10^6)	1.7×10^{-6} (3.3×10^{-7} - 1.9×10^2)	0 (0-0)	0 (0 - 5.5×10^{-3})

課題番号 : 27指6001

研究課題名 : 全ゲノムシーケンス解析を利用した結核集団感染事例分歴と難治性結核例の臨床微生物学的検討

主任研究者名 : 湯尾明

分担研究者名 : 森野英里子

キーワード : 結核、全ゲノムシーケンス解析、集団感染、難治性
研究成果 :

- ① 倫理委員会に研究内容の申請を行い、承認を得た。
- ② 該当する結核菌を集積し一部の検体でWGS解析を実施した。
- ③ WGS解析結果と臨床情報と統合し、考察中である。

以下詳細

1) 日本語学校で生じた集団感染事例に関する WGS 解析

2013年の事例を1件検討した。初発患者は18歳男性、内モンゴル人。2013年4月頃より咳、痰があったが中国で医療機関を受診した際はウイルス性上気道炎との診断であった。2013年10月に来日、日本語学校に通学。咳・痰が持続、増悪したため近医を受診し、胸部X線で異常を指摘され、当院を受診した。精査にて喀痰抗酸菌塗抹3+（大量排菌）、結核菌PCR陽性が判明し、肺結核との診断で2013年11月に入院した。抗結核薬による治療が開始され、後にストレプトマイシン(SM)耐性と判明し、現在は治療を無事終了している。この患者と接触のあった者を対象に、接触者検診が新宿区によって行われたが、Quantiferon(QFT)陽性率が高かった(対象:35名、受検者35名、陽性28名、判定保留2名、陰性5名、判定不可0名、陽性率85.7%)ため、日本人学校(学生301人、職員22人)全員に対して、QFTと胸部X線が追加で行われた。追加検査の対象者のうちQFT陽性者は109人であった。初発患者の診断から3か月目に接触者4人の発病が確認され、4か月目にさらに4人の発病が確認された。計8人の患者のうち7株が入手でき、WGS解析を実施、いずれも初発患者と遺伝子学的に同一であり、SM耐性の北京株であった。

本事例は、発病した状態で来日した初発患者を発端として、来日後1か月という短い間に多数の暴露者を生じ、暴露後3-4か月で8人もの発病者、137人もの感染者を認めた大規模な集団感染事例であった。日本語学校は結核の高蔓延国からの若い学生が集まる場所であり、結核発病者が発見されても集団感染と断定できない事例があるが、本件ではWGS解析を実施したことにより集団感染であると断定できた。暴露から発病までの非常に早い臨床経過は北京株の病原性の高さを支持する結果であった。新宿区は日本で最も日本語学校が多い地域であり、外国人の結核、日本語学校での集団感染が大きな課題となっている。公衆衛生上の重要な問題を浮き彫りにした貴重な集団感染事例として報告予定である。

2) 難治性結核の臨床微生物学的検討

持続排菌肺結核、再発結核、粟粒結核、髄膜炎の症例をそれぞれ16例、0例、30例、8例分集積した。現在持続排菌例について13例分のWGS解析が終わり、臨床情報と統合して考察中である。

課題番号 : 27指6001
研究課題名 : 抗HIV・B型肝炎薬テノホビルの腎機能障害に関する研究
主任研究者名 : 湯尾明
分担研究者名 : 西島健

キーワード : テノホビル、HIV 感染症、腎機能障害

研究成果 : テノホビル (TDF) は先進国・途上国を問わず HIV 感染症治療ガイドラインの第一選択薬で、世界 3500 万の HIV 感染者に最も多く使用される抗 HIV 薬でありかつ広く使用される抗 B 型肝炎薬である。しかしながら、副作用として腎障害が知られる。抗 HIV 薬は生涯にわたる内服が必要で、その有害事象の軽減は喫緊の課題である。血清クレアチニンは腎機能の標準的指標だが、早期の腎機能障害検出には感度が低い。TDF 腎障害の主体は尿細管障害で、尿細管障害が先行し、後に腎機能障害が発症するため、尿細管マーカーが TDF 腎機能障害の有用なマーカーとなる可能性がある。当研究は、TDF による腎障害の軽減に、1) 遺伝的要素が TDF 腎障害に関わるかどうかの検討、2) 既存の尿細管マーカーの腎機能予測における有用性の検討、3) テノホビル腎障害の新たな診断・評価バイオマーカーの確立の 3 点を目的とする。

1) 遺伝的要素が TDF 腎障害に関わるかどうかの検討

703 例の TDF を内服開始した日本人 HIV 感染例において、腎機能障害が尿細管における薬剤輸送蛋白の一塩基多型と関連するかどうかを検討した。結果、これまで TDF に関連する尿細管障害に関連するとされていた 3 つの遺伝子一塩基多型は、いずれも TDF 腎機能障害と関連しないことを示し、論文化した。(Nishijima et al, PLOS ONE 2015 10(11):e0141931. doi: 10.1371/journal.pone.0141931.)

2) 尿 β 2 ミクログロブリン(B2MG)による TDF 腎障害の予後予測の検討

当施設後ろ向きコホートで古典的尿細管マーカーである β 2MG の TDF 内服例の腎機能予後予測における有用性を検討する。症例は 800 例を見込み、TDF 内服中の HIV 例をベースの β 2MG の値によって分類し、それぞれの腎機能障害の発生率をロジスティック回帰で比較し、腎機能の推移を線形混合モデルで比較解析する。

3) TDF 尿細管障害の新たな診断マーカーの評価・確立

古典的マーカーとして上述の β 2MG、リン再吸収率等があるが、検査の不安定性や標準化における問題などのため、その有用性は限られている。近年、腎尿細管の新たなマーカーとして尿中 L 型脂肪酸結合蛋白、NGAL、KIM-1 などが開発され、既存のマーカーと比した有用性が明らかになった。当研究は、ベースラインとして当院 1400 例に新規・古典的マーカーを測定し、これらのマーカーと TDF・腎機能などを横断的に解析する。さらに 3 年、またさらに長期にわたり前向きに尿細管マーカーの値と腎機能の関連を解析する。これによって TDF 腎障害の新たな診断マーカーを確立し、TDF 内服例の腎障害の軽減に資する。

課題番号 : 27指6001

研究課題名 : 日本におけるシスチノーシス (シスチン蓄積症) 発症頻度の解明と診断基盤の確立

主任研究者名 : 湯尾 明

分担研究者名 : 大熊 喜彰

キーワード : シスチノーシス、シスチン、LC/MS/MS、前眼部 OCT、多施設共同研究

研究成果 :

<研究体制の整備>

下記の如く多施設共同研究体制を構築し白血球中シスチン濃度測定系を確立し、当センター倫理委員会にて承認を受けた。

<多施設共同研究体制の構築>

仙台市立病院、東北大学病院、横浜市立大学付属病院、横須賀共済病院、神戸大学病院、北野病院、東京都立小児総合医療センター、藤沢市民病院、JCHO 中京病院、三重中央医療センターと多施設共同研究体制を確立した。

<白血球中シスチン濃度測定系の確立>

シスチノーシスは、白血球中のシスチン濃度を測定して確定診断するが、日本では検査態勢が整っていない。我々は、これまでに LEA ラットがシスチノーシスの原因遺伝子であるシスチノシン遺伝子に変異を有し、全身性にシスチンが蓄積していることを明らかにしてきた。これまで、HPLC を用いてラット組織中のシスチン分析を行っていたが、白血球中のシスチン濃度は組織と比較して非常に低く、より感度が高い分析法が必要だった。本研究では、白血球中シスチン分析に最適な条件を、液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析装置(LC/MS/MS)を用いて、モデルラットおよびヒト検体で検討した。

逆相カラムである PFPP カラムを用いて、モデルラットから分離した白血球サンプルを用いて分析を行った結果、イオン強度が極端に低くなり定量が困難であった。一方、アミノ酸専用カラムである Intrada Amino Acid カラムを用いたグラジェント分析を行った結果、シスチンは約 4.5 分に溶出し、生体サンプルも定量性に問題がないことが確認できた。この方法を用いてシスチノーシスモデルラットの白血球を測定したところ、コントロールと比較して約 16 倍のシスチンが蓄積していた。さらに健常人ヒト白血球を用いた分析でも基準範囲の測定結果が得られ、その値はコントロールラットと同等の値を示した。

<前眼部 OCT を用いた角膜内のクリスタル検出の試み>

NIH Consensus Statement によると、シスチノーシスは、白血球中のシスチン濃度測定、あるいは経験を積んだ眼科医による角膜あるいは結膜のシスチン結晶の同定により確定診断される。これまでは細隙灯検査スコア法が用いられてきたが、より迅速に診断する新たな方法として、前眼部 OCT の有用性が報告された。前眼部 OCT は、通常診療で使用されている前眼部疾患を診断するために開発された前眼部専用の非接触型画像診断装置である。前眼部 3 次元画像を 1 秒程度で撮影できるため、被験者への負担はなく、有用性が認められれば、より迅速に非侵襲的にシスチノーシスを診断できる。

我々は、シスチノーシスと診断されている患者の前眼部 OCT を撮影した。今後、シスチノーシスと診断されている患者に加え、シスチノーシス疑いの患者の前眼部 OCT 所見を収集し、診断に有用かを検討する。

課題番号 : 27 指 6001

研究課題名 : 重症喘息患者に対する気管支サーモプラスティの治療効果予測因子の検討

主任研究者名 : 湯尾明

分担研究者名 : 飯倉元保

キーワード : 気管支喘息、気管支サーモプラスティ

研究成果 : 入院を要した気管支喘息患者 50 人の検討で、肺炎球菌や種々のウイルス感染が喘息発作に関連していることを報告した (Iikura M, et al. The Importance of Bacterial and Viral Infections Associated with Adult Asthma Exacerbations in Clinical Practice, PLOS ONE. 2015)。また、喘息重篤発作患者を対象としたアンケート調査で 5 つのフェノタイプに分けられることを報告した (Sekiya K, Severe or life-threatening asthma exacerbation: patient heterogeneity identified by cluster analysis. Clin Exp Allergy. 2016)。
このような重症喘息患者を対象とした新規非薬物療法である気管支サーモプラスティに関しては、2015 年 2 月より当院で治療開始し、既に現在 15 名の患者で治療を行い、日本一の治療件数である。最初の 2 症例に関して、安全に治療施行でき、短期的な治療効果が認められたことを報告した (気管支学 37 巻 4 号 2015 年)。3 回の気管支サーモプラスティを完遂した 10 症例を対象に、喘息関連 QOL の改善、喘息コントロールの改善や呼吸機能 FEV1 の上昇といった種々の治療効果に関して、2016 年の日本呼吸器学会、米国呼吸器学会で報告した。

研究発表及び特許取得報告について

課題番号：27指6001

研究課題名：疾病の治療方法、保健医療のEBMに資する研究14

主任研究者名：湯尾 明

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
New categorization of human vascular endothelial cells by pro- versus anti-proliferative phenotypes.	Nishio M, Nakahara M, Sato C, Saeki K, Akutsu H, Umezawa A, Tobe K, Yasuda K, Yuo A, Saeki K	World J Transl Med	4:88-100	2015
p38 MAPK regulates type-I versus type-II phenotyping of human vascular endothelial cells.	Nakahara M, Nishio M, Saeki K, Yuo A, Saeki K	World J Transl Med	4:101-112	2015
Pro- versus anti-stenotic capacities of type-I versus type-II human iPS-derived endothelial cells.	Nishio M, Nakahara M, Saeki K, Fujiu K, Iwata H, Manabe I, Yuo A, Saeki K	World J Transl Med	4:113-122	2015
Characterization of hepatic lipid profiles in a mouse model with nonalcoholic steatohepatitis and subsequent fibrosis.	Saito K, Uebanso T, Maekawa K, Ishikawa M, Taguchi R, Nammo T, Nishimaki-Mogami T, Udagawa H, Fujii M, Shibazaki Y, Yoneyama H, Yasuda K, Saito Y.	Scientific Reports	5:12466	2015
Demethylation of the MafB promoter in a compromised β -cell model.	Nishimura W, Ishibashi N, Eto K, Funahashi N, Udagawa H, Miki H, Oe S, Noda Y, Yasuda K.	Journal of Molecular Endocrinology	55(1):31-40	2015
Comparison of 11C-4DST and 18F-FDG PET/CT imaging for advanced renal cell carcinoma: Preliminary study.	Minamoto R, Nakaigawa N, Nagashima Y, Toyohara J, Ueno D, Namura K, Nakajima K, Yao M, Kubota K.	Abdominal Imaging		2015
Comparison of [150] H2O Positron Emission Tomography and Functional Magnetic Resonance Imaging in Activation Studies	Masashi Kameyama, Koji Murakami, Masahiro Jinzaki DOI:10.4103/1450-1147.172139	World J Nucl Med	15(1): 3-6.	2016
Sternal Uptake of 99mTc-MAA in Thoracic Outlet Syndrome.	Matsusaka, Yohji MD; Nakahara, Tadaki MD, PhD; Iwabuchi, Yu MD; Kameyama, Masashi MD; Murakami, Koji MD, PhD	Clin Nucl Med	40(12): 971-972	2015
An Outbreak of Food-Borne Typhoid Fever Due to Salmonella enterica Serotype Typhi in Japan Reported for the First Time in 16 Years.	Kobayashi T, Kutsuna S, Hayakawa K, et al.	Am J Trop Med Hyg	94(2):289-91.	2016
Zika fever imported from Thailand to Japan, and diagnosed by PCR in the urines.	Shinohara K, Kutsuna S, Takasaki T, et al.	J Travel Med	23(1)	2016
Imported Flood-Related Leptospirosis From Palau: Awareness of Risk Factors Leads to Early Treatment.	Matono T, Kutsuna S, Koizumi N, et al.	J Travel Med	22(6):422-424.	2015
DrugTransporter Genetic Variants Are Not Associated with TDF-Related RenalDysfunction in Patients with HIV-1 Infection: A Pharmacogenetic Study.	Nishijima T, Hayashida T, Kurosawa T, TanakaN, Oka S, Gatanaga H.	PLoS One	10(11):e0141931.	2015

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
Transcriptional Networks at the Early Stage of Classical Brown Adipocyte Differentiation are unraveled by an Integrated Transcriptional Velocity Analysis	Miwako Nishio, Masako Nakahara, Kumiko Saeki, Akira Yuo	KEYSTONE SYMPOSIATM Diabetes: New Insights into Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies (T2)	京都	2015年10月

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。
 ※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。