

高齢者の臓器保護に資する至適な血小板機能制御方法に関する研究（25-4）

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

高齢者の臓器保護に資する至適な血小板機能制御法の策定を目指すことをその目的とし、55歳以上の糖尿病、骨粗鬆症、脳梗塞患者より静脈血を採取し、多血小板血漿(PRP)を調整し、ADP刺激、コラーゲン刺激、リストセチン刺激およびトロンビン刺激により惹起される血小板凝集を患者の臨床情報とともに詳細に解析した。細胞画分における機能性蛋白質の解析はウェスタンブロット法にて、血小板刺激時の platelet-derived growth factor-AB 濃度およびリン酸化 HSP27 濃度は ELISA にて検討した。2015年3月までに糖尿病患者 107例、骨粗鬆症患者 9例、脳梗塞患者 73例につき解析を実施した。糖尿病患者における検討では、抗血小板薬は eGFR の低下にほとんど影響しないこと、糖尿病性腎症の進行事例は抗血小板薬投与例に少ないことが示唆された。骨粗鬆症患者における解析では、selective estrogen receptor modulator (SERM)のうちバゼドキシフェンは血小板凝集能にほとんど影響しないことが示唆された。抗血小板薬投与中の脳梗塞患者の解析では ADP 凝集の非抑制群で深部皮質下白質病変(DSWMH)の重症度が高い傾向が示された。一方、糖尿病患者由来の PRP において、コラーゲン刺激によりリン酸化される HSP27 が PDGF-AB 分泌と共役して細胞外に遊離されること、微小凝集塊および大凝集塊の形成とそれぞれ負および正の相関を示すことを明らかとした。さらに健常人由来の PRP において Rho/Rho kinase 経路がトロンボキサン A₂による sCD40 ligand の遊離および PDGF-AB の分泌を介して血小板凝集を制御していることを明らかとした。以上、高齢者の血小板機能を多角的に捉えるとともに実臨床における病態制御状況を詳細に分析し、臓器保護に資する至適な血小板機能の制御法を検討しうる体制が構築された。

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）

新畑 豊 国立長寿医療研究センター 脳機能診療部（部長）

小澤 修 岐阜大学大学院医学系研究科（教授）

A. 研究目的

アスピリン、チクロピジン、クロピドグレル等の抗血小板薬は、脳梗塞の再発予防あるいは糖尿病患者等のハイリスク群における血管障害の一次予防の目的で広く使用され、その有用性はよく知られている。しかしながら、これまでに行われた疾患別解析は高齢者を対象としたものではなかった。また抗血小板薬の薬理作用自体の検討もまた十分ではなかった。脳梗塞はラクナ梗塞とアテローム性梗塞の2種類に大別され、穿通枝領域のラクナ梗塞と中・大血管が主体となるアテローム性梗塞では病態が異なることが知られている。高齢者では加齢に伴い血管は脆弱となるが、その傾向は細血管においてより顕著となる。細血管病変が主体のラクナ梗塞を発症した高齢者に対し、その再発予防に壮年者と同様に血小板機能を抑制すれば、出血性疾患を惹起する可能性が高まることも否定できない。一方、腎硬化症あるいは糖尿病性腎症有症者における抗血小板療法の評価は未だ十分とは言い難い。このように高齢者に対する血小板機能制御については、客観的な安全性が確保された状態であるとは言い難い。高齢者を対象として、薬剤選択あるいは用法・用量の妥当性を客観的指標に基づき詳細に解析する必要性は極めて高いと考えられる。本研究は、高齢者の臓器保護に資する至適な血小板機能制御法の策定を目指すことをその目的として、臨床的ならびに基礎的検討を行うものである。

B. 研究方法

1)対象

55歳以上の糖尿病、骨粗鬆症、脳梗塞患者を疾患レベル解析の対象とした。また、岐阜大学における血小板機能制御機構の解析では、健常成人を被験者とした。

2)血小板血漿の調整

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。

3)血小板凝集能の解析

PRP を ADP、コラーゲン、リストセチンおよび Thrombin receptor-activating protein (TRAP) にて刺激し、レーザー粒子径測定法 (LS 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。LS 法では透過光遮蔽率 (Trans %) の他に、血小板凝集塊の大きさにより、微小凝集塊 (small, 25 μ m 未満 small)、中凝集塊 (medium, 25-50 μ m) および大凝集塊 (large, 50-75 μ m) が識別、表示できる。これらの刺激時 AUC を数量化し、解析に用いた。反応停止後の PRP を 20,000 \times g にて 2 分間遠心分離し、沈査を細胞画分とし SDS にて可溶化するとともに、上清を -30 度で保管し、細胞レベルでの解析に供した。

4)臨床情報の収集

共通項目として、年齢、性別、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、 γ -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、eGFR、シスタチン C、血糖、HbA1c、尿蛋白、頭部 MRI 所見を、2 型糖尿病患者の追加項目として、糖尿病罹病期間、治療期間、治療内容、網膜症の有無・病期、尿中アルブミン値を、骨粗鬆症患者の追加項目として治療期間・治療内容、腰椎・大腿骨骨密度(YAM%・T-score)、骨代謝マーカー(骨型 ALP、血清 NTx、等)を、脳梗塞患者追加項目として、治療期間・治療内容、有害イベントの発生状況を収集することとした。

5) 血小板細胞レベルでの解析

可溶化した細胞画分中の機能性蛋白質のリン酸化をウェスタンブロット法にて解析した。リン酸化レベルは imageJ ver. 1.32 を用いて数値化し解析に使用した。上清中の platelet-derived growth factor-AB (PDGF-AB)濃度およびリン酸化 HSP 濃度をそれぞれ対応する ELISA にて測定し、これらの血小板刺激時の分泌・遊離につき検討した。

6) 統計学的解析

統計学的解析には SPSS ver. 19.0 (IBM SPSS Statistic Inc.)を使用した。

(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た。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、連結可能匿名化の上で解析にあたった。なお研究計画は、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、既に承認済みである。

C. 研究結果

1) 糖尿病患者からの試料・情報収集

コラーゲン凝集については、2015 年 3 月末までに 107 例の解析を行った。これらについて、腎機能への影響を解析した。2015 年 3 月末までに観察期間が 6 か月に達した事例は 93 例(男性 61 例/女性 32 例、年齢 71.3 ± 7.1 才)、12 か月に達した事例は 71 例(男性 44 例/女性 27 例、年齢 71.9 ± 7.6 才)であった。観察開始時の HbA1c 値は $8.3 \pm 2.0\%$ 、6 か月および 12 か月時点での HbA1c 値はそれぞれ $7.4 \pm 1.3\%$ 、 $7.2 \pm 1.1\%$ であった。6 か月までに eGFR が 10%以上低下した事例(6 か月低下群)は 30 例、低下が 10%未満にとどまった事例(6 か月不変群)は 63 例、そのうち抗血小板薬の投与例は低下群 12 例(アスピリン 8 例、シロスタゾール 3 例、エイコサペンタイン酸(EPA)1 例*アスピリン併用、クロピドグレル 2 例*アスピリン併用 1)、不変群 27 例(アスピリン 16 例、シロスタゾール 6 例、EPA3 例*アスピリン併用 1、クロピドグレル 4 例*アスピリン併用 2、サルボグレラート 1 例)であった。12 か月までに eGFR が 10%以上低下した事例(12 か月低下群)は 18 例、低下が 10%未満に

とどまった事例(12 か月不変群)は 53 例、そのうち抗血小板薬の投与例は低下群 6 例(アスピリン 4 例、シロスタゾール 1 例、クロピドグレル 1 例、エイコサペンタイン酸(EPA)1 例*アスピリン併用)、不変群 23 例(アスピリン 13 例、シロスタゾール 8 例*アスピリン併用 1、EPA3 例)であった。なおクロピドグレル投与事例で脳出血による死亡例が 1 例見られたが、クロピドグレル投与下においても血小板凝集の抑制が明らかでない事例であった。次に 6 か月まで経過観察し得た 93 例中抗血小板薬が未投与であった 52 例では、6 か月低下群が 15 例、6 か月不変群が 37 例であった。これらの 0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ コラーゲン刺激時の AUC は、低下群が 1765.0 ± 698.0 、不変群が 1708.6 ± 598.4 と差がなかった。また、6 か月以上尿中アルブミン排泄を追跡し得た事例のうち、追跡開始時に腎症 I 期(尿アルブミン排泄 $< 30 \text{ mg}/\text{gCr}$)であった 35 例につき、腎症不変群(経過観察時も尿アルブミン排泄 $< 30 \text{ mg}/\text{gCr}$)と腎症進行群(経過観察時に尿アルブミン排泄 $> 30 \text{ mg}/\text{gCr}$)に分類したところ、腎症不変群は 24 例、腎症進行群は 11 例であった。抗血小板薬の投与事例は腎症不変群で 11 例、腎症進行群で 3 例と腎症進行群に少ない傾向がみられた。なお抗血小板薬の投与例のうち最も汎用されたアスピリン投与例は全例に血小板機能の抑制がみられた。

さらに今年度よりずり応力刺激のモデルとしてのリストセチン(1.5 mg/ml)による凝集と、トロンビン受容体を介する血小板凝集刺激として TRAP(1~30 μM)による凝集を ADP およびコラーゲン凝集との比較における検討を開始した。2015 年 3 月末までに 53 例の解析を行ったが、ADP 刺激あるいはコラーゲン刺激とは異なる傾向を認めた。

2) 骨粗鬆症患者からの試料・情報収集

新規に骨粗鬆症と診断された患者より多血小板血漿を採取し、レーザースキャタリング法により検出される微小血小板凝集塊の形成における ADP 刺激に対する ED_{50} 値を指標として、血小板機能亢進群、正常群、抑制群の 3 群に分類、これら 3 群において新しい selective estrogen receptor modulator (SERM) であるバゼドキシフェンを始めとする薬物治療の影響について、頭部 MRI 所見、血中シスタチン C、尿中アルブミン・蛋白質排泄、eGFR 値等を経時的に解析することとした。2015 年 3 月末までにバゼドキシフェン 3 例、ラロキシフェン 6 例の計 9 例につき検討し、投与開始時点では亢進群 6 例、抑制群 3 例で、正常群は見られなかった。6 か月の時点でも変化は見られなかった。一方、血小板機能解析と並行して行われたラロキシフェンの筋肉量への効果の検討では、ラロキシフェン投与が筋肉量の維持に寄与することが示唆された。

3) 脳梗塞患者からの試料・情報収集

2015 年 3 月末までに、新たに脳梗塞を発症した患者あるいは脳梗塞の一次予防または二次予防として抗血小板療法を施行中の 73 名について、ADP 凝集における ED_{50} 値に基づき血小板凝集能抑制群(N=36)と非抑制群(N=38)に分類し、それぞれにおける白

質病変の重症度を比較検討した。脳室周囲白質病変(PVL)と深部皮質下白質病変(DSWMH)では、非抑制群において DSWMH の重症度が高い傾向がみられた。また、アスピリン、シロスタゾール、クロピドグレルを単独で使用していた事例 69 名について ADP ED₅₀ 値を比較したところ、シロスタゾール使用群がその有意に低値を示すことが明らかとなった。

4) 血小板機能の細胞レベルでの解析

糖尿病患者 36 例(男性 23 例/女性 13 例)についてコラーゲン刺激後の HSP27 のリン酸化レベルをウェスタンブロット法により、刺激後の血漿中のリン酸化 HSP27 レベルおよび PDGF-AB レベルを ELISA にて解析した。リン酸化レベルは imageJ ver. 1.32 を用いて数値化した。コラーゲン 0.3 $\mu\text{g/ml}$ 刺激時の HSP27(serine 78)のリン酸化レベルは、細胞内の HSP27 レベルと負の相関を、血漿中のリン酸化 HSP27 レベルおよび PDGF-AB レベルと正の相関を認めた。さらに、刺激後の血漿中のリン酸化レベルは、血小板凝集のうち 50 μm ~75 μm を示す大凝集塊の形成と正の相関を認めた。一方、健常人(N=3)由来の PRP におけるコラーゲン 1 $\mu\text{g/ml}$ 刺激時の血小板凝集および PDGF-AB 分泌に対し、リコンビナントのリン酸化 HSP27 は何ら影響しなかった。

一方、健常人由来の PRP において、トロンボキサン受容体アゴニスト U46619 が Rho kinase の基質である cofilin のリン酸化を促進すること、Rho kinase 阻害剤である Y27632 および fasudil が U46619 により cofilin のリン酸化ならびに血小板凝集、さらに sCD40 ligand 遊離および血小板由来増殖因子-AB(PDGF-AB)分泌を抑制することを明らかとした。さらに、U46619 刺激による p38 mitogen-activated protein (MAP) kinase のリン酸化に何ら影響しないこと、および p38 MAP kinase の阻害剤である S203580 が U46619 刺激による cofilin のリン酸化に何ら影響しないことを明らかとした。

D. 考察と結論

本研究は高齢者の臓器機能に着目し、至適な血小板機能制御法を開発することを目的としている。糖尿病患者において、今年度はコラーゲン刺激による血小板凝集解析事例において、腎機能低下および糖尿病性腎症との関連につきデータを収集・解析したが、結果として、抗血小板薬の投与は eGFR の低下にほとんど影響しない可能性が示された。また、糖尿病性腎症の進行事例の割合が抗血小板薬の投与例に少ない可能性が示された。一方、クロピドグレル投与例で脳血管障害による死亡例 1 例がみられたが、この事例は血小板機能制御が十分得られなかった可能性が示された。最も汎用されているアスピリン投与例においては全例コラーゲン凝集の抑制がみられていたことから、腎臓機能の保護の観点からみて、抗血小板薬は高齢者においても、リスクをベネフィットが上回る可

能性が示唆された。昨年度、ADP 刺激による血小板凝集能の分析結果をもとに、抗血小板薬投与における推算糸球体濾過量を解析している。今回と同様、有意な悪影響は見られなかったことから、アスピリン投与をはじめとする血小板機能制御が高齢者においても有用である可能性がより示唆されたと考える。今年度より、リストセチン刺激および TRAP 刺激による血小板凝集能の検討を行っており、ADP 凝集やコラーゲン凝集とは異なる傾向を確認している。次年度はさらに発展的に解析を遂行することとしたい。

骨粗鬆症患者および脳梗塞患者の治療経過と血小板凝集についても解析を継続した。結果として、骨粗鬆症におけるバゼドキシフェンの投与は血小板凝集能への影響が確認されなかった。またラロキシフェンは筋肉量の維持に寄与する可能性が示唆された。従って、SERM は総じて安全性と有用性の高い薬剤と考えられた。一方、脳梗塞患者においては、ADP 凝集の非抑制群において深部皮質下白質病変(DSWMH)の重症度が高い傾向が示唆された。さらに、抗血小板薬のうちシロスタゾール使用群で抑制の程度が低い可能性が示唆された。さらに、eGFR やシスタチンの推移についても分析を遂行することとしたい。

既に我々は血小板における HSP27 のリン酸化が、PDGF-AB や 5-HT の分泌に関与しており、糖尿病患者における血小板凝集能の亢進に重要な役割を果たしている可能性を報告している。今回、糖尿病患者において、コラーゲン刺激時に HSP27 がリン酸化され、細胞外に遊離することが示唆された。この細胞外への HSP27 遊離はコラーゲン刺激時の微笑凝集塊および大凝集塊の形成とそれぞれ負および正の相関を示すこと、PDGF-AB の細胞外への分泌と共役することが示された。一方リコンビナントリン酸化 HSP27 がコラーゲン凝集および PDGF-AB 分泌に何ら影響しないことを確認した。これらは、糖尿病患者の病態制御における HSP27 の臨床的意義を示唆した重要な新知見であると考えられる。さらに、血小板における細胞内情報伝達機構に関して、Rho/Rho kinase 経路がトロンボキサン A₂による sCD40 ligand の遊離および PDGF-AB の分泌を介して血小板凝集を制御し、その経路は p38 MAP kinase とは独立した経路であることが示唆された。この結果は血小板が関与する心血管イベントに対しても Rho-kinase 阻害剤が有用である可能性を示している。これらの新しい知見をもとに、高齢者における適切な血小板機能制御法の開発が期待できると考えられる。

以上のように、高齢者の血小板機能を多角的に捉えるとともに実臨床における病態制御状況を詳細に分析し、臓器保護に資する至適な血小板機能の制御法を検討しうる体制が構築された。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kuroyanagi G, Tokuda H, Matsushima-Nishiwaki R, Kondo A, Mizutani J, Kozawa O, Otsuka T. Resveratrol suppresses prostaglandin F₂ α -induced osteoprotegerin synthesis in osteoblasts:inhibition of the MAP kinase signaling. Arch. Biochem. Biophys. 2014;542:39-45.
- 2) Kondo A, Tokuda H, Matsushima-Nishiwaki R, Kuroyanagi G, Yamamoto N, Mizutani J, Kozawa O, Otsuka T. Rho-kinase limits BMP-4-stimulated osteocalcin synthesis in osteoblasts:regulation of the p38 MAP kinase pathway. Life Sci. 2014;96:18-25.
- 3) Kondo A, Otsuka T, Kuroyanagi G, Yamamoto N, Matsushima-Nishiwaki R, Mizutani J, Kozawa O, Tokuda H. Resveratrol inhibits BMP-4-stimulated VEGF synthesis in osteoblasts:suppression of S6 kinase. Int. J. Mol. Med. 2014;33:1013-1018.
- 4) Sakurai T, Kawashima S, Satake S, Miura H, Tokuda H, Toba K. Differential subtypes of diabetic older adults diagnosed with Alzheimer's disease.Geriatr. Gerontol. int. 2014;14:62-70.
- 5) Kageyama Y, Doi T, Matsushima-Nishiwaki R, Iida Y, Akamatsu S, Kondo A, Kuroyanagi G, Yamamoto N, Mizutani J, Otsuka T, Tokuda H, Iida H, Kozawa O, Ogura S. Involvement of Rac in thromboxane A₂-induced human platelet activation: regulation of sCD40 ligand release and PDGF-AB secretion. Mol. Med. Rep. 2014;10:107-112.
- 6) Iida Y, Doi T, Matsushima-Nishiwaki R, Tokuda H, Ogura S, Kozawa O, Iida H. (-)-Epigallocatechin gallate selectively inhibits adenosine diphosphate- stimulated human platelet activation: Suppression of heat shock protein 27 phosphorylation via p38 mitogen-activated protein kinase. Mol. Med. Rep. 2014;10:1383-1388.
- 7) Kuroyanagi G, Mizutani J, Kondo A, Yamamoto N, Matsushima-Nishiwaki R, Otsuka T, Kozawa O, Tokuda H. Suppression by resveratrol of prostaglandin D₂-stimulated osteoprotegerin synthesis in osteoblasts. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. 2014;91:73-80.
- 8) Yamamoto N, Tokuda H, Kuroyanagi G, Mizutani J, Matsushima-Nishiwaki R, Kondo A, Kozawa O, Otsuka T. Regulation by reseveratrol of prostaglandin E₂-stimulated osteoprotegerin synthssis in osteoblasts. Int. J. Mol. Med. 2014;34:1439-1445.
- 9) Kuroyanagi G, Otsuka T, Yamamoto N, Matsushima-Nishiwaki R, Nakakami A, Mizutani J, Kozawa O, Tokuda H. Downregulation by resveratrol of basic fibroblast

growth factor-stimulated osteoprotegerin synthesis through suppression of Akt in osteoblasts. *Int. J. Mol. Sci.* 2014;15:17886-17900.

- 10) Yamamoto N, Otsuka T, Kuroyanagi G, Kondo A, Kainuma S, Nakakami A, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Tokuda H. Resveratrol reduces prostaglandin E1-stimulated osteoprotegerin synthesis in osteoblasts: Suppression of stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2015;9:116-117:57-63.
- 11) Iida Y, Doi T, Tokuda H, Matsushima-Nishiwaki R, Tsujimoto M, Kuroyanagi G, Yamamoto N, Enomoto Y, Tanabe K, Otsuka T, Iwama T, Ogura S, Kozawa O, Iida H. Rho-kinase regulates human platelet activation induced by thromboxane A₂ independently of p38 MAP kinase. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2015;94:73-81.
- 12) Kuroyanagi G, Otsuka T, Yamamoto N, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Tokuda H. Resveratrol suppresses TGF- β -induced VEGF synthesis in osteoblasts: inhibition of the p44/p42 MAP kinase and SAPK/JNK pathways. *Exp. Ther. Med.* in press.
- 13) Yamamoto N, Otsuka T, Kondo A, Matsushima-Nishiwaki R, Kuroyanagi G, Kozawa O, Tokuda H. Rac limits TGF- β -induced VEGF synthesis in osteoblasts. *Mol. Cell. Endocrinol.* in press.
- 14) Tsujimoto M, Doi T, Kuroyanagi G, Yamamoto N, Matsushima-Nishiwaki R, Iida Y, Enomoto Y, Iida H, Otsuka T, Tokuda H, Kozawa O. α B-crystallin reduces ristocetin-induced soluble CD40 ligand release in human platelets: suppression of thromboxane A₂ generation. *Mol. Med. Rep.* in press.
- 15) Kuroyanagi G, Tokuda H, Yamamoto N, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Otsuka T. Unphosphorylated HSP27 (HSPB1) regulates the translation initiation process via a direct association with eIF4E in osteoblasts. *Int J Mol Med.* in press.
- 16) Kuroyanagi G, Tokuda H, Kondo A, Yamamoto N, Matsushima-Nishiwaki R, Mizutani J, Kozawa O, Otsuka T. Resveratrol amplifies BMP-4-stimulated osteoprotegerin synthesis via p38 MAP kinase in osteoblasts. *Mol. Med. Rep.* in press.
- 17) Tokuda H, Kuroyanagi G, Tsujimoto M, Enomoto Y, Matsushima-Nishiwaki R, Onuma T, Kojima A, Doi T, Tanabe K, Akamatsu S, Iida H, Ogura S, Otsuka T, Iwama T, Tanikawa T, Ishikawa K, Kojima K, Kozawa O. Release of phosphorylated-heat shock protein 27 from human platelets is accompanied with the acceleration of aggregation in diabetic patients. *PLOS ONE* in press.
- 18) Kainuma S, Otsuka T, Kuroyanagi G, Yamamoto N, Matsushima-Nishiwaki R,

- Kozawa O, Tokuda H. Regulation by AMP-activated protein Kinase of the PGE₂-induced osteoblasts. Mol. Med. Rep. in press.
- 19) Ito S, Harada A, Kasai T, Sakai Y, Takemura M, Matsui Y, Hida T, Ishiguro N. Use of alfacalcidol in osteoporotic patients with low muscle mass might increase muscle mass: An investigation using a patient database. Geriatr Gerontol Int. 2014;14 Suppl 1:122-8.
 - 20) Ando K, Imagama S, Iro 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. 2014;27:105-110.
 - 21) Kanemura T, Matsumoto A, Ishikawa Y, Yamaguchi H, Satake K, Ito Z, Yoshida G, Sakai Y, Imagama S, Kawakami N. Radiographic changes in patients with pseudarthrosis after posterior lumbar interbody arthrodesis using carbon interbody cages. J Bone J Surg Am. 2014;e82:1-9,.
 - 22) Tauchi R, Imagama S, Inoh H, Yukawa Y, Kanemura T, Sato K, Matsubara Y, Harada A, Sakai Y, Hachiya Y, Kamiya M, Yishihara H, Ito Z, Ando K, Hirano K, Muramoto A, Matsui H, Matsumoto T, Ukai J, Kobayashi K, Shinjo R, Nakashima H, Ishiguro N. Appropriate timing of surgical intervention for the proximal type of cervical spondylotic amyotrophy. Eur J Orthop Surg Traumatol 2014 July 5.[Epub ahead of print]
 - 23) Tauchi R, Imagama S, Inoh H, Yukawa Y, Kanemura T, Sato K, Sakai Y, Kamiya M, Yishihara H, Ito Z, Ando K, Muramoto A, Matsui H, Matsumoto T, Ukai J, Kobayashi K, Shinjo R, Nakashima H, Morozumi M, Ishiguro N. Characteristics and surgical results of the distal type of cervical spondylotic amyotrophy. J Neurosurg Spine. 2014;21:411-416.
 - 24) Ito T, Sakai Y, Kubo A, Yamazaki K, Ohno Y, Nakamura E, Sato N, Morita Y. The relationship between physical function and postural sway during local vibratory stimulation of middle-aged people in the standing position. J Phys Thera Sci.2014; 26:1627-1630.
 - 25) Kamita M, Mori T, Sakai Y, Ito S, Gomi M, Miyamoto Y, Harada A, Niida S, Yamada T, Watanabe K, Ono M. Proteomic analysis of ligamentum flavum from patients with lumbar spinal stenosis. Proteomics 2015 Epub ahead of print.
 - 26) Hida T, Shimokata H, Sakai Y, Ito S, Matsui Y, Takemura M, Kasai T, Ishiguro N, Harada A. Sarcopenic and sarcopenic leg as potential risk factors for acute osteoporotic vertebral fracture among older women. Eur Spine J 2015 Epub ahead of print.

- 27) Sakai Y, Ito K, Hida T, Ito S, Harada A. Neuropathic pain in elderly patients with chronic low back pain and effects of pregabalin; A preliminary study. Eur Spine J. 2015 in press
- 28) Sakai Y, Ito K, Hida T, Ito S, Harada A. Pharmacological management of chronic low back pain in older patients: a randomized controlled trial of the effect of pregabalin and opioid administration. Eur Spine J. 2015 Feb 15. [Epub ahead of print]
- 29) Nagasawa T, Matsushima-Nishiwaki R, Toyoda H, Matsuura J, Kumada T, Kozawa O. Heat shock protein 20 (HSPB6) regulates apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells: direct association with Bax. Oncol Rep. 2014;32:1291-1295.
- 30) Tanabe K, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Iida H. Dexmedetomidine suppresses interleukin-1 β -induced interleukin-6 synthesis in rat glial cells. Int J Mol Med. 2014;34:1032-1038.
- 31) Iida M, Tanabe K, Kozawa O, Iida H. Differential effects of intravenous anesthetics on PDGF-BB-induced vascular smooth muscle cell migration. Cell Physiol Biochem. 2014;33:1827-1837.
- 32) Nagasawa T, Matsushima-Nishiwaki R, Yasuda E, Matsuura J, Toyoda H, Kaneoka Y, Kumada T, Kozawa O. Heat shock protein 20 (HSPB6) regulates TNF- α -induced intracellular signaling pathway in human hepatocellular carcinoma cells. Arch Biochem Biophys. 2015;565:1-8.
- 33) Suzuki M, Matsushima-Nishiwaki R, Kuroyanagi G, Suzuki N, Takamatsu R, Furui T, Yoshimi N, Kozawa O, Morishige K. Regulation by heat shock protein 22 (HSPB8) of transforming growth factor- α -induced ovary cancer cell migration. Arch Biochem Biophys. 2015;571:40-49.

2. 学会発表

- 1) 徳田治彦、原田 敦、新飯田俊平. 骨芽細胞におけるインターロイキン-1(IL-1)による IL-6 産生制御機構-Stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase (SAPK/JNK)による抑制.
第 56 回日本老年医学会学術集会・総会.
2014 年 6 月 12 日. 福岡.
- 2) 山本尚洋、近藤 章、黒柳 元、貝沼慎悟、水谷 潤、徳田治彦、小澤 修.
大塚 隆信. 骨芽細胞において Rho-kinase は BMP-4 による osteocalcin 産生を抑制的に制御している.
第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会.
2014 年 10 月 9 日. 鹿児島.

- 3) 貝沼慎悟、黒柳 元、近藤 章、山本尚洋、水谷 潤、徳田治彦、小澤 修、大塚隆信.骨芽細胞において resveratrol は PGF2 α による osteoprotegerin 産生を抑制する.
第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会.
2014 年 10 月 9 日. 鹿児島.
- 4) 酒井義人、伊藤定之、原田敦、飛田哲朗、伊藤研悠. 腰痛とサルコペニア.
第 43 回 日本脊椎脊髄病学会.
2014 年 4 月 18 日. 京都.
- 5) 酒井義人. 腰部脊柱管狭窄症に対する固定術と除圧術における腰痛改善.
第 43 回 日本脊椎脊髄病学会.
2014 年 4 月 18 日. 京都.
- 6) 酒井義人、伊藤定之、原田敦、飛田哲朗、伊藤研悠.腰部脊柱管狭窄症における腰痛に対する Lipo PGE1 製剤の効果と動脈硬化の関与.
第 43 回 日本脊椎脊髄病学会.
2014 年 4 月 18 日. 京都.
- 7) 酒井義人. 高齢者慢性腰痛症に対するランダム化試験によるプレガバリンとオピオイドの比較. 第 88 回日本整形外科学会学術集会.
2014 年 5 月 24 日. 神戸.
- 8) 酒井義人、原田敦. 腰椎手術後の筋萎縮と腰痛.
第 51 回日本リハビリテーション医学会.
2014 年 6 月 5 日. 名古屋.
- 9) 酒井義人、伊藤定之、原田敦. 骨格筋量と腰痛—四肢および体幹筋の腰痛に与える影響—
第 56 回日本老年医学会.
2014 年 6 月 12 日. 福岡.
- 10) 酒井義人、原田敦. 腰部脊柱管狭窄症におけるカルシトニン製剤の効果—ランダム化試験における血流増加と骨量減少の影響の評価—.
第 16 回日本骨粗鬆症学会.
2014 年 10 月 25 日. 東京.
- 11) 酒井義人. 腰痛における体幹筋量および筋活動の及ぼす影響 (シンポジウム)
第 22 回日本腰痛学会.
2014 年 11 月 15 日. 幕張.
- 12) 酒井義人. 高齢者慢性腰痛症に対するアセトアミノフェンの効果.
第 22 回日本腰痛学会.
2014 年 11 月 15 日. 幕張.
- 13) 酒井義人. 腰部脊柱管狭窄症におけるサルコペニアの影響 (主題) .

第 22 回日本腰痛学会.

2014 年 11 月 15 日. 幕張.

- 14) 新畑豊、鷺見幸彦、武田章敬、武田章敬、堀部賢太郎、山岡朗子、川合圭成、梅村想、文堂昌彦、加藤隆司、岩田香織、伊藤健吾.

"Subcortical vascular dementia におけるアミロイド沈着と MRI 病変、脳血流".

第 55 回日本神経学会学術集会.

2014 年 5 月 23 日. 福岡.

- 15) 土井智章、陰山康成、小澤 修、小倉真治. 血小板機能における Rac の役割 : 抗炎症作用の分子機序解析.

第 29 回日本 Shock 学会.

2014 年 5 月 17 日. 松山.

- 16) 西脇理英、永澤友章、安田鋭介、豊田秀徳、熊田 卓、小澤 修. 肝がん細胞増殖における HSP20 の役割 : MAP kinase および AKT シグナル経路の抑制.

第 73 回日本癌学会学術集会.

2014 年 9 月 25 日. 横浜.

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。