

信州大学において審査された医学博士論文要旨

氏名 (所属教室)	学位授与 番号	授与年月日	博 士 論 文 名	学位審査委員	
				主 査	副 査
砥石政幸 (外科学(2))	乙第1177号	26. 8.27	Usefulness of vessel-sealing devices for ≤ 7 mm diameter vessels : a randomized controlled trial for human thoracoscopic lobectomy in primary lung cancer (7 mm以下の脈管に対する vessel-sealing device の有用性: 原発性肺癌に対する胸腔鏡下肺葉切除術におけるランダム化比較試験)	本田孝行	小泉知展 花岡正幸
狩野修治 (運動機能学)	乙第1178号	26. 8.27	Comparison between continuous and discontinuous multiple vertebral compression fractures (連続型多発椎体圧迫骨折と非連続型多発椎体圧迫骨折の比較)	加藤博之	角谷眞澄 森泉哲次
天正恵治 (運動機能学)	乙第1179号	26.11.12	Bony Landmarks of the Anterior Cruciate Ligament Tibial Footprint : A Detailed Analysis Comparing 3-Dimensional Computed Tomography Images to Visual and Histological Evaluations(3D-CT画像と肉眼的・組織所見との比較)	角谷眞澄	本郷一博 栗田 浩
石田公美子 (麻酔蘇生学)	乙第1180号	26.12.24	Calcitonin gene-related peptide is involved in inflammatory pain but not in postoperative pain (カルシトニン遺伝子関連ペプチドは炎症性疼痛に関与するが術後痛には関与しない)	山田充彦	森泉哲次 加藤博之
日高義彦 (小児医学)	乙第1181号	27. 1.14	Cytokine production profiles in chronic relapsing-remitting experimental autoimmune encephalomyelitis: IFN- γ and TNF- α are important participants in the first attack but not in the relapse (慢性再発寛解型実験的自己免疫性脳脊髄炎におけるサイトカイン産生プロファイル; IFN- γ , TNF- α は初回発症では重要だが, 再発への関与は乏しい)	小池健一	池田修一 田 渕 克 彦
宮下光弘 (精神医学)	乙第1182号	27. 1.14	Clinical features of schizophrenia with enhanced carbonyl stress (カルボニルストレスが亢進する統合失調症の臨床特徴)	池田修一	鈴木龍雄 福嶋義光
津田洋子 (社会予防医学)	乙第1183号	27. 3.11	Seasonal Difference in Percutaneous Absorption of <i>N,N</i> -Dimethylformamide as Determined Using Two Urinary Metabolites (2種類の尿中代謝物濃度から推計した <i>N,N</i> -ジメチルホルムアミドの経皮吸収の季節差)	福嶋義光	浅村英樹 本田孝行

Usefulness of vessel-sealing devices for ≤ 7 mm diameter vessels : a randomized controlled trial for human thoracoscopic lobectomy in primary lung cancer (7 mm 以下の脈管に対する vessel-sealing device の有用性 : 原発性肺癌に対する胸腔鏡下肺葉切除術におけるランダム化比較試験)

砥石 政幸

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】近年、肺葉切除術のアプローチとして胸腔鏡下手術が普及したが、小さな操作孔を介して行う結紮は容易ではない。術者に多大なストレスを与え、場合によっては不完全な結紮、不適切な電気メス使用、牽引による損傷を招き、出血やリンパ瘻を生じる。Vessel Sealing Device (VSD) は既に様々な手術で使用されている。胸腔鏡下手術においても結紮の回数を減少させ、細径の血管、リンパ管のより確実な処理を可能にさせる Device であるが、ヒトの胸腔鏡下肺葉切除術において、それを立証した報告は少ない。今回我々はより安全で簡便で経済的な胸腔鏡下肺葉切除術の確立を目指し、VSD の有用性の検討を行った。

【対象と方法】2011年4月から2013年3月まで、当科で原発性肺癌に対する胸腔鏡下肺葉切除術及び2群リンパ節郭清を予定された患者を対象に、VSD 使用群 (EnSeal 群, LigaSure 群, Harmonic 群) と VSD 非使用群 (control group : 結紮と従来の電気メス使用のみ) に、単純無作為に割り付けを行い解析した。主要評価項目は VSD または結紮で処理した肺動脈断端の破綻圧 (切除標本を用いて測定)、手術時間、術中出血量、自動縫合器の使用回数、術中の術者ストレス (Visual Analog Scale にて評価)、術後ドレーン排液量、術後ドレーン留置期間である。各 VSD 使用群間での比較も行った。

【結果】VSD 使用群44例 (EnSeal 群17例, LigaSure 群15例, Harmonic 群12例)、VSD 非使用群14例が解析対象となった。各群の症例背景に有意差は認めなかった。肺動脈切除断端破綻圧は、VSD 処理断端 309 ± 193 mmHg に対して結紮処理断端は 1142 ± 486 mmHg で、結紮処理断端の破綻圧が有意に高かった ($p < 0.0001$)。また 5 mm 未満の VSD 処理断端の破綻圧 (351 ± 187 mmHg) は、5 mm 以上のそれ (254 ± 191 mmHg) に対して有意に高かった ($p = 0.0421$)。しかし、いずれの群、及びいずれの血管径における破綻圧も、生理的肺動脈圧に十分に耐えうる強度を有していた。臨床データの比較では VSD 使用群は有意に術中出血量を減少させ (122 ± 98 ml 対 217 ± 157 ml, $p = 0.0241$)、

術者ストレスを軽減し (47 ± 20 対 69 ± 16 , $p = 0.0002$)、術後ドレーン排液量を減少させ (437 ± 213 ml 対 613 ± 320 ml, $p = 0.0358$)、術後ドレーン留置期間を短縮した (4.1 ± 2.0 日対 5.7 ± 3.1 日, $p = 0.0449$)。手術時間と自動縫合器の使用回数に有意差は認めなかった。各 VSD 使用群間の比較では、全ての項目で有意差を認めなかった。本試験に enrollment した患者に重篤な周術期合併症、手術関連死亡はなかった。

【結語】原発性肺癌に対する2群リンパ節郭清を伴う胸腔鏡下肺葉切除術において、VSD は安全で簡便に使用でき有用である。各 VSD 間で臨床上的優劣は認めず、その選択は術者の使用感を優先し、よりストレスなく手術を行うことが重要であると考えられた。

(論文審査の結果の要旨)

Vessel Sealing Device (VSD) は既に種々の胸腔鏡下手術において使用されているが、ヒトの胸腔鏡下肺葉切除術において VSD 非使用と比較し、その安全性や有効性を立証した報告は少ない。そこで砥石は胸腔鏡下肺葉切除術における VSD 使用について前向きに検討した。

2011年4月から2013年3月まで、信州大学呼吸器外科で、原発性肺癌に対する胸腔鏡下肺葉切除術及び2群リンパ節郭清を予定された患者を対象に、VSD 使用群 (EnSeal 群, LigaSure 群, Harmonic 群の subgroup) と VSD 非使用群 (control group : 結紮と従来の電気メス使用のみ) に割り付けを行い解析した。主要評価項目は VSD または結紮で処理した肺動脈断端の破綻圧 (切除標本を用いて測定)、手術時間、術中出血量、自動縫合器の使用回数、術中の術者ストレス、術後ドレーン排液量、術後ドレーン留置期間である。各 VSD 使用群間における上記項目の比較も行われた。

そこで砥石は次の結果を得た。

1. 解析対象は VSD 使用群44例 (EnSeal 群17例, LigaSure 群15例, Harmonic 群12例)、VSD 非使用群14例であった。各群の症例背景に有意差は認めなかった。
2. 肺動脈切除断端破綻圧は、VSD 処理断端 $309 \pm$

- 193 mmHgに対して結紮処理断端は1,142±486 mmHgで、結紮処理断端の破綻圧が有意に高かった。
- 5 mm未満のVSD処理断端の破綻圧は、5 mm以上のそれに対して有意に高かった。
 - いずれの群、及びいずれの血管径における破綻圧も、生理的肺動脈圧に十分に耐えうる強度を有していた。
 - VSD使用群は有意に術中出血量を減少させ、術者ストレスを軽減し、術後ドレーン排液量を減少させ、術後ドレーン留置期間を短縮した。

- 各 VSD 使用群間の比較では、全ての項目で有意差を認めなかった。
- 本試験に enrollment した患者に重篤な周術期合併症、手術関連死亡はなかった。
以上より、原発性肺癌に対する2群リンパ節郭清を伴う胸腔鏡下肺葉切除術において、VSDは安全で簡便に使用できると考えられた。
主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

Comparison between continuous and discontinuous multiple vertebral compression fractures (連続型多発椎体圧迫骨折と非連続型多発椎体圧迫骨折の比較)

狩野 修治

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】近年、高齢者人口の増加に伴い、骨粗鬆症による脊椎圧迫骨折は有病率の高い疾患となっている。しばしば複数の椎体に骨折が生じる多椎体圧迫骨折に遭遇することもあるが、多椎体圧迫骨折を統計的に検討した報告はない。多椎体圧迫骨折には椎体骨折がすべて隣接している例と骨折椎体の間に健常椎体が存在する例が存在する。前者を連続型、後者を非連続型と定義して、連続型と非連続型の患者背景、受傷外力の大きさ、そして骨粗鬆症の程度について比較検討を行った。

【方法】2007年9月から2010年4月までに急性腰痛のために受診し、MRIで新鮮な椎体骨折と診断した多椎体骨折77例173椎体を対象とした。連続型は43例97椎体、非連続型は34例76椎体であった。連続型と非連続型の症例について性別・年齢・受傷原因・骨塩量・除痛を得るまでの期間・受傷椎体の高位について検討を行った。

【結果】連続型は男性25例女性18例、平均年齢66.8±18.5歳、非連続型は男性10例女性24例平均年齢76.6±10.0歳であり、非連続型が有意に年齢が高く(p=0.006)、女性が多かった(p=0.008)。除痛期間は、連続型は平均43.5±28.5日、非連続型は平均39.8±24.3日であり、非連続型の方が短い傾向にあったが有意差はなかった。DEXA法での骨塩量は、連続型は平均0.748±0.172 g/cm³、非連続型は平均0.571±0.091 g/cm³であり有意差(p=0.016)を認めた。非連続型は34例中32例(94.1%)で胸腰椎移行部に骨折椎体が存在していた。連続型は高エネルギー外傷が

19例(44.2%)と多く、軽微な外傷は12例(27.9%)、原因不明は12例(27.9%)であった。一方非連続型では高エネルギー外傷は7例(20.6%)と少なく、軽微な外傷が14例(41.2%)、原因不明が13例(38.2%)と多かった。

【考察】連続型と比較した非連続型患者の特徴は、1)年齢が高い、2)女性が多い、3)高エネルギー外傷が少ない、そして4)骨密度が著明に低い、などであった。これらの結果から、非連続型多椎体骨折の患者は重度の骨粗鬆症を有しているため、連続型多椎体骨折の患者にくらべ、新たな骨折をおこす危険性が高いといえる。

本研究ではMRIを用いて新鮮圧迫骨折を診断している。しかし、MRIのT1強調画像の信号変化は6カ月以内に消失するという報告や椎体骨折の33%だけが痛みを伴う臨床骨折であり、症状のない形態骨折が存在するという報告がある。これらの報告より今回の多椎体骨折の症例が複数回の受傷による骨折という可能性は否定できないことが本研究の限界となる。

【結論】非連続型多椎体骨折は高齢の女性に多く、軽微な外力や原因不明で受傷することが多い。非連続型では骨密度が著明に低下し、重度の骨粗鬆症を有している可能性が高い。日常診療において非連続型多椎体圧迫骨折例に遭遇した場合、重度の骨粗鬆症の存在を疑い、骨粗鬆症の精査と治療を速やかに開始するべきである。

(論文審査の結果の要旨)

【背景と目的】骨粗鬆症性脊椎圧迫骨折は、超高齢化社会の今日では有病率の高い疾患である。本圧迫骨折

のうちで複数の脊椎に同時に圧迫骨折が生じる病態を多椎体圧迫骨折と呼ぶが、椎体骨折がすべて隣接している例と骨折椎体の間に健常椎体が存在する例が存在する。この2つの多椎体圧迫骨折の違いを詳細に検討した報告はない。本研究では多椎体圧迫骨折を椎体骨折がすべて隣接している連続型と骨折椎体の間に健常椎体が存在する非連続型に分類し、両型間における患者背景、受傷外力の大きさ、そして骨粗鬆症の程度について比較検討した。

【方法】2007年9月から2010年4月までに新鮮多椎体圧迫骨折と診断した77例173椎体を対象とした。新鮮圧迫骨折の診断は Nakano らの MRI-T1強調像による診断基準、すなわち1) 低信号領域が一部あるいは全体にあり前壁から後壁に及ぶ、2) 低信号域と正常域が細かく入り組んでやや不鮮明、3) 低信号領域の内部はムラがあり無信号でない、のいずれも満たす椎体とした。連続型は43例97椎体、非連続型は34例76椎体であった。連続型と非連続型の例において性別、年齢、除痛を得るまでの期間、受傷外力の大きさ、骨密度、そして受傷椎体の高位を t 検定・ χ^2 検定により比較した。骨密度計測は連続型10例、非連続型12例のみ測定し得た。

【結果】連続型の性別、年齢は男性25例女性18例、平均年齢66.8±18.5歳、非連続型は男性10例女性24例、平均年齢76.6±10.0歳であった。非連続型は、有意に年齢が高く (p=0.006)、有意に女性が多かった (P=0.008)。除痛を得るまでの期間は、連続型は平均43.5±28.5日、非連続型は平均39.8±24.3日であり、非連続型の方が短い傾向にあったが有意差はなかった。連続型は高エネルギー外傷が19例 (44.2%) と多く、軽微な外傷は12例 (27.9%)、原因不明は12例 (27.9%)

%) であった。一方、非連続型では高エネルギー外傷は7例 (20.6%) と少なく、軽微な外傷が14例 (41.2%)、原因不明が13例 (38.2%) と多かった。骨密度は、連続型は平均0.748±0.172 g/cm³、非連続型は平均0.571±0.091 g/cm³で有意差に非連続型が低値であった (p=0.016)。受傷椎体高位は、連続型は43例中31例 (72.0%) で、非連続型は34例中32例 (94.1%) が胸腰椎移行部であった。

【考察】本邦では毎年50万人以上が軽微な外力や外傷歴なく骨粗鬆症性脊椎骨折を受傷する。連続型と比較した非連続型患者の特徴は、1) 年齢が高い、2) 女性が多い、3) 高エネルギー外傷が少ない、そして4) 骨密度が著明に低い、などであった。これらの結果から、非連続型多椎体骨折の患者は重度の骨粗鬆症を有していることが示唆され、新たな骨折をおこすリスクが高いといえる。本研究の限界としては、1) 全例に骨密度が測定されていない。2) 骨粗鬆症が原発性か続発性か不明である。3) MRI 診断では過去6カ月以内に受傷した椎体骨折を含んでしまう可能性がある、などが挙げられる。

【結論】非連続型多椎体骨折は高齢の女性に多く、軽微な外力や原因不明で受傷することが多い。非連続型では骨密度が著明に低下しているため、重度の骨粗鬆症を有している可能性が高い。日常診療において非連続型多椎体圧迫骨折例に遭遇した場合、重度の骨粗鬆症の存在を疑い、骨粗鬆症の精査と治療を速やかに開始するべきである。

発表の論旨は一貫しており、質疑応答は的確であった。主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

Bony Landmarks of the Anterior Cruciate Ligament Tibial Footprint : A Detailed Analysis Comparing 3-Dimensional Computed Tomography Images to Visual and Histological Evaluations. (前十字靭帯脛骨付着部の Bony Landmark に関する研究 : 3D-CT 画像と肉眼的・組織所見との比較)

天 正 恵 治

(論文の内容の要旨)

【目的】前十字靭帯 (ACL) は膝関節における脛骨の前方・内旋方向へのストレスに対する1次性支持機構である。この靭帯はスポーツなどで高頻度に損傷を生じることが多く、放置した場合膝の不安定性が持続し、半月板・軟骨損傷・変形性関節症などを併発することが多いため通常では手術治療を要することが多い。歴

史的に靭帯の縫合術・修復術の成績は不良であり、従来から大腿骨・脛骨内に骨トンネル (骨孔) を作成し他の部位より採取した自家組織を移植する手術 : ACL 再建術が広く行われている。手術に際しては本来の靭帯付着部位置に正確に骨孔を作成することが術後に良好な安定性を獲得する上で重要である。大腿骨側は前十字靭帯付着部周囲の骨性指標 (bony land-

mark) の存在が広く知られ、これを参考にすることで正確な位置に骨孔を作成することが可能となった。これとは対照的に脛骨付着部の形態は様々で手術の際に応用できるような bony landmark の報告は少ない。我々は先行研究にて前十字靭帯脛骨付着部周囲に特徴的な3つの bony landmark (anterior ridge, lateral groove, intertubercular fossa) が存在することを確認し、これらの landmark と実際の付着部との関連性、また、その出現頻度を調査した。

【研究】 研究① 解剖用屍体12人24膝で脛骨近位部を摘出、CT 撮影を行った。CT データより3D 画像を再構築し、その画像と対比させて、片側で ACL 付着部の肉眼的評価を、片側で組織学的評価を行った。研究② 術前に撮影した60膝の3DCT 画像より ACL 付着部周囲の bony landmark の出現頻度・形態評価を行った。

【結果】 研究① 3DCT 上全例で anterior ridge, lateral groove, intertubercular fossa を確認することができた。肉眼的に anterior ridge は付着部の前縁を形成していた。lateral groove の位置には外側半月板が付着し肉眼的に確認できなかった。後方では intertubercular fossa は肉眼的に確認できなかったが、相当する部位には靭帯は付着していなかった。組織学的な評価では、全例 anterior ridge は ACL 前縁に一致していた。また、12例中11例で lateral groove 底部に ACL は付着し、外側半月前角と隣接していた。また intertubercular fossa には脂肪、血管、滑膜組織が存在し、同部位への靭帯の付着は組織学的にも確認できなかった。

研究② 3DCT 上、60膝中59膝 (96.6%) で anterior ridge, intertubercular fossa を同定でき、lateral groove は全例確認することができた。

【考察】 ACL 脛骨付着部に関する bony landmark の報告は少ないが、今回の研究結果で特徴的な landmark が高頻度に存在することが判明した。前方は anterior ridge が、外方には lateral groove が、後方には intertubercular fossa がそれぞれ存在し、靭帯付着部と周囲組織との境界に位置していた。lateral groove, intertubercular fossa は肉眼的に確認できなかったが外側半月板前角、medial/lateral intercondylar tubercle 前縁がそれぞれ境界に位置していた。今回の研究で得られた landmark は臨床での骨孔作成時の指標として有用な情報となりうる可能性がある。

(論文審査の結果の要旨)

前十字靭帯再建術に際して、大腿骨側は前十字靭帯

付着部周囲の骨性指標 (bony landmark) の存在が広く知られ、これを参考にすることで正確な位置に骨孔を作成することが可能となった。天正は先行研究にて前十字靭帯脛骨付着部周囲にも特徴的な3つの bony landmark (anterior ridge, lateral groove, intertubercular fossa) が存在することを確認し、① これらの landmark と実際の前十字靭帯の付着部との関連性、また、② その出現頻度を調査した。

その結果以下の成績を得た。

1. 3DCT 上全例で anterior ridge, lateral groove, intertubercular fossa を確認することができた。
2. 肉眼的に anterior ridge は付着部の前縁を形成していた。Lateral groove の位置には外側半月板が付着し肉眼的に確認できなかった。後方では intertubercular fossa は肉眼的に確認できなかったが、相当する部位には靭帯は付着していなかった。
3. 組織学的な評価では、全例 anterior ridge は ACL 前縁に一致していた。また、12例中11例で lateral groove 底部に ACL は付着し、外側半月前角と隣接していた。また intertubercular fossa には靭帯の付着は組織学的にも確認できなかった。
4. lateral groove は外側半月板前角と、intertubercular fossa は medial/lateral intercondylar tubercle 前縁と一致していた。
5. 3DCT 上、60膝中59膝 (96.6%) で anterior ridge, intertubercular fossa を同定でき、lateral groove は全例確認することができた。

【考察】 前十字靭帯脛骨付着部周囲にも特徴的な bony landmark が高頻度に存在することが判明した。今回の研究で得られた landmark は臨床での骨孔作成時の指標として有用な情報となりうる可能性がある。

したがって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

Calcitonin gene-related peptide is involved in inflammatory pain but not in postoperative pain (カルシトニン遺伝子関連ペプチドは炎症性疼痛に関与するが術後痛には関与しない)

石田 公美子

(論文の内容の要旨)

【背景】カルシトニン遺伝子関連ペプチド (calcitonin gene-related peptide : CGRP) は、37個のアミノ酸からなるポリペプチドであり、末梢神経から中枢神経に広く存在し、痛みシグナルの伝達・修飾に関与する。CGRPは α CGRPと β CGRPの2種類が知られているが、神経系には主として α CGRPが存在する。過去の研究ではカルシトニンと α CGRPの両遺伝子を欠損したマウスが用いられたが、カルシトニン自体も痛みの修飾に関与しているため、 α CGRPの痛みに対する関与の詳細は未だ明らかになっていない。そこで本研究では、独自に作製されたカルシトニンは正常でありながら、 α CGRPのみ特異的に欠損した(α -CGRPKO)マウスを用いて、術後痛および炎症性疼痛モデルにおける α CGRPの関与を検討した。

【方法】本研究には、 α CGRPKOマウスと野生型マウス(129SVJ/B6系統)を用いた。術後痛モデルとして足底切開モデルを用いた。ハロセン麻酔下に右後肢足底皮膚・筋膜を6mm切開し、さらに深部筋肉を牽引し一部切開した。創部は2針縫合した。炎症性疼痛モデル作製のために、ハロセン麻酔下に30G注射針を用いてComplete Freund's adjuvant (CFA) 20 μ Lを右後肢皮下に投与した。2種類の疼痛モデルにおいて、後肢径の測定と、自発痛の指標であるGuarding pain score (GPS)、von Freyフィラメントを用いた機械刺激に対する逃避閾値、輻射熱刺激装置を用いた熱刺激に対する逃避潜時の時間的変化を記録した。また、CGRP受容体拮抗薬であるCGRP₈₋₃₇を腰部くも膜下あるいは後肢皮下炎症部位へ投与し、熱刺激に対する逃避潜時の時間的変化を測定した。さらに、免疫組織染色により、脊髄後角におけるCGRPの発現と神経活動性の指標の一つであるc-Fosの発現を評価した。

【結果】患側の後肢径は、術後痛、炎症性疼痛モデルともに、 α CGRPKOマウスと野生型マウス間に差は見られなかった。行動試験において、術後痛モデルでは、 α CGRPKOマウスと野生型マウスで自発痛、機械性痛覚過敏、熱性痛覚過敏に差がなかった。一方、炎症性疼痛モデルでは、 α CGRPKOマウスにおいて、

モデル作製24時間以降の自発痛、熱性痛覚過敏が減弱したが、機械性痛覚過敏は両マウス間に差はなかった。またCGRP₈₋₃₇の脊髄くも膜下投与により、野生型マウスの炎症性熱性痛覚過敏は用量依存性に減弱したが、後肢皮下炎症部位への局所投与では変化がなかった。免疫組織染色において、野生型マウスの炎症性疼痛モデル作製24時間後には、健側と比較して患側でL4-5レベル脊髄後角におけるCGRP発現が有意に増加し、c-Fos陽性細胞数も増加していた。

【考察】本研究では、炎症性疼痛モデル作製24時間以降、 α CGRPKOマウスで、自発痛と熱性痛覚過敏が弱く、さらに野生型マウスへのCGRP受容体拮抗薬の脊髄くも膜下投与により熱性痛覚過敏が緩和された。また、炎症性疼痛モデル作製24時間後、野生型マウスの脊髄後角で、CGRPの発現が増加しており、活動性の高い神経細胞も増加していた。これらの結果は、炎症性が進展した際の自発痛と熱性痛覚過敏に対して、脊髄におけるCGRPがそれらを増悪させることを示唆する。一方、術後痛の自発痛や熱性痛覚過敏に対する α CGRPの関与はなかった。また、術後痛モデルと炎症性疼痛モデルに生ずる後肢径増加、機械性痛覚過敏への α CGRPの関与はなかった。術後痛と炎症性疼痛は後肢径増加、自発痛、熱性痛覚過敏、機械性痛覚過敏と同様な徴候を示すが、 α CGRPが関与するメカニズムは両者で異なる。 α CGRPは疼痛を引き起こす病態および刺激のモダリティと、炎症の段階の違いにより関与が異なることが示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

カルシトニン遺伝子関連ペプチド (calcitonin gene-related peptide : CGRP) は、37個のアミノ酸からなるポリペプチドであり、末梢神経から中枢神経に広く存在し、痛みシグナルの伝達・修飾に関与する。CGRPは α CGRPと β CGRPの2種類知られているが、神経系には主に α CGRPが存在する。過去の研究では、カルシトニンと α CGRPの両遺伝子を欠損したマウスが用いられてきたが、カルシトニン自体も痛みの修飾に関与しているため、 α CGRPの痛みに対する関与は未だ明らかになっていない。そこで石田は、独自に作製された α CGRP遺伝子欠損マウスを用い

て術後痛および炎症性疼痛モデルにおける α CGRP の関与を検討した。

本研究では、 α CGRP 遺伝子欠損マウスと野生型マウスを用いて、術後痛モデル、炎症性疼痛モデルを作製し、以下の検討を行った。

1. 疼痛モデル作製前後の後肢径の経時変化
 2. 行動評価として自発痛の観察、機械刺激に対する逃避閾値測定、侵害性熱刺激に対する逃避潜時測定
 3. 炎症性疼痛モデルへの CGRP 受容体拮抗薬 (CGRP₈₋₃₇) の脊髄くも膜下、後肢皮下炎症部位への局所投与
 4. 脊髄後角表層における CGRP の発現、c-Fos 陽性細胞数の検討
- その結果、以下の結果を得た。

1. 術後痛モデルにおいて、 α CGRP 遺伝子欠損マウスと野生型マウスで自発痛、熱性痛覚過敏、機械性痛覚過敏に差がなかった。
2. 野生型マウスの術後痛モデルは、脊髄における

CGRP が増加しなかった。

3. α CGRP 遺伝子欠損マウスでは炎症性疼痛モデル作製24時間以降の自発痛、熱性痛覚過敏が減弱した。
4. 野生型マウスへの CGRP 受容体拮抗薬の脊髄くも膜下投与により熱性痛覚過敏が緩和された。
5. 炎症性疼痛モデル作製24時間後、野生型マウスの脊髄後角で CGRP の発現が増加しており、c-Fos 陽性の神経細胞も増加していた。

以上より、 α CGRP は足底切開後の自発痛、熱性痛覚過敏、機械性痛覚過敏に関与しないこと、炎症後期に発現する α CGRP は、自発痛と熱性痛覚過敏を悪化させる一方、 α CGRP は機械性痛覚過敏に関与しないこと、 α CGRP は脊髄に作用し熱性痛覚過敏を悪化させることが示唆された。疼痛を引き起こす病態および刺激のモダリティによって α CGRP の関与が異なることが明らかとなった。

主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

Cytokine production profiles in chronic relapsing-remitting experimental autoimmune encephalomyelitis : IFN- γ and TNF- α are important participants in the first attack but not in the relapse (慢性再発寛解型実験的自己免疫性脳脊髄炎におけるサイトカイン産生プロファイル ; IFN- γ , TNF- α は初回発症では重要だが、再発への関与は乏しい)

日 高 義 彦

(論文の内容の要旨)

【はじめに】多発性硬化症 (multiple sclerosis ; MS) は中枢神経の慢性炎症性脱髄疾患で、髄鞘タンパクを標的とする自己免疫疾患と考えられているが、詳細は不明である。臨床経過から再発寛解型 (80-90%)、一次進行型、二次進行型に分類される。Myelin basic protein (MBP), myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) などの髄鞘抗原を免疫して誘導される実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis ; EAE) は MS の動物モデルとされているが、臨床経過は一次進行型が多く、再発寛解型は少ない。そのため、慢性再発寛解型 (chronic relapsing-remitting) EAE (CREAE) を呈するマウスは MS の病態生理を解明するのに最も有効な動物モデルと考えられる。

本研究では、CREAE マウスを用いて、CREAE の発症と再発のメカニズムを解明するため、初発時、1回目再発時、2回目再発時のサイトカイン産生プロファイルと中枢神経病理組織学所見を比較検討した。

【対象と方法】I型糖尿病を自然発症し自己免疫疾患誘導に感受性を示すNODマウスに、脳炎惹起性MOGペプチド35-55 (MOG₃₅₋₅₅) を単回投与し、CREAEを誘導した (発症率78.1%)。初発時、1回目再発時、2回目再発時に脳脊髄を摘出し、hematoxylin-eosin (HE) 染色、Klüver-Barrera染色にて評価した。脾臓から単核細胞を採取し、無刺激とMOG₃₅₋₅₅刺激にて72時間培養を行い、培養上清中のサイトカイン濃度と脊髄でのmRNAを測定した。サイトカイン (IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, CCL-2) は cytometric beads array により、IFN- γ , TNF- α , IL-6, CCL2のmRNA発現は real-time PCR により検討した。p<0.05を統計学的有意とした。

【結果】MOG₃₅₋₅₅で免疫したNODマウスは典型的な慢性再発寛解型の臨床経過を示した。MOG₃₅₋₅₅投与後の発症日 (平均±標準誤差) は、初発群 (n=6) 12.7±0.5日、1回目再発群 (n=6) 50.0±4.9日、2回目再発群 (n=4) 86.0±11.7日であった。神経

学的症状を5段階に分けて点数化し(軽1→重5)、臨床スコアとして比較したところ、1回目再発群と2回目再発群で初発群より有意に高かった。

MOG₃₅₋₅₅投与後17日(初発)、56日(1回目再発)、86日(2回目再発)に解剖し、腰髄の病理組織学所見を検討した。初発群で小血管周囲やクモ膜下腔にリンパ球やマクロファージ、少数の好中球などの浸潤が中等度に認められた。1回目再発群と2回目再発群では、白質に多数の単核球浸潤がみられた。脱髄所見は初発群にはみられず、1回目再発群と2回目再発群で認められた。無刺激では、初発時、1回目再発時、2回目再発時の3群とも全てのサイトカインは検出感度以下であった。MOG₃₅₋₅₅刺激では、IFN- γ 、TNF- α 、IL-6はいずれも初発群のみ有意に亢進していたが、1回目再発群、2回目再発群はコントロール群と差がなかった。一方、CCL2とIL-17産生は初発群、1回目再発群、2回目再発群のいずれもコントロール群より有意に亢進していた。IL-4、IL-5、IL-10、IL-12は3群とも検出感度以下であった。

中枢神経浸潤細胞におけるIFN- γ 、TNF- α 、IL-6のmRNA発現はいずれも初発群のみ有意に亢進していたが、1回目再発群、2回目再発群はコントロール群と差はみられなかった。CCL2は3群ともコントロール群より有意に亢進していた。

【考察】CREAEの初発時において、IFN- γ 、TNF- α 、IL-6、CCL2のサイトカイン産生とmRNA発現が亢進しており、中枢神経における血管周囲への炎症細胞浸潤が認められた。Sunらは、EAE動物の中枢神経へのIFN- γ やTNF- α の局所注入により血管周囲へのTリンパ球浸潤を報告しており、今回の結果と一致していた。一方、CCL2とおそらくIL-17はCREAEの初発だけでなく再発時にも主要な役割を演じ、脳実質への炎症細胞浸潤や脱髄といったより重症の病理組織変化に関与している可能性が高いと考えられた。以上の結果から、CREAEの初発機序と再発機序は異なることが示唆され、ヒト再発寛解型MSの新たな治療法の開発につながるかもしれない。

(論文審査の結果の要旨)

多発性硬化症(multiple sclerosis; MS)は中枢神経の慢性炎症性脱髄疾患で、髄鞘タンパクを標的とする自己免疫疾患と考えられているが、詳細は不明である。臨床経過から再発寛解型(80-90%)、一次進行型、二次進行型に分類される。Myelin basic protein(MBP), myelin oligodendrocyte glycoprotein(MOG)

などの髄鞘抗原を免疫して誘導される実験的自己免疫性脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE)はMSの動物モデルとされているが、臨床経過は一次進行型が多く、再発寛解型は少ない。そのため、慢性再発寛解型(chronic relapsing-remitting) EAE(CREAE)を呈するマウスはMSの病態生理を解明するのに最も有効な動物モデルと考えられる。今回、日高らはCREAEマウスを用いて、CREAEの発症と再発のメカニズムを解明するため、初発時、1回目再発時、2回目再発時のサイトカイン産生プロファイルと中枢神経病理組織学所見を比較検討した。

その結果、日高らは次の結論を得た。

1. 中枢神経病理組織では、初発群で小血管周囲やクモ膜下腔にリンパ球やマクロファージ、少数の好中球などの浸潤が中等度に認められた。1回目再発群と2回目再発群では、白質に多数の単核球浸潤がみられた。脱髄所見は初発群にはみられず、1回目再発群と2回目再発群で認められた。
2. 脾細胞によるサイトカイン産生では、IFN- γ 、TNF- α 、IL-6はいずれも初発群のみ有意に亢進していたが、1回目再発群、2回目再発群はコントロール群と差がなかった。一方、CCL2とIL-17産生は初発群、1回目再発群、2回目再発群のいずれもコントロール群より有意に亢進していた。IL-4、IL-5、IL-10、IL-12は3群とも検出感度以下であった。
3. 中枢神経浸潤細胞におけるサイトカインmRNA発現では、IFN- γ 、TNF- α 、IL-6はいずれも初発群のみ有意に亢進していたが、1回目再発群、2回目再発群はコントロール群と差はみられなかった。CCL2は3群ともコントロール群より有意に亢進していた。

今回の研究で、CREAEの初発機序と再発機序は異なる可能性が示唆された。本研究結果はヒト再発寛解型MSの新たな治療法開発につながる重要な知見と思われ、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

Clinical features of schizophrenia with enhanced carbonyl stress (カルボニルストレスが亢進する統合失調症の臨床特徴)

宮 下 光 弘

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】統合失調症多発家系の患者において、カルボニル化合物の解毒酵素である Glyoxalase 1 (GLO1) 遺伝子に稀な frameshift 変異を同定した。その患者では GLO1 の顕著な機能障害を認め、終末糖化産物 (Advanced glycation end products ; AGEs) の 1 種である pentosidine が蓄積し、AGEs の産生を抑制する vitamin B6 が枯渇しており、カルボニルストレスが亢進していた。カルボニルストレスの亢進は、症例 1 以外に統合失調症の一部でも認めた。今回、カルボニルストレスが亢進する統合失調症の臨床特徴を特定し、vitamin B6 補充療法の可能性を見出した。

【材料及び方法】163名の統合失調症患者を pentosidine, vitamin B6 をバイオマーカーとして次の 4 群にカテゴライズした。Group 1 (pentosidine 正常, vitamin B6 正常; カルボニルストレスの無い群), Group 2 (pentosidine 正常, vitamin B6 枯渇), Group 3 (pentosidine 蓄積, vitamin B6 正常), Group 4 (pentosidine 蓄積, vitamin B6 枯渇; カルボニルストレス亢進群)。採血時の問診で、入院/外来ステータス, 精神疾患の家族歴, 教育年数, 発症年齢, 罹病期間, 入院回数, 入院期間, 抗精神病薬量を収集し (後にカルテで確認), 各項目を Group 1 と他群で比較検討した。また、採血時に同意が得られた 49 名に対して、Positive And Negative Syndrome Scale (PANSS) により臨床症状を評価し、問診の各項目やバイオマーカーとの関連を検討した。

【結果】カルボニルストレスが亢進する統合失調症患者群 (Group 4) では GLO1 酵素活性が有意に低下していた。Group 1 と各群の比較により、カルボニルストレスが亢進する統合失調症群 (Group 4) では、入院患者の割合が高く、教育年数が短く、入院期間が長く、抗精神病薬の投与量が多いという特徴が明らかにされた。また、血清 vitamin B6 値は PANSS のスコアと負に相関した。

【結論】カルボニルストレスが亢進する統合失調症の特徴は、大量に抗精神病薬を内服している長期入院中の患者群であることが示され、治療抵抗性統合失調症に類似することが明らかにされた。治療抵抗性統合失

調症に有効な唯一の薬剤はクロザピンであるが、無顆粒球症, 糖代謝異常など致死的な副作用がある。Vitamin B6 の枯渇はホモシステインやグルタチオンなどカルボニルストレスに関わる様々な代謝異常を引き起こすことや、Vitamin B6 値が PANSS スコアと負に相関することを考慮すると、vitamin B6 補充療法が新たな治療法となる可能性を示唆している。

(論文審査の結果の要旨)

Glyoxalase 1 (GLO1) はカルボニル化合物を無害な乳酸に代謝する酵素であり、活性が低下するとカルボニルストレスが亢進し、終末糖化産物 (Advanced glycation end-products ; AGEs) の蓄積と vitamin B6 の枯渇を生じる。カルボニルストレスの亢進は一部の統合失調症患者で再現性高く生じることが知られている。今回、AGEs の一種である pentosidine と vitamin B6 をカルボニルストレスを反映するバイオマーカーとして用いることで、カルボニルストレスが亢進する統合失調症の臨床特徴を特定した。

対象者は 163 名の統合失調症患者で、採血により pentosidine と vitamin B6 を測定し、両者とも正常群、いずれか一方が異常を示す 2 群、両者とも異常を呈する群の計 4 群に分類した。その上で、採血時問診、カルテ調査を実施し、各群で経過の特徴を比較検討した。また、同意の得られた患者 49 名を対象に、統合失調症の精神症状評価尺度である Positive And Negative Syndrome Scale (PANSS) を実施し、精神症状と pentosidine, vitamin B6 などのバイオマーカーや臨床指標との関連を検討した。

その結果、宮下光弘は次の結論を得た。

1. カルボニルストレスが亢進する統合失調症患者群では、GLO1 の酵素活性が有意に低下していた。有意差は GLO1 活性を低下させるリスクアレル保有者を除外しても残った。
2. カルボニルストレスが亢進する患者群では、カルボニルストレスの無い患者群と比較して、入院患者の割合が高く (3.4 倍)、教育年数が有意に短く、入院期間が 4.2 倍と長期に及び、投与されている抗精神病薬の量が多い (1.5 倍) という特徴を明らかにした。

3. PANSS のトータルスコア, 陽性症状スコア, 総合精神病理スコアにおいて, vitamin B6が独立した負の相関因子であり得ることを見出した。

これらの結果より, カルボニルストレスが亢進する統合失調症患者群の特徴は“治療抵抗性統合失調症”の特徴に類似していると考えられた。現在のところ治療抵抗性統合失調症においてはクロザピンが唯一の有効な治療薬であるが, 一方で無顆粒球症や糖代謝異常

など致死的な副作用を生じることが稀ではない。本論文の結果は, カルボニルストレス亢進による Vitamin B6の枯渇がグルタチオンやホモシステインなど, より広範な代謝異常を引き起こすことも踏まえて, 治療抵抗性統合失調症における vitamin B6補充療法が, 安全かつ有効な新たな治療法となる可能性を示唆している。よって, 主査, 副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

Seasonal Difference in Percutaneous Absorption of *N,N*-Dimethylformamide as Determined Using Two Urinary Metabolites (2種類の尿中代謝物濃度から推計した *N,N*-ジメチルホルムアミドの経皮吸収の季節差)

津 田 洋 子

(論文の内容の要旨)

【背景】 *N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) は化学工業製品の原材料等として産業現場で多用される有機溶剤で, 経皮吸収しやすく, 高濃度ばく露により肝機能障害を起こす。体内で代謝され, 尿中に *N*-メチルホルムアミド (NMF), *N*-アセチル-*S*- (*N*-カルバモイル) システイン (AMCC) として排泄される。日本産業衛生学会は許容濃度10 ppm (皮) を勧告し, 米国産業衛生専門家会議 (ACGIH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists) は許容ばく露限界値10 ppm, Biological Exposure Index として尿中 NMF 濃度15 mg/l (シフト最終日作業終了後), 長期のばく露指標として尿中 AMCC 濃度40 mg/l (シフト最終日作業前), ドイツ学術協会 (DFG: Deutsche Forschungsgemeinschaft) では尿中 NMF 濃度35 mg/l (シフト最終日作業終了後) を勧告している。経皮吸収は高湿度により増加することが実験的に報告されているが, DMF 取扱い作業員について環境による経皮吸収への影響を研究した報告はない。

【目的】 本研究は, 呼吸用保護具を使用している DMF 取扱い作業員において, DMF ばく露による経皮吸収の夏季と冬季の差を, 尿中代謝物を用いた生物学的モニタリング手法により比較検討した。

【方法】 日常的にDMFを取扱う男性作業員延べ193人のシフト最終日の呼吸域 DMF 濃度, 作業後尿中 NMF 濃度, 作業前尿中 AMCC 濃度を測定し, 呼吸域 DMF 濃度と尿中代謝物濃度の関係を夏季と冬季で比較した。

【結果】 呼吸域 DMF 濃度の幾何平均 (幾何標準偏差) は夏季7.4 (2.2), 冬季6.2 (2.1) ppm であり, 夏季と冬季の平均値に有意な差はなかった。作業後尿中

NMF濃度の幾何平均 (幾何標準偏差) は夏季33.9 (2.2), 冬季12.9 (2.0) mg/l であり, 有意な差が見られた。作業前尿中 AMCC 濃度の幾何平均 (幾何標準偏差) は夏季23.2 (3.2), 冬季14.3 (3.0) mg/l であり, 有意な差がみられた。作業後尿中 NMF 濃度は呼吸域 DMF 濃度と有意な正の相関がみられたが (夏季 $p < 0.01$, 冬季 $p = 0.01$), 作業前尿中 AMCC 濃度は夏季のみ呼吸域 DMF 濃度と有意な正の相関がみられた (夏季 $p < 0.01$, 冬季 $p = 0.26$)。

【考察】 対象者は呼吸用保護具を適切に使用しており呼吸域からの DMF ばく露は少ないことから経皮吸収によるばく露が大部分であると考えられ, 夏季は作業環境の温湿度の上昇や発汗により, 親水性の高い DMF の経皮吸収が冬季に比して大きくなることが示唆された。尿中 NMF の半減期は数時間であり調査当日のばく露を反映させることから両季節で呼吸域 DMF 濃度との有意な相関がみられたと考えられた。尿中 AMCC は作業前に採取した尿中濃度であることから前日までのばく露を反映し, 且つ, 尿中 AMCC の半減期は23時間であることから複数作業日のばく露影響が蓄積されることが考えられる。本研究対象者はシフトを通じて同様の作業を行っていることからシフトを通じたばく露は同様であると考えられ, 夏季のほうが経皮吸収が多いためにより多く蓄積をすることにより, 夏季の作業前尿中 AMCC 濃度と呼吸域 DMF 濃度に有意な正の相関がみられたと推察された。

【結論】 本研究では, 夏季と冬季の呼吸域 DMF 濃度に差はなかったが, 尿中 NMF および AMCC は季節により有意な差がみられ, 夏季の作業環境中の温湿度の上昇, 発汗により, 親水性の高い DMF の経皮吸収

が促進されたことが示唆された。本研究対象者は適切に呼吸用保護使用していることから DMF ばく露の大部分は経皮吸収であることが推察され、経皮吸収の多い化学物質を取り扱う作業においては、呼吸域以外のばく露低減対策を行うことが重要であることが示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

化学工業製品の原材料等として多用される有機溶剤である *N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) は高濃度ばく露により肝機能障害を起こす。DMF の尿中代謝物である *N*-メチルホルムアミド (NMF), *N*-アセチル-*S*- (*N*-カルバモイル) システイン (AMCC) は生物学的ばく露指標として用いられており、米国労働衛生専門家会議 (ACGIH) は NMF 15 mg/l (シフト最終日作業後) および長期のばく露指標として尿中 AMCC 40 mg/l (シフト最終日作業前), ドイツ学術協会 (DFG) は尿中 NMF 35 mg/l (シフト最終日作業後) を生物学的ばく露指標として勧告しているが、日本産業衛生学会は生物学的ばく露指標を勧告していない。更に、DMF は全ばく露量の 4 割が経皮吸収であり経皮吸収は高湿度により増加することが実験

的に報告されているが、DMF 取扱い作業者について環境が経皮吸収に与える影響は報告されていない。そこで津田は、述べ193人の DMF 取扱い作業者を対象に夏と冬の呼吸域 DMF 濃度と尿中代謝物濃度を比較することにより、DMF の経皮吸収の季節差を検討した。

その結果、以下の知見を得た。

1. 作業者の呼吸域 DMF 濃度は、夏季と冬季の平均値に統計学的に有意な差はなかった。
2. 尿中 NMF 濃度と尿中 AMCC 濃度の平均値は、夏季のほうが統計学的に有意に高かった。
3. 尿中 NMF 濃度は、両季節とも、呼吸域 DMF 濃度と有意な正の相関がみられた。
4. 尿中 AMCC 濃度は、夏季のみ、呼吸域 DMF 濃度と有意な正の相関がみられた。

以上より、夏季は冬季よりも DMF が経皮吸収しやすいことが示唆された。本研究は DMF の生物学的ばく露指標を勧告するうえで季節による経皮吸収の差を明確にした重要な引用データとなる可能性がある。したがって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。