

信州大学において審査された医学博士論文要旨

氏名	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
樋口祥平	乙第1269号	R 5. 5. 1	3D-CT stress test for the assessment of CFL insufficiency (3D-CT ストレストテストによる踵腓靭帯不全の評価)	藤永康成	福島菜奈恵 高橋 淳 仁木久照
高沢 彰	乙第1270号	R 5. 8. 1	The usefulness of immunohistochemistry for phosphohistone H3 as a prognostic factor in myxoid liposarcoma (粘液型脂肪肉腫における予後予測因子としてのリン酸化ヒストン H3免疫染色の有用性)	菅野祐幸	塩沢丹里 中沢洋三 河野博隆
清水彩里	乙第1271号	R 5.10.25	Ninety-day mortality of extremely elderly patients undergoing hip fracture surgery and its association with preoperative cardiac function: A single-center retrospective study (超高齢者の大腿骨頸部骨折術後90日死亡率と術前心機能の関係: 単施設後方視的研究)	今村 浩	田中直樹 川真田樹人 川股知之
山口智美	乙第1272号	R 5.11. 8	Comprehensive genetic screening for vascular Ehlers-Danlos syndrome through an amplification-based next generation sequencing system (PCR増幅ベースの次世代シーケンスシステムを用いた血管型エーラス・ダンロス症候群に対する包括的な遺伝子スクリーニング)	桑原宏一郎	中沢洋三 松田和之 才津浩智
塚原嘉典	乙第1273号	R 5.11.22	Can expiratory or inspiratory contrast-enhanced CT be more efficient for fast-track cannulation of the right adrenal vein in adrenal venous sampling? (副腎静脈サンプリングにおける右副腎静脈カテーテルの早期選択には呼気造影CTと吸気造影CTのどちらが有用か)	駒津光久	福島菜奈恵 上原 剛 荒木拓次
川上 聡	乙第1274号	R 6. 1.10	Update on respiratory lesions in patients with IgG4-related autoimmune pancreatitis (IgG4関連自己免疫性膵炎における肺病変の最新知見)	花岡正幸	安尾将法 藤永康成 大野良治
伊東久貴	乙第1275号	R 6. 3.13	Effects of acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs on human cytochrome P450 4A11 activity: Roles of carboxylic acid and a sulfur atom in potent inhibition by sulindac sulfide (ヒトCYP4A11活性に対する酸性非ステロイド性抗炎症薬の影響: スリンダクスルフィドによる強力な阻害におけるカルボン酸および硫黄原子の役割)	山田充彦	梅村武司 内藤隆文 松永民秀

3D-CT stress test for the assessment of CFL insufficiency (3D-CT ストレストテストによる踵腓靭帯不全の評価)

樋口 祥平

(論文の内容の要旨)

足関節捻挫受傷後に、前距腓靭帯(ATFL)やATFL+踵腓靭帯(CFL)の機能不全がある場合、古典的なTalar tilt stress testやAnterior drawer stress testはそれらの機能不全を反映して陽性所見を示し、足関節不安定性を明らかにする。しかし、これらの検査が陰性であるにもかかわらず、機敏な動きが出来なくなったり、“giving way”を訴える症例は少なくない。この障害は、従来より機能的不安定性と呼ばれており、主として距骨下関節の不安定性によるものと考えられてきた。慢性的な距骨下関節不安定性のある患者は典型的に足関節の“giving way”を訴えており、捻挫を繰り返す傾向にある。そして我々は、このような症例に対して手術治療を行ってきたが、術中所見として、ATFLの緊張は良好に保たれているもののCFLが機能不全に陥っていることを確認してきた。そして実際、このような患者にCFL単独再建を行い、臨床機能の改善を得て来た。したがって我々は、機能的不安定性の一部は、CFL機能不全によるものではないかと仮説をたてた。Ozekiらは、屍検体を用いた実験により、CFLは足関節最大底屈位かつ回内・外旋位で最大緊張することを報告しており、これを元に、CFL不全を検出するための徒手検査法としてPronation external rotation stress test (PERST)を提唱している。この徒手検査はCFL不全を良好に検出し、定性的評価として有用であると思われる。我々の仮説は、機能的不安定性と診断された症例のなかには、CFL不全による距骨下関節不安定性ある患者がいるというものであり、この研究の目的は、それをPERSTを用いた3次元stress CTで明らかにすることである。機能的不安定性と診断された症例のうち、PERST陽性でCFL単独再建を受けた10症例を対象とした。術前の距骨内反ストレストテストでは、15 daNの力でストレスをかけ、全例において明らかな健患差を認めなかった。手術は、足関節外側に小切開において直視下にATFLとCFLを確認して行った。術中所見として、10症例全てにおいて、CFLは弛緩して機能不全となっている一方、ATFLの緊張は良好で、機能的である様子を確認できた。再建は二重束遊離自家薄筋

腱を用い、固定にはスミスアンドネフュー社ツインフィックスTiアンカーを用いた。我々の考案した3D-CT stress testは独自のプリーデバイスを用いておこなった。CFL機能評価のためのPERSTを再現できるように、足関節を固定した状態から足関節底屈・回内・外旋方向に98Newtonの荷重ストレスをかけ、その状態で3D-CTを撮影した。ATFLの最大緊張肢位である足関節底屈内反内旋ストレスを再現し、その状態で3D-CTを撮影した。さらに、評価に必要なベースラインとしての中間位の3D-CTを撮影した。以上の3肢位における画像において、CFL、ATFLの起始部と停止部の距離を3次元空間で定量し、術前と術後2年時で比較した。計測は3DビューワーソフトのAZE VirtualPlaceを用いて行った。10例すべての患者において、術後の日本足の外科学会疼痛スケールは改善しており、giving wayも起こらなくなった。3D-CTにおける計測値を平均値mm(95%CI)で記載すると、術前における足関節中間位のCFLの長さは26.1(23.9-28.2)であった。術前において、PERストレス下ではCFLの長さは29.7(27.4-32.0)であり、ベースラインから14.0%(10.3-17.8)延長された。一方、術後におけるPERストレス下では26.6(24.0-29.1)であり、ベースラインから2.0%(-1.9-5.9)の延長にとどまり、術後に有意に制動されていた(p<0.01)。術前における足関節中間位のATFLの長さは21.0(19.7-22.3)であった。術前において、ATFLの徒手的機能評価法であるSupination internal rotation stress test (SIRST)では、ATFLの長さは22.6(20.9-24.2)であり、ベースラインから7.5%(4.6-10.4)延長された。一方、術後におけるSIRST下では22.9(21.2-24.6)であり、ベースラインから9.0%(5.7-12.)の延長となり、術前後に有意差は見られなかった(p=0.41)。以上のように、臨床機能は改善し、SIRSTでは差が出ないが、PERSTでは有意に起始部と停止部の距離の変化が少なくなった。本研究において、PERSTは、患者が不安定性を訴える肢位と同じであり、3D-CT stress testは、CFL再建術後のPERSTに対する安定化を捉えていた。したがって、本テストはCFLの機能の定量化および距骨下関節不安定性の

定量と評価に有用であることが示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

足関節の不安定感を訴える症例の中には古典的な検査方法で明らかかな不安定性を示さないものが存在し、このような症例は一般的に足関節の機能的不安定症と考えられている。足関節の機能的不安定症と診断された症例の中には、踵腓靭帯 (CFL) 機能不全による距骨下関節不安定性ある患者が存在すると考えている。徒手の Pronation external rotation (PER) ストレステストは CFL 機能不全をよく検出するが、この CFL 機能不全を定量化する画像検査などの有効な手段は未だ確立されていない。本研究の目的は、CFL 機能不全を定量化するための検査法として、PER ストレステストを再現した 3DCT ストレステストの有用性を検証することである。

機能的不安定症と診断された患者 10 例に対し、CFL の単独再建を行い、術前と術後 2 年時に 3DCT ストレス撮影を行った。

PER ストレス, Supination internal rotation (SIR) ストレス, ノンストレスの 3 肢位において撮影し、骨孔間の距離を測定した。

その結果以下の成績を得た。

1. 10 例すべての患者において、術後の日本足の外科学会疼痛スケールは改善し、giving way も起こらなくなった。
2. 術前において、CFL の起始-停止部間の距離はノ

ンストレス下で平均 26.1 mm, PER ストレスをかけると 29.7 mm となり、平均 3.6 mm, 率にして 14.0 % と有意に増加した。一方、術後 2 年時では、CFL の長さは PER ストレスで平均 2.0 % のみの延長に止まり、ノンストレス下と PER ストレス下で有意差を認めなかった。

3. これらの結果より、PER ストレスでの CFL の延長は術後に有意に制動され、CFL 再建がこの方向への距骨下関節の安定性を改善させたことが示唆された。

4. CFL 単独再建手術前において、ノンストレス下で ATFL の長さは平均 21.0 mm, SIR ストレス下で 22.6 mm, 率にして 7.5 % と有意に増加した。術後においても、ATFL は SIR ストレスで 9.0 % と術前と同様に有意に延長された。

5. 以上より、CFL 再建の前後で SIR ストレス下での ATFL の長さに有意な変化は見られず、CFL 単独再建は足関節内反方向へのストレスへの安定性には寄与しないことが示唆された。

以上より、CFL を単独再建することで、機能的不安定症が改善し、PER ストレスへの制動性が向上した。3DCT ストレステストはそれらを定量的に評価することに有用であ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。

The usefulness of immunohistochemistry for phosphohistone H3 as a prognostic factor in myxoid liposarcoma (粘液型脂肪肉腫における予後予測因子としてのリン酸化ヒストン H3 免疫染色の有用性)

高 沢 彰

(論文の内容の要旨)

【概要】 粘液型脂肪肉腫 (Myxoid liposarcoma; MLS) は脂肪肉腫の一型で、疾患頻度は高い。予後は概ね良好であるが、一部で予後不良例があることが知られている。我々はリン酸化ヒストン H3 (Phosphohistone H3; PHH3) の免疫組織化学染色が予後予測因子として有用であるかを評価した。MLS 患者 25 名を対象とし、年齢、性別、腫瘍局在、腫瘍径、組織学的断端、腫瘍学的転帰、組織学的悪性度、壊死の有無、円形細胞含有率 (Proportion of round cell component; RC%), PHH3 index, Ki-67 index について検討した。単変量解析で予後と有意に相関した項目は PHH3 陽性腫瘍細

胞数, PHH3 index, Ki-67 index ($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P = 0.01$) で、多変量解析では PHH3 index, RC% ($P = 0.03$, $P = 0.02$) であった。PHH3 の免疫組織化学染色は MLS の予後予測因子として有用である可能性がある。

【背景】 軟部肉腫 (Soft tissue sarcoma; STS) は悪性腫瘍の約 1 % 程度と稀な疾患である。一般的には腫瘍径、局在、組織学的悪性度が予後と関連するとされるが、いくつかの組織型においては特異的な予後因子が報告されている。例えば、我々は粘液成分を伴う STS について糖鎖の役割を研究し、コンドロイチン硫酸合成酵素 (Chondroitin sulfate synthase 1; CHSY1) の

発現が悪性度と相関することを報告した。しかし疾患頻度の高いMLSについてはCHSY1の発現率が他の腫瘍より低く、予後予測因子にはならなかった。過去の報告ではMLSの予後因子として腫瘍径、組織学的断端、組織学的悪性度、遠隔転移、RC%などが挙げられているが、その組織学的因子についてはまだ不明な点が多い。

近年、DNAやヒストンの修飾などのエピジェネティックな変化が細胞の悪性転化に関連しているとの報告が多くされている。ヒストンはクロマチンの基礎構造であるヌクレオソームを構成するコアタンパク質であるが、その修飾が細胞分裂を促進または抑制すると言われている。特にヒストンH3のリン酸化は有糸分裂に関連することが知られており、有糸分裂の指標としての有用性が脳腫瘍、メラノーマ、消化管間質腫瘍などで報告されている。

我々はMLSの組織学的悪性度の指標としてPHH3に着目した。STSにおけるPHH3の報告は極めて少なく、今回は対象を単一の組織型に限定して調査した。本研究ではPHH3の免疫組織化学染色を行い、陽性腫瘍細胞数やその比率がMLSの予後と相関するか、Ki-67や他の因子と比べて予後予測因子として有用であるかを検討した。

【方法】 調査対象は、当院で1995年から2014年までに診療したMLS患者32例のうち、手術検体と最終転帰が確認できる25例とした。手術検体のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用い、細胞密度と細胞異型度が最も高い部位を評価した。PHH3、Ki-67について免疫組織化学染色を行い、核が濃染した細胞を陽性と判定し、10 HPF (high power fields) での陽性腫瘍細胞数を計測した。また全細胞数における陽性腫瘍細胞数の比率をPHH3 index、Ki-67 indexと定義した。RC%同部位のヘマトキシリンエオジン染色により評価した。

予後因子の統計学的評価には疾患特異的生存率を用いた。各項目についてROC (receiver operating characteristic) 曲線を用いてカットオフ値を定めた。カットオフ値が一般的なものについては過去の報告を参照した (RC% \geq 5%など)。単変量解析はKaplan-Meier法およびLog-rank検定を用いた。多変量解析はCox比例ハザードモデルを用いてPHH3 index、Ki-67 index、RC%を説明因子として行った。P値0.05以下を統計学的優位と判定した。

【結果】 患者背景は平均年齢53.0歳 (31-85歳)、男性15例、女性10例、平均経過観察期間8.2年 (1.5-22.3

年)であった。平均腫瘍径9.0 cm (4.4-23.0 cm)、遠隔転移を初診時に3例、最終観察時に5例認めた。腫瘍学的転帰は腫瘍なし生存17例、腫瘍あり生存1例、腫瘍死5例、腫瘍外死2例であった。

PHH3免疫染色で10 HPFにおけるPHH3陽性腫瘍細胞数の中間値は6個 (0-45個)、PHH3 indexの中間値は0.3% (0.0-10.7%)であった。ROC曲線からカットオフ値をそれぞれ30個、2%と定めた。単変量解析では両指標とも統計学的有意差を認めた (P<0.001)。5年生存率はどちらもカットオフ値以下と以上で90.4%、33.3%であった。多変量解析ではPHH3 indexが有意な因子であった (P=0.03)。

その他の項目では単変量解析でKi-67 index (カットオフ値19%)、年齢 (60歳以上)、性別 (男性)が有意であり (P \leq 0.05, P=0.01, P=0.01)、多変量解析ではRC% (5%以上)が有意な因子であった (P=0.02)。**【考察】** 本研究ではPHH3陽性腫瘍細胞数とPHH3 indexがMLSの予後と有意に相関することを示した。

Ser 10とSer 28におけるHistone H3リン酸化は細胞周期のG2期からM期に特異的に発現し、有糸分裂染色体凝縮に強く関連することが知られている。有糸分裂の指標としての有用性が髄膜腫、星細胞腫、消化管間質腫瘍、メラノーマ、尿道平滑筋腫瘍、肺神経内分泌癌などの悪性腫瘍で報告されている。本研究ではカットオフ値をPHH3陽性腫瘍細胞数30個/10HPF、PHH3 index 2%と定義し、単変量解析で両指標が、多変量解析でPHH3 indexが統計学的有意差を示した。

Ki-67は細胞分裂の指標としてよく知られており、G0期以外のすべての期で発現する。本研究ではカットオフ値をKi-67 index 19%と定義し、単変量解析で予後と有意に関連した。またPHH3 indexとKi-67 indexの間には弱い正の相関がみられた。

その他のMLSの予後因子として腫瘍径、組織学的悪性度、遠隔転移、年齢、性別などが指摘されており、組織学的因子の中でもRC%が5%以上を予後因子とする報告が多い。本研究でも単変量解析では年齢と性別が、多変量解析ではRC%が有意な予後因子であった。**【結論】** 我々はMLSにおいてPHH3免疫組織化学染色と予後の関連について検討した。PHH3陽性腫瘍細胞数、PHH3 index、Ki-67 indexがMLSの予後と有意に相関した。PHH3免疫組織化学染色はMLS患者の予後を予測する組織学的評価の有効な指標となり得る。

(論文審査の結果の要旨)

粘液型脂肪肉腫 (Myxoid liposarcoma; MLS) は脂肪肉腫の一型で、疾患頻度は高い。予後は概ね良好であるが、一部で予後不良例があることが知られている。過去の報告では MLS の予後因子として腫瘍径、組織学的断端、組織学的悪性度、遠隔転移、円形細胞含有率 (Proportion of round cell component; RC%) などが挙げられているが、その組織学的因子についてはまだ不明な点が多い。近年、DNA やヒストンの修飾などのエピジェネティックな変化が細胞の悪性転化に関連しているとの報告が多くされている。ヒストンはクロマチンの基礎構造であるヌクレオソームを構成するコアたんぱく質であるが、その修飾が細胞分裂を促進または抑制すると言われている。特にヒストン H3 のリン酸化は有糸分裂に関連することが知られており、有糸分裂の指標としての有用性が脳腫瘍、メラノーマ、消化管間質腫瘍などで報告されている。我々はリン酸化ヒストン H3 (Phosphohistone H3; PHH3) の免疫組織化学染色が予後予測因子として有用であるかを評価した。

MLS 患者25名を対象とし、年齢、性別、腫瘍局在、腫瘍径、組織学的断端、腫瘍学的転帰、組織学的悪性度、壊死の有無、RC%、PHH3 index、Ki-67 index について検討した。手術検体のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用い、細胞密度と細胞異型度が最も高い部位を評価した。PHH3、Ki-67について免疫組

織化学染色を行い、核が濃染した細胞を陽性と判定し、10 HPF での陽性腫瘍細胞数を計測した。また全細胞数における陽性腫瘍細胞数の比率を PHH3 index、Ki-67 index と定義した。RC%は同部位のヘマトキシリンエオジン染色により評価した。予後因子の統計学的評価には疾患特異的生存率を用いた。各項目について ROC 曲線を用いてカットオフ値を定めた。カットオフ値が一般的なものについては過去の報告を参照した (RC% \geq 5%など)。単変量解析は Kaplan-Meier 法および Log-rank 検定を用いた。多変量解析は Cox 比例ハザードモデルを用いて PHH3 index、Ki-67 index、RC%を説明因子として行った、P 値0.05以下を統計学的優位と判定した。

本研究で得られた結果は以下の通りである。

1. 単変量解析では PHH3陽性腫瘍細胞数、PHH3 index とも統計学的に有意な予後因子であった (P<0.001)。
2. 5年生存率はどちらもカットオフ値以下と以上で 90.4%、33.3%であった。
3. 多変量解析では PHH3 index、RC% (5%以上) が有意な予後因子であった (P=0.03, P=0.02)。

以上より PHH3免疫組織化学染色は MLS 患者の予後を予測する組織学的評価の有効な指標となり得ると考えた。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。

Ninety-day mortality of extremely elderly patients undergoing hip fracture surgery and its association with preoperative cardiac function: A single-center retrospective study (超高齢者の大腿骨近位部骨折術後90日死亡率と術前心機能の関係: 単施設後方視的研究)

清水彩里

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】世界中で、高齢化に伴い大腿骨近位部骨折の発症率が上昇している。年齢と術前の心機能は大腿骨近位部骨折術後の予後予測因子であること、非心臓手術後の死亡と術前の脳性ナトリウムペプチド (Brain natriuretic peptide, 以下 BNP) 濃度は相関することがこれまでに報告されているが、超高齢者の大腿骨近位部骨折における報告はなかった。そこで、80歳以上の超高齢者の大腿骨近位部骨折術後における90日死亡率と、術前の BNP 濃度、および超音波検査で評価した心機能について調査した。

【対象と方法】病床数199床の総合病院で、約3年6か

月の間に大腿骨近位部骨折で手術を行った症例を対象とした。病的骨折、大腿骨人工骨頭置換術または人工股関節置換術後のステム周囲骨折の症例は除外した。術前心臓超音波検査所見、BNP、年齢、性別、併存疾患 (虚血性心疾患、うっ血性心不全、心房細動、脳卒中、慢性腎臓病、高血圧、高脂血症、慢性閉塞性肺疾患)、使用薬剤 (インスリン、 β 遮断薬、カルシウム受容体拮抗薬、アンギオテンシン変換酵素阻害薬、アンギオテンシン II 受容体遮断薬、利尿薬、アスピリン、抗血小板薬、スタチン) について、後ろ向きにデータを収集した。手術後90日死亡を主要アウトカムとした。手術後90日死亡と超音波検査の心機能所見お

よび術前BNP値との関連を二次アウトカムとし、多変量ロジスティック回帰分析を行った。

【結果】対象期間中の181名の大腿骨近位部骨折患者のうち、80歳未満27例、手術適応なし6例、医学的理由や患者拒否により手術を行わなかった11例、転帰不明の4例を除く133例（女性112名、男性21名）を解析対象とし、以下の結果を得た。

1. 平均年齢 88.9 ± 5.0 歳の大腿骨近位部骨折術後の手術後90日死亡率は7.5% (10/133)であった。
2. 半数以上の患者に左室拡張能障害を認め、同年代の健康人の心エコー検査の報告と比較するとE/e'は高値だった。
3. ほとんどの患者 (95%, 126/133) でBNPは基準値を超えていた。
4. 生存群と死亡群で、心エコーで評価した心機能に差はなかった。
5. 超高齢者の大腿骨近位部骨折術後において、慢性閉塞性肺疾患の併存は90日死亡と有意に相関していた (オッズ比10.578, 95%信頼区間1.223-91.475, $p=0.032$)。一方、BNP値は、ほとんど相関が認められなかった (オッズ比1.004, 95%信頼区間1.000-1.008, $p=0.081$)。

【考察】平均年齢88.9歳の大腿骨近位部骨折術後90日死亡率は、7.5%であり、平均年齢84歳の90日死亡率16.2% (デンマーク, 18,412/113,722人) より低かった。術前検査として行った超音波検査による評価が周術期管理に有効であった可能性に加え、日本人の健康寿命が長く、医療ケアやサービスが国により異なることが、超高齢者の大腿骨近位部骨折術後の死亡率に影響している可能性が考えられた。

本研究において、術前のBNP値や心臓超音波検査による心機能は、超高齢者の大腿骨近位部骨折術後90日死亡の予後予測因子とは言えなかった。これまでに、左室拡張能は運動により改善すること、運動習慣がない人はある人に比べて大腿骨近位部骨折の発症率が高いことが報告されている。したがって、超高齢者の大腿骨近位部骨折患者では同年代の非骨折患者に比べ、左室拡張能がさらに低下している可能性が高く、周術期の循環管理には注意を要すると考えられた。

これまで、大腿骨近位部骨折術後の予後予測因子として、年齢、術前の歩行能力、併存症の数、認知機能低下、心疾患、腎機能障害など様々な因子が報告されているが、慢性閉塞性肺疾患もその一つである。慢性閉塞性肺疾患は術後の呼吸器合併症を増加させる可能

性があり、本研究でも10例中2名は誤嚥性肺炎で亡くなっていた。したがって、慢性閉塞性肺疾患を併存した超高齢者の大腿骨近位部骨折患者では、周術期の呼吸器合併症に注意が必要と考えられた。

(論文審査の結果の要旨)

年齢と術前の心機能は大腿骨近位部骨折術後の予後予測因子であること、非心臓手術術後の死亡と術前BNPは相関することがこれまでに報告されているが、超高齢者における報告はなかった。80歳以上の超高齢者の大腿骨近位部骨折術後において、90日死亡率と術前の脳性ナトリウムペプチド (Brain natriuretic peptide, 以下BNP) 濃度、および心臓超音波検査で評価した心機能と大腿骨近位部骨折術後の予後について、199床の二次救急病院で大腿骨近位部骨折の手術を行った133例 (女性112名、男性21名) についてデータを収集し解析を行ったところ、以下の結果を得た。

1. 平均年齢 88.9 ± 5.0 歳の大腿骨近位部骨折術後の手術後90日死亡率は7.5% (10/133)であった。
2. 半数以上の患者に左室拡張能障害を認め、同年代の健康人の心臓超音波検査の報告に比べE/e'は高値だった。
3. ほとんどの患者 (95%, 126/133) でBNPは基準値を超えていた。
4. 生存群と死亡群で、心臓超音波検査で評価した心機能に差はなかった。
5. 超高齢者の大腿骨近位部骨折術後において、慢性閉塞性肺疾患は90日死亡と有意に相関していた (オッズ比10.578, 95%信頼区間1.223-91.475, $p=0.032$)。一方、BNP値は、ほとんど相関が認められなかった (オッズ比1.004, 95%信頼区間1.000-1.008, $p=0.081$)。

以上より平均年齢88.9歳の大腿骨近位部骨折患者では、半数以上の患者に左室拡張能障害が認められた。しかしながら、90日死亡と左室拡張能との関連はなく、BNPとの関連も明白ではなかった。高齢者で左室拡張能が低下することはすでに報告されているが、大腿骨近位部骨折患者では同年代の非骨折患者の平均よりも左室拡張能がさらに低下している可能性があった。また本研究から、慢性閉塞性肺疾患は90日死亡と有意に相関していた。これらの結果は、世界中で高齢化が進む中、周術期の呼吸・循環管理に有用な情報と考えられた。

以上より、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。

Comprehensive genetic screening for vascular Ehlers-Danlos syndrome through an amplification-based next generation sequencing system (PCR 増幅ベースの次世代シーケンスシステムを用いた血管型エーラス・ダンロス症候群に対する包括的な遺伝子スクリーニング)

山口 智美

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 遺伝性結合組織疾患である血管型エーラス・ダンロス症候群 (vascular Ehlers-Danlos syndrome; vEDS) はⅢ型コラーゲン遺伝子 *COL3A1* の病的バリエントに基づく常染色体顕性遺伝疾患であり、動脈病変 (瘤, 解離, 破裂), 臓器破裂などの致命的な合併症を生じる。正確な診断に基づく早期介入 (セリプロロール投与など) が患者の生命予後・QOL 向上に寄与する。従来, 診断には培養皮膚線維芽細胞を用いた蛋白質あるいは mRNA の解析が行われてきたが, 次世代シーケンス (next-generation sequencing; NGS) の登場により, 鑑別疾患を含む, より包括的な解析が末梢血由来のゲノム DNA で可能になった。しかし NGS を用いて診断した vEDS 患者シリーズの報告はこれまでわずか 2 報のみである。

本研究の目的は, vEDS を含む遺伝性結合組織疾患に対する最適な NGS 解析システムを構築し, これを用いて vEDS 患者の分子遺伝学的・臨床的特徴を明らかにすることである。

【対象と方法】 対象は, 2013年4月~2020年12月に, 当センターおよび国内100施設からリクルートした遺伝性結合組織疾患が疑われる患者429名 (うち vEDS 疑いは101名) である。PCR 増幅ベースの NGS 解析 (Ion Torrent™ シーケンシングテクノロジー [サーモフィッシャーサイエンティフィック社]) を基本に, 塩基置換, 小挿入欠失のみならず, コピー数異常の検出を可能とするシステムを構築した。また, 病理解剖検体にも対応できる解析法を確立した。

【結果】 vEDS 疑い101名のうち, *COL3A1* バリエントが検出されたのは33名 (32.7%) であった。また, ロイス・ディーツ症候群および/あるいは家族性胸部大動脈瘤・解離の臨床診断を受けた2名にも *COL3A1* バリエントが検出された。*COL3A1* バリエントが検出された計35名 (病理解剖検体で解析した患者2名含む) のうち, トリプルヘリカルドメインの Gly 置換を伴うミスセンスバリエントが20名 (57.1%) に, Gly 以外のアミノ酸置換を伴うミスセンスバリエントが1名 (2.9%) に, スプライス部位のバリエントが

8名 (22.9%) に, ナンセンスバリエントが3名 (8.6%) に, インフレーム欠失が2名 (5.7%) に, 複数エクソンの欠失が1名 (2.9%) に検出された。合計34種のバリエントのうち, 18種 (52.9%) が既報告であった。新規16種のバリエントは ACMG/AMP ガイドライン2015および ClinGen シーケンスバリエント解釈ワーキンググループの推奨事項に従い, 5種 (31.3%) が Pathogenic, 8種 (50.0%) が Likely pathogenic, 3種 (18.8%) が Variant of Uncertain Significance (VUS) に分類された。

35名のうち, 22名に vEDS に関連する家族歴 (動脈破裂, 大動脈解離, 子宮破裂などの重大なイベントあるいは易出血性, 関節過可動性などの軽度の症状) が認められ, そのうち11名に早期死亡の家族歴が認められた。また, 27名が vEDS 診断基準の大基準 (大動脈解離・破裂, 動脈解離・破裂, 子宮破裂, S 状結腸破裂, 頸動脈海綿静脈洞瘻) のいずれかを有していた。大基準を有さない残りの8名のうち6名が治療を有する合併症 (自然気胸5名, 腱・筋断裂1名) を経験し, 2名の若い患者 (17歳と8歳) には親の早期死亡が認められた。

非典型例として, 50歳で上行大動脈解離を発症, 安全に弁置換術を受け, 皮膚・骨格の特徴がないことからロイス・ディーツ症候群あるいは家族性胸部大動脈瘤・解離が疑われた患者において, *COL3A1* にナンセンスバリエントが検出された。また, 55歳で動脈破裂と複数の動脈瘤を発症, 皮膚・関節・歯肉の脆弱性を伴い, vEDS を疑われた患者において, 非 Gly 置換のミスセンスバリエントが検出された。後者では, 培養皮膚線維芽細胞のⅢ型コラーゲンレベルの低下は軽度で, 皮膚電顕病理におけるコラーゲン細線維サイズの不均一性も Gly 置換を伴う典型例に比べて軽度であった。

【まとめ】 本報告は, アジアにおける vEDS の過去最大の患者シリーズであり, 遺伝性結合組織疾患に対して PCR 増幅ベースの NGS を適用した世界最初のシリーズである。本解析システムは, 典型例の他, 軽症患者におけるナンセンスバリエント, 非 Gly 置換を

伴うミスセンスバリエント、複数エクソンの欠失、病理解剖検体からのバリエントなど、様々なバリエントの検出を可能とする包括的な遺伝子スクリーニング法である。非 Gly 置換などの非典型例に対しては、臨床、生化学、病理学などを含むより包括的なアプローチの必要性が示された。今後さらなる患者の解析を通じて、より迅速・正確・包括的なシステムに発展させることが期待される。

(論文審査の結果の要旨)

遺伝性結合組織疾患である血管型エーラス・ダンロス症候群 (vascular Ehlers-Danlos syndrome; vEDS) はⅢ型コラーゲン遺伝子 *COL3A1* の病的バリエントに基づく常染色体顕性遺伝疾患であり、動脈病変 (瘤、解離、破裂)、臓器破裂などの致命的な合併症を生じる。正確な診断に基づく早期介入が患者の生命予後・QOL 向上に寄与する。病的バリエントの多くはトリプルヘリカルドメインにおけるグリシン残基 (Gly) の置換を伴うミスセンスバリエントあるいはインフレームの欠失をもたらすスプライスバリエントで、優性阻害効果を呈する。一方、ナンセンスバリエントなどによりハプロ不全を呈する場合は軽症化する。山口は、vEDS を含む遺伝性結合組織疾患に対する最適な次世代シーケンス解析システムを構築し、これを用いて vEDS 患者の分子遺伝学的・臨床的特徴について検討した。

その結果、以下の結論を得た。

1. *COL3A1* バリエントは、vEDS 疑い 101 名のうち、33 名 (32.7%) に検出された。また、他の遺伝性結合組織疾患 (ロイス・ディーツ症候群および / ある

いは家族性胸部大動脈瘤・解離) の臨床診断を受けた 2 名においても検出された。

2. 計 35 名 (病理解剖検体で解析した患者 2 名を含む) のうち、トリプルヘリカルドメインの Gly 置換を伴うミスセンスバリエントを 20 名 (57.1%) に、非 Gly 置換を伴うミスセンスバリエントを 1 名に、スプライスバリエントを 8 名に、ナンセンスバリエントを 3 名に、インフレーム欠失を 2 名に、複数エクソンの欠失を 1 名に検出した。
3. ナンセンスバリエント 3 名のうち、1 名は軽症であったが、残りの 2 名は vEDS に典型的な症状を示した。
4. 非 Gly 置換を伴うミスセンスバリエント 1 名は vEDS に典型的な症状を示したが、バリエント評価のガイドラインによれば VUS (病的意義不明) であった。培養皮膚線維芽細胞からのⅢ型コラーゲン産生量は軽度低下であり、皮膚電顕病理におけるコラーゲン細線維サイズの不均一性も Gly 置換を伴う典型例に比べて軽度であった。

本解析システムは、塩基置換、小挿入欠失、複数エクソンの欠失重複の検出を可能とする (病理解剖検体にも対応) 包括的な遺伝子スクリーニング法であり、本患者シリーズはアジアにおける過去最大規模のものである。軽症化することが報告されているハプロ不全患者間でも重症度に差があることや、非 Gly 置換などに対しては臨床、分子、生化学、病理学などを含む包括的なアプローチの必要性が示された。以上より、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。

Can expiratory or inspiratory contrast-enhanced CT be more efficient for fast-track cannulation of the right adrenal vein in adrenal venous sampling? (副腎静脈サンプリングにおける右副腎静脈カテーテルの早期選択には呼気造影 CT と吸気造影 CT のどちらが有用か)

塚原 嘉典

(論文の内容の要旨)

【背景・目的】 原発性アルドステロン症は、自律性アルドステロン過剰分泌により高血圧や低カリウム血症を呈する疾患である。病型として片側性病変のアルドステロン産生腺腫、両側性病変の特発性アルドステロン症が主である。片側性の場合には外科的切除術、両側性の場合には薬物療法が選択される。そのため、治療方針の決定には片側性が両側性が区別することが重要である。しかしながら、CT や MRI といった形態

画像では機能的な評価は困難であるため左右副腎静脈に各々直接カテーテルを挿入して採血を行い、血漿アルドステロン値を直接測定できる副腎静脈サンプリングは局在診断に有用な検査である。副腎静脈サンプリングの手技的な問題点の一つとして、右副腎静脈のカテーテル挿入が難しいことが挙げられる。その理由として、右副腎静脈は細径で様々な解剖学的なバリエーションがあるため適切な形状のカテーテル選択が必要である。右副腎静脈選択の成功率を上昇させるために

は、サンプリング前の造影 CT にて右副腎静脈を正確に描出することが有用である。造影 CT において、比較的早い時相（動脈相）での撮影が右副腎静脈の描出に有用であるとの報告はあるが呼気位と吸気位のどちらが有用かについての報告はまだない。よって、本研究では副腎静脈サンプリング前の造影 CT として、呼気造影 CT 動脈相と吸気造影 CT 動脈相とを比較しその有用性を検討した。

【方法】 2013年4月から2019年6月までに信州大学医学部附属病院にて副腎静脈サンプリングと術前に造影 CT を施行した64症例（呼気動脈相群が32症例、吸気動脈相群が32症例）を対象とした。呼気動脈相群では、造影剤注入開始40秒後に早期動脈相、55秒後に後期動脈相として CT を撮影した。吸気動脈相群では、造影剤注入開始40秒後に CT を撮影した。造影 CT での右副腎静脈可視化率、造影 CT の被曝量、右副腎静脈開口部の局在における造影 CT 画像と副腎静脈造影像との差、右副腎静脈カテーテル挿入までの時間を両群で比較した。

【結果】 呼気動脈相群における右副腎静脈可視化率は、早期動脈相が84.4%、後期動脈相が93.8%、両相を合わせた場合は100%であり、吸気動脈相群は96.9%であった。右副腎静脈可視化率については、2群間に有意差はなかった（カイ二乗検定）。右副腎静脈開口部において造影 CT 画像と副腎静脈造影像との差は、吸気動脈相群と比較して呼気動脈相群で有意に小さかった（Mann-Whitney U 検定, $P < 0.001$ ）。右副腎静脈カテーテル挿入までの時間は、呼気動脈相群（中央値：27.5分）が吸気動脈相群（中央値：35.5分）で有意に短かった（Mann-Whitney U 検定, $P = 0.035$ ）。しかしながら、呼気動脈相群は2相で撮像を行っているため吸気動脈相群より CT の放射線被曝量は有意に増加した（Mann-Whitney U 検定, $P < 0.001$ ）。

【考察】 吸気造影動脈相群、呼気造影動脈相群ともに可視化率は良好であり、両群に統計的有意差は認めなかった。呼気造影動脈相群では、後期動脈相（55秒）の可視化率が早期動脈相（40秒）と比べて良好であった。この理由としては、呼気位では胸郭内圧が低下することで静脈循環量が減少し、それに伴って心拍出量も減少することで吸気位よりも右副腎静脈の造影効果のピークが延長していると考えられた。呼気造影動脈相群は早期と後期動脈相の2相で撮像されているため吸気造影動脈相と比較して、CT の放射線被曝量は有意に増加した。被曝量低減の観点からは、呼気造影動

脈相では右副腎静脈がより良好な後期動脈相のみで許容される可能性がある。呼気造影動脈相では吸気造影動脈相に比べ、右副腎静脈開口部の局在において造影 CT 画像と副腎静脈造影像との差が有意に小さかった。これは、呼気位の造影 CT 画像が吸気位の造影 CT 画像よりも副腎静脈サンプリング時の右副腎静脈開口部の位置に近かったことを示唆していると考えられた。右副腎静脈カテーテル挿入までの時間は、呼気造影動脈相群で有意に短かった。これは、呼気造影動脈相群が造影 CT 画像と副腎静脈造影像とで右副腎静脈の位置が近く、術前シミュレーションしやすくなることで右副腎静脈カテーテル選択に有利と考えられた。

【結論】 呼気造影 CT 動脈相は、吸気造影 CT 動脈相と比較して右副腎静脈開口部の局在において右副腎静脈造影像との差が小さく、右副腎静脈カテーテル選択速度を上げるのに有用である。呼気造影 CT 動脈相は2相（早期と後期動脈相）で撮像されているため、被曝軽減の観点からは後期動脈相のみで許容される可能性がある。

（論文審査の結果の要旨）

原発性アルドステロン症は、自律性アルドステロン過剰分泌により高血圧や低カリウム血症を呈する疾患である。病型として片側性病変のアルドステロン産生腺腫、両側性病変の特発性アルドステロン症が主である。片側性の場合には外科的切除術、両側性の場合には薬物療法が選択される。そのため、治療方針の決定には片側性か両側性か区別することが重要である。しかしながら、CT や MRI といった形態画像では機能的な評価は困難であるため左右副腎静脈に各々直接カテーテルを挿入して採血を行い、血漿アルドステロン値を直接測定できる副腎静脈サンプリングは局在診断に有用な検査である。副腎静脈サンプリングの手技的な問題点の一つとして、右副腎静脈のカテーテル挿入が難しいことが挙げられる。その理由として、右副腎静脈は細径で様々な解剖学的なバリエーションがあるため適切な形状のカテーテル選択が必要である。右副腎静脈選択の成功率を上昇させるためには、サンプリング前の造影 CT にて右副腎静脈を正確に描出することが有用である。造影 CT において、比較的早い時相（動脈相）での撮影が右副腎静脈の描出に有用であるとの報告はあるが呼気位と吸気位のどちらが有用かについての報告はまだない。よって、本研究では副腎静脈サンプリング前の造影 CT として、呼気造影 CT 動脈相と吸気造影 CT 動脈相とを比較しその有用性を検

討した。

その結果、塚原嘉典は以下の結論を得た。

1. 呼吸動脈相群における右副腎静脈可視化率は、早期動脈相が84.4%，後期動脈相が93.8%，両相を合わせた場合は100%であり、吸気動脈相群は96.9%であった。右副腎静脈可視化率については、2群間に有意差はなかった。
2. 右副腎静脈開口部において造影CT画像と副腎静脈造影像との差は、吸気動脈相群と比較して呼気動脈相群で有意に小さかった。
3. 右副腎静脈カテーテル挿入までの時間は、呼気動脈相群（中央値：27.5分）が吸気動脈相群（中央

値：35.5分）で有意に短かった。

4. 呼吸動脈相群は2相で撮像を行っているため吸気動脈相群よりCTの放射線被曝量は有意に増加した。

これらの結果から、呼気造影CT動脈相は、吸気造影CT動脈相と比較して右副腎静脈開口部の局在において右副腎静脈造影像との差が小さく、右副腎静脈カテーテル選択速度を上げるのに有用であると考えられた。しかしながら、呼気造影CT動脈相は2相（早期と後期動脈相）で撮像されているため、被曝軽減の観点からは後期動脈相のみで許容される可能性がある。

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。

Update on respiratory lesions in patients with IgG4-related autoimmune pancreatitis (IgG4 関連自己免疫性膵炎における肺病変の最新知見)

川 上 聡

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】IgG4関連自己免疫性膵炎は多彩な膵外病変を伴うことが知られており、胸部病変の報告も見られるが、胸部病変の全てがIgG4関連病変かどうかは明らかではない。

本研究は胸部病変を有する自己免疫性膵炎の臨床的、画像的特徴を明らかにすること、自己免疫性膵炎に対してステロイド治療が行われた症例における胸部病変の反応性を解析することを目的とした。

対象は2000年1月から2020年12月までに、信州大学病院にて、診断基準に基づき自己免疫性膵炎と診断された121名。そのうち胸部異常の解析については診断時に胸部CTが撮影されている74名、ステロイド治療に対する反応性の評価は、ステロイド治療後180日までに胸部CTが撮影されている65名を対象とした。

対象の臨床情報、臨床所見は診断時のカルテ記載を参照し、罹患臓器については全身CT検査の結果を参照した。胸部異常については放射線科医2名が治療開始前・後の肺病変について独立して評価を行った。判断が異なる場合には、協議により決定した。

【結果】平均年齢は67歳、男女比は57：17であった。血清のIgGは平均2,243 mg/dL、IgG4は平均651 mg/dLであった。罹患臓器数は中央値が5で、51名(68.9%)に胸部病変が見られた。

胸部病変のうち、肺病変として気管支壁肥厚 33.8%、結節影 24.3%、網状影 24.3%、小葉中心性粒状影 20.3%、気腫 18.9%、すりガラス影 17.6%、気管支

血管束肥厚 10.8%が多く見られた。浸潤影 5.4%、線状影 8.1%、牽引性気管支拡張象 1.4%、小葉間隔壁肥厚 8.1%、腫瘍 4.1%、嚢胞 4.1%であった。その他の胸部異常として肺門・縦隔リンパ節腫大 85.1%、傍椎体病変 6.8%が見られた。

小葉中心性小結節は気管支壁肥厚との関連が見られた。

胸部病変を伴う自己免疫性膵炎患者群は伴わない群と比較し血清IgG4高値、補体低値、血清可溶性IL-2受容体高値の傾向があった。また胸部病変を有する群の方が、罹患臓器数が多かった。

ステロイド治療前後の胸部CTの比較において、肺病変の多くがステロイド反応性良好であった。一方、網状影、牽引性気管支拡張、気腫性変化、嚢胞はステロイド反応性不良であった。

【考察】本研究は、われわれの知る限り、自己免疫性膵炎のステロイド治療に対する反応性に焦点を当てた最も大規模な研究と考えられる。自己免疫性膵炎患者の約70%に胸部異常が見られ、胸部異常を伴う自己免疫性膵炎の臨床的、画像的特徴として以下の3つが考えられた。

1. 胸部異常を伴う自己免疫性膵炎患者群は伴わない群に比較し疾患活動性が高い。
2. 特徴的な胸部病変はリンパ節腫大、気管支壁肥厚、結節影、小葉中心性粒状影、すりガラス影、気管支血管束肥厚であり、これらはステロイド治療反応性が良好であった。

従来の報告に比較し小葉中心性粒状影の頻度が高く、小葉中心性粒状影は気管支壁肥厚との関連がみられ、IgG4関連気道病変の存在が考えられた。

- 多くの胸部異常がステロイド治療で改善したが網状影、気腫は反応性不良であった。これらの病変はIgG4関連疾患の肺病変ではなく、併存疾患の可能性が考えられた。

【まとめ】胸部病変を有する自己免疫性膵炎の臨床的特徴と、胸部病変の画像的特徴が明らかとなり、また、自己免疫性膵炎に対してステロイド治療が行われた症例における胸部病変の反応性の違いが捉えられた。

(論文審査の結果の要旨)

IgG4関連自己免疫性膵炎 (AIP) は多彩な膵外病変を伴うことが知られている。

本研究は胸部病変を有する自己免疫性膵炎の臨床的、画像的特徴を明らかにすること、自己免疫性膵炎に対してステロイド治療が行われた症例における胸部病変の反応性を解析することを目的とした。

自己免疫性膵炎と診断された74名、およびステロイド治療を施行された65名を対象とし、胸部CT画像所見の解析を行った。

その結果、川上らは以下の成績を得た。

- AIP患者74名中51名 (68.9%) に肺病変を認めた。
- 肺病変として気管支壁肥厚 (33.8%)、結節影 (24.3%)、網状影 (24.3%)、小葉中心性粒状影 (20.3%)、気腫 (18.9%)、すりガラス影 (17.6%)、気管支血管束肥厚 (10.8%) が認められた。その他、肺門・縦隔リンパ節腫大 (85.1%)、傍椎体病変 (6.8%) が見られた。
- 小葉中心性結節は気管支壁肥厚との相関が見られた。
- 胸部病変を伴う AIP 群は、伴わない群に比べて血清 IgG4 高値、補体低値、血清可溶性 IL-2 受容体高値の傾向があり、罹患臓器数が多かった。
- 腎病変との合併が多かった。
- 肺病変の多くがステロイド治療への反応が良好であったが、網状影、牽引性気管支拡張、気腫性変化、嚢胞はステロイド反応が不良であった。

これらの結果により、自己免疫性膵炎に伴う肺病変の特徴が明らかにされた。本研究の結果は自己免疫性膵炎を含む IgG4 関連疾患の病態解明、診断、治療の一助となると考えられる。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。

Effects of acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs on human cytochrome P450 4A11 activity: Roles of carboxylic acid and a sulfur atom in potent inhibition by sulindac sulfide (ヒト CYP4A11 活性に対する酸性非ステロイド性抗炎症薬の影響: スリンダクスルフィドによる強力な阻害におけるカルボン酸および硫黄原子の役割)

伊 東 久 貴

(論文の内容の要旨)

【背景・目的】シトクロム P450 4A11 (CYP4A11) は主に肝臓や腎臓に発現している。CYP4A11 はラウリン酸を含む飽和脂肪酸やアラキドン酸を含む不飽和脂肪酸の ω -酸化を触媒し、特にラウリン酸に対して高い触媒活性を示す。CYP4A11 は肝臓および腎臓におけるアラキドン酸代謝物 20-ヒドロキシエイコサテトラエン酸 (20-HETE) の産生に極めて重要な役割を果たしており、腎臓の近位尿細管では 20-HETE がナトリウム再吸収を阻害し、ナトリウム利尿を促進することで降圧作用を示す。また、CYP4A11 遺伝子には多型が存在し、その変異型は高血圧症との関連が示されている。

CYP4A の基質の多くは構造中にカルボキシ基を有する。もし、このような特徴を有する薬物が CYP4A11 の活性を強く阻害した場合、薬物間相互作用を引き起

こす可能性がある。また、CYP4A11 を阻害する薬物が長期間投与された場合、遺伝子多型の影響と同様、高血圧症が起こる可能性が考えられる。このような観点から、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) に着目した。NSAIDs は発熱、疼痛、炎症の急性期および慢性期の症状を軽減する目的で、世界で最も多く処方されている薬物の 1 つである。酸性 NSAIDs はその多くが構造中にカルボキシ基を有しているが、CYP4A11 活性を阻害するか否かは明らかでない。

本研究では、酸性 NSAIDs の CYP4A11 活性に対する影響を *in vitro* で明らかにすることを目的とした。

【方法】ヒト肝マイクロゾーム (HLMs) および組換え CYP4A11 を用いて、ルシフェリン-4A O-脱メチル化酵素活性に対する酸性 NSAIDs (15 化合物) の阻害効果を検討した。強力な阻害が認められた場合、50% 阻害濃度 (IC_{50} 値)、阻害様式および阻害定数 (K_i 値)

を算出した。さらに、CYP4A11のホモロジーモデルを用いて、スリンドク関連化合物のドッキングシミュレーションを行った。

【結果】 検討した酸性 NSAIDs のうち、スリンドクスルフィド、イブプロフェン、フルルビプロフェンが CYP4A11 活性を効果的に阻害した。最も強く阻害したスリンドクスルフィドについて速度論的解析を行った結果、スリンドクスルフィドは HLMs ($K_i=3.38\mu\text{M}$) および組換え CYP4A11 ($K_i=4.19\mu\text{M}$) の両酵素源に対して、混合型の阻害様式を示した。

スリンドクスルフィドはプロドラッグであるスリンドクが体内で還元されて生成する薬理活性代謝物である。また、スリンドクは酸化反応を受け、薬理活性をもたないスリンドクスルホンを生産する。そこで、スリンドクスルフィドの硫黄原子が CYP4A11 阻害に果たす役割を明らかにするために、スリンドクスルフィド、スリンドク、スリンドクスルホンの CYP4A11 活性に対する阻害作用を検討した。その結果、HLMs に対する阻害作用はスリンドクスルフィド、スリンドク、スリンドクスルホンの順に強く、 IC_{50} 値はそれぞれ 6.16, 52.7, 71.6 μM であった。

ドッキングシミュレーション解析の結果、スリンドクスルフィド、スリンドクおよびスリンドクスルホンは構造中のカルボキシ基が CYP4A11 活性部位の Ser-119 側鎖と水素結合を形成していた。スリンドクスルフィドの硫黄原子は活性部位のアミノ酸との間で立体障害を認めなかったが、スリンドクおよびスリンドクスルホンのスルフィニル基はそれぞれ活性部位の Leu-132 および Glu-321 と立体障害を生じていた。

【考察】 検討した酸性 NSAIDs のうち、スリンドクスルフィドが CYP4A11 活性を最も強く阻害することが明らかとなった。スリンドクスルフィドは混合型の阻害様式を示したことから、CYP4A11 の活性部位とそれ以外の部位に結合して阻害作用を示す可能性が考えられた。また、スリンドクスルフィドの硫黄原子は酸素化されることにより、CYP4A11 に対する阻害作用を減弱させることが明らかとなった。この結果はドッキングモデルからも支持された。さらに、スリンドクスルフィドのカルボキシ基が活性部位の Ser-119 側鎖との水素結合により、CYP4A11 の阻害剤として安定に結合していることを示した。

【結論】 スリンドクスルフィドは CYP4A11 の強力な阻害剤であることを明らかにした。スリンドクスルフィドによる CYP4A11 の阻害にはカルボン酸および硫黄

原子が重要な役割を果たしている可能性がある。

(論文審査の結果の要旨)

シトクロム P450 4A11 (CYP4A11) は主に肝臓や腎臓に発現に発現し、ラウリン酸を含む飽和脂肪酸やアラキドン酸を含む不飽和脂肪酸の ω -酸化をそれぞれ触媒し、特にラウリン酸に対して高い触媒活性を示す。CYP4A11 は肝臓および腎臓におけるアラキドン酸代謝物 20-ヒドロキシエイコサテトラエン酸 (20-HETE) の産生に極めて重要な役割を果たしており、腎臓の近位尿細管では 20-HETE がナトリウム再吸収を阻害し、ナトリウム利尿を促進することで降圧作用を示す。また、CYP4A11 遺伝子には多型が存在し、その変異型は高血圧症との関連が示されている。CYP4A の基質の多くは構造中にカルボキシ基を有する。もし、このような特徴を有する薬物が CYP4A11 の活性を強く阻害した場合、薬物間相互作用を引き起こす可能性がある。このような観点から、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) に着目した。酸性 NSAIDs はその多くが構造中にカルボキシ基を有しているが、CYP4A11 活性を阻害するか否かは明らかでない。そこで、本研究は酸性 NSAIDs の CYP4A11 活性に対する影響を *in vitro* で明らかにすることを目的とした。さらに、CYP4A11 のホモロジーモデルを用いて、スリンドク関連化合物のドッキングシミュレーションを行った。

その結果、伊東は次の結論を得た。

1. 検討した酸性 NSAIDs のうち、スリンドクスルフィドが CYP4A11 活性を最も強く阻害することが明らかとなった。
2. スリンドクスルフィドは CYP4A11 活性に対して混合型の阻害様式を示した。
3. スリンドクスルフィドの硫黄原子は酸素化されることにより、CYP4A11 に対する阻害作用を減弱させることが明らかとなり、この結果はドッキングモデルからも支持された。
4. ドッキングモデルはスリンドクスルフィドのカルボキシ基が CYP4A11 活性部位の Ser-119 側鎖との水素結合により、CYP4A11 の阻害剤として安定に結合していることを示した。

本研究の結果から、スリンドクスルフィドは CYP4A11 の強力な阻害剤であることを明らかにした。スリンドクスルフィドによる CYP4A11 の阻害には、カルボン酸および硫黄原子が重要な役割を果たしている可能性があることを示した。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。