

# 博 士 学 位 論 文

内 容 の 要 旨

及 び

審 査 の 結 果 の 要 旨

第 33 集

平成 28 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27年4月から平成28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 名   | 頁    |
|-------|----------|---------|---|------|
| 〔 1 〕 | 甲第 452 号 | 李 玉 強   | マウス術後痛モデル動物が示す痛覚過敏と術後癒痕部および DRG の遺伝子発現変化  | … 1  |
| 〔 2 〕 | 甲第 453 号 | 小 林 郁 生 | Penetration of piperacillin-tazobactam into human prostate tissue and dosing considerations for prostatitis based on site-specific pharmacokinetics and pharmacodynamics (Piperacillin/tazobactam の前立腺組織への移行性と部位特異的 PK-PD 解析に基づいた前立腺炎に対する投与方法の検討)   | … 4  |
| 〔 3 〕 | 甲第 454 号 | 水 野 昌 平 | Overexpression of salivary-type amylase reduces the sensitivity to bortezomib in multiple myeloma cells (アミラーゼ産生性骨髄腫細胞はボルテゾミブに対する感受性が低下する)  | … 7  |
| 〔 4 〕 | 甲第 455 号 | 谷 浩 也   | Optimization of cluster analysis based on drug resistance profiles of MRSA isolates (MRSA 分離株における薬剤感受性結果を用いたクラスター解析条件の最適化)  | … 10 |
| 〔 5 〕 | 甲第 456 号 | 岩 崎 慶 大 | Role of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , carbonic anhydrase-IX, glucose transporter-1 and vascular endothelial growth factor associated with lymph node metastasis and recurrence in patients with locally advanced cervical cancer (子宮頸癌のリンパ節転移と再発における hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , carbonic anhydrase-IX, glucose transporter-1 および vascular endothelial growth factor の役割) | … 13 |

| 掲載順位  | 学位授与番号   | 氏名    | 論文題名   | 頁    |
|-------|----------|-------|--|------|
| [ 6 ] | 甲第 457 号 | 浅井 晶子 | High-resolution 400K oligonucleotide array comparative genomic hybridization analysis of neurofibromatosis type 1-associated cutaneous neurofibromas (高密度 400 Kオリゴアレイ CGHを用いたNF1患者の皮膚線維腫のゲノム解析)  | … 16 |
| [ 7 ] | 甲第 458 号 | 森井 裕子 | Young Coconut Juice Supplementation Results in Greater Bone Mass and Bone Formation Indices in Ovariectomized Rats: A Preliminary Study (ヤングココナツジュース摂取が閉経後骨粗鬆症モデルラットの骨代謝に及ぼす影響)  | … 19 |
| [ 8 ] | 甲第 459 号 | 岡庭 紀子 | eNOS plays an important role in the regulation of colonic inflammation: a novel therapeutic target and predictive marker for the prognosis of ulcerative colitis (腸管炎症の制御における eNOS の重要性: 潰瘍性大腸炎の治療予後ならびに新規治療標的)  | … 22 |
| [ 9 ] | 甲第 460 号 | 森 大樹  | Poly I:C enhances production of nitric oxide in response to interferon- $\gamma$ via upregulation of interferon regulatory factor 7 in vascular endothelial cells (poly I:C は血管内皮細胞におけるインターフェロン- $\gamma$ 誘発一酸化窒素産生を interferon regulatory factor 7 の増強を介して亢進する) | … 25 |

| 掲載順位 | 学位授与番号   | 氏名   | 論文題名  | 頁    |
|------|----------|------|---|------|
| [10] | 甲第 461 号 | 館 昌彦 | Mass spectrometric determination of prostanoids in rat hypothalamic paraventricular nucleus microdialysates (質量分析法によるラット視床下部室傍核透析液中プロスタノイドの定量)                        | … 28 |
| [11] | 甲第 462 号 | 水谷元紀 | Comparable outcomes between autologous and allogeneic transplant for adult acute myeloid leukemia in first complete remission (成人第一寛解期急性骨髄性白血病における自家移植と同種移植の予後比較について) | … 30 |
| [12] | 甲第 463 号 | 山原年  | <i>Callicarpa longissima</i> extract, carnosol-rich potently inhibits melanogenesis in B16F10 melanoma cells (カルノソール高含有タカクマムラサキエキスは B16F10 メラノーマ細胞のメラニン産生を強力に阻害する)    | … 33 |
| [13] | 甲第 464 号 | 山本泰大 | Nephroprotective Effects of Hydration with Magnesium in Patients with Cervical Cancer Receiving Cisplatin (子宮頸がん患者に対するマグネシウムを含んだハイドレーションのシスプラチン腎障害予防効果の検討)            | … 36 |
| [14] | 甲第 465 号 | 梶川圭史 | Optimal method for measuring tumor extent in needle biopsy specimens to identify small-volume prostate cancer (微小な前立癌を識別する為の、前立腺針生検における腫瘍量の至適評価法)                     | … 39 |

| 掲載順位 | 学位授与番号 | 氏名   | 論文題名  | 頁    |
|------|--------|------|---|------|
| [15] | 甲第466号 | 二井章太 | Hepatic effects of estrogen on plasma distribution of small dense low-density lipoprotein and free radical production in postmenopausal women (閉経後女性へのエストロゲン投与による肝臓刺激が small dense LDL 血中分布と活性酸素産生に与える影響)   | … 42 |
| [16] | 甲第467号 | 野田久嗣 | Risk factors for bleeding evaluated using the Forrest classification in Japanese patients after endoscopic submucosal dissection for early gastric neoplasm (フォレスト分類による胃腫瘍に対する内視鏡的粘膜下層剥離術後出血のリスク因子の検討)  | … 45 |
| [17] | 甲第468号 | 塩入達政 | Sequence determination of synthesized chondroitin sulfate dodecasacchareides (合成コンドロイチン硫酸十二糖の配列決定)  | … 48 |
| [18] | 甲第469号 | 陸美穂  | Down-regulation of the zinc-finger homeobox protein TSHZ2 releases GLI1 from the nuclear repressor complex to restore its transcriptional activity during mammary tumorigenesis (乳腺の腫瘍形成において、ジンクフィンガー蛋白 TSHZ2 の発現低下は GLI1 を核内の転写抑制複合体から遊離し、転写機能を活性化させる) | … 51 |
| [19] | 甲第470号 | 中垣明美 | Differences in autonomic neural activity during exercise between the second and third trimesters of pregnancy (妊娠中期と妊娠後期における運動中の自律神経活動)   | … 54 |

| 掲載順位 | 学位授与番号   | 氏 名     | 論 文 題 名  | 頁    |
|------|----------|---------|--|------|
| [20] | 乙第 374 号 | 増 井 竜 太 | G Protein-Coupled Receptor 43 Moderates Gut Inflammation Through Cytokine Regulation from Mononuclear Cells (短鎖脂肪酸レセプターである GPR43 は単核球からのサイトカインを介して腸炎を制御する)                                   | … 57 |
| [21] | 乙第 375 号 | 大 野 隆 之 | Plumbagin suppresses tumor cell growth in oral squamous cell carcinoma cell lines (プランバギンは口腔扁平上皮癌細胞株種の増殖を抑制する)   | … 60 |
| [22] | 乙第 376 号 | 桑 原 裕 子 | Arousal electrical stimuli evoke sudomotor activity related to P300, and skin vasoconstrictor activity related to N140 in humans (ヒトにおいて覚醒電気刺激は P300 に関連する発汗神経活動と N140 に関連する皮膚血管収縮神経活動を誘発する) | … 62 |
| [23] | 乙第 377 号 | 小 林 邦 生 | Diagnostic Accuracy of Real-Time Tissue Elastography for the Staging of Liver Fibrosis: A Meta-Analysis (Real-time tissue elastography による肝線維化評価の診断精度に関するメタ解析)                               | … 65 |

| 掲載順位 | 学位授与番号   | 氏名    | 論文題名  | 頁    |
|------|----------|-------|---|------|
| [24] | 乙第 378 号 | 堀田和男  | Lack of Contribution of Multidrug Resistance-Associated Protein and Organic Anion-Transporting Polypeptide to Pharmacokinetics of Regorafenib, A Novel Multi-Kinase Inhibitor, in Rats (ラットにおいて多剤耐性タンパクおよび有機アニオン輸送ポリペプチドは新規の多標的キナーゼ阻害剤レゴラフェニブの薬物動態に寄与していない) | … 68 |
| [25] | 乙第 379 号 | 泉 雄一郎 | Uterine artery embolization by use of porous gelatin particles for symptomatic uterine leiomyomas:comparison with hand-cut gelatin sponge particles (症候性子宮筋腫に対する多孔性ゼラチン細粒を用いた子宮動脈塞栓術の検討：用手調製ゼラチンスポンジ細片との比較)   | … 71 |

|         |   |
|---------|---|
| 氏名      | 李 <sup>り</sup> 玉 <sup>ぎよく</sup> 強 <sup>ごう</sup>       |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与番号  | 甲第452号  |
| 学位授与年月日 | 平成27年7月9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  | マウス術後痛モデル動物が示す痛覚過敏と術後癒痕部およびDRGの遺伝子発現変化                |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 牛田 享 宏<br>教授 渡邊 大 輔<br>教授 松浦 克 彦<br>教授 藤原 祥 裕 |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

四肢や脊椎など手術後の創部に長く続く痛みでADL低下をきたす症例は多い。臨床的には手術に伴う筋や関節およびその周囲組織の癒痕形成がみられ、同時にこれらの組織の血流障害が生じ、拘縮・痛みが生じている。そこで創傷治癒過程にある組織と痛みの神経系の関与についての研究を行なうためのモデルマウスを作成した。

### 【方法】

癒痕創の作成はマウス左後肢の踵部に19G針を用いて孔をあけ、そこから遠位方向にロッドを刺入し、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て行った。また、孔のみをあけ、剥離しなかったマウスを対照とした(Sham群)。手術群の半分のマウスは、手術直後から10日間、毎日10 $\mu$ l/一匹でNTP(ノイトロトピン)を腹腔内注射により投与した(NTP投与群)。それ以外のマウスには生理食塩水を注射した(手術群)。von Freyフィラメントによる足底刺激時の脚引っ込め反射の閾値低下が観察された。痛覚閾値の低い術後1週間目2週間目に、筋腱部組織とDRGを各々採取しTotalRNAを抽出してマイクロアレイを行った。マイクロアレイの結果を一部についてより定量的に遺伝子発現を測定、確認できる定量的RT-PCR法を行った。

### 【結果】

手術群では手術後2時間で低下した( $P<0.05$ )、その閾値低下は術後4週間目まで持続していた。NTP投与群では、痛み閾値は低下した状態が手術後2時間から4週間の時点

まで続いた。Sham 群でも閾値低下は術後 2 時間から生じ、3 週まで有意に低下した。

手術群の非手術側の足底の閾値低下は、術後 1 日目から出現し、4 週まで持続していた。NTP 投与群でも非手術側の足底の閾値低下は、術後 1 日目から出現し、4 週まで持続していた。Sham 群でも閾値低下は術後 1 日目から出現し、2 週まで持続していた。マイクロアレイによる遺伝子発現変化の解析は 2 倍以上と半分以下減少遺伝子を選び出した。その一部にリアルタイム PCR の結果とマイクロアレイの結果一致した。

### 【結論】

マウスモデルを用いて癒痕化と疼痛発症の機構の解析を目指して、予備的な実験を行った。モデル動物の癒痕部では細胞外マトリックス関連の遺伝子の持続上昇、DRG (Dorsal root ganglion) では Cckbr (Cholecystokinin B receptor) の遺伝子の上昇などが認められた。今後は、これらの因子の関連性を解明することで機構の解析の足がかりを得たい。

## 論文審査の結果の要旨

### 【背景】

四肢や脊椎など手術後の創部に長く続く痛みで ADL 低下をきたす症例は多い。臨床的には手術に伴う筋や関節およびその周囲組織の癒痕形成がみられ、同時にこれらの組織の血流障害が生じ、拘縮・痛みが生じている。そこで創傷治癒過程にある組織と痛みの神経系の関与についての研究を行なうためのモデルマウスを作成した。

### 【方法】

癒痕創の作成はマウス左後肢の踵部に 19G 針を用いて孔をあけ、そこから遠位方向にロッドを刺入し、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て行った。また、孔のみをあけ、剥離しなかったマウスを対照とした (Sham 群)。手術群の半分のマウスは、手術直後から 10 日間、毎日  $10 \mu\text{l}$  一匹で NTP (ノイトロトピン) を腹腔内注射により投与した (NTP 投与群)。それ以外のマウスには生理食塩水を注射した (手術群)。von Frey フィラメントによる足底刺激時の脚引っ込め反射の閾値低下が観察された。痛覚閾値の低い術後 1 週間目 2 週間目に、筋腱部組織と DRG を各々採取し TotalRNA を抽出してマイクロアレイを行った。マイクロアレイの結果を一部についてより定量的に遺伝子発現を測定、確認できる定量的 RT-PCR 法を行った。

### 【結果】

手術群では手術後 2 時間で低下した ( $P < 0.05$ )、その閾値低下は術後 4 週間目まで持続していた。NTP 投与群では、痛み閾値は低下した状態が手術後 2 時間から 4 週間の時点まで続いた。Sham 群でも閾値低下は術後 2 時間から生じ、3 週まで有意に低下した。

手術群の非手術側の足底の閾値低下は、術後 1 日目から出現し、4 週まで持続していた。NTP 投与群でも非手術側の足底の閾値低下は、術後 1 日目から出現し、4 週まで持続し

ていた。Sham 群でも閾値低下は術後 1 日目から出現し、2 週まで持続していた。マイクロアレイによる遺伝子発現変化の解析は 2 倍以上と半分以下減少遺伝子を選び出した。その一部にリアルタイム PCR の結果とマイクロアレイの結果一致した。

**【結論】**

マウスモデルを用いて癒痕化と疼痛発症の機構の解析を目指して、予備的な実験を行った。モデル動物の癒痕部では細胞外マトリックス関連の遺伝子の持続上昇、DRG (Dorsal root ganglion) では Cckbr (Cholecystokinin B receptor) の遺伝子の上昇などが認められた。今後は、これらの因子の関連性を解明することで機構の解析の足がかりを得たい。

本件学位申請者は、真摯に研究、実験に取り組み、これまでになかった新しいモデルを開発した。このことは、学位を授与するに十分値すると判断した。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | こばやし いくお<br>小林 郁生  |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 甲第453号   |
| 学位授与年月日 | 平成27年9月17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  | Penetration of piperacillin-tazobactam into human prostate tissue and dosing considerations for prostatitis based on site-specific pharmacokinetics and pharmacodynamics (Piperacillin/tazobactam の前立腺組織への移行性と部位特異的 PK-PD 解析に基づいた前立腺炎に対する投与法の検討) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 三 鴨 廣 繁<br>教授 岡 田 尚志郎<br>教授 米 田 政 志<br>教授 松 浦 克 彦  |

## 学位論文内容の要旨

### 【目的】

Piperacillin-tazobactam (PIPC-TAZ) は、広域抗菌スペクトラムを有するペニシリン系抗菌薬の PIPC と  $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤の TAZ を、力価比 8:1 で配合した注射用抗菌薬である。PIPC-TAZ は、肺炎、敗血症、膀胱炎における種々の細菌に対して優れた抗菌活性を示すため、前立腺炎の治療や前立腺における侵襲的処置に対する感染予防にも、その効果が期待されている。しかしながら、標的部位である前立腺組織への薬剤の移行性、および薬物動態-薬力学の詳細な検討は行われていない。本論文では、PIPC-TAZ の前立腺組織への移行及び、部位特異的 pharmacokinetics (PK) -pharmacodynamics (PD) 解析により前立腺炎に対する PIPC-TAZ の有効性を評価した。

### 【方法】

前立腺肥大症に対する経尿道的前立腺切除術施行前に術後感染症の予防目的で PIPC-TAZ 2.25g (24 名) または 4.5g (26 例) を 30 分間点滴静注した。血漿および前立腺組織を投与開始後 0.5-5 時間から複数点採取、 $-40^{\circ}\text{C}$  で保存し血漿中・前立腺組織中 PIPC-TAZ の薬物濃度測定を高速液体クロマトグラフィーで行った。血漿、前立腺組織内の PIPC-TAZ 濃度は 3-コンパートメントモデルを用いて解析した。薬物動態解析は Perl-speaks-NONMEM プログラムを用いて行った。PK-PD 評価の指標には PIPC-TAZ の抗菌効果と相関のある time above the minimum inhibitory concentration ( $T > \text{MIC}$ ) を用い、6 つ

の投与法の有効性について評価し、前立腺炎の原因となりうる菌の臨床分離株サーベイランスデータを用いて、抗菌作用をシミュレーションした。

### 【結果】

血漿中、前立腺組織中での Tmax は PIPC, TAZ 共に投与開始後 0.5 時間であり、前立腺組織において血漿と類似する濃度移行を示した。PIPC-TAZ の投与量によらず、前立腺組織と血漿における濃度比は、最高薬物濃度 (Cmax) と薬物濃度時間下面積 (AUC) において約 35 ~ 40 %であった。また血漿、前立腺組織共に投与量に依存して濃度の上昇が見られ、PIPC/TAZ 比は配合比と同様に約 8 : 1 であった。これまで前立腺組織内における PIPC/TAZ 比を詳細に検討した報告は少なく、本結果より、前立腺組織内においても PIPC-TAZ 配合比が維持されることが示された。また容量依存性に組織内濃度が上昇することが示され、投与量の増量による抗菌作用の上昇が得られる可能性が示唆された。シミュレーションより、静菌的作用として 30% T > MIC を目標とした場合、PIPC-TAZ 4.5g 1日2回、もしくは 2.25g 1日3回投与にて 90%の達成率が得られた。この結果から、PIPC-TAZ の同投与法は前立腺に対する経尿道的手術や生検術における感染予防的投与として有効であると考えられた。殺菌的作用として 50% T > MIC を目標とした場合、PIPC-TAZ 4.5g 1日3回、もしくは 2.25g 1日4回投与にて 90%の達成率が得られ、同投与法は前立腺炎に対する治療として有効であることが示された。しかし *Pseudomonas aeruginosa* に対しては、設定した投与法ではいずれも 90%の達成率は得られなかった。

### 【結論】

部位特異的 PK-PD 解析により、PIPC-TAZ の投与法の妥当性を評価した。PIPC-TAZ は前立腺外科的手技における感染予防、前立腺炎に対する治療において有用である。

## 論文審査結果の要旨

### 【目的】

Piperacillin-tazobactam (PIPC-TAZ) は、広域抗菌スペクトラムを有するペニシリン系抗菌薬の PIPC と  $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤の TAZ を、力価比 8 : 1 で配合した注射用抗菌薬である。PIPC-TAZ は、肺炎、敗血症、膀胱炎における種々の細菌に対して優れた抗菌活性を示すため、前立腺炎の治療や前立腺における侵襲的処置に対する感染予防にも、その効果が期待されている。しかしながら、標的部位である前立腺組織への薬剤の移行性、および薬物動態-薬力学の詳細な検討は行われていない。本論文では、PIPC-TAZ の前立腺組織への移行及び、部位特異的 pharmacokinetics (PK) -pharmacodynamics (PD) 解析により前立腺炎に対する PIPC-TAZ の有効性を評価した。

### 【方法】

前立腺肥大症に対する経尿道的前立腺切除術施行前に術後感染症の予防目的で PIPC-TAZ 2.25g (24 名) または 4.5g (26 例) を 30 分間点滴静注した。血漿および前立腺組織

を投与開始後 0.5-5 時間から複数点採取，-40℃で保存し血漿中・前立腺組織中 PIPC-TAZ の薬物濃度測定を高速液体クロマトグラフィーで行った。血漿，前立腺組織内の PIPC-TAZ 濃度は 3-コンパートメントモデルを用いて解析した。薬物動態解析は Perl-speaks-NONMEM プログラムを用いて行った。PK-PD 評価の指標には PIPC-TAZ の抗菌効果と相関のある time above the minimum inhibitory concentration (T>MIC) を用い，6 つの投与法の有効性について評価し，前立腺炎の原因となりうる菌の臨床分離株サーベイランスデータを用いて，抗菌作用をシミュレーションした。

### 【結果】

血漿中，前立腺組織中での Tmax は PIPC，TAZ 共に投与開始後 0.5 時間であり，前立腺組織において血漿と類似する濃度移行を示した。PIPC-TAZ の投与量によらず，前立腺組織と血漿における濃度比は，最高薬物濃度 (Cmax) と薬物濃度時間下面積 (AUC) において約 35 ~ 40 %であった。また血漿，前立腺組織共に投与量に依存して濃度の上昇が見られ，PIPC/TAZ 比は配合比と同様に約 8 : 1 であった。これまで前立腺組織内における PIPC/TAZ 比を詳細に検討した報告は少なく，本結果より，前立腺組織内においても PIPC-TAZ 配合比が維持されることが示された。また用量依存性に組織内濃度が上昇することが示され，投与量の増量による抗菌作用の上昇が得られる可能性が示唆された。シミュレーションより，静菌的作用として 30% T> MIC を目標とした場合，PIPC-TAZ 4.5g 1 日 2 回，もしくは 2.25g 1 日 3 回投与にて 90%の達成率が得られた。この結果から，PIPC-TAZ の同投与法は前立腺に対する経尿道的手術や生検術における感染予防的投与として有効であると考えられた。殺菌的作用として 50% T> MIC を目標とした場合，PIPC-TAZ 4.5g 1 日 3 回，もしくは 2.25g 1 日 4 回投与にて 90%の達成率が得られ，同投与法は前立腺炎に対する治療として有効であることが示された。しかし *Pseudomonas aeruginosa* に対しては，設定した投与法ではいずれも 90%の達成率は得られなかった。

### 【結論】

部位特異的 PK-PD 解析により，PIPC-TAZ の投与法の妥当性を評価した。PIPC-TAZ は前立腺外科的手技における感染予防，前立腺炎に対する治療において有用である。

本論文は Journal of Infection and Chemotherapy 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値する論文であると判断した。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | みずのしょうへい<br>水野昌平   |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 甲第454号   |
| 学位授与年月日 | 平成27年12月24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  | Overexpression of salivary-type amylase reduces the sensitivity to bortezomib in multiple myeloma cells (アミラーゼ産生性骨髄腫細胞はボルテゾミブに対する感受性が低下する) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 三嶋秀行<br>教授 佐藤元彦<br>教授 高村祥子<br>教授 米田政志  |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

アミラーゼ産生骨髄腫は、容易に薬剤抵抗性となり、急速に致死経過をたどる。本病態の解明はアミラーゼ産生骨髄腫のみならず、骨髄腫の薬剤耐性化機序の解明に貢献できる。そこで本研究では、ヒト骨髄腫アミラーゼ安定産出株を樹立し、その生物学的特性や薬剤感受性変化を *in vitro* および *in vivo* で検討した。

### 【方法】

レンチウイルスベクターを用いて唾液型アミラーゼ (AMY1) cDNA をヒト骨髄腫細胞株 RPMI-8226 に導入し、アミラーゼ安定産生株 (8226/AMY1) を樹立した。コントロール株には *lacZ* 遺伝子を導入したものをを用いた (8226/mock)。MTS アッセイや Annexin/PI 法を用いて、アミラーゼ過剰発現に伴う抗骨髄腫薬 (デキサメタゾン, ボルテゾミブ, レナリドマイド) に対する感受性変化を検討した。また cDNA マイクロアレイを用いて、アミラーゼ過剰発現に伴う遺伝子発現変化を検討した。さらに細胞をマウス皮下に移植し、*in vivo* における腫瘍増殖能変化や薬剤感受性変化の検討も行った。

### 【結果】

8226/AMY1 では mock と比較して、デキサメタゾン, ボルテゾミブ, レナリドマイドによる細胞増殖抑制能の低下, またボルテゾミブおよびレナリドマイド投与後のアポトーシス細胞の減少, さらに Akt のコアクチベーターである *TCL1A* の高発現を認めた。8226/AMY1 では、ボルテゾミブ投与による Akt リン酸化亢進を認め、Akt リン酸化阻害

剤併用によりボルテゾミブの抗腫瘍効果を増強した。8226/AMY1は、マウスモデルにおいても腫瘍増大速度亢進とボルテゾミブに対する感受性低下を認めた。

### 【考察】

8226/AMY1の薬剤感受性は低下しており、既報のアミラーゼ産生骨髄腫症例で示された薬剤抵抗性所見と一致していた。感受性低下は抗アポトーシスが関与していると考えられた。また遺伝子発現解析からはAktのコアクチベーターであるTCL1Aの高発現の関与が想定され、実際に8226/AMY1では、ボルテゾミブによるAktのリン酸化誘導の亢進とともに、Akt阻害剤併用によるボルテゾミブの作用増強が認められた。アミラーゼは唾液や唾液中に含まれるデンプンなどを単糖類に分解する消化酵素である。マウスモデルにおいて認められた8226/AMY1の著明な腫瘍増殖亢進やボルテゾミブによる腫瘍退縮率の低下は、分泌されたアミラーゼによる細胞環境変化の関与も想定された。

### 【結論】

8226/AMY1は*in vitro*においてデキサメタゾン、ボルテゾミブ、レナリドマイドに対する感受性低下を示し、*in vivo*においてもボルテゾミブに対する感受性低下を認めた。8226/AMY1における薬剤感受性低下はTCL1Aの発現亢進によるAktのリン酸化亢進を介していることが示唆された。本研究は、アミラーゼ産生骨髄腫の病態を解明する重要な手がかりとなるだけでなく、骨髄腫における薬剤耐性機序の克服に寄与できると考えられる。

## 論文審査結果の要旨

### 【背景】

アミラーゼ産生骨髄腫は、骨髄腫の約1%と稀であり本邦からの報告が多い疾患である。通常の骨髄腫と異なり、薬剤耐性をきたしやすく、急速に致死的経過をたどる。本病態の解明はアミラーゼ産生骨髄腫のみならず、骨髄腫の薬剤耐性化機序の解明への貢献が期待できる。本研究では、ヒト骨髄腫アミラーゼ安定産生株を樹立し、その生物学的特性と薬剤感受性変化を*in vitro*および*in vivo*で検討した。

### 【方法】

- 1) レンチウイルスベクターを用いて唾液型アミラーゼ (AMY1) cDNA をヒト骨髄腫細胞株 RPMI-8226 に導入し、アミラーゼ安定産生株 (8226/AMY1) を樹立した。コントロール株には *lacZ* 遺伝子を導入したものを用いた (8226/mock)。
- 2) アミラーゼ過剰発現に伴う抗骨髄腫薬 (デキサメタゾン, ボルテゾミブ, レナリドマイド) に対する感受性変化を, MTS アッセイと Annexin/PI 法を用いて検討した。
- 3) アミラーゼ過剰発現に伴う遺伝子発現変化を, cDNA マイクロアレイを用いて検討した。
- 4) 細胞をマウス皮下に移植し, 腫瘍増殖能と薬剤感受性の変化を検討した。

## 【結果】

- 1) アミラーゼ産生株ではコントロールと比較して、抗骨髄腫薬による細胞増殖抑制能の低下、ボルテゾミブおよびレナリドマイド投与後のアポトーシス細胞の減少、遺伝子発現解析から Akt のコアクチベーターである *TCL1A* の高発現を認めた。
- 2) アミラーゼ産生株では、ボルテゾミブ投与により Akt リン酸化亢進を認め、Akt リン酸化阻害剤 (Perifosine) によりボルテゾミブの抗腫瘍効果は増強した。
- 3) アミラーゼ産生株は、マウスモデルにおいてボルテゾミブ投与で腫瘍増大が早く、腫瘍退縮率も有意に低下した。

## 【考察】

アミラーゼ産生株 8226/AMY1 において薬剤感受性の低下は、抗アポトーシスと、Akt のコアクチベーターである *TCL1A* の高発現が関与していると考えられた。マウスモデルにおいて認められた 8226/AMY1 の効果は、分泌されたアミラーゼによる細胞環境変化の関与も想定された。Akt 阻害剤は、アミラーゼ産生骨髄腫や Akt 活性化耐性骨髄腫に対する治療薬となる可能性が示唆された。

## 【結論】

アミラーゼ安定産生株 (8226/AMY1) を樹立した。アミラーゼ産生株における薬剤感受性低下は、*TCL1A* の発現亢進による Akt のリン酸化亢進が介していることが示唆された。

本研究はアミラーゼ産生骨髄腫の病態を解明する重要な手がかりとなるだけでなく、骨髄腫における薬剤耐性機序の克服と新しい治療薬の開発に寄与すると考えらえる。

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      | 谷 浩也<br><small>たに ひろや</small>   |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与番号  | 甲第455号  |
| 学位授与年月日 | 平成28年1月14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  | Optimization of cluster analysis based on drug resistance profiles of MRSA isolates (MRSA分離株における薬剤感受性結果を用いたクラスター解析条件の最適化) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 渡邊 大輔<br>教授 小林 章雄<br>教授 米田 政志<br>教授 牛田 享宏   |

## 学位論文内容の要旨

### 【はじめに】

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（以下、MRSA）は、医療関連感染における最も主要な微生物である。また、MRSAは、易感染宿主等に対する感染やアウトブレイクの原因菌として問題となるだけでなく、近年では市中感染型MRSAが、市中感染症の起因菌として注目されるなど疫学解析の重要性が増している。

MRSAの疫学解析は、パルスフィールドゲル電気泳動法（以下、PFGE）がゴールドスタンダードだが、手技が煩雑で熟練を要することや迅速性に欠けること、更には特殊な機器が必要など欠点も多く一般的な検査室での実施は難しい。一方、薬剤感受性試験は、病院検査室において日常検査として実施され、検査結果が多様性に富んでいることから、疫学解析に有用と考えられるが、これを用いた報告は少ない。そこで今回我々は、薬剤感受性試験の結果をクラスター解析（以下、薬剤クラスター解析）し、この結果とPFGEとの類似性を評価することにより、疫学解析における薬剤クラスター解析の有用性を検討したので報告する。

### 【対象及び方法】

対象は、2010年11月19日～2011年12月27日までの間に当院の臨床検体から分離されたMRSA402株とした。方法は、これらの菌株に対してPFGEと薬剤クラスター解析を実施し、PFGEの結果と近いクラスター数が得られる切断距離およびその時のクラスター数ならびにPFGEとの一致率を検討した。さらに、対象からランダムに10株抽出した菌株をPFGEと最も一致率が高かった解析条件にてクラスター解析し、これを100回

繰り返すことによりその再現性を評価した。

### 【結果】

PFGEの結果は、Aタイプ～AAタイプの27パターン（サブタイプ：151種類）に分類された。これを基準として同等の分類能が得られる距離にて切断した薬剤クラスター解析では、MIC値をそのまま使用した方法（以下、MIC法）が対象薬剤数：15種類、クラスター解析方法：Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean（以下、UPGMA法）、切断距離：16でPFGEとの一致率：74.2%、CLSIの判定基準に従って感受性を0、中等度感受性を2、耐性を3と置換した方法（以下、SIR法）では、対象薬剤数：17種類、クラスター解析方法：UPMGA法、切断距離：3.6でPFGEとの一致率が75.9%と最も良好な結果であった。また、PFGEとの一致率は、Ward's法と比べUPGMA法が高い結果となり、UPGMA法では、使用薬剤の種類を増やすに従ってPFGEとの一致率が高くなる傾向を認めた。さらにPFGEと最も高い一致率を示した解析条件の再現性は、MIC法が平均値82.0%、標準偏差12.1%、最頻値90.0%、SIR法が平均値80.0%、標準偏差13.4%、最頻値90.0%と両方法とも良好な結果となり、2法間の再現性に優位差は認められなかった（ $p=0.3920$ ；Wilcoxon rank sum test）。

### 【結論】

今回の検討では、これまでの評価の定まっていなかったPFGEと薬剤クラスター解析の関連性について、初回に各施設の使用薬剤に合わせて切断距離を設定しなければならないもののクラスター解析方法にUPGMA法を用い使用薬剤の種類を増やすことでPFGEと高い類似性が得られることを明らかにした。また、最もPFGEとの一致率が良好であった条件の再現性がMIC法、SIR法ともに極めて良好であったことから、これらの特徴は本検討の母集団に限定したものではないことも確認した。

これらのことから、薬剤クラスター解析がMRSAにおける疫学解析の有用ツールになるものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

### 【はじめに】

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（以下、MRSA）は、医療関連感染における最も主要な微生物である。また、MRSAは、易感染宿主等に対する感染やアウトブレイクの原因菌として問題となるだけでなく、近年では市中感染型MRSAが、市中感染症の起原菌として注目されるなど疫学解析の重要性が増している。MRSAの疫学解析は、パルスフィールドゲル電気泳動法（以下、PFGE）がゴールドスタンダードだが、手技が煩雑で熟練を要することや迅速性に欠けること、さらには特殊な機器が必要など欠点も多く一般的な検査室での実施は難しい。一方、薬剤感受性試験は、病院検査室において日常検査として実施され、検査結果が多様性に富んでいることから、疫学解析に有用と考えられるが、これを

用いた報告は少ない。そこで今回我々は、薬剤感受性試験の結果をクラスター解析（以下、薬剤クラスター解析）し、この結果と PFGE との類似性を評価することにより、疫学解析における薬剤クラスター解析の有用性を検討した。

### 【対象及び方法】

対象は、2010年11月19日～2011年12月27日までの間に当院の臨床検体から分離された MRSA402 株とした。方法は、これらの菌株に対して PFGE と薬剤クラスター解析を実施し、PFGE 結果と近いクラスター数が得られる切断距離およびその時のクラスター数ならびに PFGE との一致率を検討した。さらに、対象からランダムに 10 株抽出した菌株を PFGE と最も一致率が高かった解析条件にてクラスター解析し、これを 100 回繰り返すことによりその再現性を評価した。

### 【結果】

PFGE の結果は、A タイプ～AA タイプの 27 パターン（サブタイプ：151 種類）に分類された。これを基準として同等の分類能が得られる距離にて切断した薬剤クラスター解析では、MIC 値をそのまま使用した方法（MIC 法）が対象薬剤数：15 種類、クラスター解析方法：Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean（以下、UPGMA 法）、切断距離：16 で PFGE との一致率：74.2%、CLSI の判定基準に従って感受性を 0、中等度感受性を 2、耐性を 3 と置換した方法（SIR 法）では、対象薬剤数：17 種類、クラスター解析方法：UPMGA 法、切断距離：3.6 で PFGE との一致率が 75.9% と最も良好な結果を得た。また、PFGE との一致率は、Ward's 法と比べ UPGMA 法が高い結果となり、UPGMA 法では、使用薬剤の種類を増やすに従って PFGE との一致率が高くなる傾向を認めた。さらに、PFGE と最も高い一致率を示した解析条件の再現性は、MIC 法が平均値 82.0%、標準偏差 12.1%、最頻値 90.0%、SIR 法が平均値 80.0%、標準偏差 13.4%、最頻値 90.0% と両方法とも良好な結果となり、2 法間に優位差は認められなかった（ $p=0.3920$ ; Wilcoxon rank sum test）。

### 【結論】

今回の検討では、これまで評価の定まっていなかった PFGE と薬剤クラスター解析の関連性について、初回に各施設の使用薬剤に合わせて切断距離を設定しなければならないもののクラスター解析方法に UPGMA 法を用い使用薬剤の種類を増やすことで PFGE と高い類似性が得られることを明らかにした。また、最も PFGE との一致率が良好であった条件の再現性が MIC 法、SIR 法とも極めて良好であったことから、これらの特徴は本検討の母集団に限定したものではないことも確認した。

本論文は、薬剤クラスター解析が MRSA の疫学解析に有用であることを示した。これは、薬剤感受性試験のさらなる重要性を見出し、迅速な対応が求められる院内感染対策に大きく寄与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断した。

|         |   |
|---------|---|
| 氏名      | いわさき けいた<br>岩崎 慶大   |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与番号  | 甲第456号  |
| 学位授与年月日 | 平成28年2月4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  | Role of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , carbonic anhydrase-IX, glucose transporter-1 and vascular endothelial growth factor associated with lymph node metastasis and recurrence in patients with locally advanced cervical cancer (子宮頸癌のリンパ節転移と再発における hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , carbonic anhydrase-IX, glucose transporter-1 および vascular endothelial growth factor の役割) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 高見 昭良<br>教授 岡田 尚志郎<br>教授 池田 洋<br>教授 住友 誠  |

## 学位論文内容の要旨

### 【目的】

固形がんの内部には低酸素、グルコース飢餓、低 pH といった特殊且つ劣悪な微小環境が存在する。その環境下において組織内の細胞は、低酸素誘導因子 (Hypoxia Inducible Factor : HIF) の活性化を介し環境への適応を図っているとされている。低酸素誘導因子の一つである Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) は腫瘍組織の低酸素状態において蓄積し、Carbonic anhydrase-IX (CA-IX), Glucose transporter-1 (GLUT-1), Vascular endothelial growth factor (VEGF) などを誘導する。これらは、pH 調整、嫌気性解糖、血管新生などを介して腫瘍の浸潤、転移を促進するとされており、子宮頸癌における予後因子と考えられている。また VEGF においては子宮頸癌での抗 VEGF 抗体である Bevacizumab による治療有用性が報告されており、Carbonic anhydrase IX (CA-IX) においても、切除した検体に発現していた MHC クラス I 抗原ペプチドを用いた腎細胞癌におけるペプチドワクチンによる免疫療法の有用性が報告されている。本研究は、子宮頸癌における HIF-1 $\alpha$ , CA-IX, GLUT-1, VEGF の組織内発現と、臨床病理学的特徴、リンパ節転移、治療後無病生存期間との関連を検討することにより、子宮頸癌において、HIF-1 $\alpha$ , CA-IX, GLUT-1, VEGF が新たな予後因子と成り得るか、CA-IX, VEGF が免

疫療法の標的抗原と成り得るかを明らかにすることを目的とした。

## 【方法】

同意を得た子宮頸癌（Ⅰ期：39例，Ⅱ期：15例）54例の広汎子宮全摘術において摘出した腫瘍組織を材料とした。HIF-1 $\alpha$ ，CA-IX，GLUT-1，VEGFの腫瘍内発現は，ポリマー法による免疫染色で染色し腫瘍細胞の50%以上が染色されたものを発現陽性とした。腫瘍組織内の血管密度はCD34で免疫染色を行い，400倍視野で10か所を鏡検し腫瘍内血管数を計測し，400倍1視野の平均値を用いた。脈管侵襲の有無は，CD34とD2-40での免疫染色で判定した。統計はFisher検定，ロジスティック回帰分析，Kaplan-Meier法を用いて行った。

## 【結果】

1. HIF-1 $\alpha$ は28/54（52%），CA-IXは35/54（65%），GLUT-1は40/54（74%），VEGFは23/54（43%）で免疫染色陽性であった。
2. HIF-1 $\alpha$ ，CA-IX，GLUT-1，VEGFそれぞれの腫瘍内発現とFIGO stage，組織型，腫瘍サイズ，リンパ節転移の有無，脈管侵襲の有無，血管密度との関連は，HIF-1 $\alpha$ 発現陽性率はFIGO stageⅠ期に対しⅡ期で，組織型が扁平上皮癌に対し腺癌で有意に高かった。CA-IXの発現陽性率はFIGO stageⅠ期に対しⅡ期で，腫瘍サイズが<4cmに対し $\geq$ 4cmで，リンパ節転移陰性に対し陽性で，脈管侵襲陰性に対し陽性で有意に高かった。GLUT-1の発現陽性率はFIGO stageⅠ期に対しⅡ期で，脈管侵襲陰性に対し陽性で有意に高かった。VEGFの発現陽性率は腫瘍内脈管密度 $\leq$ 5に対し>5で有意に高かった。
3. リンパ節転移の有無を独立変数としFIGO stage，組織型，腫瘍サイズ，リンパ節転移の有無，脈管侵襲の有無，血管密度，HIF-1 $\alpha$ ，CA-IX，GLUT-1，VEGFそれぞれの腫瘍内発現を共変数としたロジスティック回帰分析では，脈管侵襲の有無，CA-IXの発現陽性が有意なリンパ節転移のリスク因子であった。
4. 対象54例でのHIF-1 $\alpha$ ，CA-IX，GLUT-1，VEGFそれぞれの発現有無別無病生存率は，CA-IXとVEGFにおいて発現陰性群に比較し発現陽性群で有意に予後不良であった。
5. 術後補助治療（放射線治療，放射線化学同時併用療法）を施行した35例でのHIF-1 $\alpha$ ，CA-IX，GLUT-1，VEGFそれぞれの発現有無別無病生存率は，CA-IXでのみ発現陰性群に比較し発現陽性群で有意に予後不良であった。

## 【結論】

子宮頸癌においてCA-IXの腫瘍内発現は，リンパ節転移と再発の危険因子となりうる可能性が示唆された。また，腫瘍内CA-IX発現陽性例に対するCA-IXペプチドワクチン療法は有効な治療となり得る可能性が考えられる。

# 論文審査の結果の要旨

## 【背景と目的】

子宮頸癌は、国内外を問わず最も増加している悪性腫瘍の一つである。子宮頸癌のリンパ節転移や再発を予測するバイオマーカーを明らかにできれば、適切な治療介入が可能になるかもしれない。さらに、バイオマーカー自体が免疫療法の標的分子となる可能性も期待される。本研究は、固形がんが低酸素、ぶどう糖欠乏、低 pH 環境に適応する特徴に着目し、バイオマーカー候補に、hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), carbonic anhydrase-IX (CA-IX), glucose transporter-1 (GLUT-1), vascular endothelial growth factor (VEGF) を選んだ。子宮頸癌における HIF-1 $\alpha$ , CA-IX, GLUT-1, VEGF 各発現の有無と臨床病態、リンパ節転移、転帰との関連が検討された。

## 【対象と方法】

対象は、同意を得た子宮頸癌 54 例 (I 期 39 例, II 期 15 例)。解析には、広汎子宮全摘術で摘出された腫瘍組織が用いられた。HIF-1 $\alpha$ , CA-IX, GLUT-1, VEGF 陽性の定義は、免疫染色 (ポリマー法) 上腫瘍細胞の 50%以上が染まった場合とされた。腫瘍組織内血管密度は、CD34 免疫染色後 400 倍視野、10 か所鏡検の平均値が用いられた。脈管侵襲は、CD34 と D2-40 の免疫染色で判定された。統計解析には、Fisher 検定、ロジスティック回帰分析、Kaplan-Meier 法が用いられた。

## 【結果と考察】

HIF-1 $\alpha$ , CA-IX, GLUT-1, VEGF 各陽性率は 52%, 65%, 74%, 43%。HIF-1 $\alpha$  は病期、組織型に関連がみられた。CA-IX は病期、腫瘍径、リンパ節転移、脈管侵襲に関連がみられた。GLUT-1 は病期、脈管侵襲に関連がみられた。VEGF は腫瘍内脈管密度に関連がみられた。多変量解析において、脈管侵襲と CA-IX 陽性はリンパ節転移の有意な予測因子であった。CA-IX または VEGF 陽性患者の無進行生存率は有意に低かった。術後補助治療 (放射線治療, 放射線化学同時併用療法) を受けた 35 例の解析では、CA-IX 陽性と無進行生存率に関連がみられた。

本研究は、子宮頸癌の組織内 CA-IX 陽性はリンパ節転移と再発の予測因子であることを解き明かし、CA-IX が子宮頸癌の分子標的になる可能性をも示唆している。以上より、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      | あさ い あき こ<br>浅井晶子  |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 甲第457号   |
| 学位授与年月日 | 平成28年3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  | High-resolution 400K oligonucleotide array comparative genomic hybridization analysis of neurofibromatosis type 1-associated cutaneous neurofibromas (高密度400KオリゴアレイCGHを用いたNF1患者の皮膚線維腫のゲノム解析) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 渡邊大輔<br>教授 佐藤元彦<br>教授 池田洋<br>教授 高村祥子   |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

神経線維腫症1型(Neurofibromatosis type I, 以下NF1)は、乳児期より存在するカフェ・オ・レ斑と粟粒状ないし児頭大の神経線維腫を主症状とする常染色体優性遺伝の疾患である。NF1発症の主な要因は、17番染色体長腕(17q11.2)に位置するがん抑制遺伝子*NF1*の変異や欠失によるneurofibrominタンパク質の機能不全と考えられている。これまでに、*NF1*遺伝子以外に皮膚神経線維腫の形成・増殖・進展に関わる2次的なゲノム異常は特定されていない。本研究では、最新の高密度400Kオリゴアレイ Comparative genomic hybridization (以下aCGH)解析法を用いて、神経線維腫の新規ゲノム異常領域と腫瘍関連遺伝子の特定を試みた。

### 【方法】

NF1患者9人(男3人, 女6人)の皮膚神経線維腫と末梢血からゲノムDNAとRNAを採取し、aCGH解析を行った。ゲノム異常の検出基準を、①1個のプローブの欠失または増幅が5症例以上で認められたもの、②2~4個の連続したプローブの欠失または増幅が3症例以上で認められたもの、③5個以上の連続したプローブの欠失または増幅が1症例以上で認められたものとして抽出した。また、定量逆転写PCR法(以下qRT-PCR法)を用いて*RABGAP1L*, *ADCY1*, *SLIT2*, *GRLF1*, *UST*, *ARC*の遺伝子発現解析を行った。

### 【結果】

aCGH解析の結果、神経線維腫に特異的なゲノム異常として、1q13.2(*FAM19A3*),

1q21.1 (*RABGAP1L*), 2q37.1 (*INPP5D*), 3p25.1 (*CHCHD4*), 4p15.32 (*FGFBP1*), 5q11.2 (*ARL15*), 6q22.31 (*NKAIN2*), 6q22.33 (*ARHGAP18*), 6q25.1 (*UST*), 7q13 (*ADCY1*), 12q13.13 (*KRT71*), 19q13.32 (*GRLF1*), 20p11.21 (*NLP*) の欠損及び 2p23.3 (*C2orf53*), 8q22.3 (*ODF1*) 8q24.3 (*ARC*) の増幅を新たに見出した。また, qRT-PCR 法の結果, *UST* と *ARC* の遺伝子発現量の変化はゲノム異常と相関する傾向が認められた。

#### 【考察】

NF1 の微細なゲノム異常を解析し新たな腫瘍関連遺伝子を特定することは, 皮膚神経線維腫の発症や病態の分子基盤を理解する上で極めて重要と考えられる。本研究では, NF1 患者の神経線維腫からゲノム DNA を採取し最新の aCGH 解析を利用することによって, 新たなゲノム異常領域と関連遺伝子を見出した。特に, ゲノム異常領域に存在する *UST* と *ARC* は, NF1 関連皮膚神経線維腫の発現や進展に関与する可能性が高い。

## 論文審査の結果の要旨

#### 【背景】

神経線維腫症 1 型 (Neurofibromatosis type I, 以下 NF1) は, 乳児期より存在するカフェ・オ・レ斑と粟粒状ないし児頭大の神経線維腫を主症状とする常染色体優性遺伝の疾患である。NF1 発症の主な要因は, 17 番染色体長腕 (17q11.2) に位置するがん抑制遺伝子 *NF1* の変異や欠失による neurofibromin タンパク質の機能不全と考えられている。これまでに, *NF1* 遺伝子以外に皮膚神経線維腫の形成・増殖・進展に関わる 2 次的なゲノム異常は特定されていない。本研究では, 最新の高密度 400K オリゴアレイ Comparative genomic hybridization (以下 aCGH) 解析法を用いて, 神経線維腫の新規ゲノム異常領域と腫瘍関連遺伝子の特定を試みた。

#### 【方法】

NF1 患者 9 人 (男 3 人, 女 6 人) の皮膚神経線維腫と末梢血からゲノム DNA と RNA を採取し, aCGH 解析を行った。また, 定量逆転写 PCR 法 (以下 qRT-PCR 法) を用いて *RABGAP1L*, *ADCY1*, *SLIT2*, *GRLF1*, *UST*, *ARC* の遺伝子発現解析を行った。

#### 【結果】

aCGH 解析の結果, 神経線維腫のゲノム DNA において 13 箇所欠損領域と 3 箇所の増幅領域を新たに見出した。すべてのゲノム異常は, 神経線維腫のゲノム DNA のみに認められた。また, qRT-PCR 解析の結果, *UST* と *ARC* の遺伝子発現量の変化はゲノム異常と相関する傾向が認められた。

#### 【考察】

NF1 の微細なゲノム異常を解析し新たな腫瘍関連遺伝子を特定することは, 皮膚神経線維腫の発症や病態の分子基盤を理解する上で極めて重要と考えられる。本研究では, NF1 患者の神経線維腫からゲノム DNA を採取し最新の aCGH 解析を利用することによ

て、新たなゲノム異常領域と関連遺伝子を見出した。特に、ゲノム異常領域に存在する *UST* と *ARC* は、NF1 関連皮膚神経線維腫の発現や進展に関与する可能性が高い。

本研究は高密度 400K オリゴアレイ CGH を用いて神経線維腫症患者の新規ゲノム異常領域および関連遺伝子を見出したものである。今後症例を蓄積することで神経線維腫の発症、進展機序の解明につながる可能性もあり、学位を授与するにふさわしい研究と思われた。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | もり い ゆう こ<br>森 井 裕 子   |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 甲第458号   |
| 学位授与年月日 | 平成28年3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  | Young Coconut Juice Supplementation Results in Greater Bone Mass and Bone Formation Indices in Ovariectomized Rats : A Preliminary Study (ヤングココナツジュース摂取が閉経後骨粗鬆症モデルラットの骨代謝に及ぼす影響) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 出家正隆<br>教授 佐藤元彦<br>教授 小林孝彰<br>教授 高安正和  |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

ホルモン補充療法（HRT）は閉経後骨量減少，および骨折予防に関するエビデンスが豊富であり，これまで閉経後骨粗鬆症治療において第一選択とされてきた。しかし，2002年の Women's Health Initiative（WHI）報告以降，HRT のリスクベネフィットに関して議論が続いており，閉経後骨量減少を含めた，閉経に関連した疾患に対する，より安全で有効な治療法の確立が期待されている。このような背景から，食生活や運動といった生活習慣因子の改善が従来に増して見直されてきている。東南アジアでは，古来より，ヤングココナツジュース（YCJ）の摂取が閉経に関連する症状を軽減させると言われており，エストロゲン様の作用を有することが示唆されている。そこで，本研究では YCJ 摂取が閉経後骨粗鬆症モデルラットの骨代謝に及ぼす影響について調査し，閉経後骨量減少に対する代替療法としての可能性について検討した。

### 【方法】

10週齢の雌 Wistar ラットを4群（Baseline 群，Sham 群，Ovx 群，Ovx+YCJ 群）に分割した（n=10）。麻酔下に Baseline 群は屠殺，Sham 群は偽手術，Ovx 群，Ovx+YCJ 群は両側卵巣摘出術（Ovx）を施行した。Ovx+YCJ 群には胃ゾンデを用い，5倍に濃縮した YCJ を連日経口投与した（10mL/kg body weight）。Sham，Ovx，Ovx+YCJ の3群は6週間後に屠殺し，DXA 法により左大腿骨の骨密度を測定した。また，左脛骨近位端の非脱灰薄切標本を作成し，骨形態計測を行った。

## 【結果】

1. ラットの体重変化：卵巣摘出術（Ovx）によりラットの体重は有意に増加したが、骨組織摘出時には Sham, Ovx, Ovx+YCJ の3群間で有意差を認めなかった。
2. 子宮重量の変化：Ovxによりラットの子宮重量は有意に減少したが、YCJの投与により子宮重量に変化は認めなかった。
3. 骨量の変化：Ovxによりラットの左大腿骨の骨塩量（BMC）、骨密度（BMD）ともに有意に減少した。Ovx+YCJ群のBMC、BMDはSham群と比較し有意に低値ではあったが、Ovx群と比較し有意に高値であった。
4. 骨形態計測：Ovx群はSham群と比較し、骨量と骨梁数は有意に低値であり、類骨量と類骨面は有意に高値であった。また、Ovx群はSham群と比較し、骨石灰化速度と骨形成速度が有意に亢進しており、Ovxにより骨吸収、骨形成ともに亢進していることが示された。さらに、Ovx+YCJ群の骨石灰化速度はOvx群と比較し有意に高値であった。

## 【結論】

YCJは閉経後骨粗鬆症モデルラットにおいて、骨形成を促進させることにより、骨量減少を抑制することが示された。以上のことから、YCJは閉経後骨量減少を緩和する可能性が示唆された。

# 論文審査の結果の要旨

## 【背景】

ホルモン補充療法（HRT）は、閉経後骨量減少や骨折予防に関するエビデンスが豊富であり、これまで閉経後骨粗鬆症治療において第一選択とされてきた。しかし、2002年のWomen's Health Initiativeの報告以降、HRTのリスクベネフィットに関して議論が続いており、閉経に関連した疾患に対する、より安全で有効な治療法の確立が期待されている。このような背景から、食生活や運動といった生活習慣因子の改善が見直されてきている。古来より、東南アジアでは、ヤングココナツジュース（YCJ）摂取が閉経に関連する症状を軽減させるという民間療法が信じられており、エストロゲン様の作用を有することが示唆されている。本研究では、YCJ摂取が閉経後骨粗鬆症モデルラットの骨代謝に及ぼす影響について調査し、閉経後骨量減少に対するHRTの代替療法としての可能性について検討した。

## 【方法】

10週齢の雌Wistarラットを4群（Baseline群、Sham群、Ovx群、Ovx+YCJ群）に分割した（n=10）。麻酔下にBaseline群は屠殺、Sham群は偽手術、Ovx群、Ovx+YCJ群は両側卵巣摘出術を施行した。Ovx+YCJ群には胃ゾンデを用い、5倍に濃縮したYCJを連日経口投与した（10mL/kg b.w）。Sham群、Ovx群、Ovx+YCJ群の3群は6週後

に屠殺した。DXA 法により左大腿骨の骨密度を測定し、左脛骨近位端の非脱灰薄切標本を作成し、骨形態計測を行った。

### 【結果】

1. ラットの体重変化：成長に伴いすべての群で有意に増加したが、骨組織摘出時には Sham 群、Ovx 群、Ovx+YCJ 群の 3 群間で有意差を認めなかった。
2. 子宮重量の変化：Ovx によりラットの子宮重量は有意に減少したが、YCJ の投与により子宮重量に変化は認めなかった。
3. 骨量の変化：Ovx によりラットの左大腿骨の骨塩量 (BMC)、骨密度 (BMD) ともに有意に減少した。Ovx+YCJ 群の BMC、BMD は Sham 群と比較し有意に低値ではあったが、Ovx 群と比較し有意に高値であった。
4. 骨形態計測：Ovx 群は Sham 群と比較し、骨量と骨梁数は有意に低値であり、類骨量と類骨面は有意に高値であった。また、Ovx 群は Sham 群と比較し、骨石灰化速度と骨形成速度が有意に亢進しており、Ovx により骨吸収、骨形成ともに亢進していることが示された。さらに、Ovx+YCJ 群の骨石灰化速度は Oxv 群と比較し有意に高値であった。

### 【結論】

YCJ は閉経後骨粗鬆症モデルラットにおいて、骨形成を促進させることにより、骨量減少を抑制することが示された。以上のことから、YCJ は閉経後骨量減少を緩和する可能性が示唆され、閉経後骨粗鬆症に対する HRT の代替療法になる可能性が示唆された。

本研究は、ヤングココナツジュース摂取の効能について、古来より広く信頼されていた民間療法にエビデンスをもたらすのみならず、ホルモン補充療法の代替療法としての可能性をもたらすものであり、新しい治療薬の開発にも寄与するものと考えられる。

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      | おかにわのりこ<br>岡庭紀子   |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与番号  | 甲第459号  |
| 学位授与年月日 | 平成28年3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  | eNOS plays an important role in the regulation of colonic inflammation : a novel therapeutic target and predictive marker for the prognosis of ulcerative colitis (腸管炎症の制御における eNOS の重要性 : 潰瘍性大腸炎の治療予後ならびに新規治療標的) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 佐野 力<br>教授 佐賀 信介<br>教授 塩見 利明<br>教授 小林 孝彰  |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

炎症細胞が局所へ migration するためには血管壁の通過が必須であることから、血管内皮における接着因子は炎症メカニズムの Key molecule といえる。我々は、血管内皮細胞に発現し、nitric oxide (NO) の合成に関与する endothelial nitric oxide synthase (eNOS) が腸炎を抑制し、そのメカニズムに接着因子が関与している事を示すために、本研究を施行した。

### 【方法】

血管内皮細胞である SVEC 細胞を用いて、eNOS 遺伝子を導入し、接着因子(MAdCAM-1, VCAM-1, ICAM-1) の発現にどのように影響しているかについて *in vitro* で検討を行った。また実際に eNOS の遺伝子を導入したトランスジェニック (eNOS-Tg) マウスを用いて、腸炎が抑制されるかについて検討した。さらに、ヒトにおける eNOS 遺伝子多型と潰瘍性大腸炎 (UC) の患者の臨床像との関連につき検討した。

### 【結果】

eNOS の遺伝子を導入された SVEC 細胞は、炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor) TNF- $\alpha$  の刺激による接着因子の発現が抑制されることを確認した。また、eNOS の阻害剤である L-NIO を用いた検討においては、TNF- $\alpha$  による MAdCAM-1 の発現に影響しなかったが eNOS 強発現による MAdCAM-1 の抑制効果を

キャンセルした。腸炎を惹起した eNOS-Tg マウスにおける検討では、体重減少ならびに組織学的炎症が、wild マウスに比較して有意に抑制された。また死亡率も低かった。eNOS の遺伝子多型において、eNOS 活性が低いと報告されている 786 番目の T アレルが C アレルに変異している患者 (-786T>C) において、UC の病型、分類に関連はなかったが、難治症例 (PSL 抵抗例, PSL 依存例) が有意に多い結果となった。

#### 【結論】

動物実験と UC 患者の臨床像から、eNOS は接着因子の制御を介して腸炎を抑制する可能性が示唆された。また eNOS 遺伝子多型は UC のステロイド治療効果・治療予測因子として Key molecule になると考えられ、炎症性腸疾患の新規治療法の開発ターゲットとなり得ると思われる。

## 論文審査の結果の要旨

炎症性腸疾患 (IBD) の発症・増悪因子の一つに、接着因子を介した炎症細胞の局所への migration がある。この炎症メカニズムの Key molecule といえる接着因子と、血管内皮細胞に発現し、nitric oxide (NO) の合成に関与する endothelial nitric oxide synthase (eNOS) の腸炎制御のメカニズムについて検討するために、eNOS 遺伝子を導入した血管内皮細胞である SVEC 細胞と、接着因子 (MAdCAM-1, VCAM-1, ICAM-1) の発現を *in vitro* で検討を行った。また eNOS 遺伝子を導入したトランスジェニック (eNOS-Tg) マウスを用いて、腸炎が抑制されるかについて検討した。さらに、eNOS 遺伝子多型と潰瘍性大腸炎 (UC) の患者の臨床像との関連につき比較し、IBD の治療戦略の可能性を検討した。結果として、eNOS の遺伝子を導入された SVEC 細胞は、炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor) TNF- $\alpha$  の刺激により接着因子の発現が抑制されていることを確認した。また、eNOS の阻害剤である L-NIO を用いた検討においては、eNOS 強発現による MAdCAM-1 の抑制効果をキャンセルした。eNOS-Tg マウスに 3% dextran sulfate sodium (DSS) を投与し腸炎を惹起させたところ、体重減少ならびに組織学的炎症が wild マウスに比較して有意に抑制された。また死亡率も低かった。以上のことから、eNOS 強発現は接着因子の抑制効果を示し、実際の腸炎に対して抵抗性を有することが示された。ヒトにおける検討では、実際の 74 名の潰瘍性大腸炎 (UC) 患者の eNOS の活性を遺伝子多型の観点から検討した。eNOS の遺伝子多型は、786 番目の T アレルが C アレルに変異している場合に、eNOS 活性の低下があると報告されている。eNOS 活性の低い遺伝子多型をもつ患者 (-786T>C) において、UC の病型、分類に関連はなかったが、難治症例 (PSL 抵抗例, PSL 依存例) が有意に多い結果となった。以上の動物実験と UC 患者の臨床像から、eNOS 遺伝子多型は UC ステロイド治療効果・治療予測因子として Key molecule になると考えられ、IBD の新規治療法の開発ターゲットとなり得ると思われる。質疑応答は、血管内皮における eNOS の直接的な腸炎抑制のメ

カニズムについて、eNOS の実際の発現量の数値化について、また、どの程度スタチンを投与することで、腸炎を抑制することができるかについて質問が挙がった。eNOS は現段階では定量化することができず、また実際の臨床においても、応用ができていないのが現状である。ヒトにおいても、今後はさらに検討する UC 患者数を増やし、eNOS の遺伝子多型の臨床への応用を模索する必要があると考えられる。

以上の審議結果から、学位を授与するに相応しい重要な知見を含む、優れた臨床研究論文であることを確認した。

|         |   |
|---------|---|
| 氏名      | もり だい き<br>森 大 樹  |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与番号  | 甲第460号  |
| 学位授与年月日 | 平成28年3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  | <b>Poly I : C enhances production of nitric oxide in response to interferon- <math>\gamma</math> via upregulation of interferon regulatory factor 7 in vascular endothelial cells (poly I : C は血管内皮細胞におけるインターフェロン - <math>\gamma</math> 誘発一酸化窒素産生を interfeon regulatory factor 7 の増強を介して亢進する)</b> |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 高 見 昭 良<br>教授 池 田 洋<br>教授 石 橋 宏 之<br>教授 三 鴨 廣 繁   |

## 学位論文内容の要旨

### 【目的】

血管内皮細胞は、病原微生物の血管内侵入に対し自然免疫による生体防御反応を導く。ナチュラルキラー細胞から放出された $\gamma$ インターフェロン (IFN- $\gamma$ ) により刺激された血管内皮細胞は一酸化窒素 (NO) を産生し、病原微生物の排除を行う。IFN- $\gamma$  は血管内皮細胞に誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) の発現を導き、大量の NO を産生させる。poly I : C はウイルスの2重鎖 RNA と同じ構造をもち、toll-like receptor 3 (TLR3) を刺激し、各種細胞を活性化する。今回、poly I : C の存在が IFN- $\gamma$  刺激による血管内皮細胞の NO 産生に及ぼす作用を解析した。

### 【方法】

マウス血管内皮細胞 END-D 株を使用した。END-D 細胞は大動脈由来血管内皮細胞で、VCAM1, ICAM1 が陽性であり、E-selectin が陰性である。END-D 細胞を poly I:C (10  $\mu$ g/ml) で1時間前処置し、IFN- $\gamma$  (100ng/ml) で刺激した。NO 産生は Griess 法で測定した。免疫ブロット法、FACS 解析、real time PCR は常法より行った。

### 【結果】

1.poly I : C は濃度依存的に NO 産生を増強した。2.poly I : C は iNOS タンパクの発現を増強した。3.poly I:C は IFN- $\gamma$  受容体の発現、IFN- $\gamma$  シグナルには影響を及ぼさなかった。4.poly I : C は IRF7 の活性化を増強した。5.TANK-binding kinase 1 (TBK1) 阻害

剤 amlexanox は poly I : C による IRF7 の活性化増強を抑制した。また, poly I : C による NO 産生増強も抑制した。5.poly I : C はタイプ I IFN の産生を誘導しなかった。

#### 【考察】

poly I : C それ自身は血管内皮細胞に NO 産生を導かず, IFN-  $\gamma$  誘発 NO 産出を増強するのみである。poly I : C は TLR3 を刺激し, TBK1 を介し IRF7 の活性化を増強し, IFN-  $\gamma$  シグナル経路に影響を及ぼすことなく iNOS タンパクの発現, NO 産生を亢進する。多くの TLR リガンドが IFN-  $\gamma$  シグナルに影響を及ぼすことと対照的である。

poly I : C はウイルス核酸の 2 重鎖 RNA と同様な構造を持つことから, 活性化 T 細胞から放出された IFN-  $\gamma$  により血管内皮細胞が NO を産生する際, ウイルス核酸の存在が血管内皮細胞の NO 産生をさらに増強することが示唆される。この現象は, 病原体の存在が血管内皮細胞の自然免疫をより増強するという合目的な生体防御反応と考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

#### 【背景と目的】

ナチュラルキラー細胞は,  $\gamma$  インターフェロン (IFN-  $\gamma$ ) を放出し, 細胞を活性化させる。血管内皮細胞は, そのような IFN-  $\gamma$  刺激により一酸化窒素 (NO) を産生し, 病原微生物を攻撃し生体防御反応を導く。Poly I : C は, ウイルス 2 重鎖 RNA と同じ構造を持ち, toll-like receptor3 (TLR3) の刺激を通じ, 様々な細胞を活性化する。ただし, 血管内皮細胞への影響は不明であった。今回, poly I : C が, IFN-  $\gamma$  刺激による血管内皮細胞の NO 産生に及ぼす作用を検討した。

#### 【方法】

マウス大動脈由来血管内皮細胞 END-D 株を用いて, IFN-  $\gamma$  刺激による NO 産生に及ぼす TLR3 リガンド poly I : C の作用を解析した。

#### 【結果と考察】

Poly I : C それ自身は, 血管内皮細胞に NO 産生を導かず, IFN-  $\gamma$  誘発 NO 産生を増強するのみであった。poly I : C は TLR3 を刺激し, TANK-binding kinase 1 (TBK1) を介し interferon-regulatory factor (IRF) 7 の活性化を増強し, IFN-  $\gamma$  シグナル経路に影響を及ぼすことなく iNOS タンパクの発現, NO 産生を亢進した。以上の結果から, poly I : C は IRF7 の活性化を増強し, IFN-  $\gamma$  による血管内皮細胞の NO 産出を高めることがわかった。

poly I : C はウイルス核酸の 2 重鎖 RNA と同様な構造を持つことから, 活性化 T 細胞から放出された IFN-  $\gamma$  により血管内皮細胞が NO を産生する際, ウイルス核酸の存在が血管内皮細胞の NO 産生を増強することが示唆される。これは, poly I : C を利用して, ウイルス核酸への暴露が血管内皮細胞の自然免疫を増強するという合目的な生体防御反応と考えられる。以上の研究結果は, ウイルス血症における血管内皮細胞の新たな自然免疫

応答を解き明かすものである。以上から、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      | たち 館 まさ ひこ 昌彦  |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 甲第461号   |
| 学位授与年月日 | 平成28年3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  | Mass spectrometric determination of prostanoids in rat hypothalamic paraventricular nucleus microdialysates (質量分析法によるラット視床下部室傍核透析液中プロスタノイドの定量) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 佐藤元彦<br>教授 妹尾洋<br>教授 米田政志<br>教授 道勇学  |

## 学位論文内容の要旨

アラキドン酸代謝物のプロスタノイドは、ほぼ全ての臓器において種々の刺激によって遊離し、脂質メディエーターとして作用する生理活性物質である。脳内における内因性プロスタノイドは、自律神経系、視床下部下垂体副腎皮質系、行動、記憶および学習などのさまざまな生理機能の調節に重要な役割を果たしていると考えられているが、脳神経核における微小透析液中の多種類の微量プロスタノイドを同時に定量できる有用な実験系は少ない。著者らは、脳微小透析法と liquid chromatography ion trap mass spectrometry (LC-ITMS<sup>n</sup>) を組み合わせ、微小透析液中の4種のプロスタノイド (Thromboxane B<sub>2</sub> [TxB<sub>2</sub>] : TxA<sub>2</sub> の安定代謝物, Prostaglandin E<sub>2</sub> [PGE<sub>2</sub>], PGD<sub>2</sub>, 15-deoxy-  $\Delta$ <sup>12,14</sup>-PGJ<sub>2</sub>) を一斉に分析する方法を構築した。さらに、この分析法をラット視床下部室傍核の微小透析液に適用し、その有用性を検討した。

まず、プロスタノイドの標準品を用いて LC-ITMS<sup>n</sup> における分析条件の最適化を行った。目的のプロスタノイド由来のプレカーサーイオンと、さらにそのイオンから得られる特徴的なプロダクトイオンのみを選択的にモニタリングすることによって、TxB<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, 15-deoxy-  $\Delta$ <sup>12,14</sup>-PGJ<sub>2</sub> を良好に分離、検出できる条件を決定した。次に、本法のバリデーションを実施し、定量法の妥当性について検証した。いずれのプロスタノイドにおいても、相対標準偏差は日内、日間変動ともに15%未満であり、再現性は良好であった。そこで、本分析法をラット視床下部室傍核の微小透析液に適用した。20分毎に採取した微小透析液中 (40  $\mu$ L) のプロスタノイドを、酢酸エチルで抽出し、減圧乾固した後、メ

タノール / 水 / ギ酸 (25 : 75 : 0.1) に再溶解し, LC-ITMS<sup>n</sup> 注入用サンプルとした。定量には安定同位体内部標準法を用いた。得られた微小透析液中の内因性プロスタノイドの動態は, 著者らがこれまでに遮断薬を用いて薬理的に検討した実験成績に合致した。

本研究で構築した脳微小透析法を組み合わせた LC-ITMS<sup>n</sup> 法は, 脳機能調節に関与するプロスタノイドの役割の解明に大きく貢献するものと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

アラキドン酸代謝物のプロスタノイドは, ほぼ全ての臓器において種々の刺激によって遊離し, 脂質メディエーターとして作用する生理活性物質である。脳内における内因性プロスタノイドは, 自律神経系, 視床下部下垂体副腎皮質系, 行動, 記憶および学習などのさまざまな生理機能の調節に重要な役割を果たしていると考えられているが, 脳神経核における微小透析液中の多種類の微量プロスタノイドを同時に定量できる有用な実験系は少ない。申請者は, 脳微小透析法と liquid chromatography ion trap mass spectrometry (LC-ITMS<sup>n</sup>) を組み合わせ, 微小透析液中の4種のプロスタノイド (Thromboxane B<sub>2</sub> [TxB<sub>2</sub>] : TxA<sub>2</sub> の安定代謝物, Prostaglandin E<sub>2</sub> [PGE<sub>2</sub>], PGD<sub>2</sub>, 15-deoxy- Δ<sup>12,14</sup>-PGJ<sub>2</sub>) を同時に分析する方法を構築した。さらに, この分析法をラット視床下部室傍核の微小透析液に適用し, その有用性を検討した。

プロスタノイド測定の最適化は標準品を LC-ITMS<sup>n</sup> で分析することにより行った。目的のプロスタノイド由来のプレカーサーイオンと, さらにそのイオンから得られる特徴的なプロダクトイオンのみを選択的にモニタリングすることによって, TxB<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, 15-deoxy- Δ<sup>12,14</sup>-PGJ<sub>2</sub> を良好に分離, 検出できる条件を決定した。定量法の妥当性について検証したが, いずれのプロスタノイドにおいても, 相対標準偏差は日内, 日間変動ともに 15%未満であり, 再現性は良好であった。そこで, 本分析法をラット視床下部室傍核の微小透析液に適用した。20分毎に採取した微小透析液中 (40 μL) のプロスタノイドを, 酢酸エチルで抽出し, 減圧乾固した後, メタノール / 水 / ギ酸 (25 : 75 : 0.1) に再溶解し, LC-ITMS<sup>n</sup> 注入用サンプルとした。定量には安定同位体内部標準法を用いた。得られた微小透析液中の内因性プロスタノイド濃度は, 申請者が所属する研究室で得られた過去の結果と一致した。

申請者が新たに構築した測定法は, 限られた試料から4種のプロスタノイドを同時に分析するという有用性が高いものである。さらに, 本測定法を用いて測定した脳組織透析液に含まれるプロスタノイド濃度は, 過去の測定結果と相違なく, 測定法の妥当性を示した。申請者の測定法は自律神経・脳機能におけるプロスタノイドの役割の理解に大きく貢献するものと期待される。これらの一連の研究内容は学位を授与するのに十分値すると判断した。

|         |   |
|---------|---|
| 氏名      | みず たに もと のり<br>水 谷 元 紀  |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与番号  | 甲第462号  |
| 学位授与年月日 | 平成28年3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  | Comparable outcomes between autologous and allogeneic transplant for adult acute myeloid leukemia in first complete remission (成人第一寛解期急性骨髄性白血病における自家移植と同種移植の予後比較について) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 三 嶋 秀 行<br>教授 池 田 洋<br>教授 高 村 祥 子<br>教授 渡 邊 大 輔   |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

急性骨髄性白血病の第一寛解期 (AML-CR1) において、自家末梢血幹細胞移植 (自家移植) と HLA 一致同胞ドナーからの同種移植を比較した論文は海外のものも含め少なく、全国での移植をまとめた検討もされていなかったため、本研究を企画した。

### 【方法】

対象は16歳以上の成人で、1995年から2011年の自家移植 (Auto, 375例)、HTL一致同胞ドナーからの骨髄移植 (Allo-BM, 521例)、もしくは末梢血幹細胞移植 (Allo-PB, 380例) が行われた合計1276例の三群比較とした。

主要評価項目は無再発生存 (LFS) とし、副次評価項目は全生存 (OS)、再発率 (Rel)、移植関連死亡率 (TRM) とした。

評価方法は、後方視的統計解析で、生存期間の解析ではログランク検定、累積発生率の解析ではグレイ検定を用いた。患者背景で個々の因子における影響を可能な限り最小限にする目的で、多変量解析以外に傾向スコア法でも評価した。

### 【結果】

5年LFSはAuto群で60% (95%信頼区間 [CI], 54-65%; reference), Allo-BM群で59% (95% CI, 54-63%;  $P=0.759$ ), Allo-PB群で51% (95% CI, 46-57%;  $P=0.145$ ) と、三群間で有意差は認めなかった。また、OSでも同様に有意差を認めなかった。

一方で5年Relでは、33% (95% CI, 28-38%; reference), 26% (95% CI, 22-30% ;

$P=0.079$ ), 28% (95% CI, 24-33%;  $P=0.226$ ), 5年 TRM では, 8% (95% CI, 5-11%; reference), 15% (95% CI, 12-18%;  $P=0.016$ ), 21% (95% CI, 16-25%;  $P<0.001$ ) の結果であった。

また Auto 群と Allo-BM 群, Allo-PB 群それぞれにおいて, 多変量解析と傾向スコア法で二群比較したが, LFS や OS において, Auto 群は両比較ともに有意差は見られなかった。

一方で, Rel の多変量解析において, Auto 群は, Allo-BM 群, Allo-PB 群とも二群比較で有意にハザード比 (HR) が高く, 逆に TRM の多変量解析では両比較ともに有意に低かった。

#### **【考察】**

Auto では有意に Rel が高かったのに対し, 有意に TRM が低かったため, Allo-BM や Allo-PB との差が相殺されたことが大きく関与していると考えられた。

#### **【結論】**

HLA 一致ドナーが得られなかった場合において, Auto は AML-CR1 での代替ドナーとなりえる可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

#### **【背景】**

成人急性骨髄性白血病第一寛解期 (AML-CR1) に対する標準的後治療は, 現時点で HLA 一致同胞間同種造血幹細胞移植とされている。同種造血幹細胞移植は高い根治性を有するが, 移植関連死亡率の高さが懸念される。しかも, 少子高齢化に伴い, HLA 一致同胞ドナーを有する患者は全体の 10% に過ぎない。一方, 自家造血幹細胞移植 (自家移植) は, 移植関連死亡の可能性が低く, 利便性も高いが再発率が比較的高いことから, 標準治療ではなく, オプションとして位置付けている。自家移植と HLA 一致同胞間移植を比較した報告は少なく, 自家移植の臨床的有用性を検討する目的で, 本研究を計画した。

#### **【方法】**

日本造血細胞移植学会の移植登録一元管理プログラム (TRUMP) の全国データを用い, 後方視的解析を行った。対象は, 1995 年から 2011 年の間に自家または HLA 一致同胞間移植を受けた 16 歳以上の成人 AML-CR1 患者である。自家移植 (Auto, 375 例), HLA 一致同胞間骨髓移植 (Allo-BM, 521 例), HLA 一致同胞間末梢血幹細胞移植 (Allo-PB, 380 例) の合計 1276 例の 3 群を比較検討した。主要評価項目は無再発生存 (LFS), 副次評価項目は全生存 (OS), 再発率 (Rel), 移植関連死亡率 (TRM) とした。生存はログランク検定, 累積発生率はグレイ検定を用い, 患者背景の影響を最小限にするため, 多変量解析と傾向スコア (Inverse probability of treatment weighting method; IPTW 法) を用いて評価した。

## 【結果】

5年LFSは、Auto群、Allo-BM群、Allo-PB群で、それぞれ60%、59%、51%であり、3群間に有意差はなかった。5年OSは、それぞれ65%、62%、55%で、Auto群が有意に劣ることはなかった。5年Relは、それぞれ33%、26%、28%、5年TRMは、それぞれ8%、15%、21%であった。多変量解析と傾向スコア法でAuto群 vs. Allo-BM群、Auto群 vs. Allo-PB群のLFSとOSを比較したところAuto群が有意に劣ることはなかった。Auto群 vs. Allo-BM群、Auto群 vs. Allo-PB群の多変量解析（それぞれ後者がreference）において、RelのHazard ratio（HR）は順に1.64、1.92とAuto群で有意に高かったが、TRMのHRは順に0.54、0.36とAuto群で有意に低かった。Auto群 vs. Allo-BM群のサブグループ解析では、初診時Performance Status（PS）2-4は、Auto群でHRの有意な低下が見られ（HR, 0.63）、診断時の白血球数2万以上は、Auto群でHRの有意な上昇が見られた（HR, 1.40）。Auto群 vs. Allo-PB群のサブグループ解析では、診断時の白血球数が2万以下（HR, 0.66）とミエロペルオキシダーゼ染色陽性芽球数の割合が50%超（HR, 0.66）で、Auto群でHRの有意な低下がみられた。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | やま はら みのり<br>山 原 年   |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 甲第 463 号   |
| 学位授与年月日 | 平成 28 年 3 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  | <i>Callicarpa longissima</i> extract, carnosol-rich potently inhibits melanogenesis in B16F10 melanoma cells (カルノソール高含有タカクマムラサキエキスは B16F10 メラノーマ細胞のメラニン産生を強力に阻害する) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 渡 邊 大 輔<br>教授 佐 藤 元 彦<br>教授 高 村 祥 子<br>教授 武 内 恒 成  |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景と目的】

色素沈着は美容分野の重要課題であり、その抑制目的で外用剤としてビタミン C 誘導体やハイドロキノン等が用いられるが、十分満足の結果は得られていない。そこで我々はより安全かつ効果の高い新たなメラニン産生抑制成分を見出すことを目的に、タカクマムラサキエキスをスクリーニングし、機能解析を行った。

### 【方法】

スクリーニングはフォルスコリン（メラニン産生誘導剤）と植物エキスで処理した B16F10 メラノーマ細胞を目視評価して行った。機能解析はメラニン定量、チロシナーゼ活性測定、ウエスタンブロッティング、RT-PCR、レポーターアッセイにて行った。活性成分の同定はエキスを精製した後、LC-MS、<sup>13</sup>C-NMR にて行った。有用性は同エキスと活性成分標品の各濃度におけるメラニン産生抑制効果をメラニン定量、細胞毒性を MTT アッセイにて評価した。

### 【結果】

タカクマムラサキエキスはフォルスコリンが誘導するチロシナーゼ活性の亢進とメラニン産生量の増加を濃度依存的に抑制した。チロシナーゼの転写因子 MITF とチロシナーゼの発現量が濃度依存的に低下すること、ウエスタンブロットのタイムコース実験においては、対照群で観察される 120 分、180 分における顕著な MITF 発現増加が同エキス処理群では認められなかった。RT-PCR では MITF とチロシナーゼの転写亢進度合の低下、

レポーターアッセイではチロシナーゼプロモーター活性の亢進度合の濃度依存的低下が見られ、これらは MITF の強制発現により回復することを確認した。

活性成分はカルノソールであると同定し(エキスにカルノシン酸が含まれることも確認。カルノソールはカルノシン酸の自動酸化物)、タカクマムラサキエキスはカルノソール、カルノシン酸標品に比べ低濃度でメラニン産生を抑制し、かつ、標品が細胞毒性を発現する濃度で細胞毒性が無いことが分かった。

#### 【考察】

カルノソール、カルノシン酸にはメラニン産生抑制作用のあることが報告されている。これらの細胞内標的として MITF の発現制御に関わる p300 (CBP/p300), keap-1, Nrf2, p38 経路,  $\beta$ -カテニン, NF- $\kappa$ B, TRPA1, AMPK が特定されており, MITF 遺伝子の発現が複数のカスケードの制御で抑制されることを示唆している。また, カルノソール, カルノシン酸標品に比べ, 低濃度でメラニン産生を抑制し, 高濃度でも細胞毒性が見られないのは, エキスに含まれる他の成分との相乗効果によるものと考えられる。

#### 【結論】

本研究はタカクマムラサキエキスが化粧品産業で使われる美白剤として魅力的な材料であることを示した。今後は同エキスのメラニン産生抑制機構の詳細な解明が求められる。

## 論文審査の結果の要旨

#### 【背景と目的】

色素沈着は美容分野の重要課題であり、その抑制目的で外用剤としてビタミン C 誘導体やハイドロキノン等が用いられるが、十分満足のいく結果は得られていない。そこで我々はより安全かつ効果の高い新たなメラニン産生抑制成分を見出すことを目的に、タカクマムラサキエキスをスクリーニングし、機能解析を行った。

#### 【方法】

スクリーニングはフォルスコリン (メラニン産生誘導剤) と植物エキスで処理した B16F10 メラノーマ細胞を目視評価して行った。機能解析はメラニン定量, チロシナーゼ活性測定, ウエスタンブロットティング, RT-PCR, レポーターアッセイにて行った。活性成分の同定はエキスを精製した後, LC-MS,  $^{13}\text{C}$ -NMR にて行った。有用性は同エキスと活性成分標品の各濃度におけるメラニン産生抑制効果をメラニン定量, 細胞毒性を MTT アッセイにて評価した。

#### 【結果】

タカクマムラサキエキスはフォルスコリンが誘導するチロシナーゼ活性の亢進とメラニン産生量の増加を濃度依存的に抑制した。チロシナーゼの転写因子 MITF とチロシナーゼの発現量が濃度依存的に低下すること, ウエスタンブロットのタイムコース実験においては, 対照群で観察される 120 分, 180 分における顕著な MITF 発現増加が同エキス処

理群では認められなかった。RT-PCR では MITF とチロシナーゼの転写亢進度合の低下、レポーターアッセイではチロシナーゼプロモーター活性の亢進度合の濃度依存的低下が見られ、これらは MITF の強制発現により回復することを確認した。

活性成分はカルノソールであると同定し(エキスにカルノシン酸が含まれることも確認。カルノソールはカルノシン酸の自動酸化物)、タカクマムラサキエキスはカルノソール、カルノシン酸標品に比べ低濃度でメラニン産生を抑制し、かつ、標品が細胞毒性を発現する濃度で細胞毒性が無いことが分かった。

#### **【考察】**

カルノソール、カルノシン酸にはメラニン産生抑制作用のあることが報告されている。これらの細胞内標的として MITF の発現制御に関わる p300 (CBP/p300), keap-1, Nrf2, p38 経路,  $\beta$ -カテニン, NF- $\kappa$ B, TRPA1, AMPK が特定されており, MITF 遺伝子の発現が複数のカスケードの制御で抑制されることを示唆している。また, カルノソール, カルノシン酸標品に比べ, 低濃度でメラニン産生を抑制し, 高濃度でも細胞毒性が見られないのは, エキスに含まれる他の成分との相乗効果によるものと考えられる。

本研究はタカクマムラサキエキスが化粧品産業で使われる美白剤として魅力的な材料であることを示した。今後の製品化に向けての可能性も期待され, 学位授与に値するものと判断した。

|         |   |
|---------|---|
| 氏名      | やま もと よし ひろ<br>山本 泰大  |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与番号  | 甲第464号  |
| 学位授与年月日 | 平成28年3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  | <b>Nephroprotective Effects of Hydration with Magnesium in Patients with Cervical Cancer Receiving Cisplatin (子宮頸がん患者に対するマグネシウムを含んだハイドレーションのシスプラチン腎障害予防効果の検討)</b> |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 春日井 邦夫<br>教授 高見 昭良<br>教授 佐野 力<br>教授 梅田 広海   |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

子宮頸がん術後（放射線併用）化学療法において、シスプラチン単剤（40mg/m<sup>2</sup>，1週間隔）（以下，CDDP単剤）が広く使用されている。シスプラチンの代表的な副作用に腎障害があり，マグネシウムを添加したハイドレーションにより腎障害が予防できることが報告されている。しかし，現在までシスプラチン腎障害の予防効果に関するマグネシウムの適切な用量は明らかではなく，さらに，CDDP単剤におけるマグネシウムの効果を検証した報告はない。そのためCDDP単剤を施行する患者に対して，15mEqのマグネシウムを抗がん剤投与前のハイドレーションに添加することでシスプラチンの腎障害予防効果がみられるかを検証した。

### 【方法】

対象は愛知医科大学病院（以下，当院）で入院化学療法としてCDDP単剤を施行した患者とし，マグネシウム投与群（以下，Mg群）（14名）と非投与群（non-Mg群）（14名）でシスプラチンによる腎障害について違いがみられるか調査（historical prospective cohort study）を行った。腎障害の評価は血清クレアチニン（以下，Scr），eGFRを用いた。Mg群のみ抗がん剤コースごとに血清マグネシウム値を測定した。

### 【結果】

2群間で患者背景に有意な差はみられなかった。non-Mg群においてはシスプラチン投与によりScrは0.58から0.75mg/dlに増加，eGFRは85.1から66.5ml/minに減少とシス

プラチン投与前後で有意な変化がみられたが、Mg群では有意な変動はみられなかった。Mg群における血清マグネシウム値は5コース目まで有意な減少はみられず、6コース目にのみ有意な減少がみられた。低マグネシウム血症患者は1名であったが、腎障害の発現は確認できなかった。

#### 【考察】

シスプラチンを投与した40%以上の患者に低マグネシウム血症を引き起こすことが報告されている。低マグネシウム血症時に近位尿細管に存在するシスプラチンを細胞内に取り組む輸送体（OCT2）が過剰発現し、シスプラチンによる腎障害が起りやすくなることが報告されている。本研究では15mEqのマグネシウム投与により低マグネシウム血症の発現が抑えられ、シスプラチンの腎障害が起り難かったものと考ええる。

#### 【結論】

CDDP単剤を施行する子宮頸がん患者に対して15mEqのマグネシウムを含んだハイドレーションを施行することはシスプラチンの腎障害を予防することがわかった。

## 論文審査の結果の要旨

#### 【背景】

子宮頸がん術後（放射線併用）化学療法において、シスプラチン単剤（40mg/m<sup>2</sup>、1週間隔）（以下、CDDP単剤）が広く使用されている。シスプラチンの代表的な副作用に腎障害があり、マグネシウムを添加したハイドレーションにより腎障害が予防できることが報告されている。しかし、現在までシスプラチン腎障害の予防効果に関するマグネシウムの適切な用量は明らかではなく、さらに、CDDP単剤におけるマグネシウムの効果を検証した報告はない。そのためCDDP単剤を施行する患者に対して、15mEqのマグネシウムを抗がん剤投与前のハイドレーションに添加することでシスプラチンの腎障害予防効果がみられるかを検証した。

#### 【方法】

対象は愛知医科大学病院（以下、当院）で入院化学療法としてCDDP単剤を施行した患者とし、マグネシウム投与群（以下、Mg群）（14名）と非投与群（non-Mg群）（14名）でシスプラチンによる腎障害について違いがみられるか調査（historical prospective cohort study）を行った。腎障害の評価は血清クレアチニン（以下、Scr）、eGFRを用いた。Mg群のみ抗がん剤コースごとに血清マグネシウム値を測定した。

#### 【結果】

2群間で患者背景に有意な差はみられなかった。non-Mg群においてはシスプラチン投与によりScrは0.58から0.75mg/dlに増加、eGFRは85.1から66.5ml/minに減少とシスプラチン投与前後で有意な変化がみられたが、Mg群では有意な変動はみられなかった。Mg群における血清マグネシウム値は5コース目まで有意な減少はみられず、6コース目

にのみ有意な減少がみられた。低マグネシウム血症患者は1名であったが、腎障害の発現は確認できなかった。

#### **【考察】**

シスプラチンを投与した40%以上の患者に低マグネシウム血症を引き起こすことが報告されている。低マグネシウム血症時に近位尿細管に存在するシスプラチンを細胞内に取り組む輸送体（OCT2）が過剰発現し、シスプラチンによる腎障害が起りやすくなることが報告されている。本研究では15mEqのマグネシウム投与により低マグネシウム血症の発現が抑えられ、シスプラチンの腎障害が起り難かったものとする。

#### **【結論】**

CDDP単剤を施行する子宮頸がん患者に対して15mEqのマグネシウムを含んだハイドレーションを施行することでシスプラチンの腎障害を予防することが可能であった。

本研究はシスプラチンによる腎障害予防にマグネシウム投与が有効であることを証明した。この成果は、有意義で広く臨床応用可能であり、学位を授与するにふさわしい論文であると判断した。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | 梶川圭史   |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 甲第465号   |
| 学位授与年月日 | 平成28年3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  | Optimal method for measuring tumor extent in needle biopsy specimens to identify small-volume prostate cancer (微小な前立腺癌を識別する為の、前立腺針生検における腫瘍量の至適評価法) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 佐賀 信介<br>教授 高見 昭良<br>教授 渡邊 大輔<br>教授 佐野 力   |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

近年、PSA スクリーニングによる前立腺癌の診断が、過剰診断、過剰治療につながると懸念されている。過剰治療の回避方法として、active surveillanceがある。国際的なガイドラインでは、前立腺生検における生検コア腫瘍量が active surveillance の一つの指標になっているものの、その適応は様々であり未だ検討が十分に行なわれていない。そこで今回、経直腸前立腺針生検における生検コア腫瘍量と、前立腺全摘標本の腫瘍量を比較し、臨床上有意ではないとされる腫瘍体積の小さな前立腺癌 (insignificant cancer) の識別における生検コア腫瘍量の有用性を検討した。

### 【方法】

当院において経直腸前立腺針生検 (12ヶ所) および前立腺全摘除術を施行した100例を対象とした。生検で採取された組織1本1本を顕微鏡で確認し、腫瘍部位をマークし、採取組織長とコア腫瘍長を個別に計測した。そこから生検腫瘍量のパラメーターとされる陽性コア本数 (PCN)、最大腫瘍占拠率 (GPC)、最大コア腫瘍長 (GLC)、合計コア腫瘍長 (TLC) を算出した。また、前立腺全摘標本も腫瘍部位のマーキングを行い、その病理スライドをスキャンし、コンピューターで3次元構築を行うことで、最大腫瘍体積と合計腫瘍体積を算出した。その結果を元に、insignificant cancer を識別するために有用な生検腫瘍量のパラメーターを統計学的に解析し検証した。今回、臨床上有用でないとされる微小な前立腺癌として、最大腫瘍体積 <0.5 ml、合計腫瘍体積 <0.5 ml のもの、さらに

は近年報告されている最大腫瘍体積 <1.3 ml や合計腫瘍体積 <2.5 ml といった新たな定義においても検証した。

### 【結果】

平均生検コア長, PCN, GPC, GLC, TLC は, それぞれ 13.3 mm, 3.39 本, 36%, 4.86 mm, 11.8 mm であった。また, 平均の最大腫瘍体積と合計腫瘍体積は, それぞれ 1.01 ml, 1.25 ml であった。生検腫瘍量のパラメーターの中で, 腫瘍体積の小さな前立腺癌を識別するのに有用なものを ROC 分析で検証したところ, TLC の AUC が新旧どの定義においても各種生検腫瘍量パラメーターの中で最も高い AUC を示した。また, 単変量, 多変量解析においても, TLC が有用な因子であることが示唆された。

### 【考察】

微小な前立腺癌を識別するにあたり, 経直腸針生検における TLC が, PSAD やその他の生検腫瘍量パラメーターと比較して最も有用である可能性を示した。さらに本研究では, 小さな前立腺癌として新旧の定義で検証したところ, どの定義においても TLC が有用であるという結果であった。また, そのカットオフ値も 5-7 mm と, 経会陰針生検における諸家の報告と近似していた。さらに, 近年の定義に照らし合わせると, TLC のカットオフ値は 20 mm まで引き上げられることも示唆された。ただし, active surveillance の適応は, 生検コア腫瘍量以外にも PSA, 臨床病期, Gleason score さらに年齢などといった患者それぞれに合わせて適応を考慮する必要がある。本研究は生検コア腫瘍量と全摘腫瘍量の直接比較検討を行なったものであるが, その他のパラメーターとの組み合わせも検証し, active surveillance の適応含め今後さらなる検討が必要である。

### 【結論】

生検における腫瘍量のパラメーターの中では, 合計コア腫瘍長が小さな腫瘍体積の前立腺癌を識別するために最も有用なパラメーターである可能性を示した。

## 論文審査の結果の要旨

近年, 前立腺特異抗原 (以下, PSA) による前立腺癌のスクリーニングが普及し, 前立腺癌の早期発見ができるようになった一方で, 過剰診断や過剰治療につながると懸念されている。過剰治療の回避方法として, 前立腺癌の超低リスク群において active surveillance (以下, AS) と呼ばれる PSA の監視療法が推奨されている。国際的なガイドラインでは, 前立腺生検における生検コア腫瘍量が AS の一つの指標になっているものの, その適応は様々であり未だ検討が十分に行われていない。そこで今回, 経直腸前立腺針生検における生検コア腫瘍量と, 前立腺全摘標本の腫瘍量を比較し, 臨床上有意でないと思われる腫瘍体積の小さな前立腺癌 (以下, insignificant cancer) の識別における生検コア腫瘍量の有用性を検討した。

愛知医科大学病院において経直腸前立腺針生検 (12 ヶ所) および前立腺全摘除術を施

行した 100 例を対象とした。生検で採取された組織から採取組織長とコア腫瘍長を個別に計測し、生検腫瘍量のパラメーターとされる陽性コア本数 (PCN)、最大腫瘍占拠率 (GPC)、最大コア腫瘍長 (GLC)、合計コア腫瘍長 (TLC) を算出した。また、前立腺全適の標本においても腫瘍部位をそれぞれマークし、コンピュータで三次元構築を行うことで、個別に最大腫瘍体積、合計腫瘍体積を算出した。以上の結果から、insignificant cancer を識別するために有用な生検腫瘍量のパラメーターを統計学的に解析し検証した。今回、insignificant cancer として、従来から用いられてきた定義に加えて、近年報告されている新たな定義においても検証を行った。

生検腫瘍量のパラメーターの中で、insignificant cancer を識別するのに有用なものを ROC 分析で検証したところ、TLC が各種生検腫瘍量パラメーターの中で最も高い AUC を示した。この結果は、新旧どちらの定義においても同様の結果であった。さらに、単変量、多変量解析においても、TLC が有用な因子であることが示された。

以上の結果から、insignificant cancer を識別するにあたり、経直腸針生検における TLC が、PSA density やその他の生検腫瘍量パラメーターと比較して最も有用である可能性が示唆された。また、TLC のカットオフ値に関しても検証を行ったところ、カットオフ値は 5-7mm であり、経会陰針生検におけるシミュレーションを行った諸家の報告と近似するものであった。さらに、近年の insignificant cancer の定義に照らし合わせると、TLC のカットオフ値は 20mm まで引き上げられる可能性も示唆されたが、AS の適応は、生検コア腫瘍量以外にも PSA、臨床病期や Gleason score、さらには年齢などといった患者それぞれに合わせて適応と考慮する必要がある。

本論文は、生検コア腫瘍量と全適標本における腫瘍量の比較検討を個別解析することで、生検腫瘍量パラメーターの中でも TLC が、insignificant cancer を識別するために最も有用なパラメーターである可能性を示したものであり、臨床における AS の適応の一つの指標として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断した。

|         |   |
|---------|---|
| 氏名      | にいしょうた<br>二井章太  |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与番号  | 甲第466号  |
| 学位授与年月日 | 平成28年3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  | Hepatic effects of estrogen on plasma distribution of small dense low-density lipoprotein and free radical production in postmenopausal women (閉経後女性へのエストロゲン投与による肝臓刺激が small dense LDL 血中分布と活性酸素産生に与える影響) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 天野哲也<br>教授 奥村彰久<br>教授 渡邊大輔<br>教授 石橋宏之   |

## 学位論文内容の要旨

### 【緒言】

ホルモン補充療法 (HRT) は抗動脈硬化作用を有し、心血管疾患 (CVD) 予防に有用と考えられる。一方、我々は HRT で使用される経口結合型エストロゲン (CEE) が中性脂肪 (TG) の上昇から LDL 粒子径を縮小し、被酸化性の高い粒子へ変化させることを報告してきた。また、エストロゲンは抗酸化作用を有するが、経口避妊薬が血清銅の増加から活性酸素 (FR) を増加させるとの報告がある。一方、最近の研究ではエストロゲンの種類、投与経路の違いが CVD リスクに対して異なる影響を有することも報告されている。今回、被酸化性が強く CVD リスクとして注目されている Small dense LDL (Sd-LDL) や酸化ストレスに注目し、経口 CEE、経口および経皮  $17\beta E2$  がそれらに与える影響およびその機序について検討した。

### 【方法】

同意を得た閉経後女性 45 名を対象とし、経口 CEE0.625mg/日を投与する CEE 群 (15 名)、経口  $17\beta E2$  1mg/日を投与する経口 E2 群 (15 名)、経皮  $17\beta E2$  0.72mg/隔日を投与する経皮 E2 群 (15 名) とした。3ヶ月間治療を行い、1) エストロゲン投与によって肝臓で産生され、その肝臓刺激強度の指標となる性ホルモン結合グロブリン (SHBG) 2) LDL, HDL, TG, Sd-LDL, Sd-LDL の血中分布の指標である Sd-LDL/LDL 比 3) FR の指標である d-ROM (Diacron reactive oxygen metabolites)、抗酸化力の指標であ

る BAP (Biological antioxidant potential), Cu, Cu の輸送蛋白である Ceruloplasmin (CP) を測定し検討を行った。

### 【結果】

- 1) SHBG は 3 群で有意に上昇した。治療前後の変化である  $\Delta$  SHBG は経口 E2 群, 経皮 E2 群と比較して CEE 群で有意に高かった。
- 2) CEE 群で LDL は有意に低下し, HDL, TG は有意に上昇した。経口 E2 群で HDL は有意に上昇し, 経皮 E2 群で TG は有意に低下した。Sd-LDL は 3 群で変化なく, Sd-LDL/LDL 比は CEE 群で有意に上昇したが, 経口 E2 群, 経皮 E2 群で変化を認めなかった。(CEE 群 :  $0.27 \pm 0.07$  to  $0.31 \pm 0.05$ , 経口 E2 群 :  $0.26 \pm 0.06$  to  $0.29 \pm 0.07$ ), 経皮 E2 群 :  $0.27 \pm 0.12$  to  $0.26 \pm 0.10$ )。治療前後の変化である  $\Delta$  TG と  $\Delta$  SHBG の間には有意の正の相関を認め ( $R=0.52$ ,  $P=0.0002$ ),  $\Delta$  TG と  $\Delta$  Sd-LDL/LDL 比の間にも有意の正の相関 ( $R=0.71$ ,  $P<0.0001$ ) を認めた。
- 3) d-ROM は CEE 群で有意に上昇し, 経口 E2 群で変化なく, 経皮 E2 群で有意に低下した (CEE 群 :  $342 \pm 43$  to  $502 \pm 122$ , 経口 E2 群 :  $373 \pm 80$  to  $399 \pm 92$ , 経皮 E2 群 :  $361 \pm 74$  to  $308 \pm 53$  U.CARR)。BAP は 3 群で変化を認めなかった。CP, Cu は CEE 群で有意に増加し, 経口, 経皮 E2 群で変化を認めなかった。治療前後の変化である  $\Delta$  Cu と  $\Delta$  SHBG の間には有意な正の相関を認め ( $R=0.85$ ,  $P<0.0001$ ),  $\Delta$  Cu と  $\Delta$  d-ROM の間に有意の正の相関 ( $R=0.91$ ,  $P<0.0001$ ) を認めた。

### 【結論】

CEE は肝臓刺激作用が強いことから Sd-LDL 血中分布と FR 産生を増加させるという動脈硬化促進的な面を有することが示された。一方, 経口および経皮  $17\beta$ E2 では CEE と比較して肝臓刺激作用が弱く, これらの悪影響を認めなかった。以上より, HRT における CVD リスクへの影響には, エストロゲン製剤の肝臓刺激強度の差異が関係している可能性が考えられ, 抗動脈硬化の観点から, 閉経後女性へ HRT を施行する際には経口および経皮  $17\beta$ E2 がよりよいエストロゲン製剤である可能性が考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

### 【緒言】

ホルモン補充療法 (HRT) は抗動脈硬化作用を有し, 心血管疾患 (CVD) 予防に有用と考えられる。一方, HRT で使用される経口結合型エストロゲン (CEE) が中性脂肪 (TG) の上昇から LDL 粒子径を縮小し, 被酸化性の高い粒子へ変化させ, 活性酸素 (FR) を増加させるとの報告がある。一方, 最近の研究ではエストロゲンの種類, 投与経路の違いが CVD リスクに対して異なる影響を有することも報告されている。今回, 被酸化性が強く CVD リスクとして注目されている Small dense LDL (Sd-LDL) や酸化ストレスに注目し, 経口 CEE, 経口および経皮  $17\beta$ E2 がそれらに与える影響およびその機序について検討し

た。

### 【方法】

同意を得た閉経後女性 45 名を対象とし、経口 CEE0.625mg/日を投与する CEE 群 (15 名)、経口  $17\beta\text{E}2$  1mg/日を投与する経口 E2 群 (15 名)、経皮  $17\beta\text{E}2$  0.72mg/隔日を投与する経皮 E2 群 (15 名)とした。3ヶ月間治療を行い、1) エストロゲン投与によって肝臓で産生され、その肝臓刺激強度の指標となる性ホルモン結合グロブリン (SHBG) 2) Sd-LDL/LDL 比 3) FR の指標である d-ROM (Diacron reactive oxygen metabolites) 等を測定し検討を行った。

### 【結果】

- 1) SHBG は 3 群で有意に上昇した。治療前後の変化である  $\Delta$  SHBG は経口 E2 群、経皮 E2 群と比較して CEE 群で有意に高かった。
- 2) CEE 群で LDL は有意に低下し、HDL、TG は有意に上昇した。経口 E2 群で HDL は有意に上昇し、経皮 E2 群で TG は有意に低下した。Sd-LDL は 3 群で変化なく、Sd-LDL/LDL 比は CEE 群で有意に上昇したが、経口 E2 群、経皮 E2 群で変化を認めなかった。
- 3) d-ROM は CEE 群で有意に上昇し、経口 E2 群で変化なく、経皮 E2 群で有意に低下した。

### 【結論】

CEE は肝臓刺激作用が強いことから Sd-LDL 血中分布と FR 産生を増加させるという動脈硬化促進的な面を有することが示された。一方、経口および経皮  $17\beta\text{E}2$  では CEE と比較して肝臓刺激作用が弱く、これらの悪影響を認めなかった。以上より、HRT における CVD リスクへの影響には、エストロゲン製剤の肝臓刺激強度の差異が関係している可能性が考えられ、抗動脈硬化の観点から、閉経後女性へ HRT を施行する際には経口および経皮  $17\beta\text{E}2$  がよりよいエストロゲン製剤である可能性が考えられた。

本研究は、ホルモン補充療法におけるホルモンの種類、投与経路による動脈硬化に対する影響の差異に関してそのメカニズムに迫り、実臨床におけるホルモン補充療法の適応決定に関して示唆に富む内容であり、学位を授与するにふさわしい論文であると判定した。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | 野田久嗣 <sup>の だ ひさ つぐ</sup>  |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 甲第467号   |
| 学位授与年月日 | 平成28年3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  | Risk factors for bleeding evaluated using the Forrest classification in Japanese patients after endoscopic submucosal dissection for early gastric neoplasm (フォレスト分類による胃腫瘍に対する内視鏡的粘膜下層剥離術後出血のリスク因子の検討) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 石口恒男<br>教授 池田洋<br>教授 前川正人<br>教授 住友誠  |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD, endoscopic submucosal dissection) は、胃腫瘍に対する標準的な治療法として普及し、その有用性と安全性は確立している。しかし、ESD 後潰瘍からの出血は依然重篤な偶発症であり、セカンドルック内視鏡 (SLE, second-look endoscopy; ESD 治療翌日に上部消化管内視鏡で ESD 後潰瘍を観察し、必要があれば内視鏡的止血術を施行すること) は、ESD 後潰瘍からの遅発性出血を予防すると考えられている。今回我々は、SLE における Forrest 分類に基づいた ESD 後潰瘍に対する評価と適切な内視鏡的止血術の有用性について検討した。

### 【対象・方法】

愛知医科大学病院において2006年1月から2013年12月までに胃上皮性腫瘍に対し ESD を施行した250症例(男性188名, 女性62名), 265病変(腺腫50病変, 早期癌215病変)を対象とし, SLE 施行時 Forrest 分類に基づいて評価した ESD 後潰瘍と患者背景ならびに腫瘍背景との関連を検討した。また, SLE 施行時の Forrest 分類による ESD 後潰瘍と SLE 後出血との関係を検討した。

### 【結果】

全例 ESD 翌日に SLE を予定していたが, 2例(0.8%)は経鼻胃管チューブから血液排出が確認され, 緊急内視鏡を施行されたため, 今回の検討から除外した。この2例を除

いた 248 例 (99.2%) は、予定通り翌日に SLE を施行し、ESD 後潰瘍を Forrest 分類により評価し、Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa と診断された病変に対し内視鏡的止血術を施行した。SLE において、Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa と診断され止血術が施行された病変は、IIb あるいは III と診断された病変に比べ有意に SLE 後の潰瘍出血が多かった ( $P<0.05$ )。また、Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa は SLE 後の ESD 潰瘍出血の危険因子であった (オッズ比: 3.45; 95%信頼区間: 1.04-11.41;  $P=0.042$ )。透析患者においては、Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa が、IIb あるいは III より有意に多かった ( $P<0.05$ )。透析は、SLE 後の ESD 潰瘍出血に関する危険因子であった (オッズ比: 10.05; 95%信頼区間: 1.97-51.26;  $P=0.006$ )。

### 【考察】

SLE は、出血性胃十二指腸潰瘍の内視鏡的止血術後の再出血予防に有用であるとの報告があるため、ESD 後に SLE を施行することが一般的であるが、近年、ESD 後 SLE の有用性を否定する報告もある。本研究では、SLE を施行した ESD 後潰瘍の出血の頻度は 5.2% であり、既報と同等であった。SLE において Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa と診断された病変は、IIb あるいは III と診断された病変より有意に SLE 後の潰瘍出血が多く、この結果は、出血性胃十二指腸潰瘍の内視鏡的止血術後再出血に関する既報と類似していた。ESD 後潰瘍出血の危険因子に関する報告はさまざまであるが、今回の我々の研究では、透析患者において SLE 施行時 Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa が IIb あるいは III と比べ有意に多く、透析が SLE 後 ESD 潰瘍出血の危険因子であった。

### 【結論】

透析は SLE 後においても ESD 後潰瘍出血の危険因子であった。また、SLE を施行し ESD 後潰瘍の露出血管を Forrest 分類に基づき厳密かつ適切に診断することが、ESD 後潰瘍からの遅発性出血の予防の一助になるものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD, endoscopic submucosal dissection) は、胃腫瘍に対する標準的な治療法として普及し、その有用性と安全性は確立している。しかし、ESD 後潰瘍からの出血は依然重篤な偶発症であり、セカンドルック内視鏡 (SLE, second-look endoscopy; ESD 治療翌日に上部消化管内視鏡で ESD 後潰瘍を観察し、必要があれば内視鏡的止血術を施行すること) は、ESD 後潰瘍からの遅発性出血を予防すると考えられている。今回我々は、SLE における Forrest 分類に基づいた ESD 後潰瘍に対する評価と適切な内視鏡的止血術の有用性について検討した。

愛知医科大学病院において 2006 年 1 月から 2013 年 12 月までに胃上皮性腫瘍に対し ESD を施行した 250 症例 (男性 188 名, 女性 62 名), 265 病変 (腺腫 50 病変, 早期癌 215 病変) を対象とし、SLE 施行時 Forrest 分類に基づいて評価した ESD 後潰瘍と患

者背景ならびに腫瘍背景との関連を検討した。また、SLE 施行時の Forrest 分類による ESD 後潰瘍と SLE 後出血との関係を検討した。

全例 ESD 翌日に SLE を予定していたが、2 例 (0.8%) は経鼻胃管チューブから血液排出が確認され、緊急内視鏡を施行されたため、今回の検討から除外した。この 2 例を除いた 248 例 (99.2%) は、予定通り翌日に SLE を施行し、ESD 後潰瘍を Forrest 分類により評価し、Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa と診断された病変に対し内視鏡的止血術を施行した。SLE において、Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa と診断され止血術が施行された病変は、IIb あるいは III と診断された病変に比べ有意に SLE 後の潰瘍出血が多かった ( $P<0.05$ )。また、Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa は SLE 後の ESD 潰瘍出血の危険因子であった (オッズ比: 3.45; 95%信頼区間: 1.04-11.41;  $P=0.042$ )。透析患者においては、Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa が、IIb あるいは III より有意に多かった ( $P<0.05$ )。透析は、SLE 後の ESD 潰瘍出血に関する危険因子であった (オッズ比: 10.05; 95%信頼区間: 1.97-51.26;  $P=0.006$ )。

SLE は、出血性胃十二指腸潰瘍の内視鏡的止血術後の再出血予防に有用であるとの報告があるため、ESD 後に SLE を施行することが一般的であるが、近年、ESD 後 SLE の有用性を否定する報告もある。本研究では、SLE を施行した ESD 後潰瘍の出血の頻度は 5.2% であり、既報と同等であった。SLE において Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa と診断された病変は、IIb あるいは III と診断された病変より有意に SLE 後の潰瘍出血が多く、この結果は、出血性胃十二指腸潰瘍の内視鏡的止血術後再出血に関する既報と類似していた。ESD 後潰瘍出血の危険因子に関する報告はさまざまであるが、今回の我々の研究では、透析患者において SLE 施行時 Forrest 分類 Ia, Ib あるいは IIa が IIb あるいは III と比べ有意に多く、透析が SLE 後 ESD 潰瘍出血の危険因子であった。

透析は SLE 後においても ESD 後潰瘍出血の危険因子であった。また、SLE を施行し ESD 後潰瘍の露出血管を Forrest 分類に基づき厳密かつ適切に診断することが、ESD 後潰瘍からの遅発性出血の予防の一助になるものと考えられた。

本論文は、胃腫瘍に対する低侵襲性治療法として普及している ESD の偶発症である、ESD 後潰瘍出血の予測因子を明らかにし、臨床に有益な知見をもたらしており、学位を授与するに値すると判定した。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | しお いら たつ まさ<br>塩 入 達 政   |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 甲第468号   |
| 学位授与年月日 | 平成28年3月17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  | Sequence determination of synthesized chondroitin sulfate dodecasacchareides (合成コンドロイチン硫酸十二糖の配列決定) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 細川好孝<br>教授 高村祥子<br>教授 武内恒成<br>教授 米田政志  |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

コンドロイチン硫酸 (CS) は、グルクロン酸と *N*-アセチルガラクトサミンの二糖の繰り返しから成る平均分子量数万の直鎖多糖体で、その基本骨格に硫酸基が複雑に修飾する事によって多様な構造を有している。CS は多くの動物組織の細胞外マトリックスや細胞膜表面など生体内に広く分布しており、組織の形態形成や維持・発生・分化・再生、あるいは癌や感染などの疾患に重要な役割を担っている。これらの生理機能は糖鎖の配列構造に依存していると考えられておりその CS 活性ドメイン構造を決定する事は CS の生理機能の解明にきわめて重要な課題である。しかし従来の構造解析手法は、分解酵素などで完全分解した後、二糖組成分析をする程度であり、詳細な構造解析としては十分とは言えない。そこで我々は酵素合成十二糖を調製して、その CS 糖鎖の配列決定方法を開発した。

### 【方法】

まずコンドロイチン六糖に対し、糖鎖伸長酵素である K4CP 変異体酵素を反応させコンドロイチン十二糖を合成した。そこへ各種硫酸基転移酵素を作用させ、A 構造を含む CSA 十二糖、C 構造を含む CSC 十二糖、A、C 構造を同時に含む CSAC 十二糖、A、E を同時に含む CSAE 十二糖、C、D 構造を同時に含む CSCD 十二糖を合成した。合成 CS 十二糖の還元末端を PA 基で蛍光標識した後、加水分解酵素ヒアルロニダーゼで限定分解を行い、二糖ずつ鎖長が短くなった PA 化飽和 CS オリゴ糖を分取した。得られた四糖から十二糖の PA 化 CS を脱離分解酵素コンドロイチナーゼ ACII で完全に分解することで、それぞれの CS オリゴ糖の非還元末端のみは飽和二糖として、それ以外は不飽和二糖に分

解された。これらの分解物を AB 基で蛍光標識し、二糖分析用 HPLC システムで飽和・不飽和二糖 AB 標識体を分離・同定した。飽和二糖成分はそれぞれの限定分解 CS オリゴ糖の非還元末端であり、それぞれの CS オリゴ糖の飽和二糖と還元末端二糖を同定する事で順次糖鎖配列が決定できた。

#### 【結果】

硫酸化が進むにつれて、CSA は糖鎖の中央から硫酸化され、CSC は非還元末端から硫酸化される配列があった。A, C 混合糖鎖は中央が A, 非還元末端が C である配列が同定された。CSAE では中央に 4 つ並んだ A 単位のうち非還元末端側が E 構造となる配列が同定され、CSCD では非還元末端側 C4 単位にランダムに D に変化した配列が得られた。

#### 【結論】

本研究により様々な生理機能を発揮する CS の活性構造を決定することができる。また硫酸基転移酵素の糖鎖への修飾順序を明らかにし、糖鎖の合成機構の解明にも役立つ、さらに同定した CS 活性構造から生理機能を利用した医療品開発が期待される。

## 論文審査の結果の要旨

#### 【背景】

コンドロイチン硫酸 (CS) は、グルクロン酸と *N*-アセチルガラクトサミンの二糖の繰り返しから成る平均分子量数万の直鎖多糖体で、その基本骨格に硫酸基が複雑に修飾する事によって多様な構造を有している。CS は多くの動物組織の細胞外マトリックスや細胞膜表面など生体内に広く分布し、組織の形態形成や維持・発生・分化・再生、あるいは癌や感染などの疾患に重要な役割を担っており、CS 活性ドメイン構造を決定する事は CS の生理機能の解明に極めて重要な課題である。しかし、従来の構造解析手法は、詳細な構造解析としては十分とは言えない。そこで我々は酵素合成十二糖を調整して、その CS 糖鎖の配列決定方法を開発した。

#### 【方法】

コンドロイチン六糖に対し、糖鎖伸長酵素である K4CP 変異体酵素を反応させコンドロイチン十二糖を合成した。そこへ各種硫酸基転移酵素を作用させ、A 構造を含む CSA 十二糖、C 構造を含む CSC 十二糖、A, C 構造を同時に含む CSAC 十二糖、A, E を同時に含む CSAE 十二糖、C, D 構造を同時に含む CSCD 十二糖を合成した。合成 CS 十二糖の還元末端を PA 基で蛍光標識した後、加水分解酵素ヒアルロニダーゼで限定分解を行い、二糖ずつ鎖長が短くなった PA 化飽和 CS オリゴ糖を分取した。得られた四糖から十二糖の PA 化 CS を脱離分解酵素コンドロイチナーゼ ACII で完全に分解することで、それぞれの CS オリゴ糖の非還元末端のみは飽和二糖として、それ以外は不飽和二糖に分解された。これらの分解物を AB 基で蛍光標識し、二糖分析用 HPLC システムで飽和・不飽和二糖 AB 標識体を分離・同定した。飽和二糖成分はそれぞれの限定分解 CS オリゴ

糖の非還元末端であり、それぞれの CS オリゴ糖の飽和二糖と還元末端二糖を同定する事で順次糖鎖配列が決定できた。

#### **【結果】**

硫酸化が進むにつれて、CSA は糖鎖の中央から硫酸化され、CSC は非還元末端から硫酸化される配列があった。A, C 混合糖鎖は中央が A, 非還元末端が C である配列が同定された。CSAE では中央に 4 つ並んだ A 単位のうち非還元末端側が E 構造となる配列が同定され、CSCD では非還元末端側 C4 単位にランダムに D に変化した配列が得られた。

#### **【結論】**

本研究により様々な生理機能を発揮する CS の活性構造を決定することができる。また硫酸基転移酵素の糖鎖への修飾順序を明らかにし、糖鎖の合成機構の解明にも役立つことが期待される。

本研究は CS の活性構造の配列解析法を新たに確立し、その生理機能を明らかにし新薬の開発にも繋がる内容を含むため、学位を授与するにふさわしい論文であると判定した。

|         |   |
|---------|---|
| 氏名      | 陸 美穂  |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与番号  | 甲第469号  |
| 学位授与年月日 | 平成28年3月24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  | Down-regulation of the zinc-finger homeobox protein TSHZ2 releases GLI1 from the nuclear repressor complex to restore its transcriptional activity during mammary tumorigenesis (乳腺の腫瘍形成において、ジンクフィンガー蛋白 TSHZ2 の発現低下は GLI1 を核内の転写抑制複合体から遊離し、転写機能を活性化させる) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 渡辺 秀人<br>教授 細川 好孝<br>教授 佐賀 信介<br>教授 今井 常夫   |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景・目的】

乳癌の分野においては網羅的遺伝子発現解析のデータが数多く蓄積され、従来の臨床病理学的因子に加え、治療方針の決定や予後・治療効果予測など有用な情報が得られることがわかってきた。しかし、乳癌の発生・進展の分子病態について未だ十分解明されていない。そこで、乳腺の腫瘍形成に重要な遺伝子について、その正常細胞内における分子構造の解明および乳癌細胞での機能解析を行うことを目的とした。

### 【結果】

公共データベース (Oncomine) を用いて既報の3つのマイクロアレイデータから得られた7つのデータ比較セット (正常乳管対乳癌) を検索し、発現パターンが共通している遺伝子8個を抽出した。その中で、我々は乳癌で正常乳腺より発現が低下している TSHZ2 に着目した。

TSHZ2 タンパクは4つの Zinc-finger ドメインを有することがわかっているが正常および癌細胞での機能は知られていない。我々は TSHZ2 が核移行シグナルを持つ核タンパクであり、また、転写抑制共役因子 CtBP 結合配列を有し同部位で CtBP と結合して転写抑制機能を発揮することを明らかにした。

そこで、TSHZ2 の発現が低下している乳癌培養細胞株 MCF7 に TSHZ2 を強制発現さ

せて cDNA マイクロアレイを行ったところ、Hedgehog シグナル伝達系の主要転写因子 GLI の標的遺伝子とされる一群の遺伝子の発現が低下していた。それらの中には乳癌の転移や増殖に重要とされる CXCR4, AEBP1 も含まれており、半定量 RT-PCR でも同様の結果が確認された。GLI が過剰発現している乳癌は予後が悪いと報告されているが、正常乳管では TSHZ2 と GLI の両者は核に発現している。したがって、TSHZ2 は CtBP とともに GLI の転写活性を正常乳管細胞の核内で抑制しており、TSHZ2 が減弱した乳癌細胞ではその抑制が解除され、GLI が活性化していると推測された。

それを証明するために免疫沈降・レポーターアッセイを行い、TSHZ2 は核と細胞質を行き来している GLI と核内で結合して GLI を核に保留しつつ TSHZ2・CtBP・GLI の 3 者で複合体を形成すること、そしてこの状態では GLI の転写活性は抑制されていることを明らかにした。更に、免疫染色を 18 例の正常乳腺組織と 36 例の乳癌組織で行い、TSHZ2 の発現が減弱するほど GLI とその標的 CXCR4, AEBP1 の発現が増強し、さらに、GLI の発現部位が核優位から細胞質優位に移行することが明らかになった。

#### 【結論】

乳腺の腫瘍形成において、TSHZ2 の発現低下は GLI を核内の CtBP を含む抑制因子複合体から遊離させ、GLI 標的遺伝子の転写活性化を招くことで乳癌の進展に関与すると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

公共データベース (Oncomine) を用いた解析により、乳癌で正常乳腺より発現が低下している TSHZ2 に着目し、その正常細胞内における分子機構の解明および乳癌細胞での機能解析を行った。

4 つの Zinc-finger ドメインを有する TSHZ2 タンパクは核移行シグナルを持つ核タンパクであり、また、転写抑制共役因子 CtBP 結合配列を有し同部位で CtBP と結合して転写抑制機能を発揮することを明らかにした。

さらに、TSHZ2 の発現が低下している乳癌培養細胞株 MCF7 に TSHZ2 を強制発現させて cDNA マイクロアレイを行ったところ、Hedgehog シグナル伝達系の主要転写因子 GLI の標的遺伝子とされる一群の遺伝子の発現が低下していた。それらの中には乳癌の転移や増殖に重要とされる CXCR4, AEBP1 も含まれていた。GLI が過剰発現している乳癌は予後が悪いと報告されているが、正常乳管では TSHZ2 と GLI の両者は核に発現している。したがって、TSHZ2 は CtBP とともに GLI の転写活性を正常乳管細胞の核内で抑制しており、TSHZ2 が減弱した乳癌細胞ではその抑制が解除され、GLI が活性化していると推測された。

免疫沈降・レポーターアッセイにより TSHZ2 は核と細胞質を行き来している GLI と核内で結合して GLI を核に保留しつつ TSHZ2・CtBP・GLI の 3 者で複合体を形成すること、

そしてこの状態では GLI の転写活性は抑制されていることを明らかにした。更に、免疫染色を行い、TSHZ2 の発現が減弱するほど GLI とその標的 CXCR4, AEBP1 の発現が増強し、さらに、GLI の発現部位が核優位から細胞質優位に移行することが明らかになった。

以上より、乳腺の腫瘍形成において、TSHZ2 の発現低下は GLI を核内の CtBP を含む抑制因子複合体から遊離させ、GLI 標的遺伝子の転写活性化を招くことで乳癌の進展に関与すると考えられた。

本論文は、乳癌細胞において転写関連因子 TSHZ2 の発現抑制が CtBP 依存的に GLI の発現とその下流遺伝子である CXCR4, AEBP1 等の発現を亢進させ、乳癌細胞の挙動に影響を与えていることを示したものである。バイオインフォマティクスを駆使して候補分子を絞り込み、当該分子と他の転写因子の相互作用を詳細に検討し、ヒト組織に対しても発現を詳細に検討しており、多面的な解析手法を用いた深い解析と充実した研究内容は高く評価できる。以上より本論文は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      | なか がき あけ み<br>中 垣 明 美   |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与番号  | 甲第470号  |
| 学位授与年月日 | 平成28年3月24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  | Differences in autonomic neural activity during exercise between the second and third trimesters of pregnancy (妊娠中期と妊娠後期における運動中の自律神経活動) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 若 槻 明 彦<br>教授 小 林 章 雄<br>教授 天 野 哲 也<br>教授 牛 田 享 宏   |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

妊娠中の運動は、妊娠経過や分娩経過を改善するといわれる。正常妊娠中の自律神経活動は全体的に減弱するが、相対的に交感神経活動が高まるといわれている。しかし、運動が妊婦の自律神経活動に与える影響は十分に明らかにされていない。

### 【目的】

本研究は運動中の妊婦の自律神経活動が、妊娠週数に応じてどのように変化するのか明らかにすることを目的とした。

### 【方法】

合併症のない20名の妊婦を妊娠中期と妊娠後期の2群に分け比較した。自転車エルゴメーターの漸増運動負荷試験時の心電図RR間隔を、周波数解析ソフトを用い解析した。低周波成分(LF)と高周波成分(HF)の比(LF/HF)を交感神経の指標とし、HFとトータルパワーの比(HF/TP)を副交感神経の指標とした。血圧は1分毎に測定、呼気ガスから呼吸数、1回換気量、酸素消費量の1分間の平均およびMETsを算出した。

### 【結果】

運動開始後1～3分の時点で交感神経の指標であるLF/HFは妊娠中期より妊娠後期が有意に高かった。副交感神経の指標であるHF/TPは運動開始後2,3分の時点で妊娠中期が妊娠後期より高かった。またLF/HFは妊娠週数が進むほど速やかに上昇した。一方、血圧、心拍数、呼吸の指標には統計的に有意な差は検出されなかった。

## 【考察】

本研究運動プロトコルの1～3分は、アメリカおよびカナダの学会（ACOGおよびSOGC/CSEP）が妊婦に推奨する運動強度の3～4METsとほぼ同等の強度である。これらの推奨強度において、妊娠後期は妊娠中期よりも交感神経が速やかに上昇し、有意に高いことが示された。妊娠後期の交感神経活動の上昇は、増大した子宮による腹部交感神経節の圧迫や、1回換気量の減少および呼吸数の増加が影響したと考えられた。また、増大した子宮による腹腔内圧の上昇や、下大静脈の圧迫から静脈還流量が減少し、結果として交感神経活性が上昇したことなどが要因と考えられた。プロトコル後半では、自律神経活動に差が認められなくなったが、心拍数の上昇に伴い心拍変動の検出ができなくなることが要因と思われ、本研究の限界と考えられた。

## 【結論】

妊婦の運動中の自律神経活動は妊娠後期の交感神経が高く、妊娠週数が進むほど運動開始後の交感神経の上昇が速やかであることが示された。過度の交感神経活性の上昇は合併症に関与する可能性があり、妊婦の運動強度は妊娠週数を考慮して設定する必要があると考えられた。

# 論文審査の結果の要旨

## 【背景】

妊娠中の運動は、妊娠経過や分娩経過を改善すると報告されている。しかし、運動が妊婦の自律神経活動に与える影響は十分に明らかにされていない。本研究では、運動中の妊婦の自律神経活動を明らかにすること、また、妊娠週数に応じてどのように変化するのか解析することを目的とした。

## 【方法】

合併症のない20名の妊婦を妊娠中期と妊娠後期の2群に分け比較した。自転車エルゴメーターの漸増運動負荷試験時の心電図RR間隔を、周波数解析ソフトにより解析し、低周波成分（LF）と高周波成分（HF）の比（LF/HF）を交感神経の指標、HFとトータルパワーの比（HF/TP）を副交感神経の指標とした。また心拍数、血圧、呼吸数、1回換気量、酸素消費量およびMETsの実測値を算出し比較した。

## 【結果】

本研究プロトコルの1～3分では、交感神経の指標であるLF/HFは妊娠中期より妊娠後期が有意に高く、副交感神経の指標であるHF/TPは運動開始2,3分の時点で妊娠中期が妊娠後期より高かった。またLF/HFは妊娠週数が進むほど速やかに上昇した。

## 【考察】

プロトコルの1～3分は、アメリカおよびカナダの学会が、妊婦に推奨する運動強度の3～4METsとほぼ同強度である。この運動強度で妊娠後期は妊娠中期よりも交感神経活

動が有意に高く、また妊娠週数が進むほど交感神経活動は速やかに上昇した。妊娠後期の交感神経活動の上昇の要因は、増大子宮による①腹部交感神経節の圧迫、②1回換気量の減少および呼吸数の増加、および③腹腔内圧の上昇や下大静脈の圧迫から静脈還流量が減少した結果交感神経活性が上昇したなどが考えられた。

#### **【結論】**

妊婦運動中の自律神経活動は妊娠後期の交感神経活動が高く、また妊娠週数が進むほど交感神経活動の上昇が速やかであることが示された。過度の交感神経活動上昇は合併症に關与する可能性があり、妊婦の運動強度は妊娠週数を考慮して設定する必要があると考えられた。

#### **【総評】**

本研究は、妊娠運動中の自律神経活動について、交感神経活動は妊娠後期が高く、妊娠週数が進むとともに速やかに上昇することを示した。妊婦の運動は奨励されているが、本研究は妊娠週数を考慮して運動を処方したほうが安全であることを、自律神経活動の点から示したものとして評価できる。妊婦の運動管理という実際的な疑問の答えを、生体信号の解析により明示した研究成果は学位を授与するのに値すると判断した。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | ます い りゅう た<br>増井竜太   |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 乙第374号   |
| 学位授与年月日 | 平成28年5月14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  | G Protein-Coupled Receptor 43 Moderates Gut Inflammation Through Cytokine Regulation from Mononuclear Cells (短鎖脂肪酸レセプターである GPR43 は単核球からのサイトカインを介して腸炎を制御する) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 春日井 邦 夫<br>教授 高 村 祥 子<br>教授 高 見 昭 良<br>教授 奥 村 彰 久  |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

潰瘍性大腸炎は比較的若年で発症し腹痛，下痢，血便を認め，再燃・寛解を長期に繰り返すことでQOLの著しい低下をきたす。難治例では手術を要することや，癌の発生がみられることが問題点とされる。病因は未だ完全には解明されていないが，腸管免疫バランスの破綻が関与していると考えられている。一方，短鎖脂肪酸は腸管免疫に関与し，腸管炎症に対して抑制的に作用すると考えられ，そのレセプターとして近年，GPR41やGPR43が同定された。そこで我々は，GPR43を介した短鎖脂肪酸の腸炎における役割につき研究をおこなった。

### 【目的・方法】

短鎖脂肪酸レセプターであるGPR43を介した腸炎制御メカニズムを検討する目的で，野生型マウス及びGPR43(-/-)マウスにDSS腸炎を惹起し，その病態につき検討した。次に，野生型マウスおよびGPR43(-/-)マウスに150mMの酢酸を自由飲水させDSS大腸炎を惹起し，腸炎の程度につき酢酸非投与群と比較検討した。

### 【結果】

GPR43(-/-)マウスでは，野生型マウスに比べ有意に体重の減少，disease activity index score (DAI)の悪化，ヘマトクリットの減少，腸管の短縮を示し，GPR43(-/-)マウスにおいて腸炎が悪化することが示された。また，GPR43(-/-)マウスの腸管におけるTNF- $\alpha$ およびIL-17の発現は，野生型マウスより有意に亢進していたが，IL-10発現

は同程度であった。野生型に酢酸投与を行うと DSS 単独群に比べ体重減少ならびに組織学的炎症が有意に軽減した。また、酢酸投与群の腸管において TNF- $\alpha$ 、IL-17 の発現が有意に減少し、IL-10 の有意な亢進を認めた。GPR43 (-/-) マウスにおいては酢酸投与群と DSS 単独群では、体重の変動、DAI、腸管長及び腸管比重において両群間に差を認めず、腸管のサイトカイン発現にも差を認めなかった。すなわち、野生型マウスでみられた酢酸による腸炎抑制効果が GPR43 (-/-) マウスでは認められなかった。

GPR43 はこれまで主に好中球、好酸球に発現しているとされていたが、炎症性腸疾患患者の手術標本を用いた検討から腸管粘膜のリンパ球にも発現していることを確認した。そこで、GPR43 を介した腸炎制御メカニズムを、リンパ球のサイトカイン産生に着眼し検討したところ、野生型に比べ GPR (-/-) マウスでは、LPS 刺激によりリンパ球から TNF- $\alpha$  が強く誘導され、野生型および GPR (-/-) マウスにおいて酢酸は LPS 刺激による TNF- $\alpha$  産生を有意に抑制した。ヒトのリンパ球においても LPS により誘導される TNF- $\alpha$  は酢酸により抑制され、GPR43 抗体はこの作用を完全に消去した。このことから、酢酸は GPR43 を介してリンパ球の TNF- $\alpha$  産生を抑制することが示唆された。

#### **【結論】**

我々は、短鎖脂肪酸がそのレセプターである GPR43 を介して、リンパ球の炎症性サイトカインの産生を制御し腸炎を抑制すると結論し、GPR43 は炎症性腸疾患に対する新規治療ターゲットとなりえると考えた。

## 論文審査の結果の要旨

#### **【背景】**

潰瘍性大腸炎は比較的若年で発症し腹痛、下痢、血便を認め、再燃・寛解を長期に繰り返すことで QOL の著しい低下をきたす。難治例では手術を要することや、癌の発生がみられることが問題点とされる。病因は未だ完全には解明されていないが、腸管免疫バランスの破綻が関与していると考えられている。一方、短鎖脂肪酸は腸管免疫に関与し、腸管炎症に対して抑制的に作用すると考えられ、そのレセプターとして近年、GPR41 や GPR43 が同定された。そこで我々は、GPR43 を介した短鎖脂肪酸の腸炎における役割につき研究をおこなった。

#### **【目的・方法】**

短鎖脂肪酸レセプターである GPR43 を介した腸炎制御メカニズムを検討する目的で、野生型マウス及び GPR43 (-/-) マウスに DSS 腸炎を惹起し、その病態につき検討した。次に、野生型マウスおよび GPR43 (-/-) マウスに 150mM の酢酸を自由飲水させ DSS 大腸炎を惹起し、腸炎の程度につき酢酸非投与群と比較検討した。

#### **【結果】**

GPR43 (-/-) マウスでは、野生型マウスに比べ有意に体重の減少、disease activity

index score (DAI) の悪化, ヘマトクリットの減少, 腸管の短縮を示し, GPR43 (-/-) マウスにおいて腸炎が悪化することが示された。また, GPR43 (-/-) マウスの腸管における TNF- $\alpha$  および IL-17 の発現は, 野生型マウスより有意に亢進していたが, IL-10 発現は同程度であった。野生型に酢酸投与を行うと DSS 単独群に比べ体重減少ならびに組織学的炎症が有意に軽減した。また, 酢酸投与群の腸管において, TNF- $\alpha$ , IL-17 の発現が有意に減少し, IL-10 の有意な亢進を認めた。GPR43 (-/-) マウスにおいては酢酸投与群と DSS 単独群では, 体重の変動, DAI, 腸管長及び腸管比重において両群間に差を認めず, 腸管のサイトカイン発現にも差を認めなかった。すなわち, 野生型マウスでみられた酢酸による腸炎抑制効果が GPR43 (-/-) マウスでは認められなかった。

GPR43 はこれまで主に好中球, 好酸球に発現しているとされていたが, 炎症性腸疾患患者の手術標本を用いた検討から腸管粘膜のリンパ球にも発現していることを確認した。そこで, GPR43 を介した腸炎制御メカニズムを, リンパ球のサイトカイン産生に着眼し検討したところ, 野生型に比べ GPR (-/-) マウスでは, LPS 刺激によりリンパ球から TNF- $\alpha$  が強く誘導され, 野生型および GPR (-/-) マウスにおいて酢酸は LPS 刺激による TNF- $\alpha$  産生を有意に抑制した。ヒトのリンパ球においても LPS により誘導される TNF- $\alpha$  は酢酸により抑制され, GPR43 抗体はこの作用を完全に消去した。このことから, 酢酸は GPR43 を介してリンパ球の TNF- $\alpha$  産生を抑制することが示唆された。

#### **【結論】**

我々は, 短鎖脂肪酸がそのレセプターである GPR43 を介して, リンパ球の炎症性サイトカインの産生を制御し腸炎を抑制すると結論し, GPR43 は炎症性腸疾患に対する新規治療ターゲットとなりえると考えた。

本論文は, 短鎖脂肪酸レセプターを介した腸管炎症の発症メカニズムを明らかにすることで, 炎症性腸疾患に対する新たな治療薬開発の可能性を示しており, 今後の発展も期待されることから, 学位を授与するに値すると判定した。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | おの の たか ゆき<br>大野 隆之  |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 乙第375号   |
| 学位授与年月日 | 平成27年6月11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  | Plumbagin suppresses tumor cell growth in oral squamous cell carcinoma cell lines (プランバギンは口腔扁平上皮癌細胞株種の増殖を抑制する) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 風岡 宜暁<br>教授 佐藤 元彦<br>教授 高見 昭良<br>教授 松浦 克彦  |

## 学位論文内容の要旨

### 【目的】

Plumbagin (PL) は、自然界に存在するキノイドであり、様々な癌腫に対する抗腫瘍効果が知られている。しかしながら、口腔扁平上皮癌細胞株種の細胞増殖に対する効果は、あまり知られていない。本研究において我々は、ヒト口腔扁平上皮癌細胞株種に対する PL の作用を調べた。

### 【方法】

PL 処理による口腔扁平上皮癌細胞株種の細胞生存率 (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、PL 処理による口腔扁平上皮癌細胞株種のミトコンドリア膜電位活性の消失、活性酸素種 (ROS) 発現をフローサイトメトリー解析により検討した。

### 【結果】

MTT assay において、口腔扁平上皮癌細胞株種に対する PL の  $IC_{50}$  は、3.87 ~ 14.6  $\mu$  M となり、PL 用量依存的に細胞増殖を抑制した。フローサイトメトリー解析では、PL 処理により、ミトコンドリア膜電位活性の著明な低下を認め、アポトーシスを起こした細胞数の増加を認めた。特に、PL 処理後において、ROS は顕著に増加傾向を示した。さらに、ROS scavenger である N-acetylcysteine (NAC) を添加することにより、PL 処理後のミトコンドリア膜電位活性の消失、caspase-3/7 活性の増加、アポトーシスは、明らかに抑制され、PL による抗腫瘍効果に、ROS が関与していることが示唆された。

## 【結論】

本研究は、PLによる口腔扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果の強い根拠を見出した。今後、PLを応用した口腔扁平上皮癌治療が確立される可能性がある。

## 論文審査の結果の要旨

口腔扁平上皮癌は、頭頸部領域における最も発生頻度の高い悪性腫瘍であり、外科療法、化学療法、放射線療法などによる治療が行われている。しかし、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。

本研究は、様々な癌腫に対する抗腫瘍効果が知られている Plumbagin (PL) を用いて、口腔扁平上皮癌細胞株種の細胞増殖に対する抗腫瘍効果および、その分子機構を解析することで、PLの抗腫瘍効果の有用性を究明するものである。

方法はPL処理による口腔扁平上皮癌細胞株種の細胞生存率 (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、PL処理による口腔扁平上皮癌細胞株種のミトコンドリア膜電位活性の消失、活性酸素種 (ROS) 発現をフローサイトメトリー解析により検討した。加えて、PLに誘導されるアポトーシスにおける JNK 蛋白活性、P53 経路についてフローサイトメトリー解析により検討した。

MTT assay において、口腔扁平上皮癌細胞株種に対する PL の  $IC_{50}$  は、 $3.87 \sim 14.6 \mu M$  となり、PL 用量依存的に細胞増殖を抑制した。フローサイトメトリー解析では、PL 処理により、ミトコンドリア膜電位活性の著明な低下を認め、アポトーシスを起こした細胞数の増加を認めた。特に、PL 処理後において、ROS は顕著に増加傾向を示した。さらに ROS scavenger である N-acetylcysteine (NAC) を添加することにより、PL 処理後のミトコンドリア膜電位活性の消失、caspase-3/7 活性の増加、アポトーシスは、明らかに抑制され、PL による抗腫瘍効果に、ROS が関与していることが示唆された。PL 処理によりアポトーシス誘導経路として知られる JNK 蛋白は顕著に活性化を認め、この活性化は NAC により完全に抑制された。このことより、PL に誘導されるアポトーシスは JNK 蛋白の活性化が密に関与していることが示唆された。HSC-3、SAS に対し P53 の発現を検討したが、HSC-3 のみ P53 の増加を認め、P53 ノックダウンにより、アポトーシス前駆蛋白である BAX、PUMA の発現は有意差を待って減少した。この検討において SAS は有意差を持った変化を認めなかった。このことより、P53 経路のアポトーシスは、PL によるアポトーシスにおいて部分的な関与であることが見出された。

本研究は、PLによる口腔扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果の強い根拠を見出した。PLを応用した口腔扁平上皮癌治療の確立にむけた新しい知見を与え、学位を授与するに値する論文であると判定した。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | くわ はら ゆう こ<br>桑原裕子   |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 乙第376号   |
| 学位授与年月日 | 平成27年9月17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  | Arousal electrical stimuli evoke sudomotor activity related to P300, and skin vasoconstrictor activity related to N140 in humans (ヒトにおいて覚醒電気刺激は P300 に関連する発汗神経活動と N140 に関連する皮膚血管収縮神経活動を誘発する) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 道 勇 学<br>教授 吉 田 眞 理<br>教授 渡 邊 大 輔<br>教授 牛 田 享 宏  |

## 学位論文内容の要旨

### 【緒言】

主に体温調節に関与する汗腺や皮膚の血管を支配している皮膚交感神経活動 (SSNA) は、視覚・聴覚・体性感覚などの覚醒刺激により一過性の短いバーストを誘発することが知られている。SSNA は発汗神経活動のほか、血管収縮神経活動、立毛筋収縮神経活動などの成分を含む。これまで、SSNA と発汗神経活動は誘発電位 (EPs) P300 と関連することが報告されており、発汗神経活動の発生機序に認知過程が含まれることが示唆されている。また、SSNA には発汗神経活動の他に血管収縮神経活動も含まれ、両者の活動は同期しない場合があることが知られている。しかしながら、血管収縮神経活動と誘発電位の関係についての報告はない。

### 【目的】

本研究の目的は電気刺激により誘発される SSNA が先行する交感神経皮膚反応 (SSR) あるいは交感神経皮膚血流反応 (SFR) が、高次機能の指標である誘発電位 (EPs) のどの成分と関連するかを解析し、発汗神経活動と血管収縮神経活動が関与する高次機能を明らかにする事を目的とした。

### 【方法】

被験者は健康な成人男性 10 人 (年齢:  $22 \pm 3$  歳) を対象とした。SSNA はタンゲステン微小電極を用いて膝窩の脛骨神経からマイクロニューログラフィにより記録した。同

時に、皮膚電位測定による交感神経皮膚反応（SSR）やレーザードプラ皮膚血流計による交感神経血流反応（SFR）を脛骨神経の支配域である足底において記録した。また、誘発電位を解析するために脳波を10-20電極法にてFz, Cz, Pzの電極部位にて記録した。SSNAを誘発する刺激として、痛覚を生じない強度（筋収縮を誘発する閾値の1.5倍）の電気刺激を肘窩の正中神経へ適用した。SSNAの先行するSSRやSFR（発汗神経活動や血管収縮神経活動の効果器反応）が生じたとき、SSRやSFRが生じなかったときの脳波をグループ化し、それぞれについて誘発電位（EPs）の成分を解析し、比較した。

### 【結果】

SSRが発現したときの誘発電位は発現しなかったときに比べ、より大きな振幅のP300が誘発されたが、N140の振幅については差がなかった。SFRが発現したときの誘発電位は発現しなかったときに比べ、より大きな振幅のN140が誘発されたが、P300の振幅については差がなかった。

### 【結論】

以上の結果より、電氣的覚醒刺激により誘発されたSSNAの成分である発汗神経活動は刺激に対する注意に、血管収縮神経活動は体性感覚の検出に関連していることが示唆された。発汗神経活動や血管収縮神経活動の異なる認知過程への関与を明らかにした本研究の所見は、皮膚交感神経活動の異常を伴う疾患（多汗症・無汗症・白蟻病など）や自律神経症状や認知障害を伴う疾患における病態の理解に役立つと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

### 【緒言】

主に体温調節に関与する汗腺や皮膚の血管を支配している皮膚交感神経活動（SSNA）は、視覚・聴覚・体性感覚などの覚醒刺激により一過性の短いバーストを誘発することが知られている。SSNAは発汗神経活動のほか、血管収縮神経活動、立毛筋収縮神経活動などの成分を含む。これまで、SSNAと発汗神経活動は誘発電位（EPs）P300と関連することが報告されており、SSNAとその成分である発汗神経活動の発生機序に認知過程が含まれることが示唆されている。またSSNAには発汗神経活動の他に血管収縮神経活動も含まれ、両者の活動は同期しない場合があることが知られている。しかしながら、SSNAの成分である血管収縮神経活動と誘発電位の関係についての報告はない。

### 【目的】

本研究の目的は電気刺激により誘発されるSSNAを伴う交感神経皮膚反応（SSR）と交感神経血流反応（SFR）が高次機能の指標である誘発電位（EPs）のどの成分と関連するかを解析し、発汗神経活動と血管収縮神経活動が関与する高次機能を明らかにする事を目的とした。

## 【方法】

10人の被験者において、マイクロニューログラム（微小電極神経図法）により、SSNAをタングステン微小電極を用いて膝窩の脛骨神経から記録した。同時に、皮膚電位測定による交感神経皮膚反応（SSR）やレーザードプラー皮膚血流計による交感神経血流反応（SFR）を脛骨神経の支配域である足底において記録した。また、誘発電位を解析するために脳波を10-20電極法にてFz, Cz, Pzの電極部位にて記録した。SSNAを誘発する刺激として、痛覚を生じない強度（筋収縮を誘発する閾値の1.5倍）の電気刺激を肘窩の正中神経へ適用した。SSNAの誘発とともにSSRやSFR（発汗神経活動や血管収縮神経活動の効果器反応）が生じたとき、SSRやSFRが生じなかったときの脳波をグループ化し、それぞれについて誘発電位（EPs）の成分を解析し、比較した。

## 【結果】

SSRが発現した試行の誘発電位はSSRが発現しなかった試行の誘発電位に比べ、より大きな振幅のP300が誘発されたが、N140の振幅については差がなかった。SFRが発現があった試行はSFRが発現しなかった試行に比べてより大きな振幅のN140が誘発されたが、P300の振幅については差がなかった。

## 【結論】

以上の所見より、電氣的覚醒刺激により誘発されたSSNAの成分である発汗神経活動は認知電位P300に、血管収縮神経活動は体性感覚電位N140に関連し、異なる認知過程を反映していることが示唆された。

発汗神経活動や血管収縮神経活動が異なる認知過程に関与するという本研究の所見は、認知の神経処理過程に関する研究への効果器反応を伴うSSNAの適用意義を提示し、自律神経症状や認知障害を伴う疾患における中枢神経性因子と末梢の効果器因子の寄与に関する検査に役立つと考えられる。上記、一連の研究内容は学位を授与するのに十分値すると考え、ここに推薦いたします。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | 小林邦生 <small>こばやし くに お</small>  |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 乙第377号   |
| 学位授与年月日 | 平成27年9月17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  | Diagnostic Accuracy of Real-Time Tissue Elastography for the Staging of Liver Fibrosis: A Meta-Analysis (Real-time tissue elastography による肝線維化評価の診断精度に関するメタ解析) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 福 沢 嘉 孝<br>教授 増 渕 悟<br>教授 石 口 恒 男<br>教授 佐 野 力  |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

肝線維化の評価は、発がんのリスク評価や治療方針決定に極めて重要である。近年、侵襲のある肝生検による病理組織学的診断に代わり、超音波を用いた非侵襲的診断法が普及し、transient elastography (TE), acoustic radiation force impulse (ARFI), real-time tissue elastography (RTE) が広く用いられている。TE と ARFI による肝線維化評価の精度は同程度に良いと、既にメタ解析により報告されている。しかし、TE や ARFI は腹水や炎症が存在する際には影響を受けるため正確な評価が困難である。一方、腹水や炎症による影響を受けない RTE に関しては、メタ解析による評価が行われていなかった。

### 【目的】

本研究の目的は、RTE による肝線維化病期分類の精度をメタ解析により評価することである。

### 【方法】

RTE に関する 752 編の論文から、肝生検を施行し肝線維化評価に対する RTE の sensitivity と specificity が記載されていた 15 編を QUADAS-2 criteria に基づき評価した。summary sensitivity および specificity は bivariate random-effects model を用い、publication bias は Funnel plots と Egger's test を用いて解析した。

## 【結果】

RTE の summary sensitivity と summary specificity はともに約 0.8 であった。RTE のスコアリング法や背景肝疾患の種類は、RTE の sensitivity および specificity には影響を与えなかったが、publication bias を認め RTE の精度は過大評価されている可能性があった。

## 【考察】

肝線維化の各ステージでの RTE の精度は低くはないが、著明に高いものではなかった。既報の TE および ARFI のメタ解析結果と比較すると、RTE の significant fibrosis までの精度は TE および ARFI とほぼ同等であったが、肝硬変での評価では精度が低かった。

## 【結論】

RTE による肝線維化の診断精度は診断法として有用であったが、他の診断法を凌駕するものではなかった。今後は大規模で良くデザインされた TE, ARFI, RTE の head-to-head 比較研究が必要と考えられた。

# 論文審査の結果の要旨

## 【背景】

慢性肝疾患の診断と治療において肝線維化の評価は、発がんのリスク評価や治療方針決定において極めて重要である。近年、侵襲のある肝生検による病理組織学的診断に代わり超音波を用いた非侵襲的診断法が普及してきたが、原理により様々な方法が存在しており、本邦では transient elastography (TE), acoustic radiation force impulse (ARFI), real-time tissue elastography (RTE) が広く用いられている。メタ解析により肝線維化における TE と ARFI の精度は報告されているが、RTE に関してのメタ解析はこれまで報告されていなかった。

## 【目的】

本研究の目的は、RTE による肝線維化病期分類の精度をメタ解析により評価することである。

## 【方法】

PubMed および Web of Science に掲載されている RTE に関する 752 編 (1,626 症例) の英語論文から、肝生検を施行され、かつ肝線維化評価に対する RTE の sensitivity と specificity がともに記載されていた 15 編を PRISMA statement に従い抽出し、QUADAS-2 criteria に基づいて評価した。summary sensitivity および summary specificity は bivariate random-effects model を用い、publication bias は Funnel plots と Egger's test を用いて解析した。

## 【結果】

RTE の summary sensitivity と summary specificity はともに約 0.8 であった。RTE の

スコアリング法や背景肝疾患の種類は、RTE の sensitivity および specificity には影響を与えなかったが、publication bias を認め RTE の精度は過大評価されている可能性を認めた。

#### **【考察】**

肝線維化の各病期での RTE の精度は低くはないが、著明に高いものではなかった。既報の TE および ARFI のメタ解析結果と比較すると、RTE の significant fibrosis までの診断精度は TE および ARFI とほぼ同等であったが、肝硬変における評価では両者に比して精度が低かった。

#### **【結論】**

RTE による肝線維化の診断精度は、評価するモダリティとして有用な精度であったが、他の診断法を凌駕するものではなかった。今後は大規模で良くデザインされた TE, ARFI, RTE の head-to-head 比較研究が必要と考えられた。

以上の研究結果は、慢性肝疾患診断における real-time tissue elastography (RTE) による肝線維化病期分類の精度の臨床的意義をメタ解析により明確にし、今後の研究の進展性をも示唆したものであり、学位授与に値する論文であると評価された。

|         |   |
|---------|---|
| 氏名      | ほつ た かず お<br>堀 田 和 男  |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与番号  | 乙第378号  |
| 学位授与年月日 | 平成27年12月24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  | Lack of Contribution of Multidrug Resistance-Associated Protein and Organic Anion-Transporting Polypeptide to Pharmacokinetics of Regorafenib, A Novel Multi-Kinase Inhibitor, in Rats (ラットにおいて多剤耐性タンパクおよび有機アニオン輸送ポリペプチドは新規の多標的キナーゼ阻害剤レゴラフェニブの薬物動態に寄与していない) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 三 嶋 秀 行<br>教授 岡 田 尚志郎<br>教授 米 田 政 志<br>教授 佐 野 力   |

## 学位論文内容の要旨

### 【目的】

大腸がんの治療に用いられている多標的キナーゼ阻害薬レゴラフェニブは、脂溶性がきわめて高く、主に肝薬物代謝酵素 CYP3A4 により代謝され、また ATP 結合カセット輸送担体 P 糖タンパク質および乳癌耐性タンパク質を阻害するという複雑な薬物動態特性を有している。

しかし、本薬の薬物動態における肝取込みおよび肝排出トランスポーターの寄与については明らかにされていない。そこで、本研究では、レゴラフェニブの薬物動態における肝排出トランスポーターである多剤耐性関連タンパク質 (ABCC2) と肝取込みトランスポーターである有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP1 および OATP2) の寄与を明らかにする目的として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。頸静脈および胆管にカニューレションを施した両ラットにレゴラフェニブ (5mg/kg) を単回静脈内投与し、経時的に血液および胆汁を採取した。血漿および胆汁中のレゴラフェニブ濃度は 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。タンパク結合および肝

OATP のタンパク発現量はそれぞれ平衡透析法および immunoblot analysis 法を用いて測定した。

### 【結果及び考察】

SD ラットおよび EHBR にレゴラフェニブを単回静脈内投与したところ、半減期は両ラット間において有意な差を認めなかったものの、血漿中濃度は EHBR において有意に高かった。胆汁排泄に関与する薬物速度論的パラメータを解析したところ、レゴラフェニブの胆汁クリアランスおよび胆汁排泄速度は両ラット間においての有意な差を認めなかった。これはレゴラフェニブが 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。レゴラフェニブのタンパク結合率は線形性の結合様式を示し、その結合率は EHBR において有意に高かった。両ラットにおける非結合型薬物濃度時間推移を求めたところ、両ラット間で有意な差を認めなかった。これは両ラット間で真の薬物動態が同等であること、また EHBR で観察されたレゴラフェニブの総血漿中濃度の上昇はタンパク結合率の差に起因することが示唆された。最後に、両ラットにおけるレゴラフェニブの肝取り込みに関与するトランスポーター（OATP1 と OATP2）の発現量を immunoblot analysis で解析したところ、いずれのタンパク発現量も EHBR において著しく低下していた。この結果はレゴラフェニブが OATP1 および OATP2 を介して肝細胞に取り込まれないことを示唆するものである。

以上より、レゴラフェニブは ABCC2, OATP1 および OATP2 の基質ではないことが明らかとなった。レゴラフェニブの全身排泄に対する胆汁排泄の寄与は小さいが、レゴラフェニブは ABCC2 以外の、例えば ABCB1 や ABCG2 のような胆汁排出トランスポーターによって排出されると推察される。この結果は、ヒトに直接外挿することはできないが、レゴラフェニブ治療を受ける患者さんに対して有用な情報を提供するものと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

### 【背景】

レゴラフェニブは大腸がんの治療に用いられる経口の多標的キナーゼ阻害薬であり、脂溶性がきわめて高く、主に肝薬物代謝酵素 CYP3A4 により代謝される。また ATP 結合カセット輸送担体 P 糖タンパク質および乳癌耐性タンパク質を阻害するという複雑な薬物動態特性を有している。しかし、本薬の薬物動態における肝取り込みおよび肝排出トランスポーターの寄与については明らかにされていない。

### 【目的】

レゴラフェニブの薬物動態における肝取り込みトランスポーターである有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP1 および OATP2）および肝排出トランスポーターである多剤耐性関連タンパク質（ABCC2）の寄与を明らかにする。

## 【方法】

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）を用いて、レゴラフェニブ（5mg/kg）を単回静脈内投与し、経時的に血液および胆汁を採取した。LC-MS/MS法を用いて血漿および胆汁中のレゴラフェニブ濃度を測定した。薬物速度論的パラメータはモデル非依存的に解析した。タンパク結合および肝OATP1のタンパク発現量はそれぞれ平衡透折法およびimmunoblot analysis法を用いて測定した。

両ラットにおけるレゴラフェニブの肝取り込みに関与するトランスポーター（OATP1とOATP2）の発現量をimmunoblot analysisで解析した。

## 【結果】

1) 単回静脈内投与後のレゴラフェニブの半減期は、SDラットとEHBRラットで有意な差を認めず、血漿中濃度はEHBRにおいて有意に高かった。2) レゴラフェニブの胆汁クリアランスおよび胆汁排泄速度は両ラット間において有意な差を認めなかった。3) レゴラフェニブのタンパク結合率は線形性の結合様式を示し、結合率はEHBRにおいて有意に高かった。4) 非結合型薬物濃度の時間推移は、両ラット間で有意な差を認めなかった。5) OATP1とOATP2いずれのタンパク発現量もEHBRにおいて著しく低下していた。

## 【考察】

レゴラフェニブはABCC2以外の輸送担体を介して胆汁中に排泄されることが示唆された。両ラット間で真の薬物動態が同等であること、またEHBRで観察されたレゴラフェニブの総血漿中濃度の上昇はタンパク結合率の差に起因することが示唆された。レゴラフェニブの肝細胞内への取り込みに関しては、OATP1およびOATP2の寄与が小さいことが示唆された。

レゴラフェニブは重篤な有害事象として劇症肝炎、肝不全による死亡例も報告されている。本論文は、ヒトに直接外挿することはできないが、レゴラフェニブの薬物動態を検討する上で有用な情報を提供するものであり、学位を授与するに値する論文であると判定した。

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | いずみ 泉<br>ゆういちろう 雄一郎  |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位授与番号  | 乙第379号   |
| 学位授与年月日 | 平成28年3月24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  | Uterine artery embolization by use of porous gelatin particles for symptomatic uterine leiomyomas: comparison with hand-cut gelatin sponge particles (症候性子宮筋腫に対する多孔性ゼラチン細粒を用いた子宮動脈塞栓術の検討：用手調製ゼラチンスポンジ細片との比較) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 若槻明彦<br>教授 中野隆<br>教授 石橋宏之<br>教授 小林孝彰   |

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

子宮動脈塞栓術(UAE)は産後出血や子宮腫瘍による出血の治療として広く施行されているが、近年、子宮筋腫に対する有効性が認められ、欧米を中心に標準治療の一つとして普及しつつある。

UAEの塞栓物質として、日本では従来、ゼラチンスポンジ(GS)のブロックからメスと鋏で手作的に作成した細片が使用されていたが、2006年に径1mmから2mmに調整された多孔性ゼラチンスポンジ細粒(PGP)が発売され、GSが血管内投与禁忌となったため、UAEにもPGPを使用することとなった。

### 【目的】

PGPを用いた症候性子宮筋腫に対するUAEの安全性と効果について、従来の用手調製GS細片を用いたUAEと比較検討する。

### 【方法】

当院において、2002年7月から2011年2月の期間に症候性子宮筋腫に対してUAEを施行した連続する115症例について後方視的に検討した。塞栓物質としてPGPを使用した症例が2007年2月以降の51例、用手調製GS細片を使用した症例が2006年12月以前の64例であった。患者の年齢は23～53歳(平均42.1歳)であった。UAEは局所麻酔下に左右の大腿動脈を穿刺し、X線透視下に対側の子宮動脈にカテーテルを挿入して施行

した。手技の合併症、治療前後の経時的な MRI による腫瘍壊死率、腫瘍の縮小率、臨床症状の改善の程度などについて、術後 1, 3, 6, 12, 24 か月の時点で評価を行った。

### 【結果】

手技は全例で成功し、重篤な合併症はみられなかった。術後 1 か月の造影 MRI で最大筋腫に完全梗塞が得られた症例は、PGP, GS 両群とも 82%であった。最大筋腫の体積の縮小率は、2 年後で GS 群が平均 66%, GS 群で平均 68%であった。術後 1 年での主要症状の改善率は、過多月経が PGP100%, GS86%, 月経痛が PGP96%, GS92%, 下腹部膨満感が PGP100%, GS100%であった。PGP 群と GS 群の間でこれらの成績に有意差は認めなかった。

### 【考察】

国内で、子宮筋腫に対する GS 細片による UAE の安全性と有効性は複数の文献で報告されているが、PGP に関する報告は少ない。今回の研究から、PGP による症候性子宮筋腫の治療が安全性、有効性が確認された。また、本研究は同一施設における連続症例で、PGP と GS の安全性、有効性が同等であることを初めて明らかにしたものである。

PGP は細粒状の形態で供給されるため、GS 細片をブロックから作成する手間がなく、治療時間を短縮することができる。

欧米では、径 500  $\mu$  から 900  $\mu$  の球状塞栓物質（マイクロスフィア）による UAE が普及している。マイクロスフィアは 2014 年から日本にも導入され、子宮筋腫に対する適用も有しているが、GS や PGP に比べ高価である。PGP を使用すれば UAE のコスト削減が期待できると思われる。また、PGP は生体吸収性であり、非吸収性のマイクロスフィアに比べて正常子宮組織への影響は少ないと考えられる。

### 【結論】

症候性子宮筋腫に対する PGP を用いた UAE は、用手調製した GS 細片と同様に安全で効果的な治療である。

## 論文審査の結果の要旨

### 【背景】

子宮動脈塞栓術（UAE）は産後出血や子宮腫瘍による出血の治療として広く施行されているが、近年、子宮筋腫に対する有効性が認められ、欧米を中心に標準治療の一つとして普及しつつある。

UAE の塞栓物質として、日本では従来、ゼラチンスポンジ（GS）のブロックからメスと鋏で手動的に作成した細片が使用されていたが、2006 年に径 1mm から 2mm に調整された多孔性ゼラチンスポンジ細粒（PGP）が発売され、GS が血管内投与禁忌となったため、UAE にも PGP を使用することとなった。

## 【目的】

PGP を用いた症候性子宮筋腫に対する UAE の安全性と効果について、従来の用手調製 GS 細片を用いた UAE と比較検討する。

## 【方法】

当院において、2002 年 7 月から 2011 年 2 月の期間に症候性子宮筋腫に対して UAE を施行した連続する 115 症例について後方視的に検討した。塞栓物質として PGP を使用した症例が 2007 年 2 月以降の 51 例、用手調製 GS 細片を使用した症例が 2006 年 12 月以前の 64 例であった。患者の年齢は 23 ～ 53 歳（平均 42.1 歳）であった。UAE は局所麻酔下に左右の大腿動脈を穿刺し、X 線透視下に対側の子宮動脈にカテーテルを挿入して施行した。手技の合併症、治療前後の経時的な MRI による腫瘍壊死率、腫瘍の縮小率、臨床症状の改善の程度などについて、術後 1, 3, 6, 12, 24 か月の時点で評価を行った。

## 【結果】

手技は全例で成功し、重篤な合併症はみられなかった。術後 1 か月の造影 MRI で最大筋腫に完全梗塞が得られた症例は、PGP、GS 両群とも 82%であった。最大筋腫の体積の縮小率は、2 年後で GS 群が平均 66%、PGP 群で平均 68%であった。術後 1 年での主要症状の改善率は、過多月経が PGP100%、GS86%、月経痛が PGP96%、GS92%、下腹部膨満感が PGP100%、GS100%であった。PGP 群と GS 群の間でこれらの成績に有意差は認めなかった。

## 【考察】

国内で、子宮筋腫に対する GS 細片による UAE の安全性と有効性は複数の文献で報告されているが、PGP に関する報告は少ない。今回の研究から、PGP による症候性子宮筋腫の治療が安全性、有効性が確認された。また、本研究は同一施設における連続症例で、PGP と GS の安全性、有効性が同等であることを初めて明らかにしたものである。

PGP は細粒状の形態で供給されるため、GS 細片をブロックから作成する手間がなく、治療時間を短縮することができる。欧米では、径 500  $\mu$  から 900  $\mu$  の球状塞栓物質（マイクロスフィア）による UAE が普及している。

マイクロスフィアは 2014 年から日本にも導入され、子宮筋腫に対する適用も有しているが、GS や PGP に比べ高価である。PGP を使用すれば UAE のコスト削減が期待できると思われる。また、PGP は生体吸収性であり、非吸収性のマイクロスフィアに比べて正常子宮組織への影響は少ないと考えられる。

## 【結論】

症候性子宮筋腫に対する PGP を用いた UAE は、用手調製した GS 細片と同様に安全で効果的な治療である。

本研究によって、症候性子宮筋腫に対する PGP を用いた UAE の安全性と有効性が比較的多数の症例で確認された。また本研究は、同一施設の連続症例において、PGP と GS の安全性、有効性が同等であることを初めて明らかにしたものである。本研究で得られた

知見は、今後の治療技術の発展に役立つと考えられる。よって、学位を授与するに値するものと判断した。

博 士 学 位 論 文

内容の要旨及び審査の結果の要旨

第33集

平成28年6月

発行年月日 平成28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)