

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 中 里 陽 子

〈学位〉	種 類	博士 (医学)	論 文 項 目	<i>TERT</i> 遺伝子プロモーターの制御性 SNP (rs2853669) は甲状腺の腫瘍増大・悪性度の分子マーカーとなる
	授与番号	博甲医第510号	論文審査委員	主査 安田和基
	授与年月日	令和5年4月19日	副査	長谷川浩 秋元義弘 長島文夫 今泉美佳
	授与の要件	学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

〔背景と目的〕テロメア逆転写酵素 (telomerase reverse transcriptase: TERT) 遺伝子のプロモーターの2つの点突然変異, C228T, C250Tが甲状腺癌の分子マーカーとなることが報告されている。2つの変異の近傍には一塩基多型 Telomeric regulatory single nucleotide polymorphism, rs2853669 (以下 TrSNP) がある。著者の所属する研究グループにおいて甲状腺培養細胞を用いた実験病理学的検討で TrSNP の C アレルは TERT プロモーター活性を亢進させ, C228T と相乗的に作用することを示した。さらに手術組織標本を用いた臨床病理学的検討で TrSNP の C アレルは C228T と同様に甲状腺乳頭癌や濾胞性腫瘍の大きさと相関することを明らかにした。本研究では, まず血液検体から TrSNP が検出可能であることを明らかにし, その有用性を確認する。次に症例数を増やし, TrSNP と甲状腺乳頭癌や濾胞性腫瘍 (濾胞癌と濾胞腺腫) の増大や悪性度との関連, 他の遺伝子変異との関連を解析し, 臨床で有用な分子マーカーとなり得るかを明らかにする。

〔対象と方法〕218例の甲状腺腫瘍の患者 (乳頭癌133例, 濾胞性腫瘍85例) の血液検体と手術組織標本から DNA を抽出し, 両者にて TrSNP, C228T, C250T を, 後者のみで BRAF V600E, NRAS Q61R をサンガーシークエンス法にて解析した。

〔結果〕血液と FFPE の TrSNP の一致率は 97.7% であった。吸光度比で評価した抽出 DNA の純度は, 血液検体の方が高かった。血液からの TrSNP 解析データを用い, 乳頭癌 133 例を臨床病理学的に検討した。単変量解析を行い, TrSNP の C アレルは C228T 変異と同様に腫瘍径とそれぞれ相関を示した ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ )。そして両方の変異が共存する場合は, 腫瘍径に加え, 腺外浸潤やリンパ節転移などの悪性度との相関も認めた ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )。同様に濾胞性腫瘍 85 例 (濾胞癌 19 例, 濾胞腺腫 66 例) を臨床病理学的に検討した。単変量解析では TrSNP や C228T, C250T と腫瘍径との間に有意な関係はなく, 濾胞性腫瘍の手術適応基準の影響と考えられた。多変量解析では TrSNP の C アレルと C228T は濾胞癌で有意に多く ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ), 悪性のリスクとなると考えられた。特に濾胞癌では濾胞腺腫に比して, ホモ接合型の TrSNP の C アレルが有意に多く認められ ( $p < 0.001$ ), ホモ接合型の TrSNP の C アレルと C228T が共存する場合は濾胞癌のリスクになると考えられた。血液検体から C228T, C250T は検出されなかった。

〔結論〕乳頭癌において TrSNP の C アレルは単独で腫瘍増大の指標となるが, C228T と共存すると腫瘍の進行の指標にもなる。濾胞性腫瘍では腫瘍径との相関はなかったが, TrSNP の C アレルは, C228T と共存すると濾胞癌の明らかなリスク因子となることが示された。即ち, 甲状腺において TERT プロモーターの多型 TrSNP は, 点突然変異 C228T とともに腫瘍増大や悪性度の分子マーカーとなり, 細胞診検体の情報と併用することにより, 術前の良悪性の鑑別や治療方針の決定に有用な分子マーカーとしての活用が期待される。

## 論文審査結果の要旨

〔背景と目的〕テロメア逆転写酵素 (telomerase reverse transcriptase: TERT) 遺伝子のプロモーターの2つの点突然変異, C228T, C250Tが甲状腺癌の分子マーカーとなることが報告されている。2つの変異の近傍には一塩基多型 Telomeric regulatory single nucleotide polymorphism, rs2853669 (以下 TrSNP) がある。著者の所属する研究グループにおいて甲状腺培養細胞を用いた実験病理学的検討で TrSNP の C アレルは TERT プロモーター活性を亢進させ, C228T と相乗的に作用することを示した。さらに手術組織標本を用いた臨床病理学的検討で TrSNP の C アレルは C228T と同様に甲状腺乳頭癌や濾胞性腫瘍の大きさと相関することを明らかにした。本研究では, まず血液検体から TrSNP が検出可能であることを明らかにし, その有用性を確認する。次に症例数を増やし, TrSNP と甲状腺乳頭癌や濾胞性腫瘍 (濾胞癌と濾胞腺腫) の増大や悪性度との関連, 他の遺伝子変異との関連を解析し, 臨床で有用な分子マーカーとなり得るかを明らかにする。

〔対象と方法〕218例の甲状腺腫瘍の患者 (乳頭癌133例, 濾胞性腫瘍85例) の血液検体と手術組織標本から DNA を抽出し, 両者にて TrSNP, C228T, C250T を, 後者のみで BRAF V600E, NRAS Q61R をサンガーシークエンス法にて解析した。

〔結果〕血液と FFPE の TrSNP の一致率は 97.7% であった。吸光度比で評価した抽出 DNA の純度は, 血液検体の方が高かった。血液からの TrSNP 解析データを用い, 乳頭癌 133 例を臨床病理学的に検討した。単変量解析を行い, TrSNP の C アレルは C228T 変異と

同様に腫瘍径とそれぞれ相関を示した ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ )。そして両方の変異が共存する場合は, 腫瘍径に加え, 腺外浸潤やリンパ節転移などの悪性度との相関も認めた ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )。同様に濾胞性腫瘍 85 例 (濾胞癌 19 例, 濾胞腺腫 66 例) を臨床病理学的に検討した。単変量解析では TrSNP や C228T, C250T と腫瘍径との間に有意な関係はなく, 濾胞性腫瘍の手術適応基準の影響と考えられた。多変量解析では TrSNP の C アレルと C228T は濾胞癌で有意に多く ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ), 悪性のリスクとなると考えられた。特に濾胞癌では濾胞腺腫に比して, ホモ接合型の TrSNP の C アレルが有意に多く認められ ( $p < 0.001$ ), ホモ接合型の TrSNP の C アレルと C228T が共存する場合は濾胞癌のリスクになると考えられた。血液検体から C228T, C250T は検出されなかった。

〔結論〕乳頭癌において TrSNP の C アレルは単独で腫瘍増大の指標となるが, C228T と共存すると腫瘍の進行の指標にもなる。濾胞性腫瘍では腫瘍径との相関はなかったが, TrSNP の C アレルは, C228T と共存すると濾胞癌の明らかなリスク因子となることが示された。即ち, 甲状腺において TERT プロモーターの多型 TrSNP は, 点突然変異 C228T とともに腫瘍増大や悪性度の分子マーカーとなり, 細胞診検体の情報と併用することにより, 術前の良悪性の鑑別や治療方針の決定に有用な分子マーカーとしての活用が期待される。

〔評価〕本論文は, 甲状腺腫瘍を対象に, SNP と体細胞変異の臨床的な意義づけについて豊富な日本人症例で解析した貴重な研究である。将来的に臨床的な decision making に大いに貢献する可能性があり, 審査委員全員一致で, 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 安藤直朗

〔学位〕	種類	博士（医学）	論文項目	急性出血における内皮細胞障害に対するHES130蘇生輸液療法の効果
	授与番号	博甲医第511号	論文審査委員	主査 大木 紫
	授与年月日	令和5年5月17日	副査	副島京子 谷垣伸治 櫻井裕之 細井 温
	授与の要件	学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

〔背景〕大量出血時や重症患者では、末梢循環の早期正常化とその維持のため、大量の細胞外液や人工膠質液を用いた輸液療法が行われる。また出血や炎症は、血管内皮細胞機能に大きな影響を与えるが、その初期治療である輸液蘇生の血管内皮細胞機能への影響は不明な点が多い。

〔目的〕本研究の目的は内皮細胞機能に関わるGlycocalyx (GCX) と輸液蘇生療法の関係に注目し、大量出血時の初期輸液蘇生療法の輸液選択がGCXや末梢循環に与える事象をin vivoで観察し、解明することである。我々は、大量出血の病態が発生した際に行われている晶質液の大量投与療法を、早期から人工膠質液：hydroxyethyl starch 130kDa (HES130) の投与へ切りかえることが、GCXに対して保護的に働き、内皮細胞機能障害を緩和するという仮説を立てた。

〔方法〕背側皮膚透明窓を装着したマウスの出血モデルを作成し、輸液製剤の投与順により4群に群分けし観察をした。生理食塩水→生理食塩水 (NS-NS) 群、生理食塩水→HES130 (NS-HES) 群、HES130→生理食塩水 (HES-NS) 群、コントロール (C) 群。主要評価項目を、GCXを構成する糖鎖を認識する蛍光標識小麦胚芽由来レクチン (FITC-WGA) を用いてGCX部位を蛍光標識し取得した蛍光画像からのin vivoのGCXの厚みの計測、血漿Syndecan-1濃度の測定、免疫染色法を用いたex vivoの光学顕微鏡でのSyndecan-1の局在の観察とし、GCX障害とHES130の保護作用を評価した。副次評価項目は、血管透過性、電子顕微鏡でのHES130の局在性観察、血液ガス分析、7日生存率とした。

〔結果〕60 $\mu$ mの動脈ではHES-NS群でGCXの厚みが保持された。血漿Syndecan-1濃度はNS-NS群で有意に高値であった。Syndecan-1の免疫染色ではNS-NS群において血管壁でのシグナルの低下を認めた。血管透過性、血液ガス分析、7日生存率においてHES-NS群はC群と有意差を認めなかった。電子顕微鏡におけるフルオレセインイソチオシアネート標識HES130の免疫染色では、HES-NS群において、血管内腔表層の強い陽性シグナルを認めた。

〔結語〕急性大量出血時の生理食塩水投与は高度にGCXを障害し、内皮細胞機能障害を引き起こしたが、HES130を早期から投与することにより内皮細胞を物理的に補完することでGCXを保護し、内皮細胞機能障害を防止する作用を有することが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

〔背景〕大量出血に対して、末梢循環の早期正常化とその維持のため、大量の細胞外液や人工膠質液を用いた輸液療法が行われる。また出血や炎症は、血管内皮細胞機能に大きな影響を与えることが報告されているが輸液蘇生の血管内皮細胞機能への影響は不明な点が多い。

〔目的〕本研究の目的は内皮細胞機能に関わるGlycocalyx (GCX) と輸液蘇生療法の関係に着目し、大量出血時への初期輸液選択がGCXや末梢循環に与える影響をin vivoで観察し、人工膠質液投与が晶質液投与に比べてメリットがあるのかを解明することである。大量出血に対しての初期の輸液を晶質液でなく人工膠質液：hydroxyethyl starch 130kDa (HES130) の投与にすることで、GCを保護して内皮細胞機能障害を緩和するのではないかとという仮説を立てた。

〔方法〕背側皮膚透明窓を装着したマウスで出血モデルを作成し、輸液製剤の投与順により4群 (生理食塩水→生理食塩水 (NS-NS) 群、生理食塩水→HES130 (NS-HES) 群、HES130→生理食塩水 (HES-NS) 群、コントロール (C) 群) に群分けし観察をした。主要評価項目を、GCXを構成する糖鎖を認識する蛍光標識小麦胚芽由来レクチン (FITC-WGA) を用いて取得した蛍光画像か

らのin vivoのGCXの厚みの計測、血漿Syndecan-1濃度の測定、免疫染色法を用いたex vivoの光学顕微鏡でのSyndecan-1の局在の観察とし、GCX障害とHES130の保護作用を評価した。副次評価項目は、血管透過性、電子顕微鏡でのHES130の局在観察、血液ガス分析、7日生存率とした。

〔結果〕直径60 $\mu$ mの動脈では、HES-NS群のみでGCXの厚みが保持された。血漿Syndecan-1濃度はNS-NS群で有意に高値であった。Syndecan-1の免疫染色でも、NS-NS群において血管壁でのシグナルの低下を認めた。血管透過性、血液ガス分析、7日生存率において、NS-NS群はC群に比べ有意に悪く、HES-NS群は有意差を認めなかった。電子顕微鏡におけるHES130の免疫染色では、HES-NS群において血管内腔表層の強い陽性シグナルを認めた。

〔結語〕急性大量出血時の生理食塩水投与は高度にGCXを障害し、内皮細胞機能障害を引き起こしたが、早期にHES130を投与することにより、HES130はGCXに結合し保護的に働き、内皮細胞機能障害を防止したことが示唆された。

本研究は、大量出血時のHES130早期投与が、GCXの保護作用を介して生命予後を改善することを示しており、臨床的に意義のあるものである。出血モデルのプロトコルが実臨床を必ずしも反映していない点に限界はあるが、十分学位に値すると判断する。

## 学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 蓮井 宣宏

〔学位〕	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	肝細胞シートにおいて誘導されたBallooned hepatocyteの検証
	授与番号	博甲医第512号	論文審査委員	主査 柴原純二 副査 久松理一 福原 浩 大山 学 青柳共太
	授与年月日	令和5年9月20日		
	授与の要件	学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

〔目的〕非アルコール性脂肪肝炎の罹患者は増加傾向にあり、有効な薬剤の開発が望まれている。非アルコール性脂肪肝炎における特徴である風船様肝細胞の存在は、疾患の予後に相関する重要な所見である。今日まで、薬剤試験を目的として多数のin vitro実験系や動物モデルが開発されてきたが、ヒトの風船様肝細胞を含んだモデルは存在していない。我々は先行研究で、ヒト皮膚線維芽細胞と肝細胞を共培養した細胞群をシート状に形成（細胞シート）し、培養することで肝細胞が腫大する現象を確認している。本研究の目的は、生来肝臓に存在する肝星細胞と肝細胞を共培養した細胞シートを作製する技術の確立および、細胞シートの培養で生ずる肝細胞の腫大とヒト非アルコール性脂肪肝炎で見られる風船様肝細胞の異同を組織学的・機能的側面から検討することである。

〔方法〕初代ヒト肝細胞とヒト肝星細胞を温度応答性培養に播種・共培養し、培養3日後にコンフルエントになった状態で低温処理（20度）することで細胞シートとして回収した。細胞シートとして回収して通常の培養皿へ再接着した後に、生理的環境・糖毒性環境・脂肪毒性環境・糖脂毒性環境の4種類の培地で11日間培養をし、組織学的解析を行なった。機能解析としては、ELISAおよびReal time PCRを用いてSonic hedgehog・TGF- $\beta$ ・炎症性サイトカイン・酸化ストレス・オートファジーマーカーの測定を行い、ヒト非アルコール性脂肪肝炎における風船様肝細胞との異同を検証した。統計手法はTwo-way ANOVA with Tukey's post hoc testを用いて分析した。

〔結果〕組織学的解析の結果では、糖脂毒性環境下で肝細胞の腫大、脂肪滴の形成、サイトケラチンの配列異常、マロリー体およびオルガネラの異常が確認された。また、ELISAおよびReal time PCRを用いた機能解析の結果では、糖脂毒性環境においてSonic hedgehog, TGF- $\beta$ およびp62の上昇を認めた（生理的環境vs糖脂毒性環境Sonic hedgehog:p<0.0001, TGF- $\beta$ :p<0.01, p62:p<0.0001）。炎症性サイトカインおよび酸化ストレスの有意な変化は認めなかった。

〔結論〕ヒト肝星細胞と共培養した肝細胞シートの肝細胞に生じた腫大現象は、脂肪滴の形成、サイトケラチンの配列異常、マロリー体およびオルガネラの異常が観察できた。また、Sonic hedgehogおよびTGF- $\beta$ , p62の上昇が確認され、非アルコール性脂肪肝炎の風船様肝細胞に極めて類似した特徴の多くを示した。これらの結果から、本手法で作成した腫大した肝細胞シートはヒト非アルコール性脂肪肝炎の創薬モデルとなり得ることが示唆された。今後、実際の薬剤試験を行い創薬モデルとしての有用性を示せれば、NASHに対する治療薬開発に大きく貢献すると考える。

## 論文審査結果の要旨

〔目的〕非アルコール性脂肪肝炎（NASH）の罹患者は増加傾向にあり、有効な薬剤の開発が望まれている。NASHの特徴である風船様肝細胞の存在は、疾患予後に相関する重要な所見である。今日まで薬剤試験を目的として多数のin vitro実験系や動物モデルが開発されてきたが、ヒト風船様肝細胞のモデルは存在していない。我々は先行研究でヒト皮膚線維芽細胞と肝細胞を共培養した細胞群をシート状に形成（細胞シート）し、培養することで肝細胞が腫大する現象を確認している。本研究の目的は生来肝臓に存在する肝星細胞と肝細胞を共培養した細胞シートの作製技術の確立、および細胞シートの培養で生ずる肝細胞の腫大とヒトNASHで見られる風船様肝細胞の異同を組織学的・機能的側面から検討することである。

〔方法〕初代ヒト肝細胞とヒト肝星細胞を温度応答性培養に播種・共培養し、培養3日後にコンフルエントになった状態で低温処理（20度）することで細胞シートとして回収した。通常の培養皿へ再接着した後に、生理的環境・糖毒性環境・脂肪毒性環境・糖脂毒性環境の4種類の培地で11日間培養をし、組織学的解析を行なった。機能解析としては、ELISAおよびReal time PCRを用いてSonic hedgehog・TGF- $\beta$ ・炎症性サイトカイン・酸化ストレス・オートファジーフラックスマーカー（p62）の測定を行った。

〔結果〕組織学的には、糖脂毒性環境下で肝細胞の腫大、脂肪滴の形成、サイトケラチンの配列異常、マロリー体およびオルガネラの異常が確認された。機能解析では、糖脂毒性環境においてSonic hedgehog, TGF- $\beta$ およびp62の上昇を認めた（生理的環境vs糖脂毒性環境Sonic hedgehog:p<0.0001, TGF- $\beta$ :p<0.01, p62:p<0.0001）。炎症性サイトカインおよび酸化ストレスの有意な変化は認めなかった。

〔結論〕ヒト肝星細胞と共培養した肝細胞シートの肝細胞に生じた腫大現象には、脂肪滴の形成、サイトケラチンの配列異常、マロリー体およびオルガネラの異常が観察できた。また、Sonic hedgehogおよびTGF- $\beta$ , p62の上昇が確認され、NASHの風船様肝細胞に極めて類似した特徴の多くを示した。これらの結果から、本手法で作成した腫大した肝細胞シートはヒトNASHの創薬モデルとなり得ることが示唆された。今後、実際の薬剤試験を行い創薬モデルとしての有用性を示せれば、NASHに対する治療薬開発に大きく貢献すると考える。

〔審査結果〕本研究では、肝星細胞/肝細胞シートを糖脂毒性環境下で培養することで、形態および機能的にNASHの風船様肝細胞を再現するin vitroモデルを構築した。今後の創薬開発への応用も期待される重要な成果であり、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 竹 森 聖

〈学位〉	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	卵巣明細胞癌におけるメトホルミンの抗腫瘍効果			
	授与番号	博甲医第513号	論文審査委員	主査 福原 浩			
	授与年月日	令和5年10月18日	副査	長島文夫	吉野 浩	藤原正親	三戸部治郎
	授与の要件	学位規程第5条					

## 学位論文の要旨

**【背景と目的】**卵巣明細胞癌は、卵巣癌の組織型における割合が欧米に比べ日本では高く、化学療法抵抗性であり予後不良である。糖尿病治療薬であるメトホルミンは、近年、基礎実験・臨床研究ともに、癌に対する抗腫瘍効果や化学療法感受性の増加効果が示唆されている。卵巣癌においては主に漿液性癌において、メトホルミンによる同様な効果の報告があるが、明細胞癌についてのメトホルミンの効果に関する知見は乏しい。そこで、卵巣明細胞癌細胞株に対するメトホルミンの抗腫瘍効果や化学療法との併用による抗腫瘍効果の増強、またその分子制御機序について評価した。

**【方法】**卵巣明細胞癌由来の付着細胞株RMG-I及びOVISeにおいて、メトホルミンを添加し、WST-1 assayを用いて細胞増殖能/生存率を検討した。さらに、RMG-I株においてシスプラチンまたはパクリタキセルを添加し、メトホルミンの投与の有無で群を分け、同様に各群の細胞増殖能/生存率を評価した。次に、RMG-I株において、メトホルミンの添加群/非添加群についてウェスタンブロットを用いてAMP-activated protein kinase (AMPK) およびMammalian target of rapamycin (mTOR) のリン酸化への影響を評価した。また、RMG-I株において、メトホルミンの添加群/非添加群に対してフローサイトメトリー (FCM) によりアポトーシスの評価や、細胞周期への影響について評価した。

**【結果】**WST-1 assayの結果では、RMG-IおよびOVISeに対してメトホルミンはその細胞増殖能/生存率を抑制した。RMG-IおよびOVISeにおいて、シスプラチンとメトホルミンとの共処理では、有意差をもって細胞増殖能/生存率は抑制された。一方、パクリタキセルとメトホルミンとの共処理では、メトホルミン非投与群に比べ、細胞増殖能/生存率の値に有意差は認めなかった。RMG-I株において、ウェスタンブロットの結果では、メトホルミン添加群は有意にAMPKのリン酸化の亢進、およびmTORのリン酸化の抑制が見られた。FCMの結果では、メトホルミン添加群は、非添加群に対して有意にアポトーシスの割合が増加し、G2/M期において細胞周期を停止させる割合が有意に増加した。

**【考察】**メトホルミンは卵巣明細胞癌において、単独添加での増殖抑制効果に加え、化学療法との併用による抗腫瘍効果の増強が示唆され、その分子作用機序としてAMPKのリン酸化やmTORのリン酸化抑制を介した効果や、細胞周期の停止、アポトーシスの誘導の可能性が考えられた。

## 論文審査結果の要旨

**【背景と目的】**卵巣明細胞癌は、化学療法抵抗性であり予後不良である。糖尿病治療薬であるメトホルミンは、近年、癌に対する抗腫瘍効果や化学療法感受性の増加効果が示唆されている。卵巣癌においては主に漿液性癌において、メトホルミンによる同様な効果の報告があるが、明細胞癌についてのメトホルミンの効果に関する知見は乏しい。そこで、卵巣明細胞癌細胞株に対するメトホルミンの抗腫瘍効果や化学療法との併用による抗腫瘍効果の増強、またその分子制御機序について評価した。

**【方法】**卵巣明細胞癌由来の付着細胞株RMG-I及びOVISeにおいて、WST-1 assayを用いてメトホルミン投与による細胞増殖能/生存率を検討した。さらに、シスプラチンまたはパクリタキセルをRMG-Iに添加し、メトホルミン投与の有無による細胞増殖能/生存率を評価した。次に、RMG-Iにおいて、メトホルミンの添加群/非添加群についてウェスタンブロットにてAMP-activated protein kinase (AMPK) およびMammalian target of rapamycin (mTOR) のリン酸化への影響を評価した。また、RMG-Iにおいて、メトホルミンの添加群/非添加群に対してフローサイトメトリー (FCM) によりアポトーシスの評価や、細胞周期への影響について評価した。

**【結果】**WST-1 assayでは、RMG-IおよびOVISeに対してメトホルミンは、その細胞増殖能/生存率を抑制した。RMG-IおよびOVISeにおいて、シスプラチンとメトホルミンとの共処理は、有意差をもって細胞増殖能/生存率を抑制した。一方、パクリタキセルとメトホルミンとの共処理では、メトホルミン非投与群に比べ、細胞増殖能/生存率の値に有意差は認めなかった。RMG-Iにおいて、ウェスタンブロットにて、メトホルミン添加群は有意にAMPKのリン酸化の亢進、およびmTORのリン酸化の抑制を認めた。FCMでは、メトホルミン添加群では、非添加群に対して有意にアポトーシスの割合が増加し、G2/M期において細胞周期を停止させる割合が有意に増加した。

**【考察】**メトホルミンは卵巣明細胞癌において、単独添加での増殖抑制効果に加え、化学療法との併用による抗腫瘍効果の増強が示唆された。その分子作用機序として、AMPKのリン酸化やmTORのリン酸化抑制を介した効果や、細胞周期の停止、アポトーシスの誘導の可能性が考えられた。

**【審査結果】**糖尿病治療薬メトホルミンが卵巣明細胞癌において増殖能を抑制し、化学療法との併用によりその効果が増強することを証明した。さらに、その分子作用機序を解明している。課題設定および方法論ともに系統立っており、本論文は学位論文としてふさわしいと考える。

## 学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 本 多 五 奉

〈学位〉	種 類 博士（医学）	論 文 項 目 Solid-pseudopapillary neoplasmの分子異常解析研究
	授与番号 博甲医第514号	論文審査委員 主査 中富浩文
	授与年月日 令和5年10月18日	副査 藤原正親 長島文夫 横山健一 大木 紫
	授与の要件 学位規程第5条	

## 学位論文の要旨

【目的】 Solid-pseudopapillary neoplasm (SPN) は膵臓に発生する低悪性度の稀な上皮性腫瘍であり、切除後の予後は一般に良好だが、転移や周囲臓器浸潤を来す悪性度の高い症例も散見される。SPNの全ゲノムの次世代シーケンサーを用いた解析で、Wntシグナル伝達経路に関わる $\beta$ -cateninをコードする*CTNNB1*遺伝子変異を有することが知られている。しかし、SPNの高悪性度に関連する遺伝子変異は不明である。本研究の目的はSPNの悪性度と遺伝子変異の関連性を探索的に検討することにある。

【方法】 1997-2021年に試験に参加した3施設において外科的切除を行い、病理学的にSPNと診断された28例のうち、解析可能なDNAを抽出できた19例を対象とした。そのうち、遠隔転移を認めた2例、および周囲臓器浸潤を認めた3例の計5例をMetastasis or extrapancreatic invasion群（以下、M群）とし、残り14例はLocalized tumor群（以下、L群）とした。原発・転移巣および周囲臓器浸潤部の計23検体からそれぞれDNAを抽出し、50種のがん関連遺伝子の変異のhot spotを次世代シーケンサーを用いて解析した。M群とL群における遺伝子変異や臨床病理学的因子の相違を比較検討した。杏林大学医学部附属病院の6症例（転移・浸潤群3例を含む）では腫瘍組織の $\beta$ -catenin染色及びKi-67染色を行い、*CTNNB1*遺伝子変異の蛋白発現の関連性、悪性度とKi-67 indexの相関性を検討した。また、M群とL群における画像所見の相違点についても検討した。

【結果】 *CTNNB1*変異が、L群では原発巣の78% (11/14)、M群では原発巣の100% (5/5)、遠隔転移巣及び周囲臓器浸潤部では100% (4/4) で検出された ( $p = 0.253$ )。原発巣における*CTNNB1*以外の変異は、L群では7.1% (1/14)、M群では60% (3/5) で検出された ( $p = 0.037$ )。*IDH1*変異と*PIK3CA*変異はL群の0%、M群の40%で検出された ( $p = 0.058$ )。臨床病理学的因子では、M群で高度な膵内神経浸潤や脈管侵襲を認めた ( $p < 0.05$ )。杏林大学医学部附属病院症例に対する $\beta$ -catenin染色においては、全例で核内及び細胞質が陽性であり、 $\beta$ -catenin蛋白発現が確認された。Ki-67 indexはM群の1例のみ20%を超えたが、その他は低値であった。また、画像所見ではM群のほうがL群と比較して、腫瘍内部に嚢胞成分よりも充実性成分が多く含まれる傾向にあった。

【結論】 SPNの高度悪性例では*CTNNB1*変異に加えて*IDH1*や*PIK3CA*などの付加的遺伝子変異が生じていた。これらの遺伝子変異は転移や周囲臓器浸潤を呈した悪性度の高い例にのみ認められており、*IDH1*や*PIK3CA*変異がSPNの悪性化に寄与する可能性が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

【背景と目的】 Solid-pseudopapillary neoplasm (SPN) は膵臓に発生する低悪性度の稀な上皮性腫瘍であり、切除後の予後は一般に良好だが、転移や周囲臓器浸潤を来す悪性度の高い症例も散見される。SPNの全ゲノムの次世代シーケンサーを用いた解析で、Wntシグナル伝達経路に関わる $\beta$ -cateninをコードする*CTNNB1*遺伝子変異を有することが知られている。しかし、SPNの高悪性度に関連する遺伝子変異は不明である。本研究の目的はSPNの悪性度と遺伝子変異の関連性を探索的に検討することにある。

【方法】 1997-2021年に試験に参加した3施設において外科的切除を行い、病理学的にSPNと診断された28例のうち、解析可能なDNAを抽出できた19例を対象とした。そのうち、遠隔転移を認めた2例、および周囲臓器浸潤を認めた3例の計5例をMetastasis or extrapancreatic invasion群（以下、M群）とし、残り14例はLocalized tumor群（以下、L群）とした。原発・転移巣および周囲臓器浸潤部の計23検体からそれぞれDNAを抽出し、50種のがん関連遺伝子の変異のhot spotを次世代シーケンサーを用いて解析した。M群とL群における遺伝子変異や臨床病理学的因子の相違を比較検討した。杏林大学医学部附属病院の6症例（転移・浸潤群3例を含む）では腫瘍組織の $\beta$ -catenin染色及びKi-67染色を行い、*CTNNB1*遺伝子変異の蛋白発現の関連性、悪性度とKi-67 indexの相関性を検討した。また、M群とL群における画像所見の相違点についても検討した。

【結果】 *CTNNB1*変異が、L群では原発巣の78% (11/14)、M群

では原発巣の100% (5/5)、遠隔転移巣及び周囲臓器浸潤部では100% (4/4) で検出された ( $p = 0.253$ )。原発巣における*CTNNB1*以外の変異は、L群では7.1% (1/14)、M群では60% (3/5) で検出された ( $p = 0.037$ )。*IDH1*変異と*PIK3CA*変異はL群の0%、M群の40%で検出された ( $p = 0.058$ )。臨床病理学的因子では、M群で高度な膵内神経浸潤や脈管侵襲を認めた ( $p < 0.05$ )。杏林大学医学部附属病院症例に対する $\beta$ -catenin染色においては、全例で核内及び細胞質が陽性であり、 $\beta$ -catenin蛋白発現が確認された。Ki-67 indexはM群の1例のみ20%を超えたが、その他は低値であった。また、画像所見ではM群のほうがL群と比較して、腫瘍内部に嚢胞成分よりも充実性成分が多く含まれる傾向にあった。

【考察】 SPNの高度悪性例では*CTNNB1*変異に加えて*IDH1*や*PIK3CA*などの付加的遺伝子変異が生じていた。これらの遺伝子変異は転移や周囲臓器浸潤を呈した悪性度の高い例にのみ認められており、*IDH1*や*PIK3CA*変異がSPNの悪性化に寄与する可能性が示唆された。

【評価】 本研究は本邦の膵臓に発生する低悪性度の稀な上皮性腫瘍であるSolid-pseudopapillary neoplasm (SPN)を対象にして、転移や周囲臓器浸潤を来す悪性度の高い症例群（M群）と転移や周囲臓器浸潤のない限局性の症例群（L群）の2群間で、ゲノムデータ、画像的特徴、病理学的特徴を網羅的に解析した多施設共同研究である。転移や周囲臓器浸潤を来す悪性度の高い症例群では、*CTNNB1*変異に加えて*IDH1*や*PIK3CA*などの付加的遺伝子変異が生じており、これら二つの遺伝子変異がSPNの悪性化に寄与する可能性が示された。審査員全員一致で学位論文に値する内容であると判断した。

## 学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 白井達也

〈学位〉	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	マイナス一本鎖RNAウイルスのRNA依存性RNAポリメラーゼに対するファビピラビルの分子間相互作用： <i>in silico</i> 解析
	授与番号	博甲医第515号	論文審査委員	主査 櫻井裕之
	授与年月日	令和6年3月31日	副査	長谷川浩 永根基雄 花輪智子 広川貴次
	授与の要件	学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

【背景】ヒトメタニューモウイルス（human metapneumovirus：HMPV）、RSウイルス（respiratory syncytial virus：RSV）、ムンプスウイルス（mumps virus：MuV）ならびに麻疹ウイルス（measles virus：MeV）は高い感染性を有し、時に致死の感染症を引き起こすマイナス一本鎖RNAウイルスであるが、有効な治療薬は存在しない。ファビピラビルは、RNA依存性RNAポリメラーゼ（RNA-dependent RNA polymerase：RdRp）を標的とする抗インフルエンザウイルス薬として開発され、*in vitro*ではHMPV、RSV、MuVならびにMeVにも有効性を示している。しかしながら、ファビピラビルによるRdRp活性阻害作用の分子薬理機構は十分に解明されていない。本研究では、ファビピラビルと、HMPV、RSV、MuVおよびMeVのRdRp、さらにこれらの対照としてインフルエンザウイルスのRdRpとヒトRNAポリメラーゼIとの結合様式と分子間相互作用を解析することで、ファビピラビルの分子薬理学的機構を解明すること目的とした。

【方法】ファビピラビルの活性型であるfavipiravir ribofuranosyl-5'-triphosphate（F-RTP）とHMPV、RSVのRdRpおよびヒトRNAポリメラーゼIの立体構造をデータベースから取得し、MuV、MeVならびにインフルエンザウイルスのRdRpはホモロジーモデリングにより立体構造を作製した。さらに、グアノシン3リン酸（guanosine triphosphate：GTP）の立体構造も取得した。こうして、F-RTPと各ポリメラーゼ、GTPと各ポリメラーゼとのドッキングシミュレーションを行い、結合様式と分子間相互作用を解析、比較した。

【結果・考察】RdRpを標的としたシミュレーションにおいて、F-RTPの3リン酸基はインフルエンザウイルスを除きRdRp活性部位のアスパラギン酸残基に水素結合した。一方で、インフルエンザウイルスにおいては、F-RTPは活性部位外のRNA合成経路に結合した。また、各ウイルスRdRpとヒトRNAポリメラーゼIとはF-RTPの結合様式は大きく異なっており、RNAポリメラーゼIにおいて、F-RTPは蛋白質表面に結合した。GTPは全てのポリメラーゼでRNA合成経路に結合し、HMPVとMuVでは活性部位に結合していた。また、HMPV、MuV、MeVおよびインフルエンザウイルスにおいて、一部の結合アミノ酸残基がF-RTPをリガンドとしたドッキングモデルと一致していた。これらの結果から、HMPV、RSV、MuVならびにMeVにおいて、F-RTPはRdRp活性部位に結合することでNTPの結合を阻害し、RdRp活性を低下させることが示唆された。一方で、インフルエンザウイルスにおいては、RNA合成経路のゲノム複製に関与すると考えられるアミノ酸残基に結合することでNTPの結合を阻害する可能性が示された。

【結論】ファビピラビルはウイルス種によりRdRp活性阻害の機序が異なることが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

【背景】ヒトメタニューモ（HMPV）、RS（RSV）、ムンプス（MuV）ならびに麻疹ウイルス（MeV）は高い感染性を有し、時に致死の感染症を引き起こす臨床的に重要なマイナス一本鎖RNAウイルスであるが、有効な治療薬はない。ファビピラビルは、RNA依存性RNAポリメラーゼ（RdRp）を標的とする抗インフルエンザウイルス薬として開発され、*in vitro*ではHMPV、RSV、MuVならびにMeVにも有効性を示している。しかしながら、ファビピラビルの抗ウイルス作用の分子薬理機構は十分に解明されていない。本研究では、ファビピラビルと、HMPV、RSV、MuV、MeV、およびH1N1インフルエンザウイルス（H1N1）のRdRp、さらにヒトRNAポリメラーゼIとの結合部位と分子間相互作用を*in silico*解析することで、ファビピラビルの抗ウイルス作用機序を推定することを目的とした。

【方法】ファビピラビルの活性型であるfavipiravir ribofuranosyl-5'-triphosphate（F-RTP）、グアノシン3リン酸（GTP）とHMPV、RSVのRdRpおよびヒトRNAポリメラーゼIの立体構造を公共データベースから取得し、未だ立体構造の解けていないMuV、MeVならびにH1N1のRdRpの立体構造はホモロジーモデリングにより

推定した。その後F-RTP、GTPと各ポリメラーゼとのドッキングシミュレーションを行った。

【結果と考察】F-RTPの3リン酸基はH1N1を除きRdRp活性部位のアスパラギン酸残基に水素結合し、H1N1では活性部位外に結合した。RSVを除きGTPもその近傍に結合した。ヒトRNAポリメラーゼIの活性部位付近にはF-RTPは結合しなかった。これらの結果から、HMPV、MuV、MeVにおいて、F-RTPはRdRp活性部位に結合することでRdRp活性を阻害することが示唆された。H1N1では活性部位に結合しなかったが、GTPの結合部位とは近接しており、HMPV、MuV、MeVとは機序が異なるものの、ウイルス複製阻害を引き起こす可能性が示唆された。

【審査結果】ドッキングシミュレーションが標的と薬物の相互作用の静止画であり、経時的変化を観察できないことや計算機リソースの限界から標的蛋白を剛性体としたことに限界があり、RdRp変異株の解析や活性部位のアミノ酸に変異を入れてみるなどにより、更にRobustな結論を導ける余地はあるものの、立体構造未解明のRdRpに対して*in silico*の手法で立体構造モデルを推定・検証し、本来の基質であるGTPと比較してF-RTPの結合部位と相互作用を明らかにしたことは、広域抗RNAウイルス薬としてのファビピラビルの作用機序解明の端緒となるもので学位に値すると思えた。

## 学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 吉田 悠 貴

〔学位〕	種 類 博士（医学）	論 文 項 目	肺胞内のiNKT細胞と好中球性気道炎症を伴う非アレルギー性の2型気道炎症の病態との関連
	授与番号 博甲医第516号	論文審査委員	主査 成田雅美
	授与年月日 令和5年11月15日		副査 駒形嘉紀 花輪智子 後藤田貴也 安樂真樹
	授与の要件 学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

【背景・目的】好中球性気道炎症を伴う喘息（好中球性喘息）は、重症度が高い喘息のフェノタイプであるが、そのメカニズムは不明である。invariant Natural Killer T (iNKT) 細胞は、可変性がないT細胞受容体の $\alpha$ 鎖により糖脂質抗原（CD1d抗原）を認識する。CD1d抗原は、花粉やハウスダスト、真菌に含まれておりiNKT細胞は喘息に関与することが報告されており、またCD1d抗原は肺炎球菌や結核菌にも含まれ、好中球性炎症にも関与する。これらは、iNKT細胞が非アレルギー性の好中球性喘息の病態に関与する可能性を示唆する。これを検証するため、本研究ではiNKT細胞を活性化させるCD1d抗原をマウスに経気道投与し、iNKT細胞の変化や好中球性喘息に特徴的な所見の有無について解析した。iNKT細胞の関与が認められれば、難治性喘息の一つである好中球性喘息の病態解明にも寄与する可能性がある。

【方法】5-8週齢メスのBALB/cAJclマウスに合成CD1d抗原である $\alpha$ -Galactosylceramide ( $\alpha$ -GalCer)を経気道投与し、血液、気管支肺胞洗浄液（Bronchoalveolar lavage fluid: BALF）、肺を採取した。BALFと肺懸濁液のタンパク質濃度を高感度ELISA法で、そしてBALFのdouble-stranded deoxyribonucleic acid (dsDNA)、Myeloperoxidase (MPO)-DNA複合体濃度を市販のdsDNA測定キット、抗MPO抗体で、さらには血液とBALFと肺組織の好中球の表面マーカーとBALFと肺組織のiNKT細胞の表面マーカーと細胞内サイトカイン、BALFの細胞分画をFlow cytometryで解析した。

【結果】 $\alpha$ -GalCer投与群では、Vehicle投与群と比較し72時間後にiNKT細胞が肺胞内に浸潤した。浸潤したiNKT細胞では、Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)刺激により、気道過敏性の原因物質であるInterleukin (IL)-13とImmunoglobulin E (IgE)産生に関与するIL-4の発現が誘導された。さらに $\alpha$ -GalCer投与群は、Vehicle投与群と比較してBALF中の好酸球数が多く、IL-13、IL-4、IL-5濃度が高かった。従って、iNKT細胞は非アレルギー性の喘息様気道炎症に関与する可能性がある。一方 $\alpha$ -GalCer投与群では、Vehicle投与群と比較してBALF中の好中球数が増加し、好中球性気道炎症の原因物質であるIL-1 $\beta$ 、好中球細胞外トラップ（NETs: Neutrophil extracellular traps）のサロゲートマーカーである細胞外dsDNA、MPO-DNA複合体濃度が高かった。これらは好中球性気道炎症が惹起されたことを示唆し、好中球性喘息の病態と類似していた。

【結論】CD1d抗原吸入により肺胞内に浸潤したiNKT細胞は、非アレルギー性2型気道炎症だけでなく、好中球性気道炎症を惹起し、喘息様気道炎症の病態に関与する可能性がある。

## 論文審査結果の要旨

【背景・目的】好中球性気道炎症を伴う喘息（好中球性喘息）は、重症度が高い喘息のフェノタイプであるが、そのメカニズムは不明である。invariant Natural Killer T (iNKT) 細胞は、可変性がないT細胞受容体の $\alpha$ 鎖により糖脂質抗原（CD1d抗原）を認識する。CD1d抗原は、花粉やハウスダスト、真菌に含まれておりiNKT細胞は喘息に関与することが報告されており、またCD1d抗原は肺炎球菌や結核菌にも含まれ、好中球性炎症にも関与する。これらは、iNKT細胞が非アレルギー性の好中球性喘息の病態に関与する可能性を示唆する。これを検証するため、本研究ではiNKT細胞を活性化させるCD1d抗原をマウスに経気道投与し、iNKT細胞の変化や好中球性喘息に特徴的な所見の有無について解析した。iNKT細胞の関与が認められれば、難治性喘息の一つである好中球性喘息の病態解明にも寄与する可能性がある。

【方法】5-8週齢メスのBALB/cAJclマウスに合成CD1d抗原である $\alpha$ -Galactosylceramide ( $\alpha$ -GalCer)を経気道投与し、血液、気管支肺胞洗浄液（Bronchoalveolar lavage fluid: BALF）、肺を採取した。BALFと肺懸濁液のタンパク質濃度を高感度ELISA法で、そしてBALFのdouble-stranded deoxyribonucleic acid (dsDNA)、Myeloperoxidase (MPO)-DNA複合体濃度を市販のdsDNA測定キット、抗MPO抗体で、さらには血液とBALFと肺組織の好中球の表面マーカーとBALFと肺組織のiNKT細胞の表面マーカーと細胞内サイトカイン、BALFの細胞分画をFlow cytometryで解析した。

胞内サイトカイン、BALFの細胞分画をFlow cytometryで解析した。

【結果】 $\alpha$ -GalCer投与群では、Vehicle投与群と比較し72時間後にiNKT細胞が肺胞内に浸潤した。浸潤したiNKT細胞では、Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)刺激により、気道過敏性の原因物質であるInterleukin (IL)-13とImmunoglobulin E (IgE)産生に関与するIL-4の発現が誘導された。さらに $\alpha$ -GalCer投与群は、Vehicle投与群と比較してBALF中の好酸球数が多く、IL-13、IL-4、IL-5濃度が高かった。従って、iNKT細胞は非アレルギー性の喘息様気道炎症に関与する可能性がある。一方 $\alpha$ -GalCer投与群では、Vehicle投与群と比較してBALF中の好中球数が増加し、好中球性気道炎症の原因物質であるIL-1 $\beta$ 、好中球細胞外トラップ（NETs: Neutrophil extracellular traps）のサロゲートマーカーである細胞外dsDNA、MPO-DNA複合体濃度が高かった。これらは好中球性気道炎症が惹起されたことを示唆し、好中球性喘息の病態と類似していた。

【結論】CD1d抗原吸入により肺胞内に浸潤したiNKT細胞は、非アレルギー性2型気道炎症だけでなく、好中球性気道炎症を惹起し、喘息様気道炎症の病態に関与する可能性がある。

【評価】本研究はマウスモデルを用いて、iNKT細胞が認識するCD1d抗原を経気管投与することにより、好中球性気道炎症が生じることを報告した。iNKT細胞が非アレルギー性2型炎症と好中球性気道炎症の両者に関与する可能性を示唆した意義のある研究である。審査員全員一致で学位論文に値する内容であると判断した。



## 学位論文要旨および審査要旨

〔博士 (医学)〕

氏名 近藤 健

〔学位〕	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目 膵β細胞におけるNrf2のインスリン転写・分泌への影響に関する検討
	授与番号 博甲医第517号	論文審査委員 主査 要 伸也
	授与年月日 令和5年11月15日	副査 久松理一 慶野 博 長瀬美樹 青柳共太
	授与の要件 学位規程第5条	

## 学位論文の要旨

【背景と目的】転写因子Nrf2 (Nuclear factor E2-related factor 2) は酸化ストレス存在下で細胞質から核内に移行しsmall Maf転写因子群 (Maf F/G/K) とheterodimerを形成しARE (Antioxidant Response Element) を介して種々の抗酸化分子の発現を誘導することで膵β細胞に対し保護的に作用しインスリン発現が上昇することが報告されている。一方、高脂肪食負荷時のマウス膵島においてsmall Mafの発現が増加し、インスリンプロモーターに存在するMARE (Maf Recognition Element) に、膵β細胞の機能維持に重要な転写因子MafAと競合的に結合することでインスリン遺伝子発現や分泌が抑制されることが報告されている。そのため、Nrf2もMAREを介したインスリン転写に影響を及ぼすことが予想されることから、本研究ではNrf2のインスリン転写や分泌への影響を検討し、膵β細胞におけるNrf2の生理的意義を明らかにすることを目的とした。

【方法】①膵β細胞株MIN6細胞を用いてChromatin Immunoprecipitation (ChIP) Assayを施行し、インスリンプロモーター領域のMAREへのNrf2結合状態を確認した。②インスリン非産生細胞株であるHeLa細胞にインスリンプロモーターのレポーター遺伝子コンストラクトとMafA, MafG, Nrf2, さらにsmall Maf及びNrf2機能を抑制しえるドミナントネガティブsmall Maf (DN-MafK) の発現ベクターを導入し、インスリン転写活性に与える影響を検討した。③MIN6細胞にインスリンプロモーターのレポーター遺伝子コンストラクトとNrf2, MafGの発現ベクターを導入し、インスリン転写活性に与える影響を検討した。④パルミチン酸刺激を行ったMIN6細胞にNrf2活性化薬Bardoxolone methyl (RTA402) の投与実験を行い、膵β細胞株におけるインスリン発現への影響を検討した。

【結果】①MafA, small Mafと同様にNrf2もMAREに結合していることが示された。②MafAの発現によるインスリン転写活性の上昇はsmall MafとNrf2の共発現により著しく抑制されたが、さらにDN-MafKを共発現させることでその抑制が部分的に解除され、small MafとNrf2は共存下でインスリン転写活性を抑制する可能性が示唆された。③MafG, Nrf2をそれぞれ単独で発現、あるいは共発現させた場合、いずれもインスリン転写活性を抑制した。④MIN6細胞における*Insulin1*・*Insulin2* mRNAの発現は、パルミチン酸非存在下ではRTA402投与による変化を認めなかったが、パルミチン酸存在下ではRTA402投与により低下し、上昇を認めなかった。

【考察と結論】HeLa細胞のMafA過剰発現と比較してMIN6細胞の内因性のMafAタンパク発現量は少ないこと、MIN6細胞の内因性のNrf2, small mafは定常状態でも豊富に存在していることより、MIN6細胞ではNrf2の単独発現でもインスリン転写活性が低下した可能性が考えられた。Nrf2は膵β細胞のインスリン遺伝子発現を抑制し、この作用は脂肪毒性の存在下で増強される可能性がある。今回、脂肪毒性など特定のストレス存在下ではインスリン産生細胞でインスリン遺伝子発現を上昇させないことが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

【背景と目的】転写因子Nrf2 (Nuclear factor E2-related factor 2) は酸化ストレス存在下で細胞質から核内に移行しsmall Maf転写因子群 (Maf F/G/K) とheterodimerを形成しARE (Antioxidant Response Element) を介して種々の抗酸化分子の発現を誘導することで膵β細胞に対し保護的に作用しインスリン発現が上昇することが報告されている。一方、高脂肪食負荷時のマウス膵島においてsmall Mafの発現が増加し、インスリンプロモーターに存在するMARE (Maf Recognition Element) に、膵β細胞の機能維持に重要な転写因子MafAと競合的に結合することでインスリン遺伝子発現や分泌が抑制されることが報告されている。そのため、Nrf2もMAREを介したインスリン転写に影響を及ぼすことが予想されることから、本研究ではNrf2のインスリン転写や分泌への影響を検討し、膵β細胞におけるNrf2の生理的意義を明らかにすることを目的とした。

【方法】①膵β細胞株MIN6細胞を用いてChromatin Immunoprecipitation (ChIP) Assayを施行し、インスリンプロモーター領域のMAREへのNrf2結合状態を確認した。②インスリン非産生細胞株であるHeLa細胞にインスリンプロモーターのレポーター遺伝子コンストラクトとMafA, MafG, Nrf2, さらにsmall Maf及びNrf2機能を抑制しえるドミナントネガティブsmall Maf (DN-MafK) の発現ベクターを導入し、インスリン転写活性に与える影響を検討した。③MIN6細胞にインスリンプロモーターのレポーター遺伝子コンストラクトとNrf2, MafGの発現ベクターを導入し、インスリン転写活性に与える影響を検討した。④パルミチン酸刺激を行ったMIN6

細胞にNrf2活性化薬Bardoxolone methyl (RTA402) の投与実験を行い、膵β細胞株におけるインスリン発現への影響を検討した。

【結果】①MafA, small Mafと同様にNrf2もMAREに結合していることが示された。②MafAの発現によるインスリン転写活性の上昇はsmall MafとNrf2の共発現により著しく抑制されたが、さらにDN-MafKを共発現させることでその抑制が部分的に解除され、small MafとNrf2は共存下でインスリン転写活性を抑制する可能性が示唆された。③MafG, Nrf2をそれぞれ単独で発現、あるいは共発現させた場合、いずれもインスリン転写活性を抑制した。④MIN6細胞における*Insulin1*, *Insulin2*のmRNA発現は、パルミチン酸非存在下ではRTA402投与による変化を認めなかったが、パルミチン酸存在下ではRTA402投与により低下し、上昇を認めなかった。

【考察と結論】HeLa細胞のMafA過剰発現と比較してMIN6細胞の内因性のMafAタンパク発現量は少ないこと、MIN6細胞の内因性のNrf2, small Mafは定常状態でも豊富に存在していることより、MIN6細胞ではNrf2の単独発現でもインスリン転写活性が低下した可能性が考えられた。Nrf2は膵β細胞のインスリン遺伝子発現を抑制し、この作用は脂肪毒性の存在下で増強される可能性がある。今回、脂肪毒性など特定のストレス存在下ではインスリン産生細胞でインスリン遺伝子発現を上昇させないことが示唆された。

審査の結果、本研究は、培養細胞による様々な分子生物学的手法を駆使し、脂肪負荷時のインスリン分泌制御に及ぼす転写因子の役割を詳細に検討しており、とくにNrf2の転写調節への関与の可能性を初めて示した研究であること、今後の展開も期待されることから、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 石本麻衣

〔学位〕	種類	博士（医学）	論文項目	膵β細胞由来細胞株MIN6における、オートファジー調節によるインスリン分泌およびAkt-mTORC1系活性への影響の検討		
	授与番号	博甲医第518号	論文審査委員	主査	久松理一	
	授与年月日	令和5年11月15日		副査	長谷川浩 阪本良弘 栗崎 健 須賀 圭	
	授与の要件	学位規程第5条				

## 学位論文の要旨

【背景と目的】 2型糖尿病の病態では、膵β細胞からのインスリン分泌障害が重要である。糖尿病における膵β細胞におけるオートファジーの不全が報告されているが、膵β細胞におけるオートファジーの意義については十分解明されていない。本研究では、グルコース反応性インスリン分泌（以下GSIS）の特徴を保持した膵β細胞由来細胞株MIN6細胞を用いて、（1）オートファジー不全がGSISおよびAkt-mTORC1系の活性に及ぼす影響、（2）肥満・インスリン抵抗性の状況で膵β細胞に直接作用すると考えられるIL-1βによるオートファジー、GSISおよびAkt-mTORC1系の活性へ及ぼす影響を解析した。

【方法と結果】 1）MIN6細胞をstarvation（飢餓）状態にすると、Akt-mTORC1の抑制によりオートファジーの亢進が誘導され、この時GSISは正常に維持された。2）Atg7の発現を抑制し、オートファジー不全を示すMIN6細胞（MIN6<sup>Atg7KD</sup>細胞）を作製したところ、興味深いことにAkt-mTORC1系の活性化を認め、GSISは消失し高度のインスリン分泌障害を示した。また、細胞増殖に関与するCyclin D1, D2の発現は増加していた。3）インスリン抵抗性の状況を模してMIN6細胞をIL-1βで刺激すると、Akt-mTORC1系は抑制されオートファジーの亢進を認めたが、インスリン分泌量は増加傾向を示したもののGSISは障害され、β細胞機能の障害が示唆された。4）高度のβ細胞障害とインスリン抵抗性の両者が存在するモデルとして、MIN6<sup>Atg7KD</sup>細胞をIL-1βで刺激しても、すでに亢進していたAkt-mTORC1系の活性は抑制されず、GSISは消失したままであった。

【考察と結論】 MIN6細胞において、starvationとIL-1β刺激によりいずれもオートファジーが誘導されるが、膵β細胞の機能的指標とされるGSISが、前者では維持され、後者では維持されないことから、オートファジーはGSIS維持の必要条件ではあるが十分条件ではないことが分かった。またオートファジー不全がAkt-mTORC1系の活性を亢進させるという新規の知見を得た。さらに、オートファジー不全MIN6細胞へのIL-1β刺激は、インスリン分泌障害とインスリン抵抗性の併存した、2型糖尿病の進行した状態とも考えられる。今回確立した系の分子機構を詳細に解析することにより、糖尿病における膵β細胞のオートファジーを含めた機能異常を解明し新規創薬標的の発見に有用な情報が得られると期待される。

## 論文審査結果の要旨

【背景と目的】 2型糖尿病の病態では、膵β細胞からのインスリン分泌障害が重要である。糖尿病における膵β細胞におけるオートファジーの不全が報告されているが、膵β細胞におけるオートファジーの意義については十分解明されていない。本研究では、グルコース反応性インスリン分泌（以下GSIS）の特徴を保持した膵β細胞由来細胞株MIN6細胞を用いて、（1）オートファジー不全がGSISおよびAkt-mTORC1系の活性に及ぼす影響、（2）肥満・インスリン抵抗性の状況で膵β細胞に直接作用すると考えられるIL-1βによるオートファジー、GSISおよびAkt-mTORC1系の活性へ及ぼす影響を解析した。

【方法と結果】 1）MIN6細胞をstarvation（飢餓）状態にすると、Akt-mTORC1の抑制によりオートファジーの亢進が誘導され、この時GSISは正常に維持された。2）Atg7の発現を抑制し、オートファジー不全を示すMIN6細胞（MIN6<sup>Atg7KD</sup>細胞）を作製したところ、興味深いことにAkt-mTORC1系の活性化を認め、GSISは消失し高度のインスリン分泌障害を示した。また、細胞増殖に関与するCyclin D1, D2の発現は増加していた。3）インスリン抵抗性の状況を模してMIN6細胞をIL-1βで刺激すると、Akt-mTORC1系は抑制されオートファジーの亢進を認めたが、インスリン分泌量は増加傾向を示したもののGSISは障害され、β細胞機能の障害が示唆された。4）高度のβ細胞障害とインスリン抵抗性の両者が存在するモデルとして、MIN6<sup>Atg7KD</sup>細胞をIL-1βで刺激しても、すでに亢進していたAkt-mTORC1系の活性は抑制されず、GSISは消失したままであった。

【考察と結論】 MIN6細胞において、starvationとIL-1β刺激によりいずれもオートファジーが誘導されるが、膵β細胞の機能的指標とされるGSISが、前者では維持され、後者では維持されないことから、オートファジーはGSIS維持の必要条件ではあるが十分条件ではないことが分かった。またオートファジー不全がAkt-mTORC1系の活性を亢進させるという新規の知見を得た。さらに、オートファジー不全MIN6細胞へのIL-1β刺激は、インスリン分泌障害とインスリン抵抗性の併存した、2型糖尿病の進行した状態とも考えられる。今回確立した系の分子機構を詳細に解析することにより、糖尿病における膵β細胞のオートファジーを含めた機能異常を解明し新規創薬標的の発見に有用な情報が得られると期待される。

【審査委員会講評】 本論文は膵β細胞株を用いてオートファジー機能不全とグルコース反応性インスリン分泌の関係を明らかにした。本研究の成果は糖尿病におけるオートファジーを標的とした新規治療薬の開発につながる可能性があり、審査委員全員一致で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 尾 坂 真

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	ヒト絨毛細胞モデルに対する Insulin-like growth factor-1 と Progranulin の作用
	授 与 番 号 博甲医第519号	論文審査委員	主査 今泉美佳
	授与年月日 令和5年11月15日		副査 安田和基 成田雅美 水川良子 宮東昭彦
	授与の要件 学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

**【背景と目的】**胎児、胎盤発育は様々な因子が関与しているが、妊娠糖尿病(GDM)などの糖代謝異常合併妊婦や肥満妊婦は胎盤重量および出生体重が増大する傾向がある。胎盤発育は絨毛細胞の増殖に由来するが、絨毛細胞の増殖に関与する液性因子は多数報告されている。GDMではインスリン様成長因子-1(IGF-I)が上昇することが知られているが、IGF-Iは濃度依存性に絨毛細胞の増殖に寄与することが報告されている。また肥満ではアディポカインの一つであるプログランニリン(PGRN)の影響が示唆されており、PGRNは絨毛由来細胞株への細胞増殖作用が報告されている。このようにIGF-IとPGRNは単独で胎盤発育あるいは絨毛細胞の増殖に関与しているが、それらの相互作用については明らかになっていない。今回、我々はIGF-IとPGRNの両者がヒト絨毛細胞モデルであるヒト絨毛由来細胞株の増殖能に及ぼす影響を調べた。

**【方法】**ヒト絨毛由来細胞株 (BeWo, JEG-3) を用いて、IGF-IとPGRN各々が細胞増殖に与える影響を細胞数計測、WST-1アッセイを用いて評価した。またIGF-IとPGRNを同時投与した際の細胞数、増殖能の変化を検討した。次に、JEG-3を用いてIGF-Iの細胞内シグナル伝達がPGRNの同時投与あるいは先行投与によってどのように変化するかウエスタンブロット法を用いて解析した。

**【結果】**IGF-I投与によりいずれの細胞においても細胞数、増殖能が有意に増加した。しかしIGF-IとPGRNを同時に投与すると、低濃度IGF-I (100 ng/mL) ではPGRN投与によりIGF-Iの細胞増殖作用は抑制された。しかし高濃度IGF-I (1000 ng/mL) ではPGRNの細胞増殖に対する影響は認めなかった。次に細胞内シグナル伝達の検討では、PGRNは、IGF-Iの低濃度/高濃度に関わらずAkt, Erk1/2リン酸化への影響は認めなかった。一方でPGRNを先行投与した場合、低濃度IGF-IによるErk1のリン酸化を有意に抑制し ( $p < 0.01$ ), 高濃度IGF-IによるErk2のリン酸化亢進も抑制した ( $p < 0.05$ )。またPGRNを先行投与した場合、IGF-Iの低濃度/高濃度に関わらずAktのリン酸化への影響は認めなかった。

**【考察・結論】**IGF-Iの細胞増殖作用は、IGF-Iが低濃度の場合にはPGRNから抑制的な作用を受ける可能性が示唆された。PGRNがIGF-Iの作用を抑制する機序として、Erk1のリン酸化抑制を認めたが、PGRN投与タイミングとIGF-I濃度が異なることで細胞数の変化と細胞内シグナルの変化の結果に乖離がみられた。以上のことから、PGRNは、低濃度IGF-Iにおいては胎盤の発育に抑制的に作用する可能性があることが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

**【背景と目的】**胎児、胎盤発育は様々な因子が関与しているが、妊娠糖尿病 (GDM) などの糖代謝異常合併妊婦や肥満妊婦は胎盤重量および出生体重が増大する傾向がある。胎盤発育は絨毛細胞の増殖に由来するが、絨毛細胞の増殖に関与する液性因子は多数報告されている。GDMではインスリン様成長因子-1 (IGF-I) が上昇することが知られているが、IGF-Iは濃度依存性に絨毛細胞の増殖に寄与することが報告されている。また肥満ではアディポカインの一つであるプログランニリン (PGRN) の影響が示唆されており、PGRNは絨毛由来細胞株への細胞増殖作用が報告されている。このようにIGF-IとPGRNは単独で胎盤発育あるいは絨毛細胞の増殖に関与しているが、それらの相互作用については明らかになっていない。本研究ではIGF-IとPGRNの両者がヒト絨毛細胞モデルであるヒト絨毛由来細胞株の増殖能に及ぼす影響を検討した。

**【方法】**ヒト絨毛由来細胞株 (BeWo, JEG-3) を用いて、IGF-IとPGRN各々が細胞増殖に与える影響を細胞数計測、WST-1アッセイを用いて評価した。またIGF-IとPGRNを同時投与した際の細胞数、増殖能の変化を検討した。次に、JEG-3を用いてIGF-Iの細胞内シグナル伝達がPGRNの同時投与あるいは先行投与によってどのように変化するかウエスタンブロット法を用いて解析した。

**【結果】**IGF-I投与によりいずれの細胞においても細胞数、増殖能

が有意に増加した。しかしIGF-IとPGRNを同時に投与すると、低濃度IGF-I (100 ng/mL) ではPGRN投与によりIGF-Iの細胞増殖作用は抑制された。しかし高濃度IGF-I (1000 ng/mL) ではPGRNの細胞増殖に対する影響は認めなかった。次に細胞内シグナル伝達の検討では、PGRNは、IGF-Iの低濃度/高濃度に関わらずAkt, Erk1/2リン酸化への影響は認めなかった。一方でPGRNを先行投与した場合、低濃度IGF-IによるErk1のリン酸化を有意に抑制し ( $p < 0.01$ ), 高濃度IGF-IによるErk2のリン酸化亢進も抑制した ( $p < 0.05$ )。またPGRNを先行投与した場合、IGF-Iの低濃度/高濃度に関わらずAktのリン酸化への影響は認めなかった。

**【考察】**IGF-Iの細胞増殖作用は、IGF-Iが低濃度の場合にはPGRNから抑制的な作用を受ける可能性が示唆された。PGRNがIGF-Iの作用を抑制する機序として、Erk1のリン酸化抑制を認めたが、PGRN投与タイミングとIGF-I濃度が異なることで細胞数の変化と細胞内シグナルの変化の結果に乖離がみられた。以上のことから、PGRNは、低濃度IGF-Iにおいては胎盤の発育に抑制的に作用する可能性があることが示唆された。

**【評価】**本論文はPGRNが低濃度IGF-Iにおける胎盤発育を抑制的に制御する可能性を初めて見出した研究である。研究結果は未だ不明な点が多い母体肥満と胎盤発育との関係の解明に寄与する可能性があり、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

## 〔博士（医学）〕

氏名 西成田 悠

〈学位〉	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	幼少期腸内細菌叢の選択には宿主の腸管粘膜の遺伝子発現が関与する
	授与番号	博甲医第520号	論文審査委員	主査 大崎敬子
	授与年月日	令和6年3月31日	副査	須並英二 大山 学 後藤田貴也 徳永健吾
	授与の要件	学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

ヒト（宿主）と腸管微生物叢（microbiome）は密接な相互作用を通じて共生関係を構築している。近年、幼少期のmicrobiomeの乱れ（dysbiosis）が様々な疾患の発症リスクにつながる疫学的知見が報告され、幼少期に適切な腸管microbiomeに曝露し、獲得することが宿主の健全な免疫発達、将来にわたる健康にとって重要であると考えられるようになった。しかし、幼少期に獲得すべき「健全な」微生物群やそれらの生着を促進する機序については明らかではない。これらを理解することは、腸管dysbiosisの是正を通じた生涯にわたる予防医療にもつながる可能性がある重要な課題である。本研究において、我々は、幼少期腸管粘膜に生着する細菌群とそれらの細菌と腸管粘膜遺伝子発現における相関性について動物モデルを用いて検討した。4週齢無菌（germ-free, GF）マウスと10週齢GFマウスに同性・同週齢のspecific pathogen-free（SPF）マウスの腸管microbiomeを移入したところ、移入4週後にレシピエントマウスとそれぞれのドナーマウスの腸管細菌構成は類似し、CD4陽性T細胞分画について、4週齢レシピエントは10週齢レシピエントよりも可塑性を有してドナー類似になると考えられた。次に、4週齢GFマウスに同性の4週齢または10週齢SPFマウスの腸管microbiomeを移入したところ、レシピエントマウス間の腸管細菌構成は類似し、CD4陽性T細胞分画も同様に発達した。すなわち、4週齢の宿主において、曝露した細菌叢から幼少期に適した細菌叢が選択される機構が存在し、それが健全な発達の達成に寄与することが示唆された。以上より、我々は、宿主側は健全な免疫発達に必要な細菌群を獲得する、細菌側は幼少期腸管環境への生着に有利な細菌群が存在するという相互関係があるという仮説を立てた。そこで、環境因子や共生微生物などの交絡因子となりうる影響を除外して週齢という一因子が腸管環境に与える影響を評価するため、4週齢GFマウス（Early Life群：EL群）と10週齢GFマウス（Later Life群：LL群）の回腸・大腸粘膜遺伝子発現を検討した。EL群とLL群では腸管粘膜における遺伝子発現プロファイルが異なっていた。そして、EL群またはLL群の各部位に優位に発現している遺伝子と10週齢SPFドナーマウス由来の腸管microbiomeを同性の4週齢または10週齢GFマウスに移入したときに生着した細菌amplicon sequencing variantsの間で相関解析を行った。EL群の腸管粘膜優位に発現する遺伝子と正の相関を示す細菌属として*Lachnospiraceae NK4A136 group*属と*Roseburia*属が見出された。本知見の検証として通常飼育下にあるSPFマウスについて検討したところ、これら2細菌属は、4週齢SPFマウスの腸管細菌叢において10週SPFマウスよりも有意に高い占有率を示した。本研究により、幼少期の腸管環境に有利に生着する細菌群が存在し、それらの生着には幼少期腸管粘膜に特徴的な遺伝子発現プロファイルが寄与している可能性が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

ヒト（宿主）と腸管微生物叢（microbiome）は密接な相互作用を通じて共生関係を構築している。近年、幼少期のmicrobiomeの乱れ（dysbiosis）が様々な疾患の発症リスクにつながる疫学的知見が報告され、幼少期に適切な腸管microbiomeに曝露し、獲得することが宿主の健全な免疫発達、将来にわたる健康にとって重要であると考えられるようになった。しかし、幼少期に獲得すべき「健全な」微生物群やそれらの生着を促進する機序については明らかではない。これらを理解することは、腸管dysbiosisの是正を通じた生涯にわたる予防医療にもつながる可能性がある重要な課題である。本研究において、我々は、幼少期腸管粘膜に生着する細菌群とそれらの細菌と腸管粘膜遺伝子発現における相関性について動物モデルを用いて検討した。4週齢無菌（germ-free, GF）マウスと10週齢GFマウスに同性・同週齢のspecific pathogen-free（SPF）マウスの腸管microbiomeを移入したところ、移入4週後にレシピエントマウスとそれぞれのドナーマウスの腸管細菌構成は類似し、CD4陽性T細胞分画について、4週齢レシピエントは10週齢レシピエントよりも可塑性を有してドナー類似になると考えられた。次に、4週齢GFマウスに同性の4週齢または10週齢SPFマウスの腸管microbiomeを移入したところ、レシピエントマウス間の腸管細菌構成は類似し、CD4陽性T細胞分画も同様に発達した。すなわち、4週齢の宿主において、曝露した細菌叢から幼少期に適した細菌叢が選択される機構が存在し、それが健全な発達の達成に寄与することが示唆された。以上より、我々は、

宿主側は健全な免疫発達に必要な細菌群を獲得する、細菌側は幼少期腸管環境への生着に有利な細菌群が存在するという相互関係があるという仮説を立てた。そこで、環境因子や共生微生物などの交絡因子となりうる影響を除外して週齢という一因子が腸管環境に与える影響を評価するため、4週齢GFマウス（Early Life群：EL群）と10週齢GFマウス（Later Life群：LL群）の回腸・大腸粘膜遺伝子発現を検討した。EL群とLL群では腸管粘膜における遺伝子発現プロファイルが異なっていた。そして、EL群またはLL群の各部位に優位に発現している遺伝子と10週齢SPFドナーマウスの腸管microbiomeを同性の4週齢または10週齢GFマウスに移入したときに生着した細菌amplicon sequencing variantsの間で相関解析を行った。EL群の腸管粘膜優位に発現する遺伝子と正の相関を示す細菌属として*Lachnospiraceae NK4A136 group*属と*Roseburia*属が見出された。本知見の検証として通常飼育下にあるSPFマウスについて検討したところ、これら2細菌属は、4週齢SPFマウスの腸管細菌叢において10週SPFマウスよりも有意に高い占有率を示した。

本研究により、4週齢の無菌マウスは、異なる週齢のmicrobiomeの移入を受けても細菌叢構成、腸管形態、CD4陽性T細胞分画はドナーマウスと同様に発達し、週齢に適した細菌叢が選択され幼少期の腸管環境に有利に生着する細菌群が存在することが示唆された。それらの細菌群の生着機構として、幼少期腸管粘膜に特徴的な遺伝子発現プロファイルが寄与している可能性が示唆され、新規性の高い研究成果であると考えられた。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 高木 泰 介

〈学位〉	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	新たなプロバイオティクスとしての新規同定 <i>Leuconostoc</i> 属菌の細菌学的特性と機能評価		
	授与番号	博甲医第521号	論文審査委員	主査 久松理一		
	授与年月日	令和6年3月13日		副査 栗崎 健 長島文夫 三戸部治郎 浮山越史		
	授与の要件	学位規程第5条				

## 学位論文の要旨

【目的】胃切除後に高頻度で発生する体重減少はQOLを低下させるのみならず、術後補助化学療法の継続性を低下させる。胃切除後体重減少のメカニズムとして、近年では腸内細菌叢の攪乱である dysbiosis の関与が示唆されつつある。本研究では胃切除後の dysbiosis を改善する可能性が考えられる新規プロバイオティクス（PB）候補として、重湯中で増殖可能な2種の *Leuconostoc* 属菌を選定し、細菌学的特性と機能を評価することを目的とした。

【方法】新規PB候補として *Leuconostoc suionicum* MS009株（MS009株）と *Leuconostoc mesenteroides* MS061株（MS061株）の2株を選定し、細菌学的な特性と機能を基準株である *Leuconostoc mesenteroides* JCM6124株を control として調べた。特にPBとして効果が期待されるMS009株をラットへ投与し糞便の解析を行った。さらに、胃切除後の体重減少への効果を検証するために普通食摂取下胃切除ラットへのMS009株投与実験および、高脂肪食摂取下胃切除ラットへのMS061株投与実験を行った。

【結果】MS009株とMS061株は重湯と豆乳で他のPB製剤と同等の増殖能を示し、pH3.0環境下の耐酸性は低かった。MS009株は他の2株と比較して *In vitro* でのINT-407細胞との付着性が良好だった。ラットへのMS009株投与により腸内細菌叢の  $\alpha$  多様性の上昇と  $\beta$  多様性の変化が観察され、投与群でラット盲腸内容物の酪酸濃度とIgA抗体濃度の上昇が認められた。普通食摂取下の胃切除ラットは高い死亡率を示し、MS009株投与による効果を解析できなかった。高脂肪食摂取下での胃切除ラットMS061株投与実験では、術後の体重減少からの回復時期が早められた可能性と、手術による腸内細菌叢の変化を抑制した可能性が示唆されたが、コントロール群と投与群間での体重減少の抑制効果は見られなかった。

【考察】MS009株は、重湯で十分な菌数に増殖し、腸管上皮細胞への付着性が高いことからPBとして宿主への強い相互作用が期待された。非手術ラットへのMS009株投与は腸内細菌叢の  $\alpha$  多様性の上昇と  $\beta$  多様性の変化がみられ、酪酸濃度とIgA抗体濃度が上昇したことから、腸内細菌叢を変化させ dysbiosis 改善効果を有することが示唆された。体重減少の抑制効果を検証するための普通食摂取下での胃切除ラットへのMS009株投与実験では、高い死亡率から投与の効果を解析することはできなかった。MS009株投与群とコントロール群の間においてラットの死亡率には差が無く、ラットが死亡した原因はMS009株の投与の影響ではないと考えられた。MS061株投与実験では腸内細菌叢に対する影響は限定的ながら認められたが、高脂肪食投与による dysbiosis の影響がより大きいと考えられた。

【結論】新規同定 *Leuconostoc* 属菌MS009株は腸内細菌叢の多様性増加、酪酸産生増加による腸内環境調整作用、IgA抗体産生増加による免疫調整を通じて、宿主にとって有益な効果を示す可能性が示唆された。お粥という新しいPB食品として、胃切除後の dysbiosis を改善する術前・術後食になり得る可能性が展望された。

## 論文審査結果の要旨

【目的】胃切除後に高頻度で発生する体重減少はQOLを低下させるのみならず、術後補助化学療法の継続性を低下させる。胃切除後体重減少のメカニズムとして、近年では腸内細菌叢の攪乱である dysbiosis の関与が示唆されつつある。本研究では胃切除後の dysbiosis を改善する可能性が考えられる新規プロバイオティクス（PB）候補として、重湯中で増殖可能な2種の *Leuconostoc* 属菌を選定し、細菌学的特性と機能を評価することを目的とした。

【方法】新規PB候補として *Leuconostoc suionicum* MS009株（MS009株）と *Leuconostoc mesenteroides* MS061株（MS061株）の2株を選定し、細菌学的な特性と機能を基準株である *Leuconostoc mesenteroides* JCM6124株を control として調べた。特にPBとして効果が期待されるMS009株をラットへ投与し糞便の解析を行った。さらに、胃切除後の体重減少への効果を検証するために普通食摂取下胃切除ラットへのMS009株投与実験および、高脂肪食摂取下胃切除ラットへのMS061株投与実験を行った。

【結果】MS009株とMS061株は重湯と豆乳で他のPB製剤と同等の増殖能を示し、pH3.0環境下の耐酸性は低かった。MS009株は他の2株と比較して *in vitro* でのINT-407細胞との付着性が良好だった。ラットへのMS009株投与により腸内細菌叢の  $\alpha$  多様性の上昇と  $\beta$  多様性の変化が観察され、投与群でラット盲腸内容物の酪酸濃度とIgA抗体濃度の上昇が認められた。普通食摂取下の胃切除ラットは高い死亡率を示し、MS009株投与による効果を解析できなかった。高脂肪食摂取下での胃切除ラットMS061株投与実験では、術後の体重減少からの回復時期が早められた可能性と、手術による腸内細菌叢の変化を抑制した可能性

が示唆されたが、コントロール群と投与群間での体重減少の抑制効果は見られなかった。

【考察】MS009株は、重湯で十分な菌数に増殖し、腸管上皮細胞への付着性が高いことからPBとして宿主への強い相互作用が期待された。非手術ラットへのMS009株投与は腸内細菌叢の  $\alpha$  多様性の上昇と  $\beta$  多様性の変化がみられ、酪酸濃度とIgA抗体濃度が上昇したことから、腸内細菌叢を変化させ dysbiosis 改善効果を有することが示唆された。体重減少の抑制効果を検証するための普通食摂取下での胃切除ラットへのMS009株投与実験では、高い死亡率から投与の効果を解析することはできなかった。MS009株投与群とコントロール群の間においてラットの死亡率には差が無く、ラットが死亡した原因はMS009株の投与の影響ではないと考えられた。MS061株投与実験では腸内細菌叢に対する影響は限定的ながら認められたが、高脂肪食投与による dysbiosis の影響がより大きいと考えられた。

【結論】新規同定 *Leuconostoc* 属菌MS009株は腸内細菌叢の多様性増加、酪酸産生増加による腸内環境調整作用、IgA抗体産生増加による免疫調整を通じて、宿主にとって有益な効果を示す可能性が示唆された。お粥という新しいPB食品として、胃切除後の dysbiosis を改善する術前・術後食になり得る可能性が展望された。

審査委員総評：本研究は外科医の視点からの臨床的疑問を研究に昇華させたものである。PB候補菌の特性を明らかにする *in vitro* の実験に加え、胃切除ラットへの投与という *in vivo* 実験にも挑戦した。 *in vivo* 実験は手技的困難を伴ったが、さまざまな実験方法を用いてアプローチし、その結果は *Leuconostoc* 属菌MS009株が胃切除後のみならずフレイル予防など幅広く応用できる可能性を示した。以上より審査委員全員一致で学位にふさわしいと考え推薦する。

## 学位論文要旨および審査要旨

## 〔博士（医学）〕

氏名 松本 泰 幸

〔学位〕	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	気分症患者における抑うつ症状の重症度と就労継続との関連性
	授与番号	博甲医第522号	論文審査委員	主査 荻田香苗
	授与年月日	令和6年3月31日	副査	市川弥生子 富田泰彦 北村 修 海野佳子
	授与の要件	学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

【背景】うつ病や双極症を中心とする気分症は働く世代に有病率が高く、欠勤や休職の原因にもなりやすい。このような疾患では休職後に復職できても症状が再燃して再休職することも多く、適切な対応が求められる。一方で、抑うつ症状を呈する気分症患者に対し、臨床医や産業医が休職や復職を判断する際の明確な指標は明らかにされていない。

【目的】就労中もしくは、休職、求職中の気分症患者を対象に、Quick Inventory of Depressive Symptomatology, Self-Report (QIDS-SR) および Clinically Useful Depression Outcome Scale supplemented with questions for the DSM-5 anxious distress specifier (CUDOS-A) で評価される抑うつ症状を中心とする重症度と就労継続の関連を調査する。さらに、この集団における失業や休職を予測するために、QIDS-SRおよびCUDOS-Aの適切なカットオフスコアを提案する。

【方法】2021年1月から12月うつ病または双極症の診断で精神科外来を受診した112例（男性66名、女性46名、平均年齢44.4 ± 10.8歳）を対象に、QIDS-SRおよびCUDOS-Aを用いて抑うつ症状を中心とする精神症状を評価し、評価から6ヶ月後までの就労状況を調査した。評価から6ヶ月間、非就業期間（休職もしくは求職）がないものを就労継続群（50名）、非就業期間を認めたものを非継続群（62名）とし、両群のQIDS-SRおよびCUDOS-Aのスコアを比較した。QIDS-SRおよびCUDOS-Aのスコアを独立変数、就労継続を転帰としてROC曲線を描き、Youden indexおよびROC曲線の左上隅からの最小距離となる点を用いる手法により、2群を判別するのに有用なカットオフ値を算出した。

【結果】年齢、性別、精神医学的診断、通院施設をコントロールして二項ロジスティック回帰を行い、QIDS-SR (OR: 1.16, 95% CI: 1.06-1.28, P = 0.001) およびCUDOS-A (OR: 1.04, 95% CI: 1.02-1.07, P = 0.001) のスコアが低いほど就労継続の可能性が高いことを示した。就労継続を識別するためのAUC値はQIDS-SRとCUDOS-Aでそれぞれ0.71 (95% CI: 0.61-0.81) と0.72 (95% CI: 0.62-0.82) であった。就労継続に関連するカットオフ値は、Youden indexでもROC曲線の左上隅からの最小距離となる点を用いた方法でも、QIDS-SRで10/11点、CUDOS-Aで21/22点となった。このカットオフ値を適用すると、QIDS-SRで感度63%、特異度71%、CUDOS-Aで感度76%、特異度71%で就労継続を予測した。

【考察】我々の知る限り、QIDS-SRおよびCUDOS-Aによる抑うつ症状を中心とする精神症状の重症度と就労継続との関連を検討されていないようであり、本研究にてその関連を検討した。QIDS-SRでは軽症と中等症の境界と一致し、就労継続のためには、抑うつ重症度を軽度まで改善させる必要性が示唆された。臨床的意義を高めるためには、より多くの要因を含めた大規模な前向き研究が今後必要である。

## 論文審査結果の要旨

【背景】うつ病や双極症を中心とする気分症は働く世代に有病率が高く、欠勤や休職の原因にもなりやすい。このような疾患では休職後に復職できても症状が再燃して再休職することも多く、適切な対応が求められる。一方で、抑うつ症状を呈する気分症患者に対し、臨床医や産業医が休職や復職を判断する際の明確な指標は明らかにされていない。

【目的】就労中もしくは、休職、求職中の気分症患者を対象に、Quick Inventory of Depressive Symptomatology, Self-Report (QIDS-SR) および Clinically Useful Depression Outcome Scale supplemented with questions for the DSM-5 anxious distress specifier (CUDOS-A) で評価される抑うつ症状を中心とする重症度と就労継続の関連を調査する。さらに、この集団における失業や休職を予測するために、QIDS-SR およびCUDOS-Aの適切なカットオフスコアを提案する。

【方法】2021年1月から12月うつ病または双極症の診断で精神科外来を受診した112例（男性66名、女性46名、平均年齢44.4 ± 10.8歳）を対象に、QIDS-SRおよびCUDOS-Aを用いて抑うつ症状を中心とする精神症状を評価し、評価から6ヶ月後までの就労状況を調査した。評価から6ヶ月間、非就業期間（休職もしくは求職）がないものを就労継続群（50名）、非就業期間を認めたものを非継続群（62名）とし、両群のQIDS-SRおよびCUDOS-Aのスコアを比較した。QIDS-SRおよびCUDOS-Aのスコアを独立変数、就労継続を転帰としてROC曲線を描き、Youden indexおよびROC曲線の左上隅からの最小距離となる点を用いる手法により、2群を判別するのに有用

なカットオフ値を算出した。

【結果】年齢、性別、精神医学的診断、通院施設をコントロールして二項ロジスティック回帰を行い、QIDS-SR (OR: 1.16, 95% CI: 1.06-1.28, P = 0.001) およびCUDOS-A (OR: 1.04, 95% CI: 1.02-1.07, P = 0.001) のスコアが低いほど就労継続の可能性が高いことを示した。就労継続を識別するためのAUC値はQIDS-SRとCUDOS-Aでそれぞれ0.71 (95% CI: 0.61-0.81) と0.72 (95% CI: 0.62-0.82) であった。就労継続に関連するカットオフ値は、Youden indexでもROC曲線の左上隅からの最小距離となる点を用いた方法でも、QIDS-SRで10/11点、CUDOS-Aで21/22点となった。このカットオフ値を適用すると、QIDS-SRで感度63%、特異度71%、CUDOS-Aで感度76%、特異度71%で就労継続を予測した。

【考察】我々の知る限り、QIDS-SRおよびCUDOS-Aによる抑うつ症状を中心とする精神症状の重症度と就労継続との関連を検討されていないようであり、本研究にてその関連を検討した。QIDS-SRでは軽症と中等症の境界と一致し、就労継続のためには、抑うつ重症度を軽度まで改善させる必要性が示唆された。臨床的意義を高めるためには、より多くの要因を含めた大規模な前向き研究が今後必要である。

【審査結果】本論文は、抑うつ症状を呈する気分症患者の就業中断という社会的にも重要な課題に着目し、就労継続に関わる抑うつ重症度の指標値とその精度を提示した。評価指標に2種の自己記入式尺度票を用いたことで、簡便で医師患者双方の負担が少なく、広く臨床現場での活用可能性が期待され、意義が高い研究であると思われる。審査委員全員一致で学位論文に値する内容であると判断した。

## 学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 渋谷 幸 見

〔学位〕	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	X線動画画像の定量的評価による頸部術後声帯麻痺の予後予測
	授与番号	博甲医第523号	論文審査委員	主査 多久嶋亮彦 副査 森山 潔 横山健一 宮東昭彦 高原哲士
	授与年月日	令和6年3月31日		
	授与の要件	学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

〔背景〕喉頭内視鏡（flexible laryngoscope：FL）は、声帯麻痺（vocal cord paralysis：VCP）診断のための標準的な方法である。しかし、FLは、挿入時の患者の不快感、エアロゾルによるウイルス感染のリスク、そして定量的評価の難しさといった課題がある。X線動画画像（dynamic digital radiography：DDR）は、アニメーションと同じ原理で、パルスX線を1秒間に15回連続照射し、コマ撮りした画像を連続表示することで動画を作成し、生理的な動きを見ることができる。高空間分解能かつ高時間分解能で、声帯運動をより簡便かつ低侵襲に評価できるようになった。DDRの利点である簡便性、高解像度、低侵襲を生かし、従来はFLや嚥下造影等で評価していたVCPを今までより早急に、感度よく、患者の負担を軽減し診断することができるのではと考えた。

〔方法〕本研究は前向き観察研究である。2021年6月から2022年12月までに頸部腫瘍手術を施行した78人が術前と術後2～5日目の同日にFL、DDR撮影、最長発声持続時間（maximum phonation time：MPT）の測定を受けた。耳鼻咽喉科専門医1名が術後初回にFLを用いて、術後の声帯麻痺を目視診断し、声帯麻痺を認めない症例 non vocal cord paralysis（non-VCP）と声帯麻痺を認めた症例 vocal cord paralysis（VCP）の2つのグループに分けた。VCP群は声帯麻痺の改善を認めるまで術後3週間、2、6、12か月後にFLとDDR撮影を行った。DDRは、FL施行者とは異なる医師2名が独立かつ無作為に目視評価し、感度、特異度、正確度にて定性的診断性能を検証した。また読影者間の一致度についてカッパ係数を用いて評価した。定量的評価は、最大開閉時の各声帯ヒダの水平方向の移動距離を声帯移動量（vocal cord movement：VCM）とし、各声帯それぞれを対象（術側が片側症例は59例59側、両側症例11例22側、全部で70例81側）として、ROC解析により検証した。最大開大時を0とし、閉鎖する方向を正とした。最大開大時よりさらに外側へ移動する症例は、負の値とした。永続性VCPは、術後12か月の時点でVCPであるものと定義した。

〔結果〕Non-VCP58例、VCP12例の計70例が解析対象となった。VCPの検出性能は、DDR動画の読影評価では、感度0.67、特異度1.0、正確度0.95であった。2名の読影者の評価はすべて一致していた。（カッパ係数：1.00）。VCMに基づく定量評価では、AUC = 0.95であり、Youden indexを用いたカットオフ値は2.4 [mm]、感度1.0、特異度0.78、正確度0.82であった。永続性麻痺は3側であった。また、VCP群で術後の術側声帯が最大開大時よりさらに外側へ移動する症例が認められた。術後3週間と術後2か月の両時点でVCMが正の値であった6例は、全例一過性麻痺（すなわち非永続的）であった。術後3週間のVCMが負の値であった6例中3例（50%）、術後2か月後では4例中3例が、12か月後も声帯麻痺は回復しなかった（永続性麻痺）。

〔結論〕DDRは、術後声帯麻痺の診断において感染リスクのない簡便な検査として有用であり、術後の永続的声帯麻痺の早期予測に有望なモダリティである可能性が示された。

## 論文審査結果の要旨

〔背景〕喉頭内視鏡（flexible laryngoscope：FL）は、声帯麻痺（vocal cord paralysis：VCP）診断のための標準的な方法である。しかし、FLは、挿入時の患者の不快感、エアロゾルによるウイルス感染のリスクなどの問題がある。X線動画画像（dynamic digital radiography：DDR）は、アニメーションと同じ原理で、コマ撮りした画像を連続表示することで動画を作成し、生理的な動きを見ることができる。このDDRの利点を生かせば、声帯運動を評価できる可能性があり、さらにVCPを今までより早急に、感度よく、患者の負担を軽減し診断することができるのではと考えた。

〔方法〕本研究は前向き観察研究である。2021年6月から2022年12月までに頸部腫瘍手術を施行した78人が術前と術後2～5日目の同日にFL、DDR撮影、最長発声持続時間（maximum phonation time：MPT）の測定を受けた。耳鼻咽喉科専門医1名が術後初回にFLを用いて、術後の声帯麻痺を目視診断し、声帯麻痺を認めない症例 non vocal cord paralysis（non-VCP）と声帯麻痺を認めた症例 vocal cord paralysis（VCP）の2つのグループに分けた。VCP群は声帯麻痺の改善を認めるまで術後3週間、2、6、12か月後にFLとDDR撮影を行った。DDRは、FL施行者とは異なる医師2名が独立かつ無作為に目視評価し、感度、特異度、正確度にて定性的診断性能を検証した。また読影者間の一致度についてカッパ係数を用いて評価した。定量的評価は、最大開閉時の各声帯ヒダの水平方向の移動距離を声帯移動量

（vocal cord movement：VCM）とし、各声帯それぞれを対象（術側が片側症例は59例59側、両側症例11例22側、全部で70例81側）として、ROC解析により検証した。最大開大時を0とし、閉鎖する方向を正とした。最大開大時よりさらに外側へ移動する症例は、負の値とした。永続性VCPは、術後12か月の時点でVCPであるものと定義した。

〔結果〕Non-VCP58例、VCP12例の計70例が解析対象となった。VCPの検出性能は、DDR動画の読影評価では、感度0.67、特異度1.0、正確度0.95であった。2名の読影者の評価はすべて一致していた。（カッパ係数：1.00）。VCMに基づく定量評価では、AUC = 0.95であり、Youden indexを用いたカットオフ値は2.4 [mm]、感度1.0、特異度0.78、正確度0.82であった。永続性麻痺は3側であった。また、VCP群で術後の術側声帯が最大開大時よりさらに外側へ移動する症例が認められた。術後3週間と術後2か月の両時点でVCMが正の値であった6例は、全例一過性麻痺（すなわち非永続的）であった。術後3週間のVCMが負の値であった6例中3例（50%）、術後2か月後では4例中3例が、12か月後も声帯麻痺は回復しなかった（永続性麻痺）。

〔結論〕DDRは、術後声帯麻痺の診断において感染リスクのない簡便な検査として有用であり、術後の永続的声帯麻痺の早期予測に有望なモダリティである可能性が示された。

本研究は、声帯麻痺の診断に関する新たな評価法を主題としている。これまでの方法と比較して簡便であるだけでなく、予後判定にも役立つ可能性がある。今後、AIを利用した定量による普遍性も持ちうる方法であり、本論文は学位論文としてふさわしいものと認める。

## 学位論文要旨および審査要旨

〔博士 (医学)〕

氏名 齋藤 幹人

〈学位〉	種類	博士 (医学)	論文項目	急性期脳梗塞におけるゴースト虚血コアはコア拡大速度と関連する
	授与番号	博甲医第524号	論文審査委員	主査 中富浩文
	授与年月日	令和6年3月31日		副査 寺尾安生 窪田 博 片瀬七朗 大谷宗久
	授与の要件	学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

【緒言】急性期脳梗塞では、残存血流量が極度に低下し、組織に不可逆的な変化を生じる領域（虚血コア）と、残存血流がある程度保たれ、脳機能は停止しているものの組織の可逆性が一定時間維持されている領域（ペナンプラ）とが混在する。急性期脳梗塞診療においてCT灌流画像（CT perfusion：CTP）が虚血コア体積を真の梗塞体積よりも過大に評価することは、再灌流療法の適応を判断する上で重要な問題である。この現象はゴースト虚血コア（ghost infarct core：GIC）と呼ばれ、脳梗塞発症から短時間でのCTP撮影や神経細胞の脆弱な虚血耐性との関連が示唆されている。近年、虚血重症度の指標としてコア拡大速度という概念が提唱されている。本研究の目的は、GICとコア拡大速度の関連を明らかにすることである。

【材料と方法】2017年3月から2022年7月までに当院で機械的血栓回収術（mechanical thrombectomy：MT）を施行した脳主幹動脈閉塞による急性期脳梗塞患者連続例を登録した。虚血コアは治療前CTPで測定し、最終梗塞体積（final infarct volume：FIV）はMT後24時間から72時間のMRI拡散強調画像で測定した。GIC陽性は、治療前虚血コア体積から最終梗塞体積を引いた値が10 mLを超えた場合と定義した。コア拡大速度は、治療前虚血コア体積を脳梗塞発症からCTP撮影までの時間で除して算出した。単変量解析および多変量ロジスティック回帰モデルを用い、GICとコア拡大速度との関連を評価し、共変量として、完全再開通、発症から再開通までの時間<360分を含めた。GICを予測するコア拡大速度のカットオフ値を算出するため、ROC（Receiver Operating Characteristic）解析を用いた。

【結果】対象症例91例のうち21例（23.1%）がGIC陽性であった。GIC陽性群はGIC陰性群と比較して、コア拡大速度（14.2 [2.6-46.7] vs. 4.8 [1.6-17.1] mL/h,  $p=0.021$ ）が大きく、完全再開通率（ $n=15$  (71.4%) vs. 29 (41.4%),  $p=0.01$ ）が高かった。ROC解析では、GICを予測するコア拡大速度の最適カットオフは22 mL/hであった（感度0.48, 特異度0.85, 曲線下面積0.67）。多変量ロジスティック回帰分析では、コア拡大速度 $\geq 22$  mL/h (OR 8.66, 95% CI [1.98-37.88],  $p<0.01$ ) と完全再開通 (OR 5.69, 95% CI [1.67-19.37],  $p=0.01$ ) がGICの独立した予測因子であった。

【考察】本研究では主に以下の2つの発見があった。第一に、コア拡大速度が大きいことはGICの有意な予測因子であった。第二に、GICを予測するためのコア拡大速度の至適閾値は22 mL/hであった。これらの所見は、コアの拡大が速い患者でも完全な再開通によってCTP虚血コアの一部を救済できる可能性があることを示唆している。

【結論】GICは急性虚血性脳卒中における急速な虚血コア拡大と関連していた。CTPにおける治療前虚血コアの過大評価はコア拡大速度が影響する。

## 論文審査結果の要旨

【緒言】急性期脳梗塞では、残存血流量が極度に低下し、組織に不可逆的な変化を生じる領域（虚血コア）と、残存血流がある程度保たれ、脳機能は停止しているものの組織の可逆性が一定時間維持されている領域（ペナンプラ）とが混在する。急性期脳梗塞診療においてCT灌流画像（CT perfusion：CTP）が虚血コア体積を真の梗塞体積よりも過大に評価することは、再灌流療法の適応を判断する上で重要な問題である。この現象はゴースト虚血コア（ghost infarct core：GIC）と呼ばれ、脳梗塞発症から短時間でのCTP撮影や神経細胞の脆弱な虚血耐性との関連が示唆されている。近年、虚血重症度の指標としてコア拡大速度という概念が提唱されている。本研究の目的は、GICとコア拡大速度の関連を明らかにすることである。

【材料と方法】2017年3月から2022年7月までに当院で機械的血栓回収術（mechanical thrombectomy：MT）を施行した脳主幹動脈閉塞による急性期脳梗塞患者連続例を登録した。虚血コアは治療前CTPで測定し、最終梗塞体積（final infarct volume：FIV）はMT後24時間から72時間のMRI拡散強調画像で測定した。GIC陽性は、治療前虚血コア体積から最終梗塞体積を引いた値が10 mLを超えた場合と定義した。コア拡大速度は、治療前虚血コア体積を脳梗塞発症からCTP撮影までの時間で除して算出した。単変量解析および多変量ロジスティック回帰モデルを用い、GICとコア拡大速度との関連を評価し、共変量として、完全再開通、発症から再開通までの時間<360分を含めた。GICを予測するコア拡大速度のカットオフ値を算出するため、ROC（Receiver Operating Characteristic）解析を用いた。

【結果】対象症例91例のうち21例（23.1%）がGIC陽性であった。GIC陽性群はGIC陰性群と比較して、コア拡大速度（14.2 [2.6-46.7] vs. 4.8 [1.6-17.1] mL/h,  $p=0.021$ ）が大きく、完全再開通率（ $n=15$  (71.4%) vs. 29 (41.4%),  $p=0.01$ ）が高かった。ROC解析では、GICを予測するコア拡大速度の最適カットオフは22 mL/hであった（感度0.48, 特異度0.85, 曲線下面積0.67）。多変量ロジスティック回帰分析では、コア拡大速度 $\geq 22$  mL/h (OR 8.66, 95% CI [1.98-37.88],  $p<0.01$ ) と完全再開通 (OR 5.69, 95% CI [1.67-19.37],  $p=0.01$ ) がGICの独立した予測因子であった。

【考察】本研究では主に以下の2つの発見があった。第一に、コア拡大速度が大きいことはGICの有意な予測因子であった。第二に、GICを予測するためのコア拡大速度の至適閾値は22 mL/hであった。これらの所見は、コアの拡大が速い患者でも完全な再開通によってCTP虚血コアの一部を救済できる可能性があることを示唆している。

【結論】GICは急性虚血性脳卒中における急速な虚血コア拡大と関連していた。CTPにおける治療前虚血コアの過大評価はコア拡大速度が影響する。

【評価】本研究は単一施設におけるretrospective clinical studyである。急性虚血性脳卒中患者91症例のCTP検査における治療前虚血コアの過大評価は、コア拡大速度と有意に相関することを明らかにした。臨床的に非常に重要度の高い研究である。GIC出現のコア拡大速度の至適閾値は22 mL/hであることも明らかとし、コアの拡大が速い患者でも完全な再開通によってCTP虚血コアの一部を救済できる可能性があることを見出した。脳卒中診療におけるMTが高い再開通率で完遂されることの重要性を改めて示している。審査員全員一致で学位論文に値する内容であると判断した。



## 学位論文要旨および審査要旨

## 〔博士（医学）〕

氏名 舟橋 紗耶華

〈学位〉	種類	博士（医学）	論文項目	Substantially Elevated Atherosclerotic Event Risks in Japanese Severe Familial Hypercholesterolemia Defined by the International Atherosclerosis Society
	授与番号	博乙医第636号		(国際動脈硬化学会が策定した”重症”家族性高コレステロール血症における、冠動脈ならびに脳・下肢動脈イベント発症リスクの解明研究)
	授与年月日	令和5年4月19日	論文審査委員	主査 神崎恒一 副査 安田和基 後藤田貴也 荻田香苗 布川雅雄
	授与の要件	学位規程第6条		

## 学位論文の要旨

**背景：**家族性高コレステロール血症（FH）は、早発性の動脈硬化性心血管疾患を発症しうる疾患だが、その心血管疾患発症リスクは個々の症例において大きく異なり、一部には冠動脈疾患だけでなく脳血管・下肢血管疾患を合併する重症症例も存在する。近年、国際動脈硬化学会よりLDLコレステロール値やリスクファクターの集簇等を基に重症FHを同定するアプローチが提唱され、このような“真の高リスクFH”を同定し、適切な脂質管理を含めた予防治療を行うことが重要である。しかしながら、このFHリスク層別化法により診断された日本人の“重症FH”の臨床的特徴や予後については十分に検証されていない。

**方法：**国立循環器病研究センターに受診あるいは入院されたFH症例において、動脈硬化性心血管疾患発症既往を有さないFH380例を後ろ向きに解析した。国際動脈硬化学会の基準を基に、対象症例を重症FHと非重症FHに分類し、臨床的特徴の比較、さらに初回心臓イベント（心臓死+冠動脈疾患+冠動脈血行再建）及び非心臓イベント（脳梗塞+下肢動脈疾患）発生率、ならびに2回目の心臓・非心臓イベント（subsequent cardiovascular events）発生率を比較した。

**結果：**重症FHは全体の40.3%で認められた。重症FHは、非重症FHに比してLDLコレステロール値のほか、中性脂肪値ならびにリポ蛋白(a)が高値であり、HDLコレステロール低値であった。更に、アキレス腱肥厚や黄色腫の合併頻度も重症FHにおいて有意に高率であった。重症FHでは、高用量スタチン、エゼチミブ、PCSK9阻害剤、リポタンパク質アフェレーシスなどの強力な脂質低下療法をより多く受けており、重症FHは非重症FHに比べてLDL-C値は有意に低値であった。中央値7.4年間の観察期間において、重症FH症例の初回心血管イベント（心臓・非心臓イベントの複合エンドポイント）発生リスクは、非重症FHに比べて9.3倍であり（95%信頼区間3.68-31.2,  $p < 0.001$ ）。心臓イベント（心臓死+冠動脈疾患+冠動脈血行再建）ならびに非心臓イベント（脳梗塞+下肢動脈疾患）発生リスクも、非重症FHに比してそれぞれ15.4倍、5.9倍と有意に高率であった。さらに、これらの動脈硬化性心血管疾患の続発性イベント発症リスクについても、重症FHは非重症FHに比べて10.6倍であることが明らかとなった（95%信頼区間3.96-28.5,  $p < 0.001$ ）。

**結論：**日本人における重症FHは、脂質管理療法下にも関わらず、初回ならびに続発性の冠動脈ならびに脳・下肢動脈イベント発生リスクが高率であった。本研究では、日本人においても国際動脈硬化学会の重症FHの基準は心血管イベントの高リスク群の選別に有用であった。

## 論文審査結果の要旨

**【背景・目的】**家族性高コレステロール血症（FH）は、早発性動脈硬化性心血管疾患を発症しやすい疾患である。近年、国際動脈硬化学会よりLDLコレステロール値やリスクファクターを基に重症FHを同定する基準が提唱された。この基準が日本人にも当てはまるかについて検証を行った。

**【方法】**国立循環器病研究センターに受診あるいは入院したFH症例において、動脈硬化性心血管疾患発症歴を有さない380例を対象として、後ろ向きに解析を行った。国際動脈硬化学会の基準を基に、重症FHと非重症FHの2群に分け、臨床的特徴の比較、初回心臓イベント（心臓死+冠動脈疾患+冠動脈血行再建）および非心臓イベント（脳梗塞+下肢動脈疾患）の発生率、2回目の心臓・非心臓イベント発生率を比較した。

**【結果】**重症FHは全体の40.3%で認められた。重症FHは非重症FHに比してLDLコレステロール値のほか、中性脂肪値ならびにリポ蛋白(a)が高値であり、HDLコレステロールは低値であった。さらに、アキレス腱肥厚や黄色腫の合併頻度も重症FHにおいて有意に高率であった。また重症FHでは、高用量スタチン、エゼチミブ、PCSK9阻害剤、リポタンパク質アフェレーシスなどの強力な脂質低下療法がより多く実施されており、その結

果、重症FHは非重症FHに比べてLDL-C値は有意に低値であった。中央値7.4年間の観察期間において、重症FHの初回心血管イベント（心臓・非心臓イベントの複合エンドポイント）の発生リスクは、非重症FHの9.3倍であり（95%信頼区間3.68-31.2,  $p < 0.001$ ）、心臓イベント（心臓死+冠動脈疾患+冠動脈血行再建）ならびに非心臓イベント（脳梗塞+下肢動脈疾患）の発生リスクも、非重症FHに比してそれぞれ15.4倍、5.9倍と有意に高率であった。さらに、これらの動脈硬化性心血管疾患の続発性イベント発症リスクについても、重症FHは非重症FHの10.6倍と効率であった（95%信頼区間3.96-28.5,  $p < 0.001$ ）。

**【結論】**日本人における重症FHは、強力な脂質管理療法下にも関わらず、初回ならびに続発性の冠動脈ならびに脳・下肢動脈イベント発生リスクが高率であった。このことから、日本人においても国際動脈硬化学会の重症FHの基準は心血管イベントの高リスク群の選別に有用であることが明らかになった。

**【評価】**本論文は、日本人FH患者において、国際動脈硬化学会の提唱する重症FH基準が脳心血管イベント発生の高リスク群の選別法として有用であることを証明した臨床的意義の高い研究である。これだけの数のFH症例を扱った論文は多くなく、価値の高い研究と考える。以上、審査委員全員一致で学位論文として価値が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 三浦みき

〔学位〕	種 類 博士（医学）	論 文 項 目	Multicenter, cross-sectional, observational study on Epstein-Barr viral infection status and thiopurine use by age group in patients with inflammatory bowel disease in Japan (EBISU study)
	授与番号 博乙医第637号		(本邦の炎症性腸疾患患者における Epstein-Barr virus 感染状況に関する多施設共同研究 (EBISU Study))
	授与年月日 令和5年9月20日		
	授与の要件 学位規程第6条	論文審査委員	主査 成田雅美 副査 大崎敬子 荻田香苗 岸本暢将 安樂真樹

## 学位論文の要旨

【背景と目的】潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患 (IBD) は若年層で発症し、日本でも患者数は増加している。中等症以上の IBD 患者は免疫抑制性の薬剤により治療される。Epstein-Barr virus (EBV) 感染は、日本では大多数が小児期に初感染し、不顕性に経過するとされていた。しかし、近年、衛生状況の改善に伴い若年者における EBV 未感染者割合が増加していることが報告されており、Takeuchiらは1990年の日本の5～9歳児におけるEBV抗体陽性率は80%、1999年は59%と報告している。IBD患者ではチオプリン使用歴がEBV感染率に影響を与えるという報告や、EBV未感染者へチオプリンを使用した場合にEBV初感染時のリンパ増殖性疾患 (LPD) や血球貪食症候群 (HLH) 発症リスクが増加するという報告があり、チオプリン使用前のEBV抗体価のスクリーニングの必要性や、未感染者へのチオプリンの使用を控えるべきであるという議論がなされている。日本でも小児期から免疫抑制治療を行わなければならない症例が増えてきているが、IBD患者のEBV既感染率 (抗体保有率) は明らかになっていない。本研究では本邦のIBD患者における年齢階層別EBV感染状況とチオプリンを含めた免疫抑制治療の実態を明らかにするとともに、EBV既感染率とチオプリンの関係を明らかにすることを目的とした。

【方法】杏林大学医学部附属病院を基幹施設とし、国立成育医療研究センター、札幌医科大学消化器内科、順天堂大学小児科、埼玉県立小児医療センター消化器・肝臓科の計5施設で、小児を含めたIBD患者495症例を対象にEBV抗体価 (抗VCA-IgM、抗VCA-IgG、EBNA) を測定し、年齢階層別のEBV既感染率やIBD治療薬の使用状況を評価した。さらに、抗VCA-IgG抗体陽性 (既感染) に関与する因子についてロジスティック回帰分析を用いて検討した。

【結果】9名が抗VCA-IgM抗体陽性で、EBV初感染と考えられた。これらの患者でLPDやHLHを合併したものはなかった。EBV急性感染を除いた抗VCA-IgM抗体陰性である486例を対象に解析を行った。全体でEBV感染率は72.8%、年齢層別では4歳までは0.0%だが、5～9歳で43.3%、10～19歳では49.7%、20～29歳では79.7%、30歳以上の患者では94.8%に達していた。チオプリンは全年齢層の37.8%で使用されており、小児・若年者での使用も少なくなかった。チオプリン使用患者の28.4%はEBV未感染であった。抗VCA-IgG抗体陽性に関連する因子のロジスティック回帰分析では、年齢のみが有意差 ( $p < 0.001$ ) をもって関連し、チオプリン内服は抽出されなかった。

【考察】本研究の結果から、日本人IBD患者においてEBV初感染時の年齢が既報よりも高くなっていることが確認された。また、IBD好発年齢である20歳代の患者の約20%がEBV未感染であり、EBV未感染者にもチオプリンが使用されている実態が明らかになった。免疫抑制治療開始前にEBV抗体スクリーニングを行うべきかどうかは、LPDやHLHの発症率やコストベネフィットの観点からの検討も必要であるが、今後本邦IBD患者でのEBVスクリーニングの対象年齢を議論する上で本研究の結果は重要であると考えられた。

## 論文審査結果の要旨

【背景と目的】潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患 (IBD) は若年層で発症し、日本でも患者数は増加している。中等症以上の IBD 患者は免疫抑制性の薬剤により治療される。Epstein-Barr virus (EBV) 感染は、日本では大多数が小児期に初感染し、不顕性に経過するとされていた。しかし、近年、衛生状況の改善に伴い若年者における EBV 未感染者割合が増加していることが報告されており、Takeuchiらは1990年の日本の5～9歳児におけるEBV抗体陽性率は80%、1999年は59%と報告している。IBD患者ではチオプリン使用歴がEBV感染率に影響を与えるという報告や、EBV未感染者へチオプリンを使用した場合にEBV初感染時のリンパ増殖性疾患 (LPD) や血球貪食症候群 (HLH) 発症リスクが増加するという報告があり、チオプリン使用前のEBV抗体価のスクリーニングの必要性や、未感染者へのチオプリンの使用を控えるべきであるという議論がなされている。日本でも小児期から免疫抑制治療を行わなければならない症例が増えてきているが、IBD患者のEBV既感染率 (抗体保有率) は明らかになっていない。本研究では本邦のIBD患者における年齢階層別EBV感染状況とチオプリンを含めた免疫抑制治療の実態を明らかにするとともに、EBV既感染率とチオプリンの関係を明らかにすることを目的とした。

【方法】杏林大学医学部附属病院を基幹施設とし、国立成育医療研究センター、札幌医科大学消化器内科、順天堂大学小児科、埼玉県立小児医療センター消化器・肝臓科の計5施設で、小児を含めたIBD患者495症例を対象にEBV抗体価 (抗VCA-IgM、抗VCA-IgG、EBNA) を測定し、年齢階層別のEBV既感染率やIBD治療薬の使用状況を評

価した。さらに、抗VCA-IgG抗体陽性 (既感染) に関与する因子についてロジスティック回帰分析を用いて検討した。

【結果】9名が抗VCA-IgM抗体陽性で、EBV初感染と考えられた。これらの患者の中でLPDやHLHを合併したものはなかった。EBV急性感染を除いた抗VCA-IgM抗体陰性である486例を対象に解析を行った。全体でEBV感染率は72.8%、年齢層別では4歳までは0.0%だが、5～9歳で43.3%、10～19歳では49.7%、20～29歳では79.7%、30歳以上の患者では94.8%に達していた。チオプリンは全年齢層の37.8%で使用されており、小児・若年者での使用も少なくなかった。チオプリン使用患者の28.4%はEBV未感染であった。抗VCA-IgG抗体陽性に関連する因子のロジスティック回帰分析では、年齢のみが有意差 ( $p < 0.001$ ) をもって関連し、チオプリン内服は抽出されなかった。

【考察】本研究の結果から、日本人IBD患者においてEBV初感染時の年齢が既報よりも高くなっていることが確認された。また、IBD好発年齢である20歳代の患者の約20%がEBV未感染であり、EBV未感染者にもチオプリンが使用されている実態が明らかになった。免疫抑制治療開始前にEBV抗体スクリーニングを行うべきかどうかは、LPDやHLHの発症率やコストベネフィットの観点からの検討も必要であるが、今後本邦IBD患者でのEBVスクリーニングの対象年齢を議論する上で本研究の結果は重要であると考えられた。

【評価】本研究は本邦の小児を含む炎症性腸疾患患者を対象にEBV関連の血清中抗体によりEBV感染状況を調査し、チオプリン製剤を含む治療状況、患者背景などとの関連を解析した横断的な多施設共同研究である。EBV既感染率は年齢とともに増加し、未感染者の若年患者にもチオプリンが使用されていることが判明した。審査員全員一致で学位論文に値する内容であると判断した。

学位論文要旨および審査要旨

〔博士（医学）〕

氏名 持田 勇希

〔学位〕	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	Piezo2 expression and its alteration by dehydration in mouse mesangial cells and renin-producing cells (マウス糸球体メサンギウム細胞とレニン産生細胞におけるメカノセンサー Piezo2の発現と脱水による発現の変化)
	授与番号	博乙医第638号	論文審査委員	主 査 要 伸也 副 査 浮山越史 後藤田貴也 成田雅美 八木淳一
	授与年月日	令和5年10月18日		
	授与の要件	学位規程第6条		

学位論文の要旨

【背景】

Piezo2は機械的刺激を生体電気シグナルへと変換するメカノセンサーと称されるイオンチャネルである。Piezo2は主に神経感覚系で発現することが解明されているが、腎臓におけるPiezo2の発現については不明である。本研究ではマウスの腎臓におけるPiezo2発現とその調節について研究を行った。

【方法】

Piezo2遺伝子発現はRNAscope *in situ* hybridizationとqPCRにて、Piezo2蛋白発現はPiezo2<sup>GFP</sup>レポーターマウスにおけるGFP染色にて解析した。細胞マーカーとの二重染色で発現細胞を特定した。マウス脱水モデルを作製し、Piezo2の発現変化およびレニンとの関係を調べた。培養レニン産生細胞を用いて、Piezo2ノックダウンとストレッチ刺激の影響を調べた。

【結果】

正常マウス腎臓において、Piezo2 mRNAが糸球体近傍に限局して発現し、主にPdgfrb陽性メサンギウム細胞と傍糸球体レニン産生細胞に局在していることが示された。GFP免疫染色でも同様の局在が確認された。胎生期の後腎では、Foxd1陽性間質前駆細胞と、それから派生するPdgfrb陽性細胞、Ren1陽性細胞に発現が認められた。脱水モデルでは、メサンギウム細胞におけるPiezo2発現は減弱し、レニン産生細胞ではレニン発現領域拡大とともにPiezo2発現は増強した。培養細胞では、ストレッチ刺激下でも非刺激下でもPiezo2ノックダウンによりRen1発現は減少した。

【結論】

Piezo2がメサンギウム細胞とレニン産生細胞に発現することがmRNA、蛋白レベルで示された。糸球体や輸入細動脈の内圧・血流量が低下するマウスモデルにおいて、Piezo2発現が細胞特異的に増減し、特にレニン産生と密接に関わっていたことから、Piezo2が腎臓の糸球体濾過量や体液バランスの制御において重要な役割を担うことが推察された。

論文審査結果の要旨

【背景】 Piezo2は機械的刺激を生体電気シグナルへと変換するメカノセンサーと称されるイオンチャネルである。Piezo2は主に神経感覚系で発現することが解明されているが、腎臓におけるPiezo2の発現については不明である。本研究ではマウスの腎臓におけるPiezo2発現とその調節について研究を行った。

【方法】 Piezo2遺伝子発現はRNA scope *in situ* hybridizationとqPCRにて、Piezo2蛋白発現はPiezo2 GFPレポーターマウスにおけるGFP染色にて解析した。細胞マーカーとの二重染色で発現細胞を特定した。マウス脱水モデルを作製し、Piezo2の発現変化およびレニンとの関係を調べた。培養レニン産生細胞を用いて、Piezo2ノックダウンとストレッチ刺激の影響を調べた。

【結果】 正常マウス腎臓において、Piezo2 mRNAが糸球体近傍に限局して発現し、主にPDGF受容体β (Pdgfrb) 陽性メサンギウム細胞と傍糸球体レニン (Ren1) 産生細胞に局在していることが示された。GFP免疫染色でも同様の局在が確認された。胎生期の後腎では、Foxd1陽性間質前駆細胞と、それから派生するPdgfrb陽性細胞、Ren1陽性細胞に発現が認められた。脱水モデ

ルでは、メサンギウム細胞におけるPiezo2発現は減弱し、レニン産生細胞ではレニン発現領域拡大とともにPiezo2発現は増強した。培養細胞では、ストレッチ刺激下でも非刺激下でもPiezo2ノックダウンによりRen1発現は減少した。

【結論】 Piezo2がメサンギウム細胞とレニン産生細胞に発現することがmRNA、蛋白レベルで示された。糸球体や輸入細動脈の内圧・血流量が低下するマウスモデルにおいて、Piezo2発現が細胞特異的に増減し、特にレニン産生と密接に関わっていたことから、Piezo2が腎臓の糸球体濾過量や体液バランスの制御において重要な役割を担うことが推察された。

【審査結果】 申請者は、メカノセンサー Piezo2の腎臓内の局在を検討し、主として傍糸球体細胞とメサンギウム細胞に発現することを解剖学的、発生学的に明らかにするとともに、脱水マウスモデルおよびレニン産生細胞株を用い、*in vivo*, *in vitro*両面で腎糸球体におけるPiezo2の機能的意義の解明を試みている。得られた成績はいずれも初めての知見であり、最先端の解剖学的、分子生物学的手法を駆使して適切に行われ今後の発展も期待されるため、学位論文に相応しいと考える。

## 学位論文要旨および審査要旨

## 〔博士（医学）〕

氏名 森久保 拓

〔学位〕	種 類	博士（医学）	論 文 項 目	5-ASA 製剤のドラッグデリバリーシステムの違いがもたらすチオプリンS-メチル基転移酵素阻害作用を介したチオプリン代謝への影響とその臨床的意義
	授与番号	博乙医第639号	論文審査委員	主査 須並英二
	授与年月日	令和5年10月18日	副査	大西宏明 櫻井裕之 長島文夫 宮東昭彦
	授与の要件	学位規程第6条		

## 学位論文の要旨

【背景】5-アミノサリチル酸(5-ASA)製剤とチオプリン製剤は潰瘍性大腸炎(UC)に対する基本治療薬である。5-ASA製剤は大腸粘膜局所での直接的な抗炎症作用を発揮することが知られており、UCの病変部位である大腸粘膜へ効率よく送達させるため様々なドラッグデリバリーシステム(DDS)を持つ剤形が開発されている。チオプリン製剤は、その有効代謝産物である6-チオグアニンヌクレオチド(6-TGN)が免疫抑制効果を示し、一方でチオプリンS-メチル基転移酵素(TPMT)により、肝障害を起こす6-メチルメルカプトプリン(6-MMP)に代謝される。5-ASA製剤は腸管から吸収されると、5-ASA及びN-Ac-5-ASAに代謝されるが、それらはTPMT活性を阻害する。しかし、これまでに異なったDDSを有する5-ASA製剤間での切り替えがチオプリン代謝へ与える影響を前向きに検討した報告はない。

【目的】5-ASA製剤とチオプリン製剤を併用しているUC患者を対象として、5-ASA製剤の切り替えに伴うチオプリン代謝および疾患活動性への影響を前向きに検討した。

【方法】2017年11月から2018年7月までに杏林大学医学部付属病院と北里大学北里研究所病院において、5-ASA製剤とチオプリン製剤を併用している18歳以上のUC患者のうち、臨床的な理由で5-ASA製剤を時間依存性製剤からMulti-matrix(MMX)型製剤に変更した症例(TIME to MMX群)とpH依存性製剤からMMX型製剤に変更した症例(pH to MMX群)を対象とした。主要評価項目として変更前と変更後8週目での赤血球中の6-TGNと6-MMPの濃度の変化について検討した。また副次評価項目として、臨床スコアやCRPなどの血液検査所見、便バイオマーカーの変化を検討し、変更後24週目までの再燃率も検討した。6-TGNと6-MMPは、高速液体クロマトグラフ質量分析計を用いて測定した(LSIメディエンス、東京都)。変更前後の比較はWilcoxonの符号順位検定を行い、各群間の比較にはMann-whitney U検定とFisher正確確率検定を、再燃率の比較にはLog-rank検定を行った。

【結果】合計31例(TIME to MMX群11例、pH to MMX群20例)が登録された。TIME to MMX群では、変更前後で6-TGNが有意に低下し( $354.2 \pm 285.8 \rightarrow 199.6 \pm 88.5$  pmol/ $8 \times 10^8$ RBC,  $p=0.02$ )、6-MMPは上昇した( $413.3 \pm 630.7 \rightarrow 570.9 \pm 813.6$  pmol/ $8 \times 10^8$ RBC,  $p=0.04$ )。一方で、pH to MMX群では有意な変化を認めなかった(6-TGN: $p=0.751$ 、6-MMP: $p=0.167$ )。その他の項目は両群とも変更前後で有意な変化を認めなかった。24週目までの再燃率は、TIME to MMX群(3/11例)がpH to MMX群(1/20例)に比べて有意に再燃が多かった( $p=0.04$ )。

【結論】時間依存性製剤からMMX型5-ASA製剤への変更は、チオプリン製剤の代謝やUCの疾患活動性に影響を与える可能性があり、変更後には慎重な経過観察が必要である。

## 論文審査結果の要旨

【背景】5-アミノサリチル酸(5-ASA)製剤とチオプリン製剤は潰瘍性大腸炎(UC)に対する基本治療薬である。5-ASA製剤は大腸粘膜局所で抗炎症作用を発揮する薬剤であり、大腸粘膜へ効率よく送達させるための様々なドラッグデリバリーシステム(DDS)を持つ薬剤が開発されている。チオプリン製剤は、その有効代謝産物である6-チオグアニンヌクレオチド(6-TGN)が免疫抑制効果を示す一方、チオプリンS-メチル基転移酵素(TPMT)により、肝障害を起こす6-メチルメルカプトプリン(6-MMP)に代謝される。5-ASA製剤は腸管から吸収されると速やかに非活性体N-Ac-5-ASAに代謝されるが、5-ASAとN-Ac-5-ASAはTPMT活性を阻害することが知られている。しかしこれまでに異なったDDSを有する5-ASA製剤内での切り替えがチオプリン代謝へ与える影響を前向きに検討した報告はない。

【目的】5-ASA製剤とチオプリン製剤を併用しているUC患者を対象として、5-ASA製剤の切り替えに伴うチオプリン代謝および疾患活動性への影響を前向きに検討した。

【方法】2017年11月から2018年7月までに杏林大学医学部付属病院と北里大学北里研究所病院において、5-ASA製剤とチオプリン製剤を併用している18歳以上のUC患者のうち、臨床的な理由で5-ASA製剤を時間依存性製剤からMMX(Multi-matrix)型製剤に変更した症例(TIME to MMX群)とpH依存性製剤からMMX型製剤に変更した症例(pH to MMX群)を対象とした。主要評価項目として変更前と変更後8週目での赤血球中の6-TGNと6-MMPの濃度の変化について検討した。副次評価項目として、臨床スコア、血液検

査所見、便バイオマーカー、変更後24週目までの再燃率を検討した。6-TGNと6-MMPは、高速液体クロマトグラフ質量分析計を用いて測定した。変更前後の比較はWilcoxonの符号順位検定を行い、各群間の比較にはMann-Whitney U検定とFisher正確確率検定、再燃率の比較にはLog-rank検定を行った。

【結果】合計31例(TIME to MMX群11例、pH to MMX群20例)が登録された。TIME to MMX群では、変更前後で6-TGNが有意に低下し( $354.2 \pm 285.8 \rightarrow 199.6 \pm 88.5$  pmol/ $8 \times 10^8$ RBC,  $p=0.02$ )、6-MMPは上昇した( $413.3 \pm 630.7 \rightarrow 570.9 \pm 813.6$  pmol/ $8 \times 10^8$ RBC,  $p=0.04$ )。一方、pH to MMX群では有意な変化を認めなかった(6-TGN: $p=0.751$ 、6-MMP: $p=0.167$ )。その他の項目は両群とも変更前後で有意な変化を認めなかった。24週目までの再燃率は、pH to MMX群(1/20例)に比べてTIME to MMX群(3/11例)において有意に高かった( $p=0.04$ )。

【結論】時間依存性製剤からMMX型5-ASA製剤への変更はチオプリン製剤の代謝やUCの疾患活動性に影響を与える可能性があり、変更後には慎重な経過観察が必要である。

【評価】本論文は、潰瘍性大腸炎に対して主治療薬である5-ASA製剤とチオプリン製剤を使用している症例において、5-ASA製剤の変更が再燃に及ぼす影響を検討し、その因子としてチオプリン代謝に着目し解析を行なった研究である。潰瘍性大腸炎治療において、5-ASA製剤はしばしば使用され、また特性や患者事情により変更されることも多く、その変更の際に新たな指標を提示する点で意義は大きく、臨床的なdecision makingに貢献する可能性がある。審査委員全員一致で、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 尾崎 良

〔学位〕	種類	博士（医学）	論文項目	Histological Risk Factors to Predict Clinical Relapse in Ulcerative Colitis with Endoscopic Remission (内視鏡的に寛解が得られた潰瘍性大腸炎患者における臨床的再燃予測のための組織学的危険因子の研究)
	授与番号	博乙医第640号		
	授与年月日	令和5年11月15日		
	授与の要件	学位規程第6条	論文審査委員	主査 須並英二 副査 大山 学 柴原純二 廣中秀一 秋元義弘

学位論文の要旨

【目的】潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis；UC)は寛解と再発を繰り返す経過を特徴とする原因不明の慢性の炎症性腸疾患である。UCの診療では、臨床症状の改善やバイオマーカーの正常化、内視鏡的寛解が治療目標として挙げられているが、近年はさらなる治療目標として組織学的治癒が提唱されている。しかしながら組織学的治癒の定義は明確ではなく、各組織学的所見と長期予後との関連も不明な点が多い。本研究では、臨床的寛解および内視鏡的寛解を達成したUC患者を評価し、各組織学的所見と臨床的再燃の関連について検討を行った。

【対象と方法】大腸内視鏡検査で内視鏡的寛解(Mayo内視鏡サブスコア(Mayo endoscopic subscore；MES) ≤ 1)と診断され、同時に組織生検を受けたUC患者を対象とした後ろ向きコホート研究を行った。組織学的所見については3人の病理専門医により炎症性細胞浸潤、びらん、陰窩膿瘍、杯細胞の減少、腺の配列異常、およびbasal plasmacytosisの有無を評価した。臨床的再燃は部分Mayoスコア3点以上の症状の悪化、または治療の変更と定義した。さらにMES 0の患者において、臨床的再燃に関する組織学的所見を検討した。

【結果】対象患者は194例(男性112例、女性82例、平均年齢48.3±14.3歳)。内視鏡所見はMES 0が104例、MES 1が90例であった。定義した組織学的所見は91.2%の患者で1項目以上を認めており、MES 0の患者と比較しMES 1の患者において有意に多い項目を認めていた。臨床的再燃率はMES 0と1の患者間で有意差は認められなかった(p=0.45)。腺の配列異常と杯細胞の減少は、MES ≤ 1の患者における臨床的再燃と関連していた。さらに、MES 0の患者では、杯細胞の減少が再燃リスクと有意かつ独立して関連する唯一の因子として抽出された(ハザード比、2.18[1.16-5.82]；p=0.03)。

【結論】杯細胞の減少は、内視鏡的寛解が得られたUC患者における臨床的再燃の組織学的な危険因子であることが示された。

論文審査結果の要旨

【目的】潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis；UC)は寛解と再発を繰り返す経過を特徴とする原因不明の慢性の炎症性腸疾患である。UCの診療では、臨床症状の改善やバイオマーカーの正常化、内視鏡的寛解が治療目標として挙げられているが、近年はさらなる治療目標として組織学的治癒が提唱されている。しかしながら組織学的治癒の定義は明確ではなく、各組織学的所見と長期予後との関連も不明な点が多い。本研究では、臨床的寛解および内視鏡的寛解を達成したUC患者を評価し、各組織学的所見と臨床的再燃の関連について検討を行った。

【対象と方法】大腸内視鏡検査で内視鏡的寛解(Mayo内視鏡サブスコア(Mayo endoscopic subscore；MES) ≤ 1)と診断され、同時に組織生検を受けたUC患者を対象とした後ろ向きコホート研究を行った。組織学的所見については3人の病理専門医により炎症性細胞浸潤、びらん、陰窩膿瘍、杯細胞の減少、腺の配列異常、およびbasal plasmacytosisの有無を評価した。臨床的再燃は部分Mayoスコア3点以上の症状の悪化、または治療の変更と定義した。さらにMES 0の患者において、臨床的再燃に関する

組織学的所見を検討した。

【結果】対象患者は194例(男性112例、女性82例、平均年齢48.3±14.3歳)。内視鏡所見はMES 0が104例、MES 1が90例であった。定義した組織学的所見は91.2%の患者で1項目以上を認めており、MES 0の患者と比較しMES 1の患者において有意に多い項目を認めていた。臨床的再燃率はMES 0と1の患者間で有意差は認められなかった(p=0.45)。腺の配列異常と杯細胞の減少は、MES ≤ 1の患者における臨床的再燃と関連していた。さらに、MES 0の患者では、杯細胞の減少が再燃リスクと有意かつ独立して関連する唯一の因子として抽出された(ハザード比、2.18 [1.16-5.82]；p=0.03)。

【結論】杯細胞の減少は、内視鏡的寛解が得られたUC患者における臨床的再燃の危険因子であることが示された。

【評価】本論文は、内視鏡的寛解が得られたUC患者の再燃を予測する因子として組織学的な杯細胞の減少の重要性を提示した論文である。実験デザインは論理的に計画されており、理論的にも整合性のある結果が示された。臨床的意義においても重要な研究であると思われる。審査委員全員一致で学位論文として価値を有す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 水野 雅春

〈学位〉	種類	博士 (医学)	論文項目	Effect of the COVID-19 Pandemic on Surgical Outcomes for Rhegmatogenous Retinal Detachments (裂孔原性網膜剥離の手術成績に対するCOVID-19パンデミックの影響)
	授与番号	博乙医第641号	論文審査委員	主査 齋藤康一郎 副査 石井晴之 尾崎 峰 三戸部治郎 荻田香苗
	授与年月日	令和5年12月20日		
	授与の要件	学位規程第6条		

## 学位論文の要旨

【背景】2020年に発生したCOVID-19パンデミックにより我々の社会生活及び病院の診療体制は多大な影響を受け、深刻な障害に直面している。日本では他国のようなロックダウンは行われなかったものの緊急事態宣言が発出され、人々の行動に大きな変化を及ぼした。そこで眼科緊急疾患である裂孔原性網膜剥離 (RRD) に対するCOVID-19パンデミック時の治療成績の変化を後ろ向きに検討した。

【対象および方法】当院においてRRDおよびその重症型である増殖硝子体網膜症 (PVR) に対し初回手術を行った症例を対象とし、東京で第1回、第2回緊急事態宣言が発出された期間を含む2020年4月から2021年3月の1年間に初回手術が施行された症例をCOVID-19パンデミック群 (A群)、パンデミック前の2018年10月から2019年9月に施行された症例を対照群 (B群) に分類した。これら2群につき、術前因子 (年齢、性別、術前視力、裂孔タイプ、網膜剥離の範囲、自覚から当院受診までの日数等)、背景因子 (眼内レンズ挿入眼、鈍的外傷、強度近視の有無等)、術式 (硝子体手術、強膜バックリング術、両術式併用)、術後因子 (初回網膜復位率、最終網膜復位率、術後視力等) の関係を比較検討した。

【結果】対象は846例863眼、男性551例、女性295例、平均年齢 $53.3 \pm 14.4$ 歳であった。A群404例412眼、B群442例451眼であり、A群で約9%少なかった。術前因子の検討ではA群が有意に若年で ( $p=0.02$ )、女性比率が少なく ( $p=0.04$ )、PVRが多かった ( $p=0.002$ )。術前視力、裂孔タイプや剥離範囲では両群間に有意差はなかった。背景因子の各項目を比較すると、55歳以上の高齢者はA群で有意に少なかった ( $p < 0.001$ )。術式は硝子体手術がA群316眼B群378眼、強膜バックリング術がA群79眼B群64眼、両術式併用がA群17眼B群10眼であり、強膜バックリング術の施行数は変化がなかったが、硝子体手術の施行数がA群で有意に少なかった ( $p=0.01$ )。術後因子の検討では初回網膜復位率がA群93.7%、B群97.1%となり有意にA群で少なかった ( $p=0.02$ )。多変量解析の結果、初回手術で非復位となる危険因子としてA群、下方の裂孔、広い剥離範囲、PVR、強度近視の項目で統計学的有意となった。最終復位率はA群98.8%、B群99.8%で有意差はなかった。術後視力は両群とも術前より有意に改善し ( $p < 0.001$ )、ともに良好で有意差はなかった。

【結論】COVID-19パンデミック下ではRRD手術件数が約9%減少した。高齢の女性患者比率が減少し、年齢が若年化した。自覚から受診までの日数が増加し、PVRの増加に伴い初回網膜復位率が不良となった。RRDの減少とパンデミックに伴う行動変容との関係が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

本論文は、COVID-19パンデミックの、眼科領域で緊急性の高い疾患である裂孔原性網膜剥離 (RRD) と、それが重症化した増殖硝子体網膜症 (PVR) の、患者の臨床像への影響に注目した論文である。

対象は、杏林大学医学部付属病院においてRRDあるいはPVRの初回治療を行った症例のうち、手術が東京で第1回、第2回緊急事態宣言が発出された期間を含む2020年4月から2021年3月の1年間に施行された症例 (A群; 男性278例、女性126例、平均年齢52.6歳) と、それ以前の2018年10月から2019年9月に施行された症例 (B群; 男性273例、女性169例、平均53.9歳) である。これら2群間で比較検討を行った項目は、術前因子12項目、背景因子7項目、術式3つ、術後因子4項目とし、さらに多変量解析により初回術後に非復位となる危険因子の探索を行った。続けて、サブグループ解析として、2群間の比較で有意差を認めた因子に関する、全患者年齢の中央値である55歳を境界とした解析 (SG 1) と、パンデミック時の諸規制や行動変容による当院受診患者層の変化を可視化するための、PVR患者の居住地に関する解析 (SG 2) を行った。

結果として、術前因子の検討ではA群が有意に若年で ( $p=0.02$ )、女性比率が少なく ( $p=0.04$ )、PVRが多く ( $p=0.002$ )、自覚から受診までの日数が長かった ( $p=0.004$ )。背景因子の検

討では、55歳以上の高齢者はA群で有意に少なかった ( $p < 0.001$ )。術式の検討では、硝子体手術の施行数がA群で有意に少なかった ( $p=0.01$ )。術後因子の検討では初回網膜復位率がA群で有意に少なかった ( $p=0.02$ )。なお、術後半年の視力に両群間で有意差は認めなかった ( $p=0.21$ )。初回手術で非復位となる危険因子として、A群 ( $p=0.048$ )、下方の裂孔 ( $p < 0.001$ )、広い剥離範囲 ( $p=0.023$ )、PVR ( $p=0.004$ )、強度近視 ( $p=0.030$ ) の項目が、統計学的に有意となった。SG 1の結果、55歳以上の群ではA群で有意に女性比率が低く ( $p=0.005$ )、PVRが多く ( $p=0.005$ )、初回復位率が低かった ( $p=0.03$ )。SG 2の結果、当院から自宅までの直線距離はA群が有意に長かった ( $p=0.023$ )。本研究により、COVID-19パンデミックの影響を受けたRRDの臨床像として、手術件数の減少、高齢の女性患者比率の減少と年齢の若年化、自覚から受診までの日数の増加、PVRの増加、そして初回網膜復位率の低下という実態が浮き彫りとなった。研究デザインが単一施設での検証であり、患者選択バイアスなどの限界はある。しかしながら、RRDの緊急性に関する患者啓発や、社会情勢に影響されない眼科医療継続の必要性を訴えるために有用で現実的な根拠となる、直近のパンデミック下の状況を数値化して丁寧に解析した論文で、研究の目的は明確かつ重要であり、得られた結果の臨床的な意義と将来性は甚大と考え、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（看護学）〕

氏名 絹川 朋美

〈学位〉	種 類	博士（看護学）	論 文 項 目	妊娠後期の睡眠の質を改善する身体活動の検討
	授 与 番 号	博甲保第69号	論文審査委員	主査 大木幸子 副査 伊藤久美 望月秀樹 岡本美和子
	授与年月日	令和5年9月14日		
	授与の要件	学位規定第5条		

## 学位論文の要旨

【目的】妊娠後期（妊娠28週0日以降）の睡眠の質の低下は、分娩や新生児転帰など母子への影響が大きいといわれている。そこで、本研究の目的は、妊娠後期の睡眠の質と身体活動（1日の歩数と身体活動量METs・時）との関係を明らかにすることである。

【方法】対象は、妊婦中の身体活動を推奨している施設に通院中の妊娠28～36週で日常生活上の制限を指示されていない妊婦である。研究デザインは、睡眠の質と身体活動との関係を検証する前向き縦断研究である。データ収集には活動量計の装着（研究開始時から4週間）と研究参加時から2週間ごと計3回の質問紙調査（主観的身体活動質問票はIPAQ Long版、睡眠質問紙票はPSQI）を用いて行なう。統計分析は、母集団の特性をみるために記述統計を用い、睡眠と身体活動の関係には平均値の比較を行う。さらに、健康教育の具体的な指標を示すために、ロジスティック回帰分析と傾向スコア分析を行う。データ解析は、IBM SPSS Ver.29を用い $p < 0.05$ を有意とする。本研究は、杏林大学保健学部倫理審査委員会の承認（課題番号2022-82）を得て行なった。

【結果】92名が研究に参加し最終的に71名のデータを用いた。平均歩数の中央値で分けた2群の比較では、2週目は活動量計の1日の歩数 $8122.6 \pm 1779.9$ 歩、1日の身体活動量 $8.1 \pm 2.4$ METs・時と身体活動の多い方が、睡眠の質 $1.1 \pm 0.6$ で有意差を認めた。4週目は活動量計の1日の歩数 $7202.5 \pm 1612.8$ 歩、1日の身体活動量 $7.2 \pm 2.3$ METs・時と身体活動の多い方が、入眠までの時間 $23.8 \pm 23.3$ 分、睡眠の質 $1.2 \pm 0.6$ 、睡眠効率 $95.5 \pm 12.5\%$ 、PSQI総得点 $3.9 \pm 2.1$ で有意差を認め、睡眠と身体活動の関係が明らかになった。

【考察】厚生労働省によると、23METs・時/週が約6000歩に相当し、そこに日常の身体活動量に相当する2000～4000歩を加えた8000～10000歩を1日の歩数の目安としている。今回、妊娠後期の睡眠がよいことに対しても1日8000歩を目安にできることが示された。標準的な歩くテンポで考えると約1時間で6000歩となる。このため、昔から「妊婦中は、お産に向けて身体を良く動かすように」や「1日1時間は歩くように」と言われているが、この慣習的な妊婦への助言が適切であったことを裏付けることができたと考えられる。

【結論】妊娠後期の睡眠の質は身体活動と関係があり、1日の歩数を増やすこと、1日のMETs・時を減らさない方が、睡眠が良くなることが明らかになった。具体的には、1日の平均歩数約7200～8100歩、1日の身体活動量平均 $7.2 \sim 8.1$ METs・時の場合、睡眠の質が良いと示すことができた。

## 論文審査結果の要旨

妊娠期の妊婦の睡眠は、妊娠週数が進むほどその質が低下することが知られている。さらに、妊娠中の睡眠の質が低下することにより、妊娠中の生活の質の低下および妊娠合併症のリスクが高いことが指摘されている。そのため、妊娠中の睡眠の質の低下を改善する効果が期待されるとして、ウォーキングやエアロビクスなどの中強度の運動が推奨されている。しかし、こうした運動は、就業や育児、家事等のための時間や機会の確保、意欲の向上が難しく、実現できない現状が指摘されている。

そこで本論文は、妊婦が日常生活に取り入れやすい中等度の身体活動として歩行に着目をして、妊娠後期（妊娠28週0日以降）の妊婦の睡眠の質と1日の歩数、身体活動量（METs・時）との関係を明らかにしたものである。具体的には、身体活動は、身体活動量と1日の歩数を測定し、睡眠の質は、主観的評価であるピッツバーグ睡眠質問票日本語版（PSQI）を評価指標として、初回（28週～32週）2週目（妊娠30週～34週）、4週目（妊娠32～36週）の3回について、最終的に71名のデータを収集した。それら各時期の睡眠と身体活動の関連、各時期の身体活動の変化と睡眠との関連について、ロジスティック回帰分析、傾向スコア分析等を

用いた詳細な分析結果が示されている。

その結果、2週目では1日の歩数の多い群（ $8122.6 \pm 1779.9$ 歩）で睡眠の質が、4週目では歩数の多い群（ $7202.5 \pm 1612.8$ 歩）で睡眠時間および睡眠の質、睡眠効率、PSQI総得点が高いことが示された。また2週目と4週目の身体活動量の変化と睡眠に関する傾向スコア分析の結果、1日の身体活動量（METs・時）の非低下群で睡眠時間、PSQI総得点で有意により結果が示された。

これらの結果は、妊娠後期の睡眠改善には、歩行による身体活動量の維持が効果的であること、その際の1日の歩数は8000歩が目安となることを示していると言える。すなわち、一般に日常の身体活動に相当する歩数は2000歩とされていることから、意識的歩行で6000歩（中等度の歩行で1時間）を推奨することが効果的であることが明らかにされた。従来実践現場では、「妊娠後期に向けてよく体を動かすように」「1日1時間は歩くように」という指導がなされているが、本研究結果は、それら慣習的指導に関する初めてのエビデンスであり、実践活動に高い貢献度を持つものである。また妊娠後期の妊婦の実測データの収集は、非常に困難な場合が多く、その点からも貴重な研究といえ、博士論文としての価値ある論文と判断した。

## 学位論文要旨および審査要旨

## 〔博士（保健学）〕

氏名 芝 崎 翔 平

〈学位〉	種 類	博士（保健学）	論 文 項 目	超音波検査による本態性肩こりの検討
	授与番号	博甲保第70号	論文審査委員	主査 磯山 隆 副査 福長一義 田中浩輔 西條芳文
	授与年月日	令和6年3月31日		
	授与の要件	学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

【はじめに】肩こりは僧帽筋を中心とする痛み症状であり、基礎疾患のない「本態性肩こり」は、客観的な評価が難しい。筋硬度計による肩の硬さは、僧帽筋を灌流する頸横動脈の血流不良と関係することが先行研究で明らかになった。しかし、筋硬度計では僧帽筋に局限した硬さを評価したわけではない。また、肩こりには血流だけでなく、神経や姿勢も関与する。そこで本研究は超音波検査を用いて、①エラストグラフィ法による僧帽筋に局限した硬さと頸横動脈血流の関係、②僧帽筋を支配する副神経の位置関係と肩こり症状、僧帽筋硬度、頸横動脈血流との関係を検討した。また、③肩こりに対する頭部前方位姿勢（FHP）の影響を調べ、更に、④肩こりの有無に関する影響因子を各評価項目の中から明らかにすることを目的とした。

【方法】対象は健康若年成人74名（男/女34/40名；平均 $21 \pm 1$ 歳）。日常的な肩こりの有無と頻度をアンケート調査した。超音波診断装置を用いて、エラストグラフィ法による僧帽筋硬度を示すstrain ratioとパルスドプラ法による頸横動脈血流との関係を調べた。次に、副神経の走行する胸鎖乳突筋と肩甲挙筋の筋間距離を計測し、strain ratio、頸横動脈血流との関係を検討した。また、FHPの有無を頭蓋脊椎角（CVA）と簡易判定法で判断し、各評価項目との関係を検討した。更に多重ロジスティック回帰分析により、各評価項目の中から肩こりの有無に関する影響因子を解析した。

【結果】肩こりがあると、①僧帽筋strain ratioと頸横動脈の収縮期最高血流速度（PSV）の間に正の相関を認め（ $r=0.442$ ,  $p=0.012$ ）、②副神経の走行する筋間距離が肩こりのない対象者に比べて長く（ $2.4$  [ $1.6$ - $3.1$ ] mm vs.  $1.8$  [ $1.5$ - $2.2$ ] mm,  $p=0.016$ ）、男性では筋間距離と僧帽筋strain ratioや頸横動脈PSVとの間に負の相関を認めた（ $r=-0.347$ ,  $p=0.044$ ;  $r=-0.366$ ,  $p=0.036$ ）。更に、③CVAと頸横動脈のPSVや拡張末期血流速度（EDV）の間には正の相関があった（ $r=0.400$ ,  $p=0.023$ ;  $r=0.351$ ,  $p=0.049$ ）。④肩こりの有無に関しては、副神経の走行する筋間距離が独立影響因子であった（ $p=0.012$ , odds比 2.50, 95% CI 1.23-5.10）。

【結論】本態性肩こりにおいて、僧帽筋の硬さと頸横動脈血流は関連し、肩こりがあると副神経の走行する胸鎖乳突筋と肩甲挙筋の筋間距離が長く、男性では筋間距離が長いほど僧帽筋は硬く、頸横動脈血流が不良であった。また、FHPであると頸横動脈血流が不良であった。肩こりにはこれらの因子が複雑に関連すると思われるが、筋間距離の影響が大きい可能性が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

肩こりは首筋や首の付け根から肩または背中にかける張り、凝り、痛みであり、頭痛や吐き気を伴う場合もある。その原因は連続した筋の緊張、猫背などの姿勢、運動不足、精神的ストレス、冷房などの環境要因はもとより何らかの基礎疾患を原因とするものも存在する。肩こりに相当する英語の固有名詞は存在せず、neck and shoulder painやneck and upper-back stiffnessなどと呼ばれることから肩こりは日本固有の国民病とも言えるため、その診断法や治療法研究の進展が待たれている。

芝崎氏は肩こりの客観的な診断指標を見出すことを目的に、筋の硬さ計測を超音波エラストグラフィ法で、肩こりに関与する僧房筋の栄養血管である頸横動脈の血流速度計測を超音波パルスドプラ法で、頸横動脈の内径測定と僧帽筋および胸鎖乳突筋を支配する副神経の走行経路を5～18 MHzリニアプローブによるBモード法で観察した。対象は本学倫理審査委員会承認の下、加齢や基礎疾患によるデータのばらつきを排除するため健康若年成人74名を被験者とし、本態性肩こりとしての自覚的な肩こり症状の有無をVASで定量化した上で各超音波計測データと多重ロジス

ティック回帰分析することで肩こりの影響因子を抽出、解析した。

解析の結果、肩こりには性差を含めた多数の因子が複雑に関連していることが改めて浮き彫りにされる中で、僧帽筋が硬いほど頸横動脈の収縮期最高血流速度が低く肩こり症状との関係性が強いことが示された（ $r=0.442$ ,  $p=0.012$ ）。そして本研究により初めて明らかにされたことは、肩こりがあると副神経の走行する胸鎖乳突筋と肩甲挙筋の筋間距離が長いとの解析結果である（ $p=0.012$ , odds比 2.50, 95% CI 1.23-5.10）。また、特に男性では肩こり症状があると僧帽筋が硬く頸横動脈の血流が不良との知見も性差との関連から興味深い結果であった。

以上のように芝崎氏は筋の硬さを計測可能な超音波エラストグラフィ法を含む非侵襲的な複数の超音波検査手法を用いた肩こりの評価手法を提案し、健康若年成人という限られた対象ではあるものの、筋間距離という肩こり症状の新たな客観的な診断指標を見出した点で独創性と新規性のある研究を成し遂げた。今後、年齢層など対象の拡大や性差による肩こり症状の解釈にはさらなる研究の発展が必要ではあるが、全審査委員が芝崎氏の研究は博士の学位に相応しいと判断する結論に至ったことを報告する。



## 学位論文要旨および審査要旨

## 〔博士（保健学）〕

氏名 坂本 祐太

〔学位〕	種 類	博士（保健学）	論 文 項 目	高脂肪食摂取マウスの小腸粘膜固有層におけるIgA産生細胞およびBAFF/APRILに及ぼす影響
	授与番号	博甲保第71号	論文審査委員	主査 柴田茂貴
	授与年月日	令和6年3月31日	副査	田口晴彦 山田 慎 萩原宏毅
	授与の要件	学位規程第5条		

## 学位論文の要旨

肥満や糖尿病は世界で増加している栄養障害であり、誘発する症状の一つである易感染性や、感染症の増悪は臨床上的問題となっている。腸管は栄養素を吸収するために単層円柱上皮は薄く、細菌に暴露されやすい構造であり、Immunoglobulin A (以下、IgA) の分泌を厳密に調整する免疫機能が発達している。しかし、肥満や糖尿病における腸管のIgA局在については不明点が多い。本研究の目的は、高脂肪食摂取による腸管免疫機能の低下機序をIgA局在から解明することである。

4週齢から20週齢にかけて高脂肪食を摂取した群（以下、HFD群）と同期間に通常食を摂取した群（以下、SCD群）の空腸および回腸を生体内凍結技法により固定し、試料を作製した。固定法の比較として、灌流固定法による空腸と回腸の試料も作製した。形態学的解析は、HE染色を用いた。酵素抗体法による免疫組織化学的解析は、IgA、B細胞刺激因子（以下、BAFF）、増殖誘導リガント（以下、APRIL）抗体を用いた。蛍光抗体法による免疫組織化学的解析は、IgAとCD22またはCD138抗体の混合液を用いた。統計学的解析は、各抗体に対する陽性細胞数を面積で除した細胞の分布密度と、陽性反応面積を面積で除して比較した。

形態学的解析では、HFD群の単層円柱上皮細胞内に多数の空胞を観察した。酵素抗体法では、SCD群の空腸絨毛では粘膜固有層全体にIgA<sup>+</sup>細胞が分布したが、HFD群の空腸絨毛では中部、頂上部は減弱した。蛍光抗体法では、SCD群の空腸絨毛の基部から中部においてIgA<sup>+</sup>CD22<sup>-</sup>細胞、IgA<sup>+</sup>CD22<sup>+</sup>細胞、IgA<sup>+</sup>CD138<sup>-</sup>細胞、IgA<sup>+</sup>CD138<sup>+</sup>細胞を豊富に認めたが、HFD群の中部ではIgA<sup>+</sup>CD22<sup>-</sup>細胞、IgA<sup>+</sup>CD138<sup>-</sup>細胞は有意に減弱していた。回腸のSCD群とHFD群の比較では、群間の差は認めなかった。空腸絨毛におけるBAFFおよびAPRILの陽性面積の比較では、HFD群のBAFFのみ有意に減少した。また、固定法の比較では、生体内凍結技法に比べて灌流固定法では染色性の減少や、局在が異なる所見を認めた。

本研究結果より、HFD群のIgA産生細胞の分布に対する影響は空腸絨毛に限局したため、肥満や糖尿病は空腸局所的に腸管免疫の脆弱性を生じさせる可能性がある。また、HFD群の空腸絨毛の中部においてIgA産生B細胞が減少した。これらの結果から、高脂肪食摂取はT細胞非依存経路におけるIgA産生B細胞への変換を阻害することが示唆された。一方、T細胞非依存経路でB細胞のクラススイッチングに関与するサイトカインであるBAFFとAPRILでは、HFD群のBAFFのみを減弱させた。したがって、肥満や糖尿病による腸管免疫機能の低下機序の一つは、BAFFとAPRILの機能的差異に由来する可能性が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

肥満や糖尿病は世界中で増加している生活習慣病であり、易感染性や感染症の増悪は臨床上的問題となっている。腸管は栄養素を吸収するために単層円柱上皮は薄く、細菌に暴露されやすい構造でありimmunoglobulin A (IgA) の分泌を厳密に調整する免疫機能が発達している。しかし、肥満や糖尿病における腸管のIgA局在については不明であった。この様な背景から、高脂肪食摂取による腸管免疫機能の低下機序をIgA局在に焦点をあてて解明することを目的に研究が行われた。

研究方法としては、4週齢から20週齢にかけて高脂肪食を摂取した群（HFD群）と同期間に通常食を摂取した群（SCD群）の空腸および回腸を生体内凍結技法により固定し、試料を作製している。形態学的解析はHE染色を用いておこなわれている。酵素抗体法による免疫組織化学的解析はIgA、B細胞刺激因子（BAFF）、増殖誘導リガント（APRIL）抗体が用いられている。蛍光抗体法による免疫組織化学的解析は、IgAとCD22またはCD138抗体の混合液が用いられている。各抗体に対する陽性細胞数を面積で除した陽性反応面積を比較している。

結果は以下の通りである。まず形態学的解析では、HFD群の単層円柱上皮細胞内に多数の空胞が観察されている。酵素抗体法では、SCD群の空腸絨毛では粘膜固有層全体にIgA<sup>+</sup>細胞が分布

したが、HFD群の空腸絨毛では中部、頂上部は減弱していた。蛍光抗体法では、SCD群の空腸絨毛の基部から中部においてIgA<sup>+</sup>CD22<sup>-</sup>細胞、IgA<sup>+</sup>CD22<sup>+</sup>細胞、IgA<sup>+</sup>CD138<sup>-</sup>細胞、IgA<sup>+</sup>CD138<sup>+</sup>細胞を豊富に認めたが、HFD群の中部ではIgA<sup>+</sup>CD22<sup>+</sup>細胞、IgA<sup>+</sup>CD138<sup>-</sup>細胞は減弱していた。回腸では両群間に差は認めなかった。空腸絨毛におけるBAFFおよびAPRILの陽性面積の比較では、HFD群のBAFFのみ減少していた。

本研究により高脂肪食の影響として新たに以下のことが示唆された。1) IgA産生細胞の分布に対する影響は空腸絨毛に限局していることから、空腸局所的に腸管免疫の脆弱性を生じさせる。2) 空腸絨毛の中部においてIgA産生B細胞が減少していることから、T細胞非依存経路におけるIgA産生B細胞への変換を阻害する。3) T細胞非依存経路でB細胞のクラススイッチングに関与するサイトカインであるBAFFとAPRILに関して、BAFFのみを減弱していることから腸管免疫機能の低下機序の一つは、BAFFとAPRILの機能的差異に由来する。

本研究は生体内凍結技法という新しい手法を用いることで、従来の灌流固定法では洗い流されるために観察困難であったバイオマーカーを評価し、臨床的に重要な知見を得るに至っている。リンパ球のサブタイプや細胞間のクロストークの検討が不十分な点はあるが、厳正なる審査を行い本論文は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（学術）〕

氏名 賈 鳳妍

〈学位〉種類	博士(学術)	論文項目	中国農村現代化におけるソーシャル・キャピタルについて—甘南県興十四村の実例研究—	
授与番号	博甲国第 52 号			
授与年月日	2023.9.14			
授与の条件	学位規程第 5 条	論文審査員	主査	岡村 裕
			副査	倉林 秀男、宮首 弘子、郝 仁平

## 学位論文の要旨

ポスト鄧小平時代に入ってから中国政府は、「共同富裕」を目指して、さまざまな施策を施した。中国政府は格差是正のために膨大な資金を投下したが、その結果は必ずすべからずうまくいくことは限らない。たとえ自然環境、インフラが同様な地域であっても同等の資金提供は依然異なる結果が出ている。その理由は何であろうか。

これに対する研究は多数みられるが、その一つは社会組織を考察する視点である。中国のソーシャル・キャピタル論研究は外国議論の紹介から、中国社会の現状に関連付けた実証研究までに拡大してきた。本論文ではソーシャル・キャピタルの視角から、市場と政府の失敗を補完するための第 3 の要因である「社会」から中国共同富裕政策施行の結果の相違を考察する。

本論文はパトナムのソーシャル・キャピタル定義に基づき、興十四村のソーシャル・キャピタル蓄積の特徴を考察したうえでその経済発展成功の要因の一部を明らかにした。

「はじめに」では、本研究の問題意識、研究対象及び本研究の課題を考察したうえで研究方法を提示した。

第 1 章では、「ソーシャル・キャピタル」の諸概念を考察したうえで、当該概念に相当する中国の伝統的な社会関係要素の析出を試みた。更に興十四村のソーシャル・キャピタル蓄積に関する定量分析のアンケート設問を検討した。

第 2 章では、信頼の諸理論に基づき、「個別的信頼」により「一般的信頼」生成のメカニズムを明らかにした。興十四村における「私的信頼」と「公的信頼」の架け橋の構築問題を考察し、「一般的信頼」生成においてはキーパーソンの役割を実証し、「一般的信頼」生成の特徴を提示した。

第 3 章では、社会規範の理論に基づき、「互酬性規範」意識の生成メカニズムを考察した。興十四村の規範意識形成と社会規範維持を考察し、アンケートデータに基づき、ソーシャル・キャピタル蓄積に関する規範の特徴にまとめた。

第 4 章では、興十四村の「個人ネットワーク」構成を分析し、ソーシャル・キャピタルの蓄積に促進する機能を明らかにした。更に「行政的アプローチ」と「企業的アプローチ」から農村集団組織のネットワークの拡大を考察し、ソーシャルメディアに基づく政府情報発信と民間世論形成を明らかにした。

第 5 章では、中国農村社会の各資本をコントロールする「実力者」の分析に力点を置き、ソーシャル・キャピタルの再生産と「実力者」との関係性を明らかにした。

## 論文審査結果の要旨

本審査対象論文は、中国農村現代化に伴う「三農問題（「農業問題」「農村問題」「農民問題）」に対して、市場と政府の失敗を補完するため方法としての「ソーシャル・キャピタル」の役割に焦点を当て、ある一つの農村の事例研究に基づき、その意義、構造およびその形成過程の解明を試みたものである。

まず序論では、本研究の問題意識として、中国の「三農」問題の背景、都市と農村の格差問題の深刻化が述べられ、本研究の課題を明確にした上で研究対象地域及びその研究方法が説明されている。具体的には研究対象地域として選定した中国東北部の黒竜江省チチハル市甘南県の「興十四村」の概要が詳細に説明されている。当該地域が集団化経営の成功例であることが示され、その背景にソーシャル・キャピタルの存在があるという仮説を設定している。

第 1 章では、ソーシャル・キャピタルの概要として、概念と定義、分類と効果そして農業・農村開発と関係について説明さ

れている。これらの諸概念について考察したうえで、ソーシャル・キャピタルの構成要素として「信頼」、「互酬性」、「ネットワーク」の 3 要素を抽出し、本研究における焦点を明確にしている。また、中国でのソーシャル・キャピタルの研究動向として、1990 年代に諸外国の研究が紹介され、2000 年以降に中国社会の現状に関連付けられた実証研究が行われることになったことが述べられている。

第 2 章では、ソーシャル・キャピタルの一つ目の要素である「信頼」について、「興十四村」の歴史、地理条件、創業過程、村民自治、経済発展などの側面から、その状況及び生成のメカニズムを考察している。特に当該地域の「私的信頼」と「公的信頼」の「架け橋」の構築問題とともに、「一般的信頼生成」におけるキーパーソンの役割の重要性が強調されている。

第 3 章では、ソーシャル・キャピタルの二つ目の要素である「互酬性規範意識」について、「興十四村」の行政規則及び居

## 学位論文要旨および審査要旨

住民の意見から、その状況及び生成メカニズムを考察している。当該地域では「共通文化」と「奉仕の精神」がその規範意識となり、ソーシャル・キャピタルの形成や蓄積に貢献していることが述べられている。

第4章では、ソーシャル・キャピタルの三つ目の要素である「ネットワーク」について、血縁、地縁、人情等の視点から中国農村部の「個人ネットワーク」を分析し、伝統的社会的な人間関係的なソーシャル・キャピタルの蓄積におけるこれらのネットワークの意味について明らかにしている。更に「行政的アプローチ」と「企業的アプローチ」から農村集団組織のネットワークが拡大する理由について考察するとともに、ソーシャルメディアに基づく政府情報発信と民間世論の形成過程を明らかにしている。

第5章では、中国農村社会の物的、人的資本及びソーシャル・キャピタルをコントロールする「実力者」の分析に力点を置き、ソーシャル・キャピタルの「融合」と「実力者」(キーパーソン)との関係を明らかにしている。人と人、ネットワークとネットワーク、社会資源と社会資源など多様な資源の融合(ソーシャル・キャピタルの「融合」)には、村内での地域活動の受け皿整備、行政・民間による支援、また、地域外の産学官連携体制の仕組みづくりが重要であるが、キーパーソンの存在が、このような官民協力に伴うソーシャル・キャピタルの融合に対して大きい役割を果たしていることを述べている。

最後に、「興十四村」におけるソーシャル・キャピタルの特徴と形成メカニズムのまとめとして、あらためてキーパーソンの重要性とその能力の相違による地域間の経済格差拡大の可能性についても触れている。また、本研究の限界としての一般化の問題が述べられている。「興十四村」と他地域との違いとして、「興十四村」が強い権威性を持つ集団経営モデルを維持したこと、「興十四村モデル」の特徴として、土地所有権や経営権の村民による占有等を挙げている。

**【論文審査の総評】**

本博士論文は、中国におけるある一つの農村を現地調査することで得られた資料等に基づき、中国農村現代化に伴う「三農問題」に対するソーシャル・キャピタルの意義とその形成過程の考察を試みたものである。具体的には、経済的に成功したある一つの地域のソーシャル・キャピタルの実態を、参与観察的な方法を採用しつつ、当該地域における関連組織・施設・スタッフ等から入手した情報をもとに明らかにしたものであると言える。

本博士論文は、次の点で高く評価できる。

第一に、本論文は、中国におけるある一つの農村を現地調査することで得られた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、現地で得られた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、厳密な実証的研究の結果と考察であり、エビデンスに基づき、農村におけるソーシャル・キャピタルの実態及び形成過程とそこにおけるキーパーソンの重要性を示そうとする試みである。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、ある一つの農村におけるソーシャル・キャピタ

ルの現状とその形成過程を明らかにしたものであるが、このような現地調査に基づくソーシャル・キャピタルの形成過程を分析した報告やそこで得られたキーパーソンの重要性という見解を示した報告はない。このような新しいモデルの可能性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、今後の中国農村部におけるソーシャル・キャピタルの重要性とその涵養のためのアプローチに関する示唆を与えるとともに、そのあり方に関する重要で新たな仮説を含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、本研究の成果に関する一般化の問題については、本研究の限界あるいは今後の課題として指摘できる。本研究は、中国のある一つの農村に関する事例研究であり、その結果が必ずしもすべての農村に当てはまるわけではない。本研究の対象となった一つの農村事例をもとに中国全体に当てはまるモデルを構築するためには、さらに多くの実証的研究を行う必要がある。関連して、対象とした農村が特殊なケースではないことを示す資料が十分ではないことも指摘できる。このような事例研究の限界はあるものの、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賈鳳妍氏が、博士(学術)の学位を授与するに十分値するものと認める。