



防衛医学研究センター 令和4年度研究報告

防衛医科大学校 防衛医学研究センター

National Defense Medical College
Research Institute

1	防衛医学研究センターの概要	3
2	令和4年度研究報告書	
	外傷研究部門	9
	医療工学研究部門	25
	特殊環境衛生研究部門	37
	行動科学研究部門	49
	生体情報・治療システム研究部門	63
	広域感染症疫学・制御研究部門	79
3	防衛医学研究センターの活動等	91



1 防衛医学研究センターの概要



1 防衛医学研究センターの概要

1 設置目的

自衛隊医療の根幹である有事・平時における救命・救急医学に関する研究を行う。

2 設立年月日

平成8年（1996年）10月1日

3 各研究部門の業務分掌

外傷研究部門	侵襲多発に際する主要臓器障害の病態解明と治療に係る研究	
医療工学研究部門	被侵襲者の診断と治療に必要な機器に係る研究	
特殊環境衛生研究部門	特殊環境とその対策に係る研究	令和2年度名称変更
行動科学研究部門	侵襲等によるストレス時における行動科学的研究	
生体情報・治療システム研究部門	低侵襲の生体情報計測システム及び治療システムに係る研究	平成28年度新設
広域感染症疫学・制御研究部門	感染症疫学調査及び感染症制御に係る研究	平成28年度新設

4 防衛医学研究センター統一研究テーマ（平成24年9月21日設定）

防衛医学研究センターは、平成8年10月設立以来、各部門が個別に研究環境の整備を行い、多くの研究成果を出してきた中で、平成15年3月、「同時多発する傷病者を迅速・正確に診断・治療すると同時に、かかる事態による二次的被害を最小に抑えるための研究を通じて救命・救急医療に貢献をする。」という研究センター設立目的に鑑み、統一テーマを定め、更なるその骨格となる5本柱を掲げ、各研究部門協調して研究を推進してきたが、平成24年4月に感染症疫学対策研究官の新設、統一テーマ選定後9年を経過したこと及び大震災の発生等を受け、統一研究テーマを見直すこととし、平成24年9月21日に下記の「大項目」、「中項目」及び随時変更可とした「小項目」に掲げたテーマにより、各研究部門協調して研究を推進することとした。

「統一研究テーマ」

【大項目】

防衛医学に関する基礎、応用および運用研究

【中項目】

- (1) 有事・災害時における救命・救急医療に関する研究
- (2) 平時における自衛隊戦力維持のための健康管理に関する研究

【小項目】※随時変更可

- (1) 有事・災害時のための研究
 - ア) 戦傷学に関する研究
 - イ) CBRNEテロに対する防護及び特殊医療に関する研究
- (2) 平時（国際貢献時を含む）のための研究
 - ア) 自衛隊員の健康管理とメンタルヘルスに関する研究
 - イ) 自衛隊員の体力増強に関する研究
 - ウ) 感染症発生動向調査とリスク解析に関する研究
- (3) 有事・災害時、平時（国際貢献時を含む）ともに有用な研究
 - ア) 創傷治癒、再生医学および人工臓器研究
 - イ) 重症外傷患者の無侵襲迅速診断、バイオシグナル検出技術および医療情報システムの開発研究
 - ウ) 特殊環境曝露時（航空機内、潜水艦内、宇宙空間等）および高度侵襲時における生体反応の解明と診断・治療法に関する研究
 - エ) 感染症アウトブレイク時における実地疫学調査に関する研究
 - オ) 心身の疾病予防に関する研究

2 令和4年度研究報告書



外傷研究部門

教授 齋藤 大蔵

准教授 戸村 哲

助教 朝比奈 はるか

兼務講師 関根 康雅

兼務助教 霧生 信明



外傷研究部門



部門の概要

戦傷学の重要なテーマである爆傷および化学熱傷、災害時に多発する外傷、熱傷、感染症、放射線障害等に対する診断・治療の開発に関する基礎的研究、さらには最新ナノテクノロジーを駆使した新規バイオマテリアルの開発・治療技術研究を進めています。



頭部外傷研究



細胞解析装置



病理サンプル作成



X線照射装置

令和4年度 研究報告課題

- 1 軽症頭部爆傷の病態解明に関する研究
- 2 頭部外傷の病態解明と治療に関する研究
- 3 頭部外傷後の高気圧水素治療に関する研究
- 4 水素プレコンディショニングによる頭部外傷後高次脳機能障害抑制効果の検証
- 5 レーザー誘起衝撃波の脳幹部曝露による致死性マウス爆傷研究
- 6 プラストチューブを用いた爆傷予防と救命治療に関する研究
- 7 軽症頭部爆傷後の脳細胞代謝変容に関する研究
- 8 重症熱傷による易感染性機序解明とその対策に関する研究
- 9 感染抵抗性に優れた皮膚代替物による新しい植皮術の開発研究
- 10 人工血液による出血性ショック対処
 - (1) 羊水塞栓症からの産科危機的出血を救命する
 - (2) 人工血小板 H12(ADP) リポソームによる DIC 制御
- 11 頭部外傷による凝固障害モデルの確立と新規治療法の確立
- 12 体幹部出血を長時間制御するための新規 REVOA 研究
- 13 オキナワキョウチクトウ中毒に関する研究

令和4年度研究報告書

○ 研究の目的

外傷研究部門では、防衛省の正式な任務となった国際貢献や有事・災害時に数多く発症する外傷患者の救命を目的に、新たな診断・治療の開発、あるいは救命救急医療の飛躍的な発展のために研究している。特に、外傷、爆傷、熱傷、敗血症等による生体侵襲時の臓器障害の病態解明と治療に関する研究がメインテーマである。主な研究の概要を下記に示す。

○ 研究報告の概要

1 研究課題：「軽症頭部爆傷の病態解明に関する研究」

(統一研究テーマ：有事・災害時のための研究)



研究担当者

戸村 哲、島田美奈子（協力研究員）、須藤有希（協力研究員）、佐藤俊一（生体情報・治療システム研究部門）、齋藤大蔵

概 要

爆発による衝撃波によって、外見には異常がないにもかかわらず、後に高次脳機能障害やPTSDを発症することが知られており、頭部爆傷（bTBI）として問題視されている。特に頭部外傷の8割近くが軽症であることから、軽症頭部爆傷モデルを用いた基礎研究は非常に重要な課題である。本研究では、レーザー誘起衝撃波（LISW）を用いて作成した軽症頭部爆傷モデルを用いて、その病態を解析することを目的とする。

昨年度に引き続き、LISWを用いて作成した軽症頭部爆傷モデルマウスに対する爆傷受傷後のストレス負荷が、慢性期のうつ傾向に与える影響について検討をおこなった。今年度は衝撃波の強度を極限まで弱め（先行研究で慢性期にうつ傾向が出現することを確認している強度）、ストレス負荷の持続時間を長くして検討した。すなわち、8週齢の雄性C57BL/6マウスを用いて、全身麻酔下に1.1 J/cm²の強度のLISWを左頭頂部に単回照射して頭部爆傷モデルマウスを作成し、翌日から4日連続で1日あたり4時間の拘束ストレス負荷を与えたのち、受傷28日目うつ傾向を評価した。この結果を非外傷群（LISW照射なし+4日間の拘束ストレス負荷）と比較したところ、両群とも慢性期にうつ傾向を認めたものの、あきらかな有意差を認めなかった。外傷強度が弱すぎたために拘束ストレスの影響のみが強く表れていると思われ、外傷強度を変えて再検討をおこなう予定である。

2 研究課題：「頭部外傷の病態解明と治療に関する研究」

(統一研究テーマ：有事・災害時のための研究)



研究担当者

戸村 哲、島田美奈子（協力研究員）、須藤有希（協力研究員）、和田孝次郎（脳神経外科学）、齋藤大蔵

概 要

頭部外傷後の慢性期に高次脳機能障害をきたすことがあり、社会的にも重要な問題として認識され始めたところである。この分野における病態研究には未知の部分が多く、今後のさらなる発展が望まれている。本研究では、実験的頭部外傷モデルを用いて、頭部外傷後の高次脳機能障害の発生メカニズムを解析し、予防法、治療法を検討していくことを目的とする。

昨年度はControlled Cortical Impact (CCI) 装置を用いて作成した中等症の鈍的頭部外傷モデルに対して、受傷後に、水素水製造装置（ミズ社）で作成した水素含有生理食塩水0.3mlを静脈投与したところ、急性期の脳浮腫を抑制し、慢性期に脳内の炎症反応を抑制し、高次脳機能障害が改善される結果を得た。今年度はレーザー誘起衝撃波（LISW）を用いて作成した頭部爆傷モデルに対して同様に水素水を静脈投与し、その効果について検討した。

頭部爆傷モデルでは、受傷24時間後の脳浮腫に関して、水素水投与の有意な効果は認めなかったが、受傷4週間後の強制水泳試験において、水素水投与群では水素水非投与群と比較してうつ傾向が抑制される傾向を認めた。病理学的所見では、受傷4週間後の受傷側大脳皮質で、水素水非投与群では有意にアストロサイトやミクログリアが増加していたが、水素水投与群ではそれが抑制されていた。頭部爆傷においても、受傷後早期に水素水を静脈投与することで脳保護効果を得られる可能性が示唆された。

3 研究課題：「頭部外傷後の高気圧水素治療に関する研究」

(統一研究テーマ：有事・災害時のための研究)



研究担当者

大塚陽平（脳神経外科学医学研究科）、戸村 哲、島田美奈子（協力研究員）、須藤有希（協力研究員）、藤田真敬（特殊環境衛生研究部門）、和田孝次郎（脳神経外科学）、齋藤大蔵

概 要

頭部外傷後の病態を悪化させる因子として、フリーラジカルの存在が重要であると考えられている。水素は強力なフリーラジカル除去作用による臓器保護効果が期待されているが、これまでのところ臨床的にその有用性が確認されたという報告はほとんど見当たらない。水素ガスの有効濃度に関しての過去の報告では2%以上とするものが多い一方で、市販されている水素ガスボンベは安全性の観点から1.3パーセントが上限とされており、生体内で十分な作用を発揮できるだけの有効濃度の水素を供給するには不十分な可能性が考えられる。そこで、水素ガスを高気圧条件下に投与することによってより効率よく生体組織に作用させ、本来水素が保有している強力な

抗酸化作用による臓器保護効果がより顕著にあらわれるという仮説を検証するために、頭部外傷モデルにおいて高気圧水素が二次性脳損傷に与える効果について検討した。

確立された実験的頭部外傷モデルである Controlled Cortical Impact (CCI) 装置を用いてマウスの中等症頭部外傷モデルを作成した。受傷30分後に動物実験用高圧タンク内で2気圧水素ガスに90分間暴露した。受傷24時間後に脳を摘出し、乾燥重量法にて脳浮腫の程度を評価したところ、非治療群に比較して有意に脳浮腫の軽減効果が認められた。続いて病理学的検討として、受傷7日後、28日後にNissl染色、受傷1,3,7,14,28日後に免疫蛍光染色 (GFAP / Iba-1) を行った。受傷側海馬CA3領域にROIを設定し、Nissl染色では神経細胞数を、免疫蛍光染色では陽性細胞の面積率を検討した。Nissl染色ではday7で錐体細胞数減少抑制傾向が見られたが非治療群との有意差はなく、day28では有意に錐体細胞数減少抑制が認められた。しかし免疫蛍光染色ではいずれのタイミングにおいても非治療群に対して、統計学的有意差は認められなかった。一方、大気圧水素治療群では非治療群と比較してday7,28両タイミングで有意に神経細胞数減少抑制効果が確認された。高次脳機能障害評価目的の行動実験ではオープンフィールドテスト、Y迷路試験で非治療群と比較し、改善傾向は認められたが、統計学的有意差が得られたのは14日目の多動抑制のみであった。

当研究から考察されるのは、①1.3%水素ガスの急性期投与は頭部外傷後亜急性期～慢性期においても効果を発揮する。②水素ガスの治療効果は投与する水素ガスの濃度以上に、投与開始タイミングの早さが重要である、という点である。頭部外傷の超急性期に治療を開始できる症例は限られており、水素治療の臨床応用へのハードルとなる。頭部外傷に対する急性期水素治療の有効性自体は強く期待されるため、今後は投与手段を変更した場合の治療効果の検討を行っていく。

4 研究課題：「水素プレコンディショニングによる 頭部外傷後高次脳機能障害抑制効果の検証」

(統一研究テーマ：有事・災害時のための研究)



研究担当者

中川政弥 (脳神経外科学医学研究科)、戸村 哲、島田美奈子 (協力研究員)、須藤有希 (協力研究員)、藤田真敬 (特殊環境衛生研究部門)、和田孝次郎 (脳神経外科学)、齋藤大蔵

概 要

自衛隊員は、訓練や任務等で、常に頭部外傷のリスクを背負っている。頭部外傷の問題点として、脳損傷の重症度による運動麻痺等の神経症状だけでなく、重症度に関係なく後遺症として認められる高次脳機能障害も考えておく必要について、アフガニスタン・イラク戦争後指摘されている。注意障害や行動障害等の高次脳機能障害は、社会生活の適合を困難にし、職場や任務への復帰の妨げとなる。高次脳機能障害の原因は明らかにはされていないが、脳挫傷後の神経炎症が関与しているとの報告があり、受傷早期の治療により症状が軽減する事が示唆されている。しかし、訓練や戦地では後送等の処置が必要となる為、早期の治療開始は難しい。そこで、受傷前に頭部外傷に対する耐性を高めておくことが出来れば、症状の軽減に繋がるのではないかと考えた。

発症前に、その病態に対する耐性を獲得させることを、プレコンディショニングと呼び、頭部

外傷モデルでの報告は少ない。水素は強い抗酸化作用を有し、頭部外傷後の病態の主要増悪因子とされるフリーラジカルの強力なスカベンジャーとして働く。生体内ではエネルギー代謝の為、常にフリーラジカルが発生しており、特に運動時にはフリーラジカルが増加していると考えられる。ここに頭部外傷が加わると、安静時と比べより強く脳が障害される可能性がある。運動後すぐに水素を吸入することにより、その後の外傷による障害が軽減されるのではないかという仮説を立て、水素のプレコンディショニング効果について検証を行う。

動物はC57BL/6マウス（25-30g 雄）を使用。今年度は事前検討として、運動後に頭部外傷を与えた場合の、偽手術群及び頭部外傷単独群との比較を行った。運動プロトコールはトレッドミルの速度を10m/minから18m/minまで段階的に調整し、疲労により走らなくなる（電気ショックの間隔が5秒以内になる）まで継続することとした。頭部外傷は、確立された実験的頭部外傷モデルであるControlled Cortical Impact（CCI）装置を用いて中等症頭部外傷モデルを作成。MDA（脂質酸化ストレス評価）、SOD（抗酸化力評価）、24時間後のBrain Water Content（脳浮腫）、48時間後のEvans Blue漏出量（脳血液関門透過性）を評価した。

結果、有意差には至らなかったものの、運動+頭部外傷群において、MDA上昇、SOD低下、2次性脳損傷増悪の傾向を認めた。今後、運動+頭部外傷群に水素プレコンディショニングを加え、組織学的検討及び行動実験解析も含めた評価を行っていく方針である。

5 研究課題：「レーザー誘起衝撃波の脳幹部曝露による致死的小鼠爆傷研究」

（統一研究テーマ：有事・災害時のための研究）



研究担当者

山村浩史（歯科口腔外科医学研究科）、霧生信明、戸村 哲、川内聡子（生体情報・治療システム研究部門）、佐藤俊一（生体情報・治療システム研究部門）、村上 馨（歯科口腔外科学講座）、横江秀隆（歯科口腔外科学講座）、齋藤大蔵

概要

爆傷による1時間以内の死因は、一般に空気塞栓症が多いとされている。また、迷走神経反射に起因すると思われる爆傷肺の呼吸停止および循環不全は即死する致命的傷害に関連するといわれるが、明らかな機序はわかっていない。そこで、爆発に伴う衝撃波による超急性期の致死の機序を明らかにするために、レーザー誘起衝撃波（LISW）を用いて研究を行った。LISW法は部位特異的な損傷を作るのに適しているため、マウスの前頭部、上後頸部・後頭部、胸背部にLISWを照射した。その結果、上後頸部・後頭部に照射されたマウスだけが、他の損傷群と比較して死亡率が著しく高いことが示された。なお、マウスの末梢酸素飽和度（SpO₂）は、1分未満は有意に低下したが、生き残ったマウスは3分以内に改善した。結論として、上後頸部・後頭部へのLISW曝露は呼吸機能に影響を与え、最も致死的な要因と思われた。上後頸部を防御することで、衝撃波による延髄・脳幹部傷害に関連する超急性期の死亡を減らすことができるかもしれない。

6 研究課題：「ブラストチューブを用いた爆傷予防と救命治療に関する研究」

(統一研究テーマ：有事・災害時のための研究)



爆傷

研究担当者

齋藤大蔵、関根康雅、霧生信明、稗田太郎（救急部）藤田真敬（特殊環境衛生研究部門）、山村浩司（歯科口腔外科学医学研究科）、玉置 洋（研修管理室）、須藤有希（協力研究員）ほか

概要

動物舎で体重約40kgのブタに鎮静・鎮痛薬で麻酔をかけて気管挿管し、さらに大腿動脈にカニューレションしてバイタルサインを測定したのち、ブタを防衛医学研究センター1階のブラストチューブ研究室内へ搬送した。呼吸は自発呼吸として酸素を投与せず、心電図モニターを装着して爆傷測定室内の台にブタを側臥位で固定し、爆風・衝撃波が前胸部にあたるように設置した。そして、駆動圧3.0MPaでアルミニウム隔膜を破膜して発生させた爆風・衝撃波を、ブタの前胸部正面から曝露させた。防御具は前胸部と後頸部のみを守った試作器第2号（鋼鉄製3kg）を用いて、防御具なしのコントロール群と比較し、その防御効果を検討した。ブタは死亡した時点もしくは受傷3時間後に犠死させて損傷臓器を探索したが、2群間に生存率を含めて損傷状態に大きな相違はなかった。より高性能な防御具と最適なモデルが研究を進める上で必要と考えられた。

なお、本年は防衛装備庁第5開発室と陸上自衛隊装備研究所との共同研究を行い、自衛隊が用いている鉄帽が守る人形の頭部各部位に圧波形を計測するトランスデューサーを装着させて脳を守るための基礎データをとった。ハンモックを米国製のパッドに変えた鉄帽で計測し、さらに形状がやや異なる米国製の鉄棒についても衝撃波の静圧を計測したところ、頭部（特に後頭部の）トランスデューサーで計測されたピーク圧力は米国製の鉄帽が最も低かった。今後も、防衛装備庁と協力して、自衛隊員を護る次世代のヘルメットやチョッキを開発するために、衝撃波および爆風から重要臓器を守る防御具開発を提唱できるように研究を続ける。

7 研究課題：「軽症頭部爆傷後の脳細胞代謝変容に関する研究」

(統一研究テーマ：有事・災害時のための研究)



爆傷

研究担当者

宮崎裕美（医療工学研究部門）、山村浩史（歯科口腔外科医学研究科）、佐伯孝美（協力研究員）、佐藤泰司（生化学講座）、齋藤大蔵

概要

爆風による損傷に対し、軽症例における急性期の見落としにより慢性期に治療困難な高次脳機能障害をきたすことが問題視されている。軽度の衝撃波であっても受傷直後には拡張性脱分極の発生や血液脳関門の透過性亢進が報告されており、活性酸素種による細胞障害が示唆されている。令和4年度は、軽症頭部爆傷による病態機序の根底には、受傷後早期からミトコンドリア機能とグリア細胞の活性変化が関与しているという仮説を立て、受傷後のミトコンドリア動態とグリア細胞の変化について検討した。

小動物用衝撃波管装置を用いて、麻酔下のマウスに1.2MPaで加圧した爆風を曝露し、受傷1、3、7日後に脳組織を採取しミトコンドリア機能制御因子のタンパク質の発現解析を行った。また、グリア細胞の挙動を評価するために、免疫組織染色を行った。対照として爆風の曝露は行わず麻酔処置のみを施した群を作製した。受傷3、7日後にはミトコンドリア電子伝達系複合体とミトコンドリア分裂因子の発現量が低下していた。また、受傷7日後にはミトコンドリア特異的オートファジーが抑制されていた。さらに、時間経過とともに血管周囲には反応性アストロサイトが出現し、それに続き活性型ミクログリアの増加が観察された。以上のことから、反応性アストロサイトや活性型ミクログリアの出現にはミトコンドリアの機能や動態異常が関与している可能性が示唆された。

8 研究課題：「重症熱傷による易感染性機序解明とその対策に関する研究」

(統一研究テーマ：有事・災害時のための研究)



重症熱傷

研究担当者

宮崎裕美（医療工学研究部門）、木下 学（免疫・微生物学講座）、佐伯孝美（協力研究員）、齋藤大蔵

概 要

重症熱傷患者は全身の免疫機能が著しく損なわれ易感染病態となる。医療技術が進歩した近年においても感染の合併率は高く容易に重症化するため、敗血症が原因で死に至る患者が減少しない。これまでに我々は、糖尿病治療薬として臨床で使用されているPPAR γ 活性化剤（ピオグリタゾン；PGZ）をマウス重症熱傷モデルに投与すると、過剰な炎症を軽減するとともに、貪食殺菌作用を亢進させ、臓器障害の軽減、さらには受傷後感染による予後を改善することを見出した。今年度は、PGZの投与が熱傷後の感染合併による敗血症を回避する機序について、肝臓のマクロファージに着目し詳細に検討した。肝臓のF4/80highあるいはF4/80lowのマクロファージをそれぞれセルソーターにて分取し、定量的遺伝子発現解析を行ったところ、未治療群と比較してPGZ群では、M2型マクロファージのマーカー（マンノースレセプター、補体レセプター、Ym-1）の遺伝子発現が有意に上昇していた。これらの変化はF4/80highマクロファージにおいてより顕著であった。以上の結果から、PGZは熱傷後の肝臓マクロファージをM2型マクロファージへ分化させ、細菌除去能力に優れ、かつ、炎症を抑制する機能を獲得することによって受傷後の細菌感染による予後を改善する可能性が示唆された。（International Journal of Molecular Sciences, 2022）

9 研究課題：「感染抵抗性に優れた皮膚代替物による新しい植皮術の開発研究」

(統一研究テーマ：有事・災害時のための研究)



重症熱傷

研究担当者

宮崎裕美（医療工学研究部門）、佐伯孝美（協力研究員）、角井泰之（生体情報・治療システム研究部門）、佐藤俊一（生体情報・治療システム研究部門）、中村伸吾（医療工学研究部門）、齋藤大蔵

概要

重症熱傷の受傷後早期は循環動態がきわめて不安定な時期ではあるが、細菌感染の温床となる熱傷壊死組織を徹底的に切除し植皮術を施行することは重要な治療戦略である。早期の手術と同種皮膚移植の組み合わせは合併症の減少や入院期間の短縮などの効果が多数報告されている。一方で、本邦の同種皮膚は欧米に比べ在庫量が希少であり、移植には制限が大きいという事情もある。そこで我々は大阪大学の明石らが開発した短期間で細胞を積層し三次元的な組織体を構築する技術をもとに、ヒト皮膚由来細胞（線維芽細胞、微小血管内皮細胞および表皮角化細胞）を用いて、血管網を備えた真皮表皮一体型である培養皮膚の開発研究を進めている。令和4年度は、マウスを用いて熱傷壊死組織を切除した皮膚欠損部位へ培養皮膚を移植し、治療効果について検討した。

マウス背部に直径15mmのIII度熱傷創を作製し16時間後に壊死組織を筋膜上で切除する熱傷後皮膚欠損モデルに対し、血管網を備えた培養皮膚を移植した。また、比較対象として血管構造を持たない培養皮膚を移植した。移植3日後までは滲出液も多く2群に明確な違いはなかった。しかし、移植14日後の病理組織学的解析によって、血管網を備えた培養皮膚を移植した群では真皮様組織が再構築され、生着も良好であった。一方、対照群では真皮層のコラーゲン量は少なく、ヒト由来の表皮が脱落しマウス由来の表皮によって上皮化していることが示された。

10 研究課題：「人工血液による出血性ショック対処」

(統一研究テーマ：有事・災害時のための研究)



多発外傷

研究担当者

木下 学（免疫・微生物学講座）、萩沢康介（生理学講座）、大塚由花（産婦人科）、佐々瑠花、齋藤大蔵

概要

多発外傷や外科手術時の大量出血には全血輸血が理想である。我々はこれまで出血性ショックに凝固障害を合併した動物モデルにおいて、血小板機能を代替するH12-(ADP)-liposomesと酸素運搬能を代替するHbVを用いてショック病態や凝固障害を改善させ、救命につながることを報告してきた。令和4年度は主として以下の2つについて検討を行った。

(1) 羊水塞栓症からの産科危機的出血を救命する

妊娠末期のウサギに帝王切開で胎仔を取り出し羊水を採取、遠心により血液成分を除去して、

静脈内投与した。羊水投与から15分後に右側の子宮動静脈を切離し自由出血させた。出血開始と同時に以下の輸液投与を行った。①多血小板血漿（PRP）を5分毎に出血量と等量投与した群、②H12-(ADP)-liposomes（1mL/kg）を単回投与後に、血漿（PPP）を5分毎に出血量と等量投与した群、③血漿（PPP）のみ5分毎に出血量と等量投与した群である。出血開始から60分後に結紮止血し、血小板凝集機能や凝固機能とともに血行動態等について比較した。羊水投与により、血小板値は投与前の33%に著減し、Sonoclotによる凝固機能評価（活性化凝固時間）は1.3倍に延長した。子宮静脈からの出血後にPPP投与のみでは止血が出来ずDICに至ったのに対して、H12-(ADP)-liposomes + PPP投与した群はPRP投与群と同様に血小板凝集機能や凝固機能が保持され、半数例は自然止血できた。（論文投稿中）

（2）H12-(ADP)-liposomesによるDIC制御

SDラットにLPSを腹腔内投与し、4時間後にH12-(ADP)-liposomesないし生理食塩水を静脈内投与した。生食群ではLPS投与から8-12時間後に、血小板数の低下と活性化凝固時間の延長が認められ、血小板凝集能も10%に低下した。H12-(ADP)-liposomes群では血小板数の減少には変化がないものの、活性化凝固時間の短縮と血小板凝集能の改善(20%)が認められた。H12-(ADP)-liposomes群ではLPS投与6時間後の急性肺傷害スコアが生食群に比し有意に改善していた。それに一致して気管支肺胞洗浄液中の好中球エラストラーゼ活性がH12-(ADP)-liposomes群で生食群に比し有意に低値であった。FACS解析でH12-(ADP)-liposomes群ではCD62P/CD45陽性の血小板白血球複合体の形成が抑制されており、血小板を介した炎症抑制効果が確認された。

11 研究課題：「頭部外傷による凝固障害モデルの確立と新規治療法の開発」

（統一研究テーマ：有事・災害時のための研究）



研究担当者

佐々瑠花、木下学（免疫・微生物学講座）、萩沢康介（生理学講座）、齋藤大蔵

概要

頭部外傷（Traumatic brain injury, TBI）は約35%に凝固障害を引き起こすことが知られている。重症TBIや全身性多発外傷を合併した例ではとくに凝固線溶異常をおこしやすく、死亡率上昇や予後悪化と関連する。本研究ではレーザー誘導衝撃波（laser-induced shock wave, LISW）を頭部に適用したラットのTBIモデルを作成し、外傷性凝固障害発現の有無を検証した。ラットの頭頂部正中からLISWを照射したところ、24時間後には頭蓋内血腫が確認された。受傷前と24時間後の採血では血小板数に変化はなかったが、活性化凝固時間（Activated Clotting Time, ACT）が有意に延長していた。

TBI受傷直後に血小板機能代替リポソームであるH12-(ADP)リポソームを投与することにより、血小板の凝集を促進し、出血局所の止血効果および抗炎症作用を発揮して、TBIによる外傷性凝固障害の進行を予防するとともに出血量を低減して頭蓋内出血を抑制できると想定した。本研究によりTBI後の凝固障害に対するH12-(ADP)リポソームの投与効果が明らかとなれば、従来の治療に代わる迅速な治療法として病院前救護での投与も想定した臨床応用が期待される。

12 研究課題：「体幹部出血を長時間制御するための

新規 REVOA 研究」新規 REVOA 研究」

(統一研究テーマ：有事・災害時のための研究)



研究担当者

霧生信明、佐々瑠花、山村浩史（歯科口腔外科医学研究科）、稗田太郎（救急部）、藤田真敬（特殊環境衛生研究部門）、齋藤大蔵

概要

Battle Fieldにおいて爆傷・銃撃傷によって出血性ショックに陥った重症体幹部外傷患者救命のためには、Definitive therapyが可能なField Hospitalへのより早い搬送が最重要である。米軍は治療までのGolden Timeとして60分を想定しているが、実際はアフガニスタンにおけるRole 2への搬送時間は75分であった。

このような大量出血を一時的に出血を制御するため、現在日常の外傷診療の場においても、大動脈遮断バルーンカテーテル（Resuscitative Endovascular Balloon Occlusion of the Aorta ; REBOA）が使用されている。しかしながら、その最大使用可能時間は約40分間で、それ以上の使用は大動脈遮断に伴う後負荷の上昇により心不全を来し、その使用自体が原因となり死に至ってしまうと考えられている。これではたとえREBOAを使用しても、出血性ショックの負傷患者がField Hospitalへ到達する前に失われてしまうことになる。したがって、REBOAカテーテルの改良あるいは新規カテーテルの開発により、その搬送時間を延長させることを可能とし、いかに負傷者の救命につなげるか、ということが本研究の目的である。

昨年度よりまず豚を用いた出血性ショックモデルの作成を確立した。これに対して実際にREBOAカテーテルを90分間使用したところ、Deflate直後に8例中7例の死亡が確認された。そこで後負荷を軽減するために、ダブルバルンを用いて、出血を制御しつつ内腔でシャント流を作成するモデル、あるいは対側の大腿動脈からシャント用カテーテルを挿入するなどのモデルを検討したが、いずれも良好な結果は得られなかった。そこで、現在はまず血行遮断部上流の血流をその遮断部下流である大腿動脈にシャントさせ、後負荷を軽減する方法を試みており、3例中2例の生存を確認しており、良好な結果が期待される。今後は薬剤投与（βブロッカー）投与の効果も検討する予定である。

13 研究課題：「オキナフキョウチクトウ中毒に関する研究」

(統一研究テーマ：有事・災害時のための研究)



研究担当者

朝比奈はるか、芝野眞喜雄（大阪医科薬科大学）、宮崎裕美（医療工学研究部門）、辻本悟志（沖縄美ら島財団総合研究センター）、戸村 哲、齋藤大蔵

概要

ミフクラギ（別名：オキナフキョウチクトウ）Cerbera manghas は、南アジア海岸線付近、

日本では奄美以南に自生するキョウチクトウ科の樹木で強心配糖体を含む。特に沖縄では、本種が防潮・防風林として植生されてきたが、県中部でミフクラギを誤食した子供が中毒を起こした経緯があり、ミフクラギの毒性について検証する必要がある。そこで本研究はマウスを用いたミフクラギの中毒に関する研究を行っている。

現在種子を取り出し乾燥したものを均一化し、人道的エンドポイントを設定してICRマウスで急性毒性試験を行い、中毒経過について検討している。それと同時に、マウスに与えた成分の分析も行っている。同濃度投与のマウスのなかでの心筋炎症マーカーの数値は、時間を経るものほど高い値を示す傾向を認めている。引き続き諸条件を設定し、ミフクラギ中毒に関するデータを構築してゆく予定である。

○ 研究実績 (2022年～)

- 1 Tsunoi Y, Miyazaki H, Kawauchi S, Akagi T, Akashi M, Saitoh D, Sato S. Viability Improvement of Three-Dimensional Human Skin Substitutes by Photobiomodulation during Cultivation. *Photochem Photobiol.* 2022 Nov;98(6):1464-1470. doi: 10.1111/php.13642. Epub 2022 May 17. PMID: 35532371.
- 2 Yamamura K, Kiri N, Tomura S, Kawauchi S, Murakami K, Sato S, Saitoh D, Yokoe H. The cause of acute lethality of mice exposed to a laser-induced shock wave to the brainstem. *Sci Rep.* 2022 Jun 8;12(1):9490. doi: 10.1038/s41598-022-13826-6. PMID: 35676447; PMCID: PMC9177849.
- 3 Miyazaki H, Kinoshita M, Nakashima H, Nakamura S, Saitoh D. Pioglitazone Modifies Kupffer Cell Function and Protects against Escherichia coli-Induced Bacteremia in Burned Mice. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 22;23(21):12746. doi: 10.3390/ijms232112746. PMID: 36361535; PMCID: PMC9657905.
- 4 Wada T, Shiraishi A, Gando S, Kabata D, Yamakawa K, Fujishima S, Saitoh D, Kushimoto S, Ogura H, Abe T, Mayumi T, Otomo Y. Association of antithrombin with development of trauma-induced disseminated intravascular coagulation and outcomes. *Front Immunol.* 2022 Dec 9;13:1026163. doi: 10.3389/fimmu.2022.1026163. PMID: 36569855; PMCID: PMC9788110.
- 5 Hagsawa K, Kinoshita M, Takeoka S, Ishida O, Ichiki Y, Saitoh D, Hotta M, Takikawa M, Torres Filho IP, Morimoto Y. H12-(ADP)-liposomes for hemorrhagic shock in thrombocytopenia: Mesenteric artery injury model in rabbits. *Res Pract Thromb Haemost.* 2022 Feb 15;6(2):e12659. doi: 10.1002/rth2.12659. PMID: 35224415; PMCID: PMC8847883.
- 6 Kiyozumi T, Ishigami N, Tatsushima D, Araki Y, Sekine Y, Saitoh D. Development of virtual reality content for learning Japan Prehospital Trauma Evaluation and Care initial assessment procedures. *Acute Med Surg.* 2022 May 7;9(1):e755. doi: 10.1002/ams2.755. PMID: 35572049; PMCID: PMC9077464.
- 7 Umemura Y, Abe T, Ogura H, Fujishima S, Kushimoto S, Shiraishi A, Saitoh D, Mayumi T, Otomo Y, Hifumi T, Hagiwara A, Takuma K, Yamakawa K, Shiino Y, Nakada TA,

- Tarui T, Okamoto K, Kotani J, Sakamoto Y, Sasaki J, Shiraishi SI, Tsuruta R, Masuno T, Takeyama N, Yamashita N, Ikeda H, Ueyama M, Gando S. Hour-1 bundle adherence was associated with reduction of in-hospital mortality among patients with sepsis in Japan. *PLoS One*. 2022 Feb 14;17(2):e0263936. doi: 10.1371/journal.pone.0263936. PMID: 35157744; PMCID: PMC8843226.
- 8 Wada T, Yamakawa K, Kabata D, Abe T, Ogura H, Shiraishi A, Saitoh D, Kushimoto S, Fujishima S, Mayumi T, Hifumi T, Shiino Y, Nakada TA, Tarui T, Otomo Y, Okamoto K, Umemura Y, Kotani J, Sakamoto Y, Sasaki J, Shiraishi SI, Takuma K, Tsuruta R, Hagiwara A, Masuno T, Takeyama N, Yamashita N, Ikeda H, Ueyama M, Fujimi S, Gando S. Age-related differences in the survival benefit of the administration of antithrombin, recombinant human thrombomodulin, or their combination in sepsis. *Sci Rep*. 2022 Jun 3;12(1):9304. doi: 10.1038/s41598-022-13346-3. PMID: 35660774; PMCID: PMC9166729.
- 9 Kiyozumi T, Ishigami N, Tatsushima D, Araki Y, Yoshimura Y, Saitoh D. Instructor Development Workshops for Advanced Life Support Training Courses Held in a Fully Virtual Space: Observational Study. *JMIR Serious Games*. 2022 Jun 29;10(2):e38952. doi: 10.2196/38952. PMID: 35767318; PMCID: PMC9280467.
- 10 Gando S, Shiraishi A, Wada T, Yamakawa K, Fujishima S, Saitoh D, Kushimoto S, Ogura H, Abe T, Mayumi T, Sasaki J, Kotani J, Takeyama N, Tsuruta R, Takuma K, Shiraishi SI, Shiino Y, Nakada TA, Okamoto K, Sakamoto Y, Hagiwara A, Fujimi S, Umemura Y, Otomo Y; JAAM FORECAST TRAUMA Study Group. Effects of tranexamic acid on coagulofibrinolytic markers during the early stage of severe trauma: A propensity score-matched analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2022 Aug 12;101(32):e29711. doi: 10.1097/MD.00000000000029711. PMID: 35960088; PMCID: PMC9371565.
- 11 Sekine Y, Saitoh D, Terayama T, Nakamura T, Nemoto M. The survival rate of patients with burns induced by explosions was significantly higher than that of common burn cases: A nationwide observational study using the Japan Trauma Data Bank. *Burns*. 2022 Aug 22:S0305-4179(22)00203-0. doi: 10.1016/j.burns.2022.08.001. Epub ahead of print. PMID: 36058755.
- 12 Kiyozumi T, Saitoh D, Ogura T, Morino K, Takeda T, Narumi A, Hashimoto I, Sasaki J, Sakurai H. Impact of COVID-19 pandemic on the care of severe burns in Japan: Repeated survey of specialized burn care facilities. *Burns*. 2022 Jun 24:S0305-4179(22)00163-2. doi: 10.1016/j.burns.2022.06.012. Epub ahead of print. PMID: 35787968; PMCID: PMC9225939.
- 13 Tsunoi Y, Sato N, Nishidate I, Ichihashi F, Saitoh D, Sato S. Burn depth assessment by dual-wavelength light emitting diodes-excited photoacoustic imaging in rats. *Wound Repair Regen*. 2023 Jan;31(1):69-76. doi: 10.1111/wrr.13056. Epub 2022 Oct 10. PMID: 36177703.
- 14 Nishii K, Satoh Y, Higashi T, Matsui T, Ishizuka T, Kashitani M, Saitoh D, Kobayashi Y. Evans blue and FITC-dextran double labeling reveals precise sequence of vascular

leakage and glial responses after exposure to mild-level blast-associated shock waves. J Neurotrauma. 2023 Jan 21. doi: 10.1089/neu.2022.0155. Epub ahead of print. PMID: 36680750.

医療工学研究部門

教 授 中 村 伸 吾
講 師 宮 崎 裕 美
助 教 秦 裕 樹

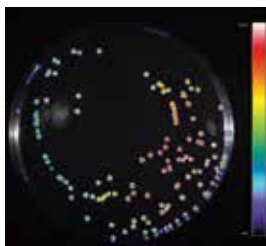


医療工学研究部門

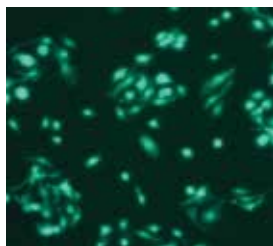


部門の概要

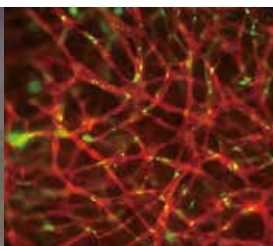
本部門は、医学と工学の立場から医療の様々な問題にアプローチしてその解決を試みる医療工学研究を遂行しています。基礎・基盤研究を通じて、自衛隊衛生（防衛医学）ならびに救急医学や災害医学に貢献することが我々の目標です。



殺菌効果の解析



遺伝子改変細胞



ナノ修飾を利用した培養皮膚と血管

令和4年度 研究報告課題

- 1 感染症等対応時の防護・除染・洗浄
貝殻焼成酸化カルシウムによるバイオフィーム除去
- 2 新規衛生材料の創製
セルロース素材のナノ構造化
- 3 再生医療
三次元培養皮膚による皮膚再建
(1) 難治性皮膚潰瘍モデルへの移植効果
(2) 三次元培養皮膚による拒絶反応や長期予後の検討
- 4 遺伝子工学技術の活用と応用の検討
piggyBac ベクターシステムと in vivo エレクトロポレーションを用いた簡便なモデル動物作製の試み

令和4年度研究報告書

○ 研究の目的

防衛医学上重要な課題である感染症および外傷等の防護、診断、治療について、工学的なアプローチによって基礎研究並びに課題の解決に至る応用研究を実施し、自衛隊衛生活動や災害医療へ貢献をすることが本部門の活動目的である。本年度実施した主要研究内容について、以下の通り概要報告をする。

○ 研究報告の概要

1 研究課題：「感染症等対応時の防護・除染・洗浄」

(統一研究テーマ：有事・災害時、平時（国際貢献時を含む）ともに有用な研究)



貝殻焼成酸化カルシウムによるバイオフィルム除去

研究担当者

中村伸吾、宮崎裕美、秦裕樹、坊田悠太（医学科学生）

概 要

海洋バイオマスから作り出される、酸化カルシウムを主成分とするホタテ貝殻焼成粉末 (Heated Scallop shell Powder, HSP) は、そのアルカリ性に起因して高い殺菌作用を示し、優れた殺菌消毒剤あるいは生物剤除染剤として期待される。しかしながら、薬剤耐性が高いことで知られるバイオフィルム（材料表面に付着した細菌の集合体）に対しては、殺菌効果が必ずしも十分ではない。さらに、バイオフィルムは殺菌後もエンドトキシンなどの有害物質を放出することが懸念される。したがって、HSPのバイオフィルム除去効果を向上させることが望まれている。本年度の検討の結果、HSPに加えて、環境安全性の高い酸化剤である過酸化水素を併用することで、バイオフィルムを効果的に除去できることを見出した。

大腸菌を用い、バイオフィルムの試験管内モデルをプラスチック表面上に作製した（図1a）。当該バイオフィルムモデルを、HSPと過酸化水素の混合液で10分処理した後、クリスタルバイオレット染色法（紫色色素によりバイオフィルムの量を評価する方法）により半定量した。その結果、バイオフィルム量がHSP/過酸化水素処理により減少していることがわかり、その減少量はHSP単独あるいは過酸化水素単独で処理した場合よりも顕著に大きかった（図1b）。HSPと過酸化水素の混合液の高いバイオフィルム除去効果を解析するため、pH測定および電子スピン共鳴分光測定を行なった。その結果、HSP由来のアルカリ性と過酸化水素由来の活性酸素種が協奏的に作用することで、バイオフィルムが効果的に分解されていることが示唆された。

本手法は、副生成物がHSP由来の炭酸カルシウムと水ならびに過酸化水素由来の酸素と水のみであると考えられることから、環境にやさしいバイオフィルム除去法として期待される。

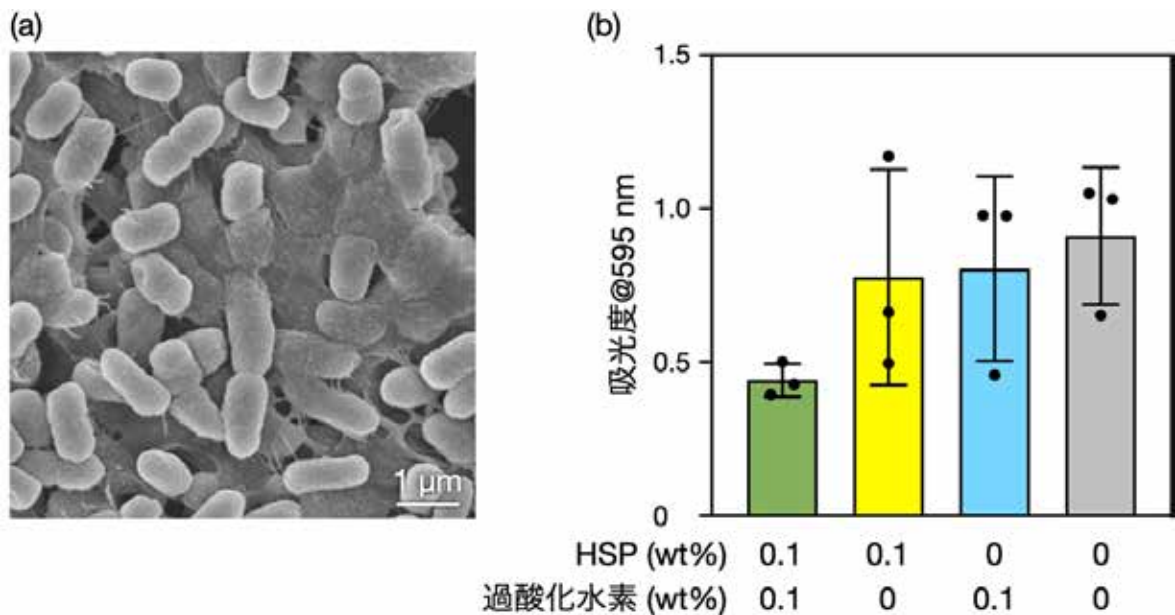


図 1 : (a) 作製したバイオフィームモデルの走査型電子顕微鏡像。 (b) HSP および過酸化水素で処理したバイオフィームのクリスタルバイオレット法による半定量。縦軸はバイオフィームの量に相当する。 *Nanomaterials* **2022**, *12*, 3681 より改変し掲載。

2 研究課題：「新規衛生材料の創製」

(統一研究テーマ：有事・災害時、平時（国際貢献時を含む）ともに有用な研究)



生体材料

セルロース素材のナノ構造化

研究担当者

中村伸吾、宮崎裕美、秦裕樹

概要

セルロースは医療用ガーゼをはじめとする衛生材料として古くから利用されており、近年でも診断・検査用ペーパーデバイスなどへの応用用途が研究されている。このような既存のセルロース材料は一般にマイクロ繊維から構成されておりナノ構造をもたない。ナノ構造を付加できる簡便な技術を確立できれば、セルロース材料の機能や応用性がさらに広がると期待される。このような背景のもと、当部門は短鎖のセルロースであるセロオリゴ糖の自己集合化に着目して研究を進めている。すなわち、セルロース素材中でセロオリゴ糖を析出（分子レベルでの自己集合化）させることで、セロオリゴ糖がナノ構造を形成するのではないかと考えた。

モデルセルロース材料として紙を用い、セルロースの溶媒かつ加水分解触媒であるリン酸水溶液を加えて45℃で20時間静置することで、セロオリゴ糖を生成させた。その後、水を添加することで、溶解したセロオリゴ糖分子の自己集合化を誘起した。精製後、走査型電子顕微鏡で観察した結果、紙固有のマイクロ繊維の表面に、スパイク様のナノ構造体が形成していることが明らかとなった（図2）。原料の紙のマイクロ繊維表面は平滑であったことから、ナノスパイク構造体はセロオリゴ糖の集合体であると考えられる。マイクロ繊維表面でセロオリゴ糖集合体が不均一

核生成し、そこから成長することで、このようなユニークなナノ構造を形成するものと推察される。

現在は、紙に限らず、医療用ガーゼへのナノスパイク構造の付与を検討しており、機能性衛生材料の創製を目指して研究を行っている。とりわけ、細菌に対するナノスパイク構造の影響を調査している。

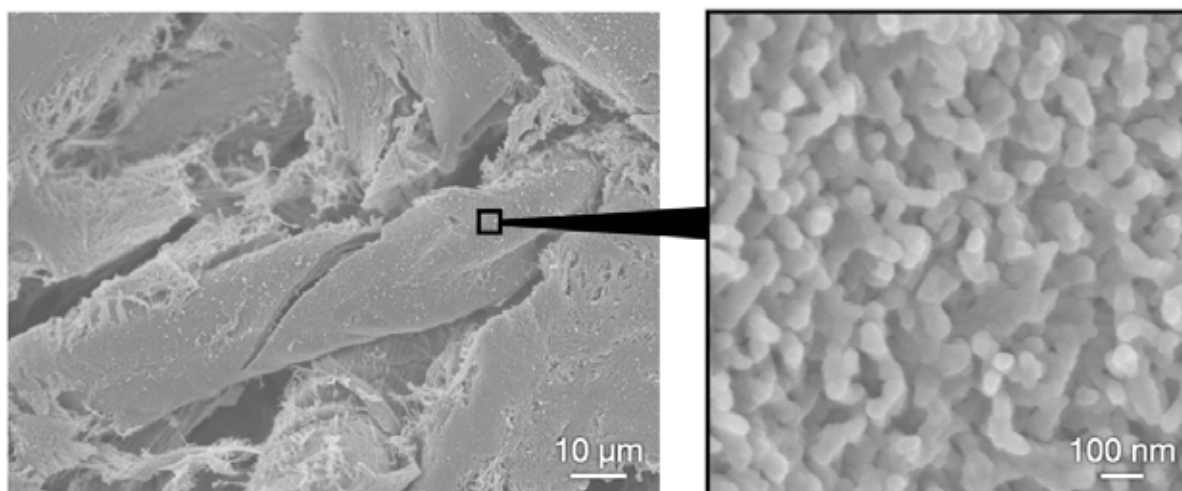


図2：セロオリゴ糖からなるナノスパイク構造体が付与された紙の走査型電子顕微鏡像。左図は紙固有のマイクロ繊維構造を示し、右図はセロオリゴ糖からなるナノスパイク構造体を示す。

3 研究課題：「再生医療」

(統一研究テーマ：有事・災害時、平時（国際貢献時を含む）ともに有用な研究)



医療応用

三次元培養皮膚による皮膚再建

研究担当者

中村伸吾、宮崎裕美、秦裕樹、東條照太（形成外科）、角井泰之（生体情報・治療システム研究部門）、佐藤俊一（生体情報・治療システム研究部門）、齋藤大蔵（外傷研究部門）

概要

外傷、広範囲熱傷、難治性潰瘍等の皮膚欠損創に対する治療は、コラーゲンスポンジ等を基材とした人工真皮、再生医療製品である培養表皮、培養真皮、表皮と真皮からなる複合型培養皮膚など、数多くの代用皮膚が使用されている。一方で、これら代用皮膚は真皮再構築の不良や血流不足による生着不良などが認められることもあり、課題が残る。これまでに防衛医学研究センターでは、大阪大学の明石らが開発した細胞外マトリクス成分を細胞表面に積層する技術を応用し、血管網を付与した三次元ヒト培養皮膚の構築研究を進めてきた。真皮と表皮からなる本培養皮膚は実験動物への移植研究により短期間の生着と治癒が得られており [Miyazaki et al., *Sci. Rep.* **2019**, 9, 7797]、皮膚再建の治療成績向上と臨床的な発展の鍵になり得る可能性がある。令和4年度は、新たに下記2つの課題に着手した。

(1) 難治性皮膚潰瘍モデルへの移植効果

免疫不全マウス (SCID: CB17/Icr-Prkdcscid/CrlCrlj) の背部に作製した全層皮膚欠損創にマイトマイシンCを塗布し難治性潰瘍モデルとした。創部に三次元ヒト培養皮膚もしくは同種全層皮膚、人工真皮を移植し治療効果について評価した。陰性対照としてマイトマイシンCを塗布しないモデルを用いた。マイトマイシンCによる難治性潰瘍では肉芽増生が陰性対照と比較して抑制されており細胞傷害性が強く観察された。一方、長期経過では植皮の生着や創部収縮も見られ、マイトマイシンCの作用が減弱し治癒へ至る可能性が示唆された (図3)。今後、病理組織学的、生化学的解析による詳細な検討を行い、三次元ヒト培養皮膚の治療効果について見極めていく。

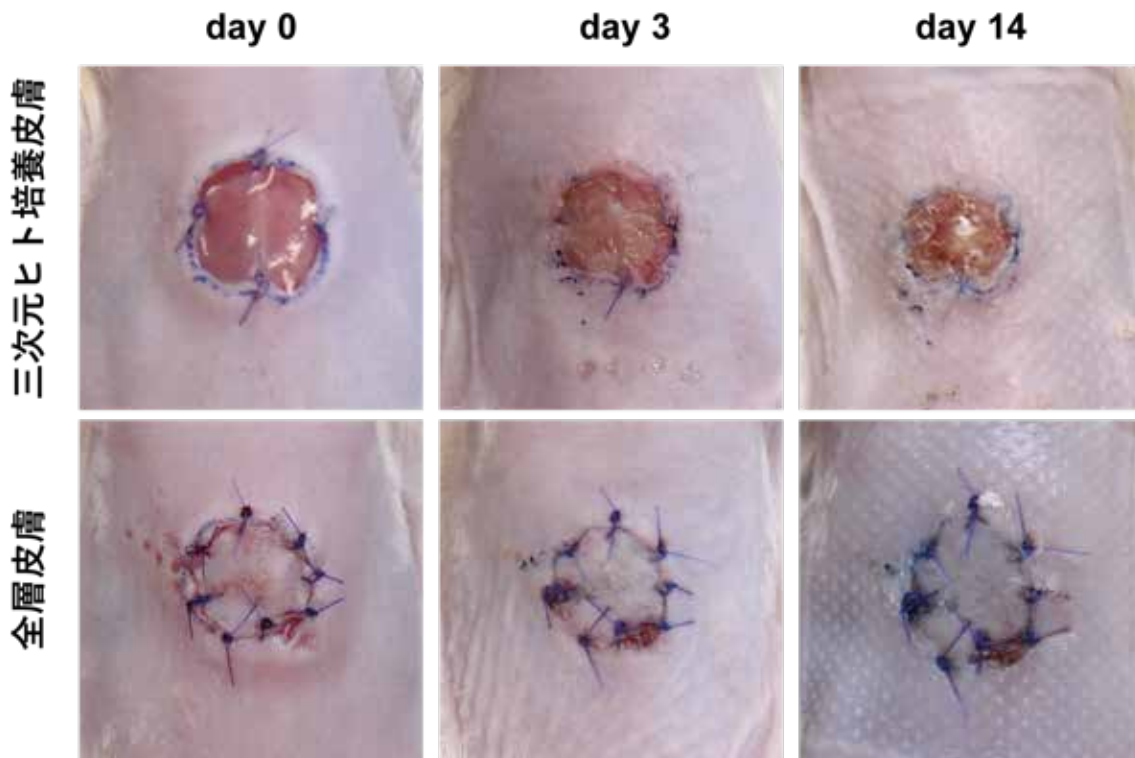


図3：難治性潰瘍モデルにおける三次元ヒト培養皮膚および全層皮膚移植後の創部写真。

(2) 三次元培養皮膚による拒絶反応や長期予後の検討

三次元培養皮膚の作製には2～3週間の時間を要することから、実臨床において即時対応は難しい。したがって、血管網を付与した三次元培養皮膚を新規の再生医療等製品として臨床応用を目指すためには、同種（同系）移植による治療効果の検証は必須である。そこで、マウス由来細胞を用いて三次元培養皮膚を作製し、同種同系マウスの皮膚欠損層へ移植を行い、拒絶反応や免疫応答を含めた長期予後について分子生物学および組織学的な検証を行うことを目的とした。今年度は、8週齢C57BL/6Jマウスの皮膚から分取した線維芽細胞と表皮角化細胞を拡大培養し、三次元マウス培養皮膚の構築に取り組んだ。しかし、線維芽細胞の初代培養とその継代に課題が多く残り、培養皮膚の構築には至っていない。今後は、週齢を若いマウスに変更し、細胞の生存期間や増殖効率、培養条件の最適化等をはかりマウス培養皮膚の構築を目指す。

4 研究課題：「遺伝子工学技術の活用と応用の検討」

(統一研究テーマ：有事・災害時、平時（国際貢献時を含む）ともに有用な研究)



遺伝子工学

piggyBac ベクターシステムと in vivo エレクトロポレーションを用いた 簡便なモデル動物作製の試み

研究担当者

中村伸吾、宮崎裕美、秦裕樹

概 要

脂肪組織は全身に分布しており、エネルギーを蓄えること以外にも、物理的衝撃や外界温度の変化から組織を保護する機能等ももつ。近年では、内分泌器官としての役割や幹細胞様細胞の存在でも注目されるようになった。

本研究では、そのような脂肪組織の機能制御、あるいは、幹細胞様細胞等を簡単に選択するために遺伝子導入技術を活用するため、取り扱いが容易であるという特徴を持った非ウイルス性ベクター（プラスミドDNA）を使用して脂肪細胞へ外来遺伝子を遺伝子導入することを検討している。基礎検討として、脂肪細胞に対するプラスミドDNAの遺伝子導入、特に、細胞ゲノムへ外来遺伝子を組み込むことの可能性について、マーカー遺伝子を用いて検討した。

雌マウスの生殖腺脂肪層を対象に、顕微鏡下で呼吸制御マイクロピペットを用いて1 μ Lの色素溶液（トリパンブルー）を注入した。注入された色素は、翌日も注入部位に留まっていたことから、脂肪層では注入分子の流動は少ないものと考えられた。また、当該色素と共に外来遺伝子をコードしたプラスミドDNAを脂肪層へ注入することで、その注入位置を容易に知ることも可能と考えられた。すなわち、非ウイルス性ベクター（プラスミドDNA）の導入遺伝子は、通常は翌日にはタンパク質を発現させるため、本目印により効率良く導入遺伝子の発現解析ができる。実際の導入実験では、非ウイルス性ベクター系でも遺伝子のゲノム挿入を可能とするトランスポゾンシステムの1つとして知られているpiggyBac系（PB）を使用し、これに改良型緑色蛍光タンパク質（Enhanced Green Fluorescent Protein, EGFP）発現ユニットを組み込んだプラスミドDNA（PB-EGFP）を構築して使用した。遺伝子導入にはエレクトロポレーション（電気パルスを用いて細胞膜に一時的に孔を形成する方法）を採用し、呼吸制御マイクロピペットで脂肪組織へPB-EGFPを色素と共に注入して、直ちにin vivoエレクトロポレーションを行った。施術翌日、色素沈着部を中心に蛍光観察を実施したところ、脂肪細胞で緑色発光が確認でき、EGFP遺伝子の導入が成功していることがわかった（図4）。また、PBの効果によってEGFPが染色体に組み込まれていることも確認できた。

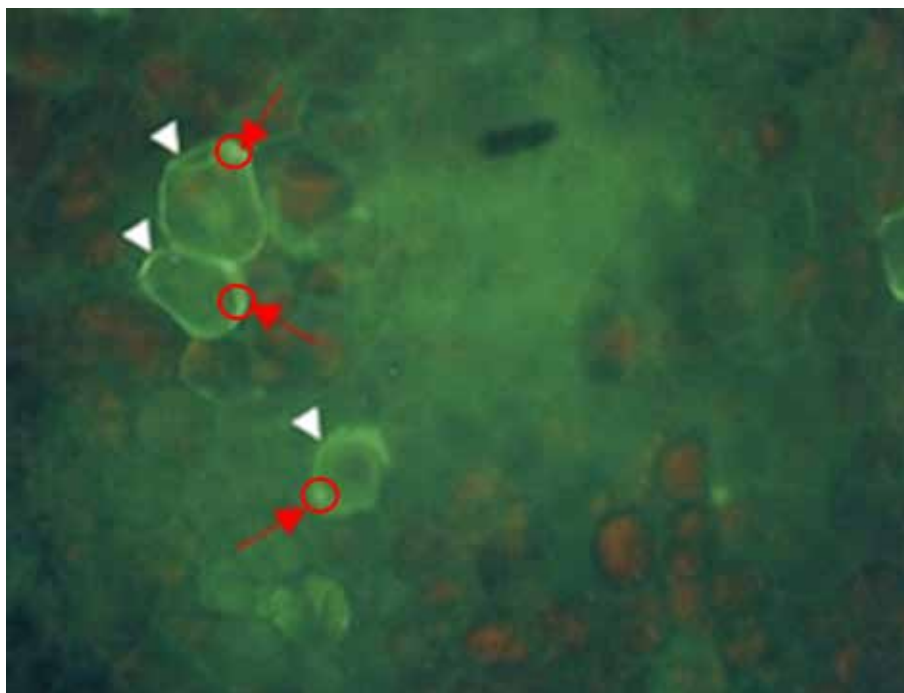


図4：細胞における EGFP 由来の緑色蛍光の検出。白矢印は蛍光を発する脂肪細胞の細胞膜、赤矢印・赤丸内は蛍光性脂肪細胞の核を示す。Sato M et al. *OBM Genetics* **2022**, 6, 151 より引用し一部改変して掲載。

Tai MHらによる先行研究によれば脂肪組織由来ヒト間葉系幹細胞 (adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells, ASCs) などの体性幹細胞群は Oct-3/4 を発現している [*Carcinogenesis* **2005**, 26, 495-502]。したがって、Oct-3/4プロモーター指向のEGFP発現ユニットを含むベクター類を構築して脂肪細胞へ導入すれば、理論的にはASCsが緑色蛍光を指標に簡単に同定できると考えられる。再生医療応用などでは、ASCsは脚光を浴びており、ASCsが標識化できれば、本研究成果は再生医療応用に結び付くことになる。本方向性について、現在検討を継続している。

○ 研究実績等

著書

- 1 Sato M, Ohtsuka M, Inada E, Nakamura S, Saitoh I, Takabayashi S. Recent Advances in In Vivo Genome Editing Targeting Mammalian Preimplantation Embryos. In *CRISPR Technology - Recent Advances*, ed. Yuan-Chuan Chen, Intech Open, **2022**. 2022.09

原著論文

- 1 Akagi T, Yamada T, Miyazaki H, Taguchi H, Ikeda H, Katoh M, Mura S, Couvreur P, Chetprayoon P, Maniratanachote R, Yoshida H, Ajiro H, Hashimoto K, Ashikaga T, Kojima H, Akashi M. Validation Study for In Vitro Skin Irritation Test Using Reconstructed Human Skin Equivalents Constructed by Layer-by-Layer Cell Coating Technology. *Journal of Applied Toxicology* **2023**, doi: 10.1002/jat.4431
- 2 Hata Y, Hiruma S, Sakurai Y, Sugiura K, Miyazaki H, Serizawa T, Nakamura S.

- Nanospiked Paper: Microfibrous Cellulose Materials Nanostructured via Partial Hydrolysis and Self-Assembly. *Carbohydrate Polymers* **2023**, *300*, 120257–120257. 2023.01, doi: 10.1016/j.carbpol.2022.120257
- 3 [Hata Y](#), [Bouda Y](#), [Hiruma S](#), [Miyazaki H](#), [Nakamura S](#). Biofilm Degradation by Seashell-Derived Calcium Hydroxide and Hydrogen Peroxide. *Nanomaterials* **2022**, *12*, 3681–3681. 2022.10, doi: 10.3390/nano12203681
 - 4 [Miyazaki H](#), [Kinoshita M](#), [Nakashima H](#), [Nakamura S](#), [Saitoh D](#). Pioglitazone Modifies Kupffer Cell Function and Protects against *Escherichia coli*-Induced Bacteremia in Burned Mice. *International Journal of Molecular Sciences* **2022**, *23*, 12746. 2022.10, doi: 10.3390/ijms232112746
 - 5 [Tsunoi Y](#), [Miyazaki H](#), [Kawauchi S](#), [Akagi T](#), [Akashi M](#), [Saitoh D](#), [Sato S](#). Viability Improvement of Three-Dimensional Human Skin Substitutes by Photobiomodulation during Cultivation. *Photochemistry and Photobiology* **2022**, *98*, 1464–1470. 2022.05, doi: 10.1111/php.13642
 - 6 [Sato M](#), [Saitoh I](#), [Kiyokawa Y](#), [Akasaka E](#), [Nakamura S](#), [Watanabe S](#), [Inada E](#). Electroporation-Based Non-Viral Gene Delivery to Adipose Tissue in Mice. *OBM Genetics* **2022**, *6*, 151. 2022.04, doi: 10.21926/obm.genet.2202151

解説

- 1 [宮崎 裕美](#). 栄養・代謝物シグナル修飾および破綻と疾患 ミトコンドリア機能と品質管理機構から捉える敗血症病態. *実験医学* **2022**, *40*, 1190–1194. 2022.05
- 2 [中村 伸吾](#), [秦 裕樹](#), [宮崎 裕美](#). 抗ウイルス性機能材料を開発するための金属類の利用. *CBRNE SECURITY* **2022**, *5*, 37–41. 2022.04

トピック：自衛隊中央病院薬剤官の薬剤実務研修

自衛隊中央病院の工藤そのか薬剤官が令和5年1月10日～3月2日の約2ヶ月間、医療工学研究部門で薬剤実務研修を行いました。本研修は、医学・薬学研究に関わる研究技法、各種分析機器の取扱い、論文の検索・読解等の教育訓練を行うことを目的としています。工藤薬剤官は、三次元ヒト培養皮膚の臓器チップへの応用を目指した研究を行いました。工藤薬剤官に寄稿いただいた本研修の感想を下記に掲載いたします。

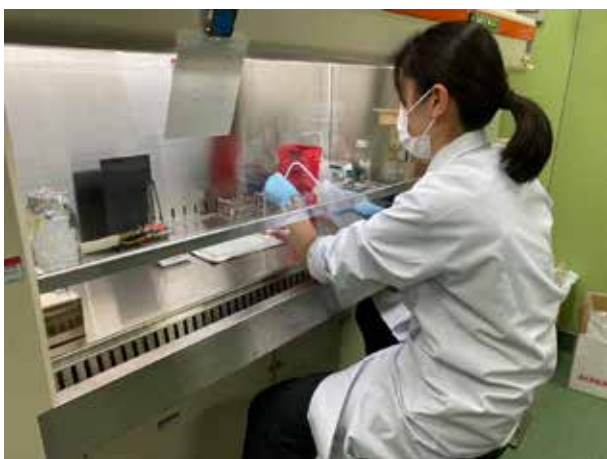
(医療工学研究部門 宮崎裕美)

防衛医学研究センターでの研修を終えて

自衛隊中央病院 衛生資材部 薬剤課 第38期薬剤実務研修生 2等海尉 工藤そのか

今回私は「三次元ヒト培養皮膚を用いた化学物質による皮膚刺激性の評価検討」という研究に携わらせて頂きました。複数種類のヒト皮膚由来細胞を約2週間培養して、三次元ヒト培養皮膚を実際に作成した後、化学物質を曝露して皮膚毒性・刺激性試験を行いました。学生時代の卒業研究では文献研究をしていた為、細胞培養をはじめ実験的研究の全てが新鮮な経験でしたが、研究室の皆様を支えられて無事に実験を終えることができました。研究内容はとても興味深く、三次元ヒト培養皮膚がin vitro試験皮膚モデルとしての有用であることが示されれば、薬剤の分野においても外用剤等におけるスクリーニング試験の幅が大きく広がる可能性があります。2ヶ月弱の短い研究期間ではありましたが、最大限できる研究を遂行し、細胞培養の手順、実験の心構えや発表手技など、多くのことを学ぶことができました。

例年防衛医学研究センターに中病の薬剤官研修生は3名程研究に携わることができる機会があることは知っていましたが、自身がその機会に恵まれ、研究の面白さに気がつけたのは実に幸運なことでした。また機会があれば研究に関わっていきたいです。



工藤そのか薬剤官の実験の様子

トピック：医学科学生の研究室配属

医学科第4学年の鮫島海太学生が令和5年1月16日～2月8日の約1ヶ月間、医療工学研究部門に研究室配属されました。水酸化カルシウムの殺菌活性に関する研究を行い、その成果について2月16日に学内でポスター発表しました。短期間ながら精力的に研究を行い、水酸化カルシウムの殺菌活性に関する重要な知見を得ることができました。鮫島学生に寄稿いただいた本研修の感想を下記に掲載いたします。

(医療工学研究部門 秦裕樹)

医学科の教育プログラムでは4年次に、研究室配属が組み込まれています。配属先は学生の希望が大きく反映されますが、今回、私は医療工学部門を希望しました。これまであまり接してこなかった基礎研究に、直接触れられる良い機会と感じたためです。

研修では、部門の中村教授、秦助教の指導のもと、「水酸化カルシウムの殺菌活性の評価」をテーマとして研究を行いました。コロナ禍でリモート講義が増加していた状況もあり、私自身はこれまで実験を行う経験に乏しく、その点に不安を感じていました。しかし、スタッフの先生方のご支援を受けて、研修期間中に実験の実際に触れ、結果の解釈や成果の伝え方に関して指導のもとで経験を積むことができました。

研修期間は4週間と短いながら、総括すると基礎研究の一端を体験して大きく成長できたと感じています。研修後の学習にも、今回得た新たな経験や視点を活かしていきたいです。

最後になりますが、研修の機会を与えてくださった関係者の皆様に改めて感謝申し上げます。

鮫島海太



鮫島海太学生の
実験の様子

特殊環境衛生研究部門

教授 1等空佐 藤田 真敬

助教 2等陸佐 白石 安永

3等陸佐 遠藤 康弘



特殊環境衛生研究部門

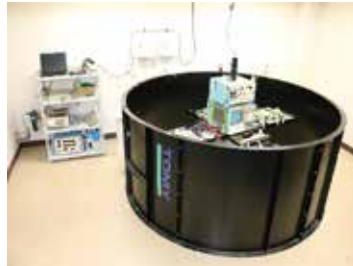


部門の概要

本部門は一般災害及び CBRNE 災害、宇宙航空環境、高気圧潜水環境、過酷な野外活動など特殊環境における医学研究及び予防医学的研究を行い、自衛隊医療及び広く医学に貢献することを目的としています。



高気圧チャンバー



過重力負荷装置（ラット用）



運動代謝測定装置（ラット用）

令和 4 年度 研究報告課題

1 特殊環境における生体機能の変化と疾病予防に関する研究

- (1) 過重力（加速）環境の疲労・ストレス緩和に関する基礎研究
- (2) 高気圧酸素治療・高気圧水素治療に関する基礎研究
- (3) 各種ストレスマーカーに関する基礎研究

2 特殊環境における予防医学に関する調査研究

- (1) 航空機のライフサポートシステムに関する研究
- (2) CBRNE 災害における医学対応に関する研究

令和4年度研究報告書

○ 研究の目的

特殊環境衛生研究部門は自衛隊が活動する特殊環境における医学研究及び疾病予防に関する研究を行う。

一般災害及び特殊災害(CBRNE:化学(Cheical)、生物(Biological)、放射性物質(Radiological)、核(Nuclear)、爆発(Explosive))、宇宙航空環境、高気圧潜水環境、過酷な野外活動など特殊環境における医学研究及び予防医学的研究を行い、自衛隊医療及び広く医学に貢献することを目的とする。

特殊環境衛生研究部門 ホームページ

<https://www.ndmc.ac.jp/center/env/>

○ 研究報告の概要

1 研究課題：「特殊環境における生体機能の変化と疾病予防に関する研究」

(統一研究テーマ：有事・災害時、平時(国際貢献時を含む)ともに有用な研究)



航空環境

(1) 過重力(加速)環境の疲労・ストレス緩和に関する基礎研究

(航空医学実験隊、生理学講座との共同研究)

研究担当者

藤田真敬、遠藤康弘、白石安永、晝間恵(生理学講座)、溝端裕亮(航空医学実験隊第2部、生理学講座)、茂木美千子(研究協力員)、丸山聡(航空医学実験隊第2部)

ア 研究概要

動物用過重力負荷装置(図1)を西田育弘教授(生理学講座、平成30年3月退官、現名誉教授)より譲受け、戦闘機の旋回環境を模擬したラットの過重力負荷実験を開始している。動物実験の倫理の変遷から、麻酔薬として使用していたウレタン、ネンプタールの禁止に伴い麻酔薬を変更して実験系を再構築している。セボフルラン吸入、ケタミン75mg/kg + キシラジン10mg/kg 腹腔注、いわゆる3種混合麻酔(メドトミジン0.15mg/kg + ミダゾラム2mg/kg + ブトルファノール2.5mg/kg) 腹腔注の本実験への適応を検討し、ラットテレメトリシステムの埋込法を習得し、適切な麻酔維持の検証を行っている。ラットのケタミン75mg/kg + キシラジン10mg/kg 腹腔注麻酔では血糖値の異常高値を生じることが分かった。いわゆる3種混合麻酔では、血糖値の異常上昇を認めず、良好な麻酔が得られることが確認された。頭から足方向への+Gz方向の過重力負荷においては、血圧が脳循環に影響するため、麻酔による血圧変動と過重力負荷のタイミングについて検討した。麻酔開始後50~90分の間に血圧及び心拍数が安定することが確認された。

脳循環に注目するラットの過重力(+Gz) 負荷実験においては、いわゆる三種混合麻酔を行う場合には麻酔開始から血圧と心拍数ともに安定する50~90分までの間に行うのが適切と思われた。(学会発表 4)

1.3%水素ガスまたは空気の吸入後、動物用過重負荷装置を用いて+5Gz,2分負荷し、負荷終了後1,2,3,5,10分の血中乳酸値を測定した。1.3%水素吸入群では空気吸入群との比較において有意に血中乳酸値が低下(1,2,3分値で約30%低下, $p < 0.05$) することを見出し血圧や心拍数の差異は認めなかった。(その他 7)

水素ガスの戦闘機パイロットへの効果や各種領域への活用を期待したい。

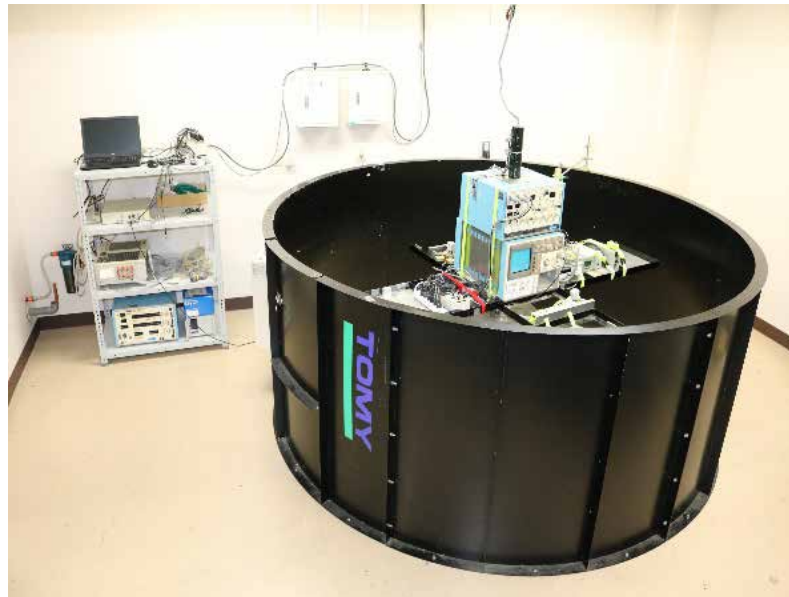


図1 動物用過重力負荷装置
防衛医学研究センター 特殊環境衛生研究部門
設計：トミー精工、バイオリサーチセンター、ジャパンカスタム
戦闘機の旋回を模擬し10 Gまで負荷可能

イ 研究概要

医療工学研究部門(中村伸吾教授) 所有の電子スピン共鳴装置(Electron Spin Resonance:ESR, EMXnano Bruker社)を借用し、過酸化水素溶液から発生するヒドロキシラジカルの波形検出及び、血清添加によるヒドロキシラジカルの波形検出を行い、波形強度の差分の検出により、血清のヒドロキシラジカル消去能の検出(参考5,6)を試みている。ヒドロキシラジカル消去能は抗酸化能の指標のひとつとされ、運動負荷時の耐性指標とされている。スポーツ選手では試合時に抗酸化能をピーク値に持ち込むコンディションニング戦略が盛んに行われている。

これらは自衛官のパフォーマンス向上にも有用と考えているが、血液の測定条件の設定は非常に複雑であり当研究室でも測定に難渋していた。筑波技術大学東西医学統合医療センター 平山暁 教授のアドバイスを頂きながら波形の検出に至っている。図2に電子スピン共鳴装置によるラット血清のヒドロキシラジカルの波形強度を示す。

遠藤助教の着任により測定手法の確立に至った。今後、本測定系を過重力負荷による酸化ストレス評価に応用していく予定である。本研究は防衛省の研究助成制度：防衛医学基盤研究A(主任研究者 藤田真敬)の支援を受けて行った。(研究助成金1)

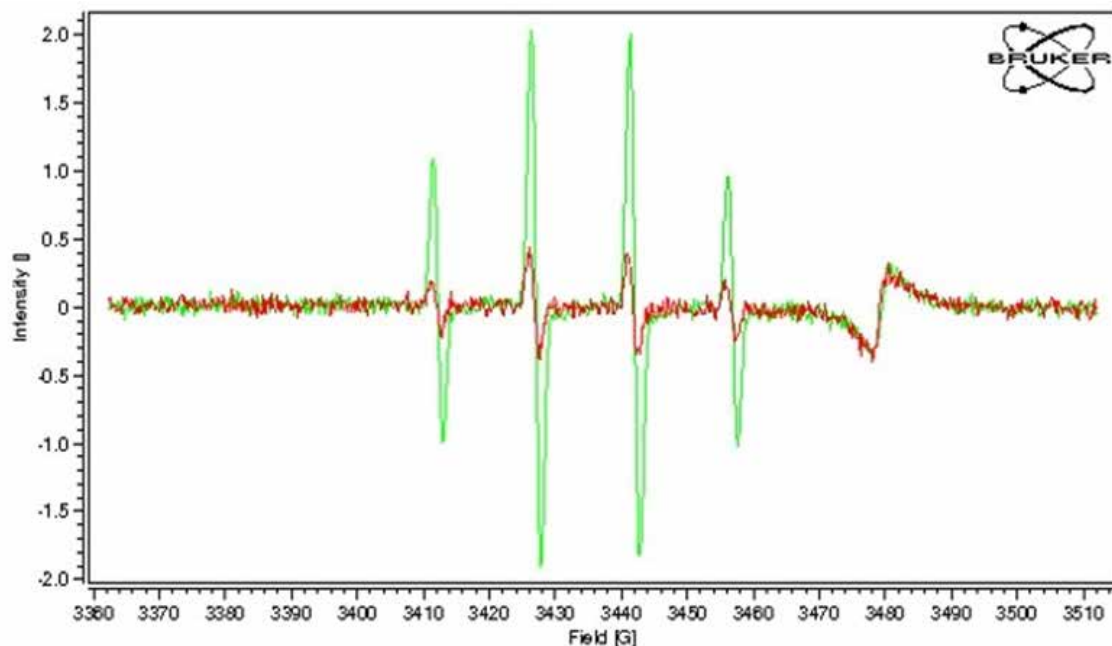


図2 過酸化水素溶液と血清添加溶液のヒドロキシラジカル波形
血清添加によるヒドロキシラジカルの波高低下を認める。
(緑:血清添加前,赤:血清添加後)

(2) 高気圧酸素治療・高気圧水素治療に関する基礎研究



研究担当者

藤田真敬、遠藤康弘、白石安永、茂木美千子（研究協力員）、
牧野敦子（研究協力員） 中村伸吾（医療工学研究部門）

研究概要

動物用高気圧チャンバー（図3）を用いて、高気圧酸素治療の弊害となる酸化ストレスの定量を試みている。ラットを3気圧、100%酸素環境に2,4,6時間曝露後の血清を採取し酸化度（Diacron-Reactive Oxygen Metabolites: d-ROMs）テスト, 抗酸化度（Biological Antioxidant Potential: BAP）テストを行ない、事前の1.3%水素ガス1時間の曝露の影響を検討した。概ね曝露時間に比例した酸化度の上昇を認めたが、事前の1.3%水素ガス1時間の曝露により酸化ストレスを有意に改善する効果を得ている。**(その他 9,10)**

動物実験の倫理の変遷から、麻酔薬として使用していたネブタールなどは禁止となっており麻酔薬を変更して実験系を再構築している。セボフルラン、による麻酔により、頸静脈に採血カテーテルを留置し、数時間にわたる頻回採血に耐える実験系を構築した。

本研究は防衛省の研究助成制度：防衛医学基盤研究Aの支援を受けて行った。**(研究助成金 1)**



図3 動物用高気圧チャンバー
防衛医学研究センター 特殊環境衛生研究部門
設計：パロテックハニユウダ、富士電機、中山商事
10気圧まで加圧可能

(3) 各種ストレスマーカーに関する基礎研究 (内科学講座（抗加齢血管内科）との共同研究）

研究担当者

遠藤康弘、藤田真敬、池脇克則（内科学講座）

過酷な環境における耐性指標となり得る生理学的なストレスマーカーの検索、評価に関する基礎研究を行っている。特に生体の抗酸化能の維持向上はパフォーマンス向上に重要と考えている。当部門では特にHigh Density lipoprotein (HDL) 機能について着目した。

HDLは、コレステロール逆転送 (Reverse cholesterol Transport:RCT)、抗酸化作用、抗炎症作用、抗アポトーシス作用、血管拡張作用、抗血栓作用などの多面的な抗動脈硬化作用を有することが報告されている、過酷な環境で身体的な負荷を受ける自衛官の耐性を高めるには、これらHDL機能のうち、特にRCTが重要と考えており、HDL機能の測定系 (In vivo RCT)を確立中で、HDLプロテオーム中の炎症関連蛋白Xに着目し、過剰発現モデルを作成中である。本年度は、HDL機能に関する総説、論説をまとめた。(論文1, 2) (学会発表 1)

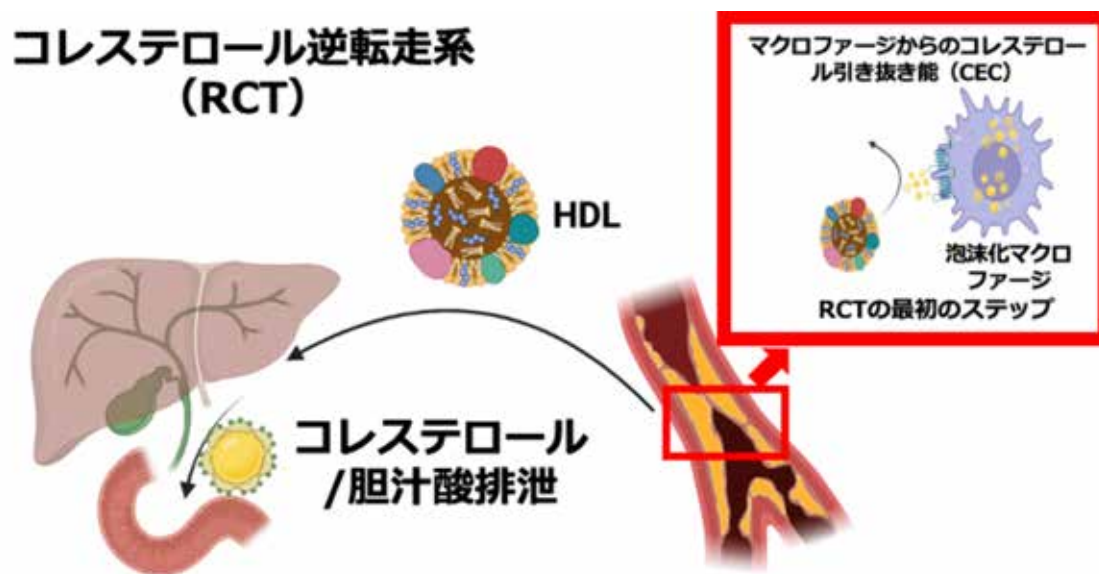


図4 コレステロール逆転送系
HDLは動脈硬化巣マクロファージ中の余剰なコレステロールを引抜き、最終的に肝臓を介して糞便中へと排泄するRCT作用を有している。

2 研究課題：「特殊環境における予防医学に関する調査研究」

(1) 航空機のライフサポートシステムに関する研究

(防衛装備庁 次世代装備研究所との共同研究)

(統一研究テーマ：有事・災害時、平時（国際貢献時を含む）ともに有用な研究)



航空環境

研究担当者

西修二（防衛装備庁 次世代装備研究所）、藤田真敬

概要

高高度飛行時のパイロットのライフサポートシステムの今後の改善にむけた基礎調査を行うことを目的とする。高高度飛行に必須な酸素供給システム、加圧呼吸、与圧、与圧服、宇宙服、減圧症の予防策である飛行前の脱窒素について調査を行っている。ウェアラブルモニターによる心機能計測、生理負荷の評価について検討中である。

研究業績（著書 2）

2) CBRNE 災害における医学対応に関する基礎研究 (医療工学研究部門、外傷研究部門、防衛大学校、 大分大学福祉健康科学部との共同研究)



研究担当者

藤田真敬、遠藤康弘、白石安永、中村伸吾（医療工学研究部門）、斎藤大蔵（外傷研究部門）、大野友則、別府万寿博、市野宏嘉（防衛大学校建築環境工学科 衝撃工学研究室）、徳丸 治（大分大学福祉健康科学部 生理学）、松橋研武（自衛隊中央病院）

概 要

特殊災害（CBRNE: 化学 (Chemical)、生物 (Biological)、放射性物質 (Radiological)、核 (Nuclear)、爆発 (Explosive)) の医学対応に関する基礎研究を行っている。

外傷研究部門、斎藤大蔵教授の主導する爆傷衝撃に関する研究に関して、ブタの血管手術の支援を行っている。**(論文1)**

防衛大学校 建築環境工学科とは防弾チョッキの生体防護能の評価について学術交流を行っており、(藤田真敬, 徳野慎一, 石原雅之, 大野友則, 耐弾時鈍的外傷と次世代防弾チョッキ, 防衛衛生 57(9), 151-5, 2010)。今年度も市野宏嘉准教授との情報交換を行っている。

大分大学とは平成22年より災害医学に関する学術交流を行っており、平成28年度行った「避難所の医学的課題に関する調査研究」の成果が総説として英文雑誌に掲載された **(論文4)**。

研究業績等 (著書 1,2), (論文 4), (学会発表 2), (その他 1,5,6,8)

研究以外の貢献

自衛隊中央病院 薬剤官の実務研修（令和5年1月10日～3月3日）では、研修生松橋研武2等陸尉と「災害避難所、難民避難所の指針に関する調査研究」を行った。

藤田教授は、

平成24年5月より日本大学医学部社会医学系衛生分野 宇宙航空環境医学 兼任講師

令和3年11月より日本宇宙航空環境医学会「宇宙航空環境医学」編集委員長

令和4年4月1日より大分大学 減災・復興デザイン教育研究センター 客員教授

令和4年10月より米国宇宙航空環境医学会学術プログラム委員会2022/23査読委員

(Reviewer, Scientific Program Committee, Aerospace Medical Association)

を務めている。

○ 研究実績等

著書

- 1 藤田真敬, 市野宏嘉, 防弾, 防衛・軍事医学の世界動向 2023年版, 第1章 戦傷病・9外傷分野 5, 2024 (投稿中)
- 2 藤田真敬, 航空医学, 防衛・軍事医学の世界動向 2023年版, 第4章 特殊環境医学 (衛生) 分野 3, 2024 (投稿中)

論文

- 1 **Yasuhiro Endo, Masanori Fujita**, Katsunori Ikewaki, HDL Functions- Current status and Future perspectives (review) (HDLコレステロールの機能に関する研究-現状と展望), Biomolecules 13(1), 105, 2023.1
<https://www.mdpi.com/2218-273X/13/1/105>
- 2 **Yasuhiro Endo, Masanori Fujita**, Katsunori Ikewaki, Intestinal Cholesterol absorption in diabetes mellitus(editorial) (糖尿病患者におけるコレステロール吸収の低下: 論説), Journal of Atherosclerosis and Thrombosis 29, 2022.12
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jat/advpub/0/advpub_ED220/article/-char/ja/
- 3 Tomohiro Komatsu, Yuka Katsurada, Kazuya Miyashita, Satomi Abe, Takafumi Nishida, **Yasuhiro Endo**, Manami Teramoto, Kei Sasaki, Junko Arakawa, Kakoto Sasaki, Natsuko Suzuki, Koji Kuwata, Toshihiko Imakiire, Takayuki Miyake, Masami Sakurada, Susumu Matsukuma, Tsutomu Hirano, Yoshinari Uehara, Katsunori Ikewaki, Two cases of acquired high-density lipoprotein deficiency with immunoglobulin G4-related lecithin-cholesterol acyltransferase autoantibody(IgG4関連LCAT自己抗体を有する後天性HDL欠損症の2例), Journal of Atherosclerosis and Thrombosis 29, 2022.11
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jat/advpub/0/advpub_63616/pdf/-char/en
- 4 Osamu Tokumaru, **Masanori Fujita**, Saeko Nagai, Yoko Minamitani, Junnosuke Kumatani, Medical Problems and concerns with temporary evacuation shelters after Great Earthquake Disasters in Japan: a systematic review (東日本大震災における避難所の医学的課題と関心), Disaster Medicine and Public Health Preparedness 16(4), 1645-1652, 2022
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34103106/>

学会発表

- 1 **Endo Yasuhiro**, Sasaki Makoto, Teramoto Manami, Arakawa Junko, Suenaga Yumiko, Ayaori Makoto, Nakayama Hideaki, Inoue Yuichi, **Masanori Fujita**, Ikewaki Katsunori, Obstructive Sleep Apnea Syndrome alters HDL proteome.(睡眠時無呼吸症候群はHDLコレステロールのプロテオームを変化させる。), 第87回日本循環器学会学術集会(福岡)ポスター, 2023年3月10日
- 2 **Masanori Fujita**, Theory and strategy for bullet proof body armor to mitigate behind armor blunt trauma(BABT) DSEI 2023, Symposium "Cutting-Edge Research of Defense

Medicine at the National Defense Medical College,7) Desired functions for individual body armor, March 17,2023, Makuhari Messe, Chiba, Japan (藤田真敬,耐弾時鈍的外傷(BABT)の軽減にむけた防弾チョッキの理論と開発戦略,DSEI 2023 シンポジウム、「防衛医学研究最前線～防衛学の研究現場から～」,7) 個人防護(アーマー)に求められる機能とは,令和5年3月17日 幕張メッセ、千葉)

- 3 伊藤正孝,石原美弥,藤田真敬,防衛省「防衛医学研究費」による登山医学研究について,第42回日本登山医学会学術集会,2022.6
- 4 藤田真敬,晝間恵,茂木美千子,田中美寿寿々,河村優輔,白石安永,溝端裕亮,丸山聡,水素ガス吸入による過重力(+5Gz)負荷後血中乳酸値の抑制,第68回日本宇宙航空環境医学会,東京.渋谷,2022.11

その他

- 1 市野宏嘉,藤田真敬,ブレットブルーフ研究分科会,令和4年度 防衛大学校・防衛医科大学校研究交流会,防衛医学研究センター大会議室,令和5年1月31日
- 2 遠藤康弘,睡眠時無呼吸症候群のHDL代謝と機能に及ぼす影響に関する検討,防衛医科大学校雑誌47(4), 261,2022.12
- 3 藤田真敬,戦闘機パイロットと健康管理,全国大学学生サークルSpace Medicine Jaan Youth Community(SMJYC)月例ウェビナー,2022.7.2
- 4 藤田真敬,患者空輸,全国大学学生サークルSpace Medicine Jaan Youth Community (SMJYC)月例ウェビナー,2022.7.2
- 5 藤田真敬,白石安永,電磁波兵器の生体影響に関する考察,防衛医学研究センター令和3年度発表会(web開催 2022.7.11-9.10), (抄録:防衛医科大学校雑誌 47(4),246-247,2022)
- 6 霧生信明,齋藤大蔵,藤田真敬,山村浩史,出血性ショックを伴った体幹部重症外傷患者に対する可及的長時間搬送を可能とする新規REBOA(resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta)カテーテルの作成,防衛医学研究センター令和3年度発表会(web開催 2022.7.11-9.10), (抄録:防衛医科大学校雑誌 47(4),249-250,2022)
- 7 藤田真敬,遠藤康弘,晝間恵,溝端裕亮,丸山聡,水素ガス吸入によるラット過重力(+Gz)負荷後の血中乳酸値への影響～戦闘機パイロットの疲労軽減を目指して～,防衛医学研究センター令和4年度発表会,グランドヒル市ヶ谷,2022.12.20
- 8 霧生信明,齋藤大蔵,佐々瑠花,稗田太郎,藤田真敬,山村浩史,出血性ショックを伴った体幹部重症外傷患者に対する新規REBOA(resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta)カテーテル開発のための基礎研究,防衛医学研究センター令和4年度発表会,グランドヒル市ヶ谷,2022.12.20
- 9 白石安永,溝端裕亮,藤田真敬,ラットの高気圧酸素曝露と水素ガスによる酸化ストレスの緩和,第67回防衛衛生学会,自衛隊中央病院,2022年2月(抄録:防衛衛生 69(別),78,2022)
- 10 藤田真敬,ラットの経時採血の効率化の試み,令和3年度防衛医学研究センター発表会,2021年12月(抄録:防衛医科大学校雑誌 47(2),146,2022)

研究助成金

- 1 **藤田真敬**, 石原美弥, 伊藤正孝ほか, 防衛省 防衛医学先端研究 特殊環境衛生分野, 特殊環境における耐性スクリーニングと対策に関する研究, 令和2-4年度 (主任研究者 藤田真敬、令和3年度より防衛医大 防衛医学基盤研究Aに移行)
- 2 **白石安永**, 肺血管内皮細胞指向性アデノ随伴ウイルスを利用した肺動脈性肺高血圧症の病態解明, 日本学術振興会, 若手研究20K17204, 令和2-4年度
<https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-20K17204/>

行動科学研究部門

教 授 長 峯 正 典
准 教 授 江 戸 直 樹
助 教 脇 文 子



行動科学研究部門



部門の概要

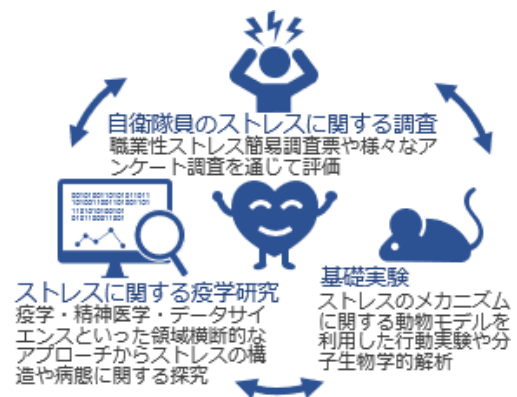
自衛隊員が種々の特殊任務によって被るストレス反応について調査し、PTSDといったストレス関連障害の予防や治療に寄与するのみならず、健康な隊員がよりパフォーマンスを高められるような研究を行なうことを mission として掲げている。

これらを達成するため、疫学・精神医学・分子生物学・データサイエンスといった領域横断的なアプローチを意識し、学際的な研究体制を構築している。



左上) ストレスモデルマウスの行動解析

左下) 脳の微細構造解析
右下) ストレス分子の検出



令和4年度 研究報告課題

1 種々のストレス状況下に生ずる精神心理学的諸問題とその対策に関する研究

- (1) 自衛隊員のストレス反応に関する疫学的研究
 - ア 令和3年度防衛省メンタルヘルスチェックの分析
 - イ 各種派遣業務が隊員のストレス反応に与える影響に関する分析
- (2) 心的外傷反応に関する心理学的研究
 - ア UNMISS 派遣隊員の PTSD 症状に関する縦断研究
 - イ Dynamic Time Working を用いた PTSD 症状の時系列構造のマッピングに関する研究
- (3) 防衛省のメンタルヘルスに関する政策研究
 - ア 認知行動療法及びマインドフルネス教育の効果検証に関する研究
 - イ 陸上自衛隊隊員におけるメンタルヘルスに関するスティグマ研究
 - ウ 防衛省メンタルヘルスチェックの有効活用に向けたダッシュボード試験的導入への取り組み

2 急性ストレスおよび慢性ストレス負荷時における異常行動と脳内神経伝達系の関連に関する研究

- (1) 動物モデルを用いた抑うつ症状・心的外傷後ストレス障害 (PTSD) の病態解明に関する研究
 - ア ミクログリアと不安症状
 - イ HPA 過活動モデルにおけるミクログリア動態の評価
 - ウ 恐怖の形成とミクログリア
- (2) うつ病及び双極性障害における炎症性サイトカインの影響に関する研究

令和4年度研究報告書

○ 研究の目的

行動科学とは、精神医学や心理学、社会科学等を用いて、人間行動の予測・制御を目指す学問です。当研究部門では、ストレス状況下における生体反応を心理学・行動薬理学・分子生物学的な手法を用いて解析し、平時はもとより、大規模災害時等における人間の精神・心理的反応や行動異常等を予測し、それらの予防や対処法に資する研究を行っている。

○ 研究報告の概要

1 研究課題：「種々のストレス状況下に生ずる精神心理学的諸問題とその対策に関する研究」



研究担当者

長峯正典、江戸直樹、脇文子、北野誠人、戸田裕之（精神科学講座）、古賀農人（精神科学講座）、吉野相英（精神科学講座）、宮崎誠樹（精神科学講座）、山崎真之（精神科学講座）、寺山毅郎（自衛隊中央病院）、西岡笑子（順天堂大学）、三上由美子（母性看護学講座）、櫻井薫（母性看護学講座）、渡邊美奈子（母性看護学講座）、福岡さおり（母性看護学講座）、野口宣人（地域看護学講座）、立森久照（慶應義塾大学）、重村淳（目白大学）、正司孝太郎（人間環境大学）、谷知正章（自衛隊阪神病院）、斉藤拓（陸上幕僚監部衛生部）、澤村岳人（潜水医学実験隊）、小林伸久（自衛隊中央病院）、Florentine H S van der Does（Leiden University Medical Center）、Nic J van der Wee（Leiden University Medical Center）、Eric Vermetten（Leiden University Medical Center）、Erik J Giltay（Leiden University Medical Center）

（1）自衛隊員のストレス反応に関する疫学的研究

ア 令和3年度防衛省メンタルヘルスチェックの分析

防衛省では、平成25年から毎年、全職員を対象にメンタルヘルスチェック（MHC）を行っている。MHCは、業務ストレス因子、心身のストレス反応、ソーシャルサポートの3つの領域を評価することで、高ストレス者を選定するでもある。当部門ではMHC開始当初から解析を担い、今年の解析結果は以下の通りであった。

- （ア）高ストレス者は全職員の4.9%で、COVID-19流行前よりも低い値であった。
- （イ）ストレス反応に影響の大きなリスク因子は、10代（50代を基準）、仕事の量的/質的負担、対人関係ストレスで、仕事のコントロール度、ワークエンゲージメントが影響の大きな保護的因子であった。
- （ウ）防衛省職員のワーク・エンゲージメントは、従来の3因子構造ではなく2因子構造であった。
- （エ）PTSD症状の評価尺度であるIES-Rの高得点者は全職員の9.5%で、COVID-19流行前よりも低い値であった。

- (オ) IESR 高得点に影響する大きなリスク因子は、10代（50代を基準）、事務官（陸上自衛官を基準）、仕事の質的負担、対人関係ストレスであった。
- (カ) 全職員の約3分の1が職務に関連するトラウマ経験を有しており、その中で IESR 高得点であったのは全職員の6.5%であった。このうち、暴言・暴力の体験に起因するものは2.1%、任務や訓練中の事故やミスに起因するものは1.7%であった（いずれも全職員に対する割合）。

イ 各種派遣業務が隊員のストレス反応に与える影響に関する分析

防衛省は、令和3年度において、災害派遣（新型コロナウイルス感染症・豚熱/鳥インフルエンザ・令和3年7月豪雨・東京オリンピック関連）や海外派遣（海賊対処行動・中東における情報収集活動）などの各種任務を実施した。この任務が隊員のストレス反応に与えた影響を詳しく評価するため、令和2年度と令和3年度のデータを連結した分析を実施した。分析には、線形混合効果モデルを用い、派遣任務と時間の交互作用により派遣任務が隊員のストレス反応に与えた影響を評価した。

分析の結果、豚熱/鳥インフルエンザ・令和3年7月豪雨・東京オリンピック関連・海賊対処行動の4つの任務において、派遣任務と時間の交互作用が有意であった。中でも、「令和3年7月豪雨」と「東京オリンピック関連」において、隊員のストレス反応がより大きく上昇していた。一方、新型コロナウイルス感染症の派遣業務においては、昨年と同様に有意差は見られず、隊員のストレス反応に大きな影響を与えていないことが確認された。

(2) 心的外傷反応に関する心理学的研究

ア UNMISS 派遣隊員の PTSD 症状に関する縦断研究

2012年から2017年の間、防衛省と自衛隊は国連南スーダン共和国ミッション（UNMISS）に参加した。国連平和維持活動（PKO）は心的外傷後ストレス障害（PTSD）発症のリスクを高めるため、国連でも参加者のPTSDを予防するための取り組みが進められている。PKOに関する個々の研究をまとめた論文によると、PKOに参加した人におけるPTSD有病率は5.3%と報告されている。しかし、日本のPKO派遣隊員に関するPTSD症状の報告はこれまでなされていない。

陸上自衛隊は、PKOに派遣される隊員に対して、派遣前・中・後に精神健康調査票（GHQ30）を行なった。今回、この調査票のデータと、2013年から2018年までのメンタルヘルス・チェックにおけるIES-Rに関するデータをつなぎ合わせて、PTSD症状に関する検討ができるデータベースを作成した（ $n = 2962$ ）。

先行研究に基づき、IES-Rのスコアが25点以上の場合をprobable PTSD（p-PTSD）と定義し、累積p-PTSD率の推移とp-PTSDのリスク要因について、Cox比例ハザードモデルを用いて解析した。また、潜在クラス混合モデルを用いてPTSD症状の軌跡分析を行い、症状をほとんど呈さないレジリエント群を基準に、症状を呈する他のグループの関連要因を評価した。

解析の結果、2013年-2018年までの観察期間において累積p-PTSD率は3.95%であった。そして、高年齢や派遣前の「不安感と気分変動」および「希死念慮とうつ傾向」がリスク因子として抽出された。PTSD症状に関する軌跡分析では、レジリエント群、回復群、遷延群、遅発群の4つに分類された。予後が不良である遷延群や遅発群では、派遣前GHQ30における「睡眠障害」が共通する関連要因として同定された。

これらの結果は、今後のPKO派遣において心理教育や早期介入を検討する上で有用な情報になることが期待される。

イ Dynamic Time Warping を用いた PTSD 症状の時系列構造のマッピングに関する研究

これまでの精神病理学へのネットワーク・アプローチの結果、症状が互いに影響し合い、原因となって悪化させる可能性が占められている。これはPTSDにおいても同様であり、PTSDの各症状における時間的相互作用を理解することは、精神病理学を理解する上で不可欠である。Impact of Event Scale-Revised (IES-R)の因子構造を評価する研究の多くは、横断的データによる解析である。今回、本研究では、症状間の時間的相互作用を組み入れながら、IES-Rの構造を改めて評価した。

Dynamic Time Warping (DTW)を用い、東日本大震災において被災地に派遣された陸上自衛隊員1,120名のIES-RにおけるPTSD症状の項目間の距離行列を作成した。各PTSD症状間の距離行列について主成分分析を行い、相関の高い症状のクラスター分類を行った。そして、確証的因子分析により、得られたIES-Rのクラスター構造と、従来の3因子構造との適合度の比較を行った。DTWにより、IES-Rは侵入(5項目)、過覚醒(6項目)、回避(6項目)、解離(5項目)の4つの症状クラスターに分類されることが判明した。確認的因子分析を実施したところ、得られた4因子構造の適合推定値(RMSEA=0.084, CFI=0.918, TLI=0.906)は、従来の3因子構造の適合推定値(RMSEA=0.103, CFI=0.873, TLI=0.858)よりも良好な値を示していた。

(3) 防衛省のメンタルヘルスに関する政策研究

ア 認知行動療法及びマインドフルネス教育の効果検証に関する研究

最近、困難な状況に遭遇した時に立ち向かう能力として、「レジリエンス」が注目されている。航空自衛隊でも、隊員たちのメンタルヘルスの維持・向上を目的とした「レジリエンス・トレーニング」を行なっているものの、その効果については十分に検証されていない。本研究では、教育の主たる構成要素である認知行動療法およびマインドフルネスに基づいた教育についてランダム化比較試験を行い、その介入効果の検証を行った。

研究の対象は、自衛隊入間病院の職員や課程学生の47名で、従来のメンタルヘルス教育を行う統制群と、認知行動療法とマインドフルネスを基にした教育を行う介入群の2群をつくった。教育は1日(約8時間)かけて行われ、教育前と教育後にウェブで質問に回答する形で行った。レジリエンスの評価にはConnor-Davidson Resilience Scale (CD-RISC)、知覚されたストレスには Perceived Stress Scale(PSS)、抑うつ症状には Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D)、認知的歪みには Dysfunctional Attitude Scale (DAS)、マインドフルネスには Mindful Attention Awareness Scale (MAAS)をそれぞれ使用した。解析は反復測定2元配置分散分析で行い、 $\alpha = 0.05$ として評価を行った。

結果、以前、陸上自衛隊員に対するCD-RISCの探索的因子分析で見出していた下位尺度「コミットメント」において時間の主効果が($F(1,1) = 5.589, p < 0.05, \omega^2 = .017$)と有意であり、DASの下位尺度「達成」の交互作用は、($F(1,1) = 2.900, p = 0.0998, \omega^2 = .003$)と有意傾向が見られた。

しかし、研究参加者が少なかったことや教育時間が短かったことから、効果を確認するには十

分な検出力が得られなかった可能性があり、今後、より多くのデータを集めて介入効果を調べる予定である。

イ 陸上自衛隊隊員におけるメンタルヘルスに関するスティグマ研究

一般に、精神疾患や精神医療に感じているスティグマ（偏見）が、自衛官の精神医療サービスを受ける妨げとなる懸念がある。スティグマは文化に影響されるが、特に自衛官が抱くスティグマは軍的な組織文化と密接に関係する。自衛隊員のメンタルヘルスに関するスティグマの現状や、これらに関連する要因を明らかにするため、陸上自衛隊員4754名を対象に無記名アンケートを実施した。

アンケートでは、人口統計学的因子、精神科受診歴、階級、海外派遣経験、災害派遣経験、リーダーシップ、部隊の結束、一般的な心理的苦痛、精神疾患の認識に対するスティグマ、援助希求態度に関する内容の評価を行った。

4,305人(90.5%)から回答が得られ、有効回答は3,723人(78.3%)であった。重回帰分析の結果、年齢、精神科受診、リーダーシップ、結束力などの様々な要因がスティグマやヘルプシーキングに対する態度に顕著に関連していることが明らかとなった。

本研究により、自衛官における精神医療サービスに対するスティグマや態度には、人口統計学的要因に加え、上司のリーダーシップや部隊の結束力などといった、いわゆる軍隊文化的要因も関係していることが明らかになった。自衛隊員のメンタルヘルスを向上させるために、今後どのようなスティグマ教育が有効であるか、さらなる検討を進めていく。

ウ 防衛省 MHC の有効活用に向けたダッシュボード試験的導入への取り組み

平成25年度より防衛省メンタルヘルスチェック（MHC）が毎年実施されるようになって以降、省全体の分析結果については各機関の担当者に対して毎年フィードバックを行なっている。しかしながら、各組織レベル（方面・師旅団等）においてMHCデータが十分に活用されていない可能性を考慮し、防衛医学基盤研究の枠組みにおいて、「ダッシュボード」の試験的導入に取り組んでいる。ダッシュボードとは、IT技術により統計データをグラフ等に加工して一覧表示し、情報を視覚的にわかりやすく提供するシステムであり、近年様々な分野において活用されている。

令和4年度は、MHCデータに関するダッシュボードの試験的導入に向け、防衛省各機関に対して意見照会を実施した。その結果、防衛省MHCデータの活用状況として「全く活用していない」あるいは「多少活用している」との回答が8割近く占めており、十分に有効活用されていない状況が確認された。一方、ダッシュボードの試験的導入に関しては、「利用してみたい」との回答が7割近くを占めていた。

次年度は、防衛省の一定規模以上の主要組織に対し、ダッシュボードの出力画面のファイルを送付する予定である。指揮官等にダッシュボードの模擬的体験をしてもらい、各集団のメンタルヘルスの状態を視覚的に把握することで指揮統率の資として活用できるかどうか、改めて意見を収集する予定でいる。



2 研究課題：「急性ストレスおよび慢性ストレス負荷時における異常行動と脳内神経伝達系の関連に関する研究」



研究担当者：

長峯正典、戸田裕之（精神科学講座）、古賀農人（精神科学講座）、中川隆一（精神科学講座）、佐藤真有実（精神科学講座）、藤原祐大（精神科学講座）、浅井史穂（精神科学講座）、吉野相英（精神科学講座）

概要

(1) 動物モデルを用いた抑うつ症状・心的外傷後ストレス障害 (PTSD) の病態解明に関する研究

ア ミクログリアと不安症状

これまでに、当グループでは、マウスを用いた検討により、脳に存在する免疫担当細胞であるミクログリアの過剰な活性化が、抑うつ症状や不安といった精神症状の発症に関与することを示してきた。しかし、これまでの研究では、精神症状モデルマウスを用いて、行動異常とミクログリアの活性化との相関は示されたが、因果関係については不明であった。そこで、2022年度では、精神症状モデルマウスにおける行動異常にミクログリアが必要であるか、という点を検討した。方法としては、マウスにミクログリアの維持に必要なコロニー刺激因子1受容体の阻害剤であるPLX3397をマウス飼料に混ぜて摂取させて、脳組織のミクログリアを消失させた（図1）。その上で、マウスに抑うつや不安様行動を引き起こすことが知られているストレス社会的敗北ストレスを負荷した後、不安様行動の評価に用いられるガラス玉覆い隠し試験を行った。その結果、対照と比較して、社会的敗北ストレス負荷を受けたマ

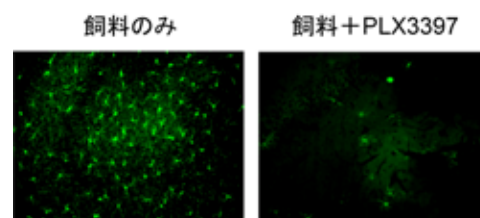


図1 PLX3397によるミクログリアの消失
通常飼料もしくはPLX3397入りの飼料を3週間摂取させた後の脳組織中のIBA1陽性細胞（緑色のシグナル）。PLX3397混合飼料を摂取させてマウスにおけるIBA1陽性細胞は明らかに減少している。

ウスでは、有意にガラス玉を埋める数（不安症状レベル）が増加した（図2、“対照群”対“社会的敗北ストレス負荷群”）。興味深いことに、PLX3397投与によりマイクログリアが消失したマウスにおいては、社会的敗北ストレスを与えていないにもかかわらず埋めたガラス玉の数が社会的敗北ストレスを負荷したマウスと同様であった（図2、“社会的敗北ストレス負荷群”対“マイクログリア消失群”）。これらの結果から、マイクログリアには、抗不安作用が存在する可能性が示された。他の研究グループによる最近の研究では、恐怖形成後の忘却にマイクログリアが寄与することが示されており（Wang et al., 2020. Science）、長期的な不安の減少への関与が示唆された。マイクログリアにおける急性的な不安形成については、今後のさらなる検討が必要である。以上の様に、2022年度の検討では、マイクログリアには抗不安作用が示唆される結果が得られたが、我々の先行研究や他のグループの報告から、マイクログリアの異常な活性化が精神症状を引き起こすことも支持されていることから、マイクログリアには不安に対する二面性が存在するのかもしれないと考えている。

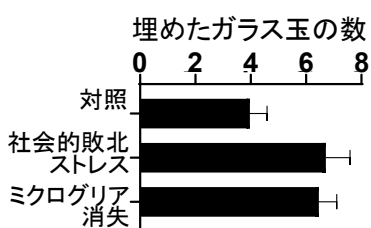


図2 社会的敗北ストレス負荷やマイクログリア消去後のマウスの不安様行動

対照群、社会的敗北ストレス負荷群、PLX3397投与によるマイクログリア消失群に対して行ったガラス玉覆い試験における埋めたガラス玉の数（平均±SEM）。One-way ANOVAの結果、有意であった ($F_{(2,107)} = 4.119, p < 0.05$)。事後検定にはHolm-Sidak's multiple comparisons testを用いた。対照群-社会的敗北ストレス負荷群及び対照群-マイクログリア消失群で有意差を認め、社会的敗北ストレス負荷群-マイクログリア消失群、有意差を認めず。

イ HPA 過活動モデルにおけるマイクログリア動態の評価

気分障害は2030年までに世界の疾病負担の最大の原因となると予想されているが、依然としてその発症の原因は解明されていない。これまでの研究から、気分障害の代表的な疾患であるうつ病の病因仮説として、神経炎症や視床下部-下垂体-副腎(HPA)軸の過活動の寄与が示唆されている。特に、免疫系の細胞であるマイクログリアは様々な受容体を発現しており、多種多様なストレス反応に応答してサイトカインを産生・放出するなど((Frank et al., 2019, Semin Cell Dev Biol.))、脳内免疫系において重要な役割を果たす細胞であり、HPA軸の過活動の結果として過剰に増加するグルココルチコイドにより活性化することが示されている。そして、マイクログリアの活性化状態は、脳内の微小環境に対応して多様に変化することが分かってきており(Moore Z et al., 2019, Br J Pharmacol.))、複数のマーカーを組み合わせた評価が必要であると考えられているが、これまでに十分な評価はなされていない。そこで、コルチコステロン慢性投与によるHPA軸過活動モデルマウスに対しフローサイトメトリーによる評価を行った。

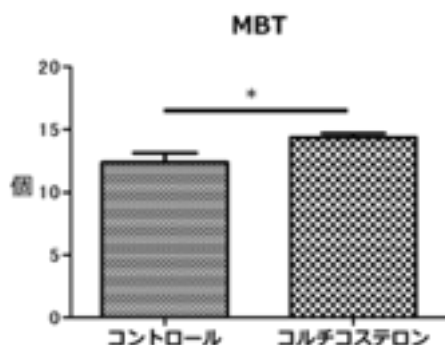


図3 ガラス玉覆い隠し試験

グラフはガラス玉を埋めた個数を示し、one-way ANOVAで有意であった ($F(1, 14) = 5.9338$ 、検定力 0.6206、 $p < 0.05$)。コルチコステロン投与により、ガラス玉を隠す数が増加（不安症状を示唆）した。

C57BL/6マウス(9週齢、オス)にコルチコステロンを35 μ g/mlの濃度で飲み水として4週間投与し、ガラス玉覆い隠し試験(不安症状の評価)を負荷した。行動試験の後、脳をサンプリングし、全脳からCD11b陽性細胞を磁気ビーズ付き抗CD11b抗体で回収し、フローサイトメトリーによる解析を行った。CD11b陽性細胞をTMEM119、CD45、Ly6C、MHC class IIでラベル後、フローサイトメトリーにより各分子のカウントを行い、その後、多様なCD11b陽性細胞の表面に発現するこれらの分子によりゲーティングを行うことで、CD11b陽性細胞の層別化を行った。その結果、ガラス玉覆い隠し試験において、コルチコステロン投与群でガラス玉を覆い隠す数がone-way ANOVAが有意であり(図3、 $F(1, 14) = 5.9338$ 、検定力0.6206、 $p < 0.05$)、不安様行動の発現が確認された。

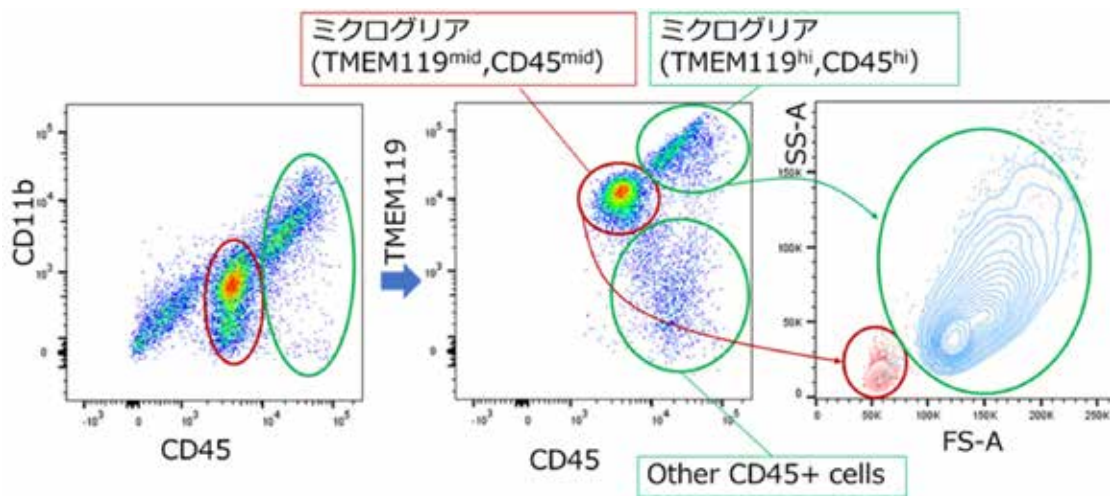


図4 フローサイトメトリーのゲーティング
 グラフの縦軸と横軸はそれぞれの抗原の発現の強さを示す。FS-Aは細胞の大きさを、SS-Aは複雑性を示す。
 TMEM119^{high}、CD45^{high} ミクログリア(緑丸)は大きく複雑な形態をしていた。
 TMEM119^{mid}、CD45^{mid} ミクログリア(赤丸)は小さく単純な形態をしていた。

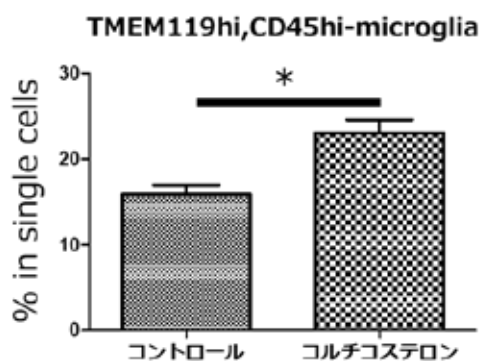


図5: TMEM119^{high}、CD45^{high} ミクログリアの全体に占める割合
 グラフは全体の細胞数に占める割合を示し、Wilcoxon signed-rank testで有意であった(検定力0.9107、 $p < 0.05$)。

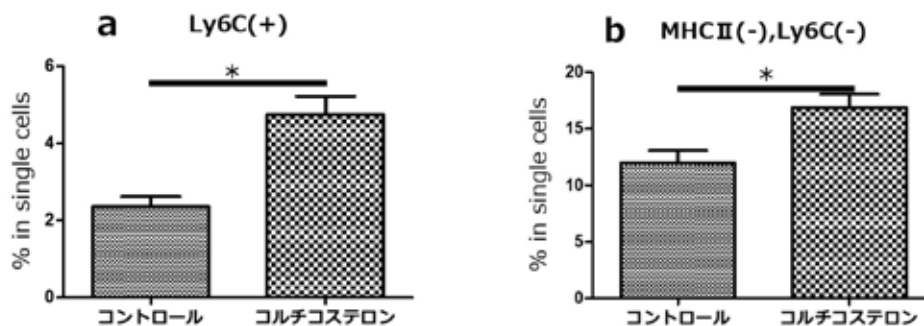


図6: a Ly6C(+) ミクログリアと b Ly6C(-)、MHC class II (-) ミクログリアの全体に占める割合
 グラフは全体の細胞数に占める割合を示し、Wilcoxon signed-rank test で有意であった (a 検定力 0.9687、 $p < 0.05$ 、b 検定力 0.7513、 $p < 0.05$)。

フローサイトメトリーでは、CD11b 陽性細胞の中から、TMEM119^{high}、CD45^{high} ミクログリアと、TMEM119^{mid}、CD45^{mid} ミクログリアを分離することができ、TMEM119^{high}、CD45^{high} ミクログリアは大きく複雑な形状をしており、TMEM119^{mid}、CD45^{mid} ミクログリアは小さく単純な形状をしていた (図4)。また、TMEM119^{high}、CD45^{high} ミクログリアが全体の細胞数に占める割合は、コルチコステロン投与群で有意に増加していた (図5、検定力 0.9107、 $p < 0.05$ 、Wilcoxon signed-rank test)。一方、TMEM119^{mid}、CD45^{mid} ミクログリアの数は Wilcoxon signed-rank test で有意な変化は認めなかった。また、TMEM119^{high}、CD45^{high} ミクログリアのうち、Ly6C(+) ミクログリアと Ly6C(-)、MHC class II (-) ミクログリアが有意に増加していた (図6、a 検定力 0.9687、 $p < 0.05$ 、b 検定力 0.7513、 $p < 0.05$ 、Wilcoxon signed-rank test)。一方、MHC class II (+) ミクログリアの数の変化は Wilcoxon signed-rank test で有意な変化を認めなかった。

既報では、一般的に CD45^{high} 細胞は単球であり、ミクログリアとは考えられていなかった (Chabry J et al., 2015. Brain Behav Immun.) が、今回ミクログリア特異的な抗体である TMEM119 を用いてゲーティングを行うことで、CD45^{high} 細胞の中にもミクログリアが存在することが明らかとなった。TMEM119^{high}、CD45^{high} ミクログリアはこれまで一般的にミクログリアと考えられていた TMEM119^{mid}、CD45^{mid} ミクログリアと形態的にも異なるが、コルチコステロン投与により増加していたことから、機能としても異なり、うつ病の病態形成に関与していることが示唆された。Ly6C(+) ミクログリアや Ly6C(-)、MHC class II (-) ミクログリアなど、今回分類したミクログリアがどのような機能を持つのかについては、更なる検討が必要である。

ウ 恐怖の形成とミクログリア

Wang らの報告によると、フットショックを与えたのちにマウスのミクログリアを消去すると、そのマウスは恐怖記憶を忘却しなかったことから、忘却にミクログリアが寄与しているらしいことを報告している (Wang et al., 2020. Science)。一方、ミクログリアは学習と記憶の形成にも寄与することが知られており (Christopher et al., 2013. Cell)、恐怖記憶の形成に関するミクログリアの寄与は報告がない。そこで、前述の【ミクログリアと不安症状】と同様の方法を用い、PLX3397 を含む飼料で 3 週間飼育した脳組織のミクログリアを消失させたマウスを用い、フットショック (0.4mA で 2 秒間、(Kida., 2020. Proc. Jpn. Acad., Ser. B)) を与え、通常のマウスと

恐怖記憶の形成に差が出るかどうかを評価した。具体的には、表1に示すように設定した実験群のマウスにおけるフットショック後のすくみ行動の発現（無動時間）の測定を行い、群間比較を行った。

表1 マウスの割り付け

本実験では、恐怖記憶の形成へのミクログリアの寄与を検証する目的で、通常飼料で飼育したミクログリアが正常なマウス、ならびに PLX3397 混合飼料で飼育したミクログリアを消失したマウスに対するフットショック負荷によるすくみ行動の発現時間（無動時間）を測定した。

Group	ミクログリアの状態	フットショック	n
1	正常	なし	6
2	正常	あり	6
3	消失	なし	6
4	消失	あり	6

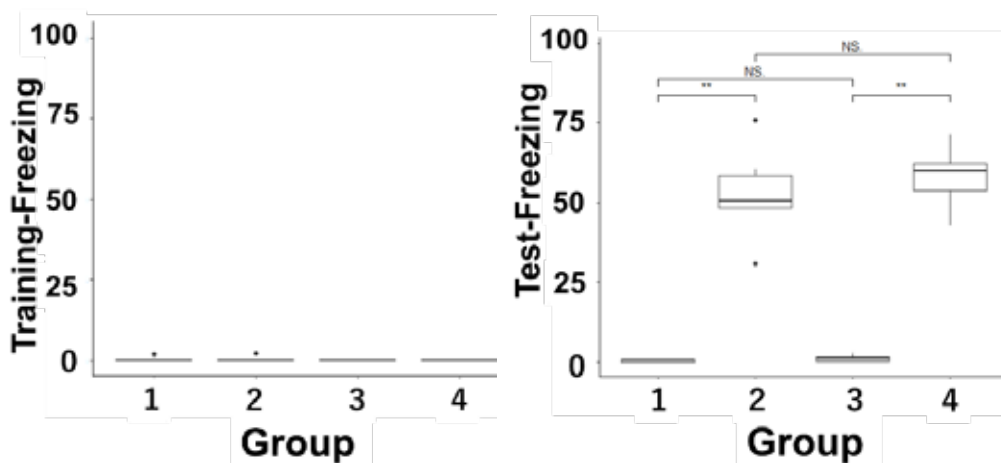


図7 各群の無動時間

左は Training としてフットショックを行った群・行わなかった群、PLX3397 を投与した群・投与しなかった群には、無動時間（Freezing）に有意差が認められなかった。右は Test として翌日に再度同じケージに入れて 5 分間自由に行動させた。Wilcoxon test を用いて検定を行ったところ、Group1 : PLX3397 なし /Foot shock なしと Group2 : PLX3397 なし /Foot shock あり群の間、及び、Group3 : PLX3397 あり /Foot shock なしと Group4 : PLX3397 あり /Foot shock あり群の間に有意差を認めた。Group1 と 3、2 と 4 には有意差が認められなかった。

各グループとも、初日にケージに入れてフットショックを行った際には（Training）、無動時間（Freezing）に有意な差を認めなかったが、翌日に再度同じケージに入れて5分間自由に行動させたところ（Test）、フットショックを与えた群において有意に無動時間の上昇が認められた（図7、Group 1対Group 2、およびGroup 3対Group 4）。しかし、PLX3397投与によりミクログリアが消失したマウスにおいてもフットショック負荷による無動時間の上昇に差は認められなかった（図7、Group 2対Group 4）。これらのことから、ミクログリアには記憶の形成への寄与が示唆されているものの、恐怖記憶の形成には必須ではないことが示され、ミクログリアが寄与しない経路の存在が示唆された。

(2) うつ病及び双極性障害における炎症性サイトカインの影響に関する検討

うつ病や双極性障害といった気分障害の病態として炎症が注目されており、発症や薬剤反応性に関与が想定されている。今回、気分障害の患者と健常人について各種サイトカイン値を評価を行った。当院精神科で治療を受けていて研究に同意した患者を対象とし、うつ病 (MDD) 患者57名、双極性障害 (BP) 患者53名、及び、研究に同意した健常者 (Control) 46名を検討した。それぞれの血清を用いてBio-Plex (37-Plexパネル)を用いてサイトカインを測定した。結果、Control群とMDD群、Control群とBP群とで有意な差を示すサイトカインを認めた。次にControl群とMDD群103名、Control群とBP群99名について階層型クラスタリングを行なったところ、いずれにおいてもサイトカイン値の高い群 (高サイトカイン群) と低い群 (低サイトカイン群) に分けられました。高サイトカイン群と低サイトカイン群に関して、ControlとMDDの分布に有意な差を認めた。同様に、Control群とBP群99名のクラスタリングで認めた高サイトカイン群と低サイトカイン群についてもControlとBPの分布に有意差を認めた。既報の通り、気分障害の患者では健常者と比較して炎症を反映していると考えられる高サイトカイン血症が確認された。合わせて、多数のサイトカインを網羅的に評価することにより、高サイトカイン血症の関与が疑われる一群が疑われる結果であった。

さらに pycaret.classification を用いて、Disease (MDD群 + BP群) vs. Control、MDD vs. Control、BP vs. Control、MDD vs. BPの4通りの目的変数について、37種類のサイトカインの説明変数としての寄与度を評価した。その結果、Disease (MDD群 + BP群) vs. Controlを目的変数とした場合、Accuracy 0.8929、AUC 0.9611であり、特にAPRILとIL-32が強く寄与しているとの結果であった。しかし、Disease vs. ControlにおけるAPRILとIL-32の高低は少数を対象としたものながらも既報と異なる変化であり、今後、通常のELISAを用いたvalidationなどの追加解析を予定している。

○ 研究業績

学会発表

1. 古賀農人 不安症状とマイクログリアの状態の関係. 第14回日本不安症学会学術大会 2022年5月 オンライン
2. F van der Does, T Saito, M Nagamine, N van der Wee, J Shigemura, T Yamamoto, Y Takahashi, M Koga, H Toda, A Yoshino, E Vermetten, E Giltay. Trajectories of PTSD among First Responders after the 2011 Great East Japan Earthquake: a 7-year prospective cohort study. The 30th European Congress of Psychiatry, June 2022, Budapest, Hungary.
3. 脇文字子、野口宣人、北野誠人、江戸直樹、牧野由紀子、小林伸久、澤村岳人、長峯正典 医療従事者の心理的反応と共感特性及びストレス対処との関連に関する研究第21回日本トラウマティック・ストレス学会 2022年7月 八王子
4. 北野誠人、西泰信、大畑裕一郎、飯塚尚敬、江戸直樹、脇文字子、長峯正典 航空自衛隊における気分障害並びに神経症性障害、ストレス関連障害及び身体表現性障害新規受診者のデー

- プニューラルネットワーク分析 第21回日本トラウマティック・ストレス学会 2022年7月
八王子
5. F van der Does, M Nagamine, N van der Wee, T Chiba, N Edo, M Kitano, E Vermetten, E Giltay. PTSD Symptom Dynamics after the Great East Japan Earthquake: Mapping the Temporal Structure using Dynamic Time Warping. The 22nd World Congress of Psychiatry, August 2022, Bangkok, Thailand.
 6. 古賀農人、戸田裕之、中川 隆一、長峯正典、中島弘幸、木下学、浅井史穂、佐藤真有実、松井茉莉江、三井由美、吉野相英 不安および抑うつ様行動発現に対する抑制効果を示すリポ多糖プレコンディショニングは脳内マクロファージの構成を変化させる 第41回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 2022年10月 兵庫
 7. 古賀農人、戸田裕之、中川隆一、佐藤真有実、長峯正典、浅井史穂、三井由美、吉野相英 不安症状の病態形成においてマイクログリアは正にも負にも寄与する 第44回 日本生物学的精神医学会年会 2022年11月 東京
 8. 中川隆一、戸田裕之、古賀農人、佐藤真有実、中島弘幸、藤田真敬、長峯正典、吉野相英, 慢性コルチコステロン暴露マウスにおけるマイクログリアの表現型と、神経炎症に対するLipopolysaccharide プレコンディショニングの効果. 第41回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 2022年10月 兵庫
 9. 中川隆一、戸田裕之、古賀農人、佐藤真有実、中島弘幸、藤田真敬、長峯正典、吉野相英, 慢性コルチコステロン暴露マウスにおけるマイクログリアの表現型と、神経炎症に対するLipopolysaccharide プレコンディショニングの効果. 第44回日本生物学的精神医学会年会 2022年11月 東京
 10. 北野誠人、脇文子、江戸直樹、長峯正典 認知行動教育及びマインドフルネス教育による介入効果検証：ランダム化比較試験 第68回防衛衛生学会 2023年2月 東京
 11. 江戸直樹、北野誠人、脇文子、古賀農人、戸田裕之、長峯正典 COVID-19流行下の防衛省職員のメンタルヘルス～防衛省のメンタルヘルスチェックデータを用いた検討～ 第68回防衛衛生学会 2023年2月 東京
 12. 長峯正典 災害支援者および医療者が被る心理的苦悩と共感性との関連について 西宮市医師会精神科医会学術講演会 2023年2月 兵庫

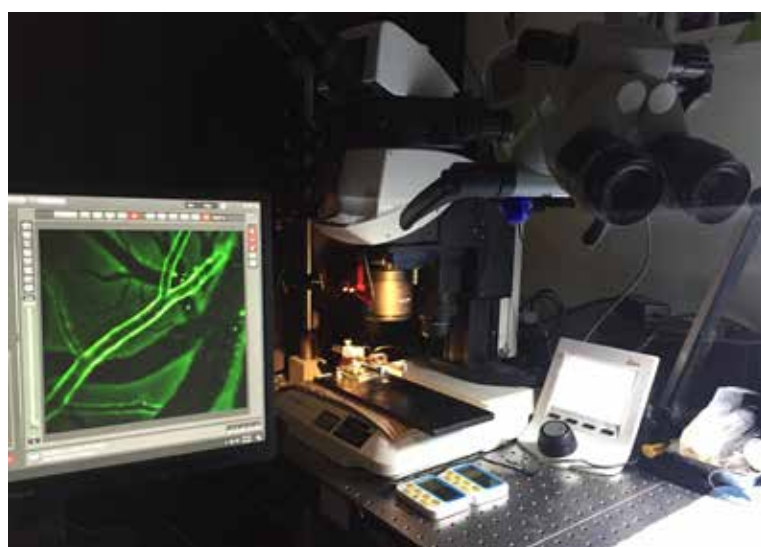
生体情報・治療システム研究部門

教 授 佐 藤 俊 一

准 教 授 川 内 聡 子

助 教 角 井 泰 之

助 教 小 牟 田 縁



生体情報・治療システム研究部門



部門の概要

大規模災害やテロによる負傷者、および特殊な任務に携わる自衛隊員の救命と生活の質の向上を目的に、光・レーザー技術を基盤とした新しい計測・診断・治療システムの開発をめざした研究に取り組んでいます。主要研究テーマは右図の通りで、ここでは下記の課題について報告します。



令和4年度 研究報告課題

各種外傷の診断・治療技術の開発

(1) レーザー誘起衝撃波 (LISW) を用いた頭部爆傷研究

爆発に起因する頭部外傷（頭部爆傷）の病態・メカニズムの解明と、医学対処法の開発を目的として、以下の項目につき実施、検討しました。

- ア 衝撃波により脳で発生する一酸化窒素の in vivo イメージング
- イ 衝撃波曝露における脳の血管内皮細胞表面のグリコカリックスの変化
- ウ 衝撃波が引き起こす髄膜損傷のメカニズム：In silico 解析
- エ 衝撃波の脳排出系（Glymphatic system）への影響

(2) 移植用3次元皮膚培養技術の開発：レーザー加工により作製した生分解性メンブレンの応用

新たな移植用皮膚として期待されるヒト3次元培養皮膚の実用化に向けて、昨年度までに開発した微細加工生分解性メンブレンと培養皮膚を一体でマウス皮膚に移植し、同皮膚の生着が問題なく得られ、開発したメンブレンが移植に有用であることが示された。

令和4年度研究報告書

○ 研究の目的

光・レーザー技術を基盤とした、大規模災害・テロ等において多発が想定される各種外傷患者の救命、ないしQOL（生活の質）の向上を目的とした診断・治療技術の開発、および特殊環境下における生体モニタリング技術の開発。

○ 研究報告の概要

1 研究課題：「各種外傷の診断・治療技術の開発」

（統一研究テーマ：有事・災害時、
平時（国際貢献時を含む）ともに有用な研究）



（1）レーザー誘起衝撃波を用いた頭部爆傷の研究

ア 衝撃波により脳で発生する一酸化窒素の in vivo イメージング

研究担当者

川内聡子¹，村松佑里子¹，幸野明美¹，小牟田 縁¹，西舘 泉^{1,2}，足立 健³，
Ibolja Cernak^{1,4}，佐藤俊一¹

¹生体情報・治療システム研究部門，²東京農工大学大学院，

³内科学講座循環器内科，⁴Mercer University School of Medicine

【背景・目的】

爆発に起因する頭部外傷を頭部爆傷（blast-induced traumatic brain injury, bTBI）と言い、2000年以降、即製爆発装置を用いたテロの多発により、世界規模で受傷者が急増している¹。米軍ではTBIの累積受傷者数が46万人に達し²，うち半数から8割が爆発に起因している。bTBIの特徴は、受傷直後に軽症と診断されながら、後に高次脳機能障害やうつ、不安等の精神症状を高率に発症することであり、心的外傷後ストレス障害（PTSD）との関連も指摘されている。これらの症状は、爆発に伴う衝撃波の脳への作用が主な原因と考えられているが、bTBIの病態、メカニズムには今なお不明な点が多く、医学対処法は確立していない。ここ数年の世界情勢の急速な悪化により、爆弾によるテロや攻撃は再び急増しており、我が国においても対策が強く求められている。

我々は、爆発衝撃波が脳に引き起こす現象を解明するため、レーザー誘起衝撃波（laser-induced shock wave, LISW）を用いた研究を進めている³⁻⁶。衝撃波は、急激な圧力上昇を伴う圧力波であり、組織に急峻な圧力勾配と応力を生じさせる。これまでにLISWを適用したラット脳のリアルタイム診断を行い^{3,4}，直後に大脳皮質の神経細胞で大量のイオンの流入を伴う拡張性脱分極（Cortical spreading depolarization, CSD）と呼ばれる現象が発生し、その後脳に低酸素が長時

間続く現象を観測した^{3,4}。このような脳の血行動態異常が生じる原因について、我々は一酸化窒素（Nitric oxide, NO）が関与すると考え、図1に示す仮説を立てた。昨年度までにラット脳のin vivo NOイメージングを行って本仮説を支持する結果を得たが、本年度はさらなる仮説の検証を目的として、①NO産生の時空間変化、②NO産生におけるNO合成酵素の関与、③NO産生におけるCSDの関与につき検討を行った。

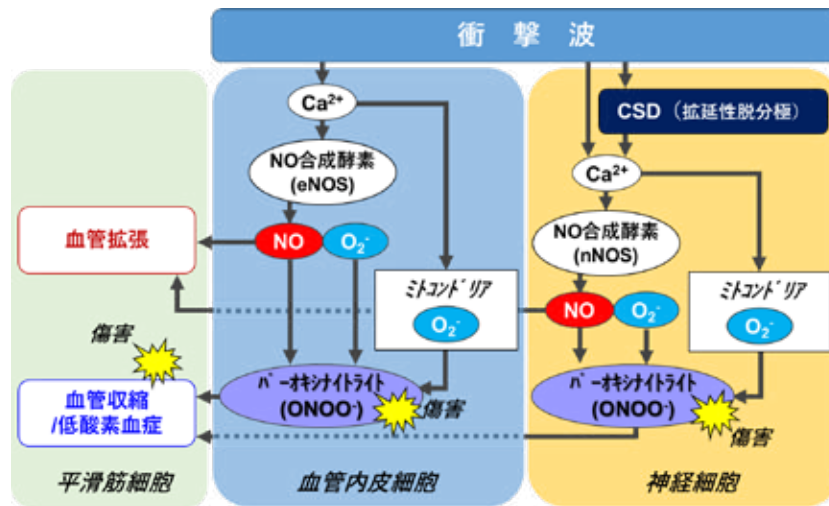


図1 NOの産生により低酸素血症が発生するメカニズム（仮説）。衝撃波とそれに続くCSDは、それぞれ血管内皮細胞、神経細胞のCa²⁺濃度を上昇させ、NO合成酵素を活性化してNOを産生する。機械刺激に反応する特性を有する血管内皮細胞ではCa²⁺濃度上昇が顕著と考えられ、同時にミトコンドリアの活性酸素（O₂⁻）生成を促進し、これがNOと反応して細胞毒性の強いパーオキシナイトライトを生成し、血管障害を来す。神経細胞で産生したNOは拡散により移動し、この反応を強化する。

【方法】

麻酔下でラット左頭頂部に観察用の窓を作製し、露出した脳表軟膜上にNO検出用蛍光プローブDAF-2DAを滴下し、蛍光実体顕微鏡で脳表を観察した。

開窓部前方に、CSDの発生が確率的に起きる条件である力積（正圧力の時間積分値）約14 Pa·sで直径4 mm のLISWを頭蓋骨ごしに適用し、直後から1時間のタイムラプス観察（一定時間間隔での観察）を行った。NO合成酵素の関与につき調べるため、NO合成阻害剤L-NAME（NGニトロアルギニンメチルエステル）を衝撃波適用24時間前に静脈内投与し、非投与群との比較を行った。

【結果・考察】

LISWを適用すると、直後に動脈血管壁においてNO由来の蛍光が増加し、続いてCSDが発生・伝搬すると、血行動態異常の開始にほぼ一致してさらなる蛍光強度の増大が観察された（衝撃波適用後7～30分、図2）⁷。血管の蛍光ラインプロファイルを解析したところ、血管壁の蛍光の増加（NO産生）に伴い血管径が減少する様子が捉えられ、産生したNOが血管を傷害し血管収縮を起こしたものと推察された（図2右上）⁷。衝撃波適用30分後における適用前からの蛍光増加率は、衝撃波を適用していないコントロール群より有意に高かった。L-NAME投与群では有意な蛍光増加は見られず、衝撃波によるNO産生にNO合成酵素が関与していることが示された（図3）⁷。

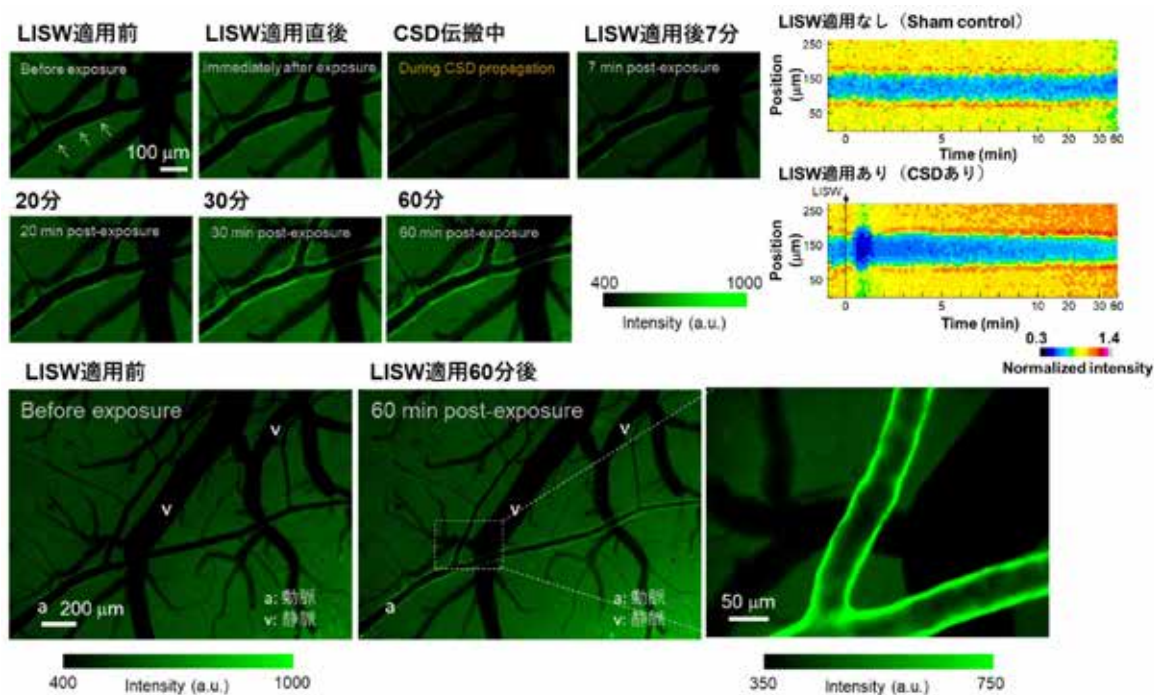


図2 衝撃波を適用したラット脳のin vivo NOイメージングの結果：各時刻の蛍光画像および蛍光のラインプロファイルの時間変化（右上）⁷。

またCSDが発生しない場合、コントロール群およびCSDが発生した群のいずれとも有意差が認められなかったことから、観測されたNOの産生は、衝撃波単独およびCSDの発生の両方によるものと考えられた（図4）⁷。以上の結果は、図1に示した我々のNO仮説を支持している。衝撃波によるNO産生は、血行動態異常を来すのみならず、脳血管に傷害を与え血液脳関門の破綻や炎症に関与する可能性があり、関連する反応を抑制することが病態の制御に重要と考えられた。

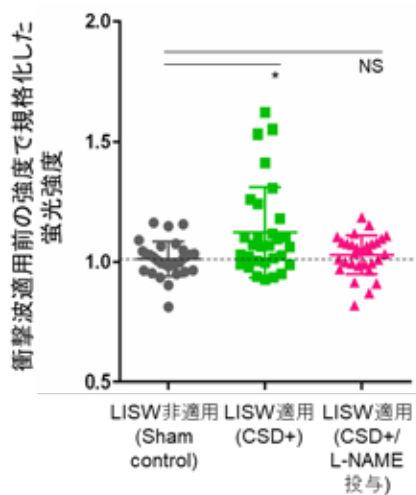


図3 衝撃波適用30分後のNO由来蛍光強度変化の比較：L-NAME投与群では有意な増加は見られない⁷。

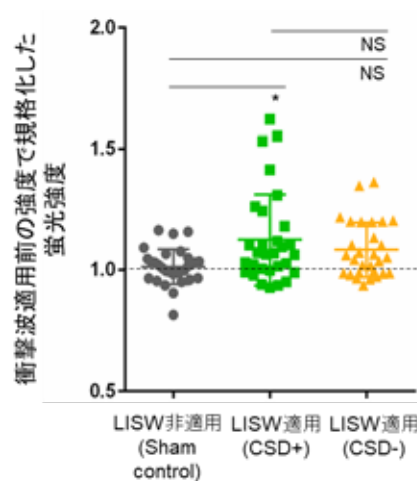


図4 衝撃波適用30分後のNO由来蛍光強度変化の比較：CSDの有無による有意差は見られない⁷。

本研究は、防衛医学先端研究「頭部爆傷のメカニズム解明・モデル化と医学対処法に関する国際共同研究」の一環として行われた。

参考文献

- 1 J. V. Rosenfeld *et al.*, *Lancet Neurol.* 12, 882-893 (2013).
- 2 <https://health.mil/Military-Health-Topics/Centers-of-Excellence/Traumatic-Brain-Injury-Center-of-Excellence/DOD-TBI-Worldwide-Numbers>
- 3 S. Sato *et al.*, *PLoS ONE* 9, e82891 (2014).
- 4 S. Kawauchi *et al.*, *J. Biomed. Opt.* 24, 035005 (2019).
- 5 M. Jitsu *et al.*, *Front. Neurol.* 12, 621549 (2021).
- 6 S. Kawauchi *et al.*, *J. Neurotrauma.* 39, 1533-1546 (2022).
- 7 S. Kawauchi *et al.*, *J. Neurosci. Res.* doi: 10.1002/jnr.25172. Online ahead of print. (2023).

イ 衝撃波曝露における脳の血管内皮細胞表面のグリコカリックスの変化

研究担当者

小牟田 縁¹, 川内聡子¹, I. Cernak², 佐藤俊一¹

¹生体情報・治療システム研究部門, ²Mercer University School of Medicine

【背景・目的】

爆発時に発生する衝撃波は脳に様々な損傷を及ぼす（頭部爆傷）。血管内表面の糖鎖類より成る層状の構造はグリコカリックス（Endothelial Glycocalyx: EGCX）と呼ばれ、血圧、免疫細胞の動態や内皮細胞の機能維持など、様々な働きを担っている。衝撃波管を使用したラット実験において脳内のEGCXに損傷が認められたことが報告されているが（Hall A *et al.*, 2017）、動圧（爆風）による加速の影響（3次メカニズム）が無視できないため、衝撃波の影響（1次メカニズム）は不明である。そこで本研究は、衝撃波のみを生じるレーザー誘起衝撃波（LISW）による脳のEGCXの変化を解析し、その結果と頭部爆傷で報告されている症状との関連を解明することを目的とした。

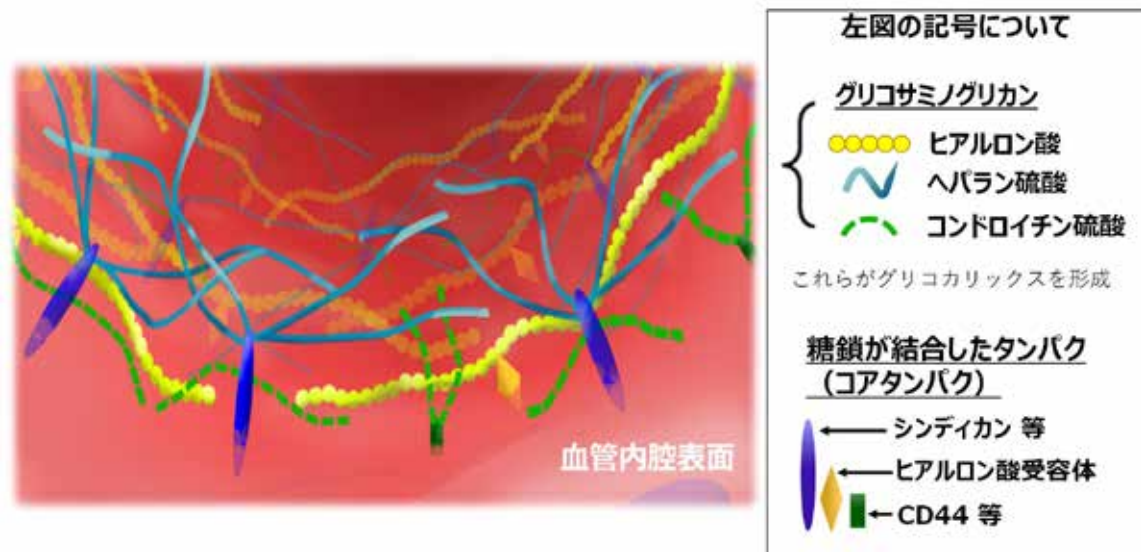


図1 グリコカリックスの模式図。糖類が内皮細胞の内表面を覆っている。糖鎖はタンパクに結合するなど存在様式も様々である。

【方法】

LISWをラット頭頂部に適用し、3時間、2週間、4週間後においてEGCXを染色し、透過型電子顕微鏡で観察した。

【結果・考察】

図2に透過電子顕微鏡画像を示す。LISW適用後4週目において、EGCXの減少や剥離と思われる現象が多く観察された。

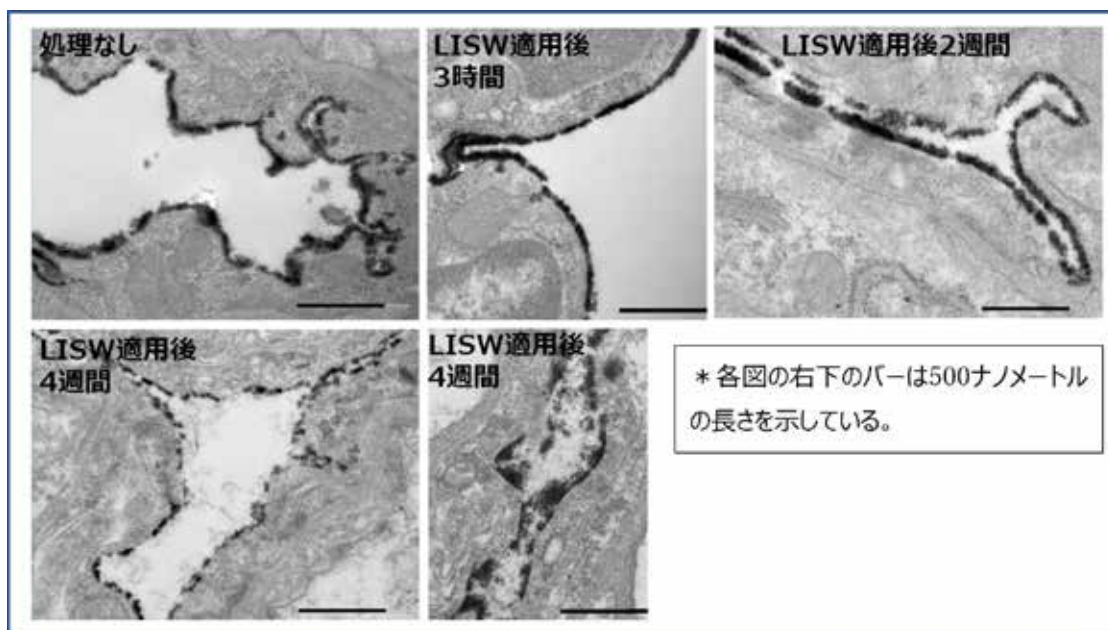


図2. EGCXの電顕像。血管内壁の黒い部分がEGCX。損傷後4週間でEGCXが薄い（下段左）、または異常な形状（下段右、おそらく剥離している）が多く見られた。

今後、再現性を確認するとともに、EGCXの面積を血管壁の長さで規格化し、EGCXの厚さを定量評価する予定である。また、EGCXへ影響を及ぼすと言われている現象、例えば炎症や血管内皮細胞の細胞ストレス等の現象が起きているかについても解析を行う予定である。

【結語】

衝撃波適用から4週間後にEGCXに異常が多く観察された。今後、定量的評価法を確立し、EGCXの異常と頭部爆傷の病態の関連とその制御法につき検討する計画である。

謝辞

本研究は防衛医学先端研究「頭部爆傷に関する国際共同研究」の一環として行われた。

ウ 衝撃波が引き起こす髄膜損傷のメカニズム：In silico 解析

研究担当者

川内聡子，幸野明美，村松佑里子，小牟田 縁，佐藤俊一
生体情報・治療システム研究部門

【背景・目的】

前項で述べたように、我々は頭部爆傷（bTBI）の病態とメカニズムの解明をめざして研究に取り組んでいる。これまでにラット頭部にレーザー誘起衝撃波（LISW）を適用するモデルにおいて、頭蓋骨直下にある髄膜（硬膜，くも膜，軟膜），特に硬膜中の血管が損傷を受けやすく（図1），髄膜が損傷を受けると、受傷後数日から数週間にわたり、活性化したグリア細胞が損傷部位に集積し、グリア瘢痕を形成することを観測した。グリア瘢痕はbTBI受傷者の死後脳で観測されている重要な病態である¹。そして上記髄膜の損傷は、音響インピーダンス（音速と密度の積，簡単には組織の硬さ）が大きく異なる髄膜各層における衝撃波の反射や負圧の発生に起因すると考えた²。

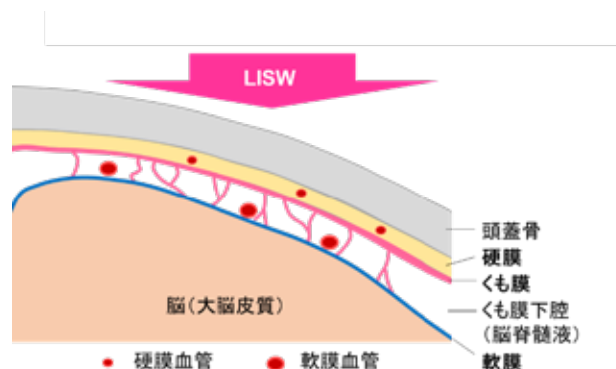


図1 衝撃波によるラット硬膜の微小出血（左）髄膜の構造（右）。

本研究では、この髄膜損傷のメカニズムを解明するため、ラット頭部のin silicoによる衝撃波圧力伝搬解析を行い、髄膜各層にかかる圧力・応力を解析し、硬膜血管の易損傷性を検証することを目的とした。

【方法】

ラット髄膜の衝撃波伝搬圧力を解析するため、ラット頭皮、皮下組織、頭蓋骨、硬膜（硬膜血管を含む）、くも膜、くも膜下腔（脳脊髄液層、脳表血管を含む）、軟膜、大脳皮質からなる8層の計算モデルを構築した。圧力伝搬解析に有限要素法（解析対象を多数の微小要素でモデル化して解析する方法）を用いて、実験と同じ衝撃波の圧力荷重（力積 25 Pa·s, 時間幅 1 μs）を入力して伝播圧力と応力の解析を行った。

【結果・考察】

衝撃波が頭皮から入射すると、正圧の波が脳中心部方向へと進行し、その過程で、各組織界面で反射波が形成され、それらが重なり合うことで大きな負圧が形成されることが示された。一般に生体組織は正圧（圧縮波）より負圧（膨張波）に脆弱であることが知られているが、形成された負圧が硬膜血管周辺に到達すると、硬膜血管の体積が膨張し、大きく振動変形することが示された。血管壁には30-40%に達する大きな引張ひずみが発生しており、このような血管の変形は、くも膜下の脳表血管では見られず、硬膜血管に特異的な脆弱性が裏付けられた。これには硬膜の外側が頭蓋骨に密着して存在する一方、内側が脳脊髄液と接しており、硬膜内を負圧が多重反射することと関係していると考えられた。今後このような髄膜の衝撃波に対する脆弱性がヒトにおいても見られるか調べるため、ヒト頭部のモデルを構築してシミュレーションを行うとともに、脳内で負圧の発生しにくい頭部防護法の設計に活用する計画である。

謝辞

本研究は、防衛医学先端研究「頭部爆傷のメカニズム解明・モデル化と医学対処法に関する国際共同研究」の一環として行われた。In silico解析は（株）ランスモアにご協力いただいた。

参考文献

- 1 S. B. Shively *et al.*, *Lancet Neurol.* 15, 944-953 (2016).
- 2 A. Nakagawa *et al.*, *J. Neurotrauma* 28, 1101-1119 (2011)

工 衝撃波の脳排出系（Glymphatic system）への影響

研究担当者

川内聡子, 野澤孝司, 村松佑里子, 幸野明美, 佐藤俊一
生体情報・治療システム研究部門

【背景・目的】

脳にはリンパ管がなく、脳における老廃物排出機構は長らく不明であったが、2012年に Iliffらにより Glymphatic system と呼ばれる老廃物排出機構が提唱され注目を集めている¹。Glymphatic system は、脳の血管壁を取り囲むアストロサイトの足突起に発現している水チャネルタンパク（アクアポリン4, AQP4）が関与する排出機構で、脳脊髄液（CSF）がくも膜下腔から動脈血管周囲腔へ流入し、AQP4が水移動を促進して脳間質液（ISF）となり、静脈血管周囲腔を経由して髄膜リンパ管等から排出されるというものである（図1）。頭部爆傷（bTBI）においては、

衝撃波が脳内を伝搬する際、音響インピーダンス（音速と密度の積）が異なる媒質の界面で反射され負圧を発生しやすく、血管壁はその影響により損傷を受けやすい部位のひとつであり、老廃物の排出不全による異常タンパク等の蓄積が懸念される。本研究では、衝撃波の脳排出系への影響を調べるため、CSFトレーサー（CSFの存在により赤い蛍光を発する）を用いてLISWに曝露したラット脳のCSF排出機能とAQP4の発現の変化を調べることを目的とした。



図1 Glymphatic systemによる脳老廃物排出のメカニズム。文献2を改変。

(doi: 10.1016/j.tips.2022.09.007)。

Copyright © 2022 Persson, Uusalo, Nedergaard, Lohela, and Lilius (CC BYライセンス)

【方法】

麻酔下でラット左頭頂部に直径4 mm、力積約30 Pa·sのLISWを頭蓋骨ごしに適用した。1日後に麻酔下にCSF蛍光トレーサーOA-647（Ovalbumin, Alexa Fluor 647 Conjugate, 分子量45 kDa）を脳槽投与し、くも膜下腔を経由して脳実質に流入する35-50 min後に脳を灌流固定により摘出し、トレーサーの脳内分布を観察した。同じくLISW適用1日後、脳を灌流固定後摘出し、AQP4の免疫組織化学染色を行った。

【結果・考察】

脳内に投与したCSFトレーサーOA-647は、LISWを適用していないラットでは脳全体に広く分布し、大脳皮質、線条体、および白質の血管周囲腔ならびに脳実質への流入が確認されたのに対し、衝撃波を適用したラットでは、LISW適用直下の大脳皮質でOA-647の流入が大きく低下した。一方AQP4は、LISW非適用ラット脳では主として血管周囲に分布するが、衝撃波適用1日後では発現が減少し、CSFトレーサーの脳実質への流入減少に関係していると考えられた。これらの結果は、衝撃波によるGlymphatic systemの異常を示唆しており、今後このような異常がどのくらい持続するか、二次的な脳損傷とどのように関係するかについて検証を進める計画である。

謝辞

本研究は、防衛医学先端研究「頭部爆傷のメカニズム解明・モデル化と医学対処法に関する国際共同研究」の一環として行われた。

参考文献

- 1 J. Iliff *et al.*, *Sci. Transl. Med.* 4, 147ra111 (2012).
- 2 T. Lohela, *Nat. Rev. Drug Discov.* 21, 763-779 (2022).

(2) 移植用3次元皮膚培養技術の開発：レーザー加工により作製した生分解性メンブレンの応用

研究担当者

角井泰之¹, 宮崎裕美², 川内聡子¹, 齋藤大蔵³, 佐藤俊一¹

¹生体情報・治療システム研究部門, ²医療工学研究部門, ³外傷研究部門

【目的】

大規模災害やテロ等の発生時には、多くの被災者が皮膚に重篤な損傷や汚染を被り、大量の移植皮膚が必要になる事態が想定される。しかし、本邦の移植皮膚（凍結保存されたヒトの皮膚）の貯蔵量は、慢性的なドナー不足により極めて限定的である。そこで我々は、その代替となる新たな移植皮膚として、大阪大学の明石らが開発した血管構造を持つ3次元培養皮膚¹に着目し、共同研究を開始した。この培養皮膚を、マウスの背部に作製した皮膚欠損創に移植する実験を行った結果、臨床で用いられている皮膚代替物（人工真皮）を移植した場合に比べ、早期に良好な生着と血流再開が得られることを確認した²。しかし、同皮膚を移植する際、多孔質のPET（ポリエチレンテレフタレート）製メンブレン（この膜の上に皮膚を培養する）から剥離すること、また剥離したあとの薄く柔らかい皮膚をハンドリングすることに困難を伴うことが明らかになった。これらは、移植皮膚の面積が大きくなるほど問題となることが予想される。

そこで我々は、培養した3次元皮膚をメンブレンから剥がすことなく移植できるように、生体内で分解される性質（生分解性）を持つメンブレンの応用を発案した。昨年度までに、生分解性高分子であるPLGA（乳酸・グリコール酸共重合体）の薄膜を超短パルスレーザー（時間幅が10の13乗分の1秒程度と非常に短いレーザーで高分子などの微細加工が可能）により穿孔加工しメンブレンを作製する方法、および同メンブレンを用いて3次元皮膚を培養する方法を確立した。今年度は、この方法により培養した皮膚をメンブレンと一体でマウスに移植し、同皮膚の生着が問題なく得られるかどうか確認を行った（図1）。

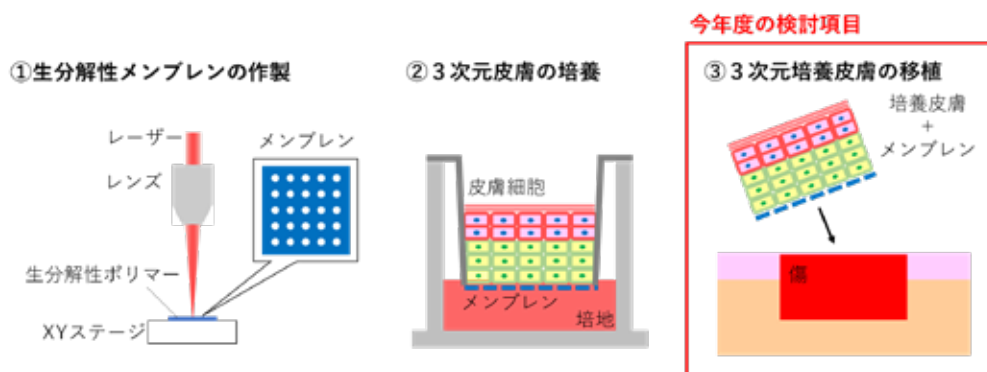


図1 レーザー加工（穿孔）により生分解性メンブレンを作製し、その上で3次元皮膚を培養することで、メンブレンから剥がすことなく移植可能。

【方法】

レンズで集光した超短パルスレーザーをPLGAの薄膜に照射し、50 μm 間隔で多数の細孔（直径約4 μm ）を形成することで多孔質のメンブレンを作製した。このメンブレンを細胞毒性が極めて低いフッ素樹脂から成る円筒体で挟み、その上に皮膚細胞を撒き、細孔を通じて下から細胞に培地を供給しながら8日間培養を行った（図2）。培養した3次元皮膚をメンブレンごと直径5 mmに切り離し、マウスの背部に作製した同じ面積の皮膚欠損創に移植した（図3）。7日後、移植部と周辺の皮膚を切除し、ホルマリンで固定したのち厚さ10 μm に薄切し、ヘマトキシリン・エオシン（HE）で染色した。このとき、ヘマトキシリンにより組織中の細胞核が青く染まり、エオシンにより細胞全体（細胞質）が赤く染まるが、メンブレンは染まらない。

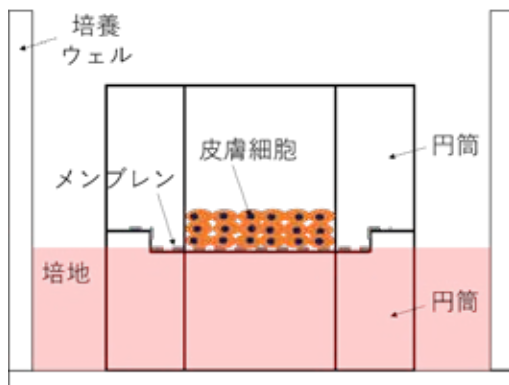


図2 生分解性メンブレンを用いた3次元皮膚の培養方法。

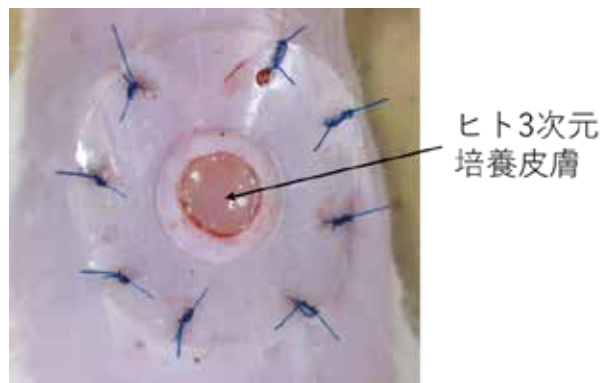


図3 培養した3次元皮膚を生分解性メンブレンと一体でマウスに移植。（移植直後の写真）

【結果・考察】

HE染色した組織を観察した結果、移植した3次元皮膚の下にメンブレンが観察された。一方、メンブレンの細孔は直径が約 $\sim 10 \mu\text{m}$ に広がっており、培養中と移植後に分解が進んでいたことが示された。また、これらの孔を介して移植した3次元皮膚と移植床とが結合している様子が観察された。これらの結果は、上記の先行研究における移植実験の結果（従来のPET製メンブレンから剥がした3次元皮膚を同じマウスモデルへ移植した結果）と大差はなく、提案した生分解性メンブレンによる皮膚生着の阻害は最小限であった。また、明らかな血流の異常や免疫担当細胞の遊走（異物に対する免疫反応）など、メンブレンと一体で皮膚を移植したことが原因と考えられる有害作用も確認されなかった。以上より、レーザー加工により作製した生分解性メンブレンが、3次元皮膚の培養、そして移植に有用であることが示された³。

謝辞

本研究は、防衛医学先端研究「特殊衛生防護機能の強化による自衛隊医療対処能力の向上に関する研究」の一環として行われた。

参考文献

- 1 M. Matsusaki *et al.*, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 74, 95-103 (2014).
- 2 H. Miyazaki *et al.*, *Sci. Rep.* 9, 7797 (2019).
- 3 Y. Tsunoi *et al.*, *Tissue Eng. Part A* (in press).

○ 研究業績等

[原著論文]

- 1 Tsunoi Y, Takayama I, Kondo N, Nagano Y, Miyazaki H, Kawauchi S, Akashi M, Saitoh S, Terakawa M, Sato S. Cultivation and Transplantation of 3-dimensional Skins with Laser-processed Biodegradable Membranes. *Tissue Eng. Part A*. 2023 (in press). doi: 10.1089/ten.TEA.2022.0208
- 2 Kawauchi S, Inaba M, Muramatsu Y, Kono A, Nishidate I, Adachi T, Cernak I, Sato S. In vivo imaging of nitric oxide in the male rat brain exposed to a shock wave. *J Neurosci Res*. 2023 Feb 6. doi: 10.1002/jnr.25172.
- 3 Tsunoi Y, Sato N, Nishidate I, Ichihashi F, Saitoh D, Sato S. Burn depth assessment by dual-wavelength light emitting diodes-excited photoacoustic imaging in rats. *Wound Repair Regen*. 2023 Jan;31(1):69-76. doi: 10.1111/wrr.13056.
- 4 Tsunoi Y, Miyazaki H, Kawauchi S, Akagi T, Akashi M, Saitoh D, Sato S. Viability Improvement of Three-Dimensional Human Skin Substitutes by Photobiomodulation during Cultivation. *Photochem Photobiol*. 2022 Nov;98(6):1464-1470. doi: 10.1111/php.13642.
- 5 Kawauchi S, Yoshida K, Osawa T, Muramatsu Y, Nawashiro H, Karna SP, Gupta RK, Nishidate I, Sato S. Effects of Isolated and Combined Exposure of the Brain and Lungs to a Laser-Induced Shock Wave(s) on Physiological and Neurological Responses in Rats. *J Neurotrauma*. 2022 Nov;39(21-22):1533-1546. doi: 10.1089/neu.2022.0101.
- 6 Yamamura K, Kiri N, Tomura S, Kawauchi S, Murakami K, Sato S, Saitoh D, Yokoe H. The cause of acute lethality of mice exposed to a laser-induced shock wave to the brainstem. *Sci Rep*. 2022 Jun 8;12(1):9490. doi: 10.1038/s41598-022-13826-6.
- 7 Rai D, Iwanami M, Takahashi Y, Komuta Y, Aoi N, Umezawa A, Seko Y. Evaluation of photoreceptor-directed fibroblasts derived from retinitis pigmentosa patients with defects in the EYS gene: a possible cost-effective cellular model for mechanism-oriented drug. *Stem Cell Res Ther*. 2022 Apr 11;13(1):157. doi: 10.1186/s13287-022-02827-x.
- 8 Horiuchi M, Hongo Y, Yamazaki K, Komuta Y, Kadoya M, Takazaki H, Furuya Y, Matsui T, Sakamoto N, Ikewaki K, Suzuki K, Kaida K. An Atypical Phenotype of Chronic Inflammatory Demyelinating Polyradiculoneuropathy Associated with Ocular Palsy, IgM-anti Ganglioside Antibody, and Fever-induced Recurrence. *Intern Med*. 2022 Apr 15;61(8):1247-1252. doi: 10.2169/internalmedicine.7526-21.

[総説]

- 1 角井泰之, 佐藤俊一, 再生医療における光・レーザー技術応用: 総論, OPTORONICS, No.485, pp. 58-60, 2022年5月.
- 2 角井泰之, Photobiomodulation (光生体調節作用) を用いた移植用3次元培養皮膚の品質制御, OPTORONICS, No.485, pp. 74-77, 2022年5月.

[特許]

鳥畑厚志, 佐藤俊一, 川内聡子, 視覚異常検出方法, 視覚異常検出装置及び操縦支援システム, 特許第7189404号 (2022).

広域感染症疫学・制御研究部門

教 授 加 來 浩 器

准 教 授 金 山 敦 宏

助 教 江 尻 寛 子



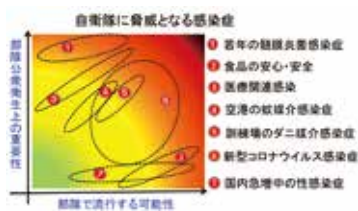
広域感染症疫学・制御研究部門



部門の概要

国内外の日々の感染症流行等に関する情報を収集し、自衛隊の諸活動に与える感染症のリスク評価を行います。(IDEA : Infectious Diseases Epidemiology Analysis)

リスク評価によって脅威となる疾患に関する疫学研究、媒介動物等の生息調査と病原体保有状況の調査、アウトブレイク発生時の実地疫学調査などを実施します。(FEIC : Field Epidemiology and Infection Control)



感染症リスク評価 (IDEA)



部隊での保菌調査



蚊・ダニ類の調査

疫学調査研究 (FEIC)

令和4年度 研究報告課題

1 感染症疫学に基づく運用的研究

(1) 感染症ネットワーク構築に関する研究

IDEA を基に国、地方自治体、大学、学会などとネットワークを構築、意見交換、教育支援などを実施

(2) FEIC による疫学調査研究など

部隊、自治体、団体等からの要請による実地疫学調査、臨床解析研究を実施

2 感染症疫学に関する基盤的研究

(1) 防衛省・自衛隊における感染症リスク評価

ア 髄膜炎菌保菌調査

イ 食中毒に関する研究

ウ レプトスピラに関する研究

エ 南西地域における蚊の生息調査

(2) 「感染症リスク評価に基づく研究」の基礎となる研究・開発分野

ア 捕集した蚊のウイルス保有状況

(3) 感染症疫学・制御の人材育成

ア アウトブレイク調査のススメ 第3版

イ 防衛医学研究センター分子生物学研究室の整備と基礎教育

令和4年度研究報告書

○ 研究の目的

感染症危機管理体制基盤(感染症対策のネットワーク化、人材育成事業、感染制御・サーベイランス活動)の構築

○ 研究報告の概要

1 研究課題:「感染症疫学に基づく運用的研究」

(統一研究テーマ:平時(国際貢献時を含む)のための研究)



解析・評価

研究担当者

加來浩器、金山敦宏、江尻寛子

概要

(1) 感染症ネットワーク構築に関する研究

本研究部門では、感染症の流行に関する疫学解析やリスク評価を行っているが、これらの情報源として、国(厚生労働省など)、地方自治体、大学、医学関連学会などとの感染症ネットワークを構築している。防衛省・自衛隊の諸活動に直接・間接的に影響が及ぶような情報に接した際には、内局、各幕僚監部などへ情報提供や情報配信を行っている。内閣府の戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)の「国土レジリエンス(防災・減災)の強化」において、次世代モビリティ活用「水素燃料電池バスの防災・感染症対策(筑波大学)」のサブプロジェクトディレクター(SPD)として社会実装に向けた取り組みを総括した。文部科学省の指示のもと国立研究開発法人日本医療研究開発機構AMEDが実施した「世界トップレベルの研究開発拠点形成事業」について、事業の評価者として参画した。厚生労働省の健康局長が主催する「感染症危機対応医薬品等の利用可能性確保に関する検討会」において委員として参加した。東京都に対しては東京都iCDC専門家ボード(人材育成)の一員としての委員会活動を行った。(加來)

令和4年度から、慶応義塾大学医学部感染症学教室から三木田馨氏、在日米軍環太平洋公衆衛生部隊医学昆虫部から神保恵氏を客員研究員に迎えることになった。

(2) FEIC(Field Epidemiology and Infection Control)による疫学調査研究など

FEICとは、感染症の発生現場において疫学調査を行い、効率的・効果的な感染制御策(Infection Control)の提言を導き出す一連の活動を指す。防衛省・自衛隊では経験できない特異な事例に対しても、地方自治体や団体等からの要請に応じて、活動を行っている。プロ野球機構に関連した事例(7件)の疫学調査並びに遺伝子解析結果に基づく感染経路の推定を行った。音楽団体に関連してクラシック音楽祭の感染対策指導及びクラスター対応(8月)、オペラ公演(令和4年8月、令和5年3月)の感染対策を支援した。(加來)

国立感染症研究所との共同研究として、新型コロナウイルス感染症入院患者の臨床情報を収集

した。これをもとにした分析で、入院時の胸部CTおよびX線画像の肺病変スコアや心拡大と重症化に関連があることが示唆され、学術誌に論文を発表した。(金山)

2 研究課題：「感染症疫学に関する基盤的研究」

(統一研究テーマ：平時（国際貢献時を含む）のための研究)

研究担当者

加來浩器、金山敦宏、江尻寛子

概要

(1) 防衛省・自衛隊における感染症リスク評価

当部門では、防衛省・自衛隊の部隊等の多様な任務、集団生活、過酷な教育訓練、医療部隊における感染対策などの考慮した「感染症のリスク評価」を行っている。その際に、①部隊衛生上の重要性（Military Public Health Impact：発生頻度、重症度、部隊行動への影響度）と、②部隊での流行する可能性（Probability：感受性者数、予防策の有無、対応能力の有無）の2軸で検討をすすめている。

その結果、令和4年度において、自衛隊で独自の研究を推進すべき7疾患を、表1の様に選定した。

表1 令和4年度 自衛隊で独自の研究を推進すべき感染症
()は感染源

1 髄膜炎菌感染症 (ヒト)	<ul style="list-style-type: none"> - ヒトからヒトへ感染し、重症化する、集団生活でのリスク増大 - 国内での無症状保菌者の実態、保菌から発症の機序が不明
2 デング熱 (蚊)	<ul style="list-style-type: none"> - 2014年に国内感染160名が報告、一過性とはいえ、土着化の可能性あり - 各国では軍民挙げて対策を実施しているが、自衛隊では人材が不足
3 ダニ媒介性疾患(ダニ媒介脳炎、SFTS、ツツガムシ病) (ダニ類)	<ul style="list-style-type: none"> - SFTSは、九州、四国では民間人で毎年発生、報告地域が拡大中 - ツツガムシ病は隊員でも発生、沖縄(宮古)でも確認されるが実態が不明
4 マラリア (蚊)	<ul style="list-style-type: none"> - 薬剤耐性マラリア、殺虫剤抵抗性の媒介蚊に注意
5 性感染症 (ヒト)	<ul style="list-style-type: none"> - 国内各地で梅毒の患者が急増
6 新型コロナウイルス感染症(ヒト)	<ul style="list-style-type: none"> - 2020年1月からパンデミック、ワクチン回避の7波が進行中
7 レプトスピラ症 (ネズミ)	<ul style="list-style-type: none"> - 沖縄・宮崎の風土病、洪水の災害派遣では特にリスクが増大

この中で、最も優先性が高い疾患は、①髄膜炎菌感染症、③ダニ媒介性疾患、⑦レプトスピラ症の3疾患である(図1)。②デング熱、③ダニ媒介性感染症、④マラリア、⑦レプトスピラについては、地球温暖化の影響やOne Healthの関連した事象で右方に変異する可能性がある疾患である。

③演習場におけるダニ媒介性感染症に関しては、在日米軍(座間)の医学昆虫部(Eads大尉)と相互訪問、Web会議などを通じて、意見・情報交換を行った。⑦南西地域におけるレプトスピラ症に関しては、沖縄県立八重山病院の協力のもと、河川環境からの病原体検出(金山)並びに臨床検体からの診断法の確立(三木田客員研究員)について検討を開始した。

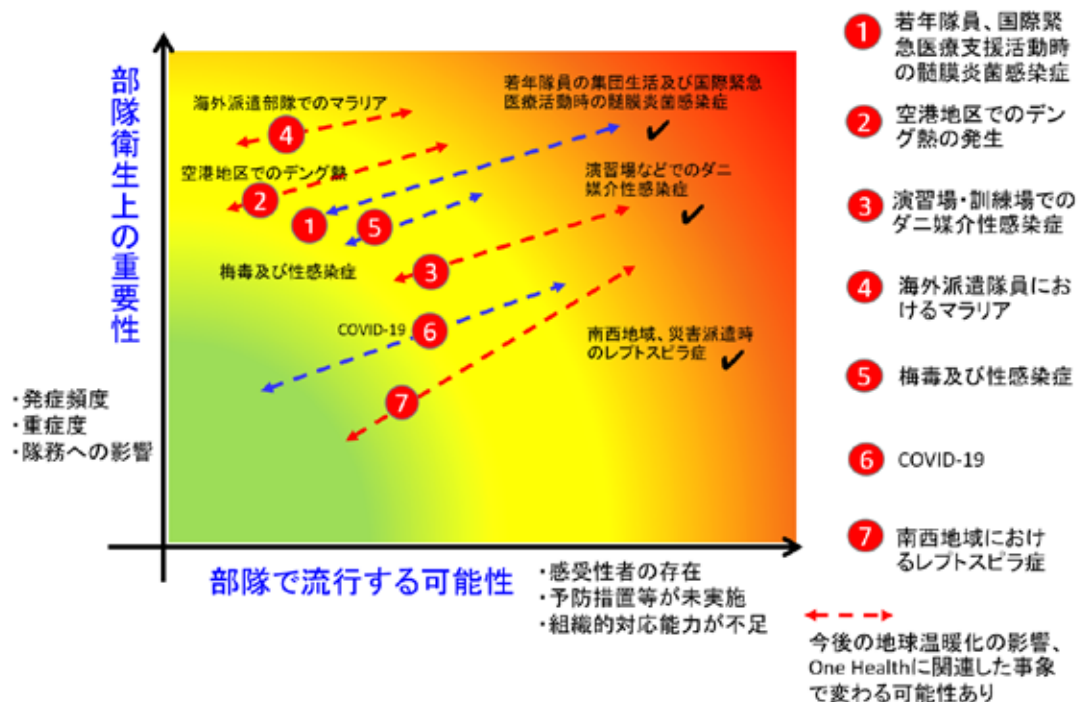


図1 令和4年度の自衛隊における感染症リスク評価

ア 髄膜炎菌保菌調査



髄膜炎菌感染症は、もともと集団生活を営む自衛隊にとってリスクが高い疾患であるが、保菌状態から発症に至るメカニズムや、発症後に濃厚接触者への伝播リスクなどに関する知見が得られてない。任務として髄膜炎の流行地へ派遣され国際緊急援助活動を行う隊員は、特に感染リスクが高い集団であると推測される。したがって、派遣の前後での保菌調査を通じて実態調査を行うことが重要である。そこで、国際緊急援助隊準備部隊である西部方面隊と東部方面隊を対象に調査を実施した。各方面隊の国際緊急援助隊準備隊員187名、および69名が参加した。咽頭拭い液からの髄膜炎菌分離培養、および莢膜多糖体遺伝子 *ctrA* の検出をLAMP法で判定したが、いずれの方面隊においても陽性者はいなかった。一方、一昨年の東北方面隊での調査では、同一の検査法で保菌割合3.4%という結果を得ている（図2）。これらは、感染症に基づく感染症発生動向調査において令和2年以降に症例届出数が顕著に減少したと矛盾しない結果といえる。本研究は防衛医学先端研究（感染症防護研究分野）の一部として実施された。（金山、加來）

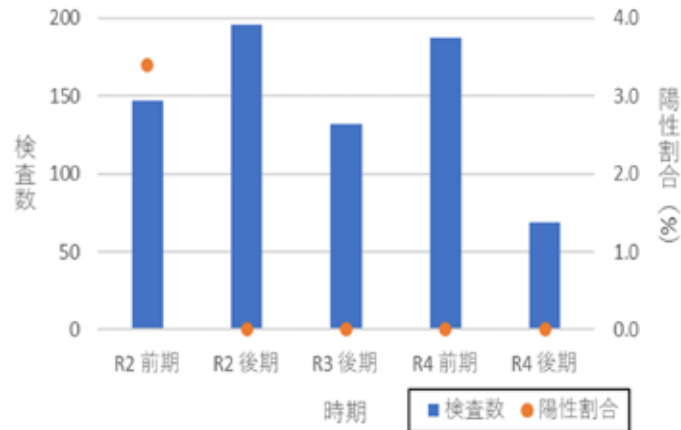


図2 令和2-4年度における髄膜炎菌保菌調査の検査数と陽性割合

イ 食中毒に関する研究



わが国におけるノロウイルス食中毒は、かつて牡蠣の喫食によるものが多かったが、近年は調理従事者を介した事例の占める割合が大きいと推測される。調理従事者における検査について現状把握と要因分析を目的として、調理施設を対象としたアンケート調査等を行っている。検査会社から令和2～4年度のデータを収集・分析し、施設別および年別の特徴を明らかにすることを試みた。4月から6月にかけてノロウイルス検査陽性割合の高いこと、新型コロナウイルス感染症の流行が始まった令和2年度は通年で陽性割合が低調であったこと、食品の販売や製造・加工に関わる業種で陽性割合の高いことがわかった。(金山)

ウ レプトスピラに関する研究



レプトスピラは沖縄県を中心に毎年報告されている人獣共通感染症である。ヒトは病原体に汚染した河川水や土壌、感染動物に触れることで経皮感染する。南西地域等での野外活動時の感染リスクを評価するため、症例の行動歴の分析や環境における病原体分布の把握を目指し、関係者との調整や病原体検出系の検討を開始した。(金山、加來)

臨床診断には抗体検査やPCR検査などの遺伝子増幅検査が用いられるが、実施可能な施設が限られているため、結果判明まで1週間程度を要するのが現状である。そこで、等温遺伝子増幅法であるLAMP法を用いた、病院や診療所の現場で実施可能な迅速診断法の開発を目指し、プライマーの検討や医療施設との調整等を行った。(三木田客員研究員)

工 南西地域における蚊の生息調査



節足動物媒介感染症

亜熱帯地域に属する航空自衛隊那覇基地は、自衛隊の国際協力活動の際の要となる空港であり、容易に外来種の蚊が侵入し、定着しやすい特性がある。隣接する那覇空港検疫所支所における蚊の生態調査において、各種熱帯病を媒介する蚊が過去に収集されている。那覇空港の近隣に所在する航空自衛隊那覇基地、陸上自衛隊那覇駐屯地においても、蚊の種類および病原体保有状況について、定期的に調査する必要があると考えられる。

蚊の定点調査を行うに当たっては、蚊の種構成に影響を与える環境（屋内、市街地、緑地など）に応じた捕集地点の設定が重要となる。適切な捕集地点を選定するためには、蚊が発生するピーク時期を中心に蚊の捕集調査を複数回実施し、基礎データを蓄積する必要がある。沖縄本島では主に初夏と秋の2回、蚊の発生のピークが存在する。これまで、初夏から夏を中心に蚊の捕集を実施してきた。令和4年はさらなる基礎データの蓄積を目的とし、新型コロナウイルス感染症の影響で延期となっていた秋のピークに合わせた蚊の調査を行った。

令和4年9月20日から22日にかけて、ドライアイス誘引剤とした蚊の捕集トラップを航空機格納庫（屋内）に1機、病院前（市街地）に1機、演習場（緑地）に3機の計5機と、駐屯地内で捕集網による蚊の捕集を実施した。病院前の捕集地点では昨年に引き続きヒトスジシマカが捕集できたが、格納庫では蚊を捕集することは出来なかった。一方演習場においては、ヒトスジシマカとネッタイエカに加えて、今回初めてトラフカクイカと日本脳炎を媒介するコガタアカイエカが捕集された。駐屯地内での捕集網による捕集結果は、これまでと同様にヒトスジシマカが多く捕集された。

本調査によって、演習場における蚊の定点調査の候補地点を見出すことができた。しかしながら、過去の調査（7月中旬）でネッタイエカが捕集された格納庫の調査地点と同様に、演習場の調査地点もまた蚊が捕集されにくい時期が存在する可能性があると考えられる。これまでの調査で候補に挙がった調査地点において、通年で定期的に蚊の捕集調査を実施することが望ましいと考えられる。（江尻）

捕集方法	場所	捕集された蚊の種	雌雄	個体数
捕集網	駐屯地	ヒトスジシマカ	♀	29
			♂	7
トラップ	病院前	ヒトスジシマカ	♀	1
	演習場①	コガタアカイエカ	♀	1
			♀	1
	演習場②	トラフカクイカ	♀	1
			♀	3
	演習場③	ヒトスジシマカ	♀	10
♂			2	

表 1 蚊の捕集結果（令和4年9月20日～22日）

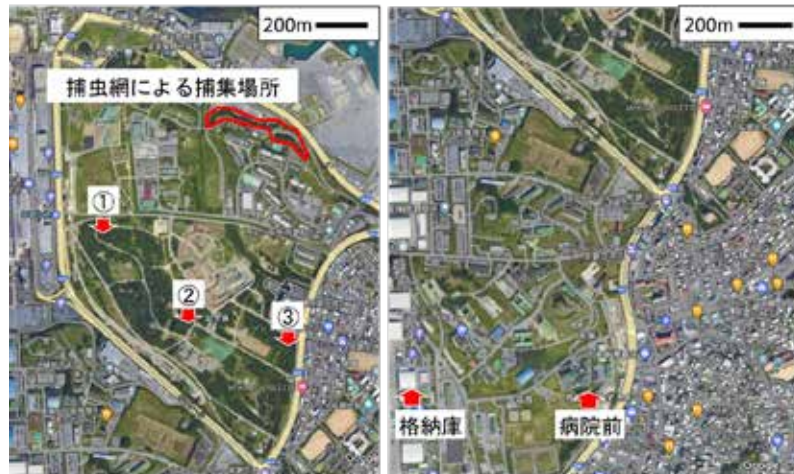


図3 蚊の捕集場所（令和4年9月20日～22日）

（2）「感染症リスク評価に基づく研究」の基礎となる研究・開発分野

ア 捕集した蚊のウイルス保有状況

亜熱帯地域に属する航空自衛隊那覇基地は、自衛隊の国際協力活動の際の要となる空港であり、容易に外来種の蚊が侵入し、定着しやすい特性がある。隣接する那覇空港検疫所支所における蚊の生態調査において、各種熱帯病を媒介する蚊が過去に収集されている。那覇空港の近隣に所在する航空自衛隊那覇基地、陸上自衛隊那覇駐屯地においても、蚊の種類および病原体保有状況について、定期的に調査する必要があると考えられる。

平成26年に発生したデング熱の国内における流行は、都内に生息するヒトスジシマカの系統で増殖しやすいデングウイルスが侵入したことも要因の一つとして考えられている。蚊媒介性感染症が国内で流行する要因として、媒介蚊の有無だけではなく、媒介蚊の系統やウイルスの伝搬力に關与する昆虫ウイルスの有無など、様々な要因が絡む可能性がある。そこで、南西地域における蚊の生息調査で捕集した蚊において、病原性ウイルスだけではなく、昆虫ウイルスを含む幅広い病原体の保有状況に関する基礎データの蓄積を目的とし、ヒトスジシマカの培養細胞（C6/36）を用いたウイルス分離を試みた。

令和元年度から令和4年度に捕集した蚊（令和2～3年度は第9航空団衛生隊、足立有香技師および自衛隊那覇病院から提供）、4種90個体を解析に用いた。種、雌雄、捕集時期、捕集地点ごとにまとめた31サンプルに対して、C6/36で2回盲継代を実施した。その結果、ヒトへの病原性を有するウイルスに特徴的な細胞変性は確認されず、培養上清からもウイルス遺伝子は検出されなかった。今後は昆虫ウイルスを含めた他のウイルスの有無について解析を進める予定である。（江尻、足立協力員）

(3) 感染症疫学・制御の人材育成

ア アウトブレイク調査のススメ 第3版

感染症のアウトブレイクが発生した際に、その概要を把握し、感染リスクを推定するための実地疫学調査が行われる。新型コロナウイルス感染症では、疫学調査によって潜伏期、感染可能期間、要隔離期間などのエビデンスを見出すことができた。本書では、クラスター対応班としての活動を通じて得られた知見などを盛り込んで、疫学調査の進め方について概説した。(加來、金山)

イ 防衛医学研究センター分子生物学研究室の整備と基礎教育

生体由来や野外で捕集した蚊やマダニを含む環境由来の試料から病原体の分離や検出を行うための実験室環境 (BSL2以上) として、防衛医学研究センター分子生物学研究室の再整備を行った。

より安心でかつ安全に共同で利用できるように、研究室の共用に必要な運営規定および利用の手引きに従い、利用者の登録申請と入室のための基礎教育 (e-ラーニング) を実施した。さらに実験を目的とした研究室の利用者を対象に、篠原客員研究員の監修の元で利用者講習を実施し、持続的な運営を目的としたバイオセーフティ委員会を設置し、運営会議を2回実施した。(江尻、篠原客員研究員、加來)

○ 研究業績等

論文・総説等

- 1 箱崎幸也、福間詳、加來浩器. 医療機関での暴言・暴力や放火に対する危機管理. 日本医師会誌. 151 (5), 835-841, 2022年8月
- 2 Kanayama A, Tsuchihashi Y, Otomi Y, Enomoto H, Arima Y, Takahashi T, Kobayashi Y, Kaku K, Sunagawa T, Suzuki M; COVID-19 discharge summary database (CDS) group. Association of severe COVID-19 outcomes with radiological scoring and cardiomegaly: findings from the COVID-19 inpatients database, Japan. Jpn J Radiol. 2022 Nov;40(11):1138-1147.

著書

- 1 加來浩器, 金山敦宏: アウトブレイク調査のすすめ. 第3版, 防衛医学研究センター, 2022年3月.
- 2 金山敦宏, 江尻寛子, 加來浩器. 自衛隊のための髄膜炎菌感染症対応マニュアル. 第1版第2刷, 防衛医学研究センター, 2023年3月.

トピック：自衛隊中央病院薬剤官の薬剤実務研修

防衛医学研究センターでの研修を終えて

自衛隊中央病院 衛生資材部 薬剤課 第38期薬剤実務研修生 2等海尉 鴨田 裕平

私はジブチにおける感染症の脅威分析をおこないました。ジブチという国は自由で開かれたインド太平洋を目標に掲げる我々自衛隊にとって非常に重要な国の一つであります。現在もジブチで活動する隊員がいる中で、ジブチにおける感染症の脅威分析をすることで、衛生員の1人としてなにか貢献したいと考え今回の研究に着手しました。厚生労働省、GIDEON、Pro-MEDなどのサイトからの情報を基に分析すると、コレラ、結核、COVID-19、炭疽、狂犬病、マラリア、デング熱などが特に問題となる疾患であることがわかりました。なかでもマラリアは、媒介蚊の変化に伴って近年リスクが高くなっていることが判明しました。

研究期間にはジブチについてだけでなく、感染症疫学などのミニ講義を通して様々な知識を学ばせていただきました。2か月という短い期間でしたが、非常に実りのある有意義な研究をおこなうことができました。今回の研究を活かして今後は自らが主体となって自衛隊員に向けた感染症教育を発信していけたらと考えました。

ジブチで脅威となる感染症のリスク評価

ヒト-ヒト伝播

経口感染症

- ・サルモネラ
- ・腸チフス
- ・コレラ ✓
- ・A型肝炎
- ・細菌性赤痢
- ・アメーバ赤痢
- ・ジアルジア症

空気感染

- ・結核 ✓

飛沫感染

- ・COVID-19 ✓

性感染症

- ・AIDS

環境からの感染

経皮感染症

- ・炭疽(土壌) ✓
- ・破傷風(土壌)
- ・マンソン住血吸虫症(水)

動物、節足動物由来

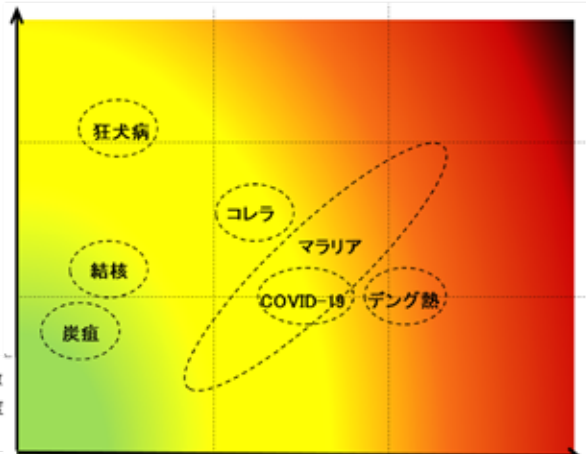
動物由来感染症

- ・炭疽 ✓
- ・ブルセラ症
- ・エボラ出血熱
- ・マールブルグ症
- ・狂犬病 ✓
- ・レプトスピラ症

昆虫媒介感染症

- ・マラリア(蚊) ✓
- ・デング熱(蚊) ✓
- ・黄熱(蚊)
- ・チクングニア熱(蚊)
- ・フィラリア症(蚊)
- ・トリパノソーマ症(ハエ)
- ・リーシュマニア症(ハエ)
- ・オンコセルカ症(プユ)
- ・ペスト(ノミ)

部隊衛生上の重要性



- ・ 隊員での発生数
- ・ 罹患時の重症度
- ・ 隊務への影響

部隊で流行する可能性

- ・ 感受性者の存在の有無
- ・ 予防接種等の実施状況
- ・ 組織的な対応力の有無

3 防衛医学研究センターの活動等

日付	活動内容
R 4. 4. 1	防衛大臣政務官（中曽根 康隆）視察
4. 7	防衛副大臣（鬼木 誠）視察防衛副大臣（鬼木 誠）視察
4. 19	人事教育局衛生官（山本 要）視察
5. 7 ～16	第6回国際爆傷対処フォーラムへの参加（米国） （佐藤教授（防衛医学研究センター長）、川内准教授、霧生助教）
6. 15	防衛大学校先端学術推進機構長（黒川 恭一）来校
7. 7	モンゴル能力構築支援（HA/DR（衛生））
7. 1 ～9. 10	防衛医学研究センター発表会兼基盤研究成果等報告会（オンデマンド）
7. 15	防衛大臣政策参与（島田 和久）視察
7. 27	人事教育局人事計画・補任課長（家護谷 昌徳）視察
8. 9	横須賀地方総監（乾 悦久）視察
9. 27	防衛審議官（石川 武）視察
9. 28	防衛政務官（小野田 紀美）視察
9. 30	年次報告書発行
10. 25	化学学校長（陸将補 平野 邦治）視察
10. 31	第38期薬剤実務研修薬剤官研修受入れ
11. 18	東部防衛衛生学会・支部総会
11. 22	ドイツ連邦軍衛生軍総監（ウルリッヒ・バウムゲルトナー陸軍中将）来訪
12. 20	設立25周年記念シンポジウム及び防衛医学研究センター発表会
R 5. 1. 10 ～3. 3	第38期薬剤実務研修薬剤官研修受入れ
1. 11	防衛装備庁との連絡会議（市ヶ谷）
1. 18	防衛装備庁装備官（叶 謙二）視察
1. 20	防衛大臣（浜田 靖一）視察
1. 31	防衛大学校との研究交流会
2. 17	拓殖大学名誉フェロー（田村 重信）来校
2. 27	防衛事務次官（鈴木 敦夫）視察
3. 31	防衛医学研究シンポジウム（DSEI JAPAN）

防衛医学研究センター 令和4年度研究報告

2023年9月 第1版第1刷

発行 防衛医科大学校 防衛医学研究センター
〒359-8513 埼玉県所沢市並木3-2
電話 04-2995-1211 (代)

ISBN978-4-9913338-0-4



