

帰国後 2 週間以内に提出してください (厳守) A4 用紙 4 枚以内 下記項目は変更しないでください。

海外インターンシップ報告書

2023 年 10 月 2 日提出

氏名	加藤千博
所属	北海道大学 大学院獣医学院 放射線学教室
学年	博士課程 3 年
活動先名	ダートマス大学、ハーバード大学 アメリカ合衆国
期間	
① (出発日—帰札日)	① 2023 年 9 月 7 日-9 月 24 日
② (インターンシップ 実施開始日—終了日)	② 2023 年 9 月 8 日-9 月 22 日

・活動目的

1. ダートマス大学では電子常磁性共鳴分光法(EPR)を用いた組織内酸素分圧の評価に用いるプローブの作製法や測定法について学ぶ。
2. ハーバード大学では様々な研究者と交流し、研究に関する意見交換やアメリカでポスドクとして働くために必要なことを学ぶ。

・インターンシップ先を選択した理由

申請者は EPR を用いた腫瘍の酸化還元イメージングを行っている。EPR は臨床応用が難しい技術であるが、ダートマス大学医学部の Periannan Kuppusamy 教授の研究室では、臨床用 EPR 装置を用いた組織内酸素分圧の評価法を開発している。これは組織に埋め込まれた酸素感知磁気チップであるオキシチップによって、組織内酸素分圧の絶対値を測定することが可能な唯一の手法であり、非侵襲的に繰り返し測定でき、臨床研究も行われている。EPR を用いた生体測定を行っている研究施設は世界でも少なく、実際に EPR を用いてヒト臨床試験まで行っている施設はほとんどない。ダートマス大学はそのような意味で最先端の研究を行っており、EPR イメージングの臨床応用という自身の研究の最終目標に近い研究であるため、本活動先を選択した。ダートマス大学ではヒト臨床に利用するオキシチップの作製方法や、オキシチップに金粒子を取り込ませ、CT で検出可能にするための方法について学ぶ。

また、申請者は 8 月の WISE/LP セミナーにハーバード大学医学部の嶋田健一博士を招聘した。そこでインターンシップの最終日に経由地であるボストンに滞在し、嶋田博士の研究室を含めた複数の研究室見学や様々な研究者と交流することで、研究に関する意見交換やポスドクとして働く可能性について話し合う。この活動により、現在の自身の研究についてさらに理解を深め、アメリカでのポスドクを含めた将来のキャリアパスについて考える。

・活動内容・成果

【オキシチップの作製】

以下ダートマス大学での実験は Kuppusamy 研究室の Maciej Kmiec 博士にご指導いただいた。オキシチップは酸素分圧によって EPR 信号の線幅が変化する LiNc-BuO プローブと、シリコーンの一種であるポリジメチルシロキサン (PDMS) を混合したもので作製される。PDMS に LiNc-BuO を 40%の割合で混合する (今回は量の都合により 18%になった)。Platinum Accelerator を 1 滴混合することでより早く固まる。吸引しながら 21 G のチューブに取り込み、80°C で 1 時間静置することで完成する (Fig. 1)。EPR 装置を用いて、完成したオキシチップの EPR 信号の線幅と酸素分圧との検量線を作成した (Fig. 2)。



Fig. 1 オキシチップ

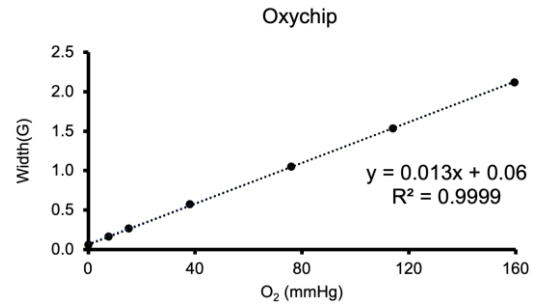


Fig. 2 オキシチップの検量線

オキシチップの組織への埋め込みは、21G のシリンジの先に 3mm 程度のオキシチップを置き、26G ほどの針で押し出すことで行われる。今回のインターンシップでは犬にオキシチップを埋め込む予定であったが、残念ながら予定が変更になったため見学できなかった。すでにヒト臨床試験によって安全性と測定の確認が行われている。

【PDMS と金粒子の最適な混合濃度、反応温度、反応時間の検討】

オキシチップは放射線を透過するため、生体に埋め込んだ後、CT によってその位置を特定することが難しいという問題があった。そこで、Kuppusamy 研究室ではオキシチップと金粒子を混合する手法を開発した。しかし、その混合において最適な条件はまだ明らかになっていない。したがって、今回 5mm の PDMS と塩化金(III)三水和物を混合し、CT で最も検出感度が高くなる条件を検討した。金粒子濃度：10%、20%、40%、反応温度：30°C、40°C、RT、反応時間：4h、8h、12h、24h、48h、72h。塩化金(III)三

温度	RT	30°C	40°C
金粒子濃度 (%)	10,20,40	10,20,40	10,20,40

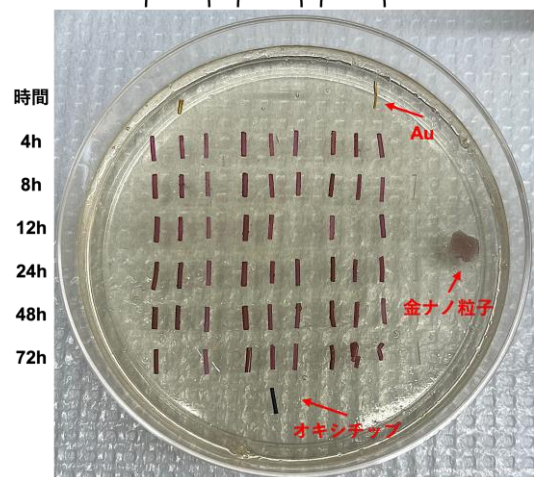


Fig. 3 PDMS+金粒子の条件検討

水和物はエタノールに溶かした。PDMS と塩化金(III)三水和物の反応後、エタノール洗浄を行うことで金粒子が PDMS 内に取り込まれる。エチレングリコールとゼラチンを混合したヒト組織モデルを作製し、その上にそれぞれの条件で反応させた PDMS を並べ、CT スキャンを行った (Fig. 3)。結果は残念ながらどの条件でも大きな変化

がなかった。今回は金粒子に塩化金(Ⅲ)三水和物を用いたが、市販の金ナノ粒子(液体)を遠心分離しPDMSと混合した物質(右端)が最もCTにおける検出感度が高かった。

【EPR装置の見学】

Kuppusamy 研究室では EPR をヒト臨床に応用していた。オキシチップはウサギの胴体やヒトの腕や足が入る程度の大きさの装置を用いて測定している (Fig. 4、左)。測定画面では1本のシグナルが観測され、酸素分圧に応じて広がってゆくこのシグナルをもとに組織の酸素分圧が求められる (Fig. 4、右)。また、ダートマス大学では歯の放射線誘起ラジカルを測定し、ヒトの放射線被曝の程度を測定する装置 (Fig. 5) を新旧3台所持しているが、現在は稼働していないとのことだった。

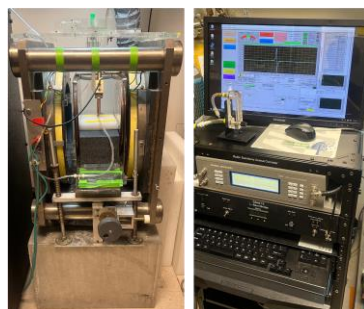


Fig. 4 オキシチップ用 EPR 装置

【ハーバード大学周辺の研究室見学や研究者との交流】

ハーバード大学医科大学院の嶋田健一博士とは申請者の研究内容や発表の仕方、アメリカでポスドクをするために必要なこと、意義について議論した。また、ハーバード大学公衆衛生大学院の Kristopher Sarosiek 博士とブロード研究所の Peter Tsvetkov 博士を紹介していただいた。



Fig. 5

臨床用 EPR 装置

Kristopher Sarosiek 博士とはアポトーシスやフェルトーシスなどの細胞死について自身の研究を含めて議論した。また、ポスドクに求めることや、フェローシップなど細かい条件も知ることができた。フェローシップを獲得すれば受け入れ可能とのことであった。

Peter Tsvetkov 博士とは銅特異的な細胞死であるキュプトーシスについて自身の研究を含めて議論した。

マサチューセッツ総合病院の Miles Miller 博士とは博士のラボメンバーの前で EPR イメージングについて発表し、議論した。また、ポスドクの条件についても話し合った。さらに、ラボの実験設備を見学し規模の大きさに驚愕した。

・今後のキャリアパスを考える上でどのようにプラスになったか

EPR を用いた組織の酸素分圧測定やプローブの作製方法を学ぶことができたため、今後の自身の研究に組み入れることが可能となったと考えている。一方で EPR の進歩の限界を感じた。測定機械やプローブなど、生物学者以外の専門の研究者による技術革新が必要であることが分かった。今後の研究分野として EPR を中心にするかどうかは熟慮する必要があると感じた。

全体を通して、外国人研究者との英語でのコミュニケーションに課題を感じた。今後さらにリスニング力とスピーキング力を高めていく必要がある。申請者は卒業後の進路として海外でのポスドクを考えていたため、ダートマス大学での実験やハーバード大学等での PI とのミーティングによって今後の方向性がより具体的なものとなった。

・ 後輩へのアドバイス

海外インターンでは滞在先や航空便、相手とのスケジュールリングなど多くの事前準備が必要です。私は初めてのアメリカ渡航ということもあり、不安が大きかったためかなり細かく準備をしましたが、予定が変わることが多くありました。なかなか海外に渡航することがない人にとっては貴重な機会ですので、いつもよりもテンションを2段階上げて生活することをお勧めします。インターネットがつながれば不測の事態も対処できると思うので、スマホが古くなければ eSIM をお勧めします。また、現在は円安と物価高で生活や宿泊費にかなりお金がかかります。日本から税関にかからない食料を持って行った方が良いかもしれません。お金と時間に余裕があれば観光をすることもお勧めします。せっかくの機会ですので失敗を恐れず楽しんでください。

指導教員確認欄	指導教員所属・職・氏名 放射線学教室・教授・稲波修
---------	------------------------------

- ※1 電子媒体を国際連携推進室・卓越大学院プログラム担当に提出して下さい。
- ※2 インターンシップ先の担当者が活動内容を証明した文書（署名入り）を提出して下さい。
- ※3 本報告書は卓越大学院プログラムキャリアパス支援委員会で内容を確認します。その後、教務委員会で単位認定を受けることとなります。

提出先：VETLOG