

博士學位論文

内容の要旨

及び

審査の結果の要旨

第 36 集

令和元年 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 30 年 4 月から平成 31 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521号	伊 藤 竜 男	The Differential Diagnosis of Central Diabetes Insipidus by Arginine-Vasopressin Measurement Using High-sensitivity Radioimmunoassay (高感度ラジオイムノアッセイ法を用いたアルギニンバゾプレシン測定による中枢性尿崩症の鑑別診断について)	… 1
〔2〕	甲第522号	内 野 大 倫	Functional Analysis of Histone H2AX for DNA Damage Responses in Cancer Cells (癌細胞における DNA 損傷応答に対するヒストン H2AX の働き)	… 4
〔3〕	甲第523号	佐喜眞 未 帆	VEGFR-3 signaling is regulated by a G-protein activator, activator of G-protein signaling 8, in lymphatic endothelial cells (リンパ管内皮細胞における VEGFR-3 シグナル伝達は, G タンパク活性調節因子 8 により制御される)	… 7
〔4〕	甲第524号	高 尾 晶 子	Generation of PTEN-knockout(-/-) murine prostate cancer cells using the CRISPR/Cas9 system and comprehensive gene expression profiling (CRISPR/Cas9 システムを用いた PTEN ノックアウトマウス前立腺癌細胞の樹立と網羅的発現遺伝子の解析)	…10
〔5〕	甲第525号	足 立 和 規	Gut microbiota disorders cause type 2 diabetes mellitus and homeostatic disturbances in gut-related metabolism in Japanese subjects (日本人における腸内細菌の乱れは 2 型糖尿病やホメオスタシスの障害を引き起こす)	…13

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題名	頁
[6]	甲第526号	岩田 力	The G2 checkpoint inhibitor CBP-93872 increases the sensitivity of colorectal and pancreatic cancer cells to chemotherapy (G2 チェックポイント阻害剤である CBP-93872 は大腸癌および膵臓癌細胞株に対する抗癌剤の感受性を増加させる)	…16
[7]	甲第527号	大澤 高陽	Bile Leakage After Hepatectomy for Liver Tumors (肝腫瘍切除後の胆汁漏に関する検討)	…19
[8]	甲第528号	田口 宗太郎	Motor improvement-related regional cerebral blood flow changes in Parkinson's disease in response to antiparkinsonian drugs (抗パーキンソン病薬への反応性からみたパーキンソン病の運動症候改善に関連する局所脳血流変化)	…22
[9]	甲第529号	竹内 伸行	New paradigm for auditory paired pulse suppression (聴覚ペアパルス抑制の新規パラダイム)	…25
[10]	甲第530号	松本 麻未	Characterization of the vaginal microbiota of Japanese women (日本人女性における膣内細菌叢の特徴)	…28
[11]	甲第531号	守田 紀子	Effect of the methanol extract of the Lion's Mane mushroom, <i>Hericium erinaceus</i> , on bone metabolism in ovariectomized rats (ヤマブシダケ摂取が卵巣摘出ラットの骨代謝に及ぼす影響)	…32

掲載順位	学位授与番号	氏 名	論 文 題 名	頁
[12]	甲第 532 号	吉 峰 崇	Convenient Method of Measuring Baseline Impedance for Distinguishing Patients with Functional Heartburn from those with Proton Pump Inhibitor-Resistant Endoscopic Negative Reflux Disease (簡便なベースライン・インピーダンス測定法による機能性胸やけの診断)	…35
[13]	甲第 533 号	林 音 知	Isolation of ketomycin from <i>Actinomycetes</i> as an inhibitor of 2D and 3D cancer cell invasion (放線菌由来ケトマイシンによる 2D および 3D がん細胞浸潤の抑制)	…38
[14]	甲第 534 号	Md. Wahiduzzaman	Novel combined Ato-C treatment synergistically suppresses proliferation of Bcr-Abl-positive leukemic cells <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> (三酸化ヒ素とシスプラチンの新規併用療法 Ato-C は Bcr-Abl 陽性白血病細胞に対して相乗的な増殖抑制作用を示す)	…41
[15]	甲第 535 号	清 水 沙 希	Royal jelly dose not prevent bone loss but improves bone strength in ovariectomized rats (ローヤルゼリーは卵巣摘出ラットにおいて骨量減少を抑制しないが骨強度を改善する)	…45

掲載順位	学位授与番号	氏 名	論 文 題 名	頁
[16]	甲第 536 号	安 藤 孝 人	Pre-operative planning using Real-time Virtual Sonography, an MRI/ Ultrasound image fusion technique, for breast-conserving surgery in patients with non-mass enhancement on breast MRI: A preliminary study (乳房造影 MRI において非腫瘍病変を示す乳癌患者の乳房部分切除術における MRI/ 超音波同期システムのリアルタイムバーチャルソノグラフィーを用いた術前検査法)	…48
[17]	甲第 537 号	岡 田 学	Favorable results in ABO-incompatible renal transplantation without B cell-targeted therapy: Advantages and disadvantages of rituximab pretreatment (B 細胞標的治療を伴わない ABO 不適合腎移植の良好な成績：リツキシマブの長所と短所)	…51
[18]	甲第 538 号	柴 田 祐 一	Caspofungin versus micafungin in the incidence of hepatotoxicity in patients with normal to moderate liver failure (正常から中等度の肝不全患者におけるカスポファンギン対ミカファンギンの肝毒性の発生率)	…54
[19]	甲第 539 号	舩 石 俊 樹	FOLFOX as First-line Therapy for Gastric Cancer with Severe Peritoneal Metastasis (高度腹膜転移胃癌に対する 1 次治療としての FOLFOX 療法)	…57

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題名	頁
[20]	甲第 540 号	山 地 雅 之	Novel ATP-competitive Akt inhibitor afuresertib suppresses the proliferation of malignant pleural mesothelioma cells (新規 ATP 競合性 AKT 阻害剤アフレサータイプは、悪性胸膜中皮腫細胞の増殖を抑制する)	…60
[21]	甲第 541 号	川 口 礼 雄	(Expressions of Eotaxin-3, Interleukin-5, and Eosinophil-Derived Neurotoxin in Chronic Subdural Hematoma Fluids (慢性硬膜下血腫における Eotaxin-3, Interleukin-5, Eosinophil-Derived Neurotoxin の発現と血腫成熟との関連)	…64
[22]	甲第 542 号	浅 井 信 博	CCR4 expression in tumor-infiltrating regulatory T cells in patients with squamous cell carcinoma of the lung: A prognostic factor for relapse and survival (肺扁平上皮癌患者の腫瘍浸潤制御性 T 細胞におけるケモカイン受容体 4 の発現: 再発と生存の予後因子)	…67
[23]	甲第 543 号	村 松 洋 行	Targeting lactate dehydrogenase-A promotes docetaxel induced cytotoxicity predominantly in castration-resistant prostate cancer cells (去勢抵抗性前立腺癌における、LDHA 阻害薬とドセタキセルの併用投与による抗腫瘍効果の検討)	…70
[24]	乙第 390 号	西 村 眞 樹	Clinical significance of serum anti-GM-CSF autoantibody levels in autoimmune pulmonary alveolar proteinosis (自己免疫性肺胞蛋白症における血清抗 GM-CSF 自己抗体の臨床的意義)	…73

掲載順位	学位授与番号	氏 名	論 文 題 名	頁
[25]	乙第 391 号	塩 見 有佳子	Clinical significance of circulating tumor cells (CTCs) with respect to optimal cut-off value and tumor markers in advanced/metastatic breast cancer (進行・転移性乳癌における循環血がん細胞 (CTC) の至適カットオフ値と腫瘍マーカーとしての臨床的意義)	…76
[26]	乙第 392 号	丹 羽 愛 知	Interleukin-6, MCP-1, IP-10, and MIG are sequentially expressed in cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage (くも膜下出血後の脳脊髄液における IL-6, MCP-1, IP-10, MIG の経時的発現)	…79
[27]	乙第 393 号	井 上 匡 央	Long-term outcomes of endoscopic gallbladder stenting in high-risk surgical patients with calculous cholecystitis (with videos) (手術困難な胆石性胆嚢炎に対する内視鏡的胆嚢ステント留置術の長期経過)	…81
[28]	乙第 394 号	萩 原 真 清	Sterile Radiation Protective Sheet Placed on the Patient's Abdomen during Hepatic Arterial Chemoembolization Reduces Radiation Dose to the Operator's Eyes (肝動脈化学塞栓療法における術者への散乱線遮蔽用ディスプレイブル防護シートの有用性)	…84
[29]	乙第 395 号	手 塚 剛 彦	The plant alkaloid conophylline inhibits matrix formation of fibroblasts (植物アルカロイドコノフィリンは線維芽細胞のマトリックス形成を阻害する)	…87

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題名	頁
[30]	乙第 396 号	西村 るみ子	Effects of catechin-enriched ion beverage intake on thermoregulatory function in a hot environment (暑熱環境下における高濃度茶カテキン飲料の体温調節への影響)	…90

氏名	伊藤 竜男
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第521号
学位授与年月日	平成30年4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	The Differential Diagnosis of Central Diabetes Insipidus by Arginine-Vasopressin Measurement Using High-sensitivity Radioimmunoassay (高感度ラジオイムノアッセイ法を用いたアルギニンバゾプレシン測定による中枢性尿崩症の鑑別診断について)
論文審査委員	(主査) 教授 高見 昭良 教授 佐藤 元彦 教授 伊藤 恭彦 教授 兼本 浩祐

学位論文内容の要旨

【背景】

血中 AVP の評価は、中枢性尿崩症 (CDI) の診断において重要である。2013 年から、従来の高感度ラジオイムノアッセイ (RIA) キットに代わり、新しいキットが適応された。しかし、新キットの感度は低く、DI 治療薬の AVP アナログと交差反応性を示すことが、臨床課題であった。我々は、近年開発された、交差反応性を示さない高感度キット (AVP キットヤマサ) を用いて、CDI の鑑別診断における AVP 測定法の臨床的意義を検討した。

【患者と方法】

愛知医科大学病院内分泌・代謝内科に通院中の患者のうち、高張食塩水負荷試験及び下垂体前葉機能検査を実施し、病態の詳細な評価が可能であった 34 名の患者を対象とした。血漿 AVP はヤマサキットにより測定し、患者の病態に照らし検討した。

【結果】

対象の内訳は、2013 年以前に高感度 RIA により CDI と診断された患者 12 名と、非 DI の患者 22 名であった。非 DI 22 名のうち 10 名は、デスマプレシン (DDAVP) 以外のホルモン補充療法下にあった。全 DI 患者は、DDAVP 投与中にも関わらず、血中 AVP 低値を示した。非 DI の 22 名のうち、9 名の血中 AVP 基礎値は基準範囲内であったが、浸透圧刺激に対する AVP 反応は、尿崩症症状を欠くにも関わらず不十分であった。残り 13

名の AVP 反応は基準範囲内であった。AVP 反応と尿崩症症状の有無に基づき、対象群を DI 群、反応障害 (IR) 群および正常反応 (NR) 群に分類した。各群の臨床徴候検討において、DI および IR 群における視床下部下垂体障害の合併頻度は、NR 群に比し高い傾向を示した。

【考察】

全 CDI 患者の血漿 AVP は低値であり、本測定法は DDAVP の干渉を受けないと考えられた。又、浸透圧刺激に対する AVP 分泌増加の欠如は、DI の病態を反映していた。多くの IR 患者は、下垂体前葉機能障害に対し補充療法下であった。この事より、IR 患者は視床下部下垂体機能障害を背景とした、潜在的 AVP 分泌障害を有すると考えられた。

【結論】

AVP キットヤマサは、DDAVP 投与下の CDI の診断に有用であった。又、視床下部下垂体機能障害を有しながら、DI の臨床徴候を示さない患者における、浸透圧刺激に対する AVP 分泌反応障害を検出し得た。本研究から、ヤマサキットによる AVP 測定は、AVP 分泌障害の臨床的評価に有用であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

【背景と目的】

アルギニンバゾプレシン (AVP) は、視床下部神経核で産生され、下垂体後葉から分泌される。血中 AVP は、腎集合管の V2 レセプターに結合し、水の再吸収を促す。中枢性尿崩症 (CDI) の本態は、AVP 分泌低下による多尿である。したがって、CDI の診断には、血中 AVP を正確に測定することが大切である。従来の AVP 測定キットの感度は低く、しかも CDI 治療薬の AVP アナログ (DDAVP) と交差反応性を来しやすいとの問題があった。最近、高感度 AVP 測定キット (ヤマサキット) が開発され、DDAVP と交差反応性を来さないと考えられている。本キットによる血中 AVP 測定が、CDI の病態診断に役立つか検証した。

【対象と方法】

対象は、2015 年 12 月から 2016 年 4 月に愛知医科大学病院内分泌・代謝内科を受診した患者のうち、高張食塩水負荷試験と下垂体前葉機能検査を受け、評価可能な 34 例。ヤマサキットにより血中 AVP を測定し、解析した。

【結果】

34 例の内訳は、CDI12 例、非 CDI22 例。非 CDI22 例中 10 例は DDAVP 以外のホルモン補充療法を受けていた。CDI 全 12 例が DDAVP を使用していたが、いずれも血中 AVP は低値であった。非 CDI22 例の高張食塩水負荷試験結果では、9 例が低 AVP 分泌反応 (反応障害) を、13 例が正常 AVP 分泌反応 (正常反応) を示した。CDI 群 (12 例)、

反応障害（IR）群（9例）、正常反応（NR）群（13例）の臨床病態を検討したところ、CDI群とIR群は、NR群に比べ、視床下部・下垂体障害の合併頻度が高かった。

【考察とまとめ】

DDAVP使用は、ヤマサキットによる血中AVP測定値に影響しなかったことから、ヤマサキットはDDAVPと交差反応性を持たないと考えられた。高張食塩水負荷試験に対する低AVP分泌反応性（IR群）は、潜在的CDIの存在が示唆された。実際に、IR群の多くが、下垂体前葉機能障害と診断され、補充療法を受けていた。本研究は、高張食塩水負荷試験とヤマサキットによる高感度無交差反応性AVP測定法の併用が、臨床的・潜在的CDI両者の診断に有用であることを証明したものであり、学位授与に値する論文と判断した。

氏名	うちのたいりん 内野大倫
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第522号
学位授与年月日	平成30年12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	Functional Analysis of Histone H2AX for DNA Damage Responses in Cancer Cells (癌細胞におけるDNA損傷応答に対するヒストンH2AXの働き)
論文審査委員	(主査) 教授 高見昭良 教授 細川好孝 教授 三嶋秀行 教授 森直治

学位論文内容の要旨

【背景】

ヒストン H2AX の Ser139 リン酸化である γ H2AX は、DNA 二重鎖切断部位の修復に重要な役割を果たしている。DNA 損傷応答タンパクを誘導し、誘導された MDC1 は、DNA 損傷部位に 53BP1、リン酸化 ATM、および BRCA1 を誘導する。また、H2AX のユビキチン化も損傷部位への 53BP1 や BRCA1 などの誘導に関与することが報告されている。しかし、 γ H2AX や MDC1 の DNA 損傷応答と翻訳語修飾に関する機序は明確に解明されていない。

【目的】

DNA 損傷応答における γ H2AX や MDC1 の重要性について検討する。

【方法】

H2AX-WT, K13R, K15R, K13R/K15R(2KR), S139A のいずれかを発現する H2AX ノックアウト Hela 細胞を作製し DNA 損傷応答について検討した。

【結果】

- ① γ H2AX の foci 形成は、対照および K13R, K15R, 2KR で検出されたが、S139A ならびにノックアウト細胞では観察されなかった。
- ② H2AX ノックアウト細胞では、放射線照射後の MDC1 の foci 形成はほぼ消失した。K13R, K15R および 2KR, WT では、MDC1 の foci 形成機能を取り戻したが、S139A は消失したままであった。FACS 解析では細胞周期に変化はなかった。

- ③ H2AX ノックアウト細胞では、放射線照射後の BRCA1 の foci 形成機能が対照と比べて中程度に低下したが、K13R, K15R, 2KR では、対照と同程度に回復した。また、53BP1 の foci 数は対照よりも少なかったが検出可能であった。
- ④放射線照射に対する感受性定量目的のコロニー形成アッセイでは、5Gy で感受性が低下した以外、対照と比較して影響はなかった。

【結論】

- ① K13 / K15 におけるユビキチン化は MDC1 の誘導に不可欠である。
- ② 53BP1, BRCA1 の誘導は γ H2AX 依存性であるが、その効果は最小限であり、K13 / K15 における H2AX のユビキチン化はこれらの誘導に関与していない。
- ③ H2AX およびその翻訳後修飾が Chk1 依存 G2 チェックポイントの活性化に重要でないことおよび放射線感受性に関与していない。

【考察】

今回の研究結果から、ゲノム維持における H2AX のリン酸化や MDC1 の誘導は有糸分裂は制御するが、以前に報告されているより DNA 損傷応答の調節における重要性は低いと考えられた。

論文審査の結果の要旨

【背景と目的】

DNA に損傷が生じると、ヒストン H2AX (変異体) に様々な変化が生じる (DNA 損傷修復応答)。たとえば、セリン 139 のリン酸化や、リシン 13・15 のユビキチン化が生じる。このような翻訳後修飾が、DNA 損傷修復応答にどのような役割を果たすか、不明である。今回、癌細胞における DNA 損傷修復応答に、H2AX の翻訳後修飾がどのように機能するか検討した。

【対象と方法】

上皮性癌由来の HeLa 細胞株、線維芽細胞由来の MEF 細胞株を用い、S139A, K13R/K15R を含むアミノ酸置換を行い、種々の H2AX^{-/-} 変異細胞株を樹立した。各変異細胞株細胞を用い、DNA 損傷修復応答を調べた。

【結果】

クロマチン損傷に対する MDC1 誘導能をみたところ、H2AX S139A 変異細胞株細胞ではほぼ消失していたが、H2AX K13R/K15R 変異細胞株細胞では、変化はみられなかった。クロマチン損傷に対する BRCA1 誘導能をみたところ、H2AX S139A 細胞では部分的に低下していた。DNA 損傷に対する G2 チェックポイントの活性化や感受性は、野生細胞株細胞と変異細胞株細胞間で、有意な差はみられなかった。

【考察とまとめ】

正常な細胞では、DNA 損傷修復応答に対し、H2AX や翻訳後修飾が重要な役割を担っていると考えられていた。今回癌細胞を用いて検討したところ、DNA 損傷修復応答が H2AX、翻訳後修飾と異なった経路で調整されている可能性が示された。これまでの固定概念を覆す成果であり、新規抗がん薬の開発戦略に大きな影響を及ぼすと考えられる。以上から、学位授与に値する論文と判断した。

氏名	佐喜真 未 帆
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第523号
学位授与年月日	平成30年12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	VEGFR-3 signaling is regulated by a G-protein activator, activator of G-protein signaling 8, in lymphatic endothelial cells (リンパ管内皮細胞における VEGFR-3 シグナル伝達は、Gタンパク活性調節因子8により制御される)
論文審査委員	(主査) 教授 細川 好孝 教授 内藤 宗和 教授 伊藤 恭彦 教授 中野 正吾

学位論文内容の要旨

【背景と目的】

三量体G蛋白シグナル伝達経系は生体調節の重要な経路であるが、受容体以外に直接G蛋白を制御する蛋白(G蛋白活性調節因子)が存在する。虚血心筋組織から同定された Activator of G protein Signaling 8 (AGS8) はG蛋白 $\beta\gamma$ サブユニットと結合しシグナルを制御する。最近、AGS8は血管内皮増殖因子(VEGF)受容体であるVEGFR-2シグナルを制御することが報告された。

VEGF受容体ファミリーには、主にリンパ管内皮細胞に発現しリンパ管形成に関与するVEGFR-3があるが、AGS8がVEGFR-3を制御するかは検討されていない。リンパ管の新生は、リンパ浮腫、腫瘍リンパ管新生、炎症に伴うリンパ管新生といった病態に密接に関与する重要な問題である。本研究は、AGS8がVEGFR-3制御を介してリンパ管形成に関与する可能性を検討することを目的とした。

【方法】

培養ヒト皮膚リンパ管内皮細胞(HDLEC)のAGS8をsmall interfering RNA (siRNA)を用いてノックダウンし、VEGFCの効果をTube formation assay, MTT cell proliferation assay, Cell migration assayで検討した。またVEGFR-3のリン酸化と下流シグナルへの影響を免疫沈降およびウエスタンブロット法を用いて検討した。さらに細胞膜表面のVEGFR-3の発現についてFlow cytometerおよび免疫蛍光染色法を用いて評価

した。また、細胞内で AGS8 と VEGFR-3 が蛋白複合体を形成する可能性を免疫沈降法で検討した。

【結果】

HDLEC の AGS8 をノックダウンすると、VEGFC が誘導する管腔形成、細胞増殖および細胞移動が抑制された。一方、上皮成長因子に対する HDLEC の反応性は AGS8 ノックダウンにより影響を受けなかった。次に、VEGFC が誘導する VEGFR-3 リン酸化と下流シグナルを検討したところ、AGS8 ノックダウンにより VEGFR-3、ERK1/2 および AKT のリン酸化が抑制された。AGS8 ノックダウンによる VEGFR-3 発現の変化を検討したところ、細胞全体での発現には変化がみられなかったが、細胞表面上の VEGFR-3 発現は減少した。さらに、細胞に発現させた AGS8 を免疫沈降したところ、VEGFR-3、G 蛋白 $\beta\gamma$ サブユニットが共沈降され、これら蛋白が複合体を形成していると考えられた。

【結論】

AGS8 は VEGFR-3 の細胞膜への移動に関与し、VEGFC が誘導するリンパ管内皮細胞の増殖、移動、管腔形成に関与した。得られた結果は、G 蛋白活性調節因子によるリンパ管制御機構の可能性を示すものであり、リンパ管新生を伴う病態生理の解明に寄与するものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

【背景と目的】

三量体 G 蛋白シグナル伝達経系は生体調節の重要な経路であるが、受容体以外に直接 G 蛋白を制御する蛋白 (G 蛋白活性調節因子) が存在する。虚血心筋組織から同定された Activator of G protein Signaling 8 (AGS8) は、血管内皮増殖因子 (VEGF) 受容体である VEGFR-2 シグナルを制御することが報告されている。VEGF 受容体ファミリーには、主にリンパ管内皮細胞に発現しリンパ管形成に関与する VEGFR-3 があるが、AGS8 が VEGFR-3 を制御するかは不明である。本研究は、AGS8 が VEGFR-3 制御を介してリンパ管形成に関与する可能性を検討することを目的とした。

【方法】

- 1) 培養ヒト皮膚リンパ管内皮細胞 (HDLEC) の AGS8 を small interfering RNA (siRNA) を用いてノックダウンし、VEGFC の効果を Tube formation assay, MTT cell proliferation assay, Cell migration assay で検討した。
- 2) VEGFR-3 のリン酸化と下流シグナルへの影響を、免疫沈降およびウエスタンブロット法を用いて検討した。
- 3) 細胞膜表面の VEGFR-3 の発現について、Flow cytometer および免疫蛍光染色法を用いて評価した。

4) 細胞内で AGS8 と VEGFR-3 が蛋白複合体を形成する可能性を免疫沈降法で検討した。

【結果】

HDLEC の AGS8 をノックダウンすると、VEGFC が誘導する管腔形成、細胞増殖および細胞移動が抑制された。一方、上皮成長因子に対する HDLEC の反応性は AGS8 ノックダウンにより影響を受けなかった。次に、VEGFC が誘導する VEGFR-3 リン酸化と下流シグナルを検討したところ、AGS8 ノックダウンにより VEGFR-3、ERK1/2 および AKT のリン酸化が抑制された。

AGS8 ノックダウンによる VEGFR-3 発現の変化を検討したところ、細胞全体での発現には変化がみられなかったが、細胞表面上の VEGFR-3 発現は減少した。さらに、細胞に発現させた AGS8 を免疫沈降したところ、VEGFR-3、G 蛋白 $\beta \gamma$ サブユニットが共沈降され、これら蛋白が複合体を形成していると考えられた。

【結論】

AGS8 が VEGFR-3 の細胞膜への移動に関与することによって、VEGFC が誘導するリンパ管内皮細胞の増殖、移動、管腔形成に寄与することが示された。

以上の研究結果は、G 蛋白活性調節因子 AGS8 によるリンパ管制御機構を明らかにし、リンパ管新生を伴う病態生理の解明に新たな可能性を示すものであり、学位授与に値すると評価した。

氏名	高尾晶子
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第524号
学位授与年月日	平成30年12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	Generation of PTEN-knockout(-/-) murine prostate cancer cells using the CRISPR/Cas9 system and comprehensive gene expression profiling (CRISPR/Cas9システムを用いたPTENノックアウトマウス前立腺癌細胞の樹立と網羅的発現遺伝子の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 伊藤 恭彦 教授 高村 祥子 教授 池田 洋 教授 三嶋 秀行

学位論文内容の要旨

【背景】

Phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10 (PTEN) は腫瘍抑制遺伝子として知られており、多くの癌でその変異や欠損が見つまっている。しかしながら、PTEN 欠損と関連して発現状況が変化する遺伝子については十分に研究されていない。そこで、マウス前立腺癌組織由来細胞株を対象に、遺伝子編集技術を用いて PTEN 発現をノックアウトした細胞株を樹立し、親株とノックアウト株における遺伝子発現の変化を確認し、PTEN 発現の欠損により影響を受ける遺伝子発現の変化を網羅的に解析した。

【方法】

1. CRISPR/Cas9 遺伝子編集システムを用いて、マウス前立腺癌由来細胞株 (parent) から PTEN ノックアウト細胞 (Δ PTEN) を作成した。
2. 作成した Δ PTEN 細胞、空ベクター導入細胞 (mock 細胞)、親株細胞を用いて、生物学的性状 {形態, 増殖能力, 発現分子 (Western blotting)} を確認し、発現遺伝子 (mRNA, microRNA) についてマイクロアレイ法で網羅的に比較、解析した。

【結果】

1. CRISPR/Cas9 システムにより PTEN 遺伝子に 1 塩基欠損が導入され、PTEN 蛋白発現がノックアウトされた細胞株 (Δ PTEN) を作成した。

2. 得られた Δ PTEN の性状

- ①親株と比して細胞の形の不均一性が認められた。
- ②増殖能, コロニー形成能共に親株に比して高かった。
- ③発現蛋白について Western blotting で検査したところ, PTEN の発現は認められなかった。また, Akt, 腫瘍抑制蛋白 (RB) のリン酸化レベルの増加, cyclinD1 と CDK4 の発現の増強と CDK7 の発現減少が観察された。
- ④発現遺伝子の比較をしたところ, 10 倍以上増加した遺伝子が, Tet1, Twist2, Argl, Figf, Wnt3 など 111, 減少した遺伝子が Ptgr1, Galnt14 など 23 検出された。また, マイクロ RNA では mmu-miR-210-3p の増加が観察・確認された。

【考察】

PTEN 分子の発現の欠損が, 非常に多くの遺伝子の発現に影響していることが観察された。この多くの遺伝子の発現には, DNA の脱メチル化に関わる酵素をコードする Tet1 遺伝子の関与が示唆された。また, Twist2, Figf, Wnt3 等のがんの進行, 悪性化, 転移, 血管新生などに関与する遺伝子の発現増強も認められ, PTEN 欠損に伴う他の遺伝子の発現の変化による細胞のがん化や悪性化が誘導される事も示唆された。さらに Argl の発現増強により PTEN 欠損細胞周囲の個体の生体免疫防御機能の抑制を誘導し, がん細胞の増殖を進める事も示唆された。

【結語】

PTEN 分子の発現欠損が, 多くの遺伝子発現に変化を誘導し, 細胞のがん化に寄与していることを観察した。PTEN の欠損によるがん化の機序については, 様々な遺伝子が関わっていることが示唆され, その解明には今回発現の変化が観察された遺伝子について, より詳細な検討が必要と考えられた。

論文審査の結果の要旨

【背景】

Phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10 (PTEN) は腫瘍抑制遺伝子として知られており, 多くの癌でその変異や欠損が見つまっている。しかしながら, PTEN 欠損と関連して発現状況が変化する遺伝子については十分に研究されていない。そこで, 当研究者は, マウス前立腺癌組織由来細胞株を対象に, 遺伝子編集技術を用いて PTEN 発現をノックアウトした細胞株を樹立し, 親株とノックアウト株における遺伝子発現の変化を確認し, PTEN 発現の欠損により影響を受ける遺伝子発現の変化を網羅的に解析した。

【方法】

1. CRISPR/Cas9 遺伝子編集システムを用いて, マウス前立腺癌由来細胞株 (parent) か

ら PTEN ノックアウト細胞 (Δ PTEN) を作成した。

2. 作成した Δ PTEN 細胞, 空ベクター導入細胞 (mock 細胞), 親株細胞を用いて, 生物学的性状 {形態, 増殖能力, 発現分子 (Western blotting)} を確認し, 発現遺伝子 (mRNA, microRNA) についてマイクロアレイ法で網羅的に比較, 解析した。

【結果】

1. CRISPR/Cas9 システムにより PTEN 遺伝子に 1 塩基欠損が導入され, PTEN 蛋白発現がノックアウトされた細胞株 (Δ PTEN) を樹立し, 特性を評価した。
2. 得られた Δ PTEN の性状
 - ①親株と比して細胞の形の不均一性が認められた。
 - ②増殖能, コロニー形成能共に親株に比して高かった。
 - ③発現蛋白について Western blotting で検査したところ, PTEN の発現は認められなかった。また, Akt, 腫瘍抑制蛋白 (RB) のリン酸化レベルの増加, cyclinD1 と CDK4 の発現の増強と CDK7 の発現減少が観察された。
 - ④発現遺伝子の比較をしたところ, 10 倍以上増加した遺伝子が, Tet1, Twist2, Argl, Figf, Wnt3 など 111, 減少した遺伝子が Ptgr1, Galnt14 など 23 検出された。また, マイクロ RNA では mmu-miR-210-3p の増加が観察・確認された。

【考察】

ゲノム編集法を用いて PTEN 欠損マウス前立腺がん細胞株を樹立。PTEN 分子の発現の欠損が, 非常に多くの遺伝子の発現に影響していることを見出した。この多くの遺伝子の発現には, DNA の脱メチル化に関わる酵素をコードする Tet1 遺伝子の関与が示唆された。また, Twist2, Figf, Wnt3 等のがんの進行, 悪性化, 転移, 血管新生などに関与する遺伝子の発現増強も認められ, PTEN 欠損に伴う miRNA-210-3p 遺伝子を含む遺伝子の発現の変化による細胞のがん化や悪性化が誘導される事も示唆された。さらに Argl の発現増強により PTEN 欠損細胞周囲の個体の生体免疫防御機能の抑制を誘導し, がん細胞の増殖を進める事も示唆された。

【結語】

PTEN 分子の発現欠損が, 多くの遺伝子発現の変化を誘導し, 細胞のがん化, 進展に深く寄与していることを明らかにした。本研究により PTEN の欠損によるがんの進展機序メカニズムがより明らかとなった。以上の点より, 本研究はがんの基礎研究に大きく貢献するものであり, 学位授与に値する論文と判断する。

氏名	あ だち かず のり 足 立 和 規
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第525号
学位授与年月日	平成31年3月2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	Gut microbiota disorders cause type 2 diabetes mellitus and homeostatic disturbances in gut-related metabolism in Japanese subjects (日本人における腸内細菌の乱れは2型糖尿病やホメオスタシスの障害を引き起こす)
論文審査委員	(主査) 教授 森 直 治 教授 高 村 祥 子 教授 菊 地 正 悟 教授 中 村 二 郎

学位論文内容の要旨

【背景と目的】

近年、腸内細菌叢の網羅的遺伝子検査や代謝産物の研究を背景に、腸内細菌が生体の生理機能や病的変化に関与していることが明らかになってきた。2型糖尿病患者では腸内細菌のバランス異常や血中への腸内細菌叢の移行なども報告されている。また血糖値とある種の腸内細菌は相関することや、肥満の改善により腸内細菌叢が改善するとの報告もある。しかし腸内細菌は加齢により変化することも報告されており、健常人との対比された報告はまだ少ない。そこで本研究では健常者（非糖尿病）と糖尿病患者の腸内細菌叢の差異について、また、食生活と腸内細菌叢との関連についても比較した。

【対象と方法】

20歳以上80歳未満の年齢をマッチさせた健常者（コントロール群：消化管手術歴あり、高度の肝腎障害あり、妊婦授乳婦は除外）と糖尿患者（DM群）各59名に採血、採便、食生活アンケートを行った。便検査では凍結保存してT-RFLP法にて腸内細菌叢を解析し、食生活、腸内細菌、便中短鎖脂肪酸、血中代謝マーカーの関連につき検討した。

【結果】

患者背景においてBMIは2群間で有意差を認めなかった。DM群はコントロール群に比べ炭水化物摂取比率が高かった（57.1% vs 55.4%, $p < 0.01$ ）が総エネルギー、脂肪、蛋

白質摂取割合は差を認めなかった。クラスター分析においてDM群とコントロール群の腸内細菌叢は異なっており、おおよそ2群に分けられた。腸内細菌叢の比較ではDM群が健常群と比べて便中の *Bifidobacterium* 属, *Lactobacillales* 目の増加, *Bacteroides* 属の低下を認めた。便中脂肪酸はDM群でプロピオン酸の低下, 酪酸・コハク酸の上昇を認めた。腸内細菌と食生活の関連においてDM群では炭水化物が *Bifidobacterium* 属 ($r=-0.420$, $p<0.01$)・*Clostridium* clusterIV ($r=0.266$, $p<0.05$) と相関を認めた。タンパク質は *Clostridium* clusterXI ($r=0.363$, $p=0.01$)・*Lactobacillales* 目 ($r=-0.275$, $p<0.05$) と相関を認めた。コントロール群では *Clostridium* subclusterXIVA が総エネルギーと相関を認めるのみであった ($r=-0.264$, $p=0.05$)。コントロール群においては、腸内細菌と血中代謝マーカーとの関連性がみられたが、DM群では腸内細菌と主に食事内容との関連性がみられた。

【考察・結語】

糖尿病患者は腸内細菌の dysbiosis を認めており、これは病気の発症や進展に影響に関与している可能性がある。また、腸関連の代謝ホメオスタシス障害が糖尿病の病因の基礎となっている可能性もある。

論文審査の結果の要旨

【背景と目的】

近年、腸内細菌叢の網羅的遺伝子検査や代謝産物の研究を背景に、腸内細菌が生体の生理機能や病的変化に関与していることが明らかになってきた。2型糖尿病患者では腸内細菌のバランス異常や血中への腸内細菌叢の移行なども報告されている。また血糖値とある種の腸内細菌は相関することや、肥満の改善により腸内細菌叢が改善するとの報告もある。しかし腸内細菌は加齢により変化することも報告されており、健常人との対比された報告はまだ少ない。そこで本研究では健常者（非糖尿病）と糖尿病患者の腸内細菌叢の差異について、また、食生活と腸内細菌叢との関連についても比較した。

【対象と方法】

20歳以上80歳未満の年齢をマッチさせた健常者（コントロール群：消化管手術歴あり、高度の肝腎障害あり、妊婦授乳婦は除外）と糖尿患者（DM群）各59名に採血、採便、食生活アンケートを行った。便検査では凍結保存してT-RFLP法にて腸内細菌叢を解析し、食生活、腸内細菌、便中短鎖脂肪酸、血中代謝マーカーの関連につき検討した。

【結果】

患者背景においてBMIは2群間で有意差を認めなかった。DM群はコントロール群に比べ炭水化物摂取比率が高かった（57.1% vs 55.4%, $p<0.01$ ）が総エネルギー、脂肪、蛋白質摂取割合は差を認めなかった。クラスター分析においてDM群とコントロール群の腸内細菌叢は異なっており、おおよそ2群に分けられた。腸内細菌叢の比較ではDM群

が健常群と比べて便中の *Bifidobacterium* 属, *Lactobacillales* 目の増加, *Bacteroides* 属の低下を認めた。便中脂肪酸は DM 群でプロピオン酸の低下, 酪酸・コハク酸の上昇を認めた。腸内細菌と食生活の関連において DM 群では炭水化物が *Bifidobacterium* 属 ($r = -0.420$, $p < 0.01$)・*Clostridium* clusterIV ($r = 0.266$, $p < 0.05$) と相関を認めた。タンパク質は *Clostridium* clusterXI ($r = 0.363$, $p < 0.01$)・*Lactobacillales* 目 ($r = -0.275$, $p < 0.05$) と相関を認めた。コントロール群では *Clostridium* subclusterXIVa が総エネルギーと相関を認めるのみであった ($r = -0.264$, $p < 0.05$)。コントロール群においては, 腸内細菌と血中代謝マーカーとの関連性がみられたが, DM 群では腸内細菌と主に食事内容との関連性がみられた。

【考察・結語】

2 型糖尿病患者は腸内細菌叢の異常変化を認めており, 糖尿病の発症や進展に影響に関与している可能性がある。また, 腸関連の代謝障害が病因の基礎となっている可能性もあると考えられた。

本研究は 2 型糖尿病患者の腸内細菌叢の変化と便中短鎖脂肪酸量の, 食生活や血中代謝マーカーとの関連について解明しており, 今後, 糖尿病発症のメカニズムや予防, 対策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	岩田力 <small>いわ た つとむ</small>
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第526号
学位授与年月日	平成31年3月2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 G2 checkpoint inhibitor CBP-93872 increases the sensitivity of colorectal and pancreatic cancer cells to chemotherapy (G2チェックポイント阻害剤であるCBP-93872は大腸癌および膵臓癌細胞株に対する抗癌剤の感受性を増加させる)
論文審査委員	(主査) 教授 三嶋秀行 教授 高見昭良 教授 中野正吾 教授 森直治

学位論文内容の要旨

【背景】

悪性腫瘍の約半数に p53 遺伝子の変異が認められ、機能が欠失していることが分かっている。つまり多くの癌細胞では DNA 損傷に応答した G1 期の細胞周期停止が起こらず、G2 チェックポイントのみに依存して DNA 損傷に対応している。CBP-93872 は ATM から ATR の活性化を阻害することによって DNA 二重鎖切断による G2 チェックポイントの維持を特異的に阻害し、G1 チェックポイントが機能しない p53 変異癌に対する抗癌治療の新規増強剤としての有用性が強く期待されるものである。本研究の目的は臨床応用の次のステップとして CBP-93872 と一般的な消化器癌領域の抗癌剤を併用させ、その効果や作用機序を解析した。

【方法】

大腸癌 (HT29) および膵臓癌 (Panc-1) 細胞株に対して CBP-93872 と白金製剤である Oxaliplatin・Cisplatin, プリミジン代謝拮抗剤である 5-fluorouracil・Gemcitabine を併用し、① CBP-93872 の併用による生細胞の状況②アポトーシスが引き起こされた作用機序を WST-1 assay, Western blot 法および FACS 法により解析を行った。

【結果】

① CBP-93872 と各々の抗癌剤処理後 72 時間で WST-1 assay により吸光度の比較をす

ると、CBP-93872 併用群で強く細胞死を認めた。また Western blot 法による併用群での cleaved-caspase3 の発現量や、FACS 法による解析では併用群ではコントロールと比べて Sub-G1 の割合が上昇したことから、併用群で強いアポトーシスの誘導が示唆された。② Western blot 法では CBP-93872 と抗癌剤の併用により ATR と Chk1 のリン酸化の低下、その下流である Cdc25C・Cdk1 のリン酸化の低下を認め、FACS 法では併用群で H3-pS10 の増加を認めた。以上の結果より、CBP-93872 併用効果を認める作用機序として、G2 チェックポイントの阻害のために細胞修復がなされないままに M 期への進行を引き起こしアポトーシスが導かれることが示唆された。

【結論】

今回の研究では CBP-93872 は消化器癌治療域で使用されている抗癌剤の感受性を増強させる結果となった。今後は様々な分野で様々な抗癌剤との組み合わせで臨床適応できれば新たな治療戦略として十分に期待できるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

【背景】

多くの癌細胞では p53 遺伝子の変異が認められ、DNA 損傷に応答した G1 期の細胞周期停止が起こらず、G2 チェックポイントのみに依存して DNA 損傷に対応している。CBP-93872 は G2 チェックポイント阻害剤であり、ATM (ataxia telangiectasia, mutated) から ATR (ATM and Rad3-related) の活性化を阻害することによって DNA 二重鎖切断による G2 チェックポイントの維持を特異的に阻害し、G1 チェックポイントが機能しない p53 変異癌に対する抗癌治療の新規増強剤としての有用性が期待されている。本研究の目的は、CBP-93872 の臨床応用への可能性を検討することであり、CBP-93872 を消化器癌領域の抗癌剤と併用して、その効果や作用機序を解析した。

【方法】

大腸癌 (HT29) および膵臓癌 (Panc-1) 細胞株に対して CBP-93872 と白金製剤である Oxaliplatin・Cisplatin, プリミジン代謝拮抗剤である 5-fluorouracil・Gemcitabine を併用し、① CBP-93872 の併用による生細胞の状況②アポトーシスが引き起こされた作用機序を WST-1 assay, Western blot 法および FACS 法により解析を行った。

【結果】

- ① CBP-93872 と各々の抗癌剤を併用した 72 時間後に WST-1 assay にて吸光度の比較を行った結果、CBP-93872 併用群で強い細胞死を認めた。併用群では cleaved-caspase3 の発現量 (Western blot 法) が上昇し、コントロールと比べて Sub-G1 の割合も上昇 (FACS 法) したことから、併用群で強いアポトーシスの誘導が示唆された。
- ② Western blot 法では CBP-93872 と抗癌剤の併用により ATR と Chk1 のリン酸化の低

下とその下流である Cdc25C・Cdk1 のリン酸化の低下を認め、FACS 法では併用群で H3-pS10 の増加を認めた。

以上の結果より、CBP-93872 併用効果の作用機序として、G2 チェックポイント阻害のために細胞修復がなされないまま M 期への進行を引き起こし、アポトーシスが導かれることが示唆された。

【結論】

G2 チェックポイント阻害剤である CBP-93872 は、消化器癌領域で使用されている抗癌剤の感受性を増強したことから、新たな治療薬として期待できる薬である。

本研究は、G2 チェックポイント阻害剤である CBP-93872 と消化器癌領域で使用されている抗癌剤の併用効果を検討した初めての論文であり、新薬の開発に寄与すると期待される。以上より、学位授与に値する論文であると判定した。

氏名	大澤高陽
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第527号
学位授与年月日	平成31年3月2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	Bile Leakage After Hepatectomy for Liver Tumors (肝腫瘍切除後の胆汁漏に関する検討)
論文審査委員	(主査) 教授 小林孝彰 教授 高村祥子 教授 米田政志 教授 三嶋秀行

学位論文内容の要旨

肝切除の合併症の1つである胆汁漏には診断基準がなく、施設によって報告が様々であったが、International Study Group of Liver Surgery (ISGLS) から胆汁漏の定義と重症度に応じた分類が提案された。(定義：術後3日目以降でドレーンビリルビン値が血清値の3倍を超える。重症度：Grade A 臨床経過に影響なし，Grade B 追加ドレナージやドレーン交換による治療を要する，Grade C 再手術を要する)

【目的】

ISGLSによる胆汁漏の定義・重症度分類の妥当性を検証した上で、肝切除後の胆汁漏のリスクファクターを明らかにする。

【対象・方法】

2006年～2012年の間に肝腫瘍で肝切除を受けた325例のうち、不適格症例83例を除外した242例を解析対象とした。術後のドレーン留置は1切離面につき1本で、当時の施設基準により、ドレーンビリルビン値が5.0mg/dl以下の場合、術後5日目前後でドレーンを抜去した。ISGLSの定義に従って、後方視的に胆汁漏の有無と重症度を判定し、臨床的要因や術前検査値から胆汁漏のリスクファクターとなり得るものはないかを多変量解析を用いて検討した。

【結果】

242例のうち、ISGLSの定義に従って胆汁漏と判断されたものは72例あり重症度の内訳はGrade A 65例(26.9%)，Grade B 7例(2.9%)で，Grade Cに該当するものはなかった。胆汁漏がない群とGrade A群では術後在院日数に有意差を認めなかったが，Grade A群

と Grade B 群では有意差を認めた（中央値：11 日 vs.21 日）。胆汁漏のリスクファクターについて多変量解析を行ったところ、手術時間 (>217 分) (p=0.040), 胆嚢摘出 (p=0.048), 門脈塞栓術なし (p=0.010), 術前化学療法 (p=0.021) が独立した有意な要因であった。

【結論】

ISGLS による胆汁漏の定義・重症度分類は臨床的に妥当で比較の標準化に有用である。また、手術時間, 胆嚢摘出, 門脈塞栓術未施行, 術前化学療法は胆汁漏の有意なリスクファクターであった。

論文審査の結果の要旨

肝切除の合併症の 1 つである胆汁漏には診断基準がなく、施設によって報告が様々であったが、International Study Group of Liver Surgery (ISGLS) から胆汁漏の定義と重症度に応じた分類が提案された。(定義：術後 3 日目以降でドレーンビリルビン値が血清値の 3 倍を超える。重症度：Grade A 臨床経過に影響なし, Grade B 追加ドレナージやドレーン交換による治療を要する, Grade C 再手術を要する)

ISGLS による胆汁漏の定義・重症度分類の妥当性を検証した上で、肝切除後の胆汁漏のリスクファクターを明らかにする。

2006 年～2012 年の間に肝腫瘍で肝切除を受けた 325 例のうち、不適格症例 83 例を除外した 242 例を解析対象とした。術後のドレーン留置は 1 切離面につき 1 本で、当時の施設基準により、ドレーンビリルビン値が 5.0mg/dl 以下の場合、術後 5 日目前後でドレーンを抜去した。ISGLS の定義に従って、後方視的に胆汁漏の有無と重症度を判定し、臨床的要因や術前検査値から胆汁漏のリスクファクターとなり得るものはないかを多変量解析を用いて検討した。

242 例のうち、ISGLS の定義に従って胆汁漏と判断されたものは 72 例あり重症度の内訳は Grade A 65 例 (26.9%), Grade B 7 例 (2.9%) で、Grade C に該当するものはなかった。胆汁漏がない群と Grade A 群では術後在院日数に有意差を認めなかったが、Grade A 群と Grade B 群では有意差を認めた（中央値：11 日 vs.21 日）。胆汁漏のリスクファクターについて多変量解析を行ったところ、手術時間 (>217 分) (p=0.040), 胆嚢摘出 (p=0.048), 門脈塞栓術なし (p=0.010), 術前化学療法 (p=0.021) が独立した有意な要因であった。

ISGLS による胆汁漏の定義・重症度分類は臨床的に妥当で比較の標準化に有用である。また、手術時間, 胆嚢摘出, 門脈塞栓術未施行, 術前化学療法は胆汁漏の有意なリスクファクターであった。

本論文は、ISGLS による胆汁漏の定義、重症度分類の妥当性を検証し、さらに胆汁漏のリスク因子を解析した画期的な研究報告である。国際標準として用いられる診断基準による解析結果であり、世界中で比較検討が可能なインパクトのある研究である。臨床的意

義も大きく，学位授与に値する論文であると評価した。

氏名	田口 宗太郎 (たぐち そうたろう)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第528号
学位授与年月日	平成31年3月2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	Motor improvement-related regional cerebral blood flow changes in Parkinson's disease in response to antiparkinsonian drugs (抗パーキンソン病薬への反応性からみたパーキンソン病の運動症候改善に連関する局所脳血流変化)
論文審査委員	(主査) 教授 吉田 眞理 教授 岡田 尚志郎 教授 鈴木 耕次郎 教授 宮地 茂

学位論文内容の要旨

【背景】

パーキンソン病 (PD) 患者において、抗 PD 薬がもたらす局所脳血流変化と臨床症候改善の関係は明確に解明されているとは言い難い。脳機能の変化を経時的に捉えうる検査には、脳血流 SPECT (Single photon emission computed tomography) がある。

【目的】

抗 PD 薬がもたらす PD の運動症候改善に連関する局所脳血流変化を同定する。

【方法】

対象は、30名のPD患者(男19名・女11名、年齢 73.5 ± 8.2 歳、罹病期間 6.4 ± 6.3 年、Hoehn Yahr 2.6 ± 6.9 、Mini-Mental State Examination [MMSE] 25.2 ± 3.8 点、認知症あり14名、なし16名)。 ^{99m}Tc -ECDによるSPECT撮影および国際運動障害学会 Unified PD Rating Scale 改訂版 (MDS-UPDRS) による運動症候評価を抗 PD 薬投与前後で行った。得られた SPECT データを Statistical Parametric Mapping 2, the easy Z-score Imaging System, voxel-based Stereotactic Extraction Estimation を用いて統計学的に処理し、局所脳血流変化と運動症候改善の関係について解析した。

【結果】

抗 PD 薬により、全症例で運動症候は改善。被殻, 淡蒼球, 黒質 (SN), 外側膝状体 (LG),

内側膝状体 (MG), 視床枕, 前腹側核, 後腹側核, 島, 一次視覚野, 赤核, 体性感覚連合野の血流が増加する一方, 前頭皮質では背外側前頭前皮質でわずかな増加をみたものの前帯状皮質, 下前頭回, 眼窩前頭皮質において血流は低下した。皮質部と比べ, 脳深部は大きく血流が変化する傾向であった。SN・LG・MG 血流増加の程度は, 運動症候改善の程度と相関した。サブ解析の結果, 抗 PD 薬による SN・LG 血流反応性は認知症に影響されるが, MG の場合認知機能によらず安定した反応を示した。

【考察】

本研究では, PD 患者における抗 PD 薬投与による局所脳血流変化を示すとともに, 抗 PD 薬がもたらす PD の運動症候改善に関連した局所脳血流変化を示す領域として LG と MG を新たに見出した。これら結果は, PD の運動症候改善に関連した局所脳血流変化を示す領域が PD 進行の客観的な臨床指標となり得る可能性を示唆するほか, 視聴覚刺激を用いた治療との関連から, LG および MG に焦点をあてた脳機能研究が PD の病態生理のさらなる解明のきっかけとなる可能性も考えられる。

【結論】

本研究は, PD 病患者において抗 PD 薬内服に反応して局所脳血流が様々に変化することを明らかにし, とくに大脳基底核-視床では運動症状の改善に関連して血流増加を呈する領域があることを示した。この成果は, PD の治療反応性あるいは予後予測に有用な臨床指標を提供するとともに, 本症の病態に関わる視覚・聴覚情報処理解明研究の進展に資するものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

パーキンソン病 (PD) 患者において, 抗 PD 薬がもたらす局所脳血流変化と臨床症候改善の関係は明確に解明されているとは言い難い。脳機能の変化を経時的に捉えうる検査には, 脳血流 SPECT (Single photon emission computed tomography) がある。

抗 PD 薬がもたらす PD の運動症候改善に関連する局所脳血流変化を同定することを目的に本研究がおこなわれた。

本研究の対象は, 30 名の PD 患者 (男 19 名・女 11 名, 年齢 73.5 ± 8.2 歳, 罹病期間 6.4 ± 6.3 年, Hoehn Yahr 2.6 ± 6.9 , Mini-Mental State Examination [MMSE] 25.2 ± 3.8 点, 認知症あり 14 名・なし 16 名) である。^{99m}Tc-ECD による SPECT 撮影および国際運動障害学会 Unified PD Rating Scale 改訂版 (MDS-UPDRS) による運動症候評価を抗 PD 薬投与前後で行った。得られた SPECT データを Statistical Parametric Mapping 2, the easy Z-score Imaging System, voxel-based Stereotactic Extraction Estimation を用いて統計学的に処理し, 局所脳血流変化と運動症候改善の関係について解析した。この結果, 抗 PD 薬により, 全症例で運動症候は改善。被殻, 淡蒼球, 黒質 (SN), 外側膝状体 (LG),

内側膝状体 (MG), 視床枕, 前腹側核, 後腹側核, 島, 一次視覚野, 赤核, 体性感覚連合野の血流が増加する一方, 前頭皮質では背外側前頭前皮質でわずかな増加をみたものの前帯状皮質, 下前頭回, 眼窩前頭皮質において血流は低下した。皮質部と比べ, 脳深部は大きく血流が変化する傾向であった。SN・LG・MG 血流増加の程度は, 運動症候改善の程度と相関した。サブ解析の結果, 抗 PD 薬による SN・LG 血流反応性は認知症に影響されるが, MG の場合認知機能によらず安定した反応を示した。

本研究では, PD 患者における抗 PD 薬投与による局所脳血流変化を示すとともに, 抗 PD 薬がもたらす PD の運動症候改善に関連した局所脳血流変化を示す領域として LG と MG を新たに見出した。これら結果は, PD の運動症候改善に関連した局所脳血流変化を示す領域が PD 進行の客観的な臨床指標となり得る可能性を示唆するほか, 視聴覚刺激を用いた治療との関連から, LG および MG に焦点をあてた脳機能研究が PD の病態生理のさらなる解明のきっかけとなる可能性も考えられる。

本研究は, PD 病患者において抗 PD 病薬内服に反応して局所脳血流が様々に変化することを明らかにし, とくに大脳基底核 - 視床では運動症状の改善に関連して血流増加を呈する領域があることを示した。この成果は, PD の治療反応性あるいは予後予測に有用な臨床指標を提供するとともに, 本症の病態に関わる視覚・聴覚情報処理解明研究の進展に資するものと考えられた。

以上から, 本論文は, 学位を授与するに値するものと判定した。

氏名	たけのうち のぶ ゆき 竹内伸行
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第529号
学位授与年月日	平成31年3月2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	New paradigm for auditory paired pulse suppression (聴覚ペアパルス抑制の新規パラダイム)
論文審査委員	(主査) 教授 牛田 享 宏 教授 池田 洋 教授 高安 正 和 教授 植田 広 海

学位論文内容の要旨

【背景】

刻々と変化する感覚情報を適切に脳内で抑制するメカニズムは正常な精神機能を維持するために必要不可欠である。実際、統合失調症やてんかん等の精神疾患においてはこの感覚抑制メカニズムの破綻が想定されている。しかし抑制を客観的、生理学的に観察する方法は限られており、長潜時の聴覚ペアパルス抑制や短潜時のプレパルスインヒビション (Prepulse Inhibition : PPI) などが知られている。この中でペアパルス抑制は聴覚長潜時の抑制を示すが、検査所要時間が長く、また抑制率も10%程度であるため臨床的に広まっているとはいえない。このため、より効率的な長潜時抑制を測定する方法を確立する目的で一連の実験を行った。

【方法】

健常者11人に対して実験1-3を行った。実験1, 2では脳磁図 (MEG) を用い、BESAによるダイポール推定を行った上で二次聴覚野の成分を解析した。音に対する中潜時の皮質反応は3相から成り、それぞれP50, N100 また P200 と呼ばれている。解析には頂点間の電位差 (P50-N100, N100-P200) を用い、それぞれを比較した。

実験1では、抑制のための最適な時間間隔を調べた。連続する音条件の試験刺激の前に300-800msの間で時間間隔を変え条件刺激を挿入し、100回ずつ加算平均した。

実験2では、条件刺激の強さを変化させた。600msの刺激間隔に挿入した条件刺激の大きさを68-80dBまで変化させ、100回ずつ加算平均した。

実験3では、実験1, 2と同条件で誘発電位の測定を行った。実験1で得られた600ms

の刺激間隔, +15dB の条件刺激強度を用いたパラダイムで 200 回加算平均した。

【結果】

実験 1。500, 600, 700, 800ms の条件刺激を挿入した場合に, 試験刺激のみの反応に対して有意に抑制が得られた。左半球で 600ms の時に抑制率が最大であった。

実験 2。条件刺激の音圧が増加するにつれて, 抑制率は上昇した。

実験 3。脳波においても MEG と同様に, 300ms では抑制されなかったが, 600ms で 30.4% の有意な抑制が得られた。

【考察】

実験 1 では 300ms では抑制が観察されず, 600ms で強い抑制が得られたことから, 長潜時の抑制は単なる馴れなどではなく, 積極的な抑制性ニューロンの興奮を反映していると考えられた。

実験 2 では十分な抑制を得るために, 音圧の小さな条件刺激では不十分であったことから, 比較的弱い条件刺激にて抑制が得られる PPI とは異なる抑制機構が示唆された。

【結論】

新たに考案した効率的な長潜時抑制の測定方法を示した。従来の方法よりも高い抑制率が得られるため抑制率低下の評価が行いやすい点, 短時間で測定可能な点において優れている。すなわち, 本方法は精神疾患の病態生理を反映する客観的指標として臨床応用が期待できる。

論文審査の結果の要旨

【背景】

刻々と変化する感覚情報を適切に脳内で抑制するメカニズムは正常な精神機能を維持するために必要不可欠である。実際, 統合失調症やてんかん等の精神疾患においてはこの感覚抑制メカニズムの破綻が想定されている。しかし抑制を客観的, 生理学的に観察する方法は限られており, 長潜時の聴覚ペアパルス抑制や短潜時のプレパルスインヒビション (Prepulse Inhibition : PPI) などが知られている。この中でペアパルス抑制は聴覚長潜時の抑制を示すが, 検査所要時間が長く, また抑制率も 10% 程度であるため臨床的に広まっているとはいえない。このため, より効率的な長潜時抑制を測定する方法を確立する目的で一連の実験を行った。

【方法】

健常者 11 人に対して実験 1-3 を行った。実験 1, 2 では脳磁図 (MEG) を用い, BESA によるダイポール推定を行った上で二次聴覚野の成分を解析した。音に対する中潜時の皮質反応は 3 相から成り, それぞれ P50, N100 また P200 と呼ばれている。解析には頂点間の電位差 (P50-N100, N100-P200) を用い, それぞれを比較した。

実験1では、抑制のための最適な時間間隔を調べた。連続する音条件の試験刺激の前に300-800msの間で時間間隔を変え条件刺激を挿入し、100回ずつ加算平均した。

実験2では、条件刺激の強さを変化させた。600msの刺激間隔に挿入した条件刺激の大きさを68-80dBまで変化させ、100回ずつ加算平均した。

実験3では、実験1、2と同条件で誘発電位の測定を行った。実験1で得られた600msの刺激間隔、+15dBの条件刺激強度を用いたパラダイムで200回加算平均した。

【結果】

実験1。500, 600, 700, 800msの条件刺激を挿入した場合に、試験刺激のみの反応に対して有意に抑制が得られた。左半球で600msの時に抑制率が最大であった。

実験2。条件刺激の音圧が増加するにつれて、抑制率は上昇した。

実験3。脳波においてもMEGと同様に、300msでは抑制されなかったが、600msで30.4%の有意な抑制が得られた。

【考察】

実験1では300msでは抑制が観察されず、600msで強い抑制が得られたことから、長潜時の抑制は単なる馴れなどではなく、積極的な抑制性ニューロンの興奮を反映していると考えられた。

実験2では十分な抑制を得るために、音圧の小さな条件刺激では不十分であったことから、比較的弱い条件刺激にて抑制が得られるPPIとは異なる抑制機構が示唆された。

【結論】

新たに考案した効率的な長潜時抑制の測定方法を示した。従来の方法よりも高い抑制率が得られるため抑制率低下の評価が行いやすい点、短時間で測定可能な点において優れている。本研究で開発された方法は精神疾患の病態生理を反映する客観的指標として臨床応用が期待出来るものであり、学位授与に値する論文である。

氏名	まつもとあさみ 松本麻未
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第530号
学位授与年月日	平成31年3月2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	Characterization of the vaginal microbiota of Japanese women (日本人女性における膣内細菌叢の特徴)
論文審査委員	(主査) 教授 米田政志 教授 高村祥子 教授 奥村彰久 教授 渡邊大輔

学位論文内容の要旨

【背景】

女性の膣内細菌叢は、腸内細菌叢等とは異なり、通常その大部分を *Lactobacillus* species が占める多様性の低い菌叢であることが知られている。*Lactobacillus* spp. は膣内で乳酸や過酸化水素を産生し、膣内の pH を 4 から 5 に保つことで、病原菌の侵入や増殖を防いでいると考えられており、この菌叢は健康状態や性交渉、妊娠の有無で変化することが知られている。一方、何らかの原因により膣内の *Lactobacillus* spp. が減少すると、好気性菌や嫌気性菌が異常増殖することで、細菌性膣症のリスクが高まり、妊婦では早産や流産が引き起こされることが報告されている。さらに、Commercial Sex Worker (CSW) では、細菌性膣症の罹患率が高く、細菌性膣症に罹患することで HIV 等の性感染症のリスクが高まることも報告されている。海外において膣内細菌叢を網羅的に解析し、HIV 等の性感染症、あるいは早流産との関連性を検討した報告は複数存在するが、膣内細菌叢には人種差があることも指摘されており日本人に関する報告はない。そこで本研究では、日本人の非妊婦、妊婦、CSW を対象に、膣内細菌叢を解析し、その差異を明らかにすることで、疾病の発症リスクと膣内細菌叢との関連性を解明する足掛かりとすることを目的とした。

【方法】

2014年1月から2015年2月までの期間に、産婦人科クリニックを受診した非妊婦、妊婦及びCSWの女性の膣分泌物を計54検体採取し、16S rRNA メタゲノム解析法により膣内細菌叢を解析した。さらに、得られた膣内細菌叢構成比の結果を元にクラスター解析

及び多様性解析を行った。また、膣分泌物から *Lactobacillus* spp. を分離し、菌種の同定を行った。

【結果】

16S rRNA メタゲノム解析法で得られた属レベルでの菌種構成比に基づくクラスター解析の結果、大きく3つのクラスター（グループ1, 2, 3）に分類された。グループ1は *Lactobacillus* spp. 優勢の単純な菌叢を示したのに対し、グループ2と3は *Lactobacillus* 属のみならず、*Bifidobacterium* spp., *Atopobium* spp., *Prevotella* spp., *Gardnerella* spp. 等多数の属種を含む複雑な菌叢を示した。非妊婦は3つのグループに同程度分類され（グループ1:31.8%, グループ2:36.4%, グループ3:31.8%）、妊婦は *Lactobacillus* spp. 優勢のグループ1に多く分類される傾向であった（グループ1:62.5%, グループ2:12.5%, グループ3:25%）。一方、CSWは *Lactobacillus* spp. 非優勢のグループ3に最も多く分類された（グループ1:12.5%, グループ3:87.5%）。非妊婦と妊婦はCSWに比べ *Lactobacillus* spp. の構成比が有意に高かった。一方、*Gardnerella* spp., *Megasphaera* spp. 及び *Streptococcus* spp. においては、非妊婦と妊婦に比べCSWで構成比が有意に高かった。また、 α 多様性解析の結果、非妊婦は妊婦に比べ多様性が有意に高かった。各検体からの *Lactobacillus* spp. の分離率は、非妊婦では68.2%、妊婦では50%であったのに対し、CSWは25%と、非妊婦及び妊婦と比べ低い傾向であった。各検体から分離された *Lactobacillus* spp. は、非妊婦では *L.crispatus*, *L.gasseri*, *L.rhamnosus* が、妊婦では *L.crispatus*, *L.gasseri*, *L.jensenii*, *L.rhamnosus*, *L.vaginalis* が、CSWでは *L.crispatus*, *L.jensenii*, *L.vaginalis* が同定された。早産治療薬である塩酸リトドリンを服薬した妊婦の60%が *Lactobacillus* spp. 非優勢のグループ3に分類された。

【結語】

本研究では、日本人女性を対象に、非妊婦、妊婦、CSWの膣内細菌叢を16S rRNA メタゲノム解析法により解析した。結果、日本人女性の膣内細菌叢は大きく分けて *Lactobacillus* spp. 優勢の菌叢、*Lactobacillus* spp. 非優勢の菌叢及びその中間の菌叢の3つに分類されることが明らかとなった。非妊婦や妊婦に比べ、CSWの多くは *Lactobacillus* spp. 非優勢の菌叢を保有し、*Lactobacillus* spp. の分離率も低い傾向にあることが示唆された。*Lactobacillus* spp. 非優勢の菌叢を保有する女性は、疾病への罹患や流産・早産を引き起こすリスクが高いと考えられ、今後、膣内細菌叢の網羅的細菌叢解析が細菌性膣症、骨盤内炎症性疾患、流産・早産などの疾病発症予測に有用であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景】

女性の膣内細菌叢は、腸内細菌叢等とは異なり、通常その大部分を *Lactobacillus*

species が占める多様性の低い菌叢であることが知られている。*Lactobacillus* spp. は膣内で乳酸や過酸化水素を産生し、膣内の pH を 4 から 5 に保つことで、病原菌の侵入や増殖を防いでいると考えられており、この菌叢は健康状態や性交渉、妊娠の有無で変化することが知られている。一方、何らかの原因により膣内の *Lactobacillus* spp. が減少すると、好気性菌や嫌気性菌が異常増殖することで、細菌性膣症のリスクが高まり、妊婦では早産や流産が引き起こされることが報告されている。さらに、Commercial Sex Worker (CSW) では、細菌性膣症の罹患率が高く、細菌性膣症に罹患することで HIV 等の性感染症のリスクが高まることも報告されている。海外において膣内細菌叢を網羅的に解析し、HIV 等の性感染症、あるいは早流産との関連性を検討した報告は複数存在するが、膣内細菌叢には人種差があることも指摘されており日本人に関する報告はない。そこで本研究では、日本人の非妊婦、妊婦、CSW を対象に、膣内細菌叢を解析し、その差異を明らかにすることで、疾病の発症リスクと膣内細菌叢との関連性を解明する足掛かりとすることを目的とした。

【方法】

2014 年 1 月から 2015 年 2 月までの期間に、産婦人科クリニックを受診した非妊婦、妊婦及び CSW の女性の膣分泌物を計 54 検体採取し、16S rRNA メタゲノム解析法により膣内細菌叢を解析した。さらに、得られた膣内細菌叢構成比の結果を元にクラスター解析及び多様性解析を行った。また、膣分泌物から *Lactobacillus* spp. を分離し、菌種の同定を行った。

【結果】

16S rRNA メタゲノム解析法で得られた属レベルでの菌種構成比に基づくクラスター解析の結果、大きく 3 つのクラスター（グループ 1, 2, 3）に分類された。グループ 1 は *Lactobacillus* spp. 優勢の単純な菌叢を示したのに対し、グループ 2 と 3 は *Lactobacillus* 属のみならず、*Bifidobacterium* spp., *Atopobium* spp., *Prevotella* spp., *Gardnerella* spp. 等多数の属種を含む複雑な菌叢を示した。非妊婦は 3 つのグループに同程度分類され（グループ 1 : 31.8%, グループ 2 : 36.4%, グループ 3 : 31.8%）、妊婦は *Lactobacillus* spp. 優勢のグループ 1 に多く分類される傾向であった（グループ 1 : 62.5%, グループ 2 : 12.5%, グループ 3 : 25%）。一方、CSW は *Lactobacillus* spp. 非優勢のグループ 3 に最も多く分類された（グループ 1 : 12.5%, グループ 3 : 87.5%）。非妊婦と妊婦は CSW に比べ *Lactobacillus* spp. の構成比が有意に高かった。一方、*Gardnerella* spp., *Megasphaera* spp. 及び *Streptococcus* spp. においては、非妊婦と妊婦に比べ CSW で構成比が有意に高かった。また、 α 多様性解析の結果、非妊婦は妊婦に比べ多様性が有意に高かった。各検体からの *Lactobacillus* spp. の分離率は、非妊婦では 68.2%, 妊婦では 50% であったのに対し、CSW は 25% と、非妊婦及び妊婦と比べ低い傾向であった。各検体から分離された *Lactobacillus* spp. は、非妊婦では *L.crispatus*, *L.gasseri*, *L.rhamnosus* が、妊婦では *L.crispatus*, *L.gasseri*, *L.jensenii*,

L.rhamnosus, *L.vaginalis* が、CSW では *L.crispatus*, *L.jensenii*, *L.vaginalis* が同定された。早産治療薬である塩酸リトドリンを服薬した妊婦の60%が *Lactobacillus* spp. 非優勢のグループ3に分類された。

【結語】

本研究では、日本人女性を対象に、非妊婦、妊婦、CSW の膣内細菌叢を16S rRNAメタゲノム解析法により解析した。結果、日本人女性の膣内細菌叢は大きく分けて *Lactobacillus* spp. 優勢の菌叢、*Lactobacillus* spp. 非優勢の菌叢及びその中間の菌叢の3つに分類されることが明らかとなった。非妊婦や妊婦に比べ、CSW の多くは *Lactobacillus* spp. 非優勢の菌叢を保有し、*Lactobacillus* spp. の分離率も低い傾向にあることが示唆された。*Lactobacillus* spp. 非優勢の菌叢を保有する女性は、疾病への罹患や流産・早産を引き起こすリスクが高いと考えられ、今後、膣内細菌叢の網羅的細菌叢解析が細菌性膣症、骨盤内炎症性疾患、流産・早産などの疾病発症予測に有用であることが示唆された。

本論文は、Anaerobe 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	もり た のり こ 守 田 紀 子
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第531号
学位授与年月日	平成31年3月2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	Effect of the methanol extract of the Lion's Mane mushroom, <i>Hericium erinaceus</i>, on bone metabolism in ovariectomized rats (ヤマブシダケ摂取が卵巣摘出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 教授 笠井謙次 教授 前川正人 教授 牛田享宏

学位論文内容の要旨

【目的】

卵巣機能の低下によるエストロゲンの急激な低下により引き起こされる閉経後骨粗鬆症は、骨吸収が骨形成を上回ることにより生じる。本症の治療薬としてビスフォスフォネート製剤や選択的エストロゲン受容体モジュレーター (SERM) が挙げられるが、食生活、運動などの日常生活の改善も骨粗鬆症の予防に重要視されている。

キノコは以前より自然健康食品として知られている。そのうち、ヤマブシダケ (*Hericium erinaceus*) は、抗腫瘍作用や抗認知症作用を有することが知られており、さらに近年、更年期障害改善作用、抗肥満作用があることが報告されていることから、閉経後骨量減少を抑制することが期待される。そこで、本研究ではヤマブシダケ抽出物 (HE) が卵巣摘出ラットの骨代謝に及ぼす影響について検討した。

【方法】

12週齢の雌 Wistar ラットを Baseline (n=6), Sham (n=10), Ovx (n=10), Ovx+HE (n=10) 群の4群に分割し、麻酔下に Ovx 及び Ovx+HE 群には両側卵巣摘出術を、Sham 群には偽手術を施行した。術後、Ovx 群と Sham 群には通常食、Ovx+HE 群には特餌 (MeOH 抽出 HE10g/kg) を自由摂取し、13週後に屠殺した。右大腿骨を摘出し、DXA 法 (Hologic Discovery A) にて骨量計測を施行した。また右脛骨を摘出し、前額断で非脱灰標本を作製し、近位端において骨形態計測および骨髓脂肪細胞計測を行った。

【結果】

1. 子宮重量と体重

Ovx 群の子宮重量は Sham 群と比較し有意に低値であったが、Ovx+HE 群と比較し有意差を認めなかった。実験期間を通じ Ovx 群の体重は Sham 群と比較し、有意に大きかったが、Ovx+HE 群と比較し有意差を認めなかった。

2. 骨量

Ovx 群の骨密度と骨塩量は Sham 群と比較し有意に低下した。HE 投与による改善は認められなかった。

3. 骨形態計測

Sham 群と比較し、Ovx 群の骨量、骨梁幅、骨梁数は有意に低値で、類骨面、類骨量、骨芽細胞面、二重標識面、骨石灰化面、骨形成速度は有意に高値であった。Ovx+HE 群の骨芽細胞面と骨石灰化面は Ovx 群と比較し、有意ではないが低値であった。

4. 骨髄脂肪細胞計測

Sham 群と比較し、Ovx 群の Percent fat volume (Fa.V/Ma.V) および Fat cell number (N.Fa/Ma.V) は有意に高値であったが、Unit fat Volume (Fa.V/N.Fa) は有意差を認めなかった。Ovx 群と比較し、Ovx+HE 群の Fa.V/Ma.V は有意差を認めなかったが、N.Fa/Ma.V は有意に低値、Fa.V/N.Fa は有意に高値であった。

【結論】

Ovx ラットにおいて、ヤマブシダケの摂取は骨形成を抑制し、閉経後骨粗鬆症の予防にむしろ好ましくない可能性が示唆された。また、骨髄脂肪細胞数が減少し、単位脂肪細胞あたりの大きさが増大することが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

【目的】

本論文は、キノコ的一种であるヤマブシダケ (*Hericium erinaceus*) の骨代謝への影響を検討したものである。ヤマブシダケは抗腫瘍作用や抗認知症作用を有することが知られており、さらに近年、更年期障害改善作用、抗肥満作用があることが報告されていることから、閉経後骨量減少を抑制することが期待される。そこで、ヤマブシダケ抽出物 (HE) が卵巣摘出ラットの骨代謝に及ぼす影響について検討した。

【方法】

12 週齢の雌 Wistar ラットを Baseline (n=6), Sham (n=10), Ovx (n=10), Ovx+HE (n=10) 群の 4 群に分割し、麻酔下に Ovx 及び Ovx+HE 群には両側卵巣摘出術を、Sham 群には偽手術を施行した。術後、Ovx 群と Sham 群には通常食、Ovx+HE 群には特餌 (MeOH 抽出 HE10g/kg) を自由摂取し、13 週後に屠殺した。右大腿骨を摘出し、DXA 法 (Hologic

Discovery A) にて骨量計測を施行した。また右脛骨を摘出し、前額断で非脱灰標本を作製し、近位端において骨形態計測および骨髓脂肪細胞計測を行った。

【結果】

1. 子宮重量と体重

Ovx 群の子宮重量は Sham 群と比較し有意に低値であったが、Ovx+HE 群と比較し有意差を認めなかった。実験期間を通じ Ovx 群の体重は Sham 群と比較し、有意に大きかったが、Ovx+HE 群と比較し有意差を認めなかった。

2. 骨量

Ovx 群の骨密度と骨塩量は Sham 群と比較し有意に低下した。HE 投与による改善は認められなかった。

3. 骨形態計測

Sham 群と比較し、Ovx 群の骨量、骨梁幅、骨梁数は有意に低値で、類骨面、類骨量、骨芽細胞面、二重標識面、骨石灰化面、骨形成速度は有意に高値であった。Ovx+HE 群の骨芽細胞面と骨石灰化面は Ovx 群と比較し、有意ではないが低値であった。

4. 骨髓脂肪細胞計測

Sham 群と比較し、Ovx 群の Percent fat volume (Fa.V/Ma.V) および Fat cell number (N.Fa/Ma.V) は有意に高値であったが、Unit fat Volume (Fa.V/N.Fa) は有意差を認めなかった。Ovx 群と比較し、Ovx+HE 群の Fa.V/Ma.V は有意差を認めなかったが、N.Fa/Ma.V は有意に低値、Fa.V/N.Fa は有意に高値であった。

【結論】

Ovx ラットにおいて、ヤマブシダケの摂取は骨形成を抑制し、閉経後骨粗鬆症の予防にむしろ好ましくない可能性が示唆された。また、骨髓脂肪細胞数が減少し、単位脂肪細胞あたりの大きさが増大することが明らかとなった。

以上より、本論文は、骨粗鬆症治療の選択に重要な情報を提供するためのきわめて有用な研究であり、学位授与に値する論文である。

氏名	よし 吉	みね 峰	たかし 崇
学位の種類	博士(医学)		
学位授与番号	甲第532号		
学位授与年月日	平成31年3月2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	Convenient Method of Measuring Baseline Impedance for Distinguishing Patients with Functional Heartburn from those with Proton Pump Inhibitor-Resistant Endoscopic Negative Reflux Disease (簡便なベースライン・インピーダンス測定法による機能性胸やけの診断)		
論文審査委員	(主査)	教授	風岡 宜暁
		教授	妹尾 洋
		教授	植田 広海
		教授	森 直治

学位論文内容の要旨

【背景と目的】

日本の実臨床では胃食道逆流症 (gastroesophageal reflux disease ; GERD) に対する治療の第一選択はプロトンポンプ阻害薬 (proton pump inhibitor ; PPI) の投与であるが, GERD の半数以上を占める非びらん性胃食道逆流症 (non-erosive reflux disease ; NERD) に対する PPI の症状改善率は50%程度と低く治療に難渋するケースが多い。NERD の病態は症状発現が逆流と一致する内視鏡的陰性逆流症 (endoscopic negative reflux disease ; ENRD) と逆流と一致しない機能性胸やけ (functional heartburn ; FH) に分けられるが, 実地診療においてはPPI抵抗性ENRDを広義のFHとして扱うケースが多い。NERDの病態解析には24時間食道内インピーダンスpHモニタリング(24MII・pH)検査による異常食道内酸曝露時間と症状係数の算出, または食道内酸曝露による粘膜傷害を電気伝導速度で内因的に反映する食道ベースライン・インピーダンス(BI)が指標とされるが, どちらも24時間の検査時間が必要である。今回われわれは, PPI抵抗性NERD患者の病態解析として簡潔なBIの測定法の有用性の検討を行った。

【対象と方法】

常用量のPPI内服にもかかわらず週2回以上の胸やけ症状を訴え, 食道運動異常患

者を除外した PPI 抵抗性 NERD 患者 91 名を対象とした。24MII・pH は PPI 内服継続下で、検査前日から 8 時間の絶食にて実施し、ENRD 群と FH 群に分類を行った。検討項目は患者背景因子、逆流症状の頻度、逆流動態、一般的な BI 値の測定法である a.m. (1:00, 2:00, 3:00) 10 分間の平均 BI 値 (mean nocturnal BI: MNBI) と同時刻の 30 秒間の平均 BI 値 (short MNBI) および検査開始日の昼食前 (a.m.11:00) に 30 秒間の平均 BI 値 (simple mean BI: simple MBI) の 3 測定法より算出を行い、91 名の平均酸曝露時間 (acid exposure time: AET) および逆流パーセント時間 (acid exposure time (%): AET (%)) との関連について検討を行った。ENRD 群と FH 群の判定における簡便な BI 測定法の有用性について 3 測定法の ROC 曲線分析より cut off 値の算出と AUC の比較検討を行った。

【結果】

PPI 抵抗性 NERD 患者 91 名は ENRD 群 59 名と FH 群 32 名に分類された。患者背景因子・症状頻度・逆流動態に両群間で差は認めなかった。ENRD 群は平均 AET と逆流回数全てにおいて FH 群より有意に高値であり、3 測定法の平均 BI 値は、ENRD 群は FH 群より有意に低値であった。91 名の AET ($r=-0.38$, $p=0.0002$) と AET (%) ($r=-0.26$, $p=0.012$) は BI 値と負の関連を認めた。3 測定法の ENRD 群と FH 群の病態判定における ROC 曲線分析の AUC は、3 測定法の間に差は認めなかった。

【結論】

simple MBI 測定方法は PPI 抵抗性 NERD 患者の病態解析に、簡便で有効な方法であることが示された。

論文審査の結果の要旨

【背景と目的】

日本の実臨床では胃食道逆流症 (gastroesophageal reflux disease; GERD) に対する治療の第一選択はプロトンポンプ阻害薬 (proton pump inhibitor; PPI) の投与であるが、GERD の半数以上を占める非びらん性胃食道逆流症 (non-erosive reflux disease; NERD) に対する PPI の症状改善率は 50% 程度と低く治療に難渋するケースが多い。NERD の病態は症状発現が逆流と一致する内視鏡的陰性逆流症 (endoscopic negative reflux disease; ENRD) と逆流と一致しない機能性胸やけ (functional heartburn; FH) に分けられるが、実地診療においては PPI 抵抗性 ENRD を広義の FH として扱うケースが多い。NERD の病態解析には 24 時間食道内インピーダンス pH モニタリング (24MII・pH) 検査による異常食道内酸曝露時間と症状係数の算出、または食道内酸曝露による粘膜傷害を電気伝導速度で内因的に反映する食道ベースライン・インピーダンス (BI) が指標とされるが、どちらも 24 時間の検査時間が必要である。今回われわれは、PPI 抵抗性 NERD 患者の病態解析として簡潔な BI の測定法の有用性の検討を行った。

【対象と方法】

常用量の PPI 内服にもかかわらず週 2 回以上の胸やけ症状を訴え、食道運動異常患者を除外した PPI 抵抗性 NERD 患者 91 名を対象とした。24MII・pH は PPI 内服継続下で、検査前日から 8 時間の絶食にて実施し、ENRD 群と FH 群に分類を行った。検討項目は患者背景因子、逆流症状の頻度、逆流動態、一般的な BI 値の測定法である a.m. (1:00, 2:00, 3:00) 10 分間の平均 BI 値 (mean nocturnal BI: MNBI) と同時刻の 30 秒間の平均 BI 値 (short MNBI) および検査開始日の昼食前 (a.m.11:00) に 30 秒間の平均 BI 値 (simple mean BI; simple MBI) の 3 測定法より算出を行い、91 名の平均酸曝露時間 (acid exposure time; AET) および逆流パーセント時間 (acid exposure time (%): AET (%)) との関連について検討を行った。ENRD 群と FH 群の判定における簡便な BI 測定法の有用性について 3 測定法の ROC 曲線分析より cut off 値の算出と AUC の比較検討を行った。

【結果】

PPI 抵抗性 NERD 患者 91 名は ENRD 群 59 名と FH 群 32 名に分類された。患者背景因子・症状頻度・逆流動態に両群間で差は認めなかった。ENRD 群は平均 AET と逆流回数全てにおいて FH 群より有意に高値であり、3 測定法の平均 BI 値は、ENRD 群は FH 群より有意に低値であった。91 名の AET ($r=-0.38$, $p=0.0002$) と AET (%) ($r=-0.26$, $p=0.012$) は BI 値と負の関連を認めた。3 測定法の ENRD 群と FH 群の病態判定における ROC 曲線分析の AUC は、3 測定法の間には差は認めなかった。

【結論】

simple MBI 測定方法は PPI 抵抗性 NERD 患者の病態解析に、簡便で有効な方法であることが示されたことにより、学位授与に値する論文であると判定した。

氏名	林 音 知
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第533号
学位授与年月日	平成31年3月2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	Isolation of ketomycin from <i>Actinomycetes</i> as an inhibitor of 2D and 3D cancer cell invasion (放線菌由来ケトマイシンによる2Dおよび3Dがん細胞浸潤の抑制)
論文審査委員	(主査) 教授 佐藤元彦 教授 細川好孝 教授 中野正吾 教授 三嶋秀行

学位論文内容の要旨

【背景】

固形がんにおいて、転移の過程は一次腫瘍からの細胞の離脱、遊走・浸潤、血管やリンパ管による遠隔輸送、再び遊走・浸潤、接着、二次腫瘍の形成、に分けられる。特に、遊走・浸潤はいずれの転移様式にも含まれる重要な過程と言える。そこで、がん細胞の遊走・浸潤を阻害する低分子化合物は転移を阻害し、毒性の低い新しい抗がん剤に発展する可能性がある。一方で、がん細胞の遊走は比較的簡単に測定できるので、阻害剤スクリーニングに適している。本研究では、がん細胞の遊走阻害物質を放線菌二次代謝産物からスクリーニングして、二次元(2D)および三次元(3D)浸潤抑制能を調べ、その機構を解析した。

【方法】

がん細胞株の中で、比較的、悪性度の高いヒト乳がん MDA-MB-231 細胞を用い、その遊走を wound healing assay により測定した。数百の放線菌培養液を阻害物質のスクリーニングに用いた。MDA-MB-231 細胞の 2D 浸潤は Matrigel chamber assay を用い、3D 浸潤は寒天内で細胞塊を作成してから、離脱・浸潤する細胞を観察して数値化した。

【結果】

放線菌培養液サンプルの一つに、毒性がない濃度で MDA-MB-231 細胞の遊走を阻害する活性がみられ、単離精製して構造決定をしたところ、活性本体は既知抗生物質のケトマイシンであることがわかった。ケトマイシンは 1960 年代に放線菌から抗生物質とし

て発見された。抗菌活性が報告されているが、ヒトや動物の培養細胞における生物活性は報告されていない。ケトマイシンはMDA-MB-231細胞の浸潤も阻害した。Metastasis PCR Arrayを用いて解析したところ、いくつかの遺伝子発現に変化がみられたが、特に、MMP-9とMMP-11発現を低下させることに注目した。それぞれのタンパク質をsi-RNAでノックダウンしたところ、どちらの場合も細胞の遊走能と浸潤能は低下した。MMP-9とMMP-11はいずれもNF- κ Bに依存している報告がある。ケトマイシンは恒常的に活性化しているMDA-MB-231細胞のNF- κ B活性を低下させた。さらにケトマイシンは3D浸潤を阻害した。3D培養系は細胞数が少ないので、NF- κ B活性を下流のIL-6分泌量で測定したところ、ケトマイシンはIL-6分泌を阻害した。

【考察】

ケトマイシンの新しい活性として、乳がん細胞の遊走・浸潤を阻害することを見出した。その機構として、IKKの活性を細胞内で低下させ、NF- κ B依存性MMP-9とMMP-11発現を低下させた。ケトマイシンがIKKに結合して酵素活性を阻害するのは今後の課題である。一方、がん細胞の3D浸潤は形態的に、転移初期の一次腫瘍からのがん細胞の離脱、浸潤に酷似している。そこでケトマイシンは転移の後期浸潤過程に加えて、転移初期過程を阻害する可能性がある。

【結論】

放線菌由来ケトマイシンが乳がん細胞の2Dおよび3D浸潤を抑制することを見出した。ケトマイシンは比較的、容易に合成ができるので、転移を阻害する副作用の少ない抗がん剤リードとしての可能性がある。

論文審査の結果の要旨

【背景】

固形がんにおいて、転移の過程は一次腫瘍からの細胞の離脱、遊走・浸潤、血管やリンパ管による遠隔輸送、再び遊走・浸潤、接着、二次腫瘍の形成、に分けられる。特に、遊走・浸潤はいずれの転移様式にも含まれる重要な過程と言える。そこで、がん細胞の遊走・浸潤を阻害する低分子化合物は転移を阻害し、毒性の低い新しい抗がん剤に発展する可能性がある。一方で、がん細胞の遊走は比較的簡単に測定できるので、阻害剤スクリーニングに適している。本研究では、がん細胞の遊走阻害物質を放線菌二次代謝産物からスクリーニングして、二次元(2D)および三次元(3D)浸潤抑制能を調べ、その機構を解析した。

【方法】

がん細胞株の中で、比較的、悪性度の高いヒト乳がんMDA-MB-231細胞を用い、その遊走をwound healing assayにより測定した。数百の放線菌培養液を阻害物質のスクリーニングに用いた。MDA-MB-231細胞の2D浸潤はMatrigel chamber assayを用い、3D浸

潤は寒天内で細胞塊を作成してから、離脱・浸潤する細胞を観察して数値化した。

【結果】

放線菌培養液サンプルの一つに、毒性がない濃度で MDA-MB-231 細胞の遊走を阻害する活性がみられ、単離精製して構造決定をしたところ、活性本体は既知抗生物質のケトマイシンであることがわかった。ケトマイシンは 1960 年代に放線菌から抗生物質として発見された。抗菌活性が報告されているが、ヒトや動物の培養細胞における生物活性は報告されていない。ケトマイシンは MDA-MB-231 細胞の浸潤も阻害した。Metastasis PCR Array を用いて解析したところ、いくつかの遺伝子発現に変化がみられたが、特に、MMP-9 と MMP-11 発現を低下させることに注目した。それぞれのタンパク質を Si-RNA でノックダウンしたところ、どちらの場合も細胞の遊走能と浸潤能は低下した。MMP-9 と MMP-11 はいずれも NF- κ B に依存している報告がある。ケトマイシンは恒常的に活性化している MDA-MB-231 細胞の NF- κ B 活性を低下させた。さらにケトマイシンは 3D 浸潤を阻害した。3D 培養系は細胞数が少ないので、NF- κ B 活性を下流の IL-6 分泌量で測定したところ、ケトマイシンは IL-6 分泌を阻害した。

【考察】

ケトマイシンの新しい活性として、乳がん細胞の遊走・浸潤を阻害することを見出した。その機構として、IKK の活性を細胞内で低下させ、NF- κ B 依存性 MMP-9 と MMP-11 発現を低下させた。ケトマイシンが IKK に結合して酵素活性を阻害するのは今後の課題である。一方、がん細胞の 3D 浸潤は形態的に、転移初期の一次腫瘍からのがん細胞の離脱、浸潤に酷似している。そこでケトマイシンは転移の後期浸潤過程に加えて、転移初期過程を阻害する可能性がある。

【結論】

本研究は、放線菌由来物質から、がん細胞の遊走・浸潤を抑制する新たな物質を同定し、その効果と作用経路を解析したものである。見いだした物質、ケトマイシンは比較的合成が容易と考えられ、転移を阻害する副作用の少ない抗がん剤リードとしての可能性が十分にあると考えられた。丁寧な検討を重ね、天然物質に新たな効果を見いだした本論文の成果は高く評価でき、学位授与に値する論文であると判断した。

氏名	むはんまっど わひどうっじゃまん Md. Wahiduzzaman
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第534号
学位授与年月日	平成31年3月2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	Novel combined Ato-C treatment synergistically suppresses proliferation of Bcr-Abl-positive leukemic cells <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> (三酸化ヒ素とシスプラチンの新規併用療法 Ato-C は Bcr-Abl 陽性白血病細胞に対して相乗的な増殖抑制作用を示す)
論文審査委員	(主査) 教授 佐藤元彦 教授 笠井謙次 教授 風岡宜暁 教授 三嶋秀行

学位論文内容の要旨

【背景】

慢性骨髄性白血病 (Chronic myeloid leukemia, 以下 CML) は、キメラ融合遺伝子 *BCR/ABL* を原因とする血液悪性腫瘍である。Bcr-Abl タンパク質のチロシンキナーゼ活性を特異的に阻害する分子標的治療薬は、CML の治療成績を飛躍的に改善したものの、薬剤耐性による悪性化や再発例も散見されており、難治性の CML を克服できる治療法や新薬が切望されている。本研究では、三酸化二砒素 (Arsenic trioxide, ATO) とシスプラチン (CDDP) による ATO/CDDP 併用療法 (Ato-C 療法) が、CML 細胞の生存に与える影響を解析した。

【方法】

1. 細胞生存率アッセイ: MTT アッセイ法を用いて、Ato-C 療法が BCR/ABL 陽性 (Ph⁺) のイマチニブ感受性またはイマチニブ耐性 CML 細胞株の生存に与える影響を解析した。
2. Combination index (CI) 値の測定: Chou らの方法を用いて併用療法の効果の判定を行った。
3. アポトーシスの解析: アネキシン V 染色法やミトコンドリア膜電位測定法を用いて、Ato-C 療法による細胞増殖抑制効果とアポトーシスの関連性を検討した。

4. cDNA マイクロアレイ法を用いた遺伝子発現解析：Ato-C 療法が遺伝子発現に与える影響を網羅的に調べ、細胞増殖や生存に関わる遺伝子発現の変化を検討した。
5. ウェスタンブロット法を用いたタンパク質の解析：マイクロアレイ解析の結果をタンパク質レベルで検討した。
6. RNA 干渉法やゲノム編集法を用いた解析：遺伝子の発現をノックダウンあるいはノックアウトして、Ato-C 療法に関連する分子を解析した。
7. 担がんマウスを用いた治療実験：白血病細胞株をマウスに移植して、Ato-C 療法の *in vivo* における治療効果を検討した。

【結果】

1. MTT アッセイ法の結果、Ato-C 療法はイマチニブ感受性ならびに耐性 Ph⁺CML 株 K562, KU-812, MEG-A2, KCL-22 の細胞生存率を有意に低下させた。
2. MTT アッセイの結果により、CI 値が 1 未満を示したことから、Ato-C 療法の CML 株に対する細胞増殖抑制効果は相乗的であることが強く示唆された。
3. Ato-C 療法は、単剤投与に比べて有意に CML 株のアポトーシスおよびカスパーゼ活性を増強した。Ato-C による増殖抑制効果にアポトーシスが関与する可能性が示唆された。
4. さらに詳細な分子機構を解析するために、マイクロアレイ解析をおこなった結果、Ato-C 療法は *MYC* の標的遺伝子群の発現ならびに *MYC* 遺伝子の発現を有意に減少させた。
5. Ato-C 療法はタンパク質レベルにおいても c-Myc, Bcr-Abl を減少させた。
6. *MYC* 遺伝子をゲノム編集法で破壊した結果、K562 細胞の増殖速度が野生型に比べて減少したことから、Ato-C の増殖抑制効果に *MYC* の減少が関与することが強く示唆された。
7. 臨床応用の可能性を検証するために、ヒト CML マウスモデルを用いて Ato-C 療法の効果を解析した結果、Ato-C 療法は単剤投与に比べて担がんマウスの腫瘍増殖を有意に抑制した。

【考察】

本研究によって、CML 細胞に対する Ato-C 療法の相乗的な抗腫瘍効果とその薬効に関わる分子機構が明らかとなった。Ato-C 療法は、難治性 CML の治療成績向上に貢献できる新しい併用化学療法として、期待される。

論文審査の結果の要旨

【背景】

慢性骨髄性白血病 (Chronic myeloid leukemia, 以下 CML) は、キメラ融合遺伝子

BCR/ABL を原因とする血液悪性腫瘍である。Bcr-Abl タンパク質のチロシンキナーゼ活性を特異的に阻害する分子標的治療薬は、CML の治療成績を飛躍的に改善した。しかし、特異的チロシンキナーゼ阻害薬を使用することにより新たな薬剤耐性が生じ、治療が困難になることがある。また、再発例への治療の確立など、難治性の CML を克服できる治療法や新薬が切望されている。本研究では、三酸化二砒素 (Arsenic trioxide, ATO) とシスプラチン (CDDP) による ATO/CDDP 併用療法 (Ato-C 療法) の有効性を、CML 細胞の生存に与える影響から解析した。

【方法】

キメラ融合遺伝子 *BCR/ABL* を持つ白血病細胞株 (K562, KU-812, MEG-A2, KCL-22), 融合遺伝子を持たない細胞株 (THP-1, NB-4, HL-60) に対して① Ato-C 療法が *BCR/ABL* 陽性の白血病細胞株の生存に与える影響を MTT アッセイ法を用いて解析し、②併用療法の効果を Chou らの方法を用いて Combination index 値を計算し判定を行った。また、③ Ato-C 療法による細胞増殖抑制効果とアポトーシスの関連性をアネキシン V 染色法やミトコンドリア膜電位測定法を用いて検討した。

さらに、④ Ato-C 療法が遺伝子発現に与える影響を網羅的に調べ、細胞増殖や生存に関わる遺伝子発現の変化を cDNA マイクロアレイ法を用いた遺伝子発現解析から見出した。結果の妥当性は、各蛋白質の発現をウエスタンブロット法を用いて確認した。⑤見いだした分子の発現を、RNA 干渉法やゲノム編集法を用いて抑制し、細胞増殖に与える影響を検討した。⑥ Ato-C 療法の *in vivo* における治療効果を、白血病細胞株をマウスに移植して検討した。

【結果】

Ato-C 療法はキメラ融合遺伝子 *BCR/ABL* を持つ白血病細胞株 (K562, KU-812, MEG-A2, KCL-2) の細胞生存率を有意に低下させ、その効果は Combination index 値 (CI 値) が 1 未満であったことから相乗的であることが示唆された。一方、融合遺伝子を持たない細胞株 (THP-1, NB-4, HL-60) に対しては、Ato-C 療法は一定の効果を示したが、その効果はやや低く、相乗効果も検出されなかった。Ato-C 療法は、キメラ融合遺伝子を持つ白血病細胞株では、単剤投与に比べてアポトーシスを有意に増強した。さらに、特異的チロシンキナーゼ阻害薬に対する耐性が生じた白血病細胞株 (K562-R, KU-812-R, MEG-A2-R) に対しても、Ato-C 療法は単剤投与に比べて細胞生存率を有意に低下させた。

cDNA マイクロアレイ解析の結果、Ato-C 療法は癌遺伝子 *MYC* の標的遺伝子の発現を有意に減少させることが明らかとなり、また、Ato-C 療法は融合遺伝子を持つ細胞株の c-Myc タンパク質の発現を著明に低下させた。さらに、CRISPR/Cas9 法を用いて *MYC* を破壊した K562 細胞の表現型を解析した結果、細胞増殖能が低下していた。MEG-A2 細胞を移植した担がんマウスに Ato-C 療法を行った結果、単剤投与に比して有意に造腫瘍性を有意に低下させた。

【考察】

本研究によって、CML 細胞に対する三酸化二砒素・シスプラチン併用療法の有効性と薬効に関わる分子機構が明らかにされた。その効果は相乗的であり、特異的チロシンキナーゼ阻害薬に対する耐性が生じた白血病細胞株に対しても有効であった。三酸化二砒素・シスプラチン併用療法は、難治性 CML の治療成績向上に貢献できる新しい併用化学療法として期待される。

本研究は、CML に対する新たな併用療法の有効性とその機序を詳細に検討したものである。その結果は、臨床応用の可能性を示唆するものであり、薬剤耐性が生じた CML への治療の可能性も示している。本研究は、慎重かつ詳細な検討により CML の治療に新たな可能性を示したものとして高く評価でき、学位授与に値する論文であると判断した。

氏名	しみず さき 清水 沙 希
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第535号
学位授与年月日	平成31年3月2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	Royal jelly dose not prevent bone loss but improves bone strength in ovariectomized rats (ローヤルゼリーは卵巣摘出ラットにおいて骨量減少を抑制しないが骨強度を改善する)
論文審査委員	(主査) 教授 武内 恒 成 教授 伊藤 恭 彦 教授 奥村 彰 久 教授 鈴木 耕次郎

学位論文内容の要旨

【目的】

骨粗鬆症とは骨強度の低下を特徴とし、骨折リスクが増大した骨格疾患であり、骨強度は骨密度と骨質から規定される。骨粗鬆症は多因子疾患であるが、女性では卵巣機能低下によるエストロゲン分泌低下が閉経後骨粗鬆症の発症に深く関与している。

ローヤルゼリー (RJ) は働き蜂 (*Apis mellifera* L.) の咽頭腺から分泌され、女王蜂の成育に用いられる物質であり、タンパク質、遊離アミノ酸、脂質、ビタミン、糖を豊富に含有し栄養学的に優れるだけでなく、血管拡張作用、降圧作用、抗コレステロール作用、抗腫瘍作用など、多彩な薬理作用を示すことが知られている。また、RJ は更年期障害の緩和にも有用であることから、エストロゲン作用を有すると考えられている。そこで、本研究では卵巣摘出 (OVX) ラットにおいて RJ が骨代謝に及ぼす影響について検討した。

【方法】

12週齢の雌 Wistar ラットを Baseline, Sham, OVX, OVX+RJ 群の4群 (n=8/群) に分割し、OVX, OVX+RJ 群には両側卵巣摘出術を、Sham 群には偽手術を施行した。RJ 群は RJ (乾燥粉末 2.5g/kgBW/day) を12週間経口投与した。屠殺後、大腿骨を摘出し、骨密度測定 (DXA, pQCT 法)、骨形態計測、3点曲げ骨力学試験を施行した。

【結果】

1. 子宮重量と体重

OVX 群の子宮重量は Sham 群と比較し有意に低値であったが、OVX+RJ 群と比較し有意差を認めなかった。OVX 群の体重は sham 群と比較し有意に増加したが、OVX+RJ 群と比較し有意差を認めなかった。

2. 骨密度測定

- 1) DXA 法：OVX, OVX+RJ 群の右大腿骨骨密度 (BMD) は Sham 群と比較し有意に低値であったが ($P<0.01$), OVX 群と OVX+RJ 群では有意差を認めなかった。
- 2) pQCT 法：OVX, OVX+RJ 群の骨幹端部 T.BMD, Tb.BMD は Sham 群と比較し有意に低値であったが ($p<0.01$), OVX 群と OVX+RJ 群では有意差を認めなかった。骨幹部 Ct.BMD は 3 群間で有意差を認めなかった。

3. 骨形態計測

OVX により、左大腿骨遠位端海綿骨において、骨量、骨梁数は有意に低下、類骨量、骨石灰化面、骨形成速度は有意に増加したが、RJ の投与により有意な変化を認めなかった。

4. 3 点曲げ試験

RJ 群の剛性 (stiffness) は OVX 群と比較し、有意に高値であった ($p<0.05$)。最大荷重、破断エネルギーは 3 群間で有意差を認めなかった。

【結論】

本研究により、卵巣摘出ラットにおいて RJ は骨密度減少を抑制できないが、骨強度を改善することが明らかとなった。骨強度は骨密度と骨質により規定されることから、RJ は骨質を改善する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

【目的】

女性では、卵巣機能低下にともなうエストロゲン分泌の低下が、閉経後の骨粗鬆症の発症に主につながるとされている。一方、ローヤルゼリー (RJ) はこれらを含む医学的あるいは栄養学的な目的で幅広く利用されてきた。RJ は、タンパク質、遊離アミノ酸、脂質、ビタミン、糖などを豊富に含有し栄養学的に優れるだけでなく、血管拡張作用、降圧作用、抗コレステロール作用、抗腫瘍作用など多彩な薬理作用を示すことが知られている。さらにはエストロゲン用の機能を持つことが最近示唆されており、更年期障害の緩和にも有用とされている。

本研究では卵巣摘出 (OVX) ラットにおいて RJ が骨代謝に及ぼす影響について検討することを目的としている。

【方法】

コントロール、偽手術、卵巣摘出 OVX、OVX+RJ 投与群の 4 群に分けて、12 週齢の雌 Wistar ラットを使用して実験を遂行した。OVX、OVX+RJ 群には両側卵巣摘出術を

施行した。RJ 投与群には、RJ（乾燥粉末 2.5g/kgBW/day）を 12 週間経口投与した。エンドポイントにおいて各実験群ラットから大腿骨を摘出し、骨密度測定（DXA, pQCT 法）、骨形態計測および 3 点曲げ骨力学試験を施行した。

【結果】

OVX 群の子宮重量は偽手術群と比較し有意差をもって低値であったが、OVX+RJ 投与群と比較すると変化を認めなかった。OVX 群の体重は偽手術群と比較し有意に増加したが、OVX+RJ 投与群との間では変化を認められなかった。子宮重量については RJ 投与による効果が認められている。

骨密度測定においては以下の方法を取った。1) DXA 法：OVX, OVX+RJ 投与群の大腿骨骨密度（BMD）は偽手術群と比較し低値であったが、OVX 群と OVX+RJ 投与群では有意差な変化を認めなかった。2) pQCT 法：OVX, OVX+RJ 投与群の骨幹端部 T.BMD, Tb.BMD は、偽手術群と比較し低値であった。一方、OVX 群と OVX+RJ 投与群では変化を認めなかった。骨幹部 Ct.BMD においてもこれら 3 群の間で変化を認められなかった。

骨形態計測を行ったところ、OVX 群では大腿骨遠位端海綿骨において、骨量、骨梁数は低下が認められた。一方、類骨量、骨石灰化面および骨形成速度は有意に増加していた。これらの変動に対しての RJ 投与群は変化を認めることはできなかった。

そこで骨強度を 3 点曲げ試験によって計測した。RJ 投与群の骨剛性は、OVX 群と比較し有意に高い強度を保っていた。

【結論】

一連の本研究によって、卵巣摘出ラットでは、RJ 投与は骨密度減少を抑制できていないが、骨強度を改善する効果を示すことを明らかとした。骨粗鬆症においては、骨強度の低下を特徴とし、それによる骨折リスクの増大した状態にある。この骨強度は骨密度と骨質から規定される。RJ 投与によって骨密度の増加は本研究からは認められなかったが、骨強度は増加しているため RJ は骨質の改善に寄与する可能性がある。他報告では、RJ 投与により骨密度増加にも影響すると示すものもあり、今後の詳細な研究も待たれるが、ラット OVX モデルによって詳細に骨解析を行った本研究の意義は大きく、骨粗鬆症への RJ の応用において展望を示すものであった。

以上から、上記論文について学位を授与するに値するものであると判断した。

氏名	安藤孝人 <small>あん どう たか ひと</small>
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第536号
学位授与年月日	平成31年3月2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	Pre-operative planning using Real-time Virtual Sonography, an MRI/Ultrasound image fusion technique, for breast-conserving surgery in patients with non-mass enhancement on breast MRI: A preliminary study (乳房造影MRIにおいて非腫瘍病変を示す乳癌患者の乳房部分切除術におけるMRI/超音波同期システムのリアルタイムバーチャルソノグラフィーを用いた術前検査法)
論文審査委員	(主査) 教授 鈴木耕次郎 教授 内藤宗和 教授 高村祥子 教授 三嶋秀行

学位論文内容の要旨

【背景】

乳癌手術での乳房部分切除術では、手術時の腫瘍遺残は全生存期間を短縮させるため、腫瘍の完全切除が重要である。乳癌の広がり診断は腹臥位造影MRIが最も感度が良好とされるが、仰臥位で実施される超音波検査や手術では、造影位置同定の再現性が問題であった。Real-time virtual sonography (RVS)は磁気センサーユニットによって複数画像モダリティをリアルタイム下に同期・表示できる機器である。本研究ではRVSを用いた乳房部分切除術前のマーキングが乳房部分切除術における手術安全性を高めるかどうかを検討した。

【方法】

2011年1月より2015年12月までに愛知医科大学病院において乳房部分切除術が施行された患者のうち12例を後ろ向きに検討した。腹臥位乳房造影MRIは米国放射線学会のBI-RADS(2013年度版)にて造影域の評価を行った。また、加えて仰臥位乳房造影MRIを撮像し、仰臥位造影MRIと乳房超音波をfusionさせたデータをRVSに使用した。この12例は腹臥位乳房造影MRIで腫瘍断端評価が困難とされる“mass”, “focus”以外の“non

mass”である造影パターンを示し、RVSを用いた術前マーキングの後に手術が施行された。乳房部分切除術は腫瘍から2cmの安全域をつけた切除とした。断端の評価は主腫瘍および ductal carcinoma in situ (DCIS) 病変が腫瘍断端より5mm以内にあるものを陽性と定義した。再手術は断端陽性例のうち、浸潤癌病変および DCIS 病変が複数腺管に連続して存在するものに対して行うと定義した。

【結果】

12例中9例が腫瘍非触知であった。また腹臥位乳房造影MRIの最大径中央値は24mm(範囲:12-39mm)と超音波での最大径中央値8.0mm(範囲:4.9-18mm)を有意に上回っていた($p=0.0002$)。12例中7例が乳房部分切除術、残り5例に対して乳房扇状切除術が施行された。切除断端陰性と診断された症例は10例(83%)、切除断端陽性と診断されたものは2例(17%)であった。断端陽性であった2例の病理学的評価は共に浸潤性乳管癌(HER2 type, Luminal-HER2 typeともに病理学的ステージI)であった。断端の詳細としては、それぞれ少数腺管のDCISが切除断端より2.4mm, 3.2mmの距離に存在していた。よって2例とも再手術を要する基準に合致せず、術後残存乳房照射に加えて腫瘍床照射による局所制御が行われた。再手術を要する症例は0例(再手術率0%)であった。

【結語】

腹臥位乳房造影MRIで“non mass”の造影パターンを示す腫瘍断端評価が困難な病変に対して、RVSを用いて術前マーキングを行う事が乳房部分切除術における手術の安全性を向上させる可能性を示唆した。

論文審査の結果の要旨

【背景】

乳癌手術での乳房部分切除術では、手術時の腫瘍遺残は全生存期間を短縮させるため、腫瘍の完全切除が重要である。乳癌の広がり診断は腹臥位造影MRIが最も感度が良好とされるが、仰臥位で実施される超音波検査や手術では、造影位置同定の再現性が問題であった。Real-time virtual sonography (RVS)は磁気センサーユニットによって複数画像モダリティをリアルタイム下に同期・表示できる機器である。本研究ではRVSを用いた乳房部分切除術前のマーキングが乳房部分切除術における手術安全性を高めるかどうかを検討した。

【方法】

2011年1月より2015年12月までに愛知医科大学病院において乳房部分切除術が施行された患者のうち12例を後ろ向きに検討した。腹臥位乳房造影MRIは米国放射線学会のBI-RADS(2013年度版)にて造影域の評価を行った。また、加えて仰臥位乳房造影MRIを撮像し、仰臥位造影MRIと乳房超音波をfusionさせたデータをRVSに使用した。こ

の12例は腹臥位乳房造影MRIで腫瘍断端評価が困難とされる“mass”, “focus”以外の“non mass”である造影パターンを示し, RVSを用いた術前マーキングの後に手術が施行された。乳房部分切除術は腫瘍から2cmの安全域をつけた切除とした。断端の評価は主腫瘍および ductal carcinoma in situ (DCIS) 病変が腫瘍断端より5mm以内にあるものを陽性と定義した。再手術は断端陽性例のうち, 浸潤癌病変およびDCIS病変が複数腺管に連続して存在するものに対して行うと定義した。

【結果】

12例中9例が腫瘍非触知であった。また腹臥位乳房造影MRIの最大径中央値は24mm(範囲:12-39mm)と超音波での最大径中央値8.0mm(範囲:4.9-18mm)を有意に上回っていた($p=0.0002$)。12例中7例が乳房部分切除術, 残り5例に対して乳房扇状切除術が施行された。切除断端陰性と診断された症例は10例(83%), 切除断端陽性と診断されたものは2例(17%)であった。断端陽性であった2例の病理学的評価は共に浸潤性乳管癌(HER2 type, Luminal-HER2 typeともに病理学的ステージI)であった。断端の詳細としては, それぞれ少数腺管のDCISが切除断端より2.4mm, 3.2mmの距離に存在していた。よって2例とも再手術を要する基準に合致せず, 術後残存乳房照射に加えて腫瘍床照射による局所制御が行われた。再手術を要する症例は0例(再手術率0%)であった。

【結語】

腹臥位乳房造影MRIで“non mass”の造影パターンを示す腫瘍断端評価が困難な病変に対して, RVSを用いて術前マーキングを行う事が乳房部分切除術における手術の安全性を向上させる可能性を示唆した。

本論文は乳癌の乳房温存手術時に於ける腫瘍の広がり診断で, RVSを用いた腫瘍マーキングの有用性が高いことを明らかにしており, 学位を授与するのに値する論文であると判断した。

氏名	おか だ まなぶ 岡 田 学
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第537号
学位授与年月日	平成31年3月2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	Favorable results in ABO-incompatible renal transplantation without B cell-targeted therapy: Advantages and disadvantages of rituximab pretreatment (B細胞標的治療を伴わないABO不適合腎移植の良好な成績：リツキシマブの長所と短所)
論文審査委員	(主査) 教授 伊藤 恭彦 教授 渡辺 秀人 教授 高村 祥子 教授 高見 昭良

学位論文内容の要旨

【背景】

ABO血液型不適合腎移植における、抗体関連型拒絶予防としてのリツキシマブ療法の有効性は広く報告されてきた。しかしながら、ABO血液型不適合腎移植の成績は未だABO血液型適合腎移植には劣っている。

【方法】

ABO血液型適合腎移植症例(412例)とABO血液型不適合腎移植症例(205例)に対して後方視的調査を行い、ABO血液型不適合腎移植の成績が劣る原因について明らかにした。ABO血液型不適合腎移植群はリツキシマブ投与例131例、脾摘例21例、リツキシマブ・脾摘非施行例53例であった。

腎生着、感染症、移植後HLA抗体産生をABO血液型適合とABO血液型不適合腎移植群とで比較し、さらにリツキシマブ投与ありのABO不適合腎移植群とリツキシマブ投与・脾摘なしのABO不適合腎移植群とで層別解析し比較した。

選択バイアスと交絡因子を制限するために傾向スコア法を用いて解析を行った。

【結果】

グラフト生着は血液型不適合腎移植が血液型適合腎移植と比較し有意に低かった(5年生着率92.3% vs. 97.5%, $P=0.0020$)。感染症による腎喪失の頻度がABO不適合腎移植で

有意に高かったが、ABO 不適合腎移植において抗体関連型拒絶による腎喪失は1例も認めなかった。層別解析ではリツキシマブ投与ありの ABO 不適合腎移植群はリツキシマブ投与・脾摘なし ABO 不適合腎移植群と比較し感染症のリスクが有意に高いことが示された。

【考察】

ABO 不適合腎移植の成績が ABO 適合腎移植に劣る要因として、リツキシマブによる感染症の増加と、それに伴う腎喪失の増加が考えられる。

【結論】

ABO 不適合腎移植の脱感作療法におけるリツキシマブの投与量減量もしくは投与回避を安全に行えれば、さらなる成績向上につながる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

【背景】

ABO 血液型不適合腎移植における、抗体関連型拒絶予防としてのリツキシマブ療法の有効性は広く報告されてきた。しかしながら、ABO 血液型不適合腎移植の成績は未だ ABO 血液型適合腎移植には劣っている。

【方法】

ABO 血液型適合腎移植症例（412 例）と ABO 血液型不適合腎移植症例（205 例）に対して後方視的調査を行い、ABO 血液型不適合腎移植の成績が劣る原因について明らかにした。ABO 血液型不適合腎移植群はリツキシマブ投与例 131 例、脾摘例 21 例、リツキシマブ・脾摘非施行例 53 例であった。

腎生着、感染症、移植後 HLA 抗体産生を ABO 血液型適合と ABO 血液型不適合腎移植群とで比較し、さらにリツキシマブ投与ありの ABO 不適合腎移植群とリツキシマブ投与・脾摘なしの ABO 不適合腎移植群とで層別解析し比較した。

選択バイアスと交絡因子を制限するために傾向スコア法を用いて解析を行った。

【結果】

グラフト生着は血液型不適合腎移植が血液型適合腎移植と比較し有意に低かった（5 年生着率 92.3% vs. 97.5%, $P=0.0020$ ）。感染症による腎喪失の頻度が ABO 不適合腎移植で有意に高かったが、ABO 不適合腎移植において抗体関連型拒絶による腎喪失は1例も認めなかった。層別解析ではリツキシマブ投与ありの ABO 不適合腎移植群はリツキシマブ投与・脾摘なし ABO 不適合腎移植群と比較し感染症のリスクが有意に高いことが示された。

【考察】

ABO 不適合腎移植の成績が ABO 適合腎移植に劣る要因として、リツキシマブによる

感染症の増加と、それに伴う腎喪失の増加が考えられる。

【結論】

ABO 不適合腎移植の脱感作療法におけるリツキシマブの投与量減量もしくは投与回避を安全に行えれば、さらなる成績向上につながる可能性がある。

本論文では、現在広く移植領域で使用されているリツキシマブの使用意義を再検討したものであり、本邦で多い ABO 不適合腎移植の治療成績改善のための方向性を示す重要な研究と考えられ、学位授与に値する論文と判断する。

氏名	柴田祐一 しば た ゆう いち
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第538号
学位授与年月日	平成31年3月2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	Caspofungin versus micafungin in the incidence of hepatotoxicity in patients with normal to moderate liver failure (正常から中等度の肝不全患者におけるカスポファンギン対ミカファンギンの肝毒性の発生率)
論文審査委員	(主査) 教授 米田 政志 教授 岡田 尚志郎 教授 高見 昭良 教授 渡邊 大輔

学位論文内容の要旨

【背景】

キャンディン系抗真菌薬ミカファンギン (MCFG) およびカスポファンギン (CPFG) は、一般的に有害事象が少ないことが知られている。国内第Ⅲ相試験において重篤な肝障害 (CTCAE grade3 以上) の発現頻度は、MCFG では 10.0% (6/60), CPFG では 0% (0/60) と報告されている。化学構造より MCFG は CPFG よりも細胞内へ取り込まれやすく、肝機能障害を誘発しやすいことが予想される。しかし、臨床において両剤の肝障害の発現頻度の比較については十分に調査されていない。そのため、当院での MCFG および CPFG 使用例において肝障害発現率を後方視的に比較検討した。

【方法】

対象は、愛知医科大学病院において、2014年4月から2015年11月までに MCFG を使用した患者 135 名と CPFG を使用した患者 66 名とした。調査項目は年齢、身長、体重、MCFG/CPFG の投与歴と投与開始時における併用薬、疾患名、MCFG および CPFG 投与開始前後の肝機能検査項目 Alb, T-Bil, AST, ALT, ALP, LD, γ -GT とした。抗真菌薬投与開始時に肝機能マーカーが全て CTCAE grade1 以下の場合を正常群、肝機能検査マーカーがいずれか 1 項目でも CTCAE grade2 以上に該当する肝機能の低下を認めていた場合を重症群と定義して比較を行った。

【結果】

CTCAE grade3以上の重篤な肝障害の発現率は、MCFG:7.4%、CPFG:5.9%であった。MCFG投与患者の重篤な肝障害の発現率は、国内第Ⅲ相試験の結果と大きな乖離は認められなかった。CPFGを投与した重症群では重篤な肝障害の発現率は国内第Ⅲ相試験の結果よりも高値を示した。この背景として重症群のCPFG投与患者において重篤な肝障害が認められた4名は、Child-Pughスコアに基づく減量が実施されていなかった。

【考察】

肝機能が低下している患者にCPFGを投与する場合、肝障害は肝機能が正常な患者よりも高率で重篤化する可能性が示唆された。

【結論】

化学構造よりMCFGはCPFGよりも細胞内へ取り込まれやすく、肝機能障害を誘発しやすいことが予想されるものの、実臨床においてCTCAE grade3以上の重篤な肝障害の発現率は、MCFGとCPFG投与群間に大きな乖離をみとめなかった。CPFGには明確な減量基準があるが、Child-Pughスコアに基づく減量を実施されておらず、肝障害を惹起した患者が認められたことから、初期用量設定の介入が重要と考えられた。

論文審査の結果の要旨

【背景】

キャンディン系抗真菌薬ミカファンギン（MCFG）およびカスポファンギン（CPFG）は、一般的に有害事象が少ないことが知られている。国内第Ⅲ相試験において重篤な肝障害（CTCAE grade3以上）の発現頻度は、MCFGでは10.0%（6/60）、CPFGでは0%（0/60）と報告されている。化学構造よりMCFGはCPFGよりも細胞内へ取り込まれやすく、肝機能障害を誘発しやすいことが予想される。しかし、臨床において両剤の肝障害の発現頻度の比較については十分に調査されていない。そのため、当院でのMCFGおよびCPFG使用例において肝障害発現率を後方視的に比較検討した。

【方法】

対象は、愛知医科大学病院において、2014年4月から2015年11月までにMCFGを使用した患者135名とCPFGを使用した患者66名とした。調査項目は年齢、身長、体重、MCFG/CPFGの投与歴と投与開始時における併用薬、疾患名、MCFGおよびCPFG投与開始前後の肝機能検査項目Alb、T-Bil、AST、ALT、ALP、LD、 γ -GTとした。抗真菌薬投与開始時に肝機能マーカーが全てCTCAE grade1以下の場合を正常群、肝機能検査マーカーがいずれか1項目でもCTCAE grade2以上に該当する肝機能の低下を認めていた場合を重症群と定義して比較を行った。

【結果】

CTCAE grade3以上の重篤な肝障害の発現率は、MCFG:7.4%、CPFG:5.9%であった。MCFG投与患者の重篤な肝障害の発現率は、国内第Ⅲ相試験の結果と大きな乖離は認められなかった。CPFGを投与した重症群では重篤な肝障害の発現率は国内第Ⅲ相試験の結果よりも高値を示した。この背景として重症群のCPFG投与患者において重篤な肝障害が認められた4名は、Child-Pughスコアに基づく減量を実施されていなかった。

【考察】

肝機能が低下している患者にCPFGを投与する場合、肝障害は肝機能が正常な患者よりも高率で重篤化する可能性が示唆された。

【結論】

化学構造よりMCFGはCPFGよりも細胞内へ取り込まれやすく、肝機能障害を誘発しやすいことが予想されるものの、実臨床においてCTCAE grade3以上の重篤な肝障害の発現率は、MCFGとCPFG投与群間に大きな乖離をみとめなかった。CPFGには明確な減量基準があるが、Child-Pughスコアに基づく減量を実施されておらず、肝障害を惹起した患者が認められたことから、初期用量設定の介入が重要と考えられた。

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十分な価値のある論文と判定した。

氏名	ます いし とし き 舂 石 俊 樹
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第539号
学位授与年月日	平成31年3月2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	FOLFOX as First-line Therapy for Gastric Cancer with Severe Peritoneal Metastasis (高度腹膜転移胃癌に対する1次治療としてのFOLFOX療法)
論文審査委員	(主査) 教授 森 直 治 教授 高 見 昭 良 教授 渡 邊 大 輔 教授 中 野 正 吾

学位論文内容の要旨

【背景】

本邦における切除不能胃癌に対する標準治療は経口フルオロピリミジン+プラチナによる化学療法であり、全生存期間は13か月である。中でも、高度腹膜転移胃癌（高度腹水を伴うまたは経口摂取不能の腹膜転移を有する胃癌）の生存期間中央値は6か月と極めて予後不良であり、腹部膨満や嘔吐を伴うため生活の質が著しく低い。また経口摂取不能もしくは不安定かつ全身状態不良であることから治療開発の対象から除外されてきたため、標準治療は未確立である。

【方法】

2010年12月から2014年12月に愛知県がんセンター中央病院において、1次化学療法を受けた切除不能胃癌例を後方視的に検討した。解析対象は、腹膜播種を有し、高度腹水(骨盤腔から上腹部まで連続して存在)を有する、かつ/もしくは経口摂取不能(点滴による栄養または水分補給が必要)であり、1次治療としてフルオロウラシル(5-FU)+レボホリナート(LV)+オキサリプラチン(FOLFOX)療法を受けた症例とした。

【結果】

1次化学療法を受けた切除不能胃癌378例中、高度腹膜転移胃癌が39例(10.3%)、そのうちFOLFOX療法を受けた症例が10例であった。Performance Status1と2-4が各5例、有腹水例が9例(高度腹水5例)、経口摂取不能が7例であった。5症例で初回投与量が減量開始であった。無増悪生存期間中央値は7.5か月、生存期間中央値は13.2か月、有腹

水 9 例中 7 例（78%）で腹水が減少し，経口摂取不能 7 例中 4 例（57%）で経口摂取可能となった。主な Grade3 以上の有害事象は，好中球減少，ALT 増加，貧血が各々 3 例であり，発熱性好中球減少症は認めなかった。初回通常投与量開始 5 例中 3 例で 2 割程度の減量を要したが，その後さらなる減量は不要であった。

【考察】

希少フラクションである高度腹膜転移胃癌に対する FOLFOX 療法の報告はこれまでにない。同対象に対する既報の 5-FU/LV 療法や 5-FU/LV+パクリタキセル療法等の有効性は，全生存期間 6-9 か月，腹水減少割合 27-54%，経口摂取改善割合 21-33%と不良であり，FOLFOX 療法の方が優れていることが示唆され，有害事象は既報と同程度であった。ただし単施設の少数例の検討であり，前向き試験による検証が必要である。

【結論】

高度腹膜転移胃癌に対する 1 次治療としての FOLFOX 療法は有効かつ有害事象の管理が可能であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景】

本邦における切除不能胃癌に対する標準治療は経口フルオロピリミジン+プラチナによる化学療法であり，全生存期間は 13 か月である。中でも，高度腹膜転移胃癌（高度腹水を伴うまたは経口摂取不能の腹膜転移を有する胃癌）の生存期間中央値は 6 か月と極めて予後不良であり，腹部膨満や嘔吐を伴うため生活の質が著しく低い。また経口摂取不能もしくは不安定かつ全身状態不良であることから治療開発の対象から除外されてきたため，標準治療は未確立である。

【方法】

2010 年 12 月から 2014 年 12 月に愛知県がんセンター中央病院において，1 次化学療法を受けた切除不能胃癌例を後方視的に検討した。解析対象は，腹膜播種を有し，高度腹水（骨盤腔から上腹部まで連続して存在）を有する，かつ／もしくは経口摂取不能（点滴による栄養または水分補給が必要）であり，1 次治療としてフルオロウラシル（5-FU）+レボホリナート（LV）+オキサリプラチン（FOLFOX）療法を受けた症例とした。

【結果】

1 次化学療法を受けた切除不能胃癌 378 例中，高度腹膜転移胃癌が 39 例（10.3%），そのうち FOLFOX 療法を受けた症例が 10 例であった。Performance Status1 と 2-4 が各 5 例，有腹水例が 9 例（高度腹水 5 例），経口摂取不能が 7 例であった。5 症例で初回投与量が減量開始であった。無増悪生存期間中央値は 7.5 か月，生存期間中央値は 13.2 か月，有腹水 9 例中 7 例（78%）で腹水が減少し，経口摂取不能 7 例中 4 例（57%）で経口摂取可能

となった。主な Grade3 以上の有害事象は, 好中球減少, ALT 増加, 貧血が各々 3 例であり, 発熱性好中球減少症は認めなかった。初回通常投与量開始 5 例中 3 例で 2 割程度の減量を要したが, その後さらなる減量は不要であった。

【考察】

希少フラクションである高度腹膜転移胃癌に対する FOLFOX 療法の報告はこれまでにない。同対象に対する既報の 5-FU/LV 療法や 5-FU/LV+ パクリタキセル療法等の有効性は, 全生存期間 6-9 か月, 腹水減少割合 27-54%, 経口摂取改善割合 21-33%と不良であり, FOLFOX 療法の方が優れていることが示唆され, 有害事象は既報と同程度であった。ただし単施設の少数例の検討であり, 前向き試験による検証が必要である。

【結論】

高度腹膜転移胃癌に対する 1 次治療としての FOLFOX 療法は有効かつ有害事象の管理が可能であることが示唆された。

本論文は, これまで報告されていなかった高度腹膜転移胃癌に対する FOLFOX 療法の有効性を明らかにしたものであり, その後の我が国の高度進行胃癌の治療に, 極めて有用な情報を提供した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	山 地 雅 之 <small>やま し まさ ゆき</small>
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第540号
学位授与年月日	平成31年3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	Novel ATP-competitive Akt inhibitor afuresertib suppresses the proliferation of malignant pleural mesothelioma cells (新規 ATP 競合性 AKT 阻害剤アフレサーティブは、悪性胸膜中皮腫細胞の増殖を抑制する)
論文審査委員	(主査) 教授 山 口 悦 郎 教授 笠 井 謙 次 教授 高 見 昭 良 教授 三 嶋 秀 行

学位論文内容の要旨

【背景】

悪性胸膜中皮腫 (MPM) は、アスベスト関連職業疾患として社会問題となっている。外科的切除やシスプラチンを用いた化学療法を行うが、生存期間中央値は約 12 ヶ月と短く予後は極めて不良である。

最近の研究において、PI3K/AKT シグナル伝達経路が MPM 細胞の生存および増殖に関与することが示唆されている。そこで我々は、MPM 細胞生存に対する AKT 阻害剤の効果を調べるために、ACC-MESO-4, Y-MESO-8A, MSTO-211H, NCI-H28, NCI-H290 および NCI-H2052 の 6 つの MPM 細胞株、ならびに正常な中間細胞株 MeT-5A に対して、9 つの選択的 AKT 阻害剤、(アフレサーティブ, Akti-1/2, AZD5363, GSK690693, イパタセチブ, MK-2206, ペリフォシン, PHT-427 および TIC10) の及ぼす効果を解析した。

【方法】

1. ウェスタンブロット解析：MPM 細胞株における AKT と AKT 関連分子のタンパク質量を解析した。
2. 細胞生存アッセイ：各 AKT 阻害剤が MPM 細胞株および正常中皮細胞の生存に与える影響を解析した。

また、MTT アッセイの結果を用いて IC50 (50%生存抑制濃度) を算出した。

3. アポトーシス解析：アネキシン V 陽性細胞と Caspase-3/7 活性の解析を行った。

4. 細胞遊走能：スクラッチ法と Incucyto を用いた生細胞タイムラプスイメージング解析を行った。
5. 細胞周期：Propidium iodide 染色法によるフローサイトメトリー法を用いて細胞周期解析を行った。
6. ウェスタンブロット解析：アフレサータイプが AKT 基質やその関連分子のリン酸化に与える影響を解析した。
7. コロニー形成能：アフレサータイプとペリフォシンの抗腫瘍性および腫瘍特異性を比較解析した。
8. 併用療法：シスプラチンとの併用効果の判定を行った。

【結果】

1. 6 種類の MPM 細胞株において、AKT の 308 番目のスレオニンおよび 473 番目のセリンのリン酸化が高い傾向にあり、AKT を介した細胞増殖シグナルの活性化が示唆された。
2. AKT 阻害剤は濃度依存的に MPM 細胞株の生存率を低下させた。特に ATP 競合的阻害剤であるアフレサータイプは、正常細胞の生存に影響を与える濃度より低濃度で有意に低下させた。
3. アフレサータイプは、MPM 細胞株のアポトーシス細胞とカスパーゼ活性を有意に増加させた。
4. タイムラプス解析の結果、アフレサータイプ存在下では創傷閉鎖速度に顕著な遅延が認められた。
5. 細胞周期 G1 期に含まれる割合が、アフレサータイプ投与後に明らかに増加していることが確認され、MPM 細胞の細胞周期を G1 期でブロックしている可能性が示唆された。
6. アフレサータイプは FoxO1 のリン酸化を顕著に抑制し、細胞周期制御因子である p21 タンパク質量を増加させる事で、G1 期停止作用を発揮している可能性が示唆された。
7. アフレサータイプはペリフォシンに比較して MPM 細胞株のコロニー数を優位に減少させた。また、アフレサータイプの正常中皮細胞に対する細胞傷害効果は、ペリフォシンよりも弱かった。
8. アフレサータイプは、シスプラチンによる細胞傷害活性を有意に増強した。

【考察】

本研究によって、ATP 競合性 AKT 阻害剤アフレサータイプは MPM 細胞に対して様々な作用機序で抗腫瘍効果を示す腫瘍特異性の高い AKT 阻害剤である可能性が示唆された。また、シスプラチンと併用する事でより強い抗腫瘍効果を発揮し、MPM の治療薬として有効である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

アスベストは耐火性に富み加工性が良いため、19世紀から使用されるようになった。我国では戦後復興に伴い、輸入量が急増し1970年から1990年にかけてピークに達した。それとともに悪性胸膜中皮腫（MPM）、石綿肺、石綿胸水、肺癌などアスベスト関連職業性疾患が、30-40年の時差をもって急増している。特にMPMは、関連職業に従事していなくとも低濃度の環境暴露により発症することが明らかとなっており、大きな社会問題となっている。外科的切除やシスプラチンを用いた化学療法を行うが、有効性の高い薬剤が無く、生存期間中央値は約12ヶ月と短く予後は極めて不良である。

最近の研究において、PI3K/AKTシグナル伝達経路がMPM細胞の生存および増殖に関与することが示唆されている。そこで本研究では、MPM細胞生存に対するAKT阻害剤の効果を調べるために、ACC-MESO-4, Y-MESO-8A, MSTO-211H, NCI-H28, NCI-H290 および NCI-H2052 の6つのMPM細胞株、ならびにSV40で不死化した中間細胞株MeT-5Aに対して、9つの選択的AKT阻害剤、（アフレサーティブ, Akti-1/2, AZD5363, GSK690693, イパタサーチブ, MK-2206, ペリフォシン, PHT-427 および TIC10）が及ぼす効果を解析した。

ウェスタンブロット解析では、6種のMPM細胞株において中間細胞株MeT-5Aと比較し、AKTの473番目のセリンのリン酸化が高く、AKTを介した細胞増殖シグナルの活性化が示唆された。MTT assayではAKT阻害剤は濃度依存的にMPM細胞株の生存率を低下させた。特にATP競合的阻害剤であるアフレサーティブは、MeT-5Aに対するIC50より明らかに低いIC50でMPM細胞株の生存を低下させた。アフレサーティブのMeT-5Aに対する細胞傷害効果は、アロステリック阻害剤であるペリフォシンよりも弱かった。フローサイトメトリー法による解析で、アフレサーティブはMPM細胞株のアポトーシス細胞比率を有意に増加させた。また細胞周期G1期に含まれる割合が、アフレサーティブ投与後に明らかに増加していることが確認され、MPM細胞の細胞周期をG1期でブロックしている可能性が示唆された。ウェスタンブロット解析では、アフレサーティブがFoxO1のリン酸化を顕著に抑制し、細胞周期制御因子であるp21タンパク質量を増加させることにより、G1期停止作用を発揮している可能性が示唆された。タイムラプス解析の結果、アフレサーティブ存在下では創傷閉鎖速度に顕著な遅延が認められた。アフレサーティブは、シスプラチンによる細胞傷害活性やアポトーシス誘導能を有意に増強した。

gene set enrichment analysisでは、アフレサーティブはAktシグナル関連遺伝子である *SFRP2*, *FANK1*, *GAOS1*, serum-responsive 遺伝子である *ZWINT*, *UHRF1*, *CDC7*, E2F1誘導遺伝子である *CHAF1B*, *UCK2*, *TOP2A*, MYC誘導遺伝子である *PIGW*, *UTP15*, *SLC25A22*, mTOR関連遺伝子である *ING4*, *HBP1*, *KIAA0355* などの発現を有意

に低下させた。

以上より本論文では、ATP 競合性 AKT 阻害剤アフレサーティブの MPM 細胞株に対する作用を多面的に検討し、同剤が腫瘍特異性の高い AKT 阻害剤である可能性を示した。さらにシスプラチンと併用することでより強い抗腫瘍効果を発揮し、MPM の治療薬として有望である可能性を示唆するものであり、学位を授与するにふさわしい優れた研究論文であると判定した。

氏名	川口礼雄
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第541号
学位授与年月日	平成31年3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	Expressions of Eotaxin-3, Interleukin-5, and Eosinophil-Derived Neurotoxin in Chronic Subdural Hematoma Fluids (慢性硬膜下血腫における Eotaxin-3, Interleukin-5, Eosinophil-Derived Neurotoxin の発現と血腫成熟との関連)
論文審査委員	(主査) 教授 武内恒成 教授 中野隆 教授 道勇学 教授 藤原祥裕

学位論文内容の要旨

【目的】

慢性硬膜下血腫における好酸球の発現は既に報告があり、好酸球は慢性硬膜下血腫の成熟において重要な役割をしていることが知られている。しかし、好酸球の誘導機序について未だ明確な解明はされていない。今回、好酸球遊走因子として知られる Eotaxin-3 および Ecalectin、好酸球を成熟させる Interleukin-5 (IL-5) と好酸球顆粒内に存在する Eosinophil-Derived Neurotoxin (EDN) の発現と時期について比較検討を行なった。

【方法】

穿頭血腫除去時に、慢性硬膜下血腫検体を採取できた 38 症例を対象とした。血腫中の Eotaxin-3, Ecalectin, IL-5, EDN の発現について ELISA 法にて測定した。コントロールとして、健常人の血清 5 症例と未破裂脳動脈瘤患者の髄液 5 症例を用いた。また、平日日勤帯に手術を行った慢性硬膜下血腫 20 症例に関して、ギムザ染色による好酸球数計測を行なった。好酸球数は慢性硬膜下血腫内の全白血球数のうち好酸球数のしめる割合を使用した (%eosinophil)。CT 所見を参考に血腫形態を均質型、内膜肥厚型、層形成型、隔壁形成型の 4 型に分類した。この分類をもとに、それぞれの測定値に関して比較検討した。また、好酸球を測定した 20 症例に関して %eosinophil が 50% 以上の症例と 50% 以下の症例の 2 群にわけ、1 ヶ月後の治癒との関連を検討した。

【結果】

CT分類を行なったそれぞれの群において年齢、性別、来院時意識状態など患者背景に大きな差は認められなかった。血腫内の好酸球関連因子濃度は、血清、髄液と比較して有意に高値を示した。Eotaxin-3, IL-5, EDNならびに%eosinophilにおいては、内膜肥厚型で有意に高値を示した。しかし、Ecalectinでは血腫形態に有意な関係を認めなかった。それぞれの好酸球関連因子濃度で相関関係をとると、Ecalectinを除いた因子濃度や好酸球数は互いに有意な正の相関関係を示した。1ヶ月後の治癒との関連は、%eosinophilが高値であれば治癒する症例が少なく、低値であれば治癒する症例が多い傾向となったが、有意差は認めなかった。

【考察】

好酸球遊走活性ならびに成熟因子の発現を、慢性硬膜下血腫において確認した。血清、髄液中の発現が低いことから、血腫内で発現した好酸球関連因子により好酸球が誘導され、血腫の増大に深く関与している可能性が示唆された。また、好酸球が高値であれば慢性硬膜下血腫の治癒が悪い傾向にあることも示された。内膜肥厚型ではこれらの因子や好酸球数が他の血腫型に比べ高く、血腫の成熟過程にあることが考えられる。

【結論】

慢性硬膜下血腫において成熟過程に関連する可能性がある好酸球遊走活性ならびに成熟因子の発現と時期が確認された。今後、これらの因子が治療標的指標の1つとなる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

【目的】

慢性硬膜下血腫における好酸球の発現は既に報告があり、好酸球は慢性硬膜下血腫の成熟において重要な役割を果たしていることが知られている。しかし、この好酸球の誘導機序については、未だ明確な解明はされていない。そのため本研究において、好酸球遊走因子として知られるEotaxin-3およびEcalectin、好酸球を成熟させるInterleukin-5 (IL-5)と好酸球顆粒内に存在するEosinophil-Derived Neurotoxin (EDN)の発現について詳細な比較検討を行なった。

【方法】

穿頭血腫除去術時に、慢性硬膜下血腫検体を採取できた38症例を対象とした。血腫中のEotaxin-3, Ecalectin, IL-5, EDNの発現についてELISA法にて測定した。コントロールとして、健常人の血清5症例と未破裂脳動脈瘤患者の髄液5症例を用いた。また、平日日勤帯に手術を行った慢性硬膜下血腫20症例に関して、ギムザ染色による好酸球数計測を行なった。好酸球数は慢性硬膜下血腫内の全白血球数のうち好酸球数のしめる割合を使

用した (%eosinophil)。さらに、CT 所見を参考に血腫形態を均質型、内膜肥厚型、層形成型、隔壁形成型の 4 型に分類し、測定値に関して比較検討した。また、好酸球を測定した 20 症例に関して %eosinophil が 50% 以上の症例と 50% 以下の症例の 2 群にわけ、1 ヶ月後の治癒との関連を検討した。

【結果】

CT 分類を行なった 4 群それぞれにおいて年齢、性別、来院時意識状態など患者背景に大きな差は認められなかった。慢性硬膜下血腫内の好酸球関連因子濃度は、血清、髄液と比較して有意に高値を示した。Eotaxin-3、IL-5、EDN ならびに %eosinophil においては、内膜肥厚型で有意に高値を示したが、Ecalectin では血腫形態に有意な関係を認めなかった。それぞれの好酸球関連因子濃度で相関関係をとると、Ecalectin を除いた因子濃度や好酸球数は互いに有意な正の相関関係を示した。1 ヶ月後の治癒との関連は、%eosinophil が高値であれば治癒する症例が少なく、低値であれば治癒する症例が多い傾向となったが、有意差は認めなかった。

【考察】

好酸球遊走活性ならびに成熟因子の発現を、慢性硬膜下血腫において確認した。血清、髄液中の発現が低いことから、血腫内で発現した好酸球関連因子により好酸球が誘導され、血腫の増大に深く関与している可能性が示唆された。また、好酸球が高値であれば慢性硬膜下血腫の治癒が悪い傾向にあることも示された。内膜肥厚型ではこれらの因子や好酸球数が他の血腫型に比べ高く、アレルギー性炎症の活動性も高いことから血腫の成熟過程にあると考えられた。

【結果・結語】

慢性硬膜下血腫において、成熟過程に関連する可能性がある好酸球遊走活性ならびに成熟因子の発現とその時期が確認された。慢性硬膜下血腫ではアレルギー性炎症疾患の一面を示し、特に内膜肥厚型では活動性が高いため、この活動性を低下させることが治療標的指標の一つとなり得ることを示している。一連の本研究により、これらの因子を標的指標とすることで治療戦略が期待できる可能性を示した意義は大きく、慢性硬膜下血腫成熟における好酸球の機序解明における展望を示すものであった。以上から、上記論文について学位を授与するに値するものであると判断した。

氏名	浅井信博 ^{あさ い のぶ ひろ}
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第542号
学位授与年月日	平成31年3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	CCR4 expression in tumor-infiltrating regulatory T cells in patients with squamous cell carcinoma of the lung: A prognostic factor for relapse and survival (肺扁平上皮癌患者の腫瘍浸潤制御性T細胞におけるケモカイン受容体4の発現：再発と生存の予後因子)
論文審査委員	(主査) 教授 植田 広海 教授 笠井 謙次 教授 羽生田 正行 教授 三嶋 秀行

学位論文内容の要旨

【背景】

制御性T細胞(Treg)は、転写因子のFoxp3がマスターレギュレーターであることが知られている。Tregは自己に対する免疫応答(免疫寛容)を司っているが、がん細胞は、Tregを利用して免疫系から逃避していると考えられている。Tregには、様々なフェノタイプが存在し、中でもCCR4を発現するTregが腫瘍免疫に大きく関与していると我々は考えている。現在、非小細胞肺癌(NSCLC)において免疫療法は欠かせない治療選択肢の一つであるが、NSCLCの病理組織における腫瘍免疫環境の検討は十分とは言えない。NSCLCの病理組織におけるCCR4陽性Tregの発現と予後との関連を検討した研究は皆無であり、それらとNSCLCの予後との相関は不明である。今回、我々はCCR4陽性TregのNSCLCの病理組織における意義、予後との相関を明らかにするため本検討を行った。

【方法】

2007年1月から2010年12月に、愛知医科大学病院でNSCLCと診断され根治手術を受けたNSCLC全症例を対象とした。切除標本を、ケモカイン受容体4(CCR4)とFoxp3とで二重免疫染色を行い、それぞれのCCR4陽性Treg数、CCR4陰性Treg数、CCR4陽性Treg比(=CCR4陽性Treg数/CCR4陽性Treg数+CCR4陰性Treg数)を測定

した。またそれらと患者背景および NSCLC の予後 [無増悪生存期間 (PFS), 全生存期間 (OS)] との相関を検討した。

【結果】

対象患者は 108 例で男性 61 例 (56%), 肺癌組織は扁平上皮癌 (Sq) 24 例 (22%), 非扁平上皮癌 80 例 (78%), 年齢は 45/108 例 (42%) が 70 歳以上, 臨床病期 1/2/3 : 78/20/10 であった。喫煙歴は 64/108 例 (59%) が喫煙歴を有していた。Treg 数・CCR4 陽性 Treg 比と予後との関連は, 再発群と非再発群とで各種 Treg 数・CCR4 陽性 Treg 比に差は認めなかった。Sq においてのみ, 再発群は非再発群と比較し, より CCR4 陽性 Treg 比が高い傾向にあった。Sq の再発における CCR4 陽性 Treg 比を ROC 曲線で検討すると, 曲線下面積は 0.748 (95%信頼区間 0.542-0.955) であり, 再発の予測における有用な指標と考えた。その最適なカットオフは youden index から 0.4 と設定した。Cox 比例ハザードモデルにて, CCR4 陽性 Treg 比 ≥ 0.4 と年齢 (70 歳以上) は PFS における, また CCR4 陽性 Treg 比 ≥ 0.4 は OS における独立した予後不良因子であった。非扁平上皮癌においては, CCR4 陽性 Treg の発現と PFS, OS に関連を認めなかった。

【考察】

Treg には多様性があり, CCR4 陽性 Treg が免疫逃避に大きく関与すると考えられる。

【結論】

肺扁平上皮癌の病理組織において, CCR4 陽性 Treg 比 ≥ 0.4 は独立した予後不良因子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】

制御性 T 細胞 (Treg) は, 転写因子の Foxp3 がマスターレギュレーターであることが知られている。Treg は自己に対する免疫応答 (免疫寛容) を司っているが, がん細胞は, Treg を利用して免疫系から逃避していると考えられている。Treg には, 様々なフェノタイプが存在し, 中でも C-C chemokine receptor 4 (CCR4) を発現する Treg が腫瘍免疫に大きく関与していると我々は考えている。現在, 非小細胞肺癌 (NSCLC) において免疫療法は欠かせない治療選択肢の一つであるが, NSCLC の病理組織における腫瘍免疫環境の検討は十分とは言えない。NSCLC の病理組織における CCR4 陽性 Treg の発現と予後との関連を検討した研究は皆無であり, それらと NSCLC の予後との相関は不明である。今回, 我々は CCR4 陽性 Treg の NSCLC の病理組織における意義, 予後との相関を明らかにするため本検討を行った。

【方法】

2007 年 1 月から 2010 年 12 月に, 愛知医科大学病院で NSCLC と診断され根治手術を受

けた NSCLC 全症例を対象とした。切除標本を、ケモカイン受容体 4 (CCR4) と Foxp3 とで二重免疫染色を行い、それぞれの CCR4 陽性 Treg 数, CCR4 陰性 Treg 数, CCR4 陽性 Treg 比 (=CCR4 陽性 Treg 数 / CCR4 陽性 Treg 数 + CCR4 陰性 Treg 数) を測定した。またそれらと患者背景および NSCLC の予後 [無増悪生存期間 (PFS), 全生存期間 (OS)] との相関を検討した。

【結果と考察】

対象患者は 108 例で男性 61 例 (56%), 肺癌組織は扁平上皮癌 (Sq) 24 例 (22%), 非扁平上皮癌 80 例 (78%), 年齢は 45/108 例 (42%) が 70 歳以上, 臨床病期 1/2/3 : 78/20/10 であった。喫煙歴は 64/108 例 (59%) が喫煙歴を有していた。Treg 数・CCR4 陽性 Treg 比と予後との関連は, 再発群と非再発群とで各種 Treg 数・CCR4 陽性 Treg 比に差は認めなかった。Sq においてのみ, 再発群は非再発群と比較し, より CCR4 陽性 Treg 比が高い傾向にあった。Sq の再発における CCR4 陽性 Treg 比を ROC 曲線で検討すると, 曲線下面積は 0.748 (95% 信頼区間 0.542-0.955) であり, 再発の予測における有用な指標と考えた。その最適なカットオフは youden index から 0.4 と設定した。Cox 比例ハザードモデルにて, CCR4 陽性 Treg 比 ≥ 0.4 と年齢 (70 歳以上) は PFS における, また CCR4 陽性 Treg 比 ≥ 0.4 は OS における独立した予後不良因子であった。非扁平上皮癌においては, CCR4 陽性 Treg の発現と PFS, OS に関連を認めなかった。

以上より Treg には多様性があり, 扁平上皮癌において CCR4 陽性 Treg が免疫逃避に大きく関与すると考えられる。本論文は, 肺扁平上皮癌の病理組織において, CCR4 陽性 Treg 比が独立した予後不良因子であることが示唆された貴重な報告で学位授与に値する論文である。

氏名	むら まつ ひろ ゆき 村 松 洋 行
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第543号
学位授与年月日	平成31年3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	Targeting lactate dehydrogenase-A promotes docetaxel induced cytotoxicity predominantly in castration-resistant prostate cancer cells (去勢抵抗性前立腺癌における, LDHA 阻害薬とドセタキセルの併用投与による抗腫瘍効果の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 佐藤元彦 教授 笠井謙次 教授 前川正人 教授 佐野力

学位論文内容の要旨

【目的】

ドセタキセル (DOC) は去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) において、最も効果的な抗癌剤であるが、多くの患者ではドセタキセル抵抗性を示す。進行性前立腺癌は、他癌種同様、嫌気性解糖系が活性化することが知られており、同経路においては乳酸脱水素酵素 (LDH) の存在が不可欠である。そこで、この代謝経路を阻害することで腫瘍に対する増殖抑制効果が得られるのではないかと考えた。

本研究では、LDH の阻害によりがん細胞増殖抑制が認められるか明らかにすることを目的として実施した。

【方法】

前立腺癌株 (PC3, DU145, LNCaP) と、当施設で樹立したホルモン耐性前立腺癌株 (LN-CSS) を対象として、LDH 阻害薬である sodium oxamate (SO), DOC のそれぞれ単独、あるいは、併用による細胞増殖抑制効果を WST-1 assay で検討した。正常細胞への影響については、健常人リンパ球を用いて検討した。また、これら薬剤による cell cycle への影響については、DNA 染色法、アポトーシス誘導能については、AnnexinV 染色法によりフローサイトメトリーで検討した。また、これら薬剤存在下における細胞内 LDH 量の変化等については、ウエスタンブロット法で検討した。

【結果】

前立腺癌細胞株に対する DOC の増殖抑制効果を調べたところ、LNCaP, DU-145 に比して PC-3, LN-CSS では感受性が弱かった。また、全ての細胞株における LDH-A の発現量を検討したところ、LN-CSS では他の細胞株に比して高いことがわかった。次に、LDH 阻害薬による LDH の発現に対する影響と細胞増殖抑制効果について、LDH 阻害薬である SO を用いて検討した。その結果、全ての細胞株で濃度依存的に細胞増殖抑制効果を認め、各細胞株における LDH-A の発現抑制が確認できた。また、SO の正常組織への影響を同様に検討したところ、前立腺癌細胞株に比して感受性は低かった。DOC (1 nM) との併用では、それぞれ単独より、より高い細胞増殖抑制効果 (PC3 ~ 60%, DU145 ~ 60%, LNCaP ~ 45%, LN-CSS ~ 75%) が認められた。LN-CSS の細胞増殖抑制結果から combination index (CI) を算出した結果、 $CI < 1.0$ であり、DOC と SO の併用投与における相乗効果が観察された。この相乗効果と LDH の発現量との関連について、LDH-A 発現をノックダウンすることで検討したところ LDH の発現量の低下により DOC に対する感受性が上昇する事が確認できた。これらの薬剤による細胞周期への影響を検討したところ、DOC と SO の併用により、G2M arrest が観察され、また、AnnexinV 染色法による検討の結果、これら薬剤により、アポトーシスが誘導される事も観察された。

【結論】

前立腺癌治療において、LDH 阻害薬の有効性が示唆された。また、前立腺癌細胞の DOC に対する感受性は、LDH の発現量と反比例しており、LDH の発現を抑えることにより、DOC に対する感受性が高まった。このことから、DOC と LDH 阻害薬の併用は、前立腺癌の治療において有用である事が示された。

論文審査の結果の要旨

【目的】

ドセタキセル (DOC) は去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) において、最も効果的な抗癌剤であるが、多くの患者ではドセタキセル抵抗性を示す。進行性前立腺癌は、他癌種同様、嫌気性解糖系が活性化することが知られており、同経路においては乳酸脱水素酵素 (LDH) の存在が不可欠である。この代謝経路を阻害することで腫瘍に対する増殖抑制効果が得られる可能性が考えられた。本研究は、LDH の阻害によるがん細胞増殖抑制効果を明らかにすることを目的とした。

【方法】

前立腺癌株 (PC3, DU145, LNCaP) と、当施設で樹立したホルモン耐性前立腺癌株 (LN-CSS) を対象として、LDH 阻害薬である sodium oxamate (SO), DOC のそれぞれ単独、あるいは、併用による細胞増殖抑制効果を WST-1 assay で検討した。正常細胞への影響

については、健常人リンパ球を用いて検討した。また、これら薬剤による cell cycle への影響については DNA 染色法で、アポトーシス誘導能については AnnexinV 染色法で、共にフローサイトメトリーにより検討した。さらに、これら薬剤存在下における細胞内 LDH 発現量の変化等について、ウエスタンブロット法で検討した。

【結果】

前立腺癌細胞株に対する DOC の増殖抑制効果を調べたところ、LNCaP, DU-145 に比して PC-3, LN-CSS では効果が小さかった。また、LDH-A の発現量を検討したところ、LN-CSS では他の細胞株に比して高いことがわかった。

次に、LDH 阻害薬である SO の細胞増殖抑制効果と LDH 発現に対する影響について検討した。SO は全ての細胞株に対して濃度依存的な細胞増殖抑制効果を示し、LDH-A の発現を抑制した。また、SO の正常組織への影響を同様に検討したところ、前立腺癌細胞株に比して感受性は低かった。DOC (1 nM) との併用では、単独使用に比べて、より高い細胞増殖抑制効果 (PC3: ~ 60%, DU145: ~ 60%, LNCaP: ~ 45%, LN-CSS: ~ 75%) が認められた。ホルモン耐性前立腺癌株 LN-CSS の細胞増殖抑制結果から combination index (CI) を算出した結果、 $CI < 1.0$ であり、DOC と SO の併用投与における相乗効果が観察された。この相乗効果と LDH の発現量との関連について、LDH-A 発現をノックダウンすることで検討したところ LDH の発現量の低下により DOC に対する感受性が上昇する事が確認できた。さらに、これらの薬剤による細胞周期への影響を検討したところ、DOC と SO の併用により、G2M arrest が観察された。また、AnnexinV 染色法による検討の結果、これら薬剤によりアポトーシスが誘導される事が観察された。

【結論】

前立腺癌の治療において、LDH 阻害薬の有効性が示唆された。また、前立腺癌細胞の DOC に対する感受性は、LDH の発現量と反比例しており、LDH の発現を抑えることにより、DOC に対する感受性が高まった。このことから、DOC と LDH 阻害薬の併用は、前立腺癌の治療において有用である事が示された。

本研究では、ドセタキセル感受性低下を示す前立腺癌細胞に対する LDH 阻害の有効性が検討された。本論文は、ドセタキセルと LDH 阻害薬の相乗効果を見だし、治療抵抗性前立腺癌に対する新たな治療の可能性を示唆した興味深い研究であり、学位授与に値すると判断した。

氏名	にしむらまさき 西村真樹
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第390号
学位授与年月日	平成30年6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	Clinical significance of serum anti-GM-CSF autoantibody levels in autoimmune pulmonary alveolar proteinosis (自己免疫性肺胞蛋白症における血清抗 GM-CSF 自己抗体の臨床的意義)
論文審査委員	(主査) 教授 伊藤 恭彦 教授 高村 祥子 教授 米田 政志 教授 藤原 祥裕

学位論文内容の要旨

【背景】

肺胞蛋白症 (pulmonary alveolar proteinosis : PAP) は、肺胞、末梢気道にサーファクタントプロテインが過剰に蓄積する疾患である。従来特発性 PAP の原因病態はまったく不明であったが、気管支肺胞洗浄液や血清中の抗 GM-CSF 自己抗体 (α GMAb) の発見が解明の突破口となり、現在は自己免疫性 PAP (autoimmune PAP : aPAP) と呼ばれている。aPAP 患者の血清 α GMAb 濃度は健常者と比較して上昇しているが、臨床上鑑別が必要な他のびまん性肺疾患における動向は十分検討されていない。今回我々は、種々のびまん性肺疾患の血清 α GMAb 濃度を測定し、aPAP を識別するための cut-off 値を求めた。また aPAP の自然経過と α GMAb の関係についても検討した。

【方法】

対象は、健常者 50 名、aPAP 46 名、サルコイドーシス 50 名、特発性間質性肺炎 52 名、じん肺 75 名である。血清の α GMAb IgG は ELISA を用いて測定した。ROC 解析における cut-off 値の決定には、Jouden's index を使用した。

また 18 ヶ月間以上全肺洗浄や GM-CSF 吸入治療など PAP に対する特異的な治療を行わない 19 名の aPAP 患者について、肺の CT 所見で判定した臨床経過と血清 α GMAb IgG 濃度との関係を検討した。CT 所見は左右の上肺野 (大動脈弓の真上)、中肺野 (気管分岐部)、下肺野 (舌区下葉の分岐部) の全 6 断面でスコア 0 (正常)、1 (その断面におけ

る陰影面積が全面積の <5%), 2 (5-24%), 3 (25-49%), 4 (50-74%), 5 (75% ≤) とし、総スコアを算出した。最初と比較して最後の総スコアが3以上減少した群を改善群(14例)とし、それ以外は非改善群(5例)とした。また各群で抗体濃度と観察年数の単回帰分析を行った。さらに抗体濃度を従属変数とし、観察年数、群、観察年数と群の交互作用を固定効果とする混合モデル分析を行った。

【結果】

aPAPの血清αGMAb IgG濃度は、健常人 ($p=3.3 \times 10^{-16}$) や他のびまん性肺疾患 ($<1.0 \times 10^{-15}$) と比較し有意に上昇していた。ROC解析でaPAPと全びまん性肺疾患を合わせた集団とのcut-off値は、 $2.8 \mu\text{g/ml}$ で感度100%、特異度98%だった。

自然経過を追ったaPAP19名の改善群と非改善群との比較では、最初の血清αGMAb IgG濃度は改善群で有意に低かった ($p=0.008$)。ROC解析では改善群と非改善群のcut-off値は、 $30.7 \mu\text{g/ml}$ で感度79%、特異度100%であった。αGMAb IgG濃度と観察年数との単回帰分析では、改善群のみで抗体濃度は有意に減少していた(標準化係数 $\beta = -0.323$, $p=0.009$)。混合モデル分析では、抗体濃度と群の交互作用は有意であった ($p=0.001$)。

【考察】

本研究は肺胞蛋白症と鑑別の対象となる種々の肺疾患患者から、初めて広く血清を収集し、識別のためのcut-off値を求めた。それは臨床的に確認できるaPAPの発症閾値と考えることができる。また血清αGMAb IgG濃度が低い症例では、その後陰影が改善することが多いこと、それとともにαGMAb IgG濃度が低下することも明らかにした。改善群と非改善群のcut-off値は、aPAPの軽快閾値と考えることができる。

【結論】

本研究は、血清αGMAb IgG濃度がaPAPの診断や経過のマーカーとして有用であることを示した。

論文審査の結果の要旨

肺胞蛋白症 (pulmonary alveolar proteinosis : PAP) は、肺胞、末梢気道にサーファクタントプロテインが過剰に蓄積する疾患である。従来特発性PAPの原因病態はまったく不明であったが、気管支肺胞洗浄液や血清中の抗GM-CSF自己抗体 (αGMAb) の発見により、現在は自己免疫性PAP (autoimmune PAP : aPAP) と呼ばれることになった。aPAP患者の血清αGMAb濃度は健常者と比較して上昇しているが、臨床上鑑別が必要な他のびまん性肺疾患における動向は十分検討されていない。今回、種々のびまん性肺疾患の血清αGMAb濃度を測定し、aPAPを識別するためのcut-off値を求めた。またaPAPの自然経過とαGMAbの関係についても検討した。

今回検討の対象は、健常者50名、aPAP46名、サルコイドーシス50名、特発性間質性

肺炎 52 名, じん肺 75 名である。血清の α GMAb IgG は ELISA を用いて測定した。ROC 解析における cut-off 値の決定には, Jouden's index を使用した。

また 18 ケ月間以上全肺洗浄や GM-CSF 吸入治療など PAP に対する特異的な治療を行わない 19 名の aPAP 患者について, 肺の CT 所見で判定した臨床経過と血清 α GMAb IgG 濃度との関係を検討した。CT 所見は左右の上肺野 (大動脈弓の真上), 中肺野 (気管分岐部), 下肺野 (舌区下葉の分岐部) の全 6 断面で, スコア 0 (正常), 1 (その断面における陰影面積が全面積の $<5\%$), 2 (5-24%), 3 (25-49%), 4 (50-74%), 5 (75% \leq) とし, 総スコアを算出。最初と比較して最後の総スコアが 3 以上減少した群を改善群 (14 例) とし, それ以外は非改善群 (5 例) とした。また各群で抗体濃度と観察年数の単回帰分析を行った。さらに抗体濃度を従属変数とし, 観察年数, 群, 観察年数と群の交互作用を固定効果とする混合モデル分析を行った。

結果として,

- ① aPAP の血清 α GMAb IgG 濃度は, 健常人や他のびまん性肺疾患と比較し有意に上昇していた。ROC 解析で aPAP と全びまん性肺疾患を合わせた集団との cut-off 値は, $2.8\mu\text{g}/\text{ml}$ で感度 100%, 特異度 98% だった。
- ② 自然経過を追った aPAP 19 名の改善群と非改善群との比較では, 最初の血清 α GMAb IgG 濃度は改善群で有意に低かった。ROC 解析では改善群と非改善群の cut-off 値は, $30.7\mu\text{g}/\text{ml}$ で感度 79%, 特異度 100% であった。 α GMAb IgG 濃度と観察年数との単回帰分析では, 改善群のみで抗体濃度は有意に減少していた (標準化係数 $\beta = -0.323$, $p=0.009$)。混合モデル分析では, 抗体濃度と群の交互作用は有意であった ($p=0.001$)。

以上のように本研究では肺胞蛋白症と鑑別の対象となる種々の肺疾患患者から, 初めて広く血清を収集し, 識別のための cut-off 値を示した。これは臨床的に確認できる aPAP の発症閾値と判断できた。また血清 α GMAb IgG 濃度が低い患者では, その後陰影が改善することが多いこと, それとともに α GMAb IgG 濃度が低下することも明らかにした。

本研究では, 血清 α GMAb IgG 濃度が aPAP の診断や経過のマーカーとしての有用であることを示し, 臨床上大変重要な知見を報告した。これらより学位授与に値する論文であると考えられる。

氏名	塩見有佳子 <small>しお み ゆかこ</small>
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第391号
学位授与年月日	平成30年9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	Clinical significance of circulating tumor cells (CTCs) with respect to optimal cut-off value and tumor markers in advanced/metastatic breast cancer (進行・転移性乳癌における循環血がん細胞 (CTC) の至適カットオフ値と腫瘍マーカーとしての臨床的意義)
論文審査委員	(主査) 教授 佐野 力 教授 鈴木 孝太 教授 鈴木 耕次郎 教授 森 直治

学位論文内容の要旨

【背景】

CEA と CA15-3 は転移性乳癌において有用な腫瘍マーカーであるが、循環血がん細胞 (CTC) もまた、進行・転移性乳癌患者の血液中で同定されるものである。我々は転移性乳癌患者における CTC の最適なカットオフ値を確立し、CTC の値により予後を評価し、CEA や CA15-3 に付加的な情報を提供できるかを明らかにするために解析を行った。

【方法】

2007年6月～2013年3月まで、98例の転移性乳癌を対象に研究を行った。末梢血7.5ml当たりのCTCと同時にCEA・CA15-3も測定した。CTCはCell Search Systemを用いて測定した。CTC値は0 (CTC陰性群) か1以上 (CTC陽性群) に分けた。CTCの臨床的意義はCEAやCA15-3の値と関連性が無いことを明らかにすることである。

解析には χ^2 検定を用いた。進行・転移性乳癌の予後予測としてのCTC評価のためにハザード比を用いたCox多変量解析を使用した。

【結果】

CTCのカットオフ値を1とすると、CTC陰性群は53例 (54.1%)、CTC陽性群は45例 (45.9%) であった。CTC陽性群では陰性群に比べ生存率が劣った ($p < 0.0001$)。71例 (72.4%) でCTCと同時に腫瘍マーカーの測定を行った。CTCと腫瘍マーカーの関連性

を考察するために症例を腫瘍マーカー正常群と高値に分けた。腫瘍マーカー正常群では CTC 陰性群は CTC 陽性群より良好な予後が得られた ($p=0.005$)。これらは進行・転移性乳癌症例において CTC が腫瘍マーカーより強力な予後因子となることを示している。多変量解析では OS において CTC1 以上が唯一重要な予後因子であった。

【結論】

進行・転移性乳癌では CTC のカットオフ値は 1 が妥当であることが分かった。CTC は CEA や CA15-3 を超える予後情報を与えるものと思われる。

論文審査の結果の要旨

【背景】

CEA と CA15-3 は転移性乳癌において有用な腫瘍マーカーであるが、循環血腫瘍細胞 (CTC) も進行・転移性乳癌患者の血液中で同定されるものである。我々は転移性乳癌患者における CTC の最適なカットオフ値を確立し、CTC の値により予後を評価し、CEA や CA15-3 に付加的な情報を提供できるかを明らかにするために解析を行った。

【方法】

2007 年 6 月～2013 年 3 月まで、98 例の転移性乳癌を対象に研究を行った。末梢血 7.5ml 当たりの CTC と同時に CEA・CA15-3 も測定した。CTC は Cell Search System を用いて測定した。CTC 値は 0 (CTC 陰性群) か 1 以上 (CTC 陽性群) に分けた。CTC の臨床的意義は CEA や CA15-3 とは独立した因子であることにある。統計解析には χ 検定などを用いた。進行・転移性乳癌の予後予測としての CTC 評価のためにハザード比を用いた Cox 多変量解析を使用した。

【結果】

CTC のカットオフ値を 1 とすると、CTC 陰性群は 53 例 (54.1%)、CTC 陽性群は 45 例 (45.9%) であった。CTC 陽性群では陰性群に比べ生存率が劣った ($p<0.0001$)。71 例 (72.4%) で CTC と同時に腫瘍マーカーの測定を行った。CTC と腫瘍マーカーの関連性を考察するために症例を腫瘍マーカー正常群と高値に分けた。腫瘍マーカー正常群では CTC 陰性群は CTC 陽性群より良好な予後が得られた ($p=0.005$)。これらは進行・転移性乳癌症例において CTC が腫瘍マーカーより強力な予後因子となることを示している。多変量解析では OS において CTC1 以上が唯一の重要な予後因子であった。

【結論】

今回の解析では進行・転移性乳癌では CTC のカットオフ値は 1 が妥当であることが分かった。CTC は CEA や CA15-3 を超える予後情報を与えるものと思われる。

進行・転移性乳癌における CTC の臨床的意義を明らかにするために本研究より得られた知見は新たなものであり、今後乳癌のみならず他臓器癌における CTC の意義を解明し

ていくうえで有用な情報を提供してい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	丹羽愛知
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第392号
学位授与年月日	平成30年10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	Interleukin-6, MCP-1, IP-10, and MIG are sequentially expressed in cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage (くも膜下出血後の脳脊髄液における IL-6, MCP-1, IP-10, MIG の経時的発現)
論文審査委員	(主査) 教授 道 勇 学 教授 岡 田 尚志郎 教授 武 内 恒 成 教授 奥 村 彰 久

学位論文内容の要旨

【背景】

くも膜下出血後の約2週間にわたり影響する遅発性脳虚血は、予後を左右する重要な病態であり、炎症性サイトカインの関与が注目されている。くも膜下出血後の髄液中では Interleukin-6 (IL-6) や Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) の上昇が報告されているが、他のサイトカインも含めたくも膜下出血後の炎症性サイトカインの経時的変化についての報告はない。本研究ではくも膜下出血後の2週間に渡る4種類のサイトカインの経時的変化を明らかにすることを目的としている。

【方法】

くも膜下出血発症し開頭クリッピング術を受け、その際に脳槽ドレナージチューブを留置した10例を対象とした。14日にわたり髄液を採取し (day1, 3, 5, 7, 10, 14), ELISA キットを用いて、IL-6, MCP-1, interferon- γ -inducible protein-10 (IP-10), monokine induced by interferon- γ (MIG) の濃度を測定した。

【結果】

IL-6 は発症直後の day1 から急激に上昇しており、MCP-1 は day3, IP-10 と MIG は day5 で有意にピークとなった。また、IL-6 と MCP-1 の最高濃度、day5 における IP-10 と MIG には強い相関関係がみられた。IL-6 の最高濃度が高いほど予後不良な傾向を認めた。

【結論】

くも膜下出血後の髄液において、急激に上昇した IL-6 が MCP-1 を誘導し、IP-10 と MIG の発現を促す可能性が示唆された。くも膜下出血後に起こる遅発性脳虚血において、このような2週間にわたるダイナミックなサイトカインの経時的変化が関与していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

くも膜下出血発症後の、遅発性脳虚血をはじめとする頭蓋内環境変化は、予後を左右する重要な病態である。本研究の目的は、炎症性サイトカインの関与に注目し、くも膜下出血後の髄液中における4種類の炎症性サイトカイン、Interleukin-6 (IL-6), Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1), interferon- γ -inducible protein-10 (IP-10), monokine induced by interferon- γ (MIG) の経時的発現変化を明らかにすることである。申請者は、破裂動脈瘤に対して開頭クリッピング術を受け、脳槽ドレナージチューブを留置した、くも膜下出血急性期患者10例を対象に、発症1, 3, 5, 7, 10, 14日後にチューブから採取した髄液をサンプルとして、ELISAキットを用いてこれら4種類の炎症性サイトカイン濃度を測定する研究方略を採用した。結果、IL-6は発症直後のday1から急激に上昇、MCP-1はday3、IP-10とMIGはday5で有意にピークとなること、IL-6とMCP-1の最高濃度およびday5におけるIP-10とMIGには強い相関関係がみられたこと、そしてIL-6の最高濃度が高いほど予後不良な傾向を認めたことを明らかにした。これらの結果を踏まえ、申請者は、くも膜下出血後の髄液において、急激に上昇したIL-6がMCP-1を誘導し、IP-10とMIGの発現を促す可能性が示唆された。くも膜下出血後に起こる遅発性脳虚血において、このような急性期の2週間にわたるダイナミックなサイトカイン発現の経時的変化が関与していると考えられたと結論している。

本研究の成果は、くも膜下出血が招来する、遅発性脳虚血をはじめとする症候重篤化の機序を解明するため、さらには発症急性期における先制的治療ターゲットを同定するための重要な新知見を提示するものであり、本疾患の予後改善に大きく寄与することが期待される。拠って、本論文は学位に値するものと評価した。

氏名	井上匡央
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第393号
学位授与年月日	平成30年12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	Long-term outcomes of endoscopic gallbladder stenting in high-risk surgical patients with calculous cholecystitis (with videos) (手術困難な胆石性胆嚢炎に対する内視鏡的胆嚢ステント留置術の長期経過)
論文審査委員	(主査) 教授 佐野 力 教授 増 渕 悟 教授 高 村 祥 子 教授 三 鴨 廣 繁

学位論文内容の要旨

【背景】

年齢や基礎疾患などから手術困難な胆石性胆嚢炎例では、改善が得られても高い再発率を示す。特に胆嚢ドレナージ後の症例においては、再発率は約22～47%と報告されており非常に高い。近年、このような手術困難例に対する、内視鏡的胆嚢ステント留置術(EGBS)の胆嚢炎再発予防効果が注目されている。しかしながら、EGBSの長期経過に関するエビデンスは未だ乏しく、その有用性は明確ではない。

【目的】

手術困難な胆石性胆嚢炎例に対する、EGBS長期留置の胆嚢炎再発予防効果を明らかにすること。

【方法】

2007年から2014年までに胆嚢ドレナージを要した胆石性胆嚢炎例のうち、年齢や基礎疾患などから手術困難であった64例を対象とした。当院では2012年以降手術困難例に対してEGBSを施行しており、2012年から2014年までにEGBSを施行した群(EGBS群)とドレナージ後に経過観察した群(OAPD群)の2群に分けて、胆嚢炎再発率、胆嚢炎再発までの期間、後期偶発症率(胆石関連合併症、ステント関連合併症)に関して比較検討を行った。

【結果】

EGBS 群 35 例，OAPD 群 29 例であり，両群の患者背景に有意差は認めなかった。EGBS の手技成功率は 82.9% (29/35) であった。不成功例のうち 4 例は経皮経肝胆嚢ドレナージに移行し，その後ランデブー法を施行することにより最終的には 94.3% (33/35) で EGBS が可能であった。平均観察期間は OAPD 群 485 日，EGBS 群 473 日であり有意差は認めなかった ($P=0.649$)。胆嚢炎再発率は OAPD 群 17.2% (5/29)，EGBS 群 0% (0/33) であり，有意に EGBS 群で低値であった ($P=0.043$)。胆嚢炎再発までの期間は有意に OAPD 群で短期であった ($P=0.015$)。胆嚢炎再発以外の後期偶発症は OAPD 群で胆道痛を 2 例認め，EGBS 群で胆管炎を 2 例，ステント逸脱を 1 例認めた。胆嚢炎再発を含めた全体の後期偶発症率に関しては OAPD 群 24.1% (7/29)，EGBS 群 9.1% (3/33) であり，有意差を認めなかった ($P=0.207$)。

【結論】

胆石性胆嚢炎の根治的治療は胆嚢摘出術であるが，手術困難例において EGBS は胆嚢炎再発を抑制し得る。しかしながら，ステント留置に伴い新たに胆管炎やステント逸脱などの偶発症を来す可能性がある。胆嚢炎再発予防治療として EGBS が確立されるには，これらステント関連偶発症を軽減していく試みが必要と考えられる。

論文審査の結果の要旨

【背景】

年齢や基礎疾患などから手術困難な胆石性胆嚢炎例では，改善が得られても高い再発率を示す。特に胆嚢ドレナージ後の症例においては，再発率は約 22～47%と報告されており非常に高い。近年，このような手術困難例に対する，内視鏡的胆嚢ステント留置術 (EGBS) の胆嚢炎再発予防効果が注目されている。しかしながら，EGBS の長期経過に関するエビデンスは未だ乏しく，その有用性は明確ではない。

【目的】

手術困難な胆石性胆嚢炎例に対する，EGBS 長期留置の胆嚢炎再発予防効果を明らかにすること。

【方法】

2007 年から 2014 年までに胆嚢ドレナージを要した胆石性胆嚢炎例のうち，年齢や基礎疾患などから手術困難であった 64 例を対象とした。当院では 2012 年以降手術困難例に対して EGBS を施行しており，2012 年から 2014 年までに EGBS を施行した群 (EGBS 群) とドレナージ後に経過観察した群 (OAPD 群) の 2 群に分けて，胆嚢炎再発率，胆嚢炎再発までの期間，後期偶発症率 (胆石関連合併症，ステント関連合併症) に関して比較検討を行った。

【結果】

EGBS 群 35 例, OAPD 群 29 例であり, 両群の患者背景に有意差は認めなかった。EGBS の手技成功率は 82.9% (29/35) であった。不成功例のうち 4 例は経皮経肝胆嚢ドレナージに移行し, その後ランデブー法を施行することにより最終的には 94.3% (33/35) で EGBS が可能であった。平均観察期間は OAPD 群 485 日, EGBS 群 473 日であり有意差は認めなかった ($P=0.649$)。胆嚢炎再発率は OAPD 群 17.2% (5/29), EGBS 群 0% (0/33) であり, 有意に EGBS 群で低値であった ($P=0.043$)。胆嚢炎再発までの期間は有意に OAPD 群で短期であった ($P=0.015$)。胆嚢炎再発以外の後期偶発症は OAPD 群で胆道痛を 2 例認め, EGBS 群で胆管炎を 2 例, ステント逸脱を 1 例認めた。胆嚢炎再発を含めた全体の後期偶発症率に関しては OAPD 群 24.1% (7/29), EGBS 群 9.1% (3/33) であり, 有意差を認めなかった ($P=0.207$)。

【結論】

胆石性胆嚢炎の根治的治療は胆嚢摘出術であるが, 手術困難例において EGBS は胆嚢炎再発を抑制し得る。しかしながら, ステント留置に伴い新たに胆管炎やステント逸脱などの偶発症を来す可能性がある。胆嚢炎再発予防治療として EGBS が確立されるには, これらステント関連偶発症を軽減していく試みが必要と考えられる。

胆石胆嚢炎の手術困難例における内視鏡的胆嚢ステント留置術 (EGBS) の臨床的意義を明らかにするために本研究より得られた知見は新たなものであり, 今後高齢化社会における胆石胆嚢炎症例に対するベストプラクティスを解明していくうえで有用な情報を提供してい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	はぎ はら ま きよ 萩原真清
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第394号
学位授与年月日	平成30年12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	Sterile Radiation Protective Sheet Placed on the Patient's Abdomen during Hepatic Arterial Chemoembolization Reduces Radiation Dose to the Operator's Eyes (肝動脈化学塞栓療法における術者への散乱線遮蔽用ディスプレイガード防護シートの有用性)
論文審査委員	(主査) 教授 佐野 力 教授 中野 隆 教授 米田 政志 教授 石橋 宏之

学位論文内容の要旨

【背景】

放射線による眼の水晶体への影響として混濁や放射線白内障を発症するリスクがあることが知られている。国際放射線防護委員会は2011年に水晶体のしきい線量を0.5Gyと下げ、職業被ばくにおける眼の水晶体の等価線量限度を150mSv/年から、5年間の平均で20mSv/年かつ年間最大50mSvまでと大幅に引き下げることが勧告された。そのため血管内治療(IVR)時は出来る限り水晶体線量を低減するように配慮することが重要である。この研究の目的は、一般的なIVR手技の1つである肝動脈化学塞栓療法(TACE)における術者への散乱線遮蔽用ディスプレイガード防護シートの効果をファントム実験および臨床的に評価し、特に術者の眼の散乱線低減における有用性を評価することである。

【方法】

ディスプレイガード防護シートは商品名Radpadを使用した。ファントム実験では、ランドファントムの肝右葉に相当する部位の透視および血管撮影を行い、防護シートの有無による散乱線量の違いを複数か所(ファントムの体軸と45度の線上で、X線束中心から50, 100, 150cmの距離で、それぞれ床面から30, 60, 90, 120, 150, 180cmの位置)で評価した。防護シートはファントムの右下腹部を覆うように置かれた。臨床実験では、連続するTACE40症例が対象で、防護シートの有無がランダムに振り分けられ、4名の放

放射線科医により手技が行われた。術者は半導体線量計を左側頭部（眼の高さ）に装着した状態で手技を行い、透視および血管撮影による散乱線を計測した。すべての患者で身長、体重、BMI、肝門部レベルの腹厚が記録され、Gafchromic フィルムおよびスキンドーズモニターで面積線量積と入射皮膚線量が計測された。

【結果】

ファントム実験では、防護シートの使用で術者の上半身に相当する領域で散乱線分布の減少が認められ、透視では最大 63.2%、血管撮影では最大 56.3%の減少率が得られた。臨床実験では、防護シート使用群と不使用群で症例に目立った偏りはなかった。透視による術者の眼の線量率は、防護シート使用群で中央値 $1.3 \mu\text{Sv}/\text{min}$ で、不使用群 $2.9 \mu\text{Sv}/\text{min}$ と比較して有意な差が見られた ($p < 0.0001$)。また 1 手技あたりの眼の平均合計線量は防護シート使用群で $70.7 \mu\text{Sv}$ で、こちらも不使用群の $148.8 \mu\text{Sv}$ と比較して有意な差がみられた。

【結論】

散乱線遮蔽用ディスプレイザブル防護シートの使用は、TACE における術者の上半身、とりわけ眼の散乱線低減に有用である。

論文審査の結果の要旨

【背景】

放射線による眼の水晶体への影響として混濁や放射線白内障を発症するリスクがあることが知られている。国際放射線防護委員会は 2011 年に水晶体のしきい線量を 0.5Gy と下げ、職業被ばくにおける眼の水晶体の等価線量限度を $150\text{mSv}/\text{年}$ から、5 年間の平均で $20\text{mSv}/\text{年}$ かつ年間最大 50mSv までと大幅に引き下げることが勧告された。そのため血管内治療 (IVR) 時は出来る限り水晶体線量を低減するように配慮することが重要である。この研究の目的は、一般的な IVR 手技の 1 つである肝動脈化学塞栓療法 (TACE) における術者への散乱線遮蔽用ディスプレイザブル防護シートの効果をファントム実験および臨床的に評価し、特に術者の眼の散乱線低減における有用性を評価することである。

【方法】

ディスプレイザブル防護シートは商品名 Radpad を使用した。ファントム実験では、ランドファントムの肝右葉に相当する部位の透視および血管撮影を行い、防護シートの有無による散乱線量の違いを複数か所（ファントムの体軸と 45 度の線上で、X 線束中心から 50, 100, 150cm の距離で、それぞれ床面から 30, 60, 90, 120, 150, 180cm の位置）で評価した。防護シートはファントムの右下腹部を覆うように置かれた。臨床実験では、連続する TACE40 症例が対象で、防護シートの有無がランダムに振り分けられ、4 名の放射線科医により手技が行われた。術者は半導体線量計を左側頭部（眼の高さ）に装着した

状態で手技を行い、透視および血管撮影による散乱線を計測した。すべての患者で身長、体重、BMI、肝門部レベルの腹厚が記録され、Gafchromic フィルムおよびスキンドーズモニターで面積線量積と入射皮膚線量が計測された。

【結果】

ファントム実験では、防護シートの使用で術者の上半身に相当する領域で散乱線分布の減少が認められ、透視では最大 63.2%、血管撮影では最大 56.3%の減少率が得られた。臨床実験では、防護シート使用群と不使用群で症例に目立った偏りはなかった。透視による術者の眼の線量率は、防護シート使用群で中央値 $1.3 \mu\text{Sv}/\text{min}$ で、不使用群 $2.9 \mu\text{Sv}/\text{min}$ と比較して有意な差が見られた ($p < 0.0001$)。また 1 手技あたりの眼の平均合計線量は防護シート使用群で $70.7 \mu\text{Sv}$ で、こちらも不使用群の $148.8 \mu\text{Sv}$ と比較して有意な差がみられた。

【結論】

散乱線遮蔽用ディスプレイザブル防護シートの使用は、TACE における術者の上半身、とりわけ眼の散乱線低減に有用である。

IVR 手技の 1 つである肝動脈化学塞栓療法 (TACE) における術者への散乱線遮蔽用ディスプレイザブル防護シートの効果をファントム実験および臨床的に評価し、特に術者の眼の散乱線低減における有用性を評価するために本研究より得られた知見は新たなものであり、今後職業性被ばくを軽減する方法を追求していくうえで有用な情報を提供してい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	て づか たけ ひこ 手 塚 剛 彦
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第395号
学位授与年月日	平成31年2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	The plant alkaloid conophylline inhibits matrix formation of fibroblasts (植物アルカロイドコノフィリンは線維芽細胞のマトリックス形成を阻害する)
論文審査委員	(主査) 教授 笠 井 謙 次 教授 佐 藤 元 彦 教授 高 村 祥 子 教授 渡 邊 大 輔

学位論文内容の要旨

【目的】

Conophylline (CNP) は、熱帯植物の葉から抽出された vinka alkaloid で、activin A の効果を模倣することが示されている。Activin A は腭星細胞の線維化を促進するが、CNP は線維化を阻害することが報告されている。本研究では、ヒト線維芽細胞に対する CNP の細胞外マトリックス分子 (ECM) の発現に対する効果に関して検討した。

【方法と結果】

線維芽細胞の遺伝子発現に対する CNP の影響について網羅的解析を行った。Microarray 解析では、ヒアルロン酸合成酵素 1, 2 (HAS1, 2) の顕著な発現低下が確認され、qRT-PCR においても CNP 添加後 3 時間で HAS2 とその antisense の著明な減少を確認した。Collagen 遺伝子の発現には影響はなかった。一方で、activin A にこの抑制効果は見られなかった。赤血球を用いた exclusion assay では、TGF β の有無に関わらず、ヒアルロン酸 (HA) コートが観察され、CNP 添加では、両群ともコートは減少した。ELISA による培養液中の HA 量は、CNP 濃度依存的に減少した。HA の構造や機能には HA と結合する分子が関与することから、これらの分子を解析した。

Versican では、TGF β によって発現が亢進した。CNP は TGF β 非存在下において、versican の沈着には影響はなかったが、TGF β 存在下では沈着を阻害した。

次に、Collagen に対して検討した。Type I collagen の沈着は、TGF β 処理によって亢

進した。CNPはTGF β 非処理群で抑制傾向を、TGF β 処理群では明らかな抑制を示した。Type III collagenもTGF β 処理群と非処理群の両方で有意な抑制を示した。Cell LysateとECMのcollagenレベルをSircol assayを用いて測定したところ、CNPはTGF β 非存在下では影響はなく、TGF β 処理群では有意に抑制した。[3-H] proline 標識法にて、collagen合成を解析したところ、全タンパク質の合成レベルは、TGF β 処理によって約50%増加した。また、TGF β 非存在下と存在下において、CNPは全タンパク質生合成を50-65%まで抑制した。全タンパク質の生合成量に対するcollagenの割合は、TGF β 非処理群で約2%、TGF β 処理群で約5%で、CNPによる影響はなかった。このことは、CNPが全タンパク質の生合成を阻害し、その阻害はcollagenに特異的ではないことを示している。

TGF β は、線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を促進する。この分化に対するCNPの影響を検討した。Smad2/3および α SMAの二重染色において、Smad2/3は、TGF β 非存在下で細胞質に主に局在し、TGF β 処理によって核へ移行しなかった。CNPの有無に関わらず、Smad2/3は核に移行しなかった。TGF β 非存在下では、CNPは、 α SMA陽性細胞の数に影響はなかったが、TGF β 存在下では、 α SMA陽性細胞を減少させた。

CNPの抑制効果はTGF β 処理の際に強く現れることから、CNPはTGF β の経路を抑制していると考えられた。シグナル伝達経路を解析したところ、CNPはSmad2/3経路には影響しないことを確認した。ERK1/2はTGF β 処理によってリン酸化が抑制され、TGF β 処理群、非処理群とも、CNPはERK1/2のリン酸化を抑制した。p38 MAPKでは、TGF β 処理によってリン酸化が抑制された。CNPはTGF β 非処理群ではリン酸化を抑制したが、TGF β 処理群ではリン酸化に影響はなかった。

【考察】

CNPはHAS1,2の転写を顕著に抑制し、この作用はおそらくTGF β からMAPKへの経路を介していると考えられた。しかしHAS2の転写制御機構は未だ十分には明らかにされていないため、詳細な抑制機構の解明は今後の課題である。CNPは線維芽細胞のHA, versican, collagenのECMへの沈着を抑制することが明らかとなった。本研究はCNPが線維化抑制剤として利用できる可能性を示唆している。

論文審査の結果の要旨

細胞外マトリックス（ECM）の過剰形成は、肝硬変や肺線維症、ケロイドなど様々な疾患の病態を決定している。そのためECM形成機構の解明とその制御法の開発は、係る疾患の治療のための喫緊の課題である。

熱帯植物から抽出されたvinka alkaloidの一つConophylline（CNP）は、activin A類似作用を示すと考えられてきた。しかし臍臓星細胞をモデルとした研究ではactivin Aが

線維化を促進するのに対し CNP は線維化を阻害すると報告されており， CNP の ECM 形成に対する作用について一定の評価は得られていない。こうした状況を踏まえ本研究は，ヒト線維芽細胞を用いて CNP の ECM 形成への作用について解明しようとしたものである。

その結果線維芽細胞の網羅的遺伝子発現解析において， CNP は HAS1,2 遺伝子の転写を顕著に抑制した。さらに CNP は TGF β 刺激下において ECM への versican と collagen の取込みを抑制した。さらに CNP は TGF β 刺激による線維芽細胞から α SMA 陽性筋線維芽細胞への分化を抑制した。

そこで CNP の TGF β シグナルへの作用機序を解析すると， CNP は TGF β 依存性 Smad2/3 核移行と Smad2 リン酸化に影響を与えないが， ERK1/2 リン酸化をさらに抑制することが明らかとなった。

以上より CNP は，特に ERK1/2 活性化を抑制することで HAS1,2 発現を制御することが示唆された。

本研究により， CNP が線維芽細胞による ECM 形成制御に有効である可能性が示され，その分子機構の一端が解明された。本研究は，種々の線維増生疾患の治療に向けた基盤的知見を提供するものと言える。

本研究論文は Journal of Biological Chemistry 誌に掲載され，その内容も優れていることから，学位を授与するのに十分な価値のある論文であると判定した。

氏名	にしむらこ 西村 るみ子
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第396号
学位授与年月日	平成31年3月20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	Effects of catechin-enriched ion beverage intake on thermoregulatory function in a hot environment (暑熱環境下における高濃度茶カテキン飲料の体温調節への影響)
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 尚志郎 教授 渡邊 大輔 教授 藤原 祥裕 教授 牛田 享宏

学位論文内容の要旨

【序論】

熱中症対策の一つとして、スポーツ飲料の摂取が推奨されている。スポーツ飲料には、運動時に失われる水分や電解質、エネルギー源としての糖質が含まれ、また、速やかな吸収促進のために体液に近い浸透圧に調節されている。スポーツ飲料は暑熱環境下で皮膚血流と発汗量を増加させ、体温調節機能を改善すると期待されている。

一方、カテキンは古くから日本で好まれ常飲されてきた緑茶に含まれる成分で、抗酸化作用や、抗アレルギー作用の他、皮膚血流量を増加させるとの報告がある。暑熱時のカテキン摂取は皮膚血流量を増加させ体温調節機能を改善する可能性がある。本研究では、高濃度茶カテキンを含む飲料（以下、カテキン飲料）摂取が暑熱環境下の体温調節機能へ与える影響について検討した。

【方法】

8名の健康な成人男性（平均 26 ± 8 歳）を被験者とし、気温 35°C 、湿度 75% に設定された人工気候室内で水温 40°C の下肢温浴を 90 分間実施させた。その際、カテキン飲料、スポーツドリンク、ミネラルウォーターの3種類の飲料を摂取させ、鼓膜温（以下、体温）、上腕部皮膚血流量、上腕部局所発汗量を測定した。飲料の摂取は、下肢温浴開始時、30分経過時、60分経過時に行い、3分以内で飲み干すように指示した。実験は同一被験者に対して各飲料をランダムな3日に分けて実施した。また、各実験は少なくとも1日以上の間隔をあけた。

【結果】

体温は、3飲料群とも下肢温浴中で緩やかに上昇したが、その上昇度は60分値においてカテキン飲料群でミネラルウォーター群に比して有意に小さくなった。局所発汗量は下肢温浴中に漸増し、90分値ではカテキン飲料群でミネラルウォーター群に比して有意に高値となった。また、体温と局所発汗量との関係を比較すると、同じ体温では局所発汗量がカテキン飲料群で他飲料群より高値になる傾向があった。皮膚血流量は、3飲料群とも下肢温浴中に上昇したが、体温との関係を比較すると、カテキン飲料群では特に高体温時に皮膚血流量が最も高値になる傾向が認められた。

【考察】

本研究において、カテキン飲料摂取群では他の飲料と比較して①高体温時に局所発汗量及び皮膚血流量がより高値を示し、②体温上昇が抑えられた。これら結果から、カテキン飲料の摂取は、暑熱環境下の体温調節機能に有用であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

【序論】

熱中症対策の一つとして、スポーツ飲料の摂取が推奨されている。スポーツ飲料には、運動時に失われる水分や電解質、エネルギー源としての糖質が含まれ、また、速やかな吸収促進のために体液に近い浸透圧に調節されている。スポーツ飲料は暑熱環境下で皮膚血流と発汗量を増加させ、体温調節機能を改善すると期待されている。

一方、カテキンは古くから日本で好まれ常飲されてきた緑茶に含まれる成分で、抗酸化作用や、抗アレルギー作用の他、皮膚血流量を増加させるとの報告がある。暑熱時のカテキン摂取は皮膚血流量を増加させ体温調節機能を改善する可能性がある。本研究では、高濃度茶カテキンを含む飲料（以下、カテキン飲料）摂取が暑熱環境下の体温調節機能へ与える影響について検討した。

【方法】

8名の健康な成人男性（平均 26 ± 8 歳）を被験者とし、気温 35°C 、湿度75%に設定された人工気候室内で水温 40°C の下肢温浴を90分間実施させた。その際、カテキン飲料、スポーツドリンク、ミネラルウォーターの3種類の飲料を摂取させ、鼓膜温（以下、体温）、上腕部皮膚血流量、上腕部局所発汗量を測定した。飲料の摂取は、下肢温浴開始時、30分経過時、60分経過時に行い、3分以内で飲み干すように指示した。実験は同一被験者に対して各飲料をランダムな3日に分けて実施した。また、各実験は少なくとも1日以上の間隔をあけた。

【結果】

体温は、3飲料群とも下肢温浴中で緩やかに上昇したが、その上昇度は60分値におい

てカテキン飲料群でミネラルウォーター群に比して有意に小さくなった。局所発汗量は下肢温浴中に漸増し、90分値ではカテキン飲料群でミネラルウォーター群に比して有意に高値となった。また、体温と局所発汗量との関係を比較すると、同じ体温では局所発汗量がカテキン飲料群で他飲料群より高値になる傾向があった。皮膚血流量は、3飲料群とも下肢温浴中に上昇したが、体温との関係を比較すると、カテキン飲料群では特に高体温時に皮膚血流量が最も高値になる傾向が認められた。

【考察】

本研究において、カテキン飲料摂取群では他の飲料と比較して①高体温時に局所発汗量及び皮膚血流量がより高値を示し、②体温上昇が抑えられた。これら結果から、カテキン飲料の摂取は、暑熱環境下の体温調節機能に有用であることが示唆された。

【結論】

本論文は、カテキンの皮膚血流量増加作用に着目し、高濃度茶カテキンを含む飲料摂取の暑熱環境下の体温調節機能へ与える影響を調べたものである。高濃度茶カテキンを含む飲料摂取群は、他の飲料摂取群と比較して高体温時に局所発汗量及び皮膚血流量がより高値で、体温上昇を抑制することを見出した。本論文の成果は、熱中症対策に新たな可能性を示唆するものであり、学位授与に値する論文であると判断した。

博 士 学 位 論 文

内容の要旨及び審査の結果の要旨

第36集

令和元年6月

発行年月日 令和元年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教務課

電話 (0561) 61-5244 (ダイヤルイン)