

学位（博士）授与の記録

う しん ぐん
于 新 軍

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第431号

学位授与の日付：平成23年6月29日

主 論 文：Activation of the anterior prefrontal cortex and serotonergic system is associated with improvements in mood and EEG changes induced by Zen meditation practice in novices
(初心者の坐禅瞑想により誘発される気分の改善と脳波変化は前部前頭前野とセロトニン神経系の活性化が関与する)

著 者：Yu X, Fumoto M, Nakatani Y, Sekiyama T, Kikuchi H, Seki Y, Sato-Suzuki I, Arita H

公 表 誌：Int J Psychophysiol 80: 103-111, 2011

論文内容の要旨

【背景と目的】腹筋収縮に意識を集中したゆっくりと深い呼吸を丹田呼吸法と言う。丹田呼吸法は坐禅瞑想の基本的な技法として知られている。この丹田呼吸法を継続して施行すると、脳波に α 波が出現し、心理状態に変化が発生することは多くの研究で確認されている。しかし、局所脳血流の変動については詳細な検討がない。本研究では非侵襲的近赤外光スペクトロスコピー（near-infrared spectroscopy：NIRS）を用いて前頭前野の局所血流変動を丹田呼吸法施行時に連続記録して詳細に検討した。また、坐禅瞑想の脳波変化と心理変化について、それを誘発する可能性がある神経システムとしてセロトニン神経に着目して検討を加えた。

【対象と方法】被験者は15名（男性14人、女性1人、平均年齢38歳）の健康成人で全員が坐禅未経験者であった。被験者に丹田呼吸法を教示するのは以下の方法による。腹筋筋電図を導出し、それを被験者の眼前においたモニター画面に映し出し、自分の腹筋収縮を確認させた。通常の呼吸では腹筋収縮は発生しないので、被験者は意識的に丹田呼吸法を実施するように視覚的なフィードバックが加えられた。

丹田呼吸法は20分間実施し、その最中に前頭前野の局所血流および脳波を連続記録した。また、呼吸法前後に採血して全血中のセロトニン濃度を測定、さらに、Profile of Mood State（POMS）心理テストも行い、気分変化も評価した。

本研究は東邦大学医学部倫理委員会の承認（18042番号）を得て実施した。

【結果】丹田呼吸法実施中に前頭前野の酸素化ヘモグロビン濃度（局所脳血流に対応する指標）が増加した。その増加の程度は背側前頭前野に比べて前部前頭前野において有意に大きかった。この局所性変化（増加）は体循環の変化によるものではなく、局所の酸素需要（活動増加）によるものと判断された。脳波については、丹田呼吸法実施5～20分間、および実施直後に α 波が有意な増加を示したが、 θ 波は逆に減少した（なお、 β 波には変化がなかった）。気分変化については、丹田呼吸法実施前後で比較すると、緊張—不安、抑うつ—落ち込み、怒り—敵意、混乱というネガティブな気分尺度が有意に改善された。全血中セロトニン濃度は丹田呼吸法後に有意に増加を示した。

【考察】前部前頭前野の血流増加については禅僧で集中型瞑想を実施する時に増加という報告がある。また、「集中」に関連した種々の課題でも増加が知られている。したがって、坐禅未経験者で「丹田に意識を集中する」という今回の課題でも同じ部位が活性化されたことは、理にかなっていると考えられた。なお、前部前頭前野は情動の課題により活性化される（Amodio & Frith, 2006）ことも知られているので、それが今回のネガティブな気分の改善に寄与していると考えられた。

脳波に α 波が出現したことは以下の理由でセロトニン神経の活性化によるものと推測された。(1) Jones et al. (1998) は前脳基底部にセロトニンを注入すると広範な脳に投射するコリン作動性神経が抑制され、大脳皮質の活動が不活性化され、脳波が徐波化すると報告している。(2) また、ヒトで5HT_{1A}アゴニストを投与してセロトニン神経を抑制すると、脳波が逆に速波化するという報告がある。(3) 呼吸・歩行などのリズム運動はセロトニン神経を活性化する性質が動物実験で明らかにされている。(4) 全血中セロトニン濃度の増加が脳内セロトニン濃度の増加を反映するという報告が2008年に

提出されている。以上の諸知見より、丹田呼吸法におけるセロトニン神経の活性化が、今回の脳波変化を誘発したと考えて矛盾しない。

ほん だ なつえ
本 田 なつ絵

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第432号

学位授与の日付：平成23年7月20日

主 論 文：Roles of *Pseudomonas aeruginosa* autoinducers and their degradation products, tetramic acids, in bacterial survival and behavior in ecological niches
(緑膿菌の自己誘導物質と分解産物であるテトラミン酸が生態系で細菌の生存と行動に与える役割)

著 者：Hosono Honda N, Kimura S, Tateda K, Horikawa M, Ueda C, Ishii Y, Ishiguro M, Miyairi S, Yamaguchi K

公 表 誌：Microbes Environ 26: 160-164, 2011

論文内容の要旨

緑膿菌は敗血症、肺炎、尿路感染や術後感染症などの院内感染の原因菌であり、バイオフィーム形成により白血球からの食食や抗菌薬による殺菌に対して抵抗性を示し、多くの病原因子を産生する。これらの病原因子は、自己誘導物質を介した細胞同士の情報伝達機構であるクオラムセンシング（quorum sensing：QS）機構によって制御されている。最近になり、緑膿菌の自己誘導物質の分解産物がグラム陽性菌に対して抗菌活性をもつことが示された。そこでわれわれは、グラム陰性菌、特に緑膿菌に対するテトラミン酸の影響を調べ、この物質の生態系における役割について検討を行った。

Anti *Pseudomonas aeruginosa* activity of TA1

各種濃度（30 μM 、100 μM 、300 μM ）の緑膿菌 QS 機構の主要な自己誘導分子である C₄-HSL、3-oxo-C₁₂-AHL と TA1 を含む生理食塩水中で緑膿菌を6時間接触させた。C₄-HSL、3-oxo-C₁₂-AHL は300 μM においても緑膿菌に対する殺菌効果は認められなかったが、TA1 は濃度依存的な殺菌効果が認められた。

Structure-activity relationship correlations

TA の構造活性相関性をみるため、TA の誘導体を化学的に合成して使用したところ、いくつかの TA は300 μM で著明に緑膿菌の菌量を減少させた。一方、TA2 には同様の抗菌活性は認められなかった。この結果から抗菌作用には TA のケト-エノール基が重要であることが示唆された。また、これらの最小発育阻止濃度（minimum bacterial concentration：MBC）について検討したところ、TA1、TA6 が最も強い活性をもち、次に TA3 と TA7、TA4 と TA5 の順となった。この結果から、TA の側鎖の長さは緑膿菌に対する抗菌作用には関与しないことが示された。

Effects of ratio of bacteria to TA1 on antibacterial activity

濃度の異なる菌液（約 10⁶~10⁹ cfu/ml）に対し、0、30、100、300 μM の TA1 を添加して緑膿菌を培養し、生存している細菌数を測定した。10⁹ cfu/ml の菌液では TA1 は300 μM の濃度においても抗菌活性は認められなかったが、菌濃度を低下させると TA1 に対する感受性が高くなることがわかった。この結果から、TA1 濃度と細菌量比が緑膿菌に対する抗菌作用に重要であることが示唆された。

Effects of excessive amounts of cations on TA-induced antibacterial activity

100 μM の TA1 含有培地に各種濃度の3価の鉄イオン、マグネシウムイオン、カルシウムイオンを添加し、緑膿菌の培養に及ぼす影響を評価した。10 μM の鉄イオンは細菌の生存に影響を与えず、100 μM の鉄イオンはほぼ完全に TA の抗菌効果を抑制したが、マグネシウムイオン、カルシウムイオンは300 μM においては同様の傾向は認められなかった。これらの結果より、TA による抗菌効果は3価の鉄のキレート効果に関係があることが示唆された。

Effects of TA1 on the viability of several clinical isolates of *P. aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*

臨床から分離された緑膿菌、大腸菌、肺炎桿菌のそれぞれ5株に対し、TA1 の抗菌活性について評価した。大腸菌や肺

炎桿菌では菌数の減少効果は認められるものの、緑膿菌の場合と比較してより高濃度の TA1 を必要とすることがわかった。

Effects of simultaneous presence of disinfectants on TA1-associated antibacterial activity

塩化ベンザルコニウムとグルコン酸クロルヘキシジンを含む生理食塩水中に 10 μ M の TA1 を添加し、緑膿菌の生存率を測定した。興味深いことに、これらの殺菌剤の MBC は TA1 の存在下で顕著に低下することがわかった。これらの結果より、TA1 の緑膿菌に対する抗菌作用において殺菌剤との相乗効果を持つことが示唆された。

緑膿菌の QS 分子である 3-oxo-C₁₂-AHL の分解産物である TA は、*Bacillus cereus* や *Staphylococcus aureus* などのグラム陽性菌に対して抗菌活性を持つことが報告されているが、本研究により、100 μ M の TA が緑膿菌や大腸菌、肺炎桿菌などのグラム陰性菌に対しても抗菌活性を示すことがわかった。この作用は非常に迅速で、濃度依存的、時間依存的な反応であった。本研究で検討した 100 μ M という濃度の TA は、緑膿菌のバイオフィーム中にも存在することが報告されており、このことから TA が生物学的な意味を持つことが示唆される。TA はプロトン-イオノフォアとして作用し、細胞膜の pH を変化させることにより細胞融解をもたらすことが報告されており、本研究の構造活性相関の検討からも、同様の作用を持つものと考えられる。緑膿菌は院内感染の原因菌であるが、本研究により殺菌剤との相乗効果も認められており、これについては更なる検討が必要と考えられる。

はな おか まさ ち
花 岡 正 智

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第 433 号

学位授与の日付：平成 23 年 10 月 26 日

主 論 文：Decrease in high human chorionic gonadotropin in twin-twin transfusion syndrome following fetoscopic laser surgery
(双胎間輸血症候群 (TTTS) に対して胎児鏡下レーザー治療を施行すると高値を示した human chorionic gonadotropin (hCG) が減少する)

著 者：Hanaoka M, Hayashi S, Saito M, Morita M, Sago H

公 表 誌：Fetal Diagn Ther 30: 189-193, 2011

論文内容の要旨

【背景と目的】双胎間輸血症候群 (twin-twin transfusion syndrome: TTTS) は一絨毛膜双胎に起こる深刻な合併症であり、予後不良である。心不全などを呈する胎児疾患は、胎児水腫へと移行することがあり、human chorionic gonadotropin (hCG) の関与が知られている。今回われわれは、TTTS に対して胎児鏡下吻合血管レーザー凝固術 (fetoscopic laser surgery) を施行し、この前後で母体血中 hCG の動きを観察し、その変化を評価したため報告する。

【対象と方法】対象は 2005 年 3 月から 2009 年 10 月に国立成育医療研究センターにてレーザー治療を施行した TTTS 120 例とした。レーザー治療は Quintero stage I~IV の TTTS に対して、妊娠 16~26 週未満に施行した。術前、ならびにレーザー治療施行後 2, 4 週間後の時点でそれぞれ母体血中 hCG を定量した。胎児死亡があった症例は術後評価からのぞいた。また術後、羊水過多・過少を伴う TTTS の再発があった症例は別途に評価した。なお母体血中 hCG は、当院で妊娠分娩管理を行った単胎妊娠を基準とし、multiple of median (MoM) として標準化し、評価した。

【結果】レーザー治療施行後の TTTS 120 例の予後の内訳は、2 児生存例：97 例 (80.8%)、1 児死亡：21 例 (17.5%)、2 児死亡：2 例 (1.7%)、再発症例：3 例 (2.5%) であった。術前 hCG 値は 6.34 MoM (interquartile range: 3.52-9.86) であり、明らかな高値を呈した。また stage 別の評価では Quintero stage I または II の集団 [3.37 MoM (2.35-7.74)] に対して、Quintero stage III または IV の集団 [7.17 MoM (4.21-11.0)] は有意に高値を呈した。また術後評価は、胎児死亡例と再発例を除いた 94 例に対して行った。レーザー治療が効果的に施行されると、hCG 値は 2 週間後に半分以下の 2.85 MoM (1.78-4.68) となり、4 週間目にはさらに減少してほぼ正常範囲の 1.67 MoM (1.12-2.32) となる。しかし、再発症例の hCG

値は術後に減少しない，または上昇し，明らかに異なる経過となった。

【考察】 TTTS では hCG が異常に高値を呈し，レーザー治療後の臨床経過が良好な例は，不良な例に比して術後の hCG の低下が顕著であり，治療効果の評価に有用であることがわかった。

はぎ わら おさ ひこ
萩 原 令 彦

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第434号

学位授与の日付：平成23年11月30日

主 論 文：Iodine X-ray fluorescence computed tomography system utilizing a cadmium telluride detector in conjunction with a cerium-target tube
(テルル化カドミウム検出器とセリウムターゲット X 線管を利用したヨウ素蛍光 X 線 CT システム)

著 者：Hagiwara O, Watanabe M, Sato E, Matsukiyo H, Osawa A, Enomoto T, Nagao J, Sato S, Ogawa A, Onagawa J

公 表 誌：Nucl Instrum Methods Phys Res A 640: 170–175, 2011

論文内容の要旨

悪性腫瘍（癌）の分子イメージングには positron emission tomography (PET) や single photon emission computed tomography (SPECT) が利用されているが，これらの診断にはラジオアイソトープ (radio isotope : RI) が必要となる。本研究では癌に残留する希薄な造影剤やナノ粒子を蛍光 X 線分析 (X-ray fluorescence : XRF) するために，フォトンエネルギー弁別式の X 線 computed tomography (CT) システムを開発した。この CT システムを用いてファントムや癌部位を撮影した結果，ヨウ素蛍光 X 線 ($K\alpha$) のみを検出して断層像を再構築し癌部位を含むファントム内のヨウ素分布を観察することができ，数 mg/ml 程度のヨウ素造影剤を鮮明に描出できた。エネルギーを選択することによりヨウ素以外の分子の分布も観察できると予測される。ヨウ素の検出下限は 1 mg/ml 程度と予測されるが，ヨウ素励起に用いる X 線を単色化すればさらに下限を下げるのが可能で，蛍光 X 線 CT はエネルギー弁別 SPECT の基礎研究にも用いることができる。

< 蛍光 X 線 CT システムの原理 >

蛍光 X 線 CT システムは物質の主要構成分子の分布の検出に役立つ。それ故，われわれは cadmium telluride (CdTe) 検出器とセリウム X 線発生器を用いてエネルギー弁別蛍光 X 線 CT システムを開発した。物質の中のヨウ素分子にセリウム K 系列特性の X 線が吸収される時，ヨウ素の K 系列特性蛍光 X 線が分子から放出され CdTe 検出器に捉えられる。次に X 線イベントシグナルが電荷有感型と整形アンプを用いて作り出される。ヨウ素の $K\alpha$ 蛍光 X 線がマルチチャンネルアナライザーによって選別され，光子の数がカウンターカードによって数えられる。エネルギー弁別蛍光 X 線 CT においては X 線管の電圧は 70 kV，電流は 0.40 mA，X 線の強さは線源からの距離が 1.0 m，X 線管の電圧が 70 kV の時に 115.3 $\mu\text{Gy/s}$ であった。蛍光 X 線 CT の実証に際しては，28.0~30.0 keV のエネルギー幅の光子を選別して行った。

< 実験装置 >

CT システムはセリウム X 線発生器，ターンテーブル，スキャンングステージ，2 ステージコントローラー，電荷有感型と整形アンプを備えた CdTe 検出器，マルチチャンネルアナライザー，カウンターカード，パーソナルコンピュータによって形成されている。CT は物質の線形の走査と回転によって実行され，X 線断層写真は単純な回転と逆投影法によって再現される。スキャンングステージとターンテーブルは 2 ステージコントローラーによって操作され，スキャン幅と回転角度は 1.0 mm と 3.0° とした。X 線源とターンテーブルの距離は 230 mm，テーブルの中心とコリメーターの距離は 35 mm とした。物体が扇状のセリウム X 線を照射されるとヨウ素の蛍光 X 線が物質内のヨウ素原子から発生し，蛍光 X 線のフォトンが CdTe 検出器によってカウントされる。次にフォトンエネルギーとエネルギー幅がマルチチャンネルアナライ

イザーによって選別され、CdTe 検出器の前にセットされた 3.0 mm の厚さと 2.0 mm の穴を伴った 73 mm の長さのコリメーターが物質からの蛍光 X 線の分布を捕らえ、イベントシグナルがカウンターカードとパーソナルコンピュータによってカウントされる。

ヨウ素の $K\alpha$ 蛍光 X 線を検出するためには 28.0~30.0 keV という最適のエネルギー幅が、マルチチャンネルアナライザーによって選別される。セリウム X 線発生器は K エッジの血管造影の画質を高めるため、コッククロフトウォルトン回路を用いた X 線管とセリウムターゲット管およびメインコントローラーから構成されている。電圧、電流、照射時間はコントローラーによって調節され、エネルギー弁別蛍光 X 線 CT においては X 線管の最大の電圧は 70 kV、電流は 0.40 mA であった。

<結果>

X 線の強さは 400 ml ボリュームのプロローベを X 線源から 1.0 m のところで電流が 0.40 mA の時に電離箱を用いて計測される。電圧を上げれば X 線はそれだけ強くなり、電圧が 70 kV の時 115.3 $\mu\text{Gy/s}$ であった。X 線の分布を測定するために 15~80 keV の幅のフォトンエネルギーを用いて CdTe 検出器を使用した。X 線管の電圧が 70 kV に設定の時、制動放射線のピークのエネルギーは約 15 keV であった。ヨウ素の蛍光 X 線はヨウ素の濃度が上がればそれだけ強くなり、散乱 X 線の強さはこれらと比較して弱いものである。水を満たしたバイアルからのセリウムの散乱 $K\alpha$ 、 $K\beta$ 線が観察された。蛍光 X 線 CT システムでは 28.0~30.0 keV のエネルギー幅でマルチチャンネルアナライザーを用いてヨウ素からの $K\alpha$ 線を識別できるが、水からはヨウ素の蛍光 X 線はほとんど検出されなかった。X 線管が 70 kV において蛍光 X 線 CT が行われるが、最も強い所と弱い所は黒と白で示された。2つのバイアルの X 線断層写真ではヨウ素濃度が高い方がイメージデンシティーが強くなり、同様の濃度のヨウ素のバイアルではバイアルの大きい方がイメージも大きくなり、イメージデンシティーに差はほとんどなかった。2つの穴を設けたポリメチルメタクリルファントムでの X 線断層写真では、同じ大きさの穴ではヨウ素の濃度が濃い方がイメージデンシティーが強くなり、同じ濃度のヨウ素では穴の大きい方が大きさに合わせてイメージデンシティーが広がった。同じ大きさの穴を用いたアクリルファントムではヨウ素の濃度を上げればそれだけイメージデンシティーが強くなった。ウサギの心臓を用いたファントムではヨウ素を溶かした 15 μm のマイクロファイアを冠動脈に注入し蛍光 X 線 CT を施行した。冠動脈の最も濃度の高いところでイメージデンシティーが強くなっているのが分かった。ウサギの耳介の静脈からヨウ素造影剤を静注した際に癌の部位に残留したヨウ素を捕らえた蛍光 X 線 CT 像では、癌の部位に残ったと思われるヨウ素でイメージデンシティーが検出された。

<結論>

ヨウ素蛍光 X 線 ($K\alpha$) のみを検出して断層像を再構成し、癌部位を含むファントム内のヨウ素分布を観察することができた。エネルギーを選択することにより、ヨウ素以外の分子の分布も観察できる。

ヨウ素の検出下限は 1 mg/ml 程度と予想されるが、ヨウ素励起に用いる X 線を単色化すれば、さらに下限を下げることができる。

将来的には蛍光 X 線 CT はエネルギー弁別 SPECT の基礎研究にも用いることが期待される。

たかぎせいじ
高木誠二

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第435号

学位授与の日付：平成23年12月21日

主 論 文：Macular retinal ganglion cell complex damage in the apparently normal visual field of glaucomatous eyes with hemifield defects
(半視野障害の緑内障における正常視野部分の黄斑部網膜神経節細胞複合体障害)

著 者：Takagi ST, Kita Y, Yagi F, Tomita G

公 表 誌：J Glaucoma 21: 318-325, 2012

論文内容の要旨

【背景と目的】 緑内障は、視神経節状板内部で軸索輸送が障害され神経節細胞の脱落から始まり、次いで出現する網膜神経線維層の菲薄化が生じることで特徴づけられる視神経症である。これまでの報告で、視神経乳頭周囲の網膜神経線維層（peripapillary retinal nerve fiber layer：ppRNFL）の厚みは緑内障早期より減少することが知られている。最近では、スペクトラルドメイン光干渉断層計（spectral domain optical coherence tomography：SD-OCT）を用いて計測することで、視野障害を認める以前の段階（前視野段階）の診断にも有用とされている。一方、Ishikawa et al. は、黄斑部の網膜内層厚が、ppRNFLと同程度に緑内障を診断できるパラメータであることを報告した。近年、SD-OCTに黄斑部の網膜神経線維層、網膜神経節細胞層、内網状層を合わせた厚み（macular ganglion cell complex：mGCC）を自動 segmentation にて測定できるプログラムが開発された。今回われわれは緑内障前視野段階において、GCC厚測定が診断にどの程度有用か推測するため、ハンフリー（Humphrey Field：HF）視野計にて上半、下半いずれかに半視野障害を認める緑内障眼の、視野正常側の構造の評価、正常コントロール群との比較、機能との関係性を評価した。

【対象と方法】 対象：半視野異常を呈する広義原発開放隅緑内障（緑内障群）50例50眼を対象とし、年齢、性別、屈折をマッチさせた正常25例25眼をコントロール群とした。

方法：mGCC、ppRNFL、および網膜全層（macular total retina：mTR）の厚みをSD-OCTを用いて計測し、緑内障群の視野障害側と正常側で比較した。同様に、正常眼との比較を行った。さらに、OCTにより得られたパラメータとHF視野計にて得られた視野障害パラメータとの相関関係を検討した。GCCとppRNFLの計測にはSD-OCT（RTVue100：Optovue, Inc., Fremont, CA, USA）を使用した。mGCCとmTRでは黄斑部周囲で半径6mmの円周内の平均値を測定し、ppRNFLでは視神経乳頭中心から3.45mm付近の平均値を測定した。また、神経の走行が黄斑部に一致する部位を中心部神経線維（center ppRNFL：cppRNFL）とした。

HF視野測定結果は上下それぞれの pattern deviation（PD）値と total deviation（TD）値をdB値で集計した。さらにGCC測定範囲に一致する視野中心部の12点をcenter TD（cTD）center PD（cPD）として集計した。

【結果】 緑内障群は正常コントロール群と比較し、年齢、性別、屈折、眼圧において差を認めなかった（*t*-検定）。mGCC、mTR、ppRNFL、cppRNFLすべてにおいて、緑内障群の視野障害側の値は正常側に比べて有意差を認めた。緑内障群の視野正常側と正常コントロール群での比較では、mTR（*t*検定： $p > 0.1$ ）、ppRNFL（*t*検定： $p = 0.052$ ）では有意差を認めなかったが、mGCCは緑内障群の視野正常側で正常コントロール群より有意に薄かった（*t*検定： $p < 0.001$ ）。HF視野のPD値、TD値との相関関係では、緑内障群視野正常側で、mGCCはTD（ $p = 0.005$ ）、cTD（ $p = 0.01$ ）と有意に相関を示し、ppRNFLはTD（ $p = 0.019$ ）と、cppRNFLはcTD（ $p = 0.038$ ）と有意な相関を示した。

【考察】 われわれは本研究において、mGCCとppRNFL測定を、緑内障性変化が見かけ上限局的である症例の視野異常が出ていない部分、視野正常側で行い、正常群のそれと比べた。その結果、mGCCは視野正常側でも正常眼に比べて減少していることが分かった。このような違いはmTRでは認められなかった。また視野のパラメータ値との関係、つまり機能と構造の相関関係では、視野正常側でも、mGCCはTD、cTDと有意に相関を示した。緑内障の初期変化は網膜神経節細胞の脱落である。黄斑部周囲にはretinal ganglion cell（RGC）が豊富にあることから、その測定は緑内障極初期の判定に非常に有用であると考えられる。Tan et al. はmGCC測定は前視野段階の緑内障の判定も可能であると報告している。われわれの結果は、Tan et al. の報告を裏付けるものであり、さらに、前視野段階であっても機能とGCCの構造変化が相

関することを初めて示すことができた。

【結論】 mGCC 厚は、正常眼と比べて半視野障害のある緑内障の視野正常側で減少しており、さらに同部に対応する視野障害パラメータとも有意な相関を示した。このことは、ppRNFL 厚に加えて、mGCC 厚は、前視野段階の緑内障を検出できる新たな構造パラメータになり得ると考えられた。

た なか こういちろう
田 中 耕一郎

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第436号

学位授与の日付：平成24年1月25日

主 論 文：Effects of the traditional Japanese medicine Rikkunshito on postprandial glucose and lipid metabolism

（六君子湯における糖脂質代謝への影響）

著 者：Tanaka K, Urita Y, Nara K, Miura O, Sugimoto M

公 表 誌：Hepatogastroenterology 58: 1112-1118, 2011

論文内容の要旨

【目的】六君子湯は、現在の臨床において、主に functional dyspepsia を治療する prokinetic agent として用いられている。六君子湯はグレリン分泌増加作用を有し、5-HT_{2B/2c} 受容体を抑制して cisplatin によるアシルグレリン分泌低下を抑制し、また胃適応性弛緩を改善し、胃排出促進することがこれまでの研究で示されている。消化管運動と消化管内分泌、腸管吸収後の血中の糖脂質の代謝内分泌は相互に関係しているため、胃腸の蠕動と腸管内容物の分布の変化が消化管ホルモンの分泌に変化をもたらす可能性があるが、prokinetic agent としての六君子湯と glucagon-like peptide 1 (GLP-1) との関係、糖脂質代謝における影響についての報告は今までにない。

また、液体食は固形食よりも胃排出が早く、食物、栄養素は種類により glycemic index や小腸での吸収様式、輸送体が異なる。食後糖脂質代謝の評価のために、より生理的な食事に近い、固形で、糖質、脂肪、蛋白質を含む食物負荷試験の1つであるクッキーテストを選択し、六君子湯の GLP-1 と試験食摂取後の糖脂質代謝への影響について検討した。同時に¹³C-glucose を用いた呼吸試験を行い、グルコース酸化の一指標とした。

【方法】東邦大学医学部倫理委員会にて承認され、インフォームド・コンセントを得た、健康ボランティア11人（男6・女5名）、25-61歳（平均33±12.1）を対象とした。試験食は糖質75g、脂肪28.5g、蛋白質8.0g、総カロリー592kcalのネオクッキー（ABIMEDICAL Corp., 大阪）を用い、100mgの¹³C-glucoseを含む水200mlとともに摂取した。薬剤として生薬の乾燥エキス製剤である六君子湯エキス顆粒〔(株)ツムラ、東京〕を用いた。

六君子湯内服前に、試験食摂取後180分間の静脈血中の血糖、インスリン、総コレステロール、トリグリセリド、remnant like particles-cholesterol (RLP-C)、遊離脂肪酸、活性型GLP-1〔(株)エスアールエル、東京〕の0、30、60、90、120、180分値を測定した。呼吸検体は10分間隔で180分間採取し、赤外線分光法による呼吸中¹³CO₂分析装置〔UBiT-IR300、大塚電子(株)、大阪〕で測定した。試験前の¹³CO₂/¹²CO₂比を基準とし、各時点での増分(Δ%)を求め、CO₂の生成速度を考慮して%dose/hourに変換し、各時点の値と曲線下面積(area under the curve: AUC)を求めた。六君子湯を通常量7.5g/日で2週間内服後、再度クッキーテストを施行し、1)試験食摂取後の血糖、インスリン、GLP-1値の変化と六君子湯による影響、2)試験食摂取後の総コレステロール、トリグリセリド、RLP-C、遊離脂肪酸の変化と六君子湯による影響、3)六君子湯の¹³C呼吸試験のグルコース酸化への影響について比較検討した。各時点の平均値に、paired-t testを施行し、p値は<0.05を統計的有意とした。

【結果】血糖値は、六君子湯内服前後でそれぞれ30、60分でピークとなり、以後、同様に低下し、180分で前値に復した。最大値は、内服前後で120±23.4mg/dl、119.8±30.5mg/dlであった。120分時、内服後はより低値であったが、有意差は認めなかった。

血漿インスリン値の上昇速度は内服前後で同様であったが、内服後は明らかなピークが30～60分にかけて現れ、60分

値は ($p=0.04$) と有意に高値であった。90~180分の低下速度は前後で同様であった。

GLP-1は、内服前後ともに食後に緩徐に上昇し、六君子湯内服前では、30分と120分にピークがみられたが、内服後は30分に単一のピークがみられた。GLP-1は、六君子湯内服後は60, 90, 180分でより高値であったが、有意差はみられなかった。最大値は六君子湯内服前後で 7.66 ± 6.79 pmol/l と 7.94 ± 6.76 pmol/l で、5%の上昇を認めた。

トリグリセリド値は緩徐に上昇し、120分でピーク値をとり、内服前後で、有意差はみられなかった。

遊離脂肪酸は食後急激に下降して60分で底値をとり、再上昇して120分でピーク値をとった。遊離脂肪酸値は六君子湯内服後、各時間でより低値をとり、paired-*t* 検定では90分 ($p=0.02$) と180分 ($p=0.04$) で有意差がみられた。

RLP-Cは、トリグリセリドの変化と同様、食後に緩徐に上昇し、120分でピークとなった。六君子湯内服後、より低値となったが、有意差は認められなかった。

呼気における $^{13}\text{CO}_2$ 排出は時間とともに上昇し、内服前後でそれぞれ140分 ($6.10 \pm 1.02\%$ dose/h)、160分 ($6.55 \pm 1.02\%$ dose/h) でピーク値をとり、内服後はより高値であったが、AUCとも有意な差は認められなかった。

【考察】2週間の六君子湯の内服は、試験食摂取後の血糖、トリグリセリド、RLP-Cには影響しなかった。一方で食後の血漿インスリンの60分値は有意に高くなり、遊離脂肪酸は90, 180分値で有意に低値を取った。60分時に上昇したインスリンは、脂肪細胞の遊離脂肪酸の取り込み、分泌抑制に働いたことが考えられた。GLP-1の分泌は六君子湯によって促進されず、試験食摂取後60分での血漿インスリンの上昇には寄与しないことが示唆された。六君子湯は試験食摂取後インスリンの60分値を上昇させ、続いて血漿遊離脂肪酸値を減少させた。胃適応性弛緩を改善し胃排出を亢進させる prokinetic な作用を有する六君子湯は、食後の糖脂質代謝に影響して、特に遊離脂肪酸を有意に減少させた。六君子湯における消化管運動と糖脂質動態に与える変化の機序については、今後のさらなる研究が必要である。また、脂肪細胞、他の組織への病的な脂肪の蓄積は、メタボリックシンドロームの高血圧、糖尿病および動脈硬化性疾患に対する主要な促進因子である。その病的な脂肪の蓄積に伴う血管病変を六君子湯が、抑制できるかどうかを評価することが今後の研究の課題である。

み うら やす ゆき
三 浦 康 之

学位の種類：博士(医学) 学位番号：甲第437号

学位授与の日付：平成24年2月29日

主 論 文：Evaluation of remnant liver function using ^{13}C -breath tests in a rat model of 70% partial hepatectomy
(ラット70%肝切除モデルにおける ^{13}C -呼気試験を用いた残肝機能の評価)

著 者：Miura Y, Washizawa N, Urita Y, Imai T, Kaneko H

公 表 誌：Hepatogastroenterology 59: 311-316, 2012

論文内容の要旨

【目的】近年、肝疾患の診断や肝機能評価に安定同位体である ^{13}C 標識化合物を用いた ^{13}C -呼気試験法を用いることが注目されているが、肝切除術後の再生を評価した研究はない。ラット肝切除モデルを用いて ^{13}C -phenylalanine 呼気試験法を行い、肝代謝を経時的に評価し、同時期の肝体積の回復、血液生化学検査、病理学的な肝再生の程度と比較し、機能的回復と形態学的回復との差について検討した。

【対象と方法】Fischer344系雄性ラットを用い、第9週齢のラットを使用した。Higgins-Anderson法に従い、70%肝切除モデルを作製した(H群)。対照群(S群)は、肝臓を同様に脱転させ、肝鎌状間膜のみ切離した。両群ともに術後12, 24, 48, 72時間、7, 14日に、呼気、血液、残肝組織を以下の方法で採取した。 ^{13}C 標識化合物はphenylalanine(phe)、leucine(leu)を使用し、H群は各7匹($n=84$)、S群は4匹($n=48$)用いた。各 ^{13}C 標識化合物を意識下にゾンデを用いて、それぞれ100mg/kgを胃内投与し、無麻酔無拘束下で呼気採集専用容器に入れ、投与後5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 90, 120分と呼気採取パックで経時的に呼気採取した。 $^{13}\text{CO}_2$ の分析測定は、赤外分光法を用いた呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 分析装置UBiT-IR300[大塚電子(株)、大阪]により測定した。平均 $^{13}\text{CO}_2$ 呼気排出量曲線における最大呼気排出量(Cmax)

を指標とし、この両群の群間比較を行った。各呼気試験終了後にエーテル麻酔下で心室穿刺採血を行った。採血項目は total bilirubin (T-bil), aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH) とした。その後、残肝の一部を切除し、Ki-67による免疫染色を行い、各残肝3切片×3視野のKi-67陽性率を算出し、各時期のHおよびS群の平均値を比較した。また、残肝重量/体重比にて形態学的評価を行った。Cmax, Ki-67陽性率のHおよびS群との比較はMann-Whitney's *U*-testを用い、また各時期のT-bil, AST, ALT, LDHおよび残肝重量/体重比のHおよびS群との比較はStudent's *t*-testを用い、 $p < 0.05$ を統計的に有意ありとした。

【結果】 ^{13}C -phe呼気試験では、術後12時間ではH群で低値傾向を示したが、有意差は認めなかった ($p = 0.06$)。術後24時間ではH群はS群に比し有意に低値を示した ($p < 0.05$)。術後48, 72時間, 7, 14日では両群間に明らかな差は認めなかった。一方、 ^{13}C -leu呼気試験では、術後12時間~14日まで一貫して両群に有意差は認めなかった。血液生化学検査は、T-bilは、術後12~72時間においてH群はS群に比し有意 ($p < 0.05$) に低値を示した。術後7, 14日では両群に有意差を認めなかった。ASTは、術後12~72時間においてH群はS群に比し有意 ($p < 0.05$) に低値を示した。術後7, 14日では両群に有意差を認めなかった。ALTは、AST同様に術後12~72時間においてH群はS群に比し有意 ($p < 0.05$) に低値を示した。術後7, 14日では両群に有意差を認めなかった。LDHは、術後12, 24, 72時間, 7, 14日においてH群はS群に比し有意 ($p < 0.05$) に高値を示した。術後48時間では両群に有意差を認めなかった。Ki-67陽性率は、術後24, 48, 72時間においてH群はS群に比し有意 ($p < 0.05$) に高値を示した。成長曲線に当てはめてピーク値を推定すると52.8時間(2.2日)であった。残肝重量/体重比(%)は、術後12~72時間においてH群はS群に比し有意 ($p < 0.05$) に低値を示したが、術後7, 14日では両群に有意差を認めなかった。

【考察】 肝機能評価としては ^{13}C -phe呼気試験を用いた報告が多いのは、経口投与された ^{13}C -pheが小腸上部より吸収され、門脈を経て肝細胞に取り込まれることによる。ほとんどが肝臓の滑面小胞体においてphenylalanine hydroxylaseによりtyrosineに変換され、この反応が律速段階となり、最終的にfumaric acidへと分解される。その過程の各段階で $^{13}\text{CO}_2$ が生成され、呼気から排泄される。肝障害が生じるとphenylalanine hydroxylase活性が低下し、投与したpheがtyrosineに代謝されないため呼気中の $^{13}\text{CO}_2$ が低下すると考えられている。一方、leuは、肝で代謝されずに筋で取り込まれて代謝されるため、術後の骨格筋の機能を評価することができる。肝硬変患者においては、エネルギー代謝を代償するために骨格筋などの末梢組織ではglucoseよりbranched-chain amino acids (BCAA)の方が取り込まれる状態にあるとされ、BCAAは末梢組織で過剰に消費され、Fisher比は低下する。これらの知見から肝切除術後では肝内の蛋白代謝は低下し、それを代償するために末梢組織で代謝亢進され、 ^{13}C -leu呼気試験では、呼気 $^{13}\text{CO}_2$ が増加すると考えられた。本研究では肝切除術後、 ^{13}C -phe呼気試験法では、術後48時間にはH群はS群と同等まで回復傾向を示した。 ^{13}C -phe呼気試験法の回復時期と成長曲線におけるKi-67陽性率のピークを示す推測時期は、ほぼ一致していた。つまり肝代謝能と細胞増殖能は時相が一致していた。一方、 ^{13}C -leu呼気試験では肝切除後12時間~14日まで一貫して両群に有意差は認めなかった。70%肝切除術後の変化では非可逆性の肝硬変と異なり、leuは末梢組織で代償的に取り込みが増加しないと考えられた。

【結語】 ラット70%肝切除モデルは、機能的回復と形態学的回復に時相の差を認めた。 ^{13}C -phe呼気試験は、肝切除術後早期の残肝機能の評価が可能であり、しかも非侵襲的に繰り返し施行できることから、臨床においても有用な検査法となり得るものと思われた。今回のモデルにおける肝予備能の低下は48時間程度で回復していたが、 ^{13}C -leu呼気試験の結果から、残肝機能が回復するまでの48時間には、末梢組織や骨格筋による代償はほとんどないことも明らかとなった。

しま むら つよし
島 村 剛

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第438号

学位授与の日付：平成24年3月26日

主 論 文：Establishment of a novel model of onychomycosis in rabbits for evaluation of antifungal agents

(薬効評価のためのウサギを用いた爪白癬動物モデルの作製)

著 者：Shimamura T, Kubota N, Nagasaka S, Suzuki T, Mukai H, Shibuya K

公 表 誌：Antimicrob Agents Chemother 55: 3150-3155, 2011

論文内容の要旨

【背景および目的】爪白癬は難治性の表在性真菌症と知られ、その治療法は本邦では抗真菌薬の経口投与に限られている。一方で、これら抗真菌薬の経口投与は、薬物相互作用等の副作用から、投与可能な患者が限られており、外用剤の開発が望まれている。外用剤の開発には、適切な薬効評価モデルが必須となるが、これまでに報告されている爪白癬動物モデルは、詳細な病理組織学的検索が行われておらず、爪中での菌の局在が不明確であるため、適切な評価モデルとは言い難い。今回われわれは、ウサギを用いた新しい爪白癬動物薬効評価モデルを作製し、病理組織学的に詳細な検索するとともに、既存の外用爪白癬治療薬を用いて薬効評価を行った。

【方法】爪白癬モデル作製：実験に供する爪は、両後肢の第1指から第3指の爪とし、1動物当たり、6つの爪を設定した。あらかじめ免疫抑制剤を2週間投与した日本白色種ウサギの爪に、*Trichophyton mentagrophytes* (TIMM2789)を0.2 ml (1×10^8 conidia/ml)接種後、ガーゼで被い、さらに指サックをはめた。その後、湿潤状態を保つ目的で、滅菌水を指サック内に0.5 ml注入した。これらの処置を感染処置とした。なお、2週間の感染期間中も免疫抑制剤を投与した。感染期間終了後、ガーゼおよび指サックを外し、0, 2, 6週間の放置期間を設定した。各放置期間終了後、爪をサンプリングし、periodic acid-Schiff (PAS)染色による標本作成後、病理組織学的に菌の局在について検索した。病理組織学的評価は、爪の断面を6区画（上下に爪甲側・爪床側、垂直に遠位・中間・近位）に区切り、区画ごとに評価した。また、感染の強度は、組織学的所見を基に半定量的に0, +1, +2, +3の4段階で評価し、群ごとの平均値を感染強度とした。そして、+1以上を病理組織学的陽性爪と判断し、実験に供した全爪数における病理組織学的陽性爪の割合を感染率とした。

モデルによる薬効評価：上述の感染期間終了後、4週間の薬剤投与を行った。使用薬剤は、爪白癬外用剤として海外で承認を受けている8%シクロピロックスネイルラッカーおよび5%アモロルフィンネイルラッカーとした。用量は、両剤ともに3.6 μ l/爪とし、用法は添付文章に従い8%シクロピロックスネイルラッカーが1日1回、5%アモロルフィンネイルラッカーが週2回の投与とした。なお、比較対象として設定した非投与群は、薬剤投与期間中は無処置とした。薬剤投与期間終了後、爪を縦に半割し、一方を組織学的検索に、他方を微生物学的検索に使用した。微生物学的検索は、爪を遠位端から近位端にかけて10分割し、Sabouraud dextrose agar培地にて28°C2週間培養した。爪ごとの感染強度は、10分割した爪の培養陽性の数から、0~+10までの11段階で評価し、群ごとの平均値を感染強度とした。また、+1以上の爪を培養陽性爪と判断し、培養に供した全爪数における培養陽性爪の割合を感染率とした。

【結果】爪白癬モデル作製：放置期間0, 2, 6週間群の感染率は、それぞれ56.7, 86.7, 93.3%であった。なお、各群における、最も高い感染率を示した区画は、病理組織学的感染強度も最も高い値を示した区画と同一であり0, 2, 6週間群でそれぞれ近位・背側（感染率：46.7%, 感染強度：0.73）、遠位・腹側（感染率：62.1%, 感染強度：1.45）、遠位・腹側（感染率：90.0%, 感染強度：2.53）であった。一方で爪床下膿瘍が高頻度に観察され、その出現率は各群で、それぞれ33.3, 43.3, 93.3%となった。

モデルによる薬効評価：非投与群、8%シクロピロックス群、5%アモロルフィン群における病理組織学的感染率は、それぞれ66.7, 47.6, 43.5%であり、薬剤投与群で感染率の低下傾向が認められた。一方、微生物学的感染率は、それぞれ75, 66.7, 20.8%であり、微生物学的感染強度はそれぞれ+4.4, +2.8, +0.4となった。なお、微生物学的感染率において、5%アモロルフィン群は、非投与群および8%シクロピロックス群に対して、統計学的に有意に低い値となった。さらに、微生物学的感染強度に関しても、5%アモロルフィン群は、非投与群に対して統計学的に有意に低い値となった。

【考察および結論】われわれは、免疫抑制剤を投与したウサギを用いることで、爪深部まで白癬菌を感染させることに成功した。このモデルの病理組織学的検索の結果、放置期間2週間以上で、良好な感染が認められるとともに、爪深部への感染が認められた。また、このモデルによる薬効評価では、微生物学的検索を用いることで、薬剤非投与群のみならず、薬剤間での薬効の違いを検出することができた。さらに、微生物学的結果から算出した両薬剤の治癒率は、臨床治癒率に近い値であった。以上から、このモデルが抗真菌薬、特に外用剤の薬効評価に有用であることが示された。

たく ま けん すけ
宅 間 健 介

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第439号

学位授与の日付：平成24年3月26日

主 論 文：Predictors of malignancy and natural history of main-duct intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas
(主膵管型膵管内乳頭粘液性腫瘍における悪性予測因子および自然史の検討)

著 者：Takuma K, Kamisawa T, Anjiki H, Egawa N, Kurata M, Honda G, Tsuruta K, Horiguchi S, Igarashi Y

公 表 誌：Pancreas 40: 371-375, 2011

論文内容の要旨

【目的】 Intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN) は、産生する粘液により主膵管、分枝膵管が拡張する特徴的な臨床像を示す。組織学的には、癌、腺腫、またそれらの境界病変をさまざまな割合で認められ、特に主膵管型および混合型は高い癌合併率により IPMN/mucinous cystic neoplasm (MCN) 国際診療ガイドラインにおいて原則切除と明記されている。しかし長期生存を認める例もあり、その予後因子は不明瞭である。本研究は主膵管拡張を示す IPMN 症例の臨床的悪性予測因子および自然史を retrospective に検討した。

【対象および方法】 1991年1月より2009年10月の間、東京都立駒込病院にて診断された IPMN のうち、画像診断に基づき明らかな転移・浸潤所見を認めない主膵管拡張を示す46例を対象とした。画像診断における IPMN 型分類は、主膵管拡張が6.0 mm以上に拡張したものを主膵管型、分枝膵管が拡張するも主膵管径が6.0 mm以上に拡張し、病変主座が主膵管に存在するものを混合型と定義した。平均年齢は72.5歳、男女比29:17、切除群26例（膵頭十二指腸切除2例、幽門輪温存膵頭十二指腸切除術15例、膵体尾部切除8例、膵全摘出術1例）および他臓器癌合併、心疾患合併、高齢、手術拒否による経過観察群20例であった。膵管内粘液貯留所見は、内視鏡検査による十二指腸乳頭口からの排泄所見、または切除膵の肉眼所見および病理所見にて全例確認された。超音波内視鏡検査で主膵管内に確認された2 mm以上の結節を壁在結節とした。IPMN 切除群は、病変内の最も高い異型度を病理結果とした。経過観察群は3~6カ月ごとに computed tomography (CT) または magnetic resonance imaging (MRI) が施行された。切除群および経過観察群の臨床所見を検討し、さらに切除群は良悪性の臨床的特徴の比較および術後経過、経過観察群はその臨床経過を検討した。

【結果】 1 切除群は経過観察群と比較し、若年であり(69.4 vs. 77.0, $p=0.024$)、腹痛・体重減少・黄疸等の臨床症状(42% vs. 15%, $p=0.046$)を多く認めた。また他臓器癌合併が少なく(23% vs. 60%, $p=0.011$)、主膵管径の拡張が著明(16.9 mm vs. 11.5 mm, $p=0.034$)であり、壁在結節を高頻度(75% vs. 10%, $p=0.001$)に認めた。男女比、耐糖能異常の有無、血清腫瘍マーカー値(CEA, CA19-9)、膵内病変部位、分枝膵管拡張の有無は差を認めなかった。

2 切除群26例中16例(62%)に癌を認めた(浸潤癌8例、非浸潤癌8例、境界病変2例、腺腫6例、過形成変化2例)。良悪性での臨床所見の比較では、癌において主膵管径が有意な拡張を示し(18.8 mm vs. 11.8 mm, $p=0.007$)、主膵管径10 mm以上の所見(88% vs. 50%, $p=0.036$)および壁在結節が有意に多かった(91% vs. 40%, $p=0.029$)。年齢、男女比、臨床症状、耐糖能異常の有無、血清腫瘍マーカー値(CEA, CA19-9)、膵内病変部位、分枝膵管拡張の有無は差を認めなかった。術後経過は主膵管切除断端腺腫6例、過形成変化3例において平均49.4カ月の間画像の変化を認めなかった。

3 経過観察群20例中4例(平均観察期間32.0カ月)が悪性転化をきたし、3例は主膵管径の著明な増大が認められた。

9例が他病死（平均観察期間 46.8 カ月；他臓器悪性疾患 6 例，心疾患 1 例，腎不全 1 例，肝不全 1 例）し，7 例が継続観察（平均観察期間 48.4 カ月）され，すべて主膵管径の変化は軽微であった．他病死した 9 例中 4 例が剖検され全例腺腫であった．

【結論】主膵管径 10 mm 以下であり，壁在結節や症状のない例では経過観察も選択肢の 1 つとなりえ，経過中の主膵管径の変化は悪性転化を示唆する．