

機関番号	研究種目番号	審査区分番号	細目番号	分割番号	整理番号
31201	13	-	9999		0002

## 平成28年度 (2016年度) 若手研究 ( B ) 研究計画調書

平成 27 年 10 月 8 日  
0 版

新規

研究種目	若手研究(B)						
分 野	医歯薬学			医歯薬学			
分 科	内科系臨床医学			内科系臨床医学			
細 目	消化器内科学			代謝学			
細目表 キーワード	肝臓学			メタボリックシンドローム			
細目表以外の キーワード	細胞死、オートファジー、風船様肝細胞						
研究代表者 氏名	(フリガナ)	カキサカ ケイスケ					
	(漢字等)	柿坂 啓介					
年齢 (H28.4.1現在)	38 歳 ( S . 52年11月生まれ )						
所属研究機関	岩手医科大学						
部 局	医学部						
職	助教						
学 位	医学博士						
現在の専門	肝臓内科					リポート	12%
研究課題名	風船様肝細胞の形成機序解明による非アルコール性脂肪性肝炎の治療標的分子解明の試み						
研 究 経 費 〔千円未満の 端数は切り 捨てる〕	年度	研究経費 (千円)	使用内訳(千円)				
			設備備品費	消耗品費	旅費	人件費・謝金	その他
	平成28年度	2,700	0	2,300	400	0	0
	平成29年度	2,130	0	1,380	400	0	350
	平成30年度	0	0	0	0	0	0
	平成31年度	0	0	0	0	0	0
	総計	4,830	0	3,680	800	0	350
開示希望の有無	審査結果の開示を希望する						

**研究目的**

本欄には、研究の全体構想及びその中で本研究の具体的な目的について、冒頭にその概要を簡潔にまとめて記述した上で、適宜文献を引用しつつ記述し、特に次の点については、焦点を絞り、具体的かつ明確に記述してください (記述に当たっては、「科学研究費助成事業における審査及び評価に関する規程」(公募要領 75 頁参照) を参考にしてください。)

研究の学術的背景 (本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ、応募者のこれまでの研究成果を踏まえ着想に至った経緯、これまでの研究成果を進展させる場合にはその内容等)

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとするのか

当該分野における本研究の学術的な特色・独創的な点及び予想される結果と意義

**研究目的 (概要) 当該研究計画の目的について、簡潔にまとめて記述してください。**

非アルコール性脂肪性肝疾患 (Non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD) の病態進展に伴い出現する風船様肝細胞 (Balloonated hepatocyte: BH) は、肝病理組織所見において非アルコール性脂肪肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis: NASH) の診断根拠になるなど、病態と密接に関係している。また、基礎的検討でも BH 自身が更に NASH の進展や発癌に寄与している可能性が示されている。NAFLD の進展を予防し、その後の病態悪化を制御するために、BH の形成機序の解明とそれに基づいた NASH の病態解明が重要である。本研究は BH 形成機序の解明とその制御による NASH 進展抑制と NASH 発癌の予防を最終目的としており、当該研究では BH 形成機序を細胞生物学的に解明し、その制御の標的分子を探索する。

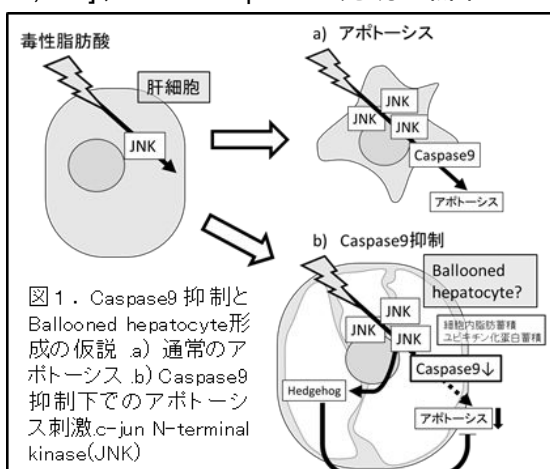
**研究の学術的背景**

メタボリック症候群の肝臓での表現型である非アルコール性脂肪性肝疾患は増加傾向にある [1]。そのうちでも NASH は、持続した炎症から線維化が進展し肝硬変に至り、肝癌の原因疾患となる [2, 3]。基礎的検討でも、炎症から惹起される肝細胞の持続したアポトーシスが、線維化を亢進させ、発癌を促進させることが示されており [4, 5]、肝発癌を抑制するために、アポトーシスの制御が重要である。近年 NASH による肝癌は増加傾向にあり、NASH の病態解明とそれに基づいた治療法確立が急務である。

NASH は、肝組織所見により診断されるが、特に風船様肝細胞 (Balloonated hepatocyte: BH) の出現は、その重症度と相関し、NASH 診断の重要な指標である [6, 7]。BH は細胞質に p62 蛋白・ユビキチン化蛋白の蓄積が特徴的であるとされ、光学顕微鏡では Mallory-Denk 小体として認識される [8, 9]。BH の形成機序は明らかではないが、高脂肪食マウスやヒト肝臓組織において、BH が線維化を誘導する Hedgehog シグナルを発現していることが示されている [9]。これは、BH が NASH の重症化により出現するだけでなく、BH 自身が線維化進展に寄与している可能性を示している。

BH の細胞質のユビキチン化蛋白は、分解されるべき蛋白でありながら細胞内に蓄積しており、細胞内での蛋白質合成・分解が障害されていることを示唆している [8, 10]。近年、障害された蛋白やオルガネラを排除するオートファジーが、NASH で抑制されていることや、オートファジー亢進により NASH 肝で炎症が改善し、BH が減少することが報告されている [11, 12]。しかし、NASH における持続するアポトーシスとオートファジー抑制の機序に、不明な点も多い。

申請者は、NASH における肝細胞死の研究に従事し [10, 13]、BH で Caspase 9 発現が低下していること、JNK 依存性 Hedgehog シグナル発現に Caspase9 抑制が重要であること、Caspase9 抑制下では細胞質にユビキチン化蛋白が蓄積することを明らかにし、Caspase9 が BH 形成の重要な分子であることを示した (図 1)。一連の研究において、**アポトーシス刺激とアポトーシスの不履行による刺激の蓄積が BH 形成の一因**である可能性を見出した [10]。BH 形成が、NASH の病態進展に寄与する可能性があることから、Caspase9 を中心とした BH 形成機序の詳細な検討は、NASH の病態理解や新規治療法の確立に重要であると考えます。



**研究目的(つづき)****研究期間内に何をどこまで明らかにしようとするのか**

NASHにおける持続したアポトーシス・オートファジー抑制とBH形成機序の解明によるNASHの病態解明とそれに基づいた新規治療法の開発を最終目標として、本研究は申請期間内に以下のことを明らかにすることを目的とした。

- 1) 肝細胞における脂肪毒性によるオートファジー抑制の機序解明
- 2) 肝細胞におけるアポトーシス亢進とオートファジー抑制の経時的な変化と相互作用
- 3) アポトーシスシグナルによるオートファジー抑制とCaspase9の作用
- 4) 臨床検体を用いた基礎実験内容の検証

**当該分野における本研究の学術的な特色・独創的な点及び予想される結果と意義**

BHの存在と臨床病期を検討した結果、BHの診断における重要性は、すでに認知されていた。また、細胞生物学的な特徴について組織標本を用いて検討されているが、その形成機序について、実験的に検証された研究は少ない。本研究は、第一の目標をオートファジー抑制とアポトーシス亢進機序の解明とする。アポトーシスシグナルとアポトーシスの不履行による刺激の蓄積がBHの細胞生物学的特徴を再現していた事に基づいて、その仮説を更に詳細に検証し、BH形成機序の解明を第二の目標とする。

BHがNASHの重症度と正の相関を示し、線維化促進に寄与していることから、BH形成機序を解明し、BH形成を抑制することがNASHの新しい治療戦略開発の基礎的資料になると考える。多くの研究が、疾患の発症機構に注目し、その発症予防による治療戦略を模索しているのに対し、本研究はBH形成を制御することにより、**NASH発症予防**を目指すだけでなく、**発症後の線維化進展効果を制御すること**を目指し、従来にないNASH治療の標的と戦略が構築できる可能性がある。また、BHはNASH以外にも薬物性肝障害やウィルス肝炎でも観察されるため、本研究の課題であるBH形成機序解明が、BHが出現する他の疾患の病態解明や治療開発への応用に寄与する可能性もある。

**【参考文献】**

- 1) Cohen JC, et al. Science. 2011;332(6037):1519-23.
- 2) Rinella ME, et al. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2015;12(2):65-6.
- 3) Hashimoto E, et al. Journal of gastroenterology. 2009;44 Suppl 19:89-95.
- 4) Takehara T, et al. Hepatology. 2001;34(1):55-61.
- 5) Hikita H, et al. Hepatology. 2010;52(4):1310-21.
- 6) Brunt EM, et al. The American journal of gastroenterology. 1999;94(9):2467-74.
- 7) Chalasani N, et al. Journal of hepatology. 2008;48(5):829-34.
- 8) Lackner C, et al. Journal of hepatology. 2008;48(5):821-8.
- 9) Rangwala F, et al. The Journal of pathology. 2011;224(3):401-10.
- 10) Kakisaka K, et al. Journal of hepatology. 2012;57(4):844-51.
- 11) Harada M, et al. Hepatology. 2008;47(6):2026-35.
- 12) Gonzalez-Rodriguez A, et al. Cell death & disease. 2014;5:e1179.
- 13) Kakisaka K, et al. American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology. 2012;302(1):G77-84.

## 研究計画・方法

本欄には、研究目的を達成するための具体的な研究計画・方法について、冒頭にその概要を簡潔にまとめて記述した上で、平成28年度の計画と平成29年度以降の計画に分けて、適宜文献を引用しつつ記述してください。ここでは、研究が当初計画どおりに進まない時の対応など、多方面からの検討状況について述べるとともに、次の点についても、焦点を絞り、具体的かつ明確に記述してください。

本研究を遂行する上での具体的な工夫（効果的に研究を進める上でのアイデア、効率的に研究を進めるための研究協力者からの支援等）

研究計画を遂行するための研究体制について、研究代表者及び研究協力者（海外共同研究者、科研費への応募資格を有しない企業の研究者、その他技術者や知財専門家等の研究支援を行う者、大学院生等（氏名、員数を記入することも可））の具体的な役割（図表を用いる等）

研究代表者が、本研究とは別に職務として行う研究のために雇用されている者である場合、または職務ではないが別に行う研究がある場合には、その研究内容と本研究との関連性及び相違点

なお、研究期間の途中で異動や退職等により研究環境が大きく変わる場合は、研究実施場所の確保や研究実施方法等についても記述してください。

## 研究計画・方法（概要） 研究目的を達成するための研究計画・方法について、簡潔にまとめて記述してください。

1) アポトーシス・オートファジー関連蛋白を評価し、相互作用の有無とその機序を検討する。

- 肝細胞における脂肪毒性によるオートファジー抑制の機序解明
- 肝細胞におけるアポトーシス亢進とオートファジー抑制の経時的な変化と相互作用
- アポトーシスシグナルによるオートファジー抑制と Caspase9 の作用

2) 臨床検体を用いて、1) で得られた知見を検討する。

- 臨床検体（NAFLD 患者から得た肝組織）を用いた基礎実験内容の検証

## 【平成28年度】

1) アポトーシス・オートファジー関連蛋白を評価し、相互作用の有無とその機序を検討する。

## □ 肝細胞における脂肪毒性によるオートファジー抑制の機序解明

## ◆ 高脂肪食マウスでのオートファジー関連蛋白の発現（予備実験済み）

【結果】6週齢、雄 C57BL/6J に高脂肪食（HFD60）を与え、12週間後に血液生化学データおよび肝における発現タンパクを評価した。高脂肪食マウスで、コントロール食と比較して、有意に脂肪化肝となり、トランスアミナーゼ値も高値であった。LC3-I、-II、p62、後期オートファジーを抑制する蛋白である Rubicon (Run domain protein as Beclin-1 interacting and cysteine-rich containing) の発現も亢進していた（図2）。

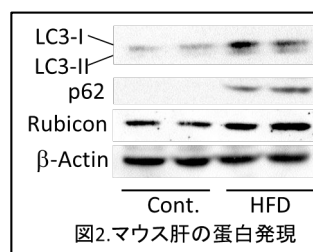


図2. マウス肝の蛋白発現

## ◆ パルミチン酸による AML12 のアポトーシス・オートファジー関連蛋白発現（一部予備実験済み）

【結果】AML12 にパルミチン酸を 100-800μM で投与したところ、600μM で CHOP 発現が、800μM で Cleaved caspase3 発現が亢進した。LC3 は 200μM に発現がピークとなり、p62 は 800μM まで発現が徐々に亢進した。濃度依存性に後期オートファジーが阻害されていることが示唆された。他の蛋白の変動との評価は未施行であり、今後検討していく。

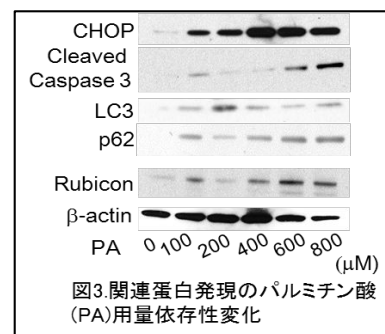


図3. 関連蛋白発現のパルミチン酸 (PA) 用量依存性変化

## □ 肝細胞におけるアポトーシス亢進とオートファジー抑制の経時的な変化と相互作用

## ◆ パルミチン酸による AML12 のアポトーシス・オートファジー関連蛋白の経時的変化（一部予備実験済み）

【結果】AML12 へパルミチン酸 800μM を 0-10 時間投与し、蛋白発現を評価した。CHOP、Cleaved caspase3 は 10 時間まで経時的に増加していた。一方、LC3 が 6-10 時間を頂点とし、p62 は 10 時間で減少した（図4）。以上より 4-6 時間に後期オートファジーの過程が阻害され、10 時間ではそれと比較してオートファジーが進行している可能性が示唆された。

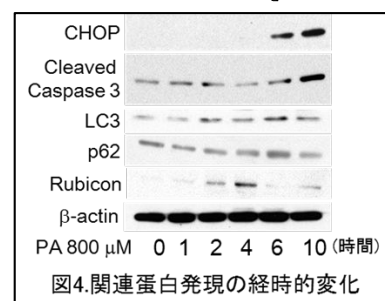


図4. 関連蛋白発現の経時的変化

## 研究計画・方法 (つづき)

Rubicon は 4 時間を頂点に減少した。6-10 時間における Rubicon の減少によりオートファジー抑制が軽減され、オートファジーが亢進した可能性が示唆された。今後、Rubicon をノックダウンし、Rubicon の作用について更に検討していく。また、Rubicon 発現の機序が未だ不明のため、発現を制御する細胞内シグナル蛋白を検討していく。

### □ アポトーシスシグナルによるオートファジー抑制と Caspase9 の作用 (一部予備実験済み)

◆ 各種カスパーゼ阻害剤をパルミチン酸を 10 時間投与した場合、4 時間投与と比較して Rubicon 発現は減少していた。また LC3 も減少していたことより 10 時間ではオートファジーへの抑制が軽減されていた (図 5)。一方でアポトーシス関連蛋白の発現は 10 時間で亢進していた。アポトーシス亢進がオートファジーへの抑制を軽減させた可能性が示唆された。

Caspase9 阻害剤 (z-LEHD-fmk)、Pan-caspase 阻害剤 (QVD-OPh) をそれぞれ投与したところ Caspase9 阻害剤で Rubicon の減少が阻害された。Caspase9 が Rubicon 減少に関与している可能性が示唆された。今後、Caspase9 をノックダウンし、検証していく。

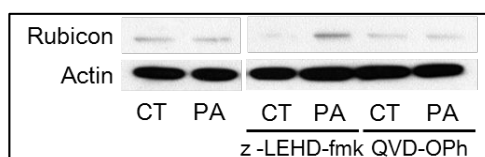


図5.カスパーゼ阻害によるRubicon発現

### 【平成 29 年度】

2)臨床検体を用いて、1)で得られた知見を検討する。

### □ 臨床検体を用いた基礎実験内容の検証 (所属施設倫理委員会より承認済)

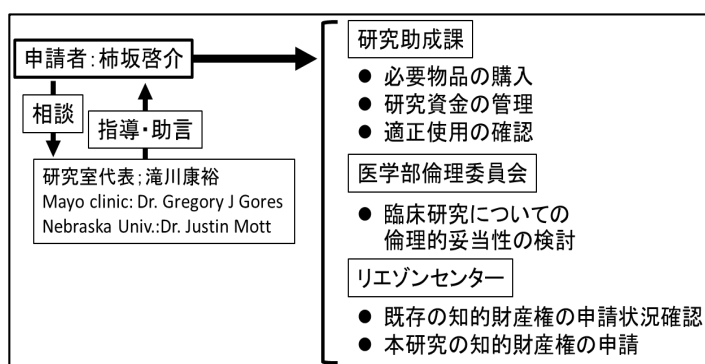
NAFLD 患者および当院で施行された肥満手術前後の肝生検の病理組織所見と蛋白の発現と局在を確認するために施行した免疫組織学的染色を臨床データと比較し、Caspase9・Rubicon の局在と病理診断 (NAS スコア)、臨床データの関係を検討し、基礎検討を検証する。

### 【当初の計画どおり進まない場合の対応】

本研究は申請者が単独で立案および実験を行うものであるが、計画が遅れて進行した場合は、申請者の研究指導教官の滝川康裕らと協議し、本申請研究の-effort をを増加させる。また、所属研究室内で作業仮説の妥当性を検討し、最新の知見と合わせて作業仮説を修正する。

### 【本研究における研究体制】

研究代表者である申請者 柿坂啓介が主として本研究の立案および実験を行う。実験結果について当初予想していたものと異なった場合は前述の如く仮説を再検討する。協議により研究方針の修正の決定をする必要がある場合は、申請者所属施設の研究指導教官の滝川康裕、Mayo clinic: Dr. Gregory J Gores、Nebraska Univ.:Dr. Justin Mott らに適宜助言を求めていく (右図)。



### 【研究支援の体制】

申請者所属施設の研究指導教官の滝川康裕 (岩手医科大学内科学講座 消化器肝臓内科 肝臓分野教授) らに随時助言が得られる状況にある。

**研究業績**

本欄には、これまでに発表した論文、著書、産業財産権、招待講演のうち、本研究に関連するものを選定し、現在から順に発表年次を過去にさかのぼり、発表年（暦年）毎に線を引いて区別（線は移動可）し、通し番号を付して記入してください。なお、学術誌へ投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限り、ます。

なお、研究業績については、主に 2011 年以降の業績を中心に記入してください。それ以前の業績であっても本研究に深く関わるものや今までに発表した主要な論文等（10 件以内）を記入しても構いません。

例えば発表論文の場合、論文名、著者名、掲載誌名、査読の有無、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）について記入してください。

以上の各項目が記載されていれば、項目の順序を入れ替えても可。著者名が多数にわたる場合は、主な著者を数名記入し以下を省略（省略する場合、その員数と、掲載されている順番を 番号と記入）しても可。なお、研究代表者には下線を付してください。

## 2015 以降

1. Kakisaka K, Kataoka K, Kuroda H, et al. Predictive formula for acute liver failure is useful for predicting the prognosis of patients with acute-on-chronic liver failure. Hepatol Res. 2015. [Epub ahead of print] 査読あり
2. Kakisaka K, Endo K, Suzuki A, et al. Hypothyroidism Enhanced Portal Hypertension in a Patient with Alcoholic Liver Cirrhosis, Resulting in the Development of Ascites. Intern Med. 2015;54:2327-2331. 査読あり
3. Kuroda H, Kakisaka K, Oikawa T, et al. Liver stiffness measured by acoustic radiation force impulse elastography reflects the severity of liver damage and prognosis in patients with acute liver failure. Hepatol Res. 2015;45:571-577. 査読あり
4. Kakisaka K, Kooka Y, Oikawa T, et al. Bimodal peaks of liver stiffness in a case of drug-induced liver injury. Hepatol Res. 2015;45:343-348. 査読あり

## 2014

5. Wang T, Kakisaka K. (他 5 人 , 4 番目) Proliferation of mouse liver stem/progenitor cells induced by plasma from patients with acute liver failure is modulated by P2Y2 receptor-mediated JNK activation. J Gastroenterol. 2014;49:1557-1566. 査読あり
6. Kakisaka K and Takikawa Y. Elevation of serum cytokines preceding elevation of liver enzymes in a case of drug-induced liver injury. Hepatol Res. 2014;44:E284-289. 査読あり
7. Kakisaka K, Kataoka K, Onodera M, et al. Alpha-fetoprotein: A biomarker for the recruitment of progenitor cells in the liver in patients with acute liver injury or failure. Hepatol Res. 2014. 査読あり

## 2013

8. Akazawa Y, Kakisaka K (他 6 人 , 6 番目). Degradation of cIAPs contributes to hepatocyte lipoapoptosis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2013;305:G611-619. 査読あり

## 研究業績 (つづき)

2012

9. Kuroda H, Kakisaka K. (他 6 人, 4 番目). Serial changes of liver stiffness measured by acoustic radiation force impulse imaging in acute liver failure: a case report. J Clin Ultrasound. 2012;40:99-104. 査読あり
10. Kuroda H, Kakisaka K, Kamiyama N, et al. Non-invasive determination of hepatic steatosis by acoustic structure quantification from ultrasound echo amplitude. World J Gastroenterol. 2012;18:3889-3895. 査読あり
11. Kakisaka K, Cazanave SC, Werneburg NW, et al. A hedgehog survival pathway in 'undead' lipotoxic hepatocytes. J Hepatol. 2012;57:844-851. 査読あり
12. Kakisaka K, Cazanave SC, Fingas CD, et al. Mechanisms of lysophosphatidylcholine-induced hepatocyte lipoapoptosis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2012;302:G77-84. 査読あり

2011

2010 以前

13. Onodera M, Takikawa Y, Kakisaka K, et al. Differential evaluation of hepatocyte apoptosis and necrosis in acute liver injury. Hepatol Res. 2010;40:605-612. 査読あり
14. Kuroda H, Kasai K, Kakisaka K, et al. Changes in liver function parameters after percutaneous radiofrequency ablation therapy in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatol Res. 2010;40:550-554. 査読あり
15. Kuroda H, Kakisaka K, Tatemichi Y, et al. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using acoustic radiation force impulse imaging in chronic hepatitis patients with hepatitis C virus infection. Hepatogastroenterology. 2010;57:1203-1207. 査読あり
16. 柿坂啓介, 滝川康裕, 小野寺美緒, 王挺. The influence of plasma of acute liver failure patients on survival of a mouse stem/progenitor cell line. 岩手医学雑誌 2009;61:259-269. 査読あり
17. 滝川康裕, 小野寺美緒, 柿坂啓介, 宮本康弘, 稲葉宏次, 鈴木一幸. 【肝と凝固線溶系】急性肝不全における DIC. 日本血栓止血学会誌 2008;19:226-234. 査読あり
18. 滝川康裕, 遠藤龍人, 小野寺美緒, 柿坂啓介, 片岡晃二郎, 佐藤彰宏, 鈴木一幸. 急性重症肝障害における DIC 合併の診断と治療法の検討. 東北止血・血栓研究会会誌 2008;XXI:20-24. 査読あり
19. Yajima Y, Kakisaka K (他 8 人, 5 番目).. [Prevalence of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) among biopsied cases of a urban hospital in Japan: significance of measurement of serum ferritin in the detection of NASH]. Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi. 2006;103:515-522. 査読あり

**研究計画と研究進捗評価を受けた研究課題の関連性**

- ・本欄には、本応募の研究代表者が、平成26年度又は平成27年度に、「特別推進研究」、「基盤研究（S）」又は「若手研究（S）」の研究代表者として、研究進捗評価を受けた場合に記述してください。
- ・本欄には、研究計画と研究進捗評価を受けた研究課題の関連性（どのような関係にあるのか、研究進捗評価を受けた研究を具体的にどのように発展させるのか等）について記述してください。

該当なし



**今回の研究計画を実施するに当たっての準備状況及び研究成果を社会・国民に発信する方法**

本欄には、次の点について、焦点を絞り、具体的かつ明確に記述してください。

本研究を実施するために使用する研究施設・設備・研究資料等、現在の研究環境の状況

研究協力者がいる場合には、必要に応じその者との連絡調整の状況など、研究着手に向けての状況

本研究の研究成果を社会・国民に発信する方法等

**本研究を実施するために使用する研究施設・設備・研究資料等、現在の研究環境の状況**

研究は岩手医科大学消化器肝臓内科研究室にて行われる。申請者所属講座は独自に細胞培養施設ならびにノックアウト細胞作成に関わる機材と設備、ウェスタンブロットティング法に関わる機材と撮像設備を有している。ウェスタンブロットティング法（撮像も含めて設備現有所持）、リアルタイムPCR（共同研究室にて現有所持）、共焦点顕微鏡（共同研究室にて現有所持）など本研究で予定される実験のすべての設備を申請者の所属機関は所持している。

**研究協力者との連絡調整の状況など、研究着手に向けての状況**

指導担当の滝川とは同一施設内で研究を推進しており、常に研究方針は相談ができる体制にある。

**本研究の研究成果を社会・国民に発信する方法等**

社会への研究成果の発信は主としてアメリカ肝臓病学会を主とした国際学会で報告し、全世界に発信されるよう英文での論文の掲載により行う。また、成果を広く周知するためオープンアクセスとする。研究成果の進捗にあわせて適宜、所属機関のホームページでの公開や新聞報道なども検討する。

**研究略歴**

本欄には、最終学校卒業後の研究履歴を現在から順に年度をさかのぼって記入してください。その際、どのような研究を行ってきたのか、研究内容とともに特筆すべき事項（受賞歴等）を簡潔に記入してください。

**2012年8月-2015年**

岩手医科大学消化器内科肝臓分野 助教として臨床および基礎研究に従事

- 2014年度学術研究振興資金：若手研究者奨励金（日本私立学校振興・共済事業団）  
「脂肪肝炎の新規治療開発に向けた基礎的研究」
- 2012年第54回日本消化器病学会大会 ポスター優秀演題  
「リゾホスファチジルコリンによる肝細胞アポトーシス機序の基礎的検討」

**2010年10月-2012年7月**

米国メイヨークリニック Dr. Gregory J. Gores の研究室にてリサーチフェローとして勤務  
「飽和脂肪酸による肝細胞アポトーシスの機序解明」を主として研究し、以下の論文に筆頭著者として研究成果を発表した。

- A hedgehog survival pathway in 'undead' lipotoxic hepatocytes. J Hepatol 2012;57(4):844-51.
- Mechanisms of lysophosphatidylcholine-induced hepatocyte lipoapoptosis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2012;302:G77-84.

**2006年4月-2010年3月**

岩手医科大学 医学研究科 消化器肝臓内科分野 大学院

「急性肝不全における肝幹細胞の至適増殖環境の検討」を主として研究し、以下の論文に筆頭著者として研究成果を発表した。

- The influence of plasma of acute liver failure patients on survival of a mouse stem/progenitor cell line. 岩手医学雑誌 2009;61:259-269.

**人権の保護及び法令等の遵守への対応(公募要領4頁参照)**

本欄には、研究計画を遂行するに当たって、相手方の同意・協力を必要とする研究、個人情報の取り扱いの配慮を必要とする研究、生命倫理・安全対策に対する取組を必要とする研究など法令等に基づく手続が必要な研究が含まれている場合に、どのような対策と措置を講じるのか記述してください。

例えば、個人情報を伴うアンケート調査・インタビュー調査、提供を受けた試料の使用、ヒト遺伝子解析研究、組換えDNA実験、動物実験など、研究機関内外の倫理委員会等における承認手続が必要となる調査・研究・実験などが対象となります。

なお、該当しない場合には、その旨記述してください。

本研究は動物実験(施行済)・細胞実験・臨床検体を用いた検討を実施・予定している。

動物実験については岩手医科大学動物実験規程・各種法令に準拠した実験計画を別に作成し、所属機関の倫理委員会に審査を提出し妥当性を評価されたうえで施行した(認可番号 25-025)。

また臨床検体を用いた検討について、各種法令を遵守した研究プロトコールを別途作成し、岩手医科大学医学部倫理委員会にて倫理審査を受け認可されている(認可番号 H27-56、HGH27-17)

**研究経費の妥当性・必要性**

本欄には、「研究計画・方法」欄で述べた研究規模、研究体制等を踏まえ、次頁以降に記入する研究経費の妥当性・必要性・積算根拠について記述してください。また、研究計画のいずれかの年度において、各費目(設備備品費、旅費、人件費・謝金)が全体の研究経費の90%を超える場合及びその他の費目で、特に大きな割合を占める経費がある場合には、当該経費の必要性(内訳等)を記述してください。

実験期間を通してウエスタンブロットおよび定量的 PCR を施行する予定があり、電気泳動用ゲルや PCR 用の mRNA 抽出キット・cDNA 作成キット・各種プライマー・SYBR Green 試薬などの購入を予定している。またカスパーゼや JNK など細胞内シグナルの阻害剤をはじめとした各種阻害剤、特定蛋白のノックダウンを行うための siRNA 用トランスフェクション試薬や特定 RNA の購入を予定している。臨床検体(血清)を用いたアポトーシスマーカーなどサイトカイン・ケモカイン測定用の ELISA の購入が必要である。患者肝組織への免疫組織学的検討のための染色を、外部注文する予定である。また論文校正を外部に委託する経費も計上した。新規機器の購入はなく、現状研究室または所属機関が所有している機器を用いて実験を行う予定である。

**若手（Ｂ） - １０**  
（金額単位：千円）

設備備品費の明細			消耗品費の明細	
記入に当たっては、若手研究（Ｂ）研究計画調書作成・記入要領を参照してください。			記入に当たっては、若手研究（Ｂ）研究計画調書作成・記入要領を参照してください。	
年度	品名・仕様 （数量×単価）（設置機関）	金 額	品 名	金 額
２８	該当なし	０	細胞培養用品	50
			チップ・チューブ	50
			一次抗体（１０種類）	500
			ウェスタンブロット用品 （ジェル，試薬等）	150
			DNA/RNA 抽出用キット	100
			RT-PCR 用試薬	200
			shRNA 安定発現細胞株作成 （トランスフェクション試 薬等）	700
			細胞死アッセイ（PI 染色，カ スパーゼ活性測定アッセ イ）	200
			各種薬剤（JNK 阻害剤，カス パーゼ阻害剤，）	150
			サイトカイン・ケモカイン 用 ELISA	200
			小計	2300
２９	該当なし	０	肝組織免疫染色（外部委託）	430
			細胞培養用品	50
			チップ・チューブ	50
			一次抗体（５種類）	250
			ウェスタンブロット用品 （ジェル，試薬等）	150
			DNA/RNA 抽出用キット	100
			RT-PCR 用試薬	200
			細胞死アッセイ（PI 染色）	50
			各種薬剤	100
			小計	1380
			計	3680

**若手（Ｂ） - １１**

（金額単位：千円）

旅費等の明細

記入に当たっては、若手研究（Ｂ）研究計画調書作成・記入要領を参照してください。

年度	国内旅費		外国旅費		人件費・謝金		そ の 他	
	事 項	金額	事 項	金額	事 項	金額	事 項	金額
2 8	該当なし		アメリカ肝臓病学会など （学会参加費・交通費・宿泊費）	400	該当なし		該当なし	
	該当なし		アメリカ肝臓病学会など （学会参加費・交通費・宿泊費）	400	該当なし		英文構成論文投稿料	100
							掲載料（オープンアクセス料）	250
			計	800			計	350

## 研究費の応募・受入等の状況・エフォート

本欄は、第２段審査（合議審査）において、「研究資金の不合理な重複や過度の集中にならず、研究課題が十分に遂行し得るかどうか」を判断する際に参照するところですので、本人が受け入れ自ら使用する研究費を正しく記載していただく必要があります。本応募課題の研究代表者の応募時点における、（１）応募中の研究費、（２）受入予定の研究費、（３）その他の活動について、次の点に留意し記入してください。なお、複数の研究費を記入する場合は、線を引いて区別して記入してください。具体的な記載方法等については、研究計画調書作成・記入要領を確認してください。

「エフォート」欄には、年間の全仕事時間を100%とした場合、そのうち当該研究の実施等に必要となる時間の配分率(%)を記入してください。

「応募中の研究費」欄の先頭には、本応募研究課題を記入してください。

科研費の「新学術領域研究（研究領域提案型）」にあつては、「計画研究」「公募研究」の別を記入してください。

所属研究機関内で競争的に配分される研究費についても記入してください。

( 1 ) 応募中の研究費

資金制度・研究費名（研究期間・配分機関等名）	研究課題名（研究代表者氏名）	役 割 （代表・分担の別）	平成 28 年度の 研究経費 （期間全体の額） （千円）	エ フ ォ ー ト（％）	研究内容の相違点及び他の研究費に加えて本応募研究課題に応募する理由  （科研費の研究代表者の場合は、研究期間全体の受入額を記入すること）
【本応募研究課題】 若手研究（ B ） （ H28 ～ H    ）		代表	2700 （ 4830 ）	12	（ 総 額   4830 千円 ）

研究費の応募・受入等の状況・エフォート(つづき)					
(2) 受入予定の研究費					
資金制度・研究費名(研究期間・配分機関等名)	研究課題名(研究代表者氏名)	役 割 (代表・ 分 担 の 別)	平成 28 年度 の研究経費 (期間全体の額) (千円)	エ フ ォ ー ト (%)	研究内容の相違点及び他の研究費に加えて本応募研究課題に応募する理由 (科研費の研究代表者の場合は、研究期間全体の受入額を記入すること)
該当なし					
(3) その他の活動 上記の応募中及び受入予定の研究費による研究活動以外の職務として行う研究活動や教育活動等のエフォートを記入してください。				88	
合 計 上記(1)、(2)、(3)のエフォートの合計				100 (%)	