






## 論 文 要 旨

氏 名	川崎 知佳
<b>論文題目</b> (欧文の場合、和訳を付すこと) Lidocaine Enhances Apoptosis and Suppresses Mitochondrial Functions of Human Neutrophils In Vitro (リドカインは In Vitro でヒト好中球のアポトーシスを増強しミトコンドリア機能を抑制する)	
<b>論文要旨</b> (研究の目的) 好中球は、外傷や感染などの侵襲に対する生体防御に必要な自然免疫において重要な役割を果たす。また、ミトコンドリアは ATP の形でエネルギーを産生し、細胞や器官の機能・構造を維持するのに必要な器官である。手術侵襲、麻酔により好中球機能が低下することは知られているが、リドカイン・ロピバカイン・ブピバカインなどの局所麻酔薬による好中球機能変化を細胞内レベルで検討した研究は行われていない。今回の研究目的は、局所麻酔薬がヒト好中球機能に与える影響をミトコンドリア機能の変化、アポトーシス誘導の面から検討することである。 (方法) 健康成人ボランティアの静脈血から分離したヒト好中球に、リドカイン・ロピバカイン・ブピバカインを加えて培養した。局所麻酔薬が好中球機能に与える影響を評価するために、好中球の oxidative burst, 食食能を flow cytometer で測定した。また、好中球ミトコンドリア機能における局所麻酔薬の影響を評価するために、細胞内 ATP 濃度 (bioluminescence assay で測定), ミトコンドリア膜電位 (JC-1 で蛍光染色後 flow cytometer で測定) および好中球のミトコンドリア形態 (Mito Tracker Green FM を用い histochemical staining を行い confocal laser-scanning microscopy で観察) を調べた。局所麻酔薬が好中球アポトーシスに与える影響は、annexin V と propidium iodide を使用して flow cytometer で測定した。ミトコンドリア機能と好中球機能との関係を明確にするために、ミトコンドリア ATPase インヒビターであるオリゴマイシンが好中球機能に与える影響 (好中球をオリゴマイシンと共に培養し、oxidative burst, 食食能、アポトーシス細胞の割合の変化を測定) を調べた。 (結果) リドカイン (400 $\mu$ m) は好中球の oxidative burst および食食能を約 20% 減少させた。ATP 濃度はコントロール好中球に比べてリドカイン処理した好中球の方が低かった。ミトコンドリア膜電位も、コントロールに比べリドカイン処理した好中球の方が低かった。また、リドカインはミトコンドリアの構造変化をおこし好中球のアポトーシスを誘導したが、ロピバカイン・ブピバカインはミトコンドリア機能を含む好中球機能に影響を与えなかった。 オリゴマイシンを加えて培養すると、好中球の食食能、burst activity を抑制し、好中球アポトーシスを増加させた。このことから活性化したミトコンドリア機能が好中球機能維持に必要であることが明らかになった。 (考察) ミトコンドリア膜電位はミトコンドリア機能を維持する一方、膜電位の虚脱により proapoptotic 蛋白を放出するといわれている。リドカインは ATP 合成やミトコンドリア膜電位を抑制し、ミトコンドリア形態を変化させ、好中球のアポトーシスを増加させた。このことから、ミトコンドリア膜電位の減少がリドカインによって引き起こされる好中球アポトーシスの原因であると示唆される。 一方、ロピバカインやブピバカインは好中球のミトコンドリア機能やアポトーシスに影響しなかった。これらの局所麻酔薬は好中球機能維持の観点からリドカインより有利であると考えられる。 今回の研究の問題点は、局所麻酔薬を in vivo、特に外傷モデルで投与できていない点である。また、この研究で見られた好中球機能の変化が臨床的にどの程度関連をもつかどうか不明であり、今後の研究課題であると思われる。 (結論) ロピバカインとブピバカインは好中球やミトコンドリア機能に影響を与えなかったが、リドカインは好中球の機能や ATP 合成を抑制し、ミトコンドリア膜電位を減少させ、好中球アポトーシスを増加させた。	

## 学位論文審査結果要旨

氏 名	川崎 知佳					
論文審査委員	主査	所属	生体適応	系	生体機構	部門 岩井 佳子 
	副査	所属	障害機構	系	災害外科	部門 酒井 昭典 
	副査	所属	生体情報	系	病態情報	部門 鈴木 秀明 
				系		部門 
				系		部門 
<p>論文題目</p> <p><b>Lidocaine Enhances Apoptosis and Suppresses Mitochondrial Functions of Human Neutrophil In Vitro</b>          (リドカインは in vitro でヒト好中球のアポトーシスを増強しミトコンドリア機能を抑制する)</p> <p>学位論文審査結果要旨</p> <p>&lt;目 的&gt; 手術侵襲や、吸入および静脈麻酔により好中球機能が低下することは知られているが、局所麻酔薬による好中球への影響については知られていない。そこで本研究では局所麻酔薬であるリドカイン、ロピバカイン、プピバカインの好中球機能に対する作用を調べた。</p> <p>&lt;方 法&gt; 健常者ボランティア末梢血から好中球を単離し、リドカイン、ロピバカイン、プピバカインの存在下または非存在下で培養を行った。培養後、好中球を回収し、(1) PHAGOTEST (食食活性測定キット) を用いて食食能を、(2)BURSTTEST (活性酸素測定キット) を用いて殺菌能を、フローサイトメーターにより解析した。さらに(3)ATP determination kit を用いて ATP 産生量を、(4)JC-1 染色によりミトコンドリア膜電位を、(5)Annexin V+propidium iodide(PI)二重染色によりアポトーシスおよびネクローシスを解析した。</p> <p>&lt;結 果&gt; リドカインは、好中球の食食能および殺菌能を抑制したが、ロピバカイン、プピバカインでは抑制効果はみられなかった。またリドカインは好中球のミトコンドリア膜電位を低下させ、ATP 産生を抑制したが、ロピバカイン、プピバカインでは変化がみられなかった。さらにリドカイン存在下では Annexin V 陽性 PI 陰性細胞の割合が増加したが、ロピバカイン、プピバカイン存在下では変化がみられなかった。</p> <p>&lt;考 察&gt; 以上の結果から、ロピバカイン、プピバカインは好中球機能に影響を与えないが、リドカインは好中球の食食能や殺菌能、エネルギー産生能を抑制して、アポトーシスを誘導することが明らかとなった。アポトーシス誘導のメカニズムについては今後の研究が期待される。</p> <p>本研究はこれまでに知られていなかったリドカインによる好中球機能の抑制作用をはじめて報告したもので、本学の学位論文として適格であると判断した。</p>						
平成 26 年 4 月 3 日						

氏名	坂本 宣明
<b>論文題目</b> (欧文の場合、和訳を付すこと) <b>Bedtime and Sleep Duration in Relation to Depressive Symptoms among Japanese Workers</b> (日本人労働者における就寝時刻および睡眠時間と抑うつ症状との関連)	
<b>論文要旨</b>	
<b>【目的】</b> うつ病は生活の質や労働生産性を低下させる。職域では労働者のストレスは多く、企業はメンタルヘルス対策に追われている現状がある。うつ病の発症に関与する睡眠関連因子のうち、労働者における就寝時刻は、通勤時間や残業時間の影響を受けやすい。乱れた就寝時刻は、概日リズム障害を引き起こし、抑うつ症状に関連する可能性がある。しかしながら、就寝時刻と抑うつ症状に関する疫学研究は少ない。本研究は、労働関連要因を調整したうえで、就寝時刻と抑うつ症状との関連について明らかにする。	
<b>【方法】</b> 2011年に千葉県の某事業所(製造業)の定期健康診断を受診した1723人のうち、1668名が本調査の参加に同意し、精神疾患の既往者、交代勤務者、解析に必要なデータの欠損者を除外した1197名(男性1029名、女性168名)を解析対象とした。抑うつ症状の評価にはCenter for Epidemiologic Studies Depression (CES-D)スケールを用い、CES-Dスコアが16点以上または19点以上を抑うつ症状ありとした。就寝時刻は自記式の生活状況調査により収集し、対象者を就寝時刻によって23時前、23時台、24時台、25時以降の4群に分け、多重ロジスティック回帰分析により抑うつ症状ありのオッズ比を求めた。同様に、睡眠時間について、対象者を6時間未満、6時間台、7時間台、8時間以上の4群に分け、抑うつ症状との関連を検討した。本研究の実施に当たり、国立国際医療研究センターの倫理委員会の承認を得た。	
<b>【結果】</b> 抑うつ症状のある人はない人に比べて若く、また、女性、ライン作業従事者、非婚者、短時間睡眠の割合が多い傾向であった(Table 1)。就寝時刻の遅い人は早い人に比べて若く、非婚者、残業時間が長い、事務作業従事者、睡眠の質が悪い、短時間睡眠の割合が多かった(Table 2)。睡眠6時間台に対する6時間未満のCES-D 16点以上および19点以上の抑うつ症状の多変量調整オッズ比(95%信頼区間)は、それぞれ1.57(1.08-2.29)、2.17(1.42-3.32)と有意に高かった(Table 3)。睡眠の質を調整しても同様にオッズ比の有意な上昇を認めた(CES-D 19点以上でのオッズ比1.90, 95%信頼区間1.22-2.95)。就寝時刻23時台に対する25時以降の抑うつ症状の多変量調整オッズ比は、CES-D 16点以上では1.19(95%信頼区間0.77-1.83)と有意な関連は認めなかったが、CES-D 19点以上では1.90(95%信頼区間1.16-3.12)と有意に上昇した。しかし、このオッズ比は睡眠時間で調整すると、1.17(95%信頼区間0.66-2.06)に低下した(Table 4)。	
<b>【考察】</b> 遅い就寝時刻は抑うつ症状と関連していた。しかし、睡眠時間を調整すると有意な関連は認めなかったことから、就寝時刻と抑うつ症状との関連は、睡眠時間とは独立していない可能性がある。しかし、就寝時刻は睡眠時間を決定する主な因子であり、実際に遅い就寝時刻であることは短時間睡眠と強く関連している。それゆえ、睡眠時間は就寝時刻と抑うつ症状との関連における交絡因子と考えるよりもむしろ仲介因子であると考えられる。また、通勤時間や残業時間などの労働関連因子は短時間睡眠に関連するという報告があることも踏まえると、抑うつ症状の予防には労働者に睡眠時間の確保を指導するだけでなく、短時間睡眠に関連する労働要因もしくは非労働要因の改善を図ることも重要である。	
<b>【結論】</b> 遅い就寝時刻は抑うつ症状の有病割合の増加に関連していた。しかし、短時間睡眠はこの関連に大きく寄与している。遅い就寝時刻を避け、十分な睡眠時間を確保することが労働者にとって抑うつ症状を予防する方法になるのではないかと考えられる。	

## 学位論文審査結果要旨

氏 名	坂本 宣明		
論文審査委員	主査 所属	生体適応系	機能調節部門 井上 真澄
	副査 所属	環境・産業生態系	環境適応医学部門 中村 純
	副査 所属	生体情報系	生体情報部門 藤木 通弘
<p>論文題目  <b>Bedtime and Sleep Duration in Relation to Depressive Symptoms among Japanese Workers</b>                  (日本人労働者における就寝時刻および睡眠時間と抑うつ症状との関連)</p> <p>学位論文審査結果要旨</p> <p>うつ病は生活の質や労働生産性を低下させるため、産業医学における重要な疾患である。うつ病の発症に関連する睡眠因子のうち、労働者の就寝時刻は、通勤時間や残業時間の影響を受けやすいことが考えられるが、就寝時刻と抑うつ症状に関する疫学研究は少ない。本研究では、労働関連要因を調整したうえで、就寝時刻と抑うつ症状との関連について検討した。</p> <p>某事業所(製造業)の定期健康診断を受診し、同意が得られ、除外対象者でない 1197 名(男性 1029 名、女性 168 名)を解析対象とした。抑うつ症状の評価には Center for Epidemiologic Studies Depression (CES-D) Scale を用い、CES-D スコアが 16 点以上ならびに 19 点以上を抑うつ症状ありとした。対象者の就寝時刻を 23 時前、23 時台、24 時台、25 時以降の 4 群に分け、多重ロジスティック回帰分析により抑うつ症状ありのオッズ比を求めた。同様に、睡眠時間を 6 時間未満、6 時間台、7 時間台、8 時間以上の 4 群に分け、抑うつ症状ありのオッズ比を求めた。</p> <p>抑うつ症状のある人は、ない人に比べて年齢が若い、女性、現場作業員、非婚者、熟睡感がほとんどない、短時間睡眠の割合が多かった。就寝時刻の遅い人は、早い人に比べて年齢が若い、非婚者、正社員、事務職、残業時間が長い、飲酒量が少ない、がん等の疾患や生活習慣病がない、熟睡感がほとんどない、短時間睡眠の割合が多かった。睡眠 6 時間台に対する 6 時間未満の CES-D 16 点以上および 19 点以上の抑うつ症状の多変量調整オッズ比は、それぞれ 1.57、2.17 と有意に高かった。就寝時刻 23 時台に対する 25 時以降の抑うつ症状の多変量調整オッズ比は、CES-D 16 点以上では 1.19 と有意な関連は認めなかったが、CES-D 19 点以上では 1.90 と有意に高かった。しかし、このオッズ比は睡眠時間で調整すると、1.17 に低下した。</p> <p>以上より、遅い就寝時刻は抑うつ症状と関連していた。しかし、睡眠時間を調整すると有意な関連を認めなかったことから、就寝時刻と抑うつ症状との関連には、睡眠時間が寄与していると考えられる。就寝時刻は睡眠時間を決定する主な因子であるゆえ、睡眠時間は就寝時刻と抑うつ症状との関連における仲介因子と考えられる。残業時間などの労働関連因子は遅い就寝時刻に関連する。このため、抑うつ症状の予防には、労働者に睡眠時間を確保することや遅い就寝時刻になることを避けるように保健指導するとともに、企業側には遅い就寝時刻を避けることができるような労働環境の改善提案を図っていくことが重要である。</p> <p>本研究により、労働者において遅い就寝時刻は、睡眠時間の短縮という仲介因子を介して抑うつ症状に関連していることが明らかになった。この結果は抑うつ症状の予防を保健指導する上において、具体的で有用な知見を提供しており、本学の学位論文として適格であると判断した。</p> <p style="text-align: right;">平成 26 年 4 月 23 日</p>			