

Title	東京歯科大学研究年報 : 平成16年度
Journal	東京歯科大学研究年報, (): -
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/389">http://hdl.handle.net/10130/389</a>
Right	

# 1. アイソトープ研究室

## プロフィール

### 1. 教室員と主研究テーマ

- 助 教 授 三浦 直 歯周病原性因子の分子生物学的解析 (A01 1310 1)  
助 手 平山 明彦 歯科医学における放射性同位元素の利用について

### 2. 成果の概要

#### 1) 歯科医学における放射性同位元素の利用について

細胞数の測定, 細胞増殖能の解析には<sup>3</sup>H Thymidin を用いる方法が用いられてきたが, アイソトープを使う煩雑さから, アイソトープを使用しないで測定する方法が開発されている. その代表的なものは BrdU 法である. ところがアイソトープを用いた場合と BrdU 法では解析結果が一致しないことがあることが, 骨芽細胞, 繊維芽細胞, 筋細胞を用いた検索で明らかにされた. 特に基質を作る細胞, 多核細胞では顕微鏡では BrdU 法で算出した細胞数は顕微鏡で直接カウントした値よりも低くカウントされる傾向にあった.

さらに, ラットのリンパ球について解析を行った. その結果リンパ球ではアイソトープ法と BrdU 法と直接法の値がほぼ一致した. 浮遊細胞の細胞数測定にはアイソトープ法と BrdU 法のどちらを用いても正確な値が得られることが明かとなった.

今年度は蛍光による細胞数の測定法との比較検討を試みた. その結果については検体数を増やし統計的処理を行っている.

#### 2) 歯周病原性因子の分子生物学的解析 (A01 1310 1)

今回は, ベーチェット病患者の歯周部位及び混合唾液から単離した口腔内細菌を材料として, ヒートショックタンパクとスーパー抗原の検出を行った. 多数の嫌気性細菌が培養されたが, その主なものは Prevotella, Fusobacterium, Capnocytophaga といった歯周病原性細菌で, 歯肉縁下プラークより単離された. 唾液から最も多く検出されたのは, *Streptococcus mitis* であった. 培養された細菌の破砕上清を, ポリクローナル抗体 (anti-E. coli DnaK) 及びモノクローナル抗体 (anti-H. pylori Gro-EL) を用いてウェスタンブロッティング法によりヒートショックタンパク (HSP) の検出を試みたところ, 供試菌株の 79.4% が anti-E. coli DnaK と反応し, 26.5% が anti-H. pylori Gro-EL と反応した. それに対して, ヒト白血球に対するスーパー抗原活性を測定したところ, 供試したグラム陰性菌すべてにおいて活性が見られなかった. すなわち患者の口腔内嫌気性細菌は, ベーチェット病と関係のあるヒートショックタンパク質を産生していることが示唆された.

Oral Microbiol Immunol, 20(3), 167~171, 2005.

### 3. 学外共同研究

担当者	研究課題	学外研究施設		
		研究施設	所在地	責任者
平山 明彦	生体内の石灰化物の電子線, エックス線回折による解析	昭和大学歯学部口腔第二解剖学講座	東京	小高 鉄夫

## 論 文

1. Miura, T.<sup>(1)</sup>, Ishihara, K.<sup>(1)</sup>, Kato, T.<sup>(1)</sup>, Kimizuka, R.<sup>(1)</sup>, Miyabe, H.<sup>(1)</sup>, Ando, T.<sup>(2)</sup>, Uchiyama, T.<sup>(2)</sup>, Okuda, K.<sup>(1)</sup> : Detection of heat shock proteins but not superantigen by isolated oral bacteria from patients with Behcet's disease, *Oral Microbiol Immunol* **20**(3), 167 ~ 171, 2005. 原著 脳科学研 分子生研 (1)微生物,(2)東京女子医大

## その他

1. 平山明彦 : 活性酸素, *理科教室* **47**(12), 80, 2005.
2. 平山明彦 : ミトコンドリア DNA 鑑定, *理科教室* **48**(1), 80, 2005.

## 学会抄録

1. 吉成正雄<sup>(1)</sup>, 井上 孝<sup>(2)</sup>, 松坂賢一<sup>(2)</sup>, 阿部伸一<sup>(3)</sup>, 見明康雄<sup>(4)</sup>, 柴原孝彦<sup>(5)</sup>, 加藤哲男<sup>(6)</sup>, 平山明彦 : 唾液タンパク質の吸着特性を制御した生体新素材の開発, 平成 16 年度東京歯科大学口腔科学研究センターワークショッププログラムおよび抄録集, 31 ~ 33, 2005.(平成 16 年度東京歯科大学口腔科学研究センターワークショップ, 千葉市) シンポジスト 細形研,分析生研 (1)理工,(2)臨検査,(3)解剖,(4)超微構造,(5)口外 I,(6)微生物

## 2. 口腔科学研究センター 1)脳科学研究施設

### プロフィール

#### 1. 教室員と主研究テーマ

- |       |       |   |
|-------|-------|---|
| 客員教授  | 中村 嘉男 | 口腔・顎顔面機能の中枢制御に関する研究   |
| 客員助教授 | 加藤元一郎 | Mirror Neuron System の神経基盤 – 特に精神障害（歯科口腔外科関連精神疾患を含む）における異常に関する研究（HRC6A02） |
| 助教授   | 新谷 益朗 | 口腔痛覚抑制の情動的要因と脳内認知機構（HRC6A04）  |

#### 2. 成果の概要

本施設では平成 11 年度の開設から今日に至るまで文部科学省私立大学学術研究高度化推進事業（ハイテクリサーチセンター）の研究助成に基づく東京歯科大学 HRC 第 3 プロジェクトの活動の中核をなす場として多くの研究者を迎え入れ、MEG（脳磁図計）を利用した口腔・顎顔面機能の中枢制御に関する研究を行っている。

これまで MEG というまったく新しい機器を実用化して研究に応用していくために、関連する装置の開発と MEG 環境の整備を推進し、脳科学研究施設を利用する研究者をサポートしてきたが、その成果は歯科基礎医学会、日本臨床神経生理学学会、Human Brain Mapping、IADR、国際脳電磁場トポグラフィー学会、日本脳電磁場トポグラフィー研究会、東京歯科大学口腔科学研究センターワークショップ等で発表され、4 年間に英語原著論文 13 編、プロシーディングス 18 編、国際学会発表 19 編、国内学会発表 37 編の研究成果を挙げた。

HRC 第 3 プロジェクトが平成 15 年度で終了したため、さらにこの研究を進展させるための継続申請を行ったところ平成 16 年 9 月に認可され、同年 11 月から HRC 第 6 プロジェクト『口腔内感覚の脳内認知機構の解明とその臨床医学的展開』（研究代表者：一戸達也教授）として平成 20 年度までのあたらしい研究プロジェクトがスタートした。

HRC 第 6 プロジェクトは HRC 第 3 プロジェクトでの経験を生かし、研究の焦点を口腔関連体性感覚に絞り、さらにその成果を臨床的な応用にまでつなげることを目的として、以下の 7 課題の研究が行われる。

- 6A01 口腔内痛覚誘発脳磁場に関する総合的研究（研究代表者：一戸達也）
- 6A02 Mirror Neuron System の神経基盤 – 特に精神障害（歯科口腔外科関連精神疾患を含む）における異常に関する研究（研究代表者：加藤元一郎）
- 6A03 口腔領域体性感覚と Mirror Neuron System の統合異常（研究代表者：澁川義幸）
- 6A04 口腔痛覚抑制の情動的要因と脳内認知機構（研究代表者：新谷益朗）
- 6A05 MEG を用いた嗅覚中枢の同定（研究代表者：大櫛哲史）
- 6A06 MEG 計測による大脳皮質味覚野の特定（研究代表者：武田栄三）
- 6A07 MEG 計測によるヒト口蓋粘膜への電気刺激による大脳皮質の応答（研究代表者：矢島安朝）

### 3. 科研費補助金・各種補助金

研究代表者	研究課題	研究費
新谷 益朗	口腔痛覚抑制の情動的要因と脳内認知機構	文部科学省私立大学学術研究高度化推進事業

### 4. 教育講演等教育に関する業績，活動

#### 教育講演

講演者	年月日	演 題	学会・研究会名	開催地
新谷 益朗	2004. 6.28	PubMed 医学文献検索の上級技法	新潟大学大学院医歯学総合研究科大学院特別セミナー	新潟市
新谷 益朗	2004.11.30	PubMed 医学文献検索再入門	東京歯科大学市川総合病院眼科ドーナツセミナー	市川市
新谷 益朗	2005. 1.13	Medical Thesaurus を意識した医学文献検索の技法	慶應義塾大学医学部眼科セミナー	東京
新谷 益朗	2005. 3.22	Scientific Misconduct ・ 科学における不正行為	新潟大学大学院医歯学総合研究科大学院特別セミナー	新潟市
新谷 益朗	2005. 3.22	医歯学研究におけるオンライン・ジャーナルの活用	新潟大学大学院医歯学総合研究科大学院特別セミナー	新潟市

#### 教育ワークショップ等

氏名	年月日	ワークショップ名	役割	開催地
新谷 益朗	2005.1.20	東京歯科大学カリキュラム研修ワークショップ第 4 回 アドバンスコース	参加者	千葉市

## 論 文

1. Shibukawa, Y.<sup>(1)</sup>, Shintani, M., Kumai, T.<sup>(2)</sup>, Suzuki, T.<sup>(1)</sup>, Nakamura, Y. : Cortical magnetic fields in association with voluntary jaw movements: distribution and current source analysis, J Dent Res **83**(7), 572 ~ 577, 2004. 原著 A02-0090-1, HRC3A04 脳科学研 (1)生理,(2)松本歯科大学
2. Matsuwaki, Y.<sup>(1)</sup>, Nakajima, T.<sup>(1)</sup>, Okushi, T.<sup>(1)</sup>, Imura, J.<sup>(2)</sup>, Kunou, K.<sup>(1)</sup>, Nakagawa, M.<sup>(3)</sup>, Shintani, M., Moriyama, H.<sup>(2)</sup>, Ishikawa, T.<sup>(4)</sup> : Evaluation of missing fundamental phenomenon in the human auditory cortex, Auris Nasus Larynx **13**(3), 208 ~ 211, 2004. 原著 HRC3B02 脳科学研 (1)市病・耳鼻科,(2)慈恵医大・耳鼻科,(3)順天堂大・医・耳鼻科,(4)保存 III
3. Suzuki, T.<sup>(1)</sup>, Shibukawa, Y.<sup>(1)</sup>, Kumai, T.<sup>(2)</sup>, Shintani, M. : Face Area of Somatosensory Cortex in Humans Identified by Whole Head Magnetoencephalography, Jpn J Physiol **54**(2), 161 ~ 169, 2004. 原著 A84-0090-1, A02-0090-1, HRC3A03, 脳科学研 (1)生理,(2)松本歯科大学

## 解 説

1. 新谷益朗 : こんな患者が来院したら…… 精神疾患と思われる患者, デンタルダイヤモンド増刊号 **29**(14), 40 ~ 41, 2004.
2. 新谷益朗 : こんな患者が来院したら…… 耳の聞こえない患者の場合, デンタルダイヤモンド増刊号 **29**(14), 50, 2004.
3. 新谷益朗 : こんな患者が来院したら…… 対応に苦慮する患者の場合, デンタルダイヤモンド増刊号 **29**(14), 76 ~ 77, 2004.
4. 新谷益朗 : ネットワーク社会が医療にもたらす影の部分, デンタルダイヤモンド増刊号 **29**(14), 77, 2004.

## プロシーディングス

1. Abe, S.<sup>(1)</sup>, Watanabe, Y.<sup>(2)</sup>, Shintani, M., Yamane, G.<sup>(2)</sup>, Ide, Y.<sup>(1)</sup>, Shimono, M.<sup>(3)</sup>, Ishikawa, T.<sup>(4)</sup> : Cortical regulation during the early stage of initiation of voluntary swallowing, Int Congr Ser **1270**, 105 ~ 110, 2004.(The 15th World Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Urayasu) 脳科学研 (1)解剖,(2)市病・オーラルメディスン,(3)病理,(4)保存 III
2. Shibukawa, Y.<sup>(1)</sup>, Ishikawa, T.<sup>(2)</sup>, Zhang, Z.<sup>(3)</sup>, Jiang, T.<sup>(3)</sup>, Shintani, M., Shimono, M.<sup>(4)</sup>, Kumai, T.<sup>(5)</sup>, Kato, Y.<sup>(6)</sup>, Suzuki, T.<sup>(1)</sup>, Kato, M.<sup>(6)</sup>, Nakamura, Y. : Relationship between cortical motor functions and orofacial disease: the mirror neuron system and temporomandibular disorders., Int Congr Ser **1270**, 117 ~ 120, 2004.(15th World Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Urayasu) A02-0090-1, HRC3A04 脳科学研 (1)生理,(2)保存 III,(3)北京大学,(4)病理,(5)松本歯大・生理,(6)慶大・医・精神神経科
3. Kato, Y.<sup>(1)</sup>, Kato, M.<sup>(1)</sup>, Shintani, M., Yoshino, F.<sup>(2)</sup> : Elucidation of face categorization process by visual top down control task - seeing-as-face task: an MEG study, Int Congr Ser **1270**, 201 ~ 204, 2004.(15th World Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Urayasu) HRC3A12 脳科学研 (1)慶大・医・精神神経科,(2)市病・精神・神経科

4. Tsubota,K.<sup>(1)</sup>, Yoshino,K.<sup>(1)</sup>, Shintani,M., Kato,Y.<sup>(2)</sup>, Kato,M.<sup>(2)</sup> : Human cortical magnetic responses to visual moving objects, Int Congr Ser **1270**, 216 ~ 219, 2004.(15th World Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Urayasu) HRC3B03 脳科学研 (1)市病・眼科,(2)慶大・医・精神神経科
5. Yoshimura,G.<sup>(1)</sup>, Kato,Y.<sup>(2)</sup>, Kato,M.<sup>(2)</sup>, Shintani,M., Uchiyama,T.<sup>(1)</sup> : The neural basis of imaginary vocalization: an MEG study, Int Congr Ser **1270**, 329 ~ 332, 2004.(15th World Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Urayasu) HRC3A12, HRC3B06 脳科学研 (1)口外 II,(2)慶大・医・精神神経科
6. Okushi,T.<sup>(1)</sup>, Matsuwaki,Y.<sup>(1)</sup>, Nakajima,T.<sup>(1)</sup>, Iimura,J.<sup>(2)</sup>, Nakagawa,M.<sup>(3)</sup>, Shintani,M., Moriyama,H.<sup>(2)</sup>, Ishikawa,T.<sup>(4)</sup> : Evaluation of missing fundamental phenomenon with auditory selective attention in the human auditory cortex, Int Congr Ser **1270**, 370 ~ 373, 2004.(15th World Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Urayasu) HRC3B02 脳科学研 (1)市病・耳鼻科,(2)慈恵医大・耳鼻科,(3)順天大・医・耳鼻科,(4)保存 III

## 学会抄録

1. Abe,S.<sup>(1)</sup>, Watanabe,Y.<sup>(2)</sup>, Shintani,M., Yamane,G.<sup>(2)</sup>, Ide,Y.<sup>(1)</sup>, Shimono,M.<sup>(3)</sup>, Ishikawa,T.<sup>(4)</sup> : Cortical regulation during the early stage of initiation of voluntary swallowing, 15th ISBET, Program and Abstracts, 31, 2004.(The 15th World Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography (ISBET 2004), Urayasu) 脳科学研 (1)解剖,(2)市病・オーラルメディスン,(3)病理,(4)保存 III
2. Shibukawa,Y.<sup>(1)</sup>, Ishikawa,T.<sup>(2)</sup>, Zhang,Z.<sup>(3)</sup>, Jiang,T.<sup>(3)</sup>, Shintani,M., Shimono,M.<sup>(4)</sup>, Kumai,T.<sup>(5)</sup>, Kato,Y.<sup>(6)</sup>, Suzuki,T.<sup>(1)</sup>, Kato,M.<sup>(6)</sup>, Nakamura,Y. : Relationship between cortical motor functions and orofacial disease: the mirror neuron system and temporomandibular disorders, 15th ISBET, Program and Abstracts, 32, 2004.(15th Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Urayasu) A02-0090-1、HRC3A04 脳科学研 (1)生理,(2)保存 III,(3)北京大学,(4)病理,(5)松本歯大・生理,(6)慶大・医・精神神経科
3. Tsubota,K.<sup>(1)</sup>, Yoshino,K.<sup>(1)</sup>, Shintani,M., Kato,Y.<sup>(2)</sup>, Kato,M.<sup>(2)</sup> : Human cortical magnetic responses to visual moving objects, 15th ISBET, Program and Abstracts, 37, 2004.(15th Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Urayasu) HRC3B03 脳科学研 (1)市病・眼科,(2)慶大・医・精神神経科
4. Okushi,T.<sup>(1)</sup>, Iimura,J.<sup>(2)</sup>, Matsuwaki,Y.<sup>(1)</sup>, Nakajima,T.<sup>(1)</sup>, Kunou,K.<sup>(1)</sup>, Shintani,M., Ishikawa,T.<sup>(3)</sup> : Evaluation of missing fundamental phenomenon with auditory selective attention in the human auditory cortex, 15th ISBET, Program and Abstracts, 60, 2004.(15th World Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Urayasu) HRC3B02 (1)市病・耳鼻科,(2)慈恵医大・耳鼻科,(3)保存 III
5. Kato,Y.<sup>(1)</sup>, Kato,M.<sup>(1)</sup>, Shintani,M. : An earlier component of face perception detected by seeing-as-face task, 15th ISBET, Program and Abstracts, 68, 2004.(15th World Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Urayasu) HRC3A12 脳科学研 (1)Dept. of Neuropsychiatry
6. Yoshimura,G.<sup>(1)</sup>, Kato,Y.<sup>(2)</sup>, Kato,M.<sup>(2)</sup>, Shintani,M., Yoshino,F.<sup>(3)</sup>, Uchiyama,T.<sup>(1)</sup> : The brain mechanism of imaginary vocalization: an MEG study, 15th ISBET, Program and Abstracts, 653, 2004.(15th World Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Urayasu) HRC3A12, HRC3B06 脳科学研 (1)口外 II,(2)慶大・医・精神神経科,(3)市病・精神・神経科

7. 吉村 元<sup>(1)</sup>, 塩見周平<sup>(1)</sup>, 内山健志<sup>(1)</sup>, 市川栄三郎<sup>(1)</sup>, 新谷益朗, 加藤 隆<sup>(2)</sup>, 加藤元一郎<sup>(2)</sup> : 口腔内異常感覚に対する言語中枢の制御における MEG を用いた研究, 日口科誌 **54**(1), 195, 2005.(第 58 会日本口腔科学会総会, 横浜市) 脳科学研 (1)口外 II,(2)市病・精神・神経科
  
8. 一戸達也<sup>(1)</sup>, 久保浩太郎<sup>(1)</sup>, 佐野 司<sup>(2)</sup>, 新谷益朗, 洪川義幸<sup>(3)</sup>, 加藤元一郎<sup>(4)</sup> : 三叉神経支配領域皮膚痛覚刺激時の pain-SEFs に対する各種薬剤の抑制効果, 平成 16 年度東京歯科大学口腔科学研究センターワークショップ プログラムおよび抄録集, 40~41, 2005.(平成 16 年度東京歯科大学口腔科学研究センターワークショップ, 千葉市) HRC6A01 脳科学研 (1)歯麻,(2)歯放,(3)生理,(4)慶応大・医・精神神経



## 2. 口腔科学研究センター 2)分子再生研究室

### プロフィール

#### 1. 教室員と主研究テーマ

講 師 東 俊文 幹細胞移植を用いた再生医療の基礎的、臨床的検討 (A-04-0325-1)

#### 2. 成果の概要

本施設は 組織再生機構の研究を生化学的、分子生物学的な手法を中心として行い、歯科、内科領域における再生医療への応用を目指し、2004年11月に発足した。組織の再生機構の中心と考えられる組織幹細胞に焦点を当て、組織の炎症と再生機構のかかわりを解明してきた。現在、主に、肝臓に密接した関係を持つ脾臓の組織幹細胞をDNA結合色素 Hoechst33342 により染色してFACSでソートしたサイドポピュレーション細胞 (side population cell : SP 細胞) を対象にした研究を遂行している。肝臓が炎症を起こすと肝臓からの炎症性サイトカインが脾臓に作用し脾臓の幹細胞が増加することを明らかにした。

次年度にはこれらの成果を元に、炎症と組織幹細胞の関係およびその先につながる組織幹細胞の癌化についての検討を行う。

#### 3. 学外共同研究

担当者	研究課題	学外研究施設		
		研究施設	所在地	責任者
東 俊文	肝臓の再生医療	慶応義塾大学医学部	東京	東 俊文

## 論 文

1. 東俊文 : 脾臓 SP 細胞の肝細胞への分化誘導, *G.I.Res* **12**(6), 67 ~ 73, 2004. 総説
2. Kobayashi, H.<sup>(1)</sup>, Azuma, T., Miura, S.<sup>(2)</sup>, Ishii, H.<sup>(1)</sup> : In situ demonstration of dendritic cell migration from rat intestine to, *J Leukoc Biol* **75**(3), 434 ~ 442, 2005. 原著 (1)慶大・医・麻酔,(2)防衛医大・内科
3. Tomita, K.<sup>(1)</sup>, Azuma, T., Ishii, H.<sup>(1)</sup> : Pioglitazone prevents alcohol-induced fatty liver in rats through up-regulation, *Gastroenterology* **126**(3), 873 ~ 885, 2005. 原著 (1)慶大・医・内科
4. 東俊文 : 非アルコール性脂肪性肝炎(NASH):病態と治療 7.治療, *肝臓* **45**(2), 87 ~ 95, 2005. 総説
5. Adachi, M.<sup>(1)</sup>, Azuma, T., Ishii, H.<sup>(1)</sup> : Bax interacts with the voltage-dependent anion channel and mediates, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **287**(3), G695 ~ G705, 2005. 原著 (1)慶大・医・内科
6. Tomita, K.<sup>(1)</sup>, Azuma, T., Kitamura, N.<sup>(1)</sup>, Hibi, T.<sup>(1)</sup> : Leptin deficiency enhances sensitivity of rats to alcoholic steatohepatitis, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **287**(5), G1078 ~ G1085, 2005. 原著 (1)慶大・医・内科

### 3. 市川総合病院 角膜センター

#### プロフィール

##### 1. 教室員と主研究テーマ

講師	篠崎 尚史	眼組織・臓器再生の早期実用化を目指した再生評価技術の動向調査 再生医療の早期実用化を目指した再生評価技術開発プロジェクト 移植医療に関する国際比較分析に関する研究
客員教授	May Griffith	再生角膜の作成および移植に関する研究
客員講師	安井 正人	涙液・唾液分泌制御におけるアクアポリンの役割の解明 加齢に伴うドライアイ，口腔内乾燥症病態生理の理解
	菅谷 健	慢性腎障害の重症化防止を目的とした幹細胞移植による残存腎機能再構築
	吉田 悟	ヒト体性および胚性幹細胞を利用した人工角膜の作成
	加藤 靖浩	上皮組織の創傷治癒モデルの確立と委託研究事業の創設 再生医療に関連する人工産物の安全性評価
コーディネーター	浅水 健志	ドナーアクションプログラム
	吉野由希子	ドナーアクションプログラム

##### 2. 成果の概要

###### 1) 組織・臓器再生の早期実用化を目指した再生評価技術の動向調査

今年度は、角膜関連を担当する当該研究者は眼科領域における再生医療で臨床に近いレベルとしての角膜の現状と安全性、有効性に対する評価方法について調査を行った。また、経済産業省・研究開発課からの意向として、各組織の評価技術マップの作成を依頼、作成に至った。この調査において今後の事業化の可能性を高め、日本での再生医療技術の確立につながるものとする。

###### 2) 再生医療の早期実用化を目指した再生評価技術開発プロジェクト

生物は細胞分裂する際に、細胞周期を持ちそのステージごとに異なった DNA 密度を持つ。そこで今回開発を試みた機器は、この特性を利用して、対象とする細胞を細胞のまま、もしくは脱核して核のみの溶液に入れ他後、培養液とともに計測部位を通過させる。同時に、事前に核を染色した染料を励起させる波長のアーケ光、もしくは紫外線を照射して、蛍光強度を測定することで、細胞単位の DNA 含有量を計測する。

この情報から細胞核の体積に対する DNA 量を計測し、2次元グラフ上にプロットする。理論的には、1細胞につき1点のデータポイントが計測されるため、細胞周期ごとの細胞群分布が可視化出来ることになり、少数の変異細胞が観察できる。経代を繰り返す課程でどの程度の変異が発生した細胞群が、再生医療に用いられる細胞に対する、変性や癌化の測定が可能となり、再生医療の原料、及びプロダクトに使用される細胞の安全性評価が容易となることが明らかで開発を進めた。

平成15年度の日本再生医療学会のNEDOシンポジウムでも発表した通り、本研究における成果はすでに厚生労働省医薬安全局審査課の再生医療用具の審査に関する検討項目にあげられており、また、世界保健機構(WHO)でも篠崎がアドバイザーを行っている移植課においては、2003年の11月にマドリッド会議にて本研究成果が世界の細胞標準化にとって有益である旨を講演した。

### 3) 移植医療に関する国際比較分析に関する研究

11月28日から12月1日までオタワで行われた、WHO国際臓器移植会議に出席。移植課の「Temporary Advisor」として任命されており、組織移植における現状と問題点等について討論し、角膜・羊膜などの世界規約を作成した。また、この問題については理事を務めている日本組織移植学会において、国内におけるガイドラインを制定したことにより、組織移植における様々な問題点、研究用、企業用使用の在り方などを含めて討議がすすんでおり、この度の国際的会議の中で、日本の現状を発表することができた。

### 4) 再生角膜の作成および移植に関する研究

12年度から始まった本研究は最終年度を迎え、生体適合性の高い人工角膜を実現化するために、コラーゲンなどの天然素材をベースとしたポリマーの作成に成功した。しかし、ポリマー上での角膜上皮細胞の分化が、生体での角膜上皮細胞と同様のプロファイルにならなかったため、本研究では人工ポリマーに生体材料である羊膜を架橋した材料の製造を試みた。その結果、人工ポリマーと生体材料のサンドイッチ構造の角膜実質に相当する材料の作成に成功した。

### 5) 涙液・唾液分泌制御におけるアクアポリンの役割の解明

水分子を選択的に通過させる膜チャネル蛋白、アクアポリン(AQP)の発見により、体内水分調節、分泌・吸収に対する我々の理解は急速に深まりつつある。涙腺、唾液腺では、AQP、AQP3、AQP5が局在している。中でも、AQP5の唾液分泌における重要性は、動物モデルにおいても確立されている。また、シェーグレン症候群の病態とAQP5の分布異常との関連も示唆されている。我々は、AQP5の活性制御機序の解明、それに関わる分子の同定を試みている。涙腺・唾液分泌は、自律神経系の制御を受けているが、自律神経系の制御が、最終的にどのような細胞内情報伝達を経てAQP5の活性を制御しているか、その機序も検討していきたい。更に、脳磁計、MRIを用いた高次脳機能の解析と組み合わせることにより、感情・記憶と涙液・唾液分泌制御との関連も徐々に明らかにしていく。また、唾液をサンプルとした、診断キットの開発も試みたい。

### 6) 加齢に伴うドライアイ、口腔内乾燥症病態生理の理解

加齢に伴い、皮膚のAQP3の発現が減少するという報告がある。動物モデルを用いて、加齢によるアクアポリンの発現量、分布の変化を涙腺、唾液腺組織で検討していく。また、それらの変化と分泌機能との関連を明らかにしていく。

### 7) ヒト体性および胚性幹細胞を利用した人工角膜の作成(ステムセルに関する研究)

昨年度にマウス角膜からの分離した幹細胞が、角膜実質細胞(keratocyte)が本来示す全ての表現型に分化しうることを確認した。この研究成果を原著論文として発表した(Yoshida S, Shimmura S, et. al. *Inest Ophthalmol Vis Sci*, in press)。今回はさらに、これらの幹細胞をCOPsと命名し、神経系細胞、脂肪細胞、軟骨細胞へ分化することを確認した。とくにnestinの発現については、neuron specific enhancerの制御下にあるEGFP遺伝子導入マウスを用いて、神経系細胞へ実際に分化していることを示した。これは、nestinが中間型フィラメントとして多くの組織で発現していることから、神経系特異的にしか発現しないパターンであることを示すことで、神経系細胞への分化を証明した。

#### 8) 上皮組織の創傷治癒モデルの確立と委託研究事業の創設

上皮組織は、様々な部位で外界との物質輸送、情報伝達、保護を担う組織として機能する。眼では角膜、結膜。歯科口腔では、口腔粘膜。腎臓では、尿管。初年度は、体の表面を覆い、面積としては最大の器官である皮膚をモデルに創傷治癒の過程を解明することを目標とした。

創傷治癒の評価として、軽度熱傷を用いた動物実験モデルを確立した。マクロレベルの評価方法として、外部から撮影したデジタル画像を処理することで、その治癒の度合いを定量化した。ミクロレベルの評価方法として、パラフィン組織切片を用いたエオシン・ヘマトキシリン染色による組織学的解析、蛍光抗体を用いた免疫組織学的解析を行った。また、ウェスタンブロッティングを用いて、炎症や治癒反応に関与すると思われる発現タンパク質の定量化を試みた。評価方法として、環動ゲルをマウス背部皮下組織に埋め込み、ミクロレベルで組織学的、生化学的に検討した。杏林大学との連携で、電子顕微鏡を用いた細胞接着部位の組織学的解析も行った。生化学的方法としては、組織中あるいは血清中の炎症マーカーの定量化を試みている。

紫外線ストレスによって誘発される活性酸素（一重項酸素）は、皮膚の老化とも関係する。皮脂や涙液表面を覆う油層に対する酸化の影響も検討していく。皮脂の分泌源となる皮脂腺や、涙液表面を覆う油の分泌腺となるマイボーム腺の質量分析、紫外線ストレスによる抗酸化度等の定量化も行う。

#### 9) 再生医療と関連する人工産物の安全性評価

このプロジェクトでは、眼科、耳鼻咽喉科、歯科口腔外科をはじめとする市川総合病院診療科との連携を活かした、多種多彩な再生医療の研究開発拠点として本研究室を活用することを目的とする。特に、委託研究事業によって得られる人工産物の生体内での安全性を検討する。

#### 10) ドナーアクションプログラム

厚生労働省臓器移植研究班として、全国10道府県を対象に、主にヨーロッパで実施されているドナーアクションの手法をインストールして、脳死状態の患者情報が院内でどのように扱われ、病状と処置の状況がご家族にどのように伝えられているか、また、本人、家族の臓器提供に対する意思表示を確認しているか等の調査を進めている。

2002年以降DAPの日本語版を開発し、その維持管理を行っている。DAPは、病院職員を対象に脳死・移植についての意識・知識・経験・ニーズなどを明らかにするHAS（病院職員意識調査）、潜在的なドナーがどの段階で移植にいたらなかったかを診療記録に基づき明らかにするMRR（診療記録レビュー）に基づき、その病院の問題点を明らかにし、改善策を立案・導入し円滑な臓器提供を得ようとするものである。産業界のTQM（総合的質経営）の手法と共通点が多く、医療の他の領域にも活用が可能である。日本で得られた29病院、約6,000人のHASの解析では、日本では、

終末期患者のグリーフケアについて多くの職員が高いニーズを有するものの、知識・経験が乏しいために、過度のストレスを感じ、円滑なコミュニケーションを患者・家族と得ることができないこと。

移植医療の待機者数、治療成績などについて過小評価するものが多く、社会的に重大な問題であると認識するものが少ないことが明らかにされた。

移植, 139(2), 146~162, 2004.

Trends & Topics in Trasplantation, 13(2), 2002.

### 3. 科研費補助金・各種補助金

研究代表者	研究課題	研究費
坪田 一男	ヒト羊膜を用いた再生表層角膜移植片における免疫学的研究	厚生科学研究費補助金
石川 達也	再生角膜の作成および移植に関する研究	文部科学省バイオベンチャー研究開発拠点整備事業
坪田 一男	ヒト体性および胚性幹細胞を利用した人工角膜の作成	文部科学省科学技術試験研究
篠崎 尚史	米国におけるヒトモノ取り扱いの調査研究	厚生科学研究費補助金
篠崎 尚史	眼組織からの幹細胞等の同定・単離・細胞株化およびこれら&の保存方法	厚生科学研究費補助金
大島 伸一	臓器移植の社会基盤整備に向けての研究	ヒトゲノム・再生医療等研究事業
白倉 良太	移植医療に関する国際比較分析に関する研究	ヒトゲノム・再生医療等研究事業

### 4. 研究活動の特記すべき事項

#### 研究発表等

発表者	年月日	演題	学会名	開催地
篠崎 尚史	2004.11.21 ~12.4	1. Advanced International Training Course on Transplant Coordination 2. 組織移植における現状と問題点	1. TPM(Transplant Procurement Management) 2. WHO(World Health Organization)国際臓器移植会議	1. パルセロナ 2. オタワ
安井 正人	2004.7.11 ~16	Anion Permeability of aquaporin-6	Gordon Research Conference	Tilton 米国

5. 教育講演等教育に関する業績、活動

教育講演

講演者	年月日	演 題	学会・研究会名	開催地
浅水 健志	2004.4.5	アイバンクについて	新人研修オリエンテーション (セコメディック病院)	千葉市
篠崎 尚史	2004.4.8	視覚器の発生・構造	杏林大学医学部	東京
篠崎 尚史	2004.4.26	視覚器の発生と再生, アイバンク	東京歯科大学	千葉市
篠崎 尚史	2004.9.9	眼科再生医療, 移植	杏林大学医学部	東京
篠崎 尚史	2004.9.25	角膜移植	JOTCo, 都道府県 Co, 組織移植 Co, アイバンク Co 合同セミナー	千葉市
篠崎 尚史	2004.9.26	清潔操作「手洗い, ガウンテクニ ック, 器具の取り扱い」	第1回 JOTCo, 都道府県 Co, 組 織移植 Co, アイバンク Co 合同セ ミナー	千葉市
篠崎 尚史	2004.10.5	移植コーディネーターとは コー ディネーターに必要とされる倫理 観	杏林大学医学部	東京
安井 正人	2004.10.15	アクアポリンの構造・機能相関	第77回日本生化学会	横浜市
吉野由希子	2004.11.16	角膜移植とアイバンク	杏林大学医学部	東京
篠崎 尚史	2004.12.19	患者家族とのコミュニケーション の取り方	第2回 JOTCo, 都道府県 Co, 組織 移植 Co, アイバンク Co 合同セミ ナー	神戸市
篠崎 尚史	2005.1.11	移植コーディネーター概論	杏林大学保健学部	東京
篠崎 尚史	2005.1.18	「生命」	学校法人ノートルダム清心女子高等学 校	岡山市
篠崎 尚史	2005.1.24	臓器移植医療の現在 移植コーディネーターの役割	川崎市立看護短期大学	川崎市
篠崎 尚史	2005.1.27	臓器移植の増加へのプロセス	第38回日本臨床腎移植学会	大津市
篠崎 尚史	2005.2.9	医療人に必要な倫理観 移植医療の実際を踏まえて	千葉県立衛生短期大学	千葉市
安井 正人	2005.3.28	アクアポリンの制御機構	大日本製薬(株)	大阪市

## 論 文

1. 篠崎尚史：欧州における臓器提供の現状と推進への取組み - 日本の臓器提供数増加に向けて -, 移植 39(2), 146 ~ 162, 2004. 原著
2. Shinozaki,N. : Efficacy and safety of international donor sharing: a single-center, case-controlled study on corneal transplantation, Transplantation 78(2), 216 ~ 220, 2004. 原著

## 単行図書

1. 篠崎尚史: 単著 :移植コーディネーター概論, へるす出版, 東京, 2004.

## その他

1. 篠崎尚史：私とアイバンク, アイバンクジャーナル 8(3), 22 ~ 27, 2005.