

## 学位（博士）授与の記録

つば た たか や  
坪 田 貴 也

学位の種類：博士（医学） 学位番号：乙第2710号

学位授与の日付：平成29年2月20日

主 論 文：Association of repeated defibrillation with outcomes for out-of-hospital cardiac arrest associated with ventricular fibrillation  
(心室細動を呈する院外心肺停止患者に対する除細動回数の検討)

著 者：Tsubota T, Honda M, Yoshihara K, Ikeda T

公 表 誌：Toho J Med 2: 53-60, 2016

### 論文内容の要旨

【背景と目的】院外心肺停止（out-of-hospital cardiac arrest：OHCA）における救命率の向上は、救急・集中治療領域において重要な問題である。蘇生を成功させるために迅速な心肺蘇生（cardiopulmonary resuscitation：CPR）、迅速な除細動、効果的な2次救命処置、および統合された心拍再開後の治療が重要であり、蘇生率は年々増加しているが、まだ低いのが現状である。心室細動（ventricular fibrillation：VF）に対する除細動成功率は時間が経つにつれて急速に低下し、絶え間ない胸骨圧迫と迅速な除細動が重要であるが、心電図解析やショック時は胸骨圧迫を中断せざるを得ず、この中断の有害性が報告されている。VFに対する至適除細動回数を検討した報告はなく、本邦における救急隊平均的活動時間のVFに対して至適除細動回数を明確にすることを目的とした。

【方法】2006～2010年に、日本全国におけるOHCAに対し総務省消防庁がウツタイン形式で集計した前向きデータを使用した。この観察研究は救急隊によるCPRが施行された心原性心肺停止患者で、目撃があり、初回心電図がVF、目撃から救急隊による最初のショックまでに要した時間が10分以内の患者に対して、心拍再開率（return of spontaneous circulation：ROSC）や1カ月後の神経予後（cerebral performance category：CPC）に関わる因子と、プレホスピタルにおける適正な除細動回数を検討した。すべての救急隊員は2005年American Heart Association（AHA）ガイドラインを基に作成された日本版心肺蘇生ガイドラインに沿ってCPRを施行した。1カ月後の良好な神経予後をもとにCPC1-2と定義した。

【結果】心肺停止患者510727人のうち9865人が対象となった。ROSC率38.2%、1カ月後のCPC1-2獲得率28.5%であった。ROSCやCPC1-2に対する多変量解析では、年齢、市民による胸骨圧迫、2相性電気的除細動器の使用、迅速な除細動が関与していた。その一方、救急隊による高度な気道確保はROSCやCPC1-2獲得に不利な結果となった。ショック回数が増えるにつれて、ROSCとCPC1-2獲得率は低下しROSCとCPC1-2の約半数は1回目の除細動で成功していた。

除細動回数とROSCのreceiver operating characteristic（ROC）曲線ではカットオフ値1.5回、感度65%、特異度54%、 $P<0.001$ 、95%信頼区間（0.61-0.63）であった。また、除細動回数とCPC1-2のROC曲線ではカットオフ値1.5回、感度62%、特異度52%、 $P<0.001$ 、95%信頼区間（0.57-0.60）であった。

【考察】頻回に除細動を行うとその度に心電図解析のため、救急車の停止や胸骨圧迫の中断をせざるを得ない。しかし胸骨圧迫が中断されると冠動脈血流が減少し、その後再開しても中断前の状態に戻るまでには時間を要し、除細動が施行されればされるほど心筋はダメージを受けショック成功率は低下し生存率が低下すると言われている。

VFは発現後の時間により病態が異なり、出現後4～5分以内では虚血は少なく迅速に電気的除細動をすることによって心拍再開しやすい。4～10分後は心筋のアデノシン三リン酸が枯渇する時期で除細動を行っても自己リズムを生み出すことが困難で、胸骨圧迫を行い脳血流や冠動脈血流を維持し虚血を減少させ、除細動を施行した方が心拍再開しやすい。それ以上では除細動を含めた通常のCPRでは心拍再開が難しいと言われている。

今回の研究では虚脱から除細動までの平均時間は約6分であり、胸骨圧迫が重要と考えられた。ショック抵抗性のVFに対して繰り返しショックを行い時間が経過するより、抗不整脈薬などの薬剤投与、人工心肺、低体温療法を行うために早期搬送が重要となると考えられ、現場でのショック回数を考慮に入れる必要性も重要と考えられた。

【結語】ROSCや良好な神経予後を得るためには胸骨圧迫と除細動が重要であった。ROSC率とCPCI-2獲得率からOHCAのVFに対するショック回数の現実的なカットオフ値は2回であった。ショック抵抗性のVFに対し除細動回数も考慮に入れる必要性が示唆された。

こ いけ ひで き  
小 池 秀 樹

学位の種類：博士(医学) 学位番号：甲第543号

学位授与の日付：平成29年3月28日

主 論 文：Obesity is associated with the development of interstitial pneumonia under long-term administration of amiodarone in refractory atrial fibrillation patients  
(難治性心房細動に対する長期アミオダロンの内服における間質性肺炎の発症と肥満との関連性)

著 者：Koike H, Fujino T, Koike M, Shinohara M, Kitahara K, Kinoshita T, Yuzawa H, Suzuki T, Sato H, Fukunaga S, Kobayashi K, Ikeda T

公 表 誌：Int Heart J 57: 30-34, 2016

## 論文内容の要旨

【背景】アミオダロン錠は難治性心房細動に対してしばしば用いられるが、間質性肺炎などの深刻な合併症も散見される。一般的にはアミオダロンによる間質性肺炎の発症率は10%前後といわれており、死亡率は2%前後にのぼるという報告もある。近年、心房細動患者は増加の一途をたどっており、ガイドラインの改定などもふまえ、心房細動患者へアミオダロン錠を使用する機会が増えてきている。われわれは、難治性心房細動患者における、長期間のアミオダロン錠の使用による間質性肺炎の発現率と発症との関連因子について検討した。

【方法】2004年1月～2013年12月に心房細動患者に対して、アミオダロン錠を使用した連続122例(65.8±11.4歳、mean body mass index [BMI] 23.2±4.3 kg/m<sup>2</sup>)を対象とし、後ろ向きの観察研究を行った。対象患者への効果と副作用の発現率を調べた。さらに、間質性肺炎の発症の有無で2群比較を行い、その臨床的要因について詳細に検討した。アミオダロン錠は導入量として400 mg/日で開始し、導入期以降では、抗不整脈効果や副作用の有無を確認しながら、50～400mg/日で投与量を調節した。

【結果】平均観察期間は49.2±28.2カ月で、平均アミオダロン投与量は、182.6±62.4 mgであった。122例のうち、53例(43.4%)は、アミオダロンによる薬理的除細動に成功し、洞調律を維持していた。副作用に関しては、全体の46例(37.7%)に有害事象を認め、間質性肺炎は8例(6.6%)、甲状腺機能異常は35例(28.7%)、その他が5例(4.1%)であった。間質性肺炎を発症した8例のうち、4例(50%)は肥満(BMI>27 kg/m<sup>2</sup>)を呈していた。対象患者122例を間質性肺炎発症の有無で2群間比較を行ったところ、平均BMI値は、間質性肺炎を発症した群が有意に高値であった(23.0±4.2 kg/m<sup>2</sup> [non interstitial pneumonia (IP) group] versus 26.4±4.9 kg/m<sup>2</sup> [IP group] : p=0.029)。また、BMI 27 kg/m<sup>2</sup>をカットオフとし、間質性肺炎の発症率を Kaplan-Meier 曲線で示したところ、BMI>27 kg/m<sup>2</sup>の群で有意に間質性肺炎の発症率が高値であった(p=0.013)。年齢、BMI、既往歴、血中アミオダロン濃度を調節し、Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析を行うと、肥満(BMI>27 kg/m<sup>2</sup>)が、間質性肺炎発症の独立した危険因子であった(hazard ratio (HR) 4.55, 95% confidential interval (CI) 1.14-18.21, p=0.032)。一方で、年齢、アミオダロンの使用量、使用期間などは間質性肺炎の発症の有無で、有意な差を認めなかった。

【考察】アミオダロンとその代謝産物は、体内の分布容積が大きく、特に脂肪、皮膚、肺に多く分布する。また、半減期も長く、長期内服により体内に蓄積される。アミオダロンによる間質性肺炎は、以前から多く報告されており、高容量の使用や高齢者への使用が発症のリスクと言われてきた。アミオダロンによる間質性肺炎発症の機序は、明確には解明されていないが、アミオダロンの直接的な肺障害作用と免疫応答による間接的な肺障害作用によるものと考えられている。また、アミオダロン代謝産物であるデスエチルアミオダロンの方が、より肺毒性が強いことも示されている。アミオダロン

は脂溶性薬剤であるため、肥満患者において、より体内蓄積が多く、アミオダロンの体内クリアランスが低下したという報告もある。以上のことから、肥満患者の方が、より肺毒性の強い、デスエチルアミオダロンが脂肪組織に蓄積されることで、間質性肺炎の発症のリスクが高まると考えられた。本研究では、一般的に言われている年齢やアミオダロンの投与量で間質性肺炎の発症において有意差を認めなかったが、これらの因子は以前より指摘されており、臨床医が上記を考慮し、薬剤調節を行ったためと考えた。

【結語】難治性心房細動患者に対する、長期間のアミオダロンの内服は洞調律維持に有用であった。一方、重篤な合併症も同様に散見された。とくに、肥満は、間質性肺炎の発症に関連する独立した危険因子であることが示された。

こばやし しゅん すけ  
小林 俊 介

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第544号

学位授与の日付：平成29年3月28日

主 論 文：Immunohistochemical assessment of a unique basal pattern of p53 expression in ulcerative-colitis-associated neoplasia using computer-assisted cytometry  
(潰瘍性大腸炎関連腫瘍の拾い上げにおける p53 免疫染色の unique basal pattern に関する検討)

著 者：Kobayashi S, Fujimori T, Mitomi H, Tomita S, Ichikawa K, Imura J, Fujii S, Itabashi M, Kameoka S, Igarashi Y

公 表 誌：Diagn Pathol 9: 99, 2014 (DOI: 10.1186/1746-1596-9-99)

## 論文内容の要旨

【背景および目的】潰瘍性大腸炎（ulcerative colitis：UC）関連腫瘍の発生率は長期罹患ならびに広範囲な罹患部位になるほど増加するため、その早期診断は重要である。しかし、UC 関連早期腫瘍は病変の背景における慢性的および持続的な炎症、または再生性変化のため内視鏡的に検出することが難しく、また病理学的にも生検診断において hematoxylin-eosin（HE）染色で腫瘍と炎症性良性異型上皮との鑑別が困難である。

UC 関連腫瘍の発生における早期のイベントとして p53 遺伝子の変異が指摘されている。p53 遺伝子変異と p53 タンパク質の一致があることから、p53 免疫組織染色は UC 関連腫瘍の早期検出において有用な方法である。過去に p53 免疫染色の陽性率は low-grade dysplasia で 11～75%、high-grade dysplasia で 45～83%、再生性上皮では陰性であったと報告されている。

また Noffsinger et al. は、UC において大腸腺管の基底部分から半分に限定された免疫反応を p53 basal pattern と定義し、p53 basal pattern の発現が、早期腫瘍性病変と関連していると過去に報告した。しかし、この所見における臨床的有用性は“視覚評価”（正確なカウントなしに標本の免疫染色性評価を行うこと）により制限されている。本研究はコンピューターを利用した細胞数測定を用いて p53 basal pattern を分析し、UC 関連早期腫瘍と再生性異型性を鑑別するための至適カットオフ値を明確にすることを目的とした。

【方法】対象とした患者は 2010～2011 年に、獨協医科大学と東京女子医科大学において UC 関連腫瘍のため大腸全摘術を施行された UC 患者 8 例（5 例男性、3 例女性）であった。年齢の平均値/中央値は 46.0 歳/47.5 歳（21～67 歳）、罹患期間の平均値/中央値は 21.3 年/15 年（6～43 年）であった。得られた検体に対して HE 染色を行った。3 人の病理医により厚生労働省特定疾患難治性炎症性腸管障害に関する調査研究班による病理組織学的分類に準じて以下のように分類した。UC-IIa（炎症性か腫瘍性か判定に迷う変化、炎症性変化がより疑われるもの）、UC-IIb（炎症性か腫瘍性か判定に迷う変化、腫瘍性変化がより疑われるもの）、UC-III（腫瘍性変化であるが、癌とは判定できないもの）。分類を終えたのち検体に p53 免疫染色を実施した。陰窩基底部分の p53 免疫反応陽性細胞のパーセンテージに基づいて視覚の評価を行い、p53 basal positivity を以下の 3 つのカテゴリーに分類した：grade 1（1～9%）、grade 2（10～19%）、grade 3（≥20%）。次に、視覚評価で grade 3 と分類された陰窩に対してコンピューターを利用した画像解析を行い分析した。統計は Stat Flex Ver-

sion 6.0 ((株) アーテック, 大阪) を用いて Mann-Whitney *U* 検定を行った。

【結果】合計 103 病変から得られた 1039 腺管を対象とした。内訳は UC-IIa 626 腺管, UC-IIb 256 腺管, UC-III 157 腺管であった。視覚評価を行った結果, p53 basal positivity を示した腺管は UC-IIa で 44.4% (626 腺管中 278 腺管), UC-IIb で 24.6% (256 腺管中 63 腺管), UC-III で 54.8% (157 腺管中 86 腺管) であった。そのうち grade 3 を示した腺管は UC-IIa 46.0% (278 腺管中 128 腺管), UC-IIb 61.9% (63 腺管中 39 腺管), UC-III 94.2% (86 腺管中 81 腺管) であった。コンピューターを利用した画像の結果を分析したところ, grade 3 p53 basal positivity の中央値は, UC-IIa 30.3% (25~75 パーセンタイル: 25.6~37.6%), UC-IIb 52.3% (25~75 パーセンタイル: 33.3~64.7%), UC-III 65.4% (25~75 パーセンタイル: 47.2~80.6%) であった ( $p \leq 0.002$ )。

UC-IIa と UC-III の鑑別における診断有用性を測定するために受信者動作特性曲線 (receiver operating characteristic: ROC 曲線) を作成した。このコホートにおいて p53 basal positivity のカットオフ値を 46.1% としたとき area under the curve は 0.928, 感度は 0.78, 特異度は 0.98, 陰性的中率は 87.4%, 陽性適中率は 95.5%, 正診率は 90.2% であった。この基準を用いると UC-IIa の 2.3% (128 腺管中 3 腺管), UC-IIb の 61.5% (39 腺管中 24 腺管) が陽性となり, UC-III の 22.2% (81 腺管中 18 腺管) が陰性となった。

【結論】UC 関連早期腫瘍の正確な検出において, コンピューターを利用した画像解析を行い至適な閾値において p53 basal positivity を評価することが視覚評価の代わりになるということが示された。今後, UC 患者から得られた生検検体を用いて p53 basal positivity を評価することにより適切な治療方針の選択できる可能性がある。

そう  
曹

しん  
新

学位の種類: 博士 (医学) 学位番号: 甲第 545 号

学位授与の日付: 平成 29 年 3 月 28 日

主論文: Electropharmacological effects of amantadine on cardiovascular system assessed with J-T<sub>peak</sub> and T<sub>peak</sub>-T<sub>end</sub> analysis in the halothane-anesthetized beagle dogs (Amantadine のハロセン麻酔犬モデルに対する心臓電気薬理学的作用: J-T<sub>peak</sub> および T<sub>peak</sub>-T<sub>end</sub> を用いた催不整脈作用の評価)

著者: Cao X, Nakamura Y, Wada T, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Sugiyama A

公表誌: J Toxicol Sci 41: 439-447, 2016

## 論文内容の要旨

【背景および目的】Amantadine はインフルエンザウイルス感染症およびパーキンソン病の治療薬として使用されてきたが, 時に心電図上 QRS 幅や QT 間隔の延長, まれに torsade de pointes の発生が報告されている。摘出モルモット心を用いた以前の *in vitro* 研究において, amantadine は I<sub>Kr</sub> チャネルおよび I<sub>Ca</sub> チャネルを阻害することが報告されている。最近, 体表面心電図において早期再分極の指標である J-T<sub>peak</sub> および後期再分極の指標である T<sub>peak</sub>-T<sub>end</sub> は, 内向き電流/外向き電流のバランスを定量でき, torsade de pointes の発生予測に有用であることが示された。選択的外向き I<sub>Kr</sub> チャネルの遮断は J-T<sub>peak</sub> および T<sub>peak</sub>-T<sub>end</sub> を同程度に延長するが, 選択的内向き I<sub>Ca</sub> チャネルおよび I<sub>Na</sub> チャネルの遮断は J-T<sub>peak</sub> を短縮する。今回の研究では, ハロセン麻酔犬モデルを用いて, amantadine の血行動態および心臓電気生理学的指標に対する作用に加え, J-T<sub>peak</sub> および T<sub>peak</sub>-T<sub>end</sub> に対する作用を解析し, amantadine による催不整脈作用の有無および程度を詳細に評価した。

【方法】体重約 10 kg のビーグル犬 (n=4) をチオペンタール (30 mg/kg, i.v.) で麻酔導入し, 気管内挿管後, 1% のハロセンを吸入させることで麻酔を維持した。体血圧を測定するため右大腿動脈にカテーテルシースを留置し, 左室圧を測定するためピッグテールカテーテルを右大腿動脈から左室に挿入した。また, 右大腿静脈より右心系にスワンガンツカテーテルを挿入し, 熱希釈法を用いて心拍出量を測定した。さらに, 体表面心電図を記録し, 左大腿動脈から電極カテーテルを大動脈弁無冠尖に留置してヒス束心電図を記録した。左大腿静脈から右室に単相性活動電位記録/ペーシングカテ

テルを挿入して単相性活動電位を測定した。洞調律時の単相性活動電位持続時間 (monophasic action potential : (MAP)<sub>90 (sinus)</sub>)、心室基本刺激周期 400 ms 時の単相性活動電位持続時間 (MAP<sub>90 (CL400)</sub>) および 300 ms 時の単相性活動電位持続時間 (MAP<sub>90 (CL300)</sub>) を計測した。さらに、心室基本刺激周期 400 ms 時の心室有効不応期を測定した。再分極終末相持続時間を、MAP<sub>90 (CL400)</sub> から心室有効不応期を減じ算出した。再分極終末相持続時間の延長は薬物の催不整脈性を反映することが知られている。QTc は、Van de Water の補正式を用いて計算した。投薬前値を評価した後、0.1 mg/kg を 10 分で静注し、投与開始から 5, 10, 15, 20 および 30 分の時点で各指標を評価した。次に、1 mg/kg を 10 分で静注し、各指標を低用量と同様に評価した。最後に 10 mg/kg を 10 分で静注し、投与開始から 5, 10, 15, 20, 30, 45 および 60 分の時点で各指標を評価した。薬物投与前および各用量の投与後 10 分の時点の体表心電図を用いて、J-T<sub>peak</sub> および T<sub>peak</sub>-T<sub>end</sub> を測定した。J-T<sub>peakC</sub> は補正式 (J-T<sub>peakC</sub> = J-T<sub>peak</sub>/RR<sup>0.58</sup>) を用いて計算した。

【結果】実験中、致命的な心室性不整脈の発生や血行動態の破綻を認めなかった。0.1 mg/kg 投与後、左室圧最大立ち上がり速度の増加、心室内伝導遅延を認めた。1 mg/kg 投与後、低用量で観察された変化に加えて QT 間隔の延長を認めた。10 mg/kg 投与後、中用量で観察された変化に加えて平均血圧の増加、左室拡張末期圧の上昇、心拍出量の低下、総末梢血管抵抗の増加、QT/QTc と単相性活動電位持続時間の延長、PR と AH 間隔の短縮、および QRS 幅と HV 間隔の延長を認めた。再分極時間の延長には逆頻度依存性を認めた。J-T<sub>peakC</sub> は用量依存的に延長傾向を示した。一方、T<sub>peak</sub>-T<sub>end</sub> も用量依存的に延長し、高用量で統計学的有意差を認めた。

【考察】Amantadine は、陽性変力・変伝導および血圧上昇作用を示した。これらの結果は amantadine による交感神経終末からのカテコラミンの放出により I<sub>Ca</sub> チャネルの刺激作用を介して発現と考えられた。また再分極持続時間の延長は陽性変力作用に一部関与しているかもしれない。Amantadine による心拍出量の低下は、左室収縮力増加より総末梢血管抵抗増加のほうが強力であることを示している。心室内伝導遅延は、I<sub>Na</sub> チャネルに対する抑制作用を示唆している。また、逆頻度依存性の再分極延長作用を認めたので、I<sub>Kr</sub> チャネル遮断作用も有していると考えられた。Amantadine は J-T<sub>peakC</sub> を若干延長し、T<sub>peak</sub>-T<sub>end</sub> を有意に延長した。この結果は、早期再分極時には、amantadine による I<sub>Na</sub> チャネルの直接的抑制に伴う効果は外向き I<sub>Kr</sub> チャネルの直接的抑制作用と内向き I<sub>Ca</sub> チャネルの間接的促進作用で部分的に相殺されることを示している。さらに、これらの結果を催不整脈性が報告されている選択的 I<sub>Kr</sub> チャネル遮断薬である E-4031 と催不整脈性が低い多チャンネルである遮断薬アミオダロンによる J-T<sub>peakC</sub> および T<sub>peak</sub>-T<sub>end</sub> に対する作用と比較した。E-4031 は用量依存的に J-T<sub>peakC</sub> と T<sub>peak</sub>-T<sub>end</sub> を延長したが、アミオダロンは J-T<sub>peakC</sub> を若干短縮し、T<sub>peak</sub>-T<sub>end</sub> を有意に延長した。

【結語】Amantadine は生体心において I<sub>Na</sub> チャネルおよび I<sub>Kr</sub> チャネルの抑制作用に加えて I<sub>Ca</sub> チャネルの促進作用を有し、催不整脈リスクは E-4031 とアミオダロンの中間に位置すると考えられた。

やす むら り え  
安 村 里 絵

学位の種類：博士 (医学) 学位番号：甲第 546 号

学位授与の日付：平成 29 年 3 月 28 日

主 論 文：A comparison of plasma levobupivacaine concentrations following transversus abdominis plane block and rectus sheath block  
(腹横筋膜面ブロックおよび腹直筋鞘ブロック施行後の血中レボブピバカイン濃度の比較)

著 者：Yasumura R, Kobayashi Y, Ochiai R

公 表 誌：Anaesthesia 71: 544-549, 2016

## 論文内容の要旨

【背景および目的】近年、末梢神経ブロックを超音波ガイド下に行う方法が確立・普及したことにより、末梢神経ブロックの成功率や安全性が向上した。一方、従来は周術期の鎮痛法として硬膜外麻酔が一般的であったが、周術期に抗凝固療法を必要とする高齢者が増加したこと、硬膜外術後鎮痛法が適応とならない症例が増加した。さらに、近年増加している腹腔鏡手術では腹横筋膜面 (transversus abdominis plane : TAP) ブロックや腹直筋鞘 (rectus sheath : RS) ブロッ

クなどの末梢神経ブロックにより術後麻薬使用量の減少や術後痛の軽減が報告されており、末梢神経ブロックを術後鎮痛法として選択する機会が増加した。末梢神経ブロックは、局所麻酔薬を単回注入するため、局所麻酔薬の持続注入を行うことができる硬膜外麻酔に比べると鎮痛効果の持続時間が短い。このため良好な術後鎮痛を目的に、手術終了後に末梢神経ブロックを行う場合もある。しかし末梢神経ブロックの適応や施行時期、局所麻酔薬量の標準化ははまだ十分なされていない。一般的に行われる末梢神経ブロックの中で、TAPブロックやRSブロックは使用する局所麻酔薬の量が多いため、合併症として局所麻酔薬中毒に注意する必要がある。特に、手術終了後に同ブロックを行う際は、手術室退室後に局所麻酔薬中毒症状を呈する可能性も十分考えられる。局所麻酔薬中毒の発症に関わる重要な因子としては使用局所麻酔薬の種類や投与量が挙げられるが、加えてブロック部位の違いによる血中濃度の上昇速度の相違も重要である。つまり、手術終了後に末梢神経ブロックを施行する場合には、その後の血中濃度の経時変化を考慮し、観察継続時間をブロックの種類に応じて変える必要がある。このため、ブロック手技ごとに血中局所麻酔薬濃度の推移を知ることは非常に有用である。加えて、長時間作用型局所麻酔薬であるレボブピバカインは比較的新しい局所麻酔薬であるため、その薬物動態についての知見は極めて少なく、TAPブロックとRSブロックについての報告もない。そこで今回われわれは、レボブピバカインを用いたTAPブロックおよびRSブロック施行後の血中レボブピバカイン濃度の推移を比較検討した。

【方法】腹腔鏡手術が予定されている婦人科良性疾患患者を対象として、ランダムにTAPブロック施行群（TAP群）とRSブロック施行群（RS群）に分けた。両群とも局所麻酔薬としてレボブピバカイン2.5 mg/kgを使用した<sup>3</sup>が、TAPブロックでは計40 mlになるように生理食塩液を用いてレボブピバカインを希釈して使用した。ブロック施行15, 30, 60, 120分後に静脈血を採血し、血漿中レボブピバカイン濃度を測定した。統計学的検定にはBonferroniのpost hoc検定を用いたtwo way repeated-measures analysis of varianceを用いた。患者背景や手術に関する比較には、項目に応じてt検定もしくはMann-Whitney U検定を用い、有意水準は0.05未満とした。また、得られた血中濃度から非線形回帰を行い、最高血中濃度（maximum plasma concentration : Cmax）および最高血中濃度を示す時間（time-to-reach Cmax : Tmax）を求めた。

【結果】50人が検討対象となり、各群の患者背景に有意差は認めなかった。群間比較ではブロック施行15分後と30分後の血中濃度はTAP群で有意に高かった。群内比較ではTAP群においてブロック15, 30, 60分後の血中濃度に有意差を認めなかったが、RS群では15, 30, 60分後の血中濃度に有意差を認めた。一方で、測定された血中濃度の最高値は各群で有意差を認めなかった。非線形回帰により求めた各群のCmaxおよびTmaxはTAP群では1.05 µg/mlおよび32.4分であり、RS群では0.95 µg/mlおよび60.9分であった。

【考察と結論】血中局所麻酔薬濃度の上昇速度にこのような差が生じる原因として、TAPブロックでは局所麻酔薬が神経血管面に注入されるため薬剤が血中に吸収されやすく、RSブロックでは比較的血管の少ない腹直筋後方の筋膜面に注入されるため薬剤の吸収が緩徐であるという可能性が考えられる。本研究はレボブピバカインを用いてTAPブロックとRSブロック後の血中レボブピバカイン濃度を測定・比較した最初の報告である。血中レボブピバカイン濃度の最高血中濃度到達時間はTAPブロックの方が早かったが、最高血中濃度自体はブロック手技によらず体重当たりの投与量に依存していた。TAPブロックではブロック施行後15分以降の血中濃度上昇がほとんど認められないが、RSブロックでは60分後まで血中濃度が上昇するため中毒の症状出現に長時間注意する必要がある。

いわ さき すすむ  
岩 崎 将

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第547号

学位授与の日付：平成29年3月28日

主 論 文：Characteristic findings of endoscopic retrograde cholangiopancreatography in autoimmune pancreatitis  
(自己免疫性膵炎の ERCP における特徴的な所見)

著 者：Iwasaki S, Kamisawa T, Koizumi S, Chiba K, Tabata T, Kuruma S, Kuwata G, Fujiwara T, Koizumi K, Arakawa T, Momma K, Hara S, Igarashi Y

公 表 誌：Gut Liver 9: 113-117, 2015

## 論文内容の要旨

【背景および目的】自己免疫性膵炎は、血中の immunoglobulin G4 (IgG4) 値の上昇と、病理組織学的に多数の IgG4 陽性形質細胞とリンパ球の浸潤と線維化を認め、ステロイドに劇的に反応することを治療上の特徴とする疾患である。自己免疫性膵炎における症状として最も多いものが胆管狭窄による閉塞性黄疸であり、その多くは下部胆管にみられる。自己免疫性膵炎と膵臓癌の鑑別は、不必要な外科的加療を避けるためにも重要と考えられる。

自己免疫性膵炎では内視鏡的逆行性胆道膵管造影 (endoscopic retrograde cholangiopancreatography : ERCP) による主膵管の不整狭細像が特徴的である。しかし、病変が限局している場合膵臓癌による膵管狭窄との鑑別が困難なことがある。また ERCP による膵管像は自己免疫性膵炎の診断基準においても重要な役割を果たしている。そこで今回、膵頭部に病変を有する自己免疫性膵炎例の主乳頭近傍の膵胆管像に着眼して検討を行った。

【対象および方法】1991～2013年に都立駒込病院で1型自己免疫性膵炎と診断されたのは94名（男性68名、女性26名、平均年齢64歳）であり、computed-tomography (CT) での膵腫大および ERCP での主膵管の不整狭細像は全例に認められた。膵頭部に病変を認めたものは48例あり、そのうち4例は膵管癒合不全の合併を認め、ほかの4例は狭窄が主乳頭より2 cm を超えていたため今回の検討から除外した。残る1型自己免疫性膵炎40例が今回の検討に組み込まれた。そのうち CT で瀰漫性の膵腫大を呈していたものは22例、膵頭部に限局していたものが18例であり、ERCP での膵管不整狭細像は瀰漫性が19例、膵頭部および体部にみられたものが4例、膵頭部に限局していたものが17例であった。この40例の ERCP において、主乳頭近傍の膵管像が乳頭より1.5 cm 内で狭窄を認めないものを main pancreatic duct (MPD) opening sign とし、多くは紡錘形状や嚢状を呈していた。胆管像においても乳頭から1.5 cm 内に狭窄が及んでいないものを common bile duct (CBD) opening sign とした。また、内視鏡像での乳頭観察において乳頭腫大を26例に対して行い、21例に対して、IgG4 陽性形質細胞浸潤の確認のため乳頭からの生検を施行した。統計学的解析はカイ2乗検定を用い、 $p < 0.05$  を有意差とした。

【結果】膵管造影では40例全例に膵頭部の主膵管狭細像を認めたが、そのうち26例で MPD opening sign がみられた。この40例のうち、胆管像が得られた34例中32例で下部胆管狭窄を認めたが、そのうち25例では CBD opening sign が認められた。MPD opening sign を呈するものは高頻度で CBD opening sign も呈していた ( $p = 0.018$ )。

乳頭腫大は26例中14例にみられたが、MPD opening sign との相関は見られなかった ( $p = 0.69$ )。組織学的なリンパ形質細胞性の炎症細胞浸潤は生検を得た21例中11例にみられたが、こちらも MPD opening sign との相関は見られなかった ( $p = 0.38$ )。

【考察】今回40例の膵頭部に病変を有する自己免疫性膵炎において、開口部より1.5 cm で主膵管狭細像が見られない、MPD opening sign を呈するものが65%にみられた。また、同様に開口部より1.5 cm で下部胆管狭窄のない CBD opening sign の見られたものが78%であった。MPD opening sign がみられるものは、CBD opening sign が有意差をもって高頻度に認められた。

自己免疫性膵炎の組織学的特徴は著明な IgG4 陽性形質細胞浸潤、膵腺房の萎縮、花筵状線維化、閉塞性静脈炎である。膵管狭窄は膵管周囲の弾性線維層における炎症細胞浸潤での非閉塞性線維化によっておきており、膵管上皮は保たれていることが多い。乳頭部のリンパ形質細胞性浸潤は膵頭部の炎症から連続していることが知られているが、強い線維化は組

織学的にも見られていない。膵管開口部および下部胆管は十二指腸壁内にあり、また Oddi 括約筋に囲まれている。剖検による膵膨大部括約筋長は  $11.4 \pm 4.1$  mm と報告されているため MPD opening sign を開口部より 1.5 cm としている。今回の検討から自己免疫性膵炎の患者において開口部近傍の膵管および下部胆管が保たれていることは、リンパ形質細胞性の炎症反応浸潤は存在しているが、開口部近傍の膵胆管が乳頭括約筋に囲まれているため強い線維化が起きていないためと考えた。

【結論】膵頭部に病変の及んでいる自己免疫性膵炎において、乳頭近傍の主膵管および下部胆管は狭窄が見られないことが頻繁にあり、ERCP での自己免疫性膵炎の診断に有用と考えられた。

や べ たか ゆき  
矢 部 敬 之

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第 548 号

学位授与の日付：平成 29 年 3 月 28 日

主 論 文：Same or different drug-eluting stent re-implantation for drug-eluting stent restenosis:  
An assessment including second-generation drug-eluting stents  
(薬剤溶出性ステント再狭窄に対する同一もしくは異なった薬剤溶出性ステント再留置：  
第二世代薬剤溶出性ステントを含めた検討)

著 者：Yabe T, Toda M, Nakanishi R, Saito D, Watanabe I, Okubo R, Amano H, Ikeda T

公 表 誌：J Interv Cardiol 29: 311-318, 2016

## 論文内容の要旨

【背景および目的】現在、狭心症に対する経皮的冠動脈形成術は主に薬剤溶出性ステント (drug-eluting stent: DES) の時代でありベアメタルステント (bare metal stent: BMS) よりステント内再狭窄 (in-stent stenosis: ISR) や標的病変再血行再建術 (target lesion revascularization: TLR) を有意に減らし治療の幅がさらに広がっている。しかし少なからず DES の再狭窄 (DES-ISR) は存在しておりその治療成績は BMS-ISR より不良であることが知られている。近年、本邦でも ISR の再治療として薬剤コーティングバルーン (drug-coated balloon: DCB) の使用が承認され使用可能となっている。DCB は ISR に対してステントを 2 重に留置することを防ぎステント血栓症の発症も抑えられると考えられてきたが、最近の randomized clinical trials の結果からは DES-ISR に対する DES 再留置と DCB 使用の治療成績には有意差がなく、ステント血栓症発症率も有意差は認められていないのが現状である。このことから DES-ISR の治療戦略ははまだ確約されたものではなく議論され続けている。一方で現在の DES は第一世代 DES が終焉し第二世代 DES の時代である。現在までに DES-ISR にステント再留置を施行する際に同一もしくは異なった第二世代 DES を留置するべきかどうかを議論した長期成績の報告はないため、今回われわれは第二世代 DES を含めた長期成績の検討を行った。

【対象および方法】2006 年 1 月～2013 年 5 月に東邦大学医療センター大森病院で DES-ISR に DES を再留置した連続 80 症例 89 病変を対象とし、そのうち同一の DES を留置した 24 症例 25 病変 (Homo-stent group) と異なった DES を留置した 56 症例 64 病変 (Hetero-stent group) の 2 群に群分けし比較検討した (観察期間:  $45.1 \pm 21.2$  カ月)。評価項目は患者背景、病変背景、手技背景、定量的冠動脈造影 (quantitative coronary angiography: QCA)、心血管死、標的血管再血行再建 (target vessel revascularization: TVR)、非致死的心筋梗塞を含めた主要心血管イベント (major adverse cardiac event: MACE) とステント血栓症とした。さらに DES-ISR に対して同一の第二世代 DES を留置した群 (12 症例 12 病変) と異なった第二世代 DES を留置した群 (36 症例 40 病変) でサブ解析を施行した。

【結果】患者背景に 2 群間に有意差は認めなかった。病変背景では第二世代 DES の ISR は Homo-stent group が 48.0%、Hetero-stent group が 26.6% と有意差はなく ( $p=0.053$ )。その他再狭窄パターンや病変枝数、冠動脈石灰化の有無や慢性完全閉塞病変に 2 群間に有意差はなかった。手技背景において第二世代 DES 使用率は Homo-stent group で 48.0%、Hetero-stent group で 62.5% であり有意差は認めなかった ( $p=0.212$ )。QCA データでは術前、術後、遠隔期の最小血管径や狭窄率に有意差はなく、遠隔期の再狭窄率は Homo-stent group で 27.7%、Hetero-stent group で 13.2% と有意差は認めなかつ



た ( $p=0.154$ ) が、遠隔期内腔損失 (late lumen loss) は Hetero-stent group で有意に良好であった ( $0.38 \pm 0.74$  mm vs.  $0.86 \pm 1.03$  mm,  $p=0.036$ )。ステント血栓症は観察期間中に発症はなく、1, 2 年の TVR 発生率は Homo-stent group で有意に多く認めた (1 年: 28.0% vs. 9.3%,  $p=0.025$ ; 2 年: 32.0% vs. 10.9%,  $p=0.017$ ) が、70 カ月観察期間内の Kaplan-Meier 法における MACE 発生に有意差は認めなかった (log rank  $p=0.165$ )。DES-ISR に対して第二世代 DES のみを用いて治療したサブグループにおけるサブ解析では 30 カ月観察内の Kaplan-Meier 法における MACE 発生は Homo-stent group で有意に高く (log rank  $p=0.036$ )、late lumen loss も有意差は認めないものの Hetero-stent group で良好な傾向を認めていた ( $0.35 \pm 0.75$  mm vs.  $0.65 \pm 1.37$  mm,  $p=0.452$ )。

【考察】DES-ISR の原因としてはステント拡張不十分や過拡張、ステントフラクチャー、血管壁への不十分圧着といったメカニカルな要因とポリマーの破壊や薬剤抵抗性といった薬剤特有の因子が考えられている。薬剤特有の因子が ISR の原因と考えるならば再治療に対しては同一の DES よりも異なった DES を留置することにより新生内膜が抑制され再狭窄を防げる可能性があり、本研究においても薬剤の変更によって新生内膜抑制のための代替機構が生じ、遠隔期の late lumen loss が有意に抑えられたと考えられる。同様の多くの研究は主に第一世代 DES を再留置した検討であり臨床成績に統計学的有意差は示されていない。本研究では DES-ISR 全症例の 60% に第二世代 DES を用いて再治療を施行していた。第二世代 DES はステントのプラットフォームやポリマー、薬剤の改良を得て炎症性変化や慢性過敏反応、内皮機能障害の減少をもたらし、第一世代 DES より臨床成績を良好にさせた。

【結語】本研究においてわれわれは DES-ISR に対して異なった DES 再留置は late lumen loss や TVR が同一の DES 再留置より有意に良好な結果が得られ、さらにサブ解析において世代の違う DES、さらに異なった第二世代 DES 再留置が同一のステント再留置よりも長期の MACE 発生率を有意に抑えると報告した。

しら とり ふみ あき  
白 鳥 史 明

学位の種類: 博士 (医学) 学位番号: 甲第 549 号

学位授与の日付: 平成 29 年 3 月 28 日

主 論 文: Serum galectin-1 autoantibodies in patients with hepatocellular carcinoma  
(肝細胞癌患者における血性 galectin-1 自己抗体の解析)

著 者: Shiratori F, Shimada H, Nagata M, Kubota Y, Otsuka Y, Kaneko H

公 表 誌: Toho J Med 2: 67-72, 2016

## 論文内容の要旨

【背景および目的】肝細胞癌は予後不良な癌の 1 つである。その一因として、肝細胞癌の早期発見の難しさが関係していると考えられている。肝細胞癌の予後を改善するためには早期発見をすることが重要であると考えられる。現在のところ肝細胞癌の腫瘍マーカーとしては alpha-fetoprotein (AFP), protein induced by vitamin K absence or antagonist-II (PIVKA-II) といったものが使用されている。これら従来の血清マーカーは、肝細胞癌の早期の段階では陽性となりにくい。近年、さまざまな immunoglobulin G (IgG) 自己抗体が癌患者血清中の腫瘍関連抗原に早期から応答することが報告されている。既に血清 p-53 自己抗体が食道癌などで保険適応となっており早期診断の一役を担っていると考えられている。その中でわれわれは galectin-1 に注目した。これまでにもさまざまな癌患者において galectin-1 の発現が認められたとの報告が散見されている。肝細胞癌患者においても galectin-1 の発現が認められるとの報告例が認められている。しかし、現在のところ肝細胞癌患者において血清 galectin-1 自己抗体との関連性を検討した報告例は認められない。そのため、今回われわれは肝細胞癌患者における血清 galectin-1 自己抗体の解析を行うこととした。

【対象および方法】Galectin-1 抗原を精製し enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 抗原に使用した。この ELISA キットを用いることで、肝細胞癌患者 117 例と健常者 72 例の血清 galectin-1 自己抗体を解析した。健常者対照群 72 例の抗体価 mean + 3 standard deviation (SD) (0.162) を基準値として、基準値以上を陽性と判定した。血清 galectin-1 自己抗体と臨床病理学的意義を検討した。また、血清 galectin-1 自己抗体と既存の腫瘍マーカーである AFP と PIVKA-II との

関連性、また血清 galectin-1 自己抗体と AFP または PIVKA-II を組み合わせることで診断率が上昇するかどうかを検討した。

【結果】血清 galectin-1 自己抗体の陽性率は健常者で 10% (7/72)、肝細胞癌患者で 25% (29/117) となり有意差が認められた ( $p$  value < 0.001)。血清 galectin-1 自己抗体陽性例と陰性例を比較検討したところ、性別・年齢・hepatitis B virus (HBV) 感染・hepatitis C virus (HCV) 感染・stage (tumor・mode・metastasis (TNM) 分類) との間にも有意差は認められなかった。また、血清 galectin-1 自己抗体と既存の腫瘍マーカーである AFP と PIVKA-II との間にも関連性は認められなかった。さらに、既存の腫瘍マーカーと血清 galectin-1 自己抗体を組み合わせることでの腫瘍の検出率に関する有意差は認められなかった。

【結論】健常者群に比べ肝細胞癌患者群で血清 galectin-1 自己抗体価が有意に高いことが認められた。このことから肝細胞癌患者に血清 galectin-1 自己抗体が存在することが確認された。血清 galectin-1 自己抗体と腫瘍進行度 (Stage) との間には統計学的には有意差は認められなかったものの、腫瘍の進行に伴い血清 galectin-1 自己抗体の陽性率は上昇する傾向であることが認められた。肝細胞癌の進行に関連して galectin-1 が関連している可能性があるのではないかと考えられる。また、血清 galectin-1 自己抗体と既存の腫瘍マーカーの組み合わせに関しても統計学的には有意差は認められなかったものの、陽性率は上昇するため、血清 galectin-1 自己抗体を既存の腫瘍マーカーと併用して使用することで早期の肝細胞癌の検出率を向上させる可能性があるのではないかと考えている。

今回は検討症例が少ないため有意差が認められなかった可能性は否定できず、今後さらに症例を増やして検討していきたいと考えている。

しん どう えみ こ  
進 藤 恵実子

学位の種類：博士 (医学) 学位番号：甲第 550 号

学位授与の日付：平成 29 年 3 月 28 日

主 論 文：The growth factor midkine may play a pathophysiological role in rheumatoid arthritis  
(成長因子ミッドカインは関節リウマチの病態形成に関与する)

著 者：Shindo E, Nanki T, Kusunoki N, Shikano K, Kawazoe M, Sato H, Kaneko K, Muraoka S,  
Kaburaki M, Akasaka Y, Shimada H, Hasunuma T, Kawai S

公 表 誌：Mod Rheumatol 27: 54-59, 2017 (Doi: 10.1080/14397595.2016.1179860)

## 論文内容の要旨

【背景および目的】ヘパリン結合能をもつ成長因子であるミッドカイン (midkine: MK) は腫瘍細胞に発現し、その増殖や浸潤に寄与する。これまで MK には、細胞増殖作用、アポトーシス抑制作用、血管新生作用、炎症細胞の遊走作用、制御性 T 細胞の分化抑制作用が報告されている。関節リウマチ (rheumatoid arthritis: RA) の関節滑膜組織では、滑膜細胞の増殖、炎症細胞浸潤、炎症メディエーターの産生、血管新生がみられる。そのため RA 滑膜組織でも MK が病態に関与している可能性があり、実際、RA 患者で血清 MK 値の上昇が報告されている。そこで、血清 MK 値と RA 疾患活動性との関連、および MK の RA 病態形成への関与の解明を目的として本研究を行った。

【対象および方法】RA 患者 146 名、健常群 85 名から横断的に末梢血を採取し、血清 MK 濃度を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) で測定した。

【結果】RA の血清 MK 値は健常群よりも高値であった (RA:  $787.7 \pm 68.8$  (平均  $\pm$  標準偏差), 540.8 (391.7-781.1) (中央値 (四分位範囲)), 健常群:  $373.6 \pm 15.1$ , 334.4 (284.8-426.1) pg/ml,  $p < 0.0001$ )。また、RA 患者の血清 MK 値は、RA の疾患活動性 (disease activity score (DAS) 28-erythrocyte sedimentation rate (ESR)), 身体機能評価 (health assessment questionnaire: HAQ), リウマトイド因子 (rheumatoid factor: RF) と有意な相関を認めた。顕微鏡的多発血管炎 (n=3), 成人スチル病 (n=2), 全身性エリテマトーデス (n=3), 多発性筋炎 (n=2) においても血清 MK 値を測定したが、健常群と比較して有意な違いを認めなかった。RA 患者 4 人に対し、抗 tumor necrosis factor-alpha (TNF $\alpha$ ) 抗体で

あるインフリキシマブ (infliximab : IFX) 投与後の血清 MK 値の推移を観察した。IFX 投与後 C-reactive protein (CRP), ESR は低下し, 血清 MK 値も低下傾向となった。

次に, 人工膝または股関節置換術時に得られた RA および変形性関節症 (osteoarthritis : OA) の余剰滑膜組織を用いて, ヤギ抗ヒト MK ポリクローナル抗体により免疫染色を行った。RA 滑膜組織では, 滑膜表層細胞に強く MK の発現を認めた。一方, OA の滑膜組織では MK の発現はほとんどみられなかった。また, RA 滑膜組織より滑膜線維芽細胞 (rheumatoid synovial fibroblasts : RSFs) を樹立し, 48 時間 MK で刺激し, 培養上清中の interleukin-6 (IL-6), IL-8, chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2), chemokine (C-X3-C motif) ligand 1 (CX3CL1), prostaglandin E2 (PGE2) の濃度を ELISA で測定した。MK 刺激により, RSFs からの IL-6, IL-8, CCL2 の産生が有意に増加した。PGE2 産生には有意な変化はなく, CX3CL1 は測定感度以下であった。RSFs において, MK 受容体候補分子である anaplastic lymphoma kinase, protein tyrosine phosphatase, receptor type Z1, Notch2, low-density lipoprotein (LDL) receptor-related protein 1 (LRP1) の発現を reverse transcription Polymerase chain reaction (RT-PCR), ウェスタンブロッティングで解析したところ, Notch2 および LRP1 の messenger ribonucleic acid (mRNA), また LRP1 の蛋白発現を認めた。

【考察】 RA 患者の血清 MK 値は, RA 疾患活動性と相関し, また IFX 治療により低下したことより, RA の疾患活動性マーカーとなると考えられる。さらに HAQ とも相関することより, RA の予後不良の指標にもなる可能性がある。血清 MK 値は, RF との相関も認めたが, RF は RA 予後不良因子として広く知られている。血清 MK 値のこれらの指標としての有用性をさらに検討するためには, 今後多数例での前向き研究が必要である。また, RA 滑膜組織で MK が発現しており, MK 刺激により RSFs より IL-6, IL-8, CCL2 産生が誘導された。IL-6 は免疫細胞に広く作用するものであり, その阻害薬が RA 治療に用いられている。IL-8, CCL2 細胞遊走に関与するケモカインであり, RA 滑膜組織への炎症細胞浸潤に寄与すると推測されている。今回, RSFs に MK 受容体候補分子の LRP1 の発現を確認したことから, MK は LRP1 を介して RSFs を刺激し, IL-6, IL-8, CCL2 産生を誘導することにより, RA の病態形成に関与していると考えられた。

【結語】 血清 MK 値は RA 疾患活動性及び予後不良因子としての指標となり, また MK は炎症メディエーター産生により RA の病態形成に関与することが見いだされた。

りーしゃん うる くらいし  
Reeshan ul Quraish

学位の種類 : 博士 (医学) 学位番号 : 甲第 551 号

学位授与の日付 : 平成 29 年 3 月 28 日

主 論 文 : p27<sup>KIP1</sup> loss promotes proliferation and phagocytosis but prevents epithelial-mesenchymal transition in RPE cells after photoreceptor damage  
(p27<sup>KIP1</sup> の欠損により視細胞傷害後の網膜色素上皮細胞の増殖と貪食が促進され, 上皮間葉転換が抑制される)

著 者 : Ul Quraish R, Sudou N, Nomura-Komoike K, Sato F, Fujieda H

公 表 誌 : Mol Vis 22: 1103-1121, 2016

## 論文内容の要旨

【背景および目的】 p27<sup>KIP1</sup> (p27) はサイクリン依存性キナーゼ (cyclin-dependent kinase : CDK) 阻害因子の 1 つであり, 核内でサイクリン-CDK 複合体に結合することで細胞周期を抑制し, 細胞周期からの脱出と分化の促進に作用することが知られている。しかし, 現在では細胞周期制御以外にも細胞骨格, 細胞移動, 転写, 上皮間葉転換等, 細胞のさまざまな機能の制御に関与していることが報告されている。p27 は神経網膜および網膜色素上皮の正常な発生に必須な因子であるが, 成熟した網膜色素上皮における役割は不明である。p27 が成熟した網膜色素上皮の維持と機能にどのような役割を果たしているのかを明らかにするために, p27 欠損マウスを用いて, 視細胞傷害に伴う網膜色素上皮の反応が p27 の欠損によりどのような影響を受けるかを検討した。

【対象および方法】 野生型 (C57BL/6J) マウスと p27 ノックアウト (knock out : KO) マウスにアルキル化剤

N-methyl-N-nitrosourea (MNU) を腹腔内投与し、視細胞変性を誘導した。MNU 投与後の各ステージでマウスの眼球を固定し、クリオスタット切片を作成して、bromodeoxyuridine (BrdU) アッセイ、免疫蛍光染色、terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) アッセイを行い、共焦点レーザー顕微鏡を用いて解析した。さらに野生型の網膜色素上皮を初代培養し、p27 タンパクの局在変化を解析した。

【結果】野生型と KO マウスのいずれにおいても MNU 投与後に視細胞特異的な変性が認められた。野生型では網膜色素上皮の増殖はほとんど認められなかったが、KO マウスでは MNU 投与後 2 日において約 16% の網膜色素上皮細胞で BrdU の取り込みが認められた。KO マウスの網膜色素上皮は MNU 投与後に異常な突起を外顆粒層に向けて伸ばし、死んだ視細胞の外節や TUNEL 陽性の視細胞の細胞体を貪食しているのが観察されたが、このような異常な突起や細胞体の貪食は野生型では認められなかった。KO マウス網膜では野生型と比較して変性した視細胞がより早く除去されたが、マクロファージ系の細胞数は野生型と KO 網膜で大差はなく、KO 網膜において網膜色素上皮の貪食能がより活性化されていることが示唆された。KO マウスの網膜色素上皮細胞では MNU 投与後、ミオシン軽鎖のリン酸化が増加し、活性化したアクチン-ミオシン複合体がファゴソームの表面にリクルートされているのが観察された。p27 は RhoA を不活性化することにより細胞骨格の制御に関わることが知られており、網膜色素上皮の細胞骨格制御の異常が貪食能の活性化を引き起こしている可能性が示唆された。また、野生型の網膜色素上皮細胞は視細胞変性後に正常な上皮構造を失い、 $\alpha$  平滑筋アクチンの発現増加、閉鎖帯タンパク質 ZO-1 の発現低下など、上皮間葉転換を示す所見が認められたが、このような変化は KO マウスでは認められなかった。正常な網膜色素上皮細胞では p27 は核のみに局在を認めたが、MNU 投与後に上皮間葉転換を示した網膜色素上皮細胞では核と細胞質の両方に p27 の発現が観察された。また網膜色素上皮を初代培養すると、細胞体の肥大化、 $\alpha$  平滑筋アクチンの発現増加、ZO-1 の発現低下など、上皮間葉転換が認められたが、ここでも同様に p27 が細胞質に観察された。従って、p27 タンパク質の細胞質への移行が網膜色素上皮の上皮間葉転換に関与している可能性が示唆された。

【結語】p27 の欠損により、視細胞変性後の網膜色素上皮細胞の増殖と貪食が促進され、一方上皮間葉転換は抑制されることが明らかとなった。従って、p27 が網膜傷害に対する網膜色素上皮のさまざまな反応を制御し、網膜色素上皮の機能および維持に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

なか むら たか ひろ  
中 村 孝 裕

学位の種類：博士(医学) 学位番号：甲第552号

学位授与の日付：平成29年3月28日

主 論 文：Asian dust and pediatric emergency department visits due to bronchial asthma and respiratory diseases in Nagasaki, Japan

(長崎市における黄砂と気管支喘息や呼吸器疾患による小児救急受診との関連)

著 者：Nakamura T, Hashizume M, Ueda K, Shimizu A, Takeuchi A, Kubo T, Hashimoto K, Moriuchi H, Odajima H, Kitajima T, Tashiro K, Tomimasu K, Nishiwaki Y

公 表 誌：J Epidemiol 26: 593-601, 2016 (DOI: 10.2188/jea.JE20150309)

## 論文内容の要旨

【背景および目的】黄砂は中国大陸内陸部のタクラマカン砂漠やゴビ砂漠などで巻き上げられた土壌・鉱物粒子が偏西風によって東アジアの広範囲に飛来し、大気中に浮遊あるいは降下する現象である。日本では大陸に近い西日本ほど多く観測される。年間を通して日本に飛来しているが、2月ごろから増加し始め、4月ごろがピークとなっている。小児は成人に比較して脆弱で大気汚染などに対する感受性が高いと考えられるが、黄砂曝露による小児の呼吸器疾患への影響はいまだ十分に明らかではない。本研究では、長崎市夜間急患センター受診小児のデータを用いて、黄砂と小児気管支喘息やそれを含む呼吸器疾患による救急外来受診との関連について検討を行った。

【方法】2010年3月～2013年9月に長崎市夜間急患センターを受診した小児の匿名化された診療録を用いた。本センター

は長崎市中心部に位置し、夜間や休日に市内全域の小児を対象とした長崎市内唯一の一次医療機関である。診療録に記載された病名に基づき2種類の病名群を定義した。気管支喘息をはじめ、喘息発作などの病名が記載されている喘息発作とこれに上気道炎や気管支炎といった感冒や肺炎を含む呼吸器疾患である。なお、インフルエンザウイルスやマイコプラズマ、respiratory syncytial (RS) ウイルスといった特定の病原体による感染症に基づく病名が記載されている場合には対象に含めなかった。黄砂曝露は長崎市から約30 km離れた大村市に設置されたLight Detection and Ranging (LIDAR) 観測に基づいて行った。一般的に排ガス由来などの粒子状の大気汚染物質は球形であるが、黄砂粒子は球形ではない。LIDARは、この形状の違いを判別できるため、肉眼では区別できない黄砂と黄砂以外の大気汚染物質等の粒子状物質を判別して観測することが可能となる。また他の大気汚染データとしてSO<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、Ox濃度については、長崎市内4箇所の一般環境大気汚染局の平均値を使用し、気温および相対湿度は長崎海洋気象台のデータを使用した。主たる解析は黄砂が多く飛散する3~5月に限定して行った。年齢については0~5歳までの未就学児と6~15歳までの学童児に分類した。黄砂と救急受診の関連はtime stratified ケースクロスオーバー解析を行い、関連の強さはオッズ比と95%信頼区間(confidence interval: CI)により示した。この解析は、夜間救急外来を受診した日付をケース日とし、同じ年、同じ月の同じ曜日をコントロール日として比較するデザインである。さらに共変量として気温や相対湿度を調整した基本モデルに加え大気汚染物質についてもさらに調整を行った。

【結果】対象期間の救急受診は気管支喘息756件とそれを含む呼吸器疾患5421件で、黄砂日は47日であった。学童児は、黄砂日から3日後と4日後の気管支喘息による救急受診のオッズ比はそれぞれ1.837(95%CI: 1.212-2.786), 1.829(1.179-2.806)と上昇していた。一方で未就学児は黄砂日当日、翌日、2日後にかけて関連がみられ、オッズ比はそれぞれ1.244(1.128-1.373), 1.314(1.189-1.452), 1.273(1.152-1.408)であった。これらの関連は気象因子や他の大気汚染物質で調整後も同様に統計学的に有意であった。

【考察】黄砂曝露による小児の呼吸器への影響が示唆された。関連は学童児と未就学児で異なり気管支喘息は学童児で関連が強く3日後から4日後との遅延性の影響を示唆し、呼吸器疾患については未就学児で関連が強く当日から2日後との即時性の影響を示す結果であった。気管支喘息発作の誘発には黄砂粒子の気道への刺激だけでなく、人為起源の大気汚染物質である硫酸イオン、硝酸イオンなどや真菌などの微生物などが黄砂粒子に付着していることが報告されている。これがアレルギー反応を誘発し気道の炎症を惹起している可能性も考えられている。学童児は屋外での活動時間に依存し黄砂曝露が増加する。また服薬コンプライアンスが十分でない可能性がある。これらは気管支喘息発作の起きやすい状態を示している。また未就学児と比較して、救急外来での診断が気管支喘息やそれに準じた病名になりやすいことも考えられる。学業などの理由で体調が悪くなったその日に必ずしも医療機関を受診することが少ない可能性や重症度判断を誤ることで日中に受診せず、夜間へかけて受診する可能性が考えられる。また成長に伴い呼吸機能は増加し、それだけ解剖生理学的にも予備能が増し、喘息症状を自覚しても我慢できる可能性も考えられる。未就学児については、学童児と比較して呼吸器の解剖生理学的特徴から急激に悪化する可能性が高いことや自覚症状を訴えることが困難でかつ周囲も他覚的に評価が難しいことが、早期に救急外来を受診する理由と考えられる。また未就学児は学童児に比べ気管支喘息の診断が困難であり、医師は気管支喘息の診断ではなく呼吸器疾患と診断する可能性が高いと考えられた。

【結語】学童児では気管支喘息による救急受診が黄砂曝露から3、4日後に増加し、未就学児では黄砂曝露から0から2日後に上気道炎を含めた呼吸器疾患受診との関連が示唆された。