

博士學位論文

内容の要旨および審査結果の要旨

第 27 集
(平成23年度)

金 沢 医 科 大 学

博士學位論文

内容の要旨および審査結果の要旨

第 27 集
(平成23年度)

金 沢 医 科 大 学

は し が き

本集は、学位規則（昭和 28 年 4 月 1 日文部省令第 9 号）第 8 条による公表を目的として、本学において博士（医学）の学位を授与した者の論文内容の要旨および審査の結果の要旨を収録したものである。

— 第27集 目 次（平成23年度） —

学位授与 番 号	氏 名	論 文 題 名	頁
甲 第406号	浜 崎 優 子	The effects of sleep duration on the incidence of cardiovascular events among middle-aged male workers in Japan	1
甲 第407号	長 井 麻希江	Effects of Fatigue on Immune Function in Nurses Performing Shift Work	4
甲 第408号	武 市 敏 明	The effects of low-dose methamphetamine pretreatment on endoplasmic reticulum stress and methamphetamine neurotoxicity in the rat midbrain	6
甲 第409号	Pham The Tai	Dioxin Concentrations in Breast Milk of Vietnamese Nursing Mothers: A Survey Four Decades after the Herbicide Spraying	9
甲 第410号	水 野 史 人	心筋梗塞後の心臓リモデリングに対する心臓矯正ネットの効果 —心臓超音波エコー，圧容量曲線による右室・左室機能からの評価	12
甲 第411号	三 上 直 宣	心臓矯正ネットの両心室収縮能と拡張能に対する影響の検討	14
甲 第412号	渥 美 久 登	Reversal of redox-dependent inhibition of diacylglycerol kinase by antioxidants in mesangial cells exposed to high glucose	16
甲 第413号	石 神 慶一郎	Association of severe hypertension with pneumonia in elderly patients with acute ischemic stroke	19
甲 第414号	舘 慶 之	脊髄損傷の治療に向けて —ラット脊髄切断モデルにおけるhyaluronidase-4の発現解析	22
甲 第415号	趙 希 彤	Significance of Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging in Diagnosis of Lung Cancer: Correlation of Apparent Diffusion Coefficient Value with Clinicopathological Factors	25
甲 第416号	藤 林 幸 輔	Serum deoxyribonuclease I activity can be a useful diagnostic marker for the early diagnosis of unstable angina pectoris or non-ST-segment elevation myocardial infarction	28
甲 第417号	山 本 純 平	パクリタキセルによる嗅神経傷害に対する加味帰脾湯の予防効果に関する実験的研究	31

甲 第418号	小 室 明 人	ウサギ軟骨膜温存モデルでの肋軟骨採取後の軟骨再生増強へのbFGFの応用 33
乙 第275号	矢 口 裕 基	Identification of the <i>COL2A1</i> Mutation in Patients with Type I Stickler Syndrome Using RNA from Freshly Isolated Peripheral White Blood Cells 36

氏名（生年月日）	はま ざき ゆう こ 浜 崎 優 子 （昭和 32 年 5 月 2 日）
本 籍	石 川 県
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	甲 第 4 0 6 号
学位授与の日付	平成 2 4 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	The effects of sleep duration on the incidence of cardiovascular events among middle-aged male workers in Japan （日本の中年勤労男性における循環器疾患発生に関する睡眠時間の影響）
論 文 審 査 委 員	主 査 梶 波 康 二 副 査 山 田 裕 一 榎 博 久

学位論文内容の要旨

研究目的

循環器疾患と睡眠時間との関係について、近年の多くの疫学研究において確認されてきた。脳卒中については長時間睡眠者でリスクが高いとする報告が多い一方で、冠動脈疾患との関連については結果の一致をみていない。短時間睡眠でリスクが高いとするもの、短時間睡眠と長時間睡眠の双方でリスクが高いとするものなどがある。冠動脈疾患発症について結果が一致していない原因として、これまでの研究のほとんどは若者から高齢者まで広範囲の年齢幅を持つ集団を対象に実施していることが考えられる。睡眠時間を規定する要因は年齢によって異なり、高齢者においては基礎疾患などの健康状態が関係し、中年では勤務時間など職業的要因の影響が大きいことがわかっている。これまでに勤労者集団に限って循環器疾患の発生と睡眠時間の関連を検討したものは欧米における一研究のみである。そこで、本研究では、日本の健常な中年男性労働者集団を対象に長期追跡研究を実施し、循環器疾患発生に及ぼす睡眠時間の影響を検討した。

実験方法

北陸の某軽金属工場に働く 35-54 歳の男性労働者 2395 人のうち、脳卒中や冠動脈疾患の既往があるもの 6 人、ベースライン調査時の情報が不十分であったもの 80 人、追跡できなかったもの 27 人の計 113 人を除外した 2282 人を解析対象とした。解析対象者の平均年齢は 43.7±5.5 歳であった。1994 年をベースラインとし 14 年間の脳心事故、すなわち脳卒中、冠動脈疾患、心臓突然死の発生を追跡した。

対象者をベースライン時の睡眠時間を元に 4 群（6 時間未満、6-6.9 時間、7-7.9 時

間、8時間以上)に区分し、冠動脈疾患あるいは脳卒中の発生率を比較した。6時間未満84人、6-6.9時間559人、7-7.9時間1131人、8時間以上508人であった。Cox比例ハザードモデルを用いて睡眠時間7-7.9時間を基準とした他の群の脳心事故、脳卒中、冠動脈疾患発生ハザード比を求めた。ベースライン時の年齢、職業要因(職種、労働時間、精神的労働負担)、BMI、平均血圧値、HbA1c、総コレステロール、喫煙習慣、飲酒習慣、運動習慣、高血圧・糖尿病・高脂血症の治療歴を交絡因子として調整した。

実験成績

追跡期間中に64件の脳心事故発生があり、このうち脳卒中30件、冠動脈疾患27件、心臓突然死7件であった。脳心事故発生者の平均観察期間は 8.6 ± 3.7 年であった。脳心事故未発生者の平均観察期間は 12.5 ± 2.5 年であった。脳心事故の粗発生率(1000人年)は2.26で、睡眠時間による4群の脳心事故の粗発生率(1000人年)は6時間未満6.17、6-6.9時間1.87、7-7.9時間1.91、8時間以上2.87と、6時間未満群が最も高かった。

睡眠時間6時間未満の短時間睡眠群では、脳心事故の交絡要因調整後のハザード比は3.49(95%信頼区間、1.30-9.40)であり、統計的に有意なリスク上昇が認められた。同様に冠動脈疾患についてもハザード比は4.95(1.31-18.73)と有意に高かった。しかし、脳卒中に対しては有意なリスクとは認められなかった。睡眠時間が6-6.9時間と8時間以上については、脳心事故、冠動脈疾患、脳卒中いずれも有意なリスク上昇は認めなかった。

総括および結論

日本の中年男性労働者を対象とした14年間の追跡調査の結果、従来から明らかになっている循環器疾患の危険因子や職業要因などの交絡因子を調整しても、6時間未満の短時間睡眠は7-7.9時間睡眠と比べて冠動脈疾患発生危険が有意に増加していた。一方、8時間以上の長い睡眠は、循環器疾患や心疾患の発生の危険に有意差がなかった。また、脳卒中の発生は睡眠時間との有意な関連性はなかった。

循環器疾患と睡眠時間との関係について、これまで中年労働者を対象にした研究はイギリスの公務員を対象にしたホワイトホールIIスタディーのみであった。ホワイトホールIIスタディーにおいても短時間睡眠が冠動脈疾患発症リスクであることを認めている。

本研究の強みは、対象を労働集団に絞って、この集団における睡眠時間の規定要因、すなわち労働に関する要因を潜在的交絡要因として調整したことであった。

一方、本研究にはいくつかの限界があった。第一に、本研究において、女性の脳心事故の発生が少なく解析できなかったため、男性のみを対象にしたことであった。第二に、統計的パワーの不足により、短時間睡眠と長時間睡眠における脳心事故の発生が少なかったことであった。第三に、睡眠時間は自記式質問紙調査によって得られたことであった。しかし、欧米人に比べて冠動脈疾患の発生率が低いアジア人において、欧米人と同様に短時間睡眠が冠動脈疾患発生と有意に関連していたことが明らかになったことは意義があると考えられる。

結論として、生活習慣の改善や長時間労働などの職業的要因の調整によって適正な睡眠時間を確保することは、中年男性勤労者の循環器疾患発生の予防につながることを示唆さ

れた。

論文審査結果の要旨

申請者は、日本の健常な中年男性労働者集団を対象に長期追跡研究を実施し、循環器疾患発生に及ぼす睡眠時間の影響を検討した。

本研究の強みは、睡眠時間に長時間労働などの職業要因の影響が大きいことが示されている中年男性労働者を対象に追跡調査を行ったことである。その結果、欧米に比べて冠動脈疾患の発生率が低いアジア人において、冠動脈疾患の発生に短時間睡眠の影響が認められたことは特筆すべき点であると考えられる。その関連は、血圧など既知のリスク要因や労働時間や精神的労働負担などの職業要因を調整しても認められた。すなわち、短時間睡眠は原因の如何を問わず、また、確立された危険因子から独立して冠動脈疾患のリスクを高めることが示された。

このことは、生活習慣の改善や長時間労働などの職業的要因の調整によって適正な睡眠時間を確保することにより、中年男性勤労者の循環器疾患発生を予防できることを示唆したものであり、産業保健領域に重要な知見を加えたものと考えられる。

以上により、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

Scandinavian Journal of Work, Environment & Health Vol.37, No.5, 2011

氏名（生年月日）	なが い まきえ 長 井 麻希江 （昭和 42 年 5 月 4 日）
本 籍	石 川 県
学 位 の 種 類	博 士（医 学）
学 位 記 番 号	甲 第 4 0 7 号
学位授与の日付	平成 2 4 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	Effects of Fatigue on Immune Function in Nurses Performing Shift Work （交替制勤務を行う看護師の自覚的疲労が免疫機能に与える影響）
論 文 審 査 委 員	主 査 梅 原 久 範 副 査 中 村 晃 山 田 裕 一

学位論文内容の要旨

研究目的

夜勤交代制勤務は、概日リズムのかく乱からホルモン分泌の変調、免疫機能の変調を来し発がんリスクとなる可能性が示唆されている。夜勤交代制勤務による看護師の自覚的疲労が免疫機能に与える影響を明らかにするために、交代制勤務による睡眠はく奪が引き起こす疲労の程度と免疫機能、特に NK 細胞活性、リンパ球サブセットの変化との関連を検討した。

実験方法

石川県内にある単科精神科病院で交代制勤務を行っていた女性看護師 57 名を解析対象とした。3 交代制（日勤-深夜勤-準夜勤-休日）のうち、日勤と深夜勤が含まれる 24 時間において、免疫機能を評価するための採血と自覚的疲労を問う自己記入式質問紙調査）を実施した。免疫機能の NK 細胞活性は ⁵¹Cr 遊離法にて、リンパ球数はフローサイトメトリー法を用いて測定した。自覚的疲労度は、日本産業衛生学会・産業疲労研究会が作成した「自覚症しらべ」を用いて調査した。

実験成績

交代制勤務を行う女性看護師の自覚的疲労度は、日勤開始時から深夜勤終了時まで一貫して増加し続けた。免疫機能は、日勤開始時に比べて深夜勤終了時において NK 細胞活性および CD16⁺56⁺リンパ球が減少し、CD4⁺リンパ球が有意に増加していた。NK 細胞活性の低下は、既婚者、認知症病棟勤務者でより大きかった。CD3⁺、CD4⁺リンパ球数の増加は、若年群が高年群よりも有意に大きかった。

総括および結論

看護職の交代制勤務による疲労の蓄積は、NK 細胞に対して抑制的に働き、ヘルパーT 細胞に対して賦活的に働く傾向が認められた。また、その影響の度合いは自覚的疲労度の増加レベルに依存していた。CD 4⁺リンパ球の増加は、疲労増大に対する生体の防衛反応であるのかもしれない。看護職者における交代制勤務においては、自覚的疲労の蓄積を最小限に抑える勤務体制の構築が求められる。

論文審査結果の要旨

本研究は、看護師の夜勤交代制勤務によるストレスと免疫機能との関連を科学的観点からの証明を試みたものである。従来、横断的研究により、夜勤交代制勤務者が常日勤者に比べてリンパ球増殖能および NK 細胞活性が低いことが報告されていたが、申請者らは、交代制勤務を行っている 57 名を対象として、経時的にストレス強度と免疫機能との関連について検討した。日勤終了後 7 時間の間隔を空けて深夜勤が連続する 24 時間において、交代制勤務を行う女性看護師の自覚的疲労度は、日勤開始時から深夜勤終了時まで一貫して増加し続けた。NK 活性は、日勤開始時に比べて深夜勤終了時において有意に低下し、一方、CD 4 陽性細胞数は有意に増加するという結果を示した。この事実は、看護職の交代制勤務による疲労の蓄積が、NK 細胞に対して抑制的に働くが、ヘルパーT 細胞に対しては賦活的に働き、免疫の恒常性を維持している要因である可能性がある。この知見は、看護師の夜勤交代制勤務による生体に及ぼす影響を科学的見地から実証したものである。

以上により、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

Journal of Occupational Health Vol.53, No.5, 2011

氏名 (生年月日)	たけ いち とし あき 武 市 敏 明 (昭和 51 年 9 月 17 日)
本 籍	京 都 府
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	甲 第 4 0 8 号
学位授与の日付	平成 2 4 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	The effects of low-dose methamphetamine pretreatment on endoplasmic reticulum stress and methamphetamine neurotoxicity in the rat midbrain (ラット中脳における小胞体ストレスとメタンフェタミンの神経毒性に対するメタンフェタミン少量前投与の効果)
論文審査委員	主 査 西 尾 眞 友 副 査 加 藤 伸 郎 川 崎 康 弘

学位論文内容の要旨

研究目的

覚醒剤であるメタンフェタミン (METH) は、強力な依存性と神経毒性を持つ違法薬物であり、日本においても覚醒剤濫用による死亡事例が報告されていることから、法医剖検例において METH による神経細胞障害の診断精度の向上は重要である。また、濫用者にみられる少量の METH 反復投与パターンによる中脳の神経細胞への影響に関する報告は少ない。

この研究では、ヒトの濫用パターンがある程度再現できる低濃度 METH を 5 日間投与したラットにおいて、中脳の神経細胞における小胞体ストレスの発現と神経毒性への影響について検討を行った。さらに、少量の METH の前投与が、多量の METH 投与による中脳の小胞体ストレス発現及び神経毒性に対する影響についての検討を行った。

実験方法

0.5, 1.0, 5, 10 mg/kg の METH を 5 日間投与後 2 4 時間の中脳における小胞体シャペロン分子の Glucose regulated Protein 78 (GRP78) 蛋白及び mRNA を Western blotting および Real Time PCR による解析を行った。さらに、細胞障害と酸化ストレスのマーカーとして、C/EBP homologous protein (CHOP), tyrosine hydroxylase (TH), glial fibrillary acidic protein (GFAP), Cu/Zn super oxide dismutase (SOD1) を Western blotting により解析した。

次に、1.0 mg/kg の METH (M/M 群) または Saline (S/M 群) を 5 日間前投与し、6 日目に多量の METH (40 mg/kg/day) を投与後、8 時間 (8h), 1 日 (1d), 3 日 (3d) の中脳におけ

る GRP78, CHOP, TH, GFAP, SOD1, さらに, B-cell lymphoma protein 2 (Bcl-2), Bcl-2-associated X protein (Bax)を, Western blotting により定量した。

さらに, 中脳における GRP78 陽性細胞の観察を, 蛍光免疫二重染色法により行った。

実験成績

METH の各濃度の 5 日間投与では, 1.0 mg/kg 投与のみで GRP78 の有意な増加を認めた。この時, CHOP, TH, GFAP 及び SOD1 に有意な変化を認めなかった。

M/M 群では, 8h と 3d に GRP78 の有意な増加を認め, CHOP, TH, GFAP には, 有意な変化を認めなかった。一方, S/M 群では GRP78 に有意な変化を認めず, 3d において CHOP, GFAP に有意な増加を認め, TH の有意な低下を認めた。

Bcl-2/Bax 比は, S/M 群では有意な低下を認めた。しかし, M/M 群には有意な変化を認めなかった。酸化ストレスの指標となる SOD1 の発現は, S/M 群は 3d に有意に増加し, M/M 群では, 8h で有意な増加を認めた。

蛍光免疫二重染色による解析では, GRP78 は TH 陽性細胞に発現しているが, GFAP 陽性であるアストロサイトには GRP78 の発現は認めなかった。

総括および結論

1 mg/kg の METH を 5 日間慢性投与すると, GRP78 が増加し, 細胞障害や酸化ストレスのマーカーに有意な変化を認めないことから, 少量の METH の慢性投与により惹起される GRP78 は, METH の細胞障害に関与していない可能性が考えられた。

この, GRP78 を誘導する 1 mg/kg の METH を前投与した動物に多量の METH を投与すると, GRP78 が更に増加し, 神経毒性は抑制されていた。さらに, Bcl-2/Bax 比の有意な低下を認めなかった。これは, CHOP を介した小胞体ストレスからのアポトーシスの抑制を示唆していると考えられ, 少量の METH の前投与による中脳における小胞体ストレス蛋白の誘導は, アポトーシス経路の一部分を抑制している可能性を示唆していると考えられた。さらに, 少量の METH の前投与により, SOD1 の発現増加が早期に認められた。

以上のことより, 少量の METH 前投与による中脳の小胞体ストレスの誘導は, METH の神経毒性に関連したアポトーシス経路の一部及び酸化ストレスの抑制と関連することが示唆された。しかしながら, 少量の METH の反復投与による中脳の小胞体ストレスの発現には不明な点が多く, 中脳の神経細胞への影響を解析するには, この病態における小胞体ストレスの役割を明らかにすることが重要と考える。

今回の研究により得られた知見は, 小胞体ストレスを指標とした覚醒剤濫用の中脳神経細胞への病態生理学的メカニズム解析に寄与すると共に, ヒトの覚醒剤関連死の法医学病理学的診断に有用な情報を提供すると考えられた。

論文審査結果の要旨

申請者は, 法医学剖検においてしばしば見られるメタンフェタミン (METH) による死亡事例の診断精度を向上させることを目的として, METH による神経細胞障害の詳細なメカニズムについて検討した。

ヒトの濫用パターンがある程度再現できる低用量 METH を5日間投与したラットにおいて、中脳の神経細胞における小胞体ストレスの発現と神経毒性への影響について検討を行ったところ、小胞体ストレス時に増加するシャペロン分子である GRP78 の蛋白及び mRNA の増加を認め、その後投与した大量の METH による神経毒性が抑制された。この結果は少量の METH 前投与によって見られる、中脳における小胞体ストレス蛋白の誘導が、アポトーシス経路の一部を抑制している可能性を示唆している。また、少量の METH 前投与により、酸化ストレスの指標となる SOD1 の発現増加が早期に認められ、METH 大量投与による酸化ストレスが、少量の METH 前投与により抑制される可能性も考えられた。

今回の研究により得られた知見は、覚醒剤濫用による中脳神経細胞障害の、小胞体ストレスを指標とした病態生理学的メカニズム解析に寄与すると共に、ヒトの覚醒剤関連死剖検例の法医病理学的診断精度の向上に有用な情報を提供すると考えられた。

以上により、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

Legal Medicine Vol.14, No.2, 2012

氏名（生年月日）	フアム テ タイ Pham The Tai （1979年11月14日）
本 籍	ベトナム社会主義共和国
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲 第409号
学位授与の日付	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Dioxin Concentrations in Breast Milk of Vietnamese Nursing Mothers: A Survey Four Decades after the Herbicide Spraying (ベトナム人女性の母乳中ダイオキシン濃度：枯葉剤散布から40年経った後の調査)
論文審査委員	主 査 山 田 裕 一 副 査 八 田 稔 久 牧野田 知

学位論文内容の要旨

研究目的

ベトナム戦争中の1961～1971年、旧南ベトナム領各地に、総量で7,100万リットルに達するダイオキシン枯葉剤が米軍によって散布された。これによるダイオキシン環境汚染の実態解明の研究は1970年代から行われてきたが、その多くが2000年以前に行われ、特に高度な汚染地での資料の分析に偏っている点や、交絡要因についての検討が十分されていないなどの点から、それらの結果を今日のベトナムにおける枯葉剤によるダイオキシン汚染実態として一般化することには問題があると考えられる。

本研究は、第1にベトナム各地から母乳を採取してダイオキシン濃度を調べ、今日における汚染の実態を明確にする、第2に母乳中のダイオキシン濃度に関連する要因を明らかにする、第3に枯葉剤散布地域の乳児の1日ダイオキシン摂取量を推定することを目的とした。

実験方法

2002-2003年および2008-2009年に、旧南ベトナム領内の枯葉剤の運搬・保管拠点であり、もっとも高濃度に汚染された旧米空軍基地周辺の3地域（以下ホットスポット）286人と枯葉剤が散布された1地域（以下散布地域）96人、および対照として旧北ベトナム領で枯葉剤散布がなかった2地域（以下非散布地）138人の、出生後3-22週の乳児に授乳している母親から同意を得て母乳約20mlを採取した。抽出した母乳脂質中の17種のダイオキシン族化合物の同定と定量を、標準化された高感度質量分析計を装備したガスクロマトグラフを用いて行った。

母乳中ダイオキシン濃度はもっとも毒性の高い 2,3,7,8-テトラクロロディベンゾ・パラ・ダイオキシン（以下 TCDD）濃度と、その毒性を 1 とした時の各族化合物の毒性当量（以下 TEQ）の総和として表し、地域間の濃度差を幾何平均についての分散分析法で、また、それらへの母の年齢、散布地居住年数、出産回数の影響を重回帰分析法により検討した。さらに、乳児の哺乳量を 1 日 800ml と仮定したときの 1 日ダイオキシン摂取量を推計した。

実験成績

TCDD 濃度と毒性当量 TEQ の平均値は、ホットスポット 3 地区の初産婦でそれぞれ 1.97 pg/g・脂質と 14.29, 1.66 pg/g・脂質と 14.05 および 1.39 pg/g・脂質と 13.85 であり、散布地域の初産婦の TCDD 濃度は 1.05 pg/g・脂質、TEQ は 10.89 であった。これらの値は非散布地の 2 地区の初産婦の 0.63 pg/g・脂質と 3.97 および 0.50 pg/g・脂質と 4.33 に比べ 3 ないし 4 倍の高濃度であった。一方、枯葉剤散布地域、非散布地に共通して、経産婦の母乳中 TCDD 濃度、TEQ のいずれもが初産婦に比べて約 30%低値を示し、統計的な有意差を示した。

重回帰分析の結果、出産経験の他、年齢と散布地域での居住年数の上昇がダイオキシン濃度の上昇に有意に関連することが示された。また、ホットスポットと散布地域での母乳中ではダイオキシン族の中でも 1,2,3,4,7,8-HexaCDF がもっとも含有率が高かったのに対し、非散布地域での母乳中では 2,3,4,7,8-PentaCDF がもっとも含有率が高く、散布地域と非散布地域でダイオキシン族プロファイルとは異なることが示され、両地域でのダイオキシンの汚染源が異なる可能性が示唆された。

さらに、ホットスポットと散布地域の乳児の平均 1 日ダイオキシン摂取は体重 1kg あたり TEQ 96.4 と 64.5 で、これらはダイオキシン摂取が多い日本や米国の乳児での推定摂取量を上回る値であった。

総括および結論

枯葉剤散布地域に居住する母親の母乳中の TCDD 濃度と TEQ は、非散布地に比べて 3~4 倍の高濃度であった。初産婦に比べ経産婦での母乳中のそれらの値は約 30%低く、母乳が体内に蓄積されたダイオキシンの重要な排泄経路であることを示す所見と考えられた。枯葉剤散布地での居住年数の長さが母乳中濃度の高さに影響すること、および散布地と非散布地の母乳中のダイオキシン族化合物のプロファイルが異なることから、枯葉剤散布地域での高濃度の母乳中ダイオキシンは、枯葉剤散布による周囲環境の汚染の反映であると結論された。

また、枯葉剤散布地に居住する女性の母乳中ダイオキシンの濃度は、それを摂取する乳児の発達を障害する可能性がある水準に達することが示唆された。

論文審査結果の要旨

本研究は、枯葉剤の大量散布後 40 年を経過した今日のベトナムにおいて、適切な資料収集とその標準化された分析方法および妥当な統計解析によって、ダイオキシンによる環

境汚染および人体への蓄積の実態を明らかにしようとしたものである。

ホットスポットと呼ばれる旧米空軍基地周辺の特に枯葉剤汚染の強い3地域および枯葉剤が散布された1地域に居住する母親から得られた母乳中のダイオキシン濃度は、対照とした枯葉剤の散布されなかった2地域からの母乳の3~4倍に達する濃度であった。しかも、その濃度の高さは散布地域での居住年数に関連するとともに、母乳中のダイオキシン族化合物のプロファイルも非散布地域のそれとは異なるものであった。これらの事実は、枯葉剤散布地域では現在でもダイオキシン汚染が存在しており、人体への蓄積も著しく高めていることを示す。このように、枯葉剤投下40年後の今日のベトナムにおいても環境ダイオキシン汚染が継続し、人体に高濃度で蓄積している事実と、散布地域に居住する女性の母乳中ダイオキシンの濃度が、それを摂取する乳児の発達を障害する可能性がある水準に達するものであることを明らかにした本研究は、今後のさらなる研究の緊急性と重要性を示すとともに、ダイオキシンに関わる環境医学研究に多大な貢献をする極めて貴重で有益な報告である。

以上により、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

Environmental Science & Technology Vol.45, No.15, 2011

氏名（生年月日）	みずのふみと 水野史人（昭和48年7月12日）
本籍	静岡県
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第410号
学位授与の日付	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	心筋梗塞後の心臓リモデリングに対する心臓矯正ネットの効果 —心臓超音波エコー，圧容量曲線による右室・左室機能からの評価—
論文審査委員	主査 梶波 康 二 副査 芝本 利 重 岩井 邦 充

学位論文内容の要旨

研究目的

心筋梗塞後には梗塞部位の収縮力が低下するが、非梗塞部の代償的肥大により心機能低下が補われる。しかし、梗塞範囲が広範囲になると進行性の心拡大を来し、非梗塞部の収縮性も低下し、さらに心機能低下と心拡大が進行する（心筋梗塞後左室リモデリング）。左室リモデリングの抑制には、ACE 阻害薬やアンギオテンシンⅡ受容体拮抗薬、β遮断剤などの薬物療法が用いられるが、広範囲心筋梗塞に対する左室リモデリング予防効果は十分ではない。広範囲心筋梗塞後ではリモデリングにより心不全が増悪し、特に後下壁心筋梗塞後には後乳頭筋の外側・下方への偏位に伴い虚血性僧帽弁閉鎖不全（Ischemic mitral regurgitation：IMR）を生じる。重症心不全の治療法として Acorn CorCap®をはじめとした心臓矯正ネット（Cardiac Support Device：CSD）装着が提唱され始めているが、心筋梗塞後早期に心臓周囲に装着された心臓矯正ネットの心臓リモデリング、虚血性僧帽弁閉鎖不全に対する予防効果については十分検討されていないことから、本研究では心臓矯正ネットの心筋梗塞後リモデリング・IMR に対する治療効果を検討した。

実験方法

8～13kg のビーグル犬 12 頭を用い、全身麻酔（セボフルレン吸入麻酔）下に左第 4 肋間開胸、心膜切開を行った。後壁を灌流する全ての冠動脈（対角枝の一部と回旋枝、平均 6 本）を 6-0 Polypropylene で結紮し、同領域の心筋梗塞モデルを作成した。心筋梗塞作成後 7 日目に心臓と同じサイズ・形状のネットを装着した。ネットはイヌの心臓形状に合わせて島精機社製コンピュータ編み機で作成した。ネット非装着群（CTL 群）6 例、装着群（CSD 群）6 例とした。心筋梗塞作成前と作成後 30 分時に心エコーにて LVDD/Ds, LVEDV, LVESV, LVEF, MR の程度を評価した。心筋梗塞作成後 90 日目に、再度全身麻酔下に胸骨

正中切開を行い、心臓エコーによる評価、Millar catheter と Conductance catheter による両心室の圧容積関係(Max dP/dt, Min dP/dt, 拡張時定数 (tau), Emax)の計測及び急速容量負荷による収縮能・拡張能の評価を行った。

実験成績

本モデルにおいて重症の IMR は作成できなかつた。心臓エコー検査で求めた LVEDV は心筋梗塞作成前, 作成後 30 分, 90 日目で, 前値 (心筋梗塞作成前) を 100 % とし 90 日目では CTL 群で有意に拡大したが ($P < 0.05$), CSD 群では差を認めなかつた。LVESV は心筋梗塞作成前, 作成後 30 分, 90 日目で LVEDV と同様に, 前値 (心筋梗塞作成前) を 100 % とし 90 日目と比較すると, CTL 群で有意に拡大していた ($P < 0.05$) が, CSD 群では差を認めなかつた。LVEF は心筋梗塞作成前, 作成後 30 分, 90 日目で, 前値 (心筋梗塞作成前) を 100 % とし比較すると, 作成前と作成後 30 分の比較では CTL 群で有意に低下を認め ($P < 0.01$), CSD 群でも有意に低下を認めた ($P < 0.01$)。作成前と 90 日目の比較では CTL 群は有意に低値のままであったが ($P < 0.01$), CSD 群ではほぼ作成前の値に戻つた。LVEDP 14 mmHg 時の左室の Max dP/dt は両群間に有意差を認めなかつた。また LVEDP 14 mmHg における右室の Max dP/dt も両群間に有意差を認めず, 右室の収縮能はネットにより制限されなかつた。左室の Min dP/dt は両群間に有意差を認めなかつた。右室の Min dP/dt も両群間に有意差を認めず, 右室の拡張能はネットにより制限されなかつた。左室の Tau, 右室の Tau とともに, 両群間で有意差を認めなかつた。LV Emax は CSD 群で有意に良好であった ($P < 0.01$)。RV Emax は CSD 群で高い傾向を認めたものの, 統計学的に有意には至らなかつた。

総括および結論

イヌの心筋梗塞モデルを用い梗塞早期の心臓矯正ネット装着により両心室拡張能を障害することなく心臓リモデリング予防, 収縮能維持が得られることを示し, ヒト重症心筋梗塞における新しい治療手段となりうることを示唆された。

論文審査結果の要旨

本研究は, ビーグル犬を用いて作成した広範囲後壁心筋梗塞モデルにおいて, 梗塞後の心臓リモデリングおよび虚血性僧帽弁閉鎖不全に対する心臓矯正ネットの影響を, 両心室拡張能及び収縮能, さらに僧帽弁閉鎖不全 (MR) に対する効果を評価することで検討したものである。その結果, 冠動脈結紮 90 日後にはネット装着群は非装着群に比べて, 収縮能ならびに拡張能の低下が抑制され, ネット装着が有効であることを示した。複数回の手術を必要とする慢性実験を良く遂行し, 明快なデータを得たもので学位論文に十分値すると考えられた。

以上により, 本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

金沢医科大学雑誌 第 37 巻 第 1 号 平成 24 年

氏名（生年月日）	三 上 直 宣 （昭和 55 年 12 月 29 日）
本 籍	広 島 県
学 位 の 種 類	博 士（医 学）
学 位 記 番 号	甲 第 4 1 1 号
学位授与の日付	平成 2 4 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	心臓矯正ネットの両心室収縮能と拡張能に対する影響の検討
論 文 審 査 委 員	主 査 利 波 久 雄 副 査 芝 本 利 重 松 井 忍

学位論文内容の要旨

研究目的

重症心不全患者に対する心臓リモデリング防止のための心臓矯正ネット治療(Cardiac Support Device:CSD)が欧米で試みられているが、心臓矯正ネットの至適サイズに関しては治療後の左室拡張末期径が 10%以上縮まない程度で調整するといった曖昧な基準しかない。また心臓矯正ネットは単純なネット構造のため左心室だけでなく右心室も拘束するが、右心室の収縮能と拡張能への影響についてはまだ十分に検討されていない。この研究の目的は、心臓矯正ネットの両心室の収縮能と拡張能に対する影響を評価し、至適な矯正条件を明らかにすることである。

実験方法

健康な Yorkshire 種豚 10 頭を用い、適切な麻酔管理下に右室と左室に圧測定用のミラークテーテルと容積測定用のコンダクタンスカテーテルを挿入し、両心室の収縮能と拡張能を評価した。100bpm の心房ペーシングで血行動態を安定させ、200 ml ずつの容量負荷を加えて心腔内容積を計測した。心臓矯正ネットは、島精機製コンピュータ編み機に豚心臓の型紙を入力して、この型紙の大きさを 100%とし、70%から 110%までの相似形の型紙を作成した。さらにそれぞれの大きさの型紙に対して 100%から 5%ずつ縮小して 15%縮小サイズまでのネットを作成した。左室・右室の収縮能及び拡張能の評価項目として右室・左室の収縮末期圧容積関係 (End Systolic Pressure Volume Relation : ESPVR) (E_{max}), 拡張末期圧容積関係(End Diastolic Pressure Volume Relation : EDPVR), Maximum dP/dt (max dP/dt), Minimum dP/dt (min dP/dt), 時定数(τ)を用いた。

実験成績

実験前の心臓サイズに対して心臓矯正ネットのサイズを-15%まで縮小すると、左室の E_{max} は有意に増加した($p < 0.01$)。CSD のサイズを縮小した場合、容量負荷時(800ml)にお

ける拡張能指標は、右室の拡張末期圧(End Diastolic Pressure : EDP)の上昇、両心室の $\min dp/dt$ の低下、右室の τ の延長を認め、その変化率は右室の方がより顕著であった。

総括および結論

今回の研究結果から正常心に対する心臓矯正ネット装着は右室拡張能をより早期に障害し、心拍出量を規定することが示唆された。また、-15%サイズの CSD 装着では左室の E_{\max} の傾きが急峻となり、数値上は左室収縮能の増大を認めた。一方、容量負荷前の血行動態データでは、-10%サイズの CSD 装着までは心拍出量に影響は及ぼさないものの、-15%サイズの CSD 装着では心拍出量の減少を認めた。-15%ネット装着により左室 $\min dp/dt$ は有意な減少を認めた。この事から、-15%ネットでは左室の収縮性は増大するものの、拡張障害の影響により心拍出量の低下をもたらした。結果として、-15%までネットを縮小させる事は妥当ではないと考えられた。

今回の実験は正常心機能の心臓に対する心臓矯正ネットの収縮能・拡張能に対する影響の検討であって、慢性心不全にそのまま当てはめることはできないが、心臓矯正ネット型紙で 10%のサイズダウンは右室拡張能を低下させるので、Acorn CorCap で推奨される経食道心エコーでの LVDD10%未満の縮小は妥当な値と考えられた。

重症心不全に対する CSD 治療において、右室・左室の同時圧容積関係計測は右室拡張障害と左室収縮能のバランスを最適化する上で極めて有用な手段であると考えられた。

論文審査結果の要旨

本研究は豚正常心を用い、心臓矯正ネットのサイズ変更が左室及び右室の収縮能と拡張能に及ぼす影響を左室・右室同時圧容量関係を測定することによって検討したものである。心臓矯正ネットは、凍結した豚の心臓から作成したシリコンモデルの三次元画像データから様々なサイズの大きさのものをコンピュータ編み機で作成したものを使用している。

実験の結果、心臓矯正ネットのサイズの縮小により、左心室・右心室とも収縮能に低下は見られなかった。一方、拡張能はサイズの縮小により、両室ともに障害され、右室がより早期に障害された。よって正常心に対する矯正ネット装着は、右室拡張機能をより早期に障害し、心拍出量を規定することが示唆された。左室・右室の同時圧容積関係計測は、至適な心臓矯正ネットサイズを決定するうえで極めて有効な手段であると結論付けている。

今回の実験は正常心機能の心臓に対する心臓矯正ネットの収縮能・拡張能に対する影響の検討であって、慢性心不全にそのまま当てはめることはできないが、心臓矯正ネット型紙で 10%のサイズダウンは右室拡張能を低下させ、心拍出量を低下させることを明らかにし、心臓矯正ネット装着時の指標として価値のある情報をもたらした。従って、本研究は将来的には重症心不全の治療にリンクする可能性があり、臨床的意義は充分にある内容を備えていると判定された。

以上により、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

金沢医科大学雑誌 第 37 巻 第 1 号 平成 24 年

氏名（生年月日）	あつ み ひさ なり 渥 美 久 登 （昭和 53 年 1 月 2 日）
本 籍	神 奈 川 県
学 位 の 種 類	博 士（医 学）
学 位 記 番 号	甲 第 4 1 2 号
学位授与の日付	平成 2 4 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	Reversal of redox-dependent inhibition of diacylglycerol kinase by antioxidants in mesangial cells exposed to high glucose （高ブドウ糖によるジアシルグリセロールキナーゼ活性の 抑制は抗酸化剤によってレドックス依存性に回復する）
論 文 審 査 委 員	主 査 米 倉 秀 人 副 査 竹 内 正 義 横 山 仁

学位論文内容の要旨

研究目的

糖尿病腎症（以下、腎症）は、末期腎不全から透析療法に至る主な原疾患である。慢性的な高血糖の持続が、腎症をはじめとする糖尿病血管合併症の発症・進展に最も重要な因子であり、高血糖により引き起こされるジアシルグリセロール(DAG)-プロテインキナーゼC(PKC)経路の活性化が腎症の発症・進展における分子メカニズムの一つであると考えられている。申請者らはこれまでに、抗酸化物質である d- α -トコフェロールが、糖尿病ラット腎系球体においてジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) の活性化を介して、DAG の過剰な蓄積と PKC の活性化を抑制し腎症を改善すること、培養血管平滑筋細胞において d- α -トコフェロールのみならず同じく抗酸化作用を有するプロブコールも DGK 活性を増強し高ブドウ糖による DAG-PKC 経路の亢進を抑制することも報告している。したがって、高血糖状態における酸化ストレスが、DGK の活性抑制を介して DAG-PKC 経路の活性化に寄与している可能性が示唆される。

本研究は、酸化ストレスが DGK 活性の抑制に関与しているかどうか、また、d- α -トコフェロールやプロブコールが抗酸化作用を介して DGK 活性の抑制を改善し、高血糖状態に起因する DAG-PKC 経路の亢進を抑制するかどうかを、ヒト腎系球体メサンギウム細胞を用いて明らかにすることを目的とした。

実験方法

実験には 4-9 継代のヒト腎系球体メサンギウム細胞を使用した。メサンギウム細胞を通常グルコース濃度(5.5 mM)あるいは高グルコース濃度(27.5 mM)で 4 日間培養した後、d- α -トコフェロールあるいはプロブコール(50 μ M)存在下でさらに 16 時間培養した。培養

後、メサンギウム細胞の総 DAG 量、PKC 活性、酸化ストレス (DCFH-DA の細胞内蛍光強度)、膜分画 DGK 活性を測定した。また、ホルボール 12-ミリステート 13-アセテート (TPA) (100nM)による PKC の活性化に対する d- α -トコフェロールあるいはプロブコールの影響を解析した。さらに、メサンギウム細胞に種々の濃度(0-1000 μ M)の過酸化水素を添加し、カタラーゼ(300IU/ml)の存在/非存在下における DGK 活性を測定した。

実験成績

- (1) メサンギウム細胞における総 DAG 量は、通常グルコース濃度 (5.5mM) と比較して、高グルコース濃度 (27.5mM) 培養下で有意な増加を認めた。増加した総 DAG 量は、d- α -トコフェロールあるいはプロブコール処理により低下した。
- (2) 高グルコース濃度で培養したメサンギウム細胞の PKC 活性は、通常グルコース濃度と比較して有意に上昇していた。この PKC 活性の上昇は d- α -トコフェロールあるいはプロブコール処理により抑制された。これに対し TPA による PKC の活性化は、d- α -トコフェロールあるいはプロブコール処理によっては抑制されなかった。
- (3) メサンギウム細胞膜分画 DGK 活性は、高グルコース濃度下で、通常グルコース濃度と比較して有意に抑制された。高グルコース濃度下で低下した DGK 活性は、d- α -トコフェロールあるいはプロブコール処理により通常グルコース濃度下と同等まで回復した。
- (4) 培養メサンギウム細胞内の酸化ストレスは、高グルコース濃度では通常グルコース濃度と比較して増加し、それは d- α -トコフェロールあるいはプロブコール処理により減少した。
- (5) メサンギウム細胞の DGK 活性は過酸化水素により濃度依存性に抑制され、その抑制は過酸化水素の分解酵素であるカタラーゼの添加により完全に回復した。

総括および結論

高グルコース濃度が、ヒト腎糸球体メサンギウム細胞において DAG の細胞内蓄積、PKC の活性化、酸化ストレスの増強および膜分画 DGK 活性の抑制を引き起こすことを明らかにした。そして、それらの変化が抗酸化物質である d- α -トコフェロールあるいはプロブコールの添加により抑制されることを明確に示した。さらに、過酸化水素が濃度依存的にメサンギウム細胞における DGK 活性を抑制すること、カタラーゼの添加によりその抑制が起これなくなることを示した。以上の結果から、ヒト腎糸球体メサンギウム細胞において、高グルコース濃度による酸化ストレスの亢進により DGK 活性が抑制されることで、細胞内 DAG の過剰な蓄積が引き起こされ、これが PKC の活性化を誘導する可能性が示された。また本研究により、d- α -トコフェロールとプロブコールが抗酸化作用を介して DGK 活性抑制を阻止し、DAG-PKC 経路の過剰活性化を抑制することが示された。この知見は腎症の発症・進展阻止のための予防・治療法開発の基礎となる重要な成果と考えられた。

論文審査結果の要旨

糖尿病腎症 (以下、腎症) は、末期腎不全から透析療法に至る主な原疾患である。慢性

的な高血糖の持続が、腎症をはじめとする糖尿病血管合併症の発症・進展に最も重要な因子であり、高血糖による血管合併症の発症・進展の分子メカニズムを明らかにすることは、糖尿病およびその合併症を克服するために極めて重要な課題である。糖尿病血管合併症の発症・進展に、高血糖により引き起こされるジアシルグリセロール(DAG)-プロテインキナーゼC(PKC)経路の活性化が重要であることがこれまでに明らかにされている。

本研究は、酸化ストレスが DGK 活性の抑制に関与しているかどうか、また、d- α -トコフェロールやプロブコールが抗酸化作用を介して DGK 活性の抑制を改善し、高血糖状態に起因する DAG-PKC 経路の亢進を抑制するかどうかを、ヒト腎糸球体メサンギウム細胞を用いて明らかにすることを目的とした。本研究は、高グルコース濃度が、ヒト腎糸球体メサンギウム細胞において DAG の細胞内蓄積、PKC の活性化、酸化ストレスの増強および膜分画 DGK 活性の抑制を引き起こすことを明らかにした。そして、それらの変化が抗酸化物質である d- α -トコフェロールあるいはプロブコールの添加により抑制されることを明確に示した。本研究により、ヒト腎糸球体メサンギウム細胞において、高グルコース濃度による酸化ストレスの亢進により DGK 活性が抑制されることで、細胞内 DAG の過剰な蓄積が引き起こされ、これが PKC の活性化を誘導する可能性が示された。また、d- α -トコフェロールとプロブコールが抗酸化作用を介して DGK 活性抑制を阻止し、DAG-PKC 経路の過剰活性化を抑制することが示された。この知見は腎症の発症・進展阻止のための予防・治療法開発の基礎となる極めて重要な研究成果と考えられる。

以上により、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

Molecular Medicine Reports Vol.4, No.5, 2011

氏名（生年月日）	いし がみ けいいちろう 石 神 慶一郎（昭和 24 年 7 月 13 日）
本 籍	福 井 県
学 位 の 種 類	博 士（医学）
学 位 記 番 号	甲 第 4 1 3 号
学位授与の日付	平成 2 4 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	Association of severe hypertension with pneumonia in elderly patients with acute ischemic stroke (脳梗塞急性期高齢者における重篤高血圧と肺炎の関連)
論 文 審 査 委 員	主 査 松 井 真 副 査 飯 沼 由 嗣 本 多 隆 文

学位論文内容の要旨

研究目的

脳梗塞は高齢者に多く発症することは一般に知られているが、高齢者では急性期合併症としての肺炎発症が死亡率を上昇させる。一方、脳梗塞急性期の重篤高血圧は予後不良の兆候とされているが、肺炎発症と入院時血圧との関係は十分調査されていない。本研究では、高齢者脳梗塞急性期における肺炎発症と、入院時血圧との関係につき調査し、解析した。

実験方法

対象は 2002 年から 2010 年にかけて金沢医科大学高齢医学科に救急入院した脳梗塞急性期高齢者 118 例（男 58 例，女 60 例，平均年齢±標準偏差：85±5 歳，範囲：72-96 歳）である。全例入院時に MRI による画像診断を行っている。入院時に測定した血圧値により、対照血圧群 65 例（収縮期血圧<160 mmHg かつ 拡張期血圧<100 mmHg）、中等度高血圧群 43 例（収縮期高血圧 160-199 mmHg あるいは拡張期血圧 100-119 mmHg）、重篤高血圧群 10 例（収縮期血圧≥200 mmHg あるいは拡張期血圧≥120 mmHg）に分類し、画像分類ではアテローム血栓性脳梗塞 62 例，ラクナ梗塞 22 例，心原性脳塞栓 34 例により層別解析を行った。肺炎は胸部聴診によるラ音，発熱，X 線写真上有所見または粘稠痰を有し，加療，抗生剤使用が必要なものとし，入院第 0 日から 12 日までに発症した肺炎を調査対象とした。入院時 Glasgow Coma Scale，合併臨床背景（脳梗塞前高血圧治療，糖尿病治療，心疾患，脳卒中既往），入院時血液検査値の項目を調査した。また嚥下障害は臨床症状及び水飲み試験 2 分以内 SpO₂ 値 2%以上低下により診断した。単項目関与については χ^2 検定または Mann-Whitney U 検定を用い，関与因子（ $p<0.1$ ）および年齢，性を交絡因子としてロジスティック回帰分析により，38 例の入院後急性期肺炎発症，8 例の急性期肺炎死亡，

28 例の転帰不良退院（死亡退院または退院時新規経管栄養状態）に対する独立有意関与因子を求めた。

実験成績

入院後、38 例の急性期肺炎発症に対する関与因子 ($p < 0.1$) は入院時の Glasgow coma scale, 血液白血球数, \log (血清 CRP) 値, 嚥下障害, および入院時血圧分類であった。性, 年齢, 画像病型分類, 降圧薬服用歴および降圧薬種類は関与因子とはならなかった。急性期肺炎発症例は対照群 62 例中 13 例 (21.5%), 中等度高血圧群 43 例中 17 例 (39.5%), 重篤高血圧群 10 例中 7 例 (70%) で, 急性期肺炎発症に対し, 年齢, 性, Glasgow coma scale, 血中白血球数, \log (CRP), 嚥下障害で補正した急性期肺炎発症率は重症高血圧群例では対照血圧群に比し有意に高値 ($p = 0.025$, Odds 比: 2.83, 95%信頼区間: 1.14-7.05) を示した。同じ関与因子で補正した急性期肺炎死亡は対照血圧群 2 例 (3.2%), 中等度血圧群 3 例 (7.0%), 重篤高血圧群 3 例 (30%) で, 重症高血圧群では対照血圧群に比し有意に高値 ($p = 0.049$, Odds 比: 5.20, 95%信頼区間: 1.01-26.8) を示した。さらに同補正にて, 転帰不良退院は, 対照血圧群 9 例 (14.5%), 中等度血圧群 14 例 (32.5%), 重篤高血圧群 5 例 (50%) で, 重症高血圧群例では対照血圧群に比し有意に高値 ($p = 0.022$, Odds 比: 6.84, 95%信頼区間: 1.32-35.4) を示した。

総括および結論

本研究では, 脳梗塞急性期高齢者において入院時の重篤高血圧が, 入院中 12 日以内に発症した肺炎に対し, 交絡因子補正後も独立有意危険因子となることを見出した。また, その要因として, 第一は, 高血圧既往は, 無症候性脳梗塞を介し嚥下性肺炎の危険因子であり, 同時に脳梗塞急性期の血圧異常上昇の一因となることが知られていることから, 高血圧既往が無症候性脳梗塞による不顕性の嚥下障害を介して, 脳梗塞発症による顕在化により肺炎を招来した可能性が挙げられる。しかし, 本研究では, 降圧薬服薬歴や嚥下障害の有無で補正した後も, 入院時の重篤高血圧が急性期肺炎発症の独立有意危険因子であることを明らかにした。第二に, 脳梗塞急性期の交感神経活性の異常亢進は, 重篤高血圧の原因となるとともに, 免疫機能低下を介して肺炎発症を招来することが動物実験で知られている。したがって, 本研究の対象例においても, 重篤高血圧合併群では, 同様な機序により肺炎を高率に発症した可能性が推定された。しかし, 交感神経活性は本研究の解析対象ではなく, 多数例における経時的なデータを集積しての検証が必要であると考えられた。

論文審査結果の要旨

本論文は, 脳梗塞急性期の高齢入院患者 118 例 (男 58 例, 女 60 例, 72-96 歳) において, 入院時に測定した血圧の値によって, 対照血圧群 (収縮期血圧 < 160 mmHg かつ 拡張期血圧 < 100 mmHg), 中等度高血圧群 (収縮期高血圧 160-199 mmHg あるいは拡張期血圧 100-119 mmHg), および重篤高血圧群 (収縮期血圧 ≥ 200 mmHg あるいは拡張期血圧 ≥ 120 mmHg) の 3 群に分類すると, 中等度高血圧群と重篤高血圧群では, 両群ともに肺炎を合併する確率は高いものの, 重篤高血圧群では肺炎による死亡や転帰不良症例が多いこと, さ

らに重篤高血圧は合併する嚥下障害や高血圧治療薬などの要因を考慮して解析しても、肺炎発症および肺炎による死亡の独立有意危険因子であることを明らかにした。これは新しい知見である。

ただし、肺炎の発症時期について、本研究では入院後 0-12 日に発症したものを調査対象としているが、0 日というのは入院時に肺炎を発症していた症例と考えられ、誤嚥や意識状態以外の機序が肺炎の原因と推測するためには、入院時に肺炎であった症例を除外して解析を行うと、より明確なデータが得られる可能性があると考えられた。さらに、肺炎発症群と肺炎非発症群の比較を行う際、入院時に肺炎を発症した症例が肺炎群に含まれていたとすると、炎症反応に差がみられるのは必然である。従って、リスク因子として比較対象としない、あるいは比較対象とするのであれば、入院 0-2 日に肺炎を発症した症例を除外したほうがより信頼できる解析結果が得られた可能性がある。

これらの問題点を勘案しても、本論文の内容は、脳梗塞急性期入院時の血圧の測定値に応じて、感染を厳重に管理する体制を整える必要があることを警告する発表であり、臨床的意義は大きいと判断する。

以上により、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

Hypertension Research Vol. 35 ,No. 6, 2012

氏名（生年月日）	たち 館 よし 慶 ゆき 之 （昭和 54 年 3 月 12 日）
本 籍	富 山 県
学 位 の 種 類	博 士（医 学）
学 位 記 番 号	甲 第 4 1 4 号
学位授与の日付	平成 2 4 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	脊髄損傷の治療に向けて —ラット脊髄切断モデルにおける hyaluronidase-4 の発現 解析
論 文 審 査 委 員	主 査 飯 塚 秀 明 副 査 竹 上 勉 田 中 恵 子

学位論文内容の要旨

研究目的

脊髄損傷は、中枢神経である脊髄が傷害を受けることによって、四肢、体幹および膀胱に完全あるいは不全麻痺をきたす病態であり、その後一生にわたり回復しないと考えられてきたが、近年、その原因の一つとして軸索の再生を阻害する物質の存在がわかってきた。コンドロイチン硫酸プロテオグリカン（CSPGs）は軸索再生阻害因子の一つであり、Bradbury らは、Chondroitinase ABC（ChABC）を損傷脊髄に投与することによって CSPGs を消化し、軸索の伸長が促進され、機能的な回復が得られたと報告している。Iseda らは、ラット脊髄挫傷モデルにおける CSPGs の蓄積は、損傷後約 2 週でピークに達し、それ以降も残存し、軸索の伸長を阻害するが、ラット脊髄切断モデルでは切断後約 3 週でピークに達した後、自然に減少したと報告している。脊髄切断モデルや発生段階で発現した CSPGs が自然に減少する過程において、脊髄内には、外因性の消化酵素である ChABC と同様の作用をもつ、内因性の消化酵素の存在は明らかになっていない。しかし、2010 年に Kaneiwa らは生体内の酵素であるヒトの hyaluronidase-4（Hyal-4）がコンドロイチン硫酸（CS）に特有の加水分解酵素であると報告しており、この Hyal-4 が CSPGs の消化に関与している可能性が考えられた。そこで、本研究では、ラット脊髄切断モデルにおける Hyal-4 の発現の有無ならびにラット脊髄切断モデルにおける CSPGs の減少と Hyal-4 の関係について検討を行った。

実験方法

10 週齢の雌性 Sprague-Dawley（SD）ラットに対して、ペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与し深麻酔とし、第 9, 10 胸椎の椎弓を切除し、かみそりの刃を用いて、同レベルの脊髄の右側を正中を越えて切断した。切断後 4 日、1, 2, 3, 4, 5, 6 週で、再び

ペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与し深麻酔とし、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定を行った。損傷部脊髄を摘出し、凍結切片を作製した。作製した凍結切片に対して1次抗体にCS56、抗Hyal-4抗体を用い、2次抗体にAlexa488, 594を用いて蛍光免疫染色を行い、BZ-9000 (KEYENCE)にて観察し画像を撮影した。また、同様の各時点でペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与し深麻酔とし、損傷部脊髄を摘出し、損傷部脊髄のタンパクを抽出し、SDS-PAGEを行った。転写したメンブレンを抗Hyal-4抗体で反応させ、LAS-4000 (富士フィルム)で検出した。

実験成績

1) CSPGsの発現

蛍光抗体法において、CSPGsは切断後4日から損傷部に認められ、3週でピークに達し、以後漸減した。画像解析では、切断後5-6週群以外で全ての連続する2群間に有意差があり、切断後4日から3週までは有意に増加し、以降5週まで有意に減少した。

2) Hyal-4発現の有無

切断後4日から損傷部周囲に認められ、5-6週まで漸増した。二重染色像ではCSPGsの周囲にHyal-4が観察された。Western blot法でも切断後4日からHyal-4に一致する蛋白バンドを検出した。

総括および結論

CSPGsはグルクロン酸とN-アセチルガラクトサミンの2糖が反復する糖鎖に硫酸基が結合したCSというグリコサミノグリカン(GAG)鎖が、コアタンパクに結合したプロテオグリカンであり、中枢神経損傷の際には、グリア瘢痕内で反応性アストロサイトがCSPGsを発現し、軸索の再生を阻害する。細菌由来の酵素であるChABCを損傷脊髄に投与しグリア瘢痕内のCSPGsを消化することによって軸索の再生が促進され、機能的な回復も認められている。このChABCは外因性の酵素であり、これまで、脊髄内でChABCと同様の作用を示す内因性の消化酵素の存在の報告はない。Hyal-4は生体内に存在する5つのhyaluronidase familyの一つであり、Kaneiwaらは前述した報告において、Hyal-4はヒアルロン酸に対して活性を持たず、CSのガラクトサミンの結合を切断する酵素であり、CSに特有の加水分解酵素であることを証明している。本研究において、損傷部脊髄では、CSPGsの増加に対して、Hyal-4は遅れて増加しており、CSPGsが3週でピークに達して減少していった後、遅れてHyal-4のピークを認めた。さらに、損傷部に発現したCSPGsを取り囲むようにHyal-4が発現しており、しかも両者の間に明確な境界があり、ところどころでHyal-4がCSPGsに進入していたことから、周囲を取り囲むHyal-4がCSPGsを消化している可能性が考えられた。

論文審査結果の要旨

本研究は、現在、治療困難な中枢神経損傷の代表である脊髄損傷の治療に向けて、その隘路となっている中枢神経再生に関して検討したものである。

脊髄損傷後の軸索再生を阻害する物質の存在が近年注目されるようになってきているが、

そのうち実験的にはコンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CSPGs) は軸索再生阻害因子の一つで, Chondroitinase ABC (ChABC) を損傷脊髄に投与することによって CSPGs を消化し, 軸索の伸長が促進され, 機能的な回復が得られており, また, ラット脊髄挫傷モデルでは CSPGs の蓄積が損傷後約 2 週でピークに達し, それ以降も残存し, 軸索の伸長を阻害するとの報告もある。申請者は, ラット脊髄切断モデルにおいて, CSPGs が切断後約 3 週でピークに達した後, 自然に減少しているという報告に着目し, この脊髄切断モデルでの CSPGs が自然に減少する過程において, 脊髄内に外因性の消化酵素である ChABC と同様の作用をもつ, 内因性の消化酵素の存在があるとの仮説を検証した。最近, 生体内の酵素であるヒトの hyaluronidase-4 (Hyal-4) がコンドロイチン硫酸 (CS) に特有の加水分解酵素であるとの報告がなされており, 本研究で申請者は, ラット脊髄切断モデルにおける Hyal-4 の発現の有無ならびにラット脊髄切断モデルにおける CSPGs の減少と Hyal-4 の関係について検討を行った。

その結果は, ①蛍光抗体法において, CSPGs は脊髄切断後 4 日から損傷部に認められ, 3 週でピークに達し, 以後漸減した。②画像解析では, 切断後 5-6 週群以外で全ての連続する 2 群間に有意差があり, 切断後 4 日から 3 週までは有意に増加し, 以降 5 週まで有意に減少した。③切断後 4 日から損傷部周囲に認められ, 5-6 週まで漸増した。二重染色像では CSPGs の周囲に Hyal-4 が観察された。Western blot 法でも切断後 4 日から Hyal-4 に一致する蛋白バンドを検出した。

以上の結果より, ラット脊髄切断モデルにおいて, 軸索再生を阻害する可能性のある CSPGs が損傷後早期に発現しており, その後減少していく過程で, 内因性消化酵素である hyaluronidase-4 が発現していることが確認された。これまで, 実験脊髄損傷で CSPGs の発現および hyaluronidase-4 を詳細に検討した報告はなく, また, 本研究の結果より, 内因性に存在する hyaluronidase-4 の活性を何らかの方法で増強させることにより新たな脊髄損傷治療につながる可能性があることが示された。

以上により, 本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

金沢医科大学雑誌 第 37 巻 第 1 号 平成 24 年

氏名（生年月日）	趙 希 彤 (1977年11月16日)
本 籍	中華人民共和国
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲 第415号
学位授与の日付	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Significance of Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging in Diagnosis of Lung Cancer: Correlation of Apparent Diffusion Coefficient Value with Clinicopathological Factors (肺癌の診断における拡散強調画像の意義：見かけの拡散係数と臨床病理学的因子との相関)
論文審査委員	主 査 榎 博 久 副 査 湊 宏 渡 邊 直 人

学位論文内容の要旨

研究目的

近年肺癌は遺伝子異常の疾患と考えられており、分子標的薬を用いた治療が脚光を浴びているが、未だその予後は不良で死亡原因第一位を占めている。肺癌の悪性指標の一つは浸潤能であるが、高いものから低いものまで広範囲に存在し、これまでの術前検査方法では正確な進展範囲の把握が困難なことがある。MR 拡散強調画像 (diffusion weighted imaging, DWI) は、拡散現象 (水分子のブラウン運動) の抑制領域を描出する撮影法であり、最近では肺癌の検査・診断にも応用されている。これは、水分子が活発に動くのに対し、細胞の大きい癌細胞ではかなり抑制された動きになることを利用している。拡散強調画像の「みかけの係数」 (apparent diffusion coefficient, ADC) は細胞密度・膜の透過性・細胞性浮腫・膿腫・出血などを反映しており、悪性病変で低く良性腫瘍および感染・炎症では高いことが報告されており、病変の質的診断および治療効果判定に有益とされている。また、拡散強調画像の ADC を用いることにより、組織間の水分子の拡散能の違いにより悪性腫瘍が検出可能と考えられる。しかし、ADC 値が様々存在する肺癌の臨床病理学的因子や予後因子と関連するか否かはよくわかっていない。そこで、この研究では、肺癌における ADC 値の特性と ADC 値に相関する臨床病理学的因子の相関を研究して、ADC 値の臨床病理学的意義を明らかにした。

実験方法

肺癌の根治手術を行った 48 症例を対象とした。肺癌の組織型は腺癌 32 例、扁平上皮癌

16 例であった。手術前に MR 拡散強調画像を撮影して ADC 値を計測した。まず、各症例の臨床的特性、胸部 CT 上の腫瘍最大径と ADC 値との相関を検討した。次に、肺癌切除標本組織を用いて、腫瘍細胞密度、腫瘍細胞数、組織型、細胞分化度、壊死の有無など組織病理学的指標を測定し、それらと ADC 値との相関を検討した。また、肺癌切除標本を免疫染色して、肺癌組織の Aquaporin 1 (AQP1), AQP5, CD31 および Ki-67 の発現強度と ADC 値との相関を検討した。最後に肺癌の再発率と ADC 値との相関を検討した。

実験成績

拡散強調画像の ADC 値と胸部 CT 上の腫瘍最大径の間には有意の逆相関を認めた (相関係数 0.254)。また、拡散強調画像の ADC 値と腫瘍細胞密度の間にも有意の逆相関を認めた (相関係数 0.399)。腺癌の ADC 値 ($1.306 \pm 0.215 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$) は扁平上皮癌のそれ ($1.143 \pm 0.223 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$) より有意に高値であった ($p < 0.05$)。しかし腺癌の腫瘍細胞密度 ($0.366 \pm 0.083 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$) は扁平上皮癌のそれ ($0.591 \pm 0.100 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$) より有意に低値であった ($p < 0.001$)。低分化肺癌の ADC 値 ($0.983 \pm 0.124 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$) は、中ないし高分化肺癌のそれ ($1.289 \pm 0.242 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$) より有意に低値であった ($p < 0.05$)。壊死を有する肺癌の ADC 値 ($1.119 \pm 0.191 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$) は、壊死を認めない肺癌のそれ ($1.324 \pm 0.218 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$) より有意に低値であった ($p < 0.05$)。腺癌と扁平上皮癌の間には AQP1, AQP5 または Ki-67 の発現に有意の相違を認めたが、拡散強調画像の ADC 値と AQP1, AQP5, または Ki-67 の発現には相関を認めなかった。ADC 値と AQP5 の発現には相関を認めなかった。一方、CD31 陽性発現の肺癌の ADC 値 ($1.099 \pm 0.196 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$) は、CD31 陰性発現の肺癌例のそれ ($1.309 \pm 0.216 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$) に比較し、有意に低値であった。ADC 値は、肺癌の再発率と有意の相関を認めなかった。重回帰分析により、ADC 値は腫瘍細胞密度および CD31 に最も強く影響されていた。

総括および結論

MR 拡散強調画像の ADC 値は、胸部 CT 上の腫瘍最大径・腫瘍細胞密度・組織型・細胞分化度・壊死の有無・CD31 の発現と有意に相関し、その中でも特に腫瘍細胞密度と最も相関する。この研究から MR 拡散強調画像の ADC 値は悪性腫瘍の臨床病理学的因子と相関し、術前の MR 拡散強調画像の ADC 値を検索することにより、肺癌はより正確に診断可能となることが示唆される。

論文審査結果の要旨

申請者は、根治手術を行った肺癌 48 例について、術前に行った MR 拡散強調画像 (DWI) から見かけの係数 (ADC) を計測し、腫瘍最大径、腫瘍細胞密度、腫瘍細胞数、組織型、細胞分化度、壊死の有無、AQP1, AQP5, CD31, Ki-67, 再発率との関係を検討している。その結果、ADC 値は扁平上皮癌よりも腺癌で低値、腺癌では低分化型がより低値であった。また、ADC 値は壊死を有するものと CD31 陽性肺癌で低値であった。ADC 値は、腫瘍最大径、腫瘍細胞密度、腫瘍細胞数、組織型、細胞分化度、CD31 の発現と相関が認め

られたが、その中で特に腫瘍細胞密度と CD31 に最も強く影響されていた。以上の結果から、MR 拡散強調画像の ADC 値は肺癌の診断、病態の予測に有用であると結論している。本論文は、肺癌の診断、治療に新たな指針を加え、将来的に手術術式決定や予後推定に有用な情報を与える可能性を秘めていると認定された。

以上により、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

金沢医科大学雑誌 第 37 巻 第 1 号 平成 24 年

氏名（生年月日）	ふじ ばやし こう すけ 藤 林 幸 輔 （昭和 54 年 3 月 16 日）
本 籍	新 潟 県
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	甲 第 4 1 6 号
学位授与の日付	平成 2 4 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	Serum deoxyribonuclease I activity can be a useful diagnostic marker for the early diagnosis of unstable angina pectoris or non-ST-segment elevation myocardial infarction (血清デオキシリボ核酸分解酵素 I 活性は、不安定狭心症や非 ST 上昇型心筋梗塞の早期診断マーカーとして有用である)
論 文 審 査 委 員	主 査 森 本 茂 人 副 査 神 田 享 勉 倉 田 康 孝

学位論文内容の要旨

研究目的

不安定狭心症患者および非 ST 上昇型心筋梗塞患者は、急性心筋梗塞や心臓突然死に至る危険性があり、迅速かつ適切に対応することが重要であるが、ST 上昇型心筋梗塞とは異なり、来院時に胸痛の自覚、心筋壊死マーカーの上昇、あるいは心電図異常を示さない例が存在するため早期診断はしばしば困難である。これらの例は一過性心筋虚血を呈するが、本研究では、一過性心筋虚血マーカーとして報告されている血清デオキシリボ核酸分解酵素 I (DNase I) 活性の診断的有用性につき検討した。

実験方法

急性冠症候群が疑われた入院例のうち、入院前 24 時間以内に胸痛発作を自覚し不安定狭心症患者および非 ST 上昇型心筋梗塞患者が疑われた症例 52 例につき、緊急冠動脈造影検査を全例に施行し、有意な冠動脈狭窄 ($\leq 50\%$) を認めない例には冠攣縮狭心症診断のためさらにアセチルコリン誘発検査を施行し評価した。このうち、左回旋枝の完全閉塞を認めた 9 例については本研究から除外し、残る 43 例中、冠動脈有意狭窄 ($> 50\%$) を認めた 31 例および冠攣縮性狭心症と診断された 2 例を含む 33 例を不安定狭心症・非 ST 上昇型心筋梗塞群とし、器質的冠動脈狭窄および冠攣縮性狭心症が除外された 10 例を胸痛症候群すなわち対照群とした。各症例から入院 3, 6, 12, 24 時間後に採取した血液サンプルを用いて血清 DNase I 活性を単純酵素放射拡散法 (SRED 法) により測定した。血清

DNase I 活性の正常上限を 17.9 U/L とし、また入院時から入院後 3 時間における血清 DNase I 活性の変化率の正常上限を 12.4%とし、それぞれ基準を越えたものを DNase I 活性陽性と定義した。また心筋壊死マーカーであり急性冠症候群診断に用いられてきた CK-MB とトロポニン T の血清濃度を測定し、cut-off 値をそれぞれ 25 U/L, 0.01 μ g/L とした。さらに、これら症例を、胸痛発作後から入院までの経過時間につき 3 時間以内のグループ 1, 3 時間から 6 時間以内グループ 2, 6 時間以上のグループ 3 の 3 群に分け、血清 DNase I 活性を比較した。

実験成績

不安定狭心症・非 ST 上昇型心筋梗塞群と対照群の臨床背景に有意差は認められなかった。不安定狭心症・非 ST 上昇型心筋梗塞群における血清 DNase I 活性は、胸痛発作後 6 時間以内にピークを示していた。一方、対照群の血清 DNase I 活性は経過中変化しなかった。不安定狭心症・非 ST 上昇型心筋梗塞群における入院時の DNase I 活性の平均値は 16.0 ± 9.5 U/L で対照群の 9.5 ± 2.5 U/L と比較して有意に高値であった ($P=0.04$)。特に、胸痛発作後 3 時間以内に入院したグループ 1 において、不安定狭心症・非 ST 上昇型心筋梗塞群の血清 DNase I 活性は対照群より有意に高値であった。また血清 DNase I 活性の絶対値あるいは変化率のどちらかが陽性であった例は、不安定狭心症・非 ST 上昇型心筋梗塞群 33 例中のうち 23 例 (70%) であったが、対照群では 10 例中 1 例 (10%) のみであった。さらに不安定狭心症・非 ST 上昇型心筋梗塞群のうち胸痛発作後 6 時間以内にトロポニン T, CK-MB いずれも上昇を示さなかった 9 例における血清 DNase I 陽性例は 8 例で、不安定狭心症・非 ST 上昇型心筋梗塞に対する DNase I の診断効率は感度 89%, 特異度 88%, 陽性的中率 89%, 陰性的中率 88%と良好であった。

総括および結論

血清 DNase I 活性は、CK-MB やトロポニン T が上昇していない不安定狭心症・非 ST 上昇型心筋梗塞例においても、発症早期に高い診断効率を示した。したがって血清 DNase I 活性は、心筋障害に左右されない胸痛発作後早期の有用な不安定狭心症・非 ST 上昇型心筋梗塞 I の診断マーカーであると考えられた。

論文審査結果の要旨

急性冠症候群は、冠動脈に急性病変を生じ、高率に心筋梗塞や心臓突然死に至ることから救急対応が必要な疾患で、急性期の心電図上の所見から ST 上昇型急性冠症候群と非 ST 上昇型急性冠症候群 に分類されている。このうち、ST 上昇型急性冠症候群の診断は心電図上、あるいは生化学的診断マーカーである CK-MB, トロポニン T などの心筋壊死マーカーの上昇など診断は比較的確立しているものの、非 ST 上昇型急性冠症候群では来院時に胸痛の自覚、心筋壊死マーカーの上昇、あるいは心電図異常を示さない例が存在するため早期診断はしばしば困難であり、しかも高率に不安定狭心症や非 Q 波狭心症に移行することから、その的確な診断が難しい病態として知られている。

一方、血清 DNase 活性は、最近 ST 上昇型急性冠症候群例において、血清 CK-MB, トロ

ポニンTなどの心筋壊死マーカーの上昇に先んじて、発作後3時間以内に最高値に達する生化学的診断マーカーとして報告された。さらに、申請者らは、血清DNase I活性が冠動脈インターベンション後や冠攣縮誘発試験後に上昇することを見出し、心筋壊死マーカーというよりもむしろ一過性心筋虚血マーカーとして有用であることを報告していた。

本論文において、申請者は、胸痛発作により来院した症例のうち、緊急冠動脈造影により50%以上の器質的冠動脈狭窄例を有する31例およびアセチルコリン誘発検査により冠連縮性狭心症と診断された2例、計33例の厳密に不安定狭心症・非ST上昇型心筋梗塞と診断された例において、これらを認めない胸痛症候群を対照として、血清DNase I活性の診断的有用性を検討した。その結果、胸痛発作後3時間以内に入院した例では、不安定狭心症・非ST上昇型心筋梗塞群において対照群と比し、血清DNase I活性は有意に高値を示すこと、また血清DNase I活性の絶対値あるいは変化率のどちらかが陽性であった例は、不安定狭心症・非ST上昇型心筋梗塞群33例中のうち23例(70%)と高率に陽性であったこと、さらに不安定狭心症・非ST上昇型心筋梗塞群のうち胸痛発作後6時間以内にトロポニンT、CK-MBいずれも上昇を示さなかった9例における血清DNase I陽性例は8例と高率であることから、血清DNase I活性は、CK-MBやトロポニンTが上昇していない不安定狭心症・非ST上昇型心筋梗塞例においても、発症早期に高い診断効率を示すことを明らかにし、血清DNase I活性が、心筋障害に左右されない胸痛発作後早期の有用な不安定狭心症・非ST上昇型心筋梗塞の診断マーカーであることを明らかにした。

今後、血清DNase I活性測定の迅速化による実際臨床における不安定狭心症・非ST上昇型心筋梗塞の早期診断への応用や、虚血による心筋からのDNase Iの逸脱の詳細機序など、さらなる研究の発展が期待される。

以上により、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

Journal of Cardiology Vol.59, No.3, 2012

氏名（生年月日）	やまもと じゅん ぺい 山本純平 （昭和 55 年 11 月 19 日）
本籍	岐 阜 県
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	甲 第 4 1 7 号
学位授与の日付	平成 2 4 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	パクリタキセルによる嗅神経傷害に対する加味帰脾湯の予防効果に関する実験的研究
論文審査委員	主 査 元 雄 良 治 副 査 八 田 稔 久 松 井 真

学位論文内容の要旨

研究目的

抗がん剤であるパクリタキセルによる嗅神経細胞傷害は *in vivo* で明らかとされている。漢方製剤である加味帰脾湯 (TJ-137) は嗅神経細胞の分化・成熟に関与する神経成長因子を増加させる生薬を多く含有している点に着目し、加味帰脾湯がパクリタキセル投与による嗅神経細胞傷害に与える影響を *in vivo* にて検討した。

実験方法

7 週齢の雌 BALB/c マウスを加味帰脾湯エキス 0.5% を添加した飼料で飼育した群と無添加の対照飼料群の 2 群に分け、2 週間後、各々パクリタキセルを 0.756 mg/0.126 ml を生理食塩水にて 0.5 ml に希釈し経尾静脈投与した。投与後も 2 週間同様の飼料で飼育し、頭部を解剖し、HE 染色による組織学的変化、olfactory marker protein (OMP) による免疫組織化学による嗅上皮変性の比較、Dextran tetramethylrhodamine (DTMR, フルオロルビー) を経鼻腔投与し、嗅球糸球体でのシグナル強度の比較を行った。また、成熟した嗅神経細胞に取り込まれるとされるアイソトープタリウム 201 (^{201}Tl) を経鼻腔投与し、6 時間後に鼻粘膜を含む鼻甲介を摘出し、吸収度を比較した。

実験成績

嗅上皮の変性は対照飼料群に比較して加味帰脾湯給飼群で抑制されており、嗅上皮の厚さは加味帰脾湯群 $43 \pm 3.8 \mu\text{m}$ 、対照群 $24 \mu\text{m} \pm 4.3 \mu\text{m}$ であり有意差を認めた ($p=0.02$)。また、OMP による嗅上皮 100 μm における陽性細胞数の比較 ($p=0.007$)、 ^{201}Tl の嗅粘膜への取り込みの比較 ($p=0.008$)、フルオロルビーの嗅球でのシグナル強度の比較 ($P=0.004$) において加味帰脾湯群が対照群と比較して有意に高値を示した。

総括および結論

加味帰脾湯がパクリタキセルの嗅神経細胞傷害を抑制することが示唆された。

論文審査結果の要旨

がん化学療法では抗腫瘍効果とともに種々の有害事象が生じるが、嗅覚障害もそのひとつである。微小管阻害剤であるパクリタキセルが嗅上皮変性を惹起し、その修復に神経成長因子(NGF)が関与していることが報告されている。しかし、パクリタキセルによる嗅覚障害の発生機序には不明な点が多く、またその治療法として確立されたものはない。一方、医療用漢方製剤加味帰脾湯には NGF 産生促進作用や神経細胞保護作用を有する生薬が含まれていることから、申請者はその効果を実験的に検証した。

BALB/c マウスを用いて、パクリタキセル静脈内投与前後 2 週間(計 4 週間)漢方製剤加味帰脾湯を飼料に混じて投与する群としない群に分け、病理組織・フルオロルビーの嗅球への移行・タリウム 201 の鼻甲介への吸収を解析することにより、嗅覚系の変性に与える影響を評価した。

その結果、加味帰脾湯群では対照群に比し嗅上皮が有意に厚く、免疫染色での olfactory marker protein (OMP)陽性細胞が多く、加味帰脾湯が嗅上皮の変性を抑制していた。フルオロルビーの嗅球への移行は加味帰脾湯群で有意に強く、タリウム 201 の鼻甲介への吸収度が有意に高く、成熟嗅細胞および嗅神経軸索とその輸送能が保存された結果と考えられた。

申請者は、パクリタキセルによる嗅上皮変性の機序は基底細胞から成熟嗅神経細胞への分裂・成熟の抑制が主であると考察し、パクリタキセルが微小管阻害剤の中でも鼻粘膜への分配率が高いことを指摘している。一方、14 種の生薬から構成される加味帰脾湯には遠志をはじめとする 5 つの生薬でとくに神経保護作用・NGF 産生促進作用が報告されている。申請者は、加味帰脾湯の嗅覚上皮変性抑制作用の機序として、パクリタキセルによる基底細胞層でのアポトーシス抑制と、変性後の基底細胞から嗅神経細胞への分化・成熟の促進、を挙げている。以上より、パクリタキセルによる嗅神経障害に対して加味帰脾湯の予防薬としての可能性が示唆された。

本研究は有効な治療法がないパクリタキセルによる嗅神経障害に対する加味帰脾湯の効果を実験的に証明し、その作用機序を明らかにした点で独創的であり、今後の臨床応用に示唆を与えるものである。以上により、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

金沢医科大学雑誌 第 37 巻 第 1 号 平成 24 年

氏名 (生年月日)	こむろあきと 小室明人 (昭和47年3月1日)
本籍	富山県
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第418号
学位授与の日付	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	ウサギ軟骨膜温存モデルでの肋軟骨採取後の軟骨再生増強へのbFGFの応用
論文審査委員	主査 野島孝之 副査 川原範夫 吉竹佳の

学位論文内容の要旨

研究目的

小耳症や外傷性の耳介軟骨欠損に対する再建では、十分な軟骨採取量と長期的にも安定した形状が得られる自家肋軟骨移植が一般的に行われる。しかし、成熟軟骨細胞には再生能力がないため肋軟骨採取部は術後に胸郭陥凹変形を来し、臨床上問題となっている。

近年、Kawanabe ら(2006)は軟骨膜温存に余剰軟骨細片充填を加えた新たな自家肋軟骨採取法を提唱した。この方法により採取部の肋軟骨再生と胸郭変形防止が可能となり、現在多くの施設で臨床応用されている。しかし、軟骨再生過程における温存軟骨膜、充填軟骨片、増生血管の役割や再生軟骨の骨化に関わる因子など解明すべき課題も多く残っている。また、両側耳介の再建には肋軟骨採取部で再生した肋軟骨の再利用が必要な場合も多く、温存肋軟骨膜からの軟骨再生増強法の開発も求められている。

今回、1) 軟骨膜温存・軟骨細片充填法における軟骨再生に関わる機序の解明、2) 軟骨再生増強への basic fibroblast growth factor (bFGF) の応用の2項目に関し、家兎を用いた軟骨膜温存・軟骨再生モデルで検討した。

実験方法

雄性日本白色家兎33羽の両側第7、8肋軟骨、計132本を用いた。Kawanabe らの方法に従い、軟骨膜温存状態で肋軟骨組織を採取後、温存軟骨膜を筒状に縫合し、以下の5つの実験群を作成した。bFGFの徐放化のために gelatin hydrogel (以下 GH) を用い、GH 5mg に対し bFGF 製剤 (100 μ g/ml) 50 μ l を加え濃度 1 μ g/mg とした。

FGF-Ca 群: 5 μ g bFGF/5mg GH + 軟骨細片充填, NS-Ca 群: 生理食塩水(NS)/5mg GH + 軟骨細片充填, Ca 群: 軟骨細片のみ充填, N 群: 軟骨細片非充填, FGF 群: 5 μ g bFGF/5mg GH のみ充填。

FGF-Ca, NS-Ca, Ca, N の各群は再建術後 1, 2, 4, 12, 24 週後(各6本)に、FGF 群は術

後4週後(6本)に再生軟骨組織を周囲組織とともに採取した。また比較対照として正常第7, 8肋軟骨組織(6本)を採取した。形態観察のため大部分は10%緩衝ホルマリン固定し、一部はゼラチン・ザイモグラフィー用に-70°Cで保存し、以下の検討を行った。

1. 軟骨再生過程の組織学的検討

Hematoxylin-eosin(HE)染色, Safranin O染色, 抗I, II型コラーゲン抗体を用いた免疫染色による軟骨再生過程の組織学的観察を行った。

2. 再生軟骨および充填軟骨片残存量の半定量的解析

再建部中央での最大横断断面のSafranin O染色切片を用い、バーチャルスライドスキャナ/ビューアソフトウェアによる再建部断面積, 軟骨膜の厚さ, 新生軟骨・充填軟骨片面積の形態計測と半定量的解析を行った。

3. 充填軟骨片分解に関わる基質分解酵素の解析

1) 軟骨基質分解酵素の免疫組織学的同定

FGF-Ca群再建術後4週のパラフィン切片を用い, matrix metalloproteinase(MMP)-1, 3, Adisintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs(ADAMTS)-4抗体による軟骨基質分解酵素の免疫組織学的同定を行った。

2) ゼラチン・ザイモグラフィー法によるゼラチン分解活性の検出

FGF-Ca群再建術後4週の2検体を用い, ゼラチン分解活性を検討した。

4. 軟骨膜腔内の新生血管数の半定量解析

抗CD31抗体の免疫染色を行い, 軟骨膜腔内の陽性血管数を, 最も血管密度の高い5視野で計測し, 新生血管数/視野の平均値を算出し, 軟骨分解および再生との関係を比較検討した。

実験成績

Ca群では1~2週で軟骨膜内層の増殖とI型コラーゲン産生を, 2週後には増殖軟骨膜内側部の肥厚とII型コラーゲン沈着を認めた。軟骨再生は4週で平衡に達し24週まで維持された。充填軟骨片内の軟骨細胞は24週後も生着していたが, 軟骨新生機能は見られなかった。

4週以降のbFGF投与のFGF-Ca群とFGF群の2群の再建部断面積は正常の約3倍と, 他3群に比べ軟骨再生は有意に亢進し, また, 軟骨膜腔内の血管数は軟骨再生量と正相関した。

軟骨膜腔内の肉芽組織ではMMP-1, 3, ADAMTS-4の発現が観察され, 隣接する充填軟骨細片組織内のII型コラーゲンならびにプロテオグリカンの脱落が観察されるとともに, ゼイモグラフィーにより活性型MMP-2が検出された。軟骨膜腔内肉芽組織により充填軟骨細片辺縁部基質は分解されたが, 腔内の血管数と基質分解量との関係は認めなかった。

総括および結論

肋軟骨膜内層の軟骨前駆細胞のbFGFによる初期増殖促進効果が示され, bFGFは肋軟骨再生増強法の開発に有用と考えられた。

論文審査結果の要旨

耳介軟骨欠損に対する自家肋軟骨を用いた再建では、肋軟骨部の軟骨脱落による胸郭変形が課題となっている。Nagata らが提唱した軟骨膜温存と余剰軟骨細片充填による胸郭変形防止を目指した再建法が広く用いられている。しかし、軟骨膜組織や充填軟骨細片の役割に関する情報は乏しい。今回、申請者は家兎の肋軟骨を用い、軟骨膜温存・軟骨細片充填法に関わる軟骨再生機序の解明と bFGF を用いた軟骨膜細胞刺激による肋軟骨再生の増強の可能性を検討した。

その結果、再建術後 1 週間で温存軟骨膜内層外側部における細胞増殖と内側方向への遊走を組織学的に認めた。2 週以降で軟骨分化が観察され、軟骨新生は術後 4 週で平衡に達し、24 週まで維持された。充填軟骨片からの軟骨新生は認めず、充填軟骨片は再建軟骨膜腔の形状保持(スペーサー)の機能を示した。また、軟骨片非充填群での骨化は観察されず、充填軟骨片の骨化阻止作用の可能性は否定的であった。bFGF 充填により再建術後 1, 2 週で軟骨膜細胞の増殖充進と軟骨細胞への分化遅延作用がみられた。軟骨膜腔内血管数は増加したが、bFGF による充填軟骨片分解の関与は今回の研究から否定された。

本研究では、軟骨膜温存・軟骨細片充填法における軟骨膜細胞の役割と充填軟骨片のスペーサー機能を明らかにし、bFGF による軟骨膜細胞増殖促進を介した軟骨再生増強効果を明らかにするとともに、血管増生との関係を示した。bFGF の軟骨再生増強効果は、再生肋軟骨の再利用に向けた軟骨再建術への応用につながると考えられた。

以上により、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

金沢医科大学雑誌 第 37 巻 第 1 号 平成 24 年

氏名（生年月日）	やぐちひろもと 矢口裕基（昭和40年9月26日）
本籍	千葉県
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	乙第275号
学位授与の日付	平成23年12月8日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Identification of the <i>COL2A1</i> Mutation in Patients with Type I Stickler Syndrome Using RNA from Freshly Isolated Peripheral White Blood Cells (患者末梢血白血球 RNA を用いた Stickler 症候群原因遺伝子の変異部位の同定)
論文審査委員	主査 竹上 勉 副査 岩淵 邦 芳 犀川 太

学位論文内容の要旨

研究目的

Stickler 症候群 I 型は網膜硝子体変性と白内障を眼症状とし、関節変性などの眼外症状も合併する常染色体優性遺伝病である。この疾患は硝子体と軟骨に特異的に発現する II 型コラーゲン遺伝子（COL2A1）の変異が原因であり、その確定診断には COL2A1 の遺伝子変異の同定が必要だが、COL2A1 遺伝子は長大でゲノム配列解析には多大な労力を要する。また COL2A1 遺伝子発現組織が限定されるという困難さがあった。ここでは患者末梢血白血球に微量に存在する COL2A1 の mRNA を分離し解析するという簡便な方法を開発することを目的とした。

実験方法

Stickler 症候群 I 型の多くが premature termination codon (PTC) が生じる変異であることが報告されている。ここでの患者一家系 4 名はいずれも両眼の白内障、網膜硝子体変性、変形性関節症が認められ、Stickler 症候群 I 型と診断された。患者末梢血を採集し、白血球分画を遠心分離により得、PTC により引き起こされると推定される nonsense-mediated RNA decay (NMD) の機構による mRNA 分解を阻害するためにシクロヘキシミド存在下で 4 時間培養の後、RNA を抽出した。COL2A1 特異的プライマーを用いて cDNA 領域を RT-PCR により増幅し、さらにその領域について塩基配列を解析した。患者 4 名の変異について解析し、比較した。

実験成績

患者の COL2A1 の mRNA にはエクソン 18 相当配列に 49 塩基の欠失が存在していることを明らかにした。欠失の結果として翻訳枠が変わり、PTC が生じていると共に、アミノ酸配列が変化していた。RT-PCR のデータでは患者細胞中には、変異した短い mRNA と正常な長い mRNA とが検出された。患者 COL2A1 のイントロン 17 の 3' splice site 配列に A が G に変異した 1 塩基変異をヘテロ接合性に持つことを明らかにした。その変異が 49 塩基下流にある AG 配列が 3' splice site として認識され、異常なスプライシング引き起こされ、結果として塩基欠失が mRNA に生じたと考えられた。これにより COL2A1 タンパクの正常な生成が阻害され、硝子体変性や関節症状などの臨床所見となったと推定された。同一家系の患者すべてが同一のゲノム変異を有していた。

総括および結論

本研究で行った Stickler 症候群 I 型患者末梢血 RNA からの COL2A1 の cDNA 解析は、これまでの報告にみられる Epstein-Barr ウイルスで不死化した白血球の RNA を用いた場合に比べ、不死化していない末梢白血球による低侵襲性変異同定法の確立となり、本手法は簡便で他の遺伝病の診断確定にも有用と考えられる。

論文審査結果の要旨

Stickler 症候群 I 型は網膜硝子体変性と白内障の眼症状を示し、関節変性等の症状も合併する常染色体優性遺伝病である。この疾患は硝子体と軟骨に特異的に発現する II 型コラーゲン遺伝子 (COL2A1) の変異が原因とされており、確定診断には COL2A1 の遺伝子変異の同定が必要となる。しかし原因遺伝子とされる COL2A1 遺伝子は長大でゲノム配列解析には多大な労力を要し、さらに COL2A1 遺伝子発現の組織が限定され mRNA 量が微量であるという困難さがあった。

本研究で申請者は、Stickler 症候群 I 型患者の末梢血白血球に微量に存在する COL2A1 の mRNA を分離し PCR での増幅後、cDNA 解析するという簡便な方法を確立することを目指し、COL2A1 の遺伝子異常について塩基配列決定等の遺伝子解析を厳密に行った。本研究で用いた方法の中で申請者は、COL2A1 の遺伝子異常により premature termination codon (PTC) を有する mRNA が生じ、その結果 nonsense-mediated RNA decay (NMD) の機構により mRNA 分解が起こっていることを想定し、NMD の影響排除のためにシクロヘキシミド存在下で培養するという新たな手法を取り入れている。そこで得られた末梢白血球から微量 mRNA を抽出し、RT-PCR による増幅の後、cDNA を用いた遺伝子解析を行っている。COL2A1 の cDNA 解析の結果、3' splice site 配列の 1 塩基変異を明らかにし、その結果として mRNA 生成過程においてスプライシングの異常が起こり、49 塩基の欠失となったこと、さらにその事象から PTC が生じることを遺伝子レベルで明確に示している。

本研究は、Stickler 症候群 I 型の疾病メカニズムについて明確な解答を示す内容である。さらに本研究で行った、Stickler 症候群 I 型患者の末梢白血球を用いた低侵襲性変異同定法はこれまでの方法に比べ、より簡便で他の遺伝病の診断確定にも有用と判断された。こうした方法が微量転写物を用いた遺伝子異常の検出・診断にも応用が可能となるな

ど極めて有意義なものと考えられる。

以上により，本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められる。

(主論文公表誌)

Genetic Testing and Molecular Biomarkers Vol.15, No.4, 2011