

遠隔リハビリテーションのための画像解析による 関節可動域の計測法

山下 幸司

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：河村 徹郎)

(緒論)

近年、在宅リハビリテーションはニーズの高まりと共に、情報通信・情報技術を活用したリハビリテーション支援への期待が高まっている。手のリハビリテーションは在宅でも訓練を続けて行う必要があり、その際、手の関節可動域の計測が最も重要である。しかし在宅において、これを直接計測することは困難であり、モニター画像から画像解析により手の関節可動域を計測することが有効と期待される。

本論文では遠隔（在宅）リハビリテーションで使用する訓練中のモニター画像から関節可動域を計測する支援システムを開発し、画像解析により手の外形系から骨格軸を推定し関節可動域の計測法の開発と評価を行った。また本手法は、手の外形情報から関節可動域の基本節と移動節を推定するために種々の画像処理手法を組み合わせ・改良を行った。さらに基本節である前腕と移動節である手からなる関節の運動時の画像計測の精度がどの程度かを X 線像を利用して分離して測定を行った。またこれらの結果をもとに新たに指節の要素を追加して、3 軸検出モデルを導入し、上肢の輪郭情報から関節可動域を推定する際に、推定精度の高さを X 線画像とビデオ画像を用いて検証した。

(方法)

手の関節可動域の画像から推定する方法は、もともと物体の中心線を推定する方法を基礎にしたものである。次の手順 1～7 で構成されており、ここでは概要を示した。

手順 1 入力画像：入力画像は手の関節可動域を X 線像とビデオ画像の静止画像で取り込んだものを利用した。

手順 2 判別分析 2 値化法：画像の濃度ヒストグラムから統計的に最適閾値を決定する判別分析 2 値化法を用いた。

手順 3 膨張処理：周囲の微小凹凸の除去を図るべく膨張処理を行った。

手順 4 Hilditch 細線化：手の骨格に対して検出を行うため Hilditch 細線化を行った。

手順 5 Hough 変換：関節の角度や腕の角度といった複数の直線が考えられ、直線に途切れや複数の直線があっても検出が可能な検出精度の高い Hough 変換を用いた。

手順 6 クラスター分析：Hough 変換により得られた各直線候補群を「移動節」と「基本節」と「指節」のグループに分類するためクラスター分析を行った。

手順 7 角度検出：角度検出は手順 6 で得られた直線

候補群の平均値をなす角度とした。

実験 1 として生体には骨格の回りに軟部組織があるため、関節運動に際して外形輪郭が変化し、画像による推定軸に誤差が生じる。臨床的には療法士は触手により骨の位置を確認するが、基本節と移動節からなる関節の運動時の画像計測の精度がどの程度かを評価するには、基本的には X 線像と比較し検証する必要があると考えられる。

なお実験条件として被験者は、健常者 5 名で X 線像を利用し移動節および基本節のどちら側に誤差があるかの比較を行った。

実験 2・3 として基本的には画像解析時に基本節と移動節の 2 軸検出モデルで検出を行っている。しかし橈骨遠位端骨折の症例の場合、特に屈曲位のように親指が突出した像や拘縮した像の場合、高い精度で関節可動域の計測が難しいことが考えられる。このような誤差を減らすために、従来の基本節と移動節にさらに指節を加え、クラスター分析時に 3 軸検出モデルを設定する方法を考案した。これにより、本来求めるべき基本節と移動節に着目してこれらの軸間の角度、すなわち手の関節可動域の角度の計測を行った。

なお実験条件として被験者は、健常者 8 名で X 線像を利用し 2 軸検出モデルと 3 軸検出モデルにて比較を行った。また臨床応用ができるかを確認するため患者 9 名にてビデオ画像を利用し 2 軸検出モデルと 3 軸検出モデルにて比較を行った。

(結果)

「本手法により求める画像解析による手の関節可動域の推定軸」に対して「療法士からの測定データ」と「X 線から測定した骨格軸」の比較を行った。両者間の対応関係をみるために「対応ある t 検定」と線形関係をみるために「Pearson's」の相関係数を用いた。例えば対応ある t 検定で「有意差なし」でかつ相関係数が“高い”場合には推定軸は誤差が十分小さいため、骨格軸として臨床応用できると考えられる。

X 線像を利用して、移動節と基本節を分離して測定した結果、基本節は平均値に有意な差がなく、相関係

数も高いので両者に差がなく骨格軸とみなすことができる。これにより臨床応用ができるといえる。また移動節は平均値に有意な差がないが、相関係数が低いので両者に差があり骨格軸とみなすことができない。これにより臨床応用ができないといえる。2 軸検出モデルでは必ずしも十分な精度は得られないといえる。またこれらの原因として移動節や屈曲位に誤差の原因があると考えられる。

X 線像とビデオ画像を利用して、関節可動域を測定した結果、2 軸検出モデルで、伸展位は相関が高いが平均値に有意な差があった。また屈曲・橈屈・尺屈位は有意な差はないが相関が低いので両者に差があり骨格軸とみなすことができない。これにより臨床応用できないといえる。3 軸検出モデルで、各関節可動域は平均値に有意な差がなく、相関が高いので両者に差がなく骨格軸とみなすことができる。これにより臨床応用できるといえる。

(結論)

本論文では遠隔（在宅）リハビリテーションの訓練中の手の運動時のモニター画像から解析を行うことにより外形情報から骨格軸を推定し、手の関節可動域の計測を行い本手法の有効性を明らかにした。さらに、手の関節可動域を測定した結果を X 線像から測定した結果と比較分析し、画像解析による測定法の精度の高さを実証したものである。

X 線像を利用して内部骨格で移動節と基本節を分離して測定した結果、誤差の原因は移動節や屈曲位に誤差の原因があることを示し、2 軸検出モデルから拡張し 3 軸検出モデルで検出することの必要性を示した。また 2 軸検出モデルと 3 軸検出モデルで X 線像を利用して健常者とビデオ画像を利用して患者を比較した結果、推定軸の誤差は十分小さいため画像解析による測定法の精度の高さを実証し、臨床応用できることを示した。

さらに実用化における問題点を改善していけば遠隔（在宅）リハビリテーション訓練において回復度の評価にも用いることが出来ると考えられ、本システムは

有効な支援方法になるとが明らかとなった。

担癌モデルマウスにおける天然抽出物の 免疫増強効果について

高木 康之

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：具 然和)

〔研究目的〕

免疫賦活補助剤を機能性食品として摂ることで病気に対する抵抗力を強め、健康状態と生活状態を改善することが近年注目されている。加齢、身体的・精神的ストレス、環境変化や汚染、放射線および薬剤が人々の病気に対する抵抗力を低下させる要因となる。このような免疫力、抵抗力の低下に伴いさまざまな病気や癌が引き起こされると考えられる。そして、現在の癌療法のひとつである放射線治療において問題となるのは、放射線ならびに抗癌剤併用による副作用である。このようなときに、西洋薬と違って副作用のない自然薬を併用すれば食欲、体調が良くなり癌を克服しようという意欲が戻り患者自身の自然治癒力が戻ることから、免疫療法としての自然薬が注目されてきている。先行研究では、*Macro-glucan* (以下 *MG* と略す)、*Agaricus* (以下 *Ag* と略す)、*AHCC* に含まれるグルカンの免疫賦活作用、抗酸化作用、放射線防護効果および抗腫瘍効果が報告されている。抗腫瘍効果のメカニズム、作用機序については免疫増強効果であるといわれている。しかし、今回供試の β 1-3/1-6 グルカン製品の基礎試験成績において、免疫増強効果については検討されていない。そこで、本研究では β 1-3/1-6 グルカン製品の免疫増強効果に関して担癌モデルマウスを用いて検討し、強力な癌縮小効果が免疫増強効果に

よることの確証を得ること、並びに他社同種同効製品との効力比較を行うことを目的とした。*MG*、*Ag*、*AHCC* の *in vivo* での抗腫瘍効果について、抗酸化作用、免疫賦活作用に着目し、末梢血液中の血球数への影響を調べると共に T リンパ球のサブセットおよびケミルミネッセンス法による抗酸化作用の測定を行い、検討した。

〔研究方法〕

本研究に用いた *MG* は、パン酵母由来の β 1-3/1-6 グルカン製品 (米 *Immudyne* 社製)、*placebo* (以下 *p* と略す) は、パン酵母由来の β 1-3/1-6 グルカンを除いた製品 (米 *Immudyne* 社製)、*AHCC* は、(株) アミノアップ社の *AHCC* (*IMUNO MEDIC*)、*Ag* (学名：アガリクス・ブラゼイ・ムリル) は、協和エンジニアリング(株)社の仙生露エキスゴールドである。*MG*、*p* は 200mg/kg (β グルカン含有量：10mg)、400mg/kg (β グルカン含有量：20mg)、*AHCC* は 750mg/袋であり 3袋/1日とし 2250mg/kg、*Ag* は 100ml/袋を凍結乾燥し 1000mg/kg とした。

実験動物は、雄 6 週齢の C3H/HeJ マウス (体重：25 ~ 27g) を用い、Conventional な条件 (室温 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 60%) で午前 7 時から 12 時間の明暗サイクルとし、一定の飼料および上水道を自由摂取させた。実験飼育環境に適応させるために 1 週間予備飼育後に実験

に使用した。

腫瘍増殖抑制への影響では、Ag, AHCC, MG および p を 1 週間投与後 SCC7 (2×10^5 個) を C3H マウスの右大腿部に皮下接種し、Ag, AHCC, MG および p を連続 44 日まで経口投与し、腫瘍接種後 9 日後より 29 日目まで 2 日おきにノギスにてマウス右大腿部の腫瘍の短径および長径を測定し、腫瘍体積を求めた。30 日後に腫瘍摘出を行い自動はかりにて腫瘍重量を測定し、腫瘍抑制率を求めた。

マウス末梢血液中における血球数への影響では、マウスの尾静脈から末梢血液を採血し、血球数を経時的に測定した。測定項目は、白血球数・リンパ球数・顆粒球数・単球数とした。測定は SCC7 接種前日, SCC7 接種 7, 21, 35 日目に測定し、各群における血球数の有意差検定を行った。

マウス末梢血液中における抗酸化能およびフリーラジカールスカベンジング作用の測定では、ケミルミネセンス法による抗酸化測定と血清 SOD 活性を行った。

T リンパ球への影響では、T リンパ球サブセットの解析は、ベクトン・ディッキンソン (Becton Dickinson) 社製のマルチカラーフローサイトメトリー (FCS) システムを用いて、3 カラーによるフローサイトメトリー解析による末梢血液中の T リンパ球 CD マーカー CD3, CD4, CD8 の測定および NK-cell CD マーカー CD3, CD16 の測定を行った。

NK 細胞活性では、C3H マウスを頸椎脱臼でマウスを殺し、体表面をアルコールで滅菌し、表皮を切開し、脾臓を取り出し、YAC-1 と ^{51}Cr を反応させ、 ^{51}Cr をガンマカウンターで測定した。

TNF- α 測定は、PIERCE ENDOGEN 社の Mouse TNF- α ELISA Kit を用いて測定を行った。INF- γ の測定には、Amersham Biosciences 社の Mouse INF- γ ELISA Kit で測定した。血清 IL2, IL12 測定は、Amersham Biosciences 社の IL2, IL12, Mouse, Biotrak ELISA System を用いて測定を行った。

[研究結果]

腫瘍成長抑制への影響において、腫瘍体積は sham-control 群に対して、AHCC 群および Ag 群に、有意な差がみとめられた ($p < 0.05$)。腫瘍重量は sham-control 群に対して、MG 群, AHCC 群および Ag 群に、有意な差がみとめられた ($p < 0.01$, $p < 0.05$)。

マウス末梢血液中における血球数への影響において、白血球数の変化は、shamcontrol 群に対して、Ag 投与群, AHCC 投与群, p 投与群に白血球数の有意な増加が見られた ($p < 0.05$, $p < 0.01$)。リンパ球数の変化は、shamcontrol 群に対して、AHCC 投与群, MG 投与群, p 投与群にリンパ球数の有意な増加が見られた ($p < 0.05$)。単球数の変化は、shamcontrol 群に対して、Ag 投与群, AHCC 投与群, MG 投与群, p 投与群に単球数の有意な増加が見られた ($p < 0.05$)。顆粒球数の変化は、shamcontrol 群に対して、AHCC 投与群に顆粒球数の有意な増加が見られた ($p < 0.05$)。

マウス末梢血液中における抗酸化能およびフリーラジカールスカベンジング作用の測定において、ケミルミネセンス法による抗酸化測定は、Ag 投与群, AHCC 投与群および MG 投与群において $p < 0.001$ でラジカル除去による有意な低下がみられた。

T リンパ球への影響において、各群におけるヘルパー T 細胞数は、投与 21 日後に shamcontrol 群に比べ、Ag および MG 投与群の CD4 陽性数すなわちヘルパー T 細胞が増加を示した。しかし AHCC 投与群ではヘルパー T 細胞の減少がみられた。サブプレッサー T 細胞数およびキラー T 細胞数は、shamcontrol 群に比べ、AG, AHCC, MG 投与群の CD8 陽性数つまりサブプレッサー T 細胞数およびキラー T 細胞数の増加を示した。NK-cell 数は、投与 42 日後において sham-control 群に比べ、AHCC 投与群の CD16 陽性数つまり NK-cell 数の増加が示された。

TNF- α 測定において、control 群に対して、MG200, 400 投与群, AHCC 投与群に TNF- α の有意な増加が見られた。また、IFN- γ 測定において、control 群に対して、すべての投与群に TNF- γ の有意な増加が見ら

れた。血清中の IL2 測定において、control 群に対して、すべての投与群に IL2 の有意な増加が見られた。血清 IL12 測定において、control 群に対して、すべての投与群に IL12 の有意な増加が見られた。

[結論]

Ag, *AHCC* および MG 投与により、白血球数, リンパ球数, 単球数の増加, T リンパ球のサブセットにおいて Ag および MG 投与によりヘルパー T 細胞, キラー T 細胞およびサプレッサー T 細胞の増加が観察

されたことから、免疫能活性が認められた。*AHCC* には *NK*-cell の増強とキラー T 細胞およびサプレッサー T 細胞の増加が観察されたことから、免疫能活性が認められた。Ag, *AHCC* および MG 投与により、抗酸化能およびフリーラジカルスカベンジング作用が認められた。Ag, *AHCC* および MG 投与により、腫瘍成長抑制が示唆され、そのメカニズムは免疫増強によるマクロファージの活性と $\text{TNF}\alpha$ の増加であると示唆された。

CR システムを利用して複製されたフィルムの視覚的評価

福山 篤司

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：長谷川武夫)

(目的)

近年、あらゆる医療画像がデジタル化へと置き換えられている。デジタル化することでの利点としては、目的のものをより診やすくするための階調処理が容易であり、また、コンピュータを用いた様々な画像処理が可能である。もう一つの利点としては、コピーにより画像の劣化がないことが挙げられる。急速に進歩しているネットワーク技術と組み合わせることにより、オリジナル画像と同質な画像を地球の裏側へも高速で提供することができる。しかし、これらを現実のものとするには送信側と受信側の双方がデジタルデータを扱うことのできるシステムを導入しなければならず、大病院や中核病院に比べると医院や診療所(病床数20以下の医療施設)ではまだまだ設備の整っていない施設が多い。故に、医療画像のデジタル化が進んでいるとは言っても、アナログ画像であるデュープフィルムを用いたX線フィルムの複製は無くなっていない。

また、単純撮影はComputed Radiography(以下、CR)システムというデジタル撮影装置が普及してきたため、フィルムの出力方法も様変わりしてきた。従来の増感紙-フィルム(以下、S/F)システムではwet処理にてX線フィルムを出力してきたが、CRシステムではフィルムに直接インクを転写するdry処理が多くなってきた。当然のことながら、このdry処理ではデュープフィルムの現像は行えない。そのため、ほとんどの施設ではデュープフィルムを現像するためだ

けに、wet処理のできる現像機を設置している。

そこで本研究では、CRシステムを利用した複製フィルムの作成を行い、その複製フィルムに対して視覚的な評価を行い、臨床上、使用可能であるか否かを検討した。

(方法)

視覚的な評価方法は評定確信度法を用いたReceiver Operating Characteristic(以下、ROC)解析と、低コントラスト領域の検出能を評価するのに適したContrast-Detail(以下、C-D)曲線を用い、CRシステムを用いて複製されたフィルムをオリジナルフィルムや従来より行われているデュープフィルムを用いた複製フィルムと比較することによって評価を行った。また、CRシステムを用いたフィルムの複製方法においては、自動感度補正機能(Exposure Data Recognizer: 以下、EDR)の設定を3種類(Auto・Fix・Manual)に変化させた場合についても検討を行った。

(結果)

ROC解析の結果より、EDRの設定をAutoとManualにして複製したフィルムの検出能は、オリジナルフィルムやデュープフィルムの検出能とほぼ同等であり、さらにROC曲線の曲線下面積(Az)を算出し、対応のあるT検定(paired-T検定:有意水準5%)を行った結果でも、EDRをAutoとManualに設定し

て複製したフィルムの検出能は、オリジナルフィルムやデュープフィルムの検出能と有意な差を生じることには無かった。

また、C-D 曲線を用いた評価方法では、EDR を Fix に設定して複製したフィルムだけが他と比べて非常に低い検出能であった。それぞれの C-D 曲線の結果より算出し画質指数 (Image Quality Figure: 以下, IQF) に対応のある T 検定 (paired-T 検定: 有意水準 5%) を行った結果、オリジナルフィルムと有意な差を認めたものは、EDR を Auto と Fix に設定して複製したフィルムであり、デュープフィルムと有意な差を認めたものは Fix だけであった。

(結論)

本研究の結果より、CR システムを用いて複製されたフィルムは、EDR を Auto と Manual に設定した場合に限り、オリジナルフィルムやデュープフィルムと

同等の検出能を有していることが立証された。このことから CR システムを利用した X 線フィルムの複製方法は臨床においても十分に使用可能であると判断出来る。また、EDR を Auto に設定した場合においても十分な検出能を有することは、複製フィルムの作成がほぼ自動で行えることを示しており、効率的なシステム運用を行うことができると考えられる。尚、この方法は複製フィルムの作成が行えるだけにはとどまらず、アナログ画像をデジタル化する機器、いわゆるデジタル変換機 (digitizer) の代用にも使用可能であると推測される。

アナログ画像からデジタル画像へと移り変わる課程では色々な問題点が生じ、フィルム現像機の減少に伴いデュープフィルムの現像が出来なくなることもその一つである。我々の行った研究の結果がそれらの問題点を解決し、従来のシステムと新しいシステムの橋渡しが出来たと考えられる。

産地別日本茶の経口投与における生体機能への影響についての研究

前田佳予子

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：長谷川武夫)

茶には、抗癌作用、抗酸化作用、生活習慣病予防作用等に効果があると報告されているが、産地別の食養緑茶投与マウスにおける実験はおこなわれていない。産地別（静岡県産茶、三重県産茶、鹿児島県茶）投与マウスにおける生理活性に特徴について検討した。

腫瘍・放射線防護効果については、5週齢 C3H/HeJ 雄性マウスを用いて各試料 400mg/kg、コントロール群には超純水を経口投与した。腫瘍は SCC-VII を大腿部に担癌させ、放射線防護効果については 6Gy の X 線を局所照射した。抗酸化能測定については、DPPH ラジカル消去能の測定方法で行った。

抗腫瘍効果は三重県産茶群に有意差があった。放射線防護効果については 6Gy の X 線を照射した結果では、全死亡はコントロール群 10 日、静岡県産茶群、三重県産茶群で 11 日鹿児島県産茶群では 14 日の生存があった。抗酸化能測定については、鹿児島県産茶群が最も強かった。

血糖値上昇抑制作用および脂肪抑制効果については、5週齢 C57BL/KsJ-db/db（2型糖尿病）雄性マウスに静岡県産茶、三重県産茶を 400mg/kg、コントロール群には超純水を 16 週間経口投与した結果、血糖値上昇抑制作用は茶投与短期間では効果はあるが、長期

茶投与では抑制作用はなかった。茶成分については、カテキン類、ビタミン類、カフェインおよびテアニンの含有量は、ビタミン C 以外大差はなかったが、微量元素については三重県茶にバナジウムが多かった。

お茶には、腫瘍効果、放射線防護効果、抗酸化能、血糖値上昇抑制作用および抗肥満効果があり、同一品種で同一工程のお茶においては、産地によってその作用は異なり、含まれている成分量も異なっており、同一品種のお茶であっても産地によって、生理活性に差があることが分かった。以上の結果から、従来お茶の抗肥満、抗糖尿病効果はカテキンやカフェインが大きく影響すると考えられてきたが、ビタミン C、テアニン、バナジウム以外は大きな差がない 2 種類のお茶で製法が同じにも関わらず、明らかな差が生じたことは大変興味深く、他の成分の関与、単独の成分濃度ではなくその組成が重要であることが、はじめて明らかとなった。また長期間と短期間の飼育では結果に差がある。そのため、お茶の効果を調べるには単独のお茶調整物ではなく複数の調整物を用い、長期飼育による効果と各調整物中の各成分含量との相関を調べる研究が必要である。

南米アマゾンの薬草の単独及び配合物による鎮痛， 消炎およびリュウマチ効果，抗酸化効果に関する研究

山下 剛範

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：具 然和)

【研究目的】

慢性関節リュウマチは慢性の多関節炎であり，進行性に関節破壊が進展し関節変形をきたす自己免疫疾患であるが，原因ならびにその根本的治療に関してはさまざまなアプローチにもかかわらず現在まで原因不明である。また抗リュウマチ薬，非ステロイド性抗炎症剤，副腎皮質ステロイド剤，免疫調整剤など薬剤はさまざまな副作用を伴い，難治性の患者が少なくない。したがって，有効性が高く副作用の少ない抗リュウマチ薬の登場が期待されている。本研究では，患者に対し副作用の少ない天然物質を追求するため，抗炎症効果の報告がある *Cal's claw* (*Uncaria Tomentosa*；以下 *U.T* と略す)，*Iporuru* (*Alchrenea*；以下 *Ac* と略す)，*Chuchuhuasi* (*Maytenus*；以下 *Mt* と略す) および *Devil's claw* (*Harpagophytum*；以下 *H. P* と略す) を混合し，足浮腫実験，血清中の総 IgE，IgG，IgM，の測定ならびに TNF- α ，IL-4 のサイトカインについても検討し，その有用性およびメカニズム的解析，さらに *In Vivo* での抗酸化効果の検討を目的とした。

【研究方法】

Carrageenan 足浮腫試験では，Wister 系ラット雄 4 週齢 1 群 6 匹を用い， $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ，湿度 60-70% の状況下で，飼料及び水は自由摂取とし 1 週間の予備飼育

後，1 群 (control)，2 群 (*U.T* 単独)，3 群 (*H.P* 単独) および 4 群 (*U.T*，*Ac*，*Mt*，*H.P* 配合物 (以下 Combination 群)) を 500ml/Kg，control 群には蒸留水の経口投与 (胃ゾンデによる強制投与) を毎日行った。投与開始 14 日後に起炎物質 1.5% *Carrageenan* 生理食塩水 0.1ml を左後肢足蹠皮下に注入し，接種 1hr 後より浮腫測定装置により測定。その後 1 時間ごとの足容積 (ml) を 4 時間まで計測し，12，24，36，48，60，72 時間後までの足容積 (ml) および浮腫率 (%) を測定した。

Total IgE，IgG，IgM，TNF- α ，IL-4 の測定では，*BALB/C* マウス♂ 5 週齢 1 群 6 匹を用い， $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ，湿度 60-70% の状況下で，飼料及び水は自由摂取とし 1 週間の予備飼育後，1 群 (control)，2 群 (*U.T* 単独)，3 群 (*H.P* 単独) および 4 群 (*U.T*，*Ac*，*Mt*，*H.P* 配合物 (以下 Combination 群)) を 500ml/Kg にて 1 ヶ月間経口投与 (胃ゾンデによる強制投与) を行った。1 ヶ月後，眼底採血し血清分離後，総 IgE，IgG，IgM，TNF- α ，IL-4 の測定をマウス専用 ELISA Kit にて測定した。

抗酸化測定試験では，*Carrageenan* 足浮腫試験同様の条件で投与 30 日後に，ネンブタールにより麻酔したラットを心臓採血し，血清分離後 AAPH 法ならびに SOD テストキットにより SOD 活性値を測定した。

【研究結果】

Carrageenan 足浮腫試験において、U.T および H.P は有意に足容積の増加をさえ早期回復を示した ($p < 0.05$, $p < 0.01$)。TNF- α 測定において1群に対し3群は、優位に低値を示した ($p < 0.01$)。また2群は統計学的優位差は見られなかったものの、低値を示した。IL-4 測定において1群に対し、2群、3群および4群は、有意に高値を示した。IgE 測定において1群に対し3群は、有意に高値を示した。2群は統計学的有意差は見られないものの低値を示した。IgM 測定において1群に対し2群、3群および4群は、有意に低値を示した。IgG 測定において1群に対し3群およ

び4群は有意に高値を示した ($p < 0.05$)。また2群は統計学的優位差は見られなかったものの、高値を示した。ルミノールおよびSODによる抗酸化測定試験において、U.T および H.P の抗酸化能力が明らかとなった ($p < 0.05$, $p < 0.01$)。またCombination群には有意差が認められず、配合量依存性が示唆された。

【結論】

H.P は TNF- α 生成を抑制し、IL-4 を増加させることにより、RA や自己免疫疾患による炎症を抑制する抗リュウマチ薬として期待できる。また U.T および H.P は、天然の放射線防護剤としても期待できる。

Paclitaxel 併用による温熱療法の増感効果実験

伊田 和司

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：長谷川武夫)

目的

近年新たな作用機構をもった薬剤 paclitaxel が日本でも承認され、臨床で使用されるようになってきた。Paclitaxel (以下 PTX) の温熱感受性増加は報告されているが、その機序については殆ど明らかにされておらず不明な点が多い。

本研究では PTX を放射線療法, Mild-hyperthermia, Hyperthermia と併用することによって、治療効果の増感が認められるか否かの検討を行った。その際、マウスの自然発生乳癌である FM3A 腫瘍を用いて、担癌した腫瘍の成長遅延状態の観察、病理所見上の腫瘍内変化、温熱併用中の腫瘍内血流量測定、細胞生存率の測定 (in vitro) を行い、また、乳癌の患者に癌性腹水がよくみられることから、マウスの胸部リンパ腫 T 細胞由来である EL-4 を用いて、マウスの生存率を測定し治療効果について検討した。

方法

C3H マウス (♂, 8 週令) の右大腿部にマウスの自然発生乳癌である FM3A を 2×10^6 個担癌し腫瘍長径が 7mm に成長した時点で実験を開始した。実験群は、無処理群, PTX 群, X-ray 群, Mild-hyperthermia 群, Hyperthermia 単独群, X-ray + PTX 群, PTX + Mild-hyperthermia 群, PTX + Hyperthermia 群の 8 群を用いて、腫瘍成長の測定と病理標本作製し、各処理群の FM3A 腫瘍細胞の生存率を in vitro 実験よ

り測定した。また、腫瘍の薬剤投与後から加温終了までの腫瘍内の血流量について経時的に測定した。さらに、C57/BL マウス (♂, 8 週令) の腹腔内に、マウスの胸部リンパ腫 T 細胞由来である EL-4 を担癌し癌性腹水のモデルマウスを作成し、3 日後に各処理をおこない、生存率の測定をおこなった。

結果

腫瘍成長曲線より、腫瘍体積が 4 倍になった時点での各群を比較してみると、PTX + Mild-hyperthermia 群では 6.47 日、X-ray + PTX 群では 9.99 日、PTX + Hyperthermia 群では 12.35 日の腫瘍成長の遅延がみられ、薬剤併用群において有意な差がみられた。また、細胞生存率の測定や病理標本からも、X-ray + PTX 群, PTX + Hyperthermia 群では、有意な差がみられ、Mild-hyperthermia 後の腫瘍内で最も血流の増加がみられた。

EL-4 を用いた生存率の測定結果より、無処理群よりも X-ray + PTX 群では 6 日、PTX + Mild-hyperthermia 群では 5 日、PTX + Hyperthermia 群では 4 日の延命効果がみられた。

結語

本研究から、FM3A 腫瘍に対して PTX 投与前の放射線照射でも抗腫瘍効果が相乗的に増加し、PTX と Hyperthermia を併用することにより抗腫瘍効果は増強する。また、PTX と Mild-hyperthermia を併用す

ることにより血流量は増加する。EL-4 腫瘍に対して
も PTX と Mild-hyperthermia/Hyperthermia を併用
することにより、PTX と X-ray の併用に近い延命効
果がみられた。

以上のことから、温熱療法と化学療法を併用するこ
とにより抗腫瘍効果が増強し、さらには癌性腹水の治
療効果の向上が期待される。

Mild-Hyperthermia による免疫能活性について

大野由紀子

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：長谷川武夫)

はじめに

悪性腫瘍の治療法は、外科的療法、放射線療法、化学療法、免疫療法、そして温熱療法 (Hyperthermia) の5本柱である。Hyperthermia は腫瘍に対して直接的には 42℃ 以上で殺癌細胞効果が期待できるが、その他に周辺の組織が 39 ~ 40℃ 程度に加温されると免疫機能が向上する。この 42℃ 未満の加温を Mild-Hyperthermia という。

目 的

近年、熱単独の効果やあるいは放射線や抗癌剤の効果を高めるだけを期待するのではなく、免疫力を高める効果を期待して温熱療法が行なわれるようになった。また、今後の研究では、癌の増殖を抑える癌の休眠療法の一つとして温熱療法は期待されている。

本研究では、Mild-Hyperthermia を用いて腫瘍部位を直接的に加温した場合と間接的に加温した場合の抗腫瘍効果の免疫能活性について、動物実験による検討を行った。

実験方法

C57BL/6 マウスの腹腔に腹水腫瘍細胞 (EL-4) を 1×10^6 個 / ml 腹腔投与により担癌し、加温温度、腹部加温と大腿部加温の加温部位の違いによる生存率の変化を測定した。C3H/HeJ マウス的大腿部に腫瘍細胞 (FM3A) を 1×10^6 個 / 0.05ml を右大腿部に皮下注

射によって担癌し、腹部と大腿部の加温部位の違いと加温サイクルを変えたときによる抗腫瘍効果の測定を行った。また、加温サイクルを変えたときの血球数の変化を測定した。また、TNF- α 、IFN- γ の測定を行い、Mild-Hyperthermia による免疫能活性を検討した。

結 果

生存率の延命効果の実験において、Hyperthermia では直接腫瘍部位を加温した場合は延命効果が見られたが、正常組織を加温した場合は延命効果が見られなかった。Mild-Hyperthermia では腫瘍部位を加温しても正常組織を加温しても同等な延命効果が見られた。抗腫瘍効果の実験において、大腿部の腫瘍部位を加温するより腹部を加温するほうが抗腫瘍効果は得られた。また、加温サイクルは加温間隔を開けた方が抗腫瘍効果は得られた。血球数変化の実験は加温処理後の白血球数、リンパ球数、単球数の一過性の増加が見られた。TNF- α 、IFN- γ の測定では加温処理により、若干の増加が見られた。

結 論

今回の実験では、直接腫瘍部位を加温しなくても、抗腫瘍効果を得ることや生存率の延命効果が見られた。適度な加温によるストレスや腹部を加温することによって免疫増強の可能性が示唆された。Mild-Hyperthermia を行うことで、身体に負担なく治療ができる可能性がある。また、免疫活性による全身状態

の改善や、予防医学としてもその応用範囲を広げられると考えられる。

胃二重造影像による小・微小胃癌検出アルゴリズムに関する研究

北岡ひとみ

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：長谷川武夫)

【目的】

現在、我が国における胃癌死亡率は、白壁らによる胃 X 線二重造影像などの開発における先駆者の努力により減少傾向に成りつつあった。しかし、近年減少傾向にあった胃癌死亡率は増減を繰り返し 1995 年頃から停滞し、今尚、死亡率が高いのが現状である。全国集計委員会による全国集計報告より、肉眼分類において、表在型が 67.8%と最も多く、そのうち、IIc 型が 52.7%で過半数を占めている。また、全国の胃癌長径における発見率は、21 ~ 50mm が 42.9%と一番高く、長径 10mm 以下の癌については、14.9%と一番低い。早川らの報告により、殆どの小胃癌、微小胃癌は周囲に隆起を伴った陥凹型又は単独で描出する陥凹型であること、そして、J. Cai らより、リンパ節転移は、ほぼ小・微小胃癌には認められていないという特徴に着目し、二重造影画像上の小・微小早期胃癌の輝度凹凸の解析を行うアルゴリズムの構築、その解析特徴から癌検出を試みた。

【処理概要】

胃二重造影画像のデジタル化（サンプリング間隔 100 μm 、256 グレー階調で量子化）を行い、行、列方向の輝度曲線を算出した。曲線の凹凸に着目し、癌部は area 間に凹凸が出来るという性質により、癌部を含む

部分を 1 方向に解析すると、陥凹部にバリウム (Ba) が溜まるため、画像における濃度は周囲に比べ高輝度になる。そして、陥凹部の周辺はそれぞれ低輝度から高輝度への角度(正)と高輝度から低輝度への角度(負)の連続した輝度角度となると考えた。そこで、pixel 差分法における閾値処理により検出候補を算出し、底部検出、検出候補の長さ、小領域区分により偽陽性削除を行い、胃癌候補を出力し、この解析アルゴリズムの構築を行い、癌部の位置を病理所見と比較、検討した。

【結果】

pixel 差分フィルタを用いることによって、陥凹型小・微小胃癌部は検出候補の検出位置と実際の剖検上の位置と一致した。このフィルタは正の連続輝度角度と負の連続輝度角度の情報を利用して正負一対の周辺特徴、底部特徴より陥凹型特徴検出を可能とした。5, 7, 13pixel 差分法では、細かく輝度角度を取ることが出来ないために、癌部から非癌部領域までの偽陽性候補の検出や、底部特徴を検出しにくい傾向にある。そして、癌部の特徴領域が小さいために差分におけるライン間隔が広くなり、検出が困難になった。逆に、2pixel 差分法では、角度が細かく検出できるが、癌部と非癌部両方検出が多く、辺縁などの急激な角度も検出し、偽陽性判別することが難しくなった。これらの

ことから、3pixel 差分法で行うことが適当だと考えられる。また、3pixel 差分法で、摘出標本の病変部とフィルム上での検出部がほぼ一致した。しかし、今も尚、Ba 溜りなどの箇所を多く検出するという欠点を持っていた。そこで、Ba が溜まっている別領域をつなぐ偽陽性候補検出を減少させる目的として、検出候補の長さに着目し、検出長さにおける偽陽性削除の操作を導入した。この操作は、別領域をつなぐ検出候補を効率的に識別できると考え、偽陽性候補 FP を平均 4.8 個から 1.7 個に減らすことに成功した。また、3pixel 差分を用いての検出対象を選択する際の閾値は、閾値 13 における陽性的中率 PPV が 71% と一番高くなり、閾値 13 にすることで癌部を指摘することが出来た。閾値 14 以上になると、真陽性 (TP)、偽陽性 (FP) 共に検出数が極端に減少し、閾値を小さくすると検出

数は増加したが、真陽性 (TP)、偽陽性 (FP) の割合が多く、全体的に画像の変化を検出される傾向にあった。これらより、小・微小陥凹型胃癌 X 線像において、3pixel 差分を用いた輝度角度が連続する領域を検出と検出候補の長さによる偽陽性削除を行うことにより、フィルム上の癌部を選択的に認識できるプログラムを作製できた。

【結語】

小・微小陥凹型胃癌の X 線像において、 1×3 pixel 差分フィルタを用いて輝度角度連続領域を検出することにより、癌部を選択的に指摘できる可能性がある。そして、今後、更なる陽性的中率 (PPV) 向上の検討に有効になると考える。

バーチャル医療画像共有空間の構築

菅瀬 隆行

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：奥山 文雄)

1. 緒言

近年、医療施設においてもコンピュータの導入とインフラストラクチャーの整備により従来カルテに記載されていた種々の文字、数値、絵情報や医療画像などの診療情報の電子化、マルチメディア化が行われ、通信ネットワークによってそれらの情報を医師間で共有できるようになった。一方、患者側からはインフォームド・コンセントやセカンドオピニオンの必要性が問われており、医師は患者に対して診療の目的や内容を十分に説明し患者の理解と同意を得た上で診療、治療をする必要がある。さらに患者が比較検討できるように医師は診療情報をいつでもどこでも、そして解りやすく説明する必要があるが、患者にとって理解しにくい要素の一つに、診断画像がある。そのうちの2次元断層画像を誰にでも分かりやすく表示するためには、診断画像を3次元化することが有効である。患者の診療情報を医師間相互にネットワークで共有し、いつでもどこでも参照する事ができれば患者へのサービス向上につながると考える。

2. 目的

本研究では、診療情報（特に画像データ）を電子化し、ネットワーク上のバーチャル空間を用いて共有化を図り、オンデマンドに取り出すとともに、立体表示装置を用いて医師・患者にわかりやすく提供するシステムを構築するための基盤を確立することを目的と

している。このシステムの用途は、主に「医師同士の電子会議・診断支援」、「医師・患者間の遠隔医療」、「教育支援」の3つに分けられる。本システムでは3次元画像と立体表示を用い、医師・患者それぞれに同一な立体画像を観察できるようにする。これにより、医師同士の電子会議・診断支援ではより深い理解を得ることができるようにし、医師・患者間の遠隔医療ではより理解しやすいようにし、教育支援ではより効率を向上させることができると考える。

3. システム構築への問題要求

立体表示を用いて診断支援・インフォームド・コンセント等に利用するには、立体画像は医師・患者それぞれに全く同じものが観察できなければならない。そのため、画像処理に時間が数秒～数十秒かかり画像が表示されるまでに遅れが生じたり、観察する方向によって画像が変化するような装置の使用はできない。そしてシステム構築にあたっては、次の問題要求を満たす事ができる装置を選択しなければならない。

- ①ハードウェア的問題：演算装置（演算処理能力）、表示装置（画像表示の質）、ネットワーク（通信速度）
- ②技術的問題：ソフトウェア、システム構築案、セキュリティ・プライバシー（認証問題）

4. 設計

今回は2次元連続断層画像から3次元モデル(voxelデータ)を単独で生成・処理する,「クライアント・クライアント型システム」のクライアントコンピュータの一部として装置を構築した。その際,実用化を視野に入れ普及型のコンピュータ・装置を使用した。また,立体表示装置として,解像度・画像の質が高く,コストが低く,そして人体への負担が少ない立体表示装置として2眼液晶シャッタ方式を用いることにした。voxel (Volume Element) データは,表面だけでなく内部の情報全てを3次元処理することが可能で,2次元座標で制御されるBMP (Bit Map) に対して3次元座標を持ち,人体構造の表現等に応用されている。しかし voxel データを詳細に表現するためには非常に高い処理能力や高度な技術が必要になり,その演算方法は一般的なビデオカードの3Dアクセラレーションではサポートされていないため,現在最も高性能な3次元リアルタイムボリュームレンダリングアクセラレータボードのひとつであるVolumePRO1000を選択した。

5. 実験と結果

512 × 512 × 512 ピクセルの頭部 voxel 画像データを用いて装置の処理限界測定を行った。Rotate (回転) 処理, Crop 処理 (抽出機能), Cut 処理 (抽出機能) を行った結果, 3名の観察者の評価から, わずかに処理時間がかかることがあるものの, 実用レベルでの滑らかなアニメーション表示を行うことが可能であることが実証された。静止画像での立体表示においては, わずかに色・形の不一致感が発生したが, 立体感が得られ, 奥行き情報を得ることができた。

6. 考察

本実験で使用したコンピュータで100%サイズのvoxelデータの滑らかな動画表示を行うことができることが実証された。しかし, 立体動画として表示するには視点の違う2つの画像を同時に表示する必要がある, さらに負荷が増えることによって実用レベルでの使用が難しくなると考えられる。

7. 今後の課題

今回は各ユーザのコンピュータ内で512 × 512 × 512 ピクセルの3Dデータの生成・処理を行うクライアント・クライアント型のシステムの一部として実験を行ったが, 必ずしも実用化できるという結論が出たとは言いきれない。システムの実現化の基盤を確立するための今後の課題として次の点が挙げられる。

- ・より高性能なコンピュータ・装置を用いて同実験を行う
- ・今回の実験で使用したものと別のOSを使用して実験を行う
- ・機能を限定したアプリケーションソフトを作成・使用して実験を行う
- ・より多くの画像を用いて同実験を行う
- ・より多くの様々な分野の観察者からの評価データを収集する
- ・実際にクライアントコンピュータを複数ネットワークでつなぎ, 実験を行う
- ・サーバ・クライアント型のシステムを構築し, 実験を行う
- ・他の立体表示方法を用いて実験を行う

携帯電話向け医用画像の濃度変換アプリケーションの開発

鈴木 友昭

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：長谷川武夫)

目的

医療現場において、当直医や救急医が救急患者の処置を電話で専門医に仰ぐ場合がある。しかし、電話による患者の状態や画像所見の報告だけではその病状を正確に把握することは困難である。そこで、専門医が不在の場合でも医用画像を転送可能な方法として、携帯電話へ画像を電子メールに添付した形で転送する方法が試みられている。しかし、携帯電話の画面サイズは小さいだけでなく、表示色数にも限りがあるため、小さな病変や低コントラストの病変は判断が困難である。そこで本研究では、携帯電話上に表示された画像の明るさやコントラストといった濃度変換処理を行うことが可能なアプリケーションを開発し、どの程度まで低コントラストかつ小サイズの信号が検出可能となるか視覚的評価を行った。

方法

携帯電話の液晶ディスプレイの最高輝度と最低輝度を測定し、輝度均一性およびコントラスト比を求め、液晶ディスプレイの物理的評価を行った。テストチャートおよびバーガーファントム像を作成し、携帯電話の画面上に表示される最適な画像を選別するために、画像形式および圧縮率を変えた画像の視覚的評価を行った。携帯電話上に表示された画像の明るさやコ

ントラストといった濃度変換処理を行うことが可能なアプリケーションを開発し、これの利用により、どの程度まで低コントラストかつ小サイズの信号が検出可能となるか、テストチャートおよびバーガーファントムを用いて視覚的評価を行った。また、アプリケーションの操作感評価として画像処理時間についても検討を行った。

結果および考察

今回用いた携帯電話の液晶ディスプレイの輝度均一性・コントラスト比は、画像表示装置不変性試験で用いられる DIN の基準を満たしていることから、これらの因子が液晶ディスプレイの視覚的評価に与える影響は小さいと考えられる。テストチャートおよびバーガーファントム像による圧縮形式および圧縮率の検討を視覚的に行ったところ、GIF が最も閾値コントラストが改善しており、優れた検出能が得られることが明らかとなった。作成した i アプリを利用することで、利用していないときと比較して閾値コントラストが改善していることが明らかとなった。また、IQF の結果から i アプリを利用することで有意に優れた検出能が得られることが明らかとなった。作成した i アプリの画像処理時間を測定したところ、どの操作も短時間で処理でき、実用上問題ないことが確認された。

トレッドミルを用いた歩行分析手法の 脳血管障害片麻痺患者への臨床応用

寺西 利生

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：河村 徹郎)

目的

今後増加するだろう脳血管障害片麻痺患者を中心とした歩行障害者の訓練を、適切に行うために必要な臨床で使用可能な歩行分析手法を開発することにある。

研究1では、臨床親和性の高いトレッドミルを用いた歩行分析手法について、その導入の基礎データとなる平地歩行とトレッドミル歩行の差異について検討した。

研究2では、片麻痺患者のトレッドミル歩行分析を経時的に行い、時間因子、距離因子とそれぞれの変動係数および膝、踵の矢状面上の軌跡波形変化を検討し、その臨床における有用性について考察した。

対象

研究1の対象は、初回発症の大脳半球一側性病変を有する脳血管障害片麻痺患者で、装具と杖を用いて2動作歩行が可能な10名とした。

研究2の対象は、初回発症の大脳半球一側性病変を有する入院中の脳血管障害片麻痺患者6名とし、トレッドミル歩行分析の開始は、歩行訓練開始後トレッドミル歩行が可能になった時期からとし、その後週1回の計測を経時的に行い、4週以上の経過を観察した。

方法

研究1は、まず、10mの平地歩行路を快適な速度で歩行し、10m歩行時間を計測するとともに、踵部および足先部に添付した感圧センサーより得られた接地時刻より時間因子を算出した。同時に、ビデオカメラにて側方3mより撮影した画像から2次元動作解析ソフトを使用して左右それぞれの歩幅を算出した。次に平地と同一の速度および装具を使用し、トレッドミル歩行にて同様の計測を行った。

研究2は、週1回30秒間の快適トレッドミル歩行を行い、3次元動作解析ソフトを用いサンプリング周波数30Hzにて添付マーカの3次元位置情報を算出した。なお計測中、手すりおよび装具の使用は許可した。

結果

片麻痺患者の同一速度トレッドミル歩行と平地歩行の差は、トレッドミル歩行で重複歩時間が短縮する例が多かった。遊脚期割合は、健側で延長 ($p < 0.01$) し、患側で短縮 ($p < 0.03$) した。両脚支持期割合は、健側で減少傾向にあり、患側では増加傾向にあった。歩幅では、健側歩幅が平地で短い例においては増加し、患側歩幅は短縮 ($p < 0.005$) した。健側患側差の比較では、トレッドミル歩行で健側患側差の減少傾向を認め、遊脚期割合においても健側患側差が減少 ($p <$

0.005) した。

片麻痺患者の経時的歩行分析では、経過とともに重複歩時間短縮、重複歩距離延長を認め、歩行速度は上昇した。重複歩時間および歩幅の変動係数の経時変化では、急性期では変動係数が大きく訓練経過とともに減少した。

軌跡の経時変化は、経過に従い、ばらつきが減少し、再現性の高い安定した歩行となった。

考察とまとめ

トレッドミル歩行と平地歩行の間には一定の差が存

在する。しかし、一般運動プログラムから見て、その差は決して大きなものではなく課題の共通性は高い。

一方、臨床におけるトレッドミル歩行分析の計測上の優位性は極めて大きく、また、その計測は臨床の初期から可能であり、訓練方法の検討に重要な運動の安定性や学習の指標となりうるばらつきの評価に適している。従って、学習と最終帰結からの切り分けという観点を取り入れたトレッドミル歩行分析法は、臨床におけるニーズとよく合致し、有用な歩行分析手法になるものと思われる。

Fuscoporia obliqua 及び *Phelinus linteus* による 抗がん剤の副作用低減効果と併用による抗腫瘍効果

松本 大吾

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：具 然和)

研究目的

化学療法で使われる抗がん剤の多くは、副作用を伴うことが多く、その使用には高度の専門知識が必要である。副作用の程度によっては、化学療法を中止せざるをえない場合もある。近年では患者の QOL (quality of life) の向上が考えられ、免疫療法などの副作用の少ない治療法が注目されてきている。西洋薬と違い副作用の少ない自然薬による生理活性の向上による QOL の改善なども注目されてきた。そこで、本研究では *Fuscoporia obliqua* 及び *Phelinus linteus* によるシスプラチン (CDDP) の副作用低減効果と併用による抗腫瘍効果について検討を行った。

研究方法

Fuscoporia obliqua は水抽出 (25℃) を行い、得られた試料を以下 FO と略称する。蒸留水 500ml に FO10g を溶解し投与物とした。*Phelinus linteus* は温水抽出 (50℃) を行い、得られた試料を以下 PL と略称する。蒸留水 500ml に PL10g を溶解させ、投与物とした。Mix はそれぞれの投与物を 1 : 1 で混合し調整した。

抹消血球数測定では尾静脈よりキャピラリーチューブにて血液 10 μ l 採取した。傷口は感染症を防ぐために 70% エタノールにて殺菌消毒を行った。マウスの

尾静脈より採取した抹消血液を全自動血球測定器にて血球数を経時的に測定した。測定間隔は CDDP 投与の前日、CDDP 投与から 12 時間後、1 日後、3 日後、7 日後、10 日後とした。統計学的処理は、マウスの血球数が正規分布を示すため、多群間におけるパラメトリックな検定法である ANOVA 検定を用いて各群における血球数の有意差検定を行なった。

T リンパ球サブセットの解析については、3 カラーによるフローサイトメトリー解析による末梢血液中の T リンパ球 CD マーカー CD3, CD4, CD8 の測定を行なった。具体的な測定手順として、ジエチルエーテル麻酔下のマウス心臓より、全血の採血を行ない、赤血球除去試薬を加えてよく混和し、洗浄、細胞数のカウント後、蛍光染色し解析を行った。処理は全血法を用いて行った。マウスの体重変化の測定では、自動はかりを用いて、マウスが静止したと時の重さを測定した。測定は試料の投与前から始めて、5 日間置きに測定を行った。CDDP の投与は 10 日目に行った。統計学的処理は、マウスの体重が正規分布を示すため、多群間におけるパラメトリックな検定法である ANOVA 検定を用いて各群における体重の有意差検定を行なった。

腫瘍成長測定実験では、The FSA fibro sarcoma (以下 sarcoma) を ICR マウスに接種し実験に用いた。細胞が 0.9% 生理食塩水 0.05ml 中に約 2×10^6 個になる

ようにし、実験に用いた。sarcoma の接種部位はマウスの右足の右上方部に 0.05ml 皮下接種した。マウスの右足に腫瘍を接種してから、7 日後より 21 日目まで 1 日おきにノギスにて腫瘍の成長状態を測定した。21 日目に腫瘍の摘出を行い自動はかりにて腫瘍重量を測定した。

研究結果

白血球数が減少傾向を示した CDDP 群に対して、試料を投与した各群は期間全体的に増加傾向の高い値を示した。リンパ球 (LY) 数が減少傾向を示した CDDP 群に対して、試料を投与した各群は期間全体的に増加傾向の高い値を示したが、統計学的有意差は認められなかった。単球数が減少傾向を示した CDDP 群に対して、試料を投与した各群は期間全体的に増加傾向の高い値を示した。

CD4 陽性細胞数については Control 群に比べ、FO 投与の FO 群の CD4 陽性細胞数が 56% の増加を示した。同様に PL 投与の LY 群の CD4 陽性細胞数が 34% の増加を示した。また、CDDP 群に比べ、FO + CDDP 投与群の CD4 陽性細胞数が 58% の増加を示した。PL + CDDP 投与群の CD4 陽性細胞数が 28% の増加を示した。CD8 陽性細胞数については Control 群に比べ、FO 投与の FO 群の CD8 陽性細胞数が 53% の増加を示した。同様に PL 投与の LY 群の CD8 陽性細胞数が 62% の増加を示した。また、CDDP 群に比べ、FO + CDDP 投与群の CD8 陽性細胞数が 229% の増加を示した。PL + CDDP 投与群の CD8 陽性細胞数が 241% の増加を示した。

体重変化については CDDP 群は 15 日目まで減少を示しているのに対して、FO 及び PL 群では体重の減少抑制が、Mix 群では体重増加が示唆された。

腫瘍成長の抑制に有意な差は認められなかったが、FO、PL 及び Mix を投与群において、Control 群より腫瘍体積が小さいことから、腫瘍成長の抑制傾向が示唆された。また、CDDP 単独群に対して、試料 FO、PL 及び Mix と CDDP 併用の各群において、腫瘍成長

の抑制に有意な差は認められなかったものの、CDDP 単独群より試料との併用の各群のほうが腫瘍成長の抑制がされていることから、CDDP との併用効果が示唆された。

考察

CDDP 投与による白血球減少について検討したところ、*Fuscoporia oblique*, *Phelinus linteus* 及び Mix 投与により CDDP の副作用による白血球数、リンパ球数、単球数減少の抑制効果が示唆された。このことは、*Fuscoporia oblique*, *Phelinus linteus* に多く含まれる β -D グルカンのサイトカイン誘発による造血促進効果によるものだと考えられる。

各群におけるマウス末梢血液中の T リンパ球中の CD4, CD8 陽性細胞数を比較・検討したところ、*Fuscoporia oblique* 及び *Phelinus linteus* 投与により、マウス末梢血液中における CD4, CD8 陽性細胞数の増加が示唆された。このことは *Fuscoporia oblique* 及び *Phelinus linteus* に含まれる β -D グルカンが生体内に入ると、マクロファージ捕体、CR3 に結合し、マクロファージを活性化させる。活性化したマクロファージからのサイトカイン産生の増加が、免疫を活性化させていると考えられている。

体重変化の測定では *Fuscoporia oblique*, *Phelinus linteus* 及び Mix 投与群による CDDP との併用投与による体重減少の抑制が観察された。*Fuscoporia oblique* 及び *Phelinus linteus* に含まれる β -D グルカンによって活性化したマクロファージから放出されたサイトカインなどによる免疫細胞の亢進が、CDDP による体重減少を抑制したと考えられる。

抗腫瘍効果を示す β -D グルカンは癌細胞に直接働きかけ癌細胞を死滅させるのではなく、免疫賦活作用によって自然治癒力高め、間接的に癌細胞を死滅させると考えられている。 β -D グルカンによりマクロファージが活性化される。そしてマクロファージは NK, LAK 細胞を活性化したと考えられる。

調整機能付き後方平板支柱型短下肢装具の開発

水野 元実

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：河村 徹郎)

短下肢装具は下肢装具のなかでも特に多用されている装具であり、リハビリテーションの施行や日常生活動作の獲得において重要かつ有用である。

しかし、装具の機能性と外観性はトレードオフを生じやすい関係にあり、高機能な装具ほどかさばるなど外観に問題を抱えやすい。そして、身体機能障害が重度な例では、短下肢装具は確実な足関節固定機能（低自由度）が最重要課題となり単純な構造でよい場合が多いのに対し、機能が良好な例では、足関節部の「制御された可撓性」が要求され、制動条件がより複雑になり、構造もかさばりやすい。一方、機能良好例の多くは、社会的活動性が高く、このため、装具装着感を含めた外観性に対する要求水準が高い。

そこで今回、短下肢装具の機能性、外観性、装具着脱操作性に重点をおいた新しい短下肢装具の開発を試みた。機能性に関して具体的には、1) 自由度制約により歩行時に底背屈方向の運動だけを一意的に誘導すること、2) 歩行時の底背屈運動の制御要件を満たすこと、3) 作製後も患者の身体機能の変化に応じて装具の制御機能を正確かつ簡単に変更できる調整可能性・容易性を持たせること、の3点に重点を置いた。

新しい短下肢装具の基本デザインには、後方平板支柱を採用した。平板の持つ「平面に対しては非常に可撓性が高く、側面に対しては剛性が高く動きにくい」という運動特性を利用して平板支柱を下腿後面に立てることで効果的な自由度制約（内外反方向より底背屈方向に運動を誘導する）機能を得ることを考えた。後

方平板支柱はカーボンで作製した。さらに、底背屈運動の制御機能に関しては、遊脚時の背屈位保持や立脚中期の背屈遊動性を持たせるため後方平板支柱と足部の間に小さな付加ヒンジジョイントを開発し、足関節の底背屈角度調整を可能とした。また、カーボン製後方平板支柱の剛性強度に種類を持たせることで、立脚初期踵接地時の「遠心性」底屈とその調整性を実現した。ヒンジジョイントによる角度調整は、容易性を達成するために底屈・背屈の角度調整がそれぞれ1つのネジで行えるように設計し、さらに、装具を装着したままでも容易に調整できるようジョイントの背面に調整ネジを配置した。

以上の基本概念をもとに、下腿カフと一枚の平板支柱、小さなヒンジジョイント、足部から構成される調整機能付き後方平板支柱型短下肢装具（the adjustable posterior strut AFO；APS-AFO）を開発した。APS-AFOは、装着時に前方から支柱や継手が見えず、非常にコンパクトな外観を実現できた。

今回開発したAPS-AFOの自由度制約機能の妥当性を検討するため、後方平板支柱型短下肢装具（調整機能付き後方平板支柱型短下肢装具のプロトタイプでヒンジジョイントの付加していない装具）と現在多用されているシューホーン型短下肢装具、両側金属支柱付短下肢装具の3種類の短下肢装具で下腿部の変位に対する抵抗張力を測定し、比較した。シューホーン型短下肢装具では底背屈方向よりもむしろ内外反方向に運動が誘発されやすい結果となったのに対し、後方平

板支柱型短下肢装具では、両側金属支柱付短下肢装具と同様に、足長に沿った底背屈方向に誘導性を有し、高い自由度制約機能（内外反抑制機能）を持つことが明確となった。また、臨床試験として脳血管障害片麻痺患者1例においてAPS-AFOとシューホーン型短下肢装具でトレッドミル歩行を行い、ゴニオメータを用いて装具装着足部の底背屈および下腿の回旋（捻れ）を計測、比較した。その結果、シューホーン型短下肢装具に比較して、APS-AFO使用時に底背屈が大きく回旋が小さく、抵抗実験と同様、良好な自由度制約機能を確認できた。

短下肢装具着脱に関する操作性を検討するため、最も短下肢装具を処方されることが多く、かつ、片手での操作を余儀なくされる脳血管障害片麻痺患者を対象

に調査を行った。その結果、装具着脱動作は脱ぐ動作に比べて履く動作で困難感を生じやすく、はめ込み時の①ストラップが装具の中に折り込まれてしまう、②装具が不安定になり倒れやすい、③ストラップを通すカンが回転し通しにくい、の3点が困難性の原因として抽出された。これらの対策として、APS-AFOではストラップとストラップ通しのカンの形状の改良を行った。

機能性、外観性、操作性を満たすべく開発した新しい短下肢装具、APS-AFOは、その機能特性と歩行計測結果から、今後、片麻痺や不全麻痺など歩行障害を呈する症例のリハビリテーション施行の際に、非常に有用な補助具となりうることが示唆された。

α 線により発生する液体中泡核の確認に関する研究

村林 甲介

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：長谷川武夫)

[目的]

われわれは、粒子線の液体、生体への新しい放射線損傷モデルとして α 線照射によって液体中に微小な気泡（泡核）の発生を想定した。このような泡核発生による放射線損傷を泡核モデルと呼ぶことにする。それは放射線が物質を通過するときに、1 次電離とその放射線による反跳エネルギーが標的物質中に与えられ、このとき局所的に急激な加熱状態となり、原子の爆発的な気化現象やその他の相互作用の結果、泡核が短時間に発生していると考ええる。この泡核が細胞内又は細胞膜に発生すると細胞膜および DNA に損傷を与えることとなる。

本研究では、 α 線照射により発生する泡核の可能性を石鹼泡にて示唆し、泡核の確認を光硬化樹脂を用いて行ったのでその結果を報告する。

[実験方法]

1 % グリセリンを含む、濃度 10% の台所用洗剤 100ml を用意し、攪拌器にて 5 分間攪拌した。攪拌後泡立てた石鹼泡を 20 分放置し、観察容器に移しその後空気中にて α 線を線源と石鹼泡表面間距離 2cm で照射した。

暗室にて液体中の光硬化樹脂をビームカプセルに入れ、線源と光硬化樹脂表面間距離を 1cm となるように照射容器に入れた。暗室で 5 分間 ^{241}Am 線源の α 線を照射した。その後照射容器を暗室から移動し、直接

太陽光に午前 11 : 00 ~ 午後 1 : 00 までの 2 時間照射し光硬化樹脂を硬化させた。固まった光硬化樹脂をウルトラマイクロームで α 線照射方向に垂直になるように厚さ 80nm でカットした。カットした超薄切片をグリッドに乗せ、電子顕微鏡にて加速電圧 100KV で観察した。

[結果]

石鹼泡に α 線を照射すると石鹼泡がわれることが確認できた。

電子顕微鏡によって、理論値に近い泡核を確認できた。確認できた泡核の大きさは半長径 91.7nm, 半短径 75.0nm であった。

[考察]

石鹼泡は塵や埃、強い光、洗剤濃度のムラなどでわれてしまう。それらの影響がないようにして、石鹼泡に α 線を照射すると石鹼泡はわれる。これは石鹼泡膜の内部に泡核が発生し、石鹼泡をわったためだと考えられ、泡核が発生していることを示唆している。

今回撮影された泡核が泡核でなく、線源から出た α 線がヘリウム原子となりヘリウム気体によって発生した空洞、光硬化樹脂内に硬化前から混入していた空気による空洞、カット時に発生した傷による空洞、電子顕微鏡から照射される電子線の熱による損傷時に発生した空洞、光硬化樹脂が固まりきらなかったために発生した空洞、電子顕微鏡から照射される電子線の熱に

よる光硬化樹脂の再溶解によって発生した空洞，の要因による空洞ではないと考えられる。また，電子顕微鏡から照射される電子線による泡核という可能性は，照射される電子線のエネルギーが，泡核を発生させるために必要なエネルギーに達していないためない。

本研究で確認された泡核は細胞膜の厚さ，DNA 二重鎖の幅の数十倍になる。このような泡核が生体膜に

発生すると細胞膜は損傷すると考えられる。また DNA では修復しにくい損傷となり細胞死を起こすと考えられる。

生体の薄膜，染色体内でも泡核が形成されるため，今回確認された泡核は，細胞膜の損傷メカニズム，DNA 損傷のメカニズム等の新たな粒子線放射線損傷のモデルになると考える。

混合茶（甘減茶）投与マウスにおける生理活性に関する研究

安田 俊文

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

（指導教員：長谷川武夫）

（目的）

我が国も高齢化社会に突入し、生活習慣病や慢性疾患に関する関心が高まっている。本研究はコモリ甘減茶（KKGC）に免疫能活性、抗酸化作用、放射線防護、抗腫瘍効果等があるかを調べ、副作用のない健康食品としての有効性を検討した。

（方法）

甘減茶を 50℃ の蒸留水で抽出し凍結乾燥させた試薬（KKGC）を CH3 マウスに 400mg/kg を連日経口投与し、血球への影響、抗腫瘍効果、X 線 6Gy 照射後の生存率から放射線防護効果を調べた。

（結果及び考察）

健常マウスへの甘減茶抽出物 400mg/kg 連日投与群には非投与群よりも体重増加が認められ、虚弱体質や病み上がりの体調に甘減茶が有効である事を示している。そのメカニズムは田村や久保山が示した熊笹のアンソッコー酸、ビタミン C、葉緑素の効果が考えられた。C3H マウスに甘減茶 400mg/kg を経口投与すると 3 から 9 時間目に白血球、リンパ球数の一過性増加が見られ、これら免疫担当細胞の増加は免疫能の活性化を示唆している。中村はクコの葉の成分であるベタイン、リノール酸、グルコサイ等には INF- γ の亢進作用があり、サイトカインへの影響が示唆される。甘減茶投与群の担瘤マウスは連日 400mg/kg の甘減茶

を投与すると投与 10 日から腫瘍容積の増加遅延が観測され、16 日目には無処理群は 1.6 倍も腫瘍容積が甘減茶投与群より有意に腫瘍体積が増加した。抗腫瘍効果のメカニズムとして、白血球、リンパ球の一過性増加に伴う NK 細胞の活性と TNF- α 、INF- γ の亢進が考えられる。甘減茶には、放射線防護効果があった。放射線防護効果には、抗酸化作用が影響すると思われる。抗酸化作用はラジカルや活性酸素を除去し、放射線防護効果を発現する。クコの葉に含まれるゼアキサントレンには免疫賦活作用があり、更に抗酸化作用も確認されている。宮嶋らによってタンニンにも抗酸化作用のあることが報告されている。クコの葉の成分であるベタイン、リノール酸、グルコサイト等には INF- γ の亢進作用があり、サイトカインへの影響が示唆されており、この NK 細胞活性は抗腫瘍効果のメカニズムの一つに加える。KKGC 投与群に血糖値上昇抑制作用が認められた。具達は、KKGC の血糖値抑制効果は、これに含まれる多糖類の糖吸収抑制に起因する事と、新陳代謝に起因するインシュリン分泌亢進を報告している。糖負荷試験の結果同様に KKGC 投与群には、血糖値上昇抑制効果が示された。吉岡達はギムネマ酸には小腸からのグルコース吸収抑制の有る事を報告している。また、正常マウスに KKGC400mg/Kg を投与しても血糖値に変化は示さず、健常マウスには副作用の無いものである事を確認した。

(結語)

甘減茶には、体重減少抑制作用がある。白血球の一過性増加がある。抗腫瘍効果がある。放射線防護効果

がある。NK 細胞（免疫能）活性がある。糖負荷試験で血糖値抑制効果がある。高血糖マウスに対し、血糖値抑制効果がある。正常血糖値マウスには作用しない。

チャーガ（カバノアナタケ）粉末の糖尿病に関する研究

今西 裕華

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療栄養学専攻

（指導教員：鈴木 郁功）

【目的】

チャーガ（カバノアナタケ）【学名：Inontus obliquus, ロシア名：Charga】は Hymenochaetae に属する白色腐朽菌である。チャーガとはロシア語で、「白樺のガン」という意味で、その名の通り白樺の木に侵入し、腐朽させ、さらに木を枯死させる白樺の木には迷惑な存在である。しかし逆にチャーガの生命力の強さをうかがい知る事が出来る。チャーガは、北海道など北日本からシベリア地方にかけ白樺の木に寄生するキノコである。シベリア地方ではガンに有効とされ、お茶代わりに煎じて飲まれている。最近の研究によりチャーガの抽出成分には、制ガン作用や抗 HIV-1 作用などがあると報告されている。

今回はチャーガの水抽出物による抗酸化作用、及び糖尿病の改善効果について検討した。

【実験方法】

生後 5 週令の ICR 系雄性マウス 1 群 6 匹として使用した。24 時間絶食後、チャーガ溶液をそれぞれ 100mg/kg B. W. の用量で経口投与し、30 分後に 5 % アラビアゴム溶液に混濁した 5 % 活性炭混濁液を 0.2ml/body を経口投与した。活性炭投与 1, 2, 3, 4, 5 時間後に小腸を摘出した。摘出した小腸の幽門から炭末移行部先端までの長さを測定し、小腸全長に対する移行率を求めた。

生後 5 週令の ICR 系雄性マウス 1 群 6 匹として使

用した。24 時間絶食後、Control 群には蒸留水を 10ml/kg B. W., Sample 群には試料液を 100, 500, 1000mg/kg B. W. の用量で経口投与した。投与終了 1.5 時間後にネンブータル麻酔下で、胃底部から 5 ~ 10cm の部位より 5 % グルコース溶液を 1ml 注入し、結紮後腹腔内に戻した。1.5 時間後に腸を摘出し、3ml の生理食塩水で腸内を洗浄した後、グルコース濃度を測定した。グルコース濃度の測定はグルコース C II テストワコーを用いた酵素法により行った。5 % グルコース液 1ml に生理食塩水 3ml を加えたものも同様の方法でグルコース濃度を測定し、グルコース濃度 (mg/dl) を求めた。また Control 群及び Sample 群のグルコース濃度を求め、腸に注入したグルコース液 1ml + 洗浄した生理食塩水 3ml のグルコース量に換算し、腸の長さあたりにおけるグルコースの吸収量を求めた。

生後 5 週令の kk-Ay 雄性マウス 1 群 6 匹として使用した。Control 群には蒸留水を、Sample 群には試料液を 100, 500, 1000mg/kg の用量で 1 日 1 回、2 週間反復経口投与した。絶食状態で糖負荷（グルコース 3g/kg po）後 -1/4, 1/2, 1, 2, 3, 4hr に尾静脈より採血し、血中グルコース濃度を調べた。溶媒投与対照群との比較を行って、血糖値測定は glucose oxidase 法に基づくグルコース C II テストワコーで行った。

抗酸化作用の測定として、ロダン鉄法とルミノール法による抗酸化活性の測定を行った。

【結果・考察】

ロダン鉄法：5%及び10%チャーガ熱水抽出物は、陽性標準物質である Trolox と同程度の抗酸化作用を示した。ルミノール法：高い有意差 ($p < 0.01$) が見られ、1%, 0.1%, 0.01%のチャーガ熱水抽出物溶液では強いラジカル消去能を示し、少なくともラジカルスカベンジャーとして働く物質が含まれている事が示

唆された。

正常 ICR マウス及びⅡ型糖尿病 (NIDDM) の KK-Ay マウスにおいて2週間反復経口投与により、共に高い有意差で血糖低下作用と糖負荷による血糖上昇抑制作用が認められた。従って、チャーガにはインスリン分泌の促進、又はインスリン抵抗性を改善させる作用が働き、耐糖能を改善したと考えられる。

水抽出パフィア・パニクラッタ (PP) による 抗腫瘍作用に関する研究

大山 陽子

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療栄養学専攻

(指導教員：鈴木 郁功)

【目的】

近年、未知の薬効を有する植物を病気の予防、健康増進または西洋医学と併用しての各種疾患に対する緩解・改善が注目をあびてきている。そのなかで、悪性腫瘍の膨大進行が中期・末期になると治療法の限定化とともに生存率が低下することに着目した。今回、これを軽減させる目的の一つとして、パフィア・パニクラッタ (*Paffia paniculata*; PP) の、抗腫瘍作用及びその作用機序について検討した。

【実験方法】

抗腫瘍作用：ICR 系 4 週令雄のマウス 1 群 10 匹を用い、エールリッヒ固形癌を右鼠頸部皮下に 1×10^6 cells 移植した。腫瘍の増殖は毎週皮膚の上からノギスで最大直径の径を測る方法で調べ、実験群には PP200mg/kg, 400mg/kg, 800mg/kg を、対照群には水を経口投与し、移植後 35 日目に摘出した。その後、腫瘍の大きさ (長径×短径 mm²) および腫瘍重量 (g) を計測した。同様の方法にて Sarcoma-180 (S-180) 固形癌を用い、PP と高分子 PP の両方を検討・比較した。効力の判定は t 検定により、5 % 以下の危険率で有意 ($P < 0.05$) になった場合を有効とした。

リンパ球対多形核白血球比増加作用 (L/P 活性)：Swiss-Webster 系マウスの免疫が未熟な生後 6～12

時間内の同腹の新生仔を二群に分け、一方には対照群として生理食塩水 0.02ml/mouse の用量を、他方には検体群として PP100 μ g/mouse、の用量を各々腹腔内注射した。注射前、注射後 6, 10, 14 日に尾静脈から採血し、多形核白血球数に対するリンパ球数の比 (L/P 比) を求めた。効力の判定は t 検定により、5 % 以下の危険率で有意 ($P < 0.05$) になった場合を有効とした。

免疫不全動物由来免疫担当細胞群に対する賦活効果作用：ICR 系 5 週齢雌性マウスを無差別に 4 群に分け、対照群に生理食塩水 0.4ml/mouse の用量を、実験群に PP 400mg/kg B. W. 及び PP 400mg/kg B. W. 並びにイソマルトオリゴ糖 (isomaltose oligomer; IMO) を 2 日目、4 日目、5 日目及び 6 日目に腹腔内注射した。また、同時期に免疫機能を下げるためデキサメサゾン (DM) 0.4mg/mouse/0.2ml を 0 日目、2 日目、4 日目及び 5 日目に腹腔投与し、デキサメサゾン単独処理群と、実験群を設けた。7 日目にマウスの腹腔に 10% 牛胎児血清 (FBS) 添加イーグル MEM を 5ml 入れ、頸椎脱臼してからその腹腔内より 10% FBS・MEM を採取した。これを 6 穴プレートに 1ml 入れ、新鮮 10% FBS・MEM2ml を加えた後、滅菌イーグル MEM で 10 倍に希釈した緑膿菌を 0.2ml 添加し、インキュベータ内で (2～3hr) 培養した。その後、ギムザ染色液で染色し、顕微鏡でリンパ球とマクロファーク

ジ及び、緑膿菌貪食マクロファージ数を数えた。本研究では、デキサメサゾン処理群の活性を1とみなした場合の、各群のリンパ球数、マクロファージ数、マクロファージ活性度を比較した。効力の判定は5%以下($P < 0.05$)の危険率で有意になった場合を有効とした。

抗酸化作用：ケミルミネッセンスリーダーによる抗酸化能の測定及びDPPHラジカル消去能の測定方法を用いた。

【考察・結果】

抗腫瘍作用について Ehrlich 固形癌と S-180 固形癌の2種類の固形癌に対し、PPは強い抗腫瘍作用を示した。また S-180 固形癌を用いた PP と高分子 PP との比較では、PP より高分子 PP の方が強い抗腫瘍作用を示した。

新生児の同腹マウスによるリンパ球対多形核白血球増加作用 (L/P 活性) を測定した結果、PP を投与することによって、L/P 活性は有意に上昇した。

免疫不全動物由来免疫担当細胞群に対する賦活効果作用の結果は、PP を投与することにより、免疫担当細胞であるリンパ球、マクロファージの増加及びマクロファージの活性化の亢進と増強を示した。PP 投与に加えて IMO 投与した場合、PP 投与群よりさらに高い有意な効果を示した。このことから、PP は体内に入ると、免疫担当細胞群の活性化及び増加による腫瘍抑制効果の誘導が起きたと考えられ、二次的な生体の応答に基づくものと思われる。

抗酸化作用についてケミルミネッセンスリーダーによる抗酸化能の測定及びDPPHラジカル消去能の測定方法を調べた結果、共にPP2.0%において標準物質である Trolox と同程度の抗酸化作用が認められた。

エストロゲンとプロゲステロンの骨代謝への影響

竹谷奈央子

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療栄養学専攻

(指導教員：石田 寅夫)

研究目的

骨粗鬆症は高齢の女性に多くみられ、その主たる要因は、卵巣機能の低下に伴うエストロゲン (E) 不足によるものにある。しかし、これまでの実験で体内の E 濃度が過剰状態になると、骨量が低下する可能性が示唆された。また、女性ホルモンであるプロゲステロン (P) の単体投与により骨量の改善を認めたという報告がある。

本実験の目的は、卵巣摘出ラットに女性ホルモンの投与を行って、エストロゲンの作用機序とエストロゲン過剰時におけるホルモンレセプターの発現、エストロゲンレセプターとプロゲステロンレセプターの相互関係が骨代謝へ及ぼす影響を検討することである。

実験方法

12 週齢の SD 系♀ラットに偽手術と卵巣摘出手術を施し、Sham 群、Model 群、E0.01 群、E1 群、P 群と E0.01 + P 群の六つに群分けした。

Sham 群と Model 群には、70% Ethanol, E0.01 群には 17- β -Estradiol 0.01mg/kg in 70% ethanol, E1 群には 17- β -Estradiol 1mg/kg in 70% ethanol, P 群には Progesterone 1mg/kg in 70% ethanol, E0.01 + P 群には 17- β -Estradiol 0.01mg/kg + Progesterone 1mg/kg in 70% ethanol を 2ml ずつ、8 週間皮下注射で投与を行い、解剖した。

投与期間中に、体重、Bone mineral density (BMD)

測定を行った。

解剖直前に尿と血液を採取し、それぞれの Ca と P 量を測定し、血液中の骨形成マーカー、尿中の骨吸収マーカーを測定した。摘出した骨から強度と骨形成率を求めた。また、解剖直後に脛骨の骨髄細胞と骨端海綿質の骨細胞の RNA を抽出し、競合的 RT-PCR を行い、エストロゲンレセプター (ER) とプロゲステロンレセプター (PR) の mRNA 発現を定量化した。

結果

8 週後、Model 群と P 群は全ての全測定部位で BMD を減少させ、他の群は全て骨量を増加させた。骨髄細胞と骨端海綿質の骨細胞の各レセプター mRNA 発現の定量においては、E0.01 群と E1 群との間 Sham 群と Model 群が含まれ、両極端な値を示した。骨髄細胞の PRB mRNA を除いて、他の各 mRNA は Sham 群対して E1 群と P 群で有意な差がみられた。海綿質骨細胞における各ホルモンレセプター mRNA 発現量は、P 群が Model 群に対して有意に低値を示した。

考察

P 単体の投与は骨量だけでなく、骨代謝マーカーの値をみても骨量改善効果がないことは明らかであった。骨芽細胞では、PRA と PRB はエストロゲンアップレギュレーションを示すといわれており、骨髄が骨芽細胞に分化するため、骨量増加と関係すると考えら

れたが、骨髓細胞の mRNA 発現と比べると、実際には骨量の増加には関係していなかった。これは、in vitro と in vivo の違いであると考えられた。

水溶性プロポリス画分の抗腫瘍作用に関する研究

中島 正典

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療栄養学専攻

(指導教員：鈴木 郁功)

【目的】

南米地方では、未知の薬効を有する天然物質を予防医学の民間療法として用いられている。近年、新聞、雑誌、テレビ、インターネット等をはじめとする高度情報化の情勢もあって、これら代替医療を求める患者が我が国でも急増している。南米アマゾン地方の薬効を有する未知の天然物質は豊富であるが、その中でも薬用植物として知られているプロポリスに着目し、活性画分の抗腫瘍作用、免疫応答機構及び抗酸化作用に及ぼす作用機序を検討した。

【実験方法】

試料：プロポリス微粉末 40～50℃の水浴上で2時間熱水抽出し、GCL-2000m カラムで G-1、G-2、G-3 の三つの画分に分画した。そこで、抗腫瘍活性の強い画分 G-2 を実験に用いた。抗腫瘍作用：ICR 系 4 週令雄のマウスに Ehrlich 癌を皮下または腹腔内投与した。移植動物に翌日より 7 日間に渡り、画分 G-2 を腹腔内投与し、固形癌または腹水癌に対する制癌作用を調べた。TNF- α 誘導作用：ICR マウスのグリコーゲン誘導腹腔マクロファージ培養系に、画分 G-2 を RPMI1640 に添加し、2 時間後の上清中の TNF- α 量を ELISA で測定した。リンパ球サブセットの解析：画分 G-2 を通常マウスと S-180 担癌マウスに 1 週間以上投与した後、経時的に採血を行ない比重遠心分離法により分離したリンパ球を、リンパ球サブセット測

定用フローサイトメトリー試薬により蛍光染色し、フローサイトメーターにより CD4 および CD8 の解析を行なった。抗酸化作用：in vitro では DPPH 法を用い測定した。in vivo では、末梢血液中における SOD 活性を測定した。画分 G-2 を正常マウスと S-180 担癌マウスに 1 週間以上投与した後、心臓より採血を行ない遠心分離により血清を取り出し、血清中の SOD 活性度を測定することで、マウス末梢血液中における抗酸化活性を調べた。

【考察・結果】

抗腫瘍作用：マウスに画分 G-2 を 7 日間腹腔内投与しても腹水癌は抑制率が低かったが、固型癌腫瘍抑制は高かった。

リンパ球サブセットの解析：投与終了後 1 週間目の CD4 陽性数 (CD3⁺CD4⁺) の測定では腫瘍を移植したマウスに画分 G-2 を投与した場合、腫瘍を移植したコントロールに対し有意な活性値を示したが、その後の測定では有意な活性は見られなかった。

TNF- α 誘導作用：画分 G-2 を添加すると TNF- α が誘導され、その作用は濃度依存的に高まった。

抗酸化作用：WSP ならびに G-2 の抗酸化作用について DPPH 法と調べた結果、ラジカル消去作用が認められた。しかし S-180 担癌マウスの血清 SOD 活性を調べたところ抗腫瘍との関係は見られなかった。以上のことから、画分 G-2 には生体防御系の活性化作用を介した抗腫瘍作用があることが示唆された。

水抽出プロポリス（WSP）とその画分の 胃粘膜損傷モデルに関する研究

元村 宗夫

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療栄養学専攻

（指導教員：鈴木 郁功）

【目的】

天然の抗生物質といわれるプロポリスは、ワックス類、フラボノイド類、ミネラル類、ビタミン類、フェノール性有機酸類などの物質が含まれている。又、抗菌作用、鎮痛作用、抗炎症作用、抗腫瘍作用、免疫能増強作用等の多種多様な作用が知られている。そして、近年プロポリスの生理活性成分として注目されているのが、フラボノイドを始めとする有機物質である。植物中のフラボノイドの多くは配糖体での形で含まれているのに対し、プロポリスに含まれるフラボノイドは糖鎖を持たないアグリコンである事が特徴である。フラボノイドの薬理活性については、細胞膜や結合組織の強化作用、抗アレルギー作用、抗菌・抗ウイルス作用などが知られており、Bankova らによってアカセチンが抗炎症作用、アピゲニンが抗潰瘍作用を有することが報告されている。

今回、プロポリスの化学成分であるフラボノイドに注目し、水抽出プロポリス（WSP）の活性画分における胃粘膜損傷モデルに対する効果の検討を行った。

【方法】

塩酸エタノール胃粘膜損傷モデルは、Donryu 系雄性ラット（5 週齢）を用い 24 時間絶食させた後、60% Ethanol in 150M-HCL 溶液 1ml/200g B. W. を経口投

与し、更にその 30 分後に被験物質を経口投与した。HCL-Ethanol 投与から 1 時間後に摘出した胃に 1% Formaline 液 7ml を注入して固定させ摘出した。胃の大湾部に沿って切開し、胃体部に発生した胃粘膜損傷部の面積を測定して、粘膜潰瘍抑制率を算出した。Indomethacin 胃粘膜損傷モデルは、Indomethacin 30mg/kg を皮下注射し、6 時間後に胃を摘出して胃体部に発生した胃粘膜損傷部の面積を測定、潰瘍抑制率を算出した。被験物質の WSP 各用量 100mg/ml, 300mg/ml, 500mg/ml, 1000mg/ml を用い、WSP 活性画分については、WSP の中で最も活性の高かった容量に統一し、画分 G-1, G-3, G-4, G-5 を用いた。プロポリス画分とフラバノール（アピゲニン、アカセチン）について HPLC 法を用いて比較した。統計学的処理は、Students't-検定を用いて各群における有意差検定を行ない、5% 以下の危険率で有意 ($P < 0.05$) になった場合を有効とした。

【結果・考察】

Indomethacin 胃粘膜損傷モデルに対しては、WSP500mg/ml において有意 ($p < 0.05$) な抑制効果が見られた。HCL エタノール胃粘膜損傷モデルに対しては、WSP100 ~ 1000mg/ml でいずれも有意 ($p < 0.05$) な効果が見られた。最も高い抑制効果を示したのは 500mg/ml（抑制率 95.1%）であった。活性画分

における塩酸エタノール胃粘膜損傷モデルに対しては、G-1, G-3, G-4, G-5 と全て有意 ($p < 0.05$) な効果を示した。このうち、画分 G-4 は最も高い抑制効果を示した。これは、被験物質の胃粘膜に浸透し、胃の血流や栄養状態を良化させた事によって損傷組織の再生と細胞分化が促進したと考えられる。HPLC 法

は、粘膜損傷防御効果が最も高かった画分 G-4 の 4 種成分による retention time が 1.89 分, 2.21 分, 3.16 分, 5.13 分で、アピゲニンの 4.33 分とアカセチンの 5.76 分とは異なり、一致するものはなかった。従って、画分 G-4 成分は他の物質であることが示唆された。