

MD研究者育成プログラム参加学生に対する支援

番号	氏名	渡航先	国・地域	期間
1	Y. Y	仙台国際センター 「NGS現場の会」	日本(宮城)	H29/5/21-H29/5/24
2	H. Y	長良川国際会議場 「第101次日本法医学会学術全国集会」	日本(岐阜)	H29/6/8-H29/6/9
3	K. Y	長良川国際会議場 「第101次日本法医学会学術全国集会」	日本(岐阜)	H29/6/8-H29/6/9
4	Y. Y	湘南国際村センター 「日本免疫学会 第19回免疫サマースクール2017in湘南」	日本(神奈川)	H29/7/31-H29/8/5
5	N. K	中野サンプラザ 「第31回日本エイズ学会学術集会・総会」	日本(東京)	H29/11/23-H29/11/26
6	Y. Y	仙台国際センター 「第46回日本免疫学会学術集会」	日本(宮城)	H29/12/11-H29/12/14
7	P. J	仙台国際センター 「第46回日本免疫学会学術集会」	日本(宮城)	H29/12/11-H29/12/14
8	K. J	北陸先端科学技術大学院大学 「情報処理学会 第53回BIO研究発表会」	日本(石川)	H30/3/9-H30/3/10
9	T. A	日本医科大学武蔵境校舎 「第123回 日本解剖学会総会・全国学術集会」	日本(東京)	H30/3/28-H30/3/30

実施報告書

MD 研究者育成プログラム 5年次 Y.Y

【活動目的】

制御性T細胞について最新の知見を得たため、発表を行う。最新のシーケンシング技術及びゲノム情報処理について学び、今後の研究生活に役立てる。

【スケジュール】

5月21日	移動
5月22日	NGS 現場の会発表
5月23日	NGS 現場の会発表
5月24日	NGS 現場の会参加及び移動

【内容、成果】

今回、3日間の学会参加を通じて様々なことを学びました。次世代シーケンサー（Next Generation Sequencer; NGS）を用いた最先端の技術とその研究者の気迫を間近に感じることが出来ました。東北メガバンク機構のエピゲノムを始めとする大規模多層オミックスデータベースの構築や、single cell 解析の先進研究、クリニカルシーケンシングの展望など、幅広い研究について学び、ディスカッションをすることが出来ました。基調講演として岡田随象先生も話されており、大学や医学系の学会で話されている内容とは異なる楽しい話を聞くことが出来ました。また、今回始めてポスター発表と形で参加させていただきましたが、目に留まるアピールが今回のような場において大切であるということも学びました。今回の経験を今後の学会発表等に生かしていきたいと思えます。

【今後の抱負】

学会を通じて、bioinformatics や、免疫学におけるさらなる成長を心に誓いました。

【謝辞】

今回の活動を進めるにあたり、岸本国際交流奨学金を提供して下さった岸本忠三先生、並びにスタッフの方々を始め、多くの方々に協力していただきました。心より感謝申し上げます。

平成 29 年度岸本国際交流奨学金による活動実施報告書

— MD 研究者育成支援事業 —

医学部医学科 6 年

H. Y

【概要】

学会名: 第 101 次日本法医学会学術全国集会

日程: 平成 29 年 6 月 8 日～平成 29 年 6 月 9 日

発表演題名: Heat stroke related-change of Cx43 contributes to leading arrhythmia

活動内容: ポスター発表にて以下の研究成果の報告を報告すると共に、他研究室の発表の見学及び情報収集を行った。

【発表内容】

<背景・目的>

熱中症で亡くなった方の法医解剖において、器質的病変の認められないことがあり、こういった事例は”Negative autopsy”と呼ばれている。”Negative autopsy”であることはその死因が機能的なもの、特に不整脈原性突然死であることを示している。今回我々は、熱中症の死亡機序について、心筋細胞に対する熱負荷がその電気伝導性に影響を与え、不整脈を引き起こしていると仮説を立て、心筋細胞や成体ラットへの熱負荷の影響について検討を行った。

<方法>

in vitro

新生仔ラットより心臓を摘出し、トリプシン処理、コラゲナーゼ処理を行い、心筋細胞を単離した。5 日間の培養の後、37°C(コントロール群)、42°C(熱負荷群)の環境下に 6 時間置き、mRNA、タンパク質、上清を得た。mRNA は real-time RT-PCR にて、タンパク質の発現は western blot、免疫染色にて検討を行った。また、上清中の LDH 値を測定し、細胞障害度についても検討を行った。さらに、心筋細胞の培養は MED64 システム(アルファメッドサイエンティフィック社)の 64 個の電極がついたプローブ上でも行い、その電氣的活動性の変化についても検討を行った。

in vivo

オスの Wister ラット(8 週齢)を高温環境下(37°C、42°C)で 60 分間飼育し、即座に直腸温を測定した後、麻酔下で心臓を摘出した。摘出した心臓はビーズ式ホモジナイザーで溶解し、抽出したタンパク質を western blot にて検討を行った。また、摘出した心臓をホルマリン固定、OCT 包埋を行った後に薄切し、免疫染色を行った。

有意差検定、統計解析には two-tailed Student's t-tests (unpaired)、Tukey's post-hoc test を用い、また $P < 0.05$ のものを有意差ありとした。なお、以上の実験は動物倫理に法って行われた。

<結果・考察>

in vitro

各培養液の LDH 濃度は 42°C、3 時間ないし 6 時間の熱負荷で有意な増加を認めず、したがって本実験系の熱負荷では組織傷害が発生していないことが示された。

42°Cの熱負荷環境下においた心筋細胞の心拍数を計測したところ、熱負荷開始 30 分より心拍数の有意な上昇が認められ、以降 6 時間経過まで増加傾向が認められた。この頻脈性変化は MED64 システムによる細胞外電位パターン計測でも認められた。

さらに、MED64 システムを用いて心筋細胞の電氣的ペースングを行い、その波形の伝搬について検討した。波形の伝搬する様子を、波形がペースング部より伝わるのにかかる時間についての当時線図を描いて表したところ、3 時間の熱負荷によりやや伝搬が遅れが生じていることが示唆された。しかし、その伝搬速度については有意な変化は認められなかった。

real-time PCR の結果、6 時間の熱負荷により心筋細胞間の gap junction を形成する Connexin43(Cx43)の mRNA の発現上昇が有意に認められ、western blot にてタンパク質発現の有意な上昇も認められた。この Cx43 タンパク質発現の上昇は心筋細胞における Cx43 の免疫染色においても確認された。

また、心筋細胞に発現する熱受容体の一つ、TRPM4 をその選択的阻害剤、9-Phenanthrol にて阻害することで、熱負荷による Cx43 の mRNA 発現上昇は有意に抑制されることが示された。

in vivo

心臓の組織標本に対する Connexin43(Cx43)の免疫染色にて、熱負荷で左心室周囲に発現上昇が認められた。また、western blot にて Cx43 タンパク質の有意な増加も認められた。

<考察・今後の展望>

本研究において、熱負荷により、心拍数は上昇し、頻脈が引き起こされることが確認された。熱負荷はまた、心筋細胞の細胞外電位の伝搬パターンの変化を引き起こすことが確認されたが、波形の伝搬速度には変化が認められなかった。

さらに、心筋細胞への熱負荷において、ギャップジャンクションを形成し、細胞間の電気伝導において重要な役割を果たすタンパク質である Cx43 の mRNA、タンパク質発現の有意な上昇が認められた。また、こうした変化は TRPM4 阻害剤で抑制されることも示された。

成体ラットに対する *in vivo* の実験においても、Connexin43(Cx43)の免疫染色にて、熱負荷で左心室周囲に発現上昇が認められた。また、western blot にて Cx43 タンパク質の有

意な増加も認められた。

以上の結果より、心筋細胞への熱負荷は TRPM4 を介して Cx43 の発現を上昇させ、頻脈を引き起こすことが示唆された。この結果は熱中症による死亡の機序の 1 つを示すものと考えられ、熱中症下での不整脈発生を防ぐことが、熱中症による死亡を回避する手立てとなるのではと考えられる。

さらには、未だ解析中であるが、心筋細胞への熱負荷により、その自発拍動による細胞外電位のパターンにおいて、QT 時間の短縮という特徴的な変化も認められており、これについても検討を続けていくことを予定している。

【謝辞】

本演題は第 101 次日本法医学会学術全国集会 **Student Poster Forum** にて優秀賞をいただきました。今後も本研究における実験、論文執筆等、鋭意努力して参りますのでどうぞよろしくお願いいたします。

最後になりましたが、岸本忠三先生、また岸本国際奨学金関係者の方々に多大なるご支援を賜りましたこと、厚く御礼申し上げます。

平成 29 年度岸本国際交流奨学金による活動実施報告書

— MD 研究者育成支援事業 —

医学部医学科 6 年

K. Y

【概要】

学会名: 第 101 次日本法医学会学術全国集会

日程: 平成 29 年 6 月 8 日～平成 29 年 6 月 9 日

発表演題名: Expression of miRNAs in the brain by heat stroke

活動内容: ポスター発表にて以下の研究成果の報告を報告すると共に, 他研究室の発表の見学及び情報収集を行った.

【発表内容】

<背景・目的>

近年, 熱中症による死亡者数は増加傾向にある. 環境省によると, 熱中症による死亡者数は 1993 年以前には年平均 67 人であったものが, 1994 年以降は年平均 492 人と報告されている. 法医学的に熱中症は特異的な所見に乏しく, 死後の診断はしばしば困難となる.

microRNA(miRNA)は 22 塩基前後の non-coding RNA の一種であり, 遺伝子発現の転写後調節に重要な役割を果たすとされている. そして, miRNA は高温・高 pH などの過酷な環境に対し抵抗性を持つことが報告されており, 死後も使用可能なマーカーとして期待できる. 我々は, 熱負荷が中枢神経系における miRNA の発現変化による転写後調節が行われていると仮定し, ラット脳を用い, 熱負荷の下 miRNA の発現変化を検索した.

<方法>

オスの Wister ラット(8週齢)を高温環境下(37℃)で 100 分間飼育し, 麻酔下で脳を摘出した. 摘出した脳をビーズ式ホモジナイザーで溶解し, Taqman Array Rodent MicroRNA Cards 及び ViiA7 Real-Time PCR System を用いて 750 種類の miRNA の発現を測定した.

検出された miRNA のうち, 発現上昇率の特に高かった miRNA 上位 5 種を選択し, それぞれの miRNA のターゲット遺伝子の予測を, TargetScan(<http://www.targetscan.org>),

MicroCosm(<http://www.ebi.ac.uk/enright-srv/microcosm/htdocs/targets/v5/>),

miRDB(<http://mirdb.org/miRDB/>)の 3 つのオンラインサイトを用いて検索した. 3 サイトで共通して予測される遺伝子について, DAVID(<https://david.ncifcrf.gov>)にて Gene

Ontology 解析を行った.

なお, 以上の実験は動物倫理に法って行われた.

<結果・考察>

マイクロアレイの結果、187種のmiRNAが検出され、そのうち2倍以上発現が上昇していたものは12種、逆に2倍以上低下していたものは17種であった。今回発現が増加していた上位5種は、rno-miR-327, mmu-miR-598, mmu-let-7f, mmu-miR-148a, mmu-miR-181aであり、これらに着目し以後の解析を進めた。

これらmiRNAの標的遺伝子はTargetScan, MicroCosm, miRDBそれぞれ4031種、3672種、1292種が予測され、全てで共通するものは146種あった。146種の遺伝子のGene Ontology解析にて有意にenrichされたGO termに関わる遺伝子の多くはmiR-327, miR-148, miR-181aにより制御されていた。

以上の結果から、miR-327, miR-148, miR-181aは熱中症の死後診断のターゲットとなる可能性を持つことが示唆された。

【謝辞】

最後になりましたが、岸本忠三先生、また岸本国際奨学金関係者の方々に多大なるご支援を賜りましたこと、厚く御礼申し上げます。

平成 29 年度岸本国際交流奨学金による活動実施報告書

— MD 研究者育成支援事業 —

医学部医学科 5 年

Y. Y

【活動目的】

最新の免疫学について学び、今後の研究生活に役立てる。制御性 T 細胞について最新の知見を得たため、発表を行う。理研の研究環境を見学し、世界を牽引する研究者と意見交換を行う。

【スケジュール】

7 月 31 日	移動、免疫サマースクール参加
8 月 1 日	免疫サマースクール参加
8 月 2 日	免疫サマースクール参加、発表
8 月 3 日	免疫サマースクール参加、移動
8 月 4 日	理研見学
8 月 5 日	移動

【内容、成果】

今回、6 日間の学会参加を通じて様々なことを学びました。免疫学研究の最先端とその研究者の気迫を間近に感じることが出来ました。熊ノ郷先生、長田先生、黒崎先生、坂口先生、そして岸本先生と言った名だたる先生方のお話しは本や論文で読むのとは違った臨場感がありました。100 人の免疫学者の前で質問をしたり、討論を交わす中で自分の長所、短所を自覚することが出来、非常にいい経験であったと思っております。

また、私の研究成果について、「制御性 T 細胞特異的エピゲノムと自己免疫疾患との関連」という表題でポスター発表もさせていただきました。ポスター発表をした中では私が最年少でしたし、何より他の方々の発表のレベルの高さに驚かされました。しかし、前回の学会で発表の時に学んだ経験を活かすことが出来、結果として周りの院生や医者を抑えて優秀発表賞を取ることが出来ました。

理研では、CAGE-seq という最新のシーケンス技術を開発している村川泰裕先生に最新の技術や、一流の研究者としてあるためには何をすべきかなど、様々なことを教えていただきました。

【今後の抱負】

学会を通じて、bioinformatics や、免疫学におけるさらなる成長を心に誓いました。

【謝辞】

今回の活動を進めるにあたり、岸本国際交流奨学金を提供して下さった岸本忠三先生、並びにスタッフの方々を始め、多くの方々に協力していただきました。心より感謝申し上げます。

活動実施報告書

—MD 研究者育成支援事業—

医学部医学科 3 年次 N. K

今回のエイズ学会では三日間の日程で、基礎・臨床・社会医学のいくつかの部門に分かれたセッションが一日を通して行われ、主に社会医学系のセッションに参加しました。今回は学会での発表は致しませんでしたので、参加したセッションのうち強く興味を持ったものを抜粋して報告させていただきます。

まず HAND(HIV 関連神経疾患)・Adherence に関する臨床系セッションを聴講した。HAND は年齢に合わない左右対称性の前頭葉白質・基底核萎縮によって引き起こされる高次機能系障害や見当識障害、歩行障害等を指し、白質脳症やトキソプラズマ脳炎、単純ヘルペス脳炎等との鑑別が必要とされている。そのため、画像診断だけでなく神経心理検査による診断の可能性が模索されており、鑑別診断に堪えるレベルではなかったが情動の機能を判定できるとされているアイオワ・ギャンプリング課題の可能性が挙げられていた。また神経心理検査に関する横断前向き研究の報告によると、リスク因子は加齢、MINI 該当、治療失敗であり、改善因子は ART および就労であること、言語情報処理関連の症状は初期に出現し ART によって改善するが、視空間や手の運動の症状は後期に加齢によって生じることが示されていた。さらに、HAND と診断された患者は、延いては HIV 感染患者であることから、転院時のトラブルなども問題であり、スタッフへの研修が求められるとの報告があった。また、日本における Adherence への影響因子は、服薬を煩わしいと感じることであることが示され、薬剤師を含む医療者がサポートすることが重要であると報告されていた。

次に薬物依存症についてのレクチャーを聴講した。薬物依存症においては、周囲からの罰が悪循環を生むことが知られており、なぜ一部の人が依存症になるのかが課題であった(アルコールという薬物に依存する人が一部であることを鑑みよとの指摘があった)。「ネズミの楽園」実験によると、孤独、すなわち安心して他者に依存できなくなることが依存症を生んでいる可能性がある(Addiction の対義語として Connection を捉えよ)のであり、治療関係を継続し、複数の社会資源・Community から孤立させないことが重要であると示されていた。また、医療者は裁量が認められているのだから、安心して薬物使用を打ち明けられる場を提供することが大事であること、予防啓発のための強硬的な政策が逆に依存症患者が疎外されてしまう問題があり、ポルトガルでは薬物使用を非犯罪化し、治療へとつなげることで、特に若年者の依存症患者が減少したということが報告されていた。

次に Stigma の払拭は誰が担うのかというテーマに関するセッションを聴講した。薬害エイズ問題について、当時強い Stigma の下に周囲に罹患が知られることを避けようとする動きの中、実名で裁判に臨むことにより差別を払拭しようとしたことが説明され、Minority の問題を自分の問題としてとらえられるかが重要との説明があった。検査受診を

阻害する Stigma については、若年層は検査への Access が悪く、高齢層では感染の意識が低いことが理由であり、検査や HIV 感染症の情報が Update されにくいことが原因であるとされていた。また現在 HIV 陽性患者が背負っている Stigma は、社会の持つ外的な Stigma とそれによって当事者が感じる内的な Stigma があり、こうした Stigma はここ数年変化しておらず、HIV に関連した日常生活の自主規制はメンタルヘルスにも影響を与えていることから、個人、個人間、構造への介入によってこうした Stigma を払拭すること、取り組みをメタ解析することが必要と指摘されていた。さらに、GIPA 原則、MSM、受刑者、薬物使用者、CommercialSexWorker のような KeyPopulation への積極的なアプローチの重要性が指摘されていた。

次に総論的レクチャーを聴講した。基礎的講演では、血中のコピー数が 100000 なら感染力ウイルスは 100 程度しかないこと、抑制性因子には完全に抑えていなければならないものも、そうでないものもあること、将来的に HLA 型抵抗性のウイルスが出現すること、今の社会医学的政策でも新規感染者数が 2035 年時点で 2400 万人残ってしまうと考えられており、有効性が部分的であってもワクチンを使用することは意義があるという考え方もあることが指摘された。臨床的講演では、Aging の問題が重点的に指摘され、がん、HAND、長期療養(慢性疾患化している今、どこで見るべきかという問題)が指摘された。また、Long-active な薬、新しいクラスの薬の開発が進んでおり、現在の Backborn + Keydrug という組み合わせも見直されるかもしれないこと、Aging の中で NRTI は腎機能問題で使いにくくなるかもしれないことが指摘された。社会的講演では、LASH 調査から、差別偏見は陽性者に向いている一方、ウイルスコピー数が高い人は未受診の人の中に隠れている可能性が高く、Undetectable=Untransmittable(#UequalU)を標語に、アジア全体の視座から見ていく必要があると指摘されていた。

このほかにも PositiveTalkSession という HIV 陽性患者さん複数名による語りのセッションもあり、基礎臨床社会医学の研究者・医療者のみならず、HIV 感染症という病を取り巻くあらゆる人の講演・語りを聞かせていただいた。特に総合的講演では、各分野の研究者同士が、互いの講演を新鮮なものとして受け取って質疑応答が行われていたのが意外であった。同じ病気を扱う者であっても、専門細分化している現在の医療においては、情報の Update が非常に重要であるのではないかと感じた。

このような貴重な体験を金銭的な不安なく行わせていただいた、岸本忠三名誉教授に心から感謝申し上げます。

実施報告書

MD 研究者育成プログラム 5年次 Y.Y

【活動目的】

制御性 T 細胞に限らず、免疫学全体に及ぶ知見を深め、今後の研究生活に役立てる。

【内容、成果】

3 日間のシンポジウム、ワークショップをとおして様々な最新の知見を得ることが出来ました。特に免疫分野においてバイオインフォマティクスを用いて先進的な研究を行う研究者とディスカッションをすることが出来、とても良い刺激になりました。また、3 日目にはポスター発表および口頭発表を経験することが出来ました。英語でのディスカッションであったため、困難を感じることも多かったが、全体を通して良い経験になったと思えました。

【今後の抱負】

学会を通じて、免疫学研究、そして bioinformatics の知見、技術におけるさらなる成長を心に誓いました。

【その他】

ポスター発表の時間の都合により、最終日に予約していた飛行機に乗ることが出来ませんでした。パックでの申し込みで、キャンセル不可であったため、ホテルは別のホテル（コンフォートホテル仙台西口）に宿泊し、飛行機も次の日の便（ANA738）を使用致しました。

学会参加報告書

医学科 5 回生

P. J

今回は第 46 回日本免疫学会学術集会（12 月 12 日～14 日）に参加し、ポスターによる研究発表を行いました。私はヒト自己免疫疾患の発症や病態進行の分子メカニズムに興味があり、iFReC の感染病態分野では膠原病患者検体を用いた研究を行なっています。患者血清を詳細に調べるために、これまで CRISPR/Cas9 を用いてレポーター細胞による複数の検出系を作りました。本学会では、このレポーター細胞を用いて、全身性エリテマトーデスやシェーグレン症候群、強皮症、筋炎などの膠原病の患者血清を調べた結果を発表し、東京医科歯科大学や慶應義塾大学の先生方とディスカッションを行い、多くのアドバイスを頂くことができました。また、毎日のシンポジウムやワークショップでは興味深い研究の話を知ることができ、講演毎に質問してディスカッションに積極的に参加しました。講演の中には、私がこれから取り込もうとしている研究に近いものもあり、講演後に演者の先生に実験の詳細を知ることが出来てとても有意義な時間になりました。様々な研究テーマや最先端の研究手法に触れることで、研究意欲が高まりました。本学会で学んだことを今後の研究に生かして、これまで以上に頑張り、少しでも膠原病の理解に繋がる仕事をしたいと思います。

平成 29 年度岸本国際交流奨学金による活動実施報告書

－ MD 研究者育成支援事業 －

医学部医学科 3 年

K. J

3 月 9 日、10 日に石川県能美市の北陸先端科学技術大学院大学で行われた、情報処理学会第 53 回 BIO 研究会に参加し、「スペクトラルグラフ理論を応用した 1 細胞 RNA-seq データのトップダウン型クラスタリング」という題で現在研究中の RNA-seq データ解析アルゴリズムについて発表しました。学外で、それも大勢の聴衆を前に発表するのは初めてで緊張しましたが、今回は原稿通りに読むという方針でなんとかこなすことができました。できれば原稿を覚えるという形ではなく、聴衆の反応を見ながら講演するようになりたいものですが、それは今後の課題としたいと思います。また、質問もこちらが少し気がかりであった点を突くような鋭いものが多く、しっかりと準備することが必要だと思いました。全体として、今後発表する際の課題が良くわかり、良い経験となりました。

最後に、本奨学金に多大な支援をいただいた岸本先生に厚く御礼申し上げます。ありがとうございました。

平成 29 年度岸本国際交流奨学金による活動実施報告書

— MD 研究者育成支援事業 —

医学部医学科 5 年

T. A

活動期間：2018 年 3 月 28 日～2018 年 3 月 30 日

概要：所属する研究室（神経細胞生物学教室）の先生方も発表される、第 123 回日本解剖学会総会・全国学術集会を聴講し、その分野で活躍されている先生方や学生の研究内容、実験方法などについて学びました。

内容：学会に全日参加させていただいたのは今回が初めてですが、自分の研究分野である神経の研究発表に加え、比較解剖学の分野の研究成果、また教育の視点から医学生の学ぶ姿勢、と多くを学ぶことができ、非常に学びの多い 3 日間となりました。以下に特に印象に残った話について簡単に述べさせていただきます。

神経分野：多くの発表について聞き、それぞれ学ぶことがあったのですが、当然のことなのですが本当に多くの実験方法があるということに改めて学びました。Optogenetics や二光子顕微鏡を使っている実験が非常に多いと感じました。また、最新の質量分析器や最新の電子顕微鏡の話も聴講したのですが、最新の機械の進化は凄まじいもので、このような進化にも支えられ研究も発展するのかなと感じました。

解剖学教育についての講義：医学部生、そして医師の義務として、自分の職業を通じて社会にどのように貢献するかというテーマであり、また医学生は患者さんのプライバシーを見せて頂いて学ばせて頂いたりや財政的にも優遇していただいているので、勉強し続けたいといけないということ、改めて心に誓いました。

成果・今後の抱負：この学会で、神経の分野で研究されている先生の発表や、また学生の発表を聞くことができ、自分の取り組んでいる研究に対するヒントを得ました。また、自分に近いテーマだけではなく、異なる先生方のお話を聞くことで、新たな実験方法についての知識を得ることができたことも、非常に有意義でした。今後なにか新しい方法が必要だとなったとき、ヒントになると思っております。また、聴講させていただいた発表のすべてが興味深く学問的に多くのことを学ばせていただいたと思っております。また、学生のセッションを聞くことにより、自分も来年発表したいという思いが強くなりました。ここで得た知識をもとに、4 月から引き続きできる限り実験を積み重ねていき、何か一つでも新しい結果をだし、社会に貢献できるようなデータを公表したいと思っております。

最後となりますが、この度学会参加への支援をしてくださいました岸本忠三先生に心より感謝申し上げます。