

2019.4

特集号



(題字：櫻井克年学長)

国立大学法人 高知大学学報

高知大学学位授与記録第九十九号

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。

*
*
*
*
*
*
*
*

高知大学学報

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、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。

目 次

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
甲総医博第69号	川本 常喬	Indocyanine green fluorescence/thermography evaluation of intercostal muscle flap vascularization (ICG蛍光法とサーモグラフィーにおける肋間筋弁の血流評価)	1
甲総医博第70号	八坂 一彦	Representations of microgeometric tactile information during object recognition (物体認知に関わる触覚的テクスチャ情報の脳内表現)	6
甲総医博第71号	近江 訓子	Analysis of factors influencing glucose tolerance in Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease (日本人非アルコール性脂肪性肝疾患の耐糖能に影響する因子の解析)	12
甲総医博第72号	菊地 広朗	Generation and characteristics of a novel "double-hit" high grade B-cell lymphoma cell line DH-My6 with <i>MYC/IGH</i> and <i>BCL6/IGH</i> gene arrangements and potential molecular targeted (<i>MYC/IGH</i> および <i>BCL6/IGH</i> 遺伝子配列を有する新規のダブルヒット高悪性度B細胞リンパ腫細胞株 DH-My6 の樹立とその特徴および分子標的療法の可能性について)	16
甲総医博第73号	清水 翔吾	Angiotensin II, a stress-related neuropeptide in the CNS, facilitates micturition reflex in rats (ストレス反応性脳内神経ペプチドであるアンジオテンシンIIがラットでの排尿反射を亢進させる)	22

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
甲総医博第74号	立岩 浩規	The role of hippocampal brain-derived neurotrophic factor in age-related differences in neuropathic pain behavior in rats (ラット神経障害性痛モデルにおける海馬での脳由来神経栄養因子の役割と加齢の影響)	27
甲総医博第75号	田所 導子	Coronary artery anomalies detected with coronary CT angiography: prevalence, types, and results of a follow-up survey (冠動脈CTで指摘された先天性冠動脈異常 頻度、タイプ、および予後の追跡調査)	32
甲総医博第76号	西森 美貴	Comparison of MRI and 123I-FP-CIT SPECT for the evaluation of MSA-P clinical severity. (MSA-P患者の臨床重症度評価におけるMRIと123I-FP-CIT SPECTの比較)	37
甲総医博第77号	宮島 功	Influence of nutrition support therapy on readmission among patients with acute heart failure in the intensive care unit: a single-center observational study (集中治療室に入院した急性心不全患者における急性期栄養療法が再入院に与える影響：前向き観察研究)	42
甲総医博第78号	山中 大樹	Preventive effects of dexmedetomidine on the development of cognitive Dysfunction following systemic inflammation in aged rats (高齢ラットでの全身炎症時における認知機能に対するデクスメドミジンの有効性)	48
甲総医博第79号	依光 直美	Severity of nausea and vomiting in singleton and twin pregnancies in relation to fetal sex: the Japan Environment and Children's Study (JECS) (つわりの程度と胎児の性別、胎児数の関連性について：子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)より)	53
甲総医博第80号	上羽 佑亮	Attenuation of zinc-enhanced inflammatory M1 phenotype of microglia by peridinin protects against short-term spatial-memory impairment following cerebral ischemia in mice (マウス脳虚血時の亜鉛惹起性ミクログリアM1極性誘導の増悪とそれに伴う空間認知機能障害に対するペリジニンによる改善効果に関する研究)	58

氏名(本籍)	川本 常喬 (広島県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第69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31年1月22日
学位論文題目	Indocyanine green fluorescence/thermography evaluation of intercostal muscle flap vascularization (ICG蛍光法とサーモグラフィーにおける肋間筋弁の血流評価)
発表誌名	Thoracic Cancer 2018年9月28日
	審査委員 主査 教授 佐藤 隆幸 副査 教授 花崎 和弘 副査 教授 北岡 裕章

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	川本 常喬
論文題目	Indocyanine green fluorescence/thermography evaluation of intercostal muscle flap vascularization (ICG蛍光法とサーモグラフィーにおける肋間筋弁の血流評価)
<p>(論文要旨)</p> <p>【背景】 肺切除術後の重篤な合併症に気管支断端瘻があり、気管支断端は予防的に様々な被覆材で被覆されている。特に気管支断端瘻の発症リスクが高い症例では、有茎肋間筋弁が被覆に用いられるが、筋弁で被覆したにも関わらず気管支断端瘻を発症する症例も報告されている。筋弁が長期的に機能する為には、筋弁の血流が維持されていることが望ましいが、採取された筋弁の血流評価方法は確立していない。なお、閉胸後には肋間筋弁は胸腔内に埋没し手術後には体外から評価することができないため、手術中に筋弁の血流評価を行う必要がある。</p> <p>【目的】 各種皮弁・筋弁の術中血流評価に用いられるICG蛍光法と、本研究ではサーモグラフィーによる表面温度測定を加えて肋間筋弁の血流を評価し、両者を比較検討した。</p> <p>【対象】 当科で2014年12月から2018年3月までに肺切除術を施行し、気管支断端肋間筋弁被覆術の適応とした患者27例を対象とした。背景肺は肺気腫が8例(29.6%)、間質性肺炎が4例(14.8%)、気腫合併間質性肺炎が7例(25.9%)であった。術前治療として放射線化学療法を3例(11.1%)で施行し、化学療法を2例(7.4%)で施行した。術前からステロイドや免疫抑制薬を使用していた症例は3例(11.1%)であり、5例(18.5%)では閉塞性肺炎などの感染を来たしていた。また、気管支形成を伴う肺葉切除を8例(29.6%)で施行した。</p> <p>【結果】 開胸時に有茎肋間筋弁を採取し、肺切除後に筋弁の血流を評価した。ICGを7.5mg静注後、Hyper Eye Medical System(ミズホ)を用いてICG蛍光を確認した。筋弁の中枢から末梢までをAからFの6領域に分割し、各領域のICG蛍光強度を測定した。A領域のICG蛍光強度を100%とすると、F領域では蛍光強度が$32.6 \pm 29.4\%$に減弱した。Wilcoxon順位検定にてD領域より末梢では蛍光強度が有意に低下した(D領域：$p=0.0411$、E・F領域：$p<0.0001$)。次に、Thermo shot(日本アビオニクス)を用いて肋間筋弁の表面温度を測定した。ICG蛍光強度と同様に筋弁の中枢から末梢までをAからFの6</p>	

領域に分割して各領域の表面温度を測定した。A領域と比較してF領域の表面温度は $3.5\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ 低下しており、Wilcoxon順位検定にてA領域と比較してBからFの全ての領域で表面温度が有意に低下した(B～F領域： $p<0.0001$)。F領域のICG蛍光強度が、全症例における蛍光強度の中央値よりも高値な症例では、A領域とF領域の表面温度差は $2.7\pm 1.7^{\circ}\text{C}$ であったのに対して、中央値よりも低値な症例では表面温度差は $4.6\pm 1.7^{\circ}\text{C}$ であった($p=0.0574$)。筋弁の血流が良好な部位を選択的に気管支断端に縫着した結果、 14.0 ± 11.0 ヶ月の術後経過観察期間において全症例で気管支断端瘻の発症を認めなかった。術後遠隔期のCT検査で筋弁は経時的にわずかな萎縮を認めたが、遠隔期においても筋弁は存在した。

【結論】

ICG蛍光法にて、肋間筋弁の血流は、同一の採取方法を用いても、症例によって個体差があることを示唆した。ICG蛍光法とサーモグラフィーは共に、肋間筋弁の末梢部分では中枢部分に比べて血流の有意な低下を示唆していた。ICG蛍光法は近赤外線蛍光カメラを通して血流を確認できるが、ICGを静注した後に直ちに専用の近赤外線カメラを用いて評価する必要がある。一方でサーモグラフィーは非侵襲的に任意のタイミングで反復して血流評価が可能である。しかし表面温度は術野環境の影響を受け、安定した評価のためには術野環境の統一が課題となる。血流の良い筋弁で気管支断端を被覆することで気管支断端瘻の発症率低下に貢献できる可能性があり、今後は症例数を蓄積し遠隔成績を更に検討する。その結果、呼吸器外科領域において気管支断端瘻の発症予防に寄与できれば、肋間筋弁による気管支断端被覆の有用性が再認識される可能性がある。

論文審査の結果の要旨

	氏名	川本 常喬
審査委員	主査氏名	佐藤 隆幸 
	副査氏名	花崎 和弘 
	副査氏名	北岡 裕章 

題 目 Indocyanine green fluorescence/thermography evaluation of intercostal muscle flap vascularization

(ICG蛍光法とサーモグラフィーにおける肋間筋弁の血流評価)

著 者 Nobutaka Kawamoto, Takashi Anayama, Hironobu Okada, Kentaro Hirohashi, Ryohei Miyazaki, Marino Yamamoto, Motohiko Kume & Kazumasa Orihashi

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 Thoracic Cancer
 2018年9月28日

要 旨

肺切除後の気管支断端瘻を防止するための断端被覆術では、有茎肋間筋弁が用いられているが、筋弁への血流障害により被覆不全を生じることがある。したがって、採取された有茎肋間筋弁の術中血流評価法の確立が望まれている。そこで、申請者は、インドシアニングリーン（以下、ICG）による近赤外蛍光解析法とサーモグラフィーによる温度分布解析法を行い、両者を比較検討した。

2014年12月から2018年3月の期間に本学医学部附属病院で肺癌による肺切除術を受けた症例のうち、術前に気管支断端への肋間筋弁被覆術が計画された27症例を対象とした。有茎肋間筋弁を採取後、ICGを静脈内投与し近赤外蛍光撮影を行った。ついでサーモグラフィーカメラを用いて、筋弁表面温度を計測した。筋弁を中枢側から末梢側にかけて、AからFの6つの領域に均等分割して蛍光分布を比べたところ、A領域からC領域までは、蛍光強度の有意な低下が見られなかったが、D領域より末梢では有意な低下が観察された。このような蛍光の分布パターンは筋弁組織血流を反映していると考えられた。一方、筋弁表面の温度は、AからF領域に向かって単調に

低下し、周囲環境の影響が大きく、筋弁組織血流の良否を判断することが困難であると考えられた。

I C G 蛍光法で血流が良好と判断される部位の面積が、気管支断端の被覆に十分であると判断された筋弁は 24 例から採取することができた。これら 24 例については術前の計画どおり筋弁による気管支断端被覆術を行った。I C G 蛍光法で、血流良好な部位の面積が、気管支断端の被覆には不十分であると判断された筋弁は 3 例であった。2 例には、有茎心膜脂肪織による被覆を行った。残り 1 例は、術中に胸腔内播種が認められ、気管支断端被覆術の適応とならなかった。

I C G 蛍光法で良好な血流を確認後に気管支断端被覆術を行った 24 例は、平均 14 ヶ月の観察期間中に気管支断端瘻の発症を全く認めなかった。

このような結果から、申請者は、I C G 蛍光法で血流が良好であることが確認された筋弁を気管支断端の被覆に用いることにより、気管支断端瘻の防止が可能であると結論付けた。

審査員一同は、気管支断端瘻を防止するための有茎筋弁の新しい評価法を提案し呼吸器外科臨床に寄与することが期待される画期的研究論文であることから、本論文を、本学博士（医学）の学位を授与するに値するものと判断した。

氏名(本籍)	八坂 一彦 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第70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31年3月5日
学位論文題目	Representations of microgeometric tactile information during object recognition (物体認知に関わる触覚的テクスチャ情報の脳内表現)
発表誌名	Cognitive Processing (in press)

審査委員	主査	教授	古谷	博和
	副査	教授	由利	和也
	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

八坂 一彦

Representations of microgeometric tactile information during object recognition

論文題目

(物体認知に関わる触覚的テクスチャ情報の脳内表現)

(論文要旨)

【背景・目的】

我々は触覚を通じて外界にある多くの物体を即座にかつ正確に認知することができる。この触覚による物体認知には、物体を構成する形状(サイズ、形など)と素材(テクスチャ、硬度など)の2つの要素のうち、素材との関わりが重要視されている。また、物体認知は複合的なプロセスであり、触覚による物体認知にも様々な認知プロセスが関与している。しかしながら、物体認知に関わる触覚的テクスチャ情報の脳内表現の特徴については、未だ一定の見解は得られていないのが現状である。そこで本研究の実験1では、実験参加者に視覚と触覚を用いた物品連想課題を課し、物体認知にどのような認知プロセスが関与しているのかを質的に分析した。続く実験2では、実験参加者に触覚情報のみを用いた物品連想課題を課し、得られた回答(物品)から、回答に至る認知プロセス、その物品の鮮明度、経験度、物品連想時に生じる感情度の評定を求め、触覚的テクスチャ情報の違いによって、触覚表象の特性に差が生じるか否かを検討した。

実験1

【方法】

対象は、専門学生13名(平均年齢 19.8 ± 1.2 歳)とした。実験材料(以下、刺激材料物)は、表面の質感が異なる3種類の素材(紙、紙やすり、布)を使用し、色は黒褐色のもので統一した。すべての対象者に対して、3種類の刺激材料物をそれぞれ体性感覚情報による物品連想課題(以下、触覚課題)、視覚情報による物品連想課題(以下、視覚課題)の2条件に使用し、計6課題をランダムに提示した。実験手順は、手順1: 刺激材料物に触れる、もしくは見てもらい、どんな物(物品)に触っているか、もしくは見ているかを1つ回答させた。手順2: 手順1後、再度同刺激物に触れる、もしくは見てもらい、手順1で回答したもの以外にどんな物(物品)に触っているか、もしくは見ているかをできる限り多く回答させた。制限時間を3分間とした。手順3: 手順1・2に関して、半構造化インタビューを実施した。インタビューの主な質問の内容は、「どのように判断したのか」「どのようなことに気をつけていたか」などと課題試行中に回答した物(物品)すべてに対し、その回答に至るまでの認知プロセスの内容をインタビューにより聴取した。インタビュー内容は、了解の上ICレコーダにて録音した。インタビュー内容の分析は、録音したデータから逐語記録を作成し、修正版グランデッド・セオリー・アプローチにて分析を行った。

【結果】

両課題ともに 8'つの認知プロセスから集約される 5 つのカテゴリー『直観的判断』『連想による判断』『記憶想起による判断』『探索的判断』『機能的固着』が生成され、さらに視覚課題において『触覚イメージによる判断』の項目が追加して得られた。

実験 2

【方法】

対象は、専門学生 83 名(平均年齢 22.7±4.8 歳)とし、触素材ごとにランダムに割り当てられた。触覚素材は、プラスチック(ポリプロピレン)、布(綿 100%)、紙やすり(#120)の 3 種類を用いた。実験参加者を机に向かって着座させ、触覚素材を実験参加者の利き手側の手元に提示し、利き手の示指にて能動的に触れさせた。また、手元(素材表面)を遮蔽する目的で Box(縦横 24.5cm×36、高さ 20cm)内の底に素材を敷き、接触時の音を遮断する目的で耳栓を装着させた。実施(接触)に伴う感触からどんな物品に触っているかを物品名で思いつく限り答えさせる物品連想課題を実施した。課題時間は 3 分間とした。また、課題終了後には回答した物品の個数分の質問紙を与え回答を求めた。本実験で用いた質問紙は、①認知プロセス(実験 1 で得られた結果に基づいて作成)、②鮮明度、③熟知度、④感情度に関する 4 つの項目から構成されている。

【結果】




各触覚素材の課題における物品の回答数は、プラスチック 194 語(M=6.9、SD=4.2)、布 164 語(M=5.9、SD=2.4)、紙やすり 158 語(M=5.9、SD=3.3)であり、素材間の回答数において有意な主効果は認められなかった[F(2,80)=0.932, p=0.398]。また素材間の認知プロセスの利用頻度の比率、および鮮明度・経験度・感情度の評定値の比率はそれぞれに有意な差を認めた[認知プロセス: $\chi^2(14)=70.26$, p<.001; 鮮明度: $\chi^2(6)=44.62$, p<.001; 経験度: $\chi^2(4)=24.23$, p<.001; 感情度: $\chi^2(4)=41.09$, p<.001]。

【考察】

実験 1 の結果は、視覚情報と触覚情報との間に部分的に異なる概念が存在するが、視覚課題と触覚課題ともに非常に類似した認知プロセスを有していることを示している。これは素材要素に関する視覚および触覚の情報を処理する脳領域が類似しているため、同様の認知プロセスを辿ったものと考えられる。また、今回の課題自体が類似性を促している可能性も考えられる。すなわち、高次の処理を必要とする連想課題では、知覚プロセスというよりは認知プロセスが深く関わるため、結果が感覚種に特異的とはならなかったことが考えられる。

実験 2 の結果から、触覚素材の違いによって認知プロセス、鮮明度、経験度、および感情度に違いを生じることが初めて明らかとなった。このことは触覚素材の種類によって関連づけられている記憶(知識や過去の経験)に違いがあることを示唆している。

論文審査の結果の要旨

		氏名	八坂 一彦
審査委員	主査氏名	古谷 博和	
	副査氏名	由利 和也	
	副査氏名	上羽 哲也	

題目 Representations of microgeometric tactile information during object recognition

(物体認知に関わる触覚的テクスチャ情報の脳内表現)

著者

Kazuhiko Yasaka, Tomoki Mori, Masahiro Yamaguchi, Hideto Kaba

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月

Cognitive Processing
in press

要旨

【背景・目的】ヒトの触覚を通じての物体認知には物体を構成する形状(サイズ、形など)と、素材(テクスチャ、硬度など)の2つの要素のうちの素材との関わりが重要視されている。また物体認知は複合的なプロセスであり、触覚による物体認知にも様々な認知プロセスが関与している。しかし物体認知にかかわる触覚的テクスチャ情報の脳内表現の特徴について一定の見解は得られていない。そこで本研究の実験[1]では実験参加者に視覚と触覚を用いた物品連想課題を課し、物体認知にどのような認知プロセスが関与しているのかを質的に分析した。次に実験[2]では実験参加者に触覚情報のみを用いた物品連想課題を課し、得られた回答(物品)から回答に至る認知プロセス、その物品の鮮明度、経験度、物品連想時に生じる感情度の評定を求め、触覚的テクスチャ情報の違いによって触覚表象の特性に差が生じるかどうかを検討した。

実験[1]

【方法】専門学生 13 名(平均年齢 19.8±1.2 歳)を対象として、実験材料(刺激材料物)は表面の質感は異なるが、色は黒褐色のもので統一した 3 種類の素材(紙、紙やすり、布)を使用した。対象者に対して 3 種類の刺激材料物をそれぞれ体性感覚情報による物品連想課題(触覚課題)、視覚情報による物品連想課題(視覚課題)の 2 条件に使用し、計 6 課題をランダムに呈示した。実験手順は、手順 1: 刺激材料物に触れる、もしくは見てもらい、どんな物品に触っているか、もしくは見ているかを 1 つ回答させた。手順 2: 手順 1 後に再度同刺激物に触れるかもしくは見てもらい、手順 1 で回答したもの以外にどんな物品に触っているか、もしくは見ているかを、制限時間の 3 分間にできる限り多く回答させた。手順 3: 手順 1・2 に関して半構造化インタビューを実施した。インタビューの主な質問内容は、「どのように判断したのか」「どのような事に気をつけていたか」などと課題施行中に回答した物品全てに対し、その回答に至るまでの認知プロセスの内容をインタビューにより聴取した。インタビュー内容は録音したデータから逐語記録を作成し、修正版グランデッド・セオリー・アプローチにて分析を行った。

【結果】両課題ともに 8 つの認知プロセスから集約される 5 つのカテゴリー『直観的判断』『連想による判断』『記憶想起による判断』『探索的判断』『機能的固着』が生成され、さらに視覚課題において『触覚イメージによる判断』の項目が追加して得られた。

実験[2]

【方法】専門学生 83 名(平均年齢 22.7±4.8 歳)を対象として、触素材ごとにランダムに割り当てた。触覚素材はプラスチック(ポリプロピレン)、布(綿)、紙やすり(#120)の 3 種類を用いた。実験参加者を机に向かって着座させ、触覚素材を実験参加者の利き手側の手元に呈示し、利き手の示指にて能動的に触れさせた。また手元(素材表面)を遮蔽する目的で箱(縦・横・高さ 24.5 × 36 × 20cm)の内側の底に素材を敷き、接触時の音を遮断したうえで、接触に伴う感触からどんな物品に触っているかを物品名で 3 分間の課題時間の間に思いつく限り答えさせる物品連想課題を実施した。課題終了後には回答した物品の個数分の質問紙を与えて回答を求めた。この実験で用いた質問紙は、①認知プロセス(実験 1 で得られた結果に基づいて作成)、②鮮明度、③熟知度、④感情度に関する 4 つの項目から構成されている。

【結果】各触覚素材の課題における物品の回答数は、プラスチック 194 語(M=6.9, SD=4.2)、布 164 語(M=5.9, SD=2.4)、紙やすり 158 語(M=5.9, SD=3.3)であり、素材感の回答数において有意な主効果は認めなかった[F(2,80)=0.932, $p=0.398$]。また素材間の認知プロセスの利用頻度の比率、および鮮明度・経験度・感情度評定値の比率はそれぞれに有意差を認めた。

[認知プロセス: $\chi^2(14)=70.26, p<.001$; 鮮明度: $\chi^2(6)=44.62, p<.001$; 経験度: $\chi^2(4)=41.09, p<.001$]

【考察】実験[1]の結果は視覚情報と触覚情報との間に部分的に異なる概念が存在するが、視覚課題と触覚課題ともに非常に類似した認知プロセスを有していることを示していた。これは素材要素に関する視覚及び触覚の情報を処理する脳領域が類似しているため、同様の認知プロ

セスを辿ったものと考えられた。また今回の課題事態が類似性を促している可能性も考えられた。すなわち高次の処理を必要とする連想課題では、知覚プロセスと言うよりは認知プロセスが深く関わるため、結果が感覚種に特異的とはならなかった事が考えられた。

一方、実験[2]の結果から、触覚素材の違いによって認知プロセス、鮮明度、経験度、および感情度に違いの生じることが初めて明らかとなった。これらの事実から、触覚素材の種類によって関連づけられている記憶(知識や過去の経験)に違いがある可能性が示唆された。

【論文の評価】

申請者は、これまでの脳血管障害患者のリハビリが運動機能の評価とその回復に重点が置かれ、高次脳機能障害も含む感覚機能の評価とそれがリハビリの過程に及ぼす影響について見過ごされがちになる事に気がつき、本研究を計画した。まず実験[1]を行い、視覚課題と触覚課題を呈示された場合にその認知プロセスのカテゴリーは非常に類似したプロセスをとるものの、部分的に違いがあることを発見した。次に実験[2]ではそのカテゴリーに基づいて触覚素材の認知実験を行った。その結果、申請者は触覚素材の違いによって認知プロセス、鮮明度、経験度、および感情度に違いの生じることを初めて明らかにし、触覚素材の種類によって関連づけられている記憶(知識や過去の経験)に違いがある可能性を示唆した。本論文は症例数、被験者の年齢が比較的若年者に片寄っていることなど、一部限界はあるものの、今後触覚刺激を取り入れたリハビリテーション技術の開発や、神経画像検査、神経生理検査などを取り入れた大脳生理学研究に発展する可能性があり、臨床的意義の高い論文であると評価出来る。

よって、審査委員一同は申請者が高知大学博士(医学)の学位の称号に相応しい知識と資質を有すると判断し、合格と判定した。

氏名(本籍)	近江 訓子 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第71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31年3月5日
学位論文題目	Analysis of factors influencing glucose tolerance in Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease (日本人非アルコール性脂肪性肝疾患の耐糖能に影響する因子の解析)
発表誌名	Diabetology and Metabolic Syndrome 9:65, 2017

審査委員	主査	教授	奥原	義保
	副査	教授	山口	正洋
	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

論文題目	氏名 近江 訓子 Analysis of factors influencing glucose tolerance in Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease (日本人非アルコール性脂肪性肝疾患の耐糖能に影響する因子の解析)
<p>(論文要旨)</p> <p>背景：耐糖能障害の悪化に伴い非アルコール性脂肪性肝疾患[non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)]の頻度が増加することが報告されているが、NAFLDにおける耐糖能障害へ影響を与える因子については不明な点が多い。2型糖尿病の主な病因はインスリン分泌不全とインスリン抵抗性増加(感受性低下)だが、NAFLDでのこれら病因の耐糖能障害に対する相対的な寄与度や、NAFLDの組織学的重症度と耐糖能障害の関連については解明されていない。</p> <p>方法：肝生検にて組織学的にNAFLDと診断された131人の日本人患者に対し75g経口ブドウ糖負荷試験[oral glucose tolerance test(OGTT)]を施行し、正常型[normal glucose tolerance (NGT)]、境界型[impaired glucose metabolism (IGM)]、糖尿病型[diabetes (DM)]の3群に分類した。75g-OGTTにおける血中グルコース値・インスリン値を用い、インスリン分泌能の指標として insulinogenic index (IGI) を、インスリン抵抗性の指標として HOMA-R を、インスリン感受性の指標として QUICKI、Matsuda index (MI) を算出した。コンセンサスのあるカットオフ値に基づき IGI 低値群と正常値群、HOMA-R 正常値群と高値群に分割した。肝組織所見は Matteoni の重症度分類に基づき、type 1~4 に分類し、type 1 と type 2 を非アルコール性脂肪肝 [non-alcoholic fatty liver (NAFL)]、type 3 と type 4 を非アルコール性脂肪肝炎[non-alcoholic steatohepatitis (NASH)]として解析した。OGTTにおける負荷後2時間血糖値 (G_{120}) と HbA1c を耐糖能障害の程度の指標とした。多変量解析においては、ステップワイズ法を用い、一部独立変数については正規分布する対数変換値 (\log_e-) を用いた。</p> <p>結果：低 IGI 群では正常 IGI 群より NGT の割合が低くまた DM の割合が高かった。低 IGI 群において耐糖能異常は 89.7%にも及んだが、正常 IGI 群においては 53.3%に過ぎず、有意な差があった。DM の割合は高 HOMA-R 群において正常 HOMA-R 群より有意に多かった。NASH の割合は低 IGI 群と正常 IGI 群において差は無かったが、高 HOMA-R 群に有意に多かった。</p> <p>G_{120} を従属変数とする多変量解析において、年齢、性、BMI、肝組織重症度は有意な寄与因子ではなく、\log_e-IGI ($\beta = -0.595$) と QUICKI ($\beta = -0.323$) が寄与因子であった ($R^2 = 0.403$)。さらに HbA1c を従属変数とする多変量解析においても同様に、\log_e-IGI ($\beta = -0.679$) と \log_e-MI ($\beta = -0.358$) が寄与因子であった ($R^2 = 0.466$)。これらの結果は、耐糖能障害におけるインスリン分泌の重要性を示唆した。また QUICKI を従属変数とした多変量解析では、肝組織重症度 (NAFL/NASH: NAFL=0, NASH=1) ($\beta = -0.204$) は BMI ($\beta = -0.469$) と独立した寄与因子であった ($R^2 = 0.248$)。 \log_e-MI を従属変数とした解析でも同様の結果 (NAFL/NASH: $\beta = -0.186$; BMI: $\beta = -0.508$) であった ($R^2 = 0.279$)。</p> <p>結論：日本人 NAFLD 患者においてインスリン分泌の低下が耐糖能障害に最も寄与する因子であることを明らかにした。また肝組織重症度は肥満と独立してインスリン感受性に関与していた。</p>	

論文審査の結果の要旨

	氏 名	近江 訓子
審 査 委 員	主 査 氏 名 奥原 義保	
	副 査 氏 名 山口 正洋	
	副 査 氏 名 花崎 和弘	

題 目 Analysis of factors influencing glucose tolerance in Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease
(日本人非アルコール性脂肪性肝疾患の耐糖能に影響する因子の解析)

著 者 Satoko Ohmi, Masafumi Ono, Hiroshi Takata, Seiki Hirano, Shogo Funakoshi, Yuichi Nishi, Kumiko Yoshimura, Eri Amano, Yoshio Terada, Toshiji Saibara and Shimpei Fujimoto

発表誌名、巻(号)、ページ(～)、年 月
Diabetology and Metabolic Syndrome 9:65, 2017

要 旨

【背景】

耐糖能障害の悪化に伴い非アルコール性脂肪性肝疾患[non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)]の頻度が増加することが報告されているが、NAFLDにおける耐糖能障害へ影響を与える因子については不明な点が多い。2型糖尿病の主な病因はインスリン分泌不全とインスリン抵抗性増加(感受性低下)だが、NAFLDでのこれら病因の耐糖能障害に対する相対的な寄与度や、NAFLDの組織学的重症度と耐糖能障害の関連については解明されていない。

【目的】

こうした背景のもとに申請者等は、組織学的にNAFLDと診断された日本人の患者において経口ブドウ糖負荷試験を行い、その結果を解析して耐糖能に影響する因子が何であるのかを明らかにしようとした。

【方法】

申請者等は、肝生検にて組織学的にNAFLDと診断された131人の日本人患者に対し75g経口ブドウ糖負荷試験[oral glucose tolerance test(OGTT)]を施行し、正常型[normal glucose tolerance (NGT)]、境界型[impaired glucose metabolism (IGM)]、糖尿病型[diabetes (DM)]の3群に分類した。75g-OGTTにおける血中グルコース値・インスリン

値を用い、インスリン分泌能の指標として insulinogenic index (IGI) を、インスリン抵抗性の指標として HOMA-R を、インスリン感受性の指標として QUICKI、Matsuda index (MI) を算出した。これらの結果を、コンセンサスのあるカットオフ値に基づき IGI 低値群と正常値群、HOMA-R 正常値群と高値群に分割した。肝組織所見は Matteoni の重症度分類に基づき、type 1~4 に分類し、type 1 と type 2 を非アルコール性脂肪肝 [non-alcoholic fatty liver (NAFL)]、type 3 と type 4 を非アルコール性脂肪肝炎 [non-alcoholic steatohepatitis (NASH)] として解析した。OGTT における負荷後 2 時間血糖値 (G120) と HbA1c を耐糖能障害の程度の指標とした。多変量解析においては、HbA1c、G120 を目的変数に、インスリン分泌能の指標とインスリン抵抗性の指標、年齢、性別、BMI、NAFL か NASH かの分類を説明変数として重回帰分析を行い、ステップワイズ法を用いて最適なモデルを求めた。また、インスリン分泌能の指標とインスリン抵抗性の指標を目的変数に、年齢、性別、BMI、NAFL か NASH かの分類を説明変数として同じく重回帰分析を行い、ステップワイズ法を用いて最適なモデルを求めた。

【結果】

低 IGI 群では正常 IGI 群より NGT の割合が低くまた DM の割合が高かった。低 IGI 群において耐糖能異常は 89.7%にも及んだが、正常 IGI 群においては 53.3%に過ぎず、有意な差があった。DM の割合は高 HOMA-R 群において正常 HOMA-R 群より有意に多かった。NASH の割合は低 IGI 群と正常 IGI 群において差は無かったが、高 HOMA-R 群に有意に多かった。

G120 を目的変数とする重回帰分析において、年齢、性、BMI、肝組織重症度は有意な寄与因子ではなく、 \log -IGI ($\beta = -0.595$) と QUICKI ($\beta = -0.323$) が寄与因子であった ($R^2 = 0.403$)。さらに HbA1c を説明変数とする重回帰分析においても同様に、 \log -IGI ($\beta = -0.679$) と \log -MI ($\beta = -0.358$) が寄与因子であった ($R^2 = 0.466$)。これらの結果は、耐糖能障害におけるインスリン分泌の重要性を示唆した。また QUICKI を説明変数とした重回帰分析では、肝組織重症度 (NAFL/NASH: NAFL=0, NASH=1) ($\beta = -0.204$) は BMI ($\beta = -0.469$) と独立した寄与因子であった ($R^2 = 0.248$)。 \log -MI を説明変数とした解析でも同様の結果 (NAFL/NASH: $\beta = -0.186$; BMI: $\beta = -0.508$) であった ($R^2 = 0.279$)。

【結論】

日本人 NAFLD 患者においてインスリン分泌の低下が耐糖能障害に最も寄与する因子であることを明らかにした。また肝組織重症度は肥満と独立してインスリン感受性に関与していた。

以上のように、本論文は、近年有病率が上昇し続けている NAFLD 患者の耐糖能障害に影響を及ぼす因子について研究したものであり、日本人 NAFLD 患者の耐糖能障害にはインスリン分泌の低下およびインスリン感受性の低下どちらも影響するが、インスリン分泌の低下がインスリン感受性の低下より影響の大きい要因であること、NAFL であるか NASH であるかの違いはインスリン感受性に影響することを初めて明らかにした。NAFLD 患者において、経口血糖降下薬の作用機序を考慮した選択の指針につながる可能性など、臨床上の意義も大きいと考えられる。

よって、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)	菊地 広朗 (愛媛県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第72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31年3月5日
学位論文題目	Generation and characteristics of a novel “double-hit” high grade B-cell lymphoma cell line DH-My6 with <i>MYC/IGH</i> and <i>BCL6/IGH</i> gene arrangements and potential molecular targeted therapies (<i>MYC/IGH</i> および <i>BCL6/IGH</i> 遺伝子配列を有する新規のダブルヒット高悪性度B細胞リンパ腫細胞株 DH-My6の樹立とその特徴および分子標的療法の可能性について)
発表誌名	Oncotarget. 2018; 9:33482-33499. 2018年9月11日

審査委員 主査 教授 降幡 陸夫
副査 教授 小林 道也
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	菊地 広朗
論文題目	Generation and characteristics of a novel “double-hit” high grade B-cell lymphoma cell line DH-My6 with <i>MYC/IGH</i> and <i>BCL6/IGH</i> gene arrangements and potential molecular targeted therapies (MYC/IGH およびBCL6/IGH 遺伝子配列を有する新規のダブルヒット高悪性度B細胞リンパ腫細胞株DH-My6の樹立とその特徴および分子標的療法の可能性について)	
(論文要旨)	<p>【研究の背景と目的】</p> <p>B細胞リンパ腫の中でも、MYC遺伝子(8q24)再構成とBCL2遺伝子(18q21)またはBCL6遺伝子(3q27)再構成(転座)が認められるリンパ腫は、ダブルヒットリンパ腫(double hit lymphoma: DHL)と呼ばれており、2016年に改訂された悪性リンパ腫のWHO分類にHigh-grade B-cell lymphoma (HGBL)として新たに収載された。きわめて予後不良の経過を示すことより最近、注目されているリンパ腫である。</p> <p>DHL症例のほとんどがMYCおよびBCL2転座を伴うHGBL (MYC/BCL2 DHL)であり、MYCおよびBCL6転座を伴うHGBL (MYC/BCL6 DHL)の症例は比較的稀である。したがって、これまでのDHLについての研究のほとんどがMYC/BCL2 DHLに基づいており、MYC/BCL6 DHLに関する知見は十分ではなかった。MYC/BCL6 DHLの症例は、MYC/BCL2 DHLとは異なる遺伝子発現プロファイリングを示すという報告もなされ、MYC/BCL2 DHLとは生物学的に異なる疾患である可能性を示唆している。</p> <p>このようにMYC/BCL6 DHLの病態を理解する上での問題の一つとして適切な研究モデルの欠如がある。これまでにMYC/BCL2 DHL細胞株は多く存在し、それらがMYC/BCL2 DHLの病態解明に寄与してきた。しかしながら、MYC/BCL6 DHL細胞株樹立の報告は僅かであり、しかもそれらは患者リンパ腫細胞と遺伝学的に同一であると認証されていない細胞株である。これが詳細なMYC/BCL6 DHL病態研究や治療研究を遅らせてきた要因でもあった。したがって、MYC/BCL6 DHL細胞株の樹立は本腫瘍の知見を増やすためにも必要不可欠である。</p> <p>本研究において、MYC/BCL6 DHL由来の新たな細胞株の樹立に成功した。その詳細な特性解析と治療標的分子の探索を行ない、この予後不良のリンパ腫に対峙できる新規治療戦略の創生につながる基盤研究を行うことを目的にした。</p> <p>【方法と結果】</p> <p>MYC/BCL6 DHL患者の骨髄からリンパ腫細胞を採取し、20%牛胎仔血清を加えたRPMI 1640倍地で培養に供し、細胞株の樹立に成功した。この細胞株をDH-My6と名付け、詳細な解析を行なった。</p> <p>DH-My6細胞は患者リンパ腫細胞と同じ表面形質と同じ染色体異常 der(3)t(3;14)(q27;q32)、der(14)t(8;14)(q24;q32)を有しており、MYC遺伝子と免疫グロブリン重鎖(IGH)遺伝子(14q32)の融合遺伝子およびBCL6-IGH 融合遺伝子の同時存在を確認できた。またDH-My6細胞においてMYCおよびBCL6 mRNA発現は他のB細胞リンパ腫細胞株に比べてより高いレベルで認められた。</p> <p>ショートタンデムリピート(STR)DNAフィンガープリンティング法により、DH-My6細胞と患者細胞の遺伝子型が100%一致することが示され、DH-My6細胞は患者リンパ腫細胞由来の細胞株であることが認証された。</p>	

DH-My6細胞をBALB/c *Slc-nu/nu*マウス(ヌードマウス)の皮下に移植すると、全てのマウスに腫瘍が形成された。この腫瘍細胞はMYC-IGHとBCL6-IGHの融合遺伝子を同時に有し、MYCおよびBCL6の高発現が認められた。すなわち、*in vivo*でもDH-My6細胞の形質が維持されることが確認された。

DH-My6解析系を用いて、MYCおよびBCL6の発現阻害による抗腫瘍効果を調べた。small interfering RNA (siRNA)を用いてMYCおよびBCL6 mRNAの発現を抑制すると、それぞれのコントロールsiRNAと比較して細胞増殖の有意な抑制と細胞周期G0/G1での停止がみられた。さらに、MYC阻害薬としてJQ1を、BCL6阻害薬としてFX1を用いてDH-My6細胞を処理すると、細胞増殖の有意な抑制と細胞周期の停止が誘導されたが、それらの併用によってアポトーシス誘導の相乗効果も認められた。




次に、MYC/BCL6 DHLに対する治療標的分子の探索を行なった。細胞増殖に密接に関連する分子であるポロ様キナーゼ1(PLK1)とヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)に着目し、それら阻害薬(PLK1阻害薬としてvolasertib、HDAC阻害薬としてvorinostat)による抗腫瘍効果を調べた。volasertibをJQ1またはFX1と併用処理した場合、相乗的な細胞増殖抑制効果はvolasertibとJQ1を組み合わせた時に認められた。また、この組み合わせは単剤使用よりも有意にアポトーシスを誘導することが明らかとなった。さらに、vorinostatとJQ1あるいはFX1の併用によっても有意にアポトーシスを誘導することが示された。

【考察とまとめ】

本研究で樹立されたDH-My6は、患者リンパ腫細胞の特性を維持していると証明された初めてのMYC/BCL6 DHL細胞株である。MYCとBCL6遺伝子の転座パートナーが共にIGH遺伝子であり、このことがDH-My6細胞における高レベルのMYCとBCL6の発現をもたらし、悪性形質の獲得に関与すると考えられる。それ故、DH-My6細胞は分子標的薬の探索に有用な解析系を提供する。本研究により、MYCとBCL6を標的にした治療戦略がMYC/BCL6 DHLに有効であることを示すデータを提供することができた。さらに、これらにPLK1阻害薬やHDAC阻害薬を併用することでより強い抗腫瘍効果が得られることも明らかにされた。

今後はDH-My6細胞を移植したMYC/BCL6 DHL形成動物モデルを使い、本研究で抗腫瘍効果がみられた分子標的薬の前臨床試験を行い、高悪性度MYC/BCL6 DHLに対する新規治療戦略の開発に向けての研究を続ける。

論文審査の結果の要旨

	氏名	
	菊地 広朗	
審査委員	主査氏名	降幡 睦夫 
	副査氏名	小林 道也 
	副査氏名	前田 長正 

題 目 Generation and characteristics of a novel “double-hit” high grade B-cell lymphoma cell line DH-My6 with *MYC/IGH* and *BCL6/IGH* gene arrangements and potential molecular targeted therapies
 (MYC/IGH およびBCL6/IGH 遺伝子配列を有する新規のダブルヒット高悪性度B細胞リンパ腫細胞株 DH-My6の樹立とその特徴および分子標的療法の可能性について)

著 者 Hiroaki Kikuchi, Tomonori Higuchi, Yumiko Hashida, Ayuko Taniguchi, Mikio Kamioka, Takahiro Taguchi, Akihito Yokoyama, Ichiro Murakami, Mikiya Fujieda and Masanori Daibata

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 Oncotarget. 2018; 9:33482-33499
 2018年9月11日

要 旨

【研究の背景と目的】

悪性リンパ腫において、*MYC*(8q24)と *BCL2*(18q21)再構成(転座)または *MYC*(8q24)と *BCL6*(3q27)再構成(転座)が認められるB細胞リンパ腫は、ダブルヒットリンパ腫(double hit lymphoma: DHL)と呼ばれ、2016年に改訂された悪性リンパ腫 WHO 分類にて High-grade B-cell lymphoma(HGBL)として新たに収載された、極めて予後不良経過を示す悪性リンパ腫である。

DHL 症例のほとんどが *MYC* と *BCL2* 転座を伴う HGBL(*MYC/BCL2* DHL) で、*MYC* と *BCL6* 転座を伴う HGBL(*MYC/BCL6* DHL)の症例は比較的稀であるため、*MYC/BCL6* DHL に関する知見は不十分であり、*MYC/BCL2* DHL とは異なる遺伝子発現プロファイリングを示す生物学的に異なる疾患であるとの報告もある。

現在 *MYC/BCL2* DHL 細胞株は多く存在し、それらが *MYC/BCL2* DHL の病態解明及び治療法の選択に寄与してきた。一方 *MYC/BCL6* DHL 細胞株樹立の報告は僅かであり、しかもそれらは患者リンパ腫細胞との遺伝学的同一性が認証されていない細胞株である。したがって、遺伝学的同一性が保たれた *MYC/BCL6* DHL 細胞株の樹立は、本腫瘍の実体解明及び治療選択・評価のためにも必要である。

申請者は *MYC/BCL6* DHL 由来新規細胞株樹立を行い、その詳細な特性解析と治療標的分子の探索を検討することで新規治療戦略の創生につながる基盤研究を行うことを目的とした。

【方法と結果】

MYC/BCL6 DHL 患者の骨髄からリンパ腫細胞を採取し、20%牛胎仔血清を加えた RPMI1640 培地で培養に供し、細胞株樹立に成功した。この細胞株を DH-My6 と名付け、詳細な解析を行なった。

DH-My6 は患者リンパ腫細胞と同じ表面形質と同じ染色体異常 *der(3)t(3;14)(q27;q32)*、*der(14)t(8;14)(q24;q32)*を有しており、*MYC* 遺伝子と免疫グロブリン重鎖(*IGH*)遺伝子(14q32)の融合遺伝子および *BCL6-IGH* 融合遺伝子の同時存在を確認できた。また DH-My6 において、*MYC* および *BCL6* mRNA 発現は、他 B 細胞リンパ腫細胞株に比べてより高いレベルで認められた。ショートタンデムリピート(STR)DNA フィンガープリンティング法により、DH-My6 と患者細胞の遺伝子型が 100%一致することが確認された。

DH-My6 を BALB/c *Slc-nu/nu* マウス(ヌードマウス)の皮下に移植すると、全てのマウスに腫瘍形成が認められ、この腫瘍細胞は *MYC-IGH* と *BCL6-IGH* の融合遺伝子を同時に有し、*MYC* および *BCL6* の高発現が認められた。すなわち、*in vivo* でも DH-My6 の形質維持が証明された。

in vitro-DH-My6 解析系を用いて MYC および BCL6 の発現阻害による抗腫瘍効果を評価し、small interfering RNA(siRNA)で MYC および BCL6 mRNA の発現を抑制すると、それぞれのコントロール siRNA と比較して細胞増殖の有意な抑制と細胞周期 G0/G1 での停止がみられた。さらに、MYC 阻害薬として JQ1 を、BCL6 阻害薬として FX1 を用いて DH-My6 を処理すると、細胞増殖の有意な抑制と細胞周期の停止が誘導されたが、それらの併用によってアポトーシス誘導の相乗効果も認められた。

次に、MYC/BCL6 DHL に対する治療標的分子の探索を行なった。細胞増殖に密接に関連する分子であるポロ様キナーゼ 1(PLK1)とヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)に着目し、それら阻害薬(PLK1 阻害薬として volasertib、HDAC 阻害薬として vorinostat)による抗腫瘍効果の評価を行い、volasertib を JQ1 または FX1 と併用処理した場合、相乗的な細胞増殖抑制効果は JQ1 併用時に認められた。また、この組み合わせは volasertib 単剤使用よりも有意にアポトーシスを誘導することが明らかとなった。さらに、vorinostat と JQ1 あるいは FX1 の併用によっても有意にアポトーシスを誘導することが示された。

【考察とまとめ】

本研究で樹立された DH-My6 は、患者リンパ腫細胞の遺伝的特性維持が証明された初めての MYC/BCL6 DHL 細胞株である。MYC と BCL6 遺伝子の転座パートナーが共に IGH 遺伝子であり、このことが DH-My6 における高レベルの MYC と BCL6 の発現をもたらし、悪性形質獲得に関与すると考えられる。本研究では、*in vitro* における MYC と BCL6 を標的にした治療戦略が MYC/BCL6 DHL に有効であり、これらに PLK1 阻害薬や HDAC 阻害薬を併用することでより強い抗腫瘍効果が得られることも示した。今後は DH-My6 細胞株移植 MYC/BCL6 DHL 形成動物モデルを用いた、*in vivo* における分子標的薬の前臨床試験が可能となり、高悪性度 MYC/BCL6 DHL に対する新規治療戦略の開発研究発展が期待される。

氏名(本籍)	清水 翔吾 (島根県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第73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31年3月22日
学位論文題目	Angiotensin II, a stress-related neuropeptide in the CNS, facilitates micturition reflex in rats (ストレス反応性脳内神経ペプチドであるアンジオテンシンⅡがラットでの排尿反射を亢進させる)
発表誌名	British Journal of Pharmacology 175 (18) : 3727~3737. 2018年 9月

審査委員

主査	教授	由利	和也
副査	教授	山口	正洋
副査	教授	井上	啓史

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	清水 翔吾
論文題目	<p>Angiotensin II, a stress-related neuropeptide in the CNS, facilitates micturition reflex in rats (ストレス反応性脳内神経ペプチドであるアンジオテンシンIIがラットでの排尿反射を亢進させる)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>【背景・目的】心理ストレス曝露により(不安を感じたり、緊張した時)、トイレが近くなることは広く知られているが、その詳細な発症メカニズムは明らかになっていない。これまで我々は、ストレス反応性脳内神経ペプチドであるアンジオテンシンII (Ang II) が脳内Ang IIタイプ1 (AT1) 受容体を介し、排尿反射亢進(頻尿)を惹起することを動物実験にて明らかにした。本研究では、その詳細な分子機構の解明を、脳内GABA神経系並びにAT1受容体下流シグナル分子 [phospholipase C (PLC)/protein kinase C (PKC)/NADPH oxidase/superoxide anion] に着目し行った。</p> <p>【方法】ウレタン麻酔下の雄性Wistar系ラット(340-400 g)に対し、膀胱に膀胱内圧測定用のカテーテルを挿入し、シリンジポンプにて生理食塩水を持続注入した。そして、同ラットに対し、下記に示す薬物投与前後にて、連続または単回膀胱内圧測定を行った。</p> <p>[1] Ang II (30 pmol) または溶媒を脳室内投与した。[2] Ang II (100 and 300 pmol) を静脈内投与した。[3] GABA_A受容体作動薬 (muscimol: 100, 300 or 1000 pmol)、GABA_B受容体作動薬 (baclofen: 30, 100 or 300 pmol) または溶媒をそれぞれ脳室内投与した。[4] Ang II脳室内投与30分前に、muscimol (100 or 300 pmol)、baclofen (30 or 100 pmol)、AT1受容体遮断薬 (telmisartan: 3 or 10 nmol, valsartan: 10 nmol)、AT2受容体遮断薬 (PD123319: 100 nmol)、PLC阻害薬 (U-73122: 300 or 1000 pmol)、PKC阻害薬 (chelerythrine chloride: 300 or 1000 pmol)、NADPH oxidase阻害薬 (apocynin: 20 or 200 nmol)、抗酸化薬 (tempol: 2 or 20 nmol) または各溶媒を脳室内投与した。</p>	

[5] Ang II脳室内投与15分後に、muscimol (100 or 300 pmol) 、 baclofen (30 or 100 pmol) または溶媒を脳室内投与した。

【結果】 [1] Ang II脳室内投与は、溶媒投与群と比較して、ラットの残尿量及び排尿効率に影響することなく、一回排尿量及び膀胱容量を減少させた。また、Ang II脳室内投与は、溶媒投与群と比較して、最大排尿筋圧に影響することなく排尿間隔を短縮させた。 [2] Ang II静脈内投与では、排尿パラメーターに影響は見られなかった。 [3] 高用量のmuscimolまたはbaclofen脳室内投与は、排尿間隔を延長させた。 [4] Muscimol、 baclofen、 telmisartan、 valsartan、 U-73122、 chelerythrine chloride、 apocyninまたはtempol脳室内前投与は、Ang II脳室内投与による排尿間隔短縮を抑制した。 [5] Ang II脳室内投与後の、muscimolまたはbaclofen脳室内投与は排尿間隔短縮を延長させた。

【結語】 ストレス反応性脳内神経ペプチドである Ang II は、 脳内 GABA 神経系の抑制並びに脳内 AT1 受容体/PLC/PKC/NADPH oxidase/superoxide anion 経路活性化を介し、排尿反射亢進を惹起することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

		氏名	清水 翔吾
審査委員	主査氏名	由利 和也	
	副査氏名	山口 正洋	
	副査氏名	井上 啓史	

題 目 Angiotensin II, a stress-related neuropeptide in the CNS, facilitates micturition reflex in rats
 (ストレス反応性脳内神経ペプチドであるアンジオテンシンIIがラットでの排尿反射を亢進させる)

著 者 Shogo Shimizu, Takahiro Shimizu, Kumiko Nakamura, Youichirou Higashi, Motoaki Saito

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 British Journal of Pharmacology 175 (18) : 3727~3737
 2018年 9月

要 旨

心理的ストレスにより、過活動膀胱や膀胱痛症候群などの下部尿路疾患が悪化し排尿回数が増加することは広く認知されている。ストレスが加わると脳内において神経伝達物質ペプチドであるアンジオテンシンII (AngII)が増加することが知られており、AngIIタイプ1 (AT1)受容体を介して、血圧上昇やバゾプレシン分泌などが引き起こされることが報告された。申請者らもまたAngIIの作用を解析するためAngIIを脳室内に投与し、AngIIがAT1受容体を介して排尿反射を引き起こすことを明らかにした。一方、AngIIは脳内においてGABA神経系の活動を調節していることが報告され、排尿反射におけるGABA神経系の関与が示唆された。今回の研究において、申請者らはAngII受容体とGABA神経系の関係について検討を行った。

実験はウイスター系雄ラットを用いて施行された。ウレタン麻酔下に膀胱頂部よりカテーテルを挿入し、これを圧トランスデューサーに接続した。ラットを脳定位装置に固定し右側脳室にカニューレを挿入し投薬を行った。膀胱内圧の単回測定はカニューレより膀胱内に生理食塩水を注入して排尿させ、膀胱容量および排尿量を測定した。連続測定は、膀胱内に同様に生理食塩水を注入し、膀胱最大内圧および排尿間隔を測定した。脳室内に各種薬物を投与し、カテーテルを用いて膀胱内圧の単回または連続測定を施行した。

Ang II を脳室内に投与すると、残尿量および排尿効率には変化はなく、一回排尿量および膀胱容量が減少した。また、最大排尿筋圧を変化させることなく排尿間隔を短縮させた。GABA_A 受容体作動薬である muscimol または GABA_B 受容体作動薬である baclofen の脳室内投与により、排尿間隔は延長した。Muscimol および baclofen を脳室内に投与すると Ang II による排尿間隔の短縮は抑制された。また、AT1 受容体によって活性化されるシグナル分子 phospholipase C(PLC), protein kinase C(PKC), NADPH oxidase, superoxide anion それぞれの抑制剤である U-73122, chelerythrine chloride, apocynin, tempol を脳室内に投与すると Ang II による排尿間隔の短縮は抑制された。

これらの結果より、ストレスで産生される Ang II は、脳内 AT1 受容体/PLC/PKC/NADPH oxidase/superoxide anion 経路を介して脳内 GABA 神経系を抑制することにより、排尿反射亢進を引き起こす可能性が示唆された。AT1 受容体は脳において視床下部室傍核、中脳中心灰白質に多く発現していることが報告されており、これらの領域が排尿の調節に関わっている可能性が考えられた。

以上のように、申請者らの行った研究は心因性頻尿の原因解明を通して、排尿改善についての創薬の可能性を示した点で高く評価され、高知大学博士(医学)に相応しいものと審査員一同は判断した。

氏名(本籍)	立岩 浩規 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第74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31年3月22日
学位論文題目	The role of hippocampal brain-derived neurotrophic factor in age-related differences in neuropathic pain behavior in rats (ラット神経障害性痛モデルにおける海馬での脳由来神経栄養因子の役割と加齢の影響)
発表誌名	Life Sciences, Volume 197, Pages 56-66. 2018年3月

審査委員	主査	教授	池内	昌彦
	副査	教授	北岡	裕章
	副査	教授	山口	正洋

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	立岩 浩規
論文題目	<p>The role of hippocampal brain-derived neurotrophic factor in age-related differences in neuropathic pain behavior in rats. (ラット神経障害性痛モデルにおける海馬での脳由来神経栄養因子の役割と加齢の影響)</p>	
<p>(論文要旨)</p> <p>【序文】</p> <p>慢性痛の有病率は年齢とともに高くなる。高齢者の慢性痛は、フレイル、サルコペニア、抑うつ、認知障害などの老年症候群と深く関連し、健康寿命短縮の重要な要因となる。しかしながら、加齢に関連する痛みの慢性化機序についての科学的研究はほとんどなされておらず、現在エビデンスの高い治療法は存在しない。我々は、神経障害性痛の病態として、脳由来神経栄養因子 (BDNF; Brain-derived neurotrophic factor) の重要性を明らかとしてきた。一方、大脳でのBDNFの発現は年齢とともに低下し、運動機能、認知機能障害および抑うつの発症に関与する。したがって、高齢者慢性痛の機序にBDNFの機能変化が関与することが推測されるが、その可能性については検討されていない。そこで、本研究は、加齢に関連する痛みの慢性化機序におけるBDNFの役割について高齢ラット神経障害性痛モデルを用いて検討することとした。</p> <p>【方法・結果】</p> <p>対象動物は、若年 (2-3ヶ月齢) および高齢 (19-24ヶ月齢) Wistar系雄性ラットとした。神経障害性痛モデルとして坐骨神経結紮 (Sciatic nerve ligation: SNL) モデルを用いた。SNLは、イソフルラン麻酔下に、第5、6腰椎神経を結紮・切断した。対照動物では、イソフルラン麻酔下に皮膚切開のみを加えた。</p> <p>実験1: 神経障害性痛の加齢性変化と脳BDNF濃度の関連性</p> <p>神経障害性痛は、侵害刺激に対する逃避行動閾値 (Paw withdrawal threshold: PWT) および痛覚過敏用行動の発生頻度 (Probability of hyperalgesia-like behavior: PHB) を用いて、術前 (基準値) および術後3、7、14、21日目に評価した。21日目の疼痛評価後、脳および脊髄を摘出し、各部位のBDNF濃度をEnzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) 法を用いて測定した。</p> <p>【結果】 若年および高齢動物はともに、SNL手術後、対照動物と比較して有意なPWTの低下およびPHBの増加が生じた。また、PWTの変化は、若年・高齢ラット間に有意差はなかったが、PHBは高齢ラット群で有意に増加した。脳内BDNF濃度は、特に高齢ラットの海馬で対照群と比較して有意な低下が生じ、その変化はPHBの程度と強い相関関係が示された。一方、脊髄BDNF濃度は、若年、高齢SNL群ともに増加する傾向があり、また、PHBと相関関係を認めた。</p>		

実験2：SNL手術後の海馬BDNF濃度の経時的変化

若年、高齢ラットをSNLあるいはsham手術の術前（基準値）、術後3、7、14、21日後に海馬を摘出し、BDNF濃度をELISAで測定した。

【結果】若年SNL群では術後14日目、高齢SNL群では術後7日目から術前と比較して、海馬BDNFの有意な低下が生じた。高齢群ではその変化の程度も若年群と比較して有意に大きかった。

実験3：神経障害性痛ラットに対するBDNF経鼻投与の鎮痛効果

若年および高齢ラットを対象として、SNL手術後7-13日目まで合計7日間連日BDNF 100 µg/kgを経鼻投与した。術前（基準値）および術後3、7、14、21日目にPHBを評価した。

【結果】若年SNLラットでは、BDNF投与群と対照群で、PHBに有意差が生じなかった。一方、高齢SNLラットは、BDNF投与群で術後14日目および21日目にPHBの有意な改善が生じた。

【考察】




高齢ラットは若年ラットと比較して、末梢神経障害後に神経障害性痛が生じやすかった。また、その機序として海馬BDNF濃度の低下が重要である可能性が示唆された。さらに、外因性BDNF投与は加齢により増悪した神経障害性痛に有効である可能性が示された。

神経損傷に伴う脊髄BDNF増加は、神経障害性痛の発症機序に関連する報告されているが、その変化は神経損傷後1-2日後にピークとなり、その後低下する。しかし、海馬BDNFは、術後7-14日後よりその減少がはじまり、21日目まで持続する。このことは、海馬BDNFの低下は、神経障害性痛の慢性化機序に関連する可能性が考えられる。また、海馬BDNF変化は高齢ラットに特異的であり、慢性痛の発生頻度が加齢に伴い増加するという臨床研究の結果を裏付けている。さらに、外因性BDNFは経鼻投与することにより海馬特異的に作用させることが可能であり、高齢者慢性痛の新たな鎮痛ターゲットとしての可能性が考えられる。

【結語】

海馬BDNFの低下が、神経障害性痛の発症機序に関連している可能性が示唆された。また、高齢ラットに対して外因性BDNF投与することにより神経障害性痛を改善させることができた。今後、BDNFが新たな慢性痛治療薬として臨床利用できるか、さらなる検証が必要と考えられる。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	立岩 浩規
審 査 委 員	主 査 氏 名	池内 昌彦 
	副 査 氏 名	北岡 裕章 
	副 査 氏 名	山口 正洋 

題 目 The role of hippocampal brain-derived neurotrophic factor in age-related differences in neuropathic pain behavior in rats
(ラット神経障害性痛モデルにおける海馬での脳由来神経栄養因子の役割と加齢の影響)

著 者 Hiroki Tateiwa, Takashi Kawano, Atsushi Nishigaki, Daiki Yamanaka, Bun Aoyama, Marie Shigematsu-Locatelli, Satoru Eguchi, Fabricio M. Locatelli, Masataka Yokoyama

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Life Sciences, Volume 197, Pages 56-66
2018年3月

要 旨

【目的】

慢性痛の有病率は年齢とともに高くなる。高齢者の慢性痛は、フレイル、サルコペニア、抑うつ、認知障害などの老年症候群と深く関連し、健康寿命短縮の重要な要因となる。しかしながら、加齢に関連する痛みの慢性化機序についての研究は少なく、現在エビデンスレベルの高い治療法は存在しない。近年、慢性難治化する神経障害性痛と脊髄レベルにおける脳由来神経栄養因子(BDNF; Brain-derived neurotrophic factor)の関連性が注目されている。一方、大脳でのBDNFの発現は加齢とともに低下し、運動機能、認知機能障害および抑うつの発症に関与する。したがって、高齢者慢性痛の機序に大脳レベルにおけるBDNFが関与することが推測されるがこれまでに報告はない。本研究は、加齢に関連する痛みの慢性化機序におけるBDNFの役割を解明することを目的に行われた。

【方法・結果】

対象動物は、若年(2-3ヶ月齢)および高齢(19-24ヶ月齢)Wistar系雄性ラットとした。神経障害性痛モデルとして第5,6腰椎神経を結紮・切断する坐骨神経結紮(Sciatic nerve ligation: SNL)モデルを用いた。対照のシャム群では皮膚切開のみを加えた。

実験1：神経障害性痛の加齢性変化と脳 BDNF 濃度の関連性

神経障害性痛は、アロディニアの指標である von Frey フィラメントを用いた Paw withdrawal threshold (PWT) および痛覚過敏の指標である Probability of hyperalgesia-like behavior (PHB) を用いて、術前 および術後 3、7、14、21 日目に評価した。21 日目の疼痛評価後、脳および脊髄を摘出し、各部位の BDNF 濃度を ELISA 法にて測定した。

〔結果〕若年および高齢動物はともに、SNL 手術後、対照動物と比較して有意な PWT の低下および PHB の増加が生じた。また、PWT の変化は、若年・高齢ラット間に有意差はなかったが、PHB は高齢ラット群で有意に増加した。

脳内 BDNF 濃度は、特に高齢ラットの海馬で対照群と比較して有意な低下が生じ、その変化は PHB の程度と強い相関関係が示された。一方、脊髄 BDNF 濃度は、若年、高齢 SNL 群ともに増加する傾向があり、また、PHB と相関関係を認めた。

実験2：SNL 手術後の海馬 BDNF 濃度の経時的変化

若年、高齢ラットを SNL あるいは sham 手術の術前、術後 3、7、14、21 日後に海馬を摘出し、BDNF 濃度を ELISA で測定した。

〔結果〕若年 SNL 群では術後 14 日目、高齢 SNL 群では術後 7 日目から術前と比較して、海馬 BDNF の有意な低下が生じた。高齢群ではその変化の程度も若年群と比較して有意に大きかった。

実験3：神経障害性痛ラットに対する BDNF 経鼻投与の鎮痛効果

若年および高齢ラットを対象として、SNL 手術後 7-13 日目まで合計 7 日間連日 BDNF 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を経鼻投与した。術前 および術後 3、7、14、21 日目に PHB を評価した。

〔結果〕若年 SNL ラットでは、BDNF 投与群と対照群で、PHB に有意差が生じなかった。一方、高齢 SNL ラットは、BDNF 投与群で術後 14 日目および 21 日目に PHB の有意な改善が生じた。

【考察】

高齢ラットは若年ラットと比較して、末梢神経障害後に神経障害性痛が生じやすかった。また、その機序として海馬 BDNF 濃度の低下が重要である可能性が示唆された。さらに、外因性 BDNF 投与は加齢により増悪した神経障害性痛に有効である可能性が示された。

神経損傷に伴う脊髄 BDNF 増加は、神経障害性痛の発症機序に関連する報告されているが、その変化は神経損傷後 1-2 日後にピークとなり、その後低下する。しかし、海馬 BDNF は、術後 7-14 日後よりその減少がはじまり、21 日目まで持続する。このことは、海馬 BDNF の低下は、神経障害性痛の慢性化機序に関連する可能性が考えられる。また、海馬 BDNF 変化は高齢ラットに特異的であり、慢性痛の発生頻度が加齢に伴い増加するという臨床研究の結果を裏付けている。さらに、外因性 BDNF は経鼻投与することにより海馬特異的に作用させることが可能であり、高齢者慢性痛の新たな鎮痛ターゲットとしての可能性が考えられる。

学位申請者は、海馬 BDNF の低下が、神経障害性痛の発症機序に関連している可能性を明らかにし、高齢ラットに対して外因性 BDNF 投与することにより神経障害性痛を改善させることに成功した。さらに、申請者は、今後 BDNF が新たな慢性痛治療薬として臨床利用できるか、検証を続けたいとの意思を表明した。以上の結果から審査員一同は、本論文が高知大学博士（医学）に値すると判断した。

氏名(本籍)	田所 導子 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第75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31年3月22日
学位論文題目	Coronary artery anomalies detected with coronary CT angiography: prevalence, types, and results of a follow-up survey (冠動脈CTで指摘された先天性冠動脈異常 頻度、タイプ、および予後の追跡調査)
発表誌名	Japanese Journal of Diagnostic Imaging vol. 30, no. 2, p95-106, 2018. 2018年9月

審査委員	主査	教授	北岡	裕章
	副査	教授	渡橋	和政
	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	田所 導子
論文題目	Coronary artery anomalies detected with coronary CT angiography: prevalence, types, and results of a follow-up survey (冠動脈CTで指摘された先天性冠動脈異常 頻度、タイプ、および予後の追跡調査)
<p>(論文要旨)</p> <p>先天性冠動脈異常には様々な型があり、いくつかの型は若年者の突然死の原因となる事がよく知られている。近年心臓CTの普及により成人の先天性冠動脈異常がしばしば発見されるようになったが、その予後については十分明らかになっていない。我々は心臓CTで指摘された成人の先天性冠動脈異常症例を追跡調査した。本研究は心臓CTで発見された成人の先天性冠動脈異常について追跡調査する後ろ向き研究であり、その結果から予後は良く経過観察で十分か、虚血や突然死のリスクが高く、percutaneous coronary intervention : PCI や外科的な血行再建など積極的に施行すべきか、治療方針決定の一助とする事が目的である。</p> <p>2004年12月～2012年3月に県内2施設で心臓CTを施行された20歳以上の連続3886症例中、先天性冠動脈異常が指摘された87例を対象とした。うち1年以上経過観察できたのは75例で平均追跡期間は1980.3±753.9日だった。</p> <p>先天性冠動脈異常の内いくつかの型では、冠動脈が上行大動脈-肺動脈間や大動脈壁内で圧迫されたり、冠動脈起始部の角度が急峻でスリット状の狭窄をきたしたり、aneurysmal fistulaの破裂などにより突然死や心筋梗塞を起こす可能性がある。Yamanakaらは虚血や突然死を生じる原因となりうるpotentially serious typeと原因とはならないbenign typeに分けて、冠動脈造影検査における頻度を報告している。しかしCTではさらに詳細な走行位置や冠動脈起始角度、筋内走行の有無が評価可能となっているため、我々はYamanakaらの分類をもとに冠動脈起始角度(30°以下はハイリスクと報告されている)や走行位置(大動脈、肺動脈との位置関係、筋内走行の有無)の情報を加え、対象をpotentially serious typeとbenign typeに分類した。benign typeは40例で、内訳としては右冠動脈の高位起始と左前下行枝・回旋枝が上行大動脈から個別に起始する異常が多かった。potentially serious typeは35例で、右冠動脈の左冠尖起始が多かった。</p> <p>追跡調査により2例の死亡例、10例の虚血例があった。うち、benignとされるタイプの異常が8例を占めた。死亡例のうち1例は弁膜症術後の合併症が主な原因と考えられた。もう1例は大動脈解離の術後3か月で心不全により死亡したが、経過からは冠動脈起始異常の関連は否定的だった。また虚血例の責任病変はいずれも起始異常部からは離れた部位だった。</p>	

心臓 CT における先天性冠動脈異常の頻度は 2.24% (冠動脈起始異常 1.67%, 冠動脈瘻 0.54%)であった。これは近年の心臓 CT での報告と同程度である。冠動脈造影検査における先天性冠動脈異常の頻度はこれよりやや低く 0.61-1.3%と報告されている。これは CT の方が診断能が高いためと考えられており、実際に本検討においても先天性冠動脈異常症例のうち 17 症例は事前の冠動脈造影検査が施行されていたが、うち 12 症例では診断できていない、もしくは異常の存在は指摘できていたものの正しい型に診断できていなかった。

現在心臓 CT は先天性冠動脈異常診断のゴールドスタンダードとなっている。被曝のない MRA でも先天性冠動脈異常を指摘できると報告されているものの、空間分解能が CT より低く筋内走行の描出が困難であるというデメリットもある。経胸壁心エコーで先天性冠動脈異常を指摘できるとする文献もあるが、この検討において冠動脈造影検査より前に異常を指摘できた症例は 1 例もなく、エコーから指摘するためには相当な注意を要すると報告されている。

心臓 CT で指摘された成人の先天性冠動脈異常症例の追跡調査において、それに起因する虚血の発症や死亡例はみられなかった。今回の結果より、心臓 CT で偶発的に指摘された先天性冠動脈異常に対し積極的な血行再建術は必要とされない可能性がある。但し少施設での検討であり、また今後さらに長期予後について検討が望まれる。

論文審査の結果の要旨

		氏名	田所 導子
審査委員	主査氏名	北岡 裕章	
	副査氏名	渡橋 和政	
	副査氏名	由利 和也	

題 目 Coronary artery anomalies detected with coronary CT angiography: prevalence, types, and results of a follow-up survey
(冠動脈CTで指摘された先天性冠動脈異常 頻度、タイプ、および予後の追跡調査)

著 者 Michiko Tadokoro, Kenichi Yokoyama, Nobuhiro Miyazaki, Takao Okamura, Toshiaki Nitatori, Takuji Yamagami

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
Japanese Journal of Diagnostic Imaging vol.30, no.2, p95-106, 2018.
H30年9月

要 旨

先天性冠動脈異常には様々な型があり、いくつかの型は若年者の突然死の原因となる事がよく知られている。近年心臓CTの普及により成人の先天性冠動脈異常がしばしば発見されるようになったが、その予後については十分明らかになっていない。申請者らは心臓CTで指摘された成人の先天性冠動脈異常症例を追跡調査した。本研究は心臓CTで発見された成人の先天性冠動脈異常について追跡調査する後ろ向き研究であり、その結果から予後は良く経過観察で十分か、虚血や突然死のリスクが高く、percutaneous coronary intervention : PCI や外科的な血行再建など積極的に施行すべきか、治療方針決定の一助とする事が目的である。

2004年12月～2012年3月に県内2施設で心臓CTを施行された20歳以上の連続3886症例中、先天性冠動脈異常が指摘された87例を対象とした。うち1年以上経過観察できたのは75例で平均追跡期間は 1980.3 ± 753.9 日だった。

Yamanakaらは虚血や突然死を生じる原因となりうる potentially serious type と原因とはならない benign type に分けて、冠動脈造影検査における頻度を報告している。しかしCTではさらに詳細な走行位置や冠動脈起始角度、筋内走行の有無が評価可能となっているため、申請者らはYamanakaらの分類をもとに冠動脈起始角度(30° 以下はハイリスクと報告されている)や走行位置(大動脈、肺動脈との位置関係、筋内走行の有無)の情報を加え、対象を potentially serious type と benign type に分類した。benign type は40例で、内訳としては右冠動脈の高位起始と左前下行枝・回旋枝が上行大動脈から個別に起始する異常が多かった。potentially serious type は35例で、右冠動脈の左冠尖起始が多かった。

追跡調査により2例の死亡例、10例の虚血例があった。うち、benign とされるタイプの異常が8例を占めた。死亡例のうち1例は弁膜症術後の合併症が主な原因と考えられた。もう1例は大動脈解離の術後3か月で心不全により死亡したが、経過からは冠動脈起始異常の関連は否定的だった。また虚血例の責任病変はいずれも起始異常部からは離れた部位だった。

心臓CTにおける先天性冠動脈異常の頻度は2.24%(冠動脈起始異常1.67%、冠動脈瘻0.54%)であった。これは近年の心臓CTでの報告と同程度である。冠動脈造影検査における先天性冠動脈異常の頻度はこれよりやや低く0.61-1.3%と報告されている。これはCTの方が診断能が高いためと考えられており、実際に本検討においても先天性冠動脈異常症例のうち17症例は事前の冠動脈造影検査が施行されていたが、うち12症例では診断できていない、もしくは異常の存在は指摘できていたものの正しい型に診断できていなかった。

心臓CTで指摘された成人の先天性冠動脈異常症例の追跡調査において、それに起因する虚血の発症や死亡例はみられなかった。今回の結果より、心臓CTで偶発的に指摘された先天性冠動脈異常に対し積極的な血行再建術は必要とされない可能性がある。

心臓CTで診断された先天性冠動脈異常が、海外より報告された既報とは異なり、心血管事故との関連が乏しいとする本論文は、本邦の循環器疾患の臨床に寄与することが期待できる画期的研究論文であることから、審査委員一同は、本論文を本学博士(医学)の学位を授与するに値するものと判断した。

氏名(本籍)	西森 美貴 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第76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31年3月22日
学位論文題目	Comparison of MRI and 123I-FP-CIT SPECT for the evaluation of MSA-P clinical severity. (MSA-P患者の臨床重症度評価におけるMRIと123I-FP-CIT SPECTの比較)
発表誌名	Biomedical Reports. 8(6):523-528. 2018年4月

審査委員	主査	教授	數井	裕光
	副査	教授	上羽	哲也
	副査	教授	山口	正洋

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	西森美貴
論文題目	Comparison of MRI and 123I-FP-CIT SPECT for the evaluation of MSA-P clinical severity. (MSA-P患者の臨床重症度評価におけるMRIと123I-FP-CIT SPECTの比較)	
<p>背景</p> <p>パーキンソニズムを優位症状とする多系統萎縮症 (Multiple system atrophy with parkinsonism: MSA-P) は予後不良の進行性神経変性疾患であり、臨床重症度の把握は患者の予後や薬剤反応性を予測するうえで重要である。MSA-Pはパーキンソニズムや小脳症状、自律神経症状など様々な症状を呈し、臨床重症度診断が難しい要因となっているが、2004年、Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS) が多系統萎縮症の重症度評価基準として提唱され、現在まで広く用いられている。</p> <p>MSA-P の診断には、Magnetic resonance imaging (MRI) を用いた被殻、脳幹、小脳の異常について従来検討されてきた。一方で、123I-labeled 2β-carbomethoxy-3β-(4-iodophenyl)-N-(3-fluoropropyl) nortropane single photon emission computed tomography (123I-FP-CIT SPECT) は、パーキンソニズムにおけるドパミン神経脱落の程度を線条体集積の分布と程度から評価する核医学検査として最近注目を集めている。MSA-P を含む節前性ドパミン機能異常疾患では被殻後方優位の線条体集積低下が生じ、集積低下の程度について定量評価が可能である。</p> <p>MSA-P の予後予測や治療方針決定で欠かせない重症度診断において、MRIあるいは123I-FP-CIT SPECT のいずれの有用性が高いかについて今回後方視的に比較検討した。</p> <p>方法</p> <p>神経内科医により診断および UMSARS part IV に基づく重症度診断がされたMSA-P 患者17名を対象として、MRIと123I-FP-CIT SPECT を放射線科医2名の合議により比較した。MRIは17名全例に、123I-FP-CIT SPECT は17名中12名に施行された。MRI は被殻萎縮 (putaminal atrophy: PA)、被殻外側辺縁のT2強調画像高信号 (hyperintense putaminal rim: HPR)、T2強調画像での橋の横走線維の十字状あるいは逆T字状高信号 (hot cross bun sign: HCB)、小脳萎縮 (atrophy of cerebellar vermis and hemisphere: CA)、その他異常の有無が評価された。123I-FP-CIT SPECT は線条体集積 (striatal uptake: SU) の分布とspecific binding ratio (SBR) を用いた定量評価が検討された。</p>		




結果

17名の重症度は以下のとおりであった (Score 1: 1, Score 2: 6, Score 3: 8, Score 4: 2)。MRI でのHPR、HCB、CA とUMSARSの間には明らかな相関はみられなかったが、UMSARS スコアが上がるほどPAの頻度は有意に増加した ($p=0.04$)。123I-FP-CIT SPECT では全例が被殻後方優位の集積低下を示したが、SBR とUMSARSの間に相関はみられなかった。

結論

MSA-P のドパミン変性評価には123I-FP-CIT SPECT は視認性の高い画像診断検査であるが、重症度診断にはMRIの PA の有用性が高い。

論文審査の結果の要旨

	氏名	西森 美貴
審査委員	主査氏名	数井 裕光 
	副査氏名	上羽 哲也 
	副査氏名	山口 正洋 

題 目

Comparison of MRI and 123I-FP-CIT SPECT for the evaluation of MSA-P clinical severity.

(MSA-P患者の臨床重症度評価におけるMRIと123I-FP-CIT SPECTの比較)

著 者

Miki Nishimori, Yoriko Murata, Hitomi Iwasa, Kana Miyatake, Michiko Tadokoro, Shino Kohsaki, Munenobu Nogami, Norihiko Hamada, Hitoshi Ninomiya, Yasushi Osaki, Hirokazu Furuya, Takuji Yamagami.

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月

Biomedical Reports. 8(6):523-528
2018年4月

要 旨

【目的】多系統萎縮症 (Multiple system atrophy with parkinsonism: MSA-P) はパーキンソニズムを中心とし、その他、小脳症状、自律神経症状など多彩な臨床症状を呈する予後不良の進行性神経変性疾患である。MSA-P の臨床症状の重症度評価は、一般的には、2004年に発表された Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS)で行われる。一方、MSA-P の診断には、頭部MRI が用いられ、被殻、脳幹、小脳などに特異的な所見が認められる。さらに近年、パーキンソニズムにおけるドパミン神経脱落の程度を線条体集積の分布と程度とで評価できる 123I-labeled 2β-carbomethoxy-3β-(4-iodophenyl)-N-(3-fluoropropyl) nortropine single photon emission computed tomography (123I-FP-CIT SPECT) が MSA-P にも臨床応用されつつある。本検査は節前性ドパミン機能異常を明らかにできるため MSA-P において、被殻後方優位の線条体集積低下を描出でき、さらに集積低下の程度を定量評価可能である。しかし MSA-P の重症度評価を頭部MRI、あるいは 123I-FP-CIT SPECT ができるか否かを検討した報告はない。そこで本研究では、MSA-P の臨床症状

の重症度と頭部 MRI の特異的所見の有無との関係、¹²³I-FP-CIT SPECT の定量評価値との関係を検討し、両検査の本疾患の重症度評価における有用性を比較した。

【方法】 神経内科医により臨床診断、および全体的障害度の評価である UMSARS の part IV で重症度評価がなされた MSA-P17 例において、頭部 MRI は全例に、¹²³I-FP-CIT SPECT は 12 名例に施行されていた。これらの頭部 MRI と ¹²³I-FP-CIT SPECT 画像を放射線科医 2 名が合議により評価した。評価項目は MRI は被殻萎縮 (putaminal atrophy: PA)、被殻外側辺縁の T2 強調画像高信号 (hyperintense putaminal rim: HPR)、T2 強調画像での橋の横走線維の十字状あるいは逆 T 字状高信号 (hot cross bun sign: HCB)、小脳萎縮 (atrophy of cerebellar vermis and hemisphere: CA) の有無であった。一方、¹²³I-FP-CIT SPECT では線条体集積の定量的評価である specific binding ratio (SBR) を用いた。そして MRI 画像特徴の有無、および SBR と UMSARS の part IV スコアとの関係を検討した。

【結果】 17 例の UMSARS の part IV スコアの分布は、スコア 1 が 1 例、2 が 6 例、3 が 8 例、4 が 2 例であった。この重症度の症例分布と MRI での HPR、HCB、CAU それぞれの所見の有無との間には有意な相関はみられなかったが、PA の有無とは有意な正の相関を認めた ($p=0.04$)。一方、¹²³I-FP-CIT SPECT では全例で被殻後方優位の集積低下を示し、SBR と UMSARS の間には有意な相関は認められなかった。

【考察】 MSA-P の臨床的重症度評価において、頭部 MRI における比較の萎縮の有無は有用であるが、¹²³I-FP-CIT SPECT の SBR の有用性は低いことが明らかになった。前者の関係は、被殻の萎縮は、被殻背外側優位の神経脱落やグリオオシスに関連すると言われているため、この障害と関係するパーキンソニズムが臨床重症度の重要因子になっているためであると考えられた。後者の結果については、MSA-P においては、節前性ドパミン機能異常に加え、節後性ドパミン機能異常も生じているためシナプス節前機能のみを評価する ¹²³I-FP-CIT SPECT の SBR では捉えきれなかったためであると考えられた。ただし、本研究には、後方視的研究であり、症例数が少ない、頭部 MRI 画像については定量的評価ができていないなどの限界があった。今後はこれらの点を改善したデザインの研究で本研究結果の再現性を検証する必要がある。

学位申請者は、本研究により、MSA-P の臨床重症度評価に対する頭部 MRI の有用性を明らかにし、MSA-P の病態との関連を考察した。以上の結果は、神経変性疾患の重症度判定を神経画像検査で行うという新たな研究手法の確立につながると思われた。神経変性疾患の重症度判定は、現時点では臨床症状で行われていることが多い。しかし臨床症状による重症度判定は、評価者の主観に左右されやすいため再現性が乏しいという欠点があり、臨床研究や臨床治験の失敗の原因となっている。本研究は、新たな臨床研究の発展に資する成果であるため、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)	宮島 功 (静岡県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第77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31年3月22日
学位論文題目	Influence of nutrition support therapy on readmission among patients with acute heart failure in the intensive care unit: a single-center observational study (集中治療室に入院した急性心不全患者における急性期栄養療法が再入院に与える影響：前向き観察研究)
発表誌名	Clinical Nutrition (in press)

審査委員	主査	教授	北岡	裕章
	副査	教授	花崎	和弘
	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	宮島 功
論文題目	<p>Influence of nutrition support therapy on readmission among patients with acute heart failure in the intensive care unit: a single-center observational study (集中治療室に入院した急性心不全患者における急性期栄養療法が再入院に与える影響:前向き観察研究)</p>	
<p>(論文要旨)</p> <p>[背景・目的]</p> <p>心不全は、発症後5年間の生存率が50%と予後不良であり、予後因子の1つに低栄養がある。心不全患者の低栄養の割合は高く、急性心不全の75-90%が低栄養であるとの報告がある。また、慢性心不全患者は、退院後30日間の再入院率が25%と高く、医療コストの増大にも関連するため再入院の予防が求められる。慢性心不全患者に対する栄養介入により、予後やQOLを改善したとの報告があり、心不全患者における栄養介入の効果が示されている。</p> <p>しかし、急性心不全患者における急性期の栄養療法と長期予後に関する報告はない。我々は急性期の栄養療法、特にカロリーとたんぱく質が、集中治療室に入院した急性心不全患者の再入院率に影響するという仮説を立て、前向き観察研究を行った。</p> <p>[方法]</p> <p>2016年4月から2017年3月に、急性心不全の診断にて集中治療室に入院した全ての患者のうち、14日以上入院し、生存退院した成人患者を対象とした。入院3, 7, 14日と退院時の栄養摂取の内容を記録した。主要評価項目は栄養療法と退院180日間の心不全関連再入院との関連とした。心不全関連再入院は心不全、不整脈、脳梗塞、脳出血と心臓に関連する緊急手術のための入院と定義した。退院後180日間の心不全関連の再入院の有無で心不全関連再入院群と非再入院群の2群に分けた。単変量解析でp値が0.05未満であったものと臨床的に重要な因子を含めて多変量解析を実施した。</p> <p>[結果]</p> <p>研究期間中に14日以上入院し生存退院した患者は230名であった。このうち、103名(44.8%)</p>		

が退院 180 日間で再入院し、60 名が心不全関連の再入院（心不全関連再入院群）であった。一方、127 名は再入院をしなかった（非再入院群）。入院 3 日目の摂取エネルギー量及びたんぱく質量は、心不全関連再入院群で有意に高値であった [20.5 (14.2, 27.8) vs. 27.7 (22.5, 31.2) kcal/kg/day, $p < 0.001$; 0.7 (0.5, 0.9) vs. 0.9 (0.7, 1.2) g/kg/day, $p < 0.001$]。同様に、入室 7 日目の摂取たんぱく質量は、心不全関連再入院群で有意に高値であった [0.8 (0.6, 1.0) vs. 0.9 (0.7, 1.2) g/kg/day, $p = 0.04$]。多変量解析の結果、入室 3 日目の摂取エネルギー量が再入院に影響する独立因子であった [オッズ比 = 1.05, 95%信頼区間 = 1.01–1.09, $p = 0.006$]。

【考察】

本研究の結果から、急性心不全患者において入室 3 日目の摂取エネルギー量が高いことが、再入院率を高めることが示唆された。この研究は、急性心不全患者において、急性期の栄養療法のうち特に、エネルギー量と時期が再入院を防ぐために重要である可能性を示唆する最初の研究である。




これまでの研究で、集中治療室への入室早期では、必要エネルギー量を充足しない方が、予後が良いことが示されている。本研究でも、入室 3 日目の摂取エネルギー量は、心不全関連再入院群では 27.7kcal/kg/day（目標量の 100%）であるのに対し、非再入院群では 20.5kcal/kg/day（目標量の 76.2%）であった。また、最近の研究で、急性期に 18kcal/kg/day 以上投与することがと死亡率の増加との関連が指摘された。入室 3 日目の摂取エネルギー量の cut off 値を 18kcal/kg/day とした場合、これ以上摂取した群で、退院後 180 日間の再入院率が有意に高値であった。このことから、集中治療室入室早期の高い摂取エネルギー量が死亡率だけでなく、急性心不全患者の再入院にも影響することが示唆された。

一方、ガイドラインでは重症患者の摂取たんぱく質量は、1.2-2.0g/kg/day が推奨されている。本研究では、入室 7 日目、14 日目でも摂取たんぱく質量がガイドラインの推奨量の 45-75%に留まっていた。また、過去の研究から過剰なカロリーがオートファジーを抑制し、臓器障害からの回復を阻害することが示唆されているが、本研究ではカロリー摂取と再入院のメカニズムについては検討できていない。そのため、本研究の結果を確認する基礎研究や前向き比較試験が必要である。

【結語】

本研究の結果より、集中治療室に入院した急性心不全患者において、入院 3 日目の 18kcal/kg/day 以上の摂取エネルギー量は、退院後 180 日間の心不全関連再入院を増加することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

	氏名	宮島 功
審査委員	主査氏名	北岡 裕章 
	副査氏名	花崎 和弘 
	副査氏名	奥原 義保 

題 目 Influence of nutrition support therapy on readmission among patients with acute heart failure in the intensive care unit: a single-center observational study

(集中治療室に入院した急性心不全患者における急性期栄養療法が再入院に与える影響：前向き観察研究)

著 者

Isao Miyajima, Tomoaki Yatabe, Hajime Kuroiwa, Takahiko Tamura, Masataka Yokoyama

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、 年 月

Clinical Nutrition
(in press)

要旨 [背景・目的]

心不全は、発症後5年間の生存率が50%と予後不良であり、予後因子の1つに低栄養がある。心不全患者の低栄養の割合は高く、急性心不全の75-90%が低栄養であるとの報告がある。また、慢性心不全患者は、退院後30日間の再入院率が25%と高く、医療コストの増大にも関連するため再入院の予防が求められる。慢性心不全患者に対する栄養介入により、予後やQOLを改善したとの報告があり、心不全患者における栄養介入の効果が示されている。しかし、急性心不全患者における急性期の栄養療法と長期予後に関する報告はない。我々は急性期の栄養療法、特にカロリーとたんぱく質量が、集中治療室に入院した急性心不全患者の再入院率に影響するという仮説を立て、前向き観察研究を行った。

[方法]

2016年4月から2017年3月に、急性心不全の診断にて集中治療室に入院した全ての患者のうち、14日以上入院し、生存退院した成人患者を対象とした。入院3,7,14日と退院時の栄養摂取の内容を記録した。主要評価項目は栄養療法と退院180日間の心不全関連再入院との関連とした。心不全関連再入院は心不全、不整脈、脳梗塞、脳出血と心臓に関連する緊急手術のための入院と定義した。退院後180日間の心不全関連の再入院の有無で心不全関連再入院群と非再入院群の2群に分けた。単変量解析でp値が0.05未満であったものと臨床的に重要な因子を含めて多変量解析を実施した。

[結果]

研究期間中に14日以上入院し生存退院した患者は230名であった。このうち、103名(44.8%)が退院180日間で再入院し、60名が心不全関連の再入院(心不全関連再入院群)であった。一方、127名は再入院をしなかった(非再入院群)。入院3日目の摂取エネルギー量及びたんぱく質量は、心不全関連再入院群で有意に高値であった[20.5(14.2, 27.8) vs. 27.7(22.5, 31.2) kcal/kg/day, $p < 0.001$; 0.7(0.5, 0.9) vs. 0.9(0.7, 1.2) g/kg/day, $p < 0.001$]。同様に、入室7日目の摂取たんぱく質量は、心不全関連再入院群で有意に高値であった[0.8(0.6, 1.0) vs. 0.9(0.7, 1.2) g/kg/day, $p = 0.04$]。多変量解析の結果、入室3日目の摂取エネルギー量が再入院に影響する独立因子であった[オッズ比= 1.05, 95%信頼区間=1.01-1.09, $p = 0.006$]。

[考察]

本研究の結果から、急性心不全患者において入室3日目の摂取エネルギー量が高いことが、再入院率を高めることが示唆された。この研究は、急性心不全患者において、急性期の栄養療法のうち特に、エネルギー量と時期が再入院を防ぐために重要である可能性を示唆する最初の研究である。これまでの研究で、集中治療室への入室早期では、必要エネルギー量を充足しない方が、予後が良いことが示されている。本研究でも、入室3日目の摂取エネルギー量は、心不全関連再入院群では27.7kcal/kg/day(目標量の100%)であるのに対し、非再入院群では20.5kcal/kg/day(目標量の76.2%)であった。また、最近の研究で、急性期に18kcal/kg/day以上投与することと死亡率の増加との関連が指摘された。入室3日目の摂取エネルギー量のcutoff値を18kcal/kg/dayとした場合、これ以上摂取した群で、退院後180日間の再入院率が有意に高値であった。このことから、集中治療室入室早期の高い摂取エネルギー量が死亡率だけでなく、急性心不全患者の再入院にも影響することが示唆された。一方、ガイドラインでは重症患者の摂取たんぱく質量は、1.2-2.0g/kg/dayが推奨されている。本研究では、入室7日目、14日目でも摂取たんぱく質量がガイドラインの推奨量の45-75%に留まっていた。また、過去の研究から過剰なカロリーがオートファジーを抑制し、臓器障

害からの回復を阻害することが示唆されているが、本研究ではカロリー摂取と再入院のメカニズムについては検討できていない。そのため、本研究の結果を確認する基礎研究や前向き比較試験が必要である。

[結語]

本研究の結果より、集中治療室に入院した急性心不全患者において、入院 3 日目の 18kcal/kg/day 以上の摂取エネルギー量は、退院後 180 日間の心不全関連再入院を増加することが示唆された。

心不全の急性期の多い摂取エネルギー量が、再入院の規定因子である可能性を示した本論文は、急性心不全の栄養療法における新しい知見であり、審査委員一同は、本論文を本学士（医学）の学位を授与するに値するものと判断した。

氏名(本籍)	山中 大樹 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第78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31年3月22日
学位論文題目	Preventive effects of dexmedetomidine on the development of cognitive Dysfunction following systemic inflammation in aged rats (高齢ラットでの全身炎症時における認知機能に対するデクスメデトミジンの有効性)
発表誌名	Journal of Anesthesia 31(1):25~35. 2017年2月

審査委員

主査	教授	宮村	充彦
副査	教授	花崎	和弘
副査	教授	數井	裕光

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

論文題目	氏名 山中 大樹 Preventive effects of dexmedetomidine on the development of cognitive Dysfunction following systemic inflammation in aged rats (高齢ラットでの全身炎症時における認知機能に対するデクスメデトミジンの有効性)
<p>【序文】 手術、重症感染症などにより生じる全身炎症は高齢者において長期的な認知機能障害の発症と関連する。また、全身炎症後認知障害は患者 QOL、予後に関与するとされており、脳内神経炎症がその病態に重要な役割を果たすと考えられている。デクスメデトミジンは選択的中枢性 α_{2A} アドレナリン受容体作動薬であり、安全で質の高い鎮静薬として広く臨床使用されている。近年、デクスメデトミジンの使用により、手術後の認知機能障害および、術後せん妄を予防できることが示唆されているが、その機序については解明されていない。そこで、本研究は全身炎症後の脳内神経炎症に対するデクスメデトミジンの役割、認知障害に対する機序、その効果が予防的か治療的かについて高齢ラットを用いて検討することとした。</p> <p>【方法・結果】 対象動物は高齢(19~23ヶ月齢) Wister系雄性ラットとした。全身炎症モデルとしてグラム陰性菌の細胞壁成分であるLipopolysaccharide (LPS) 5.0mg/kgの腹腔内投与を行った。</p> <p>実験1：全身炎症後の認知障害とデクスメデトミジンの効果 LPSと生理食塩水を投与し、7日目に認知機能を新規物体認識試験で測定した。プロトコールとしてデクスメデトミジン早期投与群、後期投与群、ミダゾラム投与群に分け、早期投与群ではLPSと同時に10μg/kgのデクスメデトミジンを3時間ごとに計4回、腹腔内投与を行い、後期投与群ではLPS投与24時間後に、10μg/kgのデクスメデトミジンを3時間ごとに計4回、腹腔内投与した。さらに、デクスメデトミジンの効果がアドレナリン受容体を介するかについて、拮抗薬の前処理を用いて検討することとした。 【結果】 全身炎症後認知機能障害はデクスメデトミジン早期投与で有意に抑制されたが、後期投与、ミダゾラム投与では抑制効果を認めなかった。また、デクスメデトミジンの効果は α_{2A} アドレナリン受容体拮抗薬の前処置で棄却された。</p> <p>実験2：全身炎症後の海馬サイトカイン測定によるデクスメデトミジンの効果 認知機能試験後、海馬を摘出し、炎症性サイトカインであるTNF-α、IL-1βの濃度をE LISA法で測定した。</p>	

【結果】LPS投与により増加した海馬のTNF- α 、IL-1 β の濃度はデクスメデトミジン早期投与で有意に抑制されたが、後期投与、ミダゾラム投与では抑制効果を認めなかった。さらに、デクスメデトミジンの効果は α_{2A} アドレナリン受容体拮抗薬の前処置で棄却された。

実験3：ミクログリアの炎症反応性とデクスメデトミジンの効果

海馬摘出後、リアルタイムPCRを用いてミクログリアのToll like受容体4 (TLR-4) mRNAの発現を測定した。

【結果】LPSによって引き起こされた、全身炎症時におけるミクログリアのTLR-4 mRNAの発現はデクスメデトミジン早期投与で有意に抑制されたが、後期投与、ミダゾラム投与では抑制効果を認めなかった。さらに、デクスメデトミジンの効果は α_{2A} アドレナリン受容体拮抗薬の前処置で棄却された。

実験4：LPSに対するTNF- α の放出応答とデクスメデトミジンの効果

急性単離したミクログリアを用いてLPSに対するTNF- α の放出応答を測定し、ミクログリアの活性化状態を評価した。

【結果】LPSによって引き起こされたTNF- α の放出応答はデクスメデトミジンの早期投与で抑制されたが、後期投与、ミダゾラム投与では抑制効果を認めなかった。さらに、デクスメデトミジンの効果は α_{2A} アドレナリン受容体拮抗薬の前処置で棄却された。




【考察】

本研究で、臨床使用濃度のデクスメデトミジンはミクログリアの炎症反応性および、それに関連する認知障害を抑制できたことから、末梢および中枢組織において抗炎症作用を有することが示唆された。また、炎症反応に重要な膜蛋白であるTLR-4の発現も抑制した。しかし、全身炎症消退後のデクスメデトミジン投与では全身炎症反応後の認知機能障害を治療する効果を認めなかった。この機序として、高齢ミクログリアではそのフェノタイプを決定する膜表面蛋白の発現が変化することが考えられており、デクスメデトミジンは一度発生した膜蛋白に関しては効果がないことが考えられた。さらに、デクスメデトミジンはミクログリアからのTNF- α の放出応答を抑制したが、この作用は α_{2A} アドレナリン受容体拮抗薬の前処置によって消失した。ミクログリアをはじめとする免疫担当細胞には α_{2A} アドレナリン受容体が発現しており、これらの結果から抗炎症効果はデクスメデトミジンの α_{2A} アドレナリン受容体を介する末梢および、中枢の免疫担当細胞への直接作用と考えられる。

【結語】

全身炎症時のデクスメデトミジン投与は海馬の脳内神経炎症を抑制し、その後の認知障害を予防した。また、その機序は α_{2A} アドレナリン受容体を介する作用であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

	氏名	山中 大樹
審査委員	主査氏名	宮村 充彦 
	副査氏名	花崎 和弘 
	副査氏名	数井 裕光 

題 目 Preventive effects of dexmedetomidine on the development of cognitive dysfunction following systemic inflammation in aged rats
(高齢ラットでの全身炎症時における認知機能に対するデクスメドミジンの有効性)

著 者 Daiki Yamanaka・Takashi Kawano・Atsushi Nishigaki・Bun Aoyama・Hiroki Tateiwa・Marie Shigematsu-Locatelli・Fabricio M Locatelli・Masataka Yokoyama

発表誌名、巻(号)、ページ(～)、年 月
Journal of Anesthesia 31(1):25～35
2017年2月

要 旨

手術、重症感染症などにより生じる全身炎症は高齢者において長期的な認知機能障害の発症と関連する。また、全身炎症後認知障害は患者 QOL、予後に関与するとされており、脳内神経炎症がその病態に重要な役割を果たすと考えられている。デクスメドミジンは選択的中枢性 α 2A アドレナリン受容体作動薬であり、安全で質の高い鎮静薬として広く臨床使用されている。近年、デクスメドミジンの使用により、手術後の認知機能障害を予防できることが示唆されているが、その機序については解明されていない。

この様な背景から、学位申請者は、全身炎症後の脳内神経炎症に対するデクスメドミジンの役割、認知障害に対する機序、その効果が予防的か治療的かについて、高齢ラットを用いて検討した。本研究は、高知大学動物実験委員会の承認を得、高知大学動物実験管理規則に則って行った。

全身炎症モデル動物の作製は、高齢(19～23ヶ月齢) Wister 系雄性ラットにグラム陰性菌の細胞壁成分である Lipopolysaccharide (LPS) 5.0mg/kg の腹腔内投与を行った。

実験は、以下の4つの検討である。

1) 全身炎症後の認知障害とデクスメドミジンの効果

LPS と生理食塩水を投与し、7日目に認知機能を新規物体認識試験で測定した。プロトコールとしてデクスメドミジン早期投与群、後期投与群、ミダゾラム投与群に分け、早期投与群では LPS と同時に予防的に $10\mu\text{g}/\text{kg}$ のデクスメドミジンを3時間ごとに計4回、腹腔内投与を行い、後

期投与群ではLPS投与24時間後に、治療的に $10\mu\text{g}/\text{kg}$ のデクスメデトミジンを3時間ごとに計4回、腹腔内投与した。さらに、デクスメデトミジンの効果がアドレナリン受容体を介するかについて、拮抗薬の前処理を用いて検討することとした。その結果、全身炎症後認知機能障害はデクスメデトミジン早期投与で有意に抑制されたが、後期投与、ミダゾラム投与では抑制効果を認めなかった。また、デクスメデトミジンの効果は $\alpha 2\text{A}$ アドレナリン受容体拮抗薬の前処置で棄却された。

2) 全身炎症後の海馬サイトカイン測定によるデクスメデトミジンの効果

認知機能試験後、海馬を摘出し、炎症性サイトカインである $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ の濃度をELISA法で測定した。その結果、LPS投与により増加した海馬の $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ の濃度はデクスメデトミジン早期投与で有意に抑制されたが、後期投与、ミダゾラム投与では抑制効果を認めなかった。さらに、デクスメデトミジンの効果は $\alpha 2\text{A}$ アドレナリン受容体拮抗薬の前処置で棄却された。

3) ミクログリアの炎症反応性とデクスメデトミジンの効果

海馬摘出後、リアルタイムPCRを用いてミクログリアのToll like受容体4 (TLR-4) mRNAの発現を測定した。その結果、LPSによって引き起こされた全身炎症時におけるミクログリアのTLR-4 mRNAの発現は、デクスメデトミジン早期投与で有意に抑制されたが、後期投与、ミダゾラム投与では抑制効果を認めなかった。さらに、デクスメデトミジンの効果は $\alpha 2\text{A}$ アドレナリン受容体拮抗薬の前処置で棄却された。

4) ミクログリアのLPSに対する $\text{TNF-}\alpha$ の放出応答とデクスメデトミジンの効果

単離したミクログリアを用いてLPSに対する $\text{TNF-}\alpha$ の放出応答を測定し、ミクログリアの活性化状態を評価した。その結果、LPSによって引き起こされた $\text{TNF-}\alpha$ の放出応答はデクスメデトミジンの早期投与で抑制されたが、後期投与、ミダゾラム投与では抑制効果を認めなかった。さらに、デクスメデトミジンの効果は $\alpha 2\text{A}$ アドレナリン受容体拮抗薬の前処置で棄却された。

以上のことから、デクスメデトミジンは、ミクログリアの炎症反応性および、それに関連する認知障害を抑制し、末梢および中枢組織において抗炎症作用を有することが示唆された。また、炎症反応に重要な膜蛋白であるTLR-4の発現も抑制した。しかし、全身炎症消退後のデクスメデトミジン投与では全身炎症反応後の認知機能障害を治療する効果を認めなかった。これらの機序として、高齢ミクログリアではそのフェノタイプを決定する膜表面蛋白の発現が変化することが考えられており、デクスメデトミジンは一度発生した膜蛋白に関しては効果がないと考察している。さらに、デクスメデトミジンはミクログリアからの $\text{TNF-}\alpha$ の放出応答を抑制したが、この作用は $\alpha 2\text{A}$ アドレナリン受容体拮抗薬の前処置によって消失した。ミクログリアをはじめとする免疫担当細胞には $\alpha 2\text{A}$ アドレナリン受容体が発現しており、これらの結果から抗炎症効果はデクスメデトミジンの $\alpha 2\text{A}$ アドレナリン受容体を介する末梢および、中枢の免疫担当細胞への直接作用と考察している。

学位申請者は、本研究により、全身炎症時のデクスメデトミジン投与は海馬の脳内神経炎症を抑制し、その後の認知障害を予防することを明らかとし、また、その機序として、選択的に $\alpha 2\text{A}$ アドレナリン受容体を介する作用であることを示唆した。以上の結果は、鎮静薬として広く臨床使用されているデクスメデトミジンは、手術後の認知機能障害を予防できることを前臨床において立証し、特に、高齢化社会を視野にいたる術後管理さらには薬物療法に関わる貴重な資料であることより、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)	依光 直美 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第79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31年3月22日
学位論文題目	Severity of nausea and vomiting in singleton and twin pregnancies in relation to fetal sex: the Japan Environment and Children's Study (JECS) (つわりの程度と胎児の性別、胎児数の関連性について: 子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)より)
発表誌名	Journal of Epidemiology Vol. 29, No. 9. 2018年11月10日 (Epub ahead of print)

審査委員 主査 教授 藤本 新平
 副査 教授 安田 誠史
 副査 教授 山口 正洋

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	依光 直美
論文題目	Severity of nausea and vomiting in singleton and twin pregnancies in relation to fetal sex: the Japan Environment and Children's Study (JECS) (つわりの程度と胎児の性別、胎児数の関連性について：子どもの健康と環境に関する全国調査（エコチル調査）より）	
<p>(論文要旨)</p> <p>【背景】 つわりは妊娠によって起こる消化器系の症状を主とした症候で全妊婦の70～80%に認められる。妊娠によってつわりの症状が引き起こされる機序については、内分泌因子の関連が考えられているが不明な点も多い。遺伝的要因も大きな役割を果たすと考えられ、そのほか、若年、教育年数が低い、非喫煙者、肥満、多胎などがつわりのリスク因子として報告されている。胎児の性別とつわり症状の関連性についての研究も過去に行われてはいるが、一定の結論には至っていない。</p> <p>【目的】 本研究は日本における大規模コホート研究である「子どもの健康と環境に関する全国調査(以下エコチル調査)」のデータを用い、胎児の性別や胎児数(双胎であるか単胎であるか)とつわり症状の関連性を検討することを目的とする。</p> <p>【方法】 本研究の対象はエコチル調査参加者である。エコチル調査とは、全国10万組の親子を対象とし、母親が妊娠中から対象児が13歳になるまで追跡調査を行う長期的な出生コホート調査である。この調査では妊娠時・出産時に質問票調査や生体試料の採取、診察記録表の記入が行われ、出産後は6か月毎に質問票による調査が実施されている。 曝露因子は胎児の性別、胎児数(単胎、双胎)とし、双胎は胎児の性別の組み合わせにより男児二人、男児女児一人ずつ、女児二人の3群にわけた。 アウトカムであるつわりについての情報は妊娠中期の質問票から得た。参加者は「妊娠12週ころまでにつわりを経験しましたか?」という質問に対し、「なかった」、「嘔気のみ」、「嘔吐するが食事はとれた」、「嘔吐し食事もとれなかった」の4つの選択肢の中から回答した。つわり症状の有無(「なかった」と回答した群とそれ以外の回答をした群)や程度(「嘔吐し食事もとれなかった」と回答した群とそれ以外の群)をそれぞれ二値変数とし、分娩歴、母親の年齢、母親の妊娠中の喫煙、母親の教育歴、母親の妊娠前のBMIを交絡因子とし多重ロジスティック解析を行った。</p> <p>【結果】 解析の対象となった91,666人のうち、75,828(82.7%)がつわりを経験していた。男児の妊娠に比べ女児の妊娠で、単胎妊娠に比べ多胎妊娠で、何らかのつわり症状を経験するリスク、より強い症状のつわりを経験するリスクがともに高くなっていた。さらに、多胎妊娠の中では女児二人の組み合わせの妊娠で何らかのつわり症状を経験するリスク、より強い症状のつわりを経験するリスクがともに最も高くなっていた。胎児の性別と胎児数の間には交互作用</p>		

はみられなかった。

【考察】




胎児の性別、胎児数ともにつわり症状の有無や程度に関連していた。サンプルサイズが大きいことはこの研究の強みであり、多胎を性別の組み合わせで3群に分けて検討することができた。一方で、つわり症状についての情報は自己申告であること、頻度や期間についての情報が得られていないこと、家族歴等遺伝的因子の検討が出来ていないことは研究の限界といえる。

つわりの機序は未だ明らかにはされていないが、ヒト絨毛ゴナドトロピン(hCG)が妊娠初期に急激に上昇することが関連していると推測されている。胎児の性別によるつわり症状の差もhCGの差によるのではないかと考えられている。そのほか、胎盤重量や出生体重/胎盤重量比がつわり症状に影響を与えているという仮説もあるがこれらの仮説に対しては過去の研究でも一定の結論はでていない。我々の今回の検討ではhCGや胎盤重量、出生体重/胎盤重量比についての検討は行っていないためこれらの検討は今後の研究課題である。

【結論】

胎児の性別、胎児数ともにつわり症状の有無や程度に関連し、女兒と多胎はつわり、中でもより強い症状のつわりのリスク因子であった。つわり症状がひきおこされるメカニズムについては不明な点が多いが、今回の研究結果がその解明の一助となりうる。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	依光 直美
審 査 委 員	主 査 氏 名	藤本 新平 
	副 査 氏 名	安田 誠史 
	副 査 氏 名	山口 正洋 

題 目 Severity of nausea and vomiting in singleton and twin pregnancies in relation to fetal sex: the Japan Environment and Children's Study (JECS)
 (つわりの程度と胎児の性別、胎児数の関連性について：子どもの健康と環境に関する全国調査 (エコチル調査) より)

著 者 Naomi Mitsuda, Masamitsu Eitoku, Nagamasa Maeda, Mikiya Fujieda, Narufumi Suganuma

発表誌名、巻 (号)、ページ (~), 年 月
 Journal of Epidemiology Vol, 29, No. 9
 2018年 11月 10日 (Epub ahead of print)

要 旨

【背景・目的】つわりは妊娠によって起こる消化器系の症状を主とした症候である。つわりの症状が引き起こされる機序については、内分泌因子の関連、遺伝的要因が考えられているが不明な点も多い。さらに、若年、教育年数が低い、非喫煙者、肥満、多胎などがつわりのリスク因子として報告されている。先行研究で、胎児の性別とつわり症状の関連性も検討されているが、一定の結論には至っていない。本研究は日本における大規模コホート研究である「子どもの健康と環境に関する全国調査 (以下エコチル調査)」のデータを用い、胎児の性別や胎児数とつわり症状の関連性を検討することを目的とした。

【対象・方法】エコチル調査参加者を対象とした。

変数は胎児の性別、胎児数 (単胎、双胎) とし、双胎は胎児の性別の組み合わせにより男児二人、男児女児一人ずつ、女児二人の 3 群に分類した。

アウトカムであるつわりについての情報は妊娠中期の質問票から得た。参加者は「妊娠 12 週ころまでにつわりを経験しましたか?」という質問に対し、「なかった」、「嘔気のみ」、「嘔吐するが食事はとれた」、「嘔吐し食事もとれなかった」の 4 つの選択肢の中から回答し、それぞれ「つわり無し」、「嘔気のみ」、「中等度のつわり」、「重度のつわり」群とした。つわり症状の有無 (「つわり無し」群とそれ以外の群) や程度 (「重度のつわり」群とそれ以外の群) をそれぞれ二値変数とし、分娩歴、母親の年齢、母親の妊娠中の喫煙、母親の教育歴、母親の妊娠前の BMI を交絡因子とし多重ロジスティック解析を行った。

【結果】解析の対象となった 91,666 人のうち、75,828 人 (82.7%) がつわりを経験しており、10,159 人 (11.1%) が重度のつわりを経験していた。男児の妊娠に比べ女児の妊娠で、単胎妊娠に比べ双胎妊娠で、つわりのオッズ比と重度のつわりのオッズ比がともに高かった。さらに、双胎においては男児二人の妊娠に比べ女児二人もしくは女児・男児一人ずつの妊娠で、つわりのオッズ比と重度のつわりのオッズ比がともに高かった。胎児の性別と胎児数の間にはつわり経験に関して交互作用はみられなかった。

【結論】女児出生と多胎はつわり、中でも重度のつわりのリスク因子であった。つわり症状が引き起こされるメカニズムについては不明な点が多いが、今回の研究結果がその解明の一助となりうる。

本論文では、大規模コホートで、胎児の性別および胎児数とつわり経験との関連を検討しており、つわりの機序解明に大いに寄与すると考えられる。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)	上羽 佑亮 (兵庫県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第80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31年3月22日
学位論文題目	Attenuation of zinc-enhanced inflammatory M1 phenotype of microglia by peridinin protects against short-term spatial-memory impairment following cerebral ischemia in mice (マウス脳虚血時の亜鉛惹起性ミクログリアM1極性誘導の増悪とそれに伴う空間認知機能障害に対するペリジニンによる改善効果に関する研究)
発表誌名	Biochemical and Biophysical Research Communications, 507 (2018) 476-483. 2018年12月9日

審査委員	主査	教授	古谷	博和
	副査	教授	数井	裕光
	副査	教授	山口	正洋




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	上羽 佑亮
論文題目	Attenuation of zinc-enhanced inflammatory M1 phenotype of microglia by peridinin protects against short-term spatial-memory impairment following cerebral ischemia in mice. (マウス脳虚血時の亜鉛惹起性ミクログリアM1極性誘導の増悪とそれに伴う空間認知機能障害に対するペリジニンによる改善効果に関する研究)	
(論文要旨)		
<p>【目的】ミクログリアは中枢神経系における免疫担当細胞であり、活性化すると炎症性のM1型、または抗炎症性のM2型に極性誘導されることが知られている。これまでに共著者であるHigashiらが、脳虚血・再灌流直後の海馬神経細胞から放出されるZn^{2+}がミクログリア内の活性酸素産生を介したM1型誘導と炎症応答の増悪化を惹起することを報告している。本研究は、海洋微細藻由来化合物であるPeridininがZn^{2+}によるミクログリアへの効果を抑制するか否かを検討した研究である。</p> <p>【方法】マウス由来初代培養ミクログリアにPeridinin (30-300 ng/mL) 存在下で$ZnCl_2$ (60 μM) を前処置し、その後、lipopolysaccharide (LPS, 1 ng/mL) を添加することでM1型へ誘導した。LPS添加後のIL-1β、IL-6、TNFα量はELISA法で検討した。$ZnCl_2$処置後の細胞内の活性酸素産生を検討するため、活性酸素プローブ(DHE)を細胞に取り込ませ、Peridinin存在下で$ZnCl_2$処置を行った。また、PeridininとZn^{2+}が直接的に結合するか否かを検討するため、High Performance Liquid Chromatography (HPLC) を用いてPeridinin単独とZn^{2+}存在下での紫外可視吸収スペクトラルを比較した。更に、Peridinin (20-200 ng/mL) を脳室内前投与したマウス (C57BL/6、12週齢) の両側総頸動脈を20分間閉塞し、3日後の海馬におけるIL-1β、IL-6、TNFα発現レベルをRT-PCR法で、M1マーカー分子 (CD16/32) の発現を免疫組織化学染色で検討した。また、同モデルを用いたY迷路課題による行動解析により短期空間記憶の評価を行った。</p> <p>【結果】Peridininは、$ZnCl_2$前処置によるM1型ミクログリアのIL-1β、IL-6、TNFα産生の増大化、並びに細胞内DHE陽性シグナルの増加を抑制した。また、HPLCによる検討では、PeridininはZn^{2+}存在下においても紫外可視スペクトラルに変化を認めず、Zn^{2+}と直接結合しないことが示された。脳虚血・再灌流後のIL-1β、IL-6、TNFα発現誘導ならびにM1型誘導はPeridinin脳室内前投与により阻止された。また、Y字迷路課題においてもPeridinin投与群で虚血・再灌流後の短期空間記憶の障害が阻止されていた。</p> <p>【考察】以上の知見は、Peridininが脳虚血・再灌流後の放出Zn^{2+}によって増大化するミクログリアのM1型誘導ならびに炎症性サイトカイン産生を抑制し、短期空間記憶の障害を阻止することを示しており、その分子機序に$ZnCl_2$誘導性活性酸素産生に対する抑制機構が関与していることを示唆する新しい知見である。</p>		

論文審査の結果の要旨

	氏名	上羽 佑亮
審査委員	主査氏名	古谷 博和 
	副査氏名	数井 裕光 
	副査氏名	山口 正洋 

題 目 Attenuation of zinc-enhanced inflammatory M1 phenotype of microglia by peridinin protects against short-term spatial-memory impairment following cerebral ischemia in mice.
 (マウス脳虚血時の亜鉛惹起性ミクログリアM1極性誘導の増悪とそれに伴う空間認知機能障害に対するペリジニンによる改善効果に関する研究)

著 者 Yusuke Ueba, Takaaki Aratake, Ken-ichi Onodera, Youichirou Higashi, Tomoya Hamada, Takahiro Shimizu, Shogo Shimizu, Toshio Yawata, Rina Nakamura, Toshifumi Akizawa, Tetsuya Ueba, Motoaki Saito

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 Biochemical and Biophysical Research Communications, 507(2018)476-483
 2018年12月9日

要 旨

【目的】ミクログリアは中枢神経系における免疫担当細胞であり、活性化すると炎症性のM1型、または抗炎症性のM2型に極性誘導されることが知られている。これまでに共著者であるHigashiらが、脳虚血・再灌流直後の海馬神経細胞から放出されるZn²⁺がミクログリア内の活性酸素産生を介したM1型誘導と炎症応答の増悪化を惹起することを報告している。本研究は海洋微細藻由来化合物であるPeridininが、Zn²⁺によるミクログリアへの効果を抑制するか否かを検討した研究である。

【方法】マウス由来初代培養ミクログリアにPeridinin(30-300ng/mL)存在下でZnCl₂(60μM)を前処置し、その後、lipopolysaccharide(LPS、1ng/mL)を添加することでM1型へ誘導した。LPS添加後のIL-1β、IL-6、TNFα量はELISA法で検討した。ZnCl₂処置後の細胞内の活性酸素産生を検討するため、活性酸素プローブ(DHE)を細胞に取り込ませ、Peridinin

存在下で $ZnCl_2$ 処置を行った。また Peridinin と Zn^{2+} が直接的に結合するか否かを検討するため、High Performance Liquid Chromatography (HPLC) を用いて Peridinin 単独と Zn^{2+} 存在下での紫外可視吸収スペクトラルを比較した。更に Peridinin (20-200ng/mL) を脳室内前投与したマウス (C57BL/6, 12 週齢) の両側総頸動脈を 20 分間閉塞し、3 日後の海馬における IL-1 β , IL-6, TNF α 発現レベルを RT-PCR 法で M1 マーカー分子 (CD16/32) の発現を免疫組織化学染色で検討した。また同モデルを用いた Y 迷路課題による行動解析により、短期空間記憶の評価を行った。

【結果】 Peridinin は $ZnCl_2$ 前処置による M1 型ミクログリアの IL-1 β , IL-6, TNF α 産生増大化、並びに細胞内 DHE 陽性シグナルの増加を抑制した。また HPLC による検討では、Peridinin は Zn^{2+} 存在下においても紫外可視スペクトラルに変化を認めず、 Zn^{2+} と直接結合しないことが示された。さらに、脳虚血・再灌流後の IL-1 β , IL-6, TNF α 発現誘導ならびに M1 型誘導は、Peridinin 脳室内前投与により阻止された。また Y 字迷路課題においても、Peridinin 投与群で虚血・再灌流後の短期空間記憶の障害が阻止されていた。

【考察】 以上の知見は、Peridinin が脳虚血・再灌流後の放出 Zn^{2+} によって増大化するミクログリアの M1 型誘導並びに炎症性サイトカイン産生を抑制し、短期空間記憶の障害を阻止することを示しており、その分子機序に $ZnCl_2$ 誘導性活性酸素産生に対する抑制機構が関与している事を示唆する新しい知見と考えられた。

【論文の評価】

本論文は、今後脳血管障害患者の後遺症の治療に海洋微細藻由来化合物を用いるというユニークな研究に発展する可能性があり、臨床的意義の高い基礎研究論文であると評価できる。