

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、堀田昌利、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・帯状疱疹、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 :

●我々がヒト内臓脂肪優位に発現することを示した転写因子GATA5について、生物学的・機能的意義を検証した。*Gata5*の発現は、マウスにおいても内臓脂肪で優位であり、高脂肪食の投与により有意に低下した。C3H10T1/2細胞で*Gata5*を高発現させると、分化誘導初期において、*Pparg*と*Cebpa*の発現が有意に低下し、分化誘導後12日目において中性脂肪含量が有意に低下していた。*Gata5*高発現により脂肪細胞分化が初期段階から抑制される可能性が示唆された。

●骨髄腫患者の症例登録と18F-FDG, 11C-MET, 11C-4DST PET/CTの検査、画像診断を行い、11C-4DSTとFDGPET/CT、全身MRI画像の比較では、病変検出能において11C-4DSTがFDGとMRIを上回ることが証明された。

●院内・院外からの紹介により、2年間で300例以上のメチオニンPET/CTを撮影した。この撮影件数は全国でもトップクラスであり、十分な症例を確保できた。

●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については、患者登録を終了した。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、multiplex PCRを用いた本邦における海外渡航後の呼吸器感染症の疫学に関する研究、multiplex LAMP法の輸入感染症診断における性能評価のためのパイロットスタディ、自動多項目同時遺伝子検出Verigeneシステム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に関しては、症例登録が進行中である。

●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に関して、研究対象の組み入れを開始し、26名の研究参加者から同意を得た。

●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。集団感染事例の検討について、「結核菌全ゲノム解析による日本語学校の集団感染事例の検討」と題して学会発表した。臨床微生物学的検討については、長期排菌、再発結核、粟粒結核、髄膜炎についてそれぞれ23例、3例、50例、12例を集め、新たに倫理委員会の承認を得て、対照群110例、骨関節結核30例も集めた。髄膜炎と再発例は目標症例数に達する見込みが低いため、多施設共同研究の準備を進めている。

●HIV感染者において、抗HIV・HBV薬テノホビルによる腎機能障害が、腎臓尿細管の薬剤トランスポーター蛋白遺伝子の一塩基多型と関連しないことを報告した。抗HIV・HBV薬テノホビルを内服するHIV感染例において、内服開始後早期の尿細管マーカーである尿中 $\beta 2$ ミクログロブリン値は、将来的な腎機能予後の指標となることを報告した。

●シスチノーシスモデルラットの血液および健常人の血液を用いて、白血球分離法および保管法等の最適化を行い、研究所共通機器室に設置されているタンデム型質量分析装置を用いて、白血球中のシスチン濃度を測定した。さらに、システアミンを服用している患者7名の白血球中シスチン濃度を測定し主治医に報告した。ファンconi症候群を発症し、シスチノーシスが疑われる3名の白血球中シスチン濃度を測定し主治医に報告した(3名ともシスチノーシスではなかった)。

●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、22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邦文にした。12症例のQOLや呼吸機能を指標とした治療効果や合併症に関しては海外学会発表した。治療前後での胸部CTで気道の変化をとらえ、1例の英文症例報告をした。現在、8症例のCT解析を終えて海外発表をし、論文投稿中である。また、有効性に関しても英文誌に受理された。

Subject No. : 2 7 指 6 0 0 1

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

Researchers : Akira Yuo, Haruhide Udagawa, Ryogo Minamimoto, Masashi Kameyama, Masatoshi Hotta, 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 examined the biological and functional significance of transcription factor GATA5 which we had previously found as expressed predominantly in human visceral fat. The expression of *Gata5* was also dominant in visceral fat in mice, and was significantly decreased under a high fat diet. When *Gata5* was overexpressed in C3H10T1/2 cells, the expression of *Pparg* and *Cebpa* was significantly decreased on day 1 to 5 after induction of differentiation, and triglyceride content was significantly reduced on day 12, suggesting that *Gata5* may have an inhibitory role in the early stage of adipocyte differentiation.
- We prospectively evaluated 4DST PET/CT in the patients with multiple myeloma (MM), and compared the result to FDG PET/CT and whole-body MRI (WBMRI). 4DST PET/CT is superior to FDGPET/CT and WBMRI for evaluation of MM. Moreover combined 4DST PET and WBMRI may have great potential of changing the management of patients with MM.
- Over the past two years we have performed C11-methionine PET / CT for over 300 cases, which seems to be the largest in Japan. The analysis has currently been undergoing.
- Regarding the study on epidemiology of traveler's diarrhea in Japan using multiplex PCR, patient registration has been completed. Regarding the study on epidemiology of febrile illness after traveling overseas using multiplex PCR, Study on epidemiology of respiratory infection after traveling overseas using multiplex PCR, Performance evaluation of multiplex LAMP method in diagnosis of febrile illness, the study on epidemiology of traveler's diarrhea using the Verigene system, case registration is ongoing.
- We have obtained consents to participate the research to investigate viral load of varicella-zoster virus (VZV) inside and outside of hospital room of the patient with VZV infection, from 26 participants since 1st Nov, 2015.
- We performed case analyses of tuberculosis outbreaks and clinical microbiology study of refractory tuberculosis using the whole genome sequence analysis. (1) We reported in an academic conference a large tuberculosis outbreak including 16 new TB patients and 127 latent TB infected contacts. (2) We collected clinical data and TB strains from patients with severe pulmonary TB, TB meningitis, miliary TB, bone and joint TB, relapse TB and controls. The strains were partly analyzed by using the whole genome sequence analysis. The number of strains obtained from meningitis and relapse patients is small for sample size, then we prepared to make this study multicenter study.
- We reported that anti-HIV/HBV drug tenofovir-induced renal dysfunction was not related with single nucleotide polymorphism of the genes encoding drug transporter proteins at renal tubular cells. We also reported that for patients with HIV infection who started tenofovir, the early measurement of urinary β 2 microglobulin, a classic tubular marker, can predict the prognosis of renal function.
- Cystinosis is a rare lysosomal storage disease with an incidence estimated at 1/100,000-200,000 characterized by the abnormal accumulation of cystine in various organs. However, the only seven patients are treated with cysteamine in Japan. We have established a highly sensitive method using LC-MS/MS system with Intrada Amino Acid column for determination of the leukocyte cystine. Quantification of cystine using LC-MS/MS with Intrada Amino Acid column provides a high sensitivity method for the diagnosis of cystinosis.
- Twenty-two patients were treated with bronchial thermoplasty (BT), which is a new non-pharmacological treatment for severe asthma. We reported the first 2 cases of BT treatment including short term effectiveness and safety on Japanese article. The effectiveness and safety of BT treatment for 12 cases were reported in the meeting of American or European thoracic society. One case report about the change of chest CT by BT treatment was published in English journal. We are going to publish the analysis of chest CT by BT treatment in 8 cases and efficacy of 12 patients in English journal.

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、班全体として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、堀田 昌利）

●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、研究次年度の本年度も、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。

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。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、肥満・糖尿病モデルや *in vitro* の細胞系で機能を検証し、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。昨年度、高度肥満患者の皮下脂肪に比較して内臓脂肪において転写因子 *Gata5* mRNA の発現が優位であることを見いだした。そこで本年度は *Gata5* 遺伝子のマウス脂肪組織での発現パターンや、高脂肪食の影響、培養細胞系における機能的意義を検証した。

まず、通常食および高脂肪食マウスから、内臓、皮下の脂肪組織を採取し、コラゲナーゼにより脂肪細胞と間質血管 (SV) 画分に分画し、それぞれにおいて、*Gata5* の発現を定量 PCR で確認した。その結果 (図 1)、*Gata5* の発現は皮下脂肪 (Sub) に比して大網脂肪 (Ome)、精巣周囲脂肪 (Epi)、腸間膜脂肪 (Mes) で優位であった。内臓脂肪での *Gata5* の発現は、Epi の脂肪画分に比して SV 画分で有意に発現し、高脂肪食負荷により有意に低下した。内臓脂肪において高脂肪食負荷により前駆脂肪細胞マーカーである *Pref-1* の発現も有意に低下しており、*Gata5* は前駆脂肪細胞において何らかの機能的意義を有する可能性が示唆された。次に、ドキシサイクリン (Dox) の添加により *Gata5* の発現を誘導できる Tet-On Vector を導入した C3H10T1/2 (C3H) 細胞を樹立した。図 2 に示す通り、試験期間中 Dox 無添加 (A)、分化誘導後 6 日目から Dox を添加 (B)、分化前まで Dox を添加 (C)、試験期間中 Dox を添加 (D) の 4 条件の細胞を作成し、*Gata5* 発現が脂肪細胞機能に及ぼす影響を検討した。その結果、図 3 の条件 C と D で示される通り、分化誘導前から Dox を添加し *Gata5* を強制発現させた C3H 細胞は、分化誘導後 12 日目において分化誘導効率および脂肪滴内の中性脂肪含量が有意に低下し、脂肪細胞機能に重要な遺伝子である *Fasn* や *AdipoQ* の発現が有意に減少した (図 4)。分化誘導初期において、分化誘導関連遺伝子の発現を詳細に解析すると、脂肪細胞分化に重要な遺伝子である *Pparg* と *Cebpa* の発現が有意に低下しており (図 5)、成熟脂肪細胞での変化と合わせ、*Gata5* 高発現により脂肪細胞への分化が抑制された可能性が示唆された。以上より *Gata5* は脂肪及びその前駆組織に発現し、分化過程の初期において重要な役割を有する可能性が示唆された。

図1 HFDマウスの脂肪画分とSVFのGata5発現パターン

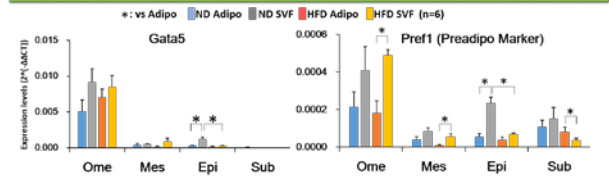


図2 Dox添加条件

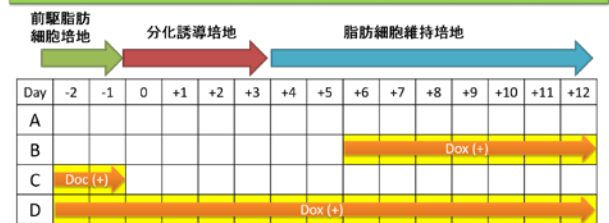


図3 Gata5-C3H細胞の分化誘導後12日目のIn Cell Analyzer分析

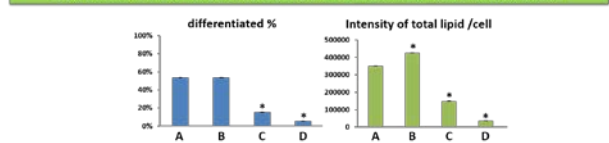


図4 Gata5-C3H細胞分化誘導後12日目の遺伝子発現変化

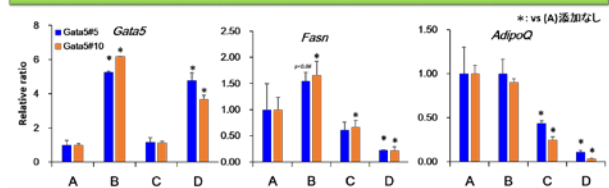
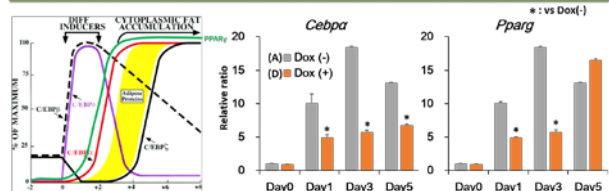


図5 Gata5-C3H細胞の分化誘導過程における分化誘導遺伝子の発現変化



課題番号 : 27指6001
研究課題名 : 18F-FDG, 11C-MET, 11C-4DST PET/CTによる骨髄腫病変の評価の比較検討
主任研究者名 : 湯尾 明
分担研究者名 : 南本 亮吾

キーワード : 18F-FDG, 11C-MET, 11C-4DST PET/CT、骨髄腫、分子イメージング
研究成果 :

本研究は、18F-FDG, 11C-MET, 11C-4DST PET/CT による骨髄腫病変の評価の比較検討を行うものである。現在まで、骨髄腫患者の症例登録と 18F-FDG, 11C-MET, 11C-4DST PET/CT の検査、画像診断を行い、平成 27 年度にその成果を論文で報告している。平成 27 年度では 11C-4DST と FDGPET/CT、全身 MRI 画像の比較を行った。対象は 11C-4DST が FDG と MRI が 2 か月以内に撮影されている患者 21 名（男性 14 名、女性 7 名、年齢平均 62 歳）であり、病変の有無に関して 2 名の放射線診断専門医にて consensus reading を行い、その結果を骨髄生検の結果 (heavy chain component: IgG 7, IgA 3, solitary plasmacytoma 2, MGUS 1, IgG with BJP 1, negative 7) と対比した。結果は以下のとおりであり、

Modality	Sen	Spe	PPV	NPV	Acu
4DST PET	79	86	92	67	81
FDG PET	71	100	100	64	81
WBMRI	64	100	100	58	76

病変検出能において 11C-4DST が FDG と MRI を上回ることが証明された。また MRI と 4DST を組み合わせると、感度は 100% となり、FDG と MRI を組み合わせた場合（感度 79%）を上回った。この成果は米国核医学会 2016 (SanDiego) で発表を行っている (演題名: Prospective Comparison of 11C-4DST, 18F-FDG PET/CT and Whole-body MRI in the Patients with Multiple Myeloma)。また骨髄における生理的な 4DST 集積と造血能の比較では正の相関が得られず、引き続き 4DST の集積機序を検証している。平成 28 年度では 11C-MET と FDG PET/CT の比較を行っており、現在症例を蓄積している過程にある。平成 29 年度では引き続き症例登録を行い、病変の検出感度に関して検証を行う。

業績 論文

1. Minamimoto R, Mitsumoto T, Miyata Y, Sunaoka F, Morooka M, Okasaki M, Iagaru A, Kubota K. Evaluation of a new motion correction algorithm in PET/CT: combining the entire acquired PET data to create a single three-dimensional motion-corrected PET/CT image. Nucl Med Commun. 37(2) :162-170, 2016.
2. Minamimoto R, Nakaigawa N, Nagashima Y, Toyohara J, Ueno D, Namura K, Nakajima K, Yao M, Kubota K. Comparison of 11C-4DST and 18F-FDG PET/CT imaging for advanced renal cell carcinoma: Preliminary study. Abdominal Radiology. 41(3):521-30, Mar, 2016.

学会発表

1. Minamimoto R, Hotta M, Toyohara J, Okasaki M, Morooka M, Miyata Y, Kameyama M, Nakajima K, Miwa A, Kubota K. Prospective Comparison of 11C-4DST, 18F-FDG PET/CT and Whole-body MRI in the Patients with Multiple Myeloma. SNMMI annual meeting San Diego, 2016

課題番号 : 1701 (承認番号: NCGM-G-001701-02)

研究課題名 :

メチオニンPET/CTを用いた脳腫瘍の放射線壊死と再発の鑑別の解析方法研究

主任研究者名 : 堀田昌利

分担研究者名 : 南本亮吾

キーワード : メチオニン、脳腫瘍、放射線壊死

研究成果 :

[¹¹C] メチオニン PET は正常脳への集積が少ないため FDG よりも脳腫瘍の診断に優れている。また、実際に FDG と比較した研究でも、正診率が高く、現時点ではメチオニン PET が最も信頼できる非侵襲的な検査と言える。しかしながら、偽陽性を認めた報告もあり、また今までの放射線壊死と再発の鑑別を研究したメチオニン PET の成績をまとめると約 19%もの偽陽性を認め、全体の正診率は 84%程度である。偽陽性が生じるメカニズムは未だ十分に解決されているとはいえないが、組織型や遺伝子変異パターンなどが関与している可能性があり、腫瘍ごとのメチオニン集積機序の解明とさらなる臨床応用には、一層の症例蓄積が必要である。

我々は 2016 年度に脳腫瘍に対するメチオニン PET を 70 例撮影し、順調な症例蓄積を得た。また、過去のメチオニン PET 撮影症例に関して他院への問い合わせを行い、症例の経過や腫瘍に関する情報を収集した。

本研究に関する学会発表として 2016 年度は、主任研究者である堀田昌利が、メチオニン PET の脳腫瘍における総論事項につき講演を行った (堀田昌利. PET 検査の現状. 京都医療科学大学 第 61 回関東支部総会, 横浜, 11 月, 2016)。本講演の内容は同大学の機関誌にも掲載された。また、前任の主任研究者である亀山征史が本研究の中間解析結果を踏まえたメチオニン PET の現状について放射線診断領域における国内最大の学会である日本医学放射線学会総会にて報告した (亀山征史. 脳腫瘍イメージングにおけるアミノ酸 PET の現状. 第 75 回日本医学放射線学会総会, 4 月, 2016)。さらに、分担研究者である南本亮吾が、核医学領域における国内最大の学会である日本核医学会学術総会のシンポジウムにて、メチオニンの臨床的有用性について講演した (南本亮吾. 臨床におけるメチオニン PET の有用性. 第 56 回日本核医学会学術総会)。これらの成果をふまえ、論文作成を進めている。

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、輸入感染症、危機管理

研究成果 :

本研究課題に関する以下の研究を 2016 年 1 月より開始し 9 月に患者登録を終了した。

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

また本研究内容を米国感染症学会 (ID week 2016 年 10 月) で発表した。

本研究課題のために、以下の研究を倫理委員会に申請し承認を得た。現在症例登録を行っている。

1. 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

2. multiplex PCR を用いた本邦における 海外渡航後の呼吸器感染症の疫学に関する研究

3. multiplex LAMP 法の輸入感染症診断における 性能評価のためのパイロットスタディ

4. 自動多項目同時遺伝子検出 Verigene システムを 用いた本邦における旅行者下痢症の疫学に関する研究

本研究に関連して診断された症例の症例報告を英文誌に掲載した。

1. 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. Am J Trop Med Hyg. 2016 Sep 7;95(3):571-3.

2. Kutsuna S, Kato Y, Nakayama E, et al. A case of consecutive infection with Zika virus and Chikungunya virus in Bora Bora, French Polynesia. J Infect Chemother. 2016 Sep 2. pii: S1341-321X(16)30142-8.

3. Tsuboi M, Kutsuna S, Kato Y, et al. Autochthonous Chikungunya Fever in Traveler Returning to Japan from Cuba. Emerg Infect Dis. 2016 Sep;22(9):1683-5.

4. Takaya S, Kutsuna S, Nakayama E, et al. Chikungunya Fever in Traveler from Angola to Japan, 2016. Emerg Infect Dis. 2017 Jan;23(1):156-158.

5. Katanami Y, Kutsuna S, Horino A, et al. A fatal case of melioidosis with pancytopenia in a traveler from Indonesia. J Infect Chemother. 2017 Apr;23(4):241-244.

6. Hashimoto T, Kutsuna S, Tajima S, et al. A case of imported Zika virus infection from Vietnam to Japan in November 2016. Emerg Infect Dis. Accepted.

国際医療研究開発費（若手育成型） 2017年度中間報告
課題番号：27指6001

- 研究課題名：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
- 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→1年延長予定）
- 対象：当センター入院中の水痘あるいは帯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
- 2016年度組み入れ症例数: 18例 (組み入れ後の除外1例)
- 2017年度組み入れ症例数: 6例 (2017/5/10現在)
- 年齢中央値62歳
- 基礎疾患なし: 14例 (45.1%)
- 基礎疾患内訳 (重複あり)
治療中の固形癌2、固形癌既往2、血液幹細胞移植後2、膠原病4、糖尿病5、
その他 (ネフローゼ症候群1、IP1、気管支喘息1)
- 免疫抑制薬使用: PSL4例、MTX3例、タクロリムス1例

VZV viral load [Median]	水疱 (copies/ μ L)	咽頭 (copies/ μ L)	室外気 (copies/L大気)	室内気 (copies/L大気)
播種性帯状疱疹 (n=12)	7.9×10^4	2.4×10^{-7}	0	0
帯状疱疹 (n=14)	1.9×10^3	0	0	0
水痘 (n=5)	1.0×10^4	1.9×10^1	0	3.4×10^{-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析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 研究デザインの修正（対照群の設定）のため倫理委員会に研究内容の再申請を行った。
- ② 該当する結核菌を集積し一部の検体で WGS 解析を実施、臨床情報と統合し、考察中である。
- ③ 結核集団感染事例分析について日本呼吸器学会総会で発表した。
- ④ 髄膜炎などの希少な症例の集積のため多施設共同研究とする計画を倫理委員会に申請した。

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、痰があり、2013 年 10 月に来日、日本語学校に通学。症状が持続するため当院を紹介受診、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、抗結核薬による治療が開始された。後にストレプトマイシン (SM) 耐性北京型新興株と判明した。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、Quantiferon (QFT) 陽性率が非常に高かった(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、日本人学校全員に対して、QFT と胸部 X 線が追加で行われた。全体で 330 名の接触者のうち、127 例 (38.5%) が QFT 陽性、6 か月間の観察期間中に 12 例の結核発病者が見られた。菌株の遺伝子学的な検討により、発病者の 12 人のうち、少なくとも 8 例は初発患者と遺伝子学的に同一であることが確認され、SM 耐性の北京株新興株であった。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 か月という短期間に多数の暴露者を生じ、大規模な集団感染に至った事例であった。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新興株の病原性の高さを示唆する結果であった。新宿区は日本で最も地域別罹患率の高い地域となっており、特に外国人の結核、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であった。

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、骨関節結核、対照群の症例をそれぞれ 15 例（除外例は除く）、1 例、36 例、12 例、28 例、92 例分を集積した。症例集積を継続しつつ臨床情報との統合を開始している。

課題番号 : 27-6001
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 : テノホビルフマル酸、腎機能障害、尿細管障害
研究成果 :

1. アジア人 HIV 例における TDF の慢性腎臓病 (CKD)、腎機能低下速度における影響
TDF の慢性腎臓病 (chronic kidney disease: CKD) 発症、また腎機能低下速度における影響を検討するため、2004 年から 13 年までに当科で抗 HIV 療法を開始したアジア人 HIV1383 例の腎機能を 2015 年まで追跡し、中央値 5.33 年の追跡期間を得た。90 日以上継続する推算糸球体濾過量 (estimated glomerular filtration rate: eGFR) $<60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ を CKD と定義したところ、10.8% が CKD を発症し、発症率は 1000 人年あたり 20.6 であった。この発症率は、欧米の大規模コホート (1000 人年あたり 10.5) やフランスからの報告 (1000 人年あたり 9.6) に比べて大幅に高く、アジア人 HIV 例の腎機能予後が懸念される。また、TDF の使用は CKD 発症と関連した (オッズ比 1.8, 95%信頼区間 1.00-3.13, $p=0.052$)。さらに、TDF 使用群で抗 HIV 療法開始前後の eGFR の低下速度を比較すると、抗 HIV 療法開始後の方が有意に低下速度が速かったが、TDF 非使用群では抗 HIV 療法開始前後の eGFR 低下速度に差を認めなかった。これらの結果は、アジア人 HIV 例において TDF の使用は CKD の発症とより速い eGFR 低下速度に関連することを示した。

Effect of Tenofovir Disoproxil Fumarate on Incidence of Chronic Kidney Disease and Rate of Estimated Glomerular Filtration Rate Decrement in HIV-1-Infected Treatment-Naïve Asian Patients: Results from 12-Year Observational Cohort.

Suzuki S, Nishijima T, et al. AIDS Patient Care STDS. 2017 31(3):105-112.

2. 尿 $\beta 2$ ミクログロブリンの TDF 腎機能障害の予測における有用性

TDF 腎障害が低体重例の多い日本人・アジア人 HIV 例でより問題になることが明らかとなったため、TDF 腎障害を予測し、その使用を回避もしくは中断する際に参考になるマーカーの確立が求められた。われわれは尿細管機能のマーカーとして知られる尿 $\beta 2$ ミクログロブリン ($\beta 2\text{M}$) に着目し、TDF 腎障害との関連を示してきた。この $\beta 2\text{M}$ の TDF 腎機能障害の予測における有用性を検討するため、当院で TDF を含む抗 HIV 療法を 2004 年から 13 年に開始し、TDF 開始後 180 日以内に $\beta 2\text{M}$ を測定した 655 例を対象に解析を行った。ロジスティック回帰で TDF 開始後 180 日以内の $\beta 2\text{M}$ (TDF 後 $\beta 2\text{M}$) と 4 項目の腎機能アウトカムとの関連を解析した。

結果、TDF 後 $\beta 2\text{M}$ は eGFR の $20\text{ ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 以上低下 ($p<0.024$)、25%以上の低下 ($p=0.014$) とそれぞれ有意に関連し、eGFR $<60\text{ ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ と関連する傾向があった ($p=0.076$)。また、TDF 後 $\beta 2\text{M}$ は TDF 開始後の eGFR の推移と有意に関連した ($p<0.0001$)。さらに、TDF 後 $\beta 2\text{M}$ $1700\ \mu\text{g}/\text{L}$ は TDF 開始後の eGFR の推移の予測における最も有用なカットオフ値であった。一方、TDF 内服開始前 1 年以内に測定した $\beta 2\text{M}$ は上記 4 つの腎機能エンドポイントのいずれとも関連しなかった。よって、TDF 開始後早期に測定した $\beta 2\text{M}$ は TDF 内服例の腎機能の予測における有用なマーカーであることが明らかとなった。

Urinary $\beta 2$ microglobulin can predict tenofovir disoproxil fumarate-related renal dysfunction in HIV-1-infected patients who initiate tenofovir disoproxil fumarate-containing antiretroviral therapy.

Nishijima T, et al. AIDS. 2016 Jun 19;30(10):1563-71.

また、尿細管障害と TDF 使用期間の関連、そして TDF 中止後の尿細管障害の可逆性について検討した論文も現在投稿中である。

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、液体クロマトグラム質量分析装置 (LC/MS/MS)、希少疾患
研究成果 :

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、難治性の常染色体劣性疾患である。生後6ヶ月頃からファンコニ症候群を発症し、無治療ではおよそ10歳で慢性腎不全となる。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る。欧米では10~20万人に1名の頻度で発症するが、日本では診断体制が整っていないため、治療薬を内服している患者は7名のみであった。

平成27年度にシスチノーシスモデルラットの血液および健常人の血液を用いて、白血球分離法および保管法等の最適化を行い、LC/MS/MSを用いた条件検討を行った結果、順相イオン交換モードのカラム (Amino Acid カラム) を用いた分析が最も適していることを明らかにした。この方法を用いて、日本人のシスチノーシス患者7例、正常対象7例の白血球のシスチン量はLC/MS/MSを用いてシスチン濃度を測定した結果、それぞれ 8.5 ± 4.0 、および $0.03 \pm 0.004 \text{ nmol half-cystine/mg protein}$ であった。患者は全て治療薬であるシステアミンを服用しており、用量や採血のタイミングにより白血球中のシスチン濃度が大きく変動していた。さらに、特発性ファンコニ症候群を発症し、シスチノーシスが疑われる3名の白血球中のシスチン濃度を測定した結果、3名とも白血球のシスチン量は正常対象とほぼ同等であったため、シスチノーシスではないことが明らかとなった。以上の結果から、本研究で確立したシスチン測定法は、シスチノーシスの確定診断、および診断後のシスチン濃度をモニター方法としても有用であることが明らかとなった。

また、国内のシスチノーシス患者がどれくらい報告されていたかを明らかにするために、医中誌 web および Pubmed で過去の症例報告等を検索した。1953年から2016年までに、55件の症例報告、学会発表および総説があり、少なくとも25名のシスチノーシス患者が報告されていた。国内症例の内訳は、腎障害型が20症例、中間型が3症例、非腎型が1症例、不明が1症例であった。25名の患者を追跡調査した結果、腎移植あるいは腎透析を行っているものの、7名は生存していることがわかり、4名の死亡が確認された。

今年度実施した調査研究により患者7名の生存が確認され、現在生存している国内の患者数は14名となった。治療薬であるシステアミンは、ミオパチーおよび肺機能低下などの合併症の発症の進行を抑える効果が期待できるため、今後治療薬の内服を開始する予定である。

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 : 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21名の患者で治療を行い、日本一の治療件数である。研究計画書で示した下記3つに関する研究成果に関する進捗状況について報告する。

1. 日本人における気管支サーモプラスティの有効性及び安全性

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既に報告した(気管支学 37巻4号 2015年)。その後の症例集積とともに、今年度は、気管支サーモプラスティ治療を施行した10数例の患者を対象にして、有効性の観点から、患者のQOLの改善に関して、米国呼吸器学会で報告し、現在論文投稿中である。また、有効性の一つとして、呼吸機能の改善に関しては、日本アレルギー学会、欧州呼吸器学会で報告し、現在論文投稿中である。また、安全性に関しては、本治療後に生じる肺障害に関して欧州呼吸器学会で報告し、現在論文投稿中である。また、日本人での本治療による有効性と安全性に関する報告を投稿中である。

2. 高齢者における有効性と安全性の評価

現在の喘息死の大半を占める高齢者に関しての有効性や安全性を評価し、気管支サーモプラスティが少しでも喘息死を減らせることができるか否かを検討する研究に関しては、現在21症例の患者で70歳以上の高齢者が2名しか集まっていない状況であり、もう少し症例集積を待っている状況である。

3. 気管支サーモプラスティの治療効果予測因子の検討

気管支サーモプラスティ治療前後で、喘息のコントロール状況の指標、QOL指標、呼吸機能、呼吸抵抗、呼気NO濃度、CTでの気管支壁の解析など種々の因子を考慮し、最終的にどのような因子が気管支サーモプラスティの治療効果に関与するかを検討する研究に関しても徐々に進んでいる。

CTを用いた気道病変の解析を行い、1症例に関してはAllergol Int. 2017 Jan 16. pii:

S1323-8930(16)30179-4.に論文報告した。また、8例のCT解析に関しては、本年米国呼吸器学会に報告予定である。

また治療効果予測因子の一つとして、血清ペリオスチン濃度を見出し、本年米国呼吸器学会で報告に報告予定である。

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
Human pluripotent stem cells: towards therapeutic development for the treatment of lifestyle diseases.	Nishio M, Nakahara M, Yuo A, Saeki K	World J Stem Cells, 2	8:56-61	2016
Evaluation of a new motion correction algorithm in PET/CT: combining the entire acquired PET data to create a single three-dimensional motion-corrected PET/CT image.	Minamimoto R, Mitsumoto T, Miyata Y, Sunaoka F, Morooka M, Okasaki M, Iagaru A, Kubota K	Nucl Med Commun	37(2) :162-170	2016
Comparison of 11C-4DST and 18F-FDG PET/CT imaging for advanced renal cell carcinoma: Preliminary study.	Minamimoto R, Nakaigawa N, Nagashima Y, Toyohara J, Ueno D, Namura K, Nakajima K, Yao M, Kubota K	Abdominal Radiology	41(3) :521-530	2016
Comparison of [150] H20 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
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
Chikungunya Fever in Traveler from Angola to Japan, 2016.	Takaya S, Kutsuna S, Nakayama E, Taniguchi S, Tajima S, Katanami Y, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kato Y, Kanagawa S, Ohmagari N	Emerg Infect Dis	23(1) :156-158	2017
A fatal case of melioidosis with pancytopenia in a traveler from Indonesia.	Katanami Y, Kutsuna S, Horino A, Hashimoto T, Mutoh Y, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Kato Y, Ohmagari N	J Infect Chemother	23(4) :241-244.	2017
Effect of Tenofovir Disoproxil Fumarate on Incidence of Chronic Kidney Disease and Rate of Estimated Glomerular Filtration Rate Decrement in HIV-1-Infected Treatment-Naïve Asian Patients: Results from 12-Year Observational Cohort.	Suzuki S, Nishijima T, et al.	AIDS Patient Care STDS	31(3) :105-112	2017

研究発表及び特許取得報告について

Urinary $\beta 2$ microglobulin can predict tenofovir disoproxil fumarate-related renal dysfunction in HIV-1-infected patients who initiate tenofovir disoproxil fumarate-containing antiretroviral therapy.	Nishijima T, et al.	AIDS	30(10):1563-1571.	2016
Comparison of the clinical effects of combined salmeterol/fluticasone delivered by dry powder or pressurized metered dose inhaler.	Hojo M, Shirai T, Hirashima J, Iikura M, Sugiyama H	Pulm Pharmacol Ther	37:43-48.	2016
Asthmatic Attack Complicated with Takotsubo Cardiomyopathy after Frequent Inhalation of Inhaled Corticosteroids/Long-Acting Beta2-Adrenoceptor Agonists.	Saito N, Suzuki M, Ishii S, Morino E, Takasaki J, Naka G, Iikura M, Takeda Y, Hojo M, Sugiyama H	Intern Med	55(12):1615-1620.	2016
Subinterlobular Pleural Location Is a Risk Factor for Pneumothorax After Bronchoscopy.	Chino H, Iikura M, Saito N, Sato N, Suzuki M, Ishii S, Morino E, Naka G, Takasaki J, Izumi S, Hojo M, Takeda Y, Sugiyama H	Respir Care	61(12):1664-1670.	2016

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
血管内皮細胞の品質管理における microRNA の関与.	中原正子、小林徳彦、岡 雅子、湯尾 明、佐伯久美子	第16回日本再生医療学会総会	仙台	2017年3月
ヒト多能性幹細胞からの褐色脂肪細胞分化誘導.	小林徳彦 西尾美和子 湯尾明 佐伯久美子	第39回日本分子生物学会年会	横浜	#####
SeVバクターを用いた褐色脂肪細胞の細胞内温度測定.	佐伯晃一、川口実太郎、佐伯久美子、湯尾 明、井上 誠	第39回日本分子生物学会年会	横浜	#####

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
該当なし				

研究発表及び特許取得報告について

--	--	--	--	--

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
該当なし				

※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。