

# 博 士 学 位 論 文

内 容 の 要 旨

お よ び

審 査 結 果 の 要 旨

令和4年4月～令和5年3月

和 歌 山 県 立 医 科 大 学

## 目 次

令和4年度（4月～3月）

(学位記番号)	(氏 名)	(論 文 題 目)	(頁)
博(医)甲第 642号	佐藤 知香	Three-week exercise and protein intake immediately after exercise increases the 6-min walking distance with simultaneously improved plasma volume in patients with chronic cerebrovascular disease: a preliminary prospective study … (慢性脳血管障害患者において、3週間の運動と運動直後のタンパク質摂取により、6分間歩行距離が増加し、同時に血漿量が改善する:前向き予備研究)	1
博(医)甲第 643号	鈴木 崇之	Z-score is a possible predictor of the risk of coronary artery lesion development in patients with Kawasaki disease in Japan … (川崎病患者の冠動脈病変発症予測における冠動脈Zスコアの有用性)	4
博(医)甲第 644号	Amir Khalifa Mahfouz Khalifa	Optical Coherence Tomography Comparison of Percutaneous Coronary Intervention Among Plaque Rupture, Erosion, and Calcified Nodule in Acute Myocardial Infarction. … (急性心筋梗塞におけるプラーク破裂、びらん、石灰化結節病変に対する経皮的冠動脈インターベンションの光干渉断層法による比較)	5
博(医)甲第 645号	西山 一成	Lipid metabolism after mild cold stress in persons with a cervical spinal cord injury … (頸髄損傷における緩徐全身寒冷刺激後の脂質代謝)	7
博(医)甲第 646号	松川 仁登美	Calnexin is involved in forskolin-induced syncytialization in cytotrophoblast model BeWo cells … (ヒト胎盤細胞性栄養膜細胞モデルであるBeWo細胞において小胞体シャペロン・カルネキシンはフォルスコリン誘導性のシンシチウム化に関与する)	9
博(医)甲第 647号	土橋 智弥	Intimal thickening and disruption of the media occur in the arterial walls of coronary arteries not associated with coronary arterial aneurysms in patients with Kawasaki disease … (冠動脈瘤合併川崎病患者では、瘤を発症しなかった冠動脈枝にも血管内膜肥厚と中膜断裂は存在する)	12
博(医)甲第 648号	若宮 崇人	High aldehyde dehydrogenase 1 activity is related to radiation resistance due to activation of AKT signaling after insulin stimulation in prostate cancer …	13
博(医)甲第 649号	佐藤 孝一	Differential properties of KRAS transversion and transition mutations in non-small cell lung cancer: associations with environmental factors and clinical outcomes … (非小細胞肺癌におけるKRASトランスバージョン変異とトランジション変異の特性の違い)	15

## 目 次

令和4年度（4月～3月）

(学位記番号)	(氏 名)	(論 文 題 目)	(頁)
博(医)甲第 650号	上田 祐子	Possible testosterone redundancy for 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone in the masculinization of mouse external genitalia (マウス陰茎海綿体形成過程における男性ホルモン系の補償作用に関する解析)	… 17
博(医)甲第 651号	加藤 喬	Augmentation of Stimulator of Interferon Genes–Induced Type I Interferon Production in COPA Syndrome (遺伝性炎症性疾患COPA症候群におけるSTING依存性I型インターフェロン産生誘導シグナルの活性化)	… 20
博(医)甲第 652号	田中 明紀子	Reduced fat taste sensitivity in obese Japanese patients and its recovery after a short-term weight loss program (日本人肥満者の脂肪味覚感度の低下と短期減量による改善)	… 22
博(医)甲第 653号	上野 一樹	Impaired Healing of Cutaneous Wound in a Trpv1 deficient mouse (Trpv1欠損マウスにおける皮膚の創傷治癒遅延)	… 24
博(医)甲第 654号	上田 幸輝	Effects of Combination of Functional Electric Stimulation and Robotic Leg Movement Using Dynamic Tilt Table on Walking Characteristics in Post-Stroke Patients with Spastic Hemiplegia: A Randomized Crossover-Controlled Trial (痙性片麻痺患者の歩行特性に及ぼす機能的電気刺激とロボットダイナミックチルトテーブルを用いたステップ運動の併用効果：無作為化クロスオーバー対照試験)	… 27
博(医)甲第 655号	南野 麻衣	Characteristics of Guillain-Barré syndrome in super-elderly individuals (超高齢者ギラン・バレー症候群の特徴)	… 30
博(医)甲第 656号	久米川 真治	Development of Surgical and Visualization Procedures to Analyze Vasculatures by Mouse Tail Edema Model (新規マウス尾部モデルによる脈管系の可視化解析システムの開発)	… 32
博(医)甲第 657号	Zhang Siying	Forensic Application of Epidermal Ubiquitin Expression to Determination of Wound Vitality in Human Compressed Neck Skin (表皮ユビキチン発現動態のヒト頸部皮膚における生前圧迫判定への応用)	… 35

## 目 次

令和4年度（4月～3月）

(学位記番号)	(氏 名)	(論 文 題 目)	(頁)
博(医)甲第 658号	村上 大輔	Prognostic value of CD155/TIGIT expression in patients with colorectal cancer (大腸癌における予後予測因子としてのCD155とTIGITの有用性に関する検討)	36
博(医)甲第 659号	向井 裕貴	Renal and endocrine responses to arm exercise in persons with cervical spinal cord injury.	38
博(医)甲第 660号	南 晃平	Voluntary running-induced activation of ventral hippocampal GABAergic interneurons contributes to exercise-induced hypoalgesia in neuropathic pain model mice (自発運動に伴う腹側海馬GABA介在ニューロンの活性化は神経障害性疼痛モデルにおける運動による疼痛抑制に関与する)	40
博(医)乙第 1018号	難波 孝礼	Comparative analysis of effects of various toilet seat cushions on buttock pressure during toileting in persons with spinal cord injury (脊髄損傷者が便座に座った時の座面圧力値に対する各種便座クッションの比較分析)	42
博(医)乙第 1019号	岡田 紗枝	New diagnostic support tool for lumbosacral foraminal stenosis using radiographs of the lumbar spine (腰椎X線画像を使用した腰仙椎椎間孔部狭窄の新しい診断サポートツールの開発)	44
博(医)乙第 1020号	内原 麻友	Blood biomarkers reflect integration of severity and extent of endoscopic inflammation in ulcerative colitis (潰瘍性大腸炎における血液バイオマーカーと内視鏡的重症度・病変範囲との関連)	46
博(医)乙第 1021号	西山 瑞穂	Sustained Surface ICAM-1 Expression and Transient PDGF-B Production by Phorbol Myristate Acetate-Activated THP-1 Cells Harboring Blau Syndrome-Associated NOD2 Mutations (ブラウ症候群に関連する変異NOD2遺伝子を組み込んだTHP-1細胞は、phorbol myristate acetate (PMA) 添加により細胞表面にICAM-1を長期発現し、一時的にPDGF-Bを産生する)	49
博(医)乙第 1022号	福田 直城	Laparoscopic sleeve gastrectomy for morbid obesity improves gut microbiota balance, increases colonic mucosal-associated invariant T cells and decreases circulating regulatory T cells (高度肥満症に対する腹腔鏡下スリーブ状胃切除術による、腸内細菌叢バランスの改善および大腸粘膜中MAIT細胞と末梢血中Treg細胞の変化の検討)	52

## 目 次

令和4年度（4月～3月）

(学位記番号)	(氏 名)	(論 文 題 目)	(頁)
博(医)乙第 1023 号	島 望	Activities of daily living status and psychiatric symptoms after discharge from an intensive care unit: a single-center 12-month longitudinal prospective study (緊急入室したICU患者のICU退室後の身体機能と精神症状の縦断研究)	… 55
博(医)乙第 1024 号	山崎 亮典	Comparison of plasma concentrations of levobupivacaine with and without epinephrine for thoracic paravertebral block: A randomised trial (傍脊椎ブロック時におけるエピネフリン添加によるレボブピバカイン血中濃度の比較検討)	… 58
博(医)乙第 1025 号	高橋 麻衣子	Validation of the Japanese version of the Questionnaire for Impulsive-Compulsive Disorders in Parkinson's Disease-Rating Scale (QUIP-RS) (パーキンソン病における衝動制御障害の評価尺度 (QUIP-RS) の日本語版の作成及び妥当性の検討)	… 60
博(医)乙第 1026 号	鍵弥 朋子	Colonic lymphoid follicle hyperplasia after gastrectomy in rats (ラットにおける胃摘出後の大腸リンパ小節過形成)	… 61
博(医)乙第 1027 号	岡田 秀雄	Assessment of human placenta as an ex-vivo vascular model for testing of liquid embolic agent injections with adjunctive techniques. (液体塞栓物質を用いた血管内治療シミュレーションのための産後ヒト胎盤の血管モデルとしての有用性に関する研究)	… 64
博(医)乙第 1028 号	置塩 祐子	Is open abdominal management useful in nontrauma emergency surgery for older adults? A single-center retrospective study. (高齢者急性腹症に対するOpen Abdominal Managementの有用性に関する研究)	… 66
博(医)乙第 1029 号	田中 涼大	Usefulness of ethiodized oil and gelatin sponge particles for delaying the washout of indocyanine green from the liver in swine (インドシアニングリーンを用いた肝区域染色法におけるリピオドールとゼラチンスポンジ粒子の有用性：豚の肝臓を用いた検討)	… 69
博(医)乙第 1030 号	上裕 敦文	Transcatheter arterial embolization of abnormal neovessels in a swine model of knee arthritis (豚膝関節炎モデルの作製および新生血管に対する動脈塞栓術)	… 71

## 目 次

令和4年度（4月～3月）

(学位記番号)	(氏名)	(論文題目)	(頁)
博(医)乙第 1031 号	藤田 洋一	Malignant potential and specific characteristics of pure main duct type intraductal papillary mucinous neoplasm (主膵管型膵管内乳頭粘液性腫瘍の臨床病理学的特徴について)	... 73
博(医)乙第 1032 号	谷奥 匡	Tmem45b is essential for inflammation- and tissue injury-induced mechanical pain hypersensitivity (Tmem45bは炎症や組織損傷により惹起される機械性痛覚過敏の形成に不可欠である)	... 75
博(医)乙第 1033 号	矢本 利一	Three-dimensional morphology of the superior cerebellar artery running in trigeminal neuralgia (三次元コンピュータシミュレーションを用いた、三叉神経痛における上小脳動脈の走行に関する研究)	... 78
博(医)乙第 1034 号	山下 真史	Mortality and complications in elderly patients with cervical spine injuries. (高齢者の頸椎外傷における合併症と死亡率の検討)	... 80
博(医)乙第 1035 号	阿南 慎平	Brainstem Infiltration Predicts Survival in Patients With High-grade Gliomas Treated With Chemoradiotherapy (悪性神経腫に対する放射線治療成績および予後予測因子に関する後ろ向き観察研究)	... 85
博(医)乙第 1036 号	前田 真範	Predicting the Onset of Acute Encephalopathy With Biphasic Seizures and Late Reduced Diffusion by Using Early Laboratory Data. (けいれん発症後早期の血液検査値を用いてけいれん重積型急性脳症の発症を予測する)	... 87
博(医)乙第 1037 号	原田 悌志	Association between acetabular dysplasia and sagittal spinopelvic alignment in a population-based cohort in Japan (日本の一般住民コホートにおける寛骨臼形成不全と脊椎骨盤矢状面アライメントの関連)	... 89
博(医)乙第 1038 号	柴田 真未	Activities of daily living and psychiatric symptoms after intensive care unit discharge among critically ill patients with or without tracheostomy: a single center longitudinal study (気管切開を行った重症患者における集中治療退室後の日常生活動作と精神症状: 単一施設縦断研究)	... 91
博(医)乙第 1039 号	寒川 浩道	Impact of left ventricular ejection fraction and preoperative hemoglobin level on perioperative adverse cardiovascular events in noncardiac surgery (非心臓手術における左室駆出率および術前ヘモグロビンと周術期心血管イベントとの関連についての検討)	... 94

学位記番号	博(医)甲第642号		
学位授与の日	令和4年4月19日		
氏名	佐藤 知香		
学位論文の題目	Three-week exercise and protein intake immediately after exercise increases the 6-min walking distance with simultaneously improved plasma volume in patients with chronic cerebrovascular disease: a preliminary prospective study (慢性脳血管障害患者において、3週間の運動と運動直後のタンパク質摂取により、6分間歩行距離が増加し、同時に血漿量が改善する：前向き予備研究)		
論文審査委員	主査	教授 川股 知之	
	副査	教授 伊東 秀文	教授 田島 文博

## 論文内容の要旨

### 【背景】

本邦の脳血管疾患の総患者数は約110万人(平成29年度厚生労働省患者調査)であり、要介護認定者は約85万人とされる(平成29年厚労省調べ)。慢性期脳血管障害患者が在宅で生活し続けるための身体機能、とくに持久力や下肢筋力を維持することが望まれる。

持久力の評価としてリハビリテーション医療の現場では6分間歩行距離(6MWD)が用いられる。6MWDは週3回30分のトレッドミル歩行運動を4週間することで11%改善するなど運動療法により改善することが報告されている。持久力の低い対象では、6MWDが最高酸素摂取量( $VO_{2peak}$ )と相関する。また、我々の最近の知見から慢性期脳卒中患者においても $VO_{2peak}$ と血液量(BV)や血漿量(PV)が相関する。

先行研究によれば、高血圧を持つ高齢者を対象に8週間の持久性運動とその直後の糖タンパク質摂取は、血圧を増悪させることなくBVとPVを改善させた。これらから、我々は慢性期脳血管障害患者においても、運動療法とその直後にタンパク質摂取を行うことにより、血圧を悪化させることなくBVやPVが改善し、持久力が改善する可能性があると考えた。

この前向き研究では、同患者において3週間の運動療法とその直後のタンパク質摂取を行うとき、高血圧を悪化させることなく、BVとPV、および身体的持久力を改善できるかどうかを評価することを目的とした。

### 【方法】

独歩可能な慢性脳血管障害患者を、高タンパクゼリーを摂取する群(介入群[PG];タンパク質10g)、タンパク質を含まないゼリーを摂取する群(対照群[CG];タンパク質0g)の2群に分け、それぞれ3週間の運動療法目的で入院する間に、平日は午前午後各1時間、土曜日は1時間の運動療法リハビリテーションを行い、毎回の運動療法終了後30分以内に各ゼリーを摂取させた。どちらの群に振り分けられているかは対象患者や測定者に伝えられることはなかった。PVとBV、6MWD、 $VO_{2peak}$ 、膝伸展筋力、10m歩行速度(10MWS)、安静時血圧を介入前後に測定した。時間×群の交互作用の有無については2元配置分散分析を用いて解析した。群内の介入前後や群間の比較にはpost-hoc試験(Tukey検定)を用い、有意水準は $P<0.05$ とした。入院中の食事は全患者が同様に管理されていた。

### 【結果】

23名の慢性期脳血管障害患者の内、本研究に同意を得た15名を対象とした。PG8名、CG7名と振り分けられたが、PGだった1名が入院期間中に途中離脱し、PG・CGの各1名が5か月以上のwash out期間を経てもう一方の条件にも参加した。結果、解析対象者はPG8名、CG8名となった。各群に、病型や性別、発症からの期間、介入前の血液データでの有意差は見られなかった。介入後、6MWDはPGのみで増加した( $P=0.001$ ;交互作用、 $P=0.037$ )。PVとBVもPGのみで増加した( $P<0.05$ )。 $VO_{2peak}$ と麻痺側の膝伸展筋力は両群で増加した( $P<0.05$ )。10MWSは快適速度がPGのみで増加( $P=0.019$ )したが、交互作用は有意ではなく( $P=0.597$ )、最大歩行速度は両群とも変化しなかった( $P=0.116$ )。なお、

両群において、安静時血圧は変化しなかった。

#### 【考察】

本研究は慢性期脳血管障害患者において、3週間の運動療法とその直後のタンパク質摂取がBVやPVを増加させるかどうか調査した初めての研究である。

先行研究より高齢者において8週間の持久性トレーニングと毎回その直後のタンパク質摂取によりPVやBVが増加することが示されていたが、慢性期脳血管障害患者でも同様の結果が見られた。運動により肝でのアルブミン合成が促進され、膠質浸透圧の増加がPVの上昇に関与したと考えられた。また、運動後の時間が2時間経過してからタンパク質を摂取した場合その24時間後のPVが変化しなかったのに対し、運動直後の摂取ではPVが増加したという先行研究結果があることから、タンパク質摂取のタイミングもPVの上昇に影響していると考えられた。

本研究で、6MWDはPGのみで増加した。6MWDの改善はBVやPV増加により持久力が改善されたことを示す。その改善には心臓への静脈還流量が増加し、筋への血流量増加が関与していると推察された。

両群において、 $VO_{2peak}$ や麻痺側筋力増加を認めた。 $VO_{2peak}$ も持久力の指標とされているが、6MWDの結果と矛盾してしまう。同患者における $VO_{2peak}$ の改善には麻痺側の筋力増加など、BVやPV以外の要因が関わっていたと考えられた。

#### 【結論】

慢性脳血管障害患者では、3週間の運動療法と運動直後のタンパク質摂取を組み合わせることにより、PVとBVの増加と同時に6MWDを増加させたが、安静時血圧は上昇しなかった。今回の運動療法と栄養療法の併用は独歩可能な慢性脳血管障害患者に受け入れられやすく効果的である。



## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年3月31日に論文審査委員は学位申請者の出席を求め、論文審査を行った。

本邦の脳血管疾患の総患者数は約110万人とされ、慢性期脳血管障害（CCVA）患者が在宅で生活し続けるため、特に持久力を維持することが望まれる。持久力の評価としてリハビリテーション（リハ）医療の現場では6分間歩行距離（6MWD）が用いられ、持久力の低い対象で、6MWDは最高酸素摂取量（ $VO_{2peak}$ ）と相関する。申請者らの研究によりCCVA患者で $VO_{2peak}$ と血液量（BV）や血漿量（PV）が相関する事を見出した。一方、高齢の高血圧患者を対象に8週間の持久性運動とその直後の糖タンパク質摂取が、血圧を増悪させずBVとPVを改善させる事が報告されている。申請者らはCCVA患者においても、運動療法とその直後にタンパク質摂取を行うことで、血圧を悪化させずにBVやPVが改善し、持久力が改善する可能性があると考え、研究を立案し検証した。

独歩可能なCCVA患者を、高タンパク質ゼリー摂取群（介入群 [PG]；タンパク質10g/回）、タンパク質を含まないゼリー摂取群（対照群 [CG]；タンパク質0g）の2群に分け、各3週間、11時間/週のリハ治療を行い、毎回の運動終了後30分以内に各ゼリーを摂取させた。PVとBV、6MWD、 $VO_{2peak}$ 、膝伸展筋力、安静時血圧を介入前後に測定した。

本研究に同意した15名を、PG8名、CG7名に振り分けた。PGの1名が途中離脱、PGとCGの各1名が5か月以上のwash out期間を経てもう一方にも参加し、解析対象者は各群8名となった。介入後、6MWDはPGのみで増加した（ $P=0.001$ ）。PVとBVもPGのみで増加した（ $P<0.05$ ）。 $VO_{2peak}$ と麻痺側の膝伸展筋力は両群で増加した（ $P<0.05$ ）。両群で、安静時血圧は変化しなかった。

CCVA患者でも先行研究と同様、運動とその直後のタンパク質摂取によりPVやBVが増加した。運動による肝でのアルブミン合成促進、膠質浸透圧の増加がPVの上昇に関与したと考えられる。運動直後のタンパク質摂取でのみPVが増加したという先行研究結果から、摂取のタイミングもPVの上昇に影響していると考えられた。また、6MWDはPGのみで増加した。BVやPV増加により持久力が改善されたことを示す。その改善には心臓への静脈還流量が増加し、筋への血流量増加が関与していると推察された。 $VO_{2peak}$ や麻痺側筋力増加を両群で認め、 $VO_{2peak}$ の改善には麻痺側の筋力増加など、BVやPV以外の要因が関わっていたと考えられた。

今回の結果は、CCVA患者で、3週間の運動療法と運動直後のタンパク質摂取により、安静時血圧を悪化させることなく、PVとBVの増加と同時に6MWDを増加させることを示した。この運動療法と栄養療法の併用は、独歩可能なCCVA患者に受けられやすく効果的と考える。

本論文はCCVA患者において、3週間の運動療法とその直後のタンパク質摂取がBVやPV、持久力を増加させることを明らかにした初めての研究であり、学位論文として価値あるものとして認めた。

学位記番号	博(医)甲第643号		
学位授与の日	令和4年9月20日		
氏名	鈴木 崇之		
学位論文の題目	Z-score is a possible predictor of the risk of coronary artery lesion development in patients with Kawasaki disease in Japan (川崎病患者の冠動脈病変発症予測における冠動脈 Z スコアの有用性 )		
論文審査委員	主査	田中 篤 教授	
	副査	西村好晴 教授	徳原大介 教授

## 論文内容の要旨

【緒言】川崎病 (KD) 患者における冠動脈病変 (CAL) 発症の危険因子として、男性、生後 12 カ月未満の乳児、免疫グロブリン (IVIG) 不応、診断の遅れがあげられる。我々は、CAL の発症と冠動脈 Z-score の関係を調べることを目的とした。

【方法】当院の治療プロトコールで治療された 281 人の KD 患者を登録した。心エコーは治療前 (P1)、治療後 (P2)、発症 4 週間後 (P3) の 3 段階に分けて行った。各段階の右冠動脈、左冠動脈主幹部、左前下行枝、左回旋枝の冠動脈 Z-score の最高値をそれぞれ Zmax とし、 $P3-Zmax \geq 2.5$  を CAL 発症と定義した。血液検査値や冠動脈 Z-score などの臨床パラメータを、CAL 発症患者と非発症患者で後方視的に比較した。

【結果】 $P1-Zmax$  が 2.0 以上の症例は 67 例 (23.8%) であり、CAL 発症は 21 例 (7.5%) であった。CAL 発症の独立した危険因子は、 $P1-Zmax$ ,  $\Delta Zmax$  ( $P2-Zmax - P1-Zmax$ )  $\geq 1$ , 男性、生後 12 カ月未満、初回 IVIG 不応 (それぞれの修正オッズ比 [95%信頼区間: 198 [1.01-3.92], 4.04 [1.11-14.7], 6.62 [1.33-33.04], 4.71 [1.51-14.68], 5.26 [1.62-17.13])。ROC 曲線解析では、 $P1-Zmax \geq 1.43$  で CAL 発症を検出し、AUC は 0.64 (感度=81.0%, 特異度=48.1%) であった。

【考察】 $P1-Zmax$  と  $\Delta Zmax$  ( $P2-Zmax - P1-Zmax$ )  $\geq 1$  が CAL 発症を予測する可能性が示唆された。

## 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和 4 年 8 月 22 日、23 日、29 日に論文審査担当者は学位申請者の出席を求め、上記論文についての審査を行った。

治療開始病日の中央値は第 4 病日 (範囲: 2-9 病日) であった。CAL は 21 例 (7.5%) で発症した。CAL 発症に関連する独立したリスク因子は、 $P1-Zmax$ , ( $P2-Zmax - P1-Zmax$ )  $\geq 1$ , および男性 (オッズ比、[95%信頼区間]: 3.53, [1.54-8.04], 32.78, [7.17-149.9], 6.03, [1.10-33.07]) であった。さらに、ROC 曲線を使用して、 $P1-Zmax \geq 1.43$  は、CAL 発症のカットオフ値 (感度 81%、特異度 51%) と算定された。

$P1-Zmax \geq 1.43$  および ( $P2-Zmax - P1-Zmax$ )  $\geq 1$  が CAL 発症の予測に役立つ可能性がある。これらの指標による初期治療強化/追加治療の選別の有用性が示された。本研究により、臨床的な治療介入基準を示されたことは学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第 644 号
学位授与の日	令和4年9月27日
氏名	Amir Khalifa Mahfouz Khalifa
学位論文の題目	Optical Coherence Tomography Comparison of Percutaneous Coronary Intervention Among Plaque Rupture, Erosion, and Calcified Nodule in Acute Myocardial Infarction. (急性心筋梗塞におけるプラーク破裂、びらん、石灰化結節病変に対する経皮的冠動脈インターベンションの光干渉断層法による比較)
論文審査委員	主査 胸部外科学 西村 好晴 教授 副査 循環器内科学 田中 篤 教授 放射線医学 園村 哲郎 教授

## 論文内容の要旨

### 【緒言】 Introduction:

Acute myocardial infarction (AMI) is caused by plaque rupture (PR), plaque erosion (PE), or calcified nodules (CN) in coronary atherosclerotic lesions. Based on autopsy studies, PR is the most frequent etiology (55-60%), followed by PE (30-35%), with CN the least frequent etiology (2-7%). PR is characterized by discontinuity in the fibrous cap and cavity formation within the lipid-rich plaque. PE is characterized by an area lacking surface endothelium and occurs over a plaque with a thick intima. CN is a plaque with luminal thrombi showing calcific nodules protruding into the lumen through a disrupted fibrous cap.

Percutaneous coronary intervention (PCI) using stents is the established therapy for coronary artery disease. Stent expansion is closely associated with PCI outcomes. Previous intravascular imaging studies have demonstrated that stent underexpansion is a major predictor of subsequent stent failure, such as restenosis and thrombosis. Stent expansion is potentially affected by underlying lesion morphologies and plaque tissue components.

Intracoronary optical coherence tomography (OCT) allows PR, PE, and CN to be differentiated in vivo, as well as stent expansion to be assessed during PCI. The present study used OCT to compare stent expansion immediately after primary PCI in AMI caused by PR, PE, and CN.

### 【方法】 Methods:

We identified 288 AMI patients who underwent primary PCI with OCT guidance during the specified duration. Intervention in all patients was performed using OPINION criteria with at least one operator specialized in OCT analysis. In all patient OCT examination before and immediately after the intervention were analyzed. Patients were classified as either having OCT-PR, OCT-PE, or OCT-CN. Results were compared between the three groups.

### 【結果】 Results:

The frequency of OCT-PR, OCT-PE, and OCT-CN was 172 (60%), 82 (28%), and 34 (12%), respectively. Minimum stent area was smallest in the OCT-CN group, followed by the OCT-PE and OCT-PR groups ( $5.20 \pm 1.77$ ,  $5.44 \pm 1.78$ , and  $6.44 \pm 2.2$  mm<sup>2</sup>, respectively;  $P < 0.001$ ), as was the stent expansion index ( $76 \pm 13\%$ ,  $86 \pm 14\%$ , and  $87 \pm 16\%$ , respectively;  $P = 0.001$ ).

The frequency of stent malapposition was highest in the OCT-CN group, followed by the OCT-PR and OCT-PE groups (71%, 38%, and 27%, respectively;  $P < 0.001$ ), as was the frequency of stent edge dissection in the proximal reference (44%, 23%, and 10%, respectively;  $P < 0.001$ ).

The frequency of tissue protrusion was highest in the OCT-PR group, followed by the OCT-PE and OCT-CN groups (95%, 88%, and 85%, respectively;  $P = 0.036$ ).

### 【結論】 Conclusion:

Stent expansion was smallest in the OCT-CN group, followed by the OCT-PR and OCT-PE groups. Plaque morphology in AMI culprit lesions may affect stent expansion immediately after primary PCI.

## 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

On August 17, 2021, the peer review committee requested the attendance of bachelor's degree applicant. The Above mentioned Thesis had been reviewed.

The above thesis studied the different mechanisms responsible for occurrence of acute myocardial infarction (AMI), which are plaque rupture (PR), plaque erosion (PE), and calcified nodule (CN), using intracoronary imaging device Optical Coherence Tomography (OCT), and compared the acute results following stent implantation among the three groups.

### Methods:

We included 288 AMI patients during the specified time interval between January 2016 to December 2018, who underwent primary PCI with OCT guidance. Intervention in all patients was performed using OPINION criteria with at least one operator specialized in OCT analysis. In all patient OCT examination before and immediately after the intervention were analyzed. Patients were classified as either having OCT-PR, OCT-PE, or OCT-CN. OCT analysis immediately after the intervention including stent segment analysis, minimum stent area (MSA), stent expansion index, proximal and distal reference areas and occurrence of proximal and distal dissections. Results were compared among the three groups.

### Results:

The frequency of OCT-PR, OCT-PE, and OCT-CN was 172 (60%), 82 (28%), and 34 (12%), respectively. Minimum stent area was smallest in the OCT-CN group, followed by the OCT-PE and OCT-PR groups ( $5.20 \pm 1.77$ ,  $5.44 \pm 1.78$ , and  $6.44 \pm 2.2$  mm<sup>2</sup>, respectively;  $P < 0.001$ ), as was the stent expansion index ( $76 \pm 13\%$ ,  $86 \pm 14\%$ , and  $87 \pm 16\%$ , respectively;  $P < 0.001$ ). The frequency of stent malapposition was highest in the OCT-CN group, followed by the OCT-PR and OCT-PE groups (71%, 38%, and 27%, respectively;  $P < 0.001$ ), as was the frequency of stent edge dissection in the proximal reference (44%, 23%, and 10%, respectively;  $P < 0.001$ ). The frequency of tissue protrusion was highest in the OCT-PR group, followed by the OCT-PE and OCT-CN groups (95%, 88%, and 85%, respectively;  $P = 0.036$ ).

### Conclusion:

Stent expansion was smallest in the OCT-CN group, followed by the OCT-PR and OCT-PE groups. Plaque morphology in AMI culprit lesions may affect stent expansion immediately after primary PCI, this in turn may have effect on long term outcomes of the patients, depending on different underlying plaque morphology.

**This paper was recognized as valuable thesis as it affects the management of PCI to AMI patients in order to improve the final results of the intervention and patients' clinical outcomes. The review committee decided to accept it.**

学位記番号	博(医)甲第645号		
学位授与の日	令和4月9月27日		
氏名	西山 一成		
学位論文の題目	Lipid metabolism after mild cold stress in persons with a cervical spinal cord injury (頸髄損傷における緩徐全身寒冷刺激後の脂質代謝)		
論文審査委員	主査	教授 井原 義人	
	副査	教授 藤吉 朗	教授 田島 文博

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

寒冷下において健常者ではノルアドレナリンにより脂質代謝が亢進し体温が維持される。しかし、交感神経が障害された頸髄損傷者の寒冷刺激時の脂質代謝反応は不明である。頸髄損傷者に寒冷負荷し脂質代謝反応を観察することで、寒冷環境下での脂質代謝における交感神経の役割について新たな知見が得られる。

### 【方法】

頸損完全損傷者 9 名と健常者 11 名を被検者とした。被検者は水還流スーツを着用し背臥位で安静にした。はじめに 10 分間 33°C の水を還流させた後に、寒冷刺激として 20 分間水温を 25°C に低下させた。続く 60 分間は水温を 33°C に戻し、その後はスーツを脱衣し、室温で 60 分間座って安静にした。寒冷刺激前、直後と 60 分後に皮膚温、食道温、心拍数、血圧、酸素摂取量と二酸化炭素排出量を計測した。採血を寒冷刺激前、直後、60 分後と 120 分後に実施した。血漿アドレナリン、ノルアドレナリン、グルコース、グルカゴン、血清インスリン、遊離脂肪酸、総ケトン体濃度を測定した。

### 【結果】

両群とも同様に皮膚温が寒冷刺激直後に約 2.3°C、食道温が 60 分後に約 0.2°C 低下した。体重当たりの酸素摂取量に差はなく、両群ともに経時的な変化がなかった。頸髄損傷者の呼吸商は健常者と同等で寒冷刺激 60 分後に低下した。血漿カテコラミンは実験を通じて頸髄損傷者で低値であった。アドレナリンは両群ともに経時的な変化はなかった。ノルアドレナリンも頸髄損傷者では変化しなかったが、健常者では寒冷刺激 60 分後、120 分後に増加した。総ケトン体は頸髄損傷者で寒冷刺激 60 分後、120 分後に、健常者で 120 分後にのみ増加した。遊離脂肪酸は頸髄損傷者で寒冷刺激直後に増加したが、60 分後、120 分後には頸髄損傷者、健常者ともに低下した。頸髄損傷者の総ケトン体、遊離脂肪酸濃度はいずれも常に健常者と同等であった。インスリン、グルコースはいずれも刺激前から頸髄損傷者で高値であったが、寒冷刺激 120 分後には健常者と同等まで低下した。

### 【考察】

頸髄損傷者はカテコラミン濃度が低値のままでも関わらず、遊離脂肪酸、総ケトン体濃度は健常者と同等であった。ふるえ（骨格筋）による熱産生を除外するために緩徐な寒冷刺激に留めたため代謝量は増加しなかったが、呼吸商が低下しており両群で同じように脂質代謝の亢進が示唆された。健常者の脂質代謝の亢進はノルアドレナリンの増加により説明ができる。しかし、頸髄損傷者ではノルアドレナリンの上昇がみられなかった。頸髄損傷者における寒冷刺激後のインスリン低下が遊離脂肪酸の動員を刺激した可能性を考えた。β受容体をブロックされた健常者・肥満者において心房性利尿ペプチドの投与が脂質代謝を亢進させることが報告されている。頸髄損傷者で、インスリン以外に、このような交感神経障害を代償するような機構が発達している可能性もある。

本研究は、寒冷環境下での脂質代謝の亢進において交感神経活動、血漿カテコラミン濃度の上昇が必須ではないことを明らかにした。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年8月17日および8月19日、論文審査委員は学位請求者の出席（オンライン）を求め論文審査を行った。

寒冷刺激下において交感神経系で分泌が促進されるノルアドレナリンなどのカテコラミンは脂肪分解を促進する主要なホルモンである。従って、交感神経が障害された頸髄損傷者では脂質代謝反応が減弱することが予想される。本論文では、頸髄完全損傷者の緩徐全身寒冷刺激に対する脂質代謝応答について、健常者との比較・検討を行った。

頸髄損傷者の血漿カテコラミン濃度は健常者よりも低値で寒冷刺激によって増加しなかったが、寒冷刺激後の呼吸交換比の低下および血清遊離脂肪酸、ケトン体濃度は健常者と同等であった。一方、脂肪分解の抑制作用をもつインスリンの血清レベルは、寒冷刺激前から頸髄損傷者で高値であり、寒冷刺激後に健常者と同等まで低下した。

以上の結果から、頸髄損傷者において、寒冷刺激下で血漿カテコラミン濃度の増加が見られなかったにもかかわらず、脂質代謝が健常人と同等に亢進した一因として、頸髄損傷者でもともと高値であった血清インスリンレベルの寒冷刺激による低下が、脂肪分解抑制の解除につながるような分子機構の関与が示唆された。近年では心房性ナトリウム利尿ペプチドが脂質代謝を促進することがわかっている。従って、頸髄損傷者において交感神経活動の欠損を代償する何らかの機序が他にも存在するものと考えられた。従来、脂質代謝亢進において、カテコラミン、交感神経活動が重要とされてきたが、その調節機構において必須ではないことが明らかとなった。

本論文は、寒冷刺激に対する脂質代謝における交感神経の役割、頸髄損傷者の脂質代謝メカニズムの一端を明らかにしたという点で、医学的に意義深いものであり、学位論文として価値あるものとして認めた。

学位記番号	博(医)甲第646号		
学位授与の日	令和4年10月18日		
氏名	松川 仁登美		
学位論文の題目	Calnexin is involved in forskolin-induced syncytialization in cytotrophoblast model BeWo cells (ヒト胎盤細胞性栄養膜細胞モデルである BeWo 細胞において小胞体シャペロン・カルネキシンはフォルスコリン誘導性のシンシチウム化に参与する)		
論文審査委員	主査	教授 松岡 孝昭	
	副査	教授 井原 義人	教授 井篁 一彦

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

妊娠高血圧腎症 (Preeclampsia: PE) は高血圧・タンパク尿・浮腫を主徴とする妊娠合併症である。PE の成因として、絨毛外栄養膜細胞 (Extravillous Trophoblast: EVT) の浸潤不全および細胞性栄養膜細胞 (Cytotrophoblast: CTB) から合胞体栄養膜細胞 (Syncytiotrophoblast: STB) への分化・細胞融合 (シンシチウム化) 不全などによる胎盤形成不全が挙げられる。カルネキシン (CNX) は、小胞体の膜結合型分子シャペロンであり、胎盤組織で高発現することが報告されている。我々は、CNX の機能的パラログ分子であるカルレティキュリン (CRT) が、胎盤形成において、ヒト絨毛性ゴナドトロピン-β (beta-Human Chorionic Gonadotropin: β-hCG) 分泌やE-カドヘリンの膜輸送の制御を介して、胎盤形成後期のシンシチウム化や絨毛細胞融合を調整することを報告した。一方、CNX と胎盤形成機構との関与は全く検証されていない。

### 【目的】

CTB モデルとしてヒト胎盤絨毛癌由来 BeWo 細胞を用い、胎盤形成のシンシチウム化における CNX の機能的役割について検討することを目的とした。

### 【方法】

インフォームドコンセント取得のもとに得られたヒト胎盤組織において、CNX のタンパク質発現について、免疫組織化学的解析とウェスタンブロット法により検討した。ヒト胎盤絨毛癌由来 BeWo 細胞株に CNX-shRNA 発現ベクターを導入し、CNX 低発現安定細胞株を作製した。CNX の発現抑制がシンシチウム化に及ぼす影響について、Forskolin 誘導性の細胞融合やβ-hCG の発現・分泌、β-hCG 受容体である黄体形成ホルモン/絨毛性ゴナドトロピン受容体 (Luteinizing Hormone/Choriogonadotropin Receptor: LHCGR) の発現を指標とし、特異抗体を用いたウェスタンブロット法、免疫蛍光染色法、Real time RT-PCR (RT-qPCR) 法、LHCGR の Pull-down アッセイなどにより検討した。

### 【結果】

#### 1. ヒト胎盤組織における CNX の発現の検討

ヒト胎盤において、免疫組織化学的解析により、CNX は主に STB に局在することが明らかとなった。正常胎盤組織と PE 胎盤組織における CNX のタンパク質発現量をウェスタンブロット法で比較した結果、PE 胎盤組織において CNX の発現量の低下を認めた。

#### 2. CNX 低発現 BeWo 細胞株の作製

CNX-shRNA 発現ベクターの BeWo 細胞への導入により CNX 低発現安定細胞株を作製した。ウェスタンブロット法および免疫蛍光染色法による細胞解析により、タンパク質レベルで CNX の発現が抑制されていることを確認した。コントロール細胞株と CNX 低発現細胞株とで明らかな細胞形態の変化は認めなかった。また、細胞増殖に明らかな影響はみられなかった。

#### 3. CNX 発現抑制によるシンシチウム化能、β-hCG の合成・分泌能への影響についての検討

Forskolin 誘導性の細胞融合については、抗- $\beta$ -catenin あるいは抗-Zonula occludens protein-1 特異抗体を用いた免疫蛍光染色法で評価した。CNX 低発現細胞株ではコントロール細胞株と比較して、細胞融合が有意に抑制されていた。また、 $\beta$ -hCG の合成、分泌についても、ウェスタンブロット法、免疫蛍光染色法、RT-qPCR 法を用いて評価した。CNX 低発現細胞株では、コントロール細胞株と比較して、 $\beta$ -hCG のタンパク質発現量が細胞内、細胞外ともに低下していた。細胞内の $\beta$ -hCG タンパク質発現の低下は免疫蛍光染色法でも確認された。また、 $\beta$ -hCG 発現は mRNA レベルでも低下していた。

#### 4. CNX 発現抑制による細胞膜上の LHCGR 発現量の変化

$\beta$ -hCG の受容体である LHCGR の総発現量および細胞膜上での発現量の CNX 発現抑制による変化を、特異抗体を用いたウェスタンブロット法および免疫蛍光染色法により検討した。CNX 低発現細胞株では、コントロール細胞株と比較して LHCGR 総発現量に有意差は認めなかった。一方、細胞表面のタンパク質をビオチン化し、アビジンビーズで回収後、LHCGR のタンパク質量をウェスタンブロット法で評価した結果、細胞膜上の LHCGR 発現量が CNX 低発現細胞株でコントロール細胞株と比較して有意に低下していた。

#### 5. CNX 発現抑制によるオートクライン依存性 $\beta$ -hCG 合成能への影響

CNX 低発現による Forskolin 非誘導のオートクライン依存性 $\beta$ -hCG 合成能に対する影響を評価した結果、CNX 低発現細胞株では $\beta$ -hCG の mRNA 量がコントロール株と比較して抑制されていた。

#### **【考察・結語】**

ヒト PE 胎盤組織では正常胎盤組織と比較して、組織抽出サンプル中の CNX のタンパク質発現量が有意に低下していたこと、CNX 低発現 BeWo 細胞株ではコントロール細胞株と比較して、Forskolin 誘導性の細胞融合能および $\beta$ -hCG 合成・分泌能が有意に低下していたことから、CNX は CRT と同様に、胎盤形成過程、特にシンシチウム化に重要な機能をもつことが示唆された。また、CNX 低発現細胞株では、 $\beta$ -hCG の受容体である LHCGR の細胞膜上の発現量が低下しており、オートクライン依存性の $\beta$ -hCG 合成能が有意に低下していたことから、LHCGR の細胞膜への輸送の抑制、 $\beta$ -hCG シグナルのオートクライン制御の障害が示唆された。

以上より、CNX が胎盤形成のシンシチウム化において、LHCGR の細胞膜への輸送や $\beta$ -hCG 分泌の誘導に関与することが明らかとなり、CNX 発現量の低下は PE など胎盤形成不全と関連することが考えられた。



## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年10月3日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、令和4年10月5日はオンラインにて、論文審査を行った。

妊娠高血圧腎症（Preeclampsia: PE）は高血圧・タンパク尿・浮腫を主徴とする妊娠合併症である。PEの成因として、絨毛外栄養膜細胞（Extravillous Trophoblast: EVT）の浸潤不全および細胞性栄養膜細胞（Cytotrophoblast: CTB）から合胞体栄養膜細胞（Syncytiotrophoblast: STB）への分化・細胞融合（シンシチウム化）不全などによる胎盤形成不全が挙げられる。小胞体の膜結合型分子シャペロンであるカルネキシン（CNX）は胎盤組織で高発現することが報告されているが、胎盤形成機構への関与は全く検証されていない。本論文では、胎盤形成のシンシチウム化における CNX の機能的役割について検討した。

### 「方法」

組織や細胞におけるタンパク質の発現は免疫組織化学染色とウェスタンブロット法により検討した。mRNA 発現は RT-qPCR 法で定量した。ヒト胎盤絨毛癌由来 BeWo 細胞に CNX-shRNA 発現ベクターを導入し、CNX 低発現安定細胞株を作製、解析に用いた。

### 「結果」

- ・ヒト胎盤組織における CNX のタンパク質発現を検討したところ、CNX は主に STB に局在しており、PE 胎盤組織において CNX の発現量の低下を認めた。
- ・CNX 低発現 BeWo 細胞株を用いて、Forskolin 誘導性の細胞融合について評価した結果、CNX 低発現細胞では細胞融合が有意に抑制されていた。
- ・ $\beta$ -hCG の発現について解析した結果、CNX 低発現細胞株では、 $\beta$ -hCG のタンパク質発現量が細胞内、細胞外ともに低下していた。また、 $\beta$ -hCG 発現は mRNA レベルでも低下していた。
- ・ $\beta$ -hCG の受容体である LHCGR の総発現量および細胞膜上での発現量について評価した結果、CNX 低発現細胞株では、LHCGR 総発現量に有意差は認めなかったが、細胞膜上の LHCGR 発現量が有意に低下していた。
- ・オートクライン依存性 $\beta$ -hCG 合成能に対する CNX 低発現の影響を評価した結果、CNX 低発現細胞株では、オートクライン機序による $\beta$ -hCG mRNA 発現の誘導が著しく抑制されていた。

以上の結果から、CNX 低発現の影響として、LHCGR の細胞膜への輸送の抑制、 $\beta$ -hCG シグナルのオートクライン制御の障害が見出され、CNX は、胎盤形成過程、特にシンシチウム化に重要な機能をもつことが示唆された。

本研究は、CNX の発現低下と胎盤形成不全との新たな病態関連機構を示唆したという点で、医学的に意義深いものであり、学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第 647 号		
学位授与の日	令和 4年 11月 22日		
氏名	土橋 智弥		
学位論文の題目	Intimal thickening and disruption of the media occur in the arterial walls of coronary arteries not associated with coronary arterial aneurysms in patients with Kawasaki disease (冠動脈瘤合併川崎病患者では、瘤を発症しなかった冠動脈枝にも血管内膜肥厚と中膜断裂は存在する)		
論文審査委員	主査	田中 篤 教授	
	副査	西村 好晴 教授	徳原 大介 教授

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

川崎病の急性期に形成した冠動脈瘤(CAA)の多くは遠隔期に退縮し、血管内腔が一見正常化することは知られている。我々は血管壁の3層構造を明瞭に識別できる光干渉断層装置(OCT)を用いて、冠動脈瘤を合併した川崎病罹患患者の冠動脈壁構造の変化を調査した。

### 【方法】

CAA 合併川崎病の冠動脈枝を対象とし、①急性期から CAA を認めない群(CAA(-)群)、②急性期に CAA を認めたが遠隔期に消失した群(Regression 群)に分け、血管壁の変化について検討を行った。

### 【結果】

調査対象は23名57枝、CAA(-)群18枝とRegression群18枝。内膜厚の最大値はCAA(-)群で中央値355 $\mu$ m、Regression群で中央値475 $\mu$ m( $p=0.007$ )、異常肥厚例(内膜厚 $>400\mu$ m)はCAA(-)群で7枝(39%)、Regression群で17枝(94%)( $p<0.001$ )と有意差はあるが、両群共に内膜の異常肥厚を認める結果であった。中膜断裂像はCAA(-)群12例(67%)、Regression群18例(100%)( $p=0.020$ )であった。

### 【考察】

冠動脈瘤の退縮は正常な血管構造の再構築ではなく、内膜が異常肥厚し、拡張した血管内腔があたかも「正常化」したように見えることがわかった。一方、急性期にCAAを形成しなかった群でも、異常内膜肥厚例が39%もあり、血管構築を変化させ得る炎症が波及していたことがわかった。川崎病急性期に冠動脈の3枝ともに正常と判定された症例は、現在ガイドラインでは5年間のフォローで終了とされるが、内膜や中膜の変化を生じている可能性があり、より長期的な追跡の必要性が示唆された。

## 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和4年10月3日、4日に論文審査委員は学位申請者の出席を求め、論文審査を行った。

川崎病患者の重要な合併症である冠動脈瘤(CAA)のうち、退縮という過程は血管の異常な内膜肥厚が関係し、完全に正常化しているわけではないこと、また、急性期からCAAを形成せず正常に見えていた①CAA(-)群でも異常な内膜肥厚と中膜断裂を認めており、CAAの有無に関わらず血管壁構造を変化させ得る炎症の波及が示唆された。今回の研究から、CAAの退縮機序のOCT検査所見が明らかとなり、急性期からCAAが形成されなかった正常と評価された冠動脈でも内膜肥厚、中膜断裂を認めることが明らかとなった。

本論文は、川崎病冠動脈瘤の遠隔期の変化を捉えた新しい知見であり、また現在は経過観察を終了されている、CAAが退縮、もしくはCAAを認めない川崎病患者の遠隔期のフォローアップの必要性を示したものであり、学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第648号		
学位授与の日	令和4年12月20日		
氏名	若宮 崇人		
学位論文の題目	High aldehyde dehydrogenase 1 activity is related to radiation resistance due to activation of AKT signaling after insulin stimulation in prostate cancer		
論文審査委員	主査	教授 井上徳光	
	副査	教授 井篁一彦	教授 原 勲

## 論文内容の要旨

前立腺癌の再発、治療抵抗性獲得に関しては腫瘍の悪性度など含め多数のリスク因子があるが、今回着目した糖尿病やインスリンと、前立腺癌に対する治療抵抗性の関係についてはこれまで詳細な報告はない。がん幹細胞様細胞は、造腫瘍能、自己複製能、分化能を持つ細胞として定義されるが、治療抵抗性を持つことも知られている。本研究の目的は、前立腺癌由来がん幹細胞様細胞を用いて、高インスリン環境における前立腺癌の治療抵抗性への影響とそのメカニズムについて検討することである。

本研究では、ALDEFLUOR assay を用いて、アンドロゲン依存性のヒト前立腺癌細胞株 22Rv1 の中から、がん幹細胞マーカーである ALDH の活性が高いクローン(H-A2/ H-B4/ H-D2/ H-D5)、および低いクローン(L-B6/ L-C1/ L-D3)を樹立した。各クローンでの ALDH の発現の明瞭な差を RT-PCR、ウエスタンブロッティングで確認した。マウスへの移植では、ALDH<sup>high</sup> クローンで全体的に造腫瘍能が高い傾向だった。放射線照射、ドセタキセルによる化学療法への反応において、ALDH<sup>high</sup> クローンで治療抵抗性が強い傾向だったが、弱いものもあり、各クローンが非常にヘテロであった。AKT のリン酸化 (pAKT) レベルは、ALDH<sup>high</sup> クローンに比べて ALDH<sup>low</sup> クローンで有意に高かった。さらに、普段培養に用いる培地の濃度を高グルコースとし、各クローンへのインスリン負荷を行い、AKT pathway の活性化を確認した。インスリン負荷により各クローンで AKT が活性化していたが、ALDH<sup>high</sup> クローンで活性化がより強い傾向にあった。また AKT 阻害剤の投与により、インスリン負荷による pAKT レベルが抑制されていることを確認した。放射線治療に対して、インスリン負荷によりいずれにおいても治療抵抗性が増強しており、特に ALDH<sup>high</sup> クローンでより強い傾向が見られた。さらに AKT 阻害剤を投与すると、インスリンにより増強した治療抵抗性が解除された。化学療法においても概ね同様の傾向であった。pAKT レベルの増加率と放射線抵抗性の増加は、有意に相関していた。ALDH1 過剰発現株ではインスリン負荷で、より AKT が活性化された。

以上より、前立腺癌の ALDH<sup>high</sup> クローンは非常にヘテロであり、造腫瘍能も様々である。初期の 2 型糖尿病のような高インスリン環境下において、治療抵抗性（特に放射線）の増強は、ALDH1 を高発現しているがん幹細胞様細胞で、より強い可能性がある。AKT 阻害剤の投与や糖尿病の厳格な管理により、前立腺癌の進行と治療抵抗性を抑えることができる可能性があることを示した。

### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

2022年12月5日と12月7日に論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文について審査を行った。以下に詳細を示す。

- 令和4年12月7日、井上徳光教授（口頭試問）  
今回の研究でがん幹細胞様細胞と治療抵抗性の関連性について明らかにしたことを述べよ。  
結果：優
- 令和4年12月5日、井篁一彦教授（口頭試問）  
前立腺癌におけるALDH1の発現とその意義について述べよ。  
結果：優
- 令和4年12月7日、原 勲教授（口頭試問）  
高インスリン環境が前立腺癌の治療に与える影響について考察せよ。  
結果：優

学位記番号	博(医)甲第649号		
学位授与の日	令和5年2月14日		
氏名	佐藤 孝一		
学位論文の題目	Differential properties of KRAS transversion and transition mutations in non-small cell lung cancer: associations with environmental factors and clinical outcomes (非小細胞肺癌における KRAS トランスバージョン変異とトランジション変異の特性の違い)		
論文審査委員	主査	教授 村田 晋一	
	副査	教授 北野 雅之	教授 山本 信之

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

KRAS (Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog) 遺伝子は癌遺伝子のひとつであり、非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer : NSCLC)、膵臓癌、大腸癌など様々な種類の癌において KRAS 遺伝子変異が報告されている。KRAS 変異陽性 NSCLC は、全 NSCLC の 13-35% を占めており、重要な治療標的となる。KRAS 変異サブタイプの一つである G12C 変異陽性の NSCLC に対して初めての阻害剤であるソトラシブが登場し、今後も KRAS 変異陽性 NSCLC に対する治療は進歩していくと予想される。しかしながら、種々のサブタイプが存在する KRAS 変異陽性肺癌の臨床的特徴や予後に関しては十分に解明されていない。そのため、本研究では、塩基置換形式の違いによって生じる 2 つの変異タイプ：KRAS トランスバージョン変異 (Tr) とトランジション変異 (Ts) に着目し、環境因子や臨床転帰との関連性を検討した。なお Tr はプリン塩基 (グアニン、アデニン) とピリミジン塩基 (シトシン、チミン) 間の塩基置換による変異を、Ts はプリン-プリンまたはピリミジン-ピリミジン間での変異を意味する。

### 【方法】

根治的手術を受けた 957 人の NSCLC 患者を対象とした前向き多施設共同研究である Japan Molecular Epidemiology (JME) Study のデータセットを使用した。次世代シーケンシングにて 72 の癌関連遺伝子における体細胞変異を検出し、対象を KRAS 変異のタイプによる 3 つのカテゴリー、Tr (G12A、G12C、G12R、G12V)、Ts (G12D、G12S、G13D)、野生型 (WT) に分類した。臨床背景及び質問票を用いて取得した生活習慣 (喫煙状況、体格指数 (BMI)、運動、高脂肪食、野菜、果物、大豆の摂取量) に関するデータについて、それぞれの群との相関を検討した。臨床因子との相関は Fisher の正確検定、最小二乗法を、予後に関しては無再発生存期間 (RFS) と全生存期間 (OS) を Kaplan-Meier 曲線におけるログランク検定、Cox 比例ハザードモデルを用いて評価した。P 値が 0.05 未満を統計学的に有意とした。

### 【結果】

JME study に登録された全 957 例中 874 例が対象となった。そのうち KRAS 変異陽性は 80 例であり、Tr は 61 例 (G12C:26、G12V:19、G12A:14、G12R:2)、Ts は 19 例 (G12D:16、G13D:2、G12S:1) であった。Ts は WT または Tr と比較し有意に KRAS 以外の遺伝子変異を持つ頻度が高かった ( $p=0.01$ 、 $p<0.04$ )。喫煙量 (Pack-years) および喫煙期間に関して、Tr は用量依存的に有意な正の相関を示した ( $p=0.03$ 、 $<0.01$ )。一方、Ts は野菜摂取と用量依存的に負の相関を示した ( $p=0.01$ )。予後に関して、Ts の RFS 中央値は 30.4 カ月で、WT および Tr より有意に不良であった (それぞれ、ハザード比 (HR) 0.39 (95%信頼区間 (CI) : 0.21-0.71、 $p<0.01$ )、0.44 (95%CI : 0.21-0.93、 $p=0.03$ )) であった。OS も同様の傾向を示し、Ts の OS 中央値は 48.3 カ月で WT および Tr より有意に不良であった、HR 0.26 (95%CI : 0.14-0.50、 $p<0.01$ )、0.36 (95%CI : 0.16-0.82、 $p=0.02$ )。多変量解析において、Ts は既知の予後因子である年齢や病期とともに、RFS と OS どちらに対しても有意な予後不良因子であった (HR 2.15、 $p=0.01$ 、HR 2.84、 $p<0.01$ )。

### 【考察】

本研究は、KRAS トランスバージョン・トランジション変異を有する NSCLC 患者の臨床背景について、生活習慣における定性的な評価のみならず、定量的な曝露量と発生頻度の関係を明らかにした。Tr は喫煙曝露量 (Pack-years、期間) と用量依存的に有意な正の相関を示した。これは KRAS Tr (G>T) が、タバコに含まれるベンゾピレンなどの多環芳香族炭化水素への曝露によって引き起こされるためと考えられる。一方、Ts は野菜摂取と用量依存的に有意な負の相関を認めた。野菜にはフラバノール、ルペオールという物質が含まれており、フラバノールは Ts 変異を引き起こすニトロソ化合物の生成を抑制する。またルペオールは Ts の一つである KRAS G12D 変異を促進する STAT3 の活性化を抑制すると報告されている。野菜摂取が多いほど Ts の発生が少なかった今回の結果は、こうした理論的根拠を支持するものと考えられた。また予後に関する多変量解析において、Ts が RFS と OS ともに有意な予後不良因子であることが示された。これについては、G12D では、Tr である G12V・G12C より PI3K/AKT および MAPK カスケードの活性化が強いとする報告がある。今回認められた Tr と Ts における予後の差はこうしたシグナルカスケードへの影響の違いに起因する可能性がある。結果として、根治的手術を受けた NSCLC において、Tr は喫煙曝露量と正の相関を野菜摂取量は Ts と負の相関を認め、いずれも用量依存性があった。Ts は切除された NSCLC 患者において有意な予後不良因子であった。

### 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和 5 年 1 月 25 日、30 日、31 日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を行った。

本研究の意義：

KRAS 変異サブタイプの一つである G12C 変異陽性の非小細胞肺癌 (NSCLC) に対して初めての阻害剤であるソトラシブが登場し、KRAS 変異陽性 NSCLC に対する治療は進歩しつつある。しかしながら、KRAS 変異陽性肺癌の臨床的特徴や予後に関しては十分に解明されていない。そのため、本研究では、喫煙との関連が示唆される KRAS トランスバージョン変異 (Tr) と喫煙と関連がないと報告されるトランジション変異 (Ts) といった発生原因が異なる可能性に着目し、これらの環境因子や臨床転帰との関連性を明らかにすることを目的とした。

本研究の方法：

根治的手術を受けた 957 人の NSCLC 患者を対象とした前向き多施設共同研究である Japan Molecular Epidemiology Study のデータセットを使用した。次世代シーケンシングにて 72 の癌関連遺伝子における体細胞変異を検出し、対象を KRAS 変異の違いによる 3 つのカテゴリー、Tr、Ts、野生型 (WT) に分類した。臨床背景及び質問票を用いて取得した生活習慣 (喫煙状況、体格指数、運動、高脂肪食、野菜、果物、大豆の摂取量) に関するデータについて、それぞれの群との相関を検討した。

本研究の結果：

喫煙量 (Pack-years) および喫煙期間に関して、Tr は用量依存的に有意な正の相関を示した。一方、Ts は野菜摂取と用量依存的に負の相関を示した。予後に関して、Ts の無再発生存期間 (RFS) は WT および Tr より有意に不良であった。全生存期間 (OS) も同様の傾向を示し、Ts の OS は WT および Tr より有意に不良であった。単変量解析と多変量解析どちらにおいても、Ts は既知の予後因子である年齢や病期とともに、RFS と OS 両方に対して有意な予後不良因子であった。

審査結果：

本研究は臨床背景が十分に明らかになっていない KRAS 陽性 NSCLC に着目し、Tr と Ts に分類することで、各々の臨床背景や予後に関して明らかにすることを目的とした研究である。結果として、Tr は喫煙曝露量と正の相関を認め野菜摂取量は Ts と負の相関を認め、いずれも用量依存性を示し、Ts は切除された NSCLC 患者において有意な予後不良因子であることを認め、Tr と Ts の違いを示すことができた。本研究は、今後の KRAS 陽性 NSCLC に対する治療の一助になるものとする。以上より、本研究の記載論文は、博士学位論文として価値のあるものとする。

学位記番号	博(医)甲第650号		
学位授与の日	令和5年3月15日		
氏名	上田 祐子		
学位論文の題目	Possible testosterone redundancy for 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone in the masculinization of mouse external genitalia (マウス陰茎海綿体形成過程における男性ホルモン系の補償作用に関する解析)		
論文審査委員	主査	教授	中田 正範
	副査	教授	井篁 一彦
			教授 原 勲

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

外生殖器は性差が認められる器官の一つであり、胎児外生殖器は雌雄共通の原基からアンドロゲン（男性ホルモン）曝露により男性化をきたす。テストステロン（T）はウォルフ管を男性内生殖器（精巣上体、精管、精囊）に分化させる。Tは5 $\alpha$ 還元酵素の作用によって活性作用の強い5 $\alpha$ ジヒドロテストロン（DHT）に変換され、DHTは前立腺や外生殖器の男性化に必須であるとされている。このTとDHTの標的器官の差異のため、5 $\alpha$ 還元酵素 type2 遺伝子（*SRD5A2*）の変異による5 $\alpha$ 還元酵素欠損症の男性患者は、精管や精巣上体は正常にも関わらず、前立腺や外生殖器の男性化障害を呈する。

近年DHTは勃起に重要である陰茎海綿体（Corpus cavernosum, CC）の機能維持に関与している可能性が示唆されたが、CCの形成過程や*SRD5A2*の機能的意義はほとんど理解されていない。

本研究はマウスをモデルとし、CC形成過程の組織学的解析およびCCにおける*SRD5A2*の発現・機能解析を行なった。CCは血管内皮細胞と血管平滑筋細胞およびコラーゲンを主体とする結合組織である。血管内皮細胞を可視化できる*Flk1 (VEGFR2)-GFPBAC* Tgマウス、血管平滑筋細胞およびコラーゲンのマーカーとしてそれぞれ*ACTA2*および*COLLAGEN I*抗体を用いた発現解析から、CCは生後顕著に発達することを見出した。*SRD5A2*抗体を用いた発現解析から、*SRD5A2*はCCの血管平滑筋細胞に特異的に発現していることが明らかとなった。さらに、雄の*Srd5a2*ノックアウトマウス（*Srd5a2*KOマウス）、*Srd5a1/2*ダブルノックアウトマウス（*Srd5a1/2*DKOマウス）を作成し解析を行ったが、CCに顕著な形態的異常は認められなかった。そこで外生殖器組織中のTおよびDHT濃度の測定を質量分析法で行い、アンドロゲン依存性器官発生過程における局所のアンドロゲン作用、さらにTによる補償作用について検討した。

### 【方法】

#### 実験動物

ICRマウス、C57BL/6Jマウス（日本クレア）、5 $\alpha$ 還元酵素ファミリーに属する*Srd5a1*KOマウス、*Srd5a2*KOマウス（テキサス大学サウスウェスタン医学センターMala Mehendroo博士より供与）および*Flk1-GFP BAC* Tgマウス（滋賀医科大学動物生命科学研究センター依馬正次教授より供与）を使用した。*Srd5a1*KOマウスおよび*Srd5a2*KOマウスを交配し、*Srd5a1/2*DKOマウスを作成した。マウス外生殖器は胎生18.5日（E18.5）および新生仔期（PND7）、成熟期（PND21、56）に採取した。

#### 免疫組織化学染色およびHematoxylin-Eosin (HE) 染色

マウス外生殖器を4%パラホルムアルデヒド/PBSで一晩固定後にパラフィン組織切片を作製した。免疫組織化学染色は、親水化および抗原賦活化処理を行い、1%ヤギ血清/PBSを用いて1時間のBlocking処理を行った。Blocking溶液で希釈した抗*SRD5A2*抗体、抗*ACTA2* (a-smooth muscle actin)抗体、抗GFP抗体、*VEGFR2* (vascular endothelial growth factor)抗体、抗*COL1A1* (collagen type 1)抗体、抗AR (androgen receptor)抗体を加え、4°Cで一晩抗原抗体反応を行い、蛍光免疫染色法によりそれぞれの発現を確認した。また、HE染色による組織学的解析を行った。

#### 雄*Srd5a2*KOマウスの外生殖器組織中のアンドロゲンの測定

コントロールは KO マウスのバックグラウンドである C57BL/6J マウスを使用した。母獣マウスから E17.5 の胎仔を摘出後、外生殖器をトリミングし、速やかに液体窒素で凍結した。外生殖器は 4 検体以上回収し、T、DHT 濃度を液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法で測定した (あすか製薬メディカルに委託)。平均値と標準誤差を算出した。

#### 統計処理

コントロール群と KO 群はそれぞれ F 検定で分散を検定し、それぞれの実験群間の比較はスチューデント t 検定を用いて分析した。P 値が 0.05 未満を統計学的に有意とした。

#### 【結果】

1. シヌソイドは生後 7 日目に洞様構造として CC の辺縁部に形成されていた。血管内皮細胞 (FLK1 陽性細胞)、血管平滑筋細胞 (ACTA2 陽性細胞)、コラーゲン (COL1A1 陽性細胞) は生後から顕著に発達した。雄の方が雌よりも早い時期にそれらの発現が観察され、また発達も顕著であった。
2. SRD5A2 は、胎仔期 (E18.5) から胎仔 CC 全体に発現がみられた。続いて CC の分化に伴い、発達したシヌソイド周辺に顕著に発現していた。その後、成獣 (PND56) においてもその発現はシヌソイド周辺に維持されていた。
3. SRD5A2 は CC の血管平滑筋細胞に発現していた。
4. *Srd5a2* KO マウスおよび *Srd5a1/2* DKO マウスの外生殖器は、形態学的に顕著な異常は観察されなかった。組織学的解析からも CC はコントロールと同様に形成されていた。
5. *Srd5a2* KO マウスおよび *Srd5a1/2* DKO マウスの CC はコントロールと比較し、VEGFR2 や ACTA2、COL1A1 の発現に顕著な差異を認めなかった。
6. E17.5 の *Srd5a2* KO マウス外生殖器組織中の DHT 濃度は著しく低下し、T 濃度はコントロールに比べ 3.8 倍に上昇した。
7. *Srd5a2* KO マウスおよび *Srd5a1/2* DKO マウスの CC において AR シグナル活性の保持を示唆する細胞核内の発現が観察された。

#### 【考察】

陰茎海綿体 (CC) はシヌソイドやコラーゲン陽性細胞から構成される勃起機能に重要な構造である。これまで勃起不全などの疾患モデルを用いた解析は行われてきたが、その形成過程は十分に理解されていなかった。本研究から、胎生後期の時点で雄の CC では既に血管内皮細胞やコラーゲンの産生が始まり、生後に著しく発達することが明らかとなった。

SRD5A2 は CC において血管平滑筋細胞に発現しているにもかかわらず、*Srd5a2* KO マウスの CC 形成に顕著な異常はみられなかった。*Srd5a1/2* DKO マウスにおいても大きな異常は観察されなかったことから、SRD5A1 による SRD5A2 機能の補償作用の可能性は低いと考えられる。外生殖器組織中の T および DHT 濃度の測定を、近年ラジオイムノアッセイよりも高感度のホルモン測定が可能な LC-MS/MS を用いて初めて行なったところ、*Srd5a2* KO マウスにおいて DHT 濃度が減少している一方、T 濃度が増加していることが明らかとなった。これまで 5 $\alpha$  還元酵素欠損症患者における症状などから外生殖器の男性化には DHT の作用が不可欠であると考えられてきたが、本研究から局所的な T の増加により DHT 作用を代償し得る可能性が示唆された。前立腺も同様に DHT 作用がその発生に不可欠な生殖器官である。*Srd5a2* KO マウスの前立腺に関する先行研究から、外生殖器と同様に T 濃度は補償的に増加しているにもかかわらず、前立腺は低形成となることが報告されている。よってアンドロゲン作用が不可欠な器官における DHT 依存性は、器官によって異なることが推察された。

#### 【結語】

本研究はマウス陰茎海綿体 (CC) における血管新生やコラーゲン産生が性的二型を示すことを初めて報告した。また、SRD5A2 が CC における血管平滑筋細胞に発現していることを初めて示した。この発現の局在は DHT のオートクラインまたはパラクライン作用を示唆する基礎的な知見となる可能性がある。

また、本研究によって *SRD5A2* KO マウスの外生殖器は大きな異常を認めないことが明らかとなったが、5 $\alpha$  還元酵素欠損症患者の症状とは大きな乖離がある。今回、*SRD5A2* KO マウスの外生殖器組



織中の T、DHT 濃度を測定することで、T レベル上昇による補償作用が推察された。T レベル上昇の原因をさらに追求することで、組織局所におけるアンドロゲンシグナルの役割、さらには 5 $\alpha$  還元酵素欠損症患者の治療につながるものが期待される。

### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年8月8日及び30日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を行った。

胎児外生殖器は、雌雄共通の原基からアンドロゲン曝露により男性化をきたす。テストステロン (T) は 5 $\alpha$  還元酵素の作用によって生理活性の強い 5 $\alpha$  ジヒドロテストロン (DHT) に変換されるが、T と DHT の標的器官は異なるとされており、実際 5 $\alpha$  還元酵素 type2 遺伝子 (*SRD5A2*) の変異による 5 $\alpha$  還元酵素欠損症の男性患者は、精管や精巣上体は正常にも関わらず、前立腺や外生殖器の男性化障害を呈する。また陰茎海綿体 (Corpus cavernosum, CC) は、シヌソイドやコラーゲン陽性細胞から構成される勃起機能に重要な構造であるが、CC の形成過程や CC における *SRD5A2* の機能的意義はほとんど理解されていなかった。

本研究はマウスをモデルとし、CC 形成過程の組織学的解析および CC における *SRD5A2* の発現・機能解析を行なった。血管内皮細胞を可視化できる *Flk1 (VEGFR2)-GFPBAC Tg* マウスと、*ACTA2* (平滑筋細胞マーカー)、*COLLAGEN I* および *SRD5A2* 抗体を用いた免疫組織染色により、CC の形成過程におけるそれらの発現解析を行った。また、雄の *Srd5a2* ノックアウトマウス (*Srd5a2* KO マウス)、*Srd5a1/2* ダブルノックアウトマウス (*Srd5a1/2* DKO マウス) を作成し CC における *SRD5A2* の機能解析を試みた。

胎生後期、雄 CC では血管内皮細胞やコラーゲンの産生が始まり、生後に著しく発達することが明らかとなった。雌では雄よりも発現開始が遅く、発達も緩徐であり性差が明らかとなった。*SRD5A2* は、雄 CC において血管平滑筋細胞に発現していたが、*Srd5a2* KO および *Srd5a1/2* DKO マウスの CC 形成に顕著な形態的な異常はみられなかった。E17.5 の *Srd5a2* KO マウス外生殖器組織中の T および DHT 濃度を質量分析法で測定し、DHT 濃度の著しい減少と T 濃度上昇が確認された。一方、KO マウス CC においても AR (Androgen receptor) の発現が核内に観察されたことから、CC の形成は T レベル上昇によって補償され得ることが推察された。

本論文は、マウス CC における血管新生やコラーゲン産生が性的二型を示すこと、また、*SRD5A2* が CC における血管平滑筋細胞に発現していることを初めて示したものである。この発現の局在は DHT のオートクラインまたはパラクライン作用を示唆する基礎的な知見となる可能性がある。またこれまで 5 $\alpha$  還元酵素欠損症患者における症状などから外生殖器の男性化には DHT の作用が不可欠であると考えられてきたが、本研究から局所的な T の増加により DHT 作用を代償し得る可能性が示唆された。本研究は、組織局所におけるアンドロゲンシグナルの役割の解明や、さらには 5 $\alpha$  還元酵素欠損症患者の治療につながるものが期待され、博士學位論文として価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第651号		
学位授与の日	令和5年3月15日		
氏名	加藤 喬		
学位論文の題目	Augmentation of Stimulator of Interferon Genes-Induced Type I Interferon Production in COPA Syndrome (遺伝性炎症性疾患 COPA 症候群における STING 依存性 I 型インターフェロン産生誘導シグナルの活性化)		
論文審査委員	主査	教授 藤井 隆夫	
	副査	教授 神人 正寿	教授 改正 恒康

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

COPA 症候群は、間質性肺炎や関節炎などを呈する常染色体顕性（優性）遺伝性の自己炎症性疾患である。COPA 遺伝子は、輸送小胞 COP I を形成するタンパク質 Coatamer protein  $\alpha$  (COP  $\alpha$ ) をコードしており、ゴルジ体から小胞体へのタンパク質の逆行輸送に関与している。COPA 症候群の患者では、COP  $\alpha$  の WD40 repeat domain にアミノ酸置換を引き起こすヘテロ遺伝子バリエントが認められ、それによりタンパク質の逆行輸送に異常が生じることで、様々な表現型が生じると考えられている。また、COPA 症候群患者の末梢血単核球では、I 型インターフェロン (IFN) 誘導遺伝子群 (ISGs) の発現亢進 (I 型 IFN 症) が認められ、病態への関与が指摘されている。しかし、COPA 症候群の病態は不明であり、治療法も確立していない。本研究では、新規の COPA 遺伝子のヘテロ接合性のバリエント COPA V242G を CRISPR/Cas9 によりマウスに導入し、COPA 症候群の病態を再現する新規のモデルマウスを作成することに成功した。さらにそのマウスを解析することにより、COPA 症候群の病態における分子基盤の一端を明らかにした。

### 【実験方法と結果】

Whole-exome シークエンスにて、家族性の間質性肺炎や関節炎を呈する家系より、COPA 遺伝子に新規のヘテロバリエント V242G (c.725T>G, p.Val242Gly) を見出した。V242 はヒト以外の種族でも保存されている重要なアミノ酸であり、バリエントの場所も既報告の COPA 症候群患者と同様に COPA タンパクの WD40 repeat domain に存在していた。以上のことから、COPA V242G は疾患の原因バリエントである可能性が高いと考えられた。さらに同患者の末梢血単核球における ISGs の発現をリアルタイム PCR で解析したところ、健常人にくらべ ISGs の発現が大きく亢進していることが明らかになった。

COPA V242G バリエントの病的意義を明らかにするために、CRISPR/Cas9 法を用いて、同変異をマウスに導入し、COPA V242G ヘテロノックイン (*Copa*<sup>V242G/+</sup>) マウスを作成し、解析を行った。まずマウスの各臓器より組織切片を作成し、Hematoxylin-Eosin 染色にて組織学的に解析したところ、*Copa*<sup>V242G/+</sup>マウスの肺でヒトの COPA 症候群患者と類似した間質性肺炎の組織像が認められた。一方、関節・腎臓・肝臓など他の臓器には組織学的な異常を認めなかった。続いて、マウス脾臓細胞の ISGs の発現を評価したところ、*Copa*<sup>V242G/+</sup> マウスでは、野生型マウスと比べて、ISGs の発現が亢進していた。さらに、マウスの脾臓細胞をフローサイトメトリーで評価したところ、*Copa*<sup>V242G/+</sup> マウスでは、野生型マウスと比べてナイーブ CD8 陽性 T 細胞の割合が減少してエフェクターメモリー細胞の割合が増加しており、また、T 細胞からの IFN- $\gamma$  の産生亢進も認められた。

続いて、COPA 症候群の I 型 IFN 症に着目し、その分子メカニズムの解明を目指した。I 型 IFN は、樹状細胞などの免疫担当細胞に発現する、Toll 様受容体や RIG-I 受容体、STING といった核酸センサーを介して産生されることが知られている。特に STING は細胞内輸送のターゲット分子としても知られており、また、遺伝性炎症性疾患 SAVI (STING associated vasculopathy with onset in infancy) の原因分子として現在注目されている。そのため、今回の COPA 症候群においても、I 型 IFN 症の発症に STING が関与している可能性を疑い、*Copa*<sup>V242G/+</sup>マウスにおける STING シグナルの解析を進めた。

まず、HEK293T 細胞株を用いて、I 型 IFN 遺伝子のプロモーター活性をルシフェラーゼアッセイで評価した。すると、COPA を単独で発現させた場合、I 型 IFN 遺伝子のプロモーターは活性化しなかったが、STING と COPA を共発現させた場合、野生型 COPA よりも V242G 変異 COPA との共発現において I 型 IFN 遺伝子のプロモーター活性が大きく亢進していることが明らかになった。続いて、マウスの骨髄由来樹状細胞を用いて STING シグナルの活性化を評価した。まず、マウスの樹状細胞を STING アゴニストで刺激し、I 型 IFN の産生量を ELISA 法で測定したところ、Copa<sup>V242G/+</sup> マウス由来の樹状細胞では、野生型に比べ I 型 IFN の産生が顕著に亢進していた。さらに、Western-blot で STING シグナル下流の伝達分子である TBK1 および STING 自身のリン酸化を解析したところ、Copa<sup>V242G/+</sup> マウス由来の樹状細胞ではこれら分子のリン酸化が顕著に亢進していた。また、STING 刺激後の、細胞内における STING の局在を蛍光抗体法および共焦点顕微鏡で評価したところ、野生型に比べ Copa<sup>V242G/+</sup> マウス由来の樹状細胞では STING がゴルジ体に顕著に局在していた。最後に、STING 阻害剤を用いて、STING が ISGs の発現上昇に関与しているかどうか検討したところ、Copa<sup>V242G/+</sup> マウスの脾臓細胞における ISGs の発現亢進が、STING 阻害剤によって抑制されることが明らかになった。

#### 【結語】

本研究では COPA 症候群患者の病態を反映する新規のモデルマウスを樹立すると共に、そのマウスにおいて、間質性肺炎と I 型 IFN 症が発症することを見出し、I 型 IFN 症の分子基盤として核酸センサー STING が関与していることを明らかにした。COPA 症候群患者の遺伝子バリエーションの解析は国内外の複数のグループでも研究が行われており、現在注目されている分野である (Mukai et al. Nat Commun 12:61,2021. Lepelley et al. J Exp Med 217:e20200600,2020. Deng et al. J Exp Med 217:e20201045,2020.)。今後、COPA V242G マウスのさらなる解析により、COPA 症候群や間質性肺炎の病態メカニズムの解明だけでなく、COPA や STING をターゲットとした新たな炎症制御剤の開発が進むと期待される。

#### 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和4年10月28日、11月1日、11月2日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を行った。自己炎症性疾患はマクロファージや樹状細胞などによって担われる自然免疫系の過剰な活性化を基盤として発症する遺伝性炎症性疾患群である。COPA症候群は、間質性肺炎や関節炎を主徴とする常染色体顕性(優性)遺伝の自己炎症性疾患であり、細胞内におけるタンパク質の輸送を担うタンパク質であるCOP $\alpha$ のアミノ酸置換をきたすCOPA遺伝子の変異が疾患の原因遺伝子変異として同定されている。COPA症候群は、I型インターフェロン(IFN)で誘導される遺伝子群の発現増強を伴う(I型IFN症)ことがわかっているが、いまだ病態は不明であり、治療法も確立されていない。本研究では、本邦において見出されたCOPA症候群の新規のアミノ酸置換変異(p.V242G)をマウスに導入し、解析を行った。そして、Copa V242Gヘテロ変異マウスにおいて、COPA症候群患者と同様に、間質性肺炎が発症すること、脾臓においてI型IFN誘導遺伝子群の発現が亢進していることを見出した。また、同変異マウスの樹状細胞を解析し、細胞内DNAセンサーcGAS-STING経路を介したI型IFN産生誘導が亢進していること、そしてその分子機序として、STINGがゴルジ体に過剰に蓄積すること、その下流のシグナル伝達分子が活性化されていることを明らかにした。さらに、STING阻害剤により、脾臓におけるI型IFN誘導遺伝子群の発現亢進が低下すること、つまり、I型IFN誘導遺伝子群の発現亢進がSTING依存性であることも明らかにした。このように、COPA症候群モデルマウスを作製、解析することで、COPA症候群において、STINGの細胞内輸送が障害され、細胞内DNAセンサー経路の活性化を介してI型IFNが過剰に産生されることを明らかにした。今後このマウスの更なる解析により、COPA症候群や間質性肺炎の病態解明だけでなく、STINGやCOPAをターゲットとした新規の治療法および制御剤の開発が進むと期待される。本論文は、未知の変異COPA p.V242Gの病的意義および、STINGとその変異の関係性をモデルマウスの解析によって示したものであり、学位論文として価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第652号		
学位授与の日	令和5年3月15日		
氏名	田中 明紀子		
学位論文の題目	Reduced fat taste sensitivity in obese Japanese patients and its recovery after a short-term weight loss program		
	(日本人肥満者の脂肪味覚感度の低下と短期減量による改善)		
論文審査委員	主査	教授 伊東 秀文	
	副査	教授 保富 宗城	教授 松岡 孝昭

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

肥満は、耐糖能障害、脂質異常症、高血圧、脳梗塞、冠動脈疾患などの様々な疾病の原因となる。肥満が生じる背景として、食欲求や食行動などが考えられるが、味覚においても摂食行動に影響することが報告されている。また、近年は脂肪酸独自の味を感知する味覚受容体として GPR120 が特定され、第6の味覚(脂肪味)が注目されている。先行研究では、脂肪味の感度と脂質摂取量や BMI において関連がみられた。しかしながら、日本人を対象とした報告では BMI30kg/m<sup>2</sup>以上の肥満症は含まれておらず、日本人肥満症における実態は明らかではない。一方、日本人は世界の中でも肥満症の割合は少ないが、健康障害を有するリスクが極めて高い BMI30kg/m<sup>2</sup>以上の肥満症の割合は約 3.8%と 2010 年の 3.4%から増加を辿っている。その要因として食生活の欧米化、脂質摂取量の増加が指摘されている。肥満症の治療では食事療法が重要であるが、その実行にも摂食行動が強く関係する。特に高脂肪高糖質食品の制限が重要であるが、日本人の肥満症において脂肪味や甘味などの味覚との関連を検討した報告はほとんどなく減量の脂肪味感度に対する影響について検討した報告もない。本研究の目的は肥満症における味覚異常(脂肪味、旨味、甘味)と減量における変化について検討することである。

### 【対象・方法】

対象は、BMI25kg/m<sup>2</sup>未満の非肥満者と BMI30kg/m<sup>2</sup>以上の肥満者で、それぞれコントロール群と肥満群に割り当てた。20歳未満または75歳以上の患者、HbA1c12%以上の患者、妊娠又は授乳中患者、乳製品アレルギーや不耐症の患者は除外した。味覚検査とともに、体組成測定(InBody<sup>®</sup>720)、坂田らの食行動質問表(空腹・満腹感の異常性、食べ方の異常性、食事内容の異常性、食生活の不規則性)、生活状況調査として喫煙の有無、日本語版健康増進ライフスタイルプロフィール HPLP-II(身体活動、ストレス管理、睡眠)、食物摂取頻度調査(FFQ)についてアンケート調査を行った。肥満群は、減量治療前と治療後の2回味覚検査を行った。味覚検査は、脂肪味の検査液は10段階、旨味と甘味については6段階の濃度を用意し Taste rank を設定した。Taste rank は、低い濃度から順に脂肪味は1~10、旨味と甘味は1~6を設定し、最大濃度でも検知できない場合を脂肪味は11、旨味と甘味は7を設定した。

### 【結果】

対象者の特性は、コントロール群11名と肥満群15名の2群において、BMI [コントロール群:中央値 23.4kg/m<sup>2</sup>(22.4-24.3)、肥満群:39.0kg/m<sup>2</sup>(34.3-47.4)、P<0.001]、体脂肪率 [コントロール群:中央値 25.2% (21.8-32.4)、肥満群:46.9%(44.1-54.5)、P<0.001] 以外では性別、年齢、併存疾患、薬剤の数、喫煙の有無、血圧、HbA1c、空腹時血糖値、中性脂肪値、eGFR について有意差を認めなかった。

脂肪味の Taste rank についてコントロール群は中央値 5(3-8)、肥満群は 11(6-11)と有意な差があった(P=0.008)。一方、旨味と甘味において有意な差はみられなかった。また、コントロール群と肥満群の単変量解析で有意差のあった項目[食事内容の異常性、食生活の不規則性、身体活動量の低さ、脂肪味の鈍感さ(P<0.01)]を独立変数とし、肥満の有無を従属変数として多変量解析を行ったところ、脂肪

味の鈍感さが関連要因であった。肥満群における減量治療の期間は平均 11.3±4.7 日で、減量治療後の味覚変化は、脂肪味は減量前 Taste rank の中央値 11(6-11)と減量後 8(2-10)を比較すると有意に改善した(P<0.001)が、旨味や甘味については有意な改善はなかった。性別での検討では、男性群と女性群それぞれのコントロール群と肥満群の単変量解析において脂肪味の Taste rank は男性肥満群の中央値 11(8-11)はコントロール群 5(3-8)と比較して脂肪味の感度低下がみられた(P=0.011)が、女性の両群において有意差はみられなかった。肥満群の男性は摂取エネルギーの過剰が特徴的であり、女性は身体活動の低さが特徴的であった。

#### 【考察】

本研究では、コントロール群と肥満群において、旨味と甘味、脂肪味についての味覚感度を比較したところ、肥満群で脂肪味の有意な低下がみられた。一方、旨味や甘味においては有意な差はなく、肥満症における味覚感度においては脂肪味が特徴的であった。また、本研究では短期間の減量プログラムにおいて脂肪味の感度改善が得られるか検討した。欧米人と比較して脂質摂取比率の低い日本人においても減量による脂肪味の感度改善が得られるかどうかは不明であったが、本研究における日本人肥満症を対象とした短期減量プログラムでは、旨味や甘味の変化はなく、脂肪味の感度改善が実証された。さらに、性別における検討では過食の傾向が強い男性肥満群において有意な脂肪味の感度低下がみられ、運動不足の傾向が強い女性肥満群では有意差を認めなかった。このことから、過食が脂肪味の感度低下に対して関連している可能性が示唆され、短期間の減量プログラムにおける食事療法の重要性が示唆された。本研究の限界として、短期間における調査であり退院後の体重減少と食行動、味覚との関連性は調べられていないこと、症例数が少ないこと、喫煙者を含むこと、減量治療後の味覚改善について運動療法の影響を調査していないことがある。

#### 【結論】

肥満症患者は脂肪味の感度が低下しており、減量により改善の可能性はある。

#### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和 4 年 11 月 22 日、12 月 6 日に論文審査委員は学位申請者の出席を求め論文審査を行った。

肥満は、耐糖能障害、脂質異常症、高血圧、脳梗塞、冠動脈疾患などの様々な疾病の原因となる。肥満が生じる背景として、味覚が摂食行動に影響することが報告されているが、近年は第 6 の味覚として脂肪味が注目されている。

本研究は、日本人肥満症における味覚異常（脂肪味、旨味、甘味）と減量における変化について検討した。本研究の特徴は、近年増加をたどっている健康障害を有するリスクが極めて高い BMI30kg/m<sup>2</sup>以上の日本人肥満症において、脂肪味の味覚感度低下と減量における改善を示したことである。BMI25kg/m<sup>2</sup>未満の非肥満者 11 名と BMI30kg/m<sup>2</sup>以上の肥満者 15 名を対象とし、それぞれコントロール群と肥満群に割り当てた。味覚検査とともに、体組成測定、坂田らの食行動質問表、喫煙の有無、日本語版健康増進ライフスタイルプロフィール(HPLP-II)、食物摂取頻度調査(FFQg)についてアンケート調査を行った。肥満群は、減量治療前と治療後の 2 回味覚検査を行った。

脂肪味の感度についてコントロール群と肥満群で有意な差が認められた。一方、旨味と甘味において有意な差は認められなかった。また、肥満の有無を従属変数として多変量解析を行ったところ、脂肪味の鈍感さが関連要因であった。減量治療後の味覚変化では、脂肪味は減量前に比べて減量後有意に感度改善した。一方、旨味や甘味については有意な改善はなかった。性別での検討では、摂取エネルギーの過剰が特徴的である男性肥満群において、男性コントロール群と比較して脂肪味の感度に有意差が認められたが、身体活動の低さが特徴的である女性肥満群において有意差は認められなかった。これらの結果から、肥満症における味覚感度においては脂肪味の感度低下が特徴的であり、その要因として過食が脂肪味の感度低下に対して関連している可能性が示唆され、短期間の減量プログラムにおける食事療法の重要性が示唆された。

本研究は、日本人肥満症において近年問題となっている食生活の欧米化や脂質摂取量の増加とともに、脂肪味の感度低下が関連していることを示し、短期減量プログラムにおいて改善しうることを明らかにしたものであり、食事療法の観点から肥満症への治療介入の 1 つとなりうる可能性を有しており、学位論文として価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第653号		
学位授与の日	令和5年3月15日		
氏名	上野 一樹		
学位論文の題目	Impaired Healing of Cutaneous Wound in a <i>Trpv1</i> deficient mouse  ( <i>Trpv1</i> 欠損マウスにおける皮膚の創傷治癒遅延)		
論文審査委員	主査	教授 井上徳光	
	副査	教授 江幡正悟	教授 朝村真一

## 論文内容の要旨

【緒言】TRP (Transient Receptor Potential) イオンチャネルは、陽イオンチャネルファミリーであり、種々の物理的、化学的刺激に応答する細胞における“センサー”として、またイオン流入を細胞内シグナルとして効率的に下流に伝えるシグナル複合体形成の“足場”として働くと考えられている。TRP は、TRPA、TRPC、TRPM、TRPML、TRPP、TRPV の 6 種類のサブファミリーに分類されており、その一つの TRPV1 (transient receptor potential vanilloid type 1) は、カプサイシン、高温 (43°C以上)、化学刺激、pH 変化、組織障害など様々な要因で活性化される。TRPV1 は、皮膚にも発現が認められており、痛みや化学物質のセンサーとしてだけでなく、炎症誘導と抗炎症作用の双方に影響を有すると推察されている。

形成外科領域において、皮膚創傷治癒は重要な研究領域となっているが、上記のような活性を持っている TRPV1 チャネルが同過程に関与している可能性について検討した。*Trpv1* ノックアウトマウス (*Trpv1* KO マウス) の創傷治癒過程について、肉眼的観察、組織学的解析を行い、TRPV1 チャネルの創傷治癒における機能を明らかにした。

### 【方法】

#### 実験動物

*Trpv1* KO マウス (和歌山県立医科大学 眼科学教室 雑賀教授より供与) および野生型 (WT) 雌雄の C57BL/6 マウス (8~10 週齢) を使用した。0.3mg/kg body-weight (b.w.) メドトミジン、4.0mg/kg b.w. ミダゾラムおよび 5.0mg/kg b.w. ブトルファンールの三種混合麻酔薬腹腔内投与による全身麻酔下に、背部の毛を剃毛し、直径 5.0 mm の皮膚全層欠損創を 2 か所、背部皮膚に作成した。導入した 2 か所の皮膚欠損創が雌雄同等に治癒することを確認した。すべての実験手順は、和歌山県立医科大学動物実験委員会 (No.897)、遺伝子組み換え実験委員会 (No.22-94、No.2021-38) の承認を得ている。

#### 肉眼的解析

*Trpv1* KO および WT マウスの背側皮膚欠損創の治癒過程を定量的に評価するために、皮膚欠損作成後 0、2、4、7、10、14 日目 (POD: post-operative days) に治癒が完了していない皮膚欠損部の面積について解析した。

#### 組織学的解析

POD4、7、10 おける *Trpv1* KO および WT マウスの皮膚を組織学的に解析した。マウスの皮膚は、4%パラホルムアルデヒド/PBS で一晩固定し、パラフィン組織切片 (6 μm) を作製した。

創傷治癒の程度を示すために、Hematoxylin-Eosin (HE) 染色を行い、再上皮化率 (%) = [再上皮化によって覆われた距離] × 100 / [元の創縁間の距離] を算出した。

蛍光免疫染色は、親水化および抗原賦活処理を行い、1%ヤギ血清 PBS を用いて 1 時間の Blocking 処理を行った。Blocking 溶液で希釈した抗体 (抗 Keratin-14、抗 PCNA (Proliferative cell nuclear antigen) 抗体、抗 p63 抗体、抗 β-catenin 抗体、抗 α-smooth actin 抗体、抗好中球抗体、抗 F4/80 抗体、抗 H3Cit 抗体) を加え、4°Cで一晩の間抗原抗体反応を行い、蛍光免疫染色法によりそれぞれの発現を確認した。

## 統計処理

それぞれの実験群の比較では、Student's t-test を使用して分析した。P 値が 0.05 未満を統計学的に有意であると認めた。平均値と標準偏差を算出した。

## 【結果】

1. POD7 と 10 の時点では、*Trpv1* KO マウスは WT マウスに比べて皮膚欠損の範囲が広域であった。さらに、POD14 において、WT および *Trpv1* KO マウスの双方で、創傷部は再生された上皮で完全に覆われた。
2. POD7 における *Trpv1* KO マウスの再上皮化は、WT マウスに比べ有意に遅延していることが HE 染色で観察された。その再上皮化の遅延は、K-14 蛍光免疫染色でも確認された。
3. PCNA (細胞増殖マーカー)、p63 (細胞増殖マーカー)、 $\beta$ -catenin (細胞移動・接着マーカー)、 $\alpha$ SMA (創収縮マーカー) の発現に関して、*Trpv1* KO マウスと WT マウスの間で有意な差は認められなかった。
4. マクロファージの組織中の含有数は、WT および *Trpv1* KO マウスの双方において、POD4 から POD7 にかけて減少した。炎症期に動員され一般的に漸減するとされる好中球数は、WT マウスにおいては POD4 から POD7 にかけて減少を認めたものの、*Trpv1* KO マウスでは減少が観察されなかった。
5. H3Cit で標識された NETs (Neutrophil Extracellular Traps) 形成は、POD4 および POD7 の両方で、WT マウスと比較して *Trpv1* KO マウスで増加した。

## 【考察】

創傷治癒過程では、障害を受けた組織が炎症期、増殖期、成熟期を経て修復されると一般に報告されている。炎症期には好中球、次いでマクロファージが近傍の組織から動員される。好中球の動員は、組織障害後の 4~6 時間後に始まり、18~24 時間後に最大数として検出されるとされている。好中球より遅れて創部に集積するマクロファージは、炎症から修復への移行に極めて重要な役割を果たす。また、通常の炎症反応は増殖期に入れば抑制され、その後次第に収束すると報告されている。今回、*Trpv1* KO、WT マウスともに、組織障害後の炎症過程において、マクロファージの数が有意に減少することが明らかとなった。一方、WT マウスの好中球数は、炎症過程において次第に減少するものの、*Trpv1* KO マウスではその現象が観察されず、同マウスでは好中球性の炎症反応が遷延していることが示唆された。

好中球の活性化や動員に重要な作用をすると報告されている NETs (Neutrophil Extracellular Traps) は DNA 骨格に、ヒストン、好中球エラスターゼ、ミエロペルオキシダーゼなどを含有する構造を有するとされており、細胞外において微生物を捕獲し殺菌する重要な役割を果たす。過剰な NETs は、組織障害性を有し、創傷治癒の遅延を引き起こすことが報告されている。今回、*Trpv1* KO マウスでは、POD4 と 7 の両方で NETs 形成の亢進を認めた。一般に組織中の好中球の寿命は短く、POD4 での好中球数に関して WT と *Trpv1* KO マウスの間に今回では有意差がなかったことから、*Trpv1* KO マウスでは POD4 から 7 にかけて NETs の形成亢進により好中球の集積が誘導されている可能性が示唆された。さらに、TRPV1、TRPV2、TRPV5、TRPV6 などの TRP ファミリーメンバーが、好中球に発現しているとの報告があることから、TRPV1 が好中球の制御に関わっている可能性が推察された。

## 【結語】

*Trpv1* の欠損により、マウス皮膚の創傷治癒過程における再上皮化が遅延した。また、*Trpv1* の欠損により好中球性炎症の遷延化と NETs 形成の促進が生じる事が示された。好中球性の炎症応答の制御は、皮膚の創傷治癒を解明する重要な鍵となる可能性があり、TRPV1 チャネルと創傷治癒に関する研究が今後形成外科領域において、さらに期待される。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年12月21日及び12月28日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を行った。

TRP (Transient Receptor Potential) イオンチャネルは、陽イオンチャネルファミリーであり、種々の物理的、化学的刺激に応答する細胞における“センサー”として、またイオン流入を細胞内シグナルとして効率的に下流に伝えるシグナル複合体形成の“足場”として働くと考えられている。TRPV1 (transient receptor potential vanilloid type 1) は、その中の一つで、カプサイシン、高温 (43°C 以上)、化学刺激、pH 変化、組織障害など様々な要因で活性化される。TRPV1 は、皮膚にも発現が認められており、痛みや化学物質のセンサーとしてだけでなく、炎症誘導と抗炎症作用の双方に影響を有すると推察されている。

形成外科領域において、皮膚創傷治癒は重要な研究領域となっているが、上記のような活性を持っている TRPV1 チャネルが同過程に関与している可能性について検討した。

実験には、8-10 週齢の *Trpv1* 遺伝子欠損 (KO) マウスと野生型 (WT) マウスを用いた。全身麻酔下にそれぞれの背部皮膚に直径 5.0mm の円形の全層皮膚欠損創を作製した。皮膚欠損創作成後 (POD: post-operative days; 0, 2, 4, 7, 10, 14)、肉眼的観察、組織学的解析から治癒過程を評価した。POD7 と 10 の時点では、*Trpv1* KO マウスは WT マウスに比べて皮膚欠損の範囲が広域であった。さらに、POD14 において、WT および *Trpv1* KO マウスの双方で、創傷部は再生された上皮で完全に覆われた。POD7 における *Trpv1* KO マウスの再上皮化は、WT マウスに比べ有意に遅延していることが HE 染色で観察された。その再上皮化の遅延は、K-14 蛍光免疫染色でも確認された。POD7 における PCNA、p63、 $\beta$ -catenin、 $\alpha$ SMA に関しては明らかな差を認めなかった。また、炎症期に動員され一般的に漸減するとされる好中球数は、WT マウスにおいては POD4 から POD7 にかけて減少を認めたものの、*Trpv1* KO マウスでは減少が観察されなかった。マクロファージ数は明らかな差を認めなかった。H3Cit で標識された NETs (Neutrophil Extracellular Traps) 形成は、POD4 および POD7 の両方で、WT マウスと比較して *Trpv1* KO マウスで増加した。

以上の結果より、TRPV1 チャネルは、好中球性の炎症反応を制御する、マウス皮膚創傷治癒に重要な TRP チャネルである可能性が示唆された。

本研究は、マウス皮膚の創傷治癒過程における TRPV1 の役割、ならびに好中球性炎症との関係について言及した初めての論文である。TRPV1 をターゲットとした好中球性炎症の制御、創傷治療に繋がるのが期待され、博士学位論文として価値あるものと認めた。



学位記番号	博(医)甲第654号		
学位授与の日	令和5年3月15日		
氏名	上田 幸輝		
学位論文の題目	Effects of Combination of Functional Electric Stimulation and Robotic Leg Movement Using Dynamic Tilt Table on Walking Characteristics in Post-Stroke Patients with Spastic Hemiplegia: A Randomized Crossover-Controlled Trial (痙性片麻痺患者の歩行特性に及ぼす機能的電気刺激とロボットダイナミックチルトテーブルを用いたステップ運動の併用効果：無作為化クロスオーバー対照試験)		
論文審査委員	主査	山田 宏 教授	
	副査	金桶 吉起 教授	田島 文博 教授

## 論文内容の要旨

【緒言】 痙性片麻痺は、脳卒中後の患者の歩行を遅くし、不安定にする。Dynamic Tilt Table with Robotic Leg Movement (DTTRLM) は安全かつ効果的に歩行を改善することができる。機能的電気刺激 (FES) は、脳卒中後の痙性片麻痺患者の歩行速度を改善する。本研究の目的は、DTTRLM+FES の併用が、DTTRLM 単独と比較して歩行速度に及ぼす影響を明らかにすることである。

【方法】 対象は6カ月以上前に脳卒中と診断された外来患者および入院患者。参加資格は以下の通りである。(1) 20歳以上 (2) 6ヶ月以上の脳卒中既往 (3) 装具の使用有無にかかわらず自立歩行が可能 (4) 麻痺側 MAS が1以上 (5) 有害事象を口頭で説明できる (6) 体重 $\leq$ 135kg、身長 $\leq$ 210cm、脚長75~100cm (7) 骨折していない (8) 署名入り同意書の提供。

また、以下の除外基準を用いた。(1)くも膜下出血の既往、(2)脳卒中発症時の頭部 CT または頭部 MRI におけるテント下病変、(3) DTTRLM 装置の使用および FES ができない (4)ペースメーカー、電気刺激装置、埋め込み型医療ポンプの使用(5)妊娠 (6)制御できない疼痛の存在 (7)てんかんの既往 (8)両麻痺。(9)1週間以内に DTTRLM または FES の使用 (10)4ヶ月以内のボツリヌス毒素療法の実施 (11)制御不能な心血管または呼吸器疾患 (12)最近のめまい、冷汗または吐き気の症状 (13)38°C以上の発熱 (14) 主治医の判断での不参加

参加者を1:1の割合で無作為に2群に振り分けた。第1群は、DTTRLM-stepping+FES 併用療法を1回実施後、1週間のウォッシュアウト期間を経て、DTTRLM-stepping のみの療法を DTTRLM で1回実施した。第2群は、DTTRLM-stepping のみの治療を1回受けた後、1週間のウォッシュアウト期間を経て、DTTRLM-stepping+FES の治療を1回受けた。

各グループは治療前に10m歩行試験(10MWT)を実施し、MAS、膝関節と足関節の可動域(ROM)、麻痺側のFugl-Meyer Assessment (FMA)の測定を併せて実施した。治療終了直後、同じパラメータを再度測定し、介入後の値を決定した。各治療後、7日間(+7日間)のウォッシュアウト/観察期間中に安全性を評価した。

### 【結果】

主な結果は以下のとおりである。

- (1)DTTRLM-stepping+FES 群では DTTRLM-stepping 単独と比較して、10MWS が有意に増加した。
- (2) DTTRLM-stepping+FES 群では DTTRLM-stepping 単独群と比較して歩数が有意に減少した。
- (3) 両治療法で 10MWS が改善した。
- (4) 両治療法で足関節背屈の MAS が有意に増加した。
- (5) DTTRLM-stepping+FES では DTTRLM-stepping 単独群と比較して足関節内転の ROM が有意に増加した。
- (6)有害事象は全ての被験者で観察されなかった。

### 【考察】

本研究で得られた結果は、FES とステップ運動の組み合わせが、脳卒中後の痙性片麻痺患者の歩行速度に即効的に有益な効果をもたらすことを示唆している。この結果は、足踏み+FES の組み合わせが、足踏み単独と比較して 10MWS に有益な効果をもたらすことを初めて実証した。

これまでの研究では、脳卒中後の患者において、エルゴメーター運動と単ステップ運動などの下肢運動を交互に行うことにより、歩行速度が改善することが報告されている。本研究では、両治療法とも歩行速度が有意に向上したことは、上記の研究と一致した。両群で歩行速度が向上した理由は、観察された背屈 MAS の改善と関連している可能性がある。痙性は歩行速度低下の主要因の 1 つとして知られており、脳性麻痺患者において積極的な運動は MAS を低下させ、歩行速度を改善することが知られている。

DTTRLM-stepping+FES 治療後に観察された歩行速度の向上のメカニズムについては、以下の説明が考えられる。1 つ目は足関節内転の ROM の拡大である。足関節背屈筋だけでなく、麻痺性足関節底屈筋の両方を FES すると、遊脚相で足関節背屈筋のみを FES した場合と比較してトーオフ時の足関節底屈角度が大きくなり、前方への推進力が大きくなるという利点があることが報告されている。今回の知見は、上記の研究の知見を裏付けるものである。

もう一つのメカニズムは、運動皮質の興奮性の増加である。以前の研究では、脳卒中後の患者の歩行中に皮質脊髄路の活動が大幅に低下し、その結果、歩行速度が低下することが示されている。また、電気刺激によって対側の一次感覚運動皮質が活性化されることも報告されている。さらに、電気刺激と随意筋収縮の組み合わせは、電気刺激のみと比較して、運動皮質の興奮性をさらに高めることが知られている。本研究では、麻痺側への FES 刺激が皮質脊髄路の興奮性を高め、その結果、DTTRLM-stepping+FES 群では歩行速度が有意に改善されたと考えられる。

また、もう一つのメカニズムとして、歩幅の拡大が考えられる。片麻痺患者の歩幅の狭さは、歩行速度低下の主な要因である。今回 DTTRLM-stepping と FES を併用することで、DTTRLM-stepping 群と比較して歩幅が増加した。歩幅の増加は歩行速度を改善する可能性があり、DTTRLM と FES の組み合わせは歩幅を拡大する可能性がある。

本研究にはいくつかの限界がある。デザインが盲検試験ではないこと。評価者、参加者のいずれも盲検化されていないこと。FES のみの別の対照群を含まなかったこと。参加者の多様性が欠けていたことである。

### 【結論】

脳卒中後の痙性片麻痺患者において、DTTRLM-stepping 療法と FES の併用は、DTTRLM-stepping のみと比較して、10m 歩行速度 (10MWS) を有意に向上させた。本療法の長期的な効果については、さらなる研究が必要である。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和5年1月19日に論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を行った。痙性片麻痺は、脳卒中後の患者の歩行を遅くし、不安定にする。Dynamic Tilt Table with Robotic Leg Movement (DTTRLM) は安全かつ効果的に歩行を改善することができる。機能的電気刺激 (FES) は、脳卒中後の痙性片麻痺患者の歩行速度を改善する。申請者らは、DTTRLM+FES の併用が DTTRLM 単独と比較して歩行速度にプラスの効果を及ぼすのではないかと考え、研究を立案し検証した。

6カ月以上前に脳卒中と診断された外来患者および入院患者を1:1の割合で無作為にA群とB群に振り分けた。A群は、DTTRLM-stepping+FES 併用療法を1回実施後、1週間のウォッシュアウト期間を経て、DTTRLM-stepping のみの療法をDTTRLMで1回実施した。B群逆の順番で療法を受けた。各グループは治療前に10m歩行試験(10MWT)を実施し、MAS、膝関節と足関節の可動域(ROM)、麻痺側のFugl-Meyer Assessment (FMA) の測定を併せて実施した。治療終了直後、同じパラメータを再度測定し、介入後の値を決定した。各治療後、7日間(+7日間)のウォッシュアウト/観察期間中に安全性を評価した。その結果、DTTRLM-stepping+FES 群ではDTTRLM-stepping 単独と比較して、10m歩行速度が有意に増加し、歩数が有意に減少し、足関節内転ROMが有意に改善した。また両治療法で10m歩行速度が有意に改善し、足関節背屈時MASが有意に改善した。有害事象は観察されなかった。

両群で歩行速度が向上した理由は、観察された背屈MASの改善と関連している可能性がある。DTTRLM-stepping+FES 治療後に観察された歩行速度の向上のメカニズムについては、Toe off時の足関節底屈角度が大きくなり、前方への推進力が大きくなったことが考えられる。また脳卒中後の患者は歩行中に皮質脊髄路の活動が大幅に低下することが報告されている。電気刺激により対側の一次感覚運動皮質が活性化されることや、電気刺激と随意筋収縮の組み合わせは電気刺激のみと比較して運動皮質の興奮性をさらに高めることが知られており、麻痺側へのFES刺激が皮質脊髄路の興奮性を高めたことが考えられる。さらに、片麻痺患者の歩幅の狭さは歩行速度低下の要因であるが、今回DTTRLM-stepping とFESの併用は歩幅が拡大しており歩行速度が改善した可能性がある。今回の結果は、FESとステップ運動の組み合わせが脳卒中後の痙性片麻痺患者の歩行速度に即効的に有益な効果をもたらすことを示唆している。本研究は脳卒中後の痙性片麻痺患者において、DTTRLM-stepping 療法とFESの併用がDTTRLM-steppingのみと比較して、10m歩行速度を有意に向上させることを示した初めての研究であり、学位論文として価値あるものとして認めた。

学位記番号	博(医)甲第 655号		
学位授与の日	令和 5年 3月 15日		
氏名	南野麻衣		
学位論文の題目	Characteristics of Guillain-Barré syndrome in super-elderly individuals  (超高齢者ギラン・バレー症候群の特徴)		
論文審査委員	主査	教授 藤井隆夫	
	副査	教授 井上徳光	教授 伊東秀文

## 論文内容の要旨

【緒言】わが国は超高齢社会を迎え、様々な疾患で高齢発症例が増加している。本研究では、代表的な神経免疫疾患であるギラン・バレー症候群（GBS）について、80歳以上の高齢発症例を後ろ向きに調査し、その特徴を明らかにすることを目的とした。

【方法】2019～2021年に近畿大学にGBS(疑い病名含む)の診断名で抗ガングリオン抗体の測定依頼のあった80歳以上の全ての患者から、GBS診断不確実例とデータ不十分例を除いた74例について調べた。対照群は同じ条件の79歳以下の連続症例74例とした。臨床情報は主治医から提供された患者データを後ろ向きに収集した。なお、診断はBrighton基準、電気生理学的診断はHoの基準、重症度はHughes機能グレード尺度（FG）をそれぞれ用いた。

【結果】平均年齢は高齢群83.5歳、対照群51.7歳であった。先行感染が確認された例は高齢群で少なく、特に呼吸器感染が少なかった。症状のピークまでの平均日数は高齢群の方が長かった。症状は両群ともに筋力低下が最も多く、運動失調症状と呼吸筋麻痺は対照群で有意に多かった。電気生理検査では両群ともに脱髄型が多くを占めたが、特に高齢群で脱髄型が有意に多かった。脳脊髄液検査所見は蛋白上昇を示す割合が高齢群で有意に高かった。抗ガングリオン抗体の陽性率は両群で差はなく、対照群でGD1b-IgGが多くみられた。治療は両群ともにIVIgが最も多く、有効性に差はみられなかった。重症度はピーク時FGでは高齢群でより高く、MRC sum scoreでは有意差はなかった。

【考察】超高齢群において、先行感染を認識されることが少なく、特に呼吸器感染で顕著であったことに関しては、本研究では患者の自己申告が含まれており、高齢者は自覚症状が乏しく感染に気付きにくいことと、軽度の誤嚥性肺炎が多くの高齢者に潜在的に存在するためと考えた。発症からピークまでの日数の長さは、既報告では高齢は免疫力が低下していることが影響しているのではないかと考察されている。脱髄型は軸索型よりも進行が緩やかであり、超高齢群には脱髄型が多く含まれており、矛盾しないと考える。脳脊髄液では蛋白が上昇しやすいことに関しては、要因として高齢者は脊柱管狭窄症など蛋白増加の要因が多いことがあげられる。抗糖脂質抗体の陽性パターンに特徴はなく、抗糖脂質抗体は高齢者においても陽性率が高く診断に有用であると考えた。重症例が多いことに関しては、一般に高齢者は疾病罹患によりADLが低下しやすいことが影響していると考えた。また、呼吸器管理が必要な割合も超高齢群の方が高く、高齢者はより重症化しやすいと考えられる。治療選択はIVIgが多かったが、高齢者ではIVIgより単純血漿交換法による合併症が多いことが懸念された可能性がある。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和5年2月21日、論文審査委員は学位請求者の出席を求め、上記論文についての審査を行った。

本論文の目的は、近畿大学医学部脳神経内科のデータベースを使用して、80歳以上の超高齢発症ギラン・バレー症候群 (GBS) を調査し、その特徴と問題を明らかにすることである。

2019年から2021年に近畿大学に抗糖脂質抗体の測定依頼のあった80歳以上の全ての患者から、GBS 診断不確実例とデータ不十分例を除いた74例を調査した。コントロール群は同じ条件の79歳以下の連続症例74例とした。近畿大学医学部の倫理委員会の承認後、主治医から提供された臨床情報を用いて後ろ向きに患者のデータを収集した。GBS の診断はBrighton の診断基準の Level 1-3 のものを選択した。障害の程度はHughes Functional Grading Scale (FS) と Medical Research Council sum score (MRC sum score)、電気生理学的所見はHo の基準を用いた。統計はStudent-T 検定を用いた。

結果は、男女比は超高齢群、対照群ともに男性の方が多く、超高齢群では女性の比率がより高かった。超高齢群は対象群と比較して有意に先行感染が少なく、特に呼吸器感染が少なかった。発症から症状のピークまでの平均日数は超高齢群の方が日数が長かった。GBS の症状に関しては、超高齢群と対照群では呼吸筋麻痺を起こす割合に有意差はみられなかったが、呼吸筋麻痺を来したもののうち、呼吸器管理が必要だったものは超高齢群の方が有意に高かった。また、対照群の方が有意に失調症状を起こす割合が高かった。髄液検査では、対照群と比較して超高齢群ではより髄液中蛋白の上昇がみられた。神経伝導検査では、超高齢群で有意により脱髄型が多い傾向にあった。抗糖脂質抗体の種類は超高齢群と対照群で有意な差はなかった。治療は超高齢群、対照群ともに多くが免疫グロブリン製剤点滴 (intravenous immunoglobulin: IVIg) を選択し、有効率に差はなかった。ピーク時FSは超高齢群でより重症であった。MRC sum score は超高齢群では重症の傾向があったが、有意差は認めなかった。超高齢発症のGBSは、先行感染の自覚が乏しく、かつゆっくりと進行していくことに留意する必要があると考えた。

本論文は80歳以上の超高齢発症のGBSの特徴についての初めての報告であり、超高齢症例の特徴や超高齢症例の医療の発展につながる可能性を示したことから、学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第 656 号		
学位授与の日	令和 5 年 3 月 15 日		
氏名	久米川真治		
学位論文の題目	Development of Surgical and Visualization Procedures to Analyze Vasculatures by Mouse Tail Edema Model		
	(新規マウス尾部モデルによる脈管系の可視化解析システムの開発)		
論文審査委員	主査	教授	西村好晴
	副査	教授	井上徳光
		教授	朝村真一

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

わが国におけるリンパ浮腫は、リンパ節郭清や外傷などによる続発性が多くを占めている。続発性リンパ浮腫は、リンパの循環異常により慢性・進行性の浮腫をきたす難治性疾患である。その主な病態は、リンパ管内圧の上昇に伴い内皮や平滑筋の変性などによるリンパ系の機能低下とされている。しかしながら、リンパ管の閉塞部やその周囲における脈管系の病態は明らかとなっていない。またマウスリンパ浮腫モデルに関する既報では、持続する症状を示す浮腫モデルの報告は希少であった。したがって、その病態解明と有効な治療法の開発には、浮腫が持続し脈管系を可視化解析できる動物モデルが必須である。今回私は、持続性に発症するリンパ浮腫モデルを確立し、閉塞部においてリンパ管を含めた脈管系の構造の可視化解析を行った。

### 【方法】

#### 1. 実験動物及び実験操作

日本クレアから ICR 雄マウス(生後 2 ヶ月令)を購入した。すべての手順とプロトコールは、和歌山県立医科大学の動物研究委員会によって承認を得た(承認番号: 994)。3 種類の混合麻酔薬(メドミジン(0.3mg/kg)、ミダゾラム(4mg/kg)、ブトルファノール(5 mg/kg))を腹腔内に投与し麻酔した。本モデルでは、表在性リンパ管を除去するために、幅 5 mm の全周全層皮膚切片を尾の基部から 2 cm 遠位で切除した。深在性リンパ管は、パテントブルー(PB)を尾の遠位部から皮下注入してリンパ管を特定した後、10-0 ナイロン縫合糸で結紮した。0.5 mm 厚の透明シリコンシート®(125-18-11-01, タイガース ポリマー, 日本)を皮膚除去部へ挿入し、血管部を避けて 0 時方向(尾の背側)から縫合した。

#### 2. 尾部浮腫体積の計測

浮腫部の体積は、Stizia の計算方法に従った近似式を使用して毎週算出した。尾の直径は、デジタルキャリパーを使用して、手術部位から遠位の尾の先端に向かって 0.5 cm ごとに測定した。

#### 3. 蛍光(FITC)-dextran 注入後の蛍光実体顕微鏡による新生リンパ管に関するビデオ解析

混合麻酔薬を腹腔内に注入後に、尾の末梢部から FITC-dextran®(2000kDa, SIGMA)を注入し、標識されたリンパ管画像の連続スナップショット画像を取得した。注入直後約 5 秒までに、蛍光実体顕微鏡(ライカ: M165 FC)でビデオ画像を撮影した。またビデオ画像にて獲得した画像において、蛍光標識部のみを抽出しリンパ管の伸長の解析を行った。

#### 4. ライトシート蛍光顕微鏡(LSFM)による手術部位の可視化解析

蛍光画像は LSFM(ZEISS Z.1, ドイツ)で取得し、FITC-dextran に対応する励起レーザー(561 nm)を選択した。画像取得のために尾組織を CUBIC プロトコールに基づいて透明化処理を行った。画像取得後に、サンプルはシリコンオイル TSF4300(Momentive Performance Materials, RI = 1.498)と鉱油(Sigma-Aldrich, RI = 1.467)の 1:1 混合物で処理後に対物レンズ接触下で観察した。

#### 5. 組織処理、免疫染色、および脈管系の 3D 再構成画像の作成

組織サンプルを 4% (wt/vol) PFA で一晩固定し、メタノール(25 ~ 100%)洗浄で脱水し、パラフィンに包埋した。パラフィンブロックをマイクロトームで連続的に切断し(10 μm 厚)、スライド上にて、脱パラフィン処理し、再水和しオートクレーブ処理等により、抗原性の回復を行った。一次抗体

染色には、抗 CD31 (血管内皮; 1/200, AF3628, ヤギ, アブカム) および抗 LYVE1 (リンパ管内皮; 1/100, ab14917, ウサギ, アブカム) の抗体を使用し、二次抗体として Invitrogen Donkey 抗ヤギ IgG Alexa Fluor 488 (1/200, Thermo Fisher Scientific)を使用した。合計 533 枚の連続切片に関する蛍光免疫染色画像のデジタルデータを取り込み、Amira ソフトウェアで処理し、術部における領域の 3D 画像を作成した。

#### 【結果】

1. 今回の透明シリコンシート挿入を行ったモデルでは、従来の術式による浮腫形成と比較して長期間の浮腫観察が可能となった。施術直後は、POD0 (術後 0 日目) から POD3 に顕著な浮腫が観察されなかった。尾部体積値のグラフにおいて、POD0-21 の間に尾部体積が漸増し、POD21-35 の間に顕著な腫脹が維持された。術後、創傷反応や壊死は観察されなかった (50 例以上施術)。
2. FITC-dextran を尾部末梢から注入し、透明シリコンシートを介して手術部位のリンパ管伸長の観察に成功し、結紮したリンパ管の近傍の新生リンパ管を観察した。また POD7, 14 において新生リンパ管の伸長が確認された。
3. ライトシート顕微鏡を用いて結紮したリンパ管の近傍に新生リンパ管が伸長していることが観察された。
4. 免疫染色 (LYVE1・CD31) 後の 3 次元脈管像再構成の解析では、リンパ管の結紮部により中枢側では血管新生を主として認めたが、末梢側ではそれらに加えてリンパ管新生も認めた。

#### 【考察】

リンパ浮腫は、外傷やリンパ節郭清などを契機として発症し、進行・慢性化する難治性疾患である。臨床においてリンパ節郭清時に術野近傍で種々の補完的手術を行うことにより、リンパ浮腫の発症を抑制する内容の報告がされている。今回の浮腫モデルの結果からも受傷部近傍における経時的な観察が今後重要と考えられた。

本研究は、透明シリコンシートを挿入して、表在リンパ管を除去し持続するリンパ浮腫モデルを確立し、多くの臨床症状に対応したモデルであると考えている。この系では術部をライブの条件下で経時的な可視化解析を行うことが可能となり、新生リンパ管の伸長を観察した。またさらにリンパ管を含めた脈管系の 3 次元解析を行うことも可能であり、リンパ管を含めた脈管形成を解析する方法として、今回の解析系が有効である事が示された。

#### 【結語】

本研究ではマウス尾部リンパ浮腫モデルにおいて透明なシリコンシートを挿入することにより持続する浮腫を形成させて in vivo での脈管系の観察を可能とした。蛍光実態顕微鏡やライトシート蛍光顕微鏡による観察では、結紮したリンパ管構造の近傍に新生リンパ管の伸長が観察された。また免疫染色 (LYVE1・CD31) による 3 次元の脈管像再構成による解析では、リンパ管を結紮した末梢側浮腫の発症部位では血管新生に加えリンパ管新生を認めた。今後私は、可視化解析を駆使してリンパ浮腫の脈管系における病態を明らかにし、新たな治療法の開発が可能と考えている。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和5年2月17日及び20日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の口頭審査を行った。

わが国におけるリンパ浮腫は、リンパ節郭清や外傷などによる続発性が多くを占めている。続発性リンパ浮腫は、リンパの循環異常により慢性・進行性の浮腫をきたす難治性疾患である。しかしながら、リンパ管の閉塞部やその周囲における脈管系の病態は明らかとなっていない。またマウスリンパ浮腫モデルに関する既報では、持続する症状を示すモデルの報告は希少であった。従ってその病態解明と有効な治療法の開発には、浮腫が持続し脈管系を可視化解析できる動物モデルが必須である。

本研究では、持続性に発症するリンパ浮腫モデルを確立し、閉塞部においてリンパ管を含めた脈管系の構造の可視化解析を行った。可視化解析では、FITC-dextranにてリンパ管造影を行い、経時的な新生リンパ管の伸長を解析した。またライトシート顕微鏡を用いても新生リンパ管の伸長を解析した。さらに、術野における脈管系の解析は、LYVE1（リンパ管内皮）の抗体、CD31（血管の内皮）の抗体で蛍光免疫染色、その染色画像を3次元再構成処理し解析を行った。

本研究では、透明シリコンシート挿入を行うことで従来の術式による浮腫形成と比較して長期間の浮腫観察が可能となった。FITC-dextran を尾部末梢から注入し、透明シリコンシートを介して手術部位のリンパ管伸長の観察に成功し、結紮したリンパ管の近傍の新生リンパ管の伸長が確認された。またライトシート顕微鏡を用いて結紮したリンパ管の近傍に新生リンパ管が伸長していることが観察された。免疫染色（LYVE1・CD31）後の3次元脈管像再構成の解析では、リンパ管の結紮部により中枢側では血管新生を主として認めたが、末梢側ではそれらに加えてリンパ管新生も認めた。

本研究は、透明シリコンシートを挿入して、表在リンパ管を除去し持続して発症するリンパ浮腫モデルを確立した。本モデルでは、多くの臨床症状に対応したモデルであると考えている。この系では術部をライブの条件下で経時的な可視化解析を行うことが可能となり、またさらにリンパ管を含めた脈管系の3次元解析を行うことも可能であり、リンパ管を含めた脈管形成を解析する方法として、今回の解析系が有効である事が示された。

本研究で樹立された新規マウス尾部浮腫モデルにおいて透明なシリコンシートを挿入することにより持続する浮腫を形成させて *in vivo* での脈管系の観察を可能とした。本研究は、可視化解析を駆使してリンパ浮腫の脈管系における病態を明らかにし、新たな治療法の開発が期待され、博士学位論文として価値のあるものと認めた。



学位記番号	博(医)甲第657号		
学位授与の日	令和5年3月28日		
氏名	Zhang Siying		
学位論文の題目	Forensic Application of Epidermal Ubiquitin Expression to Determination of Wound Vitality in Human Compressed Neck Skin (表皮ユビキチン発現動態のヒト頸部皮膚における生前圧迫判定への応用)		
論文審査委員	主査	田中 篤	教授
	副査	近藤 稔和	教授 神人 正寿
			教授

## 論文内容の要旨

【緒言】法医学では、生前の損傷か死後の損壊かを区別することは極めて有用な課題の一つであり、そのための指標を見出すことは重要な研究テーマである。特に頸部圧迫による窒息死事例では、生前に頸部が圧迫された痕跡を証明することが求められるものの、その証明に苦慮する事例にもしばしば遭遇することから、頸部圧迫を証明するための有用な指標を見出すことが望まれている。ユビキチンは熱ショックタンパク質の1つで、虚血性および機械的ストレス等の刺激によって急速に誘導されることが知られている。そこで、本研究では、頸部圧迫による窒息死事例における、頸部皮膚について、ユビキチンの発現を免疫組織化学的に検索し、それらが、生前の頸部圧迫を法医学的に診断するための有用な指標となり得るか否かについて検討した。

【方法】法医解剖において頸部圧迫による窒息死と判断された53例（総頸42例、絞頸11例）から頸部皮膚を、コントロールとして同一個体の非損傷部の皮膚も同時に採取した。頸部皮膚試料についてパラフィン包埋切片を作製した。同皮膚切片については、ユビキチンに対するポリクローナル抗体を用いて、表皮細胞におけるユビキチンの発現を検索し、染色結果については各切片について400倍で無作為に5視野選択し、各視野について表皮細胞の総数に対するユビキチン陽性表皮細胞の比率を算出し、ユビキチン発現の指標として5視野の平均値を評価した。

【結果】コントロールとした非損傷部の皮膚組織では、表皮細胞の73.9%でユビキチン陽性細胞が検出され、圧迫部の表皮細胞のユビキチン陽性率は21.2%と、統計学的に有意に低い陽性率であった。一方、ユビキチン発現に関して、性別、年齢、および死後経過時間の各因子で有意な差は認められなかった。

【考察】圧迫された頸部表皮細胞におけるユビキチン発現の減少は、共役ユビキチンから遊離ユビキチンへの変換障害とデノボユビキチン合成の障害に引き起こされているものと考えられた。法医病理学的観点から、ユビキチンが生前の頸部圧迫の痕跡を診断するための有用な指標となることが示唆された。

### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和5年3月9日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め論文審査を行った。

本研究では、頸部圧迫による窒息死事例における、頸部皮膚標本について、ユビキチンの発現を免疫組織化学的に検索し、それらが、生前の頸部圧迫を法医学的に診断するための有用な指標となり得るか否かについて検討した。圧迫部の表皮細胞のユビキチン陽性率は、統計学的に有意に低い陽性率であった。一方、ユビキチン発現に関して、性別、年齢、および死後経過時間の各因子で有意な差は認められなかった。法医病理学的観点から、ユビキチンが生前の頸部圧迫の痕跡を診断するための有用な指標となることが示唆された。すなわち、本研究は頸部の皮膚におけるユビキチン発現の免疫組織化学的検索することによって、生前に頸部圧迫があったことの法医診断学の精度向上に大きく貢献する可能性が示唆され、博士学位論文として価値あるものと認められた。

学位記番号	博(医)甲第 658 号		
学位授与の日	令和 5 年 3 月 28 日		
氏名	村上 大輔		
学位論文の題目	Prognostic value of CD155/TIGIT expression in patients with colorectal cancer (大腸癌における予後予測因子としての CD155 と TIGIT の有用性に関する検討)		
論文審査委員	主査	教授 井上 徳光	
	副査	教授 村田 晋一	教授 川井 学

## 論文内容の要旨

### [背景]

結腸直腸癌（CRC）は、発生率と死亡率が高い重要な新生物である。CRC の現在の治療アプローチは、初期段階では腫瘍摘出術であり、進行段階では化学療法および/または放射線療法である。近年、PD 1 や PD-L1 など、CD28 スーパーファミリーに属する特定の免疫チェックポイント分子が、CRC 免疫療法の潜在的な標的として報告されている。今回の研究では、複数の癌で過剰発現するネクチン様分子である膜貫通タンパク質 CD155 とリガンドである T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains (TIGIT) との相互作用に注目した。この相互作用が、現在様々な固形腫瘍の治療での可能性が研究されている。しかしながら、CRC における CD155 と TIGIT の相互作用と予後との関係は不明である。

今回我々は CD155 と TIGIT の相互作用が腫瘍への T 細胞の攻撃を抑制し、それにより CRC の予後に影響を与えるという仮説を立てた。

### [対象と方法]

2013 年 1 月から 12 月に和歌山県立医科大学第二外科で完全に外科的切除しえたステージ III 以下の CRC 患者 100 人を対象に免疫組織化学染色を用いて CD155 と TIGIT の発現を調べた。臨床病理学的背景とともに、CD155 と TIGIT の発現と予後の相関関係を評価した。腫瘍細胞における CD155 発現、腫瘍浸潤性免疫細胞における TIGIT 発現、および臨床病理学的特徴の間の関係は、 $\chi^2$  検定によって分析した。生存率はカプラン・マイヤー法を用いて分析し、生存率の差の有意性はログランク検定を用いて評価した。全生存率に関する変動効果は、Cox 回帰モデルを使用した。P 値が 0.05 未満を統計学的有意とした。

### [結果]

CD155 と TIGIT の発現が共に高い群はその他の発現群と比較して有意差をもって予後が悪かった (P=0.026) (付図 1)。CD155 と TIGIT の発現が共に高い群とその他の発現群の間に患者背景、臨床病理学的背景に有意差は認めなかった。さらに臨床上予後マーカーとして使用される、CEA 値、CA19-9 値、好中球/リンパ球比率 (NLR)、リンパ球/単球比率 (LMR)、mGPS も予後の評価項目に使用した。予後に関する単変量解析では、年齢 (70 歳以上)、リンパ節転移陽性、CD155 と TIGIT の発現が共に高いこと、CEA 高値 (5 ng/mL)、NLR 高値 (2.85 以上)、LMR 低値 (2.82 以下)、mGPS が高い群 (1or2) が予後と密接に関連する事が示唆され (付図 2)、多変量解析ではリンパ節転移陽性、CD155 と TIGIT の発現が共に高いこと、CEA 高値 (5 ng/mL) は独立した予後不良因子であった。(付図 3)

### [考察・結語]

本研究では、CD155 と TIGIT の複合発現を分析することにより、CRC 患者の術後予後を効果的に予測できる可能性が示唆された。したがって、この複合発現は、CRC 治療の標的としての可能性を秘めていると思われる。抗 TIGIT 薬は現在、他癌腫において臨床試験で評価されている。さらに、

CD155 と TIGIT の両者の発現が高いグループは、予後が不良であった。CD155 と TIGIT の相互作用は、CRC の免疫学的メカニズムにおいて重要な役割を果たしている可能性がある。したがって、CD155 と TIGIT の両方の発現を評価することにより、CRC の術後の予後を効果的に予測する可能性が示唆された。

### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和 5 年 3 月 8 日、令和 5 年 3 月 9 日、令和 5 年 3 月 10 日に論文審査担当者は学位申請者の出席を求め論文審査を行った。

結腸直腸癌（CRC）は、発生率と死亡率が高い重要な悪性腫瘍のひとつである。近年、PD 1 や CTLA4 など、CD28 スーパーファミリーに属する特定の免疫チェックポイント分子が、CRC 免疫療法の潜在的な標的として報告されている。今回の研究では、複数の癌で過剰発現し、免疫チェックポイント分子であると示唆されているネクチン様膜貫通分子 CD155 とそのリガンドである T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains (TIGIT)との相互作用に注目した。今までの所、CRC における CD155 と TIGIT の相互作用と予後との関係は不明である。今回、CD155 と TIGIT の相互作用が腫瘍への T 細胞の攻撃を抑制し、それにより CRC の予後に影響を与えるという仮説を立てた。

今回、2013 年 1 月から 12 月に和歌山県立医科大学第二外科で完全に外科的切除しえたステージ III 以下の CRC 患者 100 人を対象に免疫組織化学染色を用いて、CD155 と TIGIT の発現を調べた。臨床病理学的背景とともに、CD155 と TIGIT の発現と予後の相関関係を評価した。CD155 と TIGIT の発現が共に高い群はその他の発現群と比較して有意差をもって予後が悪かった(P=0.026)。さらに臨床予後マーカーとして使用される、CEA 値、CA19-9 値、好中球/リンパ球比率 (NLR)、リンパ球/単球比率 (LMR)、mGPS も予後の評価項目に使用した。予後に関する単変量解析では、年齢 (70 歳以上)、リンパ節転移陽性、CD155 と TIGIT の発現が共に高いこと、CEA 高値 (5 ng/mL)、NLR 高値 (2.85 以上)、LMR 低値 (2.82 以下)、mGPS が高い群 (1or2) が予後と密接に関連する事が示唆され、多変量解析ではリンパ節転移陽性、CD155 と TIGIT の発現が共に高いこと、CEA 高値 (5 ng/mL) は独立した予後不良因子であった。

本研究によって、CD155 と TIGIT の複合発現を分析することで、大腸癌における、術後の予後を効果的に予測できる可能性を示唆した。また、今後大腸癌治療の標的として、CD155-TIGIT の相互関係が標的とされる可能性を秘めていると考えられ、大腸癌治療に貢献できる可能性を示したことから、学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第659号		
学位授与の日	令和5年3月28日		
氏名	向井 裕貴		
学位論文の題目	Renal and endocrine responses to arm exercise in persons with cervical spinal cord injury.		
論文審査委員	主査	田島 文博 教授	
	副査	荒木 信一教授	原 勲教授

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

脊髄損傷者において20年車いすマラソン競技を続けることにより最大酸素摂取量が20年前に比べて優位に高い値を示した。このことより脊損者の運動習慣というものは心肺機能の改善、維持、生活習慣病予防のために不可欠である。また、障害を持つアスリートがスポーツに参加することの健康上の利点は、よく認識されている。そのために様々な二次合併症などを考慮する必要があるといわれている。以前より尿路感染症は脊髄損傷者の主な死因の一つとして挙げられており、そのため、膀胱の管理や腎機能障害予防は非常に大切と考えられる。健常者の運動は全身の交感神経を優位にし、腎血流を低下させるといわれており、健常者でも高度な運動負荷を行うと糸球体濾過量が減少すると報告されている。我々は頸髄損傷者の腎機能における運動の影響を懸念していた。我々の先行研究で胸腰髄損傷者において自由飲水下で最大酸素摂取量60%負荷の上肢運動での腎機能応答を検討したところ、腎機能の悪化は診られなかった。頸髄損傷者での検討はない。

### 【目的】

頸髄損傷者の上肢運動における腎機能応答と利尿に関する内分泌応答を観察し、その生理学的影響を検討し、運動による安全性を確認すること

### 【対象】

健常者成人男性9名頸髄損傷者成人男11名(損傷高位はC6-8で完全損傷、受傷してから数年以上経過した生活期、スポーツ活動歴、活動量は一定以上あり)

で年齢41.9歳、43.4歳身長171.3cm、172.5cm体重68.5kg 61.2kg 体表面積1.8平方メートル、1.7平方メートル

各々群間に有意差なし

### 【方法】

事前に多段階負荷法を用いて上肢エルゴメータ(以下エルゴ)駆動を行い最大酸素摂取量を算出した。気温25°Cの環境の中50% $\dot{V}O_{2max}$ 強度で間に2分間の休憩をはさむ30分間の上肢エルゴ駆動運動を行った。運動前後、運動終了後1時間の3pointを(pre, post, recover)とし、採血、採尿を行った。運動前から終了時までの時間(P1)とその後1時間の回復期(P2)において水分摂取量(mL/min)、尿量(mL/min)、総尿中ナトリウム排出量(mEq/mL)、尿、血中クレアチニン、尿、血中 $Na^+$ 、尿、血中浸透圧、血中アドレナリン、レニン活性、アルドステロン、ADHを測定、クレアチニンクリアランス、Cosm、CH20、尿中Na排泄率の算出をした。

### 【結果】

血漿浸透圧と $Na^+$ ではABが、ベースラインと比較して、運動後60分後に有意に低かった。CSCIの血漿浸透圧は研究全体で変化しなかったが、血漿 $Na^+$ は、運動前と比較して、運動後60分後に有意に低かった。血漿アドレナリンとレニン活性はABで運動後に有意に上昇した。運動後60分でベースラインにもどった。CSCIでは変化はなかった。アルドステロンとADHはAB、CSCI両群で運動後に有意に上昇し運動後60分でベースラインに回復した。ABのADHは各時点においてCSCIと比べて有意に高かった。水分摂取量、尿量、尿中総ナトリウム排出量、クレアチニンクリアラ

ンスは有意に変化なかった。Cosm は運動中両群とも回復期に記録されたレベルより有意に低かった。CH<sub>2</sub>O は、両群とも変化しなかったが、終始 CSCI は AB よりも有意に高かった。

#### 【考察】

CSCI は運動でアドレナリンは上昇しなかった。これは CSCI では腎交感神経の活動が抑制されているためと考えられる。実験を通して CH<sub>2</sub>O は CSCI で常に高く ADH は AB で常に高かった。CSCI には ADH の正常な日内変動がなく、AB に比べ ADH レベルが低下している。と報告があり ADH の低下は、利尿と低張尿の傾向を示唆し、CH<sub>2</sub>O の上昇につながる。ただ、CSCI で ADH が AB に比べて低い理由は明らかではないが、脱水による高ナトリウム血症を防ぐために、あらかじめ血中の ADH 分泌を低く抑えて電解質の恒常性を維持する CSCI の適応を反映している可能性がある。本研究では、CSCI では運動中の血漿浸透圧に有意な変化は認められなかったが、ADH は CSCI で有意に上昇した。運動は CSCI の心拍出量の増加を誘発する可能性が高く、CSCI では交感神経が遮断され、末梢血管の収縮がないため、増加した心拍出量が心房に完全には戻らない可能性がある。これが結果として循環血液量の減少をもたらした、ADH の有意な上昇につながったと考えられる。高強度の運動で AB の ADH が増加することを示した以前の研究と一致した。AB は上肢運動中にアドレナリンと同様にレニン活性の上昇を示したが、CSCI 群では両ホルモンとも変化が認められなかった。しかし両群で運動により血漿アルドステロン濃度は上昇した。Kawasaki らは 2 時間の上肢運動において、SCI では運動中のレニン活性は AB と同様であったが血漿アルドステロンは SCI で高値であった。本研究の CSCI における血漿アルドステロンの反応亢進は SCI と同様に、腎機能を維持するための交感神経系の障害下での適応を反映している可能性が考えられる。また、ドーパミンは健常者においてアンジオテンシン II 刺激によるアルドステロン分泌を抑制する。と報告があり、我々の結果は、CSCI ではアドレナリンの増加がないためアルドステロン分泌が抑制されず、その結果血漿アルドステロン濃度が増加し、AB と同様になった可能性を示唆している

#### 【結論】

CSCI において 30 分間の上肢エルゴ運動が腎機能に悪影響を及ぼさないことを証明した。CSCI では、アドレナリンやレニン活性の上昇を伴わずに血漿アルドステロンが増加した。CSCI における血漿アルドステロンの反応は、腎機能を維持するための交感神経系の障害下での適応を反映している可能性がある。

#### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和 5 年 3 月 10 日、論文審査委員は学位請求者の出席を求め、上記論文についての審査を行った。本論文の目的は、交感神経調節障害のある頸髄損傷者の上肢運動における腎機能応答と利尿に関する内分泌応答を観察し、その生理学的影響を明らかにすることである。健常者成人男性(AB)9 名頸髄損傷者成人男性(CSCI)11 名を被検者とした。事前に多段階負荷法を用いて上肢エルゴメーター(エルゴ)駆動により最大酸素摂取量(VO<sub>2</sub>max)を算出した。被検者は気温 25 度の環境の中 50%VO<sub>2</sub>max 強度で間に 2 分間の休憩をはさむ 30 分間の上肢エルゴ駆動を行った。運動前後、運動終了後 1 時間の 3point をそれぞれ pre,post,recover とし、採決と採尿を行った。その結果、血漿浸透圧と Na<sup>+</sup>では AB がベースラインと比較して運動後 60 分後に有意に低下した。CSCI の血漿浸透圧は実験を通して変化しなかったが、血漿 Na<sup>+</sup>は運動前と比較して運動後 60 分後で優位に低下した。血漿アドレナリンとレニン活性は AB で運動後に有意に上昇し運動後 60 分でベースラインに戻ったが CSCI では変化はなかった。アルドステロンと ADH は AB、CSCI 両群で運動後に有意に上昇し運動後 60 分でベースラインに回復した。AB の ADH は各時点において CSCI と比べて優位に高かった。水分摂取量、尿量尿中総ナトリウム排出量、クレアチニンクリアランスは優位に変化なかった。浸透圧活性物質クリアランスは運動中両群とも回復期に記録されたレベルより優位に低かった。自由水クリアランスは両軍とも変化しなかったが、終始 CSCI は AB よりも優位に高かった。交感神経障害のある CSCI において 30 分間の上肢エルゴ駆動による血漿アドレナリンが上昇しないことは当然の結果といえる。今回の研究により腎機能の変化は健常者と同等であり、CSCI ではレニン活性の上昇を伴わずに血漿アドレナリンの増加が認められた。この反応は腎機能は維持するために交感神経調節障害下での適応を反映した可能性がある。本研究は上肢エルゴ駆動が CSCI の腎機能に悪影響を及ぼすとは考えにくい結果を初めて明らかにし、学位論文として価値あるものとして認めた。

学位記番号	博(医)甲第660号		
学位授与の日	令和5年3月28日		
氏名	南 晃平		
学位論文の題目	Voluntary running-induced activation of ventral hippocampal GABAergic interneurons contributes to exercise-induced hypoalgesia in neuropathic pain model mice (自発運動に伴う腹側海馬 GABA 介在ニューロンの活性化は神経障害性疼痛モデルにおける運動による疼痛抑制に関与する)		
論文審査委員	主査	教授 近藤 稔和	
	副査	教授 田島 文博	教授 西谷 友重

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

慢性疼痛治療における治療ガイドラインや臨床試験では、運動療法が身体機能や疼痛を改善することが示されている。しかし、運動療法が慢性疼痛を改善する運動誘発性疼痛抑制 (exercise-induced hypoalgesia: EIH) のメカニズムは十分に解明されていない。慢性疼痛には内側前頭前野、扁桃核、側坐核、海馬といった皮質辺縁系の機能不全が重要な役割を担うことが明らかされている。腹側海馬 (vHPC) は痛みの情動的側面に深く関与する。慢性疼痛に伴う不安や恐怖といった負の情動は、過剰な疼痛回避行動を引き起こして慢性疼痛を増悪させることが示されているものの、情動に関与する vHPC と EIH 効果との関係はこれまで明らかにされていない。本研究は神経障害性疼痛 (NPP) モデルマウスに自発運動 (VR) を行わせて、vHPC-CA1 領域の FosB 陽性細胞および GABA 作動性介在ニューロン (パルバルブミン陽性 [PV<sup>+</sup>] およびソマトスタチン陽性 [SOM<sup>+</sup>]) に対する VR の効果を検討した。

### 【方法】

実験動物には10週齢の C57BL/6J 雄マウスを用い、1) Naive-Sedentary, 2) Naive-Runner, 3) Sham-Sedentary, 4) Sham-Runner, 5) PSL-Sedentary, 6) PSL-Runner の6群を設けた。NPP モデルマウスは坐骨神経部分損傷 (PSL) により作製し、PSL の前後2週間、VR を行わせた。Runner 群はゲージ内に設置したランニングホイールを用いて走行距離を測定した。熱痛覚閾値はプランターテストを用いてを評価した。免疫蛍光染色には神経活性化のマーカーである FosB 抗体と GABA 作動性介在ニューロンのマーカーであるパルバルブミン (PV) 抗体、ソマトスタチン (SOM) 抗体を用い、マウスの vHPC 領域を免疫染色した。逆行性トレーサー実験は、PSL-Sedentary の扁桃核基底外側核 (BLA) に逆行性トレーサー (RBR) を注入し、vHPC-CA1 から BLA に投射するニューロンが疼痛存在下において活性化しているかを検討した。

### 【結果】

PSL-Runner の熱痛覚閾値は PSL-Sedentary に比べ術後14日目まで有意に改善し、さらに PSL-Runner における PSL 後14日目の熱痛覚閾値と PSL 後14日間の総走行距離との間には有意な正の相関関係が示された。VR は NPP に伴う熱痛覚過敏を改善し、活発な VR は EIH 効果を高めることが分かった。vHPC-CA1 の FosB<sup>+</sup>細胞数は、PSL-Sedentary で他の群に比べ有意に多かった。これは VR は PSL に伴い vHPC-CA1 で増加する FosB<sup>+</sup>細胞を抑制することを示している。また PSL-Sedentary と PSL-Runner の FosB<sup>+</sup>細胞数は熱痛覚閾値と有意な負の相関を示し、vHPC-CA1 に局在する活性化ニューロンが、熱痛覚過敏のレベルに影響を及ぼす要因となる可能性を示唆した。VR は vHPC-CA1 に存在する活性化 PV<sup>+</sup>および SOM<sup>+</sup>介在ニューロンの割合を有意に増加させた。さらに活性化 PV<sup>+</sup>介在ニューロン数は、PSL 後14日間の総走行距離と有意な正の相関を示した。これらの結果は VR が vHPC-CA1 における PV<sup>+</sup>介在ニューロンの活性化を促進することを示唆した。逆行性トレーサーと FosB 免疫組織染色とのコンビネーションにより、PSL-Sedentary では vHPC-CA1 から BLA に投射するニューロンの約24%が活性化されていることが分かった。

### 【結論】

本研究は、VR による vHPC-CA1 の GABA 作動性介在ニューロンの活性化を介した活性化ニュー

ロンのフィードフォワード抑制が、EIH 効果を生み出すメカニズムとなる可能性を示すとともに、VR による恐怖や不安のような負の情動の消去が、慢性疼痛の改善に重要な役割を担うことを示唆した。

### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和5年3月10日に論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を行った。

運動療法が慢性疼痛を改善する運動誘発性疼痛抑制(exercise-induced hypoalgesia: EIH)のメカニズムは十分に解明されていない。慢性疼痛には内側前頭前野、扁桃核、側坐核、海馬といった皮質辺縁系の機能不全が重要な役割を担うことが明らかされている。腹側海馬(vHPC)は痛みの情動的側面に深く関与する。慢性疼痛に伴う不安や恐怖といった情動は、過剰な疼痛回避行動を引き起こして疼痛を難治化させることが示されているものの、情動に関与する vHPC と EIH 効果との関係は明らかにされていない。本研究は神経障害性疼痛(NPP)モデルマウスに自発運動(VR)を行わせて、vHPC-CA1 領域の FosB 陽性細胞および GABA 作動性介在ニューロン(パルバルブミン陽性 [PV<sup>+</sup>] およびソマトスタチン陽性 [SOM<sup>+</sup>])に対する VR の効果を検討した。

実験動物には10週齢の C57BL/6J 雄マウスを用い、1) Naive-Sedentary, 2) Naive-Runner, 3) Sham-Sedentary, 4) Sham-Runner, 5) PSL-Sedentary, 6) PSL-Runner の6群を設けた。NPP モデルマウスは坐骨神経部分損傷(PSL)により作製し、PSL の前後2週間、VR を行わせた。Runner 群はゲージ内にランニングホイールを設置した。熱痛覚閾値はプランターテストで評価した。免疫蛍光染色には FosB 抗体と GABA 作動性介在ニューロンのマーカーであるパルバルブミン(PV)抗体、ソマトスタチン(SOM)抗体を用い、マウスの vHPC 領域を免疫染色した。逆行性トレーサー実験は、PSL-Sedentary の扁桃核基底外側核(BLA)に逆行性トレーサーを注入し、vHPC-CA1 から BLA に投射するニューロンが疼痛存在下において活性化しているかを検討した。

PSL-Runner の熱痛覚閾値は PSL-Sedentary に比べ有意に改善し、さらに PSL-Runner における熱痛覚閾値と PSL 後14日間の総走行距離との間には有意な正の相関関係が示された。VR は NPP に伴う熱痛覚過敏を改善し、活発な VR は EIH 効果を高めることが分かった。vHPC-CA1 の FosB<sup>+</sup>細胞数は、PSL-Sedentary で他の群に比べ有意に多かった。これは VR が PSL に伴い vHPC-CA1 で増加する FosB<sup>+</sup>細胞を抑制することを示している。また PSL-Sedentary と PSL-Runner の FosB<sup>+</sup>細胞数は熱痛覚閾値と有意な負の相関を示し、vHPC-CA1 に局在する活性化ニューロンが、熱痛覚過敏に影響を及ぼす可能性を示唆した。VR は vHPC-CA1 に存在する活性化 PV<sup>+</sup>および SOM<sup>+</sup>介在ニューロンの割合を有意に増加させ、活性化 PV<sup>+</sup>介在ニューロン数は、PSL 後の総走行距離と有意な正の相関を示した。これらの結果は VR が vHPC-CA1 における PV<sup>+</sup>介在ニューロンの活性化を促進することを示唆した。逆行性トレーサーと FosB 免疫組織染色とのコンビネーションにより、PSL-Sedentary では vHPC-CA1 から BLA に投射するニューロンの約24%が活性化されていることが分かった。

本研究は、VR による vHPC-CA1 の GABA 作動性介在ニューロンの活性化を介した活性化ニューロンのフィードフォワード抑制が、EIH 効果を生み出すメカニズムとなる可能性を示すとともに、VR による恐怖や不安のような負の情動の消去が、慢性疼痛の改善に重要な役割を担うことを示唆した。

本論文は神経障害性疼痛モデル動物の腹側海馬における EIH 効果の脳メカニズムを明らかにしたもので、学位論文として価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1018号		
学位授与の日	令和4年4月19日		
氏名	難波 孝礼		
学位論文の題目	Comparative analysis of effects of various toilet seat cushions on buttock pressure during toileting in persons with spinal cord injury (脊髄損傷者が便座に座った時の座面圧力値に対する各種便座クッションの比較分析)		
論文審査委員	主査	教授 朝村 真一	
	副査	教授 山田 宏	教授 田島 文博

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

本研究では、脊髄損傷者のトイレ便座での座圧のレベルとその分布を測定し、さらに脊髄損傷者に使用を推奨している便座クッションの種類による違いについて検証した。

### 【方法】

脊髄損傷者 41 名（脊髄損傷の原因 外傷性 38 先天性二分脊椎 3、評価時年齢 39.8 歳±15.2、男性 29 女性 12、身長 165 cm±8.4、体重 57kg±11.2、脊髄損傷レベル C8-L1、障害程度はいずれも ASIA 機能障害尺度 A）を対象とした。身便座に便座クッション（フォームクッション、ゲルクッション、エアクッション）を使用した場合と使用しない場合で、トイレ着座時の座圧を測定した。座圧は、Tekscan 圧力測定システム（BIG-MAT2000、2064 セル（43×48）のマトリックスを持つフレキシブルなセンサーマット（ニッタ株式会社）により記録した。各セルは 1cm<sup>2</sup> あたりの圧力を測定することができる。41 名の座圧は、ROHO High Profile タイプ（ペルモバイル株式会社、日本）のエアクッションを用い車いすに座位で測定した。またトイレ着座時は 1) クッションなし、2) 市販のトイレ用フォームクッション、3) トイレ用ゲルクッション、4) トイレ用エアクッションの 4 条件で座圧を測定した。今回使用した便座は樹脂製の「U」型タイプである。フォームクッションは、発砲ウレタン製「やわらか便座」（TOTO 株式会社）であった。ゲルクッションは、「アクションパッド」（アクションジャパン株式会社）で、左右のパーツを別々に座面に置いた。トイレ用エアクッションは、ROHO type（ROHO Co.製アビリティーズ・ケアネット株式会社輸入販売）のもので、36 個のゴムセルで構成。外側の 18 個のセルは高く、内側のアクションジャパン 18 個のセルは低くなっている。本研究で使用したトイレは、座面の高さを調節できるタイプ（酒井医療株式会社）を使用した。本研究では、トイレでの着座を、1) 足の裏が床に完全に密着している、2) 膝関節と足関節の角度が 90 度である、3) 楽な姿勢で支えなしに座っている、4) こぶし 3 個分の幅でまたがっている、5) 着座したまま膝の上に手を置いていると定義した。センサーマット記録された最大圧力（Pmax）と、坐骨部（Pisch）、大転子部（Ptroch）、仙骨部（Psac）のピーク最大圧力を、ソフトウェアを用いて算出した。また、着座時に両側の坐骨部上で最も高い圧力が記録されたポイント間の距離（坐骨間距離）を測定した。

### 【結果】

(1) クッションなしのトイレ座圧では、エアクッション付きの車椅子座圧（249±93mmHg）と比較して、Pmax が有意に高かった（344±127mmHg）。

(2) クッションなしのトイレ着座時、全体の圧力マップ上の最大圧力の部位は、GT 大転子部、IT 坐骨部、SR 仙骨部の 3 つの異なる座圧分布パターンを示した。

(3) GT 群では、3 種類のクッションのいずれかを使用すると、トイレ着座時の Ptroch レベルが有意に低下した。一方、フォームクッションを使用した場合、対照群（クッションなし）に比べて Pisch が有意に増加した。

(4) IT 群では、ゲルクッションを使用した場合、対照群に比べて Pisch が有意に減少した。

(5) SR 群では、エアクッションを使用した場合、対照群に比べて Psac が有意に減少した。



## 【考察】

クッションなしのトイレ着座時の Pmax は、エアクッションを使用した車椅子着座時の Pmax と比較して約 1.4 倍と有意に高い値を示した。これらの知見は、運動障害や感覚障害を持つ SCI 患者において、トイレ座位は車いす座位と比較して褥瘡のリスクを高めることを示唆する。これまでの研究では脊髄損傷者における車いす座圧は IT にて最も高値を示す。一方、トイレ座圧の本研究の結果では、クッションなし便座における最大圧力部位は 23 人の被験者では GT に、8 人の被験者では IT に、10 人の被験者では SR に位置していた。車椅子と便座の座圧分布の違いを決定する要因は、便座の形状と、解剖学的な坐骨間距離である。GT 群の坐骨間距離は、IT 群や SR 群に比べて有意に短かった。本研究では、被験者は便座に普通に座ったが、GT 群の被験者は他の 2 群に比べて坐骨間距離が短いため、臀部が便座・クッションを突き抜けて便器に突出していた。つまり、GT 群の被験者は、大転子により荷重を支えることになっていた。なお、IT 群と SR 群の坐骨間距離には、有意な差はなかった。排便時に両大腿の間から肛門に指を挿入する場合は、姿勢から SR 群になる。一方、後ろから肛門に指を入れる場合は、SR 群よりも前方に座るため、IT 群となる。

## 【結語】

脊髄損傷者のトイレ座圧パターンは車いす座圧パターンと関連なく 3 つに分類される。褥瘡リスクをそれぞれで軽減するために、IT 群にはゲルクッションを、GT 群と SR 群にはエアクッションを使用することが勧められる。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和 4 年 4 月 5 日、論文審査員は学位申請者の出席を求め論文審査を行った。

髄損傷者において褥瘡は、頻度の高い二次的合併症である。褥瘡発生の原因としての排便時トイレ座位時の座面圧力値（座圧）を計測した研究はない。申請者らはトイレ便座座圧と一部で使用されるトイレクッションの効果の研究をおこなった。

対象は胸髄レベルの損傷を中心に AIS A41 人。比較の車いす座位はエアクッションを使用した。クッションなしのトイレ座圧最大値 ( $344 \pm 127 \text{mmHg}$ ) は、エアクッション使用の車いす座圧最大値 ( $249 \pm 93 \text{mmHg}$ ) と比較して、有意に高かった。クッションなしのトイレ着座時、全体の圧力マップ上の最大圧力の部位は、大転子部、坐骨部、仙骨部の 3 種類の異なる座圧分布パターンを示した。更にクッションなしトイレ座圧とトイレ用フォームクッション、ゲルクッション、エアクッション使用時座圧で比較を実施。大転子部支持群ではフォームクッションを使用した場合、最大坐骨部圧が有意に増加し適さないことが分かった。エアクッションが効果的。坐骨部支持群では、ゲルクッションを使用した場合、対照群に比べて最大坐骨部圧が有意に減少。仙骨部支持群では、エアクッションを使用した場合、対照群に比べて最大仙骨部圧が有意に減少。坐骨結節間距離は大転子部支持群で優位に小さいことも確認された。

本論文は、脊髄損傷者がトイレで座位を取るときの座圧を研究した世界で初めての論文であり、同一者においても車いす座位と異なる 3 パターンに分類されること、トイレ用クッションにより効果が異なることを示した。更に、トイレ座位が褥瘡の原因となりうると示し、トイレ座位による褥瘡発症予防を期待できることから学位論文として価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1019号		
学位授与の日	令和4年4月19日		
氏名	岡田 紗枝		
学位論文の題目	New diagnostic support tool for lumbosacral foraminal stenosis using radiographs of the lumbar spine (腰椎X線画像を使用した腰仙椎椎間孔部狭窄の新しい診断サポートツールの開発)		
論文審査委員	主査	教授 中川 幸洋	
	副査	教授 山田 宏	教授 園村 哲郎

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

腰椎椎間孔狭窄 (lumbar foraminal stenosis: 以下 LFS) の見落としは、腰椎手術成績不良の主たる原因となってきた。これは、腰椎椎間孔は、画像診断が非常に困難な領域であったことに由来する。現在、3次元MRIが普及されLFSの確定診断に最も理想的な画像検査ではある。しかし、臨床の現場では未だ一般的に普及するに至っていない。また、全ての腰部脊柱管狭窄症症例に3次元MRIを撮像することは患者負担を増すだけでなく医療経済上も好ましいことではない。よって、3次元MRIをオーダーする前に、ある程度の確率で椎間孔狭窄の存在を予測し、検査前確率を上げることができる診断サポートツールがあれば過剰な検査を回避でき、医療コストの低減にもつながる。

### 【目的】

腰椎単純X線画像からLFSの存在を高い確率で予測するための画像診断サポートツールを作成することである。

### 【対象と方法】

過去に腰椎手術を実施した症例群の中から3次元MRI正常50例(LFS無し群)と異常50例(LFS有り群)の2群を抽出し、これらの術前に撮像された腰椎単純X線正面および側面像を用いて以下の解析を行った。LFS有りに関連する説明変数を抽出するために、腰椎単純X線像各種パラメーター：①L5傾斜角の有無、②椎弓根間距離、③最大L5横突起幅、④L5横突起仙骨翼間距離、⑤側方骨棘長、⑥腰仙角、⑦椎間板高、⑧すべり(3mm以上)の有無について単変量ロジスティック解析を行った。この結果、有意( $P<0.05$ )とみなされた説明変数から、LFSの予測に最も有用な説明変数の組み合わせを選別するために、“1”か“0”かの2値データを与え統計処理を行うこととした(LFS有り/無し=1/0)。この際、連続変数である説明変数には、受動者動作特性曲線(receiver operating characteristic curve: ROC曲線)解析におけるカットオフ値を用いてカテゴリ化を行っている。最終的に、これらの2値データに変換された説明変数に、性・年齢・BMIの調整因子を加えて多変量ロジスティック解析を行い、求められたオッズ比を、そのまま小数点以下四捨五入してスコアシステムを構築した。

### 【結果】

L5傾斜角有=29点、L5横突起仙骨翼間距離9mm以下=5点、側方骨棘長4mm以上=38点、椎間高5mm以下=27点とするスコア(0~101点)を作成した。ホスマー・レメショウの適合度検定にてモデルの適合度は、 $P=0.724$ となったため、本スコアリングシステムの適合度は良好と判定された。スコアのカットオフ値を求めるためROC解析を行った結果、カットオフ値62点とすると、曲線下面積0.9345、感度98%、特異度80%であった。

### 【考察】

3次元MRIによる診断確定を、LFSの可能性の高い症例に限定して実施することができれば、過剰な検査を回避でき医療コストの低減にもつながる。しかし、従来の画像を使用してLFS画像診断することは困難である。したがって、従来の画像から一定の確率で椎間孔狭窄の存在を予測できる診断支援ツールがあれば理想的である。本研究では、整形外科の日常業務で日常的に使用されている腰椎の

単純 X 線画像から LFS を一定の確率でスクリーニングできる画像診断支援ツールの開発を試みた。本ツールは感度、特異度とも比較的良好であることから、カットオフ値を 62 点以上に設定した場合、3 次元 MRI を追加撮像すると LFS の存在を証明できる可能性が高い。

### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和 4 年 3 月 28 日、4 月 1 日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を行った。本研究は、腰椎単純 X 線画像から腰仙椎椎間孔狭窄（lumbosacral foraminal stenosis: 以下 LFS）の存在を高い確率で予測するための画像診断サポートツールの開発を試みたものである。腰仙椎椎間孔狭窄は、整形外科一般診療の中でこの病態は見落とされやすく、failed back surgery syndrome の過半数を占め、手術成績を悪化させる一因となってきた。LFS の診断精度を上げるためには、ある一定の確率で LFS の存在を予測できる画像診断サポートツールが必要である。当院で腰部脊柱管狭窄症の手術を受けた患者 100 人の腰椎立位 X 線像で、以下のパラメーター：1) L5 傾斜角(L5 椎体上縁と S1 椎体上縁のなす角度)、2) 椎弓根間距離(L5 椎弓根下縁と S1 椎弓根上縁の距離：mm)、3) 側方骨棘長 (L5 椎体外縁から骨棘先端の距離：mm)、4) 最大 L5 横突起幅(横突起の上下端の距離：mm)、5) L5 横突起仙骨翼間距離 (仙骨翼基部から L5 横突起の距離：mm)、6) 腰仙角(L5 椎体下縁と S1 椎体上縁のなす角度)、7) 椎間板高(L5 椎体後縁と S1 椎体後縁の距離：mm)、8) すべり(3mm 以上)の有無について解析を行った。結果、L5 傾斜角=29 点、側方骨棘長 (≥4mm) =39 点、L5 横突起仙骨翼間距離 (≤9mm) =5 点、L5 椎間板高 (≤5mm) =28 点とした合計 101 点のサポートツールを作成した。スコアのカットオフ値を求めるため ROC 解析を行った結果、カットオフ値 62 とすると、曲線下面積 0.9345、感度 98%、特異度 80%であった。

本論文は、脊椎外科を専門としない一般整形外科医の間での普及が期待できる。また今後、脊椎の X 線画像の読影に精通していない一般医にでも簡単に使用できる自動計測ソフトの開発や、評価者間での測定誤差が生じない AI による計測ソフトの開発なども期待できる。また、画像診断が困難な LFS を従来画像から予測することができ過剰な検査の回避や、医療コストの低減にもつながるものであり、学位論文として価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1020号		
学位授与の日	令和4年5月17日		
氏名	内原 麻友		
学位論文の題目	Blood biomarkers reflect integration of severity and extent of endoscopic inflammation in ulcerative colitis (潰瘍性大腸炎における血液バイオマーカーと内視鏡的重症度・病変範囲との関連)		
論文審査委員	主査	教授 藤井 隆夫	
	副査	教授 神人 正寿	教授 北野 雅之

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis : UC) は、若年者に多く発症し、生涯にわたり再燃と寛解を繰り返す難治性疾患である。適切に病勢をコントロールするためには、病変の重症度と罹患範囲を把握し、治療方針を決定することが重要であり、下部消化管内視鏡検査 (colonoscopy : CS) がゴールドスタンダードとされている。しかし、前処置の煩雑さや検査の侵襲性など患者への負担が否めないため、CS の代替となるマーカーが望まれている。血液検査は比較的低侵襲で頻回に施行可能であり、これまで様々な血液バイオマーカーが探索されてきた。CRP などの有用性が報告されているものの、CS の代替となるほど十分とは言えないが、これまでの報告では血液検査と内視鏡的活動性の相関を評価する場合、内視鏡的活動性は最重症部位の重症度で対比され、炎症範囲は考慮されていない。

本研究の目的は、血液検査 (PLT、ALB、CRP) を内視鏡的重症度のみでなく、炎症範囲を含めて評価することで、血液検査の有用性が向上するかを検討することである。

### 【方法】

#### 1. 対象患者

和歌山県立医科大学附属病院の診療録を検索し、2010年5月から2016年8月にCSと血液検査を施行されたUC患者68人207症例を対象とした。

#### 2. 血液検査

CSと同時期(1週間以内)に施行された血液検査(PLT、ALB、CRP)を評価した。

#### 3. 内視鏡評価

盲腸・上行結腸・横行結腸・下行結腸・S状結腸・直腸の各部位の粘膜の状態をMayoの内視鏡サブスコア(Mayo endoscopic subscore : MES)で評価し、最重症部位のMESをthe maximum score of MES (mMES (0~3))、6部位の合計MESをthe cumulative score of MES (cMES (0~18))とした。粘膜治癒はMES 0あるいは1と定義した。評価は、2名の医師でそれぞれ行い、スコアが両者で異なった場合は、協議の上再評価を行い、コンセンサスを得た。

#### 4. 統計解析

血液検査とmMESおよびcMESの相関について、Spearman's rank correlation testで評価した。カテゴリ変数は $\chi^2$ 検定を用いて比較した。血液検査については、ROC解析を用いてカットオフ値を設定した。

### 【結果】

#### (1) 血液検査と内視鏡的活動性の相関

各血液検査項目(PLT、ALB、CRP)はいずれもmMES、cMESと有意な相関を示したが、いずれもcMESでより相関がみられた( $r = 0.47, -0.52, 0.38$  vs  $0.54, -0.65, 0.52$ )。また2回以上CSを受けた患者におけるCS間の各血液検査の変化( $\Delta$ PLT、 $\Delta$ ALB、 $\Delta$ CRP)もcMESの変化( $\Delta$ cMES)

と相関を示した ( $r = 0.57, -0.49, 0.54$ )。

## (2) 血液検査による mMES の予測

活動性ありとなる mMES  $\geq 2$  の症例は 94 例 (46%) であり、その予測能は PLT  $\geq 26.7 \times 10^4 / \mu\text{L} : \text{ALB} \leq 4.2\text{g/dL} : \text{CRP} \geq 0.23\text{mg/dL}$  で、感度、特異度、AUC はそれぞれ 0.68、0.79、0.75 : 0.73、0.73、0.77 : 0.57、0.81、0.75 であった。PLT、ALB、CRP のカットオフを満たす mMES  $\geq 2$  の症例を炎症範囲が脾彎曲までの群 42 例と脾彎曲を超える群 52 例に分けて比較すると、PLT : ALB : CRP で 21 例 (50%) vs 42 例 (81%)、 $p = 0.0016$  : 18 例 (43%) vs 49 例 (94%)、 $p < 0.0001$  : 11 例 (26%) vs 43 例 (83%)、 $p < 0.0001$  でいずれも脾彎曲を超える群で有意に活動性を予測した。これらの結果から、最重症部位のみの対比では UC において血液検査の有用性を十分には評価できていない可能性があり、炎症範囲が考慮されるべきであることが示唆された。

## (3) 血液検査による cMES の予測

病変範囲をより反映させるため、cMES  $\geq 9$  の予測能を検討すると、PLT  $\geq 30.9 \times 10^4 / \mu\text{L} : \text{ALB} \leq 4.0\text{g/dL} : \text{CRP} \geq 0.34\text{mg/dL}$  で、感度、特異度、AUC はそれぞれ 0.76、0.79、0.83 : 0.88、0.79、0.90 : 0.85、0.81、0.90 であった。いずれの結果も mMES  $\geq 2$  の予測能よりも良好な結果であり、血液検査は局所的な炎症よりも大腸全体の炎症の総計を反映していると考えられた。

### 【考察】

血液検査 (PLT、ALB、PLT) は潰瘍性大腸炎患者の局所的な炎症よりも大腸全体の炎症の総計を反映していた。病勢把握において、血液検査は既報で示されていたよりも有用と考えられ、潰瘍性大腸炎の診療において、血液検査の変化に注意を払うことで、より適切な診療が可能となると考えられた。

## 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和 4 年 4 月 1 日、4 日、19 日に論文審査担当者は学位申請者に出席を求め学位論文について審査を行った。

潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis : UC) は、若年者に多く発症し、生涯にわたり再燃と寛解を繰り返す難治性疾患である。適切に病勢をコントロールするためには、病変の重症度と罹患範囲を把握し、治療方針を決定することが重要であり、下部消化管内視鏡検査 (colonoscopy : CS) がゴールドスタンダードとされている。しかし、前処置の煩雑さや検査の侵襲性など患者への負担が否めないため、CS の代替となるマーカーが望まれている。血液検査は比較的低侵襲で頻回に施行可能であり、これまで様々な血液バイオマーカーが探索されてきた。CRP などの有用性が報告されているものの、CS の代替となるほど十分とは言えないが、これまでの報告では血液検査と内視鏡的活動性の相関を評価する場合、内視鏡的活動性は最重症部位の重症度で対比され、炎症範囲は考慮されていない。そこで、本論文では、UC 患者の血液検査 (PLT、ALB、CRP) を内視鏡的重症度のみでなく、炎症範囲を含めて評価を行い、血液検査の有用性が向上するかについて検討を行った。

## (1) 血液検査と内視鏡的活動性の相関

内視鏡的活動度は Mayo の内視鏡サブスコア (Mayo endoscopic subscore : MES) で評価し、最重症部位の MES を the maximum score of MES (mMES (0~3))、6 部位 (盲腸・上行結腸・横行結腸・下行結腸・S 状結腸・直腸) の合計 MES を the cumulative score of MES (cMES (0~18)) とし、粘膜治癒は MES 0 あるいは 1 と定義した。

各血液検査項目 (PLT、ALB、CRP) をはいずれも mMES、cMES と有意な相関を示したが、いずれも cMES でより相関がみられた ( $r = 0.47, -0.52, 0.38$  vs  $0.54, -0.65, 0.52$ )。また 2 回以上 CS を受けた患者における CS 間の各血液検査の変化 ( $\Delta\text{PLT}$ 、 $\Delta\text{ALB}$ 、 $\Delta\text{CRP}$ ) も cMES の変化 ( $\Delta\text{cMES}$ ) と相関を示した ( $r = 0.57, -0.49, 0.54$ )。

## (2) 血液検査による mMES の予測

活動性ありとなる mMES  $\geq 2$  の症例は 94 例 (46%) であり、その予測能は PLT  $\geq 26.7 \times 10^4 / \mu\text{L} : \text{ALB} \leq 4.2\text{g/dL} : \text{CRP} \geq 0.23\text{mg/dL}$  で、感度、特異度、AUC はそれぞれ 0.68、0.79、0.75 : 0.73、0.73、0.77 : 0.57、0.81、0.75 であった。PLT、ALB、CRP のカットオフを満たす mMES  $\geq 2$  の症例を炎症範囲が脾彎曲までの群 42 例と脾彎曲を超える群 52 例に分けて比較すると、PLT : ALB : CRP で 21 例 (50%) vs 42 例 (81%)、 $p = 0.0016$  : 18 例 (43%) vs 49 例 (94%)、 $p < 0.0001$  : 11 例 (26%) vs 43 例 (83%)、 $p < 0.0001$  でいずれも脾彎曲を超える群で有意に活動性を予測した。これらの結果から、最重症部位のみの対比では UC において血液検査の有用性を十分には評価できていない可能性があり、炎症範囲が考慮されるべきであることが示唆された。

### (3) 血液検査による cMES の予測

病変範囲をより反映させるため、cMES  $\geq 9$  の予測能を検討すると、PLT  $\geq 30.9 \times 10^4 / \mu\text{L} : \text{ALB} \leq 4.0\text{g/dL} : \text{CRP} \geq 0.34\text{mg/dL}$  で、感度、特異度、AUC はそれぞれ 0.76、0.79、0.83 : 0.88、0.79、0.90 : 0.85、0.81、0.90 であった。いずれの結果も mMES  $\geq 2$  の予測能よりも良好な結果であり、血液検査は局所的な炎症よりも大腸全体の炎症の総計を反映していると考えられた。

以上より、血液検査 (PLT、ALB、PLT) は潰瘍性大腸炎において局所的な炎症よりも大腸全体の炎症の総計を反映しており、既報で示されていたよりも潰瘍性大腸炎の活動性評価ツールとして有用であると考えられた。これらの結果は潰瘍性大腸炎の病勢把握において新しい知見を提示するものであり、学位論文として価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1021号		
学位授与の日	令和4年5月17日		
氏名	西山 瑞穂		
学位論文の題目	Sustained Surface ICAM-1 Expression and Transient PDGF-B Production by Phorbol Myristate Acetate-Activated THP-1 Cells Harboring Blau Syndrome-Associated <i>NOD2</i> Mutations (ブラウ症候群に関連する変異 <i>NOD2</i> 遺伝子を組み込んだ THP-1 細胞は、phorbol myristate acetate (PMA) 添加により細胞表面に ICAM-1 を長期発現し、一時的に PDGF-B を産生する)		
論文審査委員	主査	教授 近藤 稔和	
	副査	教授 神人 正寿	教授 改正 恒康

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

ブラウ症候群 (BS) は、乳幼児期に発症し組織学的に非乾酪性類上皮細胞肉芽腫からなる、皮膚炎・関節炎・ブドウ膜炎を3主徴とする特異な自己炎症疾患である。その原因は、細菌壁ペプチドグリカンの共通成分 MDP の細胞内受容体である *NOD2* 遺伝子の、MDP 非依存性に NF- $\kappa$ B 基礎活性を亢進させる機能獲得型変異である。抗原提示細胞内で変異 *NOD2* 分子が恒常的に NF- $\kappa$ B を活性化することで、持続的なマクロファージの活性化が起こり、非乾酪壊死性類上皮細胞肉芽腫を形成することが示唆されているが、その詳細な機序は不明である。そこで今回我々は、変異 *NOD2* 遺伝子を組み込んだヒト単球系培養細胞である THP-1 を作製し、その機能異常を検討した。

### 【材料と方法】

#### 1) 変異 THP-1 細胞の作製

野生型と R334W (BS 患者で最も多く見られる)・N670K (*in vitro* での NF- $\kappa$ B 基礎活性化能が最も高い) 変異 *NOD2* cDNA を pMX-IRES-EGFP ベクターに組み込んだプラスミドを作製し、エレクトロポレーション法にてヒト単球系 THP-1 細胞に導入した。G418 存在下で選択培養し、得られたクローンについて *NOD2* mRNA の発現を reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) で確認し、発現レベルが同程度のもを以後の実験に用いた。また、ベクターのみ導入した THP-1 細胞をコントロールに用いた。

#### 2) 変異 THP-1 細胞の形態的变化の検討

変異 THP-1 細胞に phorbol myristate acetate (PMA) を添加した後の形態的变化、特に培養皿への接着性の変化について、倒立型顕微鏡にて観察した。

#### 3) RT-PCR による変異 THP-1 細胞が発現する mRNA の検討

野生型・変異 *NOD2* 遺伝子を組み込んだ THP-1 細胞におけるサイトカイン・接着分子・ADAM17 などの mRNA の発現を RT-PCR にて検討した。

#### 4) フローサイトメトリーによる変異 THP-1 細胞表面の接着分子の発現の検討

変異 THP-1 細胞表面でのカドヘリンや ICAM の発現をフローサイトメトリーにて検討した。

#### 5) BS 患者病変部皮膚の免疫組織学的検討

*NOD2* 遺伝子の R334W 変異を持つ BS 患者の病変部皮膚のパラフィン切片について、ICAM-1・PDGF-B・TNF $\alpha$ ・IFN $\gamma$  に対する一次抗体を用いて染色し、Catalyzed Signal Amplification System (CSA 法) にて可視化した。

6) 共焦点レーザー顕微鏡による BS 患者病変部皮膚の蛍光二重免疫染色の検討

*NOD2* 遺伝子の R334W 変異を持つ BS 患者の病変部皮膚のパラフィン切片について、*NOD2* と *ICAM-1* あるいは *PDGF-B* に対する一次抗体と蛍光ラベル二次抗体を用いて二重染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。

【結果】

1) 変異 THP-1 細胞の定常状態での *NOD2*・*TNF $\alpha$* ・*IL-8* の mRNA の発現

*NOD2*mRNA を非常に弱く発現するコントロール THP-1 細胞に比べ、野生型と変異 *NOD2* 遺伝子を組み込んだ THP-1 細胞はほぼ同程度に *NOD2*mRNA を発現していた。*NOD2* の発現に伴って各サイトカイン mRNA の発現も誘導されたが、野生型と変異型との間に明らかな差は見られなかった。

2) 変異 THP-1 細胞に PMA を添加した後の形態的变化

PMA 添加により、浮遊性の THP-1 細胞はマクロファージ様細胞に分化し培養皿に付着する（1 日目）が、野生型 *NOD2* 発現 THP-1 細胞は間もなく再び浮遊性となり、増殖を開始した。一方、変異 *NOD2* 導入 THP-1 細胞はさらに偽足を伸ばして長期間培養プレートに付着し（3 日目）、この現象は N670K 変異 *NOD2* 導入 THP-1 細胞でより顕著であった（7 日目）。

3) 変異 THP-1 細胞に PMA を添加した後の細胞表面の *ICAM-1* の発現の変化

表面に *ICAM-1* をほとんど発現していない THP-1 細胞は、PMA 添加により *ICAM-1* を発現するようになる（2 日目）が、野生型 *NOD2* 導入 THP-1 細胞では間もなく発現が低下するのに対し、変異 *NOD2* 導入 THP-1 細胞では *ICAM-1* の発現が長期間持続した（6 日目）。

4) 変異 THP-1 細胞に PMA を添加した後の *ICAM-1*・*ADAM17* の mRNA の発現の変化

PMA 添加により、すべての THP-1 細胞において *ICAM-1* mRNA の発現が誘導された（2 日目）が、一様に間もなく発現が低下した（6 日目）。一方、*ICAM-1* の細胞外ドメインを切断することが知られる *ADAM17* の mRNA は、いずれの細胞においても PMA の添加に関わらず発現に変化を認めなかった。

5) 変異 THP-1 細胞に PMA を添加した後の *IL-8*・*PDGF-B* の mRNA の発現の変化

PMA 添加により、すべての THP-1 細胞に一樣に *IL-8* mRNA の発現が誘導されるのに対し、*PDGF-B* の mRNA は変異 *NOD2* 導入細胞にのみ、一過性の強い発現を認めた（6 日目）。

6) BS 患者皮膚病変における *ICAM-1*・*PDGF-B*・*TNF $\alpha$* ・*IL-8* の免疫組織染色

多核巨細胞や周囲の類上皮細胞膜上に *ICAM-1*、細胞質内や間質に広く *PDGF-B* の発現を認めた。一方、*TNF $\alpha$*  と *IFN $\gamma$*  の発現は認められなかった。

7) BS 患者皮膚病変における *NOD2* と *ICAM-1*・*PDGF-B* の蛍光二重免疫染色

核周囲を中心に *NOD2* を発現する多核巨細胞に一致して、*ICAM-1* と *PDGF-B* の発現を認めた。

【結語】

THP-1 細胞がホルボールエステル刺激によってマクロファージ様細胞に分化する際、変異 *NOD2* 導入 THP-1 細胞が特異的に偽足を伸ばして長期間培養皿に付着し、同時に細胞表面に *ICAM-1* を長期間発現すること、また一過性に *PDGF-B* を強く発現することが判明した。さらに、BS 患者の病変部皮膚において、*NOD2* を発現する多核巨細胞に *ICAM-1* と *PDGF-B* の発現を認めたことから、BS においては、*NOD2* 遺伝子変異がこれらの分子の異常発現を介して肉芽腫形成に寄与することが示唆された。



## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年4月26日、論文審査委員は学位請求者の出席を求め、上記論文についての審査を行った。

ブラウ症候群（BS）は、乳幼児期に発症し組織学的に非乾酪性類上皮細胞肉芽腫からなる、皮膚炎・関節炎・ブドウ膜炎を3主徴とする特異な遺伝性自己炎症性疾患である。その原因は、細菌壁ペプチドグリカンの共通成分であるムラミルジペプチド（MDP）の細胞内受容体である *NOD2* 遺伝子に生じた、MDP 非依存性に NF- $\kappa$ B 基礎活性を亢進させるヘテロ接合性機能獲得型変異である。抗原提示細胞内で変異 *NOD2* 分子が恒常的に NF- $\kappa$ B を活性化することで、持続的なマクロファージの活性化が起こり、非乾酪壊死性類上皮細胞肉芽腫を形成することが示唆されているが、その詳細な機序は不明である。

そこで本研究では、変異 *NOD2* 遺伝子を組み込んだヒト単球系培養細胞である THP-1 を作製し、その機能異常を検討した。

野生型と R334W（BS 患者で最も多く見られる）・N670K（*in vitro* での NF- $\kappa$ B 基礎活性化能が最も高い）変異 *NOD2* cDNA を pMX-IRES-EGFP ベクターに組み込んだプラスミドを作製し、エレクトロポレーション法にて THP-1 細胞に導入した。ベクターのみ導入した THP-1 細胞をコントロールに用い、変異 THP-1 細胞の形態的变化の検討、RT-PCR による変異 THP-1 細胞が発現する mRNA の検討、フローサイトメトリーによる変異 THP-1 細胞表面の接着分子の発現の検討を行った。また BS 患者病変部皮膚の免疫組織学的検討、共焦点レーザー顕微鏡による蛍光二重免疫染色の検討を行った。

その結果、THP-1 細胞がホルボールエステル刺激によってマクロファージ様細胞に分化する際、変異 *NOD2* 導入 THP-1 細胞が特異的に偽足を伸ばして長期間培養皿に付着し、同時に細胞表面に ICAM-1 を長期間発現すること、また一過性に PDGF-B を強く発現することが判明した。さらに、BS 患者の病変部皮膚において、*NOD2* を発現する多核巨細胞に ICAM-1 と PDGF-B の発現を認めたことから、BS において、*NOD2* 遺伝子変異がこれらの分子の異常発現を介して肉芽腫形成に寄与することが示唆された。

本論文は、BS における *NOD2* 遺伝子変異が MDP 非依存性に NF- $\kappa$ B 基礎活性を亢進させる機能獲得型変異であることの病的意義について、*NOD2* 遺伝子変異が ICAM-1 や PDGF-B の異常発現を通して肉芽腫形成に関わっている可能性を明らかにしたものであり、学位論文として価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1022号		
学位授与の日	令和4年5月17日		
氏名	福田 直城		
学位論文の題目	Laparoscopic sleeve gastrectomy for morbid obesity improves gut microbiota balance, increases colonic mucosal - associated invariant T cells and decreases circulating regulatory T cells (高度肥満症に対する腹腔鏡下スリーブ状胃切除術による、腸内細菌叢バランスの改善および大腸粘膜中MAIT細胞と末梢血中Treg細胞の変化の検討)		
論文審査委員	主査	教授 松岡 孝昭	
	副査	教授 改正 恒康	教授 北野 雅之

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

近年、世界中で増加を続ける高度肥満症に対する治療法の選択肢の1つとして、肥満外科手術(Bariatric Surgery)が注目されている。肥満外科手術は、内科的治療に比べ、減量効果および肥満症関連合併症の改善効果が優れ、長期間に渡って維持され、ひいては全死亡率を低下させると報告されている。日本でも腹腔鏡下スリーブ状胃切除術(Laparoscopic Sleeve Gastrectomy; LSG)を中心に、近年急速に肥満外科手術の普及が進んでいるが、世界と比較してまだ症例数が少ないのが現状である。

肥満症患者において、全身に軽度の慢性炎症が存在し、肥満症関連合併症、心血管疾患、悪性疾患などのリスクを高める事が知られている。また、肥満症患者において、腸内細菌叢の構成菌種の変化や多様性の減少(dysbiosis)がみられることが報告されている。一方で、高度肥満症患者にLSGを施行することで、腸内細菌叢にどのような変化がみられるかは、ほとんど報告されていない。

また、腸内細菌叢は、腸管免疫の構築にも関与している。腸管免疫環境の構成要素として、CD4+ T細胞系(Th1, Th2, Th17), Treg細胞に加え、MAIT細胞(mucosal-associated invariant T cell)に注目した。MAIT細胞は、腸管粘膜固有層やパイエル板に多く存在する腸管免疫に重要な自然リンパ球であり、細菌が産生するビタミンB2代謝中間産物を抗原とし、細菌感染に対して防御能を示す。高度肥満症患者にLSGを施行することで、MAIT細胞やTreg細胞にどのような変化がみられるかは、明らかにされていない。

我々は、高度肥満症患者に対しLSGを施行することで、腸内細菌叢バランスと腸管内免疫環境が変化し、血中免疫環境に影響を及ぼし、結果として、全身の慢性炎症が改善するのではないかと考えた。

そこで、本研究において、高度肥満症患者に対するLSGの有効性と安全性の検討と、慢性炎症に関連する生化学検査の検討を行なった。また、便検体を用いた腸内細菌叢メタゲノム解析(16S rRNA解析)と、大腸粘膜/末梢血中の免疫細胞の解析を行い、腸内細菌叢バランスと腸管内免疫環境の変化を検討した。

### 【方法】

#### 対象

当院において実施中である、臨床研究「高度肥満症に対する肥満外科手術の有効性と安全性に関する第II相試験」(IRB承認2318, UMIN 000034438)に登録され、2018年12月から2020年3月の期間に当科においてLSGを施行した10例の高度肥満症患者を対象とした。全ての患者は「(a) BMI 35 kg/m<sup>2</sup>以上である」または「(b) BMI 32 kg/m<sup>2</sup>以上で、糖尿病または糖尿病以外の2つ以上の合併疾患(高血圧症、脂質異常症、肝機能障害、睡眠時無呼吸症候群)を有する」の条件を満たす。

#### 検討I 高度肥満症患者に対するLSGの有効性と安全性の検討

LSGを施行した10例の高度肥満症患者の患者背景、術後12ヶ月までの治療成績を検討した。

#### 検討II 慢性炎症に関連する生化学検査の検討

LSGを施行した10例の高度肥満症患者に対し、一般血液検査および血中サイトカイン・ホルモン

測定(アディポネクチン, レプチン, グレリン)を行ない, 慢性炎症に関し検討した.

### 検討Ⅲ 腸内細菌叢メタゲノム解析(16S rRNA 解析)

高度肥満症患者 10 例に対し, LSG 術前/術後 12 ヶ月で, 便検体を採取した. シリカメンブレン法にて DNA を抽出し, 次世代シーケンサー(MiSeq)による腸内細菌叢の 16S rRNA 解析を実施した. 腸内細菌叢の系統分類を施行し, 門(Phylum)レベルでの存在比の変化を検討した. また,  $\alpha$  多様性解析を施行し, 腸内細菌叢の多様性の変化を検討した.

### 検討Ⅳ 大腸粘膜/末梢血中の免疫細胞の解析

高度肥満症患者 10 例に対し, LSG 術前/術後 12 ヶ月で, 下部消化管内視鏡下に大腸粘膜組織の採取と, 末梢血の採取を施行した. 大腸粘膜組織は, 酵素処理, 単細胞化, Magnetic cell sorting 法により, 大腸粘膜中リンパ球を分離・採取した. 末梢血は, Ficoll 法で末梢血単核細胞(PBMC)を分離・採取した. 大腸粘膜中リンパ球と PBMC は, それぞれ細胞刺激, 細胞表面染色, 細胞内染色を行ない, Flow cytometry 法で CD4+ T 細胞系(Th1, Th2, Th17), Treg 細胞, MAIT 細胞に関し検討した.

## 【結果】

### 検討Ⅰ 高度肥満症患者に対する LSG の有効性と安全性の検討

患者背景において, 男女比は 6/4, 年齢は中央値 45.0 歳, 初診時体重は中央値 115.2kg, 初診時 BMI は中央値 43.9 であった. 治療成績において, 術後 12 ヶ月での体重は中央値 89.0kg, BMI は 30.6 と著明に減少した. 術後 12 ヶ月での総体重減少率(percent total weight loss: %TWL)は中央値 30.3%, 超過体重減少率(percent excess weight loss: %EWL)は中央値 66.9%と良好な結果で, 肥満症関連合併症の改善率も良好であった.

### 検討Ⅱ 慢性炎症に関連する生化学検査の検討

LSG 施行後, CRP は低下, アルブミンは上昇, アディポネクチンは上昇, レプチンは低下しており, 高度肥満症における慢性炎症の改善が示唆された.

### 検討Ⅲ 腸内細菌叢メタゲノム解析(16S rRNA 解析)

腸内細菌叢の門(Phylum)レベルでの存在比において, LSG 施行後, *Bacteroidetes* 門と *Fusobacteria* 門が増加した. また,  $\alpha$  多様性解析において, LSG 施行後,  $\alpha$  多様性指数はいずれも上昇し, 腸内細菌叢の多様性の上昇が示唆された.

### 検討Ⅳ 大腸粘膜/末梢血中の免疫細胞の解析

LSG 施行後, CD4+ T 細胞系は, 大腸粘膜中では変化せず, 末梢血中で Th1 細胞が減少した. Treg 細胞は, 大腸粘膜中では変化せず, 末梢血中で effector Treg 細胞が減少した. MAIT 細胞は, 大腸粘膜中で増加したが, 末梢血中では変化しなかった.

## 【考察】

本研究は, 高度肥満症患者における, LSG 後の腸内細菌叢および大腸粘膜/末梢血中の様々な免疫細胞の変化を調べた初の研究である.

本研究において, 高度肥満症患者に対する LSG は有効かつ安全な治療法であるといえる. また, LSG 施行により, 体重減少が得られるだけでなく, 腸内細菌叢の構成菌種の変化と多様性の上昇, 大腸粘膜中の MAIT 細胞の増加, 末梢血中の Treg 細胞と Th1 細胞の減少を認めることが立証された. この結果より, LSG 後, 腸内細菌叢バランスが改善し, MAIT 細胞を含む腸管内免疫環境が改善, それに伴って, 血中免疫環境では Treg 細胞と Th1 細胞の減少が生じ, 肥満症における全身の慢性炎症が改善したことが示唆された.

さらに, LSG による肥満症における慢性炎症の改善は, 肥満症関連合併症, 心血管疾患, 悪性疾患などの減少に繋がり, 全死亡率を低下させる可能性がある. 今回の我々の研究は, そのメカニズム解明の一助になると考える. 肥満外科手術の症例集積と長期成績の検討, 腸内細菌叢や腸管内免疫環境に注目した基礎的研究を継続・発展させることで, 肥満症に伴う種々の問題の解決に繋がると確信している.

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年4月26日、論文審査担当者は学位申請者に出席を求め、上記学位論文について審査を行った。

本論文は、高度肥満症患者における、腹腔鏡下スリーブ状胃切除術(Laparoscopic Sleeve Gastrectomy; LSG)後の、腸内細菌叢バランスと腸管内免疫環境の変化を検討したものである。

近年、高度肥満症に対する治療法の選択肢の1つとして、肥満外科手術(Bariatric Surgery)が注目されている。肥満外科手術は、内科的治療に比べ、減量効果および肥満症関連合併症の改善効果が優れ、長期間に渡って維持され、ひいては全死亡率を低下させると報告されている。日本でもLSGを中心に、近年急速に肥満外科手術の普及が進んでいるが、世界と比較してまだ症例数が少ないのが現状である。

肥満症患者において、全身に軽度の慢性炎症が存在し、肥満症関連合併症、心血管疾患、悪性疾患などのリスクを高める事が知られている。また、肥満症患者において、腸内細菌叢の構成菌種の変化や多様性の減少(dysbiosis)がみられることが報告されているが、高度肥満症患者にLSGを施行することで、腸内細菌叢にどのような変化がみられるかは、ほとんど報告されていない。また、腸内細菌叢は、腸管免疫の構築にも関与しているが、高度肥満症患者にLSGを施行することで、腸管免疫環境の構成要素である、CD4<sup>+</sup>T細胞系(Th1, Th2, Th17), Treg細胞, MAIT細胞(mucosal-associated invariant T cell)にどのような変化がみられるかは、明らかにされていない。

本論文では、高度肥満症患者に対するLSGの有効性と安全性、および慢性炎症に関連する生化学検査項目を検討した。また、便検体を用いた腸内細菌叢メタゲノム解析(16S rRNA解析)と、大腸粘膜/末梢血中の免疫細胞の解析により、腸内細菌叢バランスと腸管内免疫環境の変化について検討した。

対象は当院でLSGを施行した10例の高度肥満症患者であり、術前/術後12ヶ月での変化を検討した。治療成績において、術後12ヶ月での総体重減少率(percent total weight loss: %TWL)は中央値30.3%、超過体重減少率(percent excess weight loss: %EWL)は中央値66.9%と良好な結果で、肥満症関連合併症の改善率も良好であった。LSG施行後、CRPは低下、アルブミンは上昇、アディポネクチンは上昇、レプチンは低下しており、高度肥満症における慢性炎症の改善が示唆された。腸内細菌叢メタゲノム解析では、LSG施行後、*Bacteroidetes*門と*Fusobacteria*門の存在比が増加、 $\alpha$ 多様性指数は上昇し、腸内細菌叢の構成菌種の変化と多様性の上昇を認めた。免疫細胞の解析では、LSG施行後、大腸粘膜中のMAIT細胞の増加、末梢血中のTreg細胞とTh1細胞の減少を認めた。

以上より、本論文の検討の結果、高度肥満症患者に対するLSG施行により、体重減少が得られるだけでなく、腸内細菌叢バランスが改善し、MAIT細胞を含む腸管内免疫環境が改善、それに伴って、血中免疫環境ではTreg細胞とTh1細胞の減少が生じ、肥満症における全身の慢性炎症が改善したことが示唆された。LSGによる肥満症における慢性炎症の改善は、肥満症関連合併症、心血管疾患、悪性疾患などの減少に繋がり、全死亡率を低下させる可能性があり、本論文は、そのメカニズム解明の一助になると考えられ、学位論文として価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1023号		
学位授与の日	令和4年6月21日		
氏名	島 望		
学位論文の題目	Activities of daily living status and psychiatric symptoms after discharge from an intensive care unit: a single-center 12-month longitudinal prospective study (緊急入室したICU患者のICU退室後の身体機能と精神症状の縦断研究)		
論文審査委員	主査	教授	川股知之
	副査	教授	加藤正哉
		教授	西村好晴

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

集中治療の進歩により重症患者の死亡率は低下してきている一方で、集中治療室（ICU）を生存退室した後、さまざまな身体症状や精神症状が年単位で持続するということが報告されるようになった。それらは患者本人や患者家族のクオリティ・オブ・ライフを低下させ、医療資源や経済状況を脅かすことが報告されている。そのような症状を、post-intensive care syndrome(PICS)と呼称することが2010年の米国集中治療医学会合同カンファレンスにおいて提唱された。

PICSは身体機能障害、認知機能障害、精神症状を含み、重症疾患の生存患者においては約60%が何らかの症状を持っていることが報告され、早期リハビリや心理的介入などがPICSを防ぐものとして試みられている。これらの介入について研究するにはPICSの疫学を知る必要があるが、本邦における重症患者の長期的な精神症状や身体機能障害の報告は乏しい。本邦におけるPICSの疫学を明らかにするために本研究を計画した。

### 【方法】

本研究は単施設前向き縦断研究であり、和歌山県立医科大学倫理審査委員会で承認を得て行われた。2016年9月から2018年8月の間に当院ICUに緊急入室した成人患者を対象とした。48時間以内に死亡が予想される場合や同意が得られなかった場合は除外した。後述するBarthel index (BI)、Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)、Impact of Event Scale-Revised (IES-R)を含むアンケートを作成し、ICU退室3か月後、12か月後時点で対象者に送付し調査を行った。

主要評価項目はICU退室3か月後、12か月後時点での日常生活動作（ADL）と精神症状とした。ADLはBIを用いて評価し、60点以下をADL障害と定義した。精神症状はHADSとIES-Rを用いて評価した。HADSは、不安症状を評価するHADS-anxiety (HADS-A)、抑うつ症状を評価するHADS-Depression (HADS-D)の2つの下位尺度からなり、それぞれ8点以上の場合を不安・抑うつ症状があると定義した。IES-Rは、心的外傷後ストレス障害（PTSD）を評価する尺度で、25点以上の場合を臨床的に意味のあるPTSD症状があると定義した。各評価尺度において、質問に対する回答の半分以上が欠損している場合、その評価尺度は欠損しているものとみなした。回答の欠損が半以下である場合は、欠損している質問を「症状なし（障害なし）」、または「変化なし」（入院前のBIが利用できる場合）とみなして、各評価尺度のスコアを算出した。

3か月後および12か月後に両方の質問票に回答した患者について、Wilcoxonの符号付き順位和検定を用いて、BI、HADS、およびIES-Rを各時点間で比較した。また、脳機能に直接影響を与える可能性のある疾患を持つ患者を除外場合においても同様に比較した。また、ADL障害と精神症状の共起性についてベン図を用いて示した。

### 【結果】

204名の患者が登録された。全参加者の年齢の中央値は72歳で、男性は59%であった。入院前のBIの中央値は100（四分位範囲80-100）であった。

3か月後、12か月後時点で生存、同意が得られた患者それぞれ147名、98名にアンケートを送付し、117件、74件の回答を得た。回収率は約8割であった。3か月後のBI、HADS-A、HADS-D、IES-Rのデータ利用可能率は、それぞれ100%、75%、78%、71%で、12か月後のデータ入手率は、

それぞれ 93%、82%、82%、76%であった。

3 か月後の ADL 障害、不安、抑うつ、PTSD 症状の有病率は、それぞれ 32%、42%、48%、20% であった。12 か月後の有病率はそれぞれ 22%、33%、39%、21%であった。

ICU 退室 3 か月後の BI は入院前と比較して有意に低下し、12 か月後では 3 か月後と比較して有意に上昇していた。12 か月後では入院前と比較して有意差は認められなかった。12 か月後の HADS-A、HADS-D、および IES-R のスコアは、3 か月後のスコアと有意差はみられなかった。脳機能に直接影響を及ぼす疾患（外傷性脳損傷など）を有する患者を除外した後でも、同様の結果であった。ADL 障害と精神症状の共起性については、精神症状のある患者のうち約 3 割が ADL 障害を有しており、ADL 障害のある患者のうち、8 割が精神症状を有していた。

#### 【考察・結語】

本研究では、ICU 退室後 3 か月時点で約 30~50%に不安・抑うつ症状が、約 20%に PTSD 症状が認められ、それらは 12 か月時点でも持続していた。一方、ADL は ICU 退室後 3 か月後時点で悪化した。12 か月後時点では元のレベルに回復した。この結果は、精神症状と ADL 障害の回復は異なる経過を辿ることを示唆している。

ADL 障害のある例の 80%が精神症状を有していたが、精神症状を有する患者の ADL 障害者は約 30%であった。ADL 障害が精神症状を悪化させる可能性を示唆しているが、本研究では ADL 障害と精神症状の関連性を評価していないため、この仮説を結論づけることはできなかった。本研究は、精神症状と ADL 障害の両方からの回復を促進するシステム（心理的支援プログラムなど）が必要であることを示唆している。

本研究にはいくつかの **Limitation** がある。第一に、各スコア内の一部の欠落した質問を「症状なし」または「変化なし」と扱ったことから、有病率を過小評価している可能性がある。第二に、追跡期間が長く、追跡不能となった例があり、選択バイアスがあることである。しかし、質問票の回答率は約 80%と高く、先行研究と比較しても良好であった。また、仮にバイアスがあったとしても、登録者全体とアンケート回答者の間で患者背景に有意な違いはみられず、選択バイアスは比較的小さいと考えられる。第三に、精神症状の有無を推定することはできるが、HADS や IES-R のスコアが高い患者が必ず精神疾患の診断を受けていると結論づけることはできない。

本研究は単施設での研究であるため、結果が他の状況に一般化できない可能性がある。今回の結果を確認するためには、今後、日本での多施設共同研究が必要であり、精神症状や ADL 障害の回復を促進するシステムが必要である。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年5月13日及び5月19日、5月30日に論文審査担当者は学位申請者に出席を求め学位論文について審査をおこなった。

集中治療の進歩により重症患者の死亡率は低下してきている一方で、集中治療室を生存退室した後、さまざまな身体症状や精神症状が持続することが報告され、post-intensive care syndrome (PICS)として知られるようになってきている。本邦におけるPICSの疫学を明らかにするために本研究は行われた。

本研究は単施設前向き縦断研究であり、2016年9月から2018年8月の間に当院ICUに緊急入室した成人患者を対象としている。Barthel index (BI)、Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)、Impact of Event Scale-Revised (IES-R)を含むアンケートを作成し、ICU退室3か月後、12か月後時点で対象者に送付し調査を行った。主要評価項目はICU退室3か月後、12か月後時点での日常生活動作(ADL)と精神症状である。ADLはBIを用いて評価し、60点以下をADL障害と定義した。精神症状はHADSとIES-Rを用いて評価した。HADSは、不安症状を評価するHADS-anxiety (HADS-A)、抑うつ症状を評価するHADS-Depression (HADS-D)の2つの下位尺度からなり、それぞれ8点以上の場合を不安・抑うつ症状があると定義した。IES-Rは、心的外傷後ストレス障害(PTSD)を評価する尺度で、25点以上の場合を臨床的に意味のあるPTSD症状があると定義した。

204名の患者が登録され、3か月後、12か月後時点で生存、同意が得られた患者それぞれ147名、98名にアンケートを送付し、117件、74件の回答を得た。3か月後のADL障害、不安、抑うつ、PTSD症状の有病率は、それぞれ32%、42%、48%、20%であった。12か月後の有病率はそれぞれ22%、33%、39%、21%であった。ICU退室3か月後のBIは入院前と比較して有意に低下し、12か月後では3か月後と比較して有意に上昇していた。12か月後のHADS-A、HADS-D、およびIES-Rのスコアは、3か月後のスコアと有意差はみられなかった。ADL障害と精神症状の共起性については、精神症状のある患者のうち約3割がADL障害を有しており、ADL障害のある患者のうち、8割が精神症状を有していた。

この論文は、本邦におけるPICSの疫学について前向きに検討した初めての論文であり、PICSの予防のための介入など、今後の研究の基礎的な知見となることが期待される点で学位論文として価値があると認めた。

学位記番号	博(医)乙第1024号		
学位授与の日	令和4年7月26日		
氏名	山崎 亮典		
学位論文の題目	Comparison of plasma concentrations of levobupivacaine with and without epinephrine for thoracic paravertebral block: A randomised trial (傍脊椎ブロック時におけるエピネフリン添加によるレボブピバカイン血中濃度の比較検討)		
論文審査委員	主査	教授 山田 宏	
	副査	教授 田島 文博	教授 川股 知之

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

傍脊椎ブロック (Paravertebral block: PVB) は、乳腺手術や呼吸器外科手術時の術中および術後鎮痛の1つとして多用されている。近年では呼吸器外科手術時の鎮痛手段としては、従来の硬膜外麻酔に代わる手段として位置付けされている。PVBをはじめとする体幹部末梢神経ブロックでは、局所麻酔薬を比較的大量に投与するため、局所麻酔薬中毒発生に注意が必要である。末梢神経ブロックにおける局所麻酔薬中毒の発生頻度は、10,000症例あたり25例程度と報告されており、まれに循環虚脱に至るような重篤な例が報告されている。高用量の局所麻酔薬を用いる場合薬剤の選択は、ラセミ混合物のブピバカインよりも、(S)-異性体であるロピバカインやレボブピバカインの方が中毒症状は出にくく望ましいとされる。また、局所麻酔薬の血中濃度上昇を抑制する方法の1つがエピネフリンの添加であることは以前より知られている。そこで本研究は、呼吸器外科手術時にレボブピバカインを用いてPVBを施行し、レボブピバカインの薬物動態に対するエピネフリン添加の効果を検討することを目的とした。

### 【方法】

当院で肺癌に対し胸腔鏡補助下肺悪性腫瘍切除術を予定され、PVB併用全身麻酔で手術を受ける成人男性を対象とし、無作為化を行いPVB時にレボブピバカインのみ使用する群(L群、10例)とエピネフリンを添加したレボブピバカインを使用する群(LE群、10例)の2群に分けた。全身麻酔を行ったのちに、全例側臥位にて超音波ガイド下に傍脊椎ブロックを施行した。ブロックに使用した薬剤は0.25%レボブピバカイン 1mg/kgの用量で使用し、添加するエピネフリンは5 $\mu$ g/mlの濃度になるように調整した。薬液は上肋横突靭帯を貫通した傍脊椎腔に注入した。ブロック後1, 2, 5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150分後の動脈採血を行い、経時的に動脈血中のレボブピバカインの濃度を測定した。両群の最大血中濃度(C<sub>max</sub>)・最大血中濃度到達時間(T<sub>max</sub>)・測定時間内曲線下面積(AUC)、および術後覚醒時の安静時/体動時 Numerical rating scale(NRS)を比較した。統計処理はRepeated measures ANOVA および unpaired t-test を用いて比較検討を行なった。

### 【結果】

両群で患者背景に有意差はなかった。C<sub>max</sub>はLE群で有意に低下し(L群:0.71 $\mu$ g/ml(0.31), LE群:0.48 $\mu$ g/ml(0.11) [平均値(標準偏差)], p=0.043)、T<sub>max</sub>はLE群で有意に延長した(L群:12分(7.2), LE群:46分(35.6), p=0.008)。PVB後のAUC<sub>0-30</sub>ではLE群で優位に小さく(L群:17.2 $\mu$ g/ml $\cdot$ min(8.0), LE群:10.5 $\mu$ g/ml $\cdot$ min(3.7), p=0.032)、AUC<sub>0-60</sub>およびAUC<sub>0-120</sub>に有意な差はなかった。また、両群で術後のNRSに差はみられなかった。

【考察】本研究でPVBに使用するレボブピバカインにエピネフリンを添加することにより、C<sub>max</sub>が低下し、T<sub>max</sub>が延長することが明らかとなった。

エピネフリンは、局所麻酔薬の吸収速度を緩徐にする事で、局所麻酔薬中毒発生の予防を目的としてしばしば使用される。先行して行われた、腹横筋膜面ブロックでの研究でも、レボブピバカインにエ



ピネフリンを添加することで  $C_{max}$  が低下し、 $T_{max}$  が延長することが報告されている。本研究でもこの報告を支持する結果となった。

また局所麻酔薬にエピネフリンを添加することで、鎮痛効果が増強するといった報告がある。比較的短時間作用型の局所麻酔薬を用いた場合、そのような効果が期待できるが、今回長時間作用型の局所麻酔薬であるレボブピバカインを使用したために、鎮痛効果の増強は確認できなかった。今後引き続き検討する必要があると思われる。

本研究の limitation としては、比較的低用量のレボブピバカインを使用したため、エピネフリンを添加しなかった場合でも  $C_{max}$  は  $1.45 \mu\text{g/ml}$  であり、局所麻酔薬中毒症状が発現するとされる  $2.62 \mu\text{g/ml}$  を超えなかった。よって今後は術後鎮痛目的にレボブピバカインを持続投与する場合、エピネフリン添加の有無で血中濃度がどう変化するかを検討する必要がある。

#### 【結論】

PVB に使用するレボブピバカインにエピネフリンを添加することにより、最大血中濃度 ( $C_{max}$ ) が低下し、最大血中濃度到達時間 ( $T_{max}$ ) が延長することが明らかとなった。

### 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和4年6月30日、論文審査担当者は学位申請者の出席を求め上記学位論文について審査を行った。

本研究は、呼吸器外科手術時にレボブピバカインを用いて傍脊椎ブロックを施行し、レボブピバカインの薬物動態に対するエピネフリン添加の効果を検討することを目的とした。特徴としては、傍脊椎ブロック後に血中のレボブピバカイン濃度を測定し、エピネフリンを添加した群としなかった群で、最大血中濃度 ( $C_{max}$ ) ・最大血中濃度到達時間 ( $T_{max}$ ) ・測定時間内曲線下面積 (AUC) を比較したことである。

本研究では、傍脊椎ブロックを併用した全身麻酔下で行う呼吸器外科肺手術を受ける予定の男性患者 24 名を対象とした。0.25%レボブピバカイン  $1\text{mg/kg}$  に  $5 \mu\text{g/ml}$  のエピネフリンを添加し胸部傍脊椎腔に単回注入する群と、0.25%レボブピバカイン  $1\text{mg/kg}$  を単独で傍脊椎腔に注入する群に無作為に分けられた。ブロック後、血漿中レボブピバカイン測定のために動脈血を採取し、両群のレボブピバカインの最大血中濃度 ( $C_{max}$ ) ・最大血中濃度到達時間 ( $T_{max}$ ) ・測定時間内曲線下面積 (AUC) を比較するとともに、術後覚醒時の安静時痛/体動時痛を Numerical rating scale (NRS) によって比較した。

結果として両群で患者背景に有意差はなかった。 $C_{max}$  はエピネフリンを添加した群で有意に低下し、 $T_{max}$  は有意に延長した。傍脊椎ブロック後30分までの  $AUC_{0-30}$  ではエピネフリンを添加した群で優位に小さかった。また、ブロック後60分までの  $AUC_{0-60}$  およびブロック後120分までの  $AUC_{0-120}$  に有意な差はなかった。また、両群で術後の NRS に差はみられなかった。

以上より、本研究は呼吸器外科手術時にレボブピバカインを用いて傍脊椎ブロックを行う場合、エピネフリンを添加するとレボブピバカインの最大血中濃度が低下し、最大血中濃度到達時間が延長することを示したものである。よって本論文は、エピネフリンのレボブピバカイン全身吸収抑制作用を明らかにし、臨床麻酔の安全性の向上に寄与すると考えられるものであり、学位論文としては価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1025号		
学位授与の日	令和4年8月2日		
氏名	高橋 麻衣子		
学位論文の題目	Validation of the Japanese version of the Questionnaire for Impulsive-Compulsive Disorders in Parkinson's Disease-Rating Scale (QUIP-RS) (パーキンソン病における衝動制御障害の評価尺度 (QUIP-RS) の日本語版の作成及び妥当性の検討)		
論文審査委員	主査	教授 村田 顕也	
	副査	教授 中尾 直之	教授 伊東 秀文

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

パーキンソン病 (Parkinson's Disease; PD) における衝動制御障害 (Impulsive compulsive behaviors; ICBs) は、発症すると治療に難渋するため早期に対処が必要である。Questionnaire for Impulsive-Compulsive Disorders in Parkinson's disease-Rating Scale (QUIP-RS) は PD における ICBs の重症度を評価するために開発された質問紙であり、日本語版の作成および妥当性を検証することを目的とした。

### 【方法】

原著者に許可を得たのち日本語版 (QUIP-RS-J) を完成させた。和歌山県立医科大学付属病院および和歌山労災病院脳神経内科に通院中の 161 名の PD 患者を対象とした。対象には症状の有無について聞き取り調査を行い診断基準に基づいて ICBs の診断を行い、QUIP-RS-J を実施した。QUIP-RS-J スコアの ICBs の診断に対する感度、特異度、カットオフ値を算出し、さらに、QUIP-RS-J と患者背景の関連について検討した。

### 【結果】

PD 患者 161 名中 26 名が ICBs と診断された。QUIP-RS-J スコアは 6 点が最適カットオフ値となり、AUC 0.889、感度 0.92、特異度 0.71 と高い結果となった。患者背景として、ICBs 有無の群間比較では、年齢、性別、ドパミンアゴニスト投与量、教育年数、喫煙習慣、運動スコアに有意差はなかったが、ICBs あり群では発症年齢が若く、罹病期間が長く、レボドパの投与量も多い結果となった。

### 【考察】

日本語を母国語とする患者を対象に、QUIP-RS-J の検証を行ったところ、AUC は原著とほぼ同等であり、また各症状についての AUC、感度、特異度も高い結果となった。ICBs の有病率は原著よりは低かったが、参加者が高齢、罹病期間が短い、運動症状が重症でないことが影響していると考えられた。今回作成した QUIP-RS-J の妥当性および有用性を示すことができた。

## 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和4年7月22日および7月25日に論文審査担当者は、学位申請者に出席を求め、学位論文について審査を行った。

本論文の目的は、PD における ICBs の評価尺度である QUIP-RS の日本語版の作成および妥当性を検討することである。当院および労災病院脳神経内科通院中の特発性 PD 161 名を対象とし、聞き取り調査による ICBs の診断と QUIP-RS-J の結果から算出したところ、QUIP-RS-J スコアは 6 点が最適カットオフ値となり、AUC 0.889、感度 0.92、特異度 0.71 と高い結果となった。施設間信頼性、再試験信頼性も認められ、QUIP-RS-J の有用性が示された。患者背景については、既報告と同様に若年発症、長罹病期間、高レボドパ用量と ICBs の有無に有意差を認めた。

本論文は、QUIP-RS の日本語版の妥当性を検討し、日本において PD の ICBs の重症度を評価することができることを示した。今後、PD の ICBs の標準的な評価が可能であり、国際的な多施設共同研究を含む臨床研究に使用できる点で学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1026号		
学位授与の日	令和4年9月20日		
氏名	鍵弥 朋子		
学位論文の題目	Colonic lymphoid follicle hyperplasia after gastrectomy in rats (ラットにおける胃摘出後の大腸リンパ小節過形成)		
論文審査委員	主査	教授 金井 克光	
	副査	教授 北野 雅之	教授 改正 恒康

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

結節性リンパ過形成 (nodular lymphoid hyperplasia, NLH) は腸粘膜のリンパ小節が結節性に増大したもので、回腸遠位部で見られることが多い。感染症や特発性炎症性腸疾患の患者によくみられ、大きな結節性病変は悪性の上皮性腫瘍および粘膜下腫瘍との鑑別が必要であり、腸重積を引き起こす可能性もある。多くの場合、NLHは無症状であり治療なしで消失する。食物過敏症や炎症性腸疾患と密接な関係が指摘されるが、一般的な症状は下痢、便秘、血便、腹痛である。普遍的な病態だがNLHの実験動物モデルはまだ報告されていない。胃切除術は胃がんの一般的な外科的治療法であり、世界中で行われている。しかしダンピング症候群、げっぷ、鼓腸、貧血、栄養失調、逆流性食道炎、骨障害など多くの術後症状を引き起こす。この研究は胃切除術が結腸NLHの病因となるかを解明する。

### 【方法】

10週齢オスのWisterラットを使用した。食道と十二指腸を吻合する胃全摘術(GX)を9匹のラットに施した。偽手術(Sham)の12匹は開腹のみで対照として使用した。術後2週間で結腸全体の組織検体を採取し4%パラホルムアルデヒドで4°C、2日間固定した。結腸全体を縦方向にパラフィン包埋しヘマトキシリン-エオジン染色した。100個以上のリンパ球の集まりをリンパ小節とみなし、結腸粘膜におけるリンパ小節数を測定した。顕微鏡画像の写真を貼り合わせて合成拡大画像を作成し、粘膜および粘膜下面積とリンパ小節面積計測はImageJを使用した。リンパ小節を胚中心の有無により一次小節と二次小節に分類した。

抗CD3、抗CD79aおよび抗CD68抗体を用いて免疫組織化学染色を施した。染色陽性の測定は画像解析ソフトウェアe-HisLymを使用した。

### 【結果】

GX 9例中8例、Sham 12例中7例にリンパ小節が粘膜下層にみられた(P=0.14)。リンパ小節が存在する粘膜下層面積はリンパ小節拡大により増加し、一部のリンパ小節は粘膜下層から粘膜筋板に侵入し粘膜層に及んだ。反対方向の筋層に侵入したものはみられなかった。GX、Sham共に大腸上皮は炎症や潰瘍などの変化は認めなかった。

1例あたりの総リンパ小節面積はGX  $2.4 \pm 2.2 \text{ mm}^2$ 、Sham  $0.47 \pm 0.56 \text{ mm}^2$ であり、GXはShamの5倍にまで拡大した(P<0.05)。粘膜下層面積はリンパ小節拡大により増加したが、粘膜および粘膜下層面積はGX  $17.6 \pm 1.5 \text{ mm}^2$ 、Sham  $18.5 \pm 5.3 \text{ mm}^2$ と変わらなかった(P=0.74)。粘膜および粘膜下層面積に対するリンパ小節面積比率は、GX  $13.8 \pm 12.9\%$ 、Sham  $2.3 \pm 2.7\%$ とGXはShamの6倍となり有意差がみられた(P<0.05)。1リンパ小節あたりのリンパ小節面積はGX  $1.20 \pm 1.1 \text{ mm}^2$ 、Sham  $0.28 \pm 0.36 \text{ mm}^2$ であった。GXはShamの4倍以上大きかった(P<0.05)。

1例あたりのリンパ小節数はSham ( $1.2 \pm 1.1$ )よりGX ( $1.8 \pm 0.63$ )が多い傾向があったが有意差は認められなかった(P=0.18)。一次リンパ小節と二次リンパ小節分類を行うと、一次小節数はSham ( $0.92 \pm 1.1$ )とGX ( $0.67 \pm 0.47$ )で有意差はなかったが、二次小節数はSham ( $0.25 \pm 0.43$ )よりもGX ( $1.1 \pm 0.57$ )で有意に多かった(P<0.05)。

CD3陽性細胞をTリンパ球、CD79a陽性細胞をBリンパ球、CD68陽性細胞をマクロファージと

みなした。リンパ小節のTおよびBリンパ球組成はShamとGXで有意差はなかった(T:B=40:60、P=0.91)。リンパ小節を一次小節と二次小節に分類すると、一次小節(T:B=20:80、P=0.96)、二次小節(40:60、P=0.70)となりShamとGXに差は認められなかった。Tリンパ球の割合は一次小節より二次小節の方が高かった。リンパ小節のマクロファージの出現率はSham 2.5±2.6%、GX 2.7±2.5%であり、有意差は認めなかった(P=0.84)。

#### 【考察】

GXの結腸粘膜下組織で胚中心を伴う二次リンパ小節の増加が明確に観察された。GXのリンパ小節面積は偽手術の6.5倍の大きさであり、そのほとんどは胚中心を伴う二次リンパ小節であった。大きな二次リンパ小節の存在は、抗原に遭遇したリンパ球がリンパ小節に入りリンパ球増殖反応を引き起こしたことを表す。結腸上皮に強い炎症所見がみられなかったため、食物抗原や常在腸内細菌の無害な抗原が侵入した可能性が高く、免疫応答は抑制されたと考えた。マクロファージは異物貪食しTリンパ球へ抗原提示するため二次リンパ小節内に多く存在すると想定したが、GXとShamに有意差はみられなかった。胃切除術は大腸粘膜のムチンバリアを破壊し腸内細菌叢を変化させ、外来抗原または腸内細菌の腸粘膜への侵入を引き起こしGALTの免疫反応を引き起こした。これにより孤立リンパ小節から胚中心を伴う二次リンパ小節への成長が促進された。しかし異物を攻撃する炎症反応は抑制されたため、粘膜上皮に炎症所見は認めなかったと考えた。

胃切除後の結腸NLHはヒトでしばしば発生していると考えられる。しかし胃切除後に結腸が切除されることはほぼなく結腸の詳細な検査は行われず、また結腸NLHが発生しても無症状のことが多く、治療なしで消失するため発見されていないと思われた。一方、結腸リンパ小節過形成の長期的な臨床経過は解明されていない。胃切除はラットに結腸リンパ小節過形成を引き起こし、これは病因を研究するだけでなく成人の結腸粘膜NLHの臨床経過を研究するための優れた動物モデルであると考えられた。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年8月1日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め論文審査を行った。

胃摘出術は胃癌の一般的な外科治療法であり、小胃症状、体重減少、早期・後期ダンピング症状、貧血、骨粗鬆症、逆流性食道炎、下痢などの後遺症が知られているが、大腸疾患との関連性を示した報告はない。貧血の原因については、胃酸の欠失から鉄吸収阻害による鉄欠乏性貧血、内因子の分泌停止からビタミン B<sub>12</sub> 吸収阻害による巨赤芽球性貧血が、骨粗鬆症の原因としては胃酸の欠失からカルシウム吸収阻害がそれぞれ知られている。胃摘出による大腸への影響を考えると、胃液の殺菌効果消失による腸への細菌流入、腸内細菌叢の変化、食物の消化不良による腸への未消化食物の流入、大腸内環境の変化が考えられるが、大腸組織そのものの変化や影響はわかっていない。本研究は実験動物（ラット）を用いて、胃摘出術が大腸、特にリンパ小節にどのような変化を起こすかを調べたものである。

大腸リンパ小節は腸管関連リンパ組織のひとつであり、小腸パイエル板、上皮間リンパ球、虫垂などが腸管関連リンパ組織に含まれ、腸管免疫、腸内細菌や腸管内物質との免疫応答、IgA 分泌に関わっている。結節性リンパ小節過形成は孤立リンパ小節が増大し集結して結節となったものであり、小児の腸重積症の原因となるが、一般的な症状は下痢、血便、腹痛であり無症状のことも多く治療なしで消失するとされる。

胃摘出術を施したラット（GX）の大腸を2週間後に摘出し組織標本を観察すると、GXの多くで粘膜下組織に大きなリンパ小節過形成がみられた。胃摘出による大腸リンパ小節過形成はどのようなものかを、リンパ小節の数、面積、リンパ小節の分類、細胞分類、形態について詳細に調べると、GXは胚中心を持つ二次リンパ小節数が増加し、リンパ小節面積は胃摘出術を施さなかったラット（Sham）の5倍に増大していた。一方、リンパ小節のTBリンパ球比率、マクロファージ出現率、形態はShamと同様であった。つまり胃摘出による大腸リンパ小節過形成は普通の二次リンパ小節と同様であり、抗原刺激により免疫反応が起こり、一次リンパ小節が二次リンパ小節に変化したものと推測された。リンパ小節過形成を引き起こす抗原については、胃摘出による大腸内の細菌量増加や胃摘出による腸への未消化食物の流入との関連が疑われた。

本論文はラットにおいて胃摘出術が大腸組織のリンパ小節過形成を引き起こすことを初めて明らかにしたものであり、胃摘出術により腸内環境と腸管免疫が変化する可能性を示唆しており、学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1027号		
学位授与の日	令和4年10月18日		
氏名	岡田秀雄		
学位論文の題目	Assessment of human placenta as an ex-vivo vascular model for testing of liquid embolic agent injections with adjunctive techniques. (液体塞栓物質を用いた血管内治療シミュレーションのための産後ヒト胎盤の血管モデルとしての有用性に関する研究)		
論文審査委員	主査	教授 園村哲郎	
	副査	教授 森川吉博	教授 中尾直之

## 論文内容の要旨

【緒言】ヒト胎盤の血管構造は脳血管と形態的に類似しており、産後ヒト胎盤を血管モデルとして脳血管内治療シミュレーションに使用する有用性が報告されている。

【目的】本研究では産後ヒト胎盤を使用した液体塞栓物質の注入実験を計画し、塞栓効率を高めるための2種類の補助的なテクニック (pressure cooker technique (PCT)、balloon pressure cooker technique (bPCT)) を併用した注入シミュレーションが可能かどうかを検討した。

【方法】産後ヒト胎盤の臍帯動脈からカテーテルを挿入し、ポンプを用いてヘパリン入り生理食塩水で血管内を灌流した後、血管撮影装置を使用して胎盤動脈の撮影を行い実験を遂行した。胎盤動脈の分枝にマイクロカテーテルを誘導し、PCTあるいはbPCTを併用して液体塞栓物質を注入した。PCT併用時には近位部にn-butyl 2-cyanoacrylate (nBCA) によるplugを作成し、bPCT併用ではdual lumen balloon catheterを使用して近位部にballoonを膨らませることで、逆流を防止しながら液体塞栓物質の注入を行なった。液体塞栓物質が末梢側へ先進すれば注入は成功と評価し、注入に伴う液体塞栓物質の逆流については次の3段階で評価した (grade0: 逆流なし、grade1: plugあるいはballoonより近位への逆流を伴わない側枝閉塞、grade2: plugあるいはballoonを超えた近位部への逆流)。

【結果】2個の産後ヒト胎盤を使用して12回の注入実験 (PCT3回、bPCT9回) を施行した。bPCT併用下の注入はPCTに比較して成功率が高い傾向にあった (89% vs 33%,  $P=0.054$ )。bPCTを併用した注入実験ではgrade2の逆流が37.5%に生じ、これらは全てballoonが血管分岐部に位置した時に発生した。

【考察】PCT併用での不成功の原因はnBCA plug形成不全と推測され、生体内とは環境の異なる本血管モデルの限界を示すものと考えられた。一方、bPCTを併用した液体塞栓物質の注入シミュレーションは本血管モデルで十分可能であった。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

2022年9月30日 解剖学第2 森川吉博教授

産後ヒト胎盤を塞栓治療のモデルとして用いることの長所と短所について考察せよ。

結果 優

2022年9月30日 放射線医学 園村哲郎教授 結果 優

液体塞栓物質を用いた塞栓術における3つのテクニック（1. Plug and push technique, 2. Pressure cooker technique, 3. Balloon pressure cooker technique）の長所と短所について述べよ。結果 優

2022年9月30日 脳神経外科学 中尾直之教授

本研究で考案した血管モデルの限界について考察せよ。 結果 優

本研究では、産後ヒト胎盤を血管モデルとして使用した dual lumen balloon catheter による液体塞栓シミュレーションが可能であることを示した。今回の報告は、産後ヒト胎盤を生体由来血管モデルとして液体塞栓シミュレーションに使用することの有用性を示すものであり、学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1028号		
学位授与の日	令和4年12月20日		
氏名	置塩 裕子		
学位論文の題目	Is open abdominal management useful in nontrauma emergency surgery for older adults? A single-center retrospective study. (高齢者急性腹症に対する Open Abdominal Management の有用性に関する研究)		
論文審査委員	主査	教授 西村 好晴	
	副査	教授 川股 知之	教授 加藤 正哉

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

Open abdominal management (以下、OAM) は、再開腹を前提とした一時的閉腹が行われ、重傷外傷患者に対するダメージコントロール戦略として有用とされてきた。近年では、不安定な循環動態・高度腹腔内汚染・再評価が必要な腸管虚血・腹部コンパートメント症候群を伴う非外傷患者に対しても OAM が応用されるようになってきており、外科医は OAM が重症な非外傷患者に有用であると信じているものの、そのエビデンスはまだ確立されていない。また、高齢化社会に伴い緊急開腹術を要する高齢者が増えていくことが予測されるが、高齢者に対する OAM の有用性もまだ明らかとなっていない。そのため、我々は 80 歳以上の高齢者の急性腹症に対する OAM が有用かどうか、単施設後ろ向き観察研究を行った。

### 【方法】

2012 年 9 月から 2017 年 8 月までの 5 年間に和歌山県立医科大学付属病院高度救命センターで緊急開腹術を行った患者のうち、術後 ICU 管理を要した 20 歳以上の患者を組み込み対象とし、試験開腹術を行った患者と初回手術後 24 時間以内に死亡した患者は除外した。各患者の電子カルテや手術記録から、年齢・性別・APACHE-II score・SOFA score・開腹術適応病名・初回の術式・OAM の適応病態のデータを抽出した。主要評価項目を 90 日死亡率、副次評価項目を 30 日死亡率・予期せぬ再開腹術・ICU 滞在期間とした。

まず、対象患者全体を、OAM を行った患者(OAM 群)と初回手術で閉腹した患者(PC 群)とに分けて、患者背景や評価項目を比較した。次に、OAM 群のうち 80 歳以上の患者と PC 群のうち 80 歳以上の患者とを比較した。最後に、OAM 群のうち、80 歳以上の患者と 80 歳未満の患者とを比較した。カテゴリー変数に対しては Pearson のカイ二乗検定を用いた単変量解析を行い、連続変数に対しては Wilcoxon の順位和検定を用いた単変量解析を行い、 $p < 0.05$  を有意差ありと判断した。

### 【結果】

期間中に緊急開腹術後 ICU 管理を要した 234 名のうち、試験開腹術を行った 28 名と初回手術後 24 時間以内に死亡した 5 名を除外した、201 名が対象患者となった。OAM 群は 58 名、PC 群は 143 名であり、そのうち 80 歳以上は OAM 群に 27 名、PC 群に 70 名であった。

まず、OAM 群は PC 群と比較して、有意に APACHE-II score(25.5 vs. 18;  $p < 0.0001$ )と SOFA score(9 vs. 6;  $p < 0.0001$ )が高かった。また、OAM 群は PC 群と比較して、有意に消化管穿孔・腹腔内膿瘍が少なく、腸管虚血や腹部コンパートメント症候群が多かった。OAM 群で 90 日死亡率(21% vs. 15%;  $p = 0.30$ )と 30 日死亡率(16% vs. 8%;  $p = 0.19$ )が高く、予期せぬ再開腹率(9% vs. 18%;  $p = 0.13$ )は低かったが、有意差は認めなかった。また、OAM 群で有意に ICU 滞在日数が長かった(7 日 vs. 4 日;  $p < 0.0001$ )。

次に、80 歳以上の OAM 患者群は 80 歳以上の PC 患者群と比較して、有意に APACHE-II score(23 vs. 19.5;  $p = 0.038$ )と SOFA score(10 vs. 7;  $p = 0.0013$ )が高かった。また、80 歳以上の OAM 患者群は 80 歳以上の PC 患者群と比較して、有意に腸管虚血や腹部コンパートメント症候群が多かった。80 歳以上の OAM 患者群で 90 日死亡率(33% vs. 19%;  $p = 0.12$ )と 30 日死亡率(22% vs. 11%;  $p = 0.18$ )が高く、予期せぬ再開腹率(4% vs. 14%;  $p = 0.14$ )は低かったが、有意差は認めなかった。また、80 歳以上



の OAM 患者群で有意に ICU 滞在日数が長かった(7 日 vs. 4 日;  $p=0.0027$ )。

最後の OAM 群のうち 80 歳以上の患者と 80 歳未満の患者との比較に関しては、重症度・病名・OAM 適応病態に有意差は認めなかった。OAM 群のうち 80 歳以上の患者は 80 歳未満の患者と比較して有意に 90 日死亡率が高かった(33% vs. 10%;  $p=0.027$ )。また、OAM 群のうち 80 歳以上の患者は 80 歳未満の患者と比較して 30 日死亡率が高かったが(22% vs. 10%;  $p=0.19$ )、有意差は認めなかった。予期せぬ再開腹率(4% vs. 13%;  $p=0.21$ )や ICU 滞在日数(7 vs. 7 days;  $p=0.49$ )に有意差は認めなかった。

#### 【考察】

本研究では、急性腹症に対して OAM を行った患者は初回手術時に閉腹した患者より有意に重症度が高かったが、死亡率に有意差は認めなかった。また、有意に背景疾患が異なっていた。これらの結果は全年齢も 80 歳以上もどちらも同じ結果であり、背景疾患が異なるため一概に OAM を行った患者と初回手術時に閉腹した患者との比較は難しいが、80 歳以上であってもほかの年齢と同様に重症患者に OAM が行われており、重症度のわりに死亡率は低く、有用である可能性があることか示唆された。

また、OAM を行った患者のうち、80 歳以上の患者は 80 歳未満の患者より有意に 90 日死亡率が高かったが、30 日死亡率・予期せぬ再開腹率・集中治療室滞在日数に有意差は認めなかった。このため、80 歳以上の高齢者の急性腹症に対する OAM は急性期治療としては有用と考えるが、長期的予後が悪いことを医療者・患者ともにしっかりと理解した上で治療にあたる必要があると考えられた。本研究の Limitation として、単施設後向き観察研究であり選択バイアスがあることや、医療費・長期予後・QOL の評価ができていないことが挙げられ、これらの項目も評価できる、多数症例を対象とした多施設前向き研究でのさらなる検討が必要と考えられた。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年11月24日及び11月29日、論文審査担当者は学位申請者に出席を求め、学位論文について審査を行った。

重症外傷に有用とされてきた Open Abdominal Management (OAM)は、近年非外傷患者にも適応が拡大されるようになってきたが、その有用性については controversial であり、特に高齢者に関してはまとまった報告がされていない。しかし、現在日本の平均寿命は80歳を超え、今後高齢化に伴い緊急手術を要する高齢者が増えていくと見込まれ、申請者はOAMが80歳以上の高齢者の急性腹症に有用かどうか検討するために単施設後向き観察研究を行った。

和歌山県立医科大学高度救命救急センターで2012年9月から2017年8月までの間に急性腹症に対し緊急手術を行い、術後ICU管理を要した患者を対象とし、主要評価項目を90日死亡、副次評価項目を30日死亡・予期せぬ再開腹・ICU滞在日数とし、まずOAMを行った全患者(OAM群)と初回手術で閉腹できた全患者(PC群)とを比較し、次にOAM群のうち80歳以上の患者とPC群のうち80歳以上の患者とを比較し、最後にOAM群のうち80歳以上患者と80歳未満の患者とを比較した。

その結果、201名が対象患者となり、OAM群は58名、PC群は143名であり、そのうち80歳以上の患者はOAM群に27名、PC群に70名であった。まず、OAM群はPC群と比較して、有意に重症度が高く、一方で有意に背景疾患が異なっていた。90日死亡率・30日死亡率・予期せぬ再開腹率に有意差は認めなかったが、OAM群で有意にICU滞在日数が長かった。次に、80歳以上のOAM患者群は80歳以上のPC患者群と比較して、有意に重症度が高く、一方で有意に背景疾患が異なっていた。90日死亡率・30日死亡率・予期せぬ再開腹率に有意差は認めなかったが、80歳以上のOAM群で有意にICU滞在日数が長かった。最後に、OAM群のうち80歳以上の患者と80歳未満の患者との比較では、重症度・病名・OAM適応病態に有意差は認めなかったが、OAM群のうち80歳以上の患者は80歳未満の患者と比較して有意に90日死亡率が高く、30日死亡率・予期せぬ再開腹率・ICU滞在日数に有意差は認めなかった。

以上より、背景疾患が異なるため一概にOAMを行った患者と初回手術時に閉腹できた患者との比較は難しいが、80歳以上であってもほかの年齢と同様に重症患者にOAMが行われており、有意に重症な患者にOAMを行っているわりに死亡率に有意差は認めず、80歳以上の急性腹症に対するOAMが有用である可能性が示唆された。また、OAMを行った患者のうち80歳以上の患者は80歳未満の患者より、有意に90日死亡率が高いものの、30日死亡率に有意差を認めなかったことから、80歳以上の高齢者の急性腹症に対するOAMは急性期治療としては有用と考えるが、長期予後が悪いこと念頭に置いて治療にあたる必要があると考えられた。

この論文は80歳以上の高齢者の急性腹症に対しOAMが有用かどうか検討した初めての研究であり、将来の検討の基礎的な知見となることが期待される点で学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第1029号		
学位授与の日	令和4年12月20日		
氏名	田中 涼大		
学位論文の題目	Usefulness of ethiodized oil and gelatin sponge particles for delaying the washout of indocyanine green from the liver in swine (インドシアニングリーンを用いた肝区域染色法におけるリピオドールとゼラチンスポンジ粒子の有用性：豚の肝臓を用いた検討)		
論文審査委員	主査	教授 北野 雅之	
	副査	教授 川井 学	教授 園村 哲郎

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

解剖学的肝切除とは、腫瘍を有する Couinaud セグメント(区域)の完全切除のことである。特に肝細胞癌患者に対しては、治癒の可能性のあるアプローチとしてバランスの良い肝切除法と考えられている。適切な解剖学的肝切除を行うためには、区域間の平面を確認し、ランドマークとなる肝静脈と門脈分岐を術中の超音波検査で確認する必要がある。腹腔鏡下肝切除術の成績は開腹手術の成績と同等であり、腹腔鏡下肝切除術は合併症を減らし、入院期間を短縮できる。しかし、腹腔鏡下肝切除術は狭い視野で2次元画像を用いて行われるため、立体感や奥行感の把握が困難である。そのため、腹腔鏡下解剖学的肝切除には肝区域同定のために術中ナビゲーションが必要である。

従来の開腹手術でも、経門脈的や経静脈的にインドシアニンググリーン(Indocyanine green : ICG)を注入することで肝区域同定が行われてきた。最近、上野らは腹腔鏡下解剖学的肝切除のための肝区域同定に ICG を用いた肝動脈塞栓術(Hepatic artery embolization : HAE)が有用であることを報告した。彼らの方法では、ICG と水溶性造影剤(Water-soluble contrast medium : CM)を混合したものを標的領域の肝動脈に注入して染色しているが、染色の持続時間が短く当日の手術が必要であった。我々は脂溶性造影剤であるリピオドール(Ethiodized oil : EO)が肝臓からの ICG の洗い出しを遅らせるのに有用であることを報告し、翌日に手術を行うことが可能であった。この経験を踏まえ、肝切除を容易にするためには ICG の動態を把握することが重要であると考え、本研究の立案に至った。本研究の目的は、EO とゼラチンスポンジ粒子(Gelatin sponge particles : GS)が ICG の洗い出しに与える影響を豚の肝臓を用いて評価することである。

### 【方法】

ICG, CM, EO, GS を調製し、注入薬剤として使用した。15頭の豚を以下の3群に分けた：A群(1：1 ICG-CM 混合液と GS)、B群(1：1 ICG-EO 混合液)、C群(1：1 ICG-EO 混合液と GS)である。A群では1：1 ICG-CM 混合液 4mL、B群およびC群では1：1 ICG-EO 混合液 4mL を左肝動脈に注入し、A群およびC群ではGSで左肝動脈を塞栓した。処置中および処置後1, 2, 3, 6時間に赤外線カメラを用いて肝臓表面を観察して ICG コントラストを測定した。6時間後に肝臓を摘出し、病理組織学的検査を行った。

### 【結果】

6時間後の注入部位と非注入部位のコントラスト比は、A群  $1.45 \pm 0.44$ 、B群  $1.89 \pm 0.37$ 、C群  $3.62 \pm 0.76$  であり、C群のコントラスト比はA群、B群より有意に大きかった(それぞれ  $P = 0.032$  と  $0.033$ )。また、3群すべてで肝細胞の障害がみられたが、特にC群では肝細胞の壊死がみられた。

### 【考察】

粘稠度が高いEOを注入することとGSで血管塞栓を行うことで限局的な肝細胞障害を引き起こし、ICGの代謝・排泄を阻害することで、ICGによる染色時間を延長させることができたと考えられる。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年11月17日、11月24日に論文審査担当者は学位申請者に出席を求め、上記学位論文について審査を行った。

肝細胞癌は肝内再発の多い腫瘍であり、その機序として経門脈的な腫瘍進展が重要視されている。したがって、肝細胞癌の手術においては、潜在的な再発リスクを防止するために系統的肝切除が推奨されている。系統的肝切除を行うためには術中に肝区域を同定する必要があり、近年ではインドシアニングリーン(ICG)を用いた肝区域染色法が行われている。ICGの投与方法として一般的には門脈注射と静脈注射があるが、当院では透視下のカテーテル技術を用いた経動脈的な投与方法が有効であることを報告している。ICGを用いた肝区域染色法には、時間が経過するとICGが代謝・排泄され区域の染色が不明瞭になるという問題点があった。肝細胞癌の経カテーテル治療で一般的に使用される脂溶性造影剤(エチオド油(EO))と塞栓物質(ゼラチンスポンジ粒子(GS))を用いることで、この問題点を解決できるのではないかと考え、動物実験を計画した。

ICG, 水溶性造影剤(CM), EO, GSを調製し、注入薬剤として使用した。15頭の豚を以下の3群に分けた：A群(1:1 ICG-CM混合液とGS), B群(1:1 ICG-EO混合液), C群(1:1 ICG-EO混合液とGS)である。A群では1:1 ICG-CM混合液4mL, B群およびC群では1:1 ICG-EO混合液4mLを左肝動脈に注入し、A群およびC群ではGSで左肝動脈を塞栓した。処置中および処置後1, 2, 3, 6時間に赤外線カメラを用いて肝臓表面を観察してICGコントラストを測定した。6時間後に肝臓を摘出し、病理組織学的検査を行った。

6時間後の注入部位と非注入部位のコントラスト比は、A群  $1.45 \pm 0.44$ 、B群  $1.89 \pm 0.37$ 、C群  $3.62 \pm 0.76$  であり、C群のコントラスト比はA群、B群より有意に大きかった(それぞれ  $P = 0.032$  と  $0.033$ )。また、3群すべてで肝細胞の障害がみられたが、特にC群では肝細胞の壊死がみられた。

粘稠度が高いEOを注入することとGSで血管塞栓を行うことで限局的な肝細胞障害を引き起こし、ICGの代謝・排泄を阻害することで、ICGによる染色時間を延長させることができたと考えられる。

本論文は、EOとGSはICGを用いた肝区域染色法における従来法の問題点を克服させ、実臨床でも長時間のナビゲーションを可能にすることを示したものであり、学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第1030号		
学位授与の日	令和4年12月20日		
氏名	上裕 敦文		
学位論文の題目	Transcatheter arterial embolization of abnormal neovessels in a swine model of knee arthritis		
	(豚膝関節炎モデルの作製および新生血管に対する動脈塞栓術)		
論文審査委員	主査	教授	山田 宏
	副査	教授	田島 文博
		教授	園村 哲郎

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

運動器の慢性疼痛に対する緩和治療として、奥野らはイミペネム/シラスタチン(imipenem/cilastatin; IPM/CS)を用いた経カテーテル動脈塞栓術(transarterial embolization; TAE)を初めて報告した。肩関節周囲炎、変形性膝関節症および外側上顆炎などがTAEの適応となる。除痛の正確な機序は解明されていないが、慢性疼痛部位に発生した異常な新生血管(abnormal neovessels; ANs)を一時的に塞栓することで、疼痛緩和効果や関節可動域の改善が得られている。しかし、IPM/CSは難溶性の抗生物質であり、日本の医療保険では塞栓物質として承認されていない。そのため、新たな塞栓物質の開発が必要であると考えた。我々が以前から研究を行っている、溶解型ゼラチンスポンジ(soluble gelatin sponge particles; SGS)は可溶性のゼラチンスポンジであり、その溶解時間は熱架橋の条件を変えることで調節可能である。TAEにおいてこのSGSを用いることで、24時間以内の短時間の塞栓が可能となり、正常組織への影響を最小限に抑えることができる。本研究の目的は、豚の膝関節炎モデルを作製し、2種類の塞栓物質(IPM/CSあるいはSGS)を用いてANsを塞栓し、塞栓効果および膝の組織障害を比較することである。

### 【方法】

正常雌豚6頭を使用した。両側膝関節を用いるため、対象は12膝関節となる。この12膝関節を6膝関節ずつIPM/CS群とSGS群に割り当てた。全身麻酔下にX線透視下で10%パパイン溶液5mLを両側膝関節腔内に経皮的に注入した。最初の注入日をday 0とし、同様の処置をday 3, 7, 14, 21にも行った。ANsを評価するために、血管造影をday 0, 3, 7, 14, 21, 42, 45に行った。予備実験でANsがday 42に出現することを確認していたため、day 42にIPM/CSあるいはSGSを用いたTAEを施行する予定とした。IPM/CSにはチエナム®(MSD K.K., Tokyo, Japan)、SGSには、血管造影上24時間以内に溶解する200-500 μmのRM-gelatin®(Jellice, Sendai, Japan)を使用した。全身麻酔下に両側大腿動脈に4 Fr シースを挿入し、4 Fr カテーテルを浅大腿動脈～膝窩動脈まで進め、術前の血管造影を行った。ANsが見られた場合、1.9 Fr マイクロカテーテルを用いて責任血管のTAEを行った。TAEのエンドポイントは血管造影上でのANsの消失とした。TAE 3日後の血管撮影で、塞栓効果や親動脈の再開通を評価した。その後に豚の膝関節を摘出し、血管造影でANsが出現していた部位に縫合糸を用いて印をつけ、その周囲組織の病理標本作製した。病理組織学的にANs、組織障害、塞栓物質の動脈内残存などを評価した。ANs出現率、TAEの成功率、塞栓後の親動脈の再開通率の比較にはFisherの正確検定を用い、有意水準を5%とした。

### 【結果】

全ての12膝関節において、day 42に膝蓋骨周囲にANsが認められ、TAEにも成功した。手技に伴う合併症は認められなかった。IPM/CS群とSGS群の12膝関節において、Day 45(TAEの3日後)の血管造影でANsの再出現はなく親動脈は再開通していた。肉眼的に膝関節の皮膚や筋肉などに壊死は認められなかった。組織学的には、両群ともに脂肪組織内にANsが認められ、膝蓋下包の滑膜肥厚や滑膜周囲の炎症細胞浸潤(好中球とリンパ球)が認められた。

### 【考察】

今回の豚膝関節炎モデルでは、膝関節面に肉眼的な粗造部は認められなかった。新井らの報告では膝関節面に炎症性変化が認められており、本実験結果とは異なる。原因としては、小さなケージ内で

の飼育であったため、座位の時間が長くなり、パパイン溶液が膝蓋骨周囲の関節包部分に偏在してしまつた可能性が考えられる。ANs が膝蓋骨周囲の滑膜部分に認められたことも、パパイン溶液の偏在が関係しているのかもしれない。

IPM/CS 群と SGS 群の全ての 12 膝関節において、TAE 3 日後の血管造影で ANs の消失と親動脈の再開通がみられ、塞栓部分の肉眼的な壊死は認められなかった。臨床的に IPM/CS による組織壊死の報告はなく、IPM/CS の短時間の塞栓効果が考えられる。一方、豚の肝動脈を SGS で塞栓した動物実験で、肝辺縁部に小さな壊死が認められたと報告されている。正確な量は記載されていないが、本実験より用いた SGS の量が多かったと考えられる。今回の実験では ANs の限局的な TAE に留めており、用いた SGS の量が少なく、正常組織への血流が早期に再開したと考えられる。また、人の変形性膝関節症の疼痛緩和を目的として、Embozene microspheres (EM)を用いた膝関節周囲動脈の TAE が行われ、足底部の感覚障害や遷延する皮膚変色が認められたと報告されている。EM は球状の永久塞栓物質であり、阻血による合併症を起こす可能性が一時的塞栓物質よりも一般的に高いと考えられる。このため、臨床で EM を使用する場合は合併症に注意する必要がある。

#### 【結論】

パパイン溶液の関節内注入による豚膝関節炎モデルの作製に成功した。豚膝関節炎モデルの異常な新生血管の TAE において、SGS は IPM/CS と同様に効果的かつ安全である。

### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和 4 年 1 2 月 5 日と 1 2 月 6 日に論文審査委員は学位申請者の出席を求め、論文審査を行った。

近年、変形性関節症などの運動器慢性疼痛の緩和治療として、イミペネム/シラスタチン(IPM/CS)を用いた経カテーテル動脈塞栓術(TAE)が注目されている。しかし、IPM/CS は日本の医療保険では塞栓物質として承認されていない。そのため、変形性膝関節の慢性疼痛を緩和する TAE のための新たな塞栓物質の開発が必要である。そこで、我々放射線医学講座が以前から研究を重ねている溶解型ゼラチンスポンジ(soluble gelatin sponge; SGS)を用いて研究を行うこととした。SGS は溶解時間を熱架橋の条件を変えることで調節可能なゼラチンスポンジである。TAE においてこの SGS を用いることで、IPM/CS と同様に 24 時間以内の短時間の塞栓が可能となり、正常組織への影響を最小限に抑えることができると考えた。本研究の目的は、豚の慢性膝関節炎モデルを作成し、2 種類の塞栓物質を用いて異常新生血管を塞栓することである。そして、その塞栓効果と膝の病理組織学的な障害度を比較した。

6 頭の豚の 12 個の膝にパパインの関節内注射を行い、慢性の膝関節炎を誘発した。この豚を 3 頭ずつ 2 群に割付を行った(1 群 6 膝)。パパイン注入後 42 日目に 12 膝関節全てで血管造影上、異常新生血管を認めた。IPM/CS または SGS を用いて TAE を行い、全ての膝で異常新生血管の塞栓に成功した。3 日後、12 膝全てで異常新生血管の血管造影上の消失が維持されていることを確認し、近傍の親動脈には再開通が認められた。病理組織学的評価では、12 膝すべてで滑膜の肥厚や炎症細胞の浸潤などの滑膜炎の変化が認められ、異常新生血管も確認できた。両群とも皮膚や筋肉の壊死、血管内に残存した塞栓物質は認めなかった。異常新生血管の出現や滑膜炎の所見などの病理組織学的評価において両群間に有意差はなかった ( $p > 0.999$ )。

IPM/CS は臨床的に組織壊死の報告はされておらず、短時間の塞栓効果を持ち、異常新生血管を主に塞栓する効果があると考えられる。一方の SGS は豚の肝動脈や子宮動脈塞栓に用いた場合、辺縁部に凝固壊死を来した報告がある。正確な量の記載はないものの、本研究では限局的な塞栓に留めており、既報告より少量の使用となっていると考えられる。そのため、異常新生血管を塞栓しつつ、正常組織への血流は早期に再開通したと考えられる。

本論文により SGS は IPM/CS と同様に早期に正常組織への血流を再開させ、組織壊死を引き起こさないことが示された。SGS が変形性膝関節症の慢性疼痛緩和に対する TAE での新規塞栓物質になり得る可能性を示したことから、学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第1031号		
学位授与の日	令和4年12月20日		
氏名	藤田洋一		
学位論文の題目	Malignant potential and specific characteristics of pure main duct type intraductal papillary mucinous neoplasm		
	(主膵管型膵管内乳頭粘液性腫瘍の臨床病理学的特徴について)		
論文審査委員	主査	教授 北野 雅之	
	副査	教授 村田 晋一	教授 近藤 稔和

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

膵管内乳頭粘液性腫瘍(intraductal papillary mucinous neoplasm; IPMN)は、病理学的に low-grade dysplasia(LGD)、high-grade dysplasia(HGD)、invasive intraductal papillary mucinous carcinoma (invasive IPMC)の3種類に分類される。IPMNの治療方針は、LGDは良性と判断し、フォローアップとなるが、悪性であるHGDならびにinvasive IPMCは手術適応となる。

IPMNは、画像上、主膵管型、分枝型、混合型に分類される。IPMN国際診療ガイドラインにおいてIPMNの絶対的手術適応は、型に関係なく、主膵管径10mm以上、壁在結節高5mm以上、黄疸とされている。しかしながら、これらの因子における悪性診断率は低く、さらなる悪性予測因子の同定が必要である。われわれは、これまで分枝型・混合型IPMNにおいて、壁在結節高と膵液carcinoembryonic antigen (CEA)値の測定が有用であることを証明し報告した。

主膵管型IPMNに関しては、罹患率が低いいため、これまでの報告は極めて少なく、数少ない報告においても主膵管型IPMNの解析には混合型IPMNが含まれることが多く、真の主膵管型IPMNの悪性度やその特徴は不明である。そこで、今回われわれは、主膵管型IPMNの特徴と悪性予測因子について検討した。

### 【対象・方法】

1999年7月～2020年8月に和歌山県立医科大学で外科的切除したIPMN症例387例(主膵管型79例(20%)、分枝型146例(38%)、混合型162例(42%))を対象に、主膵管型IPMN、分枝型IPMN、混合型IPMNの臨床病理学的因子を検討した。さらに主膵管型IPMNにおけるHGD/invasive IPMCの予測因子を解析した。

### 【結果】

主膵管型IPMNは、分枝型IPMNよりも、高齢で( $p=0.011$ )、糖尿病ならびに膵炎の既往を高頻度に認めた( $p=0.007, 0.001$ )。病変部位においては、主膵管型IPMNは膵全体に広がる病変を高頻度に認め( $p<0.001$ )、主膵管径は大きかった( $p<0.001$ )。術前ERPで採取した膵液の細胞診の陽性頻度は、主膵管型IPMNが高く( $p<0.001$ )、膵液CEA値も高値であった( $p<0.001$ )。術式は主膵管型IPMNに膵全摘が多い傾向にあった( $p<0.001$ )。主膵管型IPMNのHGD/invasive IPMCは、分枝型IPMNよりも高頻度に認めた(71 vs. 49%,  $p=0.001$ )。

混合型IPMNとの比較では、主膵管型IPMNにおいて膵炎の既往頻度は高く( $p=0.006$ )、膵全体に広がる病変の頻度は高かった( $p<0.001$ )。主膵管型IPMNは、主膵管径は大きかったが( $p<0.001$ )、壁在結節の頻度、壁在結節高は混合型IPMNの方が高かった( $p=0.002, 0.005$ )。膵液細胞診の陽性頻度は、主膵管型IPMNの方が高頻度に認めたが( $p=0.015$ )、膵液CEA値は両群で差はなかった( $p=0.871$ )。術式は主膵管型IPMNに膵全摘が多い傾向にあった( $p<0.001$ )。病理診断において、HGD/invasive IPMCは混合型IPMNと差は認めなかった(71 vs. 77%,  $p=0.343$ )。混合型IPMNに有意にリンパ節転移を認めた( $p<0.015$ )。

主膵管型IPMNと分枝型IPMNにおいて、Recurrence free survival(RFS)、Disease specific survival(DSS)、Overall survival(OS)は差を認めなかった( $p=0.745, 0.104, 0.375$ )。主膵管型IPMNは混合型IPMNよりRFS、DSSにおいて良好であった( $p=0.008, 0.009$ )が、OSは差を認めなかった

( $p=0.519$ )。

主膵管型 IPMN において、low grade dysplasia; LGD(23 例)と HGD/invasive IPMC 症例(56 例)を比較すると、HGD/invasive IPMC 症例で、膵炎の既往歴( $p=0.021$ )、膵全体に広がる病変( $p=0.001$ )、主膵管壁肥厚( $p=0.004$ )を高頻度に認め、主膵管径高値( $p<0.001$ )、壁在結節高高値( $p<0.001$ )、膵液細胞診陽性頻度が高く( $p=0.048$ )、膵液 CEA 高値( $p<0.001$ )であった。有意差のあった主膵管径、壁在結節高、膵液 CEA 値の ROC 曲線解析にて cut off 値を同定した。主膵管径の cut off 値は 10 mm、(AUC 0.801)、壁在結節高の cut off 値は 5 mm(AUC 0.806)、膵液 CEA 値の cut off 値は 50ng/ml(AUC 0.860)とした。これらの cut off 値を用いて多変量解析を行った結果、壁在結節高 $\geq 5$ mm ( $p=0.025$ , odds ratio [OR] 16.949)と膵液 CEA $\geq 50$ ng/ml ( $p=0.039$ , OR 9.091)は、主膵管型 IPMN における独立した HGD/invasive IPMC の予測因子であった。これらの 2 因子での各々の diagnostic value は、壁在結節高 $\geq 5$ mm は感度 73.2%、特異度 91.3%、正診率は 78.5%、膵液 CEA $\geq 50$ ng/ml は感度 81.8%、特異度 72.2%、正診率は 79.0%であった。また 2 因子のいずれかをみたく diagnostic value は感度 91.1%、特異度 69.6%、正診率は 84.8%であった。

1 年以上フォロー後に手術を行った主膵管型 IPMN 症例 13 例を検討すると、5 mm以上の壁在結節高を 9 例、膵液 CEA $\geq 50$ ng/ml は 11 例に認めた。病理診断は LGD 1 例、HGD 5 例、invasive IPMC 7 例であった。

【考察・結語】主膵管型 IPMN における HGD/invasive IPMC の頻度は、分枝型 IPMN よりも高かったが、混合型 IPMN と差はなかった。また、主膵管型 IPMN の生存期間は OS・RFS・DSS とともに分枝型 IPMN と差は認めなかったが、混合型 IPMN よりも RFS と DSS は良好であった。さらに、主膵管型 IPMN の治療方針決定に、壁在結節高と膵液 CEA の測定が有用であることが分かった。本研究の解析対象となった主膵管型 IPMN 症例数は未だ少なく、今後、多施設共同研究により新たな症例集積を行い、本研究結果の validation を行う予定である。

## 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和 4 年 11 月 29 日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文について審査を行った。

本論文は主膵管型膵管内乳頭粘液性腫瘍 (intraductal papillary mucinous neoplasm(IPMN)) の臨床病理学的特徴の検討を行ったものである。

これまで主膵管型 IPMN は罹患率が低く、過去の主膵管型 IPMN の報告は混合型 IPMN を含めて解析されていることが多く、真の主膵管型 IPMN の悪性度やその特徴は不明である。そこで、主膵管型 IPMN の特徴と悪性予測因子について検討した。

まず外科的切除を行った IPMN 症例 387 例 (主膵管型 79 例、分枝型 146 例、混合型 162 例)を対象に、主膵管型 IPMN の臨床病理学的特徴を検討した。

主膵管型 IPMN (71%) の high grade dysplasia; HGD/invasive IPMC の頻度は、分枝型 IPMN (49%) よりも高頻度に認めた( $p=0.001$ )が、混合型 IPMN (77%) とは差がなかった ( $p=0.343$ )。

Kaplan-Meier 解析では、主膵管型 IPMN と分枝型 IPMN の Recurrence free survival(RFS)、Disease specific survival(DSS)、Overall survival(OS)は差を認めなかった( $p=0.745$ , 0.104, 0.375)。主膵管型 IPMN は混合型 IPMN より RFS、DSS において良好であった( $p=0.008$ , 0.009)が、OS は差を認めなかった( $p=0.519$ )。

次に主膵管型 IPMN において、low grade dysplasia; LGD(23 例)と HGD/invasive IPMC 症例(56 例)を比較すると、HGD/invasive IPMC 症例で、膵炎の既往歴( $p=0.021$ )、膵全体に広がる病変( $p=0.001$ )、主膵管壁肥厚( $p=0.004$ )を高頻度に認め、主膵管径高値( $p<0.001$ )、壁在結節高高値( $p<0.001$ )、膵液細胞診陽性頻度が高く( $p=0.048$ )、膵液 CEA 高値( $p<0.001$ )も有意に高頻度であった。有意差のあった主膵管径、壁在結節高、膵液 CEA 値の ROC 曲線解析にて cut off 値を同定した。主膵管径の cut off 値は 10 mm、(AUC 0.801)、壁在結節高の cut off 値は 5 mm(AUC 0.806)、膵液 CEA 値の cut off 値は 50ng/ml(AUC 0.860)とした。これらの cut off 値を用いて多変量解析を行った結果、壁在結節高 $\geq 5$ mm ( $p=0.025$ , odds ratio [OR] 16.949)と膵液 CEA $\geq 50$ ng/ml ( $p=0.039$ , OR 9.091)は、主膵管型 IPMN における独立した HGD/invasive IPMC の予測因子であった。

本論文は、主膵管型 IPMN の悪性予測因子として壁在結節高と膵液 CEA 値の測定が、主膵管型 IPMN の治療方針の決定に有用である可能性が示唆され、学位論文として価値のあるものとして認めた。



学位記番号	博(医)甲第1032号		
学位授与の日	令和4年12月20日		
氏名	谷奥 匡		
学位論文の題目	Tmem45b is essential for inflammation- and tissue injury-induced mechanical pain hypersensitivity (Tmem45b は炎症や組織損傷により惹起される機械性痛覚過敏の形成に不可欠である)		
論文審査委員	主査	教授 伊東秀文	
	副査	教授 中田正範	教授 川股知之

## 論文内容の要旨

### <背景>

侵害刺激は、侵害受容器を興奮させ痛みを誘発し、警告機能として働く。一方で、炎症、組織損傷、および神経損傷は、疼痛閾値の低下と疼痛強度の上昇を特徴とする痛覚過敏を誘発する。持続する痛覚過敏は、警告システムの役割を超えてヒトに苦痛を与えるため克服すべき課題である。痛覚過敏は刺激様式により熱性痛覚過敏と機械性痛覚過敏の2種類に大別される。炎症および組織損傷による熱性痛覚過敏の形成に、TRPV1 が関与することが示されているが、機械性痛覚過敏の分子機構は未解明である。

これまで、ほとんどの侵害受容器はポリモーダルであると考えられていたが、最近の研究では特定の分子プロファイルを持つ知覚神経が特定の侵害刺激に対して選択的に応答することが示されている。痛みを伝達する無髄神経線維は、植物レクチンである Isolectin B4 (IB4) との結合性によって分類される。IB4 結合 (IB4+) 神経は神経ペプチドを含有せず、IB4 非結合 (IB4-) 神経は CGRP などの神経ペプチドを含有する。CGRP 陽性神経細胞は熱刺激による痛みの受容や熱性痛覚過敏に関与するが、機械刺激によって生じる痛みの伝達には関与しないことが示されている。このことは、IB4+神経が機械刺激による痛みや機械性痛覚過敏に関与している可能性を示唆している。

本研究の目的は、さまざまな痛みモデルにおける IB4+神経の役割を明らかにし、機械性痛覚過敏に関与する分子を探索することである。

### <方法>

#### 1. 使用動物

雄性 C57BL6N マウス、IB4+神経脱落マウスの作成、Tmem45b ノックアウトマウス (Tmem45b-KO)、および Tmem45b ノックダウンマウス (Tmem45b-KD) を使用した。IB4+神経脱落マウスは坐骨神経への IB4-saporin 投与により作成した。KO マウスは CRISPR-Cas9 を用いて作成した。KD マウスは siRNA の脊髄投与により作成した。

#### 2. 痛みモデルと行動評価

炎症性痛モデル、術後痛モデル、および神経障害性痛モデルを作成し、侵害熱刺激に対する逃避潜時および侵害機械刺激 (von Frey filament) に対する逃避閾値を評価した。

#### 3. 遺伝子・分子発現解析

cDNA マイクロアレイ解析、定量 PCR、蛍光 in situ hybridization および免疫染色により遺伝子・分子発現を解析した。

### <結果>

#### 1. IB4+神経脱落マウスの行動解析

坐骨神経への IB4-saporin 投与により、脊髄後角で IB4+神経のみが広範に脱落した。IB4+神経脱落は、正常状態での侵害熱・機械刺激に対する逃避反応に影響しなかった。対照マウスの炎症痛および術後

痛モデルでは、熱性および機械性痛覚過敏が惹起されたが、IB4+神経脱落マウスでは機械性痛覚過敏が消失した。神経障害性痛モデルでは、対照マウスとIB4+神経脱落マウスともに機械性痛覚過敏が観察された。以上により、IB4+神経には炎症痛および術後痛での機械性痛覚過敏に必須の分子が発現することが推測された。

## 2. IB4+神経に特異的に発現する遺伝子のスクリーニング

cDNA アレイを用いて、IB4+神経とIB4-神経の遺伝子発現プロファイル比較を行い、IB4+神経に特異的に発現する43の遺伝子を同定した。次に、既知の153の体性感覚特異的遺伝子と照合し、体性感覚神経かつIB4+神経に特異的に発現する12個の遺伝子を同定した。候補の中から神経系での機能が未知であるTmem45bを選択して解析を進めた。

## 3. Tmem45bの発現分布解析

Tmem45b mRNAは、神経系では主にDRGで検出され脊髄や脳ではほとんど検出されなかった。DRGではほとんどのIB4+神経がTmem45b mRNAを発現していた。Tmem45bは主にIB4+小型神経に発現するとともに、一部のTRPV1陽性神経細胞、CGRP陽性神経細胞にも発現していた。次に、脊髄および効果器への投射を調べた。Tmem45b陽性神経は脊髄後角第II層内側に投射していた。また、逆行性神経細胞トレーサーを用いた実験では、Tmem45b陽性神経は内臓より皮膚や骨格筋に投射していた。

## 4. Tmem45b-KOマウスの行動解析

KOマウスはIB4+神経脱落マウスと同様の行動を示した。正常状態でのKOマウスの熱・機械刺激に対する反応は野生型マウスと同様であったが、KOマウスでは炎症痛モデルで観察される機械性痛覚過敏と術後痛モデルでの機械性痛覚過敏が消失した。一方で、神経障害性痛モデルでの機械性痛覚過敏は野生型マウスと同様に観察された。

## 5. 炎症性痛モデルでのTmem45b-KDマウスの行動解析

炎症誘発前のTmem45b-KDによりKOと同様に機械性痛覚過敏は完全に抑制された。機械性痛覚過敏確立後のKDによっても抑制された。

### < 結語 >

Tmem45bは炎症および組織損傷による機械性痛覚過敏の形成に必須であり、機械性痛覚過敏の治療ターゲットとなり得る。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年11月21日および12月1日、論文審査担当者は学位申請者の出席を求め上記学位論文について審査を行った。

軽微な機械刺激により強い痛みを惹起する機械性痛覚過敏は炎症や組織損傷に伴って生じ、患者のADL、QOLを低下させる。しかし、機械性痛覚過敏が発生するメカニズムは明らかになっていない。

無髄の末梢神経であるIB4結合神経の痛み伝達における役割を調べた。マウスの座骨神経に毒素を投与する手法でIB4結合神経のみ脱落したマウスを作製した。解析の結果、IB4結合神経は正常状態の痛み伝達に関与しないが、炎症や組織損傷に伴って生じる機械痛覚過敏に選択的に関与する事を確認した。次に申請者はIB4結合神経上には機械性痛覚過敏発生に不可欠な分子が存在すると考え探索を行った。そしてIB4結合神経に強発現する分子の中からTmem45bを解析対象として選定した。Tmem45bの発現分布を調べたところ、中枢神経にはほとんど発現を認めず末梢神経選択的に発現することがわかった。また、小型の神経細胞選択的に発現し、細胞内ではトランスゴルジ装置に局在していた。Tmem45b遺伝子欠損マウスを作製し、痛み伝達におけるTmem45bの役割を調べた。そして、Tmem45bは炎症や組織損傷に伴う機械性痛覚過敏発生に不可欠な分子であることを確認した。またsiRNAを用いた後天的なTmem45b発現低下により機械性痛覚過敏が抑制されることを確認した。シナプス伝達におけるTmem45bの役割を調べるためにスライスパッチクランプ法により、興奮性シナプス後電流を記録した。そして炎症状態においてTmem45b遺伝子欠損マウスでは脊髄膠様質ニューロンで生じる興奮性シナプス後電流の数が有意に少ないことを確認した。

以上より、本論文は炎症や組織損傷に伴う機械性痛覚過敏発生に不可欠な分子としてTmem4bを見いだしたものである。本研究結果は、これまで機序が不明であった機械性痛覚過敏発生メカニズム解明につながる成果であり、Tmem45bをターゲットした痛み治療薬が開発された暁には多くの痛みを苦しむ患者を治療するものと考え、学位論文としては価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第 1033 号		
学位授与の日	令和 5年 1月 17日		
氏名	矢本 利一		
学位論文の題目	Three-dimensional morphology of the superior cerebellar artery running in trigeminal neuralgia ( 三次元コンピュータシミュレーションを用いた、三叉神経痛における上小脳動脈の走行に関する研究 )		
論文審査委員	主査	教授 加藤 正哉	
	副査	教授 朝村 真一	教授 中尾 直之

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

三叉神経痛(TN)において最も頻度の高い責任血管である上小脳動脈 (SCA) の走行と三叉神経との位置関係については十分解明されていない。三次元コンピュータグラフィックス(3-dimensional computer graphics: 3DCG) 技術を用いて手術手技に影響する SCA 走行の解剖学的特徴を検討した。

### 【方法】

2014年から2020年までにTNに対して神経血管減圧術を施行した45例のうち、責任血管がSCAであった35例を対象とした。術前にmagnetic resonance imagingでmagnetic resonance angiography, Heavy T2強調画像, T1強調画像, またcomputed tomography angiographyを撮影し、得られた画像データを用いて3DCG画像を作成し、三叉神経とSCAとの解剖学的特徴を検討した。三叉神経の圧迫点は、冠状断面で頭側、尾側、内側、外側に分類し、三叉神経長軸方向はメッケル腔入口から三叉神経起始部までを三等分に分類した。SCAの形状をarch型, inverted arch型, linear型に分類した。また、圧迫点とSCAのcaudal loopとの位置関係についてはproximal, distal, bottomに分類した。神経血管減圧術を施行し、術中所見と3DCG画像との相同性を確認した。統計解析はJMP pro version 14.1 (Statistical Discovery, SAS Institute, USA)を用いた。各群間の比較にはFisher exact testを用い、 $p<0.05$ を有意差ありとした。

### 【結果】

三叉神経へのSCAの圧迫点は三叉神経の冠状断面上では内側で16本、頭側で15本、外側で4本であった。神経の長軸方向にはfirst segmentで5本、second segmentで18本、third segment (REZ)で11本であった。SCA起始部の形態に関してはarch型が18本、inverted arch型が8本、linear型が9本であった。SCAのlateral mesencephalic segmentのcaudal loopと圧迫点との関係についてはproximalが13本、distalが8本、bottomが13本であった。1例は内側において2か所(first, third segment and proximal, distal)で圧迫していた。圧迫点は内側では三叉神経のthird segment (REZ)に多く、頭側と外側ではsecond segmentに多い分布を示した( $p=0.002$ )。また、内側ではSCAのcaudal loopのdistalでの圧迫が多かったが、頭側と外側ではbottom, proximalが多かった( $p=0.037$ )。Arch型のSCAはinverted arch型やlinear型とは異なり、third segment (REZ) ( $p=0.047$ ) , caudal loopのdistal側 ( $p=0.0098$ )での圧迫が多かった。また三叉神経の内側からの圧迫が多かったが統計学的有意差はなかった ( $p=0.073$ )。

### 【考察】

本研究ではTNにおいて、三叉神経と圧迫血管であるSCAとの解剖学的関係が圧迫点の部位とSCAの形状によって異なることを3DCGによって明らかにした。圧迫点は主に三叉神経の内側ではREZにみられたが、三叉神経の頭側や外側では神経の頭蓋内走行の中間部に多くみられた。また、SCAは三叉神経の内側ではcaudal loopのdistal側で、神経の頭側や外側ではcaudal loopのより近位側で圧迫していた。これは、三叉神経の頭側や外側にSCAが圧迫している場合には浅い術野で圧迫点全体を

容易に観察することができることを意味する。Arch型のSCAは三叉神経の内側を圧迫することが多い。深いcaudal loopをもつarch型のSCAが三叉神経の内側を圧迫する場合、三叉神経の裏側に位置するSCAのloopを深い術野で小脳テントに転位するのが困難なことがある。また、arch型のSCAが三叉神経の頭側を圧迫する場合でも大きな角度で神経を圧迫するため、血管の転位には強い応力に抗する頑健な血管固定が必要となる。このように、3DCGを用いた後ろ向き検討によって手術手技に影響しうるいくつかの解剖学的因子が見出された。本研究では三次元形状の定性的な検討はできたが定量的検討や構造力学的解析ができない限界があり、今後の課題である。

#### 【結語】

3DCGによって、三叉神経痛における圧迫点の部位と上小脳動脈起始部の形状によって上小脳動脈と三叉神経の解剖学的関係に違いがあることを明らかにした。これらの違いは三叉神経痛に対する神経血管減圧術の手術手技に影響しうると考えられる。

### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和4年12月14日および12月20日に論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文についての審査を行った。

三叉神経痛(TN)において最も頻度の高い責任血管である上小脳動脈(SCA)の走行と三叉神経との位置関係については十分解明されていない。本研究は三次元コンピュータグラフィックス(3-dimensional computer graphics: 3DCG)技術を用いて手術手技に影響するSCA走行の解剖学的特徴を検討したものである。

TNに対して神経血管減圧術を施行し、責任血管がSCAであった35例を対象とした。術前のMRI、CT画像データを用いて3DCG画像を作成し、三叉神経とSCAとの解剖学的特徴を検討した。三叉神経の圧迫点は、冠状断面で頭側、尾側、内側、外側に分類し、三叉神経長軸方向はメッケル腔入口から三叉神経起始部までを三等分に分類した。SCAの形状をarch型、inverted arch型、linear型に分類した。また、圧迫点とSCAのcaudal loopとの位置関係についてはproximal, distal, bottomに分類した。神経血管減圧術を施行し、術中所見と3DCG画像との相同性を確認した。

三叉神経へのSCAの圧迫点は内側では三叉神経のthird segment (REZ)に多く、頭側と外側ではsecond segmentに多い分布を示した( $p=0.002$ )。また、内側ではSCAのcaudal loopのdistalでの圧迫が多かったが、頭側と外側ではbottom, proximalが多かった( $p=0.037$ )。Arch型のSCAはinverted arch型やlinear型とは異なり、third segment (REZ) ( $p=0.047$ )、caudal loopのdistal側 ( $p=0.0098$ )での圧迫が多かった。また三叉神経の内側からの圧迫が多かったが統計学的有意差はなかった( $p=0.073$ )。

本研究ではTNにおいて、三叉神経と圧迫血管であるSCAとの解剖学的関係が圧迫点の部位とSCAの形状によって異なることを3DCGによって明らかにした。圧迫点は主に三叉神経の内側ではREZにみられたが、三叉神経の頭側や外側では神経の頭蓋内走行の中間部に多くみられた。また、SCAは三叉神経の内側ではcaudal loopのdistal側で、神経の頭側や外側ではcaudal loopのより近位側で圧迫していた。

本論文は、3DCGによって三叉神経痛における解剖学的特徴を明らかとし、それが手術手技にも影響しうることを示しており、学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第1034号		
学位授与の日	令和5年2月14日		
氏名	山下 真史		
学位論文の題目	Mortality and complications in elderly patients with cervical spine injuries. (高齢者の頸椎外傷における合併症と死亡率の検討)		
論文審査委員	主査	脊椎脊髄病学 中川 幸洋 教授	
	副査	整形外科講座 山田 宏 教授	救急集中治療医学講座 加藤正哉教授

## 論文内容の要旨

緒言：世界的な高齢化の進展に伴い、高齢者の頸椎外傷は増加傾向である。高齢者は若年者と比較して、骨粗鬆症と退行性変化によって転倒などの低エネルギー外傷により、重篤な頸椎外傷を受傷する可能性が報告されている。また、中下位頸椎の可動性低下による上位頸椎外傷が多いことが知られている。このことから、高齢者は軽微な外傷で重篤な頸椎外傷を負いやすい可能性を示唆する。また、頸椎外傷に伴う合併症は重症化しやすい報告もある一方で変わらないとの報告も散見され、結論が出ていないのは現状である。海外では頸椎外傷の大規模な調査が行われているが、本邦では1992年以来調査は行われておらず、調査を行う必要がある。そのため、高齢者頸椎外傷の特徴を明らかにするため、本研究を行った。

目的：高齢者の頸椎外傷に関連する死亡率、合併症、およびその関連因子を明らかにすること。

対象と方法：方法は後ろ向き観察研究。期間は2011年1月～2018年5月。対象は当院救急集中治療部入院した患者のうち、頸椎外傷を伴う症例を対象とした。65歳未満をY(Younger)群、65歳以上をE(Elderly)群とした。除外症例は感染、腫瘍などによる2次損傷を負ったもの、画像で明らかな損傷のないものとした。評価項目：診療録および退院サマリから、患者特徴、治療内容、神経麻痺(Frankel分類A～E、挿管・頭部外傷などによる評価困難例はNT[Not Testable]とした)、Abbreviated Injury Scale(AIS、損傷部位

の重症度)、Injury Severity Score(ISS、症例ごとの重症度)、頸椎損傷高位、受傷機転、合併症(肺炎、尿路感染、重症褥瘡、30日以内死亡)を検討した。初診時に全例にCT、初診時に神経症状が認められた場合は全例MRIを実施されていた。椎間板レベルの頸髄損傷については、MRI検査で輝度変化のあった上位レベル椎体を損傷レベルと規定した。複数の損傷部位を総損傷数として計算した。時系列で検討する場合、期間内に脊椎外科3名が任命され、任期に従い3期に分けた(第1期:2011~2012年、第2期:2013~2014年、第3期:2015~2018年)。統計解析は両群の比較において連続変数にはt検定、カテゴリ変数にはカイ2乗検定、3群比較では一元的配置分散解析(ANOVA)およびカイ2乗検定を行い、統計的有意水準は5%未満とした。

結果: E群221例、Y群177例、計398例を解析した。評価項目は、平均年齢(E/Y群: 75.9/48.7歳)であり、男性比率(72.3/78%)に有意差はなかった。自動車事故(34.8/44.1%,  $p<0.05$ )はY群に多い傾向、転倒(39.8/17.5%,  $p<0.001$ )はE群に多い傾向であった。頸椎損傷レベル(C1 [4.1/5.5%]、C2 [14.6/13.2%]、C3 [16.8/9.3%、 $p<0.05$ ]、C4 [16.4/13.2%]、C5 [22.3/5.5%]、C6 [12.3/21.4%、 $p<0.05$ ]、C7 [10.9/11.0%])とC3損傷はE群、C6損傷はY群が多い傾向にあった。脊椎骨折(61.9/56.6%)、中心性脊髄損傷(33/36.2%)、手術介入(13.1/18.6%)、30日死亡率(10/8.5%)、平均入院期間(19.1/17.2日)、肺炎(11.8/6.8%)、尿路感染(6.3/4%)、重症褥瘡(1.8/0%)、Frankel分類(グレードA [6.3/5.6%]、グレードB [7.7/6.8%]、グレードC [28.5/24.9%]、グレードD [11.8/17.5%]、グレードE [33.9/34.5%]、NT [10.7/11.8%])、平均ISS(22.2/23.2)には有意差がなく、脊椎平均AISスコア(3.5/3.3,  $p<0.05$ )とE群が高い傾向であった。死亡症例の68.2%が受傷後24時間以内に死亡していた。受傷機転は歩行者、ISS、上位頸椎損傷が死亡例に多く、頸椎以外の部分では頭部、胸部、下腿AISが死亡例に高い傾向であった。時間経過ではISS、30日以内死亡率、NT症例、頭部および胸部AISは3期間毎に差を認め、第3期で一番高い傾向であった。脊椎AISは3期間で有意差を認めなかった。

考察：本研究では高齢者は転倒で重症な上位頸椎外傷を負う可能性が示唆された。麻痺の程度、合併症および死亡率は2群間で有意差がなかった。死亡率へは麻痺、ISSの関与が報告されており、本研究では麻痺、重症度に有意差がないため、死亡率に差が出なかったと考えられる。先行研究と比較してISSは高値であるが死亡率は高くなく、救急集中治療部・各専門診療科による迅速で最適な治療が提供できていることに起因していると考えられる。本研究では、頸椎以外の部位の外傷、ISS、上位頸椎外傷、歩行者の交通事故が死亡率に影響を及ぼしていた。時系列でみると、30日死亡率、ISS、頭部AIS、胸部AIS、NT症例は第3期で高い傾向であったが、脊椎AISは有意差がなかった。近年、病院前評価および診療の質が向上している。その結果、重症症例が死なずに病院に到着できるようになり、重症症例が増加し、当センターへ集約できていることが影響している可能性があると考えられる。限界：後方視点観察であること、単一施設研究であること、主観的評価を同一検者で行っていないこと、麻痺をASIAで評価を行っていないこと、骨折型による相違を検討できていないことが本研究の限界である。まとめ：高齢者と非高齢者の頸椎外傷患者の合併症に有意差はなかった。高齢者では低エネルギーで重症な頸椎外傷を負いやすいことが判明した。既知の報告と比して高齢者群の平均年齢が75.9歳と高く、本研究は高齢化社会の縮図と言える。頸椎外傷後死亡には頭部外傷、呼吸障害の関与が大きく、注意を払う必要がある。



### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和5年1月10日、1月20日論文審査委員は学位請求者の出席を求め、上記論文についての審査を行った。頸椎外傷は頸椎骨折、頸椎脱臼・脱臼骨折、頸髄損傷の総称である。頻度としては10万人あたり20-90人と頻度は高くはないがADLを低下させる重症な外傷であり、また、脊椎外傷のうち5割から7割を占める重要な外傷である。2018年時点で本邦では高齢人口比率が28.1%と非常に高齢化が進行しており、国際的にも極めて高齢化が進行した国である。その中で、高齢者頸椎外傷は増加傾向であり、また、肺炎・尿路感染・褥瘡など全身に影響を及ぼす外傷であり重要な外傷である。本研究の研究期間は2011年1月～2018年5月。対象は和歌山県立医科大学救急集中治療部に入院したもののうち、頸椎外傷を伴った症例。除外症例は感染・腫瘍などの二次損傷症例、また画像評価にて異常のないものとし、結果398例（非高齢者177例、高齢者221例）を解析対象とした。特徴として、受傷機転では交通事故は非高齢者に多く、転倒が高齢者に多かった。麻痺、症例毎の重症度を示すISS、外傷毎の評価を行うAISにおいては両群に有意差を認めなかった。脊椎AISは高齢者に高い傾向であった。合併症として肺炎は高齢者に多い傾向であったが有意差はなく、尿路感染、重症褥瘡に差は認めなかった。死亡率において2群に有意差は認めなかった。受傷24時間内では頭部外傷、24時以降では呼吸障害が多い傾向となった。受傷レベルではC3は高齢者に多く、C6は非高齢者に多かった。合併症として頭部外傷の受傷、呼吸障害の発症は致死的にいたる可能性があるが、本研究では死亡率、合併症において有意差がなかった。このことは救命センター、各専門診療科の連携での早期・迅速な治療の効果と考えられる。年代での変遷として年代ごとに重症度・死亡率が増加傾向である。このことは救命センターへの重症

症例の集約化が関与していると考え。また頸椎以外への部分の重症度は増加傾向、挿管・意識障害症例の増加へは外傷初期評価・診療の技術向上により重症症例の死亡前病院到着が増加している可能性が高いと考える。本論文は頸椎外傷と関連の深い頭部外傷・呼吸器障害との関連を啓蒙することができ、また、現代社会における高齢者頸椎外傷における特徴および長期間における頸椎外傷の変遷をみた初めての研究であり、学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)甲第1035号		
学位授与の日	令和5年2月14日		
氏名	阿南 慎平		
学位論文の題目	Brainstem Infiltration Predicts Survival in Patients With High-grade Gliomas Treated With Chemoradiotherapy		
	(悪性神経膠腫に対する放射線治療成績および予後予測因子に関する後ろ向き観察研究)		
論文審査委員	主査	教授 伊東 秀文	
	副査	教授 中尾 直之	教授 園村 哲郎

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

神経膠腫と診断される患者は日本で年間4000～5000人と言われている。世界保健機関(World Health Organization : WHO)の中枢神経系腫瘍分類(2016年版)でGrade IからIVに分類され、それらの標準治療は手術および術後化学放射線療法である。WHO分類(2016年版)での腫瘍別治療成績について膠芽腫(GradeIV)で中央生存期間15か月、1/2/5年生存率は60/25/10%と良い治療成績が得られていない。予後因子として最も重要なのはO-6-methylguanine-DNA methyltransferase(MGMT)遺伝子のメチル化であり、その他に年齢、KPS、手術摘出度、1p19q遺伝子の共欠失などが挙げられる。放射線治療は拡大局所照射60Gy/30Frが標準治療だが、高齢者では副作用の観点から照射線量の低減が行われることも多い。本研究の目的は、悪性神経膠腫に対して和歌山県立医科大学附属病院で放射線治療を施行した患者において、標準的な治療成績との比較を行い、予後に影響する新たな因子を検討することである。

### 【方法】

和歌山県立医科大学附属病院において2014年1月から2019年12月の期間に、選択基準として①病理性に悪性神経膠腫と診断、②術後の放射線治療を施行、③放射線治療開始時の年齢が18歳以上の3項目、除外基準として④観察期間が60日以内(死亡例を除く)、⑤画像所見のみでGrade IIからGrade IIIもしくはIVへの悪性転化と判断の2項目を満たした計43名の患者を対象とした。43名の患者について電子カルテから年齢、性別、全身状態、病理結果、画像所見、手術日、手術方法、放射線治療開始および終了日、放射線治療方法、照射線量、治療後の経過、採血結果に関するデータを抽出した。データの統計解析にはJMP software (version 14; SAS Institute, Cary, NC, USA)が使用された。全生存期間(OS)、無増悪生存期間(PFS)については、手術日からイベント発生日(死亡日もしくは最終生存確認日)までとした。また、生存曲線の推定にはKaplan-Meier法、2群間の生存曲線の比較にはlog-rank検定が用いられた。予後予測因子の検討はCox比例ハザードモデルによって行われた。有意水準を5%とした。

### 【結果】

18名が観察期間内で原病死し、25名が経過観察中である。25名の観察期間中央値は492日(99-1979日)であった。全患者のOS中央値は989日、1/2年生存率は87.6/67.3%であった。WHO分類別で見ると、Grade IIIでOS中央値は未到達、1/2年生存率は94.1/78.7%、Grade IVではOS中央値は814日、1/2年生存率は82.6/58.7%であった。無増悪生存率はGrade IIIで1/2年で64.7/43.7%、Grade IVでは1/2年で53.7/35.8%であった。予後予測因子の検討として単変量解析が行われ、5つの因子(MGMT遺伝子の野生型、脳幹浸潤、基底核原発、照射法が3D-CRT、照射線量が50Gy未満)が有意にOSを低下させた。総線量はECOG-PS不良例で低く、3D-CRTの治療患者数が2名と少数であったため、これらを除いた3因子で多変量解析が施行された。結果として脳幹浸潤のみがOS低下に寄与する独立した予後因子であった。

## 【考察】

本研究で MRI での脳幹浸潤が新たな予後予測因子となりうる可能性が示唆された。膠芽腫患者の剖検では 66%に脳幹浸潤を来していたとの報告もある。これらの患者群において予後を改善させるためには局所制御率が重要で、放射線治療や薬物療法、または両者の併用療法が主体となる。放射線治療では線量増加により局所制御率が上昇するが、一方で脳壊死の発生率も上昇すると報告されている。脳幹浸潤病変のみ線量を増加し脳幹自体の線量を低減することは、定位放射線治療や強度変調放射線治療などの照射法、重粒子線治療や粒子線治療を用いても困難である。α線を用いたホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) はそれらが可能で、悪性神経膠腫に対して OS 中央値 25.7 ヶ月と良好な治療成績が報告されており、脳幹浸潤を呈する病変は BNCT のより良い適応になり得る可能性がある。一方、高齢者や全身状態不良例には線量を低減した寡分割照射でも標準治療と同等の治療成績が得られると報告されている。これらの治療は有害事象が少なく、脳幹浸潤のある悪性神経膠腫の患者に対して治療選択肢の一つになるかもしれない。

## 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和 5 年 1 月 27 日、1 月 31 日、2 月 1 日に論文審査委員は学位申請者の出席を求め、論文審査を行った。

神経膠腫と診断される患者は日本で年間 4000~5000 人おり、標準治療は手術および術後化学放射線療法が行われるが、特に膠芽腫では良い治療成績が得られていない。予後因子として最も重要なのは O-6-methylguanine-DNA methyltransferase(MGMT)遺伝子のメチル化であり、その他に年齢、KPS、手術摘出度、1p19q 遺伝子の共欠失などが挙げられる。高齢者では予後、副作用の観点から照射線量の低減が行われることも多い。

本研究は後ろ向き観察研究で、和歌山県立医科大学附属病院において 2014 年 1 月から 2019 年 12 月の期間に選択基準として①病理学的に悪性神経膠腫と診断、②術後の放射線治療を施行、③放射線治療開始時の年齢が 18 歳以上の 3 項目、除外基準として④観察期間が 60 日以内 (死亡例を除く)、⑤画像所見のみで Grade II から Grade III もしくは IV への悪性転化と判断の 2 項目を満たした計 43 名の患者を対象とした。年齢の中央値は 62 歳 (18-80)、男性/女性 19/24 名、初診時の ECOG-PS は 0-1/2 が 37/6 名、WHO 分類で Grade III/IV が 17/26 名、MGMT 遺伝子は野生型/メチル化が 21/22 名 (methylation の cutoff 値 1%) であった。腫瘍サイズの中央値は 41mm (5-92mm)、術前 MRI (FLAIR) で脳幹浸潤を認めたのが 10 名、原発部位が基底核が 8 名であった。手術法は全摘出術もしくは亜全摘出術が 28 名、生検術が 15 名、照射線量の中央値は 60Gy (29.37-60Gy)、年齢や ECOG-PS を考慮して 10 名で寡分割照射が施行された。照射方法は IMRT/3D-CRT が 41/2 名であった。

結果として 18 名が観察期間内で原病死し、25 名が経過観察中である。25 名の観察期間中央値は 492 日 (99-1979 日) であった。全患者の OS 中央値は 989 日、1/2 年生存率は 87.6/67.3% であった。WHO 分類別で見ると、Grade III で OS 中央値は未到達、1/2 年生存率は 94.1/78.7%、Grade IV では OS 中央値は 814 日、1/2 年生存率は 82.6/58.7% であった。無増悪生存率は Grade III で 1/2 年で 64.7/43.7%、Grade IV では 1/2 年で 53.7/35.8% であった。予後予測因子の検討として単変量解析が行われ、5 つの因子 (MGMT 遺伝子の野生型、脳幹浸潤、基底核原発、照射法が 3D-CRT、照射線量が 50Gy 未満) が有意に OS を低下させた。総線量は ECOG-PS 不良例で低く、3D-CRT の治療患者数が 2 名と少数であったため、これらを除いた 3 因子で多変量解析が施行された。結果として脳幹浸潤のみが OS 低下に寄与する独立した予後因子であった。

本論文は脳幹浸潤が高悪性神経膠腫患者の新たな予後予測因子となり、治療方針の選択に寄与する可能性を示唆するものであり、学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1036号		
学位授与の日	令和5年2月14日		
氏名	前田 真範		
学位論文の題目	Predicting the Onset of Acute Encephalopathy With Biphasic Seizures and Late Reduced Diffusion by Using Early Laboratory Data. (けいれん発症後早期の血液検査値を用いてけいれん重積型急性脳症の発症を予測する)		
論文審査委員	主査	井上 徳光 教授	
	副査	伊東 秀文 教授	徳原 大介 教授

## 論文内容の要旨

【はじめに】急性脳症は主に東アジアでみられる感染症関連中枢神経疾患であり、壊死性脳症やけいれん重積型急性脳症(AESD)など疾患概念の確立された症候群を含む。AESDではearly seizure後にビタミン類の投与や脳低温療法などの介入をすることで予後を改善できる可能性が報告されてきているが、late seizure出現前にAESDと熱性けいれん(FS)を鑑別することが難しく、発症後早期の介入を阻んでいる。Tadaら、YokochiらからAESDの発症を予測するスコアが提唱され、臨床に応用されている。ただこれらのスコアは最初の血液検体のみを対象としていて、時間経過に伴う血液検査値の変動は検討されていない。また血液検査値の他に、けいれん時間や意識障害の程度など担当医によって評価に差が生じる項目が含まれており、また抗けいれん薬の使用による意識レベル低下と区別しにくいこともあり、より客観的に評価が可能なスコアが必要と考えて今回検討した。

【方法】2005年10月から2020年9月の間で鳥取大学医学部附属病院へ入院し最終的にAESD、FSと診断された症例を対象として、けいれん持続時間、発症からのすべての血液検査値(血糖[BS]、クレアチニン[Cr]、AST、ALT、LDH、CK、CRP、白血球[WBC]、血小板、アンモニア[NH3]、pH)を収集した。最初のけいれん出現から検体採取までの時間を採取時間として計算した。

【結果】①患者背景の比較でAESD群の方が有意にけいれん持続時間が長かった。多変量解析を用いた結果、BS、Cr、WBC、NH3、pHの5項目において、けいれん持続時間とは独立して採取時間とAESD/FSの診断が有意に数値の変化に寄与していた。②採取時間を3時間未満、3時間以上24時間未満、24時間以上の3期間に区分し、各期間で上記5項目の血液検査値をAESD群とFS群で比較した。結果、発症後3時間未満の採取でBS、Cr、WBC、NH3はAESD群で有意に高値、pHは有意に低値だったが、3時間以上の期間ではFS群との有意差がみられなかった。③発症後3時間以内に限った5項目の血液検査値について、AESDとFSを区別するカットオフ値をROC曲線から求め、点数付けし、予測スコアを作成した。BS  $\geq$  220 mg/dL、Cr  $\geq$  0.35 mg/dLをそれぞれ2点、WBC  $\geq$  25,000 /mL、NH3  $\geq$  75 mg/dL、pH  $\leq$  7.25をそれぞれ1点としたところ、カットオフ値3点で感度91%、特異度94%の精度でAESDを予測することができた。またTadaら、Yokochiらの報告と同様に、けいれん持続時間、意識レベルを含めたスコアも同様の手順で作成した。先述のスコアにけいれん持続時間  $\geq$  30分で1点、Glasgow Coma Scale  $\leq$  14で2点を加えたところ、カットオフ値6点で感度91%、特異度96%と、血液検査値のみの予測スコアとほとんど精度は変わらなかった。

【結論】血液検査値は時間経過で急速に変化し、今回の研究では発症後3時間未満でのみAESD群とFS群の有意差がみられた。多くの施設で緊急検査として測定できる項目を用いてAESDの発症を客観的に予測できることは臨床上有用と考えられた。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和5年1月31日及び2月2日に、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を口頭で行った。

けいれん重積型急性脳症(AESD)は東アジア圏の小児に好発し、6割以上に神経学的後遺症を残す。AESDは発症時のけいれん発作(early seizure)と第5病日前後の発作(late seizure)という二相性の経過をとる。Late seizure後の介入は脳低温療法を含めて効果が示されておらず、early seizure後のビタミン類投与や脳低温療法などの介入が予後を改善しうることが報告されてきている。しかしlate seizure出現前にAESDと熱性けいれん(FS)を鑑別することが難しく、発症後早期の介入を阻んでいる。今回、AESDとFSを早期に鑑別するスコアを考案した。

2005年10月から2020年9月の間で鳥取大学医学部附属病院へ入院し最終的にAESD、FSと診断された症例を対象とした。患者背景の比較で、AESD群はFS群よりも有意にけいれん持続時間が長かった。多変量解析を用いた結果、BS、Cr、WBC、NH<sub>3</sub>、pHの5項目において、けいれん持続時間とは独立して発作から検体採取までの時間とAESD/FSの診断が有意に血液検査値の変化に寄与していた。

採取時間を3時間未満、3時間以上24時間未満、24時間以上の3期間に区分し、各期間で上記5項目の血液検査値をAESD群とFS群で比較した。発症後3時間未満の採取でBS、Cr、WBC、NH<sub>3</sub>はAESD群で有意に高値、pHは有意に低値だったが、3時間以上の期間ではFS群との有意差がみられなかった。

発症後3時間未満に限った5項目の血液検査値について、AESDとFSを区別するカットオフ値をROC曲線から求め、点数付けし、予測スコアを作成した。BS  $\geq$  220 mg/dL、Cr  $\geq$  0.35 mg/dLをそれぞれ2点、WBC  $\geq$  25,000 / $\mu$ L、NH<sub>3</sub>  $\geq$  75  $\mu$ g/dL、pH  $\leq$  7.25をそれぞれ1点としたところ、カットオフ値3点で感度91%、特異度94%の精度でAESDを予測することができた。既報のスコアに含まれる項目(けいれん持続時間、意識レベル)を含めたスコアも同様の手順で作成した。先述のスコアにけいれん持続時間  $\geq$  30分で1点、Glasgow Coma Scale  $\leq$  14で2点を加えたところ、カットオフ値6点で感度91%、特異度96%と、血液検査値のみの予測スコアとほとんど精度は変わらなかった。血液検査値は時間経過で急速に変化し、今回発症後3時間未満でのみAESD群とFS群の有意差がみられた。緊急で測定しやすい項目を用いてAESDの発症を客観的に予測できることは臨床上有用と考えられた。

本研究は、late seizure出現前に、AESDとFSを客観的な血液検査のみで鑑別することができることを示した極めて有用な論文である。将来、AESDを早期に予測して、治療介入することによって、AESD発症を抑制できる可能性が期待され、博士学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医)乙第1037号		
学位授与の日	令和5年3月7日		
氏名	原田 悌志		
学位論文の題目	Association between acetabular dysplasia and sagittal spino-pelvic alignment in a population-based cohort in Japan (日本の一般住民コホートにおける寛骨臼形成不全と脊椎骨盤矢状面アライメントの関連)		
論文審査委員	主査	教授 金井 克光	
	副査	教授 園村 哲郎	教授 山田 宏

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

股関節と脊椎が関連することは、1983年に Offierski と MacNab が hip-spine syndrome として報告しており、股関節疾患の病態を理解するうえで、脊椎骨盤アライメントが及ぼす影響を明らかにすることは重要である。寛骨臼形成不全 (acetabular dysplasia: AD) は変形性股関節症の主要な関連因子であり、本邦では AD に伴う二次性変形性股関節症がほとんどである。AD では寛骨臼の被覆不良を補うために骨盤が前傾することが報告されているが、脊椎骨盤アライメントとの関連についての詳細は明らかにされていない。

### 【目的】

大規模一般住民コホート調査により、AD と脊椎骨盤アライメントの関連性を解明することである。

### 【対象】

本研究は、骨関節疾患をターゲットとした地域住民コホート研究である The Research on Osteoarthritis/Osteoporosis Against Disability (ROAD) study の第3次検診(2012年10月から2013年12月にかけて実施)に和歌山県内2地域(日高川町;山村部、太地町;漁村部)から参加した一般住民1575人のうち、股関節の手術歴やデータの不備があったものなどを除いた1481人(男性491人、女性990人、平均年齢65.3歳)を対象とした。

### 【方法】

対象者の年齢、性別、身長、体重、BMI、過去1か月以内の股関節痛の有無について調査した。ADの評価として、股関節立位正面X線像より center-edge (CE)角を計測し、CE角 $< 20^{\circ}$ をADと定義した。脊椎骨盤アライメントの評価は、全脊柱立位側面X線像より lumbar lordosis (LL)、sacral slope (SS)、pelvic tilt (PT)、pelvic incidence (PI)といった矢状面における脊椎骨盤アライメント変数を計測して行った。

統計学的評価として、カイ二乗検定を用いてADの有所見率を男女間で比較した。ADの有無における年齢、身長、体重、BMI、各脊椎骨盤アライメント変数の比較はt検定を用いた。ADと脊椎骨盤アライメントの関連性を調査するために、単変量解析で統計学的に有意差のあったものを説明変数とした多重ロジスティック回帰分析を行い、オッズ比を95%信頼区間(95%CI)とともに示した。

### 【結果】

ADの有所見率は男性8.6%、女性14.5%であり、女性のほうが有意に高かった( $p=0.011$ )。AD群は非AD群より有意に若齢であった。脊椎骨盤アライメント変数は、AD群でSS( $p=0.0291$ )、PI( $p=0.0092$ )が有意に大きく、LL、PTでは有意差はみられなかった。

ADの有無を目的変数とし、年齢、性別、SS、PIを説明変数とした多重ロジスティック回帰分析では、ADとSS、PIの有意な関連はみられなかったが、PIに関しては正の相関を示した(オッズ比1.02、95%CI 1.00-1.04)。

AD群の中で、過去1か月以内の股関節痛を有りとしたのは5.4% (10/186名)であった。ADに関連した股関節痛の有無において、脊椎骨盤アライメント変数の有意差は認めなかった。

#### 【考察】

過去の報告によれば、ADでは腰椎過前弯 (LL増加) と骨盤前傾 (SS増加) を伴うとされているが、本研究では、ADとLL、SSの有意な関連はみられなかった。一方で、骨盤形態の指標とされるPIについては、有意ではないものの正のオッズ比を示したことから、PIの増加がADの関連因子である可能性が示唆された。ADでは、正常股関節と比べて大腿骨頭が上方化するなどの形態的变化がみられるため、このようなADにおける形態的特徴がPIの増加と関連している可能性が考えられた。

また、ADに関連した股関節痛の有無と脊椎骨盤アライメント変数の有意な関連はみられなかったことから、ADによる二次性変形性股関節症の発症・増悪に及ぼす脊椎骨盤矢状面アライメントの影響は少ないのかもしれない。しかし、股関節痛を有する対象者数が少なかったため、ADにおける股関節痛の有無と脊椎骨盤アライメントとの関連性を解明するには十分ではなかった可能性がある。

#### 【結語】

本研究により、日本の一般住民コホートにおけるADと脊椎骨盤アライメントの関連が明らかになった。PIの増加がADの関連因子である可能性が示唆され、ADと骨盤の形態的特徴が関連している可能性がある。

### 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和5年2月15日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を行った。

股関節と脊椎は相互に関連するため、股関節疾患の病態を理解するうえで、脊椎骨盤アライメントが及ぼす影響を明らかにすることは重要である。本研究は、大規模地域住民コホート調査により、変形性股関節症の主要な関連因子である寛骨臼形成不全 (AD) と脊椎骨盤アライメントの関連性を解明したものである。

参加者1481人に対し、股関節単純X線像からADの有無を判定した。さらに、全脊柱立位側面X線像からlumbar lordosis (LL)、sacral slope (SS)、pelvic tilt (PT)、pelvic incidence (PI)といった脊椎骨盤矢状面アライメント変数を計測し、ADとの関連について調査した。

ADの有所見率は男性8.6%、女性14.5%と女性に多くみられ、平均年齢はAD群の方が有意に若齢であった。脊椎骨盤アライメント変数は、AD群でSS ( $p=0.0291$ )、PI ( $p=0.0092$ ) が有意に大きく、LL、PTでは有意差はみられなかった。多重ロジスティック回帰分析では、ADと脊椎骨盤アライメント変数の有意な関連はみられなかったが、PIについては正の相関を示した (オッズ比1.02、95%CI 1.00-1.04)。また、AD群における股関節痛の有無において、脊椎骨盤アライメントの有意な変化はみられなかった。

ADでは寛骨臼の被覆不良に対する代償として腰椎過前弯 (LL増加) と骨盤前傾 (SS増加) を伴うと報告されているが、本研究では、ADとLL、SSの有意な関連はみられなかった。一方で、骨盤形態の指標とされるPIについては、有意ではないものの正のオッズ比を示したことから、PIの増加がADの関連因子である可能性が示唆された。ADでは大腿骨頭の上方向化などの形態的变化がみられることから、PIの増加はADにおける骨盤の形態的特徴をあらわしている可能性が考えられた。本研究では、ADに関連した股関節痛の有無と脊椎骨盤アライメントの有意な関連はみられなかったが、股関節痛を有する対象者数が少なかったため、ADにおける股関節痛の有無と脊椎骨盤アライメントとの関連性を解明するには十分ではなかったと考える。

本論文は、日本の一般住民コホートにおいてADと脊椎骨盤矢状面アライメントの関連性を解明したものであり、ADと骨盤の形態的特徴が関連している可能性を示唆したという点で非常に意義深く、学位論文として価値あるものと認めた。



学位記番号	博(医)甲第1038号		
学位授与の日	令和5年3月7日		
氏名	柴田 真未		
学位論文の題目	Activities of daily living and psychiatric symptoms after intensive care unit discharge among critically ill patients with or without tracheostomy: a single center longitudinal study (気管切開を行った重症患者における集中治療退室後の日常生活動作と精神症状: 単一施設縦断研究)		
論文審査委員	主査	教授 川股 知之	
	副査	教授 紀本 創兵	教授 加藤 正哉

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

気管切開は長期人工呼吸管理や気道確保などを目的に重症患者の約10%に行われるが、気管切開患者の1年後死亡率は極めて高い。また、集中治療室(ICU)での治療を受けた後、長期的に生じる身体機能障害、精神障害、認知機能障害はPost-intensive care syndrome (PICS)といわれ、気管切開患者においても懸念されるが、気管切開患者におけるPICSについての検討は少なく、気管切開患者におけるPICSは十分に解明されていない。

### 【目的】

気管切開を行った重症患者における長期的な日常生活動作(ADL)の障害や精神症状について明らかにする。

### 【方法】

#### 1. Wakayama-PICS (W-PICS) 研究の概要

W-PICS研究は2016年9月～2018年8月にかけて、当院ICUに緊急入室した20歳以上の患者を対象とし、ICU退室から3カ月後と12カ月後のADL障害および精神症状(抑うつ症状・不安症状・心的外傷後ストレス障害[PTSD])を調査した単一施設前向き縦断研究である。48時間以内に死亡が予想される患者は除外した。郵送でのアンケート調査を行い、ADL障害はBarthel Index (BI)、抑うつ症状と不安症状はHospital Anxiety and Depression Scale (HADS)、PTSDはImpact of Event Scale-Revised (IES-R)を用いて評価した。

#### 2. 対象

本研究はW-PICS研究のサブ解析であり、W-PICS研究に組み込まれた204人の患者のうち、3ヶ月後と12ヶ月後ともにアンケートに返答のあった患者を対象とし、入院中に気管切開が行われた患者(気管切開群)と行われなかった患者(非気管切開群)で比較検討した。

#### 3. 評価項目

主要評価項目は、3カ月後および12カ月後のADL障害および精神症状とした。また、気管切開群の3カ月後から12カ月後のBIにおけるADLの各項目の変化についても記述した。BIは0(完全依存)～100(完全自立)で評価され、BIが60点以下をADL障害とした。抑うつ症状と不安症状はHADSの下位尺度(HADS-Depression [HADS-D]とHADS-Anxiety [HADS-A])を用いて評価し、下位尺度はそれぞれ0～21点で、スコアが高いほど症状が悪い。HAD-A、-Dがそれぞれ8点以上で症状ありとした。PTSDは0～88点で評価され、点が高いほど症状が悪く、25点以上で症状ありとした。

#### 4. 統計解析

二群間の比較において連続変数にはWilcoxon順位和検定を、カテゴリ変数にはカイ二乗検定を使用した。ただし、期待度数が5未満のセルがある場合の比較にはFisherの正確検定を用いた。

### 【結果】

3カ月後で117人(気管切開群15人)、12カ月後で74人(気管切開群13人)を解析した。3カ月後の

患者全体の年齢の中央値は 71 (60-78) 歳、男性は 67 人 (57%) であった。意識に直接影響を与えうる疾患であった患者が気管切開群 6 人 (40%) で非気管切開群 11 人 (11%) と比べ有意に多かった ( $P=0.003$ )。気管切開群の人工呼吸期間は 11 日 (7-21) と非気管切開群 3 日 (2-6) より長く ( $P=<0.0001$ )、ICU 滞在期間は 11 日 (9-21)、5 日 (3-7) ( $P=<0.0001$ ) で、入院期間も 48 日 (35-60)、28 日 (16-42) ( $P=0.001$ ) と有意に長かった。気管切開理由は、遷延性意識障害 4 人 (26%)、上気道閉塞 4 人 (26%)、呼吸不全 3 人 (20%)、気道分泌物の管理 2 人 (13%)、その他 2 人 (13%) であり、気管切開群の全患者が退院時には呼吸器から離脱できていた。

主要評価項目について 3 か月後の気管切開群と非気管切開群の BI はそれぞれ、65 (10-100)、95 (59-100) ( $P=0.28$ ) で ADL 障害がみられたのは 7 人 (47%)、30 (30%) ( $P=0.23$ ) であり、気管切開群で多い傾向があったが、両群に有意差はなかった。3 か月後の気管切開群と非気管切開群の HADS-D は 6 (6-10)、7 (4-11) ( $P=0.76$ ) で、有症状は 4 人 (40%)、40 人 (49%) ( $P=0.74$ )、HADS-A は 8 (5-10)、6 (2-9) ( $P=0.16$ ) で、有症状は 6 人 (60%)、31 人 (40%) ( $P=0.31$ ) と有意差はなかった。また、IES-R は 11 (2-15)、10 (3-23) ( $P=0.69$ ) で、有症状は 1 人 (13%)、16 人 (21%) とこちらも両群で有意差はなかった。12 か月後の BI、HADS-D、HADS-A、IES-R についても 3 か月後と同様の結果であった。

### 【考察・結語】

本研究では、全患者が退院時に呼吸器離脱ができていたことに留意する必要があるが、ICU 退室 3 ヶ月後および 12 ヶ月後の気管切開患者の BI、HADS、IES-R は非気管切開患者と比べて有意に悪化していなかった。

気管切開患者の長期的な精神障害に関しては、1 年後も高率にうつ症状がみられたという報告がある一方、非気管切開患者と比較して差がないという報告もみられる。本研究では気管切開は長期的な精神障害の発生に関連していなかった。過去には健康関連 QOL の精神的側面を評価した研究が多いが、本研究では特定の精神症状を評価しており、気管切開患者の精神症状のさらなる理解につながる可能性がある。

気管切開患者の長期的な身体機能に関して、急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) の患者では、数年にわたり身体機能が制限されていたという報告がある。しかし、ARDS 以外の患者も含む報告では、退院時に低下していた身体機能が 1 年かけて改善していた。本研究でも、3 か月後から 12 か月後にかけて ADL 障害はやや改善しており、この結果は ARDS 以外の理由での気管切開が多かったことによるものと考えられ、長期的な身体機能に気管切開理由が影響する可能性が示唆された。

高齢の重症患者は、意思決定能力に乏しい状態のことが多く、代理意思決定が必要となるが、その際には生命予後のみならず、長期的な PICS の情報提供は必要不可欠である。今回の知見は、重症患者を対象とした気管切開術の意思決定に役立つ可能性があるが、患者数が少ないため、さらなる大規模な検討が必要である。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和5年2月17日及び2月21日、論文審査担当者は学位申請者に出席を求め、学位論文について審査を行った。

集中治療室（ICU）での治療後、長期的に生じる身体機能障害、精神障害、認知機能障害はPost-intensive care syndrome（PICS）といわれ近年注目されており、本邦でのPICSの疫学を調査するためにWakayama-PICS（W-PICS）研究が行われた。W-PICS研究は当院ICUに緊急入室した20歳以上の患者を対象とし、ICU退室から3カ月後と12カ月後の日常生活動作（ADL）の障害および精神症状（抑うつ症状・不安症状・心的外傷後ストレス障害〔PTSD〕）をアンケート調査した単一施設前向き縦断研究である。

ICU患者では約10%で気管切開が行われ、重症度が高いと報告されており、気管切開患者においてもPICSが懸念されるが、十分に検討されていないため、気管切開を行った重症患者のPICSについて明らかにすることを目的にW-PICS研究のサブ解析として本研究を行った。W-PICS研究に組み込まれた204人のうち、3カ月後と12カ月後ともにアンケートに返信のあった患者を対象とし、気管切開群と非気管切開群に分けて比較検討した。主要評価項目は、3カ月後および12カ月後のADL障害および精神症状とした。3カ月後で117人（気管切開群15人）、12カ月後で74人（気管切開群13人）を解析した。気管切開群で意識に直接影響を与えうる疾患が有意に多く、人工呼吸期間、ICU滞在期間、入院期間も有意に長かった。気管切開理由は、遷延性意識障害4人（26%）、上気道閉塞4人（26%）、遷延性呼吸不全3人（20%）、気道分泌物の管理2人（13%）、その他2人（13%）であり、気管切開群の全患者が退院時には呼吸器から離脱できていた。3カ月後の気管切開群と非気管切開群でADL障害がみられたのは7人（47%）、30人（30%）（ $P=0.23$ ）であり、気管切開群で多い傾向があったが、両群に有意差はなかった。3カ月後の気管切開群と非気管切開群で抑うつ症状がみられたのは4人（40%）、40人（49%）（ $P=0.74$ ）、不安症状がみられたのは6人（60%）、31人（40%）（ $P=0.31$ ）と有意差はなかった。また、PTSD症状がみられたのはそれぞれ1人（13%）、16人（21%）と両群で有意差はなかった。12カ月後のADL障害、精神症状についても3か月後と同様の結果であった。

本研究は気管切開群が長期人工呼吸を要する患者群ではなかったことに留意する必要があるが、短期的な気管切開であれば長期的なADL障害、精神症状に影響しない可能性を示唆しており、今後のICUでの気管切開の意思決定に有用な情報となるという点で学位論文として価値あるものと認めた。

学位記番号	博(医) 乙第1039号		
学位授与の日	令和	5年	3月 22日
氏名	寒川浩道		
学位論文の題目	Impact of left ventricular ejection fraction and preoperative hemoglobin level on perioperative adverse cardiovascular events in noncardiac surgery (非心臓手術における左室駆出率および術前ヘモグロビンと周術期心血管イベントとの関連についての検討)		
論文審査委員	主査	教授	近藤稔和
	副査	教授	田中篤
		教授	西村好晴

## 論文内容の要旨

### 【背景】

非心臓手術における周術期心血管イベント(perioperative adverse cardiovascular event ; PACE)は、非心臓手術を施行する患者の予後不良に関連している。以前の研究では非心臓手術の致死率は0.8%-1.7%と報告されており、そのうち PACE が約 40-60%を占めるとされている。そのように非心臓手術における PACE 予測は、非心臓手術を施行される患者の周術期管理において重要な問題である。過去の研究では高リスク手術、虚血性心疾患の既往、うっ血性心不全歴、脳血管障害既往、術前インスリン治療、術前クレアチニン 2.0 以上は非心臓手術の PACE の独立した予測因子と定義されている。負荷心筋シンチ検査、冠動脈 CT、冠動脈造影が非心臓手術における PACE の予測に有益であるとの報告があるが、それらは侵襲的、時間依存、および医療コストを必要とする検査である。そのためより簡便で非侵襲的かつ安価な検査での予測因子が求められている。

この研究の目的は非心臓手術症例において、静脈採血、12誘導心電図、経胸壁心エコーなどのルーチン検査により PACE の予測因子を明らかにすることである。

### 【対象と方法】

#### 1. 対象

2012年5月-2014年3月までに全身麻酔、腰椎麻酔、および局所麻酔による待機的手術を施行予定の症例で、不整脈や異常 Q 波、ST/T 変化を含む 12 誘導心電図異常や、不整脈、虚血心疾患、心臓弁膜症の既往があるために、和歌山県立医科大学附属病院循環器内科外来に術前の心血管リスク評価目的に紹介となった 15 歳以上の 817 人を後ろ向きに検討した。緊急手術は除外した。術前検査後、手術が中止または延期された 94 人 (11.5%) も除外した。最終的に 723 人において待機的手術が施行された。

#### 2. 周術期心血管イベント(PACE)の定義

PACE は、術後 30 日以内の心臓死、非致死的心筋梗塞、不安定狭心症、うっ血性心不全、緊急治療の必要な不整脈発作 (頻脈性心房細動、心室頻拍、徐脈)、急性肺血栓塞栓症、心静止、無脈性電気活動、および脳卒中と定義した。不整脈発作はベータブロッカーを含む抗不整脈薬、電気ショック、一時ペーシングなどの緊急治療が必要な頻脈性心房細動、心室頻拍、および徐脈とした。

#### 3. 統計的解析

統計解析は JMP13.0 を使用した。多変量解析は、非心臓手術における PACE の独立した予測因子を決定するために施行した。単変量解析で P 値が 0.05 未満であった因子を用いて多変量解析を行った。LVEF 値と PACE の発生率の関連についての解析ではコクランアーミテージテストを使用した。PACE を予測する因子のカットオフ値を求めるために、感度、特異度、area under the curve (AUC) にて Receiver operating characteristic curve (ROC 曲線) を解析した。P 値が 0.05 未満を統計的に有意とした。

## 【結果】

非心臓手術における PACE は、723 人のうち 54 人 (7.5%) に発生した。非 PACE 群に比して、PACE 群では、有意に年齢が高く (75±7 vs. 71±13, P=0.049)、慢性腎臓病が多く (20% vs. 10%, P=0.023)、また高リスク手術が多くみられた (11% vs. 3%, P=0.003)。非 PACE 群に比して、PACE 群では、有意に左室駆出率が低く (55±8% vs. 60±7%, P=0.001)、術前ヘモグロビン値が低く (11.8±2.2g/dl vs. 12.7±2.0g/dl, P=0.001)、また eGFR が低かった (57.3±24.4 ml/min/1.73m<sup>2</sup> vs. 64.9±24.8 ml/min/1.73m<sup>2</sup>, P=0.031)。多変量解析では、高リスク手術 (odds ratio(OR): 7.05, 95% confidence interval(CI) 2.16-23.00, P=0.001)、左室駆出率 (OR: 1.06, every 1% decrement, 95%CI 1.03-1.09, P=0.001)、および術前ヘモグロビン値 (OR: 1.22, every 1 g/dl decrement, 95%CI 1.07-1.39, P=0.003) が非心臓手術における PACE の独立した予測因子であった。PACE を予測する適正なカットオフ値は、左室駆出率 58% (感度 80%、特異度 61%、AUC0.723)、術前ヘモグロビン値 12.2g/dl (感度 63%、特異度 64%、AUC0.644) であった。

## 【考察と結語】

LVEF58%未満の症例は冠動脈疾患、心筋症、心房細動等の心疾患に罹患していることが多く、出血、血管内ボリュームの変動、レニンアンギオテンシン系亢進、低酸素、ストレスを契機として心筋虚血、うっ血、凝固系亢進、電氣的不安定性を介して PACE 発生に寄与すると考えられる。術前の低ヘモグロビンを呈する症例では、高齢 腎機能低下 悪性腫瘍、低栄養合併しており出血、血管内ボリュームの増加、低酸素、血圧低下を契機として 貧血進行による組織低酸素、腎機能障害による尿量低下、凝固系亢進による血栓塞栓、交感神経亢進による電氣的不安定性を介して PACE 発生に寄与すると考えられる。

術前輸血を施行した研究では、PACE の発生率増加と致死率増加を来したとの報告がある。術前エリスロポエチン投与と鉄剤投与で介入した整形外科手術の研究では、輸血を減らし、患者の転帰を改善したとの報告がある。低ヘモグロビンを呈する非心臓手術症例において、貧血に対する術前介入が、術後の予後を改善するかを検証する余地がある。

本研究により高リスク手術、低左室駆出率、および術前低ヘモグロビン値が、非心臓手術における PACE の予測因子であることが明らかになった。本研究の成果は、非心臓手術症例において、術前の LVEF とヘモグロビン値で簡便で非侵襲的に PACE の高リスク群を同定でき、PACE の発症予防に役立つと期待される。

## 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和 5 年 2 月 28 日論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を行った。

非心臓手術における周術期心血管イベント(perioperative adverse cardiovascular event ; PACE) は、非心臓手術を施行する患者の予後不良に関連している。非心臓手術における PACE 予測は、非心臓手術を施行される患者の周術期管理において重要な問題である。簡便で非侵襲的かつ安価な検査での予測因子が求められているとされている。

本論文の結果では PACE の発生率は 7.5%であった。多変量解析による検討では高リスク手術、左室駆出率、術前ヘモグロビン値は PACE の独立した予測因子であった。ROC 解析では、術前ヘモグロビン値 12.2g/dl と左室駆出率 58%が PACE を予測する適正なカットオフ値であった。

本論文は非心臓手術における左室駆出率および術前ヘモグロビンと周術期心血管イベントとの関連について検討し、高リスク手術、低左室駆出率、および術前低ヘモグロビン値が、非心臓手術における PACE の予測因子であることが明らかにしたものである。

本論文の成果は、非心臓手術症例において、術前の LVEF とヘモグロビン値で簡便で非侵襲的に PACE の高リスク群を同定できることを報告したもので、PACE の発症予防に寄与する可能性を示唆したものであり、学位論文として価値のあるものと認めた。