

学位（博士）授与の記録

きむらたくま
木村琢磨

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第485号

学位授与の日付：平成25年4月25日

主論文：Factors associated with communication between doctors and patients' families without patient during home medical care
(在宅医療において「患者を除いた家族と医師のみのコミュニケーション」が実施される背景因子に関する検討)

著者：Kimura T, Imanaga T, Matsuzaki M

公表誌：Nippon Zaitaku Igakukai Zasshi 15: 7-18, 2013

論文内容の要旨

【目的】「患者を除いた家族と医師のみのコミュニケーション」(doctor-familycommunication without patient: DFC without patient)は、家族が医師と、患者の前で言い難い内容をやり取りする上で臨床的に重要である。しかし、DFC without patientが、在宅医療で実施される背景は不明である。本研究の目的は、在宅医療でDFC without patientが実施される背景を検討することである。

【方法】1) 対象：2006年5月～2011年4月に独立行政法人国立病院機構東埼玉病院内科・総合診療科で訪問診療を行った323名の患者のうち、「訪問診療時に家族の同席があった」「看取り時を除いて3回以上の診療」「永眠後50日以上」の全てに該当する患者295名の主介護者である家族を対象とした。

2) 調査方法：無記名の自己記入式質問紙票による調査を、2011年6～7月に郵送法で行った。質問紙票には「患者背景」「家族背景と介護状況」「診療中のコミュニケーション」に関する53の質問項目を含んだ。本研究の調査対象となるDFC without patientの実施については、「これまで家族と医師のみでやりとりした経験がありますか」について「経験がある」「経験がない」の二段階で尋ねた。また、患者の基礎データを、診療録から抽出した。

3) 解析方法：本研究の解析対象は、先行研究に基づき、調査対象295名のうち「患者が永眠し訪問診療が終了している患者の家族」で、DFC without patientの有無、患者背景（年齢、性別、要介護度、頓服薬の有無、悪性疾患か否か、医師の説明の理解度、難聴の有無）、家族背景と介護状況（年齢、性別、患者と家族の関係が配偶者であるか否か、在宅ケア経験の有無、患者に関する疑問や不安の有無、医師からの電話での説明経験の有無）に関する13項目の全てに欠損値がない場合のみとした。

統計解析は、まずDFC without patient実施の有無別に13項目に対して単変量解析を行った。検定は、名義変数には χ^2 乗検定を、順序尺度にはウィルコクソンの符号順位和検定を、連続変数には t 検定を用いた。つぎにDFC without patientを従属変数としたロジスティック回帰モデルを作成しオッズ比(odds ratio: OR)と95%信頼区間(95% confidence interval: 95%CI)を算出した。多変量解析は、上記の13項目のうち、単変量解析で $p < 0.1$ の有意水準でDFC without patientの実施と関連がみられた説明変数を選択し強制投入法で行い、有意水準は5%とした。

【結果】1) 記述統計：調査対象295名のうち、同意が得られなかった17名と、連絡先が不明であった7名を除いた271名に質問紙票を発送し、227名の家族から回答を得た(回収83.8%)。解析対象の基準を満たす家族は147名であった。

147名の家族の平均年齢は 63 ± 11.0 歳、男性41名(27.9%)、女性106名(72.1%)であり、家族が患者の配偶者が61名(41.5%)、非配偶者が86名(58.5%)であった。

家族が介護していた患者147名の平均年齢は 77 ± 13.5 歳、男性76名(51.7%)、女性71名(48.3%)であり、基礎疾患は悪性疾患67名(45.6%)、非悪性疾患80名(54.4%)であった。介護保険における日常生活自立度の中間値はB2で、認知機能の中間値はI、介護度の中間値は要介護3、頓服薬を使用中が121名(82.3%)、非使用中が26名(17.7%)あった。

DFC without patientについては、「経験がある」が105名(71.4%)、「経験がない」が28名(28.6%)であった。

2) 単変量解析：13項目のうち、 $p < 0.1$ の有意水準でDFC without patientの実施と関連がみられた説明変数は、「基礎疾患が悪性腫瘍であること」「頓服薬を使用中」「要介護度」「家族の年齢」「家族が患者の配偶者であること」の5項目であった。

3) 多変量解析：5項目を投入したところ、DFC without patientの実施と有意に関連がみられた説明変数は、「頓服薬があること」(OR: 3.571, 95%CI: 1.275-10.011)であった。一方、「家族が患者の配偶者であること」は、DFC without patientが実施されないことと有意に関連がみられた (OR: 0.369, 95%CI: 0.142-0.958)。

【考察および結語】：訪問診療でDFC without patientが実施される背景として「頓服薬があること」が、実施されない背景として「家族が患者の配偶者であること」が明らかになった。頓服薬の使用法を医師が家族に説明していることや、訪問診療で患者の主介護者が配偶者の場合には「隠し事をしたくない」と考えている可能性が示唆された。

きた はら けん
北 原 健

学位の種類：博士(医学) 学位番号：甲第486号

学位授与の日付：平成25年5月23日

主 論 文：Cardiohemodynamic and electrophysiological effects of anti-influenza drug oseltamivir
in vivo and *in vitro*
(抗インフルエンザ薬オセルタミビルの心行動態および電気生理学的作用—*In vivo*と
*in vitro*での評価—)

著 者：Kitahara K, Nakamura Y, Tsuneoka Y, Adachi-Akahane S, Tanaka H, Yamazaki H,
Takahara A, Yamazaki J, Ikeda T, Sugiyama A

公 表 誌：Cardiovasc Toxicol 13: 234-243, 2013

論文内容の要旨

オセルタミビルはインフルエンザ感染に対して有効な選択的ノイラミニダーゼ阻害薬である。発売当初は循環器・精神・呼吸器系へのリスクはないとされていたが、異常行動の他にソタロール内服中にオセルタミビル投与中の患者でQT間隔延長からtorsads de pointesに至った2例が報告された。このことから、オセルタミビル投与と心臓突然死の関連を検証するため、ハロセン麻酔イヌ (n=4) を用いてオセルタミビルの電気薬理学的作用をピルジカイニドと比較し検討した。オセルタミビル (0.3, 3, 30 mg/kg i.v.) およびピルジカイニド (1, 3 mg/kg i.v.) をイヌに累積的に投与した。ハロセン麻酔イヌでは、低用量のオセルタミビルは臨床的に適切な血漿中濃度である C_{max} : 4 μM を示した。低用量および中用量のオセルタミビルは心拍出量を増加させ、中用量では血圧を上昇させ心房内伝導と心室再分極を遅延させた。高用量のオセルタミビルは陰性変時、変伝導、変力作用と血圧低下作用を示し、心房内、房室結節、心室内伝導と心室再分極を遅延させた。ピルジカイニドもオセルタミビルとほぼ同様の電気薬理学的作用を示した。しかし、ピルジカイニドの心室再分極遅延は逆頻度依存性であったがオセルタミビルでは頻度依存性であった。また、ピルジカイニドと比較してオセルタミビルは心室内伝導よりも心房内伝導をより選択的に抑制した。そこでオセルタミビルの心房に対する作用を検討するため、モルモット摘出左房 (n=5) を用いた活動電位の分析を行った。オセルタミビル (10 μM) はピルジカイニド (10 μM) より V_{max} を減少させた。また、オセルタミビル (10-100 μM) は活動電位持続時間を延長したが、この作用はピルジカイニド (1-10 μM) では見られなかった。以上より、臨床用量からその10倍までのオセルタミビルは比較的安全であり、10~100倍の用量では頻度依存性の心室再分極時間延長作用および、心房内伝導時間により選択的な抑制作用という固有の電気生理学的性質を有することが明らかとなった。

かぶら き まこと
 鏑 木 誠

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第487号

学位授与の日付：平成25年5月23日

主 論 文：Expression and function of chemerin in synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis

（関節リウマチにおける chemerin の発現と作用）

著 者：Kaburaki M, Kusunoki N, Takahashi H, Tsuchiya K, Kawai S, Endo H

公 表 誌：J Med Soc Toho 60: 3-14, 2013

論文内容の要旨

【背景】Chemerin は脂肪細胞が分泌する生理活性物質であるアディポカインの1つであり、G 蛋白結合型受容体の chemerin 受容体 ChemR23 に結合し作用する。Chemerin は、脂肪細胞の前駆細胞から脂肪細胞への分化に関係するなどの代謝系への影響とともに、ケモカインとして免疫疾患の病態に関与する可能性も報告されているが、chemerin/ChemR23 システムの関節リウマチ（rheumatoid arthritis：RA）の滑膜炎の病態形成における意義についての詳細な解析の報告はない。

【目的】本研究では、RA 滑膜組織と対照としての変形性関節症（osteoarthritis：OA）滑膜組織における chemerin およびその受容体 ChemR23 の発現と作用について検討した。

【対象および方法】対象は東邦大学医療センター大森病院で治療を受けた RA 患者 20 名と OA 患者 10 名で、RA 患者は American College of Rheumatology（ACR）診断基準を満たしたものとした。本研究は東邦大学医学部倫理委員会の承認を受け、文書同意を得て東邦大学医療センター大森病院にて施行された人工関節手術時に得られた滑膜組織を用いた。RA および OA 滑膜組織より total RNA を分離したのち、cDNA を作成し chemerin と ChemR23 の mRNA 発現を reverse transcription-polymerase chain reaction（RT-PCR）および real time PCR を用いて測定した。また免疫組織化学法を用い滑膜組織の chemerin の発現分布を同定した。また RA、OA 滑膜組織から滑膜細胞を分離培養し、培養滑膜細胞を用いて chemerin と ChemR23 発現と chemerin による滑膜細胞からの matrix metalloproteinase（MMP）の産生誘導を検討した。

【結果】RA 患者滑膜組織の chemerin mRNA は、OA よりも 3.01 ± 3.84 倍強く発現していた。免疫組織化学では chemerin は表層単球細胞や滑膜内線維芽細胞に発現し、また血管内皮細胞にも僅少な発現を認めた。RA 患者滑膜組織の ChemR23 mRNA は、OA と比較して 2.43 ± 2.95 倍強く発現していた。免疫組織化学の検討では、OA 滑膜組織でも表層細胞に発現を軽度認めた。RA 培養滑膜細胞において、インターロイキン-1 β あるいは腫瘍壊死因子 α により濃度依存的に chemerin と ChemR23 mRNA の発現を誘導した。Chemerin は RA 滑膜細胞の MMP-1、MMP-3、MMP-13 mRNA 発現を誘導し、培養上清中に MMP-1 活性の増加が確認できた。一方、MMP-2、tissue-inhibitor of metalloproteinases（TIMP）-1、TIMP-2 mRNA の発現誘導は認められなかった。また、chemerin による MMP-1、-3 および -13 の発現誘導は extracellular signal-regulated kinase 1/2（ERK1/2）阻害薬と Akt 阻害薬によって抑制された。

【結語】Chemerin と ChemR23 は RA 滑膜組織において炎症病態によって発現誘導される。また、chemerin は ChemR23・ERK-1/2 を介して RA 滑膜細胞の MMP-1、MMP-3、MMP-13 産生を誘導した。これらの成績は、chemerin および ChemR23 は RA 治療の新規の標的となる可能性を示唆するものである。

むら おか せい
村 岡 成

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第488号

学位授与の日付：平成25年5月23日

主 論 文：Leptin stimulates interleukin-6 production *via* janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 in rheumatoid synovial fibroblasts
(Leptin は JAK2/STAT3 を介して関節リウマチ患者滑膜細胞の IL-6 産生を増加させる)

著 者：Muraoka S, Kusunoki N, Takahashi H, Tsuchiya K, Kawai S

公 表 誌：Clin Exp Rheumatol 31: 589-595, 2013

論文内容の要旨

【背景】腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor- α : TNF- α)、インターロイキン (interleukin: IL)-1 β や IL-6 などの炎症性サイトカインは関節リウマチの病態形成に主要な役割を担っており、近年になりこれらの阻害薬は強力な抗リウマチ薬として目覚ましい進歩を遂げている。しかしながら、これらをもってしても治癒には至らず、無効な症例が少なからず認められる。レプチンは *ob* 遺伝子の産物で、ほとんどが脂肪細胞により産生されるペプチドホルモンである。レプチンの機能としては食欲やエネルギー消費を調節する一方で、炎症や自己免疫に寄与することも示唆されている。血清レプチン濃度が、健常者より関節リウマチ患者において有意に高いことを当教室で報告してきた。そこで、本研究では関節リウマチ患者から得られた滑膜線維芽細胞の培養系に対するレプチンの直接作用を検討した。

【目的】本研究では、関節リウマチ滑膜線維芽細胞における炎症性サイトカイン産生に及ぼすレプチンの影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】本研究は東邦大学医学部倫理委員会の承認を受け、人工膝関節置換術を施行する関節リウマチ患者より同意を得た上で、手術時に得られた滑膜の余剰組織を研究に用いた。滑膜組織から定法により得た滑膜線維芽細胞を培養した。逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (reverse transcription-polymerase chain reaction: PCR) にて、関節リウマチ滑膜線維芽細胞のレプチン受容体メッセンジャー RNA (mRNA) 発現を検討した。レプチン 0-300 nM を添加した関節リウマチ滑膜線維芽細胞における TNF- α 、IL-1 β と IL-6 の mRNA 発現を、リアルタイム PCR を用いて測定した。関節リウマチ滑膜線維芽細胞の培養上清中の TNF- α 、IL-1 β と IL-6 のタンパク濃度は酵素結合免疫吸着測定法 (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA) キットを用いて測定した。レプチン受容体に対する低分子干渉 (small interfering) RNA (siRNA) や、ヤヌスキナーゼ (janus kinase: JAK) 2 阻害剤、ホスファチジルイノシトール-3 キナーゼ (phosphatidylinositol 3-kinase: PI3K) 阻害剤、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (mitogen-activated protein kinase: MAPK) 阻害剤を用いて滑膜線維芽細胞における IL-6 産生に及ぼす影響を検討した。レプチン受容体下流の転写因子であるシグナル伝達性転写因子 (signal transducer and activator of transcription: STAT) 3 のリン酸化に対するレプチンの影響をウエスタンブロット法にて検討した。

【結果】関節リウマチ滑膜線維芽細胞にはレプチン受容体 mRNA が存在した。関節リウマチ滑膜線維芽細胞にレプチンを添加すると、濃度依存的に IL-1 β 、IL-6 の mRNA 発現は増加した。関節リウマチ滑膜線維芽細胞の培養上清において、添加したレプチン濃度に依存して IL-6 のタンパク産生が増加した。一方で、IL-1 β のタンパク産生は認められなかった。レプチンにより促進された IL-6 産生は、レプチン受容体に対する siRNA により減少した。また、関節リウマチ滑膜線維芽細胞における STAT3 のリン酸化は、レプチン濃度依存的に亢進したが、この作用は IL-6 を介していなかった。レプチンにより促進された IL-6 産生は JAK2 阻害剤により減少したが、PI3K 阻害剤と MAPK 阻害剤では有意な変化は認めなかった。

【結語】レプチンは関節リウマチ滑膜線維芽細胞において JAK2/STAT3 の活性化を介して、IL-6 産生を増加させた。これよりレプチンは炎症に寄与しているものと考えられた。関節リウマチ治療において、レプチンと JAK/STAT 経路は新しい治療標的になる可能性が示唆された。

こう やま ゆう いち
神 山 裕 一

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第489号

学位授与の日付：平成25年5月23日

主 論 文：Molecular characterization of carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter* spp. in Japan: Pre-dominance of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal complex 92 and IMP-type metallo- β -lactamase-producing non-*baumannii* *Acinetobacter* species

（本邦におけるカルバペネム非感受性アシネトバクター属菌の分子疫学調査：クローナルコンプレックス92に属する多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* とIMP型メタロ β ラクタマーゼを産生する non-*baumannii* アシネトバクター属菌の本邦における分離状況）

著 者：Kouyama Y, Harada S, Ishii Y, Saga T, Yoshizumi A, Tateda K, Yamaguchi K

公 表 誌：J Infect Chemother 18: 522-528, 2012

論文内容の要旨

【背景および目的】アシネトバクター属菌はさまざまな薬剤耐性機構を持ち、カルバペネムによる治療が推奨される菌である。しかしながら近年、多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) による難治感染症の報告が欧米をはじめアジア諸国においても急速に拡大している。特にクローナルコンプレックス (clonal complex: CC) 92 と呼ばれる共通した遺伝背景をもつ一群が各国から分離されている。

本邦においてはアシネトバクター属菌に対する十分な疫学調査は行われていない。その要因として、アシネトバクター属菌は臨床で行われる生化学的な特徴に基づく方法では菌種同定が困難であり、分子疫学的手法が要求される。また、アシネトバクター属菌の主要カルバペネム耐性因子である OXA 型カルバペネマーゼの検出を日常検査で実施することは困難である。

以上の背景から本研究ではカルバペネム非感受性アシネトバクター属菌に対し、分子疫学的手法を用いた同定を行い、さらに OXA 型カルバペネマーゼについての検討を行い、本邦における過去の疫学報告と、近年の各国の疫学情報と比較した。

【方法】供試菌株には2007年に行われた全国サーベイランスで集められた598株のアシネトバクター属菌を用いた。菌の同定は生化学的同定に加え、菌の16SrDNAの切断パターンに基づいた amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) を行い genomic species に至る同定を行った。菌の遺伝的背景は DNA 切断パターンに基づくパルスフィールドゲル電気泳動法 (pulsed-field gel electrophoresis: PFGE) と7つの保有遺伝子のシーケンス配列に基づく multilocus sequence typing (MLST) を用いて確認した。産生する β ラクタマーゼはPCRを用いて遺伝子とプロモーターの存在を確認した。

【結果】2007年に臨床分離されたアシネトバクター属菌598株のうち、27株(4.5%)がカルバペネムに非感受性を示した。この27株について詳細な研究を行った結果、菌種の内訳は、*A. baumannii* が14株、*A. calcoaceticus* が4株、*A. nosocomialis* が4株、*A. pittii* が3株、*A. lwoffii* が2株であった。

薬剤感受性試験ではカルバペネム非感受性アシネトバクター属菌27株はいずれもセフェム系の β ラクタムに低い感受性を示した。一方でアンピシリン・スルバクタム合剤に対してはカルバペネム非感受性の *A. baumannii* では感受性が低く、non-*baumannii* に分類されるアシネトバクター属菌では感受性が保たれていた。カルバペネム非感受性の *A. baumannii* 14株中13株がCC92に属し、プロモーターを有する挿入配列、IS*Aba1* 配列の下流にカルバペネム分解酵素をコードする *bla*_{OXA-51-like} 遺伝子を保有していた。また、*bla*_{OXA-51} ファミリーに属する新規配列 *bla*_{OXA-206} を発見した。カルバペネム非感受性 *A. baumannii* 14株はPFGEにより2つのグループに分類され、そのうち一方は *bla*_{OXA-51-like} 遺伝子に加えて *bla*_{OXA-23} を有していた。CC92に属さない *A. baumannii* 1株は *bla*_{OXA-58} 遺伝子と *bla*_{IMP-1} 遺伝子を保有していた。non-*baumannii* に分類されるアシネトバクター属菌では、13株中12株がIMPタイプのメタロ β ラクタマーゼを産生していた。

【結語】各国で臨床問題となっている *A. baumannii* と遺伝背景を同一にする *A. baumannii* が本邦においても確認され、その主なカルバペネム耐性機構として OXA 型カルバペネマーゼを産生していることが確認された。一方で non-*baumannii*

は全国から分離されており、そのカルバペネム耐性にはメタロ型βラクタマーゼが関与していた。また、カルバペネム非感受性 *A. baumannii* と non-*baumannii* のアシネトバクター属菌ではアンピシリン・スルバクタム合剤への感受性に差があり治療方法の差別化が必要なことが示唆された。

われわれの研究は日本で分離されたカルバペネム非感受性を示すアシネトバクター属菌に対し、菌の genomic species に及ぶ詳細な分類を基に、分子疫学調査を全国規模で行った初めての報告である。

いとうしんや
伊藤慎也

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第497号

学位授与の日付：平成26年3月25日

主論文：Occupational stress among healthcare workers in Japan
(日本の医療従事者における職業性ストレス)

著者：Ito S, Fujita S, Seto K, Kitazawa T, Matsumoto K, Hasegawa T

公表誌：Work (DOI: 10.3233/WOR-131656)

論文内容の要旨

【背景】医療従事者のストレスが強いことは多くの研究で報告されている。職業性ストレスの増加はバーンアウトや精神疾患等の原因となり、医療従事者自身の quality of life (QOL) の低下だけでなく、患者に提供するサービスの質の低下につながる事が報告されている。しかし、日本において医療従事者を対象とした職業性ストレスに関する大規模調査は少なく、その特徴は十分に明らかにされていない。本研究の仮説は、医療従事者は他産業従事者よりも職業性ストレスが強いこと、患者と直接接する医療従事者は直接接しない職種よりも職業性ストレスが強いことの2点である。本研究は、医療従事者の職業性ストレスの強さを明らかにすること、医師、看護スタッフ、事務職員の比較により各職種のストレス特性を明らかにすることを目的とした。

【方法】本調査では、2000年に下光ほかが作成した職業性ストレス簡易調査票を用い、20病院（急性期病院：14施設、ケアミックス病院：3施設、療養型病院：3施設）の医療従事者を対象に自記式無記名のアンケート調査を実施した。職業性ストレス簡易調査票は、『ストレス要因（9因子17項目）』『ストレス反応（6因子29項目）』『修飾要因（4因子11項目）』から構成され、各因子得点が高いほどストレスが強いことを示す。職種別に総合健康リスク値を算出し、他産業の労働者の値と比較したほか、各因子得点の職種間比較を行った。総合健康リスク値とは、『ストレス要因』の12項目から算出し、仕事のストレス要因から予想される疾病休業などの健康問題が生じるリスク値のことである。標準集団（他産業従事者）の平均を100点とし、総合健康リスク値が高いほど、健康リスクが標準集団よりも高いことを示す。各因子得点の職種間比較には分散分析を用いた。

【結果】医療従事者11694名を対象に調査を実施し、半分以上の設問に回答した9137名（有効回答率78.1%）の回答を解析対象とした。職種別の回答数は、医師655名（7.2%）、看護スタッフ5121名（56.0%）、事務職員は1269名（13.9%）、その他が2092名（22.9%）であった。総合健康リスク値の平均値は、全医療従事者109点、医師91点、看護スタッフ113点、事務職員107点であった。各因子得点の職種間比較では、医師は事務職員よりも仕事の量的・質的負担度へのストレスが強く（ $p<0.01$ ）、看護スタッフや事務職員よりも仕事のコントロール感へのストレスが弱く（ $p<0.01$ ）、上司や同僚のサポートが得られていると感じ（ $p<0.01$ ）、看護スタッフや事務職員よりもストレス反応が弱かった（ $p<0.05$ または $p<0.01$ ）。看護スタッフは事務員よりも仕事の量的・質的負担度に強いストレスを感じていたが（ $p<0.01$ ）、医師と比べて上司や同僚から十分なサポートが得られていないと感じ（ $p<0.01$ ）、医師や事務職員よりもストレス反応が強かった（ $p<0.01$ ）。事務職員は医師や看護スタッフよりも上司や同僚から十分なサポートを得ていないと感じていたが（ $p<0.01$ ）、医師や看護スタッフと比べて有意に量的・質的仕事の負担度へのストレスが弱かった（ $p<0.01$ ）。事務職員のストレス反応は、全項目において医師よりも強く（ $p<0.01$ ）、看護スタッフよりも弱かった（ $p<0.05$ または $p<0.01$ ）。

【考察】医師は労働時間が長く、患者の生死に関わる治療判断が必要なことなどから、仕事の量的・質的負担度に強いス

ストレスを感じていると考えられる。しかし、仕事のコントロール感や社会的サポートが得られているため、ストレス反応が弱いと考えられる。仕事の量的・質的負担へのストレスの強さは、スイスや中国の先行研究結果と同様であるが、社会的サポート水準は先行研究よりも日本の方が優れていた。看護スタッフは夜勤や交代勤務があること、身体負荷活動が多いことなどから、仕事の量的・質的負担度に強いストレスを感じていると考えられる。医師と比べて社会的サポートが得られていないと感じているため、ストレス反応が強いと考えられた。看護スタッフの仕事の量的・質的負担へのストレスの強さは、先行研究結果と同様であった。事務職員は患者との直接接触がなく、夜勤や交代勤務等がないことなどから、仕事の量的・質的仕事の負担度に強いストレスを感じていないと考えられる。事務職員の仕事の量的・質的負担度が医師や看護スタッフよりも弱いという結果は、先行研究の結果と同様であった。

【結語】医療従事者の健康問題リスクは他産業従事者よりも約10%強く、患者と直接接触する医師や看護スタッフは仕事の量的・質的負担度に対するストレスが強かった。職種ごとにストレスメカニズムが異なるという結果より、医療従事者のリスク低減にはそれぞれ異なる対策が必要であることが示唆される。今後は、医療従事者の職業性ストレスのメカニズムを明らかにすること、他にどのような要因が職業性ストレスの要因になっているのかを検討することが必要と考えられる。

は が か よ こ 芳 賀 香 代 子

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第498号

学位授与の日付：平成26年3月25日

主 論 文：Cost of illness of the stomach cancer in Japan—a time trend and future projections
(日本における胃がんの疾病費用 (Cost of illness)—時系列分析と将来推計)

著 者：Haga K, Matsumoto K, Kitazawa T, Seto K, Fujita S, Hasegawa T

公 表 誌：BMC Health Serv Res 13: 283, 2013

論文内容の要旨

【目的】胃がん (ICD10 コード：C16) は、わが国において、悪性新生物の中でも特に高い死亡率・罹患率を示してきたが、近年になって死亡率が低下してきた。しかしながら、2009年の部位別がん死亡率では男性が肺がんに次ぐ2位、女性が大腸がん・肺がんに次ぐ3位といまだ高い死亡率である。胃がんは高齢層で罹患率の高い疾患であり、その社会的負担は社会の高齢化とともに変化することが予想される。胃がんの経済評価に関する先行研究は、直接治療にかかる医療費のみの推計や、社会的負担については単年の推計に留まり、社会的負担の長期的視点での検討や将来予測を行ったものはない。本研究では、胃がんによる疾病費用 (cost of illness: COI) を継時的に推計し、将来予測まで含めた変化を概観することによって、胃がんの社会に与える負担の変化とその要因を明らかにすることを目的とする。

【方法】官庁統計データを基に、COI法を用いて1996、2002、2008年の継時的推計および2014、2020年の将来推計を行った。COIは、直接費用と間接費用（罹病費用・死亡費用）により構成される。直接費用は医療費を用い、間接費用は疾病や死亡によって失われた機会費用として、外来・入院延べ日数や死亡者数と労働価値との積算によって、罹病費用および死亡費用を算出した。将来推計では、健康関連指標（死亡率・人口当たり外来回数・人口当たり入院回数・平均在院日数）を2008年の数値に固定し、人口の高齢化のみを考慮した固定型推計と、健康関連指標が1996～2008年間と同じベースで変動すると仮定した変動型推計の2通りの推計を行った。変動型推計では健康関連指標の将来推計値を対数近似・線形近似から算出して対数型推計・線形型推計・混合型推計（指標により対数・線形のいずれか決定係数の高いほうを採用）の3モデルによる推計を試みた。4つの将来推計のうち、混合型がもっとも妥当性が高く、他の3つの推計は参考値と考えられる。

【結果】COIの継時的推計では、1996年1兆2935億円、2002年1兆2344億円、2008年1兆1142億円と減少した。同様に、罹病費用も1996年856億円から2008年540億円、死亡費用も9723億円から8064億円と減少した。死亡費用がCOIの大きな部分を占めており（2008年においては72.4%）、COIの変化に最も寄与する要因と考えられ、死亡費用の減少が

COIの減少に繋がったと考えられた。1996～2008年の死亡数は各年約50000人と大きな変化がないが、死亡に占める65歳以上の割合の増加、平均死亡年齢の高齢化が見られ、一人当たり死亡費用は1940万円から1610万円に減少した。

将来推計では、COIは、固定型推計では増加するが、変動型推計では減少することが予測された（2020年COI推計値は、モデルにより4428億円～1兆561億円）。混合型推計では、COIは2014年7812億円、2020年4845億円と減少し、死亡数・直接費用・罹病費用・死亡費用の全てにおいて2008年から一貫して減少した。2020年の65歳以上の死亡割合は91.8%、平均死亡年齢は79.1歳と高齢化し、一人当たり死亡費用は951万円と減少を示した。

【考察】高齢者層で死亡率が高い胃がんでは、社会の高齢化は死亡数の増加を通じて死亡費用を増加させる要因となる一方で、一人当たりの人的資本価値を低め、死亡費用を減少させる要因ともなる。よってCOIはそのバランスに影響される。継時的推計でのCOIの減少は、平均死亡年齢の高齢化により、一人当たり死亡費用が減少し、死亡費用が減少したことが優位に作用したためであると考えられる。固定型将来推計では、2008～2020年で、死亡者数が31.9%の増加と算出されているにもかかわらず、死亡費用は5.6%の増加にとどまった。一方、混合型将来推計では、2008～2020年で死亡者数が25.1%減少、死亡費用は55.6%の減少であった。死亡者数の減少は、医療技術の進歩などによる致命率の低下を反映し、また、平均死亡年齢の高齢化による人的資本価値の低下が、死亡費用の減少につながったと考えられる。COIの変動には、高齢化に伴う高齢患者の増加による人的資本価値の低下の影響が大きいことが示唆された。健康関連指標の推移には、平均在院日数短縮や死亡率低下をもたらし医療供給体制や医療技術の変化の影響も示唆される。近年は医療体制が大きく変化した時期であり、健康関連指標の推移が今後も同じペースで継続するという仮定に基づく結果の解釈には慎重を要するが、変動型推計の3モデル全てにおいてCOIは減少することが示された。

【結語】1996～2008年の継時的推計では、胃がんのCOIは減少傾向にあることが示された。また、現在の健康関連指標の推移が継続すると仮定した場合、胃がんのCOIは今後減少すると推計された。COIに影響を与える要因として「高齢化」「医療供給体制の変化」「医療技術の変化」が考えられるが、特に、高齢化に伴う人的資本価値の減少の影響が大きいことが明らかになった。本研究の結果は、疾病対策の優先順位を論ずる際に応用することができると考えられる。

いの うえ やす ひろ
井 上 泰 裕

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第499号

学位授与の日付：平成26年2月27日

主 論 文：内側型変形性膝関節症における脛骨関節面の変形と骨代謝の関係

著 者：井上 泰裕，中村 卓司，宮崎 芳安，青木 秀之，塚越 実，土谷 一晃

公 表 誌：東邦医会誌 60: 267-275, 2013

論文内容の要旨

【目的】近年、骨粗鬆症の指標として骨代謝マーカーが用いられるようになり、骨代謝異常を変形性関節症の発症増悪因子とする報告が散見される。今回われわれは閉経後の変形性膝関節症患者を対象として、膝関節変形と骨代謝動態の関係について検討した。

【対象と方法】変形性膝関節症と診断された閉経後女性273例を対象とした。年齢は53～93歳、平均75.8歳、body mass index (BMI)は16.2～37.3 kg/m²、平均24.8 kg/m²であった。

対象を骨代謝高回転型、骨吸収亢進型、骨代謝正常型の3群に分類し、腰椎骨密度 (DXA法)、骨代謝マーカー、膝関節X線Grade、脛骨内顆関節面の陥凹距離を測定し比較検討した。骨代謝マーカーは骨吸収マーカーとして尿中デオキシピリジノリン (DPD)、骨形成マーカーとして血中骨型アルカリフォスファターゼ (BAP) をEIA法で計測した。DPDは破骨細胞、BAPは骨芽細胞の働きを反映するが、リモデリングでは破骨細胞による骨吸収が先行し、骨芽細胞による骨形成と時間差が生じるため、DPDのcut off値 (7.6 nmol/mmol・Cr) を基準に骨吸収亢進型と骨代謝正常型に分け、さらに骨吸収亢進型のうち、BAPのcut off値 (29.0 U/I) 以上を骨代謝高回転型として、計3群に分類した。膝関節X線Gradeの分類には、Kellgren & LawrenceのGrade分類 (KL分類) を用いた。また、膝関節変形の指標として膝関節正面の単

純 X 線像を用い、脛骨軸に垂直で脛骨顆間隆起中央点を通過する線と脛骨軸に垂直で脛骨内顆関節面の最遠位端を通過する線の間を脛骨内顆関節面の陥凹距離と定義し測定した。

【結果】KL 分類の内訳は Grade 1・43 例, Grade 2・74 例, Grade 3・47 例, Grade 4・109 例であった。年齢は Grade 1・平均 73.3 歳, Grade 2・75.3 歳, Grade 3・76.2 歳, Grade 4・76.9 歳であり, 年齢と Grade の間に有意差は認めなかった。BMI は Grade 1・平均 22.3 kg/m², Grade 2・24.0 kg/m², Grade 3・25.9 kg/m², Grade 4・25.9 kg/m² であり, BMI の増加に伴い有意に Grade の進行がみられた。骨密度は Grade 1・平均 0.84 g/cm², Grade 2・0.89 g/cm², Grade 3・0.90 g/cm², Grade 4・0.91 g/cm² であり, Grade と骨密度の間に有意差は認めなかった。

骨代謝回転型は骨代謝高回転型が 57 例, 骨吸収亢進型が 81 例, 骨代謝正常型が 135 例であった。年齢は骨代謝高回転型・平均 74.9 歳, 骨吸収亢進型・77.0 歳, 骨代謝正常型・75.4 歳であり, 年齢と骨代謝回転の間に有意差は認めなかった。BMI は骨代謝高回転型・平均 25.3 kg/m², 骨吸収亢進型・24.6 kg/m², 骨代謝正常型・24.8 kg/m² であり, BMI と骨代謝回転の間に有意差は認めなかった。骨密度は骨代謝高回転型・平均 0.87 g/cm², 骨吸収亢進型・0.93 g/cm², 骨代謝正常型・0.90 g/cm² であり, 骨代謝回転と骨密度の間に有意差は認めなかった。脛骨内顆関節面の陥凹距離は骨代謝高回転型・平均 11.4 mm, 骨吸収亢進型・9.8 mm, 骨代謝正常型・9.5 mm であり, 骨代謝高回転型が骨代謝正常型に比し有意に大きかった。

【考察】今回われわれは, KL 分類と骨代謝回転型においてそれぞれ対象を分類した。KL 分類においては BMI と Grade の進行に有意な関係を認め, BMI の高い症例では荷重負荷により関節軟骨が摩耗し, Grade が進行することが示唆された。一方, 骨代謝回転型では 3 群間で BMI に有意差を認めず, 肥満の影響を除き, 骨代謝動態を中心に脛骨内顆関節面の陥凹距離を比較することができた。その結果, 脛骨内顆関節面の陥凹距離は骨代謝高回転型が骨代謝正常型に比し有意に大きく, 骨吸収亢進型は骨代謝正常型と有意差を認めなかった。これは骨代謝動態が骨吸収の亢進状態ではなく, 骨代謝回転の亢進状態において有意に脛骨内顆関節面が陥凹していたことを示しており, 骨吸収の亢進状態がある一定期間継続することで全身的な骨脆弱性を来し膝関節の変形が進行したと考えられた。骨のリモデリングは荷重に対して適応する生体反応であり, 骨強度を維持するためには適切な骨代謝動態にあることが重要である。骨代謝回転の亢進状態では骨強度が低下し, 膝関節が変形しやすい環境になることが示唆された。

まる やま ひろ こ
丸 山 博 子

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第 500 号

学位授与の日付：平成 25 年 3 月 25 日

主 論 文：Impact of manipulation of energy substrates on sinus nodal rhythm
(洞結節リズムに対するエネルギー基質の影響)

著 者：Maruyama H, Ito M, Goda N, Adachi-Akahane S

公 表 誌：J Med Soc Toho 61: 13-23, 2014

論文内容の要旨

心臓の高いエネルギー需要は, 複数のエネルギー基質を adenosine triphosphate (ATP) 産生に利用できる代謝調節により満たされている。生理的条件下では, 心臓で産生される ATP の 60~80% は脂肪酸 β 酸化により産生され, 残りはグルコースや乳酸などの炭水化物とケトン体の酸化から得られている。本研究の目的はエネルギー基質が洞房結節（洞結節）リズムに及ぼす影響を明らかにすることである。マウスの摘出心筋筋の自発的な拍動数を, 37°C に保温し酸素飽和させた改変 Tyrode 溶液中で静止張力を掛けて測定した。以下の 3 種類のエネルギー基質の条件で心筋筋の拍動数を比較検討した。① 10 mM のグルコースと 0.4 mM パルミチン酸（コントロール群）, ②グルコースを 5 mM に半減（低グルコース群）, ③パルミチン酸を除去（脂肪酸欠損群）。

低グルコース群では, コントロール群に比べて拍動数は有意に低かった。脂肪酸欠損群においても, コントロール群に比して拍動数は有意に低かった。エネルギー基質を欠損させると拍動数が低くなるという結果を得たことから, エネルギー

基質の変化が心房筋のエネルギー代謝に及ぼす影響を明らかにするために、3群間における心房筋の代謝産物をメタボローム解析により網羅的に測定した。解糖系とクエン酸回路の代謝産物のレベルは3群間で差はみられなかった。ATPレベルについては、低グルコース群ではコントロール群よりも低かった。コントロール群と低グルコース群においては、拍動数とATPレベルは正の関係を示した。一般的に adenosine disphosphate (ADP)/ATP 比は心筋細胞のエネルギー状態を示し、この値が大きいと、ATPの供給が低下しているか、もしくはATPの消費が亢進していることを意味する。コントロール群と低グルコース群においては、拍動数が低下するとADP/ATP比は大きくなる傾向にあった。一方、脂肪酸欠損群のATPレベルはコントロール群と同程度であった。意外なことに、コントロール群と脂肪酸欠損群においては、拍動数とATPレベルに負の関係がみられた。拍動数とADP/ATP比の間には相関はみられなかった。以上の結果から、低グルコース群における拍動数の低下は、ATP供給の不足に起因した結果と考えられた。一方、脂肪酸欠損群における拍動数の低下は、ATP供給の不足に起因しない他のメカニズムによる結果と考えられた。

次に低酸素によるエネルギー代謝の変化が洞結節のペースメーカー活動に及ぼす影響を評価した。酸素飽和させた改変Tyrode溶液中で摘出心房筋の拍動数を安定化させた(酸素化条件)。酸素投与を10分間中止した(低酸素条件)後、100%酸素を20分間再投与した(再酸素化条件)。コントロール群では、低酸素条件において、拍動数が時間依存性に減衰した。再酸素化により酸素化条件と同程度まで拍動数は回復した。低グルコース群では、低酸素条件において、拍動数はコントロール群とほぼ同等のレベルまで低下したが、再酸素化による回復は悪かった。低グルコース群ではエネルギー代謝における脂肪酸 β 酸化の寄与が大きくなるが、脂肪酸はエネルギー効率がグルコースよりも低いため拍動数の回復が低下したものと推測された。一方、脂肪酸欠損群では、低酸素条件において、拍動数はコントロール群に比べて下がりにくい傾向にあったが、10分後にはほぼ同等のレベルまで低下した。再酸素化により拍動数は酸素化条件と同程度まで回復した。心臓では低酸素に曝されると解糖系が亢進する。脂肪酸欠損群では、エネルギー基質は100%グルコースに依存しているため、低酸素刺激下でも洞結節リズムは維持された可能性が考えられた。

次に、酸素化条件および低酸素条件における心房筋のグルコース消費量を測定した。コントロール群では、低酸素条件10分後のグルコース消費量は酸素化条件のグルコース消費量と比べて有意に増加した。低グルコース群では、酸素化条件および低酸素条件において、コントロール群に比べ、グルコース消費量が有意に低かった。低グルコース群では、エネルギー代謝における脂肪酸の β 酸化への寄与が大きくなるため、グルコースの酸化および解糖系が抑制されたと推測された。一方、脂肪酸欠損群では代謝基質は100%グルコースに依存するためグルコース消費量が増加すると予想していたが、意外なことに、酸素化条件におけるグルコース消費量は、脂肪酸欠損群とコントロール群で差がなかった。しかし、低酸素条件では、脂肪酸欠損群はコントロール群よりも早期からグルコース消費量の増加がみられた。通常、低酸素状態において、心臓のエネルギー代謝は脂肪酸 β 酸化から解糖系へシフトする。低酸素暴露により、脂肪酸欠損群においてエネルギー基質がグルコースへシフトしていることが露呈したものと考えられた。コントロール群と低グルコース群では、酸素化条件において拍動数とグルコース消費量に正の関係が認められた。これは拍動数とATPレベルの関係と一致する結果であった。一方、酸素化条件におけるコントロール群と脂肪酸欠損群においては、拍動数とグルコース消費量との間に有意な相関はみられなかった。

以上の結果より本研究において、グルコース代謝により産生されたATPが洞結節リズムの維持に必要であることが明らかになった。また、脂肪酸は、ATP産生とは別の調節機構を介して洞結節の拍動数の制御に関与している可能性を見いだした。洞結節においては、脂肪酸の酸化からグルコースの酸化へエネルギー代謝をシフトさせることにより、ATPの産生効率を確保し、代謝障害から洞結節の機能を保護できるものと考えられる。

たて の ふゆ き
 舘 野 冬 樹

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第501号

学位授与の日付：平成26年3月25日

主 論 文：Levodopa ameliorated anorectal constipation in *de novo* Parkinson's disease: The QL-GAT study
 （レボドパは *de novo* パーキンソン病患者の直腸肛門型便秘を改善する：QL-GAT による検討）

著 者：Tateno F, Sakakibara R, Yokoi Y, Kishi M, Ogawa E, Uchiyama T, Yamamoto T, Yamanishi T, Takahashi O

公 表 誌：Parkinsonism Relat Disord 17: 662-666, 2011

論文内容の要旨

【背景および目的】パーキンソン病（Parkinson's disease：PD）は運動障害をもたらす神経変性疾患として広く知られている。近年、PDが運動以外のさまざまな症状（非運動症状）も有することが知られるようになり、患者の quality of life（QOL）の観点から重要視されている。非運動症状の中で、自律神経障害は、患者の QOL 阻害に加え他の合併症発症に深く関わっている。自律神経障害の中で、特に排便障害は、難治性の便秘に加え、腸閉塞、糞便潰瘍による下部消化管穿孔を起こす場合がある。PDの排便障害機序として、通過遅延型便秘および直腸肛門型便秘が知られているが、PDの運動障害に対する治療薬である levodopa（外因性ドパミン）の下部消化管機能に対する影響は、これまで明らかではなかった。今回、levodopa の PD の下部消化管機能に対する影響を明らかにし、治療管理に役立てることを目的とした。

【対象および方法】対象は未治療の PD 19 名（男性 10 名、女性 9 名、平均年齢 66 歳、平均罹病期間 2.2 年）である。全例が PD の臨床診断基準を満たした。全例に脳 magnetic resonance imaging（MRI）および核医学検査を施行し、パーキンソン症候群を来す疾患を除外した。排便障害を来しうる糖尿病やその他の神経疾患、消化器疾患を有するもの、下部消化管機能に影響する薬剤を内服中のものは除外した。平均 Hoehn-Yahr ステージは 3（1~4）、平均 Unified Parkinson's Disease Rating Scale（UPDRS）Part 3 運動機能は 23（9~30）であり、全員独歩可能である。Levodopa 合剤 200 mg/日の 3 カ月投与前後で、排便障害の問診と定量的排便機能検査（quantitative lower-gastrointestinal autonomic test：QL-GAT）を施行した。なお、研究に先立ち、研究内容を十分に説明し患者から同意を得た。研究は東邦大学医療センター佐倉病院倫理委員会の承認を得ている。

【結果】自覚症状（投与前/投与後）は排便頻度低下（週に 3 回未満、Rome III 基準）13 名/10 名、排便困難 18 名/15 名、便失禁 1 名/なしで levodopa 投与により軽度の改善がみられた。

QL-GAT：1) 大腸通過時間（正常<39 時間）は投与前 49.3 時間/投与後 56.7 時間と延長したが統計的有意差を認めなかった。2) 直腸肛門 videomanometry では安静時肛門内圧は不変、初発便意量の減少（投与前 178.6 ml・投与後 121.3 ml； $p<0.005$ ）、直腸固有収縮の軽度増大（投与前 8.2 cm/H₂O・投与後 10.2 cm/H₂O；統計学的有意差なし、正常値>10 cm/H₂O）、奇異性括約筋収縮（paradoxical sphincter contraction：PSD, anismus）の低下（投与前 +29.7 cm/H₂O・投与後 -7.1 cm/H₂O； $p<0.001$ 、正常値<+10 cm/H₂O）、残便の減少（投与前 142.2 ml・投与後 53.9 ml； $p<0.05$ 、正常値<15 ml）がみられた。

【考察】未治療パーキンソン病患者 19 名に levodopa 200 mg/日を 3 カ月投与後、輸送遅延型便秘は不変だが直腸肛門型便秘が有意に改善した。PD 群と健常群の下部消化管機能の比較では、PD 群で排便回数の低下と排便困難感が 69% に認められ、QL-GAT において大腸通過時間の延長と蓄便/排便時の直腸固有収縮が低下していると報告されている。これは、主に腸管壁内 acetylcholine 作動性神経の機能異常を反映していると考えられる。また安静/排便時の腹圧の低下や、PSD が認められ、これは PD における体性神経の機能異常を反映していると考えられる。また、dopamine transporter KO マウスの検討から、内因性 dopamine 神経は D2 受容体を介し消化管運動を抑制するとされる。一方、外因性 dopamine の消化管運動に対する作用は、抑制と促進とが報告され一定しておらず、PD での作用は十分に明らかにされていなかった。今回のわれわれの検討で直腸肛門型便秘が改善した機序として、QL-GAT を行うと固有収縮の軽度増大/初発便意量減少・

PSD 低下 (残便減少) がみられ, levodopa の下部消化管自律神経, 体性神経の改善作用を表すものと考えられた。

【結語】未治療 PD 患者に levodopa を投与したところ, 直腸肛門型便秘が改善した。この機序として, 固有収縮の軽度増大/初発便意量減少・PSD 低下 (残便減少) がみられるため levodopa の下部消化管自律神経や体性神経への影響を示すと考えられた。未治療パーキンソン病患者の便秘は levodopa で改善する可能性がある。そのため実際の治療においては, 便秘に対する特異的治療を開始する前に levodopa による PD 治療の経過を観察する必要があると考えられた。

うえ の まさ ひろ
上 野 正 浩

学位の種類: 博士 (医学) 学位番号: 甲第 502 号

学位授与の日付: 平成 26 年 3 月 25 日

主 論 文: Changes in *Streptococcus pneumoniae* serotypes in the nasopharynx of Japanese children after inoculation with a heptavalent pneumococcal conjugate vaccine
(小児鼻咽頭における小児肺炎球菌ワクチン接種による肺炎球菌の血清型の変化)

著 者: Ueno M, Ishii Y, Tateda K, Anahara Y, Ebata A, Iida M, Mizuno F, Inamura S, Takahata K, Suzuki Y, Chang B, Wada A, Sugita M, Tanaka T, Nishiwaki Y

公 表 誌: Jpn J Infect Dis 67: 40-43, 2014

論文内容の要旨

小児用 7 価肺炎球菌結合型ワクチン (7-valent pneumococcal conjugated vaccine: PCV7) を接種した小児の鼻咽頭における肺炎球菌血清型の変化を経時的に観察し検討した。PCV7 の接種を目的に受診した, PCV7 未接種者 137 名を対象とした。肺炎球菌の血清型別の同定は国立感染症研究所細菌第一部において荚膜膨張法を用いて行った。PCV7 接種ごとに鼻咽頭培養 (「ワクチン接種中」) を行い, さらに, PCV7 接種スケジュールの最終接種から 2 カ月以上経過した時点で試行した鼻咽頭培養 (「ワクチン接種後」) との, それぞれの時期の肺炎球菌の検出状況を解析した。比率の差の検定にはマクネマー検定を用いた。ワクチン含有血清型 (vaccine-types: VT) の保菌率は「ワクチン接種中」に比して「ワクチン接種後」で有意に低下した (9.5% vs. 2.9%) ($p < 0.01$)。ワクチン非含有血清型 (non vaccine-types: NVT) の保菌率については「ワクチン接種中」と「ワクチン接種後」で有意差を認めなかった (24.1% vs. 23.4%)。VT では, 6B, 14, 19F, 23F が検出された。そのうち 14, 19F, 23F は「ワクチン接種中」では検出されたが「ワクチン接種後」では消失した。一方 6B は, 「ワクチン接種中」と「ワクチン接種後」のいずれの培養においても検出された。その理由としては, PCV7 接種前に 6B を保菌していたことにより免疫不応答が誘導された可能性や, 6B の荚膜自体の構造に起因する好中球貪食能低下の影響が考えられた。この研究は, PCV7 を接種した小児の鼻咽頭における肺炎球菌血清型の変化を前向きに観察し検討した本邦で最初の報告となる。鼻咽頭の保菌に対する PCV7 による防御効果によりワクチン接種後の VT 保菌が減少したと推測された。VT の保菌率低下は, 地域での VT 伝播の減少に通じると考えられた。このため, 地域での NVT による血清型の交代を継続的に注視していくことが重要であると思われた。

きた　その　ひさ　お
北　　菌　久　雄

学位の種類：博士（医学）　　学位番号：甲第503号

学位授与の日付：平成26年3月25日

主　　論　　文：Irbesartanは実験的自己免疫性神経炎を抑制する

著　　者：北菌久雄，萩原 渉，井上 雅史，紺野 晋吾，藤岡 俊樹

公　　表　　誌：神経治療 31: 43-49, 2014

論文内容の要旨

【背景および目的】 Guillain-Barré syndrome (GBS) の実験動物モデルである実験的自己免疫性神経炎 (experimental autoimmune neuritis: EAN) は、末梢神経の構成成分、中でもミエリン蛋白によって実験動物を免疫することにより引き起こすことができる。GBSもEANもともにmacrophageを主体とした単核細胞の末梢神経内血管周囲腔への浸潤が特徴である。EANやGBSの経過中にCC chemokineであるCCL2 (monocyte chemoattractant protein-1; MCP-1) 産生が増加することが知られているが、EAN以外の動物モデルにおいてMCP-1を阻害することで脱髄やmacrophageの末梢神経内浸潤を抑制できることも報告されている。一方、通常は高血圧治療薬として使用されているangiotensin II receptor blocker (ARB) は、免疫介在性末梢神経疾患の抑制と回復促進を誘導する治療法の探索において炎症性伝達物質 (nuclear factor-kappa B: NF- κ B) 抑制作用や視神経再生促進効果が示されている。さらにangiotensin II受容体以外の受容体への結合を分子構造的に検討したところARBの1つであるirbesartan (IRB) はケモカイン受容体であるCC chemokine receptor 2 (CCR2) への効果も併せもっていることが明らかにされた。したがって、IRBがEANに対して抑制効果を有することが予想されるが詳細な検討はなされていない。このような効果がみとめられればGBSなどの自己免疫性炎症性末梢神経疾患に対する安全な治療法開発にもつながると思われる。そこで本研究ではEANラットに対するIRBの効果を検討した。

【方法】 雌Lewis rat (7週齢) の足底に、ウシP2蛋白の一部 (aa.53~78) の合成ペプチド150 μ gを注射しEANを惹起し免疫後2日目から連日IRB (10 mg/kg/日, 3 mg/kg/日)、対照としてamlodipine (AML; 8 mg/kg/日)、vehicle (carboxyl methylcelluloseのみ) を経口投与した (各群n=5)。免疫後連日、尾と後肢と前肢の運動障害スコアの総和 (EAN score 0~9) で運動症状を評価した。臨床症状が改善しEAN scoreの変動がみられなくなった免疫後26日目に馬尾神経を取り出し、ホルマリン固定後パラフィン包埋しS-100とCD68に対する組織学的検索を行った。また、新たにEANラットを作成しIRB高用量投与群、対照としてAML投与群とし、馬尾神経を免疫後7, 11, 14, 21日目にそれぞれ取り出し (各群n=5)、real time polymerase chain reaction (PCR) にて末梢神経内のサイトカイン messenger ribonucleic acid (mRNA) バランスの変化を検討した。House keeping geneであるglyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) 発現量とinterferon-gamma (IFN- γ)、IL-10発現量との比をIRB高用量投与群とAML投与群とで比較した。

【結果】 各群ともに免疫後11日目にEANを発症し14日目付近でピークを迎え軽快した。IRB高用量投与群の重症度は全経過で他群と比較し軽微で、症状悪化期から極期にかけてと回復期において統計的に有意であった。免疫組織学的検討では、S-100が陰性でCD68陽性細胞が浸潤している部分が全ての群において馬尾神経断面内に散在しており、S-100陰性部分とCD68陽性細胞の浸潤部位はほぼ一致していた。CD68陽性細胞が浸潤しているS-100陰性部位が馬尾神経断面積に占める割合は、IRB高用量投与群では他群と比べ有意に少なかった。末梢神経内サイトカイン mRNA バランスの変化の検討では、IFN- γ mRNA の発現は両群ともにEANのピークである免疫後14日目にむけて徐々に増加したが14日目のIRB高用量投与群ではAML投与群に比べ発現の低下が認められた。また、IL-10 mRNA の発現は両群ともに免疫後14日目のみにおいて著明に増加したが、IRB高用量投与群ではAML投与群に比べ発現の増加が認められた。しかし、IFN- γ mRNA とIL-10 mRNA の発現はともに全ての時期で有意差はみられなかった。

【考察】 EANの馬尾神経内では浸潤した活性化Th1細胞がIFN- γ を産生し、IFN- γ はmacrophageを活性化し、最終的に脱髄が生じる。その後にTh2細胞優位へ転換することによりTh1細胞やmacrophageの浸潤が抑制され脱髄の回復が始まると考えられており、極期のIL-10 mRNA の発現の増加が脱髄の回復に関連していると考えられている。今回の結果ではIRB投与によって臨床症状は悪化初期から有意差が認められており、EANの改善にIL-10の発現増加、つまりTh1/

Th2 バランスの Th2 への偏位だけが関連しているとは考えにくい。今回の検討では、症状発現前から IRB が有する多くの機能；NF- κ B 抑制作用などを経由した Th1 細胞の抑制、vitamin-D receptor (VDR) を介した神経保護作用、CCR2b 阻害作用による macrophage の神経内浸潤の抑制が作用していたものと考えられる。

【結論】IRB は EAN ラットの症状を全経過にわたり抑制し、組織学的所見も抑制した。これらは、IRB が EAN ラットの馬尾神経内の IFN- γ mRNA 発現の抑制の他に、CCR2b 阻害作用による macrophage の神経内浸潤の抑制にも強く関与していることが示唆された。今後は、IL-10 以外の Th2 サイトカインや transforming growth factor β (TGF- β) のような Th3 サイトカインが IRB によって増強し全体的に抑制的に働いた可能性も含めさらなる検討が必要である。また、EAN の改善に CCR2b 阻害作用が強く影響していることを確かめるために、IRB 以外の CCR2b 阻害作用のない ARB や特異的な CCR2b 阻害薬を用いた同様の検討を行っていく必要があると考えられる。

あお いけ のぞみ
青 池 望

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第504号

学位授与の日付：平成26年3月25日

主 論 文：Molecular characterization of extraintestinal *Escherichia coli* isolates in Japan: Relationship between sequence types and mutation patterns of quinolone resistance-determining regions analyzed by pyrosequencing

（日本における腸管外大腸菌臨床株の遺伝子学的解析：パイロシーケンスを用いたキノロン耐性決定領域の変異パターン解析結果とシーケンスタイプの相関関係）

著 者：Aoike N, Saga T, Sakata R, Yoshizumi A, Kimura S, Iwata M, Yoshizawa S, Sugasawa Y, Ishii Y, Yamaguchi K, Tateda K

公 表 誌：J Clin Microbiol 51: 1692-1698, 2013

論文内容の要旨

【目的】フルオロキノロン系抗菌薬（fluoroquinolone：FQ）は臨床上有用性が高いため、病原細菌の FQ 耐性化は重要である。腸内細菌科細菌の FQ 耐性機構は標的酵素の変異、薬剤透過性変化、伝達性キノロン耐性遺伝子の3種類が知られている。このうち特に標的酵素の変異が主要である。染色体上にあるキノロン標的酵素遺伝子 *gyrA*, *parC* のキノロン耐性決定領域（quinolone resistance-determining region：QRDR）と呼ばれる領域の変異の数が増すにつれて FQ 耐性度が上昇する。Pyrosequencing 法はリアルタイム塩基配列解析システムの1つで、短いリード長（～40塩基）であれば従来の Sanger 法に比べて迅速、簡便に塩基配列を解析できる。今回われわれは、Pyrosequencing 法を用いた大腸菌の *gyrA* と *parC* の QRDR 変異の評価系を構築し、腸管外大腸菌の臨床分離株の変異を検討した。また、菌株の遺伝的系統解析に用いられる Multilocus Sequence Typing (MLST) 法を実施して sequence type (ST) を決定し、FQ 感受性との相関を検討した。

【方法】大腸菌の *gyrA* と *parC* の既知の塩基配列からプライマーを設計し、Pyrosequencing 法による解析系を構築した。この方法を用いて、2009年に東邦大学医療センター大森病院微生物検査室で連続的に分離された腸管外大腸菌140菌株（血液由来20菌株、尿由来61菌株、痰由来59菌株）について、GyrAの81-87番目、ParCの78-84番目のアミノ酸をコードする QRDR 塩基配列を解析した。結果は Sanger 法結果および FQ の最小発育阻止濃度（minimum inhibitory concentration：MIC）と比較した。薬剤透過性変化の影響は、エフラックスポンプ阻害剤添加による MIC 変化で評価した。伝達性キノロン耐性遺伝子（*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aac(6′)-Ib-cr*）は polymerase chain reaction (PCR) 法で検出した。全140菌株から無作為に選択した34菌株について MLST 法を実施して ST を決定し、キノロン耐性化との関係を検討した。

【結果】全140菌株のうち FQ 耐性株は35菌株（25%）であった。Pyrosequencing 法で139菌株の QRDR 変異が正しく解析可能であった。QRDR 変異数と薬剤感受性に相関がみられた。すなわち、変異がなかった81菌株は FQ であるシプロフロキサシンの MIC が 0.03 μ g/ml 以下、1カ所変異（22菌株）は 0.13～2 μ g/ml、2カ所変異（2菌株）は 2 μ g/ml、

3カ所・4カ所(計35菌株)は8 µg/ml以上であった。エフラックス阻害薬の添加でFQ感受性は変化しなかった。*aac(6')Ib-cr*は2株で検出された。MLST法を実施した34菌株は19のSTに分類された。FQ耐性9菌株は4つのSTに分類され、うち6菌株(67%)がST131であった。一方、FQ感性株25菌株は16のSTに分類された。

【考察】本研究ではPyrosequencing法を用いた大腸菌のQRDR変異解析法を構築した。Pyrosequencingは時間、労力の点でSanger法よりも優れるため、本法は臨床微生物検査室で臨床分離菌株のキノロン耐性の遺伝的解析をより容易に実現する現実的な選択肢になりうると思う。今回の140株の腸管外大腸菌の検討ではFQ耐性菌は全体の25%を占めた。これは本邦の尿由来菌株の報告よりも高く、本研究が喀痰などの尿以外の検体からの分離菌株も対象としていることが一因と推測している。シプロキサシンの大腸菌における現行の耐性ブレイクポイント(MIC 4µg/ml以上)は、遺伝的にQRDRの3カ所以上の変異保有に相当することが確認された。一方、同じ腸内細菌科でサルモネラ属菌では最近、治療失敗例の報告を受けて、同薬の耐性ブレイクポイントはMIC 0.06µg/ml以上に引き下げられ、大腸菌のFQブレイクポイントも現在再検討されている。今回、シプロフロキサシンのMICが0.06µg/ml以上の大腸菌はQRDR変異を1カ所以上有することが確認された。臨床現場でFQのMIC測定域を広げることは現実的な困難を伴うが、本法によるQRDR変異の遺伝的評価はそれを補う役割を果たすと期待される。MLSTを用いた大腸菌の遺伝的系統解析は広く実施されているが、今回の検討結果は対象を薬剤感受性や病原性で限定していない菌株のデータであるという点が貴重である。ST131大腸菌株は世界的に観察される多剤耐性系統として知られる。われわれの検討でもST131はFQ耐性菌株の67%を占めており、本系統の世界的な拡がりが見られた。

【まとめ】Pyrosequencingを用いた簡便なQRDR変異解析システムを構築し、大腸菌臨床分離株を解析した。本法は疫学的解析に有用なツールになることが期待される。