

博 士 学 位 論 文

内 容 の 要 旨

及 び

審 査 の 結 果 の 要 旨

第 31 集

平成26年 6 月

愛 知 医 科 大 学

は し が き

本集は、学位規則（昭和28年4月1日文部省令第9号）第8条による公表を目的として、平成25年4月から平成26年3月までに本学で博士の学位を授与した者の論文内容の要旨及び審査の結果の要旨を収録したものである。

————— 目 次 —————

掲載順位	学位授与番号	氏 名	論 文 題 目	頁
〔1〕	甲第410号	古 橋 明 文	Effective three-dimensional evaluation analysis of upper airway form during oral appliance therapy in patients with obstructive sleep apnoea (閉塞性睡眠時無呼吸症候群患者における口腔内装置使用下での上気道形態の三次元的解析)	… 1
〔2〕	甲第411号	折 本 有 貴	The prognosis of patients on hemodialysis with foot lesions (足病変を有する透析患者の予後について)	… 4
〔3〕	甲第412号	山 田 洋 史	Infliximab counteracts tumor necrosis factor- α -enhanced induction of matrix metalloproteinases that degrade claudin and occludin in non-pigmented ciliary epithelium (TNF- α による, 毛様体無色素上皮細胞のclaudin及びoccludinを分解するmatrix metalloproteinasesの発現増加をインフリキシマブが抑制する)	… 7
〔4〕	甲第413号	Md. Ferdous Anower-E-Khuda	Heparan Sulfate 6-O-Sulfotransferase Isoform-dependent Regulatory Effects of Heparin on the Activities of Various Proteases in Mast Cells and the Biosynthesis of 6-O-Sulfated Heparin (肥満細胞および6-O-硫酸化ヘパリンの生合成における種々のプロテアーゼ活性に対するヘパリンのヘパラン硫酸6-O-硫酸基転移酵素アイソフォーム依存性制御効果)	… 9

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題目	頁
[5]	甲第414号	梶田幸宏	Behavioral and neuropathological changes in animal models of chronic painful scar (ラット有痛性癒痕モデルにおける疼痛慢性化の行動学的・神経病理学的解析)	… 12
[6]	甲第415号	森島達観	Periprosthetic fracture torque for short versus standard cemented hip stems: an experimental <i>in vitro</i> study (セメント人工股関節のステム周囲骨折発生におけるトルクに関するインビトロでの実験的研究ーショートステムとスタンダードステムの比較について)	… 15
[7]	甲第416号	Odkhuu Erdenezaya	Inhibition of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)-induced osteoclast formation by pyrroloquinoline quinine (PQQ) (ピロロキノリンキノン (PQQ) によるNF-kappaB活性化受容体リガンド (RANKL) 誘導破骨細胞形成の抑制)	… 18
[8]	甲第417号	藤堂真紀	Drug Interaction Between Sunitinib and Cimetidine and Contribution of the Efflux Transporter ATP-binding Cassette C2 to Biliary Excretion of Sunitinib in Rats(ラットにおけるスニチニブとシメチジンの薬物相互作用とスニチニブの胆汁排泄に対する排出トランスポーター ATP-binding Cassette C2の寄与)	… 21

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題目	頁
[9]	甲第418号	Damdindorj Lkhagvasuren	Assessment of the long-term transcriptional activity of a 550-bp-long human β -actin promoter region (ヒトベータアクチン遺伝子プロモーター領域の550塩基対の配列が有する長期的な転写活性の検討)	… 24
[10]	甲第419号	小西裕子	A system for the measurement of gene targeting efficiency in human cell lines using an antibiotic resistance-GFP fusion gene (抗生剤耐性遺伝子-EGFP融合遺伝子を用いたヒト細胞株の遺伝子ターゲティング効率の定量)	… 27
[11]	甲第420号	寺島嗣明	Flavopiridol inhibits interferon- γ -induced nitric oxide production in mouse vascular endothelial cells (フラボピリドールはマウス血管内皮細胞におけるインターフェロン- γ 誘導一酸化窒素産生を抑制する)	… 30
[12]	甲第421号	西上智彦	Development of Heat Hyperalgesia and Changes of TRPV1 and NGF Expression in Rat Dorsal Root Ganglion Following Joint Immobilization (関節不動化後の熱性痛覚過敏と脊髄後根神経節におけるTRPV1及びNGFの発現変化)	… 33

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題目	頁
[13]	甲第422号	野々山 宏	Evidence for bilateral endolymphatic hydrops in ipsilateral delayed endolymphatic hydrops: preliminary results from examination of five cases (同側型遅発性内リンパ水腫における両側内リンパ水腫のエビデンス)	… 37
[14]	甲第423号	Huq Muhammad Aminul	4G/5G Polymorphism of the Plasminogen Activator Inhibitor-1 Gene Is Associated with Multiple Organ Dysfunction in Critically ill Patients (Plasminogen activator inhibitor-1の4G/5G遺伝子多型と多臓器不全の関連)	… 40
[15]	甲第424号	麦 雅 代	REM睡眠行動障害患者における嗅覚障害の検討	… 43
[16]	甲第425号	Mendjargal Adilsaikhani	Pifithrin- α , a pharmacological inhibitor of p53, downregulates lipopolysaccharide-induced nitric oxide production via impairment of the MyD88-independent pathway (p53阻害剤であるピフィスリン- α は、MyD88非依存性経路を抑制してリポ多糖体誘発一酸化窒素産生を減弱させる)	… 46
[17]	甲第426号	Mohammad Sohel Samad	Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of <i>Wuchereria bancrofti</i> infection using urine samples and its application in Bangladesh (バンクロフト糸状虫症診断のための尿を用いたELISA法のバングラデシュ流行地への応用)	… 49

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題目	頁
[18]	甲第427号	Tsolmon Bilegtsaikhan	A toll-like receptor 2 ligand, Pam3CSK4, augments interferon- γ -induced nitric oxide production via a physical association between MyD88 and interferon- γ receptor in vascular endothelial cells (toll-like receptor 2 リガンドであるPam3CSK4は血管内皮細胞においてMyD88とインターフェロン γ 受容体との会合を介して, インターフェロン γ による一酸化窒素産生を増強する)	… 51
[19]	甲第428号	上田純子	Prevalence of <i>Helicobacter pylori</i> infection by birth year and geographic area in Japan (日本の地域, 生年ごとのヘリコバクターピロリ感染有病率)	… 54
[20]	甲第429号	星野有美	統合失調症と解離性障害における幻覚妄想症状の相違点の検討	… 57
[21]	甲第430号	大道美香	Activated spinal astrocytes are involved in the maintenance of chronic widespread mechanical hyperalgesia after cast immobilization (活性化脊髄アストロサイトはギプス固定後に慢性的に拡大する機械痛覚増強の維持に関与する)	… 60

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題目	頁
[22]	甲第431号	河合浩寿	Retrospective analysis of factors predicting end-stage renal failure or death in patients with microscopic polyangiitis with mainly renal involvement (顕微鏡的多発血管炎における末期腎不全, 生命予後に関する後ろ向き検討)	… 63
[23]	甲第432号	原田龍介	Effects of gonadotropin-releasing hormone agonist on vascular reactivity, oxidative stress, and plasma levels of asymmetric dimethylarginine, inflammatory markers, glucose, and lipids in women with endometriosis (子宮内膜症女性におけるゴナドトロピン放出ホルモンアゴニスト療法が血管内皮機能と酸化ストレス, ADMA, 炎症マーカー, 血糖, 脂質に対する影響)	… 66
[24]	甲第433号	後藤峰明	Adaptation of leukemia cells to hypoxic condition through switching the energy metabolism or avoiding the oxidative stress (エネルギー代謝経路の切り替えや酸化ストレスの回避を介した白血病細胞の低酸素への適応)	… 69
[25]	甲第434号	中岡俊貴	Combined arsenic trioxide-cisplatin treatment enhances apoptosis in oral squamous cell carcinoma cells (三酸化砒素とシスプラチンの併用療法は口腔扁平上皮癌細胞のアポトーシスを増強する)	… 72

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題目	頁
[26]	乙第353号	山本敬子	Association between pupillometric sleepiness measures and sleep latency derived by MSLT in clinically sleepy patients (過眠症患者における瞳孔径指標と睡眠潜時との関連)	… 74
[27]	乙第354号	秋月美和	Prognostic Significance of Immunoreactive Neutrophil Elastase in Human Breast Cancer: Long-Term Follow-Up Results in 313 Patients (ヒト乳癌における好中球エラスターゼ免疫活性の予後因子としての重要性: 313患者の長期経過観察結果による検討)	… 77
[28]	乙第355号	北川晃	Ethanolamine oleate sclerotherapy combined with transarterial embolization using n-butyl cyanoacrylate for extracranial arteriovenous malformations (動静脈奇形に対するオレイン酸モノエタノールアミン(EO)による硬化療法とNBCAを用いた経動脈塞栓術の併用療法の検討)	… 80
[29]	乙第356号	近藤好博	Edema of the interarytenoid mucosa seen on endoscopy is related to endoscopic-positive esophagitis (EE) and is an independent predictor of EE (内視鏡で認められる披裂間粘膜の肥厚は内視鏡陽性食道炎に関連し、内視鏡陽性食道炎の独立因子となる)	… 83

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題目	頁
[30]	乙第357号	水谷 建太郎	Comparison of the efficacy of ALA-PDT using an excimer-dye laser (630 nm) and a metal-halide lamp (600 to 740 nm) for treatment of Bowen's disease (Bowen病の光線力学的療法におけるexcimer dye laserとmetal-halide lampの比較試験)	… 86
[31]	乙第358号	上甲 眞宏	Different modifications of phosphorylated Smad3C and Smad3L through TGF- β after spinal cord injury in mice (マウス脊髄損傷後のTGF- β シグナルにおけるリン酸化Smad3Cとリン酸化Smad3Lの変容について)	… 89
[32]	乙第359号	石田 政也	Efficient Penetration into Aqueous Humor by Administration of Oral and Topical Levofloxacin (レボフロキサシンの経口と点眼投与による眼房水への効率的な浸透)	… 92
[33]	乙第360号	鈴木 啓介	Estimated glomerular filtration rate and daily amount of urinary protein predict the clinical remission rate of tonsillectomy plus steroid pulse therapy for IgA nephropathy (IgA腎症における扁桃摘出+ステロイドパルス療法による臨床寛解率は、推算糸球体濾過量と1日尿タンパク量によって予測できる)	… 95

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題目	頁
[34]	乙第361号	伊藤義紹	Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced visible and invisible small intestinal injury (非ステロイド性抗炎症薬による肉眼的及び非肉眼的小腸粘膜障害)	… 98
[35]	乙第362号	井澤晋也	The role of gastroesophageal reflux in relation to symptom onset in patients with proton pump inhibitor-refractory non-erosive reflux disease accompanied by an underlying esophageal motor disorder (PPI不応性の食道運動障害患者の症状発現には胃食道逆流が関与している)	… 101
[36]	乙第363号	前田邦博	Glomerular tip adhesions predict the progression of IgA nephropathy (IgA腎症における糸球体尖部癒着は予後不良を示唆する)	… 104
[37]	乙第364号	今宿康彦	Relationship between blood levels of propofol and recovery of memory in electroconvulsive therapy (電気痙攣療法におけるプロポフォール血中濃度と記憶力回復との関連)	… 107

氏 名	ふる はし あき ふみ 古 橋 明 文
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第410号
学位授与年月日	平成25年7月11日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Effective three-dimensional evaluation analysis of upper airway form during oral appliance therapy in patients with obstructive sleep apnoea (閉塞性睡眠時無呼吸症候群患者における口腔内装置使用下での上気道形態の三次元的解析)
論文審査委員	(主査) 教授 風 岡 宜 暁 教授 石 口 恒 男 教授 前 川 正 人 教授 植 田 広 海

学位論文内容の要旨

【Introduction】

閉塞性睡眠時無呼吸症候群:OSASは、睡眠中の上気道狭窄によって、無呼吸・低呼吸を呈する疾患である。本研究では、OSAS患者の上気道における口腔内装置:OAのより正確な作用を確認することを目的とし、OA装着時、非装着時のCT撮影を行い、OA治療時の上気道形態を三次元的に評価、検討した。

【Methods】

被験者は、愛知医科大学病院にてOSASと診断されOA治療を行った患者15名であり、平均年齢は 55.0 ± 11.2 歳、平均AHIは 20.2 ± 11.8 /hであった。本研究は、愛知医科大学医学部倫理委員会の承認に基づいて行われた。OA装着時および非装着時のCT撮影を仰臥位にて、安静吸気時に嚥下・呼吸運動を停止した状態で行ったCT画像より、任意の6平面を設定し、各平面におけるOA装着時および非装着時の上気道断面積、OA装着時の上気道断面積拡大率を計測した。また、CT画像から上気道形態の三次元画像構築を行い、OA装着時および非装着時の上気道体積、OA装着時の上気道体積拡大率を計測した。OA装着時の上気道形態変化を検討するため、各計測値の統計学的検討を行った。

【Results】

上気道断面積の平均値は、OA装着時に軟口蓋後方部で有意な拡大を認めた。上気道断面積拡大率の平均値は、軟口蓋後方部と舌後方部の平面間では有意な差を認めた。上

気道体積の平均値は、OA装着時に軟口蓋後方部で有意な増大を認めた。また、軟口蓋後方部と舌後方部間では拡大率に有意な差を認め、OA装着により軟口蓋後方部の体積が有意に増大した。

【Discussion】

舌後方部の上気道体積は多くの症例で減少を認めたが、軟口蓋後方部の上気道体積は15症例中12症例で増大を認めた。この点から、上気道体積の拡大には下顎の後方回転を最小限にする垂直的顎位と口蓋舌筋の活動性を高める水平的顎位に下顎位を決定することが重要と考えられた。また、3D-CTによる上気道形態の評価は視覚的に上気道形態変化を確認できOA治療患者の治療意欲を高める可能性があり、OA治療時の下顎位決定に3D-CTを用いることは、OA治療効果を改善する可能性がある。

【Conclusions】

今後、3D-CTを使用したOA治療効果の評価が、OA治療の評価方法を改善する可能性がある。

論文審査の結果の要旨

【緒言】

閉塞性睡眠時無呼吸症候群:OSASは、睡眠中の上気道狭窄によって、無呼吸・低呼吸を呈する疾患である。本研究では、OSAS患者の上気道における口腔内装置:OAのより正確な作用を確認することを目的とし、OA装着時、非装着時のCT撮影を行い、OA治療時の上気道形態を三次元的に評価、検討した。

【方法】

被験者は、愛知医科大学病院にてOSASと診断されOA治療を行った患者15名であり、平均年齢は 55.0 ± 11.2 歳、平均AHIは $20.2 \pm 11.8/h$ であった。本研究は、愛知医科大学医学部倫理委員会の承認に基づいて行われた。OA装着時および非装着時のCT撮影を仰臥位にて、安静吸気時に嚙下・呼吸運動を停止した状態で行ったCT画像より、任意の6平面を設定し、各平面におけるOA装着時および非装着時の上気道断面積、OA装着時の上気道断面積拡大率を計測した。また、CT画像から上気道形態の三次元画像構築を行い、OA装着時および非装着時の上気道体積、OA装着時の上気道体積拡大率を計測した。OA装着時の上気道形態変化を検討するため、各計測値の統計学的検討を行った。

【結果】

上気道断面積の平均値は、OA装着時に軟口蓋後方部で有意な拡大を認めた。上気道断面積拡大率の平均値は、軟口蓋後方部と舌後方部の平面間では有意な差を認めた。上気道体積の平均値は、OA装着時に軟口蓋後方部で有意な増大を認めた。また、軟口蓋後方部と舌後方部間では拡大率に有意な差を認め、OA装着により軟口蓋後方部の体積

が有意に増大した。

【考察】

舌後方部の上気道体積は多くの症例で減少を認めたが、軟口蓋後方部の上気道体積は15症例中12症例で増大を認めた。この点から、上気道体積の拡大には下顎の後方回転を最小限にする垂直的顎位と口蓋舌筋の活動性を高める水平的顎位に下顎位を決定することが重要と考えられた。また、3D-CTによる上気道形態の評価は視覚的に上気道形態変化を確認できOA治療患者の治療意欲を高める可能性があり、OA治療時の下顎位決定に3D-CTを用いることは、OA治療効果を改善する可能性がある。

【結語】

今後、3D-CTを使用したOA治療効果の評価が、OA治療の評価方法を改善する可能性がある。

以上の研究結果は、閉塞性睡眠時無呼吸症候群のOA治療における上気道形態の変化を明らかにし、新たな評価方法の可能性を示すものであり、学位授与に値する論文であると評価された。

氏 名	おりもと ゆうき 折 本 有 貴
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第411号
学位授与年月日	平成25年 8 月22日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	The prognosis of patients on hemodialysis with foot lesions (足病変を有する透析患者の予後について)
論文審査委員	(主査) 教授 福 富 隆 志 教授 中 村 二 郎 教授 今 井 裕 一 教授 横 尾 和 久

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

透析患者の末梢動脈疾患（PAD）の合併率は高く、またPADを合併した透析患者の死亡率は高いといわれている。この後ろ向き研究の目的は、足病変を有する透析患者の生存率と救肢率を明らかにし、どのようにこれらの患者を治療するのがよいのか検討することである。

【方法】

1980年から2011年の間、愛知医科大学病院で入院加療となった足病変を有する透析患者234例319肢を対象とした。生存と救肢に影響する因子をログランク検定とCOX比例ハザード法を用い後ろ向きに比較した。これらの因子をカプランマイヤー分析で検定した。

【結果】

234人の患者（男性72%）は入院時の平均年齢65.4歳であり、84%の患者に糖尿病の合併を認めた。平均の透析期間は6.8年であった。追跡期間の間に171人の患者（73%）が死亡した。1年、3年、5年、7年の生存率はそれぞれ65.2%、35.5%、23.4%、12.8%であった。多変量解析では、入院時の年齢と心電図上の虚血変化が独立した死亡のリスクを増大させる因子であった（それぞれハザード比は1.02, 1.48）。一方で高脂血症は死亡のリスクを減少させる因子であった（ハザード比は0.56）。重症下肢虚血の合併は247肢（77%）に認めた。血行再建術は88肢（28%）に施行され、119肢（37%）は大切断が必要であった。全体の1年、3年、5年、7年の救肢率はそれぞれ68.9%、57.2%、

53.8%, 51.7%であった。多変量解析では、開存している血行再建とアルブミンが独立した大切断を減少させる因子であった（それぞれハザード比は0.265, 0.392）。

【結論】

足病変を有する透析患者は高い死亡率と大切断率を有し予後が不良である。速やかな虚血性心疾患などを含めた全身状態の評価と、虚血や感染の局所の傷の状態の評価が足病変を有する透析患者を治療するために必要である。

論文審査の結果の要旨

【目的】

透析患者の末梢動脈疾患（PAD）の合併率は高く、またPADを合併した透析患者の死亡率は高いといわれている。この後ろ向き研究の目的は、足病変を有する透析患者の生存率と救肢率を明らかにし、どのようにこれらの患者を治療するのがよいのか検討することである。

【方法】

1980年から2011年の間、愛知医科大学病院で入院加療となった足病変を有する透析患者234例319肢を対象とした。生存と救肢に影響する因子をログランク検定とCOX比例ハザード法を用い後ろ向きに比較した。

【結果】

234人の患者（男性72%）は入院時の平均年齢65.4歳であり、84%の患者に糖尿病の合併を認めた。平均の透析期間は6.8年であった。追跡期間の間に171人の患者（73%）が死亡した。1年、3年、5年、7年の生存率はそれぞれ65.2%, 35.5%, 23.4%, 12.8%であった。多変量解析では、入院時の年齢と心電図上の虚血変化が独立した死亡のリスクを増大させる因子であった（それぞれハザード比は1.02, 1.48）。一方で高脂血症は死亡のリスクを減少させる因子であった（ハザード比は0.56）。重症下肢虚血の合併は247肢（77%）に認めた。血行再建術は88肢（28%）に施行され、119肢（37%）は大切断が必要であった。全体の1年、3年、5年、7年の救肢率はそれぞれ68.9%, 57.2%, 53.8%, 51.7%であった。多変量解析では、開存している血行再建とアルブミンが独立した大切断を減少させる因子であった（それぞれハザード比は0.265, 0.392）

【結論】

足病変を有する透析患者は高い死亡率と大切断率を有し予後が不良である。速やかな虚血性心疾患などを含めた全身状態の評価と、虚血や感染の局所の傷の状態の評価が足病変を有する透析患者を治療するために必要である。

本研究は31年間という長期間にわたるものである。また単一施設による研究であることから、長期間にわたって総ての患者の全臨床経過を追跡可能であり、足病変を持つ透

析患者を対象にしたものではきわめて長期間にわたる大規模なものである。透析機器, 治療, 薬剤の進歩があるとはいえ, これらの患者の生存率は極めて不良である。しかし, 血行再建術を積極的に行うことにより大動脈狭窄率は減少するという事実が長期間の追跡結果から明らかになった意義は大きいと考えられた。

よって, 学位を授与するに値する論文であると判断した。

氏 名	やま だ ひろ し 山 田 洋 史
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第412号
学位授与年月日	平成25年 9月 5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Infliximab counteracts tumor necrosis factor- α -enhanced induction of matrix metalloproteinases that degrade claudin and occludin in non-pigmented ciliary epithelium (TNF- α による, 毛様体無色素上皮細胞のclaudin及びoccludinを分解するmatrix metalloproteinasesの発現増加をインフリキシマブが抑制する)
論文審査委員	(主査) 教授 岩 城 正 佳 教授 岡 田 尚志郎 教授 渡 辺 秀 人 教授 植 田 広 海

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

TNF- α 投与によるmatrix metalloproteinases(MMPs)の発現量の変化と, インフリキシマブによる抑制効果について毛様体無色素上皮細胞を用いて調べた。

【対象と方法】

培養ヒト毛様体無色素上皮細胞にTNF- α を添加し, MMPの発現レベルを調べた。さらに, TNF- α の添加前または後にインフリキシマブを投与し, TNF- α により変化するMMP発現レベルに対する効果を調べた。また, 毛様体無色素上皮のclaudin-1及びoccludinのMMPによる分解ならびに細胞層の透過性を調べた。

【結果】

TNF- α 添加により毛様体無色素上皮細胞におけるMMP-1,-3,-9の発現が増加した。この変化はインフリキシマブにより抑制されるが, TNF- α 投与前のインフリキシマブ投与群で効果は強かった。タイトジャンクション構成分子のclaudin-1及びoccludinはMMPにより分解され毛様体無色素上皮細胞層の分子透過性は亢進した。

【結論】

毛様体無色素上皮細胞にてTNF- α により発現が増加するMMPは血液房水関門の構成

分子を分解し細胞の分子透過性を亢進させる。インフリキシマブはこれを抑制し治療効果を発揮していることが示唆される。

論文審査の結果の要旨

ベーチェット病を含む前部ぶどう膜炎では血漿中及び房水中の腫瘍壊死因子（TNF- α ）が増加しており，抗ヒトTNF- α モノクローナル抗体であるインフリキシマブはこの治療に有用である。

この作用メカニズムを探るため，血液房水関門を構成するヒト毛様体無色素上皮細胞を用いて種々の実験を行った。培養ヒト毛様体無色素上皮細胞に各濃度のTNF- α を添加し，Matrix metalloproteinases（MMPs）の発現レベルをqPCR，ELISAを用いて調べた。

TNF- α 添加により培養ヒト毛様体無色素上皮細胞におけるMMP-1,-3,-9の発現が濃度依存的に増加した。この変化はインフリキシマブ投与により抑制されるが，TNF- α 添加前にインフリキシマブを投与した群でより効果は強かった。さらにGelatin Zymographyを用いてMMP-1,-3,-9の酵素活性を調べたところ，同じくTNF- α の添加により活性が増加し，インフリキシマブの投与により抑制されることが確認できた。次にブタ毛様体無色素上皮細胞，培養ヒト毛様体無色素上皮細胞にMMP-1,-3,-9を添加したところ，細胞間タイトジャンクション構成分子であるclaudin-1及びoccludinが分解されることが免疫染色により明らかとなった。そこで，蛍光標識されたbovine serum albuminを用いてヒト毛様体無色素上皮細胞層の分子透過性を調べたところ，MMP-1,-3,-9を添加した群では透過性が亢進していた。以上より，TNF- α はヒト毛様体無色素上皮細胞においてMMPsの発現を増加させ，そのMMPsは細胞間のタイトジャンクションを破壊し，細胞層の分子透過性を亢進させることがわかった。インフリキシマブはこれを抑制することにより治療効果を発揮していることが示唆された。

TNF- α の病理作用はMMPsの誘導により，インフリキシマブの治療効果はそれを阻害することによりそれぞれ発揮されることが判明したことは新知見であり，前部ぶどう膜炎の病態生理とその治療法に新たな視点を与えたと考えられ，学位を授与するに値すると判断した。

氏 名	モハメド フェルドス アノアル イ クダ Md. Ferdous Anower-E-Khuda
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第413号
学位授与年月日	平成25年 9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Heparan Sulfate 6-O-Sulfotransferase Isoform-dependent Regulatory Effects of Heparin on the Activities of Various Proteases in Mast Cells and the Biosynthesis of 6-O-Sulfated Heparin (肥満細胞および6-O-硫酸化ヘパリンの生合成における種々のプロテアーゼ活性に対するヘパリンのヘパラン硫酸6-O-硫酸基転移酵素アイソフォーム依存性制御効果)
論文審査委員	(主査) 教授 横 地 高 志 教授 佐 藤 元 彦 教授 細 川 好 孝 教授 牛 田 享 宏

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

Mast cell is one of the most important cells in immune systems and contains a variety of proteases (tryptase, chymase and carboxypeptidase-A), heparin etc in their secretory granules. During inflammation mast cells release those proteases from their granules. Therefore, knowledge of the regulation of mast cell proteases and their interactions with heparin will offer enormous therapeutic potentials in the treatment of a number of diseases and conditions such as cardiovascular, arthritic, toxin clearance, and removal from infectious diseases etc.

Heparin/heparan sulfate (HS) proteoglycans are composed of sulfated polysaccharides attached to the core protein. The backbone polysaccharides of HS/heparin are synthesized by the alternating addition GlcUA and GlcNAc residues from their respective UDP-sugar precursors, and are partially modified by a number of enzymes such as C-5 epimerase, *N*-deacetylase/*N*-sulfotransferase, 2-*O*-, 6-*O*- and 3-*O*-sulfotransferases.

Heparan sulfate 6-*O*-sulfotransferase (HS6ST) is an enzyme that transfers a sulfate residue to position 6 of the GlcNAc/GlcNSO₃ residues of HS/heparin, and it consists

of three isoforms (HS6ST-1, -2, -3), Heparin, the highly sulfated form of HS, resides in connective tissue mast cells and is involved in the storage of mast cell proteases (MCPs) in the granules. However, it is not well understood which isoform(s) of HS6ST participates in 6-*O*-sulfation of heparin and how the 6-*O*-sulfate residues in heparin affect MCPs. To investigate these questions, we prepared fetal skin-derived mast cells (FSMCs) from wild-type (WT) and HS6ST-deficient mice (HS6ST-1^{-/-}, HS6ST-2^{-/-}, and HS6ST-1^{-/-}/HS6ST-2^{-/-}) and determined the structure of heparin, the protease activity, and the mRNA expression of each MCP in cultured FSMCs. The activities of tryptase and carboxypeptidase-A (CPA) were decreased in HS6ST-2^{-/-}-FSMCs in which 6-*O*-sulfation of heparin was decreased at 50% of WT-FSMCs, and almost lost in HS6ST-1^{-/-}/HS6ST-2^{-/-}-FSMCs which lacked the 6-*O*-sulfation in heparin nearly completely. In contrast, chymase activity was retained even in HS6ST-1^{-/-}/HS6ST-2^{-/-}-FSMCs. Each MCP mRNA was not decreased in any of the mutant FSMCs. Western blot analysis showed that tryptase (mMCP-6) was almost absent from HS6ST-1^{-/-}/HS6ST-2^{-/-}-FSMCs indicating degradation/secretion of the enzyme protein. These observations suggest that both HS6ST-1 and HS6ST-2 are involved in 6-*O*-sulfation of heparin and that the proper packaging and storage of tryptase, CPA, and chymase with heparin in the granules may be regulated differently by the 6-*O*-sulfate residues in heparin. It is thus likely that 6-*O*-sulfation of heparin plays important roles in regulating MCP functions.

The research bears immense clinical significance in autoimmune diseases such as autoimmune arthritis. Mast cell tryptase was found to have attenuated arthritic response via tryptase-heparin complexes in tryptase-KO animals that developed lower inflammation and bone/cartilage erosion than did WT mice. Therefore, it is possible that HS6ST activity is involved in the specific regulation of some protease activities in CTMCs. For example, a possible up-regulation of HS6ST activity in patients during arthritic inflammation may affect the treatment of this disease. Therefore, some reagents that are able to regulate HS-6-*O*-sulfation might have therapeutic potential in diseases involving mast cell proteases.

論文審査の結果の要旨

ヘパラン硫酸6-*O*-硫酸基転移酵素 (HS6ST) は、ヘパラン硫酸鎖中のNアセチルグルコサミン/硫酸化グルコサミン残基の6位に硫酸基を転移するヘパラン硫酸の生合成に関する酵素であり、3種類のアイソフォームがある。ヘパラン硫酸の硫酸化の度合いが高

いヘパリンは、肥満細胞のプロテアーゼ貯蔵に関わっていることが知られている。しかしながら、肥満細胞プロテアーゼ機能に対してHS6STのどのアイソフォームが関与し、ヘパリンの6-O-硫酸基がどのように作用するかは不明である。

本論文は、HS6STの3種類アイソフォームの1種類または2種類が欠損したマウスの胎児皮膚由来肥満細胞を採取し、培養肥満細胞を用いてヘパリンの化学構造、肥満細胞中のプロテアーゼ活性およびそのmRNA発現を調べた。HS6ST-1, HS6ST-2のアイソフォームがヘパリンの6-O-硫酸化に関与し、さらにトリプターゼ、カルボキシペプチダーゼA, キマーゼの顆粒へのパッケージと貯蔵がヘパリンの6-O-硫酸基により別々に制御されていることを見出した。このことは、ヘパリンの6-O-硫酸化が肥満細胞のプロテアーゼ機能に重要な影響を及ぼすことを初めて明らかにした。さらに、ヘパリンの6-O-硫酸化が肥満細胞のプロテアーゼ活性を制御することから自己免疫疾患の治療への応用も示唆された。

本論文はJournal of Biological Chemistry に掲載され、その内容も優れていることから学位を授与するに十分な価値のある論文と判定した。

氏 名	梶 田 幸 宏 <small>かじ た ゆき ひろ</small>
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第414号
学位授与年月日	平成25年11月7日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Behavioral and neuropathological changes in animal models of chronic painful scar (ラット有痛性癒痕モデルにおける疼痛慢性化の行動学的・神経病理学的解析)
論文審査委員	(主査) 教授 佐 藤 啓 二 教授 吉 田 眞 理 教授 石 口 恒 男 教授 中 川 隆

学位論文内容の要旨

【背景】

手術後に長期間持続する創部周囲の痛みは難治性の経過を辿り、患者の日常生活の質を著しく低下させる。我々は手術痕で痛みが持続するメカニズムを明らかにするために、ラットの後肢足底に癒着性癒痕を作製し、癒痕に起因した疼痛が1ヵ月以上遷延する動物モデルを独自に構築してきた (Pain Res (2010) 25,135-144)。そこで本研究では、この有痛性癒痕モデルにおける手術後の痛み行動の長期的な経過と、末梢組織や脊髄神経系の病理学的変化を解析した。

【実験方法】

ラット後肢踵部から足趾まで腱組織様の深部組織を広範に剥離することで、皮下組織に癒着性癒痕を作製し、手術後12週間痛み関連行動を観察した。その後、癒痕の組織染色、脊髄 (L5髄節高位) のc-FOS免疫蛍光染色と電子顕微鏡解析を行った。

【結果】

手術をした後肢で特異的に非侵害性機械刺激に対する痛み閾値が著しく低下し、手術後3日目から12週間後まで痛み閾値の低下が持続した。手術12週間後の癒痕組織では、コラーゲン線維が真皮層から筋層まで発達し、線維芽細胞が集積しているのが観察された。後根神経節より近位のL5脊髄神経においては神経線維のミエリン鞘の断片化が検出された。脊髄 (L5髄節高位) の後角におけるc-FOS陽性神経線維については手術側と非手術側の差を認めなかった。

【結論】

有痛性癒痕モデルでは3ヵ月の長期に渡り手術痕で痛みが持続し、皮下組織の肥厚、神経系の損傷を示唆する病理学的変化が観察された。我々はこの動物モデルを臨床における手術痕に起因した痛みの慢性化の機序の基礎研究に用い、ヒトの術後痛みの治療法・治療薬の開発、癒痕組織における適度な線維化の抑制や末梢神経機能再生の開発に利用出来る可能性がある。

論文審査の結果の要旨

近年、運動器慢性痛の問題は、患者数の多さ、そしてその確たる治療薬がないというようなことから、医療経済的な問題にも及び、世界的にも大きな問題となっている。今世紀の始めからの10年は、「運動器の10年」(WHO),「痛みの10年」(アメリカ議会)と宣言され、診療と研究について大きく前進した。慢性疼痛の中で画像診断などの検査を施行しても明らかな異常が見いだせないものがある。今回の研究の対象は、こうした画像上明らかな異常を認めることがない癒痕組織である。癒痕組織の形成は外傷や手術を引き金にして発生し創傷組織が治癒するために必要不可欠な反応である。しかし一方で、このような癒痕組織が動作時の痛みを引き起こし、痛みの慢性化の要因となることがある。近年、軟部組織障害に由来する痛みの病態として、癒痕組織に存在する神経線維や神経ペプチドが関与していると考えられているが、癒痕組織が引き起こす痛みのメカニズムについてはモデル動物などが開発されていないこともあり、未だ不明な点が多い。今回、有痛性癒痕動物モデルを開発し、同モデルを用いた遷延性の痛みの機序に関する研究を行っている。

癒痕組織はSprague-Dawleyラットの左後肢足底皮下に18G注射針にて孔を開け、その孔から遠位方向に径が3mmのロッドを刺入し、足趾まで皮下組織を広範に剥離し有痛性癒痕ラット作成し、対照は左後肢足底皮下に18G注射針にて孔を開けたピンホールラットとした。行動学的観察として、有痛性癒痕モデルラット、ピンホールラットに対し、von Frey filamentを用いて足底への機械刺激を加えた際の脚引っ込め反射(PWR: Hind-paw withdrawal response)の結果から痛み閾値を測定して行った。処置後12週で有痛性癒痕モデルラットの組織を摘出し、L5脊髄後角のc-Fos陽性線維の数、L5DRG近位側の神経線維の電子顕微鏡的観察、足底部のHE染色・Masson-Trichrome染色による組織学的検討を行った。

今回作成した有痛性癒痕モデルにおいて、機械的刺激に対する痛み閾値の低下は12週間持続していた。足底部の組織で有痛性癒痕モデルラットの癒痕側足底部は表皮、真皮が肥厚し、不規則なコラーゲン線維と多数の線維芽細胞を認め、変性したcollagen fiberが多方向に走り癒痕と思われる組織像を認めた。神経系においてc-Fosの発現変動は確

認できなかったが、有痛性癱痕モデルラットの癱痕側のL5DRG近位側の神経線維の電子顕微鏡的観察ではミエリン鞘にfragmentationを認め、神経線維の変性を認めている。有痛性癱痕により脊髄内ニューロンの感覚刺激に対する反応性が変化している可能性が示唆された。

本研究で作成された有痛性癱痕モデルラットは、未だ不明な点が多い癱痕由来の慢性痛の動物モデルとして有用であり、本モデルを使用し基礎研究を重ねていくことで、有痛性癱痕を原因とする痛みの治療や予防の開発に利用できると考えられることから学位を授与するに値する論文であると判定した。

氏 名	もり しま たっ かん 森 島 達 観
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第415号
学位授与年月日	平成25年12月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Periprosthetic fracture torque for short versus standard cemented hip stems: an experimental <i>in vitro</i> study (セメント人工股関節のステム周囲骨折発生におけるトルクに関するインビトロでの実験的研究—ショートステムとスタンダードステムの比較について)
論文審査委員	(主査) 教授 佐藤 啓二 教授 天野 哲也 教授 石口 恒男 教授 羽生田 正行

学位論文内容の要旨

【背景】

人工股関節のインプラントにおいて、大腿骨側に用いるExeter stemは、欧米において既に超長期の良好な成績が報告されており、世界的に最も成功しているインプラントの1つである。最近、アジア人の特徴である髓腔が狭く、弯曲が強い大腿骨により適合し、また比較的近位に存在する大腿骨髓腔の最狭部を超えない事を目的としExeter short stemが設計された。2010年にBishopらは、短いstemは、特に骨質の悪い骨で使用する場合に、人工関節周囲骨折の発生リスクが増加することを報告した。そこで本研究では、125mm Exeter short stemにおける人工関節周囲骨折のリスクについて、150mm Exeter standard stemと比較しインビトロでの実験的研究を行い解析した。

【方法】

Exeter V40 (Stryker Orthopedics, Mahwah, NJ) short stem 125mmとstandard stem 150mm, それぞれ3種のoffset (37.5mm No.1, 44mm No.1, 50mm No.1) と42本のSawboneを準備した。stemの固定はSimplex (Stryker Orthopedics, Mahwah, NJ) cementを用い同一術者によって行われた。破断試験は力学試験機 (Instron 8874) を使用し、それぞれのstemにつき7回の試験を行った。設置は、大腿骨頭中心と大腿骨顆部中心を通るラインが荷重軸となるようにし、初期負荷を内旋方向にトルク2Nm, 垂

直荷重2kN (片側立位での内旋負荷に類似) で骨折が生じるまで40°/secのトルクを加え、その骨折トルクとエネルギーを測定した。統計はMann-Whitney U-testsを用いた。

【結果】

骨折型は全てがVancouver type B2であった。骨折トルクの平均は、short stem (37.5 mm : 114.3Nm, 44mm : 131.7Nm, 50mm : 163.9Nm), standard stem (37.5mm : 136.9Nm, 44mm : 156.2Nm, 50mm : 180.2Nm) であった。stemの長さやoffsetが大きくなるに従い骨折トルクも増加した。standard stemはshort stemと比し、それぞれのoffsetにおいて、有意に骨折トルクが大きかったが、多重検定によると50mm offsetにおいては有意差を認めなかった。また37.5mm standard stemと44mm short stem間では、骨折トルクとエネルギーにおいて有意差は認めず、加えて44mm standard stemと50mm short stem間においても有意差は認めなかった。

【考察】

骨折を生じるトルクは、両stemとも日常生活で生じるトルクの7-10倍であった。これらの結果より、大腿骨頸部骨折症例のような骨粗鬆症を併発した脆弱な大腿骨に対しては、両stemを比較した場合、standard stemの選択が望ましい。更にstandard stemでプラスヘッドを使用する場合、骨折リスクを増やすことなく、より長いoffsetのshort stemを選択することが出来る。本研究の限界としては、インビトロの実験であること、また経過中に生じるストレスシールドによる骨変化が考慮されていない事である。

【結論】

Exeter short stemは、standard stemに比し優位に低いトルクで骨折を生じることが示された。骨折を生じるトルクは、両stemとも日常生活で生じるトルクの7-10倍であり、骨折リスクを増加させず安全に使用できることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景】

人工股関節において、大腿骨側に用いるExeter stemは既に超長期の良好な成績が報告されている。2010年Bishopらはshort stem を骨質の悪い骨に骨セメントを用いず使用した際、従来のstandard stemに比し、人工関節周囲骨折の発生リスクが増加する事を報告したが、骨セメントを用いた場合のリスクについては報告がない。

【目的】

人工関節周囲骨折リスクについて、Exeter short stemとExeter standard stemを用いたインビトロでの実験を行い、骨折に至るトルクを明らかにし、適応に関する情報を得る事を目的として実験を行った。

【方法】

Exeter V40 (Stryker Orthopedics, Mahwah, NJ) short stemと, standard stemについて, それぞれ 3 種のoffset (37.5mm No.1, 44mm No.1, 50mm No.1) と42本の Sawbone (モデル骨) を準備した。stem固定はSimplex cement を用いた。力学試験機 (Instron 8874) を使用し, それぞれのstemについて, 7回の試験を施行した。設置は大腿骨頭中心と大腿骨顆部中心を通るラインが荷重軸となるようにし, 初期負荷を内旋方向にトルク 2 Nm, 垂直荷重 2 kN (片脚立位での内旋負荷に類似) とし, 骨折が生じるまで40°/secのトルクを加え, その骨折トルクとエネルギーを測定した。統計は Mann-Whitney U-tests を用いた。

【結果】

骨折型は全てVancouver type B2であること, 骨折トルクの平均はshort stem (37.5mm:114.3Nm, 44mm:131.7Nm, 50mm:163.9Nm), standard stem (37.5mm:136.9Nm, 44mm:156.2Nm, 50mm:180.2Nm) である事が示された。stemの長さやoffsetが大きくなるに従い, 骨折トルクも増加した。standard stemはshort stemに比し, それぞれのoffsetにおいて, 有意に骨折トルクが大きかったが, 多重検定において50mm offset では有意差を認めなかった。

【考察】

骨折が生じるトルクは日常生活で生じるトルクの7-10倍であり, standard stem, short stemいずれの選択も可能である。ただし骨粗鬆症を併発した脆弱な大腿骨に用いる場合は, standard stem が望ましい。

Exeter standard stemとshort stemについて, セメント固定を行った場合の骨折トルクに関して実験的研究は行われていない。3種類のoffsetに関する骨折トルクの分析に関しても, 全く新たな情報を提供した。

インプラント選択に極めて重要な情報を提供する事が可能となった優れた研究であり, 学位を授与するに十分な価値のある論文であると判定した。

氏 名	オドクー エルデネザヤ Odkhuu Erdenezaya
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第416号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Inhibition of receptor activator of nuclear factor-κB ligand (RANKL)-induced osteoclast formation by pyrroloquinoline quinine (PQQ) (ピロロキノリンキノン (PQQ) によるNF-κB活性化受容体リガンド (RANKL) 誘導破骨細胞形成の抑制)
論文審査委員	(主査) 教授 横 地 高 志 教授 佐 藤 元 彦 教授 吉 田 眞 理 教授 横 井 豊 治

学位論文内容の要旨

Introduction: Osteoclasts are bone-resorbing multinuclear cells derived from hematopoietic stem cells. The interaction between receptor activator of nuclear factor (NF)- κ B (RANK) and RANK ligand (RANKL) is essential for osteoclast differentiation. The binding of RANKL and RANK on osteoclast progenitor cells triggers the synthesis of NF of activated T cells (NFATc1). Also c-Fos is an essential transcription factor for osteoclastogenesis and positively regulates osteoclastogenesis via NFATc1 activation. On the other hand, RANKL induces interferon (IFN)- β as a strong inhibitor of osteoclastogenesis and negatively regulates osteoclastogenesis through type I interferon receptor (IFNAR). Pyrroloquinoline quinine (PQQ) possesses a variety of functions. However, there is no report on the role of PQQ on RANKL-induced osteoclast formation. It is of interest to clarify the effect of PQQ on RANKL-induced osteoclast formation. In this study we aimed to clarify if and how PQQ affected RANKL-induced osteoclast formation in RAW 264.7 murine macrophage-like cells. Here, we report a putative inhibitory mechanism of RANKL-induced osteoclast formation by PQQ.

Materials and methods: The murine macrophage cell line, RAW 264.7, was obtained

from Riken Cell Bank (Tsukuba, Japan) and maintained in α -MEM medium containing 5% heat inactivated fetal calf serum, antibiotics, antimycotics and non essential amino acid at 37°C under 5% CO₂. For osteoclast formation, RAW 264.7 cells were cultured in 96-well plates at a density of 5000 cells per well and were allowed to adhere overnight. The cells were cultured with 0.25 ml fresh media containing RANKL at 100 ng/ml for 6 days. The medium and RANKL were refreshed at third day of culture. Osteoclasts were identified as tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)-positive and multinucleated cells. The expression and activation of signal molecules were determined by immunoblotting. The cell surface molecule expression was analyzed by laser flowcytometry.

Results: 1) A number of TRAP-positive and multinuclear cells identified as osteoclasts appeared in the culture of RAW 264.7 cell with RANKL. On the other hand, PQQ at 1-10 μ M significantly inhibited RANKL-induced osteoclast formation.

2) PQQ inhibited the appearance of osteoclasts and prevented the decrease of F4/80 macrophage maturation marker on RANKL-stimulated cells, suggesting a preventive action of PQQ on RANKL-induced osteoclast differentiation.

3) PQQ inhibited the NFATc1 and its upstream molecule c-Fos in RANKL-stimulated cells. On other hand, PQQ did not inhibit the signaling pathway from RANK/RANKL binding to NFATc1 activation, including NF- κ B and mitogen-activated protein kinases (MAPKs).

4) PQQ did not affect RANKL-induced IFN- β production whereas PQQ significantly augmented the expression of type I interferon receptor (IFNAR) at 6, 12, 24 and 48 hr in RANKL responses.

5) PQQ significantly enhanced phosphorylation of signal transducer and activator of transcription (STAT) 1 as well as augmented expression of janus kinase (JAK1) and STAT1 in the presence of RANKL at 24 hr. Furthermore, the expression of an inducible type of nitric oxide synthase (iNOS), which is IFN- β inducible protein, was markedly enhanced by PQQ.

Discussion: In the present study we demonstrate that PQQ inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis through the inactivation of NFATc1 in RAW 264.7 macrophage-like cells. PQQ augments the IFNAR expression and subsequently the IFN- β signaling and the enhanced IFN- β signaling causes the impaired NFATc1 activation via reduced c-Fos expression. PQQ present ubiquitously in mammal tissues may control osteoclastic resorption through regulating osteoclastogenesis.

論文審査の結果の要旨

破骨細胞は骨吸収する役割を担っている多核の細胞である。receptor activator of nuclear factor (NF)-kappaB (RANK) とRANKリガンド (RANKL) の相互作用が破骨細胞分化に必須である。RANKLのRANKへの結合はtumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6) の活性化を導き、さらにNF-kappaB, 一連のmitogen-activated protein kinases (MAPKs) を活性化し、nuclear factor of activated T cells (NFATc1) の発現を増強する。このNFATc1は破骨細胞分化のカギとなる転写因子である。c-Fosも破骨細胞分化に必須の転写因子であり、NFATc1を介して破骨細胞分化を亢進する。他方で、c-Fosはインターフェロン β (IFN- β) を誘導し、破骨細胞分化を抑制する。ピロキノリンキノン (PQQ) は生育促進効果、抗酸化作用、ビタミン作用と多彩な機能をもっている。最近PQQが細胞内シグナル活性化に作用することが明らかとなった。本論文はRANKLによる破骨細胞分化におよぼすPQQの作用を明らかにしたものである。PQQはRANKLによるRAW 264.7マクロファージ細胞の破骨細胞への分化を抑制した。そのメカニズムは、PQQによるIFN受容体の発現増強によるネガティブフィードバックとPQQによるc-Fos発現抑制によるNFATc1の活性化障害であることを明らかにした。本論文はPQQが破骨細胞分化を制御することを世界にさきがけて解明し、PQQの骨粗鬆症治療への可能性を示唆した。

本論文はImmunology Letters誌に掲載され、その内容も優れていることから学位を授与するに十分な価値のある論文と判定した。

氏 名	藤 堂 真 紀
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第417号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Drug Interaction Between Sunitinib and Cimetidine and Contribution of the Efflux Transporter ATP-binding Cassette C2 to Biliary Excretion of Sunitinib in Rats (ラットにおけるスニチニブとシメチジンの薬物相互作用とスニチニブの胆汁排泄に対する排出トランスポーター ATP-binding Cassette C2の寄与)
論文審査委員	(主査) 教授 松 浦 克 彦 教授 岡 田 尚志郎 教授 今 井 裕 一 教授 住 友 誠

学位論文内容の要旨

【目的】

腎細胞がんの治療に広く用いられているマルチキナーゼ阻害薬スニチニブは、塩基性で、かつ脂溶性が高い特性を有し、主に肝薬物代謝酵素CYP3A4により代謝、またATP結合カセット輸送担体P糖タンパク質を介して胆汁中に排泄される。したがって、スニチニブはCYP3A4およびP糖タンパク質の基質、誘導薬および阻害薬などとの併用で、薬物相互作用が発現する可能性がある。H₂拮抗薬であるシメチジンは血管新生および腫瘍増殖の抑制作用を有し、免疫治療において併用されていた。スニチニブ治療においても併用される可能性がある。しかし、シメチジンはCYP3A4の阻害薬で、P糖タンパク質の基質でもある。本研究では、スニチニブの体内動態に及ぼすシメチジンの影響について、また、スニチニブの胆汁排泄に対するP糖タンパク質および多剤耐性関連タンパク質 (ATP-binding Cassette C2) (Abcc2) の寄与について明らかにすることを目的に、ラットを用いて検討した。

【方法】

実験動物には、9週齢のSD系雄性ラットおよびAbcc2を遺伝的に欠損しているエーザイ高ビリルビン血症ラット (EHBR) を用いた。シメチジン前処理および非処理SD

ラットにおけるスニチニブ単回静脈内投与実験およびSDラットおよびEHBRにおけるスニチニブの定常状態での胆汁排泄実験は常法に従って行った。血漿および胆汁中のスニチニブ濃度はLC-MS/MS法を用いて測定した。薬物速度論的パラメータはモデル非依存的に解析した。

【結果及び考察】

SDラットにスニチニブを単回静脈内投与したところ、シメチジン処理ラットにおいてスニチニブの血漿からの消失が有意に遅延した。薬物速度論的パラメータを解析したところ、シメチジン処理ラットにおいてスニチニブの全身クリアランスの低下と半減期の延長を認めた。これらの結果はシメチジンがスニチニブの体内動態を変化させることを示唆するものである。定常状態における胆汁排泄実験を行ったところ、シメチジンはスニチニブの胆汁クリアランスおよび排泄速度を変化させなかった。EHBRにおけるスニチニブの胆汁クリアランスはSDラットと比較して有意に低下、定常状態の血漿中濃度は有意に上昇したものの、胆汁排泄速度には変化を認めなかった。また、スニチニブの全身クリアランスに対する胆汁クリアランスの比は約0.1と小さかった。これはスニチニブが主にCYP3A4の代謝によって消失すること、またシメチジンがスニチニブの胆汁排泄に影響を及ぼさないこと、さらにスニチニブがAbcc2の基質ではなく、Abcc2以外の輸送担体を介して胆汁中に排泄されることを示唆するものである。EHBRにおいて観察されたスニチニブの定常状態における血中濃度の顕著な上昇は、スニチニブの肝取り込みに関与するトランスポーター（Oatp1とOatp2）の発現量の低下に起因するものと推察された。

以上より、シメチジンは主にスニチニブのCYP3A4による代謝を拮抗阻害することによって体内動態を変化させること、またスニチニブはAbcc2の基質ではないことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

2000年頃より分子標的薬剤が多数開発され、がん化学療法の治療成績が大きく改善してきた。マルチキナーゼ阻害薬であるスニチニブ（以下、SUN）は、転移性腎がんの標準治療であったインターフェロン療法と比較してOSおよびPFSを有意に改善し、現在ではFirst line治療として使用されている。一方で、SUNは、主に肝薬物代謝酵素CYP3A4の代謝を受けること、および種々の排泄トランスポーターによって胆汁排泄されることから多くの薬剤と相互作用が生じることが予想され、治療効果および副作用の発現に影響する可能性がある。そこで、CYP3A4を阻害し、かつP糖タンパク質（以下、P-gp）の基質であるシメチジン（以下、CIM）を用いてSUNの代謝および胆汁排泄に及ぼす影響について検討した。さらに、SUNの胆汁排泄に対する排泄トランスポータ

ー (P-gpおよびATP-binding cassette transporter C2: ABCC2) の寄与について検討した。

SUNの代謝に及ぼすCIMの影響についてはSDラットを用いて、CIMあるいは生食で前処理後、SUN単回静脈内投与し経時的にSUNの血中濃度を測定した。SUNの胆汁排泄に及ぼすCIMの影響についてはSDラットを用いて、SUN投与2時間後に、さらにCIMを投与し、CIM投与前後における胆汁中のSUN濃度を測定した。SUNの胆汁排泄に及ぼすABCC2の寄与については、エーザイ高ビリルビン血症ラット (以下、EHBR) を用いてSUN投与後の血中および胆汁中の濃度を測定した。血中および胆汁中のSUN濃度はLC-MS/MS法を用いて測定した。

CIM処理後のSDラットにおいてSUNの血中からの消失が有意に遅延し、SUNの全身クリアランスの低下および半減期の延長が認められた。一方、SUNの見かけの胆汁クリアランス (以下、CLbile) および胆汁排泄速度には影響を及ぼさなかった。EHBRにおいてSUNのCLbileはSDラットと比較して有意に低下し、血中濃度は有意に上昇したが、胆汁排泄速度には変化を認めなかった。以上のことからCIMは、主にSUNのCYP3A4による代謝を拮抗阻害することによって体内動態を変化させること、CIMは、SUNの胆汁排泄に影響を及ぼさないこと、さらにSUNの胆汁排泄においては、P-gpおよびABCC2の寄与は小さいことが示唆された。

本論文は、これまで報告されていなかったSUNおよびCIM併用時の薬物間相互作用およびSUNの胆汁排泄のトランスポーターの寄与を明らかにしたものであり、臨床でSUNを適正使用するために有用な情報を提供するものであることから学位を授与するに値する論文であると判定した。

氏 名	<small>ダミダンドルジ</small> <small>ラハガヴァスレン</small> Damdindorj Lkhagvasuren
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第418号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Assessment of the long-term transcriptional activity of a 550-bp-long human β-actin promoter region (ヒトベータアクチン遺伝子プロモーター領域の550塩基対の配列が有する長期的な転写活性の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 細 川 好 孝 教授 池 田 洋 教授 横 地 高 志 教授 米 田 政 志

学位論文内容の要旨

Introduction:

β -actin (*ACTB*) is one of the genes expressed most abundantly and ubiquitously in a wide range of human nonmuscular tissues. Previous studies have demonstrated pronounced transcriptional activity in an approximately 500–600-bp-long human *ACTB* (*hACTB*) promoter region. This 500–600-bp-long promoter thus appears to be suitable for the use within expression vectors to drive exogenous genes. The *hACTB* promoter may also have an advantage in directing long-term gene expression, because it is likely less prone to silencing by epigenetic changes including DNA methylation compared to viral promoters. However, systematic comparison of its long-term activity with those of other promoters has been scarcely performed to our knowledge.

In this study, we sought to examine the transcriptional activity of a 550-bp-long *hACTB* promoter fragment in multiple human somatic cell lines over time for up to 60 days, and compare it with those of several commonly used promoters, with a particular focus on the CMV promoter.

Materials and Methods:

Plasmids in which EGFP expression was driven by one of the *hACTB*, *hEF1 α* ,

CAG, CMV, and HSV-TK promoters were constructed. Multiple human somatic cell lines were transiently or stably transfected with these plasmids and processed for the measurement of GFP signals by flow cytometry over time for up to 60 days. We also evaluated the long-term transcriptional activities of the *hACTB* and the CMV promoters using plasmids expressing the luciferase gene under the control of these promoters.

Results:

In the transient transfection of plasmids, the CMV promoter directed the highest GFP signals among all promoters analyzed. However, the CMV promoter directed faint GFP signals in stably transfected cells. In contrast, the *hACTB* promoter, which drove the second highest GFP expression in transiently transfected cells, maintained significantly greater GFP signals than the CMV promoter for up to 60 days. A sustained long-term transcriptional activity of the *hACTB* promoter was also observed in a luciferase-based assay.

Discussion:

There have been several studies comparing the transcriptional activity of the *hACTB* promoter with those of various cellular and viral promoters. However, the current study focused on the long-term activity of the *hACTB* promoter, and provided evidence that the use of the *hACTB* promoter ensures sustained, high-level expression of exogenous genes for a period up to 60 days, at least in some human cell lines.

Other cellular or synthetic promoters, such as the *hEF1 α* and the CAG promoters, also demonstrated pronounced long-term transcriptional activities. However, the 550-bp-long *hACTB* promoter is about 1 kilobase shorter than these cellular/synthetic promoters commonly used in commercially available vectors, and thus likely to be useful for directing the expression of a large gene from a type of vector that has an upper size limit.

Conclusion:

This study demonstrated that a 550-bp-long *hACTB* promoter is an example of a cellular promoter with the ability to sustain long-term, high-level ectopic gene expression in human cell lines.

論文審査の結果の要旨

【研究の背景と目的】

ベーターアクチン遺伝子は、ヒトの組織で広範に普遍的に発現している遺伝子である。従来の研究から、ヒトベーターアクチン遺伝子 (*hACTB*) の550塩基長のプロモーター領域に高い転写活性があることが知られている。このプロモーター領域を用いた発現ベクターを利用して、外来性の遺伝子を強制的に発現させることが可能である。また *hACTB* プロモーターは長期間の遺伝子発現を可能にする利点も有している。しかしながら、*hACTB* プロモーターの長期遺伝子発現に関して他の遺伝子プロモーターと詳細に比較検討した研究はほとんど皆無である。そこで、我々は550塩基長の *hACTB* プロモーター領域のもつ長期転写活性能について、長期間（60日後まで）に亘り他の遺伝子プロモーター転写活性能と詳細に比較検討した。

【研究の方法】

EGFP遺伝子をレポーターとして、*hACTB*, *hEF1 α* , CAG, CMV, HSV-TKプロモーターの発現ベクターをそれぞれ作成した。発現ベクターを種々の細胞株に一過性あるいは安定導入し、GFPのシグナルを長期間（60日後まで）に亘りフローサイトメトリーを用いて定量した。また、ルシフェラーゼ遺伝子をレポーターとして用い、長期転写活性能について *hACTB* プロモーターとCMVプロモーターの活性を比較検討した。

【結果】

一過性導入では、CMVプロモーターが最も高い転写活性を示した。

安定導入では、CMVプロモーターによる転写活性は微弱であった。

一方、*hACTB* プロモーターは、一過性導入で2番目に高い転写活性を示し、安定導入で長期間（60日後まで）に亘り継続的に有意に高い転写活性を示した。

【考察】

従来、*hACTB* プロモーターの転写活性能に関する研究がいくつか報告されている。本研究では *hACTB* プロモーターの長期転写活性能に焦点をしぼり、*hACTB* プロモーターが種々のヒト細胞株で長期間に亘り高い転写活性を維持できることを初めて示した。外来性遺伝子の機能解析を行うために、長期的に高い発現を維持することが重要であるが、今回 *hACTB* プロモーターがその目的のために有用であることが示された。また、高効率の遺伝子ターゲティングベクターの開発にも *hACTB* プロモーターが有用であることが示唆された。

本研究により、遺伝子ターゲティング法による癌遺伝子や癌抑制遺伝子の機能解析等の基礎研究の進展や薬剤スクリーニングのためのシステム開発に向けた進展が期待されるため、学位を授与するに値するものと判断した。

氏名	小西裕子
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第419号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	A system for the measurement of gene targeting efficiency in human cell lines using an antibiotic resistance-GFP fusion gene (抗生剤耐性遺伝子-EGFP融合遺伝子を用いたヒト細胞株の遺伝子ターゲティング効率の定量)
論文審査委員	(主査) 教授 細川好孝 教授 佐藤元彦 教授 渡辺秀人 教授 住友誠

学位論文内容の要旨

【研究の背景と目的】

ヒト細胞株の遺伝子ターゲティングはヒト遺伝子の正確な機能解析を可能にする有用な実験手法である。しかし、ヒト細胞株では一般にDNA相同組換え効率が低いため、その技術的難易度は高いとされる。本研究では、高効率の遺伝子ターゲティング法を開発するための第一歩として、ハイグロマイシン耐性遺伝子とEGFPの融合遺伝子を利用し、ヒト細胞株におけるターゲティング効率を簡便に定量しうるアッセイ系を作成した。

【方法】

まず、ハイグロマイシン耐性遺伝子とEGFP遺伝子の5'末端側約3分の2との融合遺伝子(Hyg^R-5' EGFP)を擁するレポーターベクターを作成した。また、開始コドンを除いたEGFP遺伝子を5'ホモロジーアームに持つターゲティングベクターをアデノ随伴ウイルスの骨格を用いて作成した。ヒト大腸癌細胞株HCT116とDLD-1に上記レポーターベクターを安定導入し、クローンを単離した後、ターゲティングベクターを安定導入した。両ベクター間でDNA相同組換えが起きた細胞では全長EGFPが再構築されGFP陽性となることを利用し、DNA相同組換えの起きた細胞をフローサイトメトリーによって検出した。

【結果・考察】

上記のように両ベクターを順次細胞内に導入したところ、薬剤選択後のHCT116, DLD-1細胞のうちGFP陽性細胞の割合はそれぞれ0.7%, 2.3%であった。GFP陽性細胞から単離したクローンに対してPCRおよびサザンブロット解析を行い、両ベクター間で相同組換えが起きていることを確認した。また、上記のHyg^R-5' EGFPレポーターベクターを使用した場合、非融合型の5'末端側EGFP部分配列のみを持つレポーターベクターを使用した場合よりもレポータークローン樹立の効率がよい傾向が見られ、クローン樹立後4週間以上経過した後の検討でも、有意に高いレポーター機能を保持していた。

また、アデノ随伴ウイルスベクターをターゲティングベクターに用いた場合、プラスミドベクターを用いた場合の約100倍の効率で遺伝子ターゲティングを誘導することがこの系によって確認された。さらに、プロモータートラップ法を採用することにより遺伝子ターゲティング効率が約40倍上昇すること、ホモロジーアームの短縮により遺伝子ターゲティング効率が低下することも確認された。これらの実験結果から、本研究のアッセイ系はヒト細胞株における内在性遺伝子ターゲティング効率の迅速かつ正確な定量に有用であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

【研究の背景と目的】

遺伝子ターゲティングはヒト遺伝子の正確な機能解析を可能にする有用な実験手法であるが、一般にヒト細胞株ではDNA相同組換え効率が低いため、その技術的難易度は高い。本研究では、高効率の遺伝子ターゲティング法を開発するための第一歩として、ハイグロマイシン耐性遺伝子とEGFPの融合遺伝子を利用したヒト細胞株におけるターゲティング効率を簡便に定量しうるアッセイ系を作成した。

【方法】

まず、ハイグロマイシン耐性遺伝子とEGFP遺伝子の5'末端側約3分の2との融合遺伝子(Hyg^R-5' EGFP)を擁するレポーターベクターを作成した。また、開始コドンを除いたEGFP遺伝子を5'ホモロジーアームに持つターゲティングベクターをアデノ随伴ウイルスの骨格を用いて作成した。ヒト大腸癌細胞株HCT116とDLD-1に上記レポーターベクターを安定導入し、クローンを単離した後、ターゲティングベクターを安定導入した。両ベクター間でDNA相同組換えが起きた細胞では全長EGFPが再構築されGFP陽性となることを利用し、DNA相同組換えの起きた細胞をフローサイトメトリーによって検出した。

【結果・考察】

両ベクターを順次細胞内に導入したところ、薬剤選択後のHCT116, DLD-1細胞のうちGFP陽性細胞の割合はそれぞれ0.7%, 2.3%であった。GFP陽性細胞から単離したクローンに対してPCRおよびサザンブロッティング解析を行い、両ベクター間で相同組換えが起きていることを確認した。また、上記のHyg^R-5' EGFPレポーターベクターを使用した場合、非融合型の5'末端側EGFP部分配列のみを持つレポーターベクターを使用した場合よりもレポータークローン樹立の効率がよい傾向が見られ、クローン樹立後4週間以上経過した後の検討でも、有意に高いレポーター機能を保持していた。

また、アデノ随伴ウイルスベクターをターゲティングベクターに用いた場合、プラスミドベクターを用いた場合の約100倍の効率で遺伝子ターゲティングを誘導することがこの系によって確認された。さらに、プロモータートラップ法を採用することにより遺伝子ターゲティング効率が約40倍上昇することも確認された。以上から、本研究のアッセイ系はヒト細胞株における内在性遺伝子ターゲティング効率の迅速かつ正確な定量に有用であることが示唆された。

今後、本アッセイ系を利用することにより、癌遺伝子や癌抑制遺伝子の迅速な遺伝子ターゲティングの確立が可能となり、機能解析や薬剤スクリーニングへ向けた研究の進展が期待されるため、学位を授与するに値するものと判断した。

氏 名	寺 島 嗣 明 <small>てら しま つぐ あき</small>
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第420号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Flavopiridol inhibits interferon-γ-induced nitric oxide production in mouse vascular endothelial cells (フラボピリドールはマウス血管内皮細胞におけるインターフェロン-γ誘導一酸化窒素産生を抑制する)
論文審査委員	(主査) 教授 中 川 隆 教授 池 田 洋 教授 今 井 裕 一 教授 前 川 正 人

学位論文内容の要旨

フラボピリドール (FP) は、インドの薬用植物の樹皮から抽出合成された合成フラボノイドの一つである。FPはサイクリン依存性キナーゼ阻害薬であり、特にサイクリン依存性キナーゼ1, 2, 4, 7, 9を阻害し、抗腫瘍作用を示す。慢性B細胞性白血病に対する治療薬として承認されている。FPは抗腫瘍作用以外にも各種生物活性をもっている可能性がある。

血管内皮細胞は誘導型一酸化窒素 (NO) 合成酵素 (iNOS) を発現し、大量のNOを産生する。NOは血管拡張作用を持つばかりでなく、免疫系の主要な細胞傷害メディエーターでもある。インターフェロン- γ (以下IFN- γ) は血管内皮細胞に働き、JAK/STATシグナル経路の活性化を引き起こし、iNOSの発現を導き、大量のNOを産生する。

今回、FPが血管内皮細胞におけるIFN- γ 誘導NO産生にどのように影響するか検討し、その詳細な分子機構を調べた。

方法として、END-Dマウス血管内皮細胞を用いて、IFN- γ を作用させ、iNOSを誘導し、NOを産生させた。シグナル分子の活性化は免疫ブロット法、RNA解析はPCR法、細胞表面抗原の解析にはフローサイトメトリーを用いた。

その結果、END-D細胞に細胞毒性を示さないFP濃度で、IFN- γ 誘導NO産生を有意に抑制した。FPは、iNOS蛋白、mRNA発現を抑制することによってIFN- γ 誘導NO産生を抑制した。FPはIFN- γ シグナルのSTAT1の活性化を抑制し、さらに、STAT1下

流のinterferon-regulatory factor (IRF-1) も抑制した。しかしながら、FPはSTAT1を活性化するJAK1には影響を及ぼさなかった。また、FPはEND-D細胞の細胞表面にあるIFN- γ 受容体の発現にも影響を及ぼさなかった。

以上のことから、FPがIFN- γ 誘導NO産生を抑制することが明らかとなった。その抑制メカニズムは、IFN- γ の受容体の発現抑制でもなく、JAK1の不活性化でもなく、STAT1活性化の選択的抑制であった。このことは、FPがさまざまな腫瘍細胞のSTAT3に対する阻害剤として報告されていることとよく合致する。

さらに、FPはIFN- γ 誘導NO産生を抑制することによって抗炎症作用を示し、免疫抑制作用を示す可能性も示唆された。FPによって血管内皮細胞のNO産生が制御できれば、血管拡張や血管内皮細胞傷害も制御できる可能性もある。今回、抗癌剤であるFPが抗腫瘍作用ばかりでなく、多様な生物活性を示すことが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

フラボピリドール (FP) は、インドの薬用植物の樹皮から抽出され、化学合成されたフラボノイドの一つである。FPはサイクリン依存性キナーゼ阻害薬として、特にサイクリン依存性キナーゼ1, 2, 4, 7, 9を阻害し、抗腫瘍作用を示す。現在、慢性B細胞性白血病に対する治療薬として使用されている。FPは抗腫瘍作用以外にも多様な生物活性をもつ可能性がある。

本論文は、インターフェロン- γ (IFN- γ) によって刺激されたマウス血管内皮細胞による一酸化窒素 (NO) 産生に及ぼすFPの作用を検討したものである。

血管内皮細胞に細胞毒性を示さないFP濃度で、IFN- γ 誘導NO産生を有意に抑制した。FPは誘導型NO合成酵素 (iNOS) 蛋白、mRNA発現を抑制することによってIFN- γ 誘導NO産生を阻害した。FPはIFN- γ シグナルのSTAT1の活性化を抑制し、さらに、STAT1下流のinterferon-regulatory factor (IRF-1) の発現を抑制した。しかしながら、FPはSTAT1を活性化するJAK1分子には影響を及ぼさなかった。また、FPは血管内皮細胞の細胞表面にあるIFN- γ 受容体の発現にも影響を及ぼさなかった。

これらのことから、本論文はFPが血管内皮細胞におけるIFN- γ 誘導NO産生を抑制する分子メカニズムを明らかにし、その抑制メカニズムは、FPによるSTAT1活性化の選択的抑制であった。

FPによってIFN- γ 刺激血管内皮細胞におけるiNOSによる過剰なNO産生を抑制できることが明らかになり、FPにより過度の血管拡張や血管内皮細胞傷害を抑制できる可能性を示した。さらに、抗癌剤であるFPが免疫調節作用や抗炎症作用をもつことも明らかにした。

本論文はFPが抗腫瘍作用以外に多様な生物活性を示し、抗腫瘍以外の臨床的応用へ

の可能性を示し，学位を授与するに十分な価値のある論文と判定した。

氏 名	にし がみ とも ひこ 西 上 智 彦
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第421号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Development of Heat Hyperalgesia and Changes of TRPV1 and NGF Expression in Rat Dorsal Root Ganglion Following Joint Immobilization (関節不動化後の熱性痛覚過敏と脊髄後根神経節におけるTRPV1及びNGFの発現変化)
論文審査委員	(主査) 教授 牛 田 享 宏 教授 道 勇 学 教授 佐 藤 啓 二 教授 藤 原 祥 裕

学位論文内容の要旨

【目的】

日常臨床において四肢の骨折や靭帯損傷等の治療にあたって、ギプス固定などを用いて患肢の安静・不動化により組織修復を図る手技が広く行われている。しかし、このような関節の不動化は痛みなどの感覚系の機能異常を引き起こすことが指摘されており、難治性である複合性局所疼痛症候群（CRPS）の要因の一つであることが示唆されている。我々はこれまでに関節不動化モデル動物を用いた解析によって、脊髄後根神経節（dorsal root ganglion:DRG）ニューロンのカルシトニン遺伝子関連ペプチド（calcitonin-gene related peptide：CGRP）陽性細胞群のサブポピュレーションが大型化すること、脊髄後角深層のCGRPの発現が増加すること、脊髄後角における広作動域（wide-dynamic range：WDR）ニューロンが活性化していることを明らかにし、これらの変化がアロディニアや痛覚過敏を引き起こしている要因の一つであると考えてきている（Ushida T, J Orthop Sci. 2001；Nishigami T, Neurosci Lett. 2009）しかし、臨床のCRPS症例では機械的痛覚過敏のみではなく、熱性あるいは冷性痛覚過敏が生じることが報告されているが、関節不動化後にこのような変化が生じているかは明らかではない。本研究の目的は関節不動化モデル動物を用いて、熱性痛覚過敏が生じるかを行動学的に評価し、さらに、熱性痛覚過敏に関与しているカプサイシン受容体（transient receptor potential vanilloid1:TRPV1）および神経栄養因子（nerve growth factor：

NGF) の免疫組織化学的变化を検討することである。

【方法】

実験動物は8-10週齢のSD系雄性ラット14匹とした。関節不動化は右手関節を最大掌屈位としギプス固定を5週間行った。熱性痛覚過敏を評価するためにギプス除去6時間後にプランターテストを行った。痛み反応の潜時の測定を4回以上行い、得られた値を平均したものを採用した。ついで、ギプス除去24時間後に安楽死させ、灌流固定し、C7, C8のDRGを採取した。凍結切片作成後に12 μ mに薄切し、TRPV1, NGF抗体にて免疫組織学的染色を施した。解析はDRGにおける総細胞数に対するTRPV1, NGF陽性細胞数の割合をそれぞれ求めた。また、TRPV1, NGF陽性細胞の断面積を画像解析ソフトウェア (NIH Image) にて計測した。統計解析として、プランターテスト、陽性細胞数の割合をMann-Whitney's U検定にて有意差検定を行った。TRPV1, NGF陽性細胞群の断面積の差についてはKolmogorov-Smirnov test を用いて不動化側と対照側で比較した。なお、有意水準は5%未満とした。

【結果】

プランターテストによる潜時は不動化側では4.9秒 (4.1-5.2), 対照側では6.0秒 (5.7-6.6) であり、不動化側と対照側で有意な差が認められた。TRPV1の細胞数は不動化側では33.6% (30.6-35.8), 対照側では23.5% (22.0-27.8), NGFの総細胞数は不動化側では34.0% (30.0-35.9), 対照側では23.5% (21.7,24.5) であり、それぞれ不動化側と対照側で有意な差が認められた。また、TRPV1, NGF陽性細胞群の断面積の分布の差についてもそれぞれ不動化側と対照側で有意な差が認められた。

【考察】

本研究によって、関節の不動化は熱性痛覚過敏を引き起こすこと、TRPV1, NGF陽性細胞数の増加および断面積のサブポピュレーションが変化することが認められた。TRPV1のノックアウトマウスでは熱性痛覚過敏が消失することやTRPV1のアンタゴニストを末梢組織やDRGに投与すると、熱刺激に対するWDRニューロンの活動が減少することが報告されている。また、TRPV1の発現はNGFによって調節されていることが知られている。以上のことを総合すると、関節の不動化によって、末梢組織にNGFが誘導され、DRGにおいてTRPV1の合成が増加され、熱性痛覚過敏を引き起こしていることが予想される。

論文審査の結果の要旨

本論文は関節不動化によって熱性痛覚過敏が生じるか、また、脊髄後根神経節における疼痛関連分子の発現変化について検討した基礎研究である。

日常臨床において四肢の骨折や靭帯損傷等の治療にあたって、ギプス固定などを用い

て患肢の安静・不動化により組織修復を図る手技が広く行われている。しかし、このような関節の不動化は痛みなどの感覚系の機能異常を引き起こすことが指摘されており、難治性である複合性局所疼痛症候群（CRPS）の要因の一つであることが示唆されている。これまでに関節不動化モデル動物を用いた解析によって、脊髄後根神経節（dorsal root ganglion:DRG）ニューロンや脊髄後角深層におけるカルシトニン遺伝子関連ペプチド（calcitonin-gene related peptide：CGRP）の発現が増加すること、脊髄後角における広作動域（wide-dynamic range：WDR）ニューロンが活性化していることが明らかになっており、これらの変化がアロディニアや痛覚過敏を引き起こしている要因の一つであると考えられている。しかし、臨床において、CRPS症例では機械的痛覚過敏のみではなく、熱性あるいは冷性痛覚過敏が生じることが報告されているが、関節不動化後にこのような変化が生じているかは明らかではない。今回、関節不動化モデル動物を用いて、熱性痛覚過敏が生じるかを行動学的に評価し、さらに、熱性痛覚過敏に関与しているカプサイシン受容体（transient receptor potential vanilloid1：TRPV1）および神経栄養因子（nerve growth factor：NGF）の免疫組織化学的变化を検討した。

実験動物は8-10週齢のSD系雄性ラット14匹とした。関節不動化は右手関節を最大掌屈位としギプス固定を5週間行った。熱性痛覚過敏を評価するためにギプス除去6時間後にプランターテストを行った。ついで、ギプス除去24時間後に安楽死させ、灌流固定し、C7、C8のDRGを採取した。凍結切片作成後に、12 μ mに薄切し、TRPV1、NGF抗体にて免疫組織学的染色を施した。解析はDRGにおける総細胞数に対するTRPV1、NGF陽性細胞数の割合をそれぞれ求めた。また、TRPV1、NGF陽性細胞の断面積を画像解析ソフトウェア(NIH Image)にて計測した。統計解析として、プランターテスト、陽性細胞数の割合をMann-Whitney's U検定にて有意な差を求めた。

プランターテストによる潜時は不動化側では4.9秒(4.1-5.2)、対照側では6.0秒(5.7-6.6)であり、不動化側と対照側で有意な差が認められた。TRPV1の細胞数は不動化側では33.6% (30.6-35.8)、対照側では23.5% (22.0-27.8)、NGFの総細胞数は不動化側では34.0% (30.0-35.9)、対照側では23.5% (21.7-24.5)であり、それぞれ不動化側と対照側で有意な差が認められた。

本研究によって、関節の不動化は熱性痛覚過敏を引き起こすこと、TRPV1、NGF陽性細胞数の増加および断面積のサブポピュレーションが変化することが認められた。TRPV1のノックアウトマウスでは熱性痛覚過敏が消失することやTRPV1のアンタゴニストを末梢組織やDRGに投与すると、熱刺激に対するWDRニューロンの活動が減少することが報告されている。また、TRPV1の発現はNGFによって調節されていることが知られている。以上のことを総合すると、関節の不動化によって、末梢組織にNGFが誘導され、DRGにおいてTRPV1の合成が増加され、熱性痛覚過敏を引き起こしていることが予想される。

以上より，本研究は関節不動化により生じる熱性痛覚過敏の疼痛メカニズムの解明に極めて有益な情報を提示するものであり，学位を授与するに値すると判断した。

氏 名	の の やま ひろし 野々山 宏
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第422号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Evidence for bilateral endolymphatic hydrops in ipsilateral delayed endolymphatic hydrops: preliminary results from examination of five cases (同側型遅発性内リンパ水腫における両側内リンパ水腫のエビデンス)
論文審査委員	(主査) 教授 植 田 広 海 教授 岡 田 尚志郎 教授 石 口 恒 男 教授 高 安 正 和

学位論文内容の要旨

【はじめに】

同側型遅発性内リンパ水腫は一側に高度難聴を発症した後、長期間を経て障害耳が原因でめまいをひきおこす疾患であり、その病態は内リンパ水腫である。最近では、遅発性内リンパ水腫の症例にガドリニウム系造影剤を鼓室内投与し、MRIを撮影することにより内リンパ水腫を可視化できるとの報告がある。しかし、同側型遅発性内リンパ水腫症例における対側耳の評価はこれまでされていない。また遅発性内リンパ水腫を標準量のガドリニウム系造影剤を静脈内投与し評価した報告はない。そこでわれわれは同側型遅発性内リンパ水腫の症例5例に標準量のガドリニウム系造影剤を静脈内投与した後、MRIを撮影し両側耳の前庭における内リンパ水腫を評価した。

【方法】

一般量のガドジアミド(0.2ml/kg)を経静脈的に投与し、外リンパにおける濃度が最高となる投与後4時間後にMRIを撮影した。画像の評価は造影剤の分布によって3段階で評価した。

【結果】

すべての症例で障害耳に内リンパ水腫を認めた。5例中4例においては対側耳においても内リンパ水腫を認めた。5例中3例で障害側の方が対側より大きな水腫を認めた。

【考察】

今回の研究でわれわれは同側型遅発性内リンパ水腫において、一般量の造影剤を経静脈的に投与し可視化することに成功した。これまでの障害耳における検査では陽性率が75-82%であったが、本研究では全例に内リンパ水腫を認められたため有用な検査であると考えられる。罹病期間と障害耳内リンパ水腫の重症度との間に関連性は認められなかったが、発症からの期間が短いものはMRI所見が比較的軽度であった。

今後はさらに多くの症例において検討し、診断の有用性が改善するガドリニウム造影剤のレジメンを考える必要がある。

論文審査の結果の要旨

【目的】

一側に高度感音難聴を生じた患者が、数年から数十年後にメニエール病類似のめまい発作を起こすことがあることが知られている。これらの患者の剖検所見より、高度難聴側耳あるいは反対側耳の内耳に内リンパ水腫が生じていることが証明され、この疾患を遅発性内リンパ水腫と呼称するようになった。最近、遅発性内リンパ水腫の症例にガドリニウム造影剤を鼓室内投与し、MRIを撮影することにより内リンパ水腫を可視化できるとの報告がなされた。しかしながら、鼓室内投与では、両側耳に投与しないかぎり反対側耳の状態を検討できない。そこで、高度難聴側耳を原因部位とする同側型遅発性内リンパ水腫患者に標準量のガドリニウムを静脈投与してMRIにて両側耳の内リンパ水腫の有無を可視化できないかと考えて検討を行った。

【対象と方法】

本邦で用いられている診断基準に合致する同側型内リンパ水腫患者5例に、標準量のガジアミド(0.2ml/kg)を経静脈的に投与し、外リンパ腔における濃度が最大となるとされる投与後4時間後に3-T MRI(3D-FRFSE法及び3D-FLAIR法)を撮影した。画像の評価の検討には、内リンパ腔においては造影剤が浸透せず、造影剤の欠損として認められるため、最も状態を観察しやすい内耳前庭部での造影剤の分布と欠損の状態により3段階に分類した。

【結果】

すべての症例で、高度難聴側耳の内耳前庭部に造影剤の欠損部を認め内リンパ水腫の存在を確認した。また、5例中4例に対側耳においても内リンパ水腫を認めた。

5例中3例で障害側耳の方が対側耳より大きな水腫を認めた。罹病期間と内リンパ水腫の程度には相関を認めなかった。

【考察およびまとめ】

今回の結果より、同側型遅発性内リンパ水腫患者において、標準量の造影剤の静脈投

与で内耳前庭部における内リンパ水腫の存在を可視化できた。従来の蝸電図等の機能検査による内リンパ水腫の陽性率は75%～82%とされており、今回はそれを凌駕する陽性率となった。また、同側型と診断される例でも反対側耳にも内リンパ水腫が存在する例があることが示唆された。

以上の結果は、渉猟しうる限り世界で初めての報告であり今後更に症例数を増やして検討する必要があるものの、非常にオリジナリティが高く学位に十分値すると判断する。

氏 名	ハック ムハマド アミヌル Huq Muhammad Aminul
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第423号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	4G/5G Polymorphism of the Plasminogen Activator Inhibitor-1 Gene Is Associated with Multiple Organ Dysfunction in Critically ill Patients (Plasminogen activator inhibitor-1の4G/5G遺伝子多型と多臓器不全の関連)
論文審査委員	(主査) 教授 中 川 隆 教授 横 地 高 志 教授 米 田 政 志 教授 横 井 豊 治

学位論文内容の要旨

I. 目的

重症患者における凝固線溶異常は、微小血栓による血流障害を引き起こし臓器不全発症の一因である。線溶抑制因子であるPlasminogen activator inhibitor (PAI)-1の上昇は、多くの病態で認められており、微小血栓形成の原因として重要視されている。PAI-1遺伝子の転写調節領域にある4G/5G遺伝子多型はPAI-1発現量を規定しているため、重症患者の微小循環障害と4G/5G遺伝子多型間に何らかの関連性を有する事が予想される。本研究は、集中治療室で管理した重症患者の4G/5G遺伝子多型、PAI-1活性を測定し、臓器不全指数を初めとした重症度との関連を解析した。

II. 対象と方法

2008年12月から1年間、ICUに入室した成人患者41名を対象とした。内訳は敗血症20名、急性心筋梗塞5名、慢性腎不全3名、熱傷2名、多発外傷3名、くも膜下出血2名、脳梗塞2名、心原性肺水腫2名、偶発性低体温症1名、腹部大動脈瘤破裂1名であった。平均年齢68歳、死亡率41%、SOFAスコア7点、DICスコア3点であった。転写調節領域にある4G/5G遺伝子多型は、末梢白血球から抽出したDNAを用いてPCR法で測定した。使用プライマーは5'-CACAGAGAGAGTCTGGCCACGT-3'、5'-CCAACAGAGGACTCTTGGTCT-3'で、PCR産物をBsl I 制限酵素で切断後、4%アガロースゲル電気泳動で切断産物を分離しethidium bromide で確認した。すなわち4G

は99-bp, 5Gは77と23 bp を, 4G/5Gは99, 77と23 bp のバンドとして同定した。血清PAI-1抗原値は市販のELISAキットで測定した。重症度はSOFAスコア, DICスコアで判断した。

Ⅲ. 結果

遺伝子多型は41名中4G/4G16名, 4G/5G21名, 5G/5G 4名であった。血中PAI-1抗原値 (mean±SD) は4G/4G群 で 193.31 ± 167.93 ng/ml, 4G/5G群 で 100.67 ± 114.16 ng/ml, 5G/5G群で 0.43 ± 0.53 ng/mlであった。4Gを有する群で有意に高値であった。死亡率は, 4G/4G群で63%, 4G/5G群で33%, 5G/5G群で0%であった。血中PAI-1抗原値と動脈血乳酸値 ($R^2=0.62, p=0.0002$), SOFAスコア ($R^2=0.68, p \leq 0.0001$), DICスコア ($R^2=0.81, p \leq 0.0001$) 間に正の相関を認めた。

Ⅳ. 結論

4G/5G遺伝子多型が血中PAI-1抗原値に影響を与えている事を明らかにした。4G alleleによるPAI-1抗原値上昇は, 死亡率を3.26倍上昇させるなど重症度を高める要因の一つと考えられた。血中PAI-1抗原値の上昇は, 線溶抑制による微小血栓形成を惹起し微小循環障害を引き起こし, 臓器不全発症の一因となる危険因子である事が推測された。

論文審査の結果の要旨

I. 目的

重症患者における凝固線溶異常は, 微小血栓による血流障害から臓器不全発症の一因となる。線溶抑制因子であるPlasminogen activator inhibitor (PAI) -1の上昇は微小血栓形成の原因として重要視されている。PAI-1遺伝子の転写調節領域にある4G/5G遺伝子多型はPAI-1発現量を規定しており, 微小循環障害と4G/5G遺伝子多型間に何らかの関連性があると予想される。集中治療室で管理した重症患者の4G/5G遺伝子多型, PAI-1活性を測定し, 臓器不全指数を初めとした重症度との関連を解析した。

Ⅱ. 対象と方法

対象は2008年12月から1年間, 愛知医大病院ICUに入室した成人患者41名で, 内訳は敗血症20名, 急性心筋梗塞5名, 慢性腎不全3名, 熱傷2名, 多発外傷3名, くも膜下出血2名, 脳梗塞2名, 心原性肺水腫2名, 偶発性低体温症1名, 腹部大動脈瘤破裂1名であった。平均年齢68歳, 死亡率41%, SOFAスコア7点, DICスコア3点であった。転写調節領域にある4G/5G遺伝子多型は, 末梢白血球から抽出したDNAを用いてPCR法で測定した。4%アガロースゲル電気泳動で切断産物を分離し, 4Gは99-bp, 5Gは77と23 bp を, 4G/5Gは99, 77と23 bp のバンドとして同定した。血清PAI-1抗原値は市販のELISAキットで測定した。重症度はSOFAスコア, DICスコアで判断した。

Ⅲ. 結果

遺伝子多型は41名中4G/4G 16名, 4G/5G 21名, 5G/5G 4名であった。血中PAI-1抗原値 (mean±SD) は4G/4G群で 193.31 ± 167.93 ng/ml, 4G/5G群で 100.67 ± 114.16 ng/ml, 5G/5G群で 0.43 ± 0.53 ng/ml であり, 4Gを有する群で有意に高値であった。死亡率は4G/4G群で63%, 4G/5G群で33%, 5G/5G群で0%であった。血中PAI-1抗原値と動脈血乳酸値 ($R^2 = 0.62, p = 0.0002$), SOFAスコア ($R^2 = 0.68, p \leq 0.0001$), DICスコア ($R^2 = 0.81, p \leq 0.0001$) 間に正の相関を認めた。

Ⅳ. 結論

4G/5G遺伝子多型が血中PAI-1抗原値に影響を与えている事が判明した。4G alleleによるPAI-1抗原値上昇は, 死亡率を3.26倍上昇させ重症度を高める要因の一つと考えられた。血中PAI-1抗原値の上昇は, 線溶抑制による微小血栓形成を惹起し微小循環障害を引き起こし, 臓器不全発症の一因となる危険因子であると推測された。

本論文は血中PAI-1抗原値が4G/5G遺伝子多型の影響を受けていることを明らかとし, 微小血栓形成から臓器不全発症へのメカニズム解明の一端を示したものであり, 学位を授与するに十分な価値のある論文と判定した。

氏 名	ばく 麦 まさ 雅 代
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第424号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	REM睡眠行動障害患者における嗅覚障害の検討
論文審査委員	(主査) 教授 植 田 広 海 教授 道 勇 学 教授 兼 本 浩 祐 教授 風 岡 宜 暁

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

REM睡眠行動障害(RBD)は、REM睡眠中に起こる睡眠随伴症のひとつである。REM睡眠中に、筋緊張の抑制が欠如し夢行動に一致した行動が出現する。神経変性疾患の早期症状として報告されており、長期観察において神経変性疾患への罹患が多く、40～65%にもものぼるといわれている。今回の研究では、神経変性疾患と関連が深いRBD患者において、嗅覚障害の頻度と傾向の検討を行ったので報告する。

愛知医科大学病院睡眠科にてRBDと診断された患者で、研究に同意を得られた49例を対象とした。認知機能はMMSEを用い、耳鼻科診察、鼻腔通気度検査、基準嗅力検査を施行した。基準嗅力検査は5種のニオイ溶液で構成され、どのようなにおいかわかった濃度(認知域値)の平均値より、5段階に嗅覚障害を分類する。又、嗅覚障害の程度とMMSE値の関係を回帰分析にて検討した。

MMSE検査は、43例で施行した。24点以下は5例であった。鼻診察では、9例で異常を認めた。鼻腔通気度検査では、11例で鼻閉を認めた。基準嗅力検査では、32例(65.3%)で嗅覚障害を認めた。MMSE施行例で呼吸性または嗅粘膜性嗅覚障害を除いた40例において、基準嗅力検査の平均認知域値とMMSE値の関係について表示した。MMSE値が低下すると平均認知域値が上昇するという相関関係は認めなかった。(P=0.501372)

嗅覚も他の感覚器と同様に加齢とともに機能低下をきたすと言われており、65歳以上では嗅覚障害の有病率は13.9%であると報告がある。神経変性疾患では、初期から加齢による低下を超えた嗅覚障害が認められると多数の報告がある。

本研究ではRBD患者を対象に本邦で保険適応のある、基準嗅力検査を用いて、嗅覚

障害の検討を行った。RBD患者49例中、32例（65.3%）が嗅覚障害と診断された。5例は呼吸性又は、嗅粘膜性嗅覚障害と診断した。残りの27例は、中枢性嗅覚障害と診断した。神経変性疾患が確定している4例とMMSE低値の計8例は、神経変性疾患や認知症存在の可能性があると考えられ、うち6例は嗅覚障害を認めた。

REM睡眠行動障害患者では65.3%と高率に嗅覚障害を認め、うち84.4%は中枢性嗅覚障害であった。RBD症例において嗅覚障害は神経変性疾患発症の予測因子となりえると考えられ、嗅覚の検討は有用であると言える。

論文審査の結果の要旨

【目的】

REM睡眠行動障害（RBD）は、REM睡眠中に起こる睡眠随伴症のひとつであり、REM睡眠中に筋緊張の抑制が欠如し夢行動に一致した行動が出現する。長期経過でParkinson病、Lewy小体認知症などの神経変性疾患への発症が40～65%にのぼるとの報告がある。一方、嗅覚障害は神経変性疾患の初期指標との報告があり、今回神経変性疾患との関連が深いRBD患者において、嗅覚障害の状態が神経変性疾患発症の予測になるのではないかと考え検討した。

【対象と方法】

愛知医科大学病院睡眠科にてRBDと診断された49例を対象とした。認知機能はMMSEで評価し、自覚症状、鼻内視診、鼻腔通気度検査、基準嗅力検査にて嗅覚障害の程度および障害部位の推定を行った。

【結果】

基準嗅力検査にて平均認知閾値が1.1以上を嗅覚障害とした場合、対象49例中嗅覚正常例は17例、呼吸性または嗅粘膜性嗅覚障害（鼻内視診あるいは鼻腔通気度検査異常例）は5例、中枢性嗅覚障害は27例に認められた。MMSE検査にて43例中24点以下は5例あった。経過中神経変性疾患と診断された4例とMMSE低値の計8例中6例に中枢性嗅覚障害を認めた。MMSE施行例で呼吸性または嗅粘膜性嗅覚障害を除いた40例についての検討では基準嗅力検査の平均認知閾値とMMSE値の間に相関は認められなかった。

【考察およびまとめ】

今回の結果で、RBD患者では65.3%に嗅覚障害を認め、うち84.4%は中枢性嗅覚障害を示した。一般に嗅覚は他の感覚器とともに機能低下をきたすと言われており、65歳以上では嗅覚障害の有病率は13.9%であるとの報告がある。今回の症例でRBD患者の年齢と平均認知閾値の相関を検討したが相関は認められなかった。

しかしながら今回のRBD患者の嗅覚障害の有病率は、加齢に伴う嗅覚障害の有病率

よりはるかに高率であった。ただし、嗅覚障害の例のなかにはRBDとは直接関連のないと考えられる呼吸性または嗅粘膜性嗅覚障害例も含まれており耳鼻科的診察の必要性が示唆された。

以上の結果より、RBD症例において、嗅覚障害が神経変性疾患発症の予測因子となる可能性が示唆され、かつ嗅覚障害の評価に対する耳鼻科的診察の必要性を明らかにした貴重な論文であり学位に値すると判断する。

氏 名	メンジャガル アディルサイハン Mendjargal Adilsaikhan
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第425号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Pifithrin-α, a pharmacological inhibitor of p53, downregulates lipopolysaccharide-induced nitric oxide production via impairment of the MyD88-independent pathway (p53阻害剤であるピフィスリン-αは, MyD88非依存性経路を抑制してリポ多糖体誘発一酸化窒素産生を減弱させる)
論文審査委員	(主査) 教授 野 浪 敏 明 教授 池 田 洋 教授 松 浦 克 彦 教授 福 富 隆 志

学位論文内容の要旨

Introduction: Pifithrin (PFT)- α a pharmacological inhibitor of p53, reversely inhibits a p53 transcriptional activity. As far as is known, there is no report on the in vitro effect of PFT- α on lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory response including production of cytokines and nitric oxide (NO). Recently, PFT- α is reported to prevent LPS-induced hepatic injury. LPS leads to the production of large amounts of nitric oxide (NO) via the expression of an inducible isoform of NO synthase (iNOS) and the excessive NO release is involved in LPS-induced cell death and tissue injury. LPS triggers the NO production through activating both MyD88-dependent and independent pathways after the binding to toll like receptor (TLR) 4. In particular, LPS-induced interferon (IFN)- β production in the MyD88-independent pathway, including TRAF3, TRIF, IKK- ϵ and IRF3, is a key event and correlated with the production of NO. In the present study, we studied the effect of PFT- α on LPS-induced NO production. Incidentally, we found that PFT- α inhibited LPS-induced NO production in vitro, independent of p53.

Materials and methods: The murine macrophage cell line, RAW 264.7, was obtained from Riken Cell Bank (Tsukuba, Japan) and maintained in α -MEM medium containing

5% heat inactivated fetal calf serum, antibiotics, antimycotics and non essential amino acid at 37°C under 5% CO₂. Culture medium supernatant was collected to analyze NO and cytokines with Greass reagent and enzyme linked immune absorbent assay, respectively. The expression and activation of signal molecules were determined by immunoblotting. The expression of mRNA was quantified by real time polymerase chain reaction.

Results: 1) PFT- α at 5 and 10 μ M inhibited LPS-induced NO production whereas it did not affect the TNF- α production.

2) PFT- α significantly reduced the expression of iNOS protein and mRNA in LPS-stimulated cells (approximately 50% inhibition).

3) To confirm that PFT- α downregulates LPS-induced NO production via inhibition of p53, the effect of p53-specific siRNA on LPS-induced iNOS expression was examined. Silencing of p53 with siRNA dose not inhibit LPS-induced iNOS expression. Other hand, PFT- α reduced LPS-induced iNOS protein expression in cells transfected with p53-specific or control siRNA.

4) PFT- α at the concentrations ranging from 1 to 10 μ M inhibited LPS-induced IFN- β production. The expression of IFN- β mRNA was also inhibited by PFT- α , suggesting that PFT- α might inhibited LPS-induced NO production via downregulation of the IFN- β production in the MyD88-independent pathway.

5) PFT- α reduced the level of IKK- ϵ and IRF3 phosphorylation. PFT- α reduced the expression level of TRAF3 but not TRIF. PFT- α gradually reduced the TRAF3 expression in the presence or absence of LPS.

6) PFT- α inhibited the NO production in response to poly I:C as well as LPS. In other hand, PFT- α did not inhibit IFN- β -induced NO production.

Discussion: In the present study we have demonstrated that PFT- α inhibits LPS-induced NO production via impairment of the MyD88-independent pathway. PFT- α does not affect the production of TNF- α mainly dependent on the MyD88-dependent pathway of LPS signaling. On the other hand, it reduces the production of IFN- β that is characteristic of the MyD88-independent one. Moreover, PFT- α inhibits the NO production in response to poly I:C, which utilizes TRIF, TRAF3 and IRF3 in the NO production pathway, like the MyD88-independent pathway. Collectively, PFT- α is strongly suggested to impair the MyD88-independent pathway but not MyD88-dependent pathway and attenuate LPS-mediated inflammatory response.

論文審査の結果の要旨

エンドトキシン (LPS) は誘導型一酸化窒素 (NO) 合成酵素 (iNOS) を発現させ、大量のNOを産生させ、細胞死、組織傷害を導き、多臓器不全を引き起こす。LPSはMyD88依存、非依存性シグナル経路の両者を活性化し、NO産生を誘導する。特に、LPSによる β インターフェロン (IFN- β) 産生がiNOS発現に重要である。LPSによる炎症反応、臓器障害の阻止には、このLPSのシグナル経路の制御が標的となりうる。Pifithrin (PFT)- α はp53の阻害剤でp53の転写活性を抑制し、p53の機能解析に広く用いられる。p53は炎症反応を導くNF- κ Bの制御因子でもある。

本論文は、p53阻害剤であるPFT- α のLPS誘発NO産生におよぼす作用を解析したものである。PFT- α はiNOS発現を抑制し、NO産生を減少させた。p53発現抑制細胞でもPFT- α はその抑制作用を示し、p53阻害とは異なるメカニズムでNO産生を抑制した。p53はLPSのMyD88非依存性経路のIFN- β 産生を抑制し、NO産生を抑制することを明らかにした。さらに、p53の標的分子がTNF receptor-associated factor (TRAF) 3である可能性も見出した。

本論文はp53阻害剤であるPFT- α がp53阻害と異なる作用で、LPSのMyD88非依存性経路を阻害し、NO産生を抑制することを明らかにし、PFT- α がエンドトキシンによる炎症反応の制御に有効であることを見出したこと、さらにPFT- α およびその誘導体によるエンドトキシンショック治療への可能性も示唆され、学位を授与するに十分な価値のある論文と判定した。

氏 名	モハンマド ソヘル サマド Mohammad Sohel Samad
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第426号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of <i>Wuchereria bancrofti</i> infection using urine samples and its application in Bangladesh (バンククロフト糸状虫症診断のための尿を用いたELISA法のバングラデシュ流行地への応用)
論文審査委員	(主査) 教授 横 地 高 志 教授 池 田 洋 教授 菊 地 正 悟 教授 今 井 裕 一

学位論文内容の要旨

【Background】

In Sri Lanka, an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), which was developed as a diagnostic method for lymphatic filariasis, showed high sensitivity and specificity in detecting filaria-specific IgG4 in urine samples. It also produced much higher positive rates than antigen tests in prevalence studies with young children. In this study, we have confirmed the usefulness of the urine ELISA in a field of Bangladesh.

【Methods】

In Thakurgaon district in the northern region of Bangladesh where lymphatic filariasis is endemic, 749 people were examined for the circulating filaria antigen with immunochromatographic card test (ICT). After obtaining the results, urine samples were collected from 105 ICT positive people. On the same day at night (10:00 pm-12:00 midnight) blood samples were collected from them for mf smears.

As lymphatic filariasis non-endemic area, Feni district in the southern part of the country was selected. A total of 104 people were selected as non-endemic healthy controls and examined with ICT and their urine samples were collected to be used as negative standard.

The efficacy of detecting infection/exposure to *Wuchereria bancrofti* was compared

between urine ELISA and ICT with 319 schoolchildren in Panchagarh, the northernmost district of Bangladesh.

All the urine samples were examined by ELISA to detect anti-filaria IgG4.

【Results】

The ELISA detected 89 of 105 (85%) ICT antigen test positive subjects in endemic areas. With both ICT and microfilaria positives, the sensitivity was 97% (30/31). All of 104 ICT negative people in a non-endemic area were ELISA negative (100% specificity). In the prevalence study with 319 young children (5-10 years) from a low endemic area, seven (2.2%) were detected by the present urine test, but only one (0.3%) by ICT (P=0.075).

【Conclusion】

The satisfactorily high sensitivity, 100% specificity and effective case detection among young ages along with scope for analyzing the titers will indicate urine ELISA to be an effective tool to confirm elimination or to detect resurgence in Bangladesh where anti-filariasis control program by mass-drug administration (MDA) has almost been completed.

論文審査の結果の要旨

フィラリア症の診断には様々な方法があるが、発展途上国において簡便で経済的な方法が求められる。

本論文は、これまでスリランカや中国でその有用性が確かめられた簡便で侵襲性が少なく住民の協力が得やすい、尿中の抗フィラリア抗体を測定する尿酵素抗体法（ELISA法）を、現在フィラリア対策が進行中であるバングラデシュの流行地で応用し、その成果を検討したものである。血中抗原を測定する免疫クロマトグラフィー試験（ICT）陽性者の85%はこのELISA法でも陽性であり、ICT陰性者はすべて陰性であり、十分な感度・特異性をもっていることを見出した。非流行地域の5～10歳の学童の疫学調査では、この尿ELISA法で7人が陽性となり、集団治療による効果を確認している。

尿サンプルを用いて、尿中のフィラリア抗体を検出するELISA法がバングラデシュの疫学調査においてフィラリア症診断に特異性、感度において十分に使用できることを見出した。

本論文は、バングラデシュのフィラリア症疫学調査において、この尿ELISA法が十分な有効性を示すことを見出し、他の発展途上国への応用も示唆した。本論文は寄生虫学の国際的な雑誌にも掲載されており、その内容も優れていることから学位を授与するに十分な価値のある論文と判定した。

氏 名	ツオルモン ビルゲトサイハン Tsolmon Bilegtsaikhan
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第427号
学位授与年月日	平成26年3月1日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	A toll-like receptor 2 ligand, Pam3CSK4, augments interferon- γ -induced nitric oxide production via a physical association between MyD88 and interferon- γ receptor in vascular endothelial cells (toll-like receptor 2 リガンドである Pam3CSK4 は血管内皮細胞において MyD88 とインターフェロン γ 受容体との会合を介して, インターフェロン γ による一酸化窒素産生を増強する)
論文審査委員	(主査) 教授 横 地 高 志 教授 渡 辺 秀 人 教授 米 田 政 志 教授 渡 邊 大 輔

学位論文内容の要旨

Introduction

Vascular endothelial cells are critical targets for microbial products and are directly exposed to them. A series of toll-like receptors (TLRs), which are innate immune pattern recognition receptors, recognize a variety of microbial products and activate vascular endothelial cells in response to microbial products. The TLR signaling is reported to cooperate the interferon (IFN)- γ signaling pathway by influencing the activity of transcription factors, such as signal transducer and activator of transcription (STAT) 1. However, the precise action of other TLR ligands on the IFN- γ signaling in vascular endothelial cells is unknown. In this study, we examined the effect of a series of TLR ligands on IFN- γ -induced nitric oxide (NO) production by using murine vascular endothelial END-D cells and found their enhancing effect on the NO production. Among TLR ligands tested, we focused on the enhancing mechanism of Pam3CSK4, a TLR2 ligand.

Materials and Methods

The murine aortic endothelial END-D cells and the murine macrophage RAW 264.7 cells were pretreated with or without Pam3CSK4 and then stimulated with IFN- γ . Nitrite, the end product of NO metabolism, was measured using the Griess reagent. The expression of protein and mRNA was determined by immunoblotting and reverse transcription-polymerase chain reaction, respectively. The phosphorylation and expression of various signaling molecules were analyzed with immunoblotting. MyD88-specific or non-targeting small interfering RNA was transfected into the cells. The physical association was analyzed with immunoprecipitation and immunoblotting.

Results

Pretreatment or post-treatment with Pam3CSK4 augmented IFN- γ -induced NO production via enhanced expression of an inducible NO synthase (iNOS) protein and mRNA. Pam3CSK4 augmented phosphorylation of Janus kinase (JAK) 1 and 2, followed by enhanced phosphorylation of STAT1 at tyrosine 701. Subsequently, the enhanced STAT1 activation augmented IFN- γ -induced interferon-regulatory factor (IRF) 1 expression leading to the iNOS expression. There was no augmented IFN- γ receptor (IFN- γ R) expression on Pam3CSK4-treated cells. Pam3CSK4 also induced the activation of p38 and subsequent phosphorylation of STAT1 at serine 727. A pharmacological p38 inhibitor abolished the augmentation of IFN- γ -induced NO production by Pam3CSK4. Pam3CSK4 enhanced a physical association of MyD88 and IFN- γ R.

Conclusion

We have demonstrated that Pam3CSK4, a TLR2 ligand, upregulates IFN- γ -induced NO production via enhanced IFN- γ signaling in vascular endothelial cells. It is supported by the augmentation of IFN- γ -induced JAK1/2 and STAT1 phosphorylation by Pam3CSK4. Interestingly, Pam3CSK4 pretreatment accelerates IFN- γ -induced STAT1 phosphorylation, suggesting that IFN- γ more rapidly activates the JAK/STAT signaling in Pam3CSK4-pretreated cells. Therefore, Pam3CSK4 may upregulate the IFN- γ signaling more rapidly and strongly, followed by higher expression of IFN- γ -induced genes. The augmentation of IFN- γ signaling by Pam3CSK4 is mediated by two different mechanisms; one is a physical association between IFN- γ R α and MyD88; the other is p38-dependent phosphorylation of STAT1 at S727. TLR signaling is suggested to regulate IFN- γ signaling in the expression of IFN- γ -induced genes in vascular endothelial cells.

論文審査の結果の要旨

toll-like receptor (TLR) は各種病原体由来物質を認識し、自然免疫を活性化する。インターフェロン γ は特異免疫、炎症反応に対する調節作用を有する。このTLR刺激とインターフェロン γ (IFN- γ) 刺激との相互作用については不明な点が多い。

本論文はTLR2刺激物質であるPam3CSK4のインターフェロン γ (IFN- γ) 誘発一酸化窒素 (NO) 産生におよぼす作用をマウス血管内皮細胞株を用いて調べたものである。本論文で用いられた合成リポ蛋白質Pam3CSK4は細菌由来リポ蛋白質に類似し、TLR2を刺激し、炎症反応物質を産生させ、自然免疫を活性化する。このことから、本論文は細菌感染症と引き続き起こる生体防御反応としてのIFN- γ 誘発NO産生との相互作用を解明しようとしたものである。

Pam3CSK4はIFN- γ シグナルのJAK1/STAT1を活性化し、さらにinterferon regulatory factor (IRF) 1の発現を増強し、誘導型NO合成酵素の発現を亢進し、IFN- γ によるNO産生を増強した。IFN- γ シグナルの増強メカニズムは、Pam3CSK4によるp38を介したSTAT1の727部位のセリンリン酸化とMyD88のIFN- γ 受容体との会合によることを明らかにした。

特に、TLR刺激物質によるMyD88とIFN- γ 受容体との会合は今まで報告はなく、さらにTLR関連分子であるMyD88がサイトカイン受容体に結合し、その作用を増強するという全く新しい知見を提供した。

本論文はImmunology誌に掲載され、その内容も優れていることから学位を授与するに十分な価値のある論文と判定した。

氏 名	上 田 純 子 <small>うえ だ じゅん こ</small>
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第428号
学位授与年月日	平成26年 3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Prevalence of <i>Helicobacter pylori</i> infection by birth year and geographic area in Japan (日本の地域, 生年ごとのヘリコバクターピロリ感染有病率)
論文審査委員	(主査) 教授 菊 地 正 悟 教授 横 地 高 志 教授 福 沢 嘉 孝 教授 春日井 邦 夫

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【背景】

日本は、全世界的に見ても胃がんのハイリスク地域である。*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染が、胃がん発生の主たる要因であることが示され、早期胃癌内視鏡切除後の除菌で胃癌再発が約3分の1になることも明らかとなり、除菌による胃がん予防の効果も確立された。

1990年代の報告では、日本において*H. pylori*感染者は、人口の約半数近くを占めるとされていたが、現在では衛生環境の改善から減少傾向にあると考えられている。しかし、最近の*H. pylori*感染有病率を報告したものはなく、我々は生年代または地域ごとに最新の日本における*H. pylori*感染有病率の現状を明らかにすることを目的とした。

【方法】

1997年5月から2013年3月に、全国7地域の間人ドック、検診を受診した20歳以上の14,716名を対象とした横断研究を行った。性、年齢、*H. pylori*感染診断結果、除菌歴等のデータを収集し、生年の*H. pylori*感染有病率への影響は単変量解析、地域ごとの感染有病率の比較は、北海道を基準とした多変量解析で検討した。

【結果】

*H. pylori*感染有病率は、男性で43.2%、女性で37.6%であった。7地域のうち、北海道が最も低く(29.4%)、山形が最も高かった(54.5%)。生年では、1940-49年生まれで最も高く、それ以降10年ごとにリスクが低下した(RR=0.85, 95% CI:0.84-0.87)。地域か

つ生年代の比較では、1940年 (RR=1.53), 1950年 (RR=1.69), 1960年 (RR=1.85) すべてで山形が最も高かった。

【考察】

人間ドック、検診受診者のデータであることから、サンプリングバイアスの存在が否定できない。しかし、本研究の結果は、各地域の胃癌の年齢調整死亡率との比較で矛盾がないことから、妥当なものであると考えられる。

【結論】

日本における*H. pylori*感染有病率は、生年代、地域によって異なっていた。*H. pylori*感染有病率が全体として減少しており、特に若年層では、減少が著しいことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本論文の要旨

ピロリ菌感染は胃癌発生の主要因である。ピロリ菌感染有病率の最近の報告がわが国ではないため、わが国の生年代または地域ごとの最新のピロリ菌感染有病率を明らかにすることを目的とした。

1997年から2013年に、全国7地域の人間ドック、検診受診者について、性・年齢、ピロリ菌感染診断結果、除菌歴等のデータを収集し、除菌歴のある者を除いて、データを解析した。生年のピロリ菌感染有病率への影響は単変量解析、地域ごとの感染有病率の比較は多変量解析で検討した。

その結果、ピロリ菌感染有病率は、男性で43.2%、女性で37.6%であり、7地域のうち、北海道が最も低く(29.4%)、山形が最も高かった(54.5%)。生年では、1940-49年生まれで最も高く、それ以降10年ごとにリスクが低下した。地域かつ生年代の比較では、1940-49年(北海道を基準としたリスク比:RR=1.53), 1950-59年(RR=1.69), 1960-69年(RR=1.85)すべてで山形が最も高かった。

人間ドック、検診受診者のデータであることから、サンプリング・バイアスの存在が否定できない。しかし、各地域の胃癌の年齢調整死亡率との比較で、感染有病率との順位がほぼ一致することから、結果は妥当であると考えられる。

わが国におけるピロリ菌感染有病率は、生年代、地域によって多少異なり、特に若年層ではピロリ菌感染有病率が著しく減少していることが明らかとなった。

本論文の評価

本論文は既存のデータを、一定の手順によってデータ・クリーニングして分析することにより、わが国の性、生年、地域ごとのピロリ菌感染有病率を明らかにしたものである。得られた結果は、地域ごとの胃癌死亡率など、既存のデータと整合性があり、妥

当なものと考えられる。

本論文の結果は、今後のわが国の胃がん対策の基礎データとしての利用が期待されるものであり、学位に値するものと判断した。

氏 名	ほし の ゆう み 星 野 有 美
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第429号
学位授与年月日	平成26年 3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	統合失調症と解離性障害における幻覚妄想症状の相違点の検討
論文審査委員	(主査) 教授 兼 本 浩 祐 教授 池 田 洋 教授 大 竹 千 生 教授 風 岡 宜 暁

学位論文内容の要旨

【目的】

Schneiderの一級症状は統合失調症のみならず解離性障害でも認められるため、解離性障害はしばしば統合失調症と誤診される場合がある。統合失調症と解離性障害の幻覚妄想症状の相違点を明らかにするため、我々は2009年1月から2012年4月までの間に愛知医科大学病院精神神経科を受診し幻覚妄想状態にある症例のうち解離性障害の診断を満たす統合失調症の症例、過去に薬物使用歴のある症例、脳器質疾患の既往歴のある症例を対象から除外した上で、DSM-IV-TRで解離性障害の診断基準を満たす70名と、対照群としてDSM-IV-TRで統合失調症の診断基準を満たす70名を抽出し、MUPS、PSYRATS、PANSS、GAFを用いて診療録から調査した。

【方法】

MUPSの全項目、GAFスコア、PSYRATSの小項目と合計点、PANSSの小項目と陽性尺度の合計点、PANSS陰性尺度の合計点と総合尺度の合計点を独立変数としてt検定を行い、 $p>0.1$ の変数を除外し、残りの独立変数に対して解離性障害= 0、統合失調症= 1として尤度比による変数増加法を用いた多重ロジスティック回帰分析により調整オッズ比を算出し、 $p<0.05$ と有意差がついた項目を考察した。解析には統計解析ソフトSPSS ver.16.0を用いた。なお本研究では匿名性保持に十分注意を払い、研究で得られたデータは記号化した上で集計、解析した。またMUPSの使用については開発者本人より許諾を得ている。

【結果】

結果として血統妄想、妄想への没入度、被害妄想、幻聴への没入度、テレパシーを信

じる、の項目が統合失調症に関連が深く、幻聴に抵抗可能、幻聴の内容が記憶の再生、幻視の存在、幻聴が自分の考えだという認識がある、幻聴を錯覚だと理解している、幻聴が自身の考えを反映する、の項目が解離性障害に関連が深いことが示唆された。

【結論】

本研究は詳細な幻覚妄想症状の観察により統合失調症と解離性障害とを鑑別できる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

幻覚・妄想状態を呈する代表的な疾患といえば統合失調症だが、その他に解離性障害、薬物中毒、脳の器質的疾患などでも見られ、疾患によって幻覚妄想の内容に異なる特徴を持っており、画像検査、血液検査、尿検査などで鑑別できる薬物中毒や脳器質疾患と違い、統合失調症と解離性障害は客観的検査で鑑別しにくい上に治療方針が大きく異なるため、その診断が予後にも大きく影響する。本研究は統合失調症と解離性障害の幻覚・妄想症状の質的相違点を明らかにすることを目的とした。

解離性障害と統合失調症各70例に対しGAF、PSYRATS、PANSSとMUPSの数値化可能な項目を独立変数とし、t検定で $p>0.1$ となる変数を除外して残った変数を多重ロジスティック回帰分析し、この結果 $p<0.05$ となった変数の調整オッズ比を考察した。なお本研究では匿名性保持に十分注意を払い、研究で得られたデータは記号化した上で集計、解析した。またMUPSの使用について開発者本人から許諾を得た。

血統妄想（誇大妄想）、妄想に没頭する、被害妄想、幻聴に没頭する、テレパシーの存在を信じる、幻聴の持続時間が長い、幻聴が頭の外部から聴こえる、の項目がより統合失調症に寄与し、幻聴の内容が患者の考えの反映である、聴こえている幻聴を錯覚だという自覚がある、幻聴が自分の考えである認識がある、幻視の存在、幻聴内容が記憶の再生である、幻聴に抵抗する事が可能の項目がより解離性障害に寄与しているという結果になった。PSYRATSの小項目、PANSSの小項目、総合尺度の合計点、総合点はt検定でp値が0.1以上で除外され、PSYRATSの合計点とGAFはどちらも1に近い値となっており、 $p<0.05$ ではあるもののどちらかの疾患に大きく寄与しているとは言い難い結果となった。

結果より、幻覚妄想状態の重症度は統合失調症と解離性障害を鑑別する手立てにはなり難いこと、血統に関連した誇大妄想の存在が統合失調症に関連すること、幻聴は統合失調症と解離性障害にほぼ同等に認められること、幻視や幻触の存在は解離性障害に強く関連していることが示唆された。さらに幻聴の内容を考察すると、解離性障害では頭の内部から聞こえる幻聴を錯覚であると自身が理解しており、自身の考えを反映した内容が多く、幻聴に抵抗ができるという点で物事に対する洞察力が保たれる一方、統合失

調症では頭の外部から幻聴が聴こえることが多く、錯覚ではないという確信を持ち、持続的な幻聴に没頭する傾向があることが示唆された。

本論文は統合失調症と解離性障害の幻覚妄想の鑑別において質的評価の有用性が示唆され、臨床的に大変意義のある情報を提示するものであり、学位を授与するに値すると判定した。

氏 名	おお ちみ み か 大 道 美 香
学位の種類	博 士 (医 学)
学位授与番号	甲 第430号
学位授与年月日	平成26年 3月13日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Activated spinal astrocytes are involved in the maintenance of chronic widespread mechanical hyperalgesia after cast immobilization (活性化脊髄アストロサイトはギプス固定後に慢性的に拡大する機械痛覚増強の維持に關与する)
論文審査委員	(主査) 教授 中 野 隆 教授 岡 田 尚志郎 教授 高 安 正 和 教授 藤 原 祥 裕

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【研究背景・目的】

CRPS type Iを代表とする神経損傷以外の誘因で生じる慢性痛の特徴の1つに、発症からの時間経過に伴い、疼痛領域が損傷部位を超えて拡大することが挙げられる（慢性広範囲痛chronic widespread pain: CWP）。このCWPの誘因として、軽微な外傷や肢体の不動化などが報告されており、CWPの発症機序が神経損傷由来の慢性痛のものとは本質的に異なることが想定される。そこでCWPの機序を解明するため、片側後肢のギプス固定後にCWPを発症するモデルラット（chronic post-cast pain: CPCPモデル）を開発した。本モデルの検討から、CWPの機序として、不動肢の末梢要素以外に、中枢神経系における可塑的変容の可能性が示唆された。そこで本研究では、この可塑的異常の一つとして報告されている脊髄グリア細胞の活性化による痛覚増強機序に注目し、CPCPモデルのCWPにおける脊髄グリア細胞の活性化の関与について検討した。

【方法】

CPCPモデルは、SD系雄性ラットの片側後肢を2週間ギプス固定し、ギプスを除去することで作成された。ギプス除去後1日目、5週目、13週目の機械痛覚増強行動（足底、下腿皮膚・筋、尾）と熱痛覚増強行動（足底）を測定した。また各時期の第4腰髄、尾髄を摘出し、ミクログリア（OX42）、アストロサイト（GFAP）の免疫染色を行い、細胞の活性化について評価した。ギプス固定中および除去後1日目に、第3～5腰神経（L3

～5)の後根神経節(DRG)を摘出し、神経損傷(ATF3)、神経活性化(pERK)について免疫組織学的評価を行った。アストロサイト毒素のL- α -AAを髄腔内投与し、その後の痛覚増強行動と脊髄アストロサイトの活性化について検討した。

【結果】

第4腰髄で、ギプス除去後1日目に、ミクログリアが両側性に活性化し、除去後5週目に、この活性化は消退し、アストロサイトが両側性に活性化していた。また足底部と比較して、遅れて発症する尾部の機械痛覚増強行動と並行して、尾髄で、除去後5週目にミクログリアが、続いて除去後13週目にアストロサイトが両側性に活性化していた。さらに除去後5週目にL- α -AAを髄腔内投与すると、活性化していた第4腰髄アストロサイトは抑制され、並行して機械痛覚増強行動(測定部すべて)も減弱した。一方、同時期に活性化を示す尾髄ミクログリアは活性化を維持していた。またギプス固定除去直前に、L3~5DRGにおいて、ATF3陽性細胞数の増大は認められなかった。ギプス除去後1日目に、L4DRGにおいて、pERK免疫反応の増大が認められた。

【考察】

今回、CPCPモデルの機械痛覚増強の発症期にミクログリアの活性化が認められ、維持期ではそれらが消退し、アストロサイトの活性化が両側性に認められた。さらに維持期にアストロサイト毒素を髄腔内投与すると広範囲に生じたすべての部位の機械痛覚増強が減弱した。以上のことから、維持期の広範囲機械痛覚増強の誘因の一つに脊髄アストロサイトの活性化が関与することが示唆された。またこれらのグリア細胞の活性化は、明らかな神経損傷が無くとも生じ、ギプス除去後に生じる一次感覚神経の活性化によって誘導される可能性が示唆された。この脊髄アストロサイトの活性化が、明らかな神経損傷が無くとも、固定部支配髄節のみならず反対側やさらに離れた尾髄まで波及したことはCPCPモデル特異的現象であり、これには神経損傷由来の慢性痛とは異なる新たな機序が存在する可能性が推測される。

論文審査の結果の要旨

【研究背景・目的】

CRPS(複合性局所疼痛症候群) type Iに代表される、神経損傷以外の誘因で生じる慢性痛の特徴の1つとして、発症からの時間経過に伴い、疼痛領域が広範囲に拡大することが挙げられる(慢性広範囲痛chronic widespread pain: CWP)。CWPの誘因として、軽微な外傷や肢体の不動化などが報告されており、その発症機序は神経損傷由来の慢性痛とは本質的に異なることが想定される。そこでCWPの機序を解明するため、片側後肢のギプス固定後にCWPを発症するモデルラット(chronic post-cast pain: CPCPモデル)を開発した。本モデルの検討から、CWPの機序として、固定肢の末梢要素以外に、

中枢神経系における可塑的変容の可能性が示唆された。そこで本研究では、可塑的変容の一つである脊髄グリア細胞活性化による痛覚増強機序に注目し、CWPに対する関与について検討した。

【方法】

CPCPモデルは、SD系雄性ラットの片側後肢を2週間ギプス固定し、ギプスを除去することで作成した。ギプス除去後1日目、5週目、13週目の機械痛覚増強行動（足底、下腿皮膚・筋、尾）と熱痛覚増強行動（足底）を測定した。また各時期の第4腰髄、尾髄を摘出し、ミクログリアとアストロサイトをそれぞれOX42とGFAPを用いて免疫染色し、それらの活性化を評価した。固定中および除去後1日目に第3～5腰神経（L3-5）の後根神経節（DRG）を摘出し、神経損傷と神経活性化について、それぞれATF3とpERKを用いて免疫組織学的評価を行った。アストロサイト毒素のL- α -AAを髄腔内投与後、痛覚増強行動とアストロサイトの活性化について検討した。

【結果】

第4腰髄において、ギプス除去後1日目にミクログリアが両側性に活性化し、5週目にミクログリアの活性化が消退するとともに、アストロサイトが両側性に活性化していた。また、足底部よりも遅れて発症する尾部の機械痛覚増強行動と並行して、尾髄において、除去後5週目にミクログリアが、13週目にアストロサイトが両側性に活性化していた。5週目にL- α -AAを髄腔内投与すると、第4腰髄におけるアストロサイト活性化は抑制され、並行して機械痛覚増強行動も全測定部位において減弱した。一方、尾髄のミクログリアは活性化を維持していた。またギプス除去直前に、L3-5のDRGにおいて、ATF3陽性細胞数の増加は認められなかった。除去後1日目に、L4のDRGにおいて、pERK免疫反応の増大が認められた。

【考察】

今回、CPCPモデルの機械痛覚増強行動の発症期にミクログリアの活性化が認められ、維持期ではそれが消退し、アストロサイトの活性化が両側性に認められた。さらに、維持期にL- α -AAを髄腔内投与すると、広範囲に生じていた機械痛覚増強行動が減弱した。以上のことから、維持期の広範囲な機械痛覚増強の誘因の1つとして、アストロサイトの活性化が関与することが示唆された。また、これらのグリア細胞の活性化は、明らかな神経損傷が無くとも生じるため、ギプス除去後に惹起される一次感覚神経の活性化によって誘導される可能性が示唆された。明らかな神経損傷が無いにもかかわらず、脊髄アストロサイトの活性化が、ギプス固定部の支配髄節のみではなく、反対側あるいは支配髄節から離れた尾髄にまで波及したことは、CPCPモデルに特異的現象である。そのため、神経損傷由来の慢性痛とは異なる新たな機序が存在する可能性が推測される。以上の研究結果は、肢体の不動化後に発症する慢性広範囲痛の維持機構を解明し、新たな治療戦略の基盤構築に繋がるものであり、学位を授与するに値する論文であると判定した。

氏 名	かわ い ひろ ひさ 河 合 浩 寿
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第431号
学位授与年月日	平成26年 3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Retrospective analysis of factors predicting end-stage renal failure or death in patients with microscopic polyangiitis with mainly renal involvement (顕微鏡的多発血管炎における末期腎不全, 生命予後に関する後ろ向き検討)
論文審査委員	(主査) 教授 今 井 裕 一 教授 池 田 洋 教授 山 口 悦 郎 教授 横 井 豊 治

学位論文内容の要旨

【背景】

Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) 関連血管炎には、MPO型とPR3型がある。ヨーロッパでは多発血管炎性肉芽腫症 (PR3型GPA) が一般的であるが、日本ではMPO-ANCA関連の顕微鏡的多発血管炎 (MPA) が主体である。バーミンガム血管炎活動性スコア (BVAS) は多臓器 (肺, 腎, 耳鼻咽喉部, 神経系など) の障害を来すGPAを特に対象とした活動性指標であるが、これが腎障害主体のMPAに適しているかについては、未だ解決されていない。今回、腎障害を伴うMPA患者における末期腎不全 (ESRF), 死亡と関連する因子について後ろ向きに検討した。

【方法】

2003年から2011年までの間に、当院で経験した全身性血管炎54例のうちWattsらの分類アルゴリズムに従ってMPAと診断し、そのうち腎障害を伴う39例 (男19, 女20), 平均年齢 69.0 ± 13.1 歳 (29歳~94歳) を対象とした。19例 (48.7%) は腎限局型であった。末期腎不全 (ESRF) を維持透析が必要な状態と定義した。平均観察期間は36か月, 死亡は13例, ESRFは13例であった。Wilcoxon順位和検定, Fisherの正確な検定を用いてMPA診断時の臨床所見, 検査所見, BVAS v.3をnon-ESRF群とESRF群, 生存群と死亡群で比較した。また, 年齢・性別補正をした比例ハザードモデルでESRF, 死亡の予後因子を抽出した。ESRFとnon-ESRF間の生存率をKaplan-Meierで解析した。

【結果】

33例（84.6%）は急速進行性糸球体腎炎を示し、ESRFのうち8例は1週間以内に透析導入に至った。全体の6か月生存率は79.5%，1年生存率は71.1%であった。死因は感染症が主であった。血清Cr値は生存群と死亡群で有意差はなかった（ $P=0.092$ ）。平均BVAS v.3値は 16.2 ± 6.5 であり、腎病変で最大点（12点）となった例は82.1%であった。年齢・性別補正をした比例ハザードモデルでは初診時の血清Cr値（ $P=0.277$ ），BVAS v.3（ $P=0.188$ ）は死亡の予後因子にはならなかった。腎予後に関しては貧血，BUN，血清Cr，LDH，尿蛋白が予後因子として抽出された。ROC解析でCr 4.6 mg/dl以上をカットオフ値とするとESRFについては感度92.3%，特異度84.6%であった。Kaplan-MeierでESRFとnon-ESRFの生存率に有意差はなかった（ $P=0.271$ ）。

【結論】

欧米で使用されているBVASは、特に腎限局型MPAにおいて予後マーカーとしては適していないことが明らかになった。診断時の血清クレアチニン値（4.6 mg/dl以上）はESRFの予測マーカーとなること、ESRFに至っても比較的良好な長期生存は得られることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

Anti-neutrophil cytoplasmic antibody（ANCA）関連血管炎には、MPO型とPR3型がある。ヨーロッパでは多発血管炎性肉芽腫症（PR3型GPA）が一般的であるが、日本ではMPO-ANCA関連の顕微鏡的多発血管炎（MPA）が主体である。バーミンガム血管炎活動性スコア（BVAS）は、多臓器（肺，腎，耳鼻咽喉部，神経系など）の障害を来たすGPAを対象とした活動性指標であるが、これが腎障害主体のMPAに適しているかについては、未だ解決されていない。今回、腎障害を伴うMPA患者における末期腎不全（ESRF），死亡と関連する因子について後ろ向きに検討した。

2003年から2011年までの間に、当院で経験した全身性血管炎54例のうちWattsらの分類アルゴリズムに従ってMPAと診断し、そのうち腎障害を伴う39例（男19，女20），平均年齢 69.0 ± 13.1 歳（29歳～94歳）を対象とした。19例（48.7%）は腎限局型であった。end stage renal failure（ESRF）を維持透析が必要な状態と定義した。平均観察期間は36か月，死亡は13例，ESRFは13例であった。Wilcoxon順位和検定，Fisher検定を用いてMPA診断時の臨床所見，検査所見，BVAS v.3をnon-ESRF群とESRF群，生存群と死亡群で比較した。また，年齢・性別補正をした比例ハザードモデルでESRF，死亡の予後因子を抽出した。ESRFとnon-ESRF間の生存率をKaplan-Meierで解析した。

結果として

- ① 6か月生存率は79.5%，1年生存率は71.1%であった。死因は感染症が主であった。

- ② 血清Cr値は生存群，死亡群で有意差はなかった (P=0.092)。
- ③ 平均BVAS v.3値は 16.2 ± 6.5 であった。
- ④ 年齢・性別補正をした比例ハザードモデルでは初診時の血清Cr値 (P=0.277)，BVAS v.3 (P=0.188) は死亡の予後因子にはならなかった。
- ⑤ 腎予後に関しては貧血，BUN，血清Cr，LDH，尿蛋白が予後因子として抽出された。
- ⑥ ROC解析で Cr 4.6mg/dl以上をカットオフ値とするとESRFについては感度92.3%，特異度84.6%であった。
- ⑦ Kaplan-MeierでESRFとnon-ESRFの生存率に有意差はなかった (P=0.271)。

本研究の結果から，欧米で使用されているBVASは，特に腎限局型MPAにおいて予後マーカーとしては適していないことが明らかになった。診断時の血清クレアチニン値 (4.6 mg/dl以上) は末期腎不全の予測マーカーとなること，末期腎不全に至っても比較的良好な長期生存は得られることが明らかになった。このような明解な報告は見当たらず，今後の臨床研究に大きく寄与するものがあり，学位授与に値する論文であると判断した。

氏 名	はら だ りゅう すけ 原 田 龍 介
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第432号
学位授与年月日	平成26年 3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Effects of gonadotropin-releasing hormone agonist on vascular reactivity, oxidative stress, and plasma levels of asymmetric dimethylarginine, inflammatory markers, glucose, and lipids in women with endometriosis (子宮内膜症女性におけるゴナドトロピン放出ホルモンアゴニスト療法が血管内皮機能と酸化ストレス, ADMA, 炎症マーカー, 血糖, 脂質に対する影響)
論文審査委員	(主査) 教授 若 槻 明 彦 教授 細 川 好 孝 教授 横 地 高 志 教授 二 村 真 秀

学位論文内容の要旨

【目的】

子宮内膜症は月経困難症, 月経過多, 慢性腹痛などの症状に関連している婦人科疾患である。我々はこれまで子宮内膜症女性の血管内皮機能の低下には, 血管炎症の亢進や内因性NOS抑制因子 (ADMA) の上昇が密接に関与することを報告してきた。gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) 療法はエストロゲン低下作用を有し, 子宮内膜症の病巣縮小に有効である。一方, エストロゲンの低下は血管内皮機能を低下させると報告されており, 子宮内膜症女性の血管内皮機能はさらに低下する可能性が考えられる。今回, 子宮内膜症女性におけるGnRHa療法が血管内皮機能に与える影響を検討し, その機序を解明する目的で, 血管内皮機能に影響する内因性NOS抑制因子 (ADMA), 糖脂質代謝, 血管炎症マーカー, 酸化ストレスマーカー等の変化も検討した。

【方法】

愛知医科大学病院にてインフォームドコンセントを得た子宮内膜症女性群17人を対象として以下の検討を行った。子宮内膜症女性群には毎月1.88mg GnRHa (リユープロレリン酢酸塩) の皮下注射を6ヶ月間行い, GnRHaによる治療前と3ヶ月および6ヶ月

後に採血を行った。採血項目はエストラジオール (E2), 卵胞刺激ホルモン (FSH), CA125, 脂質, グルコース, インスリン, HOMA-R, 炎症マーカーとして, 高感度CRP (hs-CRP), 血清アミロイド蛋白A (SAA), およびIL-6, また, 細胞間接着分子 (ICAM-1), 血管細胞接着分子 (VCAM-1), およびE-selectin, 内因性NOS抑制因子 (ADMA), 酸化ストレスマーカーとして活性酸素代謝物のd-ROMs (diacron-reactive oxygen metabolites), 抗酸化因子の指標のBAP (biological antioxidant potential) も測定した。また, 前腕部を5分間駆血し, その前後での上腕動脈の血管拡張率 (FMD) を測定し, 血管内皮機能の指標とした。

【結果】

血中E2とFSHは治療3ヶ月で有意に低下した。FMDは治療3ヶ月後で $8.93 \pm 1.01\%$ から $6.97 \pm 0.93\%$ へ6ヶ月後で $6.35 \pm 0.97\%$ と有意に低下した。ADMAは治療後6ヶ月で 380.6 ± 16.2 pmol/Lから 455.0 ± 17.9 pmol/Lと有意に増加した。LDLコレステロールもGnRHa療法3ヶ月後で 96.7 ± 5.2 mg/dLから 108.2 ± 6.4 mg/dLへ6ヶ月後で 113.3 ± 9.6 mg/dL ($P < 0.0001$) と有意に増加した。炎症マーカーについては, GnRHa療法はSAAを変化させなかったが, hs-CRPやIL-6を治療後3ヶ月, 6ヶ月で有意に減少させた。細胞接着分子についてはICAM-1, VCAM-1およびE-selectinはいずれも治療後3ヶ月, 6ヶ月で有意に増加した。GnRHa療法での酸化ストレスマーカーのd-ROMsやBAP, インスリンおよびグルコースに有意な変化は認めなかった。

【結論】

GnRHa療法は抗炎症作用を有するが, エストロゲン低下によるADMA, 細胞接着分子およびLDLコレステロールの上昇がその良好な効果を相殺し, 子宮内膜症の女性における血管内皮機能を低下させることが示された。従って, 長期間のGnRHaの投与は, 子宮内膜症女性の血管内皮機能をさらに低下させ, 将来の心血管系疾患のリスクとなりうることが考えられた。

論文審査の結果の要旨

【目的】

子宮内膜症は月経困難症, 月経過多, 慢性腹痛などの症状に関連している婦人科疾患である。我々はこれまで子宮内膜症女性の血管内皮機能の低下には, 血管炎症の亢進や内因性NOS抑制因子 (ADMA) の上昇が密接に関与することを報告してきた。gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) 療法はエストロゲン低下作用を有し, 子宮内膜症の病巣縮小に有効である。一方, エストロゲンの低下は血管内皮機能を低下させると報告されており, 子宮内膜症女性の血管内皮機能はさらに低下する可能性が考えられる。今回, 子宮内膜症女性におけるGnRHa療法が血管内皮機能に与える影響を

検討し、その機序を解明する目的で、血管内皮機能に影響する内因性NOS抑制因子 (ADMA)、糖脂質代謝、炎症マーカー、酸化ストレスマーカー等の変化も検討した。

【方法】

愛知医科大学病院にてインフォームドコンセントを得た子宮内膜症女性群17人を対象として以下の検討を行った。子宮内膜症女性群には毎月1.88mg GnRHa (リュープロレリン酢酸塩)の皮下注射を6ヶ月間行い、GnRHaによる治療前と3ヶ月および6ヶ月後に採血を行った。採血項目はエストラジオール (E2)、卵胞刺激ホルモン (FSH)、CA125、脂質、グルコース、インスリン、HOMA-R、炎症マーカーとして、高感度CRP (hs-CRP)、血清アミロイド蛋白A (SAA)、およびIL-6、また、細胞間接着分子 (ICAM-1)、血管細胞接着分子 (VCAM-1)、およびE-selectin、ADMA、酸化ストレスマーカーとして活性酸素代謝物のd-ROMs (diacron-reactive oxygen metabolites)、抗酸化因子の指標のBAP (biological antioxidant potential)も測定した。また、高周波超音波プローベによって上腕動脈の血管拡張率 (FMD)を測定した。

【結果】

血中E2とFSHは治療3ヶ月で有意に低下した。FMDは治療3ヶ月後で $8.93 \pm 1.01\%$ から $6.97 \pm 0.93\%$ へ6ヶ月後で $6.35 \pm 0.97\%$ と有意に低下した。ADMAは治療後6ヶ月で 380.6 ± 16.2 pmol/Lから 455.0 ± 17.9 pmol/Lと有意に増加した。LDLコレステロールもGnRHa療法3ヶ月後で 96.7 ± 5.2 mg/dLから 108.2 ± 6.4 mg/dLへ6ヶ月後で 113.3 ± 9.6 mg/dL ($P < 0.0001$)と有意に増加した。炎症マーカーについては、GnRHa療法はSAAを変化させなかったが、hs-CRPやIL-6を治療後3ヶ月、6ヶ月で有意に減少させた。細胞接着分子についてはICAM-1、VCAM-1およびE-selectinはいずれも治療後3ヶ月、6ヶ月で有意に増加した。GnRHa療法での酸化ストレスマーカーのd-ROMsやBAP、インスリンおよびグルコースに有意な変化は認めなかった。

【結論】

GnRHa療法は抗炎症作用を有するが、エストロゲン低下によるADMA、細胞接着分子およびLDLコレステロールの上昇がその良好な効果を相殺し、子宮内膜症の女性における血管内皮機能を低下させることが示された。従って、長期間のGnRHaの投与は、子宮内膜症女性の血管内皮機能をさらに低下させ、将来の心血管系疾患のリスクとなりうることが考えられた。

本研究は子宮内膜症における新たな知見であり今後の臨床応用への可能性を示すものであり、臨床的意義が大きいと考えられ、学位を授与するに値すると判断した。

氏名	後藤峰明
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第433号
学位授与年月日	平成26年3月27日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Adaptation of leukemia cells to hypoxic condition through switching the energy metabolism or avoiding the oxidative stress (エネルギー代謝経路の切り替えや酸化ストレスの回避を介した白血病細胞の低酸素への適応)
論文審査委員	(主査) 教授 高見昭良 教授 増渕悟 教授 天野哲也 教授 大竹千生

学位論文内容の要旨

【背景】

白血病細胞は低酸素条件である骨髄で増殖するが、低酸素条件下での細胞増殖やエネルギー代謝については不明な点が多い。また、一般的に低酸素条件では活性酸素 (ROS) が産生されるが、ROSの白血病細胞への影響も明らかでない。

【方法】

まず4つの白血病細胞株 (NB4, THP-1, HL-60, Kasumi-1) で、有酸素条件を21% O₂、低酸素条件を1% O₂として24, 48時間培養後の細胞数を測定した。有酸素と低酸素での増殖に差がみられたNB4, THP-1について、Annexin Vを用いたアポトーシス解析、解糖系阻害薬の2-FDGまたは酸化的リン酸化阻害薬のoligomycin添加時の増殖抑制の検討、吸光度測定法によるグルコースや乳酸測定、CellROX Deep Red Reagentを用いたROS測定、GSH/GSSG-Glo Assayを用いたGSH/GSSG測定を行い、pyruvate dehydrogenase kinase 1 (PDK1)をWestern blot法で、cytochrome c oxidase subunit 4 (COX4)とミトコンドリアのプロテアーゼであるLONをRT-PCR法で確認した。

【結果】

NB4は、有酸素下に解糖系に依存している細胞で、48時間の低酸素下において増殖抑制がみられ、24時間でアポトーシス細胞が増加していた。低酸素下のNB4ではROS産生が増加し、ここにROS scavengerを加えるとアポトーシス細胞が減少した。また、ROS

の産生の場合である酸化リン酸化をoligomycinにて阻害すると、低酸素下のNB4で増殖抑制がみられなくなった。しかし、NB4を低酸素下で7日間培養し続けても死滅することではなく、GSH/GSSGは24時間の低酸素下よりも上昇（＝酸化ストレスを軽減）していた。対照的に、THP-1は、有酸素下では酸化リン酸化に大きく依存している細胞だが、48時間の低酸素下においてグルコース消費・乳酸産生を増やし増殖を促進させていた。ROS産生は酸素条件の違いによらず一定であった。解糖系阻害薬を添加すると低酸素下で有意な増殖抑制がみられ、酸化リン酸化阻害薬では有酸素・低酸素に関わらず同程度の増殖抑制がみられた。THP-1は素早く低酸素下でPDK1を発現亢進し、解糖系への依存を強めて増殖を促進させる一方で、LONを介してCOX4アイソフォームを切り替えることにより、低酸素下でもROSを増加させずに酸化リン酸化をも機能させていると考えられた。

【結語】

我々は白血病細胞が様々な経路で低酸素下に適応し生存することを示した。この結果は白血病細胞のエネルギー代謝をより深く理解し、新たな治療戦略を創造することに役立つだろう。

論文審査の結果の要旨

【背景・目的】

白血病細胞が骨髄低酸素条件下で増殖する機序やエネルギー代謝には不明な点が多い。低酸素条件下で産生される活性酸素（ROS）が白血病細胞増殖へ与える影響を検討した。

【方法】

4種の白血病細胞株（NB4, THP-1, HL-60, Kasumi-1）を用いた。有酸素条件を21% O₂, 低酸素条件を1% O₂として、24・48時間培養後細胞数を測定した。以降の解析は、有酸素・低酸素条件下の増殖に差がみられたNB4, THP-1を用いた。Annexin Vによるアポトーシス解析, 解糖系阻害薬2-FDG・酸化リン酸化阻害薬oligomycin添加時増殖抑制の検討, 吸光度測定法によるグルコース・乳酸測定, CellROX Deep Red ReagentによるROS測定, GSH/GSSG-Glo AssayによるGSH/GSSG測定を行った。Pyruvate dehydrogenase kinase 1 (PDK1) をWestern blot法で, cytochrome c oxidase subunit 4 (COX4) とミトコンドリアのプロテアーゼであるLONをRT-PCR法で確認した。

【結果】

有酸素下解糖系依存細胞のNB4では、低酸素条件下でアポトーシス増加と増殖抑制がみられた。その際ROS産生増加がみられ、ROS scavenger添加によりNB4のアポトーシ

スは有意に抑制された。ROS産生を来たす酸化リン酸化をoligomycinで阻害したところ、低酸素条件によるNB4の増殖抑制効果は消失した。一方、NB4を低酸素下で7日間培養し続けても死滅せず、GSH/GSSGは24時間の低酸素下より上昇、すなわち酸化ストレスは軽減された。他方、有酸素下酸化リン酸化依存細胞のTHP-1は、48時間の低酸素によりグルコース消費・乳酸産生は増加し、増殖活性が促進していた。ROS産生は酸素条件にかかわらず一定であった。解糖系阻害薬添加により低酸素条件下増殖は有意に抑制され、酸化リン酸化阻害薬添加により有酸素・低酸素条件とも同程度に増殖は抑制された。THP-1は低酸素条件下でPDK1発現が速やかに亢進し、解糖系依存を高め増殖が促進する一方、LONを介しCOX4アイソフォームを切り替えることにより、低酸素条件下でもROSを増加させずに酸化リン酸化をも機能させると考えられた。

【結語】

今回の検討から、白血病細胞が様々な経路で低酸素下に適応し生存することが示唆された。以上の研究結果は、白血病細胞のエネルギー代謝をより深く理解し、新たな治療戦略を創造することに役立つものであり、学位を授与するに値する論文と判断した。

氏名	中岡俊貴
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第434号
学位授与年月日	平成26年3月27日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Combined arsenic trioxide-cisplatin treatment enhances apoptosis in oral squamous cell carcinoma cells (三酸化砒素とシスプラチンの併用療法は口腔扁平上皮癌細胞のアポトーシスを増強する)
論文審査委員	(主査) 教授 風岡 宜暁 教授 高村 祥子 教授 植田 広海 教授 若槻 明彦

学位論文内容の要旨

【背景】

口腔扁平上皮癌は口腔癌の大部分を占めており、診断・治療技術の向上が著しい近年においても尚、その予後は不良な疾患である。そこで今回、我々は三酸化砒素 (Arsenic trioxide, 以下ATO) とシスプラチン (以下CDDP) を併用し、口腔扁平上皮癌細胞株 (HSC-2, HSC-3, HSC-4) に対する抗腫瘍効果を評価した。

【方法】

HSC-2, HSC-3, HSC-4を用いて、ATOとCDDPの併用処理 (以下ATO/CDDP処理) 後の細胞生存率 (MTTアッセイ法) とアポトーシス (Annexin V/PI染色法) を解析した。また、Chou-Talalay法を用いてcombination index (CI) とdose-reduction index (DRI) を算出し、ATO/CDDP処理の相乗効果を評価した。さらに、ATO/CDDP処理によるアポトーシスの評価と活性酸素種 (ROS) の関与について検討した。

【結果】

ATO/CDDP処理によるCI値はそれぞれ、0.78～0.90 (HSC-2), 0.34～0.45 (HSC-3), 0.60～0.92 (HSC-4) となり、細胞増殖抑制効果は相乗的であることが示唆された。また、DRI値は1.6～7.71を示し、単剤処理に比べ、最大7.71倍の薬剤低減化の可能性が示唆された。ATO/CDDP処理は、ミトコンドリア膜電位の有意な低下、Caspase-3/7活性の増加、およびアポトーシス細胞の増加を示した。これらのアポトーシス関連シグナルの

増強は、ROS scavengerである*N*-acetylcysteineによって著明に抑制されたことから、ATO/CDDP併用により誘導されるアポトーシスにROSが関与する可能性が示唆された。

【結論】

本研究は、口腔扁平上皮癌細胞に対して、ATO/CDDP処理が相乗的な抗腫瘍効果を示し、薬剤投与量の低減化を可能にすることを初めて見出した。本併用療法は、今後の口腔癌治療における新たな化学療法として確立する可能性がある。

論文審査の結果の要旨

【緒言】

口腔扁平上皮癌は口腔悪性腫瘍の大部分を占めており、診断、治療技術の向上が著しい近年においても尚、その予後は不良な疾患である。そこで今回我々は三酸化砒素 (Arsenic trioxide, 以下ATO) とシスプラチン (以下CDDP) を併用し、口腔扁平上皮癌細胞株 (HSC-2, HSC-3, HSC-4) に対する抗腫瘍効果を評価した。

【方法】

HSC-2, HSC-3, HSC-4を用いて、ATOとCDDPの併用処理 (以下ATO/CDDP処理) 後の細胞生存率 (MTTアッセイ法) とアポトーシス (AnnexinV/PI染色法) を解析した。また、Chou-Talalay法を用いてcombination index (CI) とdose-reduction index (DRI) を算出し、ATO/CDDP処理の相乗効果を評価した。さらに、ATO/CDDP処理によるアポトーシスの評価と活性酸素種 (ROS) の関与について検討した。

【結果】

ATO/CDDP処理によるCI値はそれぞれ、0.78 ~ 0.90 (HSC-2), 0.34 ~ 0.45 (HSC-3), 0.60 ~ 0.92 (HSC-4) となり、細胞増殖抑制効果は相乗的であることが示唆された。また、DRI値は1.6 ~ 7.71を示し、単剤処理に比べ、最大7.71倍の薬剤低減化の可能性が示唆された。ATO/CDDP処理は、ミトコンドリア膜電位の有意な低下、Caspase-3/7活性の増加、およびアポトーシス細胞の増加を示した。これらのアポトーシス関連シグナルの増強は、ROS scavengerである*N*-acetylcysteineによって著明に抑制されたことから、ATO/CDDP処理により誘導されるアポトーシスにROSが関与する可能性が示唆された。

【結語】

本研究は、口腔扁平上皮癌細胞に対して、ATO/CDDP処理がROSを介した相乗的な抗腫瘍効果を示し、薬剤投与量の低減化を可能にすることを初めて見出した。

以上の研究結果は、今後の口腔癌治療における新たな化学療法として確立する可能性があり、学位授与に値する論文であると評価された。

氏 名	山本敬子
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第353号
学位授与年月日	平成25年4月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Association between pupillometric sleepiness measures and sleep latency derived by MSLT in clinically sleepy patients (過眠症患者における瞳孔径指標と睡眠潜時との関連)
論文審査委員	(主査) 教授 小林 章 雄 教授 佐藤 元 彦 教授 道 勇 学 教授 岩 城 正 佳

学位論文内容の要旨

【目的】

瞳孔径の変動が眠気の良い指標になるとの報告がされるようになってきたが、臨床的に最も広く用いられている睡眠潜時反復検査法(MSLT)との比較検討は十分にされていない。本研究では、瞳孔径の変動と睡眠潜時(SL)との関連、自覚的な眠気や過去3年間における居眠り事故との関連を明らかにし、瞳孔径の変動指標を用いた眠気評価法の意義について検討した。

【方法】

対象は愛知医科大学病院睡眠科を受診し、MSLTの変法であるTwo Nap Sleep Test法(Philip 1997)を施行した過眠症の患者45名(男39名, 女6名, 年齢 38.9 ± 11.3 歳)とした。自覚的な眠気尺度(エップワース眠気尺度, ESS)を記入した後、SLの測定を午前中に2時間以上の間隔をおいて2回行い、それぞれのSLの測定直前に瞳孔径測定を2回行った。SLの測定は日本睡眠学会によって認定を受けた検査技師が日本光電社製Neurofaxを用いて実施し、入眠の判定は専門医がR&K法により行った。瞳孔径の測定はAMTech社製F2Dを使用し、静穏な検査室で座位にて11分間連続測定した。瞳孔径の変動指標としてPupillary Unrest Index(PUI), Relative Pupillary Unrest Index(RPUI), および瞳孔径(PD)を算出した。

解析は①瞳孔径の変動指標とSLとの相関係数, ②PUIあるいはRPUIを従属変数とし、性別(Sex), 年齢(Age), SL, PD, ESSを独立変数とする重回帰分析③過去3年間に

おける居眠り事故経験の有無別PUI, RPUI, SL, PD, ESSの平均値の差の検定を行った。有意水準を5%とした。

【結果】

①瞳孔径の変動指標はいずれもSLと有意な相関を示したが、相関係数はPUI ($r=-0.402$)の方がRPUI ($r=-0.322$)よりもやや大きかった。②重回帰分析でPUIを従属変数にしたモデルではSL (標準編回帰係数 -0.392 , $p=0.008$)が、RPUIを従属変数にしたモデルではPD (標準編回帰係数 -0.470 , $p=0.001$) およびSL (標準編回帰係数 -0.320 , $p=0.018$)が有意に関連していた。③過去3年間の居眠り事故経験群でSLが有意に短く ($p=0.036$)、瞳孔径変動指標は事故非経験群に比べてPUI ($p=0.004$)、RPUI ($p=0.014$)ともに有意に大きかった。④PUI, RPUI, SLと自覚的な眠気 (ESS) との関連性はともに認められなかった。

【結論】

過眠症患者において、瞳孔径の変動指標 (PUI, RPUI) は、MSLTによって測定された睡眠潜時 (SL) と相関し、また居眠り事故の経験との関連においてSLと同様の挙動を示した。以上から、瞳孔径の変動指標が、眠気の簡便なスクリーニングに用いる可能性が示唆されたが、標準値の設定などについてさらに検討する必要がある。

論文審査の結果の要旨

【目的】

瞳孔径の変動が眠気のよい指標になるとの報告がされるようになってきたが、臨床的に最も広く用いられている睡眠潜時反復検査法 (MSLT) との比較検討は十分にされていない。本研究では、瞳孔径の変動と睡眠潜時 (SL) との関連、自覚的な眠気や過去3年間における居眠り事故との関連を明らかにし、瞳孔径の変動指標を用いた眠気評価法の意義について検討した。

【方法】

対象は愛知医科大学病院睡眠科を受診し、MSLTの変法であるTwo Nap Sleep Test法 (Philip 1997) を施行した過眠症の患者45名 (男39名, 女6名, 年齢 38.9 ± 11.3 歳) とした。自覚的な眠気尺度 (エップワース眠気尺度, ESS) を記入した後、SLの測定を午前中に2時間以上の間隔をおいて2回行い、それぞれのSLの測定直前に瞳孔径測定を2回行った。SLの測定は日本睡眠学会によって認定を受けた検査技師が日本光電社製Neurofaxを用いて実施し、入眠の判定は専門医がR&K法により行った。瞳孔径の測定はAMTech社製F2Dを使用し、静穏な検査室で座位にて11分間連続測定した。瞳孔径の変動指標としてPupillary Unrest Index (PUI), Relative Pupillary Unrest Index (RPUI), および瞳孔径 (PD) を算出した。

解析は①瞳孔径の変動指標とSLとの相関係数, ②PUIあるいはRPUIを従属変数とし, 性別 (Sex), 年齢 (Age), SL, PD, ESSを独立変数とする重回帰分析, ③過去3年間における居眠り事故経験の有無別PUI, RPUI, SL, PD, ESSの平均値の差の検定を行った。有意水準を5%とした。

【結果】

①瞳孔径の変動指標はいずれもSLと有意な相関を示したが, 相関係数はPUI ($r=-0.402$)の方がRPUI ($r=-0.322$)よりもやや大きかった。②重回帰分析でPUIを従属変数にしたモデルではSL (標準編回帰係数 -0.392 , $p=0.008$)が, RPUIを従属変数にしたモデルではPD (標準編回帰係数 -0.470 , $p=0.001$) およびSL (標準編回帰係数 -0.320 , $p=0.018$)が有意に関連していた。③過去3年間の居眠り事故経験群でSLが有意に短く ($p=0.036$), 瞳孔径変動指標は事故非経験群に比べてPUI ($p=0.004$), RPUI ($p=0.014$)ともに有意に大きかった。④PUI, RPUI, SLと自覚的な眠気 (ESS) との関連性はともに認められなかった。

【結論】

過眠症患者において, 瞳孔径の変動指標 (PUI, RPUI) は, MSLTによって測定された睡眠潜時 (SL) と相関し, また居眠り事故の経験との関連においてSLと同様の挙動を示した。

以上より本研究は, 瞳孔径の変動指標が, 眠気の簡便なスクリーニングに用いる可能性を示唆したものであり, 学位を授与するのに値すると判定した。

氏 名	あき づき み わ 秋 月 美 和
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第354号
学位授与年月日	平成25年5月9日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Prognostic Significance of Immunoreactive Neutrophil Elastase in Human Breast Cancer: Long-Term Follow-Up Results in 313 Patients (ヒト乳癌における好中球エラスターゼ免疫活性の予後因子としての重要性：313患者の長期経過観察結果による検討)
論文審査委員	(主査) 教授 福 富 隆 志 教授 細 川 好 孝 教授 住 友 誠 教授 横 井 豊 治

学位論文内容の要旨

I. 目的

今回私達は、313人の原発性ヒト乳癌腫瘍摘出標本中より抽出した免疫反応性好中球エラスターゼ(ir-NE: immunoreactive neutrophil elastase)濃度を測定し、長期追跡期間を経て、ヒト乳癌におけるir-NEが予後因子となるかを分析した。

II. 方法

1982年3月～1989年4月に腋窩リンパ節郭清を伴う乳房切除術を施行した313人の乳癌患者(追跡期間の中央値は18.5年)より摘出した乳癌標本を用いて検討を行った。

乳癌検体のir-NE濃度は、新しく確立した酵素免疫測定キット(持田製薬)を用いて酵素結合免疫吸着検定法によって測定した。この方法は遊離型ir-NEと α 1-protease inhibitor(α 1-PI)複合型ir-NE両方を迅速に測定する。この酵素がヒト乳癌において予後因子となるかどうか、単変量解析と多変量解析にて分析した。

III. 結果

私達がTandonらの方法に従い事前に行った別の49人の結果より、統計学的再発リスク分離点としてカットオフ値を $9.0 \mu\text{g}/100 \text{mg}$ タンパクに設定した。ir-NEの結果から患者の予後を分析すると、ir-NEが高濃度の乳癌患者は低濃度の患者に比べて無病生存期間が著しく短く、予後不良であった。このカットオフ値を用いると、ir-NE高値の患

者は16.6% (313人中52人) だった。Multivariate stepwise regression解析を行うと、独立した再発予測因子としてリンパ節状況 (P=0.004; relative risk=1.46) とir-NE濃度 (P=0.0013; relative risk=1.43) が選択された。

IV. 結論

手術治療を受けた乳癌患者において、腫瘍中のir-NE濃度は独立した予後因子である。この酵素は、ヒト乳癌の転移を起こす腫瘍増殖において、積極的役割を果たすかもしれない。ここに示した長期追跡調査結果は、遊離NEがヒト乳癌において独立した予後因子となることを強く裏付けた。

論文審査の結果の要旨

I. 目的

今回私達は、313人の原発性ヒト乳癌腫瘍摘出標本中より抽出した免疫反応性好中球エラスターゼ (ir-NE: immunoreactive neutrophil elastase) 濃度を測定し、長期追跡期間を経て、ヒト乳癌におけるir-NEが予後因子となりうるかを分析した。

II. 方法

1982年3月～1989年4月に腋窩リンパ節郭清を伴う根治的乳房切除術を施行した313人の乳癌患者 (追跡期間の中央値は18.5年) より摘出した乳癌標本を用いて検討を行った。

乳癌検体のir-NE濃度は、新しく確立した酵素免疫測定キット (持田製薬) を用いて酵素結合免疫吸着検定法によって測定した。この方法は遊離型ir-NEと α 1-protease inhibitor (α 1-PI) 複合型ir-NE両方を迅速に測定する。この酵素がヒト乳癌において予後因子となるかどうか、単変量解析と多変量解析にて分析した。

III. 結果

私達はTandonらの方法に従い事前に行った別の49人の結果より、統計学的再発リスク分離点としてカットオフ値を $9.0 \mu\text{g}/100 \text{mg}$ タンパクに設定した。ir-NEの結果から患者の予後を分析すると、ir-NEが高濃度の乳癌患者は低濃度の患者に比べて無病生存期間が著しく短く、予後不良であった。このカットオフ値を用いると、ir-NE高値の患者は16.6% (313人中52人) だった。Multivariate stepwise regression解析を行うと、独立した再発予測因子としてリンパ節状況 (P=0.004; relative risk=1.46) とir-NE濃度 (P=0.0013; relative risk=1.43) が選択された。

IV. 結論

手術治療を受けた乳癌患者において、腫瘍中のir-NE濃度は独立した予後因子となる。また、ここに示した長期追跡調査結果は、 α 1-PI複合型ir-NEではなく遊離NE (活性型) がヒト乳癌において独立した予後因子となることを強く裏付け、この結果が今後の乳癌

治療につながることを期待された。

本研究はヒト乳癌の好中球エラスターゼと予後との関係を裏付ける、これまでにない長期追跡調査を行った論文であり、この酵素がヒト乳癌の転移に結びつく腫瘍増殖との積極的関連を示唆する貴重な研究であると考え、学位を授与するに相当するものと考えられた。

氏 名	北 川 晃 <small>きた がわ あきら</small>
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第355号
学位授与年月日	平成25年 8 月22日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Ethanolamine oleate sclerotherapy combined with transarterial embolization using n-butyl cyanoacrylate for extracranial arteriovenous malformations (動静脈奇形に対するオレイン酸モノエタノールアミン (EO) による硬化療法とNBCAを用いた経動脈塞栓術の併用療法の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 石 口 恒 男 教授 中 野 隆 教授 磯 部 文 隆 教授 横 尾 和 久

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

動静脈奇形 (AVM) の治療薬剤として無水エタノールの有用性が報告されているが、組織障害、神経障害、循環不全などのリスクを伴う。オレイン酸モノエタノールアミン (EO) は血管内皮細胞破壊による血栓形成作用があり食道静脈瘤の治療に用いられるが、その組織障害性はエタノールに比べ少ない。AVMに対するEOを用いた硬化療法の効果を検討した。

【対象および方法】

2003年1月から2011年9月まで、EOを用いた硬化療法にNBCAを用いた経動脈塞栓術を併用した24名の患者を連続的に回顧的評価した。頭頸部、四肢、体幹のAVM (肺、腎など臓器の病変は除外)、を対象とした。女性11例、男性13例、平均年齢44歳 (18-78) であった。最もよくみられた部位は頭頸部で (n=15)、次いで体幹部 (n=4)、上肢 (n=3)、下肢 (n=2) との内訳であった。全ての症例において出血・腫脹・疼痛などなんらかの症状を伴っていた。血管造影像からChoらの分類により、Type I (3本以下の流入動脈 + 1本の流出静脈)、II (複数の流入動脈 + 1本の流出静脈)、IIIa (拡張のない複数シャント)、IIIb (拡張した複数シャント) に分けて治療効果を検討した。経動脈的塞栓術は、硬化療法前の血流低下を目的として行い、NBCA (Histoacryl) + Lipiodolを、

主に混合比1:3～1:4で用いた。硬化療法には、EO (Oldamin) + Iopamiron 300を混合比1:1で用いて、直接穿刺や流出静脈へのバルーン留置下に行った。

【結果】

内訳は7名のtype II (arteriovenous fistulae), 6名のtype IIIa (arteriovenulose fistulae with non-dilated fistula), 11名のIIIb (arteriovenulose fistulae with dilated fistula) 患者であった。24名の内3名(13%)は完治, 17名(71%)には部分的縮小がみられ, 4名(16%)には改善がみられなかった。この治療は完治と部分的縮小を併せた20名(83%)において有効と考えられた。4名(16%)に軽微な合併症が見られ, 自然治癒した潰瘍(3名)と限局的な静脈血栓(1名)であった。重篤な合併症は見られなかった。

【結論】

AVMに対するEOを用いた硬化療法は, NBCAを用いた経動脈塞栓術を併用する事により, より安全で有効な治療法であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

【背景と目的】

動静脈奇形(AVM)の治療薬剤として無水エタノールの有用性が報告されているが, 組織障害, 神経障害, 循環不全などのリスクを伴う。オレイン酸モノエタノールアミン(EO)は血管内皮細胞破壊による血栓形成作用があり食道静脈瘤の治療に用いられているが, その組織障害性はエタノールに比べ少ない。そこでAVMに対するEOを用いた硬化療法の効果を検討した。EOの停滞を確実にするため, n-butyl cyanoacrylate (NBCA)による動脈塞栓術を併用した。

【対象および方法】

2003年1月から2011年9月の期間に, EOを用いた硬化療法とNBCAを用いた経動脈塞栓術を併用して治療を行った, 連続する24例の頭頸部, 四肢, 体幹のAVMについてretrospectiveに評価した。女性11例, 男性13例, 平均年齢44歳(18-78歳)であった。部位は頭頸部(15)が最多で, 次いで体幹部(4), 上肢(3), 下肢(2)であった。臨床症状は出血・腫脹・疼痛などであった。血管造影像からChoらの分類により, Type I(3本以下の流入動脈+1本の流出静脈), type II(複数の流入動脈+1本の流出静脈), type IIIa(拡張のない複数シャント), type IIIb(拡張した複数シャント)に分けて治療効果を検討した。動脈塞栓術は, 硬化療法前の血流低下を目的として行い, NBCAと油性造影剤を1:3～1:4で混合し超選択的に注入した。硬化療法には, EOと水溶性造影剤の1:1混合液を, 直接穿刺または流出静脈のバルーン閉塞下に注入した。

【結果】

AVMのタイプはtype II が7例, type IIIa が6例, type IIIbが11例であった。24例のうち3例(13%)が完治, 17例(71%)で縮小がみられ, 4例(16%)は改善がみられなかった。本治療は完治と縮小の合計20例(83%)で有効であった。4例(16%)に軽微な合併症がみられ, 自然治癒した皮膚潰瘍(3例)と限局的な静脈血栓(1例)であった。重篤な合併症は発生しなかった。AVMのタイプ別と治療効果には関係がなかった。

【結論】

EOによる硬化療法とNBCAを用いた経動脈塞栓術の併用療法は, AVMに対する安全で有効な治療法と考えられた。

本研究によって, 従来治療が困難であったAVMの新しい治療法の安全性と有効性が示された。以上の理由により, 学位を授与するに値するものと判断した。

氏 名	近 藤 好 博 <small>こん どう よし ひろ</small>
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第356号
学位授与年月日	平成25年 9月 5日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Edema of the interarytenoid mucosa seen on endoscopy is related to endoscopic-positive esophagitis (EE) and is an independent predictor of EE (内視鏡で認められる披裂間粘膜の肥厚は内視鏡陽性食道炎に関連し、内視鏡陽性食道炎の独立因子となる)
論文審査委員	(主査) 教授 春日井 邦 夫 教授 佐 藤 元 彦 教授 植 田 広 海 教授 風 岡 宜 暁

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【背景】

胃食道逆流症 (gastroesophageal reflux disease : GERD) のなかで主に耳鼻咽喉科領域の症状を訴えるものを咽喉頭酸逆流 (laryngopharyngeal reflux : LPR) と呼び、胃内容物が咽頭や喉頭へ逆流して生ずる病態として定義されている。しかし、LPRとGERDはどちらも逆流に起因するにもかかわらず、臨床症状や治療アプローチは異なり、食道粘膜傷害を伴う逆流性食道炎 (erosive esophagitis : EE) とLPR症状や咽喉頭所見との関係についても不明な点が多い。今回我々は通常内視鏡検査におけるEEや咽喉頭所見の頻度と症状および両所見の関連につき検討した。

【方法】

2007年1月より1年間の内視鏡検査受診者のうち、患者背景アンケートとFスケール問診票 (FSSG) に同意の得られた症例で、消化管悪性腫瘍、胃・十二指腸潰瘍、食道静脈瘤および酸分泌抑制剤内服例を除外した402症例を対象とした。内視鏡検査時に咽喉頭部、食道胃接合部、反転操作による噴門部の撮影を行い、後日3名の内視鏡専門医が盲検的に逆流性食道炎 (erosive esophagitis : EE) と、食道裂孔ヘルニアの有無について判定し、咽喉頭所見については3名の耳鼻科専門医が盲検的に喉頭後部発赤、披裂部発赤腫脹、披裂間粘膜肥厚、ポリープ様声帯の有無につき判定した。以上より得られた

内視鏡所見，咽喉頭所見と患者背景，Fスケールスコアとの相関，および，それぞれの因子とEEとの関連性を単変量解析とステップワイズ法による重回帰分析にて検討した。

【結果】

対象症例402例（男性222例，女性180例）の平均年齢は 57.7 ± 0.7 歳（男性平均59.1歳，女性平均55.9歳）で，内視鏡所見ではEE 7.5%（Grade A：4.0%，B：3.0%，C：0.5%，D：0%），食道裂孔ヘルニア29.9%，喉頭後部発赤28.4%，披裂部の発赤腫脹57.2%，披裂間粘膜肥厚67.2%，ポリープ様声帯1.7%であった。FSSGスコアの平均は8.1点（0～35点）であり，咽喉頭症状は28.6%に認められた。単変量解析の結果では，食道裂孔ヘルニア，裂部発赤腫脹，披裂間粘膜肥厚がEEと有意な関連を示した。また，Fスケールにおける各項目とEE，咽喉頭所見にはいずれも相関は認められなかった。ステップワイズ法にて相関が認められた食道裂孔ヘルニア，喫煙，喉頭後部発赤，披裂間粘膜肥厚について重回帰分析を行ったところ，食道裂孔ヘルニアあり（オッズ比2.700，95%CI；1.17-6.632），披裂間粘膜肥厚あり（オッズ比3.773，95%CI；1.26-16.26）の2因子がEEと有意に関連する因子であった。

【結論】

咽喉頭所見のうち解剖学的に胃内容逆流の影響を最も受けやすいと考えられる披裂間粘膜の肥厚が逆流性食道炎の独立予知因子であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

胃食道逆流症（gastroesophageal reflux disease：GERD）のなかで主に耳鼻咽喉科領域の症状を訴えるものを咽喉頭酸逆流（laryngopharyngeal reflux：LPR）と呼び，胃内容物が咽頭や喉頭へ逆流して生ずる病態として定義されている。しかし，LPRとGERDはどちらも逆流に起因するにもかかわらず，臨床症状や治療アプローチは異なり，食道粘膜傷害を伴う逆流性食道炎（erosive esophagitis：EE）とLPR症状や咽喉頭所見との関係についても不明な点が多い。今回我々は通常内視鏡検査におけるEEや咽喉頭所見の頻度と症状および両所見の関連につき検討した。

2007年1月より1年間の内視鏡検査受診者のうち，患者背景アンケートとFスケール問診票（FSSG）に同意の得られた症例で，消化管悪性腫瘍，胃・十二指腸潰瘍，食道静脈瘤および酸分泌抑制剤内服例を除外した402症例を対象とした。内視鏡検査時に咽喉頭部，食道胃接合部，反転操作による噴門部の撮影を行い，後日3名の内視鏡専門医が盲検的に逆流性食道炎と食道裂孔ヘルニアの有無について判定した。咽喉頭所見については3名の耳鼻科専門医が盲検的に喉頭後部発赤，披裂部発赤腫脹，披裂間粘膜肥厚，ポリープ様声帯の有無につき判定した。以上より得られた内視鏡所見，咽喉頭所見と患者背景，Fスケールスコアとの相関，および，それぞれの因子とEEとの関連性を単変

量解析とステップワイズ法による重回帰分析にて検討した。

結果：対象症例402例（男性222例，女性180例）の平均年齢は 57.7 ± 0.7 歳（男性平均59.1歳，女性平均55.9歳）で，内視鏡所見ではEE 7.5%（Grade A：4.0%，B：3.0%，C：0.5%，D：0%），食道裂孔ヘルニア29.9%，喉頭後部発赤28.4%，披裂部の発赤腫脹57.2%，披裂間粘膜肥厚67.2%，ポリープ様声帯1.7%であった。FSSGスコアの平均は8.1点（0～35点）であり，咽喉頭症状は28.6%に認められた。単変量解析の結果では，食道裂孔ヘルニア，裂部発赤腫脹，披裂間粘膜肥厚がEEと有意な関連を示した。また，Fスケールにおける各項目とEE，咽喉頭所見にはいずれも相関は認められなかった。ステップワイズ法にて相関が認められた食道裂孔ヘルニア，喫煙，喉頭後部発赤，披裂間粘膜肥厚について重回帰分析を行ったところ，食道裂孔ヘルニアあり（オッズ比2.700，95%CI；1.17-6.632），披裂間粘膜肥厚あり（オッズ比3.773，95%CI；1.26-16.26）の2因子がEEと有意に関連する因子であった。

結論：咽喉頭所見のうち解剖学的に胃内容逆流の影響を最も受けやすいと考えられる披裂間粘膜の肥厚が逆流性食道炎の独立予知因子であると考えられた。

本研究により，耳鼻咽喉科領域の咽喉頭所見が逆流性食道炎の予知因子となる事が示された。今後，予知因子に基づく適切な検査・治療により，LPR患者の症状改善効果や治療満足度の向上などが期待され，本研究論文は学位を授与するに値すると判定した。

氏 名	みず たに けん たろう 水 谷 建太郎
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第357号
学位授与年月日	平成25年 9月 5日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Comparison of the efficacy of ALA-PDT using an excimer-dye laser (630 nm) and a metal-halide lamp (600 to 740 nm) for treatment of Bowen's disease (Bowen病の光線力学的療法におけるexcimer dye laserとmetal-halide lampの比較試験)
論文審査委員	(主査) 教授 渡 邊 大 輔 教授 福 富 隆 志 教授 横 尾 和 久 教授 横 井 豊 治

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

外用5-aminolevulinic acid (ALA) を用いたphotodynamic therapy (PDT) はBowen病 (BD) に対して有効な治療法である。海外では外用ALA-PDTは1回か2回の治療回数で86-93%のCR (complete response) 率があると報告されているが、われわれの治療成績 (Kobayashi M et al, Jpn J Dermatol 2002) では630nmの単波長であるエキシマダイレーザー (excimer-dye laser : EDL) (100 J/cm^2 , 100 mW/cm^2) を用いた1ヶ月後のCR率は65%であり、海外と比較すると低い。ALAは細胞内で光感受性をもつprotoporphyrin IX (PpIX) に変換され可視光線によって活性酸素を産生することによって腫瘍細胞を破壊する。さらに、ALA-PDTの照射中は光感受性物質であるphotoporphyrin (Ppp) がPpIXから産生されるといわれている。細胞内や組織中のPppの吸収ピーク波長は約670nmにあるといわれ、光を吸収することによって活性酸素を産生しPpIXと同様に細胞死を起こすことがいわれている。メタルハライドランプ (metal-halide lamp : MHL) は高圧水銀ランプであり、610nmと680nmに特徴的なピーク波長を有し600から740 nmの波長をカバーする。670nmの光は630nmの光よりも皮膚に深く入り込むため、MHLはBDの治療により効果があるのではないかと推測される。今回われわれは四肢のBDの治療に対して外用ALA-PDTに使用するEDLとMHLの比較の検討と治療12ヶ月後までの治療結果を評価した。

【患者】

愛知医科大学病院皮膚科に2005年8月から2010年8月の間に受診された25名(26病変)の四肢のBowen病患者と診断された患者を選んだ。インフォームドコンセントのうえ、ランダムに17病変をEDL, 9病変をMHLを用いてALA-PDTを施行した。

【外用ALA-PDTのプロトコールと評価】

外用ALA-PDTのプロトコールを検討するため、EDLとMHLの照射量を含めて、20% ALA貼付後のPpIXの産生を18病変のBD病変部にて測定した。PpIX産生は半定量的に紫色レーザー・ダイオード・システム(M&M Co.,Tokyo, Japan)を用いた。PpIX産生はBD病変部では630 nmのEDLを用いた100J/cm² (100mW/cm²)の照射によりほとんど消費されることがわかった。また、週1回、3回目の照射により、BD病変部においてPpIXの平均産生量が低下することから、腫瘍細胞の減少を推察されるため、週1回、3回の照射とした。加えて、照射によって生じる可能性のある皮膚びらんは1週間でほぼ上皮化するため週1回の照射間隔とした。治療1ヶ月後に皮膚生検を行い病理組織学的に評価した。CRは治療1ヶ月後に臨床かつ病理組織学的に病変の消失とし、照射後3ヶ月毎、1年間、BDの病変部を観察した。

【結果】

Bowen病患者計25人26病変(上肢=9, 下肢=17)に外用ALA-PDTを行った。平均年齢73.5歳(62-91歳)であった。PDT治療1ヶ月後のCR率はEDL群では82%(14/17), MHL群では100%(9/9)と有意差はなかった($p>0.05$)。12ヶ月後の再発率はあわせて27%(6/22), EDL群では46%(6/13), MHL群では0%(0/9)と有意差を認めた($p<0.05$)。(χ^2 test with Fisher's exact test)。EDL群は平均再発率6.5ヶ月であった。

【まとめ】

海外でのBowen病に対する外用ALA-PDTの治療効果は高い。外用ALA-PDTのプロトコールを作成し日本人のBowen病患者に対して治療を行った結果、CR率の向上が認められ、PDT治療1ヶ月のEDL群では65%から82%, MHL群では100%, 12ヶ月の再発率ではMHL群は0%と長期間の治療効果の持続を認め、MHLの有効性が示された。また、このことから、PpIXの二次光産物であるPppの産生を推察させた。

論文審査の結果の要旨

【背景/目的】

外用5-aminolevulinic acid (ALA)を用いたphotodynamic therapy (PDT)はBowen病(BD)に対して有効な治療法である。われわれの治療成績では630nmの単波長であるエキシマダイレーザー(EDL)(100J/cm², 100mW/cm²)を用いた1ヶ月後のCR率は65%であり、海外と比較すると低い。メタルハライドランプ(MHL)は高圧水銀ラ

ンプであり、610nmと680nmに特徴的なピーク波長を有し600から740nmの波長をカバーする。670nmの光は630nmの光よりも皮膚に深く入り込むため、MHLはBDの治療により効果があるのではないかと推測される。

今回われわれは四肢のBDの治療に対して外用ALA-PDTに使用するEDLとMHLの比較の検討とプロトコールを作成し、治療12ヶ月後までの治療結果を評価した。

【方法】

2005年8月から2010年8月の間に受診された25名（26病変）の四肢のBowen病と診断された患者を選んだ。インフォームドコンセントのうえ、17病変をEDL、9病変をMHLを用いてALA-PDTを施行した。治療1ヶ月後に皮膚生検を行い病理組織学的に評価した。CRは治療1ヶ月後に臨床かつ病理組織学的に病変の消失とし、照射後3ヶ月毎、1年間、BDの病変部を観察した。

【結果】

PDT治療1ヶ月後のCR率はEDL群では82%（14/17）、MHL群では100%（9/9）と有意差はなかった（ $p>0.05$ ）。12ヶ月後の再発率はあわせて27%（6/22）、EDL群では46%（6/13）、MHL群では0%（0/9）と有意差を認めた（ $p<0.05$ ）。（ χ^2 test with Fisher's exact test）。EDL群は平均再発率6.5ヶ月であった。

【まとめ】

外用ALA-PDTのプロトコールを作成し日本人のBowen病患者に対して治療を行った結果、CR率の向上が認められ、PDT治療1ヶ月のEDL群では65%から82%、MHL群では100%、12ヶ月の再発率ではMHL群は0%と長期間の治療効果の持続を認め、MHLの有効性が示された。

この有効性を明らかにしたことは臨床上有用な知見であり、本論文は、学位を授与するに値するものと判定した。

氏 名	上 甲 眞 宏 <small>じょう こう まさ ひろ</small>
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第358号
学位授与年月日	平成25年10月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Different modifications of phosphorylated Smad3C and Smad3L through TGF- β after spinal cord injury in mice (マウス脊髄損傷後のTGF- β シグナルにおけるリン酸化Smad3Cとリン酸化Smad3Lの変容について)
論文審査委員	(主査) 教授 高 安 正 和 教授 中 野 隆 教授 道 勇 学 教授 牛 田 享 宏

学位論文内容の要旨

【背景】

Transforming growth factor- β (TGF- β) は細胞の増殖・運動・分化などを調節する多機能なサイトカインである。TGF- β が細胞膜の受容体に結合し、Smad蛋白が活性化され、核内へのシグナル伝達がおこなわれている。このシグナル伝達の異常が、線維症、免疫疾患、血管病変や骨軟骨疾患など様々な疾患と深く関与している。

【目的】

脊髄損傷後のTGF- β の発現は報告されているが、TGF- β の作用機序については、まだ解明されていない。今回我々は、脊髄損傷マウスにおけるTGF- β /Smadシグナル伝達系の経時的変化ならびに発現部位の細胞局在について検討した。

【対象・方法】

マウスC57BL6 (18-20g, メス) を用い、Th8レベルにおいて、moderateな脊髄損傷モデルを作製した。椎弓切除のみをコントロールとし、脊髄損傷後1, 3, 6, 12, 24, 48, 96と168時間後に脊髄損傷部位を検体として採取した。ELISAを用いてinterleukin-6 (IL-6) とTGF- β の経時的な発現変化を測定した。Western blottingにて、Smad3, phosphorylated Smad3 at the C-terminus (p-Smad3C) ならびにp-Smad3 at the linker regions (p-Smad3L) の経時的な変化を解析した。また、コントロールと脊髄損傷2日後において、Smad3とp-Smad3C, Lの発現部位につき免疫染色を用いて比較検討した。

【結果】

IL-6は脊髄損傷直後から有意な一過性の増加を示した。一方、TGF- β は徐々に増加し、受傷2日後をピークに以降漸減していった。Western blottingにおいて、Smad3はコントロールを含め脊髄損傷後もほぼ均一に検出されたが、p-Smad3Cは脊髄損傷漸減し、一方p-Smad3Lは、漸増していった。また、免疫染色の結果では、Smad3は神経細胞に存在し、p-Smad3Cは脊髄前角の神経細胞において発現が認められ、p-Smad3Lは蛍光二重染色から灰白質内のアストロサイトにおいて発現していた。

【結論】

今回の結果より、脊髄損傷後徐々にTGF- β が産生され、p-Smad3Cによる脊髄損傷後の前角神経変性への関与ならびに、p-Smad3Lを介するアストロサイトによるグリア瘢痕形成に深く関与する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景】

脊髄損傷後の病態には様々なサイトカインが関与していることが報告されている。このうちTransforming growth factor- β (TGF- β)は細胞の増殖・運動・分化などを調節する多機能なサイトカインであり、TGF- β が細胞膜の受容体に結合し、Smad蛋白が活性化され、核内へのシグナル伝達が行われている。このシグナル伝達の異常が、線維症、免疫疾患、血管病変や骨軟骨疾患など様々な疾患と深く関与していることも報告されている。

【目的】

脊髄損傷後のTGF- β の作用機序を解明する目的で、今回我々は、脊髄損傷マウスにおけるTGF- β /Smadシグナル伝達系の経時的变化ならびに発現部位の細胞局在について検討した。

【対象・方法】

マウスC57BL6 (18-20g, メス)を用い、Th8椎弓切除後に5g/mm²の重さで5分間圧力を加え脊髄損傷モデルを作製した。椎弓切除のみをコントロールとし、脊髄損傷後1, 3, 6, 12, 24, 48, 96と168時間後に脊髄損傷部位を検体として採取した。ELISAを用いてinterleukin-6 (IL-6)とTGF- β の経時的な発現変化を測定した。Western blottingにて、Smad3, phosphorylated Smad3 at the C-terminus (p-Smad3C)ならびにphosphorylated Smad3 at the linker regions (p-Smad3L)の経時的な変化を解析した。また、コントロールと脊髄損傷2日後において、Smad3とp-Smad3C, Lの発現部位につき免疫染色を用いて比較検討した。

【結果】

ELISAにてIL-6は脊髄損傷直後から有意な一過性の増加を示した。一方、TGF- β は徐々に増加し、受傷2日後のピーク以降漸減を示した。Western blottingにて、Smad3はコントロールを含め脊髄損傷後もほぼ均一に検出されたが、p-Smad3Cは脊髄損傷後に漸減し、p-Smad3Lは脊髄損傷後に漸増を示した。免疫染色にて、Smad3は神経細胞に存在し、p-Smad3Cは脊髄前角の神経細胞において発現し、p-Smad3Lは蛍光二重染色の結果、灰白質内のアストロサイトにおいて発現していることが分かった。

【考察】

脊髄損傷後に出現するサイトカインにより、障害部位にアストロサイトが分化・集合し、グリア瘢痕に関与していることや、その際、アストロサイト上でリン酸化Smad3が関与していることは既に報告されているが、今回の結果より、リン酸化Smad3はp-Smad3Lであることが分かった。このp-Smad3Lによる間質細胞シグナルの活性化の結果、細胞外マトリックスが蓄積することで生じる脊髄損傷後の瘢痕形成への関与の可能性が示唆された。また、p-Smad3Cによる脊髄損傷後の前角神経変性への関与の可能性も示唆された。

【結論】

今回の結果より、脊髄損傷後2日目をピークにTGF- β が産生され、p-Smad3Cが漸減し、p-Smad3Lが漸増することが分かった。Smad3は神経細胞に存在し、p-Smad3Cは脊髄前角の神経細胞に存在し、p-Smad3Lは灰白質内のアストロサイトに存在することが分かった。以前より報告のあったアストロサイト上でのリン酸化Smad3はp-Smad3Lであることが分かった。

本研究はTGF- β /Smadシグナル伝達系の経時的変化ならびに発現部位の細胞局在について解明しており、今後、脊髄損傷のメカニズムを解明する際に役立つものと考えられる。以上より学位を授与するに値する論文であると判定した。

氏 名	石 田 政 也 <small>いし だ まさ や</small>
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第359号
学位授与年月日	平成25年10月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Efficient Penetration into Aqueous Humor by Administration of Oral and Topical Levofloxacin (レボフロキサシンの経口と点眼投与による眼房水への効率的な浸透)
論文審査委員	(主査) 教授 岩 城 正 佳 教授 佐 藤 元 彦 教授 岡 田 尚志郎 教授 藤 原 祥 裕

学位論文内容の要旨

【緒言】

レボフロキサシンは術後眼内炎を予防する目的に用いられる標準的な抗菌薬である。投与方法は点眼と経口があるが、ともに眼房水への移行が良いといわれる。点眼では60分で前房水濃度は最高となり、経口投与でも4～4.5時間で前房水と血漿濃度が最高値となる。しかし、点眼と内服を併用した場合の前房水濃度の推移は不明で、これを明らかにするために研究を行った。さらに継続投与による濃度変化の有無について検討した。

【方法】

2010年2月～3月に両眼白内障手術を施行した15名(11名女性, 4名男性)が対象。平均年齢 70.7 ± 9.5 歳。他の眼疾患があるものや、以前手術をうけたもの、点眼や他の抗生剤による治療を1ヶ月以内にうけたものを除外した。

0.5%レボフロキサシン点眼(参天製薬)とレボフロキサシン錠500mg(第一製薬)を使用した。点眼は手術1週間前から1日4回を継続し、術前1時間前も投与した。内服は手術前日から1週間、500mg継続し、手術日は手術開始の4時間前に投与した。内服2日目の初回手術時および内服4日目の他眼手術時(2回目手術)の手術開始時に前房穿刺を行い前房水を採取($\sim 100 \mu\text{l}$)した。前房水薬物濃度は高速液体クロマトグラフィーで測定した。paired t-testで $P < 0.05$ で有意差有りとした。

【結果】

初回と2回目の前房水濃度は、それぞれ $2.87 \pm 0.89 \mu\text{g/ml}$ と $3.76 \pm 1.32 \mu\text{g/ml}$ であり、

両者の間には有意差を認めた ($p=0.0085$)。

【考按】

眼内炎のほとんどは眼表面の細菌が原因だといわれる。初回と2回目の前房水濃度はどちらも大多数の細菌のMIC₉₀を超えていた。特に2回目手術時の前房内濃度は過去の各種の投与法の発表と比較して最も高い結果であった。2回目手術時に濃度が累積的に上昇することは過去の報告には無い。内服と点眼を併用することで前房内濃度を累積的に増加させた可能性があり以下のように考えた。内服では、前房水濃度は血漿濃度に平行して増加し、血漿よりもゆっくり濃度の低下がみられるといわれる。点眼では角膜から前房内に移行するが、短い時間で線維柱帯や強膜ぶどう膜路を通して前房から流出し、累積的に前房内濃度を上げることを難しくするといわれている。しかし内服による眼球への浸透は、毛様体を経て前房内に到達する。このルートを経由して経口投与されたレボフロキサシンは硝子体腔に導かれる。硝子体腔は死腔、最終腔となり、分散は遅延する。内服の継続によって硝子体からの遅延した分散が起き、累積性の前房水濃度の上昇がみられたと考察した。

【結論】

内服と点眼を併用し、前房水レボフロキサシン濃度を上昇させれば、様々な手術から術後眼内炎を予防できる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

レボフロキサシン (クラビット®) は眼科手術後眼内炎を予防する目的で用いられる標準的な抗菌薬である。このような薬剤で点眼と経口の2種類の投与が可能であるものは少なく、このことを利用して本薬剤の眼内移行に関する臨床的な研究を行った。

両眼白内障手術を施行した15名を対象とした。0.5%レボフロキサシン点眼薬と500mgレボフロキサシン錠を用いた。点眼は手術1週間前から1日4回を継続し、術前1時間前も投与した。内服は手術前日から1週間、500mg継続し、手術日は手術開始の4時間前に投与した。内服2日目の初回手術時および内服4日目の他眼手術時(2回目手術)の手術開始時に前房穿刺を行い前房水を採取(～100 μ l)した。前房水薬物濃度は高速液体クロマトグラフィーで測定した。paired t-test で $P<0.05$ で有意差有りとした。

初回と2回目の前房水濃度は、それぞれ $2.87 \pm 0.89 \mu\text{g/ml}$ と $3.76 \pm 1.32 \mu\text{g/ml}$ であり、両者の間には有意差を認めた ($p=0.0085$)。

眼内炎のほとんどは眼表面の細菌が原因だといわれる。初回と2回目の前房水濃度はどちらも大多数の細菌のMIC₉₀を超えていた。特に2回目手術時の前房内濃度は過去の各種の投与法の発表と比較して最も高い結果であった。2回目手術時に濃度が累積的に上昇することは過去の報告には無い。内服と点眼を併用することで前房内濃度を累積的

に増加させた可能性があり以下のように考察した。内服では、前房水濃度は血漿濃度に平行して増加し、血漿よりもゆっくり濃度の低下がみられるといわれる。点眼では角膜から前房内に移行するが、短い時間で線維柱帯や強膜ぶどう膜路を通して前房から流出し、累積的に前房内濃度を上げることを難しくするといわれている。しかし内服による眼球への浸透は、毛様体を経て前房内に到達する。このルートを経由して経口投与されたレボフロキサシンは硝子体腔に導かれる。硝子体腔は死腔、最終腔となり、分散は遅延する。内服の継続によって硝子体からの遅延した分散が起き、累積性の前房水濃度の上昇がみられたと考察した。内服と点眼を併用し、前房水レボフロキサシン濃度を上昇させれば、様々な手術から術後眼内炎を予防できる可能性がある。

本研究の結果から抗菌薬の点眼と内服の投与により、眼内への移行における相加効果が明らかになり、全身投与と局所投与の併用が臨床的に有用であることが実験的かつ理論的に裏付けられた。このような明解な結果は過去にあまり報告がない。よって、学位授与に値すると判断した。

氏 名	すず き けい すけ 鈴 木 啓 介
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第360号
学位授与年月日	平成25年11月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Estimated glomerular filtration rate and daily amount of urinary protein predict the clinical remission rate of tonsillectomy plus steroid pulse therapy for IgA nephropathy (IgA腎症における扁桃摘出+ステロイドパルス療法による臨床寛解率は、推算糸球体濾過量と1日尿タンパク量によって予測できる)
論文審査委員	(主査) 教授 今 井 裕 一 教授 菊 地 正 悟 教授 植 田 広 海 教授 住 友 誠

学位論文内容の要旨

【背景】

IgA腎症はメサンギウム領域にIgAが優位に沈着する糸球体腎炎と定義され、最も頻度の高い腎炎である。20年後の予後では自然寛解が約30%、腎機能正常で尿異常持続が約30%であるが、約40%は進行して腎不全に至る。2001年に堀田らが「扁桃摘出+ステロイドパルス療法(TSP)」を報告して以来、臨床寛解(CR)(尿異常正常化)を目指す治療法として注目を集めている。2009年にMiuraらは全国調査を行い、患者側の臨床背景によってCR率が大きく変化することを明らかにした。Multivariate logistic regression analysisにより、TSP療法抵抗性因子として、①発症時の年齢が若いこと、②1日尿蛋白量が多いこと、③血尿が少ないこと、④病理組織所見が進行していることが抽出された。

【目的】

IgA腎症に対するTSP療法のCR率を臨床背景から予測することが可能かどうかを明らかにする。

【対象と方法】

対象：多施設共同後ろ向きコホート研究で収集した303例のデータの中から、十分なデ

ータ記載のあった292例を抽出し、サブ解析を行った。

方法：1日尿蛋白量を横軸，縦軸として①推算糸球体濾過量（eGFR），②血尿の程度，③病理grade，④診断からTSP療法を行うまでの年数，⑤診断時の年齢をおき図を作成した。それぞれ分割した領域内のCR率を計算し，CR率66%以上を濃い青，50-65%を薄い青，50%を黄色，33-49%をオレンジ色，33%未満を赤色として，heat mapを作成した。統計学的処理：Student's t 検定，Fisher検定，Yatesの補正によるカイ二乗検定を用いて比較した。

【結果】

1. eGFRと1日尿蛋白量

1日尿蛋白量 0.3～1.09 g でeGFR 30 ml/min/1.73 m²以上の群のCR率は71%であるが，1日尿蛋白量 1.50 g以上の群では，CR率29.6%であり有意に低い。1日尿蛋白量0.29g未満の群のCR率は60.8%であり，1日尿蛋白 0.3～0.69 g群の73%より低い傾向にある。

2. 血尿と1日尿蛋白量

血尿のない患者群でのCR率は，28.6%であり，血尿のある患者群56%と比較して有意に低下している。

3. 病理gradeと1日尿蛋白量

病理grade I or II で1日尿蛋白量1.09g未満群のCR率は82.5%であるが，病理grade III or IV で1日尿蛋白量2.0g以上群では，CR率28.1%であり有意差がある。

4. 診断からTSPまでの年数と1日尿蛋白量

1日尿蛋白量 0.3～1.09 gの群では，診断からTSP療法までの年数間で有意差はなくCR率は70%台である。しかし，1.1g以上の群では，6年未満のCR率43%，6年以上のCR率23%と有意差（p=0.01）がある。

【結語】

1. eGFRと1日蛋白量，あるいは病理gradeと1日蛋白量によるheat mapによって，TSP療法のCR率を予測することができる。
2. 診断からTSPまでの年数に関して，1日尿蛋白量が1.09g未満のCR率はTSP療法までの年数とは関連がない。しかし，1.1g以上の群では，6年未満にTSP療法を施行する方が，CR率が有意に高い。
3. 蛋白尿のない患者群，あるいは血尿のない患者群では，CR率が有意に低下しており，TSP療法に抵抗性である。これは，遺伝性腎炎あるいは動脈硬化症に偶然の糸球体IgA沈着症が合併した可能性がある。

論文審査の結果の要旨

IgA腎症は、糸球体メサンギウム領域にIgAが優位に沈着している慢性糸球体腎炎であり、腎生検の約40%を占めている。さらに約40%が進行して腎不全に至ることから、社会的にも重要な疾患と認識されている。2001年にわが国の堀田らが「扁桃摘出+ステロイドパルス療法（以下TSP療法）」を報告して以来、臨床寛解（CR）（尿異常正常化）を目指す治療法として注目を集めている。2009年のMiuraらの全国調査では、患者側の臨床背景によってCR率が大きく変化することが明らかとなった。Multivariate logistic regression analysisにより、治療抵抗性因子として、①発症時の年齢が若いこと、②1日尿蛋白量が多いこと、③血尿が少ないこと、④病理組織所見が進行していることが抽出された。

今回、IgA腎症に対するTSP療法のCR率を臨床背景から予測することが可能かどうかを明らかにするために、多施設共同後ろ向きコホート研究で収集した303例のデータの中から、十分なデータ記載のあった292例の患者を抽出し、サブ解析を行った。

方法：1日尿蛋白量を横軸（9分割）として、縦軸に①eGFR（8分割）、②血尿の程度（4分割）、③病理障害度（4分割）、④診断からTSP療法を行うまでの年数（6分割）、⑤診断時の年齢（6分割）をおき、それぞれの領域内のCR率を計算し、CR率66%以上を濃い青、50-65%を薄い青、50%を黄色、33-49%をオレンジ色、33%未満を赤色として、heat mapを作成した。統計学的処理：Student's t 検定、Fisher検定、Yatesの補正によるカイ二乗検定を用いて比較した。

結果として、

1. eGFRと1日尿蛋白量によるheat map,あるいは病理障害度と1日尿蛋白量によるheat mapによって、TSP療法のCR率を予測することができる。
2. 1日尿蛋白量が0.3-1.09g未満ではCR率が70-80%と高い。一方、1日尿蛋白量が1.5g/日以上では約30%と低く、尿蛋白量が優位な因子である。
3. 蛋白尿のない患者群,あるいは血尿のない患者群では、CR率が有意に低下している。これは、遺伝性腎炎あるいは動脈硬化症に糸球体IgA沈着症が合併した可能性がある。

本研究の結果から、eGFRと1日尿蛋白量によるCR率のheat map,あるいは病理障害度と1日尿蛋白量によるCR率のheat mapによって、IgA腎症に対するTSP療法のCR率を予測することが可能であることが明らかになった。また、IgA腎症患者の中には、約10%程度、遺伝性腎炎あるいは動脈硬化性疾患が混在している可能性も示唆された。このような明解な報告は見当たらず、今後の臨床研究に大きく寄与するものがあり、学位授与に値する論文であると判断した。

氏 名	伊 藤 義 紹 い とう よし つぎ
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第361号
学位授与年月日	平成25年12月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced visible and invisible small intestinal injury (非ステロイド性抗炎症薬による肉眼的及び非肉眼的小腸粘膜障害)
論文審査委員	(主査) 教授 春日井 邦 夫 教授 岡 田 尚志郎 教授 佐 藤 啓 二 教授 横 井 豊 治

学位論文内容の要旨

【背景・目的】

非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) による消化管粘膜障害の機序として, NSAIDs によるミトコンドリア障害, 細胞内プロスタグランジンの低下による粘膜透過性の亢進に続く炎症細胞の遊走・活性化があげられる。今回, 我々はNSAIDsによる粘膜障害と小腸粘膜透過性との関連, 及びレバミピドの効果につき検討した。

【対象・方法】

健康人ボランティア10名にジクロフェナク (75mg/day), オメプラゾール (20mg/day) とレバミピド (300mg/day) もしくはプラセボを4週間の休薬を設け1週間投与する二重盲検クロスオーバー試験を行い, ジクロフェナク内服前後 (1日目と7日目) にカプセル内視鏡 (CE) ならびに糖類による腸管粘膜の透過性試験を行った。

【結果】

ジクロフェナク投与7日後にレバミピド群, プラセボ群とも10例中6例に7日目のCEで粘膜障害をみとめ, 両群間に有意差は認めなかった。また両群間でジクロフェナク投与前後における小腸粘膜透過性の変化も有意差は認めなかった。CEによる粘膜障害は, ジクロフェナク初回投与時には7例 (うち3例で出血あり), 2回目投与時には5例 (出血なし) にみられ, 初回投与時に粘膜障害が強い傾向を認めた。小腸粘膜の透過性の指標であるラクツロースの尿中排泄は, ジクロフェナク初回投与時には亢進した (プラセボ群: 0.30%から0.50%, レバミピド群: 0.13%から0.33%)。4週間休薬後, CE

で粘膜障害は改善していたにもかかわらず、2回目投与前のラクツロースの尿中排泄量はさらに亢進した（プラセボ群：0.5%から1.06%，レバミピド群：0.33%から1.12%）。ジクロフェナク1回目投与時には上昇したラクツロースの尿中排泄量は、2回目投与時にはむしろ低下した。

【結語】

NSAIDs休薬によりCEで粘膜障害は改善していたにもかかわらず、小腸粘膜の透過性が亢進していたことから、NSAIDsは長期にわたり非肉眼的な小腸粘膜障害に影響を及ぼす可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景・目的】

非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）による消化管粘膜障害の機序として、NSAIDsによるミトコンドリア障害、細胞内プロスタグランジンの低下による粘膜透過性の亢進に続く炎症細胞の遊走・活性化があげられる。今回、我々はNSAIDsによる粘膜障害と小腸粘膜透過性との関連、及び消化管粘膜保護剤であるレバミピドの効果につき検討した。

【対象・方法】

健常人ボランティア10名にNSAIDsのジクロフェナク（75mg/day）、オメプラゾール（20mg/day）とレバミピド（300mg/day）もしくはプラセボを4週間の休薬を設け1週間投与する二重盲検クロスオーバー試験を行い、ジクロフェナク内服前後（1日目と7日目）にカプセル内視鏡（CE）ならびに糖類による腸管粘膜の透過性試験を行った。

【結果】

ジクロフェナク投与7日後にレバミピド群、プラセボ群とも10例中6例にCE観察で粘膜障害を認め、両群間に有意差は認めなかった。また両群間でジクロフェナク投与前後における小腸粘膜透過性の変化も有意差は認めなかった。CE観察による粘膜障害は、ジクロフェナク初回投与時には7例（うち3例で出血あり）、2回目投与時には5例（出血なし）にみられ、初回投与時に粘膜障害が強い傾向を認めた。小腸粘膜の透過性の指標であるラクツロースの尿中排泄は、ジクロフェナク初回投与時には亢進した（プラセボ群：0.30%から0.50%，レバミピド群：0.13%から0.33%）。4週間休薬後にはCE観察で粘膜障害は改善していたにもかかわらず、2回目投与前のラクツロースの尿中排泄量はさらに亢進した（プラセボ群：0.5%から1.06%，レバミピド群：0.33%から1.12%）。また、ジクロフェナク1回目投与時には上昇したラクツロースの尿中排泄量は、2回目投与時にはむしろ低下していた。

【結語】

NSAIDs休薬によりCEで粘膜障害は改善していたにもかかわらず，小腸粘膜の透過性が亢進していたことから，NSAIDsは長期にわたり非肉眼的な小腸粘膜障害に影響を及ぼす可能性が示唆された。

本論文は，NSAIDsによる小腸粘膜障害を透過性の面からはじめて検討し，そのメカニズムの研究や予防方法の開発などへの応用，発展も期待され，学位を授与するに値すると判定した。

氏 名	井 澤 晋 也 い ざわ しん や
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第362号
学位授与年月日	平成26年 3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	The role of gastroesophageal reflux in relation to symptom onset in patients with proton pump inhibitor-refractory non-erosive reflux disease accompanied by an underlying esophageal motor disorder (PPI不応性の食道運動障害患者の症状発現には胃食道逆流が関与している)
論文審査委員	(主査) 教授 春日井 邦 夫 教授 佐 藤 元 彦 教授 塩 見 利 明 教授 植 田 広 海

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【背景と目的】

非びらん性胃食道逆流症 (non-erosive reflux disease: NERD) は逆流性食道炎の標準的な治療薬であるプロトンポンプ阻害薬 (proton pump inhibitor : PPI) による症状改善率は低く, 治療に難渋する場合が多い。その病態メカニズムは酸逆流以外に様々な要因が複雑に関連していると考えられている。食道運動障害はその要因の一つとされているが, その頻度, 患者背景, 症状の程度, 症状発現と胃食道逆流の関係などについての十分な検討はない。われわれはPPI不応性NERD患者のうち食道運動障害患者の症状発現と胃食道逆流の関与について検討した。

【対象・方法】

8週間の常用量のPPI服用後も症状が改善しないPPI不応性NERD患者を対象とし, PPI内服下で食道内圧検査を施行し, 食道運動正常群と障害群に分類し, 24時間食道内pH・インピーダンスモニタリング検査, 各種問診を施行した。両群間で患者背景, 症状の程度, 神経症の有無, 症状発現と胃食道逆流の関係について比較検討を行った。

【結果】

PPI不応性NERD患者76名中19名 (25%) に食道運動障害を認めた。Rome III診断基準に基づきアカラジア2名を除いた17名 (男性9名, 平均年齢 56.5 ± 3.4 歳) の食道運動患

者と障害を認めない患者（正常群）57例で比較検討を行った。両群間で性別，年齢，BMI，神経症の有無に差は認めなかった。24時間食道内pH<4時間，平均胃食道逆流回数，平均Proximal Reflux回数は両群間に差は認めず，逆流関連症状発現率（S.I.≥50%）は，運動障害患者17名中12名（70.5%），正常群57名中43名（75%）に何らかの逆流と症状が一致していた。また，両群間で症状の程度に差は認めなかったが，運動障害患者はFスケール問診票のQ10（苦い水（胃酸）が上がってくる）スコアが胃食道逆流回数（ $r=0.58$ ， $p=0.02$ ）とProximal Reflux回数（ $r=0.63$ ， $p=0.02$ ）とに有意な関連を認めた。またQ9（ものを飲み込むとつかえる）スコアは胃食道逆流回数と関連傾向（ $r=0.44$ ， $p=0.06$ ）を認めた。

【結語】

PPI不応性NERD患者の25%に食道運動障害が存在し，その症状発現には胃食道逆流が関与していた。

論文審査の結果の要旨

【背景と目的】

非びらん性胃食道逆流症（non-erosive reflux disease: NERD）は逆流性食道炎の標準的な治療薬であるプロトンポンプ阻害薬（proton pump inhibitor : PPI）による症状改善率は低く，治療に難渋する場合が多い。その病態メカニズムは酸逆流以外に様々な要因が複雑に関連していると考えられている。食道運動障害はその要因の一つとされているが，その頻度，患者背景，症状の程度，症状発現と胃食道逆流の関係などについての十分な検討はない。われわれはPPI不応性NERD患者のうち食道運動障害患者の症状発現と胃食道逆流の関与について検討した。

【対象・方法】

8週間の常用量のPPI服用後も症状が改善しないPPI不応性NERD患者を対象とし，PPI内服下で食道内圧検査を施行し，食道運動正常群と障害群に分類し，24時間食道内pH・インピーダンスモニタリング検査，各種問診を施行した。両群間で患者背景，症状の程度，神経症の有無，症状発現と胃食道逆流の関係について比較検討を行った。

【結果】

PPI不応性NERD患者76名中19名（25%）に食道運動障害を認めた。Rome III診断基準に基づきアカラジア2名を除いた17名（男性9名，平均年齢 56.5 ± 3.4 歳）の食道運動患者と障害を認めない患者（正常群）57例で比較検討を行った。両群間で性別，年齢，BMI，神経症の有無に差は認めなかった。24時間食道内pH<4時間，平均胃食道逆流回数，平均Proximal Reflux回数は両群間に差は認めず，逆流関連症状発現率（S.I.≥50%）は，運動障害患者17名中12名（70.5%），正常群57名中43名（75%）に何らかの逆流と症状が

一致していた。また、両群間で症状の程度に差は認めなかったが、運動障害患者はFスケール問診票のQ10（苦い水（胃酸）が上がってくる）スコアが胃食道逆流回数（ $r=0.58$, $p=0.02$ ）とProximal Reflux回数（ $r=0.63$, $p=0.02$ ）とに有意な関連を認めた。またQ9（ものを飲み込むとつかえる）スコアは胃食道逆流回数と関連傾向（ $r=0.44$, $p=0.06$ ）を認めた。

【結論】

PPI不応性NERD患者の25%に食道運動障害が存在し、その症状発現には胃食道逆流が関与していた。

本論文は、食道運動障害患者の症状発現のメカニズムを明らかにし、新たな治療方針の策定に有用な知見を示しており、学位を授与するに値すると判定した。

氏 名	まえ だ くに ひろ 前 田 邦 博
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第363号
学位授与年月日	平成26年 3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Glomerular tip adhesions predict the progression of IgA nephropathy (IgA腎症における糸球体尖部癒着は予後不良を示唆する)
論文審査委員	(主査) 教授 今 井 裕 一 教授 池 田 洋 教授 中 村 二 郎 教授 横 井 豊 治

学位論文内容の要旨

【背景】

IgA腎症は、メサンギウム細胞の増加とメサンギウム領域へのIgA優位な沈着を認めるものである。腎生検の約40%を占めており最も一般的な疾患である。診断から20年後の予後として、約30%は自然寛解、約30%は尿異常が持続しているが腎機能は正常、約40%が進行して腎不全に至る。びまん性の変化に加え、しばしば巣状分節性糸球体硬化症とよく似た病理所見がみられる。これまでに病理所見と臨床経過についての研究が多くなされてきているが、IgA腎症における糸球体尖部病変 (glomerular tip lesion) に関しては報告がない。今回、IgA腎症の予後と病理組織所見との関連を明らかにするため、特に糸球体尖部病変に注目して検討を行った。

【方法】

1986年から2010年までで当院で腎生検を受けた821人のうち229人がIgA腎症と診断され、そのうち5年から10年間の経過観察ができた57人を対象とした。糸球体尖部は巣状糸球体硬化症の分類基準であるコロンビア分類に従い、糸球体の尿細管側25%と定義し、糸球体尖部病変は逸脱、癒着、硬化、泡沫細胞に分類した。 $\Delta eGFR$ (最終観察eGFR - 腎生検時eGFR) / 観察日数を目的変数とし、腎生検時の臨床項目と腎生検病理所見を説明変数としロジスティック回帰分析を行った。その後、有意差の認められた項目を対象として、その有無で2群にわけ、臨床項目と病理所見について検定を行った。

【結果】

Δ eGFRの低下に強く影響する要因として以下の6つ挙げられた。

①腎生検時のeGFR ($p=0.0002$), ②糸球体尖部癒着出現率 ($p=0.004$), ③血清アルブミン値 ($p=0.138$), ④拡張期血圧 ($p=0.024$), ⑤全硬化糸球体率 ($p=0.019$), ⑥糸球体全癒着出現率 ($p=0.14$)であった。糸球体尖部癒着群 ($n=9$)とみられなかった群 ($n=48$)で有意差が出た項目はeGFR減少率 ($p=0.015$)と総コレステロール(両側検定 $p=0.064$;片側検定 $p=0.032$)とであった。

【考察】

本研究により, IgA腎症患者の糸球体尖部癒着は独立した腎機能悪化要因であることが明らかになった。糸球体尖部癒着が腎機能悪化にいたるメカニズムとしては, 糸球体尖部癒着が生じることで癒着側全体の原尿の流れが停滞し, 癒着側で糸球体内圧が低下することで糸球体硬化がおこり, より健常部分への過剰濾過につながり健常部分にも癒着がおき, 全糸球体硬化へとつながるといふ仮説を提唱した。本研究は単施設の研究であり症例数や観察期間も少ないが, 糸球体尖部癒着はIgA腎症の重要な予後因子となりうることを示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景】

IgA腎症は, メサングウム細胞の増加とメサングウム領域へのIgA優位な沈着を認める慢性糸球体腎炎である。腎生検の約40%を占めており最も一般的な疾患である。診断から20年後の予後として, 約30%は自然寛解, 約30%は尿異常が持続しているが腎機能は正常, 約40%が進行して腎不全に至る。びまん性の変化に加え, しばしば巣状分節性糸球体硬化症とよく似た病理所見がみられる。これまでに病理所見と臨床経過についての研究が多くなされてきているが, IgA腎症における糸球体尖部病変 (glomerular tip lesion) に関しては報告がない。今回, IgA腎症の予後と病理組織所見との関連を明らかにするため, 特に糸球体尖部病変に注目して検討を行った。

【方法】

1986年から2010年までで当院で腎生検を受けた821人のうち229人がIgA腎症と診断され, そのうち5年から10年間の経過観察ができた57人を対象とした。糸球体尖部は巣状糸球体硬化症の分類基準であるコロンビア分類に従い, 糸球体の尿細管側25%と定義し, 糸球体尖部病変は逸脱, 癒着, 硬化, 泡沫細胞に分類した。 Δ eGFR (最終観察eGFR - 腎生検時eGFR) / 観察日数を目的変数とし, 腎生検時の臨床項目と腎生検病理所見を説明変数としロジスティック回帰分析を行った。その後, 有意差の認められた項目を対象として, その有無で2群にわけ, 臨床項目と病理所見について検定を行った。

【結果】

Δ eGFRの低下に強く影響する要因として以下の6つ挙げられた。

①腎生検時のeGFR ($p=0.0002$), ②糸球体尖部癒着出現率 ($p=0.004$), ③血清アルブミン値 ($p=0.138$), ④拡張期血圧 ($p=0.024$), ⑤全硬化糸球体率 ($p=0.019$), ⑥糸球体全癒着出現率 ($p=0.14$) であった。

糸球体尖部癒着群 ($n=9$) とみられなかった群 ($n=48$) で有意差が出た項目はeGFR減少率 ($p=0.015$) と総コレステロール (両側検定 $p=0.064$;片側検定 $p=0.032$) であった。

【考察】

本研究により, IgA腎症患者の糸球体尖部癒着は独立した腎機能悪化要因であることが明らかになった。糸球体尖部癒着が腎機能悪化にいたるメカニズムとしては, 糸球体尖部癒着が生じることで癒着側全体の原尿の流れが停滞し, 癒着側で糸球体内圧が低下することで糸球体硬化がおこり, より健常部分への過剰濾過につながり健常部分にも癒着がおき, 全糸球体硬化へとつながるといふ仮説を提唱した。

本研究の結果から, これまで全く指摘されていない糸球体尖部癒着が, IgA腎症の緩徐な進行性を規定する因子であることが明らかとなり, 今後の臨床研究に大きく寄与するものがあり, 学位授与に値すると判断した。

氏 名	いま しゆく やす ひこ 今 宿 康 彦
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第364号
学位授与年月日	平成26年 3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Relationship between blood levels of propofol and recovery of memory in electroconvulsive therapy (電気痙攣療法におけるプロポフォール血中濃度と記憶力回復との関連)
論文審査委員	(主査) 教授 兼 本 浩 祐 教授 池 田 洋 教授 妹 尾 洋 教授 藤 原 祥 裕

学位論文内容の要旨

【背景】

電気痙攣療法 (Electroconvulsive therapy:ECT) はうつ病をはじめ、様々な精神疾患に効果を示す治療法である。そのECTにおける副作用の1つとして痙攣発作後の記憶力障害があげられている。近年、静脈麻酔薬プロポフォールがECTにおける記憶力障害を軽減させるのではないかという報告が散見されるものの不明な点も多い。我々はECT施行中、Target controlled infusion (TCI) 法を用いてプロポフォールを投与した際に痙攣発作後の記憶力及び見当識が早期に回復する群と早期に回復しない群の間でプロポフォール予想血中濃度やその他の因子に差が認められるかを調査した。

【方法】

同意の得られた36人の患者、のべ260回の電気痙攣において、術後記憶力検査及び見当識検査を行った。記憶力検査が1回で全て正解できた事例とできなかった事例に分け、1回で正解できたものを記憶力早期回復群 (n=195)、正解できなかったものを記憶力遅延回復群 (n=65) とした。また同様に見当識検査においても術後1回で全て正解できた事例とできなかった事例に分け、見当識早期回復群 (n=193) と見当識遅延回復群 (n=67) とし比較検討した。それぞれの群間で電気刺激時のプロポフォール予測血中濃度及び総投与量、電気痙攣治療の回数、電気刺激量、脳波上の痙攣発作波時間を比較した。

【結果】

記銘力早期回復群は遅延回復群に比べ、プロポフォールの予想血中濃度は高く、総投与量も多かった。その他の因子には有意差はなかった。見当識に関しては早期回復群と遅延回復群において有意差は認めなかった。

【考察】

記銘力早期回復群では遅延回復群に比べ電気刺激時のプロポフォール予想血中濃度は高いことがわかった。文献では動物実験においてECTにより記憶学習障害を認め、その際に海馬におけるグルタミン酸濃度の低下、GABA（ γ アミノ酪酸）濃度の増大が認められるが、プロポフォール投与下でのECTではいずれの濃度も改善したとされている。また記憶学習に重要な役割を果たすCa/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ（CaMK II）が海馬レベルでECTにより低下するも、プロポフォール投与下のECTでは低下しなかったという報告もある。今回の我々の結果から臨床上においても、より高いプロポフォール濃度は電気痙攣発作による中枢神経系への影響を抑制し、記銘力回復に寄与する可能性があるかと推察された。

【結語】

ECTにおける記銘力への影響をプロポフォールにより軽減することができる可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

電気痙攣療法（Electroconvulsive therapy:ECT）はうつ病をはじめ、様々な精神疾患に効果を示す治療法である。そのECTにおける副作用の1つとして痙攣発作後の記銘力障害があげられている。痙攣発作後の記銘力が早期に回復する群と早期に回復しない群の間でプロポフォール予想血中濃度やその他の因子に差が認められるかを調査した。

36人の患者、のべ260回の電気痙攣において、術後記銘力検査及び見当識検査を行った。記銘力検査が1回で全て正解できた事例とできなかった事例に分け、1回で正解できたものを記銘力早期回復群（n=195）、正解できなかったものを記銘力遅延回復群（n=65）とした。また同様に見当識検査においても術後1回で全て正解できた事例とできなかった事例に分け、見当識早期回復群（n=193）と見当識遅延回復群（n=67）とし比較検討した。それぞれの群間で電気刺激時のプロポフォール予測血中濃度及び総投与量、電気痙攣治療の回数、電気刺激量、脳波上の痙攣発作波時間を比較した。

結果は記銘力早期回復群では遅延回復群に比べ、プロポフォールの予想血中濃度は高く、総投与量も多かった。その他の因子には有意差はなかった。見当識に関しては早期回復群と遅延回復群において有意差は認めなかった。

記銘力早期回復群では遅延回復群に比べ電気刺激時のプロポフォール予想血中濃度は高く総投与量も多いことがわかった。動物実験においてECTにより記憶学習障害を認め、その際に海馬におけるグルタミン濃度の低下、GABA濃度の増大が認められるが、プロポフォール投与下でのECTではいずれの濃度も改善したとされている。また記憶学習に重要な役割を果たすCa/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼが海馬レベルでECTにより低下するも、プロポフォール投与下のECTでは低下しなかったという報告もある。今回の結果から臨床上においても、より高いプロポフォール濃度は電気痙攣発作による中枢神経系への影響を抑制し、記銘力回復に寄与する可能性があるかと推察された。

本研究は電気痙攣療法施行において記銘力障害軽減に少なからず貢献できるものと考え、臨床的意義も大きいため学位を授与するに値すると判断した。

博 士 学 位 論 文

内容の要旨及び審査の結果の要旨

第31集

平成26年 6 月

発行年月日 平成26年 6 月20日

発 行 愛 知 医 科 大 学

連 絡 先 〒480-1195

愛知県長久手市岩作雁又1番地1

愛知医科大学医学部事務部庶務課

電話 (0561) 61-5396 (ダイヤルイン)