

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
日 野 雅 仁	甲第1384号	R 7. 3.31	Does early administration of denosumab delay bone healing after intertrochanteric femoral fractures? (大腿骨転子部骨折術後の早期デノスマブ投与は骨癒合を遅らせるのか?)	内 藤 隆 文	藤 永 康 成 杠 俊 介 宮 腰 尚 久
ZHENG QIAN QIAN	甲第1385号	R 6. 9.30	Establishment of Novel Mouse Model of Dietary NASH Rapidly Progressing into Liver Cirrhosis and Tumors (脂肪肝炎から迅速に肝硬変・肝腫瘍へ進展する新規マウスモデルの樹立)	駒 津 光 久	副 島 雄 二 齋 藤 直 人 中 川 勇 人
矢口貴一郎	甲第1386号	R 7. 3.31	Addition of a buccinator musculomucosal flap improves surgical outcomes of conventional two-flap palatoplasty: A comparative study (two-flap palatoplasty 法に頬筋粘膜弁を併用すると術後成績が改善する: 比較研究)	古 庄 知 己	栗 田 浩 中 沢 洋 三 宮 脇 剛 司
佐藤梨里子	甲第1387号	R 7. 3.31	Cause, severity, and efficacy of treatment for hearing loss in children with trisomy 18: a single institution-based retrospective study (18トリソミー児の難聴の原因と治療効果についての検討)	中 沢 洋 三	工 穰 塩 沢 丹 里 高 橋 尚 人
佐 渡 智 光	甲第1388号	R 6. 3.31	Direct evidence that 4'-O-methylpyridoxine induces hyperactivity and convulsions due to pyridoxal phosphate deficiency in the brain (4'-O-methylpyridoxine がピリドキサルリン酸欠乏による過活動と痙攣を引き起こすことの証明)	中 沢 洋 三	藤 永 康 成 片 岡 正 和 山 中 岳
野 村 俊	甲第1389号	R 6. 3.31	Immunopathological features of myopathy associated with small-to-medium-sized vessel vasculitis and differences from autoimmune myositis (中・小型血管炎に伴うミオパチーの免疫病理学的特徴と炎症性筋炎との違い)	菅 野 祐 幸	牧 島 秀 樹 矢 崎 正 英 廣 村 桂 樹
ZHOU MENGYUN	甲第1390号	R 6. 9.30	Reductions of parvalbumin positive interneurons and adult hippocampal neurogenesis were observed in the genetically mimicked mouse models for IQSEC2-related disorders (遺伝子改変により作成した IQSEC2関連疾患のモデルマウスではパルブミン陽性介在ニューロンと成熟海馬ニューロン新生の低下がみられる)	植 村 健	古 庄 知 己 田 渕 克 彦 柳 川 徹
白 田 悠	甲第1391号	R 7. 3.31	Development of phosphate-treated PEEK implants with high osseointegration (高いオッセオインテグレーション能力を有するリン酸処理 PEEK の開発)	柴 祐 司	菅 野 祐 幸 小 関 道 彦 波 呂 浩 孝

矢部 愛美	甲第1392号	R 7. 3.31	Hypertensive disorders of pregnancy increase the incidence of febrile seizures in offspring (妊娠高血圧症候群と子の熱性けいれんとの関連)	中沢 洋三	片岡 正和 鷲塚 伸介 小坂 仁
岡島 幸紀	甲第1393号	R 7. 3.31	Predictability of combining Technetium-99m-galactosyl human serum albumin single-photon emission computed tomography/computed tomography and indocyanine green clearance test for posthepatectomy liver failure (Technetium-99m-galactosyl human serum albumin SPECT/CT とインドシアニン、グリーンクリアランステストの併用による術後肝不全予測能の検討)	田中 直樹	藤 永康成 池上 俊彦 五島 聡
RIZKA NUGRAHENI MARTYANTI	甲第1394号	R 6. 9.30	Increased response of postmenopausal bone to interval walking training depends on baseline bone mineral density (閉経後女性におけるインターバル速歩トレーニングの骨密度向上効果はトレーニング前の初期値に依存する)	高橋 淳	藤 永康成 田中 直樹 鷹股 亮
LIU JIANPING	甲第1395号	R 6. 3.31	Screening of aspiration pneumonia using the modified Mallampati classification tool in older adults (改良された Mallampati 分類ツールを使った高齢者の誤嚥性肺炎のスクリーニング)	田中 直樹	花岡 正幸 栗田 浩 宇田川信之
神崎 佑介	甲第1396号	R 6. 3.31	Impact of Multiple Ballooning on Coronary Lesions as Assessed by Optical Coherence Tomography and Intravascular Ultrasound (血管内超音波と光干渉断層法を用いた複数回バルーン拡張術の冠動脈プラークに対する影響の評価)	瀬戸達一郎	今村 浩 柴 祐司 高間 典明
吉澤 隆裕	甲第1397号	R 7. 3.31	An immunohistochemical analysis of osteopontin and S100 calcium-binding protein P is useful for subclassifying large- and small-ducttype intrahepatic cholangiocarcinomas (オステオポンチンと S100カルシウム結合蛋白 P の免疫染色は肝内胆管癌を大型胆管型と小型胆管型に亜分類するのに有用である)	梅村 武司	菅野 祐幸 平塚佐千枝 相島 慎一
町田 圭介	甲第1398号	R 7. 3.31	Clinical Profile and Prognosis of Dementia in Patients With Acute Decompensated Heart Failure —From the CURE-HF Registry— (認知症を合併した急性非代償性心不全患者の臨床的特徴と予後—CURE-HF レジストリより—)	今村 浩	関島 良樹 柴 祐司 高間 典明
西本 和平	甲第1399号	R 7. 3.31	Relationship between Diabetes Status and Sarcopenia in Community-Dwelling Older Adults (地域在住高齢者における diabetes status とサルコペニアとの関連)	沢村 達也	関島 良樹 木村 貞治 牧迫飛雄馬
北原 遼	甲第1400号	R 6. 3.31	Biofabricated adipose-derived mesenchymal cell sheets recover cryo-injured kidneys in rats (積層型間葉系幹細胞シートによるラット腎凍結傷害の腎臓再生)	古庄 知己	村田 敏規 菅野 祐幸 齊藤 源顕

相 田 隆 道	甲第1401号	R 6. 3.31	Effects of high-pressure-processed rice intake during interval walking training on glycemic control and <i>NFKB2</i> gene methylation in hyperglycemic older people (高血糖高齢者におけるインターバル速歩トレーニング中の高圧加工米摂取が血糖調節と <i>NFKB2</i> 遺伝子メチル化に及ぼす効果)	駒 津 光 久	田 中 直 樹 松 田 和 之 鷹 股 亮
安 齋 和 憲	甲第1402号	R 6. 3.31	The effectiveness of a self-reported questionnaire on masticatory function in health examinations (健康診断における咀嚼機能に関する自己申告式アンケートの有効性)	野見山哲生	駒 津 光 久 栗 田 浩 宇田川信之
松 本 侑 樹	甲第1403号	R 6. 3.31	Bi-layered adipose derived mesenchymal cell sheets improve bladder compliance in spinal cord-injured rats (積層型脂肪由来間葉系幹細胞シートによる脊髄損傷ラットの膀胱コンプライアンス改善効果)	柴 祐 司	高 橋 淳 田 中 直 樹 三 井 貴 彦
鎌 倉 雅 人	甲第1404号	R 7. 3.31	LGR5 expression and clinicopathological features of the invasive front in the fat infiltration area of pancreatic cancer (膵臓癌の脂肪組織への浸潤部における LGR5の臨床病理学的特徴)	菅 野 祐 幸	平塚佐千枝 岩 谷 勇 吾 平 林 健 一
金 井 峻	甲第1405号	R 7. 3.31	ARL4C is associated with epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer (ARL4Cは大腸癌における上皮間葉転換と関連している)	副 島 雄 二	平塚佐千枝 上 原 剛 原 田 憲 一
鈴 木 祐 介	甲第1406号	R 7. 3.31	Associations Between Morphological Phenotypes of COPD and Clinical Characteristics in Surgically Resected Patients with COPD and Concomitant Lung Cancer (COPD 合併肺癌の外科的切除患者における COPD 形態学的フェノタイプと臨床的特徴の関連)	藤 永 康 成	牧 島 秀 樹 清 水 公 裕 仲 村 秀 俊
上 甲 巖 雄	甲第1407号	R 7. 3.31	Prevalence and associated factors for primary osteoarthritis of the thumb carpometacarpal joint in the general elderly population: a Japanese cohort survey randomly sampled from a basic resident registry of a small rural town (一般高齢者集団における母指手根中手関節の原発性変形性関節症の有病率と関連因子: 日本の小さな地方都市の住民基本台帳から無作為に抽出したコホート調査)	杠 俊 介	増 木 静 江 野見山哲生 岩 崎 倫 政
望 月 祐 介	甲第1408号	R 6. 3.31	Involvement of bile acid in diarrhea and therapeutic effect of colestimide in hereditary ATTR amyloidosis (ATTRv アミロイドーシス患者の下痢への胆汁酸の関与とコレステミドの治療効果)	田 中 直 樹	副 島 雄 二 矢 崎 正 英 小 池 春 樹

審査学位論文要旨

ZHAO YUNLU	甲第1409号	R 6. 9.30	Adrenomedullin 2/Intermedin Exerts Cardio-protective Effects by Regulating Cardiomyocyte Mitochondrial Function (アドレノメデュリン2/インターメディンは心筋細胞のミトコンドリア機能を調節することで心臓を保護する)	田中直樹	平塚佐千枝 新藤隆行 今井 靖
堀内一太郎	甲第1410号	R 7. 3.31	Rate of Decrease in Serum Autotaxin Can Predict Relapse of Type 1 Autoimmune Pancreatitis After Initial Steroid Therapy (ステロイド治療後の1型自己免疫性膵炎における、血清オートタキシンの減少率による再発予測の検討)	田中直樹	平塚佐千枝 岩谷勇吾 中川勇人
牧山文亮	甲第1411号	R 7. 3.31	Differential effects of structurally different lysophosphatidylethanolamine species on proliferation and differentiation in pre-osteoblast MC3T3-E1 cells (構造の異なるリゾホスファチジルエタノールアミンが前骨芽細胞 MC3T3-E1 細胞の増殖と分化に与える影響)	田中直樹	関島良樹 高橋 淳 松田佳和
久保田論史	甲第1412号	R 6. 3.31	Improving glycemic control by transitioning from the MiniMed™ 640G to 770G in Japanese adults with type 1 diabetes mellitus: a prospective, single-center, observational study (成人日本人の1型糖尿病における MiniMed™ 640Gから770Gへの移行による血糖コントロールの改善: 単施設前向き観察研究)	関島良樹	田中直樹 駒津光久 櫻井晃洋
島田恭輔	甲第1413号	R 7. 3.31	Development of glomerular hyperfiltration, a multiphasic phenomenon (多相性現象である糸球体過剰濾過の発生)	田中直樹	関島良樹 駒津光久 櫻井晃洋
二木亜希子	甲第1414号	R 7. 3.31	High-density lipoprotein functionality in cholesterol efflux in early childhood is related to the content ratio of triglyceride to cholesterol (幼児期における高比重リポタンパクのコレステロール引き抜き機能はコレステロールに対するトリグリセライドの含有率と関係する)	中沢洋三	古庄知己 梅村武司 齋藤邦明
黒河内大輔	甲第1415号	R 7. 3.31	Comparison of Spinous Process-Splitting Laminectomy versus Posterolateral Fusion for Lumbar Degenerative Spondylolithesis (腰椎変性脊椎すべり症に対する棘突起縦割式椎弓切除術と後側方固定術の比較)	藤永康成	野見山哲生 高橋 淳 松山幸弘
福澤拓馬	甲第1416号	R 7. 3.31	Comparison of PLIF/TLIF and LLIF for two-level degenerative lumbar spondylolisthesis (2椎間の腰椎変性すべり症に対する PLIF/TLIF と LLIF の比較)	清水公裕	高橋 淳 古庄知己 波呂浩孝
笹岡真衣	甲第1417号	R 6. 3.31	A Novel ELISA System for Measuring Modified LDL-adiponectin Complex (変性 LDL-アディポネクチン複合体測定のための新規 ELISA 法)	田中直樹	駒津光久 沢村達也 山本浩一

山口 亨	甲第1418号	R 7. 3.31	Relationship between self-rated health, physical frailty, and incidence of disability among Japanese community-dwelling older adults: A longitudinal prospective cohort study (日本人高齢者における主観的健康感とフレイル, 障がい発生との関連性: 縦断的前向きコホート研究)	沢村 達也	駒津 光久 横川 吉晴 牧迫飛雄馬
轟 圭介	甲第1419号	R 7. 3.31	Pulmonary metastases from malignant melanoma showing ground-glass opacity nodules (すりガラス濃度結節を呈する悪性黒色腫の肺転移に関する検討)	清水 公裕	安尾 将法 藤 永康成 大野 良治
安宅 拓磨	甲第1420号	R 7. 3.31	Associations between prenatal exposure to per- and polyfluoroalkyl substances and wheezing and asthma symptoms in 4-year-old children: The Japan Environment and Children's Study (妊婦の有機フッ素化合物 (PFAS) ばく露と生まれた子どもの4歳時におけるぜん鳴・ぜん息症状の有無との関連: 子どもの健康と環境に関する全国調査)	花岡 正幸	清水 公裕 野見山哲生 西 條 泰明
ZHANG XUGUANG	甲第1421号	R 7. 3.31	Hydralazine Lowers Serum Triglyceride Levels by Enhancing Farnesoid X Receptor Signaling and Adipose Triglyceride Lipase Expression: In Vivo Evidence from Male Spontaneously Hypertensive Rats (ヒドララジンはファルネソイドX受容体シグナルと脂肪細胞特異的トリグリセリドリパーゼ発現を増強することにより血清トリグリセリドを低下させる: 雄性自然発症高血圧ラットでのエビデンス)	駒津 光久	岩谷 勇吾 田中 直樹 本多 彰
犬井 啓太	甲第1422号	R 7. 3.31	Novel Membrane Designed Polyether Sulfone Filter Reduces Filtration Membrane Obstruction Rate in Drop-Type With Adjustable Concentrator Cell-Free and Concentrated Ascites Reinfusion Therapy (DC-CART) (新規膜設計によるポリエーテルスルホン膜ろ過フィルターは濃縮調整が可能な落差式腹水濾過濃縮再静注療法におけるろ過膜閉塞率を低下させる)	田中 直樹	伊澤 淳 岩谷 勇吾 伊藤 孝史
中嶋 優太	甲第1423号	R 6. 3.31	Differential linea alba width in pediatric umbilical hernias: a comparative analysis (小児臍ヘルニア患者における白線幅の差異: 健常児との比較分析)	副島 雄二	藤 永康成 福島菜奈恵 宮脇 剛司
百瀬 英哉	甲第1424号	R 7. 3.31	Heatstroke risk informing system using wearable perspiration ratemeter on users undergoing physical exercise (ウェアラブル発汗計を利用した運動時ユーザーに対する熱中症リスク通知システムの開発)	田渕 克彦	栗田 浩 小林 正義 柳川 徹

審査学位論文要旨

SUN LIHAO	甲第1425号	R 7. 3.31	Adult neurogenesis in the ventral hippocampus decreased among animal models of neurodevelopmental disorders (腹側海馬領域における神経細胞新生は神経発達障害モデル動物で共通して減少する)	植村 健	森 政之 田 渕 克 彦 柳 川 徹
小 山 力	甲第1426号	R 7. 3.31	Investigation of pure lung microbiota in patients with lung cancer after eliminating upper airway contamination: a prospective cohort study (肺癌患者における上気道常在菌を排除した純粋な肺内微生物叢の検討)	伊 藤 研 一	花 岡 正 幸 瀬戸達一郎 岩 田 尚
泉 谷 惇	甲第1427号	R 7. 3.31	Genetic profiling of MC3T3-E1 cells in different media: implications for in vitro screening development (異なる培地における MC3T3-E1細胞の遺伝子プロファイリング: in vitro スクリーニング開発に向けた暗示)	高 橋 淳	栗 田 浩 竹内あかり 松 田 佳 和

審査学位論文要旨

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
土 屋 順 子	甲第57号	R 6. 3.31	Comparison of Muscle Synergies in Walking and Pedaling: The Influence of Rotation Direction and Speed (歩行とペダリングにおける筋シナジーの比較: 回転方向と速度の影響)	木 村 貞 治	横 川 吉 晴 百 瀬 公 人
鮫 島 敦 子	甲第58号	R 6. 3.31	The Current Status of Postpartum Menstrual Resumption Delay and Associated Risk Factors in Japanese Women: An Adjunct Study of the Japan Environment and Children's Study (邦人女性における分娩後月経再来遅延の実態と関連因子: エコチル調査の追加調査)	下 里 誠 二	池 上 俊 彦 金 井 誠
多 賀 将 仁	甲第59号	R 7. 3.20	Test-retest reliability of the ten-repetition maximum test in untrained young males and females (トレーニング経験のない若年男女における10RM 測定の信頼性)	横 川 吉 晴	木 村 貞 治 百 瀬 公 人
杉 本 穂 高	甲第60号	R 6. 3.31	Relationship between 10 repetition maximum for chest press, leg press, and muscle mass using bioelectrical impedance analysis in healthy young adults. (健常若年成人におけるチェストプレスおよびレッグプレスの10RM と生体電気インピーダンス分析による筋量との関係)	西 澤 公 美	木 村 貞 治 百 瀬 公 人 齋 門 良 紀
小 山 尚 美	甲第61号	R 7. 3.20	急性期医療を担う病院における認知症看護実践に関する組織風土尺度の開発と信頼性・妥当性の検討	浅 野 美 礼	上 村 智 子 會 田 信 子 鈴 木 み ず え
福 元 裕 人	甲第62号	R 7. 3.20	Association of performance of basic movements at admission and socio-environmental factors with return home following inpatient stroke rehabilitation (脳卒中患者における入院時の基本動作能力と社会環境要因の自宅退院との関連性)	横 川 吉 晴	百 瀬 公 人 會 田 信 子 大 森 圭 貢
倉 澤 康 之	甲第63号	R 7. 3.20	Impact of tailored message notifications for frailty prevention in older adults: a quasi-randomized controlled study using a regression discontinuity design (高齢者におけるフレイル予防のためのテーラーメイドメッセージ通知の影響: 回帰不連続デザインを用いた準ランダム化比較試験)	百 瀬 公 人	務 臺 均 横 川 吉 晴 松 田 智 行

Does early administration of denosumab delay bone healing after intertrochanteric femoral fractures? (大腿骨転子部骨折術後の早期デノスマブ投与は骨癒合を遅らせるのか?)

日 野 雅 仁

(論文の内容の要旨)

【はじめに】 大腿骨近位部骨折は一般的に骨粗鬆症と関連し、二次的骨折のリスクとなる。このリスクを軽減するために、骨折後の骨粗鬆症治療薬の投与が推奨されている。骨吸収抑制薬は骨折予防のために最も頻繁に処方される治療薬であるが、これらの薬剤は骨代謝を著しく抑制し、骨折後の骨治癒過程に悪影響を及ぼすことが懸念される。骨折手術後のビスホスホネート製剤が骨折治癒を遅延させないとする報告は過去にされている。この前向き研究は、大腿骨転子部骨折手術後早期にデノスマブの投与が可能か否かを評価するために、骨折治癒に与える影響をビスホスホネート投与群と比較検討した。

【対象と方法】 2018年11月～2020年11月に大腿骨転子部脆弱性骨折に対して手術を受けた患者を前向きに検討した。包含基準は、65歳以上の脆弱性骨折、髄内釘による治療、骨粗鬆症治療の既往がないこととし、手術前に本研究の要旨を患者あるいは後見人に説明し、書面による同意を得た。除外基準は、骨粗鬆症治療の既往、多発外傷、高エネルギー外傷、病的骨折、寝たきり、重度の腎機能障害 (eGFR<30 ml/min./1.73 m²) とした。

患者を単純無作為割付法により2群 (デノスマブ [DSM] 群とイバンドロネート [IBN] 群) に割り付け (イバンドロネートはビスホスホネートの一種である)、DSM 群には60 mg の DSM が皮下注射され、IBN 群には100 mg の IBN が経口投与 (月1回) された。両薬剤とも術後1週間以内に投与を開始し、活性型ビタミンDを0.5 μg/日追加した。テタニーなどの症候性低カルシウム血症や胃腸症状、関節痛などのDSM および IBN による有害事象は、術後3か月までの入院中の回診または外来受診時に評価した。

術後3か月の骨折治癒の評価には、理学所見、単純X線写真、CT (コンピュータ断層撮影) を用いた。1. 理学所見: 荷重時の疼痛と骨折部位の圧痛を評価し、荷重時痛および骨折部位の圧痛がない場合、臨床的に骨折治癒が得られたと定義した。2. 単純X線画像: 術後3か月時点の正面像と側面像を用いた。骨折部位の4つの皮質 (内側、外側、前方、後方) の仮骨

形成を1点から3点 (1点: 骨折部位に仮骨がない、2点: 仮骨形成はあるが架橋されていない、3点: 架橋された仮骨形成または骨折線の消失) で採点した。4箇所のうち2箇所以上で3点がつけられた場合、放射線学的に骨癒合が得られたと定義した。3. CT 画像: 術後3か月時点のCTのMultiplanar reconstruction (MPR) 画像を用いた。coronal 画像とsagittal 画像を用いて、4つの骨折部位 (内側、外側、前方、後方) の評価をするためにスライスを選択し、4つの骨折部位 (内側、外側、前方、後方) を評価した。内側および外側骨折部位の評価はcoronal 画像で、前方および後方骨折部位の評価はsagittal 画像でそれぞれ行った。骨折治癒の評価は、単純X線写真と同じ方法で行った。

単純X線写真とCT画像の骨折治癒評価は、筆頭著者を除く3人の評価者 (整形外科専門医2人と放射線科専門医1人) が独立して行った。CTの参照スライスは筆頭著者が決定した。骨折治癒評価用の単純X線画像とCT画像は、治療群を盲検化されて評価者に筆頭著者から提供された。

【結果】 研究期間中、合計166名の大腿骨転子部骨折患者が髄内釘による治療を受けた。このうち、骨粗鬆症治療歴のある患者42例、多発外傷や高エネルギー外傷患者4例、寝たきり患者4例、重症腎機能障害患者2例、歯科治療が必要な患者2例、本研究への参加や骨粗鬆症治療を拒否した患者5例、周術期合併症のため骨粗鬆症治療ができなかった患者5例、手術前に他施設への早期転院が予測された患者6例、その他2例を除外した。残りの94例に対して術後1週間以内に骨粗鬆症治療を開始した。単純無作為に割付を行い、41例がDSM 群に、53例がIBN 群に組み入れられた。持病の悪化や他院への転院のため6か月間追跡できなかった28例 (DSM 群8例、IBN 群20例) が研究から除外され、66例 (DSM 群33例、IBN 群33例) が最終解析に組み入れられた。

術後3か月の理学所見では、荷重時痛、骨折部位の圧痛に両群間に有意差はみられなかった。骨折部位の圧痛は両群とも全例にみられなかったが、荷重時痛はDSM 群で9例 (27.2%), IBN 群で8例 (23.2%)

にみられた。臨床的骨折治癒率はDSM群で72.8%, IBN群で76.8%であり, 両群間に有意差はなかった。

放射線学的骨折治癒率には評価者間の差があった(単純X線: DSM群57.5%~81.8%, IBN群51.5%~90.9%, CT: DSM群51.5%~72.7%, IBN群45.4%~81.8%)。ばらつきはあるものの, 3人の評価者全員において, 単純X線またはCTにおける群間の骨折治癒率に有意差はなかった。

【結論】大腿骨転子部骨折手術後のデノスマブの早期投与は, イバンドロネート投与と比較して, 放射線学的にも臨床的にも骨折治癒期間を遅らせることはなかった。したがって, 大腿骨転子部脆弱性骨折患者における2次骨折予防のための骨粗鬆症加療において, 手術後早期に強力な骨吸収抑制薬であるデノスマブの投与も可能であると考えられた。

(論文審査の結果の要旨)

脆弱性骨折後の二次骨折予防のために, 骨折後早期からの骨粗鬆症治療介入が重要である。骨折手術後のビスホスホネート製剤が骨折治癒を遅延させないとする報告は過去にされている。この前向き研究は, 大腿骨転子部骨折手術後早期にデノスマブの投与が可能かを評価するために, 骨折治癒に与える影響をビスホスホネート投与群と比較検討した。

2018年11月~2020年11月に大腿骨転子部脆弱性骨折に対して手術を受けた患者を前向きに検討した。患者を単純無作為割付法により2群(デノスマブ [DSM] 群とイバンドロネート [IBN] 群)に割り付け(イバンドロネートはビスホスホネートの一種である), DSM群には60 mgのDSMが皮下注射され, IBN群には100 mgのIBNが経口投与(月1回)された。術

後3か月の骨癒合を比較した。66例(DSM群33例, IBN群33例)の術後3か月の骨折治癒の評価には, 理学所見, 単純X線写真, CT(コンピュータ断層撮影)を用いた。単純X線写真とCT画像の骨折治癒評価は, 筆頭著者を除く3人の評価者(整形外科専門医2人と放射線科専門医1人)が独立して行った。

調査結果は以下の通りである。

1. 理学所見では, 荷重時痛, 骨折部位の圧痛に両群間に有意差はみられなかった。骨折部位の圧痛は両群とも全例にみられなかったが, 荷重時痛はDSM群で9例(27.2%), IBN群で8例(23.2%)にみられた。臨床的骨折治癒率はDSM群で72.8%, IBN群で76.8%であり, 両群間に有意差はなかった。
2. 放射線学的骨折治癒率には評価者間の差があった(単純X線: DSM群57.5%~81.8%, IBN群51.5%~90.9%, CT: DSM群51.5%~72.7%, IBN群45.4%~81.8%)。ばらつきはあるものの, 3人の評価者全員において, 単純X線およびCTにおける群間の骨折治癒率に有意差はなかった。

3. 3つの評価方法全てにおいて, DSM群とIBN群の術後3か月の骨癒合率に有意差を認めなかった。

本研究結果より, 大腿骨転子部骨折手術後のデノスマブの早期投与は, イバンドロネート投与と比較して, 放射線学的にも臨床的にも骨折治癒期間を遅らせることはなかった。したがって, 大腿骨転子部脆弱性骨折患者における2次骨折予防のための骨粗鬆症加療において, 手術後早期に強力な骨吸収抑制薬であるデノスマブの投与も可能であると考えられた。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。

Establishment of Novel Mouse Model of Dietary NASH Rapidly Progressing into Liver Cirrhosis and Tumors (脂肪肝炎から迅速に肝硬変・肝腫瘍へ進展する新規マウスモデルの樹立)

ZHENG QIANQIAN

(論文の内容の要旨)

【Introduction】 The ultimate goal of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) treatment is to prevent liver cirrhosis (LC) and hepatocellular carcinoma (HCC). However, specific prevention and treatment strategies based on fibrosis stage, and the optimal timing to start medication, are not established. To address this, a reliable NASH animal model that quickly progresses to LC and HCC is needed. Current NASH

mouse models take over six months to develop LC, with HCC development being slow and uncertain. In this study, we aimed to establish a new, faster-progressing NASH-LC-HCC mouse model.

【Methods】 We created OYC-NASH2 with enhanced iron and cholesterol content. C57BL/6J male mice were fed with a regular diet or OYC-NASH2 diet for up to 60 weeks. They were dissected at 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, and 60 weeks, and subjected to biochemi-

cal analysis of serum/liver, histological analysis, and quantitative PCR.

【Results】 Treatment of OYC-NASH2 diet mice for 3 weeks showed marked steatosis, lobular inflammation, and mild fibrosis, with all mice diagnosed with NASH by 6 weeks. Liver cirrhosis was observed after 48 weeks. Liver nodules appeared at 12 weeks, >2 mm diameter liver tumors developed in all mice at 24 weeks and HCC appeared after 36 weeks. Quantitative PCR revealed significant increases in mRNA expression of inflammation and fibrosis-related genes at 3 weeks, consistent with NASH development. Myc, Afp, and cell cycle-related genes were consistently higher compared to normal diet. At 36 weeks, immune-related genes Clec4f and Timd4 decreased, while Cxcr6 increased, which were similar to changes observed in the liver tissue of NASH-LC-HCC patients.

【Conclusion】 Our rapidly progressive and highly reproducible NASH-LC-HCC model is helpful for pre-clinical development and research on the pathogenesis of human NASH-associated HCC. Our mouse model would be useful for the development of novel chemicals targeting for NASH-LC-HCC.

(論文審査の結果の要旨)

Non-alcoholic steatohepatitis (NASH), the most severe form of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), is a major catalyst for hepatocellular carcinoma (HCC). However, the molecular mechanisms underlying the NASH-liver fibrosis-HCC sequence remain unclear, and there is no established specific or effective treatment for NASH. Progress in this field depends on the availability of reliable preclinical models that consistently progress to NASH, liver cirrhosis, and HCC.

Most existing NASH mouse models take over 24 weeks to develop NASH, with uncertain progression to HCC.

To address these limitations, we established a novel NASH-HCC mouse model with high reproducibility, generality, and convenience. We treated male C57BL/6J mice with a newly developed choline-deficient and methionine-restricted high-fat diet (CDMRHFD), named the OYC-NASH2 diet, for 60 weeks.

「ZHENG QIANQIAN」 obtained the following conclusions.

1. After 3 weeks of OYC-NASH2 diet treatment, mice exhibited marked steatosis, lobular inflammation, and fibrosis, and were histologically diagnosed with NASH.
2. All mice developed liver cirrhosis following 48 weeks of treatment, with hepatocellular carcinoma (HCC) appearing after 36 weeks.
3. Liver nodules began to emerge at 12 weeks, and liver tumors larger than 2 mm in diameter developed in all mice after 24 weeks of treatment.
4. In the OYC-NASH2 diet-fed mice, the progression from NASH to liver cirrhosis and HCC closely mimicked the clinical course in immune cell infiltration and related gene expression changes in human NASH patients.

The OYC-NASH2 model was similar to the natural course of human NASH-HCC with very high reproducibility, generality, and convenience. The OYC-NASH2 model is expected to promote the development of new NASH-HCC-targeted therapies or prevention strategies.

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。

Addition of a buccinator musculomucosal flap improves surgical outcomes of conventional two-flap palatoplasty : A comparative study (two-flap palatoplasty 法に頬筋粘膜弁を併用すると術後成績が改善する : 比較研究)

矢口 貴一郎

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 初回口蓋裂形成術の目的は、適正な鼻咽腔閉鎖機能を再建し正常構音を獲得すること、上顎の成長抑制を最小限にすること、術後の瘻孔発生を予

防することである。この目的を達成すべく多くの術式が報告されている。Bardachによって報告された two-flap palatoplasty (TFP) は、正常構音を獲得可能であること、他の術式と比べて術後瘻孔発生率が低いこ

と、裂幅の広い口蓋裂にも適応可能であることを特徴としている。そのため、TFP は世界中で広く用いられている術式である。しかし、TFP 術後に適正な鼻咽腔閉鎖を獲得できず言語に対する追加手術が必要になる場合や瘻孔を生じる場合があり、TFP の改良が求められている。Fakhim ら、Morrison らは、TFP に追加で軟口蓋を延長した術式を報告している。しかし、いずれの報告も術後成績についての詳細は記載されていない。我々は、TFP の術後成績を改善するために、TFP に加え軟口蓋鼻腔側粘膜に頬筋粘膜弁(BMMF)を挿入する手技を行う術式(本法)を採用している。そこで、TFP と本法の術後成績を比較し、TFP に BMMF を軟口蓋鼻腔側粘膜に挿入し軟口蓋を延長することが有用な方法かを検討した。

【本法の術式と方法】本法の詳細な内容は以下の通りである。従来の TFP と同様に、口腔側の粘骨膜弁を挙上する。鼻腔側粘膜を縫合し、軟口蓋筋肉索(muscle sling)を再建後、軟口蓋鼻腔側粘膜に横切開を加える。切開により生じた粘膜欠損部に、左頬より挙上した BMMF を挿入する。そして、口腔側粘骨膜弁を縫合する。本法は、頬筋粘膜弁の代わりに BMMF を用いている点で Morrison の術式とは異なる。調査期間は、2012年1月から2020年3月で、長野県立こども病院とその関連施設にて、両側あるいは片側唇顎口蓋裂、口蓋裂単独症例に対して、TFP を行った群(非 BMMF 群)と、本法を行った群(BMMF 群)とに分けた。それぞれの症例に対して、手術記録、診療録、術中写真を用いて後ろ向きコホートに調査した。主要アウトカム評価項目は言語聴覚士による聴覚印象検査(開鼻声(4段階評価:なし,軽度,中等度,重度),鼻漏出(3段階評価:なし,2cm以下,2cmより大きい),鼻咽腔閉鎖機能(開鼻声,鼻漏出より判定した4段階評価:良好,ごく軽度不全,軽度不全,不全),明瞭度(5段階評価:分かる,ときどき分からない,話題を知っていれば分かる,時々分かる,分からない)),言語に対する追加手術実施率(AS),3か月以内に閉鎖した一時的に生じた瘻孔を含む,全ての口蓋瘻孔の発生率(IF),IFから3か月以内に自然に閉鎖した瘻孔を除いた瘻孔発生率(OF)とした。統計学的解析はEZRを用いて,手術時体重,口蓋裂幅は対応のない2標本によるt検定,聴覚印象はMann-WhitneyのU検定,AS,IF,OFはFisherの正確確率検定で検討を行った。いずれの比較でもp値が0.05未満を統計学的有意差ありと判定した。

【結果】対象症例92例のうち,BMMF群70例,非BMMF群22例であった。BMMF群と非BMMF群では,開鼻声が「なし,軽度」であった割合はそれぞれ91.4%と77.2%,鼻漏出が「なし」であった割合は71.4%と63.6%,鼻咽腔閉鎖機能が「良好,ごく軽度不全」であった割合は83.7%と77.4%,明瞭度が「分かる,ときどき分からない」であった割合は93.7%と86.4%,ASは1.4%と13.6%,IFは7.1%と36.4%,OFは1.4%と9.1%であった。BMMF群では,非BMMF群に比べてAS($p=0.0412$)とIF($p=0.00195$)において有意な改善が認められた。

【結論】従来のTFP法に加えて軟口蓋鼻側粘膜にBMMFを挿入する手技を実施することで,術後成績のうちAS,OFが有意に改善することが明らかになった。本法は初回口蓋裂形成術における有用な術式の一つであると考えられた。

(論文審査の結果の要旨)

初回口蓋裂形成術においてTwo-flap palatoplasty法(TFP)は有用な方法であるが,軟口蓋の延長が不足している点に改良の余地がある。我々は,TFPの術後成績を改善するために,TFPに加えて軟口蓋鼻腔側粘膜に頬筋粘膜弁(BMMF)を挿入する手技を行う術式(本法)を採用している。TFPと本法の術後成績を比較し,TFPにBMMFを軟口蓋鼻腔側粘膜に挿入し軟口蓋を延長することが有用な方法なのかを検討した。

2012年1月から2020年3月で,長野県立こども病院とその関連施設にて口蓋裂形成術を行った患児92例について,TFPを行った群(非BMMF群)22例と,本法を行った群(BMMF群)70例とに分けた。主要アウトカム評価項目は言語聴覚士による聴覚印象検査(開鼻声(4段階評価:なし,軽度,中等度,重度),鼻漏出(3段階評価:なし,2cm以下,2cmより大きい),鼻咽腔閉鎖機能(開鼻声,鼻漏出より判定した4段階評価:良好,ごく軽度不全,軽度不全,不全),明瞭度(5段階評価:分かる,ときどき分からない,話題を知っていれば分かる,時々分かる,分からない)),言語に対する追加手術実施率(AS),3か月以内に閉鎖した一時的に生じた瘻孔を含む,全ての口蓋瘻孔の発生率(IF),IFから3か月以内に自然に閉鎖した瘻孔を除いた瘻孔発生率(OF)とした。

その結果,以下の結論を得た。

1. BMMF群の言語に対する追加手術実施率は非BMMF群と比較して,有意に低下した。

2. BMMF 群の術後の生じた全ての口蓋瘻孔から 3 か月以内に自然に閉鎖した瘻孔を除いた瘻孔発生率は非 BMMF 群と比較して有意に低下した。得られた結果より、従来の TFP 法に加えて軟口蓋

鼻側粘膜に BMMF を挿入する手技を実施する方法は、TFP に追加する有用な方法であることを示唆している。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。

Cause, severity, and efficacy of treatment for hearing loss in children with trisomy 18: a single institution-based retrospective study (18トリソミー児の難聴の原因と治療効果についての検討)

佐藤 梨里子

(論文の内容の要旨)

【はじめに】18トリソミー（症候群）は、18番染色体が重複することによって起こる染色体異常症候群である。本疾患の合併症は、心疾患、呼吸器系・消化器系・泌尿器系・筋骨格系障害、悪性腫瘍など多岐にわたり、耳鼻咽喉科領域では耳介奇形や難聴が認められる。生存期間が短く、精神運動発達遅滞が重篤であるため、以前は多くの施設で小児集中治療が控えられていたが、近年18トリソミーへの集中的な治療介入が実施されるようになり生存率が伸びている。結果として、難聴に対する評価や治療に目が向けられるようになったが、原因や治療については症例数が少なく、報告は限られていた。今回18トリソミーを有する患者22人の聴覚評価、および補聴器による治療の有効性を実施したので報告した。

【対象と方法】対象は、2000年1月から2021年4月までに長野県立こども病院を受診した18トリソミーを有する患者で、聴覚定常反応（ASSR）検査を受けた22名（男児9名、女児13名）とした。気導聴力レベルは0.5, 1, 2, 4 kHz の平均値として算出した。気導聴力の閾値が41～70 dBnHL を中等度、71～90 dBnHL を高度、91 dBnHL 以上を重度難聴と定義した。40 dBnHL 以下の軽度難聴は正常聴力との鑑別が困難であるため軽度-正常として難聴の対象からは除外した。骨導聴力は、 ≥ 30 dBnHL を難聴とした。側頭骨 CT は、44 耳（22名の患者）のうち、38耳（19名；男8名、女11名）で実施し、外耳道・中耳・内耳を評価した。治療は補聴器を17名（34耳）で開始した。補聴器機種は、耳かけ型気導補聴器またはバンド型骨導補聴器のいずれかを症例に応じて選択した。補聴器の有効性を評価するため、条件詮索反応聴力検査（COR）により、補聴器有りおよび補聴器無しの聴力閾値を測定した。統計分析は、t 検定を用いて比較し、 $P < 0.05$ を統計的に有意とした。

【結果】22名44耳のうち、20名（91 %）に両側中等度から高度難聴がみられた。難聴の程度は、重度14耳（32 %）、高度14耳（32 %）、中等度14耳（32 %）、軽度-正常2耳（4 %）であった。難聴の種類は、骨導聴力評価が施行できなかった1名を除外した21名42耳のうち、12耳（29 %）が伝音難聴、3耳（7 %）が感音難聴、26耳（62 %）が混合性難聴であった。CT では、16耳（42 %）に小耳症、9耳（24 %）に小耳症と外耳道閉鎖の両方が認められた。また、12耳（32 %）に先天性外耳道閉鎖、24耳（63 %）に先天性外耳道狭窄が認められた。中耳の評価では、38耳のうち36耳（95 %）に中耳の異常がみられ、滲出液貯留は18耳（47 %）で観察された。ツチ骨、キヌタ骨、アブミ骨の奇形の頻度は、それぞれ25耳（66 %）、22耳（58 %）、13耳（34 %）であった。さらに、10耳（26 %）にツチ-キヌタ関節異常、16耳（42 %）にキヌタ-アブミ関節異常が認められた。内耳奇形は6耳（16 %）にみられ、蝸牛低形成Ⅲ型が2耳、残りの4耳には蝸牛神経管狭窄が認められた。CT 検査より34耳（89 %）が外耳道と中耳の奇形を有しており、難聴原因頻度が高い結果であった。治療については、22名のうち17名が補聴器を使用し、9名が骨導補聴器、8名が気導補聴器を使用した。装用耳では、非装用耳（57.5から105 dB HL [平均：80.9]）と比較して、統計的に良好な聴力閾値（35から73.8 dB HL [平均：55.6]）が観察された。

【考察】本研究の結果から、18トリソミーを有する患者のほとんどが中等度から重度難聴を合併しており、難聴が18トリソミーの重要な症状の1つであることを示した。側頭骨 CT では、89 %の患者に外耳奇形と中耳奇形が認められ、ほとんどの患者が伝音または混合性難聴であったことと一致していた。さらに難聴の原因は外耳道の奇形・滲出性中耳炎や耳小骨の異常が主な原因であることを明らかにした。治療は、患者の

年齢と全身状態を考慮すると補聴器装用が第一選択となるが、本研究では、骨導補聴器と気導補聴器の使用は約半数ずつであり、いずれも補聴器装用により閾値の改善が見られた。18トリソミーを有する患者は著しい認知発達の遅れを伴うが、ゆっくと着実に発達を続け、他者との交流を続けていく。したがって、耳鼻咽喉科医として18トリソミーを有する患者に対し積極的に ASSR や CT を含む包括的な聴覚評価を実施し、補聴器装用による治療を提案すべきと考えられる。

【結論】18トリソミーを有する患者の難聴について検討した最も大規模かつ最も詳細で包括的な調査である。18トリソミーを有する患者において難聴は頻度が高く、中等度以上となることが多い。補聴器による介入は有効であり、発達支援の観点から積極的に行うべきであると考えられた。

(論文審査の結果の要旨)

18トリソミー（症候群）の耳鼻咽喉科領域の合併症は耳介奇形や難聴が報告されてきたが、これまで生存期間が短く精神運動発達遅滞が重篤であるため、難聴の原因や介入の有用性は不明であった。今回18トリソミーを有する患者22名の聴力、難聴の原因、補聴器による治療効果についての研究を行った。対象は聴覚定常反応（ASSR）検査を受けた22名（男児9名、女児13名）である。気導聴力は0.5, 1, 2, 4 kHzの平均値として算出した。気導聴力の閾値が41～70 dBnHLを中等度、71～90 dBnHLを高度、91 dBnHL以上を重度難聴と定義した。骨導聴力は、 ≥ 30 dBnHLを難聴とした。側頭骨CTは、外耳道・中耳・内耳を評価した。治療は補聴器装用を行い、その有効性を評価するため、条詮索反応聴力検査（COR）により補聴器有り・無しの聴力閾値を測定した。

その結果、佐藤らは次の結論を得た。

1. 20名（91 %）に両側中等度から高度難聴がみら

れた。聴力程度は、重度が14耳（32 %）、高度が14耳（32 %）、中等度が14耳（32 %）、軽度正常が2耳（4 %）であった。

2. 難聴の種類は、12耳（29 %）が伝音難聴、3耳（7 %）が感音難聴、26耳（62 %）が混合性難聴であった。
3. CT結果は、耳介・外耳では16耳（42 %）に小耳症、9耳（24 %）に小耳症と外耳道閉鎖の両方が認められた。また12耳（32 %）に先天性外耳道閉鎖、24耳（63 %）に先天性外耳道狭窄が認められた。
4. 中耳では36耳（95 %）に異常がみられ、18耳（47 %）に中耳滲出液が観察された。ツチ骨奇形が25耳（66 %）、キヌタ骨奇形が22耳（58 %）、アブミ骨奇形は13耳（34 %）であった。さらに10耳（26 %）にツチ-キヌタ関節異常、16耳（42 %）にキヌタ-アブミ関節異常が認められた。
5. 内耳では6耳（16 %）に異常が認められた。
6. 34耳（89 %）が外耳道と中耳の奇形を有していた。
7. 補聴器による介入の有効性については、全例で装用耳と非装用耳を比較して、良好な聴力閾値が観察された。

本研究の結果から18トリソミー有する患者のほとんどが中等度から重度難聴を合併しており、難聴が18トリソミーの重要な症状の1つであることを示した。側頭骨CTでは89 %の患者に外耳道奇形と中耳奇形が認められ、難聴の原因は外耳道の奇形・滲出性中耳炎や耳小骨の異常が主な原因であることを明らかにした。治療では補聴器装用で閾値の改善が認められ、18トリソミーを有する患児の難聴に補聴器治療は有効であると考えられた。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。

Direct evidence that 4'-O-methylpyridoxine induces hyperactivity and convulsions due to pyridoxal phosphate deficiency in the brain (4'-O-methylpyridoxine がピリドキサルリン酸欠乏による過活動と痙攣を引き起こすことの証明)

佐 渡 智 光

(論文の内容の要旨)

【背景】小児は少量の銀杏摂取で銀杏中毒を発症することが報告されており、5歳未満の小児の摂取を控えるよう注意喚起されている。イチヨウの種子に含まれる4'-O-methylpyridoxine (MPN) は、活性型ビタミ

ンB₆欠乏症を起こし、脳内のγ-アミノ酪酸 (GABA) 濃度が低下、過活動・けいれんを引き起こす。ビタミンB₆の一つ pyridoxal (PL) はPLキナーゼによってリン酸化され、活性型ビタミンB₆ (pyridoxal-5'-phosphate : PLP) となる。PLPはグルタミン酸脱炭

酸酵素 (GAD) の補酵素として、グルタミン酸から GABA 生成に必要なが、MPN は PL キナーゼを阻害し PLP 生成低下を生じさせると考えられている。ラットに MPN を静脈投与し、血中の PLP 濃度が低下したことが報告されているが、MPN 投与後の脳内 MPN 濃度、ビタミン B₆ 濃度、GAD 活性、GABA 濃度の関係についての報告は不足している。

【目的】我々は、銀杏中毒の病態解明のためマウスの髄腔内に MPN を投与し、脳内で活性型ビタミン B₆ 欠乏症と GABA 濃度低下が生じるかを検証した。MPN の腹腔内および経口投与では、髄腔に入る前に MPN の一部がリン酸化されるため、脳内に到達する MPN 量に個体差が生じる可能性がある。そのため、今回の実験では髄腔内投与を選択した。

【方法】4 週齢 ddY マウス (雄) に対してイソフルランを用いて麻酔し、頭位を固定した。右側脳室にマイクロインジェクターを用いて MPN 溶液を 5 μ l (5-80 nmol) 投与した。コントロールマウスに対しては PBS 5 μ l を投与した。投与後、30 分間観察した。30 分間の観察後、またはけいれんが生じた時点で速やかにイソフルラン麻酔下に脳検体を採取し、解析を行った。

【結果】MPN 20 nmol 以上の投与で 12 匹中 9 匹に過活動がみられ、MPN 80 nmol 投与で 5 匹中 2 匹にけいれんがみられた。行動異常の発生確率は、MPN の投与量/体重と相関していた。脳を分析したところ、過活動が生じたマウスでは PLP の低下と GABA/Glu 比の低下が認められた。MPN の投与量/体重は、脳内の PLP ($p < 0.001$) および GABA/Glu 比 ($p = 0.004$) と負の相関を示した。脳内 MPN 濃度は、PLP ($p < 0.001$) および GABA/Glu 比 ($p < 0.001$) と負の相関を示し、MPN 濃度とリン酸化 MPN (4'-O-methylpyridoxine-5'-phosphate: MPNP) との間に正の相関が認められた ($p = 0.01$)。

【結論】MPN 髄腔内投与は脳内の PLP 濃度を低下させ、脳内の GAD 活性低下により過活動・けいれんが生じることが示された。本報告は MPN の髄腔内投与による脳内の活性型ビタミン B₆ 欠乏症を報じた初めての報告である。

(論文審査の結果の要旨)

イチヨウの種子に含まれる 4'-O-methylpyridoxine (MPN) は、過剰摂取により活性型ビタミン B₆ 欠乏症を起こし、脳内の γ -アミノ酪酸 (GABA) 濃度が低下し、過活動・けいれんを引き起こすと考えられているが、MPN 投与時の脳内物質の変化についての報

告はない。ビタミン B₆ の一つ pyridoxal (PL) は PL キナーゼによってリン酸化され、活性型ビタミン B₆ (pyridoxal-5'-phosphate: PLP) となる。PLP はグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD) の補酵素として、グルタミン酸 (Glu) から GABA 生成に必要なが、MPN は PL キナーゼを阻害し PLP 生成低下を生じさせると考えられている。MPN 投与後の脳内物質濃度についての報告は不足している。本研究では、マウスの髄腔内に MPN を投与し、脳内物質を測定した。

4 週齢 ddY マウス (雄) 23 匹に対してイソフルランにて麻酔し、頭位を固定。右側脳室に MPN 溶液を 5 μ l (MPN 投与量: 5-80 nmol) 投与した。コントロールマウスに対してはリン酸緩衝生理食塩水 5 μ l を投与した。MPN 溶液または PBS 投与後のマウスに対しては 30 分間の観察を行った。30 分間の観察後、またはけいれんが生じた時点で速やかに脳検体を採取し、脳内物質の解析を行った。

その結果、佐渡は次の結論を得た。

1. MPN 20 nmol 以上を投与したマウスで過活動が、40 nmol 以上を投与したマウスでけいれんがみられた。
2. MPN 投与量/体重比を比較した際、けいれんを起こした群では、異常行動がみられなかった群、過活動を起こした群と比較していずれも有意に高値であった。
3. 過活動が生じたマウスの脳内物質ではコントロールマウスと比較して、PLP 濃度、PLP+PL 濃度、GABA/Glu 比の低下がみられた。
4. 脳内物質の解析で、MPN 濃度と GABA/Glu 比、PLP 濃度の間に負の相関がみられた。
5. 脳内物質の解析で、MPN 濃度と 4'-O-methylpyridoxine-5'-phosphate (MPNP) 濃度の間に正の相関がみられた。
6. 脳内物質の解析で、PLP 濃度と GABA/Glu 比の間に正の相関がみられた。
7. 脳内物質の解析で、PLP/PL 比と GABA 濃度の間に正の相関がみられた。

本研究の結果より、成人と同量の銀杏を摂取しても、小児患者においては MPN 量/体重比が上昇しやすいことが、小児における銀杏中毒が生じやすい要因の一つと考えられた。MPN 髄腔内投与は脳内の PLP 濃度を低下させ、脳内の GAD 活性低下により GABA/Glu 比が低下し、過活動・けいれんが生じることが示された。また、MPN が脳内で MPNP にリン酸化されて

いることを発見した。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。

Immunopathological features of myopathy associated with small-to-medium-sized vessel vasculitis and differences from autoimmune myositis (中・小型血管炎に伴うミオパチーの免疫病理学的特徴と炎症性筋炎との違い)

野 村 俊

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 全身性血管炎では筋痛が初発の臨床症状になり得る。中・小型血管炎に分類される顕微鏡的多発血管炎 (MPA) や多発血管炎性肉芽腫症 (GPA) を含む ANCA 関連血管炎および結節性多発動脈炎 (PAN) は, pauci-immune 型 (補体成分や免疫グロブリンなどの免疫複合体沈着を認めないもしくは乏しい) でフィブリノイド壊死性血管炎を特徴とする。筋生検でフィブリノイド壊死性血管炎を証明することは中・小型血管炎の診断に有用であるが, その免疫病理学的な特徴は未だ明らかになっていない。本研究は筋症状を呈した中・小型血管炎患者の筋組織について免疫病理学的解析を行い, その特徴と炎症性筋炎との違いを明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】 2014年4月から2022年6月の期間に当科で筋生検を行った血管炎患者15名および研究対照群として炎症性筋炎患者15名の凍結筋組織標本を用いて研究を行った。血管炎の分類は Chapel Hill Consensus Conference 2012改定血管炎分類, European Medicines Agency アルゴリズムおよび American College of Rheumatology/European Alliance of Associations for Rheumatology 2022分類基準を用いた。電子カルテを用いて筋生検直前の臨床情報 (MMT-8, 白血球数, 血清クレアチンキナーゼ, アルドラーゼおよび CRP 値, eGFR, ANCA, BVAS: Birmingham Vasculitis Activity Score) を抽出した。筋組織の評価は 5 μ m の凍結切片を作成し, ヘマトキシリン・エオジン染色と, 抗 CD56抗体/NCAM, 抗 MHC-Class I 抗体, 抗 C5b-9抗体/MAC および抗 CD31抗体を一次抗体として DAB 法で免疫組織染色を行った。異なる10箇所の強拡大視野で, CD56/NCAM および MHC-Class I の発現を認める筋線維の総数, C5b-9/MAC が沈着する筋鞘と血管の総数, CD31陽性血管の総数を計測した。総筋線維に対する発現筋線維比率の算出とともに血管内皮の表面マーカーである CD31陽性血管の総数を vascularity スコアと定義した。また, CD56/NCAM 発現筋線維の比率と臨床情報の相関について調査した。

マンホイットニーU検定, フィッシャー正確検定およびスピアマンの順位相関係数を用いて解析した。

【結果】 血管炎患者15名は, 9名が MPA, 3名が GPA, 2名が PAN, 1名が分類不能に分類された。12名で MPO-ANCA が陽性, BVAS は中央値8.0であった。筋組織の解析では, 12名で壊死性血管炎の所見を認め, 3名は非壊死性血管炎の所見であった。血管炎患者は対照群に比して, CD56/NCAM 発現筋線維の比率が有意に低値であった (中央値1.2 % vs. 19.8 % ; $p=0.008$) が, 筋束周囲の CD56/NCAM 発現筋線維の比率は有意な差がなかった (中央値45.8 % vs. 42.3 % ; $p=0.281$)。臨床情報との関連については, 血管炎患者で CD56/NCAM 発現筋線維の比率と血清アルドラーゼ値が正の相関を示し ($p=0.007$), 筋力低下を呈した血管炎患者5名では筋束周囲の CD56/NCAM 発現筋線維の比率が筋力正常患者10名に比して有意に高値であった (中央値64.7 % vs. 43.4 % ; $p=0.043$)。血管炎患者は対照群に比して, MHC-Class I 発現筋線維の比率が有意に低値であり (中央値2.76 % vs. 23.9 % ; $p=0.003$), C5b-9/MAC が沈着した筋鞘の比率も有意に低値であった (中央値0 % vs. 0.20 % ; $p=0.002$)。

C5b-9/MAC の筋内膜内の血管沈着は, 血管炎患者11名 (73 %) で認め, 対照群14名 (93 %) と有意な差はなかった ($p=0.165$)。C5b-9/MAC の筋周膜領域の血管沈着についても, 血管炎患者12名 (80 %) で認め, 対照群13名 (87 %) と有意な差はなかった ($p=0.999$)。vascularity スコアは, 筋内膜内では血管炎患者は対照群に比して有意に高かった ($p=0.0004$) が, 筋周膜領域では有意な差はなかった ($p=1.000$)。

【結論】 中・小型血管炎の骨格筋障害における免疫病理学的特徴は, C5b-9/MAC の血管壁沈着と筋内膜内における血管の増生であることが示唆された。炎症性筋炎と比較では, 中・小型血管炎の骨格筋障害において, 筋のターンオーバーを反映する CD56/NCAM 発現筋線維の比率が有意に低く筋線維の障害が軽度であること, 筋鞘への C5b-9/MAC 沈着が有意に少ないことおよび筋内膜内の血管増生が有意に亢進している

ことが示された。

(論文審査の結果の要旨)

全身性血管炎では筋痛が初発の臨床症状になり得る。中・小型血管炎に分類される ANCA 関連血管炎および結節性多発動脈炎は、pauci-immune 型のフィブリノイド壊死性血管炎を特徴とする。筋生検で壊死性血管炎を証明することは中・小型血管炎の診断に有用であるが、その免疫病理学的な特徴は未だ明らかになっていない。本研究は筋症状を呈した中・小型血管炎患者の筋組織について免疫病理学的解析を行い、その特徴と炎症性筋炎との違いを明らかにすることを目的とした。

2014年4月から2022年6月の期間に当科で筋生検を行った血管炎患者15名および対照群として炎症性筋炎患者15名の凍結筋組織標本を用いて研究を行った。ヘマトキシリン・エオジン染色と、抗 CD56抗体/NCAM, 抗 MHC-Class I 抗体, 抗 C5b-9抗体/MAC および抗 CD31抗体を一次抗体として免疫組織染色を行った。異なる10箇所の高倍視野で、筋のターンオーバーを反映する CD56/NCAM および MHC-Class I が発現した筋線維の総数, C5b-9/MAC が沈着した筋鞘と血管の総数, CD31陽性血管の総数を計測した。総筋線維に対す

る発現筋線維比率を算出し、血管内皮の表面マーカーである CD31陽性血管の総数を vascularity スコアと定義した。

その結果、野村は次の結果を確認し結論を得た。

1. 血管炎患者は対照群に比して、CD56/NCAM 発現筋線維の比率が有意に低値であった。
2. 血管炎患者は対照群に比して、C5b-9/MAC の沈着した筋鞘の比率が有意に低値であった。
3. C5b-9/MAC の筋内膜内の血管沈着は血管炎患者 11名 (73 %), 筋周膜領域の血管沈着は12名 (80 %) で認め、どちらも対照群と有意な差はなかった。
4. Vascularity スコアは、筋内膜内では血管炎患者は対照群に比して有意に高かったが、筋周膜領域では有意な差はなかった。

これらの結果と従来の疾患背景を踏まえ、中・小型血管炎の骨格筋障害における免疫病理学的特徴は、C5b-9/MAC の血管壁沈着と筋内膜内における血管の増生であることが示唆された。また、炎症性筋炎患者に比して血管炎患者では、筋線維の障害および筋鞘への C5b-9/MAC 沈着は軽度であり、筋内膜内では有意な血管の増生が示された。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。

Reductions of parvalbumin positive interneurons and adult hippocampal neurogenesis were observed in the genetically mimicked mouse models for *IQSEC2*-related disorders (遺伝子改変により作成した *IQSEC2*関連疾患のモデルマウスではパルブミン陽性介在ニューロンと成熟海馬ニューロン新生の低下がみられる)

ZHOU MENGYUN

(論文の内容の要旨)

【Background】*IQSEC2*-related disorders are a genetic syndrome characterized by intellectual disability and various neurodevelopmental disorders. We previously generated *Iqsec2* knockout mice and conducted electrophysiological and behavioral assays to study their phenotypic manifestations. However, histological features observed in other mouse models of neurodevelopmental disorders have never been examined. We focused on the adult neurogenesis and interneuropathy as features of neurodevelopmental disorders and investigated them with the *Iqsec2* knockout mouse.

【Methods】Four-month-old *Iqsec2* knockout male mice were injected with bromodeoxyuridine (BrdU)

to label newly born hippocampal neurons. We estimated the number of the adult-born neurons in the hippocampus by immunohistochemistry with antibodies against BrdU and NeuN, a neuronal marker. We also quantified parvalbumin-positive neurons, a dominant subtype of GABAergic interneurons by immunohistochemistry.

【Results】We observed that the number of parvalbumin interneurons decreased in the medial prefrontal cortex and the dentate gyrus of the ventral part of the hippocampus. The number of the BrdU positive neurons in the dentate gyrus of the hippocampus decreased in *Iqsec2* knockout mice. The reduction of BrdU positive neurons was observed both in the dorsal and ventral parts of the hippocampus.

【Conclusion】 A decrease in parvalbumin-positive neurons, occurred in the medial prefrontal cortex and the hippocampus, which indicates that a mechanism of *IQSEC2*-related disorders may involve a deficit of interneurons. Considering that adult neurogenesis seems important for cognitive brain functions, a reduction of adult-born neurons in the hippocampus may be related to some of the phenotypes of *IQSEC2*-related disorders, such as intellectual disability.

(論文審査の結果の要旨)

The study focused on investigating the histological changes in parvalbumin-positive interneurons and adult-born neurons in *Iqsec2* knockout mice, offering significant insights into the molecular mechanisms underlying *IQSEC2*-related neurodevelopmental disorders. By utilizing a knockout mouse model, the research specifically targeted two crucial aspects of brain function: the population of parvalbumin-positive

interneurons, which play a pivotal role in maintaining the delicate balance between excitation and inhibition in neural circuits, and the process of adult neurogenesis in the hippocampus, a key region for learning, memory, and emotional regulation.

Through detailed immunohistochemical analysis, the study revealed a significant reduction in both parvalbumin-positive interneurons and adult-born neurons in the *Iqsec2* knockout mice. These findings not only corroborate previous reports of synaptic dysfunction in *IQSEC2*-related disorders but also provide novel insights into how the loss of these critical cell populations may contribute to the broader cognitive and behavioral impairments associated with pathogenic variants in *IQSEC2*.

The committee chair and vice chair s evaluated that the thesis deserved a doctoral dissertation.

Development of phosphate-treated PEEK implants with high osseointegration (高いオッセointegration能力を有するリン酸処理 PEEK の開発)

白 田 悠

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 半結晶性の熱可塑性ポリマーであるポリエーテルエーテルケトン (PEEK) は、整形外科や歯科のインプラント、特に脊椎インプラントの材料として注目され始めている。PEEK は、生体適合性、化学的安定性を有し、放射線透過性、非磁性であるため CT や MRI でアーチファクトが発生せず、金属アレルギーの心配もない。また、PEEK のヤング率はヒトの皮質骨に近い、インプラント周囲の応力遮蔽を防ぐことができる。しかし、整形外科用インプラントによく使用されるチタンと比較すると、PEEK は生物学的に不活性であり、オッセointegration能力が低い、臨床応用が制限されている。近年、PEEK の生物学的活性を向上させるために様々な方法が開発されている。我々は、強塩基性液とリン含有化合物を用いたアルカリウエットプロセスを用いた新規の化学的表面処理法を開発した。本研究では、本表面処理によりリン酸処理 PEEK (PO₄-PEEK) を作製し、その有効性を表面分析と MC3T3-E1 およびウサギを用いた in vitro および in vivo にて評価した。【材料と方法】 PO₄-PEEK は、5 mol/L 水酸化ナトリ

ウム水溶液に24時間、オキシ塩化リンに30分、1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液に30分、1 mol/L 塩化カルシウム水溶液に30分浸漬することにより作製した。走査型電子顕微鏡とエネルギー分散型X線分光法を用いて PO₄-PEEK の表面形状の評価と元素分析を行い、X線光電子分光法と飛行時間型二次イオン質量分析法を用いて化学状態を評価した。表面親水性は、自動接触角計を用いて測定した。In vitro 試験にはマウス骨芽細胞株 MC3T3-E1を用いた。PEEK 上と PO₄-PEEK 上での MC3T3-E1の細胞接着を共焦点レーザー走査型顕微鏡により評価した。細胞増殖・分化をアラマブルーアッセイ、定量的リアルタイム PCR、石灰化染色により評価した。In vivo 試験には日本白色ウサギを用いた。ウサギの大腿骨顆部に PEEK 製と PO₄-PEEK 製のロッドを埋入し、術後4週、8週、12週に大腿骨を摘出した。機械試験機を用いた押し出し試験により最大押し出し力の計測を行なった。統計分析ではそれぞれのデータの平均値と標準誤差を算出した。細胞増殖、定量的リアルタイム PCR、およびウサギの押し出し試験では、二元配置分散分析により、試験群間および時間間の統計的有意性を評価した。接

触角では仮説検定に一元配置分散分析を行った後、Tukey-Kramer 検定で評価した。その他の試験では正規性と等分散を確認した後、対応のない片側 t 検定により評価した。P<0.05を統計的に有意とみなした。**【結果】**走査型電子顕微鏡，エネルギー分散型 X 線分光法，X 線光電子分光法，飛行時間型二次イオン質量分析法により，PO₄-PEEK 表面にリン酸基が導入されていることを確認し，また PEEK と同様の表面形状・化学状態を維持していること示した。PO₄-PEEK の接触角は PEEK と比較し低値であり，リン酸処理による親水性の向上を示した。In vitro 試験では，PO₄-PEEK 表面上の MC3T3-E1 は PEEK 上と比べ様々な方向へ伸展している様子が確認され，また PO₄-PEEK 上では PEEK 上と比較し良好な細胞接着，細胞増殖を認めた。定量的リアルタイム PCR では石灰化と強い相関がある Bglap と Ibsp の発現は両サンプル同様に増加し，石灰化染色ではリン酸処理 PEEK 上では PEEK 上と比較し有意な骨様結節の面積の増加を認めた。ウサギを用いた In vivo 試験では，PO₄-PEEK 製は PEEK 製と比較し有意な押し出し力の増加を認めた。

【考察】PEEK の生物学的活性を向上させるために様々な方法があるが，PEEK の機械的特性や表面形状に影響を与える可能性があること，特殊な装置が必要であることなど，いくつかの欠点がある。我々の方法は，強塩基性液とリン含有化合物による化学的表面処理であり，機械的特性への影響はほとんどないと考えられる。また，走査型電子顕微鏡や飛行時間型二次イオン質量分析法の結果から，本表面処理法は PEEK の表面形状への影響は少なく，有害分解生成物も少ないことが示された。さらに，我々の方法は特殊な装置を必要とせず，費用対効果に優れ，かつ安全に行うことができる。生物学的活性については，PO₄-PEEK は PEEK と比較し，細胞接着・細胞増殖において良好な環境を提供していることが示された。また，石灰化染色やウサギの押し出し試験の結果から，本表面処理は周囲の骨形成を促進させることでオッセオインテグレーションを向上させることが明らかとなった。その理由として，本表面処理による PEEK の親水性の向上や，リン酸基による骨芽細胞の分化促進，石灰化に必須なリンおよびカルシウムの供給などが考えられる。

【結論】我々は，従来報告されている方法の欠点を持たない，アルカリウエットプロセスを用いた化学的表面処理法を開発した。本表面処理法で作製された PO₄-

PEEK は，in vitro および in vivo の両方で，著しく改善された生物学的活性・オッセオインテグレーション能力を示した。本表面処理法は，特別な装置を必要とせず，低コストで実施できるため，工業的な拡張可能性を有し，脊椎ケージを含め様々な整形外科インプラントへの応用が可能である。

(論文審査の結果の要旨)

半結晶性の熱可塑性ポリマーであるポリエーテルエーテルケトン (PEEK) は，整形外科や歯科のインプラント，特に脊椎インプラントの材料として注目され始めている。PEEK は，生体適合性，化学的安定性を有し，放射線透過性，非磁性であるため CT や MRI でアーチファクトが発生せず，金属アレルギーの心配もない。また，PEEK のヤング率はヒトの皮質骨に近いので，インプラント周囲の応力遮蔽を防ぐことができる。しかし，整形外科用インプラントによく使用されるチタンと比較すると，PEEK は生物学的に不活性であり，オッセオインテグレーション能力が低いので，臨床応用が制限されている。近年，PEEK の生物学的活性を向上させるために様々な方法が開発されている。我々は，強塩基性液とリン含有化合物を用いたアルカリウエットプロセスを用いた新規の化学的表面処理法を開発した。本研究では，本表面処理によりリン酸処理 PEEK (PO₄-PEEK) を作製し，その有効性を表面分析と MC3T3-E1 およびウサギを用いた in vitro および in vivo にて評価した。

その結果は以下と通りである。

1. PO₄-PEEK 表面にリン酸基が導入されていることを確認し，また PEEK と同様の表面形状・化学状態を維持していること示した。
2. 本表面処理による親水性の向上を示した。
3. In vitro 試験にて，PO₄-PEEK は PEEK と比較し良好な細胞接着，細胞増殖と良好な石灰化形成を認めた。
4. In vivo 試験にて，PO₄-PEEK は PEEK と比較し有意に押し出し力が高く，本表面処理によるオッセオインテグレーションの向上を認めた。

これらの結果により，今回新規に開発したアルカリウエットプロセスを用いた化学的表面処理法を用いて作成した PO₄-PEEK は著しく改善された生物学的活性・オッセオインテグレーション能力を示した。その理由として，本表面処理による PEEK の親水性の向上や，リン酸基による骨芽細胞の分化促進，石灰化に必須なリンおよびカルシウムの供給などが考えられる。

本表面処理法は、特別な装置を必要とせず、低コストで実施できるため、工業的な拡張可能性を有し、脊椎ケージを含め様々な整形外科インプラントへの応用が

可能である。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。

Hypertensive disorders of pregnancy increase the incidence of febrile seizures in offspring (母体の妊娠高血圧症候群と3歳までの熱性けいれん発症との関連)

矢 部 愛 美

(論文の内容の要旨)

【目的】熱性けいれん (Febrile seizures ; FS) の発症には、遺伝学的要因のみならず様々な環境要因が関与していると考えられている。妊娠高血圧症候群 (Hypertensive disorders of pregnancy ; HDP) は主要な周産期合併症の一つであり、これまでに子の神経学的予後との関連が報告されているが、FS との関連について検討された研究は少ない。本研究では、子どもの健康と環境に関する全国調査 (エコチル調査) のデータを解析し、母の HDP と3歳までの児の FS 発症との関連を検討した。

【方法】2011年1月から2014年3月の期間にエコチル調査に参加した104,062組の母子のうち、単胎生産児を対象とし、FS および HDP のデータが欠測しているもの、生後1か月までの染色体異常と先天性脳奇形を除外した結果、最終的に77,699組の母子が解析対象となった。HDP は、日本妊娠高血圧学会のガイドラインに基づき、妊娠20週以降に出現し、産後12週までに回復する高血圧 (血圧 140/90 mmHg 以上) で、蛋白尿の有無は問わないものと定義し、産婦人科医師の判断に基づいて記録された。FS の有無については1歳、2歳、3歳時の母親への質問票調査によりデータを収集した。共変量として、出産時の母の年齢、妊娠中の母の喫煙、妊娠中の母の飲酒、葉酸摂取、母の学歴、世帯年収、母のてんかんの既往歴、胎児発育不全、分娩方法、在胎週数、性別、生後5分時点のアプガースコア、新生児黄疸、3歳時の知的障害、3歳時の自閉スペクトラム症、38度以上の発熱回数を含めた。これら共変量のデータは、医療従事者の記録および母親への質問票 (1歳、2歳、2歳半、3歳時) により収集した。

HDP の有無および重症度と FS との関連について、多変量ロジスティック回帰分析を行い検討した。また、早産の影響について考慮するため、在胎週数37週以上と37週未満で層別化した解析も行った。

【結果】3歳時の FS の有病率は、HDP のない群、軽

症群、重症群でそれぞれ8.4 %、10.6 %、10.4 %だった。HDP 軽症群と3歳時の FS とに統計学的に有意な関連を認めた (軽症群 : 調整オッズ比1.26 [95 % CI : 1.05-1.50], $P=0.011$, 重症群 : 調整オッズ比1.28 [95 % CI : 0.98-1.67], $P=0.07$)。P value for trend は0.004であり、HDP の重症度と FS に統計学的に有意な関連を認めた。

週数で層別化した解析では、3歳時の FS の有病率は、正期産児に比べ、37週未満の早産児で有意に高かった (8.4 % vs 10.0 %, $P=0.0016$)。正期産児において、HDP と FS とに有意な関連を認めた (軽症群 : 調整オッズ比1.27 [95 % CI : 1.05-1.53], 重症群 : 調整オッズ比1.27 [95 % CI : 0.90-1.78], P value for trend = 0.008)。在胎37週未満の早産児では同様の関連は認めなかった (軽症群 : 調整オッズ比1.19 [95 % CI : 0.68-2.08], 重症群 : 調整オッズ比1.05 [95 % CI : 0.66-1.68], P value for trend = 0.716)。

【考察】母の HDP と3歳までの FS 発症との間に統計学的に有意な関連を認め、HDP が子の熱性けいれん発症のリスクとなる可能性が示された。FS の発症には、様々な環境要因および社会的な要因の関連が示唆されている。本研究ではそれらを共変量として調整し、多変量解析を行った。早産も FS のリスク因子の一つと報告されているが、今回の解析では早産児において HDP と FS との関連は認めなかった。早産児では HDP の有無に関わらず FS の有病率が高く、早産に関連した合併症など他の要因が FS 発症により関与している可能性を考えた。今回、正期産児で HDP と FS との関連を認めたことから、HDP は早産とは独立した FS のリスク因子であることが示唆された。

HDP は子の神経発達症、てんかん、脳卒中など様々な神経疾患と関連していることが過去に報告されている。このメカニズムは明らかでないが、HDP による胎盤血流低下に伴い酸素および栄養輸送が減少し、酸化ストレスや母体免疫応答を促進し、胎児脳の発生・発達に影響を及ぼす可能性が指摘されている。

FSは脳の成熟とも強く関連しており、FSの病因は髄鞘形成の増加、過剰なニューロンの死滅、およびシナプスの複雑化などのプロセスに関連している可能性がある。また、過去の研究から、HDPに伴う胎盤のコルチゾール値の上昇やグルココルチコイド系に関連する遺伝子発現の変化がFS発症に関与するという仮説も考えられた。

【結論】 正期産児において、母体の妊娠高血圧症候群の有無および重症度と3歳までの熱性けいれんの発症との関連を認めた。妊娠高血圧症候群が胎児の神経学的発達へ与える影響やその要因について更なる研究が求められる。

(論文審査の結果の要旨)

熱性けいれん (Febrile seizures ; FS) の発症には、遺伝学的要因、様々な環境要因が関与していると考えられている。妊娠高血圧症候群 (Hypertensive disorders of pregnancy ; HDP) は主要な周産期合併症の一つで、子の神経学的予後との関連が報告されているが、FSとの関連についての研究は少ない。本研究では、子どもの健康と環境に関する全国調査 (エコチル調査) のデータを解析し、母のHDPと3歳までの子のFS発症との関連を検討した。

2011年1月から2014年3月にエコチル調査に参加した104,062組の母子のうち単胎生産児を対象とし、FSおよびHDPのデータが欠測しているもの、生後1か月までの染色体異常と先天性脳奇形を除外した結果、77,699組の母子が解析対象となった。HDP、FSの有無は、それぞれ医療者と母への質問票調査によりデータを収集した。共変量として、出産時の母の年齢、妊娠中の母の喫煙、妊娠中の母の飲酒、葉酸摂取、母の学歴、世帯年収、母のてんかんの既往歴、胎児発育不全、分娩方法、在胎週数、性別、生後5分時点のApgarスコア、新生児黄疸、3歳時の知的障害、3歳時の自閉スペクトラム症、38度以上の発熱回数が調整し、多変量ロジスティック回帰分析を行った。早産の影響について考慮するため、正期産児と早産児で層別化した解析も行った。その結果、次の結果を得た。

1. HDP 軽症群と3歳までのFSとに統計学的に有意な関連を認めた (軽症群: 調整オッズ比1.26 [95 % CI : 1.05-1.50], $P=0.011$, 重症群: 調整オッズ比1.28 [95 % CI : 0.98-1.67], $P=0.07$)。P value for trend は0.004であり、HDPの重症度とFSに統計学的に有意な関連を認めた。

2. 在胎週数で層別化した解析では、3歳時のFSの有病率は、正期産児に比べ、早産児で有意に高かった (8.4 % vs 10.0 % , $P=0.0016$)。

3. 正期産児において、HDPとFSとに有意な関連を認めた (軽症群: 調整オッズ比1.27 [95 % CI : 1.05-1.53], 重症群: 調整オッズ比1.27 [95 % CI : 0.90-1.78], P value for trend = 0.008)。

4. 在胎37週未満の早産児では同様の関連は認めなかった (軽症群: 調整オッズ比1.19 [95 % CI : 0.68-2.08], 重症群: 調整オッズ比1.05 [95 % CI : 0.66-1.68], P value for trend = 0.716)。

これらの結果により、正期産児において、HDPが3歳までの子の熱性けいれん発症のリスクとなる可能性が示された。早産児では、HDPとFSとの関連を認めなかった。早産児ではHDPの有無に関わらずFSの有病率が高く、早産に関連した合併症など他の要因がFS発症により関与している可能性を考えた。HDPは早産とは独立したFSのリスク因子であ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のあるものと認めた。

Predictability of combining Technetium-99m-galactosyl human serum albumin single-photon emission computed tomography/ computed tomography and indocyanine green clearance test for posthepatectomy liver failure (Tc-99m-galactosyl human serum albumin SPECT/CT とインドシアニングリーンクリアランステストの併用による術後肝不全の予測可能性)

岡 島 幸 紀

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 術後肝不全 (posthepatectomy liver failure : PHLF) は肝切除における重篤な合併症であり、術前の残肝機能の正確な評価が重要である。インドシアニングリーン (indocyanine green : ICG) ク

リアランステストは肝機能評価法として信頼性の高い検査の一つであり、ICG血漿消失率 (ICGK) とCT volumetryでの全肝体積に対する残肝体積の割合を掛け合わせた指標であるICGK-Fは、PHLFの予測指標として有用性が報告されている。しかし、ICGK-Fは

肝機能の不均一性や多様性を正確に反映していないと考えられる。Technetium-99m-galactosyl human serum albumin (^{99m}Tc -GSA) は肝細胞表面に発現するアシアロ糖蛋白受容体に特異的に結合する放射性医薬品で、その集積程度は肝障害の程度や肝細胞数と関連する。近年 single-photon emission computed tomography/computed tomography (SPECT/CT) では Standardized uptake value (SUV) を閾値とした体積指標の有用性が報告されている。この体積指標は集積程度を反映しており、不均一性も反映できると考えられる。また、 ^{99m}Tc -GSA の肝への集積機序は ICG とは異なる。したがって、 ^{99m}Tc -GSA SPECT/CT から計測される体積指標と ICGK の組み合わせは、肝機能の不均一性や多様性を評価でき、ICGK-F と比較してより正確に PHLF を予測できる可能性がある。本研究の目的は、 ^{99m}Tc -GSA SPECT/CT の体積指標と ICGK を組み合わせた指標の PHLF の予測に対する有用性を検討することである。

【方法】2021年7月から2023年6月までに信州大学医学部附属病院にて、亜区域切除以上の肝切除の術前検査として ^{99m}Tc -GSA シンチグラフィが行われた連続50人を対象とした。SPECT/CT で SUV が20以上を示す全肝および残肝の体積を計測し、それぞれ total functional liver volume (t-FLV), remnant functional liver volume (r-FLV) とした。ICGK-F, r-FLV, r-FLV/t-FLV, ICGK $\times$ r-FLV, ICGK $\times$ r-FLV/t-FLV について PHLF 群と非 PHLF 群で比較を行った。また ROC 解析を行い、曲線下面積 (Area under the curve : AUC) を比較して、PHLF の予測能を検討した。さらに、ROC 曲線の左上に最も近い点をカットオフ値とし、ICGK-F, r-FLV, ICGK $\times$ r-FLV についてこのカットオフ値を用いて international normalized ratio of prothrombin time (PT-INR) 増加、高ビリルビン血症の感度、特異度を算出し、それぞれの診断能を検討した。

【結果】PHLF は7人で生じた。ICGK-F, r-FLV, r-FLV/t-FLV, ICGK $\times$ r-FLV, ICGK $\times$ r-FLV/t-FLV いずれも非 PHLF 群と比較して PHLF 群が有意に低値を示した。ICGK $\times$ r-FLV の AUC (0.99 ; 95 %信頼区間 : 0.96-1) は ICGK-F の AUC (0.82 ; 95 %信頼区間 : 0.64-0.96) と比較して有意に大きかった ($p=0.036$)。ICGK-F と r-FLV, r-FLV/t-FLV, ICGK $\times$ r-FLV/t-FLV との比較では AUC の値に有意差は認めなかった。ICGK $\times$ r-FLV は ICGK-F

と比較して PT-INR 増加、高ビリルビン血症のいずれにおいても有意に高い特異度を示した。

【結語】 ^{99m}Tc -GSA SPECT/CT の体積指標と ICGK を組み合わせた指標 (ICGK $\times$ r-FLV) は ICGK-F と比較して PHLF をより正確に予測できる可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

術後肝不全 (posthepatectomy liver failure : PHLF) は肝切除における重篤な合併症であり、術前の残肝機能の正確な評価が重要である。ICGK-F は、PHLF の予測指標としてその有用性が報告されている指標であるが、肝機能の不均一性や多様性を正確に反映していないと考えられる。Technetium-99m-galactosyl human serum albumin (^{99m}Tc -GSA) は肝細胞表面のアシアロ糖蛋白受容体に特異的に結合し、その集積程度は肝障害の程度や肝細胞数と関連する。 ^{99m}Tc -GSA single-photon emission computed tomography/computed tomography (SPECT/CT) の体積指標と ICGK の組み合わせは肝機能の不均一性や多様性を評価でき、ICGK-F と比較してより正確に PHLF を予測できる可能性がある。本研究の目的は、 ^{99m}Tc -GSA SPECT/CT の体積指標と ICGK を組み合わせた指標の PHLF の予測に対する有用性を検討することである。

2021年7月から2023年6月までの期間において信州大学医学部附属病院にて、亜区域切除以上の肝切除の術前検査として ^{99m}Tc -GSA シンチグラフィが行われた連続50人を対象とした。SPECT/CT で Standardized uptake value (SUV) が20以上を示す全肝および残肝の体積を計測し、それぞれ total functional liver volume (t-FLV), remnant functional liver volume (r-FLV) とした。従来法である ICGK-F と r-FLV, r-FLV/t-FLV, ICGK $\times$ r-FLV, ICGK $\times$ r-FLV/t-FLV について PHLF 群と非 PHLF 群で比較を行い、また ROC 解析を行い曲線下面積 (Area under the curve : AUC) を比較して、PHLF の予測能を検討した。さらに、ROC 曲線の左上に最も近い点をカットオフ値とし、ICGK-F, r-FLV, ICGK $\times$ r-FLV についてこのカットオフ値を用いて international normalized ratio of prothrombin time (PT-INR) 増加、高ビリルビン血症の感度、特異度を算出し、それぞれの診断能を検討した。

その結果、岡島は次の結論を得た。

1. ICGK-F, r-FLV, r-FLV/t-FLV, ICGK $\times$ r-FLV, ICGK $\times$ r-FLV/t-FLV いずれも、PHLF 群と非 PHLF

群で有意差を認めた。

2. ICGK×r-FLV は ICGK-F と比較して AUC の値が有意に高い唯一の指標であり、このことから ICGK×r-FLV は PHLF の予測指標として ICGK-F より優れている可能性が示唆された。
3. ICGKxr-FLV は PHLF を規定する PT-INR の増加や高ビリルビン血症のいずれについても、ICGK-F

より高い診断能を示した。

これらの結果により、^{99m}Tc-GSA SPECT/CT の体積指標と ICGK を組み合わせた指標 (ICGK×r-FLV) は ICGK-F と比較して PHLF をより正確に予測でき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。

Increased response of postmenopausal bone to interval walking training depends on baseline bone mineral density (閉経後女性におけるインターバル速歩トレーニングの骨密度向上効果はトレーニング前の初期値に依存する)

RIZKA NUGRAHENI MARTYANTI

(論文の内容の要旨)

【Purpose】 To examine the hypothesis that an increase in response of postmenopausal bone to interval walking training (IWT) depends on baseline bone mineral densities (BMDs).

【Methods】 Two hundred and thirty-four postmenopausal women (64 ± 5 (SD) yr) with no medication for osteoporosis performed 5-month IWT, repeating fast and slow walking at $\geq 70\%$ and $\sim 40\%$ peak aerobic capacity, respectively, for 3 minutes each per set, ≥ 5 sets/day, ≥ 4 days/week. They were recruited from those who had performed IWT ≥ 6 months before participating in the study so that their physical fitness and lifestyle-related disease symptoms had almost reached a steady state at the time of their participation. We measured BMDs for the lumbar spine (LS), bilateral femoral neck (FN), and bilateral total hip (TH) by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) before and after the intervention. We used a multiple regression analysis to identify significant independent factors for increasing BMDs after the intervention as baseline physical characteristics, exercise intensity, and exercise time during IWT were the candidates. For any bone site where the independent factor identified was singular, we analyzed the relationship between the identified factor vs increases in BMD after the intervention (Δ BMD) by the locally weighted scatterplot smoothing (LOWESS) method.

【Results】 Almost all subjects completed the designated protocol with minimal adverse events. We found that significant determinants for increasing BMDs

were the baseline BMDs for all bone sites, as well as age and body mass index for TH (all, $P < 0.02$). Furthermore, the LOWESS trendline between Δ BMDs vs the baseline BMDs, divided equally into 10 bins for LS and FN, respectively, showed that Δ BMD responses (Y) were attenuated as the baseline BMDs (X) increased in the lower 4 bins and then showed a flat line ($Y \sim 0$) in the remaining higher 6 bins for LS and FN. When the lower 4 bins and the higher 6 bins of the baseline BMD were pooled, respectively, BMDs significantly increased by 1.8% and 1.0% in the lower groups for LS and FN, respectively (both, $P < 0.001$) while not in the higher groups after the intervention (both, $P > 0.3$).

【Conclusions】 IWT may be of benefit with minimal adverse events to postmenopausal women, although the effects were greater in those with lower baseline BMDs.

(論文審査の結果の要旨)

Exercise training has been recommended as a non-pharmacological method to prevent osteoporosis. However, studies examining the effects of training on bone mineral density (BMD), while considering baseline characteristics, intensity and volume (time) of the training in large population, are limited.

In this study, 234 postmenopausal women performed 5-month interval walking training (IWT). BMDs of the lumbar spine (LS), bilateral femoral neck (FN), and bilateral total hip (TH) were measured by DXA before and after the training.

In conclusion :

1. The significant independent determinants for increasing BMDs after training were the baseline BMDs for all bone sites, as well as age and BMI for TH.
2. Since the baseline BMD was only the significant determinant for increasing BMDs after training in LS and FN, respectively, the relationship between the baseline BMD and the change in BMD in each bone site was analyzed.
3. When the baseline BMD was divided into 10 bins for LS and FN, respectively, the increase in BMD after training was attenuated as the baseline BMDs increased in the lower 4 bins, then plateaued in the higher 6 bins for LS and FN, respectively.

4. BMDs increased significantly by 1.8 % and 1.0 % in the lower groups for LS and FN, respectively, but not in the higher groups after the intervention.
5. Almost all subjects completed the training with minimal adverse events.

Based on the results, IWT may benefit postmenopausal women with minimal adverse events, although the effects were greater in those with lower baseline BMD.

Therefore, the chief and sub-chief examiners concurred and acknowledged this paper as worthy as a thesis.

Screening of aspiration pneumonia using the modified Mallampati classification tool in older adults (改良された Mallampati 分類ツールを使った高齢者の誤嚥性肺炎のスクリーニング)

LIU JIANPING

(論文の内容の要旨)

【Purpose】 Pneumonia is a major cause of morbidity and mortality in older adults. In the aging society, screening methods for predicting aspiration pneumonia are crucial for its prevention. Changes in the oropharyngeal morphology and hyoid bone position may increase the risk of aspiration pneumonia. This multicenter study aimed to investigate a simple and effective screening method for predicting dysphagia and aspiration pneumonia.

【Materials and methods】 Overall, 191 older adults (aged 65 years or older) were randomly sampled using the simple random sampling technique. Oropharyngeal morphology was assessed using the modified Mallampati classification, which reflects the size of the tongue in the oropharyngeal cavity. The hyoid position was measured as the distance between the menton and laryngeal prominence to evaluate aging-related changes in the muscles of the laryngopharynx. Dysphagia was assessed using the repetitive saliva swallowing test (RSST), which measures the number of swallowing movements in 30 seconds; dysphasia is defined as less than 3 swallowing movements in 30 seconds. The aspiration signs were assessed based on history of choking or coughing reflex during eating or drinking and medical history of pneu-

monia.

【Results】 The modified Mallampati classification was significantly correlated with a medical history of pneumonia. A higher incidence of pneumonia was evident in the lower Mallampati classification, which shows the smaller size of the tongue base in the oropharyngeal cavity.

【Conclusion】 The results of this study suggest that the modified Mallampati classification may be a possible screening method to predict the occurrence of pneumonia.

(論文審査の結果の要旨)

Pneumonia is a major cause of morbidity and mortality in older adults. In the aging society, screening methods for predicting aspiration pneumonia are crucial for its prevention. Changes in the oropharyngeal morphology and hyoid bone position may increase the risk of aspiration pneumonia. This multicenter study aimed to investigate a simple and effective screening method for predicting dysphagia and aspiration pneumonia.

Overall, 191 older adults (aged 65 years or older) were randomly sampled using the simple random sampling technique. Oropharyngeal morphology was assessed using the modified Mallampati classification, which reflects the size of the tongue in the oropha-

ryngeal cavity. The hyoid position was measured as the distance between the menton and laryngeal prominence to evaluate aging-related changes in the muscles of the laryngopharynx. Dysphagia was assessed using the repetitive saliva swallowing test (RSST), which measures the number of swallowing movements in 30 seconds; dysphasia is defined as less than 3 swallowing movements in 30 seconds. The aspiration signs were assessed based on history of choking or coughing reflex during eating or drinking and medical history of pneumonia.

We came to the following conclusion. The modified Mallampati classification was significantly correlated

with a medical history of pneumonia. A higher incidence of pneumonia was evident in the lower Mallampati classification, which shows the smaller size of the tongue base in the oropharyngeal cavity.

The results of this study suggest that the modified Mallampati classification may be a possible screening method to predict the occurrence of pneumonia.

研究内容は、誤嚥性肺炎のスクリーニングに関して、新しく簡便かつ有用な方法を見いだすものであり、研究等も適切に行われていた。

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 Multiple Ballooning on Coronary Lesions as Assessed by Optical Coherence Tomography and Intravascular Ultrasound (血管内超音波と光干渉断層法を用いた複数回バルーン拡張術の冠動脈プラークに対する影響の評価)

神 崎 佑 介

(論文の内容の要旨)

【目的】 de novo 冠動脈病変に対する薬剤塗布バルーン (Drug-coated balloon : DCB) 単独治療の頻度の増加により、バルーンの前拡張による病変前処置 (lesion preparation) の重要性が見直されてきている。現時点において、冠動脈病変に対する複数回のバルーン前拡張の影響を調べた研究は行われていない。本研究は、経皮的冠動脈形成術 (Percutaneous coronary intervention : PCI) を行う慢性冠動脈症候群 (Chronic coronary syndrome : CCS) 患者における冠動脈プラークに対する複数回バルーン拡張の影響を血管内超音波 (Intravascular ultrasound : IVUS) と光干渉断層法 (Optical Coherence Tomography : OCT) を用いて評価することを目的とした。

【方法】 信州大学医学部附属病院において、2021年5月から2022年8月までに PCI を施行した CCS 患者30名 (32病変) を対象とした。ステント留置前の前拡張を同じセミコンプライアントバルーンを用いて同圧で計3回拡張を行った。OCT による病変遠位部の対照血管径：バルーン径が1:1-0.9となるようにバルーン径を決定し、推奨拡張圧もしくはバルーンのくぼみ (indentation) が消失する拡張圧で拡張を行った。それぞれのバルーン拡張後に IVUS, OCT を施行した。主要評価項目は OCT によるバルーン拡張1回後 (1B) と3回後 (3B) の平均内腔面積 (mean lumen area :

LA) の変化とし、主な副次評価項目 OCT による最小内腔面積 (minimum lumen area : MLA), 平均解離角度 (mean dissection angle) の変化, IVUS による平均プラーク面積 (mean plaque burden), 平均血管面積 (mean vessel area) の変化とした。

【結果】 病変背景は、病変長 22.7 ± 7.8 mm, mean LA 5.2 ± 2.4 mm², MLA 1.7 ± 0.8 mm² で、プラークタイプは線維性 (n=22), 脂質性 (n=9), 石灰化 (n=1) であった。バルーン径は平均 2.8 ± 0.5 mm で平均 8.3 ± 2.2 atm で拡張した。主要評価項目である OCT による mean LA は1B-3B 間で有意な増大を認めた (5.9 ± 2.9 mm² vs. 6.0 ± 2.9 mm², difference : 0.2 ± 0.4 mm², P=0.040)。また、OCT による mean dissection angle の増大 ($65.6 \pm 24.9^\circ$ vs. $95.2 \pm 34.0^\circ$, difference : $29.6 \pm 25.5^\circ$, P<0.001) や MLA の増大 (3.1 ± 1.5 mm² vs. 3.6 ± 1.7 mm², difference : 0.5 ± 0.6 mm², P<0.001), IVUS による mean vessel area の増大 (13.9 ± 6.5 mm² vs. 14.3 ± 6.6 mm², difference : 0.4 ± 0.5 mm², P<0.001), mean plaque burden の減少 (8.0 ± 4.2 mm² vs. 7.8 ± 4.1 mm², difference : -0.2 ± 0.2 mm², P<0.001) を認めた。

【考察】 本研究では、複数回のバルーニングが単一バルーン拡張よりも内腔面積が増加させることが確認された (平均内腔面積 : $\Delta 0.2 \pm 0.4$ mm², MLA : $\Delta 0.5 \pm 0.6$ mm²)。内腔面積 (lumen area : LA), 特に MLA

は、ステント関連イベントの最も確立された予測因子とされている。ステント留置後、ステントの絶対的な拡張が大きいほど、長期的なステント開存率、臨床転帰が良好で、ステント不全のリスクが低くなることが分かっている。DCB 治療後の冠動脈内画像検査から得られた LA とイベントに対する予後は十分に調査されていない。しかし、血管造影上の内腔拡大が大きいこと、すなわち残存狭窄が少ないこと（diameter stenosis : $DS \leq 30\%$ ）と臨床転帰が良好であることの間には強い関連性が報告されており、血管造影より正確である冠動脈内画像検査で評価した LA の拡大は、DCB 単独治療後の良好な成績と関連する可能性は高いと考えられる。実際、複数回のバルーン拡張後に全病変の 70 % が、冠動脈内画像検査と一致して血管造影上の最適な内腔拡大（すなわち、 $\%DS \leq 30\%$ ）を達成していた。臨床応用の観点から見ると、複数回のバルーン拡張が日常的な PCI 処置にとって簡便かつ有用な方法であると考えられる。

以上より、CCS 患者において、単回バルーン拡張と比較し 3 回のバルーン拡張により血管内腔面積や解離角度が有意に増大することが示された。

（論文審査の結果の要旨）

de novo 冠動脈病変に対する薬剤塗布バルーン（Drug-coated balloon : DCB）単独治療の頻度の増加により、バルーンの前拡張による病変前処置（lesion preparation）の重要性が見直されてきている。現時点において、冠動脈病変に対する複数回のバルーン前拡張の影響を調べた研究は行われていない。本研究は、経皮的冠動脈形成術（Percutaneous coronary intervention : PCI）を行う慢性冠動脈症候群（Chronic coronary syndrome : CCS）患者における冠動脈プラークに対する複数回バルーン拡張の影響を血管内超音波（Intravascular ultrasound : IVUS）と光干渉断層法（Optical Coherence Tomography : OCT）を用いて評価することを目的とした。

信州大学医学部附属病院において、2021年 5 月から 2022年 8 月までに PCI を施行した CCS 患者 30 名（32 病変）を対象とした。ステント留置前の前拡張を同じセミコンプライアントバルーンを用いて同圧で計 3 回

拡張を行った。OCT による病変遠位部の対照血管径：バルーン径が 1 : 1-0.9 となるようにバルーン径を決定し、推奨拡張圧もしくはバルーンのくぼみ（indentation）が消失する拡張圧で拡張を行った。それぞれのバルーン拡張後に IVUS, OCT を施行した。主要評価項目は OCT によるバルーン拡張 1 回後（1B）と 3 回後（3B）の平均内腔面積（mean lumen area : LA）の変化とし、主な副次評価項目 OCT による最小内腔面積（minimum lumen area : MLA）、平均解離角度（mean dissection angle）の変化、IVUS による平均プラーク面積（mean plaque burden）、平均血管面積（mean vessel area）の変化とした。

その結果、以下のことが示された。

1. OCT による mean LA は 1B-3B 間で有意な増大を認めた。
2. OCT による MLA の増大、mean dissection angle の増大、IVUS による mean vessel area の増大、mean plaque burden の減少を認めた。

LA はステント関連イベントの最も確立された予測因子とされており、LA 拡張が大きいほど、長期的なステント開存率、臨床転帰が良好である。DCB 治療後の血管内イメージング（OCT, IVUS）から得られた LA とイベントに対する関連について十分に調査されていない。DCB 治療では血管造影上の残存狭窄が少ないこと（diameter stenosis : $DS \leq 30\%$ ）と臨床転帰には強い関連性が報告されており、血管造影より正確である冠動脈内イメージングで評価した LA の拡大は、DCB 単独治療後の良好な成績と関連する可能性は高いと考えられる。本研究において複数回バルーン拡張が全病変の 76 % で $DS \leq 30\%$ を達成していた。臨床応用の観点から見ると、複数回のバルーン拡張が日常的な PCI 処置にとって簡便かつ有用な方法であると考えられる。

CCS 患者において、単回バルーン拡張と比較し 3 回のバルーン拡張により血管内腔面積や解離角度が有意に増大することが示された。

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。

An immunohistochemical analysis of osteopontin and S100 calcium-binding protein P is useful for subclassifying large- and small-duct type intrahepatic cholangiocarcinomas
(オステオポンチンと S100カルシウム結合蛋白 P の免疫染色は肝内胆管癌を大型胆管型と小型胆管型に亜分類するのに有用である)

吉 澤 隆 裕

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】肝内胆管癌は新たに Large duct (LD) type と small duct (SD) type に亜分類された。しかし、どちらかのタイプに分類するのが困難な症例が多く存在し、またコンセンサスが得られた分類基準は存在しない。LD type に感度が高いマーカーとして S100 カルシウム結合蛋白 P (S100P) が知られているが、SD type は感度が高いマーカーが存在しないのが現状である。我々はオステオポンチン (OPN) の発現が大腸癌における予後と簇出に関連があることを報告してきた。OPN は肝内胆管癌において最も高発現している遺伝子であると報告されている。OPN の免疫染色を行ったところ、SD type に高感度であることを同定した。目的は、肝内胆管癌を LD type と SD type に亜分類するための分類基準を提唱すること。

【方法】対象は2004年から2022年までに肝内胆管癌にて手術を施行された Mass forming (MF) type, Periductal infiltrative (PI) type, MF+PI type の74例。これらの症例に対して HE, AB—PAS, 免疫染色 (S100P, OPN, NCAM, N-cadherin) を行った。免疫染色のスコアは陽性細胞の割合に応じて決定し、既報 (Hayashi A et al. Am J Surg Pathol. 2016 ; 40 : 1021-1030.) に則り以下のように設定した。スコア 0 : < 1 %, スコア 1 : 1-25 %, スコア 2 : 26-50 %, スコア 3 : 51-75 %, スコア 4 : 76-100 %。また、S100P が OPN より 2 ポイント以上高い場合は LD type, OPN が S100P より 2 ポイント以上高い場合は SD type, どちらにも当てはまらない場合は Indeterminate type に分類した。分類は病理専門医 2 名により行われた。

【結果】74例の肝内胆管癌症例を HE 染色と AB-PAS 染色の結果から、LD type (27例), SD type (27例), ID type (20例) に分類した (①)。続いてこれらの症例を S100P と OPN の免疫染色結果にて 2 群に分類すると、A : S100P 優位型41例, B : OPN 優位型32例, ID : 1 例に分類された (②)。①と②の一致率を検証した。①で LD type と診断された26/27例 (96.3 %) が S100P 優位型, SD type と診断された24/27例 (88.9

%) が OPN 優位型であり、一致率の高さから S100P 優位型は LD type, OPN 優位型は SD type と結論付けた。よって、上記スコア分類で S100P が OPN より 2 ポイント以上高いものを LD type, OPN が S100P より 2 ポイント以上高いものを SD type, どちらにも当てはまらないものを ID type とする亜分類基準を提唱した。

また、検証コホートとして、NCAM と N-cadherin の免疫染色を追加し、既報 (Hayashi A et al. Am J Surg Pathol. 2016 ; 40 : 1021-1030) で提唱された分類基準との一致率を検証した。我々の分類方法で LD type と診断された38/41例 (92.7 %), SD type と診断された30/32例 (93.8 %) が既報の分類方法での亜分類と一致していた。我々の亜分類基準と既報の分類方法との一致率は90 %以上と高い一致率であり、我々の亜分類基準を支持する結果であった。

さらに、免疫染色にて ID type に分類された 1 例について、HE, AB-PAS, S100P, OPN の染色結果を提示し解説した。また、HE 染色と AB-PAS 染色では分類が困難であり、ID type に分類された20例中 6 例の HE, S100P, OPN の染色画像を提示した。Solid pattern, 低分化症例など、HE 染色では LD type と SD type に分類困難な症例も S100P と OPN のみで染め分けによる分類が可能であった。

我々の分類方法における LD type (S100P dominant), SD type (OPN dominant) の臨床病理学的特徴、予後についても比較検討した。LD type は SD type と比較し、手術時間が長く、リンパ節郭清や肝外胆管切除の頻度が高かった。また、LD type は発育形式として PI を伴う頻度が高く、リンパ節転移の頻度も高かった。この結果は報告されている LD type の特徴に一致していた。全生存期間 (OS) において 5 年生存率は LD type 35.0 %, SD type 68.7 % で OS は LD type で有意に不良であった (P=0.007)。無再発生存期間 (RFS) において 5 年無再発生存率は LD type 11.7 %, SD type 58.7 % で RFS も LD type で有意に不良であった (P<0.001)。単変量解析では我々の分類基準は予

後因子となったが、多変量解析では予後因子とはならず、強い予後因子として知られている多発、リンパ節転移陽性、断端陽性が独立予後不良因子として抽出された。

【考察】本研究では、LD type のマーカーとして知られている S100P 陰性の全症例に OPN が発現しており、OPN は SD type に感度が高いマーカーであることを発見した。S100P と OPN の免疫染色を行ったところ、57例において S100P と OPN は相互排他的に発現していた。また、68/74例において免疫染色結果に3ポイント以上の差が見られた。文献を検索すると、scRNA シークエンスにて肝内胆管癌細胞の23.95 %が S100P のみ、60.5 %が OPN のみを発現し、10.1 %がどちらも陰性、5.98 %がどちらも陽性であったとの報告がある (Song G et al. Nat commun. 2022 ; 13 : 1642)。この結果も我々の亜分類基準を支持する報告である。

【結語】S100P と OPN の免疫染色による肝内胆管癌の亜分類基準を提唱した。S100P と OPN、2 種類の抗体のみで肝内胆管癌の亜分類が可能であり、簡便かつ有用と思われた。本亜分類基準を用いて、LD type と SD type を異なった癌種として臨床試験や薬物療法を行うことで予後の改善に寄与することが期待される。

(論文審査の結果の要旨)

2019年発行の WHO 分類第5版にて、肝内胆管癌に Large duct (LD) type と small duct (SD) type という亜分類が追加された。現状は HE 染色とムチン産生の有無で形態学的に分類 (従来基準) しているが、分類困難な症例が多い。またコンセンサスが得られた免疫組織学的分類基準は存在しない。S100P が LD type の高感度マーカーだが、SD type に高感度なマーカーは存在しない。我々はオステオポンチン (OPN) が SD type に高感度であることを発見し、S100P と OPN を用いた亜分類基準 (新規基準) を提唱し、その信憑性を検証した。

対象は2004年から2022年までの肝内胆管癌手術例、74例。HE, AB—PAS, 免疫染色 (S100P, OPN, NCAM, N-cadherin) を施行。免疫染色のスコアは陽性細胞の割合に応じて、既報に則り設定。(スコア

0 : < 1 %, スコア 1 : 1-25 %, スコア 2 : 26-50 %, スコア 3 : 51-75 %, スコア 4 : 76-100 %)。また、S100P が OPN より 2 ポイント以上優位なら、S100P 優位型、その逆は OPN 優位型、それ以外は Indeterminate (ID) 型に分類した。その結果、次の結論を得た。

1. 従来基準にて LD type (27例), SD type (27例), ID type (20例) に分類 (①)。
2. 新規基準にて S100P 優位型41例, OPN 優位型32例, ID 型 1 例に分類 (②)。73/74例 (98.6 %) が S100P もしくは OPN 優位型に分類可能であった。
3. ①と②の一致率を検証。①で LD type と診断された26/27例 (96.3 %) が S100P 優位型, SD type と診断された24/27例 (88.9 %) が OPN 優位型であり、一致率の高さから S100P 優位型は LD type, OPN 優位型は SD type と結論づけた。よって、S100P が OPN より 2 ポイント以上高いものを LD type, OPN が S100P より 2 ポイント以上高いものを SD type, それ以外を ID type とする亜分類基準を提唱した。
4. 既報の分類基準との一致率を検証。新規基準で LD type と診断された38/41例 (92.7 %), SD type と診断された30/32例 (93.8 %) が既報の分類方法での亜分類と一致。90 %以上の高い一致率であり、我々の亜分類基準を支持する結果であった。
5. 臨床病理学的特徴を比較すると LD type では有意にリンパ節転移の頻度が高かった。既報と一致。
6. 我々の新規基準を用いると、LD type と SD type の予後がより明瞭に分かれることを示した。LD type は有意に予後不良で、既報と一致した結果。

S100P と OPN の免疫染色による肝内胆管癌の亜分類基準を提唱した。既報での臨床病理学的特徴や亜分類基準との一致率が高く、我々の分類の信憑性は高いと思われた。S100P と OPN、2 種類のマーカーのみで肝内胆管癌の亜分類が可能であり、簡便かつ有用と思われた。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。

Clinical Profile and Prognosis of Dementia in Patients With Acute Decompensated Heart Failure –From the CURE-HF Registry– (認知症を合併した急性非代償性心不全患者の臨床的特徴と予後 –CURE-HF レジストリより –)

町 田 圭 介

(論文の内容の要旨)

【目的】急性非代償性心不全 (ADHF) は治療法の進歩にもかかわらず、その予後は依然として不良である。併存疾患は高齢心不全患者に多く、予後不良のリスクを高める一因となっている。特に認知症を有する高齢心不全患者は増加しているが、認知症と心不全増悪因子との関連や、これらの患者における非心血管イベントを含む臨床イベントに関するデータは乏しい。本研究では、日本人心不全コホートの ADHF 患者における認知症の有病率を評価し、主要イベントとの関連を明らかにすることを目的とした。

【方法】信州大学医学部附属病院、および長野県内の関連病院の計13施設において、2014年7月から2019年8月までに ADHF の診断で入院した患者のレジストリ (CURE-HF レジストリ) のデータを用いて後ろ向きに解析を行った。認知症の有無は入院時に担当医の問診に基づき決定された。主要アウトカム (全死亡、心血管死亡、非心血管死亡、心不全再入院) について2群間での比較検討を行った。

【結果】患者総数は1,026人 (フォローアップ率: 99 %) で、認知症群は118人 (11.5 %), 非認知症群は908人 (88.5 %) であった。平均年齢は77.8±12.6歳、女性は45.3 %, 追跡期間の中央値は2.7 (1.7-3.6) 年であった。認知症群では非認知症群に比較して高齢で (85.7±5.9歳 vs. 76.7±12.9歳; $P<0.01$), BMI が低く (20.5±4.0 vs. 21.7±4.4; $P<0.01$), 女性が多かった (63.6 % vs. 42.1 %; $P<0.01$)。入院時の心不全増悪因子としては、認知症群で薬剤の自己中断歴 (23.8 % vs. 13.1 %, $P<0.01$) と感染症 (11.0 % vs. 6.1 %, $P<0.05$) が多く、過労は少なかった (6.8 % vs. 23.6 %, $P<0.01$)。認知症の規定因子を多変量 Logistic 回帰モデルで評価したところ、高齢、女性、退院時の NYHA 分類の悪化、脳卒中の既往、血清アルブミン値の低下が認知症と有意に関連していた。追跡期間において、全死亡は399例、心血管死は229例、非心血管死は170例、心不全再入院は392例であった。Kaplan-Meier 解析の結果、認知症群は非認知症群に比べて有意に全死亡、心血管死、非心血管死が多かつ

た (いずれも log-rank, $P<0.001$) が、心不全再入院については差がなかった (log-rank; $P=0.22$)。心不全の臨床的危険因子について多変量調整を行った後も、認知症は全死亡 (HR, 1.43; 95 % CI, 1.06-1.93, $P=0.02$) および非心血管死亡 (HR, 1.65; 95 % CI, 1.04-2.62, $P=0.03$) の増加と有意に関連していた。認知症は心血管死の競合リスクを考慮しても非心血管死と関連していた。逆に、認知症は臨床的危険因子で調整した場合には心血管死のリスクとは関連せず (HR, 1.28; 95 % CI, 0.85-1.91, $P=0.23$), 非心血管死の競合リスクを考慮しても同様の結果であった (調整 SHR, 1.10; 95 % CI, 0.71-1.71; $P=0.67$)。認知症は非認知症と比較して、Cox 比例ハザードモデルでも競合リスク解析でも HF による再入院の高リスクとは関連していなかった。年齢 (<80歳 vs. ≥80歳), 性別, NYHA 機能分類 (1-2 vs 3-4), 脳卒中の既往, 血清アルブミン値 (<3.5 vs. ≥3.5 mg/dL), 左室駆出率 (LVEF) (<50 % vs. ≥50 %) のサブグループにおいて、認知症が全死亡の発生率に及ぼす影響を評価すると、認知症と性別、退院時の NYHA 分類、脳卒中の既往、LVEF の間には、全死亡に対する有意な交互作用は認められなかった一方で、認知症の有無と全死亡において、年齢および血清アルブミン値との間に有意な交互作用が観察され ($P=0.029$, 0.026), 年齢およびアルブミン値の低下によって全死亡に対する認知症の影響が修飾されることが示唆された。

【考察】ADHF 患者では認知症の有無によって心不全増悪因子が有意に異なっていた。また、認知症は全死亡 (特に非心血管死亡) のリスク上昇と強く関連していた。認知症は心血管死および心不全再入院と関連すると報告されている先行研究もあるが、本レジストリでは平均年齢が78歳と高く、感染や低栄養がより起こりやすい背景であったことが原因と考えられた。GREAT 試験では感染が憎悪原因の ADHF は、憎悪原因が特定されていない ADHF と比較して90日死亡リスクが上昇した (HR, 1.51; 95 % CI, 1.18-1.92, $P<0.01$) と報告されている。また、心不全患者8,099

人を対象とした PARADIGM-HF 試験では、インフルエンザワクチン接種は propensity-adjusted model において全死亡リスクの低下と関連していた (HR, 0.81; 95 % CI, 0.67-0.97, P=0.015)。認知症を有する ADHF 患者における入院の原因および死因に関するデータは限られているが、本研究では、認知症による ADHF 入院の原因に有意差が認められ、認知症の存在は死亡リスクの上昇と関連しており、その主因は非心血管死であった。認知症と ADHF は、共通の疾患過程と病理学的機序により、しばしば共存する可能性があり、どちらか一方が存在するともう一方が悪化する可能性がある。このような認知症と ADHF の双方向の関係は、両疾患の負担を増加させる悪循環として作用する。従って、今回の所見は、将来の有害事象のリスクが高い HF 患者を同定するための認知症評価の重要性を強調するものであると考えられた。

(論文審査の結果の要旨)

急性非代償性心不全 (ADHF) は治療の進歩に関わらず、予後は依然として不良な疾患である。認知症を有する高齢心不全患者は増加しているが、認知症と心不全増悪因子との関連や、これらの患者における非心血管イベントを含む臨床イベントに関するデータは乏しい。そこで、本研究では日本人心不全コホートの ADHF 患者における認知症の有病率を評価し、主要イベントとの関連を明らかにすることを目的とした。

CURE-HF レジストリは長野県内の13施設において2014年7月から2019年8月までに ADHF で入院した連続患者1,036例が登録された前向多施設観察レジストリである。認知症群118例 (11.5 %) と非認知症群 (88.5 %) の2群に分け、それぞれ予後を比較検

討した。認知症の有無は、ADHF 入院時に各施設の担当医が問診や抗認知症薬の使用に基づいて判断した。主要評価項目は全死亡、心血管死、非心血管死、心不全再入院とした。

その結果、以下のことが示された。

1. 心不全入院の原因として、認知症群では内服中断と感染が多く、過労が少なかった。
2. 心不全入院患者において、年齢、女性、退院時の NYHA 分類、脳卒中の既往、低アルブミン血症が認知症の合併と関連していた。
3. 認知症は死亡リスク上昇と関連し、特に非心血管死と強い関連を認めたが、心不全再移入院のリスクとは関連していなかった。

本研究の臨床的意義は、ADHF 患者では認知症の有無によって心不全増悪因子が有意に異なり、認知症は死亡率 (特に非心血管死亡) のリスク上昇と強く関連していたことが示されたことである。特に本研究では認知症患者で感染による心不全増悪が有意に多く、感染による ADHF は憎悪原因が特定されていない ADHF と比較して死亡リスクが上昇するという結果と一致するものである。

認知症と ADHF は、共通の疾患過程と病理学的機序により、しばしば共存する可能性があり、どちらか一方が存在するともう一方が悪化する可能性があり、この双方向関係は、両疾患の負担を増加させる悪循環として作用する。本研究は将来の有害事象のリスクが高い HF 患者を同定するための認知症評価の重要性を強調するものであると考えられた。

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。

Relationship between Diabetes Status and Sarcopenia in Community-dwelling Older Adults (地域在住高齢者における diabetes status とサルコペニアとの関連)

西 本 和 平

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】サルコペニアは、筋量低下と筋力低下および身体機能低下を特徴とする骨格筋の進行性低下を伴う疾患である。サルコペニアは加齢とともに有病率が上昇し、骨折・入院・要介護発生・将来の死亡リスクなどと関連することから、サルコペニアの発症に関連する因子を特定することは重要であると考えられる。糖尿病もまた、加齢とともに有病率が上昇する疾患であり、サルコペニアのリスクを増大させることが

報告されている。しかし、糖尿病の診断基準の一つである HbA1c 値とサルコペニアの関連において、糖尿病患者では HbA1c の増大がサルコペニアおよび筋量低下と関連していたが、一般集団を対象とした研究においては HbA1c の増大がサルコペニアの保護因子として報告されているなど、糖尿病の状態 (diabetes status) とサルコペニアの関連は一定の見解を得ていないのが現状である。その理由の一つとして、body mass index (BMI) 等で規定される体格の影響が考え

られる。BMIは筋量およびインスリン抵抗性と正の相関をなすことが報告されている。つまり、体格がサルコペニアとdiabetes statusの両因子に影響を与えており、先行研究ではこれらを考慮していなかったために結果にばらつきが出ていた可能性があると考えられる。

そこで本研究では、地域在住高齢者におけるdiabetes statusとサルコペニアとの関連について、BMIの階層ごとに横断的に検討することを目的とする。

【方法】高齢者機能健診に参加した65歳以上の地域在住高齢者22,384名のうち、除外基準該当者を除く18,490名（平均年齢73.7歳±5.7歳、男性45.0%）が対象となった。Diabetes statusは、control群（糖尿病の既往がなく、HbA1c 5.7%未満）、pre-DM群（糖尿病の既往がなく、HbA1c 5.7%～6.5%未満）、DM群（糖尿病の既往があるかHbA1c 6.5%以上）に分類した。サルコペニアは、アルゴリズムをEuropean Working Group on Sarcopenia in Older People2の判定基準、カットオフ値はAsia Working Group for Sarcopeniaの基準に従い、骨格筋量低下かつ筋力低下が認められる場合をサルコペニアと定義した。統計解析は、サルコペニアの有無を従属変数、diabetes statusを独立変数とし、BMIで層別化（低体重：BMI 18.5未満、標準：BMI 18.5～23.0未満、過体重：BMI 23.0以上）した後、共変量で調整した多変量ロジスティック回帰分析を各層で行った。また、サブ解析としてサルコペニアの下位項目（筋量低下、筋力低下）を従属変数にした解析も実施した。

【結果】サルコペニアの有症率は、全対象者で4.0%であった。多変量分析の結果、全層ともにdiabetes statusとサルコペニアに関連は認められなかった。

（低体重：pre-DM, Odds ratio [OR] 1.17; 95% Confidence interval [95%CI] 0.80-1.64; P=0.371, DM, OR 1.06; 95%CI 0.65-1.74; P=0.801, 標準：pre-DM, OR 1.13; 95%CI 0.90-1.42, P=0.305, DM, OR 1.09; 95%CI 0.82-1.45; P=0.556, 過体重：pre-DM and DM, OR 0.32; 95%CI 0.03-3.80; P=0.366）。サブ解析の結果、低体重層においては、DM群は筋量低下と関連を認め（OR 1.87; 95%CI 1.03-3.39; P=0.04）、過体重層においては、DM群は筋力低下と関連を認めた（OR 1.22; 95%CI 1.04-1.43; P=0.014）。標準体重層においては、いずれも関連は認められなかった。

【考察】本研究では、BMIの違いにかかわらず、dia-

betes statusとサルコペニアとの間には関連を認めなかった。しかし、低体重層において、DM群は筋量低下と関連を認めた。高血糖は、骨格筋萎縮を引き起こす要因であり、骨格筋は糖代謝に重要な役割を示すことが報告されている。低体重層では筋肉量が少ない可能性があることから、これらの報告にある負の連鎖により、DM群と筋量低下に関連が認められたと考えられる。一方、過体重層において、DM群は筋力低下と関連を認めた。HbA1c増大は筋力および筋質と関連すること、肥満は筋力低下を引き起こす要因であることが報告されており、本研究においても先行研究を踏襲した結果が得られたと考えられる。また、標準体重層ではdiabetes statusとサルコペニアには関連が認められなかった。これらの結果から、BMIは糖尿病によるサルコペニアや筋量低下の本質的な交絡因子の可能性があり、層別に検討していく必要性が考えられた。また、体重を標準に保つことがサルコペニアを予防する可能性が示唆された。しかし、本研究は横断研究および観察研究のためDM群とサルコペニアとの因果関係を明確にできていないこと、糖尿病の分類を空腹時血糖などが考慮されなかったこと、参加者は機能健診に自身で参加できる方に限定されていたことなどの限界点が挙げられる。そのため、今後継続した調査が必要である。

結論として、地域在住高齢者において、diabetes statusとサルコペニアとの関連をBMI別に検討したところ、BMIの違いに関わらずdiabetes statusとサルコペニアには関連を認めなかった。しかし、低体重層ではDM群は低筋量と関連し、過体重層ではDM群は低筋力と関連していた。本結果により、Diabetes statusとサルコペニアを検討するうえでは、体格別に詳細に検討していく必要性が示唆された。今回の知見はサルコペニアのリスクが高い者の同定や、糖尿病患者やHbA1c値が高い者に対する予防戦略に役立つ可能性が考えられる。

（論文審査の結果の要旨）

糖尿病はサルコペニアのリスク因子である。しかし、HbA1c等で評価するdiabetes statusとサルコペニアとの関連は一定の見解を得ていない。その理由として、体格の影響が考えられる。Body mass index (BMI)で規定される体格はサルコペニアとdiabetes statusの両因子に影響を与えていることが報告されている。そこで、地域在住高齢者において、BMIの階層ごとにdiabetes statusとサルコペニアおよびサルコペニ

アの構成因子である筋量低下、筋力低下との関連について横断観察研究にて検討した。

対象者は、自立した生活が可能な65歳以上の地域在住高齢者18,490名とした。Diabetes statusはcontrol群（糖尿病の既往がなく、HbA1c 5.7 %未満）、pre-DM群（糖尿病の既往がなく、HbA1c 5.7 %～6.5 %未満）、DM群（糖尿病の既往があるかHbA1c 6.5 %以上）に分類した。サルコペニアは、アルゴリズムをEuropean Working Group on Sarcopenia in Older People²の判定基準、カットオフ値はAsia Working Group for Sarcopeniaの基準に従い、骨格筋量低下かつ筋力低下が認められる場合をサルコペニアと定義した。BMIの層別は、低体重18.5未満、標準体重18.5～23.0未満、過体重23.0以上とした。

その結果、西本は次のような結論を得た。

1. サルコペニアの有症率は、全対象者で4.0 %で

あった。

2. BMIの全層ともにdiabetes statusとサルコペニアに関連は認められなかった。

3. 低体重層ではDM群は筋量の低下、過体重層ではDM群は筋力の低下とそれぞれ有意な関連を認め、標準体重層では有意な関連は認められなかった。

これらの結果より、BMIの違いに関わらずdiabetes statusとサルコペニアには関連は認められないが、低体重層においては、DM群と筋量低下、過体重層においてはDM群と筋力低下が関連し、体重層別で関連するアウトカムが変化することが示された。BMIは糖尿病による筋量や筋力低下の本質的な交絡因子の可能性があり、体重を標準に保つことでサルコペニアを予防す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。

Biofabricated adipose-derived mesenchymal cell sheets recover cryo-injured kidneys in rats (積層型間葉系幹細胞シートによるラット腎凍結傷害の腎臓再生)

北 原 遼

(論文の内容の要旨)

【目的】腎臓は、体内環境の恒常を保つための重要な臓器である。糖尿病、高血圧、炎症など何らかの原因にともない腎組織が傷害を受けると、腎機能が徐々に低下して慢性腎臓病が発症する。慢性腎臓病に罹患している患者数は、世界で8億5,000万人、日本で1,300万人と推定されている。慢性腎臓病に対する治療は、有効な治療がなく対症療法のみである。また、腎不全に至ると血液透析や腎移植などの腎代替療法が必要となり、患者の社会活動や日常生活を著しく制限する。当教室では、慢性腎臓病に対する根治治療のひとつとして、積層型間葉系幹細胞シートを利用する腎臓再生医療の開発研究を行っている。本研究は、ラット凍結傷害腎臓モデルを用いて、積層型間葉系幹細胞シートは腎機能と腎組織を回復できるのか検討した。

【方法】10週齢雄Sprague-Dawley (SD) ラットの右腎摘除を行うとともに右腎周辺脂肪組織の採取を行った。採取した脂肪組織から細胞を分離して、初代培養を行った。接着伸展した脂肪由来間葉系幹細胞を回収してPKH26で細胞標識した後、温度応答性培養皿で培養を継続した。オーバーコンフルエントに達した後、温度応答性培養皿の温度を低下させて細胞間結合を維持した単層状の脂肪由来間葉系幹細胞シートをゼラチン

ン繊維基材で回収した。これを2枚作製し、細胞面同士を接着させて培養したものを積層型間葉系幹細胞シート（以下、積層細胞シート）とした。右腎摘除から3週間後、および、積層細胞シート作製完了後、温存した左腎の腎茎部をクランプして、腎臓腹側に液体窒素を60秒噴霧した（腎凍結傷害）。凍結部が自然融解した後、凍結傷害を与えた部位の腎被膜下に積層細胞シートを自家パッチ移植した（積層細胞シート群、n=14）。対照群には、同様に凍結傷害を与えた部位に無細胞シートを移植した（n=25）。移植前日と移植4週間後の24時間採尿と採血の検体から腎機能を解析した。また、移植4週間後、シートを移植した腎臓を摘出して、組織学的解析を行った。

【結果】移植4週間後、積層細胞シート群のクレアチニンクレアランスが増大した。また、積層細胞シート群の血中クレアチニンは、対照群よりも低下した。両群において、凍結傷害によって内腔が拡張し上皮細胞が菲薄化を呈する傷害尿細管が認められた。しかし、積層細胞シート群の傷害尿細管は、対照群と比較して低下した。また、腎組織の線維化に関しても、積層細胞シート群は、対照群よりも低下した。積層細胞シート群では、TGFβ-1、HIF1αの発現が対照群よりも低下する傾向を示した。移植した部位において、PKH26

で標識された間葉系幹細胞が検出され移植細胞の生着を確認した。また、生着した一部の間葉系幹細胞において、VEGFの発現を認めた。

【結論】本研究は、積層細胞シートは、凍結傷害によって傷害を受けた腎組織が再生することによって、腎機能が回復することを示した。また、間葉系幹細胞によるパラクライン効果がその機序を担ったと考えられた。したがって、慢性腎臓病に対して、積層細胞シートを利用する新規腎再生医療の実現に期待できることを示した。

(論文審査の結果の要旨)

何らかの原因により腎機能が低下すると慢性腎臓病を発症する。本邦では慢性腎臓病患者は1,300万人と推定されており、今後も増加することが予測される。慢性腎臓病は、有効な治療がなく対症療法のみであり、腎機能低下が進行して腎不全に至ると血液透析や腎移植といった腎代替療法が必要となる。しかし、血液透析では生活の質の低下や社会生活の制限、腎移植においては深刻なドナー不足が問題となっている。したがって、慢性腎臓病における腎機能低下の抑制、あるいは、腎機能を回復させる新規治療が必要である。本研究は、ラット腎凍結傷害モデルを用いて、積層型脂肪由来間葉系幹細胞シートによる腎臓再生について検討した。

10週齢雄 Sprague-Dawley (SD) ラットの右腎を摘除するとともに腎周囲脂肪を採取して、初代培養にてコラーゲン培養皿上で接着伸展した脂肪由来間葉系幹細胞とした。続いて、PKH26細胞標識をした脂肪由来間葉系幹細胞を温度応答性培養皿でオーバーコンフルエントに達するまで継代培養した。培養皿の温度を低下させて、細胞間結合を保持したシート状の脂肪由来間葉系幹細胞をゼラチン繊維基材で回収した。これを2枚作製した後、細胞面同士が接着するように積

層して3日間培養を行った(以下、積層細胞シート)。

積層細胞シート作製の完了、および、右腎摘除3週間後、温存した左腎の腎基部をクランプして、腎臓腹側に液体窒素を60秒噴霧した(腎凍結傷害)。凍結部が自然融解した後、凍結傷害を与えた部位の腎被膜下に積層細胞シートを自家移植した(積層細胞シート群, n=14)。対照群には、同様に凍結傷害を与えた部位に無細胞シートを移植した(n=25)。移植前日と移植4週間後の24時間採尿と採血から腎機能を解析した。また、移植4週間後、シートを移植した腎臓を摘出して組織学的解析を行った。

その結果、北原は次の結論を得た。

1. 積層細胞シート群のクレアチニークリアランスの増加を示した。
2. 積層細胞シート群の血中クレアチニンは、対照群と比較して低下することを示した。
3. 積層細胞シート群では、凍結傷害により生じた傷害尿管が対照群よりも低下することを示した。
4. 積層細胞シート群では、線維化面積が対照群よりも低下することを示した。
5. 積層細胞シート群では、 $TGF\beta-1$ と $HIF1\alpha$ の発現が対照群よりも低下する傾向を示した。
6. 移植後、積層細胞シートを構成するPKH26標識間葉系幹細胞が検出され、移植細胞の生着を示した。
7. 生着した一部の細胞は、VEGFを発現することを示した。

以上の結果から、積層型脂肪由来間葉系幹細胞シートによる凍結傷害を受けた腎機能と腎組織の回復が示された。本研究は、積層細胞シートを利用する慢性腎臓病に対する新規腎再生医療の実現が期待できることを示した。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。

Effects of high-pressure-processed rice intake during interval walking training on glyce-
mic control and *NFKB2* gene methylation in hyperglycemic older people (高血糖高齢者
におけるインターバル速歩トレーニング中の高圧加工米摂取が血糖調節と *NFKB2* 遺伝子メチル
化に及ぼす効果)

相 田 隆 道

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】信州大学農学部藤田らは、玄米に高圧処理を施すことで、玄米の種皮や胚芽に含まれるポリフェノール類、 γ -アミノ酪酸 (GABA)、ビタミン

B群などの機能性成分を胚乳部に移行させた後に精米した「高圧加工米」を開発した。高圧加工米は、味や食感が通常の白米とほぼ同じでありながら、玄米中の80~90%のポリフェノール類、50~60%のビタミン

B群、2～3倍のGABAを保持または蓄積していることが確認されている。しかし、生活習慣病を有する高齢者において、高圧加工米摂取の血糖調節能への効果及びそのメカニズムは不明である。そこで、本研究では、高血糖を有する高齢者において、インターバル速歩トレーニング中の高圧加工米摂取は、血糖調節能を改善するか、その際、体内で慢性炎症を引き起こすマスター遺伝子である*NFKB2*のメチル化が亢進するか、を検証した。

【方法】すでにインターバル速歩トレーニングを6か月以上継続しているにもかかわらず、高血糖（空腹時血糖 >110 mg/dl またはHbA1c >6.0 %）を有する者（ $n=51$, 70 ± 5 (SD) 歳）を対象とした。被験者を通常白米摂取群または高圧加工米摂取群に無作為に割り付け、さらに、インターバル速歩トレーニングを4か月間実施させ、その間、それぞれ通常白米または高圧加工米（調理前の乾燥重量75 g）を朝・夕の食事で摂取させた。介入前後に、グルコース酵素電極を腹部皮下組織に留置し、5日間の連続血糖測定を行い（CGM法）、その5日目の朝食に統制食を摂取させた。また、介入前後に血液を採取し、パイロシークエンス法により*NFKB2*遺伝子のメチル化を測定した。

【結果】介入後に、4日間（連続血糖測定2～5日目）の朝食前180分間の血糖の平均値は、高圧加工米摂取群で低下傾向を示したが、通常白米摂取群との間に有意差を認めなかった（ $P=0.17$ ）。しかし、血糖変動の指標である標準偏差（SD）は、介入後に、高圧加工米摂取群で、通常白米摂取群と比較してより大きく低下した（ $P=0.013$ ）。さらに、連続血糖測定5日目の朝食摂取後180分間の血糖総曲線下面積（tAUC）も介入後に、高圧加工米摂取群において通常白米摂取群と比較してより大きく低下した（ $P=0.035$ ）。しかも、この介入後のtAUCの低下は、各被験者における*NFKB2*遺伝子のメチル化と相関した（ $P=0.002$ ）。すなわち、介入後に血糖調節能が改善した者ほど、*NFKB2*遺伝子の不活性化を認めた。

【結論】高血糖高齢者におけるインターバル速歩トレーニング中の高圧加工米の摂取は、*NFKB2*遺伝子を不活性化し、血糖調節能を改善することが示唆された。

（論文審査の結果の要旨）

信州大学農学部藤田らは、玄米に高圧処理を施すことで、玄米の種皮や胚芽に含まれるポリフェノール類、 γ -アミノ酪酸（GABA）、ビタミンB群などの機能性成分を胚乳部に移行させた後に精米した「高圧加

工米」を開発した。高圧加工米は、味や食感が通常の白米とほぼ同じでありながら、玄米中の80～90 %のポリフェノール類、50～60 %のビタミンB群、2～3倍のGABAを保持または蓄積していることが確認されている。しかし、生活習慣病症状を有する高齢者において、高圧加工米摂取の血糖調節能への効果及びそのメカニズムは不明であった。そこで、相田は、高血糖を有する高齢者において、インターバル速歩トレーニング中の高圧加工米摂取は、血糖調節能を改善するか、その際、体内で慢性炎症を引き起こすマスター遺伝子である*NFKB2*のメチル化が亢進するか、を検証した。

本研究は、ランダム化・二重盲検・プラセボ対照法で実施した。すでにインターバル速歩トレーニングを6か月以上継続しているにもかかわらず、高血糖（空腹時血糖 >110 mg/dl またはHbA1c >6.0 %）を有する被験者（ $n=51$, 70 ± 5 (SD) 歳）を通常白米摂取群または高圧加工米摂取群に無作為に割り付けた。両群とも、インターバル速歩トレーニングをさらに4か月間実施させ、その間、それぞれ通常白米または高圧加工米（調理前の乾燥重量75 g）を朝・夕の食事で摂取させた。介入前後に、グルコース酵素電極を腹部皮下組織に留置し、5日間の連続血糖測定を行い（CGM法）、その5日目の朝食に統制食を摂取させた。また、介入前後に血液を採取し、パイロシークエンス法により*NFKB2*遺伝子のメチル化を測定した。

そして、次のような結果を得た。

1. 連続血糖測定2～5日目の朝食摂取前180分間について、血糖変動の指標である標準偏差（SD）は、介入後に、高圧加工米摂取群において通常白米摂取群と比較して、より大きく低下した（ $P=0.013$ ）。
2. 連続血糖測定5日目の朝食摂取後180分間の血糖総曲線下面積（tAUC）も、介入後に、高圧加工米摂取群で通常白米摂取群と比較して、より大きく低下した（ $P=0.035$ ）。
3. このtAUCの介入後の低下は、各被験者における*NFKB2*遺伝子のメチル化と相関した（ $P=0.002$ ）。すなわち、介入後に血糖調節能が改善した者ほど、*NFKB2*遺伝子の不活性化を認めた。

これらの結果より、高血糖高齢者におけるインターバル速歩トレーニング中の高圧加工米の摂取は、*NFKB2*遺伝子を不活性化し、血糖調節能を改善することが示唆された。

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。

The effectiveness of a self-reported questionnaire on masticatory function in health examinations (健康診断における咀嚼機能に関する自己申告式アンケートの有効性)

安 齋 和 憲

(論文の内容の要旨)

【本研究の背景・目的】 歯周炎は生活習慣と関連し、またメタボリックシンドローム（以下 MetS）と関連していると報告されている。歯科検診が健康診断に導入されることで、MetS の予防が期待される。日本では、2018年に新たに特定検診の問診項目・問13に歯科的な咀嚼機能に関する質問が導入された。本研究の目的は、この新たに追加された質問が口腔内環境を反映するか、その後歯科受診につながり、口腔内環境の改善に寄与するか、歯科受診の有無で MetS の改善に繋がっているかを調査することである。

【試験の方法】 2018年に長野県塩尻市および安曇野市において特定健診を受け、研究への参加に同意した6,599名の被験者を対象とした。希望の被験者2,298名に歯科検診を行った。問13の咀嚼機能に関する質問が歯科検診結果・特定検診結果とどのように関係しているかを解析した。国民健康保険データベース（KDB）から提供された医療保険データを収集し、2018年特定健診後に歯科医療費の発生の有無で歯科受診とカウントし、2年連続して特定健診および歯科検診を受診した被験者が、歯科受診の有無によって翌年の結果にどのような影響を与えるかを解析した。

【試験の結果】 咀嚼機能に著しい問題があると回答したものはn数が少なく、比較に用いることができなかったが、回答した人々は歯科受診を避ける傾向があった。咀嚼機能に問題のないと回答した人々に比べて、多少問題があると回答した人々は歯周ポケット深さの悪化、歯肉出血の悪化、口腔清掃不良を認め、収縮期血圧、拡張期血圧、トリグリセリド HDL コレステロール、eGFR、HbA1cの数値も悪化傾向を認めた。咀嚼機能に多少問題があると回答した人々は歯科受診後に歯周病の改善、血圧の改善が認められ、HbA1cは低下の傾向を認めた。

【考察】 咀嚼機能に関する質問の回答結果が悪くなるにつれ、健全歯数、未補綴歯数、歯周ポケット深さ、歯肉出血の評価項目で悪化傾向を認めた。これまで咀嚼機能に関する包括的な質問は残存歯数や欠損歯数、機能的歯数と有意な相関があると報告されているが、本研究では質問の回答と歯周組織の状態の悪化に有意

な関係がみられ、歯周病の進行が歯の損失につながることで咀嚼機能に影響を与えている可能性が高い。咀嚼機能に多少問題があると回答した人々は問題がないと回答した人々と比較して歯周組織状態の改善率が高いことが示された。歯科疾患が MetS と関連していることが報告されており、本研究では咀嚼機能に関する質問の問13と血糖値に相関関係があることが示された。【結論】 特定健診における咀嚼機能に関する質問は、歯および歯周組織の健康状態を反映していると考えられた。歯科検診後の行動の改善が、歯周組織の改善・MetS の改善に寄与している可能性が示唆された。特定健診における咀嚼機能に関する質問は特定健診において重要な項目であると考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

歯周病は生活習慣と関連し、またメタボリックシンドローム（以下 MetS）と関連していると報告されている。歯科健診が健康診断に導入されることで、歯科保健の向上と MetS の予防が期待される。日本では、2018年に新たに特定健診の問診項目・問13に歯科的な咀嚼機能に関する質問が導入された。本研究の目的は、この新たに追加された質問が口腔内環境を反映するか、その後歯科受診につながり、口腔内環境の改善に寄与するか、さらに MetS の改善に繋がっているかを調査することである。

2018年に長野県塩尻市および安曇野市において特定健診を受け、研究への参加に同意した6,599名の被験者を対象とした。希望の被験者2,298名に歯科健診を行った。問13の咀嚼機能に関する質問が歯科健診結果・特定健診結果とどのように関係しているかを解析した。国民健康保険データベース（KDB）から提供された医療保険データを収集し、2018年特定健診後に歯科医療費の発生の有無で歯科受診とカウントし、2年連続して特定健診および歯科健診を受診した被験者が、歯科受診の有無によって翌年の結果にどのような影響を与えるかを解析した。

咀嚼機能に著しい問題があると回答した人々は歯科受診を避ける傾向があった。咀嚼機能に問題のないと回答した人々に比べて、多少問題があると回答した人々は深い歯周ポケット、歯肉出血、口腔清掃不良を

認め、収縮期血圧、拡張期血圧、トリグリセリド、HDL コレステロール、eGFR、HbA1c の数値も不良であった。咀嚼機能に多少問題があると回答した人々はその後の歯科受診で歯周病の改善、血圧の改善が認められ、HbA1c は低下の傾向を認めた。

その結果をふまえて、安齋和憲は次の結論を得た。

1. 咀嚼に関する問診項目が口腔内、全身の健康状態と関係している可能性が示唆された。
2. 咀嚼に関する問診項目が歯科受診に繋がり、口腔、MetS の改善に寄与している可能性が示唆された。

1, 2 より咀嚼に関する問診項目は特定健康診査において重要な項目であると考ええる。

特定健診における咀嚼機能に関する包括的な質問は、歯および歯周組織の健康状態を反映していると考えられた。歯科検診後の行動の改善が、歯周組織の改善・MetS の改善に寄与している可能性が示唆された。特定健診における咀嚼機能に関する質問は特定検診において重要な項目であると考えられる。

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。

Bi-layered adipose mesenchymal cell sheets improve bladder compliance in spinal cord-injured rats (積層型脂肪由来間葉系幹細胞シートによる脊髄損傷ラットの膀胱コンプライアンス改善効果)

松 本 侑 樹

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】脊髄損傷に起因する神経因性膀胱は、反復する過度な膀胱内圧の上昇によって膀胱の伸展性(膀胱コンプライアンス)が低下する。膀胱尿管逆流による尿路感染症や腎不全などを併発する 경우가多く、患者の生活の質が著しく低下する。低コンプライアンス膀胱の治療は、間欠自己導尿や薬物療法、消化管を利用した膀胱拡大術や尿路変更術が行われるが、機能的な膀胱に回復させる根治的治療ではない。したがって、低コンプライアンス膀胱に対する治療は、医療アンメットニーズのひとつであり、膀胱再生療法の確立が求められている。本研究は、脂肪由来間葉系幹細胞(Adipose-derived mesenchymal cell: AMC)で作製した積層型細胞シートは、脊髄損傷に起因する低コンプライアンス膀胱の膀胱組織を再生するとともに、膀胱コンプライアンスを改善できるのか検討した。

【方法】14週齢雄 Green Fluorescence Protein (GFP)-transfected Sprague-Dawley (SD) ラットの腹部の脂肪組織を採取して、分離した細胞をコラーゲンコート培養皿上で初代培養した。接着、増加した細胞をAMCとして回収して、温度応答性培養皿で継代培養を行った。オーバーコンフルエントに達した後、温度応答性培養皿の温度を低下させて、単層状に遊離したAMCシートをゼラチン繊維基材で回収した。AMCが付着したゼラチン繊維基材で、別のAMCシートを回収して、2層AMCシートを有するものを積層型細胞シートとした。一方で、10週齢雌SDラットの脊髄をT8-9レベルで部分切断し脊髄損傷モデルとした。

同時に、脊髄損傷後の排尿管理のため、膀胱頂部にポリエチレンカテーテルを留置し膀胱瘻を造設した。脊髄損傷後4週間飼育した後、膀胱瘻カテーテルを抜去し、膀胱前壁の平滑筋層を切開、剥離して露出させた膀胱粘膜上皮に積層型細胞シートをパッチ移植した(移植群; n=8)。対照群は、同様に膀胱前壁の平滑筋層を切開、剥離した偽手術を行なった(n=7)。移植4週間後、膀胱内圧測定によって膀胱機能を解析した後、膀胱を摘出して組織学的解析を行なった。

【結果】移植4週間後、対照群では、排尿間隔が短く一回排尿量が少ない膀胱機能障害が認められたが、移植群では、膀胱機能障害の軽減や不随意性膀胱収縮の減少傾向が認められ、移植群の膀胱容量(2.05 ± 0.18 mL)と膀胱コンプライアンス(0.21 ± 0.03 mL/cmH₂O)は、対照群と比較して有意に増大した(それぞれ 1.35 ± 0.18 mL, $P < 0.05$; 0.11 ± 0.03 mL/cmH₂O, $P < 0.05$)。移植群の膀胱前壁の平滑筋層(0.85 ± 0.12)は、対照群(0.57 ± 0.06 , $P < 0.05$)より有意に増大した。また、膀胱平滑筋層内のコラーゲン線維(0.28 ± 0.03)は、対照群(0.36 ± 0.02 , $P < 0.05$)と比較して有意に減少した。積層型細胞シートを移植した部位には、GFP抗体で検出されるAMCが認められた。一部のGFP陽性細胞では、SMAやdesmin陽性の平滑筋細胞への分化が認められるとともに、組織分化の成長因子であるTGF- β 1や血管内皮細胞の成長因子であるVEGFの発現が認められた。

【結論】本研究は、積層型細胞シートの膀胱粘膜パッチ移植によって、脊髄損傷ラットの膀胱平滑筋層が増

大し線維化が抑制され、膀胱容量と膀胱コンプライアンスが増大することを示した。また、積層型細胞シートを構成する AMC は、生着して平滑筋細胞へ分化するとともに、TGF- β 1 や VEGF を産生するパラクライン効果の発揮が示唆された。したがって、積層型細胞シートは、低コンプライアンス膀胱に対する膀胱再生治療として、臨床応用への発展が期待できることを示した。

(論文審査の結果の要旨)

脊髄損傷に起因する神経因性膀胱の患者は、反復する過度な膀胱内圧の上昇によって膀胱の伸展性(膀胱コンプライアンス)が低下する。現在、低コンプライアンス膀胱に対する根治的な治療がないため、機能的な膀胱を再生できる新規治療法が求められている。本研究は、脂肪由来間葉系幹細胞(Adipose-derived mesenchymal cell: AMC)から作製した積層型細胞シートによって、膀胱コンプライアンスの改善を示す膀胱再生ができるのか検討した。

14週齢雄 Green Fluorescence Protein (GFP)-transfected Sprague-Dawley (SD) ラットの腹部の脂肪組織から分離した細胞をコラーゲンコート培養皿上で初代培養して AMC を得た。温度応答性培養皿で継代培養を行い、ゼラチン繊維基材に2層の AMC を付着させたものを積層型細胞シートとした。脊髄損傷モデルは、10週齢雌 SD ラットの第8-9胸髄の脊髄を部分切断し、同時に、排尿管理のため、膀胱頂部にポリエチレンカテーテルを留置し膀胱瘻を造設した。脊髄損傷4週間後、膀胱瘻カテーテルを抜去し、膀胱前壁の

平滑筋層を切開、剥離して露出させた膀胱粘膜上皮に積層型細胞シートをパッチ移植した(移植群; n = 8)。対照群は、同様な膀胱前壁の平滑筋層を切開、剥離をする偽手術を行なった(n = 7)。移植4週間後に、膀胱内圧測定と組織学的検討を行った。

その結果、松本は次の結論を得た。

1. 移植群の膀胱容量、および、膀胱コンプライアンスは対照群よりも有意に増大した。
2. 移植群の膀胱平滑筋層は、対照群と比較して有意に増大した。
3. 移植群の膀胱平滑筋層内のコラーゲン線維は、対照群より有意に低下したことから線維化の抑制を確認した。
4. 積層型細胞シートを構成する AMC の生着を確認した。
5. 生着した一部の AMC で、SMA や desmin 陽性平滑筋細胞への分化を確認した。
6. 生着した AMC において、TGF- β 1, あるいは VEGF の発現を確認した。

以上の結果から、脊髄損傷ラットに対する膀胱粘膜上皮への積層型細胞シート移植によって、平滑筋層の増大や線維化抑制など膀胱組織が再生して、膀胱コンプライアンス増大など膀胱機能が回復することが示された。また、その機序として積層型細胞シートを構成している AMC の膀胱平滑筋への分化、あるいは、膀胱組織の修復を促進するパラクライン効果が示唆された。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。

LGR5 expression and clinicopathological features of the invasive front in the fat infiltration area of pancreatic cancer (膵臓癌の脂肪組織への浸潤部における LGR5 の臨床病理学的特徴)

鎌倉 雅人

(論文の内容の要旨)

【背景】leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor5 (LGR5) は G タンパク質共役受容体の一種で、特に腸、直腸、胃での癌幹細胞(CSC)マーカーとして認識され、癌の発生や転移に関与するとされている。しかし、膵臓がんにおける LGR5 の発現については不明点が多い。これまでの報告で、膵臓の脂肪浸潤部位における腫瘍細胞と間質との相互作用が予後に影響することが報告されている。そこで今回我々は、膵臓の脂肪浸潤前線における LGR5 発現に関する臨床病理学的特徴を検討した。

【方法】2014年～2019年に当院で切除された通常型膵管癌計40名を対象とした。RNA in situ hybridization により、膵臓癌の脂肪組織への浸潤部における LGR5 発現を評価した。上皮系マーカーとしての E-カドヘリン、間葉系マーカーとしてのビメンチンの免疫染色を行い、上皮間葉変換(EMT)の評価を行った。上記評価のための標本はいずれも Tissue microarray (TMA) を作成した。

【結果】年齢の中央値は65.5歳、男女比は男性:女性=26人(65%):14人(35%)だった。組織型は低分化:高分化=10例(25%):30例(75%)、静脈侵襲

あり：なし=22例（55 %）：18例（45 %）だった。すべての症例で LGR5 陽性が確認された。LGR5 が低発現群では有意に High histological grade（低分化）傾向（ $P=0.0126$ ），EMT 傾向（ $P=0.0006$ ），静脈侵襲傾向（ $P=0.0244$ ）を示した。また Low histological grade（高分化）群では有意に LGR5 高値（ $P=0.0115$ ）であった。LGR5 発現と予後に関しては有意差は認めなかった。

【結論】膵癌の脂肪組織への浸潤部における LGR5 低発現では、癌の低分化，EMT 傾向を示し，静脈侵襲の頻度が高く，転移や浸潤をきたしやすく悪性度が高い可能性がある。

（論文審査の結果の要旨）

Leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor5（LGR5）は G タンパク質共役受容体の一種で，特に腸，直腸，胃での癌幹細胞（CSC）マーカーとして認識され，癌の発生や転移に関与するとされている。しかし，膵がんにおける LGR5 の発現については不明な点が多い。これまでの報告で，膵癌の脂肪浸潤部位における腫瘍細胞と間質との相互作用が予後に影響することが報告されている。そこで今回我々は，膵癌の脂肪浸潤前線における LGR5 発現に関する臨床病理学的特徴を検討した。

2014年～2019年に当院で切除された通常型膵管癌計40名を対象とした。RNA in situ hybridization により，

膵臓癌の脂肪組織への浸潤部における LGR5 発現を評価した。上皮系マーカーとしての E-カドヘリン，間葉系マーカーとしてのビメンチンの免疫染色を行い，上皮間葉変換（EMT）の評価を行った。上記評価のための標本はいずれも Tissue microarray（TMA）を作成した。

その結果，鎌倉雅人は次の結果を得た。

1. 年齢の中央値は65.5歳，男女比は男性：女性=26人（65 %）：14人（35 %）だった。組織型は低分化：高分化=10例（25 %）：30例（75 %），静脈侵襲あり：なし=22例（55 %）：18例（45 %）だった。
2. すべての症例で LGR5 陽性が確認された。
3. LGR5 が低発現群では有意に High histological grade（低分化）傾向（ $P=0.0126$ ），EMT 傾向（ $P=0.0006$ ），静脈侵襲傾向（ $P=0.0244$ ）を示した。
4. Low histological grade（高分化）群では有意に LGR5 高値（ $P=0.0115$ ）であった。
5. LGR5 発現と予後に関しては有意差は認めなかった。

これらの結果より，膵癌の脂肪組織への浸潤部における LGR5 低発現では，癌の低分化，EMT 傾向を示し，静脈侵襲の頻度が高く，転移や浸潤をきたしやすく悪性度が高い可能性がある。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。

ARL4C is associated with epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer (*ARL4C* は大腸癌における上皮間葉転換と関連している)

金 井 峻

（論文の内容の要旨）

【背景】大腸癌は世界中で死亡原因の主な1つであり，近年その発癌メカニズムの解析が進んでいる。大腸癌における浸潤と転移への関連性として，KRAS と BRAF が関与する RAS/RAF/MAPK 経路では，RAS の活性化が細胞生存，腫瘍浸潤，転移を促進することが報告されている。しかし，癌の浸潤と転移については，まだ多くのことが分かっていない。そこで我々は，ADP-ribosylation factor-like protein 4 C（*ARL4C*）に着目をした。*ARL4C* は，大腸癌や肺腺癌等で高発現しており，細胞運動能，浸潤および増殖を促進することが報告されているが，詳細な臨床病理学的解析の報告はまだない。Wnt/ β -カテニンおよび EGF/RAS 経路の同時活性化によって *ARL4C* 遺伝子の発現が促

され，これが上皮細胞の形態変化と管状構造の形成を引き起こすことが報告されており，これまでの報告では癌細胞で発現していることが知られている。

本研究では，大腸癌浸潤前線での *ARL4C* の発現と臨床病理学的データとの関係を比較することにより，*ARL4C* の特性を調査した。

【材料と方法】信州大学医学部附属病院で切除された大腸癌症例で，浸潤を伴う大腸癌66症例（2018年から2020年）を対象とした。臨床病理学的データは患者診療録より収集した。各症例から腫瘍部浸潤前線を含む3mm組織コアを採取し，組織アレイを作製した。事前に切除材料のヘマトキシリン-エオジン染色標本にて，腫瘍浸潤に関与する組織学的指標の Tumor budding（TB）評価を3段階（Bd1～3）で行った。TB

の grade は、Bd1 および Bd2 を Low grade, Bd3 を High grade と分類した。*ARL4C* は高感度 RNA in situ hybridization 法である RNAscope kit を用いて検出した。既報論文に従い、5段階のスコアリングシステムにて評価し、*ARL4C* mRNA の発現は低発現 (grades 0, 1+, 2+) および高発現 (grades 3+, 4+) とした。上皮間葉転換 (EMT) の評価の為、E-カドヘリンおよびビメンチンの免疫組織化学的染色を施行した。既報論文に従い、(1) 非 EMT 型 (E-カドヘリン陽性かつビメンチン陰性) (2) 不完全 EMT 型 (E-カドヘリン陰性かつビメンチン陰性または E-カドヘリン陽性かつビメンチン陽性) (3) 完全 EMT 型 (E-カドヘリン陰性かつビメンチン陽性) に分類し、不完全 EMT 型と完全 EMT 型は EMT 表現群として解析を実施した。また、大腸癌における *ARL4C* 発現と浸潤免疫細胞との関連を調べるため、The Cancer Genome Atlas の Pan-Cancer Atlas の大腸癌データセットから 497 の症例と 17,501 の遺伝子を分析した。CIBERSORT 解析を使用して、大腸癌における 22 種類の免疫細胞の発現レベルの解析を行った。

【結果】すべての症例において、*ARL4C* は癌細胞および癌間質細胞において観察され、癌細胞では浸潤前線に発現が局在していた。*ARL4C* の発現は癌細胞よりも癌間質細胞で優位に高かった ($P < 0.0001$)。

癌間質細胞において、TB は High grade 症例で Low grade 症例より有意に *ARL4C* が発現していた ($P < 0.0002$)。さらに、組織学的分類が High grade 症例の方が Low grade 症例よりも有意に *ARL4C* が発現していた ($P < 0.0227$)。また、EMT 型症例の方が、非 EMT 型の症例よりも有意に *ARL4C* が発現していた ($P < 0.0289$)。

癌細胞において、EMT 型症例の方が、非 EMT 型の症例よりも有意に *ARL4C* が発現していた ($P < 0.0366$)。癌間質細胞では、*ARL4C* の発現と TB grade に弱い正の相関を認めた ($r = 0.3526$, $P = 0.0037$) が、癌細胞では相関は認められなかった ($r = 0.1730$, $P = 0.1647$)。

本研究における Overall Survival (OS) は、Kaplan-Meier とログランク検定により算出し、*ARL4C* 高発現群と低発現群において、OS の有意差は認められなかった ($P = 0.6921$)。

CIBERSORT 分析により、*ARL4C* は M2 マクロファージ ($r = 0.413$, $P < 0.001$) および M1 マクロファージ ($r = 0.342$, $P < 0.001$) と弱いながらも有意な正の相関関係にあった。

【考察】我々の研究は、*ARL4C* の発現が EMT と関連し、大腸癌の予後を悪化させる可能性があることを明らかにした。*ARL4C* の発現は他の報告では癌細胞に確認されているが、我々の研究では、癌細胞だけでなく癌間質細胞でも確認された。さらに、癌間質細胞での *ARL4C* 発現は癌細胞より強く、癌間質細胞での *ARL4C* 発現が腫瘍微小環境にさまざまな影響を及ぼす可能性があることを示唆している。また、癌間質細胞での *ARL4C* 発現は、分化度の低い症例および TB の High grade 症例と関連していた。どちらも予後を悪化させる要因として知られており、癌間質細胞での *ARL4C* 発現は予後にとって大きな意義がある可能性を示唆している。*ARL4C* は、EMT 表現型の癌細胞および癌間質細胞で高発現していた。これは、他の癌に関するこれまでの報告と一致していた。本研究において、予後と関連する OS や TNM ステージと有意差は認められなかった。*ARL4C* と予後の因果関係を明らかにするためには、更なる研究が必要である。

(論文審査の結果の要旨)

ADP-ribosylation factor-like protein 4 C (*ARL4C*) は、大腸癌や肺腺癌等で高発現しており、細胞運動能、浸潤および増殖を促進することが報告されているが、大腸癌における詳細な臨床病理学的解析の報告はまだない。これまでの報告では、癌細胞特異的に発現をしており、Wnt/ β -カテニンおよび EGF/RAS 経路の同時活性化によって *ARL4C* 遺伝子の発現が誘導され、これが上皮細胞の形態変化と管状構造の形成を引き起こすことが報告されている。本研究では、大腸癌浸潤前線での *ARL4C* の発現と臨床病理学的データとの関係を比較することにより、*ARL4C* の特性を調査した。

その結果、金井峻は以下の結論を得た。

1. 対象とした 66 症例全例の癌細胞および癌間質細胞において *ARL4C* の発現を認め、特に Tumor budding (TB) を伴う癌細胞周囲の癌間質細胞で *ARL4C* はより強い染色像を認めた。
2. 癌細胞および癌間質細胞に分けて、*ARL4C* の発現強度を算出し、臨床病理学的特徴との関係を調査したところ、癌細胞及び癌間質細胞において上皮間葉転換 (EMT) 表現型の方が非 EMT 表現型よりも優位に *ARL4C* の高発現を示した。また、癌間質細胞において *ARL4C* は、Histological grade の High grade 症例で有意に高発現しており、TB の High grade 症例においても有意に高発現を示した。
3. Kaplan-Meier とログランク検定により算出した

Overall Survival (OS) と *ARL4C* において有意差は認められなかった。

4. CIBERSORT 分析により, *ARL4C* は M2 マクロファージおよび M1 マクロファージと弱いながらも有意な正の相関関係にあり, これらの癌間質細胞が *ARL4C* を産生している候補の一つと考えられた。

本研究により, 大腸癌の浸潤前線における *ARL4C* 発現と病理学的特徴が明らかとなり, *ARL4C* は腫瘍

微小環境において癌細胞だけでなく, 癌間質細胞からも産生されており, 腫瘍の進展へ関与している可能性が示唆された。また, 本研究で大腸癌の予後と関連のある EMT や TB と *ARL4C* の関連性が明らかとなり, *ARL4C* は大腸癌の予後を悪化させる因子である可能性も考えられた。

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。

Associations Between Morphological Phenotypes of COPD and Clinical Characteristics in Surgically Resected Patients with COPD and Concomitant Lung Cancer (COPD 合併肺癌の外科的切除患者における COPD 形態学的フェノタイプと臨床的特徴の関連)

鈴木 祐 介

(論文の内容の要旨)

【目的】 近年, 胸部 CT を用いた慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の形態学的分類が可能となり, 気腫性変化や気管支壁肥厚の程度で複数のフェノタイプに分類され, 異なる臨床的特徴と関連している。一方, 胸部 CT から得られる脊柱起立筋断面積 (ESM_{CSA}) は COPD の臨床指標と関連し, COPD 患者の全死因死亡における強いリスク因子と考えられている。しかし, COPD に合併した肺癌の外科的切除例における COPD フェノタイプと臨床的特徴との関連は不明である。またこれらの患者における予後規定因子や ESM_{CSA} と臨床的特徴との関連に関する情報は少ない。

本研究では, 術前の胸部 CT を用いて COPD 合併肺癌患者のフェノタイプ分類を行い, 術後合併症を含む臨床的特徴や予後の違いを明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】 2003年4月から2016年10月の間に信州大学医学部附属病院で原発性肺癌に対する肺切除術を受けた, COPD と肺癌の合併患者132人の診療記録を後方視的に検討した。フェノタイプ分類のため, 術前の胸部 CT を用いて低吸収域 (LAA) スコアを視覚的に評価し, 画像解析ソフトウェアを用いて右 B1 と B10 の気管支壁面積割合 (WA%) を測定した。視覚的評価による気管支壁肥厚を検出する右 B1, B10 の WA% のカットオフ値は, ROC 曲線解析により決定した。ROC 曲線下面積 (0.751 vs 0.785) がより大きい右 B10 を評価に用いることとし, $WA\% \geq 50\%$ を気管支壁肥厚と定義した。これらの指標を用いて, LAA スコア 0 点を非気腫型, LAA スコアが 1 点以上で WA% が 50% 未満を気腫型, LAA スコアが 1 点

以上で WA% が 50% 以上を混合型と分類した。

死亡リスクと関連する規定因子を特定するために, 単変量 Cox 比例ハザード回帰分析に続いて多変量 Cox 比例ハザード回帰分析を行った。COPD の予後に関連する変数として, 年齢, BMI, 喫煙指数, 気流閉塞の程度 (GOLD による病期), mMRC 呼吸困難スケール, LAA スコア, ESM_{CSA} を解析に含めた。各群の生存率は Kaplan-Meier 法を用いて推定し, 群間差は log-rank 検定を用いて比較した。連続変数は一元配置分散分析で 3 群間の比較を行い, Tukey-Kramer 多重比較補正を行った。

【結果】 非気腫型は 36 人, 気腫型は 49 人, 混合型は 47 人であった。混合型において他のフェノタイプと比較して有意にパフォーマンスステータス (PS) が不良, mMRC 呼吸困難スケールが高値, 残気量が高値であった。しかし肺癌の予後指標, 術前の COPD に対する定期治療, 術前の併存疾患について 3 群間で有意差は無かった。肺癌の組織診断について混合型において扁平上皮癌, 非気腫型において腺癌の割合が有意に高かった。術後病期について混合型において気腫型と比較して有意にステージⅢが少なかったが, その他の病期は 3 群間で有意差は無かった。術後合併症, 死因について 3 群間で有意差は無かった。単変量および多変量 Cox 比例ハザード回帰分析において年齢と LAA スコアが高いほど死亡リスクが高かった。Kaplan-Meier 法による生存曲線において非気腫型と混合型 (生存期間中央値: 14.48 年 vs 5.15 年, $p=0.0001$), および気腫型と混合型 (生存期間中央値: 10.38 年 vs 5.15 年, $p=0.0197$) で, 生存率に有意差が認められた。

【考察】 肺気腫の存在は, 扁平上皮癌のオッズ増加と

関連していることが報告されているが、気管支壁肥厚と扁平上皮癌との関連に言及した報告はない。COPD のフェノタイプ間における肺癌の発生メカニズムの相違はほとんど解明されていないが、混合型は他の表現型よりも呼吸機能が悪く、そのため気道からの発癌物質のクリアランスが損なわれている可能性があると推測される。

COPD 患者における定量的 CT の評価が行われているが、一般的に画像解析ソフトウェアは臨床現場で利用しにくいという問題がある。一方、気腫性変化の視覚的評価は観察者間のばらつきを完全に排除することは不可能なものの、胸部 CT を受けた全ての COPD 患者において評価できる。また WA% も臨床現場で比較的容易に測定することができる。本手法はその簡便さと利用しやすさから、COPD 患者の肺癌術後症例の臨床的特徴を理解する上で有用である。

我々の結果は、特に混合型において吸入気管支拡張薬の追加や呼吸リハビリテーションなど、COPD に対する早期治療介入を行う必要があることを示唆している。また混合型は有意に予後不良であることから、予後予測や原発性肺癌に対する縮小手術の適応を判断する上で、今回のフェノタイプ分類が有用であると考える。

本研究においてフェノタイプ間で ESM_{CSA} に有意差は無く、 ESM_{CSA} と予後に関連はなかった。これは全ての被験者が PS 0 あるいは 1 であったため、サルコペニアを示唆する ESM_{CSA} の低下を来す患者が少なかったためと考えられる。

【結論】術前の LAA スコアは、肺癌術後の COPD 患者の予後を予測することができる。胸部 CT において気腫性変化と気管支壁肥厚の両方を認める COPD フェノタイプは、PS が不良で、呼吸困難が強く、呼吸機能障害が大きく、予後不良であった。

(論文審査の結果の要旨)

近年、胸部 CT を用いた慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の形態学的分類が可能となり、気腫性変化や気管支壁肥厚の程度で複数のフェノタイプに分類され、異なる

臨床的特徴と関連している。しかし、COPD に合併した肺癌の外科的切除例における COPD フェノタイプと臨床的特徴との関連は不明である。今回、術前の胸部 CT を用いてこれらの患者のフェノタイプ分類を行い、臨床的特徴を明らかにした。

2003 年 4 月から 2016 年 10 月に信州大学医学部附属病院で原発性肺癌に対する肺切除術を受けた、COPD 合併肺癌患者 132 人の診療記録を後方視的に検討した。気腫と気管支壁肥厚の有無から、非気腫型 (気腫なし)、気腫型 (気腫あり、気管支壁肥厚なし)、混合型 (気腫あり、気管支壁肥厚あり) の 3 群に分類し、術前の呼吸機能、パフォーマンスステータス (PS)、呼吸困難スケール、肺癌の経過 (病期、組織型、術式、術後合併症、再発の有無)、生存期間を評価した。また、COX 比例ハザードモデルを用いて、死亡リスクと関連する因子を検討した。その結果、鈴木は以下の結論を得た。

1. 混合型は他のフェノタイプと比較し、PS が不良で、呼吸困難の症状が強く、呼吸機能の低下がみられた。
2. 混合型は他のフェノタイプと比較し、扁平上皮癌の割合が有意に高かった。
3. 混合型は他のフェノタイプと比較し、肺癌の再発率や死亡率に差が無いにも関わらず全生存期間が有意に短かった。
4. COPD 合併肺癌患者において、目視的な評価による肺気腫の程度 (LAA スコア) は、全死因死亡の独立した予測因子であった。

これらの結果より、COPD 合併肺癌患者において気腫と気管支壁肥厚を共に有する混合型は、他のフェノタイプと異なる臨床的特徴を有し、予後が不良であることが示された。また LAA スコアは全死因死亡の独立した予測因子であった。本研究は、COPD 合併肺癌患者における臨床経過の予測や治療選択の為に、CT 画像による COPD 病変の評価を行うことの重要性を示唆するものである。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。

Prevalence and associated factors for primary osteoarthritis of the thumb carpometacarpal joint in the general elderly population : a Japanese cohort survey randomly sampled from a basic resident registry of a small rural town (一般高齢者集団における母指手根中手関節の原発性変形性関節症の有病率と関連因子：日本の小さな地方都市の住民基本台帳から無作為に抽出したコホート調査)

上 甲 巖 雄

(論文の内容の要旨)

【研究の背景と目的】母指手根中手関節の変形性関節症は、痛みを伴い、日常生活に支障をきたすことが多い。母指手根中手関節の一次性変形性関節症および症候性変形性関節症の有病率についてはコンセンサスが得られておらず、それらの関連因子は十分に調査されていない。本研究の目的は、住民コホートにおける母指手根中手関節の一次性変形性関節症および症候性変形性関節症の有病率と関連因子を評価することである。

【方法】長野県小布施町の住民台帳から、50歳から89歳の住民1,297名を無作為に抽出し、人口統計データとライフスタイルおよび職業に関するアンケートを取得した。参加者全員が両手の前後方向のX線写真を撮影した。参加者は、母指手根中手関節のX線写真で、Kellgren-Lawrence 分類の grade 2, 3, または 4 と読影された場合に変形性関節症 (ROA) と診断された。母指手根中手関節のX線写真で変形性関節症と診断され、加えて母指の付け根の圧痛または動作時痛がある場合に症状のある変形性関節症 (SOA) と診断された。関連因子は統計的に分析された。

【結果】323人の参加者 (男性 153人, 女性 170人) の母指, 計646指を調査した。平均年齢は69.1歳 (範囲 50~89歳) で、母指手根中手関節のX線写真上の変形性関節症の有病率は17.3 % (男性 13.7 %, 女性 20.6 %), 母指手根中手関節の症候性変形性関節症の有病率は3.1 %であった。母指手根中手関節のX線写真上の変形性関節症の関連因子は、関連度の高い順に、同側手の指関節のX線写真上の変形性関節症の存在、年齢の増加、女性の順であった。利き手、BMI、喫煙歴、重労働または農作業、振動工具の使用、ラケットまたはバットスポーツ、または舟状大菱形小菱形骨間関節症のX線写真上の変形性関節症は、母指手根中手関節のX線写真上の変形性関節症の関連因子ではなかった。

【結論】50~89歳の一般的な日本人高齢者における母指手根中手関節原発性変形性関節症の有病率は17.3 % であり、手根中手関節の変形性関節症の大半は無症状

であった。ROA の進行と SOA の頻度に関連性は認められず、疼痛の原因については検討が必要である。

(論文審査の結果の要旨)

母指手根中手関節関節症 (Thumb carpometacarpal joint Osteoarthritis ; TCMCJ OA) は、実臨床で高頻度に遭遇し、高齢者女性で多く発症を認める。多くは無症状であるが、有症状となるとつまむ力の低下や母指基部の疼痛を訴える。有症例の T-CMCJ OA に対する治療は、まず保存加療が行われ、無効例には手術が行われるが、確実な治療法はない。そこで、発症機序を明らかにすることが重要である。X線写真による TCMCJ radiographic OA (ROA) の有病率については、過去に欧州、米国、韓国、そして日本から報告されているが、対象者の年齢は様々で、男女比も一樣ではない。また、有病率にはばらつきがみられる。さらに TCMCJ ROA の関連因子について、検討した報告は少なく、加齢、女性、他の指の関節の変形性関節症の存在などが挙げられている。本研究の目的は、無作為抽出一般高齢者住民を対象とした運動器加齢疾患の横断研究 (おぶセスタディ) のデータを用いて、X線写真による TCMCJ ROA と、症状を有する TCMCJ 変形性関節症 (Symptomatic osteoarthritis, SOA) の有病率、およびその関連因子を明らかにすることである。

小布施町民の50から80歳代の住民台帳5,352人から、1,297人を無作為に抽出し、そのうち研究に同意した住民は415人であった。その中から、データ不十分、外傷などの変形性関節症を誘発する疾患を有する住民を除外した、323人を対象者とした。対象者の両手の単純X線像から、TCMCJ ROA の有無と重症度を判定した。Kellgren-Lawrence (KL) 分類の grade 2, 3, 4 を TCMCJ ROA とした。TCMCJ ROA のある手のうち、母指基部の圧痛、あるいは母指の自動伸展／屈曲または回旋運動で母指基部に疼痛を認める、のいずれかがある手を TCMCJ SOA と定義した。検診参加者の年齢、性、body mass index、利き手、骨粗鬆、喫

煙歴を調査した。検診参加者には、質問票を手渡し、職業、スポーツ歴に関する情報を得た。さらに、両手のX線写真像から、母指以外の示、中、環、小指の中手指節関節（Metacarpophalangeal joint；MCP 関節）、近位指節骨間関節（Proximal inter phalangeal；PIP 関節）、遠位指節骨間関節（Distal inter phalangeal；DIP 関節）の変形性関節症の有無、両手関節のX線写真から舟状大菱形小菱形骨間関節（scaphotrapezotrapezoidal joint；STTJ）の変形性関節症の有無を調査し、関連因子候補とした。候補関連因子に対して単変量および多変量ロジスティック回帰分析を実施した。

調査結果は以下のとおりである。

- ・母指 CM 関節 ROA の有病率は17.3 %（男性13.7 %，女性20.6 %），母指 CM 関節 SOA の有病率は3.1 %であった。
- ・母指 CM 関節 ROA の関連因子は、関連度の高い順

に、同側手の指関節 ROA，加齢，女性の順であった。

今回の研究では、T-CMCJ ROA の有病率は60歳代以上から加齢とともに急速に増加し、60歳代以上の女性の T-CMCJ ROA の有病率は男性よりも常に高いことが示された。SOA の有病率を横断研究で明らかにした報告は見つからなかった。

本研究では、T-CMCJ SOA の有病率は3.1 %と低い値であった。

関節に画像上の変化があるにもかかわらず、疼痛のある関節は約 1 / 5 と少ないことがわかった。

今回の検討では、その理由については、明らかにすることは出来なかった。今後の検討課題である。

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。

Involvement of bile acid in diarrhea and therapeutic effect of colestimide in hereditary ATTR amyloidosis（ATTRv アミロイドーシス患者の下痢への胆汁酸の関与とコレステミドの治療効果）

望 月 祐 介

（論文の内容の要旨）

【背景】 遺伝性 ATTR（ATTRv）アミロイドーシスは、トランスサイレチン（TTR）遺伝子変異によって引き起こされる常染色体顕性遺伝性疾患である。下痢は最も重篤な合併症の一つだが、その正確な病態機序は未だ不明である。一方、胆汁性下痢は難治性下痢の原因の一つであり、コレステポールやコレステラミンなどの胆汁酸吸着剤の有効性が報告されている。そこで本研究では、ATTRv アミロイドーシス患者でみられる下痢症と胆汁酸代謝との関連、そして本疾患に起因する下痢症に対する胆汁酸吸着剤の有効性を明らかにすることを目的とした。

【対象・方法】 19名の ATTRv アミロイドーシス患者（ATTRv 下痢群 9 名，ATTRv 非下痢群 10 名）と 20 名の健常人を前向きに登録した。各群間で、胆汁酸前駆体かつ胆汁性下痢のバイオマーカーである血清 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one（C4）値を測定した。また、下痢症状に対する胆汁酸吸着剤であるコレステミドの効果を評価するため、重症の下痢を有する下痢群を対象に非盲検下実薬投薬試験を行い、前観察期間と投薬期間において下痢便の頻度、血清 C4 値、mBMI、および全排便回数に占める下痢便回数の割合の変化を

比較した。

【結果】 研究時平均年齢は下痢群 55.0 歳，非下痢群 54.5 歳。遺伝子型は下痢群では 5 名が V30M 変異，非下痢群では 8 名が V30M 変異であった。下痢群では 6 名がパチシラン，1 名がタファミジスで治療中であり，3 名が肝移植後であった。非下痢群では 3 名がパチシラン，2 名がブトリシランとタファミジスで治療中であり，4 名が肝移植後であった。血清 C4 の中央値は，非下痢群に比べ，下痢群で有意に高値であったが，非下痢群と健常対照群との間に有意差はなかった。下痢群の 5 人の患者の血清 C4 値は胆汁性下痢のカットオフ値を上回っていた。肝移植の有無による血清 C4 値の有意差は認めなかった。コレステミドの投与により平均下痢回数は有意に減少し，コレステミドの累積服用量は下痢回数の減少と有意に相関していた。また，コレステミド内服期間中の平均血清 C4 値は有意に上昇した。一方，mBMI および全排便回数に占める下痢便回数の割合については，統計学的に有意な差は認められなかったもののコレステミド投与による改善傾向がみられた。

【考察】 本研究において下痢群の血清 C4 値は非下痢群よりも有意に高値であり，かつ下痢群の 5 人の患者の

血清 C4値は胆汁性下痢のカットオフ値を上回っていたことから、ATTRv アミロイドーシス患者でみられる下痢の発症には回腸での胆汁酸の吸収不良と肝臓での胆汁酸の過剰産生が関与している可能性が示された。一方肝移植は胆嚢摘出術を伴うため肝移植が C4値に影響を及ぼすことが予想されたが、本研究では肝移植の有無は血清 C4値と有意な関係はなかった。また、コレステミドの投与により下痢の頻度は減少し血清 C4値は上昇したことから、コレステミドは腸管で胆汁酸を吸着することによって下痢を改善させ、吸着された胆汁酸が便中に排出された結果、肝臓への胆汁酸のリサイクルが減少して肝臓での胆汁酸産生が増加する機序が推測された。栄養指標である mBMI はコレステミド投与により改善傾向はみられたものの有意な変化は認めなかった。これは28日間の治療期間は栄養状態を明確に改善するには不十分であったためと推測された。

【結論】 ATTRv アミロイドーシスにおける下痢の発症には胆汁酸が関与しており、胆汁酸吸着剤であるコレステミドが有効である可能性が示された。

(論文審査の結果の要旨)

遺伝性 ATTR (ATTRv) アミロイドーシスは、トランスサイレチン (TTR) 遺伝子変異によって引き起こされる常染色体顕性遺伝性疾患である。下痢は最も重篤な合併症の一つであるが、その正確な病態機序は未だ不明であり、病態の解明と有効な治療法の開発が求められている。また、胆汁性下痢の患者に対して胆汁酸吸着剤の有効性が報告されているが、既報において、ATTRv アミロイドーシス患者の下痢の一因として胆汁酸吸収不良が示唆されている。本研究では、ATTRv アミロイドーシス患者でみられる下痢症と胆汁酸の関連、そして本症患者の下痢症に対する胆汁酸

吸着剤の有効性を明らかにすることを目的とし、以下の検討を行った。

19名の ATTRv アミロイドーシス患者（下痢群 9 名、非下痢群10名）と20名の健常人を前向きに登録した。各群間で、胆汁性下痢のバイオマーカーである血清 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one (C4) 値を測定した。また、下痢群を対象に非盲検下で胆汁酸吸着剤であるコレステミドを投薬し、前観察期間と投薬期間において下痢の頻度、血清 C4値、mBMI、および全排便回数に占める下痢便回数の割合の変化を比較した。

血清 C4の中央値は、非下痢群に比べ、下痢群で有意に高値であったが、非下痢群と健常対照群との間に有意差はなかった。下痢群の 5 人の患者の血清 C4値は胆汁性下痢のカットオフ値を上回っていた。コレステミドの投与により平均下痢回数は有意に減少し、コレステミドの累積服用量は下痢回数の減少と有意に相関していた。また、コレステミド内服期間中の平均血清 C4値は有意に上昇した。一方、mBMI および全排便回数に占める下痢便回数の割合に有意差は認めなかったものの、コレステミド投与による改善傾向がみられた。

これらの結果より、ATTRv アミロイドーシス患者の下痢の発症には、回腸での胆汁酸の吸収不良と肝臓での胆汁酸の過剰産生が関与している可能性が示された。また、コレステミド投与後に下痢の頻度は減少し血清 C4値が上昇したことから、コレステミドは腸管で胆汁酸を吸着することで下痢を改善させ、吸着された胆汁酸が便中に排出される結果、肝臓への胆汁酸のリサイクルが減少して肝臓での胆汁酸産生が増加する機序が推測された。

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。

Adrenomedullin 2/Intermedin Exerts Cardioprotective Effects by Regulating Cardiomyocyte Mitochondrial Function (アドレノメデュリン 2/インターメディンは心筋細胞のミトコンドリア機能を調節することで心臓を保護する)

ZHAO YUNLU

(論文の内容の要旨)

【Background】 Adrenomedullin 2 (AM2), a novel member of the calcitonin superfamily alongside adrenomedullin (AM) and calcitonin gene-related peptide (CGRP), plays critical roles in regulating blood pressure and fluid balance. However, the specific involve-

ment of AM2 in cardiac hypertrophy has not been comprehensively elucidated, warranting further investigation into its molecular mechanisms and therapeutic implications. We aimed to investigate the role of AM2 in the progression of cardiac hypertrophy under pathological conditions.

【Methods and Results】 AM2 knockout mice (AM2^{-/-}) were generated by CRISPR/Cas9 genome editing. Cardiac hypertrophy was induced in both AM2^{-/-} and wild-type (AM2^{+/+}) adult mice using transverse aortic constriction (TAC) surgery. Comprehensive cardiac morphology, function, histology, and transcriptome/metabolome analyses were conducted. Signal transduction underlying AM2 stimulation in the cardiomyocytes was explored. Our findings revealed that the absence of endogenous AM2 led to the development of severe heart failure after TAC surgery. This was characterized by alterations in the mitochondrial morphology and function associated with glycolysis and tricarboxylic acid (TCA) cycle in the heart and cardiomyocytes of TAC-operated AM2^{-/-} mice. The pyruvate dehydrogenase complex (PDC), a key enzyme in glycolysis, was inhibited in the hearts of AM2^{-/-} mice compared to AM2^{+/+} mice. This was accompanied by the downregulation of PDC phosphatases (PDP1 and PDP2) and the up-regulation of pyruvate dehydrogenase kinase 3 (PDK3) in AM2^{-/-} mice. AM2 stimulation was associated with the receptor-modifying factor RAMP2, which primarily transduces signals through the MAPK pathway and affects the expression of genes involved in glycolysis, beta-oxidation, and oxidative phosphorylation. Notably, the administration of exogenous AM2 to both AM2^{+/+} and AM2^{-/-} mice alleviated the severity of TAC-induced heart failure and promoted the activation of PDC.

【Conclusion】 AM2 plays a pivotal role in regulating mitochondrial functions linked to glycolysis and the TCA cycle in cardiomyocytes, thereby providing a protective effect on the heart under pressure overload conditions. These findings highlight AM2 as a promising therapeutic target for the treatment of cardiac hypertrophy.

(論文審査の結果の要旨)

Adrenomedullin 2 (AM2), a novel member of the calcitonin superfamily, plays critical roles in regulating blood pressure and fluid balance. However, the specific involvement of AM2 in cardiac hypertrophy has not been comprehensively elucidated, warranting further investigation into its molecular mecha-

nisms and therapeutic implications.

In this study, we aimed to investigate the role of AM2 in the progression of cardiac hypertrophy under pathological conditions by performing transverse aortic constriction (TAC) on AM2 knockout mice. AM2 knockout mice (AM2^{-/-}) were generated using CRISPR/Cas9 genome editing. Cardiac hypertrophy was induced in both AM2^{-/-} and wild-type (AM2^{+/+}) adult mice through TAC surgery. Comprehensive analyses of cardiac morphology, function, histology, transcriptome/metabolome, and AM2 administration experiments were conducted on mice after the surgery. MAPK array experiments and Seahorse XF assays were also performed using primary-cultured cardiomyocytes and the cardiomyocyte cell line H9c2 treated with isoproterenol (ISO).

As a result, ZHAO YUNLU obtained the following results from these experiments:

1. Echocardiographic, morphological, transcriptomic, and metabolic analyses revealed that AM2^{-/-} mice exhibited severe heart failure after TAC surgery compared to AM2^{+/+} mice. Moreover, AM2 expression was upregulated in AM2^{+/+} hearts following TAC surgery.
2. The absence of AM2 in the heart led to mitochondrial morphological and functional abnormalities after TAC surgery, possibly due to reduced β -oxidation capacity and impaired pyruvate dehydrogenase complex (PDC) activity.
3. AM2 administration activated the phosphorylated MAPK signaling and regulated the transcription of mitochondrial function-related genes. The primary receptor for AM2 might be the CLR/RAMP2 complex.
4. AM2 administration in both AM2^{+/+} and AM2^{-/-} mice protected cardiac function from pressure overload induced by TAC surgery.

In conclusion, AM2 is upregulated in response to pressure overload, activating MAPK signaling and regulating the transcription of mitochondria-related genes. Furthermore, AM2 enhances PDC activity, thereby promoting ATP production. Thus, AM2 plays a crucial role in metabolic signaling within cardiomyocytes, contributing to the suppression of cardiac remodeling. ZHAO YUNLU's findings suggest that AM2

is a promising target for future cardiac therapeutics.
The chief and deputy inspectors unanimously rec-

ognized the significance of this study as a doctoral dissertation.

Rate of Decrease in Serum Autotaxin Can Predict Relapse of Type 1 Autoimmune Pancreatitis After Initial Steroid Therapy (ステロイド療法後の1型自己免疫性膵炎における血清オートタキシンの減少率による再発予測の検討)

堀 内 一 太 郎

(論文の内容の要旨)

【背景】 自己免疫性膵炎 (Autoimmune pancreatitis : AIP) は、免疫学的機序が発症に関与していると考えられる特殊な膵炎で、現在では1型 AIP が IgG4関連疾患の膵臓病変として認識されている。ステロイド治療が奏功するが、寛解導入後に約30 %の患者が再燃するため、再燃を予測する有効なバイオマーカーが求められている。血清 IgG4値は病勢の評価に利用されているが、IgG4値が上昇していない患者ではその有用性が限定的である。オートタキシン (Autotaxin : ATX) は、脂質メディエーターのリゾホスファチジン酸産生酵素であり、さまざまな疾患との関連が報告されている。最近の研究では、1型 AIP 患者においてステロイド治療後に低下した血清 ATX 値が、維持療法中に再度上昇することが再燃と関連すると報告された。AIP における線維性炎症に ATX が関与している可能性を考え、本研究では、1型 AIP 患者のステロイド治療前後の血清 IgG4値および ATX 値の減少率が、AIP の再燃を予測することが可能か検討した。

【方法】 対象は、2010年1月から2020年12月の間に信州大学医学部附属病院で初回ステロイド治療を受けた1型 AIP 患者のうち、保存検体を用いて ATX の測定が可能であった37人 (男性23人、女性14人)。血清 IgG4値および ATX 値は診断時、寛解導入療法後、維持療法中、および再燃時に測定した。IgG4値および ATX 値の減少率 (Δ) は、2つの時点間の差を日数で割ることで算出した。また、AIP 組織における ATX の発現は免疫組織化学染色および RNA in situ hybridization によって評価した。

【結果】 非再燃群26人、再燃群11人で、再燃は男性でより多く見られ (73 %)、維持療法中に6人の患者が再燃した。両群とも初回ステロイド治療後に血清 IgG4値および ATX 値が有意に減少した。非再燃群では、再燃群に比べて血清 IgG4値の減少率 Δ IgG4が大きい傾向を示した (5.19 vs 3.07, $P=0.12$)。一方、非再燃群では、再燃群よりも血清 ATX 値の減少率 Δ ATX

が有意に大きかった (1.32×10^{-3} vs 0.58×10^{-3} , $P < 0.01$)。ROC 解析を行ったところ、area under the curve は Δ IgG4 0.653, Δ ATX 0.783と Δ ATX で大きく、カットオフ値は Δ IgG4 3.85, Δ ATX 0.78×10^{-3} と算出された。それぞれのカットオフ値に基づく陽性的中率 (PPV) は、 Δ IgG4で70.1 %, Δ ATX で67.6 %, Δ IgG4または Δ ATX のいずれかのカットオフ値に基づく PPV は86.5 %であった。IgG4が270 mg/dL未満の10例では、 Δ IgG4による PPV は20 %であったのに対し、 Δ ATX による PPV は70 %と高値であり、IgG4値が低い (IgG4値 < 270 mg/dL) 症例において優れた予測精度を示した。免疫組織化学染色および RNA in situ hybridization により、AIP 組織のリンパ濾胞内で ATX の発現が確認された。

【結語】 初回ステロイド治療後の血清 ATX 値の減少率が、1型 AIP の再燃予測マーカーとなりうることを明らかにした。特に、IgG4値が低い症例において、ATX 値と IgG4値を組み合わせることで、より精度の高い予測が可能となることが示唆された。また、AIP 組織の ATX の発現部位がはじめて同定され、ATX の上昇の原因として TNF α , IL-1 β などのサイトカインを介した炎症や線維化の関与が推定された。

(論文審査の結果の要旨)

自己免疫性膵炎 (Autoimmune pancreatitis : AIP) は、免疫学的機序が発症に関与していると考えられる特殊な膵炎で、現在では1型 AIP が IgG4関連疾患の膵臓病変として認識されている。ステロイド治療が奏功するが、寛解導入後に約30 %の患者が再燃するため、再燃を予測する有効なバイオマーカーが求められている。オートタキシン (Autotaxin : ATX) は、脂質メディエーターのリゾホスファチジン酸産生酵素であり、さまざまな疾患との関連が報告されている。最近の研究では、1型 AIP 患者において血清 ATX 値が高値であり、再燃と関連があることが報告された。AIP における線維性炎症に ATX が関与している可能性を考え、本研究では、1型 AIP 患者のステロイド治

療前後の血清 IgG4 値および ATX 値の変化率が、AIP の再燃を予測することが可能か検討した。

初回ステロイド治療を受けた 1 型 AIP 患者のうち、保存検体を用いて ATX の測定が可能であった 37 人（男性 23 人、女性 14 人）を対象にした。血清 IgG4 値および ATX 値は診断時、寛解導入療法後、維持療法中、および再燃時に測定した。IgG4 値/ATX 値の減少率（ Δ ）は、2 つの時点間の差を日数で割ることで算出した。また、AIP 組織における ATX の発現は免疫組織化学染色および RNA in situ hybridization によって評価した。

その結果、堀内は次の結論を得た。

1. 非再燃群、再燃群ともに初回ステロイド治療後に血清 IgG4 値および ATX 値が有意に減少した。
2. 非再燃群では再燃群に比べて血清 IgG4 値の減少率 Δ IgG4 が大きい（5.19 vs 3.07, $P=0.12$ ）傾向を示した。
3. 非再燃群では再燃群よりも血清 ATX 値の減少率 Δ ATX が有意に大きかった（ 1.32×10^{-3} vs 0.58×10^{-3} , $P < 0.01$ ）。
4. ROC 解析を行ったところ、AUC は Δ ATX の方が大きかった（0.783 vs 0.653）。

5. Youden 指数を使用し、カットオフ値を設定すると、陽性的中率（PPV）は、 Δ IgG4 70.1 %, Δ ATX 67.6 %, いずれかのカットオフ値での PPV は 86.5 % であった。

6. IgG4 が 270 mg/dL 未満の 10 例では、 Δ IgG4 による PPV は 20 % であったのに対し、 Δ ATX による PPV は 70 % と高値であり、 Δ ATX は IgG4 値が低い（IgG4 値 < 270 mg/dL）症例において特に優れた再燃予測精度を示した。

免疫組織化学染色および RNA in situ hybridization により、AIP 組織のリンパ濾胞内で ATX の発現が確認された。

以上より、初回ステロイド治療後の血清 ATX 値の減少率が、1 型 AIP の再燃予測マーカーとなりうることを明らかにした。特に、IgG4 値が低い症例において、ATX 値と IgG4 値を組み合わせることで、より精度の高い予測が可能となることが示唆された。また、AIP 組織における ATX の発現部位を初めて同定でき、ATX の上昇の原因として TNF α 、IL-1 β などのサイトカインを介した炎症や線維化への関与が推定された。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。

Differential effects of structurally different lysophosphatidylethanolamine species on proliferation and differentiation in pre-osteoblast MC3T3-E1 cells（構造の異なるリゾホスファチジルエタノールアミンが前骨芽細胞 MC3T3-E1 細胞の増殖と分化に与える影響）

牧 山 文 亮

（論文の内容の要旨）

【背景と目的】リゾホスファチジルエタノールアミン（LPE）は G タンパク質共役受容体（GPCR）を介して作用するリゾリン脂質の一種で、様々な細胞機能に関わる生理活性メディエーターである。哺乳類の細胞膜や血漿、脳脊髄液などに存在し、脂肪酸の長さや飽和度の違いにより様々な種類が存在する。LPE は細胞種に応じて様々な効果を発揮する。我々は過去に 16:0 LPE, 18:0 LPE, 18:1 LPE は培養大脳皮質ニューロンの神経突起伸長を刺激することを報告した。リゾホスファチジン酸（LPA）やスフィンゴシン-1-リン酸など他のリゾリン脂質は、骨形成において不可欠な役割を果たすと言われているが、LPE についてその役割は未知である。in vitro での骨芽細胞研究に、マウス頭蓋蓋由来の前骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 が広く用いられる。本研究では、16:0 LPE, 18:0

LPE, 18:1 LPE が MC3T3-E1 細胞の増殖や分化に与える影響について検討した。

【材料および方法】LPE はリン脂質代謝酵素オートタキシシン（ATX）の作用で LPA に変換されるため、LPE の純粋な作用を評価するために各実験に ATX 阻害剤である HA130 を添加した。細胞増殖実験には EGFP と NLS-tdTOMATO の 2 種類の蛍光タンパク質を安定的に発現する MC3T3-E1 細胞株を使用した。LPE 添加後 3 日間の細胞増殖を計測した。これ以外の実験には野生型の MC3T3-E1 を使用した。ウェスタンブロットで MAPK/ERK1/2 シグナル活性化の評価と阻害剤添加による GPCR のサブタイプ特定を行った。次いで、Fura-2AM を MC3T3-E1 に取り込ませてイメージングを行い、LPE による Ca²⁺ 反応を調査した。また脱感作実験も行い、LPE の受容体が LPA 受容体（LPA1）と同一か異なるかを調べた。分化誘導の実

験は、アリザリンレッドS染色による石灰化結節の染色，アルカリフォスファターゼ活性（ALP 活性）の評価，定量リアルタイム PCR による骨形成関連遺伝子発現の計測を行った。

【結果】すべての LPE が MC3T3-E1細胞の増殖を促進した。また，すべての LPE が GPCR を介して MAPK/ERK1/2シグナルを活性化し，16：0 LPE と18：1 LPE は Gq/11共役受容体，18：0 LPE は Gi/o 共役受容体を介して作用した。Ca²⁺ イメージングでは，16：0 LPE と18：1 LPE において細胞内 Ca²⁺濃度上昇が見られ，この反応は Gq/11阻害剤により消失した。18：0 LPE では Ca²⁺ 反応がほとんど認められなかった。受容体脱感作実験では，18：1 LPA と LPE の間で脱感作は起こらず，LPE と LPA の受容体は異なることが示唆された。分化誘導実験では，石灰化，ALP 活性，骨形成関連遺伝子発現のすべてにおいて18：0 LPE は分化を抑制したが，16：0 LPE と18：1 LPE は分化に影響を与えなかった。

【結論】今回検討したすべての LPE が MAPK シグナル活性化により細胞増殖を促進させた一方で，作用する GPCR のサブタイプは異なり，分化に対して抑制的に働く分子種も存在することがわかった。本研究により，LPE は骨形成制御における重要なメディエーターであることが示された。LPE の受容体およびシグナル伝達経路を解明することは，骨形成における LPE の役割を理解する上で重要である。

（論文審査の結果の要旨）

リゾホスファチジルエタノールアミン（LPE）は Gタンパク質共役受容体（GPCR）を介して作用するリゾリン脂質の一種である。様々な細胞機能に関わる生理活性メディエーターであり，脂肪酸の長さや飽和度の違いにより様々な種類が存在する。LPE は細胞種に応じて多様な効果を発揮するが，骨形成における LPE の役割は未知である。研究では，in vitro での骨芽細胞

研究によく使用されるマウス頭蓋冠由来の前骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1において，16：0 LPE，18：0 LPE，18：1 LPE が細胞の増殖や分化に与える影響について検討した。

その結果は以下の通りである。

1. 3種の LPE すべてがコントロールと比較して MC3T3-E1細胞の増殖を有意に促進した。
2. ウェスタンブロットにて3種の LPE すべてが MAPK/ERK1/2シグナルを活性化し，16：0 LPE と18：1 LPE は Gq/11共役受容体，18：0 LPE は Gi/o 共役受容体を介してそれぞれ作用することが示された。
3. Ca²⁺ イメージングでは，Gq/11共役受容体を介する16：0 LPE と18：1 LPE において，細胞内の Ca²⁺濃度上昇を生じた。18：0 LPE は Ca²⁺濃度変化を起こさなかった。
4. 分化誘導実験では，Gi/o 共役受容体を介する18：0 LPE は，石灰化染色，アルカリフォスファターゼ活性，骨形成関連遺伝子発現のいずれにおいても，コントロールと比較して有意に分化を抑制した。16：0 LPE と18：1 LPE は分化には影響を与えなかった。

これらの結果より，LPE は骨形成制御に関わる重要なメディエーターであり，構造の異なる LPE がそれぞれ異なる GPCR のサブタイプを介して作用することが示された。胞増殖の促進は MAPK シグナルの活性化によるものと考えられる。また，分化の阻害は Gi/o 共役受容体のアデニル酸シクラーゼ抑制による影響が関与していると推察される。本研究は骨形成における LPE の役割を調査する今後の研究の基盤となりうるものであり，LPE の受容体およびシグナル伝達経路を解明することが今後の命題となる。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。

Improving glycemic control by transitioning from the MiniMed™ 640G to 770G in Japanese adults with type 1 diabetes mellitus: a prospective, single-center, observational study (成人日本人の1型糖尿病における MiniMed™ 640G から770G への移行による血糖コントロールの改善：単施設前向き観察研究)

久保田 諭 史

（論文の内容の要旨）

【背景と目的】1型糖尿病はインスリン分泌が枯渇した状態であり，糖尿病合併症の発症および進行予防の

ために厳格なインスリン治療が不可欠である。日本で2022年に新規発売されたインスリンポンプ MiniMed™ 770G は，過去のインスリン注入量から算出したイン

スリン効果値、残存インスリン量、目標グルコース値 120 mg/dL からの逸脱という 3 つのパラメータに基づいて、基礎インスリン注入量を自動的に増減するハイブリッドクローズドループ (HCL) という高度なシステムを備えている。諸外国では HCL による血糖コントロール改善効果が報告されているが、日本人を対象としたデータはほとんど存在しない。そのため、MiniMed™ 770G の HCL が日本人成人の 1 型糖尿病の血糖コントロールに及ぼす影響を評価するべく本研究を実施した。同時に、質問紙を用いて HCL 導入による心理的影響についても調査した。

【方法】2022 年 4 月時点で信州大学医学部附属病院に通院し、MiniMed™ 640G から MiniMed™ 770G の HCL へ治療変更予定であった成人 1 型糖尿病の患者 25 人全員を対象に、単施設前向き観察研究を行った。MiniMed™ 770G 導入前と導入後 24 週での血糖値、HbA1c、CGM のグルコース値、インスリン注入量のデータを収集した。また、糖尿病治療全般に対する患者満足度を評価する糖尿病治療満足度質問表 (DTSQ)、糖尿病に関連した心理的負担感を評価する糖尿病問題領域質問表 (PAID)、インスリンポンプ治療中の患者向けにカスタマイズされた生活の質の質問票である持続皮下インスリン注入療法関連生活の質尺度 (CSII-QOL) による質問紙調査を併せて実施した。さらに、HCL 導入直後 4 週間における HCL 稼働率 80 % 以上であった 12 人を対象に、導入前と導入直後の CGM データおよび基礎インスリン注入量について、事後に追加分析した。

【結果】最終的に 23 人が追跡を完了し、解析対象とした。TIR は 64.1 [55.8-69.5] % から 70.9 [67.1-74.4] % へ増加し (中央値 [四分位範囲], $p < 0.001$), HbA1c は 7.4 [7.0-7.9] % から 7.1 [6.8-7.4] % へ減少した ($p = 0.003$)。また、TAR は 35.0 [26.8-41.7] % から 26.6 [21.1-30.0] % へ減少したが ($p < 0.001$), TBR は統計学的に有意な変化を認めなかった (1.9 [0.4-3.8] % から 2.6 [0.5-4.8] %, $p = 0.059$)。TIR の変化と各種要因の関連性の検討では、年齢との有意な負の相関関係を認めた ($r_s = -0.438$, $p = 0.036$)。さらに HCL 稼働率 80 % 以上のサブグループ解析では、1 日の基礎インスリン総注入量は変化しなかったが、時間帯別の解析では 8 時、15 時、24 時に明確なピークを持つパターンを示した。夕食時において、基礎インスリン注入量は夕食ボラス注入直後に急速に減少した後、一転して経時的に増加し、210 分後にピークに達した

後、360 分後に夕食前の水準に戻っていた。質問紙調査では、HCL 導入前後での DTSQ, PAID, CSII-QOL のスコアに有意な変化は認められなかった。

【考察】本研究によって、日本人の成人 1 型糖尿病患者においても MiniMed™ 770G によって TIR が大幅に増加し HbA1c が低下するといった血糖コントロール改善効果が実証された。また、低血糖の時間率である TBR を増加させず、かつ患者の満足度、治療負担感、生活の質が損なわれないことを確認した。さらにサブグループ解析により、HCL は超速効型インスリンのボラス注入だけでは対応が困難な、食後 2 時間以上経過した後のインスリン必要量の増加を効果的に補ったことを示唆しており、その結果として HbA1c や TIR などの血糖値関連の指標に顕著な改善がみられた可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

日本で 2022 年に使用可能となった新型インスリンポンプ MiniMed™ 770G は、センサーグルコース値に応じて基礎インスリン注入量を自動的に増減するハイブリッドクローズドループ (HCL) 機能を備えている。しかしながら、日本人の 1 型糖尿病患者を対象とした HCL の血糖値改善効果を示したデータはほとんど存在しない。そこで今回、HCL 導入予定であった成人 1 型糖尿病の患者 25 人を対象に単施設前向き観察研究を行い、(1) MiniMed™ 770G 導入前後の血糖値指標の変化 (2) 基礎インスリン注入パターンの時間帯別解析 (3) 質問紙調査法による治療満足度、心理的負担および QOL の変化についてそれぞれ検討した。

その結果、久保田らは以下の結論を得た。

1. MiniMed™ 770G 導入後、目標血糖値 (70-180 mg/dL) の時間率である TIR は有意に増加し、HbA1c も有意に低下した。また、高血糖の時間率 (TAR) が有意に減少した一方で、低血糖の時間率 (TBR) は統計学的な有意差を認めなかった。さらに、TIR の改善幅と年齢に負の相関関係を認めた。
2. HCL 稼働率 80 % 以上のサブグループにおける基礎インスリン量の解析において、1 日の総注入量は有意差を認めなかったが、HCL 導入後に 8 時、15 時、24 時に明確なピークを持つ 3 峰性パターンを示すことを確認した。夕食時の解析では、食事ボラス注入直後に急速に減少した後、2 時間後に増加に転じ、6 時間後まで基礎インスリン注入量の増加が継続していた。
3. 質問紙調査では、DTSQ, PAID, CSII-QOL の

各スコアは前後で有意な変化を認めなかった。

以上より、日本人の成人1型糖尿病患者においてもMiniMedTM 770GによってTIRが大幅に増加しHbA1cが低下するといった血糖コントロール改善効果が実証された。また、低血糖の時間率は増加せず、かつ患者の治療満足度、心理的負担、QOLのいずれも明らかな低下がないことを確認した。サブグループ解析の結

果より、HCLは超速効型インスリンのボーラス注入だけでは対応困難である食後2時間以降のインスリン必要量の増加を効果的に補うことで、血糖値指標に顕著な改善をもたらした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。

Development of glomerular hyperfiltration, a multiphasic phenomenon（多相現象である糸球体過剰濾過の発生）

島 田 恭 輔

（論文の内容の要旨）

【背景と目的】糸球体過剰濾過（glomerular hyperfiltration, GHF）は、糖尿病における腎障害の最も初期のマーカーであることが明らかになってきており、慢性腎臓病における死亡率の予測因子であることが明らかになってきている。しかし、GHFの病態生理学は完全には特徴づけられておらず、特にGHFの発生に関連した糸球体濾過率（glomerular filtration rate, GFR）の推移はほとんど研究されていない。今回、GHFの発生する前後のGFRの経時的変動およびGHFを予測する因子を明らかにするために研究を行った。

【方法】本研究では、2005年7月から2015年5月までに相澤病院健康センターで健康診断を受けた日本人成人44,841人のデータを解析した。推算GFR（estimated GFR, eGFR）は日本人集団向けに開発された式を使用した。GHFは既報における日本人一般集団の年齢および性別別のeGFRの95%以上と定義した。ベースラインでGHFであった被験者2,571人と慢性腎臓病であった被験者2,397人を除外し、さらに1回限りの健康診断受診者15,891人を除外し、23,982人を分析した。まず、追跡調査中に得られたeGFRのデータについて定義通りにGHFあり群となし群にグループ分けをした。次に、GHFあり群では、eGFRが初めてGHFの基準を満たした日を原点とし、GHF発症を中心とした年数を算出した。GHFなし群では、最も高いeGFRが記録された年を基準として設定し、GHFあり群と同じように前後の年数を算出した。ランダム係数線形混合モデルによって解析した。平均への回帰の影響を避けるため以前に報告されている方法を用いて平均への回帰の効果を推定した。

【結果】GHFあり群は797人（3.3%）、GHFなし群は23,185人（96.7%）であった。eGFRの中央値はGHF

なし群と比較してGHFあり群では有意に上昇し、76.98 vs. 94.06 mL/min/1.73 m²であった（P<0.001）。GHFあり群のほうが糖尿病有病率は約2倍高かった。その他、年齢や収縮期血圧、空腹時血糖、HbA1c、HDLコレステロール、ALT、インスリン感受性はGHFあり群で有意に高く、BMIは有意に低かった。追跡期間中に10回の健診を受けた個人のデータをプロットし軌跡の予備評価を行ったところ、GHFの多相性が明確に認識され、GHFあり群ではGHF域への急上昇と、それに先立つ持続的なeGFRの上昇が明らかとなった。定量分析によりGHFの発生は3つの段階に分けられることがわかった。まず、GHFあり群ではeGFRがGHFの範囲に急上昇する前の少なくとも3.3年間はeGFRが有意に高かった。この期間中GHFあり群でのeGFRの傾き（95%信頼区間は）0.003（-0.188-0.194）mL/min/1.73 m²/年であり、GHFなし群では-0.090（-0.133--0.047）mL/min/1.73 m²/年であった。この段階を第一のフェーズとした。次にeGFRがGHFあり群で急上昇した。この段階を第二のフェーズとした。第三に、GHF後のeGFRの低下の傾きは、GHFあり群のほうが有意に急でありGHFあり群とGHFなし群はそれぞれ-0.984（-1.260--0.707）vs. -0.497（-0.526--0.469）mL/min/1.73 m²/年であった。この衰退期を第三のフェーズとした。GHF発生の予測として、ROC曲線では、ベースラインeGFRがGHF発症の予測因子であり、最適なカットオフ値は86.8 mL/min/1.73 m²であった。

【結論】初期のGHFは多相性の現象であることがわかった。eGFRが基準範囲内であっても持続的に上昇している場合にはGHFの前駆期にある可能性が高く、血糖や体重、血圧といった既知の腎不全危険因子の厳格な管理が必要となる可能性がある。

(論文審査の結果の要旨)

糸球体過剰濾過 (glomerular hyperfiltration, GHF) は、腎障害の最も初期のマーカーであることが明らかになってきているが、GHF の病態生理学は完全には特徴づけられておらず、特に GHF の発生に関連した糸球体濾過率 (glomerular filtration rate, GFR) の推移はほとんど研究されていない。今回、GHF の発生する前後の GFR の経時的変動および GHF を予測する因子を明らかにするために研究を行った。

健康診断を受けた日本人成人44,841人のデータを解析した。GHF は既報における日本人一般集団の年齢および性別別の eGFR の95 %以上と定義し、ベースラインで GHF であった者、慢性腎臓病であった者、1 回限りの健康診断受診者を除外し、23,982人を分析した。追跡調査中に得られた eGFR のデータについて定義通りに GHF あり群となし群にグループ分けをし、eGFR が初めて GHF の基準を満たした日を原点とし、GHF 発症を中心とした年数を算出した。GHF なし群では、最も高い eGFR が記録された年を基準として設定した。ランダム係数線形混合モデルによって解析した。

その結果、島田恭輔は次の結論を得た。

1. GHF の発生は3つの段階に分けられることがわかった。
2. GHF あり群では eGFR が GHF の範囲に急上昇する前に、通常加齢で見られる eGFR の低下のない期間を認め、GHF なし群と比較して有意に eGFR は高かった。次に GHF あり群で eGFR の急上昇を認めた。第三に、GHF 後の eGFR の低下の傾きは、GHF あり群のほうが有意に急峻であった。
3. GHF 発生の予測として、ベースライン eGFR が有用であり、最適なカットオフ値は86.8 mL/min/1.73 m²であった。

これらの結果により、初期の GHF は多相性の現象であることがわかった。eGFR が基準範囲内であっても持続的に上昇している場合には GHF の前駆期にある可能性が高い。これらの人々に、慢性腎臓病の進行予防のために血糖や体重、血圧といった既知の腎不全危険因子の厳格な管理が必要であ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。

High-density lipoprotein functionality in cholesterol efflux in early childhood is related to the content ratio of triglyceride to cholesterol (幼児期における高比重リポタンパクのコレストロール引き抜き機能はコレストロールに対するトリグリセライドの含有率と関係する)

二 木 亜 希 子

(論文の内容の要旨)

【背景】高比重リポタンパク (HDL) の抗粥状動脈硬化作用は広く知られている。これまで心血管疾患 (CVD) 発症リスクの軽減を目的として HDL-コレストロール (HDL-C) 濃度を上げる各種薬剤が開発されているものの、期待通りの結果は得られていない。現在、HDL の量だけではなく、その機能が重要であると考えられている。

HDL の重要な抗粥状動脈硬化作用の1つとして末梢組織に蓄積したコレストロールを肝臓に転送するコレストロール逆転送 (RCT) が知られている。RCT の最初のステップである HDL によるコレストロール引き抜き能力 (CEC) は心血管疾患の負のリスクマーカーとして評価されている。しかし、一般的な CEC の測定法は HDL の本来の機能だけでなく HDL の濃度 (HDL-C) に依存する。本研究では HDL-C 濃度に依存しない HDL の相対的なコレストロール引き抜

き能を評価する方法を考案し、その高低に影響を及ぼす HDL の脂質組成の特徴を明らかにした。

【方法】HDL-C 濃度と CEC の相関に最も適合する曲線回帰式を用いて被験者の HDL-C 値に基づく標準化された CEC (stCEC) を計算し、実測 CEC と stCEC の比率 (CEC/stCEC 比) を本研究の被験者集団における HDL の相対的なコレストロール引き抜き機能と定義した。被験者の年齢層を4群 (生後28日未満、28日～3か月、4～11か月、1歳以上) に分け、CEC および CEC/stCEC 比と HDL の脂質組成の関係について解析を行った。また、出生時の在胎週数および体重がこれらの関係に及ぼす影響について検討した。

【結果と考察】CEC, CEC/stCEC 比, HDL-C, HDL-トリグリセライド (HDL-TG), HDL-TG/HDL-C 比は生後28日未満 (新生児) の群が他の3群より有意に低かった。新生児の CEC が低いのは単に HDL-C 濃度が低いだけでなく、HDL の相対的なコレストロー

ル引き抜き能の低値が要因であることが示唆された。新生児群では日齢3日以下の被験者の割合が高かったことから、HDLの成熟を促すレシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ (LCAT) と、HDL中のTGを増加させるコレステロールエステル輸送タンパク (CETP) の血漿中活性が低いことによると考えられた。また、新生児期にHDL-CとHDL-TGの劇的な増加が認められたが、HDL-TG/HDL-C比はわずかに低下することが示された。これらの結果は、単なるHDL粒子の増加ではなく、新生児期にHDLの脂質組成と粒子サイズが劇的に変化することを示唆している。一方、新生児期のCEC/stCEC比の低値は出生時在胎週数34週未満で顕著であった。出生時体重とCEC/stCEC比にも同様な関係が認められたが、これは出生時在胎週数と出生時体重に強い相関 ($R=0.896$) が認められるためと考えられた。

CEC/stCEC比とHDL-C、HDL-TG、HDL-TG/HDL-C比の相関より、生後3か月以下の2群においてCEC/stCEC比がHDL-TGおよびHDL-TG/HDL-C比と比較的強い相関を示し、生後4か月以上では加齢に伴って相関係数が減衰した。さらに、CEC/stCEC比1.000未満と1.000以上の群の比較において、生後1年未満の3群でHDL-TGとHDL-TG/HDL-C比がCEC/stCECの高低に深く関与していると考えられた。CEC/stCEC比の平均値は4群で異なることから、各年齢群の中央値未満と以上に2分して同様に比較し、CEC/stCECに及ぼすHDL-TGとHDL-TG/HDL-C比の影響が加齢に伴って変化していくことが示唆された。一方、生後1年以上の群では総HDLの脂質組成のCEC/stCEC比への関与は認められず、脂質組成およびサイズの異なるHDL粒子の多様性がCEC/stCEC比の相対的な高低を決定する主要因であると考えられた。

【結語】 CEC/stCEC比は、HDL-C濃度に左右されないHDLの相対的コレステロール引き抜き能の評価に有用であると考えられる。生後1年未満の同機能は、HDL中に含まれるTGの高い含有率に左右される可能性があった。しかし、1歳以上におけるHDLの同機能は、単にHDL-C、HDL-TG、HDL-TG/HDL-C比だけでなく、脂質組成およびサイズの異なるHDL粒子の多様性に依存するところが大きいと考えられた。本研究は、粥状動脈硬化性疾患のリスク軽減のために増加すべきHDLの種類とそれを増加させる手段に関する今後の研究に寄与することが期待される。

(論文審査の結果の要旨)

高比重リポタンパク (HDL) の重要な抗粥状動脈硬化作用の1つとして知られているコレステロール引き抜き能 (CEC) の一般的な測定法は、HDLの機能だけでなくHDLの濃度 (HDL-C) に依存する。本研究ではHDL-C濃度に左右されないHDLの相対的なコレステロール引き抜き能を評価する方法を考案し、その高低に影響を及ぼすHDLの脂質組成の特徴を明らかにした。

HDL-C濃度とCECの相関に最も適合する曲線回帰式を用いて被験者のHDL-C値に基づく標準化されたCEC (stCEC) を計算し、実測CECとstCECの比率 (CEC/stCEC比) を本研究の被験者集団におけるHDLの相対的なコレステロール引き抜き機能と定義した。被験者の年齢層を4群 (生後28日未満, 28日～3か月, 4～11か月, 1歳以上) に分け、CECおよびCEC/stCEC比とHDLの脂質組成、出生時在胎週数、出生時体重の関係について解析を行った。

その結果、二木は次の結論を得た。

1. CEC, CEC/stCEC比, HDL-C, HDL-トリグリセライド (HDL-TG), HDL-TG/HDL-C比は生後28日未満 (新生児) の群が他の3群より有意に低かった。
2. 新生児期のCEC/stCEC比の低値は出生時在胎週数34週未満で顕著であり、出生時体重とCEC/stCEC比にも同様の関係が認められた。
3. 生後3か月以下の2群でCEC/stCEC比がHDL-TGおよびHDL-TG/HDL-C比と比較的強い相関を示し、生後4か月以上では加齢に伴って相関係数が減衰した。
4. 各年齢群におけるCEC/stCEC比1.000未満と1.000以上の群の比較で、CEC/stCECに及ぼすHDL-TGとHDL-TG/HDL-C比の影響が加齢に伴って変化し、生後1年以上の群ではその関与は認めなかった。

これらの結果より、CEC/stCEC比はHDLの濃度に左右されない相対的なコレステロール引き抜き能の評価に有用であることが示唆された。HDL-TGのCEC/stCEC比への関与を明らかにしたことは、HDLによるコレステロール引き抜き機能の研究の進展に寄与する新たな知見であると考えられる。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。

Comparison of Spinous Process-Splitting Laminectomy versus Posterolateral Fusion for Lumbar Degenerative Spondylolithesis (腰椎変性脊椎すべり症に対する棘突起縦割式椎弓切除術と後側方固定術の比較)

黒河内 大輔

(論文の内容の要旨)

【背景】Meyerding 分類 Grade 1 (すべりが軽度) の腰椎変性すべり症に対する外科的治療については、未だコンセンサスが得られていない。近年、いくつかの研究により、棘突起縦割式椎弓切除術 (SPSL) は従来の椎弓切除術と比較して、後方の靱帯成分や傍脊柱筋を温存することで腰椎の安定性を維持することが示されているが、腰椎変性すべり症に限定した SPSL の治療成績に関するエビデンスは乏しい。本研究では、腰椎変性すべり症に対する SPSL とインストゥルメンテーションを用いない後側方腰椎固定術 (PLF) の手術成績とグローバルアライメントの変化を比較した。

【方法】SPSL (47例) または PLF (63例) を受けた Meyerding 分類 Grade 1 の腰椎変性すべり症患者 110 例で、最低 1 年間の追跡調査を行った。手術適応は、腰椎不安定性を伴わない馬尾症候群または馬尾もしくは神経根圧迫による神経根症であった。

【結果】1 椎間あたりの平均手術時間および術中出血量は、SPSL 群と PLF 群で同等であった。Japanese Orthopaedic Association scores, Oswestry disability index, visual analog scale scores は、両群とも術前と比較して術後 1 年目に有意かつ同等に改善した。術後 1 年目における Grade 2 までのすべり進行および 5 % 以上のすべり進行の椎体数は両群で同程度であった。SPSL 群では、術後 1 年目の平均 pelvic tilt (PT) が有意に減少した。PLF 群では、術後 1 年の時点で、平均腰椎前弯角 (LL) は有意に増加し、sagittal vertical axis, PT, pelvic incidence -LL は有意に減少した。

【結論】Meyerding 分類 Grade 1 の腰椎変性すべり症に対する SPSL は、インストゥルメンテーションを用いない PLF と比較して、術後 1 年でのすべり進行および臨床転帰において同等の結果を示した。

(論文審査の結果の要旨)

Meyerding 分類 Grade 1 (すべりが軽度) の腰椎変性すべり症に対する外科的治療については、未だコンセンサスが得られていない。近年、いくつかの研究により、棘突起縦割式椎弓切除術 (SPSL) は従来の椎弓切除術と比較して、後方の靱帯成分や傍脊柱筋を温存することで腰椎の安定性を維持することが示されているが、腰椎変性すべり症に限定した SPSL の治療成績に関するエビデンスは乏しい。今回、腰椎変性すべり症に対する SPSL とインストゥルメンテーションを用いない後側方腰椎固定術 (PLF) の手術成績とグローバルアライメントの変化を比較した。

対象は、SPSL (47例) または PLF (63例) を受けた Meyerding 分類 Grade 1 の腰椎変性すべり症患者 110 例で、最低 1 年間の追跡調査を行った。手術適応は、腰椎不安定性を伴わない馬尾症候群または馬尾もしくは神経根圧迫による神経根症であった。

その結果、黒河内大輔は次の結論を得た。

1. 1 椎間あたりの平均手術時間および術中出血量は、SPSL 群と PLF 群で同等であった。
2. Japanese Orthopaedic Association scores, Oswestry disability index, visual analog scale scores は、両群とも術前と比較して術後 1 年目に有意かつ同等に改善した。
3. 術後 1 年目における Grade 2 までのすべり進行および 5 % 以上のすべり進行の椎体数は両群で同程度であった。

これらの結果より、Meyerding 分類 Grade 1 の腰椎変性すべり症に対する SPSL は、インストゥルメンテーションを用いない PLF と比較して、術後 1 年でのすべり進行および臨床転帰において同等の結果を示した。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。

Comparison of PLIF/TLIF and LLIF for two level degenerative lumbar spondylolisthesis (2 椎間腰椎変性すべり症に対する PLIF/TLIF と LLIF の比較)

福澤 拓馬

(論文の内容の要旨)

【目的】 後方腰椎椎体間固定術 (Posterior Intervertebral Fusion 以下 PLIF) と経椎間孔的腰椎椎体間固定術 (Transforaminal Lumbar Intervertebral Fusion 以下 TLIF) は、腰椎変性すべり症に対する従来の手術方法である。近年では側方椎体間固定術 (XLIF) や斜側方椎体間固定術 (OLIF) として行われる側方経路腰椎椎体間固定術 (Lateral Lumbar Interbody Fusion : LLIF) も、広く用いられている。本研究の目的は 2 椎間の腰椎変性すべり症に対して、PLIF または TLIF を用いた後方椎体間固定術と LLIF とで、手術侵襲、術後成績、および sagittal spinal alignment への影響を比較することである。

【方法】 2 椎間の腰椎変性すべり症に対して手術を受け、術後経過を 1 年以上追跡できた 23 名 (男性 5 名、女性 18 名) を対象とした。15 名の患者が 2 椎間の PLIF または TLIF を受け (後方群)、8 名の患者が XLIF または OLIF を受けた (LLIF 群)。調査項目は、手術時間、出血量、術前の %slip、術前の矢状面パラメータ (sagittal vertical axis [SVA], lumbar lordosis [LL], pelvic tilt [PT], pelvic incidence [PI], PI-LL)、術後 1 年の %slip、矢状面パラメータ、骨癒合率、術前および術後の VAS, JOA スコア、合併症の有無とした。

【結果】 2 群間の年齢、手術時年齢に有意差は認められなかった。術前 %slip や全脊椎アライメントも有意差は認めなかった。LLIF 群では、後方群に比べて出血量が有意に少なく (後方群 319 ± 168 mL vs. LLIF 群 111 ± 84 mL)、手術時間も短かった (後方群 259 ± 48 分 vs. LLIF 群 184 ± 54 分)。術後 1 年の PI-LL $\leq 10^\circ$ の症例数は LLIF 群が有意に多かった (6/15 例 vs. 8/8 例)。両群とも、術後 1 年で JOA スコアが有意に改善した (後方群 $13.0 \pm 5.5 \rightarrow 23.9 \pm 5.6$, LLIF 群 $15.8 \pm 2.8 \rightarrow 22.4 \pm 3.8$ いずれも $p < 0.01$)。

【結論】 両群とも術前より術後 JOA スコアは改善しており、PLIF/TLIF, LLIF 共に 2 椎間の腰椎変性すべり症に対して有効な術式であることが確認できた。LLIF は従来の後方椎体間固定術と比較して、2 椎間の腰椎変性すべり症の sagittal spinal alignment の維

持において、同等以上の効果があった。今後、症例数を増やし、その他の低侵襲手術方法を含めた更なる検討が必要と考える。

(論文審査の結果の要旨)

後方腰椎椎体間固定術 (Posterior Intervertebral Fusion 以下 PLIF) と経椎間孔的腰椎椎体間固定術 (Transforaminal Lumbar Intervertebral Fusion 以下 TLIF) は、腰椎変性すべり症に対する従来の手術方法である。近年では側方椎体間固定術 (XLIF) や斜側方椎体間固定術 (OLIF) として行われる側方経路腰椎椎体間固定術 (Lateral Lumbar Interbody Fusion : LLIF) も、広く用いられている。単椎間の変性すべり症における椎体間固定術で、後方椎体間固定術と LLIF との成績を比較した報告は複数存在するが、2 椎間の腰椎変性すべり症に対して両術式を比較した詳細な報告は稀である。そこで、PLIF または TLIF を用いた後方椎体間固定術と LLIF とで、手術侵襲、術後成績、および sagittal spinal alignment への影響を比較した。

対象は、2 椎間の腰椎変性すべり症に対して手術を受け、術後経過を 1 年以上追跡できた 23 名 (男性 5 名、女性 18 名) とした。15 名の患者が 2 椎間の PLIF または TLIF を受け (後方群)、8 名の患者が XLIF または OLIF を受けた (LLIF 群)。調査項目は、手術時間、出血量、術前の %slip、術前の矢状面パラメータ (sagittal vertical axis [SVA], lumbar lordosis [LL], pelvic tilt [PT], pelvic incidence [PI], PI-LL)、術後 1 年の %slip、矢状面パラメータ、骨癒合率、術前および術後の VAS, JOA スコア、合併症の有無とした。その結果、福澤拓馬は次の結論を得た。

1. 手術時間および術中出血量は、LLIF 群で有意に少なかった。
2. 術後 1 年時画像検査で良好な全脊椎アライメント (PI-LL $\leq 10^\circ$) を維持した症例は LLIF 群で有意に多かった。
3. Japanese Orthopaedic Association scores, visual analog scale scores は、両群とも術前と比較して術後 1 年目に有意かつ同等に改善した。

これらの結果より、2 椎間変性すべり症に対する LLIF は、後方椎体間固定術 = PLIF または TLIF と

比較して、低侵襲かつ術後1年での良好なアライメント維持において、より有利である結果を示した。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。

A Novel ELISA System for Measuring Modified LDL-adiponectin Complex (変性 LDL-アディポネクチン複合体測定のための新規 ELISA 法)

笹岡 真衣

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 アディポネクチンは主に脂肪細胞から分泌され、インスリン感受性の向上やエネルギー代謝に関与する。抗動脈硬化作用や抗炎症作用も持つと言われ、CRP の発現調節、NF- κ B シグナルやマクロファージからの TNF- α 分泌の抑制や、抗動脈硬化作用を示す個体レベルの実験データが多数報告されている。一方、血中アディポネクチン濃度と動脈硬化性疾患の発症との相関は一貫せず、その抗動脈硬化作用から単純に説明することは出来ない。そのような中、アディポネクチンが変性 LDL (modified LDL, mLDL) と複合体を形成し、その活性を阻害することが培養細胞レベルで明らかとなった (Kakino A et al. J Lipid Res. 2021)。そこで、本研究では、アディポネクチンと mLDL-アディポネクチン複合体 (mLDL-adiponectin complex, MAC) の新規測定法開発を行い、MAC 形成の組織レベル、およびヒトでの意義解明を目的とし研究を行った。

【方法と結果】 まず、アディポネクチンの T-カドヘリン結合活性 (T-cadherin bindable adiponectin, Tcad-AN) を測定する新規 ELISA 法を樹立した。この測定法では、T-カドヘリンを捕捉蛋白質とし、抗アディポネクチン抗体で検出を行った。様々な疾患・背景をもつ患者 (n=39) の血清を用いて解析を行った結果、従来法で測定した総アディポネクチンと高分子量アディポネクチンとの相関は非常に強かったが、これらと Tcad-AN との相関は弱かった。すなわち、血液中の様々な介在因子により影響を受けている可能性があり、それらを反映したアディポネクチン活性がこの系により測定されていると考えられた。

さらに、MAC 測定の新規 ELISA 測定系を樹立した。この系では、変性 LDL 受容体 LOX-1 を捕捉蛋白質とし、抗アディポネクチン抗体で検出を行った。まず、in vitro で mLDL およびアディポネクチン濃度依存性に MAC が検出されることを確認した。次に、透析患者 (n=35) と健常者 (n=35) の血清サンプルを用いて MAC 濃度を測定したところ、70検体中38検

体でこの測定系で検出可能な濃度の MAC が存在し、透析患者群では MAC 高値の割合が健常者群より有意に高かった。そこで透析患者で、MAC 高値群と低値群との間で解析を行うと、酸化 (変性) LDL 濃度の絶対値には有意差がない一方で、変性 LDL の生理活性が MAC 高値群では有意に低下していた。すなわち、ヒトの血液中でアディポネクチンが MAC 形成を介して mLDL の活性を抑制する可能性が示唆された。

次に、ラット腸間膜動脈を用いて wire-myography 法で内皮依存性血管弛緩反応を測定した。先行研究では、mLDL 処置により血管内皮依存性のメチルコリン誘発性血管弛緩反応が損なわれることが示されている (Morton JS et al. Front Physiol. 2017)。本研究では、この mLDL による血管弛緩障害がアディポネクチン投与により抑制されることを見出した。また、LOX-1 に対する抗体を投与しても、さらなる抑制作用はみられなかったことから、アディポネクチンが、血管組織レベルで変性 LDL の内皮細胞変性 LDL 受容体 LOX-1 への作用を MAC 形成を介して抑制することが示唆された。

【結論】 MAC 形成は組織レベルで mLDL の血管障害作用を抑制し、ヒト血液中においても同様な機能を持つことが示唆された。今後、測定系の感度向上に努め、より大規模な集団において解析を行い、アディポネクチンの MAC 形成を介した動脈硬化抑制作用の可能性について研究を進めたい。

(論文審査の結果の要旨)

アディポネクチンは脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインで、一般的に善玉アディポサイトカインと呼ばれるように、アディポネクチンが抗動脈硬化作用を示す実験データは数多く報告されている。しかし、血中アディポネクチン濃度と動脈硬化性疾患の発症との相関については一貫した見解が得られておらず、これまでの研究で説明できていないアディポネクチンの機能から改めて考え直す必要があると考えられる。また、真の悪玉コレステロールとされている変性 LDL は、LDL の蛋白質成分であるアポ B や脂質成分が酸

化などの修飾を受けたもので、血管内皮やマクロファージに存在する変性 LDL 受容体に結合することで、動脈硬化を促進すると言われている。このような中、in vitro の実験で、アディポネクチンは選択的に（酸化）変性 LDL に結合し、（酸化）変性 LDL の培養内皮細胞への取り込みを阻害するとともに、（酸化）変性 LDL の培養内皮細胞での炎症性遺伝子発現誘導を抑制することが最近明らかにされた。

本研究では、ヒトの体内で、アディポネクチンが変性 LDL と複合体を形成することにより、変性 LDL の持つ動脈硬化促進作用を中和するのではないかと考え、複合体を定量する新規測定法の開発とその意義を検討した。

その結果、笹岡は次の結果を得た。

1. アディポネクチンの T-カドヘリン結合活性（T-cadherin bindable adiponectin, Tcad-AN）を測定する新規 ELISA 法を樹立した。
2. 変性 LDL 受容体 LOX-1 を捕捉タンパク質とし、抗アディポネクチン抗体で検出を行うことにより、変性 LDL-アディポネクチン複合体（mLDL-adiponectin complex, MAC）を測定する新規 ELISA 系を樹立した。

3. 上記 MAC 測定法により、対象者の約半数の血清中で、検出可能なレベルの MAC を検出可能であった。

4. 透析患者群では、健常者群と比べ、血清アディポネクチン、変性 LDL 活性が有意に高く、MAC 高値者の割合が有意に高かった。

5. 透析患者 MAC 高値群では、低値群と比べ、（酸化）変性 LDL の濃度に差はなかったが、変性 LDL 活性は有意に低く、アディポネクチンが MAC 形成を介して変性 LDL の活性を抑制している可能性が示唆された。

6. ラット腸間膜動脈を用いた内皮依存性血管弛緩反応の解析では、MAC 形成により変性 LDL による血管機能障害が抑制された。

以上のことから、本論文では、ヒト血液中で、変性 LDL-アディポネクチン複合体形成が変性 LDL の病的作用を抑制する可能性を示している。また、血管機能と関連する可能性がある新規バイオマーカーである MAC 測定法の開発にも成功した。

これらの新規知見、および研究開発の将来性は大変意義深いものであり、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。

Relationship between self-rated health, physical frailty, and incidence of disability among Japanese community-dwelling older adults: A longitudinal prospective cohort study（日本人高齢者における主観的健康感とフレイル、障がい発生との関連性：縦断的前向きコホート研究）

山 口 亨

（論文の内容の要旨）

【背景と目的】世界的に高齢化が進み、生活機能障がいを持つ高齢者数も増加している。個人のみならず社会的な負担軽減のためには、生活機能障がいに対する理解が重要である。主観的健康感とは、個人の健康状態に対する認識を反映する主観的評価指標で、その評価が簡便でありながら、生活機能障がいの予測因子として位置づけられている。一方、客観的健康状態を示す身体的フレイルは、健康と生活機能障がいとの間の中間的な存在として認識されており、生活機能障がいの予測因子にもなっている。これらの因子は互いに関連があるが主観的な健康状態と実際の健康状態は必ずしも一致しない。それゆえ、生活機能障がいに対して両者が相乗的または相殺的に関連する可能性があるが、その関連は十分に明らかとなっていない。この関連を明らかにすることは、生活機能障がい予防の対象集団

の特定と早期介入に役立つと考えられる。本研究は、地域在住高齢者における主観的健康感、身体的フレイル、および生活機能障がいとの関連について検討することを目的とした。

【方法】高齢者機能健診に参加した地域在住高齢者 4,167 名のうち、除外基準該当者を除く 2,838 名（平均年齢 73.1 ± 5.9 歳、女性 56.1 %）が対象となった。ペースライン調査として、主観的健康感と身体的フレイルを評価した。主観的健康感の回答により、対象者を Good 群（主観的に健康）と Poor 群（主観的に不健康）に分類した。身体的フレイルは、日本版 CHS 基準もとに定義し、対象者を Robust 群（頑健）と Frail 群（身体的フレイル）に分類した。

生活機能障がいは、自治体から受領した介護保険認定情報をもとに 5 年間の追跡期間中に要支援、または要介護のいずれかの新規認定がなされた場合と定義し

た。対象者が追跡期間中に他の都市へ転居した場合、または死亡した場合は追跡が打ち切られた。

対象者を主観的健康感と身体的フレイルの状態によって4群に分類し、ベースライン調査から5年間の生活機能障がい発生を従属変数、各群を独立変数とし、共変量で調整した多変量Cox比例ハザード回帰分析を実施した。また性別で層別化した感度分析を実施した。

【結果】対象者の追跡期間の中央値は60か月であり、追跡期間中に349名(12.3%)に生活機能障がいの発生を認めた。各群の1,000人年当たりの生活機能障がい発生率は、Good/Robust群:18.0(95%CI:15.5-20.7), Poor/Robust群:38.0(29.4-49.1), Good/Frail群:95.7(75.2-121.7), Poor/Frail群:78.8(57.9-107.3)であった。多変量分析による生活機能障がいに対するHRは、Good/Robust群に対し、Poor/Robust群:1.64(95%CI 1.20-2.25), Good/Frail群:2.58(1.91-3.49), Poor/Frail群:2.03(1.37-3.01)であった。性別による感度分析では男女で異なる結果が示され、女性ではGood/Frail群:1.92(1.24-2.98)のみ有意な関連を示したが、男性ではすべての群で関連を示し、Good/Frail群:3.51(2.29-5.37)が最も高いHRを示した。

【考察】本研究では、主観的健康感と身体的フレイルの複合的な効果と性差に注目し、5年間の生活機能障がいとの関連について検討した。その結果、自身を健康だと認識している身体的フレイル高齢者(Good/Robust群)では、男女ともに生活機能障がいの発生と有意に関連することが明らかとなった。

一般的に良好な主観的健康感健康アウトカムに有益な効果をもたらすが、身体的フレイルを有する高齢者に対しては有益に働かない可能性が示唆された。これは、自身の健康に対する楽観的な態度が、座りがちな生活や偏った食事、喫煙などの健康リスク行動を選択しやすくする可能性があるためと考えられる。また、感度分析から、女性においては自身を不健康だと認識する高齢者(Poor/Robust群, Poor/Frail群)では関連が認められなかった。女性は、男性に比べ主観的に不健康だと考える場合が多い一方で、運動やバランスの良い食事、禁煙といった健康行動を選択することが多いことが報告されている。そのため、女性では不健康という認識がその不健康さを克服しようと行動変容を促し、生活機能障がいとの関連に影響した可能性が考えられる。

【結論】高齢者の健康認識と身体的な健康状態との関

係性が生活機能障がいに関連があり、性別によってその関連が異なる可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

主観的健康感と身体的フレイルは生活機能障がいの予測因子である。これらの因子は互いに関連があるが主観的な健康状態と実際の健康状態は必ずしも一致しない。それゆえ、生活機能障がいに対して両者が相乗的または相殺的に関連する可能性があるが、その関連は十分に明らかとなっていない。今回、両者の関係性と生活機能障がいとの関連を縦断観察研究にて検討した。

対象者は地域在住高齢者2,838名であった。ベースライン調査として、主観的健康感と身体的フレイルを評価した。主観的健康感の回答により、対象者をGood群(主観的に健康)とPoor群(主観的に不健康)に分類した。身体的フレイルは、日本版CHS基準もとに定義し、対象者をRobust群(頑健)とFrail群(身体的フレイル)に分類した。最終的に、対象者を主観的健康感と身体的フレイルの状態によって4群に分類した。生活機能障がいは、自治体から受領した介護保険認定情報をもとに5年間の追跡期間中に要支援、または要介護のいずれかの新規認定がなされた場合と定義した。Cox比例ハザード回帰分析を使用して、4群の生活機能障がいに対するHRを算出した。また感度分析として性差の影響を検討した。

その結果、山口は次のような結論を得た。

1. Good/Robust群と比較して、Poor/Robust群、Good/Frail群、Poor/Frail群のすべての群で生活機能障がいリスクが有意に高く、Good/Frail群の生活機能障がいリスクが最も高値を示した。
2. 男性では、Good/Robust群と比較して、すべての群で生活機能障がいリスクが有意に高かった。
3. 女性では、Good/Robust群と比較して、Good/Frail群で生活機能障がいリスクが有意に高かったが、Poor/Robust群とPoor/Frail群では有意な関連を認めなかった。

これらの結果より、生活機能障がいのリスクは、主観的健康感と身体的フレイルとの関係性と関連があることが示された。また、その関連は性別によって異なる可能性が示された。生活機能障がいのリスク把握には、主観的な健康認識と客観的な健康状態の包括的な理解、さらには性差の違いを理解することが重要であることが示唆された。生活機能障がい予防の対象集団の特定と早期介入の立案に役立つと考えられる。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。

Pulmonary metastases from malignant melanoma showing ground-glass opacity nodules (すりガラス濃度結節を呈する悪性黒色腫の肺転移に関する検討)

轟 圭 介

(論文の内容の要旨)

【背景】肺転移は境界明瞭で多発する充実性結節 (solid nodule, SN) が一般的であるが、時に非典型的な所見を呈する。非典型的な肺転移の1例として、すりガラス濃度を呈する転移があり、膀胱癌、大腸癌、小腸癌、乳癌、卵巣癌などで生じるとの報告がある。悪性黒色腫の患者の肺転移がすりガラス濃度を呈するという報告は複数認めるものの、正確な頻度は不明とされる。研究開始時点において、悪性黒色腫にすりガラス濃度を呈する肺転移が生じやすいとの一般的な認識はされていない。すりガラス濃度結節 (ground-glass nodule, GGN) は一般的には肺腺癌と考えられ、肺腺癌の増大速度は緩徐である場合が多い。一方で、悪性黒色腫肺転移の増大速度は早い場合が多い。悪性黒色腫の肺転移と肺腺癌の治療方針は異なり、両者を鑑別することは非常に重要である。そのため、すりガラス濃度を呈する肺転移が稀でないかと判明した場合には、悪性黒色腫患者の肺にすりガラス濃度を呈する結節を認めた際の経過観察の方針に大きく影響を与える可能性が考えられる。この研究の目的は悪性黒色腫の患者におけるすりガラス濃度を呈する肺転移の頻度と特徴を明らかにすることである。

【方法】2012年4月1日～2021年12月31日までの期間で以下の選択基準をすべて満たし、除外基準のいずれにも該当しない症例を抽出した。選択基準：(i) 胸部CT画像が信州大学医学部附属病院の画像サーバーに保存されている悪性黒色腫の患者、(ii) 外科手術または生検により悪性黒色腫と診断された患者。除外基準：(i) 肺転移のない患者、(ii) 薄切りCT画像 (≤ 3 mm) が無い患者、(iii) uveal メラノーマの患者。最終的な研究対象集団は87名であった。胸部放射線科医2名が胸部CTを評価し、以下の特徴を1つでも満たすものを肺転移と診断した。(i) 胸部CTで多発する類円形の結節という典型的な肺転移の画像所見を認めた症例、(ii) 経過観察の胸部CTで複数の増大結節、あるいは複数の結節が全身療法で縮小した症例、(iii) 手術により悪性黒色腫の肺転移の組織病理学的診断が得られた症例。また、肺転移がSNかGGNかを判断し、肺転移の数が、タイプ1：SNのみの患者、タイプ2：

SN>GGNの患者、タイプ3：GGN $\geq$ SNの患者、タイプ4：GGNのみの患者に分類した。充実性結節の肺転移を有する患者 (タイプ1) をSN group、すりガラス濃度の肺転移を有する患者 (タイプ2, 3, 4) をGGN groupに分類し、解析を行った。また、どちらの肺転移がより数が多いかという点に着目し、SNの方がより多い患者群 (タイプ1, 2) をSN-dominant pattern、GGNの方がより多い患者群 (タイプ3, 4) をGGN-dominant patternとして解析を行った。SN、GGNのそれぞれの腫瘍倍加時間の検討を行った。悪性黒色腫はmucosal, cutaneous, acral, unknownに分類して解析を行った。

【結果、考察】肺転移を有する患者の13/87例 (14.9%) にGGNが認められた。これはGGN肺転移を呈する頻度が高いとされる膀胱癌 (過去の報告で13.2%) と同程度であった。腫瘍倍加時間は、GGNで 52.0 ± 33.5 日 (10.9～111日)、SNで 43.8 ± 27.5 日 (9.4～115.3日) であった。肺腺癌の腫瘍倍加時間 (過去の報告で1～数年) と比較し非常に短く、肺腺癌との鑑別点になると考えられた。

悪性黒色腫の病型による検討では、GGN groupは、acral メラノーマよりもmucosal メラノーマの患者が多かった ($p=0.0478$) が、mucosal メラノーマとcutaneous メラノーマの頻度に有意差は認めなかった ($p=0.0670$)。GGN-dominant patternの患者群ではmucosal メラノーマの割合は、acral メラノーマ、cutaneous メラノーマの割合よりも高かった (mucosal vs. acral $p=0.0342$, mucosal vs. cutaneous, $p=0.0344$)。過去に報告されたGGNを呈する肺転移の悪性黒色腫の病型はmucosal メラノーマ1例、cutaneous メラノーマ2例、acral メラノーマ1例、uveal メラノーマ1例と様々であり、mucosal メラノーマでGGNを呈する肺転移が生じやすいかどうかはさらなる症例の蓄積が望まれる。

【結語】GGNを呈する肺転移を有する悪性黒色腫の患者頻度は14.9%であり、頻度は高いと考えられる。腫瘍倍加時間が悪性黒色腫の肺転移と肺腺癌との鑑別に有用と考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

悪性黒色腫の肺転移がすりガラス濃度結節 (ground-glass nodule, GGN) として認める正確な頻度に関する報告は過去に認めず、悪性黒色腫の肺転移が GGN として認める頻度や特徴を明らかにするための研究が行われた。2012年4月1日から2021年12月31日の10年間に於ける信州大学医学部附属病院での悪性黒色腫の肺転移の患者87名を対象とした。肺転移が GGN か充実性結節 (solid nodule, SN) かを評価し、肺転移の数が、タイプ1: SN のみの患者、タイプ2: SN>GGN の患者、タイプ3: GGN $\geq$ SN の患者、タイプ4: GGN のみの患者に分類した。SN の肺転移を有する患者 (タイプ1) を SN group, GGN の肺転移を有する患者 (タイプ2, 3, 4) を GGN group に分類し、解析を行った。また、SN の方がより多い患者群 (タイプ1, 2) を SN-dominant pattern, GGN の方がより多い患者群 (タイプ3, 4) を GGN-dominant pattern として解析を行った。SN, GGN のそれぞれの腫瘍倍加時間の検討を行った。悪性黒色腫は mucosal, cutaneous, acral, unknown に分類して解析を行った。

悪性黒色腫肺転移87名のうち、13名 (14.9%) に GGN として認める肺転移を認めた。GGN として認める肺転移の腫瘍倍加時間は 52.0 ± 33.5 日であり、肺腺

癌の腫瘍倍加時間 (1年~数年) と比較し短かった。GGN group は、acral メラノーマよりも mucosal メラノーマの患者が多かった ($p=0.0478$) が、mucosal メラノーマと cutaneous メラノーマの頻度に有意差は認められなかった ($p=0.0670$)。GGN-dominant pattern の患者群では mucosal メラノーマの割合は、acral メラノーマ, cutaneous メラノーマの割合よりも高かった (mucosal vs. acral $p=0.0342$, mucosal vs. cutaneous, $p=0.0344$)。

その結果、轟は次の結論を得た。

1. 悪性黒色腫の肺転移が GGN として認められる頻度は14.9%である。
2. GGN として認める悪性黒色腫の肺転移の腫瘍倍加時間は 52.0 ± 33.5 日であり、肺腺癌の腫瘍倍加時間より短い。
3. mucosal メラノーマで悪性黒色腫の肺転移が GGN として認める頻度が高い。

これらの結果により、悪性黒色腫の肺転移が GGN として認める頻度は14.9%と高く、腫瘍倍加時間が悪性黒色腫の肺転移と肺腺癌の鑑別に有用であると結論付けた。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。

Associations between prenatal exposure to per- and polyfluoroalkyl substances and wheezing and asthma symptoms in 4-year-old children: The Japan Environment and Children's Study (妊婦の有機フッ素化合物 (PFAS) ばく露と生まれた子どもの4歳時におけるぜん鳴・ぜん息症状の有無との関連: 子どもの健康と環境に関する全国調査)

安 宅 拓 磨

(論文の内容の要旨)

【背景・目的】 ヒト免疫系は有機フッ素化合物 (Per- and polyfluoroalkyl substances, PFAS) の既知の標的であるが、出生前の PFAS ばく露と小児におけるぜん息との関連は明らかでない。過去の疫学研究はいずれも小規模 (3,000人未満) であり、関連を明らかにするためにより大規模な研究が必需であった。本研究では、子どもの健康と環境に関する全国調査 (エコチル調査) の17,856組の母子を対象に、母親の妊娠中の PFAS ばく露と生まれた子どもの4歳時におけるぜん鳴およびぜん息症状の有無との関連を検討した。

【方法】 エコチル調査のデータを用いて本研究を実施した。母親の妊娠前期における6種類の PFAS (PFOA, PFNA, PFDA, PFUnA, PFHxS, PFOS) の血中

濃度によりばく露を評価した。子どものぜん鳴およびぜん息症状の有無については、ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) 質問票の回答に基づき、4歳時における「ぜん鳴の既往」、「現在のぜん鳴」、「現在の重度のぜん息」、「ぜん息の既往」を確認した。加えて、対応する質問への回答により「ぜん息の診断」の有無についても把握した。母親の妊娠中の血中 PFAS 濃度と子どものぜん鳴およびぜん息症状の有無との関連について、多重ロジスティック回帰分析により検討した。 p 値 < 0.05 を統計学的に有意としたが、多重検定による第一種過誤を考慮し、主解析においては p 値 $< 0.05 / (6 \text{ 種類の PFAS} \times 5 \text{ つのアウトカム}) = 0.05 / 30 = 0.0017$ を有意とした。

【結果】 解析対象とした17,856組の母子のうち、子ど

もの「ぜん鳴の既往」,「現在のぜん鳴」,「現在の重度のぜん息」,「ぜん息の既往」,「ぜん息の診断」の有病率はそれぞれ29.0 %, 14.1 %, 4.1 %, 11.9 %, 8.8 %であった。6種類のPFASのうち濃度の中央値はPFOS (3.00 ng/mL) が最も高く、次いでPFOA (1.70 ng/mL), PFNA (1.40 ng/mL) の順であった。PFOA濃度の2倍の増加に関連する「ぜん鳴の既往」のオッズ比は0.94 (95 %信頼区間: 0.90-0.98; p 値=0.005) であった。PFOA およびPFHxS濃度の2倍の増加に関連する「ぜん息の既往」のオッズ比は0.94 (95 %信頼区間: 0.88-1.00; p 値=0.044) および0.95 (95 %信頼区間: 0.90-0.99; p 値=0.025) であった。これらの関連はBonferroniの補正後には有意でなくなった。ばく露反応曲線はほぼ平坦な直線であった。子どもの性別および母親のぜん息の有無による層別化では明確な差は見られなかった。地域による層別化では、関連の不均一性が見られた。対象とした6種類のPFASを混合物として評価した場合にも有意な関連は見られなかった。

【考察】 本研究では、母親の妊娠中の血中PFAS濃度と子どものぜん鳴およびぜん息症状との明確な関連は見られなかった。本研究の限界点として、(1)ぜん鳴およびぜん息症状が質問票により定義されていること、(2)母親の血中PFAS濃度のみを調べており、子どものPFAS濃度が調べられていないこと、(3)比較的低濃度ばく露の一般集団を対象としているため、より高濃度ばく露においては得られた結果が適用できない可能性があること、(4)日本の居住者のみを対象としているため他の国の居住者への一般化可能性は限られること、(5)観察研究のため未測定の交絡因子の影響が否定できないこと、(6)いくつかの関連はBonferroniの補正前には有意であったものの、関連の効果量は小さくいずれもBonferroniの補正後に有意でなかったこと、などが挙げられる。

【結論】 本研究では、母親の妊娠中の血中PFAS濃度と子どものぜん鳴およびぜん息症状の有無との間に明確な関連は見られなかった。しかしながら、長期的な影響については今後の研究が必要である。

(論文審査の結果の要旨)

出生前の有機フッ素化合物 (Per- and polyfluoroalkyl substances, PFAS) ばく露と小児におけるぜん息との関連は明らかでない。本研究では、エコチル調査の17,856組の母子を対象に、母親の妊娠中の血中PFAS濃度と生まれた子どもの4歳時におけるぜん鳴およびぜん息症状の有無との関連を検討した。

母親の妊娠中のPFASばく露は、妊娠前期における6種類のPFAS (PFOA, PFNA, PFDA, PFUnA, PFHxS, PFOS) の血中濃度により評価した。子どものぜん鳴およびぜん息症状の有無は、質問票の回答に基づき、4歳時における「ぜん鳴の既往」,「現在のぜん鳴」,「現在の重度のぜん息」 および「ぜん息の既往」を確認した。加えて、「ぜん息の診断」の有無についても把握した。母親の妊娠中の血中PFAS濃度と子どものぜん鳴およびぜん息症状の有無との関連は、多重ロジスティック回帰分析により検討した。

その結果、安宅は次の結果を得た。

1. PFOA濃度が2倍の増加に関連する「ぜん鳴の既往」のオッズ比は0.94 (95 %信頼区間: 0.90-0.98) であった。PFOA およびPFHxS濃度の2倍の増加に関連する「ぜん息の既往」のオッズ比は0.94 (0.88-1.00) および0.95 (0.90-0.99) であった。これらの関連はBonferroniの補正後には有意でなくなった。
2. 血中PFAS濃度とぜん鳴、ぜん息症状に関するばく露反応曲線はほぼ平坦な直線であった。
3. 子どもの性別および母親のぜん息の有無による層別化では明確な差は見られなかった。
4. 地域による層別化では、関連の不均一性が見られた。

本研究では、母親の妊娠中の血中PFAS濃度と子どものぜん鳴およびぜん息症状の有無との間に明確な関連は見られなかった。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。

Hydralazine Lowers Serum Triglyceride Levels by Enhancing Farnesoid X Receptor Signaling and Adipose Triglyceride Lipase Expression: In Vivo Evidence from Male Spontaneously Hypertensive Rats (ヒドララジンはファルネソイドX受容体シグナルと脂肪細胞特異的トリグリセリドリパーゼ発現を増強することにより血清トリグリセリドを低下させる：雄性自然発症高血圧ラットでのエビデンス)

ZHANG XUGUANG

(論文の内容の要旨)

【Introduction】 Hydralazine (HYD) is a direct-acting vasodilator primarily used in the management of severe hypertension and related conditions, including heart failure and eclampsia. It exhibits high solubility and low permeability and is primarily metabolized in the liver. A previous study using spontaneously hypertensive rats (SHRs) has shown that HYD attenuated hepatic steatofibrosis induced by a high-fat high-cholesterol diet. However, the effects of HYD on lipid metabolism remain unclear. This study aimed to examine the effects of HYD on serum/liver lipid profiles and to assess the possible mechanisms.

【Methods】 Male SHRs (8 weeks of age) were maintained on a stroke-prone diet and then randomly divided into two groups. One group was administered freely with drinking water containing HYD (60mg/L), and the other was with water only as a control group, both for 4 or 10 weeks, and subjected to biochemical analysis using serum/liver and hepatic mRNA analysis using quantitative PCR.

【Results】 Blood pressure and serum triglyceride (TG) levels were significantly reduced after 4- and 10-week HYD treatment. Both HYD treatments markedly increased hepatic mRNA levels of the genes encoding small heterodimer protein (SHP), a typical target gene of farnesoid X receptor (FXR), and adipose TG lipase (ATGL). After 10-week HYD treatment, the expression of peroxisome proliferator-activated receptor α was also significantly elevated, coinciding with reduced serum TG levels.

【Conclusion】 These findings suggest that HYD lowers lipid levels primarily by activating the FXR signaling pathway and enhancing ATGL expression, highlighting a novel pharmacological role of HYD in lipid metabolism.

(論文審査の結果の要旨)

Hydralazine (HYD) is a direct-acting vasodilator primarily used in the management of severe hypertension and related conditions, including heart failure and eclampsia. It exhibits high solubility and low permeability and is primarily metabolized in the liver. A previous study using spontaneously hypertensive rats (SHRs) has shown that HYD attenuated hepatic steatofibrosis induced by a high-fat high-cholesterol diet. However, the effects of HYD on lipid metabolism remain unclear.

To examine the effects of HYD on serum/liver lipid profiles and to assess the possible mechanisms, male SHRs (8 weeks of age) were maintained on a stroke-prone diet (SP diet) and then randomly divided into two groups. One group was administered freely with drinking water containing HYD (60mg/L), and the other was with water only as a control group, both for 4 or 10 weeks, and subjected to biochemical analysis using serum/liver and hepatic mRNA analysis using quantitative PCR.

「ZHANG XUGUANG」 obtained the following conclusions.

1. Blood pressure and serum triglyceride (TG) levels were significantly reduced after 4- and 10-week HYD treatment.
2. Both HYD treatments markedly increased hepatic mRNA levels of the genes encoding small heterodimer protein (SHP), a typical target gene of farnesoid X receptor (FXR), and adipose TG lipase (ATGL).
3. After 10-week HYD treatment, the expression of peroxisome proliferator-activated receptor α was also significantly elevated, coinciding with reduced serum TG levels.

These findings suggest that HYD lowers lipid levels primarily by activating the FXR signaling path-

way and enhancing ATGL expression, highlighting a novel pharmacological role of HYD in lipid metabolism.

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。

Novel Membrane Designed Polyether Sulfone Filter Reduces Filtration Membrane Obstruction Rate in Drop-Type With Adjustable Concentrator Cell-Free and Concentrated Ascites Reinfusion Therapy (DC-CART) (新規膜設計によるポリエーテルスルホン膜ろ過フィルターは、濃縮調整が可能な落差式腹水濾過濃縮再静注療法におけるろ過膜閉塞率を低下させる)

犬 井 啓 太

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】腹水濾過濃縮再静注法 (CART) では、腹水濾過工程で濾過膜閉塞を起こすと頻回に膜洗浄が必要となり、処理時間の延長、患者への濃縮腹水の投与遅延、医療者や医療コストの増加などの重要な臨床的問題を生じる。膜閉塞軽減のために新規膜設計のポリエーテルスルホン膜 (n-PES 膜) 濾過フィルターが開発された。その性能を従来膜と比較した臨床研究がないため、本研究は CART の腹水处理において n-PES 膜が従来のポリエチレン膜 (PE 膜) と比較して膜閉塞を減少させるかどうかを評価することを目的とした。【方法】本研究は、診療録情報を用いた単施設後ろ向きコホート研究である。2017年8月から2021年4月までの信州大学医学部附属病院における濃縮調整が可能な落差式 CART (DC-CART) の腹水处理記録を用いて、n-PES 膜と PE 膜を比較した。研究期間中、PE 膜で99件、n-PES 膜で74件の DC-CART が行われた。エンドトキシン陽性のものを除外した171件において、腹水量、原疾患、腹水の検査データ (総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、直接ビリルビン、総コレステロール、乳酸脱水素酵素、ヒアルロン酸、単球数、分葉核球数、その他の細胞数) で調整した傾向スコアマッチングを行った。主要アウトカムは膜閉塞の発生率とした。副次的アウトカムには、総処理時間、洗浄回数、腹水中物質の回収率とした。

【結果】171件の DC-CART のうち、62件 (n-PES 膜31件、PE 膜31件) が傾向スコアマッチ解析に組み入れられた。膜閉塞頻度は n-PES 膜で PE 膜より有意に低かった (閉塞率: 2.0 vs. 5.9 /1000セッション, $p=0.049$)。癌性腹水で比較した場合に n-PES 膜は PE 膜より有意に低い閉塞率を示したが、肝硬変腹水で比較した場合には有意差を認めなかった。総処理時間は n-PES 膜で PE 膜より有意に短かった (総処理時間: 25 vs. 39分, $p=0.006$)。膜閉塞回数は、n-PES 膜で

0回: 30例, 1回: 1例であり、PE 膜で0回: 25例, 1回: 1例, 2-4回: 3回, 5-8回: 2例であった。蛋白回収率は両群に有意差を認めなかった ($p=0.863$)。n-PES 膜で腹水中の総コレステロール ($p<0.001$) とヒアルロン酸 ($p<0.001$) の回収率が有意に高く、直接ビリルビン ($p<0.001$) の回収率は低かった。

【結論】DC-CART において n-PES 膜が膜閉塞の発生を抑制し、腹水处理時間短縮と膜閉塞回数の減少をもたらすことが初めて示された。n-PES 膜の使用により、医療スタッフの腹水处理作業の負担軽減、濾過膜洗浄に関わる医療材料の使用削減による医療費の削減、さらに、腹水处理時間の短縮により濃縮腹水の速やかな投与が可能となり、患者の低アルブミン血症の是正、循環動態の安定化が期待できる。これらの効果は癌性腹水でより顕著であり、また癌性腹水は膜閉塞を来しやすいことから、特に癌性腹水处理時には n-PES 膜を積極的に使用すべきである。

(論文審査の結果の要旨)

肝硬変や悪性腫瘍では、難治性腹水症が頻繁に起こり、患者の QOL 低下を引き起こす。難治性腹水の治療として腹水濾過濃縮再静注法 (CART) が開発された。単純腹腔穿刺と比較してアルブミン上昇や再穿刺までの間隔の延長といった利点があるが、腹水濾過工程で濾過膜閉塞を起こすと頻回に膜洗浄が必要となり、処理時間の延長、医療者の負担や医療コストの増加などの臨床的問題を生じる。膜閉塞軽減のために新規膜設計のポリエーテルスルホン膜 (n-PES 膜) 濾過フィルターが開発されたが、臨床研究がなかったため、従来のポリエチレン膜 (PE 膜) と比較して n-PES 膜が膜閉塞を減少させるかどうかを評価した。

対象は2017年~2021年に濃縮調整が可能な落差式腹水濾過濃縮再静注療法 (DC-CART) が施行された173例。そのうち、PE 膜で99件、n-PES 膜で74件、施行された。腹水量、原疾患、腹水の検査データで調整し

た傾向スコアマッチングを行い、n-PES 膜31件、PE 膜31件でDC-CART のアウトカムを比較したところ、次の結果を得た。

1. 膜閉塞頻度は n-PES 膜で PE 膜より有意に低かった (2.0 vs. 5.9 /1000セッション, $p=0.049$)。
2. 癌性腹水で比較した場合、n-PES 膜は PE 膜より有意に低い閉塞頻度 (0 vs. 10.6 /1000セッション, $p=0.019$) を示したが、肝硬変腹水で比較した場合には有意差を認めなかった (1.9 vs. 7.4 /1000セッション, $p=0.237$)。
3. 総処理時間は n-PES 膜で PE 膜より有意に短かった (25 vs. 39分, $p=0.006$)。
4. 膜閉塞回数は、n-PES 膜で 0 回 : 30例, 1 回 : 1例であり、PE 膜で 0 回 : 25例, 1 回 : 1例, 2-

4 回 : 3回, 5-8 回 : 2例であった。

5. 蛋白回収率は両群に有意差を認めなかった。n-PES 膜で腹水中の総コレステロール ($p<0.001$) とヒアルロン酸 ($p<0.001$) の回収率が有意に高く、直接ビリルビン ($p<0.001$) の回収率は低かった。

以上より、DC-CART において n-PES 膜が膜閉塞の発生を抑制し、腹水处理時間短縮と膜閉塞回数の減少をもたらすことが初めて示された。n-PES 膜の使用により、医療スタッフの腹水处理作業の負担軽減が期待できる。この現象は癌性腹水でより顕著であることから、癌性腹水处理時に n-PES 膜を積極的に使用すべきであると考えられた。

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。

Differential linea alba width in pediatric umbilical hernias : a comparative analysis (小児臍ヘルニア患者における白線幅の差異 : 健常児との比較分析)

中 嶋 優 太

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】白線は三層構造の膠原繊維で構成され、腹部正中で左右の腹直筋鞘をつなぎとめている。白線の幅の基準値は成人では CT, 超音波, 屍体標本を用いた複数の報告があり、臍から頭側 3 cm の部位で幅 2 cm 以上であれば腹直筋が左右に分かれている腹直筋離開であるとする考え方があり。また、成人では腹直筋離開は臍ヘルニアの術後再発のリスク因子であるとされており、ヘルニア手術の際に手術介入をすることが多い。

一方で、小児では白線幅の基準値の報告は無く、臍ヘルニアと白線幅の関係性に関する報告もほとんど無い。手術においてもヘルニア門の単純閉鎖での再発率は非常に低いため、腹直筋離開に対する手術介入は報告がない。

この研究の目的は健常児と臍ヘルニア児の白線幅を比較してその違いを見出すことである。

【方法】この研究では臍ヘルニア児は超音波計測、健常児は CT 計測という 2 つの計測手段を使用して白線幅を計測、比較した。臍ヘルニア児は 2014 年 4 月から 2021 年 3 月の間に臍ヘルニア閉鎖術を受けた小児患者を対象とした。以前より術前検査として白線幅の計測を行っていたため、後方視的に超音波による白線幅の計測のデータを収集した。除外規定は他の腹壁異常、何らかの症候群、データ欠損とした。

健常児は 2010 年 4 月から 2022 年 3 月の間に他疾患や外傷で撮影された CT を用いて白線幅の計測を行った。臍ヘルニア児と同じ年齢層を対象とし、除外規定は臍ヘルニア、腹部の異常 / 外傷 / 手術歴、寝たきり患者、低栄養状態、低身長、何らかの症候群とした。

白線幅の計測部位は臍の高さ、および臍の頭側、尾側にそれぞれ 1.5 cm と 3 cm の高さの計 5 か所とした。【結果】健常児は 191 名 (平均年齢 4.7 ± 1.8 歳)、臍ヘルニア児は 30 名 (平均年齢 3.8 ± 1.3 歳) を対象とし、年齢層は 2-7 歳であった。5 か所の計測部位すべてにおいて、健常児と比較して臍ヘルニア児は白線幅が広がった ($p<0.01$)。特にその差は臍よりも尾側において顕著であった。具体的な数値を提示する。臍の高さ : (健常児 11 mm vs. 臍ヘルニア児 13 mm), 1.5 cm 頭側 : (9 mm vs. 14 mm), 3.0 cm 頭側 : (9 mm vs. 13 mm), 1.5 cm 尾側 : (2 mm vs. 8 mm), 3.0 cm 尾側 : (0 mm vs. 2 mm)。

健常児の中で白線幅と年齢を比較すると、年齢に応じて白線幅が広くなることはなく、ほとんど変化がなかった ($p>0.05$)。

【考察】今回臍よりも尾側の白線幅が広いことが臍ヘルニア児の特徴と考えられた。その理由は臍を境に頭側と尾側で解剖・発生が異なるためと考えられるが、詳細は不明である。また、本研究の対象となった臍ヘルニア児は、自然治癒せずに手術対象となった患者で

ある。従って、臍ヘルニアが自然治癒した群の計測を将来的に調べることで、臍ヘルニアと白線の関係性についてさらに解明することができると考える。

【結論】小児臍ヘルニア患者は健常児と比較して白線幅が広い傾向にあり、その傾向は尾側で顕著である。また、小児期には白線幅はほとんど変化しない。

(論文審査の結果の要旨)

白線は三層構造の膠原繊維で構成され、腹部正中で左右の腹直筋鞘をつなぎとめている。成人では白線の幅が2 cm 以上であれば腹直筋が左右に分かれている腹直筋離開であり、臍ヘルニアの術後再発のリスク因子でありヘルニア手術の際に手術介入をすることが多い。一方で、小児では白線幅の基準値の報告は無く、臍ヘルニアと白線幅の関係性に関する報告もほとんど無い。手術においてもヘルニア門の単純閉鎖での再発率は非常に低いため、腹直筋離開に対する手術介入は報告がない。今回、健常児と臍ヘルニア児の白線幅を比較した。

臍ヘルニア児は2014年4月から2021年3月の間に臍ヘルニア閉鎖術を受けた小児患者を対象とし、後方視

的に超音波による白線幅の術前計測データを収集した。健常児は2010年4月から2022年3月の間に他疾患や外傷で撮影されたCTを用いて白線幅の計測を行った。臍ヘルニア児と同じ年齢層を対象とした。白線幅の計測部位は臍の高さ、および臍の頭側、尾側にそれぞれ1.5 cm と3 cm の高さの計5か所とした。

その結果、以下の結論を得た。

1. 5か所の計測部位すべてにおいて、健常児と比較して臍ヘルニア児は白線幅が広く、その差は尾側で特徴的であった。
2. 健常児の白線幅は年齢に応じて広がることはなく、変化しなかった。

これらの結果より、小児臍ヘルニアは白線幅の拡大との関連性が示唆される。また、尾側で白線幅の拡大が顕著であったことは、臍周囲の発生・解剖の差異に起因する可能性があると考えられた。一方健常児の白線幅は小児期には変化しない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。

Heatstroke risk informing system using wearable perspiration ratemeter on users undergoing physical exercise (ウェアラブル発汗計を利用した運動時ユーザーに対する熱中症リスク通知システムの開発)

百 瀬 英 哉

(論文の内容の要旨)

【目的】熱中症は世界中で深刻な社会問題となっているが、熱中症の転帰を予測できるバイオマーカーは確立されていない。多量の温熱性発汗は血液浸透圧を上昇させ視床下部または中枢浸透圧調整回路の浸透圧受容体の活性化を介して枯渇感とバゾプレシンの分泌を促す。多量発汗が体液バランスに与える影響は大きい。温熱性発汗のパターンと熱中症との関連については解明されていない。我々はウェアラブル発汗計を用い、温熱性発汗のパターンに注目して熱中症リスクを通知するシステムを構築した。

【方法と結果】ウェアラブル発汗計は、2個の静電容量式湿度センサとマイクロファンが内蔵された小型カプセルであり、単位面積(1 cm²)の皮膚を覆うことで外気の湿度と、皮膚から蒸散する水分の湿度差から発汗量(mg/cm²/min)をセンシングするものである。測定値の線形性は、1分間に皮膚モデルから失われる水分量と測定値の比較によって行い、0～2 mg/

cm²/min の範囲において、相関係数は0.995であった。測定値は、リアルタイムに無線送信により出力される。

このウェアラブル発汗計とスマートフォンを用い、枯渇感と、運動によって誘発される発汗の関係を評価するため枯渇感の自己申告システムを構築した。

さらに、スマートフォンからの音声で熱中症リスクを通知する仕組みを構築した。通知のタイミングポイントは、発汗曲線が増加から平坦に変化する点として、4分ごとの平均値の2次微分を算出し、その2次微分値が正から負に変化するポイントとした。

通知のタイミングポイントの妥当性を評価するために、この通知時点と、枯渇感の自己申告レベル、血中バゾプレシン濃度、尿量、尿浸透圧の変化の関係をヒト実験で検討した。

16人の健康な被験者に対し、運動を行う被験者実験を実施した。被験者は、実験前の1時間、水分摂取と排尿を禁止し、30分間の踏み台昇降運動を行った。運動中、頸部にウェアラブル発汗計を装着し発汗量を測

定するとともに、前腕にスマートフォンを装着し、枯渇感のレベルを記録した。被験者の血液と尿のサンプルは、運動の前後に採取した。

熱中症リスクの通知時点と枯渇感の自己申告レベルとの関係について、12人の被験者は枯渇感を申告し、残りの4人の参加者は、30分間の運動中に枯渇感を申告しなかった。枯渇感を申告した12名のうち、7人の参加者は、通知時点の0～10分後に枯渇感の申告を行い、通知時間の約1～3分前に枯渇感の血液中のバゾプレシン濃度の上昇が、血液中の塩化ナトリウム濃度の上昇に伴う視床下部浸透圧中枢の活性化と関係があるかどうかを明らかにするため、運動前後の尿量と尿浸透圧を調査した。尿量は運動前の値の $23.0 \pm 6.6\%$ であり有意に減少していた ($p < 0.01$)。また、尿浸透圧も同様に運動前の値と比較して $190.6 \pm 22.5\%$ であり有意に増加した ($p < 0.01$)。

運動後の参加者の体重は $262.5 \pm 34.9\text{ g}$ ($n = 16$) 減少していた。

【考察】熱中症の危険を知らせるタイミングポイントを、4分間の発汗曲線の2次微分値が正から負に変わるポイントに設定した。このタイミングポイントは、発汗曲線の傾きが増加からプラトーに変わるポイントである。発汗量低下の開始点とも言え、運動による血液濃縮の開始点と一致する可能性がある。ほとんどの参加者は、このタイミングポイントの数分後に枯渇感を訴えた。これは、血液濃縮を介した浸透圧受容器の活性化に関連したためと考えられる。

TP, Alb, およびRBCの血液濃縮は101～103%の範囲内であり、発汗による総水分喪失量(約270 g)と循環血液量(約5 kg)を使用して計算された値とほぼ同じである。一方で、血液中のバゾプレシン濃度の上昇(約215%)がTP, Alb, およびRBCの濃度よりも高かったという知見は視床下部の浸透圧受容器の刺激と下垂体後葉からのバゾプレシン放出に関連している可能性がある。運動中にほとんどの被験者が枯渇感を訴えるとともに、すべての被験者において尿量の有意な減少と尿浸透圧の上昇が確認されている。

【結論】我々はウェアラブル発汗計を利用し、温熱性発汗のパターンに注目して熱中症リスクを通知するシステムを開発した。熱中症リスクを通知するタイミングポイントの妥当性は枯渇感と血中バゾプレシン濃度の変化によって確認した。

(論文審査の結果の要旨)

熱中症は世界中で深刻な社会問題となっているが、

熱中症の転帰を予測できるバイオマーカーは確立されていない。今回、ウェアラブル発汗計を開発し、温熱性発汗のパターンに注目して熱中症リスクを通知するシステムを構築した。多量発汗が体液バランスに与える影響は大きい、温熱性発汗のパターンと熱中症との関連については解明されていない。

開発したウェアラブル発汗計は、2個の湿度センサとマイクロファンが内蔵された小型カプセルであり、単位面積(1 cm^2)の皮膚を覆うことで局所発汗量($\text{mg}/\text{cm}^2/\text{min}$)をセンシングできる。このウェアラブル発汗計とスマートフォンを用い、音声で熱中症リスクを通知する仕組みを構築した。

熱中症リスク通知のタイミングは、4分間の発汗曲線の2次微分値が正から負に変わるポイントに設定した。このタイミングは、発汗曲線の傾きが増加からプラトーに変わるポイントである。

この熱中症リスク通知の妥当性評価のため、被験者実験を実施した。被験者は健康被験者16人(平均年齢 41.6 ± 3.3 歳、男性8人、女性8人)であり、30分間の踏み台昇降運動中に頸部にウェアラブル発汗計を装着し局所発汗量を測定するとともに、枯渇感レベルを記録した。運動前後の血液と尿サンプルを採取し、運動前後の体重減少量から全身発汗量を測定した。

その結果、次の結論を得た。

1. ほとんどの参加者(9/16名)は、このタイミングの数分後に枯渇感を訴えた。これは、血液濃縮を介した浸透圧受容器の活性化に関連したためと考えられる。
2. TP, Alb, およびRBCの血液濃縮は101～103%の範囲内であり、発汗による総水分喪失量(約270 g)と循環血液量(約5 kg)を使用して計算された値とほぼ同じであったが、血液中のバゾプレシン濃度は顕著に増加した(約215%)。これは視床下部の浸透圧受容器の刺激と下垂体後葉からのバゾプレシン放出に関連していると考えられる。
3. すべての被験者において尿量の有意な減少と尿浸透圧の上昇が確認された。

これらの結果より、運動中の発汗により血液濃縮を生じており、その前に、熱中症リスク通知されることが確認された。発汗パターンから熱中症のリスクを評価する検討は世界的にもユニークな取り組みである。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。

Adult neurogenesis in the ventral hippocampus decreased among animal models of neurodevelopmental disorders (腹側海馬領域における神経細胞新生は神経発達障害モデル動物で共通して減少する)

SUN LIHAO

(論文の内容の要旨)

【Background】 Autism spectrum disorder (ASD) is a neurodevelopmental condition characterized by deficits in social interaction and communication, along with restricted and repetitive behaviors. Both genetic and environmental factors contribute to ASD, with prenatal exposure to valproic acid (VPA) and nicotine being linked to increased risk. Impaired adult hippocampal neurogenesis, particularly in the ventral region, is thought to play a role in the social deficits observed in ASD.

【Methods】 In this study, social behavior and adult hippocampal neurogenesis in C57BL/6J mice prenatally exposed to VPA or nicotine, as well as in genetically modified ASD models, including IQSEC2 knockout (KO) and NLGN3-R451C knock-in (KI) mice were investigated. Sociability and social novelty preference were evaluated using a three-chamber social interaction test. Adult hippocampal neurogenesis was assessed by BrdU and DCX immunofluorescence to identify newborn and immature neurons.

【Results】 VPA-exposed mice displayed significant deficits in social interaction, while nicotine-exposed mice exhibited mild impairment in social novelty preference. Both IQSEC2 KO and NLGN3-R451C KI mice demonstrated reduced adult neurogenesis, particularly in the ventral hippocampus, a region associated with social behavior and emotion. Across all ASD mouse models, a significant reduction in BrdU+ / NeuN+ cells in the ventral hippocampus was observed, while dorsal hippocampal neurogenesis remained relatively unaffected. Similar reductions in DCX-positive cells were identified in VPA, nicotine, and NLGN3-R451C KI mice, indicating impaired proliferation or differentiation of neuronal progenitors.

【Conclusion】 These findings suggest that impaired adult neurogenesis in the ventral hippocampus is a common hallmark across ASD mouse models and

may underlie social behavior deficits. This study provides insight into region-specific neurogenic alterations linked to ASD pathophysiology and highlights potential targets for therapeutic interventions.

(論文審査の結果の要旨)

Autism spectrum disorder (ASD) is a neurodevelopmental condition characterized by deficits in social interaction and communication, along with restricted and repetitive behaviors. Both genetic and environmental factors contribute to ASD, with prenatal exposure to valproic acid (VPA) and nicotine being linked to increased risk. Impaired adult hippocampal neurogenesis, particularly in the ventral region, is thought to play a role in the social deficits observed in ASD.

In this study, social behavior and adult hippocampal neurogenesis in C57BL/6J mice prenatally exposed to VPA or nicotine, as well as in genetically modified ASD models, including IQSEC2 knockout (KO) and NLGN3-R451C knock-in (KI) mice were investigated. Sociability and social novelty preference were evaluated using a three-chamber social interaction test. Adult hippocampal neurogenesis was assessed by BrdU and DCX immunofluorescence to identify newborn and immature neurons. I got the following results.

1. Prenatal valproic acid exposure induces a social interaction deficit.
2. Adult hippocampal neurogenesis is reduced in the VPA mouse model.
3. Prenatal nicotine exposure induces a social interaction deficit and impairs adult neurogenesis in the ventral hippocampus.
4. IQSEC2 KO and NLGN3-R451C KI mice show impaired adult neurogenesis in the ventral hippocampus.

In this study, I confirmed ASD-like social interaction deficit in mice treated with the prenatal exposure to valproic acid and nicotine. Additionally, I found that the adult neurogenesis in the ventral DG was

impaired across several autistic mouse models, including IQSEC2 KO mice and NLGN3-R451C KI mice. These results suggest that disrupted adult neurogenesis in the ventral hippocampus may be a hallmark

of ASD pathology.

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。

Investigation of pure lung microbiota in patients with lung cancer after eliminating upper airway contamination: a prospective cohort study (肺癌患者における上気道常在菌を排除した純粋な肺内微生物叢の検討)

小 山 力

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】近年、微生物と癌との関係、特に腸内微生物叢と消化器癌に関する報告が散見されるが、肺内微生物叢と肺癌との関係は依然明らかでない。これは、健常肺が古くから無菌であると考えられていたことが一因であるが、次世代 DNA シークエンサー (NGS) の普及により、肺内にも多くの微生物種が存在することが明らかとなった。特に、閉塞性肺疾患等の炎症性肺疾患に関する報告が多い。しかし、肺内微生物叢の同定には、唾液や喀痰、気管支鏡下の気管支肺胞洗浄液 (BALF) がサンプルとして広く使用されているため、上気道微生物のコンタミネーションが避けられない。そこで我々は、肺癌手術時の肺切除検体から BALF を採取することにより、上気道常在菌のコンタミネーションを排除した純粋な肺微生物叢を同定し、肺癌との関係を明らかにすることを目的とした。また、肺切除後の合併症の一つである術後肺炎 (POP) との関係についても検討を行った。

【対象と方法】2020年4月から2022年3月までに、臨床的に肺癌が疑われ、肺葉切除あるいは解剖学的区域切除を施行した54例を対象とした。肺切除後、切除肺を体外へ摘出した直後に、清潔野を維持した状態で気管支断端から生理食塩水150-300 ml を注入し BALF を採取した。得られた BALF をサンプルとして、細菌培養検査と NGS (MiSeq) による16S rRNA PCR の解析を行い、細菌存在比を評価した。また、肺微生物叢と POP の関係を検討した。

【結果】54例のうち、27例 (50.0 %) が男性、平均年齢は72.8 (±9.4) 歳であった。喫煙歴を有する症例が24例 (44.5 %), うち15例 (27.8 %) は重喫煙者であった。併存肺疾患として、COPD を8例 (14.8 %), 気管支喘息を3例 (5.6 %), 1例で過去の細菌性肺炎の既往を認めた。組織学的には、腺癌が44例 (81.6 %), 扁平上皮癌が7例 (13.0 %) であった。術前お

よび術後入院期間の中央値は、それぞれ1 (1-7) 日と5.5 (3-22) 日であった。細菌培養検査陽性となったものが13例 (24.1 %) で、*Staphylococcus spp.* が4例、次いで *Bacillus spp.*, *Streptomyces spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* がそれぞれ3例であった。細菌培養陽性13例のうち、6例において NGS と同種の細菌が検出された。NGS による解析では、6,504の OTU が同定され、平均配列長は326.48 (±64.15), サンプルあたりの平均リード数は147,645 (±30,822) であった。平均細菌リード数は56,645 (±14,788) であった。各 OTU のリード数に基づき、系統分類と細菌 (門) の存在比を解析すると、OD1と *Proteobacteria* が多くのサンプルにおいて高い存在比率を示した。少なくとも1つの検体において相対存在比が1 %を超える主要な細菌 (属) は、*Aquabacterium*, *Acinetobacter*, *Ralstonia* 等であった。POP や医療介護関連肺炎 (NHCAP) の起炎菌では、最も多く検出された細菌 (属) は、*Acinetobacter* の51例 (94.4 %), 次いで *Pseudomonas* 35例, *Corynebacterium* 18例, *Bacillus* 10例, *Staphylococcus* 7例であった。

【結論】手術検体での BALF を用いて肺内微生物叢を網羅的に解析した研究は過去にない、我々の新しい手法により純粋な肺内微生物叢の同定が可能であった。本結果は、純粋な肺微生物叢に関する貴重なデータを提供するものである。また、これまで肺内微生物として報告のない OD1が、本研究において多くの症例に高い存在比率で存在することが示された点は特筆すべきである。OD1は、他の癌腫において癌との関連が報告されており、肺癌についてもさらなる研究が必要と考える。さらに、一般的に入院後の aspiration により発症すると考えられている POP について、術前入院期間が短縮している近年においては、肺内微生物叢として術前より存在している細菌の関与が想起され、

本研究もそれを支持する結果である。

(論文審査の結果の要旨)

消化器癌に与える腸内細菌叢の影響が明らかとなる一方、肺内微生物叢と肺癌との関係は依然明らかでない。肺内微生物叢の研究では、唾液や喀痰、気管支鏡下の気管支肺胞洗浄液 (BALF) がサンプルに広く用いられ、それらは上気道微生物のコンタミネーションが避けられない。そこで、本研究では、肺癌手術時の肺切除検体から BALF を採取することで、上気道常在菌のコンタミネーションを排除した純粋な肺微生物叢を同定し、肺癌との関係を明らかにすることを目的とした。また、術後肺炎 (POP) との関係についても検討を行った。

2020年4月から2022年3月までに、臨床的に肺癌が疑われ、肺葉切除あるいは解剖学的区域切除を施行した54例を対象とした。肺切除後、切除肺を体外へ摘出した直後に、清潔野を維持した状態で BALF を採取した。得られた BALF を用いて、細菌培養検査と NGS (MiSeq) による16S rRNA PCR の解析を行い、細菌存在比を評価した。また、肺微生物叢と POP の関係を検討した。

その結果、小山力次は次の結論を得た。

1. 細菌培養検査陽性は13例 (24.1 %) であったが、NGS では全症例で多種の細菌が検出された。
2. 系統分類と細菌 (門) の存在比を解析すると、OD1 がいずれの検体においても高い存在比率を示した。
3. 存在比率の高い主要な細菌 (属) は、*Aquabacterium*, *Acinetobacter*, *Ralstonia* 等で、口腔内常在菌として知られる細菌の検出は少なかった。
4. *Acinetobacter* や *Pseudomonas*, *Corynebacterium* といった POP や医療介護関連肺炎 (NHCAP) の起炎菌は術前より存在していた (術前入院期間中央値は1日)。

これらの結果により、我々の新しい手法が、純粋な肺内微生物叢を同定し得ることが示された。また、いずれの検体においても高い存在比率を示した OD1 は、これまで肺内微生物叢としての報告がなく、今後の研究の必要性を示唆する結果である。さらに、入院後の aspiration により発症すると考えられている POP について、術前入院期間が短縮している近年では、肺内微生物叢として術前より存在している細菌の関与が示唆され、本研究もそれを支持する結果であった。

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。

Genetic Profiling of MC3T3-E1 Cells in Different Media: Implications for In Vitro Screening Development (異なる培地における MC3T3-E1細胞の遺伝子プロファイリング: in vitro スクリーニング開発に向けた暗示)

泉 谷 惇

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 骨関連疾患に対する新規生体材料および組織工学的治療法の開発は、安全性や有効性評価のための動物実験に大きく依存している。しかし近年、動物の使用を最小限に抑えることが求められている。これに対処するには、体内で起こる多様な骨形成プロセスを正確に再現し、スクリーニングできる in vitro 評価法を確立することが重要となる。

現在、骨芽細胞の分化や石灰化プロセスなどの生物学的有効性評価から得られた肯定的な結果を基に臨床応用まで至った新規インプラント材料はほとんど見られない。これについて、in vitro 評価と in vivo 評価の結果の不一致が頻繁に起こることが理由の一つとなっている。複雑な体内状態を正確に表現できる in vitro モデルに関するコンセンサスは未だ得られていない。

生体材料評価の際、骨芽細胞の培養に使用する培地

条件はあまり重視されてこなかった。このことが結果のばらつきを引き起こす要因の一つになっていると考えられた。我々は以前に、培地の種類の違いや鮮度が前骨芽細胞株 MC3T3-E1細胞 (MC 細胞) の骨芽細胞分化関連遺伝子発現、細胞増殖、アルカリホスファターゼ活性、石灰化に大きく影響することを実証し、in vitro で複数の骨形成プロセスが存在する可能性を示した。これら複数の in vitro 骨形成プロセスが、各々どのような in vivo 骨形成プロセスと対応するかなど、依然として不明な点が多い。培地条件の in vitro 骨形成プロセスへの影響や in vivo メカニズムとの関連性について、さらなる正確な理解が必要になると考えられた。

本研究では骨形成研究のための in vitro モデルの改善を目指して、異なる培地条件下の MC 細胞における石灰化誘導後の遺伝子発現の違いについて包括的な調査

で明らかにした上で、それらが初代培養骨芽細胞 (POB) の挙動とどのように対応するか評価することを目的とした。

【材料と方法・結果】 実験には、L-アスコルビン酸を含まない α 最小必須培地 (α MEM(-)) およびダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) で培養した MC 細胞を使用した。L-アスコルビン酸および β -グリセロリン酸の培地添加による石灰化誘導刺激から3日後時点における MC 細胞の遺伝子プロファイルについて、マイクロアレイ解析で網羅的に調査した。その結果、 α MEM(-) と DMEM で石灰化刺激後に大きく発現上昇する遺伝子は全く異なることが明らかになった。 α MEM(-) 条件下では骨芽細胞関連遺伝子 *Alpl*, *Ibsp* が上位に挙げられた。一方で、DMEM 条件下ではこれらの遺伝子の発現上昇は見られなかった。マイクロアレイ解析で挙げられた各培地の上位遺伝子を定量的 RT-PCR で検証したところ、傾向は概ね一致した。

また、MC 細胞の培地に対する個々の細胞単位での詳細な応答性を把握するために、限界希釈法を用いて MC 細胞から17種類の MC 細胞クローンを作製した。これらクローンを2種類の異なる培地で培養し、光学顕微鏡による形態観察とアリザリンレッド染色での石灰化評価を実施した。クローンおよび培地条件毎に石灰化刺激21日後の石灰化反応は大きな違いがあった。顕著な石灰化が起こらないクローン、特定の培地条件下のみ石灰化が起こるクローン、培地の種類に関係なく石灰化が起こるクローンが確認された。

さらに、MC 細胞で確認された各培地の遺伝子発現パターンを同じ培地条件で培養した生後1週以内の C57BL6/N 新生児マウスの頭蓋骨から採取した POB の遺伝子発現パターンと比較した。POB では、各上位遺伝子は培地の種類に関係なく石灰化刺激後に発現上昇の傾向を見せ、基本的に培地間の差はほとんどないと考えられた。しかし、骨芽細胞の分化マーカーとして知られる *Alpl* の発現変化は培地間で差が見られた。DMEM 培養の POB では、DMEM 培養の MC 細胞と同様に石灰化刺激による *Alpl* の有意な発現上昇が起こらなかった。また、*Gpnmb* などの遺伝子に関して、 α MEM(-) と DMEM 間の相対的な発現量に差が見られた。 α MEM(-) と DMEM で培養した POB で石灰化の比較評価を行ったところ、両方の培地で顕著な石灰化が生じることを確認した。しかし、各々の石灰化結節の見え方は大きく異なった。

【結論】 本研究は、培地条件の違いが in vitro 骨形成

プロセスに与える影響の詳細を遺伝子学的観点から明らかにした。骨用生体材料を評価する際には培地条件を考慮する必要がある。また、先行研究の結果を統合すると、*Alpl* などは石灰化を直接的に表現する指標としては不適切である可能性が示唆された。さらに、MC 細胞は容易に入手できる上、L-アスコルビン酸刺激に対する応答をリセットできることから、生体材料の in vitro スクリーニングへの応用が期待できる。MC 細胞で観察された遺伝子発現の違いは低ホスファターゼ症患者における骨形成プロセスを表現し得るなど、生体内の多様な骨形成プロセスの一部を反映している可能性がある。DMEM の骨形成プロセスや上位遺伝子についてさらなる調査を進めていくことは、整形外科領域において大きく役立つ外傷や疾患毎のニーズに対応できる骨形成スクリーニング法を確立し得る。

(論文審査の結果の要旨)

骨用生体材料の in vitro 評価に使用される骨芽細胞の培地条件は重視されておらず、統一もされていない。この状況が in vitro 実験と in vivo 実験の結果の不一致をもたらし、製品開発を妨げる一因となっているようである。本研究では、異なる培地条件下の前骨芽細胞株 MC3T3-E1 (MC) の遺伝子発現に関する包括的な調査と、新生児マウス頭蓋骨由来初代培養骨芽細胞 (POB) との比較を行い、in vitro 骨形成モデルの改善に役立つ知見の獲得を試みた。

L-アスコルビン酸 (VC) を含まない α Minimum Essential Medium (α MEM(-)) および Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) で培養した MC を用い、VC と β -グリセロリン酸の培地添加による石灰化誘導から3日後の遺伝子プロファイルについてマイクロアレイで解析し、定量的 RT-PCR で検証した。また、独自作製した MC Clone を異なる培地で培養し、各々の石灰化反応を比較した。さらに、異なる培地で培養した POB の定量的 RT-PCR を行い、MC の結果と照合した。併せて石灰化評価も行った。

その結果、泉谷は次の結論を得た。

1. 石灰化刺激後に大きく発現上昇する上位10遺伝子は α MEM(-) と DMEM で全く異なることが判明した。特に、骨芽細胞関連遺伝子 *Alpl*, *Ibsp* は α MEM(-) では発現上昇を認めたが、DMEM では発現上昇を認めなかった。
2. マイクロアレイ解析で列挙された上位遺伝子について定量的 RT-PCR で検証した結果、概ね傾向が一致することを確認した。

3. MC Clone において, Clone 毎および培地条件毎に石灰化反応が異なることを確認した。
4. POB では, MC のマイクロアレイ解析で列挙された上位遺伝子の多くは培地の種類に関係なく石灰化刺激により発現上昇し, 基本的には培地間の差はないものと捉えられた。しかし, *Alpl* では培地毎の違いが確認され, DMEM 培養下では MC と同様に, 石灰化刺激を加えても有意な発現変化が起らなかった。
5. POB では培地の種類に関係なく石灰化が起きるが, 石灰化結節の見え方は培地毎に異なった。

これらの結果は骨用生体材料を評価する際の培地条件を考慮する重要性を主張し, また既知の骨芽細胞関連遺伝子を介さない骨形成プロセスの存在を示唆するものである。特定条件下の骨形成プロセスが, 低ホスファターゼ症等の病的な状態を含む多様な骨形成プロセスを反映する可能性がある。本研究は体内の骨形成状態を正確に反映し, 臨床ニーズにも対応できる *in vitro* 評価法の開発に向けた重要な知見を提供した。

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。

Comparison of Muscle Synergies in Walking and Pedaling: The Influence of Rotation Direction and Speed (歩行とペダリングにおける筋シナジーの比較：回転方向と速度の影響)

土 屋 順 子

(論文の内容の要旨)

筋シナジーとは、中枢神経系 (CNS) が複数の筋を統合して協調的に制御するための基本的単位であり、CNS は少数の筋シナジーを柔軟に組み合わせることで、複雑な動作を実現していると考えられている。歩行とペダリングは、共に下肢のリズミカルな運動を伴い、類似した筋活動パターンや CNS による調節が認められており、歩行とペダリング間での筋シナジーの類似性についても指摘されている。一方、ペダリング速度や回転方向が筋シナジーの類似性に与える影響については十分に調査されていなかった。ペダリング運動は脳卒中患者のリハビリテーションにおいて、歩行機能回復のための有効な手段として広く利用されており、歩行速度や距離、非対称性の改善などの効果が報告されている。歩行とペダリング間で共有される筋シナジーの詳細を明らかにすることは、運動機能障害を評価し、個別化されたリハビリテーション戦略を確立するために重要である。

本研究は、歩行とペダリングにおける筋シナジーの類似性について、ペダリング速度、および回転方向の影響を明らかにし、運動機能回復のためのリハビリテーション手法の向上に寄与することを目的とした。

本研究では、12名の健康成人男性を対象とし、3つの歩行速度 (快適、遅い、速い) での歩行と、3つのペダリング速度 (30, 60, 80 RPM) と2つの回転方向 (前方・後方) を組み合わせた6条件でペダリングを実施した。動作中の下肢の10筋から筋電図 (EMG) データを取得し、非負行列因子分解法 (NMF) を用いて各条件の筋シナジーを抽出し、歩行時の筋シナジーとの類似性をコサイン類似度により評価した。

結果として、3つの速度を包括した歩行に必要な筋シナジーは5つであった。また、前方・後方ペダリングのそれぞれの条件において代表的な筋シナジーが、30 RPM, 60 RPM で4つ、80 RPM で5つ特定された。特定された歩行筋シナジーとペダリング各条件で得られた代表筋シナジー間のコサイン類似度を算出した結果、ペダリング各条件において、歩行筋シナジーと類似した筋シナジーが観察された。また、ペダリング中に動員された、歩行類似の筋シナジーは、1～3

つの筋シナジーのセットであり、その構成は回転方向と速度によって変化した。大多数の被験者において、主に足関節底屈筋が貢献する歩行類似の筋シナジーは、回転方向に関わらず30 RPM でのペダリング中にのみ動員された。一方で、ハムストリングスが主に貢献する歩行類似の筋シナジーは、60 RPM の前向きペダリングおよび80 RPM の後ろ向きペダリングでのみ観察された。また、中殿筋が主に貢献する歩行類似の筋シナジーは、どのペダリング条件においても観察されなかった。

本研究の結果は、歩行とペダリングの間で神経制御が共有されているという仮説を支持している。また、特定の歩行類似の筋シナジーは、特定の回転方向と速度でのみ動員されることが示された。従って、ペダリングを歩行訓練として適用する際には、回転方向と速度を考慮することが重要であることが示唆された。患者の障害に応じてペダリングの回転方向と速度を考慮することで、歩行機能改善に対する効果を促進できる可能性がある。

今後は、脳卒中患者など、運動機能に障害がある対象にも同様のアプローチを検討し、方向と速度に応じた筋シナジーの変化が運動機能に与える影響を明らかにしていく必要がある。

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、歩行とペダリングにおける筋シナジーの類似性について、ペダリング速度、および回転方向の影響を明らかにし、運動機能回復のためのリハビリテーション手法の向上に寄与することを目的として行われた。対象は、12名の健康成人で、3つの歩行速度 (快適、遅い、速い) での歩行と、3つのペダリング速度 (30, 60, 80 RPM) と2つの回転方向 (前方・後方) を組み合わせた6条件でペダリングを実施した。動作中の下肢の10筋から筋電図 (EMG) データを取得し、非負行列因子分解法 (NMF) を用いて各条件の筋シナジーを抽出し、歩行時の筋シナジーとの類似性をコサイン類似度により評価した。

結果として、3つの速度を包括した歩行に必要な筋シナジーは5つであった。また、前方・後方ペダリングのそれぞれの条件において代表的な筋シナジーが、

30 RPM, 60 RPM で4つ, 80 RPM で5つ特定された。特定された歩行筋シナジーとペダリング各条件で得られた代表筋シナジー間のコサイン類似度を算出した結果, ペダリング各条件において, 歩行筋シナジーと類似した筋シナジーが観察された。また, ペダリング中に動員された, 歩行類似の筋シナジーは, 1~3つの筋シナジーのセットであり, その構成は回転方向と速度によって変化した。大多数の被験者において, 主に足関節底屈筋が貢献する歩行類似の筋シナジーは, 回転方向に関わらず30 RPM でのペダリング中のみ動員された。一方で, ハムストリングスが主に貢献する歩行類似の筋シナジーは, 60 RPM の前向きペダリングおよび80 RPM の後ろ向きペダリングでのみ観察された。また, 中殿筋が主に貢献する歩行類似の筋シナジーは, どのペダリング条件においても観察されなかった。

これらの研究結果は, 歩行とペダリングの間で神経

制御が共有されているという仮説を支持している。また, 特定の歩行類似の筋シナジーは, 特定の回転方向と速度でのみ動員されることが示された。従って, ペダリングを歩行訓練として適用する際には, 回転方向と速度を考慮することが重要であることが示唆された。また, 患者の障害に応じてペダリングの回転方向と速度を考慮することで, 歩行機能改善に対する効果を促進できる可能性があることが示唆された。

今後は, 脳卒中患者など, 運動機能に障害がある対象にも同様のアプローチを検討し, 方向と速度に応じた筋シナジーの変化が運動機能に与える影響を明らかにしていくことが期待される。

審査会では, これらの内容についての発表の後に, 質疑応答が行われたが, 自身の知見と先行研究の情報を織り交ぜながら適確な対応が行われた。

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。

The Current Status of Postpartum Menstrual Resumption Delay and Associated Risk Factors in Japanese Women: An Adjunct Study of the Japan Environment and Children's Study (邦人女性における分娩後月経再来遅延の実態と関連因子: エコチル調査の追加調査)

鮫 島 敦 子

(論文の内容の要旨)

【背景】続発性不妊は「過去に妊娠経験があるにも関わらず, その後妊娠しない不妊の状態」である。長期の分娩後無月経は続発性不妊の徴候であり, 順調な分娩後の月経再来は次子の妊娠を希望する女性とその家族にとって大変重要である。Campbell and Gray (1993)の報告では, 分娩後遅くとも72週には殆どの女性が月経再来するとされており, これが現在まで多くの教科書や論文で引用され続け, 定説となっている。邦人女性を対象とした先行研究では, いずれも分娩後6か月以内の月経再来に焦点が当てられており, 長期的に観察した報告は認めない。

環境省が実施する子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)は, 10万人の子どもの両親が参加する大規模な疫学調査である。我々は, 分娩後の女性のケアや診療に関わる中で, 分娩後72週を過ぎても月経が再来していない女性が多いと体感し, 近年の邦人女性の分娩後月経再来時期が遅延している仮説を立て, 分娩後の月経再来の実態とその関連因子の解明を目的にエコチル調査の追加調査を計画し, 環境省へ申請して認定を受けた。

【方法】甲信ユニットセンター(信州)のエコチル調査参加者2,729人への追加調査票の送付により, 分娩後3年間の月経再来状況を追跡調査し, 回答を得た762人の母親を対象とした。追加調査票の内容は, 分娩後の月経再来時期, 夫の育児参加に対する満足度, 等である。分析には, 追加調査票から得られたデータ及びエコチル調査で得られた基本属性や妊娠・分娩・産褥期のデータを使用した。まず, 分娩後の月経再来遅延の実態を明らかにするために, 対象者全体及び母乳育児実施の有無別で月経再来累積率を算出した。次に, 分娩後72週には殆どの女性が月経再来するという従来の定説から, 分娩後72週以降の月経再来を遅延と定義し, その要因を明らかにするため, 単変量解析を実施した上で, 分娩後の月経再来遅延の有無を従属変数としたロジスティック回帰分析を実施した。分析にはSPSS Statistics ver.28を使用し, 有意水準を5%とした。

【結果】対象762人の分娩後の月経再来の中央値は42週, 四分位範囲は22~50週であった。月経再来累積率は, 分娩後48週で69.0%, 72週で92.0%, 132週で100%となり, 61人(8.0%)が72週以降の再来であった。

分娩後6か月時点での母乳育児実施の有無別で解析した結果、母乳育児群では月経再来の中央値は42週、四分位範囲は26～50週、非母乳育児群での中央値は14週、四分位範囲は10～18週と、母乳育児群、非母乳育児群の両群ともにCampbell and Gray (1993)の報告よりも遅延していることが明らかとなった。また、非母乳育児群の方が早期に月経再来していた。次に、分娩後の月経再来遅延(72週以降の再来)に関連する因子を解明するために χ^2 検定を実施した結果、有意差を示して抽出されたのは、分娩時年齢、第1子出産年齢、初経産、不妊治療の有無、月経不順の既往歴、経口避妊薬の服用歴、妊娠糖尿病合併の有無、妊娠初期のK6スコア、夫の育児参加に対する不満、夫と子どものことを話す頻度、母乳育児実施の有無(分娩後6か月、1年、1年半)の11項目であった。先行研究・医学的観点から独立変数を選択しロジスティック回帰分析を実施した結果、有意差を示して抽出されたのは、分娩時年齢(OR 1.122, 95 %CI 1.043-1.207)、月経不順の既往歴(OR 2.927, 95 %CI 1.349-6.349)、経口避妊薬の服用歴(OR 2.351, 95 %CI 1.062-5.204)、分娩後18か月時点での母乳育児の実施(OR 10.346, 95 %CI 5.394-19.845)、夫の育児参加に対する不満(OR 2.047, 95 %CI 1.031-4.064)の5項目であった。

【考察】多くの教科書や論文で引用され続けているCampbell and Gray (1993)の報告に起因する従来の定説【分娩後72週には殆どの女性が月経再来する】と比較して、本研究における邦人女性の分娩後月経再来は明白に遅延していた。月経再来遅延の要因として、先行研究で報告されている母親の年齢や母乳育児の有無に加え、新たな知見として夫の育児参加に対する不満が抽出された。順調な月経再来には、夫の育児参加促進の重要性が示唆されたが、夫の育児参加に対する不満の具体的内容は解析できておらず今後の検討課題である。続発性不妊の徴候の一つである長期の分娩後無月経の要因解明は、次子の妊娠を希望する家族への支援となりえる。各家族の状況に応じた家族計画・夫婦のコミュニケーション・夫婦双方への育児支援等の重要性が示唆された。

本研究は、邦人女性の分娩後月経再来時期と遅延要因を長期的に観察した初めての報告となった。

(論文審査の結果の要旨)

出産後、遅くとも産後72週には月経が再開するということが現在スタンダードとなっているが、鮫島は実際に72週を過ぎても月経の再開がないケースが稀では

ないという経験をした。この点に着目し、日本人女性における産後の月経再開遅延を明確に記述した長期研究はないことから、鮫島は現代の日本人女性の産後の月経再開は、既存の報告よりも遅れているという仮説を立てた。この仮説について、日本における産後月経再開遅延の実態と関連因子を明らかにすることを目的に、環境省の大規模な疫学調査である「子どもの健康と環境に関する全国調査(the Japan Environment and Children's Study: JECS)、通称エコチル調査」に付加調査を行う形で調査を実施し、その結果を解析した。解析対象はJECS 信州分室センターの調査に参加した母親2,729名のうち、独自に作成した追加項目を送付し回答の得られた762名であった。解析対象項目は、先行研究の状況を十分に吟味し、参加者の社会人口統計学および臨床的特徴、産後の育児環境、新生児に関する情報のカテゴリによって項目を構成した。鮫島は解析のために72週以内に月経が再開した正常群と、72週以降に月経が再開した遅延群に分けて各説明変数との比較を実行した。次に、産後の月経再開週数を従属変数とする多重ロジスティック回帰分析を実行し分娩後18か月時点の母乳育児(OR 10.346, 95 %CI 5.394-19.845)、夫の育児参加に対する満足度(満足度に基づく不満: OR 2.047, 95 %CI 1.031-4.064)という影響因子を導き出した。

以上の結果を踏まえ、鮫島は母乳育児が月経再開に関与しており、断乳時期を調整することが必要であるとした。また、夫が育児参加していることについて満足しているかどうかは月経再開に影響因子として新たに見いだされ、夫婦間の親密性を高め、夫が育児に参加することが重要であると結論づけた。特に夫の育児参加への満足度については他の研究では得られていない新規性のある発見だということができる。この結論は本研究で得られた解析結果と先行研究のデータをもとに十分に吟味され、裏付けられたものであり、本論文は母性看護学分野において価値のある研究成果であると評価した。

令和6年9月18日に、主査、副査他8名が出席し公開学位論文審査会が開催された。審査会では、まず鮫島が本研究の概要を説明した。その後、別紙様式8の通り、主査、副査及び参加者から質疑を行った。質疑に対する応答は適切であり、本研究の科学的意義について、十分な知識を有しているものと評価した。以上により、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。

Test-retest reliability of the ten-repetition maximum test in untrained young males and females (トレーニング経験のない若年男女における10RM 測定の信頼性)

多 賀 将 仁

(論文の内容の要旨)

筋力トレーニングを効果的に実施するためには負荷量の設定が重要である。負荷量の要因の一つである挙上重量は、トレーニング実施者の最大挙上重量 (one repetition maximum : 1RM) を基に決定される。ただし、1RM 測定は重い重量を扱うため、測定関連傷害のリスクが高いと言われており、傷害を避けるために最大下挙上重量 (例えば10RM) 測定を用いて1RM を予測する研究が行われている。10RM 測定が1RM 測定に比べて同程度の信頼性を有することがわかれば、より安全に個人の筋力を測定し、トレーニング負荷量を決定することができる。

本研究の主目的はトレーニング経験のない若年男女におけるレッグプレス (LP)・チェストプレス (CP) 10RM 測定の信頼性を明らかにすることである。さらに、1RM 測定の信頼性に関する先行研究と信頼性指標を比較することで、10RM 測定が1RM 測定の代替として利用できるかを決定する。また、副次的に性別ごとの信頼性も併せて明らかにする。

地域の病院のスタッフを対象として施設リクルートメントを実施し、20-35歳の健常者で、過去1年間トレーニングを実施していない者を募集した。医師から運動しないように指示されている者、測定に影響する傷害・疾病の既往のある者は除外した。事前の検出力分析の結果、必要サンプルサイズは26名であった。全ての被験者は4日間の研究プロセスを完遂した。1日目は研究の説明と同意の取得、さらに実際のマシンを用いてLP・CPの練習を実施した。2日目から4日目はLP・CPの10RM測定を実施した。2日目は習熟セッションとし、3日目を初回テスト、4日目を再テストとした。10RM測定はNational Strength and Conditioning Associationの手順に準じて実施した。測定中の挙上重量の調整は5kgずつ行った。疲労の影響を考慮し、各測定日は48時間以上の間隔を空けた。運動の順序は全被験者統一してCPの後にLPとした。10RMテストの信頼性を評価するために、LPとCPそれぞれについて初回テストと再テストの間で級内相関係数 (ICC)、測定の標準誤差 (SEM)、最小可検変化量 (MDC) を算出した。また、Bland-Altman plot

を描出して測定に含まれる誤差の量を視覚的に確認した。性別による影響を評価するために、上記の手法を性別ごとに分けて実施した。

本研究の被験者は男性11名、女性19名であった (平均年齢 25.50 ± 2.21 歳)。LP、CPともに非常に高いICCの値を示し (LP=0.98, CP=0.99)、性別ごとに分けても同様であった (男性: LP=0.99, CP=0.98, 女性: LP=0.96, CP=0.95)。1RM測定の信頼性を調査している先行研究と比較して、本研究のSEMとMDCの値は同程度であった。Bland-Altman plotの結果から、LPでは再テストで測定値が高く、CPでは再テストで測定値が低くなった。性別ごとの解析では、女性のLPでは男性のLPに比べて2倍程度大きなSEM、MDCを示した。

本研究の結果、10RM測定は1RM測定と同程度の信頼性を有することが示され、10RM測定は1RM測定の代替として利用できることが示唆された。より信頼性を高めるためには、測定前の習熟セッションの回数を増やす、測定中の挙上重量の調整をより細かくする (例えば500g毎)、などの手法が挙げられるが、どちらも被験者の拘束時間が長くなる可能性があり、どれほどの信頼性が筋力測定において妥当であるかについては今後も議論が必要だと考える。本研究では、特にLPの10RM測定において、男性に比べて女性の方がSEMおよびMDCが高くなることが示された。先行研究では、筋力測定の信頼性における性別の影響について一定の見解が得られていない。筋力トレーニングにおいては、トレーニングに対する適応に性差があることがわかっている。10RM測定は被験者に最大努力を求めるため、実際に行っていることはトレーニングに近い内容であるため、トレーニング同様に、測定への適応にも性差が影響する可能性はある。そのため、筋力測定の信頼性についても性差が存在すると思われるが、さらなる研究が必要である。

本研究の限界は、第一に、被験者の盲検化をしなかったために、被験者が初回テストの測定値を知った上で再テストに臨んだため、測定にモチベーションが影響した可能性があること、第二に、本研究の被験者は社会人であり、測定日の勤務状況を被験者間で統一

できなかったため、測定前の身体活動が測定に影響した可能性があることである。

本研究の結果から、10RM 測定は1RM 測定の代替として利用できる可能性が示唆されたが、女性の10RM 測定を実施する場合は、誤差がより多く含まれる可能性があることを理解しておくことが重要である。

(論文審査の結果の要旨)

令和6年11月19日、午後5時30分～6時30分に実施した。まず大学院生から論文の要旨を20分ほどで説明が行われた。その後、主査および副査からの質疑に対して大学院生が応答した。

研究概要：本研究の目的は、未訓練の若年男女における10回最大反復レッグプレス（LP）およびチェストプレス（CP）テストのテスト-再テスト信頼性を調査した。二次的な目的は、性別による10RM テストのテスト-再テスト信頼性を検討することであった。全参加者は、2日から6日の回復期間を置いて3回のセッションでLP およびCP の10回最大反復テストを受けた：第1セッションは順応段階、第2セッションは初回テスト、第3セッションは再テストであった。テスト-再テスト信頼性を評価するために、LP およびCP の両方について、クラス内相関係数、測定の標準誤差、および最小検出変化量を計算した。これらの測定値は、性別関連の違いを評価するために、性別ごとに別々に分析された。LP およびCP の両方につい

て、両性別ともに高いクラス内相関係数指数が得られた。測定の標準誤差および最小可検変化量は、過去に報告された値と一致していた。しかし、特にLP において、女性は男性よりも変動が大きかった。LP およびCP の10回最大反復テストは、未訓練の若年男女の筋力を測定するための信頼性の高い方法である。ただし、女性参加者の誤差の範囲が男性参加者に比べて大きい可能性があることに注意すべきである。

本研究は理学療法領域にある測定方法の信頼性研究で、介入にあたる評価としても重要な分野であり、特にこれまで報告が少なかった10回最大反復による筋力測定方法の再現性を明らかにした論文といえる。男女別に分析するために十分なサンプルサイズを満たしていなかった点、測定手続きの順応段階が不十分と考えられる点、ゴールドスタンダードである1回最大反復による筋力測定を実施していない点、この研究がどのような対象に適用可能であるか実行可能性の限界など、いくつかの指摘事項に対しても合理的な説明を行うことができ、当該研究の知見と限界の理解と今後の研究課題を示すことができた。審査において質疑に対する申請者の応答は真摯に行われ、その説明も論理的であり、本研究の中心的役割を果たして遂行されたことが伺えた。

以上のことから主査、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。

Relationship between 10 repetition maximum for chest press, leg press, and muscle mass using bioelectrical impedance analysis in healthy young adults. (健常若年成人におけるチェストプレスおよびレッグプレスの10RM と生体電気インピーダンス分析による筋量との関係)

杉 本 穂 高

(論文の内容の要旨)

【Introduction】これまでの研究では、生体インピーダンス分析（bioelectrical impedance analysis 以下BIA）で測定された値と筋力との間に有意な関係が報告されています。しかし、これまでのところ、BIA で測定された値と10回反復最大（10 repetition maximum, 以下10RM との関係性を調査した研究はありません。本研究の目的は、BIA における測定値とチェストプレス（chest press, 以下CP）およびレッグプレス leg press, 以下LP）の10RM との関係性を調査し、さらにBIA 測定値がCP およびLP の10RM を説明できるかを判断するための回帰モデルを開発することでした。【Participants and Methods】過去1年間に定期的に

トレーニングをしていない健常若年成人94名を対象としました。10RM テストはCP, LP の2種類を実施しました。10RM テストは正しいフォームで10回持ち上げられなくなるまで負荷を徐々に増加させ、10RM を決定しました。BIA 測定値は裸足で装置のプラットフォームに立ち、ハンドグリップを握って測定しました。BIA の測定の8時間前からアルコールと激しい運動を避け、測定の4時間前から飲食を控えるよう指示しました。BIA における測定項目は上肢筋量（upper limb muscle mass, 以下ULMM）、下肢筋量 lower limb muscle mass, 以下LLMM）、骨格筋量（skeletal muscle mass, 以下SMM）、骨格筋指数（skeletal muscle mass index, 以下SMI）を使用しました。統計解析

ではCPおよびLPの10RMとBIA測定値とのスピアマンの順位相関係数を確認し、BIA測定値を独立変数とする単回帰分析を行って10RMの回帰モデルを作成しました。

【Results】被験者の1名が測定途中で離脱したため、解析対象は93名となった。

CPの10RMとULMM, SMM, SMIとの間に有意な相関係数（ULMM： $r=0.90$, $p<0.001$, SMM： $r=0.89$, $p<0.001$, SMI： $r=0.90$, $p<0.001$ ）が確認されました。同様に、LPの10RMとLLMM, SMM, SMIとの間にも有意な相関係数（LLMM： $r=0.75$, $p<0.001$, SMM： $r=0.81$, $p<0.001$, SMI： $r=0.83$, $p<0.001$ ）が確認されました。

またCPの10RMの回帰モデルは、ULMM： $Y=16.40X-13.27$ ($R^2=0.80$, $p<0.001$), SMM： $Y=3.81X-36.78$ ($R^2=0.77$, $p<0.001$), SMI： $Y=20.51X-81.27$ ($R^2=0.79$, $p<0.001$) が得られました。LPの10RMの回帰モデルは、LLMM： $Y=12.60X-3.21$ ($R^2=0.55$, $p<0.001$), SMM： $Y=8.09X-24.39$ ($R^2=0.64$, $p<0.001$), SMI： $Y=43.68X-119.60$ ($R^2=0.66$, $p<0.001$) が得られました。

【Discussions】本研究の目的は、CPおよびLPの10RMとBIA測定値との関係を調査し、さらに健康若年成人においてBIA測定値がCPおよびLPの10RMを説明できるかどうかを判断するための回帰モデルを開発することでした。本研究には二つの主な発見がありました。第一に、BIA測定値とCPおよびLPの10RMとの間に有意な相関が見られました。第二に、BIA測定値を用いてCPおよびLPの10RMを説明できることが示されました。

本研究の結果、BIA測定値とCPおよびLPの10RMとの間に有意な相関が示されました。先行研究で用いられた等尺性筋力や1RMなどの筋力指標とは異なり、本研究での10RMは、BIAでは直接評価できないエネルギー供給や筋線維タイプなどの持久力関連の要因に影響を受けます。それにもかかわらず、先行研究と一致して、我々の結果はBIA測定値と筋力との間に有意な相関を示した。

本研究では、CPおよびLPの10RMを説明することができるかを判断するために回帰モデルを構築し、すべてのBIA測定値でp値は有意であった。本研究の結果、BIA測定値でCPおよびLPの10RMを説明できることが示唆されました。BIAでは評価できない持久力要因の影響がある可能性があるにもかかわらず

ず、BIA測定値がCPおよびLPの10RMに有意に影響を与えていることを示しています。先行研究では主にBIA測定値を用いて1RMの回帰モデルを開発することに焦点が当てられていました。我々の発見は、BIA測定値が10RMの筋力も有意に説明できることを示唆しています。

本研究にはいくつかの限界があります。第一に、参加者はトレーニング経験のない健康な若年成人であり、本研究で使用した相関および回帰モデルは、個人が高齢であるかトレーニング経験がある場合には直接適用できない可能性があります。この問題に対処するためには、あらゆる集団に適応可能な多変量回帰モデルを開発する必要があります。第二に、絶対的なSMM値がBIA機器間で異なると報告されているため、今回得られた相関係数や回帰モデルは他のBIA機器のものと異なる可能性があります。したがって、他のBIA機器を用いる場合は、新しい回帰モデルを開発する必要があります。最後に、本研究で使用した回帰モデルは、使用するマシンによって筋力の絶対値が異なる可能性があります。したがって、各マシンに対して回帰モデルを開発する必要があります。

【Conclusion】トレーニング経験のない健康若年成人においてBIA測定値は、CPおよびLPの10RMと有意に相関しており、BIA測定値によって10RMを説明できることが示唆されました。これらの結果は、レジスタンストレーニングを処方する際に、安全かつ効率的に10RMを測定する方法論の開発に役立つ可能性があります。

（論文審査の結果の要旨）

本研究は、健康な若年成人を対象に、チェストプレスとレッグプレスの10RMと生体電気インピーダンスの関係を明らかにし、さらに、それらの値から10RMの回帰モデルの精度を解析した内容で学術的および社会的意義が高く、有用な研究と思われる。

審査会では、3名の審査員から研究の意義、合目的性、一部結果の解釈の飛躍箇所がある点を指摘された。これについては、不十分な点があったことや、説明不足で伝わらなかった点の補足説明がなされた。また、論文と発表の考察の相違、回帰分析についてなど細かい点についても質問があったが、先行研究との比較や本研究の限界を踏まえて責任を持ったやり取りができた。

このように、特に複数の審査員から同様の質疑があった点や、呈示されたデータからは分かりにくい現象が

あったことは、審査員だけでなく多くの読者が疑問に持つ点と思われたが、これらを含むすべての質疑に対して、学生はデータに沿って明確かつ適切に回答することができた。

さらに、論文自体も結果の解釈について丁寧に考察

されており、将来性が期待できる内容であることが確認できた。

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。

急性期医療を担う病院における認知症看護実践に関する組織風土尺度の開発と信頼性・妥当性の検討 (Development and Verification of the Reliability and Validity of the Organizational Climate Scale for Dementia Nursing Practice in Acute Care Hospitals)

小 山 尚 美

(論文の内容の要旨)

【背景】急性期病院における認知症高齢者のケアは、アセスメント抜きの看護や不必要な身体拘束によって患者の混乱が増強する等、課題が山積している。この課題に対し、看護師個々の資質向上が必要だが、医療現場の認知症ケアは組織環境から大きな影響を受けることが先行研究で明らかになっており、認知症看護の質向上のためには組織への働きかけが必須である。組織風土は、メンバーの価値観、態度、行動を規定する重要な要因でメンバーの動機付けや満足度に大きな影響を与えるため、急性期病院の認知症看護に関する組織風土の改善が課題解決につながると考えた。しかし、組織風土を可視化するツールは見当たらないため、本研究では急性期医療を担う病院における認知症看護実践に関する組織風土尺度 (Organizational climate scale for dementia nursing practice in Acute Care Hospitals, 以下 OcS-DNA とする) を開発し、信頼性と妥当性を検討することとした。

【方法】急性期病院で組織横断的活動をしている認知症看護認定看護師を対象に、認知症看護実践に関する組織風土についてインタビュー調査を行った。この結果と急性期病院の認知症看護実践および組織風土に関する文献をもとに87の尺度項目を作成した。その後、急性期病院で病棟に勤務するスタッフ看護職を対象に、87の尺度項目に関する無記名自記式質問紙調査を実施し、項目分析、因子分析 (最尤法によるプロマックス回転) を行った。固有値や因子の解釈可能性を検討した結果、4因子構造が抽出され、各因子の観測変数から、第1因子【患者の安寧重視のケア習慣 (以下、安寧重視)】、第2因子【認知症へのスティグマ (以下、スティグマ)】、第3因子【他業務優先の圧力 (以下、他業務優先)】、第4因子【認知症看護のチーム志向性 (以下、チーム志向性)】と命名した。この結果をもと

に、ステートメント表現をブラッシュアップし、各因子10項目、計40項目の OcS-DNA 尺度原案を作成した。急性期医療を担う病院で病棟に勤務するスタッフ看護職2,079名を対象に、尺度原案40項目、既存尺度 (認知症看護実践尺度、認知症看護困難感尺度、看護職チームワーク尺度)、『職場の認知症看護に対する認識』 (独自作成) に関する無記名自記式質問調査を実施した。分析は、項目分析 (要検討項目の基準値は、天井効果: $\mu + \sigma > 6.0$, フロア効果: $\mu - \sigma < 1.0$, I-T 相関および I-R 相関: .30未満, 項目間相関: .70以上) を行い、探索的因子分析 (最尤法, プロマックス回転とし、因子数は4因子に設定) では、回転後の因子負荷量が .40未満の因子、2つ以上の因子に .35以上の因子負荷量を持つ項目を削除候補とした。尺度全体と下位尺度の内的一貫性は Cronbach の α 係数 (基準値 .80以上) で評価し、確証的因子分析によるモデル適合度は、GFI (適合度指標 .90), AGFI (同 .85), CFI (同 .95), RMSEA (同 .08未満) を用いた。また、基準関連妥当性の評価として、既存尺度と本尺度の下位概念間の相関を確認した。なお、統計ソフトは IBM SPSS Ver28と Amos Ver28を用いた。

【結果】863名から回答が得られ、793名を分析対象とした。項目分析では、基準値を満たさない1項目を削除し、項目間相関が .70以上の項目 (15組26項目) は、項目の類似性から内容を比較検討し17項目を削除した。残り22項目で探索的因子分析を繰り返した結果、最終的に4因子14項目を OcS-DNA とした。各因子の解釈は尺度原案作成時と同様で、因子間相関は $r = .090 \sim .689$, Cronbach の α 係数は尺度全体が .861, 各因子は .857~.880であった。OcS-DNA の確証的因子分析では、GFI が .956, AGFI が .934, CFI が .972, RMSEA が .055であった。OcS-DNA と認知症看護実践尺度との間で正の相関 ($r = .512$) が、認知症看護困難感尺

度とは第2因子【スティグマ】($r = -.393$)と第3因子【他業務優先】($r = -.364$)で負の相関が、看護職チームワーク尺度とは、第1因子【安寧重視】($r = .444$)と第4因子【チーム志向性】($r = .423$)で正の相関があった。独自作成項目との相関係数は.367～.513であった。

【考察】本尺度は一定の信頼性と妥当性を有することが確認され、認知症看護実践に関わる組織風土の指標として活用可能である。

(論文審査の結果の要旨)

急性期病院における認知症高齢者のケアには、治療優先の状況や不必要な身体拘束、認知症の行動・心理症状(BPSD)の悪化による看護師の困難感など、多くの課題がある。これらの課題に対処するためには、看護師個々の資質向上だけでなく、組織環境の改善が必要である。組織風土はメンバーの価値観、態度、行動を規定し、動機付けや満足度に大きな影響を与えるため、組織風土の改善が課題解決につながると考えられる。しかし、組織風土を可視化するツールがない。本研究は以上の背景に鑑みて、急性期病院における認知症看護実践に関する組織風土尺度(OcS-DNA)を開発し、信頼性と妥当性を検討したものである。

尺度項目は、認知症看護認定看護師へのインタビュー調査と関連文献をもとに87項目を作成し、急性期病院の看護職を対象に無記名自記式質問紙調査を実施した。項目分析と因子分析の結果、4因子構造が抽出され、

各因子は「患者の安寧重視のケア習慣」「認知症へのスティグマ」「他業務優先の圧力」「認知症看護のチーム志向性」と命名された。最終的に、4因子14項目のOcS-DNAが確定した。

信頼性と妥当性の検証では、793名の看護職から得られたデータを分析し、OcS-DNAの内的一貫性は高く、確証的因子分析のモデル適合度も良好であると考えられた。また、既存尺度との相関も確認され、一定の信頼性と妥当性が示された。この結果から、OcS-DNAは認知症看護実践に関わる組織風土の指標として活用可能であることが示唆された。

提出された論文について審査委員は、申請者が急性期病院における認知症看護実践に関する組織風土およびその評価方法をどのような手順で確立したかの説明を求めた。具体的には、組織風土と組織文化の違い、国際的な組織風土の議論、組織風土の多層性と測定可能性、因子分析の方法、尺度の対象者と活用方法、回答のばらつきの解釈、認知症看護実践に焦点を当てた理由、基準関連妥当性評価の仮説、認知症とせん妄の区別、項目の取捨選択のプロセス、ステートメント表現の検討、せん妄やBPSDとの関連仮説、尺度の活用方法、組織風土の変革の主体について確認した。

質疑により適切な応答を経たことから、主査と副査は一致して、本論文を博士後期課程の学位論文として価値があるものと認めた。

Association between performance of basic movements at admission and socioenvironmental factors and returning home following inpatient stroke rehabilitation (回復期病棟入院脳卒中患者における入院時の基本動作能力と社会環境要因の自宅退院との関連性)

福 元 裕 人

(論文の内容の要旨)

【はじめに】脳卒中患者は急性期の治療を受けた後、自宅退院を目指して回復期リハビリテーション病棟(回りハ病棟)に入院するが、約20%の患者は自宅退院できない。現実的な退院計画を立てるために、どのような患者が自宅退院しやすいかを知る必要がある。これまでの研究で、脳卒中患者の自宅退院に関連する身体機能や社会環境要因が明らかになっている。回りハ病棟入院時の基本動作能力は自宅退院と関連することが示されているが、重要な因子である社会環境要因で調整しても同様な関連が示されるかどうかは明らかになっていない。本研究では、回りハ病棟入院時の基

本動作能力が社会環境要因を調整した上でも自宅退院と関連するかを調査することを目的とした。

【参加者および方法】本研究は、カルテデータを用いた後方視的研究である。研究は、信州大学と富山県リハビリテーション病院の倫理委員会の承認(No.5557とNo.86)を得て実施された。院内の掲示板とホームページでオプトアウトについて掲示し、参加拒否を可能とした。参加者は、富山県リハビリテーション病院・こども支援センターの回りハ病棟に2021年4月から2023年3月末に入院した脳卒中患者とした。選択基準は、18歳以上、脳梗塞または脳出血の診断、脳卒中発症前に自宅で生活していたものとし、除外基準は急

性期医療機関への転院，入院中の死亡，アウトカムおよび関連因子のデータ欠損とした。アウトカムは自宅退院，関連因子は基本動作能力と社会環境因子を用いた。自宅退院は，脳卒中発症前の居住地への退院と定義した。基本動作能力は，revised version of Ability for Basic Movement Scale (ABMS II) で評価した。社会環境因子は，先行研究のメタアナリシスに基づき，脳卒中発症前の同居者の有無，在宅支援者の有無，婚姻状況の有無を用いた。解析は，参加者を自宅群と施設群に分け，単変量ロジスティック回帰もしくは多変量ロジスティック回帰分析を用いて，関連因子の自宅退院との関連性を確認した。解析の結果 p 値が0.005未満である因子を，統計学的に有意な関連がある因子とした。解析結果の頑強性を高めるために，発症前の身辺動作の自立度（modified Rankin Scale で評価）と再発歴の有無で4つのサブグループを作り，それぞれで感度分析を行った。サンプルサイズは統計解析ソフト R のパッケージ「pmsampsize」を用いて計算した。先行研究をもとに，因子数4，アウトカム発生率0.2，C統計量0.827を設定したところ，必要サンプルサイズは246名であった。

【結果】480名の解析対象のうち，380名（79.2 %）が自宅退院した。単変量ロジスティック回帰分析の結果，基本動作能力，同居者の有無，在宅支援者の有無，婚姻状況の有無はそれぞれ自宅退院と統計学的に有意な関連性が確認された。多変量ロジスティック回帰分析の結果，基本動作能力は，3つの社会環境要因を調整した上でも，自宅退院と有意に関連していることが判明した。社会環境要因の中で，調整後も有意な結果を示したのは，発症前の同居状況のみであった。感度分析の結果，全てのサブグループで基本動作能力は自宅退院と有意な関連が確認されたが，社会環境要因は解析ごとに異なる結果であった。

【考察】本研究は初めて，回りハ病棟入院時の基本動作能力が社会環境要因で調整した上でも自宅退院と関連することを，多変量解析を用いて確認した研究である。本研究の自宅退院率は過去の研究で示された退院率と同様であり，各群の入院時の ABMS II や人口統計的情報，医学的情報について，先行研究と類似した傾向が確認されたことから本研究の対象者は回りハ病棟の代表例から逸脱していないことが考えられる。

入院時の基本動作能力が自宅退院と関連した理由として，入院時の ABMS II が退院時の Functional Independence Measure (FIM) と強く関連することが影

響したと考えられる。FIM は日常生活の自立度を表す評価法であり，運動項目が61点以下もしくは合計点が79点以下は中等度以上の障害を持つとされる。本研究の施設群は退院時の FIM 運動項目が平均37.8点，合計点が平均55.5点であり，多くの患者が日常生活に介助を要する状態であったことがわかる。ABMS II は座位保持や立位保持などの体幹機能評価が含まれていることも FIM と強い関連性を持つ一因であると考えられる。座位バランスは脳卒中の総合評価や FIM の各項目の中でも FIM 運動項目と最も強く関連していることが明らかになっており，そのため，入院時の ABMS II が退院時 FIM と関連し，自宅退院に関連を持ったと考えた。

社会環境要因の自宅退院との関連性が明確にならなかったことは，参加者の重症度や社会的背景が先行研究と異なることが影響したと考えられる。重症者のみを対象に社会環境因子の関連を調べた先行研究に対して，本研究はあらゆる重症度を対象としていることや，日本の医療システムでは支援者がいなくても在宅や地域のサービスを利用できることが，社会環境因子と自宅退院との関連性を弱くした可能性がある。自宅退院に関連する社会環境因子についてはさらなる研究が必要である。

（論文審査の結果の要旨）

令和6年12月27日午前9時～10時に実施した。まず大学院生から論文の要旨を15分ほどで説明が行われた。その後，主査および副査からの質疑に対して大学院生が応答した。

研究概要：本研究の目的は社会環境要因を調整した後，亜急性期脳卒中患者の入院時の基本動作能力と回復期リハビリテーション病棟からの帰宅との関連を調べたものである。診療記録を用いた後ろ向きコホートデザイン。主要なアウトカムは自宅復帰および施設入所であり，関連する因子は基本動作能力と社会環境要因である。基本動作能力は，基本動作能力尺度-II (ABMS II) の改訂版を用いて評価された。社会環境要因には，脳卒中前の同居状況，家庭での支援，婚姻状況とした。分析に含まれた480人の参加者のうち，380人が自宅復帰した。ABMS II のスコアは，社会環境要因を調整した後でも自宅復帰と有意に関連していることがわかった。様々な影響を与える社会環境要因の中で，調整後も有意であったのは脳卒中前の同居状況のみであった。社会環境要因を調整した後でも，基本動作能力は帰宅と関連していた。入院時の ABMS

II スコアと脳卒中前の同居状況を評価することは、亜急性期脳卒中後の合理的な入院計画に役立つ可能性がある。

本研究は脳卒中患者の回復期リハビリテーション病棟からの退院先の予測因子について、リハビリテーション専門職、特に理学療法士が介入する指標となる基本動作能力が関連したことを明らかにした初めての後ろ向きコホート研究である。介入にあたる評価としても重要な点であり、近年では回復期リハビリテーション病棟で ABMS-II の使用率が増加していることから、科学的知見の集積が期待される。調査対象者の退院先の意向が確認されていたか、自宅退院となりうる基本動作能力得点のカットオフ値はいくつか、退

院時に施設入所が明確となった場合のリハビリテーションアプローチはどのようなものか、脳卒中重症度による成績の違いはあるのか、自宅退院後の脳卒中再発率はどのくらいか、すでに評価尺度として研究成績が示されている FIM 下位項目を独立変数に含んだ分析モデルを検討すること等、いくつかの質問および指摘事項に対しても合理的な説明を行うことができ、当該研究の知見と限界の理解と今後の研究課題を示すことができた。審査において質疑に対する申請者の応答は真摯に行われ、その説明も論理的であり、本研究の中心的役割を果たして遂行されたことが伺えた。

以上のことから主査、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 tailored message notifications for frailty prevention in older adults: a quasi-randomized controlled study using a regression discontinuity design (高齢者における虚弱予防のためのテーラーメードメッセージ通知の影響：回帰不連続デザインを用いた準ランダム化比較試験)

倉 澤 康 之

(論文の内容の要旨)

【諸言】急速に進む高齢化社会において、高齢者の健康維持とフレイル予防は急務である。フレイルは、身体機能や認知機能の低下などを含む複雑な状態であり、早期の介入が必要とされる。フレイルの進行を防ぐためには、適切な予防策が不可欠であり、介護予防教室などの直接的な介入は多く報告されているが、一方でリーフレット配布などの間接的な介入の効果に関する報告は少ない。特に、手段的日常生活動作など複合的なアウトカムへの効果についての報告はない。長野県飯山市では2019年から、健康チェックリスト「基本チェックリスト」(KCL)を用いて高齢者の健康状態を評価し、プレフレイル(KCL スコア4-7)およびフレイル(KCL スコア8以上)の高齢者に対して、フレイル予防に関するメッセージ通知を送付する取り組みを行っている。本研究の目的は、この通知によるプレフレイルおよびフレイル状態の高齢者に対するフレイル予防効果を分析することとした。

【方法】本研究には飯山市で行われた KCL 調査データを用い、2019年から2022年までの期間において飯山市に在住し、介護認定を受けていない65歳以上の健康な高齢者16,318名が参加した。解析対象は重複対象者を除いた初年度の参加者のみとし、最終的に6,382名を解析した。研究デザインは回帰不連続デザイン(Re-

gression Discontinuity Design : RDD) を使用した。RDD はカットオフ値のある変数(強制変数)を用いて二分した2群を比較する方法であり、カットオフ値近傍の参加者は似通った特徴を持つため、比較可能であることを利用した準実験デザインである。強制変数には前年度の KCL 総得点を使用し、カットオフ値を4点および8点と設定し、対照群とメッセージ通知群に分類した。従属変数は翌年の KCL 総得点とし、メッセージ通知の介入効果を検証した。共変量は年齢と性別で調整し、欠測値は多重代入法を用いて補完した。

【結果】RDD による分析結果では、プレフレイル群においてメッセージ通知が KCL スコアの改善に寄与したことが確認された。しかし、フレイル群においては、統計的に有意な改善効果は確認されなかった。また、感度分析の結果、狭いバンド幅においてはプレフレイル群で有意な効果が観察されたが、バンド幅を広げると効果が低下する傾向が見られた。さらに、多重代入法を用いたモデルでは、プレフレイル群における通知の効果が限定的であり、欠損データが結果に及ぼす影響の大きさが強調された。

【考察】本研究の結果は、テーラーメードメッセージ通知がプレフレイル状態の高齢者に対して一定の効果を持つことを示している。しかし、その効果は限定的であり、

通知の内容や頻度の改善が必要であることが示唆された。特に、過去の研究では頻繁な通知が行動変容に与える影響が大きいことが報告されているが、本研究では年に1回の通知に留まっていたため、通知の頻度を増やすことでさらなる効果が期待できる。また、フレイル群に対しては、テキストメッセージだけでは十分な効果が得られない可能性が高く、より直接的な介入が必要である。例えば、フレイル予防クラスへの参加を促す取り組みや、具体的な身体活動を促進するプログラムの導入が求められる。さらに、欠損データが結果に与える影響が大きいため、今後の研究では、より精密なデータ収集およびフォローアップが重要となる。

【結論】本研究は、テラーメッセージ通知がプレフレイル高齢者に対して一定の予防効果を持つことを示したが、その効果は限定的であり、通知の内容や頻度の改善が必要である。本研究の結果は、地域社会における高齢者のフレイル予防に関する介入策の設計において、重要な基礎資料を提供するものである。

（論文審査の結果の要旨）

最初に申請者から本研究論文の概要の説明が行われた。長野県飯山市に在住している65歳以上の介護保険の未申請・未利用地域在住高齢者に対し、2019年から2022年にアンケートを用いた基本チェックリストによる悉皆調査を行い、Pre-frail, Frail 対象者にはテラーメイドの返書（メッセージ）を作成・送付し、その効果を回帰不連続デザインによる準ランダム化比較試験において検証した研究である。コントロールとしてはPre-frail, Frail 対象とならなかったものとし、アウトカムとしては1年後の基本チェックリストの得

点である。アンケート回収率は89 %であった。メッセージの効果としては、Pre-frail, Frail 対象者ともにカットオフを境に翌年の基本チェックリストのわずかな低下が観察された。一方その効果量は低値であり、また、Frail 群においてはそのメッセージ効果が少ないことが分かった。

これらの発表内容と原著論文を照らし合わせて質疑が行われた。テラーメイドの返書（メッセージ）は行動変容のステージに応じた内容にはなっておらず、また返書のタイミングとその回数にも行政との連携の限界があり不十分であることが指摘された。また、調査時期が新型コロナウイルス流行期に重なっており、調査対象者の行動が緊急事態宣言の影響を受けている可能性も指摘された。回帰不連続デザインを用いた準ランダム化比較試験のカットオフポイントを今回Pre-frail, Frail の2点としたため、Frail においては純粋な対照群として用いることができていない点が指摘された。一方、行政の行っている調査および介入を丁寧に評価し、その介入効果を明らか下天においては非常に価値が高いと思われる。費用対効果の検証、行動変容ステージに応じたメッセージの作成と返書の時期と回数を改善することの検証など、今後の研究課題に有用である可能性が示唆された。

審査において質疑に対する申請者の応答は真摯に行われ、その説明も論理的であり、本研究の中心的役割を果たして遂行されたことが伺えた。

以上から、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。