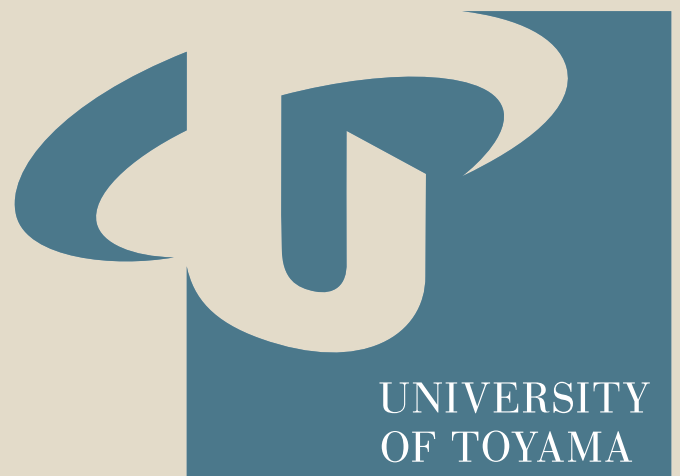


ISSN 2189-2466

# TOYAMA MEDICAL JOURNAL

**Vol.33 No.1 2022**



UNIVERSITY  
OF TOYAMA

# TOYAMA MEDICAL JOURNAL Vol.33 No.1 2022

## CONTENTS

### ■総説

低温プラズマの生物作用と医療への展開 1-6  
近藤 隆

### ■Original article

A retrospective pilot study examining the effect of inhalation anesthesia after delivery on intraoperative blood loss in emergency cesarean section 7-11  
Nozomi MATSUI, Mitsuhiro MATSUO, Satoshi YONEDA  
Akitoshi NAKASHIMA, Mitsuaki YAMAZAKI

### ■原著

新専門医制度における富山県の専攻医確保の現状と課題 13-19  
峯村正実・竹村京子・岡部圭介・熊岡 穰・三原 弘・高村昭輝

EPA看護師候補者のための国家試験問題のルビ振りの試み 21-29  
梅村俊彰

フィジカルアセスメント講座を受けた訪問看護師の技術習得レベルの分析  
～SCATを用いて～ 31-41  
伊藤達也・北啓一朗・梅村俊彰・山城清二

睡眠状態に特異的な前頭前野の神経活動動態 43-49  
大野駿太郎・野本真順・井ノ口馨

### ■症例報告

COVID-19流行期がために診断に苦慮した中咽頭癌症例について 51-55  
中里 瑛・朝日香織・将積日出夫

### ■学位授与

博士 (医学) 57-59  
博士 (看護学) 59  
博士 (医学)《論文博士》 60  
修士 (医科学) 61  
修士 (看護学) 61

### ■令和3年度研究医養成プログラム修了報告 62-86

### ■記 事

富山大学医学会会則 87  
富山大学医学会役員 88  
富山大学医学会誌投稿規定 89-92



## 総 説

## 低温プラズマの生物作用と医療への展開

近藤 隆

## Biological Effects of Low-temperature Plasma and its Medical Application

Takashi KONDO

Center for Low-temperature Plasma Sciences, Nagoya University

## 和文要旨

プラズマは固体・液体・気体に続く物質の第4の状態である。気体を構成する分子が電離し、陽イオンと電子に分かれて運動している状態であり、電離気体に相当する。近年、低温大気圧でプラズマを発生させる技術の進歩とともに、創傷治癒、殺菌・滅菌、がん治療等、多くの医療分野への利用が注目されている。著者らは低温プラズマによる細胞死（アポトーシス）の機序解明とその増強を試み研究してきた。温熱を併用すると物理的に低温プラズマによるアポトーシスを増強した。細胞内グルタチオンを減らすスルファサラジンは化学的にアポトーシスを増強した。また、最近の研究では、2 nmの金ナノ粒子が低温プラズマによるアポトーシスを増強することも判明した。ここでは、著者らの研究で得られた知見を述べるとともに、現在進んでいる医療応用について紹介する。

## 英文抄録

Plasma is one of the four fundamental states of matter. It contains a significant portion of charged particles—ions and/or electrons. Due to the development of plasma technology, cold atmospheric (low temperature) plasma (CAP) has recently been extensively studied by researchers as possible medical applications including wound healing, sterilization, cancer therapy etc. Authors studied on the mechanism of cell death (apoptosis) induced by CAP and its enhancement. When hyperthermia was combined with CAP, enhancement of apoptosis was observed. Furthermore, when sulfasalazine, an inhibitor of cysteine transporter, was utilized for the combination, apoptosis induced by CAP was chemically enhanced. And a recent study showed that gold nanoparticles of 2 nm diameter enhanced CAP-induced apoptosis. Here, first, our recent evidences are presented and second, current achievement of CAP application for therapeutic use is introduced.

**Key words:** Low-temperature Plasma, Reactive Oxygen Species, Apoptosis, Medical Application

## 1. はじめに

プラズマは固体・液体・気体に続く物質の第4の状態である。狭義のプラズマは、気体を構成する分子が電離し、陽イオンと電子に分かれて運動している状態であり、電離気体に相当する。真空中で発生するプラズマは半導体加工技術に広く用いられ、熱プラズマも、胃や鼻腔表面の組織凝固壊死を誘導する熱凝固装置として利用されている。近年、低温大気圧プラズマ技術の発展が目覚ましく、医療分野への利用についても、基礎研究から臨床応用への展開が注目されている。尚、プラズマの名称は低温プラズマ (low temperature plasma), 大気圧プラズマ (atmospheric plasma), 低温大気圧プラズマ

(cold atmospheric plasma (CAP)), 非平衡大気圧プラズマ (non-equilibrium atmospheric pressure plasma (NEAPP)), 非熱大気圧プラズマ (non-thermal atmospheric pressure plasma (NTAPP)) 等があるが、本稿では低温プラズマと称する。

## 2. 低温プラズマの発生—放射線との相違—

放射線の作用は原子・分子の励起・電離である。これにより、水分子が分解されて、各種活性種が生じる。直接、標的分子であるDNA等に損傷が生じる場合（直接作用）と周囲の水分子が励起・電離されて生じる活性酸素種が標的分子に作用し、損傷が生じる場合（間接作用）



があり、X線の場合には後者が約7割とされており、活性酸素種の役割は大きい。一方、低温プラズマは高電圧により気体を電離させ、高速気体でこれを吹き出し、照射面では概ね常温となる。対象となる液体面は大量の電離気体による活性種に暴露されるとともに、液体由来の水蒸気も電離され、大量の活性種(OHラジカルや水素原子)が生成する(図1)。放射線と低温プラズマの違いを表1にまとめた。活性種について特徴的なのは放射線では生成し難い活性窒素が低温プラズマでは生成し、生物効果を考える上で大きな役割を果たす場合がある。

低温プラズマの特徴の一つは、照射され大量の活性種が生成した溶液が大きな生物効果を有する点である。同様の効果を得ようすると放射線では莫大な線量が必要となり、現実的ではない。両者は電離現象では共通するが、放射線は深達性に優れ、組織内部での反応を起こすが、

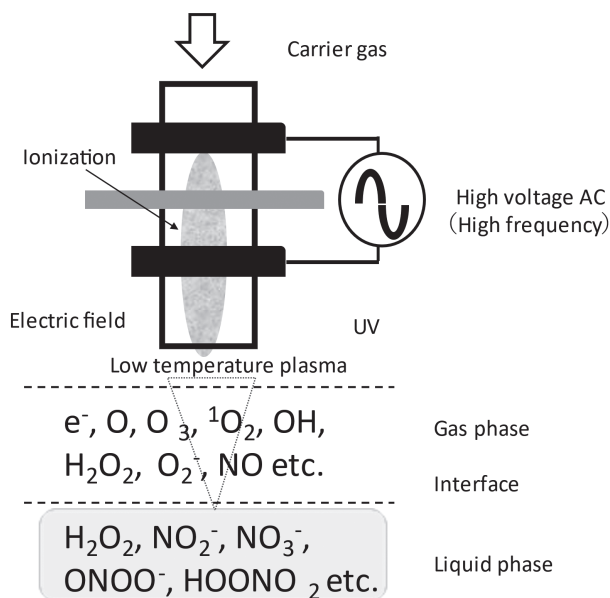


図1 低温プラズマの生成

高電圧をかけると気体は電離し、これを高速の気体(キャリアガス)で流すことで温度が下がり低温プラズマが生成する。特別な周囲の気体の制御がない場合には空気を巻き込み、活性酸素や活性窒素が生成する。対象が液体の場合、界面での反応が重要で、液体に由来する水蒸気(水)も電離する。各種活性種の生成に加えて、電場や紫外線も発生する。

表1 低温プラズマと放射線との比較

様式	低温プラズマ	放射線
エネルギー	低い	高い
活性種	活性酸素, 活性窒素 (水和電子)	活性酸素 水和電子
DNA損傷	DSB<SSB (水溶液) 0~DSB<<SSB (細胞)	DSB<SSB DSB<<SSB*
照射液の効果	大きい	ないか小さい

\*SSB: 一本鎖切断, DSB: 二本鎖切断, 放射線では1 Gyあたり約1000個のSSBと40個のDSBが生じる。

プラズマではあくまで表層・表面での反応に依存する。

一例として低温アルゴン(Ar)プラズマとX線の生物効果について、ヒトリンパ腫細胞株U937を用いてアポトーシス(細胞死)を指標に両者を比較した。その結果Arプラズマ1分間の照射では15%アポトーシスが誘発された。また、X線では同様の効果を得るのに吸収線量で7.5 Gy(J/kg)が必要であった。ArプラズマとX線により生成されたOHラジカルをDMPO(5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide)をスピン補捉剤として用いてEPR(Electron Paramagnetic Resonance; ESRとも称する)スピン補捉法で定量的に比較した。Arプラズマ1分間照射時のOHラジカル量は約 $5.8 \times 10^{-5}$ Mであった。また、X線照射で同様の収率を得るには、225 Gyを必要とした。従って、液中で生成するOHラジカル量を同一生物学的効果(U937細胞を用いてアポトーシスが15%生成する条件)で比較するとX線より約30(225/7.5)倍多いことになる。即ち、低温プラズマは極めて効率的な活性酸素発生源と言える。逆に、放射線の側から考えると細胞内に生成したOHラジカルは細胞死に有効であるが、細胞外に生成したOHラジカルの効率は低いとも言える。

### 3. 放射線および低温プラズマによる細胞死—アポトーシス—

古くから、細胞膜の破壊や細胞内容物の漏出を伴う病理形態学的な壊死(ネクローシス)は認識されていた。比較的高い線量の放射線照射後に認められる組織の炎症はこれによる。一方、放射線照射後の早期に、細胞核が濃縮する形態学的変化は、ピクノーシスとして知られていたものの、アポトーシスの概念が導入されて以来、胸腺細胞や白血病細胞株を用いた研究により放射線アポトーシスに関する知見が得られた。これらの細胞は数Gyの照射後、数時間で十分なアポトーシスを起こす。一方で、がん細胞ではまれに早期にアポトーシスを起こす細胞もあるが多くはアポトーシスを起こしにくく、また、アポトーシスを起こす場合でも多くの時間を必要とし増殖を介した細胞死を呈する。照射後の発現経過も多様で、分裂期崩壊や老化様細胞死(増殖停止)を経てアポトーシスに至ると考えられる。

放射線照射後に多く細胞分裂の異常を生じ、分裂期に停止して直接死滅する際の主たる細胞死が分裂期崩壊である。この分裂期崩壊がおこるためには、M期チェックポイントが正常に働くことが必要とされている。放射線を照射した細胞の経時的観察で、異常な細胞分裂(不完全分裂)を起こすことは知られていたが、その変化は多様で、二核細胞や多核細胞の形成、多極分裂等があるが、分子機構はまだ不明な点が多い。老化様細胞死は、放射線照射後、細胞の代謝は行われているが細胞増殖が不可逆的にG1期で停止した状態を示す。G1期停止機能を

失った癌細胞では、異常分裂を経て、多核あるいは巨核細胞となって増殖を停止する。指標として老化関連ベータ・ガラクトシダーゼ染色で陽性となる。放射線によりオートファジー（オートファジー様細胞死）が誘発することも判明し、オートファジーとアポトーシスがバランスをとり細胞死を制御している。

低温プラズマについても同様に細胞死に至る過程は多様であり、また時間依存性に変化すると思われる（図2）。現在、細胞死は基本12種類に分類されている<sup>2)</sup>が、最近、大気圧プラズマによる細胞死として特異的な細胞死、バブル形成を伴うネクローシス<sup>3)</sup>、フェルトーシス<sup>4)</sup>、免疫原性細胞死<sup>5)</sup>等も報告されている。

#### 4. 低温プラズマによる細胞死の増強

大量にしかし細胞外に生成した低温プラズマによる活性酸素種を如何に細胞内へ導入するか、また、細胞側の抗酸化性を如何に低減するかが、低温プラズマ誘発細胞死の増強に重要である。

この活性酸素種をさらに細胞内に効率よく導入できる方法を探索する試みで、細胞膜透過性の亢進効果が判明しているハイパーサーミアを併用した。その結果、ハイパーサーミアとの併用で細胞死に関して相乗的效果が得られた（図3）。ハイパーサーミア併用により活性酸素種の細胞外から内への導入効果が促進されるので、治療に向けたハイパーサーミア温度に制御された「プラズマサーミア」が提唱される<sup>6)</sup>。

さらに、化学的に低温プラズマによるアポトーシス誘導を増強する方法として、細胞内グルタチオン（GSH）量を低下させるためシステイントランスポータ阻害剤であるスルファサラジン（SSZ）を用いた。SSZ処理により、GSHの材料となるシステインの細胞内への取り込みが阻害され、その結果、細胞の抗酸化性が低下すると考えられる。SSZ添加により低温プラズマは放射線照射に対して同程度のアポトーシス増強効果を示した（図3）。一方、細胞外に多量の活性酸素種が生成するプラズマと相対的に量は少ないが細胞内にも生成する放射線では、Fas発現の有無、カスベース発現の差等その増強機構は異なることが判明した<sup>7)</sup>。

#### 5. 大気圧プラズマ誘発アポトーシスに与える金属ナノ粒子の影響

金属をナノ（10億分の1メートルサイズ）のスケールまで微小化すると一般の特性とは異なる性質をあらわすことがある。また、ナノサイズ粒子には、①比表面積が大きく生体分子の多量結合が可能、②適切な表面加工で生体内循環性が向上、③EPR（Enhanced permeation and retention）効果による腫瘍集積性向上、などの特徴がある。このようなナノ粒子の特性を生かし、診断や治療に応用する試みは「ナノメディシン」の一つとして注目を集めている。すでに放射線科学の分野では一例として金ナノ粒子を放射線増感剤としてがん治療に役立てようとする試みがされている。

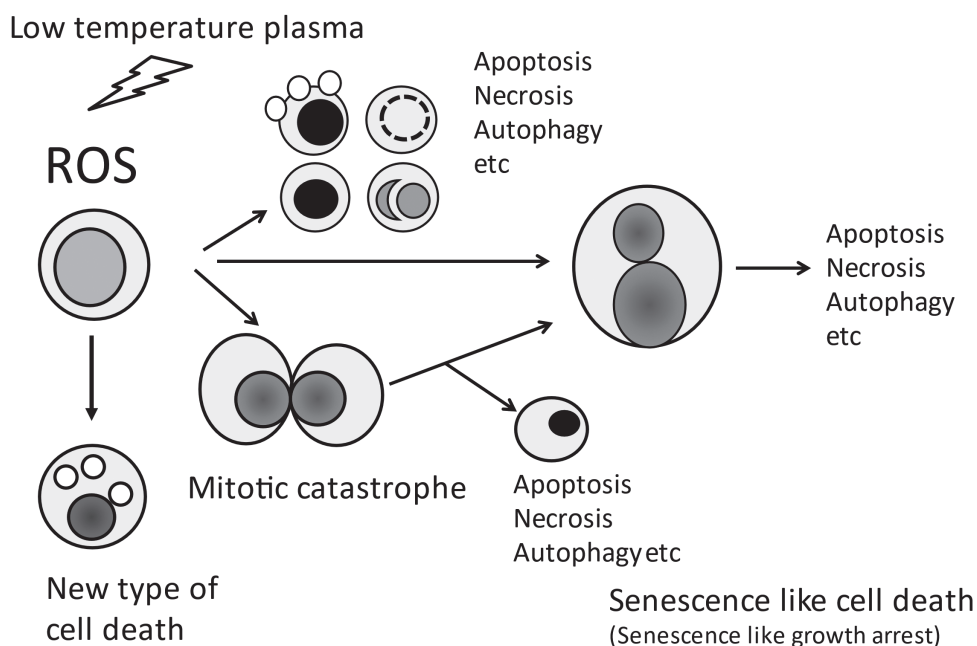


図2 低温プラズマによる細胞死

低温プラズマにより、直接、アポトーシス、ネクローシス、オートファジー（オートファジー様細胞死）他の形態学的細胞死を引き起こす。あるいは分裂期崩壊や老化様細胞死（増殖停止）を経て、細胞死に至る場合がある。これら以外に、新たな細胞死の生成の可能性もある。

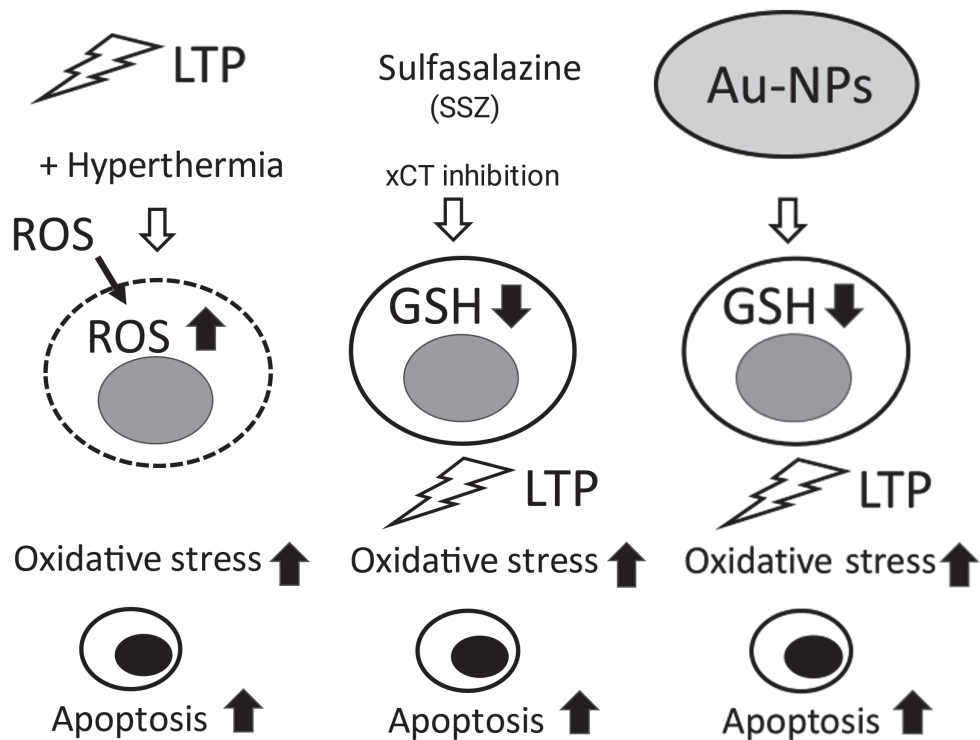


図3 低温プラズマ (Low temperature plasma, LTP) とハイパーサーミア, スルファサラジン, および金ナノ粒子の併用による細胞死の増強

ハイパーサーミア領域の温度では細胞の透過性が亢進し, 併用すると低温プラズマで生成した活性種を細胞内に導入できる。その結果, 酸化ストレスを増やす。スルファサラジンはシステイントランスポーター (xCT) の阻害剤であり, 細胞内のGSH (グルタチオン) 量を減らし, 低温プラズマによる酸化ストレスを増やす。金ナノ粒子も同様の作用があり, その結果, 低温プラズマ併用でアポトーシスに代表される細胞死を増強する。

東京大学 宮本研究室で開発された2 nm直径の白金ナノ粒子 (Pt-NPs) は, カタラーゼおよびスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) 活性を示すことが報告され, 我々も, このPt-NPsを用いて, 低温Heプラズマによるアポトーシス誘導に対して如何に作用するかを調べた。U937細胞に対してHeプラズマ照射は顕著なアポトーシスを誘導したが, Pt-NPsを併用して, アポトーシスおよびその関連指標への影響を検討したところ, 有意な細胞内活性酸素種の低下およびアポトーシス抑制効果を認めた<sup>8)</sup>。これに対して, 2 nm直径の金ナノ粒子 (Au-NPs) を用いたところ, 低温プラズマ誘発アポトーシスの増強が認められた (図3)。この機序を検討したところ, Au-NPs処理細胞では細胞内GSHが低下しており, これによる抗酸化活性の低下が原因の一つに考えられる。サイズの異なる, 40および100 nmのAu-NPsを用いたところ, 併用による増強効果は認められなかった<sup>9)</sup>。

## 6. 臨床に向けた低温プラズマの利用

低温プラズマは, 当初から広範な医学利用が検討され, 欧米諸国を中心に創傷治癒・殺菌効果・止血効果・癌治療などのへの応用が検討されて, この十年間, 急速

に発表論文も増えてきた<sup>10)</sup>。低温プラズマ治療は直接照射効果を利用する場合では, 局所で表層の治療に有用である。他方, 組織深達性には限界があり, 深部にある腫瘍への適用は難しい。これに対して, 低温プラズマを照射した培養液, リンゲル液等の照射溶液に強力な生物活性があることが判明し, 特にいわゆるがん細胞に選択的毒性を示すことが多く報告され, その利用が検討されてきた。特に, 実験的には全身投与, 腹腔内投与, 腫瘍内投与が可能であり, 実験治療の結果も集積してきた<sup>11)</sup>。

皮膚表面は低温プラズマを利用しやすい組織であり, 臨床研究も進んできた<sup>12)</sup>。糖尿病による足の潰瘍に低温プラズマを利用しランダム化比較試験を行った結果では, 標準治療に比べてプラズマ治療群で有意な改善効果が得られた<sup>13)</sup>。大気圧プラズマを組織内へ導入するため特殊な微小針を皮膚表面に適応する技術もある。これによりマウスの悪性黒色腫に低温プラズマを導入するとともにチェックポイント阻害剤との併用し, 抗腫瘍効果を増強できた<sup>14)</sup>。また, アトピー性皮膚炎治療も視野に入っており, 安全な施行と各種臨床スコアの有意な改善が認められている<sup>15)</sup>。低温プラズマやプラズマ処理溶液が殺菌・滅菌, ウイルスの不活性化に有効であることは



以前より知られており<sup>16)</sup>、最近ではCOVID-19も対象となってきた。その利用法は単にウイルスの不活性化のみならず、患者に低温プラズマによる一酸化窒素を利用する方法や経皮的に低温プラズマを利用して免疫治療に用いる等、幅広い活用が挙げられている<sup>17)</sup>。

## 7. 今後の展望

低温プラズマの医療・ライフサイエンスへの応用には、「プラズマで生成される活性種と生体との反応」を照射側と生体側の両立場で分子レベルから捉えて、プラズマの生体への影響を解明し、相互作用を定量的に評価することが不可欠となる。今後、プラズマドーズの標準化を含めこの分野のさらなる発展に期待したい。

近年の研究により、がんや様々な内臓疾患、神経疾患などの多くの疾病、様々な生活習慣病、また老化現象とフリーラジカルや活性酸素との関連が指摘されている。このため、低温プラズマは簡便にかつ大量の活性酸素種を定量的に生成する装置としても利用する価値は極めて高い。また、この性質を利用して、細胞内物質導入、幹細胞の分化、および組織再生等の生物工学の分野への応用<sup>18)</sup>や創薬に繋がる可能性もあり<sup>19)</sup>、今後の幅広い分野での発展が望まれる。

## 8. あとがき

富山大学で初めて低温プラズマの実験を行ったとき、

観察されるOHラジカル量に驚いた。通常の放射線使用では見たことのない多量のOHラジカルが、僅か1分の照射で得ることができた。このような活性種生成の特徴は他の物理様式と比較しても極めてユニークなものと言える<sup>20,21)</sup>。以来、この現象に魅せられて、低温プラズマによる活性種の生成と生物効果に関する研究に従事してきた。この冬より名古屋大学の低温プラズマ科学研究センターで引き続き、研究に従事することとなった。本センターは半導体製造から医療応用まで広範囲な低温プラズマの基礎と応用に関する先端機器を有し、国の共同研究・共同利用拠点である。主な実験室はNational Innovation Complex (NIC) ビルの4階にあり、眼下にはノーベル賞展示記念館が見える最高の位置にある(図4)。研究する上での高揚感を醸し出すには絶好の場であり、今後とも微力ながらこの分野の発展に貢献できればと考えている。

## 9. 謝辞

本研究遂行にあたっては文部科学省科研費、新学術領域研究「プラズマ医療科学の創成」およびJSPS科研費18K07668, 21K07697等の支援を受けました。ここに感謝致します。

## 10. 文献

1) Uchiyama H., Zhao Q.L., Hassan M.A., et al.: EPR-spin



図4 名古屋大学ノーベル賞展示記念館

名古屋大学にはノーベル賞受賞に関わる記念の建築物があり、そのうちの一つ。低温プラズマ科学研究センターの実験室から眼下に見える。

- trapping and flow cytometric studies of free radicals generated using cold atmospheric argon plasma and X-ray irradiation in aqueous solutions and intracellular milieu. *PLoS One*. 10, e0136956, 2015.
- 2) Galluzzi L., Vitale I., Aaronson S.A., et al.: Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*. 25: 486–541, 2018.
  - 3) Yan D., Malyavko A., Wang Q., et al.: Multi-modal biological destruction by cold atmospheric plasma: capability and mechanism. *Biomedicines*, 9 (9): 1259, 2021.
  - 4) Jo A, Bae JH, Yoon YJ et al.: Plasma-activated medium induces ferroptosis by depleting FSP1 in human lung cancer cells. *Cell Death Dis*. 13: 212, 2022.
  - 5) Loenhout J.V., Flieswasser T., Boulosa L.F., et al.: Cold atmospheric plasma-treated PBS eliminates immunosuppressive pancreatic stellate cells and induces immunogenic cell death of pancreatic cancer cells. *Cancers (Basel)*. 11: 1597, 2019.
  - 6) Moniruzzaman R., Rehman M.U., Zhao Q.L., et al.: Cold atmospheric helium plasma causes synergistic enhancement in cell death with hyperthermia and an additive enhancement with radiation *Sci Rep*. 7: 11659, 2017.
  - 7) Moniruzzaman R., Rehman M.U., Zhao Q.L., et al.: Roles of intracellular and extracellular ROS formation in apoptosis induced by cold atmospheric helium plasma and X-irradiation in the presence of sulfasalazine. *Free Radic Biol Med*. 129: 537–547, 2018.
  - 8) Jawaid P., Rehman M.U., Zhao Q.L., et al.: Helium based cold atmospheric plasma-induced reactive oxygen species-mediated apoptotic pathway attenuated by platinum nanoparticles. *J Cell Mol Med* 20: 1737–1748, 2016.
  - 9) Jawaid P., Rehman M.U., Zhao Q.L., et al.: Small size gold nanoparticles enhance apoptosis-induced by cold atmospheric plasma via depletion of intracellular GSH and modification of oxidative stress. *Cell Death Discov*. 6: 83, 2020.
  - 10) Harley JC, Suchowerska, N., McKenzie, D.R., Cancer treatment with gas plasma and with gas plasma-activated liquid: positives, potentials and problems of clinical translation. *Biophys Rev*. 12: 989–1006, 2020.
  - 11) Tanaka H., Bekeschus S., Yan D., et al.: Plasma-treated solutions (PTS) in cancer therapy. *Cancers (Basel)* 13: 1737, 2021.
  - 12) Friedman PC.: Cold atmospheric pressure (physical) plasma in dermatology: where are we today? *Int J Dermatol*. : 59: 1171–1184, 2020.
  - 13) Stratmann B., Costea T.C., Nolte. C., et al.: Effect of cold atmospheric plasma therapy vs standard therapy placebo on wound healing in patients with diabetic foot ulcers: A randomized clinical trial. *JAMA Netw Open*. 3: e2010411, 2020.
  - 14) Chen G., Chen Z., Wen D., et al.: Transdermal cold atmospheric plasma-mediated immune checkpoint blockade therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 117: 3687–3692, 2020.
  - 15) Kim Y.J., Lim D.J., Lee M.Y., et al.: Prospective, comparative clinical pilot study of cold atmospheric plasma device in the treatment of atopic dermatitis. *Sci Rep*, 11: 14461, 2021.
  - 16) Cortázar O.D., Megía-Macías A., Moreno S., et al.: Vulnerability of SARS-CoV-2 and PR8 H1N1 virus to cold atmospheric plasma activated media. *Sci Rep*, 12: 263, 2022.
  - 17) Chen Z., Bai F., Jonas S.J., et al.: Cold atmospheric plasma for addressing the COVID-19 pandemic. *Plasma Process Polym*: e2200012, 2022.
  - 18) Szili E.J., Hong S-H., Oh J-S., et al.: Tracking the penetration of plasma reactive species in tissue models. *Trends Biotechnol*, 36: 594–602, 2018.
  - 19) He Z., Charleton C., Devine R.W., et al.: Enhanced pyrazolopyrimidinones cytotoxicity against glioblastoma cells activated by ROS-generating cold atmospheric plasma. *Eur J Med Chem*, 224: 113736, 2021.
  - 20) Rehman M.U., Jawaid P., Uchiyama H., et al.: Comparison of free radical formation induced by cold atmospheric plasma, ultrasound, and ionizing radiation. *Arch Biochem Biophys*, 605: 19–25, 2016.
  - 21) Kondo T., Rehman M.U., Jawaid P., et al.: *Plasma Medical Science*. Toyokuni S., Ikehara Y., Hori M., editors. Academic Press; 2018. 3.4, Intracellular Reactive Oxygen Species Generation and Gene Expression Changes—Characteristics of Physical Therapies; p. 131–44.

## Original article

# A retrospective pilot study examining the effect of inhalation anesthesia after delivery on intraoperative blood loss in emergency cesarean section

Nozomi MATSUI<sup>1</sup>, Mitsuhiro MATSUO<sup>1</sup>, Satoshi YONEDA<sup>2</sup>,  
Akitoshi NAKASHIMA<sup>2</sup>, Mitsuaki YAMAZAKI<sup>3</sup>

緊急帝王切開の術中出血量におよぼす吸入麻酔薬の影響：後方視的観察研究

松井 望<sup>1</sup>・松尾光浩<sup>1</sup>・米田 哲<sup>2</sup>・中島彰俊<sup>2</sup>・山崎光章<sup>3</sup>

## Abstract

Inhalation anesthetic agents inhibit uterine muscle contractility in laboratory experiments; therefore, intravenous anesthetic use is recommended to avoid the atonic effects of inhalation anesthetics after cesarean section delivery of a fetus. However, the clinical impact of inhalation anesthetic use remains unclear. This study aimed to examine the effects of inhalation anesthetic agents used after delivery on intraoperative blood loss in cesarean section. A single-center retrospective study was performed using clinical data from patients who underwent emergency cesarean section during a 7-year period. A total of 511 patients were analyzed. General anesthesia was performed in 147 patients, and the remaining 364 patients received cesarean section under spinal anesthesia. For general anesthesia, propofol and inhalation anesthesia (sevoflurane and desflurane) were used after cesarean delivery in 125 and 22 patients, respectively. Multivariate regression analysis showed that intraoperative blood loss after delivery was comparable to propofol (−155 mL; 95%CI, −344 to 35 mL). Inhalation anesthetic agents used after delivery were not associated with increased blood loss during cesarean section. Prospective large studies are needed to support these findings.

## 和文要旨

吸入麻酔薬は基礎研究において子宮平滑筋の弛緩作用が示されている。しかし、臨床において吸入麻酔薬の使用が子宮の弛緩におよぼす影響はほとんど分かっていない。そこで本研究では、分娩後に使用する麻酔薬と帝王切開の術中出血量との関連について検討した。当院で7年間の観察期間に緊急帝王切開が行われた511例の症例を後方視的に解析した。全身麻酔が147例および脊椎麻酔が364例あった。全身麻酔のうち、分娩後に使用された麻酔薬はプロポフォールが125例および吸入麻酔が22例（セボフルラン15例、デスフルラン7例）であった。多変量解析の結果、吸入麻酔の使用はプロポフォールの使用と比較してむしろ出血量の減少傾向を示した（−155 mL；95%信頼区間、−344〜35 mL）。分娩後の吸入麻酔薬の使用と帝王切開の術中出血量との関連は認められなかった。これらの知見を支持するためにはさらなる大規模研究が必要である。

**Key words:** cesarean section, inhalation anesthesia, propofol, spinal anesthesia, intraoperative hemorrhage.

## Background

Inhalation anesthetic agents such as sevoflurane and desflurane induce dose-dependent decreases in skeletal and smooth muscle tone<sup>1-3</sup>. There is *ex vivo* evidence that sevoflurane and desflurane can inhibit uterine mus-

cle contractility<sup>1</sup>, although propofol in clinically relevant concentrations did not decrease uterine tone<sup>2</sup>. As such, switching from inhalation to intravenous anesthesia after cesarean section delivery is recommended to avoid the potential atonic effects of inhalation anesthetics<sup>3</sup>.

(Received 2022.8.31 / Accepted 2022.10.5)

<sup>1</sup>Department of Anesthesiology, <sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, University of Toyama, Toyama, Japan

<sup>3</sup>Department of Anesthesiology, Toyama Nishi General Hospital, Toyama, Japan

However, the effects of switching from inhalation anesthetic agents on intraoperative blood loss remain unclear. This pilot study aimed to examine the effects of inhalation anesthetic agents used after delivery on intraoperative blood loss in cesarean section. Because spinal anesthesia is routinely performed in elective cesarean sections at our hospital, we analyzed emergency cesarean cases.

## Materials & Methods

### Study design and settings

This was a single-center, retrospective, observational study using data from Toyama University Hospital, which is an academic, teaching, and tertiary care center that covers a population of one million people. This study was approved by our hospital's ethics committee (No. R2020170) and conducted in adherence with the principles of the Declaration of Helsinki. The requirement for written informed consent was waived because of the retrospective nature of this study. Instead, opt-out consent documents were presented on our hospital website for patients who did not wish to participate.

### Study participants

We retrieved data from all patients who underwent emergency cesarean section at our hospital during a 7-year period from July 1, 2013 to June 30, 2020. We excluded patients with planned spinal anesthesia who incidentally converted to general anesthesia.

### Data collection and measurements

We extracted age, body mass index at delivery, gestational age, and other characteristics from electronic medical records. Preoperative laboratory values were measured within 4 weeks before surgery. Intraoperative blood loss was calculated from the increased weight of surgical gauzes used for blood collection and the suction fluid volume excluding the amount of amniotic fluid. Potential confounding factors for intraoperative hemorrhage include placental previa/abruption, prematurity, previous cesarean surgery, hypertension, diabetes<sup>4</sup>, uterine myomas<sup>5</sup>, obesity<sup>6</sup>, thrombocytopenia<sup>7</sup>, and assisted reproductive technology (ART)<sup>8</sup>. Because uterine contractions can influence the amount of intraoperative blood loss, we also included pre-labor rupture of the membranes as a confounding factor in our study. Furthermore, we included increased uterine contents, such as large for gestational age newborns and multiple births, as a potential confounding factor. Category-1 cesarean section was defined as  $\leq 30$  min of the decision-to-birth interval<sup>9</sup>. Obstetrical disseminated intra-

vascular coagulation (DIC) was diagnosed by  $\geq 8$  points of the scoring system<sup>10</sup>. Endovascular balloons were placed routinely in the bilateral common iliac artery at our hospital. Preoperative antiplatelet use was defined as administered within 1 week before surgery. Preoperative heparin, oxytocic, or tocolytic use were counted until the day of surgery.

### Outcomes

The main outcome was intraoperative blood loss in patients with inhalation anesthesia or propofol after delivery. We also analyzed spinal anesthesia as a positive control to determine the absolute difference between inhalation anesthesia and propofol.

### Statistical analysis

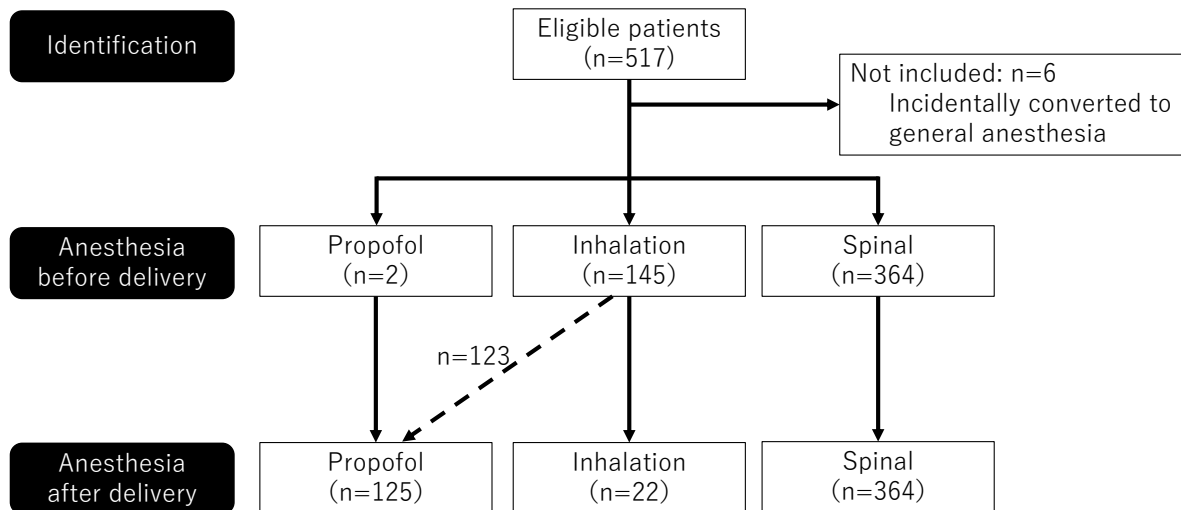
Continuous variables are presented as mean  $\pm$  standard deviation. Univariate and multivariate regression analyses were performed to determine the differences in intraoperative blood loss between inhalation anesthesia and propofol after delivery. Multivariate regression analysis was used to adjust all confounding characteristics used in the univariate regression analysis. After multivariate analysis, residual distribution was confirmed to be graphically normal by using quantile-quantile plots. The calculated regression coefficients are shown with 95% confidence intervals (CI). A two-tailed  $P < 0.05$  was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using statistical software (EZR; a graphical user interface for R; The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)<sup>11</sup>.

## Results

### Patient demographics and surgical characteristics

During the observation period, 517 patients underwent emergency cesarean section in our hospital. After exclusion of six patients with planned spinal anesthesia who incidentally converted to general anesthesia, we analyzed a total of 511 patients (Figure). Patients were  $33.3 \pm 5.4$  years old, had a body mass index of  $25.1 \pm 4.2$  kg/m<sup>2</sup>, and were  $34.8 \pm 4.6$  weeks of fetal gestational age. One patient had obstetrical DIC, and nine patients had placement of endovascular balloons (Table 1). All of these patients had placenta previa. There were no patients with hemorrhagic diseases such as hemophilia or von Willebrand's disease. The skin incision-to-delivery interval was  $8 \pm 3$  min, and the operative time was  $60 \pm 22$  min. The median blood loss was 580 mL (range, 120–4220 mL).





Figure

Anesthetic methods were summarized in this study. A dotted line shows 123 patients who received switching anesthesia from inhalation to propofol.

Table 1: Patient demographics and surgical characteristics

Variables	n=511
Patient	
Age, years	33.3 ± 5.4
BMI at delivery, kg/m <sup>2</sup>	25.1 ± 4.2
Gestational age, week	34.8 ± 4.6
Parturition, number	0 (0-6)
Previous cesarean surgery, number	0 (0-3)
Hypertensive disorders	52 (10.2)
Diabetes	39 (7.6)
Uterine myomas	17 (3.3)
Hemoglobin, g/dL	11.1 ± 1.3
Platelet, 10 <sup>7</sup> /mL	22.8 ± 6.6
ART conception	98 (19.2)
PROM	102 (20)
Placenta previa/Placental abruption	38 (7.4)
Multiple birth/LGA newborn >4000 g	57 (11.2)
Surgery	
Operative time, min	60 ± 22
Blood loss, mL	580 (120-4220)
Category-1	31 (6.1)

Data are presented as number (%), mean ± standard deviation, or median (range). ART, assisted reproductive technology; BMI, body mass index; LGA, large for gestational age; PROM, prelabor rupture of membranes.

### Effect of inhalation anesthesia after delivery on intraoperative blood loss

The anesthetics used in this study are shown in Figure. Switching from inhalation anesthesia to propofol after delivery was performed in 123 patients, while 24 patients received no anesthesia switching (two propofol, 22 inhalation anesthesia). Thus, propofol and inhalation anesthesia were used after delivery in 125 and 22 patients, respectively, including 15 patients with sevoflu-

rane and seven with desflurane. The remaining 364 patients received spinal anesthesia. As shown in Table 2, univariate regression analysis showed that inhalation anesthesia use after delivery (n = 22) showed a trend towards reduced blood loss after delivery compared with propofol use (n = 125) (-171 mL; 95%CI, -388 to 46 mL). Multivariate regression analysis, including patients with spinal anesthesia, also showed that intraoperative blood loss using sevoflurane and desflurane af-



ter delivery was similar to that with propofol (−155 mL; 95%CI, −344 to 35 mL). As a positive control, spinal anesthesia use showed a significant reduction in blood loss compared with propofol use (−156 mL; 95%CI, −260 to −53 mL). Multivariate regression analysis also showed that thrombocytopenia, placental diseases, uterine myomas, obesity, ART conception, multiple births and large for gestational age newborns, and oxytocin use were significantly associated with intraoperative blood loss (Table 2).

## Discussion

In the present study, we performed a chart-review analysis of the effects of volatile anesthesia on intraoperative blood loss for cesarean section. We found that intraoperative blood loss using sevoflurane and desflurane after delivery was comparable with propofol. In contrast to *ex vivo* studies reporting atonic effects of inhaled anesthetics on the uterus<sup>1)</sup>, a recent *in vivo*

study reported that propofol and sevoflurane had no effects on oxytocin-induced uterine contractions<sup>12)</sup>. A small prospective study using univariate analysis also found no differences in intraoperative blood loss between inhalation and propofol anesthesia<sup>13)</sup>. These observations suggest that the effects of inhalation anesthesia on the uterus may differ between *ex vivo* and *in vivo*. Nevertheless, the *in vivo* effects of inhalation anesthetics on the uterus remain largely unknown. Thus, prospective studies are required to determine differences in blood loss between inhalation anesthesia and propofol anesthesia.

Critical obstetric hemorrhage is an obstetric emergency and a leading cause of maternal death<sup>14,15)</sup>. The high frequency of DIC complications means that prompt hematological interventions, especially fresh frozen plasma and fibrinogen administration, are often required<sup>14,15)</sup>. However, there may be insufficient time to prepare transfusion products in emergency surgical

Table 2: Univariate and multivariate regression analyses of intraoperative blood loss

	Number (%)	Univariate		Multivariate	
		Blood loss, mL	P value	Blood loss, mL	P value
Older age, ≥35 years	225 (44.0)	78 (-8, 165)	0.076	33 (-44, 109)	0.40
Obesity, BMI at delivery ≥25 kg/m <sup>2</sup>	223 (43.6)	131 (45, 217)	0.0030	172 (97, 247)	<0.0001
Prematurity	274 (53.6)	110 (25, 196)	0.012	10 (-92, 111)	0.85
Previous parturition	219 (42.9)	62 (9, 115)	0.022	-33 (-124, 58)	0.47
Previous cesarean surgery	98 (19.2)	27 (-51, 104)	0.50	92 (-23, 208)	0.12
Thrombocytopenia, Platelet count < 10 × 10 <sup>7</sup> /mL	6 (1.2)	1383 (1001, 1764)	<0.0001	1108 (771, 1444)	<0.0001
Placenta previa/Placental abruption	38 (7.4)	829 (682, 977)	<0.0001	728 (563, 895)	<0.0001
Diabetes	39 (7.6)	-94 (-256, 68)	0.25	-122 (-257, 13)	0.077
Hypertensive disorders	52 (10.2)	-49 (-191, 93)	0.50	-47 (-189, 95)	0.51
Uterine myomas	17 (3.3)	339 (100, 577)	0.0054	370 (168, 572)	0.0004
ART conception	98 (19.2)	151 (43, 260)	0.0064	137 (39, 234)	0.0061
Multiple birth/LGA newborn, >4000g	57 (11.2)	121 (-16, 257)	0.083	172 (48, 296)	0.0066
PROM	102 (20.0)	-67 (-174, 41)	0.23	26 (-66, 118)	0.58
Preoperative antiplatelet/heparin use	56 (11.0)	39 (99, 177)	0.58	-62 (-180, 55)	0.30
Preoperative oxytocic use	74 (14.5)	-7 (-129, 115)	0.91	24 (-93, 141)	0.68
Preoperative tocolytic use	174 (34.1)	67 (-24, 158)	0.15	18 (-81, 117)	0.73
Surgery					
Category-1	31 (6.1)	152 (-28, 332)	0.098	-33 (-202, 135)	0.70
Endovascular balloon occlusion use	9 (1.8)	749 (428, 1070)	<0.0001	-52 (-368, 265)	0.75
Oxytocin use	379 (74.2)	23 (18, 29)	<0.0001	101 (16, 188)	0.020
Methylergometrine use	409 (80.0)	-77 (-184, 31)	0.16	-14 (-120, 92)	0.80
Nitroglycerin use	21 (4.1)	-107 (-324, 110)	0.33	-88 (-272, 97)	0.35
Anesthesia					
Propofol (post-delivery anesthesia)	125 (24.5)	Reference		Reference	
Volatile (post-delivery anesthesia)	22 (4.3) (15 sevoflurane, 7 desflurane)	-171 (-388, 46)	0.12	-155 (-344, 35)	0.11
Spinal	364 (71.2)	-311 (-408, -213)	<0.0001	-156 (-260, -53)	0.0032

Regression analyses were performed to examine the confounders in intraoperative blood loss. The calculated regression coefficients are shown with 95% confidence intervals in parentheses. ART, assisted reproductive technology; BMI, body mass index; LGA, large for gestational age; PROM, prelabor rupture of membranes.

cases. Therefore, the prediction of blood loss helps with transfusion decisions. Our findings suggest that intraoperative blood loss can be approximated by known preoperative factors such as thrombocytopenia, placental disease, increased uterine contents, uterine myomas, ART, and obesity<sup>4,8)</sup>. A meta-analysis also reported that spinal anesthesia causes less blood loss than general anesthesia<sup>16)</sup>, which is compatible with our findings. Thus, spinal anesthesia is the preferred choice if time is available, at least with regard to intraoperative blood loss. Even if general anesthesia is used, it may be reasonable to use inhalation anesthesia for the postpartum period without switching to propofol.

There are several limitations of this study. First, this was a retrospective study performed in a single center and included a small number of patients. Second, blood loss was calculated from the suction blood volume and increased gauze weight. Therefore, it was difficult to discriminate blood from amniotic fluid. Third, the anesthetic usage (e.g., the anesthetic drug and concentration) depended on the attending anesthesiologist's preference. Fourth, the use of anesthetic agents before delivery was not analyzed. Finally, postpartum hemorrhage was not considered in this study.

## Conclusions

In this pilot study, we examined the effects of inhalation anesthetic agents used after delivery on intraoperative blood loss in cesarean section. Univariate and multivariate regression analyses showed that intraoperative blood loss using sevoflurane and desflurane after delivery was comparable to that with propofol, although this pilot study included a small number of patients. Our findings suggest that sevoflurane and desflurane may be safe for use after cesarean delivery, at least with regard to intraoperative blood loss. Further large studies are needed to support our findings.

## Acknowledgment

We thank Dr Eri Noel ARAI for helpful discussions, and Edanz (<https://jp.edanz.com/ac>) for editing a draft of this manuscript.

## References

- 1) Yoo KY, Lee JC, Yoon MH, et al. The effects of volatile anesthetics on spontaneous contractility of isolated human pregnant uterine muscle: a comparison among sevoflurane, desflurane, isoflurane, and halothane. *Anesth Analg.* 103: 443-7, 2006.
- 2) Shin YK, Kim YD, Collea JV. The effect of propofol on isolated human pregnant uterine muscle. *Anesthesiology.* 89: 105-9, 1998.
- 3) Sumikura H, Niwa H, Sato M, et al. Rethinking general anesthesia for cesarean section. *J Anesth.* 30: 268-73, 2016.
- 4) Iqbal K, Iqbal A, Rathore SS, et al. Risk factors for blood transfusion in Cesarean section: A systematic review and meta-analysis. *Transfus Clin Biol.* 29: 3-10, 2022.
- 5) Sei K, Masui K, Sasa H, Furuya K. Size of uterine leiomyoma is a predictor for massive haemorrhage during caesarean delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 223: 60-63, 2018.
- 6) Riveros-Perez E, McClendon J, et al. Anesthetic and obstetric outcomes in pregnant women undergoing cesarean delivery according to body mass index: Retrospective analysis of a single-center experience. *Ann Med Surg (Lond).* 36: 129-134, 2018.
- 7) Nagrebetsky A, Al-Samkari H, Davis NM, et al. Perioperative thrombocytopenia: evidence, evaluation, and emerging therapies. *Br J Anaesth.* 122: 19-31, 2019.
- 8) Fujita K, Ushida T, Imai K, et al. Manual removal of the placenta and postpartum hemorrhage: A multicenter retrospective study. *J Obstet Gynaecol Res.* 47: 3867-3874, 2021.
- 9) Caesarean birth. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2021 Mar 31. PMID: 33877751.
- 10) Kobayashi T. Obstetrical disseminated intravascular coagulation score. *J Obstet Gynaecol Res.* 40: 1500-6, 2014.
- 11) Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant.* 48: 452-8, 2013.
- 12) Kimizuka M, Tokinaga Y, Azumaguchi R, et al. Effects of anesthetic agents on contractions of the pregnant rat myometrium in vivo and in vitro. *J Anesth.* 35: 68-80, 2021.
- 13) Aoki A, Kariya N, Hosono Y, et al. [General anesthesia by propofol infusion for delivery by cesarean section compared with sevoflurane anesthesia using bispectral index (BIS) monitoring]. *Masui.* 54: 408-13, 2005. Japanese.
- 14) Takeda S, Makino S, Takeda J, et al. Japanese Clinical Practice Guide for Critical Obstetrical Hemorrhage (2017 revision). *J Obstet Gynaecol Res.* 43: 1517-21, 2017.
- 15) Muñoz M, Stensballe J, Ducloy-Bouthors AS, et al. Patient blood management in obstetrics: prevention and treatment of postpartum haemorrhage. A NATA consensus statement. *Blood Transfus.* 17: 112-36, 2019.
- 16) Afolabi BB, Lesi FE. Regional versus general anaesthesia for caesarean section. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012; 10: CD004350.



原 著

## 新専門医制度における富山県の 専攻医確保の現状と課題

峯村正実<sup>1</sup>・竹村京子<sup>1</sup>・岡部圭介<sup>1,2</sup>・熊岡 穰<sup>1</sup>・三原 弘<sup>3</sup>・高村昭輝<sup>3</sup>

Securing senior medical residents in Toyama prefecture under Japan's new specialty training system: Current status and issues

Masami MINEMURA<sup>1</sup>, Kyoko TAKEMURA<sup>1</sup>, Keisuke OKABE<sup>1,2</sup>, Minoru KUMAOKA<sup>1</sup>, Hiroshi MIHARA<sup>3</sup>, Akiteru TAKAMURA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Community Medical Support, Toyama University Hospital,

<sup>2</sup>Center for Clinical Research, Toyama University Hospital,

<sup>3</sup>Center for Medical Education and Career Development, University of Toyama

### 【和文要旨】

2018年度に新しい専門医制度が開始されてから4年が経過したが、専攻医（専門医資格の取得を目指す後期研修医）の都道府県別分布や診療科選択の傾向については明らかにされていない。今回我々は富山県の専攻医確保の現状と課題を明らかにすることを目的に、4年間の都道府県別人口10万人対臨床研修医数と専攻医数、および専門診療科選択の割合を比較検討した。富山県の人口10万人対臨床研修医数は7.3人で全国平均（7.1人）を上回っていたが、専攻医数は5.0人で全国平均（7.1人）を大きく下回っていた。富山県では外科、麻酔科、産婦人科、総合診療科を選択する割合が多かったが、整形外科、放射線科、形成外科の選択が少なく、「富山県特別枠」制度（診療科を特定した修学資金貸与制度）の影響が示唆された。富山県の専攻医数は全国に比べ明らかに少なく、将来の富山県医療の継続と発展のためには、専攻医数の増加が必要である。

### 【英文要旨】

Japan's new specialty training system for senior medical residents was started in 2018, but the distribution of residents under this system and tendencies in the residents' selection of clinical departments are not clear. For a comparison of the distribution and tendencies in Toyama prefecture with those of the national data, we determined the numbers of junior and senior residents per 100,000 population in the prefecture for the 4-year period beginning in 2018 and the percentage of each clinical department selected. We found that the number of junior residents per 100,000 population in Toyama is 7.3 (higher than the 7.1 national average), but the corresponding number of senior residents is 5.0 (far below the 7.1 national average). The percentages of residents who chose surgery, anesthesiology, obstetrics/gynecology, and general practice were relatively high, but fewer residents chose orthopedic surgery, radiology, and plastic surgery, perhaps reflecting the influence of Toyama prefecture's study fund loan system "Toyama-ken tokubetsu-waku" that obliges residents to select designated clinical departments. The number of senior residents in Toyama is clearly too low. It is necessary to increase the numbers of residents and specialists in order to continue and develop medical care in Toyama.

**Key words:** medical resident, specialty training system, Toyama prefecture

### 【はじめに】

国民に信頼される医師の育成と国民に分かり易い専門医制度の構築を目指して、2018年度から新しい専門医制度が開始された。我が国の専門医の質の担保のために非常に重要な制度ではあるが、当初より専攻医（専門医資格を取得するための後期研修医）の大都市圏への集中や

診療科偏在が危惧されていた<sup>1</sup>。各都道府県における医師不足領域の専攻医の継続的な確保は、将来の安定した地域医療の維持には不可欠である。新制度開始から4年間が経過したが、専攻医の都道府県別分布や診療科選択の傾向について十分に検討された報告は少ない<sup>2</sup>。

今回我々は都道府県別の臨床研修医数と専攻医数、な

(受稿2022.1.20/受理2022.3.8)

<sup>1</sup>富山大学附属病院地域医療総合支援学講座, <sup>2</sup>富山大学附属病院臨床研究管理センター, <sup>3</sup>富山大学医学部医師キャリアパス創造センター

らびに専門診療科選択の傾向を比較することで、富山県の専攻医確保の現状と課題を明らかにし、今後の専攻医の確保と安定した医療体制の構築に資することを目的として本研究を実施した。

## 【対象と方法】

I. 都道府県別臨床研修医数ならびに専攻医数の検討  
対象は47都道府県、厚生労働省が公開している2016年度から2019年度の臨床研修医採用実績<sup>3), 4), 5), 6)</sup>および日本専門医機構が公表している2018年度から2021年度の専攻医採用数<sup>7), 8), 9), 10)</sup>を用い、人口10万人対臨床研修医数、人口10万人対専攻医数、ならびに臨床研修医数に対する専攻医数の割合の4年間の平均値を都道府県別に算出し比較した。人口10万人対臨床研修医数および専攻医数の算出には、総務省統計局の公開する2018年人口推計<sup>11)</sup>を用いた。

## II. 専攻医が選択する診療科の検討

日本専門医機構が公表している19の診療科（基本専門領域）別専攻医採用数を用い、全診療科の総数を100%とした場合の各診療科の割合を算出し、全国と富山県を比較することで富山県の診療科選択の特徴を検討した。さらに、富山県が緊急医師確保対策などに基づき2009年度から国立大学法人富山大学に導入している富山県地域医療確保修学資金貸与制度「富山県特別枠」<sup>12)</sup>による専攻医数を用い、「富山県特別枠」の診療科選択への影響

を検討した。

## 【結果】

### I. 都道府県別臨床研修医数と専攻医数の分析

#### A. 都道府県別臨床研修医数と専攻医数との比較

都道府県別の人口10万人対臨床研修医数の4年間の平均値、人口10万人対専攻医数の4年間の平均値、および臨床研修医に対する専攻医の割合を表1に示す。また、それぞれを値の大きい順に都道府県を並び替えたものを図1 A, 図1 B, 図1 Cに示す。富山県の人口10万人対臨床研修医数は7.3人（全国18位）で全国平均（7.1人）を上回っていた。近隣県では石川県8.8人（6位）、福井県7.5人（14位）が富山県より多く、長野県6.6人（28位）、岐阜県6.6人（29位）、および新潟県4.8人（45位）は全国平均を下回っていた（図1 A）。一方、富山県の人口10万人対専攻医数は5.0人（全国39位）で全国平均（7.1人）を大きく下回っていた。石川県は10.2人（4位）で非常に多かったが、福井県6.3人（24位）、長野県5.5人（32位）、岐阜県5.2人（37位）、および新潟県4.7人（42位）は全国平均を下回っていた（図1 B）。また、富山県の臨床研修医に対する専攻医の割合は69.2%と非常に低く、全国45位であった。石川県の割合は115.8%（6位）で研修医数に比べ専攻医数は増加していたが、新潟県97.4%（15位）、福井県83.8%（33位）、長野県83.1%（36位）、および岐阜県79.0%（40位）では減少していた（図1 C）。

表1 都道府県別の人口10万人対臨床研修医数と専攻医数

都道府県	臨床研修医数 (4年間の平均値)	専攻医数 (4年間の平均値)	研修医に対する専 攻医の割合 (%)	都道府県	臨床研修医数 (4年間の平均値)	専攻医数 (4年間の平均値)	研修医に対する専 攻医の割合 (%)
北海道	6.0	5.8	97.1	滋賀県	7.3	6.5	88.2
青森県	6.3	5.4	85.6	京都府	9.8	10.8	110.2
岩手県	5.8	5.6	95.8	大阪府	7.0	7.7	109.6
宮城県	5.8	6.7	116.4	兵庫県	7.2	7.5	104.9
秋田県	7.6	5.6	73.2	奈良県	8.4	7.9	93.9
山形県	6.7	5.4	79.8	和歌山県	10.3	8.0	77.3
福島県	5.8	4.8	82.4	鳥取県	7.6	8.9	116.5
茨城県	5.5	4.9	89.4	島根県	8.4	7.0	83.2
栃木県	6.8	6.4	93.9	岡山県	9.6	12.0	125.2
群馬県	4.7	4.6	96.6	広島県	6.1	5.2	85.0
埼玉県	4.8	4.0	83.9	山口県	6.0	3.9	64.7
千葉県	6.4	5.6	86.4	徳島県	7.6	7.7	100.9
東京都	10.1	13.4	132.7	香川県	6.7	5.2	77.3
神奈川県	6.8	6.0	88.3	愛媛県	6.3	5.8	92.9
新潟県	4.8	4.7	97.4	高知県	8.1	6.8	83.7
富山県	7.3	5.0	69.2	福岡県	7.5	8.8	116.5
石川県	8.8	10.2	115.8	佐賀県	6.6	6.9	103.2
福井県	7.5	6.3	83.8	長崎県	7.5	7.1	94.7
山梨県	7.4	6.6	89.9	熊本県	6.3	6.5	102.5
長野県	6.6	5.5	83.1	大分県	6.4	5.4	84.5
岐阜県	6.6	5.2	79.0	宮崎県	5.1	4.4	86.8
静岡県	6.3	4.3	68.4	鹿児島県	6.4	6.6	103.7
愛知県	6.7	6.8	102.0	沖縄県	9.8	7.3	74.5
三重県	6.8	5.5	81.5	全国	7.1	7.1	100.6





B. 臨床研修医数と専攻医数との関連

臨床研修医数と専攻医数との関連を検討するために、都道府県別の人口10万人対臨床研修医数（4年間の平均値）と専攻医数（4年間の平均値）を散布図上に示した（図2）。臨床研修医数と専攻医数とはよく相関していた（相関係数 $r=0.80$ ）。相関係数が示す通り臨床研修医が多い都府県は専攻医も多い傾向にあったが、富山県は研修医数が全国平均を上回るにも関わらず専攻医数は全国平均を下回っていた。富山県と同様の傾向は、秋田県、福井県、山梨県、滋賀県、高知県、および鳥根県で認められた。

II. 専攻医が選択する診療科（基本専門領域）の分析

A. 全国および富山県の専攻医の診療科選択の比較

2018年度から2021年度の4年間の19の診療科（基本専門領域）別専攻医採用数を用い、全診療科の総数を100%とした場合の各診療科の割合を算出し、全国と富山県を比較することで富山県の診療科選択の特徴を検討した。全国の各診療科が全体に占める割合は多い順に内科 32.2%、外科 9.5%、整形外科 6.7%、小児科 6.3%、精神科 5.6%、麻酔科 5.4%、産婦人科 5.2%、眼科 3.8%、皮膚科 3.4%、泌尿器科 3.3%、救急科 3.3%、耳鼻咽喉科 2.9%、放射線科 2.9%、脳神経外科 2.8%、総合診療科 2.2%、形成外科 2.2%、病理 1.2%、リハビリテーション科 0.9%、臨床検査 0.2%であった（図3A）。一方、富山

県では多い順に内科 32.1%、外科 15.3%、麻酔科 10.0%、産婦人科 8.6%、小児科 5.7%、精神科 4.8%、眼科 3.8%、総合診療科 3.8%、皮膚科 2.9%、泌尿器科 2.9%、整形外科 2.4%、救急科 2.4%、耳鼻咽喉科 1.9%、脳神経外科 1.4%、病理 1.4%、臨床検査 0.5%で、放射線科、形成外科、リハビリテーション科を選択した専攻医はいなかった（図3A）。全国と比較して富山県で割合が多かったのは、外科（差： $+5.5\%$ ）、麻酔科（ $+4.7\%$ ）、産婦人科（ $+3.4\%$ ）、総合診療科（ $+1.6\%$ ）で、逆に整形外科（ $-4.3\%$ ）、放射線科（ $-2.9\%$ ）、形成外科（ $-2.2\%$ ）等で少なかった（図3B）。

B. 富山県特別枠制度の影響

富山県が2009年度から国立大学法人富山大学に導入している「富山県特別枠」制度<sup>12)</sup>では、富山県に必要としている6つの診療科（小児科、産婦人科、救急科、総合診療科、麻酔科、外科）のいずれかの選択と9年間の県内従事義務を課している。富山県特別枠の第2期生から新専門医制度に該当するため、今回の分析には第2期生～第5期生（2018年度～2021年度に専攻医採用）が含まれている。図4に示すように、麻酔科を選択した21名のうち9名（42.9%）、総合診療科を選択した8名のうち4名（50.0%）が「富山県特別枠」の医師であった。

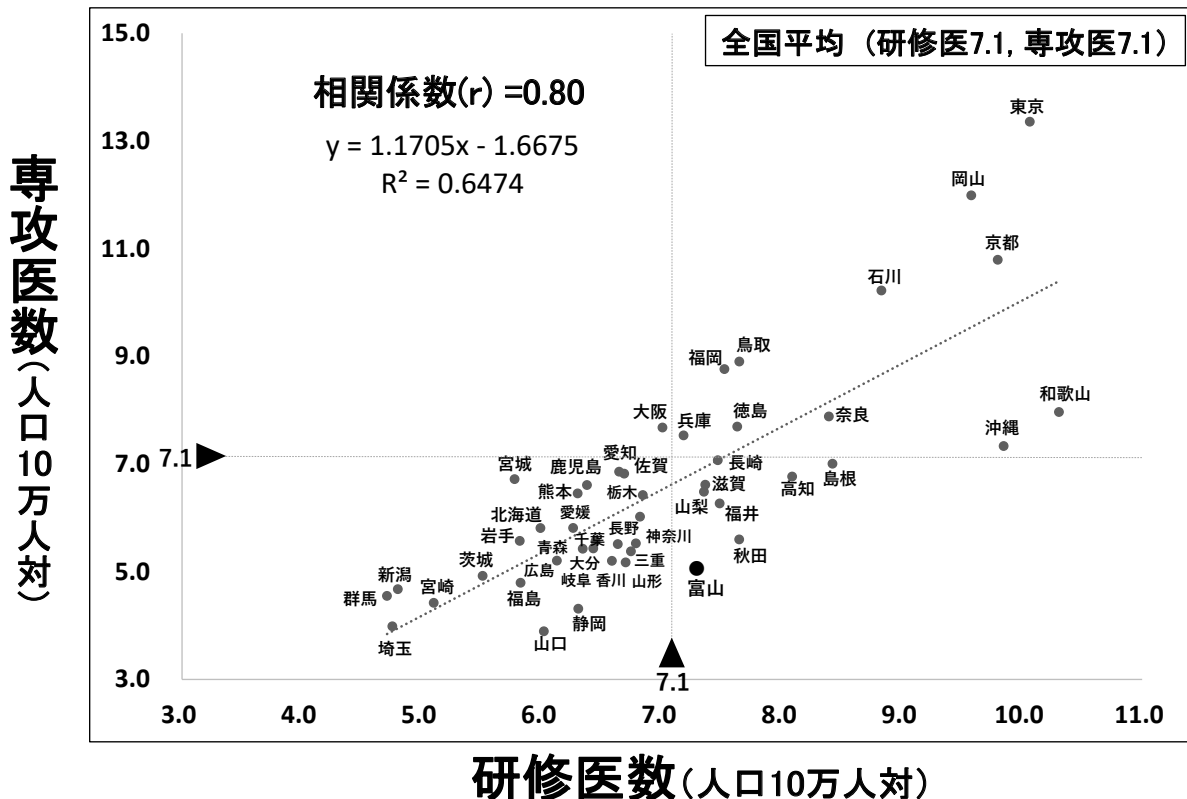


図2 研修医数と専攻医数の相関

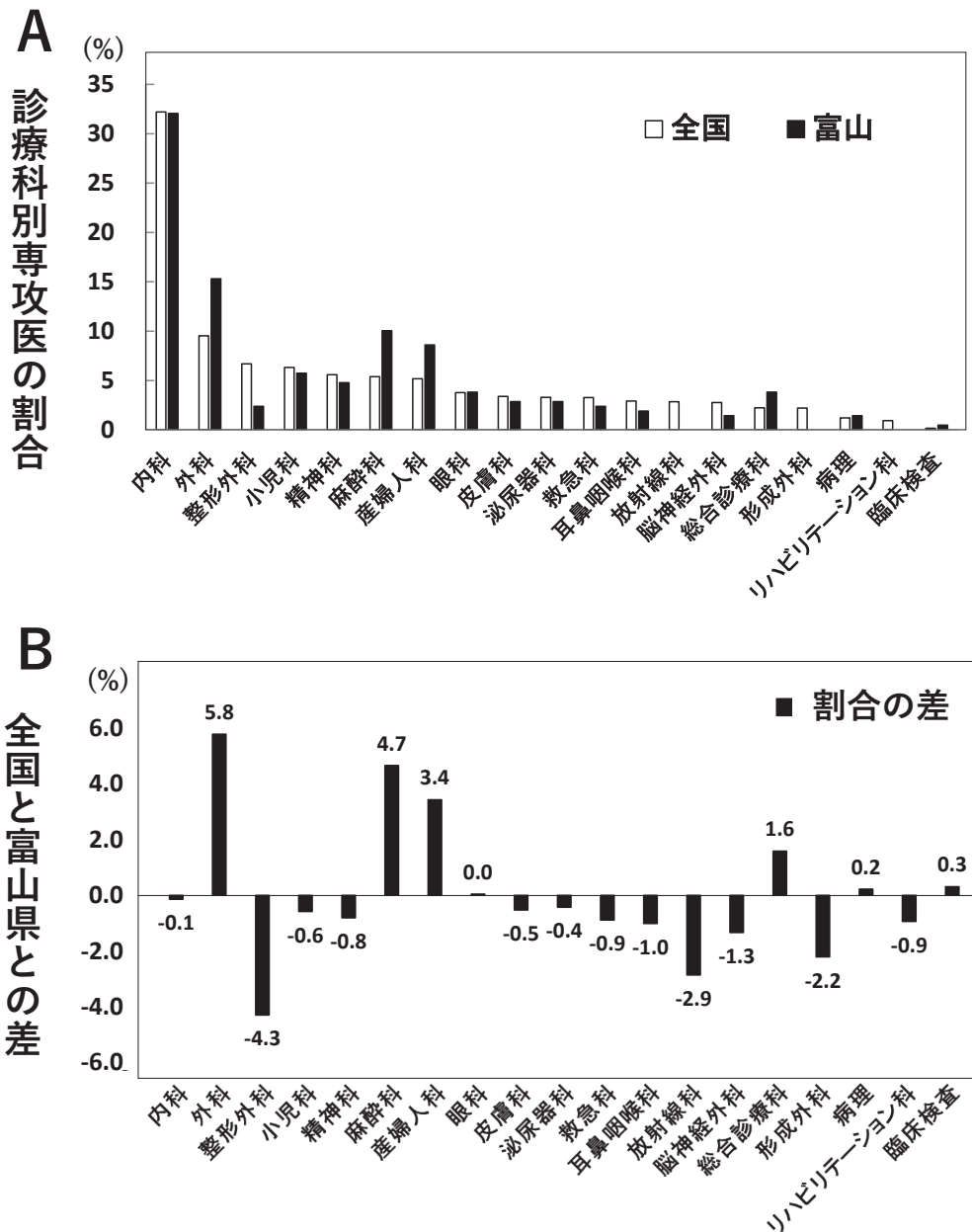


図3 診療科別専攻医数の割合  
 A 全国と富山県との比較  
 B 全国と富山県との差

**【考察】**

富山県は臨床研修医数が全国平均を上回っているにもかかわらず専攻医が少ない状況がある。2004年度から導入された臨床研修医制度以降、医育機関（大学病院等）以外の市中病院（臨床研修病院）で研修する医師が増え、制度導入前と比較して都道府県格差が減少したとの報告があり<sup>13)</sup>、富山県では例年70人以上（2016年度～2018年度の平均75.5人）の研修医が確保され、全国平均を上回った状況が持続している。都道府県別の人口10万人対専攻医数は人口10万人対臨床研修医数と強く相関するとの報告があり<sup>2)</sup>、我々の検討でも全体としては高い相関

( $r=0.80$ ) を認めたが、富山県を含め一部の都道府県では乖離があった（図2）。富山県と同様の傾向を持つ県としては、秋田県、福井県、山梨県、滋賀県、高知県、島根県があり、いずれも1970年代に新設された医学部の所在する県であった。これらの県で専攻医が少ない原因としては、近隣都府県にある創立年の古い大学病院の専門研修プログラムを一定数が選択することが一因であると推測される。それに加えて医学部は他県出身者の割合が高く（富山大学医学部医学科の該当年の平均県外出身者率67.7%）、臨床研修後に一定数が出身県や首都圏に戻ることも影響していると考えられる。



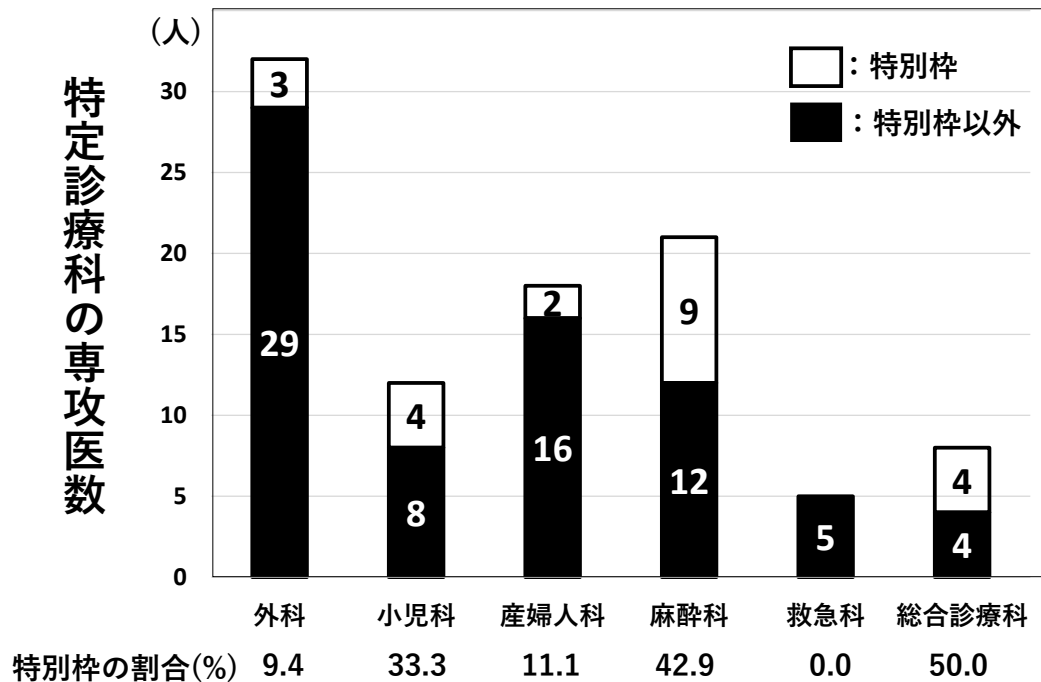


図4 特定診療科の専攻医数

また、専攻医数に強く関連する因子として人口10万人対医療機関病院医師数も報告されており<sup>2)</sup>、近隣県の中で石川県の専攻医数が全国平均を大きく上回っていることは、石川県には2つの医療機関（金沢大学と金沢医科大学）があり、人口10万人対医療機関病院医師数が81.7人と非常に多いことが1つの原因と考えられる。

専攻医の診療科選択において富山県は全国に比べ外科、麻酔科、産婦人科、総合診療科の選択割合が多い特徴があるが、これらの診療科は前述したように富山県が導入している「富山県特別枠」の特定診療科に含まれている。特に麻酔科を選択した42.9%、総合診療科を選択した50.0%が「富山県特別枠」の医師であり、この制度が富山県の専攻医の診療科選択に大きく影響していると推測される。ただし、本分析は相対的な診療科の選択の割合を比較したものであり、実数として特定診療科の医師数が充足されているのではない点に注意が必要である。

一方、富山県では整形外科、放射線科、形成外科、リハビリテーション科を選択する専攻医の割合が少ない状況がある。整形外科を選択する割合は北陸3県では石川県が8.7%と全国平均（6.7%）を大きく上回っているが、福井県は3.1%で富山県（2.4%）と同様に少なかった。このことから富山県の整形外科の選択が少ない理由の1つとして、北陸では石川県に基幹施設がある専門研修プログラムを選択する傾向があるためと推測される。また、放射線科を選択する割合は福井県が3.7%と全国平均（2.9%）を上回っていたが、石川県は2.4%であり、今回の検討では富山県の放射線科の選択が少ない理由を明ら

かにすることはできなかった。形成外科に関しては2018年度～2021年度まで富山県内に専門研修プログラムの基幹施設がなかったため、専攻医の採用がなかったことが原因と考えられる。同様に富山大学附属病院がリハビリテーション科の専門研修プログラムの基幹施設となったのが2021年度からであり、専攻数の採用がなかった一因と考えられる。

新専門医制度は「専門医の質を保證できる制度」として2018年度より開始されたが、専攻医の都市部への集中が危惧され、専門医制度整備指針（第二版、第三版）<sup>14), 15)</sup>では「医師の地域偏在を助長しないように、地域医療に十分配慮する」との文言が基本理念に盛り込まれている。新制度では地域偏在や診療科偏在の対策として、都道府県別に診療科の採用数に上限を設ける、いわゆるシーリングが導入された<sup>16), 17)</sup>が、その効果の検証も十分とは言えず<sup>18)</sup>、本研究からは都道府県格差は固定化してきていることが推測される。地域格差なく専門的な診療を地域住民に提供するためには、各都道府県が必要な専門医を確保出来る制度設計への改善が望まれる。

本研究では日本専門医機構が公表している専攻医採用数を分析に用いたが、分析対象の専攻医数と専門医取得後に該当都道府県で勤務する医師数とは異なる可能性があり、新専門医制度の影響を検証するには中期的に都道府県別専門医数の推移を確認する必要があると考える。また、専門研修中に他のプログラムに移籍したり診療科を変更したりする専攻医も少数ながらいる点にも注意が必要である。

結論として、新専門医制度において富山県の専攻医数は全国平均を大きく下回っており、将来の医療需要を踏まえて、専門医の確保・養成を強化すべきであると考えられる。

【文献】

- 1) 邊見公雄：新専門医制度の何が問題なのか 新専門医制度の問題は「医師の地域偏在の助長」にある. 保険診療 72 : 52-5, 2017.
- 2) 鈴木昌：専攻医の都道府県分布に関する検討. 医学教育 50 : 225-35, 2019.
- 3) 厚生労働省. 平成28年度の医師の臨床研修医の採用実績. URL : [https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10800000-Iseikyoku/202\\_1.pdf](https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10800000-Iseikyoku/202_1.pdf) (accessed 10 May 2021)
- 4) 厚生労働省. 平成29年度の医師の臨床研修医の採用実績. URL : <https://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10803000-Iseikyoku-Ijika/0000171151.pdf> (accessed 10 May 2021)
- 5) 厚生労働省. 平成30年度の医師の臨床研修医の採用実績. URL : <https://www.mhlw.go.jp/content/10803000/000349708.pdf> (accessed 10 May 2021)
- 6) 厚生労働省. 令和元年度の医師の臨床研修医の採用実績. URL : <https://www.mhlw.go.jp/content/10803000/000511515.pdf> (accessed 10 May 2021)
- 7) 日本専門医機構. 2018年度採用数. URL : [https://jmsb.or.jp/wp-content/uploads/2019/09/180927\\_saiyo.pdf](https://jmsb.or.jp/wp-content/uploads/2019/09/180927_saiyo.pdf) (accessed 10 May 2021)
- 8) 日本専門医機構. 2019年度採用数. URL : [https://jmsb.or.jp/wp-content/uploads/2020/02/recruit\\_2019.pdf](https://jmsb.or.jp/wp-content/uploads/2020/02/recruit_2019.pdf) (accessed 10 May 2021)
- 9) 日本専門医機構. 2020年度採用数. URL : [https://jmsb.or.jp/wp-content/uploads/2020/03/recruit\\_2020\\_03.pdf](https://jmsb.or.jp/wp-content/uploads/2020/03/recruit_2020_03.pdf) (accessed 10 May 2021)
- 10) 日本専門医機構. 2021年度採用数. URL : [https://jmsb.or.jp/wp-content/uploads/2021/04/recruit\\_2021\\_03.pdf](https://jmsb.or.jp/wp-content/uploads/2021/04/recruit_2021_03.pdf) (accessed 10 May 2021)
- 11) 総務省統計局. 人口推計 (2018年10月1日現在). URL : <https://www.stat.go.jp/data/jinsui/2018np/index.html> (accessed 10 May 2021)
- 12) 富山県地域医療確保修学資金貸与制度 (富山大学医学部医学科総合型選抜総合型選抜II「富山県特別枠」対象). URL : <https://www.pref.toyama.jp/1204/kurashi/kenkou/iryoku/kj00011685/kj00011685-002-01.html> (accessed 10 Nov 2021)
- 13) 関根道和, 立瀬剛志, 鏡森定信：人口10万人対研修医新規採用数の都道府県間格差の推移. 医学教育40 : 265-9, 2009.
- 14) 日本専門医機構. 専門医制度整備指針 (第二版). URL : [https://jmsb.or.jp/senm-dl/seibisisin\\_2.pdf](https://jmsb.or.jp/senm-dl/seibisisin_2.pdf) (accessed 8 Oct 2021)
- 15) 日本専門医機構. 専門医制度整備指針 (第三版). URL : [https://jmsb.or.jp/wp-content/uploads/2020/06/jmsb\\_mg\\_ver3\\_20200630.pdf](https://jmsb.or.jp/wp-content/uploads/2020/06/jmsb_mg_ver3_20200630.pdf) (accessed 8 Oct 2021)
- 16) 厚生労働省. 令和3年度第1回医道審議会医師分科会医師専門研修部会. URL : [https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage\\_21094.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_21094.html) (accessed 8 Oct 2021)
- 17) 日本専門医機構. 2022年度プログラム募集シーリング数. URL : <https://jmsb.app.box.com/s/5rujv3y5nwyr-9sph4j9dxifkt2bhwxw> (accessed 8 Oct 2021)
- 18) 遠藤誠, 濱井敏, 中島康晴：整形外科専門研修プログラムの抱える問題点. シーリングの概要, 現状と問題点—2020年度九州大学整形外科専門研修プログラムにおける経験—. 日本整形外科学会雑誌95 : 606-12, 2021.



原 著

# EPA看護師候補者のための 国家試験問題のルビ振りの試み

梅村俊彰

## The Use of Furigana in National Exam Questions for Economic Partnership Agreement Nurse Candidates

Toshiaki UMEMURA

Department of Adult Nursing, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama

### 和文要旨

背景：看護師国家試験問題のルビ振り、英語併記の実態を明らかにし、国試問題のテキストデータにルビ振りと英語併記を行う技術の検証を行う。

方法：13年分の看護師国家試験について、ルビのない問題と、実際に行われたルビのある問題のテキストデータを準備した。前者に対して形態素解析を用いてルビを振り、後者と比較してルビの誤りを調べた。誤りを元に追加辞書を作成し、あらためてルビの誤りを評価した。また、疾病名、外国人名の英語併記の実態を明らかにした。

結果：標準辞書による形態素解析でルビを振った場合、ルビの誤りは約9%あった。誤りの多かった2千弱の単語から追加辞書を作成し、追加辞書を加えた形態素解析でルビを振ったところ、誤りは1~2%に改善した。英語併記について、疾病名は722語、外国人名は22人であった。

考察：これにより、テキストデータに国試問題と同等の、ルビ振りや英語併記の可能性が示された。

### 英文抄録

Introduction: By automating to provide furigana for all kanji and English for disease names, it may ease the creation of teaching materials for economic partnership agreement (EPA) nurse candidates.

Method: Using morphological analysis, we affixed furigana on all kanji of the questions in the national nursing exam. These furigana were then compared to actual questions for EPA candidates. We make an additional dictionary based on the errors, and reevaluated. We examined the names of diseases and foreign names appeared in the exam.

Results: Morphological analysis using the default dictionary showed that the rate of errors was about 9%. Additional dictionary were made from the words of errors, and using the additional dictionaries showed that the rate of errors improved to 1-2%. There were 722 terms for the names of diseases and 22 for the names of foreigners.

Discussion: We showed it is possible to automate affixing furigana and English to the questions of the national nursing exam. Despite limits to automation, it is possible to reduce human error.

**Key words:** Economic Partnership Agreement nursing candidates, Japanese National Nurse Licensure Examination, Morphological analysis, Morphological dictionary, Medical terminology

### はじめに

2008年より、経済連携協定 (Economic Partnership Agreement: EPA) に基づく外国人看護師・介護福祉士候補者の受け入れが行われている<sup>1)</sup>。看護師コースでは、病院で就労しながら研修を受け、3年の滞在期間の間に看護師国家試験に合格し、看護師資格の取得を目指す。外国人看護師候補者 (以下、EPA候補者) は、受

入れ病院での反応もよく<sup>2)</sup>、多くの候補者が国家試験に合格し、看護師として日本に滞在することが期待されている。

看護師国家試験について、第100回 (2011年) から、日本語を母国語としない者にも分かりやすい文章となるよう問題を作成し、難解な漢字への振り仮名 (以下、ルビ) 付記や疾病名への英語併記の対応が行われた<sup>3,4)</sup>。

(受稿2022.3.16/受理2022.6.14)

富山大学大学院 医学薬学研究部 成人看護学2

また、第102回（2013年）から、全ての漢字にルビを振る措置が導入され、EPA候補者の試験時間が約1.3倍に延長された<sup>5)</sup>。それでも、看護師国家試験全体の合格率が約9割であるのに対し、EPA候補者の合格率は2割未満と低い<sup>6)</sup>。このようなEPA候補者に向けて、より学習が容易となるような教材が増えるとよい。日本語の教材に国家試験と同等のルビを振ることができれば、学習に役立つと考えられる。

日本語テキストに形態素解析を用いることで、よみが得られる。形態素解析は文を単語に区切り、品詞を同定する処理であり、代表的なソフトウェアに形態素解析器MeCabがある<sup>7)</sup>。形態素解析では辞書を元に、辞書から単語を引いて与えられた文と照合し、最も自然な単語列を求める。形態素解析を応用したルビ振りは既に行われているが、国家試験問題を対象としたものは見当たらない。

そこで、看護師国家試験の問題のテキストデータに、形態素解析を利用してルビを振り、誤りを評価する。また、疾病名と外国人名の英訳併記の実態を調べる。これにより、テキストデータに国家試験のようなルビ振りと英語併記を自動化する可能性を探り、EPA候補者に向けた教材作成を容易にできると考えた。

## 対象および方法

### 1. 対象

対象とした看護師国家試験は、EPAが発効した第97

回（2008年）から、第109回（2020年）までの、追加問題を含む3,360問である。通常問題（以下、ルビなし問題）、総ルビ問題（以下、ルビあり問題）ともに、厚生労働省のサイトで公開されているものを元とした<sup>8)</sup>。

看護師国家試験について、疾病名の英語併記は第100回（2011年）から、全ての漢字にルビが振られたのは第102回（2013年）からである。第97回（2008年）から第101回（2012年）の5年分については、別途、ルビと英語併記を補い、ルビあり問題とした。

国家試験問題は全てテキストデータとし、ルビはHTMLタグで「<ruby>親文字<rt>よみ</rt></ruby>」のように表現した。組版処理におけるルビでは、ルビの配置に様々な規則があるが<sup>9)</sup>、今回は、ルビを振る親文字とルビの内容のみに着目した。ルビは連続する漢字に1つ振るグループルビとし、ルビの区切りと単語の意味の区切りと異なることがある。

## 2. 方法

### 1) 漢字のルビ振り

ルビなし問題にMeCabを用いた形態素解析を行い、漢字の単語に、よみをルビとして振る。MeCabのバージョンは0.996、解析に用いた辞書は、標準で推奨されているIPA辞書2.7.0（以下、標準辞書）である。

形態素解析でルビを振った問題と、実際に行われたルビあり問題とを比較して、ルビの誤りを数える。ルビの数は、「<ruby>~</ruby>」タグで挟まれた範囲を1個とし、機械的に数えた。これは、複数の単語から成る

表1 形態素解析によるルビ振りと評価の例

ルビなし問題	主要死因別の死亡率で心疾患の順位はどれか。
形態素解析	主要 名詞, 形容動詞語幹, *, *, *, *, 主要, シュヨウ, シュヨー 死因 名詞, 一般, *, *, *, *, 死因, シイン, シイン 別 名詞, 接尾, 一般, *, *, *, *, 別, ベツ, ベツ の 助詞, 連体化, *, *, *, *, の, ノ, ノ 死亡 名詞, サ変接続, *, *, *, *, 死亡, シボウ, シボー 率 名詞, 接尾, 一般, *, *, *, *, 率, リツ, リツ で 助詞, 格助詞, 一般, *, *, *, *, で, デ, デ 心 名詞, 一般, *, *, *, *, 心, ココロ, ココロ 疾患 名詞, 一般, *, *, *, *, 疾患, シッカシ, シッカシ の 助詞, 連体化, *, *, *, *, の, ノ, ノ 順位 名詞, 一般, *, *, *, *, 順位, ジュンイ, ジュンイ は 助詞, 係助詞, *, *, *, *, は, ハ, ハ どれ 名詞, 代名詞, 一般, *, *, *, *, どれ, ドレ, ドレ か 助詞, 副助詞/並立助詞/終助詞, *, *, *, *, か, カ, カ 。 記号, 句点, *, *, *, *, 。, 。, 。 EOS
ルビ振り	<ruby>主要死因別<rt>しゅようしいんべつ</rt></ruby>の <ruby>死亡率<rt>しぼうりつ</rt></ruby>で <ruby>心疾患<rt>こころしっかん</rt></ruby>の <ruby>順位<rt>じゅんい</rt></ruby>はどれか。
ルビを振った問題の表示	しゅようしいんべつ しぼうりつ こころしっかん じゅんい 主要死因別の死亡率で心疾患の順位はどれか。
実際のルビあり問題	しゅようしいんべつ しぼうりつ しんしっかん じゅんい 主要死因別の死亡率で心疾患の順位はどれか。 <small>heart disease</small>



複合語や、漢字仮名交じりの単語の場合に、ルビの計数が難しくなることを避けるためである。ルビ振りと誤りの評価の例を、表1に示す。この例では、英語併記を除いて、ルビの数は4個、ルビの誤りは1個と数える。

次に、誤りの多かった単語について、単語と正しいよみから成るユーザ辞書（以下、追加辞書）を作成する。追加辞書を加えた形態素解析を行い、ルビなし問題にルビ振りを行う。実際のルビあり問題と比較し、ルビの誤りを数える。

## 2) 英語併記

英語併記が行われた疾病名、外国人名の実態を明らかにする。疾病名は、「疾病及び関連保健問題の国際統計分類：International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (2013年版)」(以下、ICD-10)に基づいた分類を行う。ICD-10は、アルファベット1文字と数字2～4桁の組合せ(ICD-10コード)で表わされ、疾病や死因の概念が体系的に分類されている。

## 結果

### 1. 漢字のルビ振り

対象とした看護師国家試験の問題3,360問中、ルビの数は71,667個であった。年別では、毎年240問中、ルビは5千個前後であった。形態素解析によりルビを振った問題と実際のルビあり問題と比較して、ルビの誤りと全てのルビに占める割合を求めた。標準辞書のみの場合、追加辞書も用いた場合それぞれについて、年別の結果を表2、科目別の結果を表3に示す。

標準辞書を用いた形態素解析によるルビ振りでは、ルビの誤りは延べ6,538個、重複を除くと2,144個であった。全てのルビに対する誤りの占める割合は、年別では、どの年も9%前後であったが、科目別では、4～20%とばらつきがあった。

ルビの誤りを以下の5つに分類し、頻度順に上位30位まで表4に示す。

分類0：ルビの親文字の区切りの違い、例「病患者《びょうかんじゃ》」「病《びょう》|患者《かんじゃ》」

表2 年別にみたルビの数と、標準辞書と追加辞書のルビの誤り

回	年	ルビ	標準辞書	追加辞書
第97回	(2008年)	4,693	458 (9.8%)	78 (1.7%)
第98回	(2009年)	4,501	429 (9.5%)	86 (1.9%)
第99回	(2010年)	4,932	463 (9.4%)	103 (2.1%)
第100回	(2011年)	5,034	444 (8.8%)	91 (1.8%)
第101回	(2012年)	4,973	474 (9.5%)	124 (2.5%)
第102回	(2013年)	4,931	512 (10.4%)	89 (1.8%)
第103回	(2014年)	5,253	488 (9.3%)	113 (2.2%)
第103回	(2014年) (追加試験)	4,862	406 (8.4%)	85 (1.8%)
第104回	(2015年)	5,173	446 (8.6%)	86 (1.7%)
第105回	(2016年)	5,178	471 (9.1%)	100 (1.9%)
第106回	(2017年)	5,714	509 (8.9%)	94 (1.6%)
第107回	(2018年)	5,564	506 (9.1%)	110 (2.0%)
第108回	(2019年)	5,579	459 (8.2%)	108 (1.9%)
第109回	(2020年)	5,280	473 (9.0%)	88 (1.7%)
合計		71,667	6,538 (9.1%)	1,355 (1.9%)

表3 科目別にみたルビの数と、標準辞書と追加辞書のルビの誤り

科目	問題数	ルビ	標準辞書	追加辞書
必修問題	660	6,316	649 (10.3%)	110 (1.7%)
人体の構造と機能	172	1,737	376 (21.6%)	36 (2.1%)
疾病の成り立ちと回復の促進	195	2,268	329 (14.6%)	24 (1.1%)
健康支援と社会保障制度	137	2,113	77 (3.6%)	28 (1.3%)
基礎看護学	295	4,613	447 (9.7%)	90 (2.0%)
成人看護学	475	12,151	1,323 (10.9%)	262 (2.2%)
老年看護学	319	9,080	621 (6.8%)	160 (1.8%)
小児看護学	262	7,737	664 (8.6%)	161 (2.1%)
母性看護学	257	7,187	1136 (15.8%)	255 (3.6%)
精神看護学	251	7,760	303 (3.9%)	103 (1.3%)
在宅看護論	231	7,810	471 (6.0%)	94 (1.2%)
看護の統合と実践	106	2,895	142 (4.9%)	32 (1.1%)
合計	3,360	71,667	6,538 (9.1%)	1,355 (1.9%)

表4 標準辞書と追加辞書のルビの誤りと分類

分類	標準辞書 (重複除く)	追加辞書 (重複除く)
0	153 (2.3%)	121 (5.6%)
1	491 (7.5%)	67 (3.1%)
2	459 (7.0%)	79 (3.7%)
3	765 (11.7%)	61 (2.8%)
4	4,670 (71.4%)	1,816 (84.7%)
合計	6,538	2,144

表5 標準辞書のルビの誤りの順位と分類, 上位30位

順位	頻度	親文字	正	標準辞書	分類
1	283	分	ふん	ぶん	1
2	280	2	ふた	2	3
3	118	児	じ	こ	4
4	75	1人	ひとり	1にん	3
5	73	日本	にほん	にっぽん	2
6	57	後	あと	のち	2
7	53	浮腫	ふしゅ	むくみ	4
8	50	3日	みっか	3にち	3
9	47	経皮的動脈血酸素	けいひてきどうみやくけつ	けいがわてきどうみやくけつ	4
10	43	2日	ふつか	2にち	3
11	41	日	にち	び	4
	41	輸液	ゆえき	*	4
13	40	他	ほか	た	2
	40	血症	けっしょう	ちしょう	4
15	38	2人	ふたり	2にん	3
16	36	2人暮	ふたりぐ	2にんく	3
17	35	分泌	ぶんび	ぶんびつ	2
18	34	間	あいだ	ま	4
19	33	日中	にちちゅう	にちちゅう	2
20	32	5日	いつか	5にち	3
	32	乳房	にゅうぼう	ちぶさ	4
22	31	子宮底	しきゅうてい	しきゅうそこ	4
	31	褥瘡	じょくそう	しとねくさ	4
24	30	初産婦	しよさんぶ	はつさんぶ	4
	30	膀胱留置	ぼうこうりゅうち	ぼうこうとめおき	4
26	29	1人暮	ひとりぐ	1にんく	3
	29	便	べん	びん	4
28	28	頸部	けいぶ	*	4
	28	腹痛	ふくつう	はらいた	4
	28	発赤	ほっせき	はっせき	4

分類1：濁点, 半濁点, 促音の軽微な違い, 例「分《ふん》」「分《ぶん》」

分類2：文中で二通りのよみが可能なもの, 例「後《あと》」「後《ご》」

分類3：数字の特殊なよみ, 例「1人《ひとり》」

分類4：よみの間違い, 例「寒《かん》がり」

標準辞書でのルビの誤りを, 頻度順に表5に示した。ルビの誤りについて, 頻度順の順位を縦軸に, 頻度を横軸に取って片対数グラフに示した(図1)。

標準辞書で誤りとなった単語のうち1,669語から追加辞書を作成した。追加辞書を加えて形態素解析を行い, ルビ振りを行った結果, ルビの誤りは延べ1,355個, 重複を除くと404個となった。ルビの誤りの割合は, 年別にみると, どの回も1~2%であり, 科目別では, 母性看護学で約4%, それ以外で1~2%であった。ルビの

誤りを, 頻度順に上位30位まで表6に示す。

## 2. 英語併記

英語併記のあった疾病名は, 延べ1,929個, 重複を除くと741個であった。英語併記のあった外国人名は, 延べ43人, 重複を除くと22人であった。

英語併記のあった疾病名を, 頻度順に上位30位まで表7に示す。疾病名について, 頻度順の順位を縦軸に, 頻度を横軸に取って片対数グラフに示した(図2)。疾病名のICD-10コードを, 頻度順に上位10位まで表8に示す。

英語併記のあった外国人名を, 頻度順に全て表9に示す。

これら疾病名と外国人名のリストを用いて, 英語併記を行うことができる。

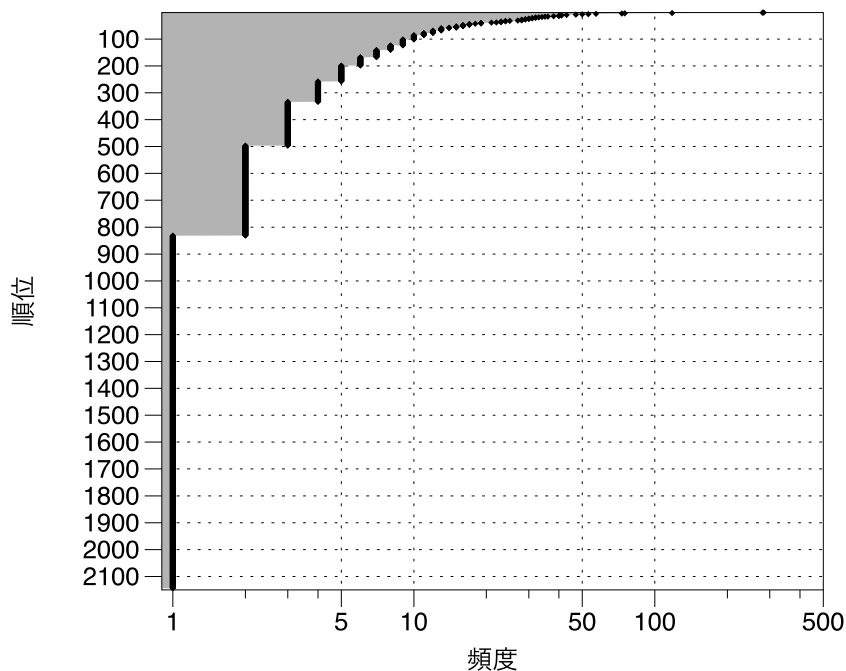


図1 標準辞書のルビの誤りの順位と頻度

表6 追加辞書のルビの誤りの順位と分類, 上位30位

順位	頻度	親文字	正	追加辞書	分類
1	283	分	ふん	ぶん	1
2	57	後	あと	のち	2
3	47	日本	にほん	にっぽん	1
4	41	日	にち	び	4
5	40	他	ほか	た	2
6	36	2人暮	ふたりぐ	ふたりく	1
7	35	分泌	ぶんび	ぶんびつ	2
8	34	間	あいだ	ま	4
9	29	1人暮	ひとりぐ	ひとりく	1
10	27	分	ぶん	ふん	1
11	19	出生	しゅっせい	しゅっしょう	2
	19	月	がつ	つき	4
13	16	人暮	にんぐ	にんく	1
	16	分後	ぶんご	ふんご	1
15	13	本	ほん	ほん	1
16	12	昨日	きのう	さくじつ	2
17	10	小数点以下第	しょうすうてんいかだい	しょうすうてんいか だい	0
	10	本	ほん	ほん	1
	10	行	おこな	い	4
20	9	分娩第	ぶんべんだい	ぶんべん だい	0
	9	舌	した	ぜつ	4
	9	日	にち	ひ	4
23	7	日本人	にほんじん	にっぽんじん	1
	7	分間	ぶんかん	ふんかん	1
	7	抱	だ	いだ	2
	7	下	もと	した	2
	7	度	ど	たび	4
28	6	分程度	ふんていど	ふんていど	1
	6	左側	ひだりがわ	さそく	2
	6	高値	こうち	たかね	4
	6	何	なん	なに	4
	6	年	ねん	とし	4



表7 頻度順にみた疾病名, 上位30位

順位	頻度	疾病名	英語	ICD-10
1	36	肺炎	pneumonia	J189
2	34	統合失調症	schizophrenia	F209
3	30	認知症	dementia	F03
	30	脳梗塞	cerebral infarction	I639
5	28	うつ病	depression	F329
6	25	糖尿病	diabetes mellitus	E14
7	22	高血圧症	hypertension	I10
8	16	誤嚥性肺炎	aspiration pneumonia	J690
9	14	乳癌	breast cancer	C509
	14	1型糖尿病	type 1 diabetes mellitus	E10
	14	関節リウマチ	rheumatoid arthritis	M0690
12	13	胃癌	gastric cancer	C169
	13	髄膜炎	meningitis	G039
	13	骨粗鬆症	osteoporosis	M8199
15	12	麻疹	measles	B059
	12	Parkinson (パーキンソン) 病	Parkinson's disease	G20
	12	肺気腫	pulmonary emphysema	J439
18	11	肺癌	lung cancer	C349
	11	心筋梗塞	myocardial infarction	I219
	11	慢性腎不全	chronic renal failure	N189
	11	熱中症	heat illness	T678
22	10	性感染症 (STD)	sexually transmitted disease	A64
	10	流行性耳下腺炎	mumps	B269
	10	貧血	anemia	D649
	10	2型糖尿病	type 2 diabetes mellitus	E11
	10	不整脈	arrhythmia	I499
	10	気管支喘息	bronchial asthma	J459
28	9	悪性新生物	malignant neoplasm	C809
	9	脂質異常症	dyslipidemia	E785
	9	Alzheimer (アルツハイマー) 病	Alzheimer disease	G309
	9	重症筋無力症	myasthenia gravis	G700
	9	急性心筋梗塞	acute myocardial infarction	I219
	9	脳出血	cerebral hemorrhage	I619

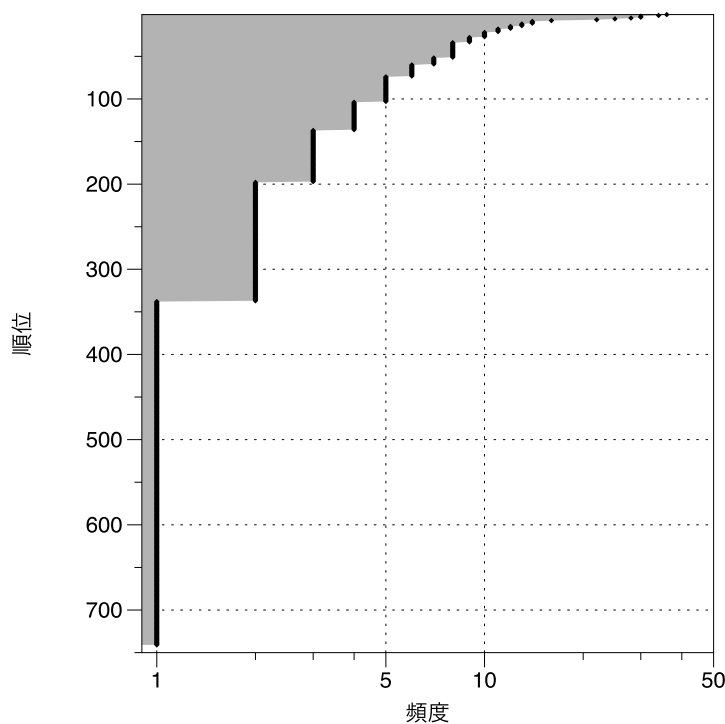


図2 疾病名の順位と頻度

表 8 頻度順にみたICD-10コード, 上位10位

順位	頻度	ICD-10	疾病名《英語》
1	65	I60-I69	くも膜下出血《subarachnoid hemorrhage》, 左被殻出血《left putaminal hemorrhage》, 脳幹出血《brain stem hemorrhage》, 脳出血《cerebral hemorrhage》, 高血圧性脳出血《hypertensive cerebral hemorrhage》, 脳内出血《intracerebral hemorrhage》, 頭蓋内出血《intracranial hemorrhage》, 脳梗塞《cerebral infarction》, 脳卒中《stroke》, 脳塞栓症《cerebral embolism》, 脳塞栓《cerebral embolism》, 脳血管閉塞症《cerebrovascular occlusion》, もやもや病《moyamoya disease》, 脳血管疾患《cerebrovascular disease》
2	59	E10-E19	1型糖尿病《type 1 diabetes mellitus》, 2型糖尿病《type 2 diabetes mellitus》, 糖尿病《diabetes mellitus》, 糖尿病腎症《diabetic nephropathy》, 糖尿病性腎症《diabetic nephropathy》, 糖尿病性網膜症《diabetic retinopathy》, 糖尿病神経障害《diabetic neuropathy》, 糖尿病性神経障害《diabetic neuropathy》
3	51	J10-J19	鳥インフルエンザ《avian influenza》, 季節性インフルエンザ《seasonal influenza》, インフルエンザ《influenza》, インフルエンザ脳症《influenza encephalopathy》, マイコプラズマ肺炎《mycoplasma pneumonia》, 細菌性肺炎《bacterial pneumonia》, 肺炎《pneumonia》, 肺臓炎《pneumonitis》
4	46	I20-I29	労作性狭心症《angina of effort》, 狭心症《angina pectoris》, 急性心筋梗塞《acute myocardial infarction》, 心筋梗塞《myocardial infarction》, 冠状動脈瘤《coronary artery aneurysm》, 虚血性心疾患《ischemic heart disease》, 肺塞栓症《pulmonary embolism》, 肺梗塞《pulmonary infarction》, 肺血栓塞栓症《pulmonary thromboembolism》, Eisenmenger (アイゼンメンジャー) 症候群《Eisenmenger syndrome》
5	43	I40-I49	拡張型心筋症《dilated cardiomyopathy》, 肥大型心筋症《hypertrophic cardiomyopathy》, I度房室ブロック《first degree atrioventricular block》, 完全房室ブロック《complete atrioventricular block》, III度房室ブロック《third degree atrioventricular block》, 房室ブロック《atrioventricular block》, 完全右脚ブロック《complete right bundle branch block》, WPW症候群《WPW syndrome》, アダムス・ストークス症候群《Adams-Stokes syndrome》, 心静止《asystole》, 心室頻拍《ventricular tachycardia》, 慢性心房細動《chronic atrial fibrillation》, 心房細動《atrial fibrillation》, 心房粗動《atrial flutter》, 心室細動《ventricular fibrillation》, 心房性期外収縮《atrial premature contraction》, 心室性期外収縮《ventricular premature contraction》, 不整脈《arrhythmia》
6	40	F00-F09	脳血管性認知症《cerebrovascular dementia》, 血管性認知症《vascular dementia》, 認知症《dementia》, せん妄《delirium》, 術後せん妄《post-operative delirium》, 軽度認知障害《mild neurocognitive disorder》, 症状精神病《symptomatic psychosis》
		40	J40-J49 慢性気管支炎《chronic bronchitis》, 肺気腫《pulmonary emphysema》, 慢性閉塞性肺疾患《chronic obstructive pulmonary disease》, 慢性閉塞性肺疾患《COPD》《chronic obstructive pulmonary disease》, 喘息《asthma》, 気管支喘息《asthma》, 気管支喘息《bronchial asthma》
8	39	B00-B09	ヘルペス性髄膜脳炎《herpetic meningoencephalitis》, 単純ヘルペス《herpes simplex》, 水痘《varicella》, 帯状疱疹《herpes zoster》, 麻疹《measles》, 風疹《rubella》, 風しん《rubella》, 伝染性軟属腫《molluscum contagiosum》, 伝染性紅斑《erythema infectiosum》, 手足口病《hand, foot and mouth disease》, ヘルパンギーナ《herpangina》
9	36	F30-F39	躁うつ病《bipolar affective disorder》, 双極性障害《bipolar disorder》, うつ病《depression》
	36	K50-K59	Crohn (クローン) 病《Crohn disease》, クローン病《Crohn disease》, 潰瘍性大腸炎《ulcerative colitis》, 痙攣性イレウス《paralytic ileus》, けいれん性イレウス《spastic ileus》, 腸重積症《intussusception》, 絞扼性イレウス《strangulated ileus》, 腸捻転症《volvulus》, 機械的イレウス《mechanical ileus》, イレウス《ileus》, 腸閉塞《ileus》, 単純性イレウス《simple ileus》, 便秘症《constipation》

考 察

1. 漢字のルビ振り

看護師国家試験の問題について、標準辞書を用いたMeCabによる形態素解析で、9割のルビを正しく振ることができた。さらに、よみに間違いのあった単語を集めて追加辞書とし、形態素解析を行うことで、ルビの誤りは1~2%となり大きく改善した。

ルビの誤りの頻度では、同じ誤りが繰り返し出現する一方、誤りの多くは1~2回しか出現しない。そのため、頻度の高い誤りに優先して対処することで、効率よく改善が見込まれる。また、標準辞書のルビの誤りでは、分類4のよみの間違いが多く、医療用語に多かった。ついで多い分類3は、MeCabの標準辞書に数字のよみがないうことによる。これらは、辞書に登録することで対応が可能である。科目別では、「人体の構造と機能」で誤りが多く、解剖用語など特殊な用語が多いことを反映している。標準辞書で誤りとなる単語は、言い換えれば一般用語でなく医療特有のものであり、看護教育で扱うべき対象と考えられる。

一方、追加辞書のルビの誤りでは、分類0、分類1、分類2が多かった。誤りの意味するところを考えると、分類0はルビの表示に差はなく、修正の必要はない。分類1、分類2は、文意に影響せず、一方、文書や文脈によって使い分けられるものであり、形態素解析の辞書登録で対応は難しい。従って、これらの誤りは、より自然で、こなれた日本語という点で修正すべきものであるが、EPA候補者の学習という視点からは、対応の優先度は低いと考えられる。

医療用語の形態素解析用の辞書として、Comejisho<sup>10)</sup>や万病辞書<sup>11)</sup>がある。いずれも数万語を擁する大規模なMeCab用の辞書であるが、今回の国試レベルのテキストデータには大掛かりであることや、誤登録が含まれることを考え使用しなかった。また、辞書を大きくすることには副作用もあり、特に短い文字数の単語の登録では、部分的にその文字を含むすべての単語が影響を受け、新たな誤りを生じる。結果として今回、2千語足らずの追加辞書で、国家試験問題の形態素解析には十分な効果があることが示された。

表9 頻度順にみた外国人名

順位	頻度	外国人名	原語
1	7	エリクソン, E. H.	Erikson, E. H.
	7	マズロー, A. H.	Maslow, A. H.
3	5	ハヴィガースト, R. J.	Havighurst, R. J.
4	2	バトラー, R. N.	Butler, R. N.
	2	フィンク, S. L.	Fink, S. L.
	2	フロイト, S.	Freud, S.
	2	ペック, R. C.	Peck, R. C.
	2	ヤール	Yahr, M. D.
9	1	アギュララ, D. C.	Aguilera, D. C.
	1	オレム, D.	Orem, D.
	1	キューブラー・ロス, E.	Kübler-Ross, E.
	1	クラウス, M. H.	M. H. Klaus
	1	ケネル, J. H.	J. H. Kennell
	1	ゴールドマーク, J. C.	Goldmark, J. C.
	1	シュナイダー, K.	Schneider, K.
	1	セリエ, H.	Selye, H.
	1	ピアジェ, J.	Piaget, J.
	1	ブラウン, E. L.	Brown, E. L.
	1	ペプロウ, E.	Peplau, E.
	1	リチャーズ, L.	Richards, L.
	1	ルービン, R.	Rubin, R.
	1	レイニンガー, M. M.	Leininger, M. M.

形態素解析によるルビ振りの自動化は、人手と違い、ルビの振り忘れや間違いがないメリットがある。今回の比較で、実際のルビあり問題で、第106回午後112の問題文中の「2つ」にルビがないことを見つけることができた。

今回、ルビの表記方法として、HTMLタグを用いている。ワープロソフトなどで画面上でルビを表示しても、保存されたデータはソフトウェアに依存したファイル形式となり、ルビの互換性は保証されない。ルビ情報の交換可能な形式として、プレーンテキストをマークアップする形が最も適当と考えた。今回用いたHTMLタグ以外に、青空文庫形式<sup>12)</sup>「親文字《よみ》」、Wiki形式<sup>13)</sup>「`{{ruby|親文字|よみ}}`」、単純な括弧書き「親文字(よみ)」などがある。これらは電子化テキストにおけるルビの簡素な表記方法であり、相互の変換はたやすい。しかし、いずれも、原文は人の目には読みづらいものとなり、漢字仮名交じりの文字列検索に困難を伴う欠点がある。

## 2. 英語併記

疾病名は、重複を除いて741語が使われていた。しかし、表記や英語のわずかな違いも別にカウントしており、疾病としてまだ重複がある。そのため、ICD-10コードを割り当てた。これは国際的に共通の分類であり、日本国外で看護を学ぶEPA候補者にとって有用と考えた。今回のICD-10コードの注意として、実際の国家試験問

題では、周辺の情報と合わせ、より詳細な疾病が分かることがある。例えば、「腺癌」に英語併記されていても、問題の別の箇所に、肺という部位が示されているような場合がある。今回、英語併記された疾病名のみでICD-10コードを当てており、問題の背景を遡って当てたものでない。そのため、ICD-10コードの精度にはばらつきがある。それでも、大きな分類で見ること、頻出する疾病の傾向を見ることができると考えられる。

外国人名では、総数22人、複数回登場したのは8人であった。これらは、看護教育において名前と業績を押さえておくべきと考えられた。ただ、選択肢だけに現れるものもあり、学習の重要度には差がある。

疾病名と外国人名のリストを利用して英語併記を機械的に行うことで、人手によるつけ忘れやスペルミスを減らすことができる。例えば、実際のルビあり問題で、第109回午後31の「急性骨髄性白血病」に対し「acute myelogenous leukemia」の併記がなされているが、他の「acute myelogenous leukemia」と異なることが見つけられた。しかし、リストにない新たな疾病名、外国人名については、人の目による対応が必要である。また、疾病名と同じ単語でも、文章中に症状として現れる場合や、薬剤、病原菌の一部に含まれる場合には英語併記がされないため、機械的に行うには限界がある。

今回、看護師国家試験問題への全漢字へのルビ振り、疾病名、外国人名への英訳併記を行なった。人手よ

り省力化でき、ミスも減らせる可能性が示された。ルビがあることで、EPA候補者の学習に役立つ<sup>14)</sup>。これにより、EPA候補者に向けて、実際の国家試験と同様の、総ルビ、英語併記がある教材を作りやすくなると考えられる。

### 3. 今後の課題

介護福祉士国家試験についても、EPAに基づく外国人介護福祉士候補者に向けた総ルビ、英語併記が行われており、応用できる可能性がある。しかし、今回の結果は看護師国家試験のものであり、追加辞書や英語併記の内容の見直しが必要である。

## 結 語

13年分の看護師国家試験のテキストデータに対して、MeCabによる形態素解析を用いて、漢字のルビ振りを行った。実際のルビあり問題と比較し、ルビの誤りを元に追加辞書を作成し、その有効性を確かめた。また、疾病名、外国人名の英語併記の実態を明らかにした。これにより、ルビあり問題の作成を自動化し、EPA候補者向けの教材作成が容易になる可能性が示された。

## 文 献

- 1) 厚生労働省：インドネシア、フィリピン及びベトナムからの外国人看護師・介護福祉士候補者の受入れについて 厚生労働省：[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/koyou\\_roudou/koyou/gaikokujin/other22/index.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/koyou_roudou/koyou/gaikokujin/other22/index.html) (参照日：2020年6月)。
- 2) 公益社団法人国際厚生事業団：巡回訪問事業 公益社団法人 国際厚生事業団 JICWELS：[https://jicwels.or.jp/?page\\_id=208](https://jicwels.or.jp/?page_id=208) (参照日：2020年6月)。
- 3) 日本語教育学会「看護と介護の日本語教育ワーキンググループ」：日本語教育学会「看護と介護の日本語教育ワーキンググループ」最終報告書：<http://www.nkg.or.jp/kangokaigo/houkokusho/> (参照日：2020年6月)。
- 4) 厚生労働省：看護師国家試験における用語に関する有識者検討チームのとりまとめについて 厚生労働省：<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r985200000nr2a.html> (参照日：2020年6月)。
- 5) 厚生労働省：「看護師国家試験における母国語・英語での試験とコミュニケーション能力試験の併用の適否に関する検討会」報告書について 厚生労働省：<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000025ge6.html> (参照日：2020年6月)。
- 6) 厚生労働省：経済連携協定(EPA)に基づく外国人看護師候補者の看護師国家試験の結果(過去12年間)：[https://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000154325\\_00006.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000154325_00006.html) (参照日：2020年6月)。
- 7) 工藤拓：MeCab: Yet Another Part-of-Speech and Morphological Analyzer：<http://taku910.github.io/mecab/> (参照日：2020年6月)。
- 8) 厚生労働省：第106回保健師国家試験、第103回助産師国家試験、第109回看護師国家試験の問題および正答について 厚生労働省：[https://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/iryuu/topics/tp200414-03\\_04\\_05.html](https://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/iryuu/topics/tp200414-03_04_05.html) (参照日：2020年6月)。
- 9) W3C：日本語組版処理の要件(日本語版)：<http://www.w3.org/TR/2012/NOTE-jlreq-20120403/ja/> (参照日：2020年6月)。
- 10) 相良かおる, 浅原正幸, 小野正子, 小作浩美：形態素解析器MeCab用看護用語ユーザ辞書の作成と公開. 第28回医療情報学連合大会論文集：938-939, 2008.
- 11) 奈良先端科学技術大学院大学 ソーシャル・コンピューティング研究室：MEDNLP 医療言語処理グループ万病辞書：<http://sociocom.jp/~data/2018-manbyo/index.html> (参照日：2020年6月)。
- 12) 青空文庫：HTML版工作人員作業マニュアル：[https://www.aozora.gr.jp/KOSAKU/MANUAL\\_2.html](https://www.aozora.gr.jp/KOSAKU/MANUAL_2.html) (参照日：2020年6月)。
- 13) ウィキメディア財団：Template:Ruby-Wikipedia：<https://ja.wikipedia.org/wiki/Template:Ruby> (参照日：2020年6月)。
- 14) 棚橋尚子：漢字習得におけるルビの有効性の解明. 奈良教育大学国文：研究と教育 30：89-77, 2007.



原 著

# フィジカルアセスメント講座を受けた訪問看護師の技術習得レベルの分析～SCATを用いて～

伊藤達也<sup>1)</sup>・北啓一郎<sup>2)</sup>・梅村俊彰<sup>3)</sup>・山城清二<sup>2)</sup>**SCAT analysis of the skill acquisition level of visiting nurses attending the physical assessment course**Tatsuya ITOH<sup>1)</sup>, Keiichiro KITA<sup>2)</sup>, Toshiaki UMEMURA<sup>3)</sup>, Seiji YAMASHIRO<sup>2)</sup><sup>1)</sup>Department of Adult Nursing, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama<sup>2)</sup>Department of General Medicine, Toyama University Hospital<sup>3)</sup>Department of Adult Nursing, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama

## 和文要旨

地域包括ケアシステムにおいて訪問看護師はキーパーソンであり、医師と連携の下、身体的状態を的確に観察、アセスメントする必要がある。そこで、フィジカルアセスメント講座を受講した訪問看護師の技術習得レベルを明らかにすることを目的とした。対象は、フィジカルアセスメント講座を受講したA訪問看護ステーションの訪問看護師で、半構造化面接法を用いてインタビューを行い、SCAT法を用いて分析を行った。研究参加者は6名で、訪問看護師歴は2～20年であった。SCATによる分析の結果、ストーリーラインと理論記述が得られた。技術習得レベルを、ベナーの看護実践の習熟度レベルを参考に段階分けしたところ、新人レベル～中堅レベルにあると推察された。また、訪問看護ステーションがフィジカルアセスメント講座を受講したことで、訪問看護師の技術習得レベルが向上し、事業所単位で実践コミュニティとなることが示唆された。

## 英文抄録

In the Community-based Integrated Care System, visiting nurses play a significant role because they accurately observe and assess physical conditions in collaboration with physicians. The purpose of this study was to clarify the skill acquisition level of visiting nurses who attended the physical assessment course. The participants were visiting nurses at a visiting nurse station who had attended the physical assessment course. We interviewed them using the semi-structured interview method and analyzed them using Steps for Coding and Theology (SCAT). The SCAT resulted in storylines and theory writings. The skill acquisition level of visiting nurses was graded based on Dr. Benner's stages of clinical competence from advanced beginner to a proficient level. It was suggested that the skill acquisition level improved when the visiting nurses attended the physical assessment course, then it became a practical community at the site level.

**Key words:** 訪問看護師, フィジカルアセスメント, SCAT, 技術習得レベル, 実践コミュニティ

## はじめに

2025年までに我が国は、「団塊の世代」が75歳以上となり、超高齢社会を迎える。できる限り住み慣れた地域で生活を継続できる環境を整備していくことは、喫緊の課題である<sup>1)</sup>。保健・医療・福祉制度は、従来の疾病や傷害の治癒・回復を目的とする「医療モデル」優先から、生活の質に焦点をあて、疾病や障がいがあっても地

域の住まいで自立してその人らしく暮らすことを支える「生活モデル」に、大きくシフトしようとしている<sup>2)</sup>。生活モデルへの転換において、効率的かつ質の高い医療提供体制と地域包括ケアシステムの構築が図られている<sup>3)</sup>。地域包括ケアシステム構築では、訪問看護師はキーパーソンであり、訪問看護体制の確保と充実が最重要課題である。

(受稿2022.6.20/受理2022.8.4)

<sup>1)</sup>富山大学大学院 医学薬学教育部 看護学専攻(修士課程)成人看護学講座<sup>2)</sup>富山大学附属病院 総合診療科<sup>3)</sup>富山大学大学院 医学薬学研究部 成人看護学



地域包括ケアシステムにおいて看護職は、医師との連携の下、患者の疾病や治療内容を理解し、身体的状態などを的確に観察、アセスメントする。そして、患者の病態の変化を予測するとともに、その兆候を察知し、医療の必要性を判断する。重症化・多様化・複雑化した在宅療養者への看護には、適切な状況把握と判断が必須であり、高度なフィジカルアセスメント能力が求められる。山内<sup>4)</sup>は、訪問看護におけるフィジカルアセスメントの意義について、次のように述べている。「在宅医療」という場面では、利用者本人の要因や住環境、生活背景などがより複雑に絡み合うため、身体情報と生活環境情報をいかに連結させるかが重要なカギとなる。得られた身体情報と生活環境情報とを連結させることこそが、生活の場で活躍する訪問看護師の大切な役割である。

山城<sup>5)</sup>は、T県内の訪問看護師に対して、2010年よりフィジカルアセスメント講座「診察力アップ講座」を継続的に開催している。講座では範例を用いて、「重症度判定」「意識状態の評価」「バイタルサイン」「心音・呼吸音聴取」の講義と、心音呼吸音聴診用シミュレータを利用した演習を行っている。本研究は、このフィジカルアセスメント講座を受講した訪問看護師の技術習得レベルを明らかにしたいと考えた。これにより、訪問看護師の更なる技術習得レベルへの課題を示唆することができると考えられる。

## 対象および方法

### 1. デザイン

質的記述的研究デザイン

### 2. 研究対象

2010年～2017年にフィジカルアセスメント講座「診察力アップ講座」を受講したA訪問看護ステーションの訪問看護師

### 3. 調査期間

2019年2月～5月

## 4. 調査項目

### 1) 基本情報

性別、年齢、臨床経験歴、訪問看護師歴、フィジカルアセスメント講座の受講回数

### 2) インタビューデータ

半構造化面接法を用いてインタビューを行った。研究参加者がフィジカルアセスメント講座を受講した後、臨床の場面で一番役に立った知識や技術、印象に残っている範例について自由に語ってもらい、気になった点や今後の課題などを質問した。面接時間は60分程度とし、許可を得てICレコーダーに録音した。

## 5. 分析方法

大谷<sup>6)</sup>を参考に、質的データ分析手法であるSCAT (Step for Coding and Theorization) 法を用いた。インタビューデータを全て逐語録(テキスト)とし、SCATの分析フォームへ転記した。テキストをセグメント化し、〈1〉テキスト中の着目すべき語句、〈2〉それを言い換えるためのテキスト外の語句、〈3〉それを説明するための語句、〈4〉そこから浮かび上がるテーマ・構成概念、の順にコードを付した。テーマ・構成概念を紡いでストーリーラインを記述し、理論を記述した。グレッグら<sup>7)</sup>が示す厳密性の検討を参考に、Lincoln & Gubaの評価基準<sup>8)</sup>に基づいて、信頼性を確保した。

## 6. 倫理的配慮

本研究は、富山大学人間を対象とし医療を目的としない研究倫理審査委員会の承認(臨認30-19)を得た。

## 結 果

研究参加者は6名の訪問看護師で、訪問看護師歴は2～20年、フィジカルアセスメント講座の受講回数は2～11回であった。面接時間は45～60分であった(表1)。SCATの分析フォームを用いた例を、表2に示す。

研究参加者6名のストーリーラインと理論記述を、以下に示す。ストーリーラインの中の「」はテーマ・構成概念を、理論記述の中の〈〉は考察の際に注目した語句を示す。

表1 基本属性

研究参加者	性別	年齢	臨床経験歴	訪問看護師歴	受講回数	面接時間
A	女性	50歳代	30年	15年	3回	50分
B	女性	40歳代	22年	7年	3回	45分
C	女性	40歳代	20年	7年	2回	55分
D	女性	40歳代	20年	10年	11回	60分
E	女性	60歳代	40年	20年	11回	50分
F	女性	60歳代	39年	9年	11回	60分

表2 SCATでの分析例（研究参加者Aの分析フォームより抜粋）

テキスト	<1>テキスト中の着目すべき語句	<2>それを言い換えるためのテキスト外の語句	<3>それを説明するための語句	<4>そこから浮かび上がるテーマ・構成概念	
57	金属音とか、水泡音とかそういうのはすぐに役に立って。心音はなかなか難しいので。そのまだ、いまだにちょっと、なんか。記録に残すまで自信がなくて。肺の音なら、まあ。コースクラックル、ファインクラックル、そういうのはなんか、あーとかなんかわかるように。なんか、今まで聴診はドクターの仕事やと、なんか私たちはそこまでする、なんていうか、スキルはいらん病院にいたから。別に。一応なんか、聴診器は持っているけど、ハートレートとか、なんかそういうのだけ聞いてたなど。グル音とか、あとはマーゲンチューブ入れた時のエアーの確認とか、そういうことなら、まあ。	金属音とか水泡音とかそういうのはすぐに役に立って／心音はなかなか難しい／記録に残すまで自信がなくて／コースクラックル、ファインクラックル、そういうのはなんか、あーとかなんかわかるように／今まで聴診はドクターの仕事／私たちはそこまでする／スキルはいらん病院にいたから／一応なんか聴診器は持っているけど／グル音とかマーゲンチューブ入れた時のエアーの確認	呼吸器系および消化器系の聴診の実践しやすさ／心音聴取の理解の困難さ／理解できなかった所見のカルテ無記載／呼吸器系および消化器系の聴診教育の理解の程度	呼吸音の理解のしやすさ／腸雑音の聴診習慣有り／他人に記録を見られる恥ずかしさ／所見を理解できなかった恥ずかしさ／曖昧な所見を書きたくない思い／聴診についての新たな学びの楽しさ／聴診に対する省察	呼吸音の理解のしやすさ／腸雑音の聴診習慣有り／呼吸器系および消化器系の聴診の実践しやすさ／心音聴取の理解の困難さ／理解できなかった所見のカルテ無記載／他人に記録を見られる恥ずかしさ／所見を理解できなかった恥ずかしさ／曖昧な所見を書きたくない思い／聴診についての新たな学びの楽しさ／聴診に対する省察
58	痰がゴロゴロしていたら、まあ聴診ではそこらへんはわかるけど、医者の仕事だろうと思ってたんですけど、今回山城先生に講義をいろいろ受けさせていただいて、聞いても聞いてもなかなか完全にはマスターしていないだろうと思うんですけど。なんか、でも結構身について、私たち一人で仕事してこなくちゃいけないから、その助けにはなっているなと思っています。	痰がゴロゴロしていたら／聴診ではそこらへんはわかるけど／医者の仕事だろうと思ってた／講義をいろいろ受け／聞いても聞いてもなかなか完全にはマスターしていない／なんかでも結構身について／私たち一人で仕事してこなくちゃいけないから／助けにはなっているな	聴診に対する考え方の変化／診察力アップ講座受講後の省察／診察力アップ講座による訪問看護への一助の可能性	ひとり訪問の責任感	講座後の聴診に対する考え方の変化／受講後の省察／講座による訪問看護への一助の可能性／ひとり訪問の責任感

## 1. 研究参加者A

### 1) 研究参加者Aのストーリーライン

訪問看護の特徴からくる「ひとり訪問の責任感」と、持ち合わせた「育児しながら働く献身性」や「聴診についての新たな学びへの感受性の高さ」により「新しい勉強会への自発的な参加」を促していた。「県外での講座受講歴無し」であった。働く環境の「医師不足の地域」も加わり、「高度な専門性の在宅への必要性」を感じ取り、「在宅をより良くしたい意気込み」へと変わっていった。在宅で生活する「高齢者」に対し「利用者への思い入れ」があり、過去に在宅での「急変対応への経験」したこともあり、「ACPと急変時のジレンマ」を感じていた。

診察力アップ講座を受講する以前は、「看護学生の時にフィジカルアセスメントの講義を受けた経験の無さ」「看護学生の時に聴診の実技経験無さ」が背景にあった。新卒でICUへ入職後、「ICUでの具体的な聴診内容」を振り返ると「音の有無のみの聴診」を行っていた。「判断に時間がかかる」と捉えたことで「時間がかかる業務の省き」、「聴診所見の簡素化」が起っていた。そういった暗黙の「職場での聴診習慣」になっていた。また、「新卒教育で心音聴取を教わった経験」がある一方で、「臨

床での心音聴取経験の無さ」「腹部聴診経験の少なさ」が実情で、「経過表を埋めることが目的の聴診」を行い、「多忙業務の中の聴診への意識」は薄れ、「聴診への意識の低さ」となっていた。そういった「講座受講前の聴診の習慣」は、診察力アップ講座を受けることで、「聴診所見の理解の程度」に改めて刺激を受け、「講座受講前は副雑音の有無のみ聴診」や「講座受講前の聴診に対する捉え方」「聴診は役割外という認識」が変わっていった。診察力アップ講座を受講した後の理解につながった場面は、「間質性肺炎の症例」「イレウスの症例」であった。その理由は「呼吸器系および消化器系の聴診の実践しやすさ」「呼吸音の理解のしやすさ」「腸雑音の聴診習慣」があった。副雑音の判別ができるようになり「聴診についての新たな学びの楽しさ」となっていた。在宅で生活する「高齢者」に訪問すると、「異常音を聴取する機会の多さ」が「学習意欲が出る環境」となった。「肺音聴診の理解のしやすさ」から「聴診に対する前向きな姿勢」もつくりだしていた。「入院適応だった困難症例の振り返り」、「家で過ごしたい本人の希望の支援」を達成することができたのは、「診察力アップ講座を受講していた自信」から「困難症例を見る自信」になった。それは、年1回の定期開催により「同じ学習内容による理



解の確認」と不定期の新しい学習内容が「新たな学びへの満足感」となっていた。さらに、「1回受講では理解不十分と感じる不安」から、「複数回受講して理解を深めたい」という思いになり「複数回受講の動機」へと繋がっていた。「複数回受講が大きな自信」となり、「講座による訪問看護への一助の可能性」となっていた。「聴診は看護師の役割外という認識」が変化し、理解できた所見はカルテに記載するようになった。また、講座に対し「診察力アップ講座への聴診の講義という認識」を持ち、講師からは「医学的視点を含めた全体像の把握」を求められていると感じ取っていた。それに対し、「看護師のケアの視点」を大切に考えていた。「自己を発展途上としての捉えと診察力アップ講座への期待」から「診察力アップ講座の開催希望間隔」を年1回以上と希望していた。一方で、難しいと捉えていた講座の内容があった。循環器系のアセスメントの中で、「心音聴取の理解の困難さ」を捉え、「曖昧な所見を書きたくない思い」から「理解できなかった所見のカルテ無記載」が起こっていた。「心音所見をカルテ記載する他の看護師への医師からの指摘」されている姿を見て、「自分も同じ体験をしたくない後ろめたさ」「心音所見のカルテ記載内容への自信の無さ」を表出していた。「神経学的所見を取る習慣の無さ」や打腿器を持つ習慣がなく「深部腱反射所見の臨床活用の困難さ」が、普段実践しない「脳神経系フィジカルアセスメントへの自信の無さ」へと、「脳神経系フィジカルアセスメントの理解の曖昧さ」から「脳神経系フィジカルアセスメントへの苦手意識」が生まれていた。

## 2) 研究参加者Aの理論記述

診察力アップ講座を初めて受講し、〈肺音聴取の理解しやすさ〉を感じ取る。副雑音の判別ができるようになり、〈聴診についての新たな学びの楽しさ〉となる。在宅で生活する高齢者は、〈異常音を聴取する機会が多く〉、〈学習意欲が出る環境〉になる。〈肺音聴診の理解のしやすさ〉から〈聴診に対する前向きな姿勢〉もつくりだし、習慣化となっていく。

複数回受講により聴診経験の少ない腹部聴診の金属音理解を促す。また、聴診は看護師の役割外という認識が変化し、理解できた所見はカルテに記載するようになる。診察力アップ講座の講師から、医学的視点を含めた全体像の把握を重要なポイントだと受け止め、診察力アップ講座を受講していた自信から困難症例を看る自信になる。

一方で、循環器系のアセスメントの中で、心音聴取の理解の困難さを捉え、〈曖昧な所見を書きたくない思い〉から〈理解できなかった所見のカルテ無記載〉が起きる。また、〈心音所見をカルテ記載する他の看護師への医師からの指摘〉されている姿を見て、自分も同じ体験をしたくない後ろめたさ、心音所見のカルテ記載内容へ

の自信の無さも背景としてある。

## 2. 研究参加者B

### 1) 研究参加者Bのストーリーライン

「怒られ辛い経験」をして「トラウマな手術室勤務時代」を過ごした過去があった。さらに、「異動して病棟勤務」になるが、「4年目の病棟勤務の同期と同じ働きを求めてくる先輩看護師」から「同期の看護師との比較」が生じていた。「部署ごとの仕事内容の違い」を理解されず、「先輩からの自分の思い描く指導と実際の先輩の態度との乖離」があり、異動後も「辛い病棟経験」になっていた。退職し、「嫁いだ地域の病院へ転職」し、「転職先の病棟勤務の楽しさ」を実感した。しかし、外来に異動になり「外来勤務時の一人夜勤の辛さ」や「救急外来の大変さ」から「仕事と理想の家庭を築く困難さ」を感じていた。「流産の経験」もあったため、「家庭環境の整いと育児への決心」をして、一般診療所に転職した。転職した当初は「職場へ看護記録を行おうとする積極性」をみせていたが、「診療所内での仕事内容と自分の思い描く看護との乖離による落胆」を経験し、そのまま10年の月日が流れた。その10年の間、勤める診療所と連携する訪問看護師のいきいきと働く姿に徐々に魅かれていった。そして、自分も同じように働きたいという「なりたい看護師像への志し」が生まれ、「希望した訪問看護師の道へ」転職した。働き始め、「訪問看護師の仕事内容への衝撃」を覚えた。その背景には、「臨床経験による自信の無さ」や「成人や高齢者へのケアの経験の少なさ」から「診療所勤務時代の不勉強への後悔」を感じていたからだった。

訪問看護師になり、ひとり立ちして、「訪問看護への楽しい思いを実感」していった。その主な理由は、「訪問看護の主体性」であった。一人で訪問することによる責任がつかまとう反面、自分で考え、行動する自主性が「看護師としての自己実現」となり、良い結果になれば、利用者・家族から感謝が返ってきて「承認欲求の充満」、「やりがいを実感」するようになっていた。病院看護と比較すると、「病棟勤務の過密タイムスケジュール」の中、「病院の画一的な看護業務」行い、間違いが起きないよう「過度な監視体制」で働くことが合わなく、「辛い病棟経験」となっていた。

訪問看護師になってから、「診察力アップ講座を3回受講」した。「他の講座を1回受講」した経験があったが、「講義の内容は覚えていない曖昧な記憶」であった。「講座前は聴取される心音全て同じという考え」だったが、少しずつ変化していった。診察力アップ講座を複数回受講し、「受講後臨床での異常心音聴取の経験」された。具体的には、「ギャロップ音とⅢ音の聴取経験」と「Ⅰ音とⅡ音の間のザーという雑音を聴取した経験」であった。具体的には、「カルテは慢性心不全と記載」さ

れており、「超高齢の女性の寝たきりの方で肝疾患を患っていた」。「明らかな違いを実感」したケースで、「他の看護師も同意見」であるほどだった。診察力アップ講座を受講した後、「心音聴取の習慣化」ができていたことで、「意識的に心雑音を聴取」する習慣から、「既往歴から雑音の有無に関わる病態をイメージ化」を行い、「聴診から心臓の病態をイメージ化」につなげ、「心雑音を聴き分け」できるようになっていった。さらに、継続して聴診しているため、「病的Ⅲ音の症例の改善した経過を心音聴取で理解」することができた。しかし、「外部環境や患者への気遣いから盲目的に心音聴取を実践」しているため、「盲目的に実践する聴診部位の正確性の不安」が生じていた。また、「所見を取ることもケアをする優先度」を考え、「医師と看護師との優先度の違い」を感じていた。優先度を頭に置いて試行錯誤したが、「所見をとりながらバイタルサインを測る難しさ」を実感していた。

## 2) 研究参加者Bの理論記述

訪問看護師として臨床に出て、〈臨床経験による自信の無さ〉、成人や高齢者へのケアの経験の少なさから〈診療所勤務時代の不勉強への後悔〉を振り返る。訪問看護師としてひとり立ちし、訪問看護の主体性から訪問看護への楽しい思いを実感する。

診察力アップ講座を受講し、聴取される心音全て同じという考えだったが、少しずつ変化していった。〈心音聴取が習慣化〉され、意識的に心雑音を聴取する。既往歴から雑音の有無に関わる病態のイメージ化を行い、〈聴診から心臓の病態をイメージ化〉につなげ、心雑音を聴き分けできるようになっていく。さらに、継続して聴診することで、〈病的心音の改善した経過を聴診で理解〉するといった経験が培われる。聴診を臨床で実践するうえで、外部環境や患者への気遣いから盲目的に心音聴取を実践しているため、〈盲目的に実践する聴診部位の正確性の不安〉が生じる。また、〈所見を取ることもケアをする優先度〉を考え、医師と看護師との優先度の違いを感じる。〈所見をとりながらバイタルサインを測る難しさ〉を実感する。

## 3. 研究参加者C

### 1) 研究参加者Cのストーリーライン

入職時、「卒後の訪問看護前の病棟経験の必要性」を管理職者から言われ、「15年間の病棟勤務」となった。15年目にしてやっと訪問看護師となり、「病棟勤務でのフィジカルアセスメントの状況」「聴診する習慣の無さ」「アセスメントする習慣の振り返りの無さ」「聴診など無しでドクターコールの習慣」を振り返り、「報告における病院と訪問看護の違いの実感」し、「判断能力を身に着けたい思い」が芽生え、「向上心」が刺激され「専門職としての省察と目標設定」を繰り返していった。そ

の考えの深層には、「フィジカルアセスメントへの不安」を感じていたからであった。

さらに病棟勤務時代を振り返り、「高齢者ケアの忙しさ」「聴診以外の必要なケアが多い」「病棟での業務過多」などによる「病棟での業務過多の環境」や「聴診機会の省察」を俯瞰し、「聴診の継続性の無さ」「実務環境と自己研鑽の困難さ」が原因で「実践知の未習得」になっていったのではないかと考えていた。病棟勤務時代に一度院内のフィジカルアセスメント講座を受講して「聴診の自己学習意欲」はあったものの、「聴診の継続性の無さ」「実践の無さ」「実践回数の必要性」を感じ取っていった。「病棟勤務での後悔」から、「聴診の省察」「聴診経験の省察」を行い、「形式知と実践知の繋がり」は「経験の積み重ね」が必要だと「聴診所見を理解する方略の示唆」を潜在的に感じ取っていた。

訪問看護師の時代は、聴診の「正常と異常の聴き分け能力」を身に着けたく、「診察力アップ講座は2回受講」された。「講義1回目後漠然とした理解」の学習段階であったが、「講座後の聴診を行う習慣」が身につく、「行動変容の発生」が生じていた。「経験の積み重ね」により、「聴診理解の変化」を徐々に自覚していった。それは「講義2回目後理解した聴診実践」が受講した当月に起こった。その明らかに自覚した範例は、「肺疾患の患者」であった。元々、「聴診の正常と異常の理解」が曖昧な時は、「形式知から実践知への心の壁」が生じて、他の看護師らが継続的に記載していても「理解できなかった所見のカルテ無記載」が伴っていた。具体的な内容は、吸引前後の聴診により「実践で肺基礎疾患のと音と痰の絡んだ音の違いの理解」に繋がった「実践知に至った経緯」を「形式知と実践知の繋がり」の時間間隔として捉えていた。講義の際「シミュレータと実際に聴取される音の乖離」や「シミュレータの限界」を理解していた。聴診を行う習慣から、「聴診の普段と異常の比較」をして「聴診時の異常の気づき」から「聴診による病態生理の理解」になった。「聴診所見を他者と共有」することで、事業所内で申し送りや他職種への報告から「医師とのコミュニケーション材料」になり、「共有による向上心の高まり」や「聴診理解の自信と喜び」、「自己成長の実感」を他者とも共感していた。「実践知に至った」根底には、「聴診経験の省察」を行った時の「病棟勤務と訪問看護の責任の違い」や「実務環境による責任の違い」を自覚し、意識的に聴診を実践していた経緯もある。

肺音に関する「自己成長の実感」の反面、「心音所見の難しさ」や「心音理解の難しさ」、「漠然とした理解」からくる「報告できない心音所見の理解度」「心音所見の報告実践不可」を現状理解していた。また、成長を実感した学習段階で「困難症例への対応の後悔」と「対応が違っていたら結果が違っていたんじゃないかという省



察」を経験していた。その経験から、「聴診の普段と異常の違いの気づき」がありながらも、「判断の迷い」から「利用者家族の判断を聴取」するほどの困難症例を通して、「現時点のフィジカルアセスメントの到達度合」を俯瞰していた。「フィジカルアセスメントの省察」「聴診の省察」を行い、改めて「聴診の重要性を実感」をしながらも、「聴診者単独による判断の限界」を感じていた。

訪問看護を経験した後は、異動となり回復期病棟で従事していた。そこでは、「現状と課題を探す前向きな姿勢」から「脳神経系アセスメントの必要性」を捉えていた。「主任という立場の責任感」から、「前向きな他者評価」を行い、「他者の能力を向上しようという姿勢」で勉強会を取りくもうとしていた。

## 2) 研究参加者Cの理論記述

訪問看護師として臨床に出て、〈フィジカルアセスメントへの不安〉から〈判断能力を身に着けたい思い〉が芽生えてくる。その結果、向上心が刺激され、〈専門職としての現在までの省察と新たな目標設定〉を最初に実践していく。〈聴診所見を理解する方略〉として、〈聴診の実践と省察〉「過去の聴診経験の省察」を行い、〈形式知と実践知の繋がり〉は経験と省察の積み重ねが必要である。

診察力アップ講座を初めて受講するときは、聴診の正常と異常の聴き分け能力を身に着けるという目標を掲げる。初回受講の学習段階では、漠然とした理解であるが、〈聴診を行う習慣〉となる。2回目以降の診察力アップ講座では、同じ内容の講義であるため、復習及び〈聴診理解の変化〉を徐々に自覚する。自覚した理解の変化により、聴診所見をカルテ記載するようになる。聴診を行う習慣から、聴診所見の普段と異常を比較して〈異常の気づき〉から〈聴診による病態生理の理解〉になる。また、聴診所見を他者と共有することで、事業所内で申し送りや他職種へ報告し〈コミュニケーション材料〉になる。〈聴診理解の自信と喜び〉、〈自己成長の実感〉を他者とも共感できる。

成長を実感した学習段階では、困難症例への対応の後悔と対応が違っていたら結果が違っていたのではないかという省察をおこなう。その省察から、現時点のフィジカルアセスメントの到達度合を俯瞰する。フィジカルアセスメントの省察、聴診の省察を行い、改めて〈聴診の重要性を実感〉をしつつも、〈聴診者単独による判断の限界〉を認識する。

## 4. 研究参加者D

### 1) 研究参加者Dのストーリーライン

臨床経験10年目になり、前職の上司の勧めから人手不足解消のため、希望も「全く無し」の状態であったが、訪問看護ステーションへ転職した。現職以前の訪問看護では「訪問看護の実際に対し介護士のようにだと認識」し

ていた。しかし、現職の訪問看護ステーションへ転職し「転職先の密な医療連携と訪問看護に感動」した。それは「24時間体制による訪問後の状態を予測した行動」が主な理由であった。その後は、「在宅では訪問看護師の必要性を実感」したり、「訪問看護師のサービスの質によって利用者の療養環境や在宅で過ごす期間の変化に影響」することを学んだ。「利用者及び家族の希望にそった自宅療養」を調整出来たら「支援のやりがい」を感じていった。

診察力アップ講座は「全て受講」していた。「近隣開催で参加する機会」があれば、受講希望の「学習意欲」が向上し、「定期的な省察」になる。詳しく言うと、「聴診所見を記録に残す自信の無さ」「聴診の異常所見有りのみをカルテ記載する限界」「聴診所見の異常種類を書けない限界」を省察し、自身の「講座直後はカルテ記載する意欲向上」、「講座直後の新しい記憶によるカルテ記載の自信」、事業所内の「講座直後による活発な討論」を経験していたからであった。「聴診所見のカルテ記載には自信が必要」で「自信向上には定期的な講座受講」だと考えている。「ディスカッションで意見が合うとさらに自信向上」にもなると考えている。

「診察力アップ講座受講以前は聴診器の使用経験ほぼ無し」だったが、「講座受講後から聴診経験の増加」を自覚していった。それは、「聴診所見が重症度判定する判断材料」になることや「聴診による利用者満足度の向上」などを経験し、「聴診する大切さを自覚」したためだった。

その経験した症例は「80歳台女性の熱発、バルン留置中」で、「高齢者の二人暮らし、病院受診も困難なため夜間対応の悩み」を医療者が持っていた。しかし、訪問看護の際に「経過や薬剤、状態、家族の介護力など全体を含めて考えた選択肢を立案」することができた。それまでは、「状態変化時は病院受診する選択肢のみ」を提案していた。しかし、その症例から、「点滴により受診するまでの時間の猶予」、「評価と予測は訪問看護師の強み」だと自覚し、「状態変化時は病院受診する以外の選択肢を立案」するようになっていった。その「説明内容に対し家族は納得」した様子もみられていた。これを経験した症例は、訪問看護師1年目の時には「不可能」であった。しかし、「先輩看護師の考えと症例を通した選択肢立案の学習」と診察力アップ講座を受講による「重症度判定とサービス調整との関連の理解」して、「アセスメント能力の向上と選択肢の立案増加の関連」を自覚していった。診察力アップ講座の機会は「講義内容と気になった症例の振り返り」となり、「選択肢立案」の省察になっていた。選択肢を考えることは徐々にできるようになっていったが、「決断する自信を持つための時間は5年」かかると自負していた。また、「吸痰している症例のサービス調整」や「がん性疼痛の症例のサービス

調整」が多く、「重症度を判定してサービス調整の経験」を積み重ね「利用者家族や他職種へのサービス調整の説明能力向上」も自覚していった。

## 2) 研究参加者Dの理論記述

訪問看護師として臨床に出て、在宅では訪問看護師の必要性を実感し、訪問看護師のサービスの質によって利用者の療養環境や在宅で過ごす期間の変化に影響することを学ぶ。それから、利用者及び家族の希望にそった自宅療養を調整出来たら支援のやりがいになる。フィジカルアセスメント講座を定期受講することは、〈定期的な省察〉になる。それは、聴診所見を記録に残す自信の無さ、聴診の異常所見有りのみをカルテ記載する限界、聴診所見の異常種類を書けない限界などを省察することができる。また、〈講座直後はカルテ記載する意欲向上〉、〈講座直後の新しい記憶によるカルテ記載の自信〉、事業所内の〈講座直後による活発な討論〉が生じる。「聴診所見のカルテ記載には自信が必要」であり、「自信向上には定期的な講座受講」がある。〈ディスカッションで意見が合うとさらなる自信向上〉になる。

診察力アップ講座受講以前は聴診器の使用経験はほぼ無だったが、〈講座受講後から聴診経験の増加を自覚〉する。それは、〈聴診所見が重症度判定する判断材料〉になることや〈聴診による利用者満足度の向上〉などを経験し、〈聴診する大切さを自覚〉するためである。〈先輩看護師の考えと症例を通じた選択肢立案の学習〉と診察力アップ講座を受講による重症度判定とサービス調整との関連を理解して、〈アセスメント能力の向上と選択肢の立案増加の関連〉を自覚することにより、利用者及び利用者家族へ状態変化時は病院受診する選択肢のみを提案していたが、状態変化時は病院受診する以外の選択肢を立案するようになる。選択肢を考えることは徐々にできるようになり、〈決断する自信を持つための時間は5年〉かかる。また、吸痰している症例のサービス調整やがん性疼痛の症例のサービス調整が多く、重症度を判定してサービス調整の経験を積み重ね〈利用者家族や他職種へのサービス調整の説明能力向上〉が現れてくる。

## 5. 研究参加者E

### 1) 研究参加者Eのストーリーライン

病棟勤務され、臨床経験20年目を機に勤務異動で訪問看護師となった。病院看護と訪問看護を比べ、病院看護に対し「迅速な多重業務への苦手意識」を感じていたが、訪問看護師になってから「訪問看護と自分の相性の良さ」と「訪問看護にやりがいを実感」した。訪問看護に対し「訪問看護が看護の本質と捉え」ていた。「訪問看護による担当利用者への責任感の強まり」と同時に「訪問看護によって利用者が元気になる姿をイメージする楽しさ」や「自分の看護の結果の嬉しさ」を感じ取り、「利用者からの感謝の言葉が原動力」となっていた。

「ひとり訪問による不安」や「ひとり訪問による危機感」から「フィジカルアセスメントへの学習意欲」になり、「診察力アップ講座を全て受講」したり、「他機関のフィジカルアセスメント講座を受講」「自己負担で聴診器を購入」したりしていた。「訪問看護師になり聴診器を所有」し、受講前から聴診を実践していった。

「訪問看護師になり5年目からフィジカルアセスメントの学習開始」し、「他機関のセミナーと図書でフィジカルアセスメントの形式知を自学自習」していたが、「自己のフィジカルアセスメント能力の自信の無さ」があった。「看護師ひとりひとりで学習」してきたり「複数の看護師で学習」したりしていたが、当時の管理者が「事業所内の看護師の学習意思統一」を図り「講師を依頼して学習」することを提案し診察力アップ講座が始まった。

「当初は看護師それぞれが聴診しない雰囲気」で聴診を行うことに反対意見もあったが、他の看護師も全員受講していたため「フィジカルアセスメントの重要性の認識」が改められ、「事業所内看護師のフィジカルアセスメントへの聴診意思統一」が徐々にされていった。「診察力アップ講座が事業所内看護師全員の聴診実践への後押し」となり、「他の看護師と聴診所見をディスカッション」され「フィジカルアセスメントについて話し合う雰囲気」が生まれ「講座によるフィジカルアセスメントの重要性の認識統一」となっていた。「診察力アップ講座が聴診実践への促進」していったと捉えている。

「看護学生の時のフィジカルアセスメント講義受講経験無く」、「卒後聴診器の所有無し」だったが、「一人訪問の不安」から聴診器を購入した。「習得していった経緯の振り返り」では、「フィジカルアセスメントの技術は診察力アップ講座で演習」し、「反復した実践と医師とのフィードバックにより習得」につながると捉えていた。「講義の受講と実践の重要性」を認識し、「臨床経験からくる形式知と実践知の習得の道筋」を示唆した。反復した実践により、「フィジカルアセスメントを通じた学習への楽しさ」や「聴診実践が曖昧な理解の部分を実感」し、「フィジカルアセスメントについて復習する意欲」が出て「自学自習への促進」が現れ、「診察力アップ講座が学習意欲を後押し」となっていた。

受講後に一番印象に残っている症例は、「多系統萎縮症で家族と同居し意思表示困難で人工呼吸器を装着している症例」であった。それは「吸引により肺胞呼吸音と酸素化が改善したのを聴診で実感」したからであった。

「聴診の習慣により異常を発見」し、「聴診で痰の貯留部位を予測」、「左無気肺の原因をアセスメントして推測」したことを「アセスメント内容を他の看護師へ周知」してその後の訪問看護に活かしていった。無気肺の原因は、「状況と他の看護師と話し合った結果」であった。振り返ると、「聴診習慣の無さ」や「異常を発見しようという意識した聴診実践の無さ」が、講座の受講と



実践を繰り返すことで、「聴診機会の増加」と「意識した聴診により所見を理解」となり、「普段から聴診の習慣」になっていった。また、「フィジカルアセスメントについて話し合う雰囲気」が生まれていたため「他の看護師も聴診習慣の獲得」となっていた。この「利用者の家族や他の看護師、医師へ状態報告を経験」が「説明能力向上」になっていると捉えている。

## 2) 研究参加者Eの理論記述

訪問看護の環境により、〈ひとり訪問による不安〉やひとり訪問による危機感から〈フィジカルアセスメントへの学習意欲〉が湧いてくる。そこから、他機関のセミナーと図書でフィジカルアセスメントの形式知を自学自習して、〈自己のフィジカルアセスメント能力の自信の無さ〉を補おうと努力していく。

診察力アップ講座を受けることで、〈フィジカルアセスメントの重要性の認識〉が改められていく。継続的な講義と演習により、〈フィジカルアセスメントを通じた学習への楽しさ〉や曖昧な理解の部分を自覚し、復習する意欲が出て、〈自学自習への促進〉となる。また、〈継続的な講義は学習意欲の後押し〉となる。〈講義から次の講義までの期間、聴診実践を行う〉ことで、聴診実践が曖昧な理解の部分を自覚し、〈反復した実践を医師または他の看護師とのフィードバックにより習得〉していく。それは、〈臨床経験からくる形式知と実践知の習得の道筋〉となる。

継続的に受けることで、〈事業所内看護師の聴診意思統一〉が徐々にされていき、聴診実践への後押しとなる。他の看護師と聴診所見がディスカッションされフィジカルアセスメントについて話し合う雰囲気が生まれ〈講座によるフィジカルアセスメントの重要性の認識統一〉といった組織風土になる。

## 6. 研究参加者F

### 1) 研究参加者Fのストーリーライン

病院で勤務している時は、消化器外科病棟におり、腹部の聴診は行っていた。また自分たちの世代の看護師は聴診を行う習慣がないと考えている。「看護協会主催のセミナーは全て受講」されており、「学習意欲が高い方」。

診察力アップ講座は、発起人であり、全て受講されている。「形式知の習得に演習が必須」であると「これまでの経験による考え」として導き出している。フィジカルアセスメントを理解するためには、「複数回受講が必要」で「経験した病棟での実践知が講義内容の理解促進」になると感じている。

診察力アップ講座を受けることで、「聴診の習慣化」になったが、「聴診の異常所見の理解困難さ」があり「異常を所見として捉える自信の無さ」を持っていた。理解困難な理由としては、「受講時期との関連」「総合的な判断能力」があり、関心の分散があったためだと本人は捉

えている。しかし「明らかな異常所見の察知」をしている自負があった。形式知を習得するステップとして、「聴診の習慣が付き、医師へ報告して振り返り、不足していた部分を省察という一連の流れの繰り返し」であると考えている。また、省察は「事業所で話し合うことで振り返り」することができるとしている。さらに、「医師に教えてもらう受動的な姿勢より質問する積極性」が必要で、「質問することで信頼関係が生まれ連携が取りやすくなり医師から訪問依頼される関係に発展」にもつながると考えている。

「管理者としての視点」としては、異動してきた当初、「訪問看護部署の申し送り時の肺音所見に感嘆」した。それは「これまでの経験に無」かったためだった。「現場に自分しかいない状況」から「訪問看護師の責任感」が強まり、「学習意欲の高さ」になっていると捉えている。また、現場での多かった症状から「呼吸器系アセスメントに注力」していると捉えていた。

### 2) 研究参加者Fの理論記述

看護協会主催のセミナーは全て受講し、学習意欲が高い志を持ち、〈診察力アップ講座を発起〉した。

臨床に関わる知識において、〈形式知の理解には演習が必須〉である。さらに、フィジカルアセスメントを理解するためには、〈複数回受講が必要〉であり、経験した病棟での実践知が講義内容の理解促進になる。次の段階では、診察力アップ講座を継続的に受けることで、〈聴診の習慣化〉になる。それを経て、形式知を習得するステップである〈聴診の習慣が付き、医師へ報告して振り返り、不足していた部分を省察という一連の流れの繰り返しといった循環〉ができあがる。さらに、聴診の習慣化に加え、〈事業所内でも振り返り〉、〈医師に質問する積極性〉が必要である。医師とコミュニケーションをとる機会が増えるため、訪問依頼される関係に発展や〈医師との信頼関係構築〉にもつながる。

## 7. 統合した概念図

研究参加者6名のストーリーラインと理論記述を網羅し、統合した概念図に構造化した(図1)。

## 考 察

### 1. ベナー看護論：技術習得レベルによる段階分け

研究参加者の理論を、ベナー看護論の看護実践の習熟度レベル<sup>9)</sup>を参考に、技術習得レベルに段階分けした。参考とした技能習得のドレイファスモデルは、個人の特性や才能をはかるモデルではなく、状況対応モデルである。そのため、技術習得レベルの定義に当てはめるだけでなく、各技術習得レベルの特徴に重点を置いて検討した。

#### 1) 初心者レベル

初心者とは、その状況に適切な対応をするための実践



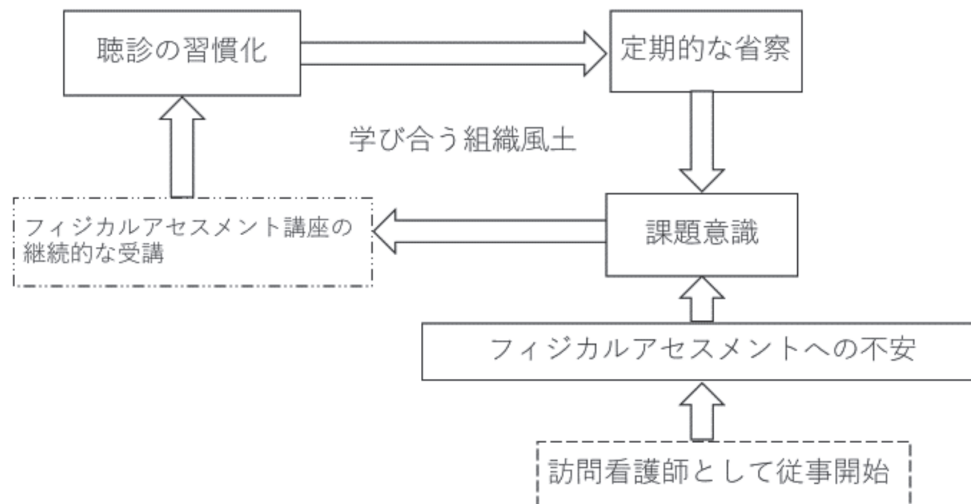


図1 統合した概念図

経験がない。臨床状況に身を置いて技能の向上に欠かせない経験を積むために、彼らはまず客観的的属性から状況を学ぶ。特徴は、原則どおりの行動には明らかに限界があり、柔軟性に欠ける。初心者は直面している状況を過去に経験したことがないので、どのように行動すべきか導いてくれる原則を与えてもらう必要がある一方、原則は実際の状況で何を最優先すべきか教えてくれるわけではないので、原則に従うことはかえって実践を成功させる妨げになる<sup>9)</sup>。

本研究の研究参加者は、全員、病院での臨床経験を20年以上積んでから訪問看護師として従事し始め、従事した後に数か月訪問看護を経験して独り立ちし、フィジカルアセスメント講座を受講していた。どんな看護師でも、経験したことのない科の患者を扱うとき、ケアの目標や手段に慣れていなければ、その実践は初心者レベルである。たとえば、成人重症ケアで学位を持ち経験を積んだ専門看護師であっても、NICUに移ればそこでの実践は初心者レベルになる<sup>9)</sup>、とされている。フィジカルアセスメント講座の内容を実践で活用しながら学んでいる段階ではあるが、訪問看護師として単独で訪問し自立しているため、今回の研究参加者は全員、初心者レベルではないと考えた。

## 2) 新人レベル

新人とは、かろうじて及第点の業務をこなすことができるレベルであり、ドレイファスモデルで「状況の局面」と呼んでいる「繰り返し生じる重要な状況要素」に気づく（あるいは指導者に指摘されて気づく）ことができる程度に状況を経験したレベルである<sup>9)</sup>。

研究参加者A、研究参加者B、研究参加者Cが新人レベルであると考えられた。3名の理論記述の共通する特徴として、〈聴診所見の理解〉、〈聴診による病態のイメージ化〉、〈学ぶ楽しさ〉、〈カルテ記載への自信の無さ〉が抽出された。初心者や新人レベルでは、直面する状況は

あまりに不慣れで、未知で、しかも教わった規則を思い出すことに集中しなければならない<sup>9)</sup>とあり、講義で学んだ形式知と実践知の結びついた〈聴診の理解〉、〈聴診による病態のイメージ化〉の具体的な記載が多かった。渡邊<sup>10)</sup>は、成長したと思うきっかけになった経緯を自分のアセスメントの結果で異常が発見できた時、病態とつながった時と述べている。新人レベルでは、フィジカルアセスメントに関する自己視点の省察が特徴的であると考えられる。

新人レベルへの学習の示唆では、個々の属性、局面の重要性の違いを理解する必要がある。特徴的な局面に基づいて優先順位を決めることを学ぶこの時期は、指導者からの助言が大切となる。訪問看護においては、基本的にひとりで訪問するため、指導者の助言を受けながらフィジカルアセスメントを行うことは困難であると考えられる。この場合は、訪問後に事業所内で他の看護師と振り返りを行うことが重要であると考えられる。

## 3) 一人前レベル

一人前レベルは、似たような状況で2、3年働いたことのある看護師の典型であり、意識的に立てた長期の目標や計画を踏まえて自分の看護実践をとらえ始めるとき、看護師はこのレベルに達する。

研究参加者D、研究参加者Eが一人前レベルであると考えられた。2名の理論記述の共通する特徴として、〈フィジカルアセスメントを活かした重症度判定〉、〈患者へのサービス調整ができる〉、〈ディスカッションへの促し〉、〈フィジカルアセスメントの大切さを自覚〉が抽出された。それらは、フィジカルアセスメント講座から得られた知識を臨床で活用した範例、職場内での範例を通したディスカッションといった臨床での応用や他者の理解を知るといったフィジカルアセスメント講座の理解の枠組みを超えていると考えられた。また、一人前レベルの看護師は中堅レベルの看護師のようなスピードと柔

軟性に欠けるが、自分はある技能レベルに達しているという自信と、臨床での不測の事態に対応し、管理する能力を持っている<sup>9)</sup>とされており、〈患者へのサービス調整ができる〉という構成概念が特に表していると考えられる。

一人前レベルへの学習示唆では大変な努力の末に、ようやく臨床の世界が整理されて見えてくる段階である。この段階のナースには、多様で複雑な患者ケアを計画し調整する練習になるような意思決定ゲームやシミュレーションが役に立つ<sup>9)</sup>と言われており、今後はシミュレータ、もしくは模擬患者を利用したシナリオトレーニングが有用であると考えられる。

#### 4) 中堅レベル

中堅レベル看護師の特徴は、状況の局面の視点ではなく全体として捉え、格率に導かれて実践を行っていることである。このレベルのキーワードは知覚である。大局観は考え抜いて得るものではなく、経験と最近の出来事からして「そうであることは明らか」なものである。中堅レベル看護師が全体として状況を理解しているのは、長期目標を踏まえて状況の意味を知覚しているからである。中堅レベル看護師は、ある状況下で起こりうる典型的な事態と、そのような事態に応じてどのように計画を修正するべきか、を経験から習得する。

研究参加者Fは、中堅レベルであると考えられた。研究参加者Fの理論記述の特徴から、〈総合的な判断能力〉、〈聴診の習慣が付き医師へ報告して振り返り不足していた部分を省察するという一連の流れの繰り返し〉、〈事業所で話し合う振り返り〉が抽出された。F氏は、管理者という立場もあり、自己の看護実践だけでなく、他の看護師の報告や記録、事業所内での振り返りでの様子を観察したことを語っていた。訪問看護時は、フィジカルアセスメントから得られた情報を一部として捉え全体的に判断し、事業所内外では他業種とのフィードバックをしている。

中堅レベル看護師を教育する最善の方法は、状況把握能力が最も要求される事例研究を行うことである。大局観を得るための経験や範例を引き合いに出すよう求めれば、そこで学ぶ人の熟練度がさらに深まる。中堅レベル看護師には帰納的に教えるのが最も効果的である。すなわち、1つの臨床状況を材料にして、看護師にその状況に対する自分の理解の仕方では解決できない状況が提供されたとき、学習が必要で有意義な領域が見えてくる。学習課題は、中堅レベルの看護師に、自分の体験に基づいた2種類の事例、「自分の看護介入により状況が良くなり、うまくいったと感じている事例」、「自分の看護実践に納得いかなかったか、葛藤や混乱を感じた事例」、を提出してもらうことから展開させることができる。今後は、事業所内で事例発表を行い、他の看護師と討論していくことが有用であると考えられる。

#### 5) 達人レベル

達人になると、自分の状況把握を適切な行動に結びつけるのに、もはや分析的な原則には頼らない。達人看護師は膨大な経験を積んでいるので、多くの外的診断や対策を検討するという無駄をせず、1つひとつの状況を直観的に把握して正確な問題領域に的を絞る。

今回、研究参加者のインタビューデータから得られた理論や範例からの気づきなどから達人レベルであると判断することは困難であった。達人は、状況全体の深い理解に基づいて行動するとされている。チェスの名人を例にとると、「あの絶妙な一指しはどうやって思いついたのか」と問われたときに、「それが正しように思われたから」とか「良い手のように見えたから」としか言わないといわれている<sup>9)</sup>。このような事象をインタビューのみで判断することは難しく、参加観察も加える必要があったのではないかと考えた。

#### 2. 実践コミュニティ

図1に示した概念図のように、A訪問看護ステーションがフィジカルアセスメント講座を受講し始めたことで、実践コミュニティになっていると考えられた。Lave and Wenger<sup>11)</sup>は、実践コミュニティとは「あるテーマについての関心や問題、熱意などを共有し、その分野の知識や技能を、持続的な相互交流を通じて深めていく人々の集団である」と述べている。実践コミュニティの特徴は、メンバーが情報や洞察を共有し、アドバイスを与えあい、協力して問題を解決する。ともに学習することに価値を認め、非公式なつながりを持つ点である<sup>12)</sup>。

フィジカルアセスメントは、身体情報と生活環境情報を連結させていることに気づくが、フィジカルアセスメントへの自己の未熟さを振り返り、課題意識が生まれてくる。そのような中、フィジカルアセスメント講座を受講することで、行動変容が起り、聴診の習慣化になっていった。反復しながら未熟な知識や技術を省察し、新たな課題意識を生む循環が生まれていると考えられた。また、事業所内で他の看護師と振り返り、徐々に技術習得レベルが研鑽され、看護実践に活かされていっていると考えられる。

#### 本研究の限界

本研究の研究参加者は一訪問看護ステーションに勤務する訪問看護師であり、他の地域や機関で活動する訪問看護師にそのまま適用するには限界がある。

#### 結語

継続したフィジカルアセスメント講座受講により、段階的に看護師の技術習得レベルが向上し、事業所単位で実践コミュニティとなることが示唆された。

## 謝 辞

本研究の実施にあたり、研究にご理解をいただき快く承諾いただきました研究参加者の皆様に、心より感謝申し上げます。成人看護学講座の大学院生と家族に、心から感謝致します。

## 文 献

- 1) 厚生労働省：平成30年版厚生労働白書—障害や病気などと向き合い、全ての人が活躍できる社会に—：365, 2018.
- 2) 猪飼周平：地域包括ケアの社会理論への課題：健康概念の転換期におけるヘルスケア政策. 社会政策 2 (3) : 21-38, 2011.
- 3) 島崎謙治：地域包括ケアシステムとは何か. 看護白書平成26年版 地域包括ケアシステムと看護：2-11. 日本看護協会, 2014.
- 4) 山内豊明：在宅におけるフィジカルアセスメント 訪問看護におけるフィジカルアセスメントの意義. コミュニティケア 8 (12) : 12-13, 2006.
- 5) 山城清二：南砺市の地域医療再生マイスター養成講座の紹介. 第6回北陸総合診療懇談会, 2009.
- 6) 大谷尚：SCAT: Steps for Coding and Theorization. 感性工学 10(3) : 155-160, 2011.
- 7) グレグ美鈴・麻原きよみ・横山美江：よくわかる質的研究の進め方・まとめ方 第2版. 医歯薬出版, 2016.
- 8) Lincoln, YS. and Guba, EG.: Naturalistic Inquiry: 289-331. Sage Publications, Newbury Park, CA, 1985.
- 9) パトリシア ベナー：ベナー看護論—初心者から達人へ新訳版. 医学書院, 2005.
- 10) 渡邊光代：臨床看護師がフィジカルアセスメント技術を習得する過程に関する研究. 目白大学健康科学研究 10 : 23-32, 2017.
- 11) Lave, J. and Wenger, E.: Situated learning: Legitimate peripheral participation, Cambridge University Press, New York, 1991.
- 12) 松尾陸：経験からの学習 プロフェッショナルへの成長プロセス：42-48. 同文館出版, 2006.



原 著

# 睡眠状態に特異的な前頭前野の神経活動動態

大野駿太郎・野本真順・井ノ口馨

Sleep state-specific neuronal activity dynamics in the prefrontal cortex.

Shuntaro OHNO<sup>1,2</sup>, Masanori NOMOTO<sup>1,2</sup>, Kaoru INOKUCHI<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Department of Biochemistry, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama<sup>2</sup>Research Center for Idling Brain Science, University of Toyama

## 【和文要旨】

内側前頭前野は多数の脳領域からの情報を統合しており、その機能の実現のために睡眠中の働きが注目されている。睡眠はrapid eye movement (REM) 睡眠とnon-REM (NREM) 睡眠に分けられ、それぞれが異なる様式で、様々な脳機能に貢献すると考えられているが、その神経基盤は不明である。

我々は睡眠中のマウスの内側前頭前野をカルシウムイメージング法によって撮影し、各睡眠状態に特徴的な神経活動を解析した。その結果、NREMとREM睡眠中の神経活動特性は有意に異なり、その差異は睡眠状態の切り替わりに鋭敏に反応する細胞集団によって構成されていることが明らかになった。

内側前頭前野のNREMまたはREM特異的な活動特性は長期間保存されるため、これらは回路として組み込まれた機能である可能性が高い。以上の結果は、NREMとREM睡眠の機能的役割の違いが、回路レベルで実現されていることを示唆している。

## 【英文抄録】

The medial prefrontal cortex integrates information from numerous brain regions, and its function during sleep has become of interest. Sleep can be divided into rapid eye movement (REM) and non-REM (NREM) sleep, each of which is thought to play distinct roles in various brain functions, but its neural basis is unknown. We recorded the cell activities in medial prefrontal cortex of sleeping mice using calcium imaging and analyzed the neuronal activity characteristic of each sleep state. The results revealed that the characteristics of neural activity during NREM and REM sleep differ significantly and that the differences are attributed to cell populations that acutely response to the sleep state switching. NREM or REM-specific activity properties in the medial prefrontal cortex are likely to reflect hard-wired functions, as these were preserved over time. We demonstrate that the hard-wired circuits contribute to the distinct functional roles of NREM and REM sleep.

**Key words:** Sleep, Prefrontal cortex, Calcium imaging

## はじめに

内側前頭前野は記憶の定着や意思決定に重要な脳領域であり、外界の状況文脈と、それに対する感情などの内的な反応を結び付ける役割を果たすと考えられている<sup>1)</sup>。実際、内側前頭前野は他の新皮質領域や視床、扁桃核、海馬など、様々な領域からの投射を受け、それらの情報を統合している<sup>2)</sup>。こうした情報統合の機能を果たすには、新規の刺激が次々と流れ込んでくる覚醒時よりも、外部からの情報入力に限られた安静時や睡眠時の方が適している<sup>3,4)</sup>。

睡眠は大まかに、急速な眼球運動を伴うRapid Eye

Movement (REM) 睡眠と、それ以外の時間帯のnon-REM (NREM) 睡眠に分けることができる。NREMとREM睡眠は学習の文脈においてそれぞれ異なる役割を果たすと考えられており、NREM睡眠中は脳新皮質と海馬が積極的な連絡を行っているのに対し、REM睡眠中はこの連絡が遮断され、脳新皮質は独立した活動パターンを示すようになるというモデルが提案されている<sup>5)</sup>。これにより、NREM睡眠中は覚醒時に得た情報の定着、REM睡眠中は異なる情報の統合を行うことで、創造性の発現が可能になると想定される。しかし、NREMおよびREM睡眠それぞれの状態の中で、とくに

(受稿2022.8.29/受理2022.9.22)

<sup>1</sup>富山大学 学術研究部 (医学系) 生化学講座<sup>2</sup>富山大学 アイドリング脳科学研究センター



情報統合に重要な役割を果たす内側前頭前野において、具体的な神経活動の特性にどのような違いがあるかは不明であった。

我々は睡眠中の内側前頭前野の神経活動を観察するため、カルシウムイメージング法による計測を行った。この手法では、カルシウム濃度依存的な輝度変化を示すカルシウムインジケータG-CaMPを神経細胞に導入し、神経活動に伴うカルシウム流入を神経活動の指標として記録している<sup>6)</sup>。記録された神経活動のデータに基づいてNREMおよびREM睡眠における神経活動特性の違いを検証した後、この違いを生み出す特徴的な神経細胞集団を抽出した。最後に、それらの神経細胞集団や、内側前頭前野全体の神経回路網としての特性が、時系列的にどのような変化をするのかについて解析した。

## 材料と方法

### I. 睡眠中の神経活動の計測

本論文における動物実験は、富山大学動物実験委員会により承認され（承認番号：A2019MED-35, A2022MED-7）、国立大学法人富山大学動物実験取扱規則に従って実施された。同様に、遺伝子組換え実験も富山大学遺伝子組換え生物等使用実験安全管理委員会により承認され（承認番号：G2018MED-5, G2020MED-4）、国立大学法人富山大学遺伝子組換え生物等使用実験安全管理規則に従って実施された。

我々は、睡眠中の神経細胞のカルシウムイメージングを行うため、3-5ヶ月齢のマウスに麻酔下でSynI::janelia G-CaMP7bウイルスを右側内側前頭前野（-2.0mm AP, +0.3mm ML, +2.2DV from bregma）に導入した。2週間の回復期間の後、再び麻酔下でGRIN（Gradient Index）レンズを注入中心に挿入し（図1A）、同時に局所脳波（electroencephalogram: EEG）と筋電位（electromyogram: EMG）を計測するため、特注のEEG/EMG 5ピンシステム<sup>7)</sup>とともに、歯科用セメントで頭蓋骨に固定した。

睡眠実験は6日間にわたって行い、うち1, 2, 6日目の睡眠時にカルシウムイメージングを行った。内側前頭前野の興奮性神経細胞に発現するG-CaMP7タンパク質から生じるCa<sup>2+</sup>シグナルをInscopix社のnVistaシステムによって20Hzで記録し、同様にInscopix社のデータ処理ソフトウェアを用いて動画の結合と動き補正を行った後、各セッションの蛍光信号の強度変化（dF/F）を計算した（図1B）。このデータを、細胞自動選別システムであるHOTARU<sup>8)</sup>で解析して細胞を同定し、時間×神経細胞の2次元形式で抽出した。

カルシウム蛍光と同時に頭頂皮質領域に留置したネジ電極からEEG、頸部の筋肉に留置したワイヤー電極からEMGを取得し、アンプで信号を増幅した後、覚醒または睡眠状態の判定のために使用した。まず、EMGの

二乗平均平方根を計算し、静止中と睡眠中を区別する閾値を各マウスで目視にて決定し、値が閾値を下回った時間帯を睡眠中と判定した。さらに、EEGからはデルタ波（1-4Hz）とシータ波（6-9Hz）のパワーを計算し、それらの比をデルタ/シータ比（D/T比）として睡眠ステージの判定のために保存した。過去の報告より、マウスの覚醒および睡眠状態と、EEGおよびEMGから計算した指標を同時にプロットすると、覚醒と睡眠はEMGの時間積分によって、NREM睡眠とREM睡眠はD/T比によって高精度で区別できることが知られている<sup>9)</sup>。具体的には、REM睡眠中にはシータ波優位となるため、D/T比は小さくなり、逆にNREM睡眠中ではデルタ波優位となり大きくなる。この知見に基づく覚醒および睡眠状態の判定基準はAlyら<sup>4)</sup>や宮本ら<sup>7)</sup>によっても使用されている。後述する相対population vectorの算出に際し、我々はD/T比の時系列データを10秒ごとに分割・平均した値に基づいてNREMおよびREM睡眠の時間帯を簡易的に判定した。ただし、ここでは睡眠状態をNREMまたはREM睡眠のいずれかの状態に二分する上でより適切な境界を設定するため、判定の閾値をK-meansクラスタリングによって決定した<sup>10)</sup>（図1C, D）。

### II. NREM特異性またはREM特異性を表現する指標の開発

計測視野内の細胞全体としての活動傾向を評価するために、相対population vectorという指標を開発した。これはV<sub>NREM</sub>とV<sub>REM</sub>の1対のベクトルで構成され、それぞれの要素数は細胞数に等しい。V<sub>NREM</sub>（V<sub>REM</sub>）のi番目の要素には、i番目のIDが与えられた細胞のdF/F値の全時間積分のうち、NREM（REM）睡眠中のみでの時間積分の割合が入る。そのため、V<sub>NREM</sub>とV<sub>REM</sub>の各要素の和はすべて1になる（図1E）。この2ベクトルが成す角度 $\theta$ を求めることで、睡眠状態に依存した細胞活動の偏りを評価することができる（図1F）。すなわち、活動の比率がすべての細胞についてNREM:REM=0.5:0.5となる場合には $\theta=0^\circ$ となるが、NREM:REM=0.9:0.1等の偏りが生じた細胞が増えると $\theta$ は $90^\circ$ に近づく。ただし、NREMとREM睡眠の長さが異なるため、細胞活動と睡眠状態に関係がない場合でも活動比率がNREM:REM=0.5:0.5となるとは限らない。そこで我々は、乱数を用いて各細胞のdF/F値をランダムに時間シフトしてシャッフルデータを作成した。これを用いて同様の相対population vectorと角度の計算を行うことで、データの特性を反映しつつ、細胞活動が睡眠状態に依存しない場合に想定される角度の分布を求めることができる。我々は、各マウスとイメージングを行った日付（1, 2, 6日目）ごとに100個のシャッフルデータを作成して角度の分布を求め、実際の $\theta$ の値と比較した（図1G）。

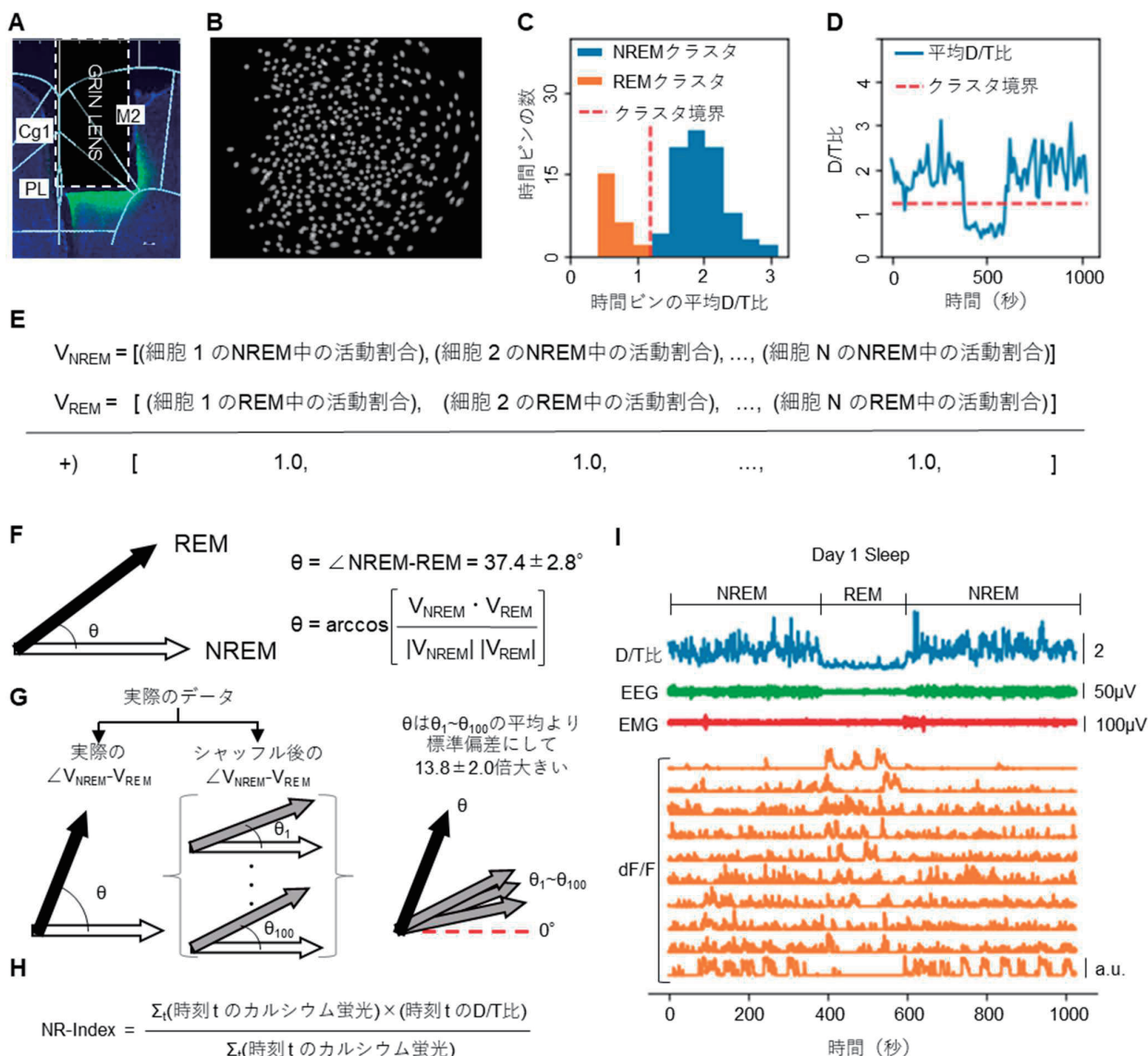


図1 NREMとREM睡眠中の細胞活動

(A) GRINレンズの留置位置。(B) 検出された細胞のフットプリント。(C) D/T比のデータを10秒ごとに分割して時間ビンとし、その区間のD/T比の平均値をもとにプロットしたヒストグラム。K-meansクラスタリングによって分割されたNREMまたはREM睡眠期間に対応するビンごとに色分けを行った。(D) 10秒ごとに分割して平均をとったD/T比の時系列と、K-meansクラスタリングによるクラスタ分類の決定境界。(E) 相対Population Vectorの定義。Population Vectorは各細胞の全活動量に占めるNREM/REM睡眠中の割合を表現するため、 $V_{NREM}$ と $V_{REM}$ の各成分の和は1になる。(F) NREMとREM睡眠中における細胞活動の違いを、相対population vectorが成す角度から表現した図。(G) シャッフルデータから計算された角度のばらつきと、実際の $V_{NREM}-V_{REM}$ の角度の関係を示した模式図。(左) 各マウスの各日付から得られたデータについて、実際の $V_{NREM}-V_{REM}$ の角度を求めると同時に、データをシャッフルした場合の $V_{NREM}-V_{REM}$ の角度を100回計算した。(右) すべてのデータに対する結果を総合すると、すべてのマウスと日付について、実際のデータから算出された角度は、シャッフルデータから計算された角度の分布の平均に対し、分布の標準偏差の $13.8 \pm 2.0$ 倍の大きさを持った。(H) NR-Indexの定義式。(I) ID:4のマウスについて、1日目の睡眠中に得られたD/T比、EEG、EMGを上段にプロットした。下段には、全細胞(559個)をNR-Indexによって10分割し、上から順にNR-Indexが小さくなるように10細胞を選び、そのカルシウム蛍光値(dF/F)をプロットした。dF/F値は細胞ごとに最大値によってスケールした。(a.u.: arbitrary unit.)

また、個々の細胞の神経活動がNREMまたはREM睡眠中に集中している場合の偏りの程度を量的に評価するため、我々は各神経細胞のdF/F値と睡眠時間中のD/T比の積を標準化した指標(NR-Index)を開発した(図

1 H)。NR-Indexは、睡眠中の神経活動がNREM睡眠中に偏っていた場合は大きく、REM睡眠中に偏っていた場合は小さくなる。我々は、前者のようにNREM睡眠中にのみ激しく活動し、REM睡眠中には活動が著しく



低下する細胞をNREM特異細胞, その逆の挙動を示す細胞をREM特異細胞と呼称した。

## 結果

D/T比に基づくK-meansクラスタリングによって, 睡眠状態はNREMまたはREM睡眠に適切に分類された(図1C, D)。図1Cのヒストグラムから, 平均D/T比の分布は2群に分かれることが明白であり, クラスタ境界はこれらを正しく区別した。内側前頭前野の神経細胞全体におけるNREM/REM睡眠中の活動特性の違いを検証するために計算した相対population vectorが成す角度は $37.4 \pm 2.8^\circ$ であった(図1F)。それぞれのマウス・日付ごとのデータの特性を考慮して, 偶然により生じる角度との差異を検討するために, この角度とシャッフルデータから計算した角度の分布との比較を行った。その結果, すべての場合について, 実際のデータから計算された角度は, シャッフルデータから計算された角度の平均よりも, 分布の標準偏差の $13.8 \pm 2.0$ 倍大きな値を取

っていた(図1G)。すなわち, すべてのマウス・日付において, 内側前頭前野の神経細胞全体のふるまいはNREMとREM睡眠の間の変化に伴って大きく変化していることが示された。

睡眠中の神経活動の全体像は図1Iの通りである。ここではNR-Indexにしたがって全細胞をソートし, 最小から最大の値を持つ細胞が均等に取り上げられるように代表的な10個の細胞を表示した。最小のNR-Indexを持つ細胞(dF/F最上段)はその活動のほとんどがREM睡眠中に集中し, NR-Indexが大きくなると活動割合が均等になり, 最終的にはREM睡眠での活動がほとんど見られなくなった(dF/F最下段)。

次に, 上記のような活動特性の違いを生み出すと考えられるNREMおよびREM特異細胞群に注目し, それら個々の活動特性の時間的変化について検証した。図1Iの最上・下段のように, NR-Indexが小さい・大きい細胞を抽出すると, これらの細胞の活動がNREM睡眠あるいはREM睡眠に対し非常に特異的であった(図2

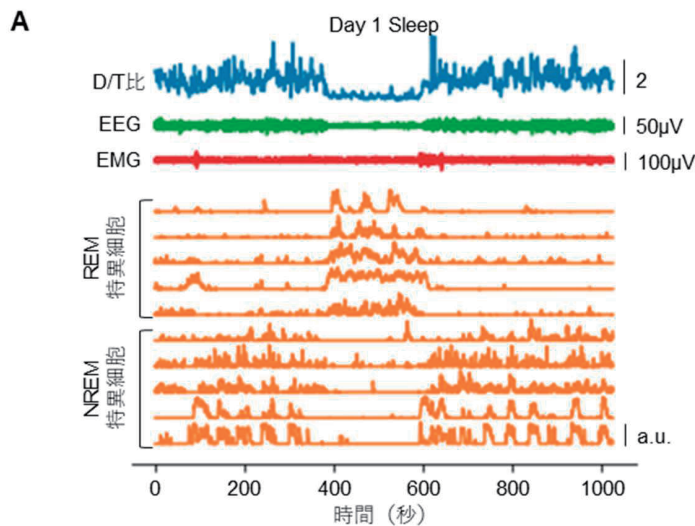
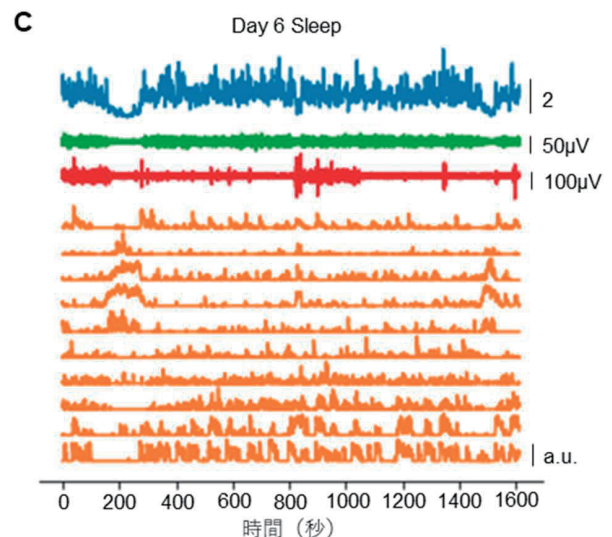
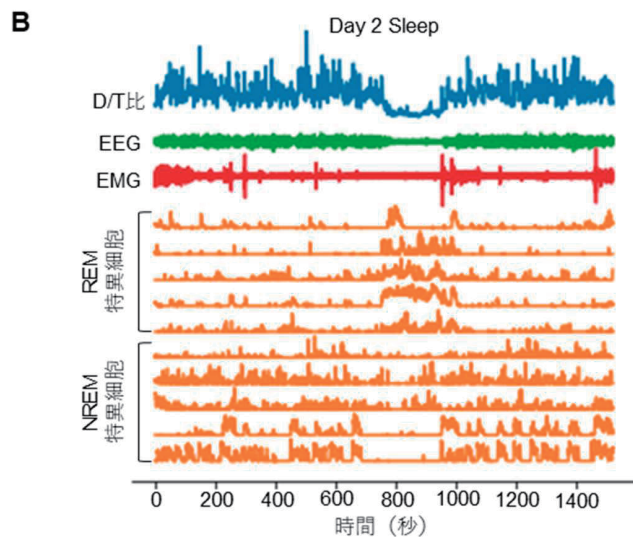


図2 NREMまたはREM特異細胞の保存性の追跡

(A) ID: 4のマウスについて, NR-Indexが上位・下位の神経細胞(すなわち, NREM/REM特異細胞)から各5個ずつ抽出し, カルシウム蛍光値をD/T比, EEG, EMGと並べてプロットした。

(B) 1日目の睡眠時にNREMまたはREM特異細胞と判定された(Aで抽出されたものと同じID)の細胞について, 2日目の睡眠中のカルシウム蛍光値をD/T比, EEG, EMGと並べてプロットした。(C) Bと同様のことを, 6日目の睡眠に関して行った。(a.u.: arbitrary unit.)



A)。なお、1日目の睡眠中のデータからNREMまたはREM特異的であると判断された細胞の活動を、2、6日目の睡眠中にも追跡すると、そのほとんどがNREMまたはREM特異性を保っていた(図2B,C)。

これらの結果は実験に用いたすべてのマウスについて見出され、異なる日の睡眠中に得られたNR-Indexの値は有意な正の相関を示した(図3A)<sup>11)</sup>。そして、NR-Indexが大きい・小さい細胞(すなわち、NREMあるいはREM睡眠に特異的な活動特性を示す細胞)の空間分布には、特に偏りが見られなかった(図3B)。

### 考 察

本研究により、内側前頭前野には、NREMまたはREM睡眠時に特異的な活動特性を示す細胞集団が、空間的な細胞局在に依存せず均一に分布して存在することが示された。また、その細胞特性は日を跨いでもほとんど変化しなかった。

学習により神経細胞(特に興奮性神経細胞)間の結合強度が変化し、神経ネットワークの相対的關係により各細胞の活動特性が変化するという脳の可塑的な機能を考慮すると、睡眠中のこうした固定的な性質は、NREM

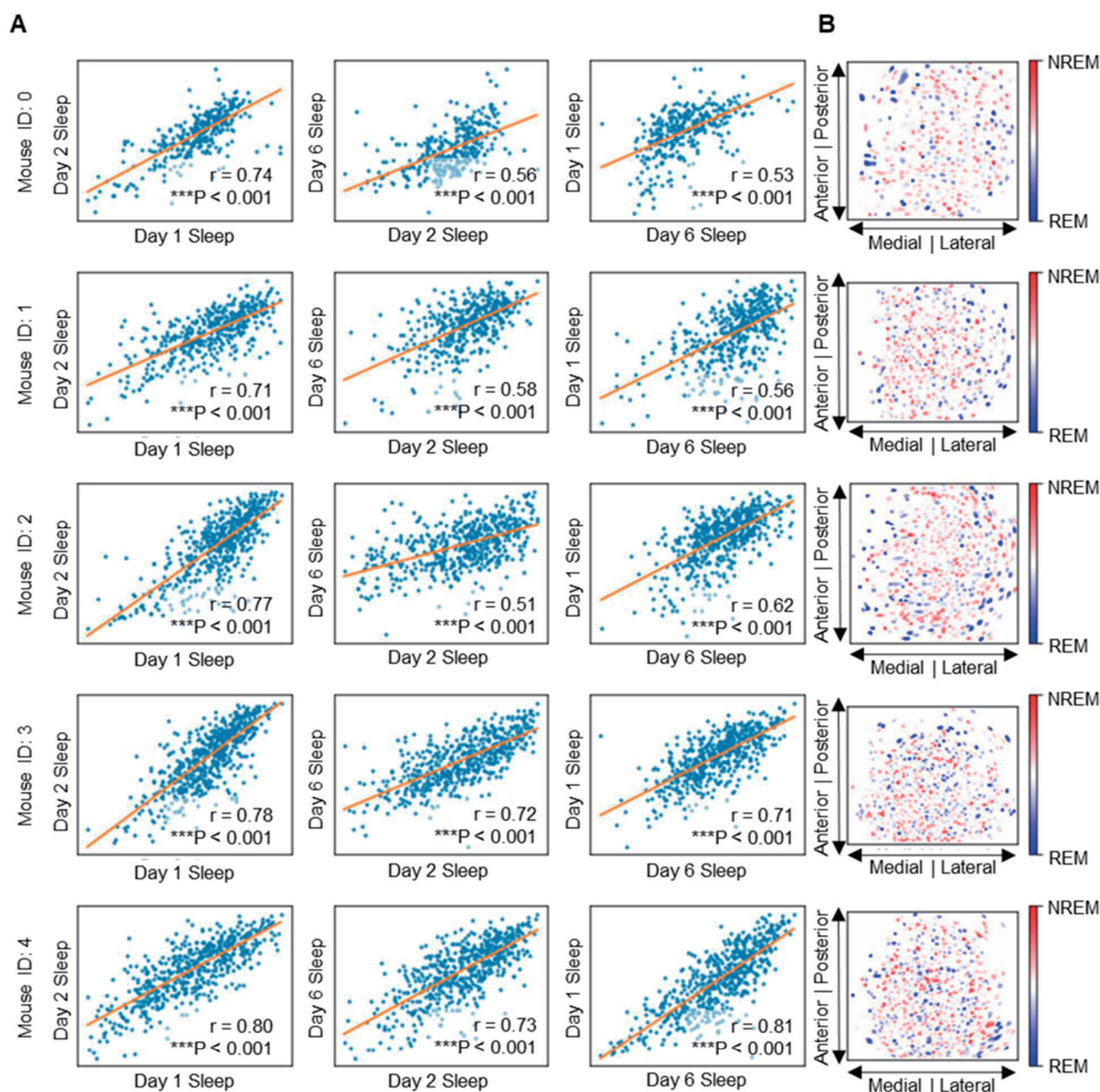


図3 日を跨いだNR-Indexの一貫性と細胞空間分布

(A) 実験に用いた5匹のマウスについて、1、2および6日目の睡眠で得られた各細胞のNR-Indexの相関を示した。これらのピアソン相関係数は、Kowalskiの検定によりすべて有意な正の値と判定された(\*\*\*P<0.001)。検出された細胞数はそれぞれ、ID0:347個、ID1:455個、ID2:546個、ID3:568個、ID4:559個であった。(B) 各マウスの計測視野における、1日目の睡眠のNR-Indexの空間分布。



またはREM睡眠に対して特徴的な反応を示す①他の脳領域からの入力による制御, または②抑制性局所回路による制御, もしくはその両方によるhard-wiredなメカニズムの影響を強く受けていると考えることができる。例えば外側前頭前野のⅡ/Ⅲ層の神経細胞は, それぞれ parvalbumin (PV), vasoactive intestinal peptide (VIP), somatostatin (SOM) 陽性の抑制性神経細胞によって構成される, 局所的な抑制ネットワークによって制御され, この抑制ネットワークが外部脳領域(例えば中内側視床)からのREM睡眠特異的な入力を受けることによって, 細胞体と樹状突起のREM睡眠特異的な活性化パターンを示すことが知られている<sup>12)</sup>。

同様の局所抑制ネットワークは脳全体に広く存在する<sup>13,14)</sup>。とくに内側前頭前皮質では, 睡眠中に抑制性細胞が外部からの活性化を受けることによって, 海馬や視床など様々な領域から受ける入力を効率的に分離できる可能性が示唆されている<sup>15)</sup>。したがって, 上記①他の脳領域からの制御と②抑制性局所回路の両方の要因が, NREM特異細胞とREM特異細胞を生み出している可能性が高い。

図2B, Cを詳細に観察すると, ほとんどのNREMまたはREM特異細胞は6日間非常によく保存されているが, うちいくつかはその特徴を変化させているようにも見受けられる(例えば, 最上段のREM特異細胞)。図3の結果から, こうした変化は神経細胞全体の反応特性に大きな影響を与えていないが, こうした微細な変化が学習を反映していることは否定できない。

今後の研究の方向性として, 図2で見られたようなNREMとREM睡眠の切り替わりに対し非常に敏感な反応を示す神経細胞集団の存在が, 内側前頭前野に特有のものであるかを検証することは重要である。前述の局所抑制ネットワークを構成する抑制性細胞の中でも, 内側前頭前野においてはPV陽性細胞の割合が少ないことが知られており<sup>2)</sup>, こうした他の脳領域との差異が, 明瞭なNREMまたはREM特異細胞を生み出しているかもしれない。また, NREMあるいはREM特異細胞が, 覚醒中にどのような情報をコードしているのかを調べる必要もあるだろう。その結果, NREM睡眠中は外界からの刺激と内的な情動などの反応がコードされた細胞群が激しく活動して記憶の定着を促進する一方, REM睡眠中は様々な状況文脈の情報をコードした細胞群が活発なランダム発火をすることによって創造的な概念形成を行っている, といった, 睡眠状態の役割のモデルを神経基盤から説明することが可能になるかもしれない。こうしたhard-wiredに実装された機能と, それをもたらすsoftな神経可塑性への影響をそれぞれ分析することで, これまで100年余りに渡って研究されてきた, 脳機能における睡眠の重要性の正体を明らかにできると考えられる。

## 【謝辞】

本研究は日本学術振興会 科学研究費助成事業 特別推進研究(研究課題番号: JP18H05213), 基盤研究(B)(20H03554), 公益財団法人富山第一銀行奨学財団「研究活動に対する助成」, 武田科学振興財団 医学系研究助成, 成茂神経科学研究助成基金, ほくぎん若手研究者助成金, 田村科学技術振興財団の助成を受けたものです。

## 【文献】

- 1) Euston D. R., Gruber A. J. and McNaughton B. L.: The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making, *Neuron*. **76**: 1057-1070, 2012.
- 2) Anastasiades P. G. and Carter A. G.: Circuit organization of the rodent medial prefrontal cortex, *Trends Neurosci.* **44**: 550-563, 2021.
- 3) Rasch B. and Born J.: About sleep's role in memory, *Physiol. Rev.* **93**: 681-766, 2013.
- 4) Aly M. H., Abdou K., Okubo-Suzuki R., et al.: Selective engram coreactivation in idling brain inspires implicit learning, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **119**: e2201578119, 2022.
- 5) Lewis P. A., Knoblich G. and Poe G.: How memory replay in sleep boosts creative problem-solving, *Trends Cogn. Sci.* **22**: 491-503, 2018.
- 6) Stosiek C., Garaschuk O., Holthoff K. and Konnerth A.: In vivo two-photon calcium imaging of neuronal networks, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **100**: 7319-7324, 2003.
- 7) Miyamoto D., Hirai D., Fung, C. C., et al.: Top-down cortical input during NREM sleep consolidates perceptual memory, *Science*. **352**: 1315-1318, 2016.
- 8) Takekawa T., Asai H., Ohkawa N., et al.: Automatic sorting system for large calcium imaging data, *bioRxiv*. 2017.
- 9) Kohtoh S., Taguchi Y., Matsumoto N., et al.: Algorithm for sleep scoring in experimental animals based on fast Fourier transform power spectrum analysis of the electroencephalogram, *Sleep and Biological Rhythms*. **6**: 163-171, 2008.
- 10) Yaghouby F. and Sunderam S.: SegWay: A simple framework for unsupervised sleep segmentation in experimental EEG recordings, *MethodsX*. **3**: 144-155, 2016.
- 11) Kowalski C. J.: On the effects of non-normality on the distribution of the sample product-moment correlation coefficient, *Journal of the Royal Statistical Society. Series C (Applied Statistics)*. **21**: 1-12, 1972.
- 12) Aime M., Calcini N., Borsa M., et al.: Paradoxical somatodendritic decoupling supports cortical plasticity during REM sleep, *Science*. **376**: 724-730, 2022.
- 13) Niethard N., Hasegawa M., Itokazu T., et al.: Sleep-stage-specific regulation of cortical excitation and inhibition, *Curr. Biol.* **26**: 2739-2749, 2016.



- 14) Niethard N., Ngo H. V., Ehrlich I., Born J.: Cortical circuit activity underlying sleep slow oscillations and spindles, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **115**: 9220–9229, 2018.
- 15) Peyrache A., Battaglia F. P., Destexhe, A.: Inhibition recruitment in prefrontal cortex during sleep spindles and gating of hippocampal inputs, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **108**: 17207–17212, 2011.



## 症例報告

# COVID-19流行期がために診断に苦慮した 中咽頭癌症例について

中里 瑛<sup>1,2</sup>・朝日香織<sup>1</sup>・将積日出夫<sup>2</sup>

A case of oropharyngeal carcinoma that was difficult to diagnose due  
to the COVID-19 epidemic

Akira NAKAZATO<sup>1,2</sup>, Kaori ASAH<sup>1</sup>, Hideo SHOJAKU<sup>2</sup><sup>1</sup>Department of Otolaryngology, Joetsu General Hospital<sup>2</sup>Department of Otolaryngology, University of Toyama, Toyama, Japan

## 【和文要旨】

COVID19流行期における咽頭疾患への対応は耳鼻咽喉科医として大変苦慮するところである。当科では咽頭内視鏡検査の際には、日本耳鼻咽喉科学会や英国耳鼻咽喉科学会が推奨する感染対策に従い、診察医はFull-PPE対応、患者はサージカルマスク着用しつつ鼻腔のみを出して経鼻からのチェックをおこなっていた。この方法は咽頭刺激による咳反射で発生するエアロゾルが飛散しにくく、鼻腔から上・中・下咽頭や喉頭を観察できる有用な方法である。しかし、この方法で施行した内視鏡検査や頸部針細胞診では悪性所見を発見できず、サージカルマスクを外して経口で施行した内視鏡検査や口蓋扁桃を触診することではじめて中咽頭癌の頸部リンパ節転移と診断することができた頸部のう胞性腫瘍の症例を経験した。この症例の診断には約3カ月を要してしまった。このことからCOVID19流行期においても状況に応じて経口からの内視鏡観察をおこなう必要があることを反省の意味を込め報告する。

## 【英文要旨】

Under the current epidemic of COVID-19 infection, it is a very difficult task for otorhinolaryngologists to examine patients with pharyngeal disease. In our department, when performing an endoscopic examination of the pharyngeal region, the surgeon wear full-PPE and the patient wear a surgical mask covering his or her mouth, excluding nose, during the procedure, in accordance with the infection control measures of the Japanese Society of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery and British Association of Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery. This method is useful for observing the superior, middle, and inferior pharynx and larynx through the nasal cavity and is less likely to cause a cough reflex due to pharyngeal irritation. We experienced a patient who required 3 months from the onset of symptoms to diagnose a cystic neck mass as a cervical lymph node metastasis of the oropharyngeal carcinoma by performing pharyngeal endoscopy and palpation of the palatine tonsils via his mouth without the surgical mask, despite no malignant findings on endoscopy with this method and needle cytology with neck ultrasound. This is a reminder that even during the epidemic of COVID-19 infection, it is necessary to observe the pharynx by endoscopy through the mouth.

**Key words:** COVID-19, transoral endoscopy, oropharyngeal carcinoma

## 【はじめに】

新型コロナウイルス感染症の流行期において咽頭疾患への対応は耳鼻咽喉科医として大変苦慮するところである。特に咽頭ファイバー検査においてはエアロゾルを患者に放出させない方策をとりつつ観察が推奨されている。その1つの方法として、サージカルマスクにより口

は覆いつつ鼻を出して経鼻からファイバー観察をおこなう方法がある。これは咽頭刺激による咳反射を起こしにくく、鼻腔から上・中・下咽頭を観察できるという有用な方法である。しかし、この方法で観察できない咽頭領域もあり、特に最近増加傾向にある中咽頭側壁癌の診断には経鼻だけでなく経口からの観察も必要であることを

(受稿2022.5.6/受理2022.6.3)

<sup>1</sup>新潟厚生連上越総合病院 耳鼻咽喉科

<sup>2</sup>富山大学附属病院 耳鼻咽喉科頭頸部外科

再認識したので報告する。

### 【症例】

症例：48歳，男性。

主訴：右頸部腫瘍

既往歴：腰部脊柱管ヘルニア術後，パニック障害

生活歴：アレルギーなし，喫煙あり（30本／日×28年），

飲酒：なし（フラッシュ）

現病歴：202X年10月5日にコロナワクチン2回目接種，202X年10月23日より右頸部腫脹を自覚して改善しないため10月25日に当科を受診。

初診時現症：発熱なし。右頸部（上内深頸部）に，やや可動性のある約3cm大腫瘍を触知した。圧痛や熱感はない。その他の頸部に腫瘍は触知せず。COVID19抗原検査で陰性を確認後，経鼻からの内視鏡検査を施行した（図3経鼻）が明らかな咽喉頭領域の異常は認めず。

経過：採血検査，造影CT検査，造影MRI検査を施行した。画像上，顎下腺の背側に胸鎖乳突筋と内頸静脈，内・外頸動脈とに挟まれた位置に，約3cm大でやや厚い壁に造影効果を伴う多房性のう胞性病変を認め，化膿性，結核性，転移性リンパ節腫大などが示唆された。（図1・図2）採血では炎症性変化は軽度 [CRP 0.11 (mg/dl)，WBC 8380 (／ $\mu$ l)]，T-SPOT陰性，sIL2-r低値 [348 (U/ml)]，血清LDH正常 [170 (U/l)] であった。

これらの結果を受け，202X年11月12日に，頸部超音波検査下に針穿刺・吸引検査を施行した。淡血性で漿液

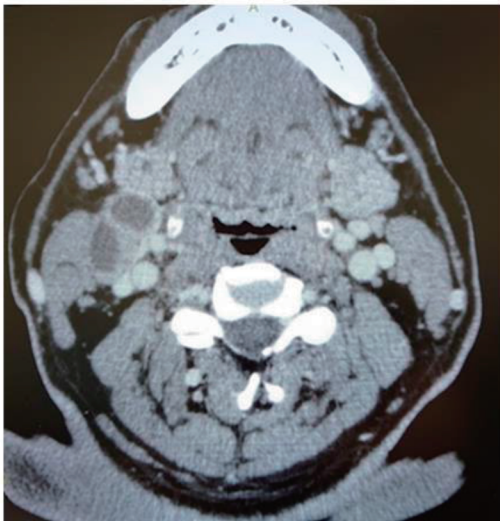
性の内容を吸引後にのう胞壁部分も追加で吸引採取したが，内容について培養で明らかな細菌等の発育は認めず，内容・のう胞壁についての細胞診も明らかな悪性所見なしとの結果であった。11月17日に消化器内科にて上部消化管内視鏡検査（経鼻）を施行したが上部消化管に異常所見はなしであった。12月17日に再診察するとのう胞性病変の内容は再度充満しており，再度超音波検査下に針穿刺・吸引細胞診を施行するも悪性所見なしとの結果であった。

さらに，202X年12月28日再診察した際には，頸部腫脹は戻っておりひと回り大きくなっていった。この頸部のう胞性病変について外科的に摘出して診断をつける必要があると判断したが，再度咽喉頭領域のチェックが必要と考えた。コロナ抗原検査で陰性を確認の上，Full-PPEで経口より咽頭領域を内視鏡観察と咽頭触診をおこなった。右口蓋扁桃に内視鏡Narrow Band Image [OLYMPUS®] で約5mm大のBrownish Areaとなる（図3経口）硬結触知したため，同部位の組織生検を施行したところ，病理検査にてHPV関連中咽頭側壁扁平上皮癌の診断となった。

202X+1年1月7日に本人へ告知をおこない，同年1月12日に富山大学附属病院へと精査・加療依頼で紹介とした。同院のPET検査で頸部病変は頸部リンパ節転移の診断，その他に明らかな転移病巣はなしとの診断 [cT1N1M0 (UICC 8th)] であった。

202X+1年2月7日から3月30日まで富山大学附属病

## 軸位断



## 冠状断

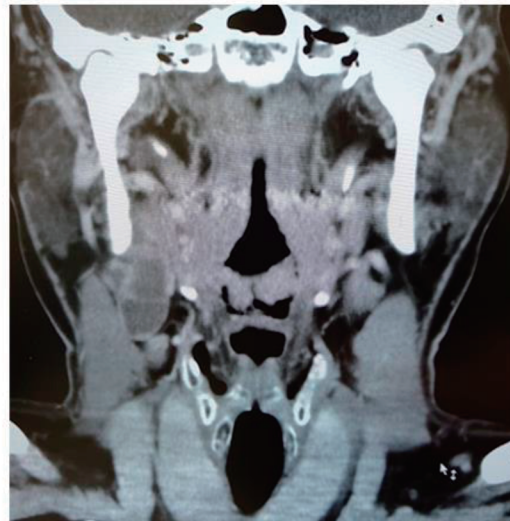


図1 CT画像（造影）

右顎下腺の背側，胸鎖乳突筋と内頸・外頸動脈と内頸静脈に囲まれた領域に内部が低吸収となり辺縁は整な多房性の結節性陰影が認められる。咽頭には明らかな所見は認められない。



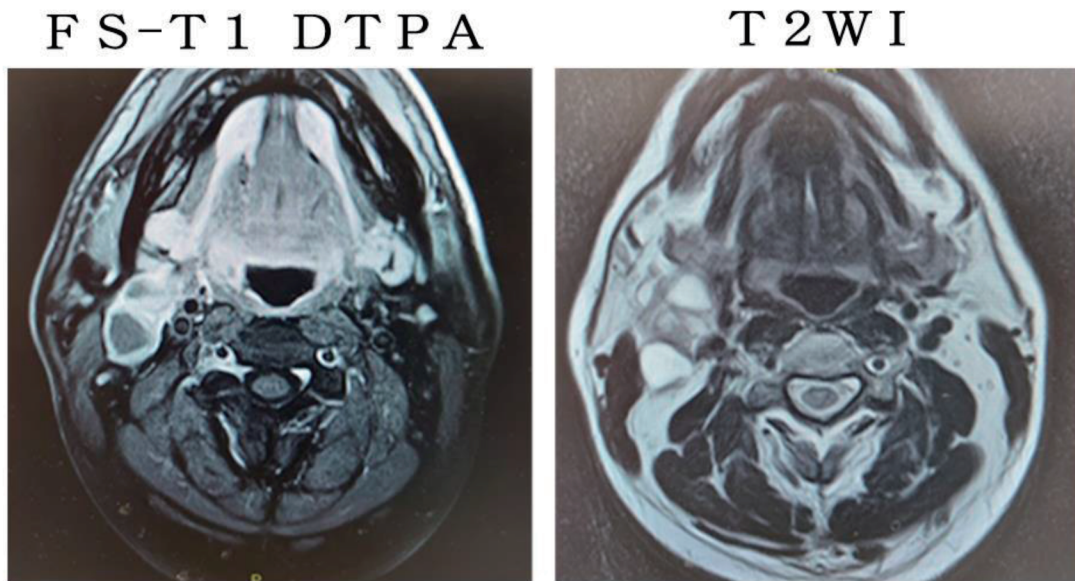


図2 MRI画像（造影）

造影T1強調像（脂肪抑制）で右頸部多房性病変の辺縁には造影効果を認める。  
T2強調像で内容は高信号を示しており、う胞性変化が示唆される。

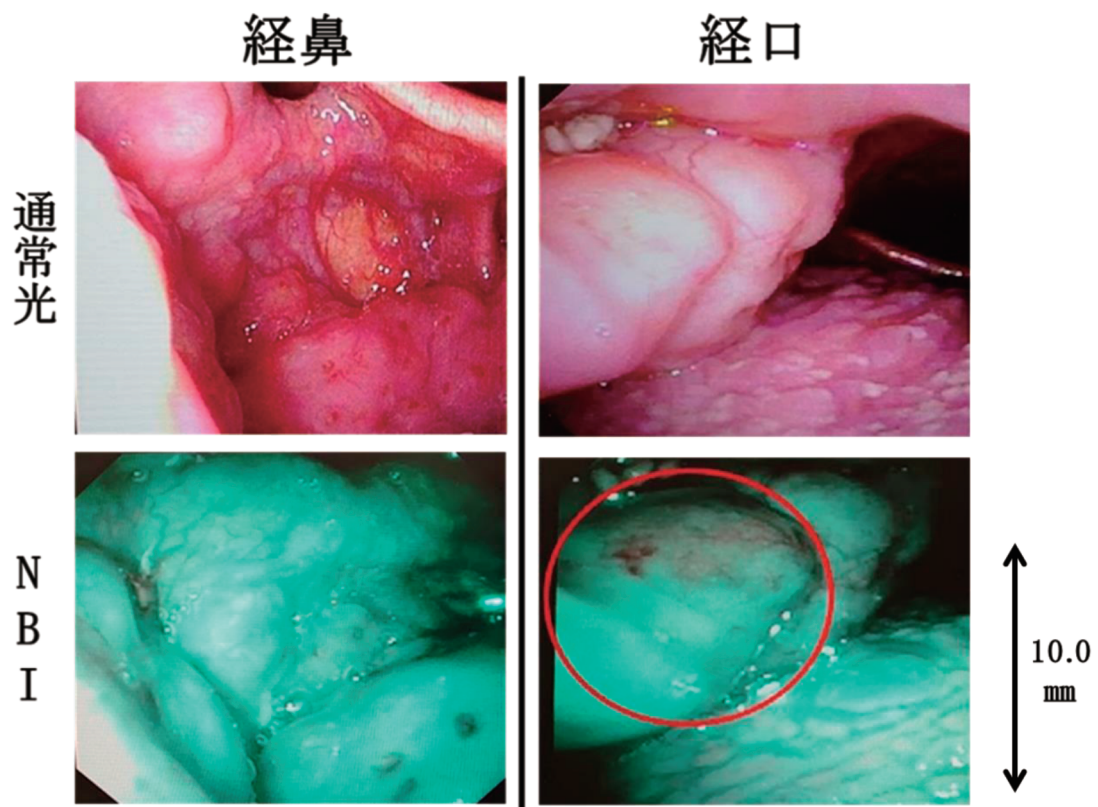


図3 内視鏡下による右中咽頭側壁の所見

経鼻では確認できないが、経口では右口蓋扁桃でのBrownish Area（丸囲）が確認できる。



院耳鼻咽喉科頭頸部外科に入院でCDDP併用の放射線化学療法を施行されてCRの状態となった。

### 【考察】

頸部腫瘍を鑑別するための分類はさまざまあるが、小児では先天性と炎症性疾患を、成人では炎症性疾患と腫瘍性疾患を念頭に置きながら診察することがひとつのポイントといわれている。成人の場合、炎症性のリンパ節腫脹が頻度としては多いが、癌のリンパ節転移の可能性を常に意識しておく必要がある。転移性リンパ節の場合、その大半は頭頸部領域からの転移である<sup>1)</sup>。

CT検査や超音波検査で頸部腫瘍がのう胞性だった場合、側頸のう胞、のう胞性リンパ管腫、皮様のう胞、脂肪腫、神経鞘腫、炎症性リンパ節腫脹や転移性リンパ節腫脹などを考慮する必要があるとされている<sup>2)</sup>。のう胞性の転移リンパ節腫脹はHPV関連中咽頭癌や甲状腺乳頭癌の転移でしばしば認められる<sup>3)4)5)</sup>が、その他の良性のう胞性疾患との鑑別が困難であり、穿刺吸引による細胞診では偽陰性となることも多いため、最終診断が得られるまで対応に十分な注意を払う必要がある。本症例においてものう胞性の頸部腫瘍であり、穿刺吸引による細胞診では偽陰性となったHPV関連中咽頭癌であった。

HPV関連中咽頭癌は近年増加傾向にあり、日本において多施設共同研究による調査で2008～2010年の中咽頭癌（Stage III, IV）におけるHPV陽性率は56.9%（74/130例）だったが、2014～2016年には71.0%（65/92例）まで増加しており、HPV16/18型が全体の80～90%を占めるとの報告がある<sup>6)</sup>。

HPV関連中咽頭癌はHPV非関連中咽頭癌と比べると、口蓋扁桃が好発部位で、比較的若い男性に多く、病理組織像は低分化型であるという特徴がある。本症例も原発は口蓋扁桃であり、好発年齢である40～50歳代にあたり、男性であった。HPV関連中咽頭癌の増加原因としては、性活動の多様性や活発化が挙げられており、特にoral sexの関連が指摘されている。本人の性生活については聴取できていない。

幸い、HPV関連中咽頭癌はHPV非関連中咽頭癌と比較して予後良好であり、化学療法や放射線治療の感受性も良いといわれている<sup>7)8)</sup>。そのため、HPV非関連であればT1N2bM0でStage IVAとなる本症例もT1N1M0でStage I（UICC 8th）となる。

HPV関連中咽頭癌は特徴として頸部転移巣が大きい割に原発が小さく、口蓋扁桃の表層で観察される病変はあまり顕在化していないことも多い。このため、経口的に内視鏡を挿入し前口蓋弓や扁桃窩を近接して観察することやNarrow Band Image [OLYMPUS®]を併用することが病変を発見するテクニックとして知られている<sup>9)10)</sup>。また、本症例でも施行したが扁桃の触診で硬結を確認する方法も有効とされている。しかし、これらの手技は咽頭・口腔を刺激しやすく、咳や嘔吐反射を引き起こしてしまい、COVID19の感染方法として良く知られるようになったエアロゾルを発生させてしまうリスクが高い。上部消化管内視鏡検査領域においてサージカルマスクを着用した状態で経鼻より内視鏡検査をおこなうことで検査に伴う飛沫拡散を防ぐことを東森ら<sup>11)</sup>が報告している。耳鼻咽喉科領域でもこの方法を用いて鼻咽喉

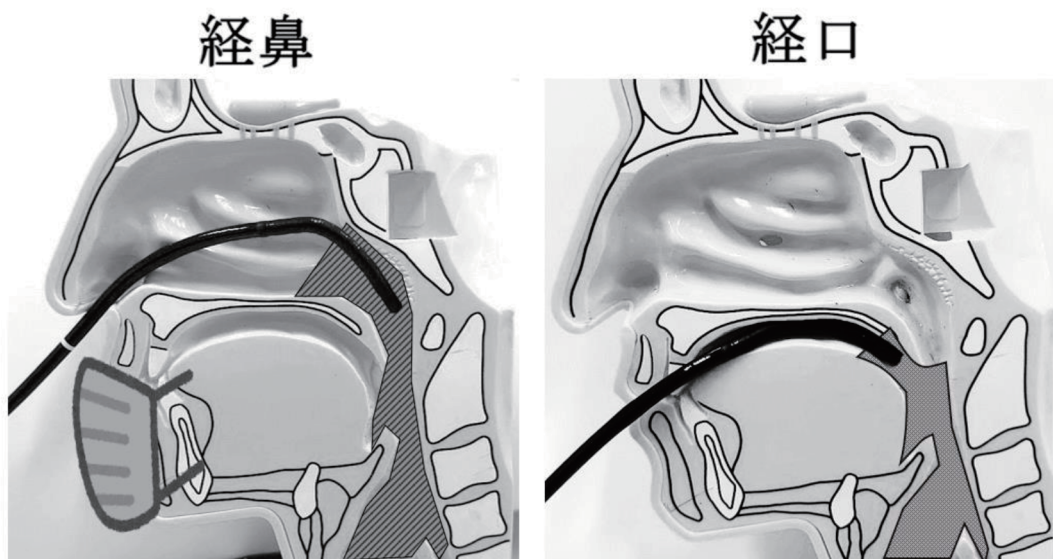


図4 内視鏡挿入ルートと観察可能な領域

経鼻は従来おこなっていた内視鏡観察法であり鼻腔～上・中・下咽頭や喉頭（斜線）が観察できる。経口では舌根～中・下咽頭や喉頭（斑点）が観察できる。

頭領域の内視鏡検査をおこなっているという医療機関の報告<sup>12)</sup>も認められた。当時、当院は地域的にCOVID19の発生率が高い状況にあり、PCR検査などの対応能に限界もあったことから、サージカルマスクを着用しつつ内視鏡検査を経鼻でおこなうこととしていた。(図4)けれども、感染予防を優先するあまり、本症例においては経鼻での内視鏡検査では死角になる位置に癌があり、発見・診断に約3カ月も要してしまった。このことを猛省し注意喚起の意味も含め今回報告することとした。

最近PCR検査などの対応が拡充されスクリーニングが簡便となり、Full-PPE用物品の在庫に余裕が出てきたこともあり、咽頭精査が必要と思われる症例には、PCR検査をおこない陰性を確認の上、サージカルマスクを外して咽頭刺激による反射に注意しながら経口の内視鏡検査や扁桃触診も積極的にこなうようにしている。この手法により、先日もHPV関連中咽頭癌症例を経験し受診から約2週間で診断、1カ月で治療に入ることができた症例も経験した。今後ともCOVID19感染予防に注意を怠らず、癌などの命に関わる疾患の早期診断・治療導入ができるように努力していきたい。

#### 【参考文献】

- 1) 星川広史：頸部腫瘍の診断と治療—頸部良性腫瘍と頭頸部領域からのリンパ節転移を中心に—。日耳鼻 2018；121：1361-1365.
- 2) 三輪高喜，室野重之，塚谷才明ほか：画像上嚢胞性に描出される頸部病変の鑑別診断。頭頸部外科 2005；15(1)：93-101.
- 3) 猪原秀典：嚢胞性頸部リンパ節転移。日耳鼻 2018；121：70-71.
- 4) 水町貴論，加納里志，坂下智博ほか：頸部腫瘍摘出・生検後に中咽頭癌と診断された症例の検討。日耳鼻 2014；117：1463-1470.
- 5) Yasui T, Morii E, Yamamoto Y, et al: Human papillomavirus and cystic node metastasis in oropharyngeal cancer and cancer of unknown primary origin. PLoS One 2014; 9: e95364
- 6) 藤井正人，太田一郎，菅澤正ほか：中咽頭扁平上皮癌に対する集学的治療とHPV感染に関する臨床研究。頭頸部癌 2018；44(1)：18-22.
- 7) Mizumachi T, Kano S, Sakashita T, et al: Improved survival of Japanese patients with human papillomavirus-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma. Int J Clin Oncol 2013; 18: 824-828.
- 8) Straetmans JM, Olthof N, Mooren JJ, et al: Human papillomavirus reduces the prognostic value of nodal involvement in tonsillar squamous cell carcinomas. Laryngoscope 2009; 119: 1951-1957.
- 9) 大上研二：中下咽頭表在癌の診断と治療。日耳鼻 2015；118：792-793.
- 10) Sakai A, Okami K, Ebisumoto K, et al: New techniques to detect unknown primaries in cervical lymph node metastasis. Laryngoscope 2010; 120: 1779-1783.
- 11) Higashimori A, Maruyama H, Nadatani Y, et al: The "New Normal" Following the COVID-19 Pandemic: A Simple Infection-Prevention Measure Using a Surgical Mask during Transnasal Endoscopy. Clin Endosc 2021; 54(4): 618-620.
- 12) 齋藤康一郎：耳鼻咽喉科内視鏡検査における感染予防。日耳鼻 2020；123：1264-1265.



## 学位授与

### 博士 (医学)

学位記番号 富医薬博甲第381号  
氏名 小池 伸享  
博士論文名 ヒト羊膜幹細胞の存在部位の検討  
(Distribution of Amniotic stem cell in human term amnion membrane)  
所属講座 生命・臨床医学専攻 (危機管理医学・医療安全学)

学位記番号 富医薬博甲第382号  
氏名 上野 陽平  
博士論文名 Clinical implication of changes in respiratory instability following transcatheter aortic valve replacement  
(経カテーテル的大動脈弁置換術後における呼吸不安定性の変化の臨床的意義)  
所属講座 生命・臨床医学専攻 (循環器・腎臓内科学)

学位記番号 富医薬博甲第383号  
氏名 川筋 仁史  
博士論文名 Exploration of optimal dosing regimens with linezolid for renal impairment patients  
(腎機能障害者におけるリネゾリド至適投与法の探索)  
所属講座 生命・臨床医学専攻 (感染症学)

学位記番号 富医薬博甲第384号  
氏名 寶田 真也  
博士論文名 The Myh7 Q315R variant causes left ventricular noncompaction with altered myocardial metabolism  
(Myh7 Q315R バリエントは左室緻密化障害の原因となり心筋代謝を変化させる)  
所属講座 生命・臨床医学専攻 (小児発達医学)

学位記番号 富医薬博甲第385号  
氏名 堀 正和  
博士論文名 Urinary Isoxanthopterin in Heart Failure Patients  
(心不全患者における尿中イソキサントプテリン)  
所属講座 生命・臨床医学専攻 (循環器・腎臓内科学)

学位記番号 富医薬博甲第386号  
氏名 宮嶋 友希  
博士論文名 Usefulness of parameters of the XN-Series hematology analyzer for patients with suggested bacteremia  
(菌血症疑い患者における多項目自動血球分析装置XNシリーズの有用性の検討)  
所属講座 生命・臨床医学専攻 (感染症学)

学位記番号 富医薬博甲第387号  
氏名 馮 茜文  
博士論文名 Hernandezine induces multiple cancer cell death  
(ヘナンデジンは多様ながん細胞死を誘導する)  
所属講座 生命・臨床医学専攻 (公衆衛生学)

学位記番号 富医薬博甲第388号  
氏名 MUHAMMAD BILAL  
博士論文名 Fate of adipocyte progenitors during adipogenesis in mice fed a high-fat diet  
(肥満形成過程における前駆脂肪細胞の役割の検討)  
所属講座 生命・臨床医学専攻 (代謝・免疫・呼吸器病学)

学位記番号 富医薬博甲第389号  
氏名 林 智宏  
博士論文名 Serum neurofilament light chain in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy  
(慢性炎症性脱髄性多発神経炎 (CIDP) 患者における血清ニューロフィラメント軽鎖について)  
所属講座 生命・臨床医学専攻 (脳神経内科学)

学位記番号 富医薬博甲第390号  
氏名 村上 将啓  
博士論文名 表皮角化細胞の破砕物による真皮細胞の2型炎症誘導 ～ Itch-scratch cycleによるアトピー性皮膚炎悪化に寄与する分子メカニズムの検討～  
(An epidermal keratinocyte homogenate induced T2 and proinflammatory cytokine expression in cultured dermal cells)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (小児発達医学)

学位記番号 富医薬博甲第391号  
氏名 山本 真守  
博士論文名 Identification of double-stranded DNA in the cerebrospinal fluid of patients with acute neuromyelitis optica spectrum disorder  
(視神経脊髄炎患者の脳脊髄液中の二本鎖DNAの同定)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (脳神経内科学)

学位記番号 富医薬博甲第392号  
氏名 野瀬 早織  
博士論文名 Influence of work, family, and personal characteristics on socioeconomic inequalities in long sickness absence: the Japanese civil servants study  
(社会経済的要因による長期病休の格差における仕事, 家庭, および個人特性の影響: 日本公務員研究)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (疫学・健康政策学)

学位記番号 富医薬博甲第393号  
氏名 下川 友子  
博士論文名 ヒト化ウサギ由来T細胞受容体様抗体を用いたキメラ抗原受容体の作製および評価  
(Generation and evaluation of chimeric antigen receptor using humanized rabbit-derived T cell receptor-like antibody)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (眼科学)

学位記番号 富医薬博甲第394号  
氏名 生水 貫人  
博士論文名 深層学習を用いた胎児超音波動画における胎児胸壁に対するセグメンテーションを行うためのModel-Agnosticな新手法の確立  
(Model-Agnostic new method for thoracic wall segmentation using deep learning in fetal ultrasound videos)

所属講座 東西統合医学専攻 (産科婦人科学)

学位記番号 富医薬博甲第395号  
氏名 Sailesh Palikhe  
博士論文名 Metabolism of orally administered Nicotinamide Riboside and Nicotinamide Mononucleotide *in vivo*  
(経口投与されたニコチンアミドリボシドとニコチンアミドモノヌクレオチドの生体内における代謝経路)

所属講座 東西統合医学専攻 (分子医科薬理学)

学位記番号 富医薬博甲第396号  
氏名 コンソルボ上田朋子  
博士論文名 Assessment of Photoreceptor Impairment in Macular Degeneration  
(黄斑変性疾患における視細胞障害の検討)

所属講座 東西統合医学専攻 (眼科学)

学位記番号 富医薬博甲第400号  
氏名 高島 侑美  
博士論文名 PDGF receptor signal mediates the contribution of Nestin-positive cell lineage to subcutaneous fat development  
(PDGF受容体シグナルは皮下脂肪の発達におけるネスチン陽性細胞の寄与に影響を与える)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (歯科口腔外科学)

学位記番号 富医薬博甲第402号  
氏名 李 禹霖  
博士論文名 The molecular mechanism of a novel derivative of BTO-956 induced apoptosis in human myelomonocytic lymphoma cells  
(BTO-956の新規誘導体によるヒト骨髄単球性リンパ腫細胞におけるアポトーシス誘導の分子メカニズムの解明)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (公衆衛生学)



学位記番号 富生命博甲第137号  
 氏名 立野 貴大  
 博士論文名 Features of Duration Mismatch Negativity Around the Onset of Overt Psychotic Disorders: A Longitudinal Study  
 (持続長ミスマッチ陰性電位の精神病発症前後における縦断的变化)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (神経精神医学)

学位記番号 富生命博甲第138号  
 氏名 PHAM VIET TIEN  
 博士論文名 Longitudinal changes of local gyrification index in schizophrenia spectrum disorders  
 (統合失調症圏障害における局所脳回指数の縦断变化)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (神経精神医学)

学位記番号 富生命博甲第139号  
 氏名 梶川 清芽  
 博士論文名 Treatment of retinal fibrosis using a recently developed mouse retinopathy model  
 (近年開発された網膜症マウスモデルを用いた網膜線維化治療に関する研究)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (分子神経病態学)

学位記番号 富生命博甲第140号  
 氏名 宮原 謙一郎  
 博士論文名 Involvement of parvalbumin-positive neurons in the development of hyperalgesia in a mouse model of fibromyalgia  
 (線維筋痛症モデルマウスにおける痛覚過敏に脳内パルブアルブミン陽性ニューロンが関与する)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (システム情動科学)

学位記番号 富生命博甲第143号  
 氏名 SACHURIGA  
 博士論文名 Neuronal representation of locomotion during motivated behavior in the mouse anterior cingulate cortex  
 (マウス前部帯状回皮質における歩行を伴う動機付け行動の神経表現)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (システム情動科学)

学位記番号 富生命博甲第144号  
 氏名 DANG SON TUNG  
 博士論文名 The PDGF receptor alpha signal regulates the senescence of neural stem cells and their niche via the close functional correlation with NAD  
 (PDGF受容体アルファシグナルは、NADとの密接な機能的相関を介して神経幹細胞とそのニッチの老化を調節する)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (分子神経病態学)

学位記番号 富生命博甲第145号  
 氏名 楊 夢  
 博士論文名 Fast Detection of Snakes and Emotional Faces in the Macaque Amygdala  
 (マカクサル扁桃体ニューロンはヘビおよび情動表情を素早く検出する)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (システム情動科学)

学位記番号 富生命博甲第146号  
 氏名 于 洋  
 博士論文名 Neural representation of virtual space and routes in the monkey posterior cingulate gyrus  
 (サル後部帯状回における仮想空間および移動ルートの再現)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (システム情動科学)

#### 博士 (看護学)

学位記番号 富医薬博甲第397号  
 氏名 牧野 耕次  
 博士論文名 患者—看護師関係における看護師の専心尺度の開発  
 (Development of a Nurse Dedication Scale in patient-nurse relationships)  
 所属講座 基礎看護科学

### 博士 (医学) 《論文博士》

学位記番号 富医薬博乙第82号  
 氏名 川崎 裕香子  
 博士論文名 Evaluation of factors affecting brain volume in newborn infants using Multi-Atlas Labeling on 3D MRI  
 (新生児の脳体積に影響を与える因子の検討 ～頭部3D MRI画像を用いて～)  
 所属講座 小児発達医学

学位記番号 富医薬博乙第83号  
 氏名 泉田 俊秀  
 博士論文名 How to estimate optimal heart rate in patients with heart failure  
 (心不全患者における理想心拍数の推定方法)  
 所属講座 循環器・腎臓内科学

学位記番号 富医薬博乙第84号  
 氏名 大宜見 力  
 博士論文名 Clinical significance of seasonal human coronaviruses in immunocompromised host  
 (免疫不全者における季節性コロナウイルスの臨床的意義)  
 所属講座 小児発達医学

学位記番号 富医薬博乙第86号  
 氏名 館野 宏彦  
 博士論文名 Endonasal flap suture dacryocystorhinotomy assisted by ultrasonic bone aspirator (eFSUS-DCR): Development of new surgical techniques to improve treatment outcomes for nasolacrimal duct obstruction  
 (超音波骨削開機器支援下経鼻的弁縫合涙嚢鼻腔吻合術 (eFSUS-DCR): 鼻涙管閉塞の治療成績を向上させる新しい手術手技の開発)  
 所属講座 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学

学位記番号 富医薬博乙第87号  
 氏名 新鞍 真理子  
 博士論文名 地方都市在住の高齢者における社会活動への不参加に関連する要因：富山県認知症高齢者実態調査の結果から  
 (Non-participation in social Activities of rural older adults: Results from the Toyama Dementia Survey)  
 所属講座 疫学・健康政策学

学位記番号 富医薬博乙第89号  
 氏名 横山 茂樹  
 博士論文名 Peak Lag Between Plasma Vasopressin and Urine Aquaporin-2 Following Cardiac Surgery  
 (心臓手術後の血漿バソプレシンと尿中アクアポリン2の動態ギャップ)  
 所属講座 循環・呼吸器・総合外科学

学位記番号 富医薬博乙第90号  
 氏名 和田 拓也  
 博士論文名 Maternal exposure to smoking and infant's wheeze and asthma: Japan Environment and Children's Study  
 (母体喫煙と乳児の喘鳴および喘息発症との関連：子どもの健康と環境に関する全国調査)  
 所属講座 小児発達医学

学位記番号 富医薬博乙第91号  
 氏名 紙谷 聡  
 博士論文名 Epidemiology, Clinical Characteristics, and Outcomes of Influenza-Associated Hospitalizations in U.S. Children Over 9 Seasons Following the 2009 H1N1 Pandemic  
 (新型インフルエンザ (H1N1) パンデミック以後9年間における米国での小児インフルエンザに関連した入院の疫学的推移, 臨床的特徴, および転帰に関する研究)  
 所属講座 小児発達医学

**修士（医科学）**

学位記番号 富医薬修第971号  
氏名 佐藤 光  
博士論文名 うつモデルマウスにおける遺伝子発現解析  
所属講座 分子神経科学

---

学位記番号 富医薬修第1019号  
氏名 JAVAN LEE TZE HAN  
博士論文名 Investigating the generation of creative insights from existing knowledge and how the idling brain promotes it  
(既存の知識からの創造的な洞察の生成と、それを促進するアイドリングブレインの研究)  
所属講座 生化学

---

**修士（看護学）**

学位記番号 富医薬修第972号  
氏名 豊本 香里  
博士論文名 緩和ケア病棟に勤務する看護師のレジリエンスの実態と関連する要因の検討  
所属講座 成人看護学（がん看護CNSコース）

---

学位記番号 富医薬修第973号  
氏名 横山 真莉子  
博士論文名 がん放射線療法における看護の質と看護師への教育に関する研究  
所属講座 成人看護学（がん看護CNSコース）

---

学位記番号 富医薬修第1020号  
氏名 石井 遥  
博士論文名 ベッドサイドのコミュニケーションに及ぼす患者姿勢の影響  
—模擬患者を対象とした行動生理学的基礎検討—  
所属講座 基礎看護学

## NAD代謝における腸内細菌の役割について

鉛井千佳乃 富山大学医学部分子医科薬理学講座 (指導教員: 中川 崇教授, 夜久 圭介助教)

### 【はじめに】

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD) は酸化還元反応を媒介する補酵素であり, 解糖系やミトコンドリアにおける呼吸鎖, クエン酸回路, 脂肪酸酸化など様々なエネルギー代謝の制御において重要な役割を果たす。また NAD はポリ ADP リボースポリメラーゼ (PARP) による ADP リボシル化や, サーチュインによる脱アセチル化の基質としても働いている。NAD は, PARP やサーチュインを介して, 体内の DNA 修復や遺伝子発現, ストレス応答など様々な細胞内機能を制御している。特にサーチュインは老化・寿命に関わる分子として知られており, 抗老化分子と呼ばれている。NAD はサーチュインの上流に位置しており, 老化制御因子として近年注目されている。先行研究においては老化に伴って組織内や細胞内の NAD レベルが低下することが解っており, 外部から NAD 前駆体を投与することで NAD レベルを上昇させると, マウスなどでは寿命が延長することが報告されている。また, NAD レベルの減少が神経変性疾患やがん, 糖尿病などの代謝性疾患など様々な老化関連疾患を引き起こすと考えられているため, 体内の NAD レベルを上昇させる, NAD 補充療法が注目されている。

NAD 補充療法は抗老化戦略において重要な鍵となる。しかしながら, NAD 自体は細胞膜を通過できないため, NAD を投与しても体内の NAD 濃度は上昇しない。そのため, 抗老化のための NAD 補充療法には, ニコチンアミドリボシド (NR) やニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN) などの NAD 前駆体を用いられる。近年, 食事性の NAD 前駆体であるニコチンアミド (NAM) の生体内代謝において腸内細菌が重要であることが報告されている。先行研究によると NAM を細胞内に取り込む過程には腸内細菌叢が関与しており, 経口摂取した NAM は腸で腸内細菌叢のニコチンアミダーゼである PncA によってニコチン酸 (NA) に変換され細胞内に取り込まれて NAD に合成される。しかしながら, NR 投与時の生体内代謝における腸内細菌の役割はよくわかっていない。そこで本研究では, NR を含むさまざまな NAD 前駆体を抗生剤処理により腸内細菌叢を破壊したマウスに投与し, そ

れらの生体内代謝における腸内細菌の役割を解析した。

### 【材料および方法】

#### ＜実験 1＞

哺乳類の生体内における NAD 合成経路にはアミド体の経路である salvage 経路と脱アミド体の経路である de novo 経路が存在する。そこで, アミド体と脱アミド体 NAD 前駆体により, NAD レベルの上昇に差があるのか明らかにするため, 野生型マウス (C57BL/6N) にアミド体前駆体 (NR, NAM), もしくは脱アミド体前駆体 (ニコチン酸リボシド (NAR), ニコチン酸 (NA)) を経口で投与し, 3 時間後にマウスを安楽死させ, 肝臓の NAD レベルを LC/MS (液体クロマトグラフ質量分析系) で測定した。

#### ＜実験 2＞

次に NAD 代謝に腸内細菌叢が関与することを明らかにするため, 野生型マウス (C57BL/6N) に抗生物質 (バンコマイシン 0.5g/dL, アンピシリン 1g/L, メトロニダゾール 1g/L, ネオマイシン 1g/dL) を 3 日間経口投与し, 腸内細菌叢を破壊したのち, アミド体前駆体 (NR, NAM) を経口投与し 3 時間後の肝臓と筋肉の NAD レベルを LC/MS を用いて測定した。また, 同様の実験を脱アミド体の経路の前駆体である NAR と NA を投与して行った。

### 【結果】

#### ＜実験 1＞

生食を投与したコントロール群と比較して, 脱アミド体, アミド体の経路にかかわらず投与した全ての前駆体で NAD レベルの上昇がみられた。

#### ＜実験 2＞

先行研究の通り NAM を投与した場合には抗生物質を投与した群で NAD レベルが上昇しなかった。また, NR でも同様に上昇を認めず, アミド体の前駆体の代謝には腸内細菌が必要であると考えられた。NAD 以外の中間体の代謝物も測定したが,

多くの NAD 前駆体のレベルが腸内細菌を破壊した群で上昇しなかった。腸内細菌叢を破壊すると NAD 関連の代謝が有意に低下する結果となった。一方で、脱アミド体経路の前駆体を投与した場合には、アミド体経路の前駆体と異なり、腸内細菌を破壊した群でも NAD レベルは上昇を認めた。

### 【考察】

抗生物質を用いて腸内細菌叢を破壊したマウスに NAD 前駆体を投与し NAD レベルがどのように変化するかを解析した。アミド体経路の前駆体を投与した場合、NAD レベルは上昇しないことから、アミド体経路の前駆体からの NAD 合成には腸内細菌が必要であると考えられた。一方で、脱アミド体の経路では腸内細菌叢を破壊しても NAD レベルの上昇に影響を及ぼさなかったことから、脱アミド体経路の前駆体からの NAD 合成には腸内細菌叢は関与しないと考えられた。また、今まではアミド体の経路と脱アミド体の経路は独立して NAD を合成していると考えられてきた。そのため、NR は NMN になり直接 NAD に合成されるとされていた。一方

で、近年 NAM から NA へ変化する、すなわち、アミド体と脱アミド体を結ぶ経路の存在が報告された。前述の通りこの経路には腸内細菌が関与していることが解っている。今回の結果より、アミド体から NAD を合成する際は直接ではなく脱アミド体の経路を経由している可能性が高いと考えられる。一般に腸内細菌叢は様々な要因で変化しうることが知られており、その要因の中に加齢や肥満がある。今回の結果は、加齢や肥満によって腸内細菌が変化することで体内の NAD 代謝の攪乱を引き起こし、老化を加速させる一因となっている可能性を示唆している。そのため、正常な腸内細菌叢を維持することは、抗老化戦略の一つとして有用であるかもしれない。

### 【成果公表】

国内学会

飴井千佳乃, 佐伯玲奈, 夜久圭介, 中川崇. NAD 代謝における腸内細菌の役割について. 日本生化学会北陸支部第39回大会, 2021年6月5日 石川.

## “pure nigroscopy” をきたし, *TUBA4A* にナンセンス変異を認めた一例

岡田慶太郎 法医学講座 (指導教員: 西田 尚樹教授)

### 【はじめに】

パーキンソン病 (PD) は神経病理学的に中脳黒質に Lewy 小体を認めることを特徴とする。遺伝性 PD ではこれまでに 22 種類の原因遺伝子もしくは座位が同定されているが, *PARK2*, *LRRK2*, *PINK1* などの病的変異による遺伝性 PD の一部には神経病理学的に Lewy 病理を認めないものが存在し, これらは “pure nigroscopy” と称される。

### 【材料および方法】

#### I. 症例

78歳女性。自宅近くの河川の downstream で水面に浮上し死亡しているのを発見され, 司法解剖となった。死因は溺水による窒息と考えられた。死亡前に自殺企図を示唆する言動があった。47歳時にすくみ足を発症し, PD と診断されていた。L-dopa への反応は良好であった。62歳時より wearing-off が出現, その後も症状は進行していた。67歳時には on-off が増悪し, off 時の症状として pill rolling tremor, cog wheel

rigidity を認めた。脳神経外科にて両側視床下核の深部刺激療法 (DBS) を施行し, 症状は著明に改善した。69歳時に頭部, 下肢のジスキネジア, 無動, 運動緩慢を認め, 電極調整が行われた。73歳時には後方へ転倒と off 時間延長を認め (Hoehn & Yahr stage 4), 刺激装置の交換が行われた。78歳時 (死亡 3 か月前), 電池消耗のため再び刺激装置交換が行われた。

#### II. 遺伝学的検索

既知の遺伝性 PD の責任遺伝子のうち *SNCA*, *PARK2*, *UCHL1*, *PINK1*, *PARK7*, *LRRK2*, *GCH1*, *ATP13A2*, *CAV1*, *CAV2* について, MLPA 法を用いてコピー数を確認した。

次世代シーケンサを用いたエクソーム解析にて発見された遺伝子変異から, Human Phenotype Ontology において神経変性疾患に関わる 5 タームに関連づけられる変異を抽出した。GnomAD, ToMMo 4.7KJPN, HGVD を参照し日本人における



アレル 頻度 < 0.01かつEnsembl IMPACT ratingがHighまたはModerateに分類されるものを抽出し、候補遺伝子とした。

### Ⅲ. 機能解析

候補遺伝子となった*TUBA4A*について、WT、今回の変異であるR79X、過去に病的変異として報告のあるW407Xの3種類の配列のN末端にHAタグを付与した3種類のプラスミドベクターを作成した。HEK293T細胞を播種し、2日目にトランスフェクション、4日目にmRNA発現確認と免疫蛍光染色、観察を行った。

#### 【結果】

脳重量1278 g。神経病理学的には中脳黒質の高度の色素脱出と神経細胞脱落を認めた。電極挿入痕は前頭葉脳表から視床下核を通り黒質まで達しており、周囲に軽度のグリオーシスを認めた。視床下核と黒質の電極痕周囲では慢性外傷性脳症様のリン酸化タウの沈着を認めた。リン酸化 $\alpha$ -synuclein病理は認めなかった。大脳辺縁系優位型老年期TDP-43脳症stage 2、リン酸化タウBraak stage 2に相当する病理像を認めた。*TUBA4A*免疫染色では正常コントロールと比べて有意な差は認めなかった。

MLPA法で調べた遺伝子のコピー数はいずれも正常であった。

エクソーム解析より抽出された遺伝子変異はIMPACT Highが1種類、Moderateが13種類であった。検討の結果、最終的に*TUBA4A* p.R79X (c.235C>TC) が病的変異の候補となった。

HEK293T細胞においてHA-*TUBA4A*を強制発現させ、免疫蛍光染色で観察したところ、WT、W407X変異では過去の報告と同様の像が観察されたものの、R79X変異ではタンパクの発現を認めなかった。3変異体間でのmRNAの内在性コントロールと比較した相対的発現量にはそれぞれ有意差を認めなかった。

#### 【考察】

本例は定型的なPDの臨床像を呈したものの神経病理学的にLewy病理を認めず、病理学的にはpure

nigropathyを呈する遺伝性PDと考えられた。しかしながら既知のPD原因遺伝子に病的変異は認めなかった。

*TUBA4A*はtubulin alpha 4 A鎖をコードする遺伝子であり、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、前頭側頭型認知症 (FTD) の原因として12種のミスセンス変異、2種のフレームシフト変異、1種のナンセンス変異が報告されているが、PDの原因遺伝子としての報告はない。唯一*TUBA4A* R64fs\*90変異をもつ遺伝性ALSの家系において、臨床的にPDと診断された患者の存在が報告されているのみである。

*TUBA4A*変異のALSにおける発症機序としてはdominant negative作用による微小管ダイナミクスの阻害とタンパク不安定化が考えられている。一方で今回の症例で検出された*TUBA4A* R79X変異体はmRNAには転写されるものの、タンパクへの翻訳は確認されなかった。したがって*TUBA4A*のハプロ不全が示唆され、本例におけるPDの発症機序に関与する可能性がある。

本報告では*TUBA4A*がpure nigropathyの原因遺伝子であり、新たなPARK遺伝子として“PARK24”に位置付け得ると考えられた。*TUBA4A*とpure nigropathy, ALS, FTDとの関係についてはさらなる検討が必要である。

#### 【成果公表】

1. Okada K, Hata Y, Ichimata S, Yoshida K, Oku Y, Asahi T, Nishida N. An autopsy case of pure nigropathy with *TUBA4A* nonsense mutation. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2021; 41: 891-3.
2. Okada K, Hata Y, Takayanagi Y, Takahashi T, Takayanagi I, Nishida N. An autopsy case of preclinical/early clinical Pick's disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2019; 78: 971-4.
3. 岡田慶太郎, 畑由紀子, 一萬田正二郎, 吉田幸司, 西田尚樹. “pure nigropathy”をきたし、*TUBA4A*にナンセンス変異を認めた一剖検例. 第110回日本病理学会総会. 2021, 4, 22-24, 東京.

## sLORETAによる周波数解析を用いた 精神病発症リスク状態の安静時脳波の検討

岡村 静香 富山大学 学術研究部医学系 神経精神医学講座(指導教員:樋口 悠子講師,鈴木 道雄教授)

### 【はじめに】

統合失調症患者の安静時脳波周波数については研究が蓄積されており、 $\alpha$ 波(特に $\alpha 2$ )、 $\gamma$ 波の減少、 $\delta$ 、 $\theta$ 、 $\beta 1$ 波の増加(Vignapiano et al., 2019; reviewed by Newson and Thiagarajan, 2019 など)といった特徴がみられることが報告されている。

精神病発症リスク状態(at-risk mental state; ARMS)とは、軽度の精神病様症状を示し、明らかな精神病状態へ移行する高いリスクを有すると考えられる状態である。これまでARMSを対象とした脳波研究は事象関連電位などの誘発電位を中心に多数公表されているが、安静時脳波周波数に関する報告は未だ少ない。

今回、我々はARMSにおいて安静時脳波を計測し、周波数解析の結果と診断的転帰との関連について調査を行ったので報告する。

### 【材料および方法】

対象は、Comprehensive Assessment of At-Risk Mental State (CAARMS)による診断基準を満たしたARMS患者45名(男性28名、女性17名、 $18.8 \pm 4.3$ 歳)であった。これらの患者を前方視的に追跡し、初回の脳波計測後から2年以内に精神病性障害に移行した者9名をARMS-Pとした。また2年以上の追跡にて精神病性障害への移行が認められなかった者36名をARMS-NPとした。脳波計測から2週間以内に陽性陰性症状評価尺度(PANSS)にて精神病症状を、統合失調症認知機能簡易評価尺度(BACS)および統合失調症認知評価尺度(SCoRS)にて認知機能および社会機能を評価した。

脳波は覚醒、安静閉眼にて計測し、2秒 $\times$ 20エポックについて $\delta$ 、 $\theta$ 、 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\gamma$ の7帯域でsLORETA(standardized low resolution brain electromagnetic tomography)による周波数解析、脳機能画像化およびARMS-PとARMS-NPの比較を行った。sLORETAは、Pascual-Marquiらによって開発された、脳機能イメージング解析であり、脳波や脳磁図による脳内神経活動を3次元的に脳図譜へ描くことができる解析手法である。これまでsLORETAを用いた研究は多数あり、さらに脳波解析プログラムにも採用されるなど、広く用いられている解析手法である。

本研究は本学倫理審査委員会の承認を得て行われた。患者および患者が未成年の場合は患者と代諾者から書面による同意を得た。

### 【結果】

ARMS-PとARMS-NPの2群間で、ベースラインにおける年齢、性別、抗精神病薬投薬量、病前推定知能指数、PANSS、SCoRS、BACSの得点に有意な差は認められなかった。

ARMS-P群ではARMS-NP群に比較して、ベースラインの左中前頭回を中心とした部位で $\beta 1$ 帯域における発生源電流密度が有意に高値であった(Best match: X = -35, Y = 25, Z = 50 [MNI coords], Area 8, sLORETA Value = 2.07, p = 0.020)。他の周波数帯域では差は認められなかった。

### 【考察】

今回、後に精神病に移行したARMSは、ベースライン、すなわち発症前の段階で既に、安静時脳波において統合失調症で見られる所見の1つである $\beta 1$ 帯域の増加を認めていた。

ARMS-Pにこのような所見が見られた理由として、不安が高度で自律神経系の緊張が強いと $\beta$ 波が前頭・頭頂部に多く出現すると報告されていることから(Cohn et al., 1964など)、今回の所見は精神病の発症が切迫しているARMS-Pの状態像の生理学的特徴を表している可能性が考えられた。ARMSは不安の尺度であるSTAI得点が高値であり、QOLにも大きく関わることを報告されている(Takahashi et al., 2017)。医療者はARMSの不安緊張の緩和を1つのターゲットとして支援することが必要と考えられた。

限界として、症例数、特にARMS-Pの数が少ないことがあげられる。また服薬については $\beta$ 帯域成分を増加させるベンゾジアゼピン系薬物は全例内服していなかったものの、一部の患者は抗精神病薬を服薬していたため、特に徐放成分に影響があった可能性がある。今後はベースラインで内服していないより多数例のコホートを対象に、本研究の結果を再現したい。

総括として、脳波 $\beta 1$ 帯域の増加は精神病への移行を予測するバイオマーカーとなり得る可能性が初め

て示された。安静時脳波は多くの精神科医療機関で簡便に計測することが出来、バイオマーカーとしての応用が可能となれば、臨床的な意義は大きいと考えられる。

#### 【成果公表】

岡村静香, 樋口悠子, 立野貴大, 西山志満子, 高橋 努, 鈴木道雄. sLORETAによる周波数解析を用いた精神病発症リスク状態の安静時脳波の検討. 第15回日本統合失調症学会; 2021.4.9-10, 富山.

## 地方公務員の睡眠の質と職場のソーシャルキャピタルの関連

加瀬 悠平 疫学・健康政策学（指導教官：関根 道和教授）

#### 【はじめに】

短い睡眠時間および睡眠の質の低さは、肥満、心血管疾患、高血圧、糖尿病といった生活習慣病と強く関連していると考えられている。一方、睡眠の質には、生活習慣の影響や社会経済的要因による格差が存在すると考えられている。加えて、ソーシャルキャピタルと健康の関係も近年、社会医学領域での研究対象とされており、本研究もその流れの中に位置づけられる。

睡眠時間、睡眠の質と職場・個人レベルでのソーシャルキャピタルと睡眠との関連は先行研究で検討されているものの、サンプルが小規模であり未だに十分な結論は出ていない。加えて先行研究では、睡眠の質の評価指標であるピッツバーグ睡眠質問票（Pittsburgh Sleep Quality Index：以下PSQI）の下位尺度に影響を与える職場要因について十分検討されていない。

本研究ではまず、生活習慣や慢性疾患の存在に加えて、職場および個人のソーシャルキャピタルと睡眠の質との関連性の有無を検討した。次に、大規模労働者集団において職場のソーシャルキャピタルとPSQIの合計得点および下位尺度との関連性を検討した。

#### 【方法】

本研究は、第4回日本公務員研究（2013年度実施）に参加した地方公務員3997名を対象とした。実施時期は2014年2月であり、自己記入式質問票によった。平均年齢は43.5±10.9歳であった。有効回答人数は3042名（有効回答率76.1%）であった。本研究ではピッツバーグ睡眠質問票（PSQI）の得点が6点以上であることを低い睡眠の質と定義した。

睡眠の質とソーシャルキャピタルの関連性の有無は、多変量ロジスティック回帰分析（強制投入法）を行って検討し、低い睡眠の質に対する各変数のオッズ

比を算出した。統計解析はIBM SPSS Statistics20を使用した。次に、ソーシャルキャピタルと関連性を検討する睡眠の質の評価指標としてPSQIの合計得点および下位尺度得点を採用し、共分散分析および平均値の差の多重比較を用い、Bonferroniの方法で補正し統計解析を行った。職場のソーシャルキャピタルは3段階で評価した職場の信頼、職場の規範を別々に投入した。共変量として性、年齢、職位、職種、婚姻状況、労働時間、交代勤務の有無、一か月に休養できる日数、ワークライフバランス、Karasekの要求・裁量バランス、体格指数、慢性疾患の有無を投入した。統計学的有意水準は5%未満とした。

#### 【結果】

睡眠時間の分布は、全体の64.1%が7時間未満であった。3997名のうち1485名（37.1%）が睡眠障害の指標とされるPSQI 6点以上であった。職場のソーシャルキャピタルについては、18.3%が職場の同僚を信頼できない、9.9%が同僚が利己的であると回答した。

ロジスティック回帰分析において、性別、年齢階級、職位、職階、婚姻状況、労働時間、交代勤務を調整後、低い職場信頼、低い職場規範、ワークライフバランスの低さ、高い仕事のストレスはそれぞれ有意に睡眠の質の低さに関連していた。すべての変数を調整した後は、婚姻状況、交代勤務、ワークライフバランス、アルコール依存傾向、睡眠時間、うつ病尺度得点、体格指数25以上、慢性疾患が睡眠の質に統計学的に有意に関連していた。職種、職場信頼、職場規範、訪問回数、休養頻度も睡眠の質と関連がみられたものの、統計学的に有意ではなかった。

次に、共分散分析においては、PSQIの合計得点および睡眠時間得点以外のすべての下位尺度（主観的な睡眠の質、睡眠困難、睡眠効率、入眠潜時、日

中覚醒、睡眠薬使用)で、職場のソーシャルキャピタルの群間で有意差があった。さらに、Bonferroni法で補正したのちも、職場が利己的である、信頼できないと回答した群では、職場が利他的である、信頼できると回答した群と比較して有意に合計得点および下位尺度の得点が高かった。

#### 【考察】

職場のストレス、職場のソーシャルキャピタルは年齢、性別、職位職種、勤務時間、交代勤務、婚姻状況を調整しても独立して睡眠の質の低さに関連していた。職場変数で調整したのちも、職場信頼と職場規範はPSQIの合計得点および睡眠時間以外の6つの下位尺度と有意に関連していた。

職場のソーシャルキャピタルは、性別や年齢、他の職場指標で調整したのちも、睡眠時間以外の睡眠の質的側面と有意に関連していた。

本研究は大規模労働者集団における睡眠の質と職

場のソーシャルキャピタルに有意な関連があり、その関連性においては、睡眠の量的側面ではなく、睡眠の質的側面が関連しているという新たな知見を提供した。個人のメンタルヘルスの維持、望ましくない生活習慣の改善、十分な睡眠時間の確保に加えて、職場のソーシャルキャピタルを向上させることが、睡眠の質の改善を介して、低い睡眠の質に起因する疾病の予防につながる可能性がある。

#### 【成果発表】

1. 加瀬悠平, 関根道和, 立瀬剛志, 山田正明. 睡眠の質に対する個人および職場のソーシャルキャピタルの関与. 第77回日本公衆衛生学会総会; 2018 Oct 25; 福島
2. 加瀬悠平, 関根道和, 立瀬剛志, 山田正明. ピッチバーグ睡眠質問票による睡眠の質と職場のソーシャルキャピタルの関係. 第78回日本公衆衛生学会総会; 2019 Oct 25; 高知

## 創傷治癒部位におけるCD206陽性マクロファージ由来血管新生因子の解析

川口 アエ 病態・病理学講座 (指導教員: 笹原 正清教授, 山本 誠士講師)

#### 【はじめに】

創傷治癒領域の血管新生は、関与する細胞群や分子群など未だ不明点が多い。我々は、サイトカイン産生や創傷部位の壊死組織のクリアランスに重要なマクロファージに着目して研究を行った。マクロファージは多くのサイトカインやケモカインを産生するとされているが、創傷治癒部位において、どのような血管新生因子を産生するのか不明点が多い。この疑問点を明らかにするために、マクロファージ発生不全を表現型とする *Csf1<sup>op/op</sup>* マウス (*op/op*) を用い、皮膚創傷治癒モデルを構築し、経時的な遺伝子発現や蛋白質発現の解析を行った。

#### 【材料および方法】

野生型マウス (WT) を対照とし、マクロファージが存在しない *op/op* マウスの創傷部位でどのような変化が生じるのか、組織採取後、免疫染色による血管新生やマクロファージ浸潤の解析、Western blotによる血管新生因子の解析を行った。また、血管内皮細胞であるHUVECを用いた *in vitro* の解析も行った。

#### 【結果】

WTマウスでは、創傷治癒部位には多数のCD206陽性マクロファージが浸潤していたが、*op/op* マウスでは浸潤が認められなかった。また、*op/op* マウスの血管新生はWTマウスと比較して極度に抑制されていた。特に血管内皮細胞のfilopodia形成が *op/op* マウスで極度に抑制されていた。Western blotによる解析の結果、*op/op* マウスでAngiopoietin 1 (Ang1) の有意な発現低下を見出した。VEGF-A, VEGF-C, PDGF-BB, PDGF-CC, CXCL12などの血管新生因子はWTマウスと *op/op* マウスで同等の発現であった。創傷治癒部位の免疫染色結果から、CD206陽性マクロファージがAng1を特異的に発現していることが明らかとなった。Ang1をHUVECに作用させた *in vitro* の実験では、Ang1添加群でアクチン重合と脱重合に重要なWASP, GMFG mRNAの発現が増加していた。また、創傷治癒部位の免疫染色の結果、WTマウスと比較して *op/op* マウスでは血管内皮細胞におけるWASP, GMFGの有意な発現低下が確認された。さらにCD206陽性マクロファージは、WTマウスでは創傷治癒部位間質のアルブミンを貪食し組織中から除去したが、*op/op* マ



ウスでは長時間残存していた。

### 【考察】

以上の結果から、CD206陽性マクロファージは創傷治癒部位でAng 1を分泌し血管新生を促進し、血液漏出成分のクリアランスにも寄与していると結論付けられる。

### 【成果公表】

川口アエ, 山本誠士, 奥野のり子, 濱島丈, 山内直岳, 笹原正清: 創傷治癒部位におけるCD206陽性マクロファージ由来血管新生因子の解析. 第110回日本病理学会総会, 東京, PU-55, 2021.

## スプライソスタチンAによる細胞周期のG1期停止機構の解明

菊池 啓 遺伝子発現制御学 (指導教員: 甲斐田大輔准教授)

### 【はじめに】

スプライシングは真核生物の正確な遺伝子発現にとって必須の機構である。我々は以前の研究で、強力なスプライシング阻害剤であるスプライソスタチンA (SSA) 処理により、細胞周期がG1期とG2/M期で停止することを発見した。また、G1期での停止にCDKインヒビターであるp27タンパクとそのトランケート型タンパクの増加が関わっていることが判明している。しかし、p27をノックダウンしてもG1期停止は完全には解除されず、他の分子機構の存在が予想されていた。

今回、我々はサイクリンE1 (CycE1) とサイクリンE2 (CycE2)、そしてそれらの転写因子であるE2F1に着目し、タンパク、およびmRNAレベルで解析を行った。これらはそれぞれCCNE1, CCNE2, E2F1にコードされており、G1期の進行に深く関わることが知られている。

### 【材料および方法】

#### I. 細胞の培養

HeLa S3を10% heat-inactivated fetal bovine serum (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) を含んだDulbecco's modified Eagle's medium (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan) を用いて、37°C、5% CO<sub>2</sub>インキュベーターで培養した。また、ダブルチミジン法によって、細胞周期を同調させた。

#### II. イムノブロット法

培養細胞を1×SDS-PAGE sample bufferで直接懸濁した。タンパク質はSDS-PAGEで分離し、電気泳動によってPVDF membraneに転写した。一次、二次抗体で処理した後、NOVEX ECL Chemiluminescent Substrate Reagent Kit

(Thermo Fisher Scientific), ImageQuant LAS 4000mini (GE Healthcare) を用いて検出した。

#### III. 細胞周期解析

細胞周期の進行は、image-based cytometer Tali (Thermo Fisher Scientific) を用いて解析した。

#### IV. siRNAの導入

Lipofectamine RNAiMAX (Thermo Fisher Scientific) を用い、siRNAを導入した。

#### V. RNA抽出およびqRT-PCR

Total RNAはTRIzol reagent (Thermo Fisher Scientific) を用いて抽出した。新規合成RNAはClick-iT Nascent RNA Capture Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いて抽出した。

qRT-PCRはMX3000P system (Agilent) を用いた。

#### VI. レポータープラスミド作成

CCNE1もしくはCCNE2, E2F1遺伝子のプロモーターの直後にGFPを挿入したプラスミドを作成し、Lipofectamine 3000 reagent (Thermo Fisher Scientific) を用いて細胞に導入した。

#### VII. p27ノックアウト細胞の作成

Alt-R® CRISPR-Cas9 を用いてノックアウト細胞を作成した。

#### VIII. 統計解析

統計解析にはR Commanderを用いた。統計学的有意差は、two-tailed t-test, one-way ANOVA with Tukey's test, Dunnett's testを用いた。P<0.05を統計学的に有意とした。

**【結果】**

SSA処理後の細胞ではCycE1, CycE2, E2F1のタンパク量が減少していることが分かった。さらにこれらの細胞ではCCNE1, CCNE2, E2F1 mRNA量も減少しており, mRNA量の減少によるタンパク量の減少が考えられた。

このmRNA量減少の機構を明らかにするため, SSA処理後のCCNE1, CCNE2, E2F1 mRNAを詳細に分析した。すると, いずれの遺伝子においても, 下流のエキソンが上流のエキソンより有意に減少しており, 転写伸長が阻害されていることが分かった。また, 主要なpre-mRNA分解機構であるnuclear exosomeをsiRNAを用いて阻害してもmRNA量は増加しなかった。これらのことから, mRNAの減少は分解の促進よりも産生の低下によると考えられた。

次にCycE1, CycE2, E2F1タンパク量減少がG1期停止へ与える影響を調べるため, SSA処理の後, それぞれを過剰発現させた。その結果, CycE1, E2F1の過剰発現はG1期停止をある程度解除することが分かった。過剰発現に加えてp27をノックダウンするとG1期停止がさらに解除されることも分かった。

**【考察】**

SSAによるG1期停止には, p27の増加のみなら

ず, mRNAの転写伸長抑制によるCycE1, E2F1タンパク量の減少が関わっていることが明らかとなった。一方, これらの影響を排除しても, G1期停止は完全に解除されなかったことから, 他の機構も関わっていることが考えられる。また, mRNAの転写伸長抑制の機構についても詳細は分かっておらず, 今後の課題である。

スプライシングは現在, 抗癌剤のターゲットとして注目されてきており, 血液腫瘍の分野では臨床試験が行われているものもある。本研究がスプライシングのより深い理解への一助となることを願ってやまない。

**【成果公表】**

## 論文発表

1. Kikuchi K, Kaida D. *CCNE1* and *E2F1* Partially Suppress G1 Phase Arrest Caused by Spliceostatin A Treatment. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 11623

## 学会発表

1. 菊池啓, 甲斐田大輔. スプライシング阻害によるG1期停止機構の解明. 第44回日本分子生物学会年会, 2021.12.1-3, 神奈川

## TAP fragmentを用いたT細胞受容体の機能解析における 発現プロモーターの検討

小西 正晃 富山大学 学術研究部医学系 免疫学講座 (指導教員: 浜名 洋助教, 岸 裕幸教授)

**【はじめに】**

癌に対する免疫療法における重要な標的抗原として, 患者各々において点突然変異により生まれたネオ抗原があり, ネオ抗原に対する癌免疫療法が現在盛んに研究されている。ネオ抗原は, 非自己の抗原であるため免疫原性が高いと考えられ, 癌免疫療法の標的抗原として有望である。悪性黒色腫や小細胞肺癌などのネオ抗原の発現頻度が高い癌においては, 免疫チェックポイント阻害剤が良好な治療成績を示すことから, ネオ抗原を標的とした免疫療法に期待が高まっている。ネオ抗原に対する (T細胞受容体) TCRを遺伝子導入したT細胞 (TCR-T) を投与するTCR-T療法は, 免疫チェックポイント阻害剤が効果不十分, 治療抵抗性である患者に対する治療法として注目されている。腫瘍浸潤リンパ球

(TIL) には, ネオ抗原に対応するT細胞が含まれており, そのT細胞が発現するネオ抗原特異的TCRはネオ抗原を標的としたTCR-T療法に有用である。TILからTCRの遺伝子を取得することは, 遺伝子解析技術の発展により比較的容易になった。しかし, TILから得られたTCRの機能を解析し, TCR-T療法に有用なネオ抗原特異的TCR遺伝子を同定するには労力と時間が必要となっており, より簡便で迅速なTCRの機能解析法が求められている。

これまでに, 富山大学 学術研究部医学系 免疫学講座では, ヒトT細胞株であるJurkat細胞にTranscriptionally Active PCR (TAP) fragmentを用いてTCRを発現させ, 迅速簡便にTCRの機能を解析する方法の開発を進めてきた。TAP fragmentは, 遺伝子発現プロモーターとpolyAシグナルを付

加したcDNAをPCRにより増幅したDNA断片である。これまでTAP fragmentの遺伝子発現プロモーターにはサイトメガロウイルス由来のCMVプロモーターが用いられてきたが、細胞種によってはEF1 $\alpha$ プロモーターの方が遺伝子発現が高いという報告がある。

そこで本研究では、Jurkat細胞にTAP fragmentを導入してTCRを発現させるのに、CMVプロモーターとEF1 $\alpha$ プロモーターのどちらがTCRの発現に優れているのかを比較検討した。

### 【材料および方法】

#### 【TAP fragmentの調製】

既知の癌抗原であるNY-ESO-1およびWT1に特異的なTCRである1G4 TCRおよびTAK1 TCRのcDNAをGibson Assembly法を用いてpBApo-CMVプラスミドあるいはpBApo-EF1 $\alpha$ プラスミドに組み込んだ。プラスミドにはCMVプロモーターあるいはEF1 $\alpha$ プロモーター、TK Poly-A付加シグナルが組み込まれている。TCR cDNAを組み込んだプラスミドを鋳型にPCRを行い、[プロモーター]-[TCR cDNA]-[TK Poly-A付加シグナル]を含むDNA断片を増幅し、TAP fragmentを合成した。

#### 【TCR発現解析】

別々に合成した1G4 TCRのTCR $\alpha$ およびTCR $\beta$ のTAP fragmentを当量ずつ混合し、Jurkat  $\Delta\alpha\beta$  CD8 $\alpha$ 細胞（もともと発現しているTCRをCRISPR/Cas9を用いてノックアウトしている細胞）へエレクトロポレーションすることで遺伝子導入した。遺伝子導入後24時間培養したJurkat細胞を蛍光標識されたNY-ESO-1ペプチド・MHC tetramerで染色し、フローサイトメトリーによりTCRの発現量を解析した。

#### 【TCRの機能解析】

TCR $\alpha\beta$  TAP fragmentとNFAT ルシフェラーゼレポーター遺伝子をJurkat  $\Delta\alpha\beta$  CD8 $\alpha$ 細胞へエレクトロポレーションし、エフェクター細胞を作製した。このエフェクター細胞を、TCRに対応した抗原ペプチド存在下で、抗原提示細胞（COS-7 HLA/ $\beta$ 2m）と共培養したのち、TCRの活性化によるルシフェラーゼの産生を発光測定により検出した。

### 【結果】

#### I. ペプチド・MHC tetramer を用いたTCR発現量解析

CMVプロモーター TCR TAP fragmentとEF1 $\alpha$ プロモーター TCR TAP fragmentとを、それぞれJurkat  $\Delta\alpha\beta$  CD8 $\alpha$ 細胞に導入し、フローサイトメ

トリー法でTCRの発現効率を比較検討した。CMVプロモーターで導入した場合、TCR発現細胞の割合が平均して2.27%であるのに対し、EF1 $\alpha$ プロモーターでは26.9%とTCR発現量の改善が見られた（ $p=0.0095$ ）。これらの結果からEF1 $\alpha$ プロモーターを用いることで、TCRの発現効率を改善できることが明らかとなった。

#### II. ルシフェラーゼレポーターアッセイによるTCRの機能解析

TCR TAP fragmentとNFAT-ルシフェラーゼベクターを同時にJurkat細胞に導入し、抗原刺激後のルシフェラーゼ発光を比較した。1G4 TCRを発現させたJurkat細胞においては、CMVプロモーター TCR TAP fragmentを導入した場合、相対発光量（RLU）の平均が2894.2であるのに対し、EF1 $\alpha$ プロモーター TCR TAP fragmentではRLUの平均値は6430.2となり、RLUの上昇が見られた（ $p=0.004$ ）。また、TAK1 TCRを発現させたJurkat細胞においても、CMVプロモーターを用いた場合のRLUは998.3、EF1 $\alpha$ プロモーターを用いた場合でRLUは4878.3となりRLUの上昇が見られた（ $p=0.002$ ）。これらの結果から、EF1 $\alpha$ プロモーターを用いることで、より高感度にTCRの活性化を検出可能になることが示された。

### 【考察】

TCR発現量解析により、Jurkat細胞でのTCR発現効率はCMVプロモーターよりEF1 $\alpha$ プロモーターが優れていることがわかった。また、異なる抗原特異性をもつ1G4 TCRとTAK1 TCRを用いて、TCRの機能解析を施行したところ、CMVプロモーターでTCRを発現させた場合と比較してEF1 $\alpha$ プロモーターを用いた方が有意に高いRLU値を示した。

結論として、EF1 $\alpha$ プロモーターを用いることで、TCR発現が向上し、より高感度にTCRの機能解析の実施が可能となった。

現在EF1 $\alpha$ プロモーターを用いた方法を応用し、癌患者TILのネオ抗原特異的TCRの機能解析やCOVID-19回復患者のSARS-CoV-2特異的TCRの機能解析といった研究が進行中である。

### 【成果公表】

小西正晃. TAP fragmentを用いたT細胞受容体の機能解析における発現プロモーターの検討. 研究医養成プログラム修了予定者のための学術研究会 2021.12.14, 富山.

## 高脂肪食誘導性肥満に対する NAD前駆体ニコチンアミドリボシドの効果

佐伯 玲奈 富山大学分子医科薬理学講座（指導教員：中川 崇教授，夜久 圭介助教）

### 【はじめに】

NAD（ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド）はエネルギー代謝をはじめとした様々な代謝経路において重要な役割を担っている補酵素である。また、SirtuinやポリADPリボースポリメラーゼ（PARP）の基質として、タンパク質の脱アセチル化やDNA修復を介して老化関連疾患の制御にも関わっている。NADの代謝経路にはアミド体で構成されるsalvage経路と脱アミド体で構成されるde novo経路があり、体内のNAD量は合成と分解のバランスにより保たれている。しかしながら、老化により細胞や組織内のNAD量が減少することが知られており、NADの減少はエネルギー代謝、SirtuinやPARPの活性低下を引き起こしさらなる老化や老化関連疾患の原因となる。そのため、加齢に伴って減少するNAD量を外部から補充することで、NAD量を維持することが老化制御に重要であると考えられている。先行研究でNAD前駆体の投与による体内NAD補充は肥満やそれに伴う耐糖能異常を改善することが報告されており、特にニコチンアミドリボシド（NR）はヒトを対象とした臨床試験も進められている。そこで、本研究では、NRの投与が、高脂肪食誘導性の肥満に効果的であるかを検討した。

### 【材料および方法】

本研究では野生型C57BL/6Nマウスを対象に用い、通常食（NC）または60%高脂肪食（HFD）を8週間投与する食事誘導性肥満モデルを用いた。高脂肪食群ではNRを飲水投与した。NC群、HFD群、HFD+NR群の3つの群に分け（各n=6）、毎週体重測定を行い、8週間投与後に安楽死させ解剖した。取り出した肝臓や脂肪組織は重量測定を行い、肝臓に関してはさらに中性脂質量やNAD関連代謝物、糖代謝関連代謝物について測定した。NAD関連代謝物、糖代謝関連代謝物はLC/MS（液体クロマトグラフィー質量分析計）を用いて測定した。

### 【結果】

#### I. 体重

高脂肪食（HFD）群では通常食（NC）投与マウスと比べて顕著に体重が増加したが、NRの投与によって体重増加が抑制された。

#### II. 脂肪組織

脂肪組織でも体重と同様にHFD群で重量が増加した。内臓脂肪ではHFD+NR群ではHFD群と比較し、あまり大きな変化は見られなかった。一方で、皮下脂肪や褐色脂肪では、HFD+NR群ではHFD群と比較し、増加抑制が見られた。

#### III. 肝臓所見

肝臓所見としてHFD群では脂肪肝や組織重量の増加が見られた。HFD+NR群では通常食群と同程度まで組織重量の増加が抑制された。

肝臓内の中性脂肪量についてはHFD+NR群で低下傾向はあったものの有意差はなかった。

#### IV. NAD量

NAD量は、HFD+NR群で顕著に増加し、NADの前駆体であるNAやNR量においても同様に増加していることがわかった。NAに関しては、高脂肪食を摂取すると通常食時よりもNAが減少した。

#### V. 糖代謝関連代謝物

解糖系やペントースリン酸回路などの周辺の糖代謝関連代謝物については、HFD+NR群とHFD群と比べて優位な変化は見られなかった。

### 【考察】

NAD量は、HFD+NR群で顕著に増加していた。また、NRを併用することで、体重増加が抑制された。さらに、肝臓、皮下脂肪、褐色脂肪ではHFDによる増加がNR併用により抑制された。これらはNADの増加を介したメカニズムが考えられるが、NADを利用する糖代謝関連代謝物の経路にはあまり影響を及ぼしていなかった。

以上よりNRは高脂肪食誘導性肥満に対して、体重や組織重量、NAD量増加の点で効果的であることが示された。また、NRは既に临床上使用することができ、患者への応用が可能である。今後様々なNAD前駆体の効果的な組み合わせを検討することによって、さらなる老化制御効果が期待できると考える。



**【成果公表】**

佐伯玲奈, 鉛井千佳乃, 夜久圭介, 中川崇, 高脂肪

食誘導性肥満に対するNAD前駆体の併用効果. 日本生化学会北陸支部第39回大会, 2021.6.5, 石川.

**日本人大学生におけるインターネット依存と抑うつとの関係**

関 友知 公衆衛生学講座 (指導教員: 稲寺 秀邦教授, 浜崎 景前准教)

**【はじめに】**

インターネットの普及とともに生活が便利になった一方、インターネットの過剰使用を制御できず、日常生活に支障をきたしてしまうインターネット依存による様々な弊害が報告されている。特に若者におけるインターネット依存と抑うつとの関連性が指摘されているが、多くの先行研究は十分な数の被験者を対象にしていない。そこで今回、X大学の幅広い学部で行われたアンケート調査の結果から、大学生のインターネット依存と抑うつとの関連性を検討し、さらにインターネット依存に影響を与える要因について調査した。

**【方法】**

無記名・自記式の調査 (基本属性, 生活習慣, 悩みなど, Internet Addiction Test (IAT), Center for Epidemiological Self-Depression Scale (CES-D)) をX大学の7つの学部在籍する計5,261人の学生を対象に行った。

インターネット依存の評価に関しては、インターネット依存度評価尺度である日本語版 IAT (20項目5件法) を使用し、39点以下を依存なし、40点から69点までを弱い依存、70点以上を強い依存とした。また、抑うつの評価に関しては、抑うつ症状の評価尺度である日本語版CES-Dを使用し、15点以下を抑うつ症状なし、16点以上を抑うつ症状ありとした。

インターネット依存と抑うつとの関連性の検討においては、IAT得点に基づいたインターネット依存度を独立変数として、抑うつ症状の有無を従属変数としたロジスティック回帰分析 (共変量: 年齢, 性別, 各種悩み, 飲酒, 喫煙, ゲームの使用) を行った。さらに、携帯電話の使用内容とインターネット依存の関連性の検討においては、携帯電話の利用内容を独立変数として、インターネット依存の有無を従属変数としたロジスティック回帰分析 (共変量: 年齢, 性別, 各種悩み, 飲酒, 喫煙) を行った。

なお、全ての検定において、有意水準は $\alpha=0.05$

と定義し、解析にはIBM SPSS Statistics Version 24 (IBM Japan, Tokyo) を使用した。なお、本研究は本学の倫理審査委員会にて審査・承認を経て行われている (臨認25-100, 臨30-97)。

**【結果】**

4,490人から回答を得て (回収率85.3%), IAT得点, CES-D得点, 年齢, 性別, 学年, 各種悩み (友人関係, 経済面, 学業面), 飲酒, 喫煙, ゲームの使用のいずれかの項目で無回答であったものを除外し、最終的に3,251人で解析を行った (有効回答率61.8%)。

IAT得点の平均は、 $41.5 \pm 14.5$ となり、大学生の43.9% ( $n=1426$ ) に弱い依存がみられ、4.6% ( $n=150$ ) に強い依存がみられた。CES-D得点の平均は、 $17.1 \pm 9.5$ となり、インターネット依存度における平均得点は、依存なしで $14.1 \pm 8.3$ 、弱い依存で $19.6 \pm 9.1$ 、強い依存で $26.7 \pm 10.9$ となった。

ロジスティック回帰分析の結果から、インターネット依存度が強くなるほど抑うつに対するオッズ比が上がる事が分かった (弱い依存: OR = 2.87, 95% Confidence interval (CI) = 2.45-3.36; 強い依存: OR = 7.31, 95% CI = 4.61-11.61)。さらに、インターネット依存に関して、携帯電話の使用内容では、掲示板の利用が最も高いオッズ比を示し (OR = 3.74, 95% CI = 2.53-5.53)、LINEの利用が最も低いオッズ比を示した (OR = 0.59, 95% CI = 0.49-0.70)。

**【考察】**

先行研究で指摘されているように、インターネット依存度スケールには、ゴールドスタンダードが存在しない。そのため、数多く存在する依存度スケールごとにインターネット依存の有病率が大きく異なり、研究間での有病率の比較には妥当性が乏しい。強い依存に対するIATのカットオフ値を本研究と同様に70点とした先行研究では、韓国の高校生が2.5%、イランの大学生が2.2%、日本の中学生が

2.0%という強い依存を示す結果が得られているが、それらと比較すると日本人大学生のインターネット依存の有病率は高いと言える。

インターネット依存が抑うつリスク因子になること、また、インターネット依存度が強くなるほど抑うつが強まることが示唆された。日々のストレス解消をインターネットに頼っていくうちに、インターネットの使用が過剰となり、現実世界およびインターネット上の対人関係が悪化してさらなるストレスを抱えるため、抑うつが重症化し、それを解消しようとしてインターネットにのめり込む、というように、抑うつとインターネット依存の両方が助長し合う悪循環のプロセスが存在していると推測される。

携帯電話での掲示板利用がインターネット依存のリスク因子になることが示唆された。掲示板利用における匿名性および不特定多数との交流が、誹謗中傷などによりインターネット上の対人関係を悪化させやすくし、それにより生じたストレスを解消するために、さらなる依存へとつながると推測される。一方で、携帯電話でのLINEのようなメッセージアプリケーションの利用は、友人や家族とのコミュニケーションによるストレス解消のような良い影響を

及ぼしていると推測される。

研究の限界として、横断研究であることに加え、有効回答率が低いこと、単一の大学での調査であること、社会的に望まれる回答がされやすいこと、インターネット環境が数年で大きく変化してしまうことが挙げられる。

#### 【成果公表】

##### 英文原著論文

Seki T, Hamazaki K, Natori T, and Inadera H.: Relationship between internet addiction and depression among Japanese university students. *Journal of Affective Disorders*. 256: 668-672, 2019.

##### 国内学会

関友知, 浜崎景, 名取孝之, 稲寺秀邦. 大学生のインターネット依存と抑うつとの関係. 第53回富山県公衆衛生学会. 2019.2.13, 富山.

##### その他

・令和2年度 富山大学「人工知能技術の応用を見据えた医療データ利活用のための医薬工連携型人材育成」履修

・日本メディカルAI学会 メディカルAI専門コース修了

## メラトニン産生能が異なるマウス系統における メラトニン投与による行動特性変化の解析

新山 貴仁 行動生理学講座（指導教員：高雄 啓三教授）

### 【はじめに】

松果体で産生されるメラトニンは、睡眠や生殖など生命活動のリズム調節に関わるアミノ酸誘導体ホルモンである<sup>1</sup>。メラトニンの分泌は、光刺激により抑制され、その分泌量は夜間に増加し日中に減少する<sup>2</sup>。現代社会では夜間においても電子機器などからの強い光に晒されることが多く、夜間のメラトニン分泌が抑制されることでその分泌リズムが乱され、現代人の心身に悪影響を及ぼすことが懸念されている<sup>3,4</sup>。実際に睡眠障害や気分障害では、その病態にメラトニン分泌リズムの乱れが関与している可能性が指摘されており、メラトニンやメラトニン受容体作動薬の投与により分泌リズムの乱れを是正する治療が施行されることもある<sup>5-7</sup>。しかしながら、それらの治療効果のメカニズムは明らかになっておらず、外部からのメラトニン投与がメラトニン分泌リズムや脳機能にどのような影響を与えるのかにつ

いても、その全容は未だ明らかでない。

メラトニンやその関連物質の精神神経症状に対する治療エビデンスの構築や、脳機能に与える影響の解析に、マウスをはじめとしたモデル動物が使用されている。それらのモデル動物は人間と同等のメラトニン感受性を有することが理想的であるが、科学研究で用いられるマウス系統の多くは季節性のない環境下で維持された結果、メラトニン受容体は存在しているものの、遺伝的にメラトニン産生能を失っている<sup>8</sup>。メラトニン産生能を有するマウス系統も存在するが、メラトニン産生能を有するマウス系統と有しないマウス系統でメラトニンに対する反応を行動レベルで多面的に比較した研究はこれまで報告がなく、メラトニン研究における適切なマウス系統は不明である。そこで本研究では、産生能がないC57BL/6J系統とメラトニン産生能があるC3H系統にメラトニンを投与し、ホームケージでの日内活動

量・活動リズム変化を解析するとともに、テストバッテリーによる網羅的行動試験を行い、メラトニン産生能の異なるマウスについてメラトニン応答性とメラトニン投与下及び離脱時の脳・行動表現型を比較した。

#### 【材料および方法】

C57BL/6J系統及びC3H系統のマウスについて、対照群（溶媒、C57BL/6J系統12匹、C3H系統11匹）、低濃度メラトニン投与群（メラトニン2 mg/kg/day、C57BL/6J系統13匹、C3H系統12匹）、高濃度メラトニン投与群（メラトニン8 mg/kg/day、C57BL/6J系統13匹、C3H系統12匹）に分け、7日間にわたり暗期（19～7時）開始1時間前にメラトニンを腹腔内投与した。その後3週間にわたりメラトニンの投与を休止するとともに、網羅的行動試験を実施し各群の結果を解析・比較した。全期間についてホームケージでマウスの日内活動量・活動リズム変化を記録・解析した。また、全行動試験終了1ヵ月後、C3H系統の3群それぞれについて対照群（溶媒）、メラトニンの急性投与群（メラトニン8 mg/kg）に分け、オープンフィールド試験を実施し各群の結果を解析・比較した。

#### 【結果】

メラトニン投与前後及びその後の離脱期間を通してC57BL/6J系統、C3H系統ともに投与・休止による日内活動量・活動リズムに有意な変化は認められなかった。

網羅的行動試験について、C57BL/6J系統ではメラトニン投与による有意な行動特性の変化は認められなかった。C3H系統では、明暗選択箱試験においてメラトニン投与群で不安様行動が増加する傾向がみられ、オープンフィールド試験では低濃度メラトニン投与群で不安様行動の減少傾向がみられた。

C3H系統においては、全行動試験終了1ヵ月後にメラトニンへの応答性を比較するために、メラトニン急性投与下でのオープンフィールド試験を行った。その結果、高濃度メラトニン投与群でメラトニン急性投与後に有意な不安様行動の減少が認められ、低濃度メラトニン投与群でも同様の傾向がみられた。

#### 【考察】

メラトニン受容体を有するもののメラトニン産生能がないC57BL/6J系統では、慢性的なメラトニン投与による有意な行動表現型の変化は認められなかった。一方、メラトニン産生能があるC3H系統で

は離脱期間においていくつかの行動表現型に変化が認められた。外因性のメラトニンに対する反応はメラトニン受容体の有無だけでなく、メラトニン産生能の有無によっても影響されることが示された。またC3H系統で認められた変化は、慢性的なメラトニンの投与により、マウスのメラトニン分泌リズムが乱されたことに起因する可能性があると考えられる。さらに、C3H系統では慢性的なメラトニン投与により、その後長期にわたり外因性のメラトニンに対する反応が鋭敏となることが示され、その程度は慢性的に投与されていたメラトニンの濃度に依ることも示唆された。

以上よりメラトニンの投与は、特にメラトニン産生能を有する場合、脳機能に短期的および中長期的な影響を及ぼす可能性があることから、メラトニン研究における実験動物の選定にはメラトニン産生能の有無についても考慮する必要があると考えられる。

#### 【成果公表】

新山貴仁, 藤村耕平, 藤井一希, 笹川恵理, 腰高由美恵, 安達真由美, 高雄啓三. メラトニン産生能が異なるマウス系統におけるメラトニン投与による行動特性変化の解析. 第66回日本実験動物学会総会, 2019.5.15-17, 福岡国際会議場, 福岡市.

#### 【引用文献】

1. Brzezinski A. Melatonin in Humans. *N Engl J Med*. 1997; 336(3): 186-195. doi:10.1056/NEJM199701163360306
2. Moore RY, Klein DC. Visual pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Brain Res*. 1974; 71(1): 17-33. doi:10.1016/0006-8993(74)90188-7
3. Cajochen C, Frey S, Anders D, et al. Evening exposure to a light-emitting diodes (LED)-backlit computer screen affects circadian physiology and cognitive performance. *J Appl Physiol*. 2011; 110(5): 1432-1438. doi:10.1152/jappphysiol.00165.2011
4. Ostrin LA, Abbott KS, Queener HM. Attenuation of short wavelengths alters sleep and the ipRGC pupil response. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2017; 37(4): 440-450. doi:10.1111/opo.12385
5. Berardis DD, Orsolini L, Serroni N, et al. The role of melatonin in mood disorders. *ChronoPhysiology Ther*. Published online

- November 11, 2015. doi:10.2147/CPT.S41761
6. Takaesu Y, Futema K, Kobayashi M, et al. A preliminary study on the relationships between diurnal melatonin secretion profile and sleep variables in patients emergently admitted to the coronary care unit. *Chronobiol Int*. 2015; 32(6): 875-879. doi:10.3109/07420528.2015.1048869
7. Srinivasan V, Berardis DD, Shillcutt SD, Brzezinski A. Role of melatonin in mood disorders and the antidepressant effects of agomelatine. *Expert Opin Investig Drugs*. 2012; 21(10): 1503-1522. doi:10.1517/13543784.2012.711314
8. Kasahara T, Abe K, Mekada K, Yoshiki A, Kato T. Genetic variation of melatonin productivity in laboratory mice under domestication. *Proc Natl Acad Sci*. 2010; 107(14): 6412-6417. doi:10.1073/pnas.0914399107

## Effect of aging on NAD repletion by nicotinic acid NAD前駆体ニコチン酸のNAD増加効果に対する老化の影響

西岡 文音 分子医科薬理学講座 (指導教員: 夜久 圭介助教, 中川 崇教授)

### 【はじめに】

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (nicotinamide adenine dinucleotide: NAD) は、すべての生物に必須の補酵素で、数多くのエネルギー代謝に関与しており、さまざまな生体機能を持つことが知られている。NADは生体にとって重要な物質だが、各臓器に存在するNADの量は加齢とともに減少していく。NAD量の減少は、加齢に伴う生理的な衰えと関連し、老化を促進させる。ニコチン酸 (NA) とニコチンアミド (NAM) は食事に最も多く含まれるNADの前駆体で、これらを総称してナイアシンと呼ぶ。NAには抗加齢機能が期待されるが、NAD代謝に対する加齢の影響は未だ不明である。今回、NAによるNAD増加作用に対する老化の影響を検討した。

### 【材料および方法】

以下の全ての実験において、若齢マウスは生後2ヶ月、老齢マウスは生後18ヶ月のものを用いた。また、全ての実験においてマウスの肝臓からサンプルを採取、作成した。

#### 1. NAによるNAD代謝経路への影響

若齢マウス6匹、老齢マウス6匹にNAD前駆体を経口投与し、対称群として若齢マウス6匹、老齢マウス6匹に生理食塩水を経口投与した。それぞれ投与の3時間後に解剖し、マウスの肝臓を採取した。

#### 2. NAD関連代謝物の測定

採取した肝臓から水、メタノール、クロロホルムを用いて、代謝物の抽出をおこなった。抽出した代謝物は水で再構築したのちにフィルターで濾過し、測定に用いた。測定は液体クロマトグラフィートリプル四重極型質量分析計 (LC/MS/MS) で行い、MRM (Multiple reaction monitoring) で検出した。

### 【結果】

今回、NAを経口投与することで、若齢マウス、老齢マウスともにNADレベルを上昇させることができた。また、NADだけでなく、NA、ニコチンアミドリボシド (nicotinamide riboside: NR)、ニコチン酸リボシド (NAR)、NMN、NAMN、ニコチン酸アデニンジヌクレオチド (nicotinic acid adenine dinucleotide: NAAD)、NAMも上昇していた。

### 【考察】

老齢マウスでもNA投与によりNADが上昇した。今後、若齢マウスと老齢マウスでの比較や、NAD合成酵素の発現なども調べていく予定である。

### 【成果公表】

西岡文音, 夜久圭介, 中川崇. NAD前駆体ニコチン酸のNAD増加効果に対する老化の影響. 第44回日本分子生物学会年会. 2021.12.1-3, 横浜.



## 母体免疫活性化はマウス胎仔の脳における Ptp<sub>rd</sub>遺伝子微小エクソン選択調節を攪乱する

藤村 耕平 行動生理学講座（指導教員：高雄 啓三教授）

### 【はじめに】

自閉スペクトラム症（ASD）とは、対人的相互反応や意志伝達の質的な障害、行動・興味の限局と反復的で常同的な行動を特徴とする発達障害である。ASDは多因子疾患であり、神経回路形成やシナプス機能を調節する遺伝子群に生じる遺伝子多型や変異などの遺伝的要因に加え、胎生期の母体ウイルス感染による免疫活性化などの環境要因も発症リスクを高めることが知られている。

脳内の数千億もの神経細胞は、シナプスを介することで高度な神経ネットワークを形成している。シナプスの形成は、シナプスオーガナイザーと呼ばれる細胞接着分子が神経細胞間に発現し、シナプス前部および後部構造の分化を誘導することで制御される。これまでに報告されているシナプスオーガナイザーは10種類程であるが、多様な組合せで複合体を形成し、複雑な神経回路形成に寄与していると考えられている。また、これらのシナプスオーガナイザー遺伝子の点変異や欠失がASDなどの神経発達障害の原因となることが家系解析より報告されており、シナプスオーガナイザーシグナルの破綻が神経精神疾患の発病に密接に関わることを示している。

受容体型チロシン脱リン酸化酵素PTP $\delta$ はシナプス前膜に発現する主要なシナプスオーガナイザーの一つである。Ptp<sub>rd</sub>遺伝子内には3つ微小エクソン（meA3, meA6およびmeB）が存在し、スプライシングにより取舍選択されることでPTP $\delta$ の細胞外領域のペプチド配列を変化させ、シナプス結合の標的特異性を調節する。近年、ASD患者の脳内において神経発生や回路網形成過程で機能する微小エクソンの選択パターンに異常があることが報告されており、PTP $\delta$ でも同様の異常が生じている可能性が考えられる。すなわちASDに関連する環境要因が微小エクソンの選択の攪乱を介して、シナプスオーガナイザーシグナルを破綻させることがASD発症に繋がる可能性が考えられた。

本研究では母体免疫活性化が仔の微小エクソン選択調節を攪乱する可能性の検証を試みた。Polyinosinic-polycytidylic acid (Poly(I:C))はウイルス感染を模倣する合成二本鎖RNAアナログであり、周産期に母体へ投与することでその産仔に自閉症様行動異常を誘発することが知られている。そこ

でPoly(I:C)投与による母体免疫活性化モデルマウスを用いて、胎仔および産仔脳内のPtp<sub>rd</sub>遺伝子のmeA3, meA6およびmeBの選択比率をPCRフィンガープリント法にて解析した。

### 【材料および方法】

妊娠12.5日のマウス腹腔内に10mg/kgのPoly(I:C)（投与群）あるいは生理食塩水（対照群）を投与した後、妊娠14.5日目の胎仔、生後2日および8日目の産仔から左右の大脳皮質を摘出した。採取したサンプルから抽出したTotal RNAよりcDNAを合成し、PTP $\delta$ の細胞外領域をPCRで増幅した。得られたPCR産物をpBS/EcoRV/CIAP vectorにライゲーションして大腸菌へ形質転換を行った。LB寒天培地で培養したコロニーに対してPCRを行い、制限酵素Pst Iで処理をし、アガロースゲルで電気泳動を行った。電気泳動の結果よりPtp<sub>rd</sub>遺伝子のmeA3, meA6およびmeBの選択比率を評価した。

### 【結果】

妊娠14.5日目の胎仔の左大脳皮質においてmeBの選択比率がPoly(I:C)投与群で有意に減少していた。一方、右大脳皮質では2群間で各微小エクソンの選択比率に有意な差を認めなかった。また、生後2日および8日目の産仔においては、左右の大脳皮質で投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

### 【考察】

母体へのPoly(I:C)投与が、マウス胎仔の脳における微小エクソンの選択調節に影響を与えることが示唆された。胎生期のマウスにおいては、Poly(I:C)投与によって片側性に微小エクソン選択調節が攪乱されることが明らかになったが、出生後においてはPoly(I:C)投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。本研究では左右の大脳半球の一つのサンプルとして解析を行ったため、どのような領域や細胞種で微小エクソン選択調節の攪乱が生じているかは確認できていない。胎生期に生じた微小エクソン選択調節の変化が一過性のものであるか、その後脳内の神経回路形成にどのような影響を与えているかについてはさらなる検討が必要である。Poly

(I:C) 投与による母体免疫活性化モデルは、母体での免疫反応により放出された炎症性のメディエーターが胎仔に移行し、神経発達に影響を及ぼすと考えられている。また、Poly (I:C) の胎仔脳への影響は片側性に現れるという報告があり、本研究で左大脳皮質においてのみ選択比率の差がみられたことは、共通の因子によって引き起こされている可能性も考えられる。今後は、具体的にどのような炎症性サイトカインが胎仔のエクソン選択に影響を与えるかを検討する必要がある。また、より細かな脳領域、もしくは細胞種ごとでのエクソン選択の状況

や、その後の脳内回路の形成、ひいては行動表現型との関連性を精査していくことで、ASDを始めとする神経発達障害の病態の解明への寄与が期待できる。

#### 【成果公表】

藤村耕平, 仙道水月, 藤井一希, 吉田知之, 高雄啓三. 母体免疫活性化は胎児の脳における*Ptprd*遺伝子微小エクソン選択調節を攪乱する. 第67回日本実験動物学会総会, 2020.5.23-25, (誌上開催)

## ルジヨウウイルスの細胞侵入を阻害する低分子化合物の探索

松岡 里咲 富山大学学術研究部医学系微生物学講座 (指導教員: 谷 英樹先生, 木村 美幸先生, 森永 芳智教授)

#### 【はじめに】

ルジヨウウイルスは、アレナウイルス科に属する新興ウイルスとして知られている。2008年に南アフリカ共和国で初めて発生が報告され、これまでに感染者は5人中4人が死亡しており、致死率は80%と非常に高い。初期症状として発熱、頭痛、筋肉痛などインフルエンザ症状を呈し、その後、急性増悪が認められ、最終的には死に至ることが多い。アフリカの発生国以外ではまだ発症歴の認められないウイルス感染症ではあるが、今後、世界各国への拡散や本邦への輸入の可能性も否定できない。治療や予防といった対策への基礎研究として、今回、水疱性口内炎ウイルス (VSV) を基盤としたルジヨウウイルスのシュードタイプVSVを用いて、細胞侵入を阻害できる化合物の探索を行った。

#### 【材料および方法】

##### ①シュードタイプウイルスの作製

ルジヨウウイルスはリスクグループ4に属する病原体であるため、バイオセーフティレベル (BSL-4) の施設で取り扱わなければならない、様々な要因からウイルスそのものを扱うことが困難である。そこで、こうした高病原性のウイルス研究を簡便かつ安全に行える手段として、遺伝子組み換えで自身の外被タンパク質遺伝子を欠損させ、リポーター遺伝子を搭載したVSVを用いたシュードタイプウイルスシステムが開発されている。そこで本研究では、ルジヨウウイルスの糖タンパク質を外被したシュードタイプウイルスを作製し、このウイルスを用いて、ル

ジヨウウイルスの感染を阻害する化合物ライブラリーのスクリーニングをおこなった。

##### ②低分子化合物の添加

Vero細胞およびHuh 7細胞を用いて、TargetMol社の1680種類の低分子化合物を添加した。

##### ③シュードタイプウイルスの感染

293T細胞で作製したルジヨウウイルスのシュードタイプVSVを、化合物を添加したVero細胞及びHuh 7細胞に感染させた。

##### ④ルシフェラーゼ測定試験での感染確認

ルシフェラーゼの活性を指標に、感染を阻害された化合物情報からターゲットの低分子化合物の同定を行った。

##### ⑤同定された化合物への阻害活性効果の確認

得られた候補化合物および類縁化合物に対して、濃度依存的な阻害活性効果を確認した。

#### 【結果】

1680種類の低分子化合物のうち、ルジヨウウイルスの細胞侵入を阻害するものは数種類見つかった。

その中で共にCB 1受容体阻害剤として知られる、リモナバンとAM251に強い阻害活性が認められた。同じCB 1受容体阻害剤であるAM281においても、ルジヨウウイルスの細胞侵入を濃度依存的に阻害することが認められた。

一方で、同じカンナビノイド受容体でもCB 2受容体阻害剤であるAM630では、高濃度においてもルジヨウウイルスの細胞侵入を阻害することができなかった。

### 【考察】

CB1受容体は中枢神経（主に脳）と一部の末梢神経に存在し、同じカンナビノイド受容体でサブタイプであるCB2受容体は末梢神経に存在する。構造上ではCB1受容体とCB2受容体とのアミノ酸配列の相同性は48%とされている。カンナビノイド受容体については未解明な部分も多いが、これまでの研究で明らかになっていることとして、CB1受容体の活性化は食欲亢進作用、記憶障害の誘発、統合失調症をはじめとした精神疾患の誘発が示唆されている。また、内性カンナビノイドには鎮痛や痛覚過敏の緩和作用があるとされている。これに対し、CB2受容体においてはあまり研究が進んでおらず不明な部分も多い。

今回、カンナビノイド受容体の一つであるCB1受容体に対する阻害剤によって、ルジヨウウイルスの細胞侵入が阻害されることが明らかとなった。一方でCB2受容体に対する阻害剤では効果が認められないことから、CB1受容体に対する特異的な阻害がルジヨウウイルスの細胞侵入に対して何らから関与していることが考えられた。

今回の研究でこの特異性につながった背景として、CB1受容体とCB2受容体のアミノ酸配列の相違が細胞侵入に大きく影響を与えていることも考えられ、それらの相違がどのようにルジヨウウイルスの細胞侵入に関係しているかの解明については、今後

さらに研究を進める必要がある。また、今回の研究では、ルジヨウウイルスの細胞侵入のみを模倣できるモデルとして、シールドタイプウイルスを用いたが、実際にルジヨウウイルスに対しても本当に効果が見られるのかを確認するため、BSL-4施設で生ウイルスを用いて研究を行う必要がある。

今回の研究では、CB1受容体を阻害することでルジヨウウイルスの侵入阻害することを明らかにできた。今後の展望としては、CB1ノックアウトマウスを作製し、ルジヨウウイルスの感染侵入の可否についても探りたいと考えている。逆に、CB1受容体を発現していない細胞にCB1受容体を過剰に発現させることにより、ルジヨウウイルスの細胞侵入が亢進することを証明できれば、ルジヨウウイルス感染とCB1受容体を活性化の関係性も明らかとなり、これまで未解明だった、ルジヨウウイルスの性状や治療薬の開発の一助になることが期待できる。

### 【成果公表】

#### 国内学会

Matsuoka R, Kimura M, Fukuhara T, Matsuura Y, Saijo M, and Tani H.: Screening of small chemical compounds able to inhibit Lujo virus cell-entry. 第67回日本ウイルス学会学術集会, 2019.10, 29-31, 東京.

## 血液透析患者におけるリネゾリド初期投与および維持投与量の検討

安河内 励 学術研究部医学系 感染症講座（指導教員：山本 善裕教授）

### 【はじめに】

リネゾリド（LZD）の血中濃度は、腎機能障害者では明らかに上昇し、血小板減少等のリスクが増大する。そのため我々はLZD投与症例に対してTherapeutic drug monitoring（TDM）を施行し、必要と判断した症例には用量調整を行っている。

そこで今回我々は、減量が考慮される腎機能障害者、特に維持透析患者を対象に、初回から減量した場合の有効性と安全性につき、後方視的に臨床的検討を行った。

### 【材料および方法】

2013年4月から2019年12月までに当院でリネゾリドを投与し、TDMを行った維持透析患者8例、11

エピソードを対象とした。

初回減量群（600 mg/日）と常用量開始群（1200 mg/日で開始）に分け、初回・維持トラフ濃度や血小板減少（ベースラインより30%減少）出現率などを後方視的に評価、検討した。

維持透析患者8例、11エピソードのうち、10エピソードは投与中にTDMを施行し用量調整を行った。主治医の最終的な判断にて初回から減量した群は5エピソードあり、残り5エピソードは常用量にて開始となったが、全例TDMによる調整により1日600 mgに減量が必要であった。

患者背景として、年齢は中央値で常用量開始群が55歳、初回減量群が59歳であった。体重やベースラインの血小板数に有意差はなく、併用薬についても

有意差は認められなかった。

### 【結果】

血小板減少の発現率を初回減量群、常用量開始群にわけ Kaplan-Meier 法にて解析した結果、初回減量群において、発現率が有意に少なく、発症までの日数も長くなる結果であった。

常用量使用時のトラフ濃度は、全てのエピソードで推奨トラフ濃度をはるかに超えている症例が多数認められた。

また、初回減量群やTDMにて減量した群など、減量時の維持トラフ濃度は、全てのエピソードで最低有効トラフ濃度を超えていた。

初回減量群において投与24時間後、48時間後には有効トラフ濃度域に達している可能性が高い結果が得られた。また、透析除去率は既報の30%とほぼ同等で26.4%であった。

### 【考察】

近年、腎機能障害者に対する300 mg×2/日への

減量がモンテカルロシミュレーションを用いた解析にて提案されているが、実測値を用い、初期投与量、維持投与量を検討した報告はほとんどない。

維持透析患者では、常用量使用時にトラフ濃度が高値となり、TDMによる用量調整を行った全ての症例で600 mg/日への減量が必要であった。

常用量開始群に比べ初回減量群では血小板減少発現率が、有意に低い結果であった。

初回から減量した場合には有効トラフ濃度に達するまで時間がかかることが懸念されたが、2, 3日目には有効トラフ濃度域(2~7 μg/mL)に達している可能性が考えられた。

### 【成果公表】

安河内 勲, 辻泰弘, 竹腰雄祐, 兼田磨熙杜, 上野亨敏, 川筋仁史, 宮嶋友希, 河合曆美, 酒巻一平, 山本善裕. 血液透析患者におけるリネゾリド初期投与および維持投与量の検討. 第90回日本感染症学会西日本地方学術集会. 2020.11. 5-7, 福岡

## 神経堤由来線間葉系細胞の多分化能の検討

山田 萌 病態病理学講座 (指導教員: 笹原 正清教授, 山本 誠士講師)

### 【はじめに】

神経堤細胞は脳血管のペリサイトをはじめとして様々な細胞に分化する能力がある。神経堤細胞は頭部領域の神経板が神経管を形成する時期(マウスのE8.0~E8.5)にPDGFRαを発現する細胞として識別され、神経板と上皮との境界部分から逸脱し間葉系細胞として全身に遊走することが知られている。このような神経発生期にPDGFRα発現細胞を標識することができれば、成体で神経堤細胞がどの細胞に分化しているかを追跡することができる。

先行研究において、PDGFRαのプロモーター下流でCreを発現するマウスとRosa26-mCherryマウスを掛け合わせ、E8.5にタモキシフェンを母体に投与することで、in vivoでmCherry陽性細胞となる神経堤細胞の追跡を行った。その結果、mCherry陽性細胞は、成体マウスの中枢神経系組織でペリサイトと血管内皮細胞に分化していた。本研究では、in vitroでmCherry陽性細胞のペリサイト、血管内皮細胞への分化能を検討することを目的として研究を行った。

### 【材料および方法】

I. mCherry陽性細胞と血管内皮細胞またはペリサイトとの共培養試験

血管内皮細胞(HBMVEC)とmCherry陽性細胞、ペリサイト(HBPCs)とmCherry陽性細胞の組み合わせでそれぞれ共培養を行った。2週間後に細胞をホルマリン固定し、血管内皮細胞特有の細胞表面マーカーであるCD31, VE-cadherin, ペリサイト特有の細胞表面マーカーであるNG2で免疫染色した。その後mCherry陽性細胞がこれらのマーカーを発現しているかどうかを共焦点顕微鏡で観察した。

II. mCherry陽性細胞のsphere形成能と発現遺伝子の解析

mCherry発現細胞を用いsphereを形成させ11日間培養した。培養した細胞からmRNAを抽出し、cDNAを作成した。その後*Cd31*, *Cdh5*, *Cldn5*, *Eng*, *Flt1*, *Flk1*, *Flt4*, *Tie2*の発現量をRT-PCRにより解析した。IV型コラーゲン上でのflat cultureを行ったmCherry発現細胞も同様の操作を行い、



対照群として使用した。

Ⅲ. mCherry陽性細胞のin vivoでの分化能の解析  
mCherry陽性細胞を用いsphereを形成させ、Matrigelと共にマウスの背中に移植した。4週間後解剖し、mCherry陽性細胞を含む皮下組織をホルマリンで固定した後、凍結切片を作成した。血管内皮細胞特有の細胞表面マーカーであるCD31, VE-cadherin, claudin5の免疫染色をすることで、mCherry陽性細胞がこれらのマーカーを発現しているか観察を行った。

#### 【結果】

I. 脳血管内皮細胞とmCherry陽性細胞を共培養したところ、mCherryはペリサイト特有の細胞表面マーカーであるNG2のみ発現した。一方、ペリサイトとmCherry陽性細胞を共培養したところ、NG2, CD31, VE-cadherinのいずれも発現しなかった。

II. mCherry陽性細胞を、flat cultureとsphereという培養条件下でのmRNA発現量を比較したところ、血管内皮細胞マーカーの*Cd31*の発現量に有意差はみられなかった。一方で、他の血管内皮細胞マーカーである*Cdh5*, *Cldn5*, *Flt1*, *Flt4*の発現量はsphereの方が有意に高かった。特に、*Cdh5*は10倍以上 ( $p < 0.0001$ ), *Cldn5*は20倍以上 ( $p < 0.0001$ )の発現増加がみとめられた。*Eng*, *Flk1*, *Tie2*の発現量はflat cultureの方が有意に高かった。

Ⅲ. mCherry陽性細胞は血管内皮細胞マーカーで

あるCD31, VE-cadherin, claudin5を発現しなかった。

#### 【考察】

mCherry陽性細胞は、血管内皮細胞との共培養下でペリサイト特有の細胞表面マーカーであるNG2を発現し、ペリサイトへ分化することが強く示唆された。一方でペリサイトとの共培養では、mCherry陽性細胞は血管内皮細胞特有の細胞表面マーカーであるCD31, VE-cadherinを発現せず、血管内皮細胞へと分化する証拠を確認できなかった。

mRNAの発現量を測定することで、血管内皮細胞に分化するかどうかを検討した実験では、mCherry陽性細胞にsphereを形成させた方が*Cdh5*, *Cldn5*といった血管内皮細胞特異的のマーカーが発現が誘導されていることが明らかとなった。このことから、mCherry陽性細胞が血管内皮細胞に分化するには、蛋白質発現に至るまでに何か不足している因子があることが示唆される。

In vivoの検討において、mCherry陽性細胞が血管内皮細胞に分化する確証は得られなかったが、今後はより適した環境（中枢神経系など）にmCherry陽性細胞の移植を行い、血管内皮細胞に分化するかを確認する必要があると考えられる。

#### 【成果公表】

山田萌, 山本誠士, 山田浩太, 濱島丈, 奥野のり子, 石井陽子, 笹原正清: 線維芽細胞の遊走におけるPDGFR二量体シグナルの役割. 第108回日本病理学会総会, 東京, P3-93, 2019.  
優秀演題賞受賞

## 統合失調症およびAt-risk mental stateにおける 海馬の亜領域の体積変化

吉村 亮 神経精神医学講座 (指導教員: 鈴木 道雄教授)

#### 【はじめに】

海馬は学習、記憶、感情制御など多様な役割を担っており、海馬の異常は統合失調症の臨床症状や認知機能障害に関連していると報告されている。海馬体積減少は、統合失調症患者において一貫して報告されているMagnetic Resonance Imaging (MRI) 所見の一つであるが、精神病発症危険状態 (At-risk mental state: ARMS) における海馬所見は一貫性に乏しい。海馬体積減少が特定の亜領域に限られることがARMSにおける結果の不一致の原因の一部と

考えられるが、統合失調症およびARMSにおいて海馬の亜領域の体積変化に注目した研究は少ない。そのため、本研究では統合失調症患者、ARMS被験者において、海馬亜領域体積の変化および臨床指標・認知機能との関連を調べた。

#### 【材料および方法】

##### I. 材料

2013年12月から2019年8月までの期間に、富山大学附属病院神経精神科に外来通院および入院してい

た統合失調症 (schizophrenia: Sz) 群77例, ARMS群51例, および健常対照 (healthy controls: HC) 群87例を対象とした。Sz群は, 罹病期間が1年未満である初回エピソード統合失調症 (first-episode schizophrenia: FESz) 群24例および罹病期間が3年を超える慢性期統合失調症 (chronic schizophrenia: chronic Sz) 群40例に再分類した。またARMS被験者は最低でも2年間以上臨床的なフォローを行い, のちに精神病性障害を発症したARMS発症群 (ARMS-P) は5例, のちに精神病性障害を発症しなかったARMS非発症群 (ARMS-NP) は28例であった。

## II. 方法

3TのT1強調磁気共鳴画像およびFreeSurfer software (version6.0.) を用い, 関心領域である海馬の亜領域の体積値を計測した。

海馬亜領域体積の群間比較については, 年齢と頭蓋内容積を共変量, 診断と性別を被検者間因子, 大脳半球と海馬亜領域を被検者内変数とした多変量分散分析を行った。

また群間比較で有意差を示した海馬亜領域において, 体積値と各臨床指標・認知機能 (発症年齢, 罹病期間, 服薬量, 服薬期間, 陽性/陰性症状評価尺度, および統合失調症認知機能簡易評価尺度日本語版) との関連を調べるため, 年齢, 性別, 頭蓋内容積を共変量とした偏相関分析を行った。

## 【結果】

I. Sz群, ARMS群, およびHC群における各海馬亜領域の平均体積値の群間比較

Sz群ではHC群と比べて, 左海馬尾部, 両側アンモン角1, および右海馬分子層の体積が有意に減少していた。

ARMS群ではHC群と比べて, 両側海馬尾部, 右海馬支脚, 両側アンモン角1, および右海馬分子層の体積が有意に減少していた。

Sz群とARMS群間では, 有意な差異を認めなかった。

II. FESz群, Chronic Sz群における各海馬亜領域の平均体積値の群間比較

FESz群とChronic Sz群間で比較すると, Chronic Sz群ではFESz群に比べて, 左海馬尾部の体積が有意に減少していた。

また, ARMS-P群とARMS-NP群間では有意な差異を認めなかった。

III. Sz群, ARMS群における海馬亜領域体積と各臨床指標・認知機能との偏相関分析

Sz群において, 左海馬尾部の体積は発症年齢と

正の相関を示し, 罹病期間や服薬期間と負の相関を示した。

ARMS群では, 海馬亜領域体積と臨床指標・認知機能との有意な相関関係を認めなかった。

## 【考察】

本研究では, Sz群, ARMS群に共通して左海馬尾部, 両側アンモン角1, および右海馬分子層における体積減少を認めた。しかし, これらの亜領域体積は, 統合失調症群とARMS群間およびARMS-P群とARMS-NP群間において差異を認めなかった。そのため, 左海馬尾部, 両側アンモン角1, および右海馬分子層における体積減少は精神病性障害の脆弱性に関わる共通のバイオタイプを表すかもしれない。

従来, 統合失調症において海馬病変は固定的な所見と考えられていたが, FESz群と比してChronic Sz群で顕著に認めた海馬尾部の体積減少の所見および海馬尾部体積と発症年齢や罹病期間との関連は, 精神病性障害発症後の進行性の局所的な病的過程を反映している可能性がある。一方で, 数少ない先行縦断研究は, アンモン角1-4, 歯状回, および海馬支脚など多様な亜領域における進行性の体積減少を報告している。これらの研究コホートは少ない症例数, 短い観察期間, および複数の病期の症例の混在などの限界を有しており, 今後は多数例を用いて精神病性障害の様々な病期における海馬亜領域の体積減少の軌跡を調べていく必要があると思われる。

病初期におけるアンモン角1 (海馬分子層はアンモン角領域の一部に含まれる) の局所的な体積減少は, 統合失調症における海馬過活動モデルを示唆する。アンモン角1はN-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体が多く発現していてグルタミン酸神経媒介の神経毒性に対して特に脆弱であるため, 病初期の細胞外グルタミン酸濃度の増加は海馬亜領域の中でもアンモン角1優位に過剰代謝を引き起こす。アンモン角1の過剰代謝はtrisynaptic pathwayを構成する歯状回やアンモン角3, その他の脳領域へと広がっていき, 該当領域における血流量増加および体積減少を経てパルプアルブミン陽性gamma-aminobutyric acid (GABA) 介在ニューロンの発現低下に至る。そして, 同領域におけるGABA介在ニューロン上のNMDA受容体の機能低下が, 統合失調症様の行動変化や認知機能障害を発現させるかもしれない。しかし, 本研究は形態MRI研究であるため, 海馬体積変化の病因的役割を十分に検討できておらず, これらの仮説は外挿性の高い動物モデルにより検証されることが望まれる。

### 【成果公表】

1. 吉村亮, 笹林大樹, 高橋努, 高柳陽一郎, 西山志満子, 樋口悠子, 水上祐子, 古市厚志, 木戸幹雄, 中村美保子, 野口京, 鈴木道雄. 統合失調症およびAt-risk mental stateにおける海馬の亜領域の体積変化. 第15回日本統合失調症学会; 2021 Apr, 9-10, 富山 (オンライン).
2. Sasabayashi D, Yoshimura R, Takahashi T, Takayanagi Y, Nishiyama S, Higuchi Y, Mizukami Y, Furuichi A, Kido M, Nakamura M, Noguchi K, Suzuki M. Reduced hippocampal subfield volume in schizophrenia and clinical high-risk state for psychosis. *Front Psychiatry* 12: 642048, 2021.

## 病室環境におけるオゾンガスのメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に対する消毒効果の検討

高梨 晃一 富山大学学術研究部医学系 感染症学講座 (指導教員: 山本 善裕教授)

### 【はじめに】

人が行う環境整備には不確実性があり, 清掃後でも環境表面が多剤耐性菌のリザーバーとなり得ることから, 近年, 紫外線 (UV) などを使用した環境消毒が注目されている。オゾンガスは原材料不要で残留性が少なく, 既に救急車内の消毒などに使用されているが, 実際の病院個室を用いて一般細菌に対する消毒効果を示した報告は未だ少ない。そこでオゾンガスを用いて病院個室での消毒効果を検討した。

### 【材料および方法】

MRSA臨床分離株を用い, OD600=0.1に調整した菌液を50  $\mu$ L染み込ませたシートを, 病棟個室の洗面所, ベッドの上下, 床頭台やテレビ台の棚の中, クローゼットの中, シャワー室の床, トイレの便座の上など計10ヶ所に置き, 管理医療機器 (クラスII) である医療用オゾンガス消毒器を用いて, 病棟個室 (51.7 m<sup>3</sup>) 内を消毒した。

消毒の詳細は以下の通りに行った。シートを入れたシャーレを上記場所にセットし, 同個室内にオゾン消毒器とオゾン分解装置をセットし, 消毒器からオゾンガスを発生させ室内に充満させた。オゾンガス産生に伴い実験者は室内より出て部屋の出入り口を密閉し, 室内無人の状態にて一定時間放置した。オゾンが部屋に充満し, 特定の時間および密度を達成したら, オゾン分解装置が作動し室内オゾン濃度を低下させた。

消毒終了直後にシートを回収し, 段階希釈した菌液をそれぞれTSB寒天培地に接種し, 37°Cで24時間培養した後のコロニー数をカウントした。また, オゾン消毒を行わない同一規格の病棟個室を対照群とし, 同時に実験を行った。高濃度オゾンは有害であるため, 入室可能な条件はオゾン濃度が許容濃度で

ある0.1 ppmまで分解された時以降とした。今回, 消毒開始から入室可能となるまでの時間も測定した。

なお, 病室内でのオゾンによる消毒効果を示す値として, CT値を採用した。これは「オゾン濃度」と「オゾン曝露時間」を掛け合わせた値であり, CT値 330以上が消毒有効の目安とされる。オゾン消毒器を始動させ, オゾンガスの充満に伴いCT値が330に達すると, その時点でオゾン発生が終了し, オゾン消毒器はオゾン分解を開始するようになり, 同時に別置のオゾン分解装置によるオゾン分解も開始される仕様とした。

### 【結果】

オゾン消毒開始から入室可能となるまで2時間53分を要した (CT値が330に達するまで115分, 入室可能となるまで173分。安全性の確認として, 病室前のオゾンガス濃度も合わせて測定したが, 0.1 ppmを超える濃度は検出されなかった)。オゾン消毒前のシート上の菌数は6.57 log cfu/sheetであり, オゾン消毒により10ヶ所全ての場所において, 対照群と比較しMRSAのコロニー数が98%以上減少した (5.01 vs 2.69 log cfu/sheet)。

### 【考察】

オゾンガスを用いた環境消毒には, オゾン許容濃度である0.1 ppmまで分解が必要であるため数時間を要し, UV照射装置と比較して長時間となるが, 影となりやすいベッドの下や棚の中等も含め, 個室全体に効果があり, 持ち運びが比較的容易なオゾンガス消毒器も環境消毒の方法として選択肢の一つとなり得ると考えられた。また, オゾンガス産生にあたり原材料が不要である点やオゾンガス発生装置のデバイスが比較的持ち運び容易な点も利点と考えら



れた。

機序に関して、オゾンの強力な酸化作用が考えられた。細胞膜タンパクの安定化に必要なSH基との反応、不飽和脂肪酸の二重結への反応、膜変性等による溶菌が考えられた。また、オゾンはシステインなどに対し高い反応性を示し、タンパク質を変性させ、構造変化を引き起こすことで酵素を失活化させ得る。他、グアニンやチミンの反応で核酸変性をきたすなど、様々な機序で細菌を死滅させていることが報告されており、今回のオゾン消毒にも同様の機序が考えられた。

#### 【成果公表】

令和2年11月6日プレゼンテーション形式で発表。

国内学会

高梨晃一、竹腰雄祐、兼田磨熙社、上野亨敏、川筋仁史、宮嶋友希、河合暦美、福井康貴、岡本世紀、酒巻一平、森永芳智、山本善裕  
病室環境におけるオゾンガスのメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)に対する消毒効果の検討、第90回 日本感染症学会西日本地方会学術集会、第63回 日本感染症学会中日本地方会学術集会、第68回 日本化学療法学会西日本支部総会、2020.11.6、福岡。

## 富山県下の事業場における産業保健の現状と課題に関する調査研究

屋敷 香奈 公衆衛生学講座 (指導教員：稲寺 秀邦教授)

#### 【はじめに】

職業生活におけるストレスが原因で精神障害を発症する労働者の増加、長時間労働、化学物質のばく露に起因する死亡事故の発生など、近年の産業保健に関する問題は多岐にわたる。この背景をふまえ、平成29年度における富山県内事業場の産業保健の取り組み状況及び課題を明らかにすることを目的とした。

#### 【材料および方法】

平成29年11月から12月にかけて、県内約1,300社の事業場に対し、事業場の状況、安全衛生管理体制、メンタルヘルス対策、過重労働対策、化学物質による健康障害防止対策等に関するアンケート用紙を送付し、記名式にて調査票を回収した。得られた回答について規模別、業種別に集計を行った。

#### 【結果】

1,338事業場に調査票を送付し、365通(回収率27.3%)の返信があった。このうち、本調査に対して同意を得られなかったものは除外し、さらに基本情報が極めて不完全なものは割愛し、350通(回収率26.2%)を集計の対象とした。

##### I. 事業場の状況 (従業員数, 業種)

集計対象事業場の規模別内訳は、従業員数1~49人(I群)が134社(38.3%)、50~99人(II群)が124社(35.4%)、100人以上(III群)が92社(26.3%)であった。業種別内訳は、製造業が132社(37.7%)、

保健衛生業(病院、社会福祉施設等)が54社(15.4%)、商業(卸業、小売業等)が42社(12.0%)、建設業が41社(11.7%)、運送業やサービス業などその他の業種が81社(23.1%)であった。

##### II. 安全衛生管理体制

産業医の選任、衛生管理者の配置及び安全衛生委員会の開催をしている事業場の割合は、これらが義務である従業員50人以上の事業場(II群・III群)全体でみた場合、それぞれ87.0%、80.1%、86.6%であったのに対し、商業では57.9%、52.6%、52.6%と少なかった。またII群・III群における産業医の職場巡視の実施率は27.6%と3割に満たなかった。

##### III. メンタルヘルス対策

過去3年間でメンタルヘルス不調者が1人でも発生したと回答した事業場は全体の44.0%であり、事業場規模が大きくなるに従い増加し、保健衛生業で55.6%と最も多かった。ストレスチェックを実施している事業場の割合は、実施義務のあるII群・III群で88.4%であった。また全体の48.9%の事業場が従業員のメンタルヘルス対策に課題を感じていると回答した。

##### IV. 過重労働対策

時間外・休日労働時間が月100時間または2~6か月平均で80時間を超える労働者がいると回答した事業場は全体の22.0%であり、規模が大きくなるに従い増加し、建設業で41.5%と最も多かった。該当する従業員に対して医師や保健師による面接指導を行うとした事業場は48.1%にとどまった。



#### V. 化学物質による健康障害防止

化学物質の取り扱いがあると回答した事業場は全体で23.3%であり、そのうち、化学物質リスクアセスメントを実施していない事業場は25.9%であった。実施しない理由は、実施義務を知らなかったが33.3%、対象化学物質の取り扱いがないが23.8%、方法がわからないが14.3%、実施する時間がとれないが9.5%であった。

#### 【考察】

本調査により県内事業場の産業保健の現状と課題を明らかにすることができた。課題として、商業での安全衛生管理体制の確立が遅れていること、産業医の職場巡視の実施率が低いこと、事業場からはメンタルヘルス対策への支援を求められていること、長時間労働者に対する面接指導が十分に行われていないこと、化学物質リスクアセスメントの認知が十分ではないことが挙げられ、これらに焦点をあてた施策が県内の産業保健の向上に有効だと考えられる。

#### 【成果公表】

##### (1) 論文

- 1) 屋敷香奈, 浜崎景, 稲寺秀邦. 富山県下の事業場におけるストレスチェックの実施状況. 従業員のメンタルヘルスと長時間労働. TOYAMA MEDICAL JOURNAL. 29(1) : 23-29, 2018

##### (2) 調査報告書

- 1) 屋敷香奈, 浜崎景, 稲寺秀邦. 富山県下の事業場における産業保健の現状と課題に関する調査研究. 富山大学, 富山, 2018.

##### (3) 解説

- 1) 屋敷香奈, 浜崎景, 稲寺秀邦. 実験室における化学物質管理—国内法令と富山大学薬品管理支援システム (TULIP) の紹介—. TOYAMA MEDICAL JOURNAL. 30(1) : 14-25, 2019

##### (4) 国内学会

- 1) 屋敷香奈, 浜崎景, 稲寺秀邦. メンタルヘルス不調者の発生状況, 長時間労働との関連性と対策の有効性について. 第61回日本産業衛生学会北陸甲信越地方会一般口演. 2018.10.21. 金沢
- 2) 屋敷香奈, 浜崎景, 稲寺秀邦. 富山県下の事業場における従業員の心と体の健康. 平成30年度(第73回)富山県医学会ポスターセッション. 2019.1.27. 富山
- 3) 稲寺秀邦, 屋敷香奈, 浜崎景. X県内事業場におけるストレスチェックの実施状況. 第92回日本産業衛生学会一般演題(ポスター). 2019.5.22-27. 名古屋
- 4) 屋敷香奈, 浜崎景, 稲寺秀邦. 事業場が感じている産業保健活動上の課題. 第62回日本産業衛生学会北陸甲信越地方会. 2020.3.8-15. 誌上開催

## グリオーマ幹細胞に対する新たな化学療法パラダイム

中川 結理 統合神経科学講座 (指導: 田村 了以教授)

#### 【はじめに】

神経膠腫は、化学療法に抵抗する致命的な空間占有型病変である。長期予後を改善するためには、化学療法抵抗性と腫瘍サイズの問題を解決し、新しい化学療法のパラダイムを確立する必要がある。膠芽腫では、不均一な集団である神経膠腫幹細胞 (GSC) 集団が、再発や腫瘍の進行に関与していると考えられている。

#### 【目的】

クローン環境に置かれたグリオーマスフェア (GS) 培養系を用いて、GSCをGSとして濃縮し、GSクローン集団が自己複製する時のクローン生存率とクローンサイズの変化を定量する。この定量的

アプローチにより、再燃起源細胞としてのGSCが化学療法薬剤投与後に数を減らし、耐性となり、集団サイズを回復させる現象を、量的な観点から捉える。本研究により、化学療法に対する悪性腫瘍の感受性・抵抗性・再燃を再考し、新たな薬剤および投与パラダイムを開発する。

#### 【材料および方法】

使用したセルライン: U87 (RCB419, RIKEN BioResourceCenter), U251 (RCB0461, RIKEN BRC), T98G (CRL1690, ATCC) ; Poly-HEMEをコートした24ウェルプレートに、増殖因子存在下にそれぞれの細胞株由来細胞を1ウェルあたり2000個(2000クローン)撒いて、浮遊環境で培養した。細

胞株由来細胞はクローン環境を維持しながら、化学療法薬剤非存在下でおよそ50%程度のクローンが生産し、各クローン内においてそれぞれに増殖を開始した。クローン内における増殖を通して、クローン内の細胞数すなわちクローンサイズは拡大した。このクローンサイズを横軸に、縦軸にサイズ毎の出現頻度をプロットすることでクローンサイズの頻度分布を算出したところ、両対数軸において直線回帰した。U87、U251およびT98G細胞株由来のGSクローン集団のクローンサイズ頻度分布は、同様に回帰した。このようにGSクローン集団のクローンサイズは多様であり、べき則：power-lawにコードされていた。

自己複製する多様なGS集団において、OTS964とT&Oを投与することでGSクローン殺傷除去および増殖阻害における効果を評価すると同時に、GSクローンの回復力と耐性を評価する試験を行った。グラフ化および回帰分析には、Graphpad Prism version 5.0b for Mac OS Xを使用した。

### 【結果】

T-Lak細胞由来プロテインキナーゼ (T-Lak cell originated protein kinase: TOPK) の阻害剤であるOTS964は、U87およびU251グリオーマ細胞株由来GSクローン集団の自己複製時において、濃度依存的にクローンを消滅させることを通してGSの集団サイズ (GSクローン集団内の総細胞数) の拡大を抑制した。しかしながら、OTS964投与後に生き残ったGSクローンたちはOTS964耐性能力を獲得し、その半数以上がクローンの増殖を亢進させ集団サイズを回復させた。続いて、悪性脳腫瘍の化学療法薬剤であるテモゾロマイド (TMZ) とOTS964を組み合わせる (T&O) ことで、U87およびU251由来GSクローン集団の自己複製過程における効果を検討した。T&Oは、GSの再増殖をOTS964単独よりも強く抑制した。さらに、T&Oは、OTS964よりも効率的かつ長期にわたりGSクローンを除去することで、一旦自己再生/拡大したGSクローンの集団サイズさえも速やかに縮小させた。続いて、TMZ耐性株であるT98Gを用いてOTS964とT&Oに対する感受性を検討した。T98GはOTS964に対して、U87とU251同様の感受性を示した。一方で、T&Oに対しては、OTS964と同様の感受性を示すのみで、

投与直後にクローン数を減少させた後、T&Oで生き残ったT98-GSクローンのその後の再増殖を抑制することはできず、薬剤非投与群と同様の速さで速やかに集団サイズを回復させ再燃した。

### 【考察】

T&OはTMZ感受性グリオーマ細胞株由来のGSC集団には、速やかにかつ長期にわたりGSCの集団サイズ拡大を抑制することを示した。一方で、同様にT&Oを投与されたTMZ耐性株由来GSC集団の表現型からは、T&Oの効率的で長期にわたる組み合わせ活性には、TMZの薬理効果が必要で十分な役割を果たすことが明らかになった。このことから、抗神経膠腫薬に対するGSCsの感受性や耐性を長期的に制御するためには、効率的なGSCクローンの殺傷除去と長期にわたる増殖抑制抑制が必要であると考えられた。現在、神経幹細胞の自己複製過程に必要なリン酸化酵素Phosphatidylinositol kinase-3 (PI3K) や転写因子Hes 1 に対する機能阻害もしくは発現阻害薬を組み合わせた多剤併用パラダイムに取り組んでいる。本研究を通して、GSCを効率的に殺傷・除去し・かつ集団自己複製機能を長期にわたり継続的に奪い去ることを通して、GSCの集団サイズを縮小もしくは機能不全に至らしめる基礎としたい。

本研究に用いた定量的アプローチは、化学療法下における腫瘍幹細胞集団の生存と増殖；感受性・抵抗性・再燃における詳細な情報を提供し、新たな薬剤と化学療法パラダイムの開発に貢献すると考えている。

### 【成果公表】

令和2年10月16日～20日 プレゼンテーション形式で発表

国内学会

中川結理, 杉森道也, 早川由美子, 田村了以, 黒田敏

グリオーマ幹細胞に対する新たな化学療法パラダイム

地方学術集会, 第67回 中部生理学会総会, 2020年10月16日～20日

## The role of the secondary auditory cortex in remote memory formation

Shota Nakayama Biochemistry (Supervisor: Kaoru Inokuchi)

### Main:

Memories of meaningful events with sensory stimuli reorganize through the brain with time after learning. The retrieval circuits of fear memory gradually shift and neuronal activities among the brain regions change over time in recent and remote memory retrieval. In the cortices, the secondary auditory cortex (sAC) is crucial for the auditory-specific and emotional information in the remote memory retrieval. However, it remains unclear how the neuronal population of remote retrieval is formed internally in the sAC depending on time. Here, we developed the discriminative auditory fear conditioning (AFC) task in mice by two tones of different frequencies, where one tone (conditioned stimulus, CS+) is followed by foot shock (US), and the other (CS-) is not. Mice discriminated against the CS+ from the CS- during the remote memory retrieval at 28 days after the conditioning. To verify that the sAC is indispensable for retrieval of remote fear memory, we performed the AFC task with either pharmacological or optogenetic silencing approaches. We found that mice, which were bilaterally micro-infused tetrodotoxin and CNQX into the sAC at 30 min before the retrieval, showed impairment in the remote but not recent fear memory recall. The optogenetic silencing with Lenti-CaMKII $\alpha$ -NpHR-mCherry in the sAC also disrupted the remote fear memory recall, indicating the sAC involvement in remote fear memory retrieval. To examine the temporal dynamics of the sAC neuronal activity during the

formation of remote fear memory, we conducted in vivo calcium imaging in the sAC using Thy-1 G-CaMP7 mice with a miniaturized fluorescence microscope. The sAC neuronal activity increased for several seconds immediately after the US. To verify that the sAC neuronal activity during this time window is required for retrieval of remote fear memory, we performed optogenetic silencing with AAV9-CaMKII $\alpha$ -eArchT3.0-EYFP in the sAC either during the learning or for 5s immediately after the US. The optogenetic silencing of sAC during either of those times induced impairment of remote fear memory recall, as well as decrease in c-Fos expression in the deep layers at 28 days. These results indicate that the deep layers of sAC neuronal activity during the learning constitutes in remote fear memory recall.

### Conference:

1. Shota Nakayama, Jun Yokose, Kiriko Choko, Shuntaro Ohno, Kaoru Inokuchi. Dynamics of neuronal ensembles for remote fear memory in the mouse secondary auditory cortex. The 43<sup>rd</sup> Annual Meeting of Japan Neuroscience Society. 2020. Kobe (DOMESTIC TRAVEL AWARD for excellent presentation)
2. Shota Nakayama, Jun Yokose, Kiriko Choko, Kaoru Inokuchi. The role for remote memory formation in the secondary auditory cortex. The 44<sup>rd</sup> Annual Meeting of Japan Neuroscience Society. 2021. Kobe (JUNIOR INVESTIGATOR POSTER AWARD)

## 富山大学医学会会則

第1条 本会を、富山大学医学会という。

第2条 本会は、富山大学における医学研究の振興に寄与することを目的とし、その使命達成に必要な事業を行う。

1. 学術集会の開催
2. 学会誌の刊行
3. その他本会の目的達成に必要な事業

第3条 本会は前条の趣旨に賛成するものをもって組織する。

第4条 本会に次の役員をおく。

1. 会 長 1名
2. 副会長 2名
3. 理 事 若干名
4. 監 事 若干名
5. 評議員

会長は、会務を総理し、会議の議長となる。

副会長は、庶務・会計・集会・編集の会務を分担する。

監事は、経理を監査する。

評議員は、会長の招集を受け、本会の重要事項を審議する。

第5条 役員は任期は2年とし、再任を妨げない。

第6条 役員は、次の方法によって選出する。

1. 会長、副会長、理事及び監事は、評議員の中から互選する。
2. 評議員は、医学系の教授等に委嘱する。
3. 役員は改選は3月に行うものとする。ただし、任期中に欠員を生じた場合は、この限りでない。

第7条 本会の事業年度は、年度制による。

第8条 本会の経費は、会員の会費、寄付金その他の収入をもってあてる。

第9条 本会の事業内容ならびに会計については、毎年度の評議会にこれを報告する。

第10条 本会会則の変更には評議員の審議を要し、出席者の過半数の賛成を必要とする。

第11条 本会則の実施に必要な細則は別に定める。

### 付 則

この会則は、昭和54年4月1日より実施する。

昭和63年12月3日一部改変。

平成18年9月13日一部改正。

令和4年10月24日一部改正。



## 富山大学医学会役員

### 役員

会長	関根道和	令和3年9月～
副会長	森 寿	令和3年9月～
	川口善治	令和3年9月～

### 理事

庶務・集会	森 寿	令和3年9月～
	嶋田 豊	平成16年4月～
会計		
編集	○川口善治	令和3年9月～
	黒田 敏	平成25年4月～
	將積日出夫	平成25年4月～
	山本善裕	平成25年4月～
	堀 悦郎	令和4年4月～

### 監事

監事	林 篤志	平成31年4月～
	○委員長	(敬称略)

### 評議員 (50音順)

足立雄一, 一條裕之, 伊藤哲史, 稲寺秀邦, 井ノ口馨,  
 貝沼茂三郎, 金森昌彦, 川口善治, 岸 裕幸, 北島 勲,  
 北村 寛, 絹川弘一郎, 木村裕三, 黒田 敏, 齋藤淳一,  
 佐武利彦, 佐藤 勉, 嶋田 豊, 清水忠道,  
 將積日出夫, 鈴木道雄, 関根道和, 高雄啓三, 高岡 裕,  
 高村昭輝, 田村須賀子, 田村了以, 中條大輔, 土谷智史,  
 戸邊一之, 中川 崇, 中島彰俊, 長島 久, 中辻裕司,  
 西田尚樹, 西谷美幸, 西丸広史, 野口 京, 野口 誠,  
 袴田優子, 長谷川ともみ, 服部憲明, 林 篤志,  
 林 龍二, 比嘉勇人, 平林健一, 藤井 努, 堀 悦郎,  
 森 寿, 森永芳智, 安田一朗, 安田智美, 八塚美樹,  
 山本善裕, 吉田丈俊, 芳村直樹

(以上56名)

(敬称略)

(令和4年11月1日現在)

## Toyama Medical Journal Instructions for Authors

### 1 Introduction

Toyama Medical Journal is the official publication of the University of Toyama Medical Association.

### 2 Types of papers

Reviews, original articles, case series, case reports, short communications and other articles which are approved by the Editorial Committee will be considered for publication.

### 3 Formatting guidelines

#### a) Article structure

Papers should be set out in the following order: title page, abstract, main text, acknowledgment, references, tables and figures. Manuscripts which are written by non-native English writer must be proofread by language services and required to provide a certificate in proofreading.

#### b) Format

Manuscripts should be prepared in A4 size and written by use of Microsoft Word software. Text should be written in double-spaced (25 lines in a page). The number of tables and figures is up to five in total.

#### c) Title page

The title page must have the category of the article (for example "original article"), the complete title of the paper, name(s) of author(s), affiliation(s), key words (up to five), running title, number of pages of text, number of tables and figures.

#### d) Abstract

Abstract must be written in 200 words and printed in double-spaced.

#### e) Main Text

Authors should use the following subheadings to divide the sections of their manuscript: Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. Heading in the text must be written as follows.

I, II, ……., A, B, ……., 1, 2, ……., a, b, ……., (1), (2), …….

Acknowledgments should be placed at the last section of the text.

#### f) Scientific names

Scientific names should be in italics.

#### g) Abbreviations and units

All abbreviations should be fully explained at their first occurrence in the text.

All measurements should be expressed in metric units, SI units.

[Length] m, cm, mm,  $\mu\text{m}$ , nm, Å

[Weight] kg, g, mg,  $\mu\text{g}$

[Square]  $\text{m}^2$ ,  $\text{mm}^2$

[Cubic measure]  $\text{m}^3$ ,  $\text{cm}^3$ ,  $\text{mm}^3$

[Volume] l, ml,  $\mu\text{l}$

[Mole number and concentration] mol, mmol,  $\mu\text{mol}$ , nmol, pmol, M(mol/L), Eq, N(normal), %

[Time] d, h, min, s, ms,  $\mu\text{s}$

[Temperature] °C

[Pressure] mmHg, mber

[Electricity] V(volt), A(ampere), Hz(cycles/sec)

[Radiation] Gy, Bq, Sv

[Optical isomer] d-, l-, dll

[Administration] iv, ip, im, sc, po

[Statistics] SD, SEM

[Others] g(gravity), LD<sub>50</sub>, ED<sub>50</sub>

#### h) Reference

In the text, references should be cited using superscript Arabic numerals in the order in which they appear. If the work has equal to or more than five authors, list the first three authors followed by et al. The reference list should be written following the examples given below. Journal names should be abbreviated according to INDEX MEDICUS.

##### Journal articles

1) Kamimura K., Takatsu T. and Ahmed A.: A survey of mosquitoes in Karachi area, J Pak Med Assoc. 36: 181-188, 1986.

##### Book

2) Nakata T. and Katayama T.: Changes in human adrenal catecholamines with age. In: Urology (Jardan A. ed.) : 404-406. International B'Urologie, Paris, 1986.

#### i) Figures and tables

All figures and tables should be cited in text in consecutive numerical order. The printout of them should be attached in order after the last page of the text. Each table and figure should not extend beyond

one page.

#### 4 Peer review and acceptance

Every article has been peer reviewed by 2 blinded reviewers. Acceptances are decided by the Editorial Committee of Toyama Medical Journal.

#### 5 Proofreading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors. Substantial changes in content are not allowed.

#### 6 Publication charges and reprints

Page charges: ¥ 10,000 for a page. Color prints are

available for extra charges. Reprints are not provided to authors. A PDF version of the article is available at University of Toyama Repository for Academic Information (<https://toyama.repo.nii.ac.jp/>).

#### 7 Submission of manuscripts

Authors should send a PDF version of the manuscript to the Editorial Committee of Toyama Medical Journal, 2630 Sugitani, Toyama 930-0194 (E-mail: [tmjed@med.u-toyama.ac.jp](mailto:tmjed@med.u-toyama.ac.jp)).

## 富山大学医学会誌投稿規定

1 投稿資格 原則として富山大学医学会会員に限る。

2 投稿の種類 総説, 原著, 症例報告, 短報, その他, 編集委員会が適当と認めたもの。

3 執筆規定

### A 和文論文

a) 原稿の形式 Microsoft WordでA4サイズ, ダブルスペースで1頁25行とする。表紙, 和文要旨, 本文, 謝辞, 文献, 英文抄録, 表, 図の順で作成する(原則として図表5枚以内)。

b) 表紙の記載順序 投稿の種類, 和文題名, 著者名, 所属名, 英文題名, ローマ字の著者名(例 Tadashi KAWASAKI), 英文所属名, Key words(英文, 5語以内), 20字以内のランニングタイトル, 本文総枚数, 表, 図の各枚数とし, 編集部への希望事項は別紙に記入添付する。

c) 和文要旨と英文要旨 和文要旨は400字以内とする。英文要旨は英文校閲者による校閲を受け, 200語以内でダブルスペースでタイプする。

d) 本文形式 原著の項目は, はじめに, 材料および方法, 結果, 考察の順とするか, これに準じた形式がのぞましい。各項目の細分は次のようにする。  
I, II, …… , A, B…… , 1, 2, …… , a, b, …… , 1, 2, ……。

e) 書体と用語 現代かなづかいのひらがな, 当用漢字を用いる。句読点, 括弧は1字分とする。学名はイタリック体で記載する。術語は日本医学会用語委員会制定の用語を用いる。

f) 度量衡の単位および略号 単位は国際単位(SI)を用い, ピリオドをつけない。次の例に準ずる。

[長さ] m, cm, mm,  $\mu\text{m}$ , nm, Å

[重さ] kg, g, mg,  $\mu\text{g}$

[面積]  $\text{m}^2$ ,  $\text{mm}^2$

[堆積]  $\text{m}^3$ ,  $\text{cm}^3$ ,  $\text{mm}^3$

[容積] l, ml,  $\mu\text{l}$

[モル数・濃度等] mol, mmol,  $\mu\text{mol}$ , nmol, pmol, M (mol/liter), Eq, N (normal), %

[時間] d(日), h(時), min(分), s(秒), ms,  $\mu\text{s}$

[濃度] °C

[圧力] mmHg, mbar

[電気] V(volt), A(ampere), Hz(cycles/sec)

[放射線] Gy, Bq, Sv

[その他] g(gravity), LD<sub>50</sub>, ED<sub>50</sub>(median doses)

[光学異性体] d-, l-, dll

[投与法] iv, ip, im, sc, po

[統計] SD, SEM

g) 文献 引用順に本文中の引用箇所右肩に片括弧(例……Sase<sup>1)</sup>)で番号を付し, 次の例の記載法で末尾に番号順にまとめる。著者が5名以上の場合は最初の3名を記し, あとは「ほか」(本文ではet al.)とする。とくに句読点に注意する。和文原著文献

1) 久世照五, 八木欲一郎, 伊藤祐輔ほか: [1-<sup>14</sup>C] - 酢酸・Na投与後の呼気<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>排出と<sup>14</sup>C体内分布. 麻酔 34: 349-65, 1985.

和文単行本

2) 田沢賢次: ストーマの合併症とその対策—皮膚傷害—。ストーマケア基礎と実際(ストーマリハビリテーション講習会実行委員会編): 209-225. 金原出版, 東京, 1986.

英文原著文献

3) Kamimura K., Takasu T. and Ahmed A.: A survey of mosquitoes in Karachi area, Pakistan. J. Pakistan Med. Ass. 36: 181-188, 1986.

英文単行本

4) Nakata T. and Katayama T.: Changes in human adrenal catecholamines with age. In: Urology (Jardan A. ed.): 404-406. International B'Urologie, Paris, 1986.

引用雑誌の略称は「日本自然科学雑誌総覧」およびINDEX MEDICUSに準ずる。

h) 表, 図 大きさの限度は刷り上がり1頁以内におさまるものとし, 本文とは別にまとめ, Table 1か表1, Fig. 1か図1として, 本文中に挿入すべき場所を明記する。図表およびその説明は, 英文または和文に統一する。

### B 欧文論文

a) 原稿の形式 Microsoft WordでA4サイズ, ダブルスペースで1頁25行とする。表紙, 英文抄録, 本文, 謝辞, 文献, 和文要旨, 表, 図の順で作成する(原則として図表5枚以内)。原稿は英文校閲者の校閲を受けること。不完全なものは校閲料(添削料)を請求することがある。

b) 表紙の記載順序 投稿の種類, 欧文題名, 欧文著



者名, 欧文所属名, Key words 5語 (英文), 40字以内の欧文ランニングタイトル, 本文総枚数, 和文題目, 和文著者名, 和文要旨, 表, 図の各枚数, 編集部への希望事項は別紙に記入添付する。

c) 要旨, 本文, 文献等 和文原稿の規定に準拠する。

- 4 採 否 論文は2名の査読者により査読され, 編集委員会で採否等を決定する。
- 5 校 正 初校を著者の責任において行う。原則として原文の変更追加は認めない。
- 6 掲 載 料 本文・図表を含め刷り上り1頁につき10,000円。カラー写真など特別な費用を要す図表は実費を申し受ける。別刷は作成しない (富山大学学術情報リポジトリToRePoからPDFを取得可能)。

#### 7 原稿の送り先

〒930-0194 富山市杉谷2630 富山大学医学会  
Toyama Medical Journal編集委員会

原稿は, PDFに変換して, 編集委員会 (tmjed@med.u-toyama.ac.jp) に電子メールで送付する。

1988年1月5日制定

1994年3月22日改訂

1996年2月9日改訂

2008年10月8日改訂

2021年12月22日改訂

## Toyama Medical Journal

Vol. 33 No. 1

発行日 令和5年3月31日

編集発行 富山大学医学会

富山市杉谷2630番地

〒930-0194

TEL (076)434-2281(代)

E-mail: tmjed@med.u-toyama.ac.jp

印刷 電算印刷株式会社

松本市筑摩1-11-30

〒390-0821

TEL (0263)25-4329



# TOYAMA MEDICAL JOURNAL Vol.33 No.1 2022

## CONTENTS

### ■総説

低温プラズマの生物作用と医療への展開 1-6

近藤 隆

### ■Original article

A retrospective pilot study examining the effect of inhalation anesthesia after delivery on intraoperative blood loss in emergency cesarean section 7-11

Nozomi MATSUI, Mitsuhiro MATSUO, Satoshi YONEDA

Akitoshi NAKASHIMA, Mitsuaki YAMAZAKI

### ■原著

新専門医制度における富山県の専攻医確保の現状と課題 13-19

峯村正実・竹村京子・岡部圭介・熊岡 穰・三原 弘・高村昭輝

EPA看護師候補者のための国家試験問題のルビ振りの試み 21-29

梅村俊彰

フィジカルアセスメント講座を受けた訪問看護師の技術習得レベルの分析  
～SCATを用いて～ 31-41

伊藤達也・北啓一朗・梅村俊彰・山城清二

睡眠状態に特異的な前頭前野の神経活動動態 43-49

大野駿太郎・野本真順・井ノ口馨

### ■症例報告

COVID-19流行期がために診断に苦慮した中咽頭癌症例について 51-55

中里 瑛・朝日香織・将積日出夫

### ■学位授与

博士 (医学) 57-59

博士 (看護学) 59

博士 (医学)《論文博士》 60

修士 (医科学) 61

修士 (看護学) 61

### ■令和3年度研究医養成プログラム修了報告 62-86

### ■記 事

富山大学医学会会則 87

富山大学医学会役員 88

富山大学医学会誌投稿規定 89-92