

財団法人 日中医学協会

2011 年度共同研究等助成金報告書—調査・共同研究—

平成 24 年 3 月 9 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った調査・共同研究について報告いたします。

添付資料：研究報告書

受給者氏名 尾崎 由基男 
所属機関名：山梨大学医学部
所属部署名：臨床検査医学 職名：教授
所 在 地：山梨県中央市下河東 1110
電 話：055-273-6770 内線：055-273-6924

1. 助成金額： 1,000,000 円
2. 研究テーマ ジスルフィド異性化酵素 ERp57 の血小板活性化、血栓形成における役割

3. 研究組織：

日本側研究者氏名：尾崎 由基男	職名：教授
所属機関名：山梨大学医学部	部署名：臨床検査医学
中国側研究者氏名：武 芸	職名：教授
所属機関名：蘇州大学医学部	部署名：血液研究所

4. 当該研究における発表論文等

無し

(ただし、アメリカ血液学会雑誌、 Blood に投稿予定)

5. 成果の概要

ジスルフィド異性化酵素 ERp57 の機能を調べるために、ノックアウトマウスの作成を行った。ノックアウトマウスは正常に生まれ、軽度血小板数が低下していたが、他の血球数には異常がなかった。トロンビン、GPVI 刺激剤のコンバルキシンによる血小板凝集はやや低下していたが、リコンビナントの ERp57 を加えることにより、血小板凝集は回復した。また血小板顆粒内容の放出も軽度低下していた。GPVI 刺激による GPIIb/IIIa の活性化状態を判定する JON/A 結合をみると、ERp57 欠損血小板では明らかに低下しており、いわゆる inside-out GPIIb/IIIa 活性化の信号伝達経路にも異常があることが示唆された。また、血栓を安定化させることに重要とされる clot retraction も低下していた。動物を用いた生体実験系では、出血時間の延長、及び塩化第二鉄を用いた頸動脈血栓形成も ERp57 ノックアウトマウスでは低下していた。以上のことより、ERp57 は血小板の種々の機能を正常に保つことが示唆され、また生体内でも血小板機能保持に重要なことが示された。

6. 本研究における中国人共同研究者の役割及び業績

武芸氏は ERp57 ノックアウトマウスの作成、血小板凝集能、血小板顆粒放出能、GPIIb/IIIa 活性化 などの検討を行い、本研究の主要な役割を担った。

ジスルフィド異性化酵素 ERp57 の血小板活性化、血栓形成における役割

研究者氏名	尾崎由基男
日本研究機関	山梨大学医学部臨床検査医学
研究者氏名	武 芸
中国所属機関	蘇州大学医学部血液研究所

要旨

ジスルフィド異性化酵素 ERp57 の機能を調べるために、ノックアウトマウスの作成を行った。ノックアウトマウスは正常に生まれ、軽度血小板数が低下していたが、他の血球数には異常がなかった。トロンビン、GPVI 刺激剤のコンバルキシンによる血小板凝集はやや低下していたが、リコンビナントの ERp57 を加えることにより、血小板凝集は回復した。また血小板顆粒内容の放出も軽度低下していた。GPVI 刺激による GPIIb/IIIa の活性化状態を判定する JON/A 結合をみると、ERp57 欠損血小板では明らかに低下しており、いわゆる inside-out GPIIb/IIIa 活性化の信号伝達経路にも異常があることが示唆された。また、血栓を安定化させることに重要とされる clot retraction も低下していた。動物を用いた生体実験系では、出血時間の延長、及び塩化第二鉄を用いた頸動脈血栓形成も ERp57 ノックアウトマウスでは低下していた。以上のことから、ERp57 は血小板の種々の機能を正常に保つことが示唆され、また生体内でも血小板機能保持に重要なことが示された。

Key Word ジスルフィド異性化酵素、 ERp57、血小板活性化、血栓

緒言 細胞膜上、また細胞内には 複数のシステイン残基が存在する蛋白が多く認められる。特に分子量の大きい蛋白には多数の S-S 結合があり、この S-S 結合を中心にして、蛋白分子が回転することにより、分子にねじれが生じる可能性がある。ねじれにより立体構造が変化し、蛋白の機能が影響を受けることは容易に想像でき、S-S 結合を外してねじれを無くし、蛋白の立体構造を元の状態に戻すジスルフィド異性化酵素が知られている。

血小板にもいくつかのジスルフィド異性化酵素が発見されているが、それらの血小板における役割はあまり明らかにされていない。本研究は ジスルフィド異性化酵素のなかでも、まだほとんど研究されていない ERp57 の血小板活性化、血栓形成における役割を解明しようとするものである。

結果 及び 考察

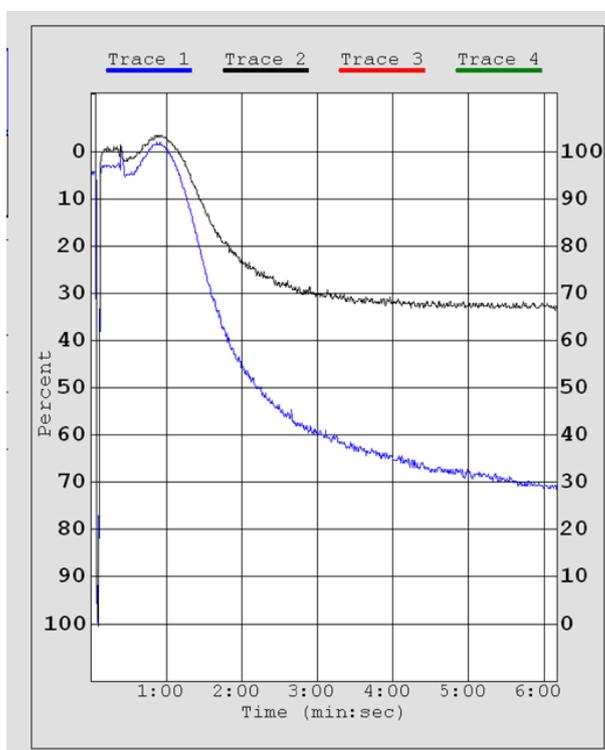
1. ERp57 のノックアウトマウス

当該研究者等は PF4Cre 法を使い、ERp57 のノックアウトマウスの作成を試みた。その結果として、ERp57 を完全に無くしたマウスの作成に成功した。ノックアウトマウスは正常に生まれ、また繁殖力も低下していなかった。

ノックアウトマウスの血算を調べると、赤血球、白血球数はほぼワイルドタイプと同じであったが、血小板数は 20% 程度の低下を認めた。血小板上の GPIIb/IIIa、GPIb、GPVI 等の主要な膜糖タンパクは同様に発現していた。

2. ERp57 欠損マウスの凝集能を調べると、GPVI に作用する convulxin 刺激、トロンビン刺激ともに血小板凝集能は軽度低下していた。しかし、強い濃度の刺激剤を用いると、ワイルドタイプの血小板凝集との差はなくなった。また、低下している血小板凝集に対して、recombinant の ERp57 を加えることにより、凝集能は回復した。これにより、正常な ERp57 の存在は血小板凝集の維持に必要なことが示唆された。

図 1. ワイルドタイプ (青色) に対して、ERp57 ノックアウトマウスからの血小板 (黒色のトレース) は 血小板凝集が低下している。



3. ERp57 欠損血小板は、血小板凝集能のみでなく、血小板 α 顆粒内容の放出も低下していた。

さらに、GPVI 刺激による GPIIb/IIIa の活性化状態を判定する JON/A 結合をみると、ERp57 欠損血小板では明らかに低下しており、いわゆる inside-out GPIIb/IIIa 活性化の信号伝達経路にも異常があることが示唆された。

Clot retraction は 血小板を含むフィブリン塊が収縮する現象であり、血小板活性化が関与する血栓の安定性に重要な反応とされている。特に血小板 GPIIb/IIIa と凝固第 XIII 因子が重要であることが知られている。血小板多血漿にトロンビンを加え、凝集塊を形成させたのち経過を観察すると、血小板凝集塊が 40~60 分位で収縮するのが認められる。ERp57 欠損血小板を用いた場合、clot retraction の開始が遅れ、また最終的な収縮の度合いも明らかに低下していた。これらのことから、ERp57 は生理的、病的な血栓の安定化に大きな役割を果たすことが示唆された。

4. 以上のことより、ERp57 は血小板機能のいくつかの重要な経路に大きな役割を果たすことが示唆された。生体内での止血、血栓形成に対する影響を評価するため、ノックアウトマウスを用いて、尻尾からの出血時間、また 塩化鉄を用いた頸動脈血栓形成の実験を行った。結果として、ERp57 欠損動物では、出血時間の延長、また頸動脈血栓形成の遅延を認め、ERp57 が生体における止血、病的血栓形成に関与することが証明できた。

財団法人 日中医学協会

2011 年度共同研究等助成金報告書－調査・共同研究－

2012 年 03 月 01 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った調査・共同研究について報告いたします。

添付資料：研究報告書

受給者氏名：橋本 謙二



所属機関名：国立大学法人千葉大学

所属部署名：社会精神保健教育研究センター 職名：副センター長・教授

所在地：千葉県千葉市中央区亥鼻 1-8-1

電話：+81-43-226-2517 (direct) 内線：

1. 助成金額： 900,000 円

2. 研究テーマ

ミノサイクリンによる薬物依存症の治療効果並びにその機序に関する検討

3. 研究組織：

日本側研究者氏名： 橋本 謙二

職名： 副センター長・教授

所属機関名： 国立大学法人千葉大学

部署名：社会精神保健教育研究センター

中国側研究者氏名： 陸 林

職名： 所長・教授

所属機関名： 北京大学

部署名：国立薬物依存研究所

4. 当該研究における発表論文等

Fujita Y, Kunitachi S, Iyo M, Hashimoto K: Antibiotic drug minocycline prevents methamphetamine-rewarding effects in mice. Pharmacol. Biochem. Behav. 2012;101: 303-306.

5. 成果の概要

日本、中国等のアジア地区を含む多くの国で社会問題になっている、覚せい剤の乱用に伴う精神障害の根本的な治療薬は現在のところ無い。私たちは、これまで抗生物質の一つであるミノサイクリンが、覚せい剤・麻薬の投与による精神障害・神経障害に対して治療効果を示すことを報告した。今回、マウスの場所指向性試験を用いた試験を実施し、ミノサイクリンが覚せい剤投与による依存形成を抑制することを見出した。また依存形成の抑制には、側坐核におけるドーパミン放出の抑制が関わっていることをインビボ脳内透析法を用いて明らかにした。本研究成果は、Pharmacology, Behavior and Biochemistry という国際誌に掲載されている。

さらに、覚せい剤精神病患者に対するミノサイクリンの臨床試験に関する情報交換・打ち合わせを共同研究者である北京大学・国立薬物依存研究所の陸林教授を含む研究者と行ったが、倫理面等の諸問題で実施することは出来なかった。

6. 本研究における中国人共同研究者の役割及び業績

共同研究先の北京大学の陸林教授は、本研究に興味を示し、臨床研究を中国で実施できるよう積極的に調整を行った。「覚せい剤精神障害患者を対象としたミノサイクリンの臨床試験」のプロトコール作成するため、両施設の共同研究者を含んだ研究打ち合わせを2011年5月に北京で開催した。最終的に倫理面等の諸問題で今回の臨床研究の実施は不可能になったが、今後の共同研究に大変価値ある貴重な経験であった。

陸教授の研究室から研究者を客員准教授として派遣し（経費別途支給）、薬物依存に関する共同研究体制作りを築いた。

ミノサイクリンによる薬物依存症の治療効果並びにその機序に関する検討

日本側研究者氏名	橋本 謙二
研究機関	国立大学法人千葉大学 社会精神保健教育研究センター 副センター長・教授
中国側研究者氏名	陸 林
研究機関	中国北京大学 国立薬物依存研究所・所長・教授

要 旨

日本、中国等のアジア地区を含む多くの国で社会問題になっている覚せい剤・麻薬の乱用に伴う精神障害の根本的な治療薬は現在のところ無い。私たちは、これまで第二世代抗生物質の一つであるミノサイクリンが、覚せい剤・麻薬の投与による精神障害・神経障害に対して治療効果を示すことを報告した。本研究は、覚せい剤関連精神障害の治療薬の開発を目的として、ミノサイクリンの効果を調べた。C57BL/6 マウスを用い覚せい剤 (Methamphetamine: METH) 投与モデルを作成し、マウスの場所指向性テストを用いた試験およびインビボ脳内透析法を実施した。今研究において、我々はミノサイクリンが覚せい剤投与による依存形成を抑制することを見出し、また依存形成の抑制には、側坐核におけるドーパミン放出の抑制が関わっていることをインビボ脳内透析法を用いて明らかにした。以上の所見より、ミノサイクリンは覚せい剤関連精神障害の治療薬として可能性が示唆された。

Key Words 覚せい剤, メタンフェタミン, 依存症, ミノサイクリン, ドパミン

緒 言:

覚せい剤(Methamphetamine: METH)の乱用により脳内ドーパミン (DA) 神経系の障害が起こり、薬物依存が形成されるが、現在のところ、根本的に治療する薬剤は無い。私たちは、第二世代抗生物質の一つであるミノサイクリンが覚せい剤の投与によって引き起こされる様々な障害に対して治療効果を示すことを報告した(1-4)。今回我々はMETH投与による薬物依存の形成におけるミノサイクリンの効果を検討した。さらにインビボ脳内透析法を用いて、側坐核におけるドーパミン放出に及ぼすミノサイクリンの影響を調べた。

対象と方法:

C57BL/6 マウス81匹が(6-9 週齢、体重 25-30 g)本研究に用いられた。①場所嗜好性試験 (CPP) の測定は、vehicle + vehicle群 (n=22)、vehicle + METH群 (n=24)、minocycline + METH 群 (n=24)、とminocycline + vehicle 群 (n=21)の4群に分けて行った。前処理としては図1に示すように、3日間慣れさせた後、第4、6、8日目で、生理食塩水 (10 ml/kg, IP)あるいはミノサイクリン(40 mg/kg, i.p.)をMETH (1 mg/kg, i.p.)またはvehicle (10 ml/kg, i.p.)投与し30分前に投与し、その後白または黒のボックスに30分間閉じ込め; 第5、7、9日目は、生

理食塩水を投与し、前回のMETH-conditioning時と反対のボックスに30分間閉じ込め、条件付けを行った。10日目にテストを行い、薬物処置側ボックスの滞在時間から溶媒処置側ボックスの滞在時間を差し引いた値をCPPスコアとした。

マウスが自由移動状態でのインビボ脳内透析法では、あらかじめ側坐核にプローブ留置手術を行った。METH (1.0 mg/kg, i.p.)投与の30分前に生理食塩水 (10 ml/kg, i.p.)もしくはミノサイクリン(40 mg/kg, i.p.)を処置した。側坐核におけるDAの含量を高速液体クロマトグラフィーで測定した。

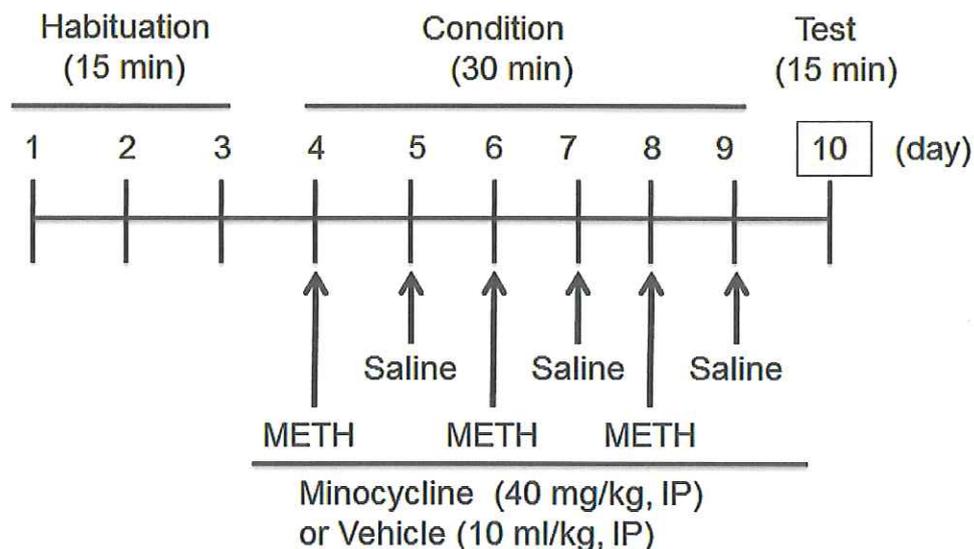


Fig.1 Experiment schedule for the CPP paradigm.

Mice were treated with vehicle (10 ml/kg, IP) or minocycline (40 mg/kg, IP) 30 min before receiving METH (1 mg/kg, SC) or saline (10 ml/kg, SC).

結果:

場所嗜好性試験 (CPP) では、METH 投与による場所嗜好性の増加が観察され、ミノサイクリン (40 mg/kg) の前投与は、METH 投与による場所嗜好性の増加を有意に抑制した (Figure 2)。一方、ミノサイクリン単独投与は、生理食塩水投与群と同等であった。

また、マウスが自由移動状態でのインビボ脳内透析法では、ミノサイクリン (40 mg/kg, IP) の前投与は、METH (1.0 mg/kg, SC) の投与によるマウス側坐核におけるドパミン放出の増加を有意に抑制した (Figure 3)。この結果は、ミノサイクリンの METH 投与による側坐核におけるドパミン放出の抑制が、METH 投与による依存形成の抑制に関与していることが示唆された。

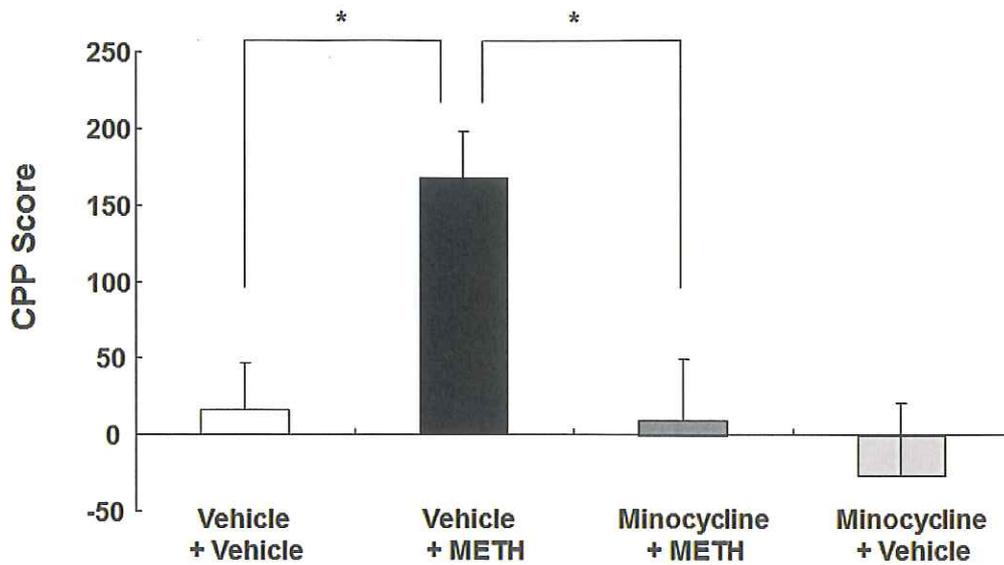


Fig. 2 The effects of minocycline on METH-induced rewarding effects in mice. Thirty minutes after administration of vehicle (10 ml/kg, IP) or minocycline (40 mg/kg, IP), METH (1.0 mg/kg, SC) or saline (10 ml/kg, SC) was administered to mice. A detailed treatment schedule is shown in the Method section. Vehicle + vehicle group (n=22), vehicle + METH group (n=24), minocycline + METH group (n=24), minocycline + vehicle group (n=21). Each value is the mean \pm S.E.M. *P<0.05 when compared with the vehicle + METH treated group.

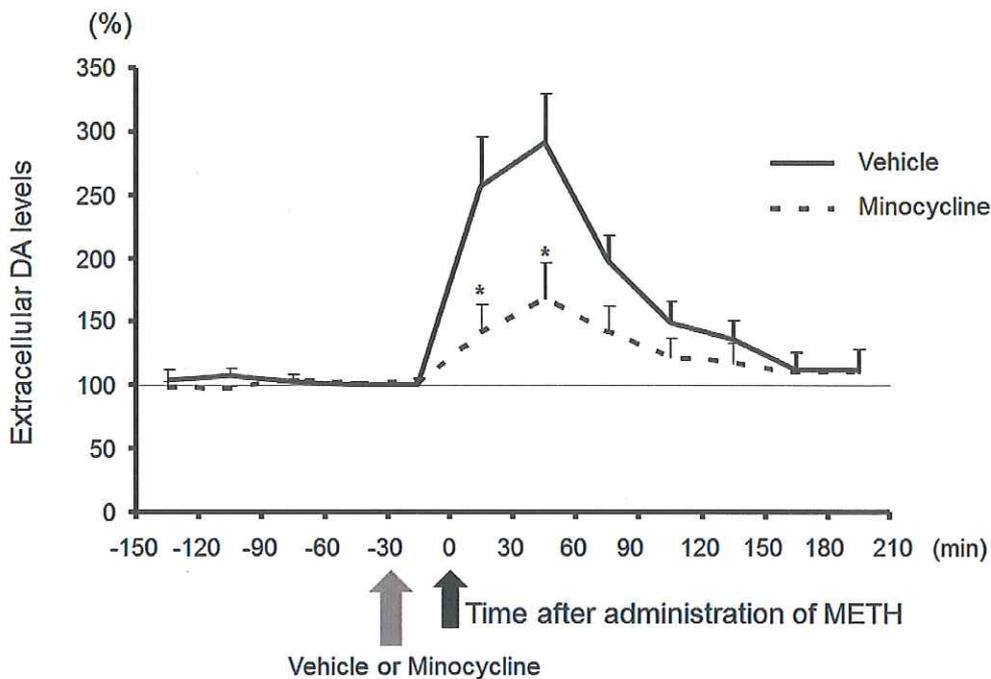


Fig. 3 The effects of minocycline on METH induced increases of extracellular DA levels in the nucleus accumbens.

Thirty minutes after the administration of vehicle (10 ml/kg, IP) or minocycline (40 mg/kg, IP), METH (1.0 mg/kg, SC) was injected into mice. The dialysate was collected in 30-min fractions, and DA levels were measured by HPLC. Basal extracellular DA levels in the nucleus accumbens were 4.17 ± 0.101 nmol/L (n=16, mean \pm SEM). The values are the mean \pm SEM of 8 mice. *P<0.05 when compared with the control (vehicle) group.

考 察：

覚せい剤や麻薬の使用に伴う精神障害は大きな社会問題となっているが、現在根本的な治療法はない。我々のこれまでの研究から、ミノサイクリンが覚せい剤・麻薬関連精神障害の治療薬として有望であると考えている。

本研究の結果より、世界中で幅広く使用されている安全な薬剤であるミノサイクリンは、覚せい剤関連精神障害の新しい治療薬として期待されるであろう。

本研究成果は、「Antibiotic drug minocycline prevents methamphetamine-rewarding effects in mice.」という題名で国際誌「Pharmacology, Behavior and Biochemistry」に掲載された (Pharmacol. Biochem. Behav. 2012;101: 303-306.)。

参考文献：

1. Zhang L. et al. Protective effects of minocycline on behavioral changes and neurotoxicity in mice after administration of methamphetamine. *Prog. Neuropharmacol. Biol. Psychiatry* 30: 1381-1393, 2006.
2. Zhang L. et al. Protective effects of minocycline on MDMA-induced neurotoxicity in serotonergic and dopaminergic neurons of mouse brain. *Eur. J. Pharmacol.* 544: 1-9, 2006.
3. Hashimoto K. et al. Protective effects of minocycline on the reduction of dopamine transporters in the striatum after administration of methamphetamine: A PET study in conscious monkeys. *Biol. Psychiatry* 61: 577-581, 2007.
4. Fujita Y. et al.: Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of the antibiotic drug minocycline. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 32: 336-339, 2008.
5. Sofuoglu M. et al. Minocycline attenuates subjective rewarding effects of dextroamphetamine in humans. *Psychopharmacology* 213: 61-68, 2011.
6. Tanibuchi Y. et al. A case of methamphetamine use disorder treated with the antibiotic drug minocycline. *Gen. Hospital Psychiatry* 32: 559e1-e3, 2010.

作成日：2012年3月1日

財団法人 日中医学協会

2011 年度共同研究等助成金報告書—調査・共同研究—

2012 年 3 月 14 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った調査・共同研究について報告いたします。

添付資料：研究報告書

受給者氏名：安井 孝周

所属機関名：名古屋市立大学大学院医学研究科

所属部署名：腎・泌尿器科学分野 職名：講師

所在地：名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1

電 話：(052)851-5511 内線：8266



1. 助成金額： 1,000,000 円

2. 研究テーマ

尿路結石の一塩基多型を用いた遺伝子診断方法の開発と人種差の検討

3. 研究組織：

日本側研究者氏名：安井孝周

職名：講師

所属機関名：名古屋市立大学大学院医学研究科

部署名：腎・泌尿器科学分野

中国側研究者氏名：高兵

職名：教授

所属機関名：瀋陽医学院

部署名：細胞生物与遺伝学研
究室

4. 当該研究における発表論文等

Genome-wide association study of nephrolithiasis in the Japanese population

identifies novel susceptible loci. (投稿準備中)

Role of osteopontin in early phase of renal crystal formation (投稿準備中)

5. 成果の概要

尿路結石患者に特徴的な遺伝子多型をオステオポンチン(OPN)と matrix Gla protein で同定し、遺伝子多型により、OPN プロモーター活性が変化することを確認した。さらに、全ゲノムの網羅的探索によって尿路結石と強い関連を示す 2 領域を同定した。

6. 本研究における中国人共同研究者の役割及び業績

中国瀋陽市内の泌尿器科病院と連携し、尿路結石患者の検体を収集した。

MGP の SNPs 解析および、オステオポンチンの SNPs によるプロモーター解析を行った。

2011 年 6 月 19 日～22 日 申請者とともに瀋陽医学院にて、共同研究の結果と内容、今後の研究の進め方について、ディスカッションを行った。中国瀋陽市内の泌尿器科医師にも共同研究についての説明を行った

2011 年 6 月 20 日 中日尿路結石中心の設立記念講演を行った。

尿路結石の一塩基多型を用いた遺伝子診断方法の開発と人種差の検討

研究者氏名 安井 孝周
所属機関 名古屋市立大学大学院医学研究科
腎・泌尿器科学分野 講師
共同研究者名 高兵

要旨

尿路結石は遺伝因子に食生活などの生活習慣である環境因子が重なり、発症すると考えられる。遺伝子の一塩基多型 (SNPs) は個体差を形成し、多因子疾患の原因となることが報告されている。疾患に相関する特定遺伝子の SNPs が半別出来れば、個体レベルでの発症リスクを推測し、疾患の早期診断、予防に有用である。本研究では、osteopontin (OPN) と matrix Gla protein の SNPs 解析により結石発生のリスクとの関係を検討し、機能解析を中国人共同研究者とともに行った。さらに、ゲノムワイドな網羅的探索によって、新規の関連遺伝子領域を同定した。

OPN、MGP で、結石患者に特徴的な SNPs を同定したが、人種差を同定できなかった。OPN のプロモーター解析によって結石と健常者に特徴的な SNPs によって発現変化が生じることを確認し、機能に変化が生じることが推察された。2011 年 6 月に訪中のうえ、共同研究の方法、結果についてディスカッションした。今後も共同研究を継続していく予定である。大規模なゲノムワイドに網羅的解析を行い、日本人において尿路結石症と強い関連を示す 2 領域を同定した。今後、遺伝子領域の中で、特定遺伝子を同定し、機能解析を行うことと、各遺伝子型における再発率を検討することで、遺伝子診断への応用が期待できる。

Key Words 尿路結石, オステオポンチン, 遺伝子多型, ゲノムワイド

緒言:

尿路結石は遺伝因子に食生活などの生活習慣である環境因子が重なり、発症すると考えられる。尿路結石症の生涯罹患率は急増し、我が国では 100 人中 6 人、欧米では 20 人にも達する国もみられ、生産年齢の男性に多く、その成因の究明と再発予防法の確立は急務であるが、遺伝子レベルに研究が進んでからも画期的な再発予防法は開発されていない。

オステオポンチン (OPN) はカルシウム結石のマトリクスとして同定され、結石モデルラットでは結石形成に先行して発現し、尿細管細胞と尿酸カルシウム結晶の接着、結晶の成長に関与し、結石形成に重要な役割を果たすと考えられている。

遺伝子の一塩基多型 (SNPs) は個体差を形成し、多因子疾患の原因となることが報告されている。疾患に相関する特定遺伝子の SNPs が半別出来れば、個体レベルでの発症リスクを推測し、疾患の早期診断、予防に有用である。本研究では、OPN の SNPs 解析により結石発生のリスクとの関係を検討した。さらに、同定されていない遺伝子を含めたゲノムワイドに遺伝子解析を行うため、タグ SNP を用いた網羅的探索法にて検討した。

対象と方法:

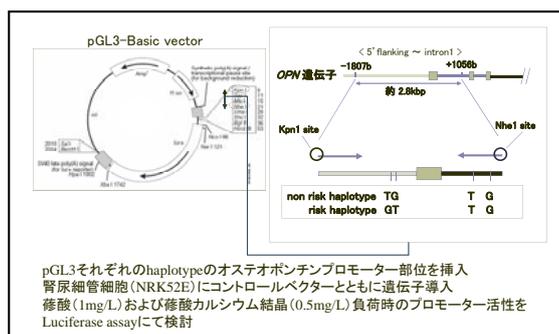
SNP の同定と解析

カルシウム結石患者 126 名 (平均 57.6 ± 13.5 歳、男性 93 名、女性 33 名) と結石既往のない健常者 214 名 (平均 68.6 ± 11.8 歳、男性 165 名、女性 49 名) を対象とした。まず、99 例で血液よりゲノム DNA を抽出し、OPN 遺伝子の全配列を決定した。連鎖不均衡解析を行い、結石患者に特徴的な haplotype

tagging SNPs (htSNPs)について全例でSNPsを検討、解析した。ANKHでは全ゲノムの遺伝子配列を同定し、同様に解析を行った。

OPNプロモーター活性の検討

特徴的なhtSNPsについて、蔞酸(1mM)および蔞酸カルシウム一水和物(COM)結晶(500μg/ml)添加時のプロモーター活性を検討した。それぞれのhtSNPsについて、-1807bpから1056bp領域をプラスミドpGL3 basic vectorに組み込み、HK-2細胞(ヒト腎尿細管細胞由来)にコントロールプラスミド(pRL-TK)とともにco-transfectionした。蔞酸(1mM)または蔞酸カルシウム一水和物(COM)結晶(500・g/ml)を添加し、OPNプロモーター活性を1,3,6,12,24時間後にLuciferase assayにて経時的に検討した。



結石関連遺伝子のゲノムワイドな網羅的探索

カルシウムを主成分とする尿路結石の形成機序は、食事などの環境因子に加えて、遺伝因子が重要であると考えられる。遺伝因子としては、「個人差程度の違い」である遺伝子多型(SNP)が、いくつも複雑に関連して疾患が発症していると考えられている。ハプロタイプブロックの領域には、「タグSNP」と呼ばれる、その領域を代表するSNPが存在しており、約20万ヶ所のタグSNPをタイピングすることで、尿路結石関連遺伝子の一次スクリーニングを行い、インフォームドコンセントのうえ、収集した結石患者のゲノム遺伝子を、4000名で三次スクリーニングまで行った。

さらに、別の結石患者群、健常者群で再スクリーニングを行っている。

結果:

SNPの同定と解析

61ヶ所のSNPsを確認し、連鎖不均衡解析にて4つのblockを同定した(図1)。Block2で結石患者および健常者に特異的なハプロタイプを同定した。結石患者と健常者の遺伝子型を比較すると、ハプロタイプG-T-T-Gは結石患者に多く(p=0.0227 odds比1.676)、ハプロタイプT-G-T-Gは健常者に多く(p=0.016 odds比0.351)みられた。日本人と中国人での差異については明らかにできなかった。

99名のOPN SNPについて連鎖不均衡解析を行った。太枠の内部がhaplotype blockを示し、太字のSNP番号がブロック内のhaplotype tagging SNP(htSNP)を示す。



尿路結石患者(126名)と健常者(214名)でBlock2にあるhaplotypesについて解析を行った。GITGは結石患者に多く、TGTGは健常者(非結石患者)に多い**。

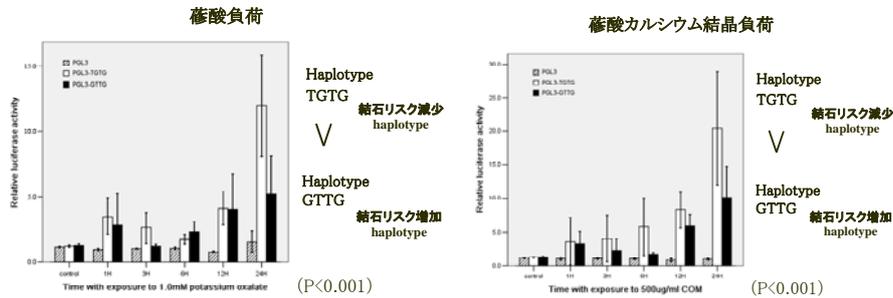
Block 2 Haplotypes (SNP Frequency 10-11-19-20)	Cases (n=126)	Controls (n=214)	OR	95% CI	Chi square	P value	
TGCA	0.756	192.0 / 60.0	321.9 / 106.1	1.054	0.659-1.364	0.080	0.7777
GTTG	0.132	43.0 / 209.0	46.8 / 381.2	1.676	1.072-2.621	5.189	0.0227*
TGTG	0.088	11.0 / 241.0	49.2 / 378.8	0.351	0.179-0.689	9.978	0.0016**
TGCG	0.012	4.0 / 248.0	3.8 / 424.2	1.801	0.438-7.395	0.667	0.414

* P<0.05. ** P<0.01.

ANKH遺伝子で、SNPsを同定したが、結石患者と健常者に特徴的なSNPsは同定できなかった。

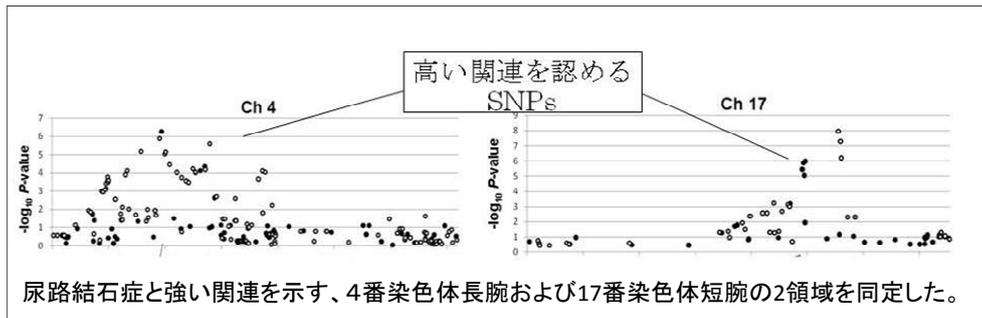
OPNプロモーター活性の検討

Luciferase assay では、尿酸およびCOM 結晶の刺激により、OPN プロモーター活性は経時的に上昇し、24 時間後にピークを認めた。ハプロタイプ T-G-T-G はハプロタイプ G-T-T-G と比較して、尿酸または COM 結晶刺激による、OPN プロモーター活性が有意に上昇していた。



結石関連遺伝子のゲノムワイドな網羅的探索

多因子疾患として OPN 以外の遺伝因子を探索するため、ゲノムワイド解析を行った。同定されていない関連遺伝子も含めた全ゲノムの網羅的探索として、尿路結石患者と健常者の大規模ゲノムワイド関連解析を行い、日本人において尿路結石症と強い関連を示す、4 番染色体長腕および 17 番染色体短腕の 2 領域を同定した。



考 察 :

カルシウム結石は単一の遺伝子異常で説明ができていないが、近年、遺伝子多型(一塩基多型、single nucleotide polymorphism: SNP) を中心とした解析が行われ、カルシウム代謝に関係する Vitamin D 受容体、カルシウム感受性受容体、ウロキナーゼ等について報告されてきている。

カルシウム結石患者と健常者を比較し、結石マトリクスである OPN について有意に、ハプロタイプ G-T-T-G では結石発症のリスクが高く、ハプロタイプ T-G-T-G では健常者(非結石患者)である可能性が高いことを示した。さらに、それぞれのハプロタイプでプロモーター活性が変化することを確認した。採血による遺伝子解析によって、特定のハプロタイプで尿路結石の発症リスクが診断できる可能性があり、再発予防に有用であることが示唆された。日本人と中国人の尿路結石患者における人種差による SNPs の違いは、確認できなかった。

ゲノムワイドな網羅的探索で得られた関連遺伝子領域については、特定遺伝子を同定し、今後機能解析と、尿路結石患者と健常者における再発について検討することで、新規関連遺伝子の同定、再発リスク診断が可能となる将来性が期待される。

参考文献

1. Hirose M, Yasui T, Okada A, Hamamoto S, Shimizu H, Itoh Y, Tozawa K, Kohri K. Renal tubular epithelial cell injury and oxidative stress induce calcium oxalate crystal formation in mouse kidney. *Int J Urol.* 2010;17(1):83-92.

2. Lu X, Wang J, Cao X, Li M, Xiao C, Yasui T, Gao B. Gender and urinary pH affect melamine-associated kidney stone formation risk. *Urol Ann.* 2011;3(2):71-4.
3. Gao B, Yasui T, Lu X, Zhou H, Liu J, Liu P, Okada A, Xiao C, Kohri K. Matrix Gla protein expression in NRK-52E cells exposed to oxalate and calcium oxalate monohydrate crystals. *Urol Int.* 2010;85(2):237-41.
4. Gao B, Yasui T, Lu X, Zhou H, Liu J, Liu P, Okada A, Xiao C, Kohri K. Matrix Gla protein expression in NRK-52E cells exposed to oxalate and calcium oxalate monohydrate crystals. *Urol Int.* 2010;85(2):237-41.
5. Okada A, Yasui T, Hamamoto S, Hirose M, Kubota Y, Itoh Y, Tozawa K, Hayashi Y, Kohri K. Genome-Wide Analysis of Genes Related to Kidney Stone Formation and Elimination in the Calcium Oxalate Nephrolithiasis Model Mouse: Detection of Stone-Preventive Factors and Involvement of Macrophage Activity. *J Bone Miner Res.* 2010;25(12):2425-35.
6. Gao B, Yasui T, Itoh Y, Li Z, Okada A, Tozawa K, Hayashi Y, Kohri K. Association of osteopontin gene haplotypes with nephrolithiasis. *Kidney Int.* 72(5):592-8, 2007.
7. Gao B, Yasui T, Itoh Y, Tozawa K, Hayashi Y, Kohri K. A polymorphism of matrix Gla protein gene is associated with kidney stones. *J Urol.* 177(6):2361-5, 2007.
8. Gao B, Yasui T, Okada A, Tozawa K, Hayashi Y, Kohri K. A polymorphism of the osteopontin gene is related to urinary calcium stones. *J Urol.* 174(4 Pt 1):1472-6, 2005.
9. Vezzoli G, Soldati L, Proverbio MC, Adamo D, Rubinacci A, Bianchi G, Mora S: Polymorphism of vitamin D receptor gene start codon in patients with calcium kidney stones. *J Nephrol.* 158-164, 2002.
10. Nishijima S, Sugaya K, Naito A, Morozumi M, Hatano T, Ogawa Y: Association of vitamin D receptor gene polymorphism with urolithiasis. *J Urol.* 167: 2188-2191, 2002.
11. Vezzoli G, Tanini A, Ferrucci L, Soldati L, Bianchin C, Franceschelli F, Malentacchi C, Porfirio B, Adamo D, Terranegra A, Falchetti A, Cusi D, Bianchi G, Brandi ML: Influence of calcium-sensing receptor gene on urinary calcium excretion in stone-forming patients. *J Am Soc Nephrol.* 13: 2517-2523, 2002

学会発表：

Takahiro Yasui, Atsushi Okada, Jun Ichikawa, Kazumi Taguchi, Yasuhiko Hirose, Yasuhiro Fujii, Koshiro Niimi, Masayuki Usami, Ryosuke Ando, Shuzo Hamamoto, Takahiro Kobayashi, Masahito Hirose, Yasunori Itoh, Keiichi Tozawa, Bing Gao, Kenjiro Kohri. Bisphosphonate prevents urolithiasis in men with osteoporosis. 1st Meeting of the EAU Section of Urolithiasis (EULIS) (London, United Kingdom) Sep. 7-10, 2011 (Sep 9)

作成日：2012年3月14日

財団法人 日中医学協会

2011 年度共同研究等助成金報告書—調査・共同研究—

2012 年 3 月 14 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った調査・共同研究について報告いたします。

添付資料：研究報告書

受給者氏名： 浅村尚生



所属機関名：独立行政法人国立がん研究センター中央病院

所属部署名：呼吸器腫瘍科呼吸器外科 職名：科長

所在地：東京都中央区築地 5-1-1

電話：03-3542-2511

内線：7005/2254

1. 助成金額： 900,000 円

2. 研究テーマ

小型肺癌に対する根治術としての縮小手術の評価～日中間における小型肺癌に対する縮小手術の標準化に向けての検証

3. 研究組織：

日本側研究者氏名：浅村尚生

職名：科長

所属機関名：独立行政法人国立がん研究センター中央病院

部署名：呼吸器腫瘍科
呼吸器外科

中国側研究者氏名：方 文寿

職名：主任医師

所属機関名：上海胸科医院

部署名：胸外科

4. 当該研究における発表論文等

現在、論文化に向けて考察中である。

5. 成果の概要

日中両国間での肺癌に対する縮小手術の現状の把握をすることにより、今後の小型肺癌に対する根治的縮小手術の確立に向けた探索的検証を行っていきたい。

小型肺癌に対する縮小手術を適応する試みは、手術の低侵襲化を図る上でも重要な課題であり、これは日本のみならず中国においても同様に、両国間で共同して研究する意義は大きいと考えられ、引き続き討議していく予定である。

6. 本研究における中国人共同研究者の役割及び業績

共同研究者である方文寿医師および魏慎海医師は所属する病院で行われた肺癌手術症例のうち本研究の対象症例の抽出とその臨床病理学的事項の登録を行った。

昨年11月には、日本（大阪）において合同カンファレンスを行い、肺癌に対する縮小手術の現状と展望について討議した。

日中間における小型肺癌に対する縮小手術の実態調査

研究者氏名	浅村尚生
日本研究機関	国立がん研究センター中央病院呼吸器外科
共同研究代表者	方文涛
中国所属機関	上海胸科医院胸外科

要 旨

近年、小型肺癌に遭遇する機会が増加するとともに、小型肺癌に対する根治的な縮小手術（区域切除／楔状切除）への取り組みにも関心が高まっている。日中両国間で縮小手術の妥当性を検証するために、両国間における小型肺癌に対する縮小手術の現状につき調査した。2000年1月から2009年12月までの間に、原発性肺癌に対して縮小手術がなされた症例を対象とした。国立がん研究センター中央病院呼吸器外科は415例（同期間中の肺癌に対する全切除例の9.8%）、上海胸科医院胸外科は68例（同期間中の肺癌全切除例の2.3%）、および清华大学第一附属医院胸外科は26例であった。本症例につき予後を臨床病理学的事項につき検討した。縮小手術は適応面から根治的適応と妥協的適応とに分類した。

国立がん研究センター中央病院症例415例に関して、平均年齢は64.7歳。発見動機は検診発見が369例（88.9%）と最も多かった。根治的適応として縮小手術がなされた症例は206例（49.6%）であった。平均腫瘍径は1.7cm。病理組織型は腺癌が350例（84.3%）と最も多かった。再発は41例（9.9%）に認められ、そのうち肺切離断端部の局所再発は7例（1.7%）に認められた。全体の5年生存率は68.2%。適応別での生存率は、縮小手術の根治的適応206例の5年生存率が98.9%、妥協的適応209例の5年生存率が73.8%であった（ $p = 0.000$ ）。腫瘍径2cm以下の332症例（80%）の5年生存率は84.9%であった。

上海胸科医院胸外科症例68例に関して、平均年齢は69.5歳。発見動機は検診発見が41例（60.3%）であった。縮小手術の根治的適応症例が14例（20.6%）であった。平均腫瘍径は2.5cmであった。病理組織型は腺癌が43例（63.2%）で最も多かった。再発例は23例（33.8%）で、そのうち局所肺切離断端部の再発は6例（8.8%）であった。全体の5年生存率は54.6%。適応別での生存率は、根治的適応の14例の5年生存率が74.1%、妥協的適応の54例の5年生存率が51.1%であった（ $p = 0.565$ ）。

清华大学第一附属医院胸外科症例26例に関して、平均年齢は63.1歳。縮小手術はすべて妥協的適応でなされていた。平均腫瘍径は3.3cmであった。病理組織型は腺癌が21例（80.8%）で最も多かった。

小型肺癌に対する縮小手術の割合は当院に比べ、中国2施設では低かった。また、当院での症例の約9割は無症状で発見される検診発見症例であったが、上海胸科医院胸外科症例において検診発見症例は約6割にすぎなかった。今後も小型肺癌に対する根治的縮小手術への期待は高まるものと予測され、両国間で共同して検討していく意義は大きいと考えら、小型肺癌に対する縮小手術の標準化に向けた探索的な検証を継続していきたい。

Key Words 肺癌, 縮小手術,

緒 言

近年の画像診断の進歩とCT検診の普及等により、小型肺癌が発見される機会が増加しており、これらの病変に対する縮小手術（区域切除・楔状切除）への期待が高まっている。肺癌に対する外科治療の標準術式は肺葉以上の肺実質の切除であるが、これらの小型病変に対して、より低侵襲な術式、すなわち、区域切除術や楔状

切除術といった縮小手術を選択することへの妥当性が検討されるようになってきた。本研究では、日中間における小型肺癌に対する縮小手術への取り組みの現状を把握し、今後、両国間において小型肺癌に対する縮小手術の妥当性を検討するための前向きな探索的検証が可能かどうか考察する。

対象と方法

2000年1月1日から2009年12月31日までの間に、国立がん研究センター中央病院呼吸器外科にて原発性肺癌に対して縮小手術が施行された415例を対象とした。これは同期間中に行われた原発性肺癌に対する手術4255例の9.8%に相当した。同時に、共同研究施設である中国の上海胸科医院胸外科（共同研究者：方文涛医師）および清华大学第一附属医院胸外科（共同研究者：魏慎海医師）において、同期間中になされた、原発性肺癌に対する縮小手術症例、68例（同期間中の肺癌全切除例の2.3%）26例（同期間中に切除された原発性肺癌1356例中の1.9%）を対象とした。対象となるこれらの症例に対して診療録より、以下の項目について臨床病理学的に調査した。性別、年齢、喫煙歴、発見動機、縮小手術を行った理由、腫瘍マーカー、最大腫瘍径、TNM分類-ステージ、手術術式（区域切除か楔状切除か）、術後合併症、病理組織型、再発、および予後であった。腫瘍径、T因子、リンパ節転移に関しては、UICC-TNM Ver. 7 (2009年)に基づいて病期分類した。縮小手術は適応面から根治的適応と妥協的適応とに分類した。根治的適応は肺葉切除が可能な症例にあえて縮小手術を行うものである。術前もしくは術中に早期肺癌が予測される症例（高分解能CTにてすりガラス濃度；GGO成分が多い症例）に良い適応となる。妥協的縮小手術は肺葉切除が身体機能的に困難と予測される症例（心肺機能障害などを伴う症例）にやむを得ず行うものである。病理組織診断はWHO分類第3版(1999年)に基づいた。生存期間は、手術年月日より最終フォローアップ日までと定義した。生存曲線はKaplan-Meier法にて推定し、生存の差はlog-rank法によって検定した。統計学的な差はp値0.05未満をもって有意とした。

結果

国立がん研究センター中央病院症例415例に関して、性別は女性205例(49.4%)、男性201例(50.6%)、年齢は平均64.7歳(33~89歳)であった。発見動機は無症状にて検診等で発見された症例が369例(88.9%)と最も多かった。根治的適応として縮小手術がなされた症例は206例(49.6%)であった。手術術式は区域切除207例(49.9%)、楔状切除208例(50.1%)であった。術後合併症は41例(9.9%)に認められ、肺瘻の遷延（術後7日以上）が18例と最も多かった。腫瘍径は平均1.7cm(0.4~5.5cm)であった。病理組織型は腺癌が350例(84.3%)と最も多く、次いで、扁平上皮癌50例(12.1%)、大細胞癌（大細胞神経内分泌癌を含む）10例(2.4%)、その他5例(1.2%)であった。病理病期は0期/IA期/IB期/IIA期/IIB期/IIIA期/IIIB期の順に、1例(0.2%) / 375例(90.4%) / 26例(6.3%) / 4例(1.0%) / 5例(1.2%) / 3例(0.7%) / 1例(0.2%)であった。再発は41例(9.9%)に認められ、そのうち肺切離断端部の局所再発は7例(1.7%)に認められた。全体の5年生存率は68.2%であった。適応別での生存率は、根治的適応で手術がなされた206例の5年生存率が98.9%、妥協的適応で手術がなされた209例の5年生存率が73.8%であった(p=0.000)。腫瘍径2cm以下の332症例(80%)の5年生存率は84.9%であった。

上海胸科医院胸外科症例68例に関しては、性別は女性20例(29.4%)、男性48例(70.6%)、年齢は平均69.5歳(46~81歳)であった。発見動機は検診発見が41例(60.3%)であった。根治的適応として縮小手術がなされた症例が14例(20.6%)であった。手術術式は区域切除26例(38.2%)、楔状切除42例(62.8%)であった。術後合併症は4例(5.9%)に認められた。腫瘍径は平均2.5cm(0.8~4.5cm)であった。病理組織型は腺癌が43例(63.2%)で最も多く、次いで、扁平上皮癌15例(22.0%)、腺扁平上皮癌6例(8.8%)、大細胞癌1例(1.5%)、その他3例(4.5%)であった。病理病期はIA期/IB期/IIA期/IIB期/IIIA期の順に、19例(27.9%) / 43例(63.2%) / 0例(0%) / 4例(5.9%) / 2例(3.0%)であった。再発例は23例(33.8%)で、そのうち局所肺切離断端部の再発は6例(8.8%)であった。全体の5年生存率は54.6%であった。適応別での生存率は、根治的適応で手術がなされた14例の5年生存率が74.1%、妥協的適応で手術がなされた54例

の5年生存率が51.1%であった ($p = 0.565$)。

清华大学第一附属医院胸外科症例26例に関しては、性別は女性10例(38.5%)、男性16例(61.5%)で、年齢は平均63.1歳(33~82歳)であった。根治的適応として縮小手術がなされた症例はなかった。手術術式は全例楔状切除であった。腫瘍径は平均3.3 cm(1.2~4.5 cm)であった。病理組織型は腺癌が21例(80.8%)で最も多く、次いで、扁平上皮癌3例(11.5%)、大細胞癌2例(7.7%)であった。病理病期はIA期/IB期/IV期の順に、4例(15.4%) / 10例(38.5%) / 12例(46.1%)であった。

考 察

CT画像診断の発展及び検診の普及などにより、小型の肺癌が発見される機会が増え、また、高分解能CTの出現により、病変の質的診断能も向上し、より早期な肺癌が指摘可能になってきた。それに伴い、肺癌に対する外科治療として積極的(根治的)に縮小手術を適応する試みがなされた。1990年代には根治的な適応での縮小手術に関する第II相臨床試験が開始され、術後肺機能の温存および肺葉切除と同等な予後成績が報告された。

今回、日中両国間で小型肺癌に対する縮小手術の現状を把握するために、本研究を行った。中国においては当院に比し、肺癌に対する縮小手術の占める割合は小さく、縮小手術は妥協的適応としてなされている傾向があった。根治的適応として縮小手術を行った症例は、当院では206例(49.6%)であったのに対し、上海胸科医院胸外科においては14例(20.6%)、清华大学第一附属医院胸外科においては、全症例で妥協的適応として縮小手術が行われていた。腫瘍径に関して、当院での手術症例では中国2施設の症例に比して、有意に小さかった。発見動機においても当院の症例では約9割が無症状検診発見であったのに対し、上海胸科医院胸外科の症例では検診発見例は約6割にすぎなかった。両国間における検診システムの相違が関与している可能性がある。今後、さらに両国間における縮小手術への取り組みにつき討議し、小型肺癌に対する縮小手術の妥当性を検証するための前向きな探索的検証の可能性につき継続的に検討していく。

肺癌に対する縮小手術の適応においては、腫瘍径に関する条件付けや病変部の画像所見の質的診断に関する条件付けによりその適応が検討されてきた。瘍径に関しては、腫瘍径2 cm以下の肺癌と2~3 cmの肺癌との間では、生存率において統計学的有意差があることがこれまでに報告されてきた。肺癌切除後の予後は腫瘍径と相関関係にあり、腫瘍径2 cm以下の小型肺癌に対する根治的縮小手術(区域切除)の試みがなされるようになった。これまでに肺野末梢の腫瘍径2 cm以下の肺癌に対する縮小手術(区域切除術)の第II相試験の結果が報告され、縮小手術と肺葉切除術との間で同等の予後が期待されることが示されてきた(5年生存率82~92%)。現在、あらためて縮小手術の意義に関して再評価するための臨床試験が世界的に始まっている。CALGBでは径2 cm以下の臨床病期I期肺癌に対する第III相試験(肺葉切除 vs 区域切除)が、日本でもJCOG(日本臨床腫瘍研究グループ)で同様の臨床試験(JCOG0802)が行われている。

肺癌画像所見の質的診断に関しては、高分解能CT所見における、いわゆる“すりガラス濃度(GGO)”所見が、肺癌の肺胞上皮置換性の発育(非浸潤癌)に相当する病理所見と関連があることがわかり、腫瘍に占めるGGO成分の比率が、リンパ節転移など生物学的腫瘍悪性度と相関することがこれまでに報告されてきた。すなわち、癌の浸潤に伴う線維化を反映した充実性部分とGGO部分との比率から病理学的な浸潤度を予測する試みである。腫瘍径に占めるGGO成分の比率が5割以上あるものではその切除後の良好な予後が報告されてきた。これらの報告は後方視的に行われているものであり、その普遍性・再現性を確認するため、JCOGでは術前の高分解能CT所見に基づく肺腺癌の質的診断を行い、縮小手術の適応となる病理学的非浸潤性肺腺癌を術前に同定できるかどうか検討する妥当性研究が多施設で行われた。病理学的非浸潤癌の予測に、腫瘍径に占める充実性部分を25%以下という画像診断基準を設けたところ極めて高い特異度(病理学的非浸潤癌のうち術前高分解能CTにより正しく非浸潤癌と診断される患者の割合)が得られることが判明した。

小型肺癌に対する縮小手術を適応する試みは、手術の低侵襲化を図る上でも重要な課題であり、これは日本のみならず中国においても同様に、両国間で共同して研究する意義は大きいと考えられ、引き続き検証をしていきたい。

参考文献

- 1) EBMの手法による肺癌診療ガイドライン (2005年版). 日本肺癌学会. 2005 金原出版.
- 2) Ginsberg RJ, Rubinstein LV. Lung Cancer Study Group. Randomized trial of lobectomy versus limited resection for T1 N0 M0 non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1995;60:615-623.
- 3) Kodama K, Doi O, Higashiyama M, et al. Intentional limited resection for selected patients with T1 N0 M0 non-small-cell lung cancer: a single-institution study. *J Thorac Surg* 1997;114:347-353.
- 4) Yoshioka K, Tsubota N, Kodama K, et al. Prospective study of extended segmentectomy for small lung tumors: the final report. *Ann Thorac Surg* 2002;73:1055-1059.
- 5) Koike T, Yamato Y, Yoshiya K, et al. Intentional limited pulmonary resection for peripheral T1 N0 M0 small-sized lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;125:924-928.
- 6) Asamura H, Goya T, Koshiishi Y, et al. A Japanese lung cancer registry study. Prognosis of 13,010 resected lung cancers. *J Thorac Oncol* 2008;3:46-52.
- 7) Asamura H, Suzuki K, Watanabe S, et al. A clinicopathological study of resected subcentimeter lung cancers: a favorable prognosis for ground glass opacity lesions. *Ann Thorac Surg* 2003;76:1016-1022.
- 8) Altorki NK. Bronchioloalveolar carcinoma and ground glass opacities. *Ann Thorac Surg* 2005;80:1560-1561.
- 9) Nakata M, Sawada S, Yamashita M, et al. Objective radiologic analysis of ground-glass opacity aimed at curative limited resection for small peripheral non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;129:1226-1231.
- 10) Ueda Y, Fujii Y, Kuwano H. Committee for Scientific Affairs. Thoracic and cardiovascular surgery in Japan during 2007. Annual report by the Japanese Association for Thoracic Surgery. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 2009;57:488-513.
- 11) Suzuki K, Koike T, Asakawa T, et al. A prospective radiological study of thin-section computed tomography to predict pathological noninvasiveness in peripheral clinical IA lung cancer (Japan Clinical Oncology Group 0201). *J Thorac Oncol* 2011;6:751-756.

財団法人 日中医学協会

2011 年度共同研究等助成金報告書－調査・共同研究－

2012 年 3 月 6 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った調査・共同研究について報告いたします。

添付資料：研究報告書

受給者氏名： 宋 培培
所属機関名： 東京大学医学部附属病院
所属部署名： 肝胆膵外科 職名：客員研究員
所在地： 東京都文京区本郷7-3-1
電 話： 03-3815-5411 内線：33329



1. 助成金額： 900,000 円

2. 研究テーマ

科学的根拠に基づく肝臓診療ガイドラインの中国での構築に向けた先行的基盤研究

3. 研究組織：

日本側研究者氏名： 宋 培培	職名：客員研究員
所属機関名： 東京大学医学部附属病院	部署名：肝胆膵外科
中国側研究者氏名： 董 家鴻	職名：主任
所属機関名： 中国人民解放军总医院 (301 医院)	部署名：肝胆膵外科

4. 当該研究における発表論文等

一部の研究は、『Drug Discov Ther. 2011; 5(6):261-265』、『Drug Discov Ther. 2012; 6(1):1-8』、『Liver Int (in press)』に掲載。また、2012 年 4 月 16 日東京大学に開催する『Japan-China Joint Medical Workshop 2012 -- Standardization of perioperative management on Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery』にて口演発表予定。

5. 成果の概要

本研究では、中国において過去の多くの臨床学的知見に基づいた肝臓診療ガイドライ

ンを構築するという最終目的を達成するための前進的研究として主に「日本における肝癌診療ガイドライン導入の効果に関する検討」、「中国における肝癌医療の現状及び臨床学的知見の把握」、「中国における肝癌診療ガイドライン導入の効果の予想と課題に関する検討」について実施した。

6. 本研究における中国人共同研究者の役割及び業績

当該研究では中国の主要な都市において多医療施設との間で肝癌診療に関する多施設共同研究を実施し、中国国内の中心的医療施設における肝癌診療の現状・施設間の差異などに関して検討を実施することは中国現地の本研究代表者が中心となって実施した。

科学的根拠に基づく肝臓診療ガイドラインの中国での構築に向けた先行的基盤研究
Japan-China Joint Research for Improvement of Medical Treatment for HCC in China
by Construction of Evidence-based Guideline

研究代表者：宋 培培

日本研究機関：東京大学医学部附属病院・肝胆膵外科学

中国側共同研究代表者：董 家鴻

中国所属機関： 中国人民解放軍総医院(301医院)・肝胆膵外科

中国側共同研究者：蓋 若琰(山大・公衛)，徐 凌忠(山大・公衛)

日本側共同研究者：稲垣 善則(東大・医)，高 建軍(東大・医)

唐子 堯(東大・医)，國土 典宏(東大・医)

要旨：肝細胞癌（HCC）は、世界において罹患者数として5番目、死亡者数として3番目に多い癌である。さらに、毎年発生する600,000人のHCC患者のうち78%がアジア地域で発生し、特に中国は55%を占めている。過去10年間に世界中で多くのHCCに関するガイドラインが発行された。日本では2005年にHCCに関する科学的根拠に基づくガイドラインが発行され、HCC診療の躍進に大きく貢献した。一方、中国では2009年にHCCに関するガイドラインが発行されたが、専門家集団のコンセンサスに基づくものであり科学的根拠に基づく裏付けに乏しい。本研究では、17本の世界的なHCCに関するガイドラインを体系的に評価し、日本と中国におけるHCC診療の比較解析を試みた。その結果、臨床研究論文の系統的調査による科学的根拠と共にHCC診療に従事する専門家のコンセンサスに基づいたガイドライン構築が中国において早急に必要であることが示された。

キーワード：肝細胞癌、診断、治療、評価

1. 導入

肝細胞癌（HCC）は、世界において罹患者数として5番目、死亡者数として3番目に多い癌疾患である。さらに、毎年発生する600,000人のHCC患者のうち78%がアジア地域で発生し、特に中国は55%を占めている。このような深刻な状況を背景として、肝臓医療の標準化が近年注目されてきた(1-3)。標準医療を示すものとして、ガイドラインは「"systematically developed statements to assist practitioner and patient decisions about appropriate health care for specific clinical circumstances"（特定の医療環境における適切な健康管理について医療従事者や患者を補助するための体系的提言）」と定義される(4)。過去10年間において、HCCに関する多くのガイドラインが世界各国で発行された。アジア諸国では、日本、韓国、中国においてHCCに関するガイドラインが発行されたが、日本と韓国で発行されたガイドラインは膨大な臨床研究論文の系統的総括に基づいて発行されたものである一方、中国では専門家集団のコンセンサスに基づいて発行されたものに留まっている。本研究では、中国における科学的知見に基づくHCC診療ガイドラインの構築の重要性を明らかにすることを目的として、世界各国のHCCに関する現在のガイドラインを系統的に評価すると共に、特に日本と中国のHCC診療の比較を実施した。

2. 方法

本研究は2つのステップで研究を遂行することとし、まず系統的な文献調査と総括を実施した。2001年か

ら2011年までの期間でPubMedデータベースに発表されたHCCに関するガイドラインや意見総括を主題とした英語論文を探索し、以下の3つの条件を全て満たす文献を抽出した。

- 1) 信頼性（原著のガイドライン発行後、HCC診療に関する後続のガイドラインや他の論文においてそのガイドラインが広く引用されているかどうかを調査。）
- 2) 影響力（そのガイドラインが国家や学術及び医療団体の協力の下で構築されており、その実現やHCC診療の標準化に関して全国的な注目を受けているかどうかを調査。）
- 3) 多角的視点（HCCの診断や治療を中心とした診療に関する多くの領域を包括するガイドラインとなっているかを調査。）

上記の条件でスクリーニングした結果、3,008本の論文から46本を採用した。それらの科学的知見から、現在HCCに関する17のガイドライン（米国5、アジア7、欧州5）が構築されている。

2つ目のステップとして、専門家による総括的評価を実施した。「Japan-China Joint Workshop on the Management of HCC」と題して2回の会合を実施し、特に日本と中国におけるHCC診療に着目して、現在のHCCに関するガイドラインの有用性や課題について評価した。当該会合の専門家集団は、日中両国の臨床診療医及び公衆衛生学者などにより構成された。

3. 結果及び考察

3.1 世界各国のHCCに対する現在のガイドラインの評価

現在世界で17あるガイドラインは、アプローチの方法、応用性、内容、最近の改訂といった点においてガイドライン間で類似する部分と相違する部分が存在し、この状況はガイドライン内で規定されている診断や治療に関するアルゴリズムでも同様にみられた。この相違は、様々な病因的因子、高リスク患者、保健制度、医療資源、医療技術やその選択法、所得水準が各国で異なることに起因すると考えられる。さらに、HCCの診療に関する推奨される方法を示した科学的根拠に基づくガイドラインが構築され、複数の先進国で採用されている。しかし、低所得及び中所得国では、HCC克服のために現在採用されている多くの手法に関して遂行することが難しい。これは、資金配分に一貫性のないことやインフラ及びその他の資源の不足が原因として挙げられる。低所得及び中所得国で推奨される医療を展開するためには、実施コストの検討や次善のシステムを最適化する方法の指導を実施するべきであると考えられる。従って、各々の国や地域においてガイドラインを構築するには、その地域の保健制度、医療技術、所得水準などを十分に検討する必要がある(5)。

3.2 日本と中国におけるHCC診療の比較解析

3.2.1 日本におけるHCC診療

日本厚生労働省の協力の下で、肝臓診療ガイドライン（J-HCC Guideline）が2005年に発表された。HCCに関する7,192本の研究論文（1966-2002年に発表）を主にMEDLINEから探索し、うち334本が二次選択で抽出された(6)。2009年には、新たな知見の組み込みを目的とした改訂を実施し、MEDLINEより探索した2,950本の研究論文（2002-2007年に発表）から根拠の信頼性や内容に基づく二次選択により532本の論文を抽出してガイドラインが再編された(7)。この肝臓診療ガイドラインには、予防、診断とサーベイランス、外科的治療、化学療法、TACE、焼灼療法といったようにHCC診療に関する様々な領域が包括されているほか、HCCの管理や治療に関するアルゴリズムも明示されている。また、当該ガイドラインでは、

系統的な文献調査だけでなく内部及び外部の評議委員や専門家による評価も実施された。従って、当該ガイドラインは、系統的文献調査に基づく科学的根拠と専門家による評価を融合させたシステムにより構築されたものである。

肝癌診療ガイドラインの発表後から約1年となった2006年3月には、当該ガイドラインの認知度や診療への影響などを明らかにすることを目的としたアンケート調査が実施され、71.9%の肝臓専門医、75.6%の肝臓外科医、61.0%の一次診療医（回答者は1,175人）がガイドラインを認知していると回答した(8)。従って、当該ガイドラインは専門医や一次診療医に広く受け入れられているといえる。系統的文献調査という定量的評価と専門家による質的評価の融合が当該ガイドラインの構築において達成されたことが、日本におけるHCC診療が優れた業績を挙げている要因の一つと考えられる(9)。また、日本には専門家集団のコンセンサスに基づいて構築されたもう一つのガイドラインがある。このガイドラインは、日本肝臓学会が専門家集団のコンセンサスに基づいて2007年に発行されたものであり、前述の科学的根拠に基づく肝癌診療ガイドラインに最新の情報を追加導入する役割をもつ。

Oxford Center for Evidence-Based Medicine (CEBM)により定められたエビデンスレベル（level 1(high)から level 5(low)）によると、文献調査に基づいて構築されたガイドライン（level 1 to level 3）と専門家集団のコンセンサスに基づくガイドライン（level 5）では、エビデンスレベルは異なるものの双方とも evidence-based medicine（科学的根拠に基づく医療）に準じているといえる。その上、それぞれについてメリットとデメリットが存在する。故に、ガイドライン構築においては、系統的文献調査と専門家集団の評価を融合させることが必要であると考えられる。

3.2.2 中国におけるHCC診療

中国においても、国家や研究機関によってHCC診療に関する研究が実施されてきた。1989年にはthe Medical Administration Department of the Ministry of Health がHCCに対する診療方針を記述した「Treatment Standards for Common Malignant Tumors in China (Vol. 2, Hepatocellular Carcinoma)」を発行した。その後はHCCの治療に関するものが中心となり、1990年にはthe Drug Administration Department of the Ministry of Health が「Guiding Principles for Clinical Research on Treatment of Hepatocellular Carcinoma Involving New Drugs/Traditional Chinese Medicines」を、1999年には the Chinese Anti-Cancer Association (CACA) が「New Treatment Standards for Common Malignant Tumors in China (Hepatocellular Carcinoma Section)」をそれぞれ発行し、2000年には 学術会議であるthe 6th China Hepatic Surgery Academic Conference の成果として「Choices for Hepatocellular Carcinoma Treatment Therapies」が発行された。そして、2007年と2008年においては、the CACA Society of Liver Cancer (CSLC)、Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO)、Chinese Society of Hepatology (CMA) Liver Cancer Study Groupの3団体が協同的に学術会議を上海で開催し、60名を超える専門家らによってHCC診療の諸領域（診断、外科的治療、放射線治療、分子標的治療を含む化学療法などが中心）について議論がなされた。その成果として、「The Experts' Consensus on the Treatment Standards for Hepatocellular Carcinoma」が、中国の診療ガイドラインとして2009年に発行された(10)。しかしながら、このガイドラインは専門家らのコンセンサスに基づいて構築されており、研究論文などの科学的根拠に基づく裏付けが不足している。さらに、このコンセンサスはHCCの診断と治療に関するものに限定されており、中国における疫学的現状、予防、サーベイランス、予後追跡といった領域は当該ガイドラインでは明らかにされていない。昨今の高度な医療行為や方法論を鑑みて、信頼性の高いHCC医療を展開するためには科学的根拠に基づいた診療ガイドラインの構築が中国にとって早急の課題といえる。

Conclusion

過去10年間において、HCC診療の標準化に関して多くの国が注目し、種々のガイドラインが構築された。

HCCに関する現在の17のガイドラインを系統的に評価した本研究の成果から、特定地域におけるガイドライン構築には、保健制度、医療技術、所得水準などにおいてその地域の資源や現況を十分に組み込むことが必須であると示唆された。日本では、系統的文献調査による定量的評価と専門家による質的評価の融合に基づいて肝臓診療ガイドラインが構築されたことが、HCC診療における優れた業績に繋がっていると考えられる。2009年に中国で発行されたガイドラインは、専門家集団のコンセンサスに基づいており科学的根拠による裏付けが不足している。昨今の高度な医療行為や方法論を導入した信頼性の高いHCC医療を展開するためには、系統的文献調査と専門家による評価を融合させた科学的根拠に基づく診療ガイドラインの構築が早急に必要である。

参考文献

1. Song PP, Gao JJ, Inagaki Y, Kokudo N, Tang W. Rare diseases, orphan drugs, and their regulation in Asia: Current status and future perspectives. *Intractable Rare Dis Res.* 2012; 1(1):3-9.
2. Song PP, Gao JJ, Kokudo N, Tang W. Standardization of traditional Chinese medicine and evaluation of evidence from its clinical practice. *Drug Discov Ther.* 2011; 5(6):261-265.
3. Song PP, Wu Q, Huang Y. Multidisciplinary team and team oncology medicine research and development in China. *Biosci Trends.* 2010; 4(4):151-160.
4. Field MJ, Lohr KN (eds). Clinical Practice Guidelines: Directions for a new program. National Academy Press 1990. Washington, DC.
5. Song PP, Gai RY, Inagaki Y, Kokudo N, Hasegawa K, Sugawara Y, Tang W. The management of hepatocellular carcinoma around the world: A comparison of guidelines from 2001 to 2011. *Liver Int.* (in press)
6. Makuuchi M, Kokudo N. Clinical practice guidelines for hepatocellular carcinoma: The first evidence based guidelines from Japan. *World J Gastroenterol.* 2006; 12(5):828-829.
7. Makuuchi M, Kokudo N. Clinical practice guidelines for hepatocellular carcinoma – The Japan Society of Hepatology 2009 update. *Hepatol Res.* 2010; 40 (Suppl1):2-144.
8. Kokudo N, Sasaki Y, Nakayama T, Makuuchi M. Dissemination of evidence-based clinical practice guidelines for hepatocellular carcinoma among Japanese hepatologists, liver surgeons and primary care physicians. *Gut.* 2007; 56(7):1020-1021.
9. Song PP, Tang W, Tamura S, Hasegawa K, Sugawara Y, Dong JH, Kokudo N. The management of hepatocellular carcinoma in Asia: A guideline combining quantitative and qualitative evaluation. *Biosci Trends.* 2010; 4(6):283-287.
10. Chinese Anti-Cancer Association Society of Liver Cancer, Chinese Society of Clinical Oncology, Chinese Society of Hepatology Liver Cancer Study Group. The expert consensus on the treatment standards for hepatocellular carcinoma. *Digestive Disease and Endoscopy.* 2009; 3:40-51. (in Chinese).

注：一部の研究は、『*Drug Discov Ther.* 2011; 5(6):261-265』、『*Drug Discov Ther.* 2012; 6(1):1-8』、『*Liver Int* (in press)』に掲載。また、2012年4月16日東京大学に開催する『Japan-China Joint Medical Workshop 2012 -- Standardization of perioperative management on Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery』にて口演発表予定。

作成日：2012年3月6日

Supplemental Data:

Table 1. Current characteristic guidelines for the management of HCC worldwide

Areas	Guidelines	Publishing	
America	NCCN Guideline	National Comprehensive Cancer Network	
	AASLD Guideline	American Association for the Study of Liver Disease	
	ACS Guideline	American College of Surgeons	
	WGO Guideline	World Gastroenterology Organization	
	NCI (US) Guideline	United States National Cancer Institute	
Asia	Korean Guideline	Korean Liver Cancer Study Group and National Cancer Center	
	J-HCC Guideline	Japanese Ministry of Health, Labor, and Welfare	
	SGA Guideline	Saudi Gastroenterology Association	
	JSH Guideline	Japan Society of Hepatology	
	APASL Guideline	Asian-Pacific Association for the Study of the Liver	
	Chinese Guideline		Chinese Society of Liver Cancer
			Chinese Society of Clinical Oncology Chinese Society of Hepatology Liver Cancer Study Group
	AOS Guideline	Asian Oncology Summit 2009	
Europe	EASL Guideline	European Association for the Study of the Liver	
	BSG Guideline	British Society of Gastroenterology	
	BASL Guideline	Belgian Association for the Study of the Liver	
	ESMO Guideline	European Society for Medical Oncology	
	GOIM Guideline	Italian Southern Oncological Group	

財団法人 日中医学協会

2011 年度共同研究等助成金報告書—調査・共同研究—

2012 年 3 月 13 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った調査・共同研究について報告いたします。

添付資料：研究報告書

受給者氏名： 吉川 雅之
所属機関名： 京都薬科大学
所属部署名： 生薬学 職名： 教授
所在地： 京都市山科区御陵四丁野町 1
電 話： 075-595-4633 内線：



1. 助成金額： 1,000,000 円

2. 研究テーマ

チャ (*Camellia sinensis*) 花部の生体機能成分の解明と定量分析

3. 研究組織：

日本側研究者氏名： 吉川 雅之

職名： 教授

所属機関名： 京都薬科大学

部署名： 生薬学

中国側研究者氏名： 王 涛

職名： 教授

所属機関名： 天津中医薬大学

部署名： 中医薬研究院

4. 当該研究における発表論文等

Hisashi Matsuda, Makoto Hamao, Seikou Nakamura, Haruka Kon'I, Megumi Murata,

And Masayuki Yoshikawa: Medicinal Flowers. XXXIII Anti-hyperlipidemic and

Anti-hyperglycemic Effects of Chakasaponins I—III and Structure of Chakasaponin IV from Flower

Buds of Chinese Tea Plant (*Camellia sinensis*). *Chem. Pharm. Bull.*, 60 (2010), in press.

5. 成果の概要

種々の中国産茶花を入手しサポニン成分の産地における成分変動を検討した。その結果、各地域によって、成分が大きく異なることが明らかとなった。さらに、福建省産茶花エキスがマウスにおける体重増加抑制や血中の中性脂質上昇抑制および摂食抑制作用があることを見出し、その活性成分がオレアナン型トリテルペン配糖体 *chakasaponin* 類であることを明らかにした。*chakasaponin* の摂餌量の抑制作用は消化管管腔内刺激の迷走神経求心路を介した刺激伝達経路が関与することやこれらの作用には 5-HT、GLP-1 および CCK といった摂食抑制作用を持つ刺激伝達物質が関与していることが推察された。

6. 本研究における中国人共同研究者の役割及び業績

共同研究者 天津中医薬大学 王 涛教授が安徽、福建省などの東南部、四川、湖北省などの中部、雲南、広西省などの南部から種々の茶花を入手し、茶花の品質評価を目的に、HPLC を用い茶花に含有されるサポニン成分などの定量分析法を開発し、主要産地における成分変動を検討した。2012 年 2 月に王 涛教授が来日し、共同研究について協議するとともに京都薬科大学で行われた『私立大学戦略的研究基盤形成支援事業生物分子システムに基づく創薬科学フロンティア研究成果発表会』に参加した。

チャ (*Camellia sinensis*) 花部の生体機能成分の解明と定量分析

研究者氏名	教授 吉川 雅之
日本所属機関	京都薬科大学
中国側共同研究代表者	教授 王 涛
中国所属機関	天津中医薬大学

要 旨

中国には、それぞれの地域の環境に適したチャが栽培されており、それらの花の成分組成は大きく異なることが予想される。そこで、安徽、福建省などの東南部、四川、湖北省などの中部、雲南、広西省などの南部から種々の茶花を入手し、茶花の品質評価を目的に、HPLC を用い茶花に含有されるサポニン成分などの定量分析法を開発し、主要産地における成分変動を検討した。また、福建省産茶花エキスにマウスにおける体重増加抑制や血中の中性脂質上昇抑制および摂食抑制作用があることを見出したことから、活性成分の探索を行った。その結果、オレアナン型トリテルペン配糖体 chakasaponin 類に摂食抑制作用があることを見出した。次に、chakasaponin 類の摂食抑制の作用機序について検討を行った結果、chakasaponin は視床下部において食欲亢進に関与する neuropeptide Y (NPY) mRNA の発現を有意に抑制させることが明らかとなった。また、chakasaponin の摂餌量の抑制作用は消化管管腔内刺激の迷走神経求心路を介した刺激伝達経路が関与することが示唆された。これらの作用には 5-HT、GLP-1 および CCK といった摂食抑制作用を持つ刺激伝達物質が関与していることが推察された。また、chakasaponin 類はマウスにおける血中の中性脂質上昇抑制および血糖値吸収抑制作用があることを見出した。

Key Words 茶花、サポニン、chakasaponin、中性脂質上昇抑制作用、摂食抑制作用

緒 言

チャはツバキ科 (Camelliaceae) に属する常緑樹で、中国の雲南省や四川省からミャンマーの北部にかけての地域が原産地とされており、樹高 3 m 程度のかん木で耐寒性のある中国種 (*Camellia sinensis* L. var. *sinensis*) と、葉が大きく高木のアッサム種 (*Camellia sinensis* L. var. *assamica*) に大別される。中国種は、江蘇、浙江省などの中国東部から安徽、福建省などの東南部および日本の暖地などで栽培されており、北インドへも移植されている。一方、アッサム種は、四川、雲南省などの中国西南部、インドやスリランカ、インドネシアなどの熱帯、亜熱帯地域で栽培されている。また、インドシナ半島には両種の交雑種と考えられる種が存在すると言われている。

チャの葉部 (茶葉) を用いた喫茶の歴史は、少なくとも 2000 年以前にさかのぼり、当初は薬用が中心であったと考えられている。茶葉は薬物として多数の本草書に記載されており、中国明時代の「本草綱目」や江戸時代の「本草食鑑」などにその薬効が記載されている。例えば、『頭と目を清める、煩渴を除く、痰を化す、食を消す、利尿する、解毒する』などの効能があり、頭痛や目くらみ、多眠、激しい口渴を治し、去痰、消化、利尿効果があり、解毒作用があって下痢や二日酔いを治療するなど記載されている。また、種子 (茶子) には、鎮咳、去痰作用、頭痛や呼吸器不全の治療効果が伝承されている。チャの葉部や種子にサポニンが含有されていることは古くから知られており、また、アルコール吸収抑制作用、抗菌作用および抗炎症作用、降圧作用などの生物活性が報告されている。

このような背景のもと、我々は種々の中国産茶花を入手しサポニン成分の産地における成分変動を検討した。さらに、福建省産茶花エキスがマウスにおける体重増加抑制や血中の中性脂質上昇抑制および摂食抑制作用があることを見出したことから活性成分の探索を行うとともに摂食抑制の作用機序について検討を行った。

結果と考察

1) 茶花サポニン成分の産地における成分比較

中国には、それぞれの地域の環境に適したチャが栽培されており、それらの花の成分組成は大きく異なることが予想される。そこで、安徽、福建省などの東南部、四川、湖北省などの中部、雲南、広西省などの南部から種々の茶花を入手し、茶花の品質評価を目的に、HPLC を用い茶花に含有されるサポニン成分などの定量分析法を開発し、主要産地における成分変動を検討した。その結果、特に安徽省産には主サポニンとして *floratheasaponin* 類が含まれており、福建省には主サポニンとして *chakasaponin* 類が含まれていた。また、四川省には *floratheasaponin* 類、*chakasaponin* 類が含有されていることが明らかとなった。茶花には茶の原産地と言われるメコン川上流地域から中国四川省地域、福建省等の中国南部地域、安徽省から日本の地域、台湾の各地域において特徴あるサポニン組成パターンが存在することが明らかとなった。これらの知見は、チャのケモタキソミーの観点から興味深いものであり、また、チャの伝播を考える上でも重要な知見と思われる。

2) 茶花エキスおよびサポニン成分の抗肥満作用

茶花の抗肥満作用を検討する目的で、高脂肪食飼育マウスに福建省産茶花 MeOH 抽出エキスを 14 日間経口投与したところ、体重増加抑制作用、肝重量、肝中性脂質および血中総コレステロール濃度の減少および内臓脂肪量の減少が観察された。以上の結果から、茶花 MeOH 抽出エキスには、反復投与における体重および内臓脂肪増加抑制作用を有することが明らかとなった。次に、メタボリックシンドロームのモデルマウスである TSOD マウスを用い、抗肥満作用のさらなる検討を行った。福建省産茶花 MeOH 抽出エキスを 4 週間経口投与したところ、有意な体重増加抑制作用、肝重量、血中中性脂質、総コレステロールの有意な減少および内臓脂肪量の有意な減少が認められた。また、MeOH 抽出エキスの投与開始からそれぞれ 21 日目に行った *glucose tolerance test (GTT)* の結果、有意な血糖値上昇抑制作用が観察され耐糖能の回復が認められた。以上の結果から、茶花 MeOH 抽出エキスはメタボリックシンドロームの進行を抑制することが明らかとなった。次に、茶花 MeOH 抽出エキスによって認められた体重増加抑制作用は、投与開始後、短期間であらわれたことから摂取カロリーの変化による影響が大きいのではないかと推察した。そこで各実験における摂餌量の変化を比較検討した。その結果、高脂肪食飼育マウスおよび TSOD マウスのいずれの場合においても体重増加抑制作用と同様の用量依存的な摂餌量の減少が観察された。以上の結果から、茶花の抗肥満作用は摂餌量の抑制により引き起こされていると推察された。

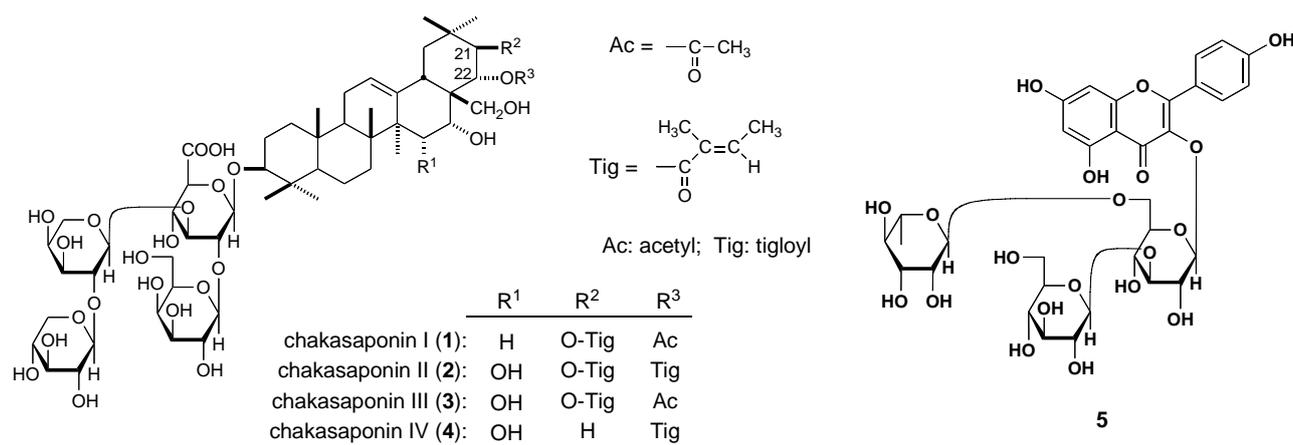


図1 福建省産茶花の含有成分

摂餌量の減少を引き起こす物質を明らかにする目的で、福建省産茶花 MeOH 抽出エキスを活性成分の探索を行った。福建省産チャ (*Camellia sinensis*) の乾燥花部を MeOH で熱時抽出後、溶媒を減圧留去し、MeOH 抽出エキス (収率 31.1%) を得た。その MeOH 抽出エキスを酢酸エチルと水で分配抽出、次いで水移行部を 1-ブタノールで分配抽出し、

酢酸エチル移行部 (3.2%)、1-ブタノール移行部 (16.4%)、水移行部 (12.1%) を得た。酢酸エチル移行部、1-ブタノール移行部、水移行部について正常食飼育マウスでの摂餌量の検討を行った。その結果、1-ブタノール移行部に強い摂餌量の減少作用が認められた。活性が認められた 1-ブタノール移行部について含有成分の探索を行った。すなわち、1-ブタノール移行部を順相シリカゲル、逆相 ODS カラムクロマトグラフィーおよび順相、逆相 HPLC で繰り返し分離精製し、3 種の既知オレアナン型トリテルペン配糖体 chakasaponin I (1, 0.49%)、II (2, 0.67%)、III (3, 0.013%) および 1 種の新規オレアナン型トリテルペン配糖体 chakasaponin IV (4, 0.0017%) を単離、構造決定するとともに、1 種の既知フラボノイド配糖体 kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (5, 0.36%)、3 種のカテキン (-)-epicatechin (0.00077%)、(-)-epicatechin 3-*O*-gallate (0.067%)、(-)-epigallocatechin 3-*O*-gallate (0.21%)、2 種の既知芳香族化合物 benzyl β -D-glucopyranoside (0.00012%)、(S)-1-phenylethyl β -D-glucopyranoside (0.094%) および caffeine (0.067%) を単離した (図 1)。そこで、1-ブタノール移行部の主要成分である chakasaponin I-III (1-3) および 5 について正常食飼育マウスでの摂餌量の検討を行ったところ、chakasaponin I-III (1-3) に強い摂餌量の減少が観察された。これらの結果より、摂餌量の減少は chakasaponin I-III (1-3) によって引き起こされたことが明らかとなった。

3) 茶花サポニン成分の抗肥満作用における作用機序の検討

Chakasaponin I-III (1-3) に強い摂餌量の減少が観察されたことから、1-ブタノール移行部および主成分である chakasaponin II (2) を中心にその作用メカニズムの検討を行った。まず、chakasaponin 投与マウスにおいて、摂食に関する視床下部 mRNA 量について検討を行った。その結果、1-ブタノール移行部および 2 は、投与マウスの視床下部において食欲亢進を支配するペプチドである neuropeptide Y の mRNA 発現量を有意に減少させた。以上のことから、これらの作用が、neuropeptide Y の発現抑制つまり食欲亢進シグナルの抑制による、摂食抑制作用であることが明らかとなった。次に、大量のカプサイシン前処置により、化学的に迷走神経を脱感作させたマウスを用いて、摂食抑制作用を検討した。その結果、1-ブタノール移行部および 2 による摂食抑制作用は、カプサイシン前処置マウスで明らかな減弱が認められた。このことから 2 の摂食抑制作用は、迷走神経を介した末梢性の作用機序が関与していることが推察された。Chakasaponin II (2) について、消化管内に高濃度で存在するか確認するため、投与一時間後の血中濃度および小腸内残存量について LC-MS/MS 法により測定したところ、2 は投与 1 時間後においては、血中からは低濃度でしか検出されなかった。しかし小腸においては、投与後 1 時間後においても投与量の約 1/3 に相当する量が回収でき、小腸内に比較的高濃度で存在することが明らかとなった。以上の結果から、chakasaponin II (2) の作用は、消化管管腔内刺激の迷走神経求心路を介した刺激伝達経路が関与することが示唆された。

一方、chakasaponin 類の摂食抑制作用について、胃排出能の影響を確認するため、chakasaponin I (1)、II (2) を用いてフェノールレッド法による胃排出能の抑制作用の検討を行った。その結果、1 および 2 に強い抑制作用が認められた。この作用は、カプサイシンの前処置により減弱傾向が認められ、chakasaponin 類の作用機序の一部は迷走神経を介した作用であることが示唆された。この結果が摂食抑制作用と一部関連したため、chakasaponin 類の摂食抑制作用には、胃排出能を抑制する摂食抑制物質が関与していると推察された。

表 1. Chakasaponin II (2) のマウス摘出回腸におけるセロトニン分泌亢進作用

Treatment	Dose (μ M)	n	5-HT release into	5-HT remained in the tissue	
			the medium (ng/g tissue)	(ng/mg protein)	(ng/g tissue)
Control	-	8	11.2 \pm 1.3	0.861 \pm 0.164	68.8 \pm 12.4
Chakasaponin II (2)	100	8	15.6 \pm 1.9	0.659 \pm 0.115	50.8 \pm 7.6
	1000	8	28.3 \pm 2.8**	0.396 \pm 0.084*	31.6 \pm 6.9*

Each value represents the mean \pm S.E.M. Significantly different from the control group, * p <0.05 ** p <0.01.

近年、消化管からの迷走神経求心路を介した食欲シグナルが解明されている。食欲を抑制させる代表的なシグナルとし

ては、セロトニン (5-HT)、グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1)、コレシストキニン (CCK)、およびレプチンといったものが挙げられる。chakasaponin 類による食欲抑制にはこのようなシグナルが関与しているのではないかと考え、食欲を抑制するとされるシグナル伝達物質の中でも胃排出能抑制作用を併せ持つ 5-HT、GLP-1 および CCK について、chakasaponin II (2) が分泌に与える影響について確認した。その結果、2 はマウス摘出回腸において、5-HT の分泌を有意に亢進した (表 1)。また、GLP-1 および CCK 分泌作用についても検討したところ、2 は有意に摂食を抑制し、摂食抑制に伴う有意な血中 GLP-1 および血中 CCK 濃度の上昇が認められた。以上の結果から、chakasaponin II (2) は小腸から 5-HT、GLP-1 および CCK といった摂食抑制物質を分泌させ、それらが迷走神経を介した経路を経て摂食抑制を引き起こすと考えられた。

また、抗肥満作用に関連する作用について、得られた主要成分である chakasaponin I-III (1-3)、および 5 について、単回投与時における血中中性脂質上昇抑制作用の検討を行った。すなわち、オリーブオイル負荷マウスにおける血中中性脂質上昇抑制作用について検討を行った結果、1-3 は血中中性脂質の上昇抑制作用が認められた。この作用は、フラボノイド配糖体である 5 については認められなかった (表 2)。一方、単回投与における血糖値の吸収抑制作用が認められたため糖質の吸収抑制も、抗肥満作用の発現に関与すると推察された。

表 2. オリーブオイル負荷マウスにおける chakasaponins I—III (1—3) および 5 の血中中性脂質上昇抑制作用

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	n	Plasma TG (mg / 100 ml)		
			2.0 h	4.0 h	6.0 h
Normal	-	6	115.5 ± 12.4**	126.7 ± 9.0**	122.9 ± 10.4**
Control	-	8	440.5 ± 45.2	359.4 ± 43.2	267.8 ± 37.8
Chakasaponin I (1)	25	6	435.7 ± 67.4	296.8 ± 45.2	197.7 ± 26.6
	50	6	284.2 ± 9.6**	347.5 ± 27.2	257.7 ± 34.4
Normal	-	6	152.4 ± 13.5**	149.8 ± 15.0**	118.5 ± 14.7*
Control	-	8	553.8 ± 49.8	522.7 ± 44.0	259.8 ± 50.3
Chakasaponin II (2)	25	6	431.8 ± 49.8**	436.9 ± 63.3	240.2 ± 24.1
	50	6	249.5 ± 31.1**	416.7 ± 71.2	390.0 ± 73.9
Normal	-	6	124.0 ± 8.4**	94.7 ± 8.3**	87.0 ± 11.3**
Control	-	8	407.2 ± 73.0	385.1 ± 71.4	207.8 ± 36.1
Chakasaponin III (3)	25	6	394.1 ± 81.4	300.5 ± 67.2	184.8 ± 36.8
	50	6	214.4 ± 62.7*	314.3 ± 88.2	255.5 ± 60.0
Normal	-	6	164.8 ± 20.1**	128.0 ± 13.5**	103.2 ± 12.0*
Control	-	8	418.1 ± 54.5	398.6 ± 42.1	231.6 ± 44.0
5	25	6	469.5 ± 86.6	395.5 ± 114.9	213.6 ± 64.1
	50	6	383.9 ± 41.8	444.6 ± 46.7	191.4 ± 33.3
Normal	-	7	91.9 ± 9.4**	97.3 ± 7.4**	90.6 ± 9.4**
Control	-	9	440.3 ± 60.2	393.2 ± 60.1	263.3 ± 45.0
Orlistat (positive control)	5	7	371.3 ± 41.5	297.0 ± 67.4	171.9 ± 24.9
	10	7	203.8 ± 52.1**	160.4 ± 47.7**	129.1 ± 16.6**

Values represent the mean ± S.E.M. Significantly different from the control group, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

注：本研究は、2012 年 2 月 18 日『私立大学戦略的研究基盤形成支援事業生物分子システムに基づく創薬科学フロンティア研究成果発表会』にてポスター発表、『Chemical Pharmaceutical Bulltin』誌 (2012 年, in press) に掲載予定

作成日 2012 年 3 月 1 日

財団法人 日中医学協会

2011 年度共同研究等助成金報告書－調査・共同研究－

2012 年 3 月 6 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った調査・共同研究について報告いたします。

添付資料：研究報告書

受給者氏名： 菅崎弘幸
所属機関名： 東北大学病院
所属部署名： 矯正歯科 職名： 助教
所在地： 〒980-8575 仙台市青葉区星陵町4-1
電話： 022-717-8374 内線：



1. 助成金額： 1,000,000 円

2. 研究テーマ

OPG 遺伝子導入へのセメント芽細胞の反応様式と歯根吸収抑制の関係

3. 研究組織：

日本側研究者氏名： 菅崎弘幸

職名： 助教

所属機関名： 東北大学病院

部署名： 矯正歯科

中国側研究者氏名： 林久祥 (Jiuxiang Lin)

職名：

Professor

所属機関名： Peking University School and Hospital
of Stomatology

部署名： Department
of Orthodontics

4. 当該研究における発表論文等

なし

5. 成果の概要

Osteoprotegerin (OPG)は、破骨細胞分化因子 RANKL のデコイレセプターとして働き、破骨細胞分化を抑制することがよく知られている。申請者らは共同研究で、OPG 遺伝子導入が歯根吸収を阻害することを見いだしているが、その考えられるメカニズムである OPG 遺伝子導入による歯根表面セメント芽細胞の活性化とセメント質再生の制御機構は不明であった。そこで本研究では、OPG 遺伝子導入したセメント芽細胞の分化促進制御機構を解明すべく培養細胞実験を行った。

セメント芽細胞への OPG 遺伝子導入でセメント芽細胞分化マーカー遺伝子発現が上昇することをリアルタイム PCR で確認した。つぎにその制御機構を解明すべくマイクロアレイ発現解析を行ったところ、細胞内カルシウムシグナル系、細胞膜イオンチャネル系、骨芽細胞分化に関連すると報告されているシグナル系 XXX の変動などが観察された。さらにセメント芽細胞をリコンビナント XXX 刺激することで分化が促進された。よって OPG 強制発現により XXX シグナル上昇を介してセメント芽細胞分化が促進される可能性が示唆された。

また、強制発現した OPG がどのような機構で上記の XXX シグナルを介したセメント芽細胞分化促進を惹起するかを解明すべく、OPG を Bait とした免疫沈降を行い、OPG が結合する分子の同定を試みた。RANKL 以外に分子量が 10~260 kDa の 6 バンドが観察され、それぞれを Nano LC-MS/MS によるタンパク質同定を行った。現在、その情報を元にどれがキー分子であるかを検索中である。

6. 本研究における中国人共同研究者の役割及び業績

我々は本共同研究助成金獲得前の 2009 年 7 月より共同研究を行っている。本共同研究において中国人共同研究者は主に動物実験を担当した。

主に中国人共同研究者によって得られた研究成果は次の通りである。

1) ラットの矯正学的歯の移動モデルにおいて観察される歯根吸収は、局所的 OPG 遺伝子導入によって抑制された。

2) この OPG による歯根吸収抑制作用は、ただ単に破骨細胞の分化・活性化抑制によるものだけではなく、セメント芽細胞の分化促進とそれによる新規セメント質添加の促進によって生じていた。

OPG 遺伝子導入へのセメント芽細胞の反応様式と歯根吸収抑制の関係

<研究者氏名・所属～共同研究者名・所属>

研究者氏名： 菅崎弘幸

所属： 東北大学病院・矯正歯科、助教

中国側共同研究代表者名： 林久祥 (Jiuxiang Lin)

所属： Peking University School and Hospital of
Stomatology, Department of Orthodontics、
Professor

<要旨>

Osteoprotegerin (OPG)は、破骨細胞分化因子 RANKL のデコイレセプターとして働き、破骨細胞分化を抑制することがよく知られている。申請者らは共同研究で、OPG 遺伝子導入が歯根吸収を阻害することを見いだしているが、その考えられるメカニズムである OPG 遺伝子導入による歯根表面セメント芽細胞の活性化とセメント質再生の制御機構は不明であった。そこで本研究では、OPG 遺伝子導入したセメント芽細胞の分化促進制御機構を解明すべく培養細胞実験を行った。

セメント芽細胞への OPG 遺伝子導入でセメント芽細胞分化マーカー遺伝子発現が上昇することをリアルタイム PCR で確認した。つぎにその制御機構を解明すべくマイクロアレイ発現解析を行ったところ、細胞内カルシウムシグナル系、細胞膜イオンチャネル系、骨芽細胞分化に関連すると報告されているシグナル系 XXX の変動などが観察された。さらにセメント芽細胞をリコンビナント XXX 刺激することで分化が促進された。よって OPG 強制発現により XXX シグナル上昇を介してセメント芽細胞分化が促進される可能性が示唆された。

また、強制発現した OPG がどのような機構で上記の XXX シグナルを介したセメント芽細胞分化促進を惹起するかを解明すべく、OPG を Bait とした免疫沈降を行い、OPG が結合する分子の同定を試みた。RANKL 以外に分子量が 10～260 kDa の 6 バンドが観察され、それぞれを Nano LC-MS/MS によるタンパク質同定を行った。現在、その情報を元にどれがキー分子であるかを検索中である。

<Key Words>

セメント芽細胞、OPG、分化促進、細胞内シグナル伝達

<本文>

緒言

Osteoprotegerin (OPG)は、破骨細胞分化因子 RANKL のデコイレセプターとして働き、破骨細胞分化を抑制することがよく知られている(文献 1)。我々は 2009 年 7 月より、Department of Orthodontics, Peking university School and Hospital of Stomatology と、矯正学的歯の移動後の後戻りに対する OPG 遺伝子導入の抑制効果について共同研究を行っている。その共同研究の中で、OPG 遺伝子導入が歯根吸収を阻害することを見いだしている(文献 2)が、そのメカニズムは大きく 2 つ考えられる。一つは OPG による破骨細胞への RANKL シグナル伝達阻害による分化・活性阻害、もう一つは OPG 遺伝子導入による歯根表面セメント芽細胞の活性化とセメント質再生である。後者の想定しうる制御機構に関して最近、OPG 遺伝子導入は骨芽細胞の分化を惹起するという報告(文献 3)があることから、OPG 遺伝子導入がセメント芽細胞にも何らかの影響を与えることが強く推察される。しかしながら OPG 遺伝子導入による歯根表面セメント芽細胞の活性化やセメント質再生の制御機構は不明である。そこで本研

究では、OPG 遺伝子導入したセメント芽細胞の分化促進制御機構を解明することを目的として、培養セメント芽細胞を用いた実験を行うこととした。

研究対象と方法

細胞

ヒト不死化セメント芽細胞セルライン HCEM を広島大学大学院医歯薬総合研究科口腔顎顔面病理病態学講座、高田隆教授より供与を受けて実験に用いた。培養は、10% FBS 添加 α -MEM を用いて、37°C、5% CO₂ 環境下で行った。

OPG 遺伝子導入

マウス OPG 発現プラスミド(文献 4)をヒト不死化セメント芽細胞セルラインへ X-tremeGENE HP DNA トランスフェクション試薬 (ロシュアプライドサイエンス)を用いて遺伝子導入した。

RNA 抽出

OPG 発現プラスミドを遺伝子導入後 3 日の時点で細胞から total RNA を抽出した。RNA 抽出には GenElute Mammalian Total RNA mini prep Kit (シグマ)を用いた。得られた RNA の一部はマイクロアレイ発現解析に、残りは cDNA 合成とその後のリアルタイム PCR へ用いた。

cDNA 合成

抽出した RNA の濃度を測定後、1 μ g の RNA を iScript RT Supermix (バイオラッド)を用いて逆転写反応を行い、cDNA を合成し以下のリアルタイム PCR へ用いた。

リアルタイム PCR

セメント芽細胞分化マーカー遺伝子発現 (Dentin matrix acidic phosphoprotein 1 (DMP1), Phosphate regulating endopeptidase homolog, X-linked (PHEX)) を解析すべく、SsoFast EvaGreen Supermix (バイオラッド)ならびに CFX96(バイオラッド)を用いて検出を行った。各遺伝子の発現はハウスキーピング遺伝子 Ribosomal protein S18 (RPS18)で補正する $\Delta\Delta$ Ct 法で相対発現比を計算した。

マイクロアレイ発現解析

セメント芽細胞 RNA を、CodeLink Human Whole genome Bioarray (フィルジェン)を用いて網羅的遺伝子発現プロファイル解析を行った。OPG 遺伝子導入を行わないサンプルを対象群、導入サンプルを実験群とし、対象群・実験群どちらかのシグナル強度が有為であり、かつ発現量の差が 2 倍以上のものを有為な変動を示した遺伝子とした。これらの変動を再確認すべく、マイクロアレイ発現解析に用いた RNA から cDNA を合成し、それを用いてリアルタイム PCR による遺伝子発現変化を解析した。

免疫沈降

セメント芽細胞内において、OPG が結合する分子の同定を試みるべく、OPG を Bait とした免疫沈降を行った。OPG 遺伝子導入したセメント芽細胞 whole cell lysate に、抗マウス OPG 抗体 (イミュノダ イアグノースティクス) を添加し、Protein G agarose (サーモサイエンティフィック) で OPG と結合したタンパク質との複合体を回収した。SDS-PAGE ジェルで還元下電気泳動し、バンドの確認ならびにジェルの切り出しと Nano LC-MS/MS によるタンパク質同定を行った。

動物実験

6 週齢 Wistar ラットの顎第一臼歯と上顎切歯間にニッケルチタン製クローズコイルスプリング (トミー) を装着し、第一臼歯へ約 60gf の近心移動力を負荷した。3 週間後に装置を撤去し、歯の後戻りを観察するとともに一部のラットへ局所的 OPG 遺伝子導入を行った。スプリング撤去から 1 週間ごとにカルセイン溶液を腹腔内注射し、新規石灰化硬組織の生体染色を行った。また、マイクロ CT (スカイキャン) をボクセルサイズ 9.5 μ m で 1 週間ごとに撮影し、歯根吸収の程度を解析した。装置撤去 2 週後に実験動物を屠殺し、通法に従い組織切片の作製を行った。なお、すべての動物実験手順は Peking University Health Science Center の倫理委員会の承認を得た。

結果

1) OPG 遺伝子導入は、セメント芽細胞分化を促進する

OPG 遺伝子導入がセメント芽細胞の分化へ与える影響を検索すべく、OPG 遺伝子導入有無でのセメント芽細胞分化マーカー遺伝子発現をリアルタイム PCR で解析した。OPG 遺伝子導入でセメント芽細胞分化マーカー遺伝子発現が有為に上昇した。現在、タンパク質レベルで分化程度の確認を行っている。

2) OPG 遺伝子導入によるセメント芽細胞遺伝子発現変化の網羅的解析

マイクロアレイ 54359 プローブ中、発現量の差が2倍以上でかつシグナル強度がある程度以上観察された遺伝子を検索したところ、887 プローブあった。これら遺伝子を観察したところ、細胞内カルシウムシグナル系、細胞膜イオンチャネル系などのシグナルの変動が観察された。さらに骨芽細胞の分化に関連すると報告されている XXX シグナル系の変動も観察された。以上のことは、OPG 強制発現により XXX シグナル上昇を介してセメント芽細胞分化が促進される可能性を示唆する。

3) XXX シグナル系はセメント芽細胞の分化に関与する

マイクロアレイ発現解析で、OPG 遺伝子導入によるセメント芽細胞分化に関わる可能性が示唆された XXX シグナル系のセメント芽細胞分化能を確認すべく、リコンビナント XXX をセメント芽細胞培養系に添加し、その影響を検索した。リアルタイム PCR によるセメント芽細胞分化マーカー遺伝子発現解析で、有為な上昇を確認した。現在、タンパク質レベルで分化程度の確認を行っている。また次年度以降、XXX シグナル系の RNAi によるノックダウンを行い、XXX シグナル系が OPG 遺伝子導入によるセメント芽細胞分化に関わっているかどうかを検索予定である。

4) セメント芽細胞内において OPG が結合する分子同定

強制発現した OPG がどのような機構で上記の XXX シグナルを介したセメント芽細胞分化促進を惹起するかを解明すべく、OPG を Bait とした免疫沈降を行い OPG が結合する分子の同定を試みた。還元下状態で SDS-PAGE 電気泳動を行ったところ、RANKL(約 40kDa)以外に分子量が 10~260 kDa の範囲に 6 つのバンドが観察され、OPG と特異的に結合しうる分子が少なくとも 6 つあることが示唆された。次にこれらバンドを切り出し、Nano LC-MS/MS による質量分析にてタンパク質同定を行った。Mascot データベースから推察された分子量 12, 18, 72kDa のタンパク質 3 種について、現在その発現の細胞内局在、発現量変化、ならびにその機能阻害による影響を現在検索中である。

5) 歯周組織への局所的 OPG 遺伝子導入は、セメント質添加による歯質再生を促進する

我々はすでに共同研究の成果として、歯周組織への局所的 OPG 遺伝子導入が歯根吸収を阻害することを論文報告している(文献 2)が、そのメカニズムはまだ不明な点が残存していた。すなわち OPG 遺伝子導入による歯根表面セメント芽細胞の活性化とセメント質再生が行われるか否かである。それを解明すべく OPG 遺伝子導入後の吸収歯根歯質が修復される過程を、1) マイクロ CT による歯根表面吸収窩の程度、ならびに 2) カルセイン生体染色による新規セメント質添加量の解析を行った。その結果、OPG 遺伝子導入は歯質吸収を抑制するのみならず、新規セメント質添加を促進することが観察された。よって、in vitro の結果のみならず、in vivo でも OPG がセメント芽細胞分化ならびにセメント質再生を促進する効果があることが示唆された。

考察

セメント芽細胞で OPG 強制発現を行うと、OPG が特定の分子と結合し、そのことが XXX シグナル系の発現上昇を惹起し、それによりセメント芽細胞の分化促進とセメント質の新規添加促進が行われることが示唆された。今後、1) タンパク質レベルでのセメント芽細胞分化程度の確認、2) XXX シグナルノックダウンによる Loss of function 実験、3) セメント芽細胞内において OPG が結合する分子同定とその分子の Gain of function 実験・Loss of function 実験、を行う予定であり、これらの結果

が得られ次第論文投稿を考えている。

参考文献

1. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89:309-319.
2. N Zhao, Y Liu, H Kanzaki, W Liang, J Ni, J Lin. Effects of local osteoprotegerin gene transfection on orthodontic root resorption during retention: an in vivo Micro-CT analysis. *Orthod Craniofac Res* 2012;15:10-20.
3. Yu H, de Vos P, Ren Y. Overexpression of osteoprotegerin promotes preosteoblast differentiation to mature osteoblasts. *Angle Orthod.* 2011;81:100-106.
4. Kanzaki H, Chiba M, Takahashi I, Haruyama N, Nishimura M, Mitani H. Local OPG gene transfer to periodontal tissue inhibits orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 2004;83:920-925.

作成年月日 2012年3月6日

財団法人 日中医学協会

2011 年度共同研究等助成金報告書－調査・共同研究－

2012 年 3 月 15 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った調査・共同研究について報告いたします。

添付資料：研究報告書

受給者氏名： 沈 潔 
所属機関名： 日本女子大学
所属部署名： 人間社会学部 職名：教授
所 在 地：神奈川県川崎市多摩区西生田 1－1－1
電 話：044-952-6850 内線：6850

1. 助成金額： 1000,000 円

2. 研究テーマ

「日本と中国を精通する医療ソーシャルワーカー（MSW）の人材育成に関する研究」

3. 研究組織：

日本側研究者氏名：沈潔	職名：教授
所属機関名：日本女子大学	部署名：人間社会学部
中国側研究者氏名：張秀蘭	職名：教授
所属機関名：北京師範大学	部署名：社会発展と公共政策学院

4. 当該研究における発表論文等

- ① 2011 年 5 月 27 日～5 月 30 日 上海国際会議に参加、発表
上海復旦大学主催の『上海論壇』にて、「医療・介護専門職の国際移動とアジア経済発展に対する影響」をテーマに研究発表した。
発表者：沈潔
- ② 2011 年 9 月 2 日～5 日釜山大学「東アジア社会保障・福祉」国際会議に参加、発表。
「異文化ソーシャルワーカートレーニング」について発表した。
発表者：沈 潔
- ③ 2011 年 7 月 15-18 日 第 21 回アジア・太平洋ソーシャルワーク会議（早稲田大学）に参加、発表。

「地域福祉とソーシャルワーカー」について発表した。

発表者：沈 潔

④2011年 9月2日～5日釜山大学国際社会保障・福祉国際会議に参加、発表。

「異文化ソーシャルワーカートレーニング」について発表した。

発表者：沈潔

⑤ 2012年2月25日 シンポジウム（東京・日本女子大学）

（会議資料の冊子を参考）

王 振耀「中国における介護の社会化と介護人材の育成」

楊 団「中国のコミュニティ医療におけるソーシャルワーカーの役割」

矯楊「中国における医療ソーシャルワーカーの育成の課題」（代理発表：沈潔）

山村 睦 「日本の社会福祉資格制度の近未来像」

小原真知子 日本の医療ソーシャルワーカー専門職教育の課題

上之園佳子 「日本の介護福祉人材教育の示唆」

5. 成果の概要

以前より深刻な高齢化が問題視されてきた日本では、人材教育、設備、制度などがかなり整備されてきており、中国の参考となる部分が多い。しかし逆に、日本の医療・介護の活性化に繋がるような中国からの情報発信も今後益々重要になるだろうという構想のもと、日中双方の福祉問題を対象に本研究活動を行ってきた。その総括ともいえる2月のシンポジウムでは中国の研究者および日本の医療現場に精通する実務者などを招き、両国の医療福祉に関し活発な意見の交換、交流をはかることができた。

今回は、共同研究者である張秀蘭氏（同じく北京師範大学公益学院）の代理として来日。研究者同士のハイレベルな意見交換、日本及び中国における今後のための研究ネットワークの構築などにおいて大きな役割を果たしてくれた。

また、9月～3月までの間に行った主な研究活動は下記の通りである。

① 2月24日 神奈川県での合宿の実施

タイトル：東アジア少子高齢化における介護人材について

参加者：左学金 社会科学院副院長

王振耀 北京師範大学公益学院院长

楊団、中国社科院社会政策研究中心

沈潔 日本女子大学 教授

趙軍 千葉商科大学 教授

矯楊 中華女子大学 副教授（家族事情で直前にキャンセル）

院生 1名

② 2月25日 東京でのニシンポジウムを開催

タイトル「医療・介護領域における福祉・介護人材の育成

—日本の経験と中国の発信—」

参加者：海外招聘3名（うち1人は家族の事情によりキャンセル）

国内招聘3名、

日本女子大学より3名（うち1人は副学長）

中国から王振耀氏、楊団氏、国内からは山村睦氏、小原真知子氏、上之園佳子氏を迎え、

日中両国における福祉人材の現状と課題、現在の取り組みなどについて発表とパネルディスカッションを行いました。他大の研究者や大学院生、学部生、福祉現場の職員など約 50 名余りが参加しました。リラックスした雰囲気の中、積極的な意見交換が行われ、今後の協力体制や共同の取り組みのための良い土台を作ることができました。

6. 本研究における中国人共同研究者の役割及び業績

北京師範大学公益学院 教授 王振耀

王振耀教授（元中国民政部社会福利司司长）は、これまで日本の研究者には余り知られていなかった中国の介護の現状を明らかにした。例えば、中国においても介護の需要が急速に増しており、人材・設備・制度の拡充が求められていることである。特に人材においては今後大量の需要が見込まれており、人材育成のためのシステム整備を速やかに整えなければならぬことが挙げられる。また、福祉の分野でも民間の力を積極的に活用していこうとしていることなども紹介された。

特に日本側の社会福祉士協会会長をはじめとして、学術レベルの交流のみならず、実務家との交流をはかることができた。また、日本の福祉領域における民間企業の役割についても意義のある提言を行った。

中国社会科学院社会政策研究中心 楊団

中国においても著名な社会政策研究者であり、社会活動家でもあった楊氏が、長年かけて取り組んできた中国農村衛生保健改革の現状と課題を日本に伝えたことは、大変意義のあることである。彼女の発表によって、中国農村の衛生保健改革には、農民の自治組織の力を積極的に活用することが有効であることや都市から招いたソーシャルワーカーの働きも非常に大きかったことが理解できた。

上海社会科学院 副院長 左学金

人口学とくに中国の高齢化研究の第一人者であり、今回の来日では、厚労省長官との交流など、ハイレベルでの交流をはかることができた。また、日本の福祉領域における民間企業の役割についても意義のある提言を行った。

中華女子学院社会工作学科 助教授 矯楊 （書面報告）

中国の医療ソーシャルワーカー育成の現状を紹介するとともに、いまだスタート段階にある育成システムにどのような課題があるのかを明らかにした（具体的には、テキストの整備、教師の育成、就職上の問題など）。

— 一日中医学協会助成事業 —

「日本と中国を精通する医療ソーシャルワーカー（MSW）の人材育成に関する研究」

研究者氏名・職名： 沈潔 教授

所属機関名： 日本女子大学人間社会学部

共同研究者名・職名： 張秀蘭 教授・学部長

所属機関名：（中国）北京師範大学社会発展と社会政策学部

要旨：

日本政府は、長期入院を伴う医療目的で日本に入国・滞在する外国人患者と、その付添人のための「医療滞在ビザ」を創設することを決めた。今後、日本の高度先進医療を受けたいという中国の富裕層の患者の来日は増加すると予想される。その人々の医療ニーズを応えるためには、医師や看護師の役割が重要であるが、日本と中国の事情に精通する医療ソーシャルワーカーの存在も求められる。本研究はこうした国際的通用性を有する医療ソーシャルワーカーの人材育成に当たって、実践的な課題は何かを解明することが目的である。

研究経過：

① 上海国際会議の参加、発表及び現地調査

5月27日～5月30日 上海復旦大学主催の『上海論壇』に招聘され、「医療・介護専門職の国際移動とアジア経済発展に対する影響」をテーマに研究発表し

ました。国際会議のあいまに復旦大学社会発展と社会政策学院院長の彭希哲、人口研究所所長の王桂新所長、ミーティングを持ちまして上海医療機関の医療ソーシャルワークの現状などについて、意見交換しておきました。また、5月31日から6月1日の間に中国社会福祉会を訪ね、上海民間福祉団体の医療福祉人材の育成の状況について、意見交換しました。（旅費は復旦大学が負担した）

② 中国ソーシャルワーク教育の第1線に立つ朱眉華を迎え、講演会を開催

7月15日に上海華東理工大学 ソーシャルワーク学科の教授朱眉華を迎え、日本女子大学で中国の四川大震災とソーシャルワーク支援及び大学における医療ソーシャルワーカー育成について、講演会・懇談会を行いました。福祉現場の職員、大学院や学部生の約20人が参加しました。

③ 9月2日～5日釜山大学国際社会保障・福祉国際会議に参加、発表（沈潔）

発表テーマ「異文化ソーシャルワーカートレーニング」を題に発表した。

④ 9月6日～11日研究調査、共同研究者との打ち合わせなど（沈潔）

北京師範大学共同研究者の張秀蘭・王振耀 教授との意見交換

北京大学医学部劉繼同教授との意見交換

北京中華女子学院ソーシャルワーク学部矯楊副教授との意見交換

⑤ 2月24日 神奈川県での合宿の実施（予定7人、実施参加6人）

タイトル：東アジア少子高齢化における介護人材について

⑥ 2月25日 東京ミニシンポジウムを開催

タイトル「医療・介護領域における福祉・介護人材の育成—日本の経験と中国の発信—」

参加者：海外招聘3名（うち1人は家族の事情によりキャンセル）

国内招聘3名、日本女子大学より3名（うち1人は副学長）

他大の研究者や大学院生、学部生、福祉現場の職員など約50名余りが参加しました。リラックスした雰囲気の中、積極的な意見交換が行われ、今後の協力体制や共同の取り組みのための良い土台を作ることができました。

期待できる結果：

上述した実践的な課題を明らかにする研究は、今後の日中医療ビジネスの展開に当たって、教育プログラムの提供や政策提言が可能になる。また、研究成果が、今後のアジア地域全体の医療ソーシャルワーカーの質の向上に貢献することも期待できる。