
*
*
高知大学学位授与記録
*
*

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83号	川田 泰正	Effects of switching from treatment with amlodipine and atorvastatin using two pills to an equal dose of single-pill therapy in Japanese outpatients (日本人外来患者におけるアムロジピンとアトルバスタチンの2剤から同用量の配合錠治療への切り替えの効果)	1
甲総医博第84号	大森 一志	Impaired Olfactory Identification of Patients with Cerebrovascular Disease Can Be Revealed by Dual Testing (2種の嗅覚検査で明らかになった脳血管障害患者における嗅覚同定能力低下)	6
甲総医博第85号	小松 利広	Development of a novel monoclonal antibody that binds to most HLA-A allomorphs in a conformation-dependent yet peptide-promiscuous fashion (ペプチドの種類によらずHLA-A分子の立体構造を認識するモノクローナル抗体の開発)	11
甲総医博第86号	森坂 広行	CRISPR-Cas3 induces broad and unidirectional genome editing in human cells (CRISPR-Cas3によるヒト細胞での一方向的で広範なゲノム編集)	16
甲総医博第87号	近藤 庸夫	Treatment outcomes for acute type A aortic dissection with patent false lumen in patients over the age of 80 (80歳以上の偽腔開存型の急性A型大動脈解離の治療成績)	22

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
甲総医博第88号	須賀 楓介	Structural variation in the glycogen synthase kinase 3 β and brain-derived neurotrophic factor genes in Japanese patients with bipolar disorders (日本人双極性障害患者におけるglycogen synthase kinase 3 β とBDNF遺伝子の構造多型)	27
甲総医博第89号	長尾 佳樹	Effects of silodosin and tadalafil on bladder dysfunction in spontaneously hypertensive rats : possible role of bladder blood flow (自然発症高血圧ラットの膀胱機能障害に対するシロドシンとタダラフィルの効果：膀胱血流への役割の可能性)	31
甲総医博第90号	LAUTHIER JUAN JOSE	Development of a Multilocus sequence typing (MLST) scheme for <i>Pan-Leishmania</i> (全リーシュマニア原虫の多遺伝子座シーケンス解析によるタイピング法の開発)	36
甲総医博第91号	青山 文	Role of neurosteroid allopregnanolone on age-related differences in exercise-induced hypoalgesia in rats (運動による疼痛緩和の加齢性変化およびその病態における神経ステロイド：Allopregnanoloneの関与 -高齢ラットでの検討-)	42
甲総医博第92号	石田 智滉	Juzentaihoto hot water extract alleviates muscle atrophy and improves motor function in the streptozotocin induced diabetic oxidative stress mice (十全大補湯熱水抽出エキスはストレプトゾシン誘発糖尿病マウスに対して筋萎縮を抑制し、運動機能を亢進させる)	47
甲総医博第93号	石田 七生	Improvement of blood lipid profiles by Goishi tea polyphenols in a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study (碁石茶ポリフェノールの血中脂質改善効果 プラセボ対照ランダム化二重盲検比較試験)	52
甲総医博第94号	岩佐 瞳	Remote effects in the ipsilateral thalamus and/or contralateral cerebellar hemisphere using FDG PET in patients with brain tumors (FDG-PETを用いた大脳半球脳腫瘍の神経路を介した遠隔効果についての検討)	57

学位記番号	氏名	学位論文の題目	ページ
甲総医博第95号	岸本 達真	Therapeutic Effects of Intravitreously Administered Bacteriophage in a Mouse Model of Endophthalmitis Caused by Vancomycin-Sensitive or -Resistant Enterococcus faecalis (術後神経認知異常の病態メカニズムに及ぼす Haloperidolの影響: 高齢ラット開腹手術モデルでの検討)	62
甲総医博第96号	西垣 厚	Acute and long-term effects of haloperidol on surgery-induced neuroinflammation and cognitive deficits in aged rats (術後神経認知異常の病態メカニズムに及ぼす Haloperidolの影響: 高齢ラット開腹手術モデルでの検討)	68
甲総医博第97号	MBELAMBELA PAPY ETONGOLA	Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) among Congolese cement workers exposed to cement dust, in Kongo Central Province (コンゴ民主共和国中央州におけるセメント工場労働者のセメントダスト暴露による慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) 有病率)	73
甲総医博第98号	長尾 明日香	Apnea hypopnea indices categorized by REM/NREM sleep and sleep positions in 100 children with adenotonsillectomy for obstructive sleep apnea disease (小児睡眠時無呼吸症の扁桃アデノイド手術100例における睡眠深度および睡眠体位により分類した無呼吸低呼吸指数 (カテゴライズドAHI) の検討)	78
甲総医博第99号	玉城 渉	Magnetocardiographic recognition of abnormal depolarization and repolarization in patients with coronary artery lesions caused by Kawasaki disease (心磁図による川崎病冠動脈病変患者における脱分極・再分極異常の知見)	84

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
乙総医博第49号	菱山 豊	The survey of public perception and general knowledge of genomic research and medicine in Japan conducted by the Japan Agency for Medical Research and Development (日本医療研究開発機構によって行われた日本におけるゲノム研究と医療に関する一般市民の意識と知識に関する調査)	89
乙総医博第50号	松元 かおり	Transmission of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> in an acute care hospital in Japan (日本のある急性期病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の院内伝播)	94
乙総医博第51号	山崎 史	Prevalence and characteristics of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> in community residents and healthcare professionals 1. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> in community residents of Japan 2. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> colonization among healthcare professionals in a university hospital in Japan (住民および医療者におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状) 1. (日本の住民におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状) 2. (日本のある大学病院の医療者におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状)	99
乙総医博第52号	寺内 芳彦	IgA polymerization contributes to efficient virus neutralization on human upper respiratory mucosa after intranasal inactivated influenza vaccine administration (IgAの多量体化は経鼻不活化インフルエンザワクチン投与後のヒト上気道粘膜における効率的なウイルスの中和に寄与する)	105
乙総医博第53号	沖 豊和	Evaluation of Follow-up Examinations Using Ultrasonography for Patients With Thyroid Nodules Initially Diagnosed as Benign (良性と診断した甲状腺腫瘍患者に対する超音波検査を用いた経過観察の評価)	111

氏名(本籍)	川田 泰正 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第83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	令和2年2月10日
学位論文題目	Effects of switching from treatment with amlodipine and atorvastatin using two pills to an equal dose of single-pill therapy in Japanese outpatients (日本人外来患者におけるアムロジピンとアトルバスタチンの2剤から同用量の配合錠治療への切り替えの効果)
発表誌名	Acta Medica Okayama, (in press)

審査委員	主査	教授	宮村	充彦
	副査	教授	瀬尾	宏美
	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	川田泰正
論文題目	Effects of switching from treatment with amlodipine and atorvastatin using two pills to an equal dose of single-pill therapy in Japanese outpatients (日本人外来患者におけるアムロジピンとアトルバスタチンの2剤から同用量の配合錠治療への切り替えの効果)	
<p>(論文要旨)</p> <p>【背景】 先進国における死亡危険因子として、高血圧症、脂質異常症は重要であり、双方の合併は少なくない。さらに、収縮期血圧、総コレステロール値と脳心血管疾患の発症リスクには、正の相関がみられる。そして、カルシウム拮抗薬とスタチンの併用療法は、非致死性心筋梗塞、冠動脈疾患死、および脳卒中の発症をより低下させる。 一方、二次予防における服薬アドヒアランスは、降圧剤、スタチンともに時間経過とともに低下していき、前者はあらゆる心血管イベントリスクを、後者は心筋梗塞再発リスクを高める。 そして、アドヒアランス改善のため、ポリファーマシーの観点から、服薬数を少なくするため配合錠にする方法がある。 以上より、日本人外来患者において、降圧薬であるカルシウム拮抗薬と、抗コレステロール薬であるスタチンの2剤から、同用量の配合錠とすることが有効か検討することとした。</p> <p>【対象】 2010年1月から2013年12月にわたり、11施設において、アムロジピンとアトルバスタチンの2剤を内服中の外来患者とした。また、除外基準は、降圧剤やスタチンの変更のあった患者とした。</p> <p>【方法】 アムロジピンとアトルバスタチンから同用量の配合錠に変更し、変更前と12ヶ月以内の、外来血圧とコレステロール値(随時採血)の変化を後ろ向きに検討した。 統計解析(SPSS(version 14.0J))において、数値は平均値±標準偏差あるいは頻度(百分率)で表し、$p < 0.05$を有意差ありとした。連続変数の差はスチューデントのt検定で評価し、離散変数間の比較にはピアソンのカイ二乗検定を、期待度数が5%より低い際はフィッシャーの正確確率検定を用いた。</p> <p>【結果】 94名の外来患者における平均年齢は72 ± 10歳で、男性は48名(51%)であった。既往症は、糖尿病が36名、冠動脈疾患が34名、脳卒中は21名であった。そして、94名中89名と大多数が、アムロジピン5mgとアトルバスタチン10mgの患者であった。 血圧の変化については、71 ± 45日の追跡期間中、86名の患者でデータが得られた。そして、外来時収縮期血圧は136 ± 15mmHgから136 ± 16mmHg ($p = 0.808$)、拡張期血圧は74 ± 12mmHgから75 ± 12mmHgと($p = 0.835$)、同用量の配合錠治療への切り替え後に有意な変化は認められなかった。 総コレステロール値の変化については、159 ± 105日の追跡期間中、66名の患者でデータが得られた。そして、同用量の配合錠治療への切り替え後、175 ± 34mg/dlから171 ± 24mg/dlと、わずかな</p>		

変化はあるも、有意ではなかった ($p=0.231$)。

一方、低比重リポ蛋白 (LDL) コレステロール値は、 160 ± 106 日の追跡期間中、78名の患者でデータが得られた。そして、同用量の配合錠治療への切り替え後、 94 ± 24 mg/dl から 89 ± 17 mg/dl と、有意に低下していた ($p=0.015$)。

また、LDL コレステロール値低下に関与する因子を検討したところ、LDL コレステロール値が低下した患者群 (49名) は、低下しなかった群 (29名) と比較し、平均年齢が低く (70 ± 11 歳 v. s. 75 ± 9 歳, $p=0.034$)、糖尿病罹患率が低い (29% v. s. 52% , $p=0.048$)、といった結果が得られた。

さらに、LDL コレステロール値変化の年齢分布から、3群に分けて検討した。すると、60歳未満の若年者 (12名) では、 101 ± 18 mg/dl から 91 ± 20 mg/dl と ($p=0.001$)、75歳以上の後期高齢者 (32名) では、 97 ± 27 mg/dl から 87 ± 15 mg/dl と ($p=0.023$)、LDL コレステロール値は有意な低下を示した。しかし、60歳から74歳の前期高齢者に相当する患者群 (34名) では、 89 ± 23 mg/dl から 90 ± 19 mg/dl と、有意な変化はみられなかった。

【考察】

本研究の目的は、アムロジピンとアトルバスタチンの2剤から同用量の配合錠治療への切り替えが、薬効によるバイアスを考慮せずに患者治療に有効か検討することであった。

本研究では、治療切り替え後の外来時収縮期あるいは拡張期血圧における有意な変化はみられなかった。これは、患者は家庭血圧の測定や、高血圧についての様々な情報を得ることにより、高血圧症に対する病識があり、内服治療への動機付けがされているものと推察された。

一方、LDL コレステロール値は、治療切り替え後有意に低下した。以前の研究では、抗コレステロール薬のアドヒアランスは低いことが報告されている。その明確な理由は不明だが、患者は自覚症状がなく、またコレステロール値は家庭血圧測定のように簡単に測定できないことからかもしれない。

また、その他の研究では、若年 (65歳未満) であることは、スタチン治療に対するアドヒアランスが低下する一因と報告されている。このような点から、配合錠治療への切り替えは、若年者を中心に服薬アドヒアランスを改善した可能性がある。




そして、高齢者におけるアドヒアランス低下に、認知機能低下が関与しているとの報告があり、本研究でも同様の背景が推察された。

さらに、我々の研究では、LDL コレステロール値は、糖尿病を有しない患者では有意に低下したが、糖尿病患者では有意な変化を認めなかった。以前より、糖尿病患者は服薬アドヒアランスが低下すると報告されているが、我々の研究では、糖尿病患者は高血圧症患者と同様に、疾患への治療意識が高かった可能性がある。

【結論】

アムロジピンとアトルバスタチンの2剤治療から同用量の配合錠への切り替えは、LDL コレステロール値の低下をもたらした。その低下には、年齢と糖尿病が有意な因子であった。特に年齢においては、若年者と後期高齢者で LDL コレステロール値が低下した。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	川田 泰正
審査委員	主 査 氏 名	宮村 充彦 
	副 査 氏 名	瀬尾 宏美 
	副 査 氏 名	寺田 典生 

題 目 Effects of switching from treatment with amlodipine and atorvastatin using two pills to an equal dose of single-pill therapy in Japanese outpatients
 (日本人外来患者におけるアムロジピンとアトルバスタチンの2剤から同用量の単剤治療への切り替えの効果)

著 者 Yasumasa Kawada, Toru Kubo, Yuichi Baba, Takayoshi Hirota, Katsutoshi Tanioka, Naohito Yamasaki, Hiroaki Kitaoka

発表誌名、Acta Medica Okayama.
 in press.

要 旨

【背景】先進国における死亡危険因子として、高血圧症、脂質異常症は重要であり、双方の合併は少なくない。さらに、収縮期血圧、総コレステロール値と脳心血管疾患の発症リスクには、正の相関がみられる。そして、カルシウム拮抗薬とスタチンの併用療法は、非致死性心筋梗塞、冠動脈疾患死、および脳卒中の発症を各単剤療法より低下させる。一方、二次予防における服薬アドヒアランスは、降圧剤、スタチンともに時間経過とともに低下し、降圧剤のアドヒアランス低下はあらゆる心血管イベントリスクを、スタチンのアドヒアランス低下は心筋梗塞再発リスクを高めるとされている。そのため、如何に服薬アドヒアランスを改善するかが重要となるが、その対策として、ポリファーマシーの観点から服薬錠数を少なくするため、降圧剤、スタチンの配合錠を作製し、投与方法がとられる場合がある。以上の様な背景から、申請者等は、日本人外来患者において、降圧薬であるカルシウム拮抗薬と、抗コレステロール薬であるスタチンの2剤服薬から、同用量の配合錠1剤服薬とすることによる薬物治療上の有用性を臨床研究により検討した。

【対象】調査期間は2010年1月から2013年12月の4年間とし、高知県下の11施設において、アムロジピンとアトルバスタチンの2剤を服薬中の外来患者とした。また、除外基準は、アムロジピンおよびアトルバスタチン以外の降圧剤またはスタチンの変更のあった患者とした。

【方法】アムロジピンとアトルバスタチンから同用量の配合錠に変更し、変更前と12ヶ月以内の、外来血圧とコレステロール値(随時採血)の変化を後ろ向きに検討した。統計解析(SPSS(version 14.0J))において、数値は平均値±標準偏差あるいは頻度(百分率)で表し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。連続変数の差はスチューデントのt検定で評価し、離散変数間の比較にはピアソンのカイ二乗検定を、期

待度数が5%より低い際はフィッシャーの正確確率検定を用いた。

【結果】被験者94名の平均年齢は72±10歳で、男性は48名(51%)であった。既往症は、糖尿病が36名、冠動脈疾患が34名、脳卒中は21名であった。そして、94名中89名と大多数が、アムロジピン5mgとアトルバスタチン10mgの服薬患者であった。血圧の変化については、71±45日の追跡期間中、86名の患者でデータが得られた。外来時収縮期血圧は136±15mmHgから136±16mmHg($p=0.808$)、拡張期血圧は74±12mmHgから75±12mmHgと($p=0.835$)、同用量の配合錠治療への切り替え後に有意な変化は認められなかった。総コレステロール値の変化については、159±105日の追跡期間中、66名の患者でデータが得られた。そして、同用量の配合錠治療への切り替え後、175±34mg/dlから171±24mg/dlと、わずかな変化はあるものの、有意ではなかった($p=0.231$)。一方、低比重リポ蛋白(LDL)コレステロール値については、160±106日の追跡期間中、78名の患者でデータが得られ、同用量の配合錠治療への切り替え後、94±24mg/dlから89±17mg/dlと、有意に低下していた($p=0.015$)。また、LDLコレステロール値低下に関与する因子を検討したところ、LDLコレステロール値が低下した患者群(49名)は、低下しなかった群(29名)と比較し、平均年齢が低く(70±11歳 v.s. 75±9歳, $p=0.034$)、糖尿病罹患率が低い(29% v.s. 52%, $p=0.048$)、といった結果が得られた。さらに、LDLコレステロール値変化の年齢分布から、3群に階層化し検討した。60歳未満の若年者(12名)では、101±18mg/dlから91±20mg/dlと($p=0.001$)、75歳以上の後期高齢者(32名)では、97±27mg/dlから87±15mg/dlと($p=0.023$)、LDLコレステロール値は有意な低下を示した。しかし、60歳から74歳の前期高齢者に相当する患者群(34名)では、89±23mg/dlから90±19mg/dlと、有意な変化は認められなかった。

【考察】

本研究の目的は、アムロジピンとアトルバスタチンの2剤治療から同用量の配合錠1剤治療への切り替えが、薬効によるバイアスを考慮せずに患者治療に有効かを地域医療の場で臨床研究により検討することである。本研究の結果からは、治療切り替え後の外来時収縮期あるいは拡張期血圧における有意な変化はみられず、学位申請者は、患者の高血圧症に対する病識・治療意識があり、内服治療への動機付けがされているものと推察した。一方、LDLコレステロール値は、配合錠1剤治療への治療切り替え後に有意に低下した。既報では、抗コレステロール薬のみの服薬では、アドヒアランスは低いことが報告されている。その理由として、患者は、自覚症状がなく、またコレステロール値は家庭血圧測定のように容易に測定できないこと等により、血圧に対する意識と違い、アドヒアランスの低下を招くと推察した。また、既報の研究において、若年(65歳未満)であることは、抗コレステロール薬であるスタチン治療に対するアドヒアランスが低下する一因とされており、今回の結果を考えた場合、配合錠治療への切り替えは、若年者における服薬アドヒアランスを改善したと推察した。また、高齢者におけるアドヒアランス低下に、認知機能低下が関与しているとの報告があり、本研究でも同様の背景が推察された。さらに、既報では、糖尿病患者は服薬アドヒアランスが低下すると報告されている。本研究では、LDLコレステロール値は、配合錠治療への切り替え後において、非糖尿病患者では2剤治療と比較して有意に低下したが、糖尿病患者では2剤治療と比較して有意な変化を認められなかった。糖尿病患者は高血圧症患者と同様に、疾患への治療意識が高く、アドヒアランスが高いことが推察され、配合錠切り換え前のLDLコレステロール値は非糖尿病患者と比較して低い傾向がみられた。以上、アムロジピンとアトルバスタチンの2剤治療から同用量の配合錠1剤治療への切り替えにより、LDLコレステロール値の低下を認めた。このことには、年齢と糖尿病罹患が大きく関与する因子であり、特に年齢においては、若年者と後期高齢者でLDLコレステロール値が低下した。

以上の様に、学位申請者は、高血圧症、脂質異常症の合併症治療におけるカルシウム拮抗薬とスタチンの併用薬物療法上、非致死性心筋梗塞、冠動脈疾患死、脳卒中等の脳心血管疾患のリスクを軽減するための重要な因子である服薬アドヒアランスについてポリファーマシーの観点から検討し、配合錠治療への切り替えが、患者アドヒアランスを向上させ治療効果を高めるエビデンスを実臨床で見出し、薬物療法に関わる貴重な資料を医師主導型臨床研究において明らかにしたことより、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)	大森 一志 (愛媛県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第84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	令和2年3月4日
学位論文題目	Impaired Olfactory Identification of Patients with Cerebrovascular Disease Can Be Revealed by Dual Testing (2種の嗅覚検査で明らかになった脳血管障害患者における嗅覚同定能力低下)
発表誌名	Chemosensory Perception DOI 10.1007/s12078-019-09274-8Published online:09 November 2019

審査委員	主査	教授	山口	正洋
	副査	教授	兵頭	政光
	副査	教授	古谷	博和

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	大森 一志
論文題目	<p>Impaired Olfactory Identification of Patients with Cerebrovascular Disease Can Be Revealed by Dual Testing (2種の嗅覚検査で明らかになった脳血管障害患者における嗅覚同定能力低下)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>【背景および目的】 嗅覚機能の研究は、過去数十年で大きく進歩し、その受容機構のみならず複雑な嗅覚伝導路についても解明が進んでいる。その中で、パーキンソン病などの神経変性疾患における嗅覚評価の重要性が大きく注目されている。脳血管障害は、日本で最も多い中枢神経の疾患であり、その症状も運動麻痺や失語など様々である。しかし、脳血管障害に起因する嗅覚障害に関する報告はほとんどない。そのため、本研究では、脳血管障害患者の嗅覚機能を評価し、その嗅覚障害の病態解明を図る。</p> <p>【方法】 脳梗塞あるいは脳出血の発症後2ヶ月以内にリハビリテーション目的で入院した50人の患者を評価した。嗅覚機能の評価法として、従来日本の嗅覚診療に用いられてきたT&T olfactometry (T&T) テストおよび、のちに開発されたOpen Essence (OE) テストを実施した。T&T テストでは、検知域値および認知域値を測定した。OEテストは、嗅覚同定能力を測定する検査法である。OEテストに関しては十分な基礎データがないため、100人の嗅覚低下を自覚していないボランティアが参加し、コントロールグループとした。脳血管障害患者のT&TデータおよびOEデータと健常者のOEデータを分析し、脳血管障害における嗅覚機能の影響や誘発病変領域との関係を調査した。ならびにOEデータの解析により総スコアとの相関が高い嗅素の検索を実施した。</p> <p>【結果】 自覚症状として、嗅覚低下を訴える患者はいなかったが、T&Tテストの結果、検知域値と認知域値の中央値はそれぞれ0.51と4.23であった。OEテストにおける年齢別比較では、全年齢別において脳血管障害の患者は健常者と比較して有意に低下していた。また、責任病巣別比較では、大脳皮質に病変がある患者のOEスコアは、被殻-視床に病変がある患者に比べ有意に低下していた。さらに、OEテストでの各嗅素の相関分析により、12のうち6つが総OEスコアと強い相関を認めた。</p> <p>【考察】 2種の嗅覚検査法 (T&TテストおよびOEテスト) を使用した嗅覚評価により、脳血管障害の患者50人では、嗅覚低下の自覚が全く無くても、嗅覚の同定能力が有意に低下していることが明らかになった。先行研究において報告されている健康な高齢者のT&Tデータより、本研究の脳血管障害患者の方が、認知域値に著しく低下を認めていた。初診時に得られたCT画像評価を行なった上で、今回の研究において検知域値が保たれていたことから、鼻腔の嗅上皮から嗅球に投射する嗅覚受容ニューロンの機能は維持されていると考えられる。一方で、嗅覚同定能力について、大脳皮質群では、被殻-視床群と比較して有意に低下していた。このことは、嗅覚の認知における皮質の関与が示唆された。ヒトの嗅覚伝導路は複雑であり、先行研究より嗅覚の認</p>	

知は、梨状皮質から眼窩前頭皮質への直接投射が重要であるとされている。今回の研究により、嗅覚の認知は、梨状皮質から眼窩前頭皮質への視床を介さない直接経路の重要性が示唆された。OEテストにおいて、12種類ある嗅素の内、木材、メントール、バラ、ヒノキ、調理用ガス、コンデンスミルクの6種類は、総OEスコアと強い相関を認めた。これにより6種類の嗅素のみで、総OEスコアを推測することができる。これらの知見は、脳損傷による嗅覚障害の嗅覚評価の時間を節約し、一連の複雑な神経心理学的試験による患者の疲労を軽減すると共に、脳血管障害における嗅覚の役割解明の推進に貢献する可能性がある。

【結語】

脳血管障害の患者について、嗅覚の検知能力は比較的に保たれ、認知能力は著しく低下することが明らかとなった。認知過程には、梨状皮質から眼窩前頭皮質への直接投射が重要である可能性が示唆された。さらに、OEテストの6種類の嗅素が総OEスコアを表すことができることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	大森 一志
審 査 委 員	主 査 氏 名	山口 正洋 
	副 査 氏 名	兵頭 政光 
	副 査 氏 名	古谷 博和 印 

題 目 Impaired Olfactory Identification of Patients with Cerebrovascular Disease Can Be Revealed by Dual Testing
(2種の嗅覚検査で明らかになった脳血管障害患者における嗅覚同定能力低下)

著 者
Kazuyuki Omori, Fumino Okutani

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Chemosensory Perception DOI 10.1007/s12078-019-09274-8
Published online:09 November 2019

要 旨

【背景・目的】

嗅覚機能の研究は過去数十年で大きく進歩し、その受容機構のみならず複雑な嗅覚伝導路についても解明が進んでいる。その中で、パーキンソン病などの神経変性疾患における嗅覚評価の重要性が大きく注目されている。一方、脳血管障害は日本で最も多い中枢神経疾患であり、その症状も運動麻痺や失語など様々であるが、脳血管障害に起因する嗅覚障害に関する報告はほとんどない。そこで申請者は、脳血管障害患者の嗅覚機能を評価し、その嗅覚障害の病態解明を目指して本研究を行った。

【方法】

脳梗塞あるいは脳出血の発症2か月以内にリハビリテーション目的で入院した患者50人を対象とした。嗅覚機能を、従来日本の嗅覚診療に用いられてきた T&T olfactometry (T&T)テストと、のちに開発された Open Essence (OE)テストによって評価した。T&Tテストでは、検知閾値および認知閾値を測定した。OEテストでは嗅覚同定能力を測定した。OEテストに関しては十分な基礎データがないため、嗅覚低下を自覚していないボランティア100人にテストを実施しコントロールグループとした。脳血管障害患者の T&T、OEデータと健常者の OE データを分析し、脳血管障害患者における嗅覚機能やその病変領域との関係を検討した。さらに OE テストにおける各嗅素の相関分析により、総スコアとの相関が高い嗅素を検索した。

【結果】

対象とした脳血管障害患者のなかで、自覚症状として嗅覚低下を訴える患者はいなかったが、T&T テストの検知閾値と認知閾値の中央値を先行研究で報告されている健康高齢者のデータと比較すると、認知閾値が著しく低下していた。OE テストによる嗅覚同定能力の年齢別比較では、全年齢層において脳血管障害患者は健常者より有意に低下していた。また、責任病巣別比較では、大脳皮質に病変がある患者の OE スコアは被殻-視床に病変がある患者に比べ有意に低下していた。さらに、OE テストで用いた 12 の嗅素のうち 6 つが総スコアと強い相関を認めた。

【考察】

2 種の嗅覚検査法(T&T テストと OE テスト)を使用した嗅覚評価により、脳血管障害患者では嗅覚低下の自覚が全く無くても、嗅覚の認知能力、同定能力が有意に低下していることが明らかになった。T&T テストにおける検知閾値が保たれていたことから、鼻腔の嗅上皮から嗅球に投射する嗅覚受容ニューロンの機能は維持されていると考えられ、責任病巣別比較から、嗅覚同定能力の低下における大脳皮質の関与が示唆された。先行研究より嗅覚の認知は梨状皮質から眼窩前頭皮質への直接投射が重要であるとされており、今回の研究で観察された嗅覚認知低下に梨状皮質から眼窩前頭皮質への視床を介さない直接経路が関わっている可能性が考えられた。さらに、OE テストにおいて 12 種の嗅素の中の 6 種類の嗅素のみで総 OE スコアを推測できたことは、脳損傷による嗅覚障害の嗅覚評価の時間を節約し、一連の複雑な神経心理学的試験による患者の疲労を軽減すると共に、脳血管障害における嗅覚の役割解明の推進に貢献する可能性があると考えられた。

【結論】

脳血管障害の患者について、嗅覚の検知能力は比較的保たれ、認知能力は著しく低下することが明らかとなった。認知過程には梨状皮質から大脳皮質領域への直接投射が重要である可能性が示唆された。さらに、OE テストの 6 種類の嗅素が総 OE スコアを表現できることを明らかにした。

以上本論文は多くの被験者に対して統一した嗅覚機能検査を行うことにより、脳血管障害患者における嗅覚障害を明らかにし、その責任病変部位について重要な可能性を示唆し、さらにより効率的な嗅覚機能検査の実施方法を提案した。これらの知見は、これまで比較的意識されることが少なかった中枢神経系疾患における嗅覚障害についての理解を深め、脳疾患における嗅覚検査の一層の普及に貢献する、非常に重要なものと考えられる。

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)	小松 利広 (徳島県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第85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	令和2年3月4日
学位論文題目	Development of a novel monoclonal antibody that binds to most HLA-A allomorphs in a conformation-dependent yet peptide-promiscuous fashion (ペプチドの種類によらずHLA-A分子の立体構造を認識するモノクローナル抗体の開発)
発表誌名	Immunogenetics(in press)

審査委員	主査	教授	佐野	栄紀
	副査	教授	横山	彰仁
	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	小松 利広
論文題目	Development of a novel monoclonal antibody that binds to most HLA-A allomorphs in a conformation-dependent yet peptide-promiscuous fashion (ペプチドの種類によらず HLA-A 分子の立体構造を認識するモノクローナル抗体の開発)	
<p>(論文要旨)</p> <p>悪性腫瘍に特異的な T 細胞を誘導する免疫療法の開発が進められている。それに伴い、T 細胞に抗原ペプチドを提示する Human Leukocyte Antigen (HLA) の、対立遺伝子型 (allele) ごとに異なるペプチド結合特性を解析する必要性が増している。細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte: CTL) に抗原ペプチドを提示する HLA-A 分子の解析には、これまで HLA-A 分子にペプチドを供給する transporter associated with antigen processing (TAP) の欠損細胞を使った構造安定化法 (stabilization assay) あるいは、大腸菌に作らせた HLA-A 分子にペプチドを加えて <i>in vitro</i> で folding させる方法が使われてきた。いずれも、相補的なアミノ酸配列をもつペプチドが結合すると HLA-A 分子の立体構造が安定化し、37°C に曝しても構造が保たれることを利用した測定法である。新たに合成される HLA-A 分子は細胞内の小胞体内腔でペプチドを結合し、細胞表面に出るが、小胞体にペプチドを送り込むことができない TAP 欠損細胞では、ペプチドを結合していない“空の HLA-A 分子”が熱変性して壊されてしまう。しかし、TAP 欠損細胞を低温 (26°C) で培養すると、“空の HLA-A 分子”でも構造が保たれ、細胞表面に出て来る。それらに培養液に加えたペプチドが結合すると構造が安定化し、37°C でも構造が保たれる。そこで、立体構造が安定化した HLA-A 分子には結合し、熱変性した HLA-A 分子には結合しないモノクローナル抗体 (mAb) があれば、ペプチドを結合した HLA-A 分子の数を測定できる。これまで、HLA-A の allele の多くには、そのような mAb が存在しないため、ペプチドの結合特性が詳細には調べられなかった。</p> <p>そこで私は、ペプチドが結合して安定化した HLA-A 分子の立体構造を認識する mAb を開発しようと考えた。ペプチドの結合特性を解析するためには、mAb は、ペプチドのアミノ酸配列の違いによらず HLA-A 分子に結合するものであることが望ましい。そのような mAb を作製できれば、蛍光標識して細胞を染め、flow cytometry により、一細胞あたりの HLA-A-ペプチド複合体の数を測定できる。また、培養液に加えるペプチドの濃度を変えて、ペプチドの HLA-A 分子への結合の強弱を測ることも可能になる。</p> <p>そこでまず、HLA-A1 分子を発現する C1R-A1 細胞をマウスに免疫し、脾細胞を myeloma 細胞と融合して hybridoma を作製した。培養上清を flow cytometry で調べ、C1R-A1 には結合し、C1R には結合しない抗体を産生する、A-1、A-2 の 2 つのクローンを得た。それらはほとんどの allele の HLA-A 分子に結合し、また、ペプチドを結合して安定化した HLA-A 分子の立体構造を認識することがわかった。さらに、これらの mAbs はペプチドのアミノ酸配列によらず、どのようなペプチドを結合した HLA-A</p>		

分子でも同様に認識することがわかった。したがって、TAP 欠損細胞を用いた stabilization assay により、ペプチド結合特性を調べるのに理想的な mAbs である。ただし、mAbs は HLA-A 遺伝子の進化の過程で起こった、HLA-A31 と HLA-A33 系統の分岐に伴う 175 番目のアミノ酸の His \rightarrow Arg の置換には対応できないことがわかった。A-2 はさらに HLA-A26 分子にも結合しなかった。

これら mAbs の開発により、今後、HLA-A 分子結合性ペプチドの解析が進むことが期待される。また、測定したペプチドの結合データを使って、任意のアミノ酸配列のペプチドについて HLA-A 分子への結合活性をコンピューター予測することも可能になる。さらに、これらの mAbs は、腫瘍組織で時々見つかると、HLA-A 分子の発現が低下し、CTL の攻撃を逃れた変異細胞の検出にも役立つと考えられる。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	小松 利広
審 査 委 員	主 査 氏 名 佐野 榮紀	
	副 査 氏 名 横山 彰仁	
	副 査 氏 名 山本 哲也	

題 目 Development of a novel monoclonal antibody that binds to most HLA-A allomorphs in a conformation-dependent yet peptide-promiscuous fashion
(ペプチドの種類によらず HLA-A 分子の立体構造を認識するモノクローナル抗体の開発)

著 者 Toshihiro Komatsu, Takeyuki Shimizu, Makoto Kanoh, Tomoya Miyakawa, Yoko Satta, Yoshiki Yasukochi, Rika Fujimoto, Motoki Tada, Kaori Machida, Sayo Kataoka and Keiko Udaka

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Immunogenetics
(in press)
要 旨

【背景・目的】

癌に対する抗PD-1抗体など免疫チェックポイント阻害薬がはたらくためには、CD8陽性の傷害性T細胞(CTL)による腫瘍抗原の認識が前提条件である。このため、T細胞に抗原ペプチドを提示するHuman Leukocyte Antigen (HLA)の対立遺伝子型(allele)ごとに異なるペプチド結合特性の解析が重要である。しかし現在、抗原ペプチドが結合し立体構造が安定化したHLA-A allele分子を認識できるモノクローナル抗体(mAb)が非常に少ない。今回申請者らは、HLA-A、B分子を欠損する細胞に特定のHLA-A allele遺伝子を導入した細胞で免疫することにより、HLA-A分子の立体構造を認識し、ペプチド結合実験に適したmAbを開発した。これを用いることによって、これまで測れなかったほとんどのHLA-Aアレル分子と、抗原ペプチド複合体の数やその結合の強弱を測ることが可能になる。

【方法】

- ① HLA-A1分子を発現するC1R-A1細胞でマウスを免疫し、脾細胞をmyeloma細胞と融合させhybridomaを作製した。培養上清をflow cytometryで調べ、C1R-A1には結合し、C1Rには結合しない抗体を産生する、A-1、A-2の2つのクローンを得た。②flow cytometryを用いて、様々なHLA-A alleleを有する細胞への結合を確認した。③TAP欠損細胞をもちいてこれらのmAbによるペプチド依存性HLA-A stabilization assayを行った。④IMGT/HLA databaseを利用し、HLA-Aの進化的遺伝子系統発生解析を行った。

【結果・考察】

- ① HLA-A1分子を発現するC1R-A1細胞でマウスを免疫し、脾細胞をmyeloma細胞と融合させhybridomaを作製した。培養上清をflow cytometryで調べ、C1R-A1には結合し、C1Rには結合しない抗体を産生する、A-1、A-2の2つのクローンを得た。
- ② これらのhybridomaから分泌されるmAbはほとんどのalleleのHLA-A分子に結合し、また、ペプチドを結合して安定化したHLA-A分子の立体構造を認識することがわかった。
- ③ mAbsはHLA-A遺伝子の進化の過程で起こった、HLA-A31とHLA-A33系統の分岐に伴う175番目のアミノ酸のHis \rightarrow Argの置換には対応できないことがわかった。A-2はさらにHLA-A26分子にも結合しなかった。

【結論】

今回得られた mAb は、TAP 欠損細胞を用いた stabilization assay によりペプチド結合特性を調べるのに理想的な抗体であることが明らかとなった。今後、HLA-A 分子結合性ペプチドの解析が進むことが期待される。また、測定したペプチドの結合データを使って、任意のアミノ酸配列のペプチドについて HLA-A 分子への結合活性をコンピューター予測することも可能になる。さらに、これらの mAb は、腫瘍組織で時々見つかる、HLA-A 分子の発現が低下し、CTL の攻撃を逃れた変異細胞の検出にも役立つと考えられる。

以上、本論文は、多彩な抗原ペプチド結合に関わらず特定のalleleのHLA-A分子を認識できるmAbの開発を報告したものであり、腫瘍免疫療法において貢献が期待される。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)	森坂 広行 (大阪府)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第86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	令和2年3月4日
学位論文題目	CRISPR-Cas3 induces broad and unidirectional genome editing in human cells (CRISPR-Cas3によるヒト細胞での一方向性で広範なゲノム編集)
発表誌名	Nature Communications 10: 5302(2019)2019年12月6日

審査委員	主査	教授	宇高 恵子
	副査	教授	仲 哲治
	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 森坂 広行

論文題目 CRISPR-Cas3 induces broad and unidirectional genome editing
in human cells
(CRISPR-Cas3 によるヒト細胞での一方向性で広範なゲノム編集)

(論文要旨)

ゲノム情報を操作することができるゲノム編集技術は、遺伝子の機能を理解するだけでなく、農水産業における品種改良や、遺伝子治療、再生医療での新規治療法開発など、幅広い分野における活用が期待されている。代表的なゲノム編集ツールである CRISPR-Cas9 は簡単で効率的にゲノムを操作することができるため、世界中で様々な生物や細胞でのゲノム編集に用いられている。ゲノム編集技術は様々な分野に応用されている一方で、標的配列以外のゲノム領域を誤って編集してしまうオフターゲット変異のリスク、狙うことのできる標的配列の制限といった技術的問題を抱えている。こうした状況から、従来のゲノム編集技術とは異なる特徴を持った新しいゲノム編集ツールの開発が強く求められていた。

本来、CRISPR-Cas システムは細菌、古細菌に存在する獲得性免疫システムと考えられており、細菌に感染するウイルス等のゲノムを切断することで、自らを守っている。CRISPR-Cas システムは、複数タンパク質の複合体で DNA を切断する Class 1 と、一つのタンパク質で切断する Class 2 に分かれているが、これまで開発されてきた CRISPR-Cas9 や Cpf1、Cas13 などは Class 2 に分類される。一方、Class 1 の真核細胞でのゲノム編集技術はこれまで報告されていなかった。そこで我々は、Class 1 に属する Type I CRISPR に着目し、ヒト細胞でゲノム編集に利用できないか検討した結果、大腸菌由来の Type I-E CRISPR-Cas3 がヒト細胞内で変異を導入できることを見出した。

CRISPR-Cas3 によって導入される変異パターンをキャプチャーシーケンスで解析したところ、標的配列の上流側に数百から数万塩基にわたって広範囲に変異が導入されていることがわかった。この性質は Cas9 の標的部位に短い変異を導入する性質と大きく異なっている。Type I-E CRISPR-Cas3 では、27 塩基を標的として認識する crRNA と 5 つの因子から成る Cascade 複合体がゲノム上の標的配列を認識して、その後 Cas3 が DNA 切断を誘導する。この Cas3 はヘリカーゼドメインを持つことから、二本鎖 DNA 構造をほどこきながら標的配列の上流側で広範囲にわたって DNA 切断を起こしたと考えられる。




CRISPR-Cas3 のオフターゲットへの影響について、全ゲノムシーケンス解析、また 100 カ所以上の類似領域のシーケンスを調べたところ、Cas9 ではわずかにオフターゲット変異が確認された一方、Cas3 ではオフターゲット変異は確認されなかった。すなわち、CRISPR-Cas3 はオフターゲットへ

の影響が Cas9 と比較して少なく正確性が高いことが示唆された。

さらに、CRISPR-Cas3 の遺伝子疾患に対する治療応用として、デュシャンヌ型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy: DMD) 患者由来 iPS 細胞に利用した結果、エクソンスキッピングにより DMD タンパク質の発現が改善することを確認できた。

CRISPR-Cas3 はゲノムを大きく削ることから遺伝子や外来ウイルスなどを完全に破壊する、もしくは大規模領域をノックインすることに適していると考えられる。また標的を認識する配列が、Cas9 が 20 塩基に対して Cas3 は 27 塩基と多く、オフターゲットへの影響の少ない安全なゲノム編集基盤ツールであると予想される。このように Cas9 とは全く違った特徴を持つゲノム編集ツールを今後さらに改良することで、医療や食品産業など多くの分野で応用できることが期待される。

論文審査の結果の要旨

	氏名	森坂 広行
審査委員	主査氏名	宇高 恵子 
	副査氏名	仲 哲治 
	副査氏名	山口 正洋 

題目 CRISPR-Cas3 induces broad and unidirectional genome editing in human cells
(CRISPR-Cas3によるヒト細胞での一方向性で広範なゲノム編集)

著者 Hiroyuki Morisaka, Kazuto Yoshimi, Yuya Okuzaki, Peter Gee, Yayoi Kunihiro, Ekasit Sonpho, Huaigeng Xu, Noriko Sasakawa, Yuki Naito, Shinichiro Nakada, Takashi Yamamoto, Shigetoshi Sano, Akitsu Hotta, Junji Takeda and Tomoji Mashimo.

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年月
Nature Communications 10: 5302(2019) 2019年12月6日

要旨

【背景・目的】

ゲノム編集技術として利用できる原核生物のCRISPR systemは、1因子で完結するCRISPR/Cas9に代表されるClass 2 CRISPR systemが先行して開発された。しかし、off-target編集が無視できない程度生ずる他、遺伝子編集の長さに限界がある。また、転写活性の低いクロマチン遺伝子の編集効率にも問題が残されている。標的となるPAM配列にNGGを必要とし、ATが豊富な標的配列を狙いにくい弱点もある。一方、複数の因子からなるClass 1 CRISPR systemは標的配列のより正確な選択が期待される。また、ゲノム編集酵素として、nuclease活性の他にhelicase活性を有するCas3を使うことから、長い遺伝子領域にわたるゲノム編集が期待でき、また転写活性の低いゲノム領域の編集も可能になる可能性がある。そこで、森坂さんらは、Class 2 CRISPR systemに属するCRISPR/Cas3システムの有用性を検討した。

【方法】

まず、Class 1 CRISPR systemの中で、原核生物で最も一般的に使われるType Iシステムに属するA-Gのサブタイプのうち、大腸菌がもつI-E CRISPR system (E. coli Casca

de, Cas3, pre-crRNA) を用いてヒト細胞HEK293Tに対するゲノム編集効率を調べた。Cascadeの5因子の供給には、P2Aをはさんだタンデム発現系を用いた。27塩基を標的として認識するcrRNAをデザインし、ゲノム編集効率を発光レポーターアッセイにて測定した。まず、標的のPAM配列およびspacer配列の特異性解析を行った。さらに同じレポーターアッセイを使って、Cas9および3種のCas3のnuclease活性の比較を行った。

次に8つの標的遺伝子に対応するcrRNAをデザインし、I-E CRIPR/Cas3を使って行ったゲノム遺伝子の除去範囲の解析を行った。続いてWGSによるoff target ゲノム編集の探索を行った。最後にヒトを対象とした遺伝子治療のモデルとして、筋ジストロフィーの原因遺伝子であり、ゲノム中でも遺伝子サイズが大きいdystrophin (DMD) 遺伝子にI-E CRIPR/Cas3を使ってexon skippingを導入するゲノム編集を行い、frame shiftによる遺伝子欠損を修復する試みを行った。この結果をふまえてDuchenne型の筋ジストロフィー患者のiPS細胞にexon skippingを起こし、遺伝子修復効率およびDMDタンパクの発現を調べた。

【結果・考察】

複数のタンパク複合体を使ってゲノム編集を行うClass I CRISPR systemを比較検討し、大腸菌がもつI-E CRISPR/Cas3の有用性を示した。その特長として標的遺伝子への特異性が高く、WGSによる探索によってもoff target編集はほとんど検出されず、また、遺伝子除去の範囲が広く、dystrophinのような最大級のタンパク質をコードする遺伝子の編集にも十分対応できることが示された。

さらに転写活性が高いHEK293Tの他、ヒトのDuchenne型の筋ジストロフィー患者から樹立したiPS細胞の2株においても8-15%の高いゲノム編集効率が観察された。DMDタンパク質の発現も確認でき、機能修復が示された。ヒトを対象とする遺伝子治療に大きな技術的進歩をもたらす研究である。

【結論】

きわめて競争の激しい分野で世界に先立って主要ジャーナルに掲載され、森坂さんの集中力や共著者間の協調性、生産性がうかがわれる。3人が筆頭著者となる論文であるが、森坂さんはその中でも標的配列の特異性の解析やCas3の活性の比較、I-E CRISPR/Cas3のタンデム発現系の構築や遺伝子編集効率の測定などを担当し、本論文の要の役割を果たしている。従来のCRISPR/Cas9 systemの限界を超えたゲノム編集を可能にする技術として高く評価できる。

研究発表の後、公開審査で質疑応答を行った。審査員からは90xWGSによるoff target編集を検出する方法について質問があった。また、遺伝子発現系の構築に加え、標的細胞へCRISPR/Cas3 systemを導入するdeliveryの方法についても指摘とアドバイスがあった。審査員からは、off target編集が減少するメカニズムについての質問やguide RNAの相補性塩基配列の長さやCas3の特異性とoff target編集の頻度に関連があるかどうか、質問が出た。これらの質問やアドバイスに対し、森坂さんは根拠をあげて適切に議論することができた。Off target編集が起らないゲノム編集技術の開発はヒトの遺伝子治療に向けて最重要の課題であり、本論文は技術的なハードルを打開する成果を示す

ものである。遺伝子治療の基盤技術を提供し、将来へ向けて高い医学的価値を有する論文である。

以上の結果から、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ました。

氏名(本籍)	近藤 庸夫 (岡山県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第87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	令和2年3月4日
学位論文題目	Treatment outcomes for acute type A aortic dissection with patent false lumen in patients over the age of 80 (80歳以上の偽腔開存型の急性A型大動脈解離の治療成績)
発表誌名	General Thoracic and Cardiovascular Surgery、67、765-7722019年3月

審査委員	主査	教授	北岡	裕章
	副査	教授	横山	正尚
	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	近藤 庸夫
論文題目	<p>Treatment outcomes for acute type A aortic dissection with patent false lumen in patients over the age of 80</p> <p>(A型急性大動脈解離を発症した80歳以上の高齢者における治療成績)</p>	
<p>(論文要旨)</p> <p>【目的】 急性大動脈解離(Stanford A型)の80歳以上の高齢者における手術成績は悪いと考えられている一方で、手術加療の成績は向上しているとの報告も世界的には散見されるようになってきた。今回、80歳以上の高齢者における偽腔開存型の急性大動脈解離(Stanford A型)の治療成績についての検討を行った。</p> <p>【方法】 2010年1月から2015年5月までに心臓病センター榊原病院に搬送された248例のうち80歳以上の高齢者は70例であった。CTにて偽腔開存型のStanford A型の急性大動脈解離と診断した。そのうち44例に手術を行った。そのうちの33例(75%)は上行大動脈人工血管置換術で11例(25%)は上行弓部置換術を行った。手術は全身麻酔下に行い、人工心肺を確立後、中等度低体温まで体温を下げ、循環停止とした。脳分離は選択的脳分離送血を順行性に行った。その後 primary entry の切除を行い、術式を最終決定し、手術を施行した。</p> <p>残りの23例はしっかりとインフォームド・コンセントを行い、保存的加療を行った。保存的治療はStanford B型の急性大動脈解離に準ずる治療を行った。</p> <p>本研究ではその治療成績についての検討を行った。</p> <p>【結果】 手術加療を選択した44例のうち primary entry を上行大動脈に認めた33例(75%)は上行大動脈人工血管置換術を行った。上行弓部置換術を行った11例(25%)の primary entry は7例に弓部大動脈に認め、下行もしくははっきりしないものが4例であった。同時併用手術は12例に行った。6例に大動脈置換術、3例に大動脈形成術、2例に冠動脈バイパス術、大動脈-両側大腿動脈バイパス術を1例に行った。手術時間は368±84分、人工心肺時間200分±56分、循環停止時間53分±14分、選択的脳分離時間は63±27分、大動脈のクランプ時間は131±41分であった。また膀胱温の最低温度は24.5±1.6度であった。術後成績は30日死亡率と入院死亡率は14%であった。死亡率の内訳はLOS3例(6.8%)、腹部虚血(6.8%)、冠動脈虚血1例(2.3%)、呼吸不全1例(2.3%)であった。平均ICU期間は4.5±2.8日、平均入院日数は26±15日であった。17例(39%)が自宅退院となり、21例(48%)が転院となった。</p> <p>保存的加療を行った23例のうち10例(45%)は入院中に死亡した。原因は破裂が8例(35%)、心タンポナーデが2例(8.7%)であった。6例(26.1%)が自宅退院となり、7例(30.4%)が転院となった。</p> <p>長期成績は手術を受けた症例では1年生存率82%、3年生存率60%にたいし、保存的加療を受けた症例では1年生存率は8.7%であった。</p> <p>【結語】 高齢者の場合、患者背景を熟考し、手術の選択について決定する必要があるが今回の研究</p>		

では80歳以上でも偽腔開存型のStanfordA型の急性大動脈解離に対して手術を行うことは有効であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	近藤 庸夫
審 査 委 員	主 査 氏 名	北岡 裕章 
	副 査 氏 名	横山 正尚 
	副 査 氏 名	佐藤 隆幸 

題 目 Treatment outcomes for acute type A aortic dissection with patent false lumen in patients over the age of 80
(80歳以上の偽腔開存型の急性A型大動脈解離の治療成績)

著 者 Nobuo Kondo · Kentaro Tamura · Arudo Hiraoka · Toshinori Totsugawa · Genta Chikazawa · Taichi Sakaguchi · Hidenori Yoshitaka

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
General Thoracic and Cardiovascular Surgery、67、765-772 2019年3月

要 旨

【背景・目的】

急性大動脈解離(Stanford A型)は、突然発症し、1.破裂、2.臓器灌流障害、3.大動脈弁閉鎖不全による心不全、などで薬物治療だけでは数日以内に大多数が死亡すると考えられてきた重篤な疾患である。80歳以上の高齢者に対する手術成績は不良と考えられている一方で、近年、手術成績は向上しているとの報告も世界的には散見されるようになってきた。今回、80歳以上の高齢者における偽腔開存型の急性大動脈解離(Stanford A型)の治療成績についての検討を行った。

【方法】

2010年1月から2015年5月までに心臓病センター榊原病院に搬送された偽腔開存型の急性大動脈解離(Stanford A型)248例のうち80歳以上の高齢者は70例であった。診断および偽腔開存の有無はCTで行った。70例のうち44例に手術を行った。33例(75%)は上行大動脈人工血管置換術で、11例(25%)は上行弓部置換術を行った。手術は全身麻酔下に行い、人工心肺を確立後、中等度低体温まで体温を下げ、循環停止とした。脳分離は選択的脳分離送血を順行性に行った。その後primary entryの切除を行い、術式を最終決定し、手術を施行した。

残りの23例はインフォームド・コンセントのうえ、保存的加療を行った。保存的治療はS

Stanford B型の急性大動脈解離に準ずる治療を行った。

【結果・考察】

手術加療を選択した44例のうちprimary entryを上行大動脈に認めた33例(75%)は上行大動脈人工血管置換術を行った。上行弓部置換術を行った11例(25%)のprimary entryは7例に弓部大動脈に認め、下行もしくははっきりしないものが4例であった。同時併用手術は12例に行った。6例に大動脈置換術、3例に大動脈形成術、2例に冠動脈バイパス術、大動脈-両側大腿動脈バイパス術を1例に行った。手術時間は 368 ± 84 分、人工心肺時間 200 ± 56 分、循環停止時間 53 ± 14 分、選択的脳分離時間は 63 ± 27 分、大動脈のクランプ時間は 131 ± 41 分であった。また膀胱温の最低温度は 24.5 ± 1.6 度であった。術後成績は30日死亡率と入院死亡率は14%であった。死亡率の内訳は低心拍出症候群3例(6.8%)、腹部虚血(6.8%)、冠動脈虚血1例(2.3%)、呼吸不全1例(2.3%)であった。平均ICU期間は 4.5 ± 2.8 日、平均入院日数は 26 ± 15 日であった。17例(39%)が自宅退院となり、21例(48%)が転院となった。

保存的加療を行った23例のうち10例(45%)は入院中に死亡した。原因は破裂が8例(35%)、心タンポナーデが2例(8.7%)であった。6例(26.1%)が自宅退院となり、7例(30.4%)が転院となった。

長期成績は手術を受けた症例では1年生存率82%、3年生存率60%に対し、保存的加療を受けた症例では1年生存率は8.7%であった。

【結論】

高齢者の場合、患者背景を熟考し、手術の選択について決定する必要があるが今回の研究では80歳以上でも偽腔開存型のStanford A型の急性大動脈解離に対して手術を行うことは有効であると考えられた。

本論文に対し、1. 単一施設の成績であること、2. 後ろ向き研究であり、患者の背景やそれを含めた手術施行の決定に交絡因子が存在すること、3. Table 1. における記載間違いがある、などの問題点が指摘された。これに対し、申請者は指摘された本論文における限界や問題点を十分理解していることが確認できた。Tableの間違いはerratumとして申請することとした。その上で、本論文は、従来成績不良とされた高齢者偽腔開存型Stanford A型急性大動脈解離に対する手術成績が、比較的良好であるとの新しい知見を示したものであり、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)	須賀 楓介 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第88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	令和2年3月4日
学位論文題目	Structural variation in the glycogen synthase kinase 3 β and brain-derived neurotrophic factor genes in Japanese patients with bipolar disorders (日本人双極性障害患者におけるglycogen synthase kinase 3 β とBDNF遺伝子の構造多型)
発表誌名	Neuropsychopharmacology Reports(in press)

審査委員	主査	教授	古谷	博和
	副査	教授	齊藤	源顕
	副査	教授	藤本	新平

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	須賀 楓介
論文題目	<p>Structural variation in the glycogen synthase kinase 3β and brain-derived neurotrophic factor genes in Japanese patients with bipolar disorders (日本人双極性障害患者におけるglycogen synthase kinase3βとBDNF遺伝子の構造多型)</p>	
<p>(論文要旨)</p> <p>背景 双極性障害 (BD) の治療に用いられるリチウム (Li) など気分安定薬の薬理学的研究によれば、Glycogen synthase kinase (GSK) 3β の活性阻害やBrain-derived neurotrophic factor (BDNF) の発現変化がBDの病態に関与している。先行研究では血中GSK3β 及びBDNF mRNA、BDNF蛋白などの計測がLiへの治療反応性を予測できず、新たなマーカーの探索が望まれている。その一方で、ゲノムDNAの構造多型の一つであるコピー数多型 (CNV) が、BDの臨床経過や治療反応性に関与する可能性が示唆されるようになってきた。 このため本研究ではGSK3β やBDNF遺伝子のCNVがBPのLiや抗うつ薬への治療反応性、発症感受性に及ぼす影響を検討した。</p> <p>方法 BD 50名 (男:女=19:31, 平均年齢53.5\pm15.0歳) と、年齢・性別をマッチさせた健常対照者 (HC) 50名をリクルートした。Database of Genomic Variations (DGV) に登録されているCNVを基に、末梢血由来DNAを用いて定量リアルタイムPCRでGSK3β とBDNF遺伝子のCNVを解析した。GSK3β 遺伝子ではnsv829696のうちintron II とintron VIIの領域内を、BDNF遺伝子ではexon IV領域を含むnsv95132、exon IX領域を含むnsv832095を解析対象とした。CNVの発生を群間比較し、CNVとLiへの治療反応性、抗うつ薬による躁転 (AEAS) に及ぼす影響とBPのサブタイプ (I型、II型) や発症年齢との関連について検討した。</p> <p>結果 GSK3β 遺伝子の解析では、BD群全例でCNVはみられなかった。BDNF遺伝子の解析では、BD群50名中5名でexon IV内の遺伝子領域にコピー数の重複 (CN=3) がみつきり、HC群では同領域にCNVはみられなかった (p=0.029)。そのCNVはLiに対する治療有効性、AEAS発生、BDのサブタイプや発症年齢のいずれにも関連していなかった。</p> <p>考察 BDNF遺伝子のmRNAの転写にexon IVが重要な役割を担い、Liの長期投与は脳内のBDNFを増加させることが知られている。また、BDNF遺伝子の発現レベルは抗うつ薬の治療効果に密接に影響することが知られている。これらの知見からはBDNF遺伝子exon IV内のCNVがmRNAの転写誘導を介してLiや抗うつ薬への治療反応性に影響するという仮説が導かれるが、本研究の結果はそれに一致しなかった。BDNF遺伝子の転写に反応するBDNF exon I領域を含む転写誘導はexon IV領域のそれよりもはるかに高いとするPruunsildらの報告を鑑みると、本研究で発見されたexon IV内の小さな遺伝子領域 (27701498-27701399) がBDNFの転写に与える影響は少ないのかもしれない。 本研究の限界として少ない対象者によるtype IIエラーの可能性、参加者が高知県・徳島県在住という選択バイアス、CNVの解析に比較ゲノムハイブリダイゼーション (CGH) が未実施であったこと、血中BDNF exon IV mRNAやBDNF蛋白が測定されていないことが挙げられる。</p> <p>結論 本研究ではBD患者におけるBDNF遺伝子のCNVについて初めて報告したが、そのCNVによる影響を明らかにすることはできなかった。BDにおけるこのCNVの影響を明らかにするため、より多数の対象者と異なった解析方法を用いたさらなる研究が望まれる。</p>		

論文審査の結果の要旨

	氏 名	須賀 楓介
審 査 委 員	主 査 氏 名	古谷 博和 印
	副 査 氏 名	齋藤 源頭 印
	副 査 氏 名	藤本 新平 印

題 目 Structural variation in the glycogen synthase kinase 3 β and brain-derived neurotrophic factor genes in Japanese patients with bipolar disorders
(日本人双極性障害患者における glycogen synthase kinase 3 β と BDNF 遺伝子の構造多型)

著 者 Yosuke Suga, Keiichiro Yoshimoto, Shusuke Numata, Shinji Shimodera, Shogo Takamura, Naoto Kamimura, Ken Sawada, Hiroaki Kazui, Tetsuro Ohmori, Shigeru Morinobu

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

要 旨 【背景】

双極性障害(BD)の治療に用いられるリチウム(Li)などの気分安定薬の薬理学的研究によれば、Glycogen synthase kinase (GSK) 3 β の活性阻害や Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) の発現変化が BD の病態に関与している。先行研究では血中 GSK3 β 及び BDNF mRNA、BDNF 蛋白などの計測が Li への治療反応性を予測できず、新たなマーカーの探索が望まれている。その一方で、ゲノム DNA の構造多型の一つであるコピー数多型(CNV)が、BD の臨床経過や治療反応性に関与する可能性が示唆されるようになってきた。

このため本研究では GSK3 β や BDNF 遺伝子の CNV が BP の Li や抗うつ薬への治療反応性、発症感受性に及ぼす影響を検討した。

【方法】

BD 50名(男:女=19:31, 平均年齢 53.5 \pm 15.0 歳)と、年齢・性別をマッチさせた健常対照者(HC) 50名をリクルートした。Database of Genomic Variations (DGV) に登録されている CNV を基に、末梢血由来 DNA を用いて定量リアルタイム PCR で GSK3 β と BDNF 遺伝子の CNV を解析した。GSK3 β 遺伝子では nsv829696 のうち intron II と intron VII の領域内を、BDNF 遺伝子では exon IV 領域を含む nsv95132、exon IX 領域を含む nsv832095 を解析対象とした。CNV の発生を群間比較し、CNV と Li への治療反応性、抗うつ薬による躁転(AEAS)に及ぼす影響と BP のサブタイプ (I 型、II 型) や発症年齢との関連について検討した。

【結 果】

GSK3 β 遺伝子の解析では、BD 群全例で CNV はみられなかった。BDNF 遺伝子の解析では、BD 群 50 名中 5 名で exon IV 内の遺伝子領域にコピー数の重複(CN=3)がみつき、HC 群では同領域に CNV は見られなかった($p=0.029$)。その CNV は Li に対する治療有効性、AEAS 発生、BD のサブタイプや発症年齢のいずれにも関連していなかった。

【考 察】

BDNF 遺伝子の mRNA の転写に exon IV が重要な役割を担い、Li の長期投与は脳内の BDNF を増加させることが知られている。また、BDNF 遺伝子の発現レベルは抗うつ薬の治療効果に密接に影響することも知られている。これらの治験からは BDNF 遺伝子 exon IV 内の CNV が mRNA の転写誘導を介して Li や抗うつ薬への治療反応性に影響するという仮説が導かれるが、本研究の結果はそれに一致しなかった。BDNF 遺伝子の転写に反応する BDNF exon I 領域を含む転写誘導は exon IV 領域のそれよりもはるかに高いとする Pruunsild らの報告を鑑みると、本研究で発見された exon IV 内の小さな遺伝子領域(27701498-27701399)が BDNF の転写に与える影響は少ないのかもしれない。

本研究の限界としては、少ない対象者による type II エラーの可能性、参加者が高知県・徳島県在住という選択バイアス、CNV の解析に比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)が未実施であったこと、血中 BDNF exon IV mRNA や BDNF 蛋白の発現量が測定されていないことが挙げられる。

【結 論】

本研究では BD 患者における BDNF 遺伝子の CNV について初めて報告したが、その CNV による影響を明らかにすることは出来なかった。BD におけるこの CNV の影響を明らかにするため、より多数の対象者と異なった解析分析を用いた更なる研究が望まれる。

以上のように本論文は BD 患者における BDNF 遺伝子の CNV についての初めての報告であり、医学的に高い価値を有するものである。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。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。これらの内容をふまえ、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)	長尾 佳樹 (千葉県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第89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	令和2年3月23日
学位論文題目	Effects of silodosin and tadalafil on bladder dysfunction in spontaneously hypertensive rats : possible role of bladder blood flow (自然発症高血圧ラットの膀胱機能障害に対するシロドシンとタダラフィルの効果：膀胱血流への役割の可能性)
発表誌名	International Journal of Urology (in press)

審査委員	主査	教授	宮村 充彦
	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	長尾 佳樹
論文題目	Effects of silodosin and tadalafil on bladder dysfunction in spontaneously hypertensive rats : possible role of bladder blood flow (自然発症高血圧ラットの膀胱機能障害に対するシロドシンとタダラフィルの効果：膀胱血流への役割の可能性)	
<p>(論文要旨)</p> <p><導入・目的></p> <p>下部尿路症状は、畜尿、排尿および排尿後症状に分類される。下部尿路症状を呈する疾患の一つに前立腺肥大症があるが、前立腺肥大症の排尿障害に対して、選択的α1Aアドレナリン受容体拮抗薬のシロドシンや phosphodiesterase type 5 阻害薬のタダラフィルが治療薬として用いられている。臨床データとして、シロドシンやタダラフィルは、前立腺肥大症の男性患者において排尿症状のみならず畜尿症状に対しても有効性が示されている。一方で、タダラフィルの畜尿症状に対する効果に関する基礎研究は不明な点が多い。</p> <p>そこで、今回シロドシンまたはタダラフィルの畜尿症状に対する動物実験を行い、その効果やメカニズムに関する検討を行った。</p> <p><方法></p> <p>自然発症高血圧ラット (spontaneously hypertensive rats : SHR)は、膀胱血流低下ならびに排尿筋過活動を呈することが示されている。SHR を用いて、シロドシンまたはタダラフィルの効果について比較検討した。</p> <p>12週齢雄性SHRに対して、シロドシン (100 μg/kg)またはタダラフィル (2 or 10 mg/kg)を6週間連日経口投与した。対照群としてSHRにvehicleを、正常control群としてWistar系ラットにvehicleを連日投与した群を用いた。6週間の薬物投与後、血圧測定、代謝ケージによる排尿動態測定、持続および単回膀胱内圧測定による尿流動態パラメータの測定、膀胱血流量測定および組織中の酸化ストレスマーカー [malondialdehyde (MDA)]や炎症性サイトカイン [interleukin-6 (IL-6)、tumor necrosis factor-α (TNF-α)]の測定、膀胱組織中へのリンパ球浸潤の評価を行った。</p> <p><結果></p> <p>Wistar系ラットに対し、SHR vehicle投与群では、血圧や排尿回数、膀胱組織中のMDA、IL-6、TNF-αの有意な上昇を認めた。一方で、1回排尿量や膀胱容量、膀胱血流量は有意に低下していた。シロドシンまたは高用量 (10 mg/kg)のタダラフィル投与群では、SHR vehicle投与群に比べ血圧の変化はみられなかったが、排尿回数や1回排尿量などの尿流動態パラメーターおよび上昇していた膀胱組織中のMDAの改善を認めた。IL-6やTNF-αについては、有意な変化はみられなかった。膀胱組織へのリンパ球浸潤については、WistarとSHRのvehicleを投与した群同士における2群間評価ではSHRで有意なリンパ球浸潤の増多を認めたが、5群間での解析では有意差を認めなかった。</p> <p><考察></p> <p>膀胱虚血は酸化ストレスおよびそれに続く膀胱機能障害を引き起こすことが知られている。今回の結果から、シロドシンまたは高用量タダラフィルの投与が膀胱の血流障害を改善することで、膀胱の酸化ストレスを減少させ、膀胱の過活動を改善したと考えられた。さらに、膀胱の炎症は炎症性サイトカインの産生を介して膀胱の求心性神経を刺激して排尿機能障害を誘発する事が報告されている。シロドシンおよびタダラフィ</p>		

ルの慢性投与は、膀胱組織中の IL-6 や TNF- α に有意な改善は認めなかった。膀胱組織中へのリンパ球浸潤は、Wistar と SHR の vehicle 投与群における 2 群間解析では有意差を認めたが、全 5 群間で行った解析ではその群間においても有意差を認めなかった。18 週齢の SHR では膀胱における炎症が軽度であるため、有意差がつかなかった可能性が考えられた。

<結論>

シロドシンまたは高用量タダラフィルによる慢性治療は、SHR における膀胱血流量の低下や膀胱組織中の酸化ストレスを軽減することにより膀胱過活動を有意に改善させた。

論文審査の結果の要旨

		氏 名	長尾 佳樹
審 査 委 員	主 査 氏 名	宮村 充彦	
	副 査 氏 名	山口 正洋	
	副 査 氏 名	井上 啓史	

題 目 Effects of silodosin and tadalafil on bladder dysfunction in spontaneously hypertensive rats : possible role of bladder blood flow
(自然発症高血圧ラットの膀胱機能障害に対するシロドシンとタダラフィルの効果：膀胱血流への役割の可能性)

著 者 Yoshiki Nagao, Shogo Shimizu, Atsushi Kurabayashi, Takahiro Shimizu, Masayuki Tsuda, Youichirou Higashi, Mikiya Fujieda, Motoaki Saito

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

要 旨

【背景・目的】下部尿路症状は、蓄尿、排尿および排尿後症状に分類される。下部尿路症状を呈する疾患の一つに前立腺肥大症があるが、前立腺肥大症の排尿障害に対して、選択的 α 1A アドレナリン受容体拮抗薬のシロドシンや phosphodiesterase type 5 阻害薬のタダラフィルが治療薬として用いられている。現在までの臨床データから、シロドシンやタダラフィルは、前立腺肥大症の男性患者において排尿症状のみならず蓄尿症状に対しても有効性が示されている。一方で、タダラフィルの蓄尿症状に対する効果に関する基礎研究は不明な点が多い。そこで、学位申請者は、シロドシンまたはタダラフィルの蓄尿症状に対する動物実験を行い、その効果やメカニズムに関する検討を行った。

【方法】自然発症高血圧ラット (spontaneously hypertensive rats : SHR)は、膀胱血流低下ならびに排尿筋過活動を呈することが示されている。SHR を用いて、シロドシンまたはタダラフィルの効果について比較検討した。12 週齢雄性 SHR に対して、シロドシン (100 μ g/kg)またはタダラフィル (2 or 10 mg/kg)を6 週間連日経口投与した。対照群として SHR に vehicle を、正常 control 群として Wistar 系ラットに vehicle を連日投与した群を用いた。6 週間の薬物投与後、血圧測定、代謝ケージによる排尿動態測定、持続および単回膀胱内圧測定による尿流動態パラメータの測定、膀胱血流量測定および組織中の酸化ストレスマーカー [malondialdehyde (MDA)] や炎症性サイトカイン [interleukin-6 (IL-6)、tumor necrosis factor- α (TNF- α)] の測定、膀胱組織中へのリンパ球浸潤の評価を行った。

【結果・考察】Wistar 系ラットに対し、SHR vehicle 投与群では、血圧や排尿回数、膀胱組織中の MDA、IL-6、TNF- α の有意な上昇を認めた。一方で、1 回排尿量や膀胱容量、膀胱血流量は有意に低下していた。シロドシンまたは高用量 (10 mg/kg) のタダラフィル投与群では、SHR vehicle 投与群に比べ血圧の変化はみられなかったが、排尿回数や 1 回排尿量などの尿流動態パラメータおよび上昇していた膀胱組織中の MDA の改善を認めた。IL-6 や TNF- α については、有意な変化はみられなかった。膀胱組織へのリンパ球浸潤については、Wistar と SHR の vehicle を投与した群間評価では SHR で有意なリンパ球浸潤の増多を認めたが、5 群間での解析では有意差を認めなかった。

膀胱虚血は酸化ストレスおよびそれに続く膀胱機能障害を引き起こすことが知られていることを考え合わせ、学位申請者は、今回の結果から、シロドシンまたは高用量タダラフィルの投与が膀胱の血流障害を改善することで、膀胱の酸化ストレスを減少させ、膀胱の過活動を改善したとしている。

さらに、膀胱の炎症は炎症性サイトカインの産生を介して膀胱の求心性神経を刺激して排尿機能障害を誘発する事が報告されているが、今回、シロドシンおよびタダラフィルの投与は、膀胱組織中の IL-6 や TNF- α に有意な改善は認めなかった。膀胱組織中へのリンパ球浸潤は、Wistar と SHR の vehicle 投与群における 2 群間解析では有意差を認めたが、全 5 群間で行った解析ではその群間においても有意差を認めなかった。18 週齢の SHR では膀胱における炎症が軽度であるため、有意差がつかなかった可能性が考えられた。これらのことより、学位申請者は、シロドシンまたは高用量タダラフィルによる薬物治療は、SHR における膀胱血流量の低下や膀胱組織中の酸化ストレスを軽減することにより膀胱過活動を有意に改善させると結論付けている。

以上の様に、学位申請者は、排尿障害改善薬として臨床上適応されているシロドシンとタダラフィルの過活動膀胱に対する効果について、自然発症高血圧ラットを用いた動物実験により検討し、その効果・メカニズムを明らかとし、将来、両薬剤の過活動膀胱に対する予防的な適応という新たな薬物療法に関わる貴重な知見を得た成果により、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)	LAUTHIER JUAN JOSE (アルゼンチン共和国)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第90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	令和2年3月23日
学位論文題目	Development of a Multilocus sequence typing (MLST) scheme for <i>Pan-Leishmania</i> (全リーシュマニア原虫の多遺伝子座シーケンス解析によるタイピング法の開発)
発表誌名	Acta Tropica 201 (2020) 105189 https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105189 2019年9月30日 (オンライン発表)

審査委員	主査	教授	佐野	栄紀
	副査	教授	村上	一郎
	副査	教授	麻生	悌二郎

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	らうていえ-る ふぁん ほせ Lauthier Juan Jose
論文題目	Development of a Multilocus sequence typing (MLST) scheme for Pan- <i>Leishmania</i> (全リーシュマニア原虫の多遺伝子座シーケンス解析によるタイピング法の開発)
<p>(論文要旨)</p> <p>リーシュマニア症は、昆虫媒介性のリーシュマニア原虫により引き起こされ、熱帯・亜熱帯を中心に 88 カ国に分布し、約 3 億 5 千万人がその感染のリスクに曝されている。年間約 100 万人の新規感染が推定され、2 万から 3 万人が死亡しているとみられている。リーシュマニア症は大別すると内臓型 (Visceral Leishmaniasis, VL)、皮膚型 Cutaneous Leishmaniasis, CL)、粘膜皮膚型 (Mucocutaneous Leishmaniasis, MCL) に分けられる。少なくとも 21 種のリーシュマニア属原虫がヒトに寄生し、様々な病態に関与することが知られている。リーシュマニア原虫種の違いが病態を決定する要因となることから、患者の診断・予後の判定を行う上で、簡便で正確な遺伝子型のタイピング法を開発することが求められている。また、リーシュマニア原虫は、複雑な生活環 (zoonotic または anthroponotic cycle) を有し、各流行地に分布する原虫種を正確にタイピングすることが、疫学調査および地域住民の健康対策上も重要である。</p> <p>リーシュマニア症の遺伝子型タイピング法として、これまでに原虫の 15 種の酵素についてのアイソザイム電気泳動法が、そして近年では DNA レベルでの様々な技術が開発され、多遺伝子座シーケンス解析 (multilocus sequence typing, MLST) が行われるようになった。私たちの研究室では、アルゼンチン北部で流行している <i>Leishmania braziliensis</i> をチトクローム b (Cyt b) 遺伝子型レベルで解析し、2 つのタイプがあることを見出した。さらに nested PCR を用いたタイピング法の有用性を示した。本研究では、これらの方法をさらに発展させ、最適最少の遺伝子の組合せで、現時点でヒトに感染することが知られている全リーシュマニア原虫種をタイピングできる新たな MLST 法を開発した。</p> <p>材料と方法：本研究で用いる遺伝子座について、先行研究で報告されている 38 遺伝子の中から 27 遺伝子配列を選定し、BLASTn サーチにより相同性検索した。In silico 解析のために 33 種のリーシュマニア属原虫、<i>Paraleishmania</i> 属原虫 1 種とアウトグループ 1 種を設定した。In silico 解析で選抜された 15 遺伝子をさらに実験解析するために、本研究室の保存株と WHO 標準株を培養し、DNA を精製・調整した。PCR やシーケンシングは先行研究で用いられた方法および新たにデザインした増幅 (amplification) 法とプライマーを用いて行った。2 つの MLST 解析スキームでは、多数の遺伝子配列を</p>	

結合させたデータセットの解析法(concatenation)と近隣結合法(NJ)を適用した。解析にはMLSTestソフトウェアを用いた。多数の遺伝子配列を結合した(concatenated)トポロジーで比較した系統樹解析を行い、分子系統学的不適合(incongruence)は BIO-NJ法を用いた Incongruence Difference Test (BIONJ-ILD)、パームテーション検定及びテンプレトン検定で解析した。また、Consensus Network 法による系統樹解析を行った。




結果:①In silico 解析された 27 遺伝子配列の 33,475 塩基(bp)において、その 43.4% に多型が見られた。全てのターゲット遺伝子の中で、最も高い allele number と discriminatory power (DP)が見出されたのは *6PGD* 遺伝子配列であった。逆に最も変異が少なかったのは *LACK* と *MKK* 遺伝子配列であった。解析の結果、最適な 15 遺伝子の組合せが見出された。そして新たな 9 つのプライマーが設計された。②15 遺伝子のうち 14 遺伝子について、20 種のレファレンス原虫株 DNA から増幅することができた。*PMM* 遺伝子については数株の原虫種でしか増幅できなかった。8,491bp について解析した結果、2,863 カ所(33,7%)に多型がみられ、そのうち 2.1%はヘテロであった。Concatenation 法に基づく系統樹解析では、種複合体あるいは種レベルで高いブーストラップが示された。③14 遺伝子は congruence 解析により MLST 解析に適していると判定された。④これらの遺伝子配列の中から、10 組または 3 組の遺伝子を選定する実験を行った。その結果、*PPA*, *GPI*, *6PGD*, *HX*, *Ch36-1190*, *G6PD*, *PGM*, *ASAT*, *ALAT*, *ACON* の 10 遺伝子、そして *PPA*, *HX*, *6PGD* の 3 遺伝子の組合せによる MLST 解析が最も優れていることが分かった。

考察:

本研究は、様々なリーシュマニア原虫株を分子系統学的に評価でき、種を同定できる 2 段階 MLST 解析法を初めて示したものである。第 1 の MLST 法は、*PPA*, *HX*, *6PGD* の 3 遺伝子の組合せで基礎的な系統樹解析として種の同定が可能である。さらに上記 3 遺伝子に、第 2 段階として、次の 7 遺伝子 *GPI*, *Ch36-1190*, *G6PD*, *PGM*, *ASAT*, *ALAT*, *ACON* を組み合わせた 10 遺伝子による MLST 解析では、種の同定や種の系統間の関係を分子系統学的に明らかにできるだけでなく、臨床的にも様々なリーシュマニア症の病態、薬剤抵抗性に関連した知見が得られるであろうと期待される。また、寄生虫学的にも、種々の保虫宿主や媒介昆虫から得られた分離株の差異を明らかにできると思われる。

これまでリーシュマニア原虫の系統樹解析には、様々な遺伝子配列を元にした MLST が用いられてきたが、染色体の組換えや遺伝子座間の不適合(incongruence)の影響を排除できなかった。本研究により開発された方法は系統樹解析をする上で、現時点では、計算進化遺伝学的に、より頑健な最良の方法と考えられる。*HSP70* のような単一遺伝子座解析や次世代シーケンシングから得られるデータと、そして疫学的データ等と比較検討できるようになれば、本研究で示された MLST 法は、リーシュマニア原虫の遺伝子型タイピング法の新たなゴールドスタンダードとなる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

	氏 名
	LAUTHIER JUAN JOSE
審 査 委 員	主 査 氏 名 佐野 栄紀 
	副 査 氏 名 村上 一郎 
	副 査 氏 名 麻生悌二郎 

題 目 Development of a Multilocus sequence typing (MLST) scheme for Pan-*Leishmania*
(全リーシュマニア原虫の多遺伝子座シーケンス解析によるタイピング法の開発)

著 者 Juan Jose Lauthier, Paula Ruybal, Paola Andrea Barroso, Yoshihisa Hashiguchi,
Jorge Diego Marco, Masataka Korenaga

発表誌名、巻 (号)、ページ (~)、年 月
Acta Tropica 201 (2020) 105189
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105189>
2019年9月30日 (オンライン発表)

要 旨

【背景・目的】

リーシュマニア症は、リーシュマニア原虫により引き起こされ、熱帯・亜熱帯を中心に 88 カ国に分布し、約 3 億 5 千万人がその感染のリスクに曝されている。年間約 100 万人の新規感染が推定され、2 万から 3 万人が死亡しているとみられている。リーシュマニア症は内臓型 (Visceral Leishmaniasis, VL)、皮膚型 Cutaneous Leishmaniasis, CL)、粘膜皮膚型 (Mucocutaneous Leishmaniasis, MCL) に分けられる。少なくとも 21 種のリーシュマニア属原虫がヒトに寄生し、様々な病態に関与することが知られている。リーシュマニア原虫種の違いが病態を決定する要因となることから、患者の診断・予後の判定を行う上で、簡便で正確な遺伝子型のタイピング法を開発することが求められている。また、各流行地に分布する原虫種を正確にタイピングすることが、疫学調査および地域住民の健康対策上も重要である。

リーシュマニア症の遺伝子型タイピング法として、これまでに原虫の 15 種の酵素についてのアイソザイム電気泳動法が、そして近年では多遺伝子座シーケンス解析 (multilocus sequence typing, MLST) が行われるようになった。私たちの研究室では、アルゼンチン北部で流行している *Leishmania braziliensis* をチトクローム b (Cyt b) 遺伝子型レベルで解析し、2 つのタイプがあることを見出した。さらに nested PCR を用いたタイピング法の有用性を示した。本研究では、これらの方法をさらに発展させ、最適最少の遺伝子の組合せで、現時

点でヒトに感染することが知られている全リーシュマニア原虫種をタイピングできる新たな MLST 法を開発した。

【方法】

本研究で用いる遺伝子座について、先行研究で報告されている 38 遺伝子の中から 27 遺伝子配列を選定し、BLASTn サーチにより相同性検索した。*In silico* 解析のために 33 種のリーシュマニア属原虫、*Paraleishmania* 属原虫 1 種とアウトグループ 1 種を設定した。*In silico* 解析で選抜された 15 遺伝子をさらに実験解析するために、本研究室の保存株と WHO 標準株を培養し、DNA を精製・調整した。PCR やシーケンシングは先行研究で用いられた方法および新たにデザインした増幅(amplification)法とプライマーを用いて行った。2つの MLST 解析スキームでは、多数の遺伝子配列を結合させたデータセットの解析法(concatenation)と近隣結合法(NJ)を適用した。解析には MLSTest ソフトウェアを用いた。多数の遺伝子配列を結合した(concatenated)トポロジーで比較した系統樹解析を行い、分子系統学的不適合(incongruence)は BIO-NJ 法を用いた Incongruence Difference Test(BIONJ-ILD)、パーミュテーション検定及びテンプレトン検定で解析した。また、Consensus Network 法による系統樹解析を行った。

【結果・考察】

- ① *In silico* 解析された 27 遺伝子配列の 33,475 塩基(bp)において、その 43.4%に多型が見られた。全てのターゲット遺伝子の中で、最も高い allele number と discriminatory power (DP)が見出されたのは 6PGD 遺伝子配列であった。逆に最も変異が少なかったのは LACK と MKK 遺伝子配列であった。解析の結果、最適な 15 遺伝子の組合せが見出された。そして新たな 9 つのプライマーが設計された。
- ② 15 遺伝子のうち 14 遺伝子について、20 種のレファレンス原虫株 DNA から増幅することができた。PMM 遺伝子については数株の原虫種でしか増幅できなかった。8,491bp について解析した結果、2,863 カ所(33.7%)に多型がみられ、そのうち 2.1%はヘテロであった。Concatenation 法に基づく系統樹解析では、種複合体あるいは種レベルで高いブーストラップが示された。
- ③ 14 遺伝子は congruence 解析により MLST 解析に適していると判定された。
- ④ これらの遺伝子配列の中から、10 組または 3 組の遺伝子を選定する実験を行った。その結果、PPA, GPI, 6PGD, HX, Ch36-1190, G6PD, PGM, ASAT, ALAT, ACON の 10 遺伝子、そして PPA, HX, 6PGD の 3 遺伝子の組合せによる MLST 解析が最も優れていることが分かった。

【結論】

本研究は、様々なリーシュマニア原虫株を分子系統学的に評価でき、種を同定できる 2 段階 MLST 解析法を初めて示したものである。第 1 の MLST 法は、PPA, HX, 6PGD の 3 遺伝子の組合せで基礎的な系統樹解析として種の同定が可能である。さらに上記 3 遺伝子に、第 2 段階として、次の 7 遺伝子 GPI, Ch36-1190, G6PD, PGM, ASAT, ALAT, ACON を組み合わせた 10 遺伝子による MLST 解析では、種の同定や種の系統間関係を分子系統学的に明らかにできるだけでなく、臨床的にも様々なリーシュマニア症の病態、薬剤抵抗性に関連した知見が得られるであろうと期待される。また、寄生虫学的にも、種々の保虫宿主や媒介昆

虫から得られた分離株の差異を明らかにできると思われる。

これまでリーシュマニア原虫の系統樹解析には、様々な遺伝子配列を元にした MLST が用いられてきたが、染色体の組換えや遺伝子座間の不適合(incongruence)の影響を排除できなかった。以上のように、本研究により開発された方法は系統樹解析をする上で、現時点では、計算進化遺伝学的に、より頑健な最良の方法と考えられる。*HSP70* のような単一遺伝子座解析や次世代シーケンシングから得られるデータと、そして疫学的データ等と比較検討できるようになれば、本研究で示された MLST 法は、リーシュマニア原虫の遺伝子型タイピング法の新たなゴールドスタンダードとなる可能性がある。

以上のように、本論文は様々なリーシュマニア原虫株を分子系統学的に評価でき、種を同定できる 2 段階 MLST 解析法を初めて示したものである。医学的に高い価値を有するものである。

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)	青山 文 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第91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	令和2年3月23日
学位論文題目	Role of neurosteroid allopregnanolone on age-related differences in exercise-induced hypoalgesia in rats (運動による疼痛緩和の加齢性変化およびその病態における神経ステロイド: Allopregnanoloneの関与 -高齢ラットでの検討-)
発表誌名	Journal of Pharmacological Sciences, 139(2): 77~83 2019年 2月

審査委員	主査	教授	池内	昌彦
	副査	教授	齊藤	源頭
	副査	教授	古谷	博和

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	青山 文
論文題目	<p>Role of neurosteroid allopregnanolone on age-related differences in exercise-induced hypoalgesia in rats. (運動による疼痛緩和の加齢性変化およびその病態における神経ステロイド: Allopregnanolone の関与-高齢ラットでの検討-)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>[背景] 高齢者の慢性痛は ADL 及び QOL の低下の主要な原因となる。その一方で、高齢者の慢性痛の治療においてはポリファーマシーに伴う薬物相互作用に注意する必要がある、非薬物的介入が推奨されている。過去の研究から、有酸素運動後に痛覚閾値が増加することが知られており、Exercise-Induced Hypoalgesia (EIH) と呼ばれる。EIH は高齢者の慢性痛に対する有効な治療法となり得るが、高齢者と若年成人を対象とした最近の研究では、EIH は両方で誘発されるものの、その有効性は高齢者で低いことが報告されている。しかし、EIH の加齢が及ぼす病態機序については明らかとされていない。神経ステロイドは、神経組織で生合成・代謝されるステロイドで、神経障害性痛モデル動物において鎮痛効果を有すること、年齢とともに低下し、運動後に増加することが示されている。Allopregnanolone(ALLO)は、プロゲステロンから産生され、強力な GABA 作動性を有する神経ステロイドであり、抗酸化作用や神経保護作用を併せ持つ。そこで今回、EIH の加齢性変化およびその病態における神経ステロイド(ALLO) の役割について検討した。</p> <p>[方法] 若年 (2-3 ヶ月齢) および高齢 (19-24 ヶ月齢)ラットを用い、それぞれ運動群と非運動対照群に振り分けた (各群 n=12)。運動介入は 10 分間トレッドミル走行とし、走行速度 (運動強度) は、最大酸素摂取量 (%VO₂max) を指標として測定し、本研究では 40%VO₂max の軽度運動介入または 80%VO₂max の高度運動介入を行った。痛みの評価は、60g von Frey フィラメントの足底刺激 (20 回) に対する逃避行動の発生頻度の変化率を用いた。痛みの測定は、運動前の基準値、運動 10 分後から 10 分ごとに運動 60 分後まで行った。ALLO の関与に関しては、ALLO 合成における主要酵素である 5α-レダクターゼ阻害剤(フィナステリド) を運動前に投与することで検討した。また、運動前後の脳内 ALLO の濃度変化をガスクロマトグラフィー法で測定した。さらに、外因性に ALLO を投与し、EIH の持続時間を比較検討した。各群の比較は反復測定分散分析とボンフェローニ補正をしたウィルコクソンの順位和検定を用い、p<0.05 を有意とした。</p> <p>[結果] 軽度運動介入において、若年ラットでは疼痛行動に変化は生じなかったが、高齢ラットでは、非運動対照群と比較して、運動 10 分から 30 分後まで有意な疼痛行動の減少が生じた。この EIH 効果は、フィナステリドの前投与により抑制された。脳内 ALLO 濃度は、高齢ラットでは若年ラットと比較して基準値は有意に低かった。また、高齢ラットにおいて軽度運動介入後に ALLO 濃度が急速に増加し、ALLO 合成の主要酵素である 5α-レダクターゼも同様に増加した。さらに外因性に ALLO を投与すると、軽度運動介入後の EIH の持続時間が延長す</p>	

ることが分かった。一方、高度運動介入においては、若年ラットでは運動 10 分および 20 分後に有意に疼痛閾値が増加したが、高齢ラットでは運動 20 分後のみ EIH が生じた。この効果はフィナステリドでは拮抗されず、オピオイド拮抗薬であるナロキソンで拮抗された。また、高齢ラットにおける強度運動介入後の脳内 ALLO 濃度および外因性に ALLO 投与後の EIH の持続時間は、コントロールと比較して統計的有意差を認めなかった。

[結語] 高齢ラットでは、若年ラットと比較して軽度の運動介入で EIH を生じた。高齢ラットにおける EIH の機序には、脳内の ALLO の増加が関与する可能性が示唆された。この結果は、特に高齢者の慢性痛において、脳内の ALLO 濃度が治療の標的となる可能性を示唆している。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	青山 文
審 査 委 員	主 査 氏 名	池内 昌彦 
	副 査 氏 名	齊藤 源頭 
	副 査 氏 名	古谷 博和 印

題 目 Role of neurosteroid allopregnanolone on age-related differences in exercise-induced hypoalgesia in rats
 (運動による疼痛緩和の加齢性変化およびその病態における神経ステロイド: Allopregnanolone の関与 - 高齢ラットでの検討 -)

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

発表誌名、巻 (号)、ページ (~), 年 月
 Journal of Pharmacological Sciences, 139(2): 77~83 2019年 2月

要 旨

[背景]

高齢者の慢性痛は ADL 及び QOL が低下する主な原因となる。治療において鎮痛薬を使用することが多いが、高齢者においてはポリファーマシーに伴う薬物相互作用に注意する必要があり、非薬物的介入が推奨されている。過去の研究から、有酸素運動後に痛覚閾値が増加することが知られており、Exercise-Induced Hypoalgesia (EIH) と呼ばれる。EIH は高齢者の慢性痛に対する有効な治療法となり得るが、高齢者と若年成人を対象とした最近の研究では、EIH は両方で誘発されるものの、その有効性は高齢者で低いことが報告されている。しかし、加齢によって EIH が誘発されにくくなる病態機序については明らかとされていない。神経ステロイドは、神経組織で生合成・代謝されるステロイドで、神経障害性痛モデル動物において鎮痛効果を有すること、年齢とともに低下し、運動後に増加することなどが示されている。Allopregnanolone (ALLO) は、プロゲステロンから産生され、強力な GABA 作動性を有する神経ステロイドであり、抗酸化作用や神経保護作用を併せ持つ。そこで今回、EIH の加齢性変化およびその病態における神経ステロイド (ALLO) の役割について検討した。

[方法]

若年 (2-3 か月齢) および高齢 (19-24 か月齢) ラットを用い、それぞれ運動群と非運動対照群に振り分けた (各群 n=12)。運動介入は10分間のトレッドミル走行とし、走行速度 (運動強度) は、最大酸素摂取量 (%VO₂max) を指標として測定し、本研究では 40%VO₂max の低強度運動介入または 80%VO₂max の高強度運動介入を行った。痛みの評価は、60g von Frey フィラメントの足底刺激 (20 回) に対する逃避行動の発生頻度の変化率を用いた。痛みの測定は、運動前の基準値、運動 10 分後から 10 分ごとに運動 60 分後まで行った。ALLO の関与に関しては、ALLO 合成における主要酵素である 5 α -レダクターゼ阻害剤(フィナステリド) を運動前に投与することで検討した。また、運動前後の脳内 ALLO の濃度変化をガスクロマトグラフィー法で測定した。さらに、外因性に ALLO を投与し、EIH の持続時間を比較検討した。

[結果]

低強度運動介入において、若年ラットでは疼痛行動に変化は生じなかったが、高齢ラットでは、非運動対照群と比較して、運動 10 分から 30 分後まで有意な疼痛行動の減少が生じた。この EIH 効果は、5 α -レダクターゼ阻害剤(フィナステリド)の前投与により抑制された。脳内 ALLO 濃度は、高齢ラットでは若年ラットと比較して基準値は有意に低かった。また、高齢ラットにおいて低強度運動介入後に ALLO 濃度が急速に増加し、ALLO 合成の主要酵素である 5 α -レダクターゼも同様に増加した。さらに外因性に ALLO を投与すると、低強度運動介入後の EIH の持続時間が有意に延長した。一方、高強度運動介入においては、若年ラットでは運動 10 分および 20 分後に有意に疼痛閾値が増加し明らかな EIH 効果を認めたが、高齢ラットでは軽度の EIH 効果が運動 20 分後のみにみられた。高強度運動介入によって得られる EIH 効果は、5 α -レダクターゼ阻害剤(フィナステリド)では拮抗されず、オピオイド拮抗薬であるナロキソンで拮抗された。また、高齢ラットにおける強度運動介入後の脳内 ALLO 濃度は、非運動対照群と比較して優位差を認めず、さらに外因性 ALLO 投与後の EIH の持続時間は延長しなかった。

[結語]

EIH を誘発する運動強度は若年ラットと高齢ラットで異なっていた。若年ラットでは高強度の運動介入をしないと EIH 効果は得られないが、高齢ラットではより低強度の運動介入で EIH 効果を得られた。また、高齢ラットにおける低強度運動介入後の EIH の機序として、脳内の ALLO および ALLO 合成酵素である 5 α -レダクターゼの増加が関与することが明らかとなった。この結果は、特に高齢者の慢性痛において、脳内の ALLO が治療標的となる可能性を示唆している。

学位申請者は、運動に伴う鎮痛機序が若年と高齢ラットでは異なり、高齢ラットでは低強度運動が脳内ALLOを増加させて鎮痛効果を発揮することを明らかにした。高齢者の慢性痛が社会問題となっている現在、高齢者にとって鎮痛効果を発揮する運動強度やその発生機序を解明することは医学的に価値が高く、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)	石田 智滉 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第92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	令和2年3月23日
学位論文題目	Juzentaihoto hot water extract alleviates muscle atrophy and improves motor function in the streptozotocin induced diabetic oxidative stress mice (十全大補湯熱水抽出エキスはストレプトゾシン誘発糖尿病マウスに対して筋萎縮を抑制し、運動機能を亢進させる)
発表誌名	Journal of natural medicines, 73 (1), 202-209 2019 年 11月

審査委員	主査	教授	花崎	和弘
	副査	教授	北岡	裕章
	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	石田 智滉
論文題目	<p>Juzentaihoto hot water extract alleviates muscle atrophy and improves motor function in the streptozotocin induced diabetic oxidative stress mice (十全大補湯熱水抽出エキスはストレプトゾシン誘発糖尿病マウスに対して筋萎縮を抑制し、運動機能を亢進させる)</p>
<p>【目的】 サルコペニアは加齢による筋肉量及び筋力の低下を症状とする疾患であり、患者の運動機能を低下させ、生活の質を著しく低下させる。特に先進国においては高齢化に伴い患者数が増加しており、深刻な社会問題となっている。サルコペニアの発症には骨格筋における酸化ストレス、炎症が密接に関係することが分かっている。特に糖尿病患者では、高血糖状態の持続により活性酸素や炎症性サイトカインの産生が増大し、DNA障害や脂質の過酸化、タンパク質変性を起こし、筋肉萎縮を加速させることが知られている。</p> <p>十全大補湯 (JTT) は漢方処方の一つであり、臨床上では虚弱、疲労、倦怠の状態に対して体力を補うことのために使用されており、サルコペニアの発症を予防することが期待される。漢方薬は多成分で構成される薬剤であり、一つの処方で複数の治療効果を有することが報告されている。そのため、筋肉萎縮だけでなく、加齢や酸化ストレスの増加により引き起こされる諸症状に対して有効性を示す可能性があり、多剤併用渦が問題視されている昨今の医療業界において解決策の一つとして注目されている。</p> <p>本研究では、ストレプトゾシン (STZ) 投与による膵臓β細胞死にて糖尿病性筋萎縮マウスを作製し、糖尿病状態で生じる骨格筋萎縮の病態を模倣した。これに対してJTTを予防的に投与し、骨格筋量、運動機能の評価を行い、JTTの糖尿病性筋萎縮予防作用を検討した。さらに、マウス骨格筋由来C2C12細胞を用いて<i>in vitro</i>の実験系を構築し、Sirtuin1 (Sirt1) 遺伝子の転写活性を指標として、JTTに含まれる有効な生薬を探索した。</p> <p>【方法】 動物実験：JTT投与開始の4日前にSTZを150mg/kgの用量で腹腔内投与し、対照群にはSTZの代わりに同量の生理食塩水を投与した。STZ処理群をさらに2分し、それぞれ通常餌 (CE-2)、4% (w/w)JTT混合餌を、35日間投与した。また、対照群には通常試料 (CE-2) を与えた。JTTは(株)ツムラから購入した医療用十全大補湯エキスの賦形剤添加前のものを使用した。飼育期間中は、7日おきに体重と血糖値の測定、ロータ・ロッド試験を実施した。JTT投与開始日から35日目に麻酔下で開腹し、下行大静脈より全血液を採取し、ELISA法にて血中のTNFα、IL-6を測定した。また、全血液採取後に摘出した腓腹筋、長趾伸筋、ヒラメ筋の湿重量を測定した。腓腹筋はさらに、10%ホルマリンで固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い筋繊維の断面積を計測した。さらに、腓腹筋から全RNAを採取し、定量PCR法でSirt1、Muscle RING Finger Protein-1 (MuRF1)、Atrogin1のmRNA発現量を比較した。</p> <p>細胞実験：マウス骨格筋由来C2C12細胞を9.5cmディッシュに播種し、pCMV-LacZ、pTA Luc-Sirt1-promoterの導入を行った。導入24時間後、JTT (0,30,100,300,1000 μg/ml)又はその構成生薬の抽出エキス(100 μg/ml)を混合した培地に交換した。12時間反応させ、細胞を回収後、ルシフェリンの蛍光量を測定してSirt1の転写量を測定した。また、pCMV-LacZにより産生されたβ-ガラクトシダーゼの活性を内部標準として用いた。JTT及び構成生薬のエキスはツムラから購入した</p>	

医療用十全大補湯エキス及び生薬熱水抽出エキスに20倍量のメタノールを添加して抽出し、エバポレーターで濃縮したものを使用した。

【結果・考察】

JTTをSTZ誘発筋萎縮マウス (STZマウス) に予防投与したところ、酸化ストレス、炎症性サイトカインの発現量を抑制し、下肢の腓腹筋、長趾伸筋の萎縮を抑制し、ロータ・ロッドによる運動機能試験の結果を改善されることが分かった。

骨格筋を構成するタンパク質は、主にユビキチンリガーゼ (MuRF1、Atrogin1) の発現量が亢進し、ユビキチン・プロテアソーム系が過剰に働くことによって分解される。高血糖の状態では、MuRF1、Atrogin-1は活性酸素や炎症性サイトカインの発現が亢進することで発現量が上昇することが報告されている。本研究で、腓腹筋に含まれるユビキチンリガーゼ (MuRF1、Atrogin1) のmRNA発現量を確認したところ、STZマウスでMuRF1、Atrogin1の発現量は上昇したが、JTTの投与により有意に低下することが分かった。

ユビキチンリガーゼは、活性酸素により発現量が上昇し、骨格筋を萎縮させる。体内において生じる活性酸素は抗酸化酵素の働きにより除去されることが知られており、本研究では、腓腹筋における抗酸化酵素の活性について検討を行った。その結果、STZマウスで腓腹筋のMn-SODの活性が低下したが、JTTを投与したSTZマウスではMn-SOD活性が有意に回復した。この結果から、JTTはMn-SODの活性上昇を介して活性酸素を除去し、筋萎縮を抑制させることが示唆された。また、骨格筋のMn-SODを欠損したマウスでは乳酸の増加や酸化ストレスの亢進により運動持久時間が著しく低下するという報告もあり、Mn-SODは運動する際の持久力に密接に関係すると考えられている。本研究では、Mn-SOD活性が回復したことで運動持久力が回復し、ロータ・ロッドテストの運動機能試験の結果が改善されたことも考察される。


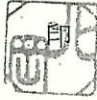
Sirt1 遺伝子はMn-SODの活性を上昇させ、骨格筋の酸化ストレス軽減に重要な働きを示すことが知られている。本研究でも、Sirt-1の腓腹筋における発現量を確認したところ、STZマウスでSirt1発現量が減少したが、JTTの投与により回復した。この結果から、JTTの投与によりSirt1の発現上昇が起こり、これを介してMn-SODの活性上昇が起き、酸化ストレスによる影響を軽減したと考えられる。また、Sirt1遺伝子は炎症性サイトカインTNF α 、IL-6の発現量を低下させ、骨格筋萎縮を抑制させることが知られており、JTTも同様の機序を介して骨格筋萎縮を軽減させたことも考察される。

JTT中に含まれる生薬の中で骨格筋萎縮抑制に重要な働きをもつ生薬を探索した結果、黄耆、桂皮、甘草抽出エキスによりC2C12細胞のSirt1遺伝子転写活性が上昇することが分かり、JTTの活性にはこれら3つの生薬が重要な役割を果たすことが示唆された。

以上より、JTTは糖尿病性筋萎縮に対してSirt1遺伝子の発現上昇を介して抗酸化、抗炎症作用を発揮し、骨格筋萎縮、運動持久力低下を抑制させることが示唆された。また、JTTを構成する生薬のうち、黄耆、桂皮、甘草がJTTの活性に重要な働きを示すことが考えられる。

サルコペニアは临床上、加齢だけでなく、基礎疾患が要因となり進行することが分かっている。今後、糖尿病モデルだけでなく、他の疾患モデルに対してもJTTの有効性を検討していき、将来的に、臨床の現場において漢方薬を用いたサルコペニア治療を実現することを目指して研究を進めていく。

論文審査の結果の要旨

	氏名	石田 智滉
審査委員	主査氏名	花崎 和弘 
	副査氏名	北岡 裕章 
	副査氏名	瀬尾 宏美 印

題目 Juzentaihoto hot water extract alleviates muscle atrophy and improves motor function in the streptozotocin induced diabetic oxidative stress mice (十全大補湯熱水抽出エキスはストレプトゾシン誘発糖尿病マウスに対して筋萎縮を抑制し、運動機能を亢進させる)

著者 Tomoaki Ishida, Michiro Iizuka, Yanglan Ou, Shumpei Morisawa, Ayumu Hirata, Yusuke Yagi, Kohei Jobu, Yasuyo Morita, Mitsuhiko Miyamura

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年月
Journal of natural medicines, 73 (1), 202-209 2019年11月

要旨

【背景・目的】

サルコペニアは加齢に伴う骨格筋量の減少、筋力の低下および身体能力の低下を主症状とする疾患であり、患者の運動機能を低下させ、生活の質を著しく低下させる。高齢化社会を迎え、サルコペニア患者数は著しく増加しており、深刻な社会問題となっている。サルコペニアの発症には骨格筋における酸化ストレスや炎症が密接に関与している。特に糖尿病患者では、高血糖状態の持続により活性酸素や炎症性サイトカインの産生が増大し、DNA障害、脂質の過酸化およびタンパク質変性が生じ、筋肉萎縮を加速させることが報告されている。

十全大補湯(JTT)は漢方薬の一つであり、虚弱、疲労、倦怠症状に対して体力を補うために処方されており、サルコペニア治療薬としても期待される。漢方薬は多成分で構成されているため、一剤で複数の治療効果を有する。そのため漢方薬は西洋医学の問題点である多剤併用による有害事象に対する解決策の一つとしても注目されている。JTTも筋肉萎縮だけでなく、加齢や酸化ストレスの増加が原因とされる諸症状に対しても有効性を示す可能性がある。

本研究では、1型糖尿病で生じるサルコペニア病態をストレプトゾシン(STZ)投与による糖尿病性筋萎縮マウスを用いて作成した。これに対してJTTを投与し、骨格筋量、運動機能の評価を行い、JTTの糖尿病性筋萎縮予防効果を検討した。さらに、マウス骨格筋由来C2C12細胞を用いて*in vitro*の実験系を構築し、Sirtuin1(Sirt1)遺伝子の転写活性を指標として、JTTに含まれる有効生薬を探索した。

【方法】

動物実験 JTT投与開始の4日前にSTZを150mg/kg腹腔内投与した群をSTZ投与群とした。

STZ投与群はさらに通常餌 (CE-2) 投与群および4%(w/w)JTT混合餌投与群の2群に分けた。両群とも35日間餌を投与した。同量の生理食塩水を投与した群を対照群とし、通常試料 (CE-2) を35日間投与した。対照群は株式会社ツムラから購入した医療用JTTエキスの賦形剤添加前のものを使用した。飼育期間中は、7日毎に体重と血糖値の測定を行い、運動機能はロータ・ロッド試験を用いて評価した。JTT投与開始日から35日目に麻酔下で開腹し、下行大静脈より全血液を採取し、血中のTNF α 、IL-6を測定した。同時に腓腹筋、長趾伸筋、ヒラメ筋の湿重量を測定した。腓腹筋は10%ホルマリンで固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い筋繊維の断面積を計測した。また腓腹筋から全RNAを採取し、定量PCR法でSirt1、Muscle RING Finger Protein-1 (MuRF1)、Atrogin1のmRNA発現量を測定し、3群間で比較検討した。

細胞実験 マウス骨格筋由来C2C12細胞を9.5cmディッシュに播種し、pCMV-LacZ、pTA Luc-Sirt1-promoterの導入を行った。導入24時間後、JTT (0,30,100,300,1000 μ g/ml)またはJTT構成生薬の抽出エキス(100 μ g/ml)を混合した培地に交換した。12時間反応させ、細胞を回収後、ルシフェリンの蛍光量を測定してSirt1の転写量を測定した。また内部標準としてpCMV-LacZにより産生された β -ガラクトシダーゼ活性を用いた。JTT構成生薬のエキスおよび生薬熱水抽出エキスに20倍量のメタノールを添加して抽出し、エバポレーターで濃縮したものを使用した。

【結果・考察】

STZマウスにJTTを投与した結果、酸化ストレス、炎症性サイトカインの発現量だけでなく、下肢の腓腹筋、長趾伸筋の萎縮も抑制された。同時に運動機能も改善された。

骨格筋を構成するタンパク質は、主にユビキチンリガーゼ (MuRF1、Atrogin1) の発現量が亢進し、ユビキチン・プロテアソーム系が過剰に働くことによって分解される。高血糖の状態では、MuRF1、Atrogin-1は活性酸素や炎症性サイトカインの増加によりその発現量が高値を示す。腓腹筋に含まれるユビキチンリガーゼ (MuRF1、Atrogin1) のmRNA発現量を評価したところ、STZマウスのMuRF1、Atrogin1発現量は上昇したが、JTT投与により有意に低下した。

ユビキチンリガーゼは、活性酸素により発現量が上昇し、骨格筋を萎縮させる。体内において生じる活性酸素は抗酸化酵素の活性により除去される。本研究は腓腹筋における抗酸化酵素の活性についても検討した。その結果、STZマウスにおいて腓腹筋のMn-SOD活性は低下したが、JTT投与により有意に改善した。以上より、JTTはMn-SODの活性上昇を介して活性酸素を除去し、筋萎縮を抑制させることが示唆された。骨格筋のMn-SODは運動時の持久力に密接に関係しており、Mn-SOD欠損マウスでは乳酸値の上昇や酸化ストレスの亢進により運動持久力が著しく低下する。JTT投与によりMn-SOD活性は改善し、運動持久力が回復したのみならず、運動機能も改善することが明らかとなった。

Sirt1 遺伝子はMn-SODの活性を上昇させ、骨格筋の酸化ストレス軽減に重要な働きを示す。STZ投与によりSirt1の腓腹筋発現量は減少したが、JTT投与により改善した。JTT投与によりSirt1発現が上昇し、Mn-SODの活性上昇を惹起し、酸化ストレスによる影響を軽減したと考えられる。Sirt1遺伝子はTNF α 、IL-6の発現量を低下させ、骨格筋萎縮を抑制させる。したがってJTTも同様の機序を介して骨格筋萎縮を軽減させたと考えられる。

【結論】

JTTは糖尿病性筋萎縮に対してSirt1遺伝子の発現上昇を介して抗酸化、抗炎症作用を発揮し、骨格筋萎縮、運動持久力低下を抑制する。またJTTを構成する生薬のうち、黄耆、桂皮、甘草の3つの生薬はSirt1遺伝子を介してJTT活性に重要な働きをする。

サルコペニアは加齢だけでなく、様々な基礎疾患が要因となり進行していく。今後は糖尿病モデルだけでなく、他疾患モデルに対してもJTTの有効性を検討したい。将来的には科学的根拠に基づいた漢方薬を用いたサルコペニア治療法の開発と確立を目指したい。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。これらの内容をふまえ、審査委員一同、本論文は医学的に高い価値を有するものであり、本論文が高知大学博士 (医学) に相応しい論文と判断した。

氏名(本籍)	石田 七生 (東京都)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第93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	令和2年3月23日
学位論文題目	Improvement of blood lipid profiles by Goishi tea polyphenols in a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study (碁石茶ポリフェノールの血中脂質改善効果 プラセボ対照ランダム化二重盲検比較試験)
発表誌名	International Journal of Food Sciences and Nutrition, 69(5), 598~607 2018年8月

審査委員	主査	教授	山本	哲也
	副査	教授	寺田	典生
	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

論文題目	氏名 石田 七生 Improvement of blood lipid profiles by Goishi tea polyphenols in a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study (碁石茶ポリフェノールの血中脂質改善効果 プラセボ対照ランダム化二重盲検比較試験)
<p>(論文要旨)</p> <p>【目的】</p> <p>我が国では高齢化や食習慣の欧米化に伴い、生活習慣病の増加が深刻な問題となっている。生活習慣病を予防し、健康を維持し続けるためには、疾病の予備段階である未病の状態を改善または維持することが重要であると考えられる。脂質異常症及びメタボリックシンドロームの予防に対して、茶類に含まれる機能性成分が注目されており、抗酸化作用や脂質改善効果を有することが報告されている。</p> <p>当教室では、産官学及び医農連携により、高知県長岡郡大豊町のみならずその製法を伝える伝統的な2段階発酵茶である「碁石茶」に対して、製造方法の高位平準化や成分分析及び基礎研究による有用性の検証等を行ってきた。碁石茶は、発酵段階で微生物により資化(同化)されるため、緑茶等とは成分パターンが異なる。碁石茶にはポリフェノールとして、(-)-カテキン、(-)-エピカテキン、(-)-エピカテキン3-ガレート、(-)-ガロカテキン、(-)-ガロカテキン3-ガレート、没食子酸等が含まれている。碁石茶の発酵過程において、ガレート型カテキンが資化されるため、全体のカテキン量は減少するが、(-)-カテキンや(-)-ガロカテキン等の遊離型カテキンは増加する。また、ピロガロールや環状ジペプチド等の抗酸化物質も発酵過程で増加するため、碁石茶は特異的な成分パターンを示す。</p> <p>また、当教室では食餌性肥満モデルマウスを用いた基礎研究において、碁石茶は、内臓脂肪の蓄積及び脂肪細胞の肥大化を抑制し、脂肪細胞から放出される炎症性サイトカインTNF-α、IL-6の産生抑制及びアディポネクチンの分泌促進をすることを明らかにしている(Yokota <i>et al.</i>, 2013; Jobu <i>et al.</i>, 2013)。そのため、碁石茶の摂取は血中脂質を改善し、脂質異常症及びメタボリックシンドロームの予防に有用である可能性が考えられる。</p> <p>そこで、本研究では、碁石茶が血中脂質を改善し、健康維持に有用であるかを評価するため、境界型高LDL血症及び軽度高LDL血症の成人を対象に、プラセボ対照ランダム化二重盲検比較試験を実施した。</p> <p>【方法】</p> <p>被験者は、公募に応じたボランティアを対象とした。被験者の選定基準は、①同意文書に署名する時点で20歳以上65歳未満の者、②過去1年間にコレステロール高値と指摘され、運動・食事療法を勧められた者、③本試験登録前のスクリーニング検査時にLDLコレステロール値が120mg/dL以上(境界型高LDL血症及び軽度高LDL血症)の者とした。除外基準は、①心血管疾患を含む何らかの疾患を罹患している者、②妊婦、妊娠している可能性のある者、授乳婦、③日常的に碁石茶を飲用している者、④医師が本試験の対象として不適当と判断した者とした。本研究は、プラセボを対照としたランダム化二重盲検法を採用し、2群間の並行群間比較試験とした。碁石茶飲料は、茶葉300gを90°C10Lの熱水で15分間抽出後、4倍に希釈することにより製造した。プラセボ飲料は、碁石茶飲料の可溶性固形分が1/10になるように、水で10倍希釈して製造した。被験者は碁石茶飲料195g(碁石茶ポリフェノール含量:61mg)またはプラセボ飲料195g(碁石茶ポリフェノール含量:6.1mg)を1日2本、8週間飲用した。飲用開始前、飲用4週、8週後に採血を行い、各種血中脂質を含む生化学検査値を測定し評価を行った。また、Body Mass Index (BMI)による層別化を行い、各種血中脂質の評価を行った。</p>	




【結果・考察】

同意説明実施者 126 名のうち、同意を取得した 123 名に対して採血を行い、LDL コレステロール値及びその他の脂質関連項目を基にスクリーニング検査を行った結果、77 名が被験者となり、碁石茶飲用群 38 名、プラセボ飲用群 39 名にランダムに割り付けた。碁石茶飲用群及びプラセボ飲用群の試験飲料の飲用遵守率はそれぞれ、99.0%、98.5%であった。碁石茶飲用群とプラセボ飲用群において、試験開始時の被験者背景に差は認められなかった。碁石茶は HDL コレステロールを上昇させ ($P = 0.056$)、中性脂肪 (TG) の上昇を抑制する傾向がみられた ($P = 0.052$)。また、BMI $25\text{kg}/\text{m}^2$ 未満の場合において、碁石茶は HDL コレステロールを有意に上昇させ ($P < 0.05$)、TG の上昇を有意に抑制し ($P < 0.05$)、さらに心血管イベントリスクの指標である LDL/HDL 比を低下させる傾向がみられた ($P = 0.058$)。

本研究では、碁石茶に含まれるポリフェノール量を基準に、血中脂質改善効果を評価したが、碁石茶にはポリフェノール以外にも、ピロガロールや環状ジペプチド等の様々な機能性成分が含まれており、これらの成分が複合的に作用したと考えられる。

また、碁石茶は、BMI $25\text{kg}/\text{m}^2$ 未満の被験者において、血中脂質改善効果を示したため、碁石茶は未病状態を改善し、生活習慣病を予防するのに有用であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

	氏 名		石田 七生
審 査 委 員	主 査 氏 名	山本 哲也	
	副 査 氏 名	寺田 典生	
	副 査 氏 名	北岡 裕章	

題 目 : Improvement of blood lipid profiles by Goishi tea polyphenols in a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study
 (碁石茶ポリフェノールの血中脂質改善効果プラセボ対照ランダム化二重盲検比較試験)

著 者 : Nanao Ishida, Michiro Iizuka, Koichi Kataoka, Masafumi Okazaki, Kayo Shiraishi, Yusuke Yagi, Kohei Jobu, Junko Yokota, Masao Oishi, Hironori Moriyama, Tomoko Shimamura, Yoshihisa Matsumura, Hiroyuki Ukeda, Mitsuhiro Miyamura

発表誌名、巻(号)、ページ、年月 : International Journal of Food Sciences and Nutrition, 69(5)、598~607、2018年8月

要 旨 :

【背景・目的】近年、我が国では食習慣の欧米化に伴う生活習慣病の増加が深刻な問題となっている。生活習慣病を予防するためには疾病の予備段階である未病の状態を改善または維持することが重要である。

申請者らは、高知県の伝統的な2段階発酵茶である碁石茶の製造方法の平準化や成分分析、さらには、有用性に関しての基礎研究を行ってきた。その中で、碁石茶は発酵段階で全体のカテキン量は減少するものの遊離型カテキンやピロガロールなどの抗酸化物質が増加することを明らかにするとともに、食餌性肥満モデルマウスにおいて脂肪細胞からのTNF- α やIL-6といった炎症性サイトカインの産生抑制ならびにアディポネクチンの分泌促進を誘導することを明らかにしている。

そこで、本研究では碁石茶が脂質異常症およびメタボリックシンドロームの予防に有用かを検討するために、境界型ならびに軽度高LDLコレステロール血症の成人を対象にプラセボ対照ランダム化二重盲検比較試験を実施した。

【方法】被験者は公募に応じたボランティアで、①同意文書に署名する時点で20歳以上、

60歳未満の者、②過去1年間にコレステロール高値と診断され、運動・食事療法を勧められた者、③本試験登録前のスクリーニング検査で、LDLコレステロール値が120mg/dL以上（境界型および軽度高LDLコレステロール血症）を選択基準とした。除外基準は、①心血管疾患を含む何らかの疾患に罹患している者、②妊婦、妊娠している可能性のある者、授乳婦、③日常的に碁石茶を飲用している者、④医師が本試験の対象として不適当と判断した者とした。試験はプラセボ対照ランダム化二重盲検法を採用し、碁石茶群では茶葉300gを90℃、10Lの熱水で15分間抽出後、4倍希釈して製造した碁石茶飲料195g（碁石茶ポリフェノール61mg含有）を、プラセボ群では碁石茶飲料の可溶性固形分が1/10になるように水で10倍に希釈したプラセボ飲料を、1日2本、8週間飲用した。飲用開始前、飲用4週および8週後に採血を行い、各種血中脂質を含む生化学検査値測定するとともに、Body Mass Index (BMI)による層別解析を行った。

【結果・考察】同意説明実施者126名のうち同意が得られた123名において採血を実施し、LDLコレステロール値およびその他の脂質関連項目の値をもとにスクリーニング検査を行った結果、77名が被験者となり、碁石茶群38名、プラセボ群39名に割り付けた。碁石茶群およびプラセボ群の飲用遵守率はそれぞれ99.0%および98.5%であり、また、両群間において、試験開始時の身長、体重、BMI、血圧等の被験者背景因子に有意差は認められなかった。碁石茶群ではプラセボ群に比べ、HDLコレステロールは高値を示す傾向が ($p=0.056$)、逆に、トリグリセリドは低値を示す傾向が認められた ($p=0.052$)。さらに、被験者をBMIが25kg/m²以上と25kg/m²未満に層別化したところ、BMIが25kg/m²未満では碁石茶群のHDLコレステロールはプラセボ群に比べ有意に高値を示し ($p<0.05$)、逆に、トリグリセリドは有意に低値を示した ($p<0.05$)。さらに、心血管イベントリスクの指標であるLDLコレステロール/HDLコレステロール比は碁石茶群においてプラセボ群より低値を示す傾向が認められた ($p=0.058$)。

碁石茶にはポリフェノール以外にもピロガロールや環状ジペプチド等の様々な機能性成分が含まれることより、これらの成分が複合的に作用して血中脂質改善効果を示したものと考えられた。

【結論】以上より、碁石茶は未病状態を改善し、生活習慣病の予防に有用であることが示唆された。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。これらの内容をふまえ、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)	岩佐 瞳 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第94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	令和2年3月23日
学位論文題目	Remote effects in the ipsilateral thalamus and/or contralateral cerebellar hemisphere using FDG PET in patients with brain tumors (FDG-PETを用いた大脳半球脳腫瘍の神経路を介した遠隔効果についての検討)
発表誌名	Japanese Journal of Radiology 36 (4) : 303~311 2018年 4月

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

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	岩佐 瞳
論文題目	Remote effects in the ipsilateral thalamus and/or contralateral cerebellar hemisphere using FDG PET in patients with brain tumors (FDG-PETを用いた大脳半球脳腫瘍の神経路を介した遠隔効果についての検討)	
(論文要旨)		
<p>背景</p> <p>脳の局在性の病変では病巣と離れた線維連絡のある遠隔部に機能障害を生じることが知られている。同側視床には皮質視床路の逆行性に、対側小脳半球には皮質橋小脳路の順行性に機能障害が生じうる。脳機能が評価できるPETが開発されて以降、病変部と離れた神経連絡路の遠隔効果が注目されるようになった。しかしながら脳腫瘍と神経連絡路の遠隔効果との関連についての報告は少なく、脳腫瘍患者での同側視床と対側小脳半球の同時機能低下の関係を論じた報告は我々が検索した限り認めない。</p> <p>今回我々は¹⁸F-FDG PET/CTを用いて、脳腫瘍患者における同側視床および対側小脳半球の代謝低下のvariationや頻度を脳腫瘍のサイズや局在と比較しつつ検討した。</p> <p>方法</p> <p>同時期に¹⁸F-FDG PET/CTとMRIを施行した大脳半球の単発の脳実質内腫瘍患者連続48名を対象とした。PET検診者の中で悪性疾患や脳血管障害の既往を認めなかった群から無作為に抽出した10名をコントロール群とした。¹⁸F-FDG PET/CTにて両側視床と両側小脳半球のFDG集積の視覚的左右差を放射線科医2名の合議により後方的に評価し、視床と小脳半球のFDG集積パターンにより、4グループに分類した(Group A: 同側視床と対側小脳半球の同時集積低下を認めた症例、Group B: 同側視床のみ集積低下を認めた症例、Group C: 対側小脳半球のみ集積低下を認めた症例、Group D: 同側視床・対側小脳半球いずれも集積低下を認めなかった症例)。FDG集積の定量的評価としてSUVmean(SUV: FDGが全身に均等に分布したと仮定して病変への集積程度を体重・投与量で補正した半定量値、SUVmean: 病変部のROIの中のSUVの平均値)を測定し、左右差はAI値(AI=(U-A)/U×100%, U: 対側視床あるいは同側小脳半球のSUVmean, A: 同側視床あるいは</p>		

は対側小脳半球のSUVmean)を用いて評価した。また、腫瘍周囲のFDG集積低下の範囲についても評価した。MRIではT2WIにて視床・小脳半球の異常信号の有無と腫瘍周囲のT2延長域の範囲を評価し、造影T1WIにて腫瘍の局在を評価した。さらに腫瘍の局在や視床・小脳の異常信号の有無とFDG集積の関係を¹⁸F-FDG PET/CTとMRIとの比較により評価した。



結果

48名の内訳は、glioma 27例(gradeII:5例、gradeIII:2例、gradeIV:20例)、転移性脳腫瘍17例、悪性リンパ腫2例、横紋筋肉腫1例、unknown type(MRIでlow grade glioma疑い)1例であった。Groupの内訳は、Group A:24例(50%)、Group B:10例(21%)、Group C:0例(0%)、Group D:14例(29%)であった。大脳皮質に及ぶ腫瘍周囲の集積低下を認めた症例は48例中30例(Group A:22例、Group B:7例、Group D:1例)であった。腫瘍周囲の集積低下が同側視床まで及んでいた症例は12例あり、2例はGroup A、残り10例はすべてGroup Bであった。また、Group Aの2例(8%)ではMRIで同側視床の異常信号を認めたが、残りの22例(92%)ではMRIで視床・小脳半球に異常信号を認めなかった。一方、Group Bの8例(80%)で腫瘍周囲のT2延長域が同側視床に及び、残り2例(20%)は腫瘍による同側視床の圧排を認めた。Group Dの全例で視床および小脳に異常信号を認めたものはなかった。

結論

大脳半球の脳腫瘍における¹⁸F-FDG PET/CTでは神経路変性に伴う二次的な遠隔効果は同側視床・対側小脳半球に同時に生じる。同側視床あるいは対側小脳半球単独に集積異常が起こる場合は腫瘍浸潤など遠隔効果以外の原因が考えられる。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	岩佐 瞳
審 査 委 員	主 査 氏 名 山口 正洋	
	副 査 氏 名 敷井 裕光	
	副 査 氏 名 古谷 博和	印

題 目 Remote effects in the ipsilateral thalamus and/or contralateral cerebellar hemisphere using FDG PET in patients with brain tumors
(FDG-PET を用いた大脳半球脳腫瘍の神経路を介した遠隔効果についての検討)

著 者 Hitomi Iwasa, Yoriko Murata, Miki Nishimori, Kana Miyatake,
Michiko Tadokoro, Shino Kohsaki, Munenobu Nogami, Yusuke Ueba,
Tetsuya Ueba, Takuji Yamagami

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Japanese Journal of Radiology 36(4):303-311, April 2018
DOI: 10.1007/s11604-018-0721-8

要 旨

【背景・目的】

脳の局在性の病変では病巣と離れた線維連絡のある遠隔部に機能障害を生じることが知られている。脳機能が評価できる positron emission tomography (PET) が開発されて以降、病変部と離れた神経連絡路の遠隔効果が注目されるようになった。しかし脳腫瘍と遠隔効果との関連についての報告は少ない。大脳皮質の脳腫瘍によって、同側視床や対側小脳半球に機能障害が生じる例が報告されている。しかし、同側視床と対側小脳半球の機能低下を同時に検討し、その関係を論じた報告はこれまで行われていない。今回申請者は 2-deoxy-2-[fluorine-18]fluoro-D-glucose (^{18}F -FDG) PET/CT を用いて、脳腫瘍患者における同側視床および対側小脳半球の代謝低下のバリエーションや頻度を脳腫瘍のサイズや局在と比較しつつ検討した。

【方法】

2012年1月から2016年8月の間に ^{18}F -FDG PET/CT と MRI を施行した大脳半球の単発の脳実質内腫瘍患者連続 48 名 (glioma 27 例、転移性脳腫瘍 17 例、悪性リンパ腫 2 例、横紋筋肉腫 1 例、unknown type 1 例) を対象とした。PET 検診者の中で悪性疾患や脳血管障害の既往を認めなかった群から無作為に抽出した 10 名をコントロール群とした。 ^{18}F -FDG PET/CT にて両側視床と両側小

脳半球の FDG 集積の視覚的左右差を評価し、そのパターンによって 4 グループに分類した。Group A は同側視床と対側小脳半球の同時集積低下、Group B は同側視床のみの集積低下、Group C は対側小脳半球のみの集積低下が見られた症例、Group D は同側視床・対側小脳半球いずれも集積低下が見られなかった症例である。FDG 集積の左右差は AI 値($AI=(U-A)/U \times 100\%$, U: 対側視床あるいは同側小脳半球の平均集積値, A: 同側視床あるいは対側小脳半球の平均集積値)を用いて評価した。また、腫瘍周囲の集積低下の範囲を評価した。MRI では視床・小脳半球の異常信号の有無と腫瘍周囲の T2 延長域の範囲、腫瘍の局在を評価した。さらに ^{18}F -FDG PET/CT と MRI との比較により、FDG 集積と腫瘍の局在や視床・小脳の異常信号の有無との関係性を評価した。

【結果・考察】

- ・4 グループの内訳は、Group A : 24 例(50%)、Group B : 10 例(21%)、Group C : 0 例(0%)、Group D : 14 例(29%)であった。腫瘍の種類と group の関係は明らかではなかった。
- ・大脳皮質に及ぶ腫瘍周囲の FDG 集積低下を認めた症例は 48 例中 30 例で、殆どは Group A, B に属した(Group A:22 例、Group B:7 例、Group D:1 例)。集積低下を前頭葉に認めた 22 例の内訳は Group A:20 例 Group B:2 例、側頭葉に認めた 6 例は Group A:1 例 Group B:5 例、頭頂葉に認めた 1 例は Group A、後頭葉に認めた 1 例は Group D であった。以上より、集積低下を前頭葉に認めた場合は Group A (同側視床と対側小脳半球の同時集積低下) に属する傾向が高かった。
- ・腫瘍周囲の FDG 集積低下が同側視床まで及んでいた症例は 12 例で、2 例は Group A、残り 10 例は Group B であった。Group B (同側視床のみの集積低下) は、腫瘍の直接的な影響による場合が多いと考えられた。
- ・MRI では、Group A の殆ど (24 例中 22 例、92%) は視床・小脳半球に異常信号を認めなかった。一方、Group B の多く (10 例中 8 例、80%) は MRI で腫瘍周囲の T2 延長域が同側視床に及び、残り 2 例(20%)は腫瘍による同側視床の圧排を認めた。Group D では視床および小脳に異常信号を認めたものはなかった。以上より、Group A (同側視床と対側小脳半球の同時集積低下) は主に腫瘍の遠隔効果が、Group B (同側視床のみの集積低下) は主に腫瘍の直接的な影響が現れた群と考えられた。
- ・腫瘍の摘出手術を受けた 3 例では、いずれも手術後に FDG 集積低下の改善を認めた。

【結論】

以上の解析により、脳腫瘍による二次的な遠隔効果は同側視床・対側小脳半球に同時に生じる場合が多いことが判明した。また、遠隔効果は特に前頭葉の腫瘍病変によって起こりやすいことが示唆された。一方、同側視床のみで集積低下が起こる場合は腫瘍浸潤など直接的な影響によるものが多いと考えられた。

以上本論文は脳の機能画像、構造画像を組み合わせ、脳腫瘍によって遠隔部の機能低下が起こる脳領域やその頻度を詳しく明らかにした。この知見は、脳腫瘍の遠隔効果とその治療効果を正しく理解する上で非常に重要なものと考えられる。

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)	岸本 達真 (岡山県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第95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	令和2年3月23日
学位論文題目	Therapeutic Effects of Intravitreally Administered Bacteriophage in a Mouse Model of Endophthalmitis Caused by Vancomycin-Sensitive or -Resistant <i>Enterococcus faecalis</i> (バンコマイシン感受性腸球菌およびバンコマイシン耐性腸球菌によるマウス眼内炎に対するバクテリオファージ硝子体投与の治療効果)
発表誌名	Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 63(11), e01088-19. doi: 10.1128/AAC.01088-19. 2019年10月22日

審査委員	主査	教授	宇高	恵子
	副査	教授	佐野	栄紀
	副査	教授	兵頭	政光

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

	氏名	岸本 達真
論文題目	Therapeutic Effects of Intravitreally Administered Bacteriophage in a Mouse Model of Endophthalmitis Caused by Vancomycin-Sensitive or -Resistant <i>Enterococcus faecalis</i> (バンコマイシン感受性腸球菌およびバンコマイシン耐性腸球菌によるマウス眼内炎に対するバクテリオファージ硝子体投与の治療効果)	
<p>【背景】 細菌性眼内炎は、内眼手術後や外傷後などに生じ、急速に進行するため、不可逆的な視力低下を来すことが多い。術後眼内炎の起炎菌は大部分がグラム陽性球菌であり、日本では腸球菌が起炎菌となることが多い。腸球菌による眼内炎は、菌が産生する溶血作用を持つ cytolysin やタンパク分解酵素である gelatinase により網膜障害をきたしやすく、他の細菌による眼内炎と比較し視力予後が悪い。また、近年バンコマイシン耐性腸球菌による眼内炎の症例報告もあり、腸球菌性眼内炎に対する抗菌薬の代替品となる治療法の開発が必要である。</p> <p>バクテリオファージ（ファージ）は、土壌、水、食物、消化管などの環境中に広く存在する。ファージは細菌に感染し、細菌内で増殖し溶菌酵素を産生し、溶菌酵素を用いて細胞壁を破壊することにより溶菌する。ファージの溶菌活性を用いた細菌感染症治療法がファージ療法であり、ファージそのものを用いる場合と、ファージが産生する溶菌酵素を用いる場合がある。我々は以前、緑膿菌によるマウス角膜炎に対するファージ点眼の有効性について報告した。眼内炎に関しては、マウス黄色ブドウ球菌性眼内炎に対しファージ由来の溶菌酵素の硝子体投与が有効であったとの報告がある。今回我々はバンコマイシン感受性腸球菌およびバンコマイシン耐性腸球菌によるマウス眼内炎に対するバクテリオファージ硝子体投与の治療効果について検討した。</p>		
<p>【方法】 バンコマイシン感受性腸球菌（EF24）、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE2）、白内障術後眼内炎由来の腸球菌3株の計5株を用い、in vitroにおけるそれぞれの菌に対するファージ（ΦEF24C-P2）およびバンコマイシン（VAN）の溶菌活性を濁度で評価した。マウス眼内炎は硝子体に EF24（1×10^4 bacteria）または VRE2（1×10^4 bacteria）を投与し誘導した。感染6時間後に ΦEF24C-P2（1×10^8 PFU）もしくは VAN（2 mg/ml）を硝子体に投与した。感染24時間後に眼底の透見性を臨床スコアで評価した後、眼球を摘出した。摘出眼は眼内の腸球菌の生細菌数計数・myeloperoxidase（MPO）活性測定、および病理組織学的評価に用いた。病理組織は炎症の有無をスコア化し評価した。網膜機能を生理学的に評価するため、網膜電図を施行した。ファージの眼内での残存を確認するため、ΦEF24C-P2を投与し18時間後または66時間後に眼球を摘出し、ファージの眼内残存数を測定した。</p>		
<p>【結果】 in vitro では、EF24、VRE2、3つの眼内炎由来臨床分離株の計5株全ての菌で培養開始8時間後に濁度は自然に減少した。ΦEF24C-P2を添加することにより、5株全ての菌で濁度が迅速に減少した。EF24、3つの臨床分離株は2000 μg/ml の VAN の添加により濁度が減少したが、VRE2 は VAN の添加では濁度の減少は生じなかった。</p> <p>ファージのみを眼内投与した場合、vehicle 単独投与群と同様、硝子体注射18時間後および66時間後の臨床スコア、MPO活性は両群で差はなく、両群共に炎症反応はみられなかった。ERGも両群共に差はなく、ファージ投与により網膜機能に障害は生じなかった。</p> <p>EF24を硝子体に投与することで眼内炎が誘導され、24時間後には前房内のフィブリン析出あるいは出血により眼底は透見できなくなった。感染24時間後には、眼内の生細菌数は増加し、MPO活性は上昇した。一方、感染6時間後に ΦEF24C-P2 もしくは VAN を投与することにより、両群共に臨床</p>		

スコア、生細菌数、MPO 活性はすべて有意に低下し、臨床スコアはΦEF24C-P2 投与群に比較し VAN 投与群で有意に低下した。病理組織学的検討では、EF24 の投与 24 時間後、眼内に著明な炎症細胞浸潤と網膜剥離を認めたが、ΦEF24C-P2 もしくは VAN を投与することにより炎症細胞浸潤は軽減し、網膜構造は保たれていた。

VRE2 を硝子体に投与した場合も EF24 投与と同様に、硝子体投与 24 時間後には前房内のフィブリン析出、硝子体混濁により眼底透見不能の眼内炎を生じた。VRE2 感染 6 時間後に ΦEF24C-P2 もしくは VAN を投与すると、両群共に臨床スコア、生細菌数、MPO 活性はすべて有意に低下した。病理組織学的検討では VRE2 の投与 24 時間後、眼内に炎症細胞浸潤と網膜剥離を認めたが、ΦEF24C-P2 もしくは VAN の投与により炎症細胞浸潤は軽減し、網膜構造は保たれていた。ΦEF24C-P2 と VAN の投与群の間には臨床スコア、生細菌数、MPO 活性、病理組織スコア共に有意差はなかった。

VRE2 投与 24 時間後に網膜電図を行い、網膜機能を評価した。感染 24 時間後には感染していない未処置眼と比較し、a 波、b 波共に有意に振幅が減少した。これに対して VRE2 感染 6 時間後に ΦEF24C-P2 を投与することで、感染 24 時間後の a 波、b 波は保たれていた。

【考察】

バンコマイシン感受性腸球菌およびバンコマイシン耐性腸球菌によるマウス眼内炎に対するバクテリオファージ硝子体投与の治療効果について示した。ファージの硝子体投与により、臨床スコアは改善し、EF24 と VRE2 の生細菌数が減少し、好中球浸潤は抑制され、網膜構造が維持された。眼内炎による失明を防ぐためには、網膜障害や瘢痕化が生じる前に眼内から細菌を迅速に除去する必要がある。ΦEF24C-P2 は *in vitro* において VAN よりもより迅速に濁度を減少させた。迅速な治療が望まれる眼内炎治療では、抗菌薬と比較しより迅速な溶菌能を持つファージの硝子体投与が眼内炎治療における選択肢の一つとなりうることを示唆した。

実臨床においては、眼内炎は進行が非常に早いため、細菌の菌種の同定や感受性検査の前に抗菌薬による治療が開始される。眼内炎に対するファージ療法臨床応用について考えると、不可逆的な網膜障害を防ぐために、眼内炎の診断と同時にファージを投与する必要がある。通常ファージは菌種特異的に作用するため、腸球菌に加えて眼内炎の起原菌として頻度の高いブドウ球菌やレンサ球菌に対するファージも含んだカクテル製剤の使用が有用であると考えられる。また、このカクテル製剤には抗菌薬耐性菌を溶菌できる ΦEF24C-P2 などのファージも含める必要がある。そのようなファージカクテルの硝子体投与は、耐性菌を含めた細菌感染症による眼内炎治療の新しい治療法になる可能性がある。




病原細菌内でのファージ増殖の有無により、ファージ療法は能動的な、あるいは受動的な治療効果を発揮する。能動的に働いた場合、ファージは菌内で複製され、感染後にファージ量は増加する。受動的に働いた場合は多くのファージが同時に標的細菌に感染することでファージが複製する前に細菌が死滅するためファージは感染後も増加しない。我々は以前、マウスの黄色ブドウ球菌による肺炎に対する能動的ファージ療法について報告した。本研究では、眼内に残存したファージの数は、EF24 の感染の有無で有意差がなく同程度であり、眼内炎に対して硝子体に投与された ΦEF24C-P2 は受動的に働いたと考えられた。

多剤耐性アシネトバクター感染の患者に対し、患者より検出された細菌を溶菌する事ができるファージカクテルを作成し投与することにより救命できたファージ療法の報告がある。眼疾患領域においては、VAN 耐性黄色ブドウ球菌角膜炎に対し、点眼・点鼻および静脈内へのファージ投与により治癒したと症例報告がある。しかながら、硝子体へのファージ投与についての報告はなかった。本研究で、我々はマウスの硝子体内にファージを投与し、溶菌効果があること、ファージが少なくとも 66 時間は硝子体に残存し生存することを初めて明らかにした。近年、術後眼内炎予防のために VAN を前房内に投与することにより、失明の可能性のある出血性閉塞性網膜血管炎を生じる可能性があることが報告された。ファージが眼内で数日間生存する可能性があることを考えると、眼内炎の予防のための手術終了時に眼内へファージを投与することにより術後眼内炎の発症を予防できる可能性がある。このような予防的投与が効果を発揮するためには、腸球菌やブドウ球菌、レンサ球菌などの主要な術後眼内炎起炎菌を標的とするファージカクテルの開発が必要になると考えられる。

【まとめ】

バクテリオファージの硝子体投与は、EF24、VRE2 によるマウス眼内炎に対する治療的効果があり、抗菌薬非依存性の新規治療法となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

		氏 名	岸本 達真
審 査 委 員	主 査 氏 名	宇高 恵子	
	副 査 氏 名	佐野 栄紀	
	副 査 氏 名	兵頭 政光	

題 目 Therapeutic Effects of Intravitreally Administered Bacteriophage in a Mouse Model of Endophthalmitis Caused by Vancomycin-Sensitive or -Resistant *Enterococcus faecalis*
(バンコマイシン感受性腸球菌およびバンコマイシン耐性腸球菌によるマウス眼内炎に対するバクテリオファージ硝子体投与の治療効果)

著 者 Tatsumi Kishimoto, Waka Ishida, Ken Fukuda, Isana Nakajima, Takashi Suzuki, Jumpei Uchiyama, Shigenobu Matsuzaki, Daisuke Todokoro, Masanori Daibata, Atsuki Fukushima

発表誌名

Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 63(11), e01088-19.
doi: 10.1128/AAC.01088-19. 2019年10月22日

要 旨

岸本達真さんの学位審査は、令和2年1月27日17時より、約一時間にわたり、公開にて行いました。

【背景・目的】

細菌性眼内炎の主たる起炎菌はグラム陽性球菌で、日本では腸球菌が多い。近年、薬剤耐性が問題となっており、抗生物質とは異なる感染制御のオプションが望まれる。そこで、申請者らは、バンコマイシン (VAN) 耐性の有無によらず腸球菌に感染する溶菌性バクテリオファージを硝子体に注射して、治療効果を検討した。

【方法】

VAN感受性腸球菌 (EF24)、VAN耐性腸球菌 (VRE2) および、白内障手術後の眼内炎患者から採取した腸球菌3株をマウスの硝子体に注射し、眼内炎モデルを作製した。感染

6時間後、溶菌性バクテリオファージであるΦEF24C-P2を硝子体に注入して、VAN注入群と比較した。感染後24時間に眼底の透見性を臨床スコアで評価し、網膜電位を測定した後、眼球を摘出した。眼球は組織学的検査の他、生菌数および白血球が産生するMPOの活性測定を行った。また、感染後18または66時間後の眼内ファージ残存数を計測した。

【結果・考察】

1. In vitroでEF24、VRE2および臨床検体からの分離株を培養し、600 nmにおける濁度で菌数をモニターすると、EF24および臨床株はVANにより生育が抑制された。VRE2は感受性がなく、むしろVANの存在下で菌数が飽和に達した後も高い濁度が保たれた。一方、ΦEF24C-P2を加えると1時間後にすべての株で菌数が急激に低下し、24時間後も低い濁度が保たれた。
2. EF24、VRE2および臨床株を硝子体に注入すると、24時間後には硝子体混濁が起こり、混濁はΦEF24C-P2投与群、VAN投与群で減少した。VAN耐性のVRE2株ではEF24に比べてVANによる混濁の減少は限られた。眼内の組織学的炎症所見および生菌数とMPO活性は、EF24ではΦEF24C-P2およびVAN投与群で減少したが、VRE2では、VANによる効果が減少した。VRE2投与群の網膜電位を測定(ERG)すると、ΦEF24C-P2投与群では顕著に視機能が保たれていた。
3. 無感染マウスおよびEF24感染マウスに、6時間後にΦEF24C-P2を注入した後の眼内ファージ残存数は、18時間後、66時間後も高く維持されていた。

以上の結果より、腸球菌性眼内炎の制御に溶菌性ファージ療法が安全かつ有効であることが示された。臨床の現場では、感染性眼内炎は急速に進行し、視力予後が悪いため、白内障等の手術時に予防的投与が考えられる。その場合、感染が予想される菌種やファージ感受性のあるなしをあらかじめ予測して投与する必要がある。それに対する対策としては複数のファージをカクテルにして投与する方法などが考えられ、今後の課題として残される。

抗生物質の投与は世界的にも耐性菌の問題をほらみ、VANは直接作用により失明のおそれがある出血性閉塞性網膜血管炎を惹起した報告もあるため、抗生物質に頼らぬ治療法の可能性が開かれることが望ましい。ファージ療法は抗生物質とは作用機序が異なり薬剤耐性菌に対しても有効であり、治療法の選択肢を増やすものとして発展が期待される。

【審査結果】

以上の発表の後、公開で質疑応答を行った。岸本さんは、臨床の現場における感染性眼内炎の発生頻度や菌種の現状について解説をし、抗生物質による感染制御の問題点を挙げて、本研究の意義を説明することができた。審査員からは、ファージとVAN投与群におけるin vitro培養における菌の濁度とin vivoにおける眼内生菌数の解離に関する質問があった。また、ERGの読み方や眼内への注射の仕方に関する技術的な質問やファージが溶原化した可能性について質問があった。さらに、臨床の現場で諸外国に比べ、なぜ日本では腸球菌感染症が多いのか、という質問も出た。これらに対し、岸本さんは根拠

をあげて応答した。また、今後、医薬品として実用化をする上での課題についても十分に説明を行った。

これらをふまえて、審査員一同、本研究は科学的に確固とした内容であり、かつ臨床応用をふまえた医学的価値の高い研究であると判断し、高知大学博士（医学）に相応しい論文であると判断しました。

氏名(本籍)	西垣 厚 (大阪府)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第96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	令和2年3月23日
学位論文題目	Acute and long-term effects of haloperidol on surgery-induced neuroinflammation and cognitive deficits in aged rats (術後神経認知異常の病態メカニズムに及ぼすHaloperidolの影響: 高齢ラット開腹手術モデルでの検討)
発表誌名	Journal of Anesthesia (2019) 33:416~4252019/5/2

審査委員	主査	教授	数井	裕光
	副査	教授	北岡	裕章
	副査	教授	齊藤	源頭

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	西垣 厚
論文題目	<p>Acute and long-term effects of haloperidol on surgery-induced neuroinflammation and cognitive deficits in aged rats (術後神経認知異常の病態メカニズムに及ぼすHaloperidolの影響: 高齢ラット開腹手術モデルでの検討)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>背景</p> <p>術後せん妄 (Postoperative delirium: POD) は、高齢患者において予後に関連する重大な周術期合併症である。最近の報告では、POD が術後長期的な認知症発症リスクの増加と関連することが示されている。POD の病態機序は明らかではないが、脳内神経炎症の重要性が注目されている。しかしながら、現時点において、術後脳内神経炎症に対する薬物療法は確立されていない。</p> <p>抗精神病薬であるハロペリドール Haloperidol (HAL) は、現在、POD の興奮症状に対して最も広く臨床使用されている薬剤である。しかし、POD と関連する認知予後に対する HAL 治療の有効性は不明とされる。さらに、術後脳内神経炎症に及ぼす HAL の影響について調べた報告はこれまでにない。そこで本研究では、術後脳内神経炎症および関連する認知機能障害に及ぼす HAL の効果について高齢ラット開腹手術モデルを用いて検討した。</p> <p>方法</p> <p>高齢 19-24 ヶ月齢雄性ラットを対象とした。開腹手術モデルは、過去の我々の報告に基づき、イソフルラン麻酔下に 2 cm の上腹部正中切開と 3 分間の小腸刺激を行った。非手術対照および開腹手術ラットをそれぞれ溶媒群、低用量 HAL 群 (0.5mg/kg + 0.5mg/kg/日)、および高用量 HAL 群 (2.0 mg/kg + 2.0mg/kg/日) に振り分け、各群の n 数は 8 とした。各薬剤は皮下投与とし、手術時に 1 回投与後 48 時間持続投与とした。認知機能は手術 2 日後 (術後早期) または 7 日後 (術後回復期) に痕跡恐怖条件付け試験を用い、すくみ行動時間を測定することにより評価した。評価後に前頭前野と海馬を摘出し、炎症性サイトカイン (TNF-α、IL-1β) 濃度を ELISA 法、Dopamine (DA) 代謝回転を HPLC 分析でそれぞれ測定した。各群の比較は Kruskal-Wallis と Bonferroni 検定を用い、$p < 0.05$ を有意差ありとした。</p> <p>結果</p> <p>術後早期においては、対照群と比較して開腹手術群で有意に痕跡記憶および文脈記憶が</p>	

低下したが、HAL は有意な影響を与えなかった。また、手術群では前頭前野での DA 代謝回転の低下が生じたが、HAL は用量依存性に改善した。しかし、HAL はその用量に関わらず手術に伴う脳内神経炎症改善には効果を示さなかった。一方、術後回復期では、文脈記憶の軽度障害が生じたが、HAL による予防効果はなかった。また、HAL は手術回復期の脳内神経炎症にも影響を与えなかった。

考察

高齢ラットにおいて、脳内神経炎症と脳 DA 代謝回転の増加が術後早期に生じた。また、POD 症状を示していると考えられる術後痕跡・文脈記憶障害は、脳内神経炎症の程度と有意な相関があったことから、術後脳内神経炎症が POD の病態に関連することを示唆した。一方、DA 代謝回転の程度と記憶障害とは関連を認めなかった。さらに、DA 受容体選択的拮抗薬である HAL の投与は術後認知行動異常を改善しなかった。これらの結果により、術後 DA 代謝異常は POD の認知症状に関与しないと考えられた。




高齢ラットに対する臨床使用に相当する HAL の投与量に関する報告はこれまでになかった。本研究では、HAL により用量依存性にカタレプシー様行動が観察された。また、DA 受容体の遮断に対する代償反応と考えられる DA 代謝回転の亢進が HAL 投与後に記録された。これらの結果から、本研究で使用した HAL の投与量が高齢ラットにおいて薬理的に有効であったことが推測される。

術後回復期においては、海馬において術後脳内神経炎症の遷延および関連する文脈記憶障害が生じた。これらの術後神経認知異常は、HAL の周術期投与により影響を受けなかった。つまり、HAL は POD の長期的認知機能障害を予防できないと考えられた。

結語

術後急性期に生じる脳内神経炎症は、POD の認知症状に関与する可能性が示された。HAL 周術期投与は、術後神経認知異常を改善せず、遷延化も予防できなかった。POD の認知予後を改善するためには、POD の病態に基づく新規治療法の開発が必要であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

	氏 名
	西垣 厚
審 査 委 員	主 査 氏 名 數井 裕光 
	副 査 氏 名 北岡 裕章 
	副 査 氏 名 齊藤 源頭 

題 目 Acute and long-term effects of haloperidol on surgery-induced neuroinflammation and cognitive deficits in aged rats

(術後神経認知異常の病態メカニズムに及ぼす Haloperidol の影響: 高齢ラット開腹手術モデルでの検討)

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

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
 Journal of Anesthesia (2019) 33:416~425
 2019年5月2日

要 旨

【背景・目的】

術後せん妄 (Postoperative delirium: POD) は、高齢者においては、術後の認知機能低下のリスクを高める重要な周術期合併症で、脳内神経炎症との関連が指摘されている。抗精神病薬であるHaloperidol (HAL) は、現在、米国老年医学会、および欧州麻酔学会のガイドラインにせん妄治療薬として記載されている薬剤で、PODの興奮症状に対しても、広く使用されている。しかし、HALの術後脳内神経炎症、および術後認知機能低下に対する抑制効果は不明である。そこで本研究では、高齢ラット開腹手術モデルを用いて、HALの術後脳内神経炎症と認知機能低下に対する抑制効果を検討した。

【方法】

対象は、18-21ヶ月齢の高齢ラット24匹で、溶媒群 (対照群)、低用量HAL群、高用量HAL群に8匹ずつ割り付けられた。さらにこれらが非手術対照群と開腹手術群に2群分けされ、手術群にはイソフルラン麻酔下に2cmの上腹部正中切開と3分間の小腸刺激が実施された。

認知機能評価のために手術2日後と7日後に、痕跡恐怖条件付け試験が行われた。痕跡恐怖条件付け試験では、条件付の24時間後に注意力を評価する痕跡記憶試験か海馬依存性認知機能の評価する文脈記憶試験のどちらかが実施された。評価後に前頭前野と海馬を摘出し、炎症性サイトカイン(TNF- α)濃度をELISA法で測定した。

【結果・考察】

認知機能評価：術後2日目の痕跡記憶試験、文脈記憶試験とともに、手術群では、非手術群と比較して有意に成績が低下した。しかし手術群内、非手術群内ではともに、溶媒群(対照群)、低用量HAL群、高用量HAL群の間で有意差は認めなかった。すなわち、開腹手術をすることによって術後早期には、注意機能と海馬依存性認知機能の両方が低下すること、この低下をHALは改善させることはできないことが明らかになった。術後7日目の痕跡記憶試験の成績は、手術群は非手術群と同等の成績で低下は認めなかったが、文脈記憶試験では、非手術群と比較して手術群では低下を認めた。両試験において、両群内で、溶媒群(対照群)、低用量HAL群、高用量HAL群の間で成績に有意差は認めなかった。すなわち、開腹手術によって早期に低下した注意機能は回復期には戻るが、海馬依存性認知機能は低下したままであること、その低下をHALが改善させることはできないことが明らかになった。

脳内神経炎症評価：TNF α に関しては、術後2日目では海馬、前頭前野ともに手術群で高値となったが、HALで抑制させることはできなかった。7日目では、前頭前野の炎症指標は低下していたが、海馬での反応は残存し、これらにもHALは抑制効果を認めなかった。TNF α 値と術後2日目の痕跡記憶、文脈記憶、術後7日目の文脈記憶それぞれの試験の得点とは有意な相関を認めた。

【結論】

高齢ラットにおいて術後痕跡・文脈記憶障害は、脳内神経炎症の程度と有意に相関したことから、術後脳内神経炎症が術後早期と回復期の認知低下に関与することが示唆された。HALの周術期投与は、この脳内神経炎症を減弱させず、認知機能低下も改善させることができなかった。

学位申請者は、本研究によって、開腹手術という脳以外の部位の手術によって、脳内神経炎症が惹起され、この炎症の程度と術後早期、および回復期の認知機能低下が出現する可能性があることを明らかにした。さらにHALでは、脳内炎症を鎮静化させ、認知低下を改善させられないことを明らかにした。本研究は、術後せん妄の発現機序、および高齢者に生じる術後認知機能低下の発現機序の解明に資する知見を明らかにした临床上重要な研究と考えられる。またガイドラインで推奨されているHALは興奮などの精神症状には有効であるが、認知機能に対する有用性は乏しいことを明らかにした点も重要で、他の薬剤、あるいは新規薬剤の開発を行うべきという今後の研究の方向性を明確にしたと言える。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)	MBELAMBELA PAPY ETONGOLA (コンゴ民主共和国)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第97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	令和2年3月23日
学位論文題目	Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) among Congolese cement workers exposed to cement dust, in Kongo Central Province (コンゴ民主共和国中央州におけるセメント工場労働者のセメントダスト暴露による慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) 有病率)
発表誌名	Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2018 Dec;25(35):35074-35083. doi: 10.1007/s11356-018-3401-4. Published online: 16 October 2018

審査委員	主査	教授	横山	彰仁
	副査	教授	安田	誠史
	副査	教授	古宮	淳一

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

Mbelambela Papy Etongola

Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) among Congolese cement workers exposed to cement dust, in Kongo Central Province

論文題目

コンゴ民主共和国中央州におけるセメント工場労働者のセメントダスト暴露による慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) 有病率

(論文要旨)

要旨

はじめに:セメントダストに慢性的にさらされていると、肺機能の著しい低下など健康へ悪影響を及ぼす可能性がある。本研究は COPD 有病率および呼吸器症状有症率と、セメントダスト暴露量の異なる複数の部門における労働との関連性について調査した。

方法:2016年11月20日から12月15日にかけてコンゴ民主共和国の2ヶ所のセメント工場において、暴露量の多い223人、暴露量の少ない156人の労働者に対して横断的調査を実施した。調査対象の労働者にはアンケートに回答してもらい、肺活量を測定した。セメントダストにさらされる仕事の種類、COPD、呼吸器症状それらが関連している可能性を検討するために、交絡因子を調整した上で多変量解析をおこなった。

結果:朝方に咳が出る、1年に少なくとも3ヶ月以上咳が出る割合は、暴露量の多いグループ($p < 0.05$) ($p = 0.001$) が暴露量の少ないグループより極めて高かった。COPD 有病率は、暴露量の多いグループが少ないグループと比べて、28.2 および 9.6% ($p < 0.001$) と高かった。COPD との関連性はセメント工場内の清掃、輸送、製造部門においてそれぞれ、aOR 14.49 (5.33; 39.40)、aOR 3.37 (1.44; 7.89)、aOR 3.09 (1.58; 6.05) と顕著であった。

まとめ:セメントダストへの暴露が多い特定の労働は、より高い COPD や呼吸器症状の有症率と関連付けられる。清掃、輸送、製造部門における労働者にリスクが顕著である。

この研究は、其々の作業領域において優良な予防的措置を取ることを優先させるべきことを示唆している。

キーワード:ダスト。労働。ポルトランドセメント。呼吸器症状。肺機能。COPD

コンゴ民主共和国中央州におけるセメント工場労働者のセメントダスト暴露による慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) 有病率

要旨

はじめに：セメントダストに慢性的にさらされていると、肺機能の著しい低下など健康へ悪影響を及ぼす可能性がある。本研究は COPD 有病率および呼吸器症状有症率と、セメントダスト暴露量の異なる複数の部門における労働との関連性について調査した。




方法：2016年11月20日から12月15日にかけてコンゴ民主共和国の2ヶ所のセメント工場において、暴露量の多い223人、暴露量の少ない156人の労働者に対して横断的調査を実施した。調査対象の労働者にはアンケートに回答してもらい、肺活量を測定した。セメントダストにさらされる仕事の種類、COPD、呼吸器症状それらが関連している可能性を検討するために、交絡因子を調整した上で多変量解析をおこなった。

結果：朝方に咳が出る、1年に少なくとも3ヶ月以上咳が出る割合は、暴露量の多いグループ ($p < 0.05$) ($p = 0.001$) が暴露量の少ないグループより極めて高かった。COPD 有病率は、暴露量の多いグループが少ないグループと比べて、28.2 および 9.6% ($p < 0.001$) と高かった。COPD との関連性はセメント工場内の清掃、輸送、製造部門においてそれぞれ、aOR 14.49 (5.33; 39.40)、aOR 3.37 (1.44; 7.89)、aOR 3.09 (1.58; 6.05) と顕著であった。

まとめ：セメントダストへの暴露が多い特定の労働は、より高い COPD や呼吸器症状の有症率と関連付けられる。清掃、輸送、製造部門における労働者にリスクが顕著である。この研究は、其々の作業領域において優良な予防的措置を取ることを優先させるべきことを示唆している。

キーワード：ダスト。労働。ポルトランドセメント。呼吸器症状。肺機能。COPD

論文審査の結果の要旨

		氏 名
		MBELAMBELA PAPY ETONGOLA
審 査 委 員	主 査 氏 名	横山 彰仁 
	副 査 氏 名	安田 誠史 
	副 査 氏 名	古宮 淳一 

題 目 Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) among Congolese cement workers exposed to cement dust, in Kongo Central Province
(コンゴ民主共和国中央州におけるセメント工場労働者のセメントダスト暴露による慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) 有病率)

著 者 Etongola Papy Mbelambela, Masamitsu Eitoku, Sifa Marie Joelle Muchanga, Antonio F. Villanueva, Ryoji Hirota, Tiffany Yuka Pulphus, Gedikondele Jérôme Sokolo, Kahoko Yasumitsu-Lovell, Kaori Komori, Narufumi Suganuma

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) among Congolese cement workers exposed to cement dust, in Kongo Central Province. Environ Sci Pollut Res Int. 2018 Dec;25(35):35074-35083. doi: 10.1007/s11356-018-3401-4. Epub 2018 Oct 16.
Received: 17 June 2018 / Accepted: 4 October 2018

要 旨

【背景・目的】職業性のセメントダストへの慢性的な暴露は、肺機能の著しい低下など健康へ悪影響を及ぼす可能性がある。本研究は COPD 有病率および呼吸器症状有症率と、セメントダスト暴露量の異なる複数の部門における労働との関連性について調査した。

【方法】: 2016年11月20日から12月15日にかけてコンゴ民主共和国コンゴ中央州のルルケ市及びキムペセ市に所在する2ヶ所のセメント工場において横断調査を実施し、30歳から65歳までの5年以上の勤務歴のある労働者を対象とし、これまで建設作業、鉦夫は除外し、さらに、コルチコステロイド、β刺激剤の投与を受けている者は対象から除いた。そのようにして379名が対象となり、製造工程、清掃作業及び運搬作業に従事する暴露量の多い223人の労働者と間接部門、研究所、及びその他の暴露量の少ない156人の労働者の比較を行った。調査対象の労働者には、国際結核肺疾患予防連合調査票 (IUATLD) のフランス語版を用いて調査補助者 (医師2名と看護師4名) の補助により呼吸器の自覚症状、職歴、社会経済状態、喫煙歴、身体活動等の情報を収集し、アメリカ胸部学会のガイドラインに沿ってスパイロメトリーを用いて努力肺活量

(FVC)、1秒量 (FEV1)、FEV1/FVC を測定した (Autospiro Minato AS-470)。予測式については米国健康栄養調査 (NHANES III) からアフリカ系アメリカ人のものを予測正常値として用いた。今回の COPD の診断はグローバルイニシアチブ (GOLD) 基準の気流制限を有するものとした。ただし、スパイロメトリー前の β 刺激剤の投与はなされていない。COPD 有病率および呼吸器症状有症率と、セメントダスト暴露量の異なる複数の部門における労働との関連性を検討するために、交絡因子を調整した上で多変量解析をおこなった。

セメント工場の作業場毎に以下の方法で 30 名の労働者に対して一日 8 時間の個人暴露測定により吸入性及び総粉じん量を計測した。吸入性粉じん (Respirable dust) はサンプリングポンプ (SKC 社製) に接続したサイクロン方式集じん装置 (Casella 社製) の中に置いた 0.8 ミクロンの PVC フィルターにより 1.7L/分の流量で捕集し、総粉じん量はサンプリングポンプ (SKC 社製) に接続した 37mm カセットの中に置いた 0.8 ミクロンの酢酸セルロースフィルターにより 1.7L/分の流量で捕集した。

【結果・考察】間接部門以外の各部署での粉じん濃度測定の結果、吸入性粉じん量では 66%–100% が、総粉じん量では全ての部署で暴露限界 (OEL) を超えていた。朝方に咳が出る、1 年に少なくとも 3 ヶ月以上咳が出る割合は、暴露量の多いグループが暴露量の少ないグループより有意に高かった (それぞれ、 $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$)。COPD 有病率は、暴露量の多いグループが少ないグループと比べて、28.2% 対 9.6% と有意に高かった ($p < 0.05$)。COPD との関連性を表す調整オッズ比 (aOR) (括弧内は 95% 信頼区間) は、セメント工場内の清掃、運搬、製造部門において暴露量の少ない部門に対してそれぞれ、14.49 (5.33; 39.40)、3.37 (1.44; 7.89)、3.09 (1.58; 6.05) と有意に高かった。

本研究は、職業性のセメントダスト暴露と COPD、呼吸器症状との関連性を示したコンゴ民主共和国で最初の研究である。COPD、呼吸器症状の有病率は暴露量の多いグループで高かったが、これは埃を舞わせる清掃機器の使用、製造部門での局所排気装置の不備、個人用保護具の不適切な使用等によるものと考えられる。また多くの部署で粉じん濃度が許容濃度を超えていたが、同様の報告が多く発展途上国でなされている。先進国とは作業環境の粉じん濃度の管理体制が異なるためと考えられる。セメントダスト暴露と COPD、呼吸器症状との関連性については、セメント粉じん暴露の動物試験により、鼻粘膜の萎縮性および肥大性変化、慢性炎症性気管支炎、咽頭粘膜、肺気腫、および肺の線維化を誘発することが報告されている。本研究の限界は、横断研究であるため因果関係の推論に適さないこと、及び、事前の β 刺激剤の投与はなされていない点で、喘息など可逆性のものが含まれることで有病率が過大評価されている可能性が考えられる。

【結論】セメントダストへの暴露が多い特定の労働は、より高い COPD や呼吸器症状の有症率と関連付けられる。清掃、運搬、製造部門における労働者にリスクが顕著である。この研究は、それぞれの作業領域において個人レベルと集団レベルの両方でセメントダスト暴露を予防するための措置を取ることを優先させるべきことを示唆している。

以上のように、本論文はコンゴにおけるセメント工場における労働衛生に関する初めての論文であり、医学的にも高い価値を有するものである。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)	長尾 明日香 (千葉県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第98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	令和2年3月23日
学位論文題目	Apnea hypopnea indices categorized by REM/NREM sleep and sleep positions in 100 children with adenotonsillectomy for obstructive sleep apnea disease (小児睡眠時無呼吸症の扁桃アデノイド手術100例における睡眠深度および睡眠体位により分類した無呼吸低呼吸指数(カテゴライズドAHI)の検討)
発表誌名	International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology 119: 32~37 2019年1月

審査委員 主査 教授 藤枝 幹也
副査 教授 山口 正洋
副査 教授 横山 正尚

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	長尾 明日香
論文題目	<p>Apnea hypopnea indices categorized by REM/NREM sleep and sleep positions in 100 children with adenotonsillectomy for obstructive sleep apnea disease (小児睡眠時無呼吸症の扁桃アデノイド手術100例における睡眠深度および睡眠体位により分類した無呼吸低呼吸指数(カテゴライズドAHI)の検討)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>【背景】小児の睡眠時無呼吸症 (OSA) の主因は口蓋扁桃及びアデノイドの肥大による上気道閉塞であり、外科的治療が広く行われる。診断には終夜睡眠中1時間あたりの無呼吸低呼吸回数 (AHI) が用いられる (軽症: 1-4.9回/時、中等症: 5-9.9、重症: 10-29.9、超重症: 30-)。この基準には睡眠深度や体位は加味されないが、REM睡眠では咽頭筋活動低下や覚醒閾値低下から無呼吸を生じ易い。この現象はREM睡眠優位性と呼ばれ、小児例では術後も持続するとされてきた。さらに、REM睡眠は脳の発育や認知機能の発達に不可欠で、REM睡眠が全体の睡眠時間の10%未満の例はより重症なOSAとする報告もある。体位については、仰臥位では側臥位に比して咽頭腔が狭小化しやすいとされるが、仰臥位による無呼吸の優位性には統一された見解はない。しかしながら、術後には仰臥位睡眠時間は延長するので、仰臥位の方がより楽な睡眠姿勢であるといわれる。</p> <p>AHIの睡眠深度や体位との関連性について、術前のAHIから、あるいは術前後の睡眠深度別のAHIから検討された報告はあるが、術前後に睡眠深度や体位の両方から検討した報告はない。AHIが軽症値でも陥没呼吸などの重い症状の例があること、術後に症状が改善してもAHIは悪化する例があることから、AHIの睡眠深度や体位との関連性を検討する必要があると考えた。</p> <p>【目的】睡眠深度と体位が小児OSAの重症度に及ぼす影響、及び術前後の変化について検討し、手術適応と術後評価をよりの確にすることを目的に本研究を行った。</p> <p>【方法】2010年5月～2017年7月に当院で手術を行い、術前後に終夜睡眠ポリソムノグラフィー (PSG) を行った小児100例 (男70例、女30例、生後8ヶ月～11歳 (中央値4歳)) を対象とした。全体の閉塞性AHIをTotal O-AHIとし、睡眠深度をREM睡眠とNREM睡眠、睡眠体位を仰臥位とそれ以外に分けて4つの睡眠深度別・体位別AHI (カテゴライズドAHI) を算出した。</p> <p>【結果】術前のTotal O-AHIでは中等症以下の症例が47例であったが、カテゴライズドAHIではREM睡眠/仰臥位時に23.4%の症例が重症値であった。術後、70例 (A群) はTotal AHIとカテゴライズドAHIの術前の重症度に関わらず治癒した。13例 (B群) は軽度のTotal O-AHIが残存した例であったが、</p>	




REM 睡眠/仰臥位AHIが中等～重症値となり術後に慎重な観察が必要と考えられた。残りの17例（C群）は術後にいずれかのカテゴリーAHIが悪化した例で、REM睡眠時間や仰臥位睡眠時間が改善した結果、無呼吸が顕在化したと考えた。

REM睡眠優位性では、全体の平均値では術前後共にREM睡眠時に高値であった。しかし、症例毎の検討からはREM睡眠優位性に手術前後の一貫性は認められなかった。

REM睡眠時間と仰臥位睡眠時間には、全体の平均値では術前後に有意差はなかったが、四分位群の術前に最も低値の群にて有意に増加した ($p < 0.0001$)。

【結論】術前の Total O-AHI で軽症値にも関わらず臨床所見が重症である場合や、術後に症状が改善したにも関わらず検査上無呼吸が残存する場合に、睡眠深度と体位を加味することにより詳細な評価が可能になる。また、術前に REM 睡眠及び仰臥位睡眠の時間が少ないのは無呼吸が出現しないよう代償している可能性があり、手術にて改善することが示唆された。最後に、REM 睡眠優位性について、手術前後で変わらないとした従来の見解とは異なる結果となり、今後の研究が必要である。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	長尾 明日香
審査委員	主 査 氏 名	藤枝 幹也 
	副 査 氏 名	山口 正洋 
	副 査 氏 名	横山 正尚 

題 目 Apnea hypopnea indices categorized by REM/NREM sleep and sleep positions in 100 children with adenotonsillectomy for obstructive sleep apnea disease
 (小児睡眠時無呼吸症の扁桃アデノイド手術 100 例における睡眠深度および睡眠体位により分類した無呼吸低呼吸指数 (カテゴライズド AHI) の検討)

著 者 Asuka Nagao, Masahiro Komori, Taihei Kajiyama, Mutsumi Shimasaki, Daigo Hirakawa, Taisuke Kobayashi, Masamitsu Hyodo

発表誌名、巻 (号)、ページ (~), 年 月
 International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology 119: 32~37
 2019 年 1 月

要 旨

【背景・目的】小児の閉塞性睡眠時無呼吸 (OSA) の主因は口蓋扁桃およびアデノイド肥大による上気道閉塞であり、外科的手術が広く行われる。診断には終夜睡眠中1時間当たりの無呼吸低呼吸回数 (AHI) が用いられる (軽症: 1- $<$ 10回/時、中等症: 5- $<$ 10、重症10- $<$ 30、超重症: 30回以上)。REM睡眠では咽頭筋活動の低下や覚醒閾値低下から無呼吸が生じやすいことが観察され、仰臥位がより楽な睡眠姿勢ともいわれている。しかし前述の基準には睡眠深度 (REM睡眠やNonREM睡眠) や体位 (仰臥位や非仰臥位) は加味されていない。AHIが軽症と診断されても陥没呼吸などの重症例もある

こと、術後に臨床症状が改善してもAHIが悪化する例もある。また術前後の検討では睡眠深度別のAHIの変動に関してのみの報告にとどまっている。したがって、術前後におけるAHIに及ぼす睡眠深度と体位の両要因を加味した検討が必要と考えられ、睡眠深度と体位が小児OSAの重症度に及ぼす影響と術前後の変化を検討し、手術適応と術後評価をより明確にすることを目的として本研究を行った。

【方法】2011年3月から2017年7月に当院耳鼻咽喉科で手術を行い、術前後で終夜ポリソノグラフィーを行った小児100例(男児70例、女児30例、中央値4歳(8か月から11歳))を対象として、全体の閉塞性AHI(Total O-AHI)を、REM睡眠とNonREM睡眠、仰臥位と非仰臥位の4つの睡眠深度別と体位別においてそれぞれのカテゴリズドAHIを算出した。

【結果・考察】

1. Total-AHIで軽症例は100例中47例であったが、カテゴリズドAHIを算出するとREM睡眠/仰臥位時に23.4%が重症値であった。
2. 70例はTotal-AHIとカテゴリズドAHI双方が、術前の重症度に関わらずOSAは治癒した(A群)。
3. 13例は術後に軽度の無呼吸は残存し、術後もREM睡眠AHIが中等症から重症値となり慎重な観察が必要と考えられた(B群)。この例も経過とともに多くが呼吸は改善した。
4. 17例は術後にいずれかのカテゴリズドAHIが悪化した例で、術後REM睡眠時間や仰臥位睡眠時間が改善(時間拡大)したため、無呼吸が顕在化した例であると考えられた(C群)。この例は経過とともに呼吸が改善していった。
5. B群とC群に含まれる症例では、顎の発達の悪いなど他の要因が存在する例もあった。
6. REM睡眠優位性(NonREM睡眠時AHIよりREM睡眠時AHIが多いこと)は、全体的には術前後でその優位性は変わらなかったが、症例ごとでは一定の傾向は認められなかった。
7. REM睡眠時間、仰臥位睡眠時間ともに、術前に短い群は、術後に有意に時間数が増加していた。

【結論】肥満、奇形などの睡眠時無呼吸の増悪因子を含んでいない、あるいは側臥位・伏臥位を分類していない点など限界はあるが、以下の点で知見を見出すことができた。

1. 睡眠深度と体位を加味したカテゴリズドAHIを利用することで、術前後のより詳細な評価が可能となった。
2. 術前のREM睡眠時間や仰臥位時間が短い例は、無呼吸を出現させないための代償作用であり、術後にこれらの時間が改善(延長)することが示唆された。

3. REM睡眠優位性は、既報では術前後で変化ないとのことであったが、今回の検討では個々の症例で異なることを見出した。
4. 術前において、より低年齢(6歳未満)での手術適応例を見出すために今回のカテゴリーズドAHIは有用と考えられた。

以上のように、本論文は、従来のTotal-AHIの評価に加えて睡眠深度と体位を加味した睡眠時無呼吸の評価方法を開発しており、手術適応と術後の評価について、より詳細な分析を可能とした画期的な方法と考えられる。本研究は、国内外を通じて利用可能な評価方法を開発した点において特筆すべき研究であり、医学的に高い価値を有するものである。

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)	玉城 涉 (沖縄県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第99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	令和2年3月23日
学位論文題目	Magnetocardiographic recognition of abnormal depolarization and repolarization in patients with coronary artery lesions caused by Kawasaki disease (心磁図による川崎病冠動脈病変患者における脱分極・再分極異常の知見)
発表誌名	Heart and Vessels(in press)

審査委員	主査	教授	高田 淳
	副査	教授	北岡 裕章
	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	玉城 渉
論文題目	Magnetocardiographic recognition of abnormal depolarization and repolarization in patients with coronary artery lesions caused by Kawasaki disease (心磁図による川崎病冠動脈病変患者における脱分極・再分極異常の知見)	
<p>(論文要旨)</p> <p>心臓から発生する磁場を計測する心磁計によって得られる心磁図は、有用性に関してあまり認知されていない。心磁図は、12誘導心電図に比較し、①微小電位に対する感受性が高い、②臓器構成による影響が少ない、③電極が不要であり、電極-皮膚間の干渉がない、④データ解析法が多彩であるなどの特徴を有している。心磁図のメカニズムを簡単に説明する。心拍動に伴い、電流と磁場が生じる。12誘導心電図で電極を用いて体表面電位を計測するのに対し、心磁図では SQUID (超伝導量子干渉素子) と呼ばれる高感度磁気センサを用いて体表面心磁場を計測することにより、心臓の電気生理学的現象を推測できる。つまり、心筋活動電位という同一現象を異なる方法(12誘導心電図では電位計測、心磁図では磁場計測)で計測・解析する。心磁図を用いて、川崎病の冠動脈疾患における心筋の電気生理学的変化、特に脱分極および再分極の異常を非侵襲的に検出することを試みた。</p> <p>方法は、2007年から2014年に川崎病による冠動脈病変を有する心磁図を受けた連続61人の患者(男性48人、女性13人)における脱分極および再分極異常について後方視的に検索した。冠動脈障害は、心磁図検査に近接して施行された選択的冠動脈造影により診断した。64の各チャンネル信号の同期加算(加算平均)を行い、作製された一心拍のP-QRS-T波形をグリッドマップ表示と磁場時間波形表示(全波形を重ね書き)にする。次に電流アロー図を作製し、個々のベクトル(電流の向きと大きさ)の偏位、ばらつき程度により3段階に分類した。得られた心磁図所見を狭窄病変群と非狭窄病変群で比較検討した。</p> <p>心磁図異常の発生頻度は、非狭窄病変群よりも狭窄病変群の方が有意に高かった($p < 0.0001$)。再分極異常の発生頻度は脱分極異常の発生頻度より有意に高かった($p < 0.0001$)。冠動脈閉塞の本数は再分極異常の重症度に有意に影響した($p = 0.02$)。脱分極異常を有する患者のうちの6人(75%)は症候性の前壁中隔梗塞であった。</p> <p>まず、再分極異常に関して述べる。症候性心筋梗塞や無症候性の冠動脈閉塞に見られる非貫壁性心筋梗塞のような中等度の心筋障害があっても生じていた。可視化方法を用いて、異常な再分極を同定することは容易であった。電流アロー図では、3つのパターンに分けられた。正常な心筋では、電流の流れは再分極中はほぼ均一であるのに対し、障害部位があったとき、電流の流れはランダムとなった。それらは不均一な再分極電流によって引き起こされると考えられている。症候性心筋梗塞の大部分の患者に認められ、特に前中隔梗塞の患者に顕著であった。次に脱分極異常に関して述べる。電流アロー図でグレード2以上の再分極異常を有する患者に脱分極異常がみられた。脱分極異常は、症候性心筋梗塞に見られる重度の心筋障害を伴う症例に出現していた。最後に、閉塞している冠動脈枝によって心磁図異常の程度が異なっていた。冠動脈左前下行枝の閉塞は脱分極異常に大きな影響を及ぼす。しかし、右冠動脈の閉塞のみでは脱分極異常は見られなかった。本研究において症候性下壁心梗塞の患者が少なかったというlimitationがあるが、この違いは各冠動脈の閉塞により障害を受けた部位による差異が影響する可能性が示唆された。以上をまとめると、症候性心筋梗塞は、脱分極異常に影響を及ぼし、非貫壁性の心筋障害を引き起こしうる無症候性の冠動脈閉塞は再分極異常に関連する可能性がある。非常に高度の冠動脈狭窄、冠動脈閉塞を持たない患者において、心筋の電気的特質は維持されていた。</p>		

論文審査の結果の要旨

		氏 名	玉城 渉
審 査 委 員	主 査 氏 名	高 田 淳	
	副 査 氏 名	北 岡 裕 章	
	副 査 氏 名	瀬 尾 宏 美	

題 目 Magnetocardiographic recognition of abnormal depolarization and repolarization in patients with coronary artery lesions caused by Kawasaki disease
(心磁図による川崎病冠動脈病変患者における脱分極・再分極異常の知見)

著 者 Wataru Tamaki, Etsuko Tsuda, Syuji Hashimoto, Tamami Toyomasa, Mikiya Fujieda

発表誌名 : Heart and Vessels 、34 卷(10 号)、ページ (1571 ~1579)、2019 年 10 月

要 旨

【背景・目的】

心筋虚血は心筋の電気生理学的特性を変化させる。心電図検査の臨床的有用性はすでに証明されているが、体表面心電図検査のみで虚血性心疾患の脱分極、再分極異常の詳細を十分に評価することは困難である。一方で心筋から発生する磁場を計測する心磁図検査は、その有用性は十分に認知されていない。心磁図は 12 誘導心電図に比べて、①微小電位に対する感受性が高い、②臓器構成要素による影響が少ない、③電極が不要であり、電極と皮膚の間の干渉がない、④データ解析法が多彩であるなどの特徴を有している。今回、小児期に川崎病を発症し、その後冠動脈病変を合併した症例を対象に、retrospective に心磁図による心筋の脱分極・再分極異常所見について心電図とあわせて解析し、その有用性について検討した。

【方法】対象は国立循環器病センターにおいて2007年から2014年の間に、冠動脈造影で狭窄病変および瘤病変が診断され、あわせて心磁図検査を施行された川崎病患者61名(男性48名、女性13名)。心磁図検査時の年齢は3—39歳(中央値は19歳)、川崎病発症時の年齢は2ヶ月—11歳(中央値は2歳4ヶ月)、心磁図検査と冠動脈造影検査の間隔は中央値

165日であった。61名中49名（80％）は心磁図検査から3年以内に冠動脈造影検査を受けていたが、残りの12名（20％）は3年以上が経過していたため、心磁図検査から3年以内に別途冠動脈CT検査が施行された。心磁図検査と冠動脈造影検査の間で心筋梗塞などの心イベントを起こした例はなかった。

心磁図検査は磁場シールドルーム内にて行った。測定機種はSQUID（超伝導量子干渉素子）を用いた64チャンネルの高感度磁気センサを有する日立社製MC-6400。64の各チャンネル信号の同期加算（加算平均）を行い、作製された一心拍のP-QRS-T波形をグリッドマップ表示と磁場間波形表示とし、次に計測点ごとに磁場に対応する電流の方向性および強度を示す電流アロー図を作製し、個々のベクトルの偏位、ばらつきについて検討した。

【結果・考察】

全61例は、心筋梗塞11例を含む狭窄病変群42例と、冠動脈瘤を有するが狭窄の程度は75％未満にとどまる19例の非狭窄病変群に分類された。心磁図所見の評価は、正常例と比較してベクトルの偏位、ばらつきの程度により行い、正常をグレード0、異常をグレード1から3に分類し、狭窄病変群と非狭窄病変群で比較検討した。心磁図異常は再分極異常が21例、脱分極異常が8例と再分極異常の発生頻度が有意に高かった（ $p < 0.0001$ ）。また心磁図異常全体の発生頻度は非狭窄病変群よりも狭窄病変群の方が有意に高かった（ $p < 0.0001$ ）。冠動脈の完全閉塞枝数は再分極異常の重症度と有意に関連した（ $p = 0.02$ ）。脱分極異常を有する患者8例のうちの6例（75％）は症候性の前壁中隔梗塞であった。

再分極異常は21例で認められたが、症候性心筋梗塞および、無症候性非貫壁性心筋梗塞のような中等度の心筋障害であっても生じていた。正常な心筋では電流の流れは再分極中はほぼ均一であるのに対し、障害部位があると電流の流れはランダムとなった。それらは不均一な再分極電流によって引き起こされると考えられるが、これは症候性心筋梗塞の大部分の患者に認められ、特に前中隔梗塞の患者に顕著であった。

脱分極異常に関しては、グレード3以上の再分極異常を有する患者には全例で脱分極異常も認められた。脱分極異常は症候性心筋梗塞の中でも、より重症症例に認められ、また閉塞冠動脈枝の種類によって心磁図異常の程度が異なっていた。すなわち左前下行枝閉塞は脱分極異常に大きな影響を及ぼすが、右冠動脈閉塞のみでは脱分極異常は見られなかった。本研究において症候性下壁心梗塞の患者が少なかったというlimitationがあるが、この違いは各冠動脈の閉塞による障害部位の差異が影響する可能性が示唆された。

心電図所見との比較では、狭窄病変群では12誘導心電図のST変化、T波の変化がなくても心磁図で再分極異常を検出することができ、同様に心筋梗塞の既往はあるが異常Q波がないような場合（non-Q MI）でも心磁図では再分極異常、脱分極異常を検出することができた。このことは心磁図のほうが12誘導心電図より鋭敏に異常を検出する可能性があることを示唆している。

【結論】川崎病患者において貫壁性心筋梗塞は脱分極異常に影響を及ぼし、非貫壁性の心筋障害は再分極異常に関連する可能性がある。冠動脈の高度の狭窄や閉塞病変を持たない患者においては心筋の電気的特性は維持されていた。川崎病患者における冠動脈病変例において心磁図は、心電図単独では検出が困難なレベルの電気生理学的異常を、非観血的に検出する可能性が示唆された。成人領域では、冠動脈CTや冠動脈造影検査は日常臨床で広く普及しているが、小児ではこれらの実施自体に困難があり、非侵襲的に反復して行える検査が望ましい。今回の結果から心磁図検査は、スクリーニングとしても12誘導心電図より多くの情報を症状が軽微な段階でも発見でき、川崎病患者の長期的な経過観察においても、その有用性が期待できると考えられた。

公開審査に引き続き、最終試験・学力確認を口頭により実施した。

質疑応答では、心磁図検査の理論、意義、今回の研究および今後の発展性等について質問を行ったが、いずれの質問に対しても申請者はおおむね的確に答え、自分の考えを明瞭に述べた。

以上を総合し、審査委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）を授与するに相応しいものと判断した。

氏名(本籍)	菱山 豊 (東京都)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第49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	令和2年2月10日
学位論文題目	The survey of public perception and general knowledge of genomic research and medicine in Japan conducted by the Japan Agency for Medical Research and Development (日本医療研究開発機構によって行われた日本におけるゲノム研究と医療に関する一般市民の意識と知識に関する調査)
発表誌名	Journal of Human Genetics (2019) 64:397-407 (https://doi.org/10.1038/s10038-019-0587-3)2019(平成31)年3月6日

審査委員	主査	教授	奥原 義保
	副査	教授	兵頭 政光
	副査	教授	麻生 悌二郎

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	菱山 豊
論文題目	The survey of public perception and general knowledge of genomic research and medicine in Japan conducted by the Japan Agency for Medical Research and Development (日本医療研究開発機構によって行われた日本におけるゲノム研究と医療に関する一般市民の意識と知識に関する調査)	
(論文要旨)		
<p>ヒトゲノムに関する研究は、疾患の予防・診断・治療に資するものとして、大きく期待されてきた。また、同時に、こうした研究は、日本国内においても、また、国際的にも倫理的・法的・社会的な課題 (Ethical, Legal and Social Implications) を有していることから、多くの議論を巻き起こしている。様々な検討が行われてきた。具体的には、遺伝情報は、その扱いによってはプライバシーの侵害やいわれない差別につながる可能性があるためである。</p> <p>近年では、ヒトゲノム研究が進展し、遺伝情報は医学研究に活用されるだけでなく、実際の医療に取り入れられるようになりつつある。すなわち、遺伝情報が限られた人たちのみならず、より多くの一般市民の身近になる。そのため、遺伝情報を広く活用するためには、一般市民の意識を理解し、一般市民と協力することは極めて重要である。</p> <p>本研究では、研究と一般診療における遺伝情報の扱いに関する一般市民の態度を明らかにすることを目的としている。また、本研究は研究参加者の遺伝子に関する用語の知識に注目し、遺伝に関するリテラシーと、遺伝情報の活用及びその取扱いのルールとの関係についても分析した。本研究の結果は、ゲノム情報を活用する研究及び医療の推進に資することが期待される。</p> <p>本研究は、日本医療研究開発機構 (AMED) が株式会社三菱総合研究所 (MRI) に委託して行った「研究や診療における遺伝情報に関する市民意識調査」のデータを活用して行われた。MRIが運営している「生活者市場予測システム」が保有する20歳から69歳までの生活者パネルを利用し、年齢階層別 (10歳区切り)、男女別で、各300名のグループ合計3,000名に対してオンラインでアンケート調査を実施した。調査期間は、2016年3月16日から3月22日である。なお、個人が特定されるような情報は収集されていない。また、本研究は高知大学の倫理審査委員会の審査で認められている。</p> <p>アンケート調査の質問項目として、先行調査研究を参考にしつつ、遺伝情報に関する知識、研究や診療における遺伝情報への関心・意向、研究や診療における遺伝情報に対する懸念、研究や診療</p>		

における遺伝情報に対するルールのあり方を設けた。統計的解析においては、統計ソフト EZR を用いた。

調査結果の分析として、次のことが明らかになった。(1)米国や英国の先行調査研究では若年齢層の方が高年齢層よりも遺伝情報への知識が多いことが示されていたのに対して、本研究では高年齢の参加者の方が若年齢の参加者よりも遺伝情報に関する知識を多く有していることが示された。(2) 遺伝情報をよく理解している参加者は、疾患の治療可能性に関わらず疾患の罹患可能性に関心を持つ。(3) 遺伝子問題に対するリテラシーが高い参加者は、遺伝情報の取り扱いについて、普通の医療情報の取り扱いに比べて厳しいルールを好む。(4) 本研究の参加者は、人体由来試料や遺伝情報の活用に関し、医療や産業における利用よりも研究における利用の方が心配であると考えている。

これらの結果から、遺伝情報に関する若年齢層への教育の重要性や、遺伝情報に対する知識の異なるレベルの個人に対して、多様なタイプの説明の必要性が示唆される。ヒトゲノムに関する政府指針は、遺伝情報に関して、他の医療情報に比べて厳しい取り扱いを求めていることから、リテラシーの高い一般市民の意識と合致している。本研究においては、医療や情報よりも、研究に対する信頼が低いことが示唆されており、アカデミア、政府、ファンディング・エージェンシーは、一般市民との協力にも注力し、ゲノム研究に対する一般市民の信頼を向上させることが重要である。

論文審査の結果の要旨

		氏 名	菱山 豊
審 査 委 員	主 査 氏 名	奥原 義保	
	副 査 氏 名	兵頭 政光	
	副 査 氏 名	麻生 悌二郎	

題 目 The survey of public perception and general knowledge of genomic research and medicine in Japan conducted by the Japan Agency for Medical Research and Development
(日本医療研究開発機構によって行われた日本におけるゲノム研究と医療に関する一般市民の意識と知識に関する調査)

著 者 Yutaka Hishiyama, Jusaku Minari, and Narufumi Suganuma

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
Journal of Human Genetics (2019) 64:397-407
(<https://doi.org/10.1038/s10038-019-0587-3>)
2019(平成31)年3月6日

要 旨

公開の審査は令和2年1月24日19時より行われた。以下研究の要旨と審査結果を記す。

【背景と目的】

ヒトゲノムに関する研究は、疾患の予防・診断・治療に資するものとして、大きく期待されてきた。また、同時に、こうした研究は、日本国内においても、また、国際的にも倫理的・法的・社会的な課題 (Ethical, Legal and Social Implications) を有していることから、多くの議論を巻き起こしたので、様々な検討が行われてきた。具体的には、遺伝情報は、その扱い方によってはプライバシーの侵害やいわれない差別につながる可能性があるためである。

近年では、ヒトゲノム研究が進展し、遺伝情報は医学研究に活用されるだけでなく、実際の医療に取り入れられるようになりつつある。すなわち、遺伝情報は限られた人たちのみならず、より多くの一般市民にとって身近なものになってきた。そのため、遺伝情報を広く活用するためには、一般市民の意識を理解しておくことが極めて重要である。

本研究では、研究と一般診療における遺伝情報の扱いに関する一般市民の態度を明らかにすることを目的としている。また、研究参加者の遺伝子に関する用語の知識にも注目し、遺伝に関するリテラシーと、遺伝情報の活用及びその取扱いのルールとの関係についても分析した。これにより、ゲノム情報を活用する研究および医療の推進に資することが期待される。

【対象と方法】

本研究は、日本医療研究開発機構 (AMED) が株式会社三菱総研 (MRI) に委託して行った「研究や診療における遺伝情報に関する市民意識調査」のデータを活用して行われた。MRI が運営している「生活者市場予測システム」が保有する 20 歳から 69 歳までの生活者パネルを利用し、年齢階層別 (10 歳区切り)、男女別で、各グループ 300 名の合計 3,000 名に対してオンラインでアンケート調査を実施した。調査期間は、2016 年 3 月 16 日から 3 月 22 日である。なお、個人が特定されるような情報は収集されていない。また、本研究は高知大学の倫理審査委員会の審査で認められている。

アンケート調査の質問項目として、先行調査研究を参考にしつつ、遺伝情報に関する知識、研究や診療における遺伝情報に対するルールの在り方を設けた。統計解析においては、統計ソフト EZR を用いた。

【結果】

調査結果の分析として、次のことが明らかになった。(1) 米国や英国の先行調査研究では若年齢層の方が高年齢層よりも遺伝情報への知識が多いことが示されていたのに対して、本研究では高年齢の参加者の方が若年齢の参加者よりも遺伝情報に関する知識を多く有していることが示された。(2) 遺伝情報をよく理解している参加者は、疾患の治療可能性に関わらず疾患の罹患可能性に関心を持つ。(3) 遺伝子問題に対するリテラシーが高い参加者は、遺伝情報の取扱いについて、普通の医療情報の取り扱いに比べて厳しいルールを好む。(4) 本研究の参加者は、人体由来試料や遺伝情報の活用に関し、医療や産業における利用よりも研究における利用のほうが心配であると考えている。

【考察】

これらの結果から、遺伝情報に関する若年齢層への教育の重要性や、遺伝情報に対する知識の異なるレベルの個人に対して、多様なタイプの説明の必要性が示唆される。ヒトゲノムに関する政府指針は、遺伝情報に関して、他の医療情報に比べて厳しい取扱いを求めていることから、リテラシーの高い一般市民の意識と合致している。本研究においては、医療や産業よりも、研究に対する信頼性が低いと感じていることが示唆されており、アカデミア、政府、ファンディング・エージェンシーは、一般市民との協力にも注力し、ゲノム研究に対する一般市民の信頼を向上させることが重要である。

【審査結果】

本論文は、申請者自身も関わった日本医療研究開発機構 (AMED) による株式会社三菱総研 (MRI) への委託研究である「研究や診療における遺伝情報に関する市民意識調査」のデータを活用し、新たな視点から精緻な解析を行ったものである。

その結果は、①米国や英国における先行研究と対照的に、高年齢の参加者の方が若年齢の参加者よりも遺伝情報に関する知識を多く有していること。②遺伝情報をよく理解している参加者は、疾患の治療可能性に関わらず疾患の罹患可能性に関心を持つこと。③人体由来試料や遺伝情報の活用に関し、医療や産業における利用よりも研究における利用のほうが心配であると考えていること、など予想を覆す意外な結果をいくつか示した。

調査方法がオンラインであることなどによるバイアスの影響も考えられるが、我が国において実施された科学技術一般に関する他の調査とも同じ傾向を示していること、理由についても説明が可能であることなどから信憑性はあると考えられる。

これらの結果は、今後ますます盛んになると考えられるヒトゲノムに関する研究や、身近になりつつあるゲノム医療などについて、社会での理解を得るために何が必要であるかを検討するうえで重要な資料になると考えられ、本論文は、時宜を得た有用な研究である。今後は、回答者の用語に対する理解度の評価を取り入れた調査を行うなどの方法による、さらなる発展性も期待される。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)	松元 かおり (神奈川県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第50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	令和2年2月10日
学位論文題目	Transmission of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> in an acute care hospital in Japan (日本のある急性期病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の院内伝播)
発表誌名	Journal of General and Family Medicine20巻1号 13~18ページ2018年10月15日

審査委員	主査	教授	藤枝	幹也
	副査	教授	大畑	雅典
	副査	教授	高田	淳

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	松元 かおり
論 文 題 目	Transmission of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> in an acute care hospital in Japan (日本のある急性期病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の院内伝播)	
(論文要旨)		
<p>メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、医療関連感染症の重要な病原体であり、血流感染、皮膚軟部組織感染、および手術部位感染などの原因となる。MRSAの無症候性キャリアは、MRSAの医療関連感染の重要な感染源である。しかしながら、MRSAの伝播様式は完全には解明されていない。MRSA保菌者・感染者が多く、手指衛生が十分には実施されていない医療機関におけるMRSAの感染伝播率を明らかにする事が、本研究の目的である。</p> <p>日本のある大学病院に入院した157人の患者に対して、入院時および退院時に鼻腔培養によってMRSAの保菌調査を実施した。ブドウ球菌の同定には API Staphを用い、MRSAの同定にはPCR法によりmecA遺伝子を検出した。また、菌株の複数遺伝子の配列の差異をパターン化してそれらを統合し遺伝子解析ソフトにより解析するいわゆるmultilocus sequence typing (MLST) 法によって株を特定し、MRSAの伝播様式を解析した。研究期間における当該病棟の背景を把握するために、アルコール性手指消毒薬の使用量を測定し、入院患者全員のMRSA保菌率を計算した。</p> <p>157人から入院時および退院時に検体を採取し、合計314検体について解析した。保菌調査により合計9人が入院時または退院時にMRSAを保菌していた。9人すべてが少なくとも1つのMRSA保菌リスク (男性、1年以内の入院歴、1か月以内の抗菌薬使用歴、感染症のための入院、糖尿病) を有していた。</p> <p>9人のうち2人は入院時も退院時も保菌し、1人は入院時に保菌していたが退院時にはMRSAが消失していた。残る6人が入院時にMRSA陰性で退院時に保菌していた。以上より、入院時にMRSAを保菌していたのは3人で保菌率は3/157=1.9%、退院時にMRSAを保菌していたのは8人で保菌率は8/157=5.1%であり、退院時の保菌率は有意に上昇していた (p < 0.001)。入院時にMRSAを保菌していた3人は全員当院への入院歴があった。157人のべ入院日数は1515日であったことから、患者数と日数で補正した入院中のMRSA感染伝播率は、1,000 patient-days あたり4.0であった。</p>		




MLST 法による解析により、1 人は ST8、2 人が ST764、残りの 6 人が ST5 の MRSA を保菌していた。入院期間の重なりがあり、同じ MLST 型の MRSA が検出され、同じ医療者が担当したことを院内伝播の定義とすると、MRSA を獲得した 6 人のうち 3 人は院内伝播によるものと考えられた。

調査期間中の該当病棟における MRSA の保菌率は 13.3%、手指消毒実施回数は 4.0 回/patient-day であった。9 人のうち 6 人は、臨床的な通常の検査より前に保菌調査により MRSA の保菌が明らかになった。

本研究の限界としては、鼻腔以外の MRSA 保菌を見逃している可能性、MLST 法の識別力の低さ、入院中の検体採取が行われていないためいつ MRSA を保菌したかが不明である事などがあげられる。

以上の結果より、この病院において MRSA の院内伝播が発生していることが証明された。また、本研究で MRSA の保菌が明らかになった 9 人のうち、臨床的な通常の検査で MRSA を保菌していることがすでに明らかになっていたのは 3 人のみであった事より、積極的監視培養による MRSA 保菌の早期発見は有効な感染対策になりえると考えられた。MRSA の伝播には不十分な手指衛生が関与していると考えられることから、標準予防策を中心とした院内における感染対策を強化する必要があると考えられた。

論文審査の結果の要旨

		氏名	松元 かおり
審査委員	主査氏名	藤枝 幹也	
	副査氏名	大畑 雅典	
	副査氏名	高田 淳	

題目 Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an acute care hospital in Japan

著者 (日本のある急性期病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の院内伝播)
kaori Matsumoto, Seisho Takeuchi, Yoshio Uehara, Masahide Matsushita, Kazumi Arise, Norihito Morimoto, Yusuke Yagi, Hiromi Seo

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年月
Journal of General and Family Medicine 20巻1号 13~18 ページ
2018年10月15日

要旨

【背景・目的】

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は、医療関連感染症の重要な病原体であり、血流感染、皮膚軟部組織感染、および手術部位感染などの原因となる。無症候性MRSAキャリアーは、MRSA医療関連感染の感染源となるが、MRSAの伝搬様式は完全には解明されていない。本研究は、先進的取り組みを行っている欧米諸外国の施設に比して、手指衛生など十分に行われていない日本の医療機関におけるMRSAの感染伝播率を明らかにすることを目的として行った。

【方法】

高知大学医学部附属病院A病棟に2008年6月から2009年7月の約1年間に入院した成人157人を対象とした。入院時および退院時の鼻腔培養からMRSA保菌率を調査した。

1. ブドウ球菌用培地とMRSA選択培地で培養を行い、同定には、ブドウ球菌の同定はAPI staphで行った。
2. β -ラクタム系抗菌薬の耐性に関与する酵素 (penicillin binding protein 2 prime (PBP2'))の産生を司る *mecA* 遺伝子の存在はReal-time PCR法で行いMRSAを同定した。

3. 菌株の複数遺伝子配列の差異をパターン化して解析する方法としてmultilocus sequence typing (MLST)法を使い、株を特定し、MRSA伝播様式を解析した。
4. A病棟のアルコール手指消毒薬の使用量を測定した。

【結果・考察】

157人の入院患者の入院時および退院時の検体、合計341検体で解析を行った。その結果は以下である。

1. 合計9人(5.7%)がMRSAを保菌していた。この9人全例が、MRSA保菌リスク(男性、1年以内の入院歴、1か月以内の抗菌薬使用歴、感染症による入院、糖尿病)の1つ以上を有していた。
2. 9人中3人が入院時にMRSAを保菌(保菌率 $3/157=1.9\%$)しており、3人中2人は退院時にも保菌していた。6人は入院時には保菌していなかったが退院時に保菌していた。この6人は通常の培養検査は行われぬ症例である。結果的に退院時には8人が保菌しており(保菌率 $8/157=5.1\%$)、保菌率は退院時に有意に増加していた。
3. 入院時に保菌していた3人は、全員当院への入院歴のある症例であった。
4. 157人のべ入院日数は1,515日であったことから、患者数と日数で補正した入院中のMRSA伝播率は1,000 patient-dayあたり4.0であった。
5. MLST解析から、入院中にMRSAを獲得した6人中3人は院内伝播と考えられた。
6. A病棟における入院患者全体のMRSA保菌率は13.3%(日本は数-20%との報告)、手指消毒の実施回数は4.0回/patient-dayであった。

【結論】

A病棟においてMRSA院内伝播が発生していることが証明された。通常の入院時および入院中に培養検査を行うのは9人中3人(入院時に保菌がわかっていた症例)のみであることから、入院時の積極的監視培養によるMRSA保菌の早期発見は有効な感染対策になると考えられた。A病棟のMRSA伝播率1,000 patient-dayあたり4.0は、米国(一般病棟とNICU)や台湾ICUと同等の報告であるが、予防策により軽減できるため、手指衛生を中心とした更なる標準予防策強化が必要である。

本論文は、鼻腔以外を検討していない、MLSTの感度の問題、入院中のMRSA保菌時期に関する検討がない点など限界もあるが、MRSA伝播様式、特に院内伝播の実態を明らかにし、標準予防策強化の重要性を改めて認識させた医学的に高い価値を有するものである。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)	山崎 史 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第51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	令和2年2月10日
学位論文題目	Prevalence and characteristics of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> in community residents and healthcare professionals 1. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> in community residents of Japan 2. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> colonization among healthcare professionals in a university hospital in Japan (住民および医療者におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状) 1. (日本の住民におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状) 2. (日本のある大学病院の医療者におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状)
発表誌名	1. Journal of General and Family Medicine 19(3):77~81 2018年5月 2. Journal of General and Family Medicine 20(5):190~192 2019年9月
	審査委員 主査 教授 大畑 雅典 副査 教授 藤枝 幹也 副査 教授 高田 淳

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	山崎 史
論文題目	Prevalence and characteristics of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> in community residents and healthcare professionals (住民および医療者におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状)	
<p>(論文要旨)</p> <p>1. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> in community residents of Japan (日本の住民におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状)</p> <p>メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) による医療関連感染対策を効果的に推進するためには、いつ、どのように、どこからMRSAが入院患者に感染しているかを明らかにすることが重要である。一般住民に蔓延しているMRSAが市中から院内に持ち込まれているのか、あるいはMRSAは院内のみで感染を繰り返しているのかを明らかにすることが、本研究の目的である。</p> <p>1274人の住民に対して鼻腔培養によってMRSAの保菌調査を実施した。また、菌株の複数遺伝子の配列の差異をパターン化してそれらを統合し遺伝子解析ソフトにより解析するいわゆる multilocus sequence typing (MLST) 法によって株を特定し、MRSAの伝播様式を解析した。そして、それらの結果を院内で分離されたMRSA株と比較した。</p> <p>住民におけるMRSA保菌率は 0.72%であった。黄色ブドウ球菌保菌者のうち、その黄色ブドウ球菌がMRSAである割合は、住民では2.6%であったのに対し入院中の患者では63.1%と有意に高かった ($p < 0.0001$)。住民が保菌していたMRSA株は、院内流行株と異なっていた。過去の入院歴は、院内流行株のMRSAを保菌するリスクであった。</p> <p>以上の結果より、住民におけるMRSA保菌はまれである事が明らかとなった。また、入院によって院内流行株がある程度市中に広がっているが、市中ではMRSAは蔓延しておらず、MRSA対策には院内における対策を中心に推進する必要があると判明した。</p>		

2. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among healthcare professionals in a university hospital in Japan (日本のある大学病院の医療者におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状)




メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の無症候性キャリアは、MRSA の医療関連感染の重要な感染源である。MRSA は入院患者から医療者へ、あるいはその逆に伝播している可能性がある。

45 人の外科病棟に勤務する医療者 (医師 13 人、看護師 32 人) に対して鼻腔培養によって MRSA の保菌調査を実施した。また、multilocus sequence typing (MLST) 法によって株を特定し、MRSA の伝播様式を解析した。そして、それらの結果を住民 1,111 人、および入院時の患者 163 人から分離された MRSA 株と比較した。

医療者における MRSA 保菌率は 11.1% で、住民 (0.72%; $p < 0.0001$)、および入院患者 (2.5%; $p = 0.018$) より有意に高かった。医療者は ST8 型および ST764 型を保菌しており、それらは住民および入院時の患者からも検出された。医師の保菌率 (31%) は看護師の保菌率 (3%) より有意に高かった ($p = 0.02$)。

以上の結果より、医療者が保菌する MRSA は医療関連感染の発生に関与している事が明らかになった。また、特に医師に対する感染対策教育が重要であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	山崎 史
審 査 委 員	主 査 氏 名 大畑 雅典	
	副 査 氏 名 藤枝 幹也	
	副 査 氏 名 高田 淳	

- 題 目** Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in community residents and healthcare professionals
1. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in community residents of Japan
 2. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among healthcare professionals in a university hospital in Japan
 (住民および医療者におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状)
 1. (日本の住民におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状)
 2. (日本のある大学病院の医療者におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状)

- 著 者**
1. Fumi Yamasaki, Seisho Takeuchi, Yoshio Uehara Masahide Matsushita, Kazumi Arise, Hiromi Seo
 2. Fumi Yamasaki, Seisho Takeuchi, Yoshio Uehara Masahide Matsushita, Kazumi Arise, Hiromi Seo

- 発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月**
1. Journal of General and Family Medicine 19(3):77~81 2018年5月
 2. Journal of General and Family Medicine 20(5):190~192 2019年9月

- 要 旨**
1. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in community residents of Japan(日本の住民におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状)

【背景・目的】

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は、医療関連感染症の重要な病原体であり、血流感染、皮膚軟部組織感染、および手術部位感染などの原因となる。したがって、MRSAによる院内感染対策を効果的に推進するためには、いつ、どのように、どこからMRSAが入院患者に感染しているかを明らかにすることが重要である。一般住民が保有するMRSA

が市中から院内に持ち込まれているのか、あるいはMRSAは院内のみで感染を繰り返しているのかを明らかにすることを本研究の目的とした。

【方法】

本研究には、2006年10月から2009年5月にかけて計1274人が参加し、3つのグループに分けて調査した。すなわち、高知大学病院に入院した患者163名（“入院時患者”と呼称）、高知大学病院の近くに住む60歳以上の住民317名、そして大阪府に住む60歳以下の住民794名である。鼻腔スワブを採取し（“入院時患者”では入院48時間以内に採取）、その培養によりMRSAの保菌調査を実施した。菌株の複数遺伝子の配列の違いをパターン化して、それらを統合し遺伝子解析ソフトによって解析するいわゆるmultilocus sequence typing (MLST)法によって株を特定し、MRSAの伝播様式を解析した。それらの結果を院内で分離されたMRSA株と比較した。

【結果・考察】

一般住民におけるMRSA保菌率は0.72%（1111例中8例）であり、“入院時患者”の保菌率2.5%（163例中4例）に比べると有意に低かった（ $P = 0.035$ ）。黄色ブドウ球菌保菌者のうち、その黄色ブドウ球菌がMRSAであった割合は、住民で2.6%（310例中8例）であったのに対し、入院中の患者では63.1%（393例中248例）と有意に高かった（ $P < 0.0001$ ）。MLST解析により、住民が保菌していたMRSA株は、院内流行株と異なることが判明した。過去の入院歴は、院内流行株のMRSAを保菌するリスクであることが示唆された。市中で得られた3つのMRSA株の解析では、市中感染型MRSAとの関連性が言われているPVL遺伝子は検出されなかった。

【結論】

本研究で調べた一般住民においては、MRSA保菌は稀であった。過去の入院により院内流行株がある程度市中に広がっていることが示唆されたが、市中でMRSAは蔓延しているとはいえないことが示された。したがって、院内でのMRSA対策を強化する必要があると考えられた。

2. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among healthcare professionals in a university hospital in Japan (日本のある大学病院の医療者におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌率およびその性状)

【背景・目的】

MRSAの無症候性キャリアは、医療関連感染の重要な感染原である。本研究では、医療従事者におけるMRSA保菌状況を調べ、MRSA保菌医療従事者から入院中の患者へMRSAが伝播される可能性を探ることを目的とした。

【方法】

高知大学病院の外科病棟に勤務する医療従事者45人（医師13人、看護師32人）を対象

にして、鼻腔培養によるMRSAの保菌調査を2008年6月に実施した。また、MLST法によりMRSA株を特定し、その伝播様式を解析した。

【結果・考察】

医療従事者におけるMRSA保菌率は11.1%（45例中5例）であり、1. の論文で示された住民（0.72%; $P < 0.0001$ ）および入院時患者（2.5%, $P = 0.018$ ）の保菌率より有意に高かった。また、それは入院中の患者のMRSA保菌率の3.8%（157例中6例）よりも高かったが、統計学的な有意差は認められなかった。MLST解析の結果、MRSA保菌医療従事者はST8型およびST764型を有しており、これらは一般住民や入院患者からも検出されたMRSA株であった。医師のMRSA保菌率は31%（13例中4例）であり、看護師の保菌率（32例中1例）より有意に高かった。

【結論】

医療従事者が保菌するMRSAは院内感染の発生に関与する可能性が示唆された。特に医師に対する感染対策教育が重要であると考えられた。

これらの論文は、10年以上前に限られた地域で行われた調査であること、解析に供したMRSA保菌例が少ないこと、MRSAの株同定に用いられた方法の識別力に限界があるなどの問題点はあるものの、

1. 一般市民におけるMRSAの保菌は稀であるが、入院により院内流行株が市中に広がっている可能性
2. 医療従事者が保菌するMRSAが医療関連感染の発生に関与している可能性を示した論文である。

これらは院内感染対策の重要性を再認識させ、さらなる強化を促すデータであり、医学的に高い価値を有するものであると考えられる。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)	寺内 芳彦 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第52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	令和2年2月10日
学位論文題目	IgA polymerization contributes to efficient virus neutralization on human upper respiratory mucosa after intranasal inactivated influenza vaccine administration (IgAの多量体化は経鼻不活化インフルエンザワクチン投与後のヒト上気道粘膜における効率的なウイルスの中和に寄与する)
発表誌名	Human Vaccines & Immunotherapeutics 2018 Jun 3;14(6):1351-1361 2018年4月9日

審査委員	主査	教授	大畑	雅典
	副査	教授	横山	彰仁
	副査	教授	宇高	恵子

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 寺内 芳彦
(論文要旨) インフルエンザウイルス（以下、Flu）に対する免疫の中で重要な役割を演じているのは、呼吸器粘膜上の分泌型 IgA と血中の IgG であるが、現在主に使用されている注射型ワクチンは血中のウイルス特異的 IgG しか誘導できない。我々は先行研究で、単価経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンの接種を受けたボランティアの上気道粘膜に、ウイルス特異的 IgA が単量体、二量体、多量体(三量体と四量体)として誘導される事、そのうち多量体 IgA が最も高いウイルス中和活性と関連している事を示した。しかし、より実際の運用に則したワクチン接種法によって効果の高い IgA 多量体を鼻粘膜中に誘導できるかどうかははっきりしないままだった。本研究では、ボランティアに3価経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチン（以下、本ワクチン）を2回接種し、そのボランティアから回収した鼻腔洗浄液に含まれる IgA の構造、機能について解析した。 本ワクチン接種前後で血清の中和抗体価は、Flu A 型に対しては有意に上昇していたが Flu B 型に対しては上昇していなかった (Flu B 型に対する抗体価が上昇しにくいことは、注射型ワクチンでも問題となっている)。一方、鼻腔洗浄液の中和抗体価は、Flu A 型、B 型のどちらに対しても本ワクチン接種後に有意に上昇していた。 本ワクチン接種後の鼻腔洗浄液中の免疫グロブリンは、平均すると IgA が 67.5% を占めた。この中から IgA のみを精製し、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて 3 つの分画 (Fr1、Fr2、Fr3) に分注した。Fr1 には全体の 11.8%、Fr2 には全体の 51.6%、Fr3 には全体の 36.5% の IgA が含まれていた。3 人のボランティアから得られたこの 3 分画中の IgA を blue native-PAGE で解析した結果、Fr1 には単量体、二量体、多量体 (二量体 > 単量体、多量体) が、Fr2 には二量体、多量体 (二量体 > 多量体) が、Fr3 には二量体、多量体 (多量体 > 二量体) が含まれていた。理論的には、IgA-J 鎖の IgA-重鎖に対する比 (JC/HC 比) は、三量体が 0.167、四量体が 0.125 で、二量体の 0.25 よりも低い。また、サブタイプ IgA2 は IgA1 よりも効率よく多量体を形成することが知られている。これら 3 分画を液体クロマトグラフィー質量分析で解析した結果、Fr3 では Fr1、Fr2 よりも IgA2 の含まれる割合が有意に高く、また JC/HC 比が有意に低かった。Fr3 には Fr1、Fr2 よりも多量体が多く含まれていることが示唆された。 IgA の分子構造 (多量体化) と中和抗体価との関係を見出すための相関分析を行い、「Flu A/Victoria/361/2011(H3N2)に対する鼻腔洗浄液の中和抗体価」と、「鼻腔洗浄液中の免疫グロブリン量のうち Fr3 分画中の IgA 量が占める割合」との間に正の相関を認められた。この結果から、多量体 IgA がヒト上気道粘膜における抗ウイルス活性において重	IgA polymerization contributes to efficient virus neutralization on human upper respiratory mucosa after intranasal inactivated influenza vaccine administration (IgAの多量体化は経鼻不活化インフルエンザワクチン投与後のヒト上気道粘膜における効率的なウイルスの中和に寄与する)

要な役割を演じている可能性が示唆された。表面プラズモン共鳴 (SPR) 解析を用いて、代表的な 3 人のボランティアから得られた各分画 (Fr1、Fr2、Fr3) 中の IgA と、Flu A/Victoria/361/2011(H3N2) のヘマグルチニン組み換え三量体に対する結合動態を確認した結果、ヘマグルチニンからの IgA の解離率は、Fr2、Fr3 において Fr1 よりも低かった。粘膜に存在する IgA の多量体化は、鼻粘膜におけるウイルス中和活性を高めることに寄与し、それは IgA とウイルスの結合を増加させることに起因している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	寺内 芳彦
審 査 委 員	主 査 氏 名	大畑 雅典 
	副 査 氏 名	横山 彰仁 
	副 査 氏 名	宇高 恵子 

題 目 IgA polymerization contributes to efficient virus neutralization on human upper respiratory mucosa after intranasal inactivated influenza vaccine administration
(IgAの多量体化は経鼻不活化インフルエンザワクチン投与後のヒト上気道粘膜における効率的なウイルスの中和に寄与する)

著 者 Yoshihiko Terauchi, Kaori Sano, Akira Ainai, Shinji Saito, Yuki Taga, Kiyoko Ogawa-Goto, Shin-ichi Tamura, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Mikiya Fujieda, Tadaki Suzuki & Hideki Hasegawa

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 Human Vaccines & Immunotherapeutics
 2018 Jun 3;14(6):1351-1361
 2018年4月9日

要 旨

【背景・目的】

インフルエンザウイルスに対する免疫の中で重要な役割を演じているのは、呼吸器粘膜上の分泌型IgAと血中のIgGであるが、現在主に使用されている注射型不活化ワクチンは血中のウイルス特異的IgGしか誘導できない。したがって、血中IgGに加えて局所でのIgA中和抗体を産生させるワクチンの開発は重要である。2002年に米国食品医薬品局FDAは鼻に噴射する弱毒生インフルエンザワクチン(フルミスト)を承認したが、その安全性の問題から、2歳未満の小児や50歳以上の成人には認可されていない。申請者らの先行研究では、単価経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンをボランティアに接種すると、上気道粘膜にウイルス特異的IgAが単量体、二量体、多量体(三量体と四量体)として誘導されること、そのうち多量体IgAが最も高いウイルス中和活性と関連することが示された。しかしながら、より実際の運用に則したワクチン接種法によって、感染防御に効果的なIgA多量体を上気道粘膜中に誘導できるかどうかについては不明であった。以上の背

景を基に、本研究では、3価の経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンを2回接種したボランティアの鼻腔洗浄液に含まれるIgAの構造および機能を明らかにすることを目的にした。

【方法】

18歳から65歳までの47人の健康成人がボランティアとして本研究に参加した。その平均年齢は36.2歳で、女性が25名、男性が22名であった。本研究に使用したワクチンは3価（A/Texas/50/2012 [H3N2]、A/California/7/2009 [H1N1]pdm09、およびB/Massachusetts/2/2012 [山形系統]）の経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンで、本ワクチン0.25ml（各ワクチン株のヘマグルチニン45 μ gを含む）を両鼻孔に3週の間隔をあけて2回、鼻に噴射した。血清と鼻腔洗浄液を、ワクチン接種前、1回目の接種後3週、2回目の接種後3週（すなわち1回目の接種後6週）の計3回採取した。血清と鼻腔洗浄液の中和抗体価の測定と鼻腔洗浄液中のIgAの構造および機能解析を行った。

【結果・考察】

本ワクチン接種前後での血清の中和抗体価は、インフルエンザウイルスA型に対しては有意に上昇していたが、B型に対しては上昇がみられなかった。インフルエンザウイルスB型に対する血清抗体価が上昇しにくいことは、これまでの注射型ワクチンでも同様に認められている。一方、鼻腔洗浄液の中和抗体価は、インフルエンザウイルスA型、B型のどちらに対しても本ワクチン接種後に有意に上昇していた。

本ワクチンの2回目接種後3週に得られた21名のサンプルを解析した結果、接種後の鼻腔洗浄液中の免疫グロブリンは、平均するとIgAが67.5%を占めていた。この中からIgAのみを精製し、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて3つの分画（Fr1、Fr2、Fr3）に分別した。Fr1には全体の11.8%、Fr2には全体の51.6%、Fr3には全体の36.5%のIgAが含まれていた。次に、これら分画中に含まれるIgAの分子構造を解析するために、3人のボランティアから得られた3分画中のIgAをblue native-PAGE法で解析した。その結果、Fr1には単量体、二量体、多量体（二量体>単量体、多量体）が含まれていたが、一方で、Fr2やFr3は二量体と多量体から成り（Fr2では二量体>多量体、Fr3では多量体>二量体）、単量体は含まれていなかった。さらに、これら3分画を液体クロマトグラフィー質量分析で解析した結果、Fr3ではFr1やFr2よりもサブクラスIgA2の含まれる割合が有意に高く、またIgA-J鎖のIgA-重鎖に対する比（JC/HC比）が有意に低かった。以上より、Fr3にはFr1やFr2よりも多量体が多く含まれていることが示された。

IgAの分子構造（多量体化）と中和抗体価との関連性を見出すための相関分析を行った。その結果、「鼻腔洗浄液中の免疫グロブリン量のうちFr3分画中のIgA量が占める割合」と「インフルエンザウイルス A/Victoria/361/2011 (H3N2) に対する鼻腔洗浄液の中和抗体価」との間に正の相関を認めた。このことは、多量体IgAがヒト上気道粘膜における抗ウイルス活性において重要な役割を果たしている可能性が示唆するものであった。

次に、表面プラズモン共鳴（SPR）解析法を用いて、代表的な3人のボランティアから得られた各分画（Fr1、Fr2、Fr3）中のIgAと、インフルエンザウイルス A/Victoria/361/2

011 (H3N2) のヘマグルチニン組み換え三量体に対する結合動態を調べた。その結果、ヘマグルチニンからのIgAの解離率は、Fr2（主に二量体を含む）およびFr3（主に多量体を含む）において、Fr1（主に二量体を含むが単量体や多量体も含む）よりも低かった。10人のボランティアから得られたサンプルを使っての統計解析の結果、Fr2およびFr3に含まれるIgAはFr1に含まれるIgAより解離しにくいことが有意差をもって明らかにされた。これら結果はIgAの多量体化は、上気道粘膜におけるウイルス中和活性を高めることに寄与し、それはIgAとウイルスの結合を増加させることに起因している可能性が示唆された。

【結論】

本研究により、わずか2回の経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチン接種はヒトの上気道粘膜にIgA抗体を産生させることが明らかにされた。IgAの多量体化は、鼻粘膜におけるウイルス中和活性を増強させることが示された。この抗インフルエンザウイルス活性は、多量体IgAがウイルス抗原との結合力を増加させることによるものと考えられた。

以上のように、本論文は経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンの有用性を示したものである。これまでの注射型不活化インフルエンザワクチンとの相違点を明らかにし、新しいインフルエンザワクチンの実用化に向けての基盤データを提供するものであり、医学的に高い価値を有するものである。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)	沖 豊和 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第53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	令和2年2月10日
学位論文題目	Evaluation of Follow-up Examinations Using Ultrasonography for Patients With Thyroid Nodules Initially Diagnosed as Benign (良性と診断した甲状腺腫瘍患者に対する超音波検査を用いた経過観察の評価)
発表誌名	Anticancer Research, 39(4), 2061-2067 2019年4月

審査委員	主査	教授	降幡	睦夫
	副査	教授	兵頭	政光
	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	沖 豊和
論文題目	Evaluation of Follow-up Examinations Using Ultrasonography for Patients With Thyroid Nodules Initially Diagnosed as Benign (良性と診断した甲状腺腫瘍患者に対する超音波検査を用いた経過観察の評価)	
<p>(論文要旨)</p> <p>甲状腺結節は成人の約50%に見られるが触知できるのは約3~4%であり、結節の大きさが1cmを超えると悪性を除外するために穿刺吸引細胞診(FNAC)を行うことが推奨されている。超音波検査で一見良性腫瘍と診断されても時間経過とともに腫瘤増大などの悪性を示唆する所見が出現することもあるため、超音波検査での経過観察が求められている。そのためFNACで証明された良性結節のその後の経過を知ることは経過観察を行う上で有用であり、また不必要な再FNACを避けることの助けにもなる。これらを踏まえて本研究では超音波検査を用いた良性甲状腺結節の自然経過の評価を行った。</p> <p>当科で2010年から2012年までの間に3mm以上の甲状腺結節で受診したのは381人で、そのうち初診後に手術が行われず外来を受診し続けた223人について、超音波検査での初診時と最終受診時での結節最大腫瘍径を後方視的に比較検討を行った。男性19人、女性204人で年齢中央値は62歳(6~89歳)で経過観察期間中央値は60月(4~300月)であった。結節径は初診時は1cm未満が12.1%、1cm以上2cm未満が41.3%、2cm以上3cm未満が26.0%、3cm以上4cm未満が14.8%、4cm以上が5.8%で中央値は1.9cmだった。最終受診時の結節径は1cm未満が15.2%、1cm以上2cm未満が34.5%、2cm以上3cm未満が26.9%、3cm以上4cm未満が12.6%、4cm以上が10.3%で中央値は2.0cmだった。初診時を基準とした、最終受診時での径変化率は15%以上増大が34.1%、15%以上縮小が21.5%、15%未満の増大あるいは縮小が44.4%だった。</p> <p>結節径の年間変化値は全体の75.8%が±0.2cm/年以内で、中央値は0.01cm/年で6例(2.7%)で0.5cm/年以上の増大を認め、全例で手術が実施された。病理結果は腺腫様甲状腺腫が3例で濾胞腺腫が3例であった。今回の検討では0.5cm/年以上の増大が手術適応の一つの目安となった。手術適応を決める上では結節径の他にその増大の程度や超音波検査の所見、症状、整容性、機能性の有無、血中サイログロブリン値、縦隔内への進展の有無などを考慮するが、今回の我々の報告では径変化のみで手術適応の一つの目安を提示することが出来た。</p> <p>経過観察中にFNACを行った群(FNAC群)は109例(48.9%)でそのうち100例が良性だったが、経過観察中に再度FNACを行って2例が悪性だった。FNACを行わなかった群(Non-FNAC群)は114例(51.8%)で超音波検査上明らかな良性所見を示していた。FNAC群とNon-FNAC群を比較して有意差を示したのは経過観察期間中央値(54.0月, 75.5月: p=0.004)、初診時サイズ(2.3cm, 1.6cm: p<0.001)と最終受診時の結節径(2.2cm, 1.7cm: p=0.003)、結節径の変化率(±0%, +7.3%: p=0.040)であった。結節径の年間</p>		

変化値に有意差は認めなかった (+0.01cm/年, ± 0 cm/年: $p=0.411$)。経過観察中に手術を行った症例は FNAC 群の方が有意に多かった (14 例, 5 例: $p=0.024$)。経過観察中に手術を行った症例は 19 例であった。手術未実施群は手術実施群と比較して初診時と最終受診時の結節径中央値が有意に小さかった (1.8cm, 2.8cm: $p=0.024$, 1.9cm, 3.7cm: $p<0.01$)。また結節径の変化率と年間変化値も手術未実施群の方が有意に小さかった ($\pm 0\%$, +25%: $p=0.001$, ± 0 cm, +0.24cm: $p<0.001$)。手術を施行した 19 例のうち 3 例が乳頭癌であった。

今回我々は後方視的に甲状腺良性結節の自然経過について評価し、ほとんどの甲状腺結節は 4cm 未満で、60%以上は縮小するかほとんど変化がなく (± 0.2 cm/年以内)、良性の経過をたどるが、FNAC で良性と診断されていても、結節径が大きくなったり超音波検査での性状が変化し再 FNAC で悪性と診断される症例が存在することを確認した。初診時に良性と診断した甲状腺腫結節でも経過観察中に悪性と診断される可能性があり、これらを見落とさないためにも結節の増大変化を超音波検査で注意深く評価するべきである。

論文審査の結果の要旨

		氏 名	沖 豊和
審 査 委 員	主 査 氏 名	降幡 睦夫	
	副 査 氏 名	兵頭 政光	
	副 査 氏 名	佐藤 隆幸	

題 目 Evaluation of Follow-up Examinations Using Ultrasonography for Patients With Thyroid Nodules Initially Diagnosed as Benign

(良性と診断した甲状腺腫瘍患者に対する超音波検査を用いた経過観察の評価)

著 者 TOYOKAZU OKI, TAKEKI SUGIMOTO, MAHO OGAWA, KEN DABANAKA, TSUTOMU NAMIKAWA, KAZUHIRO HANAZAKI

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Anticancer Research, 39(4), 2061-2067 2019年4月

要 旨

【背景・目的】

甲状腺結節は成人の約 50%に見られ、結節径 1cm 以上では悪性除外を目的に穿刺吸引細胞診 (FNAC) を行うことが推奨されている。一方で良性腫瘍と診断されても経時的に腫瘍増大などの悪性示唆所見が出現することもあり、超音波検査での経過観察が求められている。そのためFNACで良性と診断された良性結節のその後の経過を知ることは不必要な再FNAC検査を避ける助けにもなる。これらを踏まえ、本研究ではFNAC等により良性と診断された甲状腺結節を経時的に観察し、超音波検査による良悪性の評価を行うことで、手術適応の有無を判断するさらなる指標を確立することを目的とした。

【方法】

当科で 2010 年から 2012 年までの間に 3mm 以上の甲状腺結節で受診した 381 人中、初診後に手術が行われず外来受診を継続した 223 人について、初診時と最終受診時での結節最大腫瘍径を超音波検査で後方視的に比較検討を行った。

【結果・考察】

男性 19 人、女性 204 人で年齢中央値は 62 歳 (6~89 歳)、経過観察期間中央値は 60 月 (4~300 月) であった。結節径は 4cm 以下が 94.2%で初診時中央値は 1.9cm、最終受診時の結節径は 4cm 以下が 89.7%で中央値は 2.0cm だった。初診時を基準とした最終受診時での径変化率

は15%以上増大が34.1%、15%以上縮小が21.5%、15%未満の増大あるいは縮小が44.4%だった。結節径の年間変化値は全体の75.8%が $\pm 0.2\text{cm}/\text{年}$ 以内で、中央値は $0.01\text{cm}/\text{年}$ となり、 $0.5\text{cm}/\text{年}$ 以上の増大を認めた6例(2.7%)は全て手術が実施された(腺腫様甲状腺腫と濾胞腺腫それぞれ3例)(手術が実施された6例(2.7%:腺腫様甲状腺腫と濾胞腺腫それぞれ3例)で $0.5\text{cm}/\text{年}$ 以上の増大を認めた。)

経過観察中にFNACを行った群(FNAC群)は109例(48.9%)で、100例が良性だったが、経過観察中に再度FNACを行い2例に悪性変化を認めた。一方FNACを行わなかった群(Non-FNAC群)は114例(51.8%)で、超音波検査上は良性所見を示していた。FNAC群とNon-FNAC群を比較し、経過観察期間中央値(54.0月, 75.5月: $p=0.004$)、初診時サイズ(2.3cm, 1.6cm: $p<0.001$)と最終受診時の結節径(2.2cm, 1.7cm: $p=0.003$)、結節径の変化率($\pm 0\%$, $+7.3\%$: $p=0.040$)において有意差を示した。結節径の年間変化値に有意差は認めなかった($+0.01\text{cm}/\text{年}$, $\pm 0\text{cm}/\text{年}$: $p=0.411$)。

経過観察中に手術を行った症例は19例で、うち3例が乳頭癌であった。手術未実施群は手術実施群と比較して初診時と最終受診時の結節径中央値(1.8cm, 2.8cm: $p=0.024$, 1.9cm, 3.7cm: $p<0.01$)、結節径変化率($\pm 0\%$, $+25\%$: $p=0.001$)及び年間変化値($\pm 0\text{cm}$, $+0.24\text{cm}$: $p<0.001$)いずれも手術未実施群の方が有意に低値を示した。経過観察中に手術を行った症例はFNAC群の方が有意に多かった(14例, 5例: $p=0.024$)。手術適応を決める上では結節の増大程度や超音波検査の所見、症状、整容性、機能性の有無、血中サイログロブリン値、縦隔内への進展の有無などを考慮するが、今回の我々の報告では径変化単独でも手術適応の有無を提示することが出来た。

【結論】

今回我々は後方視的に甲状腺良性結節の自然経過について評価し、ほとんどの甲状腺結節は4cm未満で、60%以上は縮小するかほとんど変化がなく($\pm 0.2\text{cm}/\text{年}$ 以内)、良性の経過をたどるが、FNAC後に良性甲状腺腫と診断された結節でも経過観察中に悪性病変を合併する可能性があり、これらを見落とさないためにも結節の増大変化を超音波検査で注意深く評価する必要性を示した。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。質疑応答では、実際に行われた超音波検査手技や、手術適応決定に関与するサイログロブリン値等のその他検査項目との比較、さらに今回の手法の独自性及び臨床応用への可能性について質問を行ったが、いずれの質問に対しても申請者はおおむね的確に答え、自分の考えを明瞭に述べた。これらの内容をふまえ、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。