

氏 名	澤田 雄宇
<p>論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)</p> <p>Resolvin E1 inhibits dendritic cell migration in the skin and attenuates contact hypersensitivity responses (レゾルビン E1 は皮膚局所での樹状細胞の運動性を制御し、接触皮膚炎反応を抑制する)</p> <p>論文要旨</p> <p>魚油に多く含まれるエイコサペンタエン酸(EPA)などのオメガ 3 脂肪酸は、古くからさまざまな病態において炎症抑制作用があることが知られていた。近年、EPA の代謝活性物質であるレゾルビン E1(RvE1)は、腸炎モデルや腹膜炎モデルなどにおいて強力な抗炎症効果を有していることが報告されている。皮膚疾患におけるオメガ 3 脂肪酸の効果については、皮膚科における代表的な疾患である接触皮膚炎において抗炎症作用は以前より知られていた。接触皮膚炎の発症機序として、樹状細胞(DC)が重要な役割を果たしているが、その遊走能が重要な要素として知られている。今回、我々は接触性皮膚炎における RvE1 の抗炎症効果として、特に、DC の運動性に与える影響を検討した。</p> <p>まず最初に、炎症時における DC の運動性を検討するため、FITC という感作性色素物質をマウス皮膚に塗布し、DC の所属リンパ節への遊走を検討した。RvE1 の投与により、DC の所属リンパ節への遊走が低下していた。また、それは炎症性脂質メディエーターであるロイコトリエン B4(LTB4)の受容体 BLT1 を阻害した結果であることが分かった。</p> <p>続いて、DC の運動性をより詳細に検討するため、定常状態における DC の運動能について、カエデトランスジェニックマウスを検討した。炎症時と同様に、RvE1 は所属リンパ節への DC の遊走を阻害し、それは LTB4-BLT1 シグナルを阻害した影響と考えられた。</p> <p>皮膚局所における生体内での DC の運動能をより詳細に検討するため、二光子顕微鏡を用いた生体内での観察を行うと、RvE1 の投与により皮膚局所での DC の運動性が低下していた。接触皮膚炎において、局所の DC クラスターの形成は皮膚局所における炎症に重要な役割を果たしているが、RvE1 投与により DC の運動能が低下した影響により、DC クラスターの形成が阻害されていた。その結果、皮膚局所ならびにリンパ節での T 細胞の活性化を抑制し、接触皮膚炎反応が減弱していることが分かった。</p> <p>DC の運動性における RvE1 の制御機構を詳細に検討するため、骨髄由来 DC を作成し、LTB4 刺激による Rho ファミリー蛋白の活性化について検討を行った。LTB4 は、BLT1 に作用し Cdc42 と Rac1 を活性化した結果、DC のアクチン凝集を生じていた。RvE1 はそのシグナルを阻害する結果、DC の運動性を制御し、接触皮膚炎を減弱していると考えられた。</p> <p>以上より、RvE1 は DC の運動性を制御することにより、接触性皮膚炎反応を減弱することと考えられた。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	澤田 雄宇					
論文審査委員	主査 所属	障害機構 系	病態機構 部門	田中 良哉		
	副査 所属	生体適応 系	生体機構 部門	岩井 佳子		
	副査 所属	生体情報 系	病態情報 部門	川崎 貴士		
		系	部門			
論文題目						
<p style="text-align: center;">Resolvin E1 inhibits dendritic cell migration in the skin and attenuates contact hypersensitivity responses (レゾルビン E1 は皮膚局所での樹状細胞の運動性を制御し、接触皮膚炎反応を抑制する)</p>						
学位論文審査結果要旨						
<p>魚油を代表とする脂質由来であるエイコサペンタエン酸(EPA)をはじめとしたω3脂肪酸は、喘息、乾癬、炎症性腸疾患、関節リウマチなど炎症性疾患の低発症率と関連することが多くの疫学的研究により明らかにされている。しかし、皮膚疾患における抗炎症効果については不詳である。本研究では、EPAの代謝活性物質であるレゾルビンE1の皮膚における獲得免疫に対する抗炎症効果を評価するため、接触皮膚炎モデルを用いて、感作相並びに惹起相のそれぞれにおける樹状細胞の動態評価を行い、以下の結果を得た。</p>						
1. 抗原感作相における作用						
<p>抗原感作相では、樹状細胞は皮膚から所属リンパ節へ遊走して T 細胞を感作する。そこで、色素抗原である FITC を用いて皮膚樹状細胞の所属リンパ節への遊走を評価した。その結果、レゾルビン E1 の投与により皮膚樹状細胞の遊走が阻害された。in vitro によるケモタキシス法でも同様の効果が確認された。代表的な炎症性脂質ロイコトルエン (LT)B4 の受容体である BLT1 欠損マウスではレゾルビン E1 の阻害効果は認められず、レゾルビン E1 は LTB4 の作用を拮抗阻害すると考えられた。また、カエデトランスジェニックマウスを用いた定常状態での樹状細胞の遊走も、レゾルビン E1 の投与で阻害され、BLT1 阻害薬でも同様の効果を認めた。以上より、レゾルビン E1 は感作相において LTB4 の阻害を介して皮膚樹状細胞の所属リンパ節への遊走を抑制していることが判明した。</p>						
2. 惹起相における作用						
<p>惹起相では皮膚局所において樹状細胞がクラスターを形成して免疫応答を増強する。二光子顕微鏡を用いて皮膚局所での樹状細胞の動態を評価したところ、レゾルビンE1の投与によって樹状細胞の運動能が低下し、クラスター形成が阻害された。BLT1 阻害薬との併用、もしくは BLT1 欠損マウスを用いても、レゾルビン E1 による阻害効果は認められず、LTB4 の作用を拮抗阻害してクラスター形成を抑制すると考えられた。さらに、樹状細胞では LTB4 は BLT1 を介して Cdc42/Rac1 を活性化するが、レゾルビン E1 は LTB4/BLT1 シグナルを阻害してこれらの Rhoファミリー蛋白とその下流の活性化を阻害し、アクチン凝集を抑制して細胞運動能を低下させたと考えられた。</p>						
<p>以上、ω3脂肪酸であるレゾルビン E1 は、抗原感作相において LTB4/BLT1 の阻害を介して皮膚樹状細胞の所属リンパ節への遊走を抑制した。また、レゾルビン E1 が皮膚局所での樹状細胞の LTB4/BLT1 シグナルを阻害して rho-rac-cdc42 の活性化を介する運動性を制御し、クラスター形成を抑制した。即ち、レゾルビン E1 は抗原感作相と惹起相の双方において、LTB4 の受容体 BLT1 への作用を阻害することにより、皮膚アレルギー反応を減弱させることを見出した。</p>						
<p>以上の成果は、ω3脂肪酸の新たな抗炎症メカニズムの解明のみならず、日々の食生活の改善により皮膚アレルギー一炎を予防・改善できる出来る可能性を示唆するものである。よって、本学の学位論文として適格であると判断した。</p>						
平成 28 年 6 月 3 日						

氏 名	西 春霖
論文題目(欧文の場合、和訳を付すこと)	
The first report: an analysis of bacterial flora of the first voided urine specimens of patients with male urethritis using the 16S ribosomal RNA gene-based clone library method	
(16S ribosomal RNA 遺伝子のクローンライブラリー法を用いた男性尿道炎患者の初尿検体の細菌叢解析)	
論文要旨	
<p>【目的】男性尿道炎は主として、<i>Neisseria gonorrhoeae</i>、<i>Chlamydia trachomatis</i>、および非クラミジア非淋菌 (<i>Mycoplasma genitalium</i>、<i>Mycoplasma hominis</i>、<i>Ureaplasma urealyticum</i>、<i>Ureaplasma parvum</i> 等を含む) を起炎菌として生じる疾患と考えられている。<i>N. gonorrhoeae</i> 以外の起炎菌については培養法による検出が困難であることから、これらの菌の検出には特異的 PCR による定性的評価が用いられている。本研究では、クローンライブラリー法を用いて男性尿道炎患者初尿検体の細菌叢を解析し、尿検体中に存在する細菌種とその割合について明らかにすることを目的とする。</p>	
<p>【方法】男性尿道炎患者の初尿 58 検体を用いて、16S rRNA 遺伝子クローンライブラリー法にて細菌叢を解析した。また、同時に <i>N. gonorrhoeae</i> と <i>C. trachomatis</i> は TMA 法で、<i>M. genitalium</i>、<i>M. hominis</i>、<i>U. urealyticum</i>、<i>U. parvum</i> は real-time PCR 法で検出を試み、クローンライブラリー法と従来法 (TMA 法、real-time PCR 法) とを比較した。</p>	
<p>【結果】58 検体中、38 検体でクローンライブラリー法による解析結果を得た。合計 2427 クローンを検討し、95 細菌種の phylotype が検出された。クローンライブラリー法では <i>N. gonorrhoeae</i> が 6 検体から検出され、その内 5 検体で最優占菌種 (最も占有割合の高い細菌) であった。<i>M. genitalium</i> は 5 検体から検出され、3 検体で最優占菌種であった。従来法では、<i>N. gonorrhoeae</i>、<i>M. genitalium</i> はそれぞれ 8 検体、12 検体より検出された。<i>C. trachomatis</i> は従来法で 15 検体より検出されたが、クローンライブラリー法では 1 検体からのみ検出された。<i>M. genitalium</i> を除くマイコプラズマ属およびウレアプラズマ属は従来法で 16 検体より検出されたが、クローンライブラリー法では 2 検体より検出されたのみであった (2 検体とも <i>U. parvum</i>)。上記以外に、クローンライブラリー法では、<i>Haemophilus influenzae</i> が 8 検体から、<i>Neisseria meningitidis</i> が 1 検体から、<i>Gardnerella vaginalis</i> が 10 検体から検出されたほか、嫌気性菌を含むさまざまな細菌種の 16S rRNA 遺伝子が検出された。</p>	
<p>【考察】<i>N. gonorrhoeae</i> は尿道炎の主たる起炎菌であるが、クローンライブラリー法で <i>N. gonorrhoeae</i> が検出された検体では、本菌が優占菌として検出され、起炎菌はクローンライブラリー法で優占菌として検出されることが示された。<i>M. genitalium</i> については、従来法よりも検出率は低かったが、ほとんどの症例で優占菌として検出されおり、本菌が尿道炎の起炎菌となることが改めて確認された。しかし、<i>C. trachomatis</i> や他のマイコプラズマ、ウレアプラズマ属は従来法では検出されるものの、クローンライブラリー法では検出率が低く、さらに細菌叢に占める割合も低かった。<i>C. trachomatis</i> の病原性はこれまで多くの研究で明らかにされているとはいえ、本菌が従来法で検出された場合でも起炎菌ではない可能性もある。また、これまで尿道炎に対する病原性が明らかではなかった <i>H. influenzae</i> や細菌性膣症の原因である <i>G. vaginalis</i> が優位に検出される検体もあり、尿道炎との関連を今後検討する必要があると考えられた。</p>	
<p>【結論】尿道炎の起炎菌と考えられる菌種の検体細菌叢における割合については未だ不明な点が多い。尿道炎患者の尿検体の細菌叢についてクローンライブラリー法による検討を行った結果、これまで起炎菌と考えられていた菌種が優占菌種ではない検体が多いことが明らかになった。また、従来法のターゲット以外の菌種が優勢を示す検体も多かったことから、尿道炎の起炎菌の定義については細菌叢における割合についても考慮した上で再検討する必要がある。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	西 春霖					
論文審査委員	主査	所属	環境・産業生態系	環境適応医学	部門	上野 晋
	副査	所属	環境・産業生態系	保健・疫学	部門	金澤 保
			生体情報系	生殖生理情報	部門	楠原 浩一
			系		部門	◎
			系		部門	◎

論文題目

The first report: an analysis of bacterial flora of the first voided urine specimens of patients with male urethritis using the 16S ribosomal RNA gene-based clone library method.

[16S リボソーム RNA 遺伝子のクローンライブラリー法を用いた男性尿道炎患者の初尿検体の細菌叢解析(第 1 報)]

学位論文審査結果要旨

男性尿道炎は一般的に淋菌性尿道炎(*Neisseria gonorrhoeae* が起炎菌)と非淋菌性尿道炎とに分類される。非淋菌性尿道炎にはクラミジア(*Chlamydia trachomatis*)を起炎菌とするクラミジア尿道炎とマイコプラズマ属(*Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*)やウレアプラズマ属(*Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*)などを起炎菌とする非クラミジア性非淋菌性尿道炎とがある。本研究では男性尿道炎患者の初尿検体を用いて、TMA(Transcription Mediated Amplification)法や real-time PCR 法といった従来行われている起炎菌の同定法ばかりでなく、尿検体中に存在する細菌種とその割合を検討するためにクローンライブラリー法(以下 CL 法)による細菌叢の解析を行った。

男性尿道炎患者の初尿検体(n=58)に対して 16S rRNA 遺伝子に対する CL 法ならびに従来法による細菌解析を行った。前者については 58 検体のうち細菌叢の解析が可能であったのは 38 検体であった。後者については TMA 法により *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* を、real-time PCR 法により *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum* の検出を試みた。

N. gonorrhoeae, *C. trachomatis* については従来法によりそれぞれ 8 検体、15 検体から検出されたが、CL 法では前者は 6 検体(うち 5 検体が最優占菌)から、後者は 1 検体のみからの検出だった。*M. genitalium* は従来法により 12 検体、CL 法により 5 検体(うち 3 検体が最優占菌)から検出された。*M. hominis* やウレアプラズマ属については従来法にて 16 検体から検出されたが、CL 法では *U. parvum* を 2 検体から検出したのみであった。また CL 法によって *Haemophilus influenzae*(8 検体)、*Gardnerella vaginalis*(10 検体)など、これまで尿道に対する病原性が知られていない細菌が優占菌となって検出された検体があった。

N. gonorrhoeae, *M. genitalium* については CL 法で検出された検体の多くで優占菌として検出されており、この方法からもこれらの菌が起炎菌と考えられることが示唆された。しかしながら従来法で検出された *C. trachomatis*, *M. hominis*, ウレアプラズマ属は CL 法で検出率が低く、細菌叢に占める割合も低かったため、これらの菌が検出された場合でも起炎菌ではない可能性があることを示唆する結果となった。また *H. influenzae* や *G. vaginalis* が優占菌として検出されたことは、これまでに知られていない両菌種の尿道における病原性との関連を示唆するものと考えられた。

男性尿道炎患者の初尿検体の細菌叢を解析することで、これまで起炎菌と考えられていた菌種が必ずしも優占菌ではないこと、従来法の標的ではない菌種が優占菌として検出される症例があることなどが判明し、本研究によって尿道炎の起炎菌を同定する際にも細菌叢解析が重要であることが示唆された。CL 法による細菌の検出効率の改善や優占菌の尿道における病原性との関連など今後検討すべき課題はあるものの、尿道炎の起炎菌同定における CL 法を用いた初尿検体の細菌叢解析の意義と重要性を示した研究であり、今後の臨床現場への応用も期待できることから本学学位論文として適格であると判断した。

平成 28 年 6 月 22 日

氏 名	大成 圭子
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと) Evoked potentials are useful for diagnosis of neuromyelitis optica spectrum disorder (視神経脊髄炎スペクトラム疾患の診断には誘発電位検査が有用である)	
論文要旨 【目的】 Neuromyelitis optica spectrum disorder (NMOSD)は抗アクアポリン 4 抗体陽性であり、臨床症状、画像所見から多発性硬化症 (multiple sclerosis: MS) と異なる疾患であるが、鑑別が難しいことがある。これまで MS の誘発電位検査の報告は多くあるが NMOSD においては少ない。MS と NMOSD の鑑別において誘発電位検査の有用性を検討するために、各誘発電位検査所見を用いて両疾患の患者群での比較検討を行った。【方法】 NMOSD 患者 23 人と再発寛解型多発性硬化症 (relapsing-remitting MS: RRMS) 患者 28 人を対象とした。初診時に視覚誘発電位(visual evoked potential VEP)・聴性脳幹反応 (auditory brainstem response: ABR)・体性感覚誘発電位(somatosensory evoked potentials: SEP)・運動誘発電位(motor evoked potentials: MEP)を施行し、臨床症状の有無も勘案して両群間での比較検討を行った。【結果】 初診時の重症度分類、総合障害度 (Expanded disability status scale :EDSS)を両群間で比較すると、NMOSD 群は 4.0 と RRMS 群 2.1 に対して有意に高値であった。NMOSD 群では初発症状は視力低下が有意に多く、発症年齢も高かった。以前から報告されているように、RRMS では臨床的には神経学的所見がみられない部位でも誘発電位検査では異常を呈する場合がみられたが、NMOSD 群ではこのような subclinical な異常所見はほとんどみられなかった。RRMS 群では、VEP の P100 潜時と下肢 MEP で中枢伝導時間 (central motor conduction time: CMCT) の有意な延長を認めたが、NMOSD 群では VEP と下肢 MEP で電位が誘発されなかった。ABR では RRMS 群で 21.7%に異常がみられたが、NMOSD 群は正常であった。以上により、誘発電位検査は、MS と NMOSD の鑑別に有用であった。【考察】 今回の研究では、MS と対比することにより、NMOSD の誘発電位検査所見の特徴が明らかにされた。NMOSD 群では MS 群と比して、ほとんど subclinical な異常所見がみられなかった。これは、MS では運動感覚路を含む白質病変が主体であることに対して、NMOSD では灰白質病変が主体であることが要因として考えられる。また、MS では炎症性脱髄病変の再発・寛解を繰り返し、一見正常に見える部位にも進行性の白質病変がみられ、そのため誘発電位検査で異常所見が認めやすいと推測される。一方、NMOSD では单相性あるいは再発性の経過を示し、常に病態が進行している MS とは異なる。VEP では、MS 患者は P100 の潜時延長がみられるのに対して、NMOSD 患者では P100 電位が誘発されず、視力障害がより重度であることを反映していると考えられた。さらに、下肢 MEP においても MS 患者に比して NMOSD 患者では有意に CMCT が誘発されなかった。NMOSD 患者の多くでは重度の筋力低下と頸髄から胸髄にかけての長大脊髄病変が認められており、VEP 同様に症状の重症度との関係が推測された。NMO 患者脊髄での diffusion tensor imaging では、白質にも病変がみられると報告されている。【結論】 誘発電位検査では、初期より NMOSD と RRMS で相違があり両疾患の鑑別に有用な検査と考えられた。NMOSD 患者では subclinical な異常所見を呈することが少なく、重度の障害を反映して VEP、下肢 MEP にて誘発不能になる例が有意に多くみられた。	

学位論文審査結果要旨

氏 名	大成圭子				
論文審査委員	主査 所属	障害機構 系	災害外科 部門	佐伯 覚	
	副査 所属	生体情報 系	生理情報 部門	藤木通弘	
		生体情報 系	病態情報 部門	近藤寛之	
		系	部門		
		系	部門		
論文題目					
<p>Evoked potentials are useful for diagnosis of neuromyelitits optica spectrum disorder (視神経脊髄炎スペクトラム疾患の診断には誘発電位検査が有用である)</p>					
学位論文審査結果要旨					
<p>【目的】 抗アクアポリン4抗体陽性の視神経脊髄炎 (NMO) は臨床像が多様であり、近年、疾患概念を拡大した病態として視神経脊髄炎スペクトラム疾患 (NMOSD) が知られるようになってきた。NMSOD は多発性硬化症 (MS) とは異なる疾患であるが、症状の類似性から臨床的に鑑別が難しいとされている。本研究では、両疾患の鑑別において誘発電位 (EP) 検査に着目し、その有用性を検証する目的で両疾患患者群の各 EP 所見について比較検討を行った。</p> <p>【方法】 NMSOD 患者 23 名と再発寛解型多発性硬化症 (RRMS) 患者 28 名を対象として、初診時の視覚誘発電位 (VEP)、聴性脳幹反応 (ABR)、体性感覚誘発電位 (SEP)、運動誘発電位 (MEP) を測定し、臨床症状および障害重症度 (EDSS) を勘案して両群間で比較した。</p> <p>【結果】 RRMS 群では臨床的に神経学的異常が認められない部位でも EP で異常を呈するケースが多いが、NMOSD 群ではこのような無症状部位での潜在性の異常所見はほとんど見られなかった。RRMS 群では VEP の P100 潜時と下肢 MEP で中枢伝導時間 (CMCT) の有意な延長を認めたが、NMOSD 群では VEP と下肢 MEP で電位が誘発されず、ABR では RRMS 群で 21.7% に異常がみられたが、NMOSD 群は正常であった。</p> <p>【考察】 今回の研究では、RRMS と対比することで NMOSD の EP 所見の特徴が明らかにされた。すなわち、NMOSD 群では RRMS 群と比して、無症状部位での潜在性の異常所見がほとんど見られず、これは病変の主座が RRMS では運動感覚路を含む白質病変であるのに対して、NMOSD では灰白質病変が主体であること、また、RRMS では炎症性脱髄病変の再発・寛解を繰り返し、一見正常に見える部位にも進行性の白質病変がみられ、そのため EP で異常所見が認めやすいと推測された。一方、NMSOD では、有症状部位の臨床的重症度を反映して、VEP と下肢 MEP が誘発不能になる例が多くなる点について、病態をもとに考察された。</p> <p>【結論】 EP では、初期より NMOSD と RRMS で相違があり両疾患の鑑別に有用な検査とあることが示唆された。</p> <p>【審査結果】 これまで NMSOD と MS の鑑別に有用な方法が確立していなかったが、本研究は NMOSD と RRMS で EP 所見に特徴的な違いがあることを明らかにし、EP 検査が両疾患の鑑別に極めて有用であることを示した点で、当該疾患の診療の発展に大きく寄与するものであり、本学の学位論文として適格であると判断した。</p>					
平成 28 年 5 月 18 日					