

水和能を制御した疎水化タラゼラチン粒子の設計と 消化管用止血材としての展開

伊藤 椎真^{*1,2}, 小松 ひより^{*1,2}, 西口 昭広^{*2}, 田口 哲志^{*1,2}

Shima ITO^{*1,2}, Hiyori KOMATSU^{*1,2}, Akihiro NISHIGUCHI^{*2}, Tetsushi TAGUCHI^{*1,2}

^{*1}筑波大学院数理工学, つくば市天王台 1-1-1, ^{*2}物質・材料研究機構 (NIMS), つくば市並木 1-1

^{*1}University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai Tsukuba, ^{*2}National Institute for Materials and Science, 1-1 Namiki Tsukuba

1. 緒言

消化器内視鏡による早期消化管がんの除去部における止血は、処置の進行、がん除去部の治癒および偶発症の抑制において重要な手技である。粒子状止血剤は、デバイスからの噴霧が可能のため送達が容易であり、凹凸のある組織に対する適応性、迅速な吸水性を有するため注目されている。現在、数種類の粒子状止血剤が開発され、臨床で使用されているが、組織接着性および接着安定性に課題がある。当研究室ではこれまでに、第二級アミンを結合部位として疎水化したデシル基修飾タラゼラチン(C10-sa-ApGltN)を合成し、マイクロ粒子(C10-sa-MPs)を開発している^{1,4}。このC10-sa-MPsは水環境で疎水性相互作用によりコロイドゲルを形成し軟組織に接着するが、得られる粒子は水和時間が長く、止血剤としての応用は制限されていた。そこで本研究では、アミド結合を結合部位として疎水化したデカノイル基修飾タラゼラチン(C10-am-ApGltN)を合成し、水和性能を改善した組織接着性マイクロ粒子(C10-am-MPs)について報告する(Fig. 1(a))⁵。

2. 実験

C10-sa-ApGltNは、タラゼラチンとデカノールを反応させ、還元することにより合成した。一方、C10-am-ApGltNはタラゼラチンと無水デカン酸を高pH条件下で反応させることで合成した。得られたC10-sa-ApGltNおよびC10-am-ApGltNを用いてコアセルベーション法、凍結乾燥および架橋によりC10-sa-MPs、C10-am-MPsを調製した。得られたC10-sa/am-MPsの水濡れ性は、水接触角により評価した。また、C10-sa/am-MPsの接着強度は、粒子を胃粘膜下層組織間で水和させコロイドゲルを形成させたサンプルをASTM F2258-05に準拠した方法により経時的に測定した。さらに、水中組織接着安定性およびブタ血液を用いた血液凝固評価を行った。また、ラット肝臓出血モデルを用いてC10-am-MPsの止血剤としての性能を評価した。

3. 結果と考察

得られたC10-sa-MPsおよびC10-am-MPsはそれぞれ、 2.16 ± 0.68 , $3.19 \pm 0.83 \mu\text{m}$ の粒径を有していることが明らかとなった。C10-am-MPsの水接触角は、C10-sa-MPsと比較して早く低下したことからC10-am-MPsの高い水和性能が示唆された。さらにX線光電子分光法の結果から、C10-am-MPs表面のアミド基量がC10-sa-MPsより多いことが示唆された。このことから、疎水基の結合部位を第2級アミンからアミドに変える、すなわち酸素原子を結合部位に1つ多く導入する(Fig. 1(a))ことで、疎水化タラゼラチンの水和性能を改善できることが明らかとなった。実際に、湿潤胃粘膜下層組織上にC10-sa-MPsおよびC10-am-MPsを散布して経時的に粒子の色の変化を観察した結果、C10-am-MPs(10分以内)はC10-sa-MPs(30分以内)よりも早く水和が完了することが明らかとなった。さらに、それぞれの水和時間において組織接着強

度を測定したところ、散布直後はC10-sa-MPsおよびC10-am-MPsの接着強度に差は見られなかったが、その後C10-am-MPsの接着強度が著しく低下し10分以内に組織に接着しなくなる(水和が完了する)ことが明らかとなった。一方、C10-am-MPsの水中組織接着安定性はC10-sa-MPsと同等の結果であった。以上の結果から、C10-am-MPsはC10-sa-MPsと比較して組織上での水和能を大きく改善するとともに組織上に形成したコロイドゲルは高い接着安定性を有することが示唆された。

さらに*in vitro*の血液凝固試験の結果から、C10-am-MPsは血液を素早く吸収し粒子間で疎水性相互作用を形成するため、市販の粒子状止血剤(Arista™)と同等の血液凝固作用を示した。また、*in vivo*のラット肝臓欠損モデルにおける結果から、C10-am-MPsは出血部位にて血液を吸収し素早く水和することでArista™と同等の止血能を示した。一方、C10-sa-MPsにおいてもC10-am-MPsと同等の止血能を有することが確認されたが、これは部分的に水和したC10-sa-MPsが欠損部をシーリングした結果であると考察される。以上の結果から、C10-am-MPsは内科・外科手術に対する粒子状止血剤として有用であることが明らかとなった(Fig. 1(b))。

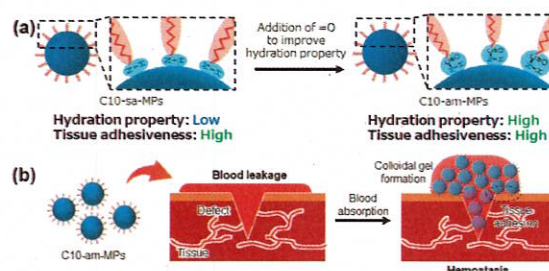


Fig. 1 (a) Design of C10-am-MPs with improved hydration and tissue adhesive properties for hemostatic biomaterial. (b) Hemostasis mechanism of C10-am-MPs.

4. 参考文献

- S. Ito, A. Nishiguchi, T. Taguchi, et al., *Mater. Sci. Eng. C*, **2021**, *123*, 111993.
- S. Ito, K. Nagasaka, A. Nishiguchi, T. Taguchi, *Acta Biomater.*, **2022**, *149*, 139-149.
- S. Ito, A. Nishiguchi, T. Taguchi, *Acta Biomater.*, **2023**, *159*, 83-94.
- S. Ito, K. Nagasaka, H. Komatsu, A. Nishiguchi, T. Taguchi, et al., *Biomater. Adv.*, **2024**, *156*, 213707.
- S. Ito, K. Nagasaka, A. Nishiguchi, T. Taguchi, et al., *Biomater. Adv.*, **2024**, *159*, 213834.

低分子量シルクフィルムの癒着防止吸収性バリアとしての応用

Development of low-molecular weight silk fibroin films as an absorbable adhesion barrier

神戸裕介^{*1}, 佐々木誠^{*2}, 亀田恒徳^{*1}
Yusuke KAMBE^{*1}, Makoto SASAKI^{*2}, Tsunenori KAMEDA^{*1}

^{*1} 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構(農研機構), つくば市大わし 1-2、

^{*2} 株式会社チャーリーラボ, 熊本市中央区黒髪 2-39-1

^{*1} National Agriculture and Food Research Organization (NARO), 1-2 Owashi, Tsukuba,

^{*2} Charlie Lab Inc., 2-39-1 Kurokami, Chuo-ku, Kumamoto

1. はじめに

癒着とは、外科手術後の治癒過程において、本来離れているべき臓器・組織どうしがくっつく現象であり、外科手術を受けた患者の6~9割で生じるとされている⁽¹⁾。癒着は、慢性的な痛み等を引き起こす他、再手術の際に剥離を必要とするため、手術時間増加の原因となる。

癒着を防止する医療機器として癒着防止吸収性バリアがあり、本邦では、4種類が承認されている。これらは、損傷した臓器・組織が他の臓器・組織に接触することを物理的に防いだ後、臓器・組織の修復と共に分解吸収され、癒着を防ぐ。しかし、癒着防止吸収性バリアの成分(例えば、ヒアルロン酸、カルボキシメチルセルロース、ゼラチン、デキストリン等)に対して過敏症のある患者への使用は、禁忌・禁止となっている。

蛾の一種であるカイコが産生するシルクフィブロインタンパク質(以下、シルク)は、手術用縫合糸として臨床で用いられてきた実績のある材料である。本研究では、癒着防止吸収性バリアの選択肢を広げるため、シルクを成分としたフィルム状の癒着防止吸収性バリアの開発を目指している。癒着防止効果を発揮するためには、シルクフィルムの分解吸収性が重要と考え、分解吸収が早いフィルムと遅いフィルムを作製し、それらの効果を比較した。

2. 実験方法

2.1 シルクフィルムの作製

ISO9001に基づく品質管理の下で製造された繭(あつまるホールディングス製)を精練し、シルクを単離した。その後、0.1M水酸化ナトリウムを含む・含まない9M臭化リチウム水溶液中でシルクを溶解し、水中で透析することでアルカリ処理有・無のシルク水溶液を得た。得られたシルク水溶液をオートクレーブ滅菌し、濃度を3%に調整した後、清潔環境下でポリスチレンディッシュ(栄研化学製)に展開し、乾燥させることでシルクフィルムを得た。

2.2 シルクの分子量の測定

2.1にて調製したアルカリ処理有・無のシルク水溶液中のシルクの重量平均分子量(Mw)を、ゲル濾過クロマトグラフィー(AKTA go, Cytiva製)により定量した。アルカリ処理有・無のシルクのMwは、それぞれ約9, 30万であった。以降、アルカリ処理有・無のシルクを、それぞれ低分子量(LMW)、高分子量(HMW)シルクと記す。

2.3 シルクフィルムの水溶解率の測定

乾燥状態のLMW, HMWシルクフィルムの重量を測定し、25℃の脱イオン水に24時間浸漬した。その後、余分な脱イオン水を除き、フィルムを乾燥させた。乾燥後のフィルムの

重量を測定し、水への溶解率を算出した。

2.3 シルクフィルムの癒着防止効果の評価

盲腸と腹壁に擦過傷を形成した腹腔内癒着モデルラットの盲腸と腹壁に、LMW, HMWシルクフィルムを貼りつけた。術後2週で、開腹して盲腸や腹壁の観察を行い、癒着の程度を5段階評価した。癒着が重度であるほど、高スコアとなる。なお、承認済の癒着防止吸収性バリアA, Bを陽性対照として、生理食塩水を陰性対照として用いた。

本動物実験は、農研機構 動物実験専門委員会への申請、承認(承認番号: R3-M04-NLAS)の下、動物愛護を第一として実施された。

3. 結果・考察

LMW, HMWシルクフィルムの水溶解率は、それぞれ93, 6%であった。フィルムを構成するシルクが低分子量の場合には、高い水溶解性を示し、体内で早く分解吸収されることが期待できた。

各種サンプルが移植された腹腔内癒着モデルラットの癒着スコアの平均値は、生理食塩水群, LMWシルクフィルム群, HMWシルクフィルム群, 承認品A, 承認品Bでそれぞれ1.8, 1.3, 3.0, 1.6, 1.2であり、LMWシルクフィルムの癒着防止効果が示唆された。一方、HMWシルクフィルムの癒着防止効果は、全く認められなかった。移植後2週における開腹時の所見では、LMWシルクフィルムの残存は認められなかった一方、HMWシルクフィルムは、移植時の形状を維持したまま残存し、カプセル化されているように見えた。これらの結果より、シルクフィルムの分解吸収性が、癒着防止効果の発揮に重要であることが示唆された。また、分解吸収が早いLMWシルクフィルムの癒着防止吸収性バリアとしての応用が期待できた。

4. 参考文献

(1) D Menzies, H Ellis, Intestinal obstruction from adhesions—how big is the problem? *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, Vol. 72, pp. 60-63 (1990).

5. 謝辞

本研究は、農林水産省委託プロジェクト研究「昆虫(カイコ)テクノロジーを活用したグリーンバイオ産業の創出プロジェクト」JP22680575の補助を受けて実施された。

パラレル型グアニン四重鎖構造に CpG 配列を導入した核酸アジュバント Enhancement of the immunostimulatory property of unmodified CpG ODN by forming a parallel guanine quadruplex structure

谷田部舞桜^{1,2}, Soumitra Pathak^{1,2}, 山崎智彦^{1,2}
Maisa YATABE^{1,2}, Soumitra PATHAK^{1,2}, Tomohiko YAMAZAKI^{1,2}

¹ 国立研究開発法人物質・材料研究機構機能(NIMS) 高分子・バイオ材料研究センター, つくば市千現
1-2-1, ² 北海道大学大学院生命科学院, 札幌市北区北 8 条西 5

¹ Research Center for Macromolecules and Biomaterials, National Institute for Materials Science, 1-2-1 Sengen,
Tsukuba, ² Graduate School of Life Science, Hokkaido University, Kita 8, Nishi 5, Kita-ku, Sapporo

1. はじめに

ワクチンには抗原分子と共に免疫を賦活化する分子であるアジュバントが添加され、接種効果を増強している。アジュバントとして、非メチル化 CG 配列を含む一本鎖核酸 (以下、CpG オリゴデオキシヌクレオチド(ODN)) が報告され、B 型肝炎ワクチン(HepB)に実用化されている。核酸は体内で核酸分解酵素により短時間で分解されることから、主鎖の酸素を硫黄に置換したホスホロチオエート化核酸が実用化されているが、非特異的な蛋白質吸着を引き起こすため、長期的な副作用が未だ懸念されている。

我々は、一本鎖核酸の医薬品応用の問題点を解決するために、核酸がテロメアで形成する構造であるグアニン四重鎖(G4)構造の安定性に着目し、未修飾核酸を用いたアジュバント開発を進めてきた⁽¹⁻⁴⁾。G4 構造は、オリゴヌクレオチド鎖の 5'→3'方向の向きが 4 つ揃っているパラレル型、2 つずつ同一方向となるアンチパラレル型、3 つの鎖が同一方向となるハイブリッド型の構造トポロジーに分類される。

本研究では、3 種類の構造トポロジーを形成する G4-CpG ODN を構築し、ヌクレアーゼ耐性、細胞取込、TLR9 との結合、免疫活性化能を比較することで、CpG ODN を導入する G4 構造として、パラレル型が優れている結果を得たので報告する。

2. 方法

2 番目のループ領域に 2 つの CG 配列を有する G4-CpG ODN である GD2⁽¹⁾の配列を元に、ループ領域の配列を改変することで GD2 のハイブリッド型のトポロジーをパラレル型もしくはアンチパラレル型に改変した G4-CpG ODN を構築した。円偏光二色性 (CD) による構造解析、電気泳動によるヌクレアーゼ耐性を解析した。また、蛍光標識 G4-CpG ODN を用いて、マウスマクロファージ細胞への取込と局在を FACS と共焦点顕微鏡観察により解析した。G4-CpG ODN の免疫活性化効果は、CpG ODN が TLR9 に結合することにより誘導されるインターロイキン(IL)-6 を指標として評価した。またマウスでのアジュバント効果は、抗原特異的 IgG 抗体の産出量を指標として評価した。

3. 結果と考察

G4 構造を形成させることにより、核酸のヌクレアーゼ耐性ならびに細胞取込が大きく増加することが

示された。3 種類のトポロジー構造の中でパラレル型 4-CpG ODN は細胞取込が高く、また TLR9 を発現しているマクロファージ細胞から、IL-6 発現を高く誘導することが示された。細胞に取り込まれた G4-CpG ODN は TLR9 が存在する細胞内小胞に局在しており、TLR9 を介して免疫活性化が行われていることが示唆された。

これらの結果から、G4 構造のなかでもコンパクトな構造トポロジーを形成するパラレル型 G4 を利用することで、細胞内・体内において未修飾核酸の構造と機能を保持させられることが示された。

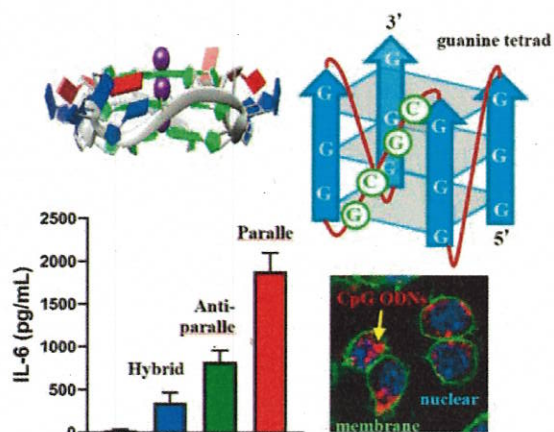


Fig. Structure, immunostimulatory property, and cellular uptake of parallel type G4 CpG ODNs

4. 参考文献

- (1) Tu, A. et.al. Monomeric G-Quadruplex-Based CpG Oligodeoxynucleotides as Potent Toll-Like Receptor 9 Agonists, *Biomacromolecule*, Vol.21, p.3644, (2020), (2) Safitri, F. et.al. Enhancement of the Immunostimulatory Effect of Phosphodiester CpG Oligodeoxynucleotides by an Antiparallel Guanine-Quadruplex Structural Scaffold, *Biomolecules*, Vol.11, p 11111617, (2021), (3) Tu, A. et.al. Effects of G-Quadruplex Ligands on the Topology, Stability, and Immunostimulatory Properties of G-Quadruplex-Based CpG Oligodeoxynucleotides, *ACS Chem Biol*, Vol.17, p.1703 (2022), (4) Tu, A. et.al. G-quadruplex-based CpG oligodeoxynucleotide/DOTAP complex strongly stimulates immunity in CpG motif-specific and loop-length-dependent manners, *Nanomedicine* Vol.40, p102508 (2022)

自然乾燥で表面に固定化する抗菌・抗ウイルスポリマーコーティング材料 Antimicrobial and antiviral polymer coating material to be crosslinked spontaneously

須丸 公雄, 友田 綾花, 佐野 将之, 高木 俊之

Kimio SUMARU, Ayaka TOMODA, Masayuki SANO, Toshiyuki TAKAGI

国立研究開発法人産業技術総合研究所(産総研), つくば市東 1-1-1 中央事業所 5 群

National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Tsukuba Central 5, 1-1-1 Higashi, Tsukuba

1. はじめに

スプレーコーティングされた後、手すりやドアノブ等の表面に固定化される抗ウイルスコート技術が、新型コロナパンデミックの際には、接触感染を抑制する手段として注目された。こうした状況において我々は、細胞に感染したらすぐ光るよう遺伝子を組換えたセンダイウイルスを用いて、迅速かつ高感度なウイルス活性評価手法を確立、これに基づくハイスループットスクリーニング技術を駆使して、付着飛沫を介した接触感染抑止に有効な材料表面を探索した。様々な検討を行った結果、感染源となる口や鼻から排出される飛沫には、例外なく唾液夾雑物が含まれ、特に主成分の一つであるムチン(糖タンパク)の共存が、抗ウイルス表面の効果からウイルスを強力に保護することが明らかになった。そして、物体の表面に付着した感染性飛沫の内部で夾雑物に守られたウイルスを失活させるには、抗ウイルス成分が表面から染み出して付着飛沫内部に浸透可能であることに加え、通常の使用場面で機能を安定に維持するためには、一時的な水濡れなどで抗ウイルス成分が容易に流れ落ちてしまわないことが、その材料表面の要件となることが強く示唆された。

こうした課題に対応しうる新材料として我々は、ポリエチレンイミン(PEI)にシランカップリング基を導入することで、アルコール/水溶液としてコートした後の乾燥過程で自発的に架橋、物体の表面に固定化されると同時に、形成される網目構造に様々な有効成分を安定保持する新規ポリマー材料を開発した(Fig.1(a))。本発表では、その自発架橋特性、形成された架橋ポリマー層の抗菌/抗ウイルス成分の保持・徐放特性について報告する。

2. 実験

枝分かれ型 PEI とトリエトキシシラン(3-グリシジロキシプロピル)シランを様々な比率でエタノール中にて混合、70°Cで2時間付加反応させて、ワンポットの簡便なプロセスで目的のポリマー(PEISiG)のエタノール溶液を得た。この溶液を

ポリスチレンディッシュ表面にコート、乾燥条件が形成したコート層の耐水・耐エタノール特性に及ぼす影響を調べた。また、スルホンアミド系抗菌薬であるサラゾスルファピリジン(SASP)のエタノール溶液を PEISiG を含む、あるいは含まない条件でポリスチレンディッシュ表面にコートし十分乾燥させた。その後それぞれのコート表面に水をロード、溶離してくる SASP 量を測定し溶離率を見積もった。

3. 結果・考察

調製された PEISiG 溶液(1wt%) ディッシュ表面に滴下したところ、透明均一なコート層を形成、溶媒蒸発直後は水に速やかに溶解するのに対し、時間が経過するとともに自発的に架橋、水やエタノールに侵されない安定なコート層となった。その結果、温度 40°C で 1.5 時間、15°C で 16 時間の条件で、水にもエタノールにも全く侵されない安定な架橋層が形成されることが確認された。

PEISiG 架橋層の SASP 保持特性を検討した結果、単独コートの条件では、コートされたすべての SASP が表面から水に溶離した一方、5 倍量の PEISiG とともにコートした条件では、全体のわずか 1% 程度の SASP しか溶離しないことが確認された(Fig.1(b))。また、5wt% PEISiG 溶液 10 μ L をコートして形成した架橋層が、0.5mM 硫酸銅(II)水溶液 1.5mL 中から 90% の銅イオンを吸着することが観察された。これらの結果により、PEISiG 自発架橋層が、抗菌性の有効成分をコート表面に安定保持し徐放することが示された。さらに、PEI と 3-(トリメトキシシリル)プロピルメタクリレートとの反応によっても同様の自発架橋性ポリマー材料が得られること、抗ウイルス性の有効成分である塩化ジドデシルジメチルアンモニウム(DDDMA)との混合溶液をコートして形成した架橋層は、一時的な水濡れに対しては DDDMA を安定に保持する一方で、ムチンが共存する付着ウイルス飛沫に対して徐放、飛沫内部のウイルスを効率的に失活させることが確認された。

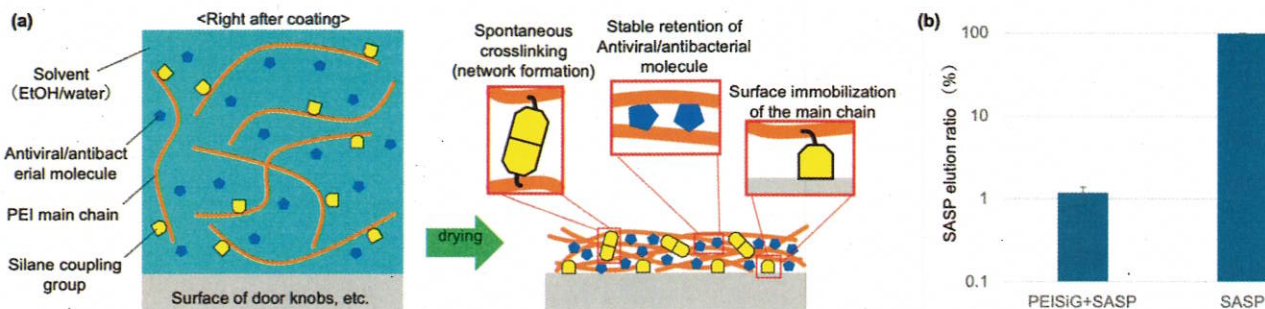


Fig.1. Cross-linking and immobilization of PEI functionalized with silane coupling groups in the coated solution upon spontaneous drying (a), and elution ratio upon water soaking of SASP coated with/without PEISiG after drying on polystyrene surface (b).

Functional Characterization of Type 2 Diabetes Mellitus-derived Endothelial Cells

Precella Silvia, Cat-Khanh Vuong, Osamu Ohneda

Laboratory of Regenerative Medicine and Stem Cell Biology, Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Japan

1. Introduction

Diabetes mellitus (DM) is associated with a defect in insulin secretion or action causing hyperglycemic condition. Among all DM patients, Type 2 DM (T2DM) is the most prevalent form of DM and included 90–95 % of the total cases worldwide. In T2DM patients, hyperglycemia inside the blood increased the oxidative stress level on endothelial cells (EC). This condition will promote endothelial to mesenchymal transition (EndMT), leading to various diabetes complications. Current research in hyperglycemia on EC commonly used healthy endothelial cells treated with high-glucose to mimic T2DM condition^(1,2,3). Meanwhile, T2DM patient-derived endothelial cells' might have some differences due to their prior glucose exposure, but its functional characteristics are still unknown. Therefore, it is important to understand the underlying mechanisms involved in the impaired functions of EC in T2DM to find a proper treatment for endothelial dysfunction. This present study aimed to examine the effects of T2DM on the characteristics and functions of EC by a comparison between EC from healthy and T2DM individuals.

2. Proposed Methods

Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were isolated from healthy and T2DM donors. Then, the characteristics and functions of healthy and T2DM EC were compared. In addition, the response of healthy and T2DM EC to high-glucose treatment was performed to examine EC functionality and endothelial to mesenchymal transition (EndMT) in prolonged high-glucose condition. Finally, the gene expression profile of healthy and T2DM EC was analyzed to examine the key factors and signaling mechanisms involved in the altered characteristics and functions of T2DM EC in comparison to healthy EC.

3. Results

This research results showed that T2DM EC showed an impaired angiogenic ability, proliferation ability, and migration

ability. In addition, increased ROS, senescence, inflammatory cytokines, and apoptosis level also be found in T2DM EC compared to normal EC. In consistent with the impaired EC's abilities *in vitro*, *in vivo* results in ischemic mouse model showed that mice transplanted with T2DM EC had higher necrotic area than those transplanted with healthy EC. In high-glucose condition, functional characteristics impairment of T2DM EC was found. Furthermore, T2DM EC in high glucose condition underwent higher EndMT shown by altered the morphology of the EC towards elongated mesenchymal-like phenotype, lowered apoptotic cells number, and higher fibroblast gene expression.

4. Conclusion

This research suggested that T2DM reduced the functional characteristics of EC and high-glucose condition in T2DM not only reduced its functional characteristics, but also led to EndMT condition which increased adverse complication in T2DM patients. Furthermore, it also highlighted the importance of blood-glucose control in T2DM patients.

5. References

1. Patel, H., Chen, J., Das, K.C., et. al. Hyperglycemia induces differential change in oxidative stress at gene expression and functional levels in HUVEC and HMVEC. *Cardiovascular Diabetology*, Vol. 12, No.1, p.142. (2013).
2. Zhang, J., Guo, Y., Ge, W., et. al. High glucose induces apoptosis of HUVECs in a mitochondria-dependent manner by suppressing hexokinase 2 expression. *Experimental and Therapeutic Medicine*. (2019).
3. Jansen, F., Yang, X., Franklin, B.S., et. al. High glucose condition increases NADPH oxidase activity in endothelial microparticles that promote vascular inflammation. *Cardiovascular Research*, Vol. 98, No. 1, pp.94–106. (2013).

ドナー心臓の保存と評価に貢献する体外心臓灌流装置の開発

Development of Ex Vivo Heart Perfusion (EVHP) to preserve and evaluate a donor heart

迫田大輔^{*1}, 小阪亮^{*1}, 長岡英気^{*2}, 田原禎生^{*2}, 大内克洋^{*3}, 木賀田哲人^{*4}, 坂之上朗^{*5},
Kenneth R. McCurry^{*6}, 藤田知之^{*2}, 岡本俊宏^{*6}

※1 産業技術総合研究所, ※2 東京科学大学, ※3 順天堂大学, ※4 東京農工大学, ※5 京都大学, ※6 Cleveland Clinic

1. はじめに

近年、米国の心臓移植医療にてドナーから摘出した心臓を37°Cで灌流し、心機能保存および評価を行う体外心臓灌流(EVHP)が行なわれており、ドナープール拡大に寄与している。我が国においても絶望的なドナー不足を解決するためにはEVHPが必要と考え、日米医工連携にて革新的なEVHP開発を目指した共同研究を継続している。我々がこれまで開発したEVHPシステムを紹介する。

2. 方法

2.1 Left Ventricular Assist Device (LVAD) mode EVHP

現在米国の臨床で使用されている灌流EVHPの灌流法はResting mode (Fig. 1A)と呼ばれており、大動脈圧をかけて冠動脈への灌流のみを行う。Resting modeは心拍出が起こらないため、血行力学的な心機能評価ができない。Working mode (Fig. 1B)は左心房からカニューレションし、灌流液を送り込むことで心拍出させる方法で、まだ臨床実用はされていないが、いくつか研究報告がある。我々は新たにco-pulse心拍同期左心室補助型Working modeを開発し、これを「LVAD mode」と呼んでいる。LVAD modeはWorking modeと同様に左心房流入(前負荷)があるが、収縮期開始の瞬間にLVADに模した遠心血液ポンプが左室内灌流液を脱血して心収縮を補助しながら灌流する。

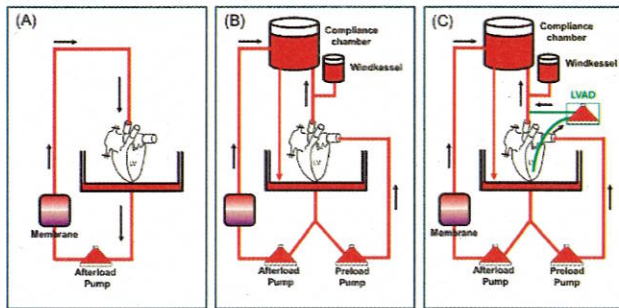


Fig.1 EVHP mode

2.2 ブタ心臓によるLVAD mode効果検証実験

ブタ(71-81kg, 全12頭)心臓をSt. Thomas Hospital液でフラッシュして摘出し、30minの冷保存後にResting modeを開始した。灌流液は自己血とSTEEN solutionの混合液(4:5)を使用した。灌流1時間後にWorking modeに移行した。Working mode群(n=6)はその状態のまま灌流6時間で終了した。Resting mode群(n=6)及びLVAD mode群(n=6)は、灌流1~5時間の間に各々のmodeを行った。全群について5~6時間はWorking modeに戻し、心機能の違いを評価した。また、灌流液を分析して心筋酸素消費量(MVO₂)、EVHP後の心筋組織のATP量を測定した。

3. 結果

Fig.2に6時間後の心機能保存率を示す。LVAD mode群がResting及びWorking群と比較して約2倍の保存率を示した。

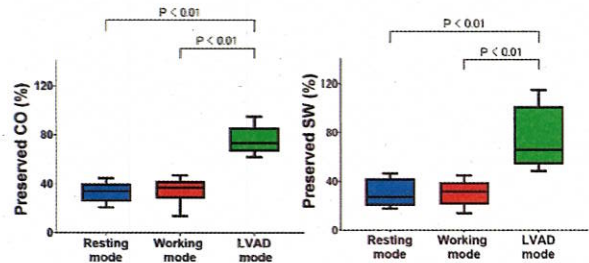


Fig.2 Cardiac Function after 6h EVHP
Cardiac Output (CO) and Stroke Work (SW)

代謝分析結果は、(MVO₂: Resting群 2.2 ± 0.3, Working群 4.6 ± 0.5, LVAD群 6.1 ± 0.5 mL O₂/min/100 g, P < 0.001)、(ATP: Resting群 1.1 ± 0.1, Working群 0.7 ± 0.1, LVAD群 1.6 ± 0.2 μmol/g, P < 0.001)であった。Tableにこれらの結果のまとめを示す。

Table Summary of experiments

Mode	Preload	Metabolism	ATP production	Cardiac output	ATP consumption
Resting	(-)	Low	Low	Minimum	Low
Working	(+)	High	High	High	High
LVAD	(+)	High	High	LVAD support	Low

Resting modeは左心房流入(前負荷)が無いいため心筋酸素代謝が抑制されATP産生が抑制されており、かつ心臓の外的仕事も最小であるためATP消費量も抑制されていると考えられた。Working modeは前負荷があることによって心筋酸素代謝を促しATPの産生が多いと考えられるが、心臓に外的仕事をさせるためATP消費量もまた大きいと考えられた。LVAD modeのMVO₂はWorking modeと同等であったことから、前負荷があり、かつ収縮期のみを補助した場合には心筋代謝活動が抑制されないことが示唆された。このためWorking modeと同等のATP産生が起こっており、一方で外的仕事はLVADがアシストする分ATP消費量は抑制されており、これにより心機能保存が他modeより優れたことが考えられた。

4. まとめ

LVAD mode EVHPは、従来を超える長時間心機能保存の可能性がある。今後もこの日米医工連携研究を進展させ、24時間以上の心臓保存、ヒト心臓による実験、製品化研究へと発展させていきたい。

5. 謝辞

本研究は産総研エッジ・ランナーズおよび科研費(23H03778)の助成を得て行われた。

6. 参考文献

Sakota D, Kosaka R, Nagaoka E, et al. Left ventricular assist device mode: co-pulse left ventricular unloading in a working mode of ex vivo heart perfusion. *Journal of Heart and Lung Transplantation*, Vol. 42, No. 6, pp. 707-715 (2023).

顔画像からAI処理によって体液の変動を推測する技術

Estimate changes in body fluids from facial images using AI processing.

鶴嶋英夫^{1,3}、赤松祐亮²、梅松旭美²、今岡仁²Hideo Tsurushima^{1,3}, Yusuke Akamatsu², Terumi Umematsu², Hitoshi Imaoka²

¹筑波大学サイバニクス研究センター、²NECバイオメトリックス研究所³ ひたちなか総合病院脳神経外科
¹Center for Cybernetics Research, University of Tsukuba, ²Biometrics Lab. NEC Corporation, ³Dept. of Neurosurgery, Hitachinaka General Hospital

1. はじめに

浮腫は最も一般的所見であるが、その所見の評価として客観性が低く、臨床の現場ではそれほど用いられていない。AI処理により客観的評価ができれば、医学的情報源としての価値を再評価できると考え研究を行った。

2. 研究方法

2.1 研究対象

血液透析を行っている患者を対象とした。透析は一般的には週3回行われるので、透析の前後で週6回のデータ取得機会があった(図1)。患者数は39名、平均年齢73.5歳±9.4、男女比25:14、透析治療期間81.0月±54.8であった。

2.2 取得データ

血液透析の前、と後の顔画像、それぞれの体重、除水量を取得した。透析前データ取得回数210回、透析後データ取得回数182回、データ取得機会392回、透析前体重平均値59.9kg±11.6、透析後平均体重57.8kg±11.5、除水量2214.0ml±639.7であった。

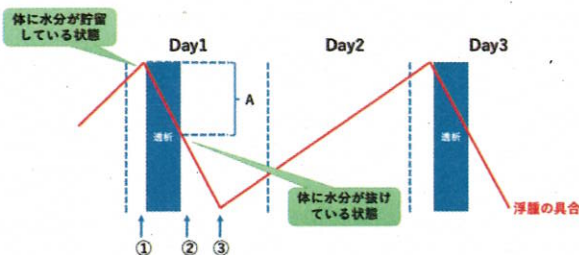


図1：血液透析のタイムスケジュールと浮腫の経過。

赤線は浮腫を表し、透析前で最も浮腫が強い(矢印①)、透析後減少(矢印②)。実際に浮腫が最低になるのは皮下組織から血管内へ水分が移動した矢印③の状態。

2.3 AI処理

浮腫による顔の変化は僅かなため、患者ごとに違いが表れる部分が異なる。当研究では複数の患者の顔映像を用いて顔に表出する様々な浮腫の情報抽出するAIモデルを事前に学習することとした。浮腫と相関のある体重を教師データとして用いて、浮腫の有無や度合いを高精度に事前学習する方式を開発した。この事前学習AIモデルをベースに

して患者のデータが少量でも、その患者の浮腫に合わせたAIモデルを転移学習し、推定精度を高めることができた(参考文献1)。

3. 結果

検証の結果、透析前の顔画像を浮腫あり、透析後の顔画像を浮腫なしとすると、正解率85%で浮腫の有無を判別できた。また体重の変化を顔画像から推測させた場合、体重変化の平均絶対誤差0.5kgで推定が可能であることを確認した。この平均絶対誤差は、人が外観から判断が難しい浮腫の変化が判別できる水準であり、臨床医学上有用性と思われる。また顔画像におけるAIモデルの重みを可視化してみると眼窩および鼻翼(鼻の横)周囲での重みが強く反映されており、医師が肉眼で注目する部位とほぼ同じ傾向が見られた。

4. 考察

当技術の応用範囲を考えてみると、

1) 遠隔医療上での応用：画面越しの診療では対面の診療と比較して情報量が低下している。これに対して患者の顔画像から自動的に特徴量を抽出してくれるシステムは、患者の診察での見逃しを予防してくれる可能性がある。

2) 透析患者、慢性心不全患者の管理アプリ：透析治療中の患者および慢性心不全患者は過剰な水分摂取を行うことが多い。これらを予防するためのアプリに応用できる可能性がある。

当技術はスマートフォンなどに搭載可能で、測定自体も簡便であるので、特定の場所に限られることなく生活の実態の中での変化を捉えることができると思われる。今後は日常内での患者の状態を評価するという意味では、当技術のようなものも求められる可能性がある。

参考文献

1. Y Akamatsu, Y Onishi, H Imaoka et. al Edema Estimation from Facial Images Taken Before and After Dialysis via Contrastive Multi-Patient Pre-training. Journal of Biomedical Health Informatics. 2023:1-12. DOI: [10.1109/JBHI.2022.3227517](https://doi.org/10.1109/JBHI.2022.3227517)

新 FFL「磁気焦点」と「磁性粒子」の 共局在作用に基づく高精度温熱療法 High-Precision Magnetic Hyperthermia by colocalization of a novel “magnetic focus” and MNPs

Zhiwei TAY^{*1}, Steven M. CONOLLY², 葭仲 潔¹
Zhiwei TAY^{*1}, Steven M. CONOLLY², Kiyoshi YOSHINAKA^{*1}

^{*1} 国立研究開発法人産業技術総合研究所(産総研), つくば市並木 1-2-1

^{*1} National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 1-2-1 Namiki, Tsukuba

^{*2} Department of Bioengineering and EECS, University of California Berkeley, 340 Hearst Memorial Mining Building, Berkeley, CA 94720

1. 背景:

我々は、がん細胞のみ死滅させ、その後、正常組織の再生が期待できる機能温がん治療法が理想的と考える。そのため、がん細胞の高温感受性に基づく温熱療法・ハイパーサーミアが注目されている。電磁場を用いたハイパーサーミアは生体透過性が優れている磁場を使用するため、他の非侵襲加熱手法(例: 集束超音波 HIFU) と異なり、各組織の透過率による有効範囲が限られることなく、ほとんど全身に適用可能である。

しかし、既存の磁気ハイパーサーミアの交流磁場は広い範囲の組織を微加熱する(約 43°C)のが一般的である。交流磁場はコイルから離れるほど拡散してしまうため、ヒトの深部に数ミリメートルの「焦点」を生成することが困難である。一方、近年注目されている Magnetic Fluid Hyperthermia (MFH) 磁性流体温熱療法は、組織加熱ではなく、低周波磁場による磁性粒子・磁性流体を加熱源にするアプローチである。磁性粒子によりがん細胞特異性を付与させれば、理論上がん細胞の局所のみを高精度に加熱することができる。実際には、投与した粒子は 100%腫瘍に到達することが困難であり(主に肝臓や脾臓に集積する傾向がある)、腫瘍以外に配置された粒子は不意に加熱し、正常組織に熱損傷を与えるリスクが高い。そこで、本研究は磁気飽和空間パターンに基づく FFL 磁場⁽¹⁾に着眼した。磁気飽和になった粒子は MFH 励磁できなくなる為、FFL の非飽和ゼロ磁場焦点と粒子の共局在作用に基づく高精度温熱法を検証した。

2. 方法:

磁場設計: 磁石デザインと磁場シミュレーションを行い、勾配が高い傾斜磁場を構築し、磁石の異方性伸長によるゼロ磁場の領域を縦に長い Field-free-line 形状に改造した。Gaussmeter で計測した磁場勾配は 2.0 Tesla/m である。

In Vitro 検証: 3 x 3 に空間的に分布した磁性粒子容器を MFH の励磁磁場に晒し、光ファイバー温度計を用いて温度上昇を計測した。FFL 磁場を追加印加し、FFL 焦点の配置による加熱率の変化を記録した。

In Vivo 検証: がんモデルマウス (Flank Xenograft) に粒子を 3 箇所局注し (腫瘍 1, 腫瘍 2, 肝臓)、FFL+MFH の励磁磁場に晒し、生物発光可能ながん細胞の発光イメージングや Histology を用いて腫瘍の治療効果を評価した。

3. 結果:

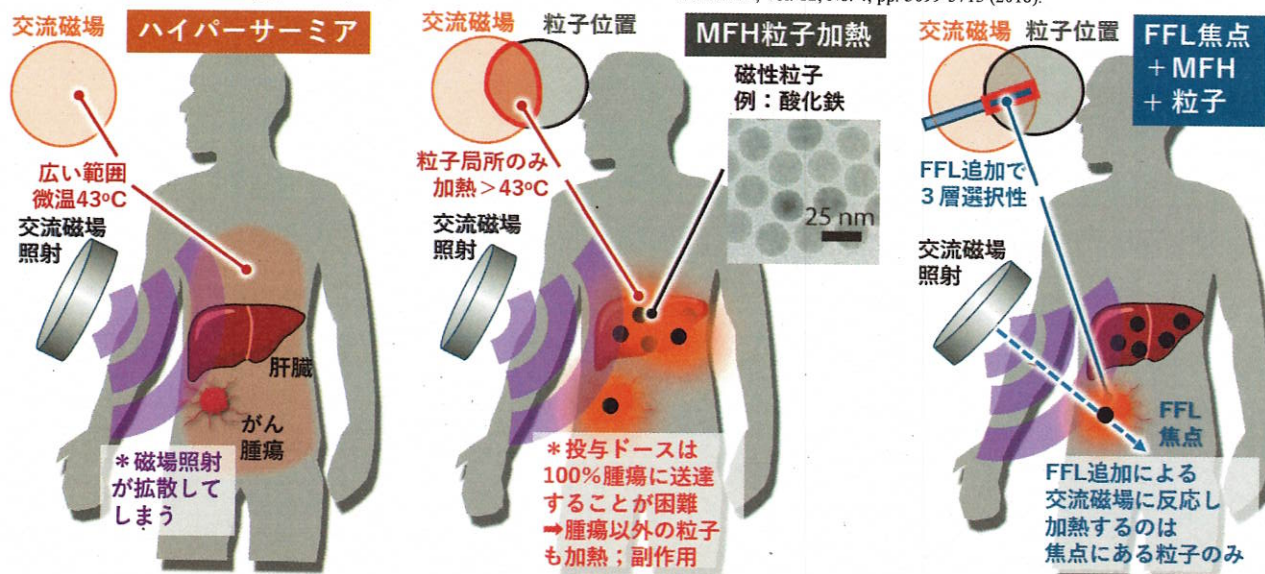
In Vitro 実験では加熱焦点を 7mm に縮小することができ、In Vivo 実験では FFL 焦点にある腫瘍のみを治療することができた。FFL 焦点以外の腫瘍は治療されずと、粒子が集積した肝臓にも熱損傷は検出されなかった⁽¹⁾。

4. まとめ:

新規 FFL 焦点手法は、「指定可能 FFL 磁気焦点」と「粒子マーキング」の併用で、共局在の場合のみ熱作用効果を有するため、温熱治療の精度を向上することができる。

5. 参考文献

(1) ZW Tay et al. Magnetic Particle Imaging-Guided Heating in Vivo Using Gradient Fields for Arbitrary Localization of Magnetic Hyperthermia ACS Nano, Vol. 12, No. 4, pp. 3699-3713 (2018).



培養肉を指向したシルクタンパク質由来スキャフォールドの開発

Development of Silk Protein- Based Scaffolds for Cultured Meat

佐藤美優^{*1}, 秋岡翔太^{*1}, 野口恵一^{*1,*2}, 中澤靖元^{*1}

Miyu SATO^{*1}, Shota AKIOKA^{*1}, Keiichi NOGUCHI, Yasumoto NAKAZAWA^{*1}

※¹ 東京農工大学大学院, 小金井市中町 2-24-16、※² 東京農工大学学術研究支援総合センター機器分析施設, 東京都小金井市中町 2-24-16

^{*1} Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology, 2-24-16 Naka-chou, Koganei Tokyo 184-8588 JAPAN, ^{*2} Instrumentation Analysis Center, Tokyo University of Agriculture and Technology, ^{*1} 2-24-16 Naka-chou, Koganei Tokyo, 184-8588 JAPAN

1. 緒言

畜産業は食肉需要を支える主な手段であるが、昨今の環境への悪影響やタンパク質危機への懸念により、畜産業に替わる人工培養肉の作製法が検討されている。

人工培養肉は、動物を屠殺せずに動物細胞を使用して培養することによって作製される肉であり、従来の畜産法に代替する持続可能な食肉の供給方法として注目されている。しかし、培養肉の開発においては、未だ家畜由来の原料に依存しており、細胞の足場となるスキャフォールドの最適化がなされていないなど、課題が多く残る。

そこで本研究では、家蚕カイコより産生されるシルクタンパク質を用いたスキャフォールドの開発を目的とした。シルクはシルクフィブロイン(SF)とシルクセリシン(SS)の2種のタンパク質から構成される。SFは高い形態加工性や、筋芽細胞の分化促進能を有する¹。SSは食品への応用例があり、複数の細胞で増殖効果を示し、細胞培養における添加剤としての有効性も示されている²。

本研究では、エレクトロスピンニング(ESP)法を基本技術とし、ナノファイバー同士の空隙が大きいSF繊維集積物を作製した。また、筋芽細胞の内部浸潤を促すとともに、SF繊維集積物の形状保持のため、SF繊維集積物にSSハイドロゲルを充填させた。本発表では、上述したSF繊維集積物の作製法検討および特性評価の結果について報告する。

2. 実験方法

2.1 SF繊維集積物の作製

SF スポンジを5(w/v)%となるようにヘキサフルオロ-2-プロパノールに溶解し、ESP装置を用いて紡糸し、100%エタノールに集積した。100%エタノールは常温の場合と、冷却(液体窒素により冷却し、粘度が高くなったもの)の場合と比較した。吐出条件は、印加電圧25kV、吐出速度0.3mL/h、吐出時間1分とし、ノズルとアルミバットの底面の距離を8cmで固定して紡糸した。

2.2 見かけ密度の算出

SF繊維集積物の見かけ密度を算出した。質量は、SF繊維集積物を100%エタノールから取り出し、一晚静置して乾燥させた後に測定した。SF繊維集積物の高さはノギスを用いて測定し、5箇所での測定値の平均値を算出した。SF繊維集積物の面積は、真上から撮影した画像から画像解析ソフト(ImageJ)を用いて算出した。

2.3 繊維径測定

乾燥させた各SF繊維集積物を生検トレパンにより切り取り、金蒸着させた後に、走査型電子顕微鏡を用いて、加速電圧10kVの条件下でSF繊維の形態観察を行った。観察倍

率3000倍の画像からImageJを用いてそれぞれ60本の繊維径を計測し、その平均値と標準偏差を算出した。

3. 結果・考察

液体窒素により冷却した100%エタノールをESPのターゲットに設置した紡糸条件と、常温の100%エタノールとした紡糸条件を比較すると、冷却条件においては、比較的立体的に積層されたSF繊維集積物が形成された(Fig. 2)。また、液体窒素により冷却された100%エタノールの粘度は常温と比較して高く、この粘度の高さにより、SF繊維吐出時の液面振動を抑制し、SF繊維が立体的に積層することを可能としたと推測した。

常温の100%エタノールに集積されたSF繊維集積物と比較して、冷却条件下で集積されたSF繊維集積物は、成形物の高さが常温時の1.5倍になり、見かけ密度は0.6倍にまで低下した。

また、冷却条件下で成形したSF繊維集積物の繊維径は、 $1.51 \pm 0.54 \mu\text{m}$ 、常温時では $2.44 \pm 0.74 \mu\text{m}$ であり、平均繊維径に約1 μm の差が生じた。これは、温度の違いによる100%エタノールの脱水作用の違いによる影響である可能性がある。

本発表では作成したSF繊維集積物の作製に関して、100%エタノールにグリセリンを添加することにより粘度の影響を検証した結果について、またSSを添加した際のマウス由来骨格筋由来筋芽細胞の増殖試験の結果と考察についても併せて報告する。

4. 参考文献

1. Chaturvedi, V., Naskar, D., Kinnear, F. B., et al. Silk fibroin scaffolds with muscle-like elasticity support in vitro differentiation of human skeletal muscle cells. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* Vol.11, No.11, pp. 3178-3192 (2017).
2. Terada, S., Sasaki, M., Yanagihara, K., et al. Preparation of silk protein sericin as mitogenic factor for better mammalian cell culture. *J. Biosci. Bioeng.* Vol.100, No.6, pp. 667-671 (2005).

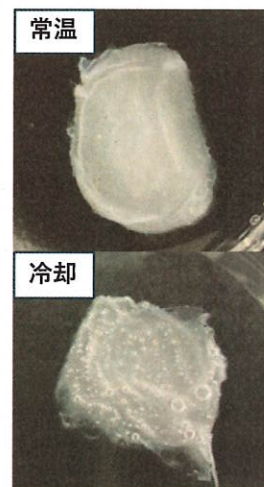


Fig. 2 ESPにて作製したSF繊維集積物

国立がん研究センターにおけるメドテックスタートアップ共創の取り組み Initiatives for Creation and Incubation of Med-Tech Start-ups at National Cancer Center Japan

富岡 穰, 田中 浩貴, 石井 琢也, 竹下 修由, 伊藤 雅昭

Hiroki TANAKA, Takuya ISHII, Yutaka TOMIOKA, Nobuyoshi TAKESHITA, Masaaki ITO

国立研究開発法人国立がん研究センター東病院, 千葉県柏市柏の葉 6-5-1
National Cancer Center Hospital East, 6-5-1 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba

1. 背景 ～医療機器開発エコシステムとスタートアップ～

2022年11月に内閣官房から「スタートアップ育成5か年計画」が発出された。他の産業界と同じく医療機器産業においても、日本から世界市場を狙えるポテンシャルを有するスタートアップの育成が急務であり、それは2024年3月に経済産業省が策定した「医療機器産業ビジョン2024」の中でも言及されている。医療機器産業ビジョン2024の中では米国市場を狙えるスタートアップの創出と育成、さらにはそのためのエビデンス創出を行う基盤を国内に構築していく必要性についても言及されている。世界的にはスタートアップが開発した技術を大手企業が事業化するというエコシステムの中で革新的な価値を有する医療機器が世界に広まっている現実があり、日本においても日本流の医療機器開発エコシステムを確立していくために、まずはその源泉である価値の高い医療機器を開発するスタートアップを多く創出していくことが重要と考える。

2. 国立がん研究センター東病院の現在の取り組み

国立がん研究センター東病院には、医療機器開発に特化した拠点としてNEXT医療機器開発センターを2013年に設立し、その後2024年までに5つの医療機器関連のスタートアップを立ち上げている。2019年度から5年間は、AMED次世代医療機器連携拠点整備等事業に採択され日本国内の14拠点の一角として医療機器開発を担う人材育成を推進してきた。その中で、「起業を目指す医師とエンジニアとビジネスパーソンの人材育成プログラム『イノベーションの虎』」を運営し、起業に興味を持つ医師、エンジニア、ビジネスパーソンを集め、医療系スタートアップに必要なマインドセットや情報を提供し、さらにはチームアップも企画するなど、スタートアップ創生に向けた人材育成に精力的に取り組んできた。これらの成果が評価を受け、2023年度(単年度予算)と2024年度から4年間、AMED次世代ヘルステック・スタートアップ育成支援事業のうちスタートアップ人材育成支援の枠組み(支援拠点)を東京大学バイオデザイン部門とのタッグ(当院は分担機関)で推進し、同事業のスタートアップヘルステック研究開発の枠組み(プロジェクト)で採択されたスタートアップ立ち上げ前のアカデミア研究者の支援を実施している。また、AMED優れた医療機器の創出に係る産業振興拠点強化事業にも当院を代表機関として、スタートアップ支援強化枠で採択され、現在、補助事業課題名「『世界の医療を変える』医療機器のグローバル展開を実現するエコシステム拠点の構築」を掲げ、2023年度まで実施してきた人材育成プログラムを発展的に引き継ぎ新たに「メドテックスタートアップ共創プラットフォーム『イノベーションの虎2024』」を運営し、「NCC版Entrepreneur in Residence(EIR)システムの構築」を目指す人材育成エコシステムの構築を進めるなど、スタートアップの創成に食欲かつ精力的に取り組んでいる。また、2024年度の新たな取り組みとして、

既存のスタートアップの米国進出支援を目的として、外部のアクセラレータやインキュベータとの連携によるプログラムを開始した。現在、スタートアップ3社を当該プログラムに採択し、米国進出に向けたメンタリング、事業化戦略立案、米国食品医薬品局(FDA)との相談の支援などを行っている。

3. 今後の展望 ～スタートアップの持続的創出と日本流スタートアップエコシステムの構築～

当院は今後も引き続き国や外部機関と連携しながら、世界を変える医療機器の社会実装を実現できるスタートアップを持続的に日本から輩出可能なエコシステムの構築に邁進する。2013年以降、10年強の様々な医療機器開発にまつわる取り組みの中で、日本ではこれまでなかった革新的な医療機器をスタートアップで開発し、スタートアップのM&Aを達成することと、開発している医療機器の上市と臨床実装まで押し進めた経験から、当院単独では難しいことも国の支援や外部専門機関との連携により、可能となることを実体験してきた。この大きな経験を基に、当院から持続的に世界を変える医療機器の社会実装が実現可能なスタートアップの創出を推進していく。また現在、世界を変える医療機器の社会実装に向けて奮闘しているスタートアップをより強力に支援し、日本流のスタートアップエコシステムの構築を、自らその一部を担うことで推進していく。

マカクサルとヒトの全脳における構造的結合の種差解析

Analysis of species differences in entire brain structural connectivity between macaque monkey and humans

大内和哉^{*1,2}, 吉丸大輔^{*3}, 竹村文^{*1}, 山本慎也^{*1,2}, 林隆介^{*1}, 肥後範行^{*1}, 小原真^{*2},
菅生-宮本康子^{*1}, 釣木澤朋和^{*1,2,3}

Kazuya Ouchi^{*1,2}, Daisuke Yoshimaru^{*3}, Aya Takemura^{*1}, Shinya Yamamoto^{*1,2}, Ryusuke Hayashi^{*1},
Noriyuki Higo^{*1}, Makoto Obara^{*4}, Yasuko Sugase-Miyamoto^{*1}, Tomokazu Tsurugizawa^{*1,2,3}

^{*1} 国立研究開発法人産業技術総合研究所(産総研), つくば市東 1-1-1, ^{*2} 筑波大学, つくば市天王台 1-1-1,
^{*3} 東京慈恵会医科大学, 東京都港区西新橋 3-25-8, ^{*4} フィリップスジャパン, 東京都港区麻布台 2-13-37
^{*1} National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 1-1-1 Higashi, Tsukuba, ^{*2} University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, ^{*3} Jikei University School of Medicine, 3-25-8 Minato, ^{*4} Philips Japan, 2-13-37 Tokyo

1. はじめに

産総研では 2021 年度から、脳の変化を理解し、計測し、予測・活用するために「脳の変化を捉える計測技術の開発と脳機能のデジタル化」がプロジェクトとして行われている。脳のデジタルデータを取得する手法の一つに Magnetic Resonance Imaging (MRI) がある。MRI は非侵襲的にヒトの脳画像を取得することができ、トランスレーショナル研究で注目されている手法の一つである。我々のグループではヒトやマカクサルの脳の MRI 画像を撮像してきた。マカクサルは代表的なモデル動物であり、様々な疾患モデルとして活用されている。前臨床研究の知見を臨床研究に応用するには、マカクサルとヒトの脳における種差を考慮する必要があるが、種差の研究の多くが種間で異なる手法を採用していることや、脳の局所的な比較のみ行っているといった課題がある。そこで本研究ではマカクサルとヒトにおいて、同一 MRI で撮像した画像から全脳の構造的結合 (Structural connectivity: SC) を解析し、種差を解明することを目的とした⁽¹⁾。

2. 方法

マカクサル 10 体 (Macaca fuscata, 全てオス, 平均年齢 6.0 ± 1.0 歳, 平均体重 11.0 ± 2.9 kg), ヒト 10 人 (男性 5 人, 女性 5 人, 平均年齢 27.0 ± 7.6 歳, 右利き) を対象に Philips Ingenia 3.0T MRI を使用して脳の撮像を行った。

我々のグループでは、臨床機の MRI でマカクサルの脳を撮像するために、マカクサルの頭の形に合わせた 8 channel RF コイルを設計した (Fig. 1)。マカクサルの脳の拡散強調画像 (Diffusion-weighted spin echo EPI sequence, TR/TE = 20,000/93 ms, voxel size = 1.2 × 1.2 × 1.2 mm³/voxel, matrix size = 112 × 112, 44 slices, b-value = 1000 s/mm², 32 directions) および T1 強調画像 (MPRAGE, TR/TE = 13/5.8 ms, voxel size = 0.6 × 0.6 × 0.6 mm³/voxel, matrix size = 200 × 250 × 167) を撮像した。

ヒトは 32 channel RF コイルを使用し、拡散強調画像 (Diffusion-weighted spin echo EPI sequence, TR / TE = 7950/95 ms, voxel size = 2.0 × 2.0 × 2.0 mm³/voxel, matrix size = 112 × 112, 60 slices, b-value = 1000 s/mm², 32 directions) と T1 強調画像 (MPRAGE, TR / TE = 11.1/5.1 ms, voxel size = 0.7 × 0.67 × 0.7 mm³/voxel, matrix size = 365 × 342 × 257) を撮像した。

拡散強調画像の前処理としてノイズ除去、Eddy current 補正、体動補正、歪み補正、B1 bias 補正を MRtrix3 にて行った。次に各個体の T1 強調画像を用いて、テンプレート画像 (マカクサル: NIMH macaque template, ヒト: MNI template) つくば医工連携フォーラム 2025 講演予稿集 (2025.1.24, 国立研究開発法人産業技術総合研究所)



Fig.1 RF coil designed for macaque monkeys.

をそれぞれの拡散強調画像にレジストレーションした。関心領域 (ROI) には先行研究⁽²⁾を参考に機能的・解剖学的に相同な領域を 28 領域および 46 領域に区分した ROI を用いた。その後、MRtrix3 の tckgen コマンドを用いて神経走行をトラッキングした。この時、全脳の神経本数は一億本に固定した。得られたトラッキングデータから各領域間の接続神経数を算出し、SC マトリクスを作成した。その後、個体ごとに得られた SC マトリクスの上三角行列を 1 次元ベクトルに変換した特徴ベクトルを種ごとに平均し、種間の相関係数を計算することで類似性を測定した。また、LASSO 回帰を用いて効率的に次元を削減することで、種間の相違点を示した。

3. 結果

種内において特徴ベクトルの相関係数は $r = 0.9$ 以上であり、SC における種内の類似性は高い結果となった。種間の類似性は 28 領域の ROI で $r = 0.73$ 、46 領域で $r = 0.67$ となり、全体的には類似している傾向が示された。LASSO 回帰により 28 領域の ROI では 378 個の SC のうち 20 個の SC、46 領域では 1035 個の SC のうち 20 個の SC が特徴抽出された (Fig. 2)。マカクサルでは運動野の結合が強く、ヒトでは前頭前野や聴覚野に関する接続が強い結果を認めた。

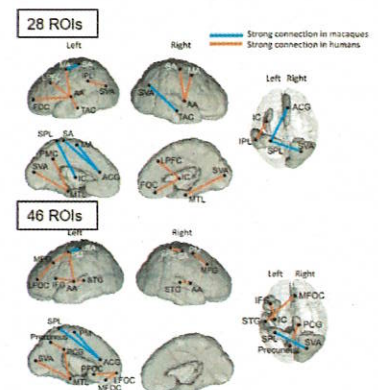


Fig.2 The result of LASSO. The 20 SC were extracted in 28 ROIs and 46 ROIs.

4. 考察

本研究は同一の MRI を用いてマカクサルとヒトにおける全脳の SC に関する種差を明らかにした。脳全体では類似した SC を持つが、運動野の接続はマカクサルで強く、前頭前野や聴覚野ではヒトの方が強い接続を有するという結果が示された。これらの結果はトランスレーショナル研究において重要な知見である。

5. 参考文献

- (1) Ouchi K, Yoshimaru D, Takemura A, et al, Multi-scale hierarchical brain regions detect individual and interspecies variations of structural connectivity in macaque monkeys and humans. Neuroimage, vol. 302, No. 120901 (2024).
- (2) Wang J, Zuo Z, Xie S, et al, Parcellation of Macaque Cortex with Anatomical Connectivity Profiles. Brain Topogr, Vol. 31, No.2, pp. 161-173 (2018).