

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
橋 詰 直 人 (内科学(5))	乙第1217号	30. 6. 12	Prognostic Value of Ankle-Brachial Index in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention: In-Hospital and 1-Year Outcomes From the SHINANO Registry (冠動脈インターベンションを受けた患者におけるABIの予後予測値: SHINANO レジストリー院内および1年フォローの結果より)	岡田健次	今村 浩 沢村達也
新 田 憲 市 (救急集中 治療医学)	乙第1218号	30. 7. 11	Impact of a negative D-dimer result on the initial assessment of acute aortic dissection (急性大動脈解離の初期評価における D-dimer 陰性の影響)	桑原宏一郎	川真田樹人 山田充彦
青 山 達 郎 (脳神経 外科学)	乙第1219号	30. 9. 26	Radiographic measurements of C-2 in patients with atlas assimilation (環椎癒合症例における軸椎椎弓根と椎弓の放射線学的検討)	多 田 剛	加 藤 博 之 佐々木克典
佐々木哲郎 (脳神経 外科学)	乙第1220号	30.11.28	Numerical analysis of bifurcation angles and branch patterns in intracranial aneurysm formation (脳動脈瘤発生における分岐角と分枝パターンの数値解析)	多 田 剛	佐々木克典 関 島 良 樹
小 塚 綾 子 (内科学(5))	乙第1221号	30.12.26	Quantitative Analysis of Endocardial and Epicardial Left Ventricular Myocardial Deformation in Patients with Cardiac Amyloidosis (心アミロイドーシス患者における左室心内膜下および心外膜下心筋変形のスペックルトラッキングエコー法による定量解析)	桑原宏一郎	今村 浩 柴 祐 司
盧 郁 (代謝制御学)	乙第1222号	30.12.26	Peroxisome proliferator-activated receptor α attenuates high-cholesterol diet-induced toxicity and pro-thrombotic effects in mice (ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α はマウスにおける高コレステロール食誘導毒性と血栓形成促進性を減弱させる)	佐々木克典	菅野祐幸 平塚佐千枝
柴田壮一郎 (内科学(2))	乙第1223号	31. 1. 23	Liver Stiffness-Spleen Size-to-Platelet Ratio Risk Score Identifies Esophageal Varices in Japanese Patients with Chronic Hepatitis C (日本人のC型慢性肝炎患者においてLSPSは食道静脈瘤を判別する)	菅野祐幸	竹下敏一 中沢洋三

審査学位論文要旨

倉田 敬 (小児医学)	乙第1224号	31. 2. 13	Panobinostat inhibits the proliferation of CD34+CD38-cells under stimulation of hematopoietic growth factors on AGM-S3 cells in juvenile myelomonocytic leukemia (Panobinostatは若年性骨髄単球性白血病におけるCD34陽性CD38陰性細胞のAGM-S3上での造血因子依存性増殖を抑制する)	中沢洋三	古庄知己 平塚佐千枝
小林正史 (耳鼻咽喉科学)	乙第1225号	31. 2. 27	WFS1 mutation screening in a large series of Japanese hearing loss patients: Massively parallel DNA sequencing-based analysis (日本人難聴患者におけるWFS1遺伝子変異のスクリーニング)	古庄知己	田渕克彦 中沢洋三
山本克己 (麻酔蘇生学)	乙第1226号	31. 3. 13	Knockdown of TRPV2 channels in sensory neurons increases limb use and weight bearing but dose not affect spontaneous flinching behavior in a mouse model of bone cancer (一次知覚神経のTransient Receptor Potential Vanilloid Subfamily 2チャネルのノックダウンは、マウス骨がんモデルにおける自発痛には影響せず、体動時痛のみを改善する)	中山 淳	小泉知展 石塚 修
木野田文也 (内科学(1))	乙第1227号	31. 3. 27	The contribution of genetic variants of the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha gene to high-altitude hypoxia adaptation in Sherpa highlanders (シェルパ高地民族の高所低酸素適応におけるペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α 遺伝子変異の関与)	川真田樹人	駒津光久 古庄知己
岩谷 舞 (病態解析診断学)	乙第1228号	31. 3. 27	Colitis-associated colorectal adenocarcinomas are frequently associated with non-intestinal mucin profiles and loss of SATB2 expression (炎症性腸疾患関連の大腸癌は非腸型粘液形質を有し、SATB2発現を失う)	本田孝行	小泉知展 栗田 浩
清水郁夫 (内科学(1))	乙第1229号	31. 3. 27	Use of percutaneous image-guided coaxial core-needle biopsy for diagnosis of intraabdominal lymphoma (腹腔内リンパ腫の診断におけるコアニードルを用いた経皮的針生検の有用性について)	中沢洋三	菅野祐幸 小泉知展
市野 隆 (麻酔蘇生学)	乙第1230号	31. 3. 27	Transcranial motor-evoked potentials of laryngeal muscles for intraoperative neuromonitoring of the vagus nerve during thyroid surgery (甲状腺手術中の迷走神経機能モニタリングとしての喉頭筋経頭蓋運動誘発電位)	伊藤研一	山田充彦 関島良樹
市山崇史 (内科学(1))	乙第1231号	31. 3. 27	Effects of Subtype-selective E Prostanoid Receptor Agonists on Bleomycin-induced Pulmonary Fibrosis in Rats (プレオマイシン誘発肺線維症ラットモデルに対するサブタイプ選択的Eプロスタノイド受容体アゴニストの効果)	花岡正幸	山田充彦 小泉知展

Prognostic Value of Ankle-Brachial Index in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention: In-Hospital and 1-Year Outcomes From the SHINANO Registry (冠動脈インターベンションを受けた患者における ABI の予後予測価値: SHINANO レジストリー院内および1年フォローの結果より)

橋 詰 直 人

(論文の内容の要旨)

【背景】末梢動脈疾患 (PAD) 患者は、症状の有無に関わらず長期予後が悪く、また半数以上の PAD 患者は冠動脈疾患を合併しており、冠動脈インターベンション (PCI) を受ける機会も多い。しかしベアメタルステントに比し、治療成績および安全性が向上した薬剤溶出性ステント (DES) 時代に PCI を受けた PAD 患者の予後を検討された報告は少ない。本研究では PAD の診断において簡便かつ確立した指標である ABI と PCI を受けた患者の院内および1年予後との関連について検討した。

【方法】本研究は Multicenter Analysis for Elderly Patients with Coronary Artery Disease Undergoing Percutaneous Coronary Intervention (SHINANO) registry のサブ解析である。SHINANO registry 研究は PCI を受けた高齢者および若年者の背景を比較し短期予後・長期予後を検討した研究であり、2012年8月から2013年7月まで長野県内16施設で PCI を受けた連続1,923名の冠動脈疾患患者を前向きに登録した多施設共同観察研究である。このうち ABI を測定した1,370名を登録し、ABI 低値群 (N=209, $ABI \leq 0.9$)・ボーダーライン群 (N=171, $0.9 < ABI < 1.0$)・正常群 (N=990, $1.0 \leq ABI \leq 1.4$) の3群に分け、患者背景・病変背景および院内・1年予後を解析した。院内評価項目は PCI 関連合併症 (手技関連心筋梗塞・手技関連脳卒中・冠動脈穿孔・出血性合併症・造影剤腎症・コレステロール塞栓症の総計)、1年評価項目は純臨床有害事象 (NACEs; 退院後1年間の心血管死・非致死性心筋梗塞・虚血性または出血性脳卒中・大出血の複合) とした。

【結果】ABI 低値群のうち、57.7%の患者が PCI を受ける前に PAD と診断されていた。高齢・低体重になるにつれて ABI が減少する傾向にあった。ABI 低値群・ボーダーライン群には糖尿病・心房細動・腎機能障害といった併存疾患が多く存在し、多枝病変・左主幹部病変・石灰化病変といった複雑病変が多かった。同群で SYNTAX スコアは有意に高く、経橈骨動脈ア

プローチは少なかった。DES 使用率は3群で同等であったが、抗血小板薬併用の継続率は ABI 低値群・ボーダーライン群で高かった。

ABI 低値群およびボーダーライン群は有意に PCI 関連合併症が多く発生し (7.7% vs 8.8% vs 4.0%, $P = .024$, $P = .017$)、多変量ロジスティック回帰解析にて、ABI 低値およびボーダーライン値は PCI 関連合併症の独立した危険因子であった。

1年間のフォロー期間において ABI 低値群は有意に NACE 発生率が高かった (低値群 6.3% vs ボーダーライン群 3.6% vs 正常群 3.0%, $\log\text{-rank } P = .020$ (低値群 vs 正常群))。併存の危険因子で補正しても、ABI 低値は NACE・脳卒中・大出血の独立した危険因子であった。ABI ボーダーライン群は NACE 発生の独立した危険因子ではなかったが、心血管死および大出血は多い傾向にあった。

【考察】本研究により ABI 低値は PCI 関連合併症および1年間の心血管イベントのリスクを増加させることが明らかになった。加えて、ABI ボーダーライン値は PCI 関連合併症高リスクと関連していた。過去の報告と比較すると、PCI 関連梗塞や出血性合併症について PCI は以前よりも安全になったことが示されたが、デバイスや技術の進歩にも関わらず PAD 患者においては PCI 関連合併症や1年予後が依然悪いことが示された。本研究では実に ABI 低値群の40%以上が PCI を受ける以前に PAD と診断されておらず、PCI 施行前のルーチンの ABI 測定は PCI 関連合併症や1年予後の予測に寄与する可能性が示唆された。

ABI 低値群およびボーダーライン群の患者は有意に SYNTAX スコアが高く、PCI 合併症が多く発生した。特に ABI 低値群の患者において出血性合併症が多く発生する傾向にあった。複雑病変のため経橈骨動脈アプローチが少なく、穿刺部合併症が増加した可能性があった。さらに複雑な病変に対してはより大径のガイディングカテーテルが必要なことがあり、より多くの造影剤を必要とすることで造影剤腎症のリスクを増加させた。本研究では0.5%の手技関連脳卒中が発

生したが、ABI 低値群・ボーダーライン群は全身の動脈硬化がより進行していることから手技関連脳卒中のリスクが高いものと思われた。

1 年間のフォロー期間中に、ABI 低値群・ボーダーライン群の患者では出血性心血管死亡および出血性脳卒中が多く発生した。群間で DES 使用率に差はなかったが、ABI 低値群・ボーダーライン群で抗血小板薬 2 剤併用継続率が高い傾向にあった。複雑病変ではステント血栓症リスクのために抗血小板薬を減量しにくい背景が影響したものと思われた。また、このような患者は心房細動合併率も高くより抗凝固療法を併用されていることが多いことが、出血性イベントをさらに増加させた可能性がある。PCI 後の自然出血は高い致死率と関連しており、患者個人の血栓リスクおよび出血リスクに応じて PCI 後の抗血栓療法を考慮する重要性が示唆された。

PCI 術者は ABI の異常値を示す患者により多くの注意を払うべきであり、PCI 施行前の ABI 測定は PCI 関連合併症および 1 年予後の予測に寄与する可能性がある。

(論文審査の結果の要旨)

末梢動脈疾患 (PAD) 患者は、症状の有無に関わらず長期予後が悪く、また半数以上の PAD 患者は冠動脈疾患を合併しており冠動脈インターベンション (PCI) を受ける機会も多い。

本研究は、薬剤溶出性ステント時代に PCI を受けた患者において、PAD 診断の確立した指標である ABI と、PCI 関連合併症発生率及び 1 年予後の関連を検討した。

その結果、以下の成績を得た。

1. ABI 低値群のうち、42.3% が事前に PAD と診断されていなかった。
2. 高齢・低体重になるにつれて ABI が減少する傾向にあり、ABI 低値群・ボーダーライン群には糖

尿病・心房細動・腎機能障害といった併存疾患が多く存在した。

3. ABI 低値群・ボーダーライン群は、多枝病変・左主幹部病変・石灰化病変といった複雑病変が多く、SYNTAX スコアは有意に高かった。同群は ABI 正常群に比し経橈骨動脈アプローチが少なかった。
4. ABI 低値群およびボーダーライン群は有意に PCI 関連合併症が多く発生し、多変量ロジスティック回帰解析では ABI 低値およびボーダーライン値は PCI 関連合併症の独立した危険因子であった。
5. 1 年間のフォロー期間において ABI 低値群は有意に純臨床有害事象 (NACE) 発生率が高かった (低値群 6.3% vs ボーダーライン群 3.6% vs 正常群 3.0%, log-rank P = .020)。併存の危険因子で補正しても、ABI 低値は NACE・脳卒中・大出血の独立した危険因子であった。ABI ボーダーライン群は NACE 発生の独立した危険因子ではなかったが、心血管死および大出血は多い傾向にあった。
6. 1 年間に発生した心血管死亡および脳卒中の内訳では、ABI 低値群およびボーダーライン群で出血関連イベントが多く発生した。

これらの結果から、PCI を受けた患者において、ABI 低値は PCI 関連合併症と 1 年間の心血管イベントの高リスクであり、ABI ボーダーライン値も PCI 関連合併症の高リスクと関連していたことが明らかになった。同群において 1 年間の心血管イベントは出血が関連したものが多く、PCI 後の抗血栓療法を個々に合わせて考慮する重要性が示唆された。また、PCI 施行前のルーチン ABI 測定は、PCI 関連合併症および 1 年予後の予測に有用である可能性が示唆された。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。

Impact of a negative D-dimer result on the initial assessment of acute aortic dissection
(急性大動脈解離の初期評価における D-dimer 陰性の影響)

新 田 憲 市

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】急性大動脈解離は、突如発症し致死的状态になる大動脈疾患である。早期診断が予後を改善するとされている。D-dimer は、急性大動脈解離の診断に使用され、感度は高いが特異度は低いとされて

いる。これまでの報告では、D-dimer 陰性の急性大動脈解離症例では、解離の範囲が短いとされてきた。しかし、急性大動脈解離と診断された D-dimer 陰性の患者の臨床的特徴や予後に関してはよく知られていない。この研究は、急性大動脈解離診断時の D-

dimer 陰性の患者の臨床的特徴を明らかにすることである。

【方法】本研究は、2009年4月から2015年3月までに入院した急性大動脈解離患者を対象にした後ろ向き研究である。来院時心肺停止症例、発症より24時間以上経過した症例、D-dimer 値が診断時測定されていない症例は除いた。D-dimer 値は診断時の採血を用いた。転院搬送例は、前医診断時の D-dimer 値を用いた。D-dimer 陰性は、それぞれの D-dimer キットの検査値の正常値以下とした。発症時の症状・所見、CT・超音波画像評価、血液生化学検査や手術の有無を調査した。また、D-dimer 陰性群と D-dimer 陽性群とに分け比較検討を行った。

急性大動脈解離は、造影 CT にて確定診断した。Extension score は、大動脈解離腔を6つにわけ、解離腔の長さを数値化したもの（数値が大きければ解離腔が長い）で、1-6の数値で表した。急性大動脈解離は、偽腔の血流の有無により偽腔開存型、部分閉塞型、あるいは完全閉塞型に分類した。手術適応の判断は、大動脈瘤・大動脈解離診療ガイドライン（2011改訂版）に準じた。

【結果】最終的に急性大動脈解離126例（男性71例、女性55例、年齢 69 ± 11 歳）が対象となった。126例のうち9例が、D-dimer 陰性であった。D-dimer 陰性群は、D-dimer 陽性群と比較して有意に解離の範囲が短く血小板数が高値であった。多変量解析の結果、D-dimer 陰性と関連が認められたのは、血小板数（odds ratio, 1.31 (1.09-1.58), $p=0.003$ ）と extension score（odds ratio, 0.56 (0.33-0.96), $p=0.03$ ）であった。D-dimer 陰性例において、完全閉塞型は67%、部分閉塞型は33%で、偽腔開存型は0%であった。特にD-dimer 陰性例の44%がStanford A型解離であった。さらに、D-dimer 陰性例の33%が、心タンポナーデで緊急手術が行われた。

【考察】急性大動脈解離症例の7.1%がD-dimer 陰性であった。頻度に関してはこれまでの報告と同様な結果であった。本研究においてD-dimer 陰性と関連する因子は、血小板数と extension score であった。D-dimer 値と extension score に関しては、これまでの報告と同様であった。血小板数に関しては、大動脈解離と血小板の減少の関係について報告が散見される。血小板減少の原因としては、過凝固状態によって血小板が消費され減少すると考えられている。今回、我々は、D-dimer 陰性と血小板高値の関係は、D-dimer

陽性群と比較した場合、解離腔が短く血小板消費が相対的に少なかった結果と考えた。これまでの報告では、解離腔が短いと D-dimer が低値であるとされ、また血栓閉塞型急性大動脈解離は D-dimer 値が低く予後がよいとされている。さらに、D-dimer 陰性は、予後がよく緊急手術を要することは少ないと報告されてきた。しかし、本研究においてD-dimer 陰性例の33%がStanford A型でかつ心タンポナーデを合併し緊急手術となった。緊急手術例はすべて部分閉塞型であった。部分閉塞型急性大動脈解離は、re-entry がほとんどなく解離腔血流の出口がないために、偽腔内圧が高く偽腔の拡大が生じ破裂する可能性があると考えられる。以上より、D-dimer 陰性の急性大動脈解離症例は、解離腔が短い場合でも緊急手術を要する致死的状态になる可能性があるので注意すべきである。

【結論】血小板数が高いことや解離腔が短いことはD-dimer 陰性と関連する因子であることがわかった。解離腔がたとえ短い場合でもD-dimer 陰性例のなかに緊急手術を要する症例がある。D-dimer 陰性のみだけでは、致死的な急性大動脈解離例を除外することはできない。

（論文審査の結果の要旨）

急性大動脈解離は、突如発症し致死的状态になる大動脈疾患で早期診断が予後を改善するとされている。D-dimer は、急性大動脈解離の診断に使用され、感度は高いが特異度は低いとされている。これまでの報告では、D-dimer 陰性の急性大動脈解離症例では、解離の範囲が短いとされてきた。しかし、急性大動脈解離と診断されたD-dimer 陰性の患者の臨床的特徴や予後に関しては明らかではない。本研究は、急性大動脈解離診断時のD-dimer 陰性の患者の臨床的特徴を明らかにするために、当院に入院した急性大動脈解離患者を対象にD-dimer 陰性群とD-dimer 陽性群とに分け発症時の症状・所見、CT・超音波画像評価、血液生化学検査や手術の有無を調査し後方視的に比較検討した。

その結果、以下の結果を得た。

1. 急性大動脈解離症例の7.1% (9/126) がD-dimer 陰性であった。
2. D-dimer 陰性群は、D-dimer 陽性群と比較し有意に解離の範囲が短く ($p=0.008$)、血小板数が高値であった ($p=0.0005$)。
3. 多変量解析の結果、D-dimer 陰性と関連が認められたのは、血小板数 (odds ratio, 1.31 (1.09-

1.58), $p=0.003$) と Extension score (odds ratio, 0.56 (0.33-0.96), $p=0.03$) であった。

4. D-dimer 陰性例の4症例 (44%) が Stanford A 型解離であった。D-dimer 陰性で緊急手術となった例は3症例であった。さらに、緊急手術となった例はすべて Stanford A 型解離で部分閉塞型かつ心タンポナーデであった。

これらの結果より、血小板数が高いことや解離腔が短いことは D-dimer 陰性と関連する因子であること、解離腔がたとえ短い場合でも D-dimer 陰性例のなかに緊急手術を要する症例が存在し、D-dimer 陰性のみだけでは、致命的な急性大動脈解離例を除外することはできないことが示された。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。

Radiographic measurements of C-2 in patients with atlas assimilation (環椎癒合症例における軸椎椎弓根と椎弓の放射線学的検討)

青山 達郎

(論文の内容の要旨)

【目的】 頭蓋頸椎移行部の不安定性に対する後方固定術では、アンカースクリューの選択が重要である。近年では環椎外側塊スクリュー、軸椎椎弓根スクリュー、軸椎椎弓スクリューが主流である。一方で、proatlas の再分節障害によって、環椎と後頭骨が癒合する C1 assimilation においては、環椎外側塊が低形成であったり、椎骨動脈走行異常や Klippel-Feil 症候群、頭蓋底陥入症、Chiari I 型奇形などを伴うことも多く、環椎外側塊にスクリュー挿入が困難な症例を経験する。そのような症例では軸椎スクリューがアンカースクリューとして重要となる。今回、我々は C1 assimilation 症例における軸椎の形態について放射線学的検討を行った。

【方法】 2006年1月～2012年12月に愛知医科大学病院で頸椎手術を受けた患者462名の中で C1 assimilation を伴っていた症例 (C1A 群) は7例あり、その患者背景は男女比が1:6、平均年齢は55.4 (17～70) 歳、疾患は頭蓋底陥入症5例、椎間板ヘルニア2例であった。頭蓋底陥入症に対しては経口手術と術中ナビゲーション下に後頭骨軸椎間固定術の併用、椎間板ヘルニアに対しては前方除圧固定術が行われた。合併奇形について、頭蓋底陥入症5例中2例において Chiari I 型奇形を認め、3本の high riding vertebral artery, 2本の persistent first intersegmental artery を認めたが、椎間板ヘルニア2例では合併奇形は認めなかった。対照群として C1 assimilation を伴わない男性2例と女性12例を無作為に抽出し比較した。対照群の平均年齢は56.7 (46～70) 歳であり、C1A 群との有意差はなかった ($p=0.84$)。また、対照群では合併奇形や椎骨動脈走行異常は認めなかった。C1A 群と対照群に対し、0.5mm slice の CT 再構成画像 (Aquari-

us NET V4.4.7.102, Yokogawa Electric Corp.) を用いて、1) C2椎弓根最狭部の短径、2) C2椎弓最狭部の短径、3) C2椎弓の長さを計測した。統計学的検討は Student t-test を用い、 $p<0.05$ を有意差とした。

【結果】 CT 再構成画像を用いた計測を行い、1) C2椎弓根最狭部の短径は C1A 群で平均は右5.52 mm/左4.90 mm、対照群で平均は右7.30 mm/左7.05 mm と有意差が見られた ($p=0.0007/0.014$)。一方、2) C2椎弓最狭部の短径は C1A 群で平均は右5.75 mm/左4.83 mm、対照群で平均は右6.48 mm/左6.58 mm と左側で有意差が見られた ($p=0.12/0.002$)。また、3) C2椎弓の長さは C1A 群で平均は右31.00 mm/左29.71 mm、対照群で平均は右34.02 mm/左34.11 mm と有意差が見られた ($p=0.015/0.001$)。

【考察】 C1A 群7例のうち、頭蓋底陥入症の5例に対し後頭骨軸椎間固定術を行った。軸椎スクリューについて、両側とも椎弓根スクリュー挿入できたのは2例、片側は椎弓根スクリュー、もう一方は椎弓スクリューとなったのが1例、両側とも椎弓スクリューを選択したのは2例であった。軸椎椎弓スクリューを選択した理由は、椎骨動脈の走行異常と軸椎椎弓根の低形成であった。全例で術前に CT 再構成画像を用いて適切なアンカースクリューを選択し、術中ナビゲーションシステムを用いて挿入し、硬膜損傷、神経根損傷や椎骨動脈損傷は認めなかった。スクリューの最小径は3.5 mm であるが、Smith らは、安全に挿入するには椎弓根最狭部短径は最低でも5.0 mm が必要であると報告している。椎骨動脈走行異常や軸椎椎弓根が低形成である場合には、軸椎椎弓スクリューが選択されるが、Ma らは、椎弓最狭部短径は最低でも4.0 mm が必要であると報告している。

【結論】 C1 assimilation のある症例では、環椎のみな

らず軸椎の椎弓根，椎弓ともに小さく，椎弓が短いなどの低形成が多い。我々が経験した症例では環椎外側塊スクリューが挿入できない症例でも，アンカースクリューとして軸椎椎弓根スクリューまたは軸椎椎弓スクリューの挿入が可能であった。C1 assimilation 症例における後方固定術前にはCT再構成画像による詳細な検討と，術中ナビゲーションシステムを用いたより安全な操作が必要である。

(論文審査の結果の要旨)

後頭骨と環椎が癒合するC1 assimilation において，不安定性がある場合には後方固定術が行われる。しかし環椎が低形成かつ椎骨動脈の走行異常を伴い，環椎スクリューの留置が困難な事が多い。そのような症例では軸椎スクリューが重要となるが，軸椎スクリューも留置困難なことがある。これまでC1 assimilation における軸椎の形態を調べた報告はなく，後方視的にC1 assimilation における軸椎の放射線学的検討を行った。

2006年から2012年の間に頸椎手術を行った462例のうち，C1 assimilation を7例で認めた(C1A群)。男性：女性=1：6，手術対象となった疾患は頭蓋底陥入症5例，椎間板ヘルニア2例であった。頭蓋底陥入症5例に対し，経口手術と術中ナビゲーションを用いた後頭骨軸椎固定術を行った。全例で軸椎スクリューは留置可能であったが，3例は軸椎椎弓根が低形成あるいは椎骨動脈の走行異常があり，固定力はやや劣るが安全に留置可能な椎弓スクリューを選択した。頭蓋底陥入症5例においてChiari I型奇形を2例，椎骨動脈走行異常を5例で認めた。対照群として同データベースから，男女比を一致させ，C1Aを伴わない14

例を無作為に抽出した。対照群に合併奇形はなかった。両群において0.5 mmのthin slice CT再構成画像を用いて，1) C2椎弓根最狭部の短径，2) C2椎弓最狭部の短径，3) C2椎弓の長さの平均値を計測し，t検定で統計学的検討を行った。

その結果，以下の結論を得た。

1. C2椎弓根最狭部の短径はC1A群で右5.52 mm/左4.90 mm，対照群で右7.30 mm/左7.05 mm ($p=0.0007/0.014$)。C2椎弓最狭部の短径はC1A群で右5.75 mm/左4.83 mm，対照群で右6.48 mm/左6.58 mm ($p=0.12/0.002$)。C2椎弓の長さはC1A群で右31.00 mm/左29.71 mm，対照群で右34.02 mm/左34.11 mm ($p=0.015/0.001$)。いずれのparameterでも有意差があった。
2. C1 assimilation においては，C1のみならずC2も低形成であり，椎骨動脈走行異常も多く，固定力に優れる軸椎椎弓根スクリューが留置できない例があることが分かった。
3. 頭蓋底陥入症5例において軸椎スクリューは全例で留置可能であったが，より精度が求められる。その対策として術前のCT再構成画像を用いた計画と，術中ナビゲーションシステムを用いた安全な操作が望ましい。

以上より，C1 assimilation においては軸椎の低形成を伴う可能性が高く，その他の合併奇形があることも考慮して手術治療にあたるべきである。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。

Numerical analysis of bifurcation angles and branch patterns in intracranial aneurysm formation (脳動脈瘤発生における分岐角と分枝パターンの数値解析)

佐々木 哲郎

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】脳動脈瘤は血管分岐部に発生しやすく，この分岐部で壁面せん断応力(WSS)の上昇が観察されることから，脳動脈瘤の発生にはWSSが大きく関わると考えられている。血管分岐における分岐角と分枝径が脳動脈瘤発生の関連因子であるとした報告があるが，分岐形態とWSSの関連性を詳細に分析した文献はない。そこで我々は，多数の血管分岐パターンを持つ血管モデルに対して数値流体力学(CFD)を用いてWSSを計算し，分岐形態と脳動脈瘤発生との

関連性を解析した。

【方法】3次元CADソフトウェアを用い，分岐角を30度毎に変化させて分岐角(2つの分岐角の和)を60度から180度まで設定し，2分枝の血管径が等しいタイプAの8モデルと，左分枝径が細いタイプBの13モデルを作成した。流体解析には汎用熱流解析ソフトウェアを用い，ヒト血液に近似した密度と粘性係数を与え，壁面を剛体と見做した滑りなし条件とした。入口境界条件として内頸動脈平均速度の定常流を与え，左右分枝の出口境界条件は流速比と分枝断面積比が等

しくなるよう設定した。各モデルの CFD 解析で得られた WSS から、WSS の最大値 (WSS_{MAX}) と、15 Pa 以上の高い WSS が計測された壁面積 (AREA) と、その面積における WSS の総和 (F_W) を計算し、これらの WSS パラメータと分岐角・分枝角との関連性を線形回帰分析で検討した。

【結果】 タイプ A モデルにおいて、 WSS_{MAX} は分岐角が狭い場合と分枝角が広い場合で有意に上昇し、AREA と F_W は分岐角・分枝角が広い場合で有意に上昇した。タイプ B モデルにおいて、 WSS_{MAX} は細い分枝側で高くなる傾向があり、細い分枝の WSS_{MAX} は分岐角が狭くなるにつれて上昇した。AREA と F_W は分岐角・分枝角と正の相関がみられた。以上から、 WSS_{MAX} は分岐角が狭いか分枝径が細いと上昇し、AREA と F_W は分岐角または分枝角が広いと上昇することが分かった。

【考察】 過去の文献で分岐角が広いことが脳動脈瘤発生の危険因子であるとされているのに対し、本研究では分岐角が狭くなるにつれて WSS_{MAX} が上昇する傾向がみられた。この反発する結果から、 WSS_{MAX} のほかに脳動脈瘤発生に関わるパラメータが存在する可能性が考えられる。本研究では分岐角・分枝角が広がると AREA と F_W は有意に上昇した。AREA や F_W が高いことは長期に広い範囲で高い WSS が生じている状態と捉えると、AREA と F_W は分岐角が広いと脳動脈瘤発生の危険性が高まるという事実を支持するパラメータとなるかもしれない。本研究では、分岐形態と WSS パラメータとの関連性を解析するために単純血管モデルで様々な分岐パターンを作成したが、実際の脳血管は複雑な構造をしており、CFD シミュレーションの技術的な制限も考慮すると、本研究の結果がヒト血管に必ずしも当てはまるとは限らない。そのため、今後さらに複雑な分岐形態モデルや多数の患者固有モデルを用いた研究により、分岐形態と脳動脈瘤発生の関連性を深く解析するべきである。

【結語】 WSS の変化は血管分岐形態に強く関連し、WSS は分岐角が狭い場合と分枝径が細い場合で高くなり、高い WSS が生じる壁面積は分岐角や分枝角が広いほど大きくなる。高い WSS に加え、高い WSS が生じる壁面積とその面積にかかる WSS の総和が、脳動脈瘤発生に関与すると考えられる。分岐形態の観察は脳動脈瘤発生の予測に結びつく可能性があり、広い分枝角と細い分枝は脳動脈瘤発生の危険因子となり得る。

(論文審査の結果の要旨)

脳動脈瘤発生に血行力学因子、特に壁面せん断応力 (WSS) が関与していることが以前から示唆されていたが、数値流体解析 (CFD) の発達により、WSS が上昇している部位で脳動脈瘤が発生することが証明されている。また、WSS の上昇が血管内皮細胞の炎症関連転写因子を活性化し、血管壁に生じる慢性炎症反応が脳動脈瘤の発生・増大に結びつくことが近年分かってきた。一方で、脳動脈瘤の発生しやすい血管分岐部の形態に着目した臨床研究があり、分岐角が広い場合や分枝径が細い場合に脳動脈瘤発生の危険性が高いとされている。そこで我々は、分岐角が広い場合や分枝径が細い場合に WSS が上昇するという仮説のもと、分岐角や分枝径を変化させた多数の血管モデルの CFD 解析から、WSS の最大値 (WSS_{MAX}) と、15 Pa 以上の高い WSS が計測された壁面積 (AREA) と、その面積における WSS の総和 (F_W) を計算し、これらの WSS パラメータと分岐角・分枝角との関連性を線形回帰分析で検討した。

その結果は以下の通りである。

1. 左右分枝径が等しいタイプ A モデルにおいて、 WSS_{MAX} は分岐角が狭い場合と分枝角が広い場合で有意に上昇し、AREA と F_W は分岐角・分枝角が広い場合で有意に上昇した。
2. 左分枝径が細いタイプ B モデルにおいて、 WSS_{MAX} は細い分枝側で高くなる傾向があり、細い分枝の WSS_{MAX} は分岐角が狭くなるにつれて上昇した。AREA と F_W は分岐角・分枝角と正の相関がみられた。
3. 以上から、 WSS_{MAX} は分岐角が狭いか分枝径が細いと上昇し、AREA と F_W は分岐角や分枝角が広いと上昇することが分かった。
4. WSS_{MAX} は分岐角が狭いほど上昇したが、AREA と F_W は分岐角が広いほど上昇した。AREA や F_W は、分岐角が広いと脳動脈瘤発生の危険性が高まるという事実を支持する WSS 関連パラメータと考えられる。
5. WSS_{MAX} が細い分枝側で上昇する傾向がみられたのに対し、AREA/ F_W と分枝径との間には一定の傾向を見出すことができなかった。細い分枝よりも太い分枝側の血流量が多いため、太い分枝側の AREA が細い分枝よりも大きくなる場合があり、そのために AREA や F_W が細い分枝側で上昇する傾向が示されなかったと考えられる。

以上から、WSSの変化は血管分岐形態に強く関連しており、WSSの絶対値だけでなく、高いWSSに曝された壁面積の広さも脳動脈瘤発生に関与すると考えられた。血管分岐形態の観察は脳動脈瘤発生の予測

に結びつく可能性があり、広い分枝角と細い分枝は脳動脈瘤発生の危険因子となり得る。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。

Quantitative Analysis of Endocardial and Epicardial Left Ventricular Myocardial Deformation in Patients with Cardiac Amyloidosis (心アミロイドーシス患者における左室心内膜下および心外膜下心筋変形のスペックルトラッキングエコー法による定量解析)

小塚綾子

(論文の内容の要旨)

【背景】 アミロイドーシスとはアミロイドと呼ばれる異常蛋白が全身さまざまな臓器に沈着し、機能障害を起す病気である。このうち、心臓にアミロイドが沈着し、心病変を有した状態を心アミロイドーシス (CA) という。

心アミロイドーシス患者において、心臓MRIによる評価では、左室心内膜下側から始まる遅延造影 (LGE) が認められ、アミロイド蛋白沈着領域と一致していると考えられている。心アミロイドーシスでは、左室心内膜下心筋へのアミロイド蛋白の沈着により左室心筋内層優位の心筋収縮障害をきたすことが予想される。

今回、我々はこれを証明するために、左室壁を心筋内層と外層の2層に分け、スペックルトラッキング法にて心筋ストレイン解析を用いて心筋機能を評価した。

【方法】 対象は組織学的に診断がついている全身性アミロイドーシス患者98名 (内訳: AL47名, ATTR m 51名) と正常コントロール群20名。CA患者全例で^{99m}Tc-ピロリン酸心筋シンチグラムを施行した。

高血圧症、弁疾患、糖尿病が無く、心エコーで拡張末期左室壁厚が12 mm以上の症例を心病変ありと判断した。アミロイドーシスの心病変を認めない群をGroup 1 (n=32)、心病変を有するが、心不全が無い、またはBNP100 pg/ml未満の群をGroup 2 (n=23)、心病変を有し、心不全あり、またはBNP100 pg/ml以上をGroup 3 (n=43)に分類した。左室壁を心筋内層 (inner layer) と心筋外層 (outer layer) の2層に分け、スペックルトラッキング法にて、心筋ストレイン解析 (円周方向、壁厚方向、長軸方向) を用いて心筋機能を評価した。

【結果】 Group 3では他の2群に比べ、年齢やBNP値、左房径、左室壁厚が高い傾向にあった。また、パルス

ドプラ法による左室流入血流波形は偽正常化パターンを呈した。円周方向のストレインは4群間で内層、外層に有意差を認めなかった。壁厚方向のストレインに関しては、左室基部と中部において、Group 1に比較し、Group 2, 3で内層が低下していた。(P<0.001) またGroup 1はコントロール群より内層が低下していた。

左室基部、中部において、長軸方向のストレインは内層、外層ともにGroup 1に対し、Group 2, 3で低下を示した。AL, ATTRmアミロイドーシス間では差を認めなかった。^{99m}Tc-ピロリン酸心筋シンチグラムは51人中50人のATTRm患者に集積を認めたが、AL患者では全例集積を認めなかった。

【考察】 本研究は心アミロイドーシスの心内膜側の心筋収縮障害をスペックルトラッキング法にて心筋ストレイン解析を用いて証明した最初の報告である。進行した心アミロイドーシスにおいては左室基部から中部の壁厚方向ストレインは内層でより強く障害され、外層まで障害が及んでいる。長軸方向のストレインは基部から中部で内層、外層ともに障害されていた。本検討の結果は、MRIの遅延造影が左室心内膜下から全周性に認められるという報告と合致する結果であり、アミロイドの沈着パターンと関連していると考えられ、スペックルトラッキング法による心筋ストレイン解析が心アミロイドーシスの早期発見、鑑別に役立つ可能性が示された。また本研究は、アミロイドーシスによる心筋障害進展メカニズムの視点からも重要性を有する。すなわち、左室心筋内層側には内斜走筋が存在し、長軸方向、壁厚方向の機能に寄与する。そのため、心内膜下側の特徴的なアミロイド沈着パターンは長軸方向、壁厚方向のストレインを低下させる。しなしながら、円周方向の心筋繊維は左室心筋の中間と外層に存在する。その結果、円周方向の収縮能はアミロイドーシスが進行し、心筋外層にアミロイドの沈着が起こる

まで保たれると考えられる。本研究では Group 1 でも正常群と比較し、内層の壁厚方向ストレインの低下が明らかであった。ATTRm アミロイドーシスでは51人中50人が Tc 心筋シンチでは集積を認めており、壁厚正常群 (Group 1) でもすでにアミロイドの沈着があることを意味する。

本研究の問題点としては、MRI が未施行であることが挙げられる。

造影 MRI でのアミロイド沈着の定量化とスペックルトラッキングとの対比を行うことにより正確な障害パターンの評価が可能となると考えるが、腎障害を有する患者も多く、本研究では MRI の施行は困難であった。

(論文審査の結果の要旨)

心アミロイドーシス患者において、心臓 MRI による評価では、左室心内膜下側から始まる遅延造影 (LGE) が認められ、アミロイド蛋白沈着領域と一致していると考えられている。心アミロイドーシスでは、左室心内膜下心筋へのアミロイド蛋白の沈着により左室心筋内層優位の心筋収縮障害をきたす事が予想される。

本研究は、左室壁を心筋内層と外層の2層に分け、スペックルトラッキング法にて心筋ストレイン解析 (円周方向、壁厚方向、長軸方向) を用いて心筋機能を評価した。

その結果、以下の結果を得た。

1. Group 3 (CHF 群) は他の2群に比べ、年齢やBNP 値、左房径、左室壁厚が高い傾向にあった。

また、パルスドプラー法による左室流入血流波形は偽正常化パターンを呈し、拡張障害の進行が顕著であった。

2. 円周方向のストレインは4群間で内層、外層に有意差を認めなかった。
3. 壁厚方向のストレインは、左室基部と中部において、Group 1 (No LVH 群) に比較し、Group 2 (LVH 群)、Group 3 で内層が低下していた。(P<0.001)
4. Group 1 はコントロール群より内層の壁厚方向のストレインが低下していた。
5. 左室基部、中部において、長軸方向のストレインは内層、外層ともに Group 1 に対し、Group 2, 3 で低下を示した。
6. AL, ATTRm アミロイドーシス間では差を認めなかった。

これらの結果から、心アミロイドーシス患者において、病態早期からの左室基部、中部内層の壁厚方向と全層性の長軸方向の収縮障害の存在が明らかになった。MRI の心内膜側心筋の遅延造影と類似し、又、解剖学的な心筋の3層構造の収縮機能とも矛盾しない結果であった。本研究は、心アミロイドーシスの早期診断法確立に寄与すると共に、その病態メカニズム解明にも貢献することが期待される。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。

Peroxisome proliferator-activated receptor α attenuates high-cholesterol diet-induced toxicity and pro-thrombotic effects in mice (ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α はマウスにおける高コレステロール食誘導毒性と血栓形成促進性を減弱させる)

盧 郁

(論文の内容の要旨)

【背景】ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α (PPAR α) は、脂肪酸およびコレステロール代謝を調節する核内転写調節因子である。高コレステロール食がもたらす高コレステロール血症は心臓血管病 (CVD) のリスク因子と考えられている。

しかし、コレステロール摂取が毒性を発揮する機序や様々な凝固関連因子の発現変化に影響するか否かは不明である。

そこで、これらの不明点について研究を行い、PPAR α の影響を検討した。

【対象・方法】野生型および PPAR α ノックアウトマウスを用いて、普通餌もしくは高コレステロール [1.5% (w/w)] 含有餌を8週間与えた後に、血液および肝臓中のコレステロールおよび中性脂肪含有量・肝臓病理所見・血液および肝臓中の凝固関連因子含有量と抗凝固因子であるスルファチド含有量・肝臓におけるスルファチド代謝変化・細胞内脂質輸送体の発現量・酸化ストレスおよびその代謝関連酵素群発現量を測定し、両群間で比較検討した。肝臓病理所見はヘマトキシリン・エオジン染色法にて評価した。mRNA 解析は real-time PCR 法を用いた。蛋白発現量解析

は immunoblot 法を用いた。血中の脂質および凝固因子含有量測定は enzymatic assay kit を用いて測定した。スルファチド含有量測定は飛行時間型質量分析機 (MALDI-TOF MS) を用いて含有量を測定した。7 種類のリゾスルファチドの総和をスルファチド含有量とした。PPAR α 活性測定は核内抽出蛋白を用いて、PPAR response element (PPRE) 結合能を ELISA 法により測定した。統計的解析は、測定結果を平均値 \pm SD で示し、統計的有意差は two-way ANOVA を用いて検定した (解析ソフト: SPSS v22.0J)。P < 0.05 を統計的有意差ありとした。

【結果】 PPAR α 遺伝子欠損マウスにおいて、高コレステロール摂取は肝臓中の中性脂肪蓄積を引き起こし、肝臓の炎症および酸化ストレス増加を誘発した。さらに、血中および肝臓中において、凝固因子である tissue factor \cdot plasminogen activator inhibitor-1 \cdot carboxypeptidase B2 の含有量の増加、また、抗凝固 \cdot 抗血小板作用を示すスルファチドの含有量の低下が認められた。野生型マウスでは、これらの変化は著しく抑制されていた。

【結論】 本研究結果は、コレステロール過剰摂取は脂肪肝炎 \cdot 酸化ストレスの増強 \cdot 血栓形成促進性の増加などの毒性作用を発揮し、それらに関連する凝固亢進をもたらす可能性を示唆した。また、本研究は、PPAR α 活性化の示す脂質代謝の恒常性維持 \cdot 抗炎症 \cdot 抗酸化ストレスといった既知の作用に加えて、凝固因子やスルファチドの発現調節を介してコレステロール毒性を減弱させることを初めて示唆した。PPAR α 活性化は、様々な凝固因子や抗凝固因子の発現調節を介して高コレステロール血症が誘発する CVD の発症予防に有効かもしれない。

(論文審査の結果の要旨)

PPAR α は、脂肪酸代謝臓器に広く分布する核内受容体であり、エネルギーの恒常性維持作用 \cdot 酸化ストレス作用 \cdot 抗炎症作用などの生理機能を発揮する。また、近年、PPAR α はコレステロール代謝の恒常性維持や一部の凝固因子の発現にも関与することが報告されている。

高コレステロール血症は心血管病のリスク因子であるが、心血管病の発症機序としてコレステロールがプラーク形成を促進すること以外に、一部の凝固因子を増加させ凝固活性を高めることも報告されている。しかし、コレステロール毒性の分子的機序や様々な凝固因子に与える影響については不明のままである。

我々は、「高コレステロール食は、脂質代謝の変調 \cdot 酸化ストレスの増加 \cdot 凝固関連因子の産生変化によりコレステロール毒性を発揮し、PPAR α はこれらのコレステロール毒性を抑制する」という仮説をたてた。この仮説を検証するために、野生型マウスと PPAR α 遺伝子欠損マウスに高コレステロール含有餌を 8 週間摂取させ、血液および肝臓中のコレステロールおよび中性脂肪含有量 \cdot 肝病理所見 \cdot 血液および肝臓中の凝固関連因子含有量と抗凝固因子であるスルファチド含有量 \cdot 肝臓におけるスルファチド代謝変化 \cdot 細胞内脂質輸送体の発現量 \cdot 酸化ストレスおよびその代謝関連酵素群発現量を測定し、両群間で比較検討した。

その結果、虚部は以下の結論を得た。

1. PPAR α 遺伝子欠損マウスにおいて、コレステロール過剰摂取は肝臓内の中性脂肪蓄積 \cdot 肝臓の炎症および酸化ストレスを増加させた。
2. PPAR α 遺伝子欠損マウスの血中および肝臓内において、コレステロール過剰摂取は凝固因子である tissue factor \cdot plasminogen activator inhibitor-1 \cdot carboxypeptidase B2 各々の含有量の増加、また、抗凝固 \cdot 抗血小板作用を示すスルファチド含有量の低下をもたらした。
3. 野生型マウスでは、これらの変化は有意に抑制されていた。

これらの結果により、コレステロールの過剰摂取は、脂肪肝炎 \cdot 酸化ストレスの増強 \cdot 血栓形成促進性の増加などの毒性作用を発揮する可能性があることが判明した。また、PPAR α は、脂質代謝の恒常性維持 \cdot 抗炎症 \cdot 抗酸化ストレスといった既知の作用に加えて、凝固因子やスルファチドの発現調節を介してコレステロール毒性を減弱させる作用を発揮する可能性が初めて示唆された。これらの結論は、心血管病に対する新規予防法や様々な薬剤の心血管病抑制機序を考える上で有用と思われた。

従って、主査 \cdot 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。

Liver Stiffness-Spleen Size-to-Platelet Ratio Risk Score Identifies Esophageal Varices in Japanese Patients with Chronic Hepatitis C (日本人のC型慢性肝炎患者においてLSPSは食道静脈瘤を判別する)

柴田 壮一郎

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 門脈圧亢進症は慢性肝疾患の合併症の1つである。食道静脈瘤は門脈圧亢進症によって生じる側副血行路の異常であり、肝疾患の重症度と関連する。肝硬変と診断された患者には食道静脈瘤の有無を確認するため上部消化管内視鏡検査を推奨するが、上部消化管内視鏡検査は苦痛を伴う検査であるためこれを希望しない患者もおり、また、希ではあるが偶発症の危険性がある。そのため、非侵襲的に食道静脈瘤の有無を予測する方法の開発が望まれている。これまでに、食道静脈瘤の原因となる肝硬変の存在予測を非侵襲的に行うことができるFibroScanが開発されている。FibroScanは肝の線維化と相関する肝硬度を非侵襲的に測定可能である。肝硬度自体も食道静脈瘤の予測に有用と考えられるが、血小板数、脾臓長径、肝硬度の3つの検査項目を組み合わせて作られた計算式であるLSPSがさらに有用である可能性がある。今回LSPSを用いて、日本人のC型慢性肝炎患者において食道静脈瘤の有無を予測できるか否かを検討した。

【対象と方法】 信州大学医学部附属病院にて、2012年4月から2014年12月の間にC型慢性肝炎にて加療を受けた99人を対象とした。対象は日本人とし、除外基準は食道静脈瘤出血の既往や腹水の既往がある患者とした。C型慢性肝炎の診断は以下のように行った。①HCV抗体が陽性かつHCV-RNAが陽性であること、②HBs抗原、HIV抗体が陰性であること、③他の肝疾患が存在しないこととした。

以上の患者は血液検査、腹部超音波検査、FibroScanを同日に施行した。上部消化管内視鏡検査はその前後1年以内に施行した。FibroScanの実施については、全ての患者はMプローブを用いて評価した。肝硬度は10回の測定値の中央値とし、成功率が60%以上かつ、四分位範囲の中央値が30%未満の場合のみ、信頼できる結果とした。CAP値は肝硬度を測定する際に同時に測定され、肝硬度の測定が有効であった場合にのみ有効とした。

【結果と考察】 対象患者99人を食道静脈瘤の有無で分け、各種データを比較検討した。単変量解析では食道

静脈瘤のある患者はない患者と比較して有意に高齢であり、血小板数が低く、アルブミン値が低く、AST値が高く、PT%が低く、LSが高値であり、CAPが低値であり、脾臓長径が長かった。また、APRI、FIB-4、血小板数/脾臓長径、LSPSなどの非侵襲的な線維化マーカーはいずれも食道静脈瘤と有意に関連していた。多変量解析ではLSPSとCAP値が独立して食道静脈瘤の存在と関連していた。続いて食道静脈瘤の出血のリスクの程度と非侵襲的な線維化マーカーの関連を検討した。食道静脈瘤の程度はLS、脾臓長径、APRI、FIB-4、LSPSと正の相関をもち、血小板数、CAP値、血小板数/脾臓長径と逆相関を示していた。また、食道静脈瘤の有無の予測能評価のため非侵襲的な線維化マーカーのROC曲線を作成しAUCを求めたところ、LSPSのAUCは0.928と最も高く、LSPSのカットオフ値を0.7と設定した場合、感度86.3%、特異度89.6%、陽性的中率70.4%、陰性的中率95.8%であり、LSPSが0.7未満の患者において食道静脈瘤がないことに対する正確度は88.9%と高値であった。

【結論】 LSPSは日本人のC型慢性肝炎患者において、非侵襲的に食道静脈瘤の有無及び出血リスクの予測が可能であることが示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

門脈圧亢進症は慢性肝疾患の合併症の一つであり、食道静脈瘤は門脈圧亢進症によって生じる側副血行路の異常である。時に静脈瘤が破裂し死亡することもあるため、肝硬変患者では食道静脈瘤の有無を確認しておく必要がある。食道静脈瘤の有無を確認するためには上部消化管内視鏡検査の施行が必要であるが、苦痛を伴う検査であるため検査を希望しない患者も多い。そこで、非侵襲的な検査を組み合わせることで食道静脈瘤の発生を予測し、これを根拠として、食道静脈瘤の発生リスクが高い患者に対して上部消化管内視鏡検査の施行を勧める方法を考案した。

今回、非侵襲的な検査で求められる肝硬度、血小板数、脾臓長径を組み合わせた計算式であるLSPSが日本人の食道静脈瘤の発生子測に有用であることを検討し

た。

その結果、以下の結論を得た。

1. 単変量解析では APRI, FIB-4, 血小板数 / 脾臓長径, LSPS などの非侵襲的な線維化マーカーはいずれも食道静脈瘤の有無と有意に関連していた。
2. 食道静脈瘤の程度は LS, 脾臓長径, APRI, FIB-4, LSPS と正の相関をもち, 血小板数, CAP 値, 血小板数 / 脾臓長径と逆相関を示していた。
3. 多変量解析では LSPS と CAP 値が食道静脈瘤の存在と関連する独立した因子であった。
4. LSPS のカットオフ値を 0.7 とすると AUC は 0.928

と他の項目と比較しても最も良好であり, 陽性的中率 70.4%, 陰性的中率 95.8% であり, LSPS が 0.7 未満の患者において食道静脈瘤がないことに対する正確度は 88.9% と高値であった。

これらの結果から, 日本人の C 型慢性肝炎患者において, 現在臨床で使用されている線維化計算式の中で, LSPS は最も正確に食道静脈瘤の発生を予測する検査となり得ることが示唆された。

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。

Panobinostat inhibits the proliferation of CD34+CD38-cells under stimulation of hematopoietic growth factors on AGM-S3 cells in juvenile myelomonocytic leukemia (Panobinostat は若年性骨髄単球性白血病における CD34陽性 CD38陰性細胞の AGM-S3 上での造血因子依存性増殖を抑制する)

倉 田 敬

(論文の内容の要旨)

【はじめに】血液悪性疾患に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDACi) の効果が多数報告されている。我々は若年性骨髄単球性白血病 (JMML) 患者の CD34陽性細胞に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 panobinostat と脱メチル化剤 5-azacytidine の影響について検討したため報告する。

【方法】我々は既報にて stem cell factor (SCF) と thrombopoietin (TPO) を添加した胎生中期マウスの大動脈—中腎—生殖原器 (AGM) 領域から樹立された細胞株 AGM-S3 細胞上で JMML の CD34陽性細胞が増殖し, 免疫不全マウスに移植可能であることを示した (Sakashita ら, Leukemia, 2015)。今回我々は 8 名の JMML 患者 (*NRAS* 変異 2 名, *CBL* 変異 2 名, *PTPN11* 変異 2 名, 7 monosomy 2 名) の CD34 陽性細胞に panobinostat (10, 20, 40 nM) あるいは 5-azacytidine (2, 3, 8 μM) を添加し, 1 週間培養後に AGM-S3 細胞と SCF (10 ng/ml) + TPO (10 ng/ml) により誘導される JMML CD34+ 細胞増殖に対する影響を検討した。

【結果】Day7 の解析で, panobinostat は用量依存性に AGM-S3 細胞上での JMML CD34 陽性細胞の増殖を抑制し, 遺伝子変異, 染色体異常の差異の影響を受けなかった。CD34 陽性 CD38 陰性細胞は CD34 陽性 CD38 陽性細胞よりも panobinostat に感受性を示した。Panobinostat は JMML CD34 陽性細胞に対する

AGM-S3 細胞の増殖能力には影響を及ぼさなかった。また panobinostat は正常の CD34 陽性細胞に対しても増殖抑制を示した。5-azacytidine は JMML CD34 陽性細胞に対する増殖抑制は示さなかった。

【考察】Panobinostat は JMML CD34 陽性細胞の増殖, 特に CD34 陽性 CD38 陰性細胞の増殖を直接的に抑制したと考えられた。Niemyer らは JMML に対する 5-azacytidine の臨床的な治療効果を報告しているが (Blood, 2015), 今回の実験では 5-azacytidine は JMML CD34 陽性細胞に対する増殖抑制効果は示さなかったことから, 5-azacytidine の JMML に対する効果は間接的な生体内の免疫反応が関与している可能性が考えられた。In vitro で panobinostat は正常の CD34 陽性細胞に対しても増殖抑制効果を示したことから, いくつかの臨床研究で示されている panobinostat による汎血球減少と矛盾するものではなかった。

【結論】Panobinostat は遺伝学的な異常の差異によらず, JMML CD34 陽性細胞の増殖抑制効果を示したため, 正常の CD34 陽性細胞にも抑制効果を示したことも踏まえて, JMML 幹細胞に対する移植前治療薬の 1 つとなりうる可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

若年性骨髄単球性白血病 (JMML) 患者の CD34 陽性細胞に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 panobinostat と脱メチル化剤 5-azacytidine の影響について検討した。

その結果以下の成績を得た。

1. AGM 細胞+SCF/TPO 依存性の JMML CD34+細胞は, panobinostat 添加により, 10 nM で42%に, 20 nM で14%に, 40 nM で1%に減少した。PTPN-11変異, NRAS 変異, CBL 変異, 7monosomy のいずれの検体でも CD34+細胞の増殖は抑制された。また panobinostat は AGM 細胞の CD34+細胞増殖支持能には影響を及ぼさなかった。JMML CD34+細胞に対する IC₅₀は9.2 nM±3.0 nM だった。
2. Panobinostat 添加群では, JMML CD34+CD38-細胞の減少が CD34+CD38+細胞の減少よりも顕著であった。
3. 5-azacytidine 添加では JMML CD34+細胞数の明らかな減少は認められなかった。
4. 培養4週間後の8 trisomy, 7 monosomy の比率は無添加群, panobinostat 添加群, 5-azacytidine 添加群の間で差はなく, in vitro の長期培養では染色体異常は消失しなかった。

5. Day2 (培養開始後48時間) の解析で, HL-60細胞では panobinostat, 5-azacytidine 添加により apoptosis が誘導されていたが, JMML CD34+細胞では apoptosis を誘導された細胞は12%に留まった。panobinostat 添加により HL-60細胞ではS期の細胞は無添加群に対して24.3%の減少が見られたが, JMML CD34+細胞では3.5%の減少に留まった。
6. 薬剤添加後 Day7の JMML CD34+細胞では CD14, CD15の発現は見られなかった。
7. 臍帯血 CD34+細胞, 骨髄 CD34+細胞の増殖も panobinostat 添加により抑制された。

以上より, panobinostat は遺伝学的な異常の差異によらず, JMML CD34陽性細胞の増殖抑制効果を有することを示した。正常の CD34陽性細胞にも抑制効果を示したことも踏まえて, JMML 幹細胞に対する移植前治療薬の1つとなりうる可能性が示唆された。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。

WFSI mutation screening in a large series of Japanese hearing loss patients: Massively parallel DNA sequencing-based analysis (日本人難聴患者における *WFSI* 遺伝子変異のスクリーニング)

小林 正 史

(論文の内容の要旨)

難聴はおよそ出生1,000人に一人の割合で認められる頻度の高い障害であり, その約3分の2では原因が遺伝子の関与する遺伝子難聴である。遺伝性難聴の原因遺伝子は約100種類報告されており, その約30種類が優性遺伝形式をとる。優性遺伝形式を呈する難聴は罹患頻度が低く, また家族歴のない場合でも発症する可能性があり, 従来の手法では解析困難であった。近年次世代シーケンサーの登場により, 多数の難聴原因遺伝子を高速かつ網羅的に解析することができるようになった。これにより今まで見出すことが困難であった原因遺伝子変異を検出することが可能になった。

WFSI 遺伝子は, Wolfram 症候群や非症候群性難聴 (DFNA6/14/38) の原因遺伝子である。4番染色体短腕に存在し, 8個のエクソンから構成されており, Wolframin タンパクをコードしている。非症候群性難聴 (DFNA6/14/38) は, 常染色体優性遺伝子形式を呈する。これまでに40種類以上の変異が報告されている。本研究では日本人難聴患者2549例を対象に, 次世代シーケンサーを用いた, 網羅的な遺伝子変異の解析

を行った。これにより, 13の *WFSI* 遺伝子変異を19家系30例に認めた。13変異中8変異は過去に報告されており, 5変異は新規変異であり, また19家系中15家系は優性遺伝形式, 4家系は孤発家系であった。この結果日本人常染色体優性遺伝性難聴患者における頻度は2.5% (15/602) であることを明らかにした。

またその *WFSI* 遺伝子変異をみとめた19家系30例の臨床的特徴の検討を行った。難聴の進行, 耳鳴, 若年発症を呈する症例を多く認め, 難聴の程度は様々であったが, 中等度が多かった。聴力の左右差は認めなかった。また多くの家系では過去の報告と同様に低音障害型感音難聴であったが, いくつかの家系では高温漸傾型の難聴を示す家系も認めた。低音障害型感音難聴を呈する日本人難聴患者の中では約36%の頻度だった。過去の報告では稀ではあるが, めまい症状も複数の家系で認めた。さらに p.A716T, p.K836T, p.E864K の3変異においてはハプロタイプ解析を行い, どの変異もホットスポット変異であることが示唆された。本研究では *WFSI* 変異を有する患者において, 今までにない表現型も示唆した。

(論文審査の結果の要旨)

WFSI遺伝子は、常染色体優性遺伝形式をとる非症候群性の原因遺伝子 (DFNA4/16/38) であるが、常染色体劣性遺伝形式をとる Wolfram 症候群、常染色体優性遺伝形式をとる Wolfram-like 症候群の原因遺伝子でもある。WFSI遺伝子がコードする Wolframinタンパクは小胞体に発現しているが、まだその機能について明らかにされていない。過去の報告では、常染色体優性遺伝形式をとる非症候群性難聴は、低音障害型感音難聴を呈する事が多く、Wolfram-like 症候群、Wolfram 症候群は高度～重度難聴を呈することが多いとされている。

今回日本人難聴患者2549例を対象に、次世代シーケンサーを用いた網羅的な遺伝子変異の解析を行い、日本人難聴における WFSI 遺伝子変異の頻度やその臨床像について詳細に検討した。

その結果は以下の通りであった。

1. 13の WFSI 遺伝子変異を19家系30例に認めた。13変異中8変異は既知変異であり、5変異は新規変異であった。また19家系中15家系は優性遺伝形式であり、4家系は孤発家系であった。この結果日本人難聴患者における頻度は2.5% (15/602) だった。
2. 全ての変異はミスセンス変異であり、exon8に存在

した。またほとんどの変異のドメインは C-terminal に認めた。

3. 多くは若年発症で、特に就学前検診で見つかることが多かった。
 4. ほとんどの症例で難聴の進行を認めた。耳鳴は約半数の症例に認め、めまいは複数家系に認めた。
 5. 中等度の低音障害型感音難聴を多く認めたが、Ⅲ型難聴・高音漸傾型感音難聴など非典型的な難聴も認めた。
 6. Wolfram-like 症候群を呈すると報告されている WFSI 遺伝子変異では、7例中2例に視神経萎縮を認めた。難聴の程度は常染色体優性遺伝形式をとる非症候群性難聴と比較して重かった。
 7. 複数家系で認めた変異 (p.A716T, p.K836T, p.E864K) においてハプロタイプ解析を行い、どの変異も Mutation hot spot であることを明らかにした。
- 以上より、常染色体優性遺伝形式をとる日本人難聴患者における WFSI 変異症例の頻度は比較的高く、臨床的重要な遺伝子と思われた。また、今回明らかになった詳細な臨床像は WFSI 遺伝子変異症例の診断、介入を選択する上で重要な情報として活用可能である。
- 以上、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。

Knockdown of TRPV2 channels in sensory neurons increases limb use and weight bearing but dose not affect spontaneous flinching behavior in a mouse model of bone cancer (一次知覚神経の Transient Receptor Potential Vanilloid Subfamily 2 チャンネルのノックダウンは、マウス骨がんモデルにおける自発痛には影響せず、体動時痛のみを改善する)

山本克己

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 骨がん痛には安静時の自発痛と、体動時に生じる痛み (体動時痛) があり、その機序は十分には解明されていない。がん性痛の中でも原発性や転移性の骨がん痛は、オピオイド抵抗性で難治性である。新たな骨がん痛の治療法を開発するためには、骨がん痛の機序解明が求められる。我々はこれまで Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) が骨がんの自発痛に関与するが、体動痛には関与しないことを報告した (Fuseya et al., Anesthesiology 2016)。一方、TRPV2は、炎症性痛に関与するとされるが、骨がん痛については骨組織への存在も含めて、その関与は不明であった。そこで本研究の目的は、骨がん痛における TRPV2の役割を明らかにすることである。

【方法】 雄性 C3H/HeJ マウス (20-25 g) を使用した。(1) 骨髄へ投射する腰部後根神経節ニューロン (DRG) を明らかにするために、逆行性神経トレーサーである Fluoro-Gold (FG) を左大腿骨骨髄内へ注入した。48時間後に DRG を摘出し、TRPV1と TRPV2の抗体を用いて免疫染色し、骨髄に投射する TRPV1と TRPV2陽性 DRG の数と直径を計測した。(2) 大腿骨へ肉腫細胞を移植後、痛み行動を確認し、small interference RNA (siRNA) を3日間マウス腰髄腔内に投与し、DRG の TRPV2遺伝子をノックダウンした。コントロール群に対しては scrambled control siRNA を投与した。自発痛の評価のために患肢を振り回す (flinch) 回数を測定した。体動時痛を評価するために患肢の使い方 (limb use) と体重のかけ方 (weight

bearing) を評価した。ウエスタンプロット法により、骨がん進展時の TRPV2 に対する siRNA の効果を確認した。

【結果】 (1) 左大腿骨骨髄へ注射する TRPV2 と TRPV1 陽性 DRG ニューロンの割合はそれぞれ 22 % と 21 % であった。TRPV1 陽性細胞は主として小型ニューロン (<30 μm) であり、TRPV2 陽性細胞は中型ニューロン (30-40 μm) で多かった。(2) コントロール群では、肉腫細胞移植 13 日後には flinch 回数が増加し、limb use と weight bearing のスコアが悪化した。siRNA の投与により limb use と weight bearing のスコアが改善したが、flinch 回数は減少しなかった。(3) 骨がんの痛みが生じた 13 日後の DRG における TRPV2 の遺伝子の発現量に変化はなかったが、siRNA の三日間投与によりその発現量は有意に低下した。TRPV2 に対する siRNA の投与自体は、正常マウスの熱・機械刺激に対する痛みの潜時・閾値に影響を与えなかった。

【考察】 本研究から、骨髄内に注射する TRPV2 陽性 DRG が TRPV1 陽性 DRG とほぼ同数存在し、TRPV1 とは異なり、TRPV2 陽性細胞の多くは中型ニューロンであることが示された。TRPV2 は正常マウスの通常の熱・機械的な痛みや、骨がん進展時の自発痛には関与しなかった。しかし、骨がんの増殖時には、骨髄内に注射する TRPV2 陽性 DRG が感作され、体動時痛が生じる可能性が示唆された。すなわち、骨がんにおいては、自発痛と体動時痛に関与する分子とそのメカニズムが異なり、前者には TRPV1 が、後者には TRPV2 が関与している可能性が示唆された。

【結論】 骨がん進展時の体動時痛には TRPV2 チャネルが関与する。

(論文審査の結果の要旨)

骨がんによる痛み(骨がん痛)は難治性の疼痛で、オピオイドは効果が弱く、新たな鎮痛薬・方法の開発が求められている。われわれは先行研究で、骨がん痛における自発痛の発生には Transient Receptor Potential Vanilloid Subfamily 1 (TRPV1) が関与するが、体動時痛には関与していないことを示した。一方、Transient Receptor Potential Vanilloid Subfamily 2 (TRPV2) は、痛みを伝える Aδ 線維に発現し、様々な臓器で機械応答の分子とされるため、体動時痛に関与している可能性がある。しかし、そもそも骨髄に分布する神経に TRPV2 チャネルが存在するか否か、骨がん痛、特に体動時痛へ関与しているのか不明であった。そこで本研究では、まず骨髄に分布する神経に

TRPV2 チャネルが存在するのか検討した。次いで、骨がん痛、特に体動時痛の発生に TRPV2 チャネルが関与しているか否かを、ノックダウン法を用いて検討した。

雄性 C3H/HeJ マウス (20-25 g) の左大腿骨骨髄に逆行性神経トレーサー Flouoro-Gold を注入し、対応する L2, L3 の後根神経節 (DRG) を摘出し、骨髄に分布する感覚神経に TRPV2 チャネルが存在しているのかを調べた。また、骨がん痛モデルマウスを作製後、TRPV2 に対する siRNA を腰部脊髄くも膜下腔へ投与して骨がん痛関連行動への効果、および後根神経節細胞の TRPV2 発現の効果を調べた。また正常動物における TRPV2 のノックダウンの効果を、機械・熱刺激に対する閾値、逃避潜時を指標として調べた。

その結果、山本克己は次の結論を得た。

1. 正常動物の大腿骨骨髄に分布する L2, L3 DRG の約 22 % は TRPV2 陽性で、これらは主として medium 細胞であった。
2. 骨がん進展時にも TRPV2 チャネル発現量は増加しなかった。
3. マウス DRG の TRPV2 チャネルをノックダウンすると、骨がん痛モデル動物における体動時痛が軽減したが、自発痛は軽減しなかった。
4. 正常動物の機械刺激と熱刺激に対する閾値と逃避潜時は、TRPV2 チャネルのノックダウンで影響を受けなかった。

これらの結果より、骨がん痛モデルマウスにおいて後根神経節細胞の TRPV2 発現を選択的にノックダウンすることによって、体動時痛を減弱させることが明らかとなった。本研究から、マウス骨がんモデルにおいて、骨がん進展時の体動時痛には TRPV2 チャネルが関与することが示唆された。

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。

The contribution of genetic variants of the peroxisome proliferator-activated receptor- α gene to high-altitude hypoxia adaptation in Sherpa highlanders (シェルパ高地民族の高所低酸素適応におけるペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α 遺伝子変異の関与)

木野田 文也

(論文の内容の要旨)

【目的】 シェルパ民族はネパールの高地に在住し、その高い高所低酸素耐性によってエベレスト登山で重要な役割を果たしている。彼らは遺伝的背景によって高地適応を得ていることが知られている。ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α 遺伝子 (*PPARA*) は、複数の代謝経路に関する核ホルモン受容体スーパーファミリーとその発現制御を行う転写因子をコードする。これまでの研究から、チベット高原に住むチベット民族の高地適応において *PPARA* の関与が示されている。本研究ではシェルパ民族の高地適応への *PPARA* の関与を調べるため、その単塩基多型 (SNPs) を解析し検討を加えた。

【方法】 研究対象は、高地適応群としてシェルパ族111名、対照群として非シェルパ族105名である。シェルパ族はネパールのナムチェバザール (標高3,440m) に在住するシェルパ民族であり、非シェルパ族はネパールのカトマンズ (標高1,300m) に居住するネパール人である。それぞれよりインフォームドコンセントを得て静脈採血を行い、フェノール法でDNAを抽出した。対象のSNPsは以下の基準で選択した。(1) *PPARA* 内に位置する。(2) SNP間は10 kbp以上離れている。(3) Fixation index (Fst) が南アジアと東アジアで0.05未満である。(4) Expression of quantitative trait loci (eQTL) である。(5) 入手可能な TaqMan assay である。以上の条件から7つのSNPs (rs135547, rs5769178, rs881740, rs4253712, rs5766741, rs5767700, rs1800234 (in exon)) を選択し、TaqMan SNP Genotyping Assay を用いて分析し、遺伝的距離、遺伝子型分布、対立遺伝子頻度、連鎖不均衡、ハプロタイプの組み合わせを解析した。

【結果】 7つのうちの5つ (rs135547, rs4253712, rs5766741, rs5767700, および rs1800234) のSNPsで遺伝子型分布、遺伝子頻度が両群間で大きく異なっていた。連鎖不均衡解析では2つのハプロタイプブロックがみられた。それぞれのハプロタイプブロックのSNPsは遺伝子座が近く、関連して遺伝していると考えられた。rs5766741 (eQTL 転座), rs5767700,

rs1800234 (exon) のブロックは4種類のハプロタイプを形成し、そのうち3つのマイナーアレルの組み合わせ (C-C-C) と、メジャーアレルの組み合わせ (T-T-T) の2つのハプロタイプにおいて両群間で有意差を認めた。

【考察】 本研究で解析を行った rs1800234は *PPARA* 受容体のコドン227においてバリンをアラニンに置換しており、これはDNA結合ドメインのヒンジ部分に位置し、*PPARA* 受容体の代謝レベルの変動に関与すると考えられている。これまでの研究から、チベットの高地民族においては、*PPARA* の遺伝子変異により遊離脂肪酸のレベルの最適化が行われ高地適応に寄与すると報告されている。本研究では、シェルパ群と非シェルパ群で *PPARA* 単塩基多型の比較検討を行い、エクソン領域にある rs1800234を含む5つのSNPsで有意差を認めた。また rs1800234を含む2つのハプロタイプで有意差を認めており、シェルパ高地民族において、*PPARA* の単塩基多型が遊離脂肪酸の代謝を介して高地環境への適応に寄与することが示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

ゲノムワイド解析からチベット民族で、ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α 遺伝子 (*PPARA*) の変異が、低酸素下での代謝の効率化を行うことで、高所適応に関与していることが示されている。同じチベット高原を起源とする、シェルパ民族でも同様の関与が考えられる。シェルパ群と非シェルパ群の静脈血からフェノール法でDNAを抽出し、選択した7つの単塩基多型 (SNPs; (rs135547, rs5769178, rs881740, rs4253712, rs5766741, rs5767700, rs1800234) で、リアルタイムPCR法 (Applied Biosystems, Inc.) による TaqMan SNP Genotyping Assay を行った。分析結果から、遺伝的距離、遺伝子型分布、対立遺伝子頻度、連鎖不均衡、ハプロタイプの組み合わせの解析を行った。

その結果、木野田は次以下の結論を得た。

1. シェルパ民族と非シェルパ民族で検討した7つのSNPsのうち5つ (rs135547, rs4253712, rs5766741, rs5767700, および rs1800234) で、遺伝子型分布、

- 対立遺伝子頻度, 遺伝子型分布に有意差を認めた。そのうち, rs135547以外の4つでシェルパ民族のマイナーアレルの頻度が高かった。
2. 両群間の7つのSNPsのFixation index (FST)は0.0103~0.0883で, 遺伝的分化は小さいことが示された。
 3. 連鎖不均衡の解析では, 両群ともに2つのBlock (Block1:rs5769178, rs881740;Block2:rs5766741, rs5767700, rs1800234)を形成していた。
 4. Block2のすべてのSNPsで対立遺伝子頻度の有意差を認め, rs5766741はExpression of quantitative trait loci (eQTL), rs1800234はバリンをアラニン

に置換する非同義置換であった。

5. Block1のハプロタイプの組み合わせでは有意差を認めなかったが, Block2ではマイナーアレルの組み合わせであるC-C-Cと, メジャーアレルの組み合わせであるT-T-Tで有意差を認めた。

以上より, シェルパ民族においてPPARA内のSNPsでeQTLや非同義置換を含む対立遺伝子頻度, ハプロタイプに有意差を認めたことで, PPARAの単一塩基多型は高所適応に関与していることが示された。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。

Colitis-associated colorectal adenocarcinomas are frequently associated with non-intestinal mucin profiles and loss of SATB2 expression (炎症性腸疾患関連の大腸癌は非腸型粘液形質を有し, SATB2発現を失う)

岩 谷 舞

(論文の内容の要旨)

【緒言】炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease: IBD) は潰瘍性大腸炎とクローン病に大別され, 長期にわたり再燃を繰り返す大腸粘膜の活動性炎症を原因とする大腸癌 (腸炎関連大腸癌 Colitis associated colorectal carcinoma: CAC) の発生リスクが高まることが知られている。診断から10年の罹病期間で2%, 30年で18%の患者がCACを発症するという報告もある。CACの発生メカニズムは, 散発性大腸癌 (i.e., 非腸炎関連癌, 非症候性発癌, sporadic colorectal carcinoma: sporadic CRC) の発生メカニズムとは異なり, 持続性の炎症および繰り返される粘膜障害と密接に関連していると考えられている。

Special AT-rich sequence-binding protein 2 (SATB2) は核マトリックスの一部を形成する転写因子であり, 骨芽分化に関与する遺伝子として認識されたが, 大腸粘膜上皮にも発現していることが明らかとなった。SATB2は大腸上皮細胞の細胞系列マーカーとしてsporadic CRCにおいて高頻度に発現しており, 大腸癌におけるSATB2発現の欠失は予後不良因子と報告されている。一方, CACにおけるSATB2発現パターンについては未だ検討がなされていない。

【対象と方法】Mount Sinai Hospital (University of Toronto) で切除されたCAC60例 (潰瘍性大腸炎症例40例, クローン病20例) を検討し, sporadic CRC 32例をコントロール群として用いた。CACの臨床病

理組織学的特徴に加え, CACとsporadic CRCにおけるSATB2, CDX2 (十二指腸から直腸までの粘膜上皮の核に発現するホメオボックス遺伝子), MUC5AC (胃型形質ムチン), MUC6 (胃型形質ムチン), および, ミスマッチ修復蛋白 (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) について免疫組織学的に検討した。

【結果】CAC症例において, 切除時平均年齢は50歳で, sporadic CRC 69歳よりも優位に若かったが, 発生部位, pTおよびpNに有意差はなかった。CACの組織型は, sporadic CRC (94%がconventional type) に比し, conventional type (59%) が少なく, mucinous type (20%) が多かった。また, low grade tubuloglandular (10%) はCACのみに認められた。クローン病CACの組織系は, 潰瘍性大腸炎に比してmucinous typeの頻度が優位に高かった。

免疫染色では, CAC26例 (43%) にSATB2の発現を認め, コントロール群29例 (91%) に比べ有意に低かった ($p < 0.0001$)。Sporadic CRCに組織像が類似したconventional type CACにおけるSATB2発現もSporadic CRCに比し有意に低かった。また, CACのMUC5AC発現はsporadic CRCに比し有意に高く認められた (25% and 52%; $p = 0.013$)。CAC 8例 (13%) でCDX2陰性であったが, sporadic CRCでは全例陽性を示した ($p = 0.047$)。

CACのSATB2陰性例とSATB2陽性例において, 組織型およびMUC5AC, MUC6, ミスマッチ修復蛋

白発現に有意差はなかった。また、SATB2陰性例50%にリンパ節転移が認められ、SATB2陽性15%に比し有意に転移頻度が高かった ($p=0.007$)。

CACにおいて、粘液癌の83%がSATB2陰性で、SATB2の発現消失傾向が認められた。

【考察】本研究によりCACの臨床病理学的特徴が明らかになり、CACとsporadic CRCでは免疫組織化学的な違いが認められた。特に、CACにおけるSATB2発現頻度はsporadic CRCに比し有意に低かった。sporadic CRCではSATB2の発現消失はミスマッチ修復蛋白の発現消失と関連性があるとされているが、CACでは両者の発現に関連は見出せなかった。これらの結果は、CACとsporadic CRCの発癌メカニズムの違いを反映していると推測された。診断病理学的には、原発不明転移巣を有するIBD患者において、SATB2陰性を根拠に大腸癌転移を除外することは難しい。SATB2陰性CACは有意にリンパ節転移が多く、SATB2陰性sporadic CRCと同様に予後不良であることが示唆された。また、sporadic CRCに頻度の高い組織型を示したconventional type CACにおいてもSATB2の発現が優位に低く、conventional type CACが必ずしもsporadic CRCと同様の生物学的特徴を有さないことを示唆した。近年SATB2陰性のsporadic CRCではミスマッチ修復蛋白の免疫組織学的発現が消失する傾向にあると報告されたが (Ma et al, 2018), CACにおいてSATB2発現の欠失とミスマッチ修復蛋白の欠失に相関は認められなかった。

(論文審査の結果の要旨)

炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease: IBD) により腸炎関連大腸癌 (Colitis associated colorectal carcinoma: CAC) の発生リスクが高まることが知られており、その発生メカニズムは散発性大腸癌 (sporadic colorectal carcinoma: sporadic CRC) とは異なり、IBDに伴う持続性の炎症もしくは繰り返される粘膜障害と密接に関連していると考えられている。

Special AT-rich sequence-binding protein 2 (SATB2) は大腸上皮細胞の細胞系列マーカーとして用いられ、sporadic CRCにおいて高頻度に発現している。また、大腸癌におけるSATB2発現の欠失は予後不良因子として報告されている。一方、CACにおけるSATB2発現に関しては未だ検討がなされていない。

本研究ではMount Sinai Hospital (University of Toronto) で切除されたCAC症例60例を対象とした。32例のsporadic CRCをコントロール群として用いて、

CACの臨床病理組織学的特徴に加え、CACとsporadic CRCにおけるSATB2, CDX2 (十二指腸から直腸までの粘膜上皮の核に発現するホメオボックス遺伝子), MUC5AC (胃型形質ムチン), MUC6 (胃型形質ムチン), および、ミスマッチ修復蛋白 (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) について免疫組織学的に検討した。

その結果、岩谷 舞は以下の結論を得た。

1. CACの組織型は、sporadic CRC (94%がconventional type) に比し、conventional type (59%) が少なく、mucinous type (20%) が多かった。また、low grade tubuloglandular (10%) はCACのみに認められた。
2. CAC26例 (43%) にSATB2の発現を認め、コントロール群29例 (91%) に比べ有意に低かった ($p<0.0001$)。Sporadic CRCに組織像が類似したconventional type CACにおけるSATB2発現もSporadic CRCに比し有意に低かった。また、CACのMUC5AC発現はsporadic CRCに比し有意に高く認められた (25% and 52%; $p=0.013$)。
3. CACのSATB2陰性例とSATB2陽性例において、組織型およびMUC5AC, MUC6, ミスマッチ修復蛋白発現に有意差はなかった。
4. CACのうち、SATB2陰性例50%にリンパ節転移が認められ、SATB2陽性15%に比し有意に転移頻度が高かった ($p=0.007$)。

本研究によりCACの臨床病理学的特徴が明らかになり、CACとsporadic CRCでは免疫組織化学的な違いが認められた。特に、CACにおけるSATB2発現頻度はsporadic CRCに比し有意に低かった。CACにおいてSATB2の発現消失とミスマッチ修復蛋白の発現消失とに関連は見出されなかった。SATB2陰性CACは有意にリンパ節転移が多く、SATB2陰性sporadic CRCと同様に予後不良であることが示唆された。これらの結果から、CACとsporadic CRCの発癌メカニズムの違いを反映していると推測され、CACにおいてSATB2免疫染色の有用性が初めて証明された。

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。

Use of percutaneous image-guided coaxial core-needle biopsy for diagnosis of intraabdominal lymphoma (腹腔内リンパ腫の診断におけるコアニードルを用いた経皮的針生検の有用性について)

清水 郁夫

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 悪性リンパ腫の診断および治療において、病理学的診断は必須である。腹腔内を原発とするリンパ腫に病理学的診断を下すのは、外科的手術を要することから、侵襲性が問題となりしばしば困難である。しかし、コアニードルを用いた画像ガイド下経皮的針生検であれば、腹腔内病変であっても十分量の当該病変を採取することが可能であるため、病理組織診断だけでなく免疫組織学的評価をも行えることから、診断上有用な手技である可能性がある。そこで本研究では、コアニードルを用いた経皮的針生検は、腹腔内のリンパ節病変を診断する上で、外科的生検と比較して病理学的診断率は劣っていないか、免疫化学的・染色体評価の面では劣っていないか、迅速な診療に寄与しているかを検証した。

【対象と方法】 対象は1999年4月から2011年3月にかけて、肝臓、脾臓、腎臓、鼠径部を除く腹腔内リンパ節病変を呈して長野赤十字病院を受診し、最終的に悪性リンパ腫と診断された症例である。病変の解剖学的位置関係等からCTもしくは超音波ガイド下でコアニードルによる針生検を実施可能であった場合は針生検を実施し、実施困難であった場合は外科的生検を実施した。針生検は15ゲージまたは18ゲージのQuick-Core Biopsy Needleを用い、当該手技に関する専門医資格を有した医師が施行した。治療目的で外科手術を施行し、偶発的にリンパ腫と診断された症例は対象から除外した。両生検で得た検体によって、病理組織学的診断、Flow cytometry 解析、g-band 法での染色体分析が実施しえた割合を比較した。さらに、受診から生検に要した日数、生検から治療開始に要した日数を比較した。

【結果】 針生検が実施可能であったのは全59症例で、合計66回の針生検が実施された(男性32例、女性27例。平均年齢63.5歳)。検体不良ないし再発のため、4例は2回、1例は3回の生検を施行された。外科的生検を施行されたのは20症例(20回)であった。75歳以上の症例はすべて針生検群に割り当てられていた。両群ともに重篤な合併症は認めなかった。病理組織学的診

断を得られたのは、針生検群86%、外科的生検群100% ($p=0.846$) で有意差を認めなかった。Flow cytometry 解析等が実施できたのは針生検群81.4%、外科的生検群100% ($p=0.237$)、染色体分析が実施できたのは針生検群58.8%、外科的生検群80% ($p=0.406$) でいずれも有意差を認めなかった。一方、受診から生検に要した日数の中央値は、針生検群1日(0-7)、外科的生検群16日(0-48)日と針生検群で有意に短縮され ($p<0.001$)、生検から治療開始に要した日数の中央値も、針生検群14日(1-35)、外科的生検群35日(3-58)日 ($p<0.001$) と針生検群で有意に短縮された。針生検で用いた画像モダリティの比較では、CTと超音波で有意差を認めなかった。

【考察】 本研究では後方視的に経皮的コアニードル針生検と外科的生検を比較し、診断精度に有意差を認めなかった。さらに、治療開始までの期間を有意に短縮した。他の低侵襲手技には、より細い針を用いる経皮的穿刺吸引細胞診や、内視鏡を用いた内視鏡的超音波ガイド下穿刺吸引細胞診があるが、どちらも組織を採取できないため、WHO分類が推奨する病理組織学的診断は行えない。

【結論】 本研究は、腹腔内リンパ節病変に対する経皮的コアニードル針生検が有用である可能性を示した。

(論文審査の結果の要旨)

リンパ腫の診断には病理学的検討が必要である。腹腔内を原発とするリンパ腫の検体を採取するためには、標準的には外科的手術が選択されるが、侵襲性が問題となるため、さまざまな代替的手技が開発・検討されてきた。その中の一つとしてコアニードルを用いた画像ガイド下経皮的針生検は、すでに臓器生検手技として一定の評価が確立しており、十分量の病変を採取できるだけでなく、免疫組織学的評価をも行えることから、リンパ節組織の採取においても有用な手技である可能性がある。

そこで本研究では、コアニードルを用いた経皮的針生検は、腹腔内のリンパ節病変を診断する上で、外科的生検と比較して病理学的診断率は劣っていないか、免疫化学的・染色体評価の面では劣っていないか、迅

速な診療に寄与しているかを検証した。

清水郁夫は、1999年～2011年にかけて、肝臓、脾臓、腎臓、鼠径部を除く腹腔内リンパ節病変を呈して長野県内の某中核総合病院を受診し、同院にて画像ガイド下コアニードル針生検または外科的生検が実施された症例を後方視的に検討した。治療目的で外科手術を施行し、偶発的にリンパ腫と診断された症例は対象から除外した。両生検で得た検体によって、病理組織学的診断、flow cytometry 解析、g-band 法での染色体分析が実施しえた割合を比較した。さらに、受診から生検に要した日数、生検から治療開始に要した日数を比較した。

針生検群59例、外科的生検群20例の解析を行い、清水は次の結果を得た。

1. 病理組織学的診断を得られたのは、針生検群86%、外科的生検群100%で有意差を認めなかった。
2. Flow cytometry 解析等が実施できたのは針生検

群81.4%、外科的生検群100%、染色体分析が実施できたのは針生検群58.8%、外科的生検群80%で、いずれも有意差を認めなかった。

3. 受診から生検に要した日数の中央値は、針生検群1日(0-7)、外科的生検群16日(0-48)日と針生検群で有意に短縮された。
4. 生検から治療開始に要した日数の中央値も、針生検群14日(1-35)、外科的生検群35日(3-58)日と針生検群で有意に短縮された。

これらの結果より、針生検は外科的生検と比べて診断精度の面で劣ることなく、かつ受診から生検までの日数、および治療開始までの日数を有意に短縮する可能性が示された。本研究成果は腹腔内リンパ節病変の病理学的探索を行う際に、生検手技を選択する根拠の一つとなりうるものと考えられた。

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。

Transcranial motor-evoked potentials of laryngeal muscles for intraoperative neuromonitoring of the vagus nerve during thyroid surgery (甲状腺手術中の迷走神経機能モニタリングとしての喉頭筋経頭蓋運動誘発電位)

市 野 隆

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 経頭蓋刺激による運動誘発電位 (MEP) は、外科的侵襲により運動機能障害が生じる危険のある脳・脊髄外科手術で確立された術中神経モニタリングの方法である。甲状腺手術では反回神経同定・保護のため、声帯と接する記録電極を備えた気管チューブ (EMG チューブ) を使用し、反回神経の機能評価を神経の直接刺激によって行っている。近年、頭蓋底手術時に迷走神経などの脳神経の神経機能評価目的で、EMG チューブを用いた経頭蓋刺激による MEP 測定が行われ、手術中の神経機能モニタリングとして臨床的に活用されている。しかし、EMG チューブを記録電極とする経頭蓋刺激による MEP は体系的な研究がなされていない。本研究の目的は、EMG チューブを用いた迷走神経の MEP の基礎的特徴を解明すること、および、甲状腺手術中の迷走神経・反回神経支配領域の喉頭筋の MEP を測定することにより、手術操作による反回神経機能と MEP の関連を明らかにすることである。

【方法】 全身麻酔下で甲状腺手術を予定した患者で MEP 測定を行った。刺激電極は C3 および C4 または Cz に

コークスクリュー電極を留置した。刺激強度は100-400V、連発刺激数は1-5回であった。迷走神経 MEP は、EMG チューブの電極 (ワイヤ型とフラットワイド型) から記録した。迷走神経 MEP の振幅は経頭蓋電気刺激後10ミリ秒付近から開始する波形でピーク間距離とした。迷走神経 MEP の振幅を刺激強度、トレイン数を変化させて測定した。また手術中の迷走神経 MEP 振幅の変化を測定した。

【結果】 54名の患者で行った。術前から片側の反回神経麻痺のある患者は5名であった。迷走神経 MEP 測定の成功率はフラットワイド型電極で91%でありワイヤ型よりも有意に高かった。迷走神経 MEP は3連発刺激以上かつ約300Vの刺激強度で信頼性の高い波形が得られ、刺激強度および連発刺激数の増加と共に増大した。甲状腺手術中の迷走神経 MEP 振幅は甲状腺摘出後に67%まで低下し、手術終了時には回復傾向を示した。術前から反回神経麻痺のある患者において、麻痺側と健常側の迷走神経 MEP を測定でき、迷走神経 MEP は麻痺側においても刺激強度およびトレインパルス連発刺激数の増加と共に増大したが、健常側に比べ有意に低値であった。本研究では、手術中に

意図して反回神経を切断したのは1名であった。迷走神経 MEP は反回神経切断後に切断側だけが著しく低下した。

【結語】 経頭蓋刺激による迷走神経 MEP は、刺激強度と連発刺激に依存して変化した。3パルス以上かつ約300 V の刺激強度で、迷走神経 MEP を高い成功率で記録できた。また、迷走神経 MEP は手術の状態によって変化した。術中操作による反回神経の牽引・圧迫などが迷走神経 MEP 低下の要因であったのかもしれない。1例のみであったが反回神経切断後に同側の迷走神経 MEP が著明に低下した。これらの結果は、迷走神経 MEP は迷走神経・反回神経の機能を反映する可能性を示唆する。経頭蓋刺激により誘発される迷走神経 MEP は、迷走神経や反回神経を同定せずとも記録できる利点がある。本研究から、甲状腺手術時における迷走神経 MEP の測定は、反回神経の機能状態のモニタリング方法となる可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

甲状腺手術では合併症の反回神経麻痺を予防するために、表面電極付気管チューブ (EMG チューブ) を用い、反回神経を直接電気刺激し声帯の反応を観察する術中神経モニタリングを行なっている。経頭蓋刺激による運動誘発電位 (MEP) は、運動機能障害が生じる危険のある脳・脊髄外科手術、大血管手術で確立された術中神経モニタリングの方法である。頭蓋底手術時に迷走神経の神経機能評価目的で、EMG チューブを用いた経頭蓋刺激による MEP 測定が行われ、手術中の迷走神経機能モニタリングとして臨床的に活用されている。しかし、EMG チューブを記録電極とする経頭蓋刺激による MEP は体系的な研究がなされていない。本研究では、EMG チューブを用いた迷走神経の MEP の基礎的特徴と、甲状腺手術中の迷走神経・反回神経支配領域の喉頭筋の MEP を測定することにより、以下の検討を行った。

1. ワイヤ電極タイプとフラットワイド電極タイプ

Effects of Subtype-selective E Prostanoid Receptor Agonists on Bleomycin-induced Pulmonary Fibrosis in Rats (ブレオマイシン誘発肺線維症ラットモデルに対するサブタイプ選択的 E プロスタノイド受容体アゴニストの効果)

市山 崇史

(論文の内容の要旨)

【はじめに】 特発性肺線維症 (IPF) は治療選択肢が限られた予後不良の肺疾患である。近年、ピルフェニ

- の EMG チューブでの迷走神経 MEP 測定の成功率
 - 2. 刺激部位 (C3/Cz あるいは C3/C4) の違いによる迷走神経 MEP の振幅測定
 - 3. 刺激強度やトレイン数の変化と迷走神経 MEP の振幅測定
 - 4. 甲状腺手術時の迷走神経 MEP の振幅の経時的変化
 - 5. 反回神経麻痺患者の迷走神経 MEP の特性
- その結果、市野は次の結論を得た。

- 1. フラットワイド電極タイプの EMG チューブの方が測定成功率は高かった。
- 2. C3/C4で刺激を行った方が C3/Cz よりも高い振幅の波形が得られた。
- 3. 刺激強度またはトレイン数の増加と共に、迷走神経 MEP の振幅が増大した。3パルス以上かつ約300 V 以上の刺激強度で、迷走神経 MEP は安定して測定できた。
- 4. 迷走神経 MEP の振幅は甲状腺手術中に低下し、手術終了にかけて回復する傾向を認めた。
- 5. 反回神経麻痺側では健常側より低振幅の迷走神経 MEP が測定された。
- 6. 甲状腺手術中に反回神経を切断した症例では、迷走神経 MEP の振幅が著明に低下した。

これらの結果より、経頭蓋刺激による迷走神経 MEP は、刺激強度とトレイン数に依存して増加し、3パルス以上かつ約300 V の刺激強度で、迷走神経 MEP は高い確率で測定できること、迷走神経 MEP は甲状腺手術進行によって変化すること。迷走神経 MEP は迷走神経・反回神経の機能を反映する可能性があり、甲状腺手術時における反回神経の機能評価のモニタリング方法として有用である可能性が示唆された。

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。

ドンヤニンテダニブという新規抗線維化薬が臨床で使用されているが、IPF 患者の予後を改善するためには新しい抗線維化薬の開発が期待される。IPF 患者の肺

ではプロスタグランジン (PG) E_2 が減少していることが報告されている。また、ブレオマイシン (BLM) 誘発肺線維症マウスモデルに対する PGE_2 投与によるコラーゲン産生量の抑制と、死亡率の低下が報告されている。 PGE_2 の受容体としてEP1~EP4の4つが同定されているが、どの受容体が抗線維化作用に寄与しているかは明らかではない。 PGE_2 投与によりcAMPレベルが上昇する。EP2とEP4はG蛋白と結合し細胞内のcAMPレベルを上昇させることが知られている。我々は新規抗線維化薬の候補としてEP2アゴニストおよびEP4アゴニストを開発し、BLM誘発肺線維症ラットに対する薬理的効果を調べた。また、ヒトIPF患者の肺組織とBLM誘発肺線維症ラットの肺組織でEP2とEP4の発現を免疫染色で調べた。

【方法】 肺線維症ラットモデルは10週齢のWistar-Hannラットに対しday 0にBLM 2.2 mg/kgを気管内投与して作製し、以下の6群に分けて21日間介入を行った。① shamコントロール群；day 0に生理食塩水を気管内投与したのみ、② BLM+溶媒群；肺線維症ラットモデルに介入薬の溶媒1 mL/kgのみを1日3回皮下注射する、③ BLM+EP2アゴニスト群；肺線維症ラットモデルにEP2アゴニスト0.3 mg/kgを1日3回皮下注射する、④ BLM+EP4アゴニスト群；肺線維症ラットモデルにEP4アゴニスト0.3 mg/kgを1日3回皮下注射する、⑤ BLM+ピルフェニドン群；肺線維症ラットモデルにピルフェニドン30 mg/kgを1日3回皮下注射する、⑥ BLM+ニンテダニブ群；肺線維症ラットモデルにニンテダニブ50 mg/kgを1日1回経口投与する。Day22に深麻酔下で大動脈離断により安楽死させ、肺を摘出し右肺重量を測定した。左肺はマッソン・トリクローム染色により病理組織学的に評価し、コラーゲンの主要成分であるヒドロキシプロリンの含有量をELISA法で、肺線維症関連マーカーであるTGF- β 1とプロコラーゲンのmRNA発現を定量RT-PCRで評価した。病理解剖で得られたIPF患者の肺組織、また本研究のBLM+溶媒群のラット肺組織で、EP2とEP4の免疫染色を施行し発現の有無を確認した。

【結果】 病理組織学的評価では溶媒投与群に比べEP2アゴニストとニンテダニブ投与群で線維化の軽減が示唆されたが、スコア評価、ヒドロキシプロリン含有量で有意な差はなかった。肺重量は、溶媒投与群に比べEP2アゴニストとニンテダニブ投与群で有意に軽減した。TGF- β 1のmRNA発現はEP2アゴニスト、EP4

アゴニスト、ピルフェニドンとニンテダニブ投与群で溶媒投与群と比べて有意に低下した。プロコラーゲン1a1のmRNA発現はEP2アゴニストとピルフェニドン投与群で溶媒投与群と比べて有意に低下し、プロコラーゲン1a2のmRNA発現はEP2アゴニスト、ピルフェニドンとニンテダニブ投与群で溶媒投与群に比べ有意に低下した。BLM誘発肺線維症ラットモデルの肺組織とIPF患者の剖検肺組織ではいずれもEP2が強く発現しており、EP4は発現していたが程度は弱かった。一方、shamコントロール群ラットの肺組織と肺癌手術検体から得られた正常肺組織では、EP2とEP4は発現していなかった。

【考察】 EP2アゴニストが肺重量の増加を有意に抑制し、肺線維症関連マーカーであるTGF- β 1およびプロコラーゲン遺伝子のmRNA発現を有意に抑制し、線維化スコアおよびヒドロキシプロリン含有量を低下させる傾向を示した。これらの結果よりEP2アゴニストの投与により線維化が抑制されている可能性が示唆された。また、これらの結果はニンテダニブ投与群と類似していた。一方、EP4アゴニストは線維化を抑制しなかった。EP2アゴニストとEP4アゴニストで薬効に差があった理由として以下の3つが考えられる。① EP2の刺激によるcAMPの発現量とEP4の刺激によるcAMPの発現量には7倍の差があること、② EP4にはcAMP非依存性のシグナル伝達経路があること、③ 本研究において肺線維症組織の免疫染色でEP2の強い発現と比べてEP4の発現の程度が弱いこと。

【結論】 EP2アゴニストが肺線維症に対する有望な治療薬になる可能性が示唆された。別の動物モデルや臨床検体でのさらなる検討が望まれる。

(論文審査の結果の要旨)

特発性肺線維症 (IPF) 患者の肺ではプロスタグランジン (PG) E_2 が減少し、ブレオマイシン (BLM) 誘発肺線維症マウスモデルで PGE_2 投与によるコラーゲン産生量や死亡率の抑制が報告されている。 PGE_2 の受容体はEP1~EP4と4つあり、EP2とEP4がG蛋白と共役し細胞内cAMPレベルを上昇させるため、抗線維化に働くと考えられる。本研究では、新規開発したEP2アゴニストとEP4アゴニストの抗線維化作用をBLM誘発肺線維症ラットで検討した。またヒトIPF患者の肺組織とBLM誘発肺線維症ラットの肺組織において、EP2とEP4の発現の有無を免疫染色で調べた。

10週齢Wistar-Hannラットを用いday 0にBLM 2.2 mg/kgを気管内投与し肺線維症モデルを作製し

た。① sham コントロール群；day 0 に生理食塩水を気管内投与する群，② BLM+溶媒群；肺線維症モデルに介入薬の溶媒のみを投与する群，③ BLM+EP2アゴニスト群；肺線維症モデルにEP2アゴニスト0.3 mg/kgを投与する群，④ BLM+EP4アゴニスト群；肺線維症モデルにEP4アゴニスト0.3 mg/kgを投与する群，⑤ BLM+ピルフェニドン群；肺線維症モデルにピルフェニドン30 mg/kgを投与する群，(②～⑤は1日3回皮下注射)，⑥ BLM+ニンテダニブ群；肺線維症モデルにニンテダニブ50 mg/kgを1日1回経口投与する群，の6群に分類し，21日間介入薬を投与した。Day22に安楽死させ肺を摘出し，右肺重量を測定した。左肺を病理組織学的にスコア評価し，ヒドロキシプロリン含有量，TGF- β 1とプロコラーゲンのmRNA発現量を測定した。ヒトIPF患者の肺組織とBLM+溶媒群のラット肺組織で，EP2とEP4の免疫染色を施行した。

その結果，市山は以下の結論を得た。

1. EP2アゴニスト投与群では溶媒投与群と比べ，肺重量の増加およびTGF- β 1とプロコラーゲンのmRNA発現が有意に抑制された。組織スコアとヒドロキシプロリン含有量は低い傾向だったが，有意差はなかった。
2. ニンテダニブ投与群でもEP2アゴニストと類似した結果が得られた。
3. EP4アゴニスト投与群は線維化抑制効果を認めなかった。
4. ヒトIPF患者の肺組織およびBLM誘発肺線維症ラットモデルの肺組織では，EP2とEP4の発現が認められたが，正常肺組織ではそれらの発現は認めなかった。

これらの結果により，EP2アゴニストは特発性肺線維症の新規治療薬になる可能性が示唆された。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。