

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 山田千歩

〈学位〉	種類	博士（医学）	論文項目	悪性症候群剖検例における免疫組織化学的研究
	授与番号	博甲医 第421号	論文審査委員	主査 永松信哉
	授与年月日	平成27年4月15日		副査 菅間 博 千葉厚郎 山口芳裕 萬 知子
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

【目的】精神・神経作用薬の使用によって引き起こされる悪性症候群（Neuroleptic Malignant Syndrome：NMS）による急死事例では、法実務上、死因究明のための一般的な解剖検査のみでは診断が困難とされている。本研究では、ストレス蛋白質であるユビキチン（Ubiquitin：Ub）とCa²⁺放出チャネル蛋白質であるリアノジン受容体（Ryanodine Receptor：RyR）に着目し、これらを診断に応用することでNMSの法医診断に有用な指標となり得るか否かについて検討した。

【方法】NMS12例、非NMS15例の各臓器を抗Ub抗体と抗RyR抗体とを用いてそれぞれ免疫組織化学的に染色を行って、その発現を観察・比較した。

【結果】Ubの発現についてNMS例と非NMS例を比較したところ、NMS例の骨格筋においてUb陽性細胞数の割合が有意に高く認められた。また、RyRの発現についてNMS例と非NMS例を比較したところ、NMS例の骨格筋と間脳においてRyR陽性細胞数の割合が有意に高く認められた。

【考察】骨格筋におけるUbの発現は、通常行われるHematoxylin-Eosin（H-E）染色では把握できない骨格筋の変化を観察する手法として有用であると考えられた。一方、RyRはNMS例の骨格筋と間脳で特異的に発現するため、NMSを診断する一つの指標として有用であると考えられた。本研究結果から、骨格筋と間脳でUbとRyR双方についての発現を免疫組織化学的に観察することは、これまで診断に苦慮してきたNMSを法医学的に診断する上での重要な指標の一つとなると考えられた。

論文審査結果の要旨

精神・神経作用薬の使用によって引き起こされる悪性症候群（Neuroleptic Malignant Syndrome：NMS）による急死事例では、法実務上、死因究明のための一般的な解剖検査のみでは診断が困難とされている。本研究では、ストレス蛋白質であるユビキチン（Ubiquitin：Ub）とCa²⁺放出チャネル蛋白質であるリアノジン受容体（Ryanodine Receptor：RyR）に着目し、これらを診断に応用することでNMSの法医診断に有用な指標となり得るか否かについて検討した。

方法は、NMS12例、非NMS15例の各臓器を抗Ub抗体と抗RyR抗体とを用いてそれぞれ免疫組織化学的に染色を行って、その発現強度を観察・比較することによって行った。

その結果、Ubの発現についてNMS例と非NMS例を比較したところ、NMS例の骨格筋においてUb陽性細胞数の割合が有意に

（ $p < 0.01$ ）高く認められた。また、RyRの発現についてNMS例と非NMS例を比較したところ、NMS例の骨格筋と間脳においてRyR陽性細胞数の割合が有意に（骨格筋 $p < 0.01$ 、間脳 $p < 0.05$ ）高く認められた。

以上の結果から、骨格筋におけるUbの発現は、通常行われるHematoxylin-Eosin（HE）染色では把握できない骨格筋の変化を観察する手法として有用であると考えられた。一方、RyRの発現はNMS例の骨格筋と間脳で特異的に発現するため、NMSを診断する一つの指標として有用であると考えられた。このように本研究は、骨格筋と間脳でUbとRyR双方についての発現を免疫組織化学的に観察することが、これまで診断に苦慮してきたNMSを法医学的に診断する上での重要な指標の一つとなる事を示したものであり、学位論文として価値あるものと判断した。

尚、本研究は「杏林大学医学部解剖体倫理小委員会」において承認されている

氏名 竹内弘久

〈学位〉	種類 博士(医学)	論文項目	分化・未分化混在早期胃癌における未分化型混在比率の病理学的半定量測定法の確立とその臨床的意義
	授与番号 博甲医 第422号	論文審査委員	主査 高橋信一
	授与年月日 平成27年5月20日	副査	今泉美佳 井本 滋 川上速人 布川雅雄
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

【背景と目的】組織混在型早期胃癌における分化型癌あるいは未分化型癌の病理学的優勢・非優勢の判断は、病理医の主観的判断に委ねられていることが多く、その客観的な判断指標は確立されていない。また、組織混在型早期胃癌における未分化型癌混在量の違いがもたらす臨床的意義に関しては不明である。本研究の目的は、分化・未分化混在型早期胃癌において、未分化型癌混在比率を定量的に評価可能な病理学的測定法を確立することと、その臨床的意義を明らかにすることにある。

【対象と方法】深達度粘膜内～粘膜下層浅層にとどまる早期胃癌外科切除症例410例を対象とし、以下の検討を行った。検討1：ランダムに抽出した分化・未分化混在型癌12例に対し、未分化型癌が占める面積比率と長径比率を画像解析ソフトImage Jを用いて算出し、両者の相関関係を解析した。検討2：全症例と脈管侵襲陰性症例のROC曲線を作製し、リンパ節転移危険予測から未分化型癌混在率のカットオフ値を決定した。検討3：未分化型癌混在率を含む臨床病理学的因子とリンパ節転移との関連を解析した。

【結果】検討1：未分化型癌が占める面積比率と長径比率は強い相関関係 ($r=0.996$) を有しており、未分化型癌混在比率は、長径比率で代用できることが明らかとなった。検討2：脈管侵襲陰性症例におけるROC曲線のAUCが0.775と有意な結果を認め、未分化型癌混在比率のリンパ節転移危険因子としてのカットオフ値は58% (感度=1, 1-特異度=0.404) であった。検討3多変量解析により、脈管侵襲有り ($p<0.0001$) と未分化型癌混在率 $\geq 58\%$ ($p=0.023$) が、有意なリンパ節転移危険因子として抽出された。深達度粘膜下層浅層までで、脈管侵襲陰性かつ未分化型癌混在率 $< 58\%$ の条件を満たしたものに、リンパ節転移は認めなかった (0/215例)。

【結論】分化・未分化混在型早期胃癌における未分化型癌混在比率は、未分化型癌が占める長径比率をもってその面積比率として代用可能である。深達度が粘膜下層浅層までの早期胃癌において、未分化型癌混在比率は独立したリンパ節転移危険因子であり、その値が58%未満で脈管侵襲陰性であればリンパ節転移は来すことは極めてまれである。以上から、未分化型癌混在比率を検討することは内視鏡的切除後の追加外科切除の適応を決定するうえで極めて臨床的意義が高いと考えられた。

論文審査結果の要旨

最新の胃癌治療ガイドライン (2014年5月改訂第4版, 日本胃癌学会編) によれば「分化型癌と未分化癌が混在する場合は、(量的に) 優勢な組織像に従って分類する」とされているが、どちらの型に属するかは、早期胃癌内視鏡的切除術の適応選択において大変重要な事項となっている。本論文では、①未分化型癌混在比率の定量的測定法の確立、②未分化型癌混在量の違いがもたらす臨床的意義について、癌の深達度が粘膜内から粘膜下層浅層 (粘膜筋板から500 μm 未満) にとどまる早期胃癌外科切除症例410例を対象とし、以下3件の検討を行った。

「検討1」ランダムに抽出した分化・未分化混在型癌12例を対象に、未分化型癌が占める面積比率と長径比率を画像解析ソフトImage Jを用いて算出し、両者の相関関係を解析した。結果、両者には強い相関関係 ($r=0.996$) を認め、未分化型癌混在面積比率は長径比率で代用できることが明らかとなった。

「検討2」未分化型癌混在率 (長径比率) とリンパ節転移の危険閾値を知るため、全症例 (410例) とリンパ節転移の危険因子が最も少ない脈管侵襲陰性症例 (369例) のROC曲線 (receiver operating characteristic analysis curve) を作製し、リンパ節転移危険予測における未分化型癌混在率のカットオフ値を算出した。結果、脈管侵襲陰性症例におけるROC曲線のAUC (area

under curve) は0.775と有意差 (95% CI:0.684-0.865, $P=0.008$) を認め、未分化型癌混在比率のリンパ節転移危険因子としてカットオフ値を58% (感度=1, 1-特異度=0.404) とした。

「検討3」未分化型癌混在率を含む臨床病理学的因子とリンパ節転移との関連について検討した。多変量解析の結果、脈管侵襲有り ($p<0.0001$) と未分化型癌混在率 $\geq 58\%$ ($p=0.023$) が、有意なリンパ節転移危険因子として抽出された。深達度粘膜下層浅層 (粘膜筋板から500 μm 未満) までで、脈管侵襲陰性かつ未分化型癌混在率 $< 58\%$ の条件を満たしたものに、リンパ節転移は認めなかった (0/215例)。

本研究により、①分化・未分化混在型早期胃癌における未分化型癌混在比率は、未分化型癌が占める長径比率をもってその面積比率として代用可能であり、②深達度が粘膜下層浅層 (粘膜筋板から500 μm 未満) までの早期胃癌において、未分化型癌混在比率は独立したリンパ節転移危険因子であり、その値が58%未満で脈管侵襲陰性であればリンパ節転移を来すことは極めてまれであることが明らかとなった。

以上、本研究は未分化型癌混在比率を検討することにより、早期胃癌内視鏡的切除術後のリンパ節転移の可能性により選択される追加外科切除の適応を決定するうえで、極めて高い臨床的意義を示した価値あるものであり、審査の結果、学位論文として相応しいものと認めた。

学位論文要旨および審査要旨

氏名 齋藤 督 芸

〈学位〉	種 類	博士 (医学)	論 文 項 目	虚血再灌流後急性腎障害におけるアバタセプトの抑制効果
	授与番号	博甲医 第423号	論文審査委員	主査 神崎恒一
	授与年月日	平成27年9月30日	副査	森 秀明 北村 修 大西宏明 櫻井裕之
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

【背景】急性腎不全 (acute renal failure : ARF) は入院患者の重要な合併症の一つであり、予後はいまだに不良であるため、病態解明と治療法の開発が急務となっている。最近、ARFに至る前の発症早期の腎障害を含めた急性腎障害 (acute kidney injury : AKI) という概念が定着してきたが、虚血性AKIの発症に、血行動態の変化に伴う血管内皮細胞障害と尿細管障害だけでなく、自然免疫やT細胞などの免疫担当細胞の関与が想定されている。そこで本研究では、T細胞選択的共刺激シグナル阻害薬であるアバタセプトの、虚血性AKIモデルに対する効果とその作用機序を、マウスを用いて検討した。

【方法】8週齢雄C57BL/6Jマウスの一側腎臓を摘出後、対側の腎臓に虚血再灌流を施し、24時間後において、アバタセプトが腎障害に与える影響を調べた (生食投与群、アバタセプト投与群、各n=5)。一側腎臓摘出のみを施した偽手術マウスをコントロール群 (n=5) とした。なお、アバタセプトは虚血再灌流傷害施行前日に腹腔内に投与した。

【結果】アバタセプト投与により、虚血再灌流24時間後における尿中アルブミン濃度 (コントロール群 $7.6 \pm 3.1 \mu\text{g}/\text{mg Cr}$ 、生食投与群 $566 \pm 123 \mu\text{g}/\text{mg Cr}$ 、アバタセプト投与群 $174 \pm 32 \mu\text{g}/\text{mg Cr}$)、血清尿素窒素 (コントロール群 $44.3 \pm 3.3 \text{mg}/\text{dl}$ 、生食投与群 $106 \pm 6.6 \text{mg}/\text{dl}$ 、アバタセプト投与群 $48.5 \pm 7.2 \text{mg}/\text{dl}$)、血清クレアチニン (コントロール群 $0.15 \pm 0.02 \text{mg}/\text{dl}$ 、生食投与群 $0.45 \pm 0.15 \text{mg}/\text{dl}$ 、アバタセプト投与群 $0.17 \pm 0.06 \text{mg}/\text{dl}$) といずれも有意に改善した (生食投与群 vs. アバタセプト投与群間でいずれも $p < 0.01$)。PAS染色による腎組織像で評価した髄質外層の尿細管・間質病変もアバタセプト投与により改善した。さらに、PAI-1 (定量的PCR法とWestern blot法)、MCP-1発現 (定量的PCR法) の低下と炎症細胞浸潤の減少、腎局所におけるアポトーシス細胞数の減少とKIM-1発現の低下 (定量的PCR法とWestern blot法) を確認した。一方、T細胞の浸潤数 (CD3陽性細胞数を計測) には変化がみられなかった。

【考察】アバタセプトの投与により虚血再灌流傷害早期に血管内皮細胞を介する細胞接着や炎症細胞浸潤が低下し、線溶系低下、近位尿細管障害が改善したと考えられる。なお、上記の効果は虚血再灌流24時間後の早期に起こること、T細胞の浸潤数に変化がみられなかったことから、アバタセプトの効果はこれまで報告されている抗原提示細胞からの共刺激シグナル阻害とは異なる機序による可能性が示唆された。

【結論】本研究によりアバタセプトによる虚血性AKI早期病態改善効果とその機序を明らかにすることができた。

論文審査結果の要旨

【背景】急性腎不全 (acute renal failure : ARF) は入院患者の重要な合併症の一つであり、予後はいまだに不良であるため、病態解明と治療法の開発が急務となっている。最近、ARFに至る前の発症早期の腎障害を含めた急性腎障害 (acute kidney injury : AKI) という概念が定着してきたが、虚血性AKIの発症に、血行動態の変化に伴う血管内皮細胞障害と尿細管障害だけでなく、自然免疫やT細胞などの免疫担当細胞の関与が想定されている。そこで本研究では、T細胞選択的共刺激シグナル阻害薬であるアバタセプトの、虚血性AKIモデルに対する効果とその作用機序を、マウスを用いて検討した。

【方法】8週齢雄C57BL/6Jマウスの一側腎臓を摘出後、対側の腎臓に虚血再灌流を施し、24時間後において、アバタセプトが腎障害に与える影響を調べた (生食投与群、アバタセプト投与群、各n=5)。一側腎臓摘出のみを施した偽手術マウスをコントロール群 (n=5) とした。なお、アバタセプトは虚血再灌流傷害施行前日に腹腔内に投与した。

【結果】アバタセプト投与により、虚血再灌流24時間後における尿中アルブミン濃度 (コントロール群 $7.6 \pm 3.1 \mu\text{g}/\text{mg Cr}$ 、生食投与群 $566 \pm 123 \mu\text{g}/\text{mg Cr}$ 、アバタセプト投与群 $174 \pm 32 \mu\text{g}/\text{mg Cr}$)、血清尿素窒素 (コントロール群 $44.3 \pm 3.3 \text{mg}/\text{dl}$ 、生食投与群 $106 \pm 6.6 \text{mg}/\text{dl}$ 、アバタセプト投与群 $48.5 \pm 7.2 \text{mg}/\text{dl}$)、血清クレアチニン (コントロール群 $0.15 \pm 0.02 \text{mg}/\text{dl}$ 、生食投与群 0.45

$\pm 0.15 \text{mg}/\text{dl}$ 、アバタセプト投与群 $0.17 \pm 0.06 \text{mg}/\text{dl}$) といずれも有意に改善した (生食投与群 vs. アバタセプト投与群間でいずれも $p < 0.01$)。PAS染色による腎組織像で評価した髄質外層の尿細管・間質病変もアバタセプト投与により改善した。さらに、PAI-1 (PCR法とWestern blot法)、MCP-1発現 (PCR法) の低下と炎症細胞浸潤の減少、腎局所におけるアポトーシス細胞数の減少とKIM-1発現の低下 (PCR法とWestern blot法) を確認した。一方、T細胞の浸潤数 (400倍視野下において、重複しない10視野で髄質外層におけるCD3陽性細胞数を測定) には変化がみられなかった。

【考察】アバタセプトの投与により虚血再灌流傷害早期に血管内皮細胞を介する細胞接着や炎症細胞浸潤が低下し、線溶系低下、近位尿細管障害が改善したと考えられる。なお、上記の効果は虚血再灌流24時間後の早期に起こること、T細胞の浸潤数に変化がみられなかったことから、アバタセプトの効果はこれまで報告されている抗原提示細胞からの共刺激シグナル阻害とは異なる機序による可能性が示唆された。

【結論】本研究によりアバタセプトによる虚血性AKI早期病態改善効果とその機序を明らかにすることができた。

本研究は発症早期の虚血性AKIに対するアバタセプトによる効果を示した論文であり、今後の発展性を含めて臨床的に意味のある内容であると考えられる。以上審査の結果、本論文は学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 松本吉史

〈学位〉	種類	博士 (医学)	論文項目	Cetuximab inhibits migration, invasion and metastasis but not proliferation via GEP100-Arf6-AMAP1 pathway in squamous cell carcinoma of the head and neck. (セツキシマブは頭頸部扁平上皮癌の増殖は抑制せず, GEP100-Arf6-AMAP1経路を介して遊走・浸潤・転移を抑制する)
	授与番号	博甲医 第424号		
	授与年月日	平成27年9月30日		
	授与の要件	学位規程第5条		
	論文審査委員	主査 近藤晴彦 副査 今泉美佳 大倉康男 杉山政則 永根基雄		

学位論文の要旨

【背景】 上皮増殖因子受容体 (EGFR) のモノクローナル抗体、セツキシマブ (Cmab) を頭頸部扁平上皮癌 (SCCHN) の化学療法や放射線治療に加えることで生存率の上昇を認めることは、臨床試験において明らかにされている。しかし、Cmabがどのような機序でSCCHNに対して有効であるかは、未だ明確にされていない。Cmab単剤では臨床とin vitroの研究において、抗腫瘍効果は不十分であると報告されていることから、CmabはSCCHNに対して、増殖抑制以外の、遊走、浸潤、転移抑制効果で影響を及ぼしている可能性を考え、SCCHN細胞株を用いてin vitro, in vivoにて検討した。また乳癌において、EGFR-GEP100-Arf6-AMAP1経路が浸潤、転移に関与することが報告されており、近年SCCHNにおいても術後の予後予測因子であることが報告されている。CmabがEGFR-GEP100-Arf6-AMAP1経路に与える影響についても検討した。

【材料・方法】 HEP-2, Ca9-22, BICR6, HSC-3-M3という4つのSCCHN細胞株を用いて、Cmabの増殖、遊走、浸潤抑制効果を検討した。その結果、最もCmabの遊走、浸潤抑制効果がみられたBICR6について、EGFR下流のシグナル伝達への影響と上皮間葉転換 (EMT) への影響を検討した。また、HSC-3-M3以外の細胞株はヌードマウスへの着生が困難であったことから、HSC-3-M3細胞株のみを用いてXenograft modelを作成し、Cmabの転移抑制効果を検討した。

結果：4つの細胞株全てにおいて、Cmabによる増殖抑制効果はみられなかったが、遊走、浸潤を有意に抑制した。BICR6において、Cmabは上皮系マーカーであるE-カドヘリンの発現を上昇させ、間葉系マーカーであるN-カドヘリンと膜1型-マトリックスメタロプロテアーゼ (MT1-MMP) の発現を抑制した。このことは、CmabがEMTを抑制したことを意味している。また、CmabはEGFRのチロシン残基1086のリン酸化とArf6活性、GEP100とAMAP1の発現を抑制した。よってCmab投与によってEGFR-GEP100-Arf6-AMAP1経路の活性抑制が確認できた。HSC-3-M3細胞株を用いたXenograft modelにおいては、Cmabは頸部リンパ節転移を有意に抑制した。

【考察】 CmabはSCCHNに対して、増殖抑制効果ではなく浸潤・転移抑制効果が主に作用している可能性が示唆された。SCCHNにEMTが生じることで、局所浸潤、遠隔転移の活性化や薬剤耐性能が獲得されることが知られている。CmabのEMT抑制効果は、浸潤、転移抑制効果の根幹をなしている、Cmab投与によってSCCHNの抗腫瘍剤に対する薬剤耐性が解除されている可能性も考えられる。放射線照射や他の抗腫瘍剤との併用でCmabがSCCHNに有効である理由として、これらの作用がその機序である可能性が示唆された。これらの効果は、CmabがEGFR-GEP100-Arf6-AMAP1経路を抑制したことによると考えられる。結論：Cmabの臨床試験における良好な成績は、増殖抑制効果によらず、EGFR-GEP100-Arf6-AMAP1経路を介したCmabの局所浸潤、転移、EMT抑制効果に起因する可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

上皮増殖因子受容体 (EGFR) のモノクローナル抗体、セツキシマブ (Cmab) は、頭頸部扁平上皮癌 (SCCHN) において、化学療法や放射線治療に加えることで生存率の上昇を認めるが、Cmab単剤での抗腫瘍効果は不十分であると報告されており、その作用機序は未だ明確にされていない。本研究は、CmabがSCCHNに対して増殖抑制以外の、遊走、浸潤、転移抑制効果で影響している可能性を考え、それをSCCHN細胞株を用いたin vitro, in vivoの複数の実験にて検討したものである。特に、乳癌で浸潤、転移に関与することが報告されているEGFR-GEP100-Arf6-AMAP1経路におけるCmabの影響についても検討している。

各実験の概略は以下のとおりである：

- ① HEP-2, Ca9-22, BICR6, HSC-3-M3というEGFRを高発現している4つのSCCHN細胞株全てにおいて、Cmabによる増殖抑制効果はみられなかったが、遊走、浸潤を有意に抑制したことを示した。
- ② BICR6 (①の抑制効果が最も強い株) について、Cmabは、

上皮系マーカーであるE-カドヘリンの発現を有意に上昇させ、間葉系マーカーであるN-カドヘリンと膜1型-マトリックスメタロプロテアーゼ (MT1-MMP) の発現を有意に抑制し、Cmabが上皮間葉転換 (EMT) を抑制したことを示した。

- ③ HSC-3-M3細胞株を用いてxenograft modelを作成し、Cmabが頸部リンパ節転移を有意に抑制したことを示した。

- ④ BICR6において、Cmabが、EGFRのチロシン残基1086のリン酸化とArf6活性、GEP100とAMAP1の発現を有意に抑制することを示し、CmabによるEGFR-GEP100-Arf6-AMAP1経路の活性抑制を確認した。

SCCHNにおいてEMTが生じることで、局所浸潤、遠隔転移の活性化や薬剤耐性能が獲得されることが知られているが、本研究での一連の実験の結果から、Cmabの臨床における良好な成績は、増殖抑制効果によるものではなく、EGFR-GEP100-Arf6-AMAP1経路を介したCmabのEMT抑制効果、局所浸潤・転移抑制効果に起因するものである可能性が示された。

審査の結果、本研究は、学位論文として価値あるものであると考えられた。

学位論文要旨および審査要旨

氏名 大 槻 英 男

〈学位〉	種 類	博士 (医学)	論 文 項 目	Prostate cancer cells in different androgen receptor status employ different leucine transporters (前立腺癌におけるアンドロゲン依存性とロイシン輸送トランスポータの変化)
	授与番号	博甲医 第425号		
	授与年月日	平成27年9月30日		
	授与の要件	学位規程第5条	論文審査委員	主査 奴田原紀久雄 副査 古瀬純司 大倉康男 秋元義弘 副島京子

学位論文の要旨

分岐鎖アミノ酸ロイシンは、mTORC1経路を刺激して細胞増殖を促進することから、ロイシンの細胞内取り込みを担うトランスポータの阻害は癌の新たな治療戦略となりうる。本研究の目的は、前立腺癌の進行とともに変化するアンドロゲン依存性とロイシン輸送トランスポータ発現との関連を明らかにすることである。

治療前のホルモン感受性前立腺癌 (ADPC) のモデルとしてLNCaP細胞株を用い、転移してホルモン感受性を喪失した去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) のモデルとしてDU145とPC3細胞株を用いた。ホルモン療法後に成立する早期のCRPCのモデルとして、LNCaP細胞株をアンドロゲン除去下で6か月以上培養して、増殖能を有するABL細胞株を樹立した。ABL細胞ではアンドロゲン受容体の発現上昇が確認され、臨床におけるCRPCに近い性質をもち、癌のステージとしてLNCaPとDU145の間に位置すると考えられる。これらの細胞株でロイシンを基質とするトランスポータである、Na依存性の y^+ LATとNa非依存性のLATの発現を定量PCR法と免疫染色により評価した。さらに、放射性標識ロイシンの取り込みを、LAT全般の阻害薬BCHやLAT1特異的阻害薬JPH203の存在および非存在下で調べ、同阻害薬の細胞増殖への影響をMTTアッセイにより評価した。

LNCaPでは主としてLAT3が発現し、BCHによりロイシン取り込みと細胞増殖が抑制されたものの (IC50_{BCH}: 15mM)、JPH203によっては阻害されなかった。一方DU145及びPC-3ではLAT3の発現は認められず、LAT1が高発現した。さらに、ロイシン取り込みと細胞増殖はBCHでもJPH203でも阻害された (DU145: IC50_{BCH}: 20mM, IC50_{JPH203}: 7 μ M, PC3: IC50_{BCH}: 20mM, IC50_{JPH203}: 2 μ M)。その中間に位置すると考えられるABLでは、LAT1及びLAT3ともに発現が低下し、Na依存性のロイシン取り込みが、Na非依存性のその7.5倍と著増し、 y^+ LAT2のmRNAの上昇が見られた。 y^+ LAT2の発現増加は免疫染色でも確認された。

LNCaPのロイシン取り込みがLAT3、DU145とPC3のそれがLAT1に依存することは先行研究と一致する。しかしアンドロゲン受容体発現の上昇した早期CRPC (ABL) 細胞ではそのいずれでもなく、Na依存性の y^+ LATファミリーによる可能性を示したことは新発見であり、臨床サンプルによる検証が望まれる。本研究から、前立腺癌のホルモン感受性あるいは進行度に応じてロイシンの取り込み機序が異なることが示唆され、増殖の抑制には、個々の癌に応じたロイシントランスポータ阻害薬が必要であると考えられる。

論文審査結果の要旨

分岐鎖アミノ酸ロイシンはmTORC1経路を刺激して細胞増殖を促進するため、ロイシンの細胞内取り込みを担うトランスポータの阻害は癌の新たな治療戦略となりうる。本研究では前立腺癌の進行とともに変化するアンドロゲン依存性とロイシン輸送トランスポータ発現との関連を明らかにすることを目的とした。

治療前のホルモン感受性前立腺癌 (ADPC) のモデルとしてLNCaP細胞株を用い、転移してホルモン感受性を喪失した去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) のモデルとしてDU145とPC-3細胞株を用いた。ホルモン療法後に成立する早期のCRPCのモデルとして、LNCaP細胞株をアンドロゲン除去下で6か月以上培養して、増殖能を有するABL細胞株を樹立した。ABL細胞ではLNCaP細胞よりアンドロゲン受容体が高発現し、臨床におけるCRPCに近い性質をもち、癌のステージとしてLNCaPとDU145の間に位置すると考えられた。これらの細胞株でロイシンを基質とするトランスポータである、Na依存性の y^+ LATとNa非依存性のLATの発現を定量PCR法と免疫染色により評価した。さらに、放射性標識ロイシンの取り込みを、LAT全般の阻害薬BCHやLAT1特異的阻害薬JPH203の存在および非存在下で調べ、同阻害薬の

細胞増殖への影響をMTTアッセイにより評価した。

LNCaPでは主としてLAT3が発現し、BCHによりロイシン取り込みと細胞増殖が抑制されたものの、JPH203によっては阻害されなかった。一方DU145及びPC-3ではLAT3の発現は認められず、LAT1が高発現した。さらに、ロイシン取り込みと細胞増殖はBCHでもJPH203でも阻害された。その中間に位置すると考えられるABLでは、LAT1及びLAT3ともに発現が低下し、Na依存性のロイシン取り込みが、Na非依存性のその7.5倍と著増し、 y^+ LAT2のmRNAの上昇が見られた。 y^+ LAT2が高発現することは免疫染色でも確認された。

LNCaPのロイシン取り込みがLAT3、DU145とPC-3のそれがLAT1に依存することは先行研究と一致する。しかしアンドロゲン受容体発現が増加した早期CRPC (ABL) 細胞ではそのいずれでもなく、Na依存性の y^+ LATファミリーによる可能性を示したことは新発見であり、臨床サンプルによる検証が望まれる。本研究から、前立腺癌のホルモン感受性あるいは進行度に応じてロイシンの取り込み機序が異なることが示唆され、今後去勢抵抗性前立腺癌に対する創薬につながる可能性がある意義深い研究と考えられた。以上審査の結果、本論文は学位論文として価値のあるものと認めた。

氏名 田 中 政 道

〈学位〉	種 類	博士 (医学)	論 文 項 目	杏林大学病院高齢診療科、もの忘れセンターに通院中の患者におけるサルコペニアの実態調査ならびに転倒との関連についての検討
	授与番号	博甲医 第426号	論文審査委員	主査 平野照之 副査 多久嶋亮彦 後藤田貴也 荻田香苗 齋藤康一郎
	授与年月日	平成27年9月30日		
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

【目的】加齢や疾患等に伴う筋量、筋力、身体機能の低下をサルコペニアと呼び、2010年にEuropean Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) はサルコペニアの判定基準を提示した。今回われわれは外来通院患者におけるサルコペニアの実態調査を行い、過去の転倒歴とサルコペニア、またこの判定3要因との関係について解析を行った。

方法：65歳以上の外来通院患者283名（男性115名、女性168名）を対象とし、EWGSOPの基準を用いてサルコペニアを判定した。カットオフ値は補正四肢筋量（BIA法）で男性8.87kg/m²、女性7.00kg/m²、握力で男性30kg、女性20kg、歩行速度で0.8m/s以下とした。その他併存疾患、血液検査、高齢者総合機能評価（CGA）項目、下腿・上腕周囲長、転倒関連項目を測定し、サルコペニアと転倒との関連について解析した。

【結果】サルコペニアと判定されたのは男性70名（60.9%）、女性88名（52.4%）であった。男性サルコペニア群では年齢が高い傾向にあり（ $p=0.054$ ）、体重・BMIは低く（ $p<0.01$ ）、認知症の頻度が高かった（ $p=0.023$ ）。女性サルコペニア群では体重・BMIが低く（ $p<0.01$ ）、高脂血症の頻度が低かった（ $p=0.021$ ）。年齢別にみたサルコペニアの頻度、低筋量者の割合は、男性では79歳まで年齢とともに増加し80歳以降は横ばいとなり、女性では80歳以降も緩徐に増加した。低握力者、低歩行速度者の割合は、男女とも年齢に伴い緩徐に増加した。サルコペニアの判定要因のひとつである補正四肢筋量は、男女ともに歩行速度、転倒関連項目と関連は認められず、一方、握力と歩行速度は互いに相関があり、双方とも転倒関連項目と相関を示した。過去1年間に転倒した対象者は91名（32.2%）で、サルコペニア判定と補正四肢筋量は転倒/非転倒群間で有意差は認めなかったが、握力と歩行速度は転倒群で低かった（ $p<0.02$ ）。多重ロジスティック解析の結果、男性で握力が弱いこと、女性で歩行速度が遅いことと糖尿病を有することが転倒のリスク要因であった。

【結論】杏林大学病院高齢診療科、もの忘れセンターに通院している患者のサルコペニアの頻度は先行研究と比較して高かった。ただし、この結果にはBIA法で筋量のカットオフ値が定まっていないという問題があり、解釈に注意が必要である。サルコペニア判定と転倒歴に有意な関連性は認めなかったが、判定に用いる3要因を男女別に解析した結果、男性で握力低下、女性で歩行速度低下が転倒歴と有意な関連を有していた。サルコペニアを転倒の一要因と考える場合、対象集団によって、またサルコペニアの判定だけでなく筋力や歩行機能にも着目する必要があると考えられる。

論文審査結果の要旨

サルコペニアとは加齢や疾患等に伴う骨格筋量、筋力、身体機能の低下を指し、高齢者の健康寿命を規定する有用な指標とされている。本研究では、杏林大学病院高齢診療科・もの忘れセンター外来におけるサルコペニアの実態調査を行った。さらに、過去の転倒歴に注目し、サルコペニアの有無、またその判定3要因（①補正四肢筋量、②握力、③歩行速度）との関係について解析を行った。

対象は65歳以上の通院患者283名（男性115名、女性168名）である。サルコペニアの判定は2010年のEuropean Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) 基準に従い、各カットオフ値は、①補正四肢筋量（BIA法）：男性8.87kg/m²以下、女性7.00kg/m²以下（DXA法による先行研究のカットオフ値をBIA法に換算）、②握力：男性30 kg以下、女性20 kg以下、③歩行速度：0.8 m/s以下とした。その他、併存疾患、血液検査、高齢者総合機能評価（CGA）項目、下腿・上腕周囲長、転倒関連項目を測定し、サルコペニアと転倒との関連について解析した。

男性70名（60.9%）、女性88名（52.4%）がサルコペニアと判

定され、これは一般地域住民を対象とした先行研究（男性13.7%、女性15.5%）より高頻度であった。男性サルコペニア群は年齢が高い傾向にあり（ $p=0.054$ ）、体重・BMIは低く（ $p<0.01$ ）、認知症の頻度が高かった（ $p=0.023$ ）。女性サルコペニア群は体重・BMIが低く（ $p<0.01$ ）、高脂血症の頻度が低かった（ $p=0.021$ ）。過去1年間に転倒した対象者は91名（32.2%）で、サルコペニア判定と補正四肢筋量は転倒/非転倒群間で有意差を認めなかったが、転倒群では握力が弱く歩行速度が遅かった（ $p<0.02$ ）。多重ロジスティック解析の結果、男性で握力が弱い（オッズ比0.88、95%信頼区間：0.81-0.96）、女性で歩行速度が遅い（同0.05、0.01-0.33）、糖尿病を有する（同3.19、1.0-10.2）ことが転倒リスクの関連因子として示された。

以上、本研究は外来通院患者におけるサルコペニアの頻度を明らかにするとともに、転倒とサルコペニア、およびその判定3要因との関係を明らかにした。サルコペニアを転倒の一要因と考える場合、対象集団によって、またサルコペニアの判定だけでなく、筋力や歩行機能にも着目する必要があることを示した。超高齢社会を迎えたわが国において臨床的に重要な知見であり、審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

学位論文要旨および審査要旨

氏名 堀渕（松壽）志穂里

〈学位〉	種 類	博士（医学）	論文項目	Cell-permeable intrinsic cellular inhibitors of apoptosis protect and rescue intestinal epithelial cells from radiation-induced cell death. (放射線照射後に誘発される小腸上皮細胞死を抑制するための、細胞膜透過型細胞内アポトーシス抑制因子の開発)
	授与番号	博乙医 第571号	論文審査委員	主査 高山 誠 副査 赤川公朗 高橋信一 似鳥俊明 谷口善仁
	授与年月日	平成27年5月20日		
	授与の要件	学位規程第6条		

学位論文の要旨

高線量放射線被ばく後に生じる腸管障害の機序として、腸管細胞のアポトーシスが重要な要因の一つである。ヒトなどでは、細胞内に備わっているアポトーシス抑制タンパク質（inhibitor of apoptosis proteins；IAPs）であるX-linked inhibitor of apoptosis（XIAP）やcellular IAP2（cIAP2）が、直接的あるいは間接的にアポトーシス実行因子であるカスパーゼを阻害することにより、DNA損傷など種々の刺激によるアポトーシスの誘導を阻害する。そこで、本研究では、アポトーシスの誘導を阻害することによって放射線被ばく後に生じる腸管障害を抑制することを目的として、IAPsを利用したタンパク質薬剤の開発研究を行った。IAPsを細胞内に容易に導入させるために、HIV-1のTATタンパク質由来の細胞膜透過シグナル配列（PTD）を付加したXIAP（全長、BIR2ドメイン、BIR3-RINGドメイン、安定化のためにタンパク質分解に関わる自己ユビキチン化部位に変異を導入したBIR3-RINGドメイン）、およびcIAP2の発現プラスミドを作成し、細胞膜透過型に設計したこれらの遺伝子組換えタンパク質を大腸菌で発現精製した。これらのタンパク質は、自己ユビキチン化もしくはカスパーゼ-3/-7/-9を阻害する生物学的活性を有することが示された。免疫蛍光抗体法等により、TATを付加したIAPs（IAPs-TAT）が、ラット小腸上皮細胞株（IEC6）へ添加後に細胞内へ移行することを確認した。これらのタンパク質を、 γ 線（10Gy、20Gy）照射2時間前あるいは30分後にIEC6細胞に添加し、照射16時間後のアポトーシスを測定した。その結果、細胞内への透過速度が低いcIAP2-TATは照射前の投与でのみアポトーシスを抑制したが、他のIAPsは照射前投与のみならず照射後投与でもアポトーシスを抑制した。特に、TATを付加したBIR2とBIR3-RINGドメインタンパク質は、全長型よりも、高いアポトーシス抑制効果を示した。このように、本研究は、細胞膜透過シグナル配列を利用したアポトーシス抑制タンパク質の輸送システムが、放射線照射前に投与する防護剤としての役割だけでなく、照射後に投与しても有効な放射線誘発性腸管障害に対する治療薬となり得る可能性を示した。

論文審査結果の要旨

高線量放射線被ばく後に生じる腸管障害の機序として、腸管細胞のアポトーシスが重要な要因の一つである。ヒトなどでは、細胞内に備わっているアポトーシス抑制タンパク質（inhibitor of apoptosis proteins；IAPs）であるX-linked inhibitor of apoptosis（XIAP）やcellular IAP2（cIAP2）が、直接的あるいは間接的にアポトーシス実行因子であるカスパーゼを阻害することにより、DNA損傷など種々の刺激によるアポトーシスの誘導を阻害する。そこで、本研究では、アポトーシスの誘導を阻害することによって放射線被ばく後に生じる腸管障害を抑制することを目的として、IAPsを利用したタンパク質薬剤の開発研究を行った。IAPsを細胞内に容易に導入させるために、HIV-1のTATタンパク質由来の細胞膜透過シグナル配列（PTD）を付加したXIAP（全長、BIR2ドメイン、BIR3-RINGドメイン、安定化のためにタンパク質分解に関わる自己ユビキチン化部位に変異を導入したBIR3-RINGドメイン）、およびcIAP2の発現プラスミドを作成し、細胞膜透過型に設計したこれらの遺伝子組換えタンパク質を大腸菌

で発現精製した。これらのタンパク質は、自己ユビキチン化やカスパーゼ-3/-7/-9を阻害する生物学的活性を有することが示された。免疫蛍光抗体法等により、TATを付加したIAPs（IAPs-TAT）が、ラット小腸上皮細胞株（IEC6）へ添加後に細胞内へ移行することを確認した。これらのタンパク質を、 γ 線（10Gy、20Gy）照射2時間前あるいは30分後にIEC6細胞に添加し、照射16時間後のアポトーシスを測定した。その結果、細胞内への透過速度が低いcIAP2-TATは照射前の投与でのみアポトーシスを抑制したが、他のIAPsは照射前投与のみならず照射後投与でもアポトーシスを抑制した。特に、TATを付加したBIR2とBIR3-RINGドメインタンパク質は、全長型よりも、高いアポトーシス抑制効果を示した。このように、本研究は、細胞膜透過シグナル配列を利用したアポトーシス抑制タンパク質の輸送システムが、放射線照射前に投与する防護剤としての役割だけでなく、照射後に投与しても有効な放射線誘発性腸管障害に対する治療薬となり得る可能性を示したものであり、学位論文として価値のあるものと判断した。

氏名 廣 田 和 成

〈学位〉	種 類	博士 (医学)	論文項目	Comparisons of microRNA expression profiles in vitreous humor between eyes with macular hole and eyes with proliferative diabetic retinopathy. (黄斑円孔と増殖糖尿病網膜症の硝子体中のmicroRNA発現様式の比較)
	授与番号	博乙医 第572号		
	授与年月日	平成27年6月17日		
	授与の要件	学位規程第6条		
			論文審査委員	主査 永松信哉 副査 狩野葉子 永根基雄 谷口善仁 岡本 晋

学位論文の要旨

【目的】近年、non-coding RNAの一種であるmicroRNA (miRNA) がmRNAの発現を制御することで発生や分化などの生理作用、癌の発生・進展、血管新生などの病態に関与することが報告されている。本研究では血管新生と線維血管増殖膜の形成が病態の本体である増殖糖尿病網膜症 (proliferative diabetic retinopathy : PDR) の病態解明を目的にPDRにおけるmiRNAの関与について検討するため、非増殖性疾患である黄斑円孔 (macular hole : MH) とPDRの眼内液 (硝子体) 中に発現しているmiRNAの発現プロファイルについて比較検討を行った。

【方法】MH患者4例とPDR患者4例から術前、および術中に血清及び硝子体を採取し、それらの検体についてPCR Panel法によって168種類のmiRNAに関して発現解析を行った。

また新規に採取したMH患者4例、PDR患者4例の硝子体中のvascular endothelial growth factor (VEGF)-Aの濃度および血管新生抑制作用を有するmiRNAの1種であるhsa-miR-16の発現量を測定しその相関関係について検討を行った。

【結果】硝子体中のmiRNAの平均発現数はMHで63種類 (55-69)、PDRで86種類 (65-117) であったが、両群間で有意差は認められなかった。解析した168種類のmiRNA中、26種類のmiRNAがMHとPDRの硝子体中に共通して発現しており、26種類中6種類のmiRNAがMHに比較してPDRの眼内 (硝子体) で発現の亢進がみられ、その中の5種類 (miRNA-15a, miRNA-320a, miRNA-320b, miRNA-93, miRNA-29a) が血管新生の抑制に作用するmiRNAであった。硝子体中VEGF-A濃度はPDR患者において有意にMH患者より高値を示した。Hsa-miR-16については、有意差はなかったもののPDR患者の硝子体中において高い傾向を示した ($p=0.09$)。硝子体中のVEGF-A濃度とhsa-miR-16の発現量の間には正の相関がみられた。

【考察】本研究において血管新生の制御に関与するmiRNAの発現がPDRの硝子体中で亢進していることが確認され、PDRの病態形成に関与している可能性が考えられた。

論文審査結果の要旨

近年、non-coding RNAの一種であるmicroRNA (miRNA) がmRNAの発現を制御することによって、発生や分化などの生理作用、癌の発生・進展、血管新生などの病態に影響を与えることが明らかとなってきた。そこで、本研究では、血管新生と線維血管増殖膜の形成が病態の本体と考えられる増殖糖尿病網膜症 (proliferative diabetic retinopathy : PDR) におけるmiRNAの関与を調べることを目的として、非増殖性疾患である黄斑円孔 (macular hole : MH) をコントロール対象として用い、PDRの硝子体中に発現しているmiRNAの発現プロファイリングを行った。

MH患者4例とPDR患者4例から術中に血清及び硝子体を採取し、それらの検体を用いてPCR Panel法を行い、168種類のmiRNAの発現解析並びにそれらの発現量 (dCt値) を測定した。更に、上記患者とは別途に新たにMH患者4例、PDR患者4例の硝子体を採取し、vascular endothelial growth factor (VEGF)-Aの濃度、及びVEGFの合成に影響を及ぼすことが知られているhsa-miR-16の発現量を測定し、それらの相関関係について検討

した。その結果、硝子体中のmiRNAの平均発現数はMHでは63種類、PDRでは86種類であり、両群間において発現数に差は認められなかった。それら発現しているmiRNAのうち26種類のmiRNAがMHとPDRの硝子体において共通に発現しており、26種類中6種類のmiRNAがPDRの硝子体において発現が亢進していた ($P<0.05$)。更にそれら6種類中5種類のmiRNA (15a, 320a, 320b, 93, 29a) は血管新生の抑制に作用することが知られているmiRNAであった。一方、PDR患者の硝子体中のVEGF-A濃度は高値を示し ($P<0.001$)、hsa-miR-16の発現量とVEGF-A濃度とは正の相関がみられたが、hsa-miR-16の発現量には両群間にて有意差は認められなかった。

本研究は、ヒト増殖糖尿病網膜症の硝子体を用いてmiRNAの発現を調べた最初の報告である。miRNAは生体内の複数の遺伝子を標的に、その発現レベルやタンパク翻訳レベルを制御できることから、将来的に眼科医療においてmiRNAを用いた治療の可能性を示したものであり、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

氏名 中村 健大

〈学位〉	種類	博士(医学)	論文項目	頭頸部早期癌におけるICG蛍光法による新しいセンチネルリンパ節同定法の開発とその有用性に関する検討
	授与番号	博乙医 第573号	論文審査委員	主査 井本 滋
	授与年月日	平成27年6月17日	副査	大倉康男 木崎節子 正木忠彦 平野浩一
	授与の要件	学位規程第6条		

学位論文の要旨

頭頸部扁平上皮癌において頸部リンパ節転移は最も重要な予後因子であり、頸部リンパ節転移の有無を正確に診断し適切に治療する事が患者の予後改善につながる。頸部郭清術の要否を症例ごとに正確に判断することを目的として頭頸部癌におけるセンチネルリンパ節(SLN)生検の研究を行った。

従来法として色素法、RI法、それらの併用法が用いられてきたが、様々な欠点も指摘されている。これらの欠点を克服するために、インドシアニングリーン(ICG)が近赤外線照射によって蛍光する特性を用いた新しい方法であるICG蛍光法に我々は着目し基礎的な実験およびその結果をふまえた臨床試験を行った。

基礎実験としてウサギ4羽、ブタ6頭の口腔・咽喉頭にICGとインジゴカルミンの混合液を注入し色素法とICG蛍光法によるSLN生検を行った。ウサギではICG蛍光法で近赤外線照射により経皮的に皮下のリンパ節を同定でき、 1 ± 0 個と色素法と同様の結果が得られた。ブタにおいては経皮的にSLNは同定できなかったが頸部皮膚挙上後は 1.75 ± 0.33 個と色素法の 1.25 ± 0.25 個を上回る平均個数のSLNを同定できた。以上から皮下脂肪の厚さが感度を低下させたが色素法に遜色ないSLNが同定でき、ICG蛍光法の有用性を確認できた。

この基礎実験をふまえ、臨床応用として早期口腔・咽頭癌患者19例にRI法、ICG蛍光法、両者の併用法のSLN生検を行った。全症例でSLNが同定できた。平均観察期間は38.5ヶ月であった。RI法を13例に施行し計26個のSLNが同定できた。ICG蛍光法を2例に施行し計3個のSLNを同定する事ができた。併用法を4例に施行し計12個同定でき、その中でICG蛍光法でのみ同定できたSLNが7個あった。19例中3例に転移を認め頸部郭清術が施行されている。またRI法を施行した中の1例は後発転移を認め、後に頸部郭清術を施行したがその後再発なく生存している。ICG蛍光法または併用法の同定時間は 19.8 ± 12.6 分でありRI法では 30.6 ± 11.6 分でありICG蛍光法を含む方法では同定時間が短縮できる傾向が認められた。診断精度と偽陰性率は100% (19/19)と5.3% (1/19)であった。

RI単独法に比べICG蛍光法を併用した場合、SLNの同定率を向上させリアルタイムかつ経皮的な同定が可能な事から患者への負担の軽減、また同定時間の短縮をもたらした。

以上よりICG蛍光法により従来法に変わる新たなSLN生検法の確立が示唆された。近年増加している咽頭表在癌などの経口腔切除時の頸部リンパ節処理に使用できる有効な方法である事が示唆された。

論文審査結果の要旨

【背景】頭頸部扁平上皮癌において頸部リンパ節転移は重要な予後因子である。頸部リンパ節転移の有無を正確に診断し、適切に治療する事は予後を改善する。しかし、頸部リンパ節郭清(郭清)に伴う整容性の低下や機能障害から、“wait and see policy”に基づく非郭清も提唱されている。近年、リンパ節転移を正確に診断する方法として、センチネルリンパ節(SLN)生検が行われている。乳癌、悪性黒色腫では、標準手技として確立しているが、頭頸部癌では試みの段階にある。センチネルリンパ節の同定は、色素あるいはradioisotope(RI)で行われているが、インドシアニングリーン(ICG)投与下での近赤外線照射による蛍光特性に着目し、ICG蛍光法によるセンチネルリンパ節生検について基礎的検討を進めてきた(Ann Surg Oncol, 18, 2011)。

【目的】頭頸部早期癌におけるICG蛍光法によるSLN生検の有用性を検討する。

【対象と方法】早期口腔・咽頭癌患者に対し、RI法、ICG蛍光法、両者の併用法によるSLN生検を行った。RIは術前日にフチン酸Tc-99mを腫瘍周囲の粘膜下に投与し、術当日ガンマプローブにて同定した。ICGは希釈水で2.5mg/mlに調整し、全身麻酔下で術中に投与し、HEMS(HyperEye Medical System, ミズホ株式会社)にて視覚的に同定した。ICG蛍光法によるSLNの同定数、同定までの時間をRI法と比較検討した。同定されたSLNは、術中迅速病理診断にて転移の有無を診断し、転移陽性の場合には郭清

を行った。なお、本研究は臨床疫学研究審査委員会にて承認され、十分な説明と同意の下に行われた。

【結果】19例に施行した(平均年齢63歳,男女比15対4)。内訳は、RI法単独を13例に、ICG蛍光法単独を2例、併用法を4例であった。その結果、全例でSLNが同定された。詳細は、RI法によるSLN同定は94%(17例中16例)であり、ICG蛍光法では100%(6例中6例)であった。ICG蛍光法によるSLNの平均同定時間は20分で、RI法では31分であった。SLNの同定数(平均値)は、RI法で16例中26個(1.6個)、ICG蛍光法で2例中3個(1.5個)、併用法で4例中12個(3個)であった。術中SLN転移陽性であった2例で郭清が施行された。RI法でSLN転移陰性であった1例は、術後にリンパ節再発を認め郭清されたが、観察期間の中央値38ヶ月で全例再発を認めていない(Anticancer Res. 35: 1669-74, 2015)。

【考察】ICG蛍光法は術前にRI投与が困難な部位(下咽頭)でのセンチネルリンパ節生検が可能であり、SLNの同定時間も短い傾向にあった。一方、ICG蛍光法は、その粒子径からSLNの下流の2次リンパ節をSLNとして同定する可能性があること、厚い皮下脂肪による視認性の低下からSLNの同定が困難であることなど課題もある。

以上から、頭頸部早期癌におけるセンチネルリンパ節生検の有用性が示された。本研究は、ICG蛍光法による新たなセンチネルリンパ節生検の同定法に関する研究として臨床的に意義を認め、学位論文として相応しい内容であると考えられた。

氏名 中村 健二

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	The usefulness and safety of carbon dioxide insufflations during endoscopic retrograde cholangiopancreatography in elderly patients: a prospective, double-blind, randomized, controlled trial.
	授与番号 博乙医 第574号		(高齢者に対する内視鏡的逆行性膵胆管造影検査における二酸化炭素送気の有用性と安全性の二重盲検無作為化比較試験)
	授与年月日 平成27年9月16日		
	授与の要件 学位規程第6条		
		論文審査委員	主査 森 俊幸 副査 古瀬純司 松村讓兒 神崎恒一 赤川公朗

学位論文の要旨

近年の消化器内視鏡における手技の進歩や多様化は目覚ましい。また患者の苦痛を軽減する手技の工夫に、炭酸ガス (CO₂) 送気による消化器内視鏡の安全性と有用性が報告され、内視鏡的逆行性膵胆管造影検査 (ERCP) においても臨床応用が進められている。現在、世界的に高齢化社会が進み、高齢者に対する内視鏡診療が重要視されている。ERCPにおけるCO₂送気は、全年齢層を対象としたメタ解析により有用性が示されたが、これまでに高齢者におけるCO₂送気によるERCPの有効性と安全性を示した報告はない。高齢者におけるERCPやそれに関連する手技においてCO₂送気の安全性・有用性を明らかにするため二重盲検無作為化比較試験による検討を行った。

杏林大学付属病院消化器内科にてERCPを行う75歳以上の患者を対象とした。慢性閉塞性肺疾患や術前に疼痛を有する患者は除外した。連続して無作為にCO₂送気群と通常送気群の2群に割り付けした。患者の術後苦痛度を主要評価項目とし、Wong-Baker Pain Rating Scaleを用い比較検討した。副次的評価項目として、術前後の腹部単純X線による腹腔内ガス像、vital sign、治療成績につき比較検討した。Vital signは検査前後を通し、経皮炭酸ガス分圧もしくは経鼻呼気終末炭酸ガス分圧、経皮的動脈血酸素飽和度、血圧・脈拍を持続モニタリングしその変化を追跡した。

内視鏡術者、患者苦痛度評価者、腹部単純X線読影者には、CO₂送気と通常送気のどちらを用いたかを盲検化した。

2010年4月から2011年6月までの連続した60例をCO₂送気群と通常送気群にそれぞれ30例割り付けした。患者背景は、通常送気群で有意に女性が多かったが、その他、原疾患、基礎疾患、Body Mass Index、鎮静剤・鎮痛剤投与量に両群間で有意差は認めなかった。主要評価項目の患者苦痛度は、検査2時間後の腹部膨満感、腹部違和感、嘔気症状が、CO₂送気群で通常送気群と比較しいずれも有意 ($p < 0.01$) に症状が良好であった。また、副次的評価項目である腹部単純X線での腹腔内ガス像では、検査直後、2時間後とも、CO₂送気群で通常送気群より有意 ($p < 0.01$) に消化管内残存ガス量が少なかった。術前後のvital signの変化、治療時間、治療成功率、偶発症は両群間に有意差は認めなかった。

本研究から、慢性閉塞性肺疾患を除く高齢者に対しCO₂送気によるERCPの有用性と安全性が初めて示された。呼吸機能低下例に対するCO₂送気の許容性の検討は必要であるが、CO₂送気によるERCPは高齢者に対し幅広く使用可能であることが示された。

論文審査結果の要旨

近年、炭酸ガス (CO₂) 送気による消化器内視鏡検査の安全性および有用性が報告され、特に苦痛軽減効果が得られている。CO₂送気内視鏡的逆行性胆管膵管造影 (ERCP) は、全年齢層対象のメタ解析でその有用性が示されているが、高齢者における有用性は十分に検討されていない。本研究は高齢者に焦点をあてERCPの有用性と安全性を検証しようとするものである。

本研究の対象は杏林大学医学部付属病院にてERCPが行われた75歳以上の患者であり、慢性閉塞性肺疾患や術前に疼痛を有する患者は除外した。2010年4月から2011年6月までに連続する60例を無作為にCO₂送気群と通常送気群の2群に割付した。患者および術者に対し盲検下でERCPが施行された。患者の術後苦痛度を主要評価項目とし、Wong-Baker Pain Rating Scaleを用いて比較した。副次的評価項目は、術前後の腹部X線による腹腔内ガス像および血圧、脈拍などのvital signとした。また検査前後を通

して動脈血中炭酸ガス分圧を反映する経皮炭酸ガス分圧または経鼻呼気終末炭酸ガス分圧、ならびに経皮的動脈血酸素飽和度を持続モニタリングし、CO₂送気の影響を検討した。

2群 (CO₂送気群30例、通常送気群30例) の患者背景因子は、性別を除いて両群間で差を認めなかった。患者苦痛度では、検査2時間後の腹部膨満感、腹部違和感、および嘔気症状が、CO₂送気群で有意 ($p < 0.01$) に少なく、腹腔内ガス像も検査直後、2時間後ともCO₂送気群で有意に少なかった ($p < 0.01$)。経皮炭酸ガス分圧または経鼻呼気終末炭酸ガス分圧は、CO₂送気群においても通常送気群と差を認めず、CO₂蓄積傾向は認めなかった。またvital signも両群間で差を認めなかった。

以上本研究から、CO₂送気を用いたERCPは高齢者においても苦痛の軽減が得られ、また炭酸ガス蓄積傾向も認めず、臨床的な有用性が示された。超高齢社会を迎えたわが国において、本論文は臨床的に意義のある知見を示しており、審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

学位論文要旨および審査要旨

氏名 遠藤 哲哉

〈学位〉	種類	博士(医学)	論文項目	肺カルチノイド腫瘍における神経発生転写因子の発現
	授与番号	博乙医 第575号	論文審査委員	主査 古瀬純司
	授与年月日	平成27年9月16日		副査 川上速人 杉山政則 永根基雄 永松信哉
	授与の要件	学位規程第6条		

学位論文の要旨

【背景】肺神経内分泌腫瘍は病理組織学的にカルチノイド腫瘍（低悪性度神経内分泌腫瘍、LGNETと同義）と高悪性度神経内分泌腫瘍（以下HGNET）に分類され、前者には定型と非定型カルチノイドが、後者には小細胞癌と大細胞神経内分泌癌が含まれる。この分類は複雑で、臨床での治療方針や予後に完全には対応していない。BRN2は中枢神経系の発生を制御する転写因子であり、TTF1やASCL1とともに神経発生に関連する転写因子である。BRN2はTTF1やASCL1の上位の転写因子であり、両者の発現を制御する。本研究は肺カルチノイド腫瘍の、より臨床に則した分類の確立を目的として、肺のカルチノイド腫瘍とHGNETをBRN2, TTF1, ASCL1（以下DNTF: developing neural transcription factor）の発現に着目し、分子病理学的に比較解析した。

【対象と方法】外科切除された肺のカルチノイド腫瘍18例、小細胞癌8例、大細胞神経内分泌癌8例の病理標本を対象とした。各腫瘍におけるDNTFと癌関連遺伝子*MEN1*, *RBI*, *TP53*の発現を免疫組織化学的に検討した。さらにDNTFのmRNA発現をRT-PCRで検討し、腫瘍増殖能をKi67発現率で評価した。

【結果】カルチノイド腫瘍の56%とHGNET全例がDNTFを発現していた。カルチノイド腫瘍をDNTFの陰性群と陽性群に分けると、両者に定型・非定型カルチノイドが混在していた。DNTF陰性カルチノイド群では、*MEN1*陰性カルチノイドの全例が含まれ、DNTF陽性カルチノイド群とHGNETでは、全例が*MEN1*陽性であった。またDNTF陰性カルチノイドの全例が気管支壁から発生し、DNTF陽性カルチノイドの30%、小細胞癌の63%、大細胞神経内分泌癌の88%が細気管支壁から発生していた。カルチノイドの全例が*RBI*陽性であり、HGNETの全例が*RBI*陰性であった。DNTF陰性カルチノイドの50%、DNTF陽性カルチノイドの90%、HGNETの全例がp53陽性であった。DNTF陽性カルチノイドの3例は、形態学的にHGNETに類似し、Ki67 indexが高値であった。

【結語】肺カルチノイド腫瘍は病理組織学的分類とは別に、神経発生関連のDNTFの発現の有無により遺伝子学的に二分類されたと考えられた。DNTF陽性カルチノイド腫瘍はHGNETに類似したが、HGNETの前駆病変である可能性については、今後の検討が必要である。

論文審査結果の要旨

肺神経内分泌腫瘍は病理組織学的にカルチノイド腫瘍（低悪性度神経内分泌腫瘍）と高悪性度神経内分泌腫瘍（HGNET）に分類され、前者には定型と非定型カルチノイドが、後者には小細胞癌と大細胞神経内分泌癌が含まれる。神経内分泌腫瘍は遺伝子発現が多様であり、遺伝子発現に応じた悪性度の違いも報告されている。BRN2, TTF1およびASCL1は神経発生に関連する転写因子であり、BRN2はTTF1やASCL1の上位から両者の発現を制御する。これらは神経内分泌腫瘍でも発現が認められるが、臨床的な意義は明らかとなっていない。本研究は肺カルチノイド腫瘍の新たな分類の試みとして、肺カルチノイド腫瘍およびHGNETにおけるBRN2, TTF1, ASCL1の3因子（DNTF: developing neural transcription factors）の発現に着目し、分子病理学的特徴を明らかにした。

対象は外科切除された肺カルチノイド腫瘍18例、HGNET16例（小細胞癌8例、大細胞神経内分泌癌8例）の病理標本である。各腫瘍におけるDNTFと癌関連遺伝子*MEN1*, *RBI*, *TP53*の発現を免疫組織化学的に検討した。また、腫瘍の発生母地との関連を気管支壁と細気管支壁に分けて検討し、各腫瘍の増殖能をKi-67発現率で評価した。

カルチノイド腫瘍の56%とHGNET全例がDNTFを発現していた。カルチノイド腫瘍をDNTF陰性群と陽性群に分けると、両者に定型と非定型が混在していた。DNTF陰性カルチノイド群に*MEN1*陰性の全例が含まれ、DNTF陽性カルチノイド群とHGNETの全例が*MEN1*陽性であった。カルチノイドの全例が*RBI*陽性であり、HGNETの全例が*RBI*陰性であった。DNTF陰性カルチノイドの50%とDNTF陽性カルチノイドの90%およびHGNET全例がp53陽性であった。またDNTF陰性カルチノイドの全例が気管支壁から発生し、DNTF陽性カルチノイドの30%、小細胞癌の63%、大細胞神経内分泌癌の88%が細気管支壁から発生していた。DNTF陽性カルチノイドの3例は、形態学的にHGNETに類似し、Ki-67が高値であった。

肺カルチノイド腫瘍は、病理組織学的分類とは別に、神経発生関連のDNTFの発現の有無により分子病理学的に二分類され、DNTF陽性とHGNETで癌関連遺伝子*MEN1*および*TP53*の発現に類似性を認めた。また、腫瘍の発生母地やKi-67からもDNTF陽性カルチノイドはHGNETに近い性質を持つことが示唆された。

本研究は神経発生転写因子の発現から肺カルチノイドの性質を初めて明らかにしたものである。本研究を基に肺カルチノイドの新たな分類の可能性を示唆するものであり、審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 岡田 (野末) 恭子

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	再発及びテモゾロミド耐性膠芽腫細胞株に対する PARP 阻害剤併用テモゾロミド療法の相乗的抗腫瘍効果
	授与番号 博甲医 第427号	論文審査委員	主査 井本 滋 副査 秋元義弘 永松信哉 岡田アナベルあやめ 正木忠彦
	授与年月日 平成28年2月17日		
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

【背景】膠芽腫は極めて悪性でテモゾロミド (TMZ) による標準治療後も再発は必至であり、再発後の標準治療は確立していない。TMZはO⁶-methylguanineを形成するが、DNA修復酵素O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT)の発現で修復される。TMZはN⁷-methylguanine, N³-methylalanineも形成しDNA損傷をおこす。Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)はこのDNA損傷に生じる一本鎖断裂に作用し塩基除去修復 (BER) 機構によるDNA修復を促進させる。PARP阻害剤 (PARPi)はBERのDNA修復を阻害しTMZの殺細胞効果増強が期待されている。PARPiはMGMTのDNA修復システムとは別のDNA修復システムに作用する。今回TMZとPARPiであるABT-888 (AbbVie社供与)併用の相乗効果を検討した。

【方法】様々なMGMTメチル化細胞株とMGMT非メチル化細胞株を使用した。①ABT-888, ②TMZ + ABT-888を添加後8日間培養し、MTSアッセイで感受性を解析した。③U251, U87, WK1をTMZ存在下に6か月以上継続培養しTMZ耐性株を作製した後、TMZ + ABT-888併用の効果を検討した。④ABT-888投与5時間後に放射線照射を行い、コロニー形成能アッセイで評価した。

【結果】①MGMTメチル化(発現なし)細胞株とMGMT非メチル化(発現あり)細胞株の2群でABT-888のIC₅₀平均値は66.4 μM, 123.1 μMであり、前者で低値の傾向だが2群間に有意差は認めなかった (p = 0.22)。②MGMTメチル化細胞株と非メチル化細胞株、再発細胞株でTMZ + ABT-888併用はTMZ単剤より強い細胞傷害を呈し (p < 0.05 ~ 0.001), 相乗効果 (combination index, CI < 1) が認められた。③TMZ耐性株では高度にTMZ耐性化を示したが、いずれの耐性株でもTMZ + ABT-888併用はTMZ単独より相乗的殺細胞効果 (CI < 1) を認めた。④いずれのタイプの細胞株においても、照射単独に比べ照射 + ABT-888併用でコロニー形成が相乗的に抑制された。

【結論】ABT-888は、TMZ治療抵抗性を示すMGMT非メチル化膠芽腫細胞やTMZ治療後の再発細胞、さらにはTMZ耐性株に対してもTMZと相乗的殺細胞効果を発揮した。また放射線治療の照射感受性の増強作用も認めた。これらの結果から、治療抵抗性膠芽腫細胞株に対し、ABT-888は耐性機序によらず耐性を克服する可能性が示唆された。今後、動物実験や臨床でABT-888の有用性が期待される。

論文審査結果の要旨

【背景】膠芽腫は極めて悪性でテモゾロミド (TMZ) による標準治療後も再発は必至であり、再発後の標準治療は確立していない。TMZはO⁶-methylguanineを形成しDNA修復酵素MGMTの発現によって修復されるが、MGMTのプロモーター領域のメチル化の有無もその修復に影響する。一方、TMZはN⁷-methylguanine, N³-methylalanineも形成しDNA損傷をおこす。Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)はこのDNA損傷に生じる一本鎖断裂に作用し塩基除去修復 (BER) 機構によるDNA修復を促進させる。PARP阻害剤 (PARPi)はBERのDNA修復を阻害しTMZの殺細胞効果増強が期待されており、今回TMZとPARPiであるABT-888 (AbbVie社供与)併用の相乗効果を検討した。

【方法】ヒト膠芽腫細胞株U251, U87, LN229と初発例由来細胞株WK1, HW1, RN1, BAH1及び再発例由来細胞株G13, G18, G28を使用した。①ABT-888, ②TMZ + ABT-888を添加後8日間培養し、MTSアッセイで感受性を解析した。③U251, U87, WK1をTMZ存在下に6か月以上継続培養しTMZ耐性株を作製した後、TMZ + ABT-888併用の効果を検討した。④ABT-888投与5時間後に放射線照射を行い、コロニー形成能アッセイで評価した。細胞生存率の比較はt検定あるいはANOVAにて、薬剤

の相乗効果はCompuSynソフトウェアにて解析した。

【結果】①MGMTメチル化(発現なし)細胞株(LN229, BAH1, U251, U87, G18, HW1)とMGMT非メチル(発現あり)細胞株(RN1, G13, WK1, G28)の2群でABT-888のIC₅₀平均値は66.4 μM, 123.1 μMであり、前者で低値の傾向だが2群間に有意差は認めなかった (p = 0.22)。②MGMTメチル化細胞株と非メチル化細胞株、再発細胞株でTMZ + ABT-888併用はTMZ単剤より強い細胞傷害を呈し (p < 0.05 ~ 0.001), 相乗効果 (combination index, CI < 1) が認められた。③TMZ耐性株では高度にTMZ耐性化を示したが、いずれの耐性株でもTMZ + ABT-888併用はTMZ単独より相乗的殺細胞効果 (CI < 1) を認めた。④いずれのタイプの細胞株においても、照射単独に比べ照射 + ABT-888併用でコロニー形成が相乗的に抑制された。

【結論】ABT-888は、TMZ治療抵抗性を示すMGMT非メチル化膠芽腫細胞やTMZ治療後の再発細胞、さらにはTMZ耐性株に対してもTMZと相乗的殺細胞効果を発揮した。また放射線治療の照射感受性の増強作用も認めた。これらの結果から、治療抵抗性膠芽腫細胞株に対し、ABT-888は耐性機序によらず耐性を克服できる可能性が示唆された。今後、動物実験や臨床でABT-888の有用性の検証を要するが、本論文は新たな癌治療の発展に寄与することから、学位論文として価値あるものと認められた。

学位論文要旨および審査要旨

氏名 石村 理英子

〈学位〉	種類	博士(医学)	論文項目	心臓MRIを用いた肺高血圧症に対する右心機能評価法 についての検討
	授与番号	博甲医 第428号	論文審査委員	主査 赤木美智男
	授与年月日	平成28年2月17日	副査	赤川公朗 窪田 博 松村讓兒 山田達也
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

【目的】心臓MRI検査(CMR)は心臓超音波検査と比較し死角がなく、高空間分解能、高時間分解能、心筋-心腔間の高コントラストのため、非侵襲的な右心形態、容積および機能評価法として用いられる。慢性血栓塞栓性肺高血圧症(CTEPH)を始めとする肺高血圧症は極めて予後不良だが、近年薬物療法やカテーテル治療等の発達により血行動態の改善及び運動耐容能の改善を得られるようになり、早期診断や治療効果判定の必要性からよりCMRの有用性が注目されるようになった。肺高血圧症を対象としたCMRによる右心機能評価のうち、①右心室容積計測の再現性と有用性、②三尖弁輪移動距離の有用性について検討を行った。

【方法】対象はCTEPHのうち複数回CMRにおける容積解析が可能であった14症例28検査(男性3名、女性11名、平均年齢 69.7 ± 11.0 歳、中央値70.5歳(38-81歳))。1.5T MRI装置にてsteady state free precession法シネ画像を撮像した。測定断面は左心短軸像(L-SAX)、右心短軸像(R-SAX)、体軸に対する横断像(TAX)及び四腔像を用いた。3名の画像診断医により右室容積測定を行い、測定断面の相違による測定値比較、測定者間の再現性評価、測定値と右心カテーテル(RHC)で得られた平均肺動脈圧および肺血管抵抗との比較を行った。またCMRにおける簡便な測定指標として三尖弁輪移動距離(CMR-TAPSE)および心尖部三尖弁輪距離短縮率(%FSATD)を定義し、RHC結果と比較した。

【結果】L-SAX、R-SAX、TAXの3断面による右室容積測定値の比較では3測定者間の再現性はいずれの断面も良好であった。多重比較検定においてTAXで測定したRVEDVが有意に大きい結果であった。右室容積測定値とRHC結果間に相関は認めなかった。CMR-TAPSE、%FSATDはRHC結果と相関を認めた。

【結論】CTEPHに対するCMRによる右心機能測定は測定者間の再現性は良好であったが、測定断面によって結果に相違がみられた。CMRにより計測した右室容積とRHCで得られたmPAP、PVRとの間に有意な相関を認めなかった。CMRにおける新しい指標であるCMR-TAPSEおよび%FSATDはRHC結果と良好な相関があり、肺高血圧症評価において簡便にRHCで得られる指標の代替となる新しいCMRの指標になりうる。

論文審査結果の要旨

慢性血栓塞栓性肺高血圧症(Chronic thromboembolic pulmonary hypertension;CTEPH)は、本邦ではきわめて稀で(年間の罹患率100万分の1程度)、徐々に肺血管抵抗が上昇して右心不全を来す予後不良の疾患である。肺循環動態の指標のgolden standardは右心カテーテル検査(Right heart catheterization; RHC)で得られる肺動脈圧や肺血管抵抗であるが、RHCは侵襲的な検査でありCTEPHの患者に何度も繰り返し行うことは難しい。そのため、疾患の進行や治療の効果を判定するための様々な評価法が模索されている。本研究では、心臓MRI(Cardiac magnetic resonance imaging; CMR)で得られる指標をRHCで得られる指標の代わりに用いることができるかを検討した。

対象は2013年2月1日から2014年5月30日の間に、杏林大学医学部付属病院でCMR、RHCおよび心臓超音波検査(UCG)が施行されたCTEPH症例のうち、複数回CMR、RHC、UCGが施行された14症例28検査(男性3名、女性11名、38~81歳、平均 69.7 ± 11.0 歳、中央値70.5歳)で、本症の罹患率を考慮すると比較的多い症例数である。それぞれのCMRについて、multi-sliceの体積(断面積×厚さ)の総和として右室拡張末期容積(right ventricular end-diastolic volume; RVEDV)、右室収縮末期容積(right ventricular end-systolic volume; RVESV)を求めた。また、簡便な右室の収縮性の指標として三尖弁輪移動距離(tricuspid annular plane systolic excursion; TAPSE)と心尖-三尖弁輪距

離短縮率(% fractional shortening of apical-tricuspid annulus distance; % FSATD)を算出し、RHCで得られた指標と比較した。さらに、UCGを用いたTAPSEとRHCで得られた指標との比較も行った。

3人の放射線科読影医によるRVEDVとRVESVの値は、読影者間で有意の差を認めなかった。RVEDVとRVESV、および両者から算出される右室駆出率と、肺動脈圧および肺血管抵抗との間には有意の相関関係を見いだすことができなかった。これは、後負荷の上昇に対する心室の反応は複数の要素があり、それらの総和によってRVEDVとRVESVが決まるためであると考えられた。一方、TAPSEと%FSATDとは肺動脈圧、肺血管抵抗と有意の相関を認め、CTEPH患者の右心機能の評価に用いることができる可能性が示唆された。UCGを用いたTAPSEおよび%FSATDとRHCで得られた指標との比較では有意の相関を認めず、MRIによる計測の方がより正確であると考えられた。それぞれの患者における複数回のRHC検査結果の変化と、同時期に実施したCMRによる指標の変化とに関しては、一定の関係を見いだすことはできなかった。

本論文は、右室容積に関してはnegativeな結果ではあるが、稀な疾患であるCTEPHの右室の形態評価に関して新しい知見を加えたものであり、またCMRを用いたTAPSEおよび%FSATDは本疾患の右心機能を非侵襲的に評価する指標の一つとなりうることを示したもので、学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 長内 喜代乃

〈学位〉	種類	博士 (医学)	論文項目	Melatonin受容体アゴニストである ramelteon は子宮体癌培養細胞の増殖・浸潤を抑制する
	授与番号	博甲医 第429号	論文審査委員	主査 渡邊 衡一郎 副査 今泉美佳 櫻井裕之 久松理一 古瀬純司
	授与年月日	平成28年3月9日		
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

子宮体癌の多くはエストロゲン依存性の悪性腫瘍であり、日本においても近年増加傾向にある。治療は手術が第一選択であり、進行例では補助化学療法や放射線治療が必要となる。しかし、再発例では標準的治療は未だ確立されていない。

Melatoninは松果体由来のホルモンであり、日内変動等の生理的作用のみならず、様々な癌種で抗腫瘍効果を示すが、薬剤としては認可されていない。一方、melatonin受容体 (membrane type 1/membrane type 2 (MT1/MT2) 受容体) アゴニストである ramelteon は、既に不眠症治療薬として保険収載されている。そこで、子宮体癌再発例における標準的治療法を将来的に確立することを目的として、本研究では子宮体癌の治療薬として有望な ramelteon が、子宮体癌由来細胞株の増殖能及び、浸潤能を抑制するのかが検討した。

細胞増殖に対する影響を検討するため、ramelteon, melatoninそれぞれ単剤を添加、もしくはエストロゲンである17- β estradiolと共に同時添加した培地を用いてエストロゲン受容体 (ER) 陽性子宮体癌細胞株 (HHUA) を96時間培養後、生細胞数及び、Ki-67陽性増殖細胞数を算出した。また、浸潤能に対する影響を検討するため、Invasion chamberに同様の培地を加えてHHUAを培養後、浸潤細胞数及び、浸潤能に関わるMMP-2及びMMP-9遺伝子の相対発現量を比較した。

Ramelteonは 10^{-8} Mの時にコントロールと比較して最も有意に細胞増殖を抑制した。Ramelteonの増殖抑制効果はMT1/MT2受容体アンタゴニストである luzindole の同時添加により完全に解除されたことから ramelteon は melatonin 受容体を介して作用することが示された。また、17- β estradiolによる細胞増殖促進も ramelteon の同時添加で抑制された。更に、コントロールと比較して、ramelteon添加によって浸潤能が低下し、MMP-2及びMMP-9遺伝子発現量が有意に低下した。

以上の結果は、HHUA細胞において ramelteon が細胞増殖及び、浸潤能を抑制することを示すものであり、ramelteon が子宮体癌に対する新たな治療薬として有望であることを示唆するものである。

論文審査結果の要旨

子宮体癌の多くはエストロゲン依存性の悪性腫瘍であり、日本においても近年増加傾向にある。治療は手術が第一選択であり、進行例では補助化学療法や放射線治療が必要となる。しかし、再発例では標準的治療は未だ確立されていない。

Melatoninは松果体由来のホルモンであり、日内変動等の生理的作用のみならず、様々な癌種で抗腫瘍効果を示すが、薬剤としては認可されていない。一方、melatonin受容体 (membrane type 1/membrane type 2 (MT1/MT2) 受容体) アゴニストである ramelteon は、既に不眠症治療薬として保険収載され、副作用の少なさが特徴となっている。そこで、子宮体癌再発例における標準的治療法を将来的に確立することを目的として、本研究では子宮体癌の治療薬として有望な ramelteon が、子宮体癌由来細胞株の増殖能、及び浸潤能を抑制するのかが検討した。

細胞増殖に対する影響を検討するため、ramelteon, melatoninそれぞれ単剤を添加、もしくはエストロゲンである17- β estradiolと共に同時添加した培地を用いてエストロゲン受容体 (ER) 陽性子宮体癌細胞株 (HHUA) を96時間培養後、生細胞

数及び、Ki-67陽性増殖細胞数を算出した。また、浸潤能に対する影響を検討するため、Invasion chamberに同様の培地を加えてHHUAを培養後、浸潤細胞数及び、浸潤能に関わるMMP-2及びMMP-9遺伝子の相対発現量を比較した。

Ramelteonは 10^{-8} Mの時にコントロールと比較して最も有意に細胞増殖を抑制した。Ramelteonの増殖抑制効果はMT1/MT2受容体アンタゴニストである luzindole の同時添加により完全に解除されたことから ramelteon は melatonin 受容体を介して作用することが示された。また、17- β estradiolによる細胞増殖促進も ramelteon の同時添加で抑制された。更に、コントロールと比較して、ramelteon添加によって浸潤能が低下し、MMP-2及びMMP-9遺伝子発現量が有意に低下した。

審査の結果、本研究は、HHUA細胞において ramelteon が細胞増殖及び、浸潤能を抑制することを示したものであり、今後 ramelteon が子宮体癌に対する新たな低侵襲的な治療薬として有望である可能性について示唆したという点において、学位論文として価値あるものと認めた。

学位論文要旨および審査要旨

氏名 小原 聡 将

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	大脳白質病変を有する患者の臨床的特徴と心拍変動解析を用いた自律神経機能評価とその意義に関する研究
	授与番号 博甲医 第430号	論文審査委員	主査 千葉厚郎
	授与年月日 平成28年3月31日		副査 大木 紫 木崎節子 佐藤 徹 塩川芳昭
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

【目的】高齢者においてMRI画像上で高頻度に認められる大脳白質病変はこれまで無症候性とされてきたが、近年、大脳白質病変と関連する病態の存在が明らかになってきた。また、その症状のいくつかは自律神経機能と関連する可能性がある。今回、大脳白質病変の臨床的意義と特徴、自律神経機能との関連を明らかにするべく、研究Ⅰにて臨床症状との関係、研究Ⅱにて自律神経機能との関係について解析した。

【方法】研究Ⅰ：2013年1月1日～2014年1月31日の杏林大学病院もの忘れセンター初診患者で同意が得られ軽度認知機能障害 (mild cognitive impairment: MCI) と診断された181例を対象とした。MRI画像で大脳白質病変を評価し、大脳白質病変なし群とあり群の2群間で高齢者総合機能評価の調査結果を比較した。

研究Ⅱ：2014年6月1日～2014年8月31日の初診患者で同意が得られた39例を対象とした。自律神経機能検査としてHolter心電図による心拍変動解析を行ったほか、研究Ⅰの大脳白質病変評価法に加えて半定量評価を行い、大脳白質病変の存在および程度と心拍変動解析におけるLF/HF (交感神経活動の指標) との関連を検討した。

【結果】研究Ⅰ：大脳白質病変あり群はなし群に比べて自己の服薬管理が出来ない、入浴に介助が必要、転倒リスクの上昇、片足立ちでの不安定性、難聴、うつ傾向、無力感、日中の活動性低下といった症状が高頻度に出現し ($p < 0.05$)、介護者への依存感が増大していた。

研究Ⅱ：大脳白質病変のうち深部皮質下白質病変 (Deep White Matter Hyperintensity: DWMH) あり群ではなし群に比べてLF/HFは有意に低かった (1.2 ± 0.8 vs. 2.0 ± 1.2 , $p < 0.05$)。また、大脳白質病変の部位別、半定量評価による検討ではDWMHの総スコアおよび後頭葉でのスコアとLF/HFが有意な負の相関を示し (単相関係数: 各 -0.366 , -0.337 , $p < 0.05$)、これは年齢、性別、高血圧の有無、喫煙歴を共変量に加えた重回帰分析でも有意であった (標準回帰係数: 各 -0.366 , -0.414 , $p < 0.05$)。

【結論】研究Ⅰより認知症発症前のMCIの段階においても大脳白質病変の存在は種々の臨床症状の出現と関連し、介護者への依存の増大につながると判明した。研究Ⅱでは、大脳白質病変の存在および程度はLF/HFの低下と関連することが判明した。以上より大脳白質病変の存在は交感神経活動の低下を伴い、種々の特徴的な臨床症状の出現や介護者への依存の増大につながると思われる。

論文審査結果の要旨

頭部画像検査において高齢者に高頻度に認められる大脳白質病変は、明らかな症状を呈さない場合には無症候性として看過されることも多い。しかし、近年、そのような大脳白質病変についても、それと関連する身体・精神機能低下の存在が報告されてきている。また、その症状のいくつかは自律神経機能と関連する可能性も示唆されている。本研究では、認知症発症前段階の患者における大脳白質病変と臨床的症候との関連 (研究Ⅰ)、大脳白質病変と自律神経機能との関連 (研究Ⅱ) を検討した。

研究Ⅰ：本学もの忘れセンターを初診した軽度認知機能障害 (mild cognitive impairment: MCI) 患者で、他の器質性疾患に関連した大脳白質病変を有しない181例 (男性54例、女性127例、平均年齢 79.2 ± 6.7 歳) を対象とした。MRI画像で大脳白質病変を評価し、大脳白質病変あり群となし群の2群間で、患者の状態および介護者の負担を計測する9つの評価テストからなる高齢者総合機能評価の結果を比較した。その結果、大脳白質病変あり群はなし群に比べて、自己の服薬管理が出来ない、入浴に介助が必要、転倒リスクの上昇、片足立ちでの不安定性、難聴、うつ傾向、無力感、日中の活動性低下といった症状が有意に高頻度に出現し ($p < 0.05$)、介護者への依存感が増大する傾向が認められた。

研究Ⅱ：本学もの忘れセンターを初診した患者で、他の疾患に関連した大脳白質病変・心機能障害を有さない39例 (男性14例、女性25例、平均年齢 79.4 ± 7.0 歳) を対象とした。研究Ⅰと同様

のMRI画像での大脳白質病変あり群となし群の群分けに加え、大脳白質病変の程度の部位別半定量評価を行い、自律神経機能との関連を検討した。自律神経機能評価項目としては、Holter心電図による心拍変動解析を行い、低周波成分 (low frequency, LF) と高周波成分 (high frequency, HF) の比 (LF/HF比、交感神経活動の指標) を用いた。その結果、大脳白質病変のうち深部皮質下白質病変 (deep white matter hyperintensity: DWMH) あり群ではなし群に比べてLF/HFは有意に低かった (1.2 ± 0.8 vs. 2.0 ± 1.2 , $p < 0.05$)。また、部位別半定量評価による検討では、DWMHの総スコアおよび後頭葉でのスコアとLF/HFが有意な負の相関を示し (単相関係数: 各 -0.366 , -0.337 , $p < 0.05$)、これは年齢、性別、高血圧の有無、喫煙歴を共変量に加えた重回帰分析でも有意であった (標準回帰係数: 各 -0.366 , -0.414 , $p < 0.05$)。

以上、本研究は、認知症発症前のMCIの段階においても大脳白質病変の存在は高齢者における種々の身体・精神機能低下と関連し、介護者への依存の増大につながるとことを示した。また、大脳白質病変の存在および程度が自律神経機能と関連することを示し、これはその発生機序に示唆を与えるものである。これまで、無症候として看過されてきた大脳白質病変についても、その進展予防に積極的に介入することの重要性を示唆するものであり、医学的ならびに社会的意義は大きいと考えられる。審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 浜野 翔

〈学位〉	種類	博士 (医学)	論文項目	Expression of Crumbs homolog-2 in podocyte development (ポドサイトの発生における Crumbs homolog-2 の発現)
	授与番号	博甲医 第431号	論文審査委員	主査 要 伸也
	授与年月日	平成28年3月31日	副査	秋元義弘 浮山越史 桶川隆嗣 櫻井裕之
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

【背景と目的】ポドサイトは糸球体濾過障壁の最外層に位置する高度に分化した上皮細胞であるが、その分化に至る機序は未解明である。上皮細胞機能には極性が重要だが、その1決定因子としてCrumbs (CRB) がある。CRB2ノックアウトゼブラフィッシュではポドサイト形成不全が惹起されたが、その病態は不明である。一方、CRB2の相同体であるCRB3が蛋白合成促進系であるmTORC1経路を抑制することが報告された。本研究は、ポドサイトの発生過程におけるCRB2の局在解析を行い、さらにCRB2のチロシンリン酸化が、mTORC1活性化経路へ及ぼす影響について検討した。

【方法】抗リン酸化CRB2抗体、HEK-293細胞とMDCK細胞を用いた野生型CRB2およびチロシンリン酸化部位欠失型CRB2の安定発現細胞株を作成した。これらの発現細胞株を用いて、CRB2のタンパク特性（分子量、細胞内局在、糖鎖修飾の意義）と、さらにmTORC1活性に与えるCRB2チロシンリン酸化の影響を検討した。また、新生仔マウス腎を用いて、各分化過程の糸球体におけるCRB2、チロシンリン酸化CRB2、リン酸化mTORの発現パターンを検討した。用いた手法は、immunoblotting, 2重免疫蛍光染色による免疫組織化学、並びに共焦点レーザー顕微鏡観察である。

【結果】CRB2は約200 kDaの1回膜貫通N型糖蛋白であり、かつN-型糖鎖の存在は、CRB2自身の細胞膜集合に必須であることが判明した。極性を保持するMDCK細胞でのCRB2の局在は、細胞膜側面に観察された。腎でのポドサイト内局在は、CRB2はS-shape期のポドサイト前駆細胞の頭頂側部に強く発現し、Capillary loop期では細胞側面から基底側へ移動した。成熟期では係蹄壁パターンとして観察され、その発現強度は維持されていた。一方、リン酸化CRB2は、局在パターンはCRB2と同様であったが、S-shape期で弱く、Capillary loop期以降で強く観察された。また、リン酸化mTORはリン酸化CRB2と同様のパターンで観察された。最後に、細胞株を用いたアミノ酸枯渇アッセイから、CRB2のチロシンリン酸化の欠失は、mTORC1経路を増幅させることが判明した。

【結論】本研究はポドサイトの発生に伴うCRB2の局在変化を初めて報告した。CRB2は、発生段階のポドサイトでmTORC1との共局在が見られ、そのリン酸化がmTORC1活性調節に関わっている可能性がある。

論文審査結果の要旨

ポドサイトは糸球体濾過障壁の最外層に位置する高度に分化した上皮細胞であるが、その分化に至る機序は未解明である。一方、上皮細胞における極性の1決定因子としてCrumbs (CRB) があるが、このうちCRB2は約200kDaの1回膜貫通N型糖蛋白であり、最近、その欠失ゼブラフィッシュにおいてポドサイト形成不全が生ずることが報告された。さらに、CRB2の相同体であるCRB3が蛋白合成促進系のmTORC1経路を抑制することが示されている。そこで本研究では、CRB2の発生過程における局在の変化、および、CRB2細胞内ドメインのチロシンリン酸化が細胞機能やmTORC1活性化経路に与える影響について検討した。方法は、HEK-293細胞とMDCK細胞を用いて、野生型CRB2およびチロシンリン酸化部位欠失型CRB2の安定発現細胞株を作成し、CRB2の蛋白特性（分子量、細胞内局在、糖鎖修飾の意義）およびチロシンリン酸化がmTOR活性に与える影響について検討した。さらに、新生仔マウス腎を用い、各分化過程の糸球体におけるCRB2とリン酸化mTORC1の発現パターンを解析した。観察方法には、immunoblot法、二重免疫蛍光染色による免疫組織化学、共焦点レーザー顕微鏡観察を用いた。

結果は、1) 極性を持つMDCK細胞において、CRB2は細胞膜側面に局在し、細胞外ドメインにあるN-型糖鎖の欠損がその細

胞膜集合を阻害した。2) 発生初期のS-shape期には、CRB2はポドサイト前駆細胞の頭頂側部に強く発現し、capillary loop期に細胞側面から基底側へ移動、成熟期では糸球体係蹄壁パターンとして観察され、その発現強度が維持されていた。一方、リン酸化CRB2の局在パターンはCRB2とほぼ同様であったが、S-shape期で弱く、capillary loop期以降に強く観察された。3) これらの発生過程において、リン酸化mTORC1とリン酸化CRB2の局在はほぼ一致していた。4) 細胞株を用いたアミノ酸枯渇アッセイでは、CRB2のチロシンリン酸化の欠失がmTORC1経路を増幅させた。

以上より、CRB2はポドサイトの発生にしたがって基底方向へ移動してゆくことが明らかとなった。さらに、CRB2とmTORC1活性化の局在がほぼ一致すること、および、細胞培養系でCRB2の細胞膜集合に糖鎖やチロシンリン酸化が必要であり、CRB2の過剰発現がmTORC1経路を抑制すること、などより、CRB2がポドサイトの分化にも寄与している可能性が示唆された。

審査の結果、本研究はポドサイトの発生に伴うCRB2の局在変化をはじめ明らかにするとともに、ポドサイトにおけるCRB2ないしmTORC1系の意義に関して示唆を与えるものであり、糸球体疾患の病態解明や治療法開発に向けての新しい知見になると考えられることから、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

氏名 植地 貴弘

〈学位〉	種 類 博士 (医学)	論 文 項 目	Influence of Atmospheric Temperature on Neurological Mortality After Out-of-Hospital Cardiac Arrest (外気温が院外心停止の患者の予後に与える影響)
	授与番号 博甲医 第432号		
	授与年月日 平成28年3月31日	論文審査委員	主査 吉野秀朗 副査 荏田香苗 北村 修 窪田 博 神崎恒一
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

【背景】 院外心停止の予後における日内変動や季節変動のメカニズムは明らかとはなっていないが、それらの変動は共通して外気温の変動で説明がつくかもしれない。そこで我々は、院外心停止の患者の蘇生処置中における寒冷曝露が自己心拍再開までの時間を延長させ、その結果患者の1ヶ月予後を悪化させるのではないかとという仮説を立て、それらを実証すべく次のような研究を行った。

【方法】 我々は総務省消防庁の公開する2005年から2010年の救急蘇生統計 (All-Japan Utstein Registry) に、国土交通省気象庁の公開する気温データを統合し新たなデータベースを作成した。18歳以上で、心停止の瞬間が目撃され、かつ蘇生処置が行われた院外心停止の患者を研究の対象とし、予測因子を外気温、プライマリアウトカムは1ヶ月後の神経学的予後、セカンダリアウトカムは病院到着までの自己心拍再開の有無とした。寒冷曝露を比較するために全患者を心停止時の気温で5分位に階層化し、曝露とアウトカムの関係を調べるべく、既知の潜在的な交絡因子と効果修飾因子の調整を行い、ロジスティック回帰分析とコックス回帰分析を行った。

【結果】 263,750人の患者が解析の対象となった。患者は-12.4～5.9℃ (A群)、6.0～10.7℃ (B群)、10.8～16.9℃ (C群)、17.0～23.2℃ (D群)、23.3～39.9℃ (E群)の5群に階層化された。寒冷曝露が院外心停止患者の1ヶ月後の神経予後に与える影響に関するオッズ比は、E群と比較しA、B、C、Dのそれぞれの寒冷曝露群で、0.86 (95%信頼区間 [CI] 0.80 to 0.92), 0.87 (95% CI 0.81-0.93), 0.95 (95% CI 0.89-1.01) 0.97 (95% CI 0.91-1.04) と、寒冷曝露が有意に神経予後良好患者の割合を減少させていた (P<0.001 for trend)。特に、初期波形が心室細動・無脈性心室頻拍の場合は、その傾向は顕著であり、それぞれのオッズ比は0.80 (95% CI 0.72-0.88), 0.85 (95% CI 0.77-0.94), 0.91 (95% CI 0.83-1.00), 0.96 (95% CI 0.88-1.06) であった (P<0.001 for trend)。寒冷曝露が病院到着までの心拍再開率に与える影響に関するハザード比は、それぞれの寒冷曝露群で、0.80 (95% CI 0.77-0.83) 0.84 (95% CI 0.81-0.88) 0.91 (95% CI 0.88-0.94), 0.95 (95% CI 0.91-0.98) と寒冷曝露が有意に心拍再開率を低下させていた (P<0.001 for trend)。特に、初期波形が心室細動・無脈性心室頻拍の場合は、その傾向は顕著であり、それぞれのハザード比はそれぞれ0.72 (95% CI 0.67-0.78) 0.82 (95% CI 0.77-0.88) 0.90 (95% CI 0.85-0.96), 0.94 (95% CI 0.88-1.00) であった (P<0.001 for trend)。

【結論】 今回の研究では、目撃のあった院外心停止の患者において、初期波形に関わらず蘇生処置中における寒冷曝露が自己心拍再開までの時間を延長した。また、全患者ならびに初期波形が心室細動・無脈性心室頻拍の場合、寒冷曝露により患者の1ヶ月予後が悪化したことが示された。

論文審査結果の要旨

植地貴弘氏の学位論文審査を行ったので、その審査結果の要旨を報告する。

【目的】 院外心停止の患者の蘇生処置中における寒冷曝露が自己心拍再開までの時間を延長させるか否か、患者の1ヶ月予後を悪化させるか否かを明らかにすること。

【方法】 総務省消防庁の公開する救急蘇生統計 (ALL-Japan Utstein Registry) に国土交通省気象庁の公開する気温データを統合し新たにデータベースを作成した。対象は、2005年から2010年の救急蘇生統計 (All-Japan Utstein Registry) から得られた、18歳以上で心停止の瞬間が目撃され、かつ蘇生処置 (CPR) の行われた院外心停止の患者263,750人を解析の対象とし、院外心停止発生時の外気温を-12.4～5.9℃ (A群)、6.0～10.7℃ (B群)、10.8～16.9℃ (C群)、17.0～23.2℃ (D群)、23.3～39.9℃ (E群)の5分位に階層化した。外気温をはじめ、年齢、性別、心原性疾患の有無、バイスタンダーによるCPR、AED、エアウェイ、気管内チューブ、乳酸リンゲル液、エビネフリン、医師の同乗、医師による高度CPR、救急蘇生技師の同乗、発生からCPRまでの時間、CPRから病院到着までの時間など蘇生時の諸因子を独立因子とし、プライマリアウトカムを1ヶ月後の神経学的予後、セカンダリアウトカムを病院到着までの自己心拍再開の有無とし、既知の潜在的な交絡因子と効果修飾因子の調整を行い、多変

量ロジスティック回帰分析とコックス回帰分析を行った。

【結果】 外気温が院外心停止患者の1ヶ月後の神経予後良好に関するオッズ比は、最上位E群と比較し、最下位の寒冷曝露A群では0.86 (95%信頼区間 [CI] 0.80-0.92), B群で0.87 (95% CI 0.81-0.93) と有意に低下し、トレンド検定でも外気温が院外心停止患者の予後に有意な影響を与えていることが示された (P<0.001)。特に、初期波形が心室細動・無脈性心室頻拍の場合はその傾向は顕著であり、A群のオッズ比が0.80 (95% CI 0.72-0.88), B群で0.85 (95% CI 0.77-0.94) となり、また、病院到着までの心拍再開率に与える影響に対しては、A～D群それぞれ0.80 (95% CI 0.77-0.83), 0.84 (95% CI 0.81-0.88), 0.91 (95% CI 0.88-0.94), 0.95 (95% CI 0.91-0.98) と、寒冷曝露が有意に心拍再開率を低下させていた (P<0.001 for trend)。

【結論】 院外心停止患者において、蘇生処置中における外気温が低いほど自己心拍再開率が低く、全患者ならびに初期波形が心室細動・無脈性心室頻拍の場合、外気温が低いほど1ヶ月後の神経予後が悪化していた。

院外心停止発生時の室内外の別が明らかでないこと、外気温が都道府県ごとに平均化されていることなどの研究の限界があるが、大規模症例を対象とし、かつ99.99%という高い1ヶ月間観察率のもとで得られたデータによる解析は世界で類がない。心拍再開と神経学的予後に対する院外心停止時の外気温の影響を解析した貴重な疫学報告であり、学位授与にふさわしい論文と判断される。

氏名 大 島 利 夫

〈学位〉	種 類	博士 (医学)	論 文 項 目	<i>Clostridium difficile</i> 感染症の検査法およびリスク因子の評価と分子疫学的研究
	授与番号	博甲医 第433号	論文審査委員	主査 河合 伸 副査 大西宏明 丑丸 真 久松理一 木崎節子
	授与年月日	平成28年3月31日		
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

近年、*Clostridium difficile* 感染症 (CDI) が疑われた下痢症患者の糞便の殆どは、*C. difficile* の glutamate dehydrogenase (GDH) 抗原とトキシンを検出する新規イムノクロマト法 (QUIK CHEK) により検査が行われている。本研究では、QUIK CHEK の特性について従来法と比較するとともに、toxigenic culture assay を用いたトキシン検出法の有用性を評価した。加えて QUIK CHEK の検査結果に基づいて区分けされた3群における CDI 発症リスク因子を評価するとともに、分離 *C. difficile* 菌株のトキシン遺伝子および同関連遺伝子の解析を行った。

対象として2012年4月より2014年3月に CDI が疑われた下痢症入院患者の糞便1565例を用いた。CDI 発症リスク因子の解析は、QUIK CHEK で GDH 抗原陽性、トキシン陽性を示した群 (DD 群, n = 109) と GDH 抗原陰性、トキシン陰性を示した群 (CN 群, n = 111), GDH 抗原陽性、トキシン陰性で toxigenic culture によりトキシン陽性となった群 (TC 群, n = 72) の3群を対象とし、性別、年齢、入院日数、白血球数、血清アルブミン値、体格指数、糞便性状、抗菌薬の使用、プロトンポンプ阻害薬 (PPI) の使用の9項目を解析した。TC 群由来菌株については、トキシン遺伝子の発現とその構造をリアルタイム PCR 法、ダイレクトシーケンシングにより解析した。

QUIK CHEK の GDH 抗原検出の培養法に対する感度、特異度はともに100%を示し、従来のイムノクロマト法キットに比べ優れていることが示された。また、GDH 陽性、トキシン陰性を示した204検体の toxigenic culture assay の結果、72検体 (35.3%) がトキシン陽性を示し、同 assay の有用性が示された。CN 群、DD 群、TC 群における CDI 発症リスク因子の解析では、入院日数 (50日以上)、白血球数 (10,000/ μ L以上)、PPI 使用において有意差 ($p < 0.05$) を認めた。また、CN 群に対する DD 群と TC 群のオッズ比 (OR), 95%信頼区間 (95% CI) は、入院日数で1.61 (0.94-2.74), 2.98 (1.59-5.58), 白血球数で2.16 (1.24-3.75), 2.24 (1.21-4.14), PPI 使用で9.03 (4.9-16.6), 9.15 (4.59-18.2) であった。DD 群および TC 群における PPI の使用が CDI のリスク因子となることは国内で初めての報告である。また使用抗菌薬中 Carbapenem, Cephalosporin, Fluoroquinolone は CDI 発症のリスク因子となる傾向を示した。さらにトキシン産生に関与する遺伝子群の発現量を比較したところ、TC 群由来株は DD 群由来株に比べて、*tcdA* 遺伝子で3.9倍の高発現が認められたが、他の遺伝子の発現には一定の傾向が認められなかった。また孔形成に関与する *tcdE* 遺伝子配列の解析では、アミノ酸の変異 (A451G, Ile > Val) を伴う1塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) が4菌株中1株に検出され、SNP が本検体におけるトキシン産生量の違いに関与している可能性が考えられ、今後菌株数を増やして解析する必要性が示された。

以上の結果より、QUIK CHEK および toxigenic culture assay の有用性が示された。また、TC 群は DD 群と同様の CDI 発症リスク因子を持つことが明らかにされたため、TC 群の症例に対しては DD 群に準じた対応が重要であることが示唆された。

【論文審査結果の要旨】

本研究は、*Clostridium difficile* 感染症 (CDI) が疑われた下痢症患者糞便を用いて *C. difficile* の glutamate dehydrogenase (GDH) 抗原とトキシンを検出するイムノクロマト法 (QUIK CHEK) および toxigenic culture assay の有用性を検討し、CDI 発症リスク因子を評価するとともに、トキシン発現と遺伝子の関係を明らかにすることを目的とした。

2012年4月より2014年3月に CDI が疑われた下痢症入院患者1565例を対象とした。30検体を用いて QUIK CHEK の性能評価を行った後、全例に QUIK CHEK を実施し、GDH 抗原陽性・トキシン陰性検体に対しては追加で toxigenic culture assay を行った。CDI 発症リスク因子の解析は、QUIK CHEK で GDH 抗原陽性、トキシン陽性を示した群 (DD 群) と GDH 抗原陰性、トキシン陰性を示した群 (CN 群), GDH 抗原陽性、トキシン陰性で toxigenic culture によりトキシン陽性となった群 (TC 群) の3群を対象とし、性別、年齢、入院日数、白血球数、血清アルブミン値、体格指数、糞便性状、抗菌薬の使用、プロトンポンプ阻害薬 (PPI) の使用の9項目を解析した。TC 群由来菌株については、トキシン遺伝子 (*tcdA*, *tcdC*, *tcdR*, *tcdE*, *tcdC*) の発現とその構造をリアルタイム PCR 法で解析し、また *tcdE* については、

TC 由来4株についてダイレクトシーケンシングを行った。

QUIK CHEK の GDH 抗原検出の培養法に対する感度、特異度はともに100%を示した。また、GDH 陽性、トキシン陰性を示した検体の toxigenic culture assay の結果、35.3% がトキシン陽性を示した。CN 群、DD 群、TC 群における CDI 発症リスク因子の解析では、入院日数 (50日以上)、白血球数 (10,000/ μ L以上)、PPI 使用において有意差 ($p < 0.05$) を認めた。トキシン産生に関与する遺伝子群の発現では、TC 群由来株は DD 群由来株に比べて、*tcdA* 遺伝子で3.9倍の高発現が認められた。また孔形成に関与する *tcdE* 遺伝子配列の解析では、アミノ酸の変異 (A451G, Ile > Val) を伴う1塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) が4菌株中1株に検出された。以上の結果より、QUIK CHEK および抗原陽性、トキシン陰性検体での toxigenic culture assay の有用性が示され、CDI 発症リスク因子を踏まえた CDI 早期診断および感染対策の必要性が示唆された。またトキシン発現に関連する遺伝子については今後の検討の必要性が示された。本研究は、CDI 診断の迅速性と正確性の向上に寄与し、かつ臨床的な CDI のリスクについては、我が国で初の報告となる PPI 使用との関連を含め詳細に検討されている。これら検討結果は CDI の早期診断および院内感染対策に寄与するものであり、学位論文として価値あるものと認めた。

学位論文要旨および審査要旨

氏名 宮田 世羽

〈学位〉	種 類 博士(医学)	論文項目	Hippocampal injury caused by lipoteichoic acid of <i>Staphylococcus aureus</i> in immature rat brains (黄色ブドウ球菌のリポテイコ酸による幼若ラット海馬病変)
	授与番号 博甲医 第434号	論文審査委員	主査 神崎恒一 副査 大西宏明 神谷 茂 川上速人 平野照之
	授与年月日 平成28年3月31日		
	授与の要件 学位規程第5条		

学位論文の要旨

【目的】近年、周産期医療の進歩により早産低出生体重児の生命予後は改善したが、脳性麻痺や発達障害など神経後遺症はまだまだ一定の確率で発生している。早産低出生体重児の感染症は神経発達の長期予後を不良にすることが知られており、我が国のNICUでは起病因として *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) が最も多い。そこで本研究では *S. aureus* の細胞壁成分であるリポテイコ酸 (LTA) による未熟脳での脳障害の病態と機序を解明することを目的として以下の研究を行った。

【方法】ヒトでの早産 (23-36週) はラットでは生後3-7日に相当するため、早産児モデルとして生後3日の新生仔ラットを用いた。同一母体から出生した仔に、Heat Killed *S. aureus* (HKSA) またはLTA、生理食塩液を静脈または腹腔内に投与した。投与7日後に大脳の凍結切片を作成し、形態評価を行い、組織変化をスコア化し比較検討した。microgliaはIba1, astrocyteはGFAP, apoptosisはcaspase-3を用いて免疫組織染色を行った。また生後3日でのToll-like receptor 2 (TLR2) の発現について免疫蛍光染色を行った。

【結果と考察】HKSA, LTA投与群のいずれも投与7日後まで全例が生存したが、HKSA投与群で海馬錐体神経細胞が障害された個体が見られ、LTA投与群でも同様に海馬のCA1, CA3領域に有意な神経細胞障害が見られた。一方、両群とも皮質、白質、基底核で神経細胞やグリア細胞に変化は認められなかった。LTA投与群の海馬CA3領域ではcaspase-3陽性細胞が有意に増加していたが、Iba1, GFAPの発現に差はなかった。また、LTAに結合するTLR2の発現は生後3日目では海馬、皮質、白質、基底核の神経細胞とグリア細胞で認められた。HKSAとLTAのいずれを投与した場合も海馬錐体神経細胞障害が見られたことから、*S. aureus* による早産児感染症ではLTAを介する海馬の障害が起こっている可能性が示唆された。また同部位でcaspase-3陽性細胞が増加していることから、*S. aureus* による海馬障害にはLTAによる神経細胞のapoptosisが関与していると考えられた。これまでLTAはTLR2で認識され、microgliaやastrocyteなどのグリア細胞を活性化し神経障害を起こすことが指摘されている。しかしながら、本研究ではグリア細胞に変化は見られなかったことから、LTAはTLR2を介して直接的に神経細胞のapoptosisを引き起こしている可能性も考えられた。細菌感染に伴うTLRを介した神経障害の機序については更なる研究が必要である。

【結論】本研究の結果から、*S. aureus* による早産児感染症はLTAによる海馬神経細胞の障害を通じて記憶障害や認知機能障害などの神経後遺症を生じている可能性があると考えられる。

論文審査結果の要旨

【目的】近年、周産期医療の進歩により早産低出生体重児の生命予後は改善したが、脳性麻痺や発達障害など神経後遺症はまだまだ一定の確率で発生している。早産低出生体重児の感染症は神経発達の長期予後を不良にすることが知られており、我が国の新生児集中治療室では起病因として *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) が最も多い。そこで本研究では *S. aureus* の細胞壁成分であるリポテイコ酸 (LTA) による未熟脳での脳障害の病態と機序を解明することを目的として以下の研究を行った。

【方法】ヒトでの早産 (23-36週) はラットでは生後3-7日に相当するため、早産児モデルとして生後3日の新生仔ラットを用いた。同一母体から出生した仔に、Heat Killed *S. aureus* (HKSA) またはLTA、生理食塩液を静脈または腹腔内に投与した。投与7日後に大脳の凍結切片を作成し、形態評価を行い、組織変化をスコア化し比較検討した。microgliaはIba1, astrocyteはGFAP, apoptosisはcaspase-3を用いて免疫組織染色を行った。また生後3日でのToll-like receptor 2 (TLR2) の発現について免疫蛍光染色を行った。

【結果と考察】HKSA, LTA投与群のいずれも投与7日後まで全例が生存したが、HKSA投与群で海馬錐体神経細胞が障害された個体が見られ、LTA投与群でも同様に海馬のCA1, CA3領域に有意な神経細胞障害が見られた。一方、両群とも皮質、白質、基底核で神経細胞やグリア細胞に変化は認められなかった。LTA

投与群の海馬CA3領域ではcaspase-3陽性細胞が有意に増加していたが、Iba1, GFAPの発現に差はなかった。また、LTAに結合するTLR2の発現は生後3日目では海馬、皮質、白質、基底核の神経細胞とグリア細胞で認められた。HKSAとLTAのいずれを投与した場合も海馬錐体神経細胞障害が見られたことから、*S. aureus* による早産児感染症ではLTAを介する海馬の障害が起こっている可能性が示唆された。また同部位でcaspase-3陽性細胞が増加していることから、*S. aureus* による海馬障害にはLTAによる神経細胞のapoptosisが関与していると考えられた。これまでLTAはTLR2で認識され、microgliaやastrocyteなどのグリア細胞を活性化し神経障害を起こすことが指摘されている。しかしながら、本研究ではグリア細胞に変化は見られなかったことから、LTAはTLR2を介して直接的に神経細胞のapoptosisを引き起こしている可能性も考えられた。細菌感染に伴うTLRを介した神経障害の機序については更なる研究が必要である。

【結論】本研究の結果から、*S. aureus* による早産児感染症はLTAによる海馬神経細胞の障害を通じて記憶障害や認知機能障害などの神経後遺症を生じている可能性があると考えられる。

本論文は、LTAによる海馬神経細胞障害の発生機序を免疫組織化学的検討によって示したものであり、*S. aureus* による早産児感染症が神経後遺症をおこすひとつの機序を示した臨床的意義のある論文と考える。以上審査の結果、本論文は学位授与にふさわしい論文であると判断する。

氏名 五 明 美 穂

〈学位〉	種 類	博士 (医学)	論 文 項 目	脳実質内腫瘍の鑑別診断におけるCT灌流画像とMR灌流画像の有用性の検討
	授与番号	博乙医 第576号	論文審査委員	主査 千葉厚郎 副査 大木 紫 菅間 博 平野照之 古瀬純司
	授与年月日	平成27年12月16日		
	授与の要件	学位規程第6条		

学位論文の要旨

目的：灌流画像は組織の毛細血管や、それに準ずる血管の組織血流を画像化する方法で、腫瘍の悪性度の評価や鑑別に有用性が期待できる。我々はCT灌流画像とMR灌流画像を用い脳腫瘍の鑑別における有用性を検討した。

対象：CT灌流画像、MR灌流画像とも術前精査として施行後に確定病理診断を得た症例を対象とした。CT灌流画像は58例で、高悪性度神経膠腫が32例、低悪性度神経膠腫が8例、脳原発悪性リンパ腫が5例、脳転移が13例であり、MR灌流画像は56例で、高悪性度神経膠腫が36例、低悪性度神経膠腫が9例、脳原発悪性リンパ腫が5例、脳転移が6例であった。

方法：CT灌流画像は脳血液量、脳血流量、平均通過時間の各map上で腫瘍充実部と対側正常白質の計測値から比を算出し、MR灌流画像は各map上で腫瘍充実部と対側正常白質を視覚的に比較し点数化した。結果を腫瘍間で統計学的に検討し、また、ROC解析にて各腫瘍の鑑別に際しカットオフ値を算出した。

結果：CT・MR灌流画像ともに脳血液量は高悪性度神経膠腫と脳転移が悪性リンパ腫や低悪性度神経膠腫に比し高値を示し、脳血流量は高悪性度神経膠腫が脳原発悪性リンパ腫や低悪性度神経膠腫に比し高値を示し、平均通過時間は脳転移が高悪性度神経膠腫や低悪性度神経膠腫に比し高値を示した。また、CT灌流画像でのみ脳血液量は悪性リンパ腫が低悪性度神経膠腫よりも高値を、脳血流量は脳転移が悪性リンパ腫や低悪性度神経膠腫に比し高値を、平均通過時間は脳原発悪性リンパ腫が高悪性度神経膠腫や低悪性度神経膠腫に比し高値を示した。一方、ROC解析の結果から脳血液量では各腫瘍間では脳血液量で測定値に重なりのある腫瘍間に対し、それぞれ鑑別に有用なカットオフ値が得られた。

結論：CT灌流画像、MR灌流画像ともに脳血液量は高悪性度神経膠腫や脳転移と、脳原発悪性リンパ腫、低悪性度神経膠腫との鑑別に、平均通過時間は高悪性度神経膠腫と脳転移との鑑別に有用性が期待できる。また各腫瘍の鑑別に際し脳血液量と平均通過時間のカットオフ値を組み合わせることで診断能の向上が見込まれる。

論文審査結果の要旨

灌流画像は、組織の毛細血管やそれに準ずる血管の組織血流を画像化する方法であり、腫瘍の放射線学的診断において悪性度の評価や鑑別に有用性が期待できる検査法の一つとなっている。本研究では、CT灌流画像とMR灌流画像を用い脳腫瘍の鑑別における有用性を検討した。

術前検査としてCTまたはMRによる灌流画像撮影を施行し、病理組織の確定診断を得た脳腫瘍症例を対象とした。CT灌流画像検査を行ったのは58例（高悪性度神経膠腫32例 [grade IV 25例, grade III 7例], 低悪性度神経膠腫8例 [乏突起神経膠腫3例, その他5例], 脳原発悪性リンパ腫5例, 脳転移13例), MR灌流画像検査を行ったのは56例（高悪性度神経膠腫36例 [grade IV 26例, grade III 10例], 低悪性度神経膠腫9例 [乏突起神経膠腫5例, その他4例], 脳原発悪性リンパ腫5例, 脳転移6例)であった。ただし、脳転移については今回の検討では原発性肺癌のみを対象とした。灌流画像検査で得られる組織血液量・組織血流量・組織血液平均通過時間の3つのパラメータについて腫瘍間で統計学的に検討し、以下の結果を得た：

1. 組織血液量・組織血流量共に、高悪性度神経膠腫は低悪性度神経膠腫よりも有意に高く、また、低悪性度神経膠腫の中で

も乏突起神経膠腫はその他のものよりも高値を示した。これらは先行研究と矛盾しない結果であった。

2. 脳腫瘍に関する報告がこれまで無かった組織血液平均通過時間に関して、脳転移が高悪性度神経膠腫や低悪性度神経膠腫に比し高値を示し、鑑別に有用であることを明らかにした。
3. ROC解析を行い、組織血液量では各腫瘍間に対し、また組織血液平均通過時間では組織血液量で測定値に重なりのある腫瘍間に対し、それぞれ鑑別に有用なカットオフ値が得られた。
4. 3で求めたカットオフ値を基に、CT灌流画像、MR灌流画像それぞれについて腫瘍組織鑑別のためのアルゴリズムを作成した。そのアルゴリズムによる腫瘍鑑別能は、CT灌流画像の方がMR灌流画像より優れており、感度・特異度共に非常に高い鑑別が可能であった。

本研究は、2つの検査modality、6種類の腫瘍組織型、3つの測定パラメーターを、総合的に解析した研究であり、先行研究の確認に加えて、腫瘍組織鑑別における組織血液平均通過時間の有用性を初めて示したものである。灌流画像検査から得られるパラメーターについてカットオフ値を設け、腫瘍組織鑑別アルゴリズムを構築した点も、新規性が高く、臨床応用を念頭においた意味ある研究と考える。審査の結果、本論文は学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 大畑 徹也

〈学位〉	種 類	博士 (医学)	論 文 項 目	Changes over time in callus formation caused by intermittently administering PTH in rabbit distraction osteogenesis models (家兎骨延長モデルに対するPTH間歇投与による仮骨形成の経時的変化)
	授与番号	博乙医 第577号	論文審査委員	主査 松村讓兒 副査 石田 均 岡島康友 神崎恒一 櫻井裕之
	授与年月日	平成27年12月16日		
	授与の要件	学位規程第6条		

学 位 論 文 の 要 旨

〔目的〕 仮骨延長法は長管骨の粉碎骨折や、骨腫瘍切除後の骨欠損などによる短縮肢の延長に中広く臨床応用されているが、仮骨の成熟に延長期間の2～3倍の時間を要し創外固定器の装着期間が長期に及ぶことが問題点である。副甲状腺ホルモン：PTH (1-34) テリパラチド酢酸塩 (以下PTH) は、間歇的に投与すると骨形成促進作用があり骨粗鬆症に臨床応用されている。今回、ヒトと同じリモデリング動物である家兎の仮骨延長モデルを作成し、PTHの仮骨形成への経時的変化について画像と力学的検討から明らかにするために、以下の基礎的検討を行った。

〔材料と方法〕 日本白色家兎 (体重2.2～2.6kg) 15羽を用い、静脈麻酔下に後脚小腿にヒト短管骨用創外固定器を装着後、脛骨を骨切りし、仮骨延長モデルを作成した。術後7日間待機した後、1回0.375mmの骨延長を12時間毎に連続14日間、計28回施行した (総延長距離は10.5mm)。延長開始と同時にPTH 30 μg/kg (以下P群) と生理食塩水群 (以下N群) を各15羽に一日1回隔日に4週間皮下注射した。術後6, 8, 10週で各5羽の下腿骨を採取し骨密度、pQCTと力学的試験を行った。力学試験では吸収エネルギー、最大点荷重、剛性を測定した。統計処理にはSPSS統計ソフトを用い、t検定でp<0.05を有意差ありとした。

〔結果〕 P群の平均骨密度はN群に対して経時的に術後6, 8, 10週間に有意差はなかった。pQCTでは平均仮骨部全断面積は各群の経時的には有意差はなかったが、N群との比較ではP群がつねに大きく、術後8, 10週において有意に断面積が大きかった。未熟な骨を含む閾値267mg/cm³での平均皮質骨断面積は術後6週でP群がN群に対し有意に増加し、一般的な骨皮質の閾値690mg/cm³でも大きい傾向にあった。力学試験ではP群の吸収エネルギーはN群と比較して術後6週で変化はないが、術後8週では有意に増加しており、術後10週でN群も増加して、両群の差がなくなっていた。

〔結論〕 PTH間歇的投与による仮骨への経時的影響は、術後6週の骨硬化期間ですでにリモデリング促進効果が出現し、術後8週の骨硬化期間で皮質骨の外骨膜性骨化の増強に伴う外径の増大 (cortical drift) と、リモデリング増強に伴う海綿骨微細構造の成熟が認められ、これに伴って骨強度が増強された。また、術後10週の骨硬化期間ではN群の骨強度が先行するPTH群の骨強度に追いついてきたと考えられた。PTH間歇的投与により仮骨延長法において仮骨成熟期間の短縮が期待できる。

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

骨延長法は、長管骨粉碎骨折や骨腫瘍切除後の骨欠損などによる短縮肢の延長に臨床応用されているが、仮骨成熟に延長期間の2～3倍の時間を要するため、創外固定器装着の長期化が問題である。一方、骨粗鬆症治療薬である副甲状腺ホルモン製剤：PTH (1-34) テリパラチド酢酸 (以下PTH) は、間歇投与で骨形成促進効果を示すことが知られている。本研究は、ヒトと近似のリモデリング様式を示す家兎を用いて骨延長モデルを作成し、PTHの仮骨形成への影響を明らかにすることを目的として、PTH投与後の骨延長部の変化を経時的に観察し、画像計測および力学試験による検討を加えたものである。

日本白色家兎 (体重2.2～2.6kg) を用い、静脈麻酔下で後肢小腿にヒト短管骨用創外固定器を装着後、脛骨を骨切りして骨延長モデルを作成した。術後7日から、0.375mm/回の骨延長を12時間毎に14日間、計28回施行した (総骨延長：10.5mm)。延長開始と同時に15羽のモデルにPTH 30 μg/kgを隔日に4週間皮下注射し (以下P群)、生理的食塩水投与群 (N群) を対照群として比較検討した。術後6, 8, 10週で各5羽の下腿骨を摘出、①骨密度測定、②pQCTによる延長仮骨部の断面形状測定、ならびに③3点曲げによる力学試験を行った。力学試験では、吸収エネルギー、最大点荷重量、剛性を測定した。統計処理にはSPSS統計ソフトを用い、t検定でp<0.05を有意差ありとした。

①平均骨密度は、P群の術後6, 8, 10週の間有意差はなく、

各期ともN群との間に有意差はなかった。②pQCTでは、平均仮骨部全断面積はP群、N群とも各期の間有意差を示さなかったが、両群の比較では術後8, 10週でP群はN群に比べて有意に断面積が大きかった。平均皮質骨断面積 (閾値690mg/cm³として測定) は、各期ともP群で高値を示す傾向がみられ、とくに未熟骨を含めた平均皮質骨断面積 (閾値267mg/cm³として測定) では術後6週でP群がN群に対して有意に高値を示した。③力学試験では、P群とN群の吸収エネルギーは術後6週では差を示さないが、術後8週ではP群で有意に増加し、術後10週ではN群がP群のレベルまで増加していた。

PTH間歇投与による仮骨形成への影響は、術後6週のリモデリング促進に始まり、術後8週では皮質骨の骨化増強と海綿骨成熟により骨強度が増強されると確認された。また、術後10週ではN群の骨強度がP群に近づくように増大することから、同時期には成熟の進行が定常状態に近づくと考えられた。以上の結果から、PTH間歇投与は術後早期からリモデリング促進に働き、仮骨成熟による骨強度増強を促す可能性が高いと結論された。

本研究は、骨延長法に際してPTH間歇投与による仮骨形成促進が術後早期から発現することを、ヒトと近似のリモデリング様式を示す家兎で確認したもので、仮骨成熟期間短縮に対するPTHの効果的用法の基礎となる新たな知見を得ている。ヒトへの臨床応用の可能性が期待される報告であり、審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

氏名 河野道弘

〈学位〉	種類	博士(医学)	論文項目	頭頸部扁平上皮癌における免疫組織化学的手法を用いたマーカー物質の発現に関する研究：センチネルリンパ節の臨床応用に向けての試み		
	授与番号	博乙医 第578号	論文審査委員	主査	古瀬純司	
	授与年月日	平成28年3月9日	副査	谷口善仁	平野浩一	正木忠彦 松村讓児
	授与の要件	学位規程第6条				

学位論文の要旨

〔目的〕近年癌の外科治療においては低侵襲治療あるいは縮小手術の導入の試みが積極的になされている。乳癌の先駆的な外科治療であるSentinel node navigation surgery (SNNS) は、最初に転移が生じる“見張り”リンパ節であるセンチネルリンパ節 (sentinel lymph node:SN) への転移の有無をone-step nucleic acid amplification (OSNA) 法を原理とした機器を用いて判定し、転移陽性であれば必要なリンパ節郭清を行うが、陰性であれば郭清を省略するという縮小手術法である。SNNSにおいて予後が損なわれたという報告はなく、SNNSは乳癌の標準術式となっている。

頭頸部扁平上皮癌 (head and neck squamous cell carcinoma: HNSCC) の外科的治療においては、本法を導入する試みがなされている。しかし、口腔癌を中心にSNの同定や意義の検討はなされているものの、SNの意義はまだ確立されておらず今後の検討を待たねばならない。

本研究ではHNSCCに発現するマーカー物質の免疫組織化学的検討を行い、将来HNSCCに対してSNNSが実用化される際に必要とされる基礎データの作成と解析を目的とした。

〔方法〕HNSCC36例の原発巣に対して、乳癌のOSNA法のマーカー物質であるCK19、HNSCC及び扁平上皮癌において発現の強いことが報告されているCK903、CK5/6、p63、およびHNSCCの癌幹細胞に関連して注目されているCD44sを検討マーカーとして選び、これらによる免疫染色を行い、その発現状態をAllredスコアにて評価した。

〔結果〕HNSCC36例においてCK5/6の発現が他の全てのマーカー物質に対して有意に強く、CK19の発現が他の全てに対して有意に弱かった。CK19とCD44sにおいて舌癌と咽喉頭癌の間にその発現に有意差が見られた。

〔結語〕HNSCCに高頻度に発現するマーカー物質は乳癌と異なることや、HNSCCでは部位によってマーカーの発現の異なることが明らかにされた。将来HNSCCにSNNSの導入を検討する際、本研究は有用なデータとなり得ると考えられる。

論文審査結果の要旨

近年、がんの外科切除手術においては低侵襲治療あるいは縮小手術の導入の試みが積極的になされている。乳癌の切除手術であるsentinel node navigation surgery (SNNS) は、最初に転移が生じる“見張り”リンパ節であるセンチネルリンパ節 (sentinel lymph node:SN) への転移の有無をone-step nucleic acid amplification (OSNA) 法で判定し、転移陽性であれば必要なリンパ節郭清を行うが、陰性であれば郭清を省略するという縮小手術法が標準手術として確立している。一方、頭頸部扁平上皮癌 (head and neck squamous cell carcinoma: HNSCC) の切除手術においてもSNNSの導入が試みられてきているが、SNの意義はまだ確立していない。本研究ではHNSCCにおけるSNNSの実用化に向けた取り組みとして、SN同定に最適なマーカーを検討するため、HNSCCに発現するマーカー物質の免疫組織化学的検討を行い、腫瘍の部位による各マーカーの発現の違いを明らかにした。

HNSCC36例 (舌癌10例、咽頭癌16例、喉頭癌10例) の原発

巣に対して、乳癌のOSNA法のマーカー物質であるCK19、HNSCCを含む扁平上皮癌において強く発現するとされるCK903、CK5/6、p63、およびHNSCCのがん幹細胞に関連して注目されているCD44sの5つをマーカー物質として選び、免疫染色による発現状態をAllredスコアにて評価した。

HNSCC36例においてCK5/6の発現が他の全てのマーカー物質に対して有意に強く、CK19の発現が他の全てに対して有意に弱かった。CK19とCD44sでは舌癌と咽喉頭癌の間にその発現に有意差がみられた。これらの結果から、HNSCCに発現するマーカー物質は乳癌と異なること、ならびにHNSCCでは部位によってマーカーの発現が異なることが明らかにされた。将来HNSCCにSNNSの導入を検討する際、本研究結果は有用なデータとなり得ると考えられる。

本研究は頭頸部扁平上皮癌における主要なマーカーの発現状況について明らかにしたものである。将来、本領域癌におけるSNNSの導入に向けた取り組みに大きく貢献することが期待され、審査の結果、学位論文として価値あるものと認めた。

学位論文要旨および審査要旨

氏名 濱田 真輔

〈学位〉	種類	博士(医学)	論文項目	上部尿路上皮癌における脂肪酸合成酵素の発現と臨床病理学的因子および予後との関連
	授与番号	博乙医 第579号	論文審査委員	主査 正木忠彦
	授与年月日	平成28年3月9日	副査	井本 滋 大西宏明 小林富美恵 大倉康男
	授与の要件	学位規程第6条		

学位論文の要旨

目的：脂肪酸合成酵素（Fatty acid synthase：FAS）は様々な種類の悪性腫瘍で高度に発現し、その病勢に相関することが報告されている。本研究では、外科的切除された上部尿路上皮癌（upper urinary tract urothelial carcinoma：UTUC）におけるFASの発現を評価し、発現レベルと臨床病理学的因子や予後との関連を解析した。

方法：上部尿路上皮癌に対し外科的切除を施行した113症例を対象とした。腫瘍部分のパラフィン包埋切片を、抗FASウサギポリクローナル抗体を用いて免疫組織学的に染色した。中等度から強度の染色を認めた部位が腫瘍細胞の50%より広い範囲を占めた場合をFAS高発現と定義した。FASの発現と臨床病理学的因子、予後との関連を解析した。

結果：観察期間の中央値は46.8か月で、61症例（54.0%）に再発を認め、17症例（15.0%）が癌死した。FAS高発現は腫瘍の高異型度と統計学的有意に関連した（ $p = 0.03$ ）。浸潤癌におけるFAS発現レベルを腫瘍の表在部と深部に分けて評価したところ、両者における発現レベルには有意な相関性を認めた（ $p < 0.01$ ）。また、深部がFAS高発現であった例には脈管侵襲陽性例が有意に多かった（ $p = 0.01$ ）。FAS高発現例はFAS低発現例に比べて、無再発生存率と膀胱外無再発生存率が有意に低かった（それぞれ $p = 0.02$, $p = 0.02$ ）。Cox比例ハザードモデルによる多変量解析でFASの発現レベルは無再発生存率を予測する独立因子であった（ $p = 0.02$, ハザード比 = 1.97）。

結論：上部尿路上皮癌におけるFAS高発現は腫瘍の悪性度と有意に関連し、術後の腫瘍再発を予測する独立因子であった。

論文審査結果の要旨

【背景】脂肪酸合成酵素（fatty acid synthase：FAS）は様々な種類の悪性腫瘍で高度に発現し、その病勢に相関することが報告されている。本研究は、外科的切除された上部尿路上皮癌（upper urinary tract urothelial carcinoma：UTUC）におけるFASの発現を評価し、発現レベルと臨床病理学的因子や予後との関連を解析した初めての研究である。

【対象と方法】外科的切除を施行した上部尿路上皮癌113症例を対象とし、腫瘍部分のパラフィン包埋切片を、抗FASウサギポリクローナル抗体を用いて免疫組織学的に染色した。中等度から強度の染色を認めた部位が腫瘍細胞の50%より広い範囲を占めた場合をFAS高発現と定義し、FASの発現と臨床病理学的因子、予後との関連を解析した。

【結果】観察期間の中央値は46.8か月で、61症例（54.0%）に再発を認め、17症例（15.0%）が癌死した。FAS高発現は腫瘍の高異型度と統計学的有意に関連した（ $p = 0.03$ ）。浸潤癌におけるFAS発現レベルを腫瘍の表在部と深部に分けて評価したところ、

両者における発現レベルに有意な相関性を認めた（ $p < 0.01$ ）。また、深部がFAS高発現であった例には脈管侵襲陽性例が有意に多かった（ $p = 0.01$ ）。FAS高発現例はFAS低発現例に比べて、無再発生存率と膀胱外無再発生存率が有意に低かった（それぞれ $p = 0.02$, $p = 0.02$ ）。Cox比例ハザードモデルによる多変量解析でFASの発現レベルは無再発生存率を予測する独立因子であった（ $p = 0.02$, ハザード比 = 1.97）。

【結論】上部尿路上皮癌におけるFAS高発現は腫瘍の悪性度と有意に関連し、術後の腫瘍再発を予測する独立因子であることが明らかとなった。また腫瘍の表在部と深部のFAS発現レベルが相関することから、経尿道的内視鏡手術施行例において、粘膜層部の検体のFAS発現レベルを評価することで病変全体の悪性度を予測できる可能性が示唆された。

本研究の結果は、FAS発現レベルの検討が上部尿路上皮癌の悪性度の評価に有用であることを示すと同時に、経尿道的内視鏡手術施行例において追加治療の適応を決定する際のマーカーとなる可能性を示した点で極めて臨床的価値が高いものと判断された。

以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認められた。

〔博士（保健学）〕

氏名 島田正亮

〈学位〉	種類	博士（保健学）	論文項目	児童養護施設における児童の措置変更プロセスに関する研究
	授与番号	博甲保 第46号	論文審査委員	主査 照屋浩司 副査 川村治子 太田ひろみ 岩崎テル子
	授与年月日	平成28年2月17日		
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

【問題と目的】 児童養護施設において児童の養育が困難になった場合、児童自立支援施設等に措置変更となるケースが存在する。しかし、措置変更に関心する研究はほとんど行われていない。そこで本研究では、児童養護施設の職員に面接調査を行い、児童が措置変更に至るまでのプロセスを明らかにするとともに、措置変更に影響を与える要因や状況を明らかにすることを目的とした。

【方法】 本研究への協力が得られた3か所の児童養護施設の職員20名を対象とし、職員自身が経験した措置変更を検討した事例について、面接調査を実施した。木下によるグラウンデッドセオリー法を参考に分析を行い、概念、サブカテゴリー、カテゴリーを生成し、モデル図の作成を行った。

【結果】 分析の結果、43個の概念、13個のサブカテゴリー、4個のカテゴリーが生成された。措置変更のプロセスは、子どもに関連する要因、職員に関連する要因、環境に関連する要因の3カテゴリーから構成される問題発生段階と、職員が検討の基礎となる観点ももちながら、子どもの行動レベルでのアセスメントを行い、措置変更の最終的な判断を行うまでの検討段階の2段階となっていることが示された。措置変更を促進する方向に働く要因としては、担当者の負担、生活の安全を守りきれない状況、施設内での意見の相違、があげられた。一方で、措置変更を抑制する方向に働く要因としてあげられたのは、対応の工夫、適切な環境の模索であった。

【考察】 これまで明らかにされてこなかった児童の措置変更プロセスについて、措置変更を促進する方向に働く要因、抑制する方向に働く要因を含めて示すことができた。措置変更を抑制するためには、子どもの特性に合わせた柔軟な養育システムの構築が求められることが示唆された。なお、本研究で得られた結果は、本研究が対象としたデータの範囲内に限定されるものであるという研究の限界もあるが、児童養護施設での養育実践に一定程度寄与することが可能であり、調査協力者の範囲を広げて検討を行うこと、量的研究による検証を行うことにより、更なる発展が期待できるものと考えられた。

論文審査結果の要旨

児童養護施設に入所する児童に養育困難な状況が生じ、児童自立支援施設に措置変更されることは、継続的なケアの妨げとなるが、その要因についての検討はほとんど行われてきておらず、とくに児童養護施設側の要因について焦点を当てた研究はみられていない。

本研究では、児童養護施設における児童の措置変更のプロセスに関連する要因を明らかにし、措置変更を行わずに済むような方向を模索することも視野に入れ、児童養護施設職員に対する面接聞き取り調査結果について詳細な解析が実施された。

検討により、児童養護施設における児童の措置変更は、問題発生の段階と措置変更を検討する段階の大きく2つの段階からな

り、問題発生の段階は、子ども、職員、環境のそれぞれに関連する3つの要因で形成され、検討を行う段階では、検討の基礎となる観点に、行動レベルでの判断要素が加わって、措置変更の最終的な判断が導かれることが示された。

児童養護施設における児童の措置変更のプロセスという新規性のある研究課題について、希少なデータを丁寧に分析することにより、措置変更のプロセスを、措置変更を行う方向に作用する要因と措置変更を行わずに済むような判断につながる要因とに区分して示した独創的な研究であり、限られた地域の一部の児童養護施設職員のみを対象とした研究ではあるものの、児童養護施設におけるこれからの取組みにも外挿が可能であると考えられ、研究分野としてもさらなる発展が期待できることから、保健学の領域における博士論文として意義あるものとした。

学位論文要旨および審査要旨

氏名 三宅英司

〈学位〉	種類	博士（保健学）	論文項目	バドミントン選手の傷害に関する縦断的研究
	授与番号	博甲保 第47号	論文審査委員	主査 中野尚子
	授与年月日	平成28年2月17日		副査 森田千晶 阪本奈美子 石黒 友康
	授与の要件	学位規程第5条		

学位論文の要旨

バドミントンは、日本において広く普及しているスポーツの一つである。近年、各種目の傷害特性に応じた予防プログラムが開発されている。しかし、バドミントンの傷害に対する予防プログラムは、開発されていない。

本研究の目的は、バドミントンの傷害発生率や重症度に関する疫学調査を行い、傷害の原因やメカニズムの特徴を明確にして、予防プログラムの開発に必要な要因を抽出することである。

対象は、全国大会出場チームに所属する中学生から大学生までのバドミントン選手133名であった。傷害の縦断的調査は、チーム専属の理学療法士が前向きに行った。調査項目は、Injury Rate (IR) /1000hours (h)、IR/1000Athlete-exposures (AE)、重症度、傷害の種類（外傷・オーバーユース）、受傷状況（試合・練習）、傷害部位とした。統計解析は、分散分析と χ^2 検定を用いて、有意水準を5%とした。

練習のIR/1000hは、性別で女性が男性より割合が高く、年代別で年代が高いほど高率であり、性と年代の主効果とその交互作用が有意であった。試合と練習のIR/1000AEは、中学生女子を除くすべての性と年代で試合が練習より高率となり、年代と受傷状況の主効果が有意であった。重症度は、年代と傷害の種類に有意な関連を認め、大学生と外傷が重度であった。受傷状況別の傷害の種類は、試合と練習共にオーバーユースの割合が外傷の約3倍であった。性と年代別の傷害部位について、男性は全ての年代で腰部、女性は中学生が腰部、高校生がラケット側（Racket side：RS）大腿部、大学生がRS肩関節でそれぞれ高率となり、年代の主効果と性と年代と部位の交互作用が有意であった。その他の傷害の特徴として、RS足関節は練習または試合を休んだ傷害の割合が高率で、傷害が好発した上位5部位は練習での発生が多かった。

理学療法士が競技現場で前向きの縦断的調査を行い、傷害発生率等の疫学データからバドミントンにおける傷害の特徴が明らかになった。本研究の成果として、傷害予防プログラムの開発の際、性と年代を加味する必要が示唆された。また、競技レベルの高い中学生から大学生の選手に対して、オーバーユースによる重症化を予防するため、ストレッチングや筋力トレーニングを組み合わせた体系的プログラムの開発が必要である。

論文審査結果の要旨

本論文はスポーツ活動中の傷害、特にバドミントン競技において発生する傷害について、傷害発生率や重症度に関する疫学調査を行い、傷害の原因や発生メカニズムの特徴を明らかにしたものである。

全国大会出場レベルのチームに所属する中学生から大学生までのバドミントン選手を対象に、傷害の縦断的調査をチーム専属の理学療法士が前向きに行った。調査項目として、傷害発生率は選手一人の1時間の参加を1 hourとしてカウントした1000hあたりのInjury Rate (IR) と、選手一人の1回の参加を1 Athlete-exposure (AE) とカウントした1000AEあたりのIRを用いて算出した。さらに重症度や傷害の種類、受傷状況や傷害部位についても詳細な調査を行い分析した結果、性と年代別の傷害発生率が明確になった。練習時におけるIR/1000hは、男性より女性の方が高く、年代が高くなるほど高率であった。また練習時より試合時の方が高率に発生していた。傷害部位別のIR/1000AEでは男

性では全ての年代で腰部、女性では中学生が腰部、高校生がラケット側の大腿部、大学生がラケット側の肩関節でそれぞれ高率となり、年代の主効果と性と年代と部位の交互作用が有意であることが確認された。さらに全傷害において、オーバーユースが外傷の割合の3倍を示した。競技レベルの高い選手は傷害を有する率が高く、年齢によっても均一ではないことから、本研究において性と年代別に傷害発生率を明確にしたことは、傷害予防プログラムの開発において意義があり、論文中でも提示しているような傷害予防プログラムの試案作成の可能性を示した。

スポーツ活動中の調査である以上、静止画を用いた姿勢アライメントの分析のみでなく傷害発生が危惧される競技場面と同様の動作を動的に分析評価する必要性が示唆されたが、本研究において確認された性と年代別傷害発生の特性は新規性に優れており、今後スポーツリハビリテーションの分野において発展性のある研究であると考えられる。慎重な審査の結果、本論文は博士論文として価値を有していると認めた。

学位論文要旨および審査要旨

氏名 関 健 介

〈学位〉	種 類 博士(保健学)	論 文 項 目 金属切削油剤使用作業場の悪臭改善に関する基礎的研究
	授与番号 博乙保 第52号	論文審査委員 主査 照屋浩司
	授与年月日 平成27年9月2日	副査 森田耕司 亀崎路子 金森政人
	授与の要件 学位規程第6条	

学位論文の要旨

金属の切削加工を行う作業場では、近年、潤滑用切削油剤の腐敗が原因と思われる悪臭が発生し、作業環境を悪化させ問題となっている。臭気は一般に主観的に評価される環境要因であり、不快感によってストレスが生じ、身体不調をはじめ様々な健康影響を招くと懸念されている。また、作業の効率や集中力の低下はミスや事故にも繋がりがねず、産業衛生上の問題として解決が急務となっている。このような切削油剤の腐敗を抑制する対策の1つとして微生物資材を利用した方法があるが、その歴史は浅く、効果の評価や機序の解明は、ほとんどなされていない。そこで、本研究では、この切削油剤防腐用微生物資材の特性や腐敗臭原因菌への効果、及びその作用機序について検討を行った。

本研究では腐敗劣化した切削油剤中の一般細菌（以下、勝敗菌）を腐敗臭の原因菌とみなし、それらに対する微生物資材の殺菌作用や増殖抑制作用を検討した。また、その腐敗抑制効果は微生物資材の抗酸化作用によるとも言われていることから、これらの関連性についても検討した。

結果、腐敗菌に対する微生物資材の主たる効果は殺菌作用でなく増殖抑制作用である事が確認され、この効果は培養後、生菌体を除いた培養液でも観察された。微生物資材の抗酸化作用については一定の能力が認められたが、腐敗菌への殺菌作用との間には関連性が認められなかった。これらの事より、微生物資材による腐敗抑制作用は腐敗菌の殺菌、特に抗酸化作用を利用したものではなく、有用菌が代謝分泌した何らかの物質により、腐敗菌の増殖を抑制したものと考えられた。この効果は好気性細菌ではなく、主に通性嫌気性細菌へ対するものであると考えられた。偏性嫌気性細菌も考慮した、ABCM寒天培地による実験でも抑制効果は認められたが、上記に比して弱いものであった。従来、微生物資材の防腐作用は良好な細菌叢が必要であると言われてきたが、本実験において、単種の有用菌でも増殖を抑制している事が確認出来た。微生物資材の腐敗抑制効果は不安定である事が指摘されているが、腐敗菌と有用菌との適合性を考慮して、現場に合った菌を選択し利用する事で、金属切削加工場の臭環境を安定的に改善出来ると期待される。

論文審査結果の要旨

論文提出者は複数の労働衛生関連の資格を有し、実際に本学においても研究、教育の傍らキャンパスの衛生管理者、作業環境測定士として、職場環境の管理に携わる立場にある。本研究においては、金属切削時に用いられる水溶性潤滑用油剤について、油剤の腐敗により生ずる悪臭が引き起こす作業環境の悪化を防止する観点からの検討を行っている。具体的には、悪臭を防止する目的で経験的に油剤に添加されてきた微生物資材について、その特性や腐敗菌への効果、およびその作用機序を明らかにすることを目的として研究が実施された。

検討により、腐敗菌に対する微生物資材の働きは、雑菌作用ではなく増殖抑制作用であること、抗酸化作用は働きの主たる要因とは言えないことを明らかにした。また、増殖抑制作用は微生物資材中の菌の存在そのものによるものではなく、微生物の増殖過程で代謝分泌された耐熱性で低分子の物質によるものである可能性を示唆した。さらに、有用菌を単離して調整した資材によっても腐敗菌抑制の効果がみられることを確認し、増殖抑制作用は微

生物資材中の複数の微生物（細菌叢）の総合的な作用によるものではないことを明らかにした。

腐敗菌の菌数を指標として微生物資材の有用性を評価するためには、微生物資材中の有用菌生菌の存在が障害となるため、本研究では、濾過や加熱による処理を行っているが、このことが、耐熱性で低分子の物質が微生物資材による増殖抑制効果の主体であるという示唆を得るうえで重要なアプローチとなった。また、従来から通説とされてきた「腐敗菌抑制における細菌叢の形成」が必須ではなく、単離された生物資材由来菌においても効果が得られたことは、作業に応じた有用菌を選択して現場に適応するなど、今後の発展的な取り組みに貴重な知見を示したと考える。

単離菌とその腐敗菌抑制物質に関する微生物学的、化学的側面からの検討に若干のを課題は残るものの、実験で得られた成果は、適切な微生物資材の利用により作業現場における悪臭を軽減し、職場環境の改善につなげるための基礎的な研究として有用であり、審査の結果、本論文を保健学領域における博士論文として価値あるものと認めた。