

代謝性疾患における血小板機能等の病態・診断・治療に関する研究（22-4）

主任研究者 徳田 治彦 国立長寿医療研究センター 臨床検査部（部長）

研究要旨

3年間全体について

高齢者代謝性疾患における血小板凝集能亢進の機序について解析し、診断・治療への応用に資することをその目的とした。55歳以上の2型糖尿病患者、骨粗鬆症患者および脂質異常症患者より静脈血を採取し、多血小板血漿を調整、ADPにより惹起される血小板凝集を詳細に解析した。また細胞内情報伝達系についてはWestern blot法にて解析した。平成24年度末までに糖尿病検体142件、骨粗鬆症検体103件について、血小板凝集能の解析を実施しえた。糖尿病患者をADPのED<sub>50</sub>値をもとに血小板凝集能亢進群（Group 1）と血小板凝集能非亢進群（Group 2）に分類した検討では、ADPによるHSP27のリン酸化（Ser-78、Ser-82）は両群で観察されるが、低用量ADP（1 μM）によるSer-78のリン酸化、sCD40L遊離およびPDGF-AB分泌はGroup 1で特に顕著で、個々の血小板凝集におけるADPのED<sub>50</sub>値とHSP27（Ser-78）のリン酸化レベルは強い相関を示すこと、アスピリン投与により低用量ADPによるHSP27（Ser-78）のリン酸化が消失すること等の所見を得た。また初回検討時に抗血小板剤を投与していなかった事例において、MRIあるいはCTによる周脳室透過像（PVL）および脳梗塞の有無、頸動脈エコーによる内膜中膜複合体厚（IMT）についてED<sub>50</sub>値より抑制群と非抑制群の2群に分類して解析したところ、いずれもその頻度は抑制群で少なかった。さら尿中微量アルブミン排泄量を検討したところ、抑制群において腎症の進行事例が少ない傾向が見られた。コラーゲンのED<sub>50</sub>値を元に、亢進群、正常群、抑制群の3群に分類した検討で、亢進群においてはHSP27のSer-78およびSer-82のリン酸化レベルが上昇し、亢進群の一部で細胞内HSP27量の減少を認めた。加えてコラーゲン刺激時の反応上清中のHSP27濃度は増加傾向を認めたことから、糖尿病患者の一部において、コラーゲン刺激下の血小板凝集亢進との関連においてHSP27リン酸化に伴いHSP27の血小板からの遊離を認めることが示唆された。

骨粗鬆症患者における検討では、新しい選択的エストロゲン受容体モジュレーター（SERM）製剤であるバゼドキシフェン酢酸塩が投与された7例のうち1例において、投与前に亢進を示したが開始後に正常化が確認された。また、投与前に亢進のなかった1例において、一時亢進を認めた後に抑制がみられた。これらの検体で細胞内情報伝達経路につき解

析を行ったところ、改善が見られた1例では1  $\mu$ M ADPにより惹起されるp38 MAPKのリン酸化が、投与後著明に減弱していた。一方、ラロキシフェンが投与された8例のうち、1例が亢進を示し、2例が患者希望により投与を中止していた。

以上の結果から、2型糖尿病患者の血小板においてADPあるいはコラーゲンにより惹起されるHSP27のリン酸化 (Ser-78) は、凝集能に関連する重要な機能制御機構であり種々の病態に関与すること、高齢者の骨粗鬆症治療においてバゼドキシフェン酢酸塩はラロキシフェンより血小板機能に好ましい作用を有する可能性が示唆された。さらに解析を進めることにより、高齢者の臓器保護に資する至適な血小板機能制御が可能となると考える。

平成24年度について

糖尿病患者について初回検討時に抗血小板剤を投与していなかった事例において、MRIあるいはCTによる周脳室透過像(PVL)および脳梗塞の有無、頸動脈エコーによる内膜中膜複合体厚(IMT)についてADPに対する血小板凝集のED<sub>50</sub>値を元に抑制群と非抑制群の2群に分類して解析したところ、いずれもその頻度は抑制群で少なかった。さら尿中微量アルブミン排泄量を検討したところ、抑制群において腎症の進行事例が少ない傾向が見られた。コラーゲンのED<sub>50</sub>値を元に、亢進群、正常群、抑制群の3群に分類した検討で、亢進群においてはHSP27のSer-78およびSer-82のリン酸化が見られ、亢進群の一部で細胞内HSP27量の減少を認めた。さらにコラーゲン刺激時の反応上清中のHSP27濃度は増加傾向を認めたことから、糖尿病患者の一部において、コラーゲン刺激下の血小板凝集亢進との関連においてHSP27リン酸化に伴いHSP27の血小板からの遊離を認めることが示唆された。骨粗鬆症患者については、バゼドキシフェン酢酸塩の投与事例で前年度までにADP凝集の亢進を示した事例は、その後抑制に転じたことが確認された。一方ラロキシフェン投与例中1例が亢進を示し、2例が患者希望により投与を中止していた。従って、高齢者の骨粗鬆症治療においてバゼドキシフェン酢酸塩はラロキシフェンより血小板機能に好ましい作用を有する可能性が示唆された。

主任研究者

徳田 治彦 国立長寿医療研究センター 臨床検査部 (部長)

分担研究者

酒井 義人 国立長寿医療研究センター 脊椎外科 (医長)

小澤 修 岐阜大学大学院 医学系研究科 (教授)

研究協力者

榊原 孝夫 医療法人榊原 榊原整形外科 理事長

研究期間平成 22 年 4 月 1 日~平成 25 年 3 月 31 日

#### A. 研究目的

血小板は生理的な止血の制御に中心的な役割を果たしていることは周知のことである。一方、高齢者では血小板機能が亢進し、血栓形成が循環不全を起し多様な疾患（脳梗塞、狭心症、悪性腫瘍等）の発症に関与していると考えられている。加齢とともに糖尿病の有病率は増加し、70 歳以上では三人に一人が糖尿病に罹患していると推計されている。高齢者の糖尿病では微小血管障害による三大合併症とともに脳梗塞・心筋梗塞等の大血管障害も多く発症し、これらはいずれも重大な後遺障害を招くことから、有効な予防対策は高齢化の著しい我が国において喫緊の課題である。私共はこれまでに、国立療養所中部病院および国立長寿医療センターで治療中の 2 型糖尿病患者における血小板凝集能の解析を行い、①大部分の糖尿病患者でシェアーストレス（ずり応力）により血小板微小凝集塊形成が惹起され、糖尿病患者における血糖コントロールの指標である HbA1c 値との有意な相関を示すこと、②ADP 刺激による血小板凝集反応において、血糖値正常群では ADP 受容体のうち P2Y1 受容体が主として関与するが、一方糖尿病患者における血小板凝集能の亢進状態では P2Y12 受容体が関与すること、③糖尿病患者におけるコラーゲン刺激による凝集亢進には p44/p42 mitogen-activated protein kinase (MAPK) および p38 MAPK の活性化が関与すること、④血小板における p38 MAPK 活性の定量化が臨床指標となることを報告した (J.Clin.Endocrinol.Metab.2005;90:920- 927, Life Sci.2009;85:386-394)。抗血小板剤であるアスピリンは、糖尿病患者において血栓性疾患の主要な二次予防薬であるが、その効果は限定的でアスピリン抵抗性の存在が示唆されている。従って、糖尿病患者の血小板凝集亢進に関する細胞内情報伝達機構を解析し、異常の早期発見・制御が可能となれば健康寿命の延伸に資するところ大と考えられる。

一方、骨粗鬆症性骨折は寝たきり状態の主因であり、骨粗鬆症の効果的かつ安全な予防・治療法の確立が求められる。本症に対する薬物療法として、SERM である塩酸ラロキシフェンが広く使用されているが、本剤により深部静脈血栓症、肺塞栓症、網膜血栓症等の静脈血栓塞栓症 (vein thromboembolism: VTE) の発生リスク増加が知られている。私共は、閉経後骨粗鬆症患者における血小板凝集能を塩酸ラロキシフェン投与との関連において検討し、7 例中 2 例に血小板凝集能の亢進を認め、それぞれ異なる機序 (p44/p42 MAPK 或いは Akt の活性化亢進) が関与することを報告した (Intern.Med.2008;47:1523-1528, Osteoporosis Int. 2010; 21:189-193)。

本研究の目的は、糖尿病や骨粗鬆症をはじめとする高齢者の代謝性疾患における血小板凝集能亢進の機序についての解析から、その診断・治療への応用に資することである。代謝性疾患の患者における血小板機能につき治療経過との関連において詳細に解析し、簡便な臨床指標を提示する。成果として、代謝性疾患を有する高齢者の生命・社会的予後を規定する大血管障害を含む主要な合併症に対する有効な予防・治療体制の確立が期待できる。

## B. 研究方法

### 3年間全体について

55歳以上の2型糖尿病患者、骨粗鬆症患者および脂質異常症患者を対象とした。被験者の肘静脈等より静脈血約10 mlをクエン酸加条件に採取し、多血小板血漿 (platelet-rich plasma: PRP) および一般血漿 (platelet-poor plasma: PPP) を分離調整したのち、ずり応力 (シェアストレス) あるいはADP・コラーゲンで刺激し、レーザー粒子径測定法に基づく測定装置 (PA-200:興和) を用いて血小板凝集能の変化を解析した。刺激前後のPRPは分取し、血小板からの生理的活性化物質 (PDGF-AB およびsCD40L) をELISA法にて測定し、これらの遊離に関する解析に供するとともに、血小板細胞質画分を調整し、ADPにより刺激され活性化される細胞内情報伝達系 [アデニル酸シクラーゼ/cAMP、プロテインキナーゼ A、プロテインキナーゼ C、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-キナーゼ)、Akt/protein kinase B、MAPK スーパーファミリー (p44/p42 MAPK、p38 MAPK、SAPK/JNK)、FAK、Ca<sup>++</sup>動員等]、HSP27 を Western blot 法で検討した。

患者情報については全疾患共通項目として身長、体重、血圧、服用中の薬剤名、白血球数、赤血球数、血色素値、血小板数、総蛋白、アルブミン、AST、ALT、ALP、 $\gamma$ -GTP、総コレステロール、HDL-コレステロール、中性脂肪、尿素窒素、クレアチニン、血糖、HbA1c、2型糖尿病患者項目として糖尿病罹病期間・治療期間、網膜症の有無・病期、尿中アルブミン値、骨粗鬆症患者項目として腰椎・大腿骨骨密度 (YAM%・T-score)、骨代謝マーカー (骨型ALP、血清NTx など) を収集することとした。

さらに追跡調査を計画した。即ち2型糖尿病あるいは脂質異常症でCT等により脳梗塞(無症候性を含む)と診断された患者のうち、二次予防治療としての抗血小板療法が新規に開始された場合は、開始後1ヵ月後(4週)、3ヵ月後(12週)、6ヵ月後(24週)に追跡調査を実施することとした。それ以外については6ヵ月後(12週)に調査することとした。骨粗鬆症患者については、治療開始後1ヶ月後(4週)、3ヵ月後(12週)に追跡調査を実施することとした。

### 平成24年度について

本年度も上記の解析を継続して実施した。

### (倫理面への配慮)

本研究の遂行にあたっては、最新の臨床研究に関する倫理指針を遵守している。研究への参加は患者の自由な意思によるものであるとともに、患者のプライバシーには十分配慮し、結果の解析にあたっては連結可能匿名化とすることとした。研究計画は国立長寿医療研究センター倫理審査委員会および岐阜大学医学系研究科医学研究等倫理審査委員会において承認を得た。

## C. 研究結果

### 3年間全体について

平成 22 年 8 月 10 日付で倫理・利益相反委員会の承認を得、同年 9 月より臨床検体の採取を開始した。平成 25 年 3 月末までに、糖尿病検体 142 件、骨粗鬆症検体 103 件について血小板凝集能分析を実施した。

#### 1) 糖尿病患者における血小板機能解析

55 才以上の 2 型糖尿病患者 97 名の同意を得た。患者属性は表 1 に示した。90 検体は ADP 刺激により、52 検体はコラーゲン刺激により惹起される血小板凝集能をレーザー光スキャタリング(LS)法により解析した。ADP およびコラーゲン刺激に対する ED<sub>50</sub> 値を指標とした。また、LS 法では血小板凝集塊のサイズ毎に解析が可能であるため、25 μm 以下、25 μm~50 μm、50 μm 以上の凝集塊の出現状況についても検討した。

非糖尿病コントロール群について既に岐阜大学において検討済みであった ADP の ED<sub>50</sub> 値 (mean ± 2 SEM=1.778 ± 0.244 μM, n=52) より、糖尿病患者を血小板凝集能亢進群 (Group 1: ED<sub>50</sub> < 1.534 μM) および血小板凝集能非亢進群 (Group 2: ED<sub>50</sub> ≥ 1.534 μM) に分類、ADP により惹起される血小板中の HSP27 のリン酸化 (Ser-15、Ser-78、Ser-82)、血小板より遊離・分泌される sCD40L および PDGF-AB について検討した。なお、血小板凝集能に影響を与える可能性のある薬剤 (NSAIDs、スタチン、ACE 阻害剤、AR 遮断剤) を使用している者および悪性腫瘍、B 型肝炎、C 型肝炎、自己免疫性疾患に罹患している者は予め検討対象から除外した。両群において ADP による Ser-78 および Ser-82 における HSP27 のリン酸化が観察されたが、低用量 ADP (1 μM) による Ser-78 のリン酸化、sCD40L 遊離および PDGF-AB 分泌は Group 1 において顕著であった。個々の血小板凝集における ADP の ED<sub>50</sub> 値と HSP27 (Ser-78) のリン酸化レベルとは強い相関を示した。Group 1 における 1 μM ADP による HSP27 (Ser-78) のリン酸化は、MEK1/2 阻害剤である PD98059 および p38 MAPK 阻害剤である SB203580 により抑制された。さらに、Group 1 のうち ADA の勧奨に従いアスピリン投与を希望した症例において、投与 4 週後の血小板凝集能を検討したところ、血小板凝集能の顕著な改善が確認されるとともに、1 μM ADP による HSP27 (Ser-78) のリン酸化は観察されなかった。

非糖尿病コントロール群にて既に検討済みであったコラーゲンの ED<sub>50</sub> 値 (mean ± 2 SEM=0.460 ± 0.082 μg/ml, n=47) を元に、亢進群 (ED<sub>50</sub><0.378 mg/ml、正常群 (ED<sub>50</sub>=0.378-0.542 mg/ml)、抑制群 (ED<sub>50</sub>>0.542 mg/ml) の 3 群に分類した。抑制群は全例アスピリン投与例であった。これらの事例について、細胞内の HSP27 リン酸化を解析したところ、亢進を示した事例においては ADP 刺激におけると同様に、Ser-78 および Ser-82 のリン酸化が見られた。次に HSP27 総量を検討したところ、亢進を示した一部の事例で細胞内 HSP27 量の減少が認められた。さらにコラーゲン刺激時の反応上清中の HSP27 濃度を ELISA で測定したところ、増加する傾向が認められた。これらの事例ではコラーゲン 0.3 μg/ml での刺激時に 50 μm 以上の大凝集塊の出現が認められた。以上、糖

尿病患者において、コラーゲン刺激下に血小板凝集亢進とHSP27リン酸化、およびHSP27の血小板からの遊離を認めることが示された。

ADP刺激時の血小板凝集能解析事例の臨床データでの解析は、初回検討時に抗血小板剤を投与していない条件下で血小板凝集能を検討できた49例において、MRIあるいはCTによる周脳室透過像(PVL)および脳梗塞の有無、頸動脈エコーによる内膜中膜複合体厚(IMT)についてADP凝集能のED<sub>50</sub>値との関連において解析した。ED<sub>50</sub>値により対象を抑制群(ED<sub>50</sub>>2.022 μM) 9例と非抑制群(ED<sub>50</sub>≤2.022 μM)40例の2群に分類して解析したところ、抑制群においてはPVLを認めるものが1例/9例(11.1%)であったのに対し、非抑制群ではPVLを認めるものが20例/40例(50%)であり、抑制群で有意に少なかった(P<0.05)。また、脳梗塞の見られる事例については、抑制群で2例/9例(22.2%)、非抑制群で18例/40例(45.0%)、IMT肥厚(≥1.1mm)については、抑制群で2例/9例(22.2%)、非抑制群で12例/40例(30.0%)であり、それぞれ抑制群で少ない傾向が認められた。さらにこの49例のうちアルドステロン受容体拮抗剤およびアンギオテンシン変換酵素阻害剤を投与されていなかった42例において、尿中微量アルブミン排泄量を検討した。抑制群では腎症1期(<30 mg/gCr)6例/8例(75.0%)、腎症2期以上(≥30 mg/gCr)2例/8例(25.0%)であったが、非抑制群では腎症1期20例/34例(58.8%)、腎症2期以上14例/34例(41.2%)であり、抑制群において腎症の進行事例が少ない傾向が見られた。

## 2) 骨粗鬆症患者における血小板機能解析

55歳以上の新規に診断、要治療とされた骨粗鬆症患者29名(表2)について検討した。実際に薬剤の投与が開始された者は26名で、使用された薬剤はラロキシフェン11例、バゼドキシフェン7例、テリパラチド7例、ミノドロロン酸1例であった。血栓性疾患との関連が知られるSERM製剤(ラロキシフェン、バゼドキシフェン)のADP刺激における血小板凝集能への影響につき比較検討を行った。投与開始から6カ月後まで経過をみることでできた事例は、現在ラロキシフェン8例、バゼドキシフェン7例であるが、ラロキシフェン投与例のうち2例が患者本人からの希望により中止されていた。またラロキシフェン投与を行った1例において、投与開始後3カ月から凝集能の亢進が見られた。一方、バゼドキシフェン投与例には中止事例はなく、投与開始後6カ月において1例に凝集能の抑制傾向が見られた。なお、投与開始後3カ月までに亢進傾向を示した1例は6カ月以降で抑制傾向に変化していた。次に、バゼドキシフェン投与例においてADP刺激時のHSP27リン酸化(Ser-78およびSer-82)を解析したところ、これらのリン酸化はp44/p42 MAPK、p38 MAPK、あるいはAktのリン酸化と関連していた。一方、一部の事例において、細胞内のHSP27総量はそのリン酸化に呼応して減少していた。さらに刺激時に採取した反応上清中のHSP27をELISAで測定したところ、ADP用量依存性にHSP27濃度の上昇が見られた。改善した事例については、バゼドキシフェン酢酸塩の投与前には1 μM ADPによりp38 MAPKのリン酸化が促進されたが、投与後では本リン酸化は著明に減弱していた。

表 1

	Total (N=97)	Male (N=56)	Female (N=41)
age	68.7 ± 7.8	68.2 ± 7.9	69.5 ± 7.6
Glu (mg/dl)	154.6 ± 54.5	159.2 ± 57.5	148.7 ± 50.5
HbA1c (NGSP %)	8.77 ± 2.05	8.95 ± 2.24	8.53 ± 1.74
sBP (mmHg)	122.7 ± 17.1	123.9 ± 19.7	121.2 ± 13.1
dBp (mmHg)	70.1 ± 10.3	69.9 ± 10.9	70.3 ± 9.6
Plt (×10000)	21.7 ± 5.7	21.0 ± 5.6	22.7 ± 5.8
尿中アルブミン(mg/gcr)	97.4 ± 286.6	136.9 ± 368.0	44.1 ± 82.2
drug なし	53	35	18
drug あり	44	21	23
抗血小板剤	27	15	12
スタチン	26	13	13
ARB or ACEI	19	11	8

表 2

	N	mean ± SD
age	29	70.8 ± 7.9
ALP (IU/L)	29	270.0 ± 74.1
BAP (IU/L)	29	18.6 ± 8.4
sNTx (nmol/BCE)	15	19.2 ± 11.0
uNTx (nm/MMC)	12	55.4 ± 23.2
%YAM (L2-L4)	28	64.0 ± 7.9
Plt (×10000)	28	20.71 ± 3.81
ADP ED <sub>50</sub> (μM)	29	1.645 ± 0.905

平成 24 年度について

糖尿病患者については、非糖尿病コントロール群にて既に検討済みであったコラーゲンのED<sub>50</sub>値(mean ± 2 SEM=0.460 ± 0.082 μg/ml, n=47)を元に、亢進群(ED<sub>50</sub><0.378 mg/ml、正常群(ED<sub>50</sub>=0.378-0.542 mg/ml)、抑制群(ED<sub>50</sub>>0.542 mg/ml)の3群に分類した。抑制群は全例アスピリン投与例であった。これらの事例について、細胞内のHSP27リン酸化を解析したところ、亢進を示した事例においてはADP刺激におけると同様に、Ser-78およびSer-82のリン酸化が見られた。次にHSP27総量を検討したところ、亢進を示した一部の事例で細胞内HSP27量の減少が認められた。さらにコラーゲン刺激時の反応上清中のHSP27濃度をELISAで測定したところ、増加する傾向が認められた。これらの事例ではコラーゲン0.3 μg/mlでの刺激時に50 μm以上の大凝集塊の出現が認められた。以上、糖尿病患者において、コラーゲン刺激下に血小板凝集亢進とHSP27リン酸化、およびHSP27の血小板からの遊離を認めることが示された。

ADP刺激時の血小板凝集能解析事例の臨床データでの解析は、初回検討時に抗血小板剤を投与していない条件下で血小板凝集能を検討できた49例において、MRIあるいはCTによる周脳室透過像(PVL)および脳梗塞の有無、頸動脈エコーによる内膜中膜複合体厚(IMT)についてADP凝集能のED<sub>50</sub>値との関連において解析した。ED<sub>50</sub>値により対象を抑制群(ED<sub>50</sub>>2.022 μM) 9例と非抑制群(ED<sub>50</sub>≤2.022 μM)40例の2群に分類して解析したところ、抑制群においてはPVLを認めるものが1例/9例(11.1%)であったのに対し、非抑制群ではPVLを認めるものが20例/40例(50%)であり、抑制群で有意に少なかった(P<0.05)。また、脳梗塞の見られる事例については、抑制群で2例/9例(22.2%)、非抑制群で18例/40例(45.0%)、IMT肥厚(≥1.1mm)については、抑制群で2例/9例(22.2%)、非抑制群で12例/40例(30.0%)であり、それぞれ抑制群で少ない傾向が認められた。さらにこの49例のうちアルドステロン受容体拮抗剤およびアンギオテンシン変換酵素阻害剤を投与されていなかった42例において、尿中微量アルブミン排泄量を検討した。抑制群では腎症1期(<30 mg/gCr)6例/8例(75.0%)、腎症2期以上(≥30 mg/gCr)2例/8例(25.0%)であったが、非抑制群では腎症1期20例/34例(58.8%)、腎症2期以上14例/34例(41.2%)であり、抑制群において腎症の進行事例が少ない傾向が見られた。

骨粗鬆症患者の解析では、ラロキシフェン投与例のうち2例が患者本人からの希望により中止されていた。またラロキシフェン投与を行った1例において、投与開始後3か月から凝集能の亢進が見られた。一方、バゼドキシフェン投与例には中止事例はなく、投与開始後6か月において1例に凝集能の抑制傾向が見られた。なお、投与開始後3か月までに亢進傾向を示した1例は6か月以降で抑制傾向に変化していた。一部の事例において、ADP刺激時の細胞内のHSP27総量は、そのリン酸化に呼応して減少していた。さらに刺激時に採取した反応上清中のHSP27をELISAで測定したところ、ADP用量依存性にHSP27濃度の上昇が見られた。血小板凝集能が改善した事例については、バゼドキシフェン酢酸塩の投与前には1 μM ADPによりp38 MAPKのリン酸化が促進されたが、投与後では本リン酸化は著明に減弱していた。

#### D. 考察と結論

これまでの糖尿病患者における解析結果から、ADPにより惹起されるHSP27のリン酸化(Ser-78)は2型糖尿病患者における血小板凝集能の亢進に関連することが示唆された。またこのリン酸化反応はPD98059およびSB203580により抑制されたことから、p44/p42 MAPKあるいはp38 MAPKを介すると考えられた。低分子量HSPは高分子量HSPと同様に分子シャペロンとして機能すると考えられているが、その詳細は未だ明らかではない。ヒト血小板においては、刺激に依存する細胞骨格の機能性の変化に関連すること、HSP27のリン酸化により迅速・強力なアクチン重合化が見られることが知られている。今回の結果は、臨床レベルにおいて初めてHSP27リン酸化の関与を明らかとしたもので、極めて重要な新知



見である。既に私どもは、2型糖尿病患者における低用量ADP (1  $\mu$ M) 刺激による血小板凝集能の亢進にはADP受容体のうちP2Y<sub>12</sub>受容体を介する経路が主に関与することを報告しており、今回明らかとなったHSP27リン酸化においてもP2Y<sub>12</sub>受容体に関与すると考えられる。2型糖尿病患者において動脈硬化の進展が臨床上大きな問題となることはよく知られている。今回、HSP27のリン酸化 (Ser-78) が血小板凝集能および動脈硬化促進因子として知られるsCD40L遊離あるいはPDGF-AB分泌との関連を示したことは、高齢者糖尿病患者における動脈硬化性疾患の進展・発症機序を解明する上でも重要であると考えられる。また、抗血小板剤による治療効果とよく関連したことから、糖尿病患者における臨床上的問題となっているアスピリン抵抗性の解析をはじめ、新しい治療法の開発或いは検査法への応用が期待できる結果である。

コラーゲン刺激による血小板凝集能の検討で、亢進を示した事例においては刺激時のHSP27のリン酸化 (Ser-78およびSer-82) が見られた。従って、コラーゲン刺激時においてもHSP27のリン酸化が関与すると考えられる。さらにコラーゲン凝集の亢進を示した一部の事例で細胞内HSP27量の減少、反応上清中のHSP27濃度の増加およびコラーゲン低用量刺激時における大凝集塊の出現が認められた。以上より、糖尿病患者において、コラーゲン刺激下に血小板凝集亢進とHSP27リン酸化、およびHSP27の血小板からの遊離を認めることが示されたが、この結果はHSP27がリン酸化されることにより血小板外に遊離されて作用する可能性を示唆する。これまでに培養マクロファージからのHSP27の細胞外への分泌は知られていたが、臨床試料における血小板からのHSP27の遊離を示した報告はない。最近、HSP27は抗炎症作用あるいは抗腫瘍作用を示す生理活性物質として注目されており、これらHSP27の作用に鑑みて極めて重要な新知見と考えられた。

一方、ADP刺激時の血小板凝集能解析事例の臨床データでの解析からは、PVLが凝集抑制群において有意に少ないこと、脳梗塞の見られる事例およびIMT肥厚事例が抑制群で少ない傾向を示すことが明らかとなった。特にPVLは認知症との関連性が推測される病変であることから、高齢者糖尿病患者においては、診断後可及的早期に血小板凝集能を抑制域に管理することが、脳梗塞の予防のみならず認知症予防対策となる可能性を示唆する知見と考えられる。また、抑制群では腎症の進行事例が少ない傾向を示した。腎症の進行には高血圧の管理状況を含む病歴が大きく関与するため、さらに慎重に検討が必要であるが、高齢者糖尿病患者における腎症の管理について、示唆を与える知見と考えられた。

一方、骨粗鬆症患者における解析結果では、新しいSERM製剤であるバゼドキシフェン酢酸塩の投与により血小板機能亢進が改善する事例を認めた。また1例に一時的な血小板機能の亢進・増悪が見られたが、以後抑制変化していた。ラロキシフェン投与例では亢進例が見られると共に、患者希望により中断した事例も見られ、治療上の安全性においてバゼドキシフェンの優位性が支持される結果と考えられた。さらに事例を集積して、解析を継続する予定である。バゼドキシフェン投与例におけるADP刺激時のHSP27リン酸化(Ser-78

およびSer-82)の解析結果から、これらのリン酸化はp44/p42 MAPK、p38 MAPK、あるいはAktのリン酸化と関連することが示唆された。さらに、細胞内のHSP27総量は、リン酸化に呼応して減少していたこと、反応上清中のHSP27濃度がADP用量依存性に上昇することが示されたことから、ADP刺激時に血小板からHSP27が細胞外に遊離されることが示唆された。なお、このHSP27の遊離は血小板凝集能の亢進していない事例でも見られた。従って今回の結果は、生理活性化物質の細胞外への分泌を始めとする一次凝集以外の血小板機能の重要性を示唆する新知見と考えられた。骨折治癒機転における血小板の関与やPDGFが骨芽細胞における機能制御因子の一つであることはよく知られており、骨粗鬆症患者における血小板機能制御機構を明らかにすることは、適切な治療法への展開にも資する意義ある取り組みであると考えられる。なお健康人から得た血小板における基礎的検討では、アンチトロンビンIIIがトロンボキサンA<sub>2</sub>産生の抑制を介して糖蛋白質Ib/V/IX活性化による血小板凝集およびsCD40LあるいはPDGF-ABの遊離を抑制していることを明らかとしている。また、Rhoファミリーに属するGTPaseの一つであるRacは、コラーゲン刺激によるp44/p42 MAPKを介したHSP27リン酸化およびPDGF-ABあるいはsCD40Lの遊離を抑制的に制御していること、トロンボポエチンは同時あるいは事後投与ではADP刺激による血小板凝集に何ら影響しないが、前投与では著明な増強作用を示すこと、カテキンがADP刺激による血小板凝集に対して抑制作用を示すこと等の新しい知見を見出している。これらの結果を元に、臨床検討を推し進めることが必要かつ重要である。

以上のように、高齢者糖尿病患者および骨粗鬆症患者において血小板凝集能とその機序についての解析を継続し、糖尿病患者におけるHSP27(Ser78)のリン酸化と血小板凝集能の亢進との関連性を強く示唆する知見をはじめ重要な示唆を得た。さらに、各種抗血小板剤の投与効果についての解析およびコラーゲンをはじめとするADP以外の刺激による血小板活性化機序、あるいは糖尿病性腎症と血小板機能の関連につき研究を推し進めることにより、高齢者の臓器保護に資する至適な血小板機能制御が可能となると考えられる。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

平成 22 年度

- 1) Enomoto Y, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Doi T, Niwa M, Akamatsu S, Tokuda H, Ogura S, Yoshimura S, Iwama T, Kozawa O. Thromboxane A<sub>2</sub> promotes soluble CD40 ligand release from human platelets. *Atherosclerosis*. 2010;209:415-421.
- 2) Kato H, Adachi S, Doi T, Matsushima-Nishiwaki R, Minamitani C, Akamatsu S, Enomoto Y, Tokuda H, Otsuka T, Iwama T, Kozawa O, Ogura S. Mechanism of

collagen-induced release of 5-HT, PDGF-AB and sCD40L from human platelets: Role of HSP27 phosphorylation via p44/p42 MAPK. *Thrombosis Res.* 2010;126:39-43.

- 3) Doi T, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Kato H, Enomoto Y, Natsume H, Kato K, Mizutani J, Otsuka T, Tokuda H, Akamatsu S, Iwama T, Kozawa O, Ogura S. Antithrombin III reduces collagen-stimulated granule secretion of PDGF-AB and the release of soluble CD40 ligand from human platelets. *Intern. J. Mol. Med.* 2010;26:387-392.
- 4) Tokuda H, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Hanai Y, Takai S, Harada A, Kozawa O. Inhibition by minodroate of basic fibroblast growth factor-stimulated vasucular endothelial growth factor synthesis in osteoblast-like cells. *Mol. Med. Rep.* 2010;167-171.
- 5) Natsume H, Tokuda H, Adachi S, Takai S, Matsushima-Nishiwaki R, Kato K, Minamitani C, Niida S, Mizutani J, Kozawa O, Otsuka T. Rho-kinase limits FGF-2-stimulated VEGF release in osteoblasts. *Bone.* 2010;46:1068-1074.
- 6) Minamitani C, Tokuda H, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Yamauchi J, Kato K, Natsume H, Mizutani J, Kozawa O, Otsuka T. p70 S6 kinase limits tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced interleukin-6 synthesis in osteoblast-like cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2010;15:195-200.
- 7) Natsume H, Tokuda H, Mizutani J, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Minamitani C, Kato K, Kozawa O, Otsuka T. Synergistic effect of vasoactive intestinal peptides on TNF- $\alpha$ -induced IL-6 synthesis in osteoblasts: amplification of p44/p42 MAP kinase activation. *Intern. J. Mol. Med.* 2010;25:813-817.
- 8) Kato K, Tokuda H, Natsume H, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Minamitani C, Mizutani J, Kozawa O, Otsuka T. Rho-kinase regulates prostaglandin D2-stimulated heat shock protein 27 induction in osteoblasts. *Exp. Therapeut. Med.* 2010;1:579-583.
- 9) Kato K, Tokuda H, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Natsume H, Yamakawa K, Gu Y, Otsuka T, Kozawa O. AMP-activated protein kinase positively regulates FGF-2-stimulated VEGF synthesis in osteoblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010;400:123-127.

平成 23 年度

- 1) Natsume H, Tokuda H, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Kato K, Minamitani C, Mizutani J, Otsuka T, Kozawa O. Wnt3a regulates tumor

- necrosis factor- $\alpha$ -stimulated interleukin-6 release in osteoblasts. *Mol.Cell. Endocrinol.* 2011;331:66-72.
- 2) Kato K, Otsuka T, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Natsume H, Kozawa O, Tokuda H. (-)-Epigallocatechin gallate inhibits thyroid hormone-stimulated osteocalcin synthesis in osteoblasts. *Mol.Med.Rep.* 2011;4:297-300.
  - 3) Kato K, Tokuda H, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Yamauchi J, Natsume H, Minamitani C, Mizutani J, Otsuka T, Kozawa O. Role of heat shock protein 27 in transforming growth factor- $\beta$ -stimulated vascular endothelial growth factor release in osteoblasts. *Int.J.Mol.Med.* 2011;27:423-428.
  - 4) Enomoto Y, Adachi S, Doi T, Natsume H, Kato K, Matsushima-Nishiwaki R, Akamatsu S, Tokuda H, Yoshimura S, Otsuka T, Ogura S, Kozawa O, Iwama T. cAMP regulates ADP-induced HSP27 phosphorylation in human platelets. *Int.J.Mol.Med.* 2011;27:695-700.
  - 5) Tokuda H, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Kato K, Natsume H, Otsuka T, Kozawa O. Enhancement of basic fibroblast growth factor-stimulated VEGF synthesis by Wnt3a in osteoblasts. *Int.J.Mol.Med.* 2011 ;27:859-864.
  - 6) Kato K, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Minamitani C, Natsume H, Mizutani J, Tokuda H, Kozawa O, Otsuka T. Regulation by heat shock protein 27 of osteocalcin synthesis in osteoblasts. *Endocrinology.* 2011;152:1872-1882.
  - 7) Natsume H, Tokuda H, Matsushima-Nishuwaki R, Kato K, Yamakawa K, Otsuka T, Kozawa O. Wnt3a up-regulates transforming growth factor- $\beta$ -stimulated VEGF synthesis in osteoblasts. *Cell.Biochem Funct.* 2011;29:371-377.
  - 8) Kato K, Otsuka T, Matsushima-Nishiwaki R, Natsume H, Kozawa O, Tokuda H. Rho-kinase regulates thrombin-stimulated interleukin-6 synthesis via p38 mitogen-activated protein kinase in osteoblasts. *Int.J.Mol.Med.* 2011;28:653-658.
  - 9) Kato K, Tokuda H, Mizutani J, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Natsume H, Kozawa O, Otsuka T. Role of HSP27 in tumor necrosis factor- $\alpha$ -stimulated interleukin-6 synthesis in osteoblasts. *Int. J. Mol. Med.* 2011; 28:887-893.
  - 10) Sakai Y, Harada A, Hida T, Matsuyama Y, Imagama S, Wakao N. Effect of therapeutic exercise on pain and hemodynamics of the lumbar muscle in elderly patients with chronic low back pain. *J Spine Research.* 2011;2:352-355.
  - 11) Imagama S, Matsuyama Y, Hasegawa Y, Sakai Y, Ito Z, Ishiguro N, Hamajima N. Back muscle strength and spinal mobility are predictors of quality of life in middle-aged and elderly males. *Eur Spine J.* 2011;20:954-961.

- 12) Imagama S, Matsuyama Y, Sakai Y, Ito Z, Wakao N, Deguchi M, Hachiya Y, Osawa Y, Yoshihara H, Kamiya M, Kanemura T, Kato F, Yukawa Y, Yoshida T, Harada A, Kawakami N, Suzuki K, Matsubara Y, Goto M, Sato K, Ito S, Maruyama K, Yanase M, Ishida Y, Kuno N, Hasegawa T, Ishiguro N. An arterial pulse examination is not sufficient for diagnosis of peripheral arterial disease in lumbar spinal canal stenosis: a prospective study. *Spine*. 2011;36:1204-1210.
- 13) Imagama S, Ito Z, Wakao N, Sakai Y, Kato F, Yukawa Y, Sato K, Ando K, Hirano K, Tauchi R, Muramoto A, Hashizume Y, Matsuyama Y, Ishiguro N. Differentiation of localization of spinal hemangioblastomas based on imaging and pathological findings. *Eur. Spine J*. 2011;20:1377-1384.
- 14) Imagama S, Hasegawa Y, Seki T, Matsuyama Y, Sakai Y, Ito Z, Ishiguro N, Ito Y, Hamajima N, Suzuki K. The effect of  $\beta$ -carotene on lumbar osteophyte formation. *Spine* 2011.[ Epub ahead of print]
- 15) Sakai Y. Sarcoidosis Diagnosis and Management. Edited by Mohammad Hosein Kalantar Motamedi Chapter 15. Spinal cord sarcoidosis accompanied with compressive cervical myelopathy. InTech 2011;239-250, Printed in Croatia, ISBN 978-953-307-414-6

平成 24 年度

- 1) Tokuda H, Kato K, Kasahara S, Matsushima-Nishiwaki R, Mizuno T, Sakakibara S, Kozawa O. Significant correlation between the acceleration of platelet aggregation and phosphorylation of HSP27 at Ser-78 in diabetic patients. *Int. J. Mol. Med*. 2012;30:1387-1395.
- 2) Doi T, Tokuda H, Matsushima-Nishiwaki R, Cuong NT, Kageyama Y, Iida Y, Akamatsu S, Otsuka T, Iida H, Kozawa O, Ogura S. Effect of antithrombin III on glycoprotein Ib/IX/V activation in human platelets: suppression of thromboxane A2 generation. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*. 2012;87:57-62.
- 3) Kato K, Otsuka T, Kondo A, Matsushima-Nishiwaki R, Natsume H, Kozawa O, Tokuda H. AMP-activated protein kinase regulates PDGF-BB-stimulated interleukin 6 synthesis in osteoblasts: involvement of mitogen-activated protein kinase. *Life Sci*. 2012;90:71-76.
- 4) Mizutani J, Tokuda H, Matsushima-Nishiwaki R, Kato K, Kondo A, Natsume H, Kozawa O, Otsuka T. Involvement of AMP-activated protein kinase in TGF- $\beta$ -stimulated VEGF synthesis in osteoblasts. *Int. J. Mol. Med*. 2012; 29:550-556.
- 5) Kato K, Tokuda H, Matsushima-Nishiwaki R, Natsume H, Kondo A, Ito Y,

- Kozawa O, Otsuka T. AMPK limits IL-1-stimulated IL-6 synthesis in osteoblasts: involvement of I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B pathway. *Cell Signal*. 2012;24:1706-1712.
- 6) Kondo A, Tokuda H, Mizutani J, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Otsuka T. Wnt3a up-regulates prostaglandin F $_{2\alpha}$ -stimulated vascular endothelial growth factor synthesis in osteoblasts. *Mol. Med. Rep*. 2012;6:421-425.
- 7) Tokuda H, Kato K, Natsume H, Kondo A, Kuroyanagi G, Matsushima-Nishiwaki R, Ito Y, Otsuka T, Kozawa O. Involvement of AMP-activated protein kinase in thrombin-stimulated interleukin-6 synthesis in osteoblasts. *J. Mol. Endocrinol*. 2012; 49:47-55.
- 8) Kondo A, Otsuka T, Kato K, Natsume H, Kuroyanagi G, Mizutani J, Ito Y, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Tokuda H. AMP-activated protein kinase inhibitor decreases prostaglandin F $_{2\alpha}$ -stimulated interleukin-6 synthesis through p38 MAP kinase in osteoblasts. *Int. J. Mol. Med*. 2012;30:1487-1492.
- 9) Kondo A, Tokuda H, Kato K, Matsushima-Nisshiwaki R, Kuroyanagi G, Mizutani J, Kozawa O, Otsuka T. Rho-kinase negatively regulates thyroid hormone-stimulated osteocalcin synthesis in osteoblasts. *Biochimie*.2013;95: 719-724.
- 10) Yoshida D, Shimada H, Harada A, Matsui Y, Sakai Y, Suzuki T. Estimation of appendicular muscle mass and fat mass by near infrared spectroscopy in older persons. *Geriatr. Gerontol. Int*. 2012;12:652-658.
- 11) Yoshida G, Kanemura T, Ishikawa Y, Sakai Y, Iwase T, Matsuyama Y, Ishiguro N. Cardiopulmonary function in elderly patients with cervical spondylotic myelopathy. *J. Orthop Sci*.2012; 17:3-8.
- 12) Nakashima H, Imagama S, Sakai Y, Nakamura H, Katayama Y, Ito Z, Wakao N, Matsuyama Y, Nishiguro. Dumbbell-type hemangiopericytoma in the cervical spine: a case report and review. *J Orthop Sci*. 2012 Apr 14. [Epub ahead of print]
- 13) Ando K, Imagama S, Ito Z, Hirano K, Tauchi R, Muramoto A, Matsui H, Matsumoto T, Sakai Y, Matsuyama Y, Ishiguro N. Differentiation of Spinal Schwannomas and Myxopapillary Ependymomas: MR Imaging and Pathologic Features. *J Spinal Disord Tech*. 2012 Mar 27. [Epub ahead of print]
- 14) Hida T, Ishiguro N, Shimokata H, Sakai Y, Matsui Y, Takemura M, Terabe Y, Harada A. High prevalence of sarcopenia and reduced leg muscle mass in Japanese patients immediately after a hip fracture. *Geriatr gerontol Int* 2012 Jul 23. [Epub ahead of print]
- 15) Imagama S, Ito Z, Wakao N, Ando K, Hirano K, Tauchi R, Muramoto A, Matsui H, Matsumoto T, Sakai Y, Katayama Y, Matsuyama Y, Ishiguro N. Posterior

Surgery for adolescent idiopathic scoliosis with pedicle screws and ultra-high molecular weight polyethylene tape: Achieving the ideal thoracic kyphosis. *J Spinal Disord Tech* 2012.[ Epub ahead of print]

- 16) Ito Z, Imagama S, Sakai Y, Katayama Y, Wakao N, Ando K, Hirano K, Tauchi R, Muramoto A, El Zahlawy H, Matsuyama Y, Ishiguro N. A new criterion for the alarm point for compound muscle action potentials. *J Neurosurg Spine*. 2012; 17(4): 348-356.
- 17) Kanemura T, Ishikawa Y, Matsumoto A, Yoshida G, Sakai Y, Itoh Z, Imagama S, Kawakami N. The maturation of grafted bone after posterior lumbar interbody fusion with an interbody carbon cage: a prospective five-year study. *J. Bone Joint Surg. Br.* 2011;93(12), 1638-1645.
- 18) Nakashima H, Imagama S, Sakai Y, Nakamura H, Katayama Y, Ito Z, Wakao N, Matsuyama Y, Ishiguro N. Dumbbell-type hemangiopericytoma in the cervical spine: a case report and review. *J Orthop Sci.*2012.[Epub ahead of print]
- 19) Sakai Y. Locomotive syndrome and frailty. Lumbar canal stenosis as an underlying disorder in the locomotive syndrome. *Clin Calcium* 22(4): 59-66;2012.
- 20) Kawaguchi J, Adachi S, Yasuda I, Yamauchi T, Yoshioka T, Itani M, Kozawa O, Moriwaki H. UVC irradiation suppresses platelet-derived growth factor-BB-induced migration in human pancreatic cancer cells. *Oncol. Rep.* 2012;27:935-939.
- 21) Kawaguchi J, Adachi S, Yasuda I, Yamauchi T, Nakashima M, Ohno T, Shimizu M, Yoshioka T, Itani M, Kozawa O, Moriwaki H. Cisplatin and ultra-violet-C synergistically down-regulate receptor tyrosine kinases in human colorectal cancer cells. *Mol. Cancer*. 2012;11:45.
- 22) Tanabe K, Matsushima-Nishiwaki R, Iida M, Kozawa O, Iida H. Involvement of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt on basic fibroblast growth factor-induced glial cell line-derived neurotrophic factor release from rat glioma cells. *Brain Res.* 2012;1463:21-29.
- 23) Osawa Y, Suetsugu A, Matsushima-Nishiwaki R, Yasuda I, Saibara T, Moriwaki H, Seishima M, Kozawa O. Liver acid sphingomyelinase inhibits growth of metastatic colon cancer. *J. Clin. Invest.* 2013;2:834-843.
- 24) Iida M, Tanabe K, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Iida H. Adenosine monophosphate-activated protein kinase regulates platelet-derived growth factor-BB-induced vascular smooth muscle cell migration. *Arch. Biochem. Biophys.* 2013;530:83-92.
- 25) The Cuong N, Doi T, Matsushima-Nishiwaki R, Akamatsu S, Kuroyanagi G,

- Kondo A, Mizutani J, Wada I, Otsuka T, Tokuda H, Kozawa O, Ogura S. Thrombopoietin amplifies ADP-induced HSP27 phosphorylation in human platelets: importance of its pre-treatment. Int. J. Mol. Med. in press.
- 26) Kageyama Y, Doi T, Akamatsu S, Kuroyanagi G, Kondo A, Mizutani J, Otsuka T, Tokuda H, Kozawa O and Ogura S. Rac regulates collagen-induced HSP27 phosphorylation via p44/p42 MAP kinase in human platelets. Int. J. Mol. Med. in press.
- 27) Kondo A, Otsuka T, Kato K, Matsushima-Nishiwaki R, Kuroyanagi G, Mizutani J, Tokuda H, Kozawa O. AMP-activated protein kinase regulates thyroid hormone-stimulated osteocalcin synthesis in osteoblasts. Int. J. Mol. Med. in press.
- 28) Kondo A, Tokuda H, Matsushima-Nishiwaki R, Kato K, Kuroyanagi G, Mizutani J, Fukuoka M, Wada I, Kozawa O, Otsuka T. Unphosphorylated HSP27 plays a suppressive role in FGF-2-stimulated VEGF release in osteoblasts. Mol. Med. Rep. in press.
- 29) Kondo A, Otsuka T, Matsushima-Nishiwaki R, Kuroyanagi G, Mizutani J, Wada I, Kozawa O, Tokuda H. Inhibition of SAPK/JNK leads to enhanced IL-1-induced IL-6 synthesis in osteoblasts. Arch. Biochem. Biophys. in press.
- 30) Osawa Y, Hoshi M, Yasuda I, Saibara T, Moriwaki H, Kozawa O. Tumor necrosis factor- $\alpha$  promotes cholestasis-induced liver fibrosis in the mouse through tissue inhibitor of metalloproteinase-1 production in hepatic stellate cells. PLoS One in press.

## 2. 学会発表

平成 22 年度

- 1) 発表者名 : Tomoaki Doi, Seiji Adachi, Hisaaki Kato, Osamu Kozawa, Shinji Ogura.  
発表標題: Analysis of new molecular mechanisms and the anti-inflammatory effects of antithrombin III in human platelets.  
学会名: Thirty-Third Annual Conference on Shock  
発表年月日: June 13, 2010  
発表場所: Portland, Oregon, U.S.A.
- 2) 発表者名 : 土井智章、小澤 修、加藤久晶、足立政治、小倉真治  
発表標題 : アンチトロンビンⅢの血小板に対する抗炎症作用の解析  
学会名 : 第 38 回日本集中治療医学会学術集会  
発表年月日 : 2011 年 2 月 26 日  
発表場所 : 神奈川県横浜市



平成 23 年度

- 1) 酒井義人 原田 敦 飛田哲朗 腰部脊柱管狭窄症手術例におけるロコモティブシンドロームとサルコペニア (主題) 第 40 回 日本脊椎脊髄病学会 2011.4.21-23. 東京
- 2) 酒井義人 腰痛における筋性要素の関与 (シンポジウム) 第 84 回日本整形外科学会 学術集会 2011.5.12-15. 横浜
- 3) 酒井義人 原田 敦 腰部脊柱管狭窄症における日常生活動作と腰背筋機能第 53 回 日本老年医学会学術集会 2011.6.15-17. 東京
- 4) 酒井義人 腰部脊柱管狭窄症における腰痛性間欠跛行 (主題) 第 19 回日本腰痛学会 2011.9.2.-3.札幌
- 5) 酒井義人 原田 敦 竹村真里枝 腰部脊柱管狭窄症患者の日常生活動作に対する腰背筋機能の与える影響 第 48 回日本リハビリテーション医学会学術集会 2011.11.2.-3. 千葉
- 6) 発表者名 : Tomoaki Doi, Seiji Adachi, Hisaaki Kato, Osamu Kozawa, Shinji Ogura  
発表標題 : Molecular mechanism of antithrombinIII in the anti-inflammatory effects on human platelets.  
学会名 : Thirty-Fourth Annual Conference on Shock  
発表年月日 : June 11, 2011  
発表場所 : Norfolk, Virginia, U.S.A.
- 7) 発表者名 : 土井智章、小澤 修、榎本由貴子、小倉真治  
発表標題 : アンチトロンビン III (AT-III) の血小板に対する抗炎症作用の解析  
学会名 : 第 39 回日本集中治療医学会学術集会  
発表年月日 : 2012 年 2 月 28 日  
発表場所 : 千葉県幕張市

平成 24 年度

- 1) 酒井義人、原田敦. 頸髄症手術におけるサルコペニアの影響. 第 54 回日本老年医学会学術集会 2012.6.29. 東京.
- 2) 酒井義人、原田敦、竹村真里枝. 高齢者頸髄症手術における四肢筋量の影響. 第 49 回日本リハビリテーション医学会学術集会. 2012.6.2. 博多.
- 3) 発表者名 : Tomoaki Doi、Osamu Kozawa、Yukiko Enomoto、Shinji Ogura  
発表標題 : Analysis of the anti-inflammatory effects of antithrombin III on human platelets  
学会名 : Thirty-Fifth Annual Conference on Shock  
発表年月日 : 2012 年 6 月 12 日  
発表場所 : Florida, U.S.A.

- 4) 発表者名：加藤賢治、近藤 章、黒柳 元、水谷 潤、徳田治彦、小澤 修、大塚隆信  
発表標題：骨芽細胞における IL-1 による IL-6 産生に対する AMPK による制御  
学会名：第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会  
発表年月日：2012 年 10 月 26 日  
発表場所：愛知県名古屋市
- 5) 発表者名：近藤 章、夏目英雄、加藤賢治、黒柳 元、水谷 潤、徳田治彦、小澤 修、大塚 隆信  
発表標題：骨芽細胞において Wnt3a は TGF- $\beta$  による VEGF 産生を促進的に制御している  
学会名：第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会  
発表年月日：2012 年 10 月 26 日  
発表場所：愛知県名古屋市
- 6) 発表者名：黒柳 元、加藤賢治、夏目英雄、近藤 章、水谷 潤、徳田治彦、小澤 修、大塚隆信  
発表標題：骨芽細胞においてカテキンは thyroid hormone による osteocalcin 産生を抑制的に制御している  
学会名：第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会  
発表年月日：2012 年 10 月 26 日  
発表場所：愛知県名古屋市
- 7) 発表者名：小澤 修  
発表標題：ランチョンセミナー「骨代謝とストレス蛋白質 (HSP)：特に骨芽細胞における低分子量 HSP27 において」  
学会名：第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会  
発表年月日：2012 年 10 月 27 日  
発表場所：愛知県名古屋市
- 8) 発表者名：土井智章、小澤 修、小倉真治  
発表標題：アンチトロンビン III の血小板に対する抗炎症作用の基礎的解析  
学会名：第 40 回日本救急医学会総会・学術集会  
発表年月日：2012 年 11 月 13 日  
発表場所：京都府京都市

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし