

## 寄附講座「システム血栓制御学講座」における成果報告書

### 1 部局名

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科

### 2 寄附講座等の名称

システム血栓制御学講座

### 3 設置期間

平成27年4月1日～令和5年3月31日

### 4 寄附者

薬糧開発株式会社  
株式会社ドクターズチョイス  
株式会社シノテスト  
藤森工業株式会社  
株式会社メディカ  
株式会社バイオメディカルインターフェース  
旭化成ファーマ株式会社

### 5 寄附金額

計 26,100万円（平成27年～令和4年）

### 6 担当教員名及び職名

丸山 征郎	特任教授	： 平成27年4月1日～令和5年3月31日
原田 陽一郎	特任准教授	： 平成27年4月1日～平成31年3月31日
	客員准教授	： 平成31年4月1日～令和2年3月31日
伊藤 隆史	特任准教授	： 平成27年4月1日～令和3年8月31日
	客員教授	： 令和3年9月1日～令和5年3月31日
ススタ ビニタ	特任助教	： 平成28年5月1日～平成30年8月31日
大塚 章太郎	特任助教	： 平成31年6月1日～令和5年3月31日
高田 聖也	特任助教	： 令和2年4月1日～令和5年3月31日
川原 幸一	客員教授	： 平成27年4月1日～令和5年3月31日
高井 義美	客員教授	： 平成27年4月1日～令和2年3月31日
太田 哲生	客員教授	： 平成27年4月1日～令和2年3月31日
水野 晋一	客員教授	： 平成27年4月1日～令和2年3月31日
堀 貫治	客員教授	： 平成27年4月1日～令和2年3月31日
細川 和也	客員准教授	： 平成27年4月1日～令和5年3月31日
菊池 清志	客員准教授	： 平成27年4月1日～令和5年3月31日

## 7 研究課題および成果

### **(1) トロンボモジュリン製剤の抗凝固・抗炎症メカニズムの解明**

トロンボモジュリン製剤はトロンビンによるプロテイン C の活性化を促進して抗凝固作用を発揮し、播種性血管内凝固 (DIC) 治療薬として臨床で広く用いられている。我々は敗血症性 DIC 患者の血漿中の活性化プロテイン C 濃度や活性化 TAFI 濃度が、トロンボモジュリン製剤の効果の指標になりうるかどうかを検討した (研究業績⑳、㉑)。また、凝固関連マーカーの動態についても解析を進めた (研究業績㉒)。さらに、新規作用機序として、HMGB1 分解促進、NETs 放出抑制、活性酸素種産生抑制といった効果を明らかにした (研究業績㉓、㉔、㉕)。敗血症性 DIC の病態とトロンボモジュリン製剤の効能に対する洞察を深めるため、これまでの知見を総説として報告した (研究業績㉖、㉗)。

### **(2) DAMPsの測定系の確立と臨床的有用性の検討**

核内タンパク質ヒストンが細胞外に放出されると、周囲の細胞に対して傷害性を示すようになる。細胞外ヒストンの作用を中和すると、致死性敗血症モデル動物の生存率を改善できることから、細胞外ヒストンは治療標的になりうるるとともに、病態把握のための検査対象にもなりうることを示唆された。我々は株式会社シノテストと共同でヒストン H3 の血清/血漿中の濃度を測定するための ELISA 系を立ち上げ、その基礎的検討ならびに動物モデルでの評価を行った (研究業績㉘)。また、この測定系の臨床的有用性を明らかにした (研究業績㉙、㉚)。さらに、血漿中のヒストンは血管内皮細胞に対して傷害性を示すと考えられ、敗血症病態において、血管内皮細胞傷害の指標としてシンデカン-1 を測定することの臨床的意義についても明らかにした (研究業績㉛)。

### **(3) 血流下血栓形成能解析システムを用いた総合的、定量的、視覚的血栓形成能の解析**

血管が損傷して出血している状況においては、十分な血栓形成能が備わっていなければ止血できずに生命が脅かされてしまう。一方、血管内においては、血栓ができやすいことは血流を滞らせて生命を脅かすことにつながる。適切な血栓形成能が備わっているかどうかを評価することは重要な課題だが、これまで、血栓形成能を総合的かつ定量的に評価でき、さらに視覚的にも理解しやすい検査方法はなかった。我々は藤森工業株式会社による血流下血栓形成能解析システム (T-TAS<sup>®</sup>) の開発をサポートするとともに、健常人や患者の血液検体を用いた T-TAS の有用性評価を実施した。健常人 122 人を対象とした研究にて、基準範囲を設定するとともに、血栓形成能に影響する因子を同定することができた (研究業績㉜)。内分泌疾患患者を対象とした研究では、低血糖が血栓形成能を亢進させることが明らかになり、それにはカテコラミンの上昇が関与している可能性が示唆された (研究業績㉝)。また、血小板減少患者を対象とした研究では、T-TAS が血小板輸血の判断材料になりうる可能性が示唆された (研究業績㉞)。

#### **(4) がんEVの解析**

細胞外小胞 (extracellular vesicles, EV) は核酸やタンパク質に富んだナノメートルサイズの小胞で、様々な生理現象や疾患の進展において重要な役割を果たすことが知られている。がん細胞から分泌されるEV (がんEV) はがんの増殖や転移に寄与することから、がんの検査や治療の標的として注目されている。しかし、正常な細胞もEVを分泌するため、EVをがんの検査・治療に応用するには、がんEVに特異的な捕捉技術や生合成の制御法の開発が必要である。

臨床で広く使用されているがんマーカーの多くは糖鎖で修飾された糖タンパク質や糖脂質である。また、糖鎖は糖タンパク質の生合成の制御も担っていることから、がんEVに含まれる糖鎖の構造と機能を解明することで、がんEV特異的な捕捉技術・制御法の開発への道が開かれると期待される。本研究では、がんの新たな検査法の開発および治療標的の同定を目指し、糖鎖生物学の観点からがんEVの①性状および②生合成機構の解析を行なった。

##### **① EVの性状解析 (J Biol Chem 1報、FEBS Lett 1報Anal Biochem 1報)**

細胞内でEVが形成される際、その細胞の特徴を反映するタンパク質がEVに濃縮されることが知られている。しかし、EVに含まれる糖鎖の性状に関する研究はほとんどなされていない。一方、我々はがんEVに特徴的な高マンノース型糖鎖を同定した。高マンノース型糖鎖は正常細胞に比べてがん細胞でより高発現していることから、がん細胞の特徴を反映していると言える。さらに、高マンノース型糖鎖に高い特異性と親和性を持つ藻類レクチン (OAAレクチン) を樹脂に固相化することで、培養上清中に含まれるがんEVの捕捉を可能にした。OAAレクチン樹脂は様々ながん細胞由来のEVを捕捉できるのに対し、正常細胞由来のEVはほとんど捕捉しない。この研究成果はがんEV特異的な捕捉技術の開発に資するもので、がんの新たな検査法開発への発展が期待される (研究業績⑧)。

がんの転移は予後不良の原因の1つであるが、転移の予測は困難である。我々は、がんEVに含まれる糖鎖が転移を予測するマーカーになるのではないかと考え、転移能が異なる3種類のマウスメラノーマ B16 亜株 (F1, F10 および BL6) から分泌されたがんEVの糖鎖の構造と量を比較した。予想に反し、がんEVの糖鎖と分泌細胞の転移能との間には明確な関連性がないことが判明したが、がん細胞の糖鎖プロファイルがそっくりそのままEVに継承されることを発見した。以上の研究成果により、がんEVの糖鎖が分泌細胞の特徴を反映するという新概念を提唱するに至った (研究業績⑨)。

この新概念の実証を目的に、我々は組織型が異なる肺がん細胞由来のEVに含まれる糖鎖を詳細に比較解析した。肺がんは神経内分泌様の特徴を持つ小細胞肺がん、上皮の特徴を持つ非小細胞肺がんに大別される。我々は、小細胞肺がん細胞由来のEVには中枢神経に特徴的な糖鎖が含まれること、さらに非小細胞肺がん細胞由来のEVには肺上皮に特徴的な糖鎖が含まれることを発見した (研究業績⑩)。この研究成果は、EVを目印とした肺がんの検査法の開発や肺がん治療薬の選択、新規治療法の開発などに資すると期待される。

##### **② EVの生合成機構の解析 (Cell Rep 1報、BBA Gen Subj 1報)**

EVの種類や含まれる物質は分泌する細胞によって多種多様であり、このEVの不均一性が生合成機構の解析を困難にしている。我々はがんEVの生合成機構の解明に先立ち、マウスメラノーマ B16-F10 細胞をモデルとしてがんEVの不均一性の解析を行なった。EVは細胞膜

が出芽して分泌されるマイクロベシクルと、細胞内のエンドソームで形成されて細胞外に分泌されるエクソソームに大別される。我々は、B16-F10 由来の EV (F10-EV) にはエクソソームに加え、由来が不明な EV (non-exosomal vesicles, non-exo) が含まれることを発見した。さらに、この2種類の EV の生合成には endosomal sorting complexes required for transport (ESCRT) タンパク質複合体が関与することを明らかにした(研究業績⑩)。

次に、F10-EV の生合成を変化させる薬剤を探索した結果、解糖系の阻害剤としてよく知られる 2-デオキシグルコース (2-DG) が non-exo の生合成を特異的に抑制することを発見した。その原因は解糖系の阻害ではなく、2-DG が細胞内で代謝されてできた代謝産物 (GDP-2-DG) による糖鎖の分解誘導であることを証明した。Non-exo にはがんの前転移ニッチの形成に関わる Met タンパク質が濃縮されており、がんの治療標的として期待される。また、がん細胞は正常細胞に比べて活発にグルコースを取り込む性質を持つことから、グルコースアナログである 2-DG は、non-exo を標的としたがんの転移抑制剤のリード化合物として期待される。本研究は、米国糖鎖生物学会の poster short talk に招待されるとともに、南日本新聞(鹿児島)および NHK 関西ニュース(大阪)でも取り上げられ、国内外で大きな注目を集めた(研究業績⑬)。

#### **(5) 1,5-アンヒドロ-D-フルクトース(1,5-AF)の機能解析**

1,5-AF は、デンプンやグリコーゲンの分解によって生成される生理活性単糖類である。ラット肝臓などの哺乳類組織に存在し、生体内で 1,5-anhydro-D-glucitol に代謝される。1,5-AF は、抗酸化作用、抗炎症作用、抗菌作用、抗糖尿病作用、抗がん作用など、幅広い生理活性を有しており、当講座では、各種機能解析を行ってきた。

##### **① 1,5-AF が腸内細菌叢に及ぼす影響についての検討**

1,5-AF がマウスの腸内細菌叢に及ぼす影響を網羅的に解析したところ、1,5-AF を含む餌を摂取させると、酪酸産生菌の一種である *Faecalibacterium prausnitzii* の割合が増え、ビフィズス菌の一種である *Bifidobacterium pseudolongum* の割合も増えることが明らかになった(研究業績⑮)。また、1,5-AF の摂取によってマウスの腸内でどのような遺伝子群が増えているかを解析したところ、アスパラギン酸からニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)を作り出すための酵素をコードする遺伝子が増加していた。今後は、病態モデルマウスを用いて、1,5-AF が病態改善に寄与するかどうかを検討していく予定である。

##### **② 1,5-AF の生理学的活性に関する検討；神経保護効果に着目して**

我々は、パーキンソニズムを引き起こすミトコンドリア毒素ロテノンからミトコンドリアを保護することによって、この 1,5-AF が細胞保護効果を発揮できるかを検討した。実験方法としては、PC12 ニューロン様細胞にロテノンと 1,5-AF を同時に投与し、1,5-AF が神経毒から PC12 細胞を保護できるか評価した。1,5-AF は、本実験の細胞株の範囲でロテノン誘発細胞毒性を抑制した。1,5-AF のこれらの細胞保護効果は、ミトコンドリアの生合成に関与している可能性が高く、転写コアクチベーターPGC-1 $\alpha$ に依存していることを明らかにした(研究業績⑰)。

## (6) 漢方薬である人參養榮湯による身体的フレイル抑制効果と薬理学的作用の検討

75歳以上の高齢者における要介護の主な原因は、老衰、虚弱（フレイル）である。したがって、健康寿命を延伸し、要介護状態である期間をいかに減らすかが、日本において重要な課題である。

身体的虚弱は、サルコペニア患者に発生し酸化ストレスの増加によって加速され、体重、可動性、活動性、及び歩行速度の低下を伴う老化関連の臨床症候群である。人參養榮湯（NYT）は日本の伝統的な漢方薬で、貧血や衰弱などの症状の治療に使用されている。ここでは、老化促進マウス プロン 8 (SAMP8) モデルにおいて、人參養榮湯が酸化ストレスを制御することで身体的虚弱を改善できるかどうかを調べた。まず、SAMP8 マウスに人參養榮湯を投与した群（P8NYT）と未投与の群（P8Cont）に分け、前者は生後 3 ヶ月から 3%の人參養榮湯を含む飼料を摂取させた。生後 7 か月で、体重、運動機能、自発運動量、及び平均歩行速度を測定した後マウスを安楽死させ、筋肉重量を測定した。筋肉および脳における 8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン（8-OHdG）レベル、および脳における切断されたカスパーゼ-3（cleaved caspase-3）発現を評価した。本実験の対象群として正常老化である SAMR1 群（R1）を使用した。

その結果、無治療群では体重（図 1a）、Rotarod 試験（図 1b）、活動量（図 1c）、平均歩行速度（図 1d）の低下が見られ、これらは人參養榮湯によって有意に改善された（図 1a-d）。

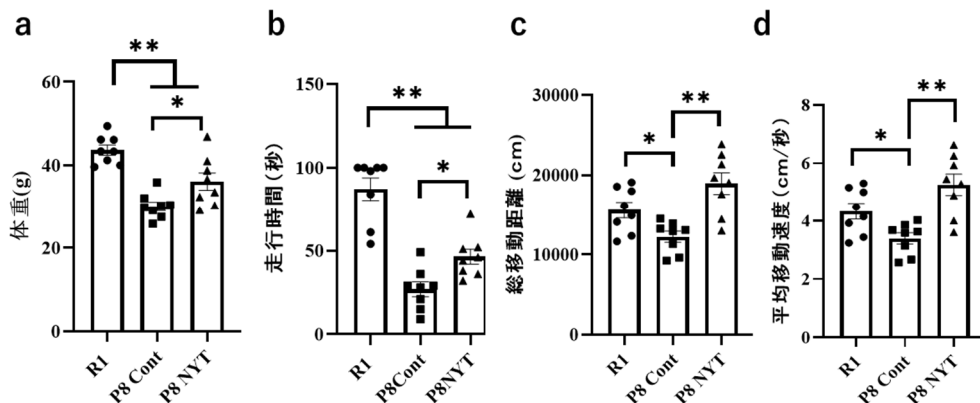


図1 SAMP8マウスの老化に伴う体重減少、運動機能障害、行動低下に対するNYTの効果  
平均値±標準誤差 (S.E.) \* p < 0.05, \*\* p < 0.01.

骨格筋量に関しては、R1 に比べて P8 マウスでは、速筋線維で構成されている足底筋で有意な減少が見られた（図 2a）。骨格筋量は、人參養榮湯を投与しても変化しなかったが（図 2 a）、筋断面積の減少を抑制した（図 2b）。

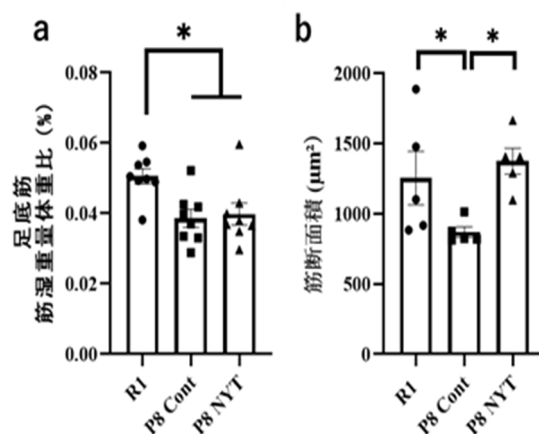


図2 老化したSAMP8の足底筋に対するNYTの効果

平均値±標準誤差 (S.E.) \* p < 0.05, \*\* p < 0.01.

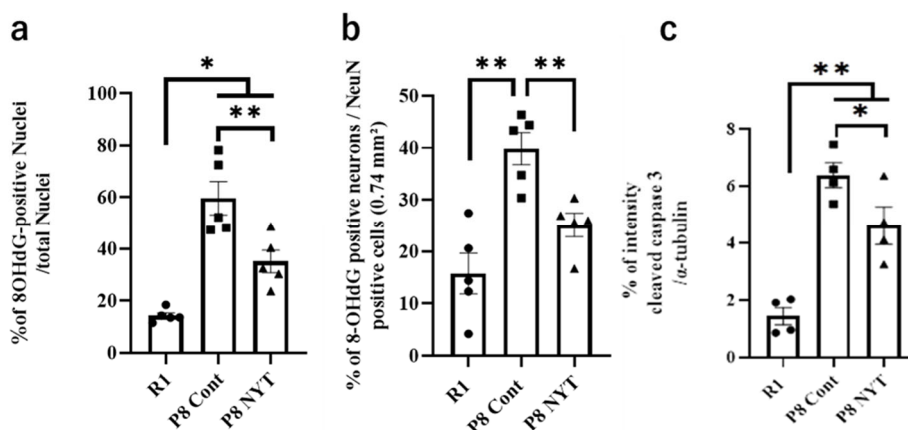


図3 NYTの酸化ストレス減少効果と脳内におけるアポトーシス抑制効果について

平均値±標準誤差 (S.E.) \* p < 0.05, \*\* p < 0.01.

8-OHdGは、未投与群のレベルと比較して、人参養栄湯で処理されたマウスの筋肉と脳で減少した(図 3a, b)。Cleaved caspase-3 の発現は、処理されたマウスの脳でも同様に減少しており、アポトーシスの減少を示した(図 3c)。

我々の調査結果は、人参養栄湯がその抗酸化作用によってサルコペニアに基づく身体的虚弱を抑制することを示し、国際誌に掲載された(研究業績③)。

#### (7) 膝術後の関節線維症に対する新規癒着防止膜 E8002 の効果検証

関節線維症は、疼痛、関節可動域の低下、熱感、腫脹、線維性癒着の発生を特徴とする疾患である。膝関節に過剰な癒着組織が形成されると、関節可動域制限、組織の拘縮、痛みの増

大、立ち上がり、歩行、階段昇降などの日常生活動作の障害につながる。したがって、膝関節の線維化は、世界中の整形外科やリハビリテーション科にとって深刻な課題である。これまで関節線維症治療のために複数の化合物が提案されてきたが、いまだ製品化に至っておらず、関節線維症を防止する手段は確立されていない。

癒着防止膜 E8002 は 3 層の癒着防止剤である。中心層はプルラン、表層は L-ラクチド、グリコリド、 $\epsilon$ -カプロラクトン共重合体で構成されている。さらに、中心層と表層の両方に L-アスコルビン酸が含まれている。E8002 は、ゆっくりと溶解する一時的な物理的バリアとして作用して組織間癒着の形成を防ぎ、L-アスコルビン酸は組織プラスミノゲン活性化因子媒介線維素溶解作用を介して線維性瘢痕形成を阻害する。

膝関節術後の関節線維症に対する E8002 の効果を調べるために、ラット膝関節損傷モデルを作成し、関節可動域の推移、線維性瘢痕の形成と線維芽細胞および筋線維芽細胞の数を評価した。E8002 の使用は関節可動域の制限を緩和し(図 1)、線維性瘢痕を縮小した(図 2)。また、線維性瘢痕内の線維芽細胞(図 3)及び筋線維芽細胞の数(図 4)は減少した。したがって、E8002 は膝関節術後の関節線維症を軽減する可能性がある(研究業績③⑤)。

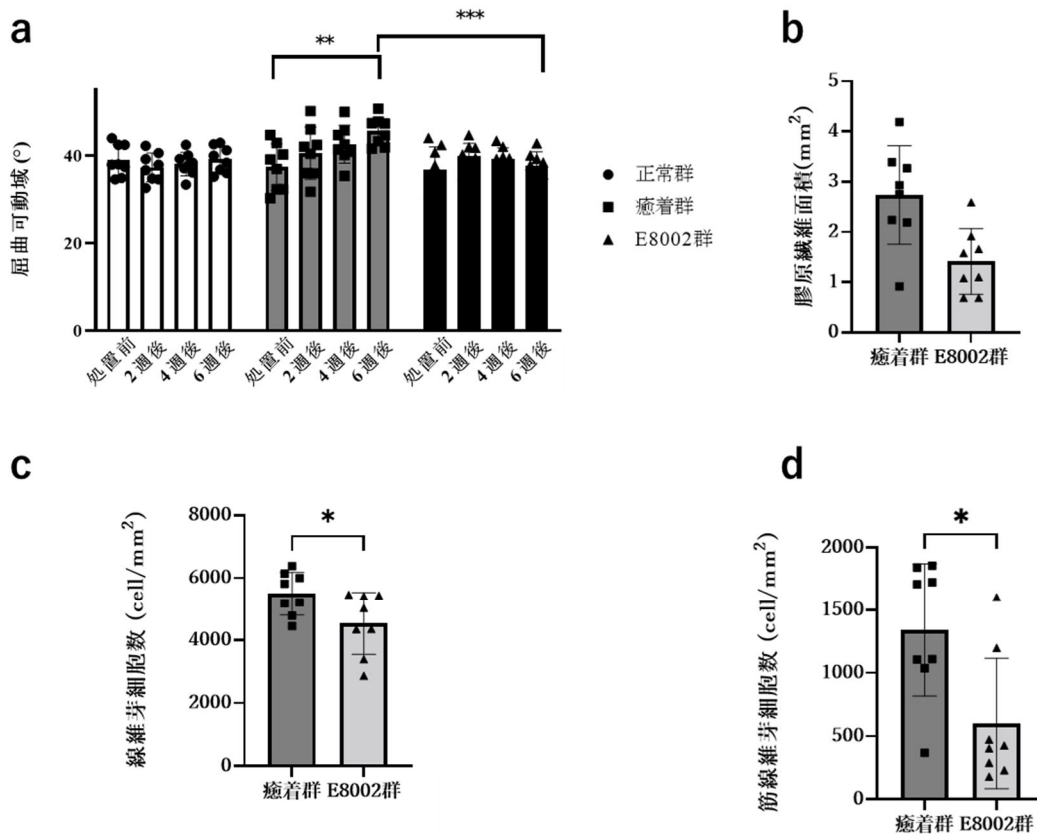


図4 膝関節術後の関節線維症に対するE8002の効果

平均値±標準誤差 (S. E.) \* p < 0.05, \*\* p < 0.01.

## 7 研究業績

- ① Ito T, Kakihana Y, Maruyama I.  
Thrombomodulin as an intravascular safeguard against inflammatory and thrombotic diseases. *Expert Opin Ther Targets*;20(2):151–8, 2016
- ② Iba T, Ito I, Maruyama I, Jilma B, Brenner T, Müller MC, Juffermans NP, Thachil J.  
Potential diagnostic markers for disseminated intravascular coagulation of sepsis. *Blood Rev.*;30(2):149–55, 2016
- ③ Liaw PC, Ito I, Iba T, Thachil J, Zeerleder S.  
DAMP and DIC: The role of extracellular DNA and DNA-binding proteins in the pathogenesis of DIC. *Blood Rev.*;30(4):257–61, 2016
- ④ Ito T, Nakahara M, Masuda Y, Ono S, Yamada S, Ishikura H, Imaizumi H, Kamikokuryo C, Kakihana Y, Maruyama I.  
Circulating histone H3 levels are increased in septic mice in a neutrophil-dependent manner: preclinical evaluation of a novel sandwich ELISA for histone H3. *J Intensive Care.*;6:79, 2018
- ⑤ Arishima T, Ito T, Yasuda T, Yashima N, Furubeppu H, Kamikokuryo C, Futatsuki T, Madokoro Y, Miyamoto S, Eguchi T, Haraura H, Maruyama I, Kakihana Y.  
Circulating activated protein C levels are not increased in septic patients treated with recombinant human soluble thrombomodulin. *Thromb J.*;16:24, 2018
- ⑥ 原田陽一郎、丸山征郎  
“集中治療学分野におけるエクソソーム：基礎研究とその臨床応用の可能性”  
*ICUとCCU* ;42:3–8, 2018.
- ⑦ Yokoyama Y, Ito T, Yasuda T, Furubeppu H, Kamikokuryo C, Yamada S, Maruyama I, Kakihana Y.  
Circulating histone H3 levels in septic patients are associated with coagulopathy, multiple organ failure, and death: a single-center observational study. *Thromb J.*;17:1, 2019
- ⑧ Yamamoto, M., Harada, Y., Suzuki, T., Fukushige, T., Yamakuchi, M., Kanekura, T., Dohmae, N., Hori, K., and Maruyama, I.  
Application of high-mannose-type glycan-specific lectin from *Oscillatoria Agardhii* for affinity isolation of tumor-derived extracellular vesicles. *Anal Biochem.*;580:21–29, 2019
- ⑨ Harada, Y., Kizuka, Y., Tokoro, Y., Kondo, K., Yagi, H., Kato, K., Inoue, H., Taniguchi, N., and Maruyama, I.  
N-glycome inheritance from cells to extracellular vesicles in B16 melanomas. *FEBS Lett* ;593:942–951, 2019
- ⑩ Harada, Y., Suzuki, T., Fukushige, T., Kizuka, Y., Yagi, H., Yamamoto, M., Kondo, K., Inoue, H., Kato, K., Taniguchi, N., Kanekura, T., Dohmae, N., and Maruyama, I.  
Generation of the heterogeneity of extracellular vesicles by membrane organization and sorting machineries. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.*;1863:681–691, 2019



- ⑪ Ito T, Thachil J, Asakura H, Levy JH, Iba T.  
Thrombomodulin in disseminated intravascular coagulation and other critical conditions—a multi-faceted anticoagulant protein with therapeutic potential.  
*Crit Care.* ;23(1):280, 2019
- ⑫ Yamamoto K, Ito T, Nagasato T, Shinnakasu A, Kurano M, Arimura A, Arimura H, Hashiguchi H, Deguchi T, Maruyama I, Nishio Y.  
Effects of glycemic control and hypoglycemia on Thrombus formation assessed using automated microchip flow chamber system: an exploratory observational study.  
*Thromb J.* ;17:17, 2019
- ⑬ Shrestha B, Ito T, Kakuuchi M, Totoki T, Nagasato T, Yamamoto M, Maruyama I.  
Recombinant Thrombomodulin Suppresses Histone-Induced Neutrophil Extracellular Trap Formation. *Front Immunol.* ;10:2535, 2019
- ⑭ Ito T, Totoki T, Yokoyama Y, Yasuda T, Furubeppu H, Yamada S, Maruyama I, Kakihana Y.  
Serum histone H3 levels and platelet counts are potential markers for coagulopathy with high risk of death in septic patients: a single-center observational study.  
*J Intensive Care.* ;7:63, 2019
- ⑮ Yashima N, Ito T, Kajiyama K, Maeda H, Kakihana Y, Maruyama I.  
Leukocyte-derived extracellular DNA contributes to abnormal pressure elevation in the extracorporeal circulation circuit. *Sci Rep.* ;10(1):474, 2020
- ⑯ Harada, Y., Nakajima, K., Suzuki, T., Fukushige, T., Kondo, K., Seino, J., Ohkawa, Y., Suzuki, T., Inoue, H., Kanekura, T., Dohmae, N., Taniguchi, N., and Maruyama, I.  
Glycometabolic Regulation of the Biogenesis of Small Extracellular Vesicles.  
*Cell Rep.* ;33:108261, 2020
- ⑰ Ito T, Maruyama I, Shimazaki S, Yamamoto Y, Aikawa N, Hirayama A, Honda G, Saito H.  
Effects of thrombomodulin alfa on hemostatic parameters in disseminated intravascular coagulation: Post hoc analysis of a phase 3 randomized controlled trial. *Res Pract Thromb Haemost.* ;4(7):1141–1149, 2020
- ⑱ Ito T, Shrestha B, Kakihana Y, Maruyama I.  
Recombinant thrombomodulin alleviates oxidative stress without compromising host resistance to infection in rats infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Sci Rep.* ;10(1):17413, 2020
- ⑲ Atari B, Ito T, Nagasato T, Ohnishi T, Hosokawa K, Yasuda T, Maruyama I, Kakihana Y.  
A modified microchip-based flow chamber system for evaluating thrombogenicity in patients with thrombocytopenia. *Thromb J.* ;18(1):31, 2020
- ⑳ Kikuchi K, Setoyama K, Takada S, Otsuka S, Nakanishi K, Norimatsu K, Tani A, Sakakima H, Kawahara KI, Hosokawa K, Kiyama R, Sumizono M, Tancharoen S, Maruyama I, Hattori G, Morioka M, Tanaka E, Uchikado H.  
E8002 Inhibits Peripheral Nerve Adhesion by Enhancing Fibrinolysis of l-Ascorbic Acid in a Rat Sciatic Nerve Model. *Int J Mol Sci.* ;21(11):3972, 2020.
- ㉑ Sakakima H, Takada S, Norimatsu K, Otsuka S, Nakanishi K, Tani A.

Diurnal Profiles of Locomotive and Household Activities Using an Accelerometer in Community-Dwelling Older Adults with Musculoskeletal Disorders: A Cross-Sectional Survey. *Int J Environ Res Public Health* ;17(15):5337, 2020.

- ②② Ito T, Kakuuchi M, Maruyama I.  
Endotheliopathy in septic conditions: mechanistic insight into intravascular coagulation. *Crit Care*. ;25(1):95, 2021
- ②③ Totoki T, Ito T, Yamada S, Honda G, Hattori T, Maruyama I.  
Specific detection of high mobility group box 1 degradation product with a novel ELISA. *Mol Med*. ;27(1):59, 2021
- ②④ Furubeppu H, Ito T, Kakuuchi M, Yasuda T, Kamikokuryo C, Yamada S, Maruyama I, Kakahana Y.  
Differential Regulation of Damage-Associated Molecular Pattern Release in a Mouse Model of Skeletal Muscle Ischemia/Reperfusion Injury.  
*Front Immunol*. ;12:628822, 2021
- ②⑤ Hatanaka K, Ito T, Madokoro Y, Kamikokuryo C, Niiyama S, Yamada S, Maruyama I, Kakahana Y.  
Circulating Syndecan-1 as a Predictor of Persistent Thrombocytopenia and Lethal Outcome: A Population Study of Patients With Suspected Sepsis Requiring Intensive Care. *Front Cardiovasc Med*. ;8:730553, 2021
- ②⑥ Ito T, Totoki T, Takada S, Otsuka S, Maruyama I.  
Potential roles of 1,5-anhydro-D-fructose in modulating gut microbiome in mice. *Sci Rep*. ;11(1):19648, 2021
- ②⑦ Oda Y, Ito T, Yamada Y, Koga T, Nagasato T, Ohnishi-Wada T, Hosokawa K, Fukase H, Hashiguchi T, Maruyama I.  
Cardiovascular risk factors are associated with augmented thrombogenicity in healthy individuals: analysis using the Total Thrombus-formation Analysis System. *Thromb J*. ;19(1):88, 2021
- ②⑧ Otsuka S, Setoyama K, Takada S, Nakanishi K, Terashi T, Norimatsu K, Tani A, Sakakima H, Maruyama I, Tancharoen S, Tanaka E, Kikuchi K.  
Preconditioning Exercise in Rats Attenuates Early Brain Injury Resulting from Subarachnoid Hemorrhage by Reducing Oxidative Stress, Inflammation, and Neuronal Apoptosis. *Mol Neurobiol* ;5602-5617, 2021.
- ②⑨ Otsuka S, Sakakima H, Tani A, Nakanishi K, Takada S, Norimatsu K, Maejima H, Maruyama I.  
Effects of detraining on preconditioning exercise-induced neuroprotective potential after ischemic stroke in rats. *Brain Struct Funct* ;226(7):2169-2180, 2021
- ③⑩ Nakanishi K, Sakakima H, Norimatsu K, Otsuka S, Takada S, Tani A, Kikuchi K.  
Effect of low-intensity motor balance and coordination exercise on cognitive functions, hippocampal A $\beta$  deposition, neuronal loss, neuroinflammation, and oxidative stress in a mouse model of Alzheimer's disease.

Exp Neurol. ;337:113590, 2021

- ③① Kasamo Y, Kikuchi K, Yamakuchi M, Otsuka S, Takada S, Kambe Y, Ito T, Kawahara KI, Arita K, Yoshimoto K, Maruyama I.  
1,5-Anhydro-D-fructose Protects against Rotenone-Induced Neuronal Damage In Vitro through Mitochondrial Biogenesis. *Int J Mol Sci.*;14;22(18):9941, 2021
- ③② Totoki T, Ito T, Kakuuchi M, Yashima N, Maruyama I, Kakihana Y.  
An evaluation of circulating activated TAFI in septic DIC: a case series and review of the literature. *Thromb J.*;20(1):6, 2022
- ③③ Kondo, K., Harada, Y., Nakano, M., Suzuki, T., Fukushige, T., Hanzawa, K., Yagi, H., Takagi, K., Mizuno, K., Miyamoto, Y., Taniguchi, N., Kato, K., Kanekura, T., Dohmae, N., Machida, K., Maruyama, I., and Inoue, H.  
Identification of distinct N-glycosylation patterns on extracellular vesicles from small-cell and non-small-cell lung cancer cells. *J Biol Chem.*;298:101950, 2022
- ③④ Otsuka S, Fukumaru K, Tani A, Takada S, Kikuchi K, Norimatsu K, Matsuzaki R, Matsuoka T, Sakakima H, Omiya Y, Mizuno K, Matsubara Y, Maruyama I.  
Analysis of the Effects of Ninjin'yoeito on Physical Frailty in Mice.  
*Int J Mol Sci.*;23(19):11183, 2022.
- ③⑤ Takada S, Setoyama K, Norimatsu K, Otsuka S, Nakanishi K, Tani A, Nakakogawa T, Matsuzaki R, Matsuoka T, Sakakima H, Tanchaoren S, Maruyama I, Tanaka E, Kikuchi K, Uchikado H.  
E8002 Reduces Adhesion Formation and Improves Joint Mobility in a Rat Model of Knee Arthrofibrosis. *Int J Mol Sci.*;23(3):1239, 2022
- ③⑥ Tani A, Sakakima H, Otsuka S, Mizuno K, Nakanishi K, Norimatsu K, Takada S, Matsuoka T, Matsuzaki R, Nakakogawa T, Maruyama I.  
Stimulation of functional recovery via neurorepair mechanisms by the traditional Japanese Kampo medicine, Ninjin'yoeito, and physical exercise in a rat ischemic stroke model. *J Ethnopharmacol.*;302(Pt B):115927, 2023
- ③⑦ Otsuka S, Itashiki Y, Tani A, Matsuoka T, Takada S, Matsuzaki R, Nakanishi K, Norimatsu K, Tachibe Y, Kitazato R, Nojima N, Kakimoto S, Kikuchi K, Maruyama I, Sakakima H.  
Effects of different remote ischemia preconditioning methods on cerebral infarct volume and neurological impairment in rats. *Sci Rep.*;13(1):2158, 2023.