

防衛医学研究センター 令和5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5年度研究報告書	
	外傷研究部門	9
	医療工学研究部門	21
	特殊環境衛生研究部門	33
	行動科学研究部門	39
	生体情報・治療システム研究部門	55
	広域感染症疫学・制御研究部門	75



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、更にその骨格となる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5年度研究報告書



外傷研究部門

教	授	戸	村	哲
講	師	青	木	誠
助	教	朝比奈	はるか	
兼務講師		関根	康雅	
兼務助教		霧生	信明	
医学研究科生		佐々	瑠花	



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、頭部外傷、出血性ショックを中心に、中毒、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、さらには日本外傷データバンク、日本頭部外傷データバンクなどの医療データベースを用いた調査・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5年度 研究報告課題

- 1 頭部爆傷の病態解明に関する研究
- 2 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
- 3 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
- 4 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
- 5 体幹部出血を長時間制御するための新規REBOA研究
- 6 オキナワキョウチクトウ中毒に関する研究

令和5年度研究報告書

研究部門：外傷研究部門

○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、爆傷、頭部外傷、出血性ショック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：「頭部爆傷の病態解明に関する研究」研究担当者

（統一研究テーマ：有事・災害時のための研究）

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）

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、軽症頭部爆傷（mild bTBI）として問題視されている。本研究は、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を用いて、その病態を解析することを目的とする。

頭部爆傷モデルマウスを作成するにあたり、外傷強度の変化による脳損傷の程度や症状の変化を評価するために、レーザー強度を低出力から装置の最大出力の範囲で1J/cm²、3J/cm²、5J/cm²、7J/cm²の4段階に設定した。8週齢の雄性C57BL/6マウスを用いて、それぞれの強度のLISWを全身麻酔下にマウスの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、受傷7日後と28日後の脳摘出標本を病理学的に評価した。GFAP染色やIba-1染色をおこなったところ、外傷側大脳皮質において強度依存性にそれぞれアストロサイトの増生やミクログリアの集積が観察できた。今後さらにうつ様症状や認知機能低下などの高次脳機能障害について、行動学的実験（強制水泳試験、Y迷路試験など）を用いて評価する予定である。

（謝辞）本研究は、防衛医学基盤研究A「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（戦傷病外傷分野）」の一環として行われた。



2 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）、和田孝次郎（脳神経外科学）



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。頭部外傷では、運動麻痺等などの神経症状だけではなく、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問題となり、注意障害や行動障害等の症状を呈し、社会復帰の妨げとなることも多い。原因として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、早期からの治療介入が難しい場合もあり、受傷前に頭部外傷に対する耐性を高めておくことで、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ぶが、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増悪因子の一つである活性酸素種の強力なスカベンジャーとして働く。生体内では常に活性酸素種が発生しているが、特に急激な運動で増加することが報告されており、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。そこで、頭部外傷受傷前の運動負荷時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仮説を立て、水素の頭部外傷に対するプレコンディショニング効果について検証を行った。

動物はC57BL/6マウス（25-30g 雄）を使用した。動物用トレッドミル装置を用いて 15m/min で 90 分間の運動負荷を加えた後に、Controlled Cortical Impact (CCI) 装置を用いて中等症頭部外傷モデルを作成した。水素の外傷前投与を行う場合は、運動中にトレッドミル装置内に1.3%水素ガスを持続的に送気した。受傷から24時間後のMDA(脂質酸化ストレス評価)、SOD(抗酸化力評価)、Brain Water Content(脳浮腫)、Evans Blue漏出量(脳血液関門(BBB)透過性)について評価をおこなった。

運動負荷後に頭部外傷を加えた群では、運動負荷なしで頭部外傷を加えた群と比較して、有意にMDAの上昇と、BBBの透過性亢進および脳浮腫の増悪を認め、急激な運動負荷が頭部外傷の病態を増悪させることを確認した。そこで、運動負荷中に1.3%水素ガスを吸入させてから頭部外傷を加えると、水素ガス吸入なしの運動負荷後に頭部外傷を加えた群と比較して、MDAの有意な低下、SODの有意な上昇、BBB保護効果と脳浮腫の低減を認めた。運動負荷時の水素ガス吸入は、MDAを低下させると共にSODを増加させ、頭部外傷への耐性を獲得させることでプレコンディショニング効果を発揮することが示唆された。今後、組織学的検討及び行動実験解析を進めて行く予定である。

（謝辞）本研究は、防衛医学基盤研究A「頭部外傷の病態解明と治療法の研究（戦傷病外傷分野）」の一環として行われた。

3 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、萩沢康介（生理学講座）、木下学（免疫・微生物学講座）、戸村哲

概 要

頭部外傷（Traumatic brain injury :TBI）は約35%に凝固障害を生じるが、TBI後の凝固障害に関する動物モデルは確立されておらず、TBIと凝固障害の病態についても未解明である。

本研究では、ラットの頭頂部正中にレーザー誘起衝撃波（laser-induced shock wave :LISW）を照射してTBIを作成し、外傷性凝固障害の有無を検証した。LISWを3回照射したところ頭蓋内血腫を認め、24時間後にはTBI前と比較して活性化凝固時間（ACT）が1.3倍に延長した。さらに重症度の高いLISW 5回照射では、3回照射と比較してより顕著なACT延長とプロトロンビン時間（PT）延長を認め、24時間後の生存率が低下した。

また、LISW照射直後に生理食塩水または血小板機能代替リボソームであるH12-(ADP)リボソームを静脈内



頭部外傷

投与したところ、24時間後生存率は生食群で63%であったのに対し、H12-(ADP)リポソーム群では100%となり、急性期予後が改善した。またH12-(ADP)リポソーム群では24時間後のPT延長がみられず、凝固障害が軽減された。TBI 24時間後のHE染色脳標本では、H12-(ADP)リポソーム群で脳挫傷の横径および深度が有意に縮小しており、脳挫傷部位の出血性変化についても抑制することができた。

本研究によりTBI後の凝固障害に対するH12-(ADP)リポソーム投与の治療効果が明らかとなりつつある。病院前投与も可能であり、新規治療法として期待される。

（謝辞）本研究は、文部科学省科研費基盤研究（B）「ADP封入ナノ粒子を血小板好中球複合体に作用させ凝固障害と炎症病態を制御する」の一環として行われた。

4 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）

研究担当者

霧生信明、関根康雅、水書稔治（客員研究員/東海大学工学部教授）、佐々瑠花、長村龍憲、玉置 洋（研修管理室）、須藤有希（協力研究員）、戸村哲ほか

概要

全身麻酔下、気管挿管した体重約40kgのブタをブラストチューブ測定室内のテーブル上に右側臥位とし、爆風・衝撃波が背部にあたるように固定した。駆動圧3.0MPaでアルミニウム隔膜を破膜して発生させた衝撃波を曝露させた。先行研究の結果より衝撃波曝露に際し、呼吸中枢の存在する脳幹の一時的機能不全に伴う呼吸停止が生命予後に直結する可能性が高いと考えられたため、曝露直後に中枢性呼吸賦活薬であるジモルホラミン（商品名テラプチク）を静注し、その効果を確認したところ、生存率が改善することが確認された。

また本年も防衛装備庁第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および米軍の使用しているヘルメットを用いて、これらを装着した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、データ採取を行った。その結果に関しては現在解析中であるが、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防弾および防爆となりうるBody armor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の開発を提唱できるように研究を続ける。

（謝辞）本研究は、防衛医学基盤研究A「頭部外傷の病態解明と治療法の研究（戦傷病外傷分野）」の一環として行われた。



5 研究課題：「体幹部出血を長時間制御するための新規REBOA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、青木誠、長村龍憲、玉置 洋（研修管理室）、須藤有希（協力研究員）、戸村哲

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Role2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。

すでに確立したブタを用いた約25%の出血性ショックモデルを用いて、実験を行った。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9例中8例の死亡が確認された。この死亡原因はバルーン拡張に伴い心臓の後負荷が上昇するためと考えられた。後負荷は血管抵抗および心拍数により規定されるため、まずは血管抵抗を軽減するためのモデルとして、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たが、5例中2例しか生存が得られなかった。シャント血流作成に対して、頻回にシャント流が血栓化してしまうために、良好な結果が得られなかった可能性もあり得るので、今後はシャントチューブの短縮化、内腔の拡張などを検討する予定である。次に心拍数軽減により後負荷の軽減を試みるため、薬剤投与：短時間作用型 β ブロッカー：オノアクト®投与を行い、後負荷を軽減する方法も検討した。3例に対して実験を施行したが、残念ながら3例とも死亡となった。薬剤の投与量および投与方法に関して、更なる検討が必要であると考えられた。

（謝辞）本研究は、防衛医学基盤研究B「有事における外傷・熱傷研究（戦傷病外傷分野）」の一環として行われた。

6 「オキナワ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、芝野真喜雄（大阪医科薬科大学）、辻本悟志（沖縄美ら島財団）、松田昂樹（大阪医科薬科大学）、福留龍司（大阪医科薬科大学）、宮崎裕美（医療工学研究部門）、戸村哲

概要

オキナワキョウチクトウ（別名：ミフクラギ）*Cerbera manghas* は、奄美以南そして南アジアに自生するキョウチクトウ科の樹木でいくつもの強心配糖体を含んでいる。沖縄県や奄美群島等において公園等で植栽されているが、その果実は南国の果物のように赤く色づくため、誤食してしまう可能性がある。そこで、本年度は公園等で起こりうる、“果皮”を誤食した場合の中毒の可能性について、種子胚の成分や毒性との比較を中心にマウスで検討した。

まず、実以外の部位より単離・精製・構造決定したものと、商業的に入手したものを合わせてCerberin、Neriifolin等10種の強心配糖体標品を用いて、種子胚と果皮に含まれる強心配糖体の種類と量について液体クロマトグラフィー質量分析法（LC-MS）を用いて分析した。種子胚と果皮の成分を比較すると、乾燥種子胚と乾燥果皮では単位重量当たりの強心配糖体総重量が異なり、果皮では低いことが判明した。そして経口ゾンデによる乾燥果皮のマウスへの投与実験では、外観等から顕著な中毒症状が観察された個体は認められなかった。しかし心筋の傷害で数値が上昇するCK-MB値についてはコントロールと比べて統計的な有意差を認めた。以上の結果から、マウスでは熟した赤い果皮を誤って少量摂取しても、重篤な中毒に陥る見込みは低いかもしれないが、何らかの心筋傷害が起きている可能性があることが示唆された。



○ 研究業績(2023年～)

【著書】

1. 戸村哲. 今日の治療指針 私はこう治療している2023 頭部外傷後遺症. 医学書院. 2023,931-932.
2. 戸村哲. 軽症頭部爆傷. 防衛・軍事医学の世界動向2023年版. 防衛医学研究センター編. 2023,49-53.
3. 戸村哲. 日本医事新報 私の治療 急性硬膜外血腫. 日本医事新報社. 2024,45-46.
4. 青木誠. Beyond ER 2023年 Vol.2 No.3 輸血戦略を整理する. 2024年1月
5. 関根康雅. レジデントノート Vol.25 No.10 頸椎外傷. 羊土社. 2023,1783-1789.
6. 関根康雅. 戦術的第一線救護 (TCCC: Tactical Combat Casualty Care). 防衛・軍事医学の世界動向 2023年版. 防衛医学研究センター編. 2023,32-36.
7. 霧生信明. 爆傷. 防衛・軍事医学の世界動向2023年版. 防衛医学研究センター編. 2023,46-49.

【原著論文】

1. Otsuka Y, Tomura S, Toyooka T, Takeuchi S, Tomiyama A, Omura T, Saito D, Wada K. Hyperbaric hydrogen therapy improves secondary brain injury after head trauma. Undersea Hyperb Med. 2023 Fourth Quarter;50(4):403-411. PMID: 38055881
2. Fujii T, Nakano Y, Hagita D, Onishi N, Endo A, Nakagawa M, Yoshiura T, Otsuka Y, Takeuchi S, Suzuki M, Shimizu Y, Toyooka T, Matsushita Y, Hibiya Y, Tomura S, Kondo A, Wada K, Ichimura K, Tomiyama A. KLC1-ROS1 Fusion Exerts Oncogenic Properties of Glioma Cells via Specific Activation of JAK-STAT Pathway. Cancers (Basel). 2023 Dec 19;16(1):9. doi: 10.3390/cancers16010009. PMID: 38201436 Free PMC article.
3. Aoki M, Abe T, Hagiwara S, Saitoh D. Variation in the utilization of angioembolization for splenic injury in hospitals: a nationwide cross-sectional study in Japan. Acute Med Surg. 2023 Apr 12;10(1):e837. doi: 10.1002/ams2.837. eCollection 2023 Jan-Dec. PMID: 37064787
4. Shibahashi K, Hifumi T, Sugiyama K, Inoue A, Sakamoto T, Yasuhiro K; SAVE-J II study group. SAVE-J II study group: Hirotaka Sawano, Yuko Egawa, Shunichi Kato, Kazuhiro Sugiyama, Maki Tanabe, Naofumi Bunya, Takehiko Kasai, Shinichi Ijuin, Shinichi Nakayama, Jun Kanda, Seiya Kanou, Toru Takiguchi, Shoji Yokobori, Hiroaki Takada, Kazushige Inoue, Ichiro Takeuchi, Hiroshi Honzawa, Makoto Kobayashi, Tomohiro Hamagami, Wataru Takayama, Yasuhiro Otomo, Kunihiro Maekawa, Takafumi Shimizu, Satoshi Nara, Michitaka Nasu, Kuniko Takahashi, Yoshihiro Hagiwara, Shigeki Kushimoto, Reo Fukuda, Takayuki Ogura, Shin-Ichiro Shiraishi, Ryosuke Zushi, Norio Otani, Hiroshi Okamoto, Migaku Kikuchi, Kazuhiro Watanabe, Takuo Nakagami, Tomohisa Shoko, Nobuya Kitamura, Takayuki Otani, Yoshinori Matsuoka, Makoto Aoki, Masaaki Sakuraya, Hideki Arimoto, Koichiro Homma, Hiromichi Naito, Shunichiro Nakao, Tomoya Okazaki, Jun Kunikata, Hideto Yokoi, Yoshio Tahara. Comparison of sedation using propofol vs. midazolam in patients admitted to the intensive care unit after extracorporeal cardiopulmonary resuscitation for out-of-hospital cardiac arrest: a multicentre observational study. Eur Heart J Acute Cardiovasc Care. 2023 Apr 17;12(4):246-256. doi: 10.1093/ehjacc/zuad009. PMID: 36795623
5. Komori A, Iriyama H, Kainoh T, Aoki M, Abe T. Association between intra-abdominal injured organs and abdominal compartment syndrome in patients with severe blunt trauma: A propensity score matched study using nationwide trauma registry in Japan. PLoS One. 2023 May 23;18(5):e0286124. doi:

- 10.1371/journal.pone.0286124. eCollection 2023. PMID: 37220117
6. Hayakawa M, Tagami T, Kudo D, Ono K, Aoki M, Endo A, Yumoto T, Matsumura Y, Irino S, Sekine K, Ushio N, Ogura T, Nachi S, Irie Y, Hayakawa K, Ito Y, Okishio Y, Muronoi T, Kosaki Y, Ito K, Nakatsutsumi K, Kondo Y, Ueda T, Fukuma H, Saisaka Y, Tominaga N, Kurita T, Nakayama F, Shibata T, Kushimoto S. The Restrictive Red Blood Cell Transfusion Strategy for Critically Injured Patients (RESTRIC) trial: a cluster-randomized, crossover, non-inferiority multicenter trial of restrictive transfusion in trauma. *J Intensive Care*. 2023 Jul 24;11(1):34. doi: 10.1186/s40560-023-00682-3. PMID: 37488591
 7. Johnston TJ, Hulsebos IF, Bonney PA, Wu YT, Ghafil CA, Aoki M, Henry R, Owattanapanich N, Inaba K, Matsushima K. Recent changes in practice patterns and outcomes in patients with severe traumatic brain injury. *Surgery*. 2023 Aug;174(2):369-375. doi: 10.1016/j.surg.2023.04.055. Epub 2023 Jun 3. PMID: 37277306
 8. Matsumoto S, Aoki M, Shimizu M, Funabiki T. A clinical prediction model for non-operative management failure in patients with high-grade blunt splenic injury. *Heliyon*. 2023 Sep 29;9(10):e20537. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e20537. eCollection 2023 Oct. PMID: 37842598
 9. Takiguchi T, Tominaga N, Hamaguchi T, Seki T, Nakata J, Yamamoto T, Tagami T, Inoue A, Hifumi T, Sakamoto T, Kuroda Y, Yokobori S; SAVE-J II Study Group. SAVE-J II Study Group: Hirotaka Sawano, Yuko Egawa, Shunichi Kato, Naofumi Bunya, Takehiko Kasai, Shinichi Ijuin, Shinichi Nakayama, Jun Kanda, Seiya Kanou, Hiroaki Takada, Kazushige Inoue, Ichiro Takeuchi, Hiroshi Honzawa, Makoto Kobayashi, Tomohiro Hamagami, Wataru Takayama, Yasuhiro Otomo, Kunihiro Maekawa, Takafumi Shimizu, Satoshi Nara, Michitaka Nasu, Kuniko Takahashi, Yoshihiro Hagiwara, Shigeki Kushimoto, Reo Fukuda, Takayuki Ogura, Shin-Ichiro Shiraishi, Ryosuke Zushi, Norio Otani, Migaku Kikuchi, Kazuhiro Watanabe, Takuo Nakagami, Tomohisa Shoko, Nobuya Kitamura, Takayuki Otani, Yoshinori Matsuoka, Makoto Aoki, Masaaki Sakuraya, Hideki Arimoto, Koichiro Homma, Hiromichi Naito, Shunichiro Nakao, Tomoya Okazaki, Yoshio Tahara, Hiroshi Okamoto, Jun Kunikata, Hideto Yokoi. Etiology-Based Prognosis of Extracorporeal CPR Recipients After Out-of-Hospital Cardiac Arrest: A Retrospective Multicenter Cohort Study. *Chest*. 2023 Oct 23:S0012-3692(23)05667-2. doi: 10.1016/j.chest.2023.10.022. Online ahead of print. PMID: 37879561
 10. Aoki M, Matsumoto S, Abe T, Zarzaur BL, Matsushima K. Angioembolization for Isolated Severe Blunt Splenic Injuries with Hemodynamic Instability: A Propensity Score Matched Analysis. *World J Surg*. 2023 Nov;47(11):2644-2650. doi: 10.1007/s00268-023-07156-5. Epub 2023 Sep 7. PMID: 37679608
 11. Bunya N, Ohnishi H, Kasai T, Katayama Y, Kakizaki R, Nara S, Ijuin S, Inoue A, Hifumi T, Sakamoto T, Kuroda Y, Narimatsu E; Study of Advanced life support for Ventricular fibrillation with Extracorporeal circulation in Japan II (SAVE-J II) Study Group. Study of Advanced life support for Ventricular fibrillation with Extracorporeal circulation in Japan II (SAVE-J II) Study Group: Hiroshi Okamoto, Jun Kunikata, Hideto Yokoi, Hirotaka Sawano, Yuko Egawa, Shunichi Kato, Kazuhiro Sugiyama, Shinichi Nakayama, Jun Kanda, Seiya Kanou, Toru Takiguchi, Shoji Yokobori, Hiroaki Takada, Kazushige Inoue, Ichiro Takeuchi, Hiroshi Honzawa, Makoto Kobayashi, Tomohiro Hamagami, Wataru Takayama, Yasuhiro Otomo, Kunihiro Maekawa, Takafumi Shimizu, Michitaka Nasu, Kuniko Takahashi, Yoshihiro Hagiwara, Shigeki Kushimoto, Reo Fukuda, Takayuki Ogura, Shin-Ichiro Shiraishi, Ryosuke Zushi, Norio Otani, Migaku Kikuchi, Kazuhiro Watanabe, Takuo Nakagami, Tomohisa Shoko, Nobuya Kitamura, Takayuki

- Otani, Yoshinori Matsuoka, Makoto Aoki, Masaaki Sakuraya, Hideki Arimoto, Koichiro Homma, Hiromichi Naito, Shunichiro Nakao, Tomoya Okazaki, Yoshio Tahara. Prognostic Significance of Signs of Life in Out-of-Hospital Cardiac Arrest Patients Undergoing Extracorporeal Cardiopulmonary Resuscitation. *Crit Care Med*. 2023 Nov 3. doi: 10.1097/CCM.0000000000006116. Online ahead of print. PMID: 37921512
12. Aoki M, Katsura M, Matsushima K. Association Between Whole Blood Transfusion and Mortality Among Injured Pediatric Patients. *Ann Surg*. 2023 Nov 6. doi: 10.1097/SLA.0000000000006150. Online ahead of print. PMID: 37938850
13. Shibahashi K, Aoki M, Hikone M, Sugiyama K. Association between transfusion volume and survival outcome following trauma: Insight into the limit of transfusion from an analysis of nationwide trauma registry in Japan. *J Trauma Acute Care Surg*. 2023 Nov 13. doi: 10.1097/TA.0000000000004206. Online ahead of print. PMID: 37962149
14. Aoki M, Matsumoto S, Matsushima K. What is the optimal management for pseudoaneurysm in splenic injury?. *J Trauma Acute Care Surg*. 2023 Nov 20. doi: 10.1097/TA.0000000000004218. Online ahead of print. PMID: 37981692
15. Aoki M, Matsumura Y, Izawa Y, Hayashi Y. Ultrasound assessment is useful for evaluating balloon volume of resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2023 Dec;49(6):2479-2484. doi: 10.1007/s00068-023-02309-6. Epub 2023 Jul 10. PMID: 37430175
16. Sato T, Shibahashi K, Aoki M, Kudo D, Kushimoto S. Risk factors for surgical site infection following orthopaedic surgery for fracture by trauma A Nested Case-Control Study Using Data From a Nationwide Trauma Registry in Japan. *J Hosp Infect*. 2023 Dec 21:S0195-6701(23)00399-7. doi: 10.1016/j.jhin.2023.08.028. Online ahead of print. PMID: 38141664
17. Shoji K, Ohbe H, Kudo D, Tanikawa A, Kobayashi M, Aoki M, Hamaguchi T, Nagashima F, Inoue A, Hifumi T, Sakamoto T, Kuroda Y, Kushimoto S; SAVE-J II study group. Low-flow time and outcomes in out-of-hospital cardiac arrest patients treated with extracorporeal cardiopulmonary resuscitation. *Am J Emerg Med*. 2024 Jan;75:37-41. doi: 10.1016/j.ajem.2023.10.024. Epub 2023 Oct 21. PMID: 37897919
18. Aoki M, Aso S, Suzuki M, Tagami T, Sawada Y, Yasunaga H, Kitamura N, Oshima K; behalf of the SOS-KANTO 2017 Study Group. Association between obesity and neurological outcomes among out-of-hospital cardiac arrest patients: The SOS-KANTO 2017 study. *Resusc Plus*. 2023 Nov 23;17:100513. doi: 10.1016/j.resplu.2023.100513. eCollection 2024 Mar. PMID: 38076385
19. Matsumoto S, Aoki M, Funabiki T, Shimizu M. Impact of resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta on gastrointestinal function with a matched cohort study. *Trauma Surg Acute Care Open*. 2024 Jan 30;9(1):e001239
20. Katsura M, Ikenoue T, Aoki M, Kuriyama A, Takahashi K, Schellenberg M, Martin MJ, Inaba K, Matsushima K. Recent Changes in the Management of High-Grade Blunt Pancreatic Injury in Children: A Nationwide Trend Analysis. *J Am Coll Surg*. 2024 Feb 7. doi: 10.1097/XCS.0000000000001033. Online ahead of print.
21. Aoki M, Katsura M, Matsumoto S, Matsushima K. Persistent disparities between trauma center types in the management of children with high-grade blunt splenic injuries. *World J Surg*. 2024 Mar;48(3):568-573
22. Aoki M, Aso S, Okada Y, Kawauchi A, Ogasawara T, Tagami T, Sawada Y, Yasunaga H, Kitamura N,

Oshima K; SOS-KANTO 2017 Study Group. Association between gasping and survival among out-of-hospital cardiac arrest patients undergoing extracorporeal cardiopulmonary resuscitation: The SOS-KANTO 2017 study. Resusc Plus. 2024 Mar 30;18:100622

23. Kaneko K, Hagsawa K, Kinoshita M, Ohtsuka Y, Sasa R, Hotta M, Saitoh D, Sato K, Takeoka S, Terui K. Early treatment with Fibrinogen γ -chain peptide-coated, ADP-encapsulated Liposomes (H12-(ADP)-liposomes) ameliorates post-partum hemorrhage with coagulopathy caused by amniotic fluid embolism in rabbits. AJOG Glob Rep. 2023 Nov; 3(4): 100280. PMID: 38046530; PMCID: PMC10690637

【総説・解説】

1. 戸村哲. 軽症頭部外傷・軽症頭部爆傷. 防衛医科大学校雑誌48(3):73-82,2023.

【特許】

なし

【学会発表】

1. Yamamura H, Kiri N, Tomura S, Kawauchi S, Murakami K, Sato S, Saitoh D, Yokoe H; Study on immediate death by blast injury using a site-specific injury model with laser-induced shock wave. 7th International Forum on Blast Injury Countermeasures. Tokyo. 2023.5
2. 瀬野宗一郎, 戸村哲, 青木誠, 和田孝次郎, 清住哲郎: Glasgow Coma Scale を簡便にした Simple Coma Scale の有用性～JNTDB2015を用いた検討～. 第47回日本脳神経外傷学会. 2024年3月
3. 戸村哲: 災害医療における神経外傷医の意義 (教育講演). 第47回日本脳神経外傷学会. 2024年3月
4. 瀬野宗一郎, 戸村哲, 霧生信明, 関根康雅, 加藤宏, 和田孝次郎, 小林靖, 森下幸治, 清住哲郎: 脳神経外傷医にとっての理想的な外傷シミュレーション教育とは 脳神経外科領域を含めた ASSET (Advanced Surgical Skills for Exposure in Trauma) コースを開催して (シンポジウム「脳神経外傷における救急医と脳神経外科医の役割」). 第47回日本脳神経外傷学会. 2024年3月
5. 戸村哲, 霧生信明, 関根康雅: 爆発物によるテロ災害の脳・神経救急 ～防衛医大における爆傷研究～ (幹事会企画シンポジウム「NBC災害・特殊災害の脳・神経救急」). 第29回日本脳神経外科救急学会. 2024年2月
6. 戸村哲, 山村浩史, 霧生信明, 関根康雅: 爆傷における即死のメカニズム: 衝撃波による脳幹損傷の影響. 日本脳神経外科学会第82回学術総会. 2023年10月
7. 青木誠, 徳江浩之, 矢嶋尚生, 谷昌純, 吉原晃生. 産後出血患者における造影CTでの血管外漏出像と血管造影陽性所見との関連. 第52回日本IVR学会. 2023年5月
8. 青木誠, 藤塚健次, 増田衛, 小橋大輔, 杉浦岳, 三嶋奏子, 高橋慶彦, 谷昌純, 中村光伸. REBOA 下造影CT その有効性、安全性は? . 第37回日本外傷学会2023年6月
9. 青木誠. 外傷レジストリの現状と課題. 第51回日本救急医学会. 2023年11月
10. 霧生信明. : 爆傷研究に関する世界の動向. 第28回日本災害医学会総会・学術集会2023年3月
11. 霧生信明, 齋藤大蔵, 佐々瑠花, 稗田太郎, 加藤宏, 清住哲郎, 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 REBOA (Resuscitative Endovascular Balloon Occlusion of the Aorta) カテーテル開発のための基礎研究. 第37回日本外傷学会総会・学術集会2023年6月
12. Nobuaki Kiri, Daizoh Saito: Basic research for the development of REBOA catheters to enable prolonged field care in the battlefield. 第51回日本救急医学会総会・学術集会2023年11月
13. Yasumasa Sekine, Daizoh Saito: Efficacy of Body Armor in Protection against Blast Injuries using a Swine Model in a Confined Space with a Blast Tube 第51回日本救急医学会総会・学術集会2023年11月

14. 関根康雅, 霧生信明, 齋藤大蔵, 瀬野宗一郎, 加藤宏, 清住哲郎: 標準的な止血帯とは. 第74回日本救急医学会関東地方会学会総会・学術集会2024年2月
15. 佐々瑠花, 萩沢康介, 大塚由花, 木下学, 戸村哲. 頭部外傷による凝固障害モデルの開発と血小板代替物による治療効果. 第37回日本 Shock 学会学術集会 2023年8月
16. 佐々瑠花, 萩沢康介, 木下学, 戸村哲, 武岡真司. 頭部外傷後の凝固障害モデル開発とH12-(ADP)-リボソームの治療効果. 第30回血液代替物学会 2023年12月
17. 佐々瑠花, 萩沢康介, 木下学, 戸村哲. ラットにおける頭部外傷後の凝固障害モデル開発と血小板代替物による治療効果の検討. 第47回日本脳神経外傷学会 2024年3月

トピック:ブラストチューブ

外傷研究部門は、戦傷病学の最重要課題のひとつである爆傷研究の発展のために、平成29年3月に大型衝撃波発生装置(ブラストチューブ)をわが国で初めて導入しました。この装置は蓄圧した空気を瞬時に放出することで爆風を擬似した衝撃波を発生させることができます。開口部の直径が40cmという世界的に見ても大規模な装置の特性を生かして、ブタのような中型動物を用いた爆傷モデルを作成し、救命ドクトリン等の自衛隊第一線救護活動に益する医学的情報の収集と、爆傷に対する防護・初期救護・治療に関する研究をおこなっています。これまでの研究では、防弾チョッキや鋼鉄製防護具をブタに装着させた結果、超急性期の神経反射による呼吸停止を防ぐことができ、救命率の向上に繋がることが証明されました。今後、既存の防護具の性能向上や最適モデルへの検証を実施し、重要臓器を守るために衝撃波および爆風から生体を護るための防護具開発や治療方法を提唱できるような研究を進めていきます。



毎年、国内外の多くの関係機関の方々がブラストチューブの施設見学にこられており、令和5年度はNATOをはじめ12件の視察対応をおこないました。

医療工学研究部門

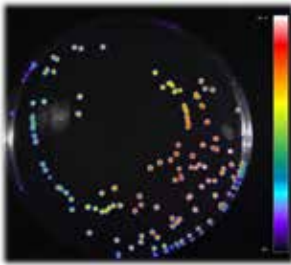
教	授	中	村	伸	吾
講	師	宮	崎	裕	美
助	教	諸	星	和	紀

医療工学研究部門

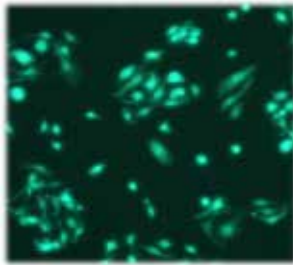


部門の概要

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。



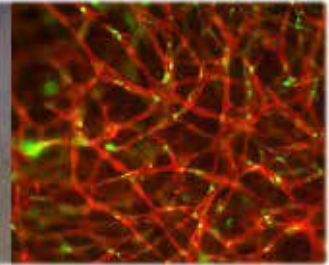
殺菌効果の解析



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5年度 研究報告課題

1. 感染症対応等の防護・除染のための技術・材料の開発

表面ナノ修飾法による銀ナノ粒子複合化材料の創製

2. 生体組織工学および再生医療の基盤研究

創薬や再生医療に役立つ三次元皮膚組織の開発研究

(1) 薬剤スクリーニングや病態を評価するためのヒト皮膚モデルの構築

(2) 皮膚の再生・再建に用いる新たな再生医療等製品の開発研究

3. 遺伝子工学技術の応用研究

マウス精巢を介した新規ゲノム編集法の開発

令和5年度研究報告書

研究部門：医療工学研究部門

○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

研究課題：「感染症対応等の防護・除染のための技術・材料の開発」

（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）



表面ナノ修飾法による銀ナノ粒子複合化材料の創製

研究担当者

中村伸吾、宮崎裕美、秦裕樹（研究員）、諸星和紀

概要

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の感染爆発において、自衛隊は衛生部隊を中心にその対応業務に従事した。この時隊員は、自身の感染を防ぐために個人防護具を使用した。個人防護具は微生物やウイルスといった病原体を表面素材で遮断するものの、付着病原体への誤接触等による感染リスクが懸念され、隊員は脱衣時等に細心の注意を払わねばならなかった。

我々は、高分子素材の表面構造をナノレベルで制御する独自技術（表面ナノ修飾法）を検討している。この表面ナノ修飾法は、セルロース分子の自己集合化に基づく（図1a）。すなわち、高分子素材であるセルロースを部分的に溶解・分解し、その後に再集合させて緻密なナノ構造をボトムアップ的に構築する全く新しい科学技術である。今回、我々はこの技術を活用することで、表面ナノ構造が銀ナノ粒子の合成に寄与することを明らかにし、これが殺菌性複合衛生材料の新たな創製法となり得ることを見出した（図1b）。方法は非常に簡便であり、表面ナノ修飾を施したセルロース材料を銀イオン水溶液中でオートクレーブ処理するのみで、粒径数nmの銀ナノ粒子を無数に合成できた（図1c）。この銀ナノ粒子の合成は、表面ナノ構造に含まれるオリゴ糖に起因しており、オリゴ糖鎖還元末端のアルデヒド基が銀イオンを効果的に還元すると考えられた。本研究で得られた銀ナノ粒子/セルロース複合材料は病原微生物等を無害化できると期待され、誤接触等による感染リスクを大幅低減させる可能性を持つ。また、非常時の使い捨て型の防護具の在庫枯渇などにおける応急的な再利用の手段となり得るかもしれない。これは自衛隊が活動する、有事災害時、発展途上国をはじめとする物資が限られた環境下での活動時に役立つものと期待される。

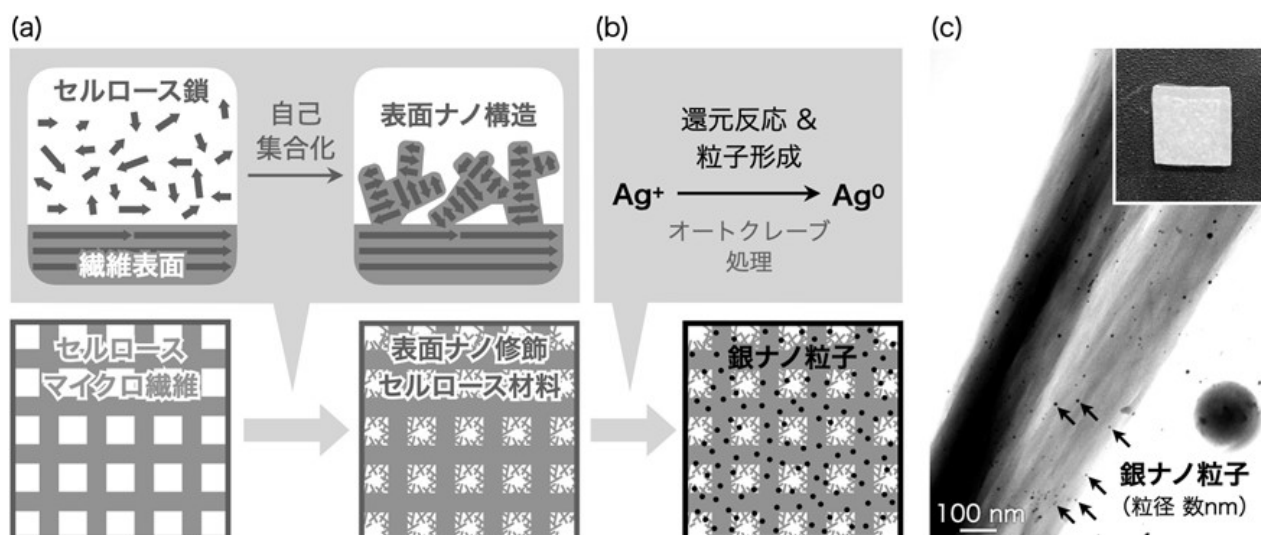


図1: 本研究の模式図 (a) セルロース分子の自己集合化に基づく表面ナノ修飾. (b) 銀ナノ粒子の合成. (c) 銀ナノ粒子/セルロース複合材料の写真（右上）と透過型電子顕微鏡像.

謝辞

本研究は、科学研究費助成事業「セルロース素材のボトムアップナノ化と高機能医用材料の創製」の一環として行われた。

2 研究課題：「生体組織工学および再生医療の基盤研究」

（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）



創薬や再生医療に役立つ三次元皮膚組織の開発研究

研究担当者

中村伸吾、宮崎裕美、秦裕樹（研究員）、諸星和紀、東條照太（形成外科）、堀池玲央那（研修薬剤官）、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）

概要

創薬や再生医学などの分野において、細胞培養技術は広く定着している。一方、2次元環境で培養した細胞を用いた実験結果を臨床試験にそのまま反映することは不可能である。これは、細胞と細胞外マトリックス（ECM; Extracellular matrix）間の複雑な相互作用が再現できていないことなどによるものである。この問題を解消するために、生体内の生理学的環境により近い3次元組織/オルガノイド研究が進展してきた。我々もまた、ECMの薄膜を形成させたヒト細胞を用いて、3次元ヒト培養皮膚の研究を進めている。血管やリンパ管を含めることが可能な3次元培養皮膚は、現時点では汗腺や毛包等の付属器は備わっていないが、ヒト皮膚に近い構造を示すことから、(1) 薬剤スクリーニングや病態を評価するためのヒト皮膚モデルの構築、(2) 皮膚の再生・再建に用いる新たな再生医療等製品の開発研究を行なっている。

(1) 薬剤スクリーニングや病態を評価するためのヒト皮膚モデルの構築

化学物質や医薬品、農薬等の安全性は動物試験によって評価されてきたが、種差の問題や動物愛護の観点

から代替試験法の開発が求められている。皮膚は常に化学物質や環境物質など外界からの刺激にさらされている。曝露された化学物質等による安全性評価として、再構築ヒト表皮モデル (RhE) を用いた *in vitro* 皮膚毒性・刺激性評価が動物実験代替法（国際標準化テストガイドライン：TG439）として適用されている。しかし RhE モデルは表皮のみのモデルであり、真皮への影響を予測できない。一方、我々の3次元培養皮膚は表皮/真皮一体型であり脈管系を備えているため、化学物質の接触や吸収による皮膚傷害や病態の進行を評価する新たな皮膚モデルになるのではないかと考えた。

そこで、3次元ヒト培養皮膚を用いて TG439 に準じた化学物質曝露試験を行った。TG439 の標準物質（5% SDS、イソプロパノール、ヘプタナール）とアルキル化剤に分類される抗悪性腫瘍剤ブスルファンを表皮側から添加した後洗浄し、気液界面培養を行なった。その結果、標準物質である 5% SDS、イソプロパノール、ヘプタナールの刺激性評価の判定区分は、国連が定める化学品の危険有害性基準である GHS (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals) の分類と一致していた。他方、ブスルファン曝露実験からは、ブスルファンは非刺激性物質と判定されたものの、病理組織学的解析の結果からは、表皮層ではなく真皮層に多数の空胞形成（図2a）とアポトーシスの誘導所見が明らかとなった（図2b）。これは、ブスルファンが脂溶性薬剤であることが大きな原因であり、経皮吸収されて真皮層において細胞傷害を惹起した結果と推察される。以上より、3次元培養皮膚は化学物質の皮膚における有害性発現を効果的にスクリーニングできる可能性が示唆された。

今後は灌流培養が可能なマイクロ流体デバイスに皮膚組織を構築し、より生体内に近い流動的な環境を再現した *in vitro* 評価デバイスの構築を目指す。

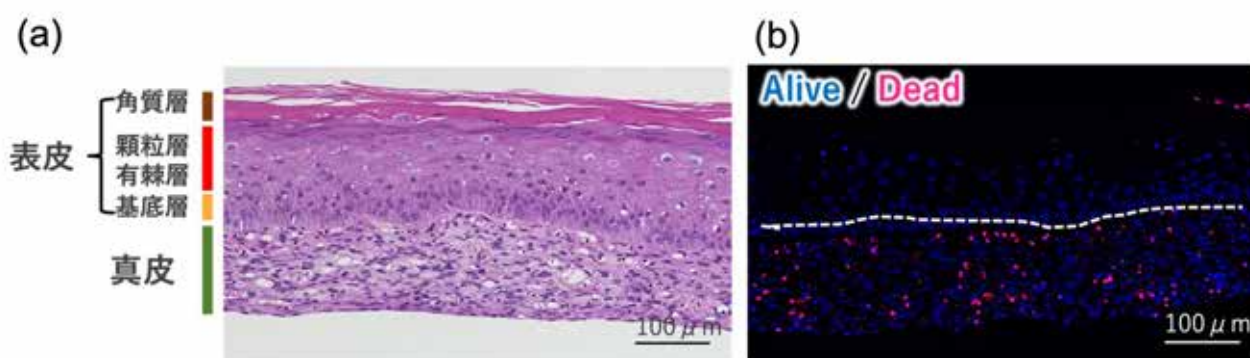


図2: (a) ブスルファン曝露後の HE 染色像. (b) TUNEL 染色によるアポトーシスの評価. 破線は表皮と真皮の境界を示す.

(2) 皮膚の再生・再建に用いる新たな再生医療等製品の開発研究

熱傷や外傷、難治性潰瘍等の皮膚欠損に対し、人工真皮や培養表皮、ヒト由来の羊膜使用組織治癒促進用材料などの医用材料が治療に用いられている。しかし、これら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、いまだ課題は多い。我々が作製している血管を備えた3次元ヒト培養皮膚は免疫不全マウスに作成した皮膚欠損創への移植実験に成功し、良好な生着を認めている。そこで、実際の創傷治療の現場で多く想定される難治性潰瘍に対する効果についての検討を行なった。

免疫不全マウス背部に薬剤性の難治性潰瘍を作製し、血管を備えた3次元ヒト培養皮膚を移植して治療効果について検討した。また、効果を比較検討するために、血管を持たない培養皮膚を移植した群を作製した。移植14日後において、血管を持たない培養皮膚では辺縁にのみ血流が観察されたのに対し、血管をもつ培養皮膚の創部中央には管腔様構造内に赤血球が流入しており、肉芽の形成も良好であった。血管をもつ培養皮膚は血流豊富な組織によって創治癒を促進した可能性が示唆された。しかし、ヒト細胞の表面に発現している

主要組織適合性複合体クラスIを認識するHLA-ABC抗体を用いた免疫染色の結果では、血管をもつ培養皮膚移植群において、創部の上方でHLA-ABC陽性領域を認めたが、下方は陰性化していた（図3）。このことから、薬剤性の難治性潰瘍創へ移植したヒト培養皮膚が一部変性していた可能性が考えられる。今後は、経時的な観察や創傷治癒に影響を及ぼす生理活性物質などについて病理組織学的、生化学的解析を行うことによって3次元培養皮膚がどのような形で治癒に寄与するのか明らかにする。

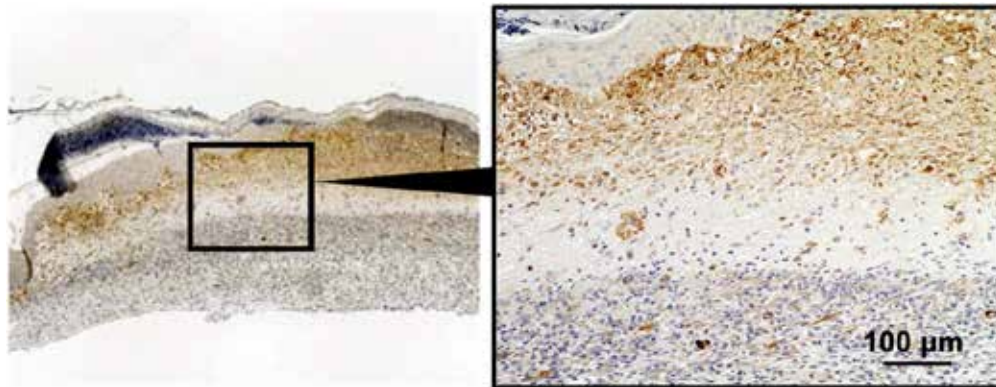


図3: 血管をもつ培養皮膚移植14日後の創部HLA-ABCタンパク質の発現。

謝辞

本研究は、防衛医学基盤研究C「皮膚再建への臨床応用を視野に入れた脈管構造を含む3次元培養皮膚の開発研究」の一環として行われた。

3 研究課題：「遺伝子工学技術の応用研究」

（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）



マウス精巢を介した新規ゲノム編集法の開発

研究担当者

中村伸吾、宮崎裕美、諸星和紀

概要

近年、次世代シーケンサーのめざましい発展によりゲノムワイド関連解析が可能になり、特定の遺伝子と病気や体質の特徴などとの関連性が明らかになってきている。これらの関連性やメカニズムの解明のために、遺伝子の機能を生体レベルで評価できる遺伝子改変動物（目的の遺伝子を導入あるいは欠損させた動物）の作製が重要になっている。遺伝子改変動物の作製では、受精卵の回収、受精卵への核酸のマイクロインジェクション、胚培養、胚の仮親への移植という一連の工程が必要であり、受精卵の大きさもおおよそ0.1mmと極めて小さく、内部に試薬を導入するためにマイクロインジェクターと呼ばれる特殊な装置による作業が必須となる。また、特定の遺伝子を欠損させる場合では、胚性幹細胞（ES細胞）の取り扱いやゲノム解析などの遺伝子工学的スキルも必須である。近年のゲノム編集技術の登場は、このような方法とは異なる簡便で効率的な新たな方法の開発に寄与し、遺伝子改変動物の作製の平易化をもたらした。我々もまたゲノム編集技術を活用した簡便な遺伝子改変動物の作製技術を検討しており、その一環として、マウス精巢を標的とした方法を検討している。

防衛医科大学校動物実験倫理委員会の承認のもと、麻酔処置を施した雄マウスの精巣内へ赤色蛍光タンパク質を発現するプラスミドDNAを色素（トリパンブルー）と共に注入し（図4a）、続いて精巣全体に電気刺激を与えた（エレクトロポレーション）。翌日、精巣組織をホルマウントにより観察したところ、プラスミドDNAを注入していない精巣内（対照群）では赤色蛍光タンパク質の発現は見られなかったが、プラスミドDNAを注入した精巣では赤色蛍光タンパク質の発現が観察された（図4b）。したがって、精巣組織への遺伝子導入が可能であり、遺伝子改変精巣を持つ雄マウスの作製が行える可能性が示唆された。

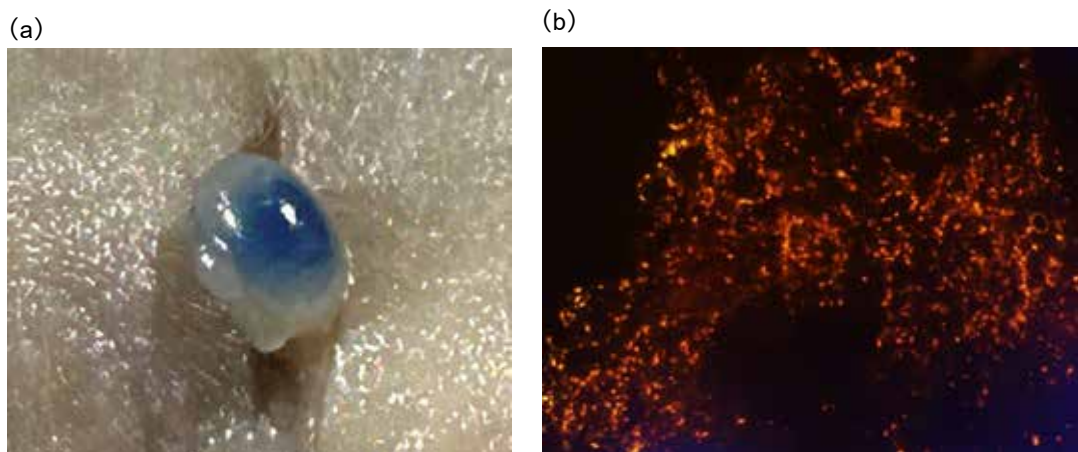


図4: (a) プラスミドDNAを注入したマウス精巣. (b) プラスミドDNAを注入後、エレクトロポレーションを実施した翌日の精巣で発現する赤色蛍光タンパク質.

謝辞

本研究は、科学研究費助成事業「新生仔マウスを介した新規生体内ゲノム編集系の開発」の一環として行われた。

○研究業績等

【著書】

1. 防衛・軍事医学の世界動向2023年版. 防衛医学研究センター編, 2023, pp31-70, pp231-255.

【原著論文】

1. Hata Y, Hiruma S, Miyazaki H, Nakamura S. A Sequential Approach for Water Purification using Seashell-Derived Calcium Oxide through Disinfection and Flocculation with Polyphosphate for Chemical Pollutant Removal. *ACS Omega*. 9(11): 12635-12642, 2024.
2. Ito N, Tsujimoto H, Miyazaki H, Takahata R, Saitoh D, Ueno H. Pivotal role of myeloid - derived suppressor cells in infection - related tumor growth. *Cancer Med*. 13(4): e6917, 2024.
3. Nakashima H, Kearney BM, Kato A, Miyazaki H, Ito S, Nakashima M, Kinoshita M. Novel phenotypical and functional sub-classification of liver macrophages highlights changes in population dynamics in experimental mouse models. *Cytometry, Part A*. 103(11): 902-914. 2023.
4. 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. *J Appl Toxicol*. 43(6): 874-886, 2023.
5. Tsunoi Y, Takayama I, Kondo N, Nagano Y, Miyazaki H, Kawauchi S, Akashi M, Saitoh D, Terakawa M, Sato S. Cultivation and Transplantation of Three-Dimensional Skins with Laser-Processed Biodegradable Membranes. *Tissue Eng Part A*. 29(11-12): 344-353, 2023.

【総説・解説】

1. Sato M, Morohoshi K, Ohtsuka M, Takabayashi S, Inada E, Saitoh I, Watanabe S, Nakamura S. Recent Advances in the Production of Genome-Edited Animals Using i-GONAD, a Novel in vivo Genome Editing System, and Its Possible Use for the Study of Female Reproductive Systems. *OBM Genetics*. 7(4): 207. 2023.
2. Nakamura S, Morohoshi K, Inada E, Sato Y, Watanabe S, Saitoh I, Sato M. In Vivo Organ/Tissue Genome Editing in Newborn Pups. *Encyclopedia*. 50913. 2023.
3. Nakamura S, Morohoshi K, Inada E, Sato Y, Watanabe S, Saitoh I, Sato M. Recent Advances in In Vivo Somatic Cell Gene Modification in Newborn Pups. *Int J Mol Sci*. 24(20):15301. 2023.
4. Nakamura S, Inada E, Saitoh I, Sato M. Genome-Editing Approaches toward Post-Implanted Fetuses in Mice. *Encyclopedia*. 45822. 2023.
5. Nakamura S, Inada E, Saitoh I, Sato M. Recent Genome-Editing Approaches toward Post-Implanted Fetuses in Mice. *BioTech*. 12(2):37. 2023.

【学会発表】

1. 田邊 静香, 角井 泰之, 宮崎 裕美, 明石 満, 佐藤 俊一. ヒト3次元培養皮膚を用いた抗微生物光線力学療法の副作用に関する評価. 第23回レーザー学会東京支部研究会, 2024.03
2. 岸田 皐, 梅村 直己, 宮崎 裕美, 八木 秀樹, 大越 絵美加. 多剤耐性口腔がん細胞に対する shikonin の免疫原性細胞死. 日本薬学会144年会, 2024.03
3. Tsunoi Y, Takayama I, Kondo N, Nagano Y, Miyazaki H, Ida T, Akashi M, Terakawa M, Sato S. Femtosecond laser-processed biodegradable porous membranes for cultivation and transplantation of three-dimensional skin substitutes. SPIE Photonics West 2024 Biomedical Optics, 2024.01
4. 宮崎 裕美, 角井 泰之, 木下 学, 佐藤 俊一, 齋藤 大蔵, 中村 伸吾. 熱傷管理の綺麗なアプローチ. 重症熱傷の全身管理と局所管理による感染制御: 実験動物による基礎的研究. 第32回日本熱傷学会関東地方会, 2024.01
5. 伊藤 希, 辻本 広紀, 宮崎 裕美, 板崎 勇二郎, 神津 慶多, 杉原 崇生, 藤嶋 誠一郎, 堀口 寛之, 岸 庸二, 上野 秀樹. 感染性合併症のがん治療と予後への影響. MDSC の感染症に伴う腫瘍増殖への関与. 第36回日本外科感染症学会総会学術集会, 2023.12
6. 岡本 紗椰香, 秦 裕樹, 宮崎 裕美, 中村 伸吾, 芹澤 武. セロオリゴ糖の自己集合化によるナノスパイク表面の構築と細菌付着挙動. GlycoTOKYO 2023, 2023.12
7. 諸星 和紀, 中村 伸吾, 佐藤 伴, 宮戸 健二, 河野菜摘子. マウス血清に存在する補体抑制因子の解析. 第46回日本分子生物学会年会 2023.12
8. 砂本 真名人, 佐藤 里奈, 諸星 和紀, 佐藤 伴, 宮戸 健二, 河野 菜摘子. マウス子宮内において補体系副経路が殺精子にはたらく. 第46回日本分子生物学会年会 2023.12
9. 東條 照太, 宮崎 裕美, 角井 泰之, 佐藤 俊一, 中村 伸吾, 東 隆一. 脈管構造を含む3次元培養皮膚は難治性潰瘍に有効か? 第32回日本形成外科学会基礎学術集会, 2023.10
10. 秦 裕樹, 宮崎 裕美, 中村 伸吾, 芹澤 武. 細菌を吸着するナノスパイク表面をもつセルロースガーゼの創製. 第72回高分子討論会, 2023.09
11. 加藤 梓, 宮崎 裕美, 森 和真, Bradley M Kearney, 中島 正裕, 中島 弘幸, 木下 学. 汎発性腹膜炎による敗血症の救命後モデルの確立と肺と肝の免疫担当細胞評価. 第37回日本 Shock 学会総会, 2023.08

12. 秦 裕樹, 宮崎 裕美, 中村 伸吾, 芹澤 武. セロオリゴ糖の自己集合化によるナノスパイク表面の構築と細菌付着特性. 第33回バイオ・高分子シンポジウム, 2023.07
13. Tsunoi Y, Miyazaki H, Kawauchi S, Saitoh S, Akashi M, Sato S. Control of the viability of three-dimensional cultured skins by photobiomodulation. European Conferences on Biomedical Optics 2023, 2023.06
14. Nakashima H, Kato A, Kearney BM, Nakashima M, Miyazaki H, Ito S, Kinoshita M. Phenotypical and functional sub-classification of Kupffer cells and liver monocyte-derived macrophages in mice. EASL Congress 2024, 2023.06
15. 宮崎 裕美, 角井 泰之, 木下 学, 齋藤 大蔵, 中村 伸吾. 熱傷感染管理の戦略: 広範囲熱傷に対する感染対策-新たな治療法にむけて-. 第49回日本熱傷学会総会・学術集会, 2023.05
16. 秦 裕樹, 宮崎 裕美, 芹澤 武, 中村 伸吾. ナノスパイク構造を表面にもつマイクロ繊維からなるセルロース材料の創製と医用応用. 第72回高分子学会年次大会, 2023.05

トピック:自衛隊中央病院薬剤官の薬剤実務研修

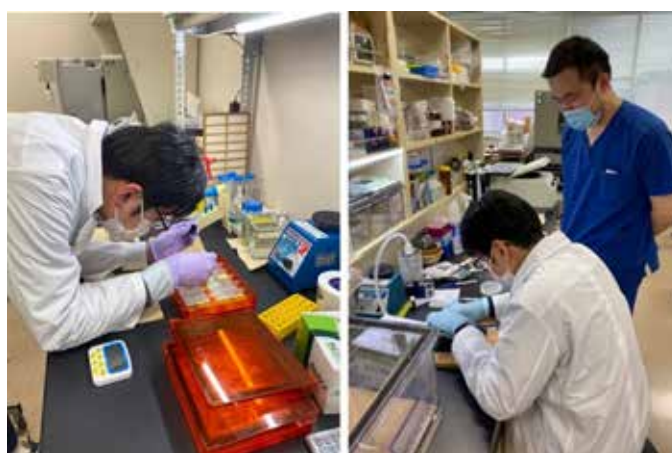
自衛隊中央病院の堀池玲央那薬剤官が令和5年12月11日から令和6年2月15日までの約2ヶ月間、医療工学研究部門で薬剤実務研修を行いました。本研修は、医学・薬学研究に関わる研究技法、各種分析機器の取扱い、論文の検索・読解等の教育訓練を行うことを目的としています。堀池薬剤官は、移植応用を目指した三次元ヒト培養皮膚の研究において、移植後の変化や細胞老化について基礎研究を行いました。堀池薬剤官に寄稿いただいた本研修の感想を下記に掲載いたします。

(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39期薬剤実務研修生 堀池 玲央那

今回私は三次元ヒト培養皮膚を用いた *in vitro* 実験に携わらせて貰いました。実際に自分で手を動かして実験を行うのは大学卒業以来3年ぶりであり、また細胞の培養を行うのは初めての経験でしたが、研究室の皆様に支えられて実験を進めることが出来ました。更なる研究結果が期待できそうなところで研修が終わってしまった点は非常に名残惜しい部分です。今回の研修で得たことは2つあります。1つ目は研究という題材を通して問題解決フローを学ぶことが出来たことです。所望の結果を得るために実験方法を考え、出た実験結果に対して実験条件を修正していく。所望の結果ではない部分については、文献を調べ考察して更なる研究につなげる。このフローは、幹部自衛官として難しい問題に取り組む際にも非常に役に立つものと捉えています。2つ目は研究現場におけるモノの需要や、実際に使っている現場を知ることが出来たことです。薬剤官は自衛隊衛生の中でモノの補給を期待されています。私が実際に補給を担当する部署に配属された際に、現場を知っていることは大きな役に立つと思います。今回こういった研修に参加出来き、また医療工学部門の皆様と2カ月間共に研究をさせてもらえたことは非常に幸運であり、大きな財産となりました。



堀池薬剤官の実験の様子

特殊環境衛生研究部門

教 授 1等空佐 藤 田 真 敬 (令和5年7月31日転出)

教 授 1等空佐 木 村 幹 彦 (令和5年8月1日着任)

准教授 1等空佐 江 戸 直 樹 (令和5年10月1日着任)

助 教 3等陸佐 遠 藤 康 弘

特殊環境衛生研究部門

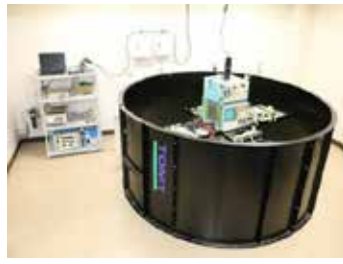


部門の概要

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5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) 各種ストレスマーカーに関する基礎研究
- (2) 災害時避難所における調査研究

2. 特殊環境における予防医学に関する調査研究

3. その他の研究課題：「新たな特殊環境衛生研究課題の探索」

4. 研究以外の貢献

令和 5 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 (C)、生物 (B)、放射線 (RN)、爆発 (E))、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)

(1) 各種ストレスマーカーに関する基礎研究

研究担当者

遠藤康弘

概 要

当部門では、耐性指標としての生理学的なストレスマーカーの検索と評価に関する基礎研究を実施している。その中で、低酸素環境における高比重リポ蛋白(HDL)機能に着目した。高比重リポ蛋白(HDL)は、動脈硬化巣マクロファージから余分なコレステロールを肝臓に輸送するコレステロール逆転送系(Reverse Cholesterol Transport: RCT)を支える抗動脈硬化性リポ蛋白であり、RCTの初期段階であるコレステロールの排出能力は動脈硬化の予防に新たな治療標的として注目されている。

睡眠時無呼吸症候群(SAS)のHDLプロテオーム解析において、動脈硬化の原因となる疾患として知られているSASとの間に、コレステロール排出能力と負の相関関係が示唆される複数の蛋白質を発見した。特に急性相反応に関わるProtein Xという候補蛋白に焦点を当て、低酸素環境下でのin vivo研究において、Protein Xをコードする遺伝子の発現上昇を確認した。さらに、siRNAを使用したRNA-seq解析を通じて、siRNAによるノックダウンによりgene Yの発現が上昇することを見出した。今後は、アデノ随伴ウイルスを使用した研究を進めていく予定である。特殊環境に曝露する自衛官の生体ストレスを反映する新規のバイオマーカーを探索し、自衛官の健康管理に応用していくことを目指す。

(2) 災害時避難所における調査研究

(大分大学との共同研究・医学教育)

自然災害時の避難所では生活習慣病のリスク増大が報告されているが、その性差に関する詳細は不明である。また、我が国における自然災害時の避難所環境は、国際指針などの認識が進み改善されているが、女性や子供、高齢者などの災害弱者にとっての環境はまだ改善の余地がある。我々は、避難に伴う生活習慣病のリスクの性差や女性の立場から見た健康状態と避難所運営の課題に関して、systematic reviewを実施し、防衛衛生学会及び日本災害医学会において発表を行った。

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) 疾病予防に関する研究(行動科学研究部門との共同研究)

研究担当者

江戸直樹、北野誠人、池田幹人（航空幕僚監部首席衛生官）、長峯正典、栗田成雄（航空幕僚監部首席衛生官）、木村幹彦

概 要

航空自衛隊では医療や生活に関する指示区分に加え、部隊運用に耐えられる健康状態かを療養区分として判定し、両者からA（なし）、B（就業）、C（激務休）、D（休務）の判定区分を付与している。配置や要員指定等にAまたはBであることが必要となることがあり、部隊運用上も重要である。航空自衛隊では、メタボリックシンドロームに該当した場合原則Cとなるが、体力検定合格を以てBとしている。これを踏まえ、体力検定合格程度の体力がメタボリックシンドロームの進展に与える影響を評価し、腹囲とともにメタボリックシンドロームの進行に保護的に作用するとの解析結果を得た。本解析結果は防衛衛生学会において口頭発表を行った。

3 その他の研究課題：「新たな特殊環境衛生研究課題の探索」

研究担当者

木村 幹彦、江戸 直樹、遠藤 康弘

概 要

特殊環境衛生研究部門（前身異常環境衛生研究部門）は、「異常環境とその対策に係る研究」を業務として行う。特殊環境衛生部門が担当する異常環境は、深海から高地、航空宇宙に亘る広範多岐な範囲を扱う。

2023年に示された防衛力の抜本的強化には宇宙での自衛隊の能力強化が明示された。当面は、科学技術分野での宇宙能力強化が行われる一方で宇宙医学分野の基礎的能力強化も必要になることが十分予想される。宇宙は極端な環境であり、宇宙放射線、微小重力、宇宙塵などが生体に影響を及ぼす可能性がある。宇宙環境に対するストレスが人体に及ぼす影響はさまざまな報告がされている。現在は、宇宙空間に関する監視態勢を構築している状況であるが、上述のような宇宙環境の特性を踏まえ、従来の高高度（低圧環境）主体の視

点から宇宙環境の特性をも見据えた視点からの研究や医学的提言能力の獲得は極めて重要であると考え、宇宙医学研究課題の探索を行った。

【学会発表】

- 1) **遠藤康弘** 池脇克則 閉塞性睡眠時無呼吸症候群では HDL プロテオーム変化を介して HDL 機能障害を惹起する 第55回日本動脈硬化学会総会（宇都宮）2023年7月8日
- 2) **Yasuhiro Endo** Katsunori Ikewaki, Sleep Apnea Syndrome Induces HDL dysfunction
The 12th International Congress on Lipid & Atherosclerosis with Asia-Australia Vascular Biology.(Korea)
2023年9月14日 (Outstanding Poster Award 受賞)
- 3) **遠藤康弘** HDL 機能の現状と今後の展望～睡眠時無呼吸症候群からの探求～
第24回動脈硬化教育フォーラム(東京) 2024年1月28日（シンポジスト）
- 4) 松橋研武, **遠藤康弘**, 藤田真敬, 徳丸 治 災害避難所、難民キャンプの弱者の視点と改善の必要性に関する調査研究 第69回防衛衛生学会 2024年2月2日 東京
- 5) 島崎康徳, **遠藤康弘** 藤田真敬, 芳井友奈, 徳丸治, 避難所における生活習慣病のリスクの性差について (Sex-related changes in odds of lifestyle diseases among evacuees in temporary shelters.) 第29回日本災害医学会総会 2024年2月22日～24日 京都
- 6) 芳井友奈, **遠藤康弘**, 藤田真敬, 島崎康徳 徳丸 治, 避難所における女性の健康危機管理について (Management of health crisis among female evacuees in temporary shelters) 第29回日本災害医学会総会 2024年2月22日～24日 京都
- 7) **江戸直樹**, 北野誠人, 池田幹人, 脇文子, 斉藤拓, 木村幹彦, 栗田成雄, 長峯正典 運動機能の指標としての体力検定の合否がメタボリックシンドロームの進展に与える影響に関する検討 第69回防衛衛生学会 2024年2月2日 東京
- 1) **Eisuke Kawasaki**, Hayato Komura, Yasuhiro Endo, Naoki Edo, Mikihiro Kimura, Investigating the effects of Microgravity Environments on Biological Functions, A Systematic Review 第4学年 研究室配属成果発表会 11月10日

行動科学研究部門

教	授	長	峯	正	典
准	教	授	齊	藤	拓
助	教	脇		文	子
研究科学生		北	野	誠	人

行動科学研究部門



部門の概要

自衛隊員が種々の任務によって被るストレス反応について調査し、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ることができるような研究を行なうことを mission として掲げています。

これらを達成するために、疫学・精神医学・分子生物学・データサイエンスなどの領域横断的なアプローチを取り入れ、学際的な研究体制を構築しています。



令和5年度 研究報告課題

1 種々のストレス状況下に生じる精神心理学的諸問題とその対処に関する疫学研究

(1) 自衛隊員のストレス反応に関する疫学的研究

ア 自衛隊員に対するメンタルヘルスチェックの分析

イ 新型コロナウイルス感染症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

東日本大震災派遣隊員のPTSD症状に関する縦断研究：Dynamic Time Warpingを用いたネットワーク分析

(3) 防衛省のメンタルヘルスに関する政策研究

ア 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

イ 航空自衛隊員における幼少期逆境体験とPTSD症状に関する研究

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

動物モデルを用いた抑うつ症状・不安障害・PTSDの病態解明に関する研究

ア LPS プレコンディショニングによる行動異常発症抑制効果とミクログリアとの関係

イ NF κ B 遺伝子ノックダウンによる行動変化の検討

ウ 恐怖記憶の消去学習及び再固定化とミクログリア

令和5年度研究報告書

研究部門：行動科学研究部門

○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ある。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じる精神心理学的諸問題とその対処 に関する疫学研究



研究担当者

長峯正典、斉藤拓、脇文子、北野誠人、江戸直樹（特殊環境衛生研究部門）、戸田裕之（精神科学講座）、古賀農人（精神科学講座）、千葉俊周（自衛隊阪神病院）、立森久照（慶應義塾大学）、正司孝太郎（人間環境大学）、Erik J Giltay（Leiden University Medical Center）、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）

(1)自衛隊員のストレス反応に関する疫学研究

ア 自衛隊員に対するメンタルヘルスチェックの分析

我が国では、労働者の心の健康の保持増進を目的として、労働安全衛生法に基づいて年に1回のストレスチェック制度が義務付けられている。防衛省・自衛隊においても平成25年度から年に1度、全職員を対象としたメンタルヘルスチェックが開始された。当該データについては、開始当初より当部門で解析を担い、結果のフィードバックを実施してきた。現在のメンタルヘルスチェックは厚生労働省が推奨する職業性ストレス簡易調査票を中心に構成されており、業務ストレス因子（A得点）、心身のストレス反応（B得点）及びソーシャルサポート（C得点）の3領域を評価することで「高ストレス者」を選定している。

令和4年度自衛隊員に対するメンタルヘルスチェックのデータを当部門で分析し、結果を本省にフィードバックした。分析結果の概要は以下の通りである。

（ア）高ストレス者は全職員の4.8%で、令和3年度の結果（4.9%）と比較してほぼ同等の結果であった。

高ストレス反応との関連が強かったリスク因子は、所属（事務官等）、階級（幹部）、婚姻状況（独身）及び業務ストレス（仕事の負担（量）、仕事の負担（質）、対人関係ストレス及び職場環境ストレス）であった。高ストレス反応との関連が強かった保護的因子は、年齢（20代、30代及び40代：基準50代）、業務ストレス（仕事のコントロール度、技能の活用度、仕事の適正度及び働きがい）、社会的支援（上司のサポート、同僚のサポート及び家族・友人のサポート）及びワーク・エンゲイジメントであった。

(イ) ワーク・エンゲイジメントの高さと関連していた要因は、階級（幹部）、子供（あり）、1年以内の異動（あり）、単身赴任（あり）、居住場所（営内）、業務ストレス（仕事の負担（質）、身体的負担度、仕事のコントロール度、技能の活用度、仕事の適正度及び働きがい）及び社会的支援（上司のサポート、同僚のサポート及び家族・友人のサポート）であった。

イ 新型コロナウイルス感染症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

新型コロナウイルス感染症派遣業務に従事した隊員の精神心理学的影響を評価するため、令和元年度と令和2年度に実施されたメンタルヘルスチェックデータから結合できた247,362人分の縦断データを作成し、職業性ストレス簡易調査票の業務ストレス因子やストレス反応、社会的サポート因子の各総得点、及びImpact of Event Scale-Revised（IES-R）や社会的認知、仕事への誇りの尺度の点数を解析した。新型コロナウイルス感染症派遣業務従事群（COVID-19群）と対照群に分け、両群間で各指標の変化を調べ、ストレス反応に対する仕事への誇りや社会的認知の保護的效果を評価した。

両群間における令和元年度から令和2年度の間の変化について、社会的認知や仕事への誇りにおいて時間との交互作用が有意であり、業務ストレス因子やストレス反応、社会的サポート、IES-Rには有意な時間との交互作用を認めなかった。また、ストレス反応を目的変数とした線型混合効果モデルでは、仕事への誇りと業務ストレス因子において時間との交互作用項が有意な説明変数となった。

新型コロナウイルス感染症派遣業務への従事は、防衛省・自衛隊員のストレス反応やPTSD症状に有意な影響を及ぼさなかった。加えて、今回の我々の解析では、COVID-19群では仕事への誇りが対照群よりも有意に維持され、ストレス反応に保護的に作用した可能性が示唆された。

(2) 心的外傷反応に関する心理学的研究

東日本大震災派遣隊員のPTSD症状に関する縦断研究：Dynamic Time Warpingを用いたネットワーク分析

我々はこれまでに、東日本大震災に派遣された陸上自衛隊員を対象に縦断研究を行い、潜在成長混合モデルを用いてPTSD症状の軌跡が5群（「レジリエント群」、「回復群」、「未回復群」、「遅発群」、「慢性群」）に分類されることを明らかにした（Saito et al. Br J Psychiatry. 2022）。本研究では、時系列データの類似性を非線形的に評価する解析手法：Dynamic Time Warping（DTW）を用いて、PTSD症状の軌跡ごとにネットワーク構造の違いを比較し、症状の進展及び回復過程を明らかにすることを目的とした。

東日本大震災に派遣された陸上自衛隊員10,211名（男性97.8%、平均年齢36.7歳）を対象に、DTWを用いてPTSD症状間の動的関係をモデル化し、無向及び有向症状ネットワークを構築した（図1）。

無向性DTWでは、ネットワーク密度が低いほど、PTSD症状の重症度がより慢性的な経過をたどり、ネットワーク密度が高いほど、PTSD重症度の経時的変動が大きいことが示された。有向性DTWでは、時間経過とともに解離症状が最初に改善し、侵入症状が最後まで残存することが示された。さ

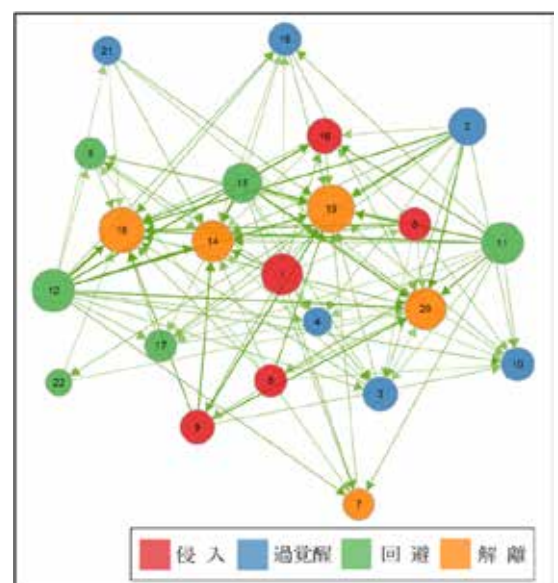


図1 遅発群における有向性ネットワーク

らに、回避症状が最初に増悪する症状であり、解離症状は最後に増悪する症状であることが示された。

これらの結果より、PTSD症状の進行においてネットワーク密度が重要であり、特に回避症状を呈する場合には、早期介入が有効であることが示唆された。

(3)防衛省のメンタルヘルスに関する政策研究

ア 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組み

平成25年度よりメンタルヘルスチェックが毎年度実施されるようになって以降、防衛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度フィードバックされている。しかしながら、各組織レベル（方面・師旅団等）においてメンタルヘルスチェック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だ。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5年度は、指揮官及びメンタルヘルス担当者がダッシュボードの模擬的体験をすることを目的として、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（図2）のファイルを送付し、意見を収集した。その結果、6割以上が「参考になる」あるいは「やや参考になる」と回答したが、2割弱が「あまり参考にならない」と回答した。「あまり参考にならない」理由として、「もっと小規模な単位での結果が見たい」、「結果を扱うメンタルヘルス担当者では解析結果の解釈が難しい」などの意見があった。また、試験的なフィードバックであったが、「引き続き活用したい」「フィードバックされれば活用したい」が8割以上、「必要性を感じる」「やや必要性を感じる」が6割以上で、迅速なフィードバックを希望する意見が多数確認された。今回は出力画面のファイルを使用した模擬的体験であったが、今後ダッシュボードを導入することができれば、各集団のメンタルヘルス状態を視覚的に、また迅速に把握することができ、指揮統率の資として活用できるのではないかと考えられた。

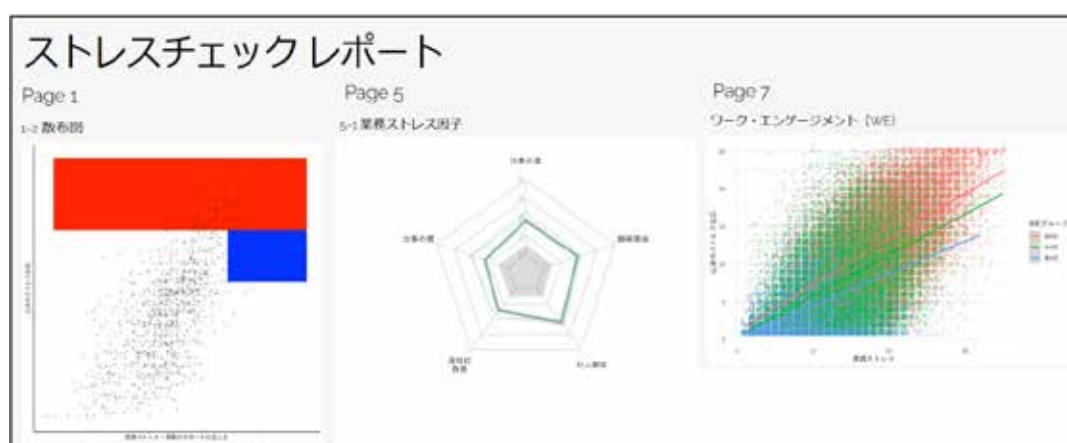


図2 ダッシュボード出力画面の例

謝辞

本研究は、防衛医学基盤研究B「自衛隊員のメンタルヘルス向上に資する疫学研究」の一環として行われた。

イ 航空自衛隊員における幼少期逆境体験とPTSD症状に関する研究

幼少期逆境体験はPTSDやうつ病などの精神疾患のみならず、心疾患や糖尿病といった身体疾患に至るまで長期的な影響を及ぼすことが知られている。セルフ・コンパッションは、幼少期逆境体験の負の影響に対す

る保護的因子として近年注目を集めているが、幼少期逆境体験とPTSD症状との間の媒介効果については十分に検討されていない。本研究では、幼少期逆境体験とPTSD症状間のセルフ・コンパッションの保護的効果を明らかにすることを目的とした。

航空自衛隊の新隊員1682名を対象とした無記名横断調査において、幼少期逆境体験に関連するPTSD症状をアウトカムとして評価した。階層的重回帰分析を適用し、自尊心などの他の要因を統制した上で、幼少期逆境体験を有する537名の参加者において、従属変数であるPTSD症状とセルフ・コンパッションの関係を明らかにした。さらに、幼少期逆境体験とPTSD症状との間のセルフ・コンパッションの媒介効果を明らかにするために、媒介効果分析を行った。

約6%が幼少期逆境体験に起因するprobable-PTSD (PCL-5 $\geq$ 38)を示した。階層的重回帰分析の結果、セルフ・コンパッションの有意な負の関連が明らかになった ($\beta = -.22$, 95% CI: $-.34 \sim -.11$)。Sobel媒介分析検定では、セルフ・コンパッションの部分的保護媒介効果が明らかになった ($z = 4.76$, $p < 0.001$)。

航空自衛隊新隊員において、幼少期逆境体験と関連するPTSD症状が少なからず存在することが確認され、セルフ・コンパッションは部分的な媒介効果を有していた。新隊員に対するセルフ・コンパッションに関する今後の教育的介入により、精神的健康の改善に寄与する可能性が示唆された。

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）、浅井史穂（精神科学講座）

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

ア LPS プレコンディショニングによる行動異常発症抑制効果とミクログリアとの関係

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、抑うつ症状様行動や不安症状様行動といった行動異常の発症に関与することを示した。そこで、炎症由来の精神障害発症抑制を検討する為に、精神障害モデルマウスに対してLPS プレコンディショニングを行い、エンドトキシン耐性誘導による脳における免疫応答の抑制を試みたところ、ミクログリアの過剰な活性化の抑制、および行動異常発症の抑制が示された。これらの結果から、ミクログリアの活性化抑制には行動異常発症の抑制効果が示唆されたが、これらの因果関係は明らかになっていない。そこで、令和5年度では、炎症由来の精神障害モデルマウスに対するLPS プレコンディショニングによる行動異常発症の抑制効果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ることで脳組織のミクログリアを消失させたうえでLPS プレコンディショニングをおこなった。その後、PLX3397投与を中止してミクログリアを再び発生させた。この状況で、マウスに社交性や興味関心の低下を示唆する行動異常を引き起こす為に高用量LPS投与を行い、その24時間後にオープンフィールド試験および社会的相互作用試験を行った（図3）。

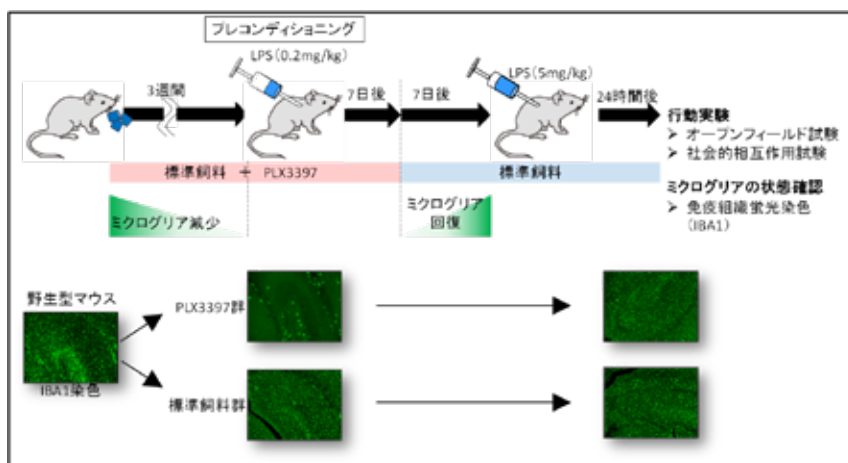


図3 実験方法の概要

正常なマウスの場合、高用量LPS投与により現れる自発運動量の低下は、LPS プレコンディショニングにより抑制された。しかし、マイクログリアが除去された状態でLPS プレコンディショニングを行ったマウスの場合は、LPS プレコンディショニングによる自発行動量の低下に対する抑制効果が小さかった（図4A）。また、自発的な活動の一つである立ち上がり行動については、正常なマウスでは高用量LPS投与により行動量が低下し、LPS プレコンディショニングによりその低下が抑制された。一方で、マイクログリアが除去された状態でLPS プレコンディショニングを行ったマウスの場合は、LPS プレコンディショニングによる抑制効果が小さかった（図4B）。

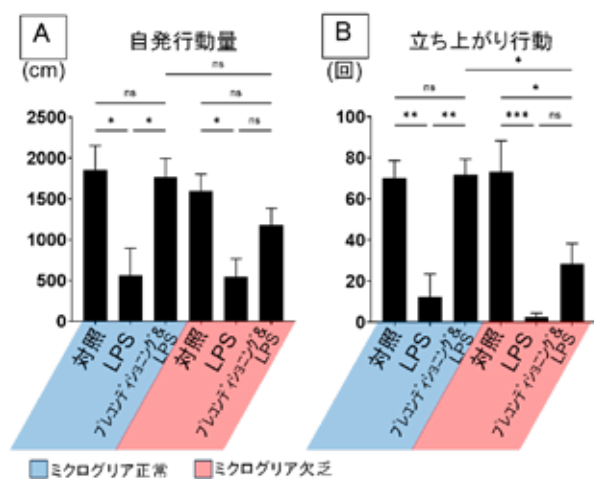


図4 オープンフィールド試験の結果

自発行動量および立ち上がり行動について、各群の平均値と標準誤差を示す。自発行動量（A）についてはone-way ANOVAで有意であり（ $F_{(5, 32)} = 4.776, p=0.0023$ ）、Holm-Šidák検定による事後検定の結果、マイクログリア正常マウスの対照群と比較してLPS群で有意に低く（ $p=0.0153$ ）、LPS群と比較してプレコンディショニング後にLPSを投与した群では有意に高かった（ $p=0.0287$ ）。マイクログリア欠乏マウスでは、対照群と比較してLPS群は有意に低かった（ $p=0.0325$ ）が、LPS群と比較してプレコンディショニング後にLPSを投与した群には有意差が認められなかった。立ち上がり行動（B）についてはone-way ANOVAで有意であり（ $p<0.0001$ ）、Holm-Šidák検定による事後検定の結果、マイクログリア正常マウスの対照群と比較してLPS群で有意に低く（ $p=0.0089$ ）、LPS群と比較してプレコンディショニング後にLPSを投与した群で有意に高かった（ $p=0.0089$ ）。マイクログリア欠乏マウスでは、対照群と比較してLPS群は有意に低かった（ $p=0.0005$ ）が、LPS群と比較してプレコンディショニング後にLPSを投与した群には有意差が認められなかった。

また、社会的相互作用試験では、正常なマウスの場合は、高用量LPS投与による他のマウスへの接触行動の低下がLPS プレコンディショニングにより抑制された。しかし、ミクログリアが消去された状態でLPS プレコンディショニングを行ったマウスでは他のマウスへの接触行動の低下は抑制されなかった（図5）。

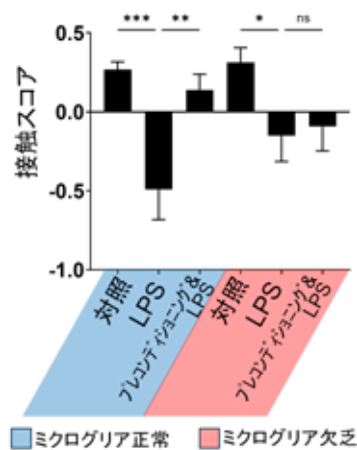


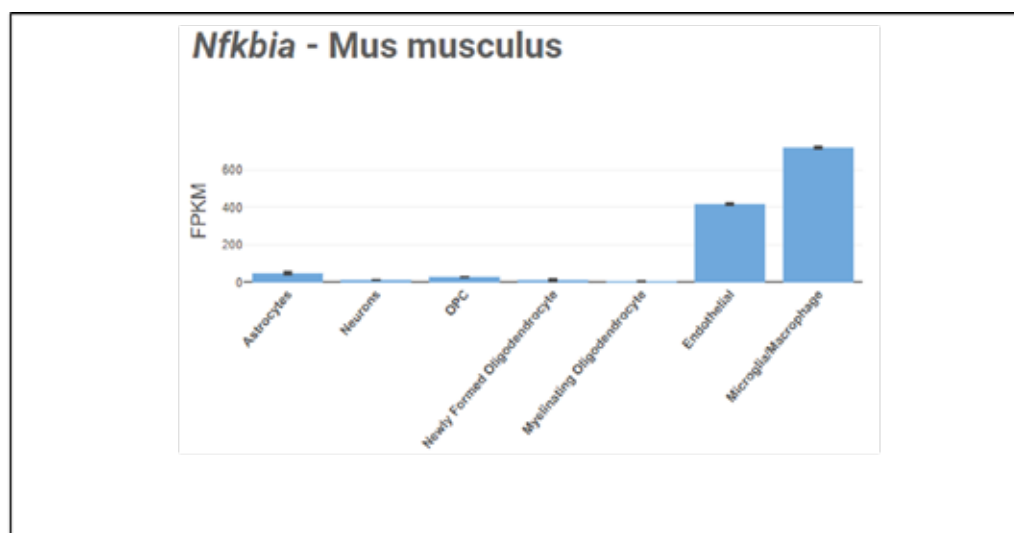
図5 社会的相互作用試験の結果

各実験群のマウスにおける他個体への接触行動を示す接触スコアの平均±標準誤差を示す。one-way ANOVAの結果有意であり ($F_{(5, 37)} = 5.680, p=0.0006$)、Holm-Šidák検定による事後検定の結果、ミクログリア正常マウスの対照群と比較してLPS群で有意に低く ($p=0.0009$)、LPS群と比較してプレコンディショニング後にLPSを投与した群で有意に高かった ($p=0.0059$)。ミクログリア欠乏マウスでは、対照群と比較してLPS群は有意に低かった ($p=0.0325$) が、LPS群と比較してプレコンディショニング後にLPSを投与した群には有意差が認められなかった。

以上の結果から、LPS プレコンディショニングによる行動異常の発症抑制にはミクログリアの寄与が示唆され、脳内免疫系のコントロールによる精神的健康の維持や向上の作用点としてミクログリアに期待できることが示された。今後は、ミクログリアの役割を分析し、LPS プレコンディショニングによる免疫応答の抑制がどのような生理学的意義を持つのかという点に着目して、他の神経系細胞への相互作用など詳細な分析を行っていく予定である。

イ NF κ BIA 遺伝子ノックダウンによる行動変化の検討

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。そして、炎症反応の主要な経路の一つとしてNF κ B経路が知られており、活性化することで、IL1 β 等の炎症性サイトカインの遺伝子発現が誘導される。NF κ B経路については、悪性腫瘍に関する研究が盛んに行われてきたが、近年、うつ病をはじめとする精神神経疾患との関連が指摘されている。これまでの我々の研究においても、NF κ B経路の抑制因子であるNF κ BIA(NF κ B Inhibitor Alpha)の遺伝子発現が、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おいて低下していることを認めている。また、脳内免疫において主要な役割を果たすミクログリアに、他の細胞に比べてNF κ BIA 遺伝子が多く発現していることから(図6、<https://brainrnaseq.org/>)、NF κ BIAの低下が、マウスに抑うつ不安様行動を引き起こす重要な因子となっていることが示唆されるが、これまでにNF κ BIAを単独で制御し、マウスの行動への影響を検討した研究は存在しない。そこで、ミクログリアを標的としてアデノ随伴ウイルス(AAV: Adeno-Associated Virus)による遺伝子導入を行うことでNF κ BIAを抑制し、炎症反応や不安抑うつ様行動が誘発されるかどうか評価を行った。

図6 マウス脳の各細胞における *Nfκbia* 遺伝子

AAVによる導入遺伝子は、CD11bをプロモーターとし、shRNAによりNF κ BIA 遺伝子をノックダウンするよう設計した。C57BL/6マウス(7週齢、オス)にAAVを両側海馬に1 μ L(約 0.5×10^9 ゲノムコピー)ずつインジェクションし、4週間後、オープンフィールドテスト(探索行動、不安症状の評価)、ガラス玉覆い隠し試験(不安症状の評価)、強制水泳試験(抑うつ症状の評価)を行った。行動試験の後、脳をサンプリングし、リアルタイムPCRによる遺伝子発現の評価と免疫染色による評価を行った。行動試験の結果、ガラス玉覆い隠し試験において、ノックダウン群がコントロール群に比べて有意にガラス玉を多く埋め、不安様行動の発現を認めた(図7、検出力0.5239、 $p < 0.05$ 、student t-test)。一方、オープンフィールドテスト、強制水泳試験では有意な差を認めなかった(図8)。リアルタイムPCRの結果、*Il1 β* 、*Il6*、*Tnf α* 等の炎症性サイトカインの遺伝子発現の増加を認めた一方で、*Nf κ bia*の遺伝子発現に有意な差を認めなかった(図9、*Il1 β* :検出力0.5575 $p < 0.05$ *Il6*:検出力0.8032 $p < 0.05$ *Tnf α* :検出力 0.5419 $p < 0.05$ 、student t-test)。免疫染色の結果、ミクログリアにおける導入遺伝子の発現は少なく、神経細胞の一種である苔状細胞において導入遺伝子の発現が多かった(図10)。

NF κ BIAを遺伝子的にノックダウンすることで、慢性コルチコステロン投与モデルマウスと同様に不安様行動を認めたが、予想に反して炎症性サイトカインの遺伝子発現は低下しており、NF κ BIAの遺伝子発現にも変化を認めなかった。本研究のAAVのセロタイプとして中枢神経系への感染性の高さからPHP.eBを用いたが、神経細胞に比べてミクログリアへの感染性は低くなることも報告されており、ミクログリアへの感染が十分でなかったことから、海馬細胞全体で見た時にNF κ BIAの遺伝子発現に変化を認めなかった可能性がある。また、炎症性サイトカインの遺伝子発現が低下したことについては、初期にNF κ BIA遺伝子が抑制されてNF κ B経路が活性化した結果、NF κ B経路の下流にあるA20などのNF κ B経路を抑制する分子が過剰に産生されたことが原因として考えられる。今後は標的とする細胞やAAVのセロタイプについて、更なる検討が必要である。

ガラス玉覆い隠し試験

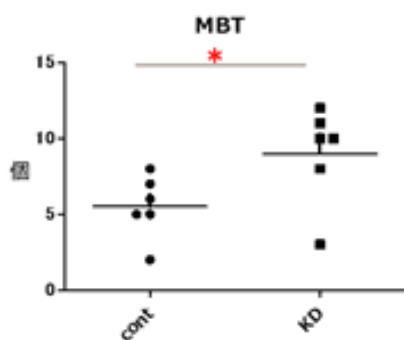
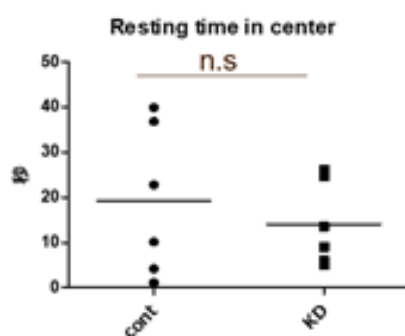


図7 ガラス玉覆い隠し試験

グラフはガラス玉を埋めた個数を示し、student t-testで有意であった（検出力0.5239、 $p < 0.05$ ）。ノックダウン群においてガラス玉を隠す数が増加（不安症状を示唆）した。

オープンフィールドテスト



強制水泳試験

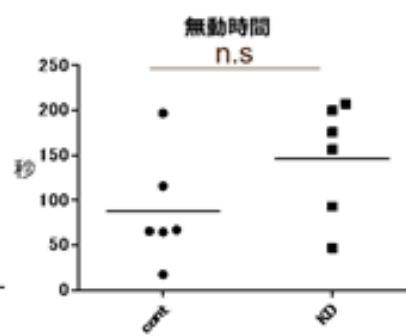


図8 オープンフィールドテストと強制水泳試験

オープンフィールドテストにおいて、中心区画における滞在時間に変化は認めなかった。強制水泳試験において、無動時間に変化は認めなかった。

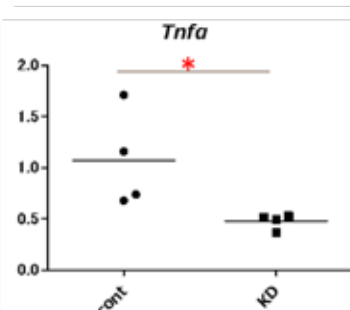
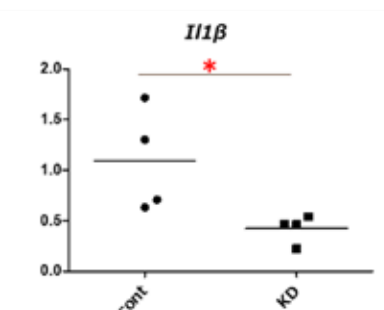
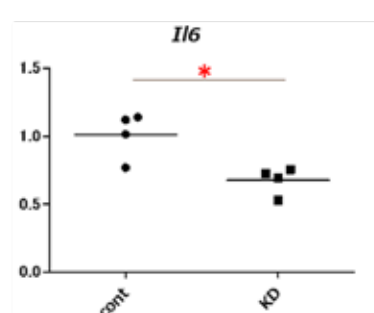
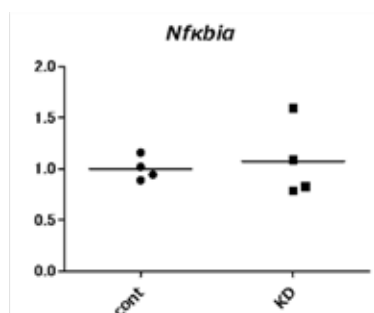


図9 リアルタイムPCRの結果

$Nf\kappa b$ の遺伝子発現に有意な差は認めなかった。 $Il1\beta$ （検出力0.5575、 $p < 0.05$ ）、 $Il6$ （検出力0.8032、 $p < 0.05$ ）、 $Tnf\alpha$ （検出力0.5419、 $p < 0.05$ ）の遺伝子発現は、ノックダウン群において student t-test で有意に低下していた。

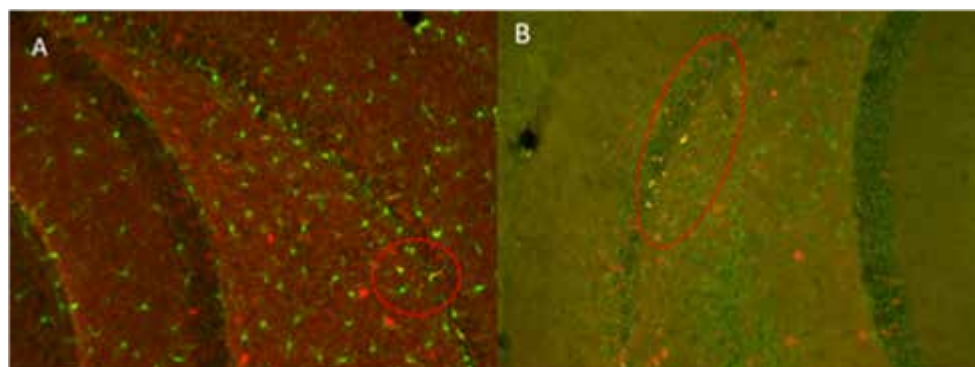


図10 免疫組織蛍光染色の結果

A: ミクログリア特異的なIBA1 (緑蛍光) と遺伝子導入した赤蛍光の重なり。一部(赤丸)で重なる部分を認める。

B: 苔状細胞特異的なGRUR2,3(緑蛍光)と遺伝子導入した赤蛍光の重なり。多形細胞層において多くの細胞が重なっている(赤丸)。

ウ 恐怖記憶の消去学習及び再固定化とミクログリア

PTSDの原因となるトラウマ記憶について、恐怖記憶が注目され、広く研究されている。恐怖記憶は安定した状態と不安定な状態を繰り返し、再固定化を経て長期記憶に移行する。消去学習は、恐怖記憶は保持された上で、想起により誘導される恐怖反応が減弱する現象で、恐怖反応を抑制するための新しい消去回路が形成されるものと考えられている(喜田・日本生物学的精神医学会誌・2022)。Wangらは、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. Science. 2020)。一方で、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いる(Christopher et al. Cell. 2013)が、恐怖記憶の形成および維持のどの段階にミクログリアが寄与しているかについては報告がない。当グループでは、昨年度の報告で恐怖記憶の形成初期の段階にミクログリアは必須ではないことを示した。昨年度と同様の方法を用いて、消去学習および恐怖記憶の再固定化について検討した。

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3週間摂取させ、脳組織のミクログリアを消失させた(図11)。

次にフットショック(0.4mAで2秒間、(Kida. Proc. Jpn. Acad., Ser. B. 2020))を与え、翌日同じ環境に30分間再暴露させた群を消去学習群、5分間再暴露させた群を再固定化群とし、再暴露の翌日にすくみ時間を測定した。それぞれの群の対照は通常餌のマウスとした。具体的には、表1、表2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。

免疫染色を行い、PLX3397を摂取したマウスでは有意にミクログリアの減少が認められることを確認した。

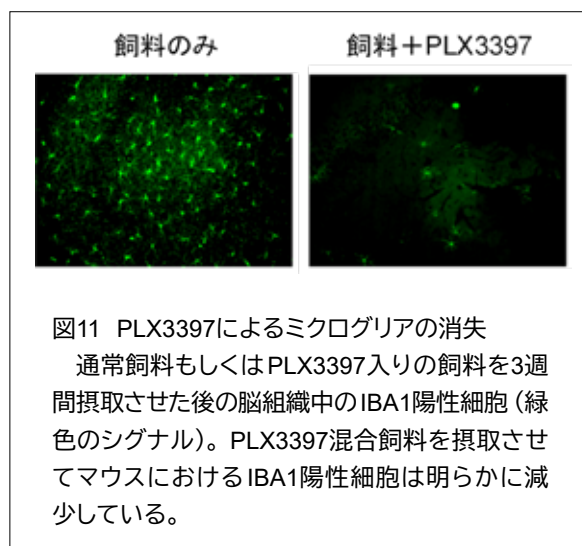


図11 PLX3397によるミクログリアの消失

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。

表1 マウスの割り付け（消去学習）

本実験では消去学習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消去学習（長時間再暴露）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	あり	9
2	なし	あり	8

表2 マウスの割り付け（再固定化）

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再固定化（短時間再暴露）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	あり	11
2	なし	あり	10

消去学習の結果を図12に示す。各群とも、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）に有意な差は認められなかった。翌日の消去学習を5分毎に計測し（E0-5,E5-10,E10-15,E15-20,E20-25,E25-30）、また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（Test）が、各群での無動時間には差は認められなかった。

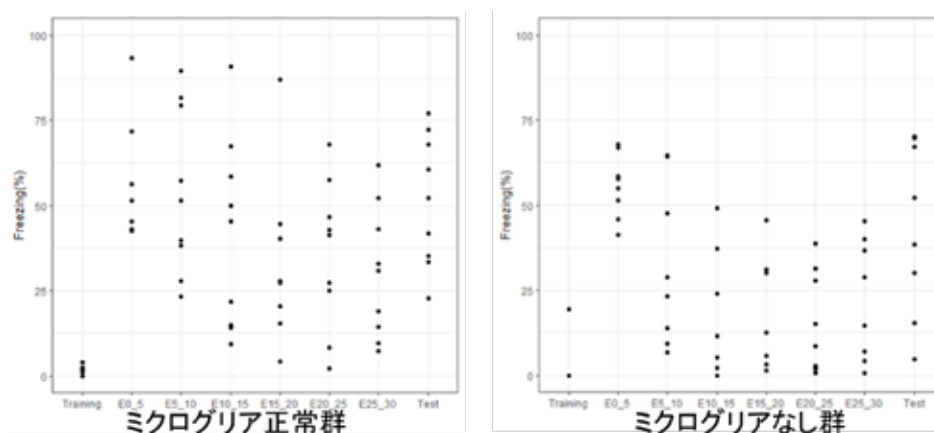


図12 消去学習における各群の無動時間

左のミクログリア正常群、右のミクログリアなし群では、消去学習における無動時間（Freezing）に有意差が認められなかった。

再固定化の結果を図13に示す。各群とも、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）に有意な差は認められなかった。翌日の短時間再暴露（Reconsolidation）、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（Test）行動のいずれも、各群での無動時間には差は認められなかった。

これらのことから、ミクログリアは消去学習の記憶形成、および恐怖記憶の再固定化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。

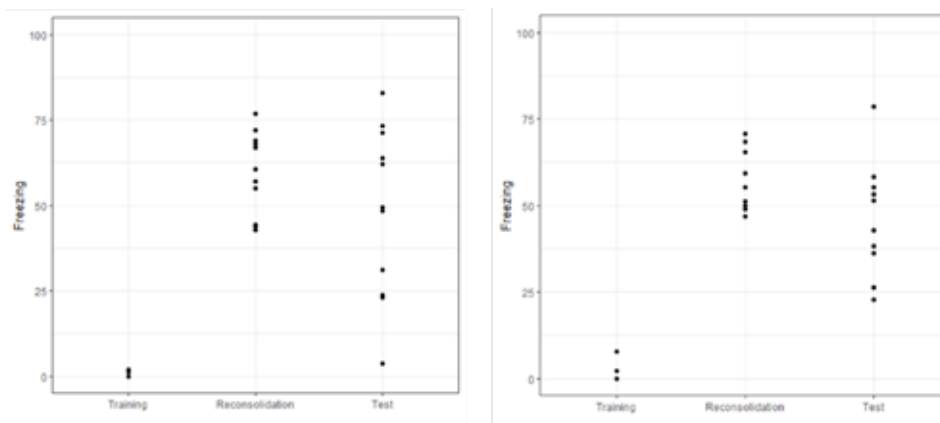


図13 再固定化における各群の無動時間
左のミクログリア正常群、右のミクログリアなし群では、消去学習における無動時間（Freezing）に有意差が認められなかった。

謝辞

本研究課題は、防衛医学基盤研究A「脳内免疫系のコントロールによるメンタルヘルスのレジリエンス強化」の一環として行われた。

○ 研究業績

論文

1. Yamazaki M, Nagamine M, Kitano M, Waki F, Edo N, Koga M, Tachimori H, Toda H. Identifying factors related to stigma toward psychiatric illness and mental health services and attitudes of help-seeking among Japan Ground Self-Defense Force members. J Psychiatr Res. 165:241-7, 2023.
2. van der Does FHS, Nagamine M, van der Wee NJA, Chiba T, Edo N, Kitano M, Vermetten E, Giltay EJ. PTSD Symptom dynamics after the great east japan earthquake: mapping the temporal structure using Dynamic Time Warping. Eur J Psychotraumatol. 14(2):2241732, 2023.
3. Kitano M, Shoji K, Nakaita I, Sano S, Tachibana S, Shigemura J, Tachimori H, Noguchi N, Waki F, Edo N, Koga M, Toda H, Yoshino A, Nagamine M. Japanese public health nurses classified based on empathy and secondary traumatic stress: variable-centered and person-centered approaches. BMC Psychiatry. 23(1):710, 2023.

学会発表

1. Koga M, Toda H, Nagamine M, Kinoshita M, Nakagawa R, Asai F, Mitsui Y, Yoshino A. Inhibitory effect of preconditioning with lipopolysaccharide on the onset of anxiety and depressive-like behaviors. 78th Society of Biological Psychiatry Annual Meeting. 2023.04 San Diego, United States
2. Nakagawa R, Toda H, Koga M, Sato M, Nagamine M, Asai F, Mitsui Y, Yoshino A. Preconditioning of Lipopolysaccharide Improves Anxiety-Like-Behavior and Brain Inflammation Associated With Chronic Corticosterone Exposure in Mice. 78th Society of Biological Psychiatry Annual Meeting. 2023.04 San Diego, United States
3. Vermetten E, Mink-Nijdam M, Burbach L, Nagamine M, Schmidt U, Zohar J, McFarlane A.

- From RDoC to a Staging Typology of PTSD. 62nd Annual Meeting of the American College of Neuropsychopharmacology. 2023.12 Tampa, United States
4. 長峯 正典. 健康管理データを活用した自衛隊員のメンタルヘルス研究. 第15回日本不安症学会学術大会 2023.05 東京
 5. 山崎 真之, 戸田 裕之, 長峯 正典, 古賀 農人, 江戸 直樹, 脇 文子, 北野 誠人, 立森 久照, 吉野 相英. 自衛官の精神疾患に対するスティグマの調査. 第119回日本精神神経学会学術総会 2023.06 横浜
 6. 齊藤 拓, 戸田 裕之, 古賀 農人, 長峯 正典. 東日本大震災に派遣された陸上自衛官の心的外傷後ストレス症状の軌跡とその関連要因-7年間の縦断研究-. 第22回日本トラウマティック・ストレス学会 2023.08 東京
 7. 北野 誠人, 齊藤 拓, 千葉 俊周, 江戸 直樹, 脇 文子, Florentine H.S. van der Does, Erik J. Giltay, Eric Vermetten, Nic J. van der Wee, 長峯 正典. 国連南スーダン共和国ミッションに派遣された陸上自衛官の心的外傷後ストレス反応の軌跡とその関連要因. 第22回日本トラウマティック・ストレス学会 2023.08 東京
 8. 中川 隆一, 戸田 裕之, 古賀 農人, 佐藤 真有実, 長峯 正典, 浅野 孝太郎, 中島 弘幸, 木下 学, 浅井 史穂, 茂木 美千子, 吉野 相英. 慢性コルチコステロン暴露モデルマウスにおける中枢神経マクロファージの表現型の変化とその由来について. 第42回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 2023.10 米子
 9. 佐藤 真有実, 古賀 農人, 中川 隆一, 長峯 正典, 浅井 史穂, 太田 宏之, 戸田 裕之, 吉野 相英. PTSD発症におけるミクログリアの関与についての検討. 第42回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 2023.10 米子
 10. 古賀 農人, 戸田 裕之, 中川 隆一, 佐藤 真有実, 長峯 正典, 浅野 孝太郎, 中島 弘幸, 木下 学, 浅井 史穂, 茂木 美千子, 吉野 相英. リポ多糖プレコンディショニングによる精神障害の発症抑制効果にはミクログリアが必要である. 第42回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 2023.10 米子
 11. 中川 隆一, 戸田 裕之, 古賀 農人, 佐藤 真有実, 長峯 正典, 浅野 孝太郎, 中島 弘幸, 木下 学, 浅井 史穂, 茂木 美千子, 吉野 相英. 慢性コルチコステロン暴露モデルマウスにおける中枢神経マクロファージの表現型の変化. 第45回日本生物学的精神医学会年会 2023.11 名護
 12. 佐藤 真有実, 古賀 農人, 中川 隆一, 長峯 正典, 浅井 史穂, 茂木 美千子, 太田 宏之, 戸田 裕之, 吉野 相英. 恐怖記憶の記憶形成の初期段階にはミクログリアは必須ではない. 第45回日本生物学的精神医学会年会 2023.11 名護
 13. 古賀 農人, 戸田 裕之, 中川 隆一, 佐藤 真有実, 長峯 正典, 佐藤 泰司, 木下 学, 浅井 史穂, 吉野 相英. 軽度外傷性脳損傷は心理的ストレスに対する精神障害発症の脆弱性を亢進する. 第45回日本生物学的精神医学会年会 2023.11 名護
 14. 齊藤 拓, 北野 誠人, 脇 文子, 長峯 正典. 東日本大震災に派遣された陸上自衛隊員のPTSD症状の経時的変化: Dynamic Time Warpingを用いた解析. 第69回防衛衛生学会 2024.02 東京
 15. 齊藤 拓, 野口 宣人, 長峯 正典. 国連平和維持活動への派遣に伴うPTSD症状の軌跡とそのリスク要因. 第29回日本災害医学会総会学術集会 2024.02 京都

トピック:ライデン大学(オランダ)との研究交流

行動科学研究部門では、平成30年よりオランダにあるライデン大学附属病院精神科と共同研究を行っています。同大学のEric Vermetten教授は、ストレス、トラウマ及び心的外傷後ストレス障害（PTSD）に関する世界的な大家で、元軍医（大佐）としてオランダ軍兵士を対象としたPTSD研究にこれまで数多く携わっています。また、現在では国連職員を対象としたPTSD教育などの活動も精力的に行っています。

令和5年7月から9月までの間、同大学附属病院精神科の博士課程学生であるFlorentine van der Doesが、日本学術振興会の外国人特別研究員として当部門に留学し、自衛隊員のPTSD症状に関する縦断データの解析を進めました（写真1）。さらに同年11月から令和6年3月までの間、当部門所属の研究科学生である北野3等空佐がライデン大学附属病院精神科へ留学し、同じく自衛隊員のPTSD症状に関連するデータ解析について、また当該学生の学位論文に関する調査研究について教授を受けました。令和6年3月には、ライデン大学で学術シンポジウム「日本と西洋における心理的トラウマに対する視点：類似点と相違点」を共同で開催し、長峯教授が「日本における心理的トラウマ：軍事精神医学の視点からの空白期間」と題した演題を発表しました（写真2）。

これまでに同大学附属病院精神科との共同研究において多くの成果を挙げており、今後も親密な連携のもと、研究を進めていく予定です。



写真1



写真2

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。主要研究テーマは下図の通りで、ここでは下記の課題について報告します。



令和5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、髄膜や血管などの脳の解剖学的境界領域に着目し、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と境界性グリア瘢痕の形成
- 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：光による生体調節作用の応用

新たな移植用皮膚として期待されるヒト3次元培養皮膚の品質向上のために、光による生体調節作用（photobiomodulation）を応用できないか検討を行っています。これまでに、培養中の皮膚に光を照射するための独自の装置を考案し、試作を進めてきました。今年度は、この装置の有用性について検討しました。

令和5年度研究報告書

研究部門：生体情報・治療システム研究部門

○研究の目的

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。

○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）



爆傷（頭部爆傷）



熱傷

（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（NO）のin vivoイメージング

研究担当者

川内聡子¹，牧野敦子¹，幸野明美¹，村松佑里子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，

⁴Thomas F. Frist, Jr. College of Medicine, Belmont University

【背景・目的】

爆発に起因する頭部外傷（頭部爆傷，blast-induced traumatic brain injury, bTBI）は，2000年以降，爆弾テロの多発により世界規模で受傷者が急増し¹，防衛・軍事医学上対処すべき重要課題のひとつとなっている。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，衝撃波の脳への作用（一次メカニズム）が主な原因と考えられているが，bTBIの病態や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。

我々は，衝撃波が脳に引き起こす現象を解明するため，これまでにレーザー誘起衝撃波（laser-induced shock wave, LISW）を適用したラット脳のリアルタイム診断を行い，脳に低酸素が長時間続く現象を観測した^{2,3}。これには，神経細胞で激しいイオンの流出入とともに大量のエネルギーを消費する拡張性脱分極と呼ばれる現象（Cortical spreading depolarization, CSD）が関与し，観測された血行動態異常の原因に，一酸化窒素（NO）が関わっているとの仮説を立てた（図1）⁴。衝撃波は，急激に上昇する圧力波であり，伝搬に伴い組織に急峻な圧力勾配と応力を生じるのに加え，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）が異なる界面で反射によって負圧を生じやすく，物理的損傷を引き起こしうると考えられる。このような組織境界近傍に存在する血管は，このような影響を受けやすいと言える。

昨年度までに、NO 検出蛍光プローブを用いたラット脳の in vivo NO イメージングを行い、同仮説を支持する結果を得たが⁴、解析が CSD に伴う組織 pH 変化の影響を受けたため、本年度は、① pH 変化の影響を受けにくい新プローブを用いて NO 産生の時空間変化を検証し、② 血管障害の原因となるニトロ化ストレスにつき検証を行った。

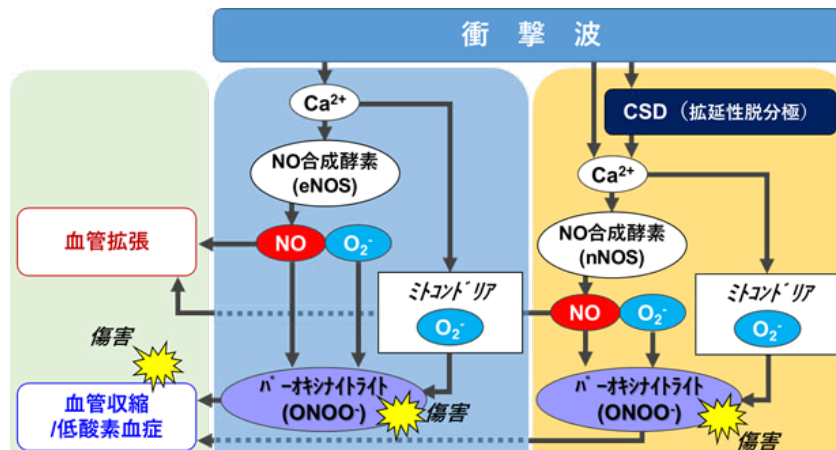


図1 NOの産生により低酸素血症が発生するメカニズムに関する仮説。衝撃波と衝撃波により発生するCSDは、それぞれ血管内皮細胞、神経細胞のCa²⁺濃度を上昇させ、NO合成酵素を活性化してNOを産生する。機械刺激に反応する特性を有する血管内皮細胞ではCa²⁺濃度上昇がより顕著と考えられ、同時にミトコンドリアの活性酸素（O₂⁻）生成を促進し、これがNOと反応して細胞毒性の強いパーオキシナイトライトを生成して血管障害を来す。神経細胞で産生したNOは拡散により移動し、この反応を強化する⁴。

【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-FM DA (Diaminofluorescein-FM diacetate) 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、LISW（直径4 mm、時間幅 ~1 μs）をCSDの発生が確率的となる力積（正圧力の時間積分値）約14 Pa・sで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を行った。計測終了後、脳の灌流固定を行い、切片についてニトロ化ストレスのマーカでありパーオキシナイトライトの産生により生成する3-ニトロチロシンの免疫組織化学染色を行った。

【結果・考察】

LISWを適用しCSDが発生・伝搬すると、直後から動脈血管壁に沿ってNO産生を示す蛍光の増加が認められた。この時間変化を解析したところ、蛍光はCSD発生直後から概ね単調に増加し、衝撃波適用1時間後において最大約30%の増加に達した。旧プローブ（DAF-2 DA, diaminofluorescein-2 diacetate）では、CSDの発生後約10分間は、組織pH低下の影響（蛍光強度が減少）により解析不能であった。一方、本実験ではCSD発生直後からの蛍光変化を捉えることができ、これにより血行動態異常の開始に先立ってNOの産生が増加することが確認された。CSDが発生しない条件では、旧プローブと同様、最大約10%のNO産生蛍光の増加を認めた。さらに、検出感度が向上した新プローブでは、旧プローブでは認められなかった静脈血管壁に沿ったNOの産生も観察された。ただし衝撃波による変化は明らかではなく、現在詳細を解析中である。動脈血管のNOは、平滑筋細胞に作用し血流調節（血管拡張・収縮）に寄与するのに対し、静脈血管のNOは白血球が組織に浸潤するのを抑制するため内腔側に作用することが知られる⁵。このような機能の違いが、観測されるNOの挙動の違いに関係する可能性がある。NO産生を認めた動脈血管壁の一部には、ニトロチロシン陽性が確認され、パーオキシナイトライトによる血管障害の発生が示唆された。

【結語】

衝撃波によるNOの挙動は、血行動態のみならず、脳血管の傷害や炎症に関与する可能性があり、血管の保護が病態の制御に重要と考えられる。今後このような効果を持つ薬剤等の開発により、自衛隊医療の高度化に資することが期待される。

謝辞

本研究は、防衛医学基盤研究A「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) Rosenfeld JV, McFarlane AC, Bragge P et al.: Blast-related traumatic brain injury. *Lancet Neurol.* 12: 882-893, 2013.
- 2) Sato S, Kawauchi S, Okuda W et al.: Real-time optical diagnosis of the rat brain exposed to a laser-induced shock wave: observation of spreading depolarization, vasoconstriction and hypoxemia-oligemia. *PLoS ONE* 9: e82891, 2014.
- 3) Kawauchi S, Okuda W, Nawashiro H et al.: Multispectral imaging of cortical vascular and hemodynamic responses to a shock wave: observation of spreading depolarization and oxygen supply-demand mismatch. *J. Biomed. Opt.* 24: 035005, 2019.
- 4) Kawauchi S, Inaba M, Muramatsu Y, et al.: In vivo imaging of nitric oxide in the male rat brain exposed to a shock wave. *J. Neurosci. Res.* 101: 976-989, 2023.
- 5) Pober JS, Sessa WC: Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 7: 803-815, 2007.

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, 市来やよい², 川内聡子¹, 永生高広³, I. Cernak⁴, 佐藤俊一¹

¹生体情報・治療システム研究部門, ²共同利用研究施設, ³外科学講座,

⁴ Thomas Frist, Jr. College of Medicine, Belmont University

【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形成される層状の構造はグリコカリックス（Glycocalyx: GCX）と呼ばれ（図1）、血圧、免疫細胞の動態や内皮細胞の機能維持など、様々な働きを行う。衝撃波管を使用したラット爆傷モデル実験において脳内のGCXに損傷が起こることが報告されている（Hall A et al., 2017）。しかし衝撃波管の場合、衝撃波の他に動圧（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、衝撃波のみの影響（1次メカニズム）は不明である。そこで本研究は、動圧を伴わないレーザー誘起衝撃波（LISW）による脳のGCXの変化を解析し、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。

【方法】

LISW (1.6 J/cm^2 , 力積 $10 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ [パスカル×秒], 時間幅 $\sim 20 \mu\text{s}$) をラット頭頂部に適用し、3時間後、2週間後、4週間後にGCXを染色し、透過型電子顕微鏡下で撮影し、画像をHaloAI (画像解析AIソフト) とImageJ (画像解析ソフト) を使用してGCXの面積と接着部分の長さから厚さを計算し、統計学的に比較した。

【結果・考察】

GCXの厚さは、衝撃波適用から3時間後に統計学的に最も薄くなっていた (図2)。また、有意差はないものの、2週間後、4週間後でも菲薄化は続き、コントロールの厚さまでに回復しなかった。電顕像からは2週間後から血管内腔に剥離したGCXが目立つようになり、4週間後ではそれらが増加する傾向が観察された (図3)。剥離したGCXが、GCXが最も薄くなった3時間後でなく、2週間後以降多く観察されたことや、菲薄化が続いた原因は不明である。しかしGCXの菲薄化や遊離したGCX自体が炎症につながるということが知られているため、本解析では確認できない局所的な炎症があり、GCXが脆弱化することで時間とともに剥離が増えた可能性が考えられる。

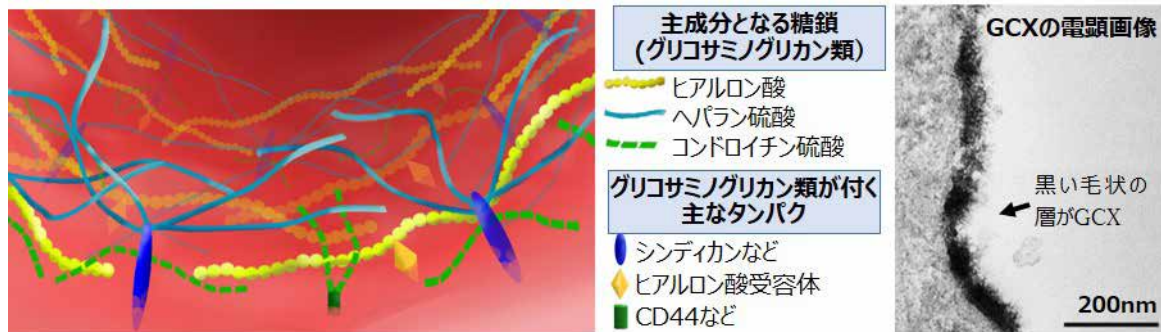


図1. 血管のグリコカリックスの模式図

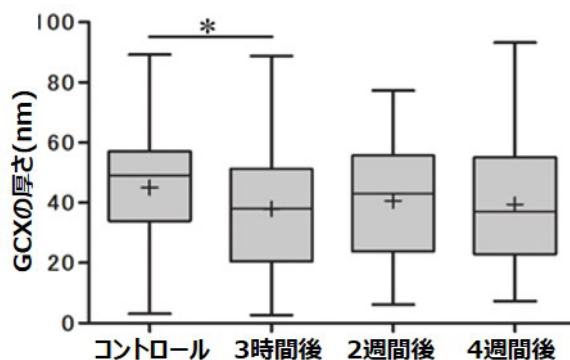


図2. mTBI後のGCXの厚さの変化

統計的多重比較はダンネット検定で行った。有意差が確認されたのは、コントロール対3時間の比較のみであった (アスタリスク、 P 値=0.0465)。他の比較の P 値は、対照vs.2週後は0.3188、対照vs.4週後は0.1416であった。
+ は平均値を表す。

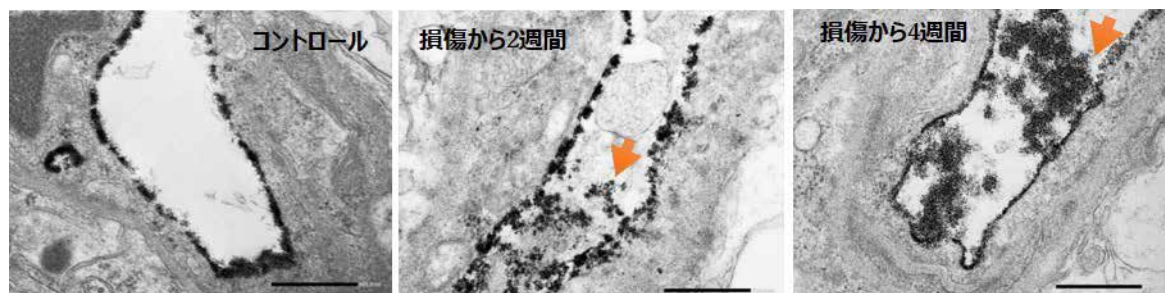


図3. 損傷後4週間の血管で見られた剥離したGCX

損傷から2週間、4週間後に、血管に接着していないGCXが観察された（矢印）。写真内の黒線は500nmを示している。

【結語】

本研究で使用した衝撃波は弱い条件（低力積）だったが、衝撃波によってGCXが菲薄化し、長時間菲薄化や剥離の影響が残ることが示された。このような影響は血管や脳の機能障害を起こすことが知られており、爆傷による脳損傷の後遺症に寄与する可能性があり、今後より詳細な研究を行い、医学的対処法について検討を行う計画である。

謝辞

本研究は、防衛医学基盤研究A「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。

ウ 衝撃波が引き起こす髄膜損傷と境界性グリア瘢痕の形成

研究担当者

川内聡子¹, 幸野明美¹, 村松佑里子¹, Grant Hennes², 関 秀太³, 富永 晋⁴

春山康栄¹, 小牟田 縁¹, 西舘 泉^{1,5}, 松熊 晋⁴, Yushan Wang², 佐藤俊一¹

¹生体情報・治療システム研究部門,

²Defence Research Development Canada Suffield, ³自衛隊中央病院,

⁴臨床検査医学講座, ⁵東京農工大学大学院

【背景・目的】

頭部爆傷に特徴的な臨床神経病理については今なお議論が続いているが、2016年に Shively らは、爆発に遭遇した米兵死後脳に見られるグリア瘢痕を報告した¹。グリア瘢痕とは、活性化したグリア細胞が集積して形成する瘢痕組織で神経再生を阻害する。報告された瘢痕の好発部位は、皮質軟膜下層 (SPG)、皮質血管周囲、灰白質-白質境界 (GM-WM)、および脳室壁 (VW) と、解剖学的組織境界に相当することから、この病変を境界性グリア瘢痕 (Interface astroglial scarring, IAS) と呼ぶ¹。組織境界では、音響インピーダンス不整合 (簡単には組織の硬さの違い) により、衝撃波 (圧力波) の反射が生じ、負圧による組織損傷が起きやすいと考えられる²。

我々は、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、上述した IAS の特徴を有するグリア瘢痕の形成を観察した。さらに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、グリア瘢痕の形成に関わっていることを見出した。しかし IAS の各領域の病変の特徴と進展, さらに髄膜損傷との関係の詳細については明らかでなかった。本研究では、グリア瘢痕を形成する反応性アストロサイトの時空間特性につき調べるとともに、髄膜損傷 (硬膜の微小出血) を *in vivo* 経頭蓋近赤外反射光イメージングによって評価し、その後生じるグリア瘢痕形成との関係につき調べた³。

【方法】

麻酔下でラットの頭頂骨を露出, 波長 800 nm の近赤外光を照射して拡散反射光イメージングを開始し, 左頭頂部に直径 4 mm の LISW (時間幅 $\sim 1 \mu\text{s}$) を適用して硬膜の微小出血 (血液吸収による反射光の減衰) を観察した。LISW の力積条件は低 (約 $15 \text{ Pa}\cdot\text{s}$), 中 (約 $17 \text{ Pa}\cdot\text{s}$), 高 (約 $19 \text{ Pa}\cdot\text{s}$) の 3 通りとし, LISW 適用後 1 日, 3 日, 7 日, 14 日および 28 日後に, 脳の灌流固定を行い, 冠状脳切片についてグリア線維性酸性タンパク質 (GFAP, 活性化アストロサイト・グリア瘢痕のマーカー) の免疫組織化学染色を行った。光学観察した硬膜の微小出血を組織学的に検証するため, ラット頭部脱灰標本についてヘマトキシリン・エオシン (HE) 染色を行った。

【結果・考察】

髄膜損傷に関する近赤外光イメージングの結果, 反射光強度の減少は, 組織学的に評価した出血の厚さにほぼ比例することが確認された (図1)。また組織学的な観察から, 低力積と中力積では, 漏出した赤血球は硬膜に限局し, くも膜以下に見られなかったのに対し, 高力積では硬膜とくも膜下の両方に赤血球が観察され, 皮質での出血は認められなかった (図1e-1h)。

LISW を適用したラットモデルにおける代表的な GFAP 染色結果を図2に示す (中力積, LISW 適用7日後)。

IASを特徴づける各領域のGFAP陽性面積の時間変化を評価したところ（図3）、皮質軟膜下層（SPG）では、低または中力積でLISW曝露後3日が最大となったのに対し、高力積では曝露後14日で最大となり、28日目でも有意に高い値となった（図3上段）。この違いは、髄膜損傷が硬膜に限局するか、髄膜全層に達するかによると考えられ、硬膜を起点とした血液成分や炎症性物質の漏出・浸潤の程度と関係していると思われる。一方、灰白質-白質境界（GM-WM）では、全力積において曝露後28日目に有意に増加し（図3下段）、脳室壁（VW）でも同様の傾向が見られ、SPGとは異なる遅発性の病理学的メカニズムが示唆された。光学検出した髄膜損傷の程度とGFAP陽性面積（グリア瘢痕）の相関を各領域について解析したところ、全領域で有意な相関を認めた。

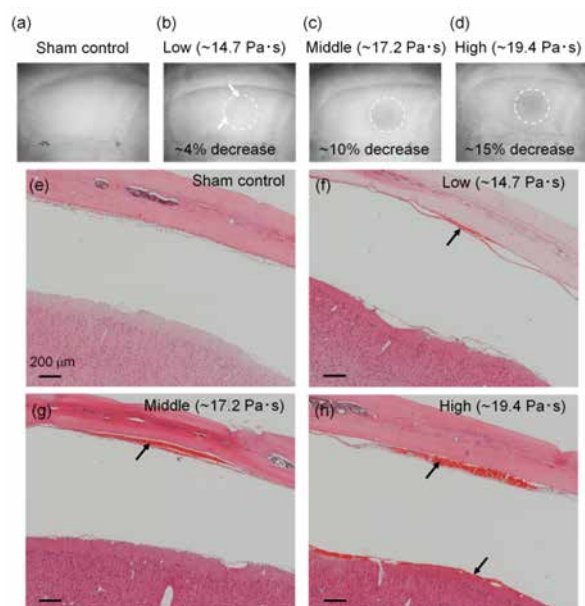


図1 LISW適用ラットの髄膜損傷に関する近赤外反射光イメージング（a-d）とHE染色（e-h）の結果。HE染色画像における頭蓋骨と組織の間の空隙は、固定・脱灰で生じる組織収縮による³。

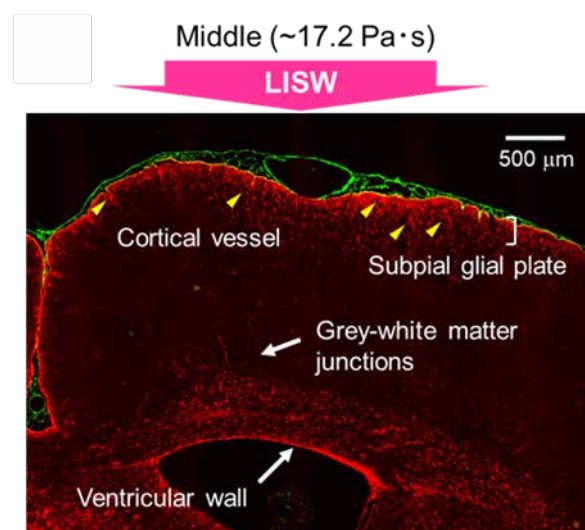


図2 LISW適用ラットのGFAP免疫染色画像（中力積，LISW適用7日後）。フィブロネクチン（緑色蛍光，繊維芽細胞のマーカー）との多重染色から、くも膜と軟膜の構造は維持されていることがわかる³。

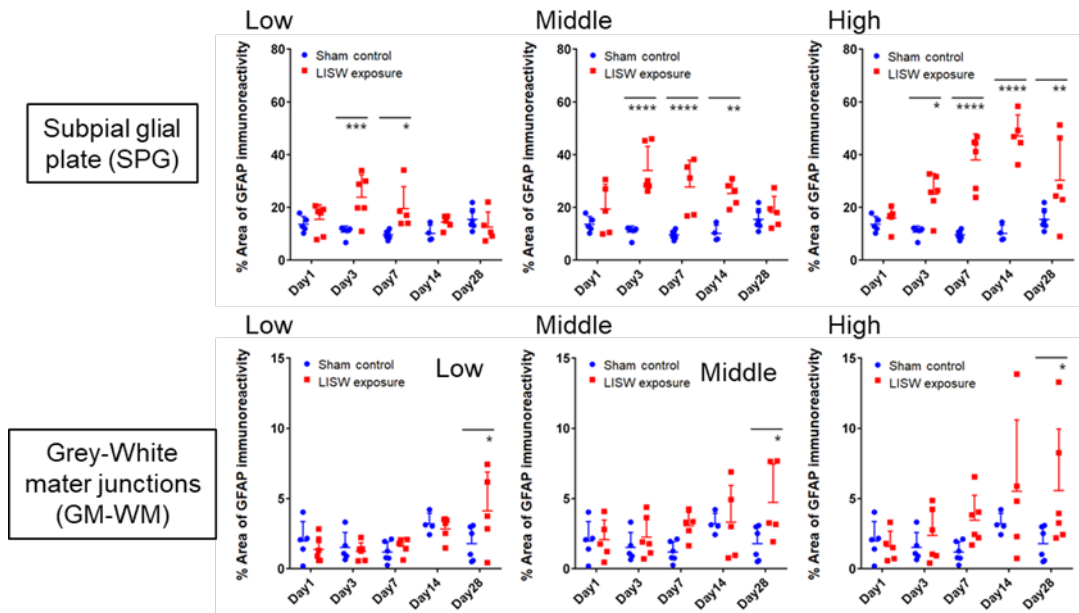


図3 各力積におけるGFAP陽性面積の時空間変化³。上段：皮質軟膜下層（SPG）。
下段：灰白質-白質境界（GM-WM）。

【結語】

衝撃波による髄膜損傷は、bTBIの慢性期病態に関わる最上流のイベントの一つであり、髄膜の保護がbTBIの予防や抑制に有効と考えられる。今後in silico解析により髄膜を保護する頭部防護法を設計・開発し、装備品化につなげたい。

謝辞

本研究は、防衛医学基盤研究A「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) Shively SB, Horkayne-Szakaly I, Jones RV et al.: Characterisation of interface astroglial scarring in the human brain after blast exposure: a post-mortem case series. *Lancet Neurol.* 15: 944-953, 2016.
- 2) Nakagawa A, Manley GT, Gean AD et al.: Mechanisms of primary blast-induced traumatic brain injury: insights from shock-wave research. *J. Neurotrauma* 28: 1101-1119, 2011.
- 3) Kawauchi S, Kono A, Muramatsu Y et al.: Meningeal damage and interface astroglial scarring in the rat brain exposed to a laser-induced shock wave(s). *J. Neurotrauma* (8 Mar accepted) 2024.

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、脳の老廃物排出機構は長らく謎であったが、2012年にGlymphatic systemと呼ばれる機構が提唱されたのに続き¹, 2015年に硬膜のリンパ管の存在が報告されると^{2,3}, 脳排出系に関する理解が大きく前進した。脳脊髄液（CSF）は、くも膜下腔から動脈の拍動を駆動力に動脈血管周囲腔に入り、血管周囲腔を取り囲むアストロサイトの足突起に発現する水チャネルタンパク（AQP4）の働きにより脳実質に移行して脳間質液（ISF）となる。さらにISFは血管周囲や白質に沿って移動し、髄膜のリンパ管から排出される機構がGlymphatic systemである。この機構に異常が生じると、脳内に異常タンパク等が蓄積し、認知機能に影響を与えうると考えられる。

前項までに述べたように、頭部爆傷（bTBI）では慢性期にさまざまな高次脳機能障害等を高率に來すことが大きな問題となっているが、病態・メカニズムに今なお不明な点が多い。また爆発に伴う衝撃波は、音響インピーダンスの異なる界面で反射しやすく、このような解剖学的境界で損傷が起きやすいと考えられる。脳の排出を担う主な領域は上述した解剖学的境界にあり、衝撃波の影響を受けやすいといえる。本研究では昨年度に引き続き、脳の衝撃波曝露が脳排出系に与える影響につき、より詳細な時間変化を明らかにするため、レーザー誘起衝撃波（LISW）を適用したラットを対象に、急性期から慢性期の各時刻でCSFトレーサーを用いた排出機能の評価を行った。

【方法】

麻酔下でラット左頭頂部に直径4 mm、力積約17 Pa・sのLISW（時間幅 ~1 μ s）を頭蓋骨ごしに適用した。適用後1日、3日、7日、28日に、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、脳内に流入する投与後35分と流出する3時間の各時刻でトレーサーの分布を観察するとともに、AQP4の免疫組織化学染色を行った。

【結果・考察】

昨年度の報告と同様、正常ラット脳においては、トレーサーOA-647は投与後35分に血管周囲腔に広く分布したが、3時間後にはほぼ消失し、トレーサーの正常な流入と排出が確認された。一方、LISW曝露ラットにおいては、流入と排出それぞれに正常ラットと異なる変化を認めた。まずトレーサーの流入は、主として大脳皮質の血管周囲腔への流入に関して、LISW曝露後1日目にやや減少し、3日目に著明に減少した。その後回復傾向となり、28日目には正常ラットと同程度の流入が確認された。一方排出については、LISW曝露後1日目から大脳皮質表層付近にわずかなトレーサーの残存を認め、3日目には血管周囲と白質に明らかな残存を認めた。この傾向は時間が経つにつれて顕著となり、排出の異常がLISW曝露後28日目まで継続、悪化することがわかった。本実験ではこのような流入と排出の異常を明快に説明するAQP4の発現低下はこれまでのところ確認されておらず、本結果には、流入に関わる動脈の拍動低下や、主要排出ルート（白質や髄膜リンパ管）の異常（炎症等）が関係していると推察される。

【結語】

衝撃波の脳への影響は、最近、訓練等における火器・火砲による低レベル繰り返し曝露の影響も懸念されている。今後、衝撃波による脳排出系の障害と認知機能との関係を明らかにするとともに、対処法につき検討し、隊員の安全対策につなげる計画である。

謝辞

本研究は、防衛医学基盤研究A「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) Iliff JJ, Wang M, Liao Y et al.: A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci. Transl. Med.* 4: 147ra111, 2012.
- 2) Aspelund A, Antila S, Proulx ST et al.: A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J. Exp. Med.* 212: 991-999, 2015.
- 3) Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ et al.: Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature* 523: 337-341, 2015.

(2)移植用3次元皮膚培養技術の開発:光による生体調節作用の応用**研究担当者**

角井泰之¹, 宮崎裕美², 川内聡子¹, 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

【背景・目的】

大規模災害やテロ等の発生時には、多くの被災者が体表である皮膚に重篤な損傷や汚染を被り、大量の移植用皮膚が必要になる事態が想定される。しかし、本邦のスキンバンクの皮膚（凍結保存された皮膚）の貯蔵量は、慢性的なドナー不足によって極めて限定的である。我々は、新たな移植用皮膚として、大阪大学の明石らが開発した3次元培養皮膚¹⁾に着目し、共同研究を開始した。そして、この皮膚をマウスに移植する実験を行った結果、早期に良好な生着が得られた²⁾。

一方で、厚みのある3次元皮膚においては、栄養成分（培地）が組織全体に供給されにくいと、培養中にその品質が時間経過とともに低下することが明らかになった。この問題を解決するために、我々は光による生体調節作用（photobiomodulation, PBM）に着目した。PBMは、ミトコンドリアがエネルギーを産生するための反応（電子伝達反応）が光により促進され、細胞や組織の活性化が得られる作用のことである。先行研究において、波長823 nmの光を用いたPBMにより、3次元培養皮膚を活性化できることが明らかになった³⁾。さらにこの結果をもとに、安価でフレキシブルな配置が可能な発光ダイオード（LED）を内蔵したPBM用の培養装置（インキュベーター）を考案し、特許を取得した⁴⁾。今年度は、昨年度までに試作を進めたこの装置について、皮膚の培養への有用性を検討した。

【方法】

インキュベーター内部にピーク波長845 nmのLEDパネル（照射面30 x 15 cm²）を配置した。同波長の光は

生体組織の透過性が高いため、厚みのある3次元皮膚にも作用しやすい。また、フェノールレッドなどのpH指示薬を含有した培地の吸収ピークとも重ならないため、培地の発熱による組織損傷のリスクがない。

細胞同士の接着を促進するためのフィブロネクチンとゼラチンによって交互にコーティングしたヒト皮膚線維芽細胞をヒト臍帯静脈内皮細胞と混合し、セルカルチャーインサートに播種し、真皮層を形成した。翌日、その上にヒト表皮角化細胞を播種し、表皮層を形成した。さらにその翌日から皮膚の表面を気液界面に晒すことにより、皮膚バリア機能を獲得するための分化誘導を開始した。この時点から培養皮膚を上記のインキュベーターの中に入れ、真皮層側（下側）からLED光を間欠的に照射し、PBMを適用した。5日後、皮膚のバリア機能として表皮の細胞間の結合の強さを示す電気抵抗を測定し、光を照射せずに培養した皮膚（コントロール群）と結果を比較した。

【結果・考察】

電気抵抗値は、PBMを適用しながら培養した3次元皮膚の方がコントロール（PBM非適用）の皮膚よりも有意に高く、PBMによる皮膚バリア機能の向上が認められた。皮膚移植においては、移植後の感染が生着不良の要因の一つであることから、この結果は開発装置の移植用皮膚の培養への有用性を示している。今後、さらに高い効果が得られる照射条件について調査を行うとともに、PBMの適用によりバリア機能が改善した培養皮膚をマウスに移植する実験を行い、移植治療効果の向上について検証する計画である。

謝辞

本研究は、科学研究費助成事業「光生体調節作用を用いた三次元培養皮膚の感染防御能の強化」の一環として行われた。

参考文献

- 1) Matsusaki M, Case CP, Akashi M: Three-dimensional cell culture technique and pathophysiology. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 74: 95-103, 2014.
- 2) Miyazaki H, Tsunoi Y, Akagi T et al.: A novel strategy to engineer pre-vascularized 3-dimensional skin substitutes to achieve efficient, functional engraftment. *Sci. Rep.* 9: 7797, 2019.
- 3) Tsunoi Y, Miyazaki H, Kawauchi S et al.: Viability Improvement of Three-Dimensional Human Skin Substitutes by Photobiomodulation during Cultivation. *Photochem. Photobiol.* 98: 1464–1470, 2022.
- 4) 角井泰之ら, 特許第6956340号 (2021年).

○ 研究業績等

【原著論文（欧文）】

- 1) Kawauchi S, Kono A, Muramatsu Y, Hennes G, Seki S, Tominaga S, Haruyama Y, Komuta Y, Nishidate I, Matsukuma S, Wang Y, Sato S: Meningeal damage and interface astroglial scarring in the rat brain exposed to a laser-induced shock wave(s). *J. Neurotrauma* (8 Mar accepted) 2024.
- 2) Parvez A, Yashiro K, Nagahama Y, Tsunoi Y, Saitoh D, Sato S, Nishidate I: In vivo visualization of burn depth in skin tissue of rats using hemoglobin parameters estimated by diffuse reflectance spectral imaging. *J. Biomed. Opt.* 29: 026003, 2024. doi: 10.1117/1.JBO.29.2.026003.
- 3) Tashiro A, Bereiter DA, Ohta H, Kawauchi S, Sato S, Morimoto Y: Trigeminal Sensitization in a Closed Head Model for Mild Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma* 41: 985-999, 2024. doi: 10.1089/neu.2023.0328.
- 4) Parvez A, Yashiro K, Tsunoi Y, Saitoh D, Sato S, Nishidate I: In vivo monitoring of hemoglobin derivatives in a rat thermal injury model using spectral diffuse reflectance imaging. *Burns* 50: 167-177, 2024. doi: 10.1016/j.burns.2023.07.006.
- 5) Mizoguchi A, Higashiyama M, Wada A, Nishimura H, Tomioka A, Ito S, Tanemoto R, Nishii S, Inaba K, Sugihara N, Hanawa Y, Horiuchi K, Okada Y, Kurihara C, Akita Y, Narimatu K, Komoto S, Tomita K, Kawauchi S, Sato S, Hokari R: Visceral hypersensitivity induced by mild traumatic brain injury via the corticotropin-releasing hormone receptor: An animal model. *Neurogastroenterol Motil.* 35: e14634, 2023. doi: 10.1111/nmo.14634.
- 6) Tsunoi Y, Kawauchi S, Yamada N, Araki K, Tsuda H, Sato S: Transvascular Delivery of Talaporfin Sodium to Subcutaneous Tumors in Mice by Nanosecond Pulsed Laser-induced Photomechanical Waves. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 44: 103861, 2023. doi: 10.1016/j.pdpdt.2023.103861.
- 7) Tsunoi Y, Tsuda H, Kawauchi S, Araki K, Sato S: Enhanced Therapeutic Effects of an Antitumor Agent on Subcutaneous Tumors in Mice by Photomechanical Wave-based Transvascular Drug Delivery. *J. Cancer.* 14: 1773-1780, 2023. doi: 10.7150/jca.84066.
- 8) 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.* 29: 344-353, 2023. doi: 10.1089/ten.TEA.2022.0208.
- 9) 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.* 101: 976-989, 2023. doi: 10.1002/jnr.25172.

【学会発表（国外）】

- 1) Tsunoi Y, Takayama I, Kondo N, Nagano Y, Miyazaki H, Ida T, Akashi M, Terakawa M, Sato S: Femtosecond laser-processed biodegradable porous membranes for cultivation and transplantation of three-dimensional skin substitutes. SPIE Photonics West 2024 Biomedical Optics 2024.01-2024.02.
- 2) Tsunoi Y, Tsuda H, Araki K, Sato S: Transvascular delivery of cisplatin to subcutaneous tumors in mice by photomechanical waves. SPIE Photonics West 2024 Biomedical Optics 2024.01-2024.02.

- 3) Murakami R, Wang Y, Tsumura R, Tang Y, Tsunoi Y, Nycz CJ, Lesniak WG, Pomper MG, Fischer GS, Zhang HK. MRI-Compatible Transrectal Photoacoustic and Ultrasound Imaging System with Remote Mechanical Actuation. IEEE International Ultrasonic Symposium 2023 2023.09.
- 4) Tsunoi Y, Miyazaki H, Kawauchi S, Saitoh D, Akashi M, Sato S. Control of the viability of three-dimensional cultured skins by photobiomodulation. European Conferences on Biomedical Optics 2023 2023.06.
- 5) Murakami R, Wang Y, Tsumura R, Tang Y, Tsunoi Y, Nycz CJ, Lesniak WG, Pomper MG, Fischer GS, Zhang HK. Towards MRI-compatible photoacoustic imaging of prostate cancer: Instrumentation evaluation. International Symposium on Ultrasonic Imaging and Tissue Characterization 2023.06.
- 6) Yanagihara Y, Kondo Y, Kawai M, Koiwai T, Nakao R, Kiyohara S, Hasegawa S, Morichika K, Kawauchi S, Tsunoi Y, Sato S, Suzuki H. Modeling of the shock wave generated by a projectile impact on a body armor with LISW (laser-induced shock wave). 7th International Forum on Blast Injury Countermeasures 2023 (IFBIC 2023) 2023.05.
- 7) Kawauchi S, Nozawa T, Kohno A, Muramatsu Y, Nishidate I, Sato S. Impairment of glymphatic clearance in the rat brain exposed to a laser-induced shock wave. 7th International Forum on Blast Injury Countermeasures 2023 (IFBIC 2023) 2023.05.
- 8) Kawauchi S, Inaba M, Muramatsu Y, Kono A, Nishidate I, Adachi T, Cernak I, Sato S. In vivo imaging of cerebrovascular nitric oxide generation in the rat brain exposed to a laser-induced shock wave. 7th International Forum on Blast Injury Countermeasures 2023 (IFBIC 2023) 2023.05.
- 9) Sato S, Kawauchi S. The role of laser-induced shock wave (LISW) in blast injury research. 7th International Forum on Blast Injury Countermeasures 2023 (IFBIC 2023) 2023.05.

【学会発表（国内）】

- 1) 田邊静香, 角井泰之, 宮崎裕美, 明石満, 佐藤俊一. ヒト 3 次元培養皮膚を用いた抗微生物光線力学療法の副作用に関する評価. 第23回レーザー学会東京支部研究会 2024.03.
- 2) 川内聡子. 謎の中樞神経障害：ハバナシンドロームと湾岸戦争シンドローム. 第29回日本脳神経外科救急学会 2024.02.
- 3) 角井泰之. 光音響イメージング法の皮膚診断応用. 次世代センサ・アクチュエータ委員会第32回定期講習会 2023.12.
- 4) 角井泰之, 長野陽, 宮崎裕美, 明石満, 寺川光洋, 佐藤俊一. 超短パルスレーザー加工により作製した生分解性多孔質膜を用いたヒト 3 次元皮膚の培養・移植. Laser Week in Tokyo IV 2023.11.
- 5) 川内聡子, 野澤孝司, 幸野明美, 村松佑里子, 西舘泉, 佐藤俊一. ラット脳への衝撃波曝露が老廃物排出系（Glymphatic system）に与える影響. Laser Week in Tokyo IV 2023.11.
- 6) 角井泰之, 関根康雅, 齋藤大蔵, 佐藤俊一. 光線力学療法による熱傷創の感染制御：ラット広範囲熱傷モデルを対象とした研究. 第 49 回日本熱傷学会総会・学術集会 2023.05.

トピック1:自衛隊中央病院薬剤官の実務研修

12月11日（月）～2月15日（木）の約2ヶ月間、自衛隊中央病院の田邊静香薬剤官（2等海尉）が第39期薬剤実務研修を行いました。本研修は、研究技法や各種分析機器の取り扱い、論文などの文献の検索と読解技法について学び、薬剤官としての識能を向上することを目的としています。

田邊薬剤官の研究テーマは、「ヒト3次元培養皮膚を用いた抗微生物光線力学療法の副作用評価」でした。災害や事故などで皮膚が広範囲に損傷を受け、細菌などの様々な病原微生物に感染して重篤化すると、現状では治療できる方法はなく致命的です。このような皮膚外傷の感染を治療するために、我々は光線力学療法（PDT）の応用を提案してきました。PDTは、光感受性薬剤と光との反応により生成される一重項酸素の酸化力をもって対象の細胞を破壊する方法であり、本邦では悪性腫瘍などの治療法として臨床応用されています。熱傷創感染ラットを用いた我々の先行研究において、光感受性薬剤であるメチレンブルー（MB）をベースとした混合物（MB mixture）を創部に塗布し、LEDアレイを用いて創全体を照射するPDTを適用した結果、有意な延命に成功しました。しかし、実用化への課題として、MB mixtureが正常な皮膚に与える障害（副作用）について、明らかにする必要がありました。一方で、動物を用いた実験では、ヒトとの種差の問題が避けられず、また動物福祉も問題もあります。そこで本研究では、生体情報・治療システム研究部門で研究開発を進めているヒトの細胞から成る培養皮膚を動物代替物として応用し、上記混合物の副作用を調査しました。

培養細胞を扱うこと自体が初めての経験でしたが、持ち前の前向きかつ勤勉な姿勢により、短期間に大量の皮膚の培養に成功し（図）、様々な条件で比較検討を行いました。その結果、我々のMB mixtureによる副作用は限定的であることが示唆されました。これらの成果について、自衛隊中央病院にて開催された研修成果発表会において病院長らに報告を行いました。また、レーザー学会東京支部第23回研究会にて発表を行い、研究者として成果を社会還元するための活動も行いました。



培養実験をする田邊薬剤官と実験で作製した培養皮膚

トピック2: 第7回国際爆傷対処フォーラム(IFBIC 2023)・報告



○沿革

2014年、防衛医大がレーザー誘起衝撃波（LISW）を用いた爆傷研究について論文発表した内容に、現、米国陸軍医学研究・開発司令部（USAMRDC）のGupta博士、現、米国陸軍戦闘能力開発司令部陸軍研究所（CCDC ARL）のKarna博士が強い関心を持ったことをきっかけに、2015年より米軍とデータ交換協定（DEA）に基づいた研究交流を開始した。

研究交流の一環として2016年に爆傷対処に関して幅広く情報共有、意見交換を行うことを目的に日米爆傷フォーラム（JUFBI, Japan-US Forum on Blast Injury）をニュー山王ホテルで開催、内容が日米双方に大変好評であったことから、その後毎年開催することになり、第2回（2017年）をホテルグランドヒル市ヶ谷、第3回（2018年）を京王プラザホテルで開催した。

日米以外の参加国が増えてきたことから、第4回（2019年）は国際爆傷対処フォーラム（IFBIC, International Forum on Blast Injury Countermeasures）として初めて米国（ワシントンDC郊外のMcLean）で開催、コロナ感染症パンデミックの影響により2020年は中止、第5回（2021年）はオンラインで開催、第6回（2022年）はMcLeanで3年ぶりに対面開催し、本年5月、下記の通り第7回（IFBIC 2023）を京王プラザホテルで開催した。

○主催者

防衛医科大学校（今回ホスト）
米陸軍医学研究・開発司令部（USAMRDC）
米陸軍戦闘能力開発司令部（CCDC）



○基本情報・統計

- 会期：2023年5月17日（水）～19日（金）
22日（月）に米国陸軍国際技術センター（ITC-IPAC、六本木）で運営委員会開催
- 会場：京王プラザホテル東京（新宿区）グレースルーム
- 参加者数（登録者数）：計102名（国別内訳は右上図参照）
- 演題数：特別（Keynote）講演 3件、教育（Tutorial）講演 4件、一般講演 35件、計42件
（国別内訳は右上図参照）

○会議の内容・傾向

本会議の最重要テーマの一つが**頭部爆傷（bTBI）の医学対処・防御**である。bTBI受傷者は2000年以降、米軍のみで数10万人に達するが、その特徴は多くの受傷者が受傷後早期に軽症と診断されながら、慢性期に高次脳機能障害、偏頭痛、睡眠障害等を高率に來たし、QOL（生活の質）を著しく低下させることにある。うつやPTSD（心的外傷後ストレス障害）との関連も指摘され、自殺症例も少なくない。その特徴的神経病理

としてCTE（慢性外傷性脳症）説とグリア瘢痕説があるが、今回の会議で議論の進展がみられた。

米国軍保健衛生大学（USUHS）は死亡した（自殺例を含む）**軍人・退役軍人の世界初の脳バンク**を運営しており、bTBIの神経病理の解明を進めている。今回、同大のPriemer博士が特別講演を行い、225の脳につき調べた結果、**CTE（アルツハイマー病のように脳に異常タンパクが蓄積）はわずか4.4%**であり、それら受傷者にはコンタクトスポーツの経験があることがわかった。一方、**多くの脳にグリア瘢痕（グリア細胞が活性化して瘢痕化する病態）が認められた**。グリア瘢痕は脳表、血管壁、灰白質-白質の境界など、異なった組織の境界に特異的に現れることから、彼らはこれを境界グリア瘢痕（IAS）と呼んでいる。ヒトの脳と解剖学的近似性の高いフェレットの脳でIASが再現されたこと、ヒト脳の高精度ポリマーモデルを対象としたコンピューター解析により、グリア瘢痕の好発部位で応力集中が起きることが示されたことから、グリア瘢痕説が支持されたとした。

退役軍人ヘルスケアシステム（シアトル）のMeabon博士は、bTBI受傷者に多くみられる睡眠障害が、脳幹の一部である脳橋におけるミエリン（髄鞘）の損傷に関係することを動物実験および臨床研究で示した。臨床研究ではイラク・アフガニスタン戦争で繰り返し軽症bTBIを受傷した帰還兵を対象に拡散テンソルイメージング（DTI）検査を行い、**年齢やPTSDの有無に関係なく、脳橋のミエリン損傷が睡眠障害の程度と関係**することを示した。

最近米軍では、重火器などで発生する低強度の衝撃波でも、繰り返し曝露されることにより一過性の認知異常のみならず、慢性的な脳神経変性を引き起こしうることが大きな問題となっており、異常を検出するための血液マーカーの研究が進められている。USUHSのAgoston教授は、**重火器の使用によりsub-concussion（脳震盪に達しない）レベルの曝露を繰り返し受けた兵士や訓練教官を対象に**、血管、神経細胞、グリア細胞、軸索などの損傷に関わる18種に及ぶマーカーについて包括的な臨床研究を進めており、論文出版前のため詳細は伏せられたが、**血管、神経細胞に関わるタンパクに対する自己抗体レベルが慢性的に上昇**することが明らかになった。

防衛医大からはレーザー誘起衝撃波（LISW）を用いた研究について2件の教育講演を含め8件、衝撃波管を用いた研究について1件の発表を行った。LISWは制御性が極めて高いこと、爆風を伴わないため純粋な衝撃波の影響（1次メカニズム）を観察可能であること等の特徴を有する。田代は**頭部にLISWを適用したラットにおいてフォトフォビア（羞明）が発生し（偏頭痛が併発していると考えられる）、その抑制にプラazosin（交感神経遮断薬）が有効**であることを示した。また西村は**頭部のみにLISWを適用したラットにおいて、小腸の透過性亢進と腸内細菌叢の変化が生ずる**ことを示した。bTBI受傷者においてみられる過敏性腸症候群（IBS）の原因解明につながる成果である。太田は**ヒト化アルツハイマーモデルマウスの頭部に繰り返しLISWを適用しても、CTEと関係するアミロイドβは蓄積しない一方、weight drop（錘を落として頭部に衝突させる）の繰り返し適用ではアミロイドβが蓄積**することを報告した。上述したCTE説を否定する観測である。さらに川内は**LISWを適用したラット脳において、動脈壁などで一酸化窒素（NO）が発生すること（血管障害の原因となる）、老廃物排出系（Glymphatic system）に異常が発生**することを示した。これらは何れも新規知見である。総じて臨床研究と基礎研究の有機的な連携により、bTBIのメカニズムと病態の解明がかなり進んできたとの印象を得た。

米軍はTBI治療に関する臨床研究にも取り組んでいる。ウォルター・リード国立軍事医学センター附属のNICoE（National Intrepid Center of Excellence）は、TBI受傷者の自律神経異常やPTSDの治療研究を目的に設置された機関であり、**創作アートとマインドフルネス（音楽、ダンス、ヨガ等）を組み合わせたユニークな4週間の外来治療プログラムを開発**している。今回、責任者（Chief Innovations Officer）であるDeGraba博士が、その有効性について検討した結果について報告した。経頭蓋ドプラー検査（TCD）による息こらえテス

トにより脳血管の反応性を調べた結果、治療開始時と終了時で有意な改善が認められることがわかった。ただし患者の多くはbTBIと鈍的TBIの両方を受傷しているため、現時点では両者の症状や治療効果の比較は困難とのことである。

また米軍では、兵士が曝露される爆発圧を計測するためのウェアラブル爆発圧センサーの開発も精力的に進めている。昨年のIFBICにおいては開発中の複数社のセンサーに関する紹介があったが、衝撃波が来る方向と感圧面が垂直になるとは限らないため、センサーを3方向に配置することが標準的になりつつある。ただしそれでも、衝撃波の地上反射波の影響などにより、ピーク圧力や力積を過大評価してしまう問題があった。カナダMed-ENG社のMakris博士は今回、周波数フィルタなど電子部品や衝撃波の反射・回折の影響を最小化するための筐体を改良することにより、高精度な爆発波計測が可能になったと報告した。

○次回の予定

22日（月）に開催した運営委員会で、次回（IFBIC 2024）は、2024年5月1日（水）～3日（金）にMcLeanで開催することが決まった。なお次々回（IFBIC 2025）は2025年5月7日（水）～9日（金）に東京で開催の予定である。



広域感染症疫学・制御研究部門

教 授 加 来 浩 器

准 教 授 金 山 敦 宏

助 教 江 尻 寛 子



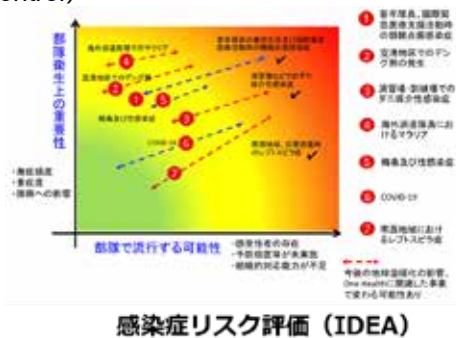
広域感染症疫学・制御研究部門



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)



部隊での保菌調査



ダニ類の調査

疫学調査研究 (FEIC)

令和5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 レプトスピラに関する研究

イ ダニ媒介感染症に関する研究

ウ デング熱に関する研究

エ 食品衛生に関わる研究

(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 蚊の捕集トラップの開発

(3) その他の活動など

ア 防衛医学研究センター分子生物学研究室のBSL2整備と基礎教育

イ 新興感染症：オズウィルス感染症

令和5年度 研究報告書

研究部門 広域感染症疫学・制御研究部門

○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）

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。東京都に対しては東京iCDC専門家ボード（人材育成）の委員会並びに東京都疫学調査チーム（TEIT）の育成、青森県における食中毒事例検討会への参加を行った。（加來）

在日米軍環太平洋公衆衛生部隊との研究では、キャンプ座間において移動式簡易遺伝子検出装置をいた検証や野外でダニやツツガムシを捕集（後述）するなどの技術交流・意見交換を続けた（図1）。（金山、江尻、加來）

2024年11月にドイツ軍の医療情報・サーベイランス部門の責任者が来訪されたのを機に、その後も定期的にWebミーティングを行い、感染症リスク評価に関する意見交換を行った。（金山、江尻、加來）



図1 キャンプ座間での野外検査演習

(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。令和6年1月に発生した能登半島地震において、日本環境感染学会は石川県からの災害時感染制御チーム（DICT）の派遣依頼を受けたが、その活動の一環として被災地での感染症リスク評価を行った。（加来）

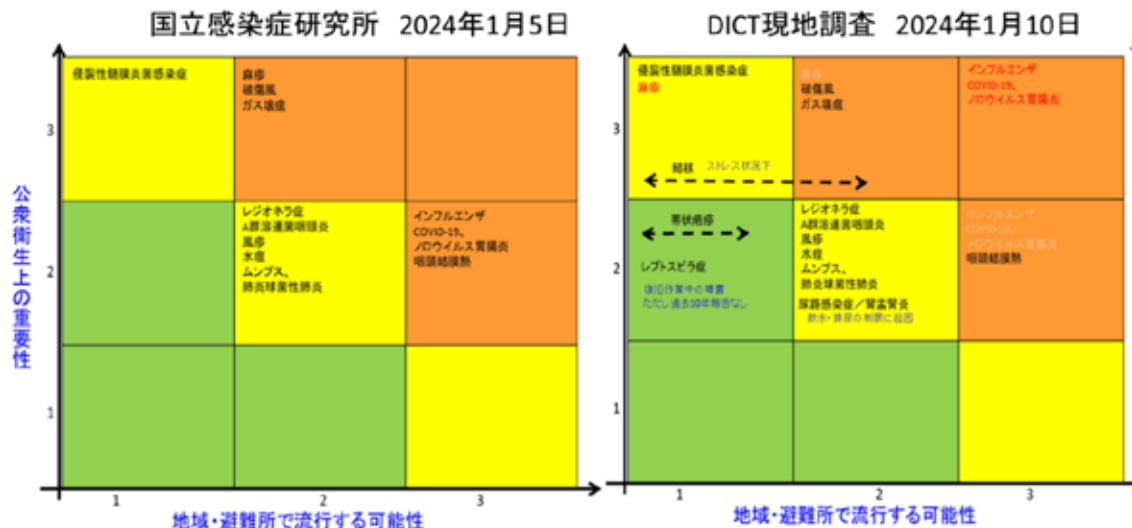


図2 能登半島地震の被災地における感染症の評価座間での野外検査演習

2 研究課題：「感染症疫学に関する基盤研究」

(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

加来浩器、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、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、7つの疾患群①レプトスピラ症、②ダニ媒介性疾患（SFTS、日本紅斑熱、ツツガムシ病など）、③デング熱、④マラリア、⑤髄膜炎菌感染症、⑥性感染症、⑦新型コロナウイルス感染症が重要であるが、集団給食に起因する食品由来感染症も引き続き重要な疾患と位置づけた。

令和5年度は、ア) レプトスピラ症、イ) ダニ媒介感染症、ウ) デング熱に関する研究と、エ) 食品衛生に関わる研究を実施した。

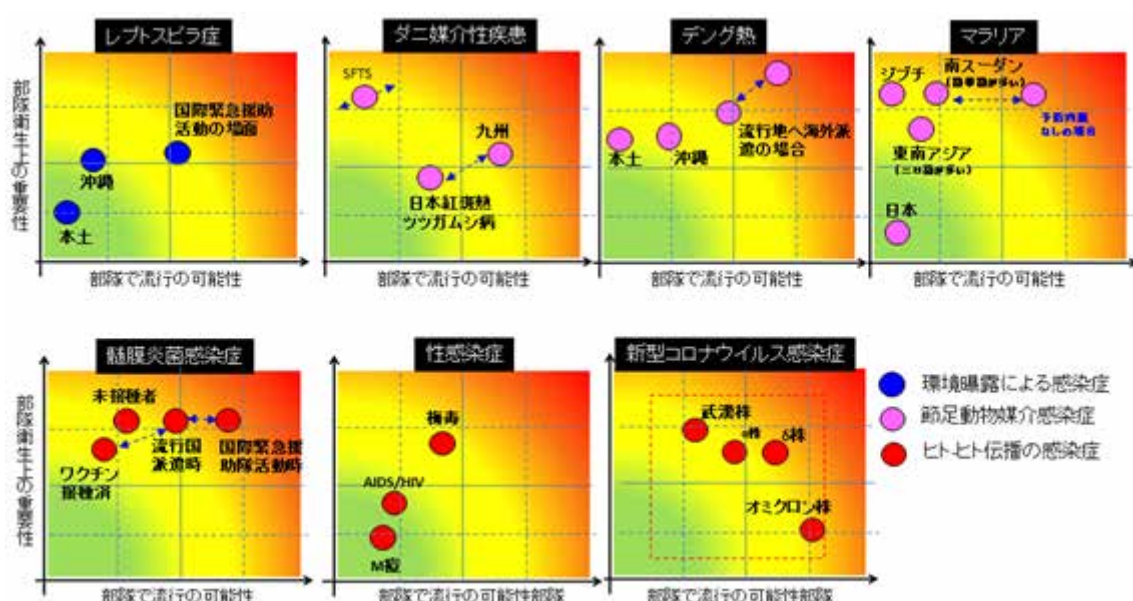


図3 防衛省・自衛隊で重要な感染症のリスク評価

ア) 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、西表島での予備的調査を開始した。一方、沖縄県立八重山病院との共同研究で、同病院でレプトスピラ症と診断された症例の情報を蓄積した。2020年から2022年までの症例



は21例で、年齢中央値33歳、多くは男性（90%）で、職業としてはツアーガイド（48%）が多数を占めた。7月から10月の間に西表島（52%）または石垣島（48%）にて、主に河川での活動で感染したと推定され、地理的な広がりが認められた。さらに、これらの活動をもとに在日米軍（座間）や米国軍医保健科学大学との共同研究を進めるべく議論を始めた。（金山、江尻、加来）

イ) マダニ媒介感染症に関する研究

マダニの生息調査及び病原体保有調査

マダニが媒介する重篤な感染症として、日本紅斑熱に加え、重症熱性血小板減少症候群（SFTS）などが報告されている。演習場等における野外環境からの曝露リスクを予め知ることが急務となっているが、マダニの分布調査は行われていない。令和5年度は、陸上自衛隊の演習場及びその近傍においてマダニの捕集を行った（表1）。



表1 令和5年度に実施したマダニ捕集および病原体検出の結果

捕集日	捕集場所	マダニ種	捕集結果					病原体検査		
			幼ダニ	若ダニ	雄	雌	小計	総計	検査数（陽性）	ウイルス分離
5月10日	広島県	フタトゲチマダニ		94			94	135	6 (6)	陰性
		キチマダニ		21	7	2	30		5 (1)	陰性
		タカサゴキラマダニ	1	3			4		2 (0)	陰性
		ヤマアラシチマダニ		6	1		7		2 (2)	陰性
6月14日	千葉県	フタトゲチマダニ	34				34		9 (0)	陰性
		キチマダニ	2				2	37	2 (0)	陰性
		タカサゴキラマダニ	1				1		1 (0)	陰性

マダニが媒介する重篤な感染症として、日本紅斑熱に加え、重症熱性血小板減少症候群（SFTS）などが報告されている。演習場等における野外環境からの曝露リスクを予め知ることが急務となっているが、マダニの分布調査は行われていない。令和5年度は、広島県および千葉県においてマダニの捕集を行った（表1）。

両地区ともに、フタトゲチマダニが最も多く採取され、広島県では94個体、千葉県では34個体であった。フタトゲチマダニは西日本中心に分布していることが知られ、日本紅斑熱の流行が報告されている。また、千葉県南部においてもフタトゲチマダニは主要種として分布している。また広島県では、タカサゴキラマダニが30個体採取された。ヤマアラシチマダニは、広島県においてのみ捕集された。本種は、西日本で多く捕集される傾向にあるとされている種である。

マダニが保有する病原微生物については、マダニから抽出した核酸からPCRまたはRT-PCRによる病原体遺伝子検出とBHK-21細胞を用いたウイルス分離培養を行った。原村演習場で捕集したマダニ135匹から集約された15プールのうち、フタトゲチマダニとヤマアラシチマダニから高率に紅斑熱群リケッチアの遺伝子が検出された。一方でSFTSウイルスを含む病原体遺伝子は検出されず、ウイルス培養は陰性であった。一方で、千葉県で捕集されたマダニ37匹から集約された12プールのうち、ヒトへの病原性を有する病原体の遺伝子は検出されず、ウイルス培養も陰性であった。

本調査はパイロット調査として成功した。今後、マダニの季節的消長など詳細な生息状況を把握するために、定期的にマダニの捕集調査を実施することが望ましいと考えられた。（江尻、金山、神保客員研究員）

ツツガムシの生息調査

つつが虫病はツツガムシが媒介し時に重篤な症状を呈する感染症であり、診断が困難であるが、九州や富士地区での感染が疑われる自衛官の症例も報告されている。自衛隊演習場等の野外環境では、数十年に渡って媒介ツツガムシの調査は行われておらず、ツツガムシの分布状況は不明となっている。12月18日、東富士演習場において、在日米軍と合同で黒布見取り法によるツツガムシの捕集を実施した（図4）。捕集したツツガムシは、形態学的にフトゲツツガムシ（*Leptotrombidium pallidum*）であることが確認できた。在日米軍の昆虫医科学部で実施した遺伝子検査においては、ツツガムシリケッチア遺伝子は検出されなかった。（江尻、金山、加来、神保客員研究員）



図4 東富士演習場における日米合同ツツガムシ生息調査

ウ) デング熱に関する研究

ヒトスジシマカの生息状況と病原体調査

外来種の蚊の侵入経路となりうる防衛省所轄の空海港において、媒介蚊を独自に定期的に監視することは極めて重要である。これまでも地域におけるヒトスジシマカの生息密度とデングウイルスの推定曝露地点との間に相関があることが知られている。さらにヒトスジシマカの分布状況の把握は、効率的な殺虫剤散布等に欠かせない情報となる。そこで、令和5年度は、航空自衛隊入間基地に協力を依頼し、2回（第1調査日：6月5日、第2調査日：7月24日）にわたって蚊媒介感染症に関するリスク評価のため、ヒトスジシマカの生息調査を実施した。

調査に先立ち、Landsat-8によるヒトスジシマカ分布予測図と Google map から調査範囲を絞りこみ、基地内に50m四方の小区画を複数設定し、1小区画あたり1人10-15分、蚊の捕集を行うことを計画した。

6月5日は46小区画のうち13小区画で43個体（雌27、雄16）、7月24日は37小区画のうち15小区画で111個体（雌97、雄14）の蚊が捕集され、全てヒトスジシマカであった。

ヒトスジシマカは、吸血源（ヒト、イヌ等）が存在する場所や、水源（畑や果樹園）の近傍で捕集される傾向が見られた。その他の地点で捕集されなかった要因として、蚊の幼虫や成虫の捕食者（クモ等）が存在する可能性が示唆された。

捕集された蚊の密度分布は、ヒトスジシマカ分布予測図で低密度と予測された区画とは概ね適合していたが、高密度と予測された区画とは相違があった（図5）。これは、樹木や草地の識別や、緑地の面積や開発による緑地面積の経時的な変化を把握できていないことが原因と考えられた。

本調査によって、感染症を媒介する蚊の存在を確認されたことから、病原性ウイルス侵入監視のため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、金山）

捕集した蚊は、蚊の種、雌雄、捕集日ごとに50個体以下を1つに集約し、そのプールごとのウイルスの有無を、蚊培養細胞（C6/36）による分離と RT-PCR による遺伝子検出によって判定した。ヒトスジシマカ111個体（雌



97、雄14)を集約した12プールにおいて、デングウイルスやチングニヤウイルスなど、ヒトへの病原性を有する病原体の存在は確認されなかった。ただし、7プール(58%)において昆虫ウイルス(Aedes flavivirus)が分離された。Aedes flavivirusそのものはヒトに対し非病原性であるが、病原性ウイルスの伝搬力に関与する可能性がある。(江尻)

エ) 食品衛生に関わる研究

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。COVID-19への手指衛生対策や外食機会の減少が調理従事者における陽性割合を低下せたと推測されたが、スーパーマーケットの調理施設ではノロウイルスに関わる衛生管理がより必要と思われた。ウィズコロナ/ポストコロナ時代のノロウイルス対策として、手指衛生の役割は大きいと考えられた。(金山)



(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) 蚊の捕集トラップの開発

蚊の生息調査には炭酸ガス(CO₂)などの蚊誘引剤が用いられることが多い。CO₂発生源として一般的にドライアイスが用いられるが、離島や僻地での調査を想定した場合は輸送もしくは現地調達が困難であり、代替の誘引剤が必要である。昨年度までに、炭酸水とカイロを併用したCO₂発生装置や青色LEDの蚊集光性を利用した装置の開発を試みたが、良好な捕集効率は認められなかった。

ドライアイスの代替として、ドライイースト発酵を利用した生物学的CO₂発生装置を誘引剤とする方法が報告されている。そこで本年度は新たに、通常のイーストよりもCO₂発生効率の良いとされるPG-CO₂ powder, Yeast Formulation for CO₂ Generation (Biogents)を使って、簡易に入手できるペットボトルで試作した装置内でCO₂発生を行った。反応開始24時間後、装置内の反応液量は1/3ほど減少していた。これは、勢いよく気泡が発生したことにより反応液があふれ出したことが原因と考え、2つのペットボトルに分けて再度行ったところ、反応液の喪失を防ぐことができた。次年度には、この捕集トラップを用いて蚊の効率的な捕集を試みる予定である。(江尻)



(3) その他の活動

ア) 防衛医学研究センター分子生物学研究室のBSL2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に使用している防衛医学研究センター分子生物学研究室をバイオセーフティ(BSL2)の観点から適切に管理するため、新規利用者の基礎教育(e-ラーニング)と利用者講習を実施した。(江尻、篠原客員研究員、加来)

イ) 新興感染症：オズウイルス感染症

オズウイルス感染症のヒト感染症例(致死症例)が、本邦から世界で初めて報告された(IASR Vol.44 p109-111:2023年7月号)。病原体であるオズウイルス(Oz virus)について、国立感染症研究所昆虫医科学部在職中にタカサゴキラマダニから新規に分離・解析していたことが(Ejiri H, et al. 2018. Virus Research 249 (April): 57-65.)、この新興感染症の診断に大いに貢献した。(江尻、加来)

○研究業績等

【著書】

- 1) 加來浩器、金山敦宏（共著）．防衛・軍事医学の世界動向2023年版．防衛医学研究センター編
- 2) 加來浩器．施設内アウトブレイクへの対応，薬剤師のための感染制御マニュアル第5版、2023年5月，495-506．
薬事日報社

【総説・解説】

- 1) 加來浩器．新興・再興感染症への対応．小児内科．(55) 4．695-699．2023年4月
- 2) 加來浩器．デング熱の国内感染（前編）．公衆衛生タイムマシン～形を変えて繰り返す歴史から学ぶ～．公衆衛生情報．(53) 5．14-15、2023年8月
- 3) 加來浩器．デング熱の国内感染（後編）．公衆衛生タイムマシン～形を変えて繰り返す歴史から学ぶ～．公衆衛生情報．(53) 6．16-17、2023年9月

【学会発表】

- 1) Ito M, Ninomiya A, Ishii K, Sanada M, Akie Shimada, Ohno N, Kanayama A, Hayashi S. Bacterial contamination of holder bags to carry antiseptic hand rub bottles. The 19th Asia Pacific Congress of Clinical Microbiology and Infection Seoul, Korea. 2023年7月
- 2) Kanayama A, Ejiri H, Jimbo K, Kaku K. Operational researches for improving the ability to deal with environmental infectious diseases in the Japan Self-Defense Forces (JSDF). Medical Biodefense Conference 2023. Munich, Germany. 2023年10月
- 3) 加來浩器：Meet the expert10 アウトブレイク調査のススメ ～感染症対応の先達から学ぶ～，第97回日本感染症学会総会・第71回日本化学療法学会学術集会合同学会，横浜，2023年4月
- 4) 加來浩器：病院清掃の新たな取り組み，日本環境感染学会，横浜，2023年7月
- 5) 江尻寛子、林昌宏、小林大介、藤田龍介、室田勝功、鋤田龍星、下田宙、前田健、木村俊也、金山敦宏、加來浩器、西條政幸、四宮博人、澤邊京子、伊澤晴彦、葛西真治：オズウィルス発見の経緯と今後の衛生昆虫学的課題．第5回SFTS研究会・学術集会．宮崎、2023年9月
- 6) 金山敦宏、加來浩器：レプトスピラの疫学とワンヘルス・アプローチ．第72回日本感染症学会東日本地方会学術集会 教育講演23．東京、2023年9月
- 7) 江尻寛子、金山敦宏、砂原俊彦、加來浩器：蚊の分布を予測するモデルを用いたデング熱媒介蚊の調査について．第72回日本感染症学会東日本地方会学術集会．東京、2023年10月
- 8) 金山敦宏、加來浩器、上間匡：調理従事者におけるノロウイルス感染の割合とCOVID-19流行の影響．第82回日本公衆衛生学会総会、茨城、2023年11月
- 9) 金山敦宏、江尻寛子、加來浩器：国際緊急援助隊における髄膜炎菌保菌調査．第69回防衛衛生学会．東京、2024年2月
- 10) 鴨田裕平、金山敦宏、加來浩器：ジブチにおける感染症の脅威分析と対策．第69回防衛衛生学会．東京、2024年2月
- 11) 加來浩器：パネルディスカッション 災害時の感染制御活動，日本災害医学会，京都，2024年2月

防衛医学研究センター 令和 5 年度研究報告

2024 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)

ISBN978-4-9913338-2-8

