

2011. 4

特集号



(題字：相良祐輔学長)

# 国立大学法人 高知大学学報

## 高知大学学位授与記録第四十五号

法人企画課広報戦略室発行

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、高知大学学位規則第15条に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

\*\*\*\*\*  
 \*  
 \*  
 \*  
 \*  
 \*  
 \*  
 \*\*\*\*\*

# 高知大学学報

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

## 目 次

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
甲医博第 123 号	島津 佳恵	Family psychoeducation for major depression: randomized controlled trial (大うつ病のための家族心理教育：無作為化比較対照試験)	1
甲医博第 124 号	井本 明伸	Bolus oral or continuous intestinal amino acids reduce hypothermia during anesthesia in rats (アミノ酸の単回経口投与または持続経腸投与はラット における麻酔中の低体温を軽減する)	7
甲医博第 125 号	山下 竜右	Spatiotemporally-regulated interaction between $\beta 1$ Integrin and ErbB4 that is involved in fibronectin-dependent cell migration (フィブロネクチン依存細胞移動に影響を及ぼす $\beta 1$ Integrin と ErbB4 間における空間時間依存的相互作用)	12
甲医博第 126 号	前田 広道	Hyperglycemia during hepatic resection: continuous monitoring of blood glucose concentration (肝切除術時の高血糖：血糖値連続モニターによる検討)	17
甲医博第 127 号	河野 真介	Risk factor analysis of curve progression in early degenerative lumbar scoliosis: a minimum follow-up of 10 years (10年以上経過観察できた初期の腰椎変形性側弯症に おける弯曲進行の危険因子の分析)	22
甲医博第 128 号	小笠原 光成	A novel and comprehensive mouse model of human non-alcoholic steatohepatitis with the full range of dysmetabolic and histological abnormalities induced by gold-thioglucoase and a high-fat diet (gold-thioglucoase と高脂肪食投与により成人非アルコ ール性脂肪肝炎と同様のメタボリックシンドロームに見 られる肝病変、組織学的異常を有する新しい包括的モデ ルマウス)	28

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
甲医博第 129 号	塩見 将志	Longitudinal study of factors relating to recovery from childhood stuttering (幼児期吃音の治癒に関連する因子を明らかにする縦断研究)	33
甲医博第 130 号	永井 英里	Effect of left ventricular reverse remodeling on long-term prognosis after therapy with Angiotensin-converting enzyme inhibitors or Angiotensin II receptor blockers and $\beta$ blockers in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy (特発性拡張型心筋症患者のアンジオテンシン変換酵素阻害薬またはアンジオテンシンII受容体拮抗薬とベータ遮断薬による治療後の長期予後における左室逆リモデリングの影響)	38
甲医博第 131 号	中山 修一	Corticotropin-releasing hormone (CRH) transgenic mice display hyperphagia with increased Agouti-related protein mRNA in the hypothalamic arcuate nucleus (Corticotropin-releasing hormone 過剰発現マウス (クッシング症候群モデル) は過食および視床下部弓状核における Agouti-related protein mRNA の増加を示す)	43
甲医博第 132 号	泉 仁	Prevention of venous stasis in the lower limb by transcutaneous electrical nerve stimulation (経皮的末梢神経電気刺激法を用いた下肢静脈鬱滞の予防)	47

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
乙総医博第14号	渡部 輝明	Structural Considerations in the Fitness Landscape of a Virus (タンパク質立体構造に基づくウイルス適応度地形の解析)	51
乙総医博第15号	緒方 宏美	Validation Study of the Japanese Version of the Fecal Incontinence Quality of Life Scale (日本語版 Fecal Incontinence Quality of Life Scale の妥当性の検討)	57

氏名(本籍)	島津 佳恵 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第123号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成23年2月28日
学位論文題目	Family psychoeducation for major depression: randomized controlled trial (大うつ病のための家族心理教育: 無作為化比較対照試験)
発表誌名	British Journal of Psychiatry (in press)

審査委員	主査	教授	安田 誠史
	副査	教授	瀬尾 宏美
	副査	教授	高尾 俊弘

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学位論文要旨

氏名 島津 佳恵

## 論文題目

Family psychoeducation for major depression:  
randomized controlled trial  
(大うつ病のための家族心理教育：無作為化比較対照試験)

### (論文要旨)

#### 背景

家族メンバーから受ける心理ストレスは精神疾患の経過に影響することが知られており、家族感情表出 (expressed emotion: EE) のレベルと患者の再発の関連性を示す研究が数多くなされてきた。EE を減少させることを目的にした家族心理教育が再発予防に効果的なことは統合失調症で示され、さらに双極性障害でも報告されている。

うつ病は生涯有病率が非常に高く、再発しやすく、経済ロスが大きく、医療サービス利用や自殺とも関連する。うつ病についても EE と再発を示す研究がすでになされている。今回我々は、うつ病の維持療法において、家族心理教育の再発防止効果を確かめるべく無作為化比較対照試験を試みた。同時に、効果に及ぼす EE の影響を調査した。

#### 方法

対象者は、高知大学医学部附属病院神経科精神科と同仁病院を受診した大うつ病患者 57 名とその家族である。診断はアメリカ精神医学会の精神障害の診断と統計の手引き (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-IV) によった。包含基準は、患者の年齢は 18 歳から 85 歳で、抗うつ薬による薬物療法を受け完全寛解か部分寛解状態にあり、電気ショック療法の既往または予定がなく、家族面接ができる家族が最低 1 人は同居しているものとした。条件を満たした 103 人のうち 57 人が同意し、介入群 (25 人) とコントロール群 (32 人) に無作為に割付けた。

EE は 5 分間スピーチサンプル (Five Minute Speech Sample: FMSS) と家族態度スケール (Family Attitude Scale: FAS) で判定をした。FMSS は、家族が患者の性格と彼らの関係性について 5 分間自由に話したものを評価する。FMSS では批判的な側面を評価するために、初発陳述、関係性、批判的コメント (Critical Comment: CC)、不満の 4 つのカテゴリー (尺度) がある。また、情緒的巻き込まれ (Emotional Overinvolvement: EOI) の判定には自己犠牲・過保護、客観性の欠如、感情の現れ、態度表明、賞賛の言葉の 5 つの尺度がある。これらの EE 判定により、対象者を高 EE 群と低 EE 群に 2 分した。FAS は、批判と敵意の二つの要素を重要視する自己記入式質問表であり、得点が高いほど大きな不満や批判的な態度を有することを示している。

うつ状態の精神症状評価にはハミルトンうつ病評価尺度 (Hamilton Rating Scale of Depression, HRSD) とベックうつ病尺度 (Beck Depression Inventory: BDI) を使用し、介入前と 9 か月後に実施した。再発は DSM-IV 基準で評価した。治療者は患者の EE 状態にブラインドで、再発を疑ったときは直ちに研究者に照会し、研究者はその時点で HRS

とBDIを評価した。研究者は患者の割付にはブラインドであった。寛解はHRSDスコアで6点以下とした。

家族心理教育は、複数家族が参加する家族教室の形で実施し、患者は参加しない形態にした。スタッフは2人の精神科医と1人の臨床心理士から構成され、うつ病の病態説明と治療方法に関するビデオテープ及び専用のテキストを教材として使用した。セッションは2週間に一度実施した。1クールは4セッションとし、各回の知識教育のテーマは「疫学と原因」、「症状」、「治療と経過」、「家族へのメッセージ」であった。各回講義を30分程度行った後、1時間から1時間半程度を、問題解決をめざすグループ療法にあてた。

## 結 果

1. 研究期間中、介入群から1人、対照群から2人の脱落があり、各24人、30人となった。両群で人口統計学的属性と臨床的属性において差はなかった。平均的患者プロフィールは、病歴10年程度の中高年で、過去1回の入院歴がある軽度から中等度のうつ病であり、日常よく遭遇するタイプであった。
2. 両群間で家族属性の違いはなかった。高EEの割合は、介入群で25%、対照群で33%であった。
3. 9か月間における再発は、介入群2人(8%)、対照群15人(50%)であった。再発までの期間は、介入群がコントロール群よりも有意に長かった(Kaplan-Meier生存分析;  $\chi^2=9.57$ ,  $p=0.002$ )。9か月の再発のリスク比は0.17であった(95%信頼区間; 0.04-0.66, Fisher直接検定;  $p=0.0009$ )。
4. 9か月時点での寛解率は、介入群83%、対照群33%で有意差を認めた(Fisher直接検定;  $p=0.001$ )。Coxの比例ハザード分析では、ベースラインのHRSDスコア(OR1.08, 95%信頼区間; 1.03-1.14,  $p=0.003$ )と介入(OR0.17, 95%信頼区間; 0.04-0.75,  $p=0.02$ )が有意に寛解を予測した。
5. EE状態と介入の相互作用をCox比例ハザードモデルで検討したが、有意な結果は得られず介入効果はEEが媒介したとは言えなかった。介入群において、9か月後のEEはFMSSとFASの両者ともに低下していなかった。

## 考 察

我々の実施した家族心理教育は、大うつ病における9か月の再発転帰を有意に減少させた。しかし、心理教育の効果とEEとの関連は証明できなかった。またFMSSとFASで測定されたEEを家族心理教育によって有意に減少させることはできなかった。

本研究はうつ病を対象として、患者を含まず家族に限定した心理教育が、再発予防に効果があったことを示した最初の研究である。患者の個人精神療法においては有効性が示唆されているが、しばしば症状が残存するのでそれは患者にストレスを与えうる。家族のみを対象にした本研究の心理教育は簡便で普及しやすく、今後の普及が期待される。また大規模サンプルにおける効果の追試が必要である。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名		島 津 佳 恵
審 査 委 員	主 査 氏 名	安 田 誠 史	印
	副 査 氏 名	瀬 尾 宏 美	印
	副 査 氏 名	高 尾 俊 弘	印

題 目      Family psychoeducation for major depression: randomized controlled trial

(大うつ病のための家族心理教育：無作為化比較対照試験)

著 者      Kae Shimazu, Shinji Shimodera, Yoshio Mino, Atsushi Nishida,  
Naoto Kamimura, Ken Sawada, Hirokazu Fujita, Toshi Furukawa,  
Shimpei Inoue

発表誌名、巻(号)、ページ(    ~    ),    年 月  
British Journal of Psychiatry (in press)

### 要 旨

【背景】 精神疾患の再発には、患者が、家族の感情表出 expressed emotion (EE) から受ける心理ストレスが影響することが知られており、家族心理教育による家族のEEの減少が再発予防に効果的なことは、統合失調症と双極性障害について、介入研究によって明らかにされてきた。しかし、生涯有病率が高いうつ病については、家族心理教育の再発予防効果を検討した介入研究は報告されていない。本研究は、うつ病の維持療法期における家族心理教育に再発予防効果があるかを、無作為化比較対照試験のデザインで検証した。

【方法】 研究対象者は、高知大学医学部附属病院を含む、高知県内の2つの病院の精神科を2004年4月-2006年4月に受診した大うつ病患者(診断はDiagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, the fourth edition (DSM-IV)によった)のうち、4つの包含基準(患者が18歳から85歳で、抗うつ薬による薬物療法を受けていて完全または部分寛解にあり、電気ショック療法の既往または予定がなく、家族面接が可能な家族が最低1人同居していること)をすべて満たした103人であった。そのうち患者と家族の両方が研究参加に同意した57人を、



家族一人が心理教育を受ける介入群 25 人と、どの家族も心理教育を受けない対照群 32 人へと無作為割り付けし、患者のうつ病の再発の有無を、割り付け後 9 ヶ月間に渡り調査した。

家族心理教育は、家族だけが参加する家族教室として、1 セッション 90 分、2 週間に 1 セッションの頻度で、4 セッション行われた。各セッションは 30 分の講義と、60–90 分の、問題解決をめざすグループ討議とからなつた。講義では「疫学と原因」、「症状」、「治療と経過」、「家族へのメッセージ」の 4 テーマが取り上げられ、ビデオと専用テキストが教材として使用された。2 人の精神科医と 1 人の臨床心理士が、講師と討議のファシリテーターになった。グループ討議が実質的なものとなるよう、参加家族数は最大 5 家族までに留められた。

介入開始前と介入開始 9 か月後には、各患者のうつ状態がハミルトンうつ病評価尺度 Hamilton Rating Scale of Depression とベックうつ病尺度 Beck Depression Inventory を用いて評価され、各患者の家族の EE が、Five-Minute Speech Sample と Family Attitude Scale を用いて評価された。Five-Minute Speech Sample は、家族が患者の性格と彼らの関係性について 5 分間自由に話した記録から、批判的側面と情緒的巻き込まれ側面とを評価する方法で、EE 評価の黄金律とされる Camberwell Family Interview による評価結果とよく一致し、評価者間信頼性も高いことが確認されている。Family Attitude Scale は、批判と敵意の二つの要素を重要視する自記式質問票である。患者の家族の EE は、Five-Minute Speech Sample での評価結果に基づいて、申請者らが先行研究で報告した基準により、高 EE と低 EE とに二分された。患者は 2 週間に 1 回の頻度で通院を求められ、治療医師が再発を疑った場合は、研究チームで再発の診断を担当する医師へ紹介された。治療担当医師と再発診断担当医師のどちらも、患者の割り付け群と家族の EE レベルを知らされないようにした。

【結果と考察】 研究参加同意患者の平均的プロフィールは、病歴 10 年程度の中高年で、過去 1 回の入院歴がある軽度から中等度のうつ病であった。介入開始前には、介入群と対照群との間に、患者の特性（性別、年齢、抗うつ薬投与量など）でも、家族の特性（患者との続柄、EE のレベルなど）でも、有意な差は認められなかった。

介入群では 1 人、対照群では 2 人が追跡期間中に脱落し、9 ヶ月間追跡できたのは介入群では 24 人、対照群では 30 人であった。9 か月間の再発患者数は、介入群では 2 人（追跡完了者の 8%）、対照群では 15 人（追跡完了者の 50%）で、介入群の再発率は対照群の 0.17（95%信頼区間 0.04–0.66、Fisher 直接確率計算法での  $p < 0.001$ ）倍であった。Cox の比例ハザードモデルで、患者の年齢、性および罹病期間と、追跡開始時点における患者のうつ症状レベルと家族の EE レベルを調整しても、介入群での再発率は対照群の 0.17（95%信頼区間 0.04–0.75、 $p = 0.02$ ）倍と、有意に低いままであった。

介入前の家族の EE レベルによって介入と再発との関連が異なるかを、介入と EE レベルの相互作用の項を Cox 比例ハザードモデルに加えて検討したが、相互作用項は有意でなく、家族心理教育の効果は、EE レベルによらず一定であることが明らかになった。しかし、介入前と 9 か月後の家族の EE レベルを比較したところ、介入群でも対照群でも、介入前後で EE 評価スケ-

ルのスコアに有意な差はなく、家族心理教育の効果は、家族の EE レベルの改善以外の機序によってもたらされたと考えられた。

本研究は、治療担当医師も再発診断担当医師も、患者の割り付け群と介入前の家族の EE レベルについてブラインドされており、医療者側に対しては質の高い制御が行われた無作為化比較対照試験である。しかし、患者側に対する制御については、介入群に割り付けられた家族に、患者に心理教育を受けたことを伝えないように要請することしかできず、患者が割り付け群について完全にブラインドされていたとは限らない。また、各群約 30 人という標本数は、患者との続柄など家族側の特性を調整する検討や、EE の各側面が介入の効果に及ぼす影響の検討を行うには小さすぎた。さらに、家族の EE レベルには改善が認められなかったため、家族心理教育の効果の機序が明らかになっていないという問題もある。

このように、今後の研究に待たなければならない課題を残してはいるが、家族だけを対象にした簡便な心理教育が、維持療法期のうつ病患者での再発率減少に効果的なことを初めて示し、家族心理教育の普及に寄与する重要な研究と評価できる。

以上の内容を踏まえ、審査員全員が、本研究は、高知大学博士（医学）の学位授与に値するものであると判断した。

氏名(本籍)	井本 明伸(高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第124号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成23年2月28日
学位論文題目	Bolus oral or continuous intestinal amino acids reduce hypothermia during anesthesia in rats (アミノ酸の単回経口投与または持続経腸投与はラットにおける麻酔中の低体温を軽減する)
発表誌名	Journal of Nutrition Science Vitaminology, 56(2):104-108, 2010年4月

審査委員	主査	教授	佐藤	隆幸
	副査	教授	杉浦	哲朗
	副査	教授	花崎	和弘

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学位論文要旨

氏名 井本明伸

## 論文題目

Bolus oral or continuous intestinal amino acids reduce hypothermia during anesthesia in rats

アミノ酸の単回経口投与または持続経腸投与はラットにおける麻酔中の低体温を軽減する

(論文要旨)

### 【緒言】

周術期の低体温は出血量を増加させたり、術後感染リスクを増加させること、および心筋虚血のリスクを増加させることなどが知られている。それに対してアミノ酸輸液が麻酔中の低体温を予防する効果があることは、共同研究者であるカロリンスカ大学のセルデンが報告し、すでに臨床で利用されている。しかし、一般に輸液製剤として使用されるアミノ酸溶液は電解質がほとんど含まれておらず、アミノ酸投与量を増やすために輸液速度を速めれば電解質異常を引き起こす可能性がある。そのため本研究では経静脈以外のアミノ酸投与経路として最初に単回経口投与による低体温予防効果と経静脈投与との相加効果を検討し、次に持続経腸投与による低体温予防効果と血清電解質への影響を検討した。

### 【アミノ酸単回経口投与の低体温予防効果の検討】

雄のウィスターラット (体重 250-270g) に対して、吸入麻酔薬のセボフルランによる鎮静下で、42 mL/kg の 10%アミノ酸液 (アミパレン、大塚製薬) または生理食塩水を経口投与した。30 分前おいてから麻酔はセボフルランで導入し、内頸静脈にカテーテルを挿入し、プロポフォールを持続投与で麻酔を維持した。それぞれのラットに、3 時間の間、内頸静脈から 14 mL/kg/hr のアミノ酸液または生理食塩水を静脈内に持続投与した。

すなわちラットは 4 群で、I-A/A; 経口も経静脈も生理アミノ酸液を投与した群、I-A/S; アミノ酸の経口摂取と生理食塩水の静脈内投与を受けた群、I-S/A; 生理食塩水の経口摂取とアミノ酸の静脈内投与を受けた群、I-S/S; 経口も経静脈も生理食塩水を投与した群で検討した。深部体温は 20 分毎に直腸でモニターし、3 時間にわたり記録した。

すべての群で、体温は低下したが、アミノ酸を投与した群 (I-A/A、I-A/S、I-S/A) では生食だけを投与された群よりもその程度は有意に少なかった。また、経口および経静脈的にアミノ酸を投与した群 (I-A/A) では、投与開始から 120 分後および 150 分後では、経口投与した群および経静脈投与した群 (I-A/S、I-S/A) よりも有意に低体温予防効果が認められた。これにより、アミノ酸投与による低体温予防に相加効果があることが示唆された。

#### 【アミノ酸持続経腸投与の低体温予防効果の検討】

雄のウィスターラット (体重 250-270g) に対して、麻酔はセボフルランで導入し、内頸静脈にカテーテルを挿入し、プロポフォールを持続投与で麻酔を維持した。さらに上腹部を切開し十二指腸にカテーテルを挿入した。2 時間の間、それぞれのラットに 14 mL/kg/hr のアミノ酸液または生理食塩水を経腸または静脈内に持続投与した。




すなわちラットは 3 群で、II-A/S; アミノ酸の経腸投与と生理食塩水の静脈内投与を受けた群、II-S/A; 生理食塩水の経腸投与とアミノ酸の静脈内投与を受けた群、II-S/S; 経腸投与も静脈内投与も生理食塩水の群であった。深部体温は 15 分毎に直腸でモニターし、2 時間にわたり記録した。さらに、終了時には血清電解質濃度を評価した。

すべての群で、体温は低下したが、経腸もしくは経静脈的にアミノ酸を投与した群 (II-A/S、II-S/A) では生食だけを投与された群よりもその程度は有意に少なかった。アミノ酸の経腸投与と経静脈投与で有意な差はなかった。しかし、血清ナトリウム濃度は、経静脈投与で有意に低下した。

#### 【結語】

アミノ酸の単回経口投与も持続経腸投与もともに、経静脈投与と同様な低体温予防効果を示した。経口単回投与ではアミノ酸投与による低体温予防効果には相加効果があること、さらに持続経腸投与では血清電解質バランスを保つことが示唆された。これらの結果は麻酔前のアミノ酸経口摂取や持続経腸投与が全身麻酔中の低体温予防に有用であることを示唆した。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名
	井 本 明 伸
審 査 委 員	主 査 氏 名      佐 藤 隆 幸 
	副 査 氏 名      杉 浦 哲 朗 
	副 査 氏 名      花 崎 和 弘 

題 目      Bolus oral or continuous intestinal amino acids reduce hypothermia during anesthesia in rats  
 (アミノ酸の単回経口投与または持続経腸投与はラットにおける麻酔中の低体温を軽減する)

著 者      Akinobu Imoto, Takeshi Yokoyama, Kunio Suwa, Fumiyasu Yamasaki, Tomoaki Yatabe, Reiko Yokoyama, Koichi Yamashita, Eva Sellden

発表誌名、巻(号)、ページ(    ~    ),      年    月  
 Journal of Nutrition Science Vitaminology, 56(2):104-108, 2010年4月

### 要 旨

手術麻酔中の低体温は、感染症や臓器不全などの術後合併症のリスクを増大させる。そのため、最近では、アミノ酸を術中に輸液して体温低下を防止する試みが始められている。輸液によるアミノ酸補給によって、骨格筋における代謝性熱産生が高まり、体温低下が防止されると考えられている。しかし、臨床用のアミノ酸輸液製剤には、電解質がほとんど含まれていないため、電解質異常をひきおこす可能性がある。そこで、申請者は、投与によっても電解質異常をきたす可能性が低い経口法および経腸法の有用性を動物実験によって検証した。

室温24℃下でラットにプロポフォール持続麻酔を行なうと、時間経過とともに体温が低下し3時間後には、7.5℃の降下がみられた。麻酔中に、アミノ酸製剤(アミパレン®)を経静脈的に持続投与すると、先行文献が報告しているように、体温低下が24%抑制された。麻酔前に、アミノ酸製剤の経口投与を行なうと同じように体温の低下を予防する効果がみられた。アミノ酸製剤の麻酔前経口投与と

麻酔中経静脈投与の併用は、体温低下を32%抑制し、弱いながらも相乗効果がみられた。このように麻酔前のアミノ酸製剤の経口投与には体温低下を防止する作用がみられたが、麻酔中に嘔吐し気道閉塞する例が2～3割にみられた。そこで、アミノ酸製剤を麻酔中に十二指腸に留置したチューブから持続的に投与する方法も検討したところ経口投与と同様の効果がみられ、嘔吐する例は皆無であった。一方、血漿電解質レベルは、アミノ酸製剤の経静脈的投与によって変動し、血漿ナトリウム濃度の有意な低下とカリウム濃度の有意な上昇がみられた。このような結果から、申請者は、経口のおよび経腸的アミノ酸製剤の投与が麻酔中の体温低下を防止すること、また、これらの方法は、経静脈的投与と異なり、電解質異常をきたす可能性が低いことから、麻酔中の低体温防止法として有用であると結論づけた。

審査員一同は、本研究が、麻酔学領域の有用な臨床研究に発展する可能性が非常に高いと認めるとともに、申請者の論文を、高知大学博士（医学）の学位を授与するに値すると判断した。

氏名(本籍)	山下 竜右 (高知県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	甲医博第125号		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
学位授与年月日	平成23年3月23日		
学位論文題目	Spatiotemporally-regulated interaction between $\beta 1$ Integrin and ErbB4 that is involved in fibronectin-dependent cell migration (フィブロネクチン依存細胞移動に影響を及ぼす $\beta 1$ IntegrinとErbB4間における空間時間依存的相互作用)		
発表誌名	The Journal of Biochemistry (in press)		
	<b>審査委員</b>	主査	麻生 悌二郎
		副査	由利 和也
		副査	宇高 恵子

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨



# 学位論文要旨

氏名 山下 竜右

## 論文題目

Spatiotemporally-regulated Interaction between  $\beta 1$  Integrin and ErbB4 That Is Involved in Fibronectin-dependent Cell Migration (フィブロネクチン依存細胞移動に影響を及ぼす  $\beta 1$  Integrin と ErbB4 間における空間時間依存的相互作用)

### (論文要旨)

インテグリンは、 $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖の2つのサブユニットからなる細胞表面分子であり、主に細胞外マトリックス(ECM)への接着及び細胞内情報伝達に関与する。インテグリンとECMの結合により、多くの細胞表面機能分子はインテグリン近傍に集積し活性化することが示唆されており、細胞増殖や癌細胞の転移等に重要な役割を果たしていると考えられている。特に受容体型チロシンキナーゼ(RTK)とインテグリンの相互作用の重要性が指摘されているが、どのようなタイミングでどのようなRTKが集積してくるかについては未だ明確になっていない。

そこで、本研究では、 $\beta 1$ インテグリンとECM間の結合により、接着後時間依存的にどのようなRTKが $\beta 1$ インテグリンと相互作用するかを、当教室で開発した生細胞表面分子間相互作用解析法、Enzyme Mediated Activation of Radical Source (EMARS)法を用いて網羅的に解析した。被験細胞のヒト子宮頸癌細胞 HeLa S3 を、3種類のECM(フィブロネクチン、コラーゲン、ラミニン)を別々にコートしたディッシュに接着させ、15分、2時間、1日培養した後、EMARS法にて $\beta 1$ インテグリンと相互作用する分子を標識した。標識された分子は、SDS-PAGE及びRTK抗体アレイを用いて同定した。

その結果、 $\beta 1$ インテグリンと相互作用するRTKは、ECMの種類及び接着後時間依存的に変化していた。中でも、 $\beta 1$ インテグリンとErbB4の相互作用は接着後2時間で最大になり、同時にErbB4のチロシン残基の自己リン酸化も接着後2時間で最大になることが分かった。フローサイトメトリーの結果から、 $\beta 1$ インテグリン、ErbB4共に発現量は時間が経過しても一定であることを考慮すると、 $\beta 1$ インテグリンとErbB4はそれぞれの発現量とは関係なく細胞接着後2時間をピークに相互作用し、インテグリン及びErbB4依存的な細胞機能に寄与している可能性が示唆された。

細胞接着後2時間はちょうど細胞移動のタイミングに一致しているので、ErbBファミリー受容体の阻害剤PD168393もしくは抗ErbB4中和抗体の細胞移動への影響を、トランスウェルを用いたmigration assayで解析した。その結果、ErbB4のチロシンキナーゼ活性

を阻害すると細胞移動能が抑制されることが分かった。このことから、**ErbB4** が少なくとも部分的に細胞移動に関与することが示された。そこで、共焦点レーザー走査顕微鏡を用いて、フィブロネクチンをコートしたディッシュに接着させた **HeLa S3** 細胞において、 $\beta$  1 インテグリンと **ErbB4** の接着後時間依存的な局在変化を観察した。その結果、**EMARS** 法による相互作用の結果と一致して、細胞接着後 2 時間のときに両者が細胞移動の先端部で共局在している像が観察された。さらに、 $\beta$  1 インテグリンと **ErbB4** の相互作用は化学架橋剤を用いた架橋実験でも確認された。

以上の結果より、インテグリンと **ECM** の接着により、 $\beta$  1 インテグリンと **RTK** の相互作用が時間依存的に誘導されること、特に、 $\beta$  1 インテグリンと **ErbB4** の空間時間依存的相互作用がインテグリン依存性の細胞移動に寄与していることが示唆された。今後、さらに多くの細胞表面分子間相互作用と細胞ひいては生体機能の関係が解明されていくことが期待される。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名	山下 竜 右
審 査 委 員	主 査 氏 名	麻 生 悌 二 郎      印
	副 査 氏 名	由 利 和 也      印
	副 査 氏 名	宇 高 恵 子      印

題 目      Spatiotemporally-regulated interaction between  $\beta 1$  Integrin and ErbB4 that is involved in fibronectin-dependent cell migration  
 (フィブロネクチン依存細胞移動に影響を及ぼす  $\beta 1$  Integrin と ErbB4 間における空間時間依存的相互作用)

著 者      Ryusuke Yamashita, Norihiro Kotani, Yoshihiro Ishiura,  
 Shigeki Higashiyama, Koichi Honke

発表誌名、巻(号)、ページ( ~ ),      年 月  
 The Journal of Biochemistry (in press)

### 要 旨

インテグリンは、 $\alpha$ 鎖、 $\beta$ 鎖のヘテロ二量体として機能する細胞膜貫通型受容体であり、細胞と細胞外基質との接着に加えて細胞外基質からの情報を細胞内に伝えるシグナル伝達分子としての役割をも果たしている。インテグリンと細胞外基質との結合により、多くの細胞表面機能分子がインテグリン近傍に集積して活性化され、細胞の運動、増殖や癌の浸潤、転移等に重要な役割を演じると考えられている。取り分け受容体型チロシンキナーゼ(RTK)とインテグリンの相互作用の重要性が指摘されているが、細胞-基質間の接着後のどの時期に如何なるRTKが集積してくるかについては未だ明らかにされていない。

そこで、本申請論文では、申請者の所属する生化学講座で開発され改良を加えた生細胞表面分子間相互作用解析法[enzyme mediated activation of radical sources (EMARS)法]を用いて、細胞-基質間の接着後に $\beta 1$ インテグリンと相互作用してくるRTKを網羅的に解析した。方法を簡潔に記すと、子宮頸癌培養細胞 HeLa S3 細胞を、3種類の細胞外基質(フィブロネクチン、コラーゲン、ラミニン)を別々にコートしたディッ

シユにシードして 15 分、2 時間あるいは 24 時間培養した後、EMARS 法にて $\beta$ 1インテグリンと相互作用する分子を標識した。分子の同定は、RTK 抗体アレイを用いて行った。

得られた結果は以下のようにまとめられる。

(1) $\beta$ 1インテグリンと相互作用する分子として、EGFR、ErbB4、MSPR、Tie-2、VEGFR3、MuSK の 6 種の RTK が同定された。相互作用の強さは、細胞外基質の種類や細胞シード後の時間により変動を認めたが、EGFR と ErbB4 の 2 種は基質の種類によらずシード後 2 時間で最大となることが判明した。同時にチロシン残基の自己リン酸化の程度についても調べたが、EGFR では細胞シード後時間経過とともに増強し 24 時間で最大となるのに対して、ErbB4 では $\beta$ 1インテグリンとの相互作用のピークに一致してシード後 2 時間で最大となることが判明した。フローサイトメトリーによる解析の結果、 $\beta$ 1インテグリンならびに ErbB4 タンパクの発現レベルは細胞シード後時間が経過してもほぼ一定であり、また、両分子間の相互作用が化学架橋剤を用いて行った免疫沈降-ウエスタンブロット法でも確認されたことから、 $\beta$ 1インテグリンから ErbB4 へのシグナルの伝達が生物学的に重要な意義をもつことが示唆された。

(2) 続いて、共焦点レーザー走査顕微鏡を用いて、フィブロネクチンをコートしたディッシュ上で培養した HeLa S3 細胞における、 $\beta$ 1インテグリンと ErbB4 の局在性の変化について解析した。 $\beta$ 1インテグリンが細胞膜局在性を示すのに対して、ErbB4 は主に細胞質に局在したが、EMARS 法による相互作用の結果と一致して、細胞シードの 2 時間後に両分子が細胞運動の先端部と思われる部位で共局在している像が観察された。

(3) 細胞シード後 2 時間はほぼ細胞運動開始の時期に当たるため、ErbB ファミリーチロシンキナーゼの阻害剤である PD168393 あるいは抗 ErbB4 中和抗体が細胞運動に影響を及ぼすかどうかを、トランスウェルを用いた細胞遊走アッセイにより解析した。その結果、PD168393 ならびに抗 ErbB4 中和抗体は、ErbB4 のリガンドである Neuregulin 1 非存在下での細胞遊走を抑制するとともに、Neuregulin 1 存在下における細胞遊走の促進をも抑制することが判明し、ErbB4 の活性化が細胞運動に関与していることが明らかとなった。

以上のように、本申請論文は、改良型の EMARS 法を用いて細胞-基質間の接着後に $\beta$ 1インテグリンと空間時間依存的に相互作用する分子として RTK の 1 つ ErbB4 を同定し、同分子のリン酸化がフィブロネクチン依存性の細胞運動を制御している可能性を提示したものであり、学術的に高い価値を有すると認められた。したがって、審査員一同は本論文が高知大学博士(医学)の学位を授与するに値するものと判断した。

氏名(本籍)	前田 広道 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第126号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成23年3月23日
学位論文題目	Hyperglycemia during hepatic resection: continuous monitoring of blood glucose concentration (肝切除術時の高血糖: 血糖値連続モニターによる検討)
発表誌名	The American Journal of Surgery, 199(1): 8-13, 2010年1月

<b>審査委員</b>	主査	教授	西原利治
	副査	教授	佐藤隆幸
	副査	教授	小林道也

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学位論文要旨

氏名 前田 広道

## 論文題目

Hyperglycemia during hepatic resection: continuous monitoring of blood glucose concentration.

(肝切除術時の高血糖：血糖値連続モニターによる検討)

(論文要旨)

背景と目的：肝細胞は血糖値の恒常性を維持する重要な役割を担っており、ホルモンや自律神経、サイトカイン、グルコースなどによって制御されている。Pringle 法は肝臓への流入血管を一時的に遮断することで、1908年に肝外傷に対する止血法として導入され、現在では肝切除術時の出血軽減を目的として広く使用されている。通常は15分間の遮断と5分間の再灌流を肝切除術が終了するまで繰り返す。これまでも肝切除術が血糖値に影響を及ぼすことは指摘されていたが詳細な検討は少ない。そこで、今回 STG-22 という血糖管理装置が有する連続血糖値測定機能を用いて肝切除術時の血糖値測定を連続的に行なった。

方法：肝切除術を受ける30名の患者を対象に、肝切除術時の血糖値を連続的に測定した。STG-22は末梢静脈から連続的に血液を採血し、ヘパリンと混合した後に酵素膜付電極に移送し血糖値の測定を行なう。採血量は約2ml/時であり、循環動態やホルモン値に影響はないと考えられる。麻酔方法、術前輸液は画一的に行なわれ、Pringle法を施行する直前には抗炎症作用を目的とした経静脈的ステロイド投与が行なわれた。得られた結果は平均±標準偏差で表示し、血糖値の変化を t-test や non-repeated ANOVA を用いて検定した。また、血糖値変化と患者背景等との関連を相関や Mann-Whitney Utest を用いて検定し、 $P < 0.05$  を有意差ありとした。

結果：全例で血糖値は非常に似通った推移を示した。手術開始の血糖値 ( $102.4 \text{ mg/dL} \pm 14.4 \text{ mg/dL}$ ) と比較して、Pringle法を行なう直前の血糖値 ( $140.3 \pm 23.8 \text{ mg/dL}$ ) は有意に上昇していた ( $P < 0.01$ )。流入血管の血行遮断によって血糖値は緩やかに下降し、再灌流によって急上昇し、再度血行遮断を行なうことで血糖値が低下することが明らかになった。急上昇した血糖値の上昇幅は Pringle法の回数を経るたびに小さくなることが示唆された ( $P < 0.01$ ) が、遮断時の血糖値の低下はほぼ一定の割合で起こることが示された。血糖値の上昇幅と患者因子、手術因子との関係を比較検討したが、組織学的に肝硬変を指摘されている患者では肝硬変のない症例に比べて血糖値上昇幅が小さいことが示唆された ( $P < 0.05$ )。

結論：肝切除時の血糖値の詳細な測定は今回が初めてとなる。これまでも、肝移植の際に移植直後に血糖値が急上昇することが知られており、**postreperfusion hyperglycemia** として知られてきた。この上昇はインスリン抵抗性であることから移植肝からの放出が原因とされている。また、動物モデルを用いた実験では **Pringle** 法施行前後で門脈血の血糖値は変動がないにも関わらず、静脈血血糖値が急激に上昇することが指摘されており、肝細胞からの糖放出が示唆されている。今回の研究でみられる血糖値の急激な変化も肝細胞からの糖放出が原因と考えられる。

血糖値コントロールに関わるシグナルは様々なものがあるが、**Pringle** 法による急激な血糖値変化には血流遮断による低酸素状態が最も関連していると考えられる。低酸素状態では貯蔵グリコーゲンの分解が誘導され、グルコース 6 磷酸そして一部がグルコースに変換されることが知られている。グルコース 6 磷酸は乳酸への分解がすすみ ATP 産生を行なうことが知られている。ラットを用いたこれまでの実験によって 30 分間の低酸素によって、約 3 分の 1 のグリコーゲン分解が引き起こされ、その約 10% が細胞外に溶出することが示されている。肝切除時のステロイド投与も関連する因子としては重要ではあるが、同等のステロイド投与によって血糖値が上昇しないことが示されており可能性としては低いように思われた。ステロイド投与が血糖値に及ぼす影響には議論の余地があるが、今回見られたような急激な変化には低酸素によるグリコーゲン分解が最も関連しているように推察された。

肝硬変に至った肝細胞のグリコーゲン貯蔵量が低下していることは良く知られている。組織学的に肝硬変と診断された患者において血糖値上昇幅が小さいのは、グリコーゲン貯蔵量が関連していると示唆される。しかし、グリコーゲン貯蔵は肝臓内で一定ではなく、臨床的に評価することは困難である可能性が高い。

結論として、肝切除時に血糖値が大きく変動することが示された。血糖値の急激な上昇には肝血流遮断時の低酸素が誘引となってグリコーゲン分解が誘導されていることが原因であると推察される。今後の研究で、肝切除が肝代謝に及ぼす影響が明らかにされることが期待される。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名	前 田 広 道
審 査 委 員	主 査 氏 名	西 原 利 治 <span style="float: right;">印</span>
	副 査 氏 名	佐 藤 隆 幸 <span style="float: right;">印</span>
	副 査 氏 名	小 林 道 也 <span style="float: right;">印</span>

題 目    Hyperglycemia during hepatic resection: continuous monitoring of blood glucose concentration  
           (肝切除術時の高血糖：血糖値連続モニターによる検討)

著 者    Hiromichi Maeda, Takehiro Okabayashi, Isao Nishimori, Koichi Yamashita, Takeki Sugimoto, Kazuhiro Hanazaki

発表誌名、巻(号)、ページ(    ~    ),    年    月  
           The American Journal of Surgery, 199(1): 8-13, 2010年1月

### 要 旨

近年の肝臓外科手術の長足の進歩によって、安全で根治的な進行性肝細胞癌切除が可能となり、長期生存者が増加している。このような進歩の原動力となったのが、肝臓の病態生理をより深く理解しようとする消化器外科医の弛まぬ探求心である。肝臓の病態生理についての深い洞察は Pringle 法の普及をもたらし、肝臓からの出血量を最少化することのできる手術器具の開発に繋がった。しかし、長足の進歩が続くため、術中、術後管理における重要な課題が未解決のまま数多く残されていることも事実で、より安全な手術術式や術中・術後管理を求めて日々努力が重ねられている。肝切除術後にインスリン抵抗性の術後高血糖が生じる機序を解明し、良好な術後管理を達成しようとする本研究もその一つである。

肝切除に際してはインスリン感受性を低下させる自律神経調節や、ホルモン・サイトカイン放出などの事象が同時に相互に連携しながら生じるため、その防止策の開発も進んでいない。そこで、申請者らは転移性肝癌を含む 30 例の肝切除術症例を対象として術中に末梢静脈血血糖値を連続的に測定することにより、どのような手術手技と関連して血糖値の上昇が生じるか詳細な観察を行った。その結果、肝臓の阻血を行った後の再



灌流に際して、再現性をもって末梢静脈血血糖値が上昇を示すことが明らかになった。また、その血糖上昇は非癌部が硬変肝よりも正常肝である場合により顕著であり、阻血再灌流を反復するに従い血糖値の上昇量は減少することも明らかにした。

肝細胞は取り込んだブドウ糖をグリコーゲンとして貯蔵するため、肝細胞内に遊離のブドウ糖はほとんど存在しない。では、Pringle 法により肝臓の阻血を用いた時どのようして肝細胞は大量のブドウ糖を放出できるのだろうか。Pringle 法により虚血に陥った肝細胞は貯蔵しているグリコーゲンから大量のブドウ糖を生成し、このブドウ糖が再灌流により肝静脈に流出するとの斬新な仮説を申請者らは提唱した。肝臓は生体内でブドウ糖を放出できる唯一の臓器であり、肝細胞は低酸素に陥るとグリコーゲンからブドウ糖を多量に生成して嫌気性解糖により ATP を得ることに着目したこの仮説は、手術前夜を絶食にすると術後高血糖が軽減されるとの経験則のみならず、血糖上昇は非癌部が硬変肝よりも正常肝である場合により顕著であり、阻血再灌流を反復するに従い血糖値の上昇量は減少するという本研究で新たに明らかにされた事実も無理なく説明できる。

グリコーゲンの貯蔵量が少なければ、肝切除術後のブドウ糖の放出量が少量となるとの観察も重要である。もともとグリコーゲンの貯蔵量が少ない硬変肝に対して Pringle 法を反復すれば肝細胞のグリコーゲンは容易に枯渇するため、肝細胞がエネルギーレベルを維持することが甚だ困難となる。本論文は硬変肝における肝切除が大きな手術侵襲となるこのような機構を直截的に示した最初の論文である。また、肝切除手術においては肝細胞のエネルギーレベルの維持と術後高血糖の回避という二つの相反する命題を解決することが求められている。本論文はそのような方策を見出すために必要な肝病態生理の理解を促す上で重要な論文でもある。

よって、審査員一同は、本論文を高知大学博士（医学）に相応しい価値あるものと認定した。

氏名(国籍)	河野 真介(愛媛県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第127号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成23年3月31日
学位論文題目	Risk factor analysis of curve progression in early degenerative lumbar scoliosis: a minimum follow-up of 10 years (10年以上経過観察できた初期の腰椎変形性側弯症における彎曲進行の危険因子の分析)
発表誌名	Journal of Orthopaedic Surgery (in press)

<b>審査委員</b>	主査	教授	小川 恭弘
	副査	教授	安田 誠史
	副査	教授	山本 哲也

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学 位 論 文 要 旨

氏 名 河野 真介

## 論 文 題 目

**Risk factor analysis of curve progression in early degenerative lumbar scoliosis: a minimum follow-up of 10 years**

(10年以上経過観察できた初期の腰椎変性側弯症における  
彎曲進行の危険因子の分析)

(論文要旨)

(目的)

初期の腰椎変性側弯症の彎曲進行を予測することは、臨床的に重要である。なぜなら、変形が重度になる前に治療を始めることができれば、大きな手術の必要をなくすることができるかもしれないからである。それゆえに、我々は過去の報告と比較してより初期の段階での腰椎変性側弯症の彎曲進行の危険因子について分析を行った。

(方法)

1994年または1998年に何らかの腰部の症状で受診した45歳以上の1009例の腰椎のレントゲン計測を行い、Cobb角が5度以上20度以下の腰椎変性側弯を有したのは257例(25%)であった。そのうち、10年以上(10~18年;平均12.3年)の経過観察が可能であった27例をretrospectiveに分析した。(1)腰椎のCobb角 (2)Nash and Moe分類での頂椎の回旋度 (3)側方すべりの有無 (4)慈恵医大式の骨粗鬆症の重傷度 (5)Harrington factor(彎曲角度/彎曲内の椎体)のレントゲン上の5因子に加えて、経過観察年数を説明変数とし、彎曲の1年当たりの進行角度を従属変数とし、重回帰分析を用いて評価した。

(結果)

27例の初診時におけるCobb角の平均は10.1度±4.3度(5~19度)であり、最終調査時は15.4度±8.7度であった。経過観察期間内におけるCobb角の増加は平均5.4度(-8~21度)であり、1年当たりの進行角度は平均0.4度(-0.8~1.3度)であった。重回帰分析の結果、彎曲進行に有意に関与しているのは頂椎の回旋度のみであり(回帰係数,0.502; P<0.009)、その他の初診時におけるCobb角、側方すべりの有無、骨粗鬆症の程度、Harrington factor、経過観察期間は有意な関与はしていなかった。

(考察)



過去の報告では、骨粗鬆症が腰椎変性側弯症の原因と考えられていたが、近年はその考えは様々な報告により否定されており、我々の今回の研究でも同様の結果であった。PritchettとBortelやSaplas等は、彎曲進行の重要な予後予測因子は30度以上のCobb角、Nash and Moe分類での頂椎の回旋度が2または3であること、側方すべりが6mm以上あること、intercrest line上

に第 5 腰椎が存在することであると報告している。彼らは初診時の Cobb 角が 14~60 度 (Pritchett と Bortel)、12~50 度と比較的大きな彎曲の症例を対象としており、成人発症だけでなく、思春期発症の特発性側弯症症例を含んでいる可能性がある。Korovessis 等はロジスティック重回帰分析を用いて、頂椎の側方すべり、Harrington factor、disc index が彎曲進行に有意に関与していると報告している。しかし、彼らも 30 度以上の彎曲を有する症例を含んでおり、さらに 2~4.5 年と比較的短い観察期間である。それに対し、我々はできる限り初期からの予後予測を目指し、初診時 Cobb 角が 5 度以上 20 度以下の、比較的初期の小さな彎曲の症例で、10 年以上の経過観察が可能であった症例を対象とし、重回帰分析を用いた結果、頂椎の回旋度のみが彎曲進行に有意に関与しているという結果を得た。

Dickson 等は椎体の回旋は特発性側弯症の二次的な変形ではなく一時的なものだと主張し、Velis 等は、特発性側弯症における側方すべりは、「真の」すべりではなく、椎体の回旋によるものだと示した。近年の腰椎変性側弯症に関する報告では、Ploumis 等が、椎体の側方すべりは、回旋変形と関与していると報告している。さらに Marty-Poumarat 等は、回旋性の亜脱臼が腰椎変性側弯症の initial event であると報告している。

これらの報告と我々の今回の結果から、回旋変形による不安定性は初期の腰椎変性側弯症において重要な所見であり、彎曲進行の予測に関して最も信頼できる因子と考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名	河 野 真 介
審 査 委 員	主 査 氏 名	小 川 恭 弘  印
	副 査 氏 名	安 田 誠 史 印
	副 査 氏 名	山 本 哲 也  印

題 目 Risk factor analysis of curve progression in early degenerative lumbar scoliosis: a minimum follow-up of 10 years  
(10年以上経過観察できた初期の腰椎変形性側弯症における弯曲進行の危険因子の分析)

著 者 Shinsuke Kohno, Masahiko Ikeuchi, Shinichirou Taniguchi, Ryuichi Takemasa, Hiroshi Yamamoto, Toshikazu Tani

発表誌名、巻(号)、ページ( ~ ), 年 月  
Journal of Orthopaedic Surgery (in press)

### 要 旨

2011年2月22日に、上記の論文について、公開審査を行なった。

本論文の要旨は、以下のごとくである。

本論文において記載されている研究の目的は、初期の腰椎変形性側弯症の弯曲進行を予測することであり、このことは、臨床的にきわめて重要である。なぜなら、変形が重度になる前に治療を始めることができれば、大きな手術を回避し得る可能性があるからである。それゆえに、筆者らは過去の報告と比較して、より初期の段階での腰椎変形性側弯症の弯曲進行の危険因子について分析を行った。

研究の方法について以下に記載する。

1994年または1998年に何らかの腰部の症状で受診した45歳以上の1009例の腰椎のレントゲン写真を用いて計測を行い、Cobb角が5度以上20度以下の腰椎変形性側弯を有したのは257例(25%)であった。そのうち、10年以上(10~18年;平均12.3年)の経過観察が可能であった27例をretrospectiveに分析した。(1)腰椎のCobb角 (2) Nash and Moe分類での頂椎の回旋度 (3) 側方すべりの有無 (4) 慈恵医大式の骨粗鬆症の重症度 (5) Harrington factor (弯曲角度 / 弯曲内の椎体) のレントゲン上の5因子に加えて、経過観察年数を説明変数とし、弯曲の1年当たりの進行角度を従属変数とし、重回帰分析を用いて評価した。

本研究の結果として、以下のことが明らかとなった。

27例の初診時における Cobb 角の平均は 10.1 度 $\pm$ 4.3 度 (5~19 度) であり、最終調査時は 15.4 度 $\pm$ 8.7 度であった。経過観察期間内における Cobb 角の増加は平均 5.4 度 (-8~21 度) であり、1 年当たりの進行角度は平均 0.4 度 (-0.8~1.3 度) であった。重回帰分析の結果、弯曲進行に有意に関与しているのは頂椎の回旋度のみであり (回帰係数, 0.502;  $P < 0.009$ )、その他の初診時における Cobb 角、側方すべりの有無、骨粗鬆症の程度、Harrington factor、経過観察期間は有意な関与は認めなかった。

本研究で得られた上記の結果に関して、以下のごとく考察した。

過去の報告では、骨粗鬆症が腰椎変性側弯症の原因と考えられていたが、近年はその考えは様々な報告により否定されており、筆者らの今回の研究でも同様の結果であった。Pritchett と Bortel や Saplac 等は、弯曲進行の重要な予後予測因子は 30 度以上の Cobb 角、Nash and Moe 分類での頂椎の回旋度が 2 または 3 であること、側方すべりが 6mm 以上あること、intercrest line 上に第 5 腰椎が存在することであると報告している。彼らは初診時の Cobb 角が 14~60 度 (Pritchett と Bortel)、12~50 度と比較的大きな弯曲の症例を対象としており、成人発症だけでなく、思春期発症の特発性側弯症症例を含んでいる可能性がある。Korovessis 等はロジスティック重回帰分析を用いて、頂椎の側方すべり、Harrington factor、disc index が弯曲進行に有意に関与していると報告している。しかし、彼らも 30 度以上の弯曲を有する症例を含んでおり、さらに 2~4.5 年と比較的短い観察期間である。それに対し、筆者らはできる限り初期からの予後予測を目指し、初診時 Cobb 角が 5 度以上 20 度以下の、比較的初期の小さな弯曲の症例で、10 年以上の経過観察が可能であった症例を対象とし、重回帰分析を用いた結果、頂椎の回旋度のみが弯曲進行に有意に関与しているという結果を得た。Dickson 等は椎体の回旋は特発性側弯症の二次的な変形ではなく一時的なものだと主張し、Velis 等は、特発性側弯症における側方すべりは、「真の」すべりではなく、椎体の回旋によるものとした。近年の腰椎変性側弯症に関する報告では、Ploumis 等が、椎体の側方すべりは、回旋変形と関与していると報告している。さらに Marty-Poumarat 等は、回旋性の亜脱臼が腰椎変性側弯症の initial event であると報告している。

これらの報告と筆者らの今回の結果から、回旋変形による不安定性は初期の腰椎変性側弯症において重要な所見であり、弯曲進行の予測に関して最も信頼できる因子と考えられた。

以上の発表により、以下のことが確認された。

腰椎変性側弯症に関する従来の研究では、比較的大きな弯曲の症例を対象としており、成人発症だけでなく、思春期発症の特発性側弯症症例を含んでいる可能性があり、その上、観察期間も短かった。本研究においては、腰椎の Cobb 角が 5~20 度と、初期の腰椎変性側弯症の症例に限定し、さらに、10 年以上の長期間でのエックス線写真での比較が可能であった症例に限定して解析がなされた。対象となった 27 例について、1 年当たりの弯曲の進行角度は、平均 0.4 度であることが示され、重回帰分析の結果、弯曲進行に有意に関与している因子は頂椎の回旋度のみであり (回帰係数, 0.502;  $P < 0.009$ )、従来の研究において弯曲進行の重要な予後予測因子とされた腰椎の Cobb 角、側方すべりの有無、骨粗鬆症の程度、Harrington factor、経過観察期間は有意な関与はしていないことが明らかとなった。したがって、本論文の結果と、

これまでの椎体の回旋変形に関する研究を考え合わせると、回旋変形による不安定性は初期の腰椎変性側弯症において重要な所見であり、彎曲進行の予測に関して最も信頼できる因子と考えられた。

続いて、主査ならびに副査2名より、本論文の内容について、河野真介氏に対して、種々の質問を行った。本研究のさらなる展望や今後の検討課題、また、統計解析の手法等についての質問が行われ、同氏はそれぞれの質問に対して、おおむね適切に返答することができた。さらに、本研究は、これからの高齢化社会において益々増加することが予想される腰椎変性側弯症を初期の段階で診断し、その進行を抑制する上で、重要な臨床的意義を有しているものと評価された。したがって、審査員一同一致して、本論文は本学の医学博士号に相応しいものと判定した。

氏名(本籍)	小笠原 光成 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第128号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成23年3月31日
学位論文題目	A novel and comprehensive mouse model of human non-alcoholic steatohepatitis with the full range of dysmetabolic and histological abnormalities induced by gold-thioglucose and a high-fat diet (gold-thioglucoseと高脂肪食投与により成人非アルコール性脂肪肝炎と同様のメダボリックシンドロームに見られる肝病変、組織学的異常を有する新しい包括的モデルマウス)
発表誌名	Liver International (in press)
	<b>審査委員</b> 主査 教授 本 家 孝 一 副査 教授 麻 生 悌二郎 副査 教授 花 崎 和 弘

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨



# 学 位 論 文 要 旨

氏 名 小笠原 光成

## 論 文 題 目

A novel and comprehensive mouse model of human non-alcoholic steatohepatitis with the full range of dysmetabolic and histological abnormalities induced by gold-thioglucose and high-fat diet

(gold-thioglucose と高脂肪食投与により成人非アルコール性脂肪肝炎と同様のメタボリックシンドロームに見られる肝病変、組織学的異常を有する新しい包括的モデルマウス)

(論文要旨)

非アルコール性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis ; NASH) は現在、先進国を中心とした世界において、肝硬変、さらには肝細胞癌へと進行する重要な慢性肝炎として知られている。しかし、非アルコール性脂肪肝炎の機序解明、治療法の研究においては、肥満、インスリン抵抗性、肝の脂肪化、肝細胞障害、線維化等すべてを満たすような動物モデルが確立されていないというのが現状である。

そこで我々は、視床下部に作用し過食となり、肥満を引き起こす gold-thioglucose 投与をマウスに行った。gold-thioglucose は食欲抑制作用を有する neuropeptide B や neuropeptide W のレセプターである視床下部摂食中枢の GPR7 (endogenous G protein-coupled receptor) の発現が抑制され、過食となる。さらに高脂肪食を与えることにより、モデルマウスを作成し、成人非アルコール性脂肪肝炎の病態に類似した病態が認められるか、検討を行った。

実験動物として C57BL/6 マウスを用い、gold-thioglucose を腹腔内投与し、過食マウスを作製した。そして、食餌として高脂肪食を 12 週投与し、非アルコール性脂肪肝炎が誘導されたか解析を行うために、動物実験用 CT による脂肪量等の測定や組織学的、生化学的、分子化学的な検討を行った。

gold-thioglucose を投与せず通常食のみを与えた群をコントロール群とし、また、gold-thioglucose を投与せず高脂肪食のみを与えた群との比較も行った。gold-thioglucose と高脂肪食をともに投与した群では、著明に体重が増加し、内臓脂肪増加を伴う肥満が認められた。また、血清トランスアミナーゼは著明に上昇し、糖負荷試験やインスリン負荷試験において、耐糖能異常やインスリン抵抗性も認められた。




gold-thioglucose を投与し、通常食を与えたマウスの検討も行ったが、高脂肪食のみを与えた群に比べても、体重増加は少なく、血清トランスアミナーゼも高脂肪食のみを与えた群よりも低値であった。

gold-thioglucose と高脂肪食をともに投与した群では、肝細胞の著明な脂肪化、ballooning、Mallory-Denk body や線維化が見られ、非アルコール性脂肪肝炎に特徴的な組織像であった。さらには線維化マーカーである肝での TGF- $\beta$  や TIMP-1 の mRNA 発現増加が認められた。また、酸化ストレスのマーカーである 8-OHdG 陽性細胞も有意に増加がしていた。

善玉サイトカインと言われる血清アディポネクチンは低下し、また、そのレセプターであるアディポネクチンレセプター1, 2 (AdipoR1, R2) の肝での mRNA 発現は低下していた。さらに、PPAR- $\gamma$  や FAS といった脂質合成系のマーカーの mRNA 発現は肝において増加していた。

以上のように、gold-thioglucose と高脂肪食の投与を行ったマウスは、短期間でメタボリックシンドロームにおいて見られる肝病変と同様の病態を得ることが可能で、さらに生化学的、組織学的、分子化学的異常も伴う成人非アルコール性脂肪肝炎に類似した動物モデルと考えられた。このモデルマウスを用いることにより、今後、非アルコール性脂肪肝炎の詳細な機序の解明や、治療法開発の一助になりうると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名	小笠原 光 成
審 査 委 員	主 査 氏 名	本 家 孝 一 
	副 査 氏 名	麻 生 悌 二 郎 
	副 査 氏 名	花 崎 和 弘 

題 目     A novel and comprehensive mouse model of human non-alcoholic steatohepatitis with the full range of dysmetabolic and histological abnormalities induced by gold-thioglucose and a high-fat diet  
             (gold-thioglucose と高脂肪食投与により成人非アルコール性脂肪肝炎と同様のメタボリックシンドロームに見られる肝病変、組織学的異常を有する新しい包括的モデルマウス)

著 者     Mitsunari Ogasawara, Akira Hirose, Masafumi Ono, Kosuke Aritake, Yasuko Nozaki, Masaya Takahashi, Nobuto Okamoto, Shuji Okamoto, Shinji Iwasaki, Taketoshi Asanuma, Taketoshi Taniguchi, Yoshihiro Urade, Saburo Onishi, Toshiji Saibara, Jude A Oben

発表誌名、巻(号)、ページ(    ~    )、    年    月  
             Liver International (in press)

### 要 旨

#### 【背景・目的】

非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) は、メタボリックシンドロームに伴う肝病変で、重症化すると肝硬変、さらには肝細胞癌へと進行する。これまで、NASHの病態解明、治療法研究のための動物モデルが確立されていない。そこで、gold-thioglucose (GTG) の投与と高脂肪食を併用することによりNASHモデルマウスの作成を目指した。

#### 【方法】

GTGは、視床下部摂食中枢のneuropeptide受容体の発現を抑制して過食と肥満を引き起こすことが知られている。C57BL/6マウスに、2 mg/g体重のGTGを腹腔内投与後、標準食を1週間、ひきつづき高脂肪食を11週間投与した後、CTによる脂肪量等の測定や組織

学的、生化学的解析を行った。コントロール群として、GTGを投与せず標準食を与えた群、GTGを投与せず高脂肪食を与えた群、一部の実験ではGTGを投与して標準食を与えた群を用意し、比較検討した。

#### 【結果・考察】

GTG／高脂肪食併用群では、コントロール群と比較して有意に以下の異常が認められた。著明な体重増加と内臓脂肪増加を伴う肥満が認められた。血清トランスアミナーゼが著明に上昇し、耐糖能異常やインスリン抵抗性が認められた。肝細胞の著明な脂肪化、ballooning、Mallory-Denk bodyや線維化が見られ、NASHに特徴的な組織像を呈していた。線維化マーカーのTGF- $\beta$ やTIMP-1の肝臓におけるmRNA発現が増加していた。酸化ストレスマーカーの8-OHdG陽性肝細胞が増加していた。血清アディポネクチンは低下し、肝臓におけるアディポネクチンレセプター1, 2 (AdipoR1, R2) のmRNA発現が低下していた。肝臓においてPPAR- $\gamma$ やFASといった脂質合成系マーカーのmRNA発現が増加していた。

以上のように、gold-thioglucoseと高脂肪食を併用することにより、マウスに短期間でNASHと同様の病態を惹起することが可能となった。

本論文は、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の病態解明や治療法開発のための貴重なリソースとなるモデル動物を作出することに成功した。よって、本論文は、本学の学位に値すると判断した。

氏名(本籍)	塩見 将志 (愛媛県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第129号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成23年3月31日
学位論文題目	Longitudinal study of factors relating to recovery from childhood stuttering (幼児期吃音の治癒に関連する因子を明らかにする縦断研究)
発表誌名	音声言語医学, 52(1), 2011年1月20日予定

<b>審査委員</b>	主査	教授	兵頭	政光
	副査	教授	瀬尾	宏美
	副査	教授	奥原	義保

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学位論文要旨

氏名 塩見 将志

## 論文題目

Longitudinal study of factors relating to recovery from childhood stuttering (幼児期吃音の治癒に関連する因子を明らかにする縦断研究)

### (論文要旨)

#### はじめに

幼児期吃音の治癒に関連する特性としては、吃音の症状、発吃年齢、発吃から初診時評価までの期間、性別などが指摘されている。しかし先行研究では、吃音児の各特性と治癒との関連は、他の特性の影響を無視した単変量解析によって検討されてきた。そのため、報告された関連については他の特性によって交絡されている可能性が残っている。また、他の特性を同時に持つか持たないかで、各特性と治癒との関連が異なるかは明らかにされてこなかった。そこで、吃音治療施設を受診した吃音児を対象とした縦断研究によって、児の治療前の特性、すなわち性別、発吃年齢、発吃からの期間、吃音での相談歴、受診時年齢、そして吃音の進展段階について、相互の影響を調整した時の各特性と吃音治癒との関連を検討した。さらに、修飾不可能な特性として性別を、修飾可能な特性として発吃からの期間をとりあげ、それぞれの特性の値の違いによって、吃音治癒に関連する特性が異なるか検討した。これらの検討結果に基づいて、吃音児の治療を担当する医療従事者が吃音の予後を予測する時に、有用な情報を与える児の特性を明らかにした。

#### 方法

研究対象者は、14ヶ所の研究協力施設で1992年1月から2007年12月までに吃音と診断され、吃音の治療が開始された108名であった。本報告での解析には、精神発達遅滞、言語発達遅滞または表出性言語発達遅滞を合併していた11名を除いた97(男児75、女児22)名を用いた。各児を、初診日から言語聴覚士が治癒したと判断した診察日、または言語聴覚士が最後に診察した日まで追跡した。担当言語聴覚士が、診察時の発話分析と養育者からの発話に関する報告の分析から、「進展段階1～4層の吃音症状がない、また、あったとしても正常なレベルの出現頻度である」と判断した場合を治癒と定義した。吃音児が各施設を初めて受診した時に収集された児の特性と吃音治癒との関連を、比例ハザードモデルを用い、特性相互の影響を調整して検討した。

#### 結果と考察




97名の解析対象児の追跡期間(発吃から治癒または観察打ち切りまでの期間)は平

均 36.0 ヶ月（範囲 5 - 83 ヶ月）であり、55 名が治癒したと判断された。標本全員を用いて行った多変量解析では、吃音の進展段階が、吃音治癒の予知因子として知られている発吃からの期間とは独立に、治癒と関連していた。性別に行った解析でも、進展段階は、男女いずれでも、独立して治癒に関連していた。発吃からの期間別に行った解析では、発吃から 24 ヶ月以内に吃音治療施設を受診した児でのみ治癒に関連する特性が認められ、発吃年齢〔25 ヶ月以上の 24 ヶ月未満 に対する治癒のハザード比 0.34 (95% 信頼区間 0.13-0.91)〕と進展段階〔2 - 3 層の 1 層に対する治癒のハザード比 0.41 (95% 信頼区間 0.21-0.81)〕とが有意水準 5% で、性別〔男児の女児に対する治癒のハザード比 0.49 (95% 信頼区間 0.22-1.06)〕が有意水準 10% で治癒と関連した。従って、発吃から 24 ヶ月以内であれば、これら 3 つの特性に基づいて治療経過を予測することが可能であり、この期間に吃音治療施設を受診する吃音児を増やすことが重要であると考えられた。

#### まとめ

吃音治療施設を受診した吃音児を対象とする縦断研究によって、吃音児の治療前特性と吃音治癒との関連を児の特性相互の影響を調整して検討した。治癒に関連する児の特性は、発吃から 24 ヶ月以内に吃音治療施設を受診した場合にのみ検出され、発吃年齢が 24 ヶ月以下であること、女児であること、吃音の進展段階が 1 相であることが、相互に独立して高い治癒率に関連した。発吃から 24 ヶ月以内という期間は、先行研究が指摘してきたように吃音が治癒しやすい期間としてだけではなく、吃音治癒に関連する特性を把握し予後を予測できる期間としても重要なことを明らかにできた。

## 論文審査の結果の要旨

	氏名	塩見将志
審査委員	主査氏名	兵頭政光 
	副査氏名	瀬尾宏美 
	副査氏名	奥原義保 

題目 Longitudinal study of factors relating to recovery from childhood stuttering  
(幼児期吃音の治癒に関連する因子を明らかにする縦断研究)

著者 Masashi Shiomi, Nobufumi Yasuda, Atsuhiko Ota

発表誌名、巻(号)、ページ( ~ ), 年月  
音声言語医学, 52(1), 32-42, 2011年1月

### 要旨

#### 背景・目的

幼児期吃音の治癒に関連する特性としては、吃音の症状、発吃年齢、発吃から初診時評価までの期間、性別などが指摘されている。しかし先行研究では、吃音児の各特性と治癒との関連は、他の特性の影響を考慮しない単変量解析によって検討されてきた。そのため、報告された関連については他の特性によって交絡されている可能性が残っている。また、他の特性を同時に持つか持たないかで、各特性と治癒との関連が異なるかは明らかにされてこなかった。そこで、吃音治療施設を受診した吃音児を対象とした縦断研究によって、児の治療前の特性、すなわち性別、発吃年齢、発吃からの期間、吃音での相談歴、受診時年齢、そして吃音の進展段階について、相互の影響を調整した時の各特性と吃音治癒との関連を検討した。さらに、修飾不可能な特性として性別を、修飾可能な特性として発吃からの期間をとりあげ、それぞれの特性の値の違いによって、吃音治癒に関連する特性が異なるか検討した。これらの検討結果に基づいて、吃音の予後予測の際に、有用な情報を与える特性を明らかにすることを目的とした。

#### 方法

研究対象者は、国内の14ヶ所の研究協力施設で1992年1月から2007年12月までに吃



音と診断され、吃音の治療が開始された108名であった。このうち、精神発達遅滞、言語発達遅滞または表出性言語発達遅滞を合併していた11名を除いた97（男児75、女児22）名を解析対象とした。各児を、初診日から言語聴覚士が治癒したと判断し主治医がその報告を了承した診察日、または主治医と言語聴覚士が最後に診察した日まで追跡した。担当言語聴覚士が、診察時の発話分析と養育者からの発話に関する報告の分析から、「進展段階1～4層の吃音症状がない、また、あったとしても正常なレベルの出現頻度である」と判断しその報告を主治医が了承した場合を治癒と定義した。吃音児が各施設を初めて受診した時に収集された児の特性と吃音治癒との関連を、比例ハザードモデルを用い、特性相互の影響を調整して検討した。

## 結果と考察

97名の解析対象児の追跡期間（発吃から治癒または観察打ち切りまでの期間）は平均36.0ヶ月（範囲5-83ヶ月）であり、55名が治癒したと判断された。標本全員を用いて行った多変量解析では、吃音の進展段階が、吃音治癒の予知因子として知られている発吃からの期間とは独立に、治癒と関連していた。性別に行った解析でも、進展段階は、男女いずれでも、独立して治癒に関連していた。発吃からの期間別に行った解析では、発吃から24ヶ月以内に吃音治療施設を受診した児でのみ治癒に関連する特性が認められ、発吃年齢〔25ヶ月以上の24ヶ月未満に対する治癒のハザード比0.34（95%信頼区間0.13-0.91）〕と進展段階〔2-3層の1層に対する治癒のハザード比0.41（95%信頼区間0.21-0.81）〕とが有意水準5%で、性別〔男児の女児に対する治癒のハザード比0.49（95%信頼区間0.22-1.06）〕が有意水準10%で治癒と関連した。従って、発吃から24ヶ月以内であれば、これら3つの特性に基づいて治療経過を予測することが可能であり、この期間に吃音の診断と治療開始を行うことが重要と考えられた。

## まとめ

吃音治療施設を受診した吃音児を対象とする縦断研究によって、吃音児の治療前特性と吃音治癒との関連を児の特性相互の影響を調整して検討した。治癒に関連する児の特性は、発吃から24ヶ月以内に吃音治療施設を受診した場合にのみ検出され、発吃年齢が24ヶ月以下であること、女児であること、吃音の進展段階が1層であることが、相互に独立して高い治癒率に関連した。発吃から24ヶ月以内という期間は、先行研究が指摘してきたように吃音が治癒しやすい期間としてだけでなく、吃音治癒に関連する特性を把握し予後を予測できる期間としても重要なことを明らかにできた。

本論文は多数の吃音時を対象として、吃音の予後予測に関する因子を多変量解析により明らかにした臨床研究であり、吃音の早期診断や治療開始の必要性を具体的に提示する点で優れた論文であると高く評価できた。以上より、本論文は高知大学博士（医学）の学位にふさわしいものであると審査委員は判断した。

氏名(本籍)	永井 英里 (広島県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第130号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成23年3月31日
学位論文題目	Effect of left ventricular reverse remodeling on long-term prognosis after therapy with Angiotensin-converting enzyme inhibitors or Angiotensin II receptor blockers and $\beta$ blockers in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy (特発性拡張型心筋症患者のアンジオテンシン変換酵素阻害薬またはアンジオテンシンII受容体拮抗薬とベータ遮断薬による治療後の長期予後における左室逆リモデリングの影響)
発表誌名	American Journal of Cardiology, 2011年4月掲載予定

<b>審査委員</b>	主査	教授	佐藤	隆幸
	副査	教授	瀬尾	宏美
	副査	教授	杉浦	哲朗

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学位論文要旨

氏名

永井 英里 (旧姓 星川)

## 論文題目

Effect of Left Ventricular Reverse Remodeling on Long-Term Prognosis After Therapy With Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors or Angiotensin II Receptor Blockers and  $\beta$  Blockers in Patients with Idiopathic Dilated Cardiomyopathy

(特発性拡張型心筋症患者のアンジオテンシン変換酵素阻害薬またはアンジオテンシンII受容体拮抗薬とベータ遮断薬による治療後の長期予後における左室逆リモデリングの影響)

(論文要旨)

これまで数々の研究から特発性拡張型心筋症 (IDC) 患者に $\beta$ 遮断薬・アンジオテンシン変換酵素阻害薬 (ACEI)・アンジオテンシンII受容体拮抗薬 (ARB) を使用すると予後が改善することが明らかにされているが、実際は依然予後不良の患者も存在している。心筋障害によって心機能が低下し、さらに正常心筋を含む左室全体が拡大し最終的に難治性の心不全へと進展することを「左室リモデリング」といい、ACEI に $\beta$ 遮断薬を加えると左室収縮能が改善する事象は「左室逆リモデリング (LVRR)」として知られている。一般的に IDC 患者において LVRR の出現は予後良好の指標とされているが、LVRR の出現頻度や LVRR の程度と予後との関連性については未だ不明である。本研究は、ACEI もしくは ARB と $\beta$ 遮断薬による治療を行った IDC 患者における LVRR と長期予後との関連性について明らかにすることを目的として行った。

### 【方法】

我々は 1994 年から 2005 年の間に当院へ入院し、一般的な内服治療に ACEI もしくは ARB と $\beta$ 遮断薬が追加された 42 人の IDC 患者を retrospective に調査した。IDC の診断基準は (1) 左室拡張末期径 (LVDd)  $\geq$  55mm、左室短縮率 (LVFS)  $\leq$  25% (2) 急性心筋炎・浸潤性や代謝性、中毒性心筋疾患・膠原病・神経筋疾患・虚血性心筋障害 (有意冠動脈狭窄率  $>$  50% とした)・弁膜症や大量のアルコール摂取歴のある患者を除外とした。

対象患者は ACEI/ARB を含む一般的な治療の後、 $\beta$ 遮断薬 (carvedilol もしくは metoprolol) が少量から開始され、carvedilol は 20mg/日、metoprolol は 80mg/日 を目標に著明な徐脈や低血圧などの副作用に注意しながら可能な範囲で増量された。心臓超音波検査は治療の開始前と治療開始後の少なくとも 2 回は施行されており (診断後 1 年以内に死亡した患者 1 名を除く)、最終の計測で左室収縮能が正常化したもの、つまり LVDd  $\leq$  55 mmかつ LVFS  $\geq$  25% 以上となったものを完全左室逆リモデリング (CLVRR) と定義した。エンドポイントは心臓死もしくは心移植とした。

### 【結果】

対象患者は平均年齢 59 歳 (27~78 歳) で男性が 37 人であった。心不全の重症度はニューヨーク心臓協会の機能分類 (NYHA) I~II 度が 32 人、III~IV 度が 10 人であった。平均 4.7 年のフォローアップ期間中に 8 人の患者が死亡 (心不全死 5 人・心臓突然死 3 人)、1 人が心移植を受けており、この中ではひとりも CLVRR

がみられなかった。これに対して、生存していた33人の患者では14人(33%)にCLVRRが見られた( $p < 0.05$ )。

更にこれらの患者を(1)死亡/心移植 (2)生存-CLVRRなし (3)生存-CLVRRありの3群に分け、心臓超音波検査での経時的変化を比較したところ、死亡/移植群で左室機能(LVd<sub>d</sub>・LVd<sub>s</sub>・LVFS)に改善が見られなかったのに対して、生存-CLVRRあり群では治療開始後1~6カ月の時点で既に有意な改善がみられており、最終フォローアップ時には更なる改善がみられていた。生存-CLVRRなし群でも1~6ヶ月の時点でわずかながらも有意な改善がみられていた。Post-hoc解析では死亡/移植群に比べて生存-CLVRRあり群で治療開始1~6ヶ月においてLVd<sub>s</sub>の著明な縮小がみられた。Cox比例ハザードモデルでは治療開始から1~6ヶ月でのLVd<sub>s</sub>の変化率が将来の心臓死もしくは心移植の予測因子であったが、治療開始前のLVd<sub>d</sub>、LVd<sub>s</sub>、LVFSは有意な予測因子ではなかった。

#### 【結論】

(1)IDC患者において、CLVRRの出現は良好な長期予後に関連していた。(2)また、ACEI/ARBと $\beta$ 遮断薬による薬物治療開始後1~6ヵ月でのLVRRの程度が、将来の心事故を予測する重要な因子であった。

#### 【考察】

ACEI/ARBと $\beta$ 遮断薬は、心不全患者の左室リモデリングの進行を抑制しその予後を改善する。心不全の原因には、虚血性・IDCを含む数々の成因が含まれている。薬剤による左室リモデリング進行抑制作用は、原因疾患によって異なることが報告されているが、多くの報告では成因別に分類されずに検討されている。そこで本研究ではIDCという単一の疾患群でLVRRの意義について検討した。その結果IDC患者の33%にCLVRRが認められ、CLVRRの出現は良好な長期予後に関連を認めた。




さらに治療開始から1~6ヶ月までの心機能の変化は死亡/移植群で最も小さく、生存-CLVRRありの群で最も大きかった。また、生存-CLVRRなしの群でもわずかながらも有意な改善がみられた。特にLVd<sub>s</sub>の変化は将来の心臓死もしくは心移植の独立した決定要因であった。以上からCLVRRの出現は予後が良好であること、ACEI/ARBと $\beta$ 遮断薬での治療後1~6ヵ月目の比較的短期間でのLVRRの出現は長期予後を予測するということが示された。反対に、この期間にいかなる左室機能の改善もみられなかった患者では予後が悪いということを示しており、臨床的に治療開始後6ヶ月以内の左室径や収縮機能の変化を観察することが、予後予測や心臓再同期療法・姑息的手術・心移植などの治療方針の変更を検討するために有益であると考えられる。

本研究でのACEI/ARBや $\beta$ 遮断薬の目標用量は過去の欧米のランダム化試験よりも少なかったことについては、人種間の反応性の違いなどが原因と推測している。実際、日本人の心不全患者を対象としたMUCHA試験でも低容量のcarvedilolが有効との報告があり、日本の慢性心不全治療のガイドラインでも低用量のACEI/ARBや $\beta$ 遮断薬を推奨している。

最後に本試験ではいくつかのlimitationが存在する。(1)retrospectiveで対象患者の数が少なかった。

(2)NYHAなどの診断時の因子は予後予測に有用ではなかったが、個々の患者ではなく患者群に対する結果であるため臨床応用するときに注意が必要である。(3)本試験では全ての患者でびまん性の壁運動異常を示していたためLVFSを左室収縮能の指標として用いたが、部分的な壁運動異常がある場合はLVFSが収縮能の指標とはならない。(4) $\beta$ 遮断薬はcarvedilolもしくはmetoprololの2剤が使用されたが、これら $\beta$ 遮断薬の効果の違いは明白ではない。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名	永 井 英 里
審 査 委 員	主 査 氏 名	佐 藤 隆 幸 
	副 査 氏 名	瀬 尾 宏 美 
	副 査 氏 名	杉 浦 哲 朗 

題 目     Effect of left ventricular reverse remodeling on long-term prognosis after therapy with Angiotensin-converting enzyme inhibitors or Angiotensin II receptor blockers and  $\beta$  blockers in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy  
 (特発性拡張型心筋症患者のアンジオテンシン変換酵素阻害薬またはアンジオテンシンII受容体拮抗薬とベータ遮断薬による治療後の長期予後における左室逆リモデリングの影響)

著 者     Eri Hoshikawa, Yoshihisa Matsumura, Toru Kubo, Makoto Okawa, Naohito Yamasaki, Hiroaki Kitaoka, Takashi Furuno, Jun Takata, Yoshinori L. Doi

発表誌名、巻(号)、ページ(    ~    )、    年  月  
 American Journal of Cardiology, 2011年4月掲載予定

### 要 旨

特発性拡張型心筋症は原因不明の心筋疾患で、進行性に心筋細胞が消滅する予後不良の病態である。左室の進行性拡張と収縮性低下、すなわち左室リモデリングによる心不全および不整脈を合併すると多くは治療抵抗性であり、しばしば心移植の適応となる。申請者は、現在の標準的薬物療法に対する短期反応性から長期予後を推定することができれば、的確な時期に人工心臓の埋め込みや心移植を選択し適用できると考え、長期予後と関連する因子を後ろ向き調査により検討した。

1994年から2005年の間に高知大学医学部附属病院で特発性拡張型心筋症と診断され、経過を追跡することができた42例を対象とした。診断後は、アンジオテンシン変換酵素阻害薬、アンジオテンシン受容体拮抗薬、 $\beta$ 遮断薬による標準的薬物療法を行い、 $4.7 \pm 2.9$ 年の経過観察を行った。治療開始1～6ヶ月後に行わ

れたMモード心臓超音波検査によって得られた各指標から、観察期間内に死亡または心移植を受けるにいたった9例の特徴を多変量解析によって抽出した。その結果、短期治療後に左室収縮末期径の縮小が見られなければ、死亡または心移植という転帰をたどる可能性が高いことがあきらかになった。その他の指標としては左室拡張末期径が55mm以下であること、および左室径短縮率が25%以上であることが良好な予後因子であることがあきらかになった。すなわち、これらの条件を満たした14例はすべて生存例であった。一方これらの条件を満たしていない28例中9例が死亡または心移植となっていた。

以上の結果から、申請者は、特発性拡張型心筋症においては、標準的薬物療法の効果を6ヶ月以内に心臓超音波検査で評価し、進行性の左室リモデリングの反転、すなわち逆リモデリングが認められるか否かを判断することが長期予後推定に重要であると結論づけた。

審査員一同は、本研究が、特発性拡張型心筋症の長期予後を推定し治療法の選択を行う上で有用な非侵襲的指標を見出していることを高く評価し、申請者の論文を、高知大学博士（医学）の学位を授与するに値すると判断した。

氏名(本籍)	中山 修一(高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第131号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成23年3月31日
学位論文題目	Corticotropin-releasing hormone (CRH) transgenic mice display hyperphagia with increased Agouti-related protein mRNA in the hypothalamic arcuate nucleus (Corticotropin-releasing hormone 過剰発現マウス(クッシング症候群モデル)は過食および視床下部弓状核における Agouti-related protein mRNA の増加を示す)
発表誌名	Endocrine Journal, 58(40), 2011年4月掲載予定

<b>審査委員</b>	主査	教授	高尾	俊弘
	副査	教授	椛	秀人
	副査	教授	深谷	孝夫

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学位論文要旨

氏名 中山 修一

## 論文題目

Corticotropin-releasing hormone (CRH) transgenic mice display hyperphagia with increased Agouti-related protein mRNA in the hypothalamic arcuate nucleus  
(Corticotropin-releasing hormone 過剰発現マウス (クッシング症候群モデル) は過食および視床下部弓状核における Agouti-related protein mRNA の増加を示す)

(論文要旨)

【目的】 視床下部-下垂体-副腎系の最終産物である糖質コルチコイドが過剰になると肥満や過食を伴うクッシング症候群を呈するが、その機序の詳細は不明である。今回我々は糖質コルチコイド過剰に伴う過食の分子機序を明らかにするために、クッシング症候群モデルである Corticotropin-releasing hormone 過剰発現マウス (CRH-Tg) を用いて視床下部における摂食関連遺伝子発現を解析した。

【方法】 6週および14週齢の雄性 CRH-Tg および野生型マウス (WT) を用いて摂食量、体重、脂肪重量、血中ホルモン (コルチコステロン、インスリンなど) を測定、さらに *in situ* hybridization 法により視床下部弓状核における neuropeptide Y (NPY)、proopiomelanocortin (POMC)、Agouti-related protein (AgRP) mRNA 発現量について比較検討した。

【結果】 CRH-Tg では血中コルチコステロンの著明な上昇および摂食量の増加 (14週齢 摂食量: WT  $3.9 \pm 0.1$ , CRH-Tg  $5.1 \pm 0.7$  g/day,  $p < 0.05$ ) が認められ、週齢数が進むと明らかな脂肪重量の増加が観察された。視床下部弓状核における摂食関連遺伝子発現では、CRH-Tg において AgRP mRNA の有意な増加が認められた (14週齢 AgRP mRNA: WT  $365.6 \pm 88.6$ , CRH-Tg  $660.1 \pm 87.2$  dpm/mg,  $p < 0.05$ )。また CRH-Tg では予想に反して NPY mRNA の減少が認められ、POMC mRNA には変化が見られなかった。

【結論】 クッシング症候群モデルマウスでは過食および摂食促進分子である視床下部 AgRP mRNA の増加が認められたことより、糖質コルチコイド過剰に伴う肥満・過食の分子機序として、視床下部 AgRP 増加が関与すると考えられた。



## 論文審査の結果の要旨

	氏 名	中山 修 一
審 査 委 員	主 査 氏 名	高 尾 俊 弘      印
	副 査 氏 名	梶      秀 人      印
	副 査 氏 名	深 谷 孝 夫      印

題 目      Corticotropin-releasing hormone (CRH) transgenic mice display hyperphagia with increased Agouti-related protein mRNA in the hypothalamic arcuate nucleus  
 (Corticotropin-releasing hormone 過剰発現マウス (クッシング症候群モデル) は過食および視床下部弓状核における Agouti-related protein mRNA の増加を示す)

著 者      Shuichi Nakayama, Mitsuru Nishiyama, Yasumasa Iwasaki, Masayuki Shinahara, Yasushi Okada, Masayuki Tsuda, Mizuho Okazaki, Makoto Tsugita, Takafumi Taguchi, Shinya Makino, Mary P Stenzel-poore, Kozo Hashimoto, Yoshio Terada

発表誌名、巻 (号)、ページ (    ~    ),      年 月  
 Endocrine Journal, 58(40), 2011年4月掲載予定

### 要 旨

【背景・目的】肥満は高血圧、耐糖能異常、脂質異常症、冠動脈疾患の発症に強く関わっている。肥満の改善には生活習慣の修正が必要であるが、安全で効果的な食欲抑制薬が開発できれば、治療の一助となることが期待される。

視床下部-下垂体-副腎皮質系の最終産物である糖質コルチコイドが過剰になるクッシング症候群や、プレドニゾロンやデキサメサゾンなどの薬剤投与による糖質コルチコイド過剰状態では、メタボリックシンドロームと同様に、中心性肥満や高血圧、糖尿病、脂質異常症、脂肪肝などを引き起こすことが知られている。糖質コルチコイド過剰により過食になるとの報告としては、糖質コルチコイドを脳室内投与した場合に視床下部 neuropeptide Y (NPY) mRNA が増加するものや、ob/ob マウスに副腎摘除術を行うと視床下部 Agouti-related protein (AgRP) mRNA が低下し、proopiomelanocortin (POMC) mRNA が増加するものなどがある。すなわち、糖質コルチコイドによる過食には中枢神経ペプチドが関与する可能性があることが示唆されている。

今回申請者らは、糖質コルチコイド過剰に伴う過食の分子機序を明らかにするために、クッシング症候群モデルである Corticotropin-releasing hormone 過剰発現マウス (CRH-Tg) を用いて視床下部における摂食関連遺伝子発現を解析した。

【方法】CRH-Tg は MT-1 遺伝子プロモーターに CRH 遺伝子を組み込んだものを DNA コンストラクトとして作出されたトランスジェニックマウスであり、視床下部 CRH 過剰発現により血中 ACTH・コルチゾールが高値となり、肥満・皮膚菲薄化などのクッシング徴候を呈する。6 週および 14 週齢の雄性 CRH-Tg および野生型マウス(WT)を用いて摂食量、体重、脂肪重量を測定した。また血中コルチコステロンおよびインスリンを RIA または ELISA 法を用いて測定した。

さらに *in situ* hybridization 法により視床下部弓状核における摂食関連分子である NPY、POMC、AgRP mRNA 発現量について比較検討した。*In situ* hybridization 法は-80°Cにて凍結したマウス脳から 20  $\mu$ m の薄切切片を作成し、視床下部弓状核部位をゼラチンコートされたスライドガラスに解凍貼付し、<sup>35</sup>S にてラベルした各食欲関連分子に対するオリゴヌクレオチドプローブをハイブリダイズさせ、その放射線活性を半定量した。

【結果】CRH-Tg では WT に比し血中コルチコステロンの著明な上昇、高血糖、高インスリン血症を認めた。また、糖質コルチコイド過剰状態を反映して、胸腺重量の低下を認めた。

摂食量および脂肪重量に関しては、CRH-Tg において摂食量の増加が認められ、週齢数が進むと明らかな脂肪重量の増加が観察された。

視床下部弓状核における摂食関連遺伝子発現の検討では、いずれの週齢においても CRH-Tg では AgRP mRNA 発現の有意な増加が認められた。また CRH-Tg では NPY mRNA 発現の減少が認められ、POMC mRNA 発現には変化が見られなかった。

以上よりクッシング症候群モデルである CRH-Tg では過食とともに視床下部 AgRP 発現が増加していることが初めて明らかにされた。AgRP は食欲促進分子であることから、糖質コルチコイド過剰状態では視床下部 AgRP が増加することにより、過食が惹起される可能性が示された。同時に検討した食欲促進分子である NPY mRNA 発現は減少、食欲抑制分子である POMC mRNA 発現は不変であったことより、今回の CRH-Tg における過食形成に視床下部 NPY や POMC の関与は比較的少ないことが示唆された。

本論文は、糖質コルチコイド過剰状態における過食が AgRP 発現の増加によって引き起こされた可能性を示したものといえ、本研究の発展により肥満、メタボリックシンドロームの治療薬開発に繋がる可能性がある。よって、本論文は、高知大学博士 (医学) に値すると判断した。

氏名(本籍)	泉 仁(高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第132号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成23年3月31日
学位論文題目	Prevention of venous stasis in the lower limb by transcutaneous electrical nerve stimulation (経皮的末梢神経電気刺激法を用いた下肢静脈鬱滞の予防)
発表誌名	European Journal of Vascular and Endovascular Surgery, 39: 642-645, 2010年1月

<b>審査委員</b>	主査	教授	佐藤隆幸
	副査	教授	杉浦哲朗
	副査	教授	花崎和弘

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学位論文要旨

氏名 泉 仁

論文題目

Prevention of venous stasis in the lower limb by  
transcutaneous electrical nerve stimulation  
(経皮的末梢神経電気刺激法を用いた下肢静脈鬱滞の予防)

(論文要旨)




【目的】 静脈血栓塞栓症の発生リスクが高い整形外科下肢手術において、手術肢に対する術中予防法は未だ確立されていない。我々は新たな予防法として経皮的末梢神経電気刺激法 (Thromboprophylactic Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation: TpTENS) を考案した。本研究の目的は TpTENS の静脈鬱滞予防効果を従来法との比較により検証することである。

【方法】 健常成人 10 名に対し、腹臥位で膝窩静脈の最大流速 peak velocity : PV (cm/s) および流量 flow volume : FV (ml/min) を、超音波 (Duplex 法) を用いて計測した。TpTENS は総腓骨神経に強度 100v、頻度 10Hz、持続時間 0.5ms の矩形波刺激を行った。従来法として、筋電気刺激法 (前脛骨筋神経筋接合部刺激)、間欠的空気圧迫法 (カーフポンプ 40mmHg)、足関節自動背屈運動、下腿マッサージ (30kg 重) を施行した。各々を 1 回 5 秒間、3 回ずつ施行して PV、FV を計測した。TpTENS と筋電気刺激法に関しては、施行中の痛みおよび不快度を 100mm visual analogue scale (VAS) を用いて評価した。

【結果】 PV (中央値[四分位範囲]) は、①安静時、②TpTENS、③筋電気刺激法、④間欠的空気圧迫法、⑤足関節自動背屈運動、⑥下腿マッサージの順に、①26 [19-38]、②102 [49-148]、③97 [36-123]、④65 [54-109]、⑤75 [40-152]、⑥90 [69-117] cm/s であり、FV は、①69 [41-118]、②185 [105-355]、③145 [78-258]、④164 [100-284]、⑤172 [41-323]、⑥154 [102-304] ml/min であった。TpTENS は PV、FV を安静時に比べ有意に増加させた ( $p < 0.01$ )。従来法との比較においては、PV に関して間欠的空気圧迫法よりも有意に高値であった ( $p < 0.05$ )。PV、FV ともに中央値では TpTENS が最も優れた効果を示した。痛み VAS (中央値[四分位範囲]) は TpTENS が 21 [0-64]、筋電気刺激法が 41 [3-64]、不快度 VAS は 26 [0-65]、54 [0-63] であり、いずれも TpTENS が低値であった ( $p = 0.02$ )。

【考察】 TpTENS は、臨床的に有効性が確認されている従来法と比べ、同等以上の静脈鬱滞予防効果を有していた。これは末梢神経支配筋全体の効率的な収縮によるものと考えられる。筋電気刺激法との比較では、施行中の痛みや不快感が約 50% であること、至適刺激点を見つけやすいこと、間欠的空気圧迫法との比較では、術野の妨げにならないこと、電極の滅菌が容易であることも利点である。本研究により、TpTENS は術中予防法として臨床応用し得る簡便で有用な方法であることが示された。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名	泉 仁
審 査 委 員	主 査 氏 名 佐 藤 隆 幸	
	副 査 氏 名 杉 浦 哲 朗	
	副 査 氏 名 花 崎 和 弘	

題 目    Prevention of venous stasis in the lower limb by transcutaneous electrical nerve stimulation  
           (経皮的末梢神経電気刺激法を用いた下肢静脈鬱滞の予防)

著 者    M Izumi, M Ikeuchi, T Mitani, S Taniguchi, T Tani

発表誌名、巻(号)、ページ( ~ ), 年 月  
           European Journal of Vascular and Endovascular Surgery, 39: 642-645,  
           2010年1月

### 要 旨

下肢の整形外科的手術に関連して生ずる術中・術後の静脈鬱滞は、深部静脈血栓症の原因となり、しばしば、致命的肺塞栓症をひきおこす。近年確立された深部静脈血栓症の標準的予防手段として、空気圧迫帯などを用いた下腿マッサージにより静脈鬱滞を改善させる方法が知られているが、空気圧迫帯の装着および圧迫を下肢手術中に実施することは煩雑で困難である。そこで、申請者は、末梢神経の経皮的電気刺激による間欠的下腿筋収縮が標準的予防法の代用になるか否かを作用機序の観点から検証した。

健常成人10名を対象に、超音波ドップラー法を用いて、膝窩静脈の最大流速および最大流量の変化を、空気圧迫帯法、用手的下腿圧迫法、足関節背屈法、前脛骨筋の神経筋接合部刺激法、総腓骨神経刺激法で比較した。その結果、総腓骨神経刺激法は、膝窩静脈の最大流速および最大流量を増加させる効果が最も高かった。また、総腓骨神経刺激法は、電気刺激強度が低く、刺激にともなう痛みや不快度が容認可能なレベルであった。申請者は、これらの結果にもとづき、総腓骨神経刺激法は、膝窩静脈の最大流速および最大流量を増加させ、静脈鬱滞を

予防することができる有用な方法であると結論付けた。

審査員一同は、本研究が、下肢手術症例にも適応可能な有用な静脈鬱滞予防法および予防装置の開発につながるものであることを高く評価し、申請者の論文を、高知大学博士（医学）の学位を授与するに値すると判断した。

氏名(国籍)	渡部 輝明(東京都)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第14号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成23年1月18日
学位論文題目	Structural Considerations in the Fitness Landscape of a Virus (タンパク質立体構造に基づくウイルス適応度地形の解析)
発表誌名	Molecular Biology and Evolution, 27(8): 1782-1791, 2010年8月

審査委員	主査	教授	宇高	恵子
	副査	教授	岩堀	淳一郎
	副査	教授	吾妻	健

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学位論文要旨

氏名 渡部 輝明

論文題目

Structural Considerations in the Fitness Landscape of a Virus  
(タンパク質立体構造に基づくウイルス適応度地形の解析)

(論文要旨)

本論文ではゲノム上に生じた突然変異により変異したウイルス株が特定の宿主集団に定着する確率を、タンパク質立体構造データに基づいた統計科学と数理生物学及び集団遺伝学の手法を用いて評価した。これはウイルスゲノム上に生じた突然変異と、ウイルス集団の適応進化（異なるウイルス株への分岐）との間の因果関係を調べることを意味する。具体的には宿主内で生じたウイルスの複製能力の向上がウイルスの宿主間での感染能力の向上に如何に影響し、変異ウイルス株が宿主集団に定着し得るのかを調べた。まずはその解析方法を開発し、それを重傷急性呼吸器症候群の病原体であるコロナウイルスに適用した。



ウイルスの宿主適応は宿主内での複製能力と宿主間での感染能力によってその度合いを測ることが出来る。ウイルスゲノム上に生じた突然変異が、その領域にコードされているタンパク質の機能において多面的な効果を持つことにより、宿主内での複製能力に対して拮抗する効果（抗体回避と受容体結合の能力向上・低下）をもたらす。宿主集団がワクチン接種を受けている場合、受動免疫の抗体が標的とするウイルスタンパク質表面上の抗体結合領域で生じる変異がウイルスの免疫回避を可能にする。しかし、抗体結合領域での変異による抗体のウイルス捕捉能力の低下は、しばしばウイルスが細胞受容体に結合する能力の低下をも伴っている。それは多くの場合、ウイルスタンパク質表面上の抗体結合領域が細胞受容体に結合するための領域と重なっているためである。そのことはウイルスタンパク質の許容される変異には自ずと制限がかかってくることを意味する。

このウイルスに生じた変異が選択される機構を定量的に表現するために、宿主内で互いに作用し合う3つの集団（ウイルス、抗体、宿主細胞）の個体群動態を記述する数理モデルを開発した。開発した数理モデルはこれら3つの個体群の量的変化率を記述しており、2つの結合親和性（ウイルス-受動免疫抗体間、及びウイルス-細胞受容体間の結合）は係数として内包されている。先行研究（参考論文1、2）で開発した知識基盤指標を用いることで、ウイルスの変異過程における結合親和性の変化を解析することが出来る。これはタンパク質表面上の結合領域で生じた変異が結合親和性に及ぼす影響を変異ウイルス株毎に見積もることで実現でき、数値計算コストが比較的安価である知識基盤指標を用いることの利点である。数理モデルから得られるウイルス量を変異ウイルス株と野生株とで比較することで変異ウイルス株の選択的優位性（適応度の比）を測り、集団遺伝学の拡散理論を用いることで変異ウイルス株が宿主集団に定着する確率を評価することが出来る。



細胞受容体結合領域と完全に重なる結合領域を持つ抗体（80R）と、およそ半分程度に重なる結合領域を持つ抗体（m396）の2種類を用いて、コロナウイルスの適応進化をシミュレートした。抗体80Rを用いた場合、変異ウイルス株のうちで結合領域の中央に位置する残基で変異を起こしたものがワクチン接種を受けた宿主集団に高い確率（0.9以上）で定着しうることが判明した。また抗体m396を用いた場合には、重なった結合領域の中央に位置する残基での変異が高い定着確率を示した。本論文における解析に各残基毎の突然変異率を組み込むことで、宿主集団に定着する変異ウイルス株の出現確率を評価することが出来る。この解析を実現するために必要な残基毎の突然変異率は、ウイルスゲノムの平均的な突然変異率に加えてタンパク質立体構造の安定性などを考慮する必要がある。そのため将来の課題として残しているが、この高い確率で定着し得る変異ウイルス株の出現は、宿主集団に接種したワクチンの有効期間の長さを決定づける重要な因子であり、ワクチン開発などに有用な知見を与えるものと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名		渡 部 輝 明
審 査 委 員	主 査 氏 名	宇 高 恵 子	
	副 査 氏 名	岩 堀 淳 一 郎	
	副 査 氏 名	吾 妻 健	印

題 目     Structural Considerations in the Fitness Landscape of a Virus  
           (タンパク質立体構造に基づくウイルス適応度地形の解析)

著 者     Teruaki Watabe, Hirohisa Kishino

発表誌名、巻(号)、ページ( ~ ), 年 月  
           Molecular Biology and Evolution, 27(8): 1782-1791, 2010年8月

### 要 旨

渡部輝明さんの学位審査は、2010年12月20日16:30より、1時間余りにわたって行いました。まず、論文内容について、公開審査を行いました。論文は、Mol Biol Evolに掲載されたものです。申請者は理学博士取得後、研究者として経歴を積んでおり、今回2つ目の学位の申請であるため、研究の内容も発表もレベルが高いものでありました。

### [背景と方法]

渡部らは先に、既存の蛋白質立体構造データベースにみられるアミノ酸配列間の位置情報から、任意のアミノ酸配列が取る構造を Bayesian network を用いて予測する、Simonsらが開発した方法を応用して、抗原-抗体複合体の界面に起きるアミノ酸変異が結合親和性に与える影響を予測する方法を報告していた。これまでに、インフルエンザウイルスのヘマグルチニン(HA)やヒト免疫不全ウイルス(HIV)の gp120 について、ウイルスが宿主への感染能を保ちながら、それらに対する抗体の結合を逃れる変異を獲得して進化する過程について計算機科学的解析をしてきた。

今回は、その予想法を活用して、SARS ウイルスの spike protein(S 蛋白)が、宿主細胞上のレセプター分子である ACE2 に結合する際に重要なアミノ酸と、この部分に対する感染中和抗

体である80Rについて、それぞれのS蛋白との複合体構造をもとにして、S蛋白にいくつかのアミノ酸置換を行なった場合のACE2への結合親和性の変化および80R抗体の結合親和性の変化について予想をし、ウイルスの感染能の低下による不利益と、抗体による免疫応答を回避する有利性をバランスにかけた、ウイルスの適応度の変化を推定することを試みた。

#### [結果と考察]

まず、ウイルスの複製効率と、感染細胞の寿命を仮定して、ウイルス感染の拡大プロセスのシミュレーションを行なった。次に、感染効率に変化のある変異ウイルスが出現した場合に、野生型ウイルスの集団と変異型の割合が、感染宿主の体内でどのように置き換わるかを推定した。すると、変異型の複製効率が2倍になっただけで、2日後には体内の大半のウイルスが変異型に置き換わる事が推定された。次いで、受身抗体移入を受けた感染宿主の集団内に変異ウイルスが拡がる様子について、シミュレートを行った。

SARS ウイルス S 蛋白の ACE2 への結合部位は、中和抗体80R あるいはm396の結合部位と大きく重複するため、まず、これらの重複する結合部位を中心に、任意に1000種類の1アミノ酸置換を行なった場合の結合親和性の変化を予測し、それら変異ウイルスが宿主体内に定着する適応度を、ウイルス粒子の体内での半寿命を2時間、感染細胞の半寿命を2日と仮定してシミュレートし、置換によって影響される結合親和性の連続的変化に対する2次元の適応度地形を描いた。これらの変異の中には、ウイルスの宿主への適応度が9割に達するものがあり、実際にこれらの部位にアミノ酸置換が起こった場合には、たった1個のアミノ酸の置換であるにもかかわらず、宿主に高度に適応し、養子免疫療法として、80R あるいは m396抗体を移入して受動免疫を授けたとしても、わずか2日間で治療抵抗性となる可能性があることが示唆された。

これら結合親和性に大きな影響を与えるアミノ酸置換の位置と種類を検討したところ、特に結合面の中心部に位置するアミノ酸の非保守的置換がもっとも効率よく結合親和性を低下させる可能性が高いことが予想された。

次に、S蛋白とACE2との会合面、およびS蛋白と80Rまたはm396抗体との会合面にランダムにアミノ酸置換を入れた場合のウイルスの宿主体内への定着効率を計算し、定着効率が9割を超えるようなアミノ酸置換の位置や置換するアミノ酸の種類を推定し、表にした。SARS 感染時の抗体製剤による養子免疫治療を想定した場合、将来、これらの置換が起こった場合にも、その置換体に対する中和活性をもつ、別の特異性を持つ抗体製剤と組み合わせるなどの工夫ができれば、ウイルスの変異に対してあらかじめ対策を打てる可能性が示唆された。

最後に、高い定着率が予想されたS蛋白のI489G置換体について、このアミノ酸と直接会合を営むACE2、あるいは80R およびm396抗体上のアミノ酸残基について、置換が、どの程度、疎水性相互作用の強さに影響を与えるかをより詳細に計算で予測した。

SARS ウイルスのように、通常は人集団には存在しないが、ある契機に感染が始まると急速に死に至る症状の進行をみるウイルス感染症の場合には、人集団全体をあらかじめ免疫しておく予防免疫は、必ずしも現実的な対策ではなく、むしろ、必要な感染患者に受動免疫を授ける

抗体製剤を備蓄しておくほうが現実的であるかもしれない。その時に備えて、ウイルスによる免疫回避が起きにくい抗体製剤の組み合わせをあらかじめ準備できれば理想的である。もし、ウイルスに可能な多様なアミノ酸置換の中で、特に警戒すべき置換体が計算で予想できれば、実験的にウイルスの系統置換体を作って研究したり、経験的に感染患者の抗体を調べて、有効な標的エピトープを同定したりすることに要する膨大な時間と労力を大幅に節約することができるため、ワクチン開発にはきわめて大きな助けとなる。今後、この計算予測と現実の結合活性との対応の程度が、置換体ウイルスのいくつかについて実験で検証されれば、ワクチン開発に大きく貢献することが期待できる。

公開審査の聴衆や審査員からは、いくつかの質問や議論がありました。まず、この研究でなされた予測は、その前提となる結合親和性の予測法の予想能に依存するため、渡部らが作出した予想方法の予想能力とその限界について質問がありました。数理モデルの robustness は検証されていないがよいか、また、不連続確率変数を連続量として扱ってよいか、という質問がありました。さらに、ウイルスや感染細胞の半寿命の初期設定値が変わった場合にも予測の信頼性は保てるか、という質問がありました。この点については、初期値が変わっても適応地形上で左右の移動になるのみで、予測が大きく影響されることはない、と説明がなされました。続いて、計算による予想値と実測の結合活性の対応について検証の必要性が指摘されました。これらについて申請者は、自身らが、この予想法を案出した時の論文を引いて、インフルエンザウイルスのHAの変異体に対する抗体の反応性について予想値と実測値の対応を調べたグラフを示し、予測がある程度信頼を置けるものであることを説明しました。

さらに、今回の研究で、ウイルスの適応度が極めて高いことが予想されたS蛋白のアミノ酸置換に、具体的にどのような実例が見られるかについて質問がありました。これについて申請者は、適応度地形でウイルスの適応度が高まる方向への変化をみせるアミノ酸置換には、どの位置が変わるか、ということの方が、変異後のアミノ酸の種類より大きな影響がある傾向がみられると説明を加え、立体構造との関連について考察をのべました。また、ウイルスの固定確率が1になってしまうようなことはないのかという質問に対し、申請者は、9割を超えるような場合であっても、1には達しない理由について説明をしました。また、審査員からは、ウイルスの変異によって感染効率が変化するのみではなく、感染効率以外にも病原性を高める理由は考えられるので、感染効率のみに注目することには危険であるという助言もありました。さらに、感染効率に影響を与えるACE2側に個人差はないのか、質問がありました。

これらの研究内容は、学術的に熟慮された基盤に基づき、またオリジナルな視点からのアプローチであり、社会的にも要求度の高い新興感染症に対するワクチン開発に貢献が期待されることから、審査員一同、高知大学博士(医学)の学位に値する研究内容のものであると判断いたしました。

氏名(国籍)	緒方 宏美(熊本県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第15号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成23年3月4日
学位論文題目	Validation Study of the Japanese Version of the Fecal Incontinence Quality of Life Scale (日本語版Fecal Incontinence Quality of Life Scaleの妥当性の検討)
発表誌名	Colorectal Disease, 2010年12月掲載予定

<b>審査委員</b>	主査	教授	小林	道也
	副査	教授	脇口	宏
	副査	教授	安田	誠史

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学位論文要旨

氏名 緒方宏美

論文題目 Validation Study of the Japanese Version of the Fecal Incontinence Quality of Life Scale  
(日本語版 Fecal Incontinence Quality of Life Scale の妥当性の検討)

(論文要旨)

【背景】便失禁は生命には関わらないが生活の質（以下 QOL）を大きく損なうため、その診療に際しては症状と QOL を的確に評価することが重要である。国際的には、症状は Wexner スコアや fecal incontinence severity index（以下 FISI）で、QOL は Fecal Incontinence Quality of Life Scale（以下 FIQL）で評価するのが一般的である。FIQL は 29 個の質問が生活の質・日常行動・憂鬱感・羞恥心の 4 群に分類され、元々作成された英語のみならず、フランス語、ポルトガル語、イタリア語、スペイン語、トルコ語で妥当性が証明されているが、日本語では証明されていなかった。本邦で使用するためには日本の言語・文化的背景に合わせて翻訳した日本語版 FIQL（Japanese version of FIQL、以下 JFIQL）を作成し、その妥当性を確認する必要がある。

【目的】JFIQL の妥当性を証明する。

【方法】対象は、2008 年 9 月～2009 年 8 月に便失禁を主訴として高知大学医学部附属病院骨盤機能センターを受診した症例である。初診時、無治療再診時、治療後の 3 時点において、自己記入式にて Wexner、FISI、JFIQL の各スコアを prospective に集積し、4 群及びこの 4 群を合計した「全項目」に関して JFIQL の妥当性を retrospective に検討した。

検討項目は、1) Convergent validity（収束妥当性）：JFIQL と Wexner score の日常生活制限との相関、2) Internal reliability（内的整合性としての信頼性）：Internal consistency としての Cronbach's  $\alpha$  値、3) Test-retest reliability（再現性としての信頼性）：初診時と無治療再診時の級内相関、4) Responsiveness（反応性）：治療後 FISI スコアが半分以下に改善した症例における JFIQL の改善度、の 4 項目とした。統計学的解析には SPSS software(version18:2009.07)を用いた。




【結果】検討項目 1) 対象症例は 70 例で、JFIQL スコアは 4 群及び全項目において Wexner score の日常生活制限と有意に相関した。2) 70 例における全体の Cronbach's  $\alpha$  値は 0.948 であった。3) 対象症例は 27 例で、間隔は  $29 \pm 14$  日であった。級内相関係数は、生活の質 (0.763)、日常行動 (0.737)、憂鬱感 (0.719)、羞恥心 (0.589)、全

項目 (0.77) であった。4) 対象となった 23 例では、JFIQL が 4 群及び全項目において有意に改善した。

【考察】 Wexner score における QOL に関する項目を対照として、収束妥当性が証明出来た。内的整合性で羞恥心群の評価が低かった事は、項目数が少ないことに加え、オリジナルの項目の中に症状そのものを問う質問が含まれていた事が原因であると考えられる。しかし残り 3 群および全項目においては、内的整合性が証明出来た。再現性に関しては、実臨床における調査であったため他言語版での研究より間隔が長かったが、その分、記憶に頼らない回答を得られた。この結果も羞恥心群の評価が低く、その原因としては項目数が少ないことに加え、実臨床に即したため初診時に患者さんと接した事がカウンセリング効果をきたした可能性が考えられた。しかし残り 3 群と全項目では、再現性も証明された。反応性については、他言語による研究を含めて本研究で初めて検討したが、臨床症状の改善に伴う QOL の改善を JFIQL が捕捉することができると証明出来た。

本研究の成果により、今後、本邦での便失禁に関する研究において、便失禁特異的な QOL の評価に信頼性を持って JFIQL を使用することが出来るようになった。更に、言語の異なる研究間での国際比較や国際的な多施設共同研究も可能となるため、便失禁に関する国際的な研究にも大いに役立つと考える。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名	緒 方 宏 美
審 査 委 員	主 査 氏 名	小 林 道 也 
	副 査 氏 名	脇 口 宏 
	副 査 氏 名	安 田 誠 史 

題 目     Validation Study of the Japanese Version of the Fecal Incontinence  
Quality of Life Scale  
(Fecal Incontinence Quality of Life Scale の妥当性の検討)

著 者     Hiromi Ogata, Toshiki Mimura, Kazuhiro Hanazaki

発表誌名、巻 (号)、ページ (    ~    )、     年     月  
Colorectal Disease, online: 2 FEB 2011

【背景】便失禁は生命には関わらないが生活の質（以下 QOL）を大きく損なうため、その診療に際しては症状と QOL を的確に評価することが重要である。国際的には、症状は Wexner スコアや Fecal Incontinence Severity Index (以下 FISI) で、QOL は Fecal Incontinence Quality of Life Scale (以下 FIQL) で評価するのが一般的である。FIQL は 29 個の質問が生活の質・日常行動・憂鬱感・羞恥心の 4 群に分類され、元々作成された英語のみならず、フランス語、ポルトガル語、イタリア語、スペイン語、トルコ語で妥当性が証明されているが、日本語では証明されていなかった。本邦で使用するためには日本の言語・文化的背景に合わせて翻訳した日本語版 FIQL (Japanese version of FIQL、以下 JFIQL) を作成し、その妥当性と信頼性を確認する必要がある。

【目的】JFIQL の妥当性と信頼性を証明する。

【方法】対象は、2008 年 9 月～2009 年 8 月に便失禁を主訴として高知大学医学部附属病院骨盤機能センターを受診した症例である。初診時、無治療再診時、治療後の 3 時点において、自己記入式にて Wexner、FISI、JFIQL の各スコアを prospective に集積し、4 群及びこの 4 群を合計した「全項目」に関して JFIQL の妥当性と信頼性を retrospective に検討した。

検討項目は、1) Convergent validity (収束妥当性)： JFIQL と Wexner score の日常生活制限との相関（便失禁の QOL を評価しているかどうかの検証）、2) Internal reliability (内的整合性としての信頼性)： Internal consistency としての Cronbach's  $\alpha$  値（どの質問も一貫して便失禁患者の QOL に関するものかどうかの検証）、3) Test-retest reliability (再現性としての信頼性)： 初診時と無治療再診時の級内相関、4) Responsiveness (反応性)： 治療後 FISI スコアが半分以下に改善した症例における JFIQL の改善度、の 4 項目とした。



統計学的解析には SPSS software(version18:2009.07)を用いた。

【結果】1) 対象症例は 70 例で、JFIQL スコアは 4 群及び全項目において Wexner score の日常生活制限と有意に相関した。2) 対象症例 70 例における全体の Cronbach's  $\alpha$  値は 0.948 であった。3) 無治療再診時の情報があつた対象症例は 27 例で、初診からの間隔は  $29 \pm 14$  日であった。級内相関係数は、生活の質(0.763)、日常行動(0.737)、憂鬱感(0.719)、羞恥心(0.589)、全項目(0.77)であった。4) 対象となつた 23 例では、JFIQL が 4 群及び全項目において有意に改善した。

【考察】Wexner score における QOL に関する項目を黄金律として、収束妥当性が証明出来た。内的整合性で羞恥心群の評価が低かつた事は、項目数が少ないことに加え、オリジナルの項目の中に症状そのものを問う質問が含まれていた事が原因であると考えられる。しかし残り 3 群および全項目においては、内的整合性が証明出来た。再現性に関しては、他言語に比し相関係数がやや低い傾向があつたが、実臨床における調査であつたため他言語版での研究より再評価までの間隔が長かつたことが原因と考えられる。しかし、その分、記憶に頼らない回答を得られた。この結果も羞恥心の評価が低く、その原因としては項目数が少ないことに加え、実臨床に即したため初診時に患者さんと接した事がカウンセリング効果をきたした可能性が考えられた。しかし残り 3 群と全項目では、再現性も証明された。反応性については、他言語による研究を含めて本研究で初めて検討したが、臨床症状の改善に伴う QOL の改善を JFIQL が捕捉することができると証明出来た。

本研究の成果により、今後、本邦での便失禁に関する研究において、便失禁特異的な QOL の評価に妥当性と信頼性を持って JFIQL を使用することが出来るようになった。更に、言語の異なる研究間での国際比較や国際的な多施設共同研究も可能となるため、便失禁に関する国際的な研究にも大いに役立つと考える。

申請者らは、評価の難しい便失禁の QOL に対して日本の言語・文化に即した日本語版 FIQL を作成した。統計学的手法を駆使してその妥当性と信頼性を科学的に証明し、便失禁の QOL に対する本邦における共通の評価基準を確立した。今後、この分野の研究に大きく貢献すると考えられ、学術的評価は高い。

よって、審査員一同は本論文を高知大学医学部博士(医学)に値すると評価した。