

2019年台風15号の高潮による 福浦・幸浦地区の企業被害の実態と統計解析

関東学院大学理工学部 准教授
福谷 陽

(研究目的)

2019年9月上旬に関東地方周辺に襲来した台風15号（令和元年房総半島台風）は、首都圏を中心に、水害や風害等の甚大な被害を発生させた。沿岸部については特に、横浜市金沢区の護岸が崩壊し、隣接する福浦・幸浦地区の工業地域（LINKAI横浜金沢）に海水が流入、多くの工場や事業所で、建物や機械設備等が損壊する等の甚大な被害をもたらした。横浜市の発表によると、被災企業は483事業所に上り、約250億円の被害が出た。しかし、このような企業被害の実態について、今後の高潮防災、ひいては、沿岸防災に資する情報の把握、研究が行われていないのが現状である。

本研究では、台風15号の高潮・高波による横浜市金沢区福浦・幸浦地区の企業被害に焦点を当て、内陸の浸水深分布と企業被害（休業日数、復旧日数等）の関係を、現地調査やアンケート調査の結果を基にした統計解析により明らかにすることを目的とした。

(研究方法)

まず、アンケート調査による企業被害・復旧状況の調査、および、現場調査による当時の浸水深分布の把握を行った。アンケート調査については、福浦・幸浦地区に立地する568社の企業全てを対象として、企業情報（業種や事業分野、資本金、従業員数）、浸水状況、推計被害額（建物や設備等の費用、被害状況）、被災前・被災後被害軽減行動、復旧過程（操業再開までの日数、操業水準、ライフライン、従業員の出社状況）等の設問を記載した質問紙を配布し、データを回収した。現場調査については、福浦・幸浦地区の内陸の浸水深分布を把握するため、当時の各種報道や自治体公表の情報、現地のSNS画像・動画の発信等を詳細に収集して整理すると共に、被災企業に直接連絡を取り、現地にてレーザ測量計により浸水深の水位を測量した。以上の情報を基に、浸水深と企業被害データを関連付け、統計分析を行った。具体的には、浸水深に対する企業被害の指標（被害概算額、休業日数、復旧日数等）を、ロジスティック回帰分析でモデル化した。更に、台風襲来前後の水害対策の変化等に対する定性的な考察も行った。

(結果)

本研究で実施したアンケート調査の概要は表1の通りである。アンケートは神奈川県横浜市金沢区福浦・幸浦地区に立地する企業を対象に郵送形式にて実施した。各企業の住所は、横浜金沢産業連絡協議会のホームページ (<http://www.sanrenkyo.jp/>) より、立地企業情報の事業所リストから、同じ敷地内に複数の事業を持つ企業や、住所が記載されていない企業を除き、568件を抽出した。抽出した住所を基に、郵送によりアンケートを配布した。その結果、184件回収し、回収率32%となった。図1にLINKAI横浜金沢のブロック分類と、ブロック毎の被害数（回収分のみ）を、また、各業種の回答数を、製造業と非製造業に分類して図2に示す。

表1 アンケート調査の概要

アンケートの配布	配布日：2020年11月5日
	配布方法：郵送配布
	配布数：568件
アンケートの回収	回収期間：2020年11月30日まで
	回収方法：郵送回収
	回収数：184件(回収率：32%)
	うち、被害あり：107件(58%) 被害なし：77件(42%)

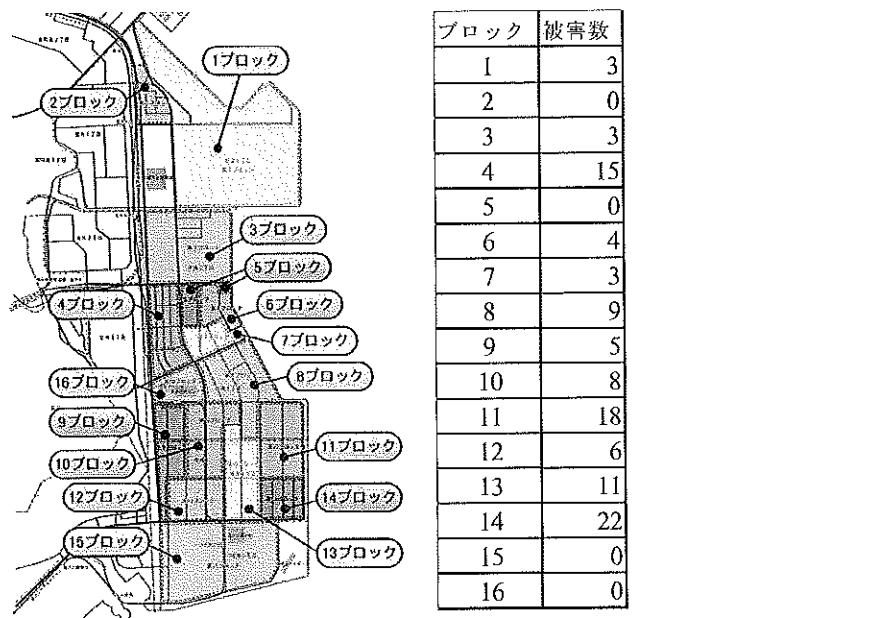


図1 LINKAI横浜金沢のブロック分類と、ブロック毎の被害数（回収分のみ）

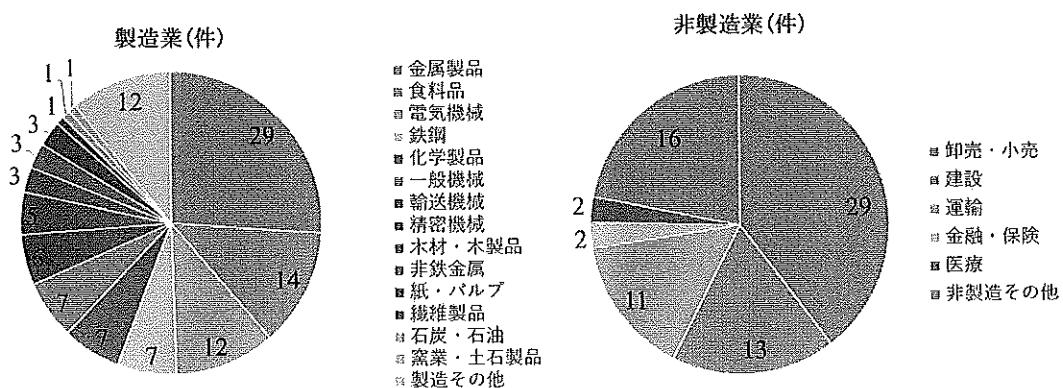


図2 業種別の有効回答数

以下、アンケートを回収した184件のうち、浸水被害による操業への支障があつたと認められるものを対象に分析を行つた。なお、今回は、現地調査による浸水深測量を現在でも継

続して行っていることから、現地で得た測量データは用いず、企業から回答のあった浸水深データを直接利用して、速報的に解析を行った。

まず、被災企業の浸水深と業務停止日数に対して式(1)を用いてロジスティック回帰分析を行い、浸水深に対する業務停止の確率を求めた。

$$p = \frac{1}{1 + \exp(-w_0 - w_1 x)} \quad (1)$$

ここで、 p は操業停止確率、 w_0, w_1 は回帰分析により求められる偏回帰係数、 x は浸水深である。データを全業種、製造業、非製造業に分類して回帰した結果を図3および表2に示す。

製造業と非製造業で比較すると、製造業は浸水深80cm程度を超えると操業停止する確率が100%に達しているのに対して、非製造業は浸水深が約2mを超える辺りから操業停止する確率が100%と大きく相違することが分かった。製造業は、建物の屋内に大型の製造機械が設置されていることが多く、屋内への浸水で製造機械が浸水して使えなくなること、電気系統が浸水により停止し製造工程自体が進まず操業中断せざるを得ないこと、などの要因で操業停止確率が必然的に高くなつたと考えられる。一方、今回被災した非製造業の企業は、詳細を見ると、建設業や運輸業など、敷地外で作業することが多い業種であったことが分かった。主に敷地外での業務が中心の企業では、事務所が浸水して被災した企業もあつたが、業務を続行すること自体に支障は無かつたため、多少高い浸水があったとしても操業を続けることができたと考えられる。

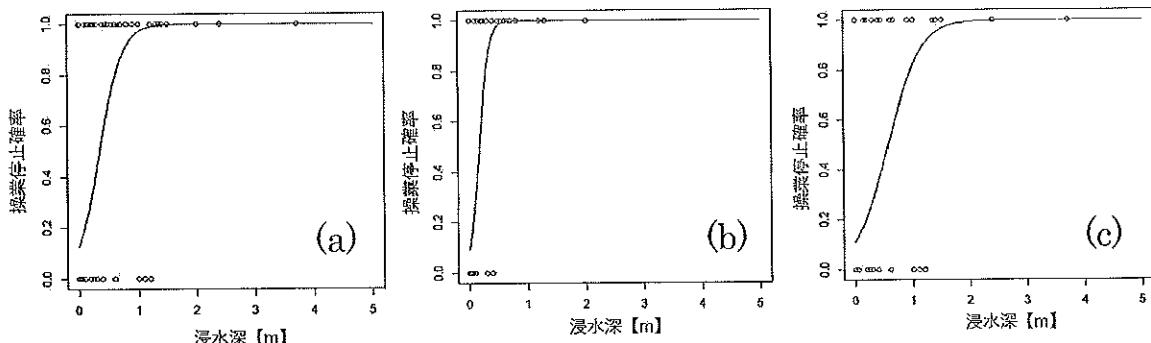


図3 浸水深と操業停止日数に対するロジスティック回帰分析結果 (a) 全業種、(b) 製造業、(c) 非製造業。点は実データ、曲線は回帰曲線を表す。

表2 ロジスティック回帰の係数

	屋内	
	w_0	w_1
全業種	-1.936	5.441
製造	-2.2507	12.698
非製造	-2.0721	3.6194

次に、被災からの時間経過と操業水準の変化を業種別に分析した。まず、アンケート調査の集計結果より、業種別に、経過日数に対する操業水準(%)の平均値を求め、横軸に時間経過、縦軸に操業水準(%)をとり、水害発生から復旧までの時間変化を図示した(図4参照)。

製造業では木材・木製品、輸送機械が最も影響を受けている。木材・木製品は、水害発生後操業水準が10%まで落ち込み、1か月で46.7%，2020年11月末時点では91.7%と完全に復旧はしていない。これは、木材などの加工前の材料が浸水により被害を受けても保険適用外であったことが一因で復旧に時間が掛かることが影響している。

一方、非製造業で最も影響を受けたのは運輸、卸売・小売であり、水害発生後、操業水準は落ちているが、1か月後には90%以上に復旧し、その後、100%に回復した。製造・非製造で比較するとばらつきはあるが製造業が比較的大きく影響を受けていた。

浸水深と操業停止日数の関係を、既往研究の水害の場合と比較し、差異を定量的に分析した結果を表3に示す。高潮被害による企業の操業停止日数は、都市型水害の場合と比較し、50cm未満は0.1倍だが、50cm以上の浸水深では1.3～2.8倍となり、水害影響期間が長期となった。また、一般水害と比較しても、50cm未満は0.3倍だが、50cm以上の浸水深では2.7～5.4倍となり、高潮による水害影響

期間は比較的長期に及ぶことが分かった。これは、一般的な水害の場合は淡水による浸水であるが、高潮の場合は海水による浸水であり、水が引いた後でも潮が残るなどして、影響が長期間に及ぶことが挙げられる。

被災前後の水害対策に関する回答では、被災前には、排水溝の清掃や吸水シートの準備などの対策が多かったが、被災後には、防潮壁の設置、BCP策定、吸水シート・養生テープ・ブルーシート・水囊の準備、配電盤・機械設備・新設機器などの嵩上げ、損害保険契約の見直し等の対策を実施した事業所が多くあった。特に今回、高潮による被害であり、損害保険の適用外となり保険が下りなかつたことから、損害保険契約の見直しを行った事業所が多いことが特徴的であった。

現在、引き続き、現地の建物等に残された浸水跡等を頼りに、浸水深の測量調査を行っており、これらの結果を基にデータの再解析を行い、成果を公表する予定である。

(成果)

研究成果として、速報的に、下記の土木学会関東支部の技術研究発表会（2020年3月2日開催）にて発表を行った。

■ 武藤瑞季、小倉瑞起、福谷陽、島澤一晃（2021）2019年台風15号による横浜市金沢産業団地の企業被害に関する研究、第48回土木学会関東支部技術研究発表会講演概要集、IV-23.

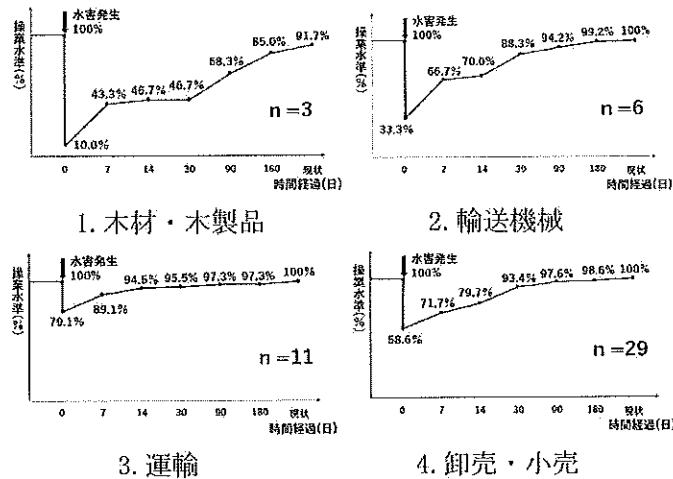


図4 被災からの時間経過（日数）と操業水準（%）の関係

表3 浸水深別の操業停止日数

浸水深	床上				
	50cm 未満	50～ 90cm	100～ 199cm	200～ 299cm	300cm 以上
サンプル数	150	18	13	2	1
操業停止日数 (日)	高潮	1.5	34.3	34.1	45
	都市型水害 ²⁾	11.7	12.3	19.8	33.4
	一般水害 ³⁾	4.4	6.3	10.3	16.8
					22.6

健康長寿の実現を目指した細胞老化制御機構の解析

横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究所特任助教
圓 敦貴

(研究目的)

健康長寿を実現する上で、老化のメカニズムの理解が欠かせない。細胞老化は、細胞がストレスに曝された際に増殖能力を喪失する現象である。老化細胞は炎症性サイトカイン等の分泌タンパク質を高発現することが知られ、がんや加齢性疾患の発症・進行に寄与することが明らかになっている。そのため、抗老化およびがん治療において、細胞老化の制御が新たな標的になりつつある。

研究代表者は、ヘテロクロマチン形成に関わる核膜タンパク質lamin B receptor (LBR)が、細胞老化の抑制に重要な役割を果たすことを明らかにした。ヘテロクロマチンには、発現が抑えられた多数の遺伝子が収納されている。これまでに、細胞老化に伴うLBRの減少が、ヘテロクロマチンを不安定化し、細胞老化関連遺伝子の発現を引き起こすことを明らかにしてきた(図1)。また、LBRの発現量を遺伝子操作で人為的に維持することで、細胞老化を抑制できることも示してきた。したがって、LBRの発現制御は、細胞老化を調節し、個体老化の防止に貢献できる可能性が高い。本研究では、LBRの発現制御機構に着目し、遺伝子操作に頼らない、実用可能な細胞老化調節の方法を探ることを目的とした。

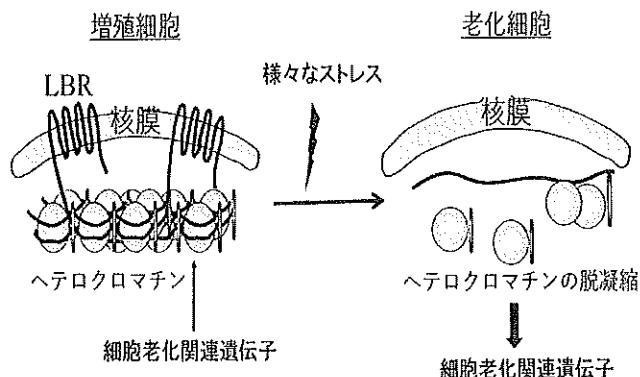


図1. 細胞老化に伴うLBRの役割

(研究方法)

細胞老化を制御するLBRの発現調節法を明らかにするために、以下の実験を行った。

①脂質量の調節が、LBRの発現量に与える影響の解明

LBRは、ヘテロクロマチン形成に関与する機能領域のほかに、コレステロール代謝に関わる機能領域を有する。脂質の代謝に関わる遺伝子の多くは、その発現が脂質の量によって変化することが知られる。培養液中の脂質量を変えることで、LBRの発現量を調節できるのかを検討した。細胞は、ヒト正常纖維芽細胞TIG-7を用いた。培養液中の脂質成分の大部分は、血清成分に由来することから、血清の濃度を変えることで脂質量の調節を図った。また、血清の脂溶性成分を超速遠心法(20,000g)により取り除くことで、脂質制限血清を作製した。脂質量の調節によって、LBRの発現量が変化するのかを定量的RT-PCR法を用いて解析した。同様に、コレステロールの量的变化とLBRの発現変化の関係を明らかにするために、培地中にコレステロールを加え、LBRの発現変化を解析した。

②アミノ酸量の調節が、LBRの発現量に与える影響の解明

培養液中のアミノ酸量を変えることで、LBRの発現量が変化するのかを検討する。研究代表者は、細胞老化に伴う細胞内タンパク質の蓄積が、タンパク質分解機構オートファジーを介してLBRを分解に導くことを明らかにしている。タンパク質合成阻害剤を低濃度で細胞に処理し、細胞内タンパク質の蓄積を緩和すると、細胞老化に伴うLBRの減少が抑制できる。したがって、細胞内タンパク質の蓄積を予防することが、LBRの機能維持に有効であると考えられる。当研究室では、培養液中の必須および非必須アミノ酸量を変化させることで、タンパク質合成および細胞老化を調節できることを見出している。必須アミノ酸の制限によって、細胞老化に伴うLBRの発現低下を抑制できるのかを検討した。アミノ酸不含培地に、必須アミノ酸を加えることで、通常培地のほか、必須アミノ酸を1/2あるいは1/5に制限した培地を作製した。細胞老化は、細胞にカンプトテシン（DNAダメージを誘発）で処理することで誘導した。細胞からタンパク質を抽出した後、ウエスタンプロット法を用い、LBRのタンパク質量を解析した。

（結果）

①脂質量の調節が、LBRの発現量に与える影響の解明

細胞は、細胞内環境を一定に保つ働き（恒常性）があることが知られる。脂質の組成も最適な量や質に保つために細胞は様々な機能を備えている。コレステロールの合成においては、コレステロールやその中間体の量的変化に応じて、その代謝に関わる酵素群の量や活性が変化することが知られる。LBRはコレステロールの中間体の合成に関与していることから、脂質の量的変化に応答して、LBRの発現量が変化する可能性が考えられた。そこで、培地中の脂質量を変化させることで、LBRの遺伝子発現量が変化するのかを調べた。

1) 血清制限による脂質量の低下に伴うLBRの発現変化

はじめに、血清濃度を下げることで、脂質の制限を試みたところ、通常の血清濃度10%で培養した細胞に比べて、血清制限を行った細胞のLBRの遺伝子発現量は、およそ1/2に低下することが明らかになった（図2）。

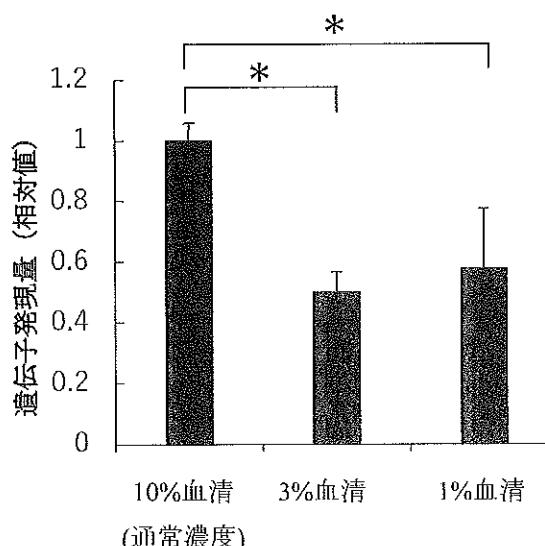


図2. 血清制限によるLBRのmRNA量の変化

通常の細胞培養に使用する血清濃度（10%）と、血清を制限した濃度（1%，3%）で、それぞれ細胞を培養し、RNAを回収後、LBRのmRNA量を定量的RT-PCR法で解析した。*はp値<0.05であることを示す。

2) 脂質制限血清の処理に伴うLBRの発現変化

血清には、脂質成分だけでなく、細胞の増殖や生存を調節する様々な増殖因子が含まれる。LBRの発現変化が脂質の量的変化によるものかを明らかにするために、続いて超速遠心法によって作成した脂質制限血清を、通常血清の代わりに10%の培地中濃度で細胞に処理した。その結果、脂質制限血清の処理によって、LBRの発現量が増加することが明らかになった(図3)。その際、LBRが関与する脂質代謝の最終産物コレステロールを加えることで、LBRの発現増加を抑制できた。通常の血清を用いた細胞に、コレステロールを過剰に与えた場合には、LBRの発現量が減少する傾向にあることが観察された。LBRの遺伝子発現が、脂質の量的変化によって制御される可能性が示唆された。

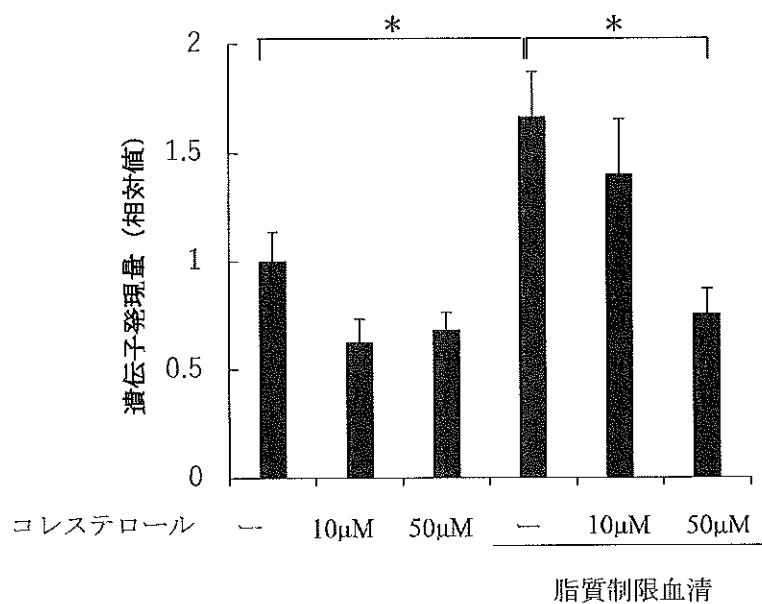


図3. 脂質制限血清およびコレステロールの添加がLBRのmRNA量に与える影響

通常の血清10%を含む培地と脂質制限血清10%を含む培地を調製し、それぞれにコレステロールを加えた培地も作製した。細胞を4日間培養し、RNAを回収後、LBRのmRNA量を定量的RT-PCR法で解析した。

*はp値<0.05であることを示す。

②アミノ酸量の調節が、LBRの発現量に与える影響の解明

必須アミノ酸の制限によって、細胞老化に伴うLBRの発現低下を抑制できるのかを検討した。必須アミノ酸量を変えた培地中に細胞を播種し、カンプトテシンにより細胞老化を誘導した後、細胞からタンパク質を抽出した。ウエスタンプロット法によって、LBRのタンパク質量を解析したところ、細胞老化に伴うLBRの発現低下は抑制できないことが明らかになった。

(成果・考察) 等

①脂質量の調節が、LBRの発現量に与える影響の解明

本研究から、細胞老化の制御に重要な役割を果たすLBRの発現調節法の手がかりを得られた。細胞に与える脂質とアミノ酸の量に着目して研究を進めたが、LBRの発現調節には脂質量を変えることが有効である可能性が示唆された。具体的には、コレステロールの制限がLBRの発現増加を、コレステロールの投与がLBRの発現低下を誘導できる可能性が示唆された。一方で、血清の量を単純に制限した場合には、LBRの発現低下が観察された。血清制限

に伴い、脂質成分も制限されていると考えられるが、血清中には脂質以外にも、細胞の増殖・生存に必要な増殖因子などが豊富に含まれる。LBRは細胞増殖に重要であり、増殖因子の欠乏がLBRの発現低下を誘導した可能性が考えられる。今後、LBRの発現調節機構の理解を深める上で、増殖因子などの脂質以外の血清成分にも着目する必要があるだろう。

応用に向けてLBRの発現調節機構の詳細を明らかにする必要があるが、本研究で観察された現象には脂質代謝に関わる遺伝子群の発現を調節する転写因子SREBPが関わる可能性が考えられる。SREBPは脂質欠乏に応答して、脂質合成に関わる遺伝子の発現を誘導することが知られ、脂質の量に応じてLBRの発現が変化したこととの関連が予想される。実際に、LBRの発現制御を研究した他研究グループの報告では、LBRの発現を調節するゲノム領域にSREBPの標的配列が存在する可能性が示唆されている (Buxboim *et al.*, MBoC, 2017)。脂質代謝とLBRの関係は盛んに研究がなされているが、脂質量がLBRの発現に与える影響に関しては未解明な点が多い。引き続き、脂質量とLBRの発現量の関係について解析を進める予定である。コレステロールの中間体に着目するなど、LBRの発現調節を効率的に行える手法を開発し、細胞老化の調節を介した健康長寿社会の推進に繋げたい。

②アミノ酸量の調節が、LBRの発現量に与える影響の解明

アミノ酸制限によって、細胞老化に伴うLBRの発現低下を抑制できるか検討したが上手くいかなかった。LBRの発現低下にはタンパク質分解機構オートファジーが関与していると考えられる。細胞内アミノ酸量の減少はオートファジーを活性化することが知られ、アミノ酸制限によるオートファジーの活性化がLBRの発現低下の抑制を妨げた可能性が考えられる。このことから、タンパク質の合成を抑えつつ、オートファジーの活性化を誘導しない手法が、細胞老化に伴うLBRの発現低下の抑制に有効である可能性が示唆された。アミノ酸の一つであるメチオニンの制限は、タンパク質合成を阻害することが知られており、制限するアミノ酸の種類を選択することで、LBRの発現低下を抑制できる可能性は残っている。しかしながら、食物中には様々なアミノ酸が含まれることから、日常的にアミノ酸を選択的に制限することは難しい。アミノ酸の類縁体などを用い、アミノ酸の利用を選択的に制限することは可能であるかもしれないが、日常生活に取り入れるには向かないだろう。LBRの発現を調節する上では、アミノ酸制限よりもコレステロールなどの脂質量を調節することが、簡便で有効な手法になることが期待される。

フックにおけるオーキシン生合成の調節

横浜市立大学 木原生物学研究所 応用ゲノム科学部門 特任助教
濱崎 英史

(研究目的)

地中での発芽における真正双子葉植物は、“フック”と呼ばれる鉤状の屈曲構造を形成する。フックは、外部の障害から1つしかない茎頂を守る構造をとる。また、フックの構造の維持によって土壤粒子を押しのけることを可能にするため、フック形成の過程は植物の正常な発芽を行うのに必須である。フックは、地上に出て光が当たることで緩む(解消)。

フックの発達における3つの過程(形成・維持・解消)と、フック部位における植物ホルモン・オーキシン(IAA)量の変動には相関がある。フック形成が維持されている時、フックの内側の細胞に IAA は蓄積することが分かっている。IAA は、アミノ酸である Trp を出発物質としてインドールピルビン酸(IPyA)を経由して合成される。シロイヌナズナにおいて IPyA から IAA へ変換を触媒する酵素 YUC は11種類も存在することが知られているが、どの YUC がフックの発達に関与しているかは不明である。

そこで本研究では、フック部位で高発現している *YUCCA* 遺伝子を同定し、それらの機能が欠損したシロイヌナズナの変異体の表現型について解析することで、フック部位における、特定の YUC タンパク質がフック形成時における IAA 生合成に重要であることを立証することを目的として行う。

(研究方法)

1. シロイヌナズナのフックにおける *YUCCA* 遺伝子発現の測定

シロイヌナズナの *YUC* 遺伝子は11種類存在することから、それぞれのYUCタンパク質は組織特異性があることを推察した。そこで、フック部位において発現量が高い *YUC* 遺伝子の探索を試みた。具体的な方法としては、暗所3日間生育し、その後にフックの解消を誘導するために白色光を3時間照射したシロイヌナズナ(120個体程度)のフック部位からRNAを抽出し、RNAからcDNAを合成してqRT-PCR法を用いて遺伝子発現量の測定を行った。同時にコントロールとして、子葉と胚軸からもRNAを抽出し、cDNAを合成して *YUC* 遺伝子の発現量を測定した。

2. *yuccca*変異体の形態観察

フックの形成は、内生IAA量に依存する。フック特異的に機能しているYUCCAタンパク質の機能が欠損した場合、フックの形成に異常が出ると考えられる。そこで、Di et al., 2016を参考にして、Nottingham Arabidopsis Stock Center (NASC) から各 *yuc* 変異体を分与していただき、暗所3日目の表現型解析を行った。

3. IAAレポーター導入形質転換体の開発

通常、オーキシンは肉眼で見ることはできない。IAA応答プロモーター $DR5$ に蛍光タンパク質Venusをコードする遺伝子を繋げたIAAレポーター遺伝子($DR5pro::Venus$)を植物体に導入することで、組織間におけるオーキシンの分布を可視化することが出来る。そこで、フック形成に異常を示した変異体でのオーキシン分布を調べることを目的として、変異体にIAAレポーター遺伝子を導入した形質転換体を作出した。

(結 果)

1. フックの解消時に $YUC3$ と $YUC8$ 遺伝子の発現は抑えられる

フックの解消前後における子葉、フックの YUC 遺伝子の発現量を定量qRT-PCR法で調べた。その結果、 $YUC3$ と $YUC8$ 遺伝子の発現量が高く、3時間の白色光照射することで、遺伝子発現が抑えられていた(図1)。以上の結果から、フックの形成を調節するオーキシンの生合成には、 $YUC3$ と $YUC8$ が重要である可能性が推察された。

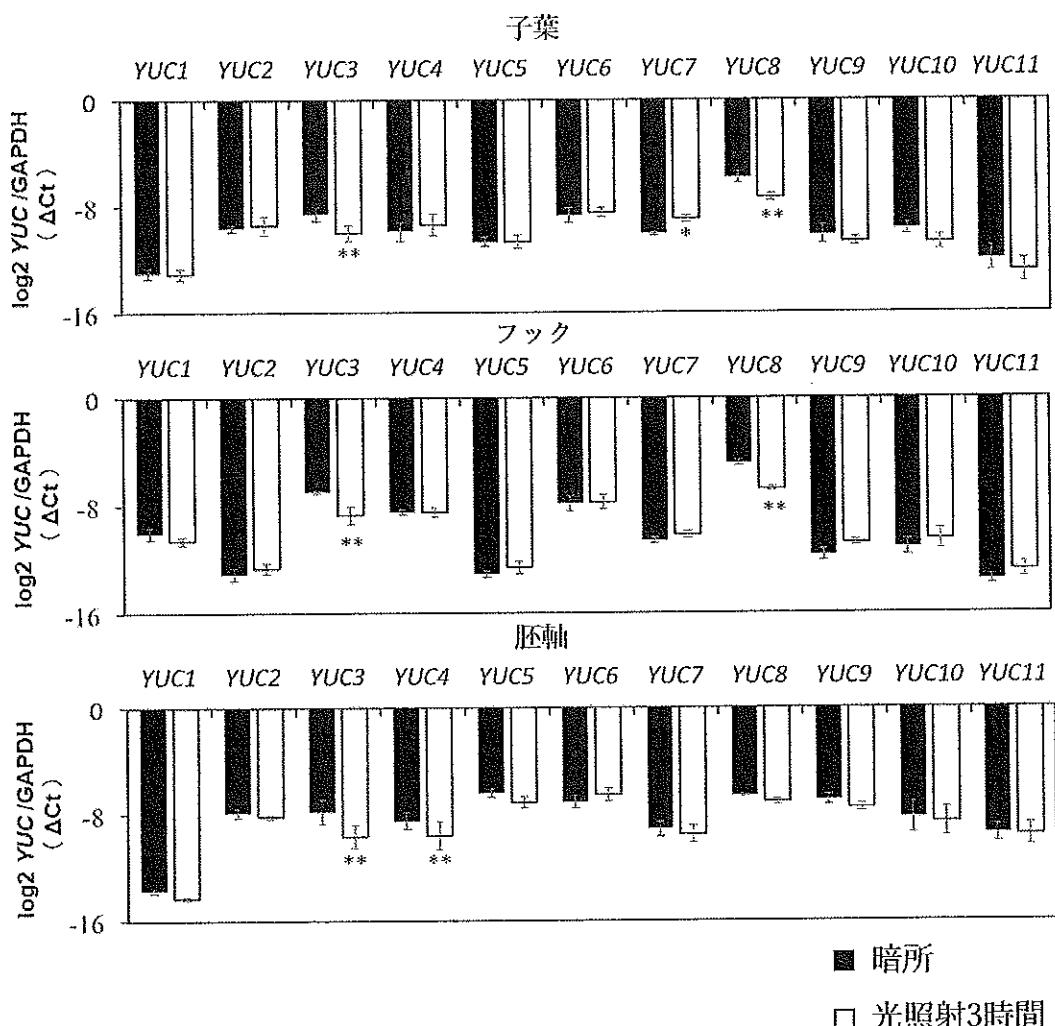


図1 器官別での YUC 遺伝子発現量解析

1/2MS 寒天培地で暗所でシロイヌナズナ(WT)を3日間生育し、暗所と光照射を3時間行うサンプルをそれぞれ用意した。子葉、フックおよび胚軸を切り出してRNAを抽出し、定量PCRを行なった。(A) 子葉における各 YUC 遺伝子の発現量(B) フックにおける各 YUC 遺伝子の発現量(C) 胚軸における各 YUC 遺伝子の発現量。(n ≥ 5, 平均値 = ± S.E., * p < 0.05, ** p < 0.01 by Student's t-test)

2. *yuc3*と*yuc8*変異体はフック形成後の維持ができない

これまでの解析結果より、

*YUC3*遺伝子と*YUC8*遺伝子の発現はフックの発達と解消に重要であることが分かった。そのため、*YUC3*と*YUC8*タンパク質の機能が欠損することでフックの発達に異常をきたすことを予想した。また、暗所で生育した3日目の各*yuc*変異体と野生株とのフックの角度を測定した。その結果、*yuc3*と*yuc8*変異体は野生型よりフックは開いていた(図2)。他の*yuc*変異体について同様にフックの角度を測定したところ、*yuc5*変異体は*yuc3*と*yuc8*変異体同様に野生型よりフックが開いていた。

フックでの*YUC5*遺伝子の発現量は低いため、*yuc3*と*yuc8*変異体に着目して2重変異体*yuc3yuc8*を作出し、暗所3日目のフックの角度を測定した。その結果、*yuc3yuc8*変異体は各1重変異体と比べて更にフックの内側の角度が大きいことが分かった(図3A)。一方、暗所2日目では、*yuc3*変異体、*yuc8*変異体および*yuc3yuc8*変異体のフックの内側の角度は野生株と変わらないことが分かった(図3B)。

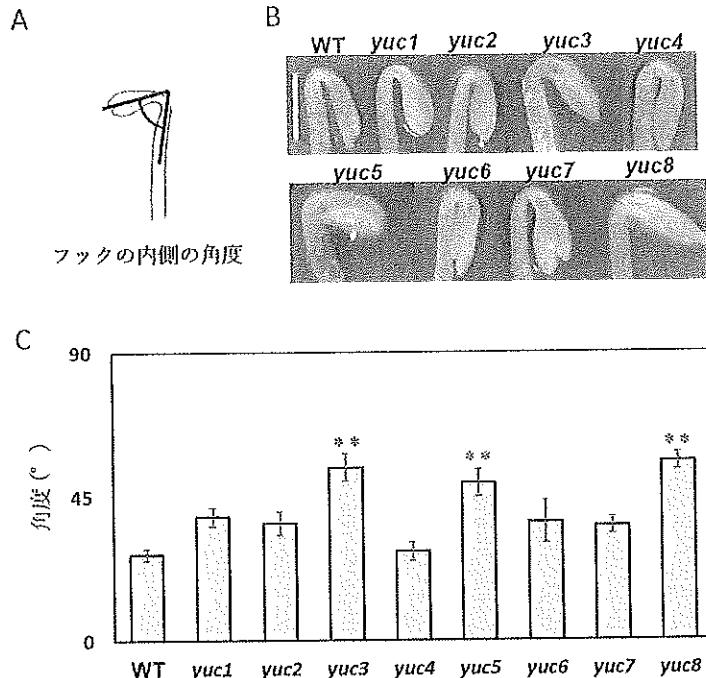


図2 *yuc*変異体の表現型観察

1/2MS寒天培地で野生型(WT)と各*yuc*変異体を3日目育成し、写真を撮り、形態観察を行った。(A) フックの内側の角度測定方法 (B)野生型および各*yuc*変異体のフックの写真(スケールバー: 1 mm) (C) WT型および*yuc*変異体のフックの内側角度(n = 20, Error bar = ± S.E., * p < 0.01 by Student's t-test)

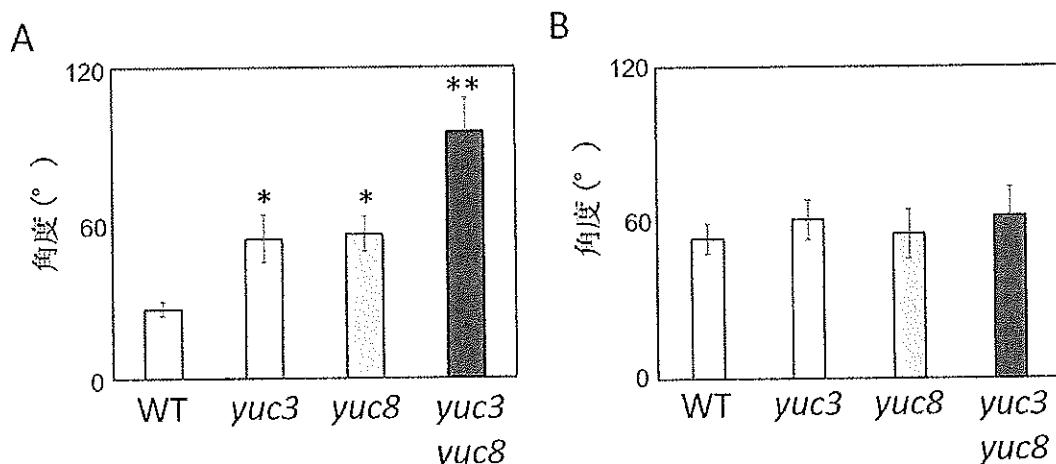


図3 フックの維持における*yuc3yuc8*変異体観察

1/2MS寒天培地でWT、*yuc3*変異体、*yuc8*変異体および*yuc3yuc8*変異体を暗所で育成し、写真を撮り、形態観察を行った。(A)暗所生育3日目のWTおよび*yuc3yuc8*変異体のフックの内側の角度(n = 20, 平均値±S.E., * p < 0.05, ** p < 0.01 by Student's t-test) (B)暗所生育3日目のWTおよび*yuc3yuc8*変異体のフックの内側の角度(n = 20, 平均値±S.E.)

(成果・考察および今後の展望)

これまで、フックの内側に蓄積するIAAは、他の組織(子葉や茎頂)で合成されたオーキシン由来で、PINタンパク質などを介してフック部位に輸送されるものと考えられてきた(Žádníková et al., 2016; Vandenbussche et al., 2010; Wu et al., 2010)。今回の結果では、光誘導によるフックの解消時にフック部位でのYUC3とYUC8遺伝子発現量が減少していた。また、暗所で生育したyuc3yuc8変異体はフック形成後の維持ができていないことから、フックでYUC3とYUC8によって合成されるIAAがフックの形成を制御する主な供給源である証拠になり得ると考えた。先行研究では、YUC8遺伝子発現が根の重力屈性に関わることが分かっている(Di et al., 2016)。今回の研究で初めてYUC8遺伝子がフックの発達に関わっている可能性がある結果が得られた。暗所3日目では、yuc3とyuc8変異体と同様にyuc5変異体もフック形成が不十分であったが、光照射によるYUC5遺伝子の発現に変化はなかった。このことからYUC5遺伝子は、発芽後のフックの形成段階で影響している可能性が考えられる。この仮説については、今後の確認実験が必要である。

(今後の展望)

暗所3日目のyuc3yuc8変異体の表現型から、フックの内側でのIAA量は野生型に比べて少なくなっていることは予想される。フックにおけるYUC3とYUC8タンパク質の影響についてさらに検証するため、yuc3yuc8変異体にIAAレポーター遺伝子を導入した形質転換体の作出を試みている。作出了12系統いずれもレポーター遺伝子Venusが導入されているのを遺伝型同定法で確認した。今後は、作出了形質転換体を用いて暗所3日目のフック部位について蛍光観察することでWTとのIAA量の違いについて検証する予定である。

(参考文献)

1. Di DW, Wu L, Zhang L, An CW, Zhang TZ, Luo P, Gao HH, Kriechbaumer V, Guo GQ. (2016) Functional roles of *Arabidopsis* CKRC2/YUCCA8 gene and the involvement of PIF4 in the regulation of auxin biosynthesis by cytokinin. *Sci Rep.* 6, doi: 10.1038/srep36866.
2. Žádníková P, Wabnik K, Abuzeineh A, Gallemi M, Van Der Straeten D, Smith RS, Inzé D, Friml J, Prusinkiewicz P, Benková E. (2016) A Model of Differential Growth-Guided Apical Hook Formation in Plants. *Plant Cell.* 28, 2464–2477.
3. Vandenbussche F, Petrásek J, Zádníková P, Hoyerová K, Pesek B, Raz V, Swarup R, Bennett M, Zázimalová E, Benková E, Van Der Straeten D. (2010) The auxin influx carriers AUX1 and LAX3 are involved in auxin–ethylene interactions during apical hook development in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Development.* 137, 597–606.
4. Wu G, Cameron JN, Ljung K, Spalding EP. (2010) A role for ABCB19-mediated polar auxin transport in seedling photomorphogenesis mediated by cryptochrome 1 and phytochrome B. *Plant J.* 62, 179–191.

圧迫性脊髄障害ラットモデルに対するエリスロポエチン髄注療法の有効性の検討

横浜市立大学医学部医学科・医学研究科医科学専攻 脳神経外科
宮崎良平

(研究目的)

脊髄損傷治療において、再生医療に期待が寄せられているものの、実臨床では脊髄を回復させる有効な治療法は未だ見い出せていない。私たちはこれまで造血系サイトカインに着目し、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）(Yoshizumi, Murata et al. SPINE 2016)やエリスロポエチン(EPO) (Tanaka, Murata, Miyazaki R et.al. PLOS one 2019)が圧迫脊髄モデルの運動機能を改善させることを見いだした。しかし、皮下注射や静脈投与により相応の効果を発揮するためには、いずれも高用量が必要であることも判明した。G-CSF や EPO は分子量が大きいため、髄液移行が乏しい。そこで、効率的に脊髄に作用させるべく、髄腔内投与療法を発案した。今回、安全性が高く、臨床導入しやすいEPO 髄注療法に焦点をあて、その有効性と安全性を検討する。実際、予備実験では低容量 EPO 髄注療法で、従来を上回る高い効果が得られている(下図)。本研究は、これまで同様の報告がない新規的治療であるが、治療困難な脊髄損傷に対して、即臨床に導入しうる最善の治療を追究するものである。脊髄損傷におけるEPO の髄腔内投与報告例は、臨床症例報告(Bader A, 2017)でごくわずかにあるが、系統的実験による EPO の効果と安全性の報告は皆無である。脊髄損傷の原因部位に直接薬剤を到達させ治療効果の最大化を図る新規性の意義は大きい。

実際 EPO 低容量持続髄注療法の予備実験では、従来(静注、皮下注) 以上の運動機能改善効果が得られ(下図)、脊髄損傷に対する EPO 髄注療法の意義と期待は非常に大きいと感じている。EPO は生理的に内在する造血因子であり、安全性は非常に高い。臨床報告例でも EPO 髄注投与による有害事象は認めていない。EPO 髄注療法の有効性と安全性を明らかにできれば、迅速に臨床導入が可能であり、脊髄損傷医療に大きなパラダイムシフトをもたらしうる。

(研究方法)

頸椎圧迫脊髄症モデルを作成した後、経脳室的に EPO 持続髄注を行い、運動機能の変化、病理学的变化(運動ニューロン、軸索の変化)、アポトーシスの変化、電気生理学的変化、EPO が脊髄に与える影響(炎症等の有無)を検討する。これにより脊髄損傷に対する EPO 髄注療法の有効性と安全性を明らかにする。

- 1) 圧迫性脊髄障害モデルの作成: Wister ratのC5C6頸椎椎弓下に吸水膨張性ポリマー挿入し、頸髄圧迫モデルを作成する。6週以降で運動機能が低下し、20週以降で下肢痙攣が生じ、圧迫頸髄損傷モデルが完成する。
- 2) 経脳室的持続髄注療法: 圧迫性頸髄損傷後、定位的に左側脳室前角にカテーテルを挿入し、一方で背部皮下に 200 μ lの浸透圧ポンプ(Alzet)を留置する。EPO(6,25,150,600,2400u)をポンプに注入し、脳室カテーテルと接続し、1 μ l/hの速度での持続髄注を行う。
- 3) 運動機能評価: ローターロッド歩行時間を測定する。
- 4) 病理学的評価: HE染色、KB染色(治療開始後 2週、8週)を行い運動ニューロン保存と炎症や脱髓の有無を観察する。
- 5) 電気生理学的評価: 神経伝導速度と後脚大腿における運動誘発電位を測

定する。倫理的配慮：各侵襲的処置を行う際は鎮痛効果のあるイソフルランによる吸入麻酔下で処置を行う。侵襲的処置の結果、四肢の麻痺や膀胱直腸障害など、実験動物に苦痛を与える状況となった場合は速やかに二酸化炭素吸入による安楽死処置を施す。

(結 果)

現時点で終了しているのは、EPO2400IU, 600IU, 150IU, 25IU, 6IU投与下でのローターロッドによる運動機能検査である。Vehicle群と比較した運動機能検査結果を以下に示す。

Fig. 1-A, B で前投与量での運動機能改善結果を示した。Vehicleと比較して運動機能に有意な改善が認められたのは600IU, 150IU, 24IUでの投与群であった (Vehicle VS EPO 600IU, EPO 150IU, EPO 24IU P<0.0001, Vehicle VS EPO 2400IU:P=0.0681, Vehicle VS EPO 6IU:P=0.4098)。

実臨床での応用を検討した場合、より投与量が少ないことが望ましく、EPO150IU以下の投与で十分と考えられFig2-A, Bを作成した。

Fig. 2からEPO150IUの方がEPO24IUよりわずかに運動回復効果が高いことがわかった。

Fig. 1-A

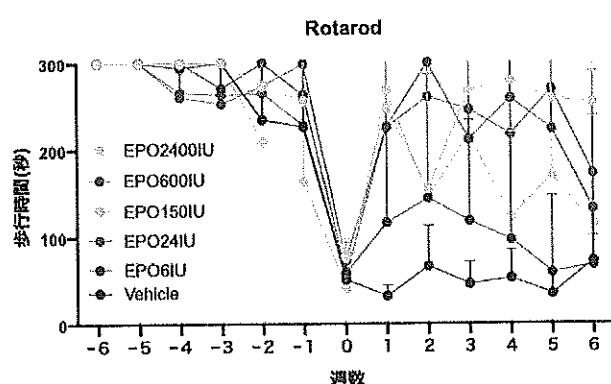


Fig. 1-B

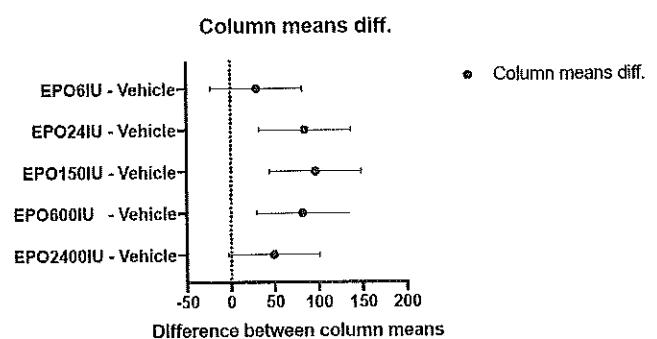


Fig. 2-A

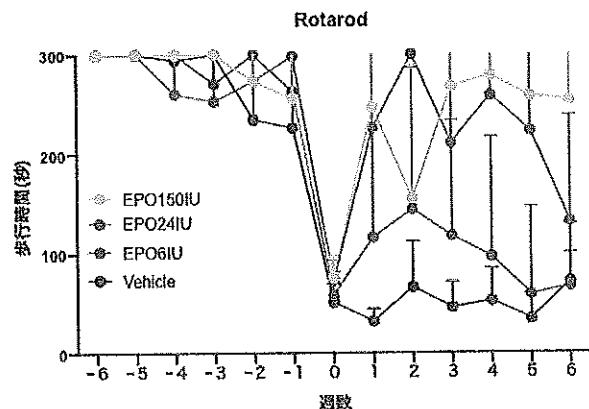
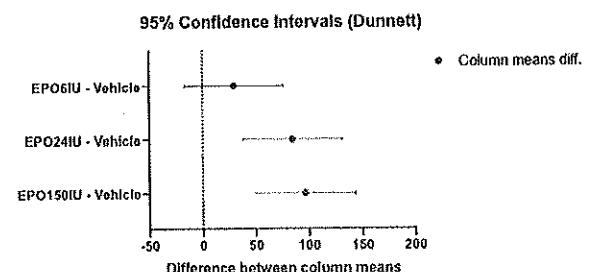


Fig. 2-B



(成果・考察) 等

圧迫性脊髄障害ラットに対する EPO 髓注療法は皮下投与実験と比較して少量で、より大きな運動機能改善効果を示すことがわかった。

今後実際の臨床応用に向け、組織学的な検討、採血で血球增多の有無の確認等を行い効果発現の機序解明、副作用の有無や程度を検討していく。実臨床では、脊髄カテーテルを用いる髄腔内薬物投与の方法を応用し行うことを検討している。

現時点で確認できている血球增多を比較した採血実験では EPO150IU 投与群と Vehicle 群で比較し赤血球、白血球、網状赤血球数に差はない傾向を示しており血球增多という EPO 皮下投与実験での課題であった血球增多症に関する副作用は克服できている可能性が高い。組織学的にも H E 染色による圧迫部位の脊髄前角細胞数の比較で EPO 髓注群で細胞数が保たれている傾向であり、皮下投与群との比較でも髓注群がより細胞数が保たれている傾向を認めている。

本研究は、既存薬剤の新たな効果を検討し、実臨床で既に確立された投与方法を用いて行うことができると言った意味で臨床応用の可能性が高く意義のある研究であると考えられる。

COVID-19 肺炎に対する予防と薬物治療:システムティックレビュー

公立大学法人横浜市立大学附属病院 化学療法センター長
堀田信之

研究目的

Coronavirus disease 2019 (COVID-19)は severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV-2) 感染により生じ、推定死亡率が 2-10% とされる急性疾患である。COVID-19 のパンデミックにより 2020 年 5 月 15 日時点では 460 万人が感染し、30 万人の死者が出ている。多数の候補薬が報告され、臨床試験目的あるいは人道的治療目的として多数の COVID-19 患者に投与されている。本来疾患治療薬剤の承認は、第 I 相、第 II 相、第 III 相、の臨床試験を経て有効性・安全性が確認されてから行われるべきであるが、残念ながらいずれの治療薬も COVID-19 に対する有効性・安全性が十分に評価されているとは言い難い。感染予防目的のワクチンについても、Bacille de Calmette et Guérin (BCG: 抗結核ワクチン) を始め複数の候補薬があるものの十分に効果が評価された薬剤はない。

これらの薬剤につき、比較的小規模なランダム化比較試験(RCT)、前向き観察研究、傾向スコアを用いた後ろ向き研究の結果が各国から報告されているが、その結果に一貫性がなく、評価項目も一致していないため、結果の総合的な解釈が困難である。複数の臨床研究の結果に一貫性がない場合、関連する臨床研究論文を漏れなく検出し、データを抽出し、結果を統合するためには、システムティックレビューおよびメタアナリシスの手法が一般的に用いられる。

社会的要請の強い COVID-19 の予防・薬物治療を評価し、臨床家及び施政者に有用なデータを提供することが今研究の目的である。

方法

臨床研究登録：大学病院医療情報ネットワーク臨床試験登録システム(UMIN-CTR)に登録を行う。

倫理的配慮：患者に対する薬剤投与、患者の個人情報を取り扱わず、患者への接触を行わないため、倫理委員会承認は不要である。

臨床研究に関する元論文の検索：PubMed, Cochrane CENTRAL, EMBASE, and Web of Science Core Collection を用いる。さらに、未査読・未出版の報告を検出するため medRxiv を検索対象とする。

元論文出版形式：原著論文、学会報告、短報のいずれも可とする。英語文献・非英語文献いずれも対象とする。研究形式は、RCT、症例対象研究、前向き・後ろ向き観察研究、傾向スコア解析のいずれも可能とする。症例報告及び单アームの介入研究・観察研究は比較群がなく薬剤の効果の評価が困難であるため、対象としない。

対象患者：COVID-19 の確定患者を対象とする。PCR 及び抗原検査により確定診断に至った患者が望ましいが、渡航歴・濃厚接触歴に基づき診断された患者も対象とする。

質的評価：Cochrane risk of bias にて質的評価を行う。

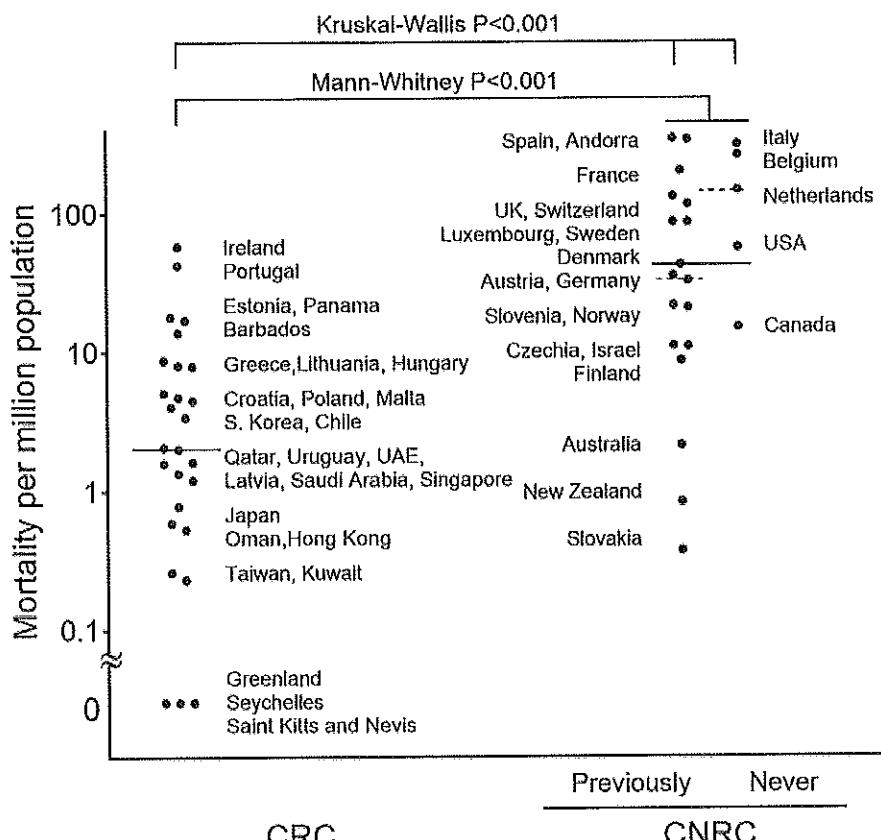
アウトカム：死亡率を主要アウトカムとする。死亡・挿管・ICU 入室の複合アウトカム、ウィルス排除、臨床的安定、副作用等を副次アウトカムとする。

解析方法：二値変数は Mantel-Haenszel によりオッズ比を算出する。2x2 表で null を認める場合は 0.5

を加え補正する。Time-to-event 形式のアウトカムはハザード比にて評価する。オッズ比・ハザード比とも inverse variance 法で統合する。

成果①

世界の国と地域を BCG ワクチンの有無により 2 群に分けて COVID-19 による死亡率を比較した。BCG ワクチンを推奨している 27 か国と（以下、推奨国）、現在推奨していない 23 の国（以下、非推奨国）を解析対象とした。ギリシャ（6 歳）、マルタ（学齢期）、バルバドス（5~6 歳）を除くすべての推奨国では、出生時に BCG の初回接種を行っている。人口 100 万人当たりの死亡率の中央値は、推奨国の方が非推奨国よりも有意に低かった（2.1（四分位範囲 [IQR] : 0.7-8.0）対 42.6（IQR : 13.1-139.3）、Mann-Whitney P<0.001；図）。

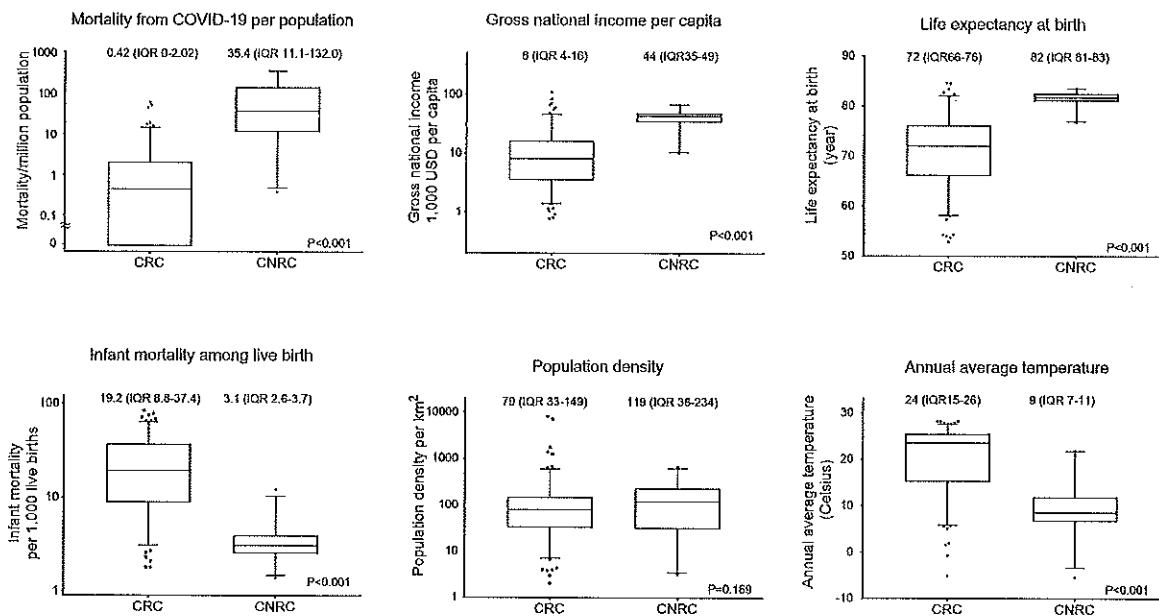


死亡率の中央値は、「一度も推奨されたことのない国」が 146.5（IQR : 56.6-260.5）と最も高く、次いで「以前に推奨された国」が 34.0（IQR : 11.0-108.4）、推奨国が 2.1（IQR : 0.7-8.0）であった。

成果②

Human Development Report 2019 に掲載されている 189 の国と地域のうち、BCG World Atlas に掲載のない 18 の国を分析対象から除外した。分析可能な 171 カ国は、乳児へのワクチン接種を推奨している推奨国 146 カ国と、非推奨国 25 カ国であった。人口 100 万人当たりの国レベルの COVID-19 死亡者数の中央値は、推奨国が 0.42（四分位範囲 [IQR]、0~2.02）、非推奨国が 35.4（IQR、11.1~132.0）であった。この大きな相違は、過去の報告と一致していた。しかし、非推奨国は、一人当たりの国民総所得の高さ（8 [IQR, 4-16] 対 44 [IQR, 35-49] 1,000 米ドル; p<0.001）、出生時の平均寿命の長さ（72 [IQR, 66-76] 対 82 [81-83] 歳; p<0.001）とも有意に関連していた。乳児死亡率の低下（出生 1,000 人当たり

19.2[IQR, 8.8-37.4]対3.1[IQR, 2.6-3.7]、年平均気温の低下(24[IQR, 15-26]対9[IQR, 7-11]°C、 $p<0.001$)などとの関連も見られた(図)。

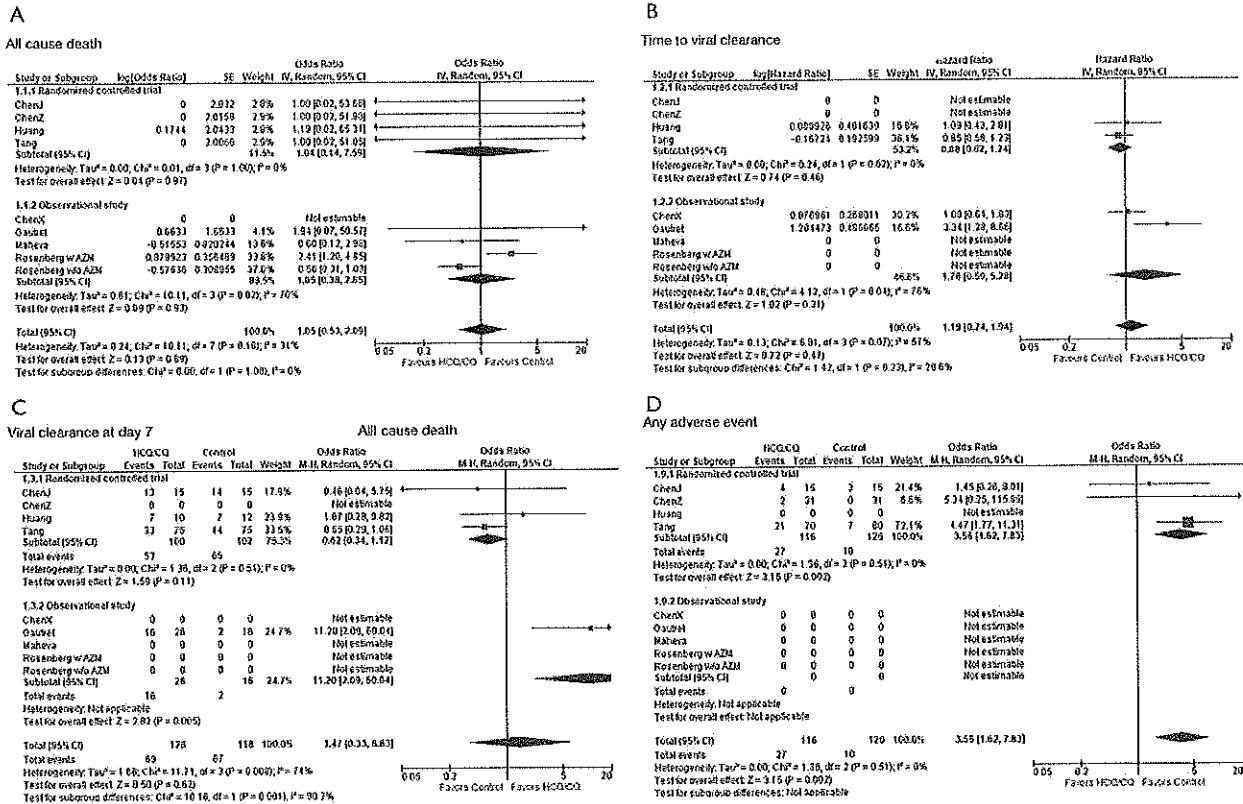


この6つのパラメータを独立変数とした重回帰分析では、非推奨国はCOVID-19による常用対数死亡率に依然として関連しており(偏回帰係数、1.48；95%信頼区間[CI]、1.24～1.72； $p<0.001$)、これは推奨国に比べて非推奨国では人口当たりのCOVID-19関連死亡率が30倍(95%CI、17～52)になることに相当する(表)。年平均気温も有意な関連性を持つ共変量である($p=0.009$)(表)。年平均気温が10°C上昇すると、COVID-19に関連する人口当たりの死亡率が0.64倍(95%CI、0.46～0.90)減少する(表)。

Explanatory variables	Partial regression coefficient	P
Log_{10} Gross national income 1,000 USD per capita	0.25 (-0.11 to 0.61)	0.164
Life expectancy at birth (10 year)	0.27 (-0.04 to 0.57)	0.085
Log_{10} Infant mortality per 1,000 live births	-0.45 (-1.02 to 0.12)	0.122
Log_{10} Population density per square km	-0.00 (-0.17 to 0.17)	0.978
Annual average temperature (10 degree Celsius)	-0.19 (-0.34 to -0.05) (a)	0.009
CNRC (ref is CNC) (b)	1.48 (1.24 to 1.72) (b)	<0.001

成果③

4本のRCTと4本の観察研究から、ヒドロクロロキン/クロロキン(HCQ/CQ)の投与でCOVID-19患者のアウトカムにどのような影響を与えるかを評価した。全死亡率はHCQ/CQ投与の影響を受けなかった[OR: 1.05、95%信頼区間(CI): 0.53-2.09、 $P=0.89$]。ウィルスクリアランスは、生存時間解析でも(HR: 1.19、95%CI: 0.74-1.94、 $P=0.47$)、7日目までの除去頻度でも(OR: 1.47、95%CI: 0.33-6.63、 $P=0.62$)差を認めなかった。一方、HCQ/CQの投与は、any adverse eventのリスクを増加させた(OR 3.56 (95%CI: 1.62-7.83, $P=0.002$)。HCQ/CQはCOVID-19患者に推奨されないと考えた。



成果文献

- Ebina-Shibuya R, Horita N, Namkoong H, Kaneko T. National policies for paediatric universal BCG vaccination were associated with decreased mortality due to COVID-19. *Respirology*. 2020 Aug;25(8):898-899.
- Risa Ebina-Shibuya, Nobuyuki Horita, Ho Namkoong, Takeshi Kaneko. Current national policies for infant universal bacille Calmette-Guérin vaccination were associated with lower mortality from coronavirus disease 2019. *Clin Exp Vaccine Res*. 2020 Jul;9(2):179-182.
- Ebina-Shibuya R, Namkoong H, Horita N, Kato H, Hara Y, Kobayashi N, Kaneko T. Hydroxychloroquine and chloroquine for treatment of coronavirus disease 19 (COVID-19): a systematic review and meta-analysis of randomized and non-randomized controlled trials. *J Thorac Dis*. 2021 Jan;13(1):202-212.

収縮性の保持された心不全におけるオステオプロテジエリンの役割と治療ターゲットとしての可能性の探索

横浜市立大学医学部 臨床検査部 助教
上村 大輔

(研究目的)

収縮機能が保持されているにもかかわらず、拡張機能障害を原因とした心不全(Heart failure with preserved ejection fraction: HFpEF)は心不全患者の約半数とされ、現在も増加している。また、今までに予後を改善しうる薬剤は見つかっておらず、治療戦略が十分に確立されていない。HFpEFに対する治療戦略の確立は、社会にもとめられている健康寿命の延伸にとって急務である。

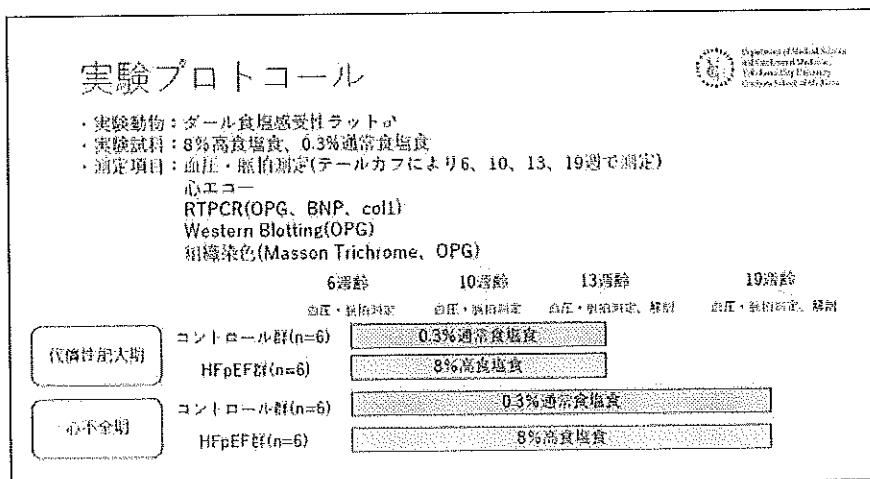
研究代表者は、これまでの研究によって、血清中のオステオプロテジエリン(OPG)濃度が左室心筋重量の増大、左室スティフネスおよびBNP値と関連していることを明らかにしてきた(J Cardiovasc Med 18:954–61, 2017)。本研究の目的は、主に拡張機能障害を主体とした心不全におけるOPGおよびRANKL/RANKシグナルの役割に着目し、ヒトにおける収縮機能の保持された心不全の動物モデルを用いた基礎研究を主な切り口として、『収縮機能が保持され、拡張機能障害を主体とした心不全の病態における、心筋細胞・線維芽細胞におけるこれらの蛋白活性の変化と左室拡張機能との関連性について明らかにし、それに基づく新たな治療標的の同定』を試みることである。

(研究方法)

研究計画の中で 2020 年度の期間中は以下の In vivo の実験を行っている。

I. Dahl ラット HFpEF モデルにおける OPG および RANKL/RANK シグナルの評価

Dahl 食塩感受性ラットに 8%高食塩食を 6 週齢より投与すると、18–21 週において収縮性が保持されたまま心不全を発症する。我々はこのモデルにおいて代償性肥大期(13 週齢)および心不全期(18–21 週齢)において OPG および RANKL/RANK シグナルの心臓組織における mRNA およびタンパク発現量を検討した(下図)。



(結 果)

- ① HFrEF群では代償性肥大期、心不全期いずれにおいても収縮期血圧がコントロール群と比較して上昇し、体重は減少していた(下表)。

Variables	13w(代償性肥大期)		19w(心不全期)	
	control群(n=6)	HFrEF群(n=6)	control群(n=6)	HFrEF群(n=6)
Body Weight (g)	351±16	318±31*	401±19	320±42*
Blood pressure (mmHg)	147±9	203±9**	137±11	214±18**
Heart rate (bpm)	485±15	500±28	484±22	447±53
LV·weight/TL (mg/mm)	19±1	28±2**	19±0	29±2**
LW/TL (mg/mm)	53±11	47±7	48±6	66±26

LV weight/TL = left ventricular weight/tibial length, LW/TL = lung weight/tibial length

Values are mean±SD. * P<0.05, ** P<0.01, vs control within the same stage, (t test).

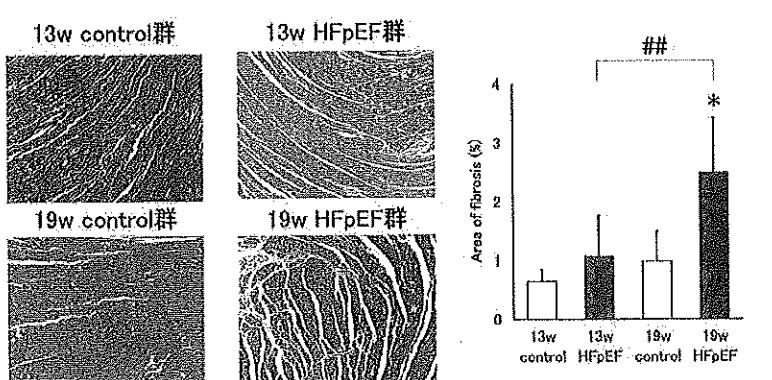
- ② 心エコーでは、HFrEF群で左室収縮性は保持され、求心性の左室肥大および左房圧の上昇を示唆する所見を認めた(下表)

	13w(代償性肥大期)		19w(心不全期)	
	control群(n=6)	HFrEF群(n=6)	control群(n=6)	HFrEF群(n=5)
LVDd (mm)	8.5±0.8	8.7±0.6	9.4±0.4	10.0±1.0
IVSd (mm)	1.2±0.1	1.7±0.1**	1.3±0.1	1.9±0.2**
PWd (mm)	1.1±0.1	1.8±0.1**	1.3±0.1	1.9±0.1**
RWT	0.28±0.04	0.41±0.08**	0.28±0.03	0.39±0.05**
FS (%)	0.34±0.03	0.36±0.07	0.31±0.03	0.32±0.07
Midwall FS (%)	0.20±0.02	0.18±0.03	0.18±0.03	0.16±0.03
E	93±13	75±15	97±8	86±17
A	38±13	58±24	24±7	40±22
E/A	2.8±1.0	1.6±1.1	4.4±1.4	3.0±2.2
DT	47±9	37±6	48±8	40±5

LVDd = left ventricular end-diastolic dimension, IVSd = interventricular septum thickness at end-diastole, PWd = left ventricular posterior wall thickness end-diastole, RWT = Relative wall thickness, FS = Fractional Shortening, DT = Deceleration time, Relative wall thickness=2×PWd/LVDd, Fractional Shortening=(LVDd-LVEd)/LVDd × 100

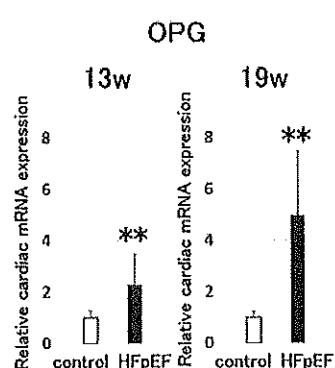
Values are mean±SD. * P<0.05, ** P<0.01, vs control within the same stage, (t test).

- ③ 心不全期(19w)においてHFrEF群では左室間質の線維化が亢進していた。



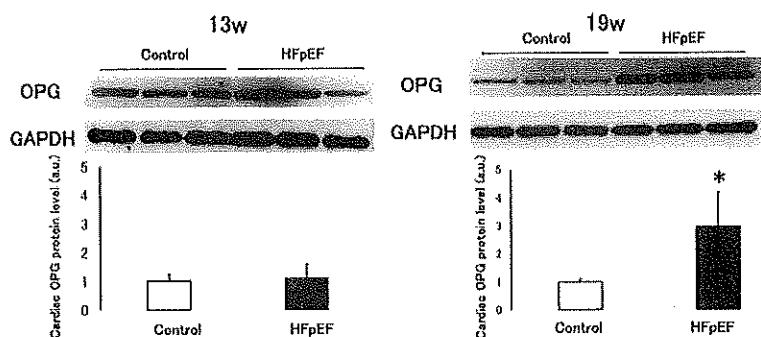
n=5~6, * P<0.05 vs control on the same stage, # P<0.05, ## P<0.005, vs control on the same group, (ANOVA).

④ 心臓組織におけるOPGのmRNAおよび蛋白発現量



左図のように心臓組織中OPGのmRNA発現量は代償性肥大期(13W)にHFP EF群でControl群と比較してわずかに増加していた。心不全期(19W)ではHFP EF群でさらに増加した。

また、心臓組織でのOPG蛋白発現量は代償性肥大期では差を認めなかったが、心不全期(19W)でHFP EF群でControl群と比較して優位に増加していた。



(成果・考察) 等

上記のように、今回の研究ではDahl食塩感受性ラットHFP EFモデルにおける心臓組織中のRANK/RANKL/OPGの発現について検討した。

(1) モデルの適切性

Dahl食塩感受性ラットに8%高食塩食を投与すると、13週齢前後で左室代償性肥大を来し、19-21週齢前後で収縮性が保持されたまま心不全を発症する(J Hypertens 2000;18: 111-120)。当施設においても過去に同じ方法によりHFP EFモデルを確立している(J Cardiovasc Pharmacol 2016;68:155-161)。今回のモデルは問題点があり、19週齢の心不全期回収で肺重量がControl群と比較してHFP EFモデルで増加はしていたものの、統計学的には優位ではなかった。これは、モデルのフェノタイプが十分に出ていなかったこととなるが、その原因としては、過去の当施設での回収周齢(21週)よりもやや早く回収していたことは影響していた可能性がある。ただ、肺重量の増加という点以外ではモデルと同様の変化を示しており、当検討を進めるには問題ないと判断している。

(2) モデルの代償性肥大期と心不全期における左室形態および機能、左室組織学的変化

心臓超音波による評価では上記の表のとおり、モデルでは代償性肥大期より左室の相対

的壁厚(Relative wall thickness: RWT)は増大し、左室心筋重量係数はControl群と比較して増加し、心不全期においても同様の変化を示した。また、解剖時の左室心筋重量係数はモデルではControl群と比較して増大していた。つまり、モデルにおいては左室求心性肥大を呈していたと考えられる。さらに、心臓超音波検査において、収縮機能の指標であるFSあるいはmid-wall FSはモデルとControl群で差を認めず、モデルにおいて収縮機能が保持されていたことを示している。血行動態指標は左室流入血流速波形で評価している。代償性肥大期ではモデルではControl群と比較して有意差はないもののE/Aが低下しており、心不全期では同モデルでの代償性肥大期と比較して増加していた。これは、代償性肥大期における弛緩障害と心不全期における左房圧の上昇を示唆しているものと考えられる。これは実際の圧波形の計測がないため、エビデンスとしては十分ではないが、過去の同モデルを用いた検討と比較すると矛盾しない結果である(J Am Coll Cardiol 2000; 36:2333-8)。左室の線維化面積の検討では、HFpEFモデルにおいて心不全期にControl群と比較して増加していた。HFpEFでは左室心筋スティフネスの増大がその病態の一員と考えられており、左室間質の線維化はその要因と考えているため、今回線維化の増加を認めていすることはモデルとして適切であることを示していると考えられる。

(3) 左室組織中のOPG発現について

今回上記のように左室心筋中のOPGのmRNAおよび蛋白発現量を検討している。mRNA量はモデルにおいて、代償性肥大期よりControl群と比較して増大しており、心不全期にさらに増大していた。また、蛋白量は代償性肥大期にはControl群と同等であったが、心不全期に増大していた。当研究を開始する動機となったことは、過去の大規模臨床試験における血漿中のOPG濃度と、左室心筋重量係数や左室スティフネス、BNP値が関連していたことを私自身が報告したものである。血漿中濃度と左室心筋中での発現では必ずしも同一視はできないが、HFpEF群において左室心筋組織においてOPGの発現が増加していたことは、OPGがより病態に関与している可能性がしめされたものと考えている。

(4) 今後の検討課題について

- RANKL-RANKについて同モデルの心臓組織においてどのように発現しているのか、あるいはOPGと関連しているのか：これまでにmRNAの検討を行っているが、発現量は十分ではなく、OPGはRANKL-RANKとは独立して何らかの働きを持っている可能性を考えている。さらに検討していく予定である。
- OPGが心臓組織において直接的に病態への関与をしているのであれば、どのように関与しているのかを検討していく必要がある。過去の報告では、OPGは心臓間質の線維化を示唆する報告(Hypertension. 2016;67:848-856)があり、In vitroの実験を行いOPGが直接的にコラーゲン産生を促進するかどうかを検討していきたいと考えている。