






氏 名	佐々木 信
<p>論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと) Properties of new diffusion filters for treatment of amblyopia with accurate occlusive effects (正確な遮閉効果がある新しい弱視治療用拡散フィルターの特性)</p> <p>論文要旨</p> <p>【目的】 非弱視眼の完全屈折矯正視力 (best corrected visual acuity) を正確に低減することができる、弱視眼を治療するための新たな拡散フィルターの開発を試みた。</p> <p>【方法】 拡散フィルターの作製には透光性微粒子としてシリカを選択し、シリカを水で希釈した分散液とエタノールで希釈した粘着剤を混合し、その混合溶液を基材となる透明な高分子材料に塗布して行った。光の拡散反射量の増減はシリカの濃度を変化させて行った。今回はシリカ濃度を順次増加させ 12 種類の濃度① 15.83mg/ml～⑫57.13mg/ml を用意した。被験者 16 名 (平均年齢 22.0±2.3 歳) に拡散フィルターを装着して測定した。作製した拡散フィルターの光学特性は被験者に拡散フィルターを装着させて測定した遠見視力値を測定した。拡散フィルターの全光線透過率、ヘイズ値はゴニオフォトメーターで測定した。シリカの密度は走査電顕写真から単位面積当たりのシリカの個数 (個/mm²) を算出した。</p> <p>【結果】 各拡散フィルター装着時の完全屈折矯正視力 (best corrected visual acuity) の平均は右眼ではシリカ濃度①～⑫でそれぞれ 0.03～0.81 であり、シリカ濃度が増加するにつれて視力値は低下し一次関数で近似出来た ($y=0.174x-0.197, R^2=0.95$)。左眼も同様の傾向を示した ($y=0.173x-0.212, R^2=0.98$)。全光線透過率はシリカ濃度の増減に関わりなく全ての拡散フィルターで 90%以上となった。ヘイズ値とシリカの密度はシリカ濃度が増加するにつれて高値を示した。このことから今回開発した拡散フィルターが明るさを低減させることなく光の拡散反射を増大させ正確な遮閉効果を示すことが明らかになった。</p> <p>【考察】 今回の実験結果より、シリカを拡散フィルターの表面に規則正しく並べることができた。またシリカの濃度を段階的に増やしていても、拡散フィルターの表面にシリカを規則正しく並べることにより、シリカの密度を規則正しく増加させることができた。これらのことより光の全光線透過量は変えることなく光を規則正しく拡散させることが可能となり、シリカの濃度が増える毎に光の拡散量であるヘイズ値も増やすこともできた。また、我々が開発した眼鏡箱の利点は、シリカの濃度を任意に変えることにより、色々な種類の拡散フィルターを作製できることである。このことは、治療に必要な拡散フィルターを得られるために、より精度の高い弱視の治療を提供することが可能になる。</p> <p>【結論】 シリカ微粒子を用いて新たに開発した拡散フィルターは光の透過率を減少することなく完全屈折矯正視力を正確に低下させることができた。このことは弱視患者に対して光学的に影響を与えない弱視治療用の新しい眼鏡箱として提案できる。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	佐々木 信				
論文審査委員	主査 所属	環境・産業生態 系	環境生態 部門	明星 敏彦 	
	副査 所属	生体適応 系	生体構造 部門	東 華岳 	
		障害機構 系	災害外科 部門	佐伯 覚 	
		系	部門		
		系	部門		

論文題目

Properties of new diffusion filters for treatment of amblyopia with accurate occlusive effects
 (正確な遮閉効果がある新しい弱視治療用拡散フィルターの特性)

学位論文審査結果要旨

【研究の背景と目的】

弱視の治療法として幼児期に機能回復のため健常な眼をアイパッチで遮閉することがしばしば選択されるが、いじめられるなど生活上の問題も多い。健眼側の眼鏡レンズに重ねることで視力を任意に低下させて弱視眼を治療する眼鏡箔も選択される。申請者らは、既報において既存の眼鏡箔では健眼の視力を表示通り下げることができないことを報告している。今回、弱視患者の健眼の機能を段階的に低下させる治療用眼鏡箔を新たに開発し、健常視力を持つ成人被験者によってその効果を確認した。

【方法】

申請者らの拡散フィルター（眼鏡箔）は、直径 4 μ m の透光性のシリカ粒子を水で希釈した分散液とエタノールで希釈した粘着剤を混合したものを透明フィルムに塗布・乾燥したものである。混合時に両者の比を段階的に変えることでシリカ濃度（0.58～5.7%）の異なる 1 2 種類の原料液を作り、特性の異なる 1 2 種類の拡散フィルターを作成した。この拡散フィルターについてゴニオフォトメーターを用いて全光線透過率とヘイズ値（濁度）を測定した。また走査型電子顕微鏡写真からシリカ粒子の分散状態を確認し、単位面積当たりのシリカ粒子密度を算出した。さらに被験者 16 名にこの 1 2 種類の拡散フィルターを装用して遠見視力を左右それぞれ測定した。

【結果と考察】

作成した 1 2 種類の拡散フィルターの全光線透過率は 91～92% と一定で、ヘイズ値はシリカ粒子濃度の増加とともに増加した。拡散フィルターはシリカ粒子濃度の増加とともに単位面積あたりの粒子数は増加し、最小最大の比は濃度比と同じく 10 倍であった。この 1 2 種類の拡散フィルターを装用した時の被験者の完全屈折矯正視力（logMAR 値）の平均値はシリカ粒子濃度と一次の相関があり、相関係数 R^2 は 0.95 以上であった。また左右の視力への効果はほぼ同じで相関係数 R^2 は 0.83 であった。

開発した拡散フィルターは、シリカ粒子の濃度を変えることにより任意の視力低下性能のものを作製でき、より精度の高い弱視の治療を提供することが可能になると思われる。

【まとめ】

申請者らの開発した拡散フィルターは、光の透過率を減ずることなく、混ぜ合わせたシリカ粒子濃度に比例して健常者の屈折矯正視力を低下させることができた。弱視患者に対しても同様の効果が予想され、製品としての医療機器認証など解決すべき課題もあるが、弱視治療のより効果的な方法として期待される。よって本学の学位論文として適格であると判断した。

平成 28 年 7 月 25 日

氏 名	中西 司
<p>論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)</p> <p>Relationship between triterpenoid anticancer drug resistance, autophagy, and caspase-1 in adult T-cell leukemia (成人 T 細胞性白血病患者細胞における、トリテルペノイド抗がん剤抵抗性、オートファジーと caspase-1 の関係性)</p>	
<p>論文要旨</p> <p>《目的》</p> <p>成人 T 細胞性白血病 (ATL) は Human T-cell Leukemia Virus Type 1 (HTLV-1) 感染後、数十年の期間をおいて発症し、一旦発症すれば治療抵抗性で平均余命約 6 ヶ月と非常に予後不良な疾患であるため、新規薬剤の開発が望まれている。我々は以前白血病細胞株に対し、植物由来のククルビタシン D (CuD) がインフラマソームを阻害し、アポトーシスを誘導する事を報告した。今回我々は初めて ATL 患者より分離したリンパ球に対する CuD 及び B-cell lymphoma extra large (Bcl-xL) 阻害剤である Z36 の効果をオートファジーの視点から検討した。</p> <p>《方法》</p> <p>臨床検体は ATL 患者及び健常人より同意を得て採取し、末梢血から Lymphoprep キットを用いた密度勾配遠心法によりリンパ球を分離した。分離したリンパ球を CuD 及び Z36 で処理し、6~24 時間培養後 Cell Titer-Glo luminescent cell viability assay system を用いて評価した。オートファジーの阻害剤として、ラパマイシン及び 3-Methyladenin (3-MA) を用いた。また、リンパ球を CuD 及び Z36 で処理し、24 時間培養後に細胞溶解液を調整し、PARP、LC3-II、β-アクチン、caspase-1 (CASP1) をウエスタンブロッティング法で検出した。検出されたタンパク質のバンドは ImageJ ソフトウェアを用いて数値化した。</p> <p>《結果》</p> <p>CuD は烏瓜から抽出された植物由来成分であり、その分子構造にはステロイド骨格を含む。CuD 及び Z36 は ATL 患者リンパ球の細胞死を誘導したが、健常人リンパ球には影響はなく、CuD ではむしろ細胞増殖を促す結果となった。また、ラパマイシンや 3-MA を加えても CuD が誘導する細胞死に影響はなかったが、CuD と Z36 の共刺激により誘導された細胞死に対して、3-MA は部分的に阻害した。同様に、既に治療として用いられているステロイド (プレドニゾロン) が誘導する細胞死に対しても、Z36 はその効果を増強した。また、Z36 は、CuD が誘導する PARP の切断を促進することがウエスタンブロット法により確認された。興味深いことに、同じ ATL 患者が、臍帯血移植後には CuD の効果は認められず、その後再発した際には、治療前の CuD の効果よりも低いものとなった。さらに、CASP1 は化学療法後より発現し、再発した時点ではより発現が増強していた。また、再発後のリンパ球に対し、CASP1 阻害薬の存在下で、CuD 及び Z36 による細胞死の誘導は増強された。</p> <p>《考察》</p> <p>ATL に対する抗腫瘍薬の細胞死誘導の機序としては、多くはアポトーシスに注目しているものが多く、オートファジーに関したものは少ない。今回我々は初めて ATL 患者の末梢血リンパ球に対して、CuD が細胞死を誘導し、またオートファジーを誘導する Z36 も同様に細胞死を見出した。異なった細胞死誘導機序を組み合わせることで、より効果的な抗腫瘍効果が期待出来ることが示唆された。また、急性リンパ球性白血病で CASP1 がグルココルチコイド抵抗性に寄与することが報告され、本研究でも臍帯血移植後再発患者では、化学療法後で臨床的には治療効果を認めていた段階で既に CASP1 が発現し、臍帯血移植を行ったもののその後再発し、CASP1 の発現が増強していた事は初めての知見である。ATL において、今後 CASP1 のリンパ球における発現をより詳細に検討していく事で、治療抵抗性の問題を解決できる可能性が示唆された。</p> <p>《結論》</p> <p>薬剤耐性が獲得される機序を考える上で、誘導される細胞死のタイプは重要で、ATL においては、CASP1 はその良いマーカーとなり得る事が示唆された。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	中西 司			
論文審査委員	主査 所属	障害機構系	災害医学部門	原田 大
	副査 所属	環境・産業生態系	環境生態部門	柳原 延章
		生体情報系	生理情報部門	矢寺 和博
		系	部門	印
		系	部門	印

論文題目

Relationship between triterpenoid anticancer drug resistance, autophagy, and caspase-1 in adult T-cell leukemia

成人 T 細胞性白血病患者細胞における、トリテルペノイド抗がん剤抵抗性、オートファジーと caspase-1 の関係性

学位論文審査結果要旨

成人 T 細胞性白血病 (ATL) は human T cell leukemia virus type 1 (HTLV1) が原因であり、発症すると予後は不良である。ククルピタシン D (CuD) はウリ科植物より抽出される物質でありプレドニゾロンに構造が類似している。著者らはこれまで CuD が白血病細胞株へインフラマソームを阻害することと BcL-xL を阻害することでアポトーシスを誘導することを報告してきた。今回 ATL 患者より分離したリンパ球に対する CuD の影響を検討し治療薬としての可能性を検討した。

同意を得た ATL 患者ならびに健常人よりリンパ球を分離して培養した。培養したリンパ球へ CuD ならびに BcL-xL 阻害剤である Z36 を投与し、細胞の viability を調べた。オートファジーの抑制には 3-methyladenine (3MA) を亢進にはラパマイシンを用いた。アポトーシスは PARP のウエスタンブロットでオートファジーの状態は light chain 3 (LC3) のウエスタンブロットで検討した。ATL 患者の治療中、治療後ならびに再燃後のリンパ球でも細胞の viability とアポトーシスへの CuD と Z36 の影響を調べた。また治療前後においてリンパ球での caspase 1 の発現をウエスタンブロットにて検討し、caspase 1 阻害剤の影響も調べた。

CuD と Z36 は健常者のリンパ球へは影響を及ぼさなかったが、ATL 患者のリンパ球へは細胞死を誘導した。3MA やラパマイシンによるオートファジーの調節は CuD の細胞死誘導には影響しなかった。Z36 を併用すると CuD の誘導する細胞死は増強され、これは 3MA にて抑制された。CuD はオートファジーのマーカーである LC3-II の発現に影響しないが、Z36 はこれを亢進した。Z36 は ATL の治療に実際に使われるプレドニゾロンの効果を増強した。臍帯血移植による治療から再燃すると CuD と Z36 の細胞死誘導は減弱した。治療後は caspase 1 の発現が亢進しており、CuD と Z36 による細胞死は caspase 1 阻害剤で増強した。

CuD は ATL 患者のリンパ球の細胞死を誘導し、オートファジー促進作用を有する Z36 の併用でその作用は増強した。治療後にはリンパ球での caspase 1 の発現が増強し、かつその阻害剤により併用薬の細胞死誘導が促進したことから caspase 1 が薬剤耐性に関与している可能性が示唆された。

【結語】

CuD が ATL の治療薬となり得る可能性があり、Z36 の併用も有用と考えられた。Caspase 1 はこの薬剤耐性に関与している可能性があり、治療でのマーカーとなり得る可能性がある。

本研究はククルピタシン D (CuD) が ATL の治療薬となる可能性を示し、caspase 1 がその耐性に関与する可能性を示したものであり、本学の学位論文として適格であると判断した。

平成 28 年 9 月 13 日

氏 名

鳥本 桂一

論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)

Relationship between fluctuations in glucose levels measured by continuous glucose monitoring and vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus
(2 型糖尿病における持続血糖モニタリングによる血糖変動と血管内皮機能障害の関係)

論文要旨

目的: 血糖変動は内皮機能障害を引き起こし、動脈硬化の発症や進展に重要な役割をもつと考えられている。しかし、実臨床において血糖変動と内皮機能障害との関連は明らかではない。今回、実臨床において血糖変動と血管内皮機能の関連、また血管内皮機能障害を予測するのに最もよい指標について検討した。

方法: 入院中の 2 型糖尿病患者 57 名に対して、入院 2 日目に持続血糖モニタリング (continuous glucose monitoring, CGM)にて 24 時間の血糖変動を測定し、入院 3 日目に PAT (peripheral arterial tonometry, PAT)装置(EndoPAT)にて血管内皮機能指標である RHI (reactive hyperaemia index)を測定(自然対数で表示:L_RHI)し、L_RHI に影響を与える因子について検討した。

結果: 対象患者は 57 名(男性 32 名、女性 25 名)で年齢 64.8 ± 12.1 歳、罹病歴 14.0 ± 11.9 年、空腹時血糖 161.3 ± 46.5 mg/dl、HbA1c $9.0 \pm 1.6\%$ であった。

57 名の CGM 結果は、平均血糖 176.5 ± 47.8 mg/dl、血糖 70mg/dl 未満の時間帯割合 $1.4 \pm 3.4\%$ 、血糖 140mg/dl 以上の時間帯割合 $67.2 \pm 28.4\%$ 、血糖 200mg/dl 以上の時間帯割合 $31.4 \pm 29.3\%$ 、SD 42.3 ± 13.2 mg/dl、MAGE 110.3 ± 33.4 mg/dl、MPPGE 79.9 ± 33.7 mg/dl、L_RHI 0.5 ± 0.2 であった。






L_RHI は SD ($r = -0.504$; $P < 0.001$)や平均血糖変動幅(the mean amplitude of glycemic excursions, MAGE) ($r = -0.571$; $P < 0.001$)、平均食後血糖上昇幅(mean postprandial glucose excursion, MMPGE) ($r = -0.411$; $P = 0.001$)、血糖 200mg/dl 以上の時間帯割合 ($r = -0.292$; $P = 0.028$)と負相関を認めた。また、低血糖を認めた 12 例においては、L_RHI と血糖 70mg/dl 未満の時間帯割合($r = -0.589$; $P = 0.044$)は負相関を認めた。しかし、L_RHI と HbA1c や空腹時血糖との相関は認めなかった。更に、L_RHI は LDL コレステロール、HDL コレステロールや中性脂肪、収縮期血圧、拡張期血圧と相関を認めなかった。従属変数を L_RHI として、独立変数に年齢、性別、BMI、罹病歴、経口血糖降下薬の有無、降圧薬の有無、脂質改善薬の有無、心血管合併症の既往の有無、LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪、収縮期血圧、SD、MAGE、血糖 70mg/dl 未満の時間帯割合、血糖 200mg/dl 以上の時間帯割合として多変量解析を行った結果、L_RHI に影響を与える因子として MAGE のみ抽出された ($R^2 = 0.314$, 標準化係数 $\beta = -0.571$, $t = -5.162$, $P < 0.001$)。

L_RHI < 0.4 で心血管イベントが有意に上昇すると報告されており、L_RHI を低 L_RHI 群 (L_RHI < 0.4)と高 L_RHI 群の 2 群に分けて、L_RHI における血糖変動を検討した。低 L_RHI 群の平均 MAGE 128.8 ± 34.4 mg/dl に対して、高 L_RHI 群の平均 MAGE 103.2 ± 30.5 mg/dl であり、低 L_RHI 群で MAGE が有意に高値であった ($P = 0.014$)。一方で低 L_RHI 群の平均血糖 187.6 ± 48.4 mg/dl、高 L_RHI 群の平均血糖 172.2 ± 47.5 mg/dl であり、両群間で有意差は認めなかった ($P = 0.143$)。

考察: RHI は血管内皮機能と相関があり、心血管イベントの発症危険因子と関連していることが報告されており、今回の研究で血管内皮機能障害の指標として RHI を用いた。今回の検討で、血管内皮機能と糖代謝、特に血糖変動との関連を臨床的に初めて明らかにした。

結語: 本研究では、血糖変動が血管内皮機能と最も密接に関連すること、さらに血糖 200mg/dl 以上の高血糖や低血糖も血管内皮機能障害と関連することを実臨床において初めて示した。

学位論文審査結果要旨

氏 名	鳥本 桂一					
論文審査委員	主査 所属	生体情報 系	生理情報 部門	尾辻 豊		
	副査 所属	生体適応 系	機能調節 部門	上田 陽一		
	副査 所属	障害機構 系	災害医学 部門	原田 大		
		系	部門			
		系	部門			

論文題目

Relationship between fluctuations in glucose levels measured by continuous glucose monitoring and vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus
 (2 型糖尿病における持続血糖モニタリングによる血糖変動と血管内皮機能障害の関係)

学位論文審査結果要旨

背景：

主に基礎実験により、血糖変動が血管内皮機能障害を引き起こし、動脈硬化を悪化させることが知られている。しかし、臨床例において血糖変動と内皮機能障害の関連を検討した報告はない。申請者らは 2 型糖尿病症例において血糖変動や平均血糖、その他の因子と血管内皮機能の関連を検討した。

方法： 2 型糖尿病患者 57 名に、持続血糖モニタリング (continuous glucose monitoring, CGM) を用いて 24 時間の血糖を評価し、PAT 装置 (peripheral arterial tonometry, EndoPAT) にて血管内皮機能指標 RHI (reactive hyperemia index) を測定(自然対数 L_RHI で表示)し、L_RHI に影響を与える因子を検討した。

結果：

①対象患者は 57 名(男性 32 名、女性 25 名)で、年齢 65±12 歳、罹病歴 14±12 年、空腹時血糖 161±47 mg/dl、HbA1c 9.0±1.6%であった。

②CGM では、平均血糖 は 177±48 mg/dl、血糖 70mg/dl 未満の時間帯割合は 1.4±3.4%、血糖 140mg/dl 以上の時間帯割合は 67±28%、血糖 200mg/dl 以上の時間帯割合は 31±29%、血糖の SD は 42±13 mg/dl、平均血糖変動幅(the mean amplitude of glycemic excursions, MAGE) は 110±33mg/dl、平均食後血糖上昇幅(mean postprandial glucose excursion, MMPGE) は 80±34mg/dl であった。

③L_RHI は 0.5±0.2 であった。L_RHI は、SD (r=-0.5, P<0.001)・平均血糖変動幅(MAGE) (r=-0.57, P<0.001)・平均食後血糖上昇幅(MMPGE) (r=-0.411, P=0.001)・血糖 200mg/dl 以上の時間帯割合 (r=-0.29, P=0.02) 等の血糖変動の指標とは有意な相関を認めた。

④しかしながら、L_RHI は HbA1c や空腹時血糖・CGM による平均血糖・LDL コレステロール・HDL コレステロール・中性脂肪・収縮期血圧・拡張期血圧とは有意相関を示さなかった。

⑤多変量解析により MAGE だけが L_RHI に影響を与える因子として抽出された (R²=0.31, 標準化係数 β=-0.57, t=-5.2, P<0.001)。

考察：

血管内皮機能障害は、動脈硬化発症の初期より生じ、動脈硬化進展や心血管イベントの発症危険因子と深く関わっている。申請者らは、血管内皮機能と糖代謝、特に血管内皮機能が血糖変動、低血糖、食後高血糖と強く関連することを臨床的に初めて明らかにした。平均血糖を下げる治療が必ずしも良い結果とならないことが大規模研究で示されており、今後の治療ターゲットが血糖変動であることを強く示唆する研究と言える。

結語：

本研究では、平均血糖の上昇ではなく血糖変動が血管内皮機能と最も密接に関連することを実臨床において初めて示した。

審査結果：

臨床的意義も大きく本学学位に値すると判断した。

平成 28 年 9 月 20 日