

学位論文要旨および審査要旨

学位論文要旨および審査要旨

〔博士 (医学)〕

氏名 西 條 智 子

〔学位〕	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	ネフローゼ症候群の発症機序に関する生体内免疫分子の同定と機能解析
	授与番号 博甲医 第497号	論文審査委員	主査 要 伸也
	授与年月日 令和4年4月20日		副査 福原 浩 長瀬美樹 久松理一 大崎敬子
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

【背景】小児の特発性ネフローゼ症候群 (INS) は免疫異常を背景に発症する頻度の高い小児腎疾患だが、発症機序は解明されていない。ステロイドや免疫抑制薬の治療による副作用を防ぐためには、発症機序に基づいた新たな治療法の開発が必須である。我々は、マウスモデルで腎糸球体上皮細胞ポドサイトにあるCrb2経路の自己抗体による惹起が、Ezrinリン酸化の亢進を介してアクチン線維を凝集させネフローゼを発症することを発見し、INSが同じ機序で発症する可能性を考えた。しかしINSで自己抗体に代わりCrb2経路を惹起する生体内分子は不明であった。

【目的】Crb2に結合してCrb2経路を惹起する生体内分子を同定し、その機能を解析する。

【方法】Yeast two-hybrid screenによってラット胸腺ライブラリーからCrb2と結合する可能性のある分子を検索した。同定した分子の腎臓、培養ポドサイトでの発現の有無をRT-PCR, Western blottingで確認した。Crb2強制発現細胞に同定した分子を投与し、Crb2への結合とアクチン細胞骨格の変化を免疫染色によって確認した。同定した分子とCrb2の結合を共免疫沈降で確認した。Crb2強制発現細胞に同定した分子を投与した際のEzrinとCofilinのリン酸化の変化をWestern blottingで確認した。

【結果】Yeast two-hybrid screenによりCrb2と結合する生体内分子の候補として免疫分子のケモカインCcl21を同定した。正常マウスの腎臓、培養ポドサイトには発現していないことを確認し、外来性のCcl21がCrb2経路を惹起していると考えた。リコンビナントCcl21をCrb2強制発現HEK細胞 (HEK-Crb2) に投与したところ、Ccl21とCrb2は同局在にあった。さらにCcl21をCrb2強制発現培養ポドサイト (Pd-Crb2) に投与したところ、アクチン線維の凝集変化が観察された。HEK細胞にCrb2とCcl21の遺伝子を導入し、共免疫沈降によって結合することを確認した。HEK-Crb2およびPd-Crb2にリコンビナントCcl21を投与するとアクチン関連分子のEzrinとCofilinのリン酸化が亢進した。

【考察】今回の研究で、外来性のケモカインCcl21がポドサイトのCrb2に結合し、Ezrin, Cofilinのリン酸化亢進を介してアクチン線維を凝集させる新たな機序を証明した。このCcl21-Crb2経路によるアクチン骨格制御の機序はINSの発症機序の一つである可能性が考えられ、この経路をターゲットとした治療薬の開発に繋がると期待される。

1 論文審査結果の要旨

【背景】小児の特発性ネフローゼ症候群 (INS) は免疫異常を背景に発症する頻度の高い小児腎疾患だが、発症機序は解明されていない。ステロイドや免疫抑制薬の治療による副作用を防ぐためには、発症機序に基づいた新たな治療法の開発が必須である。我々は、マウスモデルで腎糸球体上皮細胞ポドサイトにあるCrb2経路の自己抗体による惹起が、Ezrinリン酸化の亢進を介してアクチン線維を凝集させネフローゼを発症することを発見し、INSが同じ機序で発症する可能性を考えた。しかしINSで自己抗体の産生は確認されておらず、自己抗体に代わりCrb2経路を惹起する生体内分子は不明であった。

【目的】Crb2に結合してCrb2経路を惹起する生体内分子を同定し、その機能を解析する。

【方法】Yeast two-hybrid screenによってラット胸腺ライブラリーからCrb2と結合する可能性のある分子を検索した。同定した分子の腎臓、培養ポドサイトでの発現の有無をRT-PCR, Western blottingで確認した。Crb2強制発現細胞に同定した分子を投与し、Crb2への結合とアクチン細胞骨格の変化を免疫染色によって確認した。同定した分子とCrb2の結合を共免疫沈降で確認した。Crb2強制発現細胞に同定した分子を投与した際のEzrinとCofilinのリン酸化の変化をWestern blottingで確認した。

【結果】Yeast two-hybrid screenによりCrb2と結合する生体内

分子の候補として免疫分子のケモカインCcl21を同定した。正常マウスの腎臓、培養ポドサイトには発現していないことを確認し、外来性のCcl21がCrb2経路を惹起していると考えた。リコンビナントCcl21をCrb2強制発現HEK細胞 (HEK-Crb2) に投与したところ、Ccl21とCrb2は同局在にあった。さらにCcl21をCrb2強制発現培養ポドサイト (Pd-Crb2) に投与したところ、アクチン線維の凝集変化が観察された。HEK細胞にCrb2とCcl21の遺伝子を導入し、共免疫沈降によって結合することを確認した。HEK-Crb2およびPd-Crb2にリコンビナントCcl21を投与するとアクチン関連分子のEzrinとCofilinのリン酸化が亢進した。

【考察と結論】今回の研究で、外来性のケモカインCcl21がポドサイトのCrb2に結合し、Ezrin, Cofilinのリン酸化亢進を介してアクチン線維を凝集させる新たな機序を証明した。このCcl21-Crb2経路によるアクチン骨格制御の機序はINSの発症機序の一つである可能性が考えられ、この経路をターゲットとした治療薬の開発に繋がると期待される。

審査の結果、本研究は、ネフローゼの原因遺伝子として注目されているCrb2蛋白のリガンドCcl21を新たに同定し、さらに、Crb2への結合が、培養ポドサイトの細胞内シグナルと細胞内骨格に影響を与えることを、分子細胞生物学的手法を駆使して示した初めての研究であり、いまだ原因不明の特発性ネフローゼ症候群の病態解明に繋がる可能性も秘めていることから、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

〔博士（医学）〕

氏名 新井 信 晃

〈学位〉	種 類 博士（医学）	論 文 項 目	<i>HSD17B4</i> メチル化はBT-474乳がん細胞において代謝シフトを誘導しlapatinib感受性を増強する
	授与番号 博甲医 第498号	論文審査委員	主査 井本 滋
	授与年月日 令和4年7月20日		副査 永根基雄 櫻井裕之 戸成綾子 柴原純二
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

HER2陽性乳がんの一部では術前薬物療法で病理学的完全奏効（pCR）が得られ、pCRを達成した症例の予後は良好である。従って治療前に奏効性を予測できるマーカーが得られれば手術省略治療の実現につながると期待される。以前、我々のグループは術前薬物療法が奏効した症例の生検検体を用いた3層オミクス解析により*HSD17B4*の高メチル化を奏効率予測マーカーとして同定した。しかし、HER2陽性乳がんにおいて、*HSD17B4*の高メチル化が治療感受性の増強に寄与する作動機構は明らかになっていない。そこで、我々は一連の研究として*HSD17B4*の発現消失により薬物療法の奏効性が増強する分子機構の解析を遂行中である。その中で、本学位研究ではBT-474細胞株を用いて、*HSD17B4*の発現消失による代謝変化を解析し、抗HER2薬であるlapatinibへの感受性が増強する機序を明らかにした。

まず*HSD17B4*ノックアウト（KO）細胞を樹立し、細胞増殖が抑制され、glucose代謝を活性化するAktのリン酸化が上昇することを示した。また、総脂肪酸解析により、KO細胞では極長鎖脂肪酸が蓄積すると同時に細胞膜の恒常性維持に重要な多価不飽和脂肪酸が減少することを示した。その代償のためアセチルCoAを用いた脂肪酸合成が活性化していることが示唆された。さらにXF Seahorse細胞外flux analyzerで解析すると、コントロール（Ctrl）細胞に比べてKO細胞では電子伝達系の容量が向上したことによる酸化的リン酸化の増大が認められた。この酸化的リン酸化の増大は、KO細胞が脂肪酸合成にアセチルCoAを供給するため、解糖系によるglucose代謝が活性化し、それに伴って出現したと考えられた。解糖系によるglucose代謝の活性化の根拠として、KO細胞においてglucose要求性が上昇していることが確認できた。最後に、HER2シグナル下流のPI3K/Akt経路をlapatinibにより阻害すると解糖系がCtrl及びKO細胞で抑制され、KO細胞ではそれに続いて酸化的リン酸化も抑制された。KO細胞はlapatinibへの感受性が明らかに増加していた。

以上、BT-474細胞において*HSD17B4*の発現消失は脂肪酸組成の異常とglucose代謝の活性化による酸化的リン酸化の増大という代謝シフトを誘導し、これを介入点としてlapatinibの感受性が増強する機序を明らかにした。

論文審査結果の要旨

HER2陽性乳がんは抗HER2薬を含む術前薬物療法で病理学的完全奏効（pCR）が得られた場合、予後良好である。さらに、薬物療法前にpCRを予測できるマーカーが得られれば手術を省略できる可能性もある。以前、申請者らのグループは術前薬物療法が奏効した症例の生検検体を用いた3層オミクス解析により*HSD17B4*の高メチル化が奏効率の予測マーカーであることを報告した。しかし、HER2陽性乳がんにおいて*HSD17B4*の高メチル化が治療感受性の増強に寄与する作用機序は明らかでない。そこで、HER2陽性ホルモン受容体陽性のBT-474細胞株を用いて*HSD17B4*の発現消失に伴う代謝変化を解析した上で、抗HER2薬であるlapatinibへの感受性が増強する機序について検討した。

まず*HSD17B4*ノックアウト（KO）細胞を樹立し、KO細胞では増殖が抑制されglucose代謝を活性化するAktのリン酸化が上昇することを示した。次に、総脂肪酸解析によりKO細胞では極長鎖脂肪酸が蓄積すると同時に細胞膜の恒常性維持に重要な多価不飽和脂肪酸が減少することを示した。その代償のためアセチルCoAを用いた脂肪酸合成が活性化していることが示唆された。さらにXF Seahorse細胞外flux analyzerでの解析からコントロール（Ctrl）細胞に比べてKO細胞では電子伝達系の容量が向

上したことによる酸化的リン酸化の増大が認められた。この酸化的リン酸化の増大は、KO細胞が脂肪酸合成にアセチルCoAを供給するため、解糖系によるglucose代謝の活性化に伴う現象と考えられた。その根拠として、KO細胞ではglucose要求性が上昇していることが確認できた。最後に、lapatinib処理によってHER2シグナル下流のPI3K/Akt経路を阻害するとCtrl細胞とKO細胞で解糖系は抑制され、KO細胞ではそれに続いて酸化的リン酸化も抑制された。また、Lapatinib処理による細胞培養では細胞内ATP量と生細胞数の測定から、Ctrl細胞に比してKO細胞におけるlapatinib感受性の増強が示された。

BT-474細胞における*HSD17B4*の発現消失は脂肪酸組成の異常とglucose代謝の活性化による酸化的リン酸化の増大という代謝シフトを誘導し、これを介入点としてlapatinibへの感受性が増強する機序が明らかとなった。審査では一細胞株の実験系であること、*HSD17B4*がメチル化した生検検体とKO細胞との細胞環境の違い、lapatinibによる解糖系への影響など議論されたが、*HSD17B4*発現消失細胞において抗HER2薬が奏効する機序の一部が解明された意義は大きく学位に資する論文として評価された。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士 (医学)〕

氏名 飯島 昌平

〔学位〕	種 類 博士 (医学)	論文項目	膠芽腫の髄腔内播種に関連する臨床的, 放射線学的, および病理組織学的因子の検討
	授与番号 博甲医 第499号	論文審査委員	主査 横山健一
	授与年月日 令和4年7月20日		副査 秋元義弘 寺尾安生 森井健司 福原 浩
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

〔背景・目的〕

膠芽腫は原発性悪性脳腫瘍の中で最も高頻度で悪性度が高く, 集学的治療によっても依然予後不良である。その一因として膠芽腫にしばしば随伴する髄腔内播種が挙げられるが, そのリスク因子や予後への関与に関して十分に明らかとなっていない。今回, 初発及び再発膠芽腫において髄腔内播種を来しやすい因子及び播種を来した症例における予後因子に関して検討した。

〔方法〕

2006-2019年に杏林大学医学部付属病院にて手術を受け, 病理組織学的に膠芽腫と診断され, 病歴及び O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) 遺伝子プロモーター領域のメチル化解析, isocitrate dehydrogenase 1/2 (IDH1/2) 遺伝子変異解析, 病理組織診断を解析可能であった232例について後方視的に臨床的因子, 画像的特徴, 遺伝子変異, 病理組織学的特徴の頻度及び予後との関連を比較検討した。また腫瘍凍結検体からゲノムDNAを抽出し, DNAマイクロアレイによるコピー数解析を行った。遺伝子変異解析は次世代シーケンサーにてターゲットシーケンス (遺伝子パネル検査) を行った。

〔結果〕

232例中26例 (11%) で髄腔内播種が認められた。初回診断 (初発) 時に播種を認めた群は計14例 (男女比11:3, 年齢中央値66)。再発時に播種を認めた群は計12例 (男女比8:4, 年齢中央値54)。初回診断時・再発時のいずれも播種を認めなかった全経過非播種群は206例 (男女比120:86, 年齢中央値66) であった。播種例は全例IDH1/2野生型であった。初発時播種群は初発時非播種群と比較し, 多発病変 ($p=0.012$), 主病巣が不整型 ($p=0.024$), 非造影腫瘍性病変あり ($p=0.003$), 浮腫性T2高信号病変なし ($p<0.001$) が有意に播種と関連した。再発時の播種に関連する因子はなかった。病理組織学的所見には播種群に有意な因子は認めなかった。予後に関しては, 初発時播種群は無増悪生存期間中央値 (mPFS) が4.6ヶ月であり, 初発時非播種群 (8.1ヶ月) より有意に不良であった ($p<0.001$)。初発時播種群では周囲浮腫性T2高信号病変の欠如 ($p=0.019$), 非造影腫瘍性病巣の存在 ($p=0.004$), MGMT遺伝子非メチル化 ($p=0.037$) が有意にPFSの短縮に関連した。初発時播種群は全例が画像上主病巣が不整型であり, 全解析例を対象としても不整型群ではmPFS ($p=0.006$), mOS ($p=0.002$) とも整型群より有意に不良であった。多変量解析でも画像上不整型 (PFS, $p=0.008$; OS, $p=0.004$) は, 多発 (PFS, $p=0.022$; OS, $p=0.012$), MGMT遺伝子非メチル化 (PFS, $p<0.001$; OS, $p<0.001$) とともに独立した有意な負の予後因子であった。コピー数解析では, 播種群で染色体7番長腕 (7q) 増幅を認める傾向があったが有意差は認めなかった ($p=0.087$)。他の領域では染色体の有意な欠失, 増幅は認められなかった。パネル検査では播種群に特徴的な遺伝子変異はなかった。

〔結論〕

初発膠芽腫において, 初発時の多発性, 主病巣が不整型, 非造影腫瘍性病変の存在, 周囲T2高信号病変の欠如が髄腔内播種と関連した。初発時播種群では, 周囲浮腫性T2高信号病変の欠如と非造影腫瘍性病巣の存在が有意にPFSの短縮に関連した。本研究では髄腔内播種に関連する有意な分子病理学的因子は検出されず, 前向きの大規模解析が必要である。

論文審査結果の要旨

〔背景・目的〕

膠芽腫は原発性悪性脳腫瘍の中で最も高頻度で悪性度が高く, 集学的治療によっても依然予後不良である。その一因として膠芽腫にしばしば随伴する髄腔内播種が挙げられるが, そのリスク因子や予後への関与に関して十分に明らかとなっていない。今回, 初発及び再発膠芽腫において髄腔内播種を来しやすい因子及び播種を来した症例における予後因子に関して検討した。

〔方法〕

2006-2019年に杏林大学医学部付属病院にて手術を受け, 病理組織学的に膠芽腫と診断され, 病歴及び O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) 遺伝子プロモーター領域のメチル化解析, isocitrate dehydrogenase 1/2 (IDH1/2) 遺伝子変異解析, 病理組織診断を解析可能であった232例について後方視的に臨床的因子, 画像的特徴, 遺伝子変異, 病理組織学的特徴の頻度及び予後との関連を比較検討した。また腫瘍凍結検体からゲノムDNAを抽出し, DNAマイクロアレイによるコピー数解析を行った。遺伝子変異解析は次世代シーケンサーにてターゲットシーケンス (遺伝子パネル検査) を行った。

〔結果〕

232例中26例 (11%) で髄腔内播種が認められた。初回診断 (初発) 時に播種を認めた群は計14例 (男女比11:3, 年齢中央値66)。再発時に播種を認めた群は計12例 (男女比8:4, 年齢中央値54)。初回診断時・再発時のいずれも播種を認めなかった全経過非播種群は206例 (男女比120:86, 年齢中央値66) であった。播種例は全例IDH1/2野生型であった。初発時播種群は初発時非播種群と比較し, 多発病変 ($p=0.012$), 主病巣が不整型 ($p=$

0.024), 非造影腫瘍性病変あり ($p=0.003$), 浮腫性T2高信号病変なし ($p<0.001$) が有意に播種と関連した。再発時の播種に関連する因子はなかった。病理組織学的所見には播種群に有意な因子は認めなかった。予後に関しては, 初発時播種群は無増悪生存期間中央値 (mPFS) が4.6ヶ月であり, 初発時非播種群 (8.1ヶ月) より有意に不良であった ($p<0.001$)。初発時播種群では周囲浮腫性T2高信号域の欠如 ($p=0.019$), 非造影腫瘍性病巣の存在 ($p=0.004$), MGMT遺伝子プロモーター領域の非メチル化 ($p=0.037$) が有意にPFSの短縮に関連した。初発時播種群は全例で画像上主病巣が不整型であり, 全解析例を対象としても不整型群ではmPFS ($p=0.006$), mOS ($p=0.002$) とも整型群より有意に不良であった。多変量解析でも画像上不整型 (PFS, $p=0.008$; OS, $p=0.004$) は, 多発 (PFS, $p=0.022$; OS, $p=0.012$), MGMT遺伝子プロモーター領域の非メチル化 (PFS, $p<0.001$; OS, $p<0.001$) とともに独立した有意な負の予後因子であった。コピー数解析では, 播種群で染色体7番長腕 (7q) 増幅を認める傾向があったが有意差は認めなかった ($p=0.087$)。他の領域では染色体の有意な欠失, 増幅は認められなかった。パネル検査では播種群に特徴的な遺伝子変異はなかった。

〔結論〕

初発膠芽腫において, 初発時の多発性, 主病巣が不整型, 非造影腫瘍性病変の存在, 周囲T2高信号病変の欠如が髄腔内播種と関連した。初発時播種群では, 周囲浮腫性T2高信号病変の欠如と非造影腫瘍性病巣の存在が有意にPFSの短縮に関連した。本研究では髄腔内播種に関連する有意な分子病理学的因子は検出されず, 前向きの大規模解析が必要である。本研究は膠芽腫の髄腔内播種において, そのリスク因子や予後との関わりについて新たな知見をもたらし, 審査の結果, 学位論文として価値のあるものと認められた。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 若林典弘

〈学位〉	種 類 博士（医学）	論 文 項 目	重症下肢虚血症例における創傷治癒予測におけるLaser speckle flowgraphyの有用性の検討
	授与番号 博甲医 第500号	論文審査委員	主査 布川雅雄
	授与年月日 令和4年10月19日		副査 大浦紀彦 長瀬美樹 安田和基 寺尾安生
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

【背景と目的】重症下肢虚血（Clinical limb ischemia: CLI）は末梢動脈疾患の安静時疼痛または潰瘍・壊死を伴う重症形であり、先進諸国で増加している。CLIは無症候例や間歇性跛行症例と比較し、生命予後、救肢率ともに不良である。救肢のために血行再建は必要不可欠とされており、生存率とも関連があるとされる。しかしCLIにおいては血管病変が複雑で、完全血行再建が困難な場合も少なくないため、術前後の下肢血流を客観的に評価する方法が求められている。Laser speckle flowgraphy (LSFG) は非接触で短時間に血流評価が可能である。本研究ではCLI症例においてLSFGを用いた血管内治療（Endovascular treatment: EVT）施行後の下肢血流評価が創傷治癒の予測因子になりうるかを検討した。

【方法】2017年1月から2018年11月に当院を受診したCLI症例81症例の中で血流評価としてLSFGを使用した34例を調査した。EVT施行日を基準日とし1年間経過観察し、創傷治癒群と非治癒群に群別した。それらにおいて患者背景、下肢動脈病変背景、創傷重症度、LSFG値（血流指標であるBeat Strength of Skin Perfusion: BSSP, Blood flow: BFを評価）、臨床転帰を後ろ向きに比較検討した。

【結果】EVT後にLSFGで血流評価を施行したCLI症例34症例の1年死亡は3例（8.8%）、大切断2例（救肢率94.1%）であった。34例のうち18例（52.9%）で創傷治癒が得られた。34例を創傷治癒群、非治癒群に群別し検討した。非治癒群では血液透析施行（81.3% vs 44.4%；P=0.0275）、心筋梗塞の既往（43.8% vs 11.1%；P=0.0313）、心臓バイパス術の既往（43.8% vs 23.5%；P=0.0088）のある症例が多く、血液検査データではHbA1cが高い糖尿病コントロール不良例（ $7.5 \pm 1.2\%$ vs $6.7 \pm 1.0\%$ ；P=0.004）が多くみられた。LSFGによる血流評価では創傷治癒群においてBSSPの平均値、最大値が治癒群で高値であった（ 45.5 ± 6.1 vs 25.0 ± 6.5 ；P=0.03）（ 88.8 ± 11.8 vs 51.0 ± 12.6 ；P=0.04）。BFの平均値、最大値、創傷周囲での値においても治癒群で有意に高値であった（ 114.7 ± 13.0 vs 101.0 ± 13.8 ；P=0.03）（ 439.4 ± 39.2 vs 278.5 ± 41.6 ；P<0.01）（ 405.8 ± 37.0 vs 240.9 ± 39.2 ；P<0.01）。

【結論】LSFGは非侵襲で非接触に下肢血流評価を行うことが可能である。重症下肢虚血症例でのEVT後の測定において創傷治癒例で有意に高値を示した。今後さらなる検討により、LSFGによる血流評価はEVT後の創傷治癒予測となりうる可能性や、EVT術中にも使用可能でありEVTの治療エンドポイントの決定においても使用出来る可能性がある。

論文審査結果の要旨

【背景と目的】重症下肢虚血（Clinical limb ischemia: CLI）は末梢動脈疾患の安静時疼痛または潰瘍・壊死を伴う重症形であり、先進諸国で増加している。CLIは無症候例や間歇性跛行症例と比較し、生命予後、救肢率ともに不良である。救肢のために血行再建は必要不可欠とされており、生存率とも関連があるとされる。しかしCLIにおいては血管病変が複雑で、完全血行再建が困難な場合も少なくないため、術前後の下肢血流を客観的に評価する方法が求められている。Laser speckle flowgraphy (LSFG) は非接触で短時間に血流評価が可能である。本研究ではCLI症例においてLSFGを用いた血管内治療（Endovascular treatment: EVT）施行後の下肢血流評価が創傷治癒の予測因子になりうるかを検討した。

【方法】2017年1月から2018年11月に当院を受診したCLI症例81症例の中で血流評価としてLSFGを使用した34例を調査した。EVT施行日を基準日とし1年間経過観察し、創傷治癒群と非治癒群に群別した。それらにおいて患者背景、下肢動脈病変背景、創傷重症度、LSFG値（血流指標であるBeat Strength of Skin Perfusion: BSSP, Blood flow: BFを評価）、臨床転帰を後ろ向きに比較検討した。

【結果】EVT後にLSFGで血流評価を施行したCLI症例34症例の1年死亡は3例（8.8%）、大切断2例（救肢率94.1%）であった。34例のうち18例（52.9%）で創傷治癒が得られた。34例を創傷

治癒群、非治癒群に群別し検討した。非治癒群では血液透析施行（81.3% vs 44.4%；P=0.0275）、心筋梗塞の既往（43.8% vs 11.1%；P=0.0313）、心臓バイパス術の既往（43.8% vs 23.5%；P=0.0088）のある症例が多く、血液検査データではHbA1cが高い糖尿病コントロール不良例（ $7.5 \pm 1.2\%$ vs $6.7 \pm 1.0\%$ ；P=0.004）が多くみられた。LSFGによる血流評価では創傷治癒群においてBSSPの平均値、最大値が治癒群で高値であった（ 45.5 ± 6.1 vs 25.0 ± 6.5 ；P=0.03）（ 88.8 ± 11.8 vs 51.0 ± 12.6 ；P=0.04）。BFの平均値、最大値、創傷周囲での値においても治癒群で有意に高値であった（ 114.7 ± 13.0 vs 101.0 ± 13.8 ；P=0.03）（ 439.4 ± 39.2 vs 278.5 ± 41.6 ；P<0.01）（ 405.8 ± 37.0 vs 240.9 ± 39.2 ；P<0.01）。

【結論】LSFGは非侵襲で非接触に下肢血流評価を行うことが可能である。重症下肢虚血症例でのEVT後の測定において創傷治癒例で有意に高値を示した。今後さらなる検討により、LSFGによる血流評価はEVT後の創傷治癒予測となりうる可能性や、EVT術中にも使用可能でありEVTの治療エンドポイントの決定においても使用出来る可能性がある。

本研究は重症下肢虚血の治療効果予測の新たな方法を提案するものである。非接触・非侵襲かつ短時間で測定可能な本方法は、今後の臨床応用が期待され新たな血流測定手技となりえる。審査の結果、学位論文として価値のあるものと認められた。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 宮本彩子

〈学位〉	種類	博士（医学）	論文項目	マクロファージにおける prolyl hydroxylase domain-containing protein の抑制が炎症に与える影響の探究
	授与番号	博甲医第501号	論文審査委員	主査 神崎恒一
	授与年月日	令和4年11月16日	副査	後藤田貴也 安田和基 石井晴之 花輪智子
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

【背景と目的】マクロファージ（MP）は感染症や無菌性炎症において炎症性メディエーター産生や、抗炎症、組織修復の作用を合わせもつ自然免疫の中心的な細胞である。低酸素や代謝は炎症細胞の機能に大きく影響し、MPにおいて低酸素誘導因子（hypoxia-inducible factor：HIF）が重要な役割を果たす。HIFはprolyl hydroxylase domain-containing protein（PHD）によって負に調節されているが、PHDが自然免疫応答に与える影響は解明されていないため、MPにおけるPHDが炎症に与える影響を検討した。

【方法】MP特異的にPhdの3つのアイソフォームであるPhd1, 2, 3全ての遺伝子発現を抑制したコンディショナルノックアウトマウス（cKO）とコントロールマウス（Cont）を交配、作出した。まずベースラインでの評価を行い、次に全身性炎症（リポ多糖（Lipopolysaccharide：LPS）投与）モデルと、腎臓の急性・慢性無菌性炎症モデルとして片側虚血再灌流傷害モデルとアデニン投与慢性腎臓病モデルを用いてPhd1, 2, 3ノックアウトの影響を検討した。またin vitroでは、PHD阻害薬で処理したRAW264.7細胞とマウス骨髄由来MPを用い、LPS刺激によるサイトカイン発現量を測定した。さらに、マウスにLPSを投与し、投与前後の肝臓からFACSでMPを単離し、マイクロアレイによる遺伝子発現の網羅的解析を行った。

【結果】全身性炎症モデルでの1週間後の生存率はCont 0%に対して、cKOでは57%であり、cKOで生存期間の有意な延長を認めた（各n=7, p<0.01）。ベースラインの血管密度、腎機能、腎組織、また腎臓の急性・慢性無菌性炎症モデルにおける腎障害についてContとcKOで差は認めなかった。RAW264.7細胞ではPHD阻害薬の添加により、LPS投与後の炎症性サイトカインの発現量の低下と、抗炎症性サイトカインの発現量の増加を認めた。一方、骨髄由来MPではcKOで炎症性サイトカインの発現が低下するものと上昇するものの両者を認め、これはMPの多様性による性質の差によるものと考えられた。全身性炎症モデルにおいてはcKOでLPS投与による血清IL-1 β 濃度の上昇抑制と、肝、腎、脾での炎症性サイトカイン発現の抑制が認められた。肝臓MPの遺伝子発現解析では、cKOでLPS刺激による炎症性サイトカインやケモカインを含む炎症促進性因子の発現増加の抑制と、炎症抑制性因子の発現増加を認めた。

【結論】MPでのPhdのノックアウトにより、LPS投与による全身性炎症モデルで生存率が著明に改善し、同モデルの肝臓MPの遺伝子発現解析でも炎症抑制効果が認められた。

論文審査結果の要旨

【背景と目的】マクロファージ（MP）は感染症や無菌性炎症において炎症性メディエーターの産生、抗炎症作用、組織修復作用を併せもつ自然免疫の中心的な細胞である。低酸素や代謝状態はMPの炎症細胞としての機能に大きく影響し、その際低酸素誘導因子（hypoxia-inducible factor：HIF）が重要な役割を果たす。HIFはprolyl hydroxylase domain-containing protein（PHD）によって負に調節されるが、PHDが自然免疫応答に与える影響は解明されていないため、MPにおけるPHDが炎症に与える影響を検討した。

【方法】MP特異的にPhdの3つのアイソフォームであるPhd1, 2, 3全ての遺伝子発現を抑制したコンディショナルノックアウトマウス（cKO）とコントロールマウス（Cont）を交配、作出した。まずベースラインでの評価を行い、次に全身性炎症（リポ多糖（Lipopolysaccharide：LPS）投与）モデルと、腎臓の急性・慢性無菌性炎症モデルとして片側虚血再灌流傷害モデルとアデニン投与慢性腎臓病モデルを用いてPhd1, 2, 3ノックアウトの影響を検討した。またin vitroでは、PHD阻害薬で処理したRAW264.7細胞とマウス骨髄由来MPを用い、LPS刺激によるサイトカイン発現量を測定した。さらに、マウスにLPSを投与し、投与前後の肝臓からFACSでMPを単離し、マイクロアレイによる遺伝子発現の網羅的解析を行った。

【結果】LPS投与による全身性炎症モデルでの1週間後の生存率は、Cont 0%に対してcKOでは57%であり、cKOで生存期間の有意な延長を認めた（各n=7, p<0.01）。ベースラインの血管密度、腎機能、腎組織、また腎臓の急性・慢性無菌性炎症モデルにおける腎障害についてContとcKOで差は認めなかった。RAW264.7細胞ではPHD阻害薬の添加により、LPS投与後の炎症性サイトカインの発現量の低下と、抗炎症性サイトカインの発現量の増加を認めた。一方、骨髄由来MPではcKOで炎症性サイトカインの発現が低下するものと上昇するものの両者を認め、これはMPの多様性による性質の差によるものと考えられた。全身性炎症モデルではcKOでLPS投与による血清IL-1 β 濃度の上昇抑制と、肝、腎、脾での炎症性サイトカイン発現の抑制が認められた。肝臓MPの遺伝子発現解析では、cKOでLPS刺激による炎症性サイトカインやケモカインを含む炎症促進性因子の発現増加の抑制と、炎症抑制性因子の発現増加を認めた。

【結論】MPでのPhdのノックアウトにより、LPS投与による全身性炎症モデルで生存率が著明に改善し、同モデルの肝臓MPの遺伝子発現解析でも炎症抑制効果が認められた。

本研究は、マクロファージのPhd阻害によるHIFの活性化が、LPS投与による炎症誘導に対して抑制的に働き、それがcKOマウスの生存率の延長につながった可能性を示した価値のある研究である。内容を審査した結果、学位論文としてふさわしいと判断した。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 宮澤 永尚

〔学位〕	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	ヒト急性リンパ性白血病細胞株のアポトーシスにおける Glucocorticoid-induced transcript 1 (GLCCII) の抑制作用
	授与番号	博甲医第502号	論文審査委員	主査 高山信之
	授与年月日	令和4年11月16日		副査 大西宏明 秋元義弘 細金直文 後藤田貴也
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

〔背景〕

急性リンパ性白血病 (acute lymphoblastic leukemia : ALL) の治療において、ステロイドは最も重要な薬剤の一つである。このステロイドによる白血病の細胞死の機序は、グルココルチコイド受容体 (glucocorticoid receptor : GR) を介し Bim などの BCL-2 ファミリー蛋白により制御される内因性アポトーシスと理解されている。ステロイド抵抗性の患者は予後不良であるが、抵抗性となる機序は十分に解明されていない。

今回、胸腺 T 細胞でステロイドによる内因性アポトーシスを阻害する分子として報告された Glucocorticoid-induced transcript 1 (GLCCII) に着目し、初めて白血病細胞における GLCCII の発現とその機能を解析して、治療標的になり得るか検討した。

〔方法〕

代表的なヒト白血病細胞株のうち、ステロイド抵抗性で T-ALL 由来の Jurkat cell, ステロイド感受性で T-ALL 由来の CCRF-CEM cell, ステロイド感受性で B 細胞性由来の RS4;11 cell の 3 つを用いて GLCCII の検討を行った。

ステロイドによる内因性アポトーシスの解析には、% cell viability, フローサイトメトリーによる Annexin V, 7-AAD 染色, Bim, c-Caspase3 の蛋白発現を評価した。また、これらの白血病細胞株の GLCCII, GR の蛋白発現を解析し、CRISPR/Cas9 により GLCCII 遺伝子をノックアウトして GLCCII とアポトーシスとの関与を検討した。

〔結果〕

既報通り CCRF-CEM, RS4;11 ではステロイド投与による内因性アポトーシスが生じ、これは GR を介していたが、Jurkat ではこのようなアポトーシスは起きなかった。

次に、各白血病細胞株の GLCCII の蛋白発現を確認した。いずれの細胞株でも発現を認めたが、Jurkat, CCRF-CEM では強発現しており、胸腺 T 細胞とは異なりステロイド投与に関わらず恒常的に発現していた。

さらに、Jurkat において CRISPR/Cas9 により GLCCII 遺伝子をノックアウトしたところ、培養 48 時間ではステロイド抵抗性は改善しなかったが、96 時間培養では軽度のアポトーシスの促進が見られた。

〔考察〕

今回検討した白血病細胞株では、いずれも GLCCII が恒常的に発現しており、内因性アポトーシスの抑制に働いていることが示唆された。しかし、ステロイド抵抗性細胞株の Jurkat では、GLCCII の抑制のみではステロイド抵抗性は克服できないことが分かった。白血病のステロイド抵抗性には GLCCII 以外の分子も関与していると考えられ、GLCCII を白血病の治療標的とする際に考慮すべきであることが示唆された。

論文審査結果の要旨

〔背景〕

急性リンパ性白血病 (acute lymphoblastic leukemia : ALL) の治療において、ステロイドは最も重要な薬剤の一つである。ステロイドによる白血病の細胞死の機序は、グルココルチコイド受容体 (glucocorticoid receptor : GR) を介し、Bim などの BCL-2 ファミリー蛋白により制御される内因性アポトーシスと理解されている。ステロイド抵抗性の患者は予後不良であるが、抵抗性となる機序は十分に解明されていない。

今回、胸腺 T 細胞でステロイドによる内因性アポトーシスを阻害する分子として報告された Glucocorticoid-induced transcript 1 (GLCCII) に着目し、初めて白血病細胞における GLCCII の発現とその機能を解析して、治療標的になり得るかを検討した。

〔材料と方法〕

代表的なヒト白血病細胞株のうち、ステロイド抵抗性で T-ALL 由来の Jurkat cell, ステロイド感受性で T-ALL 由来の CCRF-CEM cell, ステロイド感受性で B 細胞性由来の RS4;11 cell の 3 細胞株を実験に使用した。ステロイドによる内因性アポトーシスの解析には、% cell viability, フローサイトメトリーによる Annexin V, 7-AAD 染色, Bim, c-Caspase3 の蛋白発現を評価した。

ステロイド抵抗性における GLCCII の関与を明らかにするため、これらの白血病細胞における GLCCII, GR の蛋白発現を解析した。更には、CRISPR/Cas9 により GLCCII 遺伝子をノックアウトした Jurkat の変異株を作成し、ステロイド抵抗性が改善されるか否かを検討した。

〔結果〕

既報の通り、CCRF-CEM, RS4;11 ではステロイド投与による内因性アポトーシスが観察され、これは GR を介していたが、

Jurkat ではこのようなアポトーシスはみられなかった。

次に、各白血病細胞株の GLCCII の蛋白発現を確認したところ、いずれの細胞株でも発現を認めたが、Jurkat, CCRF-CEM では強発現しており、胸腺 T 細胞とは異なりステロイド投与に関わらず恒常的に発現していた。

さらに、CRISPR/Cas9 により GLCCII 遺伝子をノックアウトした Jurkat 変異株において、培養 48 時間ではステロイド抵抗性は改善しなかったが、96 時間培養では軽度のアポトーシスの促進が認められた。

〔考察と結論〕

今回検討した白血病細胞株では、いずれも GLCCII が恒常的に発現しており、内因性アポトーシスの抑制に働いていることが示唆された。GLCCII 遺伝子ノックアウト Jurkat 変異株を用いた検討では、GLCCII の抑制のみではステロイド抵抗性は克服できないことが明らかとなったが、一方、長期培養にて軽度のアポトーシスの促進がみられたことから、GLCCII は、ステロイド以外の因子によるアポトーシスを抑制する機能があると考えられ、白血病の治療標的となり得る可能性が示唆された。

〔評価〕

ステロイド抵抗性の克服は、ALL 治療の重要な課題である。本研究は、ステロイドで誘導される因子として、これまで検討されていない GLCCII に着目し、各種白血病細胞株での発現と、ステロイド抵抗性との関連について検討したものである。GLCCII がステロイド抵抗性に直接関与しているとの結論には至らなかったが、何らかのアポトーシス抑制に関与している可能性が示唆されたことは意義深い。将来的に、GLCCII を白血病の治療標的として検討する際に、大変有用な情報をもたらす成果と評価され、審査委員全員一致で学位論文として価値あるものと判断した。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士 (医学)〕

氏名 天 野 達 雄

〈学位〉	種 類	博士 (医学)	論 文 項 目	脳主幹動脈閉塞に対する血栓回収療法における First Pass Effect に関わる因子の検討
	授与番号	博甲医第503号	論文審査委員	主査 塩川芳昭
	授与年月日	令和4年12月21日	副査	副島京子 寺尾安生 細井 温 大谷宗久
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

〈背景・目的〉

脳主幹動脈閉塞に対する血栓回収療法において、初回回収手技による閉塞血管領域のほぼ完全～完全な再開通を表す First Pass Effect (FPE) は転帰良好と関連する。近年、ステント型ならびに吸引型血栓回収デバイスの併用手技が有用と報告されている。本検討では、併用手技と単独手技における FPE の頻度を比較し、FPE の予測因子を検討した。

〈方法〉

2016年4月から2020年3月までに、塞栓性脳主幹動脈閉塞に対して血栓回収療法を行った119例を対象とした。ステント型もしくは吸引型血栓回収デバイス単独で回収手技を開始した症例を単独群、併用し回収手技を開始した症例を併用群とし、患者背景因子、FPEを含めた治療成績を比較した。FPEが得られた症例をFPE群、FPEが得られなかった症例をno-FPE群とし、FPEの予測因子を検討した。

〈結果〉

単独群30例、併用群89例が対象となった。両群間で患者背景因子に差は認めなかった。FPEは単独群で23%、併用群で45%と有意に併用群で高かった。FPE群とno-FPE群の比較で、FPE群で近位主幹動脈閉塞、tPA静注療法併用、併用手技が有意に多く、多変量解析でも同項目が独立した予測因子となった。

〈結論〉

血栓回収療法において、併用手技が単独手技と比較しFPEが期待でき、近位主幹動脈閉塞、tPA静注療法併用、併用手技がFPEの独立した予測因子となった。

論文審査結果の要旨

【背景・目的】脳主幹動脈閉塞に対する血栓回収療法において、初回回収手技による閉塞血管領域のほぼ完全～完全な再開通を表す First Pass Effect (FPE) は転帰良好と関連することが知られている。近年、ステント型血栓回収デバイスならびに吸引型血栓回収デバイスの併用手技が有用と報告されており、良好な転帰を獲得するためにはFPEが理想とされているが、FPEを得るための有効な手技や、FPEを得るための患者背景因子や併用薬、併用治療など関連因子は明らかとなっていない。

本研究では、自験例におけるこれらの血栓回収デバイスの使用実績とFPEを含めた治療成績を後方視的に比較し、FPEに関連する因子を検討した。

【方法】2016年4月から2020年3月までに、杏林大学医学部付属病院脳卒中センターにて塞栓性脳主幹動脈閉塞に対して血栓回収療法を行った連続119例（年齢中央値81歳、男性40%）を対象とした。ステント型もしくは吸引型血栓回収デバイス単独で回収手技を開始した症例を単独群、両者を最初から併用し回収手技を開始した症例を併用群とし、患者背景因子、FPEを含めた治療

成績を比較した。FPEが得られた症例をFPE群、FPEが得られなかった症例をno-FPE群とし、FPEを予測しうる関連因子を検討した。

【結果】対象となった単独群30例、併用群89例の両群間で患者背景因子に差は認めなかった。FPEは単独群で23%、併用群で45%と有意 ($p=0.036$) に併用群で高かった。FPE群とno-FPE群の比較で、FPE群で近位主幹動脈閉塞 ($p=0.017$)、tPA静注療法併用 ($p=0.029$)、併用群 ($p=0.036$) が有意に多く、多変量解析でもこれらの三項目すなわち近位主幹動脈閉塞 (OR 3.46, 95% CI: 1.23-11.37, $p=0.017$)、tPA静注療法併用 (OR 2.35, 95% CI: 1.06-5.33, $p=0.035$)、併用群 (OR 2.86, 95% CI: 1.11-8.13, $p=0.029$) が有意に独立したFPEを予測しうる関連因子となった。

【結論】血栓回収療法において、最初からステント型および吸引型デバイスを併用した群が単独群と比較して有意にFPEが期待でき、近位主幹動脈閉塞、tPA静注療法併用、併用群の三項目がFPEを予測しうる独立した因子であることが示された。

【審査結果】本研究は、脳主幹動脈閉塞に対する血栓回収療法におけるFPEに関わる因子を明らかとしたもので、審査委員全員で学位論文にふさわしい内容であると判断された。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 須田 智也

〈学位〉	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌創傷感染における黄色ブドウ球菌ファージphiMR003の作用の検討—ファージ療法で生じる宿主免疫系に対する影響を中心に—
	授与番号	博甲医第504号	論文審査委員	主査 大山 学
	授与年月日	令和4年12月21日	副査	多久嶋亮彦 秋元義弘 成田雅美 栗崎 健
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

背景：細菌に感染するウイルスであるバクテリオファージ（ファージ）は、細菌内で複製すると菌を溶解して死滅させる。このファージの溶菌活性を利用したファージ療法は、多剤耐性菌感染症への治療応用が期待されている。一方、ファージ自体が免疫系に異物として認識されるため、その応答が病態に影響する可能性が考えられる。そこで、MRSAのマウス創傷感染モデルにファージを投与して生菌数測定、サイトカインの定量および創状態の変化を調べた。

方法：ファージには、当院のMRSA臨床分離株106株のうち99.1%を溶菌するphiMR003を用いた。また、98℃、20分間加熱して熱失活phiMR003とした。MRSAには、臨床分離株のうちphiMR003感受性株としてKYMR116および117、非感受性としてKYMR58を用いた。マウス背部に皮膚全層切除部位を作成し、 2×10^8 CFUのMRSAを接種して30分後に 10^{10} PFUのphiMR003を投与した。一定期間飼育後、生菌数の測定、ELISAによるIL-1 β 、IL-6、TNF- α およびIL-10の定量を行った。組織観察にはHE染色、EVG染色および抗Ly6G、抗ER/TR7抗体を用いた免疫蛍光染色を行った。また、phiMR003を添加したマウス腹腔マクロファージをLPSで刺激し、IL-1 β 、IL-6、TNF- α の発現量をqPCRで定量した。貪食能および殺菌能はマウスマクロファージ様培養細胞株J774A.1を用いて解析した。

結果：KYMR116および117の感染ではphiMR003により生菌数は顕著に減少し、IL-1 β およびIL-6は有意に低下した。また、組織の好中球数が減少し線維芽細胞は増加した。一方、KYMR58の感染においても生菌数は有意に減少し、IL-1 β 、IL-6の低下と好中球の減少、線維芽細胞の増加がみられた。これらの効果は熱処理phiMR003では消失した。腹腔マクロファージを用いた検討では、LPS刺激によるIL-1 β の転写誘発がphiMR003処理により抑制された。J774A.1による貪食には変化がなかったが、細胞内生菌数はphiMR003添加群で低かった。

考察：phiMR003は、感受性菌の創部感染に対し顕著な生菌数の低下と炎症の抑制および病態改善効果を示したばかりでなく、非感受性菌の感染においてもこれらの作用がみられたことから、phiMR003には宿主免疫系を介して病態を改善する効果のあることが明らかとなった。また、これらの作用はファージビリオンとして認識されることが重要である可能性が考えられた。さらに、phiMR003は、LPS刺激により惹起されるマクロファージの炎症性サイトカインの誘発を抑制することが明らかとなった。本研究により、ファージには溶菌により細菌数を減少させるだけでなく、宿主免疫系を介して病態を改善する可能性のあることが示唆された。

論文審査結果の要旨

背景と目的：細菌に感染するウイルスであるバクテリオファージ（ファージ）は、細菌内で複製すると菌を溶解して死滅させる。この溶菌活性を利用した治療法は、多剤耐性菌感染症への治療応用が期待されている。一方、ファージ自体が免疫系に異物として認識されるため、その応答が病態に影響する可能性が考えられる。そこで、本研究ではMRSAマウス創傷感染モデルにファージを投与しその作用を感染症治療、創傷治癒のみならず宿主の免疫に与える影響の観点から細菌学、免疫学、組織学的手法を用いて明らかにすることを目的とした。

方法：ファージには、当院のMRSA臨床分離株106株のうち99.1%を溶菌するphiMR003を用いた。MRSAはphiMR003感受性株としてKYMR116および117、非感受性株としてKYMR58を用いた。マウス背部に皮膚全層切除部位を作成し、 2×10^8 CFUのMRSAを接種して30分後に 10^{10} PFUのphiMR003を投与した。一定期間飼育後、生菌数の測定、ELISAによるIL-1 β 、IL-6、TNF- α およびIL-10の定量を行った。組織観察にはHE染色、EVG染色および抗Ly6G、抗ER/TR7抗体を用いた免疫蛍光染色を行った。また、phiMR003を添加したマウス腹腔マクロファージをLPSで刺激し、IL-1 β 、IL-6、TNF- α の発現量をqPCRで定量した。貪食能および殺菌能はマウスマクロファージ様培養細胞株J774A.1を用いて解析した。

結果：KYMR116および117の感染実験ではphiMR003により生菌数は顕著に減少し、IL-1 β およびIL-6は有意に低下した。また、組織中の好中球数が減少し線維芽細胞は増加した。一方、ファージ非感受性のKYMR58の感染実験でも生菌数は有意に減少し、IL-1 β 、IL-6の低下と好中球の減少、線維芽細胞の増加がみられた。これらの効果は熱処理phiMR003を用いた系では消失した。In vitroでの検討では、腹腔マクロファージへのLPS刺激によるIL-1 β の発現誘発がphiMR003存在下で抑制され、同じくphiMR003添加にてマウスマクロファージ培養細胞株J774A.1の貪食能には影響がなかったものの貪食後の細胞内生菌数が統計学的に有意に減少していた。

考察と結論：phiMR003は、感受性菌の創部感染に対し顕著な生菌数の低下と炎症の抑制による直接的な作用による改善効果を示しただけでなく、ファージビリオンとして認識され宿主免疫系、特に自然免疫系にも影響を与え病態の改善に寄与した可能性が示唆された。

審査結果：現在、臨床現場で問題となっている多剤耐性菌に対する新規治療法開発の一助となる研究課題であり、その効果を既報のアプローチだけでなく宿主の免疫系という独創的な視点からも捉えたという意味で学術的な意義は高い。また、審査過程におけるコメントへの対応、公開発表会に向けての準備などにおける真摯な姿勢も高く評価され、学位授与に十分相応しいと結論された。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士 (医学)〕

氏名 島田大輔

〈学位〉	種類	博士 (医学)	論文項目	脳卒中と遺伝子変異 <i>RNF213</i> c.14429G>A (p.Arg4810Lys)の関連解析—脳卒中病型別の解析—
	授与番号	博甲医第505号	論文審査委員	主査 平野照之
	授与年月日	令和5年2月15日	副査	窪田 博 河野隆志 長瀬美樹 今泉美佳
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

【目的】

もやもや病 (MMD) で発見された感受性遺伝子変異 *Ring finger protein 213* c.14429G>A (p.Arg4810Lys) (以下 *RNF213* 変異) の脳卒中中の各病型における臨床的意義を明らかにする。

【対象・方法】

2020年5月から1年間に杏林大学に脳卒中中で入院し診断の確定をした連続症例521例を対象に、静脈血リンパ球からDNAを抽出し Sanger sequence にて、*RNF213* 変異を解析した。コントロールとして東京大学ゲノム医学センターのデータベースの脳卒中のない健常人1202例を用いた。サブ解析としてアテローム血栓性脳梗塞 (Large artery atherosclerosis : LAA) における頭蓋内主幹動脈狭窄 (intracranial artery stenosis : ICAS) / 頭蓋外主幹動脈狭窄 (extracranial artery stenosis : ECAS) と *RNF213* 変異の関連解析を年齢と性別を調節してロジスティック回帰解析で行った。

【結果】

脳卒中患者全体 (N=521, 女性42%, 平均年齢73±14歳) では *RNF213* 変異を有する割合は3.3%, 非脳卒中群は1.1%であり、脳卒中発症と有意に関連した ($p=0.014$, OR 3.25, 95% CI [1.46-8.34])。

脳卒中中の各病型と *RNF213* 変異を有する割合は、心原性脳塞栓症で1.1%, LAAで10.3%, Small-vessel occlusionで0%, MMD50%, MMDを除いたOthers群で0.8%, 脳内出血2.3%であった。その中で非脳卒中群と比較して、*RNF213* 変異はMMD, LAAと有意に関連した ($p<0.001$, OR 77.55 [95% CI 9.56-628.76], $p<0.001$, OR 14.55 [95% CI 4.41-48.05])。責任血管別にわけても、*RNF213* 変異を有する割合は、LAA-ICAS群が10.1%, LAA-ECAS群が10.7%とほぼ同等であり、有意に関連した (それぞれ $p<0.001$, OR 18.52 95% CI [5.58-61.50], $p<0.001$, OR 10.98 95% CI [2.94-40.94])。

【考察】 *RNF213* 変異は日本人の全脳卒中中のリスク因子であり、病型としてもやもや病以外の頭蓋内外のLAAとも関連していた。*RNF213* 変異は一般の日本人の1%程度に存在し、欧米人にはほとんど認められないことが明らかになっており、日本人に特有の脳卒中中の遺伝的リスク因子と考えられる。

【結語】 *RNF213* 変異は日本人の全脳卒中およびLAAの有意な遺伝的リスク因子であり、責任血管別にも頭蓋内外の主幹動脈狭窄と関連していることが示された。

論文審査結果の要旨

【目的】 もやもや病 (MMD) で発見された感受性遺伝子変異 *Ring finger protein 213* c.14429G>A (p.Arg4810Lys) (以下 *RNF213* 変異) の脳卒中中の各病型における臨床的意義を明らかにする。

【対象・方法】 2020年5月から1年間に杏林大学に脳卒中中で入院し診断を確定した連続症例521例を対象に、静脈血リンパ球からDNAを抽出し Sanger sequence にて、*RNF213* 変異を解析した。コントロールとして東京大学ゲノム医学センターのデータベースの脳卒中のない健常人1202例を用いた。サブ解析としてアテローム血栓性脳梗塞 (Large artery atherosclerosis : LAA) における頭蓋内主幹動脈狭窄 (intracranial artery stenosis : ICAS) / 頭蓋外主幹動脈狭窄 (extracranial artery stenosis : ECAS) と *RNF213* 変異の関連解析を年齢と性別を調節してロジスティック回帰解析で行った。

【結果】 脳卒中患者全体 (N=521, 女性42%, 平均年齢73±14歳) では *RNF213* 変異を有する割合は3.3%, 非脳卒中群は1.1%であり、脳卒中発症と有意に関連した ($p=0.014$, OR 3.25, 95% CI [1.46-8.34])。脳卒中中の各病型と *RNF213* 変異を有する割合は、心原性脳塞栓症で1.1%, LAAで10.3%, Small-vessel occlusionで0%, MMD50%, MMDを除いたOthers群で0.8%, 脳内出血2.3%であった。その中で非脳卒中群と比較して、*RNF213* 変異はMMD, LAAと有意に関連した ($p<0.001$, OR 77.55 [95% CI 9.56-628.76], $p<0.001$, OR 14.55 [95% CI 4.41-48.05])。責任血管別にわけても、*RNF213* 変異を有する割合は、LAA-ICAS群が10.1%, LAA-ECAS群が10.7%とほぼ同等であり、有意に関連した (それぞれ $p<0.001$, OR 18.52 95% CI [5.58-61.50], $p<0.001$, OR 10.98 95% CI [2.94-40.94])。

【考察】 *RNF213* 変異は日本人の全脳卒中中のリスク因子であり、病型としてもやもや病以外の頭蓋内外のLAAとも関連していた。*RNF213* 変異は一般の日本人の1%程度に存在し、欧米人にはほとんど認められないことが明らかになっており、日本人に特有の脳卒中中の遺伝的リスク因子と考えられる。

【結語】 *RNF213* 変異は日本人の全脳卒中およびLAAの有意な遺伝的リスク因子であり、責任血管別にも頭蓋内外の主幹動脈狭窄と関連していることが示された。

【審査結果】 脳卒中前向き連続例における *RNF213* 変異の頻度を3.3%と示し、新たな知見として頭蓋外主幹動脈狭窄との関連を示した。*RNF213* 変異の機能解析、発生学的考察、先制医療への応用、など質疑にも的確に対応した。学位論文に相応しい研究成果と認められた。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士 (医学)〕

氏名 日比則孝

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目 腸管マクロファージにおけるIL-1Rを介したIL-10産生機序の解明
	授与番号 博甲医第506号	論文審査委員 主査 駒形嘉紀
	授与年月日 令和5年3月8日	副査 須並英二 大崎敬子 後藤田貴也 石井晴之
	授与の要件 学位規程第5条	

学位論文の要旨

〔背景〕

炎症性腸疾患は、遺伝的要因、環境的要因、免疫学的要因などにより腸管免疫の恒常性が破綻して発症すると考えられている。腸管マクロファージは抗炎症性サイトカインであるinterleukin (IL)-10を産生し、腸管免疫機構の恒常性維持に寄与する。腸管マクロファージのIL-10産生は腸内細菌依存性経路と非依存性経路が存在し、アダプター分子myeloid differentiation primary response 88 (MyD88)に依存する。我々は、toll-like receptor (TLR)のアダプター分子MyD88を共有するIL-1受容体 (IL-1R)を介するシグナル伝達がIL-10産生に関与するという仮説を立てた。

〔方法〕

無菌 (germ free, GF) 野生型マウス、通常飼育 (specific pathogen free, SPF) 野生型マウス、MyD88ノックアウト (KO) マウスの腸管マクロファージにおける*Il10*発現をquantitative PCR (qPCR)により比較した。マウス腸管マクロファージの*Il1r1*発現を他の組織マクロファージと比較し、さらにIL-1 β 刺激による*Il10*発現を検討した。IL-1R1強制発現RAW 264.7細胞を作成し、IL-1 β 刺激による*Il10*発現およびIL-10産生をqPCR, enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA)により評価した。IL-1R1のシグナル伝達に関与する因子としてp38, extracellular signal-regulated kinase (ERK), cAMP response element-binding protein (CREB)のリン酸化をWestern Blottingにより検討した。MyD88およびCREBの発現をsmall interfering RNA (siRNA)で抑制し、*Il10*発現およびIL-10産生の変化をqPCR, ELISAにより評価した。

〔結果〕

GF野生型マウス、SPF野生型マウスの*Il10*発現に有意差を認めず、SPF MyD88 KOマウスでは*Il10*発現が低下した。腸管マクロファージは脾臓、腹腔、骨髄マクロファージと比べ*Il1r1*発現が高い特徴を有していた。腸管マクロファージではIL-1 β 刺激により*Il10*発現が増加した。IL-1R1強制発現RAW 264.7細胞においてIL-1 β 刺激によりIL-10産生が増加した。IL-1 β 刺激によりp38, ERK, CREBのリン酸化を認めた。MyD88またはCREBの抑制により*Il10*発現、IL-10産生が低下した。

〔考察〕

我々は、腸管マクロファージにおいてIL-1 β /IL-1R-MyD88-CREBを介した経路がIL-10産生に関与している可能性を新たに見出した。本経路にはp38およびERKが関与しており、細菌由来のLPSのシグナル伝達経路とMyD88以下を共有していることが推測される。本トランスレーショナル研究は、ヒトにおける腸管マクロファージの免疫恒常性維持機構、炎症性腸疾患病態への関与を理解するための第一歩になると考える。

論文審査結果の要旨

〔背景〕

炎症性腸疾患は、遺伝的要因、環境的要因、免疫学的要因などにより腸管免疫の恒常性が破綻して発症すると考えられている。腸管マクロファージは抗炎症性サイトカインであるinterleukin (IL)-10を産生し、腸管免疫機構の恒常性維持に寄与する。腸管マクロファージのIL-10産生は腸内細菌依存性経路と非依存性経路が存在し、アダプター分子myeloid differentiation primary response 88(MyD88)に依存する。我々は、toll-like receptor (TLR)のアダプター分子MyD88を共有するIL-1受容体 (IL-1R)を介するシグナル伝達がIL-10産生に関与するという仮説を立てた。

〔方法〕

無菌 (germ free, GF) 野生型マウス、通常飼育 (specific pathogen free, SPF) 野生型マウス、MyD88ノックアウト (KO) マウスの腸管マクロファージにおける*Il10*発現をquantitative PCR(qPCR)により比較した。マウス腸管マクロファージの*Il1r1*発現を他の組織マクロファージと比較し、さらにIL-1 β 刺激による*Il10*発現を検討した。IL-1R1強制発現RAW264.7細胞を作成し、IL-1 β 刺激による*Il10*発現およびIL-10産生をqPCR, enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA)により評価した。IL-1R1のシグナル伝達に関与する因子としてp38, extracellular signal-regulated kinase (ERK), cAMP response element-binding protein (CREB)のリン酸化をWestern Blottingにより検討した。MyD88およびCREBの発現をsmall interfering RNA (siRNA)で抑制し、*Il10*発現およびIL-10産生の変化をqPCR, ELISAにより評価した。

〔結果〕

GF野生型マウス、SPF野生型マウスの*Il10*発現に有意差を認めず、SPF MyD88 KOマウスでは*Il10*発現が低下した。腸管マクロファージは脾臓、腹腔、骨髄マクロファージと比べ*Il1r1*発現が高い特徴を有していた。腸管マクロファージではIL-1 β 刺激により*Il10*発現が増加した。IL-1R1強制発現RAW 264.7細胞においてIL-1 β 刺激によりIL-10産生が増加した。IL-1 β 刺激によりp38, ERK, CREBのリン酸化を認めた。MyD88またはCREBの抑制により*Il10*発現、IL-10産生が低下した。

〔考察〕

我々は、腸管マクロファージにおいてIL-1 β /IL-1R-MyD88-CREBを介した経路がIL-10産生に関与している可能性を新たに見出した。本経路にはp38およびERKが関与しており、細菌由来のLPSのシグナル伝達経路とMyD88以下を共有していることが推測される。本トランスレーショナル研究は、ヒトにおける腸管マクロファージの免疫恒常性維持機構、炎症性腸疾患病態への関与を理解するための第一歩になると考える。

〔評価〕

本論文は、腸管免疫の恒常性維持に重要な役割を果たしている腸管マクロファージに着目し、IL-10産生経路に従来から知られている経路とは別の経路が存在している可能性を探った論文である。実験デザインは論理的に計画されており、腸管マクロファージにおけるIL-10シグナル伝達異常と炎症性腸疾患との関連性を明らかにしていくためにもとても重要な研究であると思われ、審査委員全員一致で学位論文として価値のあるものであるという審査結果となった。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 山 岸 夢 希

〈学位〉	種 類 博士（医学）	論 文 項 目	髄液中MYD88 p.L265P 遺伝子変異検出による中枢神経系リンパ腫liquid biopsyの有用性
	授与番号 博甲医第507号	論文審査委員	主査 高山信之 副査 柴原純二 長島文夫 森井健司 今泉美佳
	授与年月日 令和5年3月8日		
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

背景：中枢神経系リンパ腫（central nervous system lymphoma：CNSL）は、脳・脊髄・眼以外に病巣を認めない中枢神経系に局限する節外性リンパ腫であり、依然予後不良な悪性疾患である。近年、CNSLに特異的な薬物療法の有用性が示され、的確な診断が必須である。現在の標準診断法は定位脳生検による病理組織学的診断であるが、生検術は合併症率6.6～8.8%、死亡率1.0%と、目的に比して侵襲性の高い診断法であり、より低侵襲な新規診断法として髄液を用いたliquid biopsyの開発が進んでいる。中でもMYD88遺伝子変異は、CNSLの約80%に共通のpoint mutationがみられ、疾患特異性にも優れることからliquid biopsyの良い標的変異とされている。これまでに複数のpilot studyが報告されているが、実臨床に向けての条件検討や検査精度の検証は不十分であり、本研究ではdigital PCR法を用いた髄液中DNAのMYD88変異検出によるCNSLの診断条件の確立と、検査精度の検証を行った。

対象・方法：治療開始前に採取された髄液と脳腫瘍標本のペアが揃った症例を対象とした。凍結保存された髄液を遠心分離し、沈殿からcellular DNA、上清からcell free DNA（cfDNA）を抽出した。各々のDNAを用いてdigital PCR法によりMYD88変異の有無を判定し、腫瘍DNAの結果と比較した。

結果：解析対象は42例であった。DNA抽出量の中央値はcellular DNA 19.1 ng、cfDNA 29.0 ng（ $p=0.02$ ）、MYD88変異陽性例のTarget/Total値の中央値はcellular DNA5.1%、cfDNA 22.0%（ $p=0.03$ ）でいずれもcfDNAが有意に高かった。Digital PCR法によるMYD88変異の有無の判断基準を「amplified signal数 $\geq 2,000$ 、Target/Total $\geq 0.25\%$ 」と定めたところ、cellular DNAを用いた場合、感度92.2%、特異度100%、cfDNAでは感度、特異度ともに100%と非常に高い検査精度であった。

結語：Digital PCR法を用いて髄液中DNAに対するMYD88変異有無を判断するCNSL診断法は、判断基準を遵守すれば非常に高い精度であり、臨床応用への実現が期待される。

論文審査結果の要旨

背景：中枢神経系リンパ腫（central nervous system lymphoma：CNSL）は、脳・脊髄・眼以外に病巣を認めない中枢神経系に局限する節外性リンパ腫であり、依然予後不良な悪性疾患である。近年、CNSLに特異的な薬物療法の有用性が示され、的確な診断が必須である。現在の標準診断法は定位脳生検による病理組織学的診断であるが、生検術は合併症率6.6～8.8%、死亡率1.0%と、目的に比して侵襲性の高い診断法であり、より低侵襲な新規診断法として髄液を用いたliquid biopsyの開発が進んでいる。中でもMYD88遺伝子変異は、CNSLの約80%に共通のpoint mutationがみられ、疾患特異性にも優れることからliquid biopsyの良い標的変異とされている。これまでに複数のpilot studyが報告されているが、実臨床に向けての条件検討や検査精度の検証は不十分であり、本研究ではdigital PCR法を用いた髄液中DNAのMYD88変異検出によるCNSLの診断条件の確立と、検査精度の検証を行った。

対象・方法：治療開始前に採取された髄液と脳腫瘍標本のペアが揃った症例を対象とした。凍結保存された髄液を遠心分離し、沈殿からcellular DNA、上清からcell free DNA（cfDNA）を抽出した。各々のDNAを用いてdigital PCR法によりMYD88変異の有無を判定し、腫瘍DNAの結果と比較した。

結果：解析対象は42例であった。DNA抽出量の中央値はcellular

DNA 19.1 ng、cfDNA 29.0 ng（ $p=0.02$ ）、MYD88変異陽性例のTarget/Total値の中央値はcellular DNA5.1%、cfDNA22.0%（ $p=0.03$ ）でいずれもcfDNAが有意に高かった。Digital PCR法によるMYD88変異の有無の判断基準を「amplified signal数 $\geq 2,000$ 、Target/Total $\geq 0.25\%$ 」と定めたところ、cellular DNAを用いた場合、感度92.2%、特異度100%、cfDNAでは感度、特異度ともに100%と非常に高い検査精度であった。

結語：Digital PCR法を用いて髄液中DNAに対するMYD88変異有無を判断するCNSL診断法は、判断基準を遵守すれば非常に高い精度であり、臨床応用への実現が期待される。

評価：中枢神経系リンパ腫の診断は、通常、定位脳生検により行われるが、侵襲性の高い手技であること、病変が脳の深部でアプローチが困難なケースが一部に存在すること、などが問題であった。本研究は、liquid biopsyという手法により、直接患部に触れることなく、脳脊髄液を用いた新たな診断法について検討したものである。方法としては、患者から得られた髄液を材料とし、中枢神経系リンパ腫に高頻度に変異が認められるMYD88遺伝子変異を指標とし、digital PCR法という最新のテクノロジーを応用して、42例というこれまで最多の症例数を解析している。結果は、直接得られた腫瘍サンプルとの高い一致率を示し、本法の有用性が確認できた。liquid biopsyが今後普及すれば、中枢神経系リンパ腫の診断は、より確実、より低侵襲になると予想されることから、本研究は大変有意義な成果と考えられ、審査委員全員一致で学位論文として価値あるものと判断した。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 和田 晴 香

〈学位〉	種 類 博士（医学）	論 文 項 目	腸管 microbiome 解析に基づく 5-アミノサリチル酸の抗炎症作用機序の解明
	授与番号 博甲医第508号	論文審査委員	主査 大崎敬子
	授与年月日 令和5年3月31日		副査 須並英二 大山 学 駒形嘉紀 櫻井裕之
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

〔目的〕

炎症性腸疾患（IBD）の病態には、腸管微生物叢の関与が示唆されている。5-アミノサリチル酸（5-ASA）はIBD治療に広く用いられるが、その作用機序は確立していない。我々は、5-ASAが腸管微生物叢に影響することにより抗炎症作用を発揮するという仮説を立て、本研究を行った。

〔方法〕

Specific pathogen-free (SPF) マウスを用い、床敷混合を行って腸管微生物叢を均一化した後に5-ASAを4週間経口投与した。糞便検体の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンス解析により、5-ASA投与群（5-ASA群）と非投与対照群（NT群）の腸内細菌叢の経時的変化を検討した。次に各群の雌マウスの糞便をそれぞれアイソレータで無菌（GF）雌マウスに移入し、GF雄マウスと交配した。アイソレータ内で出生、飼育した仔マウスの腸間膜リンパ節（MLN）のCD4⁺T細胞分画および大腸粘膜の免疫プロファイルを解析し、5-ASA投与後の腸管微生物叢が宿主免疫機構に与える影響を評価した。さらに仔マウスをデキストラン硫酸ナトリウム（DSS）誘導性腸炎モデルに用い、臨床症状および組織学的評価により5-ASA投与で変化した腸管微生物叢の抗炎症作用を検討した。

〔結果〕

雌雄ともに5-ASA投与により腸内細菌叢の構成は経時的に変化した。5-ASA投与群の雌マウスではNT群と比較して *Allobaculum* 属の有意な増加（corrected $p < 0.05$ ）を認めた。大腸粘膜のIL-10およびIL-22のmRNA発現が5-ASA投与群でNT群よりも有意に増加した（いずれも雌雄ともに $p < 0.05$ ）。各アイソレータ内では腸管細菌叢の母仔垂直伝播を認め、5-ASA群の糞便を移入した雌から産まれた仔では、対照群と比較してMLNのCD4陽性ROR γ t陽性T細胞が有意に増加した（ $p < 0.01$ ）。大腸粘膜のTGF- β およびclaudin-2、claudin-3のmRNA発現が、5-ASA群の糞便を移入した雌から産まれた仔で対照群よりも有意に増加していた（いずれも $p < 0.01$ ）。5-ASA投与群の糞便を移入した雌から産まれた仔では、対照群よりもDSS誘導性腸炎が軽症となった。

〔結論〕

5-ASA投与により腸管微生物叢が変化し、宿主の免疫機構に影響を与えることが、5-ASAの抗炎症作用機序の1つである可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

〔目的〕

炎症性腸疾患（IBD）の病態には、腸管微生物叢の関与が示唆されている。5-アミノサリチル酸（5-ASA）はIBD治療に広く用いられるが、その作用機序は確立していない。我々は、5-ASAが腸管微生物叢に影響することにより抗炎症作用を発揮するという仮説を立て、本研究を行った。

〔方法〕

Specific pathogen-free (SPF) マウスを用い、床敷混合を行って腸管微生物叢を均一化した後に5-ASAを4週間経口投与した。糞便検体の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンス解析により、5-ASA投与群（5-ASA群）と非投与対照群（NT群）の腸内細菌叢の経時的変化を検討した。次に各群の雌マウスの糞便をそれぞれアイソレータで無菌（GF）雌マウスに移入し、GF雄マウスと交配した。アイソレータ内で出生、飼育した仔マウスの腸間膜リンパ節（MLN）のCD4⁺T細胞分画および大腸粘膜の免疫プロファイルを解析し、5-ASA投与後の腸管微生物叢が宿主免疫機構に与える影響を評価した。さらに仔マウスをデキストラン硫酸ナトリウム（DSS）誘導性腸炎モデルに用い、臨床症状および組織学的評価により5-ASA投与で変化した腸管微生物叢の抗炎症作用を検討した。

〔結果〕

雌雄ともに5-ASA投与により腸内細菌叢の構成は経時的に変化した。5-ASA投与群の雌マウスではNT群と比較して *Allobaculum* 属の有意な増加（corrected $p < 0.05$ ）を認めた。大腸粘膜のIL-10およびIL-22のmRNA発現が5-ASA投与群でNT群よりも有意に増加した（いずれも雌雄ともに $p < 0.05$ ）。各アイソレータ内では腸管細菌叢の母仔伝播を認め、5-ASA群の糞便を移入した雌から産まれた仔では、対照群と比較してMLNのCD4陽性ROR γ t陽性T細胞が有意に増加した（ $p < 0.01$ ）。大腸粘膜のTGF- β およびclaudin-2、claudin-3のmRNA発現が、5-ASA群の糞便を移入した雌から産まれた仔で対照群よりも有意に増加していた（いずれも $p < 0.01$ ）。5-ASA投与群の糞便を移入した雌から産まれた仔では、対照群よりもDSS誘導性腸炎が軽症となった。

〔結論〕

5-ASA投与により腸管微生物叢が変化し、宿主の免疫機構に影響を与えることが、5-ASAの抗炎症作用機序の1つである可能性が示唆された。

〔評価〕

本研究は、IBDの治療薬として用いられる5-ASAをマウスに投与し、腸内細菌叢の変化を明らかにした。さらに変化した腸管微生物叢を無菌マウスに移入した後交配を行い、その仔マウスを使って、DSS腸炎誘導モデルにて抗炎症効果を確認した。本研究の成果によりこれまで不明であった5-ASAの作用機序の一部が示された。審査委員全員一致で学位論文として価値のあるものと判断した。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士 (医学)〕

氏名 中 島 昌 典

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	合成糖鎖化合物を用いたMAG抗体陽性ニューロパチーにおける新規抗体測定系の開発と吸着剤に適した糖鎖構造の解析に関する研究
	授与番号 博甲医第509号	論文審査委員	主査 山田 深
	授与年月日 令和5年3月31日		副査 高山信之 森井健司 寺尾安生 秋元義弘
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

【背景と目的】 Myeline associated glycoprotein (MAG) 抗体陽性ニューロパチーはhuman natural killer-1 (HNK-1) 糖鎖構造を抗原認識する, 単クローン性に産生されたIgM抗体を病因とする。これまで主に天然物を抗原とする抗体測定法が用いられてきたが, 安定的供給や改変の上で制約があった。新規抗体測定系を作製し, 患者血清のMAG抗体が抗原認識する糖鎖構造の多様性について解析することで, 吸着剤に固相化する最も効率的な糖鎖構造を決定することを目的とした。

【方法】 対象はWestern blot法でMAG抗体陽性と判定した80例の血清81検体 (70.2 ± 9.1歳, 男:女 = 2.37: 1, 罹病期間24 (10 ~ 70)か月)。還元末端をbiotin化した合成糖鎖化合物として五糖のsulfated glucuronyl paragloboside (SGPG) 糖鎖をstreptavidinでコートしたプレートに固相化し, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法を行う新規抗体測定系を作成し, 有用性を検討した。次に, 抗原となる合成糖鎖として, SGPG糖鎖, 還元末端側を順次切り詰めた三糖のHNK-1糖鎖, 末端二糖のSGlcUA-Gal, 対照二糖のSGlcUA-Glcを用いてELISA法を行い, 各合成糖鎖と強く反応する組み合わせを視覚的に分類し, 臨床像を部位毎で母数が多い筋・筋群の徒手筋力テストの合計平均値で分類した。

【結果】 新規抗体測定系は従来法と抗体価の点で有意な相関を示し ($R = 0.54 \sim 0.71$, $p < 0.01$), 従来のMAG抗体ELISA法に対して感度96.0%, 特異度100%であった。反応パターンと臨床像は, SGlcUA-GalよりSGlcUA-Glcで強く反応した10例 (遠位筋/筋群として短母指外転筋9.85, 母趾背屈筋群9.5) が軽症, 全種類に反応した6例 (9.83, 6.75) とSGPG糖鎖とHNK-1糖鎖に反応した29例 (9.33, 7.23), SGPG糖鎖のみ反応した11例 (9.41, 8.62) が下肢遠位優位の筋力低下, SGlcUA-Glc以外に反応した4例 (8.18, 7.5) と全種類に反応が弱かった18例 (8.47, 7.53) が上下肢共に遠位優位に筋力低下を呈した (有意差なし)。

【考察と結論】 新規抗体測定系は検査に有用である。MAG抗体が認識する糖鎖構造には多様性があり, 反応パターン毎で臨床像に違いを認めた。MAG抗体の選択的な吸着剤を作成する際, SGPG糖鎖のみ反応した群は下肢遠位優位の筋力低下が比較的軽度であるため, 治療適応の観点で優先度は下がると判断し, 糖鎖構造の単純化も考慮すると, 三糖のHNK-1糖鎖を抗原とするのが望ましい。

論文審査結果の要旨

【背景と目的】 Myeline associated glycoprotein (MAG) 抗体陽性ニューロパチーはhuman natural killer-1 (HNK-1) 糖鎖構造を抗原認識する免疫介在性末梢神経障害である。これまで主に天然物を抗原とする抗体測定法が用いられてきたが, 安定的供給や改変の上で制約があった。新規抗体測定系を作製し, 患者血清のMAG抗体が抗原認識する糖鎖構造の多様性について解析することで, 吸着剤に固相化する最も効率的な糖鎖構造を検討した。

【方法】 Western blot法でMAG抗体陽性と判定した80例の血清81検体 (70.2 ± 9.1歳, 男:女 = 2.37: 1, 罹病期間24 (10 ~ 70)か月)を解析の対象とした。還元末端をbiotin化した合成糖鎖化合物として五糖のsulfated glucuronyl paragloboside (SGPG) 糖鎖をプレートに固相化し, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法を行う新規抗体測定系を作成し, 有用性を検討した。次に五糖のSGPG糖鎖, 還元末端側を順次切り詰めた三糖のHNK-1糖鎖, 末端二糖のSGlcUA-Gal, 対照二糖のSGlcUA-Glcを用いてELISA法を行い, 各合成糖鎖と強く反応する組み合わせを視覚的に分類し, 筋力で評価した臨床像と比較した。

【結果】 新規抗体測定系は従来法と抗体価の点で有意な相関を示し ($R = 0.54 \sim 0.71$, $p < 0.01$), 従来のMAG抗体ELISA法に対

して感度96.0%, 特異度100%であった。反応パターンと臨床像は, SGlcUA-GalよりSGlcUA-Glcで強く反応した10例が軽症, 全種類に反応した6例とSGPG糖鎖とHNK-1糖鎖に反応した29例, SGPG糖鎖のみ反応した11例が下肢遠位優位の筋力低下, SGlcUA-Glc以外に反応した4例と全種類に反応が弱かった18例が上下肢共に遠位優位に筋力低下を呈した。

【考察と結論】 新規抗体測定系は検査に有用であることを示した。MAG抗体が認識する糖鎖構造には多様性があり, 反応パターン毎で臨床像に違いを認めた。MAG抗体の選択的な吸着剤を作成する際, 重症度と症例数について, 五糖のSGPG糖鎖のみ反応した群は下肢遠位優位の筋力低下が比較的軽度であるため, 治療適応の観点で優先度は下がると判断し, 糖鎖構造の単純化も考慮すると, 三糖のHNK-1糖鎖を抗原とするのが望ましいと考える。今後は吸着剤の作製・実用化を踏まえた課題の更なる検討が必要である。

【審査結果】 MAG抗体陽性ニューロパチーという難治性の疾患に対して, 合成糖鎖を用いた抗体検査の有用性を示し, 新たな治療法の開発につながる重要な知見を示すことができた。臨床応用を視野に入れた具体的な化学構造に関する質疑に対しても的確に対応した。審査委員全員一致で学位論文に相応しい内容であると判断された。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士 (医学)〕

氏名 菅田 慎 一

〈学位〉	種 類	博士 (医学)	論 文 項 目	実験用小型魚類 (メダカ) を用いたポリエチレン製のマイクロプラスチックビーズの生体影響に関する研究
	授与番号	博乙医 第632号	論文審査委員	主査 丑丸 真 副査 岡田アナベルあやめ 駒形嘉紀 栗崎 健 北村 修
	授与年月日	令和4年4月20日		
	授与の要件	学位規程第6条		

学位論文の要旨

環境中に流出したプラスチックごみのうち、大きさが1 μm ~ 5 mmのものはマイクロプラスチックと定義され、生態系やヒトへ与える悪影響が危惧されている。しかしながら、それらの経口曝露量と生体影響に関する知見は乏しい。本研究では、マイクロプラスチックの経口曝露による生体影響を実験的に検証するために、マイクロプラスチックビーズ(MP, ポリエチレン製, 粒径10~63 μm)を用いて、5段階の曝露量 (0.07, 0.25, 0.5, 2.5, 5.0mg-MPs/g-体重/日, 各群につき10尾) で、OECDの化学物質安全性試験の評価対象生物であるメダカに12週間経口曝露した。0.07mg-MPs/g-体重/日は水道水等で、0.07~2.5mg-MPs/g-体重/日は海・川等で曝露される量に相当する。慢性的な影響の評価として、成長、生殖能力を調べ、また腎や眼を組織学的に解析した。

各解析項目で観察された差異を有意水準5%で検定した結果、0.07mg-MPs/g-体重の曝露群において生体影響は認められなかったが、0.25mg-MPs/g-体重以上の曝露群では産卵数の減少が観察された(対照群と比較して最大-50%)。組織病変としては、腎糸球体のメサンギウム基質の増大(同最大+30%)、網膜神経線維層の非薄化(同最大-17%)、網膜静脈の拡大(同最大+77%)が観察されたが、病変の周囲にMPは観察されなかった。0.5mg-MPs/g-体重以上の曝露群では、それらに加えてふ化率の減少(同最大-43%)が、2.5mg-MPs/g-体重以上の曝露群ではさらに加えて成長の抑制(同最大-13%)が観察された。組織病変が観察された経口曝露量では、酸化ストレス指標が増加(腎では同最大+35%、眼では同最大+60%)していたことから、MPの経口曝露による生体影響と酸化ストレスの関連が示唆された。曝露群では、消化管内でMPの塊(1mm幅以上)が形成される個体が観察され、曝露量が多い群ほどその個体数は増加した(例:0.07mg-MPs/g-体重/日群で1週あたり10尾中1尾以下、2.5mg-MPs/g-体重/日群で同10尾中4~5尾)。また、摂取されたMPは、通常の排泄時間(2~4時間)より長期間(4~9日間)消化管内に滞留していた。

結論として、MPの経口曝露は生体影響を与えること、また、影響が見られない曝露量があることが示された。経口曝露されたMPが病変組織に直接作用した所見を認めなかったため、消化管内でのMPの塊の形成や長期間のMPの滞留が生体影響の一因と考えられる。ただし、MPが消化管に滞留することが原因なのか、MP由来の化学物質が原因なのかは現時点では明らかでなく、今後の検討が必要である。

論文審査結果の要旨

プラスチック類の廃棄による環境汚染問題は世界的に注目されている。環境中に流出したプラスチックごみのうち、大きさが1 μm ~ 5 mmのものはマイクロプラスチックと定義され、それらがヒトを含む生物個体、生態系へ与える悪影響が危惧されている。しかしながら、マイクロプラスチックの経口曝露量と生体影響に関する知見は乏しいのが現状である。

本研究では、マイクロプラスチックの経口曝露が生体に与える影響を検証した。検証のため、評価対象生物としてメダカ(OECDの化学物質安全性試験の評価対象生物)を用い、マイクロプラスチックビーズ(MP, ポリエチレン製, 粒径10~63 μm)を粉餌に付着させる方法で、5段階の曝露量 (0.07, 0.25, 0.5, 2.5, 5.0mg-MPs/g-体重/日, 各試験群につき10尾) で12週間経口曝露した。0.07mg-MPs/g-体重/日は水道水等で、0.07~2.5mg-MPs/g-体重/日は海・湖・川等で曝露されるうる量に相当する。曝露による慢性的な影響の評価として、成長、生殖能力(産卵数及び孵化率)を評価し、腎や眼の組織学的解析を行った。

各解析項目で観察された差異を有意水準5%で検定した結果、0.07mg-MPs/g-体重の曝露群において生体影響は観察されなかった。しかし、0.25mg-MPs/g-体重群では産卵数の減少(対照群と比較して最大-50%)、そして組織病変として腎糸球体のメサンギウム基質の増大(同最大+30%)、網膜神経線維の非薄化(同最大-17%)、網膜静脈の拡大(同最大+77%)が観察された。

0.5mg-MPs/g-体重以上の群では、それらに加えて、孵化率の減少(同最大-43%)が、2.5mg-MPs/g-体重以上の群では、さらに、成長の抑制(同最大-13%)が観察された。組織病変が観察された経口曝露量では、該当組織において酸化ストレス指標(カルボニルタンパク質の含量)の増加(腎では同最大+35%、眼では同最大+60%)が認められたことから、MPの経口曝露による生体影響と酸化ストレスバランスの崩壊の間に関連が示唆された。しかし、組織病変の周囲にMPは観察されなかった。曝露群では、消化管内でMPの塊(1mm幅以上)が形成される個体が観察され、曝露量が多い群ほどその個体数は増加した(例:0.07mg-MPs/g-体重/日群で1週あたり10尾中1尾以下、2.5mg-MPs/g-体重/日群で同10尾中4~5尾)。また、摂取されたMPは、通常の排泄時間(2~4時間)より長期間(4~9日間)消化管内に滞留していた。

結論として、MPの経口曝露は生体影響を与えること、また、影響を与える最小曝露量があることが示された。経口曝露されたMPが病変組織に直接作用した所見を認めなかったため、消化管内でのMPの塊の形成や長期間のMPの滞留が生体影響の一因と考えられる。ただし、これらの生体影響が、MPの消化管での滞留によるのか、MP由来の化学物質が原因なのかは現時点では明らかでなく、今後の検討が必要である。

本研究は、現在、全地球規模で問題となっている課題を取り上げ、現状に留まらず、さらに発展させていくべき研究である。博士論文として、意義のあるものであると評価した。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士 (医学)〕

氏名 重松康之

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Impact of CDX2 expression status on the survival of patients after curative resection for colorectal cancer liver metastasis. (腫瘍におけるCDX2タンパク発現の有無が大腸がん肝転移に対する根治的切除後症例の生存に及ぼす影響)
	授与番号 博乙医 第633号	論文審査委員	主査 須並英二 副査 阪本良弘 井本 滋 後藤田貴也 宮東昭彦
	授与年月日 令和4年5月18日		
	授与の要件 学位規程第6条		

学位論文の要旨

【背景と目的】大腸がん肝転移切除後症例において、補助化学療法の適応判断に有用な予後不良因子となりうるバイオマーカーはほとんど見つかっていない。遠隔転移がない進行大腸がんで、消化管上皮の発生や成熟に関与する転写因子CDX2の発現低下が、再発高リスク因子であり、かつ、化学療法に対する感受性因子であることが報告された。本研究では、大腸がん肝転移切除後症例で、腫瘍のCDX2発現低下が、予後因子および補助化学療法感受性因子になるか検討することを目的とした。

【方法】2005年から2015年にかけてがん研究会有明病院で大腸がん肝転移に対し切除術がなされた症例を対象にした。まず、144症例の大腸がん原発巣と肝転移巣を用いてCDX2発現状態の転移および化学療法による変化を免疫組織化学的に評価した。次に、396症例の肝転移巣を用いて組織マイクロアレイを作成し、CDX2の免疫組織化学によりCDX2低発現群と高発現群に分け、肝転移巣切除後の予後および補助化学療法の感受性を含めた臨床病理学的事項を両群間で比較検討した。

【結果】CDX2の発現状態は、原発巣と肝転移巣で100% (95%信頼区間, 85.8-100%)一致し、化学療法の前後でも96.3% (95%信頼区間, 89.7-99.2%)と高い一致率を示した。大腸がん肝転移に対する根治的切除術が施行された396症例のうち、36症例(9.1%)の腫瘍でCDX2の発現低下が認められた。CDX2低発現群では、CDX2高発現群と比較して有意に腫瘍の分化度が低い傾向を認めた ($P=0.02$)。無再発生存期間では、CDX2低発現群はCDX2高発現群と比較して有意に短かった (再発ハザード比1.64; 95%信頼区間1.08-2.38; $P=0.02$)。全生存期間でも、CDX2低発現群はCDX2高発現群と比較して有意に短かった (死亡ハザード比2.41; 95%信頼区間1.52-3.85; $P<0.001$)。CDX2低発現群において、補助化学療法施行群と非施行群との比較では、無再発生存期間と全生存期間のいずれにおいても有意な差は認めなかった。

【結論】CDX2の発現状態は転移や化学療法で有意な変化は認めなかった。大腸がん肝転移切除後症例で、CDX2発現低下は有意な予後不良因子となりうる可能性が示唆された。一方で、CDX2発現低下と補助化学療法に対する感受性との有意な関係は認めなかった。

論文審査結果の要旨

【背景と目的】大腸がん肝転移切除後症例において、補助化学療法の適応判断に有用な予後不良因子となりうるバイオマーカーはほとんど見つかっていない。遠隔転移がない進行大腸がんで、消化管上皮の発生や成熟に関与する転写因子CDX2の発現低下が、再発高リスク因子であり、かつ、化学療法に対する感受性因子であることが報告された。本研究では、大腸がん肝転移切除後症例で、腫瘍のCDX2発現低下が、予後因子および補助化学療法感受性因子になるか検討することを目的とした。【方法】2005年から2015年にかけてがん研究会有明病院で大腸がん肝転移に対し切除術がなされた症例を対象にした。まず、144症例の大腸がん原発巣と肝転移巣を用いてCDX2発現状態の転移および化学療法による変化を免疫組織化学的に評価した。次に、396症例の肝転移巣を用いて組織マイクロアレイを作成し、CDX2の免疫組織化学によりCDX2低発現群と高発現群に分け、肝転移巣切除後の予後および補助化学療法の感受性を含めた臨床病理学的事項を両群間で比較検討した。【結果】CDX2の発現状態は、原発巣と肝転移巣で100% (95%信頼区間, 85.8-100%)一致し、化学療法の前後でも96.3% (95%信頼区間, 89.7-99.2%)と高い一致率を示した。大腸がん肝転移に対する根治的切除術が施行された396

症例のうち、36症例(9.1%)の腫瘍でCDX2の発現低下が認められた。CDX2低発現群では、CDX2高発現群と比較して有意に腫瘍の分化度が低い傾向を認めた ($P=0.02$)。無再発生存期間では、CDX2低発現群はCDX2高発現群と比較して有意に短かった (再発ハザード比1.64; 95%信頼区間1.08-2.38; $P=0.02$)。全生存期間でも、CDX2低発現群はCDX2高発現群と比較して有意に短かった (死亡ハザード比2.41; 95%信頼区間1.52-3.85; $P<0.001$)。CDX2低発現群において、補助化学療法施行群と非施行群との比較では、無再発生存期間と全生存期間のいずれにおいても有意な差は認めなかった。【結論】CDX2の発現状態は転移や化学療法で有意な変化は認めなかった。大腸がん肝転移切除後症例で、CDX2発現低下は有意な予後不良因子となりうる可能性が示唆された。一方で、CDX2発現低下と補助化学療法に対する感受性との有意な関係は認めなかった。

本研究は、大腸癌治療における最も大きな課題の一つである肝転移における予後不良因子を新たに提示した臨床的に意義のある研究である。補助化学療法感受性予測に関しては今後の症例蓄積・検討により明らかにされることが期待される。肝転移の治療戦略に新たな展開をもたらす可能性のある検討であり学位論文として価値あるものと評価した。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 柳 沼 重 晴

〈学位〉	種 類 博士（医学）	論 文 項 目	Tear protein analysis in patients with primary acquired nasolacrimal duct obstruction treated with lacrimal passage intubation (涙管チューブ挿入術を施行した原発性鼻涙管閉塞患者の涙液蛋白分析)
	授与番号 博乙医 第634号		
	授与年月日 令和4年6月15日		
	授与の要件 学位規程第6条	論文審査委員	主査 齋藤康一郎 副査 永根基雄 多久嶋亮彦 秋元義弘 栗崎 健

学位論文の要旨

【目的】鼻涙管閉塞は涙液の量的変化だけではなく、質的变化も伴う可能性がある。本研究では原発性鼻涙管閉塞患者の涙液蛋白成分を測定し、涙液成分の変化が病態を評価するうえで有用かを検討することを目的とした。

【方法】対象は原発性鼻涙管閉塞と診断され、涙道内視鏡を用いた涙管チューブ挿入術を施行された24例とした。涙液は鼻涙管閉塞患者からSchirmer試験紙を用い、涙管チューブ挿入前、涙管チューブ留置中および涙管チューブ抜去後の計3回採取し涙液蛋白の測定に供した。涙液蛋白成分として総蛋白（TP）、アルブミン（Alb）、ラクトフェリン（Lac）、インターロイキン6（IL-6）濃度、涙液蛋白濃度比（Alb/TP、Lac/TP）を測定し、健常者24例およびドライアイ患者24例と比較した。また、鼻涙管閉塞患者においては涙管チューブ挿入前、涙管チューブ留置中および涙管チューブ抜去後にTearLabを用いた涙液浸透圧、前眼部OCTによる涙液メニスカス高（TMH）および涙液メニスカス面積（TMA）の計測を行い比較した。

【結果】鼻涙管閉塞群のTPおよびAlbは、健常群よりも有意に低値を示した（ $P < 0.001$, $P = 0.014$, Mann-Whitney U検定）。Lac、IL-6、Alb/TP、Lac/TPに有意差はなかった。鼻涙管閉塞群のTP、AlbおよびLacは、涙管チューブ挿入前に比べ涙管チューブ抜去後で有意に増加し（ $P < 0.001$, $P = 0.004$, $P = 0.029$, Wilcoxonの符号順位検定）、IL-6、Alb/TP、Lac/TPに有意差はなかった。鼻涙管閉塞群の涙管チューブ抜去後と健常群ではTP、Alb、LacおよびIL-6に有意差はなかった。涙液浸透圧は涙管チューブ挿入前後に有意の変化を示さなかった。TMH、TMAは涙管チューブ挿入術前に比べ涙管チューブ留置期間中（ $P < 0.001$, $P < 0.001$ ）、涙管チューブ抜去後（ $P = 0.0047$, $P < 0.001$ ）で有意に低下した（Wilcoxonの符号順位検定）。

【結論】本研究において鼻涙管閉塞では涙液の蛋白組成の変化を伴うこと、これらの変化は涙管チューブ挿入術によって健常群との差がみられなくなったことが示された。涙液の蛋白組成の評価は鼻涙管閉塞の診断や治療の評価に有用である可能性がある。

論文審査結果の要旨

本研究は、鼻涙管閉塞患者においてこれまで検討されていない、涙液の質的变化に注目した研究である。外科的治療を行った原発性鼻涙管閉塞患者から採取した涙液に含有される複数の蛋白成分を治療の過程で測定し、本疾患の病態評価における涙液蛋白組成の有用性と臨床的意義の検証を目的に検討を行った。

対象は、原発性鼻涙管閉塞と診断され、涙道内視鏡を用いた涙管チューブ挿入術を施行された24例。涙液は鼻涙管閉塞患者からSchirmer試験紙を用い、涙管チューブ挿入前、涙管チューブ留置中および涙管チューブ抜去後の計3回採取した涙液の蛋白濃度を測定した。涙液蛋白成分として総蛋白（TP）、アルブミン（Alb）、ラクトフェリン（Lac）、インターロイキン6（IL-6）の濃度、さらに涙液蛋白濃度比（Alb/TP、Lac/TP）を測定し、健常者24例およびドライアイ患者24例との比較検討を行った。また、鼻涙管閉塞患者では、涙管チューブ挿入前、涙管チューブ留置中および涙管チューブ抜去後にTearLab[®]を用いた涙液浸透圧、前眼部OCTによる涙液メニスカス高（TMH）および涙液メニスカス面積（TMA）の計測を行い、それぞれ採取時期による変化を検討した。

結果として、鼻涙管閉塞群のTPおよびAlbは、健常群よりも有意に低値を示した（TP, $p < 0.001$; Alb, $p = 0.014$; Mann-Whitney U検定）。Lac、IL-6、Alb/TP、Lac/TPは、これら2

群間で有意差を認めなかった。鼻涙管閉塞群のTP、AlbおよびLacは、涙管チューブ挿入前に比べ涙管チューブ抜去後に有意に増加した（TP, $p < 0.001$; Alb, $p = 0.004$; Lac, $p = 0.029$; Wilcoxonの符号順位検定）一方で、IL-6、Alb/TP、Lac/TPは挿入前と抜去後の測定値に有意差を認めなかった。鼻涙管閉塞群の涙管チューブ抜去後と健常群を比較すると、TP、Alb、LacおよびIL-6はいずれも有意差を認めず、治療後に正常化することを確認した。なお、涙液浸透圧は涙管チューブ挿入前後に有意な変化を示さなかった。さらに、TMH、TMAは涙管チューブ挿入術前に比べ涙管チューブ留置期間中（TMH, $p < 0.001$; TMA, $p < 0.001$ ）ならびに涙管チューブ抜去後（TMH, $p = 0.0047$; TMA, $p < 0.001$ ）に、有意に低下した（Wilcoxonの符号順位検定）。本研究により、鼻涙管閉塞では涙液の蛋白組成の変化を伴うこと、そしてこれらの変化は涙管チューブ挿入術後に正常化することが明らかとなり、涙液の蛋白組成の評価は鼻涙管閉塞の診断や治療の評価に有用である可能性を示唆する結果が得られた。今回認められた涙液中の蛋白組成の変化に関する詳細なメカニズムの検討や、閉塞の程度や再発症例といった具体的な病態との関連は今後の課題である。しかしながら、従来に無い、涙液組成の変化という側面から、鼻涙管閉塞という疾患による身体への影響を検討し、新たな知見を得た研究であり、研究の独自性と得られた結果の臨床的な意義ならびに将来性は甚大と考えられ、学位論文にふさわしいと判断した。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 佐野 公彦

〈学位〉	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	Risk factors for failure of resolving optic disc pit maculopathy after primary vitrectomy without laser photocoagulation (視神経乳頭ピット黄斑症治療における網膜光凝固術を併用しない硝子体手術の予後不良因子に関する検討)
	授与番号	博乙医第635号	論文審査委員	主査 細金直文 副査 市川弥生子 寺尾安生 藤原正親 今村 裕
	授与年月日	令和5年1月18日		
	授与の要件	学位規程第6条		

学位論文の要旨

背景と目的：視神経乳頭の先天異常である乳頭ピットに伴う網膜剥離（乳頭ピット黄斑症）の治療法は確立していない。後部硝子体剥離（PVD）を作製する硝子体手術の有用性が注目されているが、網膜復位が得られない症例もあり、従来から施行されてきた侵襲のある乳頭縁の網膜光凝固術が併用されることも多い。本研究では、網膜光凝固を併用しない硝子体手術の適応を追究することを目的に、本手術による網膜復位例と非復位例の臨床経過と光干渉断層計（OCT）画像解析を比較し、予後不良因子となる術前所見を検討した。

対象および方法：乳頭ピット黄斑症に対して網膜光凝固術を併用しない硝子体手術を施行した連続症例35眼を診療録よりレトロスペクティブに検討した。34眼においてPVDを作製した。残り1眼は術前にPVDがあり黄斑上膜を合併していたので、黄斑上膜を内境界膜と同時に剥離した。術後観察期間は12～193ヶ月（平均58ヶ月）であった。術後成績判定項目は、術後の網膜復位および視力である。術前の臨床的特徴を復位群と非復位群とで比較検討した。

結果：網膜完全復位には約1年間を要したが、35眼中31眼が初回硝子体手術で復位した。初回硝子体手術の非復位は4眼で、追加治療を要した。復位群に比較して非復位群では、術前に網膜剥離が乳頭に隣接して存在（ $P<0.001$ ）し、頭痛を併発（ $P=0.030$ ）していることが有意に多かった。追加治療では網膜光凝固が奏功し、非復位因子を有するタイプでの網膜光凝固の併用は有用であることが示唆された。

結論：本研究は、乳頭ピット黄斑症治療に関して、単一施設としては最多例を対象とした検討である。術前の乳頭に隣接する網膜剥離と頭痛の存在が、網膜光凝固を併用しない硝子体手術の成績不良因子となることを示し、本手術の適応を明らかにして予後改善に繋がる治療法を示唆した。

論文審査結果の要旨

背景と目的：視神経乳頭の先天異常である乳頭ピットに伴う網膜剥離（乳頭ピット黄斑症）の治療法は確立していない。後部硝子体剥離（PVD）を作製する硝子体手術の有用性が注目されているが、網膜復位が得られない症例もあり、侵襲のある乳頭縁の網膜光凝固術が併用されることも多い。本研究では網膜光凝固を併用しない硝子体手術の適応を追究することを目的に、本手術による網膜復位例と非復位例の臨床経過と光干渉断層計（OCT）画像解析を比較し予後不良因子となる術前所見を検討した。

対象および方法：乳頭ピット黄斑症に対して網膜光凝固術を併用しない硝子体手術を施行した連続症例35眼を診療録よりレトロスペクティブに検討した。34眼においてPVDを作製した。残り1眼は術前にPVDがあり黄斑上膜を合併していたので、黄斑上膜を内境界膜と同時に剥離した。術後観察期間は12～193か月（平均58か月）であった。術後成績判定項目は、術後の網膜復位および視力である。術前の臨床的特徴を復位群と非復位群とで比較

検討した。

結果：網膜完全復位には約1年間を要したが、35眼中31眼が初回硝子体手術で復位した。初回硝子体手術の非復位は4眼で、追加治療を要した。復位群に比較して非復位群では、術前に網膜剥離が乳頭に隣接して存在（ $p<0.001$ ）し、頭痛を併発（ $p=0.030$ ）していることが有意に多かった。追加治療では網膜光凝固が奏功し、非復位因子を有するタイプでの網膜光凝固の併用は有用であることが示唆された。

結論：本研究は、乳頭ピット黄斑症治療に関して、単一施設としては最多例を対象とした検討である。術前の乳頭に隣接する網膜剥離と頭痛の存在が、網膜光凝固を併用しない硝子体手術の成績不良因子となることを示し、本手術の適応を明らかにして予後改善に繋がる治療法を示唆した。

審査結果：本研究は希少な症例である視神経乳頭ピット黄斑症の術後予後不良因子として網膜剥離と乳頭との位置関係や頭痛併発との関連を新たに明らかにした内容で、審査委員全員一致で学位論文としてふさわしい内容であると判断された。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（看護学）〕

氏名 大西陽子

〔学位〕	種類	博士（看護学）	論文項目	浅い鎮静における人工呼吸器装着患者から同意を引き出す看護実践の構造
	授与番号	博甲保 第66号	論文審査委員	主査 加賀谷聡子 副査 松岡 恵 岩楯桜子 作田裕美
	授与年月日	令和4年9月14日		
	授与の要件	学位規定第5条		

学位論文の要旨

1. 目的

本研究の目的は、浅い鎮静における人工呼吸器装着患者から同意を引き出す看護実践の構造を明らかにする。

2. 方法

研究対象：三次救急医療を提供する集中治療室および救命救急棟に所属する看護師とした。

データ収集方法：参加観察および半構造化面接を実施した。

分析方法：M-GTA（Modified-Grounded Theory Approach: 修正版グラウンデッド・セオリー・アプローチ）、解釈的分析によって概念生成を行った。概念生成は分析ワークシートを用い、概念間の関係を検討しサブカテゴリー、カテゴリーを生成、相互関係性を検討し結果図を作成した。

信頼性・妥当性の検証：急性・重症患者看護専門看護師、集中ケア認定看護師等人工呼吸器装着患者看護に精通した看護師10名からなる専門家会議を開催し、内容特性を評価するために現実との適合性、理解しやすさ、一般性、コントロールの4視点から評価した。

3. 結果

対象者18名より浅い鎮静における人工呼吸器装着患者の同意を引き出す看護実践の構造として、15概念が生成され、それらより3サブカテゴリー、3カテゴリー（以下、【 】）の看護実践が明らかとなった。【侵襲的治療を継続しながら変化の兆しを共有する】援助は、看護師が主体となり患者の生命維持と苦痛緩和に努め、現状認識を促し療養環境に馴染ませることで患者と看護師関係を構築する基盤を形成していた。【合意点を模索し折り合いをつける】援助は、患者と看護師双方向でのやり取りを活発化させ、看護師は患者の思いや希望、期待を引き出し、それを叶えるために患者と目標を共有することで患者主体の関係性へと変化させていた。【ケアの中で共同作業を組み立てる】援助は、看護師は患者のペースを維持しながら安全に行動できるように支え、患者の主体的な行動を成功裏に導いていた。

4. 考察

患者は急激な生命の危機的状態に陥り、その状況から脱しても神経・筋障害及び鎮静薬の影響により身体感覚が曖昧かつ機能の低下が残存する。このような患者に対して同意を引き出す実践は、患者の身体の安定化を図り精神活動の活発化を促すことで、主体的姿勢の復活と向上を目指すことであった。患者はこれらの変化を辿ることで安心・安堵の気持ちを抱き、自己の思いや希望、期待を素朴に語り、看護師もそれを叶えるために患者の行動を支えることに専心していた。患者の思いや希望、期待を叶えることは患者の能動的な行動を促し、患者のもてる力を引き出すことに寄与していた。

5. 結論

同意を引き出す看護実践の構造は、看護師が患者の思いや希望、期待を引き出し共に作り上げた目標に向かって患者の意欲を低下させることなく、患者の力を活用しながら目標を成功裏に達成するプロセスである。このプロセスは、患者の主体的姿勢の復活と向上を目指すことであり、看護師は患者の傍で行動を支えるケアリングを実施し、患者のもてる力を引き出すことに寄与していた。これは、患者に否定的な感情を抱かせることなく回復に向けて治療および療養生活を継続する上で必要不可欠である。

論文審査結果の要旨

本論文は、浅い鎮静における人工呼吸器装着患者の同意を引き出す看護実践の構造を修正版グラウンデッド・セオリー・アプローチ（M-GTA）を用いて明らかにしたものである。浅い鎮静下の人工呼吸器装着患者のケアに従事する看護師18名を対象に参加観察と半構造化面接を実施し、M-GTAの手法を用いて分析した後、クリティカルケア看護に精通した看護師による信頼性・妥当性の検証を行い、看護実践の構造を導き出している。

分析の結果、15概念、3サブカテゴリー、3カテゴリーが生成され、以下の看護実践の構造が明らかとなった。看護師は、〔最良の身体状態を維持する〕〔曖昧な感覚から現実に意識を引き付ける〕〔リラックスと心地よさを醸成する〕援助により〔侵襲的治療を継続しながら変化の兆しを共有する〕ことで、患者の身体および精神状態を整えており、これは他の2つのカテゴリーの基盤となっていた。次に看護師は、患者の特徴的な反応から了承や拒否を捉え、患者から引き出した要望を踏まえてケアを提案することで【合意点を模索し折り合いをつける】ことを行っており、ここでは患者と看護師双方向のやり取りが顕在化し、目標の共有がなされていた。更に【ケアの中で共同作業を組み立てる】では、

共有した目標に向けて出来そうなことをタイミングをみながら促したり、安全への配慮をしながら、患者のペースを尊重しつつ介助量を調整することで、患者の力を引き出し患者の主体的な行動へと移行させていた。また、この過程は一方向的に進むのではなく、患者の状態に合わせて「行きつ戻りつ」する構造であることも示された。

本論文は、一施設でのデータ収集であり、参加観察の場面数に偏りがあるなどの限界はあるが、M-GTAを研究方法として用いた理由や分析過程などの方法論が丁寧に記述されており、更に質的研究で問題となりがちな信頼性・妥当性の検証を、クリティカルケア看護に精通した専門家会議で検証するなどの工夫がなされている。また、これまで集中治療における浅い鎮静で管理された患者の同意を引き出す看護実践について明らかにされた研究はなく、本論文において今まで臨床の看護師が個々に工夫しながら行ってきた看護を記述し、看護実践の構造を示したことは、この領域の看護の質の向上や患者の権利擁護、更には経験の浅い看護師に向けた教育プログラムの構築に寄与するものと思われる。

以上より、慎重な審査の結果、本論文は看護学の博士論文の価値を有するものと評価した。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（保健学）〕

氏名 佐藤友裕

〈学位〉	種 類	博士（保健学）	論 文 項 目	画像パラメータを最適化した ¹³¹ I-アドステロール副腎皮質シンチグラフィのstandardized uptake valueとadrenal venous samplingの定量値の関連性
	授与番号	博甲保第67号	論文審査委員	主査 橋本雄幸
	授与年月日	令和5年3月31日	副査	戸成綾子 滝 智彦 福土政広
	授与の要件	学位規定第5条		

学位論文の要旨

【目的】副腎静脈サンプリング（adrenal venous sampling, AVS）は、原発性アルドステロン症（primary aldosteronism, PA）の原因となる病型の鑑別に重要な副腎皮質ホルモン分泌の局在診断のゴールドスタンダード検査である。しかし、侵襲的で正確な副腎皮質ホルモン定量ができないケースもある。本研究は、¹³¹I-アドステロールを用いた高分解能副腎single photon emission computed tomography (SPECT) のstandardized uptake valueの最大値と平均値（SUVmax, SUVmean）によるPAの診断精度を評価し、AVSと比較して代替となるか検証することを目的とした。

【方法】ファントムを用いた物理実験を実施し、最適化した収集再構成条件を用いてPAが疑われた14症例に副腎SPECTを行い、そのうち7例に併せてAVSを実施した。高分解能画像再構成アルゴリズムであるorder-subset conjugate gradient minimization (OSCGM) 法およびthree-dimensional ordered-subset expectation maximization (3D-OSEM) 法のSPECT画像から、副腎腫瘍のSUVmax, SUVmeanと対側副腎の値との比（SUVRmax, SUVRmean）を算出した。

【結果】空間分解能を担保し、画質と定量精度が良好であった収集ピクセルサイズ4.8 mm, 画像更新回数24回, ガウシアンフィルタのFWHM 9.6 mmを最適な収集再構成条件とした。

OSCGM法を用いた副腎腫瘍SPECT画像のSUVmax, SUVmeanは、両側副腎過形成や非機能性腺腫よりアルドステロン産生腺腫で顕著に高くなり、病型間で統計的有意差がみられた（ $P=0.0475$, $P=0.0447$ ）。SUVmaxのROC曲線下面積は、OSCGM法で0.933, 3D-OSEM法で0.844であり、SUVmeanも同じ診断精度であった。SUVRmaxのROC曲線下面積はOSCGM法で0.725, 3D-OSEM法で0.750であり、SUVRmeanも同じ診断精度を示した。

AVSの腫瘍側アルドステロン濃度と局在判定指標が診断閾値を超えた6例中5例（両側アルドステロン産生腺腫を除く）で、副腎腫瘍のSUVmax, SUVmeanは対側副腎の値より高くなり、SUVRmax, SUVRmeanは1より高い値を示した。また、腫瘍側のアルドステロン濃度とSUVは、いずれも両側副腎過形成よりアルドステロン産生腺腫の方が高くなった。SUV, SUVRはAVSの定量値と関連性がみられ、AVSの局在判定とほぼ一致した。

【結論】OSCGM法を用いた副腎SPECTのSUV, SUVRは、PA診断に有用な指標であり、AVSの代替検査となり得る。

論文審査結果の要旨

この研究は、¹³¹Iアドステロールを用いた高分解能副腎SPECTのstandardized uptake value (SUV) の最大値と平均値による原発性アルドステロン症の診断精度が、ゴールドスタンダードの検査である副腎静脈サンプリングと比較して代替となるか検証することを目的としている。ファントム実験と臨床研究を行い、OSCGM法という画像再構成を用いた副腎SPECTのSUVが原発性アルドステロン症の診断に有用な指標であることが示された。

ファントムを用いた物理実験において、空間分解能を担保し、画質と定量精度が良好であった収集再構成条件は、収集ピクセルサイズが4.8 mm, 画像更新回数が24回, ガウシアンフィルタのFWHMが9.6 mmのときであった。その最適化した収集再構成条件を用いて原発性アルドステロン症が疑われた14症例に副腎SPECTを行い、そのうち7例においては副腎静脈サンプリングを実施した。高分解能画像再構成アルゴリズムであるOSCGM法および3D-OSEM法のSPECT画像から副腎腫瘍のSUVと対側副腎の値との比を算出した。OSCGM法を用いた副腎腫瘍SPECT画像のSUVは、両側副腎過形成や非機能性腺腫よりアルドステ

ロン産生腺腫で顕著に高くなり、病型間で統計的有意差がみられた。また、診断精度を示すROC曲線下面積ではOSCGM法で0.933, 3D-OSEM法で0.844, 対側副腎の両側比においては、OSCGM法で0.725, 3D-OSEM法で0.750であった。これらの結果よりOSCGM法が画像再構成アルゴリズムとしては優位であると判断した。

副腎静脈サンプリングの腫瘍側アルドステロン濃度と局在判定指標が診断閾値を超えた6例中5例で副腎腫瘍のSUVは対側副腎の値より高くなり、両側比は1より高い値を示した。また、腫瘍側のアルドステロン濃度とSUVは、いずれも両側副腎過形成よりアルドステロン産生腺腫の方が高くなった。SUVと両側比は副腎静脈サンプリングの定量値と関連性がみられ、局在判定とほぼ一致した。よって、OSCGM法を用いた副腎SPECTのSUVと両側比は原発性アルドステロン症診断に有用な指標であり、副腎静脈サンプリングの代替検査となり得ることが示された。

本論文では、OSCGM法を用いた副腎SPECTのSUVと両側比が副腎静脈サンプリングの代替検査となり得ることを初めて示したところに新規性があり、英文誌にも関連した内容で投稿し、既に掲載されているので、本論文が保健学研究科の博士論文に値すると判断した。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（保健学）〕

氏名 加藤博之

〔学位〕	種 類	博士（保健学）	論 文 項 目	精神科病院の身体拘束実施に関する我が国の概況及び身体拘束実施に関する看護師並びに准看護師の知識・態度・実践・意思とその影響要因
	授与番号	博甲保第68号	論文審査委員	主査 浅沼奈美
	授与年月日	令和5年3月31日	副査	近藤知子 中島 亨 只浦寛子
	授与の要件	学位規定第5条		

学位論文の要旨

【目的】「精神保健福祉資料」（630調査）による全国の精神科病院における身体拘束実施者数は2021年度11,136人、前年度より141人増加し、依然として高い水準にある。その要因を検証し、対策を講じていくための示唆を得ることを目的とした。

【方法】生態学調査として数少ない全国調査データである630調査を分析し、精神科病院における身体拘束実施の要因の検証を行った。その後、海外で広く使用されている評価尺度“Use of physical restraint : Nurses' knowledge, attitude, intention and practice and influencing factors”をISPOR（International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research）タスクフォースによる尺度翻訳指針に準拠した手順で翻訳し、身体拘束実施に関する精神科病院内の看護師並びに准看護師の知識・態度・意思・実践とその影響要因に関する質問紙調査を行った。加えて米国で立案された「精神保健領域における隔離・身体拘束最小化—使用防止のためのコア戦略」（Six Core Strategies）を基に質問紙を作成し、病院管理者への質問紙調査を行った。

【結果】身体拘束実施率（拘束率）には地域差が存在し、都道府県間で最高と最低の開きは2021年度13.4倍だった。75歳以上や精神遅滞（知的障害）・認知症の患者が身体拘束される可能性が有意に高く、2003～2021年度強制入院患者在院率と拘束率との間で有意な強い正の相関が確認できた。

質問紙の開発責任者から使用許諾を得て、順翻訳、順翻訳レビュー、逆翻訳、逆翻訳レビューという手順を踏んだ。3つの精神科病院、有効回答数122のパイロット調査を行い、質問紙の内部一貫性（Cronbachの α 係数）は0.69であった。その後、本調査を行い、13都県21病院から協力を得た。合計2,383部の質問紙を配布し、1,565部回収した（回収率65.67%）。知識・態度間でSpearman相関係数0.455、態度・意思間-0.265、態度・実践間-0.234の、有意な相関が確認された。態度項目合計得点を中央値で二分し従属変数とし、知識・実践・意思を共変量とし二項ロジスティック回帰分析（強制投入法）を行い、オッズ比は知識項目合計得点で1.208（有意確率0.001未満）であった。看護師経験年数別・精神看護経験年数別・看護基礎教育修了年代別各項目合計得点について有意差が見られた。「Six Core Strategies」に関連した病院全体の身体拘束対策実施数と態度項目合計得点について、Spearman相関係数0.590（有意確率0.005）と有意な相関を確認した。

【考察】身体拘束最小化には、地域間格差の是正と、手厚い看護が必要な対象への人人体制の整備、看護師（准看護師）の精神看護経験年数等を考慮した教育的支援や病院の組織的な取り組みを強化する必要性が示唆された。病院個々の情報の公開性・透明性を高めていくことが今後の課題である。

論文審査結果の要旨

我が国の身体拘束は2004年から10年間で2倍となり、依然、高水準で経過し、不適切な身体拘束による事件も生じている。身体拘束の実態を数量的に分析し、看護師の立場から身体拘束の減少に必要な要因を明らかにすることは喫緊の課題である。本研究では、まずこの問題に着目し精神保健福祉に関する大規模調査である「国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所精神医療政策研究部精神保健福祉資料（630調査）」を分析し、我が国における身体拘束の実態と関連要因を明らかにした。次に、諸外国で使用されている身体拘束に関する「身体拘束実施に関する看護師（准看護師）の知識・態度・実践・意志に関する尺度（原版：Use of physical restraint : Nurses' knowledge, attitude, intention and practice and influencing factors）」の日本語版を作成し、看護師に調査し、精神科病院管理者への調査も同時に行い、看護師の身体拘束との関連要因を検討することを目的とした。尺度は日本精神科病院協会のガイドラインに沿い日本語版を作成し3精神科病院の看護師122名に尺度調査の結果、Cronbachの α 係数は0.69であった。次にこの尺度を用いて精神科病院に働く看護師・准看護師に調査し、看護師の身体拘束の態度との関連を検討した。さらに同病院管理者に「隔離・拘束使用防止のための包括的方策6つのコアストラテジー（Six Core Strategies）」についての調査を行い看護師の尺度調査との関連を検討した。630調査結果で

は、身体拘束実施状況に都道府県格差があり、75歳以上の高齢者や知的障害者の拘束率が高い傾向にあった。また看護師の尺度調査は1565名で、「知識」の緊急事態時の医師の指示なしでの身体拘束が可能11.3%、「態度」の身体拘束におおむね自信がある25.7%が、海外と比べ極めて低く、看護師経験年数、精神看護経験年数、基礎教育修了年代で「態度」に有意差が見られた。また「態度」項目を中央値で二分し「知識・実践・意思」各項目と、個人属性を共変量とした二項ロジスティック回帰分析（強制投入法）では、「知識」（OR=1.208）身体拘束紙媒体を1年以内に読んだ（OR=0.551）であった（ $P<0.001$ ）。一方、病院管理者調査では21病院の8割は、身体拘束の対策を実施しており、病院管理者の対策実施数の合計と看護師の前記尺度との関連では、看護師の身体拘束に対する「態度」 $R_s=0.590$ $P=0.005$ であった。これらの結果より、身体拘束の地域格差の是正と、手厚い看護が必要な対象が身体拘束の対象になりやすく人人体制の整備が課題であり、看護師の身体拘束の態度には、身体拘束に関する知識が影響し、看護師への身体拘束に関する教育や組織的な取り組みが必要となることが明らかとなった。

本研究は、日本において初めて身体拘束に関する尺度を翻訳し、数量的に身体拘束の関連要因を示し、今後の精神科看護への貢献も大きく大変有意義である。以上より、慎重な審査の結果、本論文は博士（保健学）の博士論文に値すると評価した。

〔博士（学術）〕

氏名 姚 強

〈学位〉種類	博士(学術)	論文項目	現代中国の幹部に関する研究	
授与番号	博甲国第50号			
授与年月日	2022.9.14			
授与の条件	学位規程第5条	論文審査員	主査	北島 勉
			副査	岡村 裕、倉林 秀男、毛 桂榮

学位論文の要旨

冷戦終結後、世界の共産主義国家が殆ど崩壊し、それらの国を支配していた共産主義政党が解党したりして支配政党から転落する運命に陥った一方、中国では今まで中国共産党による一党支配体制が続いてきた。改革開放政策が打ち出されて40年以上を経て、中国は経済・社会が大きな発展を遂げ、世界への影響力が拡大しつつある。中国共産党政権は崩壊するどころか、権威主義政権の強靱性が依然として維持されている。

筆者はその原因について、中国共産党支配の中で「何」が機能していると考えていた。本論文は、権威主義政権の合法性の源泉となる国ガバナンスの「効率性」にあり、その「効率性」を保障しているのが中国のユニークな「幹部」組織であると主張する。

マックス・ウェーバーによれば、近代官僚制組織は、精確性・恒常性・規律性・厳格性・信頼性という特徴を持ち、他のあらゆる支配形態と比べて技術的側面からみて優秀であり、発達した近代社会の公共行政に対応できる最も理想的なものである。しかし中国の政治状況は近代の西欧国家とは異なっている。

近代国家の発展の必要条件についてピーター・エバンスとジェームズ・E・ローチ（1999）は近代官僚制組織による国のガバナンスが不可欠であると主張した。しかし、中国共産党支配体制では計算可能な、私的考慮を排除し、人物の如何を問わず仕事を処理するという近代官僚制型組織が欠如しているにも拘わらず、現代経済は大きな発展を遂げてきた。この現象を、ポー・ロスタイン（2015）は「中国のパラドックス」と称し、現代中国で機能しているのが近代官僚制組織と異なる「幹部」という組織であると認識した。

「幹部」組織は計算可能な規則を遵守しないが、特定の政策に高度に専念することができ、経済・社会を発展させる政策を効率的に実行することができる、ロスタインによって指摘された。しかし、ポー・ロスタインの研究では現代中国の「幹部」組織に対する具体的な検証が不足している。本論文は現代中国の「幹部」組織および制度の解明に力点を置き、現代中国の「幹部」と官僚の比較という方法を利用し、「幹部」組織・制度の特徴を明らかにする。それに基づいて、中国権威主義体制の強靱性あるいは中国共産党支配の秘密を裏付ける。

本論文の構成は以下の通りである。第1章では「幹部」とは何かを考察し、現代中国の「幹部」の形成を明らかにする。第2章では「幹部」がどのように採用されているか、第3章では「幹部」の昇進がどのように行われているか、第4章では「幹部」がどのような研修が行われているか、という問題をそれぞれ検討する。以上の論考に基づいて、第5章では官僚制組織との比較により「幹部」組織の特徴を明らかにする。

論文審査結果の要旨

この論文は現代中国の幹部とウェーバー官僚を比較する方法で、幹部組織の価値基準を論考し、官僚が「形式合理性」を追求する組織であるのに対して、幹部が「実質合理性」を追求する組織であると主張している。また、官僚組織の価値基準が規則遵守であり、幹部組織の価値基準が目標達成であることを明らかにした。

本論文の構成は以下の通りである。第1章から第5章まではまず幹部を主眼に置いて、現代中国幹部の形成、幹部組織の構造、幹部の制度、幹部の行為特徴を論考した。第6章では、第1章から第5章までの幹部に対する考察に基づいて、幹部と官僚とを比較して、幹部組織と官僚組織の相違点および幹部組織の価値基準に関して考察を行った。

第1章では幹部の歴史、関連する規定および組織を考察し、規則によって秩序づけられた官僚に対して、幹部は中国共産党の幹部方針・政策によって秩序づけられたことを明らかにした。

第2章では計画経済期と改革開放期の幹部採用を考察した。改革開放以降、幹部が官僚と同様に専門試験により採用されるようになったが、専門試験以外の採用ルートも構築された。いずれの時期においても幹部の採用は中国共産党の審査が必要であるため、人格的に自由である官僚に対して、幹部は人格的に不自由であると結論付けた。

第3章では幹部の昇進を考察し、規則に従う正規的昇進と規則外の非正規的昇進パターンについて述べた。一般的に、官僚は規則通りに昇進するのにに対して、幹部は規則を遵守するが、時に規則を遵守しないことがあることを示した。

第4章では、革命期、中華人民共和国成立初期、改革開放期の幹部研修について考察し、幹部の思想教育を重視することと、幹部の国家統治能力の訓練の実態を解明した。規則に従って職務を遂行する官僚に対して、思想教育によって中国共産党の政治理念が浸透している幹部は、党の理念に従って

職務を遂行する。研修内容に対する検討から幹部は官僚と同様に専門的訓練を職務遂行の前提としていることを明らかにした。

第5章では、幹部の行為特徴を検討した。場合によって幹部は立法、司法、行政を超えて権力を行使することが可能であることをいくつかの事例をもとに示した。規則通りに行動する官僚に対して、幹部は中国共産党の政治目標を達成することを優先にし、規則を超えて行動することが可能であるという特徴を明らかにした。

第6章は前5章の考察に基づいて、幹部組織とウェーバー官僚組織との相違点を分析した。さらにウェーバーの価値合理性理論を踏まえ、幹部が目標達成を価値基準とする組織であることを明らかにした。

現代中国の幹部は中国権威主義体制の強靱性維持の一端を担っている。幹部組織が中国共産党の政治目標を達成する過程で経済成長を実現させ、多くの人々が政権の政策と安定性から利益を享受し続けてきた。目標達成を価値基準とする幹部組織が中国権威主義体制の安定を保つために重要な役割を果たしていると考えられる。

【論文審査の総評】

これまでの研究では、中国共産党の幹部組織を官僚組織と同一視することが多かったが、本博士論文では、幹部組織とウェーバー官僚組織との類似点と相違点を分析するというアプローチをとった。その結果、ウェーバーの価値合理性理論を踏まえ、幹部組織は目標達成を価値基準とする組織であることを明らかにした。目標達成のためには法的な制約を越えてでも行動してしまう特徴があり、目標に向かって素早く動くことができる反面、腐敗や人権を尊重しない行動を伴うこともあり得る。中国における政策決定の過程や政策の執行をよりよく理解する上で重要な知見を提供した論文であると考ええる。

本論文では、上述した分析を行うにあたり、日本語と中国語だけではなく、英文の文献も含め幅広く参照し、幹部組織と官僚組織に関するこれまでの研究から得られた知見と、十分に解明されていない点についても適切な論考が行われており、博士論文として十分評価しうるものであると考える。

公開発表会では、明晰に研究の論旨を述べ質問に対して的確に答えることができた。口頭試問では、中国軍の幹部組織については分析の対象外としたこと、経済成長が鈍化し少子高齢化が急速に進む中国における幹部組織の今後についての考察が十分ではないこと、などの研究の限界が指摘されたが、これらの点については、今後、桃君が研究を進めて行く上で明らかにする、又は考察を深めて行くことを期待したい。また、論文中で使われている用語の定義が不十分であることも指摘されたが、それらの点については適切に加筆修正がなされたことを確認した。

以上のことから、審査委員は全員一致で申請者姚強氏が、博士(学術)の学位を授与するに十分値するものと認める。

〔博士（学術）〕

氏名 和 紫章

（学位）種類	博士(学術)	論文項目	日中両国における共通の戦略的ナラティブの実践と 日本政府の対中パワー行使について ～1972年－2020年の日中関係を事例に～	
授与番号	博甲国第 51 号			
授与年月日	2022.9.14			
授与の条件	学位規程第 5 条	論文審査員	主査 岡村 裕 副査 北島 勉、宮首 弘子、王 元	

学位論文の要旨

＜本研究の概要＞

本研究は 1972 年 9 月に日中両国によってそれぞれ、安全保障、領土、歴史、経済分野において確立した両国の関係を支える基盤とも言える共通の戦略的ナラティブをもとに、その後 2020 年までに両国が如何にこれらの四つの分野の戦略的ナラティブを実践してきたのかを考察した。また、両国が共通の戦略的ナラティブを実践する様相を分析するとともに、「パワー」という概念を用いて、主に日本政府の対中パワー行使の傾向をも明らかにした。結果的に、日本政府の対中パワーの行使の傾向として、「ソフト・パワー」から「ハード・パワー」へと変化したことが分かった。

＜本研究のアプローチ＞

本研究では主に二つの分析アプローチを用いた。一つ目は歴史のアプローチである。このアプローチでは一次、二次資料をもとに、主に日本政府による対中パワー行使の背景とパワー被行使側としての中国政府の反応（場合によっては逆もある）を分析することで、日本政府の対中パワー行使の過程と特徴を明らかにする狙いがある。また、より幅広く有用な情報を収集するため、日本語、中国語、英語といった多言語にわたる一次、二次資料を用いた。

二つ目は内容分析のアプローチである。このアプローチでは日本政府の対中パワー行使の傾向をより可視化する一つの手法として、主に公開されている日本の国会答弁を活用し、特定時期における日本政府官僚の言説からハード・パワー行使と関連する対中言説及びソフト・パワー行使と関連する対中言説を集計する。そして言説範囲において、日本政府の対中パワー行使の傾向を明らかにした。

論文審査結果の要旨

本審査対象論文は、1972 年から 2020 年までの日本政府の対中パワー行使の傾向を、「安全保障」、「領土」、「歴史」、「経済分野」において確立された両国の関係を支える基盤とも言える共通の「戦略的ナラティブ」との関係から考察したものである。本論文では、日中両国が共通の戦略的ナラティブを実践できる場合、日本政府の対中パワー行使は「ソフト化」する傾向があり、反対に戦略的ナラティブの実践から乖離する場合には、日本政府の対中パワー行使は「ハード化」する特徴がある、という仮説を設定し、1972 年から 2020 年までの日中関係を事例に、共通の戦略的ナラティブの実践過程の考察を踏まえ、日本政府の対中パワー行使の特徴を以下の通り述べている。

まず、本論文で活用される様々な概念および分析枠組みについて序章および第 1 章で説明した後、第 2 章以降では、年代別に、日中両国が「安全保障」、「歴史」、「領土」、「経済分野」での共通の戦略的ナラティブをいかに実践していたのかを考察し、同時期の日本政府の対中パワー行使の特徴を明らかにしている。

1970 年代と 1980 年代を対象とした第 2 章では、共通の戦略的ナラティブを実践する事例を分析するとともに、一次資料としての国会答弁の内容を量的に分析することで、同時期の日本政府の対中パワー行使の傾向と特徴を考察することに焦点が当てられている。加えて、この章では第 1 章の内容を踏まえ、ハード・パワーとソフト・パワーが結合して形成するスマート・パワーの概念について論じるとともに、スマー

ト・パワーが効果を発揮するのに必要な条件及びその効果を考察するための事例分析が行われている。第 3 章は 1990 年代を対象とし、冷戦後の国際社会全体が大きな変動に追われる時期であることや、日中関係が 1970 年代と 1980 年代よりも複雑であることから、関連の領域での日中間の外交事例を分析することを通して、共通の戦略的ナラティブの実践状況及び日本政府のパワー行使を考察している。

第 4 章は 2000 年代を対象に、前半では主に歴史分野での両国の対立が目立ったことと、後半では関係修復の兆しが表れ、緊張と緩和がともに存在する日中関係を形成するようになったことに焦点が当てられている。第 5 章では、2010 年代を対象として、当年代が中国の GDP が日本を超えるなど、日中間のパワーバランスが逆転する時期であったことを挙げ、同時期から日中間では戦略的ナラティブからの乖離が徐々に顕著になり、同時に関連分野における競争や対立も以前と比べ激しくなったことが報告されている。このことは日本政府の対中パワー行使にも一定の影響を与えたが、これらのことを踏まえ、日中両国による戦略的ナラティブに反する競争や対立の様相はいかなるものであったのか、また両国によって構築した戦略的ナラティブの実践に回帰するようなメカニズムの効果はどのようなものであったかについて、具体的な考察を行うとともに、これらの過程での日本政府の対中パワー行使の特徴をも明ら

かにしている。

終章では、第 1 章から第 5 章までのまとめとして、1970 年代から 2010 年代における両国の共通の戦略的ナラティブの実践状況と、それに伴う日本政府の対中パワー行使の特徴が整理されている。結果として、日中両国が共通の戦略的ナラティブを実践できた時には日本政府の対中パワー行使はソフト化する傾向を呈し、一方で共通の戦略的ナラティブの実践から乖離した時には日本政府の対中パワー行使はハード化する傾向を呈していたことから、本研究の仮説が支持されたと結論づけている。また、本研究の限界および今後の課題とともに、パワー行使の観点から、今後ますます複雑化する日中関係の改善に必要な事項について、日本政府の視点での私見が述べられている。

【論文審査の総評】

本博士論文は、次の点で高く評価できる。

第一に、本論文は、一次資料あるいは文献を活用した実証的研究としての博士学位論文のレベルに達している。実証的な文献研究に不可欠な仮説の構築、リサーチクエスションの設定、分析方法の選択に加え、一次資料あるいは文献の分析は堅実であり、論理展開も明快である。本論文は、厳密な実証的文献研究の結果と考察であり、推測や勘ではなく、エビデンスに基づき、日本政府の対中パワー行使の傾向に関するモデルを示そうとする試みである。その分析手法は、歴史的アプローチと内容分析アプローチの二つで、前者では国会答弁といった一次資料及び関連論文と著書などの二次資料に基づく分析を行い、後者では、日本政府の対中パワー行使の傾向をより可視化する一つの手法として、公開済みの日本の国会答弁を活用し、日本政府閣僚の言説からハード・パワー行使と関連する対中言説及びソフト・パワー行使に関連する対中言説を集計した結果を分析している。論文で報告された分析手法及び結果は、申請者が実証的な分析手法に精通した研究者として高い能力をもつことを十分に示すものである。

第二に、本論文は、1972 年から 2020 年までの日本政府の対中パワー行使の傾向を明らかにしたものであるが、まず長期間の対中パワー行使の特徴及びハード・パワーとソフト・パワー両方に関する行使分析は少ない。また、パワーは様々な行動から生じるものであり、国家行動の背後には目標や戦略があるが、その目標を 1972 年に日本政府が中国政府との間に形成し、その後日中関係の基盤ともなった四つの共通した「戦略的ナラティブ」とみなし、これらのナラティブを日本政府が中国政府とともに如何に実践したのか、パワー行使との関わりから考察した論文はこれまでにない。このような新しいモデルを実証的に明らかにした試みは、斬新でオリジナリティが高く、今後の発展が大変に有望な業績であるといえる。

第三に、本論文は、今後の日本政府の中国に対するパワー行使および関係改善のためのアプローチに関する示唆を与えたとともに、そのあり方に関する示唆に富んだ研究成果であり、その意義は評価に値する。また博士論文としても十分評価しうるものである。他方で、主題に大きく影響しない論文の構成および周辺部分についての論述の不十分さが指摘できる。例えば、日本政府の認識を分析する比重が高くなり、中国政府の対日認識を十分に追いきれなかったこと、台湾問題への考察の欠如、米国の影響に対する考察の不足などが挙げられる。しかしその背景には、新型コロナウイルス感染症の蔓延や中国政府の一次資料の入手困難性などがあり、これらは個人研究者としての研究の限界でもありやむを得ない事情である。口答発表ならびに口答試問では、明晰に論旨を述べ、指摘された研究の問題点および関連の質問に対して的確に答えることができた。口答試問

では、前述した論文の記述や考察の不十分な点が幾つか指摘されたが、いずれも大幅な改訂を要求するものではなく、時間をかけて丹念に作成された論文であることが確認できた。

以上のことから、審査委員は全員一致で申請者と紫章氏が、博士(学術)の学位を授与するに十分値するものと認める。