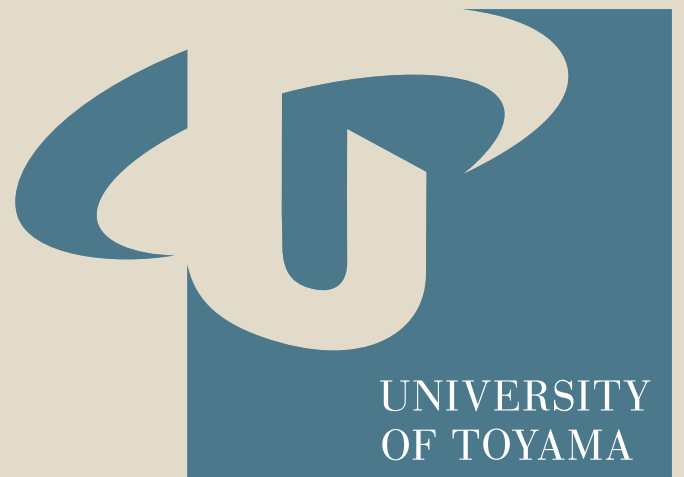


ISSN 2189-2466

# TOYAMA MEDICAL

**Vol.34 No.1 2023**

# JOURNAL



UNIVERSITY  
OF TOYAMA

# TOYAMA MEDICAL JOURNAL Vol.34 No.1 2023

## CONTENTS

### ■最終講義

昭和・平成・令和の時代に和漢診療学に携わって 1-7  
嶋田 豊

難治性めまいへの弛まぬ挑戦 9-14  
將積日出夫

### ■総説

小児気管支喘息の管理における過去40年間の変遷 15-21  
足立雄一

### ■原著

感染症初期診療シミュレーションを通じたオンライン多学科合同授業の実施報告 23-26  
木戸敏喜・高村昭輝

### ■Original article

The Effectiveness of Toe Flexion and Extension Exercise for Fall Prevention  
in Community-Dwelling Older Females 27-36  
Terumi KAWAI, Masahiko KANAMORI, Hiroko WASHIZUKA  
Miho YOSHII, Keiko TERANISHI

### ■Case report

Brain Metastasis from a Myxofibrosarcoma Case 37-40  
Masahiko KANAMORI, MD, Taketoshi YASUDA, MD  
Kayo SUZUKI, MD

### ■学位授与

博士 (医学) 41-44  
博士 (医学)《論文博士》 44-45  
修士 (医科学) 45  
修士 (看護学) 45-46

### ■令和4年度研究医養成プログラム修了報告 47-62

### ■記事

富山大学医学会会則 63  
富山大学医学会役員 64  
富山大学医学会誌投稿規定 65-68



## 最終講義

## 昭和・平成・令和の時代に和漢診療学に携わって

嶋田 豊

Engagement in Japanese Oriental Medicine in the Showa, Heisei, and Reiwa periods

Yutaka SHIMADA

Emeritus professor, University of Toyama

## 和文要旨

第97回富山大学医学会学術集会教授退任記念講演会において、昭和・平成・令和の時代に和漢診療学に携わった経験をもとに、和漢診療学とは何か、富山医科薬科大学および和漢診療室設置の経緯、現代における漢方の動向（漢方製剤等の生産金額の推移と漢方を取り巻く動向、漢方のエビデンス、漢方医学教育）、和漢診療学講座の歩み（沿革、教育、研究）、現代医療における漢方の役割と留意点（漢方の役割、漢方薬の副作用）について解説した。昭和の後期は医療用漢方製剤が認可され、処方急速に普及した時代であった。平成の時代は漢方のエビデンスが徐々に蓄積し医学教育にも導入されたが、一方で新たな副作用が認識された時代であった。令和の時代は現時点では何とも言えないが、我が国の貴重な医療資源として、漢方が今後とも適切に活用され続けることを祈念する。

## 英文要旨

At the 97th Academic Meeting of Medical Society in University of Toyama, as a Professor Retirement Commemorative Lecture, based on my experience of being engaged in Japanese Oriental Medicine in the Showa, Heisei, and Reiwa periods, I gave a lecture on what is Japanese Oriental Medicine, history of establishment of Toyama Medical and Pharmaceutical University and Japanese Oriental Medicine Clinic, modern trends of Kampo medicine (changes in production value of Kampo preparations and trends surrounding Kampo medicine, evidence of Kampo medicine, Kampo medical education), the Department of Japanese Oriental Medicine (history, education, research), role of Kampo medicine in modern medicine and attentions (role of Kampo medicine, adverse effects of Kampo medicines). The late Showa was a period in which ethical Kampo formulations were approved and their prescriptions spread rapidly. In the Heisei period, evidence about Kampo medicines was gradually accumulated and Kampo medicine was introduced into medical education, on the other hand new adverse effects were recognized. Although nothing can be mentioned about the Reiwa period at this point, I hope that Kampo medicines will continue to be used appropriately as a valuable medical resource in Japan

Key words : Japanese Oriental medicine, Kampo medicine

## 和漢診療学とは

和漢診療学講座初代教授寺澤捷年先生は、ある本の中で「漢方医学の叡智と西洋医学の科学的研究成果の両者を活用する治療学が、和漢診療学である。これはわたしの造語であるが、『広辞苑』にも採録されている。」と述べておられる<sup>1)</sup>。確かに広辞苑には「和漢診療」のことを、「和漢の医方に現代西洋医学の視点を組み合わせた診療」と記されている<sup>2)</sup>。また、寺澤先生は「1979年に富山医科薬科大学附属病院に赴任した際に、すでに「和漢診療室」の名称は大学側が用意していた呼称であっ

た。これは、この大学に「和漢薬研究所」があったので、基礎研究と臨床の橋渡しを担う部門という位置づけから採用された名称であったとわたしは考えている。」とも述べておられる<sup>2)</sup>。

そこで次に、富山医科薬科大学附属病院の開院とともに「和漢診療室」が設置された理由について述べてみたい。

## 富山医科薬科大学および和漢診療室設置の経緯

杉谷キャンパスの正門あたりに富山医科薬科大学創設

記念碑がある（図1 A）。この記念碑の裏側には、当時の富山県知事による「当大学は伝統ある富山大学薬学部と和漢薬研究所参加のもとに西洋近代医学と和漢薬を中心とした東洋医学とを融合し薬理臨床の研究一体化など斬新な医薬総合の特色ある大学として今後地域の医療福祉の向上のために大いに貢献するものと期待されている」との碑文が刻まれている（図1 B）。

富山には江戸時代から越中売薬・家庭薬配置業の歴史がある。このことを背景として、明治26年（1893年）に「共立富山薬学校」が創設され、それが戦後の昭和24年（1949年）に開学した富山大学の薬学部につながり、昭和49年（1974年）には和漢薬研究所が設置される。昭和50年（1975年）に富山医科薬科大学が開学するが、翌年の昭和51年（1976年）に富山大学から薬学部が移行し、昭和53年（1978年）に和漢薬研究所も移行し、昭和54年（1979年）には附属病院が開院することになる。

そのあたりの経緯について、「富山医科薬科大学開学十周年記念誌」の「創設準備にあたって」という座談会記録の中から富山医科薬科大学ならびに和漢診療室が設置された経緯について探してみたい<sup>3)</sup>。

まず、富山大学時代の薬学部長で後に富山医科薬科大学の学長にもなられる山崎高應先生は「（昭和）48年（1973年）頃に県の方から医学部構想の申し入れがあったのですが、工学部の五福移転問題をかかえていたので医薬大構想が生まれてきたのは（昭和）49年（1974年）ですね。これには、外部特に県、文部省上層部の意向が強く、（昭和）49年7月中旬以降の段階で、もし薬学部が参加しないのなら、富山医科大学は後回しにするとの文部省の意向であったようです。」

また、富山医科薬科大学初代副学長の小林取先生から

は「文部省から各医科大学は何か特徴を出せという注文があり、医科薬科大学として教育・研究面でお互いに協力すること、附属病院は医学部附属ではなく大学附属とし、医学部と薬学部の接点、また和漢薬研究所と医学部の接点とするという構想に達しました。」

さらに、富山大学時代の和漢薬研究所所長の大浦彦吉先生からは「富山大学の研究施設時代から、臨床研究部門を強く要望していたのですが、接点としてこんどできる大学の臨床部門とタイアップしてゆけば研究も非常に発展するのではないかと考えたわけです。」

これを受けて、山崎先生は「そういう意味で「特殊診療部」として「和漢診療部」を要求したのも構想の一つですね。」

大浦先生は「結果として和漢診療室として認めてくれているのではないかと考えられますが。」

以上のような発言があったことが記録されている。

この座談会は、附属病院が開院した昭和54年（1979年）になされているので、寺澤先生が述べておられるように、「和漢診療室」という名称は当時の大学側が用意していた呼称であったことが裏付けられる。

## 現代における漢方の動向

### I. 漢方製剤等の生産金額の推移と漢方を取り巻く動向

漢方製剤等の生産金額の推移<sup>4)</sup>と漢方を取り巻く動向を図2に示す。現在処方できる医療用漢方製剤は148処方あるが、その大部分は昭和55年（1980年）前後に薬価収載されている<sup>5)</sup>。ちなみに、約200種類の生薬も薬価収載されており漢方処方の調剤に用いることが可能である。図2のグラフの中で、医療用漢方製剤の年次別生産金額は黒いバーで示してあるが、昭和55年（1980年）前

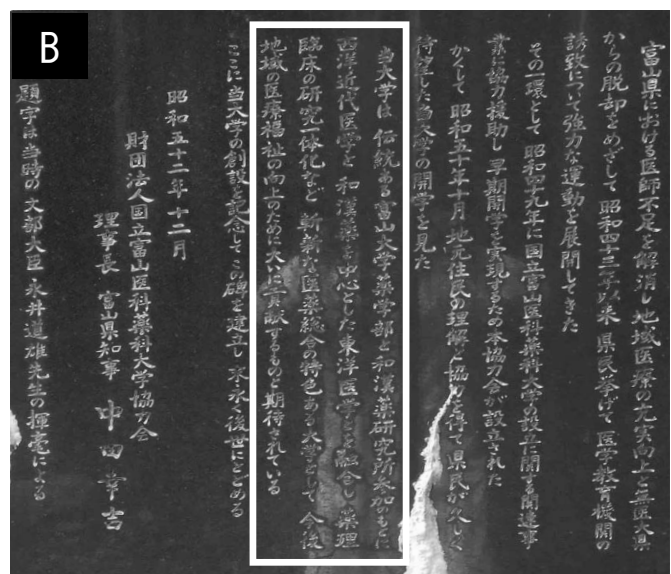
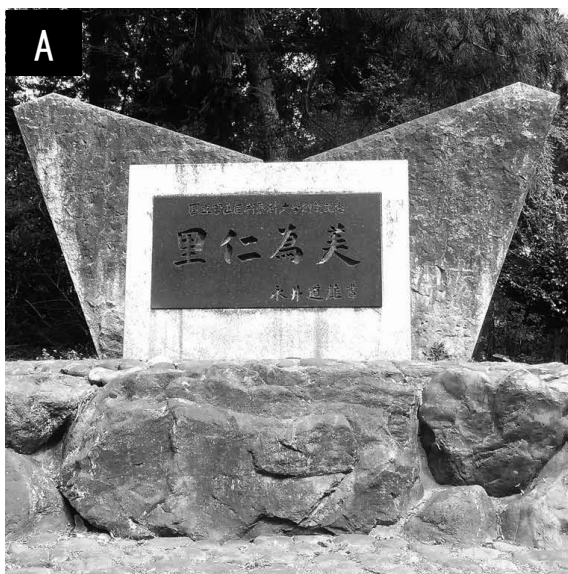
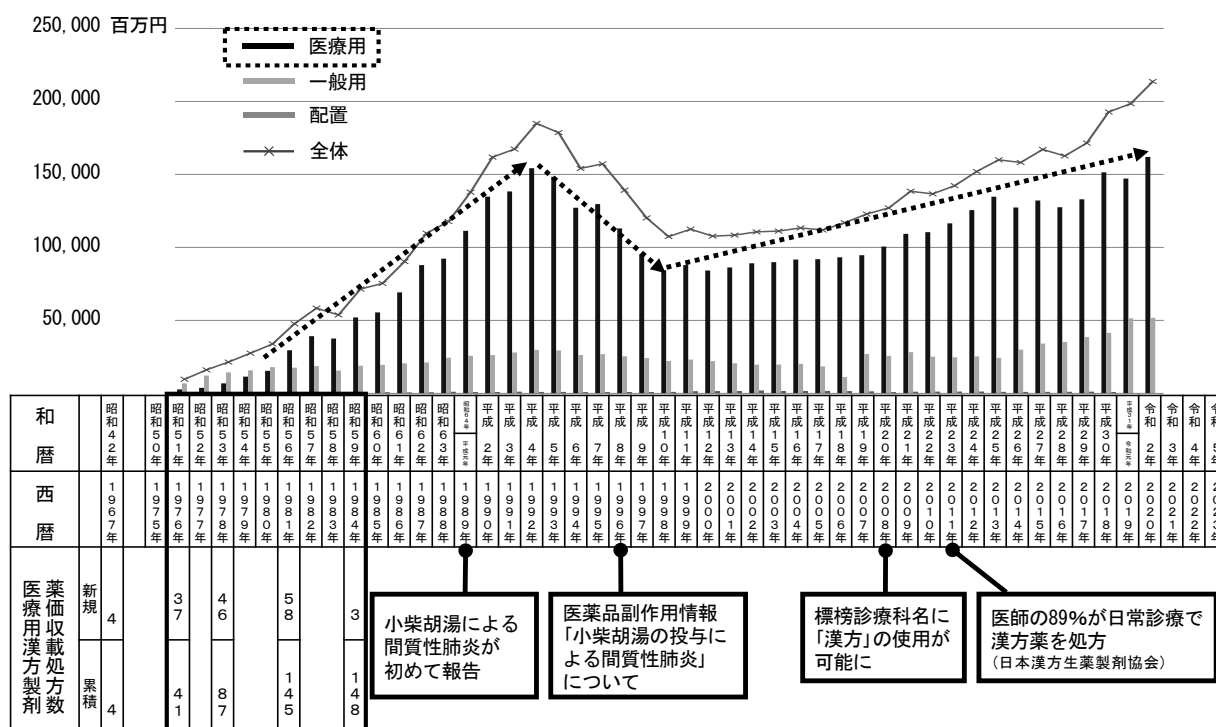


図1 富山医科薬科大学創設記念碑  
A 正面 B 裏面



日本漢方生薬製剤協会：漢方の将来ビジョン2040。国民の健康と医療を担う。 <https://www.nikkankyo.org/action/pdf/vision2040.pdf> (参照2020.2.3)  
 日本漢方生薬製剤協会：漢方製剤等の生産動態。令和2年薬事工業生産動態統計年報。 <https://www.nikkankyo.org/serv/movement/R02/all.pdf> (参照2022.3.29)

図2 漢方製剤等の生産金額の推移と漢方を取り巻く動向

後の大幅な薬価収載以降、急激に増加している。しかしながら、平成元年（1989年）に小柴胡湯による間質性肺炎が初めて報告され<sup>6)</sup>、平成8年（1996年）にはその副作用情報が出される。この影響もあってか、平成4年（1992年）を境に医療用漢方製剤の生産金額は減少するが、その後再び増加に転じ現在に至っている。この間、平成20年（2008年）には標榜診療科名に「漢方」の使用が可能となり、またある調査<sup>7)</sup>で「医師の約9割が日常診療で漢方薬を処方している」とされているように、現在臨床の現場で漢方薬が広く使用されている。

II. 漢方のエビデンス

医療用漢方製剤の薬価収載の際にはそのための特別な臨床試験がなされたわけではないが、平成3年（1991年）に当時の厚生省から8処方<sup>8)</sup>が再評価指定を受け、製薬メーカー主導の臨床試験がいくつか行われた（表1）<sup>8)</sup>。その後、研究者主導の比較的グレードの高い臨床試験もなされるようになり、例えば機能性ディスペプシアに対する六君子湯<sup>9)</sup>や、認知症の行動・心理症状に対する抑肝散<sup>10)</sup>などについては数多くの報告があり、診療ガイドラインにも漢方薬が記載されるようになってきている。作用メカニズムに関して、例えば六君子湯の食欲増進ホルモンであるグレリン分泌促進作用や、抑肝散のグルタミン酸作動性に対する作用などについてはかなりの研究がなされている。

表1 再評価指定処方と対象疾患（1991年）

黄連解毒湯	： 高血圧症随伴症状*
桂枝加芍薬湯	： 過敏性腸症候群*
芍薬甘草湯	： 肝硬変に伴う筋攣攣（こむら返り）*、月経痛
小柴胡湯	： 感冒*、胃炎、肝機能障害*
小青竜湯	： 通年性鼻アレルギー*、気管炎*
大黄甘草湯	： 便秘症*
白虎加人参湯	： 薬剤性口渇、アトピー性皮膚炎の熱感・口渇
六君子湯	： 上部消化管機能異常*

\* 結果が論文として公表されたもの

III. 漢方医学教育

漢方は明治時代に医学教育から排除されたわけだが、平成13年度（2001年度）に公表された「医学教育モデル・コア・カリキュラム」に「和漢薬を概説できる」という文言が盛り込まれると、全国のほとんどの医学科で何らかの形で漢方医学関連の講義がなされるようになった。令和4年度（2022年度）に公表された改訂版では「漢方医学の特徴、主な和漢薬（漢方薬）の適応、薬理作用について概要を理解している」と少しずつふみ込んだ内容になってきた。また、世界医学教育連盟の「グローバルスタンダード」に「補完医療（伝統的医療を含む）との接点を持つこと」が記載され、国際認証の観点からも漢方医学教育の必要性が認識されてきている。しかしながら、全国的には漢方医学に携わる教官や教材は

十分な状況にはないことから、平成27年（2015年）に全国の医学科で漢方医学教育に携わる教官からなる「日本漢方医学教育協議会」が発足し、その成果の一つとして令和2年（2020年）に「基本がわかる漢方医学講義」<sup>11)</sup>が出版されている。

全国の医学科における漢方の現状について筆者の調べ得た範囲では、国立大学においては医学部・大学院レベルで漢方関連の講座がある大学は東北大学、千葉大学、富山大学、大阪大学のみで、このうち東北大学と大阪大学は共同研究講座である。一方、公立や私立を含めて附属病院や研究所に漢方関連の診療科や外来をウェブサイト上で確認できた大学は結構あるが、その多くは小規模なものである。

また、医師国家試験における漢方関連の問題について筆者の調べ得た範囲ではすべて副作用関連のもので、そのほとんどが甘草またはグリチルリチンによる偽アルドステロン症に関する問題である。一部、アリストロキア酸腎症を想定した可能性がある問題や、漢方薬による間質性肺炎と考えられる臨床問題もあるが、前述の「医学教育モデル・コア・カリキュラム」に記載されているような内容の問題についてはいまだに出題されていないのが現状である。

一方、本学医学部では平成25年（2013年）にミッションの再定義がなされており、その中で和漢医薬学（東洋医学）に関する研究の推進と人材育成に関する記載がなされている。また、医学部のコンピテンシーの中の「医学知識と問題対応能力」にも「和漢医薬学」に関する記載がなされている。

## 和漢診療学講座の歩み

### I. 沿革

和漢診療学講座の沿革を表2に示す。前述の如く、本学の前身である富山医科薬科大学は昭和50年（1975年）

の10月に開学した。翌年の昭和51年（1976年）に、私もその一人だが一期生が入学した。昭和54年（1979年）には附属病院が開院し、同時に国立大学では初めて漢方を扱う診療部門として和漢診療室が設けられた。昭和57年（1982年）に一期生が卒業するが、この時私は和漢診療室に入局させていただいた。ちなみに振り返ってみると、私の学生時代にほとんどの医療用漢方製剤が薬価収載されていたことになる。昭和58年（1983年）に和漢診療室は学内措置で和漢診療部となり、昭和60年（1985年）には文部省から正式に中央診療施設として認可された。昭和63年（1988年）にはWHO協力センター（伝統医学）に指定された。平成2年（1990年）に和漢診療部に教授職が設けられ、寺澤先生が教授に就任された。平成5年（1993年）には医学部に和漢診療学講座が設置され、同じく寺澤先生が教授に就任された。平成15年（2003年）からは不肖私が教授を務めさせていただいていたが、ちょうどその年に21世紀COEプログラム「東洋の知に立脚した個の医療の創生」が採択された。翌年の平成16年（2004年）には附属病院の和漢診療部は和漢診療科となり、平成17年（2005年）の新しい富山大学の開学を経て現在に至っている。この間、私は全国規模の学会として、平成23年（2011年）に「和漢医薬学会学術大会」、平成27年（2015年）に「日本東洋医学会学術総会」を富山で開催させていただいた。

### II. 教育

当講座では令和4年度（2022年度）に、学部教育として2年次の医療系の全学生を対象とした「和漢医薬学入門」で講義と体験実習、医学科の学生には3年次に「和漢診療学」、5～6年次に臨床実習などを担当した。大学院では「東洋医学序論」や「東洋医学特論」などの講義を担当した。

また、当講座からの学位取得者数については、講座開

表2 和漢診療学講座の沿革

昭和50年（1975年）	富山医科薬科大学開学
昭和51年（1976年）	一期生入学
昭和54年（1979年）	附属病院開院 和漢診療室設置（寺澤捷年室長）
昭和57年（1982年）	一期生卒業
昭和58年（1983年）	学内措置で和漢診療室は和漢診療部となる
昭和60年（1985年）	和漢診療部が文部省から正式に中央診療施設として認可
昭和63年（1988年）	WHO協力センター（伝統医学）に指定
平成2年（1990年）	和漢診療部に教授職（寺澤捷年教授就任）
平成5年（1993年）	医学部に和漢診療学講座が設置（寺澤捷年教授就任）
平成15年（2003年）	和漢診療学講座に嶋田豊教授就任
	21世紀COEプログラム
	「東洋の知に立脚した個の医療の創生」が採択
平成16年（2004年）	和漢診療部が和漢診療科となる
平成17年（2005年）	（新）富山大学開学

設以来では博士71名、修士3名、うち外国人留学生6名であり、私が教授になった以降に限ると博士28名、修士3名、うち外国人留学生5名であった。

### Ⅲ. 研究

私が教授になった以降（2004年以降）の講座全体の業績について、英文の原著論文は127編、年平均6.7編であった。ちなみに、私個人の業績については、英文の原書論文は173編であり、また「NHKきょうの健康 漢方薬事典」<sup>12)</sup>や「現代和漢診療学」<sup>13)</sup>という本も出版させていただいた。

主な研究の成果を以下に紹介する。

#### A. 釣藤散に関する研究

血管性認知症に対する釣藤散の臨床試験<sup>14)</sup>を報告したが、これはプラセボを対照とした医療用漢方製剤の二重盲検試験を初めて国際学術誌に報告したものである。また、*in vitro*の基礎研究として構成生薬の釣藤鈎<sup>15)</sup>、そのアルカロイド成分<sup>16)</sup>やフェノール成分<sup>17)</sup>のグルタミン酸誘導神経細胞死に対する保護作用、*in vivo*の基礎研究として脳卒中発症抑制作用<sup>18)</sup>、遅発性神経細胞死に対する保護作用<sup>19)</sup>、脳内カタラーゼ活性亢進作用<sup>20)</sup>などについて報告した。

#### B. 桂枝茯苓丸に関する研究

当講座では桂枝茯苓丸という「瘀血」、即ち「血の流通に障害をきたした病態」に対して用いられる処方についても一連の研究を行ってきた。臨床研究として赤血球集合能<sup>21)</sup>や赤血球変形能改善作用<sup>22)</sup>、*in vivo*の基礎研究として動脈硬化進展抑制作用<sup>23)</sup>や内皮依存性血管弛緩反応に対する保護作用<sup>24)</sup>、クロスオーバーデザインによる臨床試験によりメタボリックシンドローム関連因子を有する患者における血管内皮機能保護作用<sup>25)</sup>、*in vivo*の基礎研究により腎保護作用<sup>26)</sup>や肝線維化抑制作用<sup>27)</sup>、レプチン抵抗性や脂質代謝改善作用<sup>28)</sup>などについても報告した。

#### C. 漢方薬の副作用や医療安全に関する研究

当講座は昭和63年（1988年）にWHO協力センター（伝統医学）に指定され、4年ごとの審査で再指定を受けているが、現在のTerms of Reference（委託事項）の一つに伝統医学の医療安全に関する事項がある。そこで当講座では近年、漢方薬の副作用や医療安全に関する研究にも取り組んでおり、漢方薬関連のインシデントレポートの解析<sup>29)</sup>、薬剤性肝障害の症例報告<sup>30)</sup>、医療用漢方製剤の厚生労働省副作用報告の解析<sup>31)</sup>、漢方薬による間質性肺炎の解析<sup>32)</sup>、さらには漢方薬の副作用全般についての総説<sup>33)</sup>などについて報告した。

## 現代医療における漢方の役割と留意点

### I. 漢方の役割

私の経験から、医療における漢方の役割は年代とともに変化してきたように思われる。私が診療に携わり始めた昭和の後期（1980年代頃）は、例えば関節リウマチ、気管支喘息、ウイルス性肝炎などの疾患に対して満足できる治療法がなかったため、このことを理由に漢方治療を求めて当科を受診する患者が多くみられたが、有効な薬剤の開発とともにそのような患者は少なくなってきている。また前述の如く、一般の医師の間にも漢方処方の普及がみられる。

現代医療における漢方の役割についての私見を表3にまとめた<sup>34)</sup>。補完医療として、例えば冷え性（症）、虚弱、筋クランプ、更年期障害、がんのサポータティブケア、術後腸閉塞の予防や治療などに漢方薬が用いられる。感冒など、いわゆるコモンディーズ診療のなかで、漢方薬が使用されることも多い。エビデンスに基づいて診療ガイドラインに取り入れられる漢方薬も増えている。また特に近年、いわゆる不定愁訴の患者に漢方薬を処方する機会が増えているように思われる。さらには、ポリファーマシー対策や未病対策として漢方薬を使用してもよいと思われる。

表3 現代医療における漢方の役割

1. 補完医療としての漢方	冷え性（症）、虚弱、筋クランプ、更年期障害、がん治療の支持療法、術後腸閉塞の予防・治療等
2. コモンディーズ診療のなかの漢方	感冒、頭痛、便秘、月経痛等
3. エビデンスに基づく診療としての漢方	機能性ディスペプシア、認知症の行動・心理症状等
4. 不定愁訴診療のなかの漢方	身体症状症等
5. ポリファーマシー対策としての漢方	薬剤数削減・副作用のリスク軽減目的等
6. 未病対策としての漢方	動脈硬化性疾患の発症・進展予防等

### II. 漢方薬の副作用

漢方薬を処方する際には副作用にも留意すべきである。漢方薬の副作用の要点を表4に示した<sup>33)</sup>。この中で間質性肺炎、肝機能障害など、特に黄芩という生薬が原因として注目されている免疫・アレルギー反応による副作用があるが、これらは平成の時代になって初めて知られるようになったものである。また昭和の時代に既に知られていたが、過剰投与による副作用として甘草による偽アルドステロン症などがある。さらには、ここ十年くらいの間に山梔子という生薬の長期服用による腸間膜静脈硬化症も知られるようになってきた。



表4 漢方薬の副作用

- 
1. 免疫・アレルギー反応  
間質性肺炎—黄芩  
肝機能障害—黄芩  
アレルギー性膀胱炎—黄芩  
薬疹
  2. 過剰投与  
偽アルドステロン症—甘草（グリチルリチン）  
交感神経刺激症状—麻黄（エフェドリン類）  
附子・烏頭中毒—附子・烏頭（アコニチン類）  
下痢—大黄（センノシド類）
  3. 長期投与  
腸間膜静脈硬化症—山梔子
- 

### まとめ

私が漢方と関わり始めた昭和の後期は医療用漢方製剤が認可され、処方急速に普及した時代であった。平成の時代は漢方のエビデンスが徐々に蓄積し医学教育にも導入されたが、一方で新たな副作用が認識された時代であった。令和の時代は現時点ではまだ何とも言えないが、我が国の貴重な医療資源として、漢方が今後とも適切に活用され続けることを祈念する。

おわりに、本学、ならびに医学部、そして関係諸氏の今後ますますのご発展を祈念申し上げます。

### 文献

- 1) 寺澤捷年：和漢診療学。新しい漢方：42-43。岩波書店、東京、2015。
- 2) 新村 出編：広辞苑（第6版）。3023。岩波書店、東京、2008。
- 3) 平松 博, 小林 収, 小澤 光, 山崎高應, 大浦彦吉, 田辺正英：座談会。創設準備にあたって。富山医科薬科大学開学十周年記念誌（富山医科薬科大学開学十周年記念誌編集委員会編）：37-41。富山医科薬科大学、富山、1986。
- 4) 日本漢方生薬製剤協会：漢方製剤等の生産動態。令和2年薬事工業生産動態統計年報。 <https://www.nikkankyo.org/serv/movement/R02/all.pdf>（参照2022.3.29）
- 5) 日本漢方生薬製剤協会：漢方の将来ビジョン2040。国民の健康と医療を担う。 <https://www.nikkankyo.org/action/pdf/vision2040.pdf>（参照2020.2.3）
- 6) 築山邦規, 田坂佳千, 中島正光, ほか：小柴胡湯による薬剤誘起性肺炎の1例。日胸疾会誌 27, 1556-1561, 1989。
- 7) 日本漢方生薬製剤協会：漢方薬処方実態調査（定量）。Summary Report。 <https://www.nikkankyo.org/serv/pdf/jittaichousa2011.pdf>（参照2023.5.31）
- 8) 日本漢方生薬製剤協会：漢方の新しい展望21.5年間の成果と新たな中長期事業計画。 [https://www.nikkankyo.org/action/pdf/dlm21-result\\_all.pdf](https://www.nikkankyo.org/action/pdf/dlm21-result_all.pdf)（参照2020.2.3）
- 9) Tominaga K., Sakata Y., Kusunoki H., et al. : Rikkunshi-to simultaneously improves dyspepsia correlated with

- anxiety in patients with functional dyspepsia : a randomized clinical trial (the DREAM study) . Neurogastroenterol. Motil. 30 : e13319, 2018.
- 10) Matsunaga S., Kishi T., Iwata N. : Yokukansan in the treatment of behavioral and psychological symptoms of dementia : an updated meta-analysis of randomized controlled trials. J. Alzheimers Dis. 54 : 635-643, 2016.
  - 11) 日本漢方医学教育協議会編：基本がわかる漢方医学講義。羊土社、東京、2020。
  - 12) 嶋田 豊監修：NHKきょうの健康。漢方薬事典 改訂版。主婦と生活社、東京、2016。
  - 13) 嶋田 豊：現代和漢診療学。ブイツーソリューション、名古屋、2014。
  - 14) Terasawa K., Shimada Y., Kita T., et al. : Choto-san in the treatment of vascular dementia : A double-blind, placebo-controlled study. Phytomedicine 4 : 15-22, 1997.
  - 15) Shimada Y., Goto H., Kogure T., et al. : Extract prepared from the hooks and stems of *Uncaria sinensis* prevents glutamate-induced neuronal death in cultured cerebellar granule cells. J. Trad. Med. 15 : 141-146, 1998.
  - 16) Shimada Y., Goto H., Itoh T., et al. : Evaluation of the protective effects of alkaloids isolated from the hooks and stems of *Uncaria sinensis* on glutamate-induced neuronal death in cultured cerebellar granule cells from rats. J. Pharm. Pharmacol. 51 : 715-722, 1999.
  - 17) Shimada Y., Goto H., Kogure T., et al. : Protective effect of phenolic compounds isolated from the hooks and stems of *Uncaria sinensis* in glutamate-induced neuronal death. Am. J. Chinese Med. 29 : 173-180, 2001.
  - 18) Shimada Y., Yang Q., Yokoyama K., et al. : Choto-san prevents occurrence of stroke and prolongs life span in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Am. J. Chinese Med. 31 : 79-85, 2003.
  - 19) Yokoyama K., Shimada Y., Hori E., et al. : Protective effects of Choto-san and hooks and stems of *Uncaria sinensis* against delayed neuronal death after transient forebrain ischemia in gerbil. Phytomedicine 11 : 478-489, 2004.
  - 20) Yokoyama K., Shimada Y., Hori E., et al. : Effects of Choto-san and hooks and stems of *Uncaria sinensis* on antioxidant enzyme activities in the gerbil brain after transient forebrain ischemia. J. Ethnopharmacol. 95 : 335-343, 2004.
  - 21) Kohta K., Hikiami H., Shimada Y., et al. : Effects of Keishi-bukuryo-gan on erythrocyte aggregability in patients with multiple old lacunar infarction. J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKU 10 : 251-259, 1993.
  - 22) Hikiami H., Goto H., Sekiya N., et al. : Comparative efficacy of Keishi-bukuryo-gan and pentoxifylline on RBC deformability in patients with "oketsu" syndrome. Phytomedicine 10 : 459-466, 2003.

- 23) Sekiya N., Tanaka N., Itoh T., et al. : Keishi-bukuryo-gan prevents the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbit. *Phytother. Res.* 13 : 192-196, 1999.
- 24) Sekiya N., Goto H., Tazawa K., et al. : Keishi-bukuryo-gan preserves the endothelium dependent relaxation of thoracic aorta in cholesterol-fed rabbit by limiting superoxide generation. *Phytother. Res.* 16 : 524-528, 2002.
- 25) Nagata Y., Goto H., Hikiami H., et al. : Effect of keishi-bukuryogan on endothelial function in patients with at least one component of the diagnostic criteria for metabolic syndrome : A controlled clinical trial with crossover design. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2012 : 359282, 10 pages, 2012.
- 26) Nakagawa T., Tashiro I., Fujimoto M., et al. : Keishi-bukuryogan reduces renal injury in the early stage of renal failure in the remnant kidney model. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2011 : 914249, 8 pages, 2011.
- 27) Fujimoto M., Tsuneyama K., Kainuma M., et al. : Evidence-based efficacy of Kampo formulas in a model of non alcoholic fatty liver. *Exp. Biol. Med.* 233 : 328-337, 2008.
- 28) Gao F., Yokoyama S., Fujimoto M., et al. : Effect of keishibukuryogan on genetic and dietary obesity models. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2015 : 801291, 8 pages, 2015.
- 29) Shimada Y., Fujimoto M., Nogami T., et al. : Patient safety incident reports related to traditional Japanese Kampo medicines : Medication errors and adverse drug events in a university hospital for a ten-year period. *BMC Complement. Altern. Med.* 17 : 547, 8 pages, 2017.
- 30) Shimada Y., Fujimoto M., Nogami T., et al. : Recurrent drug-induced liver injury caused by the incidental re-administration of a Kampo formula containing *Scutellariae Radix*. *Intern. Med.* 57 : 1733-1740, 2018.
- 31) Shimada Y., Fujimoto M., Nogami T., et al. : Adverse events associated with ethical kampo formulations : Analysis of the domestic adverse-event data reports of the ministry of health, labor, and welfare in Japan. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2019 : 1643804, 14 pages, 2019.
- 32) Nogami T., Fujimoto M., Shimada Y., et al. : Incidence of kampo medicine-induced interstitial pneumonia : 10 year retrospective study at a university hospital kampo medicine department. *Tradit. Kampo Med.* 6 : 26-31, 2019.
- 33) Shimada Y. : Adverse effects of Kampo medicines. *Intern. Med.* 61 : 29-35, 2022.
- 34) 嶋田 豊 : 内科診療における漢方の役割. 最新情報. 日内会誌 110 : 817-823, 2021.



## 最終講義

## 難治性めまいへの弛まぬ挑戦

將積日出夫

Final lecture : “Unrelenting challenge to intractable dizziness”

Hideo SHOJAKU

Emeritus professor, University of Toyama

## 和文要旨

めまい・平衡障害は日常臨床で患者が最も訴える症状の1つであり、耳性めまいが6割を占める。良性発作性頭位めまい症（BPPV）はその過半数を占める。原因は卵形囊から耳石が脱落し三半規管に迷入して生じ、後半規管型BPPVが約9割、外側半規管型BPPVは約1割である。治療には耳石を卵形囊に移動させる浮遊耳石置換法が知られているが、ヒトでは耳石の移動を観察することは出来ない。本稿では、私が富山大学耳鼻咽喉科で継続してきた、浮遊耳石置換法の理解に役立つ世界発の膜迷路モデルの開発研究について紹介する。

## Abstract

Dizziness is one of the most complaining symptoms in daily practice. Benign paroxysmal positional vertigo (BPPV) accounts for about 25% of all dizzy patients, in which the otoliths fall off from the utricle macula and enter into the semicircular canals (SSC). Approximately 90% of BPPV patients are posterior SCC type, while remaining about 10% are lateral SCC type. To treat the posterior SCC type BPPV, otolith repositioning maneuver named Epley is maneuver done globally. I invented the BPPV training model which is launched on the market by the Japan Medical Company co. I introduce the history of the development as a final lecture.

Key words : 良性発作性頭位めまい症、浮遊耳石置換法、世界初三半規管膜迷路模

## 1. はじめに

私は渡辺先生の後任として2012年9月15日に富山大学学術研究部医学系耳鼻咽喉科頭頸部外科学講座の主任教授、附属病院耳鼻咽喉科診療科長に就任した。それから2023年3月末まで恙なく務め、無事退任することができた。本稿では、私が臨床の現場の課題解決を目指してライフワークとして継続してきた浮遊耳石置換法の理解に役立つ世界初の膜迷路モデルの開発研究について、「難治性めまいへの弛まぬ挑戦」と題して紹介させていただきたい。

## 2. 背景

良性発作性頭位めまい症（BPPV）は、耳性めまいの中で最多であり全体の約4割を占める<sup>1)</sup>。その病態は、耳石器から耳石が脱落して三半規管内に迷入して浮遊耳石になることが原因で、後半規管型BPPVが全体の90%

を占め、10%弱が外側半規管型BPPVと診断される。BPPVの治療には、浮遊耳石置換法と呼ばれる理学療法が用いられ、その理解のため著者が発明者である特許、『良性発作性頭位めまい症の治療用器具及びその製造方法（特許第2012-083881号）』を元に(株)ジャパン・メディカル・カンパニー社によりBPPV治療練習用頭部模型（以下、骨迷路模型）が上市されている<sup>2)</sup>。この骨迷路模型では三半規管（耳石可動）10倍モデルが左右1対内在している（図1）。このモデルは、健常者の側頭骨CT画像から3Dプリンタで構築された骨迷路（半規管と耳石器）を10倍に拡大したもので、内腔に浮遊耳石を抽出した赤色のビーズが存在している

Epley法は後半規管型BPPVに対する代表的な浮遊耳石置換法である<sup>3)</sup>。右後半規管型BPPVに対するEpley法（図2）では、まず座位で右45°頸部捻転後に懸垂頭位まで頭位変換を行う。この右下45°懸垂頭位を第1頭位

と呼ぶ。次に懸垂頭位のまま90°頸部を左方向に回転して左45°懸垂頭位に頭位変換する。この左下45°懸垂頭位を第2頭位と呼ぶ。さらに90°頸部を左方向に回転され左135°懸垂頭位に頭位変換する。この左下135°懸垂頭位を第3頭位と呼ぶ。最後に座位に戻り、正面を向き、20°前屈位をとる。

右後半規管型BPPVに対するEpley法施行時の浮遊耳石の移動を頭部模型で観察した<sup>4)</sup>(図3)。模型により座位→第1頭位→第2頭位へ頭位変換を再現させると、後半規管内を反膨大部方向に浮遊耳石(赤色ビーズ)は移動し、第3頭位で前半規管に入った。その後、模型で座位に戻る頭位変換を再現させると前半規管内に存在し

た浮遊耳石は全て卵形囊内に移動した。このように頭部模型はEpley法の各頭位での浮遊耳石の移動を肉眼で観察することが可能であった。さらに、医学教育において頭部模型は、“後半規管型BPPVの浮遊耳石置換法に懸垂頭位が必要である”ことへの理解に役立つことが明らかとなった<sup>5)</sup>。また、先行論文では、第3頭位で前半規管に入ったとする報告はなく、頭部模型で再現するために膜迷路模型作製の必要性が指摘された<sup>4)</sup>。

BPPVは特定の頭位でめまいが誘発される。後半規管型BPPVは枕に頭を着けた時、一方、外側半規管型BPPVでは寝返りをした時に起こる。外側半規管型BPPVの半規管結石症の代表的な浮遊耳石置換法である

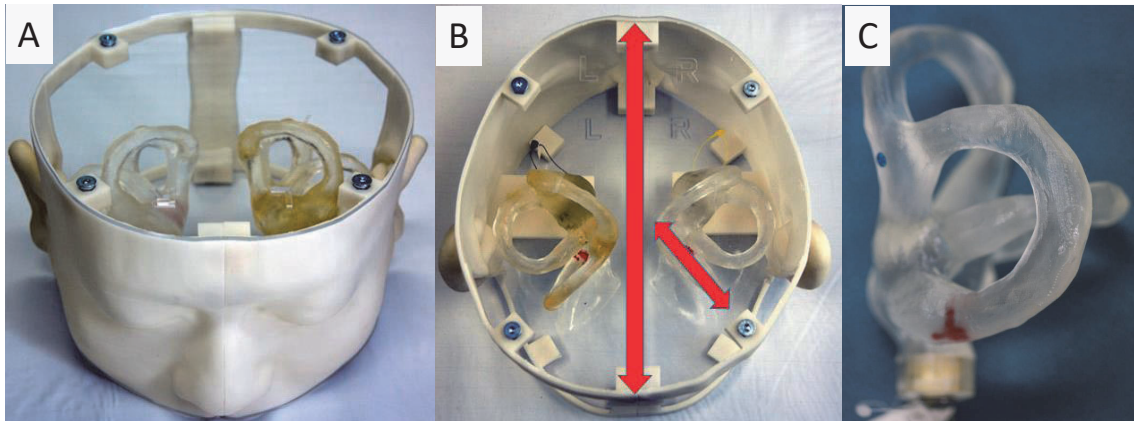


図1 BPPV治療練習用頭部模型(骨迷路模型)

A: 全景, B: 背景, C: 三半規管(耳石可動)10倍モデル

三半規管(耳石可動)骨迷路10倍モデルを左右1対内在したのがBPPV治療練習用頭部模型であり、後半規管は矢状面に対して45°の角度を成すよう作製されている。

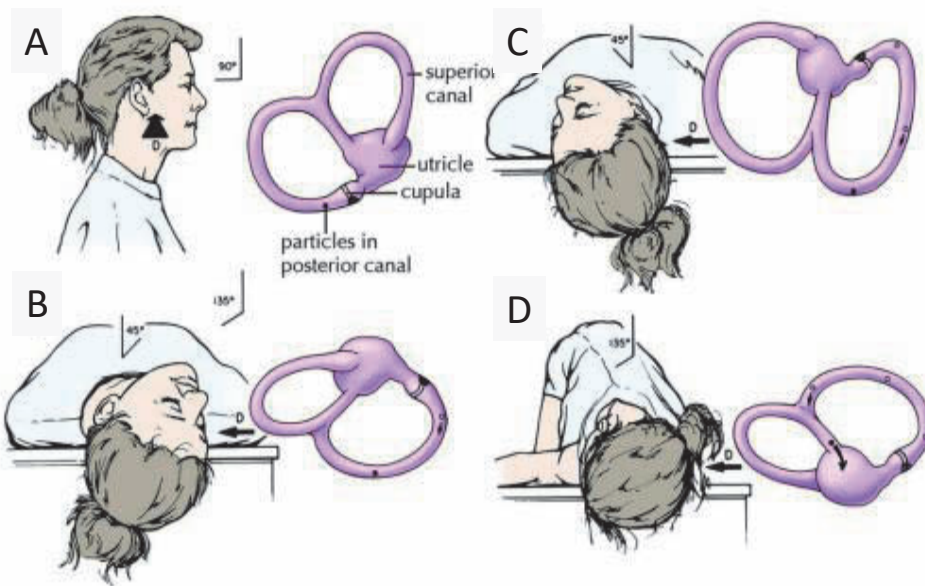


図2 右後半規管型BPPVに対するEpley法(文献3)より一部改変)

A: 座位, B: 右下45°懸垂頭位(第1頭位), C: 左下45°懸垂頭位(第2頭位), D: 左下135°懸垂頭位(第3頭位)

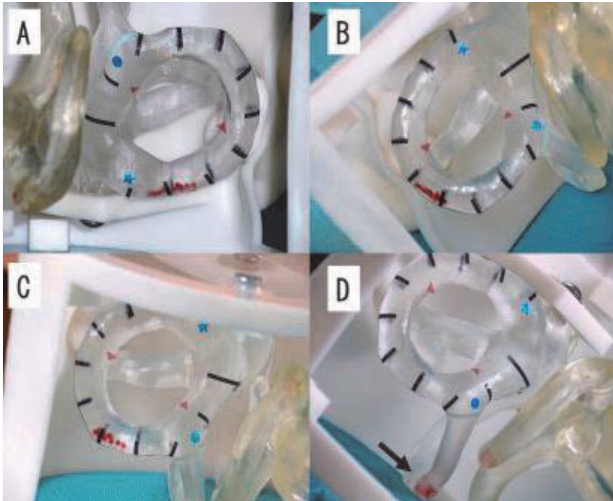


図3 右Epley法時の頭部模型内浮遊耳石の移動 (文献4)より一部改変)

A: 座位, B: 第1頭位, C: 第2頭位, D: 第3頭位。  
浮遊耳石 (赤色ビーズ) は後半規管内を反膨大部方向に進み、第3頭位で前半規管に入る。

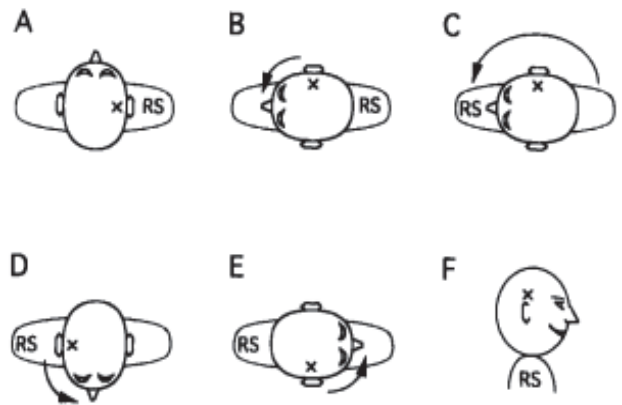


図4 右外側半規管型BPPVに対するLempert法 (文献6)より引用)

右耳が患側の外側半規管型BPPVに対して頭部を270°回転させて浮遊耳石を卵形嚢に戻す

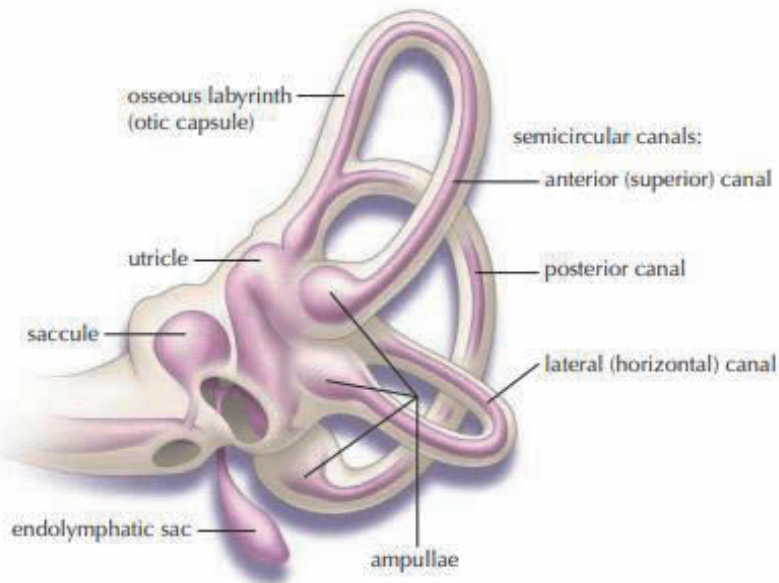


図5 骨迷路と膜迷路 (文献3)より引用)

膜迷路を満たす内リンパは薄紫、骨迷路と膜迷路の間を満たす外リンパは薄茶色で示した。膜迷路は骨迷路に比べて細い。

Lempert法を図4に示した<sup>6)</sup>。Lempert法では仰臥位で健側方向へ頭部を90°ずつ3回、計270°回転することで外側半規管型BPPV患者の浮遊耳石を卵形嚢に移動させる。Lempert法の手技を頭部模型で行うと浮遊耳石 (赤色ビーズ) は90°模型を回転させただけで外側半規管内から卵形嚢に移動する。“Lempert法では270°の頭部回転が必要”ということ頭部模型で再現するためには、膜迷路模型の作製は可能性の一つであると考えられた。

### 3. 目的

内耳骨迷路と膜迷路の関係を図5に示した<sup>3)</sup>。内耳液

には内リンパと外リンパがあり、内リンパは膜迷路を、外リンパは骨迷路と膜迷路の間を満たしている。容量は内リンパが35~45 μl、外リンパは135~145 μlであり、膜迷路は骨迷路内に存在し、骨迷路よりも比較的細い<sup>7)</sup>。BPPV患者では、浮遊耳石は膜迷路内を移動する。そのため、Epley法やLempert法を頭部模型で正確に再現するためには膜迷路モデルを作製する必要がある。しかしながら、3テスラのMRIを使用しても膜迷路のみを描出することはできない。そこで本研究では、三半規管 (可動耳石) 10倍膜迷路モデルの作製方法を考案、3Dプリンタにて世界で初めて試作した。

#### 4. 膜迷路モデル作製の開発研究

膜迷路モデル作製のため、三半規管膜迷路モデルの作製方法を考案、特許を取得した(図6)。

特許①：発明の名称『三半規管模型』

特許第7045017号

- 特許権者
1. 国立大学法人富山大学
  2. (株)ジャパン・メディカル・カンパニー
- 発明者
1. 將積 日出夫
  2. 高倉 大匡
  3. 大野 秀晃
  4. 白川 勇仁

本特許には、ヒト骨迷路と膜迷路の関係を明瞭に図示



図6 特許証

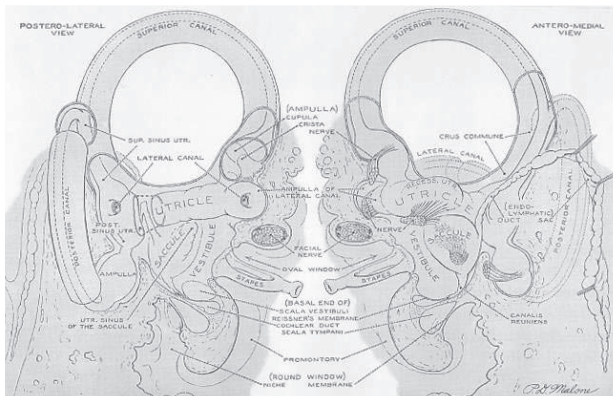


図7 Brödelの図譜

したBrödelの図譜を参考とした<sup>8)</sup>。彼は、ジョンズホプキンス大学の耳科学研究所の側頭骨バンクから側頭骨標本を10枚に1枚の割合で抽出し12倍に拡大した画像をカメラ・ルシダにより描画した。描画した画像では個体差が認められたため平均値を求めて三次元画像を構築した。図7は3枚の図の中の1枚である。垂直半規管が後外側(図7左)および前外側(図7右)から描かれており、前半規管の存在する平面にほぼ直交、後半規管の存在する平面にほぼ一致した視点で描写されている。その結果、前半規管全体が膨大部脚、膨大部、非膨大部脚まで観察できる。この図より前半規管の骨迷路の外側の輪郭を非膨大部脚から総脚まで結ぶ線を円に近似させ、前半規管の膨大部、非膨大部脚、総脚、卵形嚢を同定して円の中心となす角度を測定した。さらに、骨迷路内腔外側壁、膜迷路内腔外側壁、膜迷路内腔内側壁、骨迷路内腔内側壁を同定し、骨迷路と膜迷路内径の比、骨迷路と膜迷路の外側壁の距離と骨迷路の内径の比を計測した。

図8に前半規管で得られた骨迷路と膜迷路の内径の計測値と非膨大部脚から総脚までの角度を元に、後半規管、外側半規管も同等であると仮定して膜迷路を10倍に拡大して3Dプリンタで試作した膜迷路モデルを頭部模型に内蔵した“試作膜迷路模型”の写真を示した。骨迷路モデルと同様に内部に浮遊耳石を模した赤色ビーズを内包させた。

#### 5. 試作膜迷路頭部模型の評価

2022年8月20日に京都市で開催された第39回耳鼻咽喉科ニューロサイエンス研究会で試作した頭部模型を用いてEpley法の手技を行った結果を報告した<sup>9)</sup>(図9)。従来の骨迷路モデルと膜迷路モデルを内蔵した頭部模型を用いてEpley法の手技をそれぞれ20回施行し、第3頭位



図8 試作した三半規管(耳石可動)膜迷路10倍モデル内蔵頭部模型(膜迷路模型)

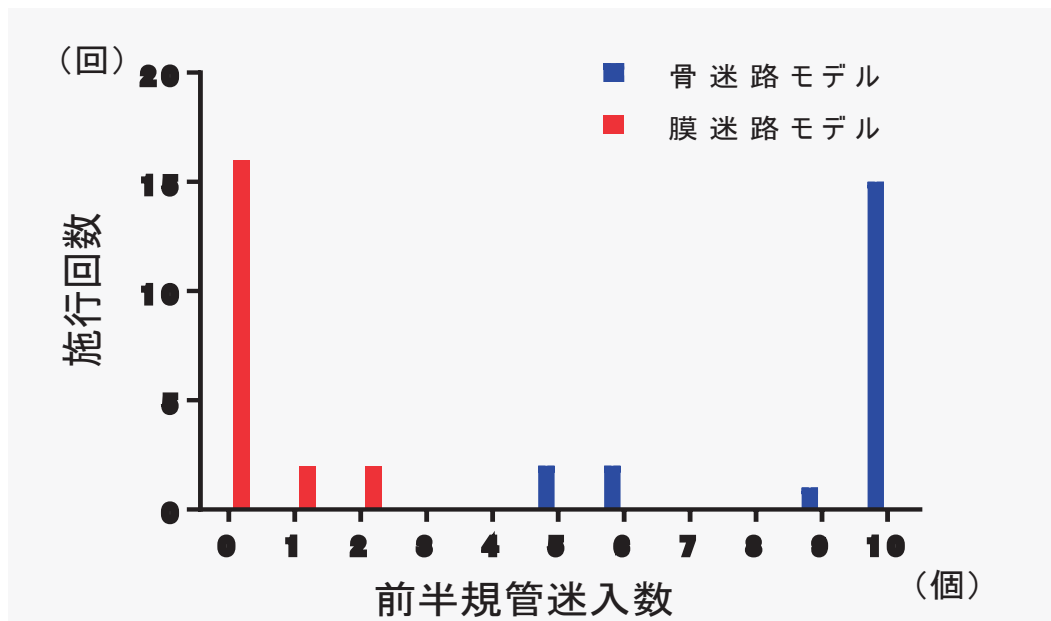


図9 pley法第3頭位の浮遊耳石の前半規管迷入数  
膜迷路模型は骨迷路模型に比べて浮遊耳石（赤色ビーズ）の前半規管への迷入が殆ど見られなかった。

での浮遊耳石（赤色ビーズ）の位置を観察した。骨迷路モデル内蔵頭部模型（以下、骨迷路模型）では第3頭位で20回中15回、浮遊耳石10個全てが前半規管に迷入した。一方、膜迷路モデル内蔵頭部模型（以下、膜迷路模型）では、20回中16回は浮遊耳石の全てが後半規管内に止まり、4回は1個～2個が前半規管に迷入した。統計学的に膜迷路模型では骨迷路模型と異なり第3頭位で浮遊耳石の大多数が後半規管内に存在することが分かった。今回試作した膜迷路模型では、前半規管と後半規管の接合部の角度は鋭角であり、ヒト膜迷路での接合部の角度を再現していた<sup>10)</sup>。膜迷路模型にEpley法の手技を用いると第3頭位で総脚付近の後半規管内に存在した浮遊耳石（赤色ビーズ）は、座位で卵形嚢へ移動した。そのため、膜迷路模型はEpley法施行時の浮遊耳石の移動部位の理解に役立つ医療模型であることが確認された。

一方、外側半規管型BPPVに対するLempert法についても同様の検討を行った。膜迷路模型を用いてLempert法の手技を行った場合、180°の頭部回転で浮遊耳石（赤色ビーズ）は卵形嚢に移動した。これはLempert法に必要な270°頭部回転とは一致していなかった。Maia et al.は、Lempert法実施中の耳石の位置を推定した。その総説では、180°ですでに卵形嚢内に耳石は入り、270°でより深部へ到達していると示されている。270°が必要なのは、元に戻るのを防ぐ目的があるのかもしれない。膜迷路模型のさらなる改良によりその点を明らかにする必要がある。

## 6. 医学部医療機器イノベーション共同研究講座での開発研究の継続

今回、Brödelの図譜<sup>8)</sup>に従って半規管の骨迷路、膜迷路の断面が円形であり、外側半規管は前半規管と同一であると仮定して膜迷路模型を作製した。一方、Igarashiは、ヒト後半規管の骨迷路と膜迷路の断面を測定し、いずれも楕円形で膜迷路の長軸は骨迷路の短軸に一致すると報告した<sup>12)</sup>。Curthoy&Omenはヒト外側半規管の膜迷路の断面を測定し、膜迷路は楕円形であり、その長軸は外側半規管の平面に直交すると発表した<sup>13)</sup>。このように先行論文では骨迷路や膜迷路が楕円形であると報告されているが、その計測値は大きく異なり、半規管の固有値の違いによる可能性が指摘された<sup>9),14)</sup>。そのため、福島県立医大耳鼻咽喉科学教室（室野重之教授）との共同研究により、同教室の側頭骨バンクから側頭骨標本データを入手して、膜迷路と骨迷路の関係の検討を継続している（図10）。実際の側頭骨標本では膜迷路は楕円形であり、成書に書かれているように骨迷路の外側に位置している<sup>15)</sup>。今後、CADを用いて標本のデータを3D構築することで改良の膜迷路模型を作製し、Epley法やLempert法などの浮遊耳石置換法の理解に役立つ医療模型の作製を目指している。

## 7. おわりに

4月より富山大学医学部医療機器イノベーション共同研究講座の客員教授に赴任して、これまで続けてきた耳鼻咽喉科領域の医療機器の開発研究を継続している。幸い、企業との共同研究を通じて8個の特許取得もしくは出願、さらに2個の製品を上市することが出来た。日





図10 側頭骨組織標本での骨迷路と膜迷路の関係  
膜迷路は骨迷路の外側で楕円形。

常臨床の現場で生まれた課題をシーズととらえ、共同研究をする企業を見つけることは簡単ではない。試行錯誤の上に確固たるパートナーシップを結ぶことが医療機器の開発に重要であると考えている。同門会の諸先生が、医療機器開発を目指す上で少しでも参考になれば幸いである。

#### 参考文献

- 1) 宇野敦彦, 永井美樹, 坂田義治, 森脇計博, 加藤 崇: 市中病院耳鼻咽喉科における最近のめまい統計. 日耳鼻 2001; 194: 1119-1125.
- 2) BPPV 治療練習用. <https://www.kezlex.com/products/ent/>
- 3) Parnes LS, Agrawal SK, Atlas J.: Diagnosis and management of benign paroxysmal positional vertigo (BPPV). CMAJ 169: 681-693, 2003.
- 4) 將積日出夫, 藤坂実千郎, 石田正幸, 他: 可動耳石・半規管モデル内臓頭部模型による頭位治療時の浮遊耳石の検討. 耳鼻臨床 補134: 28-33, 2012
- 5) Fujisaka M, Akaogi K, Shojaku H.: A tangible head model showing semicircular canals for demonstrating the physical treatment for BPPV. Acta OtoLaryngol. 2015; 135: 1212-8.
- 6) Lempert T, Tiel-Wilck K.: A positional maneuver for treatment of horizontal-canal benign positional vertigo. Laryngoscope. 106: 476-478, 1996.
- 7) 切替一郎著, 野村恭也監修, 加我君孝編集: 新耳鼻咽喉科学 改訂11版. 南山堂, 東京, 2013年.
- 8) Brodel, M.: Unpublished drawings of the anatomy of the human ear. Philadelphia: W.B. Saunders, 1946.
- 9) 十二町美樹, 高倉大匡, 將積日出夫, 大野秀晃, 白川勇仁: BPPV治療練習用頭部模型の改良. 第39回耳鼻咽喉科ニューロサイエンス研究会. 2022年8月20日, 京都市.
- 10) Adams JC, Liberman MC.: Schuknecht's pathology of the ear. Connecticut People's Medical Publishing House-USA, 2010.
- 11) Maia FZ, Ramos BF, Cal R, et al.: Management of Lateral Semicircular Canal Benign Paroxysmal Positional Vertigo. Front. Neurol. 11: 1040, doi:10.3389/fneur.2020.01040
- 12) Igarashi M.: Dimensional study of the vestibular apparatus. Laryngoscope 1967; 77: 1806-1817.
- 13) Curthoys IS, Oman CM.: Dimensions of the horizontal semicircular duct, ampulla and utricle in the human. Acta Otolaryngol 1987; 103: 254-261.
- 14) 橋本 晋: ヒト半規管膜迷路の三次元再構築とその計測. 日本耳鼻咽喉科学会会報 2003; 106: 1-6.
- 15) 野村恭也, 平出文久, 原田勇彦: 新耳科学アトラス 形態と計測値. 東京: シュプリンガー・フェアラーク東京, 1992.

## 総 説

## 小児気管支喘息の管理における過去40年間の変遷

足立雄一

## Changes in the management of childhood asthma during the past 40 years

Yuichi Adachi

Pediatric Allergy Center, Toyama Red Cross Hospital

## 和文要旨

本邦では人口の約2/3が何らかのアレルギー症状を有し、気管支喘息は小児の慢性疾患の中でも頻度が高いものの一つである。過去40年間に於いて、喘息の病態が徐々に明らかになるにつれて治療や管理法において大きな変化があった。本稿では、我々の今までの研究成果をもとに、疫学データや喘息管理における今までの変化を提示するとともに、今後の発症予防について概説する。

## 英文要旨

In Japan, approximately two thirds of population have allergic symptoms, and bronchial asthma is one of the most common chronic diseases in children, causing a significant burden to the children and their families. During the past 40 years, as the pathogenesis of asthma has been gradually revealed, the way of treatment and management of childhood asthma has been substantially changed. Based on our previous research findings, this review covers epidemiological data of childhood asthma and longitudinal changes in the asthma management, and discusses potential prevention measures.

Key words : childhood asthma, comorbidities, epidemiology, prevention

## はじめに

アレルギー疾患は国民の約3人に2人が罹患しており<sup>1)</sup>、小児では慢性疾患の中で最も有病率の高い疾患である。中でも気管支喘息（以下、喘息）は、気道感染などの誘引によって急性増悪（急速に喘鳴や呼吸苦などの呼吸器症状を発症）を繰り返す、そのため園や学校を欠席したり、時間外受診や入院を要する場合がある。さらに、保護者は患児の体調によって仕事を休まざるを得ない時もあり、患児ならびに家族の大きな負担になっている。本稿では、著者が過去40年間にわたり小児アレルギー専門医として携わってきた小児喘息の病態理解の変化やそれに伴う治療・管理法の進歩について、自分たちのデータを中心に概説する。

## 疫学

喘息の有病率は、第二次世界大戦以降に「Asthma Epidemic」と呼ばれるほど急激に増加した<sup>2)</sup>。小児喘息の有病率を共通の質問項目を用いて調べた国際的な研究

では、現在の有病率は約10%であり、過去30年間の変化としては、低所得国では低下傾向、低～中所得国では増加傾向、中～高所得ならびに高所得国では大きな変化がないと報告されている<sup>3)</sup>。このように地域によって有病率やその経時変化が大きく異なることは、喘息の発症ならびに増悪において遺伝的要因ばかりでなく、環境要因や社会経済的要因が複雑に関与しているためと考えられる。我々が長年関わってきた厚労科研の調査結果では、小学生の喘息有病率は2005年に13.8%であったものが10年後の2015年に10.2%に減少し、中学生でも8.7から8.1%と同様に低下傾向であった（図1）<sup>4)</sup>。一方、同時に調査した他のアレルギー疾患の有病率の経時変化では、アトピー性皮膚炎は著変がないものの、アレルギー性鼻炎の有病率は特に中学生で大きく増えていた。さらに調査対象に含まれていなかった食物アレルギーの有病率も2000年以降急増している。

ではなぜ同じアレルギー疾患でありながら、疾患によって有病率の変化が一様ではないのか。これについて

(受稿2023.8.28)

日本赤十字社 富山赤十字病院 小児アレルギーセンター、富山大学名誉教授



図1 小児におけるアレルギー疾患の有症率（2005年と2015年）文献4から引用

表1 アレルギー疾患ごとの病態の違い（私見）

	即時型反応 マスト細胞 ヒスタミンなど	遅延型反応 好酸球、Th2細胞 タイプ2サイトカイン
気管支喘息	+	+++
アトピー性皮膚炎	+/-	+++
通年性アレルギー性鼻炎	+	++
花粉症	++	+
食物アレルギー	+++	-

の明確なエビデンスは未だないが、第二次世界大戦以降に急速に有症率が増加して最近ではプラトーからやや下向きになってきた喘息とアトピー性皮膚炎の主たる病態は、表1に示すように二相性を示すアレルギー反応の遅延型（late reaction）である一方、この20年で有症率が急速に伸びているアレルギー性鼻結膜炎、花粉症、食物アレルギーの主たる病態は食物アレルギーにおけるアナフィラキシーが代表するように即時型（immediate reaction）であり、この差が有症率の変化の差に影響している可能性が考えられる。

病態と治療

喘息の治療は、その病態が徐々に明らかとなるにつれて大きく変遷した。本邦では、小児の喘息死のピークは1960～70年代と1990年前後に2回あった。当時、喘息の基本病態は気管支平滑筋の収縮によるものと考えられていたためβ刺激薬による治療が多用され、その結果喘息死が増加したと考えられている。その後、マスト細胞などから遊離され気管支平滑筋収縮を促す化学伝達物質に注目が集まり、化学伝達物質遊離抑制薬（経口抗アレル

ギー薬やDSCG）が数多く開発され、頻用されていた。また、気管支平滑筋の収縮を改善させるばかりでなく、抗炎症効果も有するとされるテオフィリン徐放製剤が開発されると、経口薬として幅広く用いられるようになったが、血中濃度の有効閾と中毒閾が近接していることもあって、低年齢児において痙攣などを誘発する危険性が明らかとなり、近年では用いられることが少なくなった。一方、1990年ごろより、喘息の病態は好酸球性炎症であることが知られるようになり、吸入ステロイド薬（ICS）の重要性が強調され、それに連れて各種ICSが開発され、さらに近年では長時間作用性β刺激薬もICSと併用すれば長期間安全に使用できることが明らかとなった<sup>5)</sup>。本邦では、2000年に小児喘息のガイドラインが作られ、その後徐々にICSを中心とした喘息治療の均てん化が進み、最近では喘息死はほぼなくなり、喘息発作で時間外受診したり入院を要する症例数も激減してきた（図2）<sup>6)</sup>。1983年に発刊された成書には、「好酸球はI型反応後24時間をピークに局所に集まり、好酸球が産生するhistaminaseがヒスタミンを、arylsulfataseがSRS-A（slow reacting substance of anaphylaxis）を分

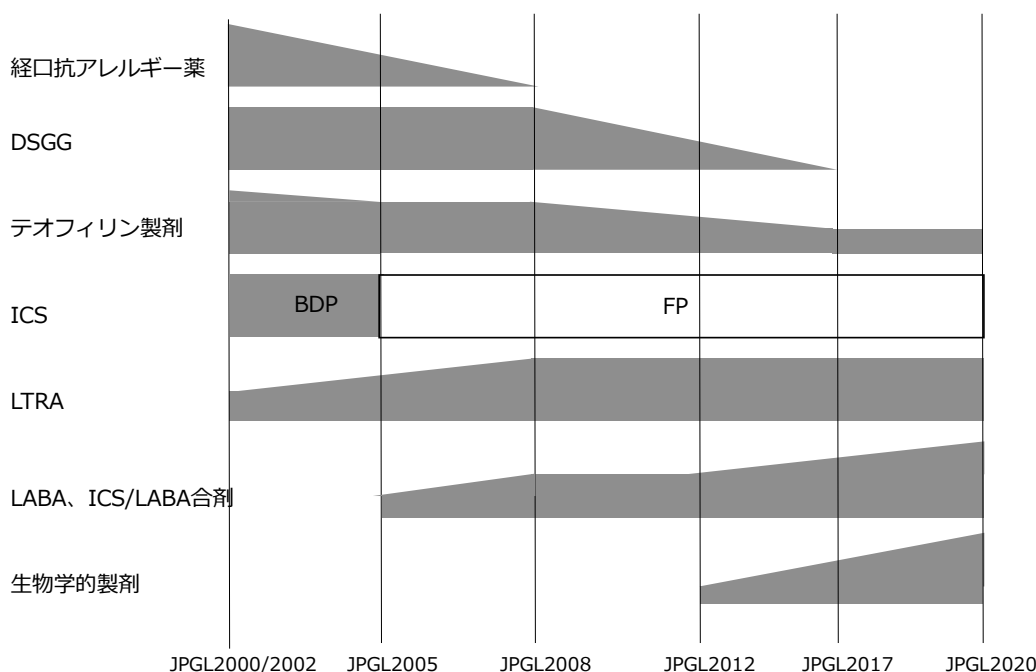


図2 長期管理薬の変遷のイメージ図 (文献6より引用)

DSCG: disodium cromoglycate, ICS: inhaled corticosteroid, BDP: beclomethasone dipropionate, FP: fluticasone propionate, LTRA: leukotriene receptor antagonist, LABA: long-acting beta agonist, JPGL: Japanese Pediatric Guideline for the Treatment and Management of Asthma

解し、炎症後の局所組織を修復するためのscavenger cellと考えられる」と記載されており<sup>7)</sup>、好酸球が喘息病態に深く関与しているという現在の理解と180度異なっていたことに驚きを禁じ得ない。さらに近年では、獲得免疫が主体と考えられていたアレルギーにおいても2型自然リンパ球 (ICL2) を中心とした自然免疫も強く関与していることが明らかとなってきた。そして、このように病態解明が進む中で生物学的製剤が開発され、重症喘息の治療も大きく進歩してきている<sup>8,9)</sup>。

喘息の急性増悪 (発作) の治療において、 $\beta$  刺激薬吸入に加えて全身性ステロイド薬を投与しても効果が乏しい場合には、本邦では強力な  $\beta$  刺激薬としての固有活性を持つイソプロテレンールの持続吸入療法が行われている。これは欧米で開発されたイソプロテレンール持続点滴療法を本邦で改変して広く用いられている治療法である。本来の持続点滴療法では、有効な気管支拡張効果をもたらすためには心拍数を180/分以上に維持する必要があったために心筋へのダメージも大きかったが、持続吸入療法に変更することによって心拍数を上げずとも気管支拡張効果を得ることができ、結果として心筋への影響も少なくなった。しかし、当初は持続吸入療法の急性増悪時治療における位置付けは、持続点滴療法と同様に気管挿管による呼吸管理に踏み切る前に試みる治療となっていた。そこで、我々は、持続吸入療法は持続点滴療法に比して安全であり、重積発作になる前の段階で使用す

ることでより有効であること、さらに年少児においても安全で有用であることを報告した<sup>10,11)</sup>。その後さらに種々のエビデンスが示され、現在のガイドラインでは、持続吸入療法はかなり早期に使用を考慮することが推奨されている。さらに、イソプロテレンールを用いるメリットは、強い気管支拡張効果ばかりでなく短時間で代謝され副作用が発現しにくいことである。しかし、欧米では、半減期の長いサルブタモールを用いる持続吸入療法が一般的であるため、勝沼らと共にサルブタモールとの二重盲検比較試験を行い、イソプロテレンールを用いた持続吸入療法がより有用かつ安全であることを示した<sup>12)</sup>。本邦で始められた本療法が、今後国際的に普及することが期待される。

#### 管理、特に合併症の管理について

我々が本邦における喘息児のコントロール状態を調査したところ、半数以上 (64.5%) はコントロール良好であったが、14.6%は明らかにコントロール不良の状態であった<sup>13)</sup>。喘息を管理するには、まず現状を評価し、コントロール状況や呼吸機能が不良な場合には治療のステップアップを考慮することがガイドラインで推奨されているが、その際には増悪因子への対応も重要となる。増悪因子にはダニ、ペット、受動喫煙、気象、大気汚染などの環境因子が重要であるが、合併症などの個体要因も無視できない。その中で大気汚染といくつかの合併症

について、我々の知見を中心に述べる。

大気汚染には、工場や車からの排気ガスのように身近に発生源があるものばかりでなく、黄砂など砂漠からの塵埃 (desert dust) も含まれる<sup>14)</sup>。本邦では、大気汚染の規制が整備されて排気ガスに含まれる汚染物質の量はかなり低減している反面、最近では黄砂を含むPM2.5が問題となっている。我々が行った小児における黄砂飛散と喘息発作に関する調査では、黄砂飛散日に喘息発作で入院する相対リスクは1.88 (95%信頼区間 1.04-3.41,  $p=0.037$ ) で、その影響は黄砂飛散後1週間続いていた。さらに対象を年齢と性別に分類して解析すると、学童以上の男児において黄砂の影響をより強く受ける傾向が認められ、日中に長時間屋外にいる可能性の高い子どもたちが黄砂の影響を受けると考えられた<sup>15)</sup>。また、2~3歳の子どもにおいても、黄砂の飛散によって呼吸器症状が有意に多く誘発され、この症状は黄砂飛散日に屋外で過ごす時間を少なくしたり自宅の窓を閉めておくなどの対策で軽減できるばかりでなく、ロイコトリエン受容体拮抗薬を服薬している児で黄砂の影響を受けにくいことが明らかとなった<sup>16)</sup>。地球温暖化や土地の乱開発の影響で世界的に砂漠化が進行している。黄砂のように砂漠からの塵埃は発生源から遠く離れた地域へも影響が及ぶことから、大気汚染についてグローバルな視点に立った対応が必要となる<sup>17)</sup>。

次に、喘息のコントロール状態に影響する合併症の一つに肥満がある。我々の疫学調査において、乳幼児を含む小児では、過体重の児ではそうでない児に比べて喘息の有症率が有意に高く、さらに小中学生では運動誘発性喘息や夜間咳嗽を有する者の割合が有意に高かった<sup>18, 19)</sup>。また、肥満が喘息のコントロール状態に与える影響とし

ては、BMIが95パーセントイル以上の児ではそうでない児に比べて、喘息のコントロール不良となるオッズ比が1.44倍と高かった (表2)<sup>20)</sup>。肥満が喘息に与える影響のメカニズムとしては、増大した脂肪組織による呼吸機能への物理的な影響、肥満による全身性炎症の影響などが挙げられる<sup>21)</sup>。対応については、成人では手術を含む種々の方法による減量によって喘息のコントロール状態や呼吸機能が改善することが示されているが<sup>22)</sup>、小児喘息における減量の効果に関するエビデンスは未だ十分とは言えない。

また、小児喘息患者ではアレルギー性鼻炎を合併する率は高く、アレルギー性鼻炎の合併も喘息のコントロール状態に影響する。我々が小中高校生を対象に行った全国調査では鼻炎を有する子どもの10~20%が喘息を合併するのに対して、喘息を有する子どもの70~80%が鼻炎を合併していた<sup>23)</sup>。さらに、両者を合併した者では、いずれの年齢群においても鼻炎が重症であるほど重症喘息の比率が高かった<sup>24)</sup>。また、ウェブを用いた別の調査でも、喘息のコントロール状態に与える影響としては、合併する鼻炎が重症な場合、鼻炎を合併しない者よりも喘息のコントロールが不良となるオッズ比が3.88と高値であることが示された (表2)<sup>20)</sup>。鼻炎が喘息に与える影響のメカニズムとしては、下気道への鼻の役割 (異物除去、吸気の温度や湿度調整など) が障害されることや、鼻局所におけるアレルギー炎症が下気道にも及ぶことなどが考えられている<sup>25)</sup>。このような事実から、2020年に改訂された本邦の小児喘息に関するガイドラインでは、喘息と診断された段階からアレルギー性鼻炎などの合併症の有無を評価し、喘息の治療と並行して合併症へも早期から対応することが推奨されている<sup>26)</sup>。治療として

表2 喘息のコントロール不良に関する因子 (文献20から引用、抜粋)

	コントロール不良者の比率	補正オッズ比 (信頼区間)	P値
父親の喫煙			
なし	13.0	1	
あり	17.8	1.20 (0.94-1.54)	0.14
母親の喫煙			
なし	13.6	1	
あり	21.6	1.42 (1.02-1.97)	0.04
Body mass index			
<95パーセントイル	14.0	1	
≥95パーセントイル	18.8	1.44 (1.05-1.99)	0.03
アレルギー性鼻炎の併発			
なし	9.2	1	
軽症~中等症	15.3	1.62 (1.22-2.17)	0.01
重症	29.2	3.88 (2.50-6.00)	<0.01

は、ロイコトリエン受容体拮抗薬や点鼻ステロイド薬による鼻炎への治療によって喘息のコントロール状態が改善することが報告されているが、近年徐々に広まりつつあるアレルギー免疫療法による効果が期待される<sup>27)</sup>。

**発症要因と予防法**

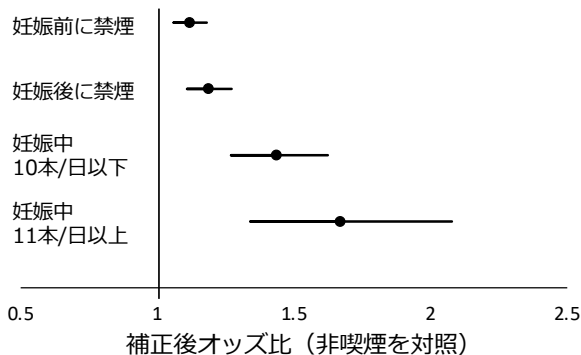
アレルギー疾患は、遺伝的な要因ならびに種々の環境要因が組み合わさって発症するとされ、多方面での研究が進められている<sup>28)</sup>。その中でも、我々が取り組んできた妊娠中のビタミンD摂取と喫煙との関係を中心に概説する。

妊娠中の母親が摂取した食品や薬剤などが出生した児のアレルギー発症に関わることが報告されているが、中でもビタミンDが注目を集めている。免疫細胞を含む多くの細胞はビタミンD受容体を有しており、ビタミンDは骨代謝ばかりでなく、アレルギー、自己免疫疾患、心血管疾患、悪性腫瘍など多くの疾患の病態に関与しているとされる<sup>29)</sup>。我々の調査では、妊婦の73.2%はビタミンD欠乏（血中25-OH Dが20/mL未満）であり、日光を避ける行動やビタミンDを含む食品の摂取不足と関連していた<sup>30)</sup>。また、妊娠中のビタミンD摂取量と出生した児が1歳時のアレルギー疾患発症との関係を検討したところ明らかな関係は認められなかったが<sup>31)</sup>、出生した子どもをさらに3歳までフォローしたところ、妊娠中により

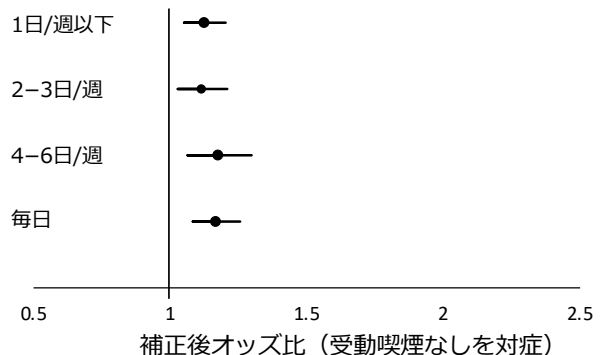
多くビタミンDを含む食品を摂取していた母親から生まれた児ではアレルギー性鼻炎の頻度が有意に低かった<sup>32)</sup>。一方、喘息やアトピー性皮膚炎については明らかな関係は認められなかった。さらに、近年、乳幼児期早期の皮膚を介したアレルギー曝露がその後のアレルギー疾患発症に関与することが明らかとなってきたため<sup>33)</sup>、我々は皮膚のバリア機能に関係する乳幼児期早期の入浴習慣とその後のアレルギー疾患発症の関係を検討した<sup>34)</sup>。本邦の子どもたちはほぼ毎日入浴していたが、石鹸の使用に違いがあり、生後18か月時点で石鹸の使用頻度が低い児では3歳になった時点でのアトピー性皮膚炎や食物アレルギーの有症率が有意に高く、喘息の有症率とは関係を認めなかった。その機序としては石鹸使用による皮膚細菌叢への影響が考えられるが、因果関係を明らかにするには介入試験などさらなるエビデンスの蓄積が必要である。

また、妊娠中の喫煙と出生した児の呼吸器症状の関係を調べたところ、今までの報告と同様に妊娠中に母親が喫煙していた場合には出生した児が1歳の時点で喘息と診断されている率は有意に高く、さらに母親に喘息を含むアレルギー歴があるとその率が高いことが明らかとなった<sup>35)</sup>。そして、母親が妊娠前に喫煙をやめても、また母親がそれまで喫煙していなくとも妊娠中に受動喫煙があると、子どもが1歳になった時点で反復性喘鳴のリスクが有意に高いことも明らかとなった（図3）。

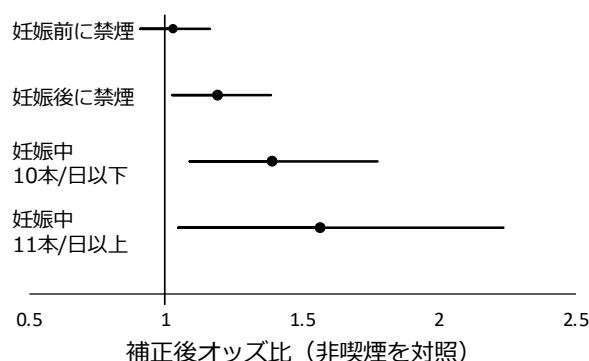
(A) 妊婦の喫煙と児の反復性喘鳴



(B) 妊婦の受動喫煙と児の反復性喘鳴



(C) 妊婦の喫煙と児の喘息



(D) 妊婦の受動喫煙と児の喘息

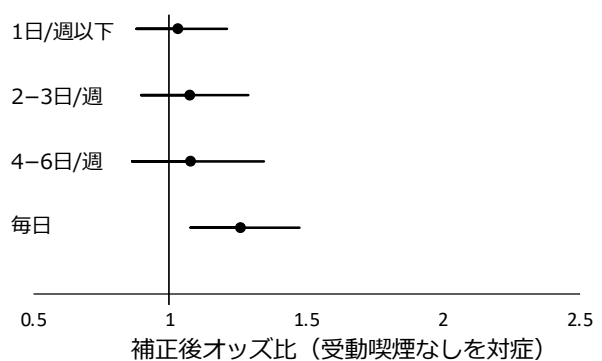


図3 妊娠中のタバコ煙曝露と児が1歳時の反復喘鳴 (A) と喘息 (B) との関係 (文献35より引用, 改変)

喘息の発症に関与する妊娠中の要因はこれ以外にも数多く報告されているが、実際の発症にはいろいろな要素が複合的に関わっているため、「妊娠中にできる児のアレルギー発症予防法」を明示することは困難であり、現状では妊婦の健康にとって好ましいことを無理のない範囲で実践することが勧められる<sup>36)</sup>。

### 残された課題

呼吸機能を測定できる学童期以降の小児では、喘息の診断は比較的容易である。一方、乳幼児ではその解剖学的ならびに生理学的特性によってしばしば喘鳴を呈する反面、日常診療レベルでは呼吸機能が測定できないため、喘鳴を呈する乳幼児において喘息と明確に診断できない場合が少なくない<sup>37, 38)</sup>。そして、反復喘鳴を呈する乳幼児にはいくつかのフェノタイプが存在することが知られているが、より良い管理を行うためには病態を反映するエンドタイプが明らかとなる必要があり、今後エンドタイプを反映したバイオマーカーの開発が求められる<sup>39)</sup>。

世界的に見ると未だ多くの喘息児が十分な医療の提供を受けられないなどの理由で、急性増悪を頻回に繰り返すなど日々の生活に大きな影響を受けており、国際的な医療格差の改善が重要課題である。本邦においても、個人間の経済格差や地域の過疎化がさらに進行すると多角的な医療格差が広がり、国内でも世界と同様な状況に至る可能性も否定できない。さらに、世界的な気候変動が喘息を含む子どもたちの健康に大きな影響を与えている<sup>40)</sup>。そのため、小児喘息の診療や研究を行う上で、今後は今まで以上にグローバルな視点も持ちつつ、社会に情報発信していくことが大切である<sup>41, 42)</sup>。

### おわりに

過去40年間の医学の進歩によって喘息の病態解明が進み、それに伴って管理や治療の方法が大きく変化してきた。そのおかげで多くの喘息児の症状は劇的に改善し、喘息発作で亡くなったり、繰り返す喘息症状のために長期施設入院療法を強いられていた子どもたちは今ではほとんどいなくなった。しかし、現状の治療法では未だに治療に導くことはできず、軽症化したとしてもその症状のために日常生活に支障を来している子どもたちの数はまだまだ少なくない。今後さらに研究成果が蓄積されることで、喘息の治療、さらには喘息の発症予防が可能となる日が来ることを願っている。

### 謝辞

富山大学医学部小児科学講座教授の定年退官にあたり、同学部の医学誌に寄稿する機会を与えていただきました編集委員長の川口善治先生に感謝申し上げます。また、今まで富山大学小児アレルギーグループの診療や研

究をご支援くださいました富山大学ならびに関連学会の皆様にご挨拶申し上げます。また、著者に医師ならびに研究者としての道をご指導くださいました数多くの恩師や同僚の方々、そして大学生活を思うままに過ごさせてくれた仲間や家族にも心から感謝申し上げます。

### 文献

- 1) Ito Y, Kato T, Yoshida K, et al: Prevalence of allergic diseases across all ages in Japan: A nationwide cross-sectional study employing designated allergic disease medical hospital network. *JMA J* 6: 165-174, 2023.
- 2) Eder W, Ege MJ, von Mutis E.: The asthma epidemic. *N Engl J Med* 355: 2226-2235; 2006.
- 3) Asher MI, Rutter CE, Bissell K, et al.: Worldwide trends in the burden of asthma symptoms in school-aged children: Global Asthma Network Phase I cross-sectional study. *Lancet* 398: 1569-1580, 2021.
- 4) Sasaki M, Morikawa E, Yoshida K, et al.: The change in the prevalence of wheeze, eczema and rhino-conjunctivitis among Japanese children: Findings from 3 nationwide cross-sectional surveys between 2005 and 2015. *Allergy* 74: 1572-1575, 2019.
- 5) Akashi K, Maezawa H, Tabata Y, et al.: Optimal step-down approach for pediatric asthma controlled by salmeterol/fluticasone: A randomized, controlled trial (OS-CAR study). *Allergol Int* 65: 306-311, 2016.
- 6) 足立雄一: 気管支喘息 いま むかし. *小児内科* 54: 703-707, 2022.
- 7) 小児気管支喘息. 馬場 實 編, 東京医学社, 東京, 1983.
- 8) 日本小児アレルギー学会. 小児気管支喘息治療・管理ガイドライン2020 (足立雄一, 滝沢琢己, 二村昌樹, 藤澤隆夫, 監修). 協和企画, 東京, 2020.
- 9) Adachi Y, Takizawa T, Funamura M, et al.: Executive summary: Japanese pediatric guideline for the treatment and management of asthma (JPGL) 2020. *Allergol Int* 71: 472-480, 2022.
- 10) 足立雄一, 吉住 昭, 五十嵐隆夫, 他: 小児気管支喘息重症発作に対するイソプロテレンール持続吸入療法: 発作の重症度による効果の差の検討 (早期実施の試み). *アレルギー* 41: 654-661, 1992.
- 11) 足立雄一, 吉住 昭, 五十嵐隆夫, 高柳 幹, 他: 小児気管支喘息重症発作に対するイソプロテレンール持続吸入療法 第2報: 年少児と年長児における差の検討. *アレルギー* 41: 1584-1590, 1992.
- 12) Katsunuma T, Fujisawa T, Maekawa T, et al.: Low-dose l-isoproterenol versus salbutamol in hospitalized pediatric patients with severe acute exacerbation of asthma: A double-blind, randomized controlled trial. *Allergol Int* 68: 335-341, 2019.
- 13) Yoshida K, Sasaki M, Adachi Y, et al.: Childhood asthma control in Japan: A nationwide, cross-sectional, web-based survey. *Asian Pac J Allergy Immunol* 36: 16-21,

- 2018.
- 14) Guarnieri M, Balmes JR.: Outdoor air pollution and asthma. *Lancet* 383: 1591-1592, 2014.
  - 15) Kanatani KT, Ito I, Al-Delaimy WK, et al.: Desert dust exposure is associated with increased risk of asthma hospitalization in children. *Am J Respir Crit Care Med* 182: 1475-1481, 2010.
  - 16) Itazawa T, Kawatani KT, Hamazaki K, et al.: The impact of exposure to desert dust on infant's symptoms and countermeasures to reduce the effects. *Allergy* 75: 1435-1445, 2020.
  - 17) 足立雄一, 金谷久美子: 気管支喘息の自然歴とアウトグロウ: 発症・増悪における大気汚染・粒子状物質の役割. *喘息* 27: 152-156, 2014.
  - 18) Okabe Y, Itazawa T, Adachi Y, et al.: Association of overweight with asthma symptoms in Japanese school children. *Pediatr Int* 53: 192-198, 2011.
  - 19) Okabe Y, Adachi Y, Itazawa T, et al.: Association between obesity and asthma in Japanese preschool children. *Pediatr Allergy Immunol* 23: 550-555, 2012.
  - 20) Sasaki M, Yoshida K, Adachi Y, et al.: Factors associated with asthma control in children: findings from a nationwide Web-based survey. *Pediatr Allergy Immunol* 25: 804-809, 2014.
  - 21) 足立雄一: 肥満と小児喘息. *アレルギー* 66: 977-983, 2017.
  - 22) Nyenhuis S, Dixon AE, Ma J.: Impact of lifestyle interventions targeting healthy diet, physical activity, and weight loss on asthma in adults: What is the evidence? *J Allergy Clin Immunol Pract* 6: 751-763, 2018.
  - 23) 足立雄一: 小児アレルギー性疾患のup-to-date: 小児気管支喘息. *小児耳鼻咽喉科* 35: 222-225, 2014.
  - 24) Higuchi O, Adachi Y, Itazawa T, et al.: Rhinitis has an association with asthma in school children. *Am J Rhinos Allergy* 27: e22-25, 2013.
  - 25) Tenero L, Vaia R, Ferrante G, et al.: Diagnosis and management of allergic rhinitis in asthmatic children. *J Asthma Allergy* 16: 45-57, 2023.
  - 26) 足立雄一: 喘息の発症メカニズムと治療・管理: 最新の喘息ガイドラインのポイント 小児. *医学のあゆみ* 281: 90-95, 2022.
  - 27) 田中裕也, 佐藤幸一郎, 鈴木修一, 他: 喘息治療・管理ガイドライン委員会報告: CQ7 小児喘息患者の長期管理において, ダニアレルゲン特異的免疫療法は有用か? *日本小児アレルギー学会誌* 34: 428-433, 2020.
  - 28) 足立雄一: アレルギーとリスクファクター・増悪因子: 喘息. *日本小児アレルギー学会雑誌* 37: 1-6, 2023.
  - 29) Holick MF.: Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 357: 266-281, 2007.
  - 30) Kanatani KT, Nakayama T, Adachi Y, et al.: High frequency of vitamin D deficiency in current pregnant Japanese women associated with UV avoidance and hypo-vitamin D diet. *PLoS One* 14: e0213264, 2019.
  - 31) Shimizu M, Kato T, Adachi Y, et al.: Association between maternal vitamin D intake and infant allergies. *J Nutr Sci Vitaminol* 68: 375-382, 2022.
  - 32) Shimizu M, Kato T, Adachi Y, et al.: Maternal dietary vitamin D intake during pregnancy is associated with allergic disease symptoms in children at 3 years old: the Japan Environment and Children's Study. *Int Arch Allergy Immunol* (in print)
  - 33) Lack G.: Epidemiological risks for food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 121: 1331-1336, 2008.
  - 34) Kato T, Adachi Y, Tsuchida A, et al.: Association of soap use when bathing 18-month-old infants with the prevalence of allergic diseases at age 3 years: The Japanese Environment and Children's Study. *Pediatr Allergy Immunol* 34: e13949, 2023.
  - 35) Wada T, Adachi Y, Murakami S, et al.: Maternal exposure to smoking and infant's wheeze and asthma: Japan Environment and Children's Study. *Allergol Int* 70: 445-451, 2021.
  - 36) 足立雄一: 妊娠中にできる児のアレルギー発症予防. *アレルギーの臨床* 42: 261-264, 2022.
  - 37) 足立雄一: 小児喘息のフェノタイプ. *アレルギー* 66: 1-8, 2017.
  - 38) 足立雄一: 乳幼児の喘鳴の鑑別と治療. *小児耳鼻咽喉科* 38: 326-329, 2017.
  - 39) Xepapadaki P, Adachi Y, Pozo Beltran CF, et al.: Utility of biomarkers in the diagnosis and monitoring of asthmatic children. *World Allergy Organ J* 16: 100727, 2023.
  - 40) Perera F, Nadeau K.: Climate change, fossil-fuel pollution, and children's health. *N Engl J Med* 386: 2303-2014, 2022.
  - 41) Lenney W, Adachi Y, Bush A, et al.: Asthma: moving toward a global children's charter. *Lancet Respir Med* 7: 299-300, 2019.
  - 42) Szefer SJ, Fitzgerald DA, Adachi Y, et al.: A worldwide charter for all children with asthma. *Pediatr Pulmonol* 55: 1282-1292, 2020.





原 著

# 感染症初期診療シミュレーションを通じた オンライン多学科合同授業の実施報告

木戸敏喜<sup>1</sup>・高村昭輝<sup>2</sup>

## Report on an Online Interprofessional Education through Simulation of Initial Treatment of Infectious Diseases

Toshiki KIDO<sup>1</sup>, Akiteru TAKAMURA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>The First Department of Internal Medicine, Toyama University Hospital/Department of Medical Education,  
Graduate School of Medicine, University of Toyama

<sup>2</sup>Department of Medical Education, Graduate School of Medicine, University of Toyama

### 和文要旨

Web会議ツールにより、医学科、看護学科、薬学科の学生が多職種連携と感染症初期診療を学ぶシミュレーション教育を実施した。オリエンテーション、症例呈示の後、小グループでのシナリオ課題提示による診療シミュレーション、まとめ講義、アンケート記入、全体の振り返りを行った。このような情報通信技術（Information and Communication Technology: ICT）を活用した多職種連携教育等、当学は感染症医療人材養成のため教育を実践している。

### 英文要旨

Medicine, nursing, and pharmacy students studied multidisciplinary cooperation and initial treatment of infectious diseases through a simulation setting using a web conferencing tool. After orientation and presentation of the case scenarios, the students performed a simulated role in small groups, completed assignments, attended a lecture, answered a questionnaire, and reflected on the overall process. Our university aims to focus on the education of future healthcare workers and train them for infectious disease care using ICT-based multidisciplinary education.

Key words : Interprofessional education, Infectious diseases, Information and Communication Technology

### 【はじめに】

令和4年度に改訂された医学教育モデル・コア・カリキュラムにおいて多職種連携能力の涵養の必要性が引き続き強調されており、医学教育上の重要な課題となっている。また当学は令和2年度、文部科学省の感染症医療人材育成事業に採択され、感染症に関する人材育成に注力している。そのなかで2学部3学科（医学科、看護学科、薬学科）の学生がWeb会議ツールを通じ、感染症の初期診療をシミュレーションを通して学修することで、多職種連携を修得することを目的とした授業を実施したので報告する。

### 【実践内容】

#### I. 準備

授業を受ける学年とは異なる医学生に参加してもらい、実際にオンラインで呈示した資料を用いた診療シミュレーションを2回実施し、難易度や事前のインストラクションを調整した。また担当する教官によるミーティングを実施し、内容を共有した。

#### II. 授業概要

当学医学部医学科3年次生111名、薬学部薬学科4年次生58名、医学部看護科3年次生67名に対して90分の授業を実施した。この授業の到達目標は「抗菌薬選択方法について理解する」「多職種の知識の統合により、よい

(受稿2023.6.14/受理2023.7.13)

<sup>1</sup>富山大学附属病院第一内科/富山大学学術研究部医学系 医学教育学講座, <sup>2</sup>富山大学学術研究部医学系 医学教育学講座

診療が可能なることを理解する」と設定した。具体的な目標として下記の項目が理解できるよう、授業デザインを組み立てた。具体的には「グラム染色の重要性」「抗菌薬投与前の培養採取の必要性とその方法」「腎機能に応じて抗菌薬投与量を調整する必要性」「アンチバイオグラム」「多職種協働の雰囲気を作ること」である。内容として、オリエンテーション、シナリオによる症例提示、多職種混成の小グループに分かれたシナリオに沿った課題検討とその解答作成、まとめ講義、アンケート記入、全体の振り返りを行った。小グループの構成は3学科の1~数人の学生が1組とした。

Ⅲ. 症例検討

学生グループがシミュレーションするシナリオは共通であり、中等症腎盂腎炎のため来院した2型糖尿病を持つ50歳女性である。悪寒、戦慄、嘔吐、腰背部痛を主訴に来院。発熱はあるが、ショックには陥っていないバイタルサインを呈示した。糖尿病コントロールは不良である。基礎医学、臨床医学の知識を修得したばかりの学年のため、尿のグラム染色結果の写真(大腸菌)もあわせて示し、グラム陽性桿菌であることもあわせて記載することで、グラム染色の判断技術までは求めないようにした。提示された課題は①最初に投与する抗菌薬、②投与経路、③1回あたりの投与量、④1日あたりの投与回数、⑤そのほか治療する上での留意事項をグループで検討し、Web上のアンケートフォームに入力してもらい評価した。

Ⅳ. ディスカッションをする上での工夫

ディスカッションを円滑に進める工夫として、それぞれ

れの専門分野の学生が持っているべき知識や情報を記した「手持ちカード」を予めオンライン学習支援システムにアップロードし、事前に学修しておくことで学生はその情報・知識をもとにディスカッションすることで課題解決に到達できるように配慮した。具体的な内容として、医師役には、尿路感染に投与する抗菌薬の知識、代表的なグラム染色像(照合すれば、症例提示のグラム染色が大腸菌だとわかるようになっている)のカードを、薬剤師役には、アンチバイオグラムと抗菌薬の腎機能別投与量についてのカードを、看護師役には、患者のアレルギー・身長・体重・腎機能についてのカードが渡るようにした(図1)。

Ⅴ. 感染症診療に関する到達度評価

課題の内容は前述の通りで、まとめ講義では「手持ちカード」の内容、感染症診療の基本に関する解説にくわえ、多職種の情報を統合することでよりよいケアを実践できることを具体例を示しながら解説した。学生グループの97%が抗菌薬の選択課題でセフトメゾールを選択し、100%が経静脈的投与、85.3%が投与量として1~2g、97%が1日2回投与と正答を解答した。

Ⅵ. 多職種連携に関する到達度評価

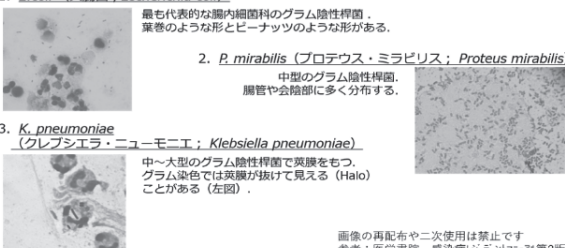
授業終了後に実施した学生のアンケートでは感染症の知識を学修する授業を通して、多職種連携についても考える機会になったという回答が数多く寄せられた。一方で「看護師の役割が明確ではない」などの改善が必要な意見もみられた。また、「実際の現場を想像し多職種連携とはどういうことか簡潔に書いて下さい」という質問に対する回答をテキストマイニングを用いワードクラウド

**医師役 手持ちカード②**  
 尿路感染症を起こしうるグラム陰性桿菌 (GNR; Gram-negative Rod) の一覧

1. *E. coli* (大腸菌; *Escherichia coli*)  
 最も代表的な腸内細菌科のグラム陰性桿菌。葉巻のような形とビーズのような形がある。

2. *P. mirabilis* (プロテウス・ミラビリス; *Proteus mirabilis*)  
 中型のグラム陰性桿菌。尿管や会陰部に多く分布する。

3. *K. pneumoniae* (クレブシエラ・ニューモニア; *Klebsiella pneumoniae*)  
 中~大型のグラム陰性桿菌で莢膜をもつ。グラム染色では莢膜が抜けて見える(Halo)ことがある(左図)。



画像の再配布や二次使用は禁止です  
 参考: 医学書院 感染症レジデントマニュアル第2版

**薬剤師役 手持ちカード③**  
 腎機能別抗菌薬投与の目安(点滴薬)

薬剤名	商品名	CrCl			
		>50	10-50	<10	HD
CEZ	セフトゾキサム	500mg 100mg	1-2g 100mg	1g 100mgまたは 250mg	0.5-1g 50mg
CMZ	セフトメゾール	1-2g 100mg	1g 100mg	1g 100mgまたは 250mg	0.5-1g 50mg
CTX	セフトリキソン	1-2g 100mg	1g 100mg	1g 100mg	0.5g 50mg
CAZ	セフトゾキサム	1-2g 100mg	1-2g 100mg	1g 100mg	0.5g 50mg
CFM	セフトミド	1-2g 100mg	1g 100mg	0.5g 100mg	0.5g 100mg
MEPM	メロペネム	0.5-2g 100mg	0.25-0.5g 100mg	0.25-0.5g 100mg	0.25-0.5g 100mg

\* CCRの計算式 (C-G式) : 男性  $\{(140-\text{年齢}) \times \text{体重(kg)}\} / \{72 \times \text{血清クレアチニン値(mg/dL)}\}$   
 女性  $0.85 \times \{(140-\text{年齢}) \times \text{体重(kg)}\} / \{72 \times \text{血清クレアチニン値(mg/dL)}\}$

職種カードの内容

- 医師: UTIに使用する抗菌薬、グラム染色像
- 薬剤師: アンチバイオグラム、腎機能別投与量
- 看護師: 患者のアレルギー、身長、体重、腎機能



**まとめ講義:** これらの解説、感染症診療の基本、多職種の情報を統合することでよいケアが出来ること

看護師役 手持ちカード

- 患者さんから「詳しくはわからないが抗菌薬アレルギーかも」と言われた。詳しく聞くと、以前何かの薬を投与したときに掻痒を伴わない皮疹が出現したとのこと(尋麻疹なし)。
- アレルギーを疑うときにはゆっくり投与し、観察を頻回に行うこと。
- 患者の入院時の採血は以下です。あなたは腎機能がやや低いことに気づきました。  
 身長: 160 cm, 体重: 70kg  
 BUN 25 mg/dL,  
 Cre: 1.2 mg/dL,  
 eGFR: 55 mL/min/1.73m<sup>2</sup>

図1 「手持ちカード」の例とまとめ講義の内容

ドに表した（図2）。

## VII. 授業自体の評価と今後の課題

学生からの事後アンケートにより発言者が少なかったという意見など、司会者が役割を指名したり、自己紹介をしたりすればより議論が進んだのではないかという意見があった。また、画面共有ができない、そもそも学科によってはZoomに接続できず、端末を共有していた学生もいたなどのICTに関わるトラブルに困った学生もいたことがわかった。まとめると①グループ活動そのものへのサポート、②オンラインツールに関するサポートが必要と考えられた。①としては事前指示の明確化や、適切なアイスブレイクのほか、今回、学科別に設定されていたオンライン学習支援システムのコースを一カ所に集めるなどの対策が考えられた。②としては学生がオンライン会議に適した端末や場所を確保できるよう、可能な限りのデバイスと接続環境の提供、授業時間、前後の授業の設定への配慮をすることが考えられた。また、教員からの意見として「複数の学科が集まって課題が与えられていても一言も会話が成立しなかったと言う経験自体も、じわじわと意味のある経験になっていくのではないか」「今回をベースとして学年を上げるごとにスムーズなグループワークが成立するような形で成長を見守れると良いのかなとも思った」「聞くだけに終わった学生が多かったにしても、他学科の学生とリアルタイムで話す場として非常に貴重な機会であったと思う」などが挙げられた。今後、多学科がかかわる授業設計の際には、これらの反省点を基に有効な授業をデザインしていきたい。

## 【考察】

多職種連携教育とは、国際的な定義として「複数の領域の専門職や学生が連携、ケアやサービスの質を改善するために同じ場所で、ともに学び、お互いから学び合うことで、お互いを高め合うこと」とされており<sup>1)</sup>、多職種の学生が同じ場所に集い、相互に学ぶことが重要である。また令和4年度に改訂された本邦の医学教育モデル・コア・カリキュラムにおいても、多職種連携能力について「医療・保健・福祉・介護など患者・家族に関わる全ての人々の役割を理解し、お互いに良好な関係を築きながら、患者・家族・地域の課題を共有し、関わる人々と協働することができる」と記載され、卒前教育から能力を涵養する必要性が述べられている。今回は全236名の学生が、Web上で小グループに分かれ、診療のシミュレーションを行う授業であり、ディスカッションし、職種による異なる観点からの意見を共有できるようにしたことで多職種連携教育に取り組んだ。

現在、当学においては、1年次の「医療学入門」において医学・看護学・薬学の合同教育を通じ、専門職の自覚やプロフェッショナリズム習得の基盤を作り始めることを皮切りに、2年次の「和漢医薬学入門」、3年次の「疫学」「感染症」、4年次以降の臨床現場での多職種連携教育など、継続的な合同教育のカリキュラムが組まれている。また当学では文部科学省による令和2年度感染症医療人材養成事業に採択され、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）などの新興感染症に対応していくため、最新の知識を得る、微生物検査を最大限利用できる、医療関連感染対策を実践できる、多職種連携ができるこ

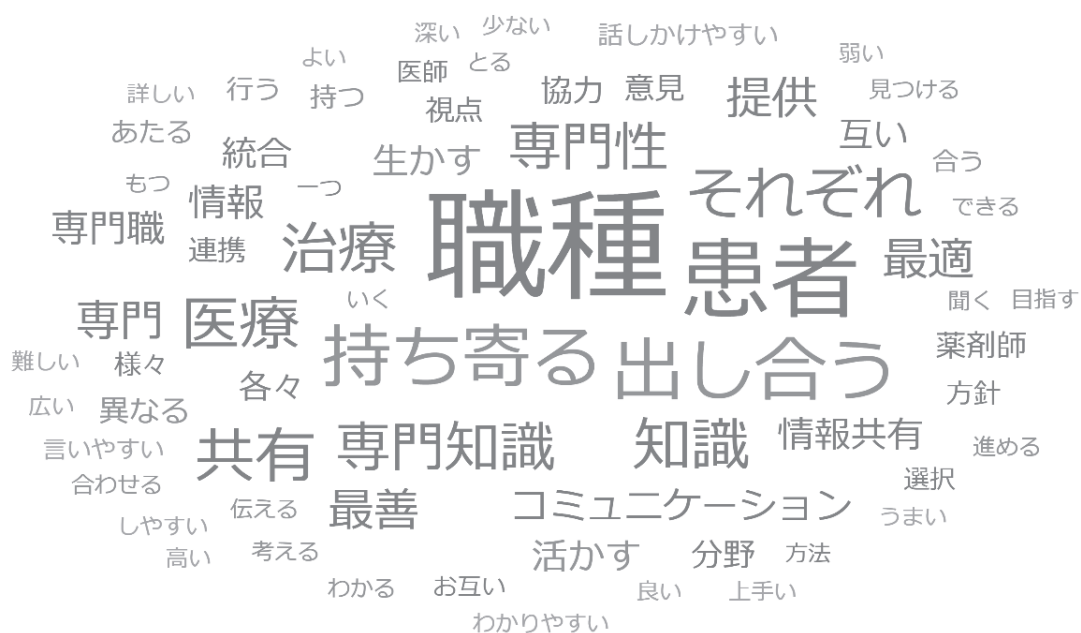


図2 多職種連携についての学生の説明をワードクラウド化したもの

とを目標にオンライン学修システムやシミュレーション教育を通じた能動的学修の機会を提供することで、感染症に対して適切に対応できる医療従事者を継続的に育成し、感染症医療の強化を図っている。

多職種連携教育の実践方法として、交流型（ディベート、共同講義）、アクション型（PBLなど）、観察型（他職種のシャドウイング、患者への合同訪問）、シミュレーション型（ロールプレイなど）のほか、ポートフォリオなどが知られている<sup>2)</sup>。本取り組みは、感染症診療を題材とした交流型、アクション型とシミュレーション型の組み合わせであった。これらの成功の鍵は、①提示される問題の性質、②グループへの説明、③チューターによるファシリテーション、④デブリーフィングといわれている。本取り組みにおいて、①については、授業対象が臨床実習経験の異なる学年であったため内容は感染症診療のごく基礎的なものとし、準備段階で学生へのシミュレーションを実施し、難易度を調節した。②については、Web会議ツールを用いることで大人数に対しても効果的に説明を行った。④については、まとめ講義によって感染症診療に関する知識を確認し、アンケート内容の全体での共有を通じて多職種連携についての考えを深める機会をもった。一方、③については、大人数を小グループに割りふったことで多数のチューターが必要となり、その確保が困難であった。今後の改善策として事前指示の明確化のほか、たとえば緊急連絡先の明示をはじめとしたICTツールのサポート体制の整備が必要と考えられた。

グループワークによる学習効果についてはグループの経時的な進展を4段階で説明したタックマンモデル<sup>3)</sup>は多職種連携教育に援用される理論の一つである。すなわち①形成期 (Forming)：集団がともに働き始めようと努力し、多様性と混乱がある。②混乱期 (Storming)：メンバーが自分の役割を選び、ともに働くやり方を探し、メンバー間の摩擦が起こる。③統一期 (Norming)：メンバーがチームの中に分業についての合意に取り組む。④機能期 (Performing)：メンバーがお互いを理解し合い調整されたやり方で共に働く。今回のような単発の授業では、真のチーム形成を通じて、自己を内省することが困難である。また、「個人」「専門職」「連携する専門職」としてメタ認知を捉えたモデルも提唱されている<sup>4)</sup>。すなわち「個人」が生涯学習としてメタ認知や個人的規範・価値観を学び、「専門職」として知識・技術を習得し、「連携する専門職」としてコミュニケーション手法や、質改善の方法を身につけることである。今回の看護学生のアンケートでは、多職種連携における役割をまだ自覚できていないという回答もあった。今後の実臨床での経験を、シミュレーションと比較してどうだったかを振り返る機会を提供することで、学修者が段階的に多職種連携能力を身につけていけるように関わることが、

臨床教育において重要であり、臨床実習前の教育と臨床実習中のかかわりとの連携は今後のさらなる課題であると考えられる。

今回の学習方略の重要なポイントであるICTを用いた教育についてはCOVID-19の流行下では教育機関と医療機関の交流が最小限におさえられたため、これらのICTを用いた教育体制の必要性がさらに強調された<sup>5)</sup>。一般的なオンライン授業に関するTips<sup>6),7)</sup>も検討されており、今後さらにICTを用いた多職種連携教育が向上していく可能性がある<sup>8)</sup>。今回はICTを用いたことで、大人数に対して、資料提示、グループディスカッションを通じた多職種連携教育が可能であった。今後とも、教育手法の更なる発展が期待される。

### 【謝辞】

本授業は、文部科学省「感染症医療人材養成事業」(令和2年度第3次補正)の支援を受けました。また下記の先生方には授業実施のため多大なご協力をいただきました。深謝致します。

宮嶋友希 先生 (東御市民病院内科)、川筋仁史 先生 (感染症学講座)、三原弘 先生 (札幌医科大学総合診療医学講座)、新田淳美 教授 (薬物治療学講座)、金森昌彦 教授 (人間科学1講座)、森永芳智 教授 (微生物学講座)、山本善裕 教授 (感染症学講座)

### 【文献】

- 1) Barr H, Ford J, and Gray R, et al.: Interprofessional Education Guidelines 2017. CAIPE 2017
- 2) Barr H.: Interprofessional education. In: A practical guide for medical teachers, third ed. (Dent JA, Harden RM, Ed.) : Chapter 24. Elsevier, London, 2009.
- 3) Tuckman BW.: Development sequence in small groups. Psychological Bulletin; 63: 384-399, 1965.
- 4) Wilhelmsson M., Pelling S., and Uhlin L., et al.: How to think about interprofessional competence: A metacognitive model. J. Interprof Care. 26: 85-91, 2012.
- 5) 須藤 誠, 喜多一馬, 田村由馬: コロナ禍以前の文献レビューから学び得た多職種連携教育の課題. 保健医療福祉連携 14 : 153-163, 2021
- 6) Yavner SD, Pusic MV., and Kalet AL, et al.: Twelve tips for improving the effectiveness of web-based multimedia instruction for clinical learners. Med Teach. 37: 23, 2015.
- 7) Watson R, and Fardinpour A.: Twelve tips for developing and supporting generic online training for health and medical researchers. Med Ed Publish. 6 : 37, 2017.
- 8) 春田淳志, 川上ちひろ, 早川佳穂: 医学教育修士課程における多職種連携教育オンラインプログラムの実践報告ーオンラインに適したインタラクションの工夫ー. 医学教育 51 : 344-347. 2020.

## Original article

# The Effectiveness of Toe Flexion and Extension Exercise for Fall Prevention in Community-Dwelling Older Females

Terumi KAWAI<sup>1</sup>, Masahiko KANAMORI<sup>2</sup>, Hiroko WASHIZUKA<sup>3</sup>,  
Miho YOSHII<sup>4</sup>, Keiko TERANISHI<sup>5</sup>

地域在住女性高齢者に対する転倒予防のための足趾屈伸運動の介入効果

河相てる美<sup>1</sup>・金森昌彦<sup>2</sup>・鷺塚寛子<sup>3</sup>・吉井美穂<sup>4</sup>・寺西敬子<sup>5</sup>

## Abstract

The purpose of this study is to investigate whether exercises for toe flexion and extension are effective in improving Toe function (TF) and the locomotive syndrome (LS).

The survey conducted the following TF tests (toe-grip strength, toe-gap force and 10-second toe test), one leg balance test and LS test (two-step test, stand-up test and GLFS-25 scores). The participants were 209 community-dwelling aged females. Participants were instructed to perform flexion and extension exercises of toes in three sessions per day, with ten repetitions per session. After three months they were again tested with the TF and LS tests.

After the continuous exercises performing flexion and extension of the toes over a three-month period, we divided participants into two groups (exercise-continuing and non-continuing groups), and analyzed the obtained data. In the continuing group, the significant improvement was shown in TF tests ( $p<.001$ ), stand-up tests ( $p<.01$ ) and GLFS-25 scores ( $p<.05$ ), compared with pre-intervention scores. The non-continuing group showed no changes in these scores.

Toe flexion and extension exercises may contribute to the prevention of falls for older individuals.

**Keywords:** community-dwelling older people, toe function, locomotive syndrome, toe flexion and extension exercise

## 和文要旨

本研究の目的は、足趾の屈伸運動が、足趾の機能 (TF) とロコモティブシンドロームの程度を改善させ得るか否かについて検討することである。調査項目として、転倒リスク簡易評価指標、足趾の機能として、足趾握力、足趾挟力、足趾10秒テスト、またロコモの評価として開眼片脚起立時間および2ステップテスト、立ち上がりテスト、ロコモ25を測定した。対象は地域在住の女性高齢者209人である。椅子座位にて足趾の屈曲と伸展の運動を1日3回、1回につき10回毎日実施することを各個人に依頼した。3か月間足趾の屈伸運動実施後、参加者を運動継続した群と継続しなかった群に分けて、分析した。継続群において、介入後の値は介入前の値に比べて、足趾握力、足趾挟力、足趾10秒テスト ( $p<0.001$ ) と立ち上がりテスト ( $p<0.01$ )・ロコモ25 ( $p<0.05$ ) の測定項目が有意に改善した。一方、非継続群では変化はなかった。高齢者に対する足趾の屈伸運動は、高齢者の転倒予防にも寄与できる可能性がある。

**Key words:** 地域在住高齢者 足趾機能 ロコモティブシンドローム 足趾屈伸運動

(Received 2023.8.26 / Accepted 2023.10.5)

<sup>1</sup>Clinical Nursing, Toyama Prefectural University, Faculty of Nursing, Toyama, Japan, <sup>2</sup>Department of Human Science, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences for Research, University of Toyama, Toyama, Japan, <sup>3</sup>Fundamental Nursing, Toyama Prefectural University, Faculty of Nursing, Toyama, Japan, <sup>4</sup>Department of Fundamental Nursing, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences for Research, University of Toyama, Toyama, Japan, <sup>5</sup>Kanazawa Medical University School of Nursing, Ishikawa, Japan

## Introduction

### Objective

A previous systematic review indicated that there are numerous causes of falls, including internal factors, such as diseases and age-related changes in physical functions, as well as external factors, such as the living environment and footwear<sup>1</sup>. Older individuals who fall may sustain fractures, which may require surgery as an inpatient and or institutionalization, leading to decreased functionality in daily life<sup>2, 3</sup>. In addition, complications often make such conditions worse. In light of these circumstances, studies on fall prevention based on the concept of sarcopenia have been conducted in many countries apart from Japan. The Sarcopenia Working Group of Europe<sup>4</sup> and Asia<sup>5</sup> has defined sarcopenia as decreased skeletal muscle mass and strength. The criteria used to determine sarcopenia is based on the results of a physical function assessment comprising walking speed (under 0.8 m/sec), grip strength, and skeletal muscle mass<sup>5</sup>. While walking speed decreases with age in both males and females, the decrease is particularly observable in females<sup>6</sup>.

The advent of the super-aging society indicates that, despite being able to control medical diseases to some extent, problems with the organs of locomotion—such as the bones, joints, muscles, and nerves—that occur as a result of aging, reduce locomotor functioning. This leads to an increase in the number of people whose independence in daily life has decreased. In Japan, there are awareness programs in place to educate the public about this situation, characterized as the “locomotor syndrome” (LS)<sup>7</sup>. Measures that have been shown to be considerably effective in preventing falls among community-dwelling older people include group exercise programs, Tai Chi, and rehabilitation through home nursing<sup>8</sup>.

LS was first assessed using the Musculoskeletal Ambulation Disability Symptom Complex (MADSC) criteria, which includes: under 15 seconds in the one leg balance test (OLBT), and the 3-minute Timed-Up-and-Go test (TUG) is more than 11 seconds<sup>9</sup>. Subsequently developed tests for assessing the LS include the stand-up test, the 2-step test, and the 25-question geriatric locomotive function scale (GLFS-25)<sup>10</sup>. The LS level has been shown to be related to decreased locomotor functioning; as a result, the tests for LS have been reported to be useful<sup>11, 12</sup>.

We have conducted a series of studies focusing on toe-functions (TF) and balance ability (BA) for prevent-

ing falls for older individuals<sup>13, 14</sup>. The results suggest that developing toe strength is important as toes directly contact the ground or floor. Our previous interventional studies involved toe exercise training. These studies were designed to improve the strength of the feet using a towel (sometimes known as “towel curl”)<sup>15</sup>. We also found that training involving flexing and extending the toes led to improved toe strength among university students<sup>16</sup>. However, to the best of our knowledge, there are no studies in the literature on the effectiveness of toe exercises performed by community-dwelling older individuals. Because the average life expectancy is higher in a woman, countermeasures for the locomotive syndrome are important. In the present study, we investigated whether interventional, consisting of exercises involving toe flexion and extension—the main movements of the toes—are effective in improving TF and LS for community-dwelling older women.

### Participants and Methods

#### Definition of terms

1) TF is defined by the following three elements: i) toe grip strength (the gripping ability of the toes), ii) toe gap force (the ability to hold something between the toes; motor dexterity), and iii) toe extension and flexion strength (agility).

2) BA is defined by the following three elements: i) static balance (the ability to stand on one leg with the eyes open), ii) vertical dynamic balance (the ability to stand up from the seated position in a chair), and iii) horizontal dynamic balance (the ability to align the feet after taking two long strides).

#### Participants

The participants were community-dwelling older women (aged 65 years and older). A description of the study was provided to members of Seniors Clubs and similar organizations, and written consent was obtained from the participants. The participants were individuals who were able to walk independently, had no problems related to cognitive functioning, and were able to understand and provide responses to questions. Among the 256 individuals who consented to participate in this study and underwent initial measurements, 209 subsequently underwent the second measurements after receiving the toe flexion and extension exercise training intervention. We divided the patients into two groups: 107 in a continuing group including 64 who performed the exercises every day and 43 who sometimes missed

Table 1 Background characteristics of the participants

	Continuing group (n = 107)	Non-continuing group (n = 102)
Age (year)	75.4 ± 5.8	75.2 ± 1.7
Height (cm)	149.2 ± 5.6	148.8 ± 5.5
Weight (kg)	52.8 ± 8.1	53.4 ± 9.3
BMI	23.7 ± 3.5	24.1 ± 4.1

Mean ± standard deviation

BMI: Body-Mass Index

but did the exercises five days a week, and 102 as a non-continuing group including 66 who did not do the exercises and 36 who discontinued the exercises after sometimes doing the exercises in the first month. The background characteristics of the participants are shown in Table 1. The study period was from January 2016 to March 2018.

#### Fall risk assessment

Risk assessments were conducted using the Fall Risk Index<sup>17)</sup>. The questions were as follows: “Q1: Have you had a fall during the past year?” “Q2: Do you walk slower than you used to?” “Q3: Has your back become rounder than before?” “Q4: Do you use a walking stick/cane?” and “Q5: Do you currently take five or more different drugs?”. Question 1 was assigned 5 points and Questions 2 to 4 each 2 points, for a possible total score of 0–13 points. A score of 6 was the cutoff, with scores of 5 or less indicating a low risk of falls, with scores of 6 or higher indicating a high risk of falls.

#### TF assessment

##### *Toe grip strength*

Toe grip strength was measured using a toe grip strength meter (Takei Co., Japan) (Fig. 1a). Each participant sat in a chair with knees flexed at a 90° angle. The feet were in a fixed position, and the toes were placed on a bar<sup>18)</sup>. The traction force exerted by the toes was measured using this bar. Of the two measurements each with the left and right feet, the maximum values were used as representative.

##### *Toe gap force*

Toe gap force was measured using a toe gap force meter “Checker-kun” (Nissin Sangyo, Co., Japan) (Fig. 1b). Each participant sat in a chair with knees flexed at



Fig. 1a  
Toe grip strength meter  
(Takei, Co., Japan)



Fig. 1b  
Toe gap force meter “Checker-kun”  
(Nissin Sangyo, Co., Japan)

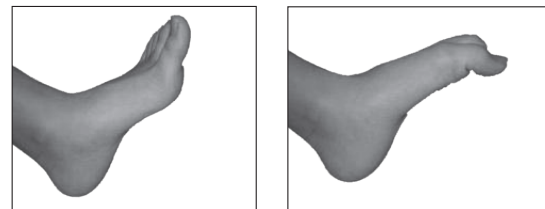


Fig. 1c Toe flexion and extension exercises

a 90° angle, and the pressure between the first and second toes was measured<sup>19, 20)</sup>.

##### *10-second toe test*

The test was conducted with participants seated in a chair with both knees and ankles at a 90° angle. The flexion and extension of all the toes within the range of the participant motion were counted as one. The number of times the participant could complete the exercise in 10 seconds was visually observed for both the left and right feet<sup>21)</sup>.

#### LS assessment

##### *OLBT*

OLBT was checked to assess the BA with static bal-



ance. With the eyes open and both hands placed on the hips, raising one foot and moving it approximately 5 cm in the forward direction, the time it took for this foot to return to contact the floor was measured for both the left and right legs. The upper limit a measurement was 120 seconds<sup>22</sup>.

### **Stand-up test**

Stand-up test was carried out to asserts the BA with vertical movement. Using the top of a series of steps 40, 30, 20, and 10 cm in height, each participant stood up from a seated position on each step. Measurements were made using the method devised by Muranaga<sup>23</sup>. First, participants sat on a 40 cm high step with arms crossed, rose on two legs without any lowering of the body, and maintained the posture for 3 seconds. Standing on the 40 cm step on two legs, they raised either the left or right leg, with the knee slightly bended, keeping the leg off the floor, standing with the arms crossed and without any lowering of the body, and maintained this posture for 3 seconds. After performing this with both legs, the participants who successfully completed this on one leg with the 40 cm step moved to 10 cm lower steps, stepwise, and the height of the lowest step where participants were able to stand on one leg (with both legs) was regarded as a test result. The participants who were not able to stand on the 40 cm step on one leg were moved to lower steps in 10 cm steps, and the lowest step where they were able to stand on both legs was used as the test result. We assigned 0 points where participants could not stand on both legs on the 40 cm step, 1 point for both legs on the 40 cm step, 2 points for both legs on the 30 cm step, 3 points for both legs on the 20 cm step, 4 points for both legs on the 10 cm step, 5 points for one leg on the 40 cm step, 6 points for one leg on the 30 cm step, 7 points for one leg on the 20 cm step, 8 points for one leg on the 10 cm step. These results were treated as ordinal data.

### **2-step test**

The 2-step test was measured to asserts the BA with horizontal movement, and conducted as follows: A mat specifically developed for use in the 2-step test was prepared, and a starting line was determined<sup>24</sup>. Each participant took two steps using long strides beginning from the starting line, after which they aligned their feet. The length of the two strides was measured using the tips of the toes at the final position as the point measured. Measurements were taken in the range

within which the participant did not lose balance. The participants were instructed not to jump.

### **GLFS-25**

The GLFS-25 is a self-administered questionnaire comprising 25 questions. Each question was allotted a score between 0 (indicating normalcy) and 4 (indicating the most severe disorder) points<sup>25</sup>. Thus, the most severe condition was indicated by a total score of 100 points. Four of the items cover issues, such as “physical pain experienced over the past month” and 21 items are related to “your normal daily life over the past month.”

### **Intervention method**

Toe exercise interventional training consisted of flexion and extension exercises focused on the main toe movements (Fig. 1c). Participants were instructed to sit in a chair and perform flexion and extension exercises of the toes for three sessions per day with ten repetitions per session. The participants were provided with calendar-type check charts on which they recorded whether they did the exercises or not. They were asked to complete these charts on their own. After three months they submitted their charts to the researchers who then checked the implementation status of the exercises.

### **Statistical analysis**

To understand the particulars for the participants, we examined the background of the participants by descriptive statistics using the variables of age, height, weight, and body mass index (BMI). Performing a cross tabulation of the high and low scores of fall risk assessments with the continuing and non-continuing groups, we analyzed the relationship by a chi-square test. For the values of measurement items of the pre- and post-toe flexion and extension exercise training intervention of the continuing and non-continuing groups, we conducted a paired t test on normally distributed continuous data, and a Wilcoxon signed-rank test on other data. Here, the measured items were as follows: toe grip strength, toe gap force, 10-second toe test, 2-step test, GLFS-25, and the duration of OLB.T.

Next, we performed an analysis of covariance using the values of the post-intervention toe flexion and extension exercise training as independent variables, and the values of the pre-intervention as adjusting factors (two age groups: a. 65 years to 74 years and b. 75 years and older). The significance level was set to less than

5% in two-sided tests. We used IBM SPSS Statistics (Ver.24) for data processing and statistical analyses.

### Ethical considerations

This study was approved by the Ethics Committee of the institutions the authors belong to (No.: Fukutan H27-11; Rin 28-87). The participants were provided with both written and oral explanations of the objectives and details of the study. The participants received the following information verbally: their participation was voluntary; anonymity would be preserved; their identities would be encoded to prevent identification; their data would not be utilized for any purpose other than this study; and they could withdraw from or discontinue participation in the study at any time during the course of the study without suffering any negative consequences. The participants provided written consent to participate in the study and for publication of the results of the study. This study was approved by the Ethics Committee of Toyama College of Welfare Science (Fukutan H27-11), and by the Ethics Committee, University of Toyama (Rin 28-87).

## Results

### Fall risk assessment

The results of the cross-tabulation regarding continued participation in the study and the risk of falls are shown in Table 2. The Chi-square test did not show any significant differences.

### TF assessment

#### *Toe grip strength*

In the continuing group, the pre- and post-intervention toe grip strength values were  $5.2 \pm 0.2$  kg and  $5.8 \pm 0.2$  kg, respectively. The mean difference was  $0.6 \pm 0.1$  kg. This indicated that there was a significant improvement in the toe grip strength after intervention as compared to that prior to intervention ( $p < .001$ ). In the non-continuing group, the pre- and post-intervention toe

grip strength values were  $5.1 \pm 0.2$  kg and  $5.2 \pm 0.2$  kg, respectively, indicating that there was no significant change (Fig. 2a). Comparison of the continuing group and the non-continuing group showed that despite considering age and the pre-intervention values, the post-intervention value was significantly higher with a difference of 0.6 kg over the non-continuing group ( $p < .001$ ).

#### *Toe gap force*

In the continuing group, the pre- and post-intervention toe gap force values were  $2.3 \pm 0.1$  kg and  $2.6 \pm 0.1$  kg, respectively; the mean difference was  $0.3 \pm 0.1$  kg. The post-intervention value was significantly higher than the pre-intervention value ( $p < .001$ ). In the non-continuing group, the pre- and post-intervention toe gap force values were  $2.2 \pm 0.77$  kg and  $2.26 \pm 0.8$  kg, respectively, indicating that there was no change (Fig. 2b). Comparing the continuing and non-continuing groups using an analysis of covariance, the post-intervention values of toe gap force were statistically significantly higher with a difference of 0.3 kg than that of pre-intervention ( $p < .001$ ).

#### *10-second toe test*

In the continuing group, the pre- and post-intervention 10-second toe test results were  $16.6 \pm 0.4$  times and  $18.0 \pm 0.4$  times, respectively; the mean difference between the groups was  $1.40 \pm 0.2$  times, and the post-intervention result showed a significant improvement over the pre-intervention result ( $p < .001$ ). In the non-continuing group, the pre- and post-intervention 10-second toe test results were  $16.10 \pm 0.4$  times and  $16.40 \pm 0.4$  times, respectively, indicating no change (Fig. 2c). Comparing the continuing and non-continuing groups using analysis of covariance, the post-intervention values of the 10-second toe test were statistically significantly higher, with a difference of 0.3 kg, than that of pre-intervention ( $p < .001$ ).

Based on the above results, the post-toe flexion and

Table 2 Results of the cross-tabulation regarding continued participation in the study and the risk of falls (n = 209)

	Continuing group (n = 107)	Non-continuing group (n = 102)	Chi-square test <i>p</i> -value
Fall risk (5 or less)	69 (65.4%)	66 (64.7%)	n. s.
Fall risk (6 or more)	38 (35.5%)	36 (35.3%)	

n. s.: not significant

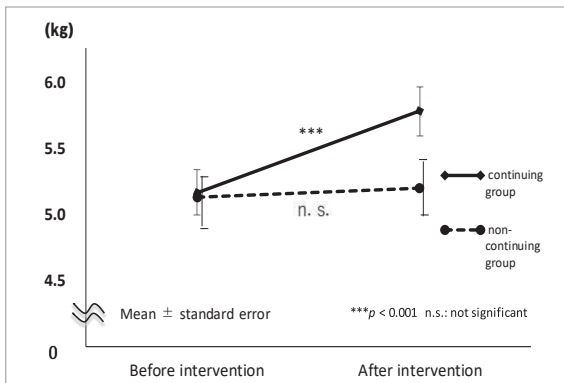


Fig. 2a Toe grip strength

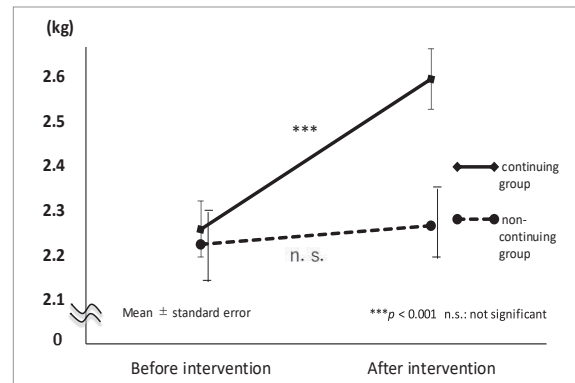


Fig. 2b Toe gap force

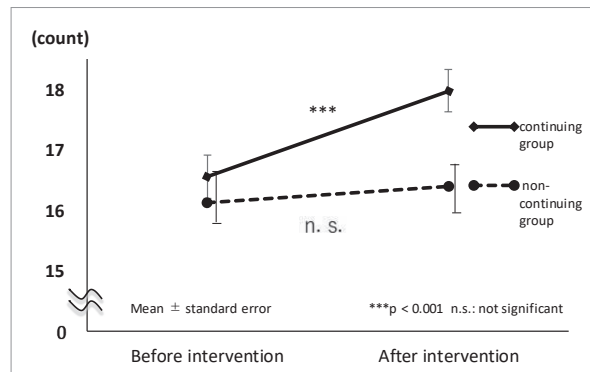


Fig.2c 10-second toe

extension exercise training intervention values showed significant improvements in the toe grip strength, toe gap force, and 10-second toe test items as compared to the pre-intervention values only in the continuing group; the non-continuing group showed no changes in these items. Comparing the continuing and non-continuing groups using the analysis of covariance, the post-intervention values of toe grip strength, toe gap force, and 10-second toe test were statistically significantly higher than those of the pre-intervention values ( $p < .001$ ).

## LS assessment

### OLBT

In the continuing group, the pre- and post-intervention OLBT values were  $37.2 \pm 2.9$  minutes and  $38.9 \pm 3.2$  minutes, respectively, indicating no significant change. In the non-continuing group, the pre- and post-intervention OLBT values were  $36.8 \pm 3.3$  minutes and  $37.1 \pm 3.4$  minutes, respectively, indicating no change. Comparing the continuing and non-continuing groups using the analysis of covariance, there were no statistically significant differences between the pre- and post-intervention values.

### Stand-up test

In the continuing group, the pre- and post-intervention stand-up test values were  $3.9 \pm 0.1$  and  $4.1 \pm 0.1$ , respectively. The difference in the mean values was  $0.2 \pm 0.04$ , indicating that the post-intervention value showed a significant improvement over the pre-intervention value ( $p < .01$ ). In the non-continuing group, pre- and post-intervention stand-up test values were  $3.9 \pm 0.1$  and  $4.0 \pm 0.1$ , respectively, indicating no change (Fig. 3a).

### 2-step test

In the continuing group, the pre- and post-intervention 2-step test values were  $1.19 \pm 0.02$  and  $1.2 \pm 0.02$ , respectively, indicating no change. Moreover, there was no change in the pre- and post-intervention 2-step test values in the non-continuing group change. Comparing the continuing and non-continuing groups using the analysis of covariance, there were no statistically significant differences between the pre- and post-intervention values.

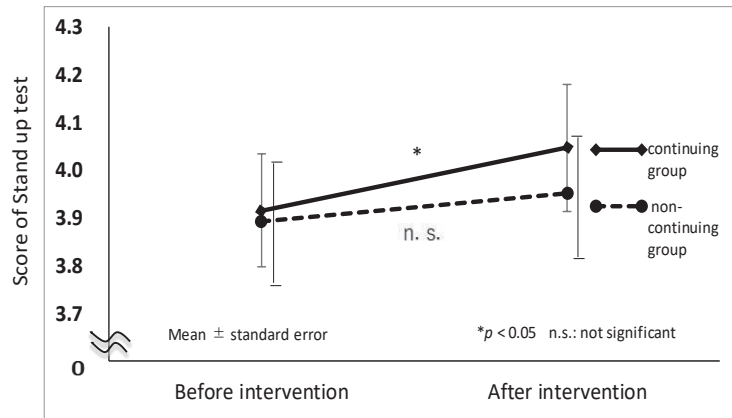


Fig.3a Stand Up test

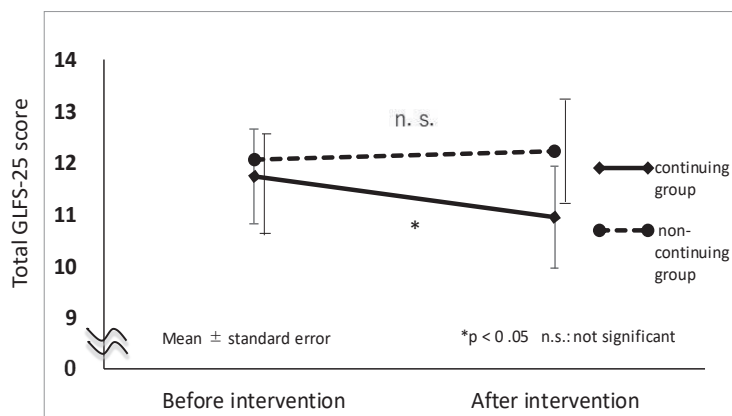


Fig.3b GLFS-25

### GLFS-25

In the continuing group, the pre- and post-intervention GLFS-25 scores were  $11.8 \pm 0.9$  and  $11.0 \pm 1.0$ , respectively. The difference in the mean scores was  $0.8 \pm 0.4$ , indicating that the post-intervention score showed a significant improvement over the pre-intervention score ( $p < .05$ ). In the non-continuing group, the pre- and post-intervention GLFS-25 scores were  $12.1 \pm 1.03$  and  $12.2 \pm 1.1$ , respectively, indicating no significant change (Fig. 3b). Comparing the continuing and non-continuing groups using the analysis of covariance with the post-intervention GLFS-25 scores, the continuing group showed improvements of 1 point over the non-continuing group even if the age and the pre-intervention scores were taken into consideration ( $p < .05$ ).

Based on the above results, the post-toe flexion and extension exercise training intervention values of the continuing group showed significant improvements in the stand-up test values and GLFS-25 scores; the non-continuing group showed no changes in these items. In

the comparison of the two groups, the post-intervention GLFS-25 scores of the continuing group were statistically significantly lower than that of the non-continuing group.

### Discussion

Toe movements include flexion and extension as well as spreading<sup>26</sup>. These movements can be assessed by having participants perform “rock-paper-scissors” movements with their toes. However, as this requires motor dexterity, we suspected that it would be difficult to include this in training for older people. Thus, in the present study on older individuals, we examined the effectiveness of intervention consisting of flexion and extension exercises of the toes. The results of continuously performing flexion and extension exercise training of the toes over a three-month period, the post-intervention results in the continuing group for the toe grip strength, toe gap force, 10-second toe test, stand-up test, and GLFS-25 showed significant improvements over

the pre-intervention results. However, there were no changes in the non-continuing group.

TF refers to the function of the muscle groups related to toe movement and that of the muscle groups related to maintaining the plantar arch. When standing, TF helps maintain balance by allowing the toes to grip the ground; while walking, TF facilitates shock absorption during the initial contact phase of gait, supports loads, and plays a role in single-leg support. It has been reported that older individuals with weak TF or foot deformities have a high risk of falls<sup>27</sup>. It has also been reported that individuals who sustained a fall over the past six months had significantly lower toe lift angles than that in those who did not<sup>28</sup>. There is an association between fall risk and toe grip strength. Thus, it may be possible to utilize this in the prevention of falls<sup>29</sup>. There is a positive correlation between the toe grip strength and the strengths of the tibialis anterior, abductor hallucis, and flexor digitorum brevis muscles<sup>30</sup>. Exercises to strengthen these muscles may contribute to fall prevention. A large amount of muscle activity occurs during the towel gathering exercise, which involves gripping a towel with the toes and resembles the toe flexion movement taught during training<sup>31</sup>. Toe flexion and extension exercises in the present study can be performed anytime and anywhere, even without the use of a towel or similar item. Therefore, it places little burden on older individuals. Swiftly flexing and extending the toes requires motor dexterity.

Although toe gap force also requires motor dexterity, there are no specific muscles playing a dominant role in this movement, as muscles, such as the lumbricals and the interossei complement each other while performing this movement. It has been reported that those who have sustained falls have lower interdigital pressure than those who have not<sup>20</sup>. (Yamashita & Saitou, 2002). A quantitative assessment of toe gap force and the risk of falls have found that when toe gap force is 2.4 kg or lower, the risk of falls is high<sup>19</sup>. (Yamashita, et al., 2008). The results of the present study indicate the possibility that an improvement in the mean toe gap force to 2.5 kg or higher reduced the risk of falls. The 10-second toe test requires toe agility, as flexion and extension movements of the toe are repeated. A systematic review has shown evidence that increased toe flexion strength is associated with good posture as well as balance, which indicates that there is a significant relation between toe flexion strength and posture as well as with balance<sup>32</sup>. Improved toe agility, therefore, can be expected to be

effective in improving toe flexibility.

In the present study, we assessed BA using the LS test. The stand-up test reflects not only BA related to vertical movement function but also lower extremity muscle strength and the ability to perform activities of daily living<sup>33</sup>. The 2-step test assesses BA related to horizontal movement, lower extremity muscle strength, and comprehensive walking skills, such as flexibility<sup>34</sup>. The results of the present study suggest that toe flexion and extension exercises may strengthen the muscle groups associated with toe movements and maintenance of the plantar arch, and may thus result in more stable stand-up test results. In addition, there is a possibility that the risk of falls decreases as a result of improvements in the GLFS-25 results. The GLFS-25 has been correlated with walking speed<sup>35</sup>. Therefore, improvements in GLFS-25 results are likely to lead to improved walking speed. The toe flexion and extension exercise can be performed even when confined to bed, so it can be performed by patients who require bedrest as well as by those who are recovering after surgery. The TF improvements as a result of toe flexion and extension exercise are likely to be effective in preventing falls after the conclusion of the bedrest period.

However, we did not observe improvements in the OLBT or the 2-step test. Both of these tests require gross muscle strength and flexibility in multiple joints because OLBT measurements are taken while the participant supports their body with a single leg, and the 2-step test requires that the participant supports their body weight on a single leg while taking each step. Therefore, improvement in these types of balance skills requires more than the toes alone; it also requires training for the lower back and extremities as a whole.

During the planning stage for this study, we aimed to conduct a controlled two-arm study. However, there were problems with this design, including problems regarding how to confirm whether the interventional exercises were performed appropriately and whether or not the participants were able to maintain their level of awareness regarding their participation in the study. In this study, we utilized a calendar-type check sheet for the purpose of determining whether the participants performed the interventional training. However, the fact that this depends upon self-reporting means that there were limitations in the extent to which we could confirm that the participants did perform the interventional training. In the future, we would like to obtain more verifiable results by having participants perform

the exercises at an exercise facility for older individuals or a similar institution. However, when considering that approximately 40% of the participants in this study were able to continue in their performance of the exercise, it is clear that it would be difficult to collect data in a prospective controlled two-arm study. The present study was single-arm interventional study. However, by analyzing the results after establishing subgroups within the single group, we were able to improve the reliability of this study. Nevertheless, in the future, performing either a prospective controlled two-arm study or a randomized study would verify the effectiveness of toe flexion and extension exercise training.

### Conclusions

In this study, we examined the effectiveness of interventional training with exercises involving toe flexion and extension, which are the main toe movements, in community-dwelling older women. Our study findings may be summarized as follows:

- 1) Our comparisons of pre-intervention and post-intervention data indicated that there were significant improvements in the TF, stand-up test, and GLFS-25.
- 2) Toe flexion and extension exercises increased the overall strength of the toes, and also improved balance ability with vertical movement (stand-up test) as well as GLFS-25 scores. Thus, it is suggested that these exercises may contribute to the prevention of falls among older individuals.
- 3) In terms of the applicability to nursing practice, and as toe flexion and extension exercises can be performed during bedrest, it is possible for patients who are confined to their beds to perform these exercises. In conclusion, we hope that these exercises will be included in fall prevention rehabilitation programs.

### Acknowledgments

The authors are grateful for the cooperation of the participants for giving their consent to the participation in study and those who readily consented to investigation cooperation in performing this study. We thank Professor emeritus Naruse Y. at the University of Toyama, Japan, who provided the valuable advice support in performing the statistical analysis.

### References

- 1) Deandrea S., Lucenteforte E. and Bravi F.: Risk factors for falls in community-dwelling older people: A systematic review and meta-analysis. *J Epidemiol*, 21(5), 658-668, 2010.
- 2) Rubenstein L. Z.: Falls in older people: epidemiology, risk factors and strategies for prevention. *Age Ageing*, 35-S2: ii37-ii41, 2006.
- 3) Peel N. M.: Epidemiology of falls in older age. *CJA*, 30: 7-19, 2011.
- 4) Cruz-Jentoft A. J., Baeyens J. P. and Bauer J. M.: Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in older people, *Age Ageing*, 39(4): 412-423, 2010.
- 5) Chen L. K., Liu L. K. and Woo, J.: Sarcopenia in Asia: consensus report of the Asian Working Group for Sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc*, 15(2): 95-101, 2014.
- 6) Seino S., Shinkai S. and Fujiwara Y.: Reference values and age and sex differences in physical performance measures for community-dwelling older Japanese: a pooled analysis of six cohort studies. *PLOS one*, 9(6): e99487, 2014.
- 7) Japanese Orthopaedic Association : New concept of locomotive syndrome, 2007.
- 8) Gillespie L. D., Robertson M. C. and Gillespie W. J.: Interventions for preventing falls in older people living in the community, *Cochrane Database Syst Rev*. (9), 2012.
- 9) Japanese Orthopaedic Association : Locomotive syndrome, 2-13. Tokyo, Japan: Bunkodo, 2010.
- 10) Japanese Orthopaedic Association : Locomo challenge promotion society! Locomo brochure, 5-8. Tokyo, Japan, 2013.
- 11) Ogata T., Muranaga S. and Ishibashi, H.: Development of a screening program to assess motor functioning the adult population: a cross-sectional observational study. *J Orthop Sci*, 20(5): 888-895, 2015.
- 12) Yoshimura N., Muraki S. and Oka, H.: Association between new indices in the locomotive syndrome risk test and decline in mobility: third survey of the ROAD study. *J Orthop Sci*, 20(5): 896-905, 2015.
- 13) Kawai T., Miyagi Y. and Sakai M.: Raising awareness about locomotive syndrome in the daily life of the elderly. *JJNR*, 41(4): 723-732, 2018 (in Japanese).
- 14) Kawai T., Nakada T. and Kanamori M.: Locomotive syndrome evaluation and toe motor functions related to risk of falling in community-dwelling elderly men. *J health sciences of mind and body*, 16(2): 49-62, 2020 (in Japanese).
- 15) Kohashi T. and Shono T.: Exercise intervention that community-dwelling elderly individuals can perform at home to improve foot morphology and prevent falls-discussion based on the relationship between improvement of toe and flat foot grounding with toe flexor muscle strength training and fall prevention effects-. The latest social welfare study, 14: 55-67, 2019 (in Japanese).
- 16) Nagatani N., Washizuka H. and Sakai, M.: Effects of trainings on the toe's function. *Synergetic Welfare Sci*, 10(1): 37-42, 2015 (in Japanese).
- 17) Okochi J., Toba K. and Takahashi T.: Simple Screening test for risk of falls in the elderly. *Geriatr Gerontol Int* 6(4): 223-22, 2006.

- 18) Arai T., Fujita H. and Hosoi T.: Toe flexor muscle strength as a measure of motor function in community-dwelling elderly people. *Jpn Phys Ther Assoc*, 38(7): 489-496, 2011 (in Japanese).
- 19) Yamashita K., Ino S. and Kawasumi M.: Quantitative evaluation of fall risk from viewpoint of lower limb muscular strength. *Healthy medical Research institute furtherance memoirs*, 23: 133-143, 2008 (in Japanese).
- 20) Yamashita K. and Saitou M.: Evaluation of the Aged against Tumbling by Toe-Gap Force. *T. S I CE*, 38(11): 952-957, 2002 (in Japanese).
- 21) Motoe K., Kanamori M. and Nagatani N: Toe's power evaluation in the nursing physical assessment (The 1st report) -Setting of the normal value for the healthy subjects-. *J Nurs Soc Toyama*, 12(2): 101-112, 2012.
- 22) Ministry of Education in Japanese : New fitness test implementation guideline for 65-79 aged people, 2014.
- 23) Muranaga S.: Evaluation of the muscular strength of the lower extremities using the standing movement and clinical application. *J Showa Med Assoc*, 61(3): 362-367, 2001.
- 24) Muranaga S. and Hirano K.: Development of a convenient way to predict ability to walk, using a two-step test. *J Showa Med Assoc*, 63(3): 301-308, 2003.
- 25) Seichi A., Hoshino Y. and Doi T.: Development of a screening tool for risk of locomotive syndrome in the elderly: the 25-question Geriatric Locomotive Function Scale. *J Orthop Sci*, 17(2): 163-172, 2012.
- 26) Suzuki T.: *Anatomy of feet*. Yamazaki, N. (Ed.). Dictionary of feet (pp. 10-11). Tokyo, Japan: Asakura book store, 1999.
- 27) Mickle K. J., Munro B. J. and Lord S. R.: Toe weakness and deformity increase the risk of falls in older people. *Clin Biomech*, 24(10): 787-91, 2009.
- 28) Takatori K. and Matsumoto D.: Relationships between simple toe elevation angle in the standing position and dynamic balance and fall risk among community-dwelling older adults. *PM&R*: 7(10): 1059-1063, 2015.
- 29) Tsuyuguchi R., Kurose S. and Seto T.: Toe grip strength in middle-aged individuals as a risk factor for falls. *J Sports Med Phys Fitness*, 58(9): 1325-1330, 2018.
- 30) Yamada Y. and Sudo A.: Relationship between toe-gripping exercises and lower limb muscular activity. *Jpn Phys Ther Assoc*, 33(1): 183-186, 2018 (in Japanese).
- 31) Yamada Y. and Sudo, A.: Muscle activities of the muscles surrounding the ankle in toe-grip exercises. *Jpn Phys Ther Assoc*, 33(6): 905-909, 2008 (in Japanese).
- 32) Quinlan S., Yan A. F. and Sinclair P.: *Gait & posture*, 81, 56-66, 2020.
- 33) Arai T., Fujita H. and Maruya K.: The stand-up test a measure of decreased motor function and physical activity in community-dwelling elderly people. *JJOS*, 3(4): 377-386, 2017 (in Japanese).
- 34) Japanese Orthopaedic Association : Locomo challenge promotion society! Locomo brochure, 6. Tokyo, Japan, 2015.
- 35) Asahi R., Fujita H. and Arai T.: Relationship between results of the short test battery for locomotive syndrome and gait speed in community-dwelling aged people. *JJOS*, 2(3): 255-265, 2016 (in Japanese).

## Case report

# Brain Metastasis from a Myxofibrosarcoma Case

Masahiko KANAMORI, MD<sup>1</sup>, Taketoshi YASUDA, MD<sup>2</sup>,  
Kayo SUZUKI, MD<sup>2</sup>

粘液線維肉腫から生じた脳転移の1例

金森昌彦<sup>1</sup>・安田剛敏<sup>2</sup>・鈴木賀代<sup>2</sup>

## Abstract

A 68-year-old man presented with a 5-year history of progressive left proximal lateral calf tumor invading the skin. He had no history of antecedent trauma or constitutional symptoms. Magnetic resonance imaging revealed a subcutaneous elastic hard tumor. We removed the tumor with a marginal margin because of the benign pathology shown by the needle biopsy, but postsurgical pathology showed myxofibrosarcoma. Therefore, postoperative radiation therapy (standard schedule of 25×2.0 Gy, five fractions a week) was performed. However, recurring tumors were repeatedly observed; nevertheless, additional surgeries were performed 11 years later. Finally, the tumor metastasized to the right parietal region with no evidence of lung metastasis. The patient died from multiple brain metastases and worsened general condition 11.5 years after the initial surgery.

## 和文要旨

本68歳男性、左下腿後面近位外側に生じた皮膚に浸潤した腫瘍であり、5年間の経過にて進行性に増大した。特に外傷歴は認めない。MRIでは皮下に弾性硬の腫瘍を認めた。針生検では良性腫瘍が示唆されたため、辺縁切除を行ったが、悪性病変と考えられた。そのため術後放射線療法（25×2.0 Gy、週5回）が施行された。しかし術後11年間の間に繰り返し再発し、最終診断は粘液線維肉腫となった。その後肺転移は明らかではなかったが、右側頭葉に転移を認め、全身状態が悪化して初回手術から11.5年にて死亡した。

**Key words:** Myxofibrosarcoma, Brain metastasis, Skin-invading tumor

## Introduction

Myxofibrosarcoma (MFS) is common sarcoma that mainly occurs in the subcutaneous tissue of the extremities of elderly patients. In addition to pulmonary metastasis, osseous or lymph node metastasis is sometimes seen<sup>1)</sup>. However, we report a sporadic brain metastasis case with no apparent lung metastases or lymph nodes. To our knowledge, this is the eighth case of MFS metastasizing to the brain parenchyma in English literatures.

## Case Report

A 68-year-old Japanese male presented a mass of the proximal lateral calf soft part tumor invading the skin.

He had noted a gradually enlarging mass over the last 5 years. A 5 x 4cm elastic hard tumor with mild tenderness was detected upon examination. The surface of the tumor was irregular and the margin was unclear. His history was unremarkable. Radiographs showed a non-mineralized soft tissue mass with no involvement of bone. T1-weighted magnetic resonance imaging (MRI) showed a low-iso intensity mass, and T2-weighted MRI showed a heterogeneous intensified mass with an unclear margin (Fig. 1). There was no uptake on the Gallium scintigram, indicating a benign fibrous lesion. The tumor was removed at a marginal resection. However, based on the surgical specimen, the pathological diagnosis was changed to low-grade fibromyxoid sarcoma. Af-

(Received 2023.9.3 / Accepted 2023.9.26)

<sup>1</sup> Department of Human Science 1

<sup>2</sup> Department of Orthopaedics, University of Toyama, Japan



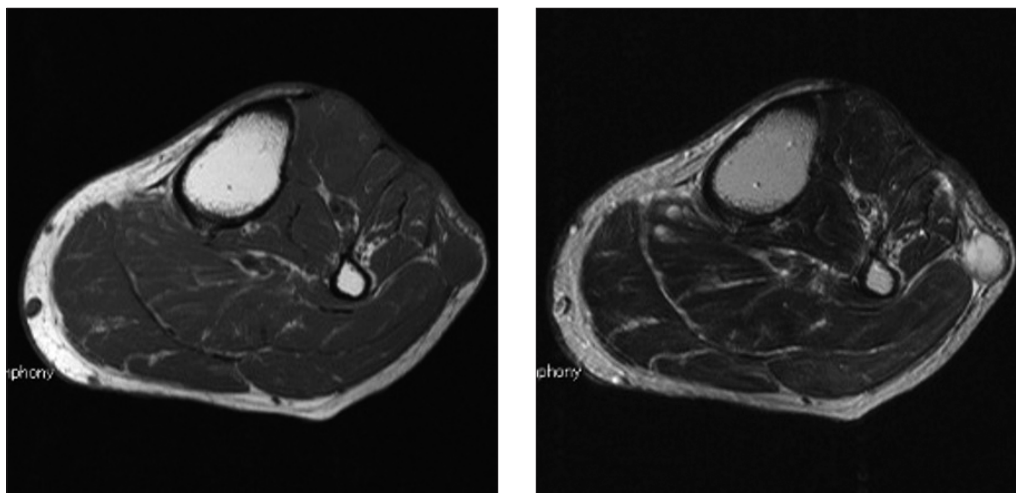


Figure 1

a) T1-weighted MRI

b) T2-weighted MRI

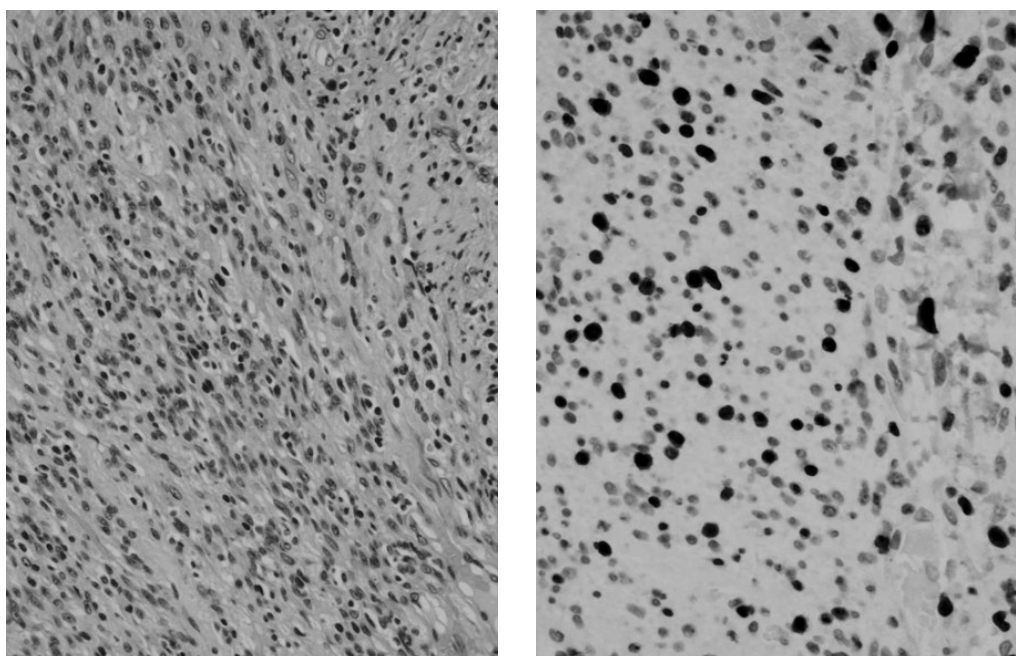


Figure 2

a) HE staining, x100

b) MIB-1, x200

ter a 1-year follow-up, the tumor became recurrent and was hard-palpable, involving most extensor muscle, and adhering to the skin. At that time, there was no other tumor, or inguinal lymphadenopathy. The distal neurovascular examination and laboratory findings were almost normal. A needle biopsy specimen was reviewed as unclassified high-grade sarcoma (Fig. 2). After that, we tried to remove the tumor at the wide margin, but the evaluation of the resected margin was intralesional. The mass had aggressively invaded the skin, intramuscular/intermuscular space, and had no capsule. The gross appearance of the resected specimen showed a

noncapsulated, elastic hard, tan-to-pink mass (8 cm maximum dimension) with foci of cyst and hemorrhage. The tumor was composed of well-formed and variable sized vessels with proliferative ovoid or short-spindle atypical cell under microscope. There were many mitotic figures present. MFS was the final pathological diagnosis. Therefore, postoperative radiation therapy (standard schedule with  $25 \times 2.0$  Gy, five fractions a week) was performed. However, the recurrent tumors were repeatedly observed despite additional surgeries 11 years later. The final surgery was an above-knee amputation. But the tumor metastasized to the right parietal region

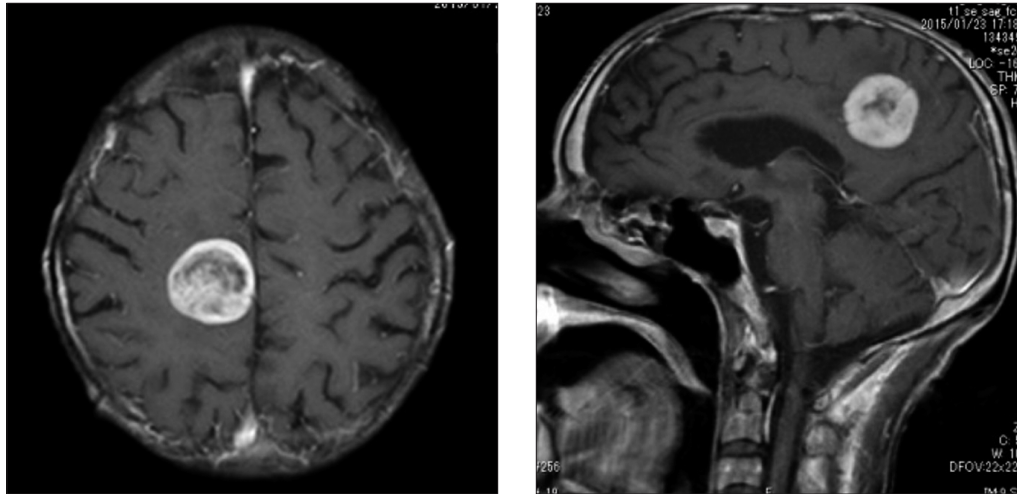


Figure 3

a) brain metastasis (transverse plane)

b) brain metastasis (sagittal plane)

Table 1. Data from literature review of brain metastasis from myxofibrosarcoma cases

No.	Age/ gender	Primary tumor site	Metastatic site in the brain	Interval between diagno- sis and brain metastasis	References (Authors and year number)
1	18/F	Left heart mass	Right cerebellar	2 years	Kim, et al. (1997) <sup>4)</sup>
2	72/F	Femoral bone tumor	Right occipital	2 years	Kawaguchi, et al. (2012) <sup>5)</sup>
3	73/M	Thoracic wall	Left corona radiata	7.5 months	Wernhart, et al. (2013) <sup>6)</sup>
4	72/F	Posterior left maxilla	Supra- & infratentorial	2 months	Quimby, et al. (2015) <sup>7)</sup>
5	41/M	Left heart mass	Right parietal & temporal	at the same time	Badaloni, et al. (2017) <sup>8)</sup>
6	67/M	Left posterior thigh	Right parietal	9.9 months	Chan, et al. (2020) <sup>9)</sup>
7	75/M	Thoracic wall	Left frontal	3 years	Ferreira, et al. (2022) <sup>10)</sup>

without evidence of lung metastasis or lymph nodes (Fig. 3). The patient died from multiple brain metastases and worsened general conditions at 11.5 years after the initial surgery.

### Discussion

MFS, previously known as a myxoid type of malignant fibrous histiocytoma, is one of the common soft-tissue sarcomas<sup>1)</sup>. Complete surgical resection is the standard treatment, but the surgical margin is sometimes evaluated as the intralesional margin because of the infiltrative growth pattern along the fascia or intermuscular extension. There have been few reports on metastasis. Tsuchie et al<sup>2)</sup>, reported the distance metastases from 16 cases retrospectively. Eleven of the 16 patients had lung metastasis, and five patients had lymph node metastasis. They stated that MFS with lung metastasis is more aggressive than the type of lymph node metastasis. Sanfilippo et al<sup>3)</sup>, reviewed 158 cases, and described that five-year rates of local recurrence and distant metastases were 18% and 15%, respectively. How-

ever, there was no case of brain metastasis in these series.

In 1997, Kim<sup>4)</sup> reported the first case of brain metastasis from MFS. Kawaguchi, et al<sup>5)</sup>, reported the second case of brain metastasis causing multiple cerebral embolisms (a 72-year-old female). At the initial stage, the patient was diagnosed with femoral chondrosarcoma and arterial fibrillation. After the surgical resection of the metastatic tumor, the histological diagnosis was changed to MFS. Wernhart<sup>6)</sup> reported a case of the right lower thoracic wall as the third case after reviewing English literatures. Quimby, et al<sup>7)</sup>, Badaloni, et al<sup>8)</sup>, Chan, et al<sup>9)</sup>, and Ferreira, et al<sup>10)</sup>, added the similar cases, so far (Table 1).

Our present patient is the eighth case; the time until brain metastasis was 11.5 years after the initial surgery. Distant metastasis-free survival MFS patients was reported to be associated with mitotic activity and the surgical margin status, et al<sup>11)</sup>. In our case, the histological evaluation gradually changed to the high-grade. Although pulmonary, osseous or lymph node metastasis is

sometimes seen, but the present case showed the rare site of the metastasis. Because little is known about intracerebral metastasis, more cases will be provided with more accurate information.

### Acknowledgments

The authors would like to thank Hachinoda J and Hori T (Department of Orthopaedics, University of Toyama, Japan), who provided clinical assistance.

### Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

### Funding

No funding was received for the publication of this manuscript.

### References

- 1) Bridge J.A.: Undifferentiated small round cell sarcomas of bone and soft tissue. In: *Soft tissue and bone tumours: 93-94. WHO Classification of Tumours Editorial Board, fifth edition. IARC. Lyon, 2020.*
- 2) Tsuchie H, Kaya M, Nagasawa H, et al: Distant metastasis in patients with myxofibrosarcoma. *Upsala J Med Sci* 122(3): 190-193, 2017.
- 3) Sanfilippo R, Miceli R, Grosso F, et al: Myxofibrosarcoma: Prognostic and survival factors in a series of patients treated at a single institution. *Ann Surg Oncol* 18: 720-725, 2011.
- 4) Kim D.G., Lee S.Y., Chung S.K., et al: Brain metastasis from myxofibrosarcoma of the heart. *Acta Neurochir (Wien)*. 139: 88-89, 1997.
- 5) Kawaguchi T., Yamanouchi Y., Numa Y., et al: A case of metastatic brain tumor causing multifocal cerebral embolism. *Brain Tumor Pathol.* 29: 63-67, 2012.
- 6) Wernhart S., Woernle C.M., Neidert M.C., et al: A deeply seated brain metastasis from a primary myxofibrosarcoma: Case report. *Clin Neurol Neurosurg* 115: 2296-2298, 2013.
- 7) Quimby A., Estelle A., Gopinath A., Fernandes R.: Myxofibrosarcoma in head and neck: case report of unusually aggressive presentation. *J Oral Maxillofac Surg* 75: (2709) e1-12, 2015.
- 8) Badaloni F., Pozzati E., Marucci G., et al: Primary cardiac high-grade myxofibrosarcoma presenting with multiple brain metastases: A case report. *Cureus* 9: e1866, 2017.
- 9) Chan C.M., Lindsay A.D., Spiguel A.R.: Brain metastases from truncal and extremity bone and soft tissue sarcoma: Single institution study of oncologic outcomes. *Rare Tumors* 12: 2036361320960060, 2020.
- 10) Ferreira Neto O.D.C., Bezerra R.B., Silva R.P.D.S., et al: Brain metastasis from a thoracic myxofibrosarcoma: A case report and literature review. *Surg Neurol Int.* 13: 537(1-4), 2022.
- 11) Dewan V., Darbyshire A., Sumathi V., et al: Prognostic and survival factors in myxofibrosarcomas. *Sarcoma*. 2012, 830879(1-5), 2012.

## 学位授与

### 博士 (医学)

学位記番号 富医薬博甲第404号  
 氏名 明石 克久  
 博士論文名 人工知能アルゴリズムを用いた食道癌患者における血中循環腫瘍細胞の検出  
 (The use of artificial intelligence algorithm in detection of circulating tumor cells in esophageal cancer patients)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (消化器・腫瘍・総合外科学)

学位記番号 富医薬博甲第405号  
 氏名 上島 洋二  
 博士論文名 Exploration for the rapid detection method for bacterial pathogen in pediatric clinical specimens using the melting temperature mapping method.  
 (Melting temperature mapping法を用いた小児臨床検体中の細菌性病原体の迅速検出法の探索)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (臨床分子病態検査学)

学位記番号 富医薬博甲第406号  
 氏名 大野 駿太郎  
 博士論文名 ルールは要素に分解され、内側前頭前皮質の順序的な神経活動として保存される  
 (Rules are decomposed into elements that are stored as sequential neuronal activities in the medial prefrontal cortex)  
 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407号  
 氏名 川高 正聖  
 博士論文名 モノクローナルACPA, CCP-Ab1の可変領域におけるN型糖鎖は実験的関節炎の増悪を来す  
 (N-glycan in the monoclonal ACPA, CCP-Ab1 variable region promotes the exacerbation of experimental arthritis)  
 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408号  
 氏名 小井 貴寿  
 博士論文名 Urinary Isoxanthopterin as a Novel Predictor following Catheter Ablation for Atrial Fibrillation  
 (心房細動に対する経皮的心筋焼灼術後の頻脈性心房性不整脈発症を予測す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409号  
 氏名 清水 宗之  
 博士論文名 Maternal vitamin D intake during pregnancy is associated with allergic diseases in children at 3 years old: the Japan Environment and Children's Study  
 (妊娠中の母親のビタミンD摂取量は子どもの3歳時点でのアレルギー疾患と関連する: 子どもの健康と環境に関する全国調査)  
 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410号  
 氏名 長田 巧平  
 博士論文名 The oncogene-dependent resistance to reprogramming unveils cancer therapeutic targets  
 (がん細胞のiPS細胞化を阻害する分子メカニズムの解明及びその特性を応用した新しい薬剤スクリーニング系の開発)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (消化器内科学)

学位記番号 富医薬博甲第411号  
 氏名 馬場 逸人  
 博士論文名 食道扁平上皮癌における*B4GALNT4*遺伝子の発現と悪性度との関連  
 (Expression and malignant potential of *B4GALNT4* in esophageal squamous cell carcinoma)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (消化器・腫瘍・総合外科学)

学位記番号 富医薬博甲第412号  
 氏名 福田 卓真  
 博士論文名 食道扁平上皮癌における癌抑制性miRNA  
 としてのmiR-877-3pの可能性  
 (miR-877-3p as a Potential Tumor  
 Suppressor of Esophageal Squamous Cell  
 Carcinoma)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (消化器・腫瘍・総合  
 外科学)

学位記番号 富医薬博甲第413号  
 氏名 和田 侑星  
 博士論文名 Identification of the atrioventricular  
 conduction axis and its positional  
 relationship with anatomical landmarks of  
 a heart with tricuspid  
 (三尖弁閉鎖における刺激伝導系と外科的  
 重要解剖部位の三次元的位置関係の解析)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (循環・呼吸器・総合  
 外科学)

学位記番号 富医薬博甲第414号  
 氏名 GRACE KOH  
 博士論文名 The Sustainable Development Goals and  
 Spatial Planning for Population Health in  
 Toyama City: Insights from the Toyama  
 Prefecture National Health Insurance  
 Data  
 (富山市の公衆衛生のための持続可能な開  
 発目標と都市計画：富山県国民健康保険  
 データからの洞察)  
 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415号  
 氏名 HA THI VIET MY  
 博士論文名 Selection of highly responsive T cell  
 receptors by an analysis combining the  
 expression of multiple markers  
 (複数のマーカーの発現解析の組み合わせ  
 による抗原応答性の高いT細胞受容体の選  
 択)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (分子免疫学)

学位記番号 富医薬博甲第416号  
 氏名 PHAN DUY NGUYEN  
 博士論文名 Preclinical evaluation of selected natural  
 anti-austerity agents for the treatment of  
 pancreatic cancer  
 (膵癌の治療に対する抗栄養飢餓耐性選択  
 的天然化合物の前臨床評価)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (消化器・腫瘍・総合  
 外科学)

学位記番号 富医薬博甲第417号  
 氏名 Muhammad Irfan Rasul  
 博士論文名 Innate immune responses against oral  
 squamous carcinoma in an orthotopic  
 murine model  
 (マウス口腔がんモデルを用いた自然免疫  
 応答の解析)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (総合口腔科学)

学位記番号 富医薬博甲第418号  
 氏名 中嶋 和仙  
 博士論文名 Diagnostic accuracy of a predictive  
 scoring tool for patients who are eligible  
 for home discharge from a palliative care  
 unit  
 (緩和ケア病棟から自宅退院に適切な患者  
 を予測するスコアリングツール)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (臨床腫瘍学)

学位記番号 富医薬博甲第419号  
 氏名 吉田 聡  
 博士論文名 Cap analysis of gene expression (CAGE)  
 法を用いたnestin-induced Ikk2 deficientマ  
 ウスにおける皮膚炎の分子病態解析  
 (Molecular pathology analysis of  
 dermatitis in nestin-induced Ikk2 deficient  
 mice using cap analysis of gene  
 expression (CAGE) method)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (臨床分子病態検査学)

学位記番号 富医薬博甲第420号  
 氏名 Tooba Iqbal  
 博士論文名 Supplementation of NAD<sup>+</sup> precursors ameliorates nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), but the loss of Nmnat1 in mice does not influence NAFLD development  
 (NAD前駆体の投与は非アルコール性脂肪性肝疾患を改善するが、Nmnat1のマウスでの欠損は非アルコール性脂肪性肝疾患の発症に影響しない)  
 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421号  
 氏名 Mariam Karim  
 博士論文名 Impaired NAD<sup>+</sup> metabolism during childhood impacts skeletal muscle aging with an altered circadian rhythm  
 (小児期のNAD<sup>+</sup>代謝の障害は概日リズムの変調をともない骨格筋老化に影響する)  
 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429号  
 氏名 NGUYEN TIEN DUNG  
 博士論文名 Effect of calorie restriction on anti-tumor immune responses in the immunogenic preclinical cancer model  
 (免疫反応性が動物モデルにおける抗腫瘍免疫反応におよぼすカロリー制限の影響)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (臨床腫瘍学)

学位記番号 富医薬博甲第430号  
 氏名 UBEDULLAH ABDUL HAYEE ALIAS  
 博士論文名 TIL-derived MRI-restricted TCRs recognize breast cancer-specific antigen  
 (腫瘍浸潤リンパ球由来MRI拘束性TCRによる乳がん細胞特異的抗原の認識)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (疫学・健康政策学 (分子免疫学))

学位記番号 富医薬博甲第431号  
 氏名 YONESI AMIRMOEZZ  
 博士論文名 Rapamycin induces phenotypic alterations in oral cancer cells that facilitate antitumor T cell responses  
 (ラパマイシンは口腔がん細胞の形質変化を誘導し、抗腫瘍T細胞免疫応答を増強する)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (総合口腔科学)

学位記番号 富医薬博甲第432号  
 氏名 YOUNESI JADIDI AMIRREZA  
 博士論文名 Effects of Hyperdry Human Amniotic Membrane on soft tissue repair of Cleft palate in a rat model  
 (口蓋裂ラットモデルを用いた軟部組織修復に対するハイパードライヒト羊膜の有効性)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (総合口腔科学)

学位記番号 富医薬博甲第433号  
 氏名 亀井 克彦  
 博士論文名 Impact of SIK3 pathway and its inhibition on osteoclast differentiation and maturation: Insights into bone homeostasis and potential therapeutic targets  
 (破骨細胞分化におけるSIK3経路の機能とその阻害効果：新たな骨粗鬆症治療薬の探索)  
 所属講座 生命・臨床医学専攻 (整形外科・運動器病学)

学位記番号 富生命博甲第149号  
 氏名 大村 佳之  
 博士論文名 The hippocampal reward cell ensemble encodes phasic consummatory acts  
 (海馬の報酬細胞は摂食行動の一連を表現する)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (分子脳科学)

学位記番号 富生命博甲第150号  
 氏名 中島 英  
 博士論文名 Duration mismatch negativity predicts remission in first-episode schizophrenia patients  
 (持続長ミスマッチ陰性電位による初回エピソード統合失調症の寛解予測)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (精神神経医学)

学位記番号 富生命博甲第151号  
 氏名 山本 修輔  
 博士論文名 もやもや病における特異的側副血行路形成の臨床的特徴および発生機序の解明  
 (The Elucidation of Clinical Characteristics and the Underlying Mechanism of Specific Angiogenesis in Moyamoya Disease)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (脳神経外科学)

学位記番号 富生命博甲第152号  
 氏名 Mostafa MohamedReda Mohamed Fayed  
 博士論文名 Identification and Manipulation of Orbitofrontal Cortex Activity Governing Wise Decisions  
 (賢明な決定に関与する眼窩前頭皮質活動の同定と操作)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (分子脳科学)

学位記番号 富生命博甲第155号  
 氏名 LE THI PHUONG ANH  
 博士論文名 Analysis of Polyunsaturated Fatty Acids in Antipsychotic-Free Individuals with At-Risk Mental State and Patients with First-Episode Schizophrenia  
 (抗精神病薬を服用していないサイコース発症リスク状態と初回エピソード統合失調症患者における多価不飽和脂肪酸組成の解析)  
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (神経精神医学)

#### 博士 (医学) 《論文博士》

学位記番号 富医薬博乙第92号  
 氏名 米納 孝  
 博士論文名 抗ウイルス薬ファビピラビル (T-705) の作用メカニズム解析  
 (Analysis of mechanism of action of favipiravir (T-705), antiviral drug)  
 所属講座 微生物学

学位記番号 富医薬博乙第93号  
 氏名 伊藤 俊英  
 博士論文名 Evaluation of the quantitative performance of non-enhanced dual-energy CT X-map in detecting acute ischemic brain stroke: A model observer study using computer simulation  
 (非造影Dual-energy CT X-mapによる急性期脳虚血領域の検出: コンピュータ・シミュレーションモデルによる定量的評価)  
 所属講座 放射線診断治療学

学位記番号 富医薬博乙第94号  
 氏名 伊東 伸祐  
 博士論文名 Nationwide Epidemiological Survey of Delayed Endolymphatic Hydrops in Japan  
 (遅発性内リンパ水腫に関する全国疫学調査)  
 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95号  
 氏名 中里 瑛  
 博士論文名 Effect of middle ear pressure therapy with the EFET01<sup>®</sup> device for intractable definite Meniere's disease and delayed endolymphatic hydrops  
 (難治性メニエール病及び遅発性内リンパ水腫症例に対するEFET01<sup>®</sup>を用いた中耳加圧療法の治療効果についての臨床的検討)  
 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96号  
 氏名 藤岡 勇人  
 博士論文名 Impact of geriatric nutritional risk index and modified creatinine index combination on mortality in hemodialysis patients  
 (血液透析患者におけるGeriatric Nutritional Risk Indexとmodified Creatinine Indexの組み合わせによる生命予後予測に関する研究)  
 所属講座 循環器・腎臓内科学

学位記番号 富医薬博乙第97号  
 氏名 久保 誠司  
 博士論文名 法科学核酸マーカーの迅速・簡便な検出法の開発  
 (Development of rapid and simple methods for the detection of forensically relevant nucleic acid markers)  
 所属講座 臨床分子病態検査学

学位記番号 富医薬博乙第98号  
 氏名 猪又 智美  
 博士論文名 Effects of long-term antenatal magnesium sulfate administration on the bone mineralization of preterm infants  
 (長期の出生前硫酸マグネシウム投与が早産児のボーン・ミネラル化 (bone mineralization) に与える影響)  
 所属講座 小児発達医学

学位記番号 富医薬博乙第99号  
 氏名 掛下 幸太  
 博士論文名 Altered arginine vasopressin-cyclic AMP-aquaporin 2 pathway and prognostic impact of urine cyclic AMP levels in patients with chronic kidney disease  
 (慢性腎臓病患者におけるバソプレシン-cyclic AMP-アクアポリン2経路の変化と尿中cyclic AMP濃度の予後への影響)  
 所属講座 循環器・腎臓内科学

学位記番号 富医薬博乙第100号  
 氏名 田村 恒介  
 博士論文名 小児13価肺炎球菌結合型ワクチン導入後の成人侵襲性肺炎球菌感染症の臨床的特徴と血清型分布のダイナミックな変化について (2013-2019年)  
 (Dynamic changes in clinical characteristics and serotype distribution of invasive pneumococcal disease among adults in Japan after introduction of the pediatric 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in 2013-2019)  
 所属講座 感染症学

#### 修士 (医科学)

学位記番号 富医薬修第1021号  
 氏名 渡邊 明愛  
 博士論文名 がん患者の抑うつと不安に関連する心理的特性についての研究  
 所属講座 医科学専攻神経精神医学

学位記番号 富医薬修第1022号  
 氏名 単 悦  
 博士論文名 CD38-and BST1-positive macrophages and neutrophils produce inflammatory cytokines with age  
 (CD38, BST1陽性マクロファージや好中球は加齢により炎症性サイトカインを産生する)  
 所属講座 医科学専攻薬理学

学位記番号 富医薬修第1023号  
 氏名 MAHMOUD KHALED MAHMOUD MOHAMMED HANAFY  
 博士論文名 Positive mood induce biased emotional memory  
 (幸福な環境体験は、偏った感情記憶の形成を促進する)  
 所属講座 医科学専攻生化学

学位記番号 富医薬修第1024号  
 氏名 森田 利一  
 博士論文名 Study on Undiagnosed Dementia and its Correlated Factors in the Community—Based on the Results of the 2014 Toyama Dementia Survey—  
 (地域における未診断認知症とその関連要因に関する研究—富山県認知症高齢者実態調査の結果より—)  
 所属講座 医科学専攻疫学・健康政策学

#### 修士 (看護学)

学位記番号 富医薬修第1025号  
 氏名 青山 裕紀  
 博士論文名 子どもの発熱に対する就労中の母親の認知的評価に関連する要因の検討—COVID-19第8波時における調査—  
 所属講座 看護学専攻 (母子看護学)

学位記番号 富医薬修第1026号  
 氏名 高島 賢志  
 博士論文名 マスクに使用されているメルトブロー不織布の細菌透過性の検討  
 所属講座 看護学専攻 (基礎看護学)

学位記番号 富医薬修第1027号  
 氏名 長堀 剛明  
 博士論文名 退院指導時の生活指導における、患者の生活に変化をつくりだすための看護の特徴  
 所属講座 看護学専攻 (基礎看護学)

学位記番号 富医薬修第1028号  
 氏名 本橋 果歩  
 博士論文名 慢性心不全患者のACPに関する看護師の認識  
 所属講座 看護学専攻 (成人看護学)



学位記番号 富医薬修第1029号  
氏名 尾山 由里子  
博士論文名 脊髄損傷患者のフィンクの危機モデルの承認の段階において看護師が行う傾聴の準備～予後の不安や悲嘆の感情の表出に着目して～  
所属講座 看護学専攻（基礎看護学）

---

学位記番号 富医薬修第1030号  
氏名 高見 もも子  
博士論文名 産褥早期におけるエジンバラ産後うつ病質問票の予測性と産後うつ病の関連因子～産褥1か月までの後方視的検討～  
所属講座 看護学専攻（母子看護学）

---

学位記番号 富医薬修第1031号  
氏名 平野 貴和子  
博士論文名 人々が有する持てる力を捉え導き続ける看護の視点と関わり～看護師と対象の相互的関わりから～  
所属講座 看護学専攻（基礎看護学）

---

学位記番号 富医薬修第1032号  
氏名 深井 咲衣  
博士論文名 乳がんの親を持つ子どもへの看護実践の実態  
所属講座 看護学専攻（成人看護学）

---

学位記番号 富医薬修第1033号  
氏名 宮崎 由美子  
博士論文名 看護学生の対象理解を深める実習指導—患者の見方・捉え方が変化した実習指導の分析を通して—  
所属講座 看護学専攻（基礎看護学）

---

学位記番号 富医薬修第1075号  
氏名 中山 友月  
博士論文名 Changes in facial skin temperature by using standardized affective stimuli  
(標準化された情動刺激による顔面皮膚温の変化)  
所属講座 看護学専攻（基礎看護学）

---

学位記番号 富医薬修第1076号  
氏名 牧野 かおる  
博士論文名 看護学生における職業的アイデンティティとスピリチュアリティおよびパーソナリティの関連性  
所属講座 看護学専攻（精神看護学）

## スプライソスタチンAは3'UTRを介してCDKN1B mRNAを安定化する

志田 健太 遺伝子発現制御学講座（指導：甲斐田大輔准教授）

### 【はじめに】

細胞周期はサイクリン依存性キナーゼ（CDK）やその阻害因子により厳密に制御され、その異常から悪性腫瘍へ進行する場合がある。当講座での先行研究よりp27 CDK inhibitorの発現量増加がG1期からS期への遷移を阻害することや、G2/M期の遷移を阻害することが明らかとなったが、その詳細な分子機構は不明であった。そこで、本研究ではその分子機構の解明を目的とした。

### 【材料および方法】

#### 1. Cell Culture

HeLa S3とHEK293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) で37°C, 5% CO<sub>2</sub> インキュベーターにおいて培養した。

#### 2. Immunoblotting

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、エレクトロブロッティングによって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。

#### 3. RNA preparation and Quantitative RT-PCR

プラスミド導入はLipofectamine 3000 Reagent (Thermo Fisher Scientific) を用いて行った。新規合成RNAはClick-iT Nascent RNA Capture Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いて抽出した。プラスミド導入された細胞を48時間培養し、MeOHまたはSSA (10 ng/mL) で1時間処理した。その後、新規合成RNAのラベリングのため、5-EU (200 μM) で細胞を2時間処理した。Total RNAはTRIzol Reagent (Thermo Fisher Scientific) を用いて培養細胞から抽出した。ラベリングされた新規合成RNAをクリック反応によりビオチン化した。ビオチン化したRNAをストレプトアビジンビーズ

を用いて精製した。Quantitative RT-PCRのため、cDNAをSuperScript VILO cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific) で合成した。Quantitative RT-PCRにはMX3000P system (Agilent, Santa Clara, CA, USA) を用いた。

#### 4. Plasmid Construction

p27pro-GFPプラスミド：CDKN1B (p27) プロモーター領域のDNA断片を、HeLa S3細胞のゲノムDNAからp27 pro cloning F Mlu I およびp27 pro cloning R Hind III プライマーを用いてPCRによって増幅した。このPCR産物をMlu I とHind III で切断し、pcDNA3.1-GFPプラスミドにサブクローニングした。

pcDNA3.1-GFP w/o ATTTAプラスミド：GFP F-Hind III およびGFP cloning Rプライマーを用いてpcDNA3.1-GFPプラスミドからPCRによりGFPオープンリーディングフレームを含むDNA断片を増幅した。PCR産物をHind III とKpn I で切断し、pcDNA3.1-Myc/HIS (A) プラスミド (Thermo Fisher Scientific) にサブクローニングした。GFP-p27 3'UTR 1-360 およびGFP-p27 3' UTR 1-830プラスミド：CDKN1B 3'UTR領域1-360ntおよび1-830ntのDNA断片を、それぞれp27 3' cloning for Kpnおよびp27 3'cloning 360 rev Kpn プライマー、もしくはp27 3'cloning for Kpnおよびp27 3' cloning 830 rev Kpnプライマーを用いてHeLa S3細胞ゲノムDNAからPCRによって増幅した。PCR産物をKpn I で切断し、pcDNA3.1-GFP w/o ATTTAプラスミドにサブクローニングした。

#### 5. Statistical Analysis

統計解析にはR Commanderを使用した。統計学的有意差の決定にはOne-way ANOVA with Tukey's multiple comparison testを用いた。p<0.05を統計学的に有意とした

### 【結果】

p27をコードするCDKN1BのmRNA量を測定したところ、SSA処理により増加することが判明した。次に、GFP遺伝子とCDKN1B遺伝子のプロ

モーター領域を組み込んだレポーター遺伝子を作成し、SSAがCDKN1Bの転写に与える影響を解析したところ、転写の活性化は認められなかった。さらに、CDKN1B mRNAの安定性を調べたところ、SSA処理によりCDKN1B mRNAが安定化することがわかった。CDKN1B mRNAの安定性に寄与する領域の特定のために、各種レポーター遺伝子を用いた実験を行った結果、3'UTRのうち最初の360ntがSSAによるCDKN1B mRNAの安定化に寄与していることが判明した。

#### [考察]

SSAは細胞周期を停止させ抗腫瘍活性を発揮するが、その詳細な分子機構は依然として不明なことも多い。3'UTRを介したmRNAの安定化には、マイクロRNAが関与していることが知られている。今後

は、マイクロRNAとその関連タンパクであるGW182やAGOの関与、そしてSSA処理により生じる、イントロンを含んだpre-mRNAの翻訳産物の関与について探索を進めていきたい。

#### [成果公表]

論文発表

1. Kaida D, Shida K. Spliceostatin A stabilizes CDKN1B mRNA through the 3' UTR Biochemical and Biophysical Research Communications 608 (2022) 39-44

学会発表

1. 志田健太, 甲斐田大輔. スプライソスタチンAは3' UTRを介してCDKN1B mRNAを安定化する. 日本生化学会北陸支部第40回大会, 2022.6.4, 富山

## 機械学習を用いた新型コロナウイルス感染症診断支援プログラムの開発

新井 映美 感染症学講座 (指導教員: 山本 善裕教授)

#### [はじめに]

現在主流となっている新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の検査には、抗原検査とPCR検査の二種類がある。PCR検査は、結果が出るまでに時間がかかり夜間休日の対応として抗原検査に頼らざるを得ないという側面がある。一方、抗原検査ではPCR検査に比べ感度が低く無症状者などは偽陰性となる場合もある。そこでPCR検査を優先して行うべき患者を選択するため、機械学習のアルゴリズムを用いてSARS-CoV-2 PCR陽性を予測するためのプログラムを検討した。

#### [材料および方法]

対象は2020年4月~10月の間にCOVID-19が疑われ、当院にてSARS-CoV-2 PCR検査を受けた患者92例である。

予測に用いた特徴量は1) 年齢 2) 性別 3) COVID-19患者との接触歴 4) 体温 5) SpO<sub>2</sub> 6) 咳嗽 7) 頭痛 8) 鼻汁 9) 嗅覚障害 10) 味覚障害 11) 白血球数 (減少/正常/増加) 12) リンパ球数 (1200/ $\mu$ L以上/800~1200/ $\mu$ L未満/800/ $\mu$ L以下) 13) LD (正常/上昇) 14) CRP (正常/正常~10mg/dL未満/10mg/dL以上) 15) 胸部CTでのすりガラス影の有無 16) 富山県におけるCOVID-19平

均新規患者発生数17) 富山県におけるCOVID-19新規患者発生速度とした。予測目標はPCR検査陽性確率とし、特徴量からFilter法とExhaustive Search (総当たり法) により、重要特徴量を選択しRandom forestを用いた機械学習モデルを検討した。モデルの性能は、混合行列を用いた予測精度およびROC曲線のArea Under the Curve (AUC) で評価した。

#### [結果]

対象患者は陽性59例、陰性33例の合計92例であり、陽性者の76%、陰性者の73%に胸部CTにてすりガラス影を認めた。予測に用いた特徴量のうち、接触歴、咳嗽、白血球数増加なし、CRP正常~10、新規患者発生数、新規患者発生速度、年齢、発熱という8つの特徴量が選択された。この8つの特徴量の中でより最適な組み合わせとして選択されたのは、接触歴あり、咳嗽あり、白血球数増加なし、新規患者発生数、新規患者発生速度という5つの特徴量となった。ROC曲線を用いてモデルの性能を検証した結果、感度95%、特異度88%、AUC 0.94と非常に高い精度で予測可能であった。また陽性的中率、陰性的中率はそれぞれ93.3%、90.6%とともに90%以上であり、混合行列においてもAIによる予測

と実際のPCRの結果が合致したのは合わせて92.4%となった。

#### [考察]

中国における905人の患者の臨床情報とCT所見をもとにしたAI研究においては、重要な特徴量は年齢、接触歴、白血球数増加なし、咳嗽であり、このうち3つは当院における解析と一致していた。本検討では富山県における新規患者発生数と発生速度を特徴量に加えており、地域における新規患者発生数、発生速度を加えることで、より高い精度で予測可能となると考えられる。この学習モデルを有効に

使用することによりPCR検査の施行を考慮するか否かの補助的指標になると考える。

#### [成果公表]

新井映美, 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, 酒巻一平, 山本善裕. 機械学習を用いた新型コロナウイルス感染症診断支援プログラムの開発. 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, 5-7, 福岡

## 富山大学附属病院におけるがんゲノム医療

貝原 毅 富山大学附属病院臨床腫瘍部 (指導教員: 林 龍二教授)

#### [はじめに]

2019年6月より日本でのがんゲノムプロファイリング検査 (以下, パネル検査) が保険適応となり, 日本のがんゲノム医療が本格的に始まった。同年9月に富山大学附属病院ががんゲノム医療拠点病院に指定され, 10月に保険適応のパネル検査が開始された。パネル検査の日常診療における有用性の分析を目的として, 当院での実績を調査した。

#### [材料および方法]

2019年10月から2021年8月の間にパネル検査をした173人の患者を対象とした。患者情報は診療録とエキスパートパネルレポートから抽出された。患者の人口統計, 原発巣, 遺伝子の変化, および, エクスパートパネルで推奨された国内承認薬 (適応内および適応外)・治験について分析した。

#### [結果]

173名のうち, 男性は95名 (55%), 女性は78名 (45%) であった。年齢の中央値は65歳, 範囲は2-84歳であった。Performance Statusは0が49名 (28%), 1が103名 (60%), 2が15名 (9%), 3が4名 (2%), 詳細不明が2名 (1%) であった。パネル検査はFoundationOneが142名 (82%), NCCオンコパネルが31名 (18%) であった。

173名中4名は検体不良のためパネル検査が中止となった。エキスパートパネルを開催した169名のうち最も多かったがん種は膵臓癌 (n=31, 18%)

であった。パネル検査で検出された遺伝子変異は多い順にTP53 (n=103, 61%), KRAS (n=57, 34%), CDKN2A (n=35, 21%), CDKN2B (n=29, 17%), APC (n=27, 16%) であった。TP53は多くのがん種で変異が検出された。KRASは膵臓癌, 大腸癌で高頻度に検出された。KRAS変異様式の多くはG12D (n=19, 33.3%), G12V (n=14, 24.6%) であった。APCは大腸癌で高頻度に検出された。一方, がん種別では, 膵臓癌でKRAS (n=27, 87.1%), TP53 (n=24, 77.4%) の遺伝子変異が多く検出された。膵臓癌でSMAD4の変異は2例 (6.5%) で検出された。膵臓癌のKRASの変異様式の多くはG12D, G12Vであった。大腸癌でAPC (n=16, 88.9%), TP53 (n=16, 88.9%), KRAS (n=15, 83.3%), NRAS (n=14, 77.8%) の変異が多く検出された。小細胞肺癌 (n=5) ではすべての症例でTP53の変異が検出された。RB1の変異は2例 (40.0%) で検出された。

エキスパートパネルを開催した169例のうち, エクスパートパネルの推奨は国内治験が75例 (44.4%), 適応内国内承認薬は27例 (16.0%), 適応外国内承認薬は37例 (21.9%) だった。実際にエキスパートパネルに基づく標的治療につながった症例は, 国内治験3例 (1.8%), 適応内国内承認薬11例 (6.5%), 適応外国内承認薬3例 (1.8%) だった。79例 (46.7%) はエキスパートパネル後に標準治療が行われ, 64例 (37.8%) はBest supportive careもしくはその後の治療不明であった。エキスパートパ

ネル時に死亡していた症例が9例(5.3%)あった。また、エキスパートパネルで推奨された群ではエキスパートパネル後の治療が94例中78例(83.0%)でされたのに対し、推奨薬が提示されなかった群ではエキスパートパネル後の治療は75例中18例(24.0%)にとどまった。

#### [考察]

パネル検査を施行したがん種や検出された遺伝子変異の頻度は、C-CAT統計と類似であった。推奨薬の提示された患者のエキスパートパネル後の治療率が高いことから、エキスパートパネルの結果が治療の方針に影響した可能性がある。エキスパートパネル時に死亡例があることからパネル検査の実施時期について更なる検討が必要だと考えられる。

#### [結語]

パネル検査を施行したがん種の内訳で膵臓癌が最

も多く、大腸癌が2番目に多かった。最も多い遺伝子変異はTP53であった。エキスパートパネルを開催した169例のうち94例(55.6%)で推奨薬(治験、適応内薬、適応外薬)が提示された。推奨薬が提示された症例94例のうち、パネル検査に基づいた標的治療につながったものは17例(18.0%)であった。エキスパートパネルで推奨薬が提示された患者は推奨薬が提示されなかった患者に比べてエキスパートパネル後の治療率が高かった。

#### [成果公表]

学会発表

貝原毅, 林龍二, 梶浦新也, 三輪敏郎, 元尾伊織, 松本正大, 金城柁也, 渡辺そら. 富山大学附属病院におけるがんゲノム医療. 第119回日本内科学会講演会 医学生・研修医の日本内科学会ことはじめ. 2022,4,16, 京都.

## 眼窩下壁骨折手術前後における衝動性眼球運動の検討

金澤 優伸 眼科学講座(指導教員:掛上 謙, 三原 美晴講師, 柚木 達也講師, 林 篤志教授)

#### [はじめに]

衝動性眼球運動(サッケード)は、眼球を見たいものに対し素早く移動させる運動で、眼球運動の中でも重要な役割を担う。眼窩壁骨折は眼窩下壁及び内側壁に多く見られ、鈍的外傷によって生じ、眼窩内組織の嵌頓により眼球運動機能障害や複視を引き起こす。

これまで眼窩壁骨折患者に対する眼球運動の客観的評価は、一般的にHess赤緑試験や両眼単一視野(BVF)で行われてきた。これらの検査は受傷眼と非受傷眼の眼位差を評価するもので、静的な指標である可動域はわかるが、眼球運動の速さや滑らかさ等の動的な指標はわからない。

近年開発された視線追跡装置(アイトラッカー)は、近赤外線LEDとカメラを用い画面上の動くターゲットを眼だけで追ってもらうことで、非侵襲的かつ簡便に、高い時間的・空間的解像度で眼球運動の動いている様子を記録できる。

本研究では、眼窩下壁骨折患者の術前・術後の眼球運動をHess赤緑試験やBVFに加え、アイトラッカーを用いて評価した。

#### [材料および方法]

本研究は富山大学附属病院倫理審査委員会で承認され、ヘルシンキ宣言に準拠した。対象とした眼窩下壁骨折患者9名は全例、2019年5月から2020年3月までの期間に富山大学病院で1人の眼科専門医によって眼窩下壁骨折の診断、手術を受けた。術後3か月以上経過観察され、術前、術後1か月、及び最終フォローアップ時に各検査が行われた。

Hess赤緑試験(HE-183)(東京、はんだや)は測定結果からHess area ratio(HAR%;非受傷眼側に対する受傷眼側の可動域面積の割合)を算出し、Goldmann視野計(MK-70ST)(東京、イナミ)を用いたBVFの結果はFitzsimons R.ら考案の図を用いて59点満点でスコア化した。

アイトラッカー(ViewPoint EyeTracker®)(Arrington Research, Scottsdale, AZ, USA)の記録から1次サッケードのみを分析した。先行研究を参考に1次サッケードの開始は眼球速度が $10^{\circ}/s$ を超えた時間、終了は眼球速度が $0^{\circ}/s$ を下回った時間、1次サッケード中の眼球位置の1次微分値から得られた速度の最大値を最大速度(PV)と定義した。各患者、各眼の1次サッケード3回の試行の

PVの平均を結果として算出した。

すべての統計解析はJMP 14ソフトウェア (SAS, Cary, NC) を用いて行い、 $p$ 値 $<0.05$ を有意とした。手術前後のHAR%, BVF及びPVは、マン・ホイットニーのU検定を用いて比較した。

#### 【結果】

眼窩下壁骨折患者9名は平均 $30.9 \pm 16.1$ 歳 (16~55歳) の男性5名, 女性4名であった。受傷から手術までの平均日数は $14.7 \pm 9.4$ 日 (0~29日), 手術から最終フォローアップ時までの平均経過観察期間は $4.8 \pm 1.4$ か月 (3.2~6.7か月) で, 全例で複視を自覚していた。

術前, 術後1か月, 術後最終フォローアップ時のHAR%はそれぞれ $62 \pm 6\%$ ,  $83 \pm 11\%$ ,  $91 \pm 8\%$ であった。術後1か月と術後最終フォローアップ時のHAR%は, 術前と比較して有意な改善が見られた (それぞれ $p=0.0171$ ,  $p=0.0020$ )。

術前, 術後1か月, 術後最終フォローアップ時のBVFスコアは, それぞれ $34 \pm 18$ 点,  $46 \pm 8$ 点,  $50 \pm 8$ 点であった。最終フォローアップ時のBVFスコアは, 術前と比較して有意な改善が見られた ( $p=0.0036$ )。

手術前後で内転, 外転, 下転のサッケードPVは, 非受傷眼, 受傷眼ともに有意差はなかったが, 術後1か月および術後最終観察時の上転のサッケードPVは, 術前と比較して受傷眼で有意に増加した (それぞれ $p=0.016$ ,  $p=0.047$ )。

#### 【考察】

本研究では眼窩下壁骨折患者全例で, 術後にHAR%, BVFスコアが有意に改善した。HAR%が65%以下では重度の複視を自覚する一方, 85%以上になると, 日常生活で複視をほとんど意識しなくなるという報告があり, 今回も術後の良好な改善を確認した。また, BVFスコアは眼窩壁骨折による複視の手術前後での改善度の客観的評価法として有用

とする報告もある。したがって, 本研究では全例で眼球運動の改善が得られたと結論づけた。

アイトラッカーを用いたサッケードPVの測定により動的な眼球運動の評価が可能であると報告されている。しかし我々の知る限り, 眼窩下壁骨折患者における手術前後のサッケードを詳細に評価した報告はない。本研究において, 術後, 患者の上転サッケードでPVが有意に増加することが明らかになった。この結果より, 眼窩下壁骨折で上顎洞等に嵌頓した眼窩内組織の出血や浮腫により上転のサッケードPVが障害され, 術後の眼球運動の改善とともに改善されたことが推測される。

しかし, 本研究は症例数が少なく, 年齢や手術時期, 眼窩壁の損傷部位や程度などにばらつきがあったため, 骨折の範囲, 眼窩組織の脱出量, 手術方法やインプラントの違いなどを検討し, さらなる類似症例の集積が必要である。また, サッケードPVが正常化するまでの長期間の経過観察や自然経過例との比較も必要である。

有用性を評価するためのさらなる研究が必要であるが, アイトラッカーを用いたサッケードPVの測定は眼窩下壁骨折患者の機械的制限や損傷などの外眼筋機能を詳細に評価することを可能とすると考え

#### 【成果公表】

##### 【学会発表】

金澤優伸, 掛上 謙, 三原美晴, 柚木達也, 林 篤志. 眼窩壁骨折術前後における眼球運動サッケードの検討. 第82回富山眼科集談会; 2020.11.15; 富山

##### 【論文】

Takeue K., Kanazawa M., Yunoki T., Mihara M., and Hayashi A.: Evaluation of saccadic velocity inpatients with orbital floor fracture before and after surgery. *Semin Ophthalmol.* 2022; 37 (4): 491-495.

## ヒトノロウイルス様粒子を用いた高感度細胞侵入系の開発

関口 和樹 微生物学講座 (指導教員: 谷 英樹前准教授, 木村 美幸前助教授, 森永 芳智教授)

#### 【はじめに】

現在までヒトノロウイルスを容易に増殖させることができる細胞培養系は確立しておらず, これが抗

ウイルス薬やワクチン等の開発に大きな障害となっている。一方で, ヒトノロウイルスは以前からカプシドタンパク質を細胞内に発現させると, ウイルス

様粒子 (VLP) を形成することが知られており、細胞培養上清から大量にVLPを回収する技術が確立されている。本研究では、近年開発されたナノルシフェラーゼの断片であるLgBiTとその対応ペプチドタグであるHiBiTの親和活性による新規発光タグシステムを応用して、HiBiTタグを連結したヒトノロウイルスVLP (NoVLP-HiBiT) が、LgBiTを発現する細胞に結合・侵入すると、ナノルシフェラーゼの活性として検出できるシステムを構築した。

### [材料および方法]

ヒトノロウイルスGII 4株のカプシド遺伝子のC末端にHiBiTタグを挿入した組換えバキュロウイルスを構築し、昆虫細胞内でヒトノロウイルスVLPを作製した。ウエスタンブロット法および電子顕微鏡にて精製したNoVLP-HiBiTを確認した。次にLgBiTを発現する種々の細胞株を作製し、NoVLP-HiBiTの細胞への侵入感受性について検討した。また、細胞への取り込みが特異的なものであるかを検証するため、侵入飽和量や競合阻害についての解析も行なった。その他、低pH処理や熱処理したVLPでの侵入特異性についても解析した。

### [結果]

#### I. NoVLP-HiBiTの確認

Bac-to-Bacバキュロウイルス発現系を用いて、HiBiTタグを付加したNoVLP-HiBiTとHiBiTタグを付加していないNoVLPを作製した。抗ノロウイルスGII 4カプシド抗体を用いたウエスタンブロットティングでは、HiBiTタグの有無に関係なく、ヒトノロウイルスGII 4カプシドに一致したバンドが検出された。また、HiBiTタグはHiBiTブロットティングシステムによりNoVLP-HiBiTでのみ検出され、その分子量はヒトノロウイルスGII 4カプシドとほぼ同じ大きさであった。これらの結果から、NoVLP-HiBiTはHiBiTタグを付加していないNoVLPと同量に産生されることがわかった。電子顕微鏡によるVLPの観察でも、NoVLP-HiBiTはHiBiTタグを付加していないNoVLPと同様の形態をしていることがわかった。

#### II. NoVLPの種々の細胞株への侵入性

LgBiTを発現する種々の細胞株でのNoVLP-HiBiTの侵入性を検討した。NoVLP-HiBiTをLgBiT発現細胞株に4℃条件で加えた後、30分間氷上静置させることでVLPが細胞表面に吸着した状態を設定した。37度に昇温し培養開始した時点から時間測定を開始し、細胞透過性基質の存在下でHiBiT-LgBiT複合体のナノルシフェラーゼ活性を一定時間

おきに測定した。測定開始から15分経過した時点で活性は最大になり、以降の時間には活性は減少していくことが明らかになった。各種細胞株において、NoVLP-HiBiTの侵入感受性を比較すると、腸管上皮細胞株であるCaCO-2において最も高い侵入感受性があることがわかった。

#### III. NoVLPの侵入飽和量の解析

NoVLP-HiBiTの侵入飽和量の関係を検討した。ナノルシフェラーゼ活性は用量依存的に増加し、10μLで飽和したことから、NoVLPの細胞特異的な侵入を示唆していた。

#### IV. NoVLPの競合阻害の解析

NoVLP-HiBiTに対して、10倍または100倍量のHiBiTタグを付加していないNoVLPを添加し、基質添加後15分でのナノルシフェラーゼ活性を測定してNoVLP-HiBiTの侵入を評価した。その結果、10倍および100倍のHiBiTタグを付加していないNoVLPの存在下で、それぞれ40%および20%にまで競合的に活性が低下した。この結果は、NoVLPの細胞特異的な取り込みを示唆していた。

#### V. 低pH処理および加熱処理が細胞侵入に与える影響

NoVLP-HiBiTを指定の低pHに調整した緩衝液で2分間処理し、氷上で細胞に添加した。そして、基質を添加してから15分後のナノルシフェラーゼ活性を測定することで、NoVLP-HiBiTの細胞への侵入を検討した。その結果、pH3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0に調整した緩衝液で処理しても活性に有意差は認められなかったことから、NoVLPは酸性条件で構造が維持されることが示唆された。次に、熱処理後のNoVLP-HiBiTの侵入感受性についても検討した。その結果、65℃で5分以上加熱することで活性は減少傾向を示し、75℃で5分以上加熱すると活性は99%減少した。これは75℃以上の熱処理によってNoVLPの構造が破壊されることを示唆していた。

### [考察]

本研究において、NoVLP-HiBiTとLgBiT発現細胞株でナノルシフェラーゼ活性を指標にしたヒトノロウイルスにおける高感度細胞侵入系を開発することができた。細胞株での感染感受性やVLPの性状もこのシステムにおいて解析できることがわかり、今後、細胞侵入阻害薬の探索などに応用できると考えられる。

### [成果公表]

国内学会

関口和樹, 木村美幸, 森永芳智, 牛島廣治, 谷英樹:

ヒトノロウイルス様粒子を用いた高感度細胞侵入系の開発 第68回日本ウイルス学会学術集会, 2021.11. 16-18 神戸.  
論文  
Kimura M, Sekiguchi K, Okitsu S, Ushijima H,

Tani H. A highly quantitative detection system for cell entry of human norovirus-like particles based on the complementation of NanoLuc luciferase. *Virology*. 573: 23-28, 2022.

## 大腸がん特性への亜鉛トランスポーター ZIP7の関与

仙田 幸音 病理診断学講座 (指導教員: 大橋 若奈先生, 井村 穰二前教授, 平林 健一教授)

### [はじめに]

亜鉛は人体に必要な不可欠な必須微量元素である。食事から摂取した亜鉛は、主に小腸上部にて吸収上皮細胞によって取り込まれ、タンパク質の立体構造形成や酵素活性などに機能する。亜鉛トランスポーターは、輸送の方向性により2つのファミリーに分類され、細胞外または細胞内小器官から細胞質への亜鉛の輸送を担うSLC39A/ZIPトランスポーター、細胞質から細胞外へまたは細胞内小器官への亜鉛の輸送を行うSLC30A/ZnTである。ZIPトランスポーターは、哺乳類では14種類が同定されており、その一つであるZIP7は小胞体に局在する亜鉛トランスポーターで、小胞体内から細胞質への亜鉛の輸送を媒介している。これまでの研究の結果、小腸上皮細胞において、ZIP7は特に、腸陰窩に存在する腸管上皮幹細胞の維持と幹細胞から生み出される一過性増殖 (Transit-amplifying, TA) 細胞の増殖に必須であり、腸管の恒常性維持に重要な役割を担っているということが明らかになった。さらに近年、いくつかの癌腫において、血清中及び腫瘍組織中の亜鉛濃度や亜鉛トランスポーターの発現に変動が見られ、亜鉛の動態と癌の関わりを示唆する報告もみられる。これまでに実施した大腸癌と亜鉛トランスポーター ZIP7の関わりについての研究では、大腸癌細胞においてZIP7の発現を抑制すると、細胞増殖能が低下すること、アポトーシスが誘発されること、腫瘍形成能が低下することを発見した。一方で、ZIP7の発現が亢進した際の癌細胞機能における影響は不明である。そこで、本研究では、ZIP7を過剰発現する癌細胞株を樹立し、ZIP7の過剰発現が癌細胞の移動、浸潤能にどのような変化があるのかを検証した。同時にこれらの性質に影響を与えるシグナル分子の探索を行った。

### [材料および方法]

#### I. レンチウイルス法によるZIP7過剰発現株の樹立

実験には大腸癌細胞株HCT116, SW480を用いた。ヒトZIP7ORF領域を挿入したCSII-CMV-MCS (理研BRC) をpCAG-HVpg, pCMV-VSV-G-RSG-Rev (共に理研BRC) と共にLenti-293T細胞にトランスフェクションして得たZIP7過剰発現レンチウイルスを含む上清を目的細胞に添加後、プラスチジン共存下で培養しウイルス感染細胞を選択し、ZIP7過剰発現細胞を得た。ヒトZIP7ORF領域を持たないCSII-CMV-MCSを用いて作製したウイルスを感染させ、プラスチジンによる薬剤選択によりコントロール細胞を得た。本研究ではMock細胞と呼ぶ。

#### II. トランズウェル法による細胞移動能・浸潤能の評価

##### (a). Migration assay

Transwell 24well Plateのinsert chamberにMock細胞または、ZIP7過剰発現細胞をそれぞれ1wellあたり $1 \times 10^5$ 細胞を播種した。24時間の培養の後、メンブレン下面の細胞を固定、2%クリスタルバイオレット溶液で染色し、顕微鏡下で移動細胞の数をカウントした。

##### (b). Invasion assay

25%マトリゲル基底膜マトリクスをTranswell 24well Plateのinsert chamberに加え、その上にMock細胞、またはZIP7過剰発現細胞をそれぞれ1wellあたり $1 \times 10^5$ 細胞を播種し、Migration assayと同様に24時間の培養を行い、顕微鏡下でメンブレン下に浸潤した細胞の数をカウントした。

#### III. ウェスタンブロット法によるタンパク質発現の評価

Mock細胞株、ZIP7過剰発現株をLysis-Mを用いて溶解し蛋白質を抽出、BCA法により蛋白質濃度



を測定した。SDS-PAGEによる分離とPVDF膜へのブロットングを行い、ブロッキングの後、各種一次抗体との反応後、一次抗体に対応するHRP付き二次抗体と反応させた。膜を洗浄後、化学発光法により目的タンパク質バンドを可視化し発現量を定性的に検出した。今回は細胞の増殖や生存、運動性と関連のあるAkt, m-TOR系について評価した。

### [結果]

#### I. レンチウイルス法によるZIP7過剰発現株の樹立

ウエスタンブロット法を用いて、ZIP7のタンパク発現量を検証した。その結果、Mock細胞と比較しZIP7過剰発現細胞ではZIP7に相当する50kDaのバンドが濃く検出されており、ZIP7の発現が増加していることが分かった。したがってレンチウイルス法によりZIP7過剰発現株を樹立されたことが分かった。

#### II. トランズウェル法による細胞移動能・浸潤能の評価

Migration assayの結果、ZIP7を過剰発現させたSW480・HCT116株では、Mock細胞と比較してメンブレン下に検出される細胞数が有意に上昇していた。Invasion assayにおいても同様に、ZIP7過剰発現細胞では、Mock細胞に比べてメンブレン下に検出される細胞数が顕著に増加した。以上の結果から、ZIP7の過剰発現によりこれらの細胞株の移動と浸潤能を亢進することが示唆された。

#### III. ウエスタンブロット法によるAkt/mTORシグナル活性の評価

ZIP7過剰発現のAkt, m-TORシグナル活性への影響をAktのセリン473残基のリン酸化状態およびmTORのSer2448残基のリン酸化状態を指標とし、ウエスタンブロット法により検証した。その結果、SW480・HCT116株において、ZIP7過剰発現株ではMock細胞と比較して、Akt Ser473及びmTOR Ser2448リン酸化タンパクのバンドが濃く検出され、Akt, mTORのリン酸化レベルの上昇を認めた。このことから、ZIP7過剰発現株ではAkt, m-TORシグナルの活性が亢進していることが考えられる。

### [考察]

これまで、ZIP7のノックダウン・過剰発現株を用いて行った検証結果では、ZIP7をノックダウンすることで腫瘍形成能が低下することを見出している。本研究では、ZIP7の発現亢進ががん細胞機能に与える影響を解析し、ZIP7の過剰発現により腫瘍の移動・浸潤能が亢進することを明らかにした。このことからZIP7の発現抑制が腫瘍形成能を低下させるのみならず、ZIP7の発現の高まりは癌細胞の悪性度を増悪することが示唆される。すなわち、大腸癌とZIP7の発現は相関関係にあることが考えられる。そしてタンパク発現解析の結果からは、ZIP7は大腸癌においてAkt-mTORシグナルの活性化を介して、細胞の増殖や移動能といった腫瘍特性を制御していることが示唆される。以上より、ZIP7制御を介したAkt-mTORシグナルの阻害は大腸癌治療の新たなターゲットとなる可能性がある。

### [成果公表]

1. 仙田幸音, 大橋若奈, サイリシパリキヒ, 住吉紗代子, 井村穰二. 大腸腫瘍における亜鉛トランスポーター ZIP7の発現意義の検討. 第109回日本病理学会総会. 2020.4. 16-18. 福岡
2. 大橋若奈, 仙田幸音, 洞口龍介, 井村穰二. 大腸がんの腫瘍形成に関わる亜鉛トランスポーター ZIP7. 第142回日本薬理学会関東部会. 2020.6.6. オンライン
3. 仙田幸音, 大橋若奈, 洞口龍介, 井村穰二. 亜鉛トランスポーター ZIP7によるがん細胞形質の悪性化. 第38回日本生化学会北陸支部大会. 2020.6.13. 石川
4. 仙田幸音, 大橋若奈, 洞口龍介, 井村穰二. 腫瘍形成における亜鉛トランスポーターの機能. 第93回日本生化学会大会. 2020.9. 14-16. オンライン
5. 仙田幸音, 大橋若奈, 洞口龍介, サイリシパリキヒ, 下村明子, 住吉紗代子, 井村穰二. 大腸癌における亜鉛トランスポーター ZIP7と腫瘍性質との関わり. 第66回日本病理学会秋期特別総会. 2020.11. 12-13. 静岡

## 漢方エキスが腸内嫌気性菌の増殖に与える影響

竹島 彩花 微生物学講座（指導教員：森永 芳智教授）

### 【はじめに】

漢方方剤は、少なくとも2種類以上の複数の生薬の組み合わせからなる複雑な多成分系製剤であり、生薬から抽出した有効成分には生薬由来化合物として特定されているものもある。近年、腸内細菌叢と宿主の健康や疾患との関係性についての理解が少しずつ深まってきており、漢方の有効性の背景にも細菌叢の影響が関係している可能性があると言われており、生薬には植物由来もの以外にも鉱物や動物に由来するものもあり、漢方方剤の多くが経口的に摂取された後、宿主と腸内細菌やそれらが産生する酵素による代謝を受け薬効を示すと考えられるが、腸内細菌叢や腸管内に常在する嫌気性菌への影響は明らかになっていない。そこで、生薬由来化合物、生薬、漢方方剤からなる漢方エキスが腸管内偏性嫌気性菌の増殖に与える影響について調べた。

### 【材料および方法】

生薬由来化合物（終濃度200  $\mu$ M）81種類、生薬エキス（終濃度200  $\mu$ M）123種類、漢方方剤エキス（終濃度200  $\mu$ g/mL）42種類を含む256種類の漢方エキスライブラリとbrain heart infusionベースの液体培地（BHI液体培地）で定常期まで培養した *Akkermansia muciniphila* JCM33894, *Bacteroides intestinalis* JCM13265, *Bacteroides uniformis* JCM5828, *Clostridium scindens* JCM6567, *Clostridium butyricum* JCM1391, *Clostridium intestinale* JCM7506の6菌種の腸管内偏性嫌気性菌を用いた。20  $\mu$ Lずつ漢方エキスを分注した384ウェルプレートに4倍希釈したBHI液体培地（終濃度8倍希釈）で調整した菌液20  $\mu$ Lを加え、37°C、嫌気条件下で培養した。48時間後の6菌種の増殖を吸光度（OD600）で評価し、結果をもとにヒートマップを作成した。

### 【結果】

生薬由来化合物スクリーニングの結果、全6菌種で増殖抑制効果を示した3種類の化合物のうち、2種類の化合物構造中には塩基性窒素をもつalkaroid類に分類された。また、促進した13種類の化合物のうち2種類はcoumarin類、3種類はlignan類に分類され、これらの5種類は共通してphenylalanine構

造を含んでいた。その他、共通してphenol構造を含む4種類の化合物のうち2種類がphenol類、2種類がpolyphenol類に分類された。生薬レベルでは、計24種類の生薬において6菌種すべてで増殖促進を示したが、増殖抑制を示したのは黄連の1種類のみであった。漢方方剤においては、葛根湯をはじめとした9種類で増殖促進を示した一方で、増殖抑制を示す漢方方剤は今回のスクリーニング実験において見つからなかった。

漢方方剤と構成生薬の関係性について、桂皮、芍薬、大棗、甘草、生姜を一定の割合で混合し作られる桂枝湯と桂枝湯に葛根、麻黄を加えた葛根湯は、含まれる構成生薬の割合は異なるものの6菌種すべてで類似した細菌増殖効果を示した。また同様に、共通する構成生薬として黄耆、地黄、芍薬、蒼朮、当帰、川芎、甘草、人参を含み、それに杜仲、防風、羌活、牛膝、大棗、乾姜、附子末を加えた大防風湯と桂皮、芍薬、茯苓を加えた十全大補湯も含まれる構成生薬の割合は異なるものの6菌種すべてで類似した細胞増殖効果を示した。

### 【考察】

6菌種の増殖の促進を示す化合物には、それぞれ共通した構造が確認され、特定の構造が腸管内偏性嫌気性菌の増殖に必要な物質に代謝されたのち、代謝産物が利用されていると考えられた。また、特定の構造を持つ化合物やその代謝産物によって培地の環境が還元されたため、酸化環境では生存できない腸管内偏性嫌気性菌の増殖につながった可能性も考えられる。6菌種の増殖の抑制を示したalkaroid類の化合物は、生存環境である液体培地を酸化する作用を持つ可能性やalkaroid類が重合し菌体に孔をあけることで細菌の増殖を妨げている可能性があると考えられた。以上より、細菌の増殖の促進ならびに抑制を示す化合物が持つ特定の構造が化合物の有効性に繋がっている可能性が考えられた。

生薬には生薬由来化合物として特定されているもの以外にも多くの有効成分を含みそれらが相互作用することで生薬の有効性を示すため、生薬由来化合物とそれに対応する生薬の間では増殖効果に明らかな相関は見られなかったと考えられる。一方で、構成生薬が近縁である漢方方剤であるほど細菌増殖に

において類似した傾向が見られており、漢方方剤においてそれを構成する生薬による影響は大きいと考えられた。生薬由来化合物、生薬、漢方方剤などの漢方エキスにより、腸内環境において嫌気性菌のバランスが変わると考えられ、腸内細菌叢を介した作用が薬効に影響している可能性も考えられた。

#### [成果公表]

竹島彩花, 森永芳智. 漢方エキスによる腸内嫌気性菌に与える影響. 第65回日本感染症学会中日本地方会学術集会. 2022,11, 3-5, 長崎

## 大脳皮質神経細胞の電気刺激による*Ptprd*遺伝子マイクロエクソンの選択的スプライシング調節

出村 舞奈 分子神経科学講座 (指導教員: 吉田 知之准教授, 森 寿教授)

#### [はじめに]

脳神経回路はシナプスの活動依存的な再編により機能的に成熟すると考えられているが、その分子機構は充分には解明されていない。受容体チロシン脱リン酸化酵素PTP $\delta$  (遺伝子名は*Ptprd*) はシナプス前部に発現する細胞間接着タンパク質であり、シナプス後細胞のリガンドと結合することにより、シナプスの分化を誘導する。PTP $\delta$ は、細胞外に3つの免疫グロブリン様 (Ig) ドメインと4つのフィブロネクチン (FN) ドメインを有し、1つの膜貫通ヘリックス、さらに細胞内領域に2つのチロシン脱リン酸化酵素 (PTP) ドメインを有する。これまでの研究から、発達期のマウスの脳では、Igドメイン内に挿入される3つのマイクロエクソン (meA3, meA6, meB) 由来ペプチドの取舍選択による、少なくとも8つのスプライスバリエントが発現することが判明している。また、3つのペプチドの挿入の有無と組合せによって、シナプス後部リガンドとの結合選択性と誘導されるシナプスの性質が決定される。そこで、本研究では*Ptprd*のマイクロエクソン (meA3, meA6, meB) の選択的スプライシングが神経活動によって制御されることによってシナプスの再編が誘導されると仮定した。この仮説を検証するため、マウス大脳皮質培養神経細胞にヒト胎児で観察される脳波パターンを模した電気刺激を与え、*Ptprd*の選択的スプライシングが調節を受けるか否かを調べた。

#### [研究方法]

##### I. 培養神経細胞への電気刺激およびKCl処理

マウス大脳皮質初代培養神経細胞に対して、2.5秒間隔で3回の $\pm 150 \mu\text{A}$ 双極性パルスを15秒ごとに繰り返し与えた。1パルスの持続時間は0.6ミリ秒とし、培養3日目 (DIV 3) からDIV 7までの4

日間この電気刺激を与えた。また、KCl刺激群ではDIV 7に50mM KClで4時間処理した。刺激終了後に遺伝子発現解析のために総RNAを採取し、ランダムプライマーを用いてcDNAを合成した。

##### II. real-time PCRによる発現解析

*Fos*および*Ptprd*の発現量はサイバークリーンを用いたreal-time PCR (Ct値) により解析した。また、*Gapdh*の発現量を用いてサンプル間の補正を行った。

##### III. PCRフィンガープリント法による*Ptprd*遺伝子のスプライシングパターン解析

cDNAライブラリーよりPTP $\delta$ の細胞外ドメイン全体をコードする領域をPCRで増幅し、pBluescriptベクターに挿入後に大腸菌に形質転換した。得られたコロニーに対して、3つのマイクロエクソン (meA3, meA6, およびmeB) の挿入領域を含む断片をPCRで増幅した。増幅DNA断片は、meAとmeBの挿入部位の間に位置するPst I部位において切断後に、電気泳動し、断片長よりmeA3, meA6, meBの選択パターンを決定した。200以上のコロニーにおけるマイクロエクソンの選択パターンを解析することによって、cDNAライブラリー中に含まれる*Ptprd*遺伝子の各マイクロエクソンの選択比率を算出した。

#### [結果]

##### I. *Fos*および*Ptprd*の発現量

*Fos*遺伝子は神経活動に応じて発現が誘導されることが知られている。そこで、各処理群の*Fos* mRNAの発現量をreal-time PCRで解析した。電気刺激群では対照群と比較して*Fos*の発現量が2.6倍 ( $p=0.0071$ , t-test多重比較補正) に増加していた。また、KCl処理群では46倍 ( $p=0.0035$ , t-test多重比較補正) に増加していた。一方、*Ptprd* mRNAの

発現量は、電気刺激群およびKCl処理群共に1.4倍 ( $p=0.036$ および、 $p=0.0019$ , t-test多重比較補正)に増加していた。

## II. *Ptprd*マイクロエクソンの選択比率

3つの*Ptprd*マイクロエクソンの選択比率をPCRフィンガープリントにより調べたところ、電気刺激群ではmeA6の選択比率が増加する傾向があったが ( $p=0.078$ ,  $\chi^2$ 検定), meA3およびmeBの選択比率に大きな影響はなかった。一方、KCl処理群ではmeBの選択比率が有意に減少していたが ( $p=0.048$ ,  $\chi^2$ 検定), meA3およびmeA6の選択比率に影響はなかった。

## III. *Ptprd* meBの選択的スプライシングの発達に伴う変化

DIV3, 8, 16における培養大脳皮質神経細胞のmeB含有バリエーションと非含有バリエーションの発現量を調べたところ、DIV8からDIV16の間でmeB非含有バリエーションの発現量がおよそ15倍に増加していた ( $p<0.001$ , t-test)。

### [考察]

神経活動を評価するマーカーである*Fos*の発現量は電気刺激群、KCl処理群で増加しており、その増加率は電気刺激群よりもKCl処理群の方が圧倒的に高かった。この結果から、神経活動は電気刺激およびKCl処理によって促進されることが示され、電気刺激がKCl処理よりも穏やかな神経活動を誘発する可能性も示唆された。また、*Ptprd*の発現量が電気刺激群とKCl処理群で増加していたことから、

*Ptprd*の発現は神経活動により調節を受けることが示唆された。

また、*Ptprd* meA6の選択比率は電気刺激群でのみ増加し、一方、meBの選択比率はKCl処理群でのみ有意に低下していたことから、*Ptprd*遺伝子の各マイクロエクソンは神経活動の程度に応じて異なるスプライシング調節を受ける可能性が示唆された。また、神経細胞の発達段階に応じたmeB非含有バリエーションの増加は、神経活動の上昇に伴うmeBの選択比率の低下を反映するものと考えられた。

これらの結果は、*Ptprd*の3つのマイクロエクソンの選択的スプライシングが神経活動によって異なる制御を受けており、発生過程における複雑な神経活動が*Ptprd*マイクロエクソンの選択比率を変化させ、神経回路の再編成を誘導する可能性を示唆するものであった。

### [成果公表]

学会発表

1. 出村舞奈, 今井彩子, 田端俊英, 森寿, 吉田知之. 大脳皮質神経細胞の電気刺激による*Ptprd*遺伝子の微小エクソン選択調節. 第38回生化学会北陸支部大会, 2020.5.22, 誌上開催
2. 出村舞奈, 今井彩子, 田端俊英, 森寿, 吉田知之. 大脳皮質神経細胞の電気刺激による*Ptprd*遺伝子微小エクソンの選択的スプライシング調節. 第67回中部日本生理学会, 2020.10. 16-20, Web開催

## Jurkat細胞を用いたTCR機能評価系の構築

松浦 史華 免疫学講座 (指導教員: 岸 裕幸教授, 浜名 洋先生)

### [はじめに]

近年、遺伝子解析技術の進歩により、TCR遺伝子の取得は容易となってきたが、その機能解析は容易ではない。これまでのTCRの機能解析は、T細胞の調整やウイルスベクターを用いた遺伝子導入など、煩雑な実験を必要としていた。そのため多数のTCRの抗原反応性解析は大変な作業であった。そこで、我々は汎用培養細胞株を用いて、多数のTCRの抗原特異性を迅速簡便に評価する方法の構築を進めてきた。

本研究では遺伝子改変したJurkat細胞を用いて、

迅速簡便にTCRの抗原反応性を評価する方法の構築を試みた。

### [材料および方法]

- I. CRISPR/Cas9によるJurkat  $\Delta\alpha\beta$ 細胞の構築  
Jurkat細胞にヒトCD8 $\alpha$ 遺伝子を導入し、セルソーターを用いてCD8 $\alpha$ 陽性細胞を選別した。そして、Jurkat細胞が内在性に発現しているTCRをCRISPR/Cas9でノックアウトし、Jurkat  $\Delta\alpha\beta$ CD8 $\alpha$ 細胞を作製した。
- II. Jurkat NFAT-Luciferaseレポーター細胞の構築

### 構築

NFAT-Luc 2P レポーター遺伝子および Hygromycin 耐性遺伝子を組込んだ PiggyBac ベクターを Jurkat  $\Delta\alpha\beta$ CD 8  $\alpha$  細胞にエレクトロポレーションし、Hygromycin-B でセクションすることで、Jurkat NFAT-Luciferase レポーター細胞を作製した。

### Ⅲ. PiggyBac トランスポゾン法を用いた TCR 安定発現 Jurkat レポーター細胞の構築

TCR $\alpha\beta$  遺伝子および Blasticidin 耐性遺伝子 (BlastR) を、P2A 配列で連結した TCR $\beta$ -P2A-TCR $\alpha$ -P2A-BlastR DNA を PiggyBac ベクターに組み込み、このベクターを Jurkat NFAT-Luciferase レポーター細胞へエレクトロポレーションし、Blasticidin でセクションすることで、TCR 安定発現 Jurkat レポーター細胞を作製した。

### Ⅳ. Jurkat レポーター細胞の反応性改善

1G4 TCR 安定発現 Jurkat レポーター細胞にエレクトロポレーションで一過性に CD 8  $\alpha\alpha$  あるいは CD 8  $\alpha\beta$  を過剰発現させ、Luciferase アッセイで TCR の反応性を比較した。また、CD 8 の組合せや発現量の異なる Jurkat レポーター細胞を作製し、これに 1G4 TCR の TAP fragment をエレクトロポレーションし一過性に発現させ、1G4 TCR の抗原である NY-ESO-1 ペプチドをパルスした COS 7-HLA-A 2/A24 細胞と一晩共培養し、Luciferase アッセイで反応性を比較した。

### 【結果】

I について、Jurkat  $\Delta\alpha\beta$ CD 8  $\alpha$  細胞は、セルソーターで CD 3 陰性で CD 8  $\alpha$  陽性の細胞を分取することで得られた。また、最終的な選別は、TCR $\alpha$  あるいは TCR $\beta$  のみを遺伝子導入しても CD 3 を発現せず、TCR $\alpha$ /TCR $\beta$  の導入で CD 3 を発現する株を選択した。

II について、Jurkat NFAT-Luciferase レポーター細胞の作製では、NY-ESO-1 ペプチド特異的 1G4 TCR の TAP fragment を Jurkat NFAT-Luciferase レポーター細胞にエレクトロポレーションし、HLA-A 2 を発現した COS-7 細胞と NY-ESO-1 ペプチドで刺激後 Luciferase レポーターアッセイを行った。その結果、NY-ESO-1 ペプチド特異的な反応が検出できた。

III について、TCR 安定発現 Jurkat レポーター細胞の作製では、6 種類の TCR cDNA を用いて条件を検討した。TCR を含む PiggyBac ベクターを Jurkat  $\Delta$ TCR にエレクトロポレーション後、Blasticidin-S で 15 日間セクションをすることで、6 種類の TCR それぞれについて試験的に安定発現細胞を構築し、FACS を用いて CD 3 の発現解析を行った。その結果、6 種類全てにおいて 90% 以上の割合で TCR を発現していた。

IV について、1G4 TCR 安定発現 Jurkat レポーター細胞に一過性に CD 8  $\alpha\alpha$  あるいは CD 8  $\alpha\beta$  を過剰発現させた場合では、CD 8  $\alpha\alpha$  の過剰発現がレポーター細胞の反応性を増強していた。また、Jurkat/CD 8  $\alpha\alpha$ 、Jurkat/CD 8  $\alpha\alpha$ high、Jurkat/CD 8  $\alpha\beta$  細胞に TCR を一過性に発現させ TCR の反応性を比較したところ CD 8  $\alpha\alpha$  を過剰発現させた Jurkat/CD 8  $\alpha\alpha$ high 細胞が最もよい反応性を示した。

### 【考察】

II の結果より Jurkat NFAT-Luciferase レポーター細胞を用いると TAP-Jurkat 法で TCR の機能を解析できることが確認できた。しかし、TAP fragment では TCR の発現が一過性であるため詳細な TCR の機能解析は困難であり、TCR 安定発現細胞を簡単に作製する方法が必要である。そこで行った III では PiggyBac を用いることで TCR 安定発現細胞の簡便な作製が可能であることが確認できた。また、IV の結果より Jurkat レポーター細胞の反応性改善では、CD 8  $\alpha\alpha$  の発現を高めることにより、反応性を向上させることが出来た。

このように、我々の作製した遺伝子改変 Jurkat 細胞は TCR の機能解析に有用であり、遺伝子改変 Jurkat 細胞を用いることで抗原特異的な TCR の迅速スクリーニングが可能である。また、TCR 安定発現 Jurkat 細胞は PiggyBac を用いることで簡単に構築でき、これにより TCR の詳細な機能解析が可能になる。

### 【成果公表】

松浦史華, 浜名洋, 岸裕幸. Jurkat 細胞を用いた TCR 機能評価系の構築. 第 26 回日本がん免疫学会総会. 2022, 7, 20-22, 島根.

## PDGFRシグナルはグリオーマの腫瘍血管を正常化する役割を有する

松田 未央 病態病理学講座（指導教員：山本 誠士准教授）

### 【はじめに】

膠芽細胞腫（GBM）の腫瘍血管の異常な壁構造は抗癌剤の腫瘍実質への浸透を阻んでおり、腫瘍血管の正常化による化学療法効果の改善が期待されている。我々は、血小板由来成長因子（PDGF）-BBを高発現するglioma株を作製し、PDGF受容体（*Pdgfr*） $\alpha$ 、 $\beta$ 遺伝子をノックアウト（ $\alpha$ -KO、 $\beta$ -KO、 $\alpha\beta$ -KO）したマウスの脳に移植し、腫瘍の大きさの変化、腫瘍の組織学的変化を詳細に観察した。また、薬理的なアプローチとして、*Pdgfr*遺伝子が正常な野生型マウスを対象群としたPDGFR $\alpha$ 、 $\beta$ を阻害するイマチニブを投与した実験も行った。本研究によって、腫瘍微小環境を構成する腫瘍間質細胞群、中でも血管やペリサイトがどのように腫瘍の成長に関与するのかを、PDGFRシグナルに焦点を当てて解析することを目的として研究を行った。

### 【材料および方法】

#### マウス

タモキシフェン依存的に全身性にPDGFR $\alpha$ 、PDGFR $\beta$ 遺伝子をそれぞれ単独または両方を同時にノックアウトできる $\alpha$ -KO、 $\beta$ -KO、 $\alpha\beta$ -KOを使用した。対象群として、LoxPのみを保有するマウス（Flox）を用いた。

#### 腫瘍細胞

PDGF-BBを高発現するglioma株を樹立し、脳の定位置に移植した。

#### 蛍光免疫組織学的解析

マウス脳を採取し、4%PFAで固定後にパラフィン包埋し4 $\mu$ mの切片とした。組織切片はHE染色を行い、またIgGの免疫染色を行い、通常の光学顕微鏡で観察した。さらに、血管（CD31）、ペリサイト（Desmin）、アストロサイト（GFAP）、VEGF-Aの蛍光免疫染色を行い蛍光顕微鏡で観察を行った。

#### トレーサー

Cadaverin-Alexa555を使用し、赤色蛍光で血管の漏出を評価した。

#### 阻害剤

PDGFR阻害剤としてイマチニブを使用した。また、グリオーマ治療薬としてテモゾロミドを使用した。

#### 【結果と考察】

$\alpha$ -KO、 $\beta$ -KO、 $\alpha\beta$ -KOの腫瘍サイズの検討では、 $\alpha\beta$ -KOが最も大きく、 $\alpha$ -KO、 $\beta$ -KOは同等であり、対象群のFloxが最も小さかった。 $\alpha$ -KO、 $\beta$ -KO、 $\alpha\beta$ -KOを用いた組織学的検討では、腫瘍血管径は、 $\alpha$ -KOとFloxマウスに比して $\beta$ -KOと $\alpha\beta$ -KOマウスで増大した。Floxと $\beta$ -KOマウスでみられた腫瘍血管の壁構造異常、出血および高分子（IgG）の漏出は $\alpha$ -KOと $\alpha\beta$ -KOマウスで軽減した。

抗腫瘍薬のテモゾロミド（TMZ）の腫瘍抑制効果は、Floxと $\alpha$ -KOマウスに比べて $\alpha\beta$ -KOマウスで亢進した。その理由として、Cadaverin-Alexa555の組織移行がよいこと、ペリサイトのカバーが高度であることから、腫瘍血管の正常化が示唆された。

阻害剤投与の検討では、イマチニブ単独、テモゾロミド単独投与では腫瘍の大きさも切片の腫瘍面積も同等であった。一方、イマチニブとテモゾロミドの同時投与は、驚くべきことに極度の腫瘍の縮小が観察された。

以上の結果から、PDGFR $\alpha$ 、 $\beta$ の抑制が腫瘍血管透過性の正常化と血管径の拡張による腫瘍内血液循環の改善を介して抗癌剤の腫瘍実質内への浸透を増加させたと考えられる。従って、PDGFR $\alpha$ 、 $\beta$ をターゲットとした腫瘍血管の正常化は、グリオーマ治療を成功に導く可能性を示した。

#### 【成果公表】

松田未央, 山本誠士, 奥野のり子, 濱島丈, 山内直岳, 笹原正清: PDGFRシグナルは血管正常化をベースとするglioma治療の有力なターゲットである. 第111回日本病理学会総会, 神戸, PU-52, 2022.

## 膵癌における浸潤性を制御するInterleukin-32およびその他の分子の関連性

住吉紗代子 病理診断学講座（指導教員：井村 穰二前教授，平林 健一教授）

### 【はじめに】

膵癌は他の悪性腫瘍に比べ、最も予後不良な腫瘍の代表として認知されている。膵癌の多数を占めるのが膵管上皮由来とされる腺癌の一組織型の浸潤性膵管癌である。多くの症例では腫瘍間質が線維性に富むという特徴を示している。また、膵癌の腫瘍細胞は浸潤性に長けており、この硬い微小環境でさえも容易に浸潤する特性を示すことから、この易浸潤性が膵癌の悪性度を規定する一要因だとも考えられている。我々の講座ではこれまでに、浸潤性の高いヒト膵癌細胞株を樹立し、この浸潤性を制御する分子を追ってきた。その中でもサイトカインの1つである、Interleukin-32: IL-32の発現が亢進していることを明らかにした。また、ヒト膵癌細胞に対しIL-32の発現を調節することで、腫瘍細胞の浸潤性が変化することを明らかにするだけでなく、IL-32により制御される下流の様々な分子も異なる挙動を示すことも見出してきた。その中でもIL-32によって制御を受ける可能性があるnuclear factor-kappa B: NF- $\kappa$ B系に注目し、関与する様々な分子について検討した。

### 【材料および方法】

#### 1. 材料

ヒト由来浸潤性膵管癌細胞株 (Panc-1) を材料とした。

#### 2. IL-32高発現株の作成

Panc-1にIL-32転写亢進プラスミドベクターを導入し、IL-32高発現細胞株を樹立した。

#### 3. 浸潤能測定

xCELLigence RTCA DP (スクラム) を用いて細胞の経時的浸潤性の変化を観察した。

#### 4. 細胞運動能測定

細胞を培養条件下 (10%ウシ胎児血清, 5% CO<sub>2</sub>, 37°C) で、オールインワン蛍光顕微鏡BZ-X800 (Keyence) を用いて、30分毎に、43時間タイムラプス撮影し、動画を作成後、腫瘍細胞の運動性を観察した。さらに、各種処理を施した細胞群から複数の細胞を選択し、それらの細胞の移動の軌跡を辿り、各々の細胞の移動距離の平均を求めることで運動能を測定した。

#### 5. 増殖能測定

Cell-counting Kit-8 (DOJINDO) を用いて、比色分析法にて細胞の増殖能を測定した。

#### 6. 定量的PCR

細胞株よりPureLink RNA Mini Kit (Invitrogen) を用いてTotal RNAを抽出、Transcriptor Universal cDNA Master (Roche) によりcDNAを合成した。得られたcDNAに対し、NF- $\kappa$ Bおよび関連するMatrix metalloproteinase: MMP 2, MMP10, E-Cadherinをはじめとする47種類の分子のそれぞれの領域に関して定量的PCRを行い、mRNAの相対的発現量を求めた。

#### 7. Western blotting

細胞株よりcomplete Lysis-M (Roche) を用いて蛋白を抽出、濃度を測定し、SDS-PAGEによる分離とPVDF膜へのプロットングを行い、各々の特異抗体との反応後、可視化することで発現の有無を定量的に検出した。

#### 8. NF- $\kappa$ B阻害

NF- $\kappa$ B阻害剤としてSC75741 (Selleck) をDimethyl sulfoxideに溶解した溶液を、細胞培養液中で24~48時間曝露することで、NF- $\kappa$ Bの発現を抑制させた。

### 【結果】

はじめに、IL-32を高発現させた細胞では、親株に比べ浸潤性が亢進していることを確認した。また、IL-32高発現株では運動性と増殖性が亢進していることを確認した。mRNA発現に関しては、IL-32高発現株では親株に比し、NF- $\kappa$ B, MMP 2の発現が増しており、E-Cadherin, MMP10の発現は低下していた。蛋白発現については、高発現株と親株との間でNF- $\kappa$ Bの発現量に差は認めなかった。しかし、高発現株でNF- $\kappa$ Bのリン酸化が亢進していることが判った。また、高発現株ではMMP 2, CyclinD 1の発現が亢進しているのに対し、E-Cadherin, MMP 1, MMP10の発現が低下していた。

次に、IL-32高発現株においてNF- $\kappa$ Bを阻害することで、浸潤性、運動性、増殖性が経時的に変化するかどうか検討したところ、NF- $\kappa$ Bを阻害した細胞では、浸潤、運動、増殖性とも、それぞれが低下することを認めた。さらに、高発現株においてNF- $\kappa$ Bを阻

害することで、IL-32, MMP 2, CyclinD 1 蛋白の発現が低下する一方、E-Cadherin, MMP 1, MMP10の発現が亢進した。

#### [考察]

今回の結果から、IL-32により制御を受ける下流分子と共に、本分子が果たす膀胱癌細胞の生物学的役割について考察してみた。IL-32はサイトカインの一つであるが故に、制御を受ける分子は様々存在すると思われる。その中でもNF- $\kappa$ Bは、IL-32によりリン酸化が促進される。このリン酸化されたNF- $\kappa$ Bは転写因子として働き、下流のMMP 2の発現を亢進させるだけでなく、一方でE-Cadherin, MMP 1, MMP10の発現を抑制させると考えられる。このことはIL-32により制御を受けた分子が膀胱癌細胞株の生物学的特性を変化させているものと考えられる。即ち、E-Cadherinの抑制により細胞相互の接着性が減弱することで膀胱癌細胞の上皮間葉移行の最初の段階の機序に働いているものと推察できる。さらにMMP 2の発現を亢進させることで腫瘍細胞周囲の硬い間質に対し破壊的に働くのかもしれない。このことにより膀胱癌細胞が浸潤性と運動性を獲得することで、容易に硬い腫瘍間質内を浸潤しや

すくしているのかもしれない。さらにリン酸化されたNF- $\kappa$ Bは制御を受ける下流分子共々膀胱癌細胞の浸潤、運動性に関わるだけでなく細胞周期の律速に関与するCyclinD 1の発現も促進させ、細胞増殖に働く可能性が示唆される。

一方、IL-32が高発現している細胞株に対しNF- $\kappa$ Bを阻害することで、IL-32の発現が減弱することから、NF- $\kappa$ Bは転写因子としてIL-32の転写、発現にも関与していると思われる。つまりIL-32はNF- $\kappa$ Bのリン酸化を促す一方で、自己の発現に関してNF- $\kappa$ Bにより促進的に働くなど、相互に関連しあっている可能性が示唆される。

以上のごとく、膀胱癌細胞のもつ特徴的な生物学的特性に対しIL-32は重要な役割を演じており、特に浸潤性と細胞増殖性に関しては、NF- $\kappa$ Bと互いに共役する様に働いているものと考えることが出来る。

#### [成果公表]

住吉紗代子, 高木康司, 下村明子, 仙田幸音, 田中真一, 南坂尚, 大橋若奈, 野口映, 中嶋隆彦, 井村穰二. 膀胱における浸潤性を制御するInterleukin-32およびその他の分子の関連性. 第110回日本病理学会総会, 2021,4, 22-24, 東京.

## 新しい学習環境下における神経スケールフリーネットワークの消失

船橋 邦夫 生化学講座 (指導教員: 井ノ口 馨教授)

#### [はじめに]

スケールフリーネットワークとはBarabasiとAlbertが定義した概念である。ネットワーク理論やグラフ理論の分野は点と線の性質の研究分野である。ノードに接続する線の数を次数と定義し、ノードは点を意味する。神経科学の分野では、ノードを神経細胞、線を機能的な関係性や解剖学的もしくは組織学的接続に置き換えてネットワークを議論する。スケールフリーネットワークの特徴は、成長性と優先的割り当てと言われている。例えば、空港やワールドワイドウェブ、論文の引用・被引用の関係のネットワークトポロジーである。ノードに接続するリンク数の分布がべき乗則に従うという特徴を持っており、特定のハブに関係性が集中する。

既存研究において、海馬などの一部の神経系にはスケールフリーネットワークの構造が存在する。神経細胞が形成するネットワーク構造は、脳の部位に

よって異なると考えられている。例えば、網様体のネットワーク構造はスモールワールドの性質を持つが、スケールフリーではない。一方、海馬はスケールフリーネットワークであることが示されている。ヒトの脳では、機能的磁気共鳴画像法 (fMRI) により、脳領域のネットワークがスケールフリーネットワークであることが示されている。ネットワーク構造の比較研究において、スケールフリーネットワークはランダムネットワークに比べ、同期した発火ピークを生成しやすい特徴が示されている。

#### [方法]

本研究では、自由に動くマウスの海馬CA 1細胞の標識と可視化の両方を兼ね備えたCa<sup>2+</sup>イメージングシステムを使用することで、海馬CA 1細胞の活動を観察した。pre-learning sleep, novel contextual exploration, post-learning sleep,



retrieval, different context sessions)におけるCA1細胞の神経活動を小型顕微鏡で観察した。その際には、6匹のマウスを使用した。

得られた細胞単位のカルシウムイメージングの時系列データを用いて、セッション単位でGranger causality法による因果関係の検証を行った。Granger causalityとは、ある時系列データが別の時系列データと因果関係があるかどうかを調べるための仮説的検定手法である。Granger causalityは元来、経済学の分野で用いられていたものであるが、Granger causalityは神経科学の分野でも利用されている。Granger causalityの計算によって得られたネットワーク構造の特徴の変化を調べ、セッション毎にスケールフリー性があるかどうかを調べた。また、補足的解析としてマルコフモデルを仮定したエントロピーとガウス分布を仮定したエントロピーの計算を行った。

#### [結果]

Granger causalityによって得られた機能的なネットワーク構造の変化を調べたところ、新しい経験に遭遇している際 (novel contextual exploration) に、スケールフリー性を失うことがわかった。また、思い出している際 (retrieval) や類似の経験をしている際 (different context sessions), 睡眠中 (pre-learning sleep, post-learning sleep) においてはスケールフリー性を維持していることがわかった。また、新しい経験に遭遇している際に優位にエントロピーが大きくなっていることがわかった。

#### [考察]

新しい経験をしている際のスケールフリー性の消失やエントロピー増大は、新たな記憶のための神経細胞同士のネットワーク形成を探索していると考えられる。一方、過去に類似の経験をしている際には、既存の神経細胞同士のネットワークによって最適に表現されているため新しい構造を探索する必要はなく、その場合はスケールフリーネットワークの構造であると考えられる。安定した記憶の脳内の神経細胞同士のネットワーク構造は、スケールフリーネットワークの特徴を持つと考えられる。新しい経験をしている時と類似の経験や同じ経験をしている時における海馬のCA1領域における細胞活動のネットワーク構造には大きな変化が起きることを示唆している。神経細胞におけるネットワークのスケールフリー性とエントロピーの評価は既視感 (djvu) と未視感 (jamais vu) の区別のための客観指標になりうる。

#### [成果公表]

国内学会

Funahashi K, Ghandour K, Inokuchi K, "Loss of Scale-free Neuronal Network in Novel Events" (新しい学習環境下における神経スケールフリーネットワークの消失), 3 LBA-031, NEURO2022, 第45回日本神経科学大会, 2022年7月2日, 那覇, 沖縄コンベンションセンター

## 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	中川 崇	令和5年4月～
	川口善治	令和3年9月～

### 評議員 (50音順)

一條裕之, 伊藤哲史, 稲寺秀邦, 井ノ口馨, 今井千速,  
 貝沼茂三郎, 金森昌彦, 川口善治, 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, 清水忠道, 鈴木道雄, 関根道和, 高雄啓三,  
 高岡 裕, 高澤知規, 高村昭輝, 田村須賀子, 田村了以,  
 中條大輔, 土谷智史, 土井智章, 戸邊一之, 中川 崇,  
 中島彰俊, 長島 久, 中辻裕司, 仁井見英樹, 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,  
 森田由香, 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, 渡辺憲治

### 理事

庶務・集会	中川 崇	令和5年4月～
編集	○川口善治	令和3年9月～
	黒田 敏	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～
	金森昌彦	令和5年4月～

### 監事

監事	林 篤志	平成31年4月～
	○委員長	(敬称略)

(以上57名)

(敬称略)

(令和5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. 34 No. 1

発行日 令和6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](mailto: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.34 No.1 2023

## CONTENTS

### ■最終講義

昭和・平成・令和の時代に和漢診療学に携わって 1-7

嶋田 豊

難治性めまいへの弛まぬ挑戦 9-14

將積日出夫

### ■総説

小児気管支喘息の管理における過去40年間の変遷 15-21

足立雄一

### ■原著

感染症初期診療シミュレーションを通じたオンライン多学科合同授業の実施報告 23-26

木戸敏喜・高村昭輝

### ■Original article

The Effectiveness of Toe Flexion and Extension Exercise for Fall Prevention in Community-Dwelling Older Females 27-36

Terumi KAWAI, Masahiko KANAMORI, Hiroko WASHIZUKA

Miho YOSHII, Keiko TERANISHI

### ■Case report

Brain Metastasis from a Myxofibrosarcoma Case 37-40

Masahiko KANAMORI, MD, Taketoshi YASUDA, MD

Kayo SUZUKI, MD

### ■学位授与

博士 (医学) 41-44

博士 (医学)《論文博士》 44-45

修士 (医科学) 45

修士 (看護学) 45-46

### ■令和4年度研究医養成プログラム修了報告 47-62

### ■記事

富山大学医学会会則 63

富山大学医学会役員 64

富山大学医学会誌投稿規定 65-68