

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
12102	13	-	8302		0001

平成26年度(2014年度)若手研究(B) 研究計画調書

平成 25 年10月25日
1版

新規

研究種目	若手研究(B)						
分野	医歯薬学						
分科	外科系臨床医学						
細目	消化器外科学						
細目表 キーワード	肝臓外科学						
細目表以外の キーワード	非アルコール性脂肪性肝炎						
研究代表者 氏名	(フリガナ)	ヒサクラ カツジ					
	(漢字等)	久倉 勝治					
年齢 (H26.4.1現在)	38 歳 (S . 50年10月生まれ)						
所属研究機関	筑波大学						
部局	医学医療系						
職	講師						
学位	博士(医学)						
現在の専門	消化器外科学					ワーク 15%	
研究課題名	S1P, アデノシン, トロンボポエチンを用いたNASHの線維化抑制治療の開発						
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26年度	2,700	0	2,450	150	0	100
	平成27年度	2,300	0	2,000	200	0	100
	平成28年度	0	0	0	0	0	0
平成29年度	0	0	0	0	0	0	
	総計	5,000	0	4,450	350	0	200
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 66 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。

脂肪肝における肝再生は不良であるとされ、臨床の場では正常肝よりも病的状態にある肝再生の機序の解明とその克服が重要課題となってきた。しかし動物実験における脂肪肝モデルは臨床における脂肪肝と相違点が多く、そのメカニズムに関しても十分に解明されていない。本研究ではインスリン抵抗性を惹起することで臨床に近い非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)モデルを作成し、NASHにおける肝切除後の肝再生不全のメカニズム解析を行う。また、当研究室で報告してきた S1P による肝再生促進効果およびトロンボポエチンおよびアデノシンによる肝線維化抑制効果をより臨床に近い NASH モデルを用いて検討し、脂肪肝から NAFLD、NASH、肝癌へと進む病態の制御を目的とする

研究の学術的背景

近年、メタボリックシンドロームがその罹患率の増加と共に社会的問題となっている。肝臓での表現型は脂肪肝であるが、その脂肪肝から非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) になり、そのうち約 10% は非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) に進行する。NASH が単純脂肪肝と大きく異なる点は肝炎や肝線維化が存在することである。NASH の病理学的特徴は肝細胞の大滴性脂肪性変化、肝細胞の変性・壊死、門脈域のリンパ球浸潤が見られ、その結果として小葉内に線維化を呈することである。海外では、重篤な慢性・急性肝疾患に対する有効的な治療として脳死後臓器提供による肝移植療法が一般的であるが、本邦ではドナー不足による困難な状況で、生体部分肝移植が健康なドナーの犠牲の上に行われている現状を鑑みると、NAFLD・NASH に対し容易に享受できる治療法の開発が社会的な急務である。

<着想に至った経緯>

これまでに NASH の病態機序の解明と薬物治療のため、栄養学的知見に基づき開発された病態モデルはいずれも単なる脂肪肝に過ぎない。すなわち、メチオニン又はコリン欠乏飼料または高脂肪および高糖質成分の飼料を与え開発された病態動物肝臓の病理組織学的特徴は、いずれも脂肪肝あるいは肝炎の段階に止まり著しい線維化は認められず、脂肪性肝炎から線維化への進行性が高い NASH 病態に近似するものではない。我々はメタボリックシンドロームの病態の基礎には脂肪組織における炎症状態や、それに伴うインスリン抵抗性が関連していることから、インスリン抵抗性を惹起することで NASH モデルの作成が必要であると考え、現在、脂肪肝作成のため Liver X receptors (LXR) に着目し、LXR アゴニストである T0901317 を肥満マウスに投与し、さらに streptozotocin (50mg/kg) を皮下投与することによる NASH モデルラットの作成の予備実験を開始している。また、我々は、血小板の肝臓に対する種々の新たな作用を世界に先駆けて報告してきた。マウス 70% ならびに 90% 肝切除モデルでトロンボポエチン/血小板に肝再生促進作用があることを世界で初めて明らかにした (Figure 1, Murata S, J Surg Res 2007, Myronovych A, J Hepatol 2008)。トロンボポエチンによる血小板増加によってマウスおよびラット慢性肝炎モデルの肝線維化を有意に抑制することを世界で初めて報告した (Figure 2, Watanabe M, J Gastroenterol Hepatol 2009, 特許第 4696247 号)。その機序として、トロンボポエチン/血小板が、肝線維化の主なる機序である星細胞の活性化をもたらす TGF- β 分泌を著明に抑制し、線維を溶解する MMP-9 発現の増強をもたらすことを明らかにした。一方、マウスに Fas ligand を投与した劇症肝炎モデルでは、トロンボポエチン投与による血小板増加状態にすると、ALT の著明な低下と肝類洞内皮細胞 (LSEC) および肝細胞のアポトーシスの有意な減少を認めた (Hisakura K, J Gastroenterol Hepatol, 2011, 特許第 5098018 号)。血小板の肝再生促進効果のメカニズム解析をヒト血小板、ヒト LSEC、ヒト肝細胞の 3 者を用いて相互に解析したところ、ヒト血小板に豊富に含まれるスフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) がヒト肝類洞内皮細胞 (LSEC) を活性化して IL-6 を分泌させ、この IL-6 がヒト肝実質細胞に作用して肝細胞増殖が起こることを明らかにした (Figure 3, Kawasaki T, J Hepatol 2010)。さらに血小板による肝星細胞抑制メカニズム解析では血小板はアデニンヌクレオチドを介し肝星細胞の活性化を抑制し、型コラーゲン産生を抑制することを明らかにした (Figure 4, Ikeda N, Hepatol Res. 2012)。

研究目的(つづき)

Figure 1 70%肝切除後の肝体重比

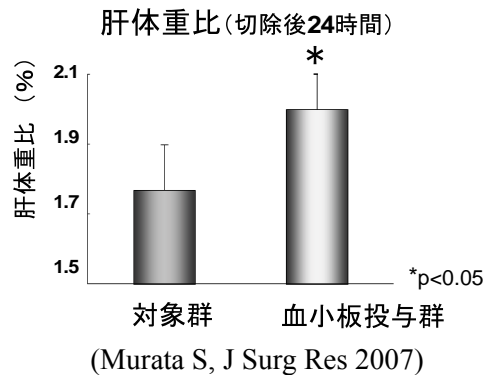
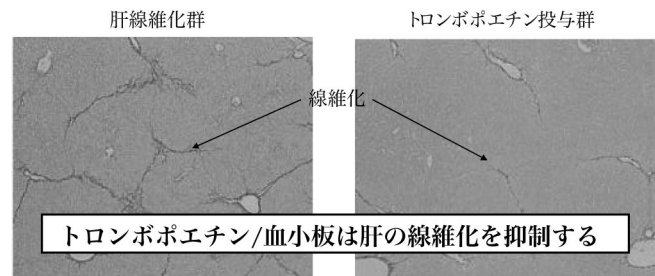
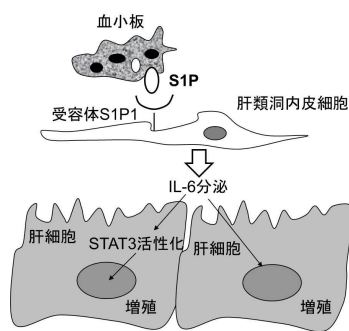


Figure 2 肝線維化モデルでの線維化抑制効果



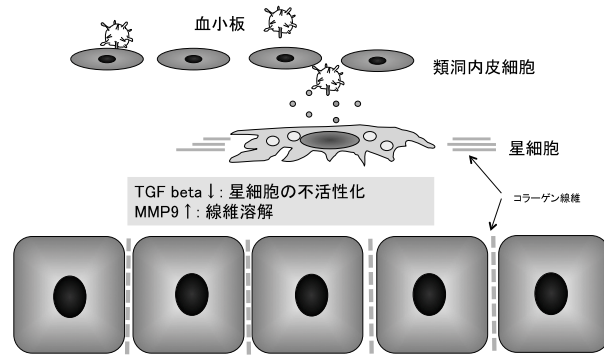
(Watanabe M, J Gastroenterol Hepatol 2009)

Figure 3 S1Pの肝再生メカニズム



(Kawasaki T, J Hepatol 2010)

Figure 4 血小板の肝線維化抑制メカニズム



(Ikeda N, Hepatol Res. 2012)

インスリン抵抗性を惹起することで、より臨床的な NASH モデルを作成し、さらに、我々がこれまでに確立してきた血小板による肝再生促進および肝線維化抑制メカニズムの手法を活用することで、NASH における病態の制御および解明が可能になると考えられ、最終的には臨床に応用可能な治療ツールの開発に至るとの着想に至った。

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとするのか

本研究ではメタボリックシンドロームの病態の基礎にあるインスリン抵抗性に着目し、高脂肪食(60kcal%fat)を 12 週間給餌し、その後 streptozotocin 50mg/kg を背部皮下投与、さらに脂肪肝作成のため LXR アゴニストである T0901317 を腹腔内投与することで臨床的な NASH モデルの作成を確立する。さらにこの NASH モデルに対し 70%肝切除を施し、NASH における肝再生障害のメカニズム解析および S1P 投与による肝再生促進効果の確認を行う。加えて、我々の研究結果から、肝線維化を抑制するトロンボポエチンおよびアデノシンを用いて、NASH モデルにおける肝線維化抑制効果を確認することで、臨床に応用可能な治療ツールの開発を行う。

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
独創性のポイント

我々は血小板に肝再生促進作用があることを世界に先駆けて報告した。血小板作用のメカニズム解析により、S1P による肝再生促進効果およびトロンボポエチンおよびアデノシンによる肝線維化抑制効果を確認した。臨床的な NASH モデルに対する S1P、トロンボポエチン、アデノシンの肝再生促進および肝線維化抑制効果を解析している報告は皆無で有り、これにより脂肪肝から NAFLD、NASH、肝癌へと進む病態の制御が可能になると考えられ、本邦に 2300 万人いると言われている metabolic syndrome の患者に対し朗報をもたらすことが出来ると思える。

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26年度の計画と平成27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。

本研究ではメタボリックシンドロームの病態の基礎にあるインスリン抵抗性に着目し、streptozotocin および LXR アゴニストを用いて臨床的な NASH モデルの作成を行う。この NASH モデルに対し 70% 肝切除を施し、NASH における肝再生障害のメカニズム解析を行い、さらに S1P 投与による NASH における肝再生促進効果の確認を行う。また、肝繊維化を抑制するトロンボポエチンおよびアデノシンを用いて、NASH における肝繊維化抑制効果を確認する。最終的には脂肪肝から NAFLD、NASH へと進む病態の制御を可能とし、臨床に応用可能な治療ツールの開発を行う。

[平成26年度]

非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)モデル作成と NASH モデルにおける肝再生障害メカニズムの解明および S1P 投与による肝再生促進効果の確認

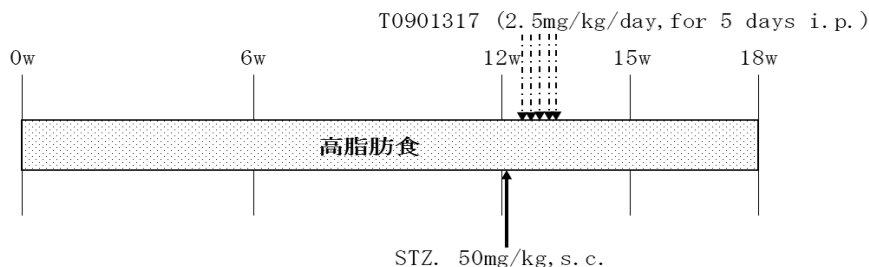
非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)モデル作成(担当：久倉・村田)

23-25g の雄性 C57BL/6 マウスに高脂肪食 (60kcal% fat) を 12 週間給餌する。その後 streptozotocin (50mg/kg) を皮下投与し 2 型糖尿病を誘発する。さらに脂肪肝作成のため Liver X receptors (LXR) に着目し、LXR アゴニストである T0901317 を肥満マウスに投与する。これにより、より臨床に近い NASH モデルの作成が可能となる。

NASH モデルより肝組織を採取し組織学的に脂肪肝の程度を定量化する。6 週および 12 週から 18 週に、組織・生化学的に脂肪肝・NASH の形成程度を評価し、臨床的で実験に適した程度のモデル作成を検討する。

検討項目

- ・ 組織学的検査：HE 染色、Masson trichrome 染色、Oilred 染色
- ・ 血清 ALT, Glu(富士ドライケム)
- ・ 血清・肝臓 MDA 測定(OxiSelect TBARS Assay kit:Cell Biolabs Inc. USA)
- ・ 肝臓 8-OHdG 測定(8-OHdG Check ELISA:日本老化制御研究所)
- ・ ヒアルロン酸測定(ELISA:三菱科学メディエンス)



NASH モデルにおける肝再生障害メカニズム解明および S1P 投与による肝再生促進効果の確認
我々はすでに、肝再生において S1P の LSEC 活性化が重要な役割を果たしていることを明らかに

研究計画・方法(つづき)

している (Kawasaki T, J Hepatol 2010)。これをもとに、NASH モデルにおいて 70%肝切除を施行し、残肝における再生シグナルの検討、具体的には肝再生における細胞増殖(Lak-Stat 系)、もしくは細胞成長(PIK-3/Akt 系)、タンパク合成(PDK1/p70 系)などの主要シグナルでどの部位での障害が起きているのかの検討を Western blot で行う。さらに術中に門脈より生理食塩水および S1P を投与し、control 群および S1P 投与群を設定する。そして、残肝再生促進効果およびシグナル伝達系、残肝機能を検討する。具体的には、肝体重比・Ki-67 index, PCNA index, 増殖系サイトカイン(TNF- α , IL-6, HGF 等)発現量を測定し、S1P の NASH モデルにおける肝再生促進効果の検討を行う。

【平成 27 年度】

NASH モデルにおけるトロンボポエチンおよびアデノシン投与による肝繊維化抑制効果の検討

トロンボポエチン投与による肝繊維化抑制効果の検討(担当：久倉・田村)

我々はすでにマウスおよびラット肝線維化モデルにおいて、血小板を増加させると肝線維化を抑制できることを報告した (Figure 2, Watanabe M, J Gastroenterol Hepatol 2009)。さらにトロンボポエチン投与によって、肝線維化の中心である星細胞の活性化をもたらす TGF-beta を著明に抑制し、線維を溶解する MMP9 がトロンボポエチンによって発現増強することを明らかにした (Figure 5, Watanabe M, J Gastroenterol Hepatol 2009)。また、In vitro の検討によって、血小板は活性化星細胞の指標である alpha SMA を抑制し、静止型星細胞の指標である GFAP を増加させることを明らかにした (Figure 6, Watanabe M, J Gastroenterol Hepatol 2009)。

Figure 5 TGF beta と MMP9

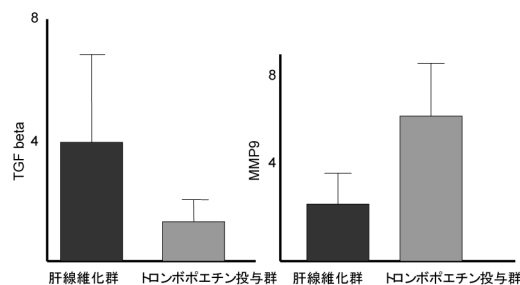
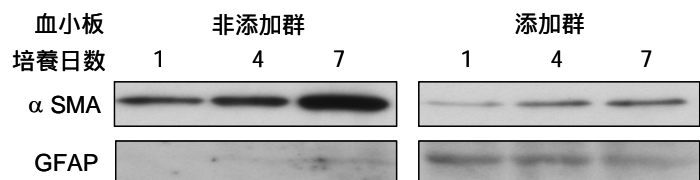


Figure 6 星細胞の活性化(α SMA), 静止型(GFAP)



以上の結果から、NASH モデルにトロンボポエチンを投与し、肝線維化抑制効果を検討する。本研究では肝シリウスレッド染色、肝組織ヒドロキシプロリンの定量と、肝星細胞を活性化するサイトカインである TGF- β 、線維を溶解する MMP-9、TIMP-1 の発現解析を行う。

アデノシン投与による肝繊維化抑制効果の検討 (担当：久倉・田村)

我々はすでに血小板による肝星細胞抑制メカニズム解析では血小板はアデニンヌクレオチドを介し肝星細胞の活性化を抑制し、 α 型コラーゲン産生を抑制することを明らかにした (Figure 4, Ikeda N, Hepatol Res. 2012)。そこで、NASH モデルに対し、アデノシン投与による肝繊維化抑制効果を、肝シリウスレッド染色で確認する。さらに肝星細胞活性化の指標となる α -SMA やアデノシン受容体から細胞増殖にいたるシグナル伝達系の PI3K/Akt 経路、ERK1/2 経路を中心に Western blot で行う。また、ACTA2、COL1A1、MMP-1、TIMP-1 の線維化関連遺伝子発現をリアルタイム PCR を用いて検討する。

・本研究を遂行する上での具体的な工夫

本研究のポイントは効率のよい NASH モデルの開発である。これまでの NASH モデルは歩留まりが悪く、本研究のモデルマウス作成は高率が良いことが予備実験では示唆される。また、代替案としては、遺伝的肥満マウス ob/ob マウスに streptozotocin および LXR アゴニスト投与するモデルも検討している。さらに申請者が所属する研究室には肝臓研究の専門家である大河内信弘教授が在籍しており、方針変更の場合でも時間のロスは少なく、技術的アドバイスを受け、議論を深めることができる。

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、主要なものを選定し、現在から順に発表年次を過去にさかのぼり、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。

発表論文名・著書名 等

(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 番目と記入)しても可。なお、研究代表者には下線を付してください。)

1. 宮崎貴寛, 田村孝史, 榎本剛史, 久倉勝治, 稲川智, 大河内信弘. 破裂危険のある内腸骨動脈瘤を合併した高度狭窄を伴うS状結腸癌の1例. 日本臨床外科学会雑誌. 74:750-755.2013. **(査読有)**
2. Tamura T, Inagawa S, Hisakura K, Enomoto T, Ohkohchi N. Evaluation of serum high-density lipoprotein cholesterol levels as a prognostic factor in gastric cancer patients. J Gastroenterol Hepatol. 27(10):1635-1640.2012. **(査読有)**
3. 久倉勝治, 寺島秀夫, 永井健太郎, 高野恵輔, 只野惣介, 榎本剛史, 稲川智, 橋本孝之, 櫻井英幸, 大河内信弘. 食道癌陽子線治療後の難治性食道潰瘍の特徴とその対応. 日本消化器外科学会雑誌.45:1145-1152.2012. **(査読有)**
4. 野渡剛之, 稲川智, 木村聡大, 久倉勝治, 寺島秀夫, 大河内信弘. 出血を繰り返した胃十二指腸アミロイドーシスの1切除例. 日本消化器外科学会雑誌.45:715-723.2012. **(査読有)**
5. 特許第 5098018 号 平成 24 年 10 月 5 日 「肝炎治療剤」 発明者 大河内信弘、村田聡一郎、久倉勝治.
6. Hisakura K, Murata S, Matsuo R, Paku S, Ikeda N, Kawasaki T, Kohno K, Myronovych A, Nakano Y, Ikeda O, Watanabe M, Ohkohchi N. Platelets Prevent Acute Hepatitis Induced by Anti-Fas Antibody. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 26(2);348-355.2011**(査読有)**
7. Saito T, Fujiwara SE, Hisakura K, Ohkohchi N, Akema T, Sasamori S, Konno K, Kobayashi E, Yamaguchi T. Telemetry system for recording neural activities in pigs-Comparison with cable system. Brain Res Bull. 84(1);103-9.2011**(査読有)**
8. Hisakura K, Murata S, Fukunaga K, Myronovych A, Tadano S, Kawasaki T, Kohno K, Ikeda O, Paku S, Ikeda N, Nakano Y, Matsuo R, Kohno K, Kobayashi E, Saito T, Yasue H, Ohkohchi N. Platelets Prevent Acute Liver Damage after Extended Hepatectomy in Pigs. Journal of hepato- biliary-pancreatic surgery. 17(6);855-864.2010. **(査読有)**
9. Kawasaki T, Murata S, Takahashi K, Nozaki R, Ohshiro Y, Ikeda N, Paku S, Myronovych A, Hisakura K, Fukunaga K, Oda T, Sasaki R, Ohkohchi N. Activation of human liver endothelial cell by human platelets induces hepatocyte proliferation. Journal of Hepatology. 53(4);648-654. 2010. **(査読有)**
10. Ikeda O, Ozaki M. Murata S, Matsuo R, Nakano Y, Watanabe M, Hisakura K, Myronovych A, Kawasaki T, Kohno K, Ohkohchi N. Autonomic regulation of liver regeneration after partial hepatectomy in mice. Journal of Surgical Research. 152(2);218-223.2009. **(査読有)**

研究業績(つづき)

11. Myronovych A, Murata S, Chiba M, Matsuo R, Ikeda O, Watanabe M, Hisakura K, Nakano Y, Kohno K, Kawasaki T, Hashimoto I, Shibasaki Y, Yasue H, Ohkohchi N. Role of platelets on liver regeneration after 90% hepatectomy in mice. Journal of Hepatology. 49(3);363-372.2008. (査読有)
12. Nakano Y, Kondo T, Matsuo R, Hashimoto I, Kawasaki T, Kohno K, Myronovych A, Tadano S, Hisakura K, Ikeda O, Watanabe M, Murata S, Ohkohchi N. Platelet dynamics in the early phase of post-ischemic liver in vivo. Journal of Surgical Research. 149(2);192-198.2008. (査読有)
13. Murata S, Matsuo R, Ikeda O, Myronovych A, Watanabe M, Hisakura K, Nakano Y, Hashimoto I, Ohkohchi N. Platelets promote liver regeneration under conditions of Kupffer cell depletion after hepatectomy in mice. World J Surg. 32(6);1088-96. 2008. (査読有)
14. Matsuo R, Ohkohchi N, Murata S, Ikeda O, Nakano Y, Watanabe M, Hisakura K, Myronovych A, Kubota T, Narimatsu H, Ozaki M. Platelets strongly induce hepatocyte proliferation with IGF-1 and HGF in vitro. Journal of Surgical Research. 145(2);279-286.2008. (査読有)
15. Kano J, Ishiyama T, Iijima T, Morishita Y, Murata S, Hisakura K, Ohkohchi N, Noguchi M. Differentially expressed genes in a porcine adult hepatic stem-like cell line and their expression in developing and regenerating liver. Lab Invest, 88,132-43,2008. (査読有)
16. 只野惣介, 寺島秀夫, 久倉勝治, 稲川智, 大河内信弘. 二次性アカラシアにより確定診断が遅延した食道癌の1例. 日本臨床外科学会雑誌. 69:2836-2841.2008. (査読有)
17. 高野恵輔, 寺島秀夫, 久倉勝治, 森下由紀雄, 佐々木亮孝, 大河内信弘. 食道癌に対する陽子線治療後のサルベージ手術 術野の供覧と手術の要点. 手術. 62:995-999.2008. (査読有)

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24年度又は平成25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。

該当無し

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

申請者らの研究室には、施設・設備・備品等について十分に整っている。

研究協力者の村田聡一郎、田村孝史とは現在まで毎週のリサーチカンファランスで研究手法、研究方法ならびに結果についてディスカッションを行い研究進行についての連絡を保っている。また申請者が所属する研究室には肝臓研究の専門家である大河内信弘教授が在籍しており、方針変更の場合でも時間のロスは少なく、技術的アドバイスを受け、議論を深めることができます。

研究成果については、国内外での学会発表(ポスター、講演)としては日本外科学会、日本消化器外科学会、および European Society for Surgical Research を予定している。また、Journal of Surgical Research ならびに Journal of Gastroenterology への論文投稿を行う。

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。

2011年 筑波大学 医学医療系 消化器外科 講師

2010年 筑波大学 人間総合科学研究科先端応用医学専攻 博士課程終了

2009年 筑波大学 臨床医学系 消化器外科 診療講師

2006年 筑波大学大学院人間総合科学研究科先端応用医学専攻 入学

急性肝疾患・肝切除後の肝障害に対する治療法の開発について研究し血小板が持っている創傷治癒効果が急性肝疾患・肝切除後肝障害にも効果をもつことを報告した。さらに血小板のさらなる創傷治癒効果の有無を肝疾患やその他の疾患で検討している。今後の大動物の医療への利用を期待しており、ヒトへの研究の応用のためにどのように利用できるのかを検討している。

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あたって、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き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きが必要となる調査・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。

本研究で行う、肝細胞を用いる臨床研究はすでに筑波大学内の倫理委員会において許可を得ている。臨床研究に関する倫理指針（平成15年度厚生労働省告示255号）や、筑波大学におけるヒトを対象とする研究の倫理に関する規則（平成18年4月施行）を遵守する。

実験動物は動物愛護上の配慮を行い、実験動物を可及的に少なくし、可能な限り苦痛を与えないように実験を行う。その際には、筑波大学生命資源動物実験センターの倫理規定を遵守する。

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。

本実験で用いる設備、備品はすべて揃っている。また、動物実験を施行する必要があるため、その購入費用、飼育管理費用も計上している。また細胞培養などの消耗品も必要であるため、今回の研究経費は妥当と考える。

若手(B) - 9
(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
26			実験用動物	800
			試料	150
			試薬	1,000
			プラスチック製品	500
	計	0	計	2450
27			実験用動物	600
			試料	100
			試薬	1,000
			プラスチック製品	300
	計	0	計	2000

若手(B) - 10

(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
26	研究調査費 大阪 3日間 福岡 3日間 宮崎 3日間	150					研究成果投稿料	100
	計	150	計	0	計	0	計	100
27	成果発表 福岡 3日間 京都 3日間 神戸 2日間	200					研究成果投稿料	100
	計	200	計	0	計	0	計	100

研究費の応募・受入等の状況・エフォート

本欄は、第2段階審査(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26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) (H26~H27)	S1P, アデノシン, トロンボポエチンを用いたNASHの線 維化抑制治療の開発	代表	2,700 (5,000)	15	(総額 5,000千円)

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26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)
(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。〕				85	
合計 (上記(1)、(2)、(3)のエフォートの合計)				100 (%)	