

# 学位論文要旨および審査要旨

## 〔博士 (医学)〕

氏名 鳥居正剛

(学位)	種類 博士 (医学)	論文項目	定量化した QOL 変化から検討した脳ドックのあり方
	授与番号 博甲医 第 398 号	論文審査委員	主査 林 潤一
	授与年月日 平成 25 年 7 月 17 日		副査 角田 透 佐藤 徹 神崎恒一 佐藤喜宣
	授与の要件 学位規程第 5 条		

## 学位論文の要旨

目的：本邦では脳ドックが広く普及しており、脳卒中の一次予防が現実化しつつある。近年、患者側の視点からアウトカムを評価することの重要性が指摘されている。本研究では脳ドック受診前後の生活の質(QOL)を定量化し、脳ドックの診断結果がQOLにどのような影響を与えるかを前方視的に評価し、脳ドックのあり方を検討した。

対象および方法：2010年4月から2011年3月の脳ドック受診者2175例を対象とし、Medical Outcome Study Short Form 36 Version 2 (SF36)を用いて受診時にQOLの客観的評価を行った。さらに動脈硬化危険因子の有無(高血圧、脂質代謝異常、糖代謝異常)について調査を行った。脳ドックにて、異常なし、未破裂脳動脈瘤、無症候性脳梗塞、と診断された各症例に対して、脳ドック受診3ヵ月後に再度SF36によるQOLの評価を行った。

結果：3ヵ月後の追跡調査を行えた有効回答例は1386例(平均年齢59歳)であった。異常なしと診断されたのは875例、未破裂脳動脈瘤は81例、無症候性脳梗塞は63例、その他は367例であった。異常なし群(875例)ではSF36の各尺度うち、活力尺度で有意な上昇を認めた( $p=0.02$ )。未破裂脳動脈瘤群(開頭クリッピング術を施行した3例を除く78例)ではSF36各尺度に有意な変化を認めなかった。無症候性脳梗塞群(63例)では活力尺度( $p=0.04$ )、社会生活機能尺度( $p=0.04$ )、精神的QOL( $p=0.01$ )において有意な低下を認めた。動脈硬化危険因子の有無について調査できた異常なし群178例、未破裂脳動脈瘤群22例、無症候性脳梗塞群30例では各群間での動脈硬化危険因子の有病率に有意差は認められなかった。

結論：脳ドックの目的である「疾患の早期発見」にQOLが犠牲にならないように各々の診断に合わせた医療アセスメントと介入が必要である。未破裂脳動脈瘤では診断後のQOL低下が指摘されていたが、本研究でQOL低下を認めなかったのは診断後速やかに未破裂脳動脈瘤の二次スクリーニングが行われていたことが一因と推測される。また、無症候性脳梗塞は症候性脳梗塞の危険因子として確立しているが、本研究で無症候性脳梗塞群はQOL低下を認めており、無症候性脳梗塞では診断後の対応として動脈硬化危険因子の評価や生活指導においてさらなる検討が必要と考えられた。本研究により、受診前後のQOL変化を評価することで、脳ドック診断内容に応じた対応を行うことが望ましいことが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

脳ドックの普及により脳梗塞やくも膜下出血の一次予防が可能になりつつある。一方、脳ドックのアウトカムを受診者側の視点から評価することの重要性も指摘されてきている。しかし、無症候性脳梗塞や未破裂脳動脈瘤などの異常の有無が脳ドック受診者にいかなる影響を与えるかについての知見は乏しい。本論文は、脳ドックを受診したことにより、その診断結果が受診者の生活の質QOLにどのような影響を与えるかについて前方視的に評価し、脳ドックのあり方を検討したものである。

対象は2010年4月～2011年3月に脳ドックを受診した2175例。全例に受診時にQOL定量化の指標として Medical Outcome Study Short Form 36 Version 2 (SF36) を用いた調査を行った。SF36は8項目の尺度(身体機能・身体的日常役割機能・痛み・全体的健康感からなる身体的QOLと活力・社会生活機能・精神的日常役割機能・心の健康からなる精神的QOL)で構成され、各尺度の得点が高いほどQOLが高いと評価される。また受診時の動脈硬化危険因子(高血圧、脂質代謝異常、糖代謝異常)の有無を調査した。脳ドック受診3ヵ月後に再度SF36によるQOLの評価を行った。3ヵ月後のQOL追跡調査を行うことのできた、異常なし群875例、未破裂脳動脈瘤群78例、無症候性脳梗塞群63例、について検討した。

SF36各尺度について、異常なし群は活力で有意な上昇を認めた( $P=0.02$ )。未破裂脳動脈瘤群は各尺度に有意な変化を認めなかった。無症候性脳梗塞群は活力( $p=0.04$ )、社会生活機能( $p=0.04$ )、精神的QOL( $p=0.01$ )において有意な低下を認めた。動脈硬化危険因子の有無を調査しえた異常なし群178例、未破裂脳動脈瘤群22例、無症候性脳梗塞群30例の各群間において動脈硬化危険因子の有病率に有意差を認めなかった。

脳ドックにより脳神経系疾患の早期発見で一次予防が可能となる反面、脳ドックの診断結果は受診者のその後のQOLに影響すること、そのQOLへの影響は診断結果が異常なしであった場合と無症候性脳梗塞や未破裂脳動脈瘤と診断された場合で異なることを前方視的に明らかにするとともに、異常ありの場合では、無症候性脳梗塞群においてQOLが有意に低下することを明らかにした。本論文は、脳ドックの診断結果がQOL低下とならないように各々の診断

に合わせた医療アセスメントの介入が必要であることを示し、無症候性脳梗塞では症候性脳梗塞への発症リスク評価や動脈硬化危険因子への注意、生活指導においてQOL低下をきたさない対応が必要であることを示すものとして高く評価され、審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 上野 誠 二

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Metformin enhances anti-tumor effect of LAT1 inhibitor
	授与番号 博甲医 第399号		(メトホルミンはLAT1阻害薬の抗腫瘍効果を増強する)
	授与年月日 平成25年9月30日	論文審査委員	主査 大野秀樹
	授与の要件 学位規程第5条	副査	楊 國昌 山田 明 古瀬純司 竹中 均

### 学位論文の要旨

LAT1は、システムLに属するアミノ酸トランスポーターであり、大型の側鎖をもつ中性アミノ酸をナトリウム非依存的に輸送する。その発現は悪性度の高い癌細胞で高く、癌細胞の成長・増殖過程に重要な役割を果たすことが報告され、新たな癌の治療標的分子として期待されている。LAT1阻害薬は、mTOR経路を抑制することにより癌細胞の増殖を抑制すると考えられている。ほかにこのmTOR経路を負に制御する因子としてAMP活性化プロテインキナーゼ (AMPK) があり、この活性化薬として知られる糖尿病治療薬metforminにも、癌細胞増殖抑制効果が報告されている。そこで、最近開発されたLAT1特異的阻害薬JPH203とmetforminの併用により、より強力にmTOR経路を抑制することができ、各単剤使用に比べより高度な癌細胞増殖抑制が得られるのではないかと考え、二種類の頭頸部癌細胞株 (Ca9-22, HEP-2) で実験した。両細胞とも分岐鎖アミノ酸ロイシンの取り込みのほとんどはLAT1によるもので、JPH203 (10 μM以上) によりその取り込みは抑制された。MTT法により細胞増殖を評価したところ、両細胞ともJPH203存在下で同程度に増殖が抑制され、JPH203の濃度を変えて作成した増殖抑制曲線からIC50=100 μMを得た。ウエスタンブロットにより、Ca9-22細胞で同濃度のJPH203投与がmTOR経路下流のp70S6Kの活性を抑制することを示し、細胞増殖にmTOR経路の活性化が関与していることが確認された。metforminは、両方の細胞でAMPKを活性化し、濃度依存的に癌細胞増殖を抑制した (IC50=1 mM)。JPH203 (10 μM; ~IC35) とmetformin (0.5 mM; ~IC20) の併用で、Ca9-22細胞では相加的な増殖抑制効果が得られたが、HEP-2細胞では有意ではあるもののわずかな増殖抑制のみであった。併用療法の有効なCa9-22では、HEP-2に比べLAT1の発現が高く、その増殖は、LAT1-mTOR経路に依存しているのではないかと考えた。これらの結果から、JPH203—metformin併用療法は一部の頭頸部癌の有効かつ副作用の少ない治療法となる可能性がある。

### 論文審査結果の要旨

悪性度の高いがんが高発現する必須アミノ酸トランスポーターLAT1は、大型の側鎖をもつ中性アミノ酸をナトリウム非依存的に輸送することから、がん細胞の成長・増殖プロセスに重要な役割を果たし、新たながんの治療標的分子として注目を集めている。最近開発された治療薬 JPH203は、LAT1を特異的に阻害し、その結果、mTOR 経路を抑制することによってその効果を発揮する。一方、ビグアナイド系糖尿病治療薬メトホルミン服用者はがんの発生率が有意に低値を示し、それは AMPK が活性化することから mTOR が負に制御されることによると推定されている。本研究では、2種類の頭頸部がん細胞株 (Ca9-22, HEP-2) を利用して、まだ明らかになっていないJPH203とメトホルミンの併用効果を検討した。両細胞ともに、LAT1によるロイシンの取り込みが JPH203によって著しく抑制された。MTT 法では、両細胞ともに JPH203存在下で同程度に増殖が抑制された。Ca9-22細胞で、JPH203投与が mTOR 経路下流の phospho-p70S6K レベルを減少し、細胞増殖に mTOR 経路の活性化が関与していることが示唆された。他方、メトホルミンは両細胞の AMPK を活性化し、濃度依存的にがん細胞増殖を抑制した。JPH203とメトホルミンの併用は、Ca9-22細胞では著明な相加的増殖抑制効果がみられたが、HEP-2細胞では有意であったものの、その程度は小さかった。この違いは、LAT1-mTOR 経路への依存度の差によると推測された。

こうして、JPH203・メトホルミン併用療法は、一部の頭頸部がんの有効な治療法となる可能性があり、本論文は学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 柳 澤 亮 爾

(学位)	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Impact of First-line Sildenafil Monotreatment for Pulmonary Arterial Hypertension
	授 与 番 号 博甲医 第400号		(ホスホジエステラーゼ5型阻害薬シルデナフィルの肺動脈性肺高血圧症に対する長期効果の検討) - エボprostステノール併用療法を含めた後方視的観察研究
	授与年月日 平成25年9月30日		
	授与の要件 学位規程第5条	論文審査委員	主査 萬 知子 副査 菅間 博 窪田 博 櫻井裕之 滝澤 始

## 学位論文の要旨

背景：肺動脈性肺高血圧症（PAH）は進行性に肺血管抵抗が上昇して右心不全へ至る難治性の疾患群で、平均生存期間は2.8年と極めて予後不良であった。1994年にエボprostステノール静注療法の有用性が報告され予後は劇的に改善したが、植込み型カテーテルを要する静注療法で煩雑な管理が必要で、有効な経口薬が待望された。

目的：PDE5の分解を阻害してcGMPを増加させ血管拡張作用を生じる経口薬シルデナフィルの、単独および最も効果の高いエボprostステノール併用（単独治療で効果不十分の場合）を含めた治療効果に関して後ろ向き観察研究を行う。

対象：PAH46例（42±14歳，男/女：8/38）；特発性PAH（IPAH）：24例，膠原病関連PAH（CTDPH）：16例，門脈性PAH（POPH）：6例。方法：治療開始時および、シルデナフィル単独投与患者では観察期間終了直前、エボprostステノール併用患者では併用開始直前に右心カテーテル検査を施行して各薬剤の効果、予後を評価した。

結果：シルデナフィル単独投与期間は中央値13ヶ月[最小2ヶ月，最大82ヶ月]で、シルデナフィル単剤投与より開始された患者の、(1) 全体での血行動態は有意に改善した。(2) 5年生存率は81%であった。(3) 75%以上が複合エンドポイント（右心不全による入院 and/or 死亡）を5年間回避した。(4) 約40%は臨床的悪化のために併用療法を必要とし単剤のみの治療の限界であった。(5) CTDPHは他群と比し有意に、治療前の血行動態は軽症であったがシルデナフィルに対する反応性が悪く、予後は他群と同様であった。(6) エボprostステノールの併用を要した群では有意に血行動態は重症であったが、治療前の血行動態は併用が不要であった群と重複が多く、エボprostステノール使用を治療前に予想することは困難であった。

結論：シルデナフィルは肺高血圧治療薬のファーストライン治療としての使用に十分効果的で血行動態、心事故、予後を改善したが、繰り返し病勢評価を行いエボprostステノール併用の要否を検討すべきと考えられた。特にCTDPHにおいては注意が必要であった。

シルデナフィル単独での長期効果とエボprostステノール併用療法に関して検討した初めての研究であり、PAH経口薬シルデナフィルの有効性とエボprostステノール併用療法への発展の重要性を示した。

## 論文審査結果の要旨

背景：肺動脈性肺高血圧症（PAH）は進行性に肺血管抵抗が上昇して右心不全へ至る難治性の疾患群で、平均生存期間は2.8年と極めて予後不良であった。1994年にエボprostステノール静注療法の有用性が報告され予後は劇的に改善したが、植込み型カテーテルを要する静注療法で煩雑な管理が必要で、有効な経口薬が待望された。

目的：PDE5の分解を阻害してcGMPを増加させ血管拡張作用を生じる経口薬シルデナフィルの、単独およびエボprostステノール併用（単独治療で効果不十分の場合）を含めた治療効果に関して後ろ向き観察研究を行うことが本研究の目的である。

対象：8年の観察期間に、シルデナフィルの単剤投与より治療開始されたPAH患者46例（42±14歳，男/女：8/38）；特発性PAH（IPAH）：24例，膠原病関連PAH（CTDPH）：16例，門脈性PAH（POPH）：6例。

方法：治療開始時および、シルデナフィル単独投与患者では観察期間終了直前、エボprostステノール併用患者では併用開始直前に右心カテーテル検査を施行して各薬剤の効果、予後を評価した。

結果：シルデナフィル単独投与期間は中央値13ヶ月[最小2ヶ月，最大82ヶ月]で、シルデナフィル単剤投与より開始された患者の(1) 全体での血行動態は有意に改善した。(2) 5年生存率は81%であった。(3) 75%以上が複合エンドポイント（右心不全による入院 and/or 死亡）を5年間回避した。(4) 約40%は臨床的悪化のために併用療法を必要とした。(5) CTDPHは他群と比し、治療前の血行動態は軽症であったがシルデナフィルに対する反応性が悪く、予後は他群と同様であった。(6) エボprostステノールの併用を要した群では有意に血行動態は重症であったが、治療前の血行動態は併用が不要であった群と重複が多く、エボprostステノール使用を治療前に予想することは困難であった。

結論：シルデナフィルは肺高血圧治療薬のファーストライン治療としての使用に十分効果的で血行動態、心事故、予後を改善したが、繰り返し病勢評価を行いエボprostステノール併用の要否を検討すべきと考えられた。特にCTDPHにおいては注意が必要であった。

シルデナフィル単独での長期効果とエボprostステノール併用療法に関して検討した国内での初めての研究であり、PAH経口薬シルデナフィルの有効性と限界を示した報告であり、学位論文として価値あるものと認められた。

## 学位論文要旨および審査要旨

氏名 土 田 幸 介

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	口腔内アメニティと定期健診成績との関連について
	授与番号 博甲医 第401号		沖縄県S町住民の健診結果より
	授与年月日 平成25年9月18日	論文審査委員	主査 林 潤一
	授与の要件 学位規程第5条	副査	古賀良彦 松村讓兒 神崎恒一 小林富美恵

### 学位論文の要旨

中高年者の口腔内アメニティと全身健康との関係について検討する目的で、沖縄県S町(当時)の住民健診資料から口腔内アメニティについての問診記録のある1994年度の40歳以上の518人(男173人,女345人)を対象者として自菌群と義菌群に区分し、口腔内アメニティ等を独立変数とし、口腔内アメニティ調査年の、その1年後の、及びその2年後の健診成績のうちのBMI、肝機能及び脂質代謝の結果を従属変数として多重ロジスティック回帰分析を用いて解析を試みた。統計的な有意性があったのは、自菌群の「構音に不自由なし」に対する「構音に不自由あり」の調査年の中性脂肪(TG)値高値のオッズ比が高かったこと、義菌群の「よく噛める」に対する「噛めない」の2年後のBMI高値のオッズ比が低かったこと、「構音に不自由なし」に対する「構音に不自由あり」の2年後のBMI高値のオッズ比が高かったこと、「よく噛める」に対する「噛めない」の2年後のTG値高値のオッズ比が低かったこと、及び「義菌の具合はよい」に対する「義菌の具合はまあまあ」の1年後のTG値高値のオッズ比が高かったことであった。

これらのことから口腔内アメニティと定期健診成績との関連性が窺え、地域保健の推進にあたり、口腔内アメニティの有用性が示唆されたと考えている。

### 論文審査結果の要旨

中高年者の健康維持に「良好な口腔内アメニティー」が重要であることが横断的調査で指摘されてきている。しかし、経年的に口腔内アメニティーが健康にいかなる影響を与えるかについての知見は乏しい。本論文は、定期健康診断と口腔内アメニティー調査を同時に行った地域住民を対象に、口腔内アメニティーが中高年者の全身健康にどのような影響を与えるかについて後方視的に評価し、地域保健の推進における口腔内アメニティーの意義を検討したものである。

対象は1994年～1996年に住民定期健康診断を受診した沖縄県S町の40歳以上の518名(男性173名,女性345名)。口腔内アメニティーは、義菌の有無、咀嚼の状況、構音の良否、義菌の具合、の各因子について14項目の調査を行い評価した。自菌群と義菌群に区分し、各群において口腔内アメニティ各因子を独立変数とし、全身健康の指標として定期健康診断の成績のうち、BMI、肝機能、脂質代謝の結果を従属変数として多重ロジスティック回帰分析を用いて解析した。

自菌群は121名(58±10歳)、義菌群は397名(68±9歳)であった。統計的に有意性(P<0.05)を認めたのは、自菌群においては、初年度において「構音に不自由なし」に対して「構音に不自由あり」は中性脂肪が高値(オッズ比は11.3)であった。義菌群においては、1年後において「義菌の具合はよい」に対して「義菌の具合はまあまあ」は中性脂肪が高値(オッズ比は3.5)であった。一方、2年後において「よく噛める」に対して「噛めない」はBMIが高値(オッズ比は0.2)であり、中性脂肪が高値(オッズ比は0.2)であった。

口腔内アメニティーの低下は中性脂肪やBMIに影響し、その影響は経年的に変化することを後方視的に明らかにした。口腔内アメニティーを評価することは義菌の有無や加齢に伴うサルコペニアなどを背景とした総合的な咀嚼・嚥下能力を反映した全身健康の変化を経年的に把握するうえで有用である。本論文は、定期健康診断とあわせて口腔内アメニティーを調査することが地域保健の推進において意義あるものであることを示すものとして高く評価され、審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 本 多 紘二郎

(学位)	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	ヒト気道上皮細胞のサイトカイン制御機構, とくに IL-17 と TNF- $\alpha$ の協同作用について
	授与番号 博甲医 第402号	論文審査委員	主査 神谷 茂
	授与年月日 平成 26 年3月31日		副査 大倉康男 狩野葉子 河合 伸 正木忠彦
	授与の要件 学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

【背景と目的】気管支喘息は慢性気道炎症から可逆性の気流制限と気道過敏性の亢進を生じる。この気道炎症は、Th2細胞による好酸球性炎症が主体とされる。一方、重症難治性喘息例ではTh17細胞による好中球性炎症の関与が示唆されている。Th17細胞は、Interleukin-17 (IL-17) を選択的に産生するリンパ球として同定され、Th1系やTh2系とは異なる「炎症性T細胞」としての機能的存在が明らかになっている。喘息患者の末梢血や気道でもIL-17AやTh17の増加がみられ、重症化や病型の違いをもたらしている可能性が指摘されている。今回、我々は気道上皮細胞におけるIL-17Aのサイトカイン制御機構を検討するため、気道上皮細胞に対し、IL-17A単独、またはこれまでの報告で難治性喘息での強い発現が確認されているTumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )などの各種サイトカインや活性物質との共刺激を行い、好中球遊走因子、活性化因子であるIL-8の産生、発現を中心に評価した。

【方法】ヒト気道上皮細胞由来株BEAS-2B細胞に対し、TNF- $\alpha$ とIL-17Aを単独または同時に刺激をして、IL-8やその他の蛋白濃度をEnzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) で、IL-8 mRNA発現量についてはQuantitative reverse transcription PCR (qRT-PCR) を用い評価した。さらにシグナル分子阻害薬や喘息治療薬を用いて、サイトカイン制御機構の細胞内分子機構や、各種薬剤による抑制効果についても同様に評価考察を行った。

【結果】BEAS-2B細胞を、IL-17Aで単独刺激を行ったときと比較し、低濃度のTNF- $\alpha$ と共刺激を行うと、24時間後のIL-8産生、また4時間後をピークとするIL-8 mRNA発現に関して協同作用を認めた。また、シグナル分子阻害薬についてはMAPキナーゼのERK (MEK1) (PD98059)、JNK (SP600125)、p38 (SB203580) 各阻害剤ではIL-8の産生は抑えられ、NF- $\kappa$ B (BAY11-7082) 阻害剤では抑えられなかった。喘息治療薬は、Dexamethasone とFluticasone propionateで一部IL-8産生の抑制作用を認め、Salmeterolは抑制作用を認めなかった。

【結論】IL-17AとTNF- $\alpha$ 共刺激は協同作用をもちIL-8産生を増強する。難治性喘息の気道炎症での好中球性炎症にIL-17AとTNF- $\alpha$ の両者が関与していると考えられる。本結果は難治性喘息病態の解明や新規治療薬開発に寄与する事が期待される。

## 論文審査結果の要旨

Th17細胞はInterleukin-17(IL-17)を選択的に産生するリンパ球であり、Th1系やTh2系とは異なる炎症性T細胞としての機能が明らかにされている。近年、難治性喘息症例ではTh17細胞による好中球性炎症の関与が示唆されているが、Th17細胞の病態における役割は十分解明されていない。気道上皮細胞におけるIL-17のサイトカイン制御機構を検討するため、難治性喘息での強発現が認められているTumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )とIL-17の気道上皮細胞に対する協同作用をin vitroにて評価した。

ヒト気道上皮細胞由来BEAS-2B細胞を用いて、IL-17、TNF- $\alpha$ による単独および共刺激を行い、好中球遊走および活性化因子であるIL-8産生を中心として評価した。IL-8の産生量はELISA (酵素結合免疫吸着測定法)にて、IL-8のmRNA発現量は定量的逆転写PCR法 (qRT-PCR)にて測定した。加えて、シグナル分子阻害薬や喘息治療薬を用いて、サイトカイン防御機構の細胞内分子機構や薬剤効果を検討した。

IL-17A単独添加ではBEAS-2B細胞からのIL-8産生は誘導されなかったが、TNF- $\alpha$ との共刺激により有意なIL-8産生亢進が認められた。IL-8産生は添加24時間後に、IL-8 mRNA発現は添加4時間後にピークを示した。一方、IL-17EやIL-17Fにはこのような効果は認められなかった。また、IL-17A/TNF- $\alpha$ 共刺激はBEAS-2B細胞からのGM-CSFの産生をも増強した。シグナル分子阻害剤を用いた実験では、MAP(mitogen-activated protein)キナーゼのERK、JNK、p38への阻害剤はIL-17A/TNF- $\alpha$ 共刺激系でのIL-8産生を有意に抑制したが、NF- $\kappa$ B阻害薬には抑制効果は認められなかった。喘息治療薬のうち、DexamethasoneとFluticasone propionateはIL-17A/TNF- $\alpha$ 共刺激系でのIL-8産生を一部抑制したが、Salmeterolには抑制効果が認められなかった。

本研究によりIL-17AがTNF- $\alpha$ と相乗的に作用することにより、ヒト気道上皮細胞からのIL-8産生を亢進させることが明らかにされた。加えて、本効果は細胞内シグナル伝達経路のMAPキナーゼを介したメカニズムによることが示唆された。本論文の結果は難治性気管支喘息をはじめとする気道炎症病変の病態がTh17細胞を介したものであることを提示するとともに、今後の治療薬開発のための基礎的知見となり得るものである。審査の結果学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 中村 益夫

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	喫煙による気道炎症における Interleukin-17 の役割とマクロ
	授与番号 博甲医 第403号		ライド薬の抗炎症効果についての検討
	授与年月日 平成26年3月31日	論文審査委員	主査 高橋信一
	授与の要件 学位規程第5条		副査 大木 紫 川上速人 神崎恒一 近藤晴彦

### 学位論文の要旨

【背景と目的】 喫煙曝露は慢性閉塞性肺疾患Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) の発症・進行、喘息の難治化に関与することが知られている。我々は短期喫煙曝露による肺障害マウスのモデル (喫煙曝露マウスモデル) を作成し、喫煙による気道炎症のメカニズムを解析してきた。一方、Interleukin (IL) -17 は好中球性の気道炎症を促進する作用があると考えられている。マクロライド系抗菌薬はCOPDの急性増悪の頻度や治療期間を減少させることが報告され、びまん性汎細気管支炎 (diffuse panbronchiolitis: DPB) の治療にも使用される。そこで、本研究では野生型 (Wild-Type: WT)、IL-17遺伝子欠損 (Knock-Out: KO) マウスを用いて喫煙による気道炎症病態におけるIL-17の役割を検討し、またWTマウスにクラリスロマイシンを投与してその効果を検討し、両実験を比較した。

【方法】 WTマウスとIL-17 KOマウスにタバコ煙を曝露した。上記マウスから気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar Lavage Fluid: BALF) および肺組織を採取し、BALF中の細胞数とその分画、肺組織内の炎症性分子のmRNA発現量の定量、炎症細胞浸潤の組織学的検討を行った。またWTマウスを8日間喫煙曝露させクラリスロマイシン投与群、非投与群に分け比較した。

【結果】 タバコ煙曝露マウスでは、WT群では肺への好中球遊走が8日目に最大となり、以後減少した。8日目では喫煙曝露することにより肺へのIL-17AのmRNA量は上昇し、肺への好中球遊走、keratinocyte-derived chemokine (KC)、granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF)、matrix metalloproteinase (MMP)-9のmRNA量はIL-17KOマウスではWTと比較し有意に低値であった ( $p<0.05$ )。組織学的染色では喫煙曝露群においてIL-17KOマウスではWTと比較し有意に肺胞への好中球遊走は少なかった ( $p<0.05$ )。クラリスロマイシン投与に関しては、肺への好中球遊走、KC、GM-CSF、MMP-9のmRNA量はクラリスロマイシン投与群マウスではクラリスロマイシン非投与群と比較し有意に少なかった ( $p<0.05$ )。組織学的染色では喫煙曝露群においてクラリスロマイシン投与群では非投与群と比較し有意に肺胞への好中球遊走は少なかった ( $p<0.05$ )。

【結論】 タバコ煙曝露により、好中球性気道炎症とそれに関連するKCなどのサイトカイン・ケモカインの発現が誘導された。さらに、これらの気道炎症病態においてIL-17が促進的に関与し、気道の炎症治療の際に標的分子となることが示唆された。抗炎症作用を示すことが知られているクラリスロマイシンは喫煙曝露炎症においても有効であった。そのメカニズムにIL-17が関与することが示唆された。

### 論文審査結果の要旨

喫煙は慢性閉塞性肺疾患 (Chronic Obstructive Pulmonary Disease: COPD) の発症・進行に関与することが知られている。中村らは、短期喫煙曝露による肺障害マウスモデルを作成し、そのメカニズムを解析してきた。一方、Interleukin (IL) -17 は好中球性の気道炎症を促進する作用があると考えられている。さらにマクロライド系抗菌薬はCOPDの急性増悪の頻度を減少させ、治療期間を短縮させることが報告されている。そこで、本研究では野生型 (WT) とIL-17遺伝子欠損 (KO)マウスを用いて、喫煙による気道炎症病態におけるIL-17の役割を検討し、またWTマウスにクラリスロマイシンを投与してその効果を検討した。

「方法」WTマウスとIL-17 KOマウスにタバコ煙として、フィルターなしのピース20本を1日1時間曝露し、その後、気管支肺胞洗浄液 (Broncho-alveolar lavage fluid: BALF) および肺組織を採取し、BALF中の細胞数とその分画、肺組織内の炎症性分子のmRNA発現量の定量、炎症性細胞遊走について検討を行った。またWTマウスを8日間喫煙曝露させクラリスロマイシン投与群、非投与群に分け比較した。「結果」1) タバコ煙曝露により、WT群ではBALF中好中球数が8日目に最大となり、以後減少した。2) WT群では、8日間の喫煙曝露により肺組織中のIL-17AmRNA量は非喫煙曝露群に比べ有意に上昇した ( $p<0.05$ )。3) IL-17KO群ではWT群と比較し、肺への好中球遊走、炎症性分子であるKC (keratinocyte-derived chemokine)、GM-CSF (granulocyte macrophage-colony stimulating factor)、MMP (matrix metalloproteinase)-9のmRNA量が有意に低値であった ( $p<0.05$ )。4) 組織学的検討では喫煙曝露において、IL-17KO群ではWT群と比較し有意に肺胞への好中球遊走が少なかった ( $p<0.05$ )。5) クラリスロマイシン投与群では非投与群と比較し、BALF中の好中球遊走、IL-17、KC、GM-CSF、MMP-9のmRNA量が有意に少なかった ( $p<0.05$ )。6) 組織学的検討で、クラリスロマイシン投与群では非投与群と比較し肺胞への好中球遊走が有意に少なかった ( $p<0.05$ )。

以上より、タバコ煙曝露により、好中球性気道炎症とそれに関連するKCなどのサイトカイン・ケモカインの発現が誘導されること、さらにこれらの気道炎症病態においてIL-17が促進的に関与し、気道の炎症治療の際に標的分子となることが示された。また、クラリ

スロマイシンは喫煙曝露による炎症においても有効であり、そのメカニズムにIL-17が関与することが示唆された。今後の臨床応用の可能性も示され、審査の結果、学位論文として相応しいものと認めた。

氏名 木内善太郎

(学位)	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Protein characterization of glucocorticoid induced transcript 1 (GLCCII)
	授与番号 博甲医 第404号		(glucocorticoid induced transcript 1 (GLCCII) の蛋白特性)
	授与年月日 平成 26 年3月31日	論文審査委員	主査 赤川公朗
	授与の要件 学位規程第5条		副査 有村義宏 丑丸 真 佐藤 徹 杉山政則

## 学位論文の要旨

**[目的]** 糖質ステロイド (GC) は細胞機能維持に必須である。さらに合成GCは様々な難治性疾患に対して広く臨床応用されている。GCの作用は受容体 (GR) を介する転写調節機序により説明されているが、その下流の機能実行分子は未解明である。本研究はGCにより発現誘導されるglucocorticoid induced transcript 1(GLCCI 1)の蛋白機能を解明することにより、これがGCによる細胞のアポトーシスにおける新規実行分子であるという仮説を検証する事を目的とした。

**[方法]** Full-length human GLCCIIを発現させたリコンビナントGLCCII蛋白とそれを抗原とした抗GLCCII特異抗体を作成した。Yeast-two-hybrid screenにより得られたGLCCIIのリガンド候補を免疫沈降法で確認した。マウス胸腺株化細胞 (WEHI) を材料に、合成GCによるGLCCIIの発現制御をRT-PCRとWestern blotで検討した。HEK293細胞に強制発現させた細胞 (HEK-GLC) およびマウス胸腺細胞を用いて、GLCCIIの細胞内局在やアポトーシス関連分子の発現変化について免疫組織化学、免疫蛍光法、RT-PCR、Western blotで検討した。GLCCIIのリン酸化の有無、リン酸化部位の同定、リン酸化阻害についてはHEK-GLCのペプチド断片を用いた質量分析、WEHIのphosphatase処理、*in vitro*でのリン酸化によるGLCCI 1結合蛋白のリン酸化阻害実験により検討した。最後にWEHIにGLCCII cDNAを核導入し、アポトーシスの活性化を比較した。

**[結果]** GLCCIIは多数のリン酸化部位を有するtubulin局在のリン酸化蛋白質であった。GLCCIIはdynein light chain 8 type1 (LC8) およびそのリン酸化酵素であるp21-protein activated kinase1

(PAK1)と結合することにより、PAK1によるLC8リン酸化を阻害した。GCによる遺伝子発現はWEHIにおいてGR依存性であった。マウスではGLCCII発現の強さは胸腺CD4+CD8+T細胞、胸腺非CD4+CD8+T細胞、脾臓T細胞の順であり、GC投与による胸腺CD4+CD8+T細胞のGLCCII発現はアポトーシス関連分子の増加とともに上昇した。WEHIにGLCCII cDNAを核導入した結果、LC8、PAK1を介した顕著な内因性アポトーシス経路の活性化が誘導された。

**[考察と結論]** 本研究の結果は胸腺T細胞における、GCによる新規の内因性アポトーシス経路の存在を明らかにし、さらに胸腺T細胞の選択にはGLCCIIが関わることを示した。GLCCIIはPAK 1を含む多くのkinaseとも相互作用する可能性を有し、このGLCCIIの抗kinase作用が、臨床での多彩な難治性疾患に対するGCの薬理作用にも関わる可能性が示唆された。

以上のように本論文はGCがT細胞のアポトーシスに関与する新たな機能実行分子であることを明らかにするとともに、多様なGCの薬理作用の分子論的な基盤を理解する為の、基本的な方向性を与え得るものである。審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

## 論文審査結果の要旨

**【目的】** 糖質ステロイド (GC) は、生理的には細胞機能の維持に必須である。さらに合成GCは、様々な難治性疾患に対し広く臨床使用されている。このGC作用は、その受容体 (GR) を介する転写調節機序により説明されているが、その下流の直接的機能実行分子は未解明である。本研究はglucocorticoid induced transcript1 (GLCCII) の蛋白機能を解明することにより、これがGCによる細胞のアポトーシスにおける新規実行分子であるという仮説を検証する事を目的とした。

**【方法】** Full-length human GLCCII cDNAをクローニングし、大腸菌、酵母、ほ乳類用の各コンストラクトを作成した。完全長リコンビナントGLCCII蛋白とそれを抗原とした抗GLCCII特異抗体を作成した。Yeast-two-hybrid screenを行い、得られたGLCCIIのリガンド候補を免疫沈降法で確認した。マウス胸腺株化細胞 (WEHI) を材料に、GCによるGLCCIIの発現制御機構をRT-PCRとWestern blotで検討した。HEK293細胞を宿主とした強制発現細胞 (HEK-GLC) の樹立を行った。HEK-GLCおよびマウス胸腺細胞を材料に、GLCCIIの細胞内局在、GLCCIIやアポトーシス関連分子の発現の変化について、免疫組織化学、免疫蛍光染色、RT-PCR、Western blotで検討した。GLCCIIのリン酸化の有無、リン酸化部位の同定、リン酸化阻害能について、WEHI のλ phosphatase処理、HEK-GLCのペプチド断片を用いた質量分析、*in vitro*リン酸化実験によるGLCCII結合蛋白のリン酸化阻害能を検討した。最後に、WEHIにGLCCII cDNAを核導入し、アポトーシスの活性化を比較した。

**【結果】** GLCCIIは、50以上のserine/threonineリン酸化部位を有するtubulin局在のリン酸化蛋白であった。GLCCIIは、同定されたリガンドであるdynein light chain LC8-type1 (LC8) に加えて、LC8のリン酸化酵素であるp21-protein activated kinase1 (PAK1)とも結合することで、PAK1によるLC8のリン酸化を阻害した。GCによるGLCCIIの遺伝子発現は、WEHIにおいてGR依存性であった。マウスにおいて、GLCCIIの発現は胸腺CD4+CD8+ T細胞で最も強く、胸腺非CD4+CD8+ T細胞、脾臓T細胞の順に弱くなった。マ

ウスへのGC投与による胸腺CD4+CD8+ T細胞のGLCCII発現は、アポトーシス関連分子の増加とともに上昇した。WEHIにGLCCII cDNAを核導入した結果、LC8、PAK1を介した顕著な内因性アポトーシス経路の活性化が誘導された。

**【考察と結論】** 本研究の結果は、合成GCによる胸腺T細胞の新規の内因性アポトーシス経路を示し、さらに胸腺T細胞の選択にはGLCCIIが関わることを示唆した。GLCCIIはリン酸化基質として、PAK1以外の多くのキナーゼとも相互作用する可能性を示し、このGLCCIIの抗キナーゼ作用が、臨床での多彩な難治性疾患に対するGCの薬理作用に関わることが示唆された。



氏名 森 谷 理 恵

(学位)	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Possible involvement of PI3K-dependent pathways in the increased VEGF <sub>120</sub> release from osteoblastic cells preloaded with palmitate in vitro
	授与番号 博甲医 第405号		VEGF <sub>120</sub> release from osteoblastic cells preloaded with palmitate in vitro
	授与年月日 平成 26 年3月31日		パルミチン酸負荷による骨芽細胞からの VEGF <sub>120</sub> 分泌増大には
	授与の要件 学位規程第5条		PI3K 依存性の経路が関与している可能性がある
		論文審査委員	主査 市村正一
			副査 岡島康友 川上速人 木崎節子 多久嶋亮彦

### 学位論文の要旨

糖尿病に高頻度に合併する脂質異常症が骨代謝に影響を及ぼしている可能性が示唆され、一方、VEGFが破骨細胞を異常活性化させ骨吸収を亢進させ、さらにMCP-1が造血幹細胞由来である単球/マクロファージ系前駆細胞の融合を促進させ破骨細胞への分化を誘導する事も報告されている。今回、骨芽細胞モデルとしてラット骨肉腫細胞由来UMR-106骨芽細胞を使用し、代表的な飽和脂肪酸であるパルミチン酸にて処理する事で高脂血症状態を模倣し骨代謝異常の発症機序を解析した。パルミチン酸処理によりUMR-106細胞からのVEGF<sub>120</sub>分泌は有意な増大を認めたが、MCP-1分泌に対し影響を与えなかった。従って、糖尿病性骨代謝異常において主役を演じている分子の1つとしてVEGF<sub>120</sub>が想定された。UMR-106細胞をTLR4 antagonistまたはPI3K pathway inhibitor, LY294002とWortmanninにて前処理する事により、パルミチン酸負荷で有意に増加したVEGF<sub>120</sub>分泌量は減少した。この事より、パルミチン酸は部分的にはTLR4/PI3K経路の活性化を介しVEGF<sub>120</sub>分泌量を増大させていると考えられた。次に、このパルミチン酸により分泌が増大したVEGF<sub>120</sub>で活性化される破骨細胞由来の液性因子が、逆に骨芽細胞に与える影響も検討した。TNF- $\alpha$ 刺激は、UMR-106細胞からのMCP-1分泌量を増大させたが、VEGF<sub>120</sub>分泌には影響を及ぼさなかった。IL-1 $\beta$ は逆にVEGF<sub>120</sub>分泌を増大させたが、MCP-1分泌量を変化させなかった。この事より、2型糖尿病に高頻度で合併する高脂血症下において骨芽細胞から分泌が増大するVEGF<sub>120</sub>により破骨細胞の異常活性化が惹起され、次いでこの活性化された破骨細胞由来のTNF- $\alpha$ とIL-1 $\beta$ が骨芽細胞からのMCP-1、VEGF<sub>120</sub>を介して破骨細胞をさらに活性化する事で悪循環が発生、そしてこれらメカニズムによって骨吸収の亢進が生じ、最終的に骨量減少が誘導され糖尿病性骨代謝異常が発症している可能性が考えられた。従って、高脂血症状態の改善、つまり骨芽細胞からのVEGF<sub>120</sub>分泌を減弱させる事が糖尿病性骨代謝異常の発症と進展を抑制する事に繋がり、ひいては有望な治療戦略の構築につながるものと推察される。

### 論文審査結果の要旨

【目的】糖尿病に伴う骨代謝異常が注目されているが、本研究は糖尿病に高頻度に合併する脂質異常に着目して、高脂血症が骨代謝に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】ラット骨肉腫由来UMR-106骨芽細胞に、代表的な飽和脂肪酸であるパルミチン酸を添加して高脂血症状態を作成して、破骨細胞活性化作用のあるVEGF(Vascular Endothelial Growth Factor)、および前破骨細胞から破骨細胞への分化を誘導するMCP-1(Monocyte Chemotactic Protein-1)の産生とその活性化機序について解析した。さらに、TNF- $\alpha$ とIL-1 $\beta$ 添加の効果についても検討した。

【結果】0.03mmol/Lのパルミチン酸処理によりVEGF<sub>120</sub>分泌はコントロールより1.8倍、mRNAは2.5倍の有意な増大を認めたが、MCP-1分泌には影響を与えなかった。UMR-106細胞をTLR4(Toll-like receptor 4) antagonistまたはPI3K pathway inhibitor(LY294002, Wortmannin)で前処理することにより、パルミチン酸負荷で有意に増加したVEGF<sub>120</sub>分泌量は有意に減少した。一方、MAPK経路はあまり関与していなかった。以上から、パルミチン酸の作用は主にTLR4、PI3K経路の活性化を介していると考えられた。また、TNF- $\alpha$ はUMR-106細胞からMCP-1分泌量を増大させたが、VEGF<sub>120</sub>分泌には影響しなかった。逆にIL-1 $\beta$ はVEGF<sub>120</sub>分泌を増大させたがMCP-1分泌には影響しなかった。

【結語】2型糖尿病に高頻度で合併する高脂血症状態では、骨芽細胞からVEGF分泌が増大するが、その機序にはTLR4またはPI3K経路が主に関与していた。この増加したVEGFが破骨細胞の異常活性化を惹起させ、次いでこの活性化された破骨細胞由来のTNF- $\alpha$ とIL-1 $\beta$ が骨芽細胞からVEGF、MCP-1の産生を増大させることにより破骨細胞をさらに活性化する悪循環の可能性が考えられた。

本研究は高脂血症を伴う糖尿病性骨代謝異常の病態の1機序を解明したものであり、高脂血症状態の改善が糖尿病性骨代謝異常の発症と進展を抑制する可能性が考えられるなど、今後の治療戦略の構築につながるものと期待され、学位論文として価値あるものと認められた。

氏名 吉 敷 智 和

(学位)	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Analysis of <i>KRAS</i> , <i>BRAF</i> , <i>PIK3CA</i> , <i>PTEN</i> and <i>MET</i> status in metastatic colorectal cancer. - Overexpression of <i>MET</i> and <i>BRAF</i> mutation are new predictive marker for anti-EGFR therapy (大腸癌における <i>KRAS</i> , <i>BRAF</i> , <i>PIK3CA</i> , <i>PTEN</i> , <i>MET</i> の分子異常について研究 <i>MET</i> 高発現と <i>BRAF</i> 遺伝子変異は、大腸癌における抗EGFR抗体薬治療の新しいバイオマーカーとなる)
	授与番号 博甲医 第406号		
	授与年月日 平成26年3月31日		
	授与の要件 学位規程第5条	論文審査委員	主査 高橋信一 副査 岩下光利 小林富美恵 櫻井裕之 永根基雄

## 学位論文の要旨

抗EGFR抗体薬の切除不能再発大腸癌(metastatic colorectal cancer: mCRC)に対する治療無効予測因子として*KRAS*遺伝子変異が知られている。一方、*KRAS*野生型mCRCにおいても抗EGFR抗体薬無効例が存在する。そこで、抗EGFR抗体薬治療の新たな効果予測因子として、他の分子生物学的マーカーと*KRAS*変異との関連性を含め検討した。

抗EGFR抗体薬が投与されたmCRC 91例(男性66例・女性25例、平均年齢67歳)において*KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, *PTEN*, *MET*をDirect Sequence法と免疫染色を用いてその変異の有無と発現異常を検討した。

結果、1) *KRAS*変異は26.4%(24/91)に見られた。2) *KRAS*変異症例は野生型症例に比較して、Response rate (RR; 4.2% vs.38.8%  $p<0.001$ ), Disease control rate (DCR; 16.7% vs.70.2%  $p<0.001$ ), Progression free survival (PFS; 2.0 vs. 5.4months  $p<0.001$ ) が有意に低値であった。3) *KRAS*野生型症例において、*BRAF*変異は7.7%(5/65), *PIK3CA*変異4.9% (3/61), *PTEN*発現異常28%(15/54), *MET*発現異常48% (26/54)であった。4) *KRAS*野生型症例のうち、*BRAF*変異、*PIK3CA*変異、*MET*発現異常のある例で無い例に比べ有意にDCR, PFSが低値であった。( *BRAF*; DCR: $p=0.002$ , PFS: $p<0.001$ , *PIK3CA*; DCR: $p=0.027$ , PFS: $p=0.005$ , *MET*; DCR: $p=0.040$ , PFS: $p=0.018$  ) 5) 投与方法では、*KRAS*野生型症例において抗EGFR抗体薬単剤療法群が、他の抗腫瘍剤との併用療法群に比べてPFSが有意に低値であった。(  $p=0.039$  ) 6) *KRAS*野生型症例のうち、単変量解析で有意差が出た*BRAF*, *PIK3CA*, *MET*と投与方法(単剤or併用療法)での多変量解析を行なった。*BRAF*変異、*MET*発現異常がある例で無い例に比し有意にPFSが低値であった。( *BRAF*;  $p = 0.003$ , *MET*;  $p = 0.048$  )

以上より、*KRAS*野生型mCRCの抗EGFR抗体治療において、*MET*発現異常と*BRAF*遺伝子変異は、その奏効率低下予測に有効な新たな分子マーカーとなることが示され、臨床上大変重要な知見が得られた。

## 論文審査結果の要旨

抗EGFR抗体薬の切除不能再発大腸癌(metastatic colorectal cancer: mCRC)に対する治療無効予測因子として*KRAS*遺伝子変異が知られている。一方、*KRAS*野生型mCRCにおいても抗EGFR抗体薬無効例が存在する。そこで、抗EGFR抗体薬治療の新たな効果予測因子として、他の分子生物学的マーカーと*KRAS*変異との関連性を含め検討した。

抗EGFR抗体薬が投与されたmCRC 91例(男性66例・女性25例、平均年齢67歳)において*KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, *PTEN*, *MET*をDirect Sequence法と免疫染色を用いてその変異の有無と発現異常を検討した。

結果、1) *KRAS*変異は26.4%(24/91)に見られた。2) *KRAS*変異症例は野生型症例に比較して、Response rate (RR; 4.2% vs.38.8%  $p<0.001$ ), Disease control rate (DCR; 16.7% vs.70.2%  $p<0.001$ ), Progression free survival (PFS; 2.0 vs. 5.4months  $p<0.001$ ) が有意に低値であった。3) *KRAS*野生型症例において、*BRAF*変異は7.7%(5/65), *PIK3CA*変異4.9% (3/61), *PTEN*発現異常28%(15/54), *MET*発現異常48% (26/54)であった。4) *KRAS*野生型症例のうち、*BRAF*変異、*PIK3CA*変異、*MET*発現異常のある例で無い例に比べ有意にDCR, PFSが低値であった。( *BRAF*; DCR: $p=0.002$ , PFS: $p<0.001$ , *PIK3CA*; DCR: $p=0.027$ , PFS: $p=0.005$ , *MET*; DCR: $p=0.040$ , PFS: $p=0.018$  ) 5) 投与方法では、*KRAS*野生型症例において抗EGFR抗体薬単剤療法群が、他の抗腫瘍剤との併用療法群に比べてPFSが有意に低値であった。(  $p=0.039$  ) 6) *KRAS*野生型症例のうち、単変量解析で有意差が出た*BRAF*, *PIK3CA*, *MET*と投与方法(単剤or併用療法)での多変量解析を行なった。*BRAF*変異、*MET*発現異常がある例で無い例に比し有意にPFSが低値であった。( *BRAF*;  $p = 0.003$ , *MET*;  $p = 0.048$  )

以上より、*KRAS*野生型mCRCの抗EGFR抗体治療において、*MET*発現異常と*BRAF*遺伝子変異は、その奏効率低下予測に有効な新たな分子マーカーとなることが示され、臨床上大変重要な知見が得られた。審査の結果、学位論文として相応しいものと認められた。

氏名 半田 桂子

(学位)	種 類 博士(医学)	論 文 項 目	A Long-Term Low Carbohydrate Diet Leads to Deleterious Metabolic Manifestations in Mice
	授与番号 博甲医 第407号		(長期の低炭水化物食はマウスにおいて代謝的有害事象を引き起こす)
	授与年月日 平成26年3月12日	論文審査委員	主査 神崎恒一
	授与の要件 学位規程第5条		副査 永松信哉 林 潤一 木崎節子 山田達也

### 学位論文の要旨

糖質制限食がダイエットに有効であるという報告(Shai I et al N Engl J Med, 2008)以来、糖質制限食が一部マスコミなどによって推奨された。しかし、その後、糖質制限食による死亡の増加(Sjogren P et al Am J Clin Nutr, 2010)、心血管イベントの増加(Lagiou P et al BMJ, 2013)が相次いで報告され、糖質制限食はかえって心血管イベントや死亡のリスクを高めるとの理由から、2014年日本糖尿病学会から緊急提言の形で注意が喚起された。しかしながら、糖質制限食の悪影響を科学的に示した報告はこれまでなく、この原因を明らかにすることを目的として本研究を行った。C57bl/6j, STZ, KKAyマウス各群に対して、コントロール食(SC食; C:P:F=63:15:22)、中等度糖質制限食(LC食; C:P:F=38:25:37)、高度糖質制限食(SR食; C:P:F=18:45:37)を授与し、その表現型を比較検討した。

6週齢のマウスに16週間カロリーを揃えたベアフィーディングを行ったところ、正常マウスでは糖質比率に反比例する形で体重増加がみられたが、糖尿病マウスでは有意な体重変化は見られなかった。この原因として、正常マウス群では体重の増加に比例して精巣上体重量が増加していたことから、内臓脂肪の増加が一因と考えられた。さらに、この脂肪量の増加の原因としては、正常マウス(C57bl/6j)において、食餌中の糖質比率に比例して血清FGF21濃度が低下しており(後述)、脂肪組織での代謝が低下し、脂肪重量が増加した可能性が示唆された。一方、糖尿病マウス(STZ, KKAy)では、おそらくインスリンシグナルが低下しているため、脂肪分解とケトン体産生が亢進し、有意な脂肪肥大、体重増加は見られなかった。一方、腹腔内糖負荷試験、インスリン感受性試験では、糖質摂取量に反比例してインスリン抵抗性の増大が3系統マウスで認められた。インスリン抵抗性の最も重要な臓器である肝臓において、糖脂質代謝関連遺伝子の検索を行ったところ、FGF21の転写レベル、血中レベルでの低下が糖質比率に比例して認められた。FGF21はインスリン感受性を増強させ、マウスの寿命延長効果があることが報告されていることから(Ding X et al. Cell Metab, 2012)、糖質制限食群によるFGF21の低下は、ヒトにおいて糖質制限食が死亡リスクを増加させた結果を一部説明できる可能性がある。一方、血清脂肪酸成分解析において、糖質比率に比例してオレイン酸などの一価不飽和脂肪酸の血中濃度低下が認められ、これは肝臓におけるStearoyl-CoA desaturase1(SCD-1)の発現が低下していることが原因と考えられた。SCD-1は高脂質食による死亡の増加は既に報告されているが、糖質制限によって低下することを示したのは今回初めてである。一価不飽和脂肪酸は酸化ストレスを軽減し、抗動脈硬化作用を有することが報告されているので(Robert AE et al, Metabolism, 2013)、次に、各食群間で酸化ストレスの蓄積度を検討したところ、正常食に比して高度糖質制限食KKAyマウスにおいて、肝臓での酸化ストレスの蓄積増大が認められた。

以上の実験結果より、糖質制限によってインスリン抵抗性が増大し、さらに酸化ストレスの増大や寿命を短縮させるような代謝的変化がもたらされることが証明された。本研究は、糖質制限食の食事療法のデメリットの科学的根拠を示したという意味で、意義のある論文と考える。

### 論文審査結果の要旨

糖質制限食がダイエットに有効であるという報告(N Engl J Med, 2008)以来、糖質制限食が一部マスコミなどによって推奨された。しかし、その後、糖質制限食による死亡の増加(Am J Clin Nutr, 2010)、心血管イベントの増加(BMJ, 2013)が相次いで報告されたことを受けて、日本糖尿病学会は2014年、糖質制限食はかえって心血管イベントや死亡のリスクを高める可能性があることを緊急提言した。しかしながら、糖質制限食の悪影響を科学的に示した報告はこれまでないため、この原因を明らかにすることを目的として本研究は実施された。

C57bl/6j, STZ, KKAyマウスに対して、6週齢から16週間、コントロール食(SC食; C:P:F=63:15:22)、中等度糖質制限食(LC食; C:P:F=38:25:37)、高度糖質制限食(SR食; C:P:F=18:45:37)を、摂取カロリーを揃えて与え、表現型を比較した。正常マウスでは糖質比率に反比例する形で体重増加がみられたが、糖尿病マウスでは有意な体重変化は見られなかった。正常マウスで体重が増加したのは内臓脂肪が増加したためであり、その原因として肝、血清FGF21濃度が低下(後述)によって脂肪組織での代謝が低下している可能性が考えられた。一方、糖尿病マウス(STZ, KKAy)では、インスリンシグナルは低下していたが、脂肪分解とケトン体産生が亢進していたため、有意な内臓脂肪の増加、体重増加は見られなかった。次に、腹腔内糖負荷試験、インスリン感受性試験では、糖質摂取量に反比例してインスリン抵抗性の増大が3系統のマウスで認められた。インスリン抵抗性の最も重要な臓器である肝臓において、糖脂質代謝関連遺伝子の検索を行ったところ、FGF21の転写レベル、血中レベルでの低下が糖質比率に比例して認められた。FGF21はインスリン感受性を増強させ、マウスの寿命延長効果があることが報告されていることから(Cell Metab, 2012)、糖質制限食によるFGF21の低下は、ヒトにおいて糖質制限食が死亡リスクを増加させた結果を一部説明できる可能性がある。さらに、血清脂肪酸成分解析において、

糖質比率に比例してオレイン酸などの一価不飽和脂肪酸の血中濃度の低下が認められ、これは肝臓におけるStearoyl-CoA desaturase1(SCD-1)の発現低下が関与していると考えられた。SCD-1は高脂質食によって低下することは既に報告されているが、糖質制限によって低下することを示したのは本研究が初めてである。一価不飽和脂肪酸は酸化ストレスを軽減し、抗動脈硬化作用を有することが報告されているので(Metabolism, 2013)、次に、各食群間で酸化ストレスの蓄積度を検討したところ、高度糖質制限食KKAyマウスにおいて、肝臓での酸化ストレスの蓄積増大が認められた。

以上の内容について審査を行った結果、糖質制限によってインスリン抵抗性が増大し、同時に酸化ストレスの増大や寿命を短縮させるような代謝的変化がもたらされることが示したこと、その結果、糖質制限による食事療法の悪影響について科学的根拠を一部示すことができたこと、以上の点で学位論文として価値あるものと評価した。

氏名 小 暮 正 晴

(学位)	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Deregulation of histone demethylase JMJD2A in cancer cells is involved in G1/S transition (癌におけるヒストン脱メチル化酵素 JMJD2A の発現の異常は G1/S 期移行に関与する)
	授与番号 博甲医 第 408 号		
	授与年月日 平成 26 年 3 月 31 日		
	授与の要件 学位規程第 5 条	論文審査委員	主査 渡邊 卓 副査 井本 滋 菅間 博 櫻井裕之 古瀬純司

## 学位論文の要旨

【背景】現在、多くのJmjcドメインを有するヒストン脱メチル化酵素が発見され、生化学的な特徴が解明されてきたが、癌に代表される疾患におけるヒストン脱メチル化酵素の機能に関してはいまだ十分な評価が行われてきていない。今回、そのうちのJmjcドメインを有するJumonji domain containing demethylase A(JMJD2A)と癌形成との関連について解析を行った。

【方法】臨床検体を用い癌、正常組織においてqRT-PCR,cDNAmicroarray,免疫組織染色で発現解析を行った。JMJD2Aが癌増殖に関与するか調べるために増殖アッセイを行った。また細胞周期における働きを解明するためにフローサイトメトリーを行った。H3K9脱メチル化を介し癌化に寄与するJMJD2Aの下流遺伝子探索をマイクロアレイハイブリダイゼーション、ChIP-Seqで行った。

【結果】臨床膀胱癌検体では非腫瘍検体と比し、mRNAレベルでのJMJD2Aの高発現を認めた。臨床肺癌検体においても蛋白レベルでのJMJD2Aの高発現を認めた。cDNAマイクロアレイ解析でも様々な癌腫でJMJD2Aの高発現を認めた。肺癌および膀胱癌細胞株を用いJMJD2A特異的siRNAを用いJMJD2A発現抑制後に増殖アッセイを行ったところコントロールのsiRNAに比しJMJD2A特異的siRNAをトランスフェクションした細胞株では有意に増殖が抑制された。さらに細胞周期におけるJMJD2Aの役割について、BrdUラベリングを行いフローサイトメトリーで解析した結果、JMJD2A発現抑制した細胞株ではS期の減少を認めた。これらのことからJMJD2Aは癌細胞の増殖に重要であり、細胞周期においてG1/S移行期を制御していることがわかった。癌細胞の増殖、G1/S制御のメカニズム解明のためJMJD2Aの下流遺伝子の探索をおこなった。JmjcドメインはヒストンH3K9me2/3を脱メチル化することがすでに報告されている。そこでマイクロアレイハイブリダイゼーションでJMJD2Aにより発現が制御される遺伝子の探索、またChIP-Seq解析で全ゲノムにおけるヒストンH3K9メチル化の状態を解析した。その結果、ヒストンH3K9メチル化制御を介しJMJD2Aにより発現の制御される遺伝子がADAM12を含めいくつか同定された。

【結語】JMJD2Aは膀胱癌・肺癌をはじめとする様々な癌腫において発現が亢進しており、細胞周期調節を制御し、また下流遺伝子をエピジェネティックに制御することで癌細胞の増殖に寄与している可能性があることが分かった。JMJD2Aが癌で高発現し正常組織における発現が低いことを考えると、副作用の危険が低い抗腫瘍効果のある酵素特異的阻害剤の開発は実現可能と考えられJMJD2Aは新たな治療標的となることが期待される。

## 論文審査結果の要旨

クロマチン構造の制御に重要な役割を果たすヒストン脱メチル化酵素のうちJumonji Cドメインを有する一連の酵素が発癌や癌の進行にいかに関与するか、これまで十分な解析が行われて来なかった。本研究ではこのうちのJumonji domain containing 2A (JMJD2A)について、癌における発現の状況、癌細胞増殖への関与とその機序に関する検討を行った。

まず、定量的リアルタイムPCR解析により、非腫瘍組織と比し、膀胱癌組織においてJMJD2A mRNAの高発現を認めたが、膀胱癌のグレードや浸潤度にかかわらず、一様に高い発現レベルを示した。cDNAマイクロアレイ解析でも肺癌を含む様々な癌腫でJMJD2Aの高発現を認めた。特異抗体を用いた免疫組織学的解析において、正常組織ではJMJD2A蛋白の発現は検出限界以下であったが、肺癌では403例のうち289例に染色陽性が認められた。次に、癌細胞増殖におけるJMJD2Aの関与を明らかにする目的で、JMJD2A特異的siRNAにより肺癌および膀胱癌細胞株のJMJD2Aの発現を抑制した後に増殖解析を行ったところ、JMJD2A特異的siRNAをトランスフェクションした細胞株ではコントロールsiRNAに比し有意に増殖が抑制されていた。さらに細胞周期におけるJMJD2Aの役割を明らかにするべく、BrdUで標識した癌細胞株をフローサイトメトリーにより解析した結果、JMJD2Aの発現を抑制した細胞株ではS期の減少が認められた。これらのことからJMJD2Aは細胞周期においてG1/S移行期を制御することにより、癌細胞の増殖に関与する可能性が示唆された。このメカニズムを解明するべく、JMJD2Aの下流遺伝子の探索を行った。JMJD2Aを強制発現もしくはノックダウンした細胞株を用いてマイクロアレイ解析およびChIP-Seq解析を行い、JMJD2Aにより発現が制御される遺伝子を、ADAM12を含め、複数個、同定することができた。

以上、膀胱癌や肺癌をはじめとするさまざまな癌腫においてJMJD2Aの発現は亢進しており、下流遺伝子のエピジェネティックな機序を介した細胞周期の変調により癌細胞の増殖に関与している可能性が示された。本研究の結果は、JMJD2Aに対する特異的酵素阻害薬が癌に対する新たな治療戦略となる可能性を示唆したものであり、審査の結果、学位論文として価値のあるものと認めた。

氏名 原 恵 子

(学位)	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Mismatch negativity for speech sounds in temporal lobe epilepsy
	授与番号 博乙医 第550号		(側頭葉てんかん患者における言語音ミスマッチ陰性電位について)
	授与年月日 平成 25 年6月19日	論文審査委員	主査 千葉厚郎
	授与の要件 学位規程第6条		副査 大木 紫 岡島康友 遠山 満 永根基雄

### 学位論文の要旨

ミスマッチ陰性電位 (Mismatch Negativity: MMN)は、1978年にNäätänenらが報告した事象関連電位であり、刺激逸脱の前注意的な検出を反映する側頭葉と、注意の転換を反映する前頭葉が主な発生源であるとされる。近年、様々な精神神経疾患に関するMMNの臨床応用が多く報告されている。しかし、てんかんを対象とした研究は少なく、迷走神経刺激治療前後の変化、難治てんかんの所見、てんかん発作と非てんかん発作の比較などが散見されるが、てんかん症候群を特定せずに解析するなど、いまだ確実な所見は得られていない。MMNの主な発生源に側頭葉成分があることから、今回、我々は側頭葉てんかん(temporal lobe epilepsy, TLE)を対象に、言語音変化刺激を用いたMMNについて検討した。

26人のTLE患者と年齢と性別を合致させた右利きの健常被験者を対象とした。刺激は日本語の言語音を用い、「あ」を高頻度刺激(80%)、「お」を低頻度刺激(20%)とした。MMN波形は正中では陰性、両側乳様突起では陽性と極性が逆転するため、正中(Fz, Cz)と両側乳様突起に電極を置き、それぞれのMMN潜時と平均振幅を求めた。逸脱刺激の加算回数が十分であった19人のTLE(女性7名、平均年齢33.6±10.1歳)と、22人の健常被験者(女性8名、平均年齢33.6±9.3歳)を統計解析した。主効果を群間(TLE群と健常者群)×刺激(高頻度刺激と低頻度刺激)×電極(FzCz又は左右乳様突起)とする3要因分散分析を行い、 $p<0.05$ を有意水準とした。

その結果、MMN振幅で刺激の有意な主効果がみられた。乳様突起の電極では群間と刺激の交互作用を認め、TLE群で刺激間の振幅差が有意に減少していた。潜時については、群間、刺激、電極のいずれにも有意な主効果はなかった。

今回の結果から、TLE患者ではMMNの前頭葉成分には変化なく、側頭葉成分では振幅が小さく、側頭様機能障害反映する所見と考えられた。この結果はMMNの発生源が複数であることを支持し、MMNの測定において正中電極と乳様突起電極の両方で測定することが重要であることが示された。MMNは神経心理学的検査と異なり、積極的に検査に協力することが困難な被験者でも測定が可能なることから、今後さらなる臨床応用が期待される。

### 論文審査結果の要旨

ミスマッチ陰性電位 (Mismatch Negativity: MMN)は、高頻度刺激と低頻度刺激による誘発電位の振幅の差として算出される事象関連電位の一つであり、近年、様々な精神神経疾患に関する臨床応用が報告されている。しかし、てんかんを対象とした研究は少なく、てんかん症候群を特定した解析は、十分には行われていない。MMNは刺激逸脱の前注意的な検出を反映する側頭葉と、注意の転換を反映する前頭葉が主な発生源であるとする仮説があることから、本研究では側頭葉てんかん(temporal lobe epilepsy, TLE)を対象に、言語音変化MMNについての検討を行った。

26人のTLE患者と年齢と性別を合致させた右利きの健常被験者を対象とした。刺激は日本語の言語音を用い、「あ」を高頻度刺激(80%)、「お」を低頻度刺激(刺激逸脱)(20%)とした。MMN波形は頭蓋正中部での誘導では陰性、乳様突起部での誘導では陽性と極性が逆転するため、正中部(Fz, Cz)と両側乳様突起部に電極を置き、それぞれのMMN潜時と平均振幅を求めた。逸脱刺激の加算回数が十分であった19人のTLE(女性7名、平均年齢33.6±10.1歳)と、22人の健常被験者(女性8名、平均年齢33.6±9.3歳)の結果を統計解析した。

その結果、低頻度刺激に対する反応は高頻度刺激に対する反応に比べ、正中部で有意に陰性に大きく、乳様突起部では陽性に大きく出現していた。また、TLE群では乳様突起部のMMN振幅が有意に減少していたが、正中部ではMMN振幅の有意な変化はなかった。潜時については有意な差は見られなかった。TLE患者のMMNで正中部では有意な変化がみられず、乳様突起部で有意な振幅低下がみられたことは、側頭様機能障害との関連が考えられる。また、この結果はMMNの発生源は複数存在し、特に乳様突起部で側頭葉成分、中心部で前頭葉成分をより反映するとする説を支持するものであり、MMNの測定において正中部と乳様突起部の両方で測定することが重要であることを示した。

本研究により乳様突起部のMMNは側頭葉の活動を反映することが支持され、今後側頭葉機能の客観的な評価の指標となる可能性が考えられる。また本検査は被験者の積極的な協力がなくとも測定可能であることから、乳幼児の言語優位側の評価方法への臨床応用の可能性も考えられる。審査の結果、本論文は学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 谷川 昭子

(学位)	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Features of wound healing shown by fibroblasts obtained from the superficial and deep dermis
	授与番号 博乙医 第551号		(創傷治癒における真皮浅層と深層由来の線維芽細胞の部位特異性)
	授与年月日 平成25年6月19日	論文審査委員	主査 杉山政則
	授与の要件 学位規程第6条		副査 大野秀樹 菅間 博 塩原哲夫 渡邊 卓

### 学位論文の要旨

線維芽細胞は、解剖学的な部位によって異なった性質を呈する。特に真皮線維芽細胞においては、真皮浅層と深層で異なる性質の細胞群が存在するとされ、これまでケロイドや肥厚性瘢痕など過剰瘢痕を呈する病態の解明を目的として両者の瘢痕形成能に関する実験的研究が行われてきた。しかし急性期創傷においてそれぞれの線維芽細胞がどのような差異を呈するかについては明らかになっていない。そこで、同一検体から同一手技で採取した真皮浅層由来線維芽細胞と真皮深層由来線維芽細胞の、増殖特性、コラーゲンゲル収縮能、および急性期の創傷治癒にかかわる8遺伝子のmRNA発現について調べ、比較検討した。また、急性期創傷の局所で増加する代表的なサイトカインのひとつであるbFGFを培地に添加し、両者の差異に及ぼす影響を調べた。真皮浅層線維芽細胞は深層線維芽細胞より有意に高い増殖能を示し、深層線維芽細胞は浅層線維芽細胞より有意に高いコラーゲンゲルの収縮能および細胞外基質(Ⅲ型コラーゲン、フィブロネクチン)や創傷治癒関連サイトカイン(TGF $\beta$ 1, CTGF)のmRNA発現を示した。培地内へのbFGFの添加によって深層線維芽細胞は浅層線維芽細胞と同程度の細胞増殖能を有するようになり、また各創傷治癒関連因子のmRNA発現量については変化を認めなかった。本研究により、真皮深層由来線維芽細胞は浅層由来線維芽細胞より高い創収縮能、細胞外基質産生能を有し創傷治癒に促進的に働くことが示唆された。急性期創傷において、浅い潰瘍では真皮浅層の線維芽細胞が、深い潰瘍では深層の線維芽細胞が、潰瘍面の構成細胞として創傷治癒過程の主な役割を果たすと考えられる。より大きな組織欠損を伴う創傷において、より強い創傷治癒能をもつ細胞が潰瘍面の構成細胞の主体となることは合目的的であり、真皮線維芽細胞の部位特異性が効率的な創傷治癒に寄与していることが示唆された。線維芽細胞のもつ創傷治癒能の仔細を把握することは、複雑な創傷治癒過程における新たな治療戦略の確立に重要であると考えられる。

### 論文審査結果の要旨

線維芽細胞は、解剖学的な部位によって異なった性質を呈する。特に真皮線維芽細胞においては、真皮浅層と深層で異なる性質の細胞群が存在するとされ、これまでケロイドや肥厚性瘢痕など過剰瘢痕を呈する病態の解明を目的として両者の瘢痕形成能に関する実験的研究が行われてきた。しかし急性期創傷においてそれぞれの線維芽細胞がどのような差異を呈するかについては明らかになっていない。そこで、同一検体から同一手技で採取した真皮浅層由来線維芽細胞と真皮深層由来線維芽細胞の、増殖特性、コラーゲンゲル収縮能、および急性期の創傷治癒にかかわる8遺伝子のmRNA発現について調べ、比較検討した。また、急性期創傷の局所で増加する代表的なサイトカインのひとつであるbFGFを培地に添加し、両者の差異に及ぼす影響を調べた。真皮浅層線維芽細胞は深層線維芽細胞より有意に高い増殖能を示し、深層線維芽細胞は浅層線維芽細胞より有意に高いコラーゲンゲルの収縮能および細胞外基質(Ⅲ型コラーゲン、フィブロネクチン)や創傷治癒関連サイトカイン(TGF $\beta$ 1, CTGF)のmRNA発現を示した。培地内へのbFGFの添加によって深層線維芽細胞は浅層線維芽細胞と同程度の細胞増殖能を有するようになり、また各創傷治癒関連因子のmRNA発現量については変化を認めなかった。本研究により、真皮深層由来線維芽細胞は浅層由来線維芽細胞より高い創収縮能、細胞外基質産生能を有し創傷治癒に促進的に働くことが示唆された。急性期創傷において、浅い潰瘍では真皮浅層の線維芽細胞が、深い潰瘍では深層の線維芽細胞が、潰瘍面の構成細胞として創傷治癒過程の主な役割を果たすと考えられる。より大きな組織欠損を伴う創傷において、より強い創傷治癒能をもつ細胞が潰瘍面の構成細胞の主体となることは合目的的であり、真皮線維芽細胞の部位特異性が効率的な創傷治癒に寄与していることが示唆された。

本研究により、線維芽細胞のもつ創傷治癒能の詳細が明らかになり、複雑な創傷治癒過程における新たな治療戦略の確立に有用な知見が得られた。審査の結果、学位論文として価値あるものと認められた。

氏名 早川 哲

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	血液透析患者における透析前後の循環血液量変動に関する研究
	授与番号 博乙医 第552号		査
	授与年月日 平成25年7月17日	論文審査委員	主査 楊 國昌
	授与の要件 学位規程第6条	副査	大木 紫 櫻井裕之 奴田原紀久雄 吉野秀朗

### 学位論文の要旨

血液透析Hemodialysis (HD)は血管内の循環血漿を介し、体液を除去する腎代替療法である。HD中に循環血漿が減少するので透析後に体重は減少し、血圧は低下するのが通常である。しかし、HD終了後においても血圧が低下せず、むしろ上昇し、離床までに安静を要することもあり、これは高齢者に多い。今回我々はHD患者における循環血液量circulating blood volume (CBV)の変化と血圧の変動との関係を調べるために、HD前後のCBVの測定を試みたところ、少なからぬ患者でHD終了直後にCBVがむしろ増加しているという現象が観察されたので、その原因について検討を加えた。

測定に当たっては近年開発されたindocyanine green(ICG)を用いたパルス式色素希釈法pulse dye-densitometry(PDD法)を使用した。対象は当院にてHDを行っている24例(男性10名、女性14名、年齢 $60.1 \pm 12.3$ 歳、HD期間 $551.8 \pm 415.6$ 週)である。体重Body weight(BW)、血圧Blood pressure(BP)、心拍出量Cardiac output(CO)、循環血液量Circulating blood volume (CBV)、末梢血管抵抗Systemic vascular resistance (SVR)、血管透過性の指標であるPlasma refilling rate (PRR)、膠質浸透圧差( $\pi$ )を使用し検討した。

その結果、HD後に体重は減少しているにもかかわらずCBVがHD直後に増大を示す症例を24例中9例(38%)に認めた。高齢者ほど $\% \Delta$  CBVは大であった( $r=0.41, p=0.017$ )。HD直後にCBVが増加する群では減少する群に比してPRRは有意に速かった( $p=0.006$ )。その、PRRが速い患者においては遅い患者に比してHD直後のSVRが低下していた( $p=0.02$ )。SVRが低下する患者は優位に高齢者に多かった( $r=0.37, p=0.018$ )。PRRは $\pi$ とも正の相関関係にあった( $p=0.04$ )。

HD後の体重が減少しているにもかかわらずCBVが増大するという逆説的現象は、HD後にSVRの減少する高齢者に認められた。高齢者においては血管反応性の低下によってHD中にSVRが低下するため、DeJager-Krogh現象により末梢血管が拡張する。これによる負の静水圧と、血漿が濃縮されることによる膠質浸透圧の増大が、間質より体液を血管内に移動させる推進力になっていると思われる。その結果、HD終了直後に高齢者においては、一時的にもせよ、CBVがむしろ増加するという現象を来し、HD終了後の高血圧という現象になって現れると考えられる。これを予防するためには高齢者においては可及的緩徐な除水が必要と思われる。

### 論文審査結果の要旨

血液透析hemodialysis (HD)は、血漿中の尿毒症物質の除去や電解質の維持に加えて、循環血液量の調節を目的とする腎代替療法である。通常は、除水による体重の減少に伴い、HD後の患者の血圧は低下する。しかし、透析終了後にむしろ血圧の上昇を示す場合もあり、HDによる循環動態の変動は、個人において多様と考えられる。これまで、HD中の循環血液量circulating blood volume (CBV)についての報告は散見されるが、HD前後での比較についての研究はない。本研究は、HD前後でのCBVの変動を明らかにすることを目的とした。

対象は当院にてHDを行った24例(男性:10名、女性:14名、年齢:  $60.1 \pm 12.3$ 歳、HD期間:  $551.8 \pm 415.6$ 週)である。CBVは、indocyanine greenを用いたパルス式色素希釈法を用いてHDの直前と直後に測定し、その増加率を得た。さらに、循環動態に関わるパラメーターとして、体重、血圧、心拍出量、末梢血管抵抗、血管透過性(plasma refilling rate: PRR)、膠質浸透圧についても測定した。24例全例において、HD後の体重減少が確認された。このうち、15例は予想通りにCBVの減少が見られたが、興味深いことに、9例(38%)においてその増加が観察された。また、CBVの増加率は、年齢と正の相関を示し( $r=0.41, p=0.03$ )、末梢血管抵抗の増加率とは負の相関を示した( $r=-0.31, p=0.048$ )。この末梢血管抵抗の増加率は、年齢と負の相関を示した( $r=-0.37, p=0.018$ )。PRRは、CBVおよび膠質浸透圧と正の相関を示した(各々  $r=0.45, p=0.0436$ ;  $r=0.46, p=0.049$ )。したがって、CBVの増加は、膠質浸透圧の増加と加齢に伴う末梢血管抵抗の減少により、PRRが増加することが主な原因と推測された。さらに、追跡が可能であった16例のうち、生存症例7例にはCBVの増加はなかったが、死亡していた9例中6例はCBVが増加した症例であった。

本研究により、HD後の体重減少すなわち総体液の減少にもかかわらず、CBVがむしろ増加する症例が存在することが明らかになった。また、CBVの増加しない症例に生存例が多い傾向が見られたことから、indocyanine greenを用いたパルス式色素希釈法によるHD患者のCBV変化率の測定により、HD患者の予後を推測できる可能性があることが示唆された。審査の結果、学位論文として価値のあるものと認めた。

氏名 中澤 春政

(学位)	種 類 博士(医学)	論文項目	FRET-based evaluation of Bid cleavage in a single primary cultured neuron
	授与番号 博乙医 第553号		(FRET現象を利用した初代培養神経細胞におけるBid蛋白断裂の評価に関する研究)
	授与年月日 平成25年9月18日	論文審査委員	主査 大木 紫
	授与の要件 学位規程第6条		副査 岡島康友 菅間 博 塩川芳昭 千葉厚郎

## 学位論文の要旨

カスパーゼと呼ばれる一連のプロテアーゼはアポトーシスにおいて中心的役割を担っている。FRET(fluorescence resonance energy transfer)を利用した解析とは、linker proteinの分解により励起光の波長が変わる事を利用して蛋白分解を細胞内で可視化することができる解析方法であり、活性化すると他のカスパーゼを切断するカスパーゼの活性化解析に有用な手法である。過去のFRETを利用した解析の多くは細胞全体の蛍光変化を評価しているが、カスパーゼによる蛋白分解の起きる部位には偏りがあり、その部位での蛍光変化をとらえることがカスパーゼの活性化を定量するうえで重要である。本論文は細胞単位ではなく細胞内の優位な蛍光を示す部位を単位としてFRET解析を行った点に特徴がある。また、FRET解析の報告はプラスミドの細胞内導入が困難なため多代培養細胞を用いたものがほとんどであるが、本研究は初代培養神経細胞を用いてFRET解析を行った初めての報告でもある。

我々は不可逆的なアポトーシス開始を担うと考えられているカスパーゼ8に着目し、活性化カスパーゼ8によって切断されるBid蛋白質の両末端にYFPとCFPという蛍光蛋白を付加した蛋白質を発現させるプラスミドをFRET解析用のプローブとして利用した。ウイスターラットから培養した神経細胞にFRETプローブを導入、培養した細胞に440nmの励起光をあて観察すると、コントロールの神経細胞ではBidが切断されていないためFRETが起き535nm付近の波長でYFPが蛍光するのが確認できた。これに対しスタウロsporinにてアポトーシスを導入した細胞では、Bidが切断されFRETが消失するため480nm付近のCFPの蛍光が確認できた。切断されたBidが移動するミトコンドリア付近でのCFPとYFPが蛍光しているエリアのピクセル数を比較しCFP/YFP比を算出すると、アポトーシスを誘導した細胞で $1.008 \pm 0.134$  (コントロール:  $0.673 \pm 0.024$ ) と有意に高値であった。この結果より、ミトコンドリアに局限してカスパーゼ8の活性化を定量することができたと考えられる。

初代培養細胞を用いてカスパーゼ活性をin situで観察でき、また関心領域における定量化も可能となることを示した本研究の方法論は今後のカスパーゼ活性の研究に有用である。

## 論文審査結果の要旨

価値のあるものと認められた。

〔背景〕カスパーゼと呼ばれる一連のプロテアーゼは、アポトーシスにおいて中心的役割を担っている。FRET (fluorescence resonance energy transfer)を利用した解析とは、linker proteinの分解により励起光の波長が変わる事を利用して蛋白分解を細胞内で可視化することができる方法であり、活性化すると他のカスパーゼを切断するカスパーゼの活性化解析に有用な手法である。しかし過去のFRETを利用した解析の多くは細胞全体の蛍光変化を評価しており、プラスミドの細胞内導入が困難な初代培養細胞の解析は行われていない。本研究ではカスパーゼによる蛋白分解の起きる細胞内部位に偏りがあるという性質を利用し、細胞内の優位な蛍光を示す部位を単位としてFRET解析を行った。これにより、初代培養神経細胞を用いての定量的FRET解析に初めて成功した。

〔方法〕アポトーシスの不可逆的な開始を担うと考えられているカスパーゼ8に着目し、活性化カスパーゼ8によって切断されるBid蛋白質の両末端にYFPとCFP(蛍光蛋白)を付加した蛋白質を発現させるプラスミドを作成、ウイスターラットから培養した神経細胞にこのFRETプローブを導入した。

〔結果〕培養した細胞に440nmの励起光をあて観察すると、コントロールの神経細胞ではBidが切断されていないためFRETが起き、535nm付近の波長でYFPが蛍光するのが確認できた。これに対しスタウロsporinにてアポトーシスを誘導した細胞では、Bidが切断されFRETが消失するため、480nm付近のCFPの蛍光が確認できた。この蛍光は、切断されたBidが移動するミトコンドリア付近で、より強く観察された。そこでこの蛍光が強い部位で、CFPとYFPが蛍光しているエリアのピクセル数を比較し、CFP/YFP比を算出した。この結果アポトーシスを誘導した細胞で $1.008 \pm 0.134$ 、コントロールでは $0.673 \pm 0.024$ であり、アポトーシス誘導細胞で有意に高値であった。

〔考察〕本研究では、ミトコンドリアに局限してカスパーゼ8の活性化を定量することができたと考えられる。初代培養細胞を用いてカスパーゼ活性をin situで観察でき、また関心領域における定量化も可能となることを示した本研究の方法論は今後のカスパーゼ活性の研究に有用と考えられる。

審査の結果、本研究は培養細胞でアポトーシスの開始を初期の段階で有効に検出する方法を確立したものであり、今後麻酔薬の神経毒性の解析等に应用することが期待される。よって学位論文として



氏名 遠藤 英 仁

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Mismatch negativity for speech sounds in temporal lobe epilepsy
	授与番号 博乙医 第554号		(側頭葉てんかん患者における言語音ミスマッチ陰性電位について)
	授与年月日 平成25年10月16日	論文審査委員	主査 大木 紫
	授与の要件 学位規程第6条		副査 塩川芳昭 松田宗男 山田達也 吉野秀朗

### 学位論文の要旨

【目的】大動脈手術において逆行性脳灌流法(cRCP)は脳保護法の一つとして用いられているが、cRCPの至適静脈灌流圧は確立されていない。北堀らは間歇的に持続静脈灌流圧を増強させるIPA-RCPがcRCPに比して脳保護に有効であることを報告した。本研究は、本法を臨床導入することによりcRCPとIPA-RCPの脳保護効果の比較検討を目的とした。

【対象と方法】【対象】2005年1月から2008年10月間に当院で施行した、単独全弓部大動脈置換術20例を対象とした。cRCP10例、IPA-RCP10例。性別は男性11例、女性9例、平均年齢は70歳であった。脳保護法は2005年から2006年間はcRCP、2007年から2008年間はIPA-RCPを使用した。【RCP法】循環停止後RCP開始。cRCPは静脈灌流圧を25mmHgに維持。IPA-RCPは静脈灌流圧20mmHg / 2分間および静脈灌流圧45mmHg / 30秒間を交互に行った。

【方法】cRCPおよびIPA-RCPの2群に分類し比較検討。(1)臨床結果、(2)  $rSO_2$ 値:  $rSO_2$ はRCP開始後10分間隔(n=0,10,20,30,40,50,60,70,80分)で測定。(3)  $rSO_2$ 低下率; 低下率は、 $[rSO_2 (n=0分) - rSO_2 (n=x分)] / rSO_2 (0分) ] \times 100\%$ で算出した。局所脳内酸素飽和度( $rSO_2$ )は、近赤外線分光法を使用した。

【結果】【臨床結果】両群間で麻酔時間および麻酔薬与量に有意差を認めなかった。麻酔覚醒時間は有意にIPA-RCP群が短時間であった。手術死亡および術後中枢神経障害は両群ともに認めなかった。

【 $rSO_2$ 値】n=0分の $rSO_2$ 値に有意差はなかったが、n=10から70分の各 $rSO_2$ 測定値は有意にIPA-RCPが高値であった。

【 $rSO_2$ 低下率】cRCPの $rSO_2$ 曲線は、RCP開始直後より急激に低下し、徐々にRCP終了時まで低下を認めた。IPA-RCPの $rSO_2$ 曲線は、低静脈灌流圧時に低下、高静脈灌流圧時に上昇する鋸歯状変化を認めた。 $rSO_2$ 低下率は、各測定時間全てにおいてIPA-RCP群が有意差に低値であった。

【結語】IPA-RCPはcRCPと比較し、圧上昇時一過性に脳内 $rSO_2$ 上昇効果を認め、循環停止中の脳内 $rSO_2$ 低下抑制効果により、より良い臨床効果をもたらすと考えられた。

### 論文審査結果の要旨

のあるものと認められた。

【目的】大動脈手術において逆行性脳灌流法(cRCP)は脳保護法の一つとして用いられている。北堀らは間歇的に持続静脈灌流圧を増強させるIPA-RCPがcRCPに比して脳保護に有効であることを報告した。本研究はIPA-RCPを臨床導入し、cRCPとIPA-RCPの脳保護効果の比較検討を行うことを目的とした。

【対象と方法】2005年1月から2008年10月間に当院で施行した単独全弓部大動脈置換術20例を対象とした。cRCPは10例(2005-2006年)、IPA-RCPは10例(2007-2008年)である。性別は男性11例、女性9例、平均年齢は70歳であった。全例で循環停止後、RCPを開始した。cRCPは静脈灌流圧を25mmHgに維持。IPA-RCPは静脈灌流圧20mmHg / 2分間および静脈灌流圧45mmHg / 30秒間を交互に繰り返した。cRCPおよびIPA-RCPの2群に分類し、以下の項目を比較検討した。(1)臨床結果; 灌流時間、大動脈遮断時間、麻酔時間、麻酔薬投与量、術後麻酔覚醒時間等を用いた。(2)  $rSO_2$ 値; 局所脳内酸素飽和度( $rSO_2$ )を、近赤外線分光法を使用して計測した。 $rSO_2$ はRCP開始後10分間隔(0-80分)で測定した。(3)  $rSO_2$ 低下率;  $(rSO_2 (0分) - rSO_2 (x分)) / rSO_2 (0分) \times 100\%$ で算出した。

【結果】両群間で麻酔時間および麻酔薬与量に有意差を認めなかった。また、手術死亡および術後中枢神経障害は両群ともに認めなかった。麻酔覚醒時間はIPA-RCP群で、有意に短時間であった。RCP開始直後の $rSO_2$ 値に有意差はなかったが、10から70分の各 $rSO_2$ 測定値は、IPA-RCP群で有意に高値であった。cRCPの $rSO_2$ 値は、RCP開始直後より急激に低下し、更にRCP終了時まで徐々に低下を認めた。IPA-RCPの $rSO_2$ 値は、低静脈灌流圧時に低下、高静脈灌流圧時に上昇する鋸歯状変化を認めた。しかし低静脈灌流時の値を用いた場合にも、 $rSO_2$ 低下率は各測定時間全てにおいてIPA-RCP群で有意に低値であった。

【結語】IPA-RCPはcRCPと比較し、圧上昇時一過性に脳内 $rSO_2$ 上昇効果を認めた。更に圧低下時にも $rSO_2$ 値がより高値に保たれ、IPA-RCPにおける $rSO_2$ の底上げ効果が認められた。この循環停止中の脳内 $rSO_2$ 低下抑制効果により、覚醒時間短縮等のより良い臨床効果をもたらすと考えられた。

本研究は動物実験で開発されたIPA-RCPの、臨床的な有用性を検証・確認したものである。今後順行性灌流法も含め、最適な灌流法の開発・選択肢の拡大につながるものであり、学位論文として価値

## 学位論文要旨および審査要旨

氏名 小長井 ちづる

(学位)	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Effects of Krill Oil Containing N3 Polyunsaturated Fatty Acids in Phospholipid Form on Human Brain Function: A Randomized Controlled Trial in Healthy Elderly Volunteers
	授与番号 博乙医 第555号		(n-3系多価不飽和脂肪酸をリン脂質の形態で含有するクリルオイルがヒトの脳機能に与える効果:健康高齢者におけるランダム化比較試験)
	授与年月日 平成25年12月18日	論文審査委員	主査 石田 均
	授与の要件 学位規程第6条		副査 岡島康友 松田宗男 木崎節子 神崎恒一

## 学位論文の要旨

n-3系多価不飽和脂肪酸 (n-3 PUFA) の多くをリン脂質として含有するクリルオイル (オキアミオイル) の継続摂取が健康高齢者の脳機能に与える影響を、近赤外線分光法 (NIRS) および脳波の測定により検討した。

試験デザインは二重盲検並行群間比較試験法を採用した。対象は、ヘルシンキ宣言に基づき研究目的について文書および口頭にて説明し、協力に同意を得た61~72歳 (平均年齢67.1±3.4歳) の右手利き健康男性45名とした。被験者は3群 (各15名) に分け、中鎖脂肪酸油 (MCT; プラセボ)、クリルオイル (KO)、イワシオイル (SO) のいずれかの試料を1日2g、連続する12週間摂取させた。摂取開始前、6週後、12週後に、記憶課題遂行中のNIRSによる前頭部の酸素化ヘモグロビン (oxy-Hb) 濃度変化と脳波事象関連電位P300の同時測定、ならびに計算課題中のoxy-Hb濃度変化の測定を行なった。また、食物摂取頻度調査、身長・体重・血圧測定、末梢血液検査および尿一般検査、血漿中脂肪酸測定を実施した。摂取期間終了までに計3名が途中脱落したため、MCT群15名、KO群13名、SO群14名のデータを解析対象とした。脱落理由はいずれも試料摂取とは直接の因果関係はないものと判断された。なお、本研究は杏林大学医学部倫理委員会の承認を得て施行した。

記憶課題については、摂取期間12週において、SO群、KO群はMCT群に比し課題遂行中のoxy-Hb濃度変化が有意に大きい部位がみられ、とくにKO群で顕著であった。また事象関連電位は、P300の潜時が、摂取期間12週においてKO群がMCT群よりも有意に短かった。計算課題についても、摂取期間12週ではKO群はMCT群に比べて有意にoxy-Hb濃度が大きい部位がみられた。血漿中EPA濃度は、SO群では試料摂取により有意に上昇した。

以上の結果より、n-3 PUFAを多く含有するKOおよびSOは高齢者の脳機能を賦活する可能性があることが示唆された。さらに、KOはSOと比較し脳機能をより賦活する効果があると考えられた。この効果の差異には、両者のn-3 PUFAの分子形態の相違が関与し、n-3 PUFAのほとんどをトリアシルグリセロールの形態で含むSOよりも、多くをリン脂質として含むKOの方が、効率良く機能するものと推測された。

## 論文審査結果の要旨

本論文は、n-3系多価不飽和脂肪酸 (n-3 PUFA) の多くをリン脂質として含有するクリルオイル (オキアミオイル) の継続摂取が健康高齢者の脳機能に与える影響を、近赤外線分光法 (NIRS) および脳波の測定により検討したものである。

試験デザインとしては、二重盲検並行群間比較試験法を採用した。対象は61~72歳 (平均年齢67.1±3.4歳) の右手利き健康男性45名としている。被験者を3群 (各15名) に分け、中鎖脂肪酸油 (MCT; プラセボ)、クリルオイル (KO)、イワシオイル (SO) のいずれかの試料を1日2g、連続する12週間摂取させ、摂取開始前、6週後、12週後に、記憶課題遂行中のNIRSによる前頭部の酸素化ヘモグロビン (oxy-Hb) 濃度変化と脳波事象関連電位P300の同時測定、ならびに計算課題中のoxy-Hb濃度変化の測定を行なった。また、食事摂取頻度調査、身長・体重・血圧測定、末梢血液検査および尿一般検査、血漿中脂肪酸測定を実施した。

その結果、記憶課題については、摂取期間12週において、SO群、KO群はMCT群に比し課題遂行中のoxy-Hb濃度変化が有意に大きい部位がみられ、とくにKO群で顕著であった。また事象関連電位は、P300の潜時が、摂取期間12週においてKO群がMCT群よりも有意に短かった。計算課題についても、摂取期間12週ではKO群はMCT群に比べて有意にoxy-Hb濃度が大きい部位がみられた。血漿中EPA濃度は、SO群では試料摂取により有意に上昇した。

今回の成績は、n-3 PUFAを多く含有するKOおよびSOは高齢者の脳機能を賦活する可能性があることを示唆している。さらにKOはSOと比較して脳機能をより賦活する効果があると考えられた。この効果の差異には、両者のn-3 PUFAの分子形態の相違が関与し、n-3 PUFAのほとんどをトリアシルグリセロールの形態で含むSOよりも、多くをリン脂質として含むKOの方が、効率良く機能するものと推測された。

高齢化社会を迎えているわが国の現状のなかで、本論文は臨床的に興味ある知見を有しており、審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 石井直樹

〈学位〉	種類 博士(医学)	論文項目	Endoscopic band ligation (EBL) for colonic diverticular hemorrhage
	授与番号 博乙医 第556号		(大腸憩室出血に対しての内視鏡的結紮術)
	授与年月日 平成26年1月15日	論文審査委員	主査 正木忠彦
	授与の要件 学位規程第6条		副査 大倉康男 神崎恒一 呉屋朝幸 角田 透

### 学位論文の要旨

背景：高齢化と抗血小板薬の頻用で大腸憩室出血は増加傾向である。日本含めたアジア圏では右側結腸憩室からの出血が多く、しかも出血量も多い。日本の多くの施設で施行されているクリップ法では34%で再出血を生じる。さらに12%の症例クリップ法不応外科的切除経動脈的塞栓術（TAE）内視鏡以外の治療を有用な内視鏡的止血術が求められている。今回我々は食道静脈瘤出血に内視鏡的止血術として有用である内視鏡的結紮術（Endoscopic band ligation: EBL）を用いて大腸憩室出血に止血を、その安全性と有用性を検討した。

方法：EBL deviceは大腸憩室出血に対しての適応がないために倫理委員会の承認のもと、活動性出血、露出血管、凝血塊を有する大腸憩室出血患者29人、31病変を対象とした。EBL手技：ポリエチレングリコールによる前処置を行い、緊急大腸内視鏡検査を施行した。出血憩室の確認後、クリップによるマーキングを行い内視鏡を一旦抜去した。その後、EBL装置を内視鏡先端に装着、再挿入し、EBLを行った。EBLが不成功の場合にはエピネフリン液の局注、もしくはクリップ法による止血術を行った。施行時間、止血率、再出血率、合併症について後ろ向きに検討した。

結果：平均施行時間は47±19分であった。EBLは27病変（87%）に成功した。憩室開口部が小さくかつ奥行き大きい3病変と開口部が巨大である1病変では不成功であった。再出血は27病変中4病変（11%）で認められた。S状結腸の再出血2病変は再EBLもしくは保存的加療された。上行結腸の再出血症例は再度の内視鏡検査で治療憩室からの再出血が明らかではなかったが、患者の希望で右半結腸切除術が施行された。経過観察の内視鏡検査が施行された11例中7例でEBL施行部位の癒着化が確認された。全症例でEBLによる合併症は認められなかった。

考察：EBLは止血効果が高く、再出血率の低い内視鏡的止血術。クリップ法で不応上行結腸憩室出血に対しても有用であり、出血形態にも影響は受けなかった。またEBL後に原因憩室が消失する遅発性出血を予防できる可能性もある。またEBL後に穿孔や膿瘍形成合併症は認められていない。増加傾向大腸憩室出血に新たな内視鏡的止血術期待。

結論：EBLは大腸憩室出血に対して安全かつ有用な治療法であり、クリップ法等の内視鏡的止血術に多施設でのさらなる症例の蓄積が望まれる。

### 論文審査結果の要旨

高齢化と抗血小板薬の頻用で大腸憩室出血は増加傾向である。日本含めたアジア圏では右側結腸憩室からの出血が多く、しかも出血量も多い。日本の多くの施設で施行されているクリップ法では34%で再出血を生じる。さらに12%の症例においてはクリップ法が不応のため外科的切除や経動脈的塞栓術（TAE）などの内視鏡以外の治療を要することから、より有用な内視鏡的止血術が求められている。今回申請者らは食道静脈瘤出血に対する内視鏡的止血術として有用である内視鏡的結紮術（Endoscopic band ligation: EBL）を用いて大腸憩室出血に対する止血を試み、その安全性と有用性を検討した。

尚、EBL deviceは大腸憩室出血に対しての保険適応がないために倫理委員会の承認のもとに本研究を施行した。対象は活動性出血、露出血管、凝血塊を有する大腸憩室出血患者29人、31病変である。まずポリエチレングリコールによる前処置を行い、緊急大腸内視鏡検査を施行した。出血憩室の確認後、クリップによるマーキングを行い内視鏡を一旦抜去した。その後、EBL装置を内視鏡先端に装着、再挿入し、EBLを行った。EBLが不成功の場合にはエピネフリン液の局注、もしくはクリップ法による止血術を行った。施行時間、止血率、再出血率、合併症について後ろ向きに検討した。

その結果、平均施行時間は47±19分であった。EBLは27病変（87%）に成功したが、憩室開口部が小さくかつ奥行き大きい3病変と開口部が巨大である1病変では不成功であった。再出血は27病変中3病変（11%）で認められ、S状結腸の再出血2病変は再EBLもしくは保存的に加療された。上行結腸の再出血症例は再度の内視鏡検査で治療憩室からの再出血が明らかではなかったが、患者の希望で右半結腸切除術が施行された。経過観察の内視鏡検査が施行された11例中7例でEBL施行部位の癒着化が確認された。また全症例でEBLによる合併症は認められなかった。

今回の研究により、EBLは止血効果が高く、再出血率の低い内視鏡的止血術であることが明らかとなった。クリップ法で不応の上行結腸憩室出血に対しても有用であり、出血形態にも影響は受けなかった。またEBL後に穿孔や膿瘍形成などの合併症は認めず、さらにEBL後には高率に原因憩室が消失することから遅発性出血を予防できる可能性も示唆された。EBLは、現在本邦において増加傾向にある大腸憩室出血に対する新たな内視鏡的止血術になりうるものが

期待される。

本研究の成果は、大腸憩室出血に対する今後の治療に大いに貢献するものと考えられることより、審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 諏訪部 達也

(学位)	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Clinical features of cyst infection and hemorrhage in ADPKD: new diagnostic criteria
	授与番号 博乙医 第557号		
	授与年月日 平成26年1月15日		(常染色体優性多発性嚢胞腎における嚢胞感染と嚢胞出血の臨床的特徴:新しい診断基準)
	授与の要件 学位規程第6条	論文審査委員	主査 大野秀樹 副査 奴田原紀久雄 呉屋朝幸 神谷 茂 河合 伸

## 学位論文の要旨

【背景】常染色体優性多発性嚢胞腎(ADPKD)患者において、嚢胞感染と嚢胞出血は頻度の高い重篤な合併症で、致命的になることもある。しかし、その鑑別はしばしば困難である。本研究では、ADPKD患者の嚢胞感染と嚢胞出血の臨床的特徴を明らかにし、診断基準を確立して的確な治療につなげることを目的とした。

【方法】2004年1月から2011年10月までに虎の門病院に入院したADPKD患者のうち、明確な嚢胞感染または嚢胞出血を来し、発症から30日以内に拡散強調画像(DWI)を含む腹部MRI検査を受けた患者のみを対象にした。明確な嚢胞感染患者とは嚢胞ドレナージ後の嚢胞液培養から起病菌の検出された患者、明確な嚢胞出血患者とは発症起点が明確で画像にて血腫を認め、抗生剤治療を受けずに改善した患者と定義した。対象患者の臨床症状、血液検査データ、CT/MRI画像を比較分析した。

【結果】嚢胞感染患者24人(36嚢胞)、嚢胞出血患者12人(13嚢胞)を対象とした。最高体温、最高白血球数、最高CRP値の中央値(四分位点)は、嚢胞感染患者[39.0 (38.5-39.6)℃, 13200 (10250-19050) /  $\mu$ l, 22.0 (18.4-27.3) mg/dl], 嚢胞出血患者[37.2 (36.9-37.4)℃, 6860 (5875-9325) /  $\mu$ l, 3.4 (0.4-10.6) mg/dl]で、全て両群で $p < 0.001$ の有意差が認められた。カットオフ値は、体温 $> 38^\circ\text{C}$ 、白血球数 $> 10,000 / \mu\text{l}$ 、血清CRP値 $> 15.0\text{mg/dl}$ で、嚢胞感染では全ての患者が2項目以上を満たし、嚢胞出血では2項目以上満たす患者はいなかった。嚢胞出血患者全員が、CTにて嚢胞内全体あるいは腫瘍性領域(血腫)が高CT値( $> 25\text{HU}$ )を呈し、全員に腹痛(92.3%)か肉眼的血尿(84.6%)が見られた。一方、嚢胞感染患者では、腹痛(58.6%)、膿尿(42.9%)と有意に頻度は低く、CTにて高CT値( $> 25\text{HU}$ )は呈さず、全ての患者においてMRI(DWI)にて嚢胞内高輝度(嚢胞内輝度/骨格筋輝度 $> 4$ )、嚢胞内ニボー像、嚢胞壁肥厚像、嚢胞内ガス像のうちいずれかあるいは複数の所見を有していた。嚢胞感染患者全員に、MRI画像での発症前後の嚢胞の経時的な変化が認められた。

【結論】ADPKDに伴う嚢胞出血と嚢胞感染は、腹痛、肉眼的血尿、最高体温、最高白血球数、最高CRP値、CT上の嚢胞内高CT値、MRI上の嚢胞内高輝度、ニボー像、壁肥厚像、ガス像の有無、経時的変化を組み合わせることによって診断が可能である。

## 論文審査結果の要旨

常染色体優性多発性嚢胞腎 (autosomal dominant polycystic kidney disease: ADPKD) 患者では、嚢胞感染と嚢胞出血は代表的な合併症であり、時に致命的になる。しかし、その鑑別は困難な場合が少なくない。本研究は、ADPKD 患者の嚢胞感染と嚢胞出血の臨床的特徴を明らかにし、診断基準を確立して的確な治療に結びつけることを目的としたものである。

2004年1月から2011年10月までに虎の門病院に入院した ADPKD 患者207名のうち、明確な嚢胞感染あるいは嚢胞出血を呈し、発症から30日以内に拡散強調画像 (diffusion-weighted image: DWI) を含む腹部 MRI 検査を受けた患者のみを対象にした。明確な嚢胞感染患者とは嚢胞ドレナージ後の嚢胞培養液から起病菌が検出された患者であり、一方、明確な嚢胞出血患者とは発症起点が明らかで、画像によって血腫を認め、抗生剤治療を受けずに改善した患者と定義した。対象患者の臨床症状、血液検査データ、CT/MRI 画像を比較検討した。

嚢胞感染患者24名 (36嚢胞)、嚢胞出血患者12名 (13嚢胞) を対象とした。最高体温、最高白血球数、最高 CRP 値の中央値(四分位点)は、嚢胞感染患者でそれぞれ39.0 (38.5-39.6) °C, 13,200 (10,250-19,050) /  $\mu$ l, 22.0 (18.4-27.3) mg/dl であり、嚢胞出血患者ではそれぞれ37.2 (36.9-37.4) °C, 6,860 (5,875-9,325) /  $\mu$ l, 3.4 (0.4-10.6) mg/dl であった。すべて両群に有意差が認められた ( $P < 0.001$ )。カットオフ値を体温 $> 38^\circ\text{C}$ 、白血球数 $> 10,000 / \mu\text{l}$ 、血清 CRP 値 $> 15.0\text{mg/dl}$  とすると、嚢胞感染ではすべての患者が2項目以上を満たし、他方、嚢胞出血では2項目以上を満たす患者はみられなかった。嚢胞出血患者全員が、CT 検査で嚢胞内全体または腫瘍性領域 (血腫) に高 CT 値 ( $> 25\text{HU}$ ) を示し、少なくとも腹痛 (92.3%) か肉眼的血尿 (84.6%) のどちらかを有した。嚢胞感染患者では、これらの所見の程度は小さかったものの、MRI (DWI) 検査による嚢胞内高輝度 (嚢胞内輝度/骨格筋輝度 $> 4$ )、嚢胞内ニボー像、嚢胞壁肥厚像、嚢胞内ガス像の少なくとも1つ以上の所見を有していた。嚢胞感染患者全員に、MRI 画像による嚢胞の経時的変化が認められた。

ADPKD に伴う嚢胞出血と嚢胞感染は、腹痛、肉眼的血尿、最高体温、最高白血球数、最高 CRP 値、嚢胞内高 CT 値、MRI 上の嚢胞内高輝度、ニボー像、壁肥厚像、ガス像、経時的変化を組み合わせることによって鑑別診断が可能となり、本研究は臨床的に興味ある知見を提供し、審査の結果、学位論文として価値あるものと認められた。

氏名 池田勝紀

〈学位〉	種類 博士(医学)	論文項目	ドクターカーに搭載した標準12誘導心電図所見を加味した急性冠症候群の病院前診断の有用性に関する研究
	授与番号 博乙医 第558号		
	授与年月日 平成26年1月15日	論文審査委員	主査 野村英樹
	授与の要件 学位規程第6条	副査	櫻井裕之 大野秀樹 佐藤 徹 布川雅雄

### 学位論文の要旨

【緒言】急性冠症候群(Acute Coronary Syndrome, ACS)は早期診断が重要であり、病院前標準12誘導心電図(Prehospital 12-Lead electrocardiogram, PEKG)を用いた病院前診断が推奨されているが、本邦ではその診断特性の報告はなく、搬送先医療機関での経皮的冠動脈形成術(Percutaneous Coronary Intervention, PCI)を主とした治療関連の予後改善効果は明らかではない。本研究では、ドクターカー搭乗医師によるPEKGに基づく病院前診断特性と、PEKG導入による生存率改善効果を検討する。

【方法】PEKGに基づく病院前診断特性に関する研究デザインは、住民対象横断研究である。2005年2月からの2年間に、「胸痛、冷汗、40歳以上」を満たす救急要請に船橋市ドクターカー(Funabashi Doctor Car, FDC)を派遣し、PEKGを用いた病院前診断を行った患者を対象とした。搬送先医療機関での臨床的最終診断を参照基準とし、ACSに関する診断特性を検討した。また、PEKG導入による生存率改善効果に関する研究も同じ患者を対象とし、研究デザインは、ヒストリカルコントロールを用いた非ランダム化比較試験である。2002年度の船橋市救急搬送調査結果から、FDC出動患者の中から同様の救急要請を満たした患者を抽出し対照とし、発症30日以内の全死亡を主要エンドポイントとし比較検討を行った。

【結果】PEKG群226例のACSに対するPEKGに基づく病院前診断特性は、感度96.2%、特異度62.5%、陽性的中率69.4%、陰性的中率94.9%、陽性尤度比2.57、陰性尤度比0.06であった。各群の全死亡はそれぞれ6.2%と19.4%(オッズ比0.28, 95% CI. 0.12-0.64)であるが、対照群が62例と少なく、ヒストリカルコントロールの抽出にバイアスが生じた可能性がある。

【結論】PEKGに基づく病院前診断は、搬送先選定の際のスクリーニングに有用である。PEKG導入による生存率改善効果については、前向き前後比較研究など極力バイアスを排した研究が必要である。

### 論文審査結果の要旨

本論文は、1)ドクターカーに搭乗した医師による病院前標準12誘導心電図(PEKG)を用いた現場診断の急性冠症候群(Acute Coronary Syndrome, ACS)に対する診断特性と、2)そのシステム上の介入が胸痛を訴える40歳以上の救急搬送症例の生命予後に与える影響を検討したものである。本論文では、上記の目的に対して1)住民対象横断研究と、2)ヒストリカルコントロールを用いた非ランダム化比較試験の研究デザインを採用している。

1)の対象は、2005年2月からの2年間に、「胸痛、冷汗、40歳以上」を満たす救急要請に船橋市ドクターカー(Funabashi Doctor Car, FDC)を派遣し、PEKGを用いた病院前診断を行った患者であり、搬送先医療機関での臨床的最終診断をゴールドスタンダードとしている。PEKG群226例のACSに対するPEKGに基づく病院前診断特性は、感度96.2%、特異度62.5%、陽性的中率69.4%、陰性的中率94.9%、陽性尤度比2.57、陰性尤度比0.06であった。

2)の研究も、1)と同じ患者を対象とし、2002年度の船橋市救急搬送調査結果からFDC出動患者の中から同様の救急要請を満たした患者を抽出して対照とし、主要エンドポイントを発症30日以内の全死亡に設定して、比較検討を行っている。その結果、PEKG群の全死亡は6.2%、ヒストリカルコントロール群のそれは19.4%(オッズ比0.28, 95% CI. 0.12-0.64)であったが、対照群が62例と少なく、ヒストリカルコントロールの抽出にバイアスが生じた可能性があったとしている。

これらの結果から筆者は、PEKGに基づく病院前診断は陰性的中率が高いことから搬送先選定の際のスクリーニングに有用であると結論付けているが、PEKG導入による生存率改善効果については、前向き前後比較研究など極力バイアスを排した研究を待つ必要があるとしている。

ACSの診療では早期診断が重要であり、PEKGを用いた病院前診断がガイドラインで推奨されているものの、本邦ではその診断特性の報告がないことから、本研究は一定の重要な知見をもたらしたものと見え、審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 田 中 伸一郎

(学位)	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	統合失調症様の微細な異質性がみられた遷延性うつ病
	授与番号 博乙医 第559号		——多次元精神医学の見地から
	授与年月日 平成26年2月19日	論文審査委員	主査 赤木美智男
	授与の要件 学位規程第6条	副査	丑丸 真 小林富美恵 永根基雄 野村英樹

## 学位論文の要旨

本研究では、過去3年間に杏林大学病院精神神経科に入院した男性患者170例の中から、数年にわたってうつ病の外來治療を受けても抑うつ症状が遷延し、入院後に「病前性格-発病状況/ライフイベント-病像-心理検査所見-治療への反応-経過」からなる多面的な評定によって「統合失調症様の微細な異質性がみられた遷延性うつ病」と診断された15例を対象として調査を行い、次のことが判明した。初診時の年齢は $34.3 \pm 10.0$ 歳、抑うつ症状の発症年齢は $29.5 \pm 8.5$ 歳、初診から初回入院までの期間は $4.9 \pm 3.4$ 年であった。病前性格は統合失調気質 (Kretschmer) の3標識の2つ以上を満たす「スキゾイド傾向」であり、一見些細にも思えるストレス状況やライフイベントで過敏性が刺激され、破綻を来していた。病像は、意欲減退を中心とした抑うつ状態 (DSM-IV-TRにおける大うつ病エピソードを満たす) に加え、執拗に訴えられるが明細に説明されない身体愁訴、葛藤の内容がはっきりとわからない自殺企図、これまでの生き方や元来のパーソナリティ特性とは結びつかない尊大とも思える言動、表面的で奥行きのない会話や単調で平板な応答などがみられた。心理検査のうち、WAIS-IIIや風景構成法 (LMT) において、病前の社会適応水準から期待されるよりも低下している認知機能障害 (統合失調症様の質的異常を示唆している可能性がある) が確認された。薬物療法は、臨床的な示唆の段階に留まるが、効果が不十分であった抗うつ薬から抗精神病薬へと変更され、過敏性を基盤とする症状、意欲減退などに対して効果的であったと考えられた。経過は、2例が自殺既遂し、また、3例が降格、4例がデイケアや作業所に通所するなど、統合失調症患者に準じた社会復帰をめざすようになっていた。さらに、以上の調査結果と呈示症例を中心とした精神病理学的な考察から、「統合失調症様の微細な異質性」として、尊大さと単調さ、敏感と鈍感などの奇妙な配合が再現性をもって出現する、患者が苦悩を言語化できないのに応じて治療者が精神病性の逆転移感情を抱き、その背景には論理の飛躍、具象化傾向などの思考障害が存在している、身体愁訴において偽神経症性の特徴が認められる、元来のパーソナリティ特性、抑うつ状態の重症度からは予測しがたい唐突な自殺の危険がある、などが抽出された。

## 論文審査結果の要旨

本論文は、数年にわたってうつ病の外來治療を受けても抑うつ症状が遷延するために入院した患者の中に、「統合失調症様の微細な異質性」が認められる一群が存在することを指摘したものである。過去3年間に杏林大学医学部付属病院精神神経科に入院した男性患者170例 (今回は男性患者のみを対象とした) の中から、数年にわたってうつ病の外來治療を受けても抑うつ症状が遷延し、入院後に「病前性格-発病状況/ライフイベント-病像-心理検査所見-治療への反応-経過」からなる多面的な評定によって「統合失調症様の微細な異質性がみられた遷延性うつ病」と診断された15例を対象として調査を行い、次のことが判明した。

初診時の年齢は $34.3 \pm 10.0$ 歳、抑うつ症状の発症年齢は $29.5 \pm 8.5$ 歳、初診から初回入院までの期間は $4.9 \pm 3.4$ 年であった。病前性格は統合失調気質 (Kretschmer) の3標識の2つ以上を満たす「スキゾイド傾向」であり、一見些細にも思えるストレス状況やライフイベントで過敏性が刺激され、破綻を来していた。病像は、意欲減退を中心とした抑うつ状態 (DSM-IV-TRにおける大うつ病エピソードを満たす) に加え、執拗に訴えられるが明細に説明されない身体愁訴、葛藤の内容がはっきりとわからない自殺企図、これまでの生き方や元来のパーソナリティ特性とは結びつかない尊大とも思える言動、表面的で奥行きのない会話や単調で平板な応答などがみられた。心理検査のうち、WAIS-IIIや風景構成法 (LMT) において、病前の社会適応水準から期待されるよりも低下している認知機能障害 (統合失調症様の質的異常を示唆している可能性がある) が確認された。さらに、以上の調査結果と呈示症例を中心とした精神病理学的な考察から、「統合失調症様の微細な異質性」として、①尊大さと単調さ、敏感と鈍感などの奇妙な配合が再現性をもって出現する、②患者が苦悩を言語化できないのに応じて治療者が精神病性の逆転移感情を抱き、その背景には論理の飛躍、具象化傾向などの思考障害が存在している、③身体愁訴において偽神経症性の特徴が認められる、④元来のパーソナリティ特性、抑うつ状態の重症度からは予測しがたい唐突な自殺の危険がある、などの特徴が抽出された。薬物療法は、臨床的な示唆の段階に留まるが、効果が不十分であった抗うつ薬から抗精神病薬へと変更され、過敏性を基盤とする症状、意欲減退などに対して効果的であったと考えられた。経過は、2例が自殺既遂し、3例が職場における降格、4例がデイケアや作業所に通所するなど統合失調症患者に準じた社会復帰をめざすようになっていた。

本研究は、対象が男性患者のみで、一連の研究の第一段階と位置づけられるものではあるが、DSM-IV-TRの大うつ病の診断基準を満たす遷延性うつ病患者の中に「統合失調症様の微細な異質性」を持った一群が特徴づけられ、統合失調症に準ずる治療介入を行うことにより予後の改善が期待しうることを示したもので、学位論文として価値あるものと認めた。

## 学位論文要旨および審査要旨

氏名 蘇 焜 文

(学位)	種 類 博士(医学)	論 文 項 目	Analyzing the contribution of smoking, alcohol consumption and voice abuse to the severity of polypoid corditis via Yonekawa's classification and phonatory function tests
	授与番号 博乙医 第560号		(米川分類と音声機能評価に基づく、ポリープ様声帯に喫煙、
	授与年月日 平成26年2月19日		飲酒および音声酷使が及ぼす影響に関する研究)
	授与の要件 学位規程第6条	論文審査委員	主査 大野秀樹
			副査 滝澤 始 佐藤 徹 山本 実 川上速人

### 学位論文の要旨

目的：ポリープ様声帯の増悪に関与する最も重要な臨床因子が喫煙であることは多くの研究によって示されてきた。これまでの研究では、質的な見地から臨床的な危険因子とポリープ様声帯の関連性に焦点が当てられてきたが定量的な検討は行われていない。本研究の目的は、定量的な解析を用いて米川分類によるポリープ様声帯の重症度と、喫煙、飲酒と音声酷使との関連性を明らかにすることである。さらに、空気力学的検査と線形回帰分析を用いて、音声機能と喫煙関連因子の関連性についても検討した。

対象と方法：2000年7月から2008年5月までの間に、国際医療福祉大学東京ボイスセンターにおいて行われた診療記録を後ろ向きに検討した。171例（男性62、女性109）がポリープ様声帯と診断された。米川によって提唱された分類（米川分類）に基づいてポリープ様声帯における声帯の浮腫性変化の重症度を3段階に分類した。まず、ポリープ様声帯の重症度と喫煙関連因子に関する統計学的な検討を行った。次いで、ポリープ様声帯の重症度と、飲酒や音声酷使を含む臨床的危険因子との相関を調べた。最後にポリープ様声帯手術前後の音声機能と喫煙関連因子との関連性について検討した。

結果：（1）一元配置分散分析を行った結果、一日平均の喫煙本数とポリープ様声帯の重症度には有意な相関を認めなかった（ $F=1.103$ ;  $P=0.334$ ）。同様に喫煙年数とポリープ様声帯の重症度にも有意な相関を認めなかった（ $F=2.947$ ;  $P=0.055$ ）。一方、Brinkman Index とポリープ様声帯の重症度には有意な相関を認めた（ $F=3.278$ ;  $P=0.04$ ）。（2）カイ2乗分析を行った結果、飲酒歴とポリープ様声帯の重症度には有意な相関を認めなかった（ $P=0.495$ ）。しかしながら、音声酷使とポリープ様声帯の重症度には有意な相関を認めた（ $P=0.019$ ）。（3）線形回帰分析の結果、一日平均の喫煙本数、喫煙年数、そしてBrinkman Index という喫煙関連因子と、基本周波数、最高周波数、最低周波数という音響分析結果は、回帰分析のP値（F検定）にて相関を認めた。（4）喫煙年数とBrinkman Index は、手術1か月後および3か月後の基本周波数および最高周波数と正の相関を認めた。

以上より、Brinkman Index と声帯酷使はポリープ様声帯の重症度判定に有用と考えられた。

### 論文審査結果の要旨

ポリープ様声帯は声帯全長にわたり浮腫状に腫大した状態である。従来の研究は、定性的な観点から臨床的危険因子とポリープ様声帯との関連性を検討してきたが、定量的研究はほとんど行われていなかった。本研究は、米川分類によるポリープ様声帯の重症度と、喫煙、飲酒および音声酷使との関連性を定量的に明らかにすることを目的にしたものである。

2000年7月から2008年5月までに国際医療福祉大学東京ボイスセンターでポリープ様声帯と診断された171名の患者（男性：62名、女性：109名）の浮腫性変化の重症度を、米川分類によって3段階に分類した。1日の喫煙本数とポリープ様声帯の重症度との間には有意な相関はみられなかったが、喫煙年数とは相関傾向（ $P=0.06$ ）が、Brinkman Index とは有意な相関（ $P=0.04$ ）が認められた。一方、飲酒歴とポリープ様声帯の重症度には有意な相関が観察されなかったが、音声酷使との間には有意な関連性がみられた（ $P=0.02$ ）。加えて、各喫煙関連因子と音声機能（平均周波数、最高周波数、最低周波数）との間にも有意な相関を認め（ $P<0.002$ ）、手術後（1、3か月後）も特に喫煙年数、Brinkman Index と平均周波数、最高周波数の間に有意な関連性（ $P<0.04$ ）がみられ、喫煙関連因子が音声機能の予後と関連する可能性が示唆された。

本研究は、ポリープ様声帯の重症度と各危険因子との関係を定量的に明らかにし、その結果、喫煙年数、Brinkman Index と音声酷使が重症度判定に有用となり、臨床的に興味ある知見を提供したことから、審査の結果、学位論文として価値あるものと認められた。

## 〔博士（保健学）〕

氏名 鈴木 輝 美

（学位）	種 類 博士（保健学）	論 文 項 目	視覚モダリティーがレジスタンストレーニング時の精神的ストレスと身体的疲労に与える影響
	授与番号 博甲保 第40号		
	授与年月日 平成26年3月31日	論文審査委員 主査 丹羽正敏	
	授与の要件 学位規程第5条	副査 村椿春博 潮見泰藏 上谷いつ子	

## 学位論文の要旨

生活習慣病の予防と治療のため、継続的な運動の必要性が認識されている。また、身体的な側面のみならず、精神的な改善も報告され運動の有効性は知られている。しかし、運動の効果を理解しても、自身の運動を継続することへの動機は高まらず、実際には継続することが困難な現状がある。医学的リハビリテーションにおける患者は、すでに多くのストレスを抱えているにも関わらず、運動によって生体にストレスを負荷されることになる。対象者の多くは高齢であり、運動習慣が無く、運動そのものに嫌悪感を生じる場合もあり、治療として必要な運動プログラムからドロップアウトする患者も少なくない。

このような状況を踏まえ、運動療法そのものではなく、環境の変化によるストレス緩和が生理的な指標で解明できれば、医学的リハビリテーション分野のみならず、高齢者を対象とする福祉分野や中高年の健康増進目的の運動においても有効な方法と考えられる。

レジスタンストレーニング（Resistance Training；RT）は運動療法の中心的な種目であるが、単調で効果発現に時間を要する等、とりわけ運動意欲低下を生じやすい。近年、複数のモダリティーによるリラクゼーション効果が報告されている。本研究では視覚モダリティーに注目し、RT実施時の精神的ストレスや身体的疲労に対する緩和効果を検討した。

方法は健常者30名（21.6 ± 3.0歳）を対象にRT実施時に森林写真の提示、非提示条件で、ストレス反応（唾液アミラーゼ、血中乳酸濃度、血圧、脈拍、POMS短縮版）を測定した。RTは椅子座位で大腿四頭筋のトレーニングを5秒間収縮、5秒間休止のリズムで15分間行い、被験者には最大筋力を発揮するよう指示した。開始から5分毎に等尺性膝伸筋力測定器を用いて筋力を測定した。森林写真の提示、非提示による各測定値の比較と筋力値と時間に関して、Wilcoxonの符号付順位検定、二元配置分散分析を用い有意水準は5%未満とした。結果は森林写真の有無による変化率の比較において、唾液アミラーゼと血中乳酸濃度のいずれも写真有りでも有意に低値を示した。POMS下位尺度の「疲労」と二重積（ダブルプロダクト：Double Product；DP）は写真有りでも有意に低値を示した。RT中の筋力値の推移は、写真の有無、時間において、時間の主効果は有意（ $F = 15.8, p < 0.01$ ）であったが時間と視覚の有無の交互作用は有意ではなかった。以上から、RT実施時の森林写真提示効果として、RTを維持しながら、身体的心理的ストレスの軽減がはかられた。

## 論文審査結果の要旨

近年、健康維持、増進を目的にレジスタンストレーニングが推奨されている中で、その単調さ、効果発現までの長い時間経過、継続意欲の低下などの問題点を挙げ、それらの簡便な対処方法を考えたものである。本論文では、レジスタンストレーニング実施時の精神的ストレスや身体的疲労に対する緩和効果を期待して、自然環境を描いた森林写真（A0サイズ）を被験者の正面に提示した場合と提示しない場合でトレーニングを実施した。提示あり・なしのそれぞれについて、ストレス反応として唾液アミラーゼ、血中乳酸濃度、血圧、脈拍、POMS短縮版を、15分間のトレーニング開始時と開始から5分毎の合計4回を測定している。

その結果、唾液アミラーゼと血中乳酸濃度のいずれも写真ありでも有意に変化率が低値を示した。POMS下位尺度の「疲労」とダブルプロダクト（収縮期血圧×脈拍）は写真有りでも有意に低値を示した。以上から、レジスタンストレーニング実施時に、自然環境を描いた森林写真を提示するだけで、身体的心理的ストレスの軽減がはかられ、これらは臨床応用できるものと結論づけられている。

本論文は、レジスタンストレーニング時のストレス反応を、被験者の主観的な指標だけでなく、生理学的に確認された客観的な指標を用い、その有用性についての適切な検討がなされており、博士論文としての価値を有すると判断した。



氏名 門 馬 博

(学位)	種 類	博士 (保健学)	論 文 項 目	メンタルプラクティスを効果的に行うための運動イメージ能力評価法の検討
	授与番号	博甲保 第41号		
	授与年月日	平成26年3月31日	論文審査委員	主査 齋藤昭彦
	授与の要件	学位規程第5条	副査	森田千晶 山本智朗 石黒友康

### 学位論文の要旨

運動イメージを用いて運動スキルの改善を図る練習方法をメンタルプラクティスという。リハビリテーションの分野においてメンタルプラクティスが効果的であったとする無作為臨床試験の結果が報告され、有効な治療法という認識が広まりつつある。しかし近年、メンタルプラクティスの効果が認められなかったとする報告もみられている。Ietswaartらはその理由としてメンタルプラクティスに必要な運動イメージ能力に個人差が大きいことを挙げている。すなわち、メンタルプラクティスを効果的に行うためには、治療の導入基準（クライテリア）として運動イメージ能力の評価が必要と考えられるが、標準的な運動イメージ能力評価法は未だ確立されていない。

そこで本研究では、先行研究にて運動イメージ能力評価法として用いられている、質問紙法（VMIQ2）、メンタルクロノメトリー法（iBT, iTUG）、Hand laterality judgement test（HLJT）について、各評価法の相互関係性を明らかにすることを目的として実験を行った。健康成人43名を対象として、各評価法による測定値を標準化（Z値変換）し、主成分分析を用いて検討した。その結果、メンタルプラクティスに重要とされる筋感覚運動イメージの評価には、VMIQ2-KI, iTUG, HLJTを組み合わせて用いることが有用であると考えられた。

次に、これらの評価法について神経生理学的検証を行うために、経頭蓋磁気刺激装置（TMS）による運動誘発電位（MEP）を指標とした実験を行った。被験者は非利き手の母指内外転運動を想起し、イメージ中の外転相（on-phase）と内転相（off-phase）でのMEPを計測、その差分を測定値（delta MEP）とし、各評価法の測定値との相関分析を行った。

その結果、iTUGとHLJTの評価結果とdelta MEPとの間に有意な相関関係を認めた。よって、前実験で示唆されたiTUGとHLJTを用いた筋感覚運動イメージの評価法が、神経生理学的にも有用であることが示された。一方で、質問紙法（VMIQ2）の各項目とは相関が認められなかった。身体運動について、主観的評価と客観的評価はしばしば乖離することが報告されており、今回の結果は運動イメージにおいても主観的評価と客観的評価の間に乖離が生じうることを示していると考えられた。しかし、メンタルプラクティスを実施、指導する場面において、主観的評価と客観的評価が一致しているか、乖離しているかという情報は、練習を進めるうえでは重要な情報である。よって質問紙法は主観的評価として運動イメージ能力評価には重要な項目であると考えた。

以上の2つの実験から、メンタルプラクティスの治療導入基準（クライテリア）として、質問紙法（VMIQ2）、メンタルクロノメトリー法（iTUG）、HLJTを組み合わせて評価することが重要であるとの結論を得た。

### 論文審査結果の要旨

リハビリテーション医療やスポーツ領域において、運動イメージを用いて運動スキルを改善する練習方法であるメンタルプラクティスが用いられている。メンタルプラクティスによる運動学習の効果に関しては議論のあるところであるが、メンタルプラクティスによる運動学習に影響を及ぼす要因の一つとして対象者の運動イメージ能力が挙げられている。

本研究では、以下の2つの研究から、メンタルプラクティスを効果的に行う前段階としての運動イメージ能力の評価方法を検討している。

- 1) 健康成人43名を対象として、既存の運動イメージ能力評価表である① 質問紙法（Vividness of Movement Imagery Questionnaire-2; VMIQ2）、②メンタルクロノメトリー（心的時間測定）法（改変版Box and Block Test; iBBT, imagined Timed Up and Go Test; iTUG）、③メンタルローテーション（心的回転）課題を用いたHand laterality judgment test（HLJT）の相互関係を検討した。その結果、メンタルプラクティスに重要である筋感覚運動のイメージの評価には、これらの検査を組み合わせ用いることが有用であるとした。
- 2) 健康成人15名を対象として、経頭蓋磁気刺激装置による運動誘発電位を指標として、上記の既存の評価法について神経生理学的検証を試みた。非利き手の母指内外転をイメージ課題とし、イメージ中の外転相と内転相で運動誘発電位の振幅を計算し、その差分と各評価法の測定値との間の相関分析を行った。その結果、iTUG、HLJTの評価結果とdeltaMEPに優位な相関を認められたが、質問紙法（VMIQ2）の各項目とは相関が認められなかったとした。

以上の2研究から、メンタルプラクティスの治療導入基準として、質問紙法（VMIQ2）、メンタルクロノメトリー法（iTUG）、Hand laterality judgment testを組み合わせ評価することが重要であると結論した。

審査の結果、対象者の選定、統計処理、結論の導き方などにいくつかの修正が必要であったが、リハビリテーション医療やスポーツ領域での運動学習過程におけるメンタルプラクティスの導入の可能性

を探る上で、メンタルプラクティスによる効果を左右する個人の運動イメージ能力を多方面から検討し、運動イメージ能力の評価方に関して一定の提言を行った点は有意義であり、慎重な審査の結果、保健学領域（保健学専攻）の博士論文としての価値を有していると認めた。

## 〔博士（看護学）〕

氏名 紅 林 佑 介

〔学位〕	種 類 博士（看護学）	論 文 項 目 統合失調症患者における精神症状と認知機能に関する研究
	授与番号 博甲保 第42号	—外来通院中の患者と入院中の患者の比較検討—
	授与年月日 平成26年3月31日	論文審査委員 主査 浅沼奈美
	授与の要件 学位規程第5条	副査 今留 忍 太田ひろみ 上谷いつ子

## 学位論文の要旨

- 【目的】 統合失調症患者の年齢や罹病期間等の背景項目と、精神症状および認知機能との関連性における外来患者と入院患者の異同、および治療環境要因の影響を検討し、精神科看護上の示唆を得ることを目的とした。
- 【方法】 対象者は、都内精神科病院で統合失調症の治療中の外来および入院患者とした。診療録から背景項目（年齢、罹病期間、入院期間、発症年齢等）を調査し、その後対象者に直接面接を行い、PANSSによる精神症状の調査とCog Healthによる認知機能の調査を行った。統計解析は、背景項目と精神症状および認知機能の相関はPearsonの積率相関係数、健常者の認知機能との比較は一サンプルのt検定、外来患者と入院患者の比較はt検定を用いた。統計処理はSPSS Ver11.5を用い、有意水準は5%とした。尚、本研究を行うにあたり本学および調査施設の倫理委員会から承認を得た。
- 【結果】 対象者数は外来患者63名、入院患者66名であった。外来患者では、発症年齢が若い事と、陽性尺度およびPANSS合計点の高い事とが関連していた。また年齢、入院期間および罹病期間が、作動記憶の正確さと遅延再生の正確さと負の相関を示した。入院患者では、年齢、入院期間および罹病期間は、陰性尺度と正の相関を示し、処理速度、視覚的識別の反応速度、作動記憶の正確さ、遅延再生の正確さ、注意分散の反応速度と負の相関を示した。外来患者と入院患者の年齢と入院期間の差が大きい為、対象者の中から45歳以下且つ60か月未満の入院歴のある外来患者37名、入院患者13名を抽出し、検討した。両者に背景項目と精神症状に有意差は認められなかった。健常者と比し、外来患者は視覚的識別の反応速度が速く、注意分散の反応速度が遅延しており、入院患者は作動記憶の正確さが低く、注意分散の反応速度が遅延していた。外来患者は、入院患者より作動記憶における反応速度が速く、正確さも高かった。
- 【考察】 年齢や罹病期間等と、精神症状および認知機能の関連性は、入院および外来患者で異なり、その要因の一つに治療環境要因が影響すると示唆された。発症年齢の若い外来患者の精神症状の悪化を予防する為に対人関係上の困難を軽減する事、また患者の認知機能を維持する為に早期の退院を進めると共に作動記憶や手段的ADLを活用する場面を設ける事、患者個々の認知機能領域を測定し効果的な看護を行う事が重要である。

## 論文審査結果の要旨

現在、わが国では精神疾患を抱える患者の回復に向け、社会的入院をなくし、入院医療を中心とするものから地域でのリハビリテーションの推進とその支援の強化が進められている。しかし、依然として、平均在院日数は、諸外国に比べても格段に高いのが実情である。これらの精神科医療の中で、多い疾患は統合失調症であるが、この疾患によって認知機能の低下が指摘されている。認知機能の低下は、患者のQOLの低下や、機能的予後、社会的機能、職場や修学復帰、退院のしにくさを予測する因子であることが報告され、患者の社会復帰を支援する上で重要な要素であり、これを踏まえた患者への看護支援が求められている。しかし、認知機能に関する研究は、看護の分野では、見られない。また本研究では、入院患者と外来患者とを分け、精神症状や認知機能の経過を分けて研究したところに新規性がみられる。本研究では、外来患者63名と、入院患者66名について背景項目（年齢、罹病期間、入院期間、発症年齢、服薬中の薬物の種類と量）を調査し、その後、対象者に直接面接を行いPANSSを用いた精神症状の測定と、CogHealthを用いて認知機能の測定を行った。統計解析は、外来患者と入院患者の両群に背景項目、精神症状、認知機能について、Spearmanの順位相関係数を用いて分析し、患者と健常者の認知機能の比較には、同年代健常者の平均である100を基準値としたサンプルのt検定を、さらに外来・入院両群の認知機能を比較するためt検定を行い検討している。その結果、外来患者では、発症年齢と陽性尺度、年齢・入院期間・罹病期間と作動記憶の正確さ、遅延再生の正確さに負の相関が見られた。入院患者では、年齢・入院期間・罹病期間と陰性尺度に正の相関が見られた。また年齢・入院期間・罹病期間と作動記憶の反応速度を除く全ての認知機能領域（視覚的識別の反応速度、作動記憶の正確さ、遅延再生の正確さ、注意分散の反応速度）に負の相関が見られた。さらに対象者の中から45歳以下かつ、入院歴が60ヶ月未満の入院歴のある外来患者37名と、入院患者13名を抽出し、検討したところ、両群に背景項目と精神症状に有意差は認められなかった。また健常者と比し、外来患者は視覚的識別の反応速度が速く、注意分散の反応速度が遅延し、入院患者は、作動記憶の正確さが低く、注意分散

の反応速度が遅延していた。そして外来患者は、入院患者より、作動記憶における反応速度が速く、正確さも高かった。以上の結果より、患者の認知機能を維持するためにも、早期に退院を進めると共に作動記憶や手段的ADLを活用する場面を支援に取り入れることや、患者の認知機能領域を測定し、効果的な支援を行う重要性が示唆された。以上の内容を慎重に審査した結果、保健学領域（看護学専攻）の博士論文として価値あるものと認めた。

〔博士 (保健学)〕

氏名 西牟田 綾 子

〈学位〉	種 類	博士 (保健学)	論 文 項 目	認知症の行動・心理症状 (BPSD) の評価と疾患特異性の検討
	授与番号	博乙保 第50号		
	授与年月日	平成26年2月19日	論文審査委員	主査 下田信明
	授与の要件	学位規程第6条	副査	大瀧純一 川村治子

学位論文の要旨

Dementia Behavior Disturbance Scale (以下DBDと略す)は信頼性、妥当性が検証され、介護負担感、認知症の重症度とよく相関することが知られている認知症の行動・心理学的症候 (Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia: BPSD) の評価法の1つであるが、簡略版作成の必要性が唱えられてきた。そのため本研究ではDBDを簡易で介入効果測定に向く鋭敏な指標にする目的でDBDの短縮版を作成した。また、BPSDは、介入に対する反応性が高いこと、認知症をきたす基礎疾患によって特徴的な症状があることが知られており、疾患ごとのBPSDを評価することは診断、治療、ケアを行う上で重要である。そのため作成したDBD短縮版を用いて認知症疾患別の症状の出現頻度および経時変化を検討した。

短縮版の作成では認知症症例221名、平均年齢78.3±6.5歳を対象とした。認知症疾患別の検討ではアルツハイマー型認知症、血管性認知症、混合型認知症、前頭側頭葉変性症、レビー小体型認知症、軽度認知障害の診断を受けた335名、平均年齢78.8±6.9歳を対象とした。

短縮版の作成はDBDの初診時と再評価時の下位項目の得点から、変動の大きさと因子分析により項目を抽出した。内的整合性はCronbach's  $\alpha$  を用いて検討し、妥当性は、原版のDBDとの相関、MMSE、Barthel Index、Lawton & Brody、ZBI との相関を検討した。疾患別検討は、初診時、再評価時における短縮版の総合得点および下位項目の得点変化を群間比較するとともに、各項目の出現率を算出し  $\chi^2$  検定を用いて検討した。

結果は、短縮版として13項目が選択された。内的整合性はCronbach's  $\alpha = 0.96$  と良好であり、原版の28項目のDBD、MMSE、基本的ADL、手段的ADL、介護負担感とも有意な相関を認め臨床使用可能であることが確認された。短縮版の認知症疾患別経時変化では、アルツハイマー型認知症、血管性認知症、軽度認知障害の群は得点が有意に上昇していた。下位項目の出現頻度は「同じことを何度もきく」がアルツハイマー型認知症群で有意に高く、「夜中に起きだす」はレビー小体型認知症群で、「同じ動作を繰り返す」は前頭側頭葉変性症群で有意に高かった。以上の結果から短縮版の利用で充分臨床症状が把握できることが確認された。

本研究では主に介入効果の測定のための簡便な評価法の開発を目的としてDBDの短縮版を作成した。本評価法によって、ケアや薬物の介入によるBPSDの変化を従来のスケールよりさらに簡易にかつ鋭敏に測定することが可能となった。また、本評価法は認知症の4大病型といわれるアルツハイマー型認知症、血管性認知症、レビー小体型認知症、前頭側頭葉変性症の特徴的な症状や経時変化を捉えることも可能であり、臨床的有用性は高いと考えられる。

論文審査結果の要旨

本研究は、認知症の行動障害尺度の1つであるDementiaBehavior Disturbance Scale (DBD) の短縮版 (DBD13) を作成し、その信頼性と妥当性を検討した研究 (ここでは研究1とする) と、そのDBD13を用いて認知症者を評価し、認知症疾患別の経時変化や特徴を明らかにした研究 (ここでは研究2とする) の、大きく2つで構成されている。

研究1では、可能な限り簡便に実施でき、介入効果測定に鋭敏な指標の作成を目的として、28の評価項目からなるDBD の短縮版を作成した。対象は、認知症症例221名で、内訳はアルツハイマー型認知症 (AD) 101名、血管性認知症 (VaD) 36名、混合型認知症 (Mix) 26名、レビー小体型認知症 (DLB) 15名、前頭側頭葉変性症 (FTLD) 22名、その他21名であった。初診時と再評価時のDBD28項目の得点から変動の大きさと因子分析により13項目を抽出し、DBD13とした。その内的整合性はCronbach's  $\alpha = 0.96$  と良好で、DBD、MMSE、基本的ADL、手段的ADL、介護負担感とも有意な相関を認め、DBD13は臨床に使用可能ことが確認された。

研究2では、作成したDBD13を用いて、認知症疾患別のBPSDの出現頻度と経時変化を検討することを目的とした。対象は、AD123名、VaD34名、Mix36名、DLB37名、FTLD35名、軽度認知障害 (MCI) 70名の計335名であり、初診時と再評価時のDBD13得点を比較した。AD、VaD、MCI では得点が増加した。「同じことを何度もきく」はADで、「夜中に起きだす」はDLBで、「同じ動作を繰り返す」はFTLDで高かった。また、MMSE得点により疾患ごとに3群に分けて、DBD13得点の変化をみたところ、Mix、FTLDではいずれの群においても変化がなかった。以上の結果は、DBD13を用いて認知症疾患別の特徴を明らかにしており、臨床的に大きな意味のある結果であり、独創性も認められる。

以上より、慎重な審査の結果、保健学領域の博士論文として価値あるものと認めた。