

1. ブタ利用研究の基盤づくり

1) ブタ微生物学的品質コントロール

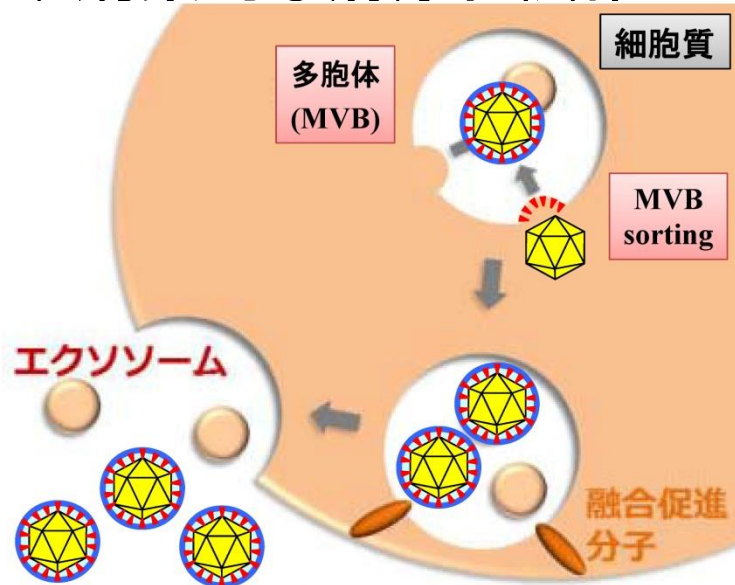
ウイルス学部門 教授 岡本宏明

1) HEVの感染状況調査 (2013年4月～2015年3月)

- ・実験に供された284頭のブタはいずれもHEV抗体が陰性であった。また、搬入元(A農場とC農場、E農場)のブタ403頭について調査し、HEVフリー継続を確認した。
- ・HEVの感染リスクのない研究環境でブタを用いた実験が安全に行われていたことが分かった。

養豚場	n	IgG anti-HEV
A	142	0
B	108	0
C	30	0
D	2	0
E	1	0
F	1	0
合計	284	0

2) 効果的な清浄化法確立のための基礎検討



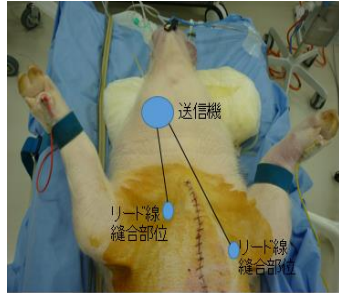
・HEVの増殖機構は殆ど解明されていない。そこで培養系を駆使し、ウイルスの細胞内輸送機構並びに放出機構を明らかにした。

・HEVはMVB sorting機構を利用してMVB内腔へと出芽し、膜内小胞(エクソソーム)とともにMVB内に存在する。そして、エクソソーム分泌経路を利用して、エクソソームになりすまして細胞に傷害を与えることなく放出されることが分かった。

MRI撮影を行う動物実験におけるテレメトリー法の適用性の検討

動物資源開発部門 國田 智、牧村幸敏

生体機能評価のための
テレモニター埋め込み手術



1週間以上の
回復期間



MRI撮影



*検査直前・直後に
心電図波形、
体温データを取得。

検査結果



白丸:アーティファクトによる
局所的シグナル喪失

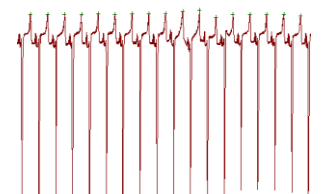
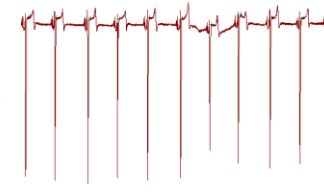
青丸:心臓

* 左心房の評価には十分

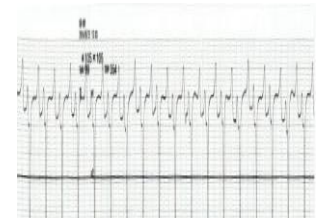
撮影直前 1s

撮影直後 1s

テレ
モニター

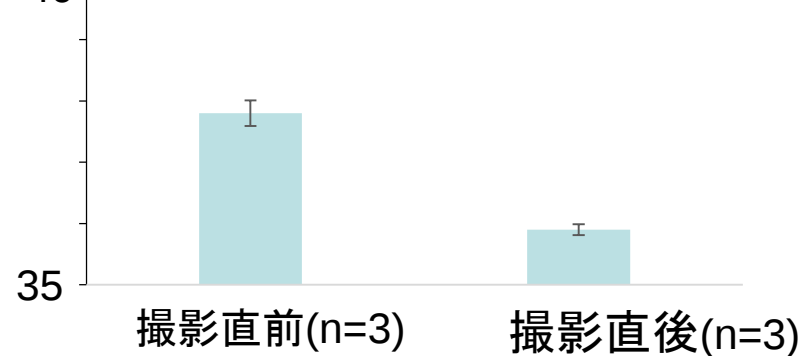


心電図
モニター



℃

40 テレモニターの埋め込み部位の局所温度



広範囲のアーティファクト、心電図取り込みの異常や発信機発熱による局所温度上昇は認められず、テレモニター埋め込み個体においてMRI撮影・解析は適用可能であった

ブタの無菌的帝王切開法と無菌的飼育法の開発

再生医学研究部 花園豊、河野正太

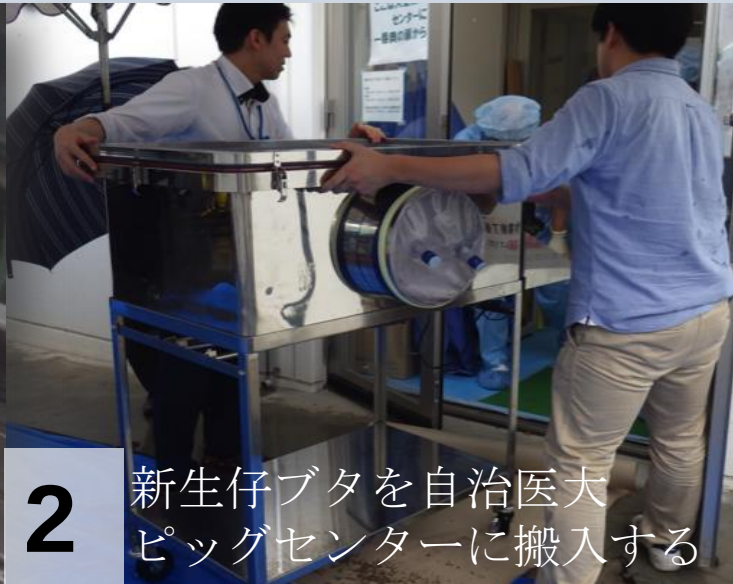
- ブタの無菌的帝王切開法と新生仔ブタの無菌的飼育法を開発・検証している。
- 今後、これらの方法を免疫不全(SCID)ブタの娩出・飼育に適用し、SCIDブタの実用化を目指す。
- SCIDブタは、ヒト細胞の受け皿・アッセイ系としてさまざまな分野で活用可能である。今まで免疫不全マウスでしか行い得なかった実験(ヒトiPS細胞治療の評価等)を、生理的にヒトに近いブタの系で実施可能になり、その有用性は大きい。

SCIDブタは明治大学農学部長嶋教授との共同研究(CREST)の成果である。本研究には厚労科研および革新的バイオ医薬品創出事業の成果が利用されている。



1

帝王切開手術により
無菌的に摘出された新生
仔ブタ



2

新生仔ブタを自治医大
ピッグセンターに搬入する



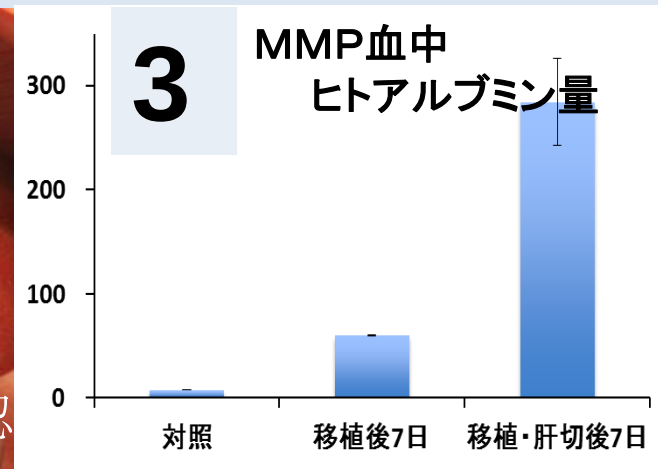
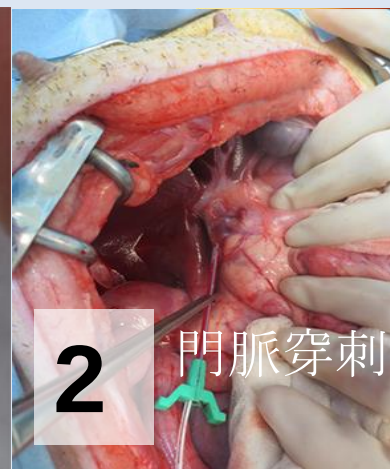
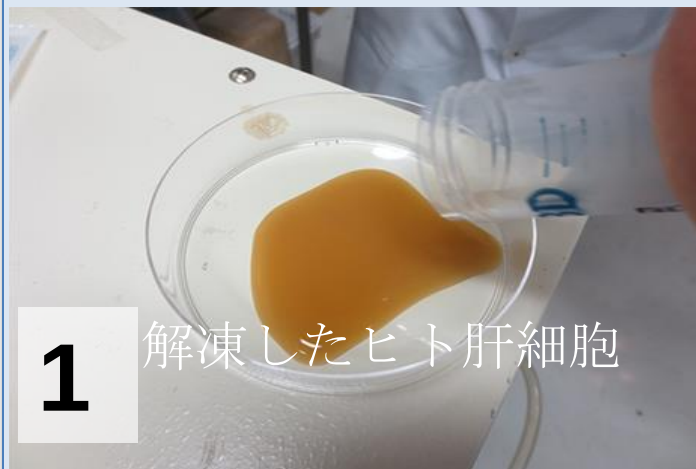
3

飼育アイソレーター内
で無菌的に哺育する

ヒト化ブタ:ヒト肝細胞をブタ体内で増幅させる

小林英司

- ・世界最小実験ミニブタ(以下MMP)を用いて、ヒト肝細胞を移植・増幅することに成功した。
 - ・ヒト生体肝移植治療時のグラフトサイズミスマッチ時に生じるドナー肝臓の一部から分離、凍結保存したヒト肝細胞(絵野沢博士との共同研究)を門脈経由でMMPの肝臓内に移植した。
 - ・MMPの肝臓を切離することでMMP血中に大量のヒトアルブミンが同定された。
- (本研究は、私立大学戦略的研究基盤形成支援事業の他、Regience社との共同研究に関係し、また、これらの研究事業で活用されます。)



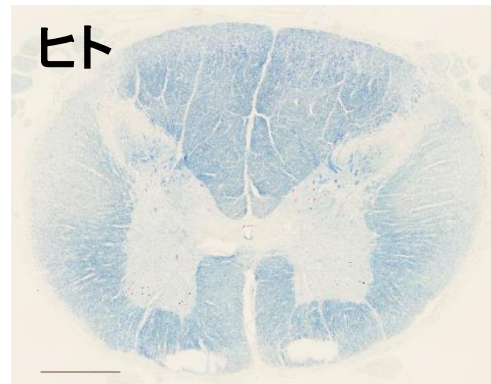
東洋医学部門の研究内容

(特命教授・村松 慎一)

改良型AAVベクターを応用した 神経変性疾患の遺伝子治療法開発

- アルツハイマー病 → $A\beta$ 分解酵素, scFv (抗体)
- 筋萎縮性側索硬化症 → RNA編集酵素

特許第5704361号: 神経系細胞への遺伝子導入のための
アデノ随伴ウイルスビリオン



Bar = 1.5 mm

動物種	脊髄の長さ (cm)
マウス	3 ~ 4
ブタ	40 ~ 42
カニクイサル	27 ~ 34
ヒト(成人)	40 ~ 45

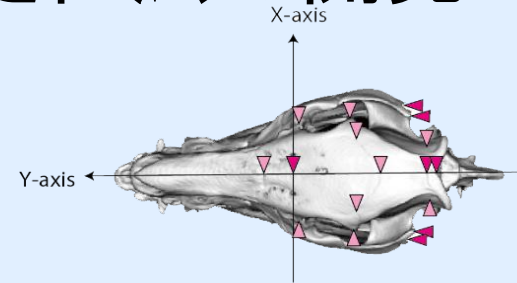
イメージングに基づくブタ利用研究基盤の作成

脳神経外科 渡辺英寿

先端医療技術開発センター 宇賀美奈子

1. ニューロナビゲーターを利用した脳定位法の開発

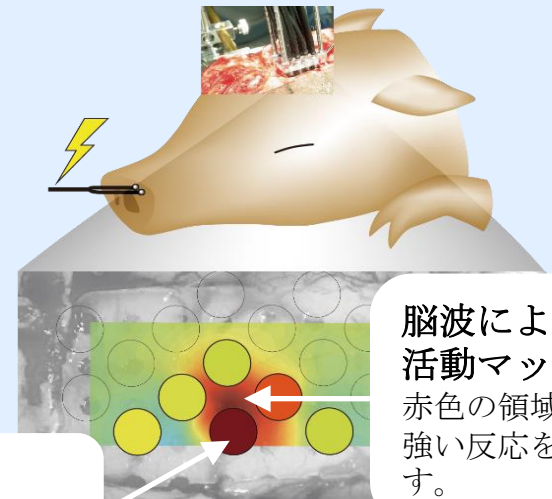
ニューロナビゲーターを用いて脳の部位を特定するために、地図に相当する標準脳データが必要である。但し、ブタの場合は脳の周囲の頭蓋骨の厚さがヒトのようにほぼ均一ではないので頭蓋骨の厚さも考慮した拡張標準脳データを作成する。現在までに拡張標準脳作成のためのデータ収集と頭蓋骨基準点の特定を実施した。



三角は基準点の候補とした点。
濃い色の三角は確定した基準点。

2. 新しい脳機能計測方法の開発

ダイレクト光トポグラフィーによる脳血流変化の計測方法および解析方法を開発した。今後は取扱いが容易で安全な計測用モジュールの開発を目指す。



脳波による
活動マップ
赤色の領域で
強い反応を示す。

光トポグラフィー計測結果
円の赤が濃いほど強い反応を示す。
脳波と同様の領域で反応が検出できた。

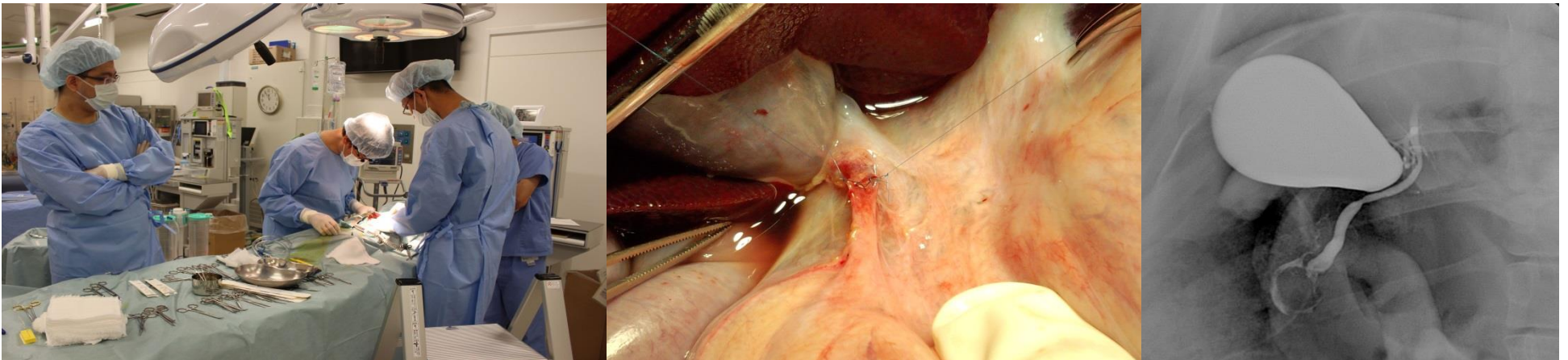
消化器一般外科の研究内容

(教授 佐田尚宏)

胆管膵管用ニッケルフリー金属ステントの作製
(自治医大と独立行政法人・物資材料研究機構)
ニッケルフリー金属ステントを開発しています。

ブタ胆管吻合モデルのステント挿入

生体反応性が少なく、ステント狭窄防止が期待されます。
ブタの胆管に挿入し、ステントの生体反応性を検討し、ヒトへの臨床応用を目指しています。



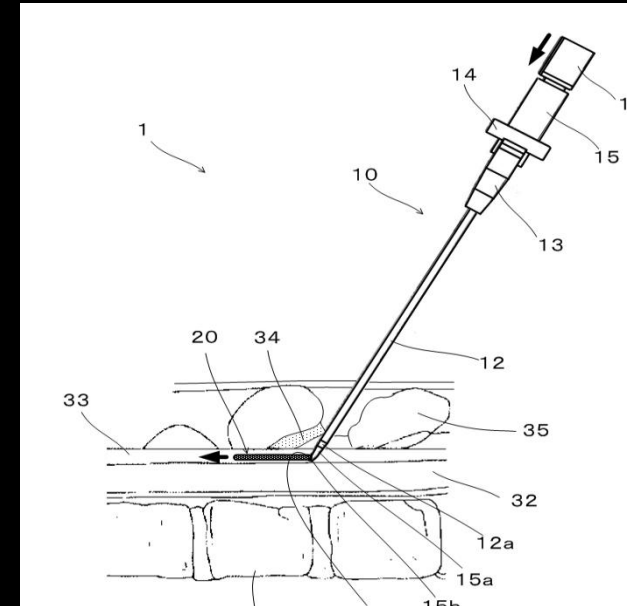
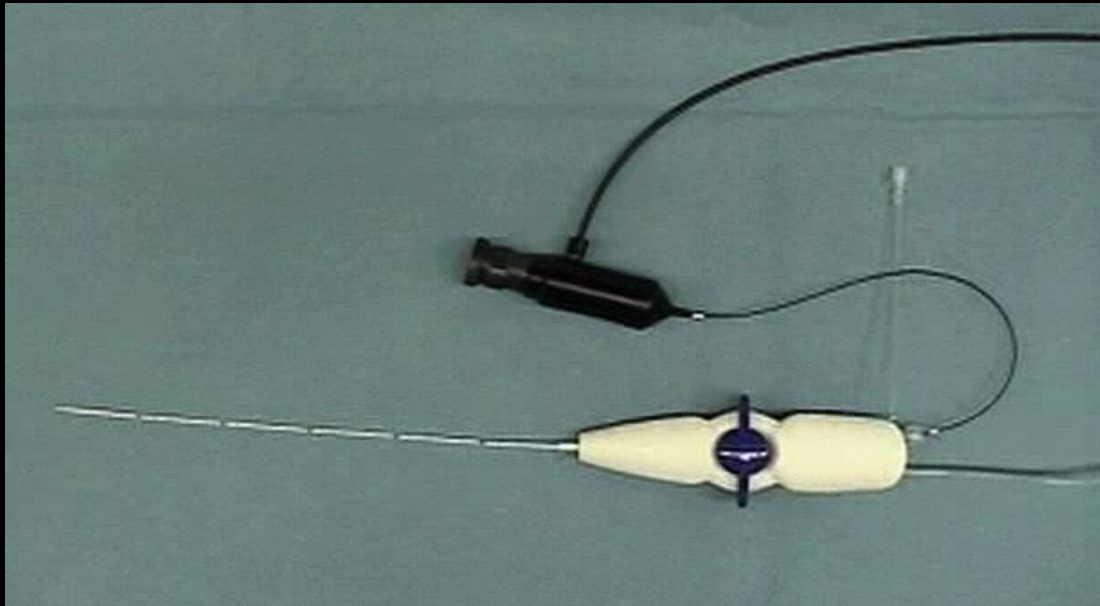
ダブルバルーン内視鏡の改良とラテックスフリー化

消化器内科 山本博徳・矢野智則

- 当施設で開発されたダブルバルーン内視鏡は、従来までの内視鏡では困難であった深部小腸への挿入を可能にし、小腸疾患の診断・治療を大きく進歩させました。
- より低侵襲に、より容易に深部小腸へ挿入することができるように、従来より細径で柔軟いスコープの開発が望まれていました。
- ラテックス製のバルーンが、ラテックスアレルギーの患者さんに対して使用できないという問題がありました。
- 上記2つの問題に対して、より細径の第二世代スコープとシリコン製のバルーンとオーバーチューブを開発し、ブタで実験の上、市販化できました。



硬膜外腔内視鏡を用いた 腰痛治療技術の改良



麻醉科学集中治療医学講座
放射線医学講座

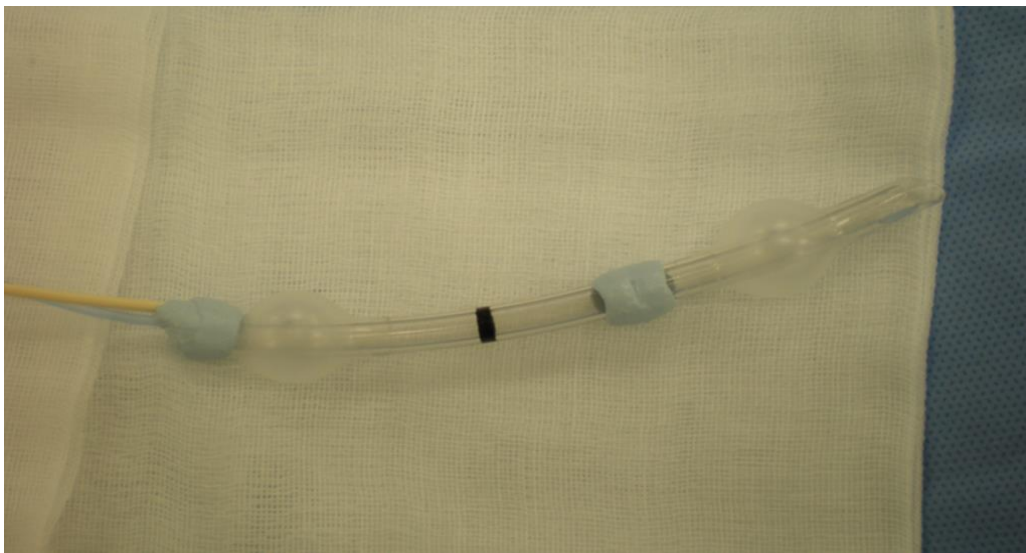
五十嵐孝, 竹内護
杉本英治

止血デバイスの開発

救急医学・先端医療技術開発センター

伊澤祥光、菱川修司、牧村幸敏

- ・ 下大静脈損傷を伴う肝損傷は死亡率が高く救命が困難です。
- ・ この損傷における静脈一時止血デバイスを開発・作製しました。
- ・ 効果検証・安全確認のため先端医療開発センターを利用しています。



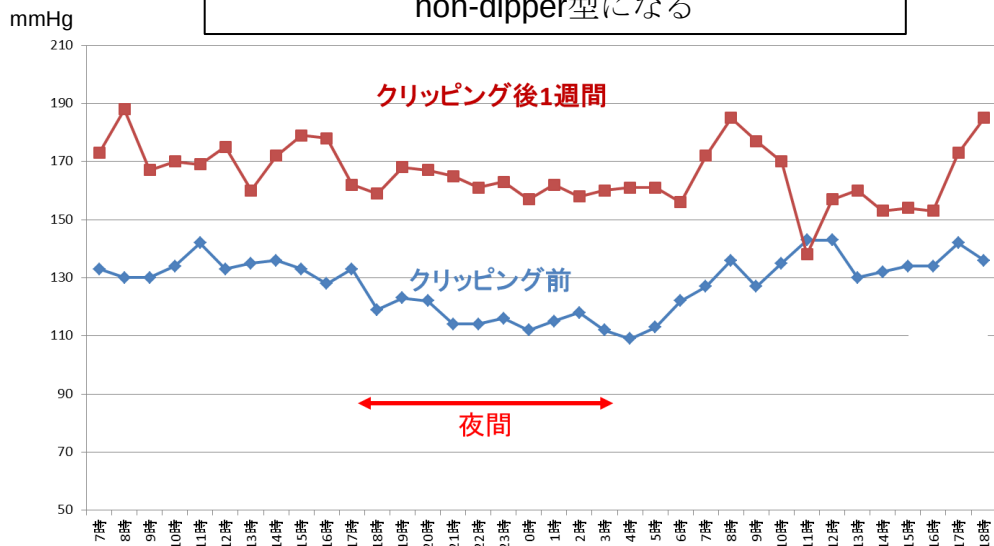
(特許出願しました)

ブタ腎血管性高血圧モデルの作成と血圧・心拍変動解析

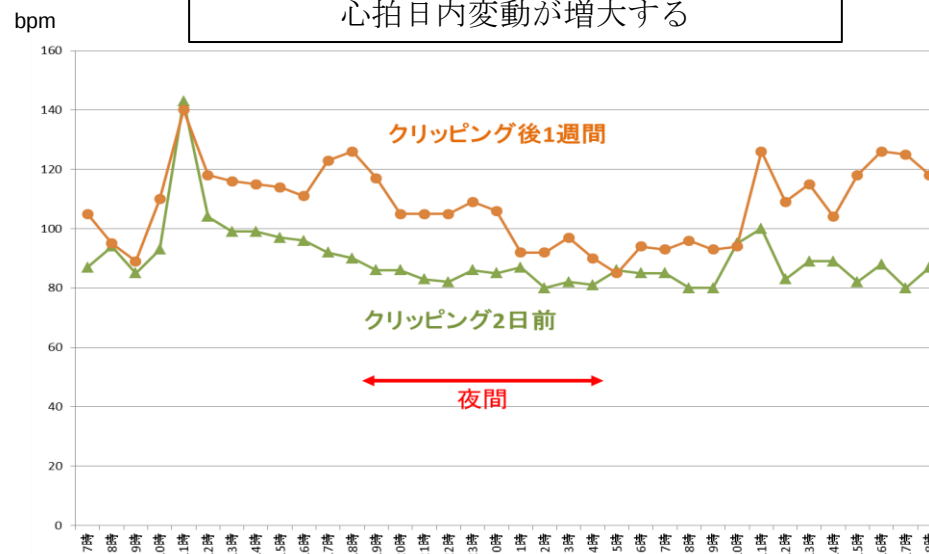
循環器内科 新島聡、新保昌久、苅尾七臣

- マイクロミニブタを用いて、片側あるいは両側腎動脈の外科的クリッピングによるブタ腎動脈狭窄モデルを作成し、血圧変動、自律神経活動について、詳細な解析を進めている。
- 今後、大阪大学との共同研究により、アンギオテンシンⅡペプチドワクチンをブタ高血圧モデルに投与し、その降圧および血圧変動性への効果を検証する。

ブタ高血圧モデルでは、血圧日内変動は non-dipper 型になる



ブタ高血圧モデルでは、心拍数が上昇し、心拍日内変動が増大する



心臓手術における低侵襲術式の開発と技術習得2014

心臓血管外科:三澤吉雄

これまでの取り組み

僧帽弁手術を中心に2011年に臨床応用開始し、2014年末までに16例に施行した。
前年度からの計画の基づき、冠動脈バイパス術の低侵襲手術への準備を開始した。

機器の違いをドライラボにて克服

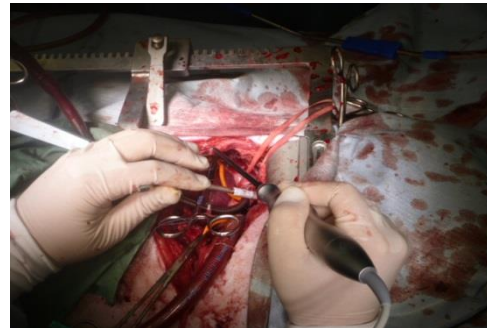
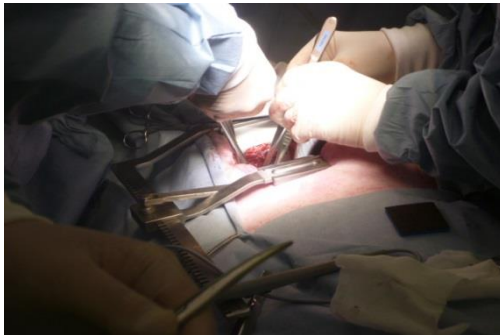


従来型



低侵襲様型

臨床前にはウェットラボにて体験



今後の展望: 症例数の増加・da Vinciを用いた術式の習得・TAVIのウェットラボ

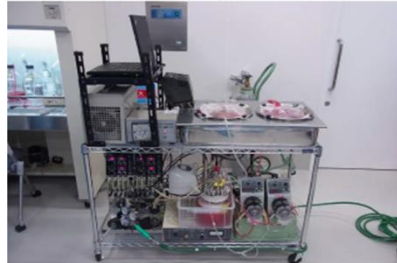
常温酸素化灌流装置を用いた臓器保存法の開発

移植外科 水田耕一、浦橋泰然、岡田憲樹

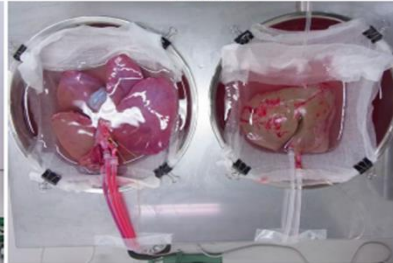
ブタ肝臓灌流培養装置を用いた恒温培養

灌流中の臓器温度を22℃一定に保つために、恒温槽を設置した可動式培養装置を作成し、ブタ肝の灌流培養を行った

可動式ワゴン全景



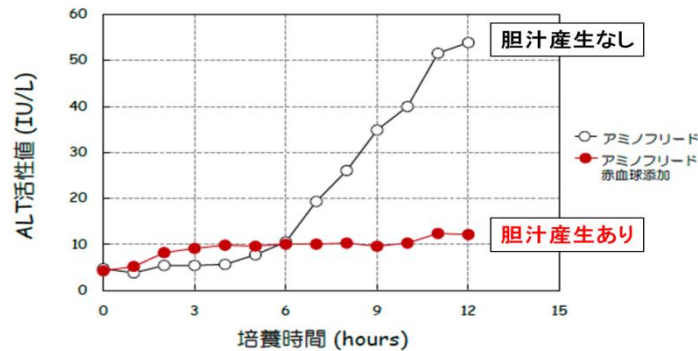
肝臓設置



灌流条件 温度:20℃ 灌流時間:12時間
灌流圧 門脈 8-12mmHg 動脈 60-80mmHg
供給酸素分圧:300-400mmHg(酸素運搬体;ブタ全血10%)

アミノフリードを用いた灌流培養における障害解析

アミノフリードとアミノフリードへ赤血球を添加した灌流液を用いてそれぞれ22℃下でブタ肝の灌流培養を行い、障害抑制効果を解析した



赤血球添加灌流液において障害抑制効果が認められた

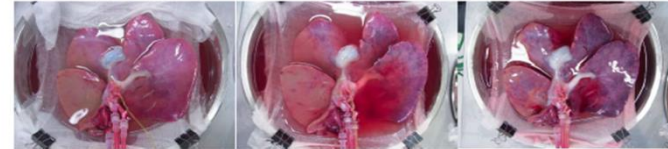
アミノフリードを用いたブタ肝灌流培養(12時間)

アミノフリードに赤血球を添加した灌流液を用いてブタ肝の灌流培養を行い、灌流中の臓器外観を観察した

培養開始

培養3時間

培養6時間



培養9時間

培養12時間



重量:433g
SHIVC短のため
Out経路はIVC利用
胆汁生産は6時間後で
7ml

赤血球の滞留と肝左側の循環不良が確認される

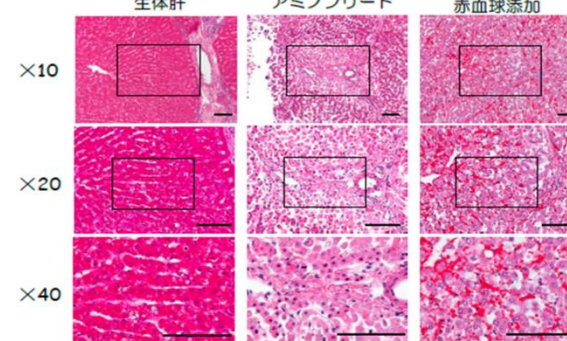
アミノフリードによるブタ肝灌流培養後の組織解析

アミノフリードに赤血球を添加した灌流液を用いてブタ肝の灌流培養を行い、培養後の組織解析を行った

生体肝

アミノフリード

アミノフリード
赤血球添加



赤血球添加による肝細胞の生存効果が認められるものの、同時に組織構造の崩壊が確認される

ブタ肝において、全血液添加した希釈アミノ酸液を用いた常温灌流培養によって、肝障害の抑制効果が示された。今後、常温酸素化灌流における最適な灌流条件を検討する。

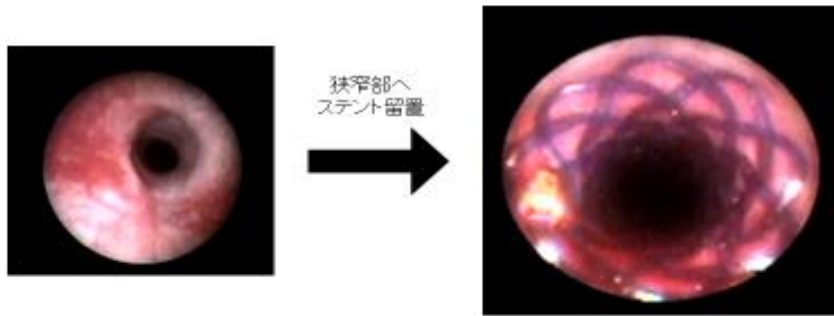
先天性気管狭窄症に対する新しい治療法の開発

小児外科学 教授 小野 滋, 河原仁守

- 日本白色家兎を用いた気管内擦過による**気管狭窄モデル**の作成
- 組織刺激性の少ない**生分解性ステント(BD stent)**を気管狭窄モデルウサギに使用して、術後の呼吸機能、気管粘膜の評価、病理組織学的検討を施行

BD stentの効果

気管狭窄症動物モデルにBD stentを留置し、気管内腔を拡張させ、**換気が改善し延命した**



⇒ステント留置群において血液ガスの推移を評価し、BD stentの効果を検証する

動脈血液ガスの推移

気管狭窄症動物モデルにおいてコントロール群(n=5)とステント群(n=3)の比較
耳介動脈より採血

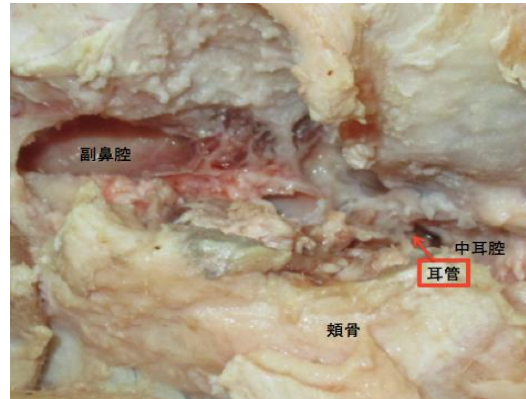
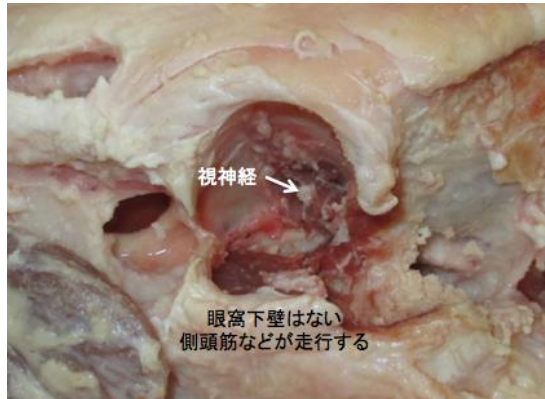
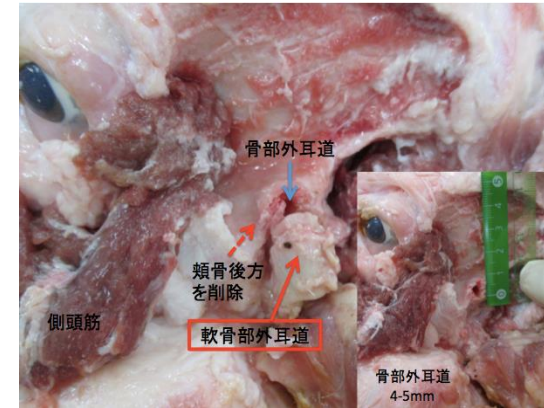
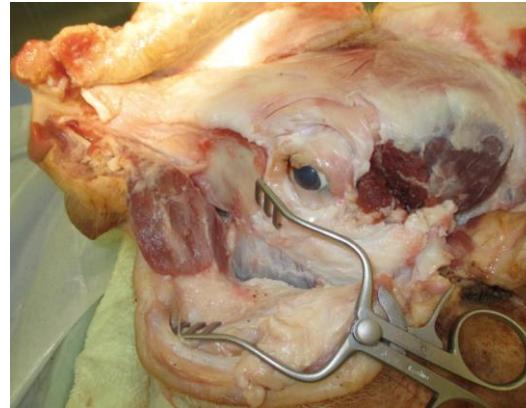


ステント留置群で、**2週間以上の延命**を認めており、現在、血液ガスの推移を測定しながら経過観察中

生分解性ステント(BD stent)を用いて気管狭窄症モデルウサギの気管内腔を確保することができている。今後、本ステントの気管組織に対する影響を評価し、先天性気管狭窄症への臨床応用を検討していく。

ミニブタ頭頸部解剖

自治医科大学附属さいたま医療センター 耳鼻咽喉科 新鍋晶浩



先端医療技術開発センター
手術室

術野が狭く、顕微鏡下の中耳手術の侵襲は大きいと予想された。
今後は解剖のさらなる理解と内視鏡を併用した低侵襲手術が必要と考えられた。

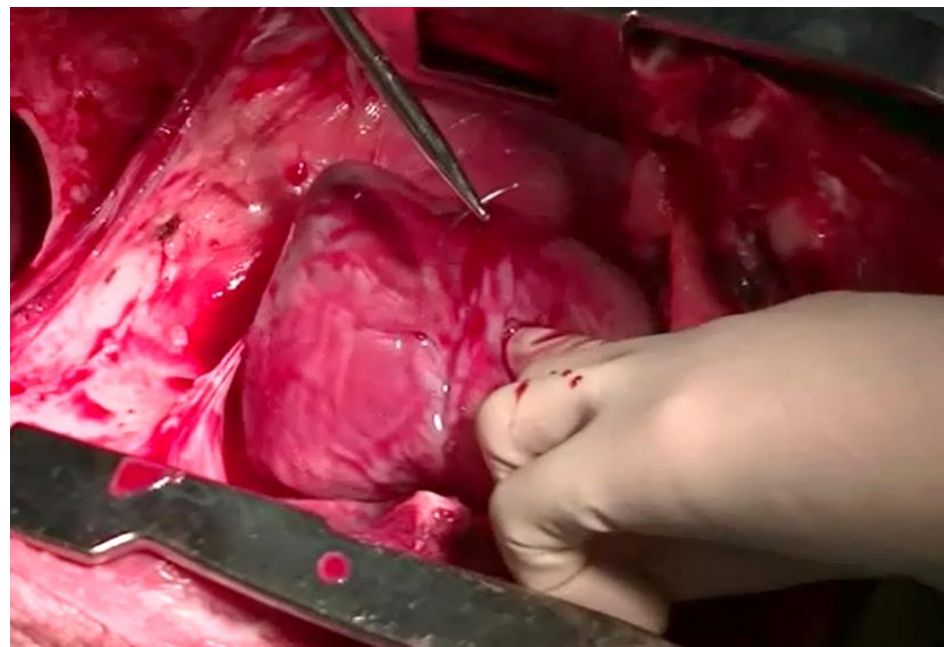
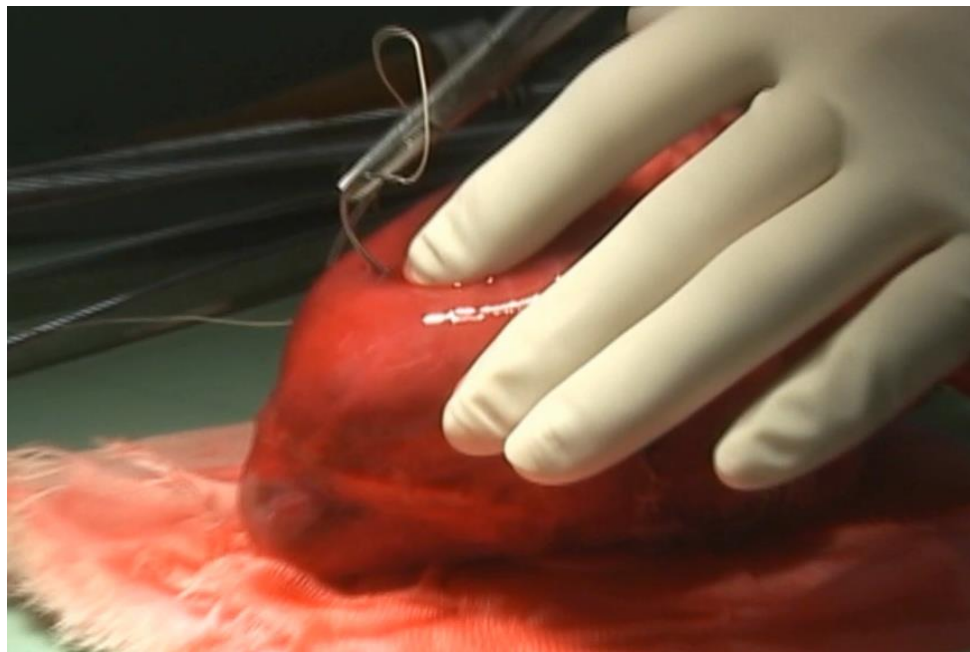
効果的な手術実習方法の開発

医療技術トレーニング部門・先端医療技術開発センター

伊澤祥光、菱川修司、牧村幸敏

自治医科大学附属病院の医師も対象に効果的な外傷手術手術法の研究を先端医療技術開発センターで開始しました。

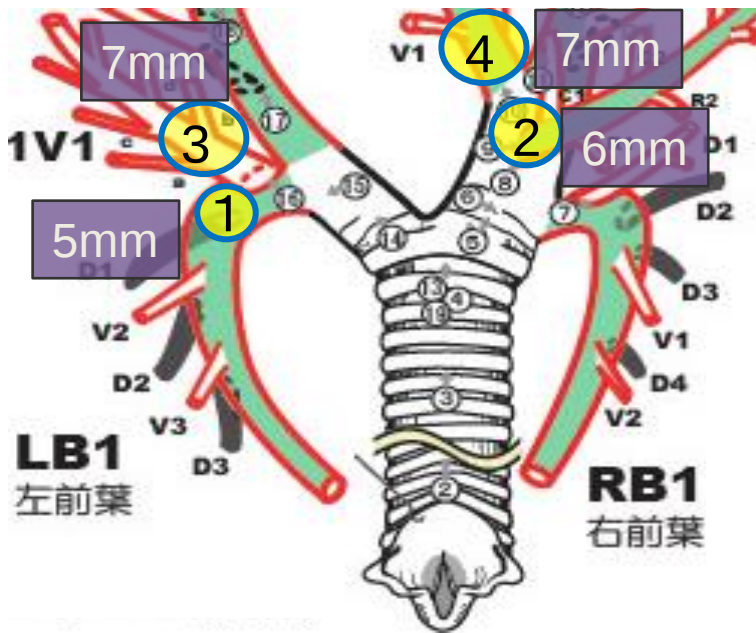
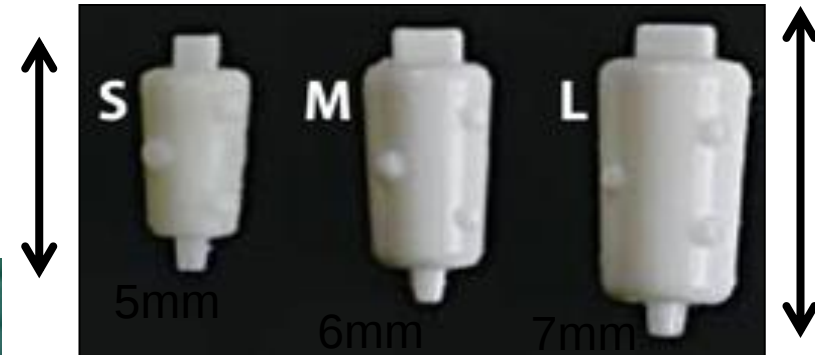
2つの異なる方法で修練を行って、それらの効果を比較検討します。



ブタモデルを用いた気管支鏡検査の応用 (EWSによる気管支充填術)

呼吸器内科講師 中山雅之

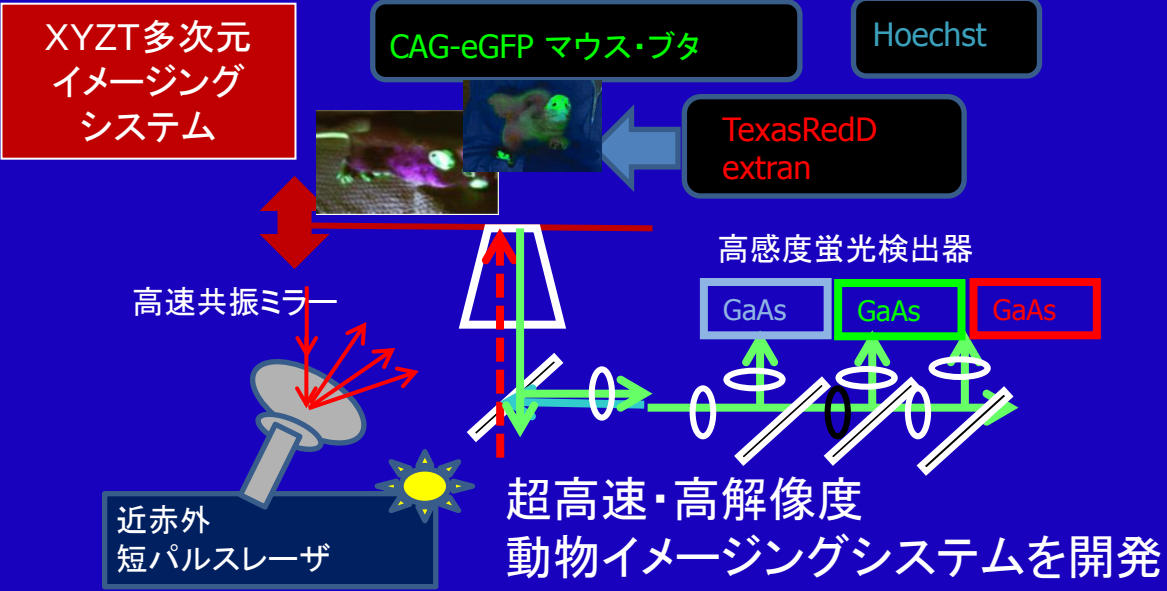
EWS



EWS充填に要した時間(秒)

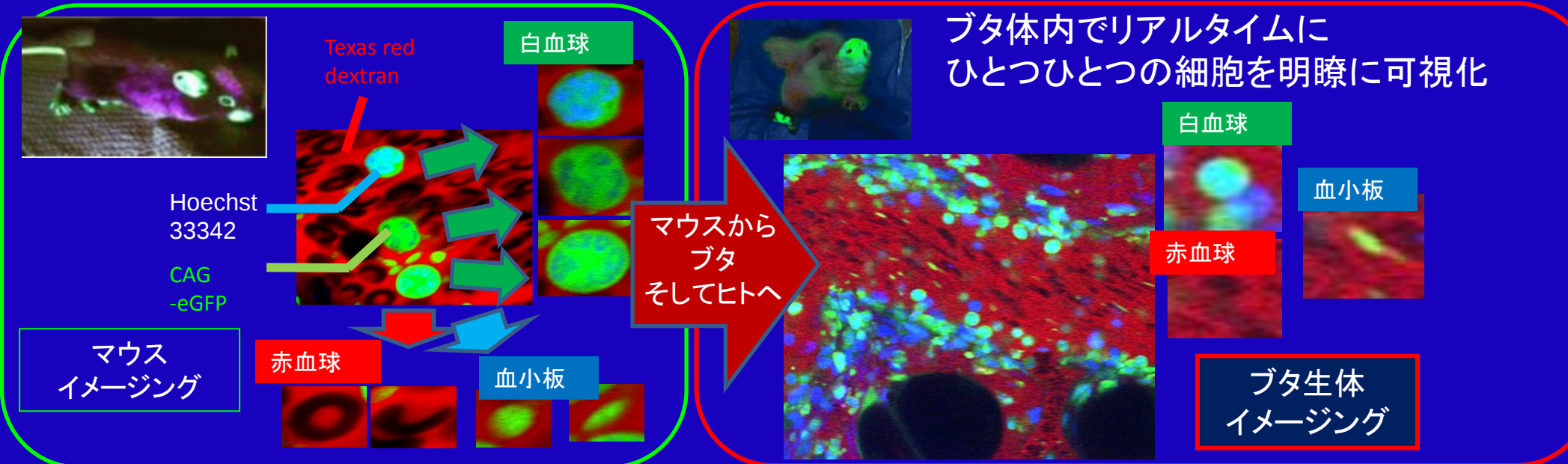
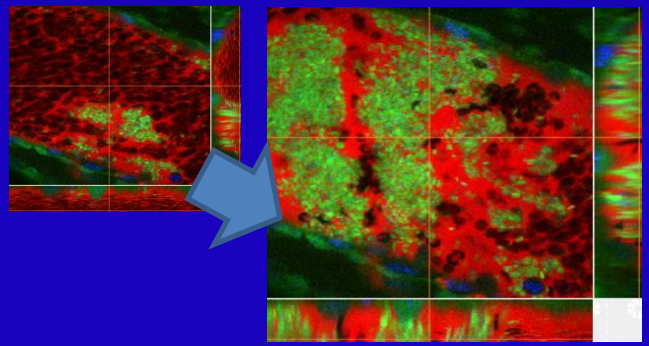
	5mm 充填①	抜去	6mm 充填②	抜去	7mm 充填③	抜去	7mm 充填④	抜去
若手医師	75.7	78.2	143	128	177	35.7	254	132
熟練医	23.9	10.7	13.9	14.6	35.0	14.0	30.0	13.6

二光子生体イメージングを用いた生活習慣病解析
分子病態研究部 西村智



ヒトの病気をなおすために
マウスにくわえてブタの体の中が
みえる顕微鏡を作っています

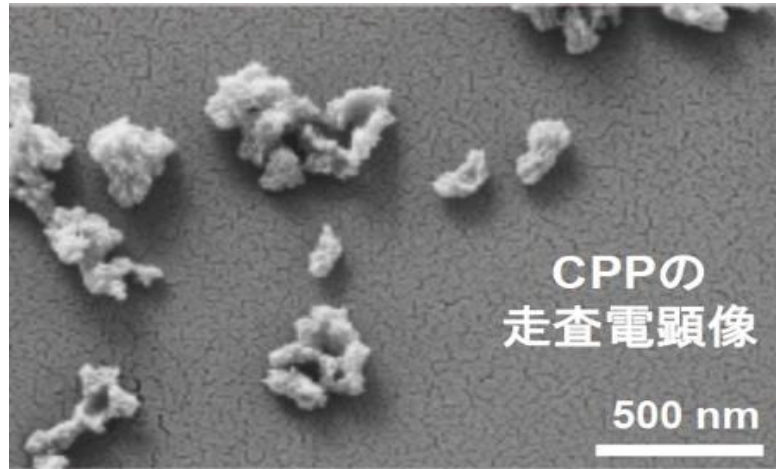
このシステムでみえる例：
血栓ができる瞬間



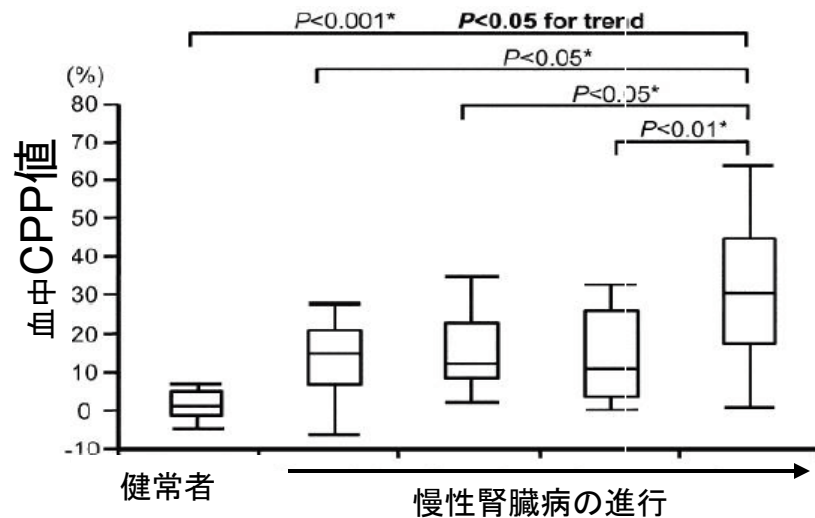
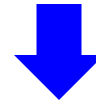
血中CPPを標的とした慢性腎臓病の新規治療法の開発

抗加齢医学研究部

黒尾 誠



- 慢性腎臓病が進行すると、血中にリン酸カルシウムと蛋白質の複合体(CPP)が出現します。
- 透析患者では、血中CPPが特に高値を示し、動脈硬化の重症度と関連します。
- CPPは、あたかも病原体のように、細胞障害や慢性炎症を引き起こす活性があります。



Hamano T, et al. J Am Soc Nephrol 2010;21:1998-2007.

透析時に血中CPP
を除去する装置の
開発を目指します。

その装置の有効性と安全性を、ミニブタの透析モデルで検証します。

