

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119号	林 未季	Effects of low concentration fluoride released from fluoride-sustained-releasing composite resin on the bioactivity of <i>Streptococcus mutans</i> (フッ素徐放性コンポジットレジンから徐放される低濃度フッ化物が <i>Streptococcus mutans</i> の生物活性に及ぼす影響)	1
甲総医博第120号	J P NAW AWN	Lack of concern about body image and health during pregnancy linked to excessive gestational weight gain and small-for-gestational-age deliveries: the Japan Environment and Children's Study (ボディイメージ及び健康への無関心と妊婦の体重増加及び出生児のSGA (small-for-gestational-age) との関連: 子どもの健康と環境に関する全国調査 (エコチル調査))	6
甲総医博第121号	西川 浩文	Knockout of the interleukin-36 receptor protects against renal ischemia-reperfusion injury by reduction of proinflammatory cytokines (IL-36受容体欠損マウスでは虚血再灌流による急性腎障害の予後が改善する)	12
甲総医博第122号	奥田 教宏	Separation from a bonded partner alters neural response to inflammatory pain in monogamous rodents (パートナーとの別離は一夫一婦制げっ歯類において炎症性疼痛に対する神経反応を変化させる)	16
甲総医博第123号	青柳 智和	Association between acute coronary syndrome onset risk and climate change (急性冠症候群の発症リスクと気候変動との関連)	21

学位記番号	氏名	学位論文の題目	ページ
甲総医博第124号	葛西 雄介	Increased Calcitonin Gene-Related Peptide Expression in DRG and Nerve Fibers Proliferation Caused by Nonunion Fracture in Rats (ラット骨折後偽関節は、偽関節部で神経線維を伸長させ、後根神経節でのカルシトニン遺伝子関連ペプチドを増加させる)	26
甲総医博第125号	南 まりな	Acute effect of the COVID-19 pandemic on emergency transportation due to acute alcoholic intoxication: a retrospective observational study (COVID-19パンデミック時の急性アルコール中毒による救急搬送の変化)	31
甲総医博第126号	國見 祐輔	Exogenous oxytocin used to induce labor has no long-term adverse effect on maternal-infant bonding: Findings from the Japan Environment and Children's Study (外因性オキシトシンのボンディング (対児愛着) への影響)	36
甲総医博第127号	竹村 光広	Repeated intravenous infusion of mesenchymal stem cells for enhanced functional recovery in a rat model of chronic cerebral ischemia. (ラット慢性脳虚血モデルにおける間葉系幹細胞の反復静脈内投与による機能回復促進効果)	41
甲総医博第128号	重松ロカテッリ 万里恵	Maternal pain during pregnancy dose-dependently predicts postpartum depression: Japan Environment and Children's study 妊娠中の痛みは容量依存的に母親の産後うつを予測する：子どもの健康と環境に関する全国調査)	46
甲総医博第129号	渡邊 理史	Perinatal Care Preparedness in Kochi Prefecture for When a Nankai Trough Earthquake: Action Plans and Disaster Liaisons for Pediatrics and Perinatal Medicine 南海トラフ地震における高知県の周産期医療提供体制に関する検討 ：その取り組みと災害時小児周産期リエゾンの活用	51

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
甲総医博第130号	新武 享朗	The inhibitory role of intracellular free zinc in the regulation of Arg-1 expression in interleukin-4-induced activation of M2 microglia (インターロイキン4誘導性M2ミクログリアのArg-1発現制御に対する細胞内遊離亜鉛の役割)	56
甲総医博第131号	山本 新九郎	Predictors of therapeutic efficacy of 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy in human prostate cancer (ヒト前立腺癌に対する5-アミノレブリン酸を用いた光線力学的治療の治療効果予測因子の検討)	61
甲総医博第132号	OU YANGLAN	Saikokeishikankyoto extract alleviates muscle atrophy in KKAY mice (柴胡桂枝乾湯抽出物は糖尿病肥満モデルマウスにおける筋萎縮を抑制する)	66
甲総医博第133号	中谷 貴恵	Gene therapy with SOCS1 induces potent preclinical antitumor activities in oral squamous cell carcinoma. (SOCS1による遺伝子治療は口腔扁平上皮癌において強力な抗腫瘍活性を誘導する)	71
甲総医博第134号	中屋 雄太	Early cardiac rehabilitation for acute decompensated heart failure safely improves physical function (PEARL study): a randomized controlled trial (急性非代償性心不全への早期心臓リハビリテーションは身体機能を安全に改善できる-パール研究：無作為化コントロール試験)	76
甲総医博第135号	森沢 惇平	Association of 5-aminolevulinic acid with intraoperative hypotension in malignant glioma surgery (悪性神経膠腫手術における術中低血圧のリスク因子の探求と光学力学診断用剤5-Aminolevulinic acidの使用による術中低血圧発症への影響)	81
甲総医博第136号	近藤 理紗	Association between self-reported night sleep duration and cognitive function among older adults with intact global cognition (全般的認知機能が保たれた高齢者における自己報告による夜間の睡眠時間と認知機能の関連)	86
甲総医博第137号	LIKKA MELAKU HAILE	Analysis of the Effects of Electronic Medical Record and a Payment Scheme on the Length of Hospital Stay (入院期間への電子カルテ導入と診療報酬制度変更の影響分析)	91

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
乙総医博第61号	弘瀬 かほり	<p>Post-treatment clinical course following botulinum toxin injection therapy for adductor spasmodic dysphonia: Analysis of data from a placebo-controlled, randomized, double-blinded clinical trial in Japan</p> <p>(内転型痙攣性発声障害に対するボツリヌストキシン注入療法後の臨床経過: プラセボ対照、ランダム化、二重盲検臨床試験からの解析)</p>	97
乙総医博第62号	宗景 絵里	<p>A glypican-1-targeted antibody-drug conjugate exhibits potent tumor growth inhibition in glypican-1-positive pancreatic cancer and esophageal squamous cell carcinoma</p> <p>グリピカン1を標的とした抗体薬物複合体は、グリピカン1陽性膵管癌および食道扁平上皮癌に強力な腫瘍増殖阻害効果を示す</p>	103

氏名(本籍)	林 未季 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第119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4年1月18日
学位論文題目	Effects of low concentration fluoride released from fluoride-sustained-releasing composite resin on the bioactivity of Streptococcus mutans (フッ素徐放性コンポジットレジンから徐放される低濃度フッ化物が Streptococcus mutansの生物活性に及ぼす影響)
発表誌名	Dental Materials Journal (in press)

審査委員	主査	教授	大畑	雅典
	副査	教授	齊藤	源顕
	副査	教授	宮村	充彦

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 林 未季 Effects of low concentration fluoride released from fluoride-sustained-releasing composite resin on the bioactivity of <i>Streptococcus mutans</i> (フッ素徐放性コンポジットレジンから徐放される低濃度フッ化物が <i>Streptococcus mutans</i> の生物活性に及ぼす影響)
(論文要旨) 【背景・目的】 <p><i>Streptococcus mutans</i> (<i>S. mutans</i>) は主要な齲蝕原性菌の一つであるとともに感染性心内膜炎の起炎菌として全身疾患にも関与しているため、その制御は健康を維持するうえで極めて重要である。<i>S. mutans</i> の生物活性としては、グルコシルトランスフェラーゼ (GTF) などの細胞外酵素を介する歯質への付着能・バイオフィーム形成能、食物の糖質代謝に基づく酸産生能、細菌膜の ATPase 活性による耐酸性能などが知られている。</p> <p>フッ素による齲蝕予防効果については良く知られたところで、フッ素は様々な歯科材料に配合されている。フッ素の齲蝕予防効果の機序については、歯質表面の脱灰の抑制・再石灰化の促進、<i>S. mutans</i> の増殖・酸産生の抑制が報告されているが、これらの報告の多くは高濃度のフッ素による検討である。近年、フッ素徐放性の歯科材料が臨床応用されているが、徐放されるフッ素の濃度は低く、その低濃度のフッ素の <i>S. mutans</i> に対する影響については十分に検討されていない。そこで本研究では、フッ素徐放性歯科材料から徐放された低濃度のフッ化物が <i>S. mutans</i> の生物活性に及ぼす影響を検討した。</p> 【方法】 <p><i>S. mutans</i> (JCM 5175株) をBrain Heart Infusion液体培地を用いて37℃で静置培養し、以下の実験に供した。フッ素徐放性歯科材料としてはフッ素徐放性コンポジットレジン (F-CR) およびフッ素非徐放性コンポジットレジン (N-CR) を用い、これらのコンポジットレジンからのフッ素徐放量はイオンメーターにより測定した。<i>S. mutans</i> の生物活性に及ぼす徐放されたフッ素の影響を検討するため、<i>S. mutans</i> をF-CRあるいはN-CR上で培養するか、これらの材料の浸漬液で培養した後、増殖能、コンポジットレジンへの付着能、バイオフィーム形成能、乳酸産生能、ATPase活性、グルコシルトランスフェラーゼ (GTF) およびエノラーゼの活性および蛋白発現量を測定した。</p> 【結果】 <p>F-CR および N-CR より溶出したフッ化物イオン濃度は、それぞれ 3.19ppm および 0.43ppm であった。<i>S. mutans</i> の増殖および ATPase 活性は、いずれのコンポジットレジン浸漬液によっても抑制されなかった。これに対し、<i>S. mutans</i> のコンポジットレジンへの付着能、バイオフィーム形成能および乳酸産生能は N-CR によって影響を受けなかったが、F-CR によっていずれも有意に抑制された。そこで、付着能およびバイオフィーム形成能に関与する GTF の活性と蛋白発現量に及ぼすコンポジットレジン浸漬液の影響を検討したところ、F-CR によって酵素活性は影響を受けなかったものの発現量は抑制された。さらに、<i>S. mutans</i> のエノラーゼ活性と乳酸産生量との間には正の相関が認められ、エノラーゼ活性および蛋白発現量はいずれも F-CR によって有意に抑制されたものの N-CR の影響は認められなかった。</p> 【結論】 <p>フッ素徐放性コンポジットレジンから徐放される低濃度のフッ化物イオンは、<i>S. mutans</i> の耐酸性に関与する ATPase 活性ならびに増殖には影響しないものの、<i>S. mutans</i> の GTF の蛋白発現抑制を介して付着能およびバイオフィーム能を抑制すること、さらには、エノラーゼ活性および蛋白発現</p>	

の抑制を介して乳酸産生を抑制することが明らかとなった。以上の結果は、フッ素徐放性コンポジットレジン¹の臨床的有用性を示唆しているが、口腔内環境での効果等について更なる検討が必要と思われた。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	林 未季
審 査 委 員	主 査 氏 名 大畑 雅典 副 査 氏 名 齊藤 源頭 副 査 氏 名 宮村 充彦	  

題 目 Effects of low concentration fluoride released from fluoride-sustained-releasing composite resin on the bioactivity of *Streptococcus mutans*
 (フッ素徐放性コンポジットレジンから徐放される低濃度フッ化物が *Streptococcus mutans* の生物活性に及ぼす影響)

著 者

Miki HAYASHI, Ritaro MATSUURA, Tetsuya YAMAMOTO

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 Dental Materials Journal (in press)

要 旨

【背景・目的】

Streptococcus mutans (*S. mutans*) はグラム陽性の通性嫌気性レンサ球菌であり、ヒトの口腔内に存在し、齲蝕の原因菌のひとつである。*S. mutans*は感染性心内膜炎の主要な起炎菌の一つとして全身疾患にも関与するため、その制御は重要である。*S. mutans*による齲蝕発生機序として、本細菌が産生するグルコシルトランスフェラーゼ

(glycosyltransferase, GTF) を介することにより、*S. mutans*が歯質へ付着するための粘着性グルカンを合成し、口腔バイオフィルムを形成すること、また*S. mutans*の代謝系酵素エノラーゼによる食物の糖質代謝に基づく酸を産生すること、さらには細菌膜のATPase活性による耐酸性能などがあげられる。

フッ素には齲蝕予防効果があることが知られており、様々な歯科材料に配合されている。フッ素の齲蝕予防効果の機序として、歯質表面の脱灰の抑制と再石灰化の促進、*S. mutans*の増殖や酸産生の抑制が報告されているが、これらの報告の多くは高濃度のフッ素による検討である。近年、フッ素徐放性の歯科材料が開発され臨床応用されているが、徐放されるフッ素の濃度は低く、その低濃度のフッ素の*S. mutans*に対する影響については十分に検討されていない。そこで本研究では、フッ素徐放性コンポジットレジンから徐放された低濃度のフッ化物が*S. mutans*の生物活性に及ぼす影響を検討した。

【方法】

*S. mutans*は理化学研究所バイオリソース研究センターから入手したJCM 5175株を使用し、ブレインハートインフュージョン培地を用いて、37°C (90% N₂, 5% CO₂, 5% H₂) で培養した。フッ素徐放性コンポジットレジンからのフッ素徐放量はイオンメーター (F-55, 堀場アドバンステクノ社) により測定した。*S. mutans*をフッ素徐放性あるいは非徐放性コンポジットレジン上で培養し、これら歯科材料の*S. mutans*に対する抗菌効果を評価した。*S. mutans*の増殖試験は濁度を測定することで行った。また、コンポジットレジンが*S. mutans*の付着やバイオフィーム形成および乳酸産生に及ぼす影響についても検討した。ATPase、GTF、エノラーゼの*S. mutans*関連酵素の活性および発現量は比色法およびウェスタンブロット法により測定した。

【結果・考察】

フッ素徐放性および非フッ素徐放性コンポジットレジンの溶出液中のフッ化物イオン濃度は、それぞれ3.19ppmと0.43ppmであった。*S. mutans*の増殖およびATPase活性はいずれのコンポジットレジンにおいても抑制されなかった。一方、フッ素徐放性コンポジットレジンでは非フッ素徐放性コンポジットレジンと比較して*S. mutans*のレジンへの付着、バイオフィームの形成および培養液中での乳酸の産生を有意に抑制した。そこで、*S. mutans*の付着およびバイオフィームの形成に関与する酵素であるGTFの活性と発現について調べた。その結果、フッ素徐放性コンポジットレジンでは*S. mutans*のGTF酵素活性には影響を与えなかったが、発現量を低下させた。乳酸の産生に関与するエノラーゼについては、フッ素徐放性コンポジットレジンでは非フッ素徐放性コンポジットレジンと比較してその酵素活性を有意に阻害し、発現量も低下させた。さらに、*S. mutans*のエノラーゼ活性と乳酸産生の関連性を検証したところ、正の相関関係が認められた。

今回の研究は*in vitro*でのデータ提示ではあるが、フッ素徐放性コンポジットレジンでは*S. mutans*の増殖ではなく病原因子に影響を及ぼすことを示したものである。

【結論】

本研究において、フッ素徐放性コンポジットレジンでは*S. mutans*の増殖やATPase活性には影響を与えないことが示された。一方、フッ素徐放性コンポジットレジンから徐放されるフッ化物は低濃度であっても*S. mutans*のGTFの発現を抑制し、またエノラーゼの発現および活性を抑制することにより、*S. mutans*の付着、バイオフィーム形成および酸産生を抑制することが明らかとなった。

以上のように、本論文はフッ素徐放性コンポジットレジンが*S. mutans*の病原性を減弱させ、本歯科材料による齲蝕防止への臨床的有用性を示唆したものであり、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) に相応しいものと判断した。

氏名(本籍)	J P NAW AWN (ミャンマー連邦共和国)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第120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4年1月18日
学位論文題目	Lack of concern about body image and health during pregnancy linked to excessive gestational weight gain and small-for-gestational-age deliveries: the Japan Environment and Children's Study (ボディイメージ及び健康への無関心と妊婦の体重増加及び出生児のSGA (small-for-gestational-age) との関連: 子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査))
発表誌名	BMC Pregnancy and Childbirth, 21, 396. 2021年 5月

審査委員	主査	教授	奥原	義保
	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	JP Naw Awn
論文題目	<p>Lack of concern about body image and health during pregnancy linked to excessive gestational weight gain and small-for-gestational-age deliveries: the Japan Environment and Children's Study (ボディイメージ及び健康への無関心と妊婦の体重増加及び出生児のSGA (small-for-gestational-age) との関連：子どもの健康と環境に関する全国調査 (エコチル調査))</p>	
<p>(論文要旨)</p> <p>背景・目的 妊娠中の体重増加を抑制する理由を理解することで、社会的および医学的にリスクの高い妊婦に健康指導をすることが可能となる。本研究の目的は、①「体重増加を抑制する理由が共通するグループが存在する」という仮説に基づきその特定を行うこと、②特定したグループの体重増加と生まれた子どもの体格との関連を検討する。</p> <p>方法 エコチル調査に登録した 104,065 人から、妊娠中の体重増加を抑制する理由の回答がない (n=5,061)、除外基準に該当 (n=6,465) を除く、92,539 組の妊婦とその子どもを対象とした。自己記述式の質問紙から得られた、体重増加を抑制する理由について、latent class analysis (潜在クラス分析) を用いて、グループの特定を行った。加えて多項ロジスティック解析を用い、グループ間での体重増加及び SGA (在胎期間相当の体格よりもかなり小さく生まれること) のリスクを推定した。</p> <p>結果 latent class analysis で分類されたグループの妊婦の特徴として、標準となるグループ 1 と比較して、グループ 2 は若く、妊娠前に低体重、未婚、初産、妊娠前に減量した経験があり、慢性疾患がない傾向を示し、グループ 3 は低学歴、未婚、経産、喫煙者、妊娠前のやせと帝王切開の経験が多いという傾向を示した。交絡因子による調整前後のモデルで一貫した結果としては、グループ 1 と比較して、グループ 2 では妊娠中の体重増加不足のリスクが有意に低く、グループ 3 では、妊娠中の過剰な体重増加および生まれた子どもの SGA のリスクが有意に高かった。</p> <p>考察 妊婦において体型や健康に対する意識が低いグループと、それらのグループの特徴、妊娠中の体重増加、生まれた子どもの体格に関連する要因を明らかにした初めての研究である。 質問票が自己記述式あり、質問への回答を得た妊婦のみを対象としており、妊娠前の質問については過小評価、過大評価が生じた可能性などの研究の限界はある。</p>		

結論

目的のうち①は妊娠中の体重増加を抑制する理由に基づきグループを同定することができた。②は、体型や健康に対する意識が低いという特徴を有するグループ3（低学歴、未婚、経産、喫煙者、妊娠前のやせなど）に分類される妊婦が、妊娠中の過剰な体重増加及び生まれた子どものSGAの複合的なリスクがある可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

		氏 名	J P NAW AWN
審 査 委 員	主 査 氏 名	奥原 義保	
	副 査 氏 名	安田 誠史	
	副 査 氏 名	古宮 淳一	

題 目 Lack of concern about body image and health during pregnancy linked to excessive gestational weight gain and small-for-gestational-age deliveries: the Japan Environment and Children's Study
(ボディイメージ及び健康への無関心と妊婦の体重増加及び出生児のSGA (small-for-gestational-age) との関連：子どもの健康と環境に関する全国調査 (エコチル調査))

著 者 Naw Awn J-P, Marina Minami, Masamitsu Eitoku, Nagamasa Maeda, Mikiya Fujieda, Narufumi Suganuma, the Japan Environment and Children's Study (JECS) Group

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
BMC Pregnancy and Childbirth, 21, 396.
2021年 5月

要 旨

公開の論文審査は2021年12月16日18時より行われた。以下研究の要旨と審査結果を記す。

【背景・目的】

申請者は、妊婦が妊娠中の体重増加を抑制する理由を理解することで、社会的および医学的にリスクの高い妊婦に健康指導をすることが可能になると考え、①「体重増加を抑制する理由が共通するグループが存在する」という仮説に基づきその特定を行うこと、②特定したグループの体重増加と生れた子供の体格との関連を検討する、という2つの目的に対して本研究を実施した。

【方法】

環境省が2011年より実施している、大規模な疫学調査「子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」に登録した104,065人から、妊娠中の体重増加を抑制する理由の回答が無い(n=5,061)、除外基準に該当(n=6,465)を除く、92,539組の妊婦とその子

供を対象とした。自己記述式の質問紙から得られた、体重増加を抑制する理由について、カテゴリー変数など質的データを含むデータを統計的にグループ分けする手法であるlatent class analysis（潜在クラス分析）を用いて、グループの特定を行った。加えて3カテゴリー以上に分類される目的変数を扱う多項ロジスティック解析を用い、グループ間での体重増加及びSmall for Gestational Age（以下、SGA）（在胎期間中の体格よりもかなり小さく生まれること）のリスクを推定した。

【結果】

妊婦の集団はlatent class analysisで3つのグループに分類された。それらのグループの特徴として、標準となるグループ1と比較して、グループ2は若く、妊娠前に低体重、未婚、初産、妊娠前に減量した経験があり、慢性疾患がない傾向を示した。グループ3は低学歴、未婚、経産、喫煙者、妊娠前のやせと帝王切開の経験が多いという傾向を示した。交絡因子による調整前後のモデルで一貫した結果としては、グループ1と比較して、グループ2では妊娠中の体重増加不足のリスクが有意に低く、グループ3では、妊娠中の過剰な体重増加および生まれた子供のSGAのリスクが有意に高かった。

【考察と結論】

妊婦において体型や健康に対する意識が低いグループと、それらのグループの特徴、そして妊娠中の体重増加および生まれた子供の体格との関連を明らかにした初めての研究である。

質問票が自己記述式であり、質問への回答を得た妊婦のみを対象としており、妊娠前の質問については過小評価、過大評価が生じた可能性などの限界はあるが、目的のうち①は妊娠中の体重増加を抑制する理由に基づきグループを同定することができた。②は、体型や健康に対する意識が低いという特徴を有するグループ3（低学歴、未婚、経産、喫煙者、妊娠前のやせなど）に分類される妊婦において、妊娠中の過剰な体重増加及び生まれた子供のSGAの複合的なリスクがある可能性が示唆された。

【審査結果】

本研究は、妊婦が妊娠中の体重増加を抑制する理由に基づいてグループ分けをすることにより、従来のように、個々のリスク因子と妊娠中の不適切な体重増加や胎児の異常なサイズを直接関係づける方法ではわからなかった関係を示したユニークな研究である。この研究によって、教育の程度や婚姻状態、過去の出産の経験などの客観的な情報に基づいて体型や健康に対する意識が低いという特徴を有するグループを特定することが可能になった。また、そうしたグループに対し、妊婦健診等でより注意深いフォローをするとともに、生活習慣に基づくリスク因子を回避する適切なアドバイスや教育をすることにより、妊婦の不適切な体重増加や新生児のSGAのリスクを減らせる可能性も示唆した。

このように、妊婦と胎児に対する健康上のリスクを回避することに貢献する可能性を示した価値ある論文である。

発表の後行われた公開の質疑応答では、latent class analysisに用いたindicator variableを絞り込むのに用いた方法について、グループの特定に主成分分析または因子分析を使わず

latent class analysis を用いた理由、共変量に職業や雇用状況を含めなかった理由、妊娠中の体重増加の値についての我が国での他の報告との比較、SGA のリスクが高いグループに対して医療者は何を教育すべきと考えるか、この研究の結果から示唆されることは何か、特に申請者の母国においてはどうか、など多くの質問が出されたが、申請者はいずれに対してもおおむね的確に回答した。

以上の内容をふまえ、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)	西川 浩文 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第121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4年2月9日
学位論文題目	Knockout of the interleukin-36 receptor protects against renal ischemia-reperfusion injury by reduction of proinflammatory cytokines (IL-36受容体欠損マウスでは虚血再灌流による急性腎障害の予後が改善する)
発表誌名	Kidney International 93(3):599-614 2018年 3月

審査委員	主査	教授	齊藤	源頭
	副査	教授	藤枝	幹也
	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	西川 浩文
論 文 題 目	Knockout of the interleukin-36 receptor protects against renal ischemia-reperfusion injury by reduction of proinflammatory cytokines (IL-36 受容体欠損マウスでは虚血再灌流による急性腎障害の予後が改善する)	
<p>(論文要旨)</p> <p>本研究の概要は、免疫細胞と尿細管細胞のクロストーク並びに、IL-36 系が AKI の病態へどう関与するのかを、遺伝子改変マウスと臨床検体の両方を用いて明らかにすることである。</p> <p>IL-36 は IL-1 ファミリーに属するサイトカインで、IL-36α、β、γ の 3 つのリガンドがあるが、共通して IL-36 受容体 (R) に結合する。これまで、関節リウマチや乾癬といった慢性炎症性疾患での関与が指摘されていた。急性腎障害 (AKI) の病態に関する IL-36 系の報告はなく、IL-36R 欠損マウス (IL-36R-KO) を用いて検討を加えた。また、AKI ヒト検体を用いた解析では、造影剤腎症患者尿での IL-36α の測定、AKI 症例の腎生検検体の IL-36α 染色を行った。</p> <p>まず基礎研究として、IL-36R-KO マウスと野生型マウス (WT) に両側腎動脈を 28 分間虚血再灌流し、24、48 時間後の腎機能測定、腎組織障害スコア、TUNEL 染色、サイトカインの検討などを行った。WT の AKI の腎において、IL-36R の局在について検討したところ、近位尿細管で発現していることが分かった。また、IL-36α、β、γ の発現は、虚血再灌流後 48 時間で亢進した。IL-36R-KO マウスでは、虚血/再灌流の AKI の予後は良く、組織での検討でも腎組織障害、TUNEL 陽性細胞数は IL-36R-KO マウスで有意に減少していた。下流のサイトカインについても検討を行ったところ、IL-36R-KO マウス腎組織では、IL-6、TNF-α の発現が低下し、血清 IL-6 も低値であった。さらに、培養尿細管細胞で IL-36α を添加すると、NF-κB と Erk が活性化されることが分かった。</p> <p>次に、臨床研究として AKI ヒト検体を用いて解析を行った。造影剤腎症の患者尿で IL-36α を測定したところ、造影剤使用後 6 時間で有意に上昇していた。また、AKI 症例の腎生検検体で IL-36α 染色陽性細胞が増加していた。</p> <p>以上より、IL-36R-KO マウスでは、虚血再灌流による AKI の予後は改善することが分かった。ヒト AKI においても、IL-36 は病態に関与する可能性が考えられ、AKI に対する新規治療法につながることを期待される。</p> <p>本研究は、遺伝子改変技術や細胞マーカーなどの技術を使用しつつ、実臨床での検体を豊富に蓄積してきた実績を生かして、基礎・臨床両面から AKI の病態解明を目指したものである。さらに IL-36 系は、AKI だけでなく、乾癬やクローン病などの Th17 系が関与する病態に広く関わっている可能性があり、臓器をこえた普遍性のある内容でその解明は重要である。</p> <p>さらに、臨床例での腎生検検体や AKI 患者尿を用いた検討では、IL-36 が AKI の病態に関与していることが示唆され、尿中の早期診断マーカーになりうることを見いだした。今後は、この成果を発展させ、IL-36 受容体抑制系の蛋白や抗体による新規治療法ならびに、AKI の早期バイオマーカーとしての新規診断法を開発することにより、より多くの実臨床で AKI 症例において腎予後の改善につなげたい。また、AKI から CKD 移行のメカニズムにも IL-36 が関与している可能性が考えられており、その病態解明に加え、透析導入患者数の減少を目指したい。</p>		

論文審査の結果の要旨

	氏名	西川 浩文
審査委員	主査氏名	齊藤 源頭 
	副査氏名	藤枝 幹也 
	副査氏名	井上 啓史 

題 目 Knockout of the interleukin-36 receptor protects against renal ischemia-reperfusion injury by reduction of proinflammatory cytokines (IL-36 受容体欠損マウスでは虚血再灌流による急性腎障害の予後が改善する)

著 者 Hirofumi Nishikawa, Yoshinori Taniguchi, Tatsuki Matsumoto, Naoki Arima, Mamoru Masaki, Yoshiko Shimamura, Kosuke Inoue, Taro Horino, Shimpei Fujimoto, Kentaro Ohko, Toshihiro Komatsu, Keiko Udaka, Shigetoshi Sano, Terada Yoshio.

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Kidney International 93(3):599-614 2018年3月

要 旨

【背景・目的】

IL-36 は IL-1 ファミリーに属するサイトカインで、IL-36 α 、 β 、 γ の 3 つのリガンドがあるが、共通して IL-36 受容体(R) に結合する。これまで、関節リウマチや乾癬といった慢性炎症性疾患での関与が指摘されていたが、急性腎障害(AKI)の病態に関する IL-36 系の報告はない。本研究の目的は免疫細胞と尿細管細胞のクロストーク並びに、IL-36 系が AKI の病態へどう関与するのかを、遺伝子改変マウスと臨床検体の両方を用いて明らかにすることである。

【方法】

基礎研究として、IL-36R-KO マウスと野生型マウス (WT) に両側腎動脈を 28 分間虚血再灌流し、24、48 時間後の腎機能測定、腎組織障害スコア、TUNEL 染色、サイトカインの検討を行った。さらに、培養尿細管細胞で IL-36 α 刺激と、NF- κ B と Erk の関連を調べた。次に、臨床研究として AKI ヒト尿中の IL-36 α 値とその変動を検討した。また、AKI 症例の腎生検検体で IL-36 α 染色陽性細胞の解析を行った。

【結果・考察】

WT の AKI の腎において、IL-36R の局在は、近位尿細管で発現していることが分かった。また、IL-36 α 、 β 、 γ の発現は、虚血再灌流後 48 時間で亢進した。IL-36R-KO マウスでは、虚血/再灌流の AKI の予後は良く、組織での検討でも腎組織障害、TUNEL 陽性細胞数は IL-36R-KO

マウスで有意に減少していた。下流のサイトカインについても検討を行ったところ、IL-36R-KO マウス腎組織では、IL-6、TNF- α の発現が低下し、血清 IL-6 も低値であった。さらに、培養尿細管細胞で IL-36 α を添加すると、NF- κ B と Erk が活性化されることが分かった。造影剤腎症の患者尿で IL-36 α を測定したところ、造影剤使用後 6 時間で有意に上昇していた。また、AKI 症例の腎生検検体で IL-36 α 染色陽性細胞が増加していた。

以上より、IL-36R-KO マウスでは、虚血再灌流による AKI の予後は改善することが分かった。ヒト AKI においても、IL-36 は病態に関与する可能性が考えられ、AKI に対する新規治療法につながることを期待される。

【結論】

本研究では、遺伝子改変技術や細胞マーカーなどの技術を使用しつつ、実臨床での検体を豊富に蓄積してきた実績を生かして、基礎・臨床両面から AKI の病態解明を目指した。臨床例での腎生検検体や AKI 患者尿を用いた検討では、IL-36 が AKI の病態に関与していることが示唆され、尿中の早期診断マーカーになりうることを見いだした。

以上のように、本論文は IL-36 が AKI の病態に関与していることを示唆し、IL-36 をターゲットとした新規治療法となりうる可能性を示し、AKI に対する新薬の開発が期待される。以上を総合的に判断し、審査員一同は申請者の学力および研究遂行能力が高知大学博士（医学）の学位を授与されるに相応するものと判断した。

氏名(本籍)	奥田 教宏 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第122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4年3月4日
学位論文題目	Separation from a bonded partner alters neural response to inflammatory pain in monogamous rodents (パートナーとの別離は一夫一婦制げっ歯類において炎症性疼痛に対する神経反応を変化させる)
発表誌名	Behavioural Brain Research, Volume 418. ページ未定 10 February 2022

審査委員	主査	教授	山口	正洋
	副査	教授	河野	崇
	副査	教授	數井	裕光

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名	奥田 教宏
論文題目	Separation from a bonded partner alters neural response to inflammatory pain in monogamous rodents (パートナーとの別離は一夫一婦制げっ歯類において炎症性疼痛に対する神経反応を変化させる)
<p>(論文要旨)</p> <p>背景・目的 痛みは個人的な経験であり、生物学的、心理的、社会的要因により影響を受ける（日本疼痛学会、痛みの定義 2020）。例えば職場での満足度が低いと腰痛の発症率が高くなることやうつスコアが高い妊婦ほど帝王切開後の術後痛が持続するといった臨床報告がなされており、心理社会的ストレス誘発性痛覚過敏（Social stress-induced hyperalgesia: SSIH）により痛みが増悪することが示唆されているが、その脳内メカニズムはよく分かっていない。本研究では、SSIHの脳内メカニズムを解明するために、我々が確立したプレーリーハタネズミによる SSIH 動物モデルを用いて、痛み刺激に対する疼痛関連脳領域の反応性について Fos 蛋白の発現を指標に解析を行った。</p> <p>方法 120-160 日齢のプレーリーハタネズミの雄を雌と同居させ、1週間後にパートナー嗜好試験により絆形成の有無を判定した。絆の形成が確認された雄を用いて、パートナーと同居を継続する群（paired）と別離する群（loss）を無作為に作成した。さらにその6日後に、各群において、雄の右後肢にホルマリンを皮下注射して炎症性疼痛を惹起させる群（pain）と対照群としてホルマリン注射をしない群（basal）の計4グループを作成した（paired-basal ; n=6, loss-basal ; n=7, paired-pain ; n=7, loss-pain ; n=6）。全ての群において、ホルマリン注射もしくは注射の模擬行為の2時間後に、麻酔薬の投与により痛覚反射が完全に消失したことを確認後に灌流固定を行い、脳を摘出した。 脳の凍結切片を作製し、ニューロンにおける Fos 蛋白の発現を免疫蛍光抗体法により検出した。Fos 陽性ニューロン数の解析エリアは、疼痛関連脳領域である前頭前野（mPFC）、帯状回（Cg）、島（Ins）、側坐核 Core（NAcC）・Shell（NAcSh）、扁桃体中心核（CeA）、扁桃体外側基底核（BLA）、扁桃体内側核（MeA）、一次体性感覚野（S1HL）、二次体性感覚野（S2）、中脳腹側被蓋野（VTA）とした。また、VTAにおいては、チロシン水酸化酵素（TH）と Fos の各抗体による蛍光二重染色を実施した。 統計解析は、痛み要因（basal/pain）とパートナー要因（paired/loss）について二元配置分散分析を行い、2要因間に交互作用が検出された場合は post-hoc Tukey-Kramer HSD 検定により多重比較を行った。</p> <p>結果 Cg, Ins, CeA, BLA, MeA, S1HL, S2 では、Fos 発現に対する痛み要因とパートナー要因の交互作用は見られず痛みの主効果が検出された。 mPFC と NAcSh では、痛み要因とパートナー要因間の有意な交互作用が検出され、paired-pain が paired-basal よりも有意に多く Fos が発現したのに対し、loss-basal と loss-pain 間では有意差は検出されなかった。さらに、NAcSh では、paired-pain と loss-pain 間においても Fos 発現に有意差</p>	

が検出された。

VTA においては TH 陽性ニューロンを多く確認できたが、すべての群において Fos 蛋白を発現している TH 陽性ニューロンは観察されなかった。

考 察

本研究で、プレーリーハタネズミ SSIH モデルにおいて、パートナーの有無により炎症性疼痛時の疼痛関連脳領域の Fos 発現が異なること、特に中脳ドーパミン回路の主要な構成領域である mPFC と NAcSh において、パートナー維持群に比べてロス群では痛み刺激時に Fos 発現に変化が認められないことが明らかとなった。

プレーリーハタネズミ SSIH モデルにおいて、不安行動と疼痛関連行動が増悪すること、中脳ドーパミン回路が鎮痛に関与することを示す報告が集積されてきていることから、心理社会的ストレスによる中脳ドーパミン回路の機能変調が痛みの増悪を引き起こす可能性が示唆された。

今後、mPFC と NAcSh におけるドーパミン受容体アゴニスト/アンタゴニストの脳内投与による疼痛関連行動の変化などを通して、ドーパミンニューロンの関与について評価していく必要がある。

論文審査の結果の要旨

		氏 名	奥田 教宏
審 査 委 員	主 査 氏 名	山口 正洋	
	副 査 氏 名	河野 崇	
	副 査 氏 名	數井 裕光	

題 目 Separation from a bonded partner alters neural response to inflammatory pain in monogamous rodents
(パートナーとの別離は一夫一婦制げっ歯類において炎症性疼痛に対する神経反応を変化させる)

著 者 Takahiro Okuda, Yoji Osako, Chiharu Hidaka, Makoto Nishihara, Larry J. Young, Shinichi Mitsui, Kazunari Yuri

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Behavioural Brain Research, Volume 418. ページ未定
10 February 2022 (2022年2月10日 予定)

要 旨

【背景・目的】

痛みは個人的な経験であり、生物学的・心理的・社会的要因により影響を受ける。例えば、職場での満足度が低いと腰痛の発症率が高くなることやうつスコアが高い妊婦ほど帝王切開後の術後痛が持続するといった臨床報告がなされており、心理社会的ストレス誘発性痛覚過敏 (Social stress-induced hyperalgesia: SSIH) により痛みが増悪することが示唆されているが、その脳内メカニズムはよく分かっていない。本研究では、SSIHの脳内メカニズムを解明するために、申請者らが確立したプレーリーハタネズミによるSSIHモデルを用いて、痛み刺激に対する疼痛関連脳領域の反応性について組織学的解析を行った。プレーリーハタネズミは一夫一婦性の社会行動 (絆形成) を示すため、この行動成立後の別離を心理社会的ストレス誘発刺激として利用できる。申請者らは先行研究により、この別離が痛み感受の閾値を低下させることを既に明らかにしている。

【方法】

120-160日齢のプレーリーハタネズミの雄を雌と同居させ、1週間後にパートナー嗜好試験により絆形成の有無を判定した。絆の形成が確認された雄を用いて、パートナーと同居を継続する群 (paired) と別離する群 (loss) を無作為に作成した。さらにその6日後に、各群において、雄の右後肢にホルマリンを皮下注射して炎症性疼痛を惹起させる群 (pain) とホルマリン注射をしない対照群 (basal) の計4グループを作成した (paired-basal群; n=6, loss-basal群; n=7, paired-pain

群；n=7, loss-pain 群；n=6)。全ての群において、ホルマリン注射もしくは注射の模擬行為の2時間後に、麻酔薬の投与による深麻酔下に灌流固定を行い脳を摘出した。

脳の凍結切片を作製し、ニューロンの活性化マーカーである Fos 蛋白の発現を免疫蛍光抗体法により検出した。Fos 陽性ニューロン数の解析領域は、疼痛関連脳領域である前頭前野、帯状回、島、側坐核 Core・Shell、扁桃体中心核・外側基底核・内側核、一次・二次体性感覚野、中脳腹側被蓋野とした。中脳腹側被蓋野においては、Fos 蛋白と、ドーパミン産生ニューロンの指標であるチロシン水酸化酵素 (TH) の各抗体による蛍光二重染色を行った。

統計解析は、痛み要因(basal/pain)とパートナー要因(paired/loss)について二元配置分散分析を行い、2要因間に交互作用が検出された場合はpost-hoc Tukey-Kramer HSD検定により多重比較を行った。

【結果・考察】

帯状回、島、扁桃体中心核・外側基底核・内側核、一次・二次体性感覚野では、Fos 発現に対する痛み要因とパートナー要因の交互作用は見られず痛みの主効果が検出された。

前頭前野と側坐核 Shell では、痛み要因とパートナー要因間の有意な交互作用が検出され、paired-basal 群よりも paired-pain 群が有意に多く Fos が発現したのに対し、loss-basal 群と loss-pain 群間では有意差は検出されなかった。さらに側坐核 Shell では、paired-pain 群よりも loss-pain 群で Fos 発現が有意に少なかった。

中脳腹側被蓋野においては TH 陽性ニューロンを多く確認できたが、すべての群において Fos 蛋白を発現している TH 陽性ニューロンは観察されなかった。

以上、プレーリーハタネズミ SSIH モデルにおいて、パートナーの別離により疼痛関連脳領域の前頭前野と側坐核 Shell の活性化低下が観察された。これらの領域は中脳ドーパミン回路の主要な構成領域であることから、パートナーの別離が痛みの抑制系の働きを低下させることで、痛みの閾値低下を引き起こしている可能性が考えられた。今回の中脳腹側被蓋野の観察からは明確な結論は得られなかったが、今後、前頭前野と側坐核 Shell におけるドーパミン受容体アゴニスト/アンタゴニストの脳内投与による疼痛関連行動の変化などを通して、ドーパミンニューロンの関与について評価していく必要があると考えられた。

【結論】

プレーリーハタネズミ SSIH モデルにおいて、パートナーとの別離によって中脳ドーパミン回路の主要な構成領域である前頭前野と側坐核 Shell の活性化低下が認められ、心理社会的ストレスによる中脳ドーパミン回路の機能変調が痛みの増悪を引き起こす可能性が示唆された。この知見は、心理社会的ストレスにより痛みが増悪する脳内メカニズムの理解を深め、今後痛みを軽減する治療法の開発に発展し得る、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)	青柳 智和 (茨城県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第123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4年3月4日
学位論文題目	Association between acute coronary syndrome onset risk and climate change (急性冠症候群の発症リスクと気候変動との関連)
発表誌名	Archives of Environmental & Occupational Health ㊦ press

審査委員	主査	教授	菅沼	成文
	副査	教授	渡橋	和政
	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	青柳 智和
論文題目	Association between acute coronary syndrome onset risk and climate change (急性冠症候群の発症リスクと気候変動との関連)	
<p>背景・目的</p> <p>急性冠症候群（以下ACS）は、主に冠動脈プラークの破裂によって引き起こされ、その原因はアテロームの特徴ほか気象条件も危険因子と報告されている。近年の温暖化など気象変動には様々な要因が関与しており、一つの地域で長期間にわたり気象変動とACSの発症との関連を調べた報告は多くない。そこでACSの発症と気象条件との関連性を明らかにすることを本研究の目的とした。</p> <p>方法</p> <p>水戸済生会総合病院において、1994年から2018年までの25年間にACSと診断された患者のうち、発症時間が記録された2,381例の診療録情報を研究対象とした。診断基準は、症状（胸や背中痛み）、心電図の異常（Q波の異常、R波の減高、ST異常）、心筋逸脱酵素（CK、トロポニンT）の異常の3つのうち2つが認められた場合、ACSと診断し、臨床的にACSが否定できない症例は、冠動脈造影により診断した。解析に必要な気象情報は気象庁のホームページから入手し、気象パラメータとACS発生率との関連を、一般化付加モデル（GAM）を用いて分析、「ACSの発生」を従属変数、「気象データ」を独立変数とし、リンク関数としてlog-quasi-Poisson分布を採用した。本研究は、当院の倫理委員会の承認（承認番号：2018082201、承認日：2018年8月22日）を得て、ヘルシンキ宣言を遵守して実施した。なお、オプトアウトフォームは、研究期間中に病院のホームページに掲載した。</p> <p>結果</p> <p>季節別のACSの発症は、春（3月～5月）642例（27.0%）、夏（6月～8月）575例（24.1%）、秋（9月～11月）593例（25.0%）、冬（12月～2月）571例（24.0%）で、月別の発症は、3月が228件と最も多く、7月が224件と2番目であり、6月は158件と最も少なかった。</p> <p>全調査期間におけるACS発症と気象条件との関連性は、前日の最低気温が1℃上昇するごとにACSの発症は0.960倍（95%信頼区間=0.928～0.994、p=0.020）に減少し、前日の平均局地気圧が1hPa上昇するごとにACSの発症リスクが0.987倍（95%信頼区間=0.975～0.999、p値=0.030）に減少していた。</p> <p>一方、夏季においては、単変量モデルによると、前日の平均局地気圧が1hPa上昇するごとに0.967倍（95%信頼区間=0.939-0.995、p値=0.020）に減少した。しかし、多変量解析モデルでは有意な差は確認できなかった。</p> <p>冬季の平均局地気圧においては、発症日の平均局地気圧の1hPa上昇ごとに1.025倍（95%信頼区間=1.002-1.048、p値=0.030）と増加、前日の平均局地気圧の1hPa上昇につき0.963倍（95%信頼区間=0.939-0.</p>		

987、 p 値=0.003)と減少していた。冬季の気温差に関しては、前日の最高気温が 1°C 上昇するごとに0.944倍(95%信頼区間=0.885~1.077、 p =0.079)と減少していたが、今回の有意水準は満たさなかった。

考察

今回の研究では、従来冬期に多いとされたACSの発症に関して、季節は影響していなかった。また夏季の気温上昇とACS発症との関連は本研究では明らかにできなかった。しかし、全季節を通じて発症日前日の最低気温が 1°C 上昇するごとに発症率が0.960倍、前日の平均局地気圧が1hPa上昇するごとに0.987倍減少。季節別に見ると、冬季は発症前日の平均局地気圧の1hPa上昇あたり0.963倍の減少が確認された。また、発症日の平均局地気圧が1hPa上昇するごとに1.025倍になった。この様に、ACS発症は動脈硬化による内在性因子に加えて、気象変動が影響を与えている可能性はある。今回は明らかに出来なかったが、地球温暖化がACSの発症に与える影響については、長期的な検証が少なくほとんどわかっていない。今後、より長期的かつ多面的な検証が必要と考えられる。

論文審査の結果の要旨

		氏名	青柳 智和
審査委員	主査氏名	菅沼 成文	
	副査氏名	渡橋 和政	
	副査氏名	瀬尾 宏美	

題目 Association between acute coronary syndrome onset risk and climate change
(急性冠症候群の発症リスクと気候変動との関連)

著者 Tomokazu Aoyagi¹* (青柳智和), Yoshiro Chiba² (千葉義郎),
Hiroaki Kitaoka³ (北岡裕章)

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年月
Archives of Environmental & Occupational Health
In press

要旨

【背景・目的】

急性冠症候群(以下 ACS)は、主に冠動脈プラークの破裂によって引き起こされ、その原因はアテロームの特徴ほか気象条件も危険因子と報告されている。近年の温暖化など気象変動には様々な要因が関与しており、一つの地域で長期間にわたり気象変動と ACS の発症との関連を調べた報告は多くない。そこで ACS の発症と気象条件との関連性を明らかにすることを本研究の目的とした。

【方法】

水戸済生会総合病院において、1994年から2018年までの25年間にACSと診断された患者のうち、発症時間が記録された2,381例の診療録情報を研究対象とした。診断基準は、症状(胸や背中の痛み)、心電図の異常(Q波の異常、R波の減高、ST異常)、心筋逸脱酵素(CK、トロポニンT)の異常の3つのうち2つが認められた場合、ACSと診断し、臨床的にACSが否定できない症例は、冠動脈造影により診断した。

解析に必要な気象情報は気象庁のホームページから入手し、気象パラメータとACS発生率との関連を、一般化付加モデル(GAM)を用いて分析、「ACSの発生」を従属変数、「気象データ」を独立変数とし、リンク関数としてlog-quasi-Poisson分布を採用した。本研究は、当院の倫理委員会の承認(承認番号:2018082201、承認日:2018年8月22日)を得て、ヘルシンキ宣言を遵守して実施した。なお、オプトアウトフォームは、研究期間中に病院のホームページに掲載した。

【結果】

季節別の ACS の発症は、春（3月～5月）642 例（27.0%）、夏（6月～8月）575 例（24.1%）、秋（9月～11月）593 例（25.0%）、冬（12月～2月）571 例（24.0%）で、月別の発症は、3月が 228 件と最も多く、7月が 224 件と 2 番目であり、6月は 158 件と最も少なかった。

全調査期間における ACS 発症と気象条件との関連性は、前日の最低気温が 1°C 上昇するごとに ACS の発症は 0.960 倍（95%信頼区間=0.928～0.994、 $p=0.020$ ）に減少し、前日の平均局地気圧が 1hPa 上昇するごとに ACS の発症リスクが 0.987 倍（95%信頼区間=0.975～0.999、 p 値=0.030）に減少していた。

一方、夏季においては、単変量モデルによると、前日の平均局地気圧が 1hPa 上昇するごとに 0.967 倍（95%信頼区間=0.939-0.995、 p 値=0.020）に減少した。しかし、多変量解析モデルでは有意な差は確認できなかった。

冬季の平均局地気圧においては、発症日の平均局地気圧の 1hPa 上昇ごとに 1.025 倍（95%信頼区間=1.002-1.048、 p 値=0.030）と増加、前日の平均局地気圧の 1hPa 上昇につき 0.963 倍（95%信頼区間=0.939-0.987、 p 値=0.003）と減少していた。冬季の気温差に関しては、前日の最高気温が 1°C 上昇するごとに 0.944 倍（95%信頼区間=0.885～1.077、 $p=0.079$ ）と減少していたが、今回の有意水準は満たさなかった。

【考察】

今回の研究では、従来冬期に多いとされた ACS の発症に関して、季節は影響していなかった。また夏季の気温上昇と ACS 発症との関連は本研究では明らかにできなかった。しかし、全季節を通じて発症日前日の最低気温が 1°C 上昇するごとに発症率が 0.960 倍、前日の平均局地気圧が 1hPa 上昇するごとに 0.987 倍減少。季節別に見ると、冬季は発症日前日の平均局地気圧の 1hPa 上昇あたり 0.963 倍の減少が確認された。また、発症日の平均局地気圧が 1hPa 上昇するごとに 1.025 倍になった。この様に、ACS 発症は動脈硬化による内在性因子に加えて、気象変動が影響を与えている可能性はある。今回は明らかに出来なかったが、地球温暖化が ACS の発症に与える影響については、長期的な検証が少なくほとんどわかっていない。今後、より長期的かつ多面的な検証が必要と考えられる。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。対象とした医療圏における ACS の頻度、救急救命後に判明する ACS の頻度、年代による治療法の違いなどについての議論がなされた。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)	葛西 雄介 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第124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4年3月4日
学位論文題目	Increased Calcitonin Gene-Related Peptide Expression in DRG and Nerve Fibers Proliferation Caused by Nonunion Fracture in Rats (ラット骨折後偽関節は、偽関節部で神経線維を伸長させ、後根神経節でのカルシトニン遺伝子関連ペプチドを増加させる)
発表誌名	Journal of Pain Research、14巻、3565～3571 2021年11月15日

審査委員

主査	教授	降幡	睦夫
副査	教授	山本	哲也
副査	教授	河野	崇

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	葛西 雄介
論文題目	<p>Increased Calcitonin Gene-Related Peptide Expression in DRG and Nerve Fibers Proliferation Caused by Nonunion Fracture in Rats</p> <p>(ラット骨折後偽関節は、偽関節部で神経線維を伸長させ、後根神経節でのカルシトニン遺伝子関連ペプチドを増加させる)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>目的 骨折の治療過程の中で、10～15%程度が骨癒合に至らずに偽関節になる。特に超高齢者の骨折は治療に非常に難渋し、しばしば骨癒合を得られず偽関節になる。一旦、偽関節になると骨片間が不安定になるだけでなく、痛みが遷延することもあるが、偽関節には有痛性と無痛性があり、その違いははっきりしない。有痛性偽関節の疼痛発生機序を解明できれば、たとえ骨折が偽関節になったとしても無症状化する治療法の開発に発展する可能性がある。本研究の目的は、骨折の偽関節が痛みを与える影響、とくに脊髄後根神経節 (DRG : dorsal root ganglia) における神経ペプチドの変化と骨折部での神経線維との関わりを明らかにすることである。</p> <p>方法 12 週齢雄ラットの左大腿骨骨幹部で骨折を起こし、Kirschner wire を髄腔内に挿入することで骨折モデルを作製した。この際に骨片間に介在物を置かず、通常の骨癒合に至るものを union モデルとし、骨片間にラテックス製の手袋片を介在させることで偽関節状態としたものを nonunion モデルとした。術後 6 週目に、X 線学的骨癒合評価、第 3 腰椎 DRG の疼痛関連神経ペプチド calcitonin gene-related peptide (CGRP) 陽性細胞数および骨片間癒痕組織中の軸索のマーカー growth associated protein 43 (GAP43) 陽性神経線維密度を計測した。また骨片間癒痕組織の hematoxylin-eosin 染色による組織学的評価と歩行解析としてトレッドミルを用いた強制走行で走行時間を比較検討した。</p> <p>結果 術後 6 週の X 線評価では、union モデルは骨片間に仮骨による架橋が形成されていた。一方 nonunion モデルでは、仮骨増生は認めたがその間には明瞭なギャップを認め、偽関節の状態であった。免疫染色の結果、DRG の CGRP 陽性細胞の割合は union モデルで 35.6 (32.7-36.9) %、nonunion モデルで 55.4 (53.8-57.6) % と nonunion モデルで有意に高く (P 値=0.01)、骨片間癒痕組織中の</p>	

GAP43 抗体陽性神経線維の密度も union モデルでは 10.3 (5.3-15.3) $\mu\text{m}/\text{mm}^2$ に対し、nonunion モデルでは 36.7 (20.2-64.6) $\mu\text{m}/\text{mm}^2$ と nonunion モデルで有意に高かった (P 値=0.02)。骨片間癒痕組織の組織学的評価では、union モデルでは正常の骨折治癒過程で見られる骨梁と軟骨細胞を認めたが、nonunion モデルでは線維芽細胞の増生と多数の炎症細胞浸潤を認めた。歩行解析では、術後6週の union モデルは 300 秒のうち 77.6 \pm 31.1 秒走行したのに対し、nonunion モデルでは 10.8 \pm 10.1 秒と有意に短かった。(P 値=0.02)

考察

本研究では、ラットの骨折後偽関節における神経伸長と痛みの関連を評価した。その結果、偽関節では DRG における CGRP 陽性細胞の割合が高く、骨片間癒痕組織中の神経伸長が引き起こされていた。

骨折治癒過程の初期段階では、骨折端部の阻血によるアシドーシスの結果壊死をきたし、壊死組織から放出される炎症メディエーターが骨折部に形成された血腫内に好中球やマクロファージ、線維芽細胞を遊走させる。この時に炎症メディエーターは一次感覚神経ニューロンを刺激して神経線維の伸長も促す。修復期にはこれらの反応は減少して骨組織に置換されるが、偽関節では骨片間癒痕組織の炎症が遷延することで、神経伸長が助長され、さらに DRG においても CGRP 発現の増加を認め、痛みも遷延すると考えられた。

この結果より、骨折後偽関節においては炎症の遷延による局所での新生神経線維増加および DRG での CGRP 発現増加がその痛みに関与することが明らかになった。さらに早期に骨癒合を得ることで痛みの遷延化を抑制できる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	葛西 雄介
審 査 委 員	主 査 氏 名	降幡 睦夫 
	副 査 氏 名	山本 哲也 
	副 査 氏 名	河野 崇 

題 目 Increased Calcitonin Gene-Related Peptide Expression in DRG and Nerve Fibers Proliferation Caused by Nonunion Fracture in Rats
(ラット骨折後偽関節は、偽関節部で神経線維を伸長させ、後根神経節でのカルシニン遺伝子関連ペプチドを増加させる)

著 者 Yusuke Kasai, Koji Aso, Masashi Izumi, Hiroyuki Wada, Junpei Dan, Yoshinori Satake, Toru Morimoto, Masahiko Ikeuchi

発表誌名、巻(号)、ページ(～)、年 月
Journal of Pain Research、14巻、3565～3571 2021年11月15日

要 旨

【背景・目的】

骨折治療の過程において10～15%程度が骨癒合に至らず偽関節となるが、特に超高齢者では偽関節に陥り易く、その治療には難渋させられる。偽関節では骨片間の不安定状況に加え、患者に負担を強いる遷延疼痛を合併するケースも見られるが、そのメカニズムに関しては不明な点が多い。本研究では偽関節が痛みに与える影響、とくに脊髄後根神経節(DRG: dorsal root ganglia)における疼痛関連神経ペプチドの発現変化と骨折部での神経線維介在を明らかにすることで、有痛性偽関節における疼痛発生機序を検討し、偽関節患者における疼痛制御を目指した治療法の開発に貢献することを目的とする。

【方法】

12 週齢雄ラット左大腿骨骨幹部で骨折を生じさせた後、Kirschner wire をその髓腔内に挿入して骨折モデルとし、この際に骨片間に介在物を置かず、通常の骨癒合に至る union モデルと、骨片間にラテックス製手袋片を介在させて偽関節状態とした nonunion モデルを作製した。術後 6 週目に、X 線学的骨癒合の評価、第 3 腰椎 DRG の疼痛関連神経ペプチド calcitonin gene-related peptide (CGRP) 陽性細胞数および骨片間癒痕組織中の軸索のマーカー growth associated protein 43 (GAP43) 陽性神経線維密度を計測した。また骨片間癒痕組織の hematoxylin-eosin (HE) 染色による組織学的評価と歩行解析としてトレッドミルを用いた強制走行での走行時間を比較検討した。

【結果・考察】

術後 6 週の X 線評価では、union モデルは骨片間に仮骨架橋が形成され、一方の nonunion モデルでは仮骨架橋は不完全で、明瞭なギャップが認められ、偽関節状態であった。免疫組織化学的検討の結果、DRG の CGRP 陽性細胞割合は union モデルで 35.6 (32.7-36.9) %、nonunion モデルで 55.4 (53.8-57.6) % と nonunion モデルで有意に増加し (P 値=0.01)、骨片間癒痕組織中の GAP43 抗体陽性神経線維の密度も union モデルでは 10.3 (5.3-15.3) $\mu\text{m}/\text{mm}^2$ に対し、nonunion モデルでは 36.7 (20.2-64.6) $\mu\text{m}/\text{mm}^2$ と nonunion モデルで有意に高かった (P 値=0.02)。骨片間癒痕組織の HE 染色による組織学的評価では、union モデルでは正常骨折治癒過程で見られる骨梁と軟骨形成を認めたが、nonunion モデルでは線維芽細胞増生と多数の炎症細胞浸潤を認めるのみであった。歩行解析では、術後 6 週の union モデルは 300 秒のうち 77.6 \pm 31.1 秒走行したのに対し、nonunion モデルでは 10.8 \pm 10.1 秒と有意に低下していた (P 値=0.02)。

【結論】

本研究では、骨折後偽関節を生じたラット nonunion モデルにて、DRG における CGRP 陽性細胞の増加と偽関節骨片間癒痕組織中の神経線維伸長、さらに骨梁と軟骨形成の欠如した線維芽細胞増生を背景とする多数の炎症細胞浸潤像が示された。骨折治癒初期段階では、骨折端部阻血によるアシドーシスの結果壊死をきたし、壊死組織から放出される炎症性メディエーターは骨折部血腫内に好中球、マクロファージ、線維芽細胞等を遊走させ、更に一次感覚神経ニューロンを刺激して神経線維伸長も促すと考えられている。修復期にはこれら炎症反応は減少して骨組織に置換されるが、偽関節では骨片間癒痕組織での炎症が遷延することで、局所での新生神経線維増加や線維伸長が助長され、さらに DRG においても CGRP 発現増加を認め、これらが疼痛遷延に関与するものと考えられた。

以上より、炎症軽減を図るような早期骨癒合促進を得ることのできる治療を行うことで、偽関節での疼痛遷延化を抑制できる可能性が示唆された。

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)	南 まりな (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第125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4年3月4日
学位論文題目	Acute effect of the COVID-19 pandemic on emergency transportation due to acute alcoholic intoxication: a retrospective observational study (COVID-19パンデミック時の急性アルコール中毒による救急搬送の変化)
発表誌名	Environmental Health and Preventive Medicine、26、98-105 2021年9月30日

審査委員

主査	教授	河野	崇
副査	教授	奥原	義保
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	南 まりな
論文題目	Acute effect of the COVID-19 pandemic on emergency transportation due to acute alcoholic intoxication: a retrospective observational study (COVID-19 パンデミック時の急性アルコール中毒による救急搬送の変化)	
<p>(論文要旨)</p> <p>【目的】 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は世界的に広がり、日本を含む多くの国や地域に影響を与えた。COVID-19パンデミック時の救急搬送システムの変化は、多くの国で観察されており、飲酒習慣をはじめとする生活習慣や疾病に対する救急搬送や医療機関受診などの様々なシステムに変化をもたらした。パンデミックの下では、地域によって異なるアルコール問題の二面性が生じた、一つ目はストレスによるアルコール摂取量の増加の可能性や、一方では社会的制約によるアルコール摂取量の減少の可能性がある。</p> <p>COVID-19が救急システムに与える影響について、急性アルコール中毒による救急搬送への影響に関連する研究は現在ほとんどない。そこで本研究ではCOVID-19パンデミックが急性アルコール中毒による救急搬送に及ぼす影響を調べることを目的とした。</p> <p>【方法】 高知県の救急医療・広域災害情報システムである「こうち医療ネット」のデータベースに登録されている180,747救急搬送データを用いて研究を行なった。分析には、カイ二乗検定と多重ロジスティック回帰分析を行った。日本における自主的自粛期間 (2020年3月、4月) の搬送件数と、2016年～2019年の同期間と比較をおこなった。</p> <p>【結果】 2020年の急性アルコール中毒による救急搬送は、例年に比べて0.2%減少した。急性アルコール中毒による救急搬送は、交絡因子を調整しても、2020年3月から4月にかけて、2016～2019年の同時期と比較して有意に減少した (調整オッズ比0.67、95%信頼区間0.47-0.96)。</p> <p>【考察】 本研究の結果、3月と4月の時期は年末年始に次いで、急性アルコール中毒の救急搬送が発生しやすい季節であるにもかかわらず他の年の同時期 (2016年～2019年) と比較して、2020年は急性アルコール中毒による救急搬送件数が減少していた。</p> <p>飲酒について独特の文化があり、未成年についての飲酒も一部では容認されている高知県においては、特に未成年者や若者への飲酒のリスクを理解するように、学校や家庭にて教育を行うなど、地域全体で取り組む必要がある。具体的には、年末年始や春など飲酒量が増える時期には、酒類を提供する事業者と連携して、過度の飲酒や急性アルコール中毒による救急搬送を防止するキャンペーンを実施する必要がある。また、特に若者に対しては、急性アルコール中毒になるような飲み方 (一気飲み) をしないこと、体質的に飲めない場合にはアルコールを断ること、飲酒を強要してはいけないことなどを啓発する必要がある。</p> <p>本研究では研究のデータは高知県のすべての急性アルコール中毒患者を把握しているわけではなく、加えて「こうち医療ネット」の記録のみを使用しているため、他の県には一般化できない可能性があるという限界があるが、救急搬送事例の全数を網羅している「こうち医療ネット」の大規模データセットを使用したことが本研究の強みである。</p> <p>【結論】 本研究では、COVID-19パンデミックによるライフスタイルの変化が、救急搬送件数に影響を与</p>		

えていることが示唆された。中でも急性アルコール中毒による救急搬送件数に大きな影響を与えていた。

本研究の結果を受けて、感染症の流行が一定の終息を見せ、社会的に平常に戻った後も、飲み会での急性アルコール中毒による救急搬送を減らすためには、お酒を飲まない人にアルコールを強要して飲ませない、「一気飲み」をしないなど節度のある飲み方文化を養うことが必要だと考える。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	南 まりな
審 査 委 員	主 査 氏 名	河野 崇 
	副 査 氏 名	古宮 淳一 
	副 査 氏 名	奥原 義保 

題 目 Acute effect of the COVID-19 pandemic on emergency transportation due to acute alcoholic intoxication: a retrospective observational study
(COVID-19 パンデミック時の急性アルコール中毒による救急搬送の変化)

著 者

Marina Minami, Kazumoto Kidokoro, Masamitsu Eitoku, Atsufumi Kawauchi,
Masato Miyuchi, Narufumi Suganuma, Kingo Nishiyama

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月

Environmental Health and Preventive Medicine. 26巻、98-105、2021年9月30日

要 旨

【背景・目的】

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は世界的に広がり、日本を含む多くの国や地域に影響を与えた。COVID-19 パンデミック時の救急搬送システムの変化は、多くの国で観察されており、救急搬送や医療機関受診などの様々なシステムに変化をもたらした。特に、アルコール関連救急は、1) ストレスによるアルコール摂取量の増加と 2) 社会的制約によるアルコール摂取量の減少の二面性が推測された。一方、COVID-19 が救急システムに与える影響について、急性アルコール中毒による救急搬送への影響に関連する研究は現在ほとんどない。そこで本研究では COVID-19 パンデミックが急性アルコール中毒による救急搬送に及ぼす影響を調べることを目的とした。

【方法】

高知県の救急医療・広域災害情報システムである「こうち医療ネット」のデータベースに登録されている180,747救急搬送データを用いて研究を行なった。分析には、カイ二乗検定と多重ロジスティック回帰分析を行った。日本における自主的自粛期間 (2020年3月、4月) の搬送件数と、2016年～2019年の同期間と比較をおこなった。

【結果・考察】

2020年の急性アルコール中毒による救急搬送は、例年に比べて0.2%減少した。急性アルコール中毒による救急搬送は、交絡因子を調整しても、2020年3月から4月にかけて、2016～2019年の同時期と比較して有意に減少した (調整オッズ比 0.67、95%信頼区間 0.47-0.96)。

飲酒について独特の文化があり、未成年についての飲酒も一部では容認されている高知県においては、特に未成年者や若者への飲酒のリスクを理解するように、学校や家庭にて教育を行うなど、地域全体で取り組む必要がある。具体的には、年末年始や春など飲酒量が増える時期には、酒類を提供する事業者と連携して、過度の飲酒や急性アルコール中毒による救急搬送を防止するキャンペーンを実施する必要がある。また、特に若者に対しては、急性アルコール中毒になるような飲み方（一気飲み）をしないこと、体質的に飲めない場合にはアルコールを断ること、飲酒を強要してはいけないことなどを啓発する必要がある。

本研究では研究のデータは高知県のすべての急性アルコール中毒患者を把握しているわけではなく、加えて「こうち医療ネット」の記録のみを使用しているため、他の県には一般化できない可能性があるという限界があるが、救急搬送事例の全数を網羅している「こうち医療ネット」の大規模データセットを使用したことが本研究の強みである。

【結論】

本研究では、COVID-19パンデミックによるライフスタイルの変化が、救急搬送件数に影響を与えていることが示唆された。その中でも急性アルコール中毒による救急搬送件数に大きな影響を与えていた。本研究の結果を受けて、感染症の流行が一定の終息を見せ、社会的に平常に戻った後も、飲み会での急性アルコール中毒による救急搬送を減らすためには、お酒を飲まない人にアルコールを強要して飲ませない、「一気飲み」をしないなど節度のある飲み方文化を養うことが予防医学的観点からは必要だと考えられる。

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)	國見 祐輔 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第126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4年3月4日
学位論文題目	Exogenous oxytocin used to induce labor has no long-term adverse effect on maternal-infant bonding: Findings from the Japan Environment and Children's Study (外因性オキシトシンのボンディング(対児愛着)への影響)
発表誌名	Journal of Affective Disorders Volume 299, 15 February 2022, Pages 37-44 Accept: 令和3年11月22日 Available online: 令和3年11月24日
	審査委員 主査 教授 安田 誠史 副査 教授 奥原 義保 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	國見 祐輔
論文題目	<p>Exogenous oxytocin used to induce labor has no long-term adverse effect on maternal-infant bonding: Findings from the Japan Environment and Children's Study (外因性オキシトシンのボンディング (対児愛着) への影響)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>目的： オキシトシンはペプチドホルモンであり、乳房や子宮に作用し射乳や陣痛に関連する。本邦においては外因性オキシトシンによる分娩誘発が多く行われているが、近年、オキシトシンと母子愛着形成との関連が知られるようになってきている。母体から分泌される内因性オキシトシンは、その量と母性行動との相関が知られているが、外因性オキシトシンを用いることによる母から子へのボンディング (対児愛着) や内因性オキシトシンへの長期的な影響は知られていない。本研究では、外因性オキシトシンを用いた陣痛誘発とボンディングの悪化との関連を検討した。</p> <p>方法： エコチル調査において頭位、妊娠 37 週以上で単胎にて出産された母子のうち、分娩誘発を行ない、産後に赤ちゃんへの気持ち質問票 (MIBS-J) への回答を行った母子 19,700 組を対象とした。ボンディングは MIBS-J を用いて検討した。MIBS-J は、出産後 1 カ月、6 カ月、1 年後に回答を行っており、1 年目では 10 質問で行われたが 1 カ月と 6 カ月は 5 質問のみの回答となっている。オキシトシンを用いた誘発分娩とオキシトシンを用いていない誘発分娩との間の MIBS-J の各時期の合計値との関係を、重回帰分析を用いて検討した。また、1 年目における 5 質問と 10 質問における相関関係をピアソンの相関係数を用いて検討した。</p> <p>結果： 外因性オキシトシンは分娩誘発に 15,252 人 (77.4%) に投与された。交絡因子の調整後、外因性オキシトシンを陣痛誘発に使用した群と使用しなかった群との間で、各時期においてボンディングに対する有意な差を認めなかった。また、1 年目における 5 質問と 10 質問とで強い相関関係を認めた。</p> <p>考察 (研究の限界を含める)： 外因性オキシトシンを用いて陣痛を誘発しても、1 カ月後、6 カ月後、1 年後のボンディングに悪影響を与えなかった。これまで研究として外因性オキシトシンが母児に与える影響を研究されてきた際、用いられていたのは経鼻投与方法である。本研究では経静脈投与であり、受容体を介して移行する可能性が示されているが血液脳関門による影響を受けた可能性は考えられる。また、誘発分娩に用いられる外因性オキシトシンの投与量は既報の経鼻投与に比べ少量であり、短期間でオキシトシンは代謝されるため影響を与えなかった可能性がある。また、既報では外因性オキシトシンの影響は良い影響を与えた研究と悪い影響を与えた研究が混在する。これは母親の生育環境に外因性オキシトシンの影響が左右される可能性が示唆されており、各個人で生育環境が異なるため結果として影響を認めなかった可能性がある。また、本研究は、約 10 万件の分娩を対象とした大規模な研究で、日本の分娩施設で選択されている分娩誘発薬の割合を調べた初めての研究であり、日本においてはオキシトシンの頻度が最も高かった。WHO のガイドラインではプロスタグランジン膣剤が推奨され</p>	

※学位論文要旨（続き）

ているにもかかわらず、日本においては保険収載の関係上、使用が簡便なオキシトシンが一般的に使用されている。そのため今回の結果は、プロスタグランジン膈剤が制限されている日本のような多くの国にとって実用的な結果であると考えられる。

研究の限界として、MIBS-Jの1ヶ月目と6ヶ月目のスコアは、10質問ではなく5質問で集計されていたが、1年目において10質問と5質問の間には強い相関を認めていた。また、陣痛促進剤の投与量や投与時期など、詳細な情報は得られていない。

結論：

外因性オキシトシンは、陣痛を誘発するための安全で重要な薬剤であり、長期的にボンディングに対する悪影響を与えないことが示された。

論文審査の結果の要旨

		氏 名	國見 祐輔
審 査 委 員	主 査 氏 名	安田 誠史	
	副 査 氏 名	奥原 義保	
	副 査 氏 名	山口 正洋	

題 目 Exogenous oxytocin used to induce labor has no long-term adverse effect on maternal-infant bonding: Findings from the Japan Environment and Children's Study (外因性オキシトシンのボンディング (対児愛着) への影響)

著 者 Yusuke Kunimi, Marina Minami, Sifa Marie Joelle Muchanga, Masamitsu Eitoku, Kazutoshi Hayashi, Mikiya Fujieda, Narufumi Suganuma, Nagamasa Maeda, and the Japan Environment and Children's Study (JECS) Group

発表誌 Journal of Affective Disorders Volume 299, 15 February 2022, Pages 37-44

要 旨

【背景・目的】

WHOのガイドラインでは分娩誘発剤としてプロスタグランジン膣剤が推奨されているが、日本においては、使用が簡便な外因性オキシトシンによる分娩誘発が一般的である。近年、内因性オキシトシンのレベルと母から子へのボンディング (対児愛着) 形成との関連が指摘されている。しかし、外因性オキシトシンがボンディング形成にどのような影響を持つかは知られていない。全国規模で分娩施設が参加した大規模な研究データを解析し、外因性オキシトシンを用いた分娩誘発と出産1年後までのボンディング形成との関連を検討した。

【方法】

Japan Environment and Children's Study (以下、エコチル調査) に参加した、頭位、妊娠37週以上および単胎すべてを満たす出産を経験した母親のうち、分娩誘発が行なわれ、さらに、出産1カ月後、6カ月後、1年後に、ボンディング形成評価のための質問票Mother-to-Infant Bonding Scale日本語版 (以下、MIBS-J) へ回答した母親19,700人を対象とした。MIBS-Jはそれぞれの項目を4件法で評価する10項目からなるが、出産1カ月後、6カ月後の調査では10項目のうち5項目だけが質問され、1年後には全10項目が質問された。分娩誘発にオキシトシンが使用された母親 (以下、OT群) とオキシトシンが使用されなかった母親 (以下、Non-OT群) との間で、各時点におけるMIBS-Jのスコアの平均値を比較し、さらに、MIBS-Jスコアを目的変数、OT群かNon-OT群かを表すカテゴリー変数を説明変数とする直線回帰モデルを当てはめて、潜在的交絡因子を調整した時に、OT群のnon-OT群に対するMIBS-Jスコアへの影響の

差を表す標準化偏回帰係数の統計学的有意性を検討した。

【結果】

OT群は15,252人(77.4%)であった。潜在的交絡因子として、母親の精神的健康状態(精神疾患の有病状況とKesslerの6項目スケール)、社会経済的環境(婚姻状況、学歴、世帯収入、夫からの虐待経験)、分娩様式(帝王切開か否か)、そして児の特性(性別、新生児期合併症の有無など)を加えて調整した重回帰モデルでは、出産1か月後、6か月後、1年後のどの時点においても、OT群のnon-OT群に対する、MIBS-Jスコアへの影響の差を表す標準化偏回帰係数の有意確率は有意ではなかった(有意確率の最小は0.448、最大は0.950)。

【考察】

外因性オキシトシンを用いる分娩誘発は、出産1か月後、6か月後、1年後のボンディング形成に影響を与えなかった。これは、外因性オキシトシンが母親の精神心理的健康に対して好ましくない影響を与えたとする先行研究とは異なる結果であった。その理由としては、先行研究はオキシトシンが経鼻投与された時のものだが、本研究では経静脈投与されたので、血液脳関門の影響を受けた可能性が考えられた。また、分娩誘発に用いられる外因性オキシトシンの投与量は既報の経鼻投与に比べると少量であることに加え、オキシトシンは短期間で代謝されるため、長期的影響が認められなかった可能性があった。

研究の限界としては、まず、出産1か月後と6か月後における検討が、MIBS-Jの10質問ではなく5質問を用いて行われたことがある。10質問が用いられた1年後のMIBS-Jスコアについて、5質問でのスコアと10質問でのスコアの間的相关係数は0.898(有意確率<0.001)と高かったため、MIBS-Jの5質問を用いて行った1か月後と6か月後における結果には、一定の妥当性があると考えられた。第2に、エコチル調査での分娩誘発剤の使用状況に関する情報が、医療者側が行った自由記載に基づいており、分娩誘発剤の投与量や投与時期については詳細な情報が得られなかった。第3に、本研究では、母親の精神的健康状態と社会経済的環境を交絡因子として扱った時の結果だけを示した。母親の生育環境を反映するこれらの因子については、交絡因子としての影響だけでなく、外因性オキシトシンとボンディング形成との関連を修飾する状況についても検討を加える必要がある。

【結論】

分娩誘発に使用される外因性オキシトシンは、出産1年後までのボンディング形成には影響を与えないことが明らかになった。

公開審査においては、分別誘発における経静脈的オキシトシン投与の適用、統計解析モデルとしての直線回帰モデルの適切さ、潜在的交絡因子の選定理由などについて質問があり、申請者は自分の考えを明瞭に述べた。

本論文は、外因性オキシトシンを用いる分娩誘発が標準となっている数少ない国の一つである日本において、この方法による分娩誘発が児に対する愛着形成というアウトカムに関して安全であることについて、初めて、観察研究のレベルでの科学的根拠を与えたものであり、医学的価値を有する。従って、審査委員一同は本論文が高知大学博士(医学)に相応しい価値があると判断した。

氏名(本籍)	竹村 光広 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第127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4年3月4日
学位論文題目	Repeated intravenous infusion of mesenchymal stem cells for enhanced functional recovery in a rat model of chronic cerebral ischemia. (ラット慢性脳虚血モデルにおける間葉系幹細胞の反復静脈内投与による機能回復促進効果)
発表誌名	Journal of Neurosurgery Page Range: 1-10 Volume/Issue: Publish Before Print Online Publication Date: 03 Dec 2021

審査委員	主査	教授	山口	正洋
	副査	教授	池内	昌彦
	副査	教授	藤枝	幹也

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	竹村 光広
論文題目	Repeated intravenous infusion of mesenchymal stem cells for enhanced functional recovery in a rat model of chronic cerebral ischemia. (ラット慢性脳虚血モデルにおける間葉系幹細胞の反復静脈内投与による機能回復促進効果)	
(論文要旨) ・目的 脳卒中は長期的な神経学的機能障害の主な原因であり、脳卒中の慢性期における患者の機能を改善する有効な治療法はほとんどない。近年、骨髄間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell: MSC)を用いた細胞療法は、再生医療の分野で脳梗塞や脊髄損傷に対する新しい治療方法として注目されている。これまでの基礎研究の知見より、MSC 治療による作用メカニズムとしては、①サイトカインによる神経栄養作用、②血管新生、③脱髄軸索の再有髄化、④神経再生による脳の可塑性の調節、と多段階的に進むことを報告している。脳梗塞慢性期においては、損傷神経組織の脱落による空洞化や組織の萎縮・線維化などが進んだ状態であり、治療介入においても抗炎症作用や脳保護作用等を主な目的とする急性期において有効な方法とは異なるアプローチの検討が必要と考えられる。ラットの慢性脳虚血モデルにおいて MSC 単回投与が運動機能を改善することが示され、治療効果として血液脳関門の安定化、微小血管の修復がみられたが、神経接続の可塑性に注目した検討は行われていない。そこで本研究では、慢性脳梗塞モデルラットに MSC を反復投与し(1週間間隔で3回)、複数回の投与により、治療効果に寄与する大脳半球間の神経結合の可塑性が促進されるかどうかを検討した。 ・方法 生後9週目のラットを中大脳動脈閉塞(MCAO)により広範脳梗塞を誘導し、その8週間後に慢性脳梗塞モデルとして使用した。慢性期モデルの運動機能は、作製直後から一定の自然回復を認めるものの、作製後4-6週間の時点でプラトーに達し、8週の時点では、ほぼ回復は認められず、慢性期に相当する。MCAO を行ったラットを無作為に抽出し、大腿静脈から vehicle のみ(vehicle 群)、8週目に MSC を投与(単回投与:MSC-1群)、8・9・10週目に MSC を投与(3回、反復投与:MSC-3群)を静脈内投与した。その後、経時的な行動学的パフォーマンスとMRIでの投与前後の虚血体積を検討した。MCAO 導入15週後に、Nissl 染色を用いて脳梁(CC)の厚さを測定した。CC の免疫組織化学的解析は抗ニューロフィラメント抗体を用いて行った。脳梁を介した半球間結合は、拡散テンソル画像(Ex vivo DTI)により評価した。 ・結果 ラットでの慢性期脳梗塞モデルにおいて、単回の MSC 投与よりも3回の MSC 投与群でトレッドミル速度と mNSS スコアが改善しており、投与回数に応じて運動機能の回復がみられた。MRI T2 画像での脳梗塞体積の解析では、MSC 治療前後での投与回数による各群の差は認めなかった。運動機能評価後の慢性期脳梗塞ラットにおいて、組織標本での脳梁の厚みとニューロフィラメント染色での光学密度を計測すると、MSC 投与回数に応じて脳梁の厚みとニュー		

一ロフィラメント染色での光学密度が増しており、両者はそれぞれMCAO 導入後 15 週目におけるトレッドミル速度とも相関を認めた。Ex vivo DTI では、MSC 投与回数に応じて、脳梁を介した左右の皮質間の神経トラクト数が増加していた。

・考察

本研究では、慢性脳虚血に対する MSC の単回および反復投与の治療効果を検証した。トレッドミルによる機能評価では、MSC-1 群は投与 1 週間後より比較的急速な改善を示し、以降はプラトーとなり改善された機能を維持することができた。しかし、MSC-3 群では、MSC 投与 2 週目以降、MSC 投与 4 週目まで継続的な改善が見られ、MSC-1 群と比較してトレッドミルでの速度が速くなった。これまでの研究では、MSC の単回注入は、MSC 注入後 1 週間以内に血液脳関門の安定化が促進され、微小血管の増加に寄与する可能性が示されていたが、本研究でも比較的早期での機能改善と一致し、血管の安定化が潜在的治療メカニズムであると示唆される。その後も緩やかな改善が続いたことから、本研究で用いたような MSC の反復注入は、機能改善を促進する他のメカニズムも活性化させる可能性がある。虚血病巣の体積にはいずれの群も有意差はなかったが、MSC の注入を繰り返すと、1 回の注入と比較して、CC の厚さおよびニューロフィラメント染色での光学密度が増加していた。また、15 週目の運動機能としてトレッドミルの最高速度と、これら 2 つの測定値との関係を検討すると、正の相関が観察され、これらの指標が運動機能の改善に関与していることが示唆された。運動機能はトレッドミルの最高速度だけでなく、mNSS の beam balance テストでも評価し、スコアの向上が見られた。beam balance テストは、筋力の向上だけでなく、協調運動やバランス機能の向上も反映していると考えられた。DTI では、MSC-3 群では MSC-1 群に比べ、全脳梁を介する神経トラクトの数が多いことが示され、CC を介した神経結合が促進されたことが示唆された。以上のことから、MSC の反復投与は、血液脳関門の安定化および微小血管の増加に加えて、神経可塑性に関わる神経接続の増強という治療メカニズムにより、慢性期脳梗塞でも MSC の単回投与に比べ機能予後が改善することが示された。本研究により、脳虚血における MSC の治療効果を高めるために、臨床的な治療プロトコールに MSC の反復注入を取り入れられる可能性がある。また、急性期脳梗塞患者においても MSC の急性期効果を高めるために、初回注入後に追加注入を行うという選択肢も考えられる。これまでの研究では、脳虚血の急性期において MSC 注入の第一の治療メカニズムは神経保護であったが、本研究では慢性期においても神経可塑性が活性化されることが明らかになった。慢性虚血における MSC の単回注入に関する研究では、改善のメカニズムとして血管の安定化に焦点が当てられたが、今回の反復投与では神経可塑性の誘導など、他の治療メカニズムが作用して機能改善につながる可能性が示唆された。新生児低酸素虚血時の非損傷脳組織で示された脳容積の増大とシナプス形成の促進の機序や、CC を介した神経可塑性の誘導、脳卒中後の神経可塑性の変化に関連する可能性のある神経栄養因子の上昇などが、MSC 反復治療により、DTI で示された神経接続の増加に寄与する可能性がある。今後の研究課題として、機能回復を誘導する明確なメカニズムを解明することが必要である。

・結論

慢性期脳梗塞モデルラットにおいて、MSC を 3 週間にわたって繰り返し全身投与することにより、単回投与と比較して、より大きな機能改善をもたらすことが示された。さらに、CC の厚みと CC を介した半球間結合の評価から、CC を介した神経結合が促進され、脳梗塞慢性期における反復注入による MSC 治療後の機能改善に寄与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
		竹村 光広
審 査 委 員	主 査 氏 名	山口 正洋 
	副 査 氏 名	藤枝 幹也 
	副 査 氏 名	池内 昌彦 

題 目 Repeated intravenous infusion of mesenchymal stem cells for enhanced functional recovery in a rat model of chronic cerebral ischemia.
(ラット慢性脳虚血モデルにおける間葉系幹細胞の反復静脈内投与による機能回復促進効果)

著 者 Mitsuhiro Takemura, Masanori Sasaki, Yuko Kataoka-Sasaki, Ryo Kiyose, Hiroshi Nagahama, Shinichi Oka, Ryo Ukai, Takahiro Yokoyama, Jeffery D Kocsis, Tetsuya Ueba, Osamu Honmou

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Journal of Neurosurgery
Page Range: 1- 10 Volume/Issue: Publish Before Print
Online Publication Date: 03 Dec 2021

要 旨

【背景・目的】

脳卒中は長期的な神経機能障害の大きな原因であるが、脳卒中の慢性期において機能改善を図る有効な治療法はほとんど見出されていない。近年、骨髄間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell: MSC)を用いた細胞療法は、脳梗塞や脊髄損傷に対する新しい治療方法として注目されている。MSC治療の作用メカニズムとしては、サイトカインによる神経栄養作用、血管新生、脱髄軸索の再有髄化、神経細胞の可塑性調節などが示されている。脳梗塞急性期のMSC治療は主に抗炎症作用や脳保護作用を期待しているが、慢性期は損傷神経組織の脱落や組織の萎縮・線維化などが進んだ状態であり、急性期とは異なる機序による治療促進が必要と考えられる。申請者らの研究グループはこれまでに、ラットの慢性脳梗塞モデルにおいてMSC単回投与が運動機能を改善することを示し、その作用機序として血液脳関門の安定化、微小血管の修復促進を示唆している。しかし、神経細胞の可塑性調節、特に残存した神経細胞による修復促進作用の寄与は未だ明らかでない。また、MSC単回投与に較べて複数回投与によって効果が増強するかどうかは不明である。そこで本研究では、慢性脳梗塞モデルラットにMSCを複数回投与し、より高い運動機能改善が得られるかどうか、また梗塞側と健常側の大脳半球間の神経結合の回復が促進されるかどうかを検討した。

【方法】

成体ラット大腿骨から骨髓細胞を回収し、MSCの単離に適切な培養条件で継代培養した細胞をMSC治療に用いた。生後9週目のラットに対し中大脳動脈閉塞（MCAO）により広範脳梗塞を誘導し、自然経過による運動機能回復がプラトーに達し安定する8週間後のラットを慢性脳梗塞モデルとして使用した。このラットを、大腿静脈からvehicleのみ投与する群、8週目にMSCを単回投与する群、8・9・10週目にMSCを複数回（3回）投与する群に分け、それぞれ処置を行った。MCAO後8-15週目の毎週、行動パフォーマンスをトレッドミルテスト、バランステスト、神経学的重症度スコアにて評価した。また8・15週目に、MRI T2画像にて梗塞脳領域の体積を測定した。これらの評価の後にラットを還流固定して脳薄切標本を作成し、Nissl染色により脳梁の厚さを測定し、抗ニューロフィラメント抗体を用いて脳梁の免疫組織化学的解析を行った。脳梁を介した大脳半球間結合は、取り出した脳に対する拡散テンソル画像解析（Ex vivo DTI）により評価した。

【結果・考察】

慢性脳梗塞モデルラットに対する単回のMSC投与よりも3回のMSC投与によって、トレッドミル速度、バランス能力、神経学的重症度スコアが顕著に改善していた。MRIによる脳梗塞体積の解析では、MSC投与の有無・回数による違いは認めなかった。脳組織標本の解析では、MSC投与回数に応じて脳梁の厚みとニューロフィラメント染色の光学密度が増しており、両者はそれぞれMCAO後15週目におけるトレッドミル速度と相関していた。Ex vivo DTIでは、MSC投与回数に応じて、脳梁を介した左右の皮質間の神経トラクト数が増加していた。

以上、慢性期脳梗塞モデルラットにおいて、MSCの繰り返し投与がより大きな運動機能改善をもたらすことを示し、この改善に脳梁を介した神経結合の回復促進が寄与している可能性が示された。

【結論】

以上本研究は、脳梗塞慢性期におけるMSC治療において、複数回のMSC投与がより顕著な治療効果を発揮することを見出し、またその作用機序として、大脳半球間神経結合の回復促進という新たな可能性を示した。これらの知見は今後MSC治療の実臨床への適用に貢献する、非常に意義の大きい研究成果と考えられる。

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)	重松ロカテッリ 万里恵 (岡山県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第128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4年3月20日
学位論文題目	Maternal pain during pregnancy dose-dependently predicts postpartum depression: Japan Environment and Children's study 妊娠中の痛みは容量依存的に母親の産後うつを予測する：子どもの健康と環境に関する全国調査)
発表誌名	The Journal of Affective Disorders 2022年1月8日

審査委員

主査	教授	数井	裕光
副査	教授	前田	長正
副査	教授	池内	昌彦

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	重松ロカテツリ万里恵
論 文 題 目	<p>Maternal pain during pregnancy dose-dependently predicts postpartum depression:Japan Environment and Children's study (妊娠中の痛みは容量依存的に母親の産後うつを予測する:子どもの健康と環境に関する全国調査)</p>	
<p>(論文要旨)</p> <p>背景：産後うつは産後1年までの産婦に発生し、母親の自殺の危険因子ともなる重要な疾患である。痛みとうつが関連していることは広く知られており、分娩時痛および産後の痛みが産後うつに影響を与えることは先行研究で明らかになっている。しかしながら妊娠中の痛みが与える産後うつ発生への影響を調べた大規模な研究は未だなく、産後うつの危険因子のすべてが明らかになっているわけではない。</p> <p>目的：本研究では、うつ病の既往のない妊婦が、妊娠中に慢性的に体の痛みを感じることと、産後のうつとの関連について検討した。またその量的反応、持続性の影響について検討することを目的とした。</p> <p>方法：環境省のエコチル調査のデータを用いて解析を行った。生後1年までの全国データに登録された104,605人中の単胎生産児98,255人から、曝露及びアウトカム情報のある参加者を選別し、データの重複やうつ病の既往のある妊産婦を除く84,801人について、曝露要因（妊娠初期と中後期の体の痛み）とアウトカム（産後うつ）の相関を分析した。痛みはごく軽度の痛み、軽度、中等度、重度/非常に重度の5段階に分類した。</p> <p>まず単変量解析を行い、共変量（①社会経済背景（教育、婚姻状況、収入、BMI、喫煙習慣、アルコール摂取）、②精神病の既往（不安神経症を含む不安障害、特定の恐怖症、パニック障害、社交恐怖症および強迫性障害、統合失調症）、③心理社会的要因（妊娠に対する感情、ストレスの多いライフイベント、パートナーのサポート、社会的サポート、パートナーによる言語的および身体的虐待）、および、④産婦人科・小児科的要因（年齢、授乳方法、出産、生殖補助医療、出産方法、切迫流産を含む出産の合併症、早産、児の性別、新生児仮死、アプガースコア5分<7））を加味しPoisson解析を実施した。産後うつあり群となし群に分けて解析し、さらに曝露の時期によって4つの</p>		

グループ（2時点とも痛み無し・初期のみ痛みあり・中後期のみ痛みあり・2時点とも痛み有り）に分け二次解析を実施した。

結果：84,801人の研究対象のうち、11,535人（13.6%）が産後うつ陽性としてスクリーニングされた。妊娠初期と妊娠中後期の両方で、痛みと産後うつに正の相関が認められた。被験者を痛みの重症度で分類すると、有意な線形用量依存性の関連が見られた（ $P_{trend} < 0.001$ ）。妊娠初期においては、ごく軽度の痛み：調整リスク比（aRR）= 1.22（95%信頼区間（CI）：1.15-1.31； $p < 0.001$ ）；軽度：aRR = 1.32（95%CI：1.24-1.41； $p < 0.001$ ）；中等度：aRR = 1.43（95%CI：1.33-1.54； $p < 0.001$ ）；重度/非常に重度：aRR = 1.54（95%CI：1.39-1.71； $p < 0.001$ ）、妊娠中後期では、ごく軽度の痛み：aRR = 1.27（95%CI：1.16-1.38； $p < 0.001$ ）；軽度：aRR = 1.49（95%CI：1.38-1.61； $p < 0.001$ ）；中等度：aRR = 1.63（95%CI：1.50-1.78； $p < 0.001$ ）；重度/非常に重度：aRR = 1.70（95%CI：1.52-1.90； $p < 0.001$ ）であった。妊娠初期・中後期の2時点における痛みの有無により4グループに分けて実施した二次解析では、両時点とも痛みのない参加者と比較し、妊娠初期と中後期の両方に持続的な痛みがある参加者は、産後うつリスクが最も高かった：aRR = 1.95（95%CI：1.76-2.15； $p < 0.001$ ）。

考察：本研究は、妊娠中の痛みと産後うつへの影響を検討した最初の大規模な前向き出生コホート研究である。妊娠中の痛みの保有率は、初期で69.6%、中後期で84.0%と一般人口での痛みの保有率40%と比較してはるかに高いことが分かった。また63.6%の妊婦が初期から中後期を通して痛みを保有していた。痛みとうつは密接に関連しており、痛みがより強く、また期間が長くなると産後うつリスクも上昇することが分かった。産後うつを早期に発見し、介入を行うためには妊娠中に早期にスクリーニングを行うことが重要であり、臨床的に痛みがその指標になる可能性がある。産後うつの詳細な発症機序は未解明であるが、脳内のセロトニン低下がその一因とする説があり、セロトニンは下行性疼痛抑制系の調節にも関与している神経伝達物質であり、痛みと産後うつに関連を説明する。分娩時や産後の痛みのコントロールの重要性は比較的広く認識されており、無痛分娩などの選択も広がりつつあるが、妊娠中から痛みを検出し、早期に介入することで、産後うつ予防に繋がるかもしれないと考えられる。本研究の限界は、痛みの場所や種類は特定できず、また分娩時痛や産後の痛みも評価ができていないことである。

結論：妊娠中の痛みと産後うつには容量依存的な正の相関が見られた。また痛みへの曝露が長くなると産後うつリスクが上昇した。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	重松ロカテッリ 万里恵
審 査 委 員	主 査 氏 名 数井 裕光	
	副 査 氏 名 前田 長正	
	副 査 氏 名 池内 昌彦	

題 目 Maternal pain during pregnancy dose-dependently predicts postpartum depression: Japan Environment and Children's study
 妊娠中の痛みは容量依存的に母親の産後うつを予測する：子どもの健康と環境に関する全国調査)

著 者 Marie Shigematsu-Locatelli* M. D., Takashi Kawano M. D., Ph. D., Kahoko Yasumitsu-Lovell M. Sc., Fabricio Miguel Locatelli Ph. D., Masamitsu Eitoku Ph. D., Narufumi Suganuma M. D., Ph. D., and the Japan Environment and Children's Study Group

発表誌名、巻 (号)、ページ (~)、年 月
 The Journal of Affective Disorders 2022 年 1 月 8 日

要 旨

【背景・目的】

産後うつには、分娩時痛および産後の痛みがその出現と関連することが先行研究で明らかになっている。しかし妊娠中の痛みが産後うつの出現に促進的に働くのか否かを調べた大規模な研究はない。そこで本研究では、環境省のエコチル調査のデータを用いて、うつ病の既往のない妊婦において、妊娠中に慢性的な痛みを感じることと、産後にうつ症状を感じることとの関連を検討した。また痛みの程度・持続性と産後うつの出現との関連についても検討した。

【方法】

生後1年までのデータが集積されている104,605人の中から単胎生産児データ98,255人を抽出し、さらに、後述する本研究の曝露及びアウトカム情報に欠損がなく、またデータの重複やうつ病の既往のある妊産婦を除いた84,801人のデータを抽出した。そして曝露要因（妊娠初期と中後期の体の痛み）とアウトカム（産後うつ）との関連を分析した。痛みは、被験者に過去4週間に体どのような痛みを有していたかをSF-8の設問によって「ない、ごく軽度、軽度、中等度、重度、非常に重度」の6段階に分類されていた。この評価は妊娠初期と中後期の2回行われていた。一方、産後うつについては、エジンバラ産後うつ病自己評価票（Edinburgh Postnatal Depression Scale : EPDS）で評価されていた。本研究では9点以上をうつ症状ありとした。

統計解析については、まず単変量解析を行った。次にこれまでの研究で産後うつとの関連が報告されていた以下の共変量 ①社会経済背景（教育、婚姻状況、収入、BMI、喫煙習慣、アルコール

ル摂取)、②精神病の既往(不安神経症を含む不安障害、特定の恐怖症、パニック障害、社交恐怖症および強迫性障害、統合失調症)、③心理社会的要因(妊娠に対する感情、ストレスの多いライフイベント、パートナーのサポート、社会的サポート、パートナーによる言語的および身体的虐待)、および、④産婦人科・小児科的要因(年齢、授乳方法、出産、生殖補助医療、出産方法、切迫流産を含む出産の合併症、早産、児の性別、新生児仮死、アプガースコア5分<7))を加味したPoisson解析を行った。さらに産後うつあり群となし群に2群分けした解析、痛みを感じた時期によって4群(2時点とも痛み無し、初期のみ痛みあり、中後期のみ痛みあり、2時点とも痛み有り)に分けた解析も行った。

【結果・考察】

84,801人のデータの中で11,535人(13.6%)が産後うつ陽性であった。また妊娠初期と妊娠中後期の両方の時期で、痛みの重症度と産後うつの重症度との間に有意な正の相関が認められた。妊娠初期においては、調整リスク比(aRR)は痛みが強いほど大きかった(ごく軽度の痛み:aRR=1.22、軽度:aRR=1.32、中等度:aRR=1.43、重度/非常に重度:aRR=1.54)。妊娠中後期でも同様の結果であった(ごく軽度の痛み:aRR=1.27、軽度:aRR=1.49、中等度:aRR=1.63、重度/非常に重度:aRR=1.70)。妊娠初期・中後期の2時点における痛みの有無により4群に分けて実施した二次解析では、両時点とも痛みのない参加者と比較して、妊娠初期と中後期の両方に持続的な痛みがある被験者は、産後うつのリスクが非常に高かった(aRR=1.95)。

本研究は、大規模な前向き出生コホートデータを用いて、妊娠中の痛みと産後うつとの関連を明らかにした最初の研究である。妊娠中の痛みの保有率は、初期で69.6%、中後期で84.0%と一般人口での痛みの保有率40%よりもはるかに高いことが明らかになった。また63.6%の妊婦が初期から中後期を通して痛みを有していた。妊娠中の痛みと産後うつは密接に関連しており、痛みがより強く、期間がより長くなると産後うつのリスクも上昇することが明らかになった。本研究の結果から、妊娠中に痛みを有する妊婦は産後にうつ症状を呈する可能性が高いと考え、出産後の早期にうつのスクリーニングを行うことが重要と考えられた。

本結果の考察として、妊娠中の痛みと産後のうつ発現との関連について、脳内のセロトニン低下が原因と考えられた。分娩時や産後の痛みのコントロールの重要性は比較的広く認識されており、無痛分娩などの選択も広がりつつあるが、本研究の結果から、妊娠中も痛みを検出し、痛みがあればしっかりと介入することが重要であると考えられた。このような医療が一般化することで、産後うつが減少すると考えられた。本研究の限界は、痛みの部位や種類が特定できないこと、分娩時痛や産後の痛みを評価できていないことであった。

【結論】

妊娠中の痛みと産後うつには容量依存的な正の相関が見られた。また痛みへの曝露が長くなると産後うつのリスクが上昇した。

本研究結果は産後うつの発現機序解明の一助になるとともに、新たな診療を提案するものであった。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)	渡邊 理史 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第129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4年3月20日
学位論文題目	Perinatal Care Preparedness in Kochi Prefecture for When a Nankai Trough Earthquake : Action Plans and Disaster Liaisons for Pediatrics and Perinatal Medicine 南海トラフ地震における高知県の周産期医療提供体制に関する検討 : その取り組みと災害時小児周産期リエゾンの活用
発表誌名	Tohoku journal of experimental Medicine 令和4年3月11日

審査委員

主査	教授	西山	謹吾
副査	教授	藤枝	幹也
副査	教授	河野	崇

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	渡邊 理史
論文題目	Perinatal Care Preparedness in Kochi Prefecture for When a Nankai Trough Earthquake: Action Plans and Disaster Liaisons for Pediatrics and Perinatal Medicine (南海トラフ地震における高知県の周産期医療提供体制に関する検討：その取り組みと災害時小児周産期リエゾンの活用)	
<p>(論文要旨)</p> <p>Introduction</p> <p>大規模自然災害の発災直後には、平時とは比べものにならない多くの医療提供や保健支援が必要となる。これまでの大規模災害時に必要とされる妊婦に対する医療・保健のニーズが把握できず、十分な支援が行き届かなかった。また、周産期医療に関わる情報の共有が、周産期医療従事者間のみでしかなされず、災害医療体制下では共有されなかったため、妊婦への支援の遅れに繋がっていたとされている。これらの教訓から、厚生労働省は、2016年から災害時の小児周産期領域の情報収集や搬送調整等を行う「災害時小児周産期リエゾン」の養成を開始した。しかし、これらを活用する施策はない状態であった。</p> <p>本論文では、高知県と内閣府の公表している被害推計計算方法を用いて、災害時に予測される妊婦被災者数と医療必要数を推計し、その予測患者数を基に妊婦に対する災害医療・保健対策について案を講じた。そして、災害時小児周産期リエゾンをより効果的に活動を行える方法について案を講じ、施策につなげた。</p> <p>Materials and Methods</p> <p><u>妊産婦重傷者数および避難者数の推計と受け入れ可能産科病床数の推計</u></p> <p>客観的に対策を立てるために、高知県における南海トラフ地震発災時の妊婦被災者数と医療提供数の数値化した。妊婦被災者数として「妊婦重症数および妊婦避難者数」を、医療提供数として「災害時受け入れ可能産科病床数」を推計し、医療圏毎に合計し、まとめた。</p> <p>Results</p> <p>高知県全体では42名の重症者と931名の避難者数が推計された。そして、その多く</p>		

は中央医療圏で発生し、妊婦重症者 24 名、妊婦避難者 732 名が発症することが推計された。中央医療圏の重症者と避難者の多くは、県庁所在地である高知市で集中して発生することが推計された。また中央医療圏においては、災害時の受入れ可能産科病床数は 21 床であり、重症者が 24 名発生すると受け入れできない妊婦が発生する可能性がある。また、産科対応施設のない高幡医療圏で 6 名の重症者が想定され、これらを中央医療圏と幡多医療圏に分散して収容したとしても、診療限界に陥る可能性があることが示唆された。

高知県の周産期災害対策 – 中央医療圏の災害対策の強化 –

推計結果から、重症者数や避難者数が最も多い高知市とその周辺の体制構築が最優先と考えた。災害時には津波による市街地の浸水により、傷病者を医療機関まで搬送することが困難になることが想定される。浸水エリアを基に高知市およびその周辺を 3 つのエリアに分け、そのエリア内に住んでいる妊婦は、平時のかかりつけ産科病院・診療所と異なっても、被災したエリア内の最寄りの分娩施設のある災害拠点病院を受診できるよう行政に提案し、施策に至った。災害拠点病院の産婦人科医・新生児科医の 1 名以上が災害時小児周産期リエゾン研修を修了した。そして、このリエゾンがエリアの中心的な存在として、エリアにおける災害時の医療提供の調整を行うようにした。

Discussion & Conclusion

被害推計を基にした中央医療圏の災害時医療体制構築とリエゾンの活用

これまでの災害では、周産期医療に関わる情報が、周産期医療機関や周産期医療従事者間のみで共有され、全体の災害医療体制下で共有されず、医療支援の遅れにつながった。被災者数を推計することで、重症者の多い高知市の対策が急務であることがわかり、このような具体的なリエゾンの適正な配置と効果的に運用できる方法を立案ができたと考える。

周産期医療のように医療資源が限られている分野では、大規模災害時には、地域全体での災害医療対策を講じなければ効果的な支援にはつながらない。そのため、本論文のように、地域全体の被害を想定し、妊婦被災者数や医療提供必要数の推計したことは、具体的な災害対策を講じることに繋がるため、効果的な方法であると考えている。

論文審査の結果の要旨

		氏 名	渡邊 理史
審 査 委 員	主 査 氏 名	西山 謹吾	
	副 査 氏 名	藤枝 幹也	
	副 査 氏 名	河野 崇	

題 目 Perinatal Care Preparedness in Kochi Prefecture for When a Nankai Trough Earthquake: Action Plans and Disaster Liaisons for Pediatrics and Perinatal Medicine
 (南海トラフ地震における高知県の周産期医療提供体制に関する検討 : その取り組みと災害時小児周産期リエゾンの活用)

著 者 Takafumi Watanabe, Chiaki Katata, Sachio Matsushima, Yusuke Sagara, Nagamasa Maeda

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 Tohoku journal of experimental Medicine 令和4年3月11日

要 旨

【背景・目的】

大規模自然災害の発災直後には、平時とは比べものにならない多くの医療提供や保健支援が必要となります。これまでの大規模災害時に、妊婦に対する医療・保健のニーズが把握できず、十分な支援が行き届かなかった事実があります。また、周産期医療に関わる情報の共有が、周産期医療従事者間のみでしかなされず、災害医療体制の枠組みでは共有されていなかったことが 妊婦への支援の遅れに繋がっていたとされています。これらの教訓から、厚生 労働省は、2016 年から災害時の小児周産期領域の情報収集や搬送調整等を行う「災害時小児周産期リエゾン」の養成を開始した。しかし、これらを具体的のどのよう
 に活用するか施策はない状態であった。

本論文では、高知県と内閣府の公表している被害推計計算方法を用いて、災害時に予測される妊婦被災者数と医療必要数を推計し、その予測患者数を基に妊婦に対する災害医療・保健対策について案を講じ、災害時小児周産期リエゾンをより効果的な活動が行える方法

について論じています。

【方法】

高知県における南海トラフ地震発災時の妊婦被災者数として「妊婦重症数」および「妊婦避難者数」を東日本大震災などの経験から計算式を導き出し、それをもとに集計した。妊婦重症者数とは産婦人科疾患での重症度合ではなく、外傷や低体温症など外的要因による重症者数である。また受ける側として医療提供数を「災害時受け入れ可能産科病床数」を高知県災害拠点病院の産科受入数を計算した。

【結果・考察】高知県全体ではと931名の避難者数が推計され42名の重傷を負った妊婦が発生する可能性があることがわかった。そして、その多くは中央医療圏で発生し、妊婦重症者24名、妊婦避難者732名が発症することが予想された。重症者と避難者の多くは、高知市で集中して発生することが推計された。ところが高知市を含む中央医療圏においては、災害時の受け入れ可能産科病床数は21床であり、重症者が24名発生すると産科だけでは受け入れできない。更に高知市内は長期浸水になり医療機関へのアプローチも容易ではない。そこで筆者らは事前に高知市内をアプローチのしやすいように3区域に分け、それぞれに産婦人科を有する災害拠点病院を配置した。災害拠点病院の産婦人科医・新生児科医の1名以上が災害時小児周産期リエゾン研修を修了するように計画し、このリエゾンがエリアにおける災害時の医療提供の調整を行うようにした。

【結論】本論文は地域全体の被害を想定し、妊婦被災者数や医療提供必要数を推計し、各地域ごとに実際に搬送できるエリアにくぎって産科搬送体制を構築する方法は他県では見られない。災害時の地域のマッピングと産科医療機関のキャパシティを考え、そして妊産婦重症者数の算出方法を提言し、小児周産期リエゾンがスムーズな搬送体制が組みやすくなることを提言したことは新しい取り組みと言える。

以上のように、本論文災害時の県全体での妊産婦の被災状況を明らかにし、地域の字事情に合わせて具体的な搬送方法を提言したものであり、社会的にも医学的にも高い価値を有するものである。

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、災害時妊婦重症者数の計算式、災害時の高知県の特徴、災害医療の行政の枠組み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。

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)	新武 享朗 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第130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4年3月23日
学位論文題目	The inhibitory role of intracellular free zinc in the regulation of Arg-1 expression in interleukin-4-induced activation of M2 microglia (インターロイキン4誘導性M2ミクログリアのArg-1発現制御に対する細胞内遊離亜鉛の役割)
発表誌名	Metallomics、10(10):1501-1509. 2018年10月

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

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

	氏名	新武 享朗
論文題目	<p>The inhibitory role of intracellular free zinc in the regulation of Arg-1 expression in interleukin-4-induced activation of M2 microglia (インターロイキン4誘導性 M2 ミクログリア活性化における Arg-1 発現調節に対する細胞内遊離亜鉛の阻害的役割)</p>	
<p>(論文要旨)</p> <p>【背景】 亜鉛は生体において鉄に次いで2番目に多い必須微量元素である。脳内において多くの亜鉛は細胞内タンパク質と結合しており、細胞内遊離型亜鉛 (Zn^{2+}) 濃度は低く維持されている。最近、細胞への刺激に応答して Zn^{2+} 濃度の増加が惹起されることが明らかになり、遺伝子発現制御やシグナル伝達などの細胞応答に重要な役割を担うことが示されている。</p> <p>ミクログリアは中枢神経系における免疫担当細胞であり、活性化すると神経傷害性に機能する M1 または神経保護性に機能する M2 に極性誘導される。以前、我々は海馬神経細胞のシナプス小胞に貯蔵されている Zn^{2+} が脳虚血再灌流直後に大量に放出され、ミクログリア M1 極性誘導を促進することを報告している。M2 ミクログリアのマーカー分子である arginase-1 (Arg-1) は誘導型一酸化窒素合成酵素と共通の基質である L-アルギニンを代謝することで、一酸化窒素産生を阻害し、抗炎症作用に関与することが知られている。</p> <p>一方、アルツハイマー病 (AD) 患者および AD モデルマウスにおいて Arg-1 発現の増加および基質である L-アルギニンレベルの低下、さらには脳内 Zn^{2+} ホメオスタシスの破綻が指摘されている。また、AD の原因とされているアミロイド β の除去に関与するミクログリアの貪食作用が低下することも報告されている。</p> <p>これらのことから、Arg-1 発現レベルは生理的な脳内において厳密に制御されていることが推測できるが、その機序に Zn^{2+} が関与するか否かについては検討されていない。</p> <p>【目的】 本研究は、Zn^{2+} がミクログリアにおける Arg-1 発現制御に関与するか否かを明らかにし、ミクログリアの貪食作用に影響を及ぼすか否かについて検討することを目的とした。</p> <p>【方法】 C57BL/6 マウス初代培養ミクログリアに M2 極性誘導薬である IL-4 (10 ng/mL) を添加し M2 へ極性誘導した。M2 ミクログリアにおける細胞内 Zn^{2+} の変化を細胞膜透過性 Zn^{2+} プローブ (FluoZin-3AM) により検討した。M2 ミクログリアにおける Arg-1 発現制御に細胞内 Zn^{2+} が関与するか否かを検討するため、細胞膜透過性 Zn^{2+} キレーターである TPEN または細胞外 Zn^{2+} キレーターである CaEDTA を前処置し IL-4 刺激後の Arg-1 mRNA 発現誘導をリアルタイム PCR 法により検討した。さらに、Arg-1 活性を測定した。IL-4 添加後のミクログリア貪食活性に細胞</p>		

内 Zn^{2+} が関与するか否かを検討するため、TPEN 前処置した IL-4 誘導性 M2 ミクログリアにおける食食活性について蛍光ラテックスビーズを用いて評価した。さらに、Arg-1 の基質である L-アルギニンの補充による効果についても同様に検討した。

【結果】

FluoZin-3AM シグナルは IL-4 刺激 1-3 時間後では観察されなかったが、IL-4 刺激 6 時間後の細胞質全体で観察された。この FluoZin-3AM シグナルの増加は、TPEN 前処置により消失したが、CaEDTA 前処置では消失しなかった。Arg-1 mRNA レベルは IL-4 添加 1-6 時間後まで時間依存的な増加が誘導された。TPEN 前処置は IL-4 添加 1-3 時間後までの Arg-1 mRNA 発現誘導に有意な影響を示さなかったが、IL-4 添加 6 時間後には Arg-1 mRNA レベルが顕著に増大した。一方、CaEDTA 前処置は IL-4 添加後に惹起される Arg-1 mRNA 発現誘導に影響を及ぼさなかった。また、ミクログリアの蛍光ラテックスビーズに対する食食活性は IL-4 添加 6 時間後に増加したが TPEN 前処置により阻止され、L-アルギニン補充により回復した。

【結論】

以上の結果より、IL-4 刺激により惹起されるミクログリア細胞内 Zn^{2+} 放出は M2 ミクログリアの Arg-1 発現をネガティブレギュレーションし、IL-4 で誘導される食食活性の維持に重要な役割を果たしていることを示唆する新しい知見を得ることが出来た。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	新武 享朗
審 査 委 員	主 査 氏 名	山口 正洋 
	副 査 氏 名	古谷 博和 
	副 査 氏 名	数井 裕光 

題 目 The inhibitory role of intracellular free zinc in the regulation of Arg-1 expression in interleukin-4-induced activation of M2 microglia
(インターロイキン4誘導性M2ミクログリアのArg-1発現制御に対する細胞内遊離亜鉛の役割)

著 者 Takaaki Aratake, Youichirou Higashi, Yusuke Ueba, Tomoya Hamada, Takahiro Shimizu, Shogo Shimizu, Toshio Yawata, Tetsuya Ueba, Motoaki Saito

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Metalloomics, 10(10):1501-1509. 2018年10月

要 旨

【背景・目的】

亜鉛は生体において鉄に次いで多い必須微量元素である。脳内において多くの亜鉛は細胞内蛋白質と結合しており、細胞内遊離型亜鉛(Zn^{2+})濃度は低く維持されている。近年、細胞への刺激に応答して Zn^{2+} 濃度の増加が惹起されることが明らかになり、遺伝子発現やシグナル伝達などの細胞応答に重要な役割を担うことが示されている。

ミクログリアは中枢神経系における免疫担当細胞であり、活性化すると神経傷害性に機能するM1または神経保護性に機能するM2に極性誘導される。以前、我々は海馬神経細胞のシナプス小胞に貯蔵されている Zn^{2+} が脳虚血再灌流直後に大量に放出され、ミクログリアのM1極性誘導を促進することを報告した。一方、 Zn^{2+} のM2極性誘導やその神経保護作用における役割は未だ不明である。

M2ミクログリアのマーカー分子であるArginase-1(Arg-1)は誘導型一酸化窒素合成酵素と共通の基質であるL-アルギニンを代謝することで一酸化窒素産生を阻害し、抗炎症作用を発揮する。アルツハイマー病(AD)患者およびADモデルマウスにおいては脳内 Zn^{2+} ホメオスタシスの破綻が指摘されており、Arg-1発現の増加および基質であるL-アルギニンレベルの低下や、その一方でADの原因とされているアミロイド β のミクログリアによる貪

食（除去）作用の低下が報告されている。

これらのことから、Arg-1発現レベルは生理的な脳内において厳密に制御されていることが推測できるが、その機序に Zn^{2+} が関与するかは不明であり、M2ミクログリアにおけるArg-1発現、食食作用と Zn^{2+} の関係性も明らかにされていない。

そこで本研究は、 Zn^{2+} がミクログリアにおけるArg-1発現制御に関与するかどうか、また Zn^{2+} がミクログリアの食食作用に影響するかどうかを検討することを目的とした。

【方法】

C57BL/6マウス初代培養ミクログリアにM2極性誘導薬IL-4 (10ng/ml)を添加しM2へ極性誘導した。M2ミクログリアにおける細胞内 Zn^{2+} 濃度の変化を細胞膜透過性プローブ(FluoZin-3AM)により検討した。M2ミクログリアにおけるArg-1発現制御に細胞内 Zn^{2+} が関与するかを検討するため、細胞膜透過性キレーターTPENまたは細胞外キレーターCaEDTAを前処置しIL-4添加後のArg-1 mRNA発現誘導をリアルタイムPCR法により検討し、さらにArg-1活性を測定した。IL-4添加後のミクログリア食食活性に細胞内 Zn^{2+} が関与するかを検討するため、TPENで前処置したIL-4誘導M2ミクログリアにおける食食活性を蛍光ラテックスビーズを用いて評価した。さらに、Arg-1の基質であるL-アルギニン補充の食食活性に対する効果を検討した。

【結果・考察】

FluoZin-3AMシグナルはIL-4添加1-3時間後では観察されず6時間後の細胞質全体で観察された。このFluoZin-3AMシグナルの増加は、TPEN前処置により消失したがCaEDTA前処置では消失しなかった。Arg-1 mRNAレベルはIL-4添加1-6時間後まで時間依存的に増加し、TPEN前処置は1-3時間後までのArg-1 mRNA発現誘導に有意な影響を示さなかったが、6時間後の発現レベルを顕著に増大させた。一方、CaEDTA前処置はIL-4刺激によるArg-1 mRNA発現誘導に影響を及ぼさなかった。また、ミクログリアの蛍光ラテックスビーズに対する食食作用はIL-4添加6時間後に増加し、これはTPEN前処置により阻止され、L-アルギニン補充により回復した。

【結論】

以上の結果より、IL-4刺激により惹起されるミクログリア細胞内 Zn^{2+} 放出はM2ミクログリアのArg-1発現を抑制し、IL-4で誘導される食食活性の維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

以上本論文は、M2ミクログリアの抗炎症作用、神経保護作用の鍵となるArg-1発現および食食作用を、細胞内 Zn^{2+} が適正に制御していることを示した。この知見は、脳の炎症抑制や治癒促進における亜鉛の役割の理解を深め、新たな治療法の開発に発展し得る、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)	山本 新九郎 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第131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4年3月23日
学位論文題目	Predictors of therapeutic efficacy of 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy in human prostate cancer (ヒト前立腺癌に対する5-アミノレブリン酸を用いた光線力学的治療の治療効果予測因子の検討)
発表誌名	Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, Sep;35:102452 2021年9月 Epub:2021年7月21日

審査委員	主査	教授	宮村	充彦
	副査	教授	花崎	和弘
	副査	教授	降幡	睦夫

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名	山本 新九郎
論文題目	Predictors of therapeutic efficacy of 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy in human prostate cancer (ヒト前立腺癌に対する5-アミノレブリン酸を用いた光線力学的治療の治療効果予測因子の検討)
<p>(論文要旨)</p> <p>[背景・目的] 近年、繰り返し実施可能な低侵襲治療法として、前立腺癌に対する光線力学的治療(PDT)に注目が集まっている。光感受性物質5-アミノレブリン酸(ALA)は、癌細胞内に取り込まれると、プロトポルフィリン IX(PpIX)に代謝され、癌細胞に異常蓄積する。この光活性を有するPpIXが異常蓄積した癌細胞に、赤色光を照射すると活性酸素種が発生し、細胞死が誘導されるため、細胞を標的としたPDTとして、様々な癌種でその有用性と治療効果予測因子が研究されているが、前立腺癌に対する報告はほとんどない。本研究は、ALAを用いた光線力学的治療(ALA-PDT)の前立腺癌に対する有効性と治療効果予測因子を検討した。</p> <p>[方法] ① 本研究では、ヒト前立腺癌細胞株4種(PC-3, 22Rv1, DU145, LN Cap)を用いた。フローサイトメリーを用いて、各前立腺癌細胞株の細胞内PpIX蓄積量を評価し、MTT法を用いて、ALA-PDT(波長: 631 nm, 光照射強度: 40 mW/cm², 照射エネルギー: 12 J/cm²)後の細胞生存率を測定し、ALA-PDT高感受性群と低感受性群の2群に分けた。次に、ALA-PDT治療効果に関連する因子を同定するため、qRT-PCR法を用いて、ポルフィリン代謝関連酵素およびトランスポーターのmRNA発現量を網羅的に解析した。同定した遺伝子について、Western blotting法を用いて、タンパク質発現量を解析した。次に、同定因子の阻害剤を併用し、細胞内PpIX蓄積量とALA-PDT後の細胞生存率の変化を解析した。 ② さらに、2種の細胞株をヌードマウスに背部異所移植し、担癌マウスモデルを作成し、免疫組織化学染色法を用いて、同定因子の発現を評価した。また、ALA100 mg/kgを腹腔内投与後3時間後に、PDT(波長: 629 nm, 照射強度: 100 mW/cm², 照射エネルギー: 60 J/cm²)を実施し、治療効果について、Effective ratio(変性領域の面積/腫瘍領域全体の面積)を算出することで評価し、ABCG2の発現と治療効果を解析した。</p> <p>[結果] ① 細胞内PpIX蓄積量とALA-PDT後の細胞生存率は負の相関を示し、ALA-PDT高感受性株(PC-3, LNCap)と低感受性株(22Rv1, DU145)に分けられた。mRNA発現解析の結果、ABCG2トランスポーター(以下、ABCG2)において、ALA-PDT高感受性株と低感受性株の間で有意な差を認めた。さらに、ABCG2二量体タンパク質発現量を解析した結果、22Rv1とDU145で高発現していた。ABCG2阻害薬であるFumitremorgin C (FTC)を併用し、細胞内PpIX蓄積量とALA-PDT後の細胞生存率を測定した結果、ABCG2高発現株である22Rv1, DU145は、FTC併用群において細胞内PpIX蓄積量の有意な増加と細胞生存率の有意な低</p>	

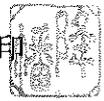
下を認めた。PC-3, LNCap は ALA-PDT 高感受性株かつ ABCG2 低発現株, 22Rv1, DU145 は ALA-PDT 低感受性株かつ ABCG2 高発現株,と考えられた。

② 免疫組織化学染色法を用いた ABCG2 発現解析の結果では, 1 視野毎の ABCG2 陽性細胞数が, PC-3 では平均 90.7 ± 74.5 個/視野であったが, 22Rv1 では平均 246.2 ± 124.0 個/視野と有意に多い結果となった($p=0.017$)。さらに, ALA-PDT の治療効果を解析した結果, PC-3 は平均の Effective ratio が 54.6%であったが, 22Rv1 は 18.1%と有意に低い結果となった($p=0.04$)。

[結論]

ヒト前立腺癌に対する ALA-PDT の有効性が示され, さらに ABCG2 トランスポーターの発現評価が, 治療効果予測に有用である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	山本 新九郎
審 査 委 員	主 査 氏 名	宮村 充彦 
	副 査 氏 名	花崎 和弘 
	副 査 氏 名	降幡 睦夫 

題 目 Predictors of therapeutic efficacy of 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy in human prostate cancer
(ヒト前立腺癌に対する5-アミノレブリン酸を用いた光線力学的治療の治療効果予測因子の検討)

著 者 Shinkuro Yamamoto・Hideo Fukuhara・Hitomi Seki・Chiaki Kawada・Taku Nakayama・Takashi Karashima,・Shun-Ichiro Ogura,・Keiji Inoue

発表誌名、

Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, Sep;35:102452
2021年9月

要 旨

【目的】近年、繰り返し実施可能な低侵襲治療法として、前立腺癌に対する光線力学的治療 (PDT) に注目が集まっている。光感受性物質 5-アミノレブリン酸 (ALA) は、癌細胞内に取り込まれると、プロトポルフィリン IX (PpIX) に代謝され、癌細胞に異常蓄積する。この光活性を有する PpIX が異常蓄積した癌細胞に、赤色光を照射すると活性酸素種が発生し、細胞死が誘導されるため、細胞を標的とした PDT として、様々な癌種でその有用性と治療効果予測因子が研究されているが、前立腺癌に対する報告はほとんどない。

このような背景から学位申請者は、ALA を用いた光線力学的治療 (ALA-PDT) の前立腺癌に対する有効性と治療効果予測因子を検討した。

【方法】本研究では、以下の二つの実験系により評価を行っている。

- ①ヒト前立腺癌細胞株 4 種 (PC-3, 22Rv1, DU145, LN Cap) を使い、フローサイトメトリーを用いて、各前立腺癌細胞株の細胞内 PpIX 蓄積量を評価し、MTT 法を用いて、ALA-PDT (波長: 631 nm, 光照射強度: 40 mW/cm², 照射エネルギー: 12 J/cm²) 後の細胞生存率を測定し、ALA-PDT 高感受性群と低感受性群の 2 群に分けた。次に、ALA-PDT 治療効果に関連する因子を同定するため、qRT-PCR 法を用いて、ポルフィリン代謝関連酵素およびトランスポーターの mRNA 発現量を網羅的に解析した。同定した遺伝子について、Western blotting 法を用いて、タンパク質発現量を解析した。次に、同定因子の阻害剤を併用し、細胞内 PpIX 蓄積量と ALA-PDT 後の細胞生存率の

変化を解析した。

- ② 2種の細胞株(PC-3, 22Rv1)をヌードマウスに背部異所移植し、担癌マウスモデルを作成し、免疫組織化学染色法を用いて、同定因子の発現を評価した。また、ALA100 mg/kgを腹腔内投与後3時間後に、PDT(波長: 629 nm, 照射強度: 100 mW/cm², 照射エネルギー: 60 J/cm²)を実施し、治療効果について、Effective ratio(変性領域の面積/腫瘍領域全体の面積)を算出することで評価し、ABCG2の発現と治療効果を解析した。

【結果・考察】

- ① 細胞内PpIX蓄積量とALA-PDT後の細胞生存率は負の相関を示し、ALA-PDT高感受性株(PC-3, LNCap)と低感受性株(22Rv1, DU145)に分けられた。mRNA発現解析の結果、ABCG2トランスポーター(以下、ABCG2)において、ALA-PDT高感受性株と低感受性株の間で有意な差を認めた。さらに、ABCG2二量体タンパク質発現量を解析した結果、22Rv1とDU145で高発現していた。ABCG2阻害薬であるFumitremorgin C (FTC)を併用し、細胞内PpIX蓄積量とALA-PDT後の細胞生存率を測定した結果、ABCG2高発現株である22Rv1、DU145は、FTC併用群において細胞内PpIX蓄積量の有意な増加と細胞生存率の有意な低下を認めた。PC-3 LNCapはALA-PDT高感受性株かつABCG2低発現株、22Rv1、DU145はALA-PDT低感受性株かつABCG2高発現株、考察している。
- ② 免疫組織化学染色法を用いたABCG2発現解析の結果では、1視野毎のABCG2陽性細胞数が、PC-3では平均90.7 ± 74.5個/視野であったが、22Rv1では平均246.2 ± 124.0個/視野と有意に多い結果となった(p=0.017)。さらに、ALA-PDTの治療効果を解析した結果、PC-3は平均のEffective ratioが54.6%であったが、22Rv1は18.1%と有意に低い結果となった(p=0.04)。

ヒト前立腺癌に対するALA-PDTの有効性が示され、さらにABCG2トランスポーターの発現評価が、治療効果予測に有用であると考察している。

学位申請者は、5-アミノレブリン酸が、癌細胞内に取り込まれプロトポルフィリンIXに代謝され、癌細胞に異常蓄積し、光感受性を持つことを手術等に応用する光線力学的治療の検討を行っている。その光線力学的治療の検討の中で、プロトポルフィリンIXに赤色光照射により活性酸素種が発生、細胞死を誘導することを前立腺癌に臨床応用するために、5-アミノレブリン酸の細胞外排出を担うトランスポーターABCG2の発現と各種の前立腺がん細胞株に対する有効性との関連等について明らかとし、光線力学的治療効果予測に関わる貴重な資料を得た。よって、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)	OU YANGLAN (中華人民共和国)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第132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4年3月23日
学位論文題目	Saikokeishikankyoto extract alleviates muscle atrophy in KKAY mice (柴胡桂枝乾湯抽出物は糖尿病肥満モデルマウスにおける筋萎縮を抑制する)
発表誌名	Journal of natural medicines, in press

審査委員	主査	教授	池内	昌彦
	副査	教授	花崎	和弘
	副査	教授	北岡	裕章

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学 位 論 文 要 旨

	氏 名	Ou Yanglan
論 文 題 目	Saikokeishikankyoto extract alleviates muscle atrophy in KKAY mice (柴胡桂枝乾姜湯抽出物は糖尿病肥満モデルマウスにおける筋萎縮を抑制する)	
<p>【目的】</p> <p>サルコペニア肥満は内臓脂肪の増加と筋肉量の低下が合併した病態であり、運動機能の低下を招き、患者の生活の質を著しく低下させる。現在、サルコペニア肥満に対する治療法は主に運動療法であり、薬物療法が存在しないのが現状であり、高齢社会においてその開発は喫緊の課題である。サルコペニア肥満は、肥満細胞の肥大化に伴い、インスリン感受性の低下、炎症性サイトカインや酸化ストレスの産生の増加により、骨格筋において Muscle RING Finger Protein-1 (MuRF1)や Atrogin1 等のユビキチンリガーゼが誘導され、骨格筋萎縮が起こる。これまでに長寿遺伝子である Sirtuin1 (Sirt1)の発現の増加により、筋萎縮が抑制されることが報告されている。このことは、Sirt1 が炎症性サイトカインの産生の抑制や酸化ストレスの軽減、ユビキチンリガーゼの産生抑制に関与するためである。以上より、申請者は Sirt1 に注目し、Sirt1 を指標とした <i>in vitro</i> の実験系を構築し、漢方薬のうち補剤に分類される 62 種類の漢方薬についてスクリーニングを行い、最も有用であると考えられた桂枝柴胡乾姜湯(SKK)について、糖尿病肥満モデルマウスである KKAYマウスを用いて、サルコペニア肥満における筋萎縮抑制効果について検討を行った。</p> <p>【方法】</p> <p>細胞実験: 62 種類の漢方薬は(株)ツムラから恵与いただいたの賦形剤添加前のエキスを使用した。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、62 種類の漢方エキス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。さらに、スクリーニングで最も有用であると考えられる SKK 及びその構成生薬のエキスも同様に Sirt1 転写量を測定した。なお SKK の構成生薬のエキスは株式会社ツムラから購入した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た後、エバポレーターで濃縮し、SKK および各構成生薬の 1 日投与量に換算した量を使用した。</p> <p>動物実験: KKAYマウスに通常餌 (CE-2)、又は2%、4%(w/w)SKK混合餌を、42日間投与した。また、陽性対照群には0.4%(w/w)レスペラトール混合餌を与えた。飼育期間中は、7日おきに</p>		

体重と血糖値の測定、ロータ・ロッド試験を実施した。SKK投与開始日から42日目に麻酔下で開腹し、下大静脈より全血液を採取し、ELISA法にて血中の炎症性サイトカインであるTNF α 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線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法にてSirt1、MuRF1、Atrogin1のmRNA発現量を比較した。

【結果・考察】

in vitro での評価の結果、62種類の漢方薬の中でSKKがSirt1の転写活性を強く誘導することが明らかになった。KKAyマウスにSKKを投与することにより、骨格筋の萎縮が抑制され、sirt1のmRNAの発現が増加することが示唆された。また、SKKの投与により、炎症性サイトカインの発現が抑制され、ユビキチンリガーゼであるAtrogin1のmRNAの発現が減少した。以上よりSKKは、サルコペニア肥満における筋萎縮を抑制すると考えられる。

高血糖状態では、炎症性サイトカインの過剰分泌、酸化ストレスの増大、インスリン抵抗性の増大などにより、主に速筋で骨格筋の萎縮が起こる。本研究では、骨格筋の萎縮が、KKAyマウスにおいて速筋優位な腓腹筋と長趾伸筋の湿重量の低下が認められた。一方、SKKを投与したマウスでは、これらの筋肉の湿重量の低下が有意に抑制された。特に腓腹筋においては、4%のSKK投与により筋線維断面積においても有意に低下を抑制した。一方、遅筋優位なヒラメ筋ではSKK投与による差は認められなかった。これらの結果から、SKKはKKAyマウスの速筋優位な筋肉における筋萎縮を有意に抑制することが示唆された。

サルコペニア肥満における筋萎縮の主な原因は、炎症性サイトカインの発現増加とそれに伴う酸化ストレスの増加、ユビキチンリガーゼの増加である。一方、Sirt1は、TNF α などの炎症性サイトカインの産生を抑制し、抗酸化酵素の発現を増加させ、ユビキチンリガーゼの産生を抑制し、骨格筋の萎縮を抑制することが知られている。本研究では、SKKが腓腹筋のSirt1の発現を誘導する一方で、血中のTNF α の発現を減少させることが示唆された。また、4%のSKKを投与したKKAyマウスにおいて、ユビキチンリガーゼであるAtrogin1のmRNA発現量を有意に減少させた。

SKKは7種類の生薬で構成されており、それぞれの生薬において様々な機能が報告されている。桂枝の成分であるCinnamic aldehydeや柴胡の成分であるSaikosaponinは、炎症性サイトカインの分泌を減少させることが報告されている。また、黄芩の成分であるBaicalinは、インスリン抵抗性を改善することが報告されている。本研究では、C2C12細胞において、桂枝、黄芩、甘草が高いSirt1転写活性を有することが示唆された。これらのことから、SKKの筋萎縮抑制効果は、構成生薬である桂枝、黄芩、甘草、柴胡によるものであると考えられる。

本研究の結果、SKKはKKAyマウスの筋萎縮を抑制することが示唆された。KKAyマウスの骨格筋萎縮は、サルコペニア肥満の症状に酷似しており、SKKは臨床においてサルコペニア症状の進行を抑制することが期待される。

論文審査の結果の要旨

		氏 名	Ou Yanglan
審 査 委 員	主 査 氏 名	池内 昌彦	
	副 査 氏 名	花崎 和弘	
	副 査 氏 名	北岡 裕章	

題 目 Saikokeishikankyoto extract alleviates muscle atrophy in KKAY mice
(柴胡桂枝乾姜湯抽出物は糖尿病肥満モデルマウスにおける筋萎縮を抑制する)

著 者 Yanglan Ou, Kohei Jobu, Tomoaki Ishida, Shumpei Morisawa, Hiroko Fujita,
Kei Kawada, Saburo Yoshioka, Mitsuhiko Miyamura

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

要 旨

【背景・目的】

サルコペニア肥満は内臓脂肪の増加と筋肉量の低下が合併した病態であり、運動機能の低下を招き、患者の生活の質を著しく低下させる。現在、サルコペニア肥満に対する治療法は主に運動療法であり、薬物療法が存在しないのが現状であり、高齢社会においてその開発は喫緊の課題である。サルコペニア肥満は、肥満細胞の肥大化に伴い、インスリン感受性の低下、炎症性サイトカインや酸化ストレスの産生の増加により、骨格筋において Muscle RING Finger Protein-1 (MuRF1)や Atrogin1 等のユビキチンリガーゼが誘導され、骨格筋萎縮が起こる。これまでに長寿遺伝子である Sirtuin1 (Sirt1) の発現の増加により、筋萎縮が抑制されることが報告されている。このことは、Sirt1 が炎症性サイトカインの産生の抑制や酸化ストレスの軽減、ユビキチンリガーゼの産生抑制に関与するためである。以上より、著者らは Sirt1 に注目し、Sirt1 を指標とした in vitro の実験系を構築し、62 種類の漢方薬についてスクリーニングを行い最も有用な漢方薬を同定した。次に、同定した漢方薬を使って糖尿病肥満モデルマウス (KKAy マウス) における筋萎縮抑制効果を検討した。

【方法】

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、62 種類の漢方エキス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。

動物実験：KKAy マウスに通常餌(CE-2)、又は細胞実験で同定した漢方薬の 2%、4%(w/w) 混合餌を、42 日間投与した。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。漢方薬投与開始日から 42 日目に麻酔下で開腹し、下大静脈より全血液を採取し、ELISA 法にて血中の炎症性サイトカインである TNF α を測定した。また、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、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い筋線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 法にて Sirt1、MuRF1、Atrogin1 の mRNA 発現量を比較した。

【結果】

細胞実験の結果、62種類の漢方薬の中で柴胡桂枝乾姜湯 (SKK) が Sirt1 の転写活性を強く誘導することが明らかになった。また動物実験の結果、KKAy マウスに SKK を投与することにより、骨格筋萎縮は抑制、運動機能が保たれるとともに、sirt1 の mRNA の発現が増加した。また、SKK の投与により、TNF α の発現が抑制され、ユビキチンリガーゼである Atrogin1 の mRNA の発現が減少した。

【考察】

サルコペニア肥満における筋萎縮の主な原因は、炎症性サイトカインの発現増加とそれに伴う酸化ストレスの増加、ユビキチンリガーゼの増加である。一方、Sirt1 は、TNF α などの炎症性サイトカインの産生を抑制し、抗酸化酵素の発現を増加させ、ユビキチンリガーゼの産生を抑制し、骨格筋の萎縮を抑制することが知られている。本研究では、SKK が腓腹筋の Sirt1 の発現を誘導する一方で、血中の TNF α の発現を減少、さらにユビキチンリガーゼである Atrogin1 の mRNA 発現量を有意に減少させた。SKK の筋萎縮抑制効果はこれらの機序を介していると考えられる。

SKK は 7 種類の生薬で構成されており、それぞれの生薬において様々な機能性が報告されている。桂枝や柴胡は、炎症性サイトカインの分泌を減少させることが報告されている。また、黄芩はインスリン抵抗性を改善することが報告されている。本研究では、C2C12 細胞において、桂枝、黄芩、甘草が高い Sirt1 転写活性を有することが示唆された。これらのことから、SKK の筋萎縮抑制効果は、構成生薬である桂枝、黄芩、甘草、柴胡によるものであると考えられる。

本研究の結果、SKK は KKAy マウスの筋萎縮を抑制することが明らかになった。KKAy マウスの骨格筋萎縮は、サルコペニア肥満の症状に酷似しており、SKK は臨床においてサルコペニア症状の進行を抑制することが期待される。

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)	中谷 貴恵 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第133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4年3月23日
学位論文題目	Gene therapy with SOCS1 induces potent preclinical antitumor activities in oral squamous cell carcinoma. (SOCS1による遺伝子治療は口腔扁平上皮癌において強力な抗腫瘍活性を誘導する)
発表誌名	Journal of Oral Pathology and Medicine ㊦ Press

審査委員	主査	教授	宇高	恵子
	副査	教授	井上	啓史
	副査	教授	佐竹	悠良

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	中谷貴恵
論文題目	Gene therapy with SOCS1 induces potent preclinical antitumor activities in oral squamous cell carcinoma. (SOCS1による遺伝子治療は口腔扁平上皮癌において強力な抗腫瘍活性を誘導する)	
<p>(論文要旨)</p> <p>【背景・目的】 口腔扁平上皮癌(OSCC)に対する治療は進歩しているにもかかわらず、累積5年生存率は50%程度にとどまっている。OSCCの治療には外科療法、化学療法、放射線療法などがあり、患者の状態に合わせてこれらの治療法が単独あるいは組み合わせで用いられている。しかしながら、外科療法では口腔機能の障害、化学療法や放射線療法では治療抵抗性や有害事象などの問題があり、OSCCの治療成績および患者QOLの向上のためには新規治療の開発が望まれる。 近年、JAK/STAT経路の活性化がOSCCを含むさまざまな癌細胞の増殖に関連し、STATが恒常的に活性化している癌の予後は不良であると報告されている。Suppressor of cytokine signaling 1(SOCS1)はJAKを阻害することにより細胞内サイトカインシグナル伝達経路を阻害する分子で、SOCS1を過剰発現させるとMAPK経路を含むさまざまなシグナル伝達経路が抑制されることが知られている。本研究では、OSCCに対するSOCS1の抗腫瘍効果およびその作用機序を明らかにすることとした。</p> <p>【材料・方法】 株化OSCC細胞(KOSC2 cl3-43 および T3M-1 clone 2)にSOCS1発現アデノウイルスベクター(AdSOCS1)あるいはコントロールベクター(AdLacZ)を感染させるか、JAK inhibitor Iで処理した後、生細胞染色試薬で染色後、吸光度を測定することにより細胞増殖を評価した。さらに、フローサイトメリー法にて細胞周期を、カスパーゼ活性キットにてアポトーシスを解析するとともに、SOCS1、STAT3、pSTAT3、p44/42、pp44/42 および Mcl-1 の発現をWestern blotting法にて検討した。加えて、ゼノグラフトマウスモデルを作製し、AdSOCS1の抗腫瘍効果を <i>in vivo</i> で評価した。</p> <p>【結果】 株化OSCC細胞にAdSOCS1を感染させると細胞増殖が抑制されるとともに、G2/M期における細胞周期停止とアポトーシスの誘導が認められた。さらに、AdSOCS1感染細胞においてはpSTAT3、pp44/42 および Mcl-1 の発現が抑制された。株化OSCC細胞をJAK inhibitor Iで処理すると、両細胞株において細胞増殖が抑制されるとともにG2/M期に細胞周期の停止が認められたが、アポトーシスの誘導はT3M-1 clone 2のみで認められた。JAK inhibitor Iで処理した細胞においてはpSTAT3の発現が抑制されたが、pp44/42 および Mcl-1 の発現は阻害されなかった。ゼノグラフトモデルマウスの腫瘍内にAdSOCS1を投与したところ、腫瘍細胞にアポトーシスが誘導されるとともに腫瘍の増殖がAdLacZ投与に比べ有意に抑制された。</p> <p>【考察】 AdSOCS1を両OSCC細胞株に感染させるといずれの細胞株においてもpSTAT3の発現抑制とともに細胞増殖抑制とアポトーシス誘導が確認され、さらに、OSCC皮下移植モデルにおいてもAdSOCS1は優れた抗腫瘍効果を発揮した。一方、JAK inhibitor IでOSCC細胞株を処理すると両細胞株において細胞増殖が抑制されたが、KOSC2 cl3-43ではアポトーシス誘導は認められなかった。これらの結果より、KOSC2 cl3-43のアポトーシスはJAK/STAT経路非依存的に誘導されると考えられた。さらに、AdSOCS1を感染させたOSCC細胞ではp44/42やその下流に位置する抗アポトーシスタンパク質Mcl-1の発現が阻害されたが、JAK inhibitor Iで処理してもこれらの発現は抑制されなかった。このことより、AdSOCS1はOSCC細胞においてJAK/STAT経路のみならずp44/42 MAPK経路を介するMcl-1の抑制を阻害することによりアポトーシスを誘</p>		

導すると考えられる。以上のことより、OSCCにおいてSOCS1の強発現は、*in vitro*および*in vivo*の両者で抗腫瘍活性をもたらすことより、SOCS1遺伝子を用いた遺伝子治療はOSCCの治療法として有用となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	中谷 貴恵
審 査 委 員	主 査 氏 名	宇高 恵子 
	副 査 氏 名	井上 啓史 
	副 査 氏 名	佐竹 悠良 

題 目 Gene therapy with SOCS1 induces potent preclinical antitumor activities in oral squamous cell carcinoma.

(SOCS1 による遺伝子治療は口腔扁平上皮癌において強力な抗腫瘍活性を誘導する)

著 者 Kie Nakatani, Satoshi Serada, Minoru Fujimoto, Kengo Obata, Tomoharu Ohkawara, Eri Sasabe, Tetsuya Yamamoto, Tetsuji Naka

発表誌名、巻 (号)、ページ (~), 年 月

要 旨 Journal of Oral Pathology and Medicine In Press

中谷貴恵さんの学位審査は、2月1日16時より1時間あまりにわたり行いました。まず研究内容を公開で発表していただきました。

いくつかの悪性腫瘍で JAK/STAT 系の亢進が観察され、口腔扁平上皮がん(OSCC)でも STAT3 系の恒常的な活性化が予後不良の転帰を示唆する。そこで、JAK/STAT 系のシグナル伝達を抑制することにより、腫瘍細胞の成長抑制をはかる治療法の開発が考えられる。抑制の方法として、この研究では既存の小分子 JAK inhibitor I Pyridone 6 と Adenovirus vector に JAK/STAT 系を抑制する SOCS1 タンパクをコードする遺伝子を挿入して腫瘍細胞で高発現させる方法 (AdSOCS1) を比較した。

2種類のヒト OSCC 株、KOSC2 c13-43 と T3M-1 について両者の直接的な抗腫瘍効果を調べたところ、in vitro 培養において腫瘍細胞の成長は JAK inhibitor I、AdSOCS1 ともに顕著な成長抑制を示した。これらの細胞は多くが G2/M 期において cell cycle が停止しており、その効果は、試した MOI 160 の条件下では AdSOCS1 の方がより顕著であった。さらに、腫瘍細胞における自発的な細胞死 (apoptosis) 誘導能を Caspase 3/7 活性により調べたところ、JAK inhibitor I では細胞株によって apoptosis が誘導される場合 (T3M-1) とそうでない場合 (KOSC2 c13-43) があつたが、AdSOCS1 では MOI 依存性にどちらの細胞株でも apoptosis の誘導が観察された。これら AdSOCS1 感染細胞では顕著な STAT3 シグナルの抑制が確認された。さらに、JAK/STAT の下流にある p44/42 MAPK 活性を調べたところ、AdSOCS1 感染細胞では JAK inhibitor I とは逆にリン酸化の著明な低下がみられた。その下流で apoptosis 誘導に働く Mcl-1 の発現も、JAK inhibitor I では変化しなかったが、AdSOCS1 感染細胞ではタンパク質としての発現がほとんど

消失していた。このことが、AdSOCS1 が腫瘍種によらず apoptosis 誘導活性を發揮する理由のひとつである可能性が示唆された。

これらの活性をふまえて最後に、AdSOCS1 の *in vivo* 抗腫瘍効果を、ヌードマウスを用いて xenogeneic 担癌マウスを作製して調べた。AdSOCS1 感染粒子を週 2 回 3 週にわたり腫瘍内投与したところ、いずれの腫瘍細胞株においても顕著な腫瘍制御効果がみられた。腫瘍組織においては、TUNEL 法により腫瘍細胞の apoptosis が確認された。一方、マウスの体重変化に反映されるような副作用はみられず、安全に投与できることがわかった。

JAK/STAT 系の腫瘍化への貢献度は、今回記載しなかった細胞株も含めて、調べたヒト OSCC によって異なることがわかった。SOCS1 の高発現による腫瘍殺傷効果には JAK inhibitor I の活性とは異なる経路を介した作用が示唆され、また、JAK inhibitor I は NK 細胞の活性も低下させることがわかっており、SOCS1 の高発現を利用した治療法の開発が、今後期待される。

研究発表ののち、審査員からは、口腔がんの中でも扁平上皮癌と腺癌では Coxsackie-Adenovirus receptor (CAR) の発現レベルの違いがみられるものか、腫瘍制御にウイルスの腫瘍内投与を 6 回も繰り返しているが、回数が少ない場合の腫瘍制御効果はどの程度のものか、などの質問があった。また、CAR 発現量の違いと治療後の予後に関連はあるか、という質問も出た。また、実臨床の場合においては腫瘍の動向を考える上でホストの免疫反応を考えることが重要であるが、今回のヌードマウスの実験系では主として腫瘍細胞に対する直接効果を *in vivo* で調べるデザインになっており、臨床応用への距離はまだある印象を受ける、今後その距離を縮める方向で研究を進める必要がある、という意見も出た。さらに、今回はヒトの OSCC 細胞株が使われたが、正常の免疫機能が観察できるマウスの腫瘍細胞の接種実験による腫瘍制御効果を調べることが望ましいと議論がもちかけられた。

これらの議論に対して中谷さんは、質疑の内容をよく理解し、適切に議論を進めることができた。また、研究中に得た結果や情報をあげて説明した。これらの審査状況をふまえて、審査員一同、申請者は高知大学博士（医学）の称号を授与するに値する研究内容であると判断した。

氏名(本籍)	中屋 雄太 (愛媛県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第134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4年3月23日
学位論文題目	Early cardiac rehabilitation for acute decompensated heart failure safely improves physical function (PEARL study): a randomized controlled trial (急性非代償性心不全への早期心臓リハビリテーションは身体機能を安全に改善できる-パール研究: 無作為化コントロール試験)
発表誌名	European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine. 2021 Jul 22. doi: 10.23736/S1973-9087.21.06727-7. Online ahead of print 2021年7月22日

審査委員

主査	教授	渡橋	和政
副査	教授	佐藤	隆幸
副査	教授	池内	昌彦

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	<p>氏名 中屋 雄太</p> <p>Early cardiac rehabilitation for acute decompensated heart failure safely improves physical function (PEARL study): a randomized controlled trial (急性非代償性心不全への早期心臓リハビリテーションは身体機能を安全に改善できる-パール研究:無作為化コントロール試験)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>背景: 人口の高齢化とともに心不全の患者数が増加し、大きな問題となっている。慢性心不全患者の生命予後の指標として運動耐容能は重要である。一方、フレイルなどを併し身体機能が低下している高齢急性非代償性心不全 (acute decompensated heart failure: ADHF) 患者の場合、運動耐容能よりも Short Physical Performance Battery (SPPB) の改善が予後良好の指標になると報告されている。心不全は、左室駆出率 (Left ventricular ejection fraction: LVEF) が低下した心不全 (Heart failure with reduced EF; HFrEF) と左室駆出率が保たれた不全 (Heart failure with preserved EF; HFpEF) に大別されるが、これまでの検討は HFrEF 患者に限った検討がほとんどであり、HFpEF を含む患者における SPPB を改善するための安全で効果的な介入方法に関する検討は少ない。加えて、離床から歩行を中心とした心不全に対する標準的な心臓リハビリテーションプログラムが日本で広く使用されているが、これが高齢 ADHF 患者の SPPB を改善するのに十分であるかどうかは不明である。</p> <p>目的: 標準的な心臓リハビリテーションプログラムに複数領域の身体機能への介入を追加することで、心不全の病型に関係なく、高齢 ADHF 患者の SPPB の改善に効果的であるか評価すること。</p> <p>方法: 無作為化、前向き研究。</p> <p>対象: 2019年3月から2020年3月までに入院した高齢 ADHF 患者を、介入群とコントロール群の2群にランダム化した。コントロール群は標準的な心臓リハビリテーションを実施した。介入群は、標準的な心臓リハビリテーションプログラムに加えてバランストレーニングとレジスタンストレーニング、サイクリングエルゴメータを使用した。主要アウトカムは、心臓リハビリテーション後の SPPB の改善とした。セカンドアウトカムは握力、等尺性膝伸展筋力、通常歩行速度の介入前後変化、および退院時の片脚立位時間、Timed Up & Go test、6分間歩行とした。サブグループ分析として HFpEF 患者に対する介入効果を検討した。統計解析には主要アウトカムには共変量分析、セカンドアウトカムには Student's t-検定と Mann-Whitney U 検定を使用した。統計学的有意水準は5%とした。</p> <p>結果: 75人の患者が2群に分けられた (介入群、n=36; コントロール群、n=39)。それぞれ HFpEF の頻度は両群で有意差は認めなかった (58%対64%、p=0.39)。ベースラインにおいて、両群とも身体的パフォーマンスの低下 (SPPB: 5.9±2.6対6.5±2.8点、p=0.36) と高いフレイルの合併 (50%対46%、p=0.46) を認めたが両群で有意差を認めなかった。試験終了時における SPPB の改善は、介入群で+3.7±1.1、コントロール群で+1.5±1.7点と有意であった (p<0.001)。介入群では全例 SPPB スコアが増加 (+1~+6点) したのに対し、コントロール群では3名低下を示した (-1~-3点)。SPPB の3つの構成の解析では、歩行速度と立ち上がりの両方が、コントロール群と比較して介入群で有意に改善され、介入効果サイズはそれぞれ+0.76と+0.94点であった (p<0.001)。セカンドアウトカムでは歩行速度において介入群で有意に改善 ((0.29±0.16対0.18±0.18 m/s, p<0.01) したが、残りの項目では有意差を認めなかった。HFpEF 患者に限った解析では、コントロール群と比較して介入群の SPPB スコアに有意な改善 (+3.4±1.0対+1.6±2.0点、p<0.001) が見られた。研究期間中に有害事象は観察されなかった。</p> <p>考察: 高齢者は入院前よりフレイル、サルコペニアを併していることが多く、入院を経験した高齢者の約35%は入院2日以上で退院時に歩行能力が低下すると報告されている。よって早期リハビ</p>	

リテーションの重要性が取り上げられているが、ADHF への早期心臓リハビリテーションは報告が限られており、安全で効果的な介入に関しては現在も検討されている。治療効果を評価する指標一つとして SPPB が注目されている。SPPB は日常生活動作の評価だけでなく、高齢者の予後予測の評価として有益であると報告されている。今回、高齢 ADHF 患者において心臓リハビリテーションに複数領域の身体的介入を行い、SPPB を効果的に改善することができた。

加齢やサルコペニア、廃用症候群を発症すると運動単位の減少により歩行機能が低下することが報告されている。サイクリングエルゴメータなどの両下肢のリズミカルな運動を行うことにより、人における歩行パターンを制御する central pattern generator を活性化することが可能となり、歩行能力の改善が得られると考える。レジスタンストレーニングは、筋力増強だけでなく毛細血管密度の増加、血管内皮機能の改善に寄与し、歩行能力、運動耐容能の改善、更に生命予後の改善も報告されている。本研究での SPPB の改善は、標準的な心臓リハビリテーションプログラムに早期より低強度のバランストレーニングとレジスタンストレーニング、サイクリングエルゴメータを加えることで筋力の改善を始めとする運動療法の効果が生じた結果と考えられた。統計学的に有意ではなかったが、介入群において下肢筋力の増加量が大きい傾向を示した ($+0.092 \pm 0.095 \text{kgf/BW}$ 対 $+0.066 \pm 0.012 \text{kgf/BW}$)。このことが SPPB の 5 回反復起立の有意な改善に寄与したと考える。

高齢 ADHF への早期からのサイクリングエルゴメータは安全面から懸念されることが多い。今回、安全面を優先し、介入群では 0Watt の低強度を選択し、駆動+駆動時間の 2 倍の休憩を 1 セットとし、3 セットを継続して行うことで安全に実施可能と考えた。結果、訓練中に悪化イベントが生じた症例は認めず、早期からのサイクリングエルゴメータを実施することで運動単位減少の予防、改善が得られ、SPPB の歩行スコア、加え歩行速度の改善が得られたと考える。

結論：標準的な心臓リハビリテーションに複数領域の身体的介入を加えることにより、HFpEF 患者を含む高齢 ADHF 患者の身体パフォーマンスが改善した。これは標準的な心臓リハビリテーションへの新たな追加プログラムを行うことにより更なる心臓リハビリテーションの効果を高めることができることを示唆する。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	中屋 雄太
審 査 委 員	主 査 氏 名	渡橋 和政 
	副 査 氏 名	佐藤 隆幸 
	副 査 氏 名	池内 昌彦 

題 目 Early cardiac rehabilitation for acute decompensated heart failure safely improves physical function (PEARL study): a randomized controlled trial
 (急性非代償性心不全への早期心臓リハビリテーションは身体機能を安全に改善できる-パール研究：無作為化コントロール試験)

著 者 Yuta Nakaya, Masanori Akamatsu, Akiyoshi Ogimoto, Hiroaki Kitaoka

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine. 2021 Jul 22.
 doi: 10.23736/S1973-9087.21.06727-7. Online ahead of print. 2021年7月22日

要 旨

【背景・目的】高齢化社会における心不全患者数増加が問題となっており、生命予後に運動耐容能が関与することが明らかになっている。一方、フレイルなど身体機能低下を伴う高齢急性非代償性心不全 (acute decompensated heart failure: ADHF) 患者では、Short Physical Performance Battery (SPPB) が予後の指標になると報告されている。心不全は左室駆出率が低下したもの(Heart failure with reduced EF; HFrEF)とそれが保たれたもの(Heart failure with preserved EF; HFpEF)に大別されるが、従来の検討はHFrEF患者がほとんどで、HFpEFを含む患者でSPPB改善を目的とした介入方法について検討したものは少ない。本研究の目的は、標準的心臓リハビリプログラムに複数領域の身体機能への介入を追加し高齢ADHF患者のSPPBを改善できるか評価することである。

【方法】2019年3月～2020年3月に入院した高齢ADHF患者を介入群とコントロール群に無作為に割り付け、コントロール群では標準的心臓リハビリを実施し、介入群はそれに加えバランストレーニング、レジスタンストレーニング、サイクリングエルゴメータを行った。主要アウトカムはリハビリ後のSPPB改善、セカンドアウトカムは握力、等尺性

膝伸展筋力、通常歩行速度の介入前後変化および退院時の片脚立位時間、Timed Up & Go test、6分間歩行とした。サブグループ分析として、HFpEF患者に対する介入効果を調査した。統計解析では、主要アウトカムに共変量分析、セカンドアウトカムにStudent t検定と Mann-Whitney U 検定を使用し、統計学的有意水準は5%とした。

【結果・考察】 介入群36名とコントロール群39名とでHFpEFの頻度は有意差なく（58%対64%、 $p=0.39$ ）、ベースラインで両群とも身体的パフォーマンス低下（SPPB：5.9±2.6対6.5±2.8点、 $p=0.36$ ）と高度フレイル合併（50%対46%、 $p=0.46$ ）を認めたが群間で有意差はなかった。試験終了時のSPPB改善は、介入群で+ 3.7±1.1、コントロール群で+ 1.5±1.7点と有意であった（ $p<0.001$ ）。介入群では全例SPPBスコアが増加（+1～+6点）したのに対し、コントロール群では3名低下を示した（-1～-3点）。SPPBの3つの構成の解析では、歩行速度と立ち上がり介入群で有意に改善され、介入効果サイズはそれぞれ+0.76と+0.94点であった（ $p<0.001$ ）。セカンドアウトカムでは歩行速度において介入群で有意に改善したが（0.29±0.16 対 0.18±0.18 m/s、 $p<0.01$ ）、残りの項目では有意差を認めなかった。HFpEF患者に限った解析では、コントロール群と比較して介入群のSPPBスコアに有意な改善（+3.4±1.0 対 +1.6±2.0点、 $p<0.001$ ）が見られた。今回、高齢ADHF患者で心臓リハビリに複数領域の介入を行いSPPBを改善できた。改善は、標準的な心臓リハビリプログラムに早期より低強度のトレーニングを加えることによるものと考えられた。介入群で下肢筋力の増加量が大きい傾向があり、SPPBの5回反復起立の有意な改善に寄与したと考える。安全面の懸念はあるが、安全面を優先して低強度を選択し適宜休憩を挟むことで、悪化イベントなくSPPBの歩行スコア歩行速度の改善が得られたと考える。

【結論】 標準的な心臓リハビリに複数領域の身体的介入を加えることにより、HFpEF患者を含む高齢ADHF患者の身体パフォーマンスが改善した。これは標準的なリハビリプログラムに追加プログラムを加えて、より効果を高めることができることを示唆する。

以上のように、本論文は高齢者心不全患者の予後改善に向け、心臓リハビリの追加プログラムによりSPPBを安全かつ効果的に改善しうることを証明したものであり、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。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行い、運動器疾患併存の影響、心拍数変化に関する機序や監視、自律神経機能などに関して討論した。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)	森沢 惇平 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第135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4年3月23日
学位論文題目	Association of 5-aminolevulinic acid with intraoperative hypotension in malignant glioma surgery (悪性神経膠腫手術における術中低血圧のリスク因子の探求と光学力学診断用剤5-Aminolevulinic acidの使用による術中低血圧発症への影響)
発表誌名	Photodiagnosis and photodynamic therapy, In press

審査委員

主査	教授	佐竹	悠良
副査	教授	小林	道也
副査	教授	河野	崇

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 森沢 惇平 Association of 5-aminolevulinic acid with intraoperative hypotension in malignant glioma surgery (悪性神経膠腫手術における術中低血圧のリスク因子の探求と光学力学診断用剤 5-Aminolevulinic acid の使用による術中低血圧発症への影響)
<p>【目的】</p> <p>悪性神経膠腫手術において術中の重篤な血圧低下はしばしば起こる。術中の重篤な血圧低下は虚血再灌流障害を引き起こし、重篤な臓器の機能障害を引き起こす可能性があるため、避けるべき有害事象である。また、最近では光線力学診断用剤 5-Amino levulinic acid (5-ALA) 製剤が、悪性神経膠腫手術で用いられている。5-ALA は細胞内でプロトポルフィリンIXに代謝され、腫瘍細胞に集積し蛍光発光するため、術中の腫瘍組織の可視化を目的として悪性神経膠腫手術の他にも筋層非浸潤性膀胱癌で使用されており、さらに様々ながんへの応用も期待されている。これまでに 5-ALA 製剤を用いた経尿道的膀胱腫瘍切除術において昇圧剤等の使用に関わらず、術中に重篤な低血圧を引き起こした事例が報告されている。しかしながら、5-ALA 製剤を使用した悪性神経膠腫患者の術中の循環動態への影響については十分な検討はなされていない。</p> <p>本研究では悪性神経膠腫手術の血圧変動について後ろ向きコホート研究を行い、術中低血圧(IOH; intraoperative hypotension)に対するリスク因子と 5-ALA 製剤の血圧に与える影響について検討した。また、5-ALA 製剤による血圧低下のメカニズムは明らかになっていないため、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVECs)を用いて <i>in vitro</i> の実験系を構築し、5-ALA 製剤による血圧低下のメカニズムを検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>臨床研究:2006 年 1 月～2020 年 2 月に、高知大学医学部附属病院及び高知医療センターにおいて、悪性神経膠腫に対して開頭脳腫瘍摘出術を受けた患者情報をレトロスペクティブに電子カルテより抽出した。当該患者の患者背景(年齢、性別、降圧剤使用の有無など)、術前/術中血圧、IOH の有無、術中使用薬剤(麻酔薬、昇圧剤)情報及び投与量について調査した。本研究では昇圧剤等の使用に関わらず収縮期血圧が 70mmHg 以下に低下した症例を IOH と定義した。IOH と患者背景や使用薬剤との関連についてロジスティック回帰分析を行った。</p> <p>細胞実験:HUVECs を 96well プレートに播種し、24 時間培養後、5-ALA を加え、一酸化窒素(NO)特異的蛍光プローブを用いて細胞内の NO を経時的に測定した。また 5-ALA 添加した 1 時間後に共焦点顕微鏡を用いて細胞内の NO 産生量を蛍光イメージで撮影した。</p> <p>【結果・考察】</p> <p>本研究の対象患者 142 例中、5-ALA 使用群は 66%(94/142)、5-ALA 不使用群は 34%(48/142)であった。単変量解析の結果、IOH に関連する因子は、年齢(71 [interquartile range(IQR); 65-78] vs. 66 [IQR;51-73]; $P=0.006$)、5-ALA 製剤の使用(89%(40/45) vs. 56%(54/97); $P<0.001$)、Renin-Angiotensin system (RAS) 阻害剤の使用(33%(15/45) vs. 12%(12/97); $P=0.005$)、Ca^{2+} チャンネル阻害剤の使用(42%(19/45) vs. 22%(21/97); $P=0.02$)であった。またロジスティック回帰分析の結果、IOH に対する独立する因子は年齢($OR=1.04$; 95% $CI=1.01-1.08$; $P=0.025$)と 5-ALA 製剤の使用($OR=6.72$; 95% $CI=2.05-22.1$; $P=0.003$)であった。5-ALA 製剤を使用した患者群で IOH を引き起こす要因を探索するために 5-ALA 使用群のみのサブグループ解析を行い、IOH に関連する因子を検討した。単変量解析の結果、5-ALA 使用群での IOH に関連する因子は、年齢(71 [IQR; 65-78] vs. 66 [IQR; 50-73]; $P=0.01$)、RAS 阻害剤の使用(35%(14/40) vs. 15%(8/54); $P=0.028$)の使用であった。これらの結果から IOH のリスク因子として 5-ALA 製剤の使用と高齢であることが明らかになった。また、5-ALA 製剤使用患者のうち、RAS 阻害剤を使用してい</p>	

る患者において IOH のリスクが高い可能性があることが明らかになった。これまでの研究では全身麻酔後の患者のうち、RAS 阻害剤を定期内服している患者において、麻酔導入後にカテコラミン不応性低血圧を引き起こすことが報告されており、術前に RAS 阻害剤を休薬することで術中の血行動態を安定させることも報告されているため、5-ALA 製剤を使用した悪性神経膠腫手術においても術前の休薬を考慮するべきである。

さらに 5-ALA 使用群と不使用群において手術当日の血圧変動を調査したところ、5-ALA 使用群では、血圧低下が認められた割合は有意に高く、5-ALA 経口内服後 3 時間後より手術終了まで持続的な血圧低下が認められた。当該手術は 5-ALA 経口内服後 3 時間後より開始されており、手術時間は平均 522 分 [IQR; 418-628]であった。この結果より 5-ALA による IOH は手術開始時にはすでに始まっているため、血圧変動リスクの高い悪性神経膠腫手術において、厳密な血圧管理・頭蓋内圧管理はより困難である。また、泌尿器科手術と異なり 5-ALA による血圧低下は 4 時間以降でも認められたため、長期間持続する血圧低下は、出血量が増加し、侵襲的な処置が増加する手術の後半で血圧管理を困難にすると考えられる。

5-ALA 製剤による血圧低下のメカニズムを検討において、HUVECs に対する 5-ALA の添加は、NO 産生を濃度依存的、時間依存的に増加させた。この結果から 5-ALA 製剤による IOH は NO の産生を介することが示唆された。また、RAS 阻害剤による血圧降下作用は NO による sGC 活性化を介した cGMP 産生の増加によるものであるため、5-ALA との相加作用により IOH が増強すると考えられる。

以上より、悪性神経膠腫手術において 5-ALA は IOH を引き起こす要因であり、そのメカニズムは NO の産生を介することが示唆された。また、高齢、RAS 阻害剤の使用は IOH のリスクを増加させる因子であり、RAS 阻害剤と 5-ALA 製剤との相加作用により NO の産生が増加し、血圧低下作用が増強されることが示唆された。今後は、RAS 阻害剤の休薬期間の検討／年齢による対象患者の選別などの IOH 発生リスクの回避や 5-ALA 製剤の適正使用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	森沢 惇平
審査委員	主査氏名	佐竹 悠良 
	副査氏名	小林 道也 
	副査氏名	河野 崇 

題目 Association of 5-aminolevulinic acid with intraoperative hypotension in malignant glioma surgery
(悪性神経膠腫手術における術中低血圧のリスク因子の探求と光学力学診断用剤 5-Aminolevulinic acid の使用による術中低血圧発症への影響)

著者 Shumpei Morisawa, Kohei Jobu, Tomoaki Ishida, Kei Kawada, Hitoshi Fukuda, Yu Kawanishi, Taku Nakayama, Shinkuro Yamamoto, Naohisa Tamura, Mitsuhiro Takemura, Nao Kagimoto, Tsuyoshi Ohta, Noritaka Masahira, Hideo Fukuhara, Shun-ichiro Ogura, Tetsuya Ueba, Keiji Inoue, Mitsuhiro Miyamura

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年月
Photodiagnosis and photodynamic therapy, In press

要旨

【背景・目的】

術中の腫瘍組織可視化目的に 5-Amino levulinic aci(5-ALA)製剤を使用すると、泌尿器手術中に低血圧を引き起こすことが報告されているが、悪性神経膠腫手術における循環動態については十分検討されていない。本研究の目的は、悪性神経膠腫手術時の術中低血圧 (IOH; intraoperative hypotension) に対するリスク因子評価、5-ALA 製剤の術中血圧に与える影響を臨床的に検討すること、及び 5-ALA 製剤による血圧低下メカニズムを in vitro で探索することである。

【方法】

臨床研究：悪性神経膠腫に対する開頭脳腫瘍摘出術を受けた症例を後方視的に抽出し、IOH に対するリスク因子及び 5-ALA 製剤との関連性を検討した。

細胞実験：ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVECs) を用いて、5-ALA による IOH の候補因子としての細胞内 NO を in vitro で検討した。

【結果・考察】

臨床研究：対象に対する単変量解析において、IOH に関連する因子は、年齢、5-ALA 製剤使用、Renin-Angiotensin system(RAS)阻害剤の使用、Ca チャネル阻害剤の使用であり、ロジスティック回帰分析において、IOH に対する独立する因子は年齢と 5-ALA 製剤使用であった。また、5-ALA 製剤投与群におけるサブグループ解析において、単変量解析の結果、年齢、RAS 阻害剤の使用が

IOHに関連する因子であり、5-ALA製剤を使用する悪性神経膠腫手術例において、高齢者やRAS阻害薬投与例ではIOHリスクが高い可能性が示唆された。

細胞実験：HUVECsに対する5-ALA添加はNO産生を濃度依存的、時間依存的に増加させた。RAS阻害薬による血圧降下作用はNOによるsGC活性化を介したcGMP産生の増加によるものであり、5-ALAとの相加作用によりIOHが増強すると考えられた。

【結論】

悪性神経膠腫手術時の5-ALA製剤投与はIOHのリスク因子と考えられ、高齢者やRAS阻害薬投与例ではより術中血圧低下に注意が必要であり、悪性神経膠腫に対して5-ALA製剤投与による手術予定例では降圧剤の事前休薬を指示する方針となった。

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)	近藤 理紗 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第136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4年3月23日
学位論文題目	Association between self-reported night sleep duration and cognitive function among older adults with intact global cognition (全般的認知機能が保たれた高齢者における自己報告による夜間の睡眠時間と認知機能の関連)
発表誌名	International Journal of Geriatric Psychiatry 36(5):766-774 2021年 5月
	審査委員 主査 教授 由利 和也 副査 教授 古谷 博和 副査 教授 數井 裕光

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

論文題目	氏名 近藤 理紗 Association between self-reported night sleep duration and cognitive function among older adults with intact global cognition (全般的認知機能が保たれた高齢者における自己報告による夜間の睡眠時間と認知機能の関連)
(論文要旨) 1. 背景・目的 修飾可能な生活習慣である睡眠習慣と認知機能障害リスクとの関連が注目されているが、睡眠時間については研究結果が一貫していない。一方、全般的認知機能評価の標準ツールであるMini-Mental State Examination (MMSE) では早期の認知機能低下を把握できない場合があるため、認知領域別に評価して、より早期に低下する認知領域を明らかにする必要がある。 本研究では、日常生活が自立し、かつ全般的認知機能が保たれた地域在住高齢者において、睡眠時間が、認知領域別の機能水準と関連するかを横断的に検討した。 2. 方法 研究対象者は、国立長寿医療研究センターが主管して、2015年から、高知地域を含む全国6地域で構築を進めているOrganized Registration for the Assessment of dementia on Nationwide General consortium toward Effective treatment (ORANGE) (以下、オレンジレジストリ) の高知地域の参加者である。 オレンジレジストリは、地域高齢者に認知領域別テストを実施し、認知症と診断される前の時点から追跡する登録である。研究組織からの呼びかけに応じて調査会場を訪れる65歳以上住民に、MMSEによる全般的認知機能評価、National Center for Geriatrics and Gerontology functional assessment tool (NCGG-FAT) による認知領域別機能評価、そして生活習慣と健康状態についての面接調査を行った。NCGG-FATは、タブレット端末に課題を表示して、単語記憶 (即時再認・遅延再認)、物語記憶 (即時再認・遅延再認)、注意機能、遂行機能、情報処理速度を評価するツールである。測定値は、65-69歳、70-79歳、80歳以上の年齢階級ごとに、先行研究に基づく平均と標準偏差によって正規化されたZ-score として表される。 高知地域では、室戸市といの町で2016年から参加者募集が開始され、2019年までに65歳以上者284名が登録された。本研究では、認知症や重度の神経疾患の既往がないといった包含基準を満たし、分析に使用した変数に欠損値がなかった241名を分析対象者とした。 分析に際しては、就床時間と起床時間とから算出した睡眠時間を、7時間未満のShort duration 群、7時間以上8時間未満のMedium duration 群、8時間以上9時間未満のLong duration 群、9時間以上のLongest duration 群の4群に分類した。NCGG-FATの認知領域ごとに、Z-score が-1.0未満を認知機能障害域とした。各認知領域が障害域にあることと睡眠時間との関連を、多変量ロジスティック回帰モデルを当てはめて検討した。モデルの共変量は、性、年齢、同居家族、教育歴、喫煙習慣、飲酒習慣、高血圧、糖尿病および脳血管疾患の既往歴、睡眠薬使用、睡眠の質 (入眠困難、中途覚醒、起床時疲労感)、手段的生活動作能力、そして介護予防基本チェックリストによって把握した身体機能、うつ領域および記憶領域とした。	

3. 結果

分析対象者の年齢は平均75.5歳、標準偏差6.4歳、女性は156名で、女性の割合は65%であった。Short duration群は41名 (17%)、Medium duration群は63名 (26%)、Long duration群は64名 (27%)、Longest duration群は73名 (30%) であった。Longest duration群はMedium duration群に比し、平均年齢が高く、男性の割合が高かった。

単変量解析では、Longest duration群はMedium duration群に比し、MMSEスコアが有意に低く、単語記憶 (遅延再認) と物語記憶 (遅延再認) のZ-scoreが有意に低かった。多変量調整後は、睡眠時間とMMSE低下との関連は有意ではなく、長時間睡眠と物語記憶 (遅延再認) との関連だけが有意であった。物語記憶 (遅延再認) が障害域にあることのある多変量調整オッズ比 (95%信頼区間) は、Medium duration群に対して、Longest duration群では3.58 (1.13-11.37)、Long duration群では4.30 (1.34-13.82) であった。

4. 考察

全般的認知機能が保たれている自立高齢者の夜間の長時間睡眠が、物語記憶のうち遅延再認の低下と関連することが示された。本研究で使用したNCGG-FATの認知領域別評価については、テスト-再テスト信頼性が高いこと、そして従来の方法による認知機能評価を黄金律として中程度以上の妥当性を有しており、NCGG-FATによる物語記憶が、Wechsler Memory Scale-Revised (WMS-R) の論理的記憶と有意な相関関係を示すことが報告されている。また、小規模集団を対象とした複数の先行研究が、論理的記憶の低下が認知機能の早期変化のマーカーであることを指摘している。本研究では、240名規模の比較的規模が大きい地域高齢者集団を対象に、長時間睡眠者では、たとえ全般的認知機能が保たれていても、論理的記憶の機能水準が低下しているリスクが高いことを、初めて示すことができた。

長時間睡眠と認知機能障害の関連の機序としては、長時間睡眠は短時間睡眠よりもC-反応性蛋白、インターロイキン-6の血中濃度の上昇と関連すること、また、WMS-Rによる論理的記憶の評価は前臨床期のアルツハイマー病のアミロイド蓄積と関連することが報告されていることなどから、炎症反応の関与が注目される。

本研究には一地域の自主的参加者を対象とした横断研究という制約がある。規模を大きくする縦断的検討によって、睡眠時間と領域別認知が障害されるリスクとの関連の因果性を検討する必要がある。

5. 結論

全般的認知機能が保たれている地域在住高齢者に対して認知領域別評価を実施し、長時間睡眠が物語記憶の遅延再認の低下と関連することを明らかにした。長時間睡眠を示す高齢者に対する遅延再認の評価が認知症の一次予防と二次予防を進める上で意義を有すること、そして、タブレット端末による認知領域別機能評価が評価ツールとして有用なことを示した。

論文審査の結果の要旨

		氏 名	近藤 理紗
審 査 委 員	主 査 氏 名	由利 和也	
	副 査 氏 名	古谷 博和	
	副 査 氏 名	數井 裕光	

題 目 Association between self-reported night sleep duration and cognitive function among older adults with intact global cognition
(全般的認知機能が保たれた高齢者における自己報告による夜間の睡眠時間と認知機能の関連)

著 者 Risa Kondo, Ichiro Miyano, Sangyoon Lee, Hiroyuki Shimada, Hiroaki Kitaoka

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月

International Journal of Geriatric Psychiatry 36(5):766-774 2021年 5月

要 旨

高齢者における認知症の増加は社会問題であり、その予防が重要な課題となっている。ヒトの認知機能低下の要因として睡眠障害が指摘されており、種々の研究が行われてきたが、参加者の年齢、性別、認知レベルおよび評価方法が異なっているため一致した見解は得られていないのが現状である。全般的認知機能評価の標準ツールであるMini-Mental State Examination (MMSE)は天井効果のため軽度の認知機能低下には適しておらず、認知領域別の評価が望まれていた。今回の申請者らの研究においては、全般的認知機能が保たれた地域在住高齢者において、自己報告による睡眠時間と記憶および実行機能といった特定の認知機能との関連について検討した。

研究対象者は、Organized Registration for the Assessment of dementia on Nationwide General consortium toward Effective treatment (ORANGE、オレンジレジストリ)の高知地域の65歳以上の参加者284名のうち、認知症や重度の神経疾患の既往がない241名を分析対象者とした。参加者に、MMSEによる全般的認知機能評価、National Center for Geriatrics and Gerontology functional assessment tool (NCGG-FAT)による認知領域別機能評価、そして生活習慣と健康状態についての面接調査を行った。NCGG-FATは、タブレット端末に課

題を表示して、単語記憶（即時再認・遅延再認）、物語記憶（即時再認・遅延再認）、注意機能、遂行機能、情報処理速度を評価した。測定値は、65-69 歳、70-79 歳、80 歳以上の年齢階級ごとに Z-score として表した。自己報告による 1 か月間の就床時間と起床時間とから算出した睡眠時間により、Short duration 群（7 時間未満）、Medium duration 群（7 時間以上 8 時間未満）、Long duration 群（8 時間以上 9 時間未満）、Longest duration 群（9 時間以上）の 4 群に分けた。NCGG-FAT の認知領域ごとに、Z-score が -1.0 未満を認知機能障害域とした。さらに各認知領域が障害域にあることと睡眠時間との関連を、多変量ロジスティック回帰モデルを用いて検討した。

分析対象者は平均 75.5 歳、女性は 156 名（65%）であった。Short duration 群は 41 名（17%）、Medium duration 群は 63 名（26%）、Long duration 群は 64 名（27%）、Longest duration 群は 73 名（30%）であった。単変量解析では、Longest duration 群は Medium duration 群に比し、MMSE スコア、単語記憶（遅延再認）および物語記憶（遅延再認）の Z-score が有意に低値であった。多変量ロジスティック回帰モデルにおいて、長時間睡眠と MMSE との関連は認められず、長時間睡眠と物語記憶（遅延再認）との関連が有意であることが示された。物語記憶（遅延再認）が障害域にあることと多変量調整オッズ比（95%信頼区間）は、Medium duration 群に対して、Longest duration 群では 3.58（1.13-11.37）、Long duration 群では 4.30（1.34-13.82）であった。

本研究によって、全般的認知機能が保たれている自立高齢者の夜間の長時間睡眠が、物語記憶の遅延再認の低下と関連することが示された。本研究で使用した NCGG-FAT の認知領域別評価については、NCGG-FAT による物語記憶が、Wechsler Memory Scale-Revised の論理的記憶と有意な相関関係を示すことが報告されており、長時間睡眠者では、たとえ全般的認知機能が保たれたとしても、論理的記憶の機能水準が低下している可能性が存在することを示唆した。長時間睡眠は短時間睡眠よりも C 反応性蛋白、インターロイキン-6 の血中濃度の上昇と関連していることから、身体における炎症反応が認知機能の低下に関与しているのかもしれない。本研究には一地域の自主的参加者を対象とした横断的研究という制約があり、今後、大規模な縦断的検討によって、睡眠時間と領域別認知機能との関連を検討する必要があると思われる。

以上のように、本論文は高齢者の長時間睡眠が物語記憶の遅延再認の低下と関連することを明らかにし、認知症の予防を進める上で新たな知見を示した点で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)	LIKKA MELAKU HAILE (エチオピア)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第137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4年3月23日
学位論文題目	Analysis of the Effects of Electronic Medical Record and a Payment Scheme on the Length of Hospital Stay (入院期間への電子カルテ導入と診療報酬制度変更の影響分析)
発表誌名	Healthcare Informatics Research. 202:28(1) 2022年1月31日

審査委員	主査	教授	奥原	義保
	副査	教授	安田	誠史
	副査	教授	菅沼	成文

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 MELAKU HAILE LIKKA (メラク ハイレ リカ)
(論文要旨) 目的 医療情報システムの導入と診療報酬制度の変更が医療の成果に及ぼす影響を分析する。具体的には、電子カルテ (EMR) 導入と診療群分類包括評価 (DPC/ PDPS) 導入が平均在院日数 (ALOS) に及ぼす影響を調べた。 方法 高知大学医学部附属病院を対象として研究を行った。同病院は 1980 年代初頭に開院し、開院と同時にオーダリングシステム (CPOE) を稼働させた。2007 年 1 月にペーパーレスの EMR が稼働し、2003 年 6 月に DPC / PDPS が導入された。2000 年から 2010 年に入院した入院患者について性別、入院時年齢、入院年月、LOS のデータを匿名化された形で取得した。ただし、LOS が 90 日を超える症例は除外した。入院患者を入院年月ごとにグループ化し、月次の平均 LOS (ALOS) を算出した。DPC/PDPS と EMR の導入前後の月次 ALOS の違いは、分割時系列解析 (Interrupted Time Series analysis: ITS 解析) を用いて解析した。既存傾向は 2000 年 1 月から 2006 年 12 月 (84 か月) および 2003 年 1 月から 2010 年 12 月 (96 か月) のデータで評価し、それぞれの期間で DPC/PDPS および EMR の導入影響を評価した。2000 年 12 月から 2003 年 5 月までの 41 か月とその後の 43 か月を DPC/PDPS 導入の前後の期間とした。同様に、2003 年 1 月から 2006 年 12 月および 2007 年 1 月から 2010 年 12 月を EMR 導入の前後の期間とした。ALOS は年齢依存性が知られているため、統計分析は 4 つの年齢区分 (全年齢、50 歳未満、50 歳～64 歳、65 歳以上) で行った。 本 ITS 解析では以下の 3 つの独立変数を設定した。 T- 調査期間の月数を表す変数。最初の月を 1 として毎月 1 ずつ増加する。 X _t - 介入 (ここでは DPC/PDPS または EMR の導入) のオン、オフを制御する変数で、介入前は 0、介入後は 1。この影響をレベルの変化と呼ぶ。 T _{it} - 介入後からの月数を表す変数。介入前は 0 で、介入後は毎月 1 ずつ増加する。 回帰モデル式は、(月次 ALOS) = $\beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 X_t + \beta_3 T_{it} + \epsilon_t$ となる。ここで、 β_0 は月次 ALOS の T = 0 での値、 β_1 は介入前の傾き、 β_2 は介入後のレベル変化の大きさ、 β_3 は介入後の傾き変化、 ϵ_t は誤差である。 系列相関と自己回帰相関の調整を行うため、一般化最小二乗 (GLS) 回帰モデルで 1 次自己回帰移動平均モデルを考慮したものを用いた。推定値の評価は p 値 (有意水準 α 0.05) と 95% 信頼区間 (CI) で行った。データ集計および統計処理には、SQL バージョン 2019 と R バージョン 4.0.3 を用いた。	

結果

2000年から2010年のLOS≤365日の入院患者数は86,769人(43,962(50.666%)の女性)であり、そのALOSは23.036日であった。本調査で用いたLOS≤90日の入院患者は84,026人(96.839%)であり、ALOSは19.327日であった。介入前後のALOSとその変化は、女性と男性の間で有意差はなかった。ただし、50歳未満の入院患者は、高齢の入院患者よりもALOSが有意に短かった。

DPC/PDPS導入前の50歳未満、50～64歳、および65歳以上の入院患者のALOSは、それぞれ19.408日、25.905日、および26.781日であり、導入後はそれぞれ15.410日、20.867日、21.611日であった。また、EMR導入前の50歳未満、50～64歳、および65歳以上のALOSは、それぞれ15.678日、20.917日、および21.800日であり、EMR導入後、それはそれぞれ13.348日、17.167日、および18.002日であった。

DPC/PDPS導入以前の月次ALOS(β_1)の傾向は、全年齢、50歳未満、50～64歳、および65歳以上で-0.117日/月($p<.0001$)、-0.078日/月($p=.0002$)、-0.186日/月($p<.0001$)、および-0.125日/月($p<.0001$)であり、緩やかな減少傾向が認められた。

DPC/PDPS導入直後の月次ALOSで認められたレベル変化(β_2)は、全年齢、50歳未満、50～64歳、および65歳以上でそれぞれ-1.942日($p<.0001$)、-1.885日($p=.0054$)、-1.581日($p=.0419$)、および-2.461日($p<.0001$)であり、約2日の減少があった。しかし、DPC/PDPS導入後の傾向(β_3)は、各年齢区分で0.107日/月($p=.0011$)、0.048日/月($p=.0846$)、0.183日/月($p<.0001$)、および0.110日/月($p<.0001$)日/月であり、増加に転じていた。

一方、EMR導入直後の月次ALOS(β_2)のレベルは、すべての年齢層で有意な変化はなかった。しかし、EMR導入後の傾向(β_3)は、全年齢、50～64歳および65歳以上でそれぞれ-0.053日/月($p=.0002$)、-0.093日/月($p<.0001$)、および-0.049日/月($p=.0121$)日/月と減少傾向が認められた。

考察

本研究では、他の報告と同様にDPC/PDPS導入直後のALOSの減少が、その後は月次ALOSを上昇させる効果が見られた。DPC導入前の月次ALOS傾向は減少の傾向があったので、それと相殺する形になり、DPC/PDPS導入後は、すべての年齢区分で減少傾向が弱まった。この傾向は本研究で初めて捉えられた。

一方、EMR導入直後にはどの年齢層でも月次ALOSに有意な変化は見られなかった。これはEMR導入の目的がLOSの短縮ではなく、診療記録の電子化による情報共有の迅速化や効率化であることから、自然な結果と考える。EMR導入後の月次ALOSの傾向は、50歳未満を除いて、有意な減少が見られた。この減少傾向は短期ではなく、調査期間で見られた。この持続的な減少傾向もEMR導入の目的から自然な結果と考える。また、EMRは診療計画を支援する機能があるため、DPC/PDPSを効果的に運用でき、LOSを短縮化した可能性が考えられる。

結論

DPC/PDPS導入後の傾向の増加は、DPC/PDPSの直後に観察されたALOSの低下を相殺し、観察されたALOSはDPC/PDPS調査期間の終りまでほぼ一定であった。一方、EMR導入では導入後に見られた減少傾向のため、EMR調査期間の終りではそれ以前の傾向から期待されるALOよりも短くなっていた。これらの結果から、新しいEMRの医療支援、業務支援の役割によるLOSの短縮効果が主にLOSの短縮化を目指すDPC/PDPSの新しい診療報酬制度導入よりも、持続的で効果的である可能性が初めて示された。

論文審査の結果の要旨

	氏 名
	LIKKA MELAKU HAILE
審査委員	主査氏名 奥原 義保 
	副査氏名 安田 誠史 
	副査氏名 菅沼 成文 

題 目 Analysis of the Effects of Electronic Medical Record and a Payment Scheme on the Length of Hospital Stay
(入院期間への電子カルテ導入と診療報酬制度変更の影響分析)

著 者 Melaku Haile Likka, Yukio KURIHARA

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
Healthcare Informatics Research. 202:28(1) 2022年1月31日

要 旨

公開の論文審査は2022年2月7日16時より行われた。以下研究の要旨と審査結果を記す。

【背景・目的】

申請者は、医療情報システムの導入と診療報酬制度の変更が医療の成果に及ぼす影響を分析した。具体的には、診療群分類包括評価(DPC/PDPS)導入と電子カルテ(EMR)導入とが平均在院日数(ALOS)に及ぼす影響を調べた。

【方法】

高知大学医学部附属病院を対象として研究を行った。同病院は1980年代初頭に開院し、開院と同時にオーダーリングシステム(Computerized Physician Order Entry:CPOE)を稼働させた。2003年6月にDPC/PDPSが導入され、2007年1月にペーパーレスのEMRが稼働開始した。2000年から2010年に入院した入院患者について性別、入院時年齢、入院年月、在院日数(LOS)のデータを匿名化された形で取得した。ただし、LOSが90日を超える症例は除外した。入院患者を入院年月ごとにグループ化し、月次の平均LOS(ALOS)を算出した。DPC/PDPSとEMRの導入前後の月次ALOSの違いは、分割時系列解析(Interrupted Time Series analysis: ITS解析)を用いて解析した。既存の傾向は2000年1月から2006年12月(84か月)および2003年1月から2010年12月(96か月)のデータで評価し、それぞれの期間でDPC/PDPSおよびEMRの導入による影響を評価した。2000年12月から2003年5月までの41か月とその後の43か月をDPC/PDPS導入の前後の期間とした。同様に、2003年1月から2006年12月および2007年1月から2010年12月をEMR導入の前後の期間とした。ALOSは年齢依存性が知られているため、統計分析は4つの年齢区分(全

年齢、50歳未満、50歳～64歳、65歳以上)で行った。

本 ITS 解析では以下の3つの独立変数を設定した。

T- 調査期間の月数を表す変数。最初の月を1として毎月1ずつ増加する。

X_t - 介入（ここではDPC/PDPSまたはEMRの導入）のオン、オフを制御する変数で、介入前は0、介入後は1。この影響をレベルの変化と呼ぶ。

T_{tr} - 介入後からの月数を表す変数。介入前は0で、介入後は毎月1ずつ増加する。

回帰モデル式は、(月次ALOS) = $\beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 X_t + \beta_3 T_{tr} + \varepsilon_t$ となる。

ここで、 β_0 は月次ALOSの $T=0$ での値、 β_1 は介入前の傾き、 β_2 は介入後のレベル変化の大きさ、 β_3 は介入後の傾き変化、 ε_t は誤差である。

系列相関と自己回帰相関の調整を行うため、一般化最小二乗 (GLS) 回帰モデルで1次自己回帰移動平均モデルを考慮したものを用いた。推定値の評価はp値 (有意水準 $\alpha=0.05$) と95%信頼区間 (CI) で行った。データ集計および統計処理には、SQLバージョン2019とRバージョン4.0.3を用いた。

【結果・考察】

2000年から2010年の $LOS \leq 365$ 日の入院患者数は86,769人 (43,962人 (50.666%) は女性) であり、そのALOSは23.036日であった。本調査で用いた $LOS \leq 90$ 日の入院患者は84,026人 (96.839%) であり、ALOSは19.327日であった。介入前後のALOSとその変化については、女性と男性の間で有意差はなかった。ただし、50歳未満の入院患者は、高齢の入院患者よりもALOSが有意に短かかった。

DPC/PDPS導入前の50歳未満、50～64歳、および65歳以上の入院患者のALOSは、それぞれ19.408日、25.905日、および26.781日であり、導入後はそれぞれ15.410日、20.867日、21.611日であった。また、EMR導入前の50歳未満、50～64歳、および65歳以上のALOSは、それぞれ15.678日、20.917日、および21.800日であり、EMR導入後それぞれ13.348日、17.167日、および18.002日であった。

DPC/PDPS導入以前の月次ALOS (β_1) の傾向は、全年齢、50歳未満、50～64歳、および65歳以上で-0.117日/月 ($p < .0001$)、-0.078日/月 ($p = .0002$)、-0.186日/月 ($p < .0001$)、および-0.125日/月 ($p < .0001$) であり、緩やかな減少傾向が認められた。

DPC/PDPS導入直後の月次ALOSで認められたレベル変化 (β_2) は、全年齢、50歳未満、50～64歳、および65歳以上でそれぞれ-1.942日 ($p < .0001$)、-1.885日 ($p = .0054$)、-1.581日 ($p = .0419$)、および-2.461日 ($p < .0001$) であり、約2日の減少があった。しかし、DPC/PDPS導入後の傾向 (β_3) は、各年齢区分で0.107日/月 ($p = .0011$)、0.048日/月 ($p = .0846$)、0.183日/月 ($p < .0001$)、および0.110日/月 ($p < .0001$) 日/月であり、増加に転じていた。

一方、EMR導入直後の月次ALOSで認められたレベル変化 (β_2) は、すべての年齢層で有意な変化ではなかった。しかし、EMR導入後の傾向 (β_3) は、全年齢、50～64歳および65歳以上でそれぞれ-0.053日/月 ($p = .0002$)、-0.093日/月 ($p < .0001$)、および-0.049日/月 ($p = .0121$) 日/月と減少傾向が認められた。

本研究では、他の報告と同様にDPC/PDPS導入直後にALOSが減少したが、その後は月次ALOSを上昇させる効果が見られた。DPC導入前の月次ALOS傾向には減少の傾向があったので、それと相殺する形になり、DPC/PDPS導入後は、すべての年齢区分で減少の傾向が弱まった。この傾向は本研究で初めて捉えられた。

一方、EMR導入直後にはどの年齢層でも月次ALOSに有意な変化は見られなかった。これはEMR導入の目的がLOSの短縮ではなく、診療記録の電子化による情報共有の迅速化や効率化であることから、自然な結果と考える。EMR導入後の月次ALOSの傾向は、50歳未満を除いて、有意な減少が見られた。この減少傾向は短期ではなく、調査期間を通して見られた。この持続的な減少傾向もEMR導入の目的から自然な結果と考える。また、EMRは診療計画を支援する機能があるため、DPC/PDPSを効果的に運用でき、LOSを短縮化した可能性が考えられる。

【結論】

DPC/PDPS導入後の月次ALOS傾向の増加は、DPC/PDPSの直後に観察されたALOSの低下を相殺し、観察されたALOSはDPC/PDPS調査期間の終わりまでほぼ一定であった。一方、EMR導入では導入後

に見られた減少傾向のため、EMR 調査期間の終りではそれ以前の傾向から期待される ALOS よりも短くなっていた。これらの結果から、新しい EMR の医療支援、業務支援の役割による LOS の短縮効果が、LOS の短縮化を目指す DPC/PDPS のような新しい診療報酬制度導入よりも、持続的で効果的である可能性が初めて示された。

【審査結果】

本研究は、介入の前後の時系列でアウトカムがどのように変化するかを評価する方法である分割時系列解析を用いて、我が国の診療報酬制度の大きな転換点であった 2003 年の診療群分類包括評価 (DPC/PDPS) 導入と、同じく 2000 年代に普及し病院業務に大きな影響を与えた電子カルテ (EMR) の影響を、在院日数を評価指標として解析したものである。

その結果、在院日数の減少に直接的効果があると考えられる DPC/PDPS は、導入直後は大きく在院日数を減少させる効果があったものの、長期的傾向としては緩やかな上昇となった。一方、直接の目的は医療の質向上である電子カルテは、導入直後の短期的な在院日数減少には結びつかないものの、長期的には徐々に在院日数を減少させる傾向をもたらすという興味深い結論を示した。単独施設での解析であり、また、データセットの制約のために傷病別検討を行えなかったという限界はあるものの、電子カルテの導入が医療の質向上だけでなく、長期的には在院日数の減少を通じて医療経済的にも影響をおよぼす可能性を ITS 解析という強力な手法で示した価値ある論文である。

発表の後行われた公開の質疑応答では、先行研究の結論との違いの原因、DPC 導入後の ALOS の長期的傾向について、モデル評価の方法、短期間での影響のモデルにおける記述についてなど多くの質問が出されたが、申請者はいずれに対してもおおむね的確に回答した。

以上の内容をふまえ、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)	弘瀬 かほり (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第61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4年3月4日
学位論文題目	Post-treatment clinical course following botulinum toxin injection therapy for adductor spasmodic dysphonia: Analysis of data from a placebo-controlled, randomized, double-blinded clinical trial in Japan (内転型痙攣性発声障害に対するボツリヌストキシン注入療法後の臨床経過: プラセボ対照、ランダム化、二重盲検臨床試験からの解析)
発表誌名	Laryngoscope Investigative Otolaryngology, 6 (5), 1088~1095 2021年9月

審査委員

主査	教授	宮村	充彦
副査	教授	古谷	博和
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	弘瀬 かほり
論文題目	<p>Post-treatment clinical course following botulinum toxin injection therapy for adductor spasmodic dysphonia Analysis of data from a placebo-controlled, randomized, double-blinded clinical trial in Japan</p> <p>(内転型痙攣性発声障害に対するボツリヌストキシン注入療法後の臨床経過：プラセボ対照、ランダム化、二重盲検臨床試験からの解析)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>目的 痙攣性発声障害 (SD) は内喉頭筋の不随意運動により発声障害をきたす疾患で、喉頭の局所のジストニアとされている。本症に対する治療にはボツリヌストキシン (BT) を用いて筋緊張を低下させる内喉頭筋注射と外科的治療が主となるが、前者は米国耳鼻咽喉科・頭頸部外科学会の「嗄声 (発声障害) の診療ガイドライン」や本邦の「音声障害診療ガイドライン」などで標準的治療法と位置づけられている。しかし、その治療効果の経時的変化や治療効果に関わる臨床的要因についてはほとんど検討されていない。本研究では、申請者らが行った内転型 SD に対する BT 治療のプラセボ対照ランダム化二重盲検試験のデータを詳細に分析し、それらについて検討した。</p> <p>方法 臨床試験は GCP 基準に沿った医師主導治験として実施し、内転型 SD と診断した 22 例 (男性 2 例、女性 20 例、平均年齢 40.0±10.3 歳、平均病悩期間 7.5 年) を対象とした。治療効果の評価には、他覚的音声評価として規定文朗読による異常モーラ数および聴覚心理的評価 (GRBAS 尺度)、自覚的評価として Voice Handicap Index (VHI) および Visual Analogue Scale (VAS) の変化量を用いた。統計分析は Wilcoxon sign rank test と Wilcoxon rank sum test を使用した。異常モーラの評価は、25 モーラからなる規定文を朗読させ、その録音音声をも 3 名の評価者が個別に評価し、その中央値を採用した。</p> <p>各症例について、初回注射は BT (Botox®) とプラセボをランダム化された二重盲検法で投与した。初回より 12 週間以上間隔をあげ、2 回目以降はオープンラベル試験として BT 再投与をおこなった。初回注射の 2 週、4 週後に各種の音声機能評価を行い、その後も 4 週ごとに最長 48 週まで評価を継続した。</p> <p>結果 内転型 SD 22 例 (BT 群 11 例、プラセボ群 11 例) を対象とし、BT 治療後の経過を比較検討した。平均年齢、性別、治療前の他覚的音声評価、自覚的評価には、両群間で有意差はなかった。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 治療 4 週後の異常モーラの変化量は BT 群が -7.0±2.30、プラセボ群が -0.2±0.46 で両群間に有意差を認めた。 2) 異常モーラ数の変化量は BT 群では治療 2 週後に -9.9±2.66 のピークに達し、12 週まで投与前と比較して有意な改善を示した。GRBAS 尺度のうちの (S) (Strained: 努力性発声) スコアも、BT 群では 2 週後をピーク (-1.18±0.33) に 8 週まで有意に低下した。プラセボ群ではいずれも有意な改善は認めなかった。 3) 音声障害の自覚度評価である VHI は、BT 群では 4 週後をピーク (-24.0±9.63) に 12 週まで有意な改善を示したが、2 週後には有意差がなかった。VAS は BT 群では 4 週後をピーク (-20.5±8.74) に改善を認めたが、投与前と比較して有意差は認めなかった。 	

- 4) 再投与も含めると 22 例全例が BT 投与を受けた。BT 投与 4 週後には全てのパラメータが投与前と比較して有意に改善した。他覚的評価である異常モーラ数の変化量と自覚的評価である VHI の変化量には、有意な正の相関がみられた。
- 5) 40 歳未満 (10 例) は 40 歳以上 (12 例) と比較して、すべてのパラメータで統計学的有意差はみられないものの改善度が大きい傾向にあった。病悩期間が 8 年未満 (11 例) の例は 8 年以上 (11 例) の例と比較して、有意差はないものの異常モーラ、VHI、VAS の変化量が大きい傾向にあった。
- 6) 19 例が再投与を含めて 2 回以上の BT 投与を受けた。GRBAS 尺度の(S)は、初回投与より 2 回目投与後の方が有意に改善度は大きかった。
- 7) 3 例では BT 投与後に異常モーラ (2 段階評価) の改善がみられなかった。これらの例に対して 3 段階評価を行うと異常モーラに改善傾向が認められた。
- 8) BT 治療後の有害事象として、一過性の気息性嘔声および液体誤嚥が見られたが、初回投与後にこれらの有害事象が見られた 12 例では、いずれの有害事象もみられなかった 10 例と比較して、すべてのパラメータで有意に改善度が大きかった。

考察

SD に対する BT 治療の臨床的有効性に関して多くの報告があるが、それらのほとんどは症例集積研究であり、エビデンスの質は必ずしも高くない。二重盲検試験は過去に Troung ら (1991 年) の報告があるのみである。その報告では、音声のゆらぎや声域の低下が得られたことを述べているが、これらのパラメータは SD に特異的なものではなく、また自覚的評価も含まれていない。そこで申請者らは本治療の保険適用承認を目的とした治験を行い、他覚的評価である異常モーラ数と GRBAS 尺度の (S)、自覚的評価である VHI と VAS の変化を観察し、これらが BT 投与後に改善することを示した。

他覚的評価は投与後 2 週で改善のピークを示したが、自覚的評価は 4 週でピークを示した。これは BT 投与後に生じる気息性嘔声により、自覚的評価の改善が遅れるためと考えた。このように自覚的評価と他覚的評価の改善には時間差があるものの、異常モーラ数と VHI の改善には有意な相関があり、SD の治療効果の判定には他覚的評価と自覚的評価の併用が必要と考えられた。

治療効果は徐々に低下するものの 12 週以上持続し従来の報告と同様であったが、VAS ではベースラインと比較して有意差がなく、自覚的評価では VAS より VHI の方がより適していると考えられた。

若年者の方が高齢者より治療効果が高い傾向を示した理由として、若年者では中枢神経系の可塑性が高いことが考えられる。BT の初回投与と 2 回目投与を比較すると、2 回目投与で(S)が有意に改善し、異常モーラ数および VAS も改善度が高い傾向にあった。これは、SD により 2 次性に生じる過緊張性発声が BT の反復投与により次第に改善するためと考えた。本治験では投与 4 週後の異常モーラ数の変化量を主要評価項目とした。3 例では異常モーラの改善が得られなかったが、3 段階で評価すると改善傾向がみられたことから、この 3 例においても部分的改善は得られていることが確認できた。

BT 治療後には有害事象として一過性の気息性嘔声や液体誤嚥がみられたが、これらがみられた例はみられなかった例と比較して、全てのパラメータにおいて有意に改善度が大きかった。これらの有害事象は治療効果を反映しているものと考えられた。

結語

内転型 SD の音声障害は BT 治療にて他覚的評価、自覚的評価ともに改善することを示した。また、治療後に一過性に生じる気息性嘔声や液体誤嚥は治療効果を反映していると考えられた。本研究は SD に対する BT 治療の有効性に関するエビデンスを確立するとともに、臨床家に対しては治療後に想定される臨床経過に関する知識を高めると期待される。

論文審査の結果の要旨

	氏 名
	弘瀬 かほり
審 査 委 員	主 査 氏 名 宮村 充彦 
	副 査 氏 名 古谷 博和 
	副 査 氏 名 井上 啓史 

題 目 Post-treatment clinical course following botulinum toxin injection therapy for adductor spasmodic dysphonia Analysis of data from a placebo-controlled, randomized, double-blinded clinical trial in Japan
(内転型痙攣性発声障害に対するボツリヌストキシン注入療法後の臨床経過：プラセボ対照、ランダム化、二重盲検臨床試験からの解析)

著 者 Kahori Hirose・Kento Asano・Masahiko Sakaguchi・Asuka Nagano・Maya Nakahira・Nao Doi・Taisuke Kobayashi・Masamitsu Hyodo

発表誌名、 Laryngoscope Investigative Otolaryngology 6(5):1088-1095
2021年9月

要 旨

【目的】痙攣性発声障害（SD）は内喉頭筋の不随意運動により発声障害をきたす疾患で、喉頭の局所のジストニアとされている。本症に対する治療にはボツリヌストキシン（BT）を用いて筋緊張を低下させる内喉頭筋注射と外科的治療が主となるが、前者は米国耳鼻咽喉科・頭頸部外科学会の「嗄声（発声障害）の診療ガイドライン」や本邦の「音声障害診療ガイドライン」などで標準的治療と位置づけられている。しかし、その治療効果の経時的変化や治療効果に関わる臨床的要因についてはほとんど検討されていない。

このような背景から学位申請者は、学位参考論文である痙攣性発声障害に対する内喉頭筋へのボツリヌストキシン注入療法:プラセボ対照・ランダム化・二重盲検/オープンラベル臨床試験で対象となった患者の中から、特に内転型SDの患者データを抽出し、詳細にサブ解析を行い検討した。

【方法】臨床試験はGCP基準に沿った医師主導治験として実施し、内転型SDと診断した22例（男性2例、女性20例、平均年齢40.0±10.3歳、平均病悩期間7.5年）を対象とした。治療効果の評価には、他覚的音声評価として規定文朗読による異常モーラ数および聴覚心理的評価（GRBAS尺度）、自覚的評価としてVoice Handicap Index（VHI）およびVisual Analogue Scale（VAS）の変化量を用いた。統計分析はWilcoxon sign rank testとWilcoxon rank sum testを使用した。異常モーラの評価は、25モーラからなる規定文を朗読させ、その録音音声をもとに3名の評価者（中央評価委員）が個別に評価し、その中央値を採用した。各症例について、初回注射はBT（Botox®）とプラセボをランダム化された二重盲検法で投与した。初回より12週間以上間隔をあげ、2回目以降はオープンラベル試験としてBT再投与をおこなった。初回注射の2週、4週後に各種の音声機能評価を行い、その後も4週ごとに最長48週まで評価を継続した。

【結果】臨床研究は内転型SD22例（BT群11例、プラセボ群11例）を対象とし、BT治療後の経過を比較検討した。研究結果の内容を下記に示す。

- 1) 平均年齢、性別、治療前の他覚的音声評価、自覚的評価には、両群間で有意差はなかった。
- 2) 治療4週後の異常モーラの変化量はBT群が -7.0 ± 2.30 、プラセボ群が -0.2 ± 0.46 で両群間に有意差を認めた。
- 3) 異常モーラ数の変化量はBT群では治療2週後に -9.9 ± 2.66 のピークに達し、12週まで投与前と比較して有意な改善を示した。GRBAS尺度のうちの(S) (Strained: 努力性発声) スコアも、BT群では2週後をピーク (-1.18 ± 0.33) に8週まで有意に低下した。プラセボ群ではいずれも有意な改善は認めなかった。
- 4) 音声障害の自覚度評価であるVHIは、BT群では4週後をピーク (-24.0 ± 9.63) に12週まで有意な改善を示したが、2週後には有意差がなかった。VASはBT群では4週後をピーク (-20.5 ± 8.74) に改善を認めたが、投与前と比較して有意差は認めなかった。
- 5) 再投与も含めると22例全例がBT投与を受けた。BT投与4週後には全てのパラメータが投与前と比較して有意に改善した。他覚的評価である異常モーラ数の変化量と自覚的評価であるVHIの変化量には、有意な正の相関がみられた。
- 6) 40歳未満(10例)は40歳以上(12例)と比較して、すべてのパラメータで統計学的有意差はみられないものの改善度が大きい傾向にあった。病悩期間が8年未満(11例)の例は8年以上(11例)の例と比較して、有意差はないものの異常モーラ、VHI、VASの変化量が大きい傾向にあった。
- 7) 19例が再投与を含めて2回以上のBT投与を受けた。GRBAS尺度の(S)は、初回投与より2回目投与後の方が有意に改善度は大きかった。
- 8) 3例ではBT投与後に異常モーラ(2段階評価)の改善がみられなかった。これらの例に対して3段階評価を行うと異常モーラに改善傾向が認められた。
- 9) BT治療後の有害事象として、一過性の気息性嘔声および液体誤嚥が見られたが、初回投与後にこれらの有害事象が見られた12例では、いずれの有害事象もみられなかった10例と比較して、すべてのパラメータで有意に改善度が大きかった。

【考察】SDに対するBT治療の臨床的有効性に関して多くの報告があるが、それらのほとんどは症例集積研究であり、エビデンスの質は必ずしも高くない。二重盲検試験は過去にTruongら(1991年)の報告があるのみである。その報告では、音声のゆらぎや声域の低下が得られたことを述べているが、これらのパラメータはSDに特異的なものではなく、また自覚的評価も含まれていない。そこで学位申請者は本治療の保険適用承認を目的とした治験を行い、他覚的評価である異常モーラ数とGRBAS尺度の(S)、自覚的評価であるVHIとVASの変化を観察し、これらがBT投与後に改善することを示した。

他覚的評価は投与後2週で改善のピークを示したが、自覚的評価は4週でピークを示した。これはBT投与後に生じる気息性嘔声により、自覚的評価の改善が遅れるためと考察している。このように自覚的評価と他覚的評価の改善には時間差があるものの、異常モーラ数とVHIの改善には有意な相関があり、SDの治療効果の判定には他覚的評価と自覚的評価の併用が必要と考察している。

治療効果は徐々に低下するものの12週以上持続し従来の報告と同様であったが、VASではベースラインと比較して有意差がなく、自覚的評価ではVASよりVHIの方がより適していると考察している。

若年者の方が高齢者より治療効果が高い傾向を示した理由として、若年者では中枢神経系の可塑性が高いことが考察している。BTの初回投与と2回目投与を比較すると、2回目投与で(S)が有意に改善し、異常モーラ数およびVASも改善度が高い傾向にあった。これは、SDにより2次性に生じる過緊張性発声がBTの反復投与により次第に改善するためと考察している。本治験では投与4週後の異常モーラ数の変化量を主要評価項目とした。3例では異常モーラの改善が得られなかったが、3段階で評価すると改善傾向がみられたことから、この3例においても部分的改善は得られていることが確認している。BT治療後には有害事象として一過性の気息性嘔声や液体誤嚥がみられたが、これらがみられた例はみられなかった例と比較して、全てのパラメータにおいて有意に改善度が大きかった。これらの有害事象は治療効果を反映しているものと考察している。

学位申請者は、臨床研究から、内転型痙攣性発声障害に対するボツリヌストキシン注入療法後の臨床経過を詳細に解析し、ボツリヌストキシンの投与量・投与間隔、治療効果の評価方法、副作用との関連性等について明らかとし、薬物療法に関わる貴重な資料を得た。よって、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)	宗景 絵里 (岡山県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第62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4年3月20日
学位論文題目	A glypican-1-targeted antibody-drug conjugate exhibits potent tumor growth inhibition in glypican-1-positive pancreatic cancer and esophageal squamous cell carcinoma グリピカン1を標的とした抗体薬物複合体は、グリピカン1陽性膵管癌および食道扁平上皮癌に強力な腫瘍増殖阻害効果を示す
発表誌名	Neoplasia Vol 23 (9) 939~950 2021年9月

審査委員	主査	教授	齊藤	源顕
	副査	教授	降幡	睦夫
	副査	教授	内田	一茂

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	宗景 絵里
論 文 題 目	<p>A glypican-1-targeted antibody-drug conjugate exhibits potent tumor growth inhibition in glypican-1-positive pancreatic cancer and esophageal squamous cell carcinoma (グリピカン1を標的とした抗体薬物複合体は、グリピカン1陽性膵管癌および食道扁平上皮癌に強力な腫瘍増殖阻害効果を示す)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>抗腫瘍効果を有する低分子を標的がん細胞上に発現するがん特異抗原に対する抗体に付加した抗体薬物複合体 (Antibody-drug conjugate : ADC) は、標的がん細胞に選択的かつ効果的に輸送されるため有望な治療薬になると考えられる。グリピカン1は腫瘍の増殖、転移、浸潤に関連する多様なシグナル伝達経路を活性化することが知られており、膵管癌や食道扁平上皮癌などの悪性腫瘍において腫瘍細胞上に高度に発現していることが明らかとなっている。</p> <p>これまでにグリピカン1を標的としたADCでは子宮頸がんおよび膵管癌で有用性が報告されている。今回我々は、ヒト化抗グリピカン1抗体 (クローン T2) をマレイミドカプロイル-バリン-シトルリン-p-アミノベンジルオキシカルボニル (mc-vc-PABC) リンカーを介してモノメチルアウリスタチン E (MMAE) と結合したヒト化 GPC1-ADC [MMAE] を作成した。樹立した細胞株を用いた基礎的実験ではヒト化 GPC1-ADC (MMAE) は、細胞周期における G2 / M 期のサイクル停止と、in vitro でのアポトーシスを誘導することにより、グリピカン1陽性膵管癌および食道扁平上皮癌細胞株の増殖を抑制した。また、ヒト化 GPC1-ADC (MMAE) とグリピカン1の結合活性は、非結合抗グリピカン1抗体の結合活性と同等であった。マウス皮下異種移植モデルを用いた実験ではヒト化 GPC1-ADC (MMAE) は、グリピカン1陽性のヒト膵癌細胞株 BxPC-3 に対しては抗腫瘍効果を認めたが、BxPC-3-GPC1-KO に対しては有効性を認めなかった。さらに、ヒト化 GPC1-ADC (MMAE) の標的発現がん細胞近傍にあるがん細胞に対する効果発現 (いわゆる bystander 効果) を評価するために、グリピカン1陽性 BxPC-3 細胞およびグリピカン1陰性に改変した BxPC-3-GPC1-KO-Luc 細胞の混合物を、マウスに皮下接種し、不均一なグリピカン1発現腫瘍モデルを開発した。その結果、ヒト化 GPC1-ADC (MMAE) は、グリピカン1陽性 BxPC-3 細胞と BxPC-3-GPC1-KO-Luc 細胞の混在する腫瘍の増殖を抑制することが示された。in vivo イメージングシステム (IVIS) による観察では、ルシフェラーゼシグナルの低下を認め、bystander 効果による BxPC-3-GPC1-KO-Luc 細胞集団の抑制を示唆している。さらに、ヒト化</p>	

GPC1-ADC (MMAE) は BxPC-3 細胞を用いて形成した肝転移を抑制し、マウスの全生存期間を有意に改善した。

さらには、マウスに対してグリピカン 1 陽性膵管癌および食道扁平上皮癌患者由来の組織片を異種移植したモデルにおいても、強力な抗腫瘍効果を示した。これらの前臨床データは、グリピカン 1 が抗体薬物複合体の有望な治療となり得ることを示している。

論文審査の結果の要旨

		氏名	宗景 絵里
審査委員	主査氏名	齊藤 源頭	
	副査氏名	降幡 睦夫	
	副査氏名	内田 一茂	

題目

A glypican-1-targeted antibody-drug conjugate exhibits potent tumor growth inhibition in glypican-1-positive pancreatic cancer and esophageal squamous cell carcinoma

(グリピカン1を標的とした抗体薬物複合体は、グリピカン1陽性膵管癌および食道扁平上皮癌に強力な腫瘍増殖阻害効果を示す)

著者

Eri Munekage, Satoshi Serada, Shigehiro Tsujii, Keiichiro Yokota, Keita Kiuchi, Kenji Tominaga, Minoru Fujimoto, Mizuki Kanda, Sunao Uemura, Tsutomu Namikawa, Taisei Nomura, Ichio Murakami, Kazuhiro Hanazaki, Tetsuji Naka

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年月
Neoplasia Vol 23 (9) 939~950. 2021年9月

要旨

【背景・目的】

抗腫瘍効果を有する低分子を標的がん細胞上に発現するがん特異抗原に対する抗体に付加した抗体薬物複合体 (Antibody-drug conjugate : ADC) は、標的がん細胞に選択的かつ効果的に輸送されるため有望な治療薬になると考えられる。グリピカン1は腫瘍の増殖、転移、浸潤に関連する多様なシグナル伝達経路を活性化することが知られており、膵管癌や食道扁平上皮癌などの悪性腫瘍において腫瘍細胞上に高度に発現していることが明らかとなっている。これまでにグリピカン1を標的としたADCでは子宮頸がんおよび膵管癌で有用性が報告されている。今回我々は、ヒト化抗グリピカン1抗体 (クローンT2) をマレイミドカプロイル-バリリン-シトルリン-p-アミノベンジルオキシカルボニル (mc-vc-PABC) リンカーを介してモノメチルアウリスタチン E (MMAE) と結合したヒト化 GPC1-ADC [MMAE] を作成し、樹立した細胞株及びマウス皮下異種移植モデルの両方を用いて抗腫瘍効果明らかにすることである。

【方法と結果】

ヒト化抗グリピカン1抗体（クローンT2）をマレイミドカプロイル-バリン-シトルリン-p-アミノベンジルオキシカルボニル（mc-vc-PABC）リンカーを介してモノメチルアウリスタチン E（MMAE）と結合したヒト化 GPC1-ADC [MMAE]を作成した。樹立した細胞株を用いた基礎的実験ではヒト化 GPC1-ADC (MMAE) は、細胞周期における G2/M 期のサイクル停止と、*in vitro* でのアポトーシスを誘導することにより、グリピカン1陽性膵管癌および食道扁平上皮癌細胞株の増殖を抑制した。また、ヒト化 GPC1-ADC (MMAE) とグリピカン1の結合活性は、非結合抗グリピカン1抗体の結合活性と同等であった。マウス皮下異種移植モデルを用いた実験ではヒト化 GPC1-ADC (MMAE) は、グリピカン1陽性のヒト膵管癌細胞株 BxPC-3 に対しては抗腫瘍効果を認めたが、BxPC-3-GPC1-KO に対しては有効性を認めなかった。さらに、ヒト化 GPC1-ADC (MMAE) の標的発現がん細胞近傍にあるがん細胞に対する効果発現（いわゆる bystander 効果）を評価するために、グリピカン1陽性 BxPC-3 細胞およびグリピカン1陰性に改変した BxPC-3-GPC1-KO-Luc 細胞の混合物を、マウスに皮下接種し、不均一なグリピカン1発現腫瘍モデルを開発した。その結果、ヒト化 GPC1-ADC (MMAE) は、グリピカン1陽性 BxPC-3 細胞と BxPC-3-GPC1-KO-Luc 細胞の混在する腫瘍の増殖を抑制することが示された。*in vivo* イメージングシステム (IVIS) による観察では、ルシフェラーゼシグナルの低下を認め、bystander 効果による BxPC-3-GPC1-KO-Luc 細胞集団の抑制を示唆している。さらに、ヒト化 GPC1-ADC (MMAE) は BxPC-3 細胞を用いて形成した肝転移を抑制し、マウスの全生存期間を有意に改善した。さらには、マウスに対してグリピカン1陽性膵管癌および食道扁平上皮癌患者由来の組織片を異種移植したモデルにおいても、強力な抗腫瘍効果を示した。

【結論】

本研究の前臨床データは、グリピカン1が抗体薬物複合体の有望な治療となり得ることを示している。

以上のように、本論文はヒト化 GPC1-ADC [MMAE]が膵管癌及び食道扁平上皮癌をターゲットとした新規治療法となりうる可能性を示した。以上を総合的に判断し、審査員一同は申請者の学力および研究遂行能力が高知大学博士（医学）の学位を授与されるに相応するものと判断した。