

2017. 5

特集号



(題字：脇口宏学長)

国立大学法人

高知大学学報

高知大学学位授与記録第八十六号

総務課広報係発行

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、高知大学学位規則第14条に基づきその論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

氏名(本籍)	沖田 学 (岡山県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第158号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年3月21日
学位論文題目	Defective imitation of finger configurations in patients with damage in the right or left hemispheres: An integration disorder of visual and somatosensory information? (左半球損傷と右半球損傷による手指構成模倣障害: その差異に視覚と体性感覚の異種感覚情報の統合障害が影響している)
発表誌名	Brain and Cognition (in press)

審査委員	主査	教授	古谷	博和
	副査	教授	上羽	哲也
	副査	教授	由利	和也

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 沖田 学

論文題目

Defective imitation of finger configurations in patients with damage in the right or left hemispheres: An integration disorder of visual and somatosensory information?

(左半球損傷と右半球損傷による手指構成模倣障害:その差異に視覚と体性感覚の異種感覚情報の統合障害が影響している)

(論文要旨)

【背景・目的】

対象を見て身体運動で表現する模倣は視覚情報と体性感覚情報の異種感覚情報の統合によるものと考えられる。近年、この能力は左脳機能として考えられているが、視覚情報と体性感覚情報の異種感覚統合能力を行動評価した報告は少ない。そこで我々は視覚と体性感覚の情報に準拠した行為能力を評価するために、自己の手指に対する視覚情報を除き、模倣対象の視覚情報と体性感覚情報による異種感覚情報の統合能力を浮き彫りにできる視覚遮蔽下模倣検査(non-visual feedback: NVF 条件)を考案した。本研究の目的は、遮蔽下模倣を利用して模倣障害を呈した左および右半球損傷患者の異種感覚情報の統合能力の違いについて明らかにすることである。

【対象と方法】

健常高齢者 11 名(平均年齢 78.60 ± 8.3 歳)において、27%の被験者が NVF 条件下で 5 課題中1つ間違えた。そのため、対象は NVF 条件下で 2 つ以上誤った右利きの左半球損傷患者 28 名(平均年齢 70.11 ± 12.98 歳:観念失行(IA) 10名、観念運動失行(IMA) 17名、構成障害(CD) 22名、注意障害(AD) 16名 重複あり)を左半球損傷遮蔽下模倣障害群(I-LBD)とした。一方、NVF 条件下で全て正答もしくは1つだけの誤りを認めた左半球損傷患者 20 名(平均年齢 71.20 ± 13.86 歳:IA 2名、IMA 2名、CD 3名、AD 8名 重複あり)を左半球損傷コントロール群(C-LBD)とした。右半球損傷者も同様に分類し右半球損傷遮蔽下模倣障害群(I-RBD) 21 名(平均年齢 73.67 ± 13.31 歳:半側空間失認 12名、CD 18名、AD 16名 重複あり)、右半球損傷コントロール群(C-RBD)を 20 名(平均年齢 68.10 ± 12.56 歳:CD 3名、AD 5名 重複あり)とした。実験の内容を理解できなかった者や保続および注意が持続できずに誤判断した者は対象から除外した。なお、施設からの承諾および全対象者から撮影と検査の同意を得た。

本研究では非麻痺側手指による 2 条件下での手指構成の模倣検査を比較した。これらは、被検者は検者の手指を観察できるが被検者が自己の手指を観察できないように被検者の顔と非麻痺側手指の間に板を設置した視覚遮蔽下模倣検査と通常模倣検査のように被検者の視野に非麻痺側手指が入る位置での模倣検査(visual feedback: VF 条件)である。模倣課題は①第 2 指屈曲、②第 4・5 指屈曲、③第 2・4 指屈曲、④第 1・2・3 指屈曲⑤第 1・3・4 指屈曲の 5 種類の無意味形態とした。模倣課題の提示は鏡面模倣で行い被検者が模倣行為を終えるまで提示を続けた。

この検査場面を撮影した映像記録に基づき、最終的に手指を構成した瞬間を模倣完成として試行開始の合図から模倣完成までの達成時間を測定した。また、形態に関与する手指が適切か否かを基準として模倣の正誤を判断した。検討項目は模倣の正答数と達成時間とした。これらの検討項目を比較するために Kruskal-Wallis の検定および多重比較検定(Steel-Dwass 法)を用い統計処理した。




【結果】

I-RBD の正答数は、C-RBD より有意に低かったが、2 条件間に有意差を認めなかった。一方、I-LBD の正答数は VF 条件下よりも NVF 条件下で有意に低かった。また、達成時間は I-LBD の 2 条件ともに C-LBD よりも有意に長かった。

【考察】

遮蔽下模倣の結果から、I-LBD は体性感覚情報を利用した模倣能力が低下していた。その反面、自己身体を見て行う模倣行為能力は残存していた。また、I-LBD では模倣行為に時間を要したことから模倣行為の企画遂行に円滑な情報処理が困難であった。LBD では左脳(下頭頂葉)の機能である感覚情報を統合することによる身体表象の構成が不確実であることが考えられる。一方、RBD の模倣能力には、自己身体に対する視覚情報が有効ではなかった。このことは、RBD は右脳の機能である視空間処理能力の低下の影響から、身体表象に関する身体の構造的要素の障害として考えることができる。NVF 条件の課題特性から、左半球損傷患者と右半球損傷患者では視覚情報と体性感覚情報による異種感覚情報の統合能力が異なることが推察できた。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	沖田 学
審 査 委 員	主 査 氏 名	古谷 博和 
	副 査 氏 名	上羽 哲也 
	副 査 氏 名	由利 和也 

題 目	Defective imitation of finger configurations in patients with damage in the right or left hemispheres: An integration disorder of visual and somatosensory information? (左半球損傷と右半球損傷による手指構成模倣障害: その差異に視覚と体性感覚の異種感覚情報の統合障害が影響している)
著 者	Manabu Okita, Takashi Yukihiro, Kenzo Miyamoto, Shu Morioka, Hideto Kaba
発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月	Brain and Cognition (in press)
要 旨	<p>背景・目的:</p> <p>対象を見て身体運動で表現する模倣は視覚情報と体性感覚情報の異種感覚情報の統合によるものと考えられる。実際の臨床では高次脳機能検査の一環として、検者が手で一定の形(「きつね」の形など)を作り、それを見て被検者が同じ形を真似できない時には、高次脳機能障害の「構成失行(障害)」があると診断される。この能力には左の頭頂連合野が関与していると考えられているが、その機序の解明には視覚情報と体性感覚情報を統合して解析する必要がある。しかしこの異種感覚統合能力を客観的に評価した報告は少ない。</p> <p>そこで筆者らは視覚と体性感覚の情報に準拠した行為能力を評価するために、自己の手指に対する視覚情報を除き、模倣対象の視覚情報と体性感覚情報による異種感覚情報の統合能力を浮き彫りにできる視覚遮蔽下模倣検査(non-visual feedback: NVF条件)を考案した。</p> <p>本研究の目的は遮蔽状態で手の模倣を行う事で、模倣障害を呈した左および右半球損傷患者の異種感覚情報の統合能力の違いについて明らかにすることである。</p> <p>対象と方法:</p>

健常高齢者11名(平均年齢 78.60±8.3歳)においては、27%の被験者がNVF条件下で平均5課題中1つ間違えた。そのため対象はNVF条件下で2つ以上誤った右利きの左半球損傷患者 28名 (平均年齢 70.11±12.98歳: 観念失行(IA)10名、観念運動失行(IMA) 17名、構成障害(CD) 22名、注意障害(AD) 16名重複あり)を左半球損傷遮蔽下模倣障害群(I-LBD)とした。一方、NVF条件下で全て正答もしくは1つだけの誤りを認めた左半球損傷患者20名(平均年齢 71.20±13.86歳: IA 2名、IMA 2名、CD 3名、AD 8名 重複あり)を左半球損傷コントロール群(C-LBD)とした。右半球損傷者も同様に分類し右半球損傷遮蔽下模倣障害群(I-RBD) 21名 (平均年齢 73.67±13.31歳: 半側空間失認 12名、CD 18名、AD 16名重複あり)、右半球損傷コントロール群 (C-RBD) を20名 (平均年齢 68.10±12.56歳: CD 3名、AD 5名、重複あり)とした。実験の内容を理解できなかった者や保続および注意が持続できずに誤判断した者は対象から除外した。なお全対象者から撮影と検査の同意を得ており、施設からの承諾も得ている。

まず非麻痺側手指による2条件下での手指構成の模倣検査を比較した。具体的には、被検者は検者の手指を観察できるが被検者が自己の手指を観察できないように被検者の顔と非麻痺側手指の間に板を設置した視覚遮蔽下模倣検査と、通常の模倣検査のように被検者の視野に非麻痺側手指が入る位置での模倣検査(visual feedback: VF条件)を行った。模倣課題は ①第2指屈曲、②第4・5指屈曲、③第2・4指屈曲、④第1・2・3指屈曲、⑤第1・3・4指屈曲の5種類の無意味形態である。模倣課題の提示は鏡面模倣で行い被検者が模倣行為を終えるまで提示を続けた。

この検査場面を撮影した映像記録に基づき、最終的に手指を構成した瞬間を模倣完成として試行開始の合図から模倣完成までの達成時間を測定した。また、形態に関与する手指が適切か否かを基準として模倣の正誤を判断した。検討項目は模倣の正答数と達成時間とした。これらの検討項目を比較するためにKruskal-Wallisの検定および多重比較検定(Steel-Dwass法)を用いて統計処理した。

結果:

I-RBDの正答数は、C-RBDより有意に低かったが、2条件間に統計学的有意差を認めなかった。

一方、I-LBDの正答数はVF条件下よりもNVF条件下で有意に低かった。

また、達成時間はI-LBDの2条件ともにC-LBDよりも有意に長かった。

結論、考察:

遮蔽下模倣の結果から、I-LBDでは体性感覚情報を利用した模倣能力が低下しているが、その反面自己身体を見て行う模倣行為能力は残存していることがわかった。またI-LBDでは模倣行為に時間を要したことから、模倣行為の企画遂行に円滑な情報処理が困難であることがはっきりした。LBDでは、左脳(下頭頂葉)の機能である感覚情報を統合することによる身体表象の構成が不確実であると考えられた。

一方RBDの模倣能力に自己身体に対する視覚情報の提供は有効でなかった。このことは、RBDでは右脳の機能である視空間処理能力の低下の影響があることから、身体表象に関する身体の構造的要素の障害があると考えることができた。

以上のようにNVF条件の課題特性から、左半球損傷患者と右半球損傷患者では視覚情報と体性感覚情報による異種感覚情報の統合能力が異なると推察できた。

この事は前述の左頭頂連合野障害による「構成失行」の被験者では、ひとめで検者の手の形状を把握することができず、モデルを頻繁に観察して、その指の位置をいちいち確認しながら模倣する行為が見られるが、筆者の研究はまさにその機序を簡単な装置で解明した点で優れたものといえる。

氏名(本籍)	海部 忍 (徳島県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第159号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年3月21日
学位論文題目	Perception of active head rotation in patients with severe left unilateral spatial neglect (重度左半側空間無視患者における能動的頭部回旋の認知)
発表誌名	Journal of Clinical Neuroscience (in press)

審査委員	主査	教授	由利	和也
	副査	教授	古谷	博和
	副査	教授	上羽	哲也

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 海部 忍

論文題目

Perception of active head rotation in patients with severe left unilateral spatial neglect

(重度左半側空間無視患者における能動的頭部回旋の認知)

(論文要旨)

【背景・目的】

左半側空間無視は、右脳損傷における高次脳機能障害の中でも比較的頻度が高く、損傷半球とは反対側の空間認知が困難となる症状である。また、左半側空間無視患者は右空間に存在する何らかの対象に注意が向くと、その対象から他の対象に注意を移行することが困難となる側面を持ち合わせている。その症状は、多くの場合、右空間の視覚対象に注意が向けられた時に出現するが、聴覚刺激でも起こる。右脳損傷患者の左半側空間無視は自己中心座標系の右方偏位によるという基準シフト説 (reference shift hypothesis) が提唱されている。本研究の目的は、左半側空間無視患者及び健常者が開眼と閉眼の条件下で右側、正面、左側からの口頭指示に応じて頭部を能動的に左回旋した際の頭部回旋方位を測定することにより、左半側空間無視患者の空間認知特性を明らかにすることである。

【方法】

対象は、左半側空間無視患者 14 名 (男性 9 名、女性 5 名、平均年齢 70.6 ± 12.5 歳) と年齢をマッチさせた健常者 11 名 (男性 5 名、女性 6 名、平均年齢 70.2 ± 14.5) である。実験は車椅子座位にて足底を床に接地させた状態で実施した。まず、被験者の後方より「正面を向いてください」との口頭指示を与え、被験者が正中として認識している時の頭部回旋方位を測定した。なお、これらの実験を開眼条件とアイマスクによる視覚遮蔽条件 (以下：閉眼条件) において、外部刺激の少ない個室にて実施した。口頭指示を行う者 (実験者 1) は、被験者からみた右方向、正面、左方向の順に 2 m 離れた位置から「○○さん、左側を向いてください」との口頭指示に応じて被験者自らが左側空間を向くよう求めた。測定者 (実験者 2) は被験者自らが左空間へ顔面を向けた際の頭部回旋方位を測定した。測定には関節角度計を用いた。測定する頭部回旋方位は被験者の両側肩峰を結ぶ線を基本軸とし、鼻梁と後頭結節を結ぶ線を移動軸とした。

【結果】




まず頭部回旋に先駆けて、左半側空間無視患者は自己の正中位を正しく認識しているのかどうかを確認するために「正面を向いて下さい」との口頭指示を与えた際、開眼条件では頭部が客観的正面から右空間へ約 30° 偏位していた。しかしながら、閉眼条件では頭部の右方偏位は有意に減少し、顔

面は正中位に近づいた。右側・正面・左側から与える「左を向いてください」との口頭指示に対して、正面及び左方向から口頭指示を与えたときは、開眼と閉眼のどちらの条件においても左半側空間無視患者と健常者の頭部左回旋方位に有意差は認められなかった。一方、右方向から口頭指示を与えたときにのみ健常者より左半側空間無視患者の頭部左回旋方位が有意に小さかった。また、この差異は視覚の有無によらなかった。これらの結果は、左半側空間無視患者では、頭部左回旋時の頸部・前庭刺激が自己中心座標系の基準軸の位置に影響を与えることなく空間の再配置（再学習）と感覚-運動間の相関関係を回復させて無視を改善するが、損傷側と同側の空間からの聴覚刺激にひとたび反応すると、そこからの注意の移行が困難となり、頭部左回旋が妨害されるとの考えを支持している。

【考察】

左半側空間無視患者の頭部は、開眼条件では大きく右へ偏位していたものの、閉眼条件では正中位に近づいたこと、また、正面及び左方向から口頭指示を与えたときは、開眼と閉眼のどちらの条件においても左半側空間無視患者と健常者の頭部左回旋方位に有意差は認められなかったことから、左半側空間無視患者の自己中心座標系は以前に考えられていたほど障害を受けていないことが示唆される。左半側空間無視患者の頭部の右方偏位は自己中心座標系の障害というよりは、注意の切り替えの障害によると考えられる。大脳皮質には、顕著な刺激に対して受動的（ボトムアップ的）に誘導される右半球の腹側注意ネットワークと目的指向性に能動的（トップダウン的）に誘導される背側注意ネットワークの存在が知られている。左半側空間無視患者では腹側注意ネットワークが選択的に障害を受けているとの知見が報告されている。本研究では正面及び左方向から口頭指示を与えたときの左半側空間無視患者の頭部左回旋方位に異常が認められなかったのは、障害を受けていない背側注意ネットワークの制御下で頭部回旋が能動的に実行されたことによると考えられる。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	海部 忍
審 査 委 員	主 査 氏 名 由利 和也	
	副 査 氏 名 古谷 博和	
	副 査 氏 名 上羽 哲也	

題 目 Perception of active head rotation in patients with severe left unilateral spatial neglect
(重度左半側空間無視患者における能動的頭部回旋の認知)

著 者 Shinobu Kaibe, Manabu Okita, Hideto Kaba

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Journal of Clinical Neuroscience
(in press)

要 旨

半側空間無視は、大脳半球の障害により半側からの視覚、聴覚、触覚等の刺激を認識できなくなる症候であり、右半球障害による左半側空間無視が一般的である。その症状は、右空間の視覚対象に注意が向けられた時や右からの聴覚刺激によって生じ、右空間の対象に注意が向くと、その対象から他の対象に注意を移行することが困難となる。半側空間無視は視覚の無視が聴覚や触覚等の無視に比べて強く現れる。右半球障害患者の左半側空間無視のメカニズムとして自己中心座標系の右方偏位によるという基準シフト説が議論されている。今回の研究において申請者らは、左半側空間無視患者が聴覚による指示に対して頭部を能動的に回旋した際の頭部回旋方位を測定することにより空間認知特性を解析し、左半側空間無視のメカニズムについての考察を行った。

左半側空間無視患者 14 名と健常者 11 名に対して開眼条件および視覚遮蔽条件（閉眼条件）下で実験を行った。被験者の後方より「正面を向いてください」との口頭指示を与え、被験者が正中として認識している時の頭部回旋方位を測定した。また、被験者の右方向、正面、

左方向から「左側を向いてください」との口頭指示を行い、その際の頭部回旋の角度を測定した。

その結果、左半側空間無視患者が正中として認識している角度は開眼条件では正面から右空間へ約 30° 偏位していた。閉眼条件では頭部の右方偏位は有意に減少し、顔面は正中位に近づいた。正面および左方向から左側を向くようにとの指示を与えたときは、開眼と閉眼のどちらの条件においても左半側空間無視患者と健常者の頭部左回旋方位に有意差は認められなかった。右方向から口頭指示を与えたときは、左半側空間無視患者の頭部左回旋方位が健常者より有意に減少しており、開眼または閉眼条件において有意差は認めなかった。

正中の認識において左半側空間無視患者の頭部は、閉眼条件では有意に正中位に近づいたこと、正面および左方向から口頭指示を与えたときは、開眼と閉眼のどちらの条件においても左半側空間無視患者と健常者の頭部左回旋方位に有意差は認められなかったことから、左半側空間無視患者の自己中心座標系は以前に考えられていたほど障害を受けていないことが示唆される。左半側空間無視患者では、正面および左方向からの指示を与えると頰部・前庭刺激によって空間再配置が起こり、感覚・運動の相互関係が回復して左半側空間無視が改善するが、損傷側からの聴覚刺激に反応すると、そこからの注意の移行が困難となり頭部左回旋が妨害されるとの考えを支持している。したがって、左半側空間無視のメカニズムは自己中心座標系の障害というよりは、注意の切り替えの障害によると考えられる。また、大脳皮質には、刺激に対して受動的（ボトムアップ的）に誘導される右半球の腹側注意ネットワークと目的指向性に能動的（トップダウン的）に誘導される背側注意ネットワークの存在があり、左半側空間無視患者では腹側注意ネットワークが選択的に障害を受けていると報告されている。本研究において正面および左方向からの口頭指示で左半側空間無視患者の頭部左回旋方位に異常が認められなかったのは、背側注意ネットワークにより頭部回旋が能動的に行われたことによると考えられる。

以上のように、申請者らは左半側空間無視患者における空間認知特性の解析により、半側空間無視のメカニズムを考察し、自己中心座標系の障害というよりは、注意の切り替えの障害を示唆した点で優れており、審査員一同は高知大学博士（医学）の学位に相応しい研究であると判断した。

氏名(本籍)	田内 亜紀 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第53号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年2月21日
学位論文題目	CCDC88A, a prognostic factor for human pancreatic cancers, promotes the motility and invasiveness of pancreatic cancer cells (CCDC88Aは膵癌の予後規定因子であり、膵癌細胞の運動および浸潤を亢進する)
発表誌名	Journal of Experimental & Clinical Cancer Research 35 (1):190 2016年12月

審査委員 主査 教授 村上 一郎
 副査 教授 本家 孝一
 副査 教授 渡橋 和政

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 田内 亜紀

論文題目 CCDC88A, a prognostic factor for human pancreatic cancers, promotes the motility and invasiveness of pancreatic cancer cells

(論文要旨) (CCDC88A は膵癌の予後規定因子であり、膵癌細胞の運動および浸潤を亢進する)

【背景】

膵癌の大部分を占める膵管癌 (PDAC) は早いステージであっても周囲組織への浸潤や転移が認められることから非常に難治性である。癌細胞が遊走能を獲得するには、細胞骨格であるアクチンの再構成が必要であり、これに引き続いて細胞突起が形成され、最後に浸潤や転移の方向性が決定される。

CCDC88A(Coiled-Coil Domain Containing 88A)はセリン/スレオニンキナーゼであり、PI3-K(phosphatidylinositol 3-kinase)/Akt シグナル経路の新規構成因子として知られている。protein kinase B とも呼ばれる Akt はキナーゼ活性および膜転移能を介した線維肉腫細胞の運動および浸潤を制御している。繊維芽細胞や大腸癌では様々な成長因子で刺激された Akt が CCDC88A をリン酸化し、アクチンの再構成に重要な役割を果たしていた。以上の事から PDAC 細胞においても細胞突起での CCDC88A の発現は細胞運動および浸潤の制御に関与していることが示唆された。

本研究では PDAC 組織での CCDC88A の発現と患者予後との相関、および PDAC 細胞の運動および浸潤への CCDC88A の関与について検討した。

【結果】

1) PDAC 患者組織での CCDC88A の発現および患者の予後との相関

PDAC 組織での CCDC88A の発現と PDAC 患者の予後について検討した。CCDC88A の低発現グループでは3年生存率および5年生存率がそれぞれ 39.8%および 31.1%あったが、高発現グループでは 20.4%および 10.2%と大きく減少した。

このことから、CCDC88A の発現強度と PDAC 患者予後との相関が示された。

2) PDAC 細胞における CCDC88A の局在と PDAC 細胞の運動への関与

突起形成時における PDAC 細胞での CCDC88A の細胞内局在を免疫細胞染色により検討した。

突起の形成を誘導した PDAC 細胞では、CCDC88A は細胞突起に集積し、突起を構成しているアクチンの局在と一致していた。siRNA 法により CCDC88A をノックダウンしたところ、PDAC 細胞の突起数は減少し、細胞の運動および浸潤は抑制された。

また、免疫沈降法により、アクチンの構成要素であるアクチンフィラメントと CCDC88A との直接結合が認められた。アクチン阻害剤および CCDC88A のノックダウンにより PDAC 細胞の突起形成が抑制された。

以上のことから、細胞突起に発現する CCDC88A はアクチンとの直接結合を介して PDAC 細胞の運動と浸潤に関与していることが示された。

3) PDAC 細胞の突起形成における CCDC88A と関係のあるシグナル経路の検討

CCDC88A は活性化 Akt を介した PDAC 細胞の突起形成に関与しているかを免疫細胞染色を用いて検討した。その結果、IGF-1 を用いて活性型であるリン酸化 Akt の発現を PDAC 細胞の突起部で誘導したが、線維芽細胞や大腸がんで認められたようなリン酸化 CCDC88A の発現増加は認められなかった。また、Akt の阻害剤を添加しても PDAC 細胞の運動および浸潤に変化は認められなかった。

このことから、PDAC 細胞の運動および浸潤は Akt シグナル経路を介したものではないことが示された。

突起形成における CCDC88A を介したシグナル経路を検討するため、リン酸化アレイ解析を行った。その結果、リン酸化 Src および ERK1/2 ならびに脱リン酸化 AMPK1 の関与が示唆された。また AMPK1 のノックダウンにより PDAC 細胞の運動および浸潤が抑制された。

以上の事により、CCDC88A は Akt ではなく AMPK1 を介した PDAC 細胞の運動および浸潤に関与していることが示された。

【考察】

PDAC 患者の早期診断および治療時の対象因子探索を目的として本研究を行った。

CCDC88A の発現は PDAC 患者の予後と相関していることから、重要な予後規定因子であることが示唆された。また、CCDC88A の発現はこれまで使用されてきた臨床病理学的な因子との相関が認められず、さらに正常な膵臓組織での発現も認められなかった。このことから、CCDC88A の発現により PDAC 患者の生存期間が大幅に短くなったと考えられた。

CCDC88A は PDAC 細胞の突起に集積し、アクチンとの直接結合を介して細胞運動および浸潤に関与していた。このことから、CCDC88A は細胞辺縁にあるアクチンの再構成に関係し、細胞突起にアクチンと共に集積することで細胞膜の変化を介して運動および浸潤に影響を与えていると考えられた。

これまで CCDC88A は様々な成長因子の刺激によって誘導される活性化 Akt を介した細胞突起形成を制御していることが知られている。しかし、PDAC 細胞において IGF-1 刺激によって誘導されたリン酸化 Akt は細胞突起周辺にリン酸化 CCDC88A の増加を促進できなかった。従来の報告とは異なり、PDAC 細胞において CCDC88A は Akt を介さない経路で細胞突起の形

成に関与していると示唆された。




この経路に関与している因子を明らかにするため、リン酸化アレイ解析を行った。コントロールに比べて CCDC88A をノックダウンした細胞ではリン酸化 Src および ERK1/2 と脱リン酸化 AMPK1 の発現が減少した。これらのリン酸化および脱リン酸化に CCDC88A が関与していることが示された。Src は Ras/Raf/ERK1/2、PI3K/Akt および STAT3 シグナル経路に関与し、細胞増殖、運動、浸潤および血管新生を制御していることから細胞の癌化に深く関与している因子である。また AMPK1 はセリン/スレオニンキナーゼであり、2型糖尿病におけるインシュリン抵抗性の改善因子として知られている。PDAC 細胞において AMPK1 は細胞突起に集積し、これをノックダウンすると細胞の運動および浸潤が抑制されることから、AMPK1 は CCDC88A を介した PDAC 細胞の運動および浸潤に関与していることが示された。これにより、PDAC 細胞の運動および浸潤には CCDC88A を介した AMPK1 を含むシグナル経路が非常に重要であると考えられた。

CCDC88A を介した AMPK1 活性を調節する経路を明らかにし、PDAC 細胞の運動および浸潤を抑制する因子の同定を今後の検討課題としたい。

【結語】

CCDC88A は細胞辺縁にあるアクチン構造の再構成に非常に大きな役割を担っている事が本研究により示唆された。PDAC 細胞における細胞運動および浸潤において、Akt を介さない、CCDC88A の下流に AMPK1 を配したシグナル経路について提言した。本研究では CCDC88A の抑制は PDAC 細胞の運動および浸潤の抑制につながることから、CCDC88A は効果的な分子標的となり得ることを提示した。

論文審査の結果の要旨

		氏名	田内 亜紀
審査委員	主査氏名	村上 一郎	
	副査氏名	本家 孝一	
	副査氏名	渡橋 和政	

題目 CCDC88A, a prognostic factor for human pancreatic cancers, promotes the motility and invasiveness of pancreatic cancer cells

(CCDC88Aは膵癌の予後規定因子であり、膵癌細胞の運動および浸潤を亢進する)。

著者 Aki Tanouchi, Keisuke Taniuchi, Mutsuo Furihata, Seiji Naganuma, Ken Dabanaka, Masashi Kimura, Ryohei Watanabe, Takuhiro Kohsaki, Takahiro Shimizu, Motoaki Saito, Kazuhiro Hanazaki, Toshiji Saibara

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
Journal of Experimental & Clinical Cancer Research 35 (1):190
2016年12月

要旨

【背景・目的】

膵癌の大部分を占める膵管癌 (PDAC) は早いステージであっても周囲組織への浸潤や転移が認められることから非常に難治性である。癌細胞が遊走能を獲得するには、細胞骨格であるアクチンの再構成が必要であり、これに引き続いて細胞突起が形成され、最後に浸潤や転移の方向性が決定される。

CCDC88A(Coiled-Coil Domain Containing 88A)はセリン/スレオニンキナーゼであり、PI3-K(phosphatidylinositol 3-kinase)/Akt シグナル経路の新規構成因子として知られている。protein kinase B とも呼ばれる Akt はキナーゼ活性および膜転移能を介した線維肉腫細胞の運動および浸潤を制御している。線維芽細胞や大腸癌では様々な成長因子で刺激された Akt が CCDC88A をリン酸化し、アクチンの再構成に重要な役割を果たしていた。以上のことから PDAC 細胞においても細胞突起での CCDC88A の発現は細胞運動および浸潤の制御に関与していることが示唆された。

本研究では PDAC 組織での CCDC88A の発現と患者予後との相関、および PDAC 細胞の運動および浸潤への CCDC88A の関与について検討した。

【結果】

1) PDAC 患者組織での CCDC88A の発現および患者の予後との相関

PDAC 組織での CCDC88A の発現と PDAC 患者の予後について検討した。CCDC88A の低発現グループでは 3 年生存率および 5 年生存率がそれぞれ 39.8% および 31.1% あったが、高発現グループでは 20.4% および 10.2% と大きく減少した。

このことから、CCDC88A の発現強度と PDAC 患者予後との相関が示された。

2) PDAC 細胞における CCDC88A の局在と PDAC 細胞の運動への関与

突起形成時における PDAC 細胞での CCDC88A の細胞内局在を免疫細胞染色により検討した。突起の形成を誘導した PDAC 細胞では、CCDC88A は細胞突起に集積し、突起を構成しているアクチンの局在と一致していた。siRNA 法により CCDC88A をノックダウンしたところ、PDAC 細胞の突起数は減少し、細胞の運動および浸潤は抑制された。

また、免疫沈降法により、アクチンの構成要素であるアクチンフィラメントと CCDC88A との直接結合が認められた。アクチン阻害剤および CCDC88A のノックダウンにより PDAC 細胞の突起形成が抑制された。

以上のことから、細胞突起に発現する CCDC88A はアクチンとの直接結合を介して PDAC 細胞の運動と浸潤に関与していることが示された。

3) PDAC 細胞の突起形成における CCDC88A と関係のあるシグナル経路の検討

CCDC88A は活性化 Akt を介した PDAC 細胞の突起形成に関与しているかを免疫細胞染色を用いて検討した。その結果、IGF-1 を用いて活性型であるリン酸化 Akt の発現を PDAC 細胞の突起部で誘導したが、線維芽細胞や大腸がんで認められたようなリン酸化 CCDC88A の発現増加は認められなかった。また、Akt の阻害剤を添加しても PDAC 細胞の運動および浸潤に変化は認められなかった。

このことから、PDAC 細胞の運動および浸潤は Akt シグナル経路を介したものではないことが示された。

突起形成における CCDC88A を介したシグナル経路を検討するため、リン酸化アレイ解析を行った。その結果、リン酸化 Src および ERK1/2 ならびに脱リン酸化 AMPK1 の関与が示唆された。また AMPK1 のノックダウンにより PDAC 細胞の運動および浸潤が抑制された。

以上の事により、CCDC88A は Akt ではなく AMPK1 を介した PDAC 細胞の運動および浸潤に関与していることが示された。

【考察】

PDAC 患者の早期診断および治療時の対象因子探索を目的として本研究を行った。

CCDC88A の発現は PDAC 患者の予後と相関していることから、重要な予後規定因子であることが示唆された。また、CCDC88A の発現はこれまで使用されてきた臨床病理学的な因子との相関が認められず、さらに正常な膵臓組織での発現も認められなかった。このことから、CCDC88A の発現により PDAC 患者の生存期間が大幅に短くなったと考えられた。

CCDC88A は PDAC 細胞の突起に集積し、アクチンとの直接結合を介して細胞運動および浸潤に関与していた。このことから、CCDC88A は細胞辺縁にあるアクチンの再構成に関係し、細胞突起にアクチンと共に集積することで細胞膜の変化を介して運動および浸潤に影響を与えていると考えられた。

これまで CCDC88A は様々な成長因子の刺激によって誘導される活性化 Akt を介した細胞突起形成を制御していることが知られている。しかし、PDAC 細胞において IGF-1 刺激によって誘導されたリン酸化 Akt は細胞突起周辺にリン酸化 CCDC88A の増加を促進できなかった。従来の報告とは異なり、PDAC 細胞において CCDC88A は Akt を介さない経路で細胞突起の形成に関与していると示唆された。

この経路に関与している因子を明らかにするため、リン酸化アレイ解析を行った。コントロールに比べて CCDC88A をノックダウンした細胞では Src および ERK1/2 のリン酸化が上昇し、AMPK1 のリン酸化が減少した。これらのリン酸化および脱リン酸化に CCDC88A が関与していることが示された。Src は Ras/Raf/ERK1/2、PI3K/Akt および STAT3 シグナル経路に関与し、細胞増殖、運動、浸潤および血管新生を制御していることから細胞の癌化に深く関与している因子である。また AMPK1 はセリン/スレオニンキナーゼであり、2 型糖尿病におけるインシュリン抵抗性の改善因子として知られている。PDAC 細胞において AMPK1 は細胞突起に集積し、これをノックダウンすると細胞の運動および浸潤が抑制されることから、AMPK1 は CCDC88A を介した PDAC 細胞の運動および浸潤に関与していることが示された。これにより、PDAC 細胞の運動および浸潤には CCDC88A を介した AMPK1 を含むシグナル経路が非常に重要であると考えられた。

CCDC88A を介した AMPK1 活性を調節する経路を明らかにし、PDAC 細胞の運動および浸潤を抑制する因子の同定を今後の検討課題としたい。

【結語】

CCDC88A は細胞辺縁にあるアクチン構造の再構成に非常に大きな役割を担っていることが本研究により示唆された。PDAC 細胞における細胞運動および浸潤において、Akt を介さない、CCDC88A の下流に AMPK1 を配したシグナル経路について提言した。本研究では CCDC88A の抑制は PDAC 細胞の運動および浸潤の抑制につながることから、CCDC88A は効果的な分子標的となり得ることを提示した。

本研究により、膵管癌患者組織での CCDC88A の発現および患者の予後との相関等が示された。本学位論文は、CCDC88A が膵癌の特異的マーカーになり得ることを示し、臨床的にも価値があるものと思われる。審査員一同は、本論文が高知大学博士（医学）に相応しい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	森田 志保 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第54号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年3月3日
学位論文題目	Development of a Novel Enzyme-Targeting Radiosensitizer (New KORTUC) Using a Gelatin-Based Hydrogel Instead of a Sodium Hyaluronate (ヒアルロン酸ナトリウムのかわりにゼラチンベースのハイドロゲルを使用した酵素標的放射線増感療法 (New KORTUC) の開発)
発表誌名	Cancers 2016, 8, 10 2016年1月7日

審査委員	主査	教授	齊藤	源顕
	副査	教授	宇高	恵子
	副査	教授	前田	長正

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 森田 志保

論文題目

Development of a Novel Enzyme-Targeting Radiosensitizer (New KORTUC) Using a Gelatin-Based Hydrogel Instead of a Sodium Hyaluronate
(ヒアルロン酸ナトリウムのかわりにゼラチンベースのハイドロゲルを使用した酵素標的放射線増感療法 (New KORTUC) の開発)

(論文要旨)

背景

本院では、ペルオキシダーゼやカタラーゼのような抗酸化酵素を分解し、腫瘍内の酸素濃度を上昇させる方法として KORTUC (Kochi Oxydol-Radiation Therapy for Unresectable Carcinomas ; 酵素標的放射線増感療法) を行っている。KORTUC I として表在性の低 LET 放射線抵抗性腫瘍に対し過酸化水素を用い、放射線増感効果を得られている。表面に露出していない腫瘍では、腫瘍組織内の酸素を持続的に保持することを目的としてヒアルロン酸ナトリウムを支持体として添加する。しかし、ヒアルロン酸ナトリウム添加による酸素分圧の保持は 24 時間であることから、腫瘍内に超音波ガイド下で週 2 回注射している。しかし、週 2 回の注射は患者や施行医、治療担当技師の負担が大きい。本研究ではヒアルロン酸に代わる支持体として生理活性物質の徐放用 hydrogel を用い、ヒアルロン酸を用いた群との比較、検討を行った。

方法

SCCVII 腫瘍細胞 (1.0×10^5 個/匹) を C3H/He マウスの右下腿部皮下に移植し、腫瘍径約 1 cm の段階で以下に示す薬剤を投与した。マウスは各群 6 匹として 4 群に分け、各群の過酸化水素濃度は 0.5% とした。

- 1) PBS+H₂O₂
- 2) ヒアルロン酸ナトリウム+H₂O₂ (KORTUC)
- 3) Hydrogel (PI5)+H₂O₂
- 4) Hydrogel (PI9)+H₂O₂

24 時間後、48 時間後、72 時間後に電子線 (6MeV) を 30Gy 照射し、週 3 回 (月・水・金) 腫瘍径を測定する。観察期間は 60 日とする。

結果

KORTUC(24 時間後照射)群の生存率が最も高く、66.7%であった。次に生存率が高かったのは KORTUC(72 時間後照射)群で、50.0%であった。生存率が最も低かったのは PI9(48 時

間後照射)群で 0.0%であった。




腫瘍の増大が最も抑制されていたのは KORTUC(24 時間後照射)群であった。また、腫瘍の増大抑制が最も示されなかったのは KORTUC(72 時間後照射)群だった。

観察期間中、Control 群と KORTUC(72 時間後照射)群以外の 8 群において腫瘍が消失したマウスを確認した。腫瘍の消失が最も早かった群は KORTUC(24 時間後照射)群、PI5(72 時間後照射)群、PI9(24 時間後照射)群、PI9(48 時間後照射)群であり、9 日目に消失しているのを確認した。また、腫瘍が消失したマウスが最も多かった群は KORTUC(24 時間後照射)群であり、6 匹中 4 匹が消失した。しかし、その後腫瘍が再増殖し、観察期間終了時の腫瘍が消失していたのは KORTUC(24 時間後照射)群 3 匹と PI5(24 時間後照射)群、PI5(48 時間後照射)群、PI5(72 時間後照射)群、PI9(72 時間後照射)群各 1 匹の計 7 匹であった。

結論

生存率が最も高く腫瘍の増大も抑制されていたのは KORTUC (24 時間) 群であったが、照射からの時間が経過するにつれて腫瘍の成長は抑制されなかった。その結果からも注射は週 2 回必要であると考えられる。一方、PI5 (48 時間) 群と PI9 (72 時間) 群においても、腫瘍の増大は抑制されていた。PI5 を支持体として使用した場合最も抑制されるのは 48 時間後であったことから、PI5 も週 2 回の注射が必要であると考えられる。PI9 は 72 時間後が最も抑制されていたので、週 1 回の注射で効果が得られると考える。今後、他の支持体についても実験を行い、過酸化水素を長時間保持することのできる支持体の検討を行うとともに、増感剤としての効果が最も得られる支持体についても検討していく。

論文審査の結果の要旨

		氏名	森田 志保
審査委員	主査氏名	齊藤 源顕	
	副査氏名	宇高 恵子	
	副査氏名	前田 長正	

題目 Development of a Novel Enzyme-Targeting Radiosensitizer (New KORTUC) Using a Gelatin-Based Hydrogel Instead of a Sodium Hyaluronate
 (ヒアルロン酸ナトリウムのかわりにゼラチンベースのハイドロゲルを使用した酵素標的放射線増感療法 (New KORTUC) の開発)

著者 Shiho Morita-Tokuhiro, Yasuhiro Ogawa, Norikazu Yokota, Akira Tsuzuki, Hideki Oda, Naoya Ishida, Nobutaka Aoyama, Akihito Nishioka

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 Cancers 2016, 8, 10
 2016年1月7日

要旨

背景：本学では、ペルオキシダーゼやカタラーゼのような抗酸化酵素を分解し、腫瘍内の酸素濃度を上昇させる方法として KORTUC (Kochi Oxydol-Radiation Therapy for Unresectable Carcinomas ; 酵素標的放射線増感療法) を行ってきた。我々はこれまでに表在性の低 LET 放射線抵抗性腫瘍に対し過酸化水素を用い、高い放射線増感効果を得た。次に我々は表面に露出していない腫瘍に対し、腫瘍組織内に酸素を保持する目的でヒアルロン酸ナトリウムを支持体として添加してきた。しかし、ヒアルロン酸ナトリウム添加による酸素分圧の保持は 24 時間であるため、腫瘍内に週 2 回注射する必要があることから、患者や施行医、治療担当技師の負担が大きかった。本研究では酸素分圧を長時間保持する目的から、ヒアルロン酸に代わる支持体として生理活性物質徐放剤である hydrogel を用いて検討した。

方法：SCCVII腫瘍細胞（ 1.0×10^5 個/匹）を C3H/He マウスの右下腿部皮下に移植し、腫瘍径約 1 cm の段階で以下に示す薬剤を投与した。hydrogel は 0.5% に希釈した過酸化水素水を 1mg あたり $10 \mu\text{l}$ 含浸させて投与した。マウスは各群 6 匹として 4 群に分け、各群の過酸化水素濃度は 0.5% とした。

- 1) PBS+ H_2O_2
- 2) ヒアルロン酸ナトリウム+ H_2O_2 (KORTUC)
- 3) Hydrogel (PI5) + H_2O_2
- 4) Hydrogel (PI9)+ H_2O_2

PI9 は腫瘍部を切開して留置し、その他の薬剤は目視下で腫瘍内に局注した。そして、薬剤投与から 24 時間後、48 時間後、72 時間後に電子線 (6MeV) を 30Gy 照射し、週 3 回腫瘍径を測定し、腫瘍体積を算出した。腫瘍径が 20mm を超えるマウスと死亡したマウスは除外して算出した。

結果：24 時間後照射した群で腫瘍抑制を示したのは KORTUC 群であった。Hydrogel はどちらも同じような推移を示した。48 時間後照射した群で腫瘍抑制が示されたのは PI5 群であった。KORTUC 群と PI9 群は同じような推移を示した。72 時間後照射した群で腫瘍抑制を示したのは PI9 群であった。KORTUC 群と PI5 群は同じような推移を示した。KORTUC 群は照射までの時間が経過するとともに抑制効果は示されなかった。PI5 群では腫瘍が消失したマウスを全照射群で確認した。PI9 群では照射までの時間が経過するとともに抑制効果が示された。

結論：PI5 はヒアルロン酸ナトリウムより長時間、効果を保持することができた。PI9 はヒアルロン酸ナトリウムや PI5 より長時間、効果を保持することができた。放射線増感に必要な過酸化水素濃度は微量であり、酸素分圧が十分保持出来ていれば効果が得られることから、Hydrogel はヒアルロン酸ナトリウムに代わる支持体であると考えられる。

以上のように、KORTUC 療法のヒアルロン酸に代わる支持体として hydrogel の徐放化の可能性、ひいては腫瘍内注射回数を減らし患者のみならず医療者の負担を軽減する可能性を示した。以上を総合的に判断し、審査員一同は申請者の学力および研究遂行能力が高知大学博士（医学）の学位を授与されるに相応するものと判断した。

氏名(本籍)	志賀 舞 (山口県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第55号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年3月21日
学位論文題目	Safety of laparoscopic surgery for colorectal cancer in patients over 80 years old: a propensity score matching study (80歳以上の大腸癌患者における腹腔鏡手術の安全性：プロペンシティマッチングスタディ)
発表誌名	Surgery Today (in press) Published online:27 January 2017

審査委員 主査 教授 前田 長正
 副査 教授 西原 利治
 副査 教授 奥原 義保

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 志賀 舞

論文題目

Safety of laparoscopic surgery for colorectal cancer in patients over 80 years old: a propensity score matching study

(80歳以上の大腸癌患者における腹腔鏡手術の安全性:

プロペンシティマッチングスタディ)

(論文要旨)

大腸癌に対する腹腔鏡手術の有用性は、これまでにいくつかの論文で明らかにされている。腹腔鏡手術は、stage II または III の大腸癌手術において、癌に対する根治性を損なうことなく、術後の疼痛の軽減や入院期間の短縮が見られることが報告されている。しかし、これらの報告は 75 歳以下の健康な患者を対象とした臨床試験であり、この結果を日常診療で活用する場合には注意が必要である。我々は、腹腔鏡手術で認められる手術時間の延長や、臓器損傷のリスクが、全身状態のよくない高齢者にどのような結果をもたらすかということについて考えなければならない。

高知大学医学部附属病院では、6 年間で約 500 例の大腸癌手術を行っており、この 4 分の 1 近くが 80 歳以上である。これは世界的な人口比及び大腸癌の診断を受ける人の比に近い。当院では、腹腔鏡手術が術式の第一選択で、年齢ではなく、腫瘍の大きさ、癒着の有無、腸閉塞の有無などによって術式を考慮している。その結果、およそ 80% が腹腔鏡手術であり、術式選択における高齢者と若年者間の選択バイアスは非常に少ない。しかし、高齢者と若年者の背景因子の差は大きく、直接比較は有用ではない。そこで、本研究では、80 歳以上を高齢者、79 歳以下を若年者として、プロペンシティスコアマッチングを行って背景因子を揃えたデータを抽出し分析した。

まず、2009 年から 2014 年の 6 年間に当院で大腸癌手術を施行された 506 例の患者について、患者因子、手術因子、腫瘍因子、術後経過因子のデータを収集し分析した。患者の平均年齢は 71 歳で約 23% が 80 歳以上だった。開腹移行した 19 例を含む 397 例 (78%) が腹腔鏡手術であり、このうち 87 例 (22%) が 80 歳以上の高齢者だった。高齢者は若年者と比較して、術前の全身状態の指標が悪く、併存疾患を有している割合が多かった。高齢者では、若年者と比較して腫瘍径が有意に大きかった。一方、腫瘍の深達度と遠隔転移は若年者と差がなかった。




次に、年齢が手術に及ぼす影響を評価するために、術前の背景因子を揃えたデータを抽出した。高齢者 64 例と若年者 109 例がマッチし、この結果から、高齢者では若年者と比べてリンパ節郭清度が有意に低いことがわかった。リンパ節郭清度は、大腸癌取り扱い規約第 8 版に基づいて、栄養血管に沿って根部までのリンパ節を郭清するものを D3 郭清、回結

腸動脈や右結腸動脈周囲のリンパ節までを郭清するものを D2 郭清としている。D2 郭清は壁浸潤の少ない腫瘍が適応であるが、進行癌でも次善策として行われる。高齢者では、若年者より D2 郭清が多く行われていた。手術時間、出血量、合併症発生率には、両群で有意差を認めなかった。

続いて、年齢が術後経過に及ぼす影響を評価するために、術前の背景因子に加えて手術因子を揃えたデータの抽出を行い、高齢者 64 例と若年者 93 例がマッチした。開腹移行は 11%対 2%で高齢者に多く認められたが、合併症発症率 (24%対 25%)、術後入院日数、死亡率は同等だった。合併症の内容には、高齢者と若年者で異なった傾向があり、消化管縫合不全が、高齢者では 1 例であったのに対して、若年者では 7 例であった。一方、不整脈、尿路感染症、排尿障害などの全身状態に関連した合併症は、高齢者に多い傾向があった。

本研究から、大腸癌に対する腹腔鏡手術は、80 歳以上の高齢者に対しても安全に施行できることが示された。大腸癌に対する腹腔鏡手術のリスクは、単に年齢によってではなく、個別に評価するべきだといえる。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	志 賀 舞
審 査 委 員	主 査 氏 名 前 田 長 正	
	副 査 氏 名 西 原 利 治	
	副 査 氏 名 奥 原 義 保	

題 目 Safety of laparoscopic surgery for colorectal cancer in patients over 80 years old: a propensity score matching study
 (80歳以上の大腸癌患者における腹腔鏡手術の安全性：プロペンシティマッキングスタディ)

著 者 Mai Shiga, Hiromichi Maeda, Koji Oba, Ken Okamoto, Tsutomu Namikawa, Kazune Fujisawa, Keiichiro Yokota, Michiya Kobayashi, Kazuhiro Hanazaki

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 Surgery Today
 (in press)Published online:27 January 2017

要 旨

【背景・目的】

大腸癌Ⅱ・Ⅲ期に対する腹腔鏡手術については、根治性を損なうことなく術後疼痛の軽減や入院期間の短縮などが報告されているが、75歳以下を対象とした臨床研究が多い。申請者らは、腹腔鏡手術における手術時間の延長や、臓器損傷リスクなどのadverse effectが、高齢者にどのような影響を与えているかについて検討した。当院では、6年間で約500例の大腸癌手術を施行しており、その約1/4が80歳以上で世界的な統計とほぼ同等である。当院では、腹腔鏡手術を第一選択と位置づけ、年齢よりも腫瘍サイズ・癒着・腸閉塞の有無などで術式を考慮している。しかし高齢者と若年者では、背景因子の差が大きいため、術式の選択について両者を比較検討する必要性があるが、これまでに明確な報告はない。

【方法】

80歳以上を高齢者、79歳以下を若年者として、「プロペンシティスコアマッキング」を行って背景因子を揃えたデータを抽出し分析した。これは、傾向スコアを設定してバイアスを調整する方法で、多因子によりバラツキをなくし、同じスコアをマッチングした後両群を比較する方法である。後ろ向き観察研究に対して、RCTに次ぐエビデンスレベルをもつ新しい検定方法である。

対象は、2009年から2014年の6年間に当院で大腸癌手術を施行した506例で、患者因子・手術因子・

腫瘍因子・術後経過因子などのデータを分析した。

【結果・考察】

高齢者では、若年者と比較し、

1. 「術前の背景因子」のマッチングでは、「リンパ節郭清度」が有意に低かった。
2. 「術前の背景因子」＋「手術手技因子」のマッチングでは、「開腹移行率」が有意に高かったが、合併症発生率・術後入院日数・死亡率には有意差を認めなかった。
3. 「術後合併症」のマッチングでは、尿路感染症・排尿障害・不整脈が増加する傾向を認めた。

【結論】

背景因子をマッチングすると、腹腔鏡手術による重篤なリスクに高齢者と若年者で有意差を認めず、高齢でも安全な手術が可能と考えられた。本手術の適応については、単純に年齢ではなく個別に総合的に評価が必要と考える。

以上のように、本論文は、多くの手術症例を基に多因子を背景として、新しい「プロペンシテイスコアマッチング」によって高齢者への腹腔鏡手術導入の安全性を解析したエビデンスレベルの高い論文と考える。

よって、審査委員一同は本論文が高知大学博士(医学)に相応しい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	高橋 亜矢子 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第56号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年3月21日
学位論文題目	Evaluation of histamine-induced conjunctival edema in guinea pigs by means of image analysis (モルモットにおけるヒスタミン惹起結膜浮腫の画像解析による評価)
発表誌名	British Journal of Ophthalmology, 94:1657-1661 2010年10月

審査委員

主査	教授	佐野	栄紀
副査	教授	宇高	恵子
副査	教授	佐藤	隆幸

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 高橋 亜矢子

論文題目

Evaluation of histamine-induced conjunctival edema in guinea pigs by means of image analysis

(モルモットにおけるヒスタミン惹起結膜浮腫の画像解析による評価)

(論文要旨)

【背景】アレルギー性結膜疾患はI型アレルギーが関与する結膜の炎症性疾患で、何らかの自覚症状を伴うものと定義されている。アレルギー性結膜炎はアレルギー性結膜疾患の一病型であり、結膜に増殖性変化を伴わないものとされ、痒みや流涙、結膜充血および結膜浮腫などの症状がみられる。結膜充血および結膜浮腫の重症度分類は、アレルギー性結膜疾患診療ガイドラインに基づいて観察者により半定量的に評価される。この方法では、判定に観察者の主観が大きく関与すること、また、観察条件の差異（使用検査器、観察時の光の強さなど）により、結果のばらつきが大きいことが問題となる。そこで我々の研究室では、結膜充血の定量化を試みた。具体的には、患者の前眼部写真を撮影し、ソフトウェアを用いて画像解析を行い、結膜充血の定量化を可能にした。液晶ディスプレイなどの画像では、RGB（赤：Red、緑：Green、青：Blue）の三原色により色が決定されている。このRGBの閾値を設定することにより、血管を描出した。血管はRedの明度は高くGreenの明度は低い傾向がある。この差を調整することにより、血管に該当する色が抽出される。抽出された箇所は指定範囲内の血管占有率として%で評価できる。このように結膜充血に関しては、画像解析による定量的評価が可能となり、臨床への応用が期待されている。一方、結膜浮腫については、アレルギー性結膜炎の動物モデルにおいて、エバンスブルー色素を静脈内投与し、結膜への色素漏出量を測定する方法が一般的である。しかし、この方法で浮腫を評価するためには眼球摘出が必要であり、ある特定の時点の色素漏出量しか評価できず、同一個体において経時的変化は評価できない。

【目的】結膜浮腫の評価は、臨床では半定量的で、動物モデルでは定量的であるが特定の時点のみ可能であった。本研究では、モルモットにヒスタミンを点眼することにより結膜浮腫を惹起し、眼球結膜を撮影した画像を解析し、結膜浮腫を経時的かつ定量的に評価することを目的とした。




【方法】300~350gの5週齢のモルモット14匹に、ウレタン麻酔薬75mg/kgを用い全身麻酔下でエバンスブルー色素15 μ gを静脈内投与し、その30分後にヒスタミン20 μ g/20 μ lを点眼して結膜浮腫を誘導した。結膜浮腫の程度を比較するため、一群(7匹)はヒスタミン点眼の10分前に抗ヒスタミン剤であるレボカバスチン点眼液(0.025%レボカバスチン塩酸塩)10 μ lを点眼した。もう一群(7匹)は、レボカバスチン点眼液を点眼しない、レボカバスチン非点眼群とした。ヒスタミン点眼直後から30分間、1分

毎にデジタルカメラで眼球結膜を撮影し、RGB のビットマップ画像 (1280×1024 pixels) に変換した。ImageJ ソフトウェアを用いて RGB カラー画像を解析し、結膜に漏出したエバンスブルーのピクセル数を測定した。その後、モルモットを安楽死させ、眼瞼を含む眼球を摘出し 0.5%硫酸ナトリウムとアセトン を 3 : 7 で混合した液 2ml に 48 時間浸し、エバンスブルーを溶出した。次に、溶出液を回収し遠心分離し、上清中のエバンスブルーの濃度を分光光度計 (吸光度 620nm) で測定し、漏出量を算出した。また、結膜内のエバンスブルーの漏出量と、画像解析によるピクセル数との相関について検討した。

【結果】ヒスタミンを点眼してから 20 分後まで臨床的に結膜浮腫は増強したが、それ以降は変化を認めなかった。同様に、撮影画像のピクセル数もヒスタミン点眼 5 分後から 20 分後まで増加し、それ以降は変化が認められなかった。レボカバスチン点眼群は、非点眼群と比較して点眼開始後全ての時点においてピクセル数が有意に低かった ($P<0.05$)。また、結膜撮影画像のピクセル数と結膜へのエバンスブルー漏出量の間には強い相関がみられた。 ($R^2=0.9186$)

【結語】ヒスタミンにより惹起されるモルモット結膜浮腫の系で、画像解析の手法を用いることにより、結膜浮腫の程度を経時的かつ定量的に評価できることが明らかとなった。エバンスブルー色素は臨床では一般的には使用できない点は問題であるが、臨床で使用が承認されているインドシアニングリーンなどの色素を使用することにより、結膜画像解析による結膜浮腫の定量的評価が期待される。また、結膜浮腫において結膜に漏出するタンパク質を指標として評価できる系が確立されれば、臨床応用への可能性が広がると考えられる。

論文審査の結果の要旨

		氏名	高橋 亜矢子
審査委員	主査氏名	佐野 栄紀	
	副査氏名	宇高 恵子	
	副査氏名	佐藤 隆幸	

題 目 Evaluation of histamine-induced conjunctival edema in guinea pigs by means of image analysis

(モルモットにおけるヒスタミン惹起結膜浮腫の画像解析による評価)

著 者

A Takahashi, T Sumi, K Tada, H Mibu, D Shii, A Kayasuga, A Fukushima

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月

British Journal of Ophthalmology, 94: 1657~1661
2010年10月(17日)

要 旨

【背景と目的】アレルギー性結膜疾患はI型アレルギーが関与する結膜の炎症性疾患で、そう痒や流涙、結膜充血、結膜浮腫などの自覚症状を伴うものと定義されている。結膜充血と浮腫の重症度分類は、アレルギー性結膜疾患診療ガイドラインに基づいて観察者により半定量的に評価される。しかしこの方法では、判定に観察者の主観が大きく関与することや観察条件により、結果のばらつきが大きい。現在までに、学位申請者らの施設ではRGB 閾値設定によって最適化した画像解析を用いて結膜充血の定量化を行ってきた。本論文においては、モルモットにヒスタミンを点眼し、結膜へのエバンスブルー色素の血管外漏出を画像解析し経時的かつ定量的に結膜浮腫を評価することを目的とした。

【方法】300~350gの5週令モルモット14匹に、ウレタン麻酔薬による全身麻酔下でエバンスブルー色素15 μ gを静脈投与し、その30分後にヒスタミン20 μ g/20 μ lを点眼して結膜浮腫を誘導した。7匹ずつ2群にわけて、ヒスタミン点眼10分前に抗ヒスタミン剤であるレボカバスチン点眼薬(0.025%レボカバスチン塩酸塩)10 μ lを点眼する群と非点眼群とした。ヒスタミン点眼直後から30分間、1分毎にデジタルカメラで眼球結膜を撮影し、RGBのビットマップ画像に変換、ImageJソフトウェアを用いてRGBデータを解析し、結膜に漏出したエバンスブルーのピクセル数を測定した。その後、モルモットを安楽死させ、眼瞼を含む眼球を摘出し、0.5%硫酸ナトリウムとアセトンの3:7混合液2mlに48時間浸漬し、溶出したエバンスブルーを分光光度計(吸光度620nm)で濃度を測定し、漏出量を産出した。

【結果と考察】ヒスタミンを点眼20分後まで臨床的に結膜浮腫は増強したが、それ以降は変化を認めなかった。同様に、撮影画像のピクセル数もヒスタミン点眼5分後から20分後まで増加、それ以降は変化が認められなかった。レボカバスチン点眼群は、非点眼群と比較して点眼開始後全ての時点においてピクセル数が有意に低かった。また、結膜撮影画像のピクセル数と結膜へのエバンスブルー漏出量の間には強い相関がみられた。このように、ヒスタミン点眼により惹起されるモルモット結膜浮腫の系で、画像解析の手法を用いることによって、結膜浮腫の程度を経時的かつ定量的に評価できることが明らかになった。エバンスブルー色素は臨床的には使用出来ないため、使用が承認されているインドシアニングリーンなどの色素が応用できるかも知れない。また、結膜浮腫において漏出するタンパク質を指標として評価できる系が確立されれば、臨床応用への可能性が広がると考えられる。

【審査結果】アレルギー性結膜炎の浮腫について現在用いられている評価方法は観察者の主観によるところが大きい。これに対し、申請者の開発したモデルでは結膜へのエバンスブルー色素の血管外漏出を画像解析することにより、経時的かつ定量的に評価可能であった。本論文は、アレルギー性結膜炎の症状を評価するうえで新たな可能性を提供したと考える。よって、審査員一同は高知大学博士(医学)の称号に値する研究内容と判断した。

氏名(本籍)	全加 (中国)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第57号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年3月23日
学位論文題目	TUNICAMYCIN IMPAIRS OLFACTORY LEARNING AND SYNAPTIC PLASTICITY IN THE OLFACTORY BULB (ツニカマイシンは嗅覚学習と嗅球におけるシナプス可塑性を阻害する)
発表誌名	Neuroscience (in press)

審査委員	主査	教授	山口	正洋
	副査	教授	森信	繁
	副査	教授	由利	和也

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 全加

論文題目

TUNICAMYCIN IMPAIRS OLFACTORY LEARNING
AND SYNAPTIC PLASTICITY IN THE OLFACTORY BULB
(ツニカマイシンは嗅覚学習と嗅球におけるシナプス可塑性を
阻害する)

(論文要旨)

細胞内器官である小胞体は、神経細胞においても重要な役割を果たしている。アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患、あるいは脳挫傷による機能障害には小胞体ストレスによって誘導されたアポトーシスの関与が報告されている。ツニカマイシンは従来より小胞体ストレスを誘導する物質として知られており、さまざまな疾患の病態解明や治療薬開発に用いられてきた。またツニカマイシンは N-glycosylation も阻害し、視細胞におけるロドプシンの代謝およびシナプス可塑性に関わる遺伝子発現にも影響を及ぼすと報告されている。

これまでにわれわれは幼若ラットを嗅覚嫌悪学習のモデルとして用いてきた。すなわち、未開眼の幼若動物は嗅覚・聴覚・皮膚感覚に依存して母に近づく生存戦略をもっている。これを利用して、嗅覚刺激と痛み刺激である電撃とを対提示することにより、においに対する嫌悪学習が古典的条件付けによって成立する。この学習に関するツニカマイシンの影響を以下の方法で検索した。

①行動薬理学的実験

生後11日目に嗅覚刺激(シトラル臭)と電撃を負荷するトレーニングをしながら、前日に嗅球に埋設したカニューレから薬物を注入し、翌12日目に嗅覚嗜好テストを行った。トレーニングおよびテストに用いるシトラルの濃度は中性で、本来は嫌悪も嗜好も示さない濃度としてある。しかしながら、ツニカマイシンを注入すると濃度依存性にシトラルに対して嫌悪を示さなくなり、嗅覚嫌悪学習が阻害されることが明らかになった。またツニカマイシンをトレーニング終了後2.5時間で注入してもこの効果は認められず、トレーニング直後におこるシナプス可塑性成立に小胞体の機能が必要であることが明らかとなった。

②免疫組織学的実験

ツニカマイシンが小胞体ストレスを誘導することによって発現が増加するタンパク CHOP (C/EBP-homologous protein) の抗体を用いて、嗅球における小胞体ストレスのおこる空間分布を検索した。生後11日目の、ツニカマイシンを注入しながらシトラルと電撃の対提示トレーニングを行った動物では、溶媒を注入した動物と比較し、有意に僧帽細胞層および顆粒細胞層の両方でCHOPの発現が増えており、僧帽細胞・顆粒細胞のいずれにおいても小胞体ストレスが起こっていることが推測された。




③電気生理学的実験

これまでに嗅球の僧帽細胞と顆粒細胞の樹状突起間シナプスにおいて、僧帽細胞から顆粒細胞へのシナプス伝達に誘導される可塑性と本学習が複数の共通特性をもつことから、僧帽細胞-顆粒細胞の長期増

強(LTP)が学習の神経基盤であると考えている。生後11日目の幼若ラットの脳から水平断の嗅球・外側嗅索を含むスライス標本を調製し、外側嗅索を電気刺激して逆行性に僧帽細胞を興奮させるとテタヌス刺激に対し、顆粒細胞層で記録されるフィールド電位の勾配が長期にわたって増強しLTPが誘導される。ツニカマイシンを灌流液に添加すると、低濃度ではLTPの late phase、高濃度ではLTP全体が阻害された。さらに同じ条件で paired-pulse facilitation を記録するとツニカマイシン添加によって阻害された。すなわちツニカマイシンは presynaptic および postsynaptic に作用して、LTPを阻害すると考えられる。この結果は、②の結果と矛盾しないものであった。

以上の結果は、幼若ラットにおいて、ツニカマイシン嗅球内注入によって誘導される小胞体ストレスが嗅球シナプス可塑性を阻害し、嗅覚嫌悪学習成立を阻止したことを強く示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

		氏名	全加
審査委員	主査氏名	山口 正洋	
	副査氏名	森信 繁	
	副査氏名	由利 和也	

題 目 TUNICAMYCIN IMPAIRS OLFACTORY LEARNING AND SYNAPTIC PLASTICITY IN THE OLFACTORY BULB

(ツニカマイシンは嗅覚学習と嗅球におけるシナプス可塑性を阻害する)

著 者 JIA TONG, FUMINO OKUTANI, YOSHIHIRO MURATA, MUTSUO TANIGUCHI, TOSHIHARU NAMBA, YU-JIE WANG AND HIDETO KABA

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
Neuroscience
(in press)

要 旨

背景・目的:

細胞内器官である小胞体は、神経細胞においても重要な役割を果たしている。アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患では小胞体ストレスによって誘導されたアポトーシスの関与が報告されている。ツニカマイシン(TM)は小胞体ストレスを誘導する物質として知られており、さまざまな疾患の病態解明や治療薬開発に用いられてきた。またTMはN-glycosylationを阻害し、シナプス可塑性に関わる遺伝子発現にも影響を及ぼすと報告されている。

これまでに申請者らは幼若ラットを嗅覚嫌悪学習のモデルとして用いてきた。未開眼の幼若動物は嗅覚・聴覚・皮膚感覚に依存して母に近づく生存戦略をもっているため、嗅覚刺激と痛み刺激である電撃とを対提示することにより、匂いに対する嫌悪学習が効率よく成立する。この学習には匂い情報処理の一次中枢である嗅球神経回路の可塑的变化が重要であるが、そのメカニズムには未だ不明な点が多い。本研究は、嗅覚嫌悪学習を担う神経機構を理解するため、嗅球へのTM投与の影響を行動、分子発現、電気生理学的解析の点から検討した。

方法：

① 行動薬理学的実験

生後 10 日目ラットの両側嗅球にカニューレを埋設した。翌 11 日目に、電撃チェンバー内において嗅覚刺激（シトラル臭）と足底への電撃（0.5 mA x 5 sec, in every 2 min for 30 min）を同時に与えるトレーニングを行いながら、カニューレから TM あるいは対照溶媒を持続注入した。トレーニングに用いるシトラルは本来嫌悪も嗜好も示さない濃度に設定した。翌 12 日目に嗅覚嗜好テストを行った。行動解析アリーナの片側にシトラル臭を置き、匂いのある側とない側における滞在時間を計 5 分間計測した。

② 免疫組織学的実験

小胞体ストレスによって発現が増加するタンパク CHOP (C/EBP-homologous protein) の抗体を用いた免疫組織染色により、TM によって小胞体ストレスがおこる嗅球の細胞種を検討した。

③ 電気生理学的実験

嗅球の僧帽細胞と顆粒細胞のシナプスにおいて、僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプスの長期増強 (LTP) が学習の神経基盤と考えられる。生後 11 日目の幼若ラットの嗅球スライス標本を作製し、僧帽細胞の軸索束をテタヌス電気刺激して顆粒細胞層で記録されるフィールド電位の勾配を興奮性シナプス LTP の指標とし、スライスへの TM 添加の影響を検討した。

結果：

① 行動薬理学的実験

嗅覚嫌悪トレーニング中に TM を嗅球に注入すると、その濃度依存的に翌日の嗅覚嗜好テストにおいてシトラルに対する嫌悪を示さなくなった。トレーニング終了後 2.5 時間の時点で TM を注入してもこの効果は認められず、トレーニングに近接しておこる学習機構を TM が阻害していることが示唆された。

② 免疫組織学的実験

TM を注入しながら嗅覚嫌悪トレーニングを行った動物では、溶媒を注入した動物と比較して有意に僧帽細胞層および顆粒細胞層に CHOP の発現が増えており、僧帽細胞・顆粒細胞の両方に小胞体ストレスが起こっていると考えられた。

③ 電気生理学的実験

TM を嗅球スライスの灌流液に添加すると、低濃度では僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプス LTP の late phase、高濃度では LTP の early - late phase 全体が阻害された。また presynaptic な作用の指標となる、連続 2 回の電気刺激による興奮性シナプスの paired-pulse 促進現象を調べたところ、低濃度の TM では阻害されなかったが高濃度の TM で阻害された。これらの結果から、TM は presynaptic と postsynaptic の両方に作用して興奮性シナプス LTP を阻害していると考えられた。

結論、考察：

嗅球への TM 投与が嗅覚嫌悪学習を阻害すること、また TM が僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプスの presynaptic と postsynaptic の両方に作用してシナプス LTP を阻害していることを示した。これは TM が僧帽細胞・顆粒細胞の両方に小胞体ストレスを誘導する免疫組織学的所見と矛盾しないものであった。

以上のことから、TM が僧帽細胞と顆粒細胞に小胞体ストレスを誘導し、その間の興奮性シナプス LTP を阻害することにより、嗅覚嫌悪学習を阻害している可能性が示唆された。

申請者は本論文において、TM が嗅覚学習、嗅球の小胞体ストレス、嗅球シナプス可塑性に及ぼす影響を詳細に検討した。この結果は TM の作用機序を理解するのみならず、嗅覚学習における小胞体機能の重要性を示唆するものである。近年、様々な神経変性疾患における嗅覚異常が目されており、本論文は小胞体の機能異常の観点からその病態を理解できる可能性を示しており、今後の研究の更なる発展が期待される。よって本論文は、高知大学博士（医学）に値すると判断した。

氏名(本籍)	平田 歩 (徳島県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第58号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年3月23日
学位論文題目	Ginger Orally Disintegrating Tablets to Improve Swallowing in Older People (高齢者に対するGinger (<i>Zingiber officinale</i>) 含有口腔内崩壊錠の嚥下機能改善効果)
発表誌名	Biological and Pharmaceutical Bulletin, 39(7): 1107~1111 2016年 7月

審査委員

主査	教授	菅沼	成文
副査	教授	池内	昌彦
副査	教授	上羽	哲也

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 平田 歩

論文題目

Ginger Orally Disintegrating Tablets to
Improve Swallowing in Older People
(高齢者に対する Ginger (*Zingiber officinale*)
含有口腔内崩壊錠の嚥下機能改善効果)




(論文要旨)

【目的】嚥下は口腔期、咽頭期、食道期に分けられるが、咽頭期の嚥下運動は食物を確実に食道に導くために、咽頭粘膜からの知覚入力により反射性に誘発される嚥下反射が重要となる。大脳基底核では dopamine の分泌を介して Substance P (SP) が産生され、舌咽神経や迷走神経の知覚枝での SP の分泌により嚥下反射が制御される。一方で、高齢者では、加齢や脳血管疾患などによる大脳基底核の病変が原因となり、dopamine や SP 産生が低下することで、嚥下機能低下を誘発し、誤嚥性肺炎のリスクが高まる。一方で、SP 分泌の増加により、誤嚥の改善や肺炎発症率の減少が報告されている。申請者は、現在までに、加齢に伴い唾液中 SP 量が減少し、唾液中 SP 量は、嚥下機能低下の程度を良く反映し、有用な嚥下機能のバイオマーカーとなる可能性を示してきた。そこで申請者は、SP の分泌を促進し、嚥下反射を改善させる物質として、嚥下反射の惹起に関わる温度感受性チャネル (Transient Receptor Potential Vanilloid 1:TRPV1) agonist の vanilloid 誘導体である gingerol、shogaol を機能性成分として含有する Ginger (学名: *Zingiber officinale*, 和名: ショウガ) に注目した。前臨床試験として、マウスの口腔内に Ginger 抽出物を投与し、免疫組織学的検討を行った結果、gingerol、shogaol の口腔局所の TRPV1 刺激作用により、TRPV1 が活性化し、唾液中への SP 分泌が促進したことを明らかとした。この結果をもって、ヒトでの臨床試験を実施するため、嚥下困難な高齢者が服用できる点、主成分を作用部位である口腔付近に高濃度に維持し、口腔局所の TRPV1 を刺激できる点を考慮して、口腔内崩壊錠 (orally disintegrating tablet: OD 錠) を投与剤形として選択した。Ginger 含有 OD 錠の嚥下機能改善効果について、唾液中 SP 量を指標とした臨床試験を実施した。本研究に先立ち、健常若年成人に Ginger 含有 OD 錠を服用させ、唾液中 SP 量の測定を行った。唾液中 SP 量の動態パラメータを解析し、基剤処方最適化を行い、Ginger の含有量および用法用量を決定した。本論文では、加齢による嚥下機能の低下が考えられる高齢者に対し、Ginger 含有 OD 錠服用による嚥下機能改善効果について検討し、臨床試験を行い評価した。

【方法】Ginger は、機能性成分である gingerol、shogaol の含量のモニタリングが確立している高知県産のものを用いた。Ginger 含有 OD 錠は、Ginger を 2mg 含有し、賦形剤としてマンニトールと白糖を 1:1 で配合し、結合剤にコンスターチ、滑沢剤にステアリン酸マグネシウムを使用し、形成圧力を 8kN として圧縮し、作製した。Ginger 含有 OD 錠の臨床試験については、高知大学医学部倫理委員会の承認を得て実施した。65 歳以上の健常な高齢者を対象にプラセボ OD 錠および Ginger 含有 OD 錠を単回服用させ、服用前、服用後 15 分に、唾液を採取し、唾液中 SP 量の動態解析を行った。唾液中 SP 量は、被験者間で唾液中 protein 量が異なることを考慮し、唾液中 protein 量で補正を行い評価した。また、反復唾液飲みテスト、水飲みテスト、嚥下内視鏡検査を実施し、嚥下機能の臨床評価を行った。嚥下内視鏡検査については、兵頭ら(日本耳鼻咽喉科学会会報, 113(8):670-678, 2010)の嚥下内視鏡検査のスコアにより評価した。

【結果・考察】被験者に対し、Ginger 含有 OD 錠単回服用における唾液中 SP 量の測定を行った。被験者は、高齢者 18 名(男性 13 名、女性 5 名)で平均年齢は、 71.2 ± 7.7 歳であった。服用前の唾液中 SP 量は、 497.0 ± 201.3 pg/mg protein であった。プラセボ OD 錠服用後の唾液中 SP 量は、 504.8 ± 189.8 pg/mg protein であった。Ginger 含有 OD 錠服用後の唾液中 SP 量は、 833.0 ± 203.8 pg/mg protein であった。服用前およびプラセボ OD 錠服用後に比べ、Ginger 含有 OD 錠服用後では、唾液中 SP 量が有意に増大した($p < 0.05$)。また、Ginger 含有 OD 錠服用により、高齢者の唾液中 SP 量は若年成人のレベルに増大した。さらに被験者に対し、Ginger 含有 OD 錠単回服用における嚥下機能の臨床評価を行った。被験者は、高齢者 10 名(男性 5 名、女性 5 名)で平均年齢は、 74.8 ± 8.4 歳であった。反復唾液飲みテスト、水飲みテストでは、服用前およびプラセボ OD 錠服用後と Ginger 含有 OD 錠服用後での差は認められなかった。嚥下内視鏡検査においては、軽度の嚥下機能の低下が認められた症例において、服用前およびプラセボ OD 錠服用後に比べ、Ginger 含有 OD 錠服用により、嚥下内視鏡検査のスコアの有意な改善が認められた($p < 0.05$)。以上より、Ginger 含有 OD 錠は、高齢者において口腔局所の TRPV1 を刺激し、SP 分泌を促進することにより嚥下機能改善効果を発現させることが明らかとなった。また、唾液中 SP 量の動態解析の結果、加齢に伴い唾液中 SP 量が減少し、唾液中 SP 量は、嚥下機能低下の程度を反映し、有用な嚥下機能のバイオマーカーとなることを明らかとした。現在の高齢化に加えて、近年増大し続ける医療費の対策として、セルフメディケーションの推進や健康食品制度改革による予防効果の推進、即ち「健康保持」対策が掲げられている。申請者が開発した Ginger 含有 OD 錠は、摂食・嚥下の健康保持に貢献できると考える。健康食品制度改革では、規制緩和による機能性表示のエビデンスや安全性の確保、さらにエビデンスの精度向上が求められている。しかしながら、食品の臨床研究については、医薬品と比べて体制が確立していないのが現状である。今後、機能性表示も視野に入れ、医薬品の開発に準拠した臨床試験を継続して行い、エビデンスの精度向上のために食品の臨床研究のデザインを確立していきたい。

論文審査の結果の要旨

	氏 名		平田 歩
審 査 委 員	主 査 氏 名	菅沼 成文	
	副 査 氏 名	池内 昌彦	
	副 査 氏 名	上羽 哲也	

題 目 Ginger Orally Disintegrating Tablets to Improve Swallowing in Older People
 (高齢者に対する Ginger (*Zingiber officinale*) 含有口腔内崩壊錠の嚥下機能改善効果)

著 者 Ayumu Hirata, Hiroki Funato, Megumi Nakai, Michiro Iizuka, Noriaki Abe, Yusuke Yagi, Hisashi Shiraishi, Kohei Jobu, Junko Yokota, Kahori Hirose, Masamitsu Hyodo, Mitsuhiko Miyamura

発表誌名、巻 (号)、ページ (~)、 年 月
 Biological and Pharmaceutical Bulletin, 39(7): 1107~1111
 2016年 7月

要 旨

【目的】嚥下は口腔期、咽頭期、食道期に分けられるが、咽頭期の嚥下運動は食物を確実に食道に導くために、咽頭粘膜からの知覚入力により反射性に誘発される嚥下反射が重要となる。大脳基底核では dopamine の分泌を介して Substance P (SP) が産生され、舌咽神経や迷走神経の知覚枝での SP の分泌により嚥下反射が制御される。高齢者では、加齢や脳血管疾患などによる大脳基底核の病変が原因となり、dopamine や SP 産生が低下することで、嚥下機能低下を誘発し、誤嚥性肺炎のリスクが高まる。一方で、SP 分泌の増加により、誤嚥の改善や肺炎発症率の減少が報告されている。申請者は、現在までに、加齢に伴い唾液中 SP 量が減少し、唾液中 SP 量は、嚥下機能低下の程度を良く反映し、有用な嚥下機能のバイオマーカーとなる可能性を示してきた。そこで申請者は、SP の分泌を促進し、嚥下反射を改善させる物質として、嚥下反射の惹起に関わる温度感受性チャネル (Transient Receptor Potential Vanilloid 1: TRPV1) agonist の vanilloid 誘導体である gingerol、shogaol を機能性成分として含有する Ginger (学名: *Zingiber officinale*, 和名: ショウガ) に注目した。前臨床試験として、マウスの口腔内に Ginger 抽出物を投与し、免疫組織学的検討を行った結果、gingerol、shogaol の口腔局所の TRPV1 刺激作用により、TRPV1 が活性化し、唾液中への SP 分泌が促進したことを明らかとした。

この結果をもって、ヒトでの臨床試験を実施するため、嚥下困難な高齢者が服用できる点、主成分を作用部位である口腔付近に高濃度に維持し、口腔局所の TRPV1 を刺激できる点を考慮して、口腔内崩壊錠 (orally disintegrating tablet: OD 錠) を投与剤形として選択した。Ginger 含有 OD 錠の嚥下機能改善効果について、唾液中 SP 量を指標とした臨床試験を実施した。本研究に先立ち、健常若年成人に Ginger 含有 OD 錠を服用させ、唾液中 SP 量の測定を行った。唾液中 SP 量の動態パラメータを解析し、基剤処方最適化を行い、Ginger の含有量および用法用量を決定した。本論文では、加齢による嚥下機能の低下が考えられる高齢者に対し、Ginger 含有 OD 錠服用による嚥下機能改善効果について検討し、臨床試験を行い評価した。

【方法】Ginger は、機能性成分である gingerol、shogaol の含量のモニタリングが確立している高知県産のものを用いた。Ginger 含有 OD 錠は、Ginger を 2mg 含有し、賦形剤としてマンニトールと白糖を 1:1 で配合し、結合剤にコンスターチ、滑沢剤にステアリン酸マグネシウムを使用し、形成圧力を 8kN として圧縮し、作製した。Ginger 含有 OD 錠の臨床試験については、高知大学医学部倫理委員会の承認を得て実施した。65 歳以上の健常な高齢者を対象にプラセボ OD 錠および Ginger 含有 OD 錠を単回服用させ、服用前、服用後 15 分に、唾液を採取し、唾液中 SP 量の動態解析を行った。唾液中 SP 量は、被験者間で唾液中 protein 量が異なることを考慮し、唾液中 protein 量で補正を行い評価した。また、反復唾液飲みテスト、水飲みテスト、嚥下内視鏡検査を実施し、嚥下機能の臨床評価を行った。嚥下内視鏡検査については、兵頭ら (日本耳鼻咽喉科学会会報, 113(8):670-678, 2010) の嚥下内視鏡検査のスコアにより評価した。

【結果・考察】被験者に対し、Ginger 含有 OD 錠単回服用における唾液中 SP 量の測定を行った。被験者は、高齢者 18 名 (男性 13 名、女性 5 名) で平均年齢は、 71.2 ± 7.7 歳であった。服用前の唾液中 SP 量は、 497.0 ± 201.3 pg/mg protein であった。プラセボ OD 錠服用後の唾液中 SP 量は、 504.8 ± 189.8 pg/mg protein であった。Ginger 含有 OD 錠服用後の唾液中 SP 量は、 833.0 ± 203.8 pg/mg protein であった。服用前およびプラセボ OD 錠服用後に比べ、Ginger 含有 OD 錠服用後では、唾液中 SP 量が有意に増大した ($p < 0.05$)。また、Ginger 含有 OD 錠服用により、高齢者の唾液中 SP 量は若年成人のレベルに増大した。さらに被験者に対し、Ginger 含有 OD 錠単回服用における嚥下機能の臨床評価を行った。被験者は、高齢者 10 名 (男性 5 名、女性 5 名) で平均年齢は、 74.8 ± 8.4 歳であった。反復唾液飲みテスト、水飲みテストでは、服用前およびプラセボ OD 錠服用後と Ginger 含有 OD 錠服用後での差は認められなかった。嚥下内視鏡検査においては、軽度の嚥下機能の低下が認められた症例において、服用前およびプラセボ OD 錠服用後に比べ、Ginger 含有 OD 錠服用により、嚥下内視鏡検査のスコアの有意な改善が認められた ($p < 0.05$)。以上より、Ginger 含有 OD 錠は、高齢者において口腔局所の TRPV1 を刺激し、SP 分泌を促進することにより嚥下機能改善効果を発現させることが明らかとなった。また、唾液中 SP 量の動態解析の結果、加齢に伴い唾液中 SP 量が減少し、唾液中 SP 量は、嚥下機能低下の程度を反映し、有用な嚥下機能のバイオマーカーとなることを明らかとした。現在の高齢化に加えて、近年増大し続ける医療費の対策として、セルフメディケーションの推進や健康食品制度改革による予防効果の推進、即ち「健康保持」対策が掲げられている。申請者が開発した Ginger 含有 OD 錠は、摂食・嚥下の健康保持に貢献できると考える。健康食品制度改革では、規制緩和による機能性表示のエビデンスや安全性の確保、さらにエビデンスの精度向上が求められている。しかしながら、食品の臨床研究については、医薬品と比べて体制が確立していないのが現状である。今後、機能性表示も視野に入れ、医薬品の開発に準拠した臨床試験を継続して行い、エビデンスの精度向上のために食品の臨床研究デザインの確立を目指す予定である。

氏名(本籍)	八木 祐助 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第59号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年3月23日
学位論文題目	Outcome evaluation of an intervention to improve the effective and safe use of meropenem (メロペネム療法における有効性、安全性向上を目指した薬学的介入のアウトカム評価)
発表誌名	International Journal of Clinical Pharmacy, 36, 648~656 2014年 4月20日

審査委員

主査	教授	齊藤	源顕
副査	教授	安田	誠史
副査	教授	瀬尾	宏美

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名

八木 祐助

論文題目

Outcome evaluation of an intervention to improve
the effective and safe use of meropenem
(メロペネム療法における有効性、安全性向上を
目指した薬学的介入のアウトカム評価)

(論文要旨)




【目的】広域抗菌薬である carbapenem 系抗菌薬は、強力な抗菌作用を有し、敗血症や肺炎等の重症感染症に対して臨床的に重要な薬剤である。近年では、carbapenem 系抗菌薬の臨床における安易な濫用と不適切な使用により、carbapenem 耐性腸内細菌科細菌といった超耐性菌が出現し、現在の抗菌薬では患者を救命できない状況に陥り人類を脅かしている。耐性菌の出現には、抗菌薬の投与方法や使用期間および使用量が密接に関係しており、耐性菌発現抑制には、抗菌薬の投与期間および使用量の制限を行うなどの適正使用管理が必要である。また抗菌薬の薬効発現予測には、血中濃度や消失半減期および薬物の感染組織移行性を利用した薬物動態学 (Pharmacokinetics : PK) 解析だけでは不十分であり、細菌側の抗菌薬感受性や薬物の作用発現、生体反応といった薬力学 (Pharmacodynamics : PD) 解析を合わせた PK/PD 理論により検討する必要がある。そこで学位申請者は、抗菌薬の薬効を最大限に引き上げて治療期間を短縮すると同時に有害事象を回避できる治療を遂行するために、carbapenem 系抗菌薬である meropenem (以下、MEPM) に着目し、重症感染症治療における PK/PD 理論に基づいた薬学的介入による MEPM 療法の治療学的有効性および安全性の検証を行った。

【方法】2010年4月から2013年3月の3年間に高知大学医学部附属病院(以下、当院)に入院し、敗血症、肺炎、複雑性尿路感染症、胆嚢炎、胆管炎、肝膿瘍と診断され、MEPMのみを投与した患者のうち、①～④の抽出基準を満たす患者547名(男性335名、女性212名)を対象とした。抽出基準は、①他の抗菌薬を併用していない、②早期投与中止症例(投与期間として3日以内)および抗菌薬変更症例は除く、③MEPMが効果ありと判定され軽快退院となった症例で死亡症例は除く、④透析患者のうち、持続的血液濾過透析患者は除外とした。さらに賀来らが提唱した患者病態レベルに準じて、レベル2および3に該当する基礎疾患、医原的処置の有無を判断した。また調査期間内の当院におけるMEPMの使用量および使用方法について調査した。なお、MEPM年間使用量は、野田らの方法に準じて antimicrobial use density (AUD)により算出し、defined daily dose (DDD)は当院で規定した値である2gを用いた。薬学的介入効果を評価するために、対象患者をクレアチニンクリアランス(以下、Clcr)別に、投与法調節を必要としない正常腎機能、軽度腎機能障害の群(Clcr>50mL/分:以下、A群)と中等度、

重度腎機能障害および腎機能不全の群 (CLcr \leq 50mL/分：以下、B 群) の 2 群に分けて、感染症治療において抗菌薬使用に際して薬学的に介入した群 (以下、介入群) と介入しなかった群 (以下、非介入群) とに分類を行った。MEPM の使用方法について、介入群と非介入群において 1 日用量、1 日投与回数、投与間隔および投与期間の比較を行った。また治療中に用法用量の変更があった症例については、用法用量では最終投与法のみを、投与期間では初期投与法と最終投与法を累積して評価した。続いて、介入群、非介入群において、MEPM 投与による肝機能障害、腎機能障害および中枢神経系副作用として痙攣の発現状況を検討した。肝機能障害の評価は International consensus meeting 診断基準に基づいて、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) が正常上限の 2 倍、もしくはアルカリホスファターゼ (ALP) が正常上限を超える症例を肝機能障害発現ありと判断した。腎機能障害の評価は Acute Kidney Injury Network が提唱した急性腎不全の診断基準に基づいて、MEPM 投与開始から 48 時間以内に血清クレアチニン値が 0.3mg/dL 以上もしくは基礎値の 1.5 倍以上上昇した症例を急性腎障害発現ありと判断した。一方医療経済効果については、検討期間内における MEPM の薬剤費総額の節減額 (円) を介入群、非介入群で比較した。薬剤費については、患者毎の MEPM 使用量に薬価、投与期間を乗じて算出した。検討期間内に薬価改定のあったものは、改定後の薬価により算出した。

【結果・考察】本研究の対象患者 547 例中、介入群は 274 例 (50.1%)、非介入群 263 例 (49.9%) であった。A 群は 347 例であり介入群は 171 例 (49.3%)、非介入群は 176 例 (50.7%)、B 群は 200 例であり、介入群は 103 例 (51.5%)、非介入群は 97 例 (48.5%) であった。A 群、B 群いずれの群においても性別、年齢、腎機能、基礎疾患および医原的処置の有無に有意な差は認められなかった。また、調査期間内における MEPM の AUD に大きな変化は認められなかった。MEPM 療法における使用方法および投与期間の比較において、1 日用量、1 日投与回数、投与期間が A 群では介入群で 1829 \pm 745mg/日、2.5 \pm 0.6 回/日、7.4 \pm 3.7 日、非介入群で 1207 \pm 543mg/日、1.8 \pm 0.6 回/日、9.4 \pm 5.4 日とそれぞれ有意な差を認めたが (p<0.05)、投与間隔においては有意な差を認めなかった。一方 B 群では 1 日用量、1 日投与回数、投与間隔、投与期間いずれの項目においても介入群、非介入群で有意な差を認めなかった。A 群において、介入群と非介入群の比較で、肝機能障害、腎機能障害、痙攣発現率に有意な差を認めなかった。一方 B 群においては、介入群と非介入群との比較で腎機能障害および痙攣発現率に有意な差を認めなかったものの、肝機能障害発現率では、介入群で 18.5%、非介入群で 28.9%と介入群で肝機能障害発現を有意に抑制できた (p<0.05)。2010 年 4 月から 2013 年 3 月の 3 年間の MEPM の薬剤費総額は、A 群において介入群で約 5,534,000 (円)、非介入群で約 6,776,000 (円) であり、差額の比較では介入群で 1,242,000 円の有意な削減効果が認められた (p<0.05)。また B 群においては介入群で約 2,939,000 (円)、非介入群で約 3,446,000 (円) であったが、差額の比較では有意な差は認められなかった。一方薬剤費の削減額は、3 年総額で約 1,749,000 (円) であった (p<0.05)。以上のことから、我々の PK/PD の手法を用いた薬学的介入により重症感染症患者において MEPM の投与期間の短縮、有害事象の回避および薬剤費削減効果があることが明らかとなった。MEPM 療法における薬学的介入により効果的で安全な治療を遂行できること、また医師と協働し、臨床における MEPM の安易な濫用と不適切な使用を抑制し医療経済的利益に寄与できることから、抗菌薬適正使用推進の観点で継続していく必要があると考える。今回の検証結果に基づき、現在でも重症感染症治療に対する薬学的介入を継続して行っている。

論文審査の結果の要旨

	氏名	八木 祐助
審査委員	主査氏名	齊藤 源頭 
	副査氏名	安田 誠史 
	副査氏名	瀬尾 宏美 

題目	Outcome evaluation of an intervention to improve the effective and safe use of meropenem (メロペネム療法における有効性、安全性向上を目指した薬学的介入のアウトカム評価)
著者	Yusuke Yagi, Masafumi Okazaki, Hiromi Higaki, Megumi Nakai, Ayumu Hirata, Mitsuhiko Miyamura
発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月	International Journal of Clinical Pharmacy, 36, 648~656 2014年 4月20日
要旨	<p>【目的】抗菌薬の有効性、安全性の向上には、血中濃度や消失半減期等を利用した薬物動態学 (PK) 解析に加え、細菌側の抗菌薬感受性や薬物作用発現等の薬力学 (PD) 解析を合わせた PK/PD 理論により投与方法を検討する必要がある。そこで学位申請者は、carbapenem 系抗菌薬である meropenem (MEPM) に着目し、PK/PD 理論に基づいた投与設計等の薬学的介入による MEPM 療法の治療学的有効性および安全性について検証を行った。【方法】2010年4月から2013年3月の3年間に敗血症等に対して MEPM のみを投与した当院入院患者のうち、3日以内の早期投与中止症例、他系統抗菌薬への変更症例、死亡症例、持続的血液濾過透析症例を除く 547 名を対象とした。患者病態レベルに準じて、基礎疾患、医原的処置の有無を判断し、MEPM 使用量を抗菌薬使用密度 (AUD) により算出した。対象患者をクレアチニンクリアランス (CLcr) 別に、CLcr>50mL/分の群 (A 群) と CLcr≤50mL/分の群 (B 群) に分けて、</p>

さらに薬学的介入を行った群（介入群）と行わなかった群（非介入群）に分類を行った。薬学的介入内容の例として、 $Ccr > 50\text{mL/分}$ の場合、Time Above MICを40%以上維持できる投与法の予測結果に基づき、MEPMを $0.5\text{g} \times 3$ 回で初期投与し、臨床症状や培養結果のMICに応じて $0.75\text{g} \times 3$ 回および $1\text{g} \times 3$ 回へ増量を行い投与した。有効性の評価として1日用量、1日投与回数、投与間隔、投与期間をA群、B群の介入群と非介入群において比較を行った。また安全性の評価としてMEPMによる肝機能障害、腎機能障害、痙攣の発現状況をA群、B群の介入群、非介入群において比較検討を行った。肝機能障害の評価はICM診断基準により、腎機能障害の評価はAKI Networkの急性腎不全診断基準に基づいて行った。一方MEPMの薬剤費総額の節減額（円）をA群、B群の介入群、非介入群で比較し、医療経済効果について評価を行った。

【結果・考察】本研究の対象患者のうちA群は347例であり介入群は171例、非介入群は176例、B群は200例であり、介入群は103例、非介入群は97例であった。A群、B群の介入群、非介入群いずれの群においても性別、年齢、腎機能、基礎疾患、医原的処置の有無に有意な差を認めなかった。また対象期間のMEPMのAUDに大きな変化はなかった。MEPMの1日用量、1日投与回数、投与期間はA群の介入群で $1,829 \pm 745\text{mg/日}$ 、 2.5 ± 0.6 回/日、 7.4 ± 3.7 日、非介入群で $1,207 \pm 543\text{mg/日}$ 、 1.8 ± 0.6 回/日、 9.4 ± 5.4 日でありそれぞれ有意な差を認めたが ($p < 0.05$)、投与間隔、肝機能障害、腎機能障害、痙攣発現率に有意な差を認めなかった。一方B群では有効性評価の指標において介入群、非介入群で有意な差を認めなかったが、肝機能障害発現率は、介入群で18.5%、非介入群で28.9%であり介入群で肝機能発現を有意に抑制できた ($p < 0.05$)。またMEPMの薬剤費総額は、A群、B群において薬学的介入による削減効果を認め、3年総額で約1,749,000（円）の節減であった ($p < 0.05$)。以上のことから、薬学的介入によるMEPM療法での投与期間の短縮、有害事象の回避、薬剤費削減効果があることが明らかとなった。効果的で安全な治療を遂行し、臨床におけるMEPMの不適正使用を抑制し医療経済的利益に寄与できることから、適正使用推進を目的にMEPM療法での薬学的介入を継続して行っていく必要があると考える。

以上のように、本論文はPK/PD理論による抗菌薬の薬学的介入は抗菌薬の投与総量を減少させ有害事象を低下させる、そして医療費削減の可能性を示した。以上を総合的に判断し、審査員一同は申請者の学力および研究遂行能力が高知大学博士（医学）の学位を授与されるに相応するものと判断した。

氏名(本籍)	池 成基 (韓国)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第60号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年3月23日
学位論文題目	Disseminated intravascular coagulation in non-Hodgkin lymphoma (非ホジキンリンパ腫における播種性血管内凝固)
発表誌名	Internal Journal of Hematology (2015) 102:413-419

審査委員

主査	教授	宇高	恵子
副査	教授	村上	一郎
副査	教授	大畑	雅典

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 池 成基

論文題目

Disseminated intravascular coagulation in non-Hodgkin lymphoma

(非ホジキンリンパ腫における播種性血管内凝固)




(論文要旨)

この論文は、非ホジキンリンパ腫における播種性血管内凝固(DIC)の合併割合とその臨床的特徴について記述した後方視的コホート研究です。DICとは、凝固線溶系が乱れることで微小血管内の血栓形成が亢進し、組織虚血による末梢臓器障害や凝固因子の枯渇による重大出血などを引き起こす重篤な凝固異常状態です。急性白血病などの血液悪性腫瘍に合併しやすいことが知られていますが、悪性リンパ腫における合併頻度やその臨床的特徴について、これまでまとまった報告はほとんどありませんでした。

この研究では、過去7年間に高知大学医学部附属病院に悪性リンパ腫治療のため入院し、診断時に凝固マーカーが測定されていた全症例を対象としています。DIC診断基準は旧厚生省基準を用いており、対象となる167例の内18例(11.2%)がDICと診断されました。DICと診断された全例でInternational Prognostic Index (IPI)が高リスクとなっており、17例(94.4%)で全身状態不良でした。また、アルブミンやコリンエステラーゼ、アンチトロンビン活性などが低く、高度の蛋白合成能障害が示唆されました。他方、同じく当科で加療された急性骨髄性白血病(AML)/高リスク骨髄異形成症候群(MDS)症例でDICを合併した患者20例を比較すると、リンパ腫群ではAML/MDS群に比べてFDP/DダイマーやTAT、SFがさほど高くないのに対し、アンチトロンビン活性やフィブリノーゲンが顕著に低値でした。一般的に急性白血病(M3以外)や固形癌におけるDICは、腫瘍細胞や炎症性サイトカインによる組織因子の血管内流入や発現亢進が主な原因となれていますが、本研究結果を解釈すれば、非ホジキンリンパ腫においては蛋白合成能障害による凝固因子の枯渇が大きな背景となっている可能性が示唆されました。また、DICを合併した例では対照群と比べて生存期間が顕著に短く(生存期間中央値 176日 vs. 2430日)、その差はIPIや全身状態(performance status)、ステージ、肝機能などで統計学的に補正しても有意でした。これはDICの合併そのものが独立した予後因子となっている可能性を示唆しますが、残念ながら本研究では抗凝固療法の有無による予後の差異はみられておらず、DIC合併リンパ腫に対するアプローチの工夫が今後も必要と思われます。他方、数ある凝固マーカーのうちアンチトロンビン活性が80%を下回ると、DIC合併の有無に関わらず生命予後が有意に低下しますので、臨床的に重要な重要な指標のひとつとなるかも知れません。

本研究は後方視的ではありますが、非ホジキンリンパ腫に合併するDICの臨床像を記述したことで、悪性リンパ腫診療の充実に寄与するものと筆者は信じています。

論文審査の結果の要旨

		氏名	池 成基
審査委員	主査氏名	宇高 恵子	
	副査氏名	大畑 雅典	
	副査氏名	村上 一郎	

題 目

Disseminated intravascular coagulation in non-Hodgkin lymphoma

(非ホジキンリンパ腫における播種性血管内凝固)

著 者

SungGi Chi, Takayuki Ikezoe

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月

Internal Journal of Hematology (2015) 102:413-419

要 旨

池 成基さんの学位審査は、平成28年12月21日17時より約1時間にわたり行いました。まず、公開で研究内容の発表を行いました。

【背景と目的】

Non-Hodgkin lymphoma (NHL)は、他の造血器腫瘍に比べ、DICの発症頻度が低いと認識されているが、実態の把握は十分でない。そこで、NHLにおけるDICの発生について、高知大学医学部附属病院の電子カルテをレトロスペクティブに調べた。

【方法】

本院で新たにNHLと診断され、2008-2014年に高知大附属病院に入院した236症例の初診患者のうち、入院時に血液凝固因子のスクリーニングを受けた161症例について、旧

厚労省の DIC 基準で 7 以上の DIC 群 (n=18) と、それ以外 (n=143) の 2 群に分けて解析を行った。対照は、同じく高知大で新たに診断された AML (acute promyelocytic leukemia を除く) および high-risk MDS とした。

【結果と考察】

一般に造血器腫瘍の中では、NHL では DIC が少ない腫瘍と認識されているが、本院受診の時点で 11.2% が DIC を発症しており、留意が必要であることが認識された。また、DIC 群には、骨髄への浸潤など、病状が進行し、予後が不良な症例の割合が多いこともわかった。対照群とした AML および high-risk MDS においても DIC 発症例では重症例の割合が多かったが、NHL の DIC 発症例では、Alb 値が低めで、AT 活性や FDP/D ダイマーや TAT、SF がさほど高くないにも関わらず、AT 活性や fibrinogen が低値である症例の割合が多いことから、対照群に比べ、低栄養等を含むタンパク合成能の低下が背景にある傾向がうかがわれた。

治療法との関連においては、NHL において抗凝固療法の有無による予後への影響には有意差がなく、今後、DIC 合併 NHL に対する治療法の工夫が必要であることが示唆された。

【審査報告】

審査員からは、悪性腫瘍における DIC は、一般に予後不良因子としてとらえられており、新に悪性リンパ腫で予後因子として評価する意義はどこにあるか、また、DIC 群と非 DIC 群にグループ分けをするためのクライテリアとして使った検査項目 (platelet, PT-INR, fibrinogen, FDP) について、Fig.3 で両群間の比較検討をすることの適否、対照にした AML や high-risk MDS とは感染誘発性 DIC の割合が異なり、単純比較は困難である可能性等について質問や議論が出た。また、審査員からは、非ホジキンリンパ腫には多種の疾患が含まれ、組織型ごとに解析しないと意味がないのではないかと、という指摘や、同様の非ホジキンリンパ腫であるが、凝固因子を調べていないために本研究からは除外されている症例の割合がどれくらいか、について質問があった。

申請者は、これらの質問に対し、論文作成時にどのように対応したか、について説明をした。また、DIC の治療薬として thrombomodulin を投与した場合の回復までの日数が対照群と変わらなかったことをあげて、対照群の適否について議論した。過去の本院の診療データ解析にとどまる限界があるが、今後の診療の参考になる形で情報がまとめられており、申請者の研究技能の向上に資する研究となったことがうかがえた。

以上をふまえ、審査員一同、申請者の研究は、高知大学博士 (医学) の学位を授与するにふさわしい内容であると判断した。

氏名(本籍)	小高 雅人 (大阪府)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第61号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年3月23日
学位論文題目	Observational cohort study focused on treatment continuity of patients administered XELOX plus bevacizumab for previously untreated metastatic colorectal cancer (切除不能進行/再発大腸癌初回治療XELOX+ベバシズマブ施行例の治療継続性に関するコホート研究)
発表誌名	Onco Targets and Therapy 9 : 4113~4120 2016年7月7日

審査委員	主査	教授	宮村	充彦
	副査	教授	菅沼	成文
	副査	教授	花崎	和弘

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 小高 雅人

論文題目

Observational cohort study focused on treatment continuity of patients administered XELOX plus bevacizumab for previously untreated metastatic colorectal cancer

(切除不能進行/再発大腸癌初回治療 XELOX+ベバシズマブ施行例の治療継続性に関するコホート研究)

(論文要旨)

【背景】 治癒切除不能な進行・再発大腸癌に対する初回化学療法は、イリノテカン、オキサリプラチンに加えて、抗 VEGF 抗体、抗 EGFR 抗体といった分子標的薬剤の登場により、著しい進歩をとげた。これらの薬剤をどのように組合せ、どのレジメンを初回治療に選択するかというクリニカルクエスションに対しては、複数のランダム化試験の結果が報告されている。進行・再発大腸癌の真のエンドポイントである全生存期間の延長には、これらの薬剤を組合せた初回化学療法の治療継続性が重要であると考えられる。そこで進行・再発大腸癌初回化学療法としての XELOX+ベバシズマブ療法の日常診療における治療継続性を観察することを目的として、進行・再発大腸癌初回化学療法 XELOX+ベバシズマブ療法施行例 40 例の前向き観察研究を計画・実施した。




【方法】 本多施設共同研究は、各施設の倫理審査委員会において承認され、また University hospital Medical Information Network-Clinical Trials Registry (UMIN-CTR)へ登録され実施された (UMIN000003416)。適格規準は、1) 組織学的に大腸癌であることが確認されている、2) 評価可能病変を有する、3) 初回治療の進行・再発の大腸癌である (初発進行例は手術以外の治療を行っていない、再発例は初回再発であり、かつ再発巣に対して治療を行っていない)、4) XELOX+ベバシズマブ療法施行が可能な全身状態を有すると判断されている、5) 患者より本研究に参加することについて文書同意が得られている、とした。治療に関しては、XELOX+ベバシズマブ療法は day1 にベバシズマブ (7.5mg/kg)、オキサリプラチン (130mg/m²) を iv し、day1 から day14 にかけてカペシタビン (2,000mg/m²/day) を経口投与する 3 週 1 コースのスケジュールにて施行された。用量調整は National Cancer Institute-Common Terminology Criteria for Adverse Events (NCI-CTCAE) version 3.0 の有害事象発現グレードに応じて行われた。

画像評価は治療前と同一撮像方法により 8 週 (±2 週) 毎に行われた。抗腫瘍効果の判定は RECIST version 1.0 に基づいて実施された。評価項目は、治療継続性、奏効率、切除率、肝切除率、治療成功期間 (TTF; Time to treatment-failure)、無増悪生存期間 (PFS; progression-free survival)、全生存期間 (OS; Overall survival) とした。予定登録数は 40 例、登録期間 2 年、追跡期間を登録終了後 2 年とした。

【結果】 2010 年 7 月～2012 年 6 月の 2 年間に 40 例が登録された。XELOX+ベバシズマブ療法の治療継続状況は、コース数中央値は 7.5 コース (幅; 2-40 コース) であった。キサリプラチンを休薬して Capecitabine+ベバシズマブ療法もしくは Capecitabine 単独療法による維持療法施行例は 14 例 (35.0%) であったものの、10 コース以上の施行例 16 例において維持療法施行例は 10 例 (62.5%) であり、Capecitabine+ベバシズマブ療法導入による治療継続が確認された。また、治療中止理由は 15 例 (37.5%) が増悪、7 例 (17.5%) が有害事象、3 例 (7.5%) が患者都合による治療中止であったが、5 例 (12.5%) が CR、10 例 (25%) が切除による治療中止であった。奏効率は 57.5% (CR7 例、PR16 例) に得られた。切除率は 25.0% (肝 6 例、肺 2 例、大動脈リンパ節 1 例、局所 1 例)、肝切除率は 15.0% であった。追跡期間中央値 31.4 ヶ月 (幅; 0.7 ヶ月-50.9 ヶ月) における TTF 中央値は 5.3 ヶ月 (95%信頼区間; 3.6 ヶ月-9.1 ヶ月) であり、PFS 中央値は 13.3 ヶ月 (95%信頼区間; 9.8 ヶ月-18.2 ヶ月)、OS 中央値は 38.9 ヶ月 (95%信頼区間; 23.5 ヶ月-未到達) であった。

【結論】 今回、日常臨床下の XELOX+ベバシズマブ療法施行例においても、前向き臨床試験の結果どおり Capecitabine+ベバシズマブ療法による維持療法が治療継続をもたらし、無増悪生存期間(中央値:13.3 ヶ月)の延長に寄与しているであろうこと、5 例の CR や抗腫瘍効果に伴う 10 例転移巣切除術による Cancer-free、Chemo-free Interval が、非常に良好な全生存期間(中央値:38.9 ヶ月)の延長につながっていることを確認した。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	小高 雅人
審 査 委 員	主 査 氏 名	宮村 充彦 
	副 査 氏 名	菅沼 成文 
	副 査 氏 名	花崎 和弘 

題 目 Observational cohort study focused on treatment continuity of patients administered XELOX plus bevacizumab for previously untreated metastatic colorectal cancer

(切除不能進行/再発大腸癌初回治療 XELOX+ベバシズマブ施行例の治療継続性に関するコホート研究)

著 者 Masahito Kotaka, Fusao Ikeda, Masaki Tsujie, Shinichi Yoshioka, Yoshihiko Nakamoto, Takaaki Ishii, Takahisa Kyogoku, Takeshi Kato, Akihito Tsuji and Michiya Kobayashi

発表誌名、巻 (号)、ページ (~)、年 月
 Onco Targets and Therapy 9 : 4113~4120
 2016年7月7日

要 旨

治癒切除不能な進行・再発大腸癌に対する初回化学療法は、イリノテカン、オキサリプラチンに加えて、抗VEGF抗体、抗EGFR抗体等の分子標的薬剤の登場により、著しい進歩をとげている。これらの薬剤をどのように組合せ、どのレジメンを初回治療に選択するかというクリニカルクエスチョンに対しては、複数のランダム化試験の結果が報告されている。進行・再発大腸癌の真のエンドポイントである全生存期間の延長には、これらの薬剤を組合せた初回化化学療法の治療継続性が重要であると考えられる。

このような背景から、学位申請者は、進行・再発大腸癌初回化学療法としてのXELOX+ベバシズマブ療法の日常診療における治療継続性を観察することを目的として、進行・再発大腸癌初回化学療法XELOX+ベバシズマブ療法施行例40例の前向き観察研究（コホート研究）を計画・実施し、評価を行った。

本多施設共同研究は、各施設の倫理審査委員会において承認され、またUMIN-CTRへ登録され実施された。適格規準は、1) 組織学的に大腸癌であることが確認されている、2) 評価可能病変

を有する、3) 初回治療の進行・再発の大腸癌である（初発進行例は手術以外の治療を行っていない、再発例は初回再発であり、かつ再発巣に対して治療を行っていない）、4) XELOX+ベバシズマブ療法施行が可能な全身状態を有すると判断されている、5) 患者より本研究に参加することについて文書同意が得られている、とした。治療に関しては、XELOX+ベバシズマブ療法はday1にベバシズマブ（7.5mg/kg）、オキサリプラチン（130mg/m²）をivし、day1からday14にかけてカペシタピン（2,000mg/m²/day）を経口投与する3週1コースのスケジュールにて施行した。用量調整はNCI-CTCAE version 3.0の有害事象発現グレードに応じて行った。画像評価は治療前と同一撮像方法により8週（±2週）毎に行った。抗腫瘍効果の判定はRECIST version 1.0に基づいて実施した。評価項目は、治療継続性、奏効率、切除率、肝切除率、治療成功期間（TTF; Time to treatment-failure）、無増悪生存期間（PFS; progression-free survival）、全生存期間（OS; Overall survival）とした。予定登録数は40例、登録期間2年、追跡期間を登録終了後2年とした。

結果として、2010年7月～2012年6月の2年間に40例が登録された。XELOX+ベバシズマブ療法の治療継続状況は、コース数中央値は7.5コース（幅; 2-40コース）であった。オキサリプラチンを休薬してCapecitabine+ベバシズマブ療法もしくはCapecitabine単独療法による維持療法施行例は14例（35.0%）であったものの、10コース以上の施行例（16例）において維持療法施行例は10例（62.5%）であり、Capecitabine+ベバシズマブ療法導入による治療継続が確認された。また、治療中止理由は15例（37.5%）が増悪、7例（17.5%）が有害事象、3例（7.5%）が患者都合による治療中止であったが、5例（12.5%）がCR、10例（25%）が切除による治療中止であった。奏効率は57.5%（CR7例、PR16例）に得られた。切除率は25.0%（肝6例、肺2例、大動脈リンパ節1例、局所1例）、肝切除率は15.0%であった。追跡期間中央値31.4ヶ月（幅; 0.7ヶ月-50.9ヶ月）におけるTTF中央値は5.3ヶ月（95%信頼区間; 3.6ヶ月-9.1ヶ月）であり、PFS中央値は13.3ヶ月（95%信頼区間; 9.8ヶ月-18.2ヶ月）、OS中央値は38.9ヶ月（95%信頼区間; 23.5ヶ月-未到達）であった。

本コホート研究により、切除不能進行/再発大腸癌初回治療におけるXELOX+ベバシズマブ療法は、Capecitabine+ベバシズマブによるメンテナンスが治療継続をもたらし、無増悪生存期間PFSの延長に寄与していること、また、XELOX+ベバシズマブ療法の抗腫瘍効果による5例のCR、さらに10例の転移巣切除術施行例におけるCancer-free、Chemo-free Intervalが、非常に良好な全生存期間の延長につながっていることが明らかとなった。

以上、本研究は、学位申請者が新規臨床研究のプロトコール作成、実施、解析評価等を一貫して行った点で高く評価され、また、学位申請者が履修する「がんプロフェッショナル養成基盤促進プラン」により選定された「中国・四国高度がんプロ養成基盤プログラム」の目的である、高度専門知識に加えリサーチマインドを身につけた全人的高度がん専門医療人の養成に合致することより、審査員一同は、高知大学博士（医学）に相応しいものと評価した。

氏名(本籍)	山本 真有子 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第62号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成29年3月23日
学位論文題目	Psoriatic inflammation facilitates the onset of arthritis in a mouse model (乾癬モデルマウスの皮膚炎症は関節炎の発症を促進する)
発表誌名	Journal of Investigative Dermatology 135 (2): 445-453 2014年11月

審査委員

主査	教授	宇高	恵子
副査	教授	本家	孝一
副査	教授	寺田	典生

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名

山本真有子

論文題目




Psoriatic inflammation facilitates the onset of
arthritis in a mouse model

乾癬モデルマウスの皮膚炎症は関節炎の発症を促進する

(論文要旨)

関節症性乾癬 (psoriatic arthritis, PsA) は、乾癬皮疹に炎症性関節炎を合併する 1 亜系で、乾癬患者の 6~34% を占める。多くは皮疹が関節炎に先行するが、皮疹が関節炎発症にいかに関与するのか明らかではなかった。興味深いことに、PsA 患者において指趾末節骨に関節症状を呈する場合、同部位の乾癬あるいは爪乾癬を伴うことが多く、皮膚炎が近接する関節の炎症に関与する可能性を示唆している。しかし、疾患モデルマウスが確立されていないことが病態解明を遅らせていた。本研究は関節炎を合併する乾癬モデルマウスを確立することを目的とし、乾癬モデルマウス (K5.Stat3C トランスジェニックマウス) と自己免疫性関節炎モデルマウス (gp130^{F759/F759} ノックインマウス、F759 マウスと略す) を用いた。表皮細胞特異的に活性化型 Stat3 を恒常的に発現する K5.Stat3C マウスは、乾癬様皮疹を自然発症する。この乾癬様皮疹は組織学的所見や、IL-23/Th17 軸の活性化、抗菌ペプチドの増加などサイトカイン環境がヒトの乾癬に酷似している。しかし、このマウスが関節炎を自然発症することはない。F759 マウスは IL-6 シグナル伝達ユニットである gp130 分子の SOCS3 結合部位に変異を有する。SOCS3 は Stat3 の抑制系であるが、変異マウスでは SOCS3 活性化が阻害され、Stat3 抑制経路の機能が破綻することにより、全身性に持続的な Stat3 活性化を示し、生後 1 年で自己免疫性関節炎を自然発症する。われわれは、K5.Stat3C マウスと F759 マウスを交配した K5.Stat3C:F759 マウスにおいて、生後 3 週間で臀部、尻尾、後脚の角化性紅斑とともに、足趾のソーセージ様腫脹 (指炎) を発症することを見いだした。腫脹足趾は組織学的に乾癬様の表皮肥厚と真皮全層の浮腫を呈し、趾骨付着部炎を伴っていた。関節炎病変部では、関節炎症状のないマウスの関節部と比較して、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 などの炎症性サイトカインや、IL-23/Th17 系サイトカインである IL-23、IL-17A、および Th17 細胞に対する特異的ケモカイン CCL20 の遺伝子発現増強を認めた。また指炎を発症したマウスは血清中の IL-6 および IL-17 濃度が上昇していた。所属リンパ節と比較して、指炎病変部の浸潤細胞には CCR6⁺CD4⁺T 細胞 (Th17 細胞) の割合が増加しており、病変局所に Th17 細胞が集積していることが示された。また、二重免疫染色により病変部関節周囲の線維芽細胞で Stat3 が活性化していることを確認した。このマウスの乾癬様皮疹や指炎は進行性の経過をとり、爪乾癬に類似した爪甲病変を伴い、重症例では足趾関節拘縮を呈し、組織学的に趾骨びらんを認めるに至った。F759 マウスは乾癬様皮疹を自然発症することはないが、全身的な Stat3 活性化にもとづき、K5.Stat3C マウス同様 TPA 刺激により乾癬様皮疹を誘導することができる。関節炎発症前の若いマウスの皮膚に乾癬の皮膚炎症を誘導することにより、近接する関節に炎症が惹起されるか否かを検討した。F759 マウスの足に TPA を塗布することにより K5.Stat3C マウス同様、乾癬様皮疹が誘導され、同時に近接した関節が腫脹し、組織学的には趾骨付着部炎を認めた。これらの結果より、乾癬皮疹における IL-23/Th17 軸を中心とした炎症が、近接する関節に病変を誘導する可能性が示唆され、PsA の発症病態の一端が明らかになった。

論文審査の結果の要旨

		氏名	山本 真有子
審査委員	主査氏名	宇高 恵子	
	副査氏名	本家 孝一	
	副査氏名	寺田 典生	

題目 Psoriatic inflammation facilitates the onset of arthritis in a mouse model

(乾癬モデルマウスの皮膚炎症は関節炎の発症を促進する)

著者

Mayuko Yamamoto, Kimiko Nakajima, Mikiro Takaishi, Shun Kitaba, Yasuhiro Magata, Sayo Kataoka and Shigetoshi Sano

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月

Journal of Investigative Dermatology 135 (2): 445-453
2014年11月

要旨

山本真有子さんの学位審査は、平成29年2月7日15:30より約1時間にわたり行いました。まず、公開で研究内容の発表を行いました。

【背景と目的】

Psoriatic arthritis (PsA)は、乾癬の皮疹に近い関節に起こりやすい炎症性関節炎で、乾癬患者の6-34%にみられる。放置すると拘縮など永続する障害に発展するため、治療法の開発、および介入時期の見極めが重要である。関節炎は、腱附着部炎 (enthesitis) を特徴とする。指趾末節骨に起こる場合は、爪乾癬を伴うことが多く、皮膚の炎症反応と関節炎の関連が示唆される。しかし、PsAには動物モデルがないため、研究が進んでいなかった。高知大学皮膚科学教室では、keratinocytes で Stat3 が恒常的に活性化している K5.Stat3C transgenic mouse (K5.Stat3C)が乾癬様皮疹を自然発症し、乾癬の動物モデルとなることを

示してきた。しかし、このマウスは、ヒト乾癬患者のように関節炎を起こすことはない。一方、Stat3 経路を抑制する SOCS3 が Gp130 受容体タンパク上で結合する 759 位の Tyr が Phe に置換された F759 knock-in mouse F759 (F759) では、全身性に Stat3 の活性が高く、生後 1 年程度で自己免疫性関節炎を自然発症する。そこで申請者らは、皮膚炎と関節炎との関連をみるため、F759 マウスを K5.Stat3C と交配し、経過を観察した。

【方法と結果・考察】

K5.Stat3C と F759 を交配した F1 マウスは、生後 3 週間の時点で皮膚炎に近い関節に関節炎を発症した。関節炎は爪の基部に多発し、病理学的観察および PET により単核球浸潤や趾骨びらんを伴う腱付着部炎であることが確認され、PsA と特徴が共通していた。PsA に特徴的な指のソーセイジ様腫脹 (dactylitis) も見られた。さらに炎症部のサイトカイン産生を RT-PCR 法により調べると、乾癬同様、IL-1, TNF- α , IL-6 などの炎症性サイトカインや抗菌ペプチドの転写活性の増強や、IL-23/IL-17 axis のサイトカインの活性化がみられた。指炎部の浸潤細胞は CCR6+CD4+T 細胞(Th17)であり、周辺の fibroblasts には、Stat3 の活性化が認められた。

さらに、本来皮膚炎を自然発症することはない F759 マウスに TPA を塗布すると、乾癬用皮疹が誘発され、PsA 様関節炎の発症は皮膚炎発症部位に起こる傾向がみられた。これらの結果から、PsA において、皮膚の炎症が関節炎を惹起する誘因となっていることが示唆された。

【審査報告】

審査員からは、PsA の浸潤細胞の種類や同定法に関する質問の他、乾癬モデルマウスの PsA に対する抗 IL-6 などの抗体療法の可能性は考えられないか、という質問があった。申請者は、抗 TNF- α mAb は死亡するマウスが出て実験を断念したこと、抗 IL-6 抗体では皮膚炎の改善がなく、ヒトの PsA 患者でも抗 IL-6 抗体は奏効しないことが知られているので、それ以上追及しなかった、と説明があった。さらに審査員からは、F759 マウスに皮膚炎を惹起する薬剤として TPA を使った理由についての質問、および治療薬として Stat3 inhibitor の塗布だけでは皮膚炎しか制御できないとしても、Stat3 inhibitor を関節部に届ける DDS の工夫ができないかという質問があった。また、PsA の患者数が増えたのは、診断率の向上によるものか、疾患の増加によるものか、についても質問があった。

これらの質問に対し、申請者は乾癬で観察されているサイトカインの変化や細胞内シグナル伝達系をあげて説明をし、将来の治療法の開発についても積極的なコメントを加えることができた。申請者は 2008 年頃より研究を進め、実験もほぼ自身の手で進めるなど、積極的で、また、研究経験が臨床へフィードバックされていることがうかがわれた。以上をふまえて、審査員一同、申請者の研究は、高知大学博士 (医学) の学位を授与するにふさわしい内容であると判断しました。

氏名(本籍)	佐藤 健治 (長崎県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第35号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成29年2月21日
学位論文題目	Involvement of TNF- α Converting Enzyme in the Development of Psoriasis-Like Lesions in a Mouse Model (乾癬様モデルマウスの病態形成におけるTNF- α converting enzymeの関与)
発表誌名	PLOS One, 2014; 9 (11): e112408

審査委員	主査	教授	宇高	恵子
	副査	教授	本家	孝一
	副査	教授	仲	哲治

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名

佐藤 健治

論文題目

Involvement of TNF- α Converting Enzyme in the Development of Psoriasis-Like Lesions in a Mouse Model

(乾癬様モデルマウスの病態形成における TNF- α converting enzyme の関与)

(論文要旨)

【背景・目的】

乾癬治療において tumor necrosis factor (TNF) - α 阻害剤が有効であることから、TNF- α は乾癬の病態形成に重要と考えられる。TNF- α は細胞膜上に発現し、TNF- α converting enzyme (TACE) による切断を受け、種々の生理活性に関与する。Heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF)、amphiregulin 及び transforming growth factor (TGF) - α 等の EGF receptor (EGFR) リガンドは、乾癬病態への関与が示唆されており、これらも TACE による切断を受ける。したがって、TACE はこれらの因子を介して乾癬病態に関与している可能性がある。更に、血管透過性の亢進や血管新生に重要であり乾癬病態への関与も示唆される vascular endothelial growth factor (VEGF) 発現への TNF- α 及び EGFR リガンドの寄与も報告されており、TACE は VEGF 産生を介しても乾癬病態に関与する可能性がある。

本研究では、乾癬の病態形成における TACE の関与を推測するため、乾癬様病態モデルマウスである K5.Stat3C マウスに生じる皮疹における TACE 関連因子の発現解析、並びに TNF- α 阻害剤及び EGFR 阻害剤の評価を行い、本モデルにおける TACE の関与を検討した。

【方法】

高知大学医学部で維持繁殖した K5.Stat3C マウスの耳介に 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) を塗布して乾癬様皮疹を誘発した。経時的に耳介組織の採取を行い、病理学的解析、遺伝子発現解析及びタンパク質発現解析を行った。TNF- α 阻害剤であるエタネルセプトはマウスに静脈内投与し、EGFR 阻害剤である AG1478 はアセトンに溶解してマウスに外用塗布した。K5.Stat3C マウス由来表皮細胞の培養系で、TPA 刺激後の TNF- α 、amphiregulin 及び VEGF 産生に対する TACE 阻害化合物 TAPI-1 の評

価を行った。

【結果・考察】




病理学的解析の結果、本モデルに生じた皮疹部における TACE の局在は、乾癬病変部と類似していた。本モデルの病態初期より TNF- α 、HB-EGF、amphiregulin 及び TGF- α の遺伝子発現亢進がみられ、エタネルセプト又は AG1478 処置によって本モデルの病態形成が抑制されたことから、本モデルにおける TNF- α 及び EGFR の寄与が示唆された。本モデルの病態初期より、内因性の TACE 活性抑制因子である tissue inhibitor of metalloproteinase-3 (TIMP-3) の遺伝子及びタンパク質発現の低下、並びに遊離型 TNF- α 産生の亢進が観察され、本モデルにおける TACE 活性の亢進と可溶性 TACE 基質の関与が示唆された。

K5.Stat3C マウス由来表皮細胞からの TPA 刺激による TNF- α 及び amphiregulin 産生は、いずれも TAPI-1 処置によって抑制された。更に、表皮細胞の増殖及び TPA 刺激による表皮細胞からの VEGF 産生はいずれも TAPI-1 処置によって抑制され、その抑制は amphiregulin 及び HB-EGF の添加によってそれぞれ回復した。この結果は、本モデルでの表皮細胞の増殖及び表皮細胞からの VEGF 産生における TACE の寄与を示唆する。

【結論】

本研究によって、本マウスモデルの乾癬様病態形成における表皮細胞増殖、毛細血管の増生に TACE が重要な働きをしている可能性が明らかになった。このため、TACE を標的とした乾癬治療への道筋が示された。

論文審査の結果の要旨

	氏名	佐藤 健治
審査委員	主査氏名	宇高 恵子 
	副査氏名	本家 孝一 
	副査氏名	仲 哲治 

題 目 Involvement of TNF- α Converting Enzyme in the Development of Psoriasis-Like Lesions in a Mouse Model

(乾癬様モデルマウスの病態形成におけるTNF- α converting enzymeの関与)

著 者

Kenji Sato, Mikiro Takaishi, Shota Tokuoka, Shigetoshi Sano

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、 年 月

PLOS One, 2014; 9 (11): e112408

2014年11月

要 旨

佐藤健治さんの学位審査は、平成28年12月20日10時30分より約1時間にわたり行いました。まず、公開で研究内容の発表を行いました。

【背景と目的】

炎症性サイトカインである TNF- α や EGFR-ligands、HB-EGF、TGF- α は、マクロファージをはじめとする炎症細胞の細胞膜に発現される TACE (TNF- α converting enzyme) により切断されて細胞膜から遊離し、生理活性を発揮する。乾癬においても、これらサイトカインが病態形成に関与することが示唆され、実際、治療薬として TNF- α 阻害薬が使われている。しかし、乾癬の病態形成における TACE の役割は、十分に明らかになっていない。

そこで、高知大皮膚科学教室で開発した K5.Stat3C transgenic mouse (K5.Stat3C) を用いた乾癬モデルを使って病変部位における TACE の活性および、TACE の標的サイトカインの発現を調べ、TACE 抑制剤による乾癬制御の可能性を探った。

【方法と結果・考察】

K5.Stat3C マウスでは、keratinocyte において Stat3 が定常的に活性化している。このマウスの皮膚に TPA を塗布すると、乾癬様皮疹が生じる。そこで、耳介に TPA を塗布し、皮疹を誘導した耳と対照の耳を経時的に採取し、病理学的解析、遺伝子発現解析およびタンパク質レベルでの発現解析を行った。皮疹部の組織染色においては、keratinocyte および皮下組織に浸潤したマクロファージおよび樹状細胞を主とする炎症性細胞に TACE が高発現していた。それに対応して TNF- α の高発現がみられた。

TNF- α 遺伝子の転写やタンパク質レベルでの高発現は、TPA 塗布後 1 日目から明らかで、K5.Stat3C マウスでは、野生型マウスに比べ亢進していた。TPA 塗布を行った耳では、IL-17 および IL-23p40 遺伝子の高発現もみられた。また、TACE の標的サイトカインである amphiregulin, HB-EGF, TGF- α の高発現も TPA 塗布後 1 日目から明らかであり、K5.Stat3C ではさらに亢進していた。さらに、TACE の高発現に加え、生理的な TACE inhibitor である TIMP-3 の発現抑制が起こっていた。

TNF- α に対するブロッキングタンパク製剤である etanercept の静注、あるいは EGFR inhibitor である AG1478 の塗布により、乾癬様皮疹の誘発は抑制され、これらの因子の皮疹形成への関与が示唆された。さらに、骨髄由来樹状細胞 (BMDC)、マクロファージおよび keratinocyte の培養に TACE inhibitor のひとつである TAPI を加えると TNF- α および amphiregulin タンパクの遊離が抑制された。また、TACI は、keratinocyte の増殖および keratinocyte からの VEGF 産生を抑制し、その抑制はそれぞれ、amphiregulin および HB-EGF を添加することにより回復した。このことより、乾癬の病態形成に特徴的な keratinocyte の増殖や血管新生における TACE の関与が明らかとなった。

【審査報告】

審査員からは、乾癬様皮疹の誘発に関する IL-6 の関与について質問があり、申請者は、IL-6 inhibitor の効果がないことをあげて説明した。また、審査員からは、全身性あるいは肝臓に TACE を欠損するマウスは生後間もなく死ぬことから、今回皮疹においてみられた TACI の効果は部分的な抑制の結果である可能性が示唆された。さらに審査員からは、治療法の開発における本研究の位置づけが preclinical study であるのか、質問があった。

また、審査員からは、TPA 塗布が、いかに活性化した Stat3 と共同して Th17 軸のサイトカイン産生につながるのか、また、Stat3 の活性化がどのように TIMP-3 の転写抑制につながるのか、メカニズムについて質問があった。また、TPA の代わりに Imiquimod を使った場合に皮疹の誘導が期待されるかどうか質問があった。さらに、観察された IL-17/IL23p40 軸のサイトカインの高発現に microRNA の関与がないか、質問があった。

申請者は、これらの質問に根拠をあげて適切に回答し、議論をすることができた。また、

苦勞した点として、初期には TNF- α の検出がむずかしかつたため、技術的な工夫を重ねたことをあげた。

以上をふまえ、審査員一同、申請者の研究は、高知大学博士（医学）の学位を授与するにふさわしい内容であると判断した。

氏名(本籍)	福留 惟行 (鹿児島県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第36号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成29年2月21日
学位論文題目	Diamine oxidase as a marker of intestinal mucosal injury and the effect of soluble dietary fiber on gastrointestinal tract toxicity after intravenous 5-fluorouracil treatment in rats (経静脈投与の5-FUによる小腸粘膜障害と血清DAO活性の有用性およびSDFの下痢予防効果の検討)
発表誌名	Medical Molecular Morphology, 47(2)、(100~107)

審査委員	主査	教授	齊藤	源顕
	副査	教授	横山	彰仁
	副査	教授	前田	長正

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 福留 惟行

論文題目

Diamine oxidase as a marker of intestinal mucosal injury and the effect of soluble dietary fiber on gastrointestinal tract toxicity after intravenous 5-fluorouracil treatment in rats.

(経静脈投与の5-FUによる小腸粘膜障害と血清DAO活性の有用性およびSDFの下痢予防効果の検討)

(論文要旨)

本研究の目的は化学療法による小腸粘膜障害の存在を示すバイオマーカーの開発と消化器毒性の予防法の新規確立である。

この研究の背景として、各種癌に対して行われる化学療法のうち中心的役割をはたす5-fluorouracil (5-FU)は、その副作用として食欲不振、悪心、嘔吐、下痢など多くの消化器に対する有害事象が知られているという事実がある。それらは全身状態の悪化を招き、化学療法が継続できなくなるという点で生命予後の短縮にも関係する。この消化器毒性の原因として小腸粘膜障害が影響していると考えられている。この粘膜障害の程度を反映するバイオマーカーの開発を行うことにより、起こりうる有害事象の早期発見、早期予防につながる事が期待される。本研究で検討するDiamine oxidase (DAO)は小腸粘膜の増殖に必須のPolyamine濃度を制御する酵素であり、血中DAO活性が化学療法中の小腸粘膜障害の指標となると報告されている。また、水溶性食物繊維Soluble dietary fiber (SDF)には化学療法中の小腸粘膜保護効果があり、化学療法中に投与することによりDAO活性の低下を軽減できるという報告もある。

これらの報告をふまえて、本研究では5-FU投与中の下痢の頻度、重症度、そのときの小腸粘膜の形態変化の観察を行い小腸粘膜障害の指標としての血中DAO活性との相関性を調べた。また、SDF投与により腸粘膜障害が予防しうるかどうかについて研究した。

研究はラット34匹を用い、これを後述のごとく3群に振り分けた。まず、5-FU (50 mg/kg/day)のみを4日間尾静脈から投与した群(n=12)、次に5-FU投与と共にSDF (100 mg/body)を経口投与した群(n=12)、最後にコントロール群(n=10)である。この3群に対して下痢の頻度と重症度を観察し、5日目と8日目に各群6匹ずつ(コントロール群は5匹ずつ)の採血と腸管組織の採取を行い血中DAO活性の測定と走査型電子顕微鏡による腸管粘膜の観察を行った。




結果として、5日目の時点で5-FU単独投与群の91.7%、5-FU+SDF群の50%に重症の下痢を認めたが、これはSDF投与群で有意に下痢の頻度が低下したことを示した。この結果からSDFは5-FUの腸管毒性を軽減させる可能性が示唆された。また、血中DAO活性は5日目、8日目の両日で5-FU単独投与群、5-FU+SDF群ともにコントロール群に対し有意に低値を示し5-FUによる小腸粘膜障害を反映していると考えられた。また、電子顕微鏡の観察では5日目の時点でコントロール群と比較し

て 5-FU 群、5-FU+SDF 群ともに粘膜構造に不整を認めたが、SDF 投与群では、5-FU 単独投与群と比較して、腸管粘膜の組織構造はより保たれる傾向にあった。

この研究で血中 DAO 活性の低下は 5-FU の経静脈投与による小腸粘膜障害を反映することを確認した。また、SDF は小腸粘膜を保護し、結果として重症の下痢の発生を予防しうる可能性も示唆された。

さらなる研究により血中 DAO 活性が粘膜障害のバイオマーカーとして、さらには SDF が粘膜障害の予防として臨床応用されることが期待される。

論文審査の結果の要旨

	氏名	福留 惟行
審査委員	主査氏名	齊藤 源頭 
	副査氏名	横山 彰仁 
	副査氏名	前田 長正 

題 目 Diamine oxidase as a marker of intestinal mucosal injury and the effect of soluble dietary fiber on gastrointestinal tract toxicity after intravenous 5-fluorouracil treatment in rats
(経静脈投与の5-FUによる小腸粘膜障害と血清DAO活性の有用性およびSDFの下痢予防効果の検討)

著 者 Ian Fukudome, Michiya Kobayashi, Ken Dabanaka, Hiromichi Maeda, Ken Okamoto, Takehiro Okabayashi, Ryoko Baba, Nana Kumagai, Koji Oba, Mamoru Fujita, Kazuhiro Hanazaki

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
Medical Molecular Morphology、47(2)、(100~107)
2014年6月

要 旨

各種癌に対して行われる化学療法のうち中心的役割をはたす 5-fluorouracil (5-FU)は、その副作用として食欲不振、悪心、嘔吐、下痢など多くの消化器に対する有害事象が知られている。それらは全身状態の悪化を招き、化学療法が継続できなくなるという点で生命予後の短縮にも関係する。この消化器毒性の原因として小腸粘膜障害が影響していると考えられている。本研究で検討する Diamine oxidase (DAO) は小腸粘膜の増殖に必須の Polyamine 濃度を制御する酵素であり、血中 DAO 活性が化学療法中の小腸粘膜障害の指標となると報告されている。また、水溶性食物繊維 Soluble dietary fiber (SDF) には化学療法中の小腸粘膜保護効果があり、化学療法中に投与することにより DAO 活性の低下を軽減できるという報告もある。本研究では 5-FU 投与中の下痢の頻度、重症度、そのときの小腸粘膜の形態変化の観察を行い小腸粘膜障害の指標としての血中 DAO 活性との相関性を調べた。また、SDF 投与により腸粘膜障害が予防しうるかどうかについて検討した。

研究はラット 34 匹を用い、5-FU (50 mg/kg/day)のみを 4 日間尾静脈から投与した群 (n=12)、5-FU 投与と共に SDF (100 mg/body)を経口投与した群 (n=12)、それにコントロール群 (n=10)の 3 群に振り分けた。この 3 群に対して下痢の頻度と重症度を観察し、5 日目と 8 日目に各群 6 匹ずつ(コントロール群は 5 匹ずつ)の採血と腸管組織の採取を行い血中 DAO 活性の測定と走査型電子顕微鏡による腸管粘膜の観察を行った。

5 日目の時点で 5-FU 単独投与群の 91.7%、5-FU+SDF 群の 50%に重症の下痢を認めたが、これは SDF 投与群で有意に下痢の頻度が低下したことから SDF は 5-FU の腸管毒性を軽減させる可能性が示唆された。血中 DAO 活性は 5 日目、8 日目の両日で 5-FU 単独投与群、5-FU+SDF 群ともにコントロール群に対し有意に低値を示し 5-FU による小腸粘膜障害を反映していると考えられた。電子顕微鏡の観察では 5 日目の時点でコントロール群と比較して 5-FU 群、5-FU+SDF 群ともに粘膜構造に不整を認めたが、SDF 投与群では、5-FU 単独投与群と比較して、腸管粘膜の組織構造はより保たれる傾向にあった。

この研究で血中 DAO 活性の低下は 5-FU の経静脈投与による小腸粘膜障害を反映することを確認した。また、SDF は小腸粘膜を保護し、結果として重症の下痢の発生を予防しうる可能性も示唆された。さらなる研究により血中 DAO 活性が粘膜障害のバイオマーカーとして、さらには SDF が粘膜障害の予防として臨床応用されることが期待される。

以上のように、本論文は血中 DAO 活性が抗がん剤の小腸粘膜障害のバイオマーカーとなりうる可能性を示し、また水溶性食物繊維 SDF は化学療法中の小腸粘膜保護薬としての臨床応用が期待される。以上を総合的に判断し、審査員一同は申請者の学力および研究遂行能力が高知大学博士 (医学) の学位を授与されるに相応するものと判断した。

氏名(本籍)	奥山 洋美 (岡山県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第37号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成29年2月21日
学位論文題目	<i>Spirulina</i> lipopolysaccharides inhibit tumor growth in a Toll-like receptor 4-dependent manner by altering the cytokine milieu from interleukin-17/interleukin-23 to interferon- γ (スピルリナ複合リポ多糖は、サイトカイン環境をIL-17/IL-23からIFN- γ に変化させることによって、TLR4依存的に腫瘍増殖を抑制する)
発表誌名	Oncology Reports Vol. 37 No. 2 p684-694, 2017

審査委員	主査	教授	宇高	恵子
	副査	教授	福島	敦樹
	副査	教授	山本	哲也

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 奥山 洋美

論文題目

Spirulina lipopolysaccharides inhibit tumor growth in a Toll-like receptor 4-dependent manner by altering the cytokine milieu from interleukin-17/interleukin-23 to interferon- γ
(スピルリナ複合リポ多糖は、サイトカイン環境を IL-17/IL-23 から IFN- γ に変化させることによって、TLR4 依存的に腫瘍増殖を抑制する)

(論文要旨)

【背景と目的】: トール様受容体 (TLR) リガンドなどの免疫賦活剤による抗腫瘍免疫応答の増強と共に、*in vitro*でのサイトカイン誘導が調べられているが、免疫賦活剤が担癌宿主における *in vivo*でのサイトカインの動態にどのような影響を及ぼしているのかは明らかではない。

ナチュラルキラー (NK) 細胞やヘルパータイプ 1 T 細胞 (Th1) 細胞から産生される IFN- γ は抗腫瘍活性を発揮する事、一方 Th17 細胞から分泌される IL-17 は腫瘍増殖を促進する事が報告されている。また、IL-12 は Th1 細胞の、IL-6 と TGF- β は Th17 細胞の分化誘導に決定的な役割を果たす事、IL-23 は Th17 細胞の増殖や生存を促進する事が知られている。我々は藍藻類 *Spirulina pacifica* から熱フェノール水抽出で調製したスピルリナ LPS が、*in vivo*において著明な抗腫瘍活性を示す事、またエンドトキシンショックなどの副作用が大腸菌 LPS よりも低い事を見いだしている。そこで本研究では、スピルリナ LPS の抗腫瘍効果を *in vivo*でのサイトカインの動態、特に IL-17 に着目して、大腸菌 LPS の抗腫瘍効果との比較で免疫学的観点から解析を行った。

【方法および結果】: 肝癌細胞株 MH134 を同系の C3H/HeN マウスの背部皮内に移植し、腫瘍接種 6 日目から 7 日ごとに、大腸菌 LPS 或いはスピルリナ LPS を腹腔内投与し、腫瘍の大きさを経時的に測定した。何れの LPS を投与した場合にも腫瘍増殖が著明に抑制された。しかし、TLR4 遺伝子に点突然変異をもつ C3H/HeJ マウスを用いた場合には、何れの LPS にも腫瘍増殖抑制作用は認められなかった。スピルリナ LPS の TLR4 依存的抗腫瘍効果は、CD4 と CD8 T 細胞を介して発揮される事が、特異抗体投与による *in vivo* 細胞除去実験から示された。この結果に一致して腫瘍接種 22 日目の腫瘍組織染色でも、スピルリナ LPS 投与群で CD4 と CD8 T 細胞の腫瘍組織への浸潤促進が観察された。

次に、スピルリナおよび大腸菌 LPS が腫瘍に対する二次免疫応答を増強するかを調べるため、各 LPS を投与した担癌 C3H/HeN マウスの腫瘍を 22 日目に切除し、5 日後に MH134 を再接種し増殖を経時的に測定した。生食投与の対照群と比べて、大腸菌 LPS 投与群は同程度の腫

瘍増殖であったが、スピルリナ LPS 投与群で腫瘍増殖が著明に抑制された。この結果より、大腸菌 LPS とは異なりスピルリナ LPS は MH134 特異的な免疫記憶の誘導、即ち二次免疫応答を促進する事が示唆された。一方、大腸菌 LPS は NK 活性を増強するが、スピルリナ LPS は NK 活性を増強しなかった。従って、大腸菌 LPS の抗腫瘍効果は主に NK 細胞に担われている事が示唆された。




スピルリナ LPS の抗腫瘍効果が担癌宿主血中のどのサイトカインに反映されているのか調べた。大腸菌およびスピルリナ LPS 投与の C3H/HeN 担癌マウスにおいて、IFN- γ および IL-12 の上昇が認められたが、C3H/HeJ マウスではいずれの上昇も検出されなかった。スピルリナ LPS の IFN- γ 増強作用は主に CD4 T 細胞を介してもたらされる事が *in vivo* 細胞除去実験から示された。つまり、スピルリナ LPS は TLR4 依存的に Th1 細胞由来 IFN- γ の誘導を介して抗腫瘍効果を発揮する可能性が示された。逆に、腫瘍増殖を促進するとの報告がある IL-17 や IL-23 は、大腸菌 LPS に比べスピルリナ LPS 投与群で減少した。一方、*in vitro* での抗原特異的 Th17 細胞誘導のモデル実験系にスピルリナ LPS を加えると IL-17 産生 (Th17 細胞分化) が抑制されたが、大腸菌 LPS の添加では IL-17 産生が著しく増強される事が明らかとなった。そこで、スピルリナ LPS の代わりに抗 IL-17 中和抗体を C3H/HeN 担癌マウスに投与したところ、血中 IFN- γ の上昇に伴い腫瘍増殖は著明に抑制された。即ち、スピルリナ LPS の抗腫瘍効果は、担癌宿主の IL-17 (Th17 細胞) の低下と IFN- γ (Th1 細胞) の上昇に起因する事が示唆された。

それぞれの LPS の IL-6、IL-23、TGF- β 誘導能を調べた。正常 C3H/HeN に各 LPS を腹腔内投与し、4 時間後の血清中のサイトカインを測定した。大腸菌 LPS 投与により著明な IL-6、IL-23 産生が誘導されたが、スピルリナ LPS の IL-6 および IL-23 誘導能は極めて低かった。また、恒常的に産生される TGF- β はスピルリナ LPS 投与により僅かに減少した。

最後に、スピルリナ LPS が乳癌を自然発症する HER-2/*neu* トランスジェニックマウスにおいても抗腫瘍効果を示すか検討した。乳癌が形成され始める 120 日から 240 日齢の間に週 1 回スピルリナ LPS を腹腔内投与したところ、乳癌の発生率および腫瘍増殖が共に抑制された。

【考察】 スピルリナ LPS は TLR4 依存的に、血中 IL-17/IL-23 の抑制に伴う IFN- γ の誘導を促進する事により、腫瘍増殖を抑制する事が示された。また、IL-6 や IL-23 の誘導を制限する事で担癌マウスのサイトカイン環境を Th17 から Th1 型に変化させる事も示された。即ち、腫瘍増殖の制御には IFN- γ と IL-17/IL-23 のバランスの重要性が明らかとなった。スピルリナ LPS は自然発症乳癌モデルでも抗腫瘍効果を発揮した事から、本研究の結果は、癌免疫治療における TLR を介した免疫調節薬の開発に新しい知見を与えるものである。

論文審査の結果の要旨

	氏名	奥山 洋美
審査委員	主査氏名	宇高 恵子 
	副査氏名	福島 敦樹 
	副査氏名	山本 哲也 

題目 *Spirulina* lipopolysaccharides inhibit tumor growth in a Toll-like receptor 4-dependent manner by altering the cytokine milieu from interleukin-17/interleukin-23 to interferon- γ
 (スピルリナ複合リポ多糖は、サイトカイン環境をIL-17/IL-23からIFN- γ に変化させることによって、TLR4依存的に腫瘍増殖を抑制する)

著者 Hiromi Okuyama, Akira Tominaga, Satoshi Fukuoka, Takahiro Taguchi, Yutaka Kusumoto, Shiro Ono

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 Oncology Reports
 (in press)

要旨

奥山洋美さんの学位審査は、平成29年2月14日17時より約1時間にわたり行った。まず、公開で研究内容の発表を行った。

【背景と目的】

シアノバクテリアから抽出された *Spirulina* lipopolysaccharides (S-LPS)を腹腔内投与すると、背部皮内に接種した腫瘍の拒絶が促進される。そのメカニズムを明らかにするため、まず、エフェクターとなる細胞種の同定を試みた。次に、大腸菌由来のLPS (E-LPS)に比べてS-LPSは抗腫瘍活性が高く、副作用が少ない理由について、特にin vivoにおけるT細胞のサイトカイン環境に注目して研究を進めた。

【方法と結果】

まず、肝細胞癌株 MH134 を C3H/HeN あるいは、TLR-4 に変異のある C3H/HeJ マウスの背部に接種し、6 目より 1 週間おきに 3 回、S-LPS あるいは大腸菌由来の LPS (E-LPS) を腹腔注射して、*in vivo* における抗腫瘍効果を調べた。その結果、LPS 依存性および TLR-4 依存性に抗腫瘍活性がみられた。抗腫瘍活性は、S-LPS が E-LPS より高い傾向があった。抗 CD4 および抗 CD8 抗体を用いて *in vivo* depletion をした C3H/HeN マウスに、LPS を腹腔注射して抗腫瘍効果を調べたところ、主たるエフェクター細胞は CD8 T 細胞であり、その活性に CD4 T 細胞の影響が示唆された。免疫組織染色の結果、腫瘍組織には、CD4 T、CD8 T 細胞の浸潤がみられた。

さらにエフェクター細胞として NK 細胞の関与を調べるため、腫瘍接種後、切除をしたマウスに腫瘍細胞をチャレンジ接種したところ、免疫記憶があり、T 細胞主体の抗腫瘍活性であることが示唆され、それが S-LPS により顕著に増強された。E-LPS は NK 活性を高めたが、T 細胞免疫を増強する効果はなかった。これら担癌マウスの血清には、LPS 注射群で TLR-4 依存性に IFN- γ および IL-23 の上昇がみられ、それらの産生は E-LPS の方がむしろ高い傾向であった。一方、S-LPS では、IL-17 および IL-23 の産生低下がみられた。*In vivo* depletion assay により、IFN- γ は主として CD4 T 細胞から産生されていた。

IL-17 産生が低下する理由を明らかにするため OVA 特異的 DO11.10 T 細胞を用いた *in vitro* 実験系で、S-LPS は主として抗原提示細胞に働いて T 細胞からの IL-17 産生を押さえていた。マウスを抗 IL-17 抗体で処理すると、IFN- γ 産生が高まり、抗腫瘍活性が高まった。S-LPS を腹腔注射したマウスでは、血清 IL-12 が、E-LPS 注射群では IL-6 や IL-23 の産生が高まり、抗原提示細胞の反応性の違いが示唆され、それらも、T 細胞が産生する IFN- γ や IL-17 等のサイトカインにより相互に影響されることがわかった。最後に、乳がんを自然発症する HER-2/neu transgenic mouse に S-LPS を腹腔注射することにより、乳がんの発症が抑制された。

【考察】

S-LPS の腹腔内投与は、E-LPS に比べて Th1 誘導性のサイトカイン環境を誘導し、Th17 産生はむしろ抑制することにより、腫瘍特異的 CD8 T 細胞の誘導を促して、高い *in vivo* 抗腫瘍活性をもたらすことがわかった。

【審査報告】

審査員からは、図に示されたデータの解釈について、いくつかの疑問があり、また、対照の置き方についてのアドバイスもあった。さらに、S-LPS と E-LPS の構造の違いや、S-LPS に含まれる成分が TLR-4 以外にも影響する可能性について質問があった。IL-17 の影響については、IL-17 KO マウスを用いた実験のアドバイスがあった。審査員からはさらに、S-LPS に対するヒトとマウスの抗原提示細胞の反応性の違いについても質問があった。

これらの質疑に対し、申請者は根拠をあげて説明し、議論することができた。また、異なる種由来の LPS の構造の違いについても、知識が豊富であった。実験の目的や原理についてもよく理解をし、実験を進める上で自分なりの工夫もみられた。

以上をふまえ、審査員一同、申請者の研究は、高知大学博士（医学）の学位を授与するにふさわしい内容であると判断した。

氏名(本籍)	永野 靖典 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第38号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成29年2月21日
学位論文題目	Short and long-term effects of exergaming for the elderly (高齢者における運動ゲームの短・長期効果)
発表誌名	SpringerPlus (2016) 5:793 DOI 10.1186/s40064-016-2379-y
	審査委員
	主査 教授 北岡 裕章
	副査 教授 安田 誠史
	副査 教授 寺田 典生

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 永野靖典

論文題目

Short and long-term effects of exergaming for the elderly
(高齢者における運動ゲームの短・長期効果)

(論文要旨)

研究の背景と目的

急激な高齢化の進行のため、高齢者の運動器の健康を維持することは重要である。運動機能を向上させるため、楽しみながら行えるようにコンピューターゲームを使用した運動訓練 Exergaming が取り入れられている。しかし、複数年にわたって Exergaming の介入を高齢者に行った報告はない。本研究の目的は 2 つある。一つ目は、我々が開発した高齢者用の Stepping 運動を目的とした Exergaming を用いて、高齢者に 12 週間介入し、ステップ成功率、運動強度、安全性、運動機能への影響を検証することである (Twelve weeks study)。二つ目は、3 年間継続した Exergaming 介入による高齢者の出席率、運動継続者数、安全性、運動機能への影響を検証することである (Three years study)。

方法

我々が開発した Exergaming の内容は以下の通りである。ゲームディスプレイの外周から「前」、「後」、「左」、「右」の文字が書かれた 4 種類の黄色の円盤がランダムなタイミングで出現し、それがディスプレイの中央に向けてゆっくり移動する。円盤は出現してから、黄色から赤色に変化し、その 1 秒後に消失する。被験者は、円盤が赤色に変化してそれが消失するまでの 1 秒間のうちに、タイミング良く円盤中の文字の指示方向通りにセンサーマット上で片足を踏み出すことができれば得点となる。円盤の指示に従って stepping する頻度は、高齢者が高い得点を獲得できる 1 step/1s のペースに設定した。満点であれば訓練 1 回の総ステップ数は 672 回となり、前後左右の 4 種類のステップ回数は均等となるように設定した。

Twelve weeks study

参加高齢者 42 名はランダムに運動群とコントロール群に分けられた。我々が開発し高齢者に適切な難易度に設定された Exergaming を用いて、Stepping 運動を週 2 回、1 回 15 分、12 週間実施した。その介入の前後で運動機能(1)~(8)やステップ成功率の変化、有害事象、自覚的運動強度 Borg scale を調査した。

Three years study

我々が開発した Exergaming を用いて、地域在住高齢者 20 名に対して、週 2 回、1 回 15 分、12 週間介入した。運動は 3 か月の間隔をおいて、2 クール/年実施し、3 年間継続された。介入 1、2、3 年後に運動出席率や参加者数を調査した。介入前と 3 年後の介入終了時に運動機能 (2)(4)(5) への影響、有害事象を調査した。

評価した運動機能は、(1)10M 歩行時間(秒)(2) Timed Up & Go test (秒) (3) 継足歩行数(歩) (4) 単脚直立時間(秒) (5) HHD を用いた大腿四頭筋・中殿筋の筋力測定(N)(6) 単位面積軌跡長 (cm) (7) 棒反応テスト (cm) (8) 全身反応時間 WBRT (Whole Body Reaction Time) (s) である。

結果

Twelve weeks study

介入中の呼吸器障害のため 1 名脱落し、運動群は 20 名(男性 14 名、女性 6 名、平均年齢 72 歳)となった。介入前評価未実施のためコントロール群は 19 名(男性 13 名、女性 6 名、平均年齢 72 歳)となった。介入前、両群間の身長・体重・運動機能に有意な違いはなかった。運動群(n=20)において、下肢筋力、バランス能力、WBRT が有意に向上した。ステップ成功率は、介入初日 77.2%、最終 90.4% と有意な向上を認めた。介入初日の Borg scale は平均 12±2 であり、最終日は平均 9±2 であった。運動介入による有害事象は認められなかった。




Three years study

3 年間の運動継続者は、16/20 人であった。介入 1、2、3 年後の運動出席率や参加者数は、それぞれ 79% (20 人)、82.6% (17 人)、82.4% (16 人) であった。介入前と 3 年後の介入終了時に運動機能の TUG、単脚直立時間、大腿四頭筋筋力の有意な向上を認めた。運動介入による有害事象は認められなかった。

考察

我々は、複数年にわたる Exergaming の影響を初めて明らかにした。今回の研究から、我々が開発した Exergaming は、高齢者にとって適切な難易度かつ運動強度であり、安全に運動機能を向上させることが明らかとなった。さらに、3 年間の出席率や運動参加者数は良好で、Exergaming は運動機能を有意に向上させることができ、転倒予防につながる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

		氏名	永野 靖典
審査委員	主査氏名	北岡 裕章	
	副査氏名	安田 誠史	
	副査氏名	寺田 典生	

題 目

Short and long-term effects of exergaming for the elderly

(高齢者における運動ゲームの短・長期効果)

著 者

Yasunori Nagano, Kenji Ishida, Toshikazu Tani, Motohiro Kawasaki,
Masahiko Ikeuchi

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月

SpringerPlus (2016) 5:793 DOI 10.1186/s40064-016-2379-y
2016年6月

要 旨

【背景・目的】

急激な高齢化の進行のため、高齢者の運動器の健康を維持することは重要である。運動機能を向上させるため、楽しみながら行えるようにコンピューターゲームを使用した運動訓練 Exergamingが取り入れられている。しかし、複数年にわたってExergamingの介入を高齢者に行った報告はない。本研究の目的は2つある。一つ目は、申請者らが開発した高齢者用のStepping運動を目的としたExergamingを用いて、高齢者に12週間介入し、ステップ成功率、運動強度、安全性、運動機能への影響を検証することである(Twelve weeks study)。二つ目は、3年間継続したExergaming介入による高齢者の出席率、運動継続者数、安全性、運動機能への影響を検証することである(Three years study)。

【方法】

申請者らが開発したExergamingの内容は以下の通りである。ゲームディスプレイの外周から「前」、「後」、「左」、「右」の文字が書かれた4種類の黄色の円盤がランダムなタイミング

で出現し、それがディスプレイの中央に向けてゆっくり移動する。円盤は出現してから、黄色から赤色に変化し、その1秒後に消失する。被験者は、円盤が赤色に変化してそれが消失するまでの1秒間のうちに、タイミング良く円盤中の文字の指示方向通りにセンサーマット上で片足を踏み出すことができれば得点となる。円盤の指示に従ってsteppingする頻度は、高齢者が高い得点を獲得できる1 step/1 secondのペースに設定した。満点であれば訓練1回の総ステップ数は672回となり、前後左右の4種類のステップ回数は均等となるように設定した。

Twelve weeks study

参加高齢者42名はランダムに運動群とコントロール群に分けられた。我々が開発し高齢者に適切な難易度に設定されたExergamingを用いて、Stepping運動を週2回、1回15分、12週間実施した。その介入の前後で運動機能（後述の(1)～(8)）やステップ成功率の変化、有害事象、自覚的運動強度Borg scaleを調査した。

Three years study

申請者らが開発したExergamingを用いて、地域在住高齢者20名に対して、週2回、1回15分、12週間介入した。運動は3か月の間隔をおいて、2クール/年実施し、3年間継続された。介入1, 2, 3年後に運動出席率や参加者数を調査した。介入前と3年後の介入終了時に運動機能(2), (4), (5)への影響、有害事象を調査した。

評価した運動機能は、(1)10M歩行時間(秒) (2)Timed UP&Go test(秒) (3)継足歩行数(歩) (4)単脚直立時間(秒) (5)HHDを用いた大腿四頭筋・中殿筋の筋力測定(N) (6)単位面積軌跡長(cm) (7)棒反応テスト(cm) (8)全身反応時間WBRT(Whole Body Reaction Time)(s)である。

【結果】

Twelve weeks study

介入中の呼吸器障害のため1名脱落し、運動群は20名(男性14名、女性6名、平均年齢 72歳)となった。介入前評価未実施のためコントロール群は19名(男性13名、女性6名、平均年齢 72歳)となった。介入前、両群間の身長・体重・運動機能に有意な違いはなかった。運動群(n=20)において、下肢筋力、バランス能力、WBRTが有意に向上した。ステップ成功率は、介入初日77.2%、最終90.4%と有意な向上を認めた。介入初日のBorg scaleは平均 12 ± 2 であり、最終日は平均 9 ± 2 であった。運動介入による有害事象は認められなかった。

Three years study

3年間の運動継続者は、20人中16人であった。介入1, 2, 3年後の運動出席率や参加者数は、それぞれ79%(20人)、82.6%(17人)、82.4%(16人)であった。介入前と3年後の介入終了時に運動機能のTUG、単脚直立時間、大腿四頭筋筋力の有意な向上を認めた。運動介入による有害事象は認められなかった。

【考察】

申請者らは、複数年にわたるExergamingの影響を初めて明らかにした。今回の研究から、申請者らが開発したExergamingは、高齢者にとって適切な難易度かつ運動強度であり、安全に運動機能を向上させることが明らかとなった。さらに、3年間の出席率や運動参加者数は良好で、

Exergamingは運動機能を有意に向上させることができ、転倒予防につながる可能性が示唆された。

【まとめ】

本論文では、高齢者の運動器の健康を維持/向上することを目的に、独自に開発したExergamingを用いて、短期および長期の効果を検討した。申請者の検討では、短期では下肢筋力、バランス能力、Whole Body Reaction Timeなどの運動機能および運動終了時の自覚症状の改善を対照者に比べ認めた。更に3年間にわたる長期の検討では、Exergaming参加に対する被検者の良好なコンプライアンスを認めるとともに、運動機能や下肢筋力の有意な改善を示した。これらの結果は、申請者の開発したExergamingが、高齢者の運動機能の維持/向上に寄与することを示していた。

本研究は、短期および長期の観察において、高齢者の運動機能維持にExergamingが有効かつ安全であることを明らかにした。運動能力の維持/改善は、転倒予防などの効果も期待でき、高齢社会における健康長寿の延伸のためにも重要である。本研究で示された結果は、高齢者の健康維持のための新しい方法論を示したものである。よって、審査委員一同は本論文が高知大学博士(医学)に相応しい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	西田 一也 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第39号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成29年3月3日
学位論文題目	An Effect of Repetitive Ulnar Nerve Stimulation on Rapid Finger Movements in Cervical Spondylotic Myelopathy and Healthy Subjects: a Preliminary F-wave Study in Healthy Subjects (尺骨神経反復刺激が頸椎症性脊髄症例および健常人の手指反復運動に及ぼす効果：健常人におけるF波を用いた検討)
発表誌名	Journal of Spine Research 第8巻2号 2017年2月 (掲載予定)

審査委員	主査	教授	山口	正洋
	副査	教授	古谷	博和
	副査	教授	上羽	哲也

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 西田 一也

論文題目

An Effect of Repetitive Ulnar Nerve Stimulation on Rapid Finger Movements in Cervical Spondylotic Myelopathy and Healthy Subjects : a Preliminary F-wave Study in Healthy Subjects
(尺骨神経反復刺激が頸椎症性脊髄症例および健常人の手指反復運動に及ぼす効果：健常人における F 波を用いた検討)

(論文要旨)

【目的】 圧迫性頸髄症は本邦では最も頻度の高い脊髄障害であり、日常生活を阻害する症状の一つとして手指巧緻運動障害がある。この症状は痙性麻痺を特徴づける「四肢の速い繰り返し運動が障害される」ことに関連し、臨床ではその重症度を簡便に定量評価する方法として手指 10 秒テスト (10 秒間にグー・パーを何回できるか) が広く用いられている。山田ら(2004)は、頸髄症例に対し手関節部に尺骨神経反復刺激 (RUNS: Repetitive Ulnar Nerve Stimulation) を加えると 10 秒テストにおける回数が増加するという現象を初めて報告したが、その後これを検証した報告はない。

本研究の目的は、(1) 一側 RUNS の手指 10 秒テストに及ぼす効果を頸髄症例と健常人において両側で検証し、(2) 頸髄症など痙性麻痺における手指屈伸運動遅延のメカニズムの一つとして相反抑制の破綻が考えられるため、手指屈筋、伸筋それぞれの協力筋 (synergist) である第 1 掌側骨間筋 (FVI) と第 1 背側骨間筋 (FDI) から F 波を同時記録し、両筋を支配する脊髄前角細胞の興奮性が RUNS 前後で変化するかどうか健常人を対象にテストすることである。両筋は互いに拮抗筋であるが、ともに尺骨神経支配のため、同時記録して比較できる利点がある。

【対象と方法】 (実験 1) 頸髄症患者 9 名、健常人 7 名を対象に一側に RUNS (持続 0.1 ms の矩形波、最大 M 波を誘発する刺激強度の 1.2 倍、頻度 5 Hz、5 分間) を加え、その前後に手指 10 秒テストを一側ずつ両側に行った。(実験 2) 手指 10 秒テストに相当する検査として、F 波記録筋である FVI と FDI による示指内外転 10 秒テストを考案し、健常人 7 名を対象に一側 RUNS の前後に一側ずつ両側でテストした。(実験 3) 健常人 15 名を対象に尺骨神経刺激により FVI と FDI から F 波を同時記録した。F 波検査は RUNS の前後に、RUNS と同側について行った。F 波の評価は 100 回刺激における出現頻度 (persistence (%))、最短潜時(ms)、平均潜時 (ms)、F/M 振幅比 (%)で行った。検定には Wilcoxon's signed rank test を用い有意水準を危険率 5%未満とした。

【結果】 (実験 1) 手指 10 秒テストにおける回数は一側 RUNS により頸髄症例、健常人ともに両側で有意に増加した。(実験 2) 示指内外転 10 秒テストにおける回数は一側 RUNS により両側で有意に増加した。(実験 3) F 波出現頻度は FVI では RUNS 後に有意に低下した (41.1 ± 23.1 vs 32.0 ± 21.5 %; $P < 0.01$) が、FDI では変化がなかった ($P > 0.76$)。F 波最短潜時は、FVI ($P > 0.63$)、FDI ($P > 0.40$)ともに RUNS 前後で有意差はなかったが、F 波平均潜時は FVI で RUNS 後に有意に




短縮し (28.8 ± 2.6 ms vs 28.0 ± 1.6 ms; $P < 0.03$)、FDI では変化がなかった ($P > 0.12$)。F/M 振幅比は FVI ($P > 0.42$)、FDI ($P > 0.12$)ともに RUNS 前後で有意差はなかった。

【考察】本研究では、一側 RUNS により頸髄症例と健常人ともに手指屈伸速度が両側で増加し、また、健常人において示指内外転速度がやはり両側性に増加することを明らかにした。示指内外転テストは、本研究における F 波検査の対象筋と同一の筋群による反復運動機能を評価する必要性から我々が考案したテストで、広く行われている手指 10 秒テストに相当する評価法である。

F 波は運動神経の逆行性インパルスにより脊髄前角細胞が発火 (backfiring) し、その順行性インパルスにより生じる筋電位であり、前角細胞興奮性の評価法としても利用される。本研究では、RUNS により FDI の F 波はいずれの測定値も有意な変化は示さなかったのに対し、FVI の F 波は出現頻度が有意に低下し、最短潜時は変化せず、平均潜時が有意に短縮した。このことから、RUNS により FVI 支配の前角細胞、とくに小径の (すなわち伝導速度の遅い) 軸索を有する小型の前角細胞の興奮性が選択的に低下したことが示唆される。従って、FVI と FDI それぞれの協力筋である手指屈筋と伸筋に置き換えて考えると、RUNS により手指屈筋支配の前角細胞が選択的に抑制された可能性がある。健常人と運動制御機構の異なる頸髄症例を同一に論ずることはできないが、今回の F 波の結果を頸髄症例に適用して考えると、痙性麻痺では上肢は一般に屈筋優位の痙直を示すため、それが RUNS により緩和され、その結果、手指 10 秒テストにおける改善をもたらし、その効果は対側の前角細胞にも及んだ可能性がある。

【今後の展望】本研究を発展させるために今後、(1) RUNS による F 波の変化を頸髄症例においても調査し、(2) さらに、RUNS の対側における F 波の変化を健常人と頸髄症例において調査する予定である。

論文審査の結果の要旨

		氏名	西田 一也
審査委員	主査氏名	山口 正洋	
	副査氏名	古谷 博和	
	副査氏名	上羽 哲也	

題 目 An Effect of Repetitive Ulnar Nerve Stimulation on Rapid Finger Movements in Cervical Spondylotic Myelopathy and Healthy Subjects: a Preliminary F-wave Study in Healthy Subjects
(尺骨神経反復刺激が頸椎症性脊髄症例および健常人の手指反復運動に及ぼす効果：健常人におけるF波を用いた検討)

著 者 Kazuya Nishida, Toshikazu Tani, Shinichirou Taniguchi, Masashi Kumon, Noritsuna Nakajima, Nobuaki Tadokoro, Kazunobu Kida, Ryuichi Takemasa, Masahiko Ikeuchi

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
Journal of Spine Research
第8巻2号

要 旨

背景・目的：

圧迫性頸髄症は本邦では最も頻度の高い脊髄障害であり、日常生活を阻害する症状の一つとして手指巧緻運動障害がある。この症状は痙性麻痺を特徴づける「四肢の速い繰り返し運動が阻害される」ことに関連し、臨床ではその重症度を簡便に定量評価する方法として手指10秒テスト(10秒間にグー・パーを何回できるか)が広く用いられている。山田ら(2004)は、頸髄症例に対し手関節部に尺骨神経反復刺激(RUNS: Repetitive Ulnar Nerve Stimulation)を加えると10秒テストにおける回数が増加するという現象を始めて報告したが、その後これを検証した報告はない。

本研究の目的は、(1)一側RUNSの手指10秒テストに及ぼす効果を頸髄症例と健常人において両側で検証し、(2)頸髄症など痙性麻痺における手指屈伸運動遅延のメカニズムの一つとして相反抑制の破綻が考えられるため、手指屈筋、伸筋のそれぞれの協力筋(synergist)である第1掌側骨間筋(FVI)と第1背側骨間筋(FDI)からF波を記録し、両筋を支配する脊髄前角細胞の興奮性がRUNS前後で変化するかどうかが健常人を対象にテストすることである。F波は運動神経の逆行性インパルスにより脊髄前角細胞が発火(backfiring)し、その順行性インパルスにより生じる筋電位であり、前角細胞興奮性の評価に利用できる。FVIとFDIは、互いに拮抗筋であるがともに尺骨神経支配のため、同時記録して比較できる利点がある。

方法：

(実験1) 頸髄症患者9名、健常人7名を対象に一侧にRUNS(持続0.1msの矩形波、最大M波を誘発する刺激強度の1.2倍、頻度5Hz、5分間)を加え、その前後に手指10秒テストを一侧ずつ両側に行った。(実験2) 手指10秒テストに相当する検査として、F波記録筋であるFVIとFDIによる示指内外転手指10秒テストを考案し、健常人7名を対象に一侧RUNSの前後に一侧ずつ両側でテストした。(実験3) 健常人15名を対象に尺骨神経刺激によりFVIとFDIからF波を同時記録した。F波検査はRUNSの前後に、RUNSと同側について行った。F波の評価は100回刺激における出現頻度(persistence(%))、最短潜時(ms)、平均潜時(ms)、F/M振幅比(%)で行った。検定にはWilcoxon's signed rank testを用い有意水準を危険率5%未満とした。

結果：

(実験1) 手指10秒テストにおける回数は一侧RUNSにより頸髄症例、健常人ともに両側で有意に増加した。(実験2) 示指内外転10秒テストにおける回数は一侧RUNSにより両側で有意に増加した。(実験3) F波出現頻度はFVIではRUNS後に有意に低下した(41.1 ± 23.1 vs 32.0 ± 21.5 %; $P < 0.01$)が、FDIでは変化がなかった($p > 0.76$)。F波最短潜時は、FVI($p > 0.63$)、FDI($p > 0.40$)ともにRUNS前後で有意差はなかったが、F波平均潜時はFVIでRUNS後に有意に短縮し(28.8 ± 2.6 ms vs 28.0 ± 1.6 ms; $P < 0.03$)、FDIでは変化がなかった($p = 0.12$)。F/M振幅比はFVI($p = 0.42$)、FDI($p = 0.12$)ともにRUNS前後で有意差はなかった。

結論、考察：

本研究は、一侧RUNSにより頸髄症例と健常人ともに手指屈伸速度が両側で増加し、また健常人において手指内外転速度がやはり両側性に増加することを明らかにした。示指内外転テストは、本研究のF波検査の対象筋を含む筋群による反復運動機能を評価する必要性から、申請者らが独自に考案したテストで、広く行われている手指10秒テストに相当する評価法である。

F波は前角細胞興奮性の評価法としても利用されている。本研究では、RUNSによりFDIのF波はいずれの測定値も有意な変化は示さなかったのに対し、FVIのF波は出現頻度が有意に低下し、最短潜時は変化しなかったが平均潜時が有意に短縮した。このことから、RUNSによりFVI支配の前角細胞、特に伝導速度の遅い小径の軸索を有する小型の前角細胞の興奮性が、選択的に低下したことが示唆される。これをFVIとFDIそれぞれの協力筋である手指屈筋と伸筋に置き換えて考えると、RUNSにより手指屈筋支配の前角細胞が選択的に抑制された可能性がある。運動制御機構の異なる健常人と頸髄症例を同一に論ずることはできないが、今回のF波の結果を頸髄症例に適用すると、痙性麻痺では上肢は一般に屈筋優位の痙直を示すため、それがRUNSにより緩和され、手指10秒テストにおける改善をもたらした可能性がある。またその効果が対側の前角細胞にも及んだ可能性が考えられる。

本研究を発展させるため、申請者らは(1) RUNSによるF波の変化を頸髄症例においても調査し、(2) さらに、RUNSの対側におけるF波の変化を健常人と頸髄症例において調査する予定である。

申請者らは本論文において、手指巧緻運動の新たなテスト法である示指内外転10秒テストを独自に考案し、その運動に関わる尺骨神経支配の拮抗筋群の筋電図による同時評価を可能にした。この新たな解析法により、以前報告されていた尺骨神経の反復電気刺激による手指巧緻運動の改善が、手指屈筋を支配する前角細胞の選択的抑制に基づいている可能性を示した。この結果は神経反復刺激による運動機能改善メカニズムの理解を大きく進めるものであり、また申請者らが考案した本手法は今後病態の診断、評価や治療に貢献できると考えられる。よって本論文は、高知大学博士(医学)に値すると判断した。

氏名(本籍)	有川 幹彦 (熊本県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第40号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成29年3月21日
学位論文題目	Donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor, attenuates LPS-induced inflammatory response in murine macrophage cell line RAW 264.7 through inhibition of nuclear factor kappa B translocation (ドネペジルは、RAW 264.7マクロファージにおいて、LPS刺激で誘発されるNF- κ Bの核移行を抑制することにより抗炎症作用を示す)
発表誌名	European Journal of Pharmacology, 789, 17-26.

審査委員

主査	教授	齊藤	源顕
副査	教授	北岡	裕章
副査	教授	松村	敬久

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 有川 幹彦

論文題目

Donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor, attenuates LPS-induced inflammatory response in murine macrophage cell line RAW 264.7 through inhibition of nuclear factor kappa B translocation

ドネペジルは、RAW264.7 マクロファージにおいて、LPS 刺激で誘発される NF- κ B の核移行を抑制することにより抗炎症作用を示す。

(論文要旨)

【背景】

我々は、迷走神経刺激により放出された神経伝達物質であるアセチルコリン (ACh) が虚血障害から心筋を保護することで、慢性虚血性心不全モデル動物の生命予後が改善されることを見出した。さらに、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤であるドネペジルが、心筋梗塞急性期における心破裂リスクを減少させ、心筋梗塞慢性期における心機能低下の進行を妨げることを明らかにした。ドネペジルはアルツハイマー型認知症の治療薬で、内在性の ACh レベルを上昇させることにより副交感神経活動を活性化させる。しかしながら、ドネペジルの心筋保護作用の機序はまだ完全には明らかになっていない。本研究では、マウスマクロファージ細胞株 Raw 264.7 を用いて、ドネペジルが抗炎症作用を持つという仮説を検証した。また、ドネペジルの抗炎症作用とコリン作動性抗炎症経路 (cholinergic anti-inflammatory pathway) との関連性について検討した。

【方法と結果】




まず、マクロファージ Raw 264.7 に対するドネペジルの細胞毒性について検討を行い、細胞への前処理条件として 100 μ M ドネペジルを 16 時間と設定した。その後、リポ多糖 (lipopolysaccharide, LPS) による炎症刺激 (10 ng/ml, 3 時間) を行い、炎症性因子の発現を Western blot 法および RT-PCR 法を用いて検討することによりドネペジルの抗炎症作用を評価した。その結果、ドネペジルは LPS 刺激により誘導される腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor, TNF)、インターロイキン (Interleukin, IL) -1 β 、IL-2、IL-6 and IL-18 などの様々な炎症性因子の発現量を有意に低下させた。また、LPS 誘発性の核因子 kappa B (Nuclear Factor kappa B, NF- κ B) の核への移行を抑制した。これらの結果は、ドネペジルが抗炎症作用を有することを示している。しかしながら、ドネペジルのマクロファージ炎症反応に対する抑制作用は ACh によって再現されず、ACh 受容体阻害剤 (10 μ M atropine, 10 μ M mecamylamine) によって阻害されなかった。さらには、他のアセチルコリンエステラーゼ阻害剤 (100 μ M galantamine, 100 μ M physostigmine) は LPS 刺激によるマクロファージ炎症反応を抑制しなかった。これらの結果は、ドネペジルの抗炎症作用、すなわち TNF や IL などの LPS 誘発性の炎症性サ

イトカイン放出と NF- κ B の活性化を抑制する作用は、コリン作動性抗炎症経路を含まないこと、また、アセチルコリンエステラーゼ阻害作用とは別機構によるものであることを示している。

【結論】

本研究では、ドネペジルが抗炎症作用を有し、それは本来のアセチルコリンエステラーゼ阻害作用とは独立して働くことを明らかにした。これにより、ドネペジルは、虚血性心不全病態の心筋リモデリング過程において、心筋梗塞急性期に起こる炎症反応を抑制することにより心筋保護に貢献していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

		氏名	有川 幹彦
審査委員	主査氏名	齊藤 源顕	
	副査氏名	北岡 裕章	
	副査氏名	松村 敬久	

題 目 Donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor, attenuates LPS-induced inflammatory response in murine macrophage cell line RAW 264.7 through inhibition of nuclear factor kappa B translocation
 (ドネペジルは、RAW 264.7マクロファージにおいて、LPS刺激で誘発されるNF- κ Bの核移行を抑制することにより抗炎症作用を示す)

著 者

Mikihiko Arikawa, Yoshihiko Kakinuma, Tatsuya Noguchi, Hiroshi Todaka, Takayuki Sato.

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月

European Journal of Pharmacology, 789, 17-26.
 2016年6月

要 旨

ドネペジルはアセチルコリンエステラーゼ阻害薬であり、内在性のアセチルコリン (ACh) レベルを上昇させることにより副交感神経活動を活性化させる。我々は、これまでに、ドネペジルが慢性虚血性心不全モデル動物の生命予後を改善することを報告してきた。しかしながら、ドネペジルの心筋保護作用の機序はまだ完全には明らかになっていない。本研究では、マウスマクロファージ細胞株 Raw 264.7 を用いて、ドネペジルが抗炎症作用を持つという仮説を検証した。その結果、ドネペジルはリポ多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激により誘導される腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor, TNF)、インターロイキン (Interleukin, IL) -1 β 、IL-2、IL-6 and IL-18 などの様々な炎症性因子の発現量を有意に低下させた。また、LPS 誘発性の核因子 kappa B (Nuclear Factor kappa B, NF- κ B) の核への移行を抑制した。これらの結果は、ドネペジルが抗炎症作用を有することを示している。

しかしながら、ドネペジルのマクロファージ炎症反応に対する抑制作用は ACh によって再現されず、ACh 受容体阻害薬によって阻害されなかった。さらには、他のアセチルコリンエステラーゼ阻害薬は LPS 刺激によるマクロファージ炎症反応を抑制しなかった。これらの結果は、ドネペジルの抗炎症作用は、コリン作動性抗炎症経路 (cholinergic anti-inflammatory pathway) を含まないこと、また、アセチルコリンエステラーゼ阻害作用とは別機構によるものであることを示している。本研究により、ドネペジルが本来のアセチルコリンエステラーゼ阻害作用とは独立した働きによって抗炎症作用を示し、虚血性心不全病態の心筋リモデリング過程において、心筋梗塞急性期に起こる炎症反応を抑制することにより心筋保護に貢献している可能性が示唆された。

以上のように、中枢性コリンエステラーゼ阻害薬であるドネペジルの心筋梗塞急性期に起こる炎症反応を抑制する新たな作用機序の可能性を示した。以上を総合的に判断し、審査員一同は申請者の学力および研究遂行能力が高知大学博士 (医学) の学位を授与されるに相応するものと判断した。