

博士學位論文

内容の要旨

及び

審査の結果の要旨

第 39 集

令和 4 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、令和3年4月から令和4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 607 号	友 杉 俊 英	Clinical Significance of Shared T Cell Epitope Analysis in Early <i>De Novo</i> Donor-Specific Anti-HLA Antibody Production After Kidney Transplantation and Comparison With Shared B cell Epitope Analysis (腎臓移植後の早期 de novo ドナー特異的抗 HLA 抗体産生における共有 T 細胞エピトープ分析の臨床的意義と共有 B 細胞エピトープ分析との比較)	… 1
〔2〕	甲第 608 号	浅 井 昭 雅	Roles of glomerular endothelial hyaluronan in the development of proteinuria (蛋白尿発現における糸球体内皮ヒアルロン酸の役割)	… 4
〔3〕	甲第 609 号	島 袋 修 一	Improved detection of donor-specific HLA-class II antibody in kidney transplant recipients by modified immunocomplex capture fluorescence analysis (改良型 immunocomplex capture fluorescence analysis を用いた腎移植におけるドナー特異的 HLA class II 抗体検出の改善)	… 8
〔4〕	甲第 610 号	森 一 直	Effect of Intensive Care Provided by Nurse Practitioners for Postoperative Patients: A Retrospective Observational Before-and-After Study (術後患者に対する診療看護師 (NP) による集中治療の効果：レトロスペクティブな前後比較による観察研究)	… 11

掲載順位	学位授与番号	氏 名	論 文 題 名	頁
〔5〕	甲第611号	岡 本 卓 也	The Cut-off Value of Physical Activity for Undergoing Total Knee Arthroplasty in Patients with Knee Osteoarthritis (変形性膝関節症患者に対する人工膝関節全置換術適応の身体活動量カットオフ値)	…14
〔6〕	甲第612号	坂 本 慎太郎	Analysis of T and B Cell Epitopes to Predict the Risk of <i>de novo</i> Donor-Specific Antibody (DSA) Production After Kidney Transplantation: A Two-Center Retrospective Cohort Study (腎移植後患者における新規ドナー特異的抗体産生リスク予測のためのT細胞およびB細胞エピトープ解析)	…17
〔7〕	甲第613号	田 中 創	Identifying participants with knee osteoarthritis likely to benefit from physical therapy education and exercise: A hypothesis-generating study (理学療法の教育と運動療法が効果的である変形性膝関節症患者の特定：仮説生成研究)	…20
〔8〕	甲第614号	谷 口 奈都希	Clinicopathological analysis of malignant or premalignant cutaneous neoplasms in recipients of kidney transplant in a Japanese population (日本人腎移植後患者における皮膚前癌病変及び癌についての臨床病理学的検討)	…23
〔9〕	甲第615号	中 村 文 乃	Synergistic Effects of Venetoclax and Daratumumab on Antibody-Dependent Cell-Mediated Natural Killer Cytotoxicity in Multiple Myeloma (多発性骨髄腫における抗体依存性細胞調節性NK細胞傷害活性のVenetoclaxとDaratumumabによる相乗効果)	…26

掲載順位	学位授与番号	氏 名	論 文 題 名	頁
[10]	甲第 616 号	前 嶋 竜 八	Reliability of an Intraoperative Radiographic Anteroposterior View of the Spinal Midline for Detection of Pedicle Screws Breaching the Medial Pedicle Wall in the Thoracic, Lumbar, and Sacral Spine (胸腰仙椎における椎弓根スクリュー内側逸脱に対するレントゲン正面像での正中線評価法)	…29
[11]	甲第 617 号	Md. Junayed Nayeem	Imatinib mesylate inhibits androgen-independent PC-3 cell viability, proliferation, migration, and tumor growth by targeting platelet-derived growth factor receptor- α (イマチニブは血小板由来成長因子 α 受容体を阻害し、アンドロゲン非依存性前立腺がん細胞 PC-3 細胞の生存、増殖、遊走、腫瘍形成を抑制する)	…32
[12]	甲第 618 号	Md. Lutfur Rahman	Experimental strategies to achieve efficient targeted knock-in via tandem paired nicking (tandem paired nicking 法によって効率的なノックインを行うための実験戦略)	…35
[13]	甲第 619 号	齋 藤 拓 也	Hypoalbuminemia is related to endothelial dysfunction resulting from oxidative stress in parturients with preeclampsia (妊娠高血圧腎症妊婦における、活性酸素が及ぼす血管内皮機能障害と低アルブミン血症との関連性)	…38

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題名	頁
[14]	甲第 620 号	後藤 真奈美	<p>Evaluation of an MRI/US fusion technique for the detection of non-mass enhancement breast lesions detected by MRI yet occult on conventional B-mode second-look US</p> <p>(MRI で初めて検出され、通常の B モードによるセカンドルック US では同定できなかった非腫瘍性乳房病変を検出するための MRI/US 融合技術の有用性)</p>	…40
[15]	甲第 621 号	大脇 佑樹	<p>Placental hypoplasia and maternal organic vascular disorder in pregnant woman with gestational hypertension and preeclampsia</p> <p>(妊娠高血圧症と妊娠高血圧腎症における胎盤形成不全と母体器質的血管障害)</p>	…43
[16]	甲第 622 号	有吉 理	<p><i>Clostridium butyricum</i> MIYAIRI 588 Modifies Bacterial Composition under Antibiotic-Induced Dysbiosis for the Activation of Interactions via Lipid Metabolism between the Gut Microbiome and the Host</p> <p>(<i>Clostridium butyricum</i> MIYAIRI 588 は抗生物質起因性 dysbiosis において腸内細菌叢を改変し、宿主との脂質代謝を介した相互作用を活性化する)</p>	…46
[17]	甲第 623 号	清水 昭雄	<p>Nutritional Management Enhances the Recovery of Swallowing Ability in Older Patients with Sarcopenic Dysphagia</p> <p>(栄養管理は高齢サルコペニアの嚥下障害患者の嚥下能力回復を促進する)</p>	…49

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題名	頁
[18]	甲第 624 号	松山 怜実	Evaluation of skeletal muscle mass using prediction formulas at the level of the 12th thoracic vertebra (第 12 胸椎レベルの予測式による骨格筋量の評価)	…52
[19]	甲第 625 号	下田 博美	<i>Kir6.2</i> -deficient mice develop somatosensory dysfunction and axonal loss in the peripheral nerves (<i>Kir6.2</i> 欠損マウスは体性感覚機能障害と末梢神経における軸索減少を呈する。)	…55
[20]	甲第 626 号	櫻井 啓貴	Quality of life for patients with psychogenic non-epilepsy seizures in comparison with age- and gender-matched epilepsy patients – cross-sectional study (年齢および性別に一致したてんかん患者と心因性非てんかん発作患者の生活の質の比較 – 横断的研究)	…58
[21]	甲第 627 号	森 久剛	Neutrophil extracellular traps are associated with altered human pulmonary artery endothelial barrier function (好中球細胞外トラップとヒト肺動脈内皮バリア機能の変化との関連)	…61
[22]	甲第 628 号	有馬 隆紘	Site-specific mechanical properties of the human great saphenous vein: Cadaveric comparisons among the thigh, knee, and lower leg harvest sites (同一個体における大伏在静脈の部位別の力学的特性：ご遺体での大腿部、膝部、および下腿部の比較)	…64

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題名	頁
[23]	甲第 629 号	山本 侑季	Cytokeratin 5/6 expression in pT1 bladder cancer predicts intravesical recurrence in patients treated with Bacillus Calmette–Guérin instillation (Cytokeratin 5/6 発現による Bacillus Calmette–Guérin 注入療法を行った pT1 膀胱癌患者における膀胱内再発)	…67
[24]	甲第 630 号	佐久間 隆介	Sendai virus C protein affects macrophage function, which plays a critical role in modulating disease severity during Sendai virus infection in mice (センダイウイルス C 蛋白質はマクロファージの機能に影響を与え、センダイウイルス感染症の重症度の調節に重要な役割を果たしている)	…70
[25]	乙第 411 号	梶田 裕加	A longitudinal change of syndecan-1 predicts risk of acute respiratory distress syndrome and cumulative fluid balance in patients with septic shock: a preliminary study (血中シンデカン-1 値推移による急性呼吸窮迫症候群および累積体液バランスの予測：敗血症性ショック患者の検討)	…74
[26]	乙第 412 号	杉山 浩一	Association between body mass index and severe infection in older adults with microscopic polyangiitis: a retrospective cohort in Japan (高齢 ANCA 関連血管炎患者において診断時の低 BMI はその後の重症感染症発症と関連する)	…77

掲載順位	学位授与番号	氏名	論文題名	頁
[27]	乙第 413 号	伊藤 真弓	Association between serum magnesium levels and abdominal aorta calcification in patients with pre-dialysis chronic kidney disease stage 5 (透析導入前の慢性腎臓病ステージ 5 期の患者における血清マグネシウム濃度と腹部大動脈石灰化との関連)	…80
[28]	乙第 414 号	角田 拓実	<i>ENTREP/FAM189A2</i> encodes a new ITCH ubiquitin ligase activator that is downregulated in breast cancer (乳がんが発現低下している <i>ENTREP/FAM189A2</i> は ITCH ユビキチンリガーゼの新規活性化因子をコードする)	…83
[29]	乙第 415 号	佐治 木萌	Impact of antiepileptic drugs on simulated driving in patients with epilepsy (てんかん患者における抗てんかん薬内服による運転への影響)	…86
[30]	乙第 416 号	樋口 朋子	Versican contributes to ligament formation of knee joints (バーシカン は 膝 関 節 の 靱 帯 形 成 に 寄 与 す る)	…89
[31]	乙第 417 号	林 富雄	Tumor-infiltrating FoxP3+ T cells are associated with poor prognosis in oral squamous cell carcinoma (腫瘍に浸潤した FoxP3+ T 細胞は口腔扁平上皮癌の予後不良と関連する)	…92

氏名	ともすぎとしひで 友杉俊英
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第607号
学位授与年月日	令和3年9月9日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Clinical Significance of Shared T Cell Epitope Analysis in Early <i>De Novo</i> Donor-Specific Anti-HLA Antibody Production After Kidney Transplantation and Comparison With Shared B cell Epitope Analysis (腎臓移植後の早期 de novo ドナー特異的抗 HLA 抗体産生における共有 T 細胞エピトープ分析の臨床的意義と共有 B 細胞エピトープ分析との比較)
掲載雑誌	Front Immunol.2021 Mar 26; 12: 621138
論文審査委員	(主査) 教授 高村祥子 教授 伊藤恭彦 教授 高見昭良 教授 佐々直人

学位論文内容の要旨

【背景】

獲得免疫系では外来 HLA への感作により免疫記憶が構築される。中でも抗体免疫は、抗原提示細胞上 HLA classII に提示された外来 HLA 由来 peptide 複合体を、CD4 T 細胞が認識、更に同一抗原を認識する B 細胞を活性化し、形質細胞へ分化させることで構築される。この過程で構築された記憶細胞は外来 HLA 全てを記憶するのではなく、抗原性の最小単位である Epitope を認識し記憶する。記憶 CD4 T 細胞が認識する T cell epitope (TE) と、記憶 B 細胞や形質細胞が認識する B cell epitope (BE) は、単一 HLA 由来でも、peptide 配列や 3 次元構造が異なり、結果として多様な抗原に対し汎用性のある強固な免疫防御システムを形成している。臓器移植では患者が過去の感作で、どの Epitope に免疫記憶を構築したかを識別できれば、Donor HLA にその Epitope が含まれるかを評価することで、移植臓器に対する免疫応答を個別に予測可能となる。BE の免疫記憶は、抗体特異性検査と *in silico* BE 解析を組み合わせることで、抗 HLA 抗体をその標的とする BE に至るまで解析でき、抗 Donor 特異的 HLA 抗体 (DSA) は今や allele ではなく Epitope レ

ベルで診断可能となった。一方 TE の免疫記憶は未だ診断法は確立されていない。

【目的】

本研究では、既存記憶 T 細胞のうち抗体産生に重要な役割を果たすと考えられている既存記憶 CD4 陽性 T 細胞の存在を、TE シミュレーターである PIRCHE-II アルゴリズムを用いた *in silico* 解析により試みた。

【方法】

名古屋第二赤十字病院で生体腎移植を施行した 578 例を対象に、後方視的に解析を行った。578 例中 69 例で術前に、ドナー以外の非自己 HLA への感作歴を示唆する、ドナー非特異的 HLA 抗体 (NDSA) を認め、その NDSA を基に HLA 感作歴を推定した。更にその感作歴から *in silico* 解析を用い既存記憶 CD4 陽性 T 細胞の標的とする TE を推定した。ドナー HLA 抗原が感作 HLA 抗原と共通する TE を有した症例 (Shared TE(+)) 群; n=40) と、有しなかった症例 (Shared TE(-)) 群; n=29) に分類し、術後早期の抗ドナー特異的 HLA 抗体 (de novo DSA: dnDSA) 産生の有無を比較した。

【結果】

Shared TE(+)) 群は術前 HLA 抗体陰性群 (n=509) や Shared TE(-)) 群と比較して、有意に術後早期の dnDSA 産生が多かった (p=0.001)。

【考察】

In silico 解析による TE 解析は既存記憶 CD4 陽性 T 細胞診断に有効であり、更に術後早期の dnDSA 産生予測に有効である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景】

獲得免疫系では外来 HLA への感作により免疫記憶が構築される。中でも抗体免疫は、抗原提示細胞上 HLA classII に提示された外来 HLA 由来 peptide 複合体を、CD4 T 細胞が認識、更に同一抗原を認識する B 細胞を活性化し、形質細胞へ分化させることで構築される。この過程で構築された記憶細胞は外来 HLA 全てを記憶するのではなく、抗原性の最小単位である Epitope を認識し記憶する。記憶 CD4 T 細胞が認識する T cell epitope (TE) と、記憶 B 細胞や形質細胞が認識する B cell epitope (BE) は、単一 HLA 由来でも、peptide 配列や 3 次元構造が異なり、結果として多様な抗原に対し汎用性のある強固な免疫防御システムを形成している。臓器移植では患者が過去の感作で、どの Epitope に免疫

記憶を構築したかを識別できれば、Donor HLA にその Epitope が含まれるかを評価することで、移植臓器に対する免疫応答を個別に予測可能となる。BE の免疫記憶は、抗体特異性検査と *in silico* BE 解析を組み合わせることで、抗 HLA 抗体をその標的とする BE に至るまで解析でき、抗 Donor 特異的 HLA 抗体 (DSA) は今や allele ではなく Epitope レベルで診断可能となった。一方 TE の免疫記憶は未だ診断法は確立されていない。

【目的】

本研究では、既存記憶 T 細胞のうち抗体産生に重要な役割を果たすと考えられている既存記憶 CD4 陽性 T 細胞の存在を、TE シミュレーターである PIRCHE-II アルゴリズムを用いた *in silico* 解析により試みた。

【方法】

名古屋第二赤十字病院で生体腎移植を施行した 578 例を対象に、後方視的に解析を行った。578 例中 69 例で術前に、ドナー以外の非自己 HLA への感作歴を示唆する、ドナー非特異的 HLA 抗体 (NDSA) を認め、その NDSA を基に HLA 感作歴を推定した。更にその感作歴から *in silico* 解析を用い既存記憶 CD4 陽性 T 細胞の標的とする TE を推定した。ドナー HLA 抗原が感作 HLA 抗原と共通する TE を有した症例 (Shared TE(+)) 群; n=40) と、有しなかった症例 (Shared TE(-)) 群; n=29) に分類し、術後早期の抗ドナー特異的 HLA 抗体 (de novo DSA: dnDSA) 産生の有無を比較した。

【結果】

Shared TE(+)) 群は術前 HLA 抗体陰性群 (n=509) や Shared TE(-)) 群と比較して、有意に術後早期の dnDSA 産生が多かった (p=0.001)。

【考察】

In silico 解析による TE 解析は既存記憶 CD4 陽性 T 細胞診断に有効であり、更に術後早期の dnDSA 産生予測に有効である可能性が示唆された。

【評価】

本研究は移植拒絶の発症機構に関わる重要な結果を見出しており、臨床的意義も極めて高く、将来的に臨床応用へ直結するものであることなどから学位授与に値する論文であると判定した。

氏名	浅井昭雅
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第608号
学位授与年月日	令和3年9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Roles of glomerular endothelial hyaluronan in the development of proteinuria (蛋白尿発現における糸球体内皮ヒアルロン酸の役割)
掲載雑誌	Physiological Reports.2021;9:e15019
論文審査委員	(主査) 教授 小林孝彰 教授 佐藤元彦 教授 武内恒成 教授 神谷英紀

学位論文内容の要旨

【背景】

蛋白尿は、主に糸球体上皮細胞、基底膜の障害で見られるが、内皮細胞障害からも発生すると考えられている。血管内皮細胞の表面は、ヒアルロン酸、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸および関連蛋白質からなるグリコカリックスで覆われている。しかしながら、グリコカリックスのどの構成成分の障害が蛋白尿に関与しているか十分に解明されていない。これは、グリコカリックスに関する評価方法が今日まで定まっていなかった点が理由の一つにある。近年、悪性腫瘍に対して用いられる抗 vascular endothelial growth factor (VEGF) 抗体は糸球体内皮細胞障害から血栓性微小血管障害症 (TMA) を惹起することが知られており、今後、内皮細胞障害を伴う腎疾患の増加が予想される。

【目的】

糸球体内皮細胞グリコカリックスの構成成分であるヒアルロン酸が、蛋白尿出現に関与するのか、ヒト糸球体内皮細胞障害の病態においてヒアルロン酸障害は見られるのか、このような病態においてヒアルロン酸補充が蛋白尿を抑制するための治療ターゲットになりうるかを検討した。

【方法】

ex vivo と in vivo 実験において、ヒアルロニダーゼを投与し糸球体ヒアルロン酸を消化することによって蛋白尿が発現するかを検討した。さらに ex vivo 実験のヒアルロニダーゼを投与後にヒアルロン酸を補充することで蛋白尿発現が軽減するかを検討した。組織内ヒアルロン酸発現は、Biotin-labeled hyaluronan-binding protein (HABP) 染色で評価した。ヒト腎生検標本におけるヒアルロン酸の発現を調べ、抗 VEGF 療法によって発症した TMA 腎生検標本における糸球体内ヒアルロン酸の変化、VEGF 阻害が病態の一つである妊娠高血圧腎症における血清ヒアルロン酸濃度の変化を調べた。

【結果】

ex vivo 腎臓還流システムにおいて、ヒアルロニダーゼ処理すると糸球体内皮細胞のヒアルロン酸が消化され、蛋白尿が生ずる事を明らかにした。この時、組織学的検討 (PAS, Lectin, Laminin, Heparan sulfate, Synaptopodin の各染色及び電子顕微鏡) において上皮細胞、基底膜、内皮細胞の形態学的異常は認めなかった。ヒアルロニダーゼ投与後にヒアルロン酸を補充すると、蛋白尿は抑制された。in vivo においても、ヒアルロニダーゼを全身投与すると、糸球体ヒアルロン酸は減少、血清ヒアルロン酸が増加し、同様にアルブミン尿が発生した。VEGF 阻害薬による内皮細胞障害・蛋白尿が見られる腎臓で、ヒアルロン酸の糸球体発現は低下していた。妊娠高血圧腎症患者において、血中ヒアルロン酸濃度は上昇していた。

【結論】

本研究において、ヒアルロン酸は糸球体内皮細胞由来の蛋白尿発生を抑制していることが示された。ヒアルロン酸は内皮細胞機能を維持する重要な役割を果たし、ヒトの疾患においても深くかかわっていることが明らかとなった。糸球体内皮グリコカリックスの障害の病態において、ヒアルロン酸が治療ターゲットとなる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

【背景】

蛋白尿は、主に糸球体上皮細胞、基底膜の障害で見られるが、内皮細胞障害からも発生すると考えられている。血管内皮細胞の表面は、ヒアルロン酸、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸および関連蛋白質からなるグリコカリックスで覆われている。しかしながら、グリコカリックスのどの構成成分の障害が蛋白尿に関与しているか十分に解明されていない。これは、グリコカリックスに関する評価方法が今日まで定まっていなかった点が理由の一つにある。近年、悪性腫瘍に対して用いられる抗 vascular endothelial growth factor

(VEGF) 抗体は糸球体内皮細胞障害から血栓性微小血管障害症 (TMA) を惹起することが知られており、今後、内皮細胞障害を伴う腎疾患の増加が予想される。

【目的】

糸球体内皮細胞グリコカリックスの構成成分であるヒアルロン酸が、蛋白尿出現に関与するのか、ヒト糸球体内皮細胞障害の病態においてヒアルロン酸障害は見られるのか、このような病態においてヒアルロン酸補充が蛋白尿を抑制するための治療ターゲットになりうるかを検討した。

【方法】

ex vivo と in vivo 実験において、ヒアルロニダーゼを投与し糸球体ヒアルロン酸を消化することによって蛋白尿が発現するかを検討した。さらに ex vivo 実験のヒアルロニダーゼを投与後にヒアルロン酸を補充することで蛋白尿発現が軽減するかを検討した。組織内ヒアルロン酸発現は、Biotin-labeled hyaluronan-binding protein (HABP) 染色で評価した。ヒト腎生検標本におけるヒアルロン酸の発現を調べ、抗 VEGF 療法によって発症した TMA 腎生検標本における糸球体内ヒアルロン酸の変化、VEGF 阻害が病態の一つである妊娠高血圧腎症における血清ヒアルロン酸濃度の変化を調べた。

【結果】

ex vivo 腎臓還流システムにおいて、ヒアルロニダーゼ処理すると糸球体内皮細胞のヒアルロン酸が消化され、蛋白尿が生ずる事を明らかにした。この時、組織学的検討 (PAS, Lectin, Laminin, Heparan sulfate, Synaptopodin の各染色及び電子顕微鏡) において上皮細胞、基底膜、内皮細胞の形態学的異常は認めなかった。ヒアルロニダーゼ投与後にヒアルロン酸を補充すると、蛋白尿は抑制された。in vivo においても、ヒアルロニダーゼを全身投与すると、糸球体ヒアルロン酸は減少、血清ヒアルロン酸が増加し、同様にアルブミン尿が発生した。VEGF 阻害薬による内皮細胞障害・蛋白尿が見られる腎臓で、ヒアルロン酸の糸球体発現は低下していた。妊娠高血圧腎症患者において、血中ヒアルロン酸濃度は上昇していた。

【結論】

本研究において、ヒアルロン酸は糸球体内皮細胞由来の蛋白尿発生を抑制していることが示された。ヒアルロン酸は内皮細胞機能を維持する重要な役割を果たし、ヒトの疾患においても深くかかわっていることが明らかとなった。糸球体内皮グリコカリックスの障害の病態において、ヒアルロン酸が治療ターゲットとなる可能性がある。

【評価】

本研究は、内皮細胞表面に存在する Glycocalyx、とくにヒアルロン酸が内皮細胞機能維持に重要な役割をはたすことを明らかにし、抗 VEGF 療法、妊娠高血圧腎症による内皮細胞障害、蛋白尿の治療薬として有用である可能性を示している。将来は様々な領域で臨床応用につながる重要な知見を含む報告であり、学位授与に値する論文である。

氏名	しまぶくろしゅういち 島袋修一
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第609号
学位授与年月日	令和4年1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	Improved detection of donor-specific HLA-class II antibody in kidney transplant recipients by modified immunocomplex capture fluorescence analysis (改良型 immunocomplex capture fluorescence analysis を用いた腎移植におけるドナー特異的 HLA class II 抗体検出の改善)
掲載雑誌	Transplant Immunology.2021; 67:101418
論文審査委員	(主査) 教授 伊藤 恭彦 教授 高村 祥子 教授 佐々 直人 教授 都築 豊徳

学位論文内容の要旨

【背景】

臓器移植において、Flow cytometry crossmatch (FCXM) はドナー特異的 HLA 抗体 (DSA) 同定ではゴールドスタンダード検査であるが、高い感受性から臨床的に関連のない non-DSA も疑陽性となる。immunocomplex capture fluorescence (ICFA) は non-HLA 抗体を除外でき、ドナーの生細胞を必要とせず、壊れた細胞が使用できる等の利点がある。HLA class II の de novo DSA は拒絶反応と強く関連しており、感度を上げた ICFA は検査法として最適である。Single-antigen beads (SAB) はドナー細胞を必要とせず HLA を同定できるが、疑陽性があり、モニタリングとして高価である。全血で行う ICFA に末梢血単核細胞 (PBMC) を用いて HLA 抗体検出の感度上昇と cutoff 値の研究を行った。

【方法】

腎移植前の 118 例に ICFA, FCXM-T/B を行い FCXM で陽性例に SAB の検査を追加した。レシピエントの class II 抗ドナー抗体 (DSA) は移植後毎年、FCXM-B と改良型 ICFA でモニタリングした。

【結果】

classIIでICFA-PBMCがICFA-bloodより感度が良いことがわかった。ICFA-PBM陽性例はHLA classII DSA MFIが高値でICFA-PBMC陰性例はMFI低値であった。DSA classIIのMFI値はFCXM-BとICFA-PBMCとの間で正の相関がある。cutoff値を1.4に設定するとICFA-PBMC陽性群ではあきらかに陰性群にくらべMFIは明らかに高値であった。

【考察】

ドナー細胞の悪いコンディションにおいてもPBMCを用いたICFAはFCXMと比べ感度を上げ、FCXM検査よりドナー細胞の調達に有利である。脱感作療法でリンパ球に対する抗体薬物を使用するが、FCXMはかなり影響を受け、ドナー細胞の状態から移植後の毎年のモニタリングには適していない。ICFAは高価でなくドナーの凍結細胞で何度も検査可能なことからモニタリングにもfirst choiceになりえる。全血を使用したオリジナルICFAとくらべICFA-PBMCはDSAの同定により感度がよいことを示した。多くの施設はDSAモニタリングに十分な予算はなく、廉価で感度を上げ、改良したこの検査は臨床利用を目的として重要な意義がある。

【結論】

PBMCを用いたICFAでcutoff値を1.4にすることでHLA-classIIに対する感度を上昇させ、また保存のPBMCを利用できる。しかしcell baseのFCXMとsolid phase assayのSABでは最近、移植前の検査で使用され、solid base assayは移植後のモニタリングで使用されている。ICFA-PBMCは移植前に抗体療法を受けた患者さんのDSA検査の追加評価や、移植後のモニタリングに有用である。保管されたドナー細胞を使用したICFA-PBMC検査は移植後のDSAモニタリングの一つのオプションになりえ、臨床所見とsolid-phase assayによるDSA同定の不一致の理由を解明するかもしれない。

論文審査の結果の要旨

【背景】

臓器移植において、Flow cytometry crossmatch (FCXM)はドナー特異的HLA抗体(DSA)同定ではゴールドスタンダード検査であるが、高い感受性から臨床的に関連のないnon-DSAも疑陽性となる。immunocomplex capture fluorescence (ICFA)はnon-HLA抗体を除外でき、ドナーの生細胞を必要とせず、壊れた細胞が使用できる等の利点がある。HLA classIIのde novo DSAは拒絶反応と強く関連しており、感度を上げたICFAは検査法として最適である。Single-antigen beads (SAB)はドナー細胞を必要と

せず HLA を同定できるが、疑陽性があり、モニタリングとして高価である。全血で行う ICFA に末梢血単核細胞 (PBMC) を用いて HLA 抗体検出の感度と cutoff 値の検討を行った。

【方法】

腎移植前の 118 例に ICFA, FCXM-T/B を行い FCXM で陽性例に SAB の検査を追加した。レシピエントの classII 抗ドナー抗体 (DSA) は移植後毎年, FCXM-B と改良型 ICFA でモニタリングした。

【結果】

classII で ICFA-PBMC が ICFA-blood より感度が良いことがわかった。ICFA-PBM 陽性例は HLA-classII DSA MFI が高値で ICFA-PBMC 陰性例は MFI 低値であった。DSA classII の MFI 値は FCXM-B と ICFA-PBMC との間で正の相関がある。cutoff 値を 1.4 に設定すると ICFA-PBMC 陽性群ではあきらかに陰性群にくらべ MFI は明らかに高値であった。

【考察】

ドナー細胞の悪いコンディションにおいても PBMC を用いた ICFA は FCXM と比べ感度を上げ, FCXM 検査よりドナー細胞の調達に有利である。脱感作療法でリンパ球に対する抗体薬物を使用するが, FCXM はかなり影響をうけ, ドナー細胞の状態から移植後の毎年のモニタリングには適していない。ICFA は高価でなくドナーの凍結細胞で何度も検査可能なことからモニタリングにも first choice になりえる。全血を使用したオリジナル ICFA とくらべ ICFA-PBMC は DSA の同定により感度がよいことを示した。多くの施設は DSA モニタリングに十分な予算はなく, 廉価で感度を上げ, 改良したこの検査は臨床利用を目的として重要な意義がある。

本研究では, 臓器移植で行われるドナー特異的 HLA 抗体同定で使用されている Flow cytometry crossmatch の克服すべき問題点を解決する試みとして, すでに利用されている全血を用いた immunocomplex capture fluorescence 法を改良し, 末梢血単核細胞を用いることで HLA 抗体検出の感度上昇と cutoff 値を検討した研究である。全血に比し, 末梢血単核細胞を用いたほうが有用であることが示され, 最適化されたカットオフレベルは, ドナー特異的 HLA 抗体が疑われる症例に有効な情報を提供する可能性を示した。すでに ICFA 方法のいくつかの有用性が知られており, 本改良によってより精度が高まり移植医療に役立つ研究であると判断し, 学位授与に値すると考える。

氏名	もり 森	かず 一	なお 直
学位の種類	博士(医学)		
学位授与番号	甲第610号		
学位授与年月日	令和4年2月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
学位論文題目	Effect of Intensive Care Provided by Nurse Practitioners for Postoperative Patients: A Retrospective Observational Before-and-After Study (術後患者に対する診療看護師 (NP) による集中治療の効果：レトロスペクティブな前後比較による観察研究)		
掲載雑誌	PLOS ONE.In press		
論文審査委員	(主査) 教授 杉本郁夫 教授 佐藤元彦 教授 天野哲也 教授 矢野智紀		

学位論文内容の要旨

【背景】

近年、諸外国のナースプラクティショナー (NP) は医療提供において重要な役割を担っている。その役割は、多職種連携を必要とする集中治療で求められている。日本では2008年から修士課程において、診療看護師 (NP) という名称で NP の教育が行われ、当院では2016年4月より診療看護師 (NP) が集中治療のチームに参加している。そこで診療看護師 (NP) が集中治療のチームに参加する前後で、人工呼吸器を装着した術後患者の転帰を比較することを目的として調査を開始した。

【方法】

デザイン：愛知医科大学病院におけるレトロスペクティブ・コホート研究。

対象：術後2日以上人工呼吸器を装着した患者。

アウトカム：主要アウトカムはICU期間とし、副次的アウトカムは人工呼吸日数、総入院日数、リハビリテーションの有無、術後リハビリテーション開始日、ICUおよび病院での死亡率、ICU再入室率とした。

統計解析：SPSS version 23.0を使用。変数はカイ二乗検定を用い、連続データはStudent

の t 検定または Mann-Whitney U 検定を用いて比較した。2 群の関係の評価は重回帰分析を用いた。

【結果】

研究期間中に、人工呼吸を必要とする術後患者 399 名が ICU に入室した。そのうち 12 名は、カルテに詳細な情報がなかったため、本研究から除外した。387 名のデータを解析の対象とした。174 人が医師群、213 人が NP・医師群であった。

NP・医師群の患者は ICU 期間が短く ($p<0.021$)、術後のリハビリ開始日が早かった ($p<0.001$)。人工呼吸日数、総入院日数、リハビリテーションの有無、ICU および病院での死亡率、ICU 再入室率は両群で同等であった。重回帰分析の結果、集中治療チームへの診療看護師 (NP) の参加は、ICU 期間を 2.6 日短縮した ($p=0.003$) ことが示唆された。

【考察】

診療看護師 (NP) は、人工呼吸管理だけでなく、患者の早期離床を促し ICU スタッフの教育を行っている。このことは、人工呼吸離脱プロトコルの実施と遵守の促進につながり、結果的に ICU 期間を短縮させた可能性がある。特に重要なことは、専門家間の連携を促進することであり、診療看護師 (NP) が集中治療のチームに参加することで、看護師、理学療法士、薬剤師と連携を行い、患者にとって最善のケアを提供している可能性があると考えられる。

【結論】

診療看護師 (NP) が集中治療のチームの参加することと ICU 期間との間に有意な関連があることがわかった。診療看護師 (NP) は人工呼吸を受けている術後患者に対して効果的なケアを提供できる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

【背景】

近年、諸外国のナースプラクティショナー (NP) は医療提供において重要な役割を担っている。その役割は、多職種連携を必要とする集中治療で求められている。日本では 2008 年から修士課程において、診療看護師 (NP) という名称で教育が行われ、当院では 2016 年 4 月より NP が集中治療のチームに参加している。そこで NP が集中治療のチームに参加する前後で、人工呼吸器を装着した術後患者の転帰を比較することを目的として調査を開始した。

【方法】

デザイン：愛知医科大学病院におけるレトロスペクティブ・コホート研究。

対象：術後2日以上人工呼吸器を装着した患者。

アウトカム：主要アウトカムはICU期間とし、副次的アウトカムは人工呼吸日数、総入院日数、リハビリテーションの有無、術後リハビリテーション開始日、ICUおよび病院での死亡率、ICU再入室率とした。

統計解析：SPSS version 23.0を使用。変数はカイ二乗検定を用い、連続データはStudentのt検定またはMann-Whitney U検定を用いて比較した。2群の関係の評価は重回帰分析を用いた。

【結果】

研究期間中に、人工呼吸を必要とする術後患者399名がICUに入室した。そのうち12名は、カルテに詳細な情報がなかったため、本研究から除外した。387名のデータを解析の対象とした。174人が医師群、213人がNP-医師群であった。

NP-医師群の患者はICU期間が短く ($p<0.021$)、術後のリハビリ開始日が早かった ($p<0.001$)。人工呼吸日数、総入院日数、リハビリテーションの有無、ICUおよび病院での死亡率、ICU再入室率は両群で同等であった。重回帰分析の結果、集中治療チームへのNPの参加は、ICU期間を2.6日短縮した ($p=0.003$) ことが示唆された。

【考察】

NPは、人工呼吸管理だけでなく、患者の早期離床を促しICUスタッフの教育を行っている。このことは、人工呼吸離脱プロトコルの実施と遵守の促進につながり、結果的にICU期間を短縮させた可能性がある。特に重要なことは、専門家間の連携を促進することであり、NPが集中治療のチームに参加することで、看護師、理学療法士、薬剤師と連携を行い、患者にとって最善のケアを提供している可能性があると考えられる。

【結論】

NPが集中治療のチームの参加することとICU期間との間に有意な関連があることがわかった。NPは人工呼吸を受けている術後患者に対して効果的なケアを提供できる可能性がある。

本研究は救急医療におけるNPの介入の意義について明らかにしたもので、今後の臨床現場のみならず臨床研究にも大きく寄与するものがあり、学位授与に値すると判断した。

氏名	岡本卓也
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第611号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	The Cut-off Value of Physical Activity for Undergoing Total Knee Arthroplasty in Patients with Knee Osteoarthritis (変形性膝関節症患者に対する人工膝関節全置換術適応の身体活動量カットオフ値)
掲載雑誌	Healthcare.2021;9(8):1063
論文審査委員	(主査) 教授 内藤 宗和 教授 渡辺 秀人 教授 天野 哲也 教授 石橋 宏之

学位論文内容の要旨

【背景】

変形性膝関節症（膝 OA）患者において保存療法が奏功しなかった場合、最終手段として人工膝関節全置換術（TKA）が選択される。TKA は疼痛や運動機能の改善に関して良好な術後成績が報告されているが、適応基準については明確に定められていない。海外のガイドラインでは適応基準として疼痛、レントゲン上の重症度指標である Kellgren-Lawrence（KL）分類、機能障害が挙げられている。しかし疼痛は主観的な評価であり、KL 分類と必ずしも一致しないことが知られている。患者の機能障害を反映できる客観的な指標として身体活動量があるが、TKA の適応基準として用いた報告は見受けられない。身体活動量の中でも中～高強度の活動に当たる moderate-to-vigorous physical activity（MVPA）が近年注目されており、高齢者の健康状態や疾患予防との関連が報告されている。

本研究ではこの MVPA を用いて、TKA を決断した患者（TKA 群）と保存療法を継続している患者（non-TKA 群）の2群を判別するカットオフ値を設定することを目的とした。

【方法】

TKA 群 21 名と non-TKA 群 21 名を対象に身体活動量計を貸し出し、7 日間の平均

値を算出した。身体活動量項目は平均歩数（歩／日）、低強度活動時間 light physical activity（LPA）（分／日）、中～高強度活動時間 MVPA（分／日）とし、これらに加え膝の疼痛、KL 分類を 2 群間で比較した。その後、2 群を判別する MVPA のカットオフ値を ROC 曲線から算出した。またロジスティック回帰分析により、TKA の決断と関連する因子を調査した。

【結果】

MVPA、膝の疼痛、および KL 分類は 2 群間で有意差を認めた。MVPA のカットオフ値は 5.84（分／日）であった。またロジスティック回帰の結果、疼痛と KL 分類が TKA 決断の因子として選択された。

【考察】

疼痛は TKA を決断する際の重要な判断材料であるが、患者は長年の疼痛に伴う機能低下を把握していない可能性がある。膝 OA 患者の機能障害を定義することは難しく、保存療法を行っている患者の機能低下をどのように判定するかは未だ不明である。TKA 後の身体活動量レベルは手術前の身体活動量レベルに影響されるといった報告や術前の身体機能の低下が TKA 後の機能回復と関連するといった報告がなされている。術後経過を良好にするためには術前の身体活動量が高いことが求められるため、客観的な指標として術前の MVPA に着目することは有意義である。

本研究では TKA 術前患者の平均 MVPA 時間はわずか 2.5（分／日）であり、WHO が推奨する理想的な活動レベルの 1 日 21 分の約 10% まで活動レベルが低下していた。MVPA のカットオフ値は 5.84（分／日）であり、TKA 群の平均 MVPA の約 2 倍であった。この値は TKA 後の患者の健康状態を維持するために有用な TKA の適応基準となる可能性がある。

【結論】

TKA 群の MVPA は non-TKA 群と比べて有意に低下していた。また膝 OA 患者の TKA に関する身体活動量レベル低下のカットオフ値として MVPA：5.84（分／日）が示された。

論文審査の結果の要旨

人工膝関節全置換術（TKA）は、変形性膝関節症（膝 OA）患者において保存療法に効果がなかった場合の最終手段として選択される。国際的ガイドラインでは適応基準として患者の疼痛、レントゲン上の重症度指標である Kellgren-Lawrence（KL）分類、機能

障害が挙げられている。しかしながら、その明確な適応基準については定められていない。身体活動量は、患者の機能障害を反映できる客観的な指標である。その中でも中～高強度の活動に当たる moderate-to-vigorous physical activity (MVPA) が近年注目されており、高齢者の健康状態や疾患予防との関連が報告されている。

本研究では、TKA を決断した患者 (TKA 群) と保存療法を継続している患者 (non-TKA 群) の 2 群を判別するカットオフ値を MVPA を用いて定めた。方法は、身体活動量計を用いて TKA 群 21 名と non-TKA 群 21 名の MVPA を算出した。その結果、MVPA、膝の疼痛、および KL 分類は 2 群間で有意差を認めた。TKA 群の MVPA は non-TKA 群と比べて有意に低下しており、MVPA のカットオフ値は 5.84 (分/日) であった。またロジスティック回帰の結果、疼痛と KL 分類が TKA 決断の因子として選択された。膝の疼痛および KL 分類は、TKA を決断する際の重要な判断材料であるが、客観的な指標として術前の MVPA に着目することは有意義である。そのため、学位を授与するに値する論文であると判定した。

氏名	坂本慎太郎
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第612号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Analysis of T and B Cell Epitopes to Predict the Risk of <i>de novo</i> Donor-Specific Antibody (DSA) Production After Kidney Transplantation: A Two-Center Retrospective Cohort Study (腎移植後患者における新規ドナー特異的抗体産生リスク予測のためのT細胞およびB細胞エピトープ解析)
掲載雑誌	Frontiers in Immunology.2020;11:e2000
論文審査委員	(主査) 教授 高見昭良 教授 高村祥子 教授 伊藤恭彦 教授 佐々直人

学位論文内容の要旨

【目的】

新規ドナー特異的抗体 (de novo DSA) によって引き起こされる慢性抗体拒絶反応 (ABMR) は、固形臓器移植における移植片不全の主な原因となるが、現在のところ慢性 ABMR の効果的な治療法はなく、de novo DSA の産生は、ABMR の最大の危険因子であると言える。よって、de novo DSA のリスク予測は、長期的な移植結果にとって非常に重要となる。従来では、de novo DSA 産生のリスク評価として HLA アレルミスマッチが用いられていたが、近年では、より詳細な評価法としてエプレットミスマッチや PIRCHE などのエピトープ解析が注目されている。そこで本研究では、B 細胞エピトープ (エプレットミスマッチ) と T 細胞エピトープ (PIRCHE スコア) のそれぞれと、de novo DSA 産生との関連を解明することを目的とした。

【方法】

生体腎移植患者 691 名を対象とした後ろ向きコホート研究を行った。各症例の患者とドナーに対して HLA タイピングを実施し、その結果を基にエプレットミスマッチと PIRCHE スコアを求めた。エプレットミスマッチと PIRCHE スコアは、それぞれ HLA

Matchmaker (ver2.1) および PIRCHE-II マッチングサービスによって解析した。また、患者血清を用いて抗 HLA 抗体検査を実施し、de novo DSA の有無を確認した。nMFI1000 以上を陽性と判定した。

【結果】

de novo DSA は、691 例中 114 例 (16.5%) で検出された。そのうちクラス II を含むものは 100 例 (88%) であった。クラス I の nMFI の平均が約 2,500 であったのに対し、クラス II の平均は 10000 以上であった。エプレットミスマッチと PIRCHE スコアの相関を検討したところ、両者間には弱い相関が確認された。それぞれの評価法をカットオフ値によってロースコア群とハイスコア群に分け検討を行ったところ、両評価法ともスコアと de novo クラス II DSA 産生リスクは有意に相関していた [エプレットミスマッチ ≤ 13 ; 8/235 例 (3.4%) vs エプレットミスマッチ ≥ 14 ; 92/456 例 (20.2%), $p < 0.001$] [PIRCHE ≤ 175 ; 26/31 例 (8.2%) vs PIRCHE ≥ 176 ; 74/373 例 (19.8%), $p < 0.001$]。さらに、両スコアともにハイスコアの群は、他の群と比べて有意に de novo DSA 産生率が高いことが示された ($p < 0.05$)。また、Cox 比例ハザードモデルによる単変量解析、多変量解析の結果、ABO 適合性、エプレットミスマッチ、PIRCHE スコア、急性 T 細胞性拒絶歴が de novo DSA 産生と有意に関連していることが示された。

【考察】

エプレットミスマッチと PIRCHE スコアは de novo DSA 産生に関しての正の予測能力を持つことが示された。また、これらの解析法は互いに補完的であると考えられる。両解析法を併用することでより信頼性の高い情報を得ることができることが示唆された。以上より、エピトープ解析は検討を重ねることにより、移植後の維持免疫抑制療法に対する有益な情報を提供し、更には移植後の個別化医療の実現へ向けて、有益な情報を提供できると思われる。

論文審査の結果の要旨

【背景と目的】

固形臓器移植における移植片不全の主な原因は、新規ドナー特異的抗体 (DSA) による慢性抗体拒絶反応 (ABMR) である。現在、慢性 ABMR に対する効果的な治療法は存在しない。したがって、新規 DSA 産生リスクを事前に予測し、慢性 ABMR を予防する方策が大切である。新規 DSA 産生の予測には、従来 HLA アリルミスマッチが用いられてきた。最近の研究により、B 細胞エピトープ (エプレットミスマッチ) と T 細胞エピトープ (PIRCHE スコア) に基づくエピトープ解析が、新規 DSA 産生の予測により有用とわかっ

てきた。ただし、実臨床では十分に解析されていない。本研究では、生体腎移植患者を対象に、エプレットミスマッチ・PIRCHE スコアによるエピトープ解析と、新規 DSA 産生との関連が検証された。

【対象と方法】

対象は生体腎移植患者 691 例で、後方視的コホート研究として実施された。各患者とドナーの HLA タイピング結果をもとに、HLA Matchmaker (ver2.1) と PIRCHE-II マッチングサービスにより、エプレットミスマッチと PIRCHE スコアが算出された。患者血清中 DSA は、MFI1000 以上の場合に DSA 陽性と判断された。

【結果】

生体腎移植患者 691 例中 114 例 (17%) で新規 DSA 産生が認められた。そのうち、クラスIIを含むものは 100 例 (88%) であった。クラスIの MFI 平均値 2,500 に対し、クラスIIの MFI 平均値は 10,000 以上と高値であった。エプレットミスマッチと PIRCHE スコアの各エピトープ解析法間には弱い相関がみられた。各解析法において、ロースコア群・ハイスコア群に分けて検討されたところ、いずれの解析法においても、各スコアと新規クラスII DSA 陽性率間に有意な相関がみられた。加えて、両スコアがいずれもハイスコア群の場合、他の群と比べ新規 DSA 産生率は有意に高かった。Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析により、ABO 適合性、エプレットミスマッチ、PIRCHE スコア、急性 T 細胞性拒絶歴が、新規 DSA 産生を予測する独立したリスク因子とわかった。

【考察】

本研究により、エプレットミスマッチと PIRCHE スコアによるエピトープ解析法は、いずれも新規 DSA 産生の予測に有用とわかった。両解析法の併用により、新規 DSA 産生リスクの予測精度は高まると示唆された。以上により、エプレットミスマッチ・PIRCHE スコアによるエピトープ解析は、新規 DSA 産生リスク予測に有用であり、慢性 ABMR の予防に役立つと示唆された。これらは臨床に直結した研究成果であり、今後活用、発展させることにより、生体腎移植の成功率は高まると期待される。以上から、学位授与に値する論文と判断した。

氏名	田中創
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第613号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Identifying participants with knee osteoarthritis likely to benefit from physical therapy education and exercise: A hypothesis-generating study (理学療法の教育と運動療法が効果的である変形性膝関節症患者の特定：仮説生成研究)
掲載雑誌	European Journal of Pain.2021;25:485-496
論文審査委員	(主査) 教授 出家正隆 教授 内藤宗和 教授 武内恒成 教授 前川正人

学位論文内容の要旨

【背景】

変形性膝関節症（膝 OA）患者における治療の第一選択は運動療法や教育であるが、それらが効果的な場合とそうでない場合がある。本研究の目的は、運動療法や教育が、どのような膝 OA 患者に有効であるかを明らかにすることである。

【方法】

対象は膝 OA と診断された 150 名（男性：27 名，女性：123 名，平均年齢：71.1 ± 8.2 歳）である。初期評価時に、Body mass index (BMI)，膝 OA 重症度 (K-L 分類)，膝関節可動域，疼痛強度 (Numerical Rating Scale：NRS)，能力障害 (Oxford Knee Score：OKS)，破局的思考 (Pain Catastrophizing Scale：PCS)，自己効力感 (Pain Self Efficacy Questionnaire：PSEQ) 及び身体知覚異常 (The Fremantle Knee Awareness Questionnaire：FreKAQ) を評価した。また、NRS 及び OKS については理学療法実施 3 ヶ月後に再評価した。全ての参加者はガイドラインで推奨されている運動療法や教育を週に 2～3 回，3 ヶ月間実施した。統計解析には決定木分析 (The classification and regression tree methodology：CART) を用いた。CART では，介入 3 ヶ月後の NRS の

改善効果量（初期評価時から 50% 以上の改善）と OKS の改善指標（5 点以上）をそれぞれ従属変数とし、独立変数は初期評価時の年齢、性別、罹患期間、BMI、K-L 分類、膝関節可動域、PCS、PSEQ 及び FreKAQ とした。

【結果】

NRS、OKS とともに 55 名（36.6%）に改善が認められた。CART では FreKAQ と K-L 分類が介入後の NRS の軽減を予測する因子として抽出された。FreKAQ が 18 点以上の膝 OA 患者では 3 ヶ月後の NRS が 52 名（81.2%）で改善を認めなかった。また、FreKAQ が 17 点以下かつ K-L 分類が I の膝 OA 患者では 3 ヶ月後の NRS が 19 名（73.1%）で改善した。介入後の OKS の軽減を予測する因子は抽出されなかった。

【考察】

膝 OA 患者に対して、標準的な運動療法や教育を実施しても、初期評価時に FreKAQ が強く認められると、痛みの改善が得られにくいことが示唆された。一方で、FreKAQ が 17 点以下で K-L 分類が I の膝 OA 患者では標準的な運動療法や教育により痛みの改善が得られる確率が高かった。初期評価時に身体知覚異常が認められる膝 OA 患者に対しては、標準的な運動療法や教育に加えて、身体知覚異常の改善を目的とした介入が必要である可能性が示唆された。

【結論】

膝 OA 患者に対する運動療法や教育の効果には、身体知覚異常の程度や K-L 分類の重症度が影響している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景】

変形性膝関節症（膝 OA）患者における治療の第一選択は運動療法や教育であるが、それらが効果的な場合とそうでない場合がある。本研究の目的は、運動療法や教育が、どのような膝 OA 患者に有効であるかを明らかにすることである。

【方法】

対象は膝 OA と診断された 150 名（男性：27 名，女性：123 名，平均年齢：71.1 ± 8.2 歳）である。初期評価時に、Body mass index（BMI）、膝 OA 重症度（K-L 分類）、膝関節可動域、疼痛強度（Numerical Rating Scale：NRS）、能力障害（Oxford Knee Score：OKS）、破局的思考（Pain Catastrophizing Scale：PCS）、自己効力感（Pain Self

Efficacy Questionnaire : PSEQ) 及び身体知覚異常 (The Fremantle Knee Awareness Questionnaire : FreKAQ) を評価した。また, NRS 及び OKS については理学療法実施 3 ヶ月後に再評価した。全ての参加者はガイドラインで推奨されている運動療法や教育を週に 2 ~ 3 回, 3 ヶ月間実施した。統計解析には決定木分析 (The classification and regression tree methodology : CART) を用いた。CART では, 介入 3 ヶ月後の NRS の改善効果量 (初期評価時から 50% 以上の改善) と OKS の改善指標 (5 点以上) をそれぞれ従属変数とし, 独立変数は初期評価時の年齢, 性別, 罹患期間, BMI, K-L 分類, 膝関節可動域, PCS, PSEQ 及び FreKAQ とした。

【結果】

NRS, OKS とともに 55 名 (36.6%) に改善が認められた。CART では FreKAQ と K-L 分類が介入後の NRS の軽減を予測する因子として抽出された。FreKAQ が 18 点以上の膝 OA 患者では 3 ヶ月後の NRS が 52 名 (81.2%) で改善を認めなかった。また, FreKAQ が 17 点以下かつ K-L 分類が I の膝 OA 患者では 3 ヶ月後の NRS が 19 名 (73.1%) で改善した。介入後の OKS の軽減を予測する因子は抽出されなかった。

【考察】

膝 OA 患者に対して, 標準的な運動療法や教育を実施しても, 初期評価時に FreKAQ が強く認められると, 痛みの改善が得られにくいことが示唆された。一方で, FreKAQ が 17 点以下で K-L 分類が I の膝 OA 患者では標準的な運動療法や教育により痛みの改善が得られる確率が高かった。初期評価時に身体知覚異常が認められる膝 OA 患者に対しては, 標準的な運動療法や教育に加えて, 身体知覚異常の改善を目的とした介入が必要である可能性が示唆された。

以上の研究により, 膝 OA 患者に対する運動療法や教育の効果には, 身体知覚異常の程度や K-L 分類の重症度が影響している可能性が示され, 学位授与に値する論文である。

氏名	谷口 奈都希
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第614号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Clinicopathological analysis of malignant or premalignant cutaneous neoplasms in recipients of kidney transplant in a Japanese population (日本人腎移植後患者における皮膚前癌病変及び癌についての臨床病理学的検討)
掲載雑誌	International Journal of Clinical and Experimental Pathology. In press
論文審査委員	(主査) 教授 古川 洋志 教授 笠井 謙次 教授 渡邊 大輔 教授 小林 孝彰

学位論文内容の要旨

腎移植後患者の短期予後は目覚ましく改善しているが、長期予後は未だ変わらず、予後に関わる移植後長期合併症の1つとして癌が知られている。その中でも皮膚癌、特に上皮内病変を含む扁平上皮癌、基底細胞癌、悪性黒色腫の発生率は高く、欧米のデータでは健康人と比較して20年で40-60%増加するとの研究もある。発癌には免疫抑制剤の長期使用、日光とくに紫外線への暴露、HPV感染が寄与するとされている。しかしながら、アジア人、特に日本人の移植後患者に発生する皮膚前癌病変及び癌 (Malignant or premalignant neoplasms : MPCNs) についての詳細な検討は未だなされておらず、本検討を行った。

研究対象は2003年から2019年までの間に愛知医科大学病院または日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院の2施設に通院していた1956人の腎移植後患者の内、皮膚の扁平上皮癌 (SCC)、ボーエン病 (BD)、日光角化症 (AK)、基底細胞癌 (BCC)、悪性黒色腫のいずれかと診断された24人の50病変とし、臨床的特徴及び組織学的特徴について検討した。また、同一患者で同一の診断を受けた病変を除外した32病変について p16 の免疫染色と、high-risk 及び low-risk HPV 感染の有無について Advanced Cell Diagnostics 社の2つのプローブを用いて RNA in situ hybridization 法での検討を行った。

50 病変の内訳は SCC14 病変, BD23 病変, AK11 病変, BCC2 病変であった。悪性黒色腫と診断された患者は含まれなかった。男女比は 3.8 と男性患者が多く, 21 人の患者が移植前に透析を受けていた。すべての患者が免疫抑制剤を使用しており, 18 人の患者が Calcineurin inhibitor+MMF+ ステロイドの 3 剤併用療法を受けていた。4 人の患者が皮膚癌以外の癌と診断され, 内 2 人が癌死した。

組織型別に発症年齢と移植後からの経過年数の関係を比較すると, 年齢に有意な差は認められなかったが, 移植後からの経過時間では SCC が最も長く, BD と AK と比較して有意に長かった。50 病変の内 40 病変は露光部に発生し, このうち 90% の病変で背景に日光角化症を認めた。また 6 人の SCC 患者全員で病変が多発していた。

加えて High risk/ Low risk HPV 感染の有無について検討を行った。外陰部の 2 例で HR-HPV18 が陽性を示し, High-risk HPV への感染が示唆された。一般的に HPV 感染が関連するとされる組織学的所見を呈する病変でも HPV は検出されなかった。

以上より, 日本人移植患者における皮膚露光部の MPCNs は紫外線暴露や免疫抑制状態との関連が示唆された。

論文審査の結果の要旨

腎移植後患者の短期予後は日覚ましく改善しているが, 長期予後は未だ変わらず, 予後に関わる移植後長期合併症の 1 つとして癌が知られている。その中でも皮膚癌, 特に上皮内病変を含む扁平上皮癌, 基底細胞癌, 悪性黒色腫の発生率は高く, 欧米のデータでは健常人と比較して 20 年で 40-60% 増加するとの研究もある。発癌には免疫抑制剤の長期使用, 日光とくに紫外線への暴露, HPV 感染が寄与するとされている。これまで未実施であったアジア人, 特に日本人の移植後患者に発生する皮膚前癌病変及び癌 (Malignant or premalignant neoplasms : MPCNs) についての詳細な検討を行った。

研究対象は 2003 年から 2019 年までの間に愛知医科大学病院または日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院の 2 施設に通院していた 1956 人の腎移植後患者の内, 皮膚の扁平上皮癌 (SCC), ポーエン病 (BD), 日光角化症 (AK), 基底細胞癌 (BCC), 悪性黒色腫のいずれかと診断された 24 人の 50 病変とし, 臨床的特徴及び組織学的特徴について検討した。また, 同一患者で同一の診断を受けた病変を除外した 32 病変について p16 の免疫染色と, high-risk 及び low-risk HPV 感染の有無について Advanced Cell Diagnostics 社の 2 つのプローブを用いて RNA in situ hybridization 法での検討を行った。

50 病変の内訳は SCC14 病変, BD23 病変, AK11 病変, BCC2 病変であった。悪性黒色腫と診断された患者は含まれなかった。男女比は 3.8 と男性患者が多く, 21 人の患者が移植前に透析を受けていた。すべての患者が免疫抑制剤を使用しており, 18 人の患者が Calcineurin inhibitor+MMF+ ステロイドの 3 剤併用療法を受けていた。4 人の患者が皮

皮膚癌以外の癌と診断され、内2人が癌死した。

組織型別に発症年齢と移植後からの経過年数の関係を比較すると、年齢に有意な差は認められなかったが、移植後からの経過時間では SCC が最も長く、BD と AK と比較して有意に長かった。50 病変の内 40 病変は露光部に発生し、このうち 90% の病変で背景に日光角化症を認めた。また 6 人の SCC 患者全員で病変が多発していた。

加えて High risk/Low risk HPV 感染の有無について検討を行った。外陰部の 2 例で HR-HPV18 が陽性を示し、High-risk HPV への感染が示唆された。他の病変においては、一般的に HPV 感染が関連するとされる組織学的所見を呈する病変でも HPV は検出されなかった。

外陰部の 2 例以外の症例は露光部で病変の多発が見られ、HPV 感染が関連するとされる組織学的所見を呈する病変は見られたものの、今回の調査では HPV の感染を検出できなかった。さらに、すべての患者が免疫抑制剤を使用していたことから、日本人の移植後患者に発生する皮膚前癌病変及び皮膚癌の多くは、日光暴露と免疫抑制が関与することが示唆された。一方少数ではあるが外陰部の HPV 感染陽性の症例も混じることから、日光暴露部発症皮膚病変と、外陰部発症皮膚病変を区別して治療する重要性を述べた。

本論文における、日本人の移植後患者に発生する皮膚前癌病変及び皮膚癌の発症に関する詳細な結果は新知見であり、移植後長期合併症の原因と、その治療法に新たな視点を与えたと考えられ、学位を授与するに値すると判断した。

氏 名	なか むら あや の 中 村 文 乃
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第615号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Synergistic Effects of Venetoclax and Daratumumab on Antibody-Dependent Cell-Mediated Natural Killer Cytotoxicity in Multiple Myeloma (多発性骨髄腫における抗体依存性細胞調節性NK細胞傷害活性のVenetoclaxとDaratumumabによる相乗効果)
掲載雑誌	International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(19):10761
論文審査委員	(主査) 教授 高 村 祥 子 教授 岡 田 尚志郎 教授 米 田 政 志 教授 森 直 治

学位論文内容の要旨

【背景】

多発性骨髄腫の予後はプロテアソーム阻害薬や免疫調節薬の開発により劇的に改善した。しかし既存の治療薬に抵抗性を示す患者もおり、常に新しい治療薬が必要となる。Venetoclaxは経口選択的BCL-2阻害薬で単剤/併用療法で骨髄腫に対する有効性が示されている。特にt(11;14)転座を有する骨髄腫に有効である。今回、我々はVenetoclaxとCD38抗体Daratumumabの併用療法が骨髄腫細胞株において細胞傷害活性を高めるかin vitroで検討した。

【方法】

骨髄腫細胞株(KMS12PE, KMS27, U266, KM5)のCD38の発現をフローサイトメトリーで検討した。骨髄腫細胞株のBCL-2の発現をウエスタンブロッティングで検討した。骨髄腫細胞株に対するVenetoclax単剤での効果をWST-1アッセイで検討した。骨髄腫細胞株をNK細胞とET比0.3でVenetoclax, Daratumumab単剤, 併用療法それぞれの至適濃度で共培養した。アポトーシスした細胞はアネキシンVを用いフローサイトメトリーで測定した。KMS12PEをNK細胞, Daratumumab, Venetoclax, コンカナマイシンA

と共培養した。アネキシン V を用いたフローサイトメトリーで測定した。

【結果】

KMS12PE, KMS27 では CD38 は高発現であったが, U266, KM5 では低発現であった。BCL-2 は KMS12PE, BCL-XL は U266 において高発現であった。BCL-2:BCL-XL 比と BCL-2:MCL-1 比は U266, KM5 より KMS12PE, KMS27 において高かった。これは Venetoclax の感受性の結果と一致していた。Venetoclax と Daratumumab 併用療法の相乗効果は KMS12PE と KMS27 では認められたが Venetoclax 抵抗性である U266, KM5 では認めなかった。コンカナマイシン A は Venetoclax 単剤の場合は細胞傷害活性を阻害しなかったが Venetoclax と Daratumumab 併用療法において明らかに阻害した。

【考察】

本研究は t(11;14) 転座を有し BCL-2 高発現の骨髄腫細胞株 KMS12PE, KMS27 において抗体依存性 NK 細胞傷害活性が Venetoclax と Daratumumab 併用療法において増強したことを示した。t(11;14) 転座を有し BCL-2 高発現の骨髄腫に対する Venetoclax と Daratumumab 併用療法の有効性を示した。Venetoclax と Daratumumab 併用療法の有効性はすでに臨床試験で示されており, 本研究はそれらの結果と一致するものである。本研究は NK 細胞による抗体依存性細胞傷害活性を *in vitro* で示した点が重要である。本研究は各薬剤の至適用量の確立にも貢献できる。

論文審査の結果の要旨

【背景】

多発性骨髄腫の予後はプロテアソーム阻害薬や免疫調節薬の開発により劇的に改善した。しかし既存の治療薬に抵抗性を示す患者もおり, 常に新しい治療薬が必要となる。Venetoclax は経口選択的 BCL-2 阻害薬で単剤 / 併用療法で骨髄腫に対する有効性が示されている。特に t(11;14) 転座を有する骨髄腫に有効である。今回, 我々は Venetoclax と CD38 抗体 Daratumumab の併用療法が骨髄腫細胞株において細胞傷害活性を高めるか *in vitro* で検討した。

【方法】

骨髄腫細胞株 (KMS12PE, KMS27, U266, KM5) の CD38 の発現をフローサイトメトリーで検討した。骨髄腫細胞株の BCL-2 の発現をウエスタンブロッティングで検討した。骨髄腫細胞株に対する Venetoclax 単剤での効果を WST-1 アッセイで検討した。骨髄腫細胞株を NK 細胞と ET 比 0.3 で Venetoclax, Daratumumab 単剤, 併用療法それぞれの至

適濃度で共培養した。アポトーシスした細胞はアネキシン V を用いフローサイトメトリーで測定した。KMS12PE を NK 細胞, Daratumumab, Venetoclax, コンカナマイシン A と共培養した。アネキシン V を用いたフローサイトメトリーで測定した。

【結果】

KMS12PE, KMS27 では CD38 は高発現であったが, U266, KM5 では低発現であった。BCL-2 は KMS12PE, BCL-XL は U266 において高発現であった。BCL-2:BCL-XL 比と BCL-2:MCL-1 比は U266, KM5 より KMS12PE, KMS27 において高かった。これは Venetoclax の感受性の結果と一致していた。Venetoclax と Daratumumab 併用療法の相乗効果は KMS12PE と KMS27 では認められたが Venetoclax 抵抗性である U266, KM5 では認めなかった。コンカナマイシン A は Venetoclax 単剤の場合は細胞傷害活性を阻害しなかったが Venetoclax と Daratumumab 併用療法において明らかに阻害した。

【考察】

本研究は t(11;14) 転座を有し BCL-2 高発現の骨髄腫細胞株 KMS12PE, KMS27 において抗体依存性 NK 細胞傷害活性が Venetoclax と Daratumumab 併用療法において増強したことを示した。t(11;14) 転座を有し BCL-2 高発現の骨髄腫に対する Venetoclax と Daratumumab 併用療法の有効性を示した。Venetoclax と Daratumumab 併用療法の有効性はすでに臨床試験で示されており, 本研究はそれらの結果と一致するものである。本研究は NK 細胞による抗体依存性細胞傷害活性を in vitro で示した点が重要であり, 各薬剤の至適用量の確立にも貢献できる。

【結論】

本研究は前述のように臨床試験の結果を細胞レベルで解説しうる有用な情報を提示しており, 学位授与に値する論文であると判定した。

氏名	まえ しま りゅう や 前 嶋 竜 八
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第616号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Reliability of an Intraoperative Radiographic Anteroposterior View of the Spinal Midline for Detection of Pedicle Screws Breaching the Medial Pedicle Wall in the Thoracic, Lumbar, and Sacral Spine (胸腰仙椎における椎弓根スクリュー内側逸脱に対するレントゲン正面像での正中線評価法)
掲載雑誌	World neurosurgery.2019 May;125:e257-e261
論文審査委員	(主査) 教授 鈴木 耕次郎 教授 内藤 宗和 教授 出家 正隆 教授 牛田 享宏

学位論文内容の要旨

【背景】

椎弓根スクリューを使用した脊椎固定手術は1970年代にRoy Camilleによる報告以降、一般的手技として汎用されている。しかし、椎弓根スクリューに関連する合併症発生率は5.2～40%とされ、神経損傷や硬膜損傷などが報告されている。特に椎弓根内側への逸脱は術後の神経症状悪化に関連している。近年ではCTガイドやロボットの使用などでリスク軽減が期待される一方、その使用は未だ限りがある。今回、我々は一般的に脊椎手術で使用される透視装置を用いてスクリューの逸脱を検出する方法として脊椎正中線（Mライン）を提唱し、その感度と特異度を評価した。

【方法】

2006年1月から2017年5月の間に当院で行ったPS併用脊椎固定術患者を対象とし、後方視的に画像評価を行った。頸椎固定術やCBT症例、側弯症は除外した。Mラインを固定椎体の上下棘突起を結んだ線と定義し、このラインに対してスクリュー先端が超えているものをMライン陽性と判断した。また、実際に術後に撮影したCTにてスクリュー

が逸脱しているかを評価した。スクリー径の半分以上が椎弓根の内側壁から抜けている場合を CT 陽性、逸脱していると判断した。結果はカイ 2 乗検定を使用し評価した。脊椎外科医 2 人で画像評価を行い、評価者間での一致率を Cohen のカッパテストにて検討した。これらデータに関しては SPSS を使用し分析した。

【結果】

対象は 145 名、スクリー 599 本を評価した。殆どの症例はすべり症 (66.9%) であった。部位別では下位腰椎が 77.6% を占めた。CT 陽性は 4.5% で、上位腰椎において有意差をもって高かったが、その他部位別での内側逸脱に有意差はなかった。M ライン陽性は 20 本で、その感度は 74.1%、特異度は 95.3% であった。M ラインの偽陽性率は 25.9%、偽陽性率は 4.5% であった。評価者間一致率は M ラインで 86%、CT で 88% と有用性があると判断できる結果であった。M ラインの陰性適中率は 98.7% と非常に高い数値であった。

【考察】

M ラインの感度、特異度はいずれとも高く有効なものと考えられた。特に特異度が高く、M ラインが陰性であれば逸脱している可能性は低く、M ラインを指標とすれば、逸脱予防効果が高いと考えられる結果であった。M ライン偽陰性に関しては経皮的挿入術に比較して open 手術に多く見られる傾向であった。これは刺入点自体が内側に位置している影響が考えられた。

【結論】

レントゲン正面像での M ラインによる PS 内側逸脱評価は簡易的かつ有効な方法である。

論文審査の結果の要旨

【背景】

椎弓根スクリーを使用した脊椎固定手術は 1970 年代に Roy Camille による報告以降、一般的手技として汎用されている。しかし、椎弓根スクリーに関連する合併症発生率は 5.2 ~ 40% とされ、神経損傷や硬膜損傷などが報告されている。特に椎弓根内側への逸脱は術後の神経症状悪化に関連している。近年では CT ガイドやロボットの使用などでリスク軽減が期待される一方、その使用は未だ限りがある。今回、我々は一般的に脊椎手術で使用される透視装置を用いてスクリーの逸脱を検出する方法として脊椎正中線 (M ライン) を提唱し、その感度と特異度を評価した。

【方法】

2006年1月から2017年5月の間に当院で行ったPS併用脊椎固定術患者を対象とし、後方視的に画像評価を行った。頸椎固定術やCBT症例、側弯症は除外した。Mラインを固定椎体の上下棘突起を結んだ線と定義し、このラインに対してスクリュー先端が超えているものをMライン陽性と判断した。また、実際に術後に撮影したCTにてスクリューが逸脱しているかを評価した。スクリュー径の半分以上が椎弓根の内側壁から抜けている場合をCT陽性、逸脱していると判断した。結果はカイ2乗検定を使用し評価した。脊椎外科医2人で画像評価を行い、評価者間での一致率をCohenのカッパテストにて検討した。これらデータに関してはSPSSを使用し分析した。

【結果】

対象は145名、スクリュー599本を評価した。殆どの症例はすべり症(66.9%)であった。部位別では下位腰椎が77.6%を占めた。CT陽性は4.5%で、上位腰椎において有意差をもって高かったが、その他部位別での内側逸脱に有意差はなかった。Mライン陽性は20本で、その感度は74.1%、特異度は95.3%であった。Mラインの偽陽性率は25.9%、偽陽性率は4.5%であった。評価者間一致率はMラインで86%、CTで88%と有用性があると判断できる結果であった。Mラインの陰性適中率は98.7%と非常に高い数値であった。

【考察】

Mラインの感度、特異度はいずれとも高く有効なものと考えられた。特に特異度が高く、Mラインが陰性であれば逸脱している可能性は低く、Mラインを指標とすれば、逸脱予防効果が高いと考えられる結果であった。Mライン偽陰性に関しては経皮的挿入術に比較してopen手術に多く見られる傾向であった。これは刺入点自体が内側に位置している影響が考えられた。

【結論】

レントゲン正面像でのMラインによるPS内側逸脱評価は簡易的かつ有効な方法である。

本論文は脊椎固定手術に於けるスクリュー逸脱を簡易な方法で評価できることを明らかにしており、臨床的に非常に有用性の高い研究である。よって、学位授与に値する論文であると判断した。

氏名	もはまど じゅないど ないーむ Md. Junayed Nayeem
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第617号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Imatinib mesylate inhibits androgen-independent PC-3 cell viability, proliferation, migration, and tumor growth by targeting platelet-derived growth factor receptor-α (イマチニブは血小板由来成長因子 α 受容体を阻害し、アンドロゲン非依存性前立腺がん細胞 PC-3 細胞の生存、増殖、遊走、腫瘍形成を抑制する)
掲載雑誌	Life Sciences.doi:10.1016/j.lfs.2021.2021.120171
論文審査委員	(主査) 教授 細川好孝 教授 岡田尚志郎 教授 笠井謙次 教授 三嶋秀行

学位論文内容の要旨

Background: Prostate cancer (PCa) is the most frequently diagnosed cancer in men in developed countries. It has been reported that androgen receptors (AR) play crucial role in PCa progression. Androgen deprivation therapy is considered as the first line therapy for androgen-dependent PCa. However, for AR negative prostate cancer cells, there are very few targeted therapies. Alternatively, growth factor receptor mediated signaling is important for progression of AR negative prostate cancer cells. Platelet-derived growth factor receptors (PDGFRs) are tyrosine kinase receptors that are involved in cancer progression. However, the role of PDGFRs signaling in androgen independent PCa cells is not clearly established yet.

Objectives: This study focuses the role of PDGFRs signaling in human androgen independent and bone metastatic prostate cancer cell, PC-3.

Methods: Human prostate cancer, PC-3, DU145, and LNCaP cells were cultured in RPMI supplemented with 10% FBS. PDGFR α and PDGFR β mRNA expression was determined by quantitative real-time polymerase chain reaction. PDGF-BB in the

culture medium was quantified by ELISA. Protein expression and phosphorylation were analyzed by western blotting. Cell viability, proliferation, migration and toxicity were analyzed by MTT assay, BrdU incorporation assay, Trans-well migration assay and LDH assay respectively. In vivo effect of imatinib was determined by a tumor formation assay in nude mice.

Results: PDGFR α was highly expressed in androgen independent prostate cancer PC-3 and DU145 cells than normal prostate epithelial PrEC cells. However, there was no significant difference in PDGFR β expression among the three cell lines. PDGFR α was expressed at a similar level by androgen-dependent LNCaP cells. PC-3 cells secreted PDGF-BB into the culture medium. PDGF-BB induced the phosphorylation of PDGFR α and Akt in a dose-dependent manner in PC-3 cells. Imatinib reduced the PDGF-BB induced phosphorylation of PDGFR α and Akt. Imatinib also suppressed the viability, proliferation, migration of PC-3 cells. Although PC-3 cells expressed PDGFR α and PDGFR β , knockdown of PDGFR α by siRNA was more efficient to inhibit the viability and migration of PC-3 cells. Imatinib inhibited the growth of transplanted PC-3 cells in mice.

Significance: Our current results suggest that PDGFR α signaling is important for viability, proliferation, migration and tumor growth of PC-3 cells. The tyrosine kinase inhibitor imatinib interferes PDGFR α signaling, and will be an alternative approach for androgen independent and metastatic prostate cancer.

論文審査の結果の要旨

【背景】

前立腺がんは、本邦を含む多くの国で、男性のがん罹患数1位となっている。アンドロゲン受容体は前立腺がんの進展に重要であることは広く知られており、アンドロゲン抑制療法はアンドロゲン依存性前立腺がんに対する第1選択療法である。しかし、アンドロゲン非依存性前立腺がんでは治療標的が限定され、増殖因子受容体シグナルがアンドロゲン非依存性前立腺がんの進展により重要となってくる。血小板由来増殖因子受容体(PDGFR)はチロシンキナーゼ受容体であり、腫瘍の増殖に関与することが良く知られている。しかし、アンドロゲン非依存性前立腺がんにおけるPDGFRシグナルの役割は十分に検討されていない。

【目的】

本研究は骨転移巣由来、ヒトアンドロゲン非依存性前立腺がん細胞であるPC-3細胞で

の PDGFR シグナルの役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】

ヒト前立腺がん細胞である PC-3, DU145, LNCaP は 10%FBS 添加 RPMI 培地で培養した。PDGFR α と PDGFR β の mRNA 発現量はリアルタイム PCR 法により測定した。蛋白発現とそのリン酸化はウェスタンブロット法により検討した。細胞の生存性, 増殖, 遊走, 毒性は, それぞれ MTT 試験, BrdU 取り込み試験, Trans-well 法, 遊離 LDH 測定により評価した。また, マウスに細胞を移植し, 腫瘍形成に対するイマチニブの効果を判定した。

【結果】

PDGFR α の発現は, 正常前立腺上皮細胞よりもアンドロゲン非依存性前立腺がん細胞である PC-3 と DU145 で高かった。しかし, PDGFR β の発現には差がみられなかった。一方, アンドロゲン依存性前立腺がん細胞である LNCaP においても同様の PDGFRs の発現が確認された。PC-3 細胞は血小板由来増殖因子 (PDGF) -BB を培養液中に分泌することが確認され, PDGF-BB は濃度依存性に PDGFR α と AKT のリン酸化を惹起した。チロシンキナーゼ受容体阻害薬であるイマチニブはこれらを抑制し, PDGF-BB により誘導される PC-3 細胞の増殖, 遊走も抑制した。PC-3 細胞には PDGFR α と PDGFR β が発現するが, PDGFR α のノックダウンは PDGFR β に比べ, より著明に増殖, 遊走を抑制した。さらに, マウスに移植した PC-3 細胞の腫瘍形成はイマチニブにより著明に抑制された。

【結論】

アンドロゲン非依存性前立腺がん細胞 PC-3 の増殖, 遊走, 腫瘍形成には PDGFR α シグナルが重要であった。チロシンキナーゼ受容体阻害薬であるイマチニブは PDGFR α シグナルを抑制し, アンドロゲン非依存性・転移性前立腺がんの治療選択の 1 つとなる可能性がある。

本研究で検討されたイマチニブは, 白血病治療における実臨床で汎用されており, アンドロゲン非依存性前立腺がんに対する新たな治療法に繋がることが期待されることから, 学位を授与するに値する論文であると判定した。

氏名	むはまど るつとうふる らーまん Md. Lutfur Rahman
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第618号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Experimental strategies to achieve efficient targeted knock-in via tandem paired nicking (tandem paired nicking 法によって効率的なノックインを行うための実験戦略)
掲載雑誌	Scientific Reports.2021; 11: 22627
論文審査委員	(主査) 教授 渡辺 秀人 教授 佐藤 元彦 教授 高村 祥子 教授 高見 昭良

学位論文内容の要旨

【背景】

ゲノム編集によるノックインは標的遺伝子を設計通りに改変できる技術であり、根治が困難な遺伝性疾患への臨床応用が期待されている。しかし、従来のノックイン法にはノックインの効率、正確性、安全性のいずれにも克服すべき課題があり、臨床応用への障壁となっている。申請者の所属する愛知医科大学医学部生化学講座は、ノックインに関する課題を改善するための研究の一環として、近年、正確性と安全性を高めたノックイン法 Tandem Paired Nicking 法 (TPN 法) を考案し、その有効性を報告した。

本研究では、TPN 法を広く使われる技術とするため、TPN 法によるノックインをより高効率化できる実験条件を検討した。

【方法】

TPN 法に必要なゲノム編集ツール (2種類の Cas9 nickase およびドナー DNA) を培養細胞に導入し、ノックインを行った。その後、ノックイン標的遺伝子の産物タンパク質を染色し、フローサイトメトリーでノックインが起きた細胞を定量することによってノックイン効率を決定した。

このようなアッセイ系を用いて、具体的には、導入するドナー DNA の長さ、Cas9

nickase による DNA 一本鎖切断部位 (nick) 間の距離, nick の位置を決めるガイド RNA のデザイン方法などに関する検討を行った。

【結果】

効率的なノックインを行いうるドナー DNA の長さは 1,700 ~ 2,000bp であった。ノックイン効率は nick 間の距離が短いほど高値であった。また様々なガイド RNA のデザインを試した結果, ガイド RNA 内のスペーサーの 5' 末端への G (グアニン) 付加の有無にかかわらず, スペーサーの長さを 20 塩基にすると最もノックイン効率が高かった。

【考察・結論】

従来のノックイン法では 1 種類の Cas9 nuclease (DNA 二本鎖切断酵素) が使用される。一方, TPN 法では 2 種類の Cas9 nickase が使用されるため, ノックインのメカニズムは両者で異なると考えられる。よって TPN 法のノックインを高効率化する因子は未知であり, 本解析はそれを解明するための重要な指標を与える研究と言える。また, 本解析で得られたドナー DNA の長さやガイド RNA のデザイン方法を念頭に置くことで, 今後, 同法の臨床応用への取り組みも加速されるものと期待される。

論文審査の結果の要旨

【背景】

ゲノム編集によるノックインは標的遺伝子を設計通りに改変できる技術であり, 根治が困難な遺伝性疾患への臨床応用が期待されている。しかし, 従来のノックイン法にはノックインの効率, 正確性, 安全性のいずれにも克服すべき課題があり, 臨床応用への障壁となっている。申請者の所属する愛知医科大学医学部生化学講座は, ノックインに関する課題を改善するための研究の一環として, 近年, 正確性と安全性を高めたノックイン法 Tandem Paired Nicking 法 (TPN 法) を考案し, その有効性を報告した。

本研究では, TPN 法を広く使われる技術とするため, TPN 法によるノックインをより高効率化できる実験条件を検討した。

【方法】

TPN 法に必要なゲノム編集ツール (2 種類の Cas9 nickase およびドナー DNA) を培養細胞に導入し, ノックインを行った。その後, ノックイン標的遺伝子の産物タンパク質を染色し, フローサイトメトリーでノックインが起きた細胞を定量することによってノックイン効率を決定した。

このようなアッセイ系を用いて, 具体的には, 導入するドナー DNA の長さ, Cas9

nickase による DNA 一本鎖切断部位 (nick) 間の距離, nick の位置を決めるガイド RNA のデザイン方法などに関する検討を行った。

【結果】

効率的なノックインを行いうるドナー DNA の長さは 1,700 ~ 2,000bp であった。ノックイン効率は nick 間の距離が短いほど高値であった。また様々なガイド RNA のデザインを試した結果, ガイド RNA 内のスペーサーの 5' 末端への G (グアニン) 付加の有無にかかわらず, スペーサーの長さを 20 塩基にすると最もノックイン効率が高かった。

【考察・結論】

従来のノックイン法では 1 種類の Cas9 nuclease (DNA 二本鎖切断酵素) が使用される。一方, TPN 法では 2 種類の Cas9 nickase が使用されるため, ノックインのメカニズムは両者で異なると考えられる。よって TPN 法のノックインを高効率化する因子は未知であり, 本解析はそれを解明するための重要な指標を与える研究と言える。また, 本解析で得られたドナー DNA の長さやガイド RNA のデザイン方法を念頭に置くことで, 今後, 同法の臨床応用への取り組みも加速されるものと期待される。

本研究は近年急速に普及しつつあるゲノム編集技術を改良した手法の至適条件を検討したものであり, 今後のゲノム編集技術の発展に大きく寄与するものとして価値が高い。従って本論文は学位授与に価する論文である。

氏名	齋藤拓也
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第619号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Hypoalbuminemia is related to endothelial dysfunction resulting from oxidative stress in parturients with preeclampsia (妊娠高血圧腎症妊婦における、活性酸素が及ぼす血管内皮機能障害と低アルブミン血症との関連性)
掲載雑誌	Nagoya Journal of Medical Science.In press
論文審査委員	(主査) 教授 内藤 宗和 教授 鈴木 耕次郎 教授 前川 正人 教授 古川 洋志

学位論文内容の要旨

【緒言】

妊娠高血圧症候群 (hypertensive disorders of pregnancy : HDP) は妊娠中に高血圧を発症し、母体、胎児、新生児の予後に影響を及ぼす疾患である。主病態は、母体より発生する活性酸素の血管内皮機能障害が一因であると言われている。HDP は、妊娠高血圧 (gestational hypertension : GH)、妊娠高血圧腎症 (preeclampsia : PE)、加重型妊娠高血圧腎症、高血圧合併妊娠に分類される。特に、PE では尿中に蛋白を排泄することにより低アルブミン (albumin : Alb) 血症を併発する。そして、妊婦における低 Alb 血症と活性酸素の産生増加については報告が少なく、病態は解明されていない。

ここで我々は、PE 妊婦における低 Alb 血症が活性酸素産生を増加させ、それに伴い母体の血管内皮機能障害を誘引しているとの仮説を立てた。今回の研究は仮説の立証とともに、PE 妊婦での妊娠中、産後における血清 Alb 濃度、活性酸素量、そして母体の血管内皮機能障害の変化について検討した。

【方法】

2010年4月1日から2018年3月31日までに同意を得た愛知医科大学病院にて分娩したPE妊婦 (PE群) 24人、GH妊婦 (GH群) 21人、合併症のない妊婦 (Control群) 30

人を対象とし、TP、Albを含む生化学およびFMD（Flow Mediated Dilation）、d-ROMs（Diacron-Reactive Oxygen Metabolites）を測定した。また、それぞれの妊婦は産後1か月後にも同様の測定を行った。

【結果】

母体の年齢、BMI、分娩歴、測定時期は3群間に有意な差を認めなかった。血圧はPE、GH群がControl群に比較して有意に高値だったが、PE群とGH群では差を認めなかった。FMDはPE、GH群がControl群に比較して有意に低値だが、PE群とGH群では差を認めなかった。TP、AlbはPE群ではGH、Control群に比較して有意に低値だったが、GH群とControl群は差を認めなかった。d-ROMsはcontrol群に比較して、PH、GH群で有意に高値だったが、PE群とGH群では差を認めなかった。PE群においてd-ROMsとAlbは有意な負の相関を認め、d-ROMsとFMDは有意な負の相関を認めた。GH群においてGH群において、d-ROMsとAlbでは相関を認めなかったが、GH群では、d-ROMsとFMDでは負の相関を認めた。分娩後1か月で、PE群では、各パラメーターは正常化し、Control群と比較して差を認めなかった。

【結論】

PE妊婦は血中Albが減少することにより、活性酸素の産生増加をきたし、血管内皮機能障害の原因となり、妊娠終結により分娩後1か月で正常化することが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

妊娠高血圧症候群は、妊娠20週～産後12週までに血圧が上がった状態をいう。さらに、高血圧のみの場合は「妊娠高血圧症」、高血圧とタンパク尿を認める場合は「妊娠高血圧腎症」、妊娠前や20週目以前に妊娠高血圧症と診断され、その後、妊娠後期に血圧が悪化、もしくはタンパク尿がみられた場合は妊娠高血圧腎症（PE）と呼ばれ、低アルブミン血症を併発することがある。アルブミンは抗酸化作用を有することが知られているが、妊婦における低アルブミン血症と活性酸素の酸性増加については、明らかになっていない。本研究では、PE妊婦における血清アルブミン濃度、活性酸素量、血管内皮機能障害の変化について検討した。方法は、PE妊婦24名、妊娠高血圧妊婦21名、合併症のない妊婦30名に対して、レトロスペクティブに調査した。その結果、PE妊婦は血中アルブミン濃度が低下すると、活性酸素が増加することが明らかになった。また、分娩後1ヶ月でこれらの値は正常化することが分かった。本研究論文は、妊娠高血圧腎症の病態解明の一端を担うものであり、学位を授与するに値する論文であると判定した。

氏名	後藤真奈美
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第620号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Evaluation of an MRI/US fusion technique for the detection of non-mass enhancement breast lesions detected by MRI yet occult on conventional B-mode second-look US (MRIで初めて検出され、通常のBモードによるセカンドルックUSでは同定できなかった非腫瘍性乳房病変を検出するためのMRI/US融合技術の有用性)
掲載雑誌	Journal of Medical Ultrasonics,2022;49(1)
論文審査委員	(主査) 教授 三嶋秀行 教授 内藤宗和 教授 高村祥子 教授 石橋宏之

学位論文内容の要旨

【目的】

乳房磁気共鳴画像(MRI)における非腫瘍性乳房病変(Non-mass enhancement : NME)とは、周囲の実質とは異なる空間を占有するようなmassやfocusではない増強領域を指す。また特徴として、NMEの超音波相関率は、massやfocusに比べて低いことが報告されている。一方で、NMEは、セカンドルック乳腺超音波検査(US)で発見されずに経過し、のちに悪性と判明する可能性がある。そのため、通常のBモードによるセカンドルックUSでNMEが同定できない場合、MRIガイド下生検を行うことが重要であるとも指摘されている。しかし実際には、設備の点などから、MRIガイド下生検が常に利用できるわけではなく、また容易に実施できるわけでもない。そこで本研究の目的は、MRIとUSの融合技術であるreal-time virtual sonography(RVS)を用いたセカンドルックUSが、MRIで初めて検出されたNMEを同定する際の有用性について検証することである。

【方法】

2015年6月から2020年4月までの期間において、当科で施行された乳房腹臥位MRIで1つ以上のNMEが検出され、その後通常のBモードによるセカンドルックUSでも病変を同定できなかった患者を連続して登録した。病変側の乳房に対して追加で仰臥位MRIを実施し、そのデータを利用してRVSを用いたセカンドルックUSを実施した。

【結果】

21例のNMEを有する20人の患者が対象となった。腹臥位MRIでの病変サイズの中央値は23mm（範囲：5-63mm）であった。仰臥位MRIでは21例のNMEのすべてが確認され、RVSを用いたセカンドルックのUSでは18例（86%）の病変を同定することができた。同定された病変に対してRVSガイド下で生検を行い、病理組織学的に評価したところ、18例の病変のうち9例は良性、残りの9例は悪性であった。9例の悪性病変のうち、2例（22%）が浸潤癌、7例（78%）が非浸潤性乳管癌であった。また、術前評価のために腹臥位MRIを受け、NMEが検出された5人の患者のNME5例のうち4例は良性と診断され、当初の予定通りに手術が行われた。一方1人の患者のNMEでは悪性と診断され、対側の乳房温存手術が追加された。21例のNMEのうち3例（14%）はRVSを用いたセカンドルックUSでも病変は同定されず、24ヶ月以上の経過観察の後に良性と判断された。

【結論】

本研究の結果から、RVSを用いたセカンドルックUSは、通常のBモードによるセカンドルックUSでは同定できないMRIで初めて検出されたNMEを同定する際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】

乳癌の診断において、マンモグラフィー（乳房X線検査）で異常があり超音波検査（US）で病変を同定できない場合、腹臥位で磁気共鳴画像（MRI）を行う。MRIで、周囲の実質とは異なる空間を占有するようなmassやfocusではない増強領域である非腫瘍性乳房病変（Non-mass enhancement：NME）が見つかり、セカンドルックUS（2ndUS）を行う。一般的にBモードによる2ndUSではNMEの描出は困難なことが多く、またMRIガイド下生検も容易ではない。私たちは、MRIとUSを融合させたreal-time virtual sonography（RVS）が、通常のUSで描出が困難な病変に対して有効であることを報告してきた。

【目的】

本研究の目的は、MRI で初めて検出された NME の同定における RVS の臨床的有用性について検討することである。

【方法】

2015 年 6 月から 2020 年 4 月まで、当科で施行された乳房腹臥位 MRI で 1 つ以上の NME が検出され、その後通常の B モードによる 2ndUS で病変を同定できなかった患者を対象とし、レトロスペクティブに検討した。病変側の乳房に対して仰臥位 MRI を追加し、RVS を用いた 2ndUS を実施した。

【結果】

対象は 21 例の NME を有する 20 人であった。腹臥位 MRI での病変サイズ中央値は 23mm (5-63mm) であった。仰臥位 MRI では 21 例の NME すべてが確認できた。21 例中 RVS を用いた 2ndUS で病変を同定できたのは 18 例 (86%) であった。同定された 18 病変に対して RVS ガイド下で生検した結果、良性 9 例、悪性 9 例であった。悪性 9 例のうち、浸潤癌が 2 例、非浸潤性乳管癌が 7 例であった。術前評価のための腹臥位 MRI において、5 例で対側乳房に NME が検出された。NME 5 例のうち 4 例は良性と診断され、予定通りに手術が行われたが、1 例は悪性と診断され、対側の乳房温存手術が追加になった。21 例中 3 例は RVS による 2ndUS で病変は同定できず、24 ヶ月以上の経過観察後に良性と診断された。

【結論】

RVS を用いた 2ndUS は、通常の B モードによる US では同定できない MRI で初めて検出された NME を同定する際に、臨床的に有用であることが示唆された。

本研究は、通常の検査で描出困難な乳癌病変の診断能向上に貢献する研究であり、臨床的有用性が高く、学位授与に値する論文である。

氏名	おおわきゆうき 大脇佑樹
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第621号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Placental hypoplasia and maternal organic vascular disorder in pregnant woman with gestational hypertension and preeclampsia (妊娠高血圧症と妊娠高血圧腎症における胎盤形成不全と母体器質的血管障害)
掲載雑誌	The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. 2021;Vol34No.3:353-359
論文審査委員	(主査) 教授 細川好孝 教授 佐藤元彦 教授 天野哲也 教授 伊藤恭彦

学位論文内容の要旨

【目的】

妊娠高血圧症候群（HDP）の中でも妊娠高血圧腎症（PE）と妊娠高血圧（GH）では病因、病態が異なるとされている。妊娠高血圧腎症の病因は妊娠初期の胎盤形成不全であり、胎盤の低酸素状態によって産生亢進した抗血管新生因子が、母体循環に移行し血管内皮機能障害の原因となる。一方、妊娠高血圧の病因は胎盤形成不全ではなく、妊娠前からの器質的血管障害が内在している可能性が考えられる。本研究では、PEとGHの病因・病態について比較検討した。

【方法】

同意を得た合併症のない正常妊婦16例、PE妊婦23例とGH妊婦13例を対象とし、母体血中の活性酸素代謝物（d-ROMs）と血管新生因子PIGF及び抗血管新生因子sFlt-1を測定した。また、母体の器質的血管障害の指標として、頸動脈内膜中膜複合体厚（IMT）を測定した。さらに、分娩後の胎盤組織を使用し、胎盤絨毛組織の低酸素状態の指標HIF-1 α の核陽性率と、胎盤絨毛組織トロホブラストにおける酸化的DNA障害の指標

8-OHdG の核陽性率を算出した。

【結果】

母体血中の活性酸素代謝物 (d-ROMs) は、正常妊婦群と比較し、両 HDP 群が有意な高値を示した。抗血管新生因子である sFlt-1 及び sFlt-1/PlGF は妊娠高血圧群と正常妊婦群に比較し妊娠高血圧腎症群が有意な高値を示した。同様に、HIF-1 α と 8-OHdG の核陽性率も、妊娠高血圧群と正常妊婦群に比較し、妊娠高血圧腎症群が有意な高値を示した。IMT 測定は、正常妊婦群に比較し、妊娠高血圧群と妊娠高血圧腎症群の両群で有意な高値を示し、その両群間では妊娠高血圧群で有意な高値を示した。

【結論】

妊娠高血圧腎症群妊婦では胎盤絨毛組織で虚血性変化、高度な酸化 DNA 障害、抗血管新生因子の産生亢進を認めた。また、IMT 測定では、妊娠高血圧腎症群と比較し、妊娠高血圧群妊婦で妊娠前からの器質的血管障害を高度に認めた。

論文審査の結果の要旨

【目的】

妊娠高血圧症候群 (HDP) の中でも妊娠高血圧腎症 (PE) と妊娠高血圧 (GH) では病因、病態が異なることが示唆されている。妊娠高血圧腎症の病因は妊娠初期の胎盤形成不全であり、胎盤の低酸素状態によって産生亢進した抗血管新生因子が、母体循環に移行し血管内皮機能障害の原因となる。一方、妊娠高血圧の病因は胎盤形成不全ではなく、妊娠前からの器質的血管障害が内在している可能性が考えられる。本研究では、PE と GH の病因・病態について詳細に比較検討を行った。

【方法】

同意を得た合併症のない正常妊婦 16 例、PE 妊婦 23 例と GH 妊婦 13 例を対象として、母体血中の活性酸素代謝物 (d-ROMs)、血管新生因子 PlGF 及び抗血管新生因子 sFlt-1 を測定した。また、母体の器質的血管障害の指標として、頸動脈内膜中膜複合体厚 (IMT) を測定した。さらに、分娩後の胎盤組織を使用し、胎盤絨毛組織における低酸素状態の指標 HIF-1 α の核陽性率と、胎盤絨毛組織トロホブラストにおける酸化 DNA 障害の指標 8-OHdG の核陽性率を算出した。

【結果】

母体血中の活性酸素代謝物 (d-ROMs) は、正常妊婦群と比較し、両 HDP 群で有意な

高値を示した。抗血管新生因子である sFlt-1 及び sFlt-1/PlGF は、妊娠高血圧群と正常妊婦群に比較し、妊娠高血圧腎症群で有意な高値を示した。同様に、HIF-1 α と 8-OHdG の核の陽性率も、妊娠高血圧群と正常妊婦群に比較し、妊娠高血圧腎症群で有意な高値を示した。IMT 測定は、正常妊婦群に比較し、妊娠高血圧群と妊娠高血圧腎症群の両群で有意な高値を示し、その両群間では妊娠高血圧群で有意な高値を示した。

【結論】

妊娠高血圧腎症群妊婦では、胎盤絨毛組織で虚血性変化、高度な酸化的 DNA 障害、抗血管新生因子の産生亢進を認めた。また、IMT 測定では、妊娠高血圧腎症群と比較し、妊娠高血圧妊婦で妊娠前からの器質的血管障害を高度に認めた。これらの結果から、妊娠高血圧腎症 (PE) と妊娠高血圧 (GH) では、その病態が明確に異なることが明らかになった。

本論文は、妊娠高血圧腎症と妊娠高血圧の病態を明らかにし、新たな診断・治療法へ向けた進展が期待されるため、学位授与に値する論文であると判断した。

氏名	ありよしただし 有吉理
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第622号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	<i>Clostridium butyricum</i> MIYAIRI 588 Modifies Bacterial Composition under Antibiotic-Induced Dysbiosis for the Activation of Interactions via Lipid Metabolism between the Gut Microbiome and the Host (<i>Clostridium butyricum</i> MIYAIRI 588 は抗生物質起因性 dysbiosis において腸内細菌叢を改変し、宿主との脂質代謝を介した相互作用を活性化する)
掲載雑誌	Biomedicines.2021;9(8):1065
論文審査委員	(主査) 教授 春日井 邦 夫 教授 高 村 祥 子 教授 渡 邊 大 輔 教授 佐 野 力

学位論文内容の要旨

腸内細菌叢は宿主の代謝機能と密接に関連しており、相互に影響を及ぼすことが知られている。筆者はこれまでにプロバイオティクスとして使用されている *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 (CBM 588) の経口投与が長鎖脂肪酸をリガンドとして認識する G タンパク質共役型受容体 (GPR) 120 の活性化及び抗炎症性脂質メディエーターであるプロテクチン D1 産生を促進し、抗菌薬起因性 dysbiosis 下における腸上皮細胞の保護作用及び炎症抑制作用を示すことを報告した。しかしながら CBM 588 がプロテクチン D1 を含む多価不飽和脂肪酸 (PUFA) 代謝物をどのように産生促進するかは詳細には解明されていない。そのため、本研究では dysbiosis を呈するマウス抗菌薬投与モデルを用いて、CBM 588 またはプロテクチン D1 投与後の腸内細菌叢の変化及び脂質代謝を介した宿主と腸内細菌叢の相互作用を明らかにすることを目的とした。

我々はまず、抗菌薬投与後のマウスの腸内容物に対し、次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子解析を行うことで、腸内細菌叢へ与える CBM 588 及びプロテクチン D1 の影響を評価した。同時に腸内容物に対して液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/

MS) 及び高速液体クロマトグラフ (HPLC) を用いた脂質代謝物の定性及び定量を実施した。さらに各種脂肪酸標品またはリノール酸添加培地中で培養した CBM 588 の上清を Caco-2 細胞に添加する in vitro 試験により、腸内細菌によって代謝された脂質代謝物のリガンドとしての能力を評価した。

結果として、CBM 588 投与は抗菌薬投与後の腸内細菌叢を *Enterococcus* 及び *Clostridium sensu stricto* 1 が優勢な菌叢へと改変させ、腸内容物中の酪酸、オレイン酸及び Eicosapentanoic acid (EPA) を増加させた。この時、宿主の腸管における脂肪酸受容体や脂質伸長酵素の発現が亢進していたことから CBM 588 によって誘導された菌叢は宿主の脂質代謝を改変することが示唆された。また、in vitro 試験の結果、脂肪酸標品添加群と比較して CBM 588 とリノール酸を共培養した培地上清を添加した試験群は GPR 下流のシグナル伝達物質である ERK 1/2 濃度が有意に増加した。添加した CBM 588 とリノール酸を共培養した培地上清を代謝物解析した結果、リノール酸の変換体が有意に増加しており、この変換体が脂肪酸受容体のリガンドとして作用したことが考えられる。さらに、プロテクチン D1 投与は腸内細菌叢へ影響を与え、CBM 588 と同様の菌叢を呈することが確認された。

以上の結果より CBM 588 が腸内細菌を介した脂質代謝の変化を通じて、宿主と腸内細菌叢の相互関係に影響を与えることで、dysbiosis 起因性の炎症症状を抑制していることが明らかとなった。これらの発見は、CBM 588 による炎症の予防と回復における作用機序、また宿主代謝の改善への洞察を提供する。

論文審査の結果の要旨

腸内細菌叢は宿主の代謝機能と密接に関連しており、相互に影響を及ぼすことが知られている。筆者はこれまでに live biotherapeutic products (LBPs) として使用されている *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 (CBM 588) の経口投与が長鎖脂肪酸をリガンドとして認識する G タンパク質共役型受容体 (GPR) 120 の活性化及び抗炎症性脂質メディエーターであるプロテクチン D1 産生を促進し、抗菌薬起因性 dysbiosis 下における腸上皮細胞の保護作用及び炎症抑制作用を示すことを報告した。しかしながら CBM 588 がプロテクチン D1 を含む多価不飽和脂肪酸 (PUFA) 代謝物をどのように産生促進するかは詳細には解明されていない。そのため、本研究では dysbiosis を呈するマウス抗菌薬投与モデルを用いて、CBM 588 またはプロテクチン D1 投与後の腸内細菌叢の変化及び脂質代謝を介した宿主と腸内細菌叢の相互作用を明らかにすることを目的とした。

我々はまず、抗菌薬投与後のマウスの腸内容物に対し、次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子解析を行うことで、腸内細菌叢へ与える CBM 588 及びプロテクチン D1 の影響を評価した。同時に腸内容物に対して液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/

MS) 及び高速液体クロマトグラフ (HPLC) を用いた脂質代謝物の定性及び定量を実施した。さらに各種脂肪酸標品またはリノール酸添加培地中で培養した CBM 588 の上清を Caco-2 細胞に添加する in vitro 試験により、腸内細菌によって代謝された脂質代謝物のリガンドとしての能力を評価した。

結果として、CBM 588 投与は抗菌薬投与後の腸内細菌叢を *Enterococcus* 及び *Clostridium sensu stricto* 1 が優勢な菌叢へと改変させ、腸内容物中の酪酸、オレイン酸及び Eicosapentanoic acid (EPA) を増加させた。この時、宿主の腸管における脂肪酸受容体や脂質伸長酵素の発現が亢進していたことから CBM 588 によって誘導された菌叢は宿主の脂質代謝を改変することが示唆された。また、in vitro 試験の結果、脂肪酸標品添加群と比較して CBM 588 とリノール酸を共培養した培地上清を添加した試験群は GPR 下流のシグナル伝達物質である ERK 1/2 濃度が有意に増加した。添加した CBM 588 とリノール酸を共培養した培地上清を代謝物解析した結果、リノール酸の変換体が有意に増加しており、この変換体が脂肪酸受容体のリガンドとして作用したことが考えられる。さらに、プロテクチン D1 投与は腸内細菌叢へ影響を与え、CBM 588 と同様の菌叢を呈することが確認された。

本論文により CBM 588 によって誘導された腸内細菌叢が脂質代謝物の変化、脂肪酸受容体からのシグナリング誘導などにより dysbiosis による炎症を抑制していることが明らかとなった。これらの知見は、dysbiosis が引き起こすさまざまな疾患に対しする新たな治療アプローチとしての CBM 588 の可能性を示したものであり、学位を授与するに値すると判定した。

氏名	しみず あき お 雄 清水昭雄
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第623号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Nutritional Management Enhances the Recovery of Swallowing Ability in Older Patients with Sarcopenic Dysphagia (栄養管理は高齢サルコペニアの嚥下障害患者の嚥下能力回復を促進する)
掲載雑誌	Nutrients.2021;13(2):596
論文審査委員	(主査) 教授 藤本保志 教授 内藤宗和 教授 伊藤恭彦 教授 牛田享宏

学位論文内容の要旨

【背景】

近年、嚥下障害の新たな原因としてサルコペニアが認識され、サルコペニアの嚥下障害 (sarcopenic dysphagia: SD) と呼ばれている。SDには理想体重 (ideal body weight: IBW) あたり 30kcal 以上の積極的な栄養管理が嚥下能力の改善に有効であるという複数のケースレポートが報告されている。本研究では、SD患者に対して、30kcal/IBW/日以上の高エネルギーを提供することで、嚥下能力と日常生活動作 (activities of daily living: ADL) が効果的に改善するかどうかを調査した。

【方法】

亜急性期病院に入院したSD患者110名 (平均年齢 84.9 ± 7.4 歳) を対象にした。嚥下能力は Food Intake LEVEL Scale (FILS) と ADL は Functional Independence Measure (FIM) を用いてそれぞれ評価した。主要評価項目は退院時の FILS 改善、副次評価項目は退院時の FIM が臨床的に重要な最小の差 (minimal clinically important difference: MCID) である 22 点以上の改善が達成されたかどうかであった。入院期間 1 週間の平均提供エネルギーが 30kcal/IBW/日以上の場合とそうでない場合で、患者背景を統一するために inverse probability of treatment weighting: IPTW 法を用いて、統計的に有意な差

のない同質確率モデルを作成し，群間で転帰を比較した。

【結果】

平均供給エネルギーが 30kcal/IBW/ 日以上の患者は 69 名 (62.7%) であった。IPTW モデルでは，入院時の背景に群間差を認めていなかった (表 1)。退院時 FILS および FIM の MCID 達成率は，平均供給エネルギーが 30kcal/IBW/ 日以上群で有意に高かった (それぞれ $p=0.004$, $p<0.001$)。加えて，30kcal/IBW/ 日以上の平均供給エネルギーは退院時 FILS2 点以上改善 (odds 比 4.958, $p=0.044$) と FIM MCID (odds 比 3.032, $p=0.028$) へ導くことが示された。

【考察】

本研究では，急性期後のリハビリテーションを受けている SD 患者を対象とした。サルコペニア患者を対象に実施されたランダム化比較試験のメタアナリシスでは，積極的な栄養管理が全身の筋力向上に有効であることが報告されている。つまり，栄養管理はサルコペニア患者の筋力向上に有効であると考えられる。さらに，物理的なりハビリテーションは，嚥下能力の改善に有効と考えられている。そのため，本研究では，SD 患者に 30kcal/IBW/ 日以上の積極的な栄養管理と全身のリハビリテーションとを組み合わせさせた結果，嚥下能力と ADL が大幅に改善したと考えられる。

【結論】

SD 患者に 30kcal/IBW/ 日以上の高エネルギー提供を行うことで，嚥下能力が向上し，臨床的に意味のある機能的転帰が得られる可能性があることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

【背景】

近年，嚥下障害の新たな原因としてサルコペニアが認識され，サルコペニアの嚥下障害 (sarcopenic dysphagia: SD) と呼ばれている。積極的な栄養管理による SD 改善はケースレポートのみであり実証されていない。本研究では，SD 患者に対する積極的な栄養嚥下能力と日常生活動作 (activities of daily living: ADL) が効果的に改善するかどうかを調査した。

【方法】

亜急性期病院に入院した SD 患者 110 名 (平均年齢 84.9 ± 7.4 歳) を対象にした。嚥下能力は Food Intake LEVEL Scale (FILS) と ADL は Functional Independence Measure

(FIM) を用いた。主要評価項目は退院時の FILS 改善, 副次評価項目は退院時の FIM が臨床的に重要な最小の差 (minimal clinically important difference: MCID) である 22 点以上の改善が達成されたかどうかであった。入院期間 1 週間の平均提供エネルギーが 30kcal/IBW/日以上か未満で inverse probability of treatment weighting: IPTW 法を用い, 統計的に有意な差のない同質確率モデルを作成し, 群間で転帰を比較した。

【結果】

平均供給エネルギーが 30kcal/IBW/日以上の患者は 69 名 (62.7%) であった。IPTW モデルでは, 入院時の背景に群間差を認めていなかった (表 1)。退院時 FILS および FIM の MCID 達成率は, 平均供給エネルギーが 30kcal/IBW/日以上群で有意に高かった (それぞれ $p=0.004$, $p<0.001$)。加えて, 30kcal/IBW/日以上の平均供給エネルギーは退院時 FILS2 点以上改善 (odds 比 4.958, $p=0.044$) と FIM MCID (odds 比 3.032, $p=0.028$) へ導くことが示された。

【考察】

本研究では, 急性期後のリハビリテーションを受けている SD 患者を対象とした。サルコペニア患者を対象に実施されたランダム化比較試験のメタアナリシスでは, 積極的な栄養管理が全身の筋力向上に有効であることが報告されている。つまり, 栄養管理はサルコペニア患者の筋力向上に有効であると考えられる。さらに, 物理的リハビリテーションは, 嚥下能力の改善に有効と考えられている。そのため, 本研究では, SD 患者に 30kcal/IBW/日以上の積極的な栄養管理と全身のリハビリテーションとを組み合わせさせた結果, 嚥下能力と ADL が大幅に改善したと考えられる。

【結論】

SD 患者に 30kcal/IBW/日以上の高エネルギー提供を行うことで, 嚥下能力が向上し, 臨床的に意味のある機能的転帰が得られる可能性があることが明らかになった。

【評価】

SD 患者に対する栄養管理の効果を実証することができ, 実臨床へのフィードバックの根拠となる重要な論文である。申請者は本編以外にも多くの関連論文を発表されており, 学位授与に値すると評価した。

氏名	まつ やま れ み 松 山 怜 実
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第624号
学位授与年月日	令和4年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Evaluation of skeletal muscle mass using prediction formulas at the level of the 12th thoracic vertebra (第12胸椎レベルの予測式による骨格筋量の評価)
掲載雑誌	Nutrition.2022;93:11475
論文審査委員	(主査) 教授 高見 昭良 教授 内藤 宗和 教授 増 渕 悟 教授 鈴木 耕次郎

学位論文内容の要旨

【背景】

がん患者は、悪液質やサルコペニアのリスクが高く、臨床転帰の悪化と関連している。がん患者の多くは骨格筋量でサルコペニアが評価されている。骨格筋量の測定方法のゴールドスタンダードはCTとMRIである。CTで測定される骨格筋面積(CSA)は、全身の筋肉量と強く相関することが知られ、CSAの評価には一般的に第3腰椎(L3)の椎骨レベルの骨格筋面積が用いられる。肺がんなどの患者では胸部CTのみでフォローアップされることが標準的であり、L3レベルの画像が撮影範囲に含まれていないためサルコペニアの評価が困難な場合がある。著者らは、HNC患者で撮影されたCT画像を用いて第12胸椎(Th12)レベルのCTスライスから骨格筋量減少を見るための指標として松山式を報告した。また、Th12レベルのCTスライスからL3の骨格筋量を予測する指標として、石田式が報告されている。

【方法】

本研究は、胸部および腹部のCTスキャンを受けた進行がん患者(n=173)を対象としたレトロスペクティブな研究である。CSAは、Th12とL3のレベルを用いて測定した。松山式ではTh12のCSAを用い、石田式では脊柱起立筋のTh12のCSAのみを用いた。予測L3レベルのCSAと実測L3レベルのCSAの相関関係は、Rとクラス内相関係数を

用いて評価し、予測値の予測精度分析を行った。

【結果】

患者の平均年齢は 66.2 ± 12.8 歳で、50.3% が女性であった。Th12, L3 の SMA, SMI の測定結果は、すべての測定結果で女性に比べて男性の方が大きい値を示した。松山式、石田式それぞれの予測式から算出した予測 L3 と実測 L3 の間には強い相関を認めた（松山式 ICC=0.877 [0.834-0.909], $r=0.804$, 石田式 ICC=0.786 [0.711-0.842], $r=0.673$ ）。既報のカットオフ値を用いた予測値の予測精度分析の結果、予測 L3-SMI で判定した低 SMI と実測 L3-SMI で判定した低 SMI は、石田式が高感度、松山式が高特異度を示した。

【考察】

本研究では2つの新規性を見出した。1つは進行癌の患者に対して松山式、石田式を利用して算出した予測 L3 と実測の L3 の SMA 間にはそれぞれ強い相関を認め、いずれの式も妥当であった。L3 レベルの CT スライスが撮影されていない場合であっても胸部 CT が撮影されていれば追加の CT 検査、放射線被曝をすることなく松山式、石田式を適用しサルコペニア診断のツールの1つとして用いることができると考えられる。2つ目に松山式は石田式と比較して予測精度がより高い傾向にあった。石田式は高感度、松山式は高特異度を示しており、スクリーニングには石田式、診断には松山式が有用であると考えられる。

【結論】

松山式と石田式は、いずれも進行がん患者の Th12 レベルの CT スライスにおいて良好な信頼性を示し、これらの式が臨床現場で適用できることを示した。

論文審査の結果の要旨

【背景と目的】

癌、特に進行癌患者は栄養障害を来しやすく、高じるとサルコペニアや悪液質に進展する。癌患者におけるサルコペニアは、生活の質を損なうため、特に進行癌患者ではサルコペニアを適切に予測する必要がある。サルコペニアは、全身骨格筋量によって評価される。全身骨格筋量の指標として従来 CT 検査上第3腰椎（L3）レベルの骨格筋面積（CSA）が用いられてきた。ところが、肺癌など上半身の癌のように L3 レベルまで CT が撮影されていない場合、全身骨格筋量を適切に評価できない。松山らは、第12胸椎（Th12）レベル CSA が L3 レベル CSA を反映することを明らかにし、計算方法として「松山式」を開発した（Matsuyama R: Oral Oncol 2021）。さらに、石田・松山らは、Th12 レベル起立筋 CSA から L3 レベル CSA を推定する計算方法「石田式」を開発した（Ishida Y,

Matsuyama R: Geriatrics 2020)。いずれも本論文提出者が開発した松山式と石田式の精度と利便性を検証するために本研究が行われた。

【対象と方法】

対象は、進行癌 190 例で、評価可能な CT 画像のない 17 例を除く 173 例（年齢中央値 66 歳；男性 86 例・女性 87 例；消化器癌 75 例，肺癌 22 例，乳癌 21 例，婦人科癌 16 例，泌尿器癌 11 例，頭頸部癌 9 例，皮膚癌 4 例，その他癌 15 例）。Th12 レベル CSA，Th12 レベル起立筋 CSA，L3 レベル CSA が測定され，松山式と石田式について検証された。

【結果】

松山式，石田式による予測 L3 レベル CSA はいずれも，実測 L3 レベル CSA と相関がみられた（相関係数はそれぞれ 0.804, 0.673）。予測精度分析により，石田式は感度に優れ，松山式は特異性に優れるとわかった。

【考察】

松山式，石田式はともに進行癌患者の L3 レベル CSA を高精度に予測できることがわかり，サルコペニアの評価に有用と考えられた。いずれも Th12 レベルの CSA 測定で済むことから，従来の L3 レベル CSA 測定を用いる方法より汎用性の面で優れている。特に，石田式は感度が高く，松山式は特異性が高かったことから，スクリーニングには石田式，診断には松山式を用いるのが適切と考えられる。本研究結果から，進行癌患者のサルコペニアを予測する汎用性に優れた方法が明らかとなり，進行癌患者の生活の質を保つ上で重要な知見が得られた。以上から，学位授与に値する論文と判断した。

氏名	しも だ ひろ み 下 田 博 美
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第625号
学位授与年月日	令和4年3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	<i>Kir6.2</i>-deficient mice develop somatosensory dysfunction and axonal loss in the peripheral nerves (<i>Kir6.2</i> 欠損マウスは体性感覚機能障害と末梢神経における軸索減少を呈する。)
掲載雑誌	iScience.2022;25,i1;103609
論文審査委員	(主査) 教授 岡 田 尚志郎 教授 佐 藤 元 彦 教授 渡 辺 秀 人 教授 笠 井 謙 次

学位論文内容の要旨

【背景】

糖尿病性多発神経障害 (DPN) は最も高頻度な末梢神経障害であり、また最も高頻度な糖尿病性合併症である。インスリン療法などによる高血糖の是正は DPN の発症と進行を防ぐことが証明されているが、進行した DPN に有効な治療法は確立されていない。今回我々は、DPN の新しい機序を解明する目的で、グルコース応答性 ATP 感受性カリウム (K_{ATP}) チャンネルの末梢神経系 (PNS) における生理的意義を探求した。K_{ATP} チャンネルは、4つのポア形成内向き整流チャンネルサブユニット KIR6.1 あるいは KIR6.2 と、4つのスルホニル尿素受容体サブユニット SUR1 あるいは SUR2 によって形成される 8 量体であり、KIR6.2 と SUR1 から構成される K_{ATP} チャンネルは、膵β細胞からのグルコース応答性インスリン分泌反応の主要な構成要素である。一方で当チャンネルの活性化(閉鎖)は、静止膜電位を脱分極させることより中枢神経系ではニューロンの易興奮性に繋がり、ひいては興奮毒性をもたらす可能性が指摘されている。

【方法】

実験 1. C57BL6/J マウスの脊髄後根神経節 (DRG) における K_{ATP} チャンネル subunits の発現を免疫染色により評価した。ストレプトゾトシン誘発高血糖マウスおよび肥満

耐糖能異常モデル db/db マウスの DRG を用い同 subunits の発現を RT-PCR で評価した。

実験 2. マウス DRG 初代培養系を用い、神経突起伸長に対する K_{ATP} チャンネル閉鎖薬（スルホニル尿素薬）あるいは開放薬（ジアゾキシド）の効果を評価した。

実験 3. グルコースおよびスルホニル尿素に対する応答性を喪失した K_{ATP} チャンネルを有する Kir6.2 欠損マウスにおいて、PNS の機能的変化を神経伝導検査、ニューロメーターによる電流知覚閾値（CPT）検査、Thermal plantar test（TPT）により評価し、腓腹神経および坐骨神経の超微形態学的変化を透過型電子顕微鏡により評価した。

【結果】

結果 1. K_{ATP} チャンネル subunits はマウス DRG で発現しており、Kir6.2 を含む一部の subunits の発現は高血糖マウスで増加した。

結果 2. DRG ニューロンの神経突起はスルホニル尿素薬によって伸長が抑制され、ジアゾキシドにより伸長が促進された。

結果 3. Kir6.2 欠損マウスでは、経時的に感覚神経伝導速度が低下し、CPT では電流知覚閾値の上昇を認め、TPT では潜時の延長すなわち温覚刺激への反応性低下を認めた。電子顕微鏡検査では、腓腹神経における無髄および小径有髄線維の減少を認めた。

【結語】

PNS の恒常性維持において K_{ATP} チャンネルが重要な役割を果たすことを明らかにした。K_{ATP} チャンネルが DPN を含めた末梢神経障害の新しい病因である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景】

糖尿病性多発神経障害（DPN）は最も高頻度な末梢神経障害であり、また最も高頻度な糖尿病性合併症である。インスリン療法などによる高血糖の是正は DPN の発症と進行を防ぐことが証明されているが、進行した DPN に有効な治療法は確立されていない。今回我々は、DPN の新しい機序を解明する目的で、グルコース応答性 ATP 感受性カリウム（K_{ATP}）チャンネルの末梢神経系（PNS）における生理的意義を探求した。K_{ATP} チャンネルは、4つのポア形成内向き整流チャンネルサブユニット KIR6.1 あるいは KIR6.2 と、4つのスルホニル尿素受容体サブユニット SUR1 あるいは SUR2 によって形成される 8 量体であり、KIR6.2 と SUR1 から構成される K_{ATP} チャンネルは、膵β細胞からのグルコース応答性インスリン分泌反応の主要な構成要素である。一方で当チャンネルの活性化（閉鎖）は、

静止膜電位を脱分極させることより中枢神経系ではニューロンの易興奮性に繋がり、ひいては興奮毒性をもたらす可能性が指摘されている。

【方法】

実験 1. C57BL6/J マウスの脊髄後根神経節 (DRG) における K_{ATP} チャンネル subunits の発現を免疫染色により評価した。ストレプトゾトシン誘発高血糖マウスおよび肥満耐糖能異常モデル db/db マウスの DRG を用い同 subunits の発現を RT-PCR で評価した。

実験 2. マウス DRG 初代培養系を用い、神経突起伸長に対する K_{ATP} チャンネル閉鎖薬 (スルホニル尿素薬) あるいは開放薬 (ジアゾキシド) の効果を評価した。

実験 3. グルコースおよびスルホニル尿素に対する応答性を喪失した K_{ATP} チャンネルを有する Kir6.2 欠損マウスにおいて、PNS の機能的変化を神経伝導検査、ニューロメーターによる電流知覚閾値 (CPT) 検査、Thermal plantar test (TPT) により評価し、腓腹神経および坐骨神経の超微形態学的変化を透過型電子顕微鏡により評価した。

【結果】

結果 1. K_{ATP} チャンネル subunits はマウス DRG で発現しており、Kir6.2 を含む一部の subunits の発現は高血糖マウスで増加した。

結果 2. DRG ニューロンの神経突起はスルホニル尿素薬によって伸長が抑制され、ジアゾキシドにより伸長が促進された。

結果 3. Kir6.2 欠損マウスでは、経時的に感覚神経伝導速度が低下し、CPT では電流知覚閾値の上昇を認め、TPT では潜時の延長すなわち温覚刺激への反応性低下を認めた。電子顕微鏡検査では、腓腹神経における無髄および小径有髄線維の減少を認めた。

【結語】

PNS の恒常性維持において K_{ATP} チャンネルが重要な役割を果たすことを明らかにした。 K_{ATP} チャンネルが DPN を含めた末梢神経障害の新しい病因である可能性が示唆された。

本研究は、糖尿病性多発神経障害の新しい機序を解明する目的で、グルコース応答性 ATP 感受性カリウムチャンネルの末梢神経系における生理的意義を探求したものである。その結果、末梢神経系の恒常性維持において K_{ATP} チャンネルが重要な役割を果たすことを明らかにした。本研究の成果は、 K_{ATP} チャンネルが糖尿病性末梢神経障害の新しい病因である可能性を示唆するものであり、臨床上有益な情報を与えることから、学位授与に値する論文であると判断した。

氏名	さくら い ひろ たか 櫻井啓貴
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第626号
学位授与年月日	令和4年3月10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	Quality of life for patients with psychogenic non-epilepsy seizures in comparison with age- and gender-matched epilepsy patients – cross-sectional study (年齢および性別に一致したてんかん患者と心因性非てんかん発作患者の生活の質の比較 - 横断的研究)
掲載雑誌	epilepsy & behavior. In press
論文審査委員	(主査) 教授 牛田 享 宏 教授 中野 隆 教授 小林 孝 彰 教授 佐々 直 人

学位論文内容の要旨

【目的】

心因性非てんかん発作 (PNES) の患者と、外来患者サービスを利用した年齢および性別が一致するてんかん患者 (PWE) を、生活の質 (QoL) およびうつ病の自己申告症状に関して比較した。さらに、うつ病の症状を含むその他の臨床変数が、PNES 患者の QoL および実世界の設定での PWE に及ぼす影響を評価した。

【主題と方法】

LaFrance の基準に基づいて明確なまたは文書化された PNES (PNES グループ, n=62), または臨床および EEG 手順の結果に基づいててんかん (てんかんグループ, n=61) と診断された成人患者を登録した。QoL を評価し、うつ病を評価するために、てんかんの生活の質インベントリー-10 (QOLIE-10) とてんかんの神経障害うつ病インベントリー (NDDI-E) をそれぞれ投与した。

【結果】

グループ間の比較では、てんかんグループと比較して、PNES 患者の病気の期間が短

く、発作の数が少ないことが明らかになった（それぞれ $p < 0.0001$; $p = 0.0003$ ）。QOLIE-10 によって明らかにされたグループ間に有意差は認めなかったが ($p = 0.141$)、PNES 患者はより高い NDDI-E スコアを持つ傾向を認めた ($p = 0.068$)。PNES グループでの QOLIE-10 の結果の重回帰分析により、NDDI-E スコアが唯一の有意な指標であることが指摘された ($\beta = -0.425$, $p = 0.001$)。対照的に、NDDI-E スコアと発作頻度はてんかんグループの QOLIE-10 の結果に有意な影響を及ぼした（それぞれ $\beta = -0.283$, $p = 0.026$; $\beta = -0.272$, $p = 0.031$ ）。

【結論】

PWE と外来患者サービスを利用した PNES の患者では、QoL はこれらのグループ間で有意差は認めなかった。PNES を治療する場合、心理社会的要因は、発作頻度よりも治療目標のより適切な指標である可能性がある。

論文審査の結果の要旨

【目的】

精神科外来患者における心因性非てんかん発作 (PNES) の患者とてんかん患者 (PWE) の生活の質 (QoL) およびうつ病の自己申告症状に関して年齢および性別を一致させて比較した。さらに、うつ病の症状を含むその他の臨床変数が、PNES 患者および PWE の実生活における QoL に及ぼす影響を評価した。

【方法】

LaFrance の基準に基づいて診断ができた PNES (PNES グループ, $n = 62$)、臨床および EEG 手順の結果に基づいててんかんと診断された成人患者のうち PNES グループと年齢および性別を一致させたもの“てんかんグループ ($n = 61$)”として研究対象とした。これらの患者群の QoL をてんかんの生活の質インベントリー -10 (QOLIE-10) で評価した。また、うつ状態の評価の為に、てんかんの神経障害うつ病インベントリー (NDDI-E) をそれぞれ評価した。

【結果】

グループ間の比較では、てんかんグループと比較して、PNES グループでは病気の期間が短く、発作の数が少ないことが明らかになった（それぞれ $p < 0.0001$; $p = 0.0003$ ）。QOLIE-10 によって明らかにされた QoL レベルについてはグループ間に有意差は認めなかった ($p = 0.141$)。一方、NDDI-E については PNES グループがより高いスコアを持つ傾向を認めた ($p = 0.068$)。

また、PNES グループについての解析を行うと QOLIE-10 に対しては NDDI-E のスコアが唯一有意な影響を及ぼしていた ($\beta=-0.425p=0.001$)。他方てんかんグループにおける解析では QOLIE-10 に対して NDDI-E スコアのみならず発作頻度も有意な影響を及ぼした (それぞれ $\beta=-0.283p=0.026$; $\beta=-0.272p=0.031$)。

【結論】

従来、PNES の治療効果の指標は発作頻度で測定されることが多かったが、今回の研究ではうつ状態が QoL に関与しており、心理社会的要素を改善させることが実際の治療効果に結びつくのではないかと考えられた。本論文は心因性非てんかん発作の有効な治療を考える上で重要な知見を与えるものであり学位授与に値する。

氏名	もり 森 ひさ 久 たけ 剛
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第627号
学位授与年月日	令和4年3月10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	Neutrophil extracellular traps are associated with altered human pulmonary artery endothelial barrier function (好中球細胞外トラップとヒト肺動脈内皮バリア機能の変化との関連)
掲載雑誌	European Journal of Inflammation.2021;vol19:1-10
論文審査委員	(主査) 教授 武内 恒成 教授 岡田 尚志郎 教授 藤田 義人 教授 都築 豊徳

学位論文内容の要旨

【はじめに】

急性呼吸窮迫症候群（ARDS）は、血管内皮に存在する上皮バリアの透過性を亢進、その結果浮腫の形成と低酸素性呼吸不全を促進する病態である。活性化された好中球はARDSの媒介に重要な役割を果たすと考えられているが、現在、肺内皮バリア機能に対する好中球細胞外トラップ（NETs）の寄与は今のところ不明である。

【方法】

NETsと肺内皮バリア機能との関連性を明らかにするために、phorbol myristate acetate（PMA）で活性化された好中球によって発現させたNETsと肺内皮細胞単層とを共培養し、蛍光抗体法とダブルチャンバー法を利用したアルブミン透過性測定によって肺内皮細胞のバリア機能を形態学および定量的に調査した。

【結果】

共培養によって、ヒト肺動脈内皮細胞単層のアルブミン透過性を増加させ、細胞間結合における細胞骨格にあるF-アクチンと血管内皮にあるカドヘリンを構造的に変化させた。アルブミンへの透過性亢進および構造的変化は、ペプチジルアルギニンディミナーゼ阻害

剤である CL-amidine または好中球エラスターゼ阻害剤による NETs 形成の阻害によって抑制され、DNase による NETs 構造の分解の増加によっても抑制が観察された。

【結語】

in vitro ではあるがこの実験によって、ヒト肺動脈内皮細胞単層におけるバリア機能の変化およびアルブミン透過性亢進は、PMA によって誘導された NETs の直接的な影響によって引き起こされることが明らかになった。肺の血管透過性の増加は、さまざまな病因によって引き起こされる ARDS に共通した特徴であるが、NETs 形成は、肺の血管透過性の増加に関与し、ARDS を誘発している可能性がある。以上の洞察は、今後 ARDS に対する医学的介入のための新しいアプローチの一助となると考えている。

論文審査の結果の要旨

好中球細胞外トラップ (neutrophil extracellular traps (NETs)) は、炎症時に活性化好中球から循環血液中へ放出される網目状の構造物である。細胞内顆粒成分とクロマチン DNA からなり、病原微生物などを捕捉して中和する役割を有し、感染防御や血栓・癌転移・自己免疫疾患等に重要な働きをしていることが明らかとなり、最近大きな注目を集めている。

急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) は、血管内皮に存在する上皮バリアの透過性を亢進、その結果浮腫の形成と低酸素性呼吸不全を促進する病態である。この ARDS においては、活性化された好中球は ARDS の媒介に重要な役割を果たすと考えられてきたが、好中球細胞外トラップ (NETs) の寄与、肺内皮バリア機能に対する関係などは、現在のところ不明である。

本研究においては、この NETs と肺内皮細胞バリア機能との関連性を in vitro 系を中心に解析し、血管透過性との相関などを明らかにすることを試みられた。

【方法】

phorbol myristate acetate (PMA) で活性化好中球へと誘導して生成された NETs と肺内皮細胞を共培養し、単層培養内皮細胞のダブルチャンバー法を利用することで蛍光抗体法とアルブミン透過性測定によって、肺内皮細胞のバリア機能を形態学および定量的に調査した。

【結果】

この共培養によって、ヒト肺動脈内皮細胞の細胞間結合の細胞骨格 F-アクチンと血管内皮にある VE-カドヘリンの蛍光染色像からは構造的に変化していることが見出され

た。さらにヒト肺動脈内皮細胞単層のアルブミン透過性は増加していた。アルブミンへの透過性亢進および構造的変化は、ペプチジルアルギニンディミナーゼ阻害剤である CL-amidine, または好中球エラスターゼ阻害剤による NETs 形成を阻害することによって抑制された。また、DNase による NETs 構造の分解の増加によっても抑制が観察された。

この *in vitro* 解析によって、ヒト肺動脈内皮細胞のバリア機能は、活性化好中球による NETs 形成と細胞外への NETs 構造の放出によっても変化することが明らかになった。

肺の血管透過性の増加は、さまざまな病因によって引き起こされる ARDS に共通した特徴である。今回の解析からは、NETs 形成が、肺の血管透過性の増加にも関与し ARDS を誘発している可能性もあることを示唆する。

本研究は、NETs の機能の一端を示し、かつ今後 ARDS に対する医学的介入のための新しいアプローチへの端緒を開くものと考えられ、今後の展開に大きく期待の持てる研究であり、学位授与に値する論文であると判定した。

氏 名	あり ま たか ひろ 有 馬 隆 紘
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第628号
学位授与年月日	令和4年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Site-specific mechanical properties of the human great saphenous vein: Cadaveric comparisons among the thigh, knee, and lower leg harvest sites (同一個体における大伏在静脈の部位別の力学的特性：ご遺体での大腿部、膝部、および下腿部の比較)
掲載雑誌	Phlebology.In press
論文審査委員	(主査) 教授 松 山 克 彦 教授 妹 尾 洋 教授 出 家 正 隆 教授 古 川 洋 志

学位論文内容の要旨

【背景】

大伏在静脈（GSV）は下肢バイパス、CABG、パッチ形成術に使用される静脈グラフトである。静脈グラフトは術後の開存率や瘤化が問題になる。これまでに GSV グラフトの開存率の向上や瘤化を減らすために様々な検討がされており、その指標の1つとして剛性（Stiffness）とヤング率（Young's modulus）がある。過去の研究の多くは、同一個体から採取した GSV 全長を用いて力学的に評価されておらず、部位別の特性は明らかでない。ご遺体を用いて同一個体における GSV の部位別の力学的特性を評価した。

【方法】

ご遺体 10 体 20 肢（平均死亡時年齢 82.1 歳）を対象とした。GSV を採取し、大腿、膝、下腿の 3 領域からサンプルを作成した。厚さ（thickness）と直径（diameter）をノギスで測定し、長軸（longitudinal）と短軸（circumferential）の 2 方向で引張試験を行った。その結果より Stiffness, Young's modulus, 破断点（breaking point）での長さ（breaking displacement）と張力（breaking force）を求めた。

【結果】

Thickness は大腿部で膝部と下腿部より有意に高く、diameter 大腿部は膝部と下腿部より有意に高かった。長軸方向の Stiffness では、膝部は大腿部と下腿部より有意に低かった。Young's modulus は、短軸方向では、3 部位で有意差はなかった。破断点では、長軸方向において、breaking force は、大腿部は膝部と下腿部より有意に高かった。短軸方向において、破断した強さは、大腿部は膝部より有意に高かった。Breaking displacement は長軸方向において、下腿と比較して、大腿部と膝で有意に大きかった。長軸方向の Stiffness は厚さと正の相関があった。さらに、短軸方向の Stiffness は、直径と正の相関があった。

【考察】

長軸方向の引張試験で膝部は有意に柔らかく、それは関節部であることが1つの理由として考えられる。短軸方向のコンプライアンスはグラフト開存率の関連が指摘されている。短軸方向の Stiffness は直径に相関しており、静脈の直径は開存率に影響する因子であると示唆される。また大腿部の GSV の Stiffness は他部位より高く、破断点も高いことから、大腿部はパッチ形成後の術後動脈瘤の拡張と破裂を防ぐのに最適である可能性がある。

【結論】

GSV には部位別に力学的特性があった。術前のグラフトの評価におけるエコーおよび CT などの形態学的評価に加えて、各部位の力学的特性を理解しておくことは、開存率を改善し、動脈瘤を防ぐ可能性がある。

論文審査の結果の要旨

大伏在静脈（GSV）は下肢バイパス、冠動脈バイパス、パッチ形成術等に使用される静脈グラフトであるが、術後の開存率や瘤化が問題になる。過去の研究では GSV の力学的評価を部位別に検討したものはない。

【方法】

ご遺体 10 体 20 肢（平均死亡時年齢 82.1 歳）を対象とした。GSV を採取し、大腿、膝、下腿の 3 領域からサンプルを作成した。厚さと直径を測定し、長軸と短軸の 2 方向で引張試験を行った。その結果より Stiffness, Young's modulus, 破断点の長さ、および張力を求めた。

【結果】

壁の厚さは大腿部で膝部と下腿部より有意に厚く、直径は大腿部で膝部や下腿部より

有意に大きかった。長軸方向の Stiffness は、膝部で大腿部や下腿部より有意に低かった。短軸方向での Young's modulus は、3 部位で有意差はなかった。破断点および張力は、大腿部で膝部や下腿部より有意に高かった。短軸方向において、破断した強さは、大腿部で膝部より有意に高かった。長軸方向における破断点の長さは、下腿と比較して大腿部と膝で有意に大きかった。長軸方向の Stiffness は厚さと正の相関があった。さらに、短軸方向の Stiffness は、直径と正の相関があった。

【考察】

長軸方向の引張試験で膝部は有意に柔らかく、それは関節部であることがひとつの理由として考えられる。短軸方向のコンプライアンスはグラフト開存率の関連が指摘されている。短軸方向の Stiffness は直径に相関しており、静脈の直径は開存率に影響する因子であると示唆される。また大腿部の GSV の Stiffness は他部位より高く、破断点も高いことから、大腿部はパッチ形成後の術後動脈瘤の拡張と破裂を防ぐのに最適である可能性がある。

【結論】

GSV には部位別に力学的特性があった。術前のグラフトの評価におけるエコーおよび CT などの形態学的評価に加えて、各部位の力学的特性を理解しておくことは、開存率を改善し、動脈瘤を防ぐ可能性がある。

本研究で得られた GSV の部位別力学的評価結果は、臨床的にバイパスなどの外科的手術において、手術成績の向上に寄与する可能性を示唆するものであり、学位を授与するに値する論文であると判断した。

氏名	山本侑季
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第629号
学位授与年月日	令和4年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Cytokeratin 5/6 expression in pT1 bladder cancer predicts intravesical recurrence in patients treated with Bacillus Calmette-Guérin instillation (Cytokeratin 5/6 発現による Bacillus Calmette-Guérin 注入療法を行った pT1 膀胱癌患者における膀胱内再発)
掲載雑誌	Pathology.In press
論文審査委員	(主査) 教授 三嶋秀行 教授 笠井謙次 教授 春日井邦夫 教授 矢野智紀

学位論文内容の要旨

【背景】

筋層非浸潤性膀胱癌 (non-muscle invasive bladder cancer : NMIBC) は未治療膀胱癌全体の約 70% を占め, ほとんどは膀胱温存を目指して経尿道的膀胱腫瘍切除術 (TUR-Bt: Trans urethral resection of bladder tumor) による初期治療を受ける。その後高リスクであれば, 再発リスクを下げる目的で Bacillus Calmette-Guérin (BCG) 膀胱注入療法が行われるが, BCG 膀胱内注入療法後の再発 (BCG-failure) リスク因子は確立されていない。

【目的】

Cytokeratin 5/6 (CK5/6) 発現が, NMIBC および BCG 治療群における再発リスク因子となりうるか検討することを目的とした。

【方法】

2009 年から 2020 年まで, 愛知医科大学病院および名古屋第二赤十字病院で行われた TUR-Bt 症例から, 病理学的に pT1 膀胱癌と診断された症例の CK5/6 発現を評価した。Recurrence free survival (RFS) についても検討した。

【結果】

対象症例は 138 例, BCG 膀胱内注入を受けたのは 72 例 (52.2%), 平均観察期間は 31 カ月, CK5/6 陽性は 53 例 (38.4%), CK5/6 陰性は 85 例 (61.6%) であった。CK5/6 陽性 53 例中, 腫瘍細胞の 10% 以上で CK5/6 陽性は 15 例 (28.3%), 1 ~ 10% で陽性は 38 例 (71.7%) であった。CK5/6 陽性細胞の分布は, 浸潤性成分のみ 30 例 (56.6%), 非浸潤性成分のみ 8 例 (15.1%), 浸潤性及び非浸潤性成分の両方 15 例 (28.3%) であり, 浸潤性成分で有意に高かった ($P < 0.001$)。また, 53 例中 24 例は浸潤部深部に限局して陽性像を示した。RFS に関しては, CK5/6 陽性群は CK5/6 陰性群と比較して, 全体 ($P = 0.0412$) および BCG 膀胱内注入群 ($P = 0.0197$) とともに有意に低値であった。

【結論】

CK5/6 発現は, NMIBC における間質浸潤の指標, pT1 膀胱癌患者における RFS の予後予測因子, および BCG failure の指標となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景】

筋層非浸潤性膀胱癌 (non-muscle invasive bladder cancer : NMIBC) は未治療膀胱癌全体の約 70% を占め, ほとんどは膀胱温存を目指して経尿道的膀胱腫瘍切除術 (TUR-Bt: Trans urethral resection of bladder tumor) による初期治療を受ける。その後高リスクであれば, 再発リスクを下げる目的で Bacillus Calmette-Guérin (BCG) 膀胱注入療法が行われるが, BCG 膀胱内注入療法後の再発 (BCG-failure) リスク因子は確立されていない。

【目的】

Cytokeratin5/6 (CK5/6) 発現が, NMIBC および BCG 治療群における再発リスク因子となりうるか検討することを目的とした。

【方法】

2009 年から 2020 年まで, 愛知医科大学病院および名古屋第二赤十字病院で行われた TUR-Bt 症例から, 病理学的に pT1 膀胱癌と診断された症例の CK5/6 発現を評価した。Recurrence free survival (RFS) についても検討した。

【結果】

対象症例は 138 例, BCG 膀胱内注入を受けたのは 72 例 (52.2%), 平均観察期間は 31 カ月, CK5/6 陽性は 53 例 (38.4%), CK5/6 陰性は 85 例 (61.6%) であった。CK5/6 陽性 53 例中,

腫瘍細胞の10%以上でCK5/6陽性は15例(28.3%),1~10%で陽性は38例(71.7%)であった。CK5/6陽性細胞の分布は,浸潤性成分のみ30例(56.6%),非浸潤性成分のみ8例(15.1%),浸潤性及び非浸潤性成分の両方15例(28.3%)であり,浸潤性成分で有意に高かった($P<0.001$)。また,53例中24例は浸潤部深部に限局して陽性像を示した。RFSに関しては,CK5/6陽性群はCK5/6陰性群と比較して,全体($P=0.0412$)およびBCG膀胱内注入群($P=0.0197$)ともに有意に低値であった。

【結論】

CK5/6発現は, NMIBCにおける間質浸潤の指標, pT1膀胱癌患者におけるRFSの予後予測因子, およびBCG failureの指標となる可能性が示唆された。

本研究は, 筋層非浸潤性膀胱癌およびBCG膀胱内注入療法後の再発リスクの指標としてCytokeratin5/6の有効性について検討したものであり, 臨床的有用性が高く, 学位授与に値する論文である。

氏名	佐久間 隆 介 さくま りゅう すけ
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第630号
学位授与年月日	令和4年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Sendai virus C protein affects macrophage function, which plays a critical role in modulating disease severity during Sendai virus infection in mice (センダイウイルスC蛋白質はマクロファージの機能に影響を与え、センダイウイルス感染症の重症度の調節に重要な役割を果たしている)
掲載雑誌	Microbiology and Immunology. 2021;doi: 10.1111/1348-0421, 12956
論文審査委員	(主査) 教授 渡 辺 秀 人 教授 佐 藤 元 彦 教授 笠 井 謙 次 教授 高 見 昭 良

学位論文内容の要旨

【背景】

センダイウイルス(別名:マウスパラインフルエンザウイルス1型,以後SeV)はマウスに致死性肺炎を起こすが,アクセサリ-蛋白質Cを欠いたCノックアウトウイルス(SeVΔC)は感染早期に排除される。このため,C蛋白質は自然免疫アンタゴニストとして,病原性発現に重要と考えられている。これまで共著者らはC蛋白質に,1)I型インターフェロン(IFN)の応答経路JAK-STATを阻害する,2)自己増殖中に発生する異常RNA(二重鎖RNAや干渉性欠損RNA)を制限してIFN産生を抑制する,などの抗IFN能が存在することを明らかにしてきた。しかし,この抗IFN能だけでは病原性を完全には説明できない。当研究室では最近,マクロファージ(Mφ)細胞株を用いた研究で,C蛋白質には上記の抗IFN能に加えて,二重鎖RNAの発生を制限することで一酸化窒素や炎症性サイトカインの産生を抑制するという抗Mφ能が備わっていることを明らかにした。本研究では,抗Mφ能の病原性への役割を検討するために,マウスモデルを用いて,SeVΔC感染における気道マクロファージ欠乏の影響を調べた。

【方法】

3週齢のBALB/cマウスにウイルス接種2日前、接種後2～3日おきにクロドロン酸内包リポソーム (CL-LIPs) を経鼻投与し、気道中のMφを欠乏させた (CL-LIPs 投与群)。対照群は生理食塩水内包リポソーム (SL-LIPs) を投与した (SL-LIPs 投与群)。ウイルス感染は、2種類のCノックアウトウイルス (SeV C/C(-), SeV 4C(-)) と親ウイルス (SeV WT) をそれぞれ経鼻接種 (10⁶PFU) した。SeV WTでは10⁴PFU (lower dose) を接種する群も設けた。一般状態を毎日観察し生存率を算出した。接種後4日と7日には肺を摘出し、肺のウイルス数を測定した。また、SeV C/C(-)とSeV WT感染では、肺の炎症スコアも測定した。

【結果】

SeV WT感染では、SeVΔCと同量のウイルスを接種した場合、CL-LIPs, SL-LIPs 両群とも接種後5日に死亡し、肺のウイルス数、肺の炎症とも高値を示した。SeVΔCはSeV WTより増殖効率が低いので両ウイルスの増殖量を近づけるために、lower doseのSeV WT感染を対照とした。SeV C/C(-)感染では、SL-LIPs 投与群の病態がmockに近いのに対し、CL-LIPs 投与群では死亡例がみられ、肺のウイルス数と肺の炎症スコアともSeV WT感染と同レベルまで増悪した。SeV 4C(-)感染では、両群とも死亡はみられなかったが、CL-LIPs 投与群で肺のウイルス数が高くなった。

【考察】

SeV C/C(-)感染マウスでは、気道マクロファージの欠乏によって、ウイルスの増殖、肺炎の増悪、生存率の低下がみられた。このことより、C蛋白質の抗Mφ能が病原性に重要であることが示唆された。C蛋白質は、SeVのcounterpartであるヒトパラインフルエンザウイルス1型だけでなく、パラミクソウイルス科に分類されるパラインフルエンザウイルス3型、麻疹ウイルス、BSL4指定のニパウイルス、ヘンドラウイルスにも共通に保存されている。そのため、本研究結果は、幅広いパラミクソウイルスを標的としたワクチンや治療薬の開発に貢献できると期待される。

論文審査の結果の要旨

【背景】

センダイウイルス (別名: マウスパラインフルエンザ1型, 以後SeV) はマウスに致死性肺炎を起こすが、アクセサリ蛋白質Cを欠いたCノックアウトウイルス (SeVΔC) は感染早期に排除される。このため、C蛋白質は自然免疫アンタゴニストとして、病原性

発現に重要と考えられている。これまで共著者らは C 蛋白質に、1) I 型インターフェロン (IFN) の応答経路 JAK-STAT を阻害する、2) 自己増殖中に発生する異常 RNA (二重鎖 RNA や干渉性欠損 RNA) を制限して IFN 産生を抑制する、などの抗 IFN 能が存在することを明らかにしてきた。しかし、この抗 IFN 能だけでは病原性を完全には説明できない。当研究室では最近、マクロファージ (M ϕ) 細胞株を用いた研究で、C 蛋白質には上記の抗 IFN 能に加えて、二重鎖 RNA の発生を制限することで一酸化窒素 NO や炎症性サイトカインの産生を抑制するという抗 M ϕ 能が備わっていることを明らかにした。本研究では、抗 M ϕ 能の病原性への役割を検討するために、マウスモデルを用いて、SeV Δ C 感染における気道マクロファージ欠乏の影響を調べた。

【方法】

3 週齢の BALB/c マウスにウイルス接種 2 日前、接種後 2 ~ 3 日おきにクロドロン酸内包リポソーム (CL-LIPs) を経鼻投与し、気道中の M ϕ を欠乏させた (CL-LIPs 投与群)。対照群は生理食塩水内包リポソーム (SL-LIPs) を投与した。ウイルス感染は、2 種類の C ノックアウトウイルス (SeV C/C(-), SeV 4C(-)) と親ウイルス (SeV WT) をそれぞれ経鼻接種 (10⁶ or 10⁴ PFU) した。一般状態を毎日観察し生存率を算出した。接種後 4 日と 7 日には肺を摘出し、肺のウイルス数を測定した。また、SeV C/C(-) と SeV WT 感染では、肺の炎症スコアも測定した。

【結果】

SeV WT 感染では、SeV Δ C と同量のウイルスを接種した場合、CL-LIPs, SL-LIPs 両群とも接種後 5 日に死亡し、肺のウイルス数、肺の炎症とも高値を示した。SeV Δ C は SeV WT より増殖効率が低いため、SeV Δ C と増殖ウイルス量を近づけるために、lower dose (10⁴ PFU) の SeV WT 感染を比較対象とした。SeV C/C(-) 感染では、SL-LIPs 投与群の病態が mock 感染に近いのに対し、CL-LIPs 投与群では死亡例がみられ、肺のウイルス数と肺の炎症スコアとも SeV WT 感染と同レベルまで増悪した。SeV 4C(-) 感染では、両群とも死亡はみられなかったが、CL-LIPs 投与群で肺のウイルス数が高くなった。

【考察】

SeV C/C(-) 感染マウスでは、気道マクロファージの欠乏によって、ウイルスの増殖、肺炎の増悪、生存率の低下がみられた。このことより、C 蛋白質の抗 M ϕ 能が病原性に重要であることが示唆された。C 蛋白質は、SeV の counterpart であるヒトパラインフルエンザウイルス 1 型だけでなく、パラミクソウイルス科に分類されるパラインフルエンザウイルス 3 型、麻疹ウイルス、BSL4 指定のニパウイルス、ヘンドラウイルスにも共通に保存されている。そのため、本研究結果は、幅広いパラミクソウイルスを標的としたワク

チンや治療薬の開発に貢献できると期待される。

本研究はセンダイウイルスの一部であるC蛋白質に着目し、同ウイルスの病原性の本体を探る興味深いものであり、センダイウイルスのみならずパラミクソウイルスの治療戦略の道筋を与えるものとして意義が高いと考えられることから、学位授与に値するものと判断した。

氏名	梶 田 裕 加
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第411号
学位授与年月日	令和3年6月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	A longitudinal change of syndecan-1 predicts risk of acute respiratory distress syndrome and cumulative fluid balance in patients with septic shock: a preliminary study (血中シンデカン-1 値推移による急性呼吸窮迫症候群および累積体液バランスの予測：敗血症性ショック患者の検討)
掲載雑誌	Journal of intensive care.2021 16;9(1):27
論文審査委員	(主査) 教授 三 鴨 廣 繁 教授 佐 藤 元 彦 教授 伊 藤 理 教授 藤 原 祥 裕

学位論文内容の要旨

【背景】

健常な血管内皮内腔測には、Glycocalyx 層が存在し、血管透過性の制御をはじめ多くの生理的作用を担っている。敗血症下では、血管内皮 Glycocalyx 層の損傷剥離により、血管透過性亢進をはじめとした内皮細胞障害が惹起され、臓器障害の原因・重篤化を引き起こしていると推察されているものの、その詳細は明らかでない。本研究の目的は、敗血症性ショック患者における臓器障害、とりわけ、急性呼吸窮迫症候群（ARDS）の発生と血管内皮 Glycocalyx 障害の関連を明らかにすることである。

【方法】

血管内皮 Glycocalyx 層の損傷の指標として、Glycocalyx 層の構成成分である syndecan-1 (Syn-1) の血液中への漏出を測定した。敗血症性ショック患者 38 名を対象として、血漿中 Syn-1 濃度を集中治療室（ICU）入室後 7 日間連日測定し、その間、ARDS の有無、その他の臓器損傷スコア、呼吸器非装着期間（VFD）、および累積体液バランスを連日評価した。

血漿中 Syn-1 の cut-off 値 (494ng/mL) は、箱ひげ図の 75 パーセンタイル (第三四分位)

を用いて計算した。ICU 入室後 0-3 日間を初期, 4-7 日間を後期とした。

【結果】

敗血症性ショック患者は, 健常人に比べ有意な Syn-1 血漿レベル (ng/mL, median [IQR]) の増加を認めた (265 [168-494] vs 41 [27-65], $P < 0.001$)。7 日間の Syn-1 血漿レベルは ARDS を認めなかった患者よりも ARDS を認めた患者で有意に増加した ($p = 0.011$; 2-way repeated measures ANOVA)。ICU 入室初期における Syn-1 血漿レベルが高い患者は, Syn-1 血漿レベルが低い患者よりも, 累積体液バランスが有意に高く ($p = 0.003$), $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ が低く ($p = 0.032$), VFD が少なかった ($p = 0.025$)。Syn-1 血漿レベルは, ICU 入室初期, 後期ともに SOFA スコア ($p = 0.071$) または APACHEII スコア ($p = 0.082$) とは相関していなかった (Mann-Whitney rank sum test)。

【結語】

血管透過性亢進が敗血症病態に影響し, とりわけ ARDS と Glycocalyx 障害の関連が示唆された。肺以外の臓器障害と Glycocalyx 障害は, 直接的な関連を認めなかった。

敗血症性ショックの患者の Syn-1 血漿レベルは, ARDS のリスクが高い患者を予測するのに役立つことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景】

健常な血管内皮内腔測には, Glycocalyx 層が存在し, 血管透過性の制御をはじめ多くの生理的作用を担っている。敗血症下では, 血管内皮 Glycocalyx 層の損傷剥離により, 血管透過性亢進をはじめとした内皮細胞障害が惹起され, 臓器障害の原因・重篤化を引き起こしていると推察されているものの, その詳細は明らかでない。本研究の目的は, 敗血症性ショック患者における臓器障害, とりわけ, 急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) の発生と血管内皮 Glycocalyx 障害の関連を明らかにすることである。

【方法】

血管内皮 Glycocalyx 層の損傷の指標として, Glycocalyx 層の構成成分である syndecan-1 (Syn-1) の血液中への漏出を測定した。敗血症性ショック患者 38 名を対象として, 血漿中 Syn-1 濃度を集中治療室 (ICU) 入室後 7 日間連日測定し, その間, ARDS の有無, その他の臓器損傷スコア, 呼吸器非装着期間 (VFD), および累積体液バランスを連日評価した。

血漿中 Syn-1 の cut-off 値 (494ng/mL) は, 箱ひげ図の 75 パーセンタイル (第三四分位)

を用いて計算した。ICU 入室後 0-3 日間を初期, 4-7 日間を後期とした。

【結果】

敗血症性ショック患者は, 健常人に比べ有意な Syn-1 血漿レベル (ng/mL, median [IQR]) の増加を認めた (265 [168-494] vs 41 [27-65], $P < 0.001$)。7 日間の Syn-1 血漿レベルは ARDS を認めなかった患者よりも ARDS を認めた患者で有意に増加した ($p = 0.011$; 2-way repeated measures ANOVA)。ICU 入室初期における Syn-1 血漿レベルが高い患者は, Syn-1 血漿レベルが低い患者よりも, 累積体液バランスが有意に高く ($p = 0.003$), $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ が低く ($p = 0.032$), VFD が少なかった ($p = 0.025$)。Syn-1 血漿レベルは, ICU 入室初期, 後期ともに SOFA スコア ($p = 0.071$) または APACHEII スコア ($p = 0.082$) とは相関していなかった (Mann-Whitney rank sum test)。

【結語】

血管透過性亢進が敗血症病態に影響し, とりわけ ARDS と Glycocalyx 障害の関連が示唆された。肺以外の臓器障害と Glycocalyx 障害は, 直接的な関連を認めなかった。

敗血症性ショックの患者の Syn-1 血漿レベルは, ARDS のリスクが高い患者を予測するのに役立つことが示唆された。

以上のことから, 学位授与に値するものと判断した。

氏名	すぎやまひろかつ 杉山浩一
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第412号
学位授与年月日	令和3年11月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Association between body mass index and severe infection in older adults with microscopic polyangiitis: a retrospective cohort in Japan (高齢 ANCA 関連血管炎患者において診断時の低 BMI はその後の重症感染症発症と関連する)
掲載雑誌	BMC Geriatr.2021;9;21(1):171
論文審査委員	(主査) 教授 小林孝彰 教授 内藤宗和 教授 春日井邦夫 教授 神谷英紀

学位論文内容の要旨

【背景】

ANCA 関連血管炎 (ANCA-associated vasculitis : AAV) は、全身の小型血管に炎症を生じる生命予後不良の難治性自己免疫疾患であり、顕微鏡的多発血管炎 (microscopic polyangiitis : MPA)、多発血管炎性肉芽腫症 (granulomatosis with polyangiitis : GPA)、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症 (eosinophilic granulomatosis with polyangiitis : EGPA) の3疾患に分類される。死因として感染症死が最も多く、感染症要因の同定及び対策の確立が必要である。これまで AAV における感染症発症のリスク因子として、高齢・低アルブミン血症・腎機能障害・高用量のステロイド使用などが報告されているが、体格指数 (Body Mass Index : BMI) との関連性については検討されていない。本研究では、高齢の MPA 患者において、低 BMI が重症感染症発症のリスク因子となるかどうかを明らかにすべく、検討を行った。

【方法】

研究デザインは後方視的コホート研究。2004～2018年の間に愛知医科大学病院で、新規に MPA と診断・治療された65歳以上の高齢患者93例を解析対象とした。診断時の

体重（低体重：BMI<18.5kg/m²，普通体重：BMI 18.5-23kg/m²，肥満：BMI>23kg/m²）と入院を要する感染症（重症感染症）について情報収集した。主要アウトカムは，重症感染症発症までの期間とした。統計学的解析については，3群間の差の検定には Kruskal-Wallis 検定，又は Pearson のカイ二乗検定を用いた。累積重症感染症発生率は Kaplan-Meier 法を用いて算出し，生存曲線の群間比較は Log-rank 法を用いた。BMI とアウトカムとの関連性については，Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析で評価した。

【結果】

93 例の MPA 患者において，22 例（23.7%）が低体重（BMI<18.5kg/m²），53 例（57.0%）が普通体重（BMI 18.5-23kg/m²），18 例（19.4%）が肥満（BMI>23kg/m²）であった。中央値 19 ヶ月（四分位範囲，6-53）の観察期間中に，重症感染症は 29（31.2%）例に発生した。Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析により，低体重（vs. 普通体重，補正ハザード比 [HR]，2.63 [95% 信頼区間（confidential interval：CI），1.11-6.19]；*P*=0.027），高年齢（補正 HR，2.02 [95%CI，1.14-3.52]，10 歳毎；*P*=0.016），ステロイドパルス療法（補正 HR，2.48 [95%CI，1.07-5.76]；*P*=0.034）が，重症感染症発症の重要なリスク因子であることが示された。

【結論】

高齢の MPA 患者において，診断時の低体重は重症感染症発症のリスク因子であることが示された。低体重患者に対しては，より慎重な管理が必要となる可能性が示唆される。重症感染症の発生を避けるべく，安全な治療戦略確立に向けたさらなる検討が必要である。

論文審査の結果の要旨

【背景】

ANCA 関連血管炎（ANCA-associated vasculitis：AAV）は，全身の小型血管に炎症を生じる生命予後不良の難治性自己免疫疾患であり，顕微鏡的多発血管炎（microscopic polyangiitis：MPA），多発血管炎性肉芽腫症（granulomatosis with polyangiitis：GPA），好酸球性多発血管炎性肉芽腫症（eosinophilic granulomatosis with polyangiitis：EGPA）の3疾患に分類される。死因として感染症死が最も多く，感染症要因の同定及び対策の確立が必要である。これまで AAV における感染症発症のリスク因子として，高齢・低アルブミン血症・腎機能障害・高用量のステロイド使用などが報告されているが，体格指数（Body Mass Index：BMI）との関連性については検討されていない。本研究では，高齢の MPA 患者において，低 BMI が重症感染症発症のリスク因子となるかどうかを明らかにすべく，検討を行った。

【方法】

研究デザインは後方視的コホート研究。2004～2018年の間に愛知医科大学病院で、新規にMPAと診断・治療された65歳以上の高齢患者93例を解析対象とした。診断時の体重（低体重：BMI<18.5kg/m²，普通体重：BMI 18.5-23kg/m²，肥満：BMI>23kg/m²）と入院を要する感染症（重症感染症）について情報収集した。主要アウトカムは、重症感染症発症までの期間とした。統計学的解析については、3群間の差の検定にはKruskal-Wallis検定，又はPearsonのカイ二乗検定を用いた。累積重症感染症発生率はKaplan-Meier法を用いて算出し，生存曲線の群間比較はLog-rank法を用いた。BMIとアウトカムとの関連性については，Cox比例ハザードモデルによる多変量解析で評価した。

【結果】

93例のMPA患者において，22例（23.7%）が低体重（BMI<18.5kg/m²），53例（57.0%）が普通体重（BMI 18.5-23kg/m²），18例（19.4%）が肥満（BMI>23kg/m²）であった。中央値19ヶ月（四分位範囲，6-53）の観察期間中に，重症感染症は29（31.2%）例に発生した。Cox比例ハザードモデルによる多変量解析により，低体重（vs. 普通体重，補正ハザード比[HR]，2.63 [95%信頼区間（confidential interval：CI），1.11-6.19]；*P*=0.027），高年齢（補正HR，2.02 [95%CI，1.14-3.52]，10歳毎；*P*=0.016），ステロイドパルス療法（補正HR，2.48 [95%CI，1.07-5.76]；*P*=0.034）が，重症感染症発症の重要なリスク因子であることが示された。

【結論】

高齢のMPA患者において，診断時の低体重は重症感染症発症のリスク因子であることが示された。低体重患者に対しては，より慎重な管理が必要となる可能性が示唆される。重症感染症の発生を避けるべく，安全な治療戦略確立に向けたさらなる検討が必要である。

【評価】

本研究では，ANCA関連血管炎における死亡原因の一つである重症感染症のリスク因子として低BMIが大きく関連していることを明らかにした。予後改善のために，栄養状態の改善に着目した治療戦略の必要性を示唆する臨床上とても重要なメッセージを含む論文であり，学位授与に値する論文であると評価した。

氏名	伊藤真弓
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第413号
学位授与年月日	令和4年2月3日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Association between serum magnesium levels and abdominal aorta calcification in patients with pre-dialysis chronic kidney disease stage 5 (透析導入前の慢性腎臓病ステージ5期の患者における血清マグネシウム濃度と腹部大動脈石灰化との関連)
掲載雑誌	PLOS ONE.2021;18;16(6):e0253592
論文審査委員	(主査) 教授 天野哲也 教授 内藤宗和 教授 早稲田勝久 教授 小林孝彰

学位論文内容の要旨

【背景】

心血管疾患 (cardiovascular disease : CVD) は、慢性腎臓病 (chronic kidney disease : CKD) 患者の主要な死因である。血管石灰化は、CKD 患者における合併率が高く、CVD 発症の重要な危険因子であるが、血管石灰化の発症機序、予防・治療法は不明な点が多い。近年の基礎研究結果から、血管石灰化の抑制効果を持つ物質としてマグネシウム (Mg) が注目されている。透析患者を対象とした観察研究では、軽度の高 Mg 血症を呈する患者で CVD 発症リスクが低く、生命予後が良好であったと報告されているが、透析導入前の保存期 CKD 患者におけるエビデンスは乏しい。本研究では、腹部大動脈石灰化が CVD 発症を予測する優れた指標であることに着目し、透析導入前の CKD 患者における血清 Mg 濃度と腹部大動脈石灰化容積との関連性について検討した。

【方法】

研究デザインは、横断研究。2016年1月より2020年5月までの間に愛知医科大学病院で新規に血液透析を導入した CKD ステージ5期の100例を解析対象とした。透析導入前の血清 Mg 濃度を3群に分類し (低 Mg 群 : Mg<1.9mg/dL, 中間 Mg 群 : Mg1.9-2.2mg/

dL, 高 Mg 群: Mg \geq 22.2mg/dL), 臨床的特徴を群間比較した。腹部大動脈石灰化容積は, CT を用いて定量的に評価した。統計学的解析については, 3 群間の差の検定に Kruskal-Wallis 検定, 又は Pearson のカイ二乗検定を用いた。腹部大動脈石灰化容積及び血清 Mg 濃度と関連する臨床的因子を, 多重線形回帰モデルを用いて検討した。

【結果】

100 例の患者において, 血清 Mg 濃度は中央値 2.0mg/dl (四分位範囲 1.8-2.3) であった。高 Mg 群では腹部大動脈石灰化容積が小さく ($P < 0.001$), プロトンポンプ阻害剤 (PPI) 又はカリウム競合性酸ブロッカー (P-CAB) の使用割合が低かった ($P = 0.020$)。多重線形回帰モデルにより, 血清 Mg 濃度は腹部大動脈石灰化容積と負の相関を示し (標準化偏回帰係数 (stand. β) = -0.245, $P = 0.010$), CVD の既往歴 (stand. β = 0.3792, $P = 0.001$) 及び年齢 (stand. β = 0.278, $P = 0.007$) は正の相関を示した。血清 Mg 濃度に影響する因子として, PPI/P-CAB の使用は血清 Mg 濃度と負の相関を示した (stand. β = -0.246, $P = 0.019$)。

【結論】

透析導入前の CKD ステージ 5 期の患者において, 血清 Mg 濃度は腹部大動脈石灰化容積と負の相関を示した。本研究結果より, 保存期 CKD 患者においても Mg が血管石灰化を抑制する可能性が示唆される。血管石灰化を予防し, CVD 合併症の発症を回避すべく, 至適 Mg 濃度の同定及び治療法の確立に向けた更なる検討が必要である。

論文審査の結果の要旨

【背景】

心血管疾患 (cardiovascular disease : CVD) は, 慢性腎臓病 (chronic kidney disease : CKD) 患者の主要な死因である。血管石灰化は, CKD 患者における合併率が高く, CVD 発症の重要な危険因子であるが, 血管石灰化の発症機序, 予防・治療法は不明な点が多い。近年の基礎研究結果から, 血管石灰化の抑制効果を持つ物質としてマグネシウム (Mg) が注目されている。透析患者を対象とした観察研究では, 軽度の高 Mg 血症を呈する患者で CVD 発症リスクが低く, 生命予後が良好であったと報告されているが, 透析導入前の保存期 CKD 患者におけるエビデンスは乏しい。本研究では, 腹部大動脈石灰化が CVD 発症を予測する優れた指標であることに着目し, 透析導入前の CKD 患者における血清 Mg 濃度と腹部大動脈石灰化容積との関連性について検討した。

【方法】

研究デザインは, 横断研究。2016 年 1 月より 2020 年 5 月までの間に愛知医科大学病院

で新規に血液透析を導入した CKD ステージ 5 期の 100 例を解析対象とした。透析導入前の血清 Mg 濃度を 3 群に分類し（低 Mg 群：Mg<1.9mg/dL，中間 Mg 群：Mg1.9-2.2mg/dL，高 Mg 群：Mg ≥ 2.2mg/dL），臨床的特徴を群間比較した。腹部大動脈石灰化容積は，CT を用いて定量的に評価した。統計学的解析については，3 群間の差の検定に Kruskal-Wallis 検定，又は Pearson のカイ二乗検定を用いた。腹部大動脈石灰化容積及び血清 Mg 濃度と関連する臨床的因子を，多重線形回帰モデルを用いて検討した。

【結果】

100 例の患者において，血清 Mg 濃度は中央値 2.0mg/dl（四分位範囲 1.8-2.3）であった。高 Mg 群では腹部大動脈石灰化容積が小さく（ $P<0.001$ ），プロトンポンプ阻害剤（PPI）又はカリウム競合性酸ブロッカー（P-CAB）の使用割合が低かった（ $P=0.020$ ）。多重線形回帰モデルにより，血清 Mg 濃度は腹部大動脈石灰化容積と負の相関を示し（標準化偏回帰係数（stand.β）=-0.245， $P=0.010$ ），CVD の既往歴（stand.β=0.3792， $P=0.001$ ）及び年齢（stand.β=0.278， $P=0.007$ ）は正の相関を示した。血清 Mg 濃度に影響する因子として，PPI/P-CAB の使用は血清 Mg 濃度と負の相関を示した（stand.β=-0.246， $P=0.019$ ）。

【結論】

透析導入前の CKD ステージ 5 期の患者において，血清 Mg 濃度は腹部大動脈石灰化容積と負の相関を示した。本研究結果より，保存期 CKD 患者においても Mg が血管石灰化を抑制する可能性が示唆される。血管石灰化を予防し，CVD 合併症の発症を回避すべく，至適 Mg 濃度の同定及び治療法の確立に向けた更なる検討が必要である。

本研究は透析患者における動脈硬化性疾患治療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。

氏名	つのだたくみ 角田拓実
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第414号
学位授与年月日	令和4年2月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	ENTREP/FAM189A2 encodes a new ITCH ubiquitin ligase activator that is downregulated in breast cancer (乳がんで発現低下している ENTREP/FAM189A2 は ITCH ユビキチンリガーゼの新規活性化因子をコードする)
掲載雑誌	EMBO reports.2021:e51182
論文審査委員	(主査) 教授 細川好孝 教授 高村祥子 教授 中野正吾 教授 久保昭仁

学位論文内容の要旨

【背景】

過剰リガンド刺激から細胞内環境を守る脱感作現象 *desensitization* が知られている。例えば CXCL12 刺激を受けたケモカインレセプター CXCR4 は、HECT 型ユビキチン E3 リガーゼ ITCH によるユビキチン化と endosome への内在化により、過剰な細胞内シグナル伝達が調整される。しかし ITCH は通常、アロステリック効果のため非活性型として存在しており、その活性化機構は十分に解明されていない。

一方申請者は、機能不明な遺伝子 *FAM189A2* が多くの乳癌症例で発現低下している事を報告していた。本研究は *FAM189A2* 蛋白の機能を明らかにすることから開始した。

【方法】

FAM189A2 は 450aa の I 型膜貫通蛋白である。そこで、その細胞内ドメインを用いた yeast two-hybrid スクリーニングと免疫沈降法及び PLA 法による検証実験を行った。*FAM189A2* 高発現乳癌細胞株から CRISPR/CAS9 法による *FAM189A2* 欠損細胞株の樹立とレンチベクターによる rescue 実験、同細胞を用いた Boyden chamber による細胞運動能評価と mammosphere 形成実験を行った。さらに各種データベースを用いた予後解析に加え、発現解析、遺伝子分子進化解析により類似遺伝子との比較を行った。

【結果】

FAM189A2 と ITCH は、それぞれの PPxY motif 及び WW domain を介して結合した。さらに FAM189A2 は ITCH 及び clathrin 結合蛋白 EPN1 と共に細胞表面から Rab5-陽性 endosome に取り込まれた。また FAM189A2 は ITCH・CXCR4 と三量体を形成し、CXCR4 の ITCH 依存性ユビキチン化を促進した。*FAM189A2* 欠損細胞を用いた実験では、CXCL12 刺激による CXCR4 内在化や細胞運動能・mammosphere 形成能亢進は、いずれも FAM189A2 依存性であった。

欧米乳癌患者 3,952 例のデータベース解析から、*FAM189A2* 低発現群では有意に無再発生存期間が短いこと、さらに *FAM189A2* の類似遺伝子 *FAM189A1*・*FAM189B* や ITCH 活性化因子として報告されている *NDFIP1*・*N4BP1* とは細胞内局在・分子進化及び各種がん種での発現パターンが異なることから、FAM189A2 は特異な新規 ITCH 活性化因子であると考え、新たに ENTREP (ENdosomal TRansmembrane binding with EPsin) と命名し、遺伝子データベースに登録した (the accession number LC496047.1, the GenBank/EMBL-EBI/DDBJ)。

【考察】

ENTREP/FAM189A2 は特異な新規 ITCH 活性化因子であった。同遺伝子は乳癌のみならず、肺癌、大腸癌、頭頸部癌でも有為に発現低下していることから、ITCH-CXCR4 系以外の膜受容体ユビキチン化制御にも関わっている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景】

過剰リガンド刺激から細胞内環境を守る脱感作現象 *desensitization* が知られている。例えば CXCL12 刺激を受けたケモカインレセプター CXCR4 は、HECT 型ユビキチン E3 リガーゼ ITCH によるユビキチン化と endosome への内在化により、過剰な細胞内シグナル伝達が調整される。しかし ITCH は通常、アロステリック効果のため非活性型として存在しており、その活性化機構は十分に解明されていない。

一方申請者は、機能不明な遺伝子 *FAM189A2* が多くの乳癌症例で発現低下している事を報告していた。本研究は *FAM189A2* 蛋白の機能を明らかにすることから開始した。

【方法】

FAM189A2 は 450aa の I 型膜貫通蛋白である。そこで、その細胞内ドメインを用いた yeast two-hybrid スクリーニングと免疫沈降法及び PLA 法による検証実験を行った。*FAM189A2* 高発現乳癌細胞株から CRISPR/CAS9 法による *FAM189A2* 欠損細胞株の樹立と

レンチベクターによる rescue 実験, 同細胞を用いた Boyden chamber による細胞運動能評価と mammosphere 形成実験を行った。さらに各種データベースを用いた予後解析に加え, 発現解析, 遺伝子分子進化解析により類似遺伝子との比較を行った。

【結果】

FAM189A2 と ITCH は, それぞれの PPxY motif 及び WW domain を介して結合した。さらに FAM189A2 は ITCH 及び clathrin 結合蛋白 EPN1 と共に細胞表面から Rab5-陽性 endosome に取り込まれた。また FAM189A2 は ITCH・CXCR4 と三量体を形成し, CXCR4 の ITCH 依存性ユビキチン化を促進した。*FAM189A2* 欠損細胞を用いた実験では, CXCL12 刺激による CXCR4 内在化や細胞運動能・mammosphere 形成能亢進は, いずれも FAM189A2 依存性であった。

欧米乳癌患者 3,952 例のデータベース解析から, *FAM189A2* 低発現群では有意に無再発生存期間が短いこと, さらに *FAM189A2* の類似遺伝子 *FAM189A1*・*FAM189B* や ITCH 活性化因子として報告されている *NDFIP1*・*N4BP1* とは細胞内局在・分子進化及び各種がん種での発現パターンが異なることから, FAM189A2 は特異な新規 ITCH 活性化因子であると考え, 新たに ENTREP (ENdosomal TRansmembrane binding with EPsin) と命名し, 遺伝子データベースに登録した (the accession number LC496047.1, the GenBank/EMBL-EBI/DDBJ)。

【考察】

ENTREP/FAM189A2 は特異な新規 ITCH 活性化因子であった。同遺伝子は乳癌のみならず, 肺癌, 大腸癌, 頭頸部癌でも有為に発現低下していることから, ITCH-CXCR4 系以外の膜受容体ユビキチン化制御にも関わっている可能性が示唆された。

本論文は EMBO report 誌に掲載され, その内容も極めて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	佐 治 木 萌
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第415号
学位授与年月日	令和4年3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Impact of antiepileptic drugs on simulated driving in patients with epilepsy (てんかん患者における抗てんかん薬内服による運転への影響)
掲載雑誌	Seizure-European Journal of Epilepsy.2021;92:195-199
論文審査委員	(主査) 教授 岡 田 尚志郎 教授 高 見 昭 良 教授 風 岡 宜 暁 教授 三 嶋 秀 行

学位論文内容の要旨

【目的】

てんかんは有病率0.5%～1.0%であり、高齢化とともに増加している。てんかん発作は患者さんの社会活動に重大な影響を及ぼしており、中でも運転免許の取得制限は頻繁に指摘される問題の一つである。抗てんかん薬(ASM)のアドヒアランス不良がてんかん患者さん(PWE)の交通事故の重要な要因であることは広く認識され、ASM内服中のPWEにおいて日中の眠気は交通事故のリスク上昇と関連しないことが報告されている。さらに近年行われた大規模コホート研究では交通事故のリスクはASMの使用とは無関係であることが明確に示された。日本ではASMの添付文書に内服中の自動車運転の禁止を示す文章が記載されているが、これは道路交通法における直近2年以内に発作のないPWEは薬物に関係なく運転できるという内容と矛盾している。

この状況を明確にするため、PWEにおけるASM内服による運転技能についての影響についてドライビングシミュレータを用いて検討することとした。

【方法】

当院に通院継続しているPWEでありAEDを処方され、運転免許を取得して定期的に運転している43名(被験者群)および、年齢と性別をマッチさせた健常ボランティア40名(対照群)に対して運転試験を行い、その結果を比較検討した。交通事故に関連する

日常的な運転技能の測定はドライビングシミュレータを用いて車線維持試験（Tracking test）と追従走行試験（Car-following test）の二種類の試験で行った。運転試験における運転技能評価として主に用いられている横位置の標準偏差（SDLP）を主軸とし、距離変動係数（DCV）を補助的な評価基準として決定した。

【結果】

SDLP については被験者と対照群との間に有意差はなく（ $p=0.906$ ）、DCV についても有意差はなかった（ $p=0.063$ ）。速度の標準偏差（SDSpeed）は被験者群が有意に小さく（ $p<0.001$ ）、平均車間距離（MCarDistance）は被験者群が有意に大きかった（ $p=0.001$ ）。重回帰分析の結果、年齢（ $\beta=0.967$, $p=0.001$ ）、女性であること（ $\beta=0.469$, $p<0.001$ ）、運転経験期間（ $\beta=0.583$, $p=0.038$ ）は SDLP と相関があった。

【考察】

本研究では、被験者群と健常者群の間で SDLP および DCV に関して統計的に有意な差は見られず、双方に明らかな運転技能の差がないことを示す。また SPSpeed の値が小さいことから、被験者群は慎重な運転習慣により速度が安定的に維持されているともいえる。これは大規模コホート研究の結果とも一致し、安定した PWE において ASM の長期投与が運転性能に大きな影響を与えない可能性を示している。

論文審査の結果の要旨

【目的】

てんかんは有病率 0.5～1.0% であり、高齢化とともに増加している。てんかん発作は患者さんの社会活動に重大な影響を及ぼしており、中でも運転免許の取得制限は頻繁に指摘される問題の一つである。抗てんかん薬（ASM）のアドヒアランス不良がてんかん患者さん（PWE）の交通事故の重要な要因であることは広く認識され、ASM 内服中の PWE において日中の眠気は交通事故のリスク上昇と相関しないことが報告されている。さらに近年行われた大規模コホート研究では交通事故のリスクは ASM の使用とは無関係であることが明確に示された。日本では ASM の添付文書に内服中の自動車運転の禁止を示す文章が記載されているが、これは道路交通法における直近 2 年以内に発作のない PWE は薬物に関係なく運転できるという内容と矛盾している。

この状況を明確にするため、PWE における ASM の内服による運転技能についての影響についてドライビングシミュレータを用いて検討することとした。

【方法】

当院に通院している PWE であり AED を処方され、運転免許を取得して定期的に運転している 43 名（被験者群）および、年齢と性別をマッチさせた健常ボランティア 40 名（対照群）に対して運転試験を行い、その結果を比較検討した。交通事故に関連する日常的な運転技能の測定はドライビングシミュレータを用いて車線維持試験（Tracking test）と追従走行試験（Car-following test）の二種類の試験で行った。運転試験における運転技能評価として主に用いられている横位置の標準偏差（SDLP）を主軸とし、距離変動係数（DCV）を補助的な評価基準として決定した。

【結果】

SDLP については被験者群と対照群との間に有意差はなく（ $P=0.906$ ）、DCV についても有意差はなかった（ $P=0.603$ ）。速度の標準偏差（SDSpeed）は被験者群が有意に小さく（ $p<0.001$ ）、平均車間距離（MCarDistance）は被験者群が有意に大きかった（ $p=0.001$ ）。重回帰分析の結果、年齢（ $\beta=0.967$, $p=0.001$ ）、女性であること（ $\beta=0.469$, $p<0.001$ ）、運転経験期間（ $\beta=0.583$, $p=0.038$ ）は SDLP と相関があった。

【考察】

本研究では、被験者群と健常者群の間で SDLP および DCV に関して統計的に有意な差は見られず、双方に明らかな運転技能の差がないことを示す。また SDCSpeed の値が小さいことから、被験者群は慎重な運転習慣により速度が安定的に維持されているともいえる。これは大規模コホート研究とも一致し、安定した PWE において ASM の長期投与が運転機能に大きな影響を与えない可能性を示している。

本研究は、てんかん患者における抗てんかん薬内服による運転技能への影響について、ドライビングシミュレータを用いて検討したものである。被験者群と健常者群の間で運転技能評価に有意な差はなく、安定したてんかん患者において抗てんかん薬内服の長期投与が運転機能に大きな影響を与えない可能性が示された。本研究の成果は、臨床上有益な情報を与えることから、学位授与に値する論文であると判断した。

氏名	樋口朋子
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第416号
学位授与年月日	令和4年3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Versican contributes to ligament formation of knee joints (バーシカンは膝関節の靭帯形成に寄与する)
掲載雑誌	Plos One.2021;16(4):e0250366
論文審査委員	(主査) 教授 内藤 宗和 教授 笠井 謙次 教授 藤本 保志 教授 都築 豊徳

学位論文内容の要旨

【緒言】

バーシカンは細胞外マトリックスの巨大なプロテオグリカンである。胎生期に軟骨、心臓、真皮の発達において重要な役割をしている。

過去には我々は、軟骨原基の間充織凝集領域でバーシカン発現が欠失するコンディショナルノックアウトマウス (Prx1-Vcan マウス) を作出し、解析を行ったところ、同マウスは大きな異常なく正常に発育し妊性も維持されているが、四肢関節に奇形を有することを発見した。この異常は軟骨分化の遅延に基づくことを見出し、さらなる詳細な検討の結果、間充織に一過性に発現する TGF β の局所濃度の維持に寄与することを明らかにした。同マウスを維持する過程で我々は、Prx1-Vcan マウスの膝関節が腫大していることを見出した。そこで、膝関節構造と機能維持におけるバーシカンの役割を明らかにする目的で、同マウスにおけるバーシカン発現の欠失がどのような機構で膝関節の腫大を惹起しているのかを解析することとした。

【実験手順】

Prx1-Vcan マウスならびに対照群として Prx1-Vcan^{+/+} マウスの実験群を用いることとした。また mT/mG リポーターマウスと複数回交配させ、Prx1-Vcan:mT/mG マウスならびに Prx1-Vcan^{+/+}:mT/mG マウスを調製した。生後4~6ヶ月のマウスと新生仔マウスに対し肉眼的観察、HE染色、免疫染色等による解析を行った。また生後5ヶ月のマ

ウスの下肢を microCT にて評価した。さらにマウスより皮膚線維芽細胞を単離・培養し FACS 解析を行った。

【結果】

肉眼的に生後 6 ヶ月の Prx1-Vcan マウスの膝関節は腫大し、HE 染色では後十字靭帯の形成不全や偽関節が認められた。Prx1-Vcan 新生仔マウスの HE 染色では前後十字靭帯の形成不全が見られた。Prx1-Vcan^{+/+}:mT/mG マウスの免疫染色において EGFP は関節軟骨、滑膜、十字靭帯、腱において検出されたが皮膚に蛍光は認められなかった。Prx1-Vcan^{+/+} マウスにおいて Scx は関節軟骨や靭帯に発現していたが Prx1-Vcan マウスでは関節軟骨にわずかに発現するのみであった。TypeI コラーゲンと TypeII コラーゲンの免疫染色においては、Prx1-Vcan マウスで TypeI コラーゲンが斑状のパターンを示し、TypeII コラーゲンが確認された。

【考察】

組織学的に Prx1-Vcan 成獣マウスでは膝関節の破壊が、同新生仔マウスでは十字靭帯の形成不全が見られた。また EGFP および Vcan の免疫染色の結果より関節の異常は十字靭帯の形成不全に端を発すると推測された。転写因子 Scx は靭帯や腱の細胞系統のマーカーであることが知られているが、Prx1-Vcan マウスでは Scx の発現が極端に減少していたことから、この発現減少が靭帯形成障害の原因と考えられた。十字靭帯の形成過程では、II型コラーゲンを発現する軟骨様細胞が靭帯細胞へと分化し、関節腔において分化した細胞はII型からI型コラーゲンへ発現が変換され、軟骨様細胞は消失する。Prx1-Vcan 十字靭帯では TypeII コラーゲンを発現している軟骨細胞が斑状に残存することから靭帯の強靭な TypeI コラーゲン線維の形成・配列が障害され、靭帯形成異常が生じたと推測される。

以上の結果は胎生期のバーシカンの関節内発現が十字靭帯の正常な形成に必要であり、微小な靭帯形成異常が生後の関節機能に影響を及ぼすことを示唆している。

論文審査の結果の要旨

バーシカンは、ヒト組織に存在する巨大なプロテオグリカンである。胎生期に軟骨、心臓、真皮の発達において土台となる物質であり、その形成に重要な役割をしている。本研究では、軟骨原基の間充織凝集領域でバーシカン発現が欠失するコンディショナルノックアウトマウス (Prx1-Vcan マウス) を用いて、バーシカン発現の欠失がどのような機構で膝関節の腫大を惹起しているのかを解析した。組織学的に Prx1-Vcan 成獣マウスでは膝関節の破壊が、同新生仔マウスでは十字靭帯の形成不全が観察された。EGFP は関節軟

骨，滑膜，十字靭帯，腱において検出されたが皮膚に蛍光は認められなかったため，関節の異常は十字靭帯の形成不全に端を発することが推測された。

また，Prx1-Vcan マウスでは，靭帯や腱の細胞系統のマーカーである Scx の発現が極端に減少していたことから，この発現減少が靭帯形成障害の原因と考えられた。

十字靭帯の形成過程では，Ⅱ型コラーゲンを発現する軟骨様細胞が靭帯細胞へと分化し，関節腔において分化した細胞はⅡ型からⅠ型コラーゲンへ発現が変換され，軟骨様細胞は消失する。Prx1-Vcan 十字靭帯では TypeⅡコラーゲンを発現している軟骨細胞が斑状に残存することから靭帯の強靭な TypeⅠコラーゲン線維の形成・配列が障害され，靭帯形成異常が生じたと推測された。

本研究論文は，胎生期のバーシカンの関節内発現が十字靭帯の正常な形成に重要であることを明らかにしたものであり，学位を授与するに値する論文であると判定した。

氏名	はやし 林	とみ 富	お 雄
学位の種類	博士(医学)		
学位授与番号	乙第417号		
学位授与年月日	令和4年3月10日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
学位論文題目	Tumor-infiltrating FoxP3+ T cells are associated with poor prognosis in oral squamous cell carcinoma (腫瘍に浸潤した FoxP3+ T細胞は口腔扁平上皮癌の予後不良と関連する)		
掲載雑誌	Clinical and Experimental Dental Research.2021;1-8		
論文審査委員	(主査) 教授 高見昭良 教授 増 渕 悟 教授 笠 井 謙 次 教授 福 沢 嘉 孝		

学位論文内容の要旨

【背景】

扁平上皮癌は口腔において最も多い悪性腫瘍である。口腔扁平上皮癌（OSCC）の治療法の進歩や、発がんメカニズムの解明が進んでいるにも関わらず、その予後はあまり改善が認められず、進行がんの制御不能、局所再発、遠隔転移などにより5年無病生存率は低いままである。また、近年、OSCCの発生にHuman Papilloma Virus（HPV）の感染の関与が認められているが、その感染の臨床的意義は不明なままである。

Regulatory T cell（Treg）はForkhead boxP3（FoxP3）陽性で、本来、生体が自身の免疫からの攻撃から逃れる機構として存在するが、腫瘍においては、腫瘍を攻撃する自身の抗腫瘍免疫を抑制するために働いていることが明らかとなっている。

本研究では、OSCCにおけるがん局所のFoxP3+Tregの発現を免疫組織化学的染色にて検索し臨床病理学的指標との関係を明らかにすることで、がん局所の免疫応答の一端を明らかにし、生命予後の改善に向けた新たな治療法の開発につながる知見の発見を目的とした。また、HPV感染の有無によるOSCCの生命予後や、いまだ報告のないHPV陽性口腔扁平上皮癌におけるFoxP3+Tregの発現と臨床病理学的指標との関係を明らかにすることで、ウイルス感染がんにおけるがん局所の免疫応答の一端を明らかにすることも目的とした。

【方法】

OSCC と診断された 106 人の患者を対象とし、パラフィン包埋切片を用いて FoxP3+Treg の発現や HPV の感染の有無を免疫組織化学的染色にて検索し、臨床病理学的指標との関連を解析した。

【結果】

Treg の数から組織を多数群 (High) と少数群 (Low) に分類すると、69 症例が High、37 症例が Low に分類され、その予後は、有意に Low 群が良かった (P-value=0.04)。また、FoxP3 の発現がリンパ節転移に何らかの影響を及ぼしている可能性が示された (P-value=0.09)。HPV は 65 症例で抗原が検出されたが、HPV 陽性と陰性の OSCC について全生存率、及び 5 年生存率を比べると、やや HPV 陽性の方が予後不良となる傾向が示されたが有意な関連性は認められなかった (P-value=0.34)。また、HPV 感染腫瘍は口唇、頬、口腔底に比して、歯肉や舌で多かった (P-value=0.05)。

【結論】

OSCC において、本来であれば過剰な免疫反応を抑制することにより、免疫自己寛容を維持することで免疫恒常性に重要な役割を果たしている Treg の増加が、その予後の悪化と関連する事が明らかになった。この結果から、Treg を治療のターゲットにする OSCC に対する新たな治療法の可能性が示唆された。また、HPV 陽性の OSCC のほうがやや予後不良となる傾向にあり、その原因として、OSCC における HPV の感染粘膜の解剖学的な違いによる腫瘍微小環境における免疫応答の差が考えられた。

論文審査の結果の要旨

【背景と目的】

進行期頭頸部癌の予後は不良であり、新規治療法の開発が望まれる。頭頸部癌のうち、口腔扁平上皮癌 (OSCC) の発症にヒトパピローマウイルス (HPV) の関与が知られているが、OSCC の予後との関連はよくわかっていない。一方、最近一部の癌で制御性 T 細胞 (Treg) の増加がみられ、癌細胞が抗腫瘍免疫を抑制することで、免疫学的な排除を逃れていると推測されている。ただし、OSCC の予後における Treg の役割についてはよくわかっていない。そこで、OSCC の臨床病態と HPV および Treg との関連を検討するため、本研究が行われた。

【対象と方法】

対象は、愛知医科大学病院で OSCC と診断された 106 例。平均年齢は 63 歳 (20-93 歳)、

男性 59 例・女性 47 例，主な原発巣は舌（53 例）と歯肉（44 例）であった。病期別では，ステージⅠが 14 例，ステージⅡが 25 例，ステージⅢが 41 例，ステージⅣが 26 例であった。41 例（39%）でリンパ節転移がみられた。HPV 感染の有無と Treg 数は，抗 HPV 抗体と抗 forkhead boxP3（FoxP3）抗体を用いた免疫組織化学染色により決定された。OSCC の臨床病態・予後と，HPV 感染の有無，Treg 数との関連が統計学的に解析された。

【結果】

組織 Treg 数により，高 Treg 群（69 例）と低 Treg 群（37 例）に分けたところ，高 Treg 群の 5 年生存率は有意に低かった（72% vs. 92%; $p=0.04$ ）。高 Treg 群のリンパ節転移陽性率も高い傾向がみられた（45% vs. 27%; $p=0.09$ ）。一方 HPV は 65 例で検出され，生存転帰に有意な影響はみられなかった。HPV 陽性例は，歯茎と舌病変が多い傾向がみられた（ $p=0.05$ ）。

【考察】

Treg の増加を伴う OSCC はリンパ節転移を伴いやすく，生存率が低下する可能性が示唆された。Treg は腫瘍免疫抑制性に作用することから，Treg の増加は，OSCC の進行や治療抵抗性に直接かかわっている可能性がある。さらに，OSCC 細胞が何らかの機序で Treg の増加を誘導し，腫瘍免疫による排除機構からエスケープしている可能性も示唆された。これらは，Treg が OSCC の新規治療標的になりえる可能性を示している。従って本論文は，OSCC の予後を著しく高める新規治療・予防法開発につながる重要な成果と言える。以上から，学位授与に値する論文と判断した。

博 士 学 位 論 文

内容の要旨及び審査の結果の要旨

第 39 集

令和 4 年 6 月

発行年月日 令和 4 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)