






氏 名	田崎 貴嗣
<p>論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと) Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1 Deficiency Attenuates Vascular Injury-Induced Neointimal Hyperplasia by Suppressing Apoptosis in Smooth Muscle Cells (ASK1 の欠損は、平滑筋細胞のアポトーシスを抑制することによって、血管障害モデルにおける内膜肥厚を減弱させる)</p>	
論文要旨	
<p>【目的】 Apoptosis signal-regulating kinase (ASK) 1 は酸化ストレスや炎症性サイトカインの刺激を介してアポトーシス誘導に寄与する一酵素である。動脈硬化は炎症性複合病変であり、高血圧や脂質異常だけでなく、酸化ストレスや炎症性サイトカイン、アポトーシスなど多くの因子に規定され、組織学的には大きく粥腫形成と新生内膜肥厚に分けることが出来る。我々は、ASK1 と apolipoprotein E (apoE) の double knockout mice (ASK1^{-/-}/apoE^{-/-}) を用いた高コレステロール血症モデルにおいて、ASK1^{-/-}/apoE^{-/-} の粥腫内マクロファージのアポトーシスが有意に減少することで necrotic core 形成が抑制され、粥腫破綻に対して保護的に作用する可能性を見出した。今回我々は、動脈硬化のもうひとつの側面と考えられる、血管平滑筋細胞 smooth muscle cells (SMC) の増生を主とした新生内膜肥厚に対する ASK1 の役割について、ASK1 knockout mice (ASK1^{-/-}) を用いた血管障害モデルを施行して検討した。</p>	
【方法】	
<p>(1) 総頸動脈結紮モデル: Wild type (C57BL/6, WT) および ASK1^{-/-} (C57BL/6 background) を用い、左総頸動脈結紮後 2 週ないし 3 週で動脈を摘出した。①組織学・免疫組織化学的観察: 結紮部より中枢側へパラフィン包埋連続切片を作製し、H&E 染色を行って肥厚内膜の面積を比較した。加えて、Masson's trichrome 染色、transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) 染色や bromodeoxyuridine (BrdU) 染色、α-smooth muscle actine (α-SMA), CD3, CD31, ki-67 等について免疫組織化学的に検討を行った。SMC および血管内皮細胞 endothelial cells (EC) のアポトーシスに関して、TUNEL を用いた蛍光二重染色もしくは En face 蛍光二重染色も施行した。②mRNA の抽出: 結紮後 2 週目の左総頸動脈を用いて cDNA を作成した後、real time RT-PCR を施行し、種々の炎症性サイトカインや、SMC の遊走因子のひとつである platelet-derived growth factor (PDGF)-BB などの、mRNA レベルでの発現を検討した。③血清の採取: ELISA を施行して PDGF-BB を測定した。(2) 骨髄移植モデル: 9 Gy の X 線を照射した WT に、WT および ASK1^{-/-} の骨髄を各々注射移植後 5 週で、同様の総頸動脈結紮モデルを作製し、組織学的観察を施行した。</p>	
【結果】	
<p>①結紮後 3 週目の左総頸動脈において、ASK1^{-/-} では WT と比し、新生内膜肥厚が有意に抑制されており、肥厚内膜内の α-SMA 陽性 SMC の単位面積当たりの数の減少も見られた。②ASK1^{-/-} では肥厚内膜内微小血管が有意に減少しており、浸潤する CD3 陽性 T リンパ球の減少も観察された。更に、複数の炎症性サイトカインの発現も減少していた。③ASK1^{-/-} では、肥厚内膜内および中膜内 SMC のアポトーシスが有意に抑制されていた。加えて CD31 陽性 EC のアポトーシスも抑制されており、CD54/CD106 といった EC 由来の接着因子の発現も有意に抑制されていた。④ASK1^{-/-} と WT の肥厚内膜内における SMC の細胞増殖能 (ki-67 or BrdU 染色陽性率) に有意な差は見られず、ASK1^{-/-} において PDGF-BB の発現が有意に減少していた。⑤ASK1^{-/-} では、電子顕微鏡下の観察で、肥厚内膜内 SMC の分泌型への脱分化は明らかでなく、Masson's trichrome 染色において、肥厚内膜内の細胞外基質の有意な減少が観察された。⑥骨髄移植モデルにおいても、ASK1^{-/-} donor 群では WT donor 群に比し、新生内膜肥厚が有意に抑制されており、非骨髄移植群の結果を支持する結果であった。</p>	
【考察および結論】	
<p>血管障害モデルでの血管再構築において、ASK1 の knockout により新生内膜肥厚が有意に抑制されることが確認された。加えて骨髄移植モデルにおいても非骨髄移植モデルの結果を支持したことから、肥厚内膜内の α-SMA 陽性細胞は、中膜由来の SMC だけでなく、骨髄由来の SMC 前駆細胞の遊走も関与している可能性が示唆された。ASK1 の欠損が、anti-atherogenic に作用する機序として、①肥厚内膜内および中膜内の SMC のアポトーシス抑制による、中膜由来 SMC の遊走の抑制、②EC のアポトーシス抑制、および肥厚内膜内微小血管の減少による、骨髄由来 SMC 前駆細胞の遊走の抑制や、炎症細胞の新生内膜内への浸潤および炎症性サイトカイン分泌の抑制、③SMC 数の減少だけでなく、SMC 脱分化の抑制による、肥厚内膜内の細胞外基質の減少、の経路が少なくとも考えられた。</p>	
<p>我々は ASK1^{-/-}/apoE^{-/-} を用いた高コレステロール血症モデルにおいて、安定プラーク形成に傾く可能性を見出しており、今回 ASK1^{-/-} を用いた血管障害モデルでの血管再構築において、新生内膜肥厚の減少だけでなく、肥厚内膜内の新生血管の有意な減少も認め、ASK1 knockout が安定プラーク形成に寄与する可能性を見出した。ASK1 signaling の抑制は、粥腫安定化や angioplasty 後の再狭窄の抑制に有効であるかもしれない。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	田崎 貴嗣					
論文審査委員	主査 所属	障害機構	系	病態機構	部門	久岡 正典 
	副査 所属	生体情報	系	生理情報	部門	尾辻 豊 
		生体適応	系	生体機構	部門	岩井 佳子 
			系		部門	
			系		部門	

論文題目

Apoptosis signal-regulating kinase 1 deficiency attenuates vascular injury-induced neointimal hyperplasia by suppressing apoptosis in smooth muscle cells.

(ASK1 の欠損は、平滑筋細胞のアポトーシスを抑制することによって、血管障害モデルにおける内膜肥厚を減弱させる)

学位論文審査結果要旨

日本人の代表的な死因である心疾患や脳血管障害の多くが動脈硬化を起因としており、その病態の解明と発生・進展の予防は重要な課題といえる。動脈硬化の病変形成機序において血管内皮や中膜平滑筋のアポトーシスが重要な因子の一つであることが近年指摘されていることから、申請者らは種々のストレスに応答してアポトーシスを誘導することで知られる apoptosis signal-regulating kinase (ASK) 1 に着目し、ASK1 欠損マウスに動脈結紮を施した血管障害モデルを作製して、動脈硬化に関連した変化について詳細に検討した。

すなわち、ASK1 ノックアウトマウス(ASK1^{-/-})および対照としての正常マウスの左総頸動脈を結紮し、2~3 週後に屠殺して同動脈の結紮近位部(500~1500 μm)を形態学および生化学的に比較解析した。その結果、ASK1^{-/-}では対照と比較して血管のサイズ(外弾性板の長さ)や中膜の組織像に差は見られなかったが、内膜の肥厚(面積とその内膜/中膜比)が有意に抑制されており、特に同部における膠原線維(マッソン 3 重染色での青色部)の量や平滑筋細胞(α 平滑筋アクチン陽性)・浸潤 T リンパ球(CD3 陽性)の数が少なく、内膜内の新生血管(CD31 陽性)も少なかった。また、ELISA や定量的 RT-PCR による検討では、ASK1^{-/-}では TNF-α や IL-1β などの炎症性サイトカインや血小板由来増殖因子(PDGF-BB)、血管内皮における接着分子(CD54, CD106)の発現も対照に比較して抑制されていた。さらに、TUNEL 法による検討では内膜および内皮細胞におけるアポトーシスの数は対照よりも ASK1^{-/-}において有意に少なかったが、BrdU や MIB-1 標識による解析では内膜における細胞増殖能に差は認められなかった。透過電子顕微鏡下では、対照における肥厚内膜では遊走能を示す合成型(synthetic type)の平滑筋細胞が観察されたのに対し、ASK1^{-/-}の内膜には収縮型(contractile type)の細胞が主体であった。次に、放射線照射後の健常マウスに健常マウスあるいは ASK1^{-/-}の骨髄を移植し、同様の血管障害モデルを作製したところ、健常マウスの骨髄を移植したマウスの頸動脈では顕著な内膜肥厚が観察されたが、ASK1^{-/-}の骨髄を移植した方では内膜の肥厚は有意に抑制されていた。

以上の結果より、マウスにおける血管障害モデルでは、ASK1 によって誘導されるアポトーシスが動脈内膜の炎症細胞浸潤および平滑筋細胞の増加、炎症性サイトカイン・接着分子の産生、血管新生の誘導などを促進することで内膜の肥厚を引き起こしている可能性が示唆され、ASK1 のシグナル伝達系を人為的に遮断することによって動脈硬化における内膜肥厚や血管形成術後の再狭窄を制御できる可能性があると考えられる。本研究は動脈硬化の成り立ちにおける ASK1 を介したアポトーシスの重要性を実験的に明らかにした点で有意義であると考えられ、本学の学位論文として適格であると判断した。

氏 名	Hoai Thi Thu Bui
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
SLCO1B1, SLCO2B1, and SLCO1B3 polymorphisms and susceptibility to bladder cancer risk	
(SLCO1B1, SLCO2B1, SLCO1B3 遺伝子多型と膀胱発癌のリスク)	
論文要旨	
<p>特に膀胱では尿中に含まれる多くの発癌物質が発癌に影響していると考えられる。発癌の初期の段階として尿中の発癌物質が細胞内に取り込まれることが重要であると考えられるが、この点に関する報告は全くなかった。そこで、我々は種々の物質の細胞内取り込みに関与する organic anion-transporting polypeptides (OATPs) をコードする遺伝子 <i>SLCO</i> の多型と膀胱癌の相関につき検討した。さらに、発癌物質の解毒に関与すると考えられる <i>N-acetyltransferase 2</i> (<i>NAT2</i>) の遺伝子多型についても検討した。</p>	
<p>方法：対象は 1983 年～1995 年の間に当科を受診した膀胱癌患者と非膀胱癌患者である。検討した遺伝子多型は <i>SLCO1B1 rs2306283</i> (388A>G, Asn130Asp)、<i>SLCO1B3 rs149117</i> (344T>G, Ser112Ala)、<i>SLCO2B1 rs12422149</i> (935G>A, Arg312Gln)、<i>NAT2</i> である。これらの遺伝子は日本人においても比較的高頻度に多型が見られ、多型による機能の違いが報告されていることよりこれらの遺伝子を選択した。方法は抹消血球より DNA を抽出し、<i>SLCO</i> についてはシーケンスを行い、<i>NAT2</i> に関しては PCR-RFLP 法を用い、rapid types (WT/WT, WT/M1, WT/M2, and WT/M3) と slow types (M1/M1, M1/M2, M1/M3, M2/M2, M2/M3, and M3/M3) に分類した。</p>	
<p>統計学的解析は SPSS version 20 statistical software package を用い、$p < 0.05$ の場合に有意差ありとした。</p>	
<p>結果：膀胱癌患者は 237 名 (男性 179 名、女性 58 名)、年齢は平均 69.2 (31- 89) 歳、非膀胱癌患者は 248 名 (男性 201 名、女性 47 名)、年齢は平均 70.6 (40- 87) 歳であり、両群間に有意差はなかった。喫煙については喫煙している、または喫煙していたものが膀胱癌患者群で 60.34% で非膀胱癌患者群の 40.32% と比較し有意に高かった ($p < 0.001$)。</p>	
<p><i>SLCO1B3</i>、<i>SLCO2B1</i> に関しては、遺伝子型と膀胱癌の頻度とに有意な関連は認めなかった。<i>SLCO1B1</i> では AG/GG、AA の頻度は膀胱癌患者でそれぞれ 89.9%、10.1%、非膀胱癌患者で 84.6%、15.4% であり、膀胱癌患者において AG/GG は有意に高頻度であった ($p = 0.016$、OR=2.01)。膀胱癌を筋層非浸潤性と筋層浸潤性癌に分類して検討すると、筋層非浸潤癌では AG/GG、AA の頻度はそれぞれ 92.3%、7.7% であり非膀胱癌患者と比較して AG/GG の頻度が有意に高かった ($p = 0.01$、OR=2.71)。筋層浸潤癌においては非膀胱癌患者と比較して有意な差は認めなかった。<i>SLCO1B1</i> と <i>NAT2</i> 遺伝子型を組み合わせた検討では、<i>SLCO1B1</i> AG/GG+<i>NAT2</i> slow type の頻度は膀胱癌患者で 12.3%、非膀胱癌患者で 6.7% であり、膀胱癌患者において <i>SLCO1B1</i> AA+<i>NAT2</i> rapid type をもつ患者に比較して膀胱癌の発生が有意に効率であった ($p = 0.004$、OR=3.77)。</p>	
<p>考察：膀胱発癌に関しては芳香族アミン、喫煙、砒素をはじめとする多くの外因性発癌物質の関与が示されており、膀胱癌の発生母地である尿路上皮は尿中の多くの発癌物質に暴露されている。OATP は多くの物質の細胞内取り込みに関与しており、尿中の発癌物質の尿路上皮細胞内取り込みにも関与している可能性がある。今回の我々の検討では <i>SLCO1B1</i> の遺伝子型と膀胱癌の頻度に関連を認め、その関与が示唆された。<i>SLCO1B1 rs2306283</i> では A allele に比べ G allele で statin などの細胞内への取り込み能が高いことが示されており、</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	Bui Thi Thu Hoai			
論文審査委員	主査 所属	生体情報系	生殖生理情報部門	蜂須賀 徹 (印)
	副査 所属	障害機構系	災害外科部門	田中 文啓 (印)
		生体情報系	生理情報部門	迎 寛 (印)
		系	部門	(印)
		系	部門	(印)
<p>論文題目 <i>SLCO1B1</i>, <i>SLCO2B1</i>, and <i>SLCO1B3</i> polymorphisms and susceptibility to bladder cancer risk (SLCO1B1, SLCO2B1, SLCO1B3 遺伝子多型と膀胱発癌のリスク)</p> <p>学位論文審査結果要旨</p> <p>膀胱癌は主に尿中に存在する様々な発癌物質が発癌に関与すると考えられている。発癌の初期の段階として尿中の発癌物質が細胞内に取り込まれることが重要であると考えられるが、この点に関する報告は全くなかった。そこで、種々の物質の細胞内取り込みに関与する organic anion-transporting polypeptides (OATPs) をコードする遺伝子 <i>SLCO</i> の多型と膀胱癌の相関につき検討した。さらに、発癌物質の解毒に関与すると考えられる <i>N-acetyltransferase 2</i> (<i>NAT2</i>) の遺伝子多型についても検討した。</p> <p>方法：対象は 1983 年～1995 年の間に当科を受診した膀胱癌患者と非膀胱癌患者である。検討した遺伝子多型は <i>SLCO1B1 rs2306283</i> (388A>G, Asn130Asp)、<i>SLCO1B3 rs149117</i> (344T>G, Ser112Ala)、<i>SLCO2B1 rs12422149</i> (935G>A, Arg312Gln)、<i>NAT2</i> である。方法は抹消血球より DNA を抽出し、<i>SLCO</i> についてはシークエンスを行い、<i>NAT2</i> に関しては PCR-RFLP 法を用い、rapid types (WT/WT, WT/M1, WT/M2, and WT/M3) と slow types (M1/M1, M1/M2, M1/M3, M2/M2, M2/M3, and M3/M3) に分類した。統計学的解析は SPSS version 20 statistical software package を用い、$p < 0.05$ の場合に有意差ありとした。</p> <p>結果：膀胱癌患者は 237 名（男性 179 名、女性 58 名）、年齢は平均 69.2 (31- 89) 歳、非膀胱癌患者は 248 名（男性 201 名、女性 47 名）、年齢は平均 70.6 (40- 87) 歳であり、両群間に有意差はなかった。<i>SLCO1B3</i>、<i>SLCO2B1</i> に関しては、遺伝子型と膀胱癌の頻度とに有意な関連は認めなかった。<i>SLCO1B1</i> では AG/GG、AA の頻度は膀胱癌患者でそれぞれ 89.9%、10.1%、非膀胱癌患者で 84.6%、15.4% であり、膀胱癌患者において AG/GG は有意に高頻度であった ($p=0.016$, OR=2.01)。膀胱癌を筋層非浸潤性と筋層浸潤性癌に分類して検討すると、筋層非浸潤癌では AG/GG、AA の頻度はそれぞれ 92.3%、7.7% であり非膀胱癌患者と比較して AG/GG の頻度が有意に高かった ($p=0.01$, OR=2.71)。筋層浸潤癌においては非膀胱癌患者と比較して有意な差は認めなかった。<i>SLCO1B1</i> と <i>NAT2</i> 遺伝子型を組み合わせた検討では、<i>SLCO1B1</i> AG/GG+<i>NAT2</i> slow type の頻度は膀胱癌患者で 12.3%、非膀胱癌患者で 6.7% であり、膀胱癌患者において <i>SLCO1B1</i> AA+<i>NAT2</i> rapid type をもつ患者に比較して膀胱癌の発生が有意に効率であった ($p=0.004$, OR=3.77)。</p> <p>考察：<i>SLCO1B1 rs2306283</i> では A allele に比べ G allele で statin などの細胞内への取り込み能が高いことが示されており、尿中の発癌物質取り込みも高い可能性が考えられ、AG/GG で AA 型に比較し膀胱癌の頻度が高かった可能性が考えられる。この <i>SLCO1B1</i> の遺伝子多形は、発癌物質の細胞内取り込みという発癌の初期のステップに関与し、細胞内取り込みが活発な <i>SLCO</i> 遺伝子型をもつ人では発癌物質の細胞内取り込みが亢進しており、さらに <i>NAT2</i> 遺伝子型が解毒作用の劣っている型 (slow type) であれば、さらに発癌のリスクが高くなると推測された。</p> <p>結論：<i>SLCO1B1</i> の遺伝子多型は膀胱発癌のリスクと関連する可能性が示され、<i>SLCO1B1</i> の機能的遺伝子多型や <i>SLCO1B1</i> やその蛋白である OATP1B1 の発現強度は膀胱癌リスクのバイオマーカーとなる可能性がある。</p> <p>評価：、発癌物質の細胞内取り込みに関与する遺伝子 <i>SLCO</i> の多型と膀胱癌との関係を初めて明らかにした論文であり、本学の学位論文として適格であると判断した。</p>				
平成 26 年 10 月 10 日				

氏 名	野口 真吾
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
Nitric oxide exerts protective effects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice (一酸化窒素はブレオマイシン肺線維化マウスモデルにおいて保護的な役割を果たす)	
論文要旨	
【目的】	
<p>一酸化窒素 (nitric oxide; NO) を含むフリーラジカルは肺線維化に重要な役割を担っていることが報告されている。実際に、肺線維症患者における肺組織では、3種の一酸化窒素合成酵素 (nitric oxide synthase; NOS: iNOS, eNOS, nNOS) の発現の亢進が認められ、さらに NO 産生の指標である血清中一酸化窒素酸化物 (NOx) の上昇も報告されており、ヒトの肺線維化の病因に関して NO は重要な役割を果たしていることが推察される。これまで、NO と肺線維化の関係として、eNOS に関しては肺の線維化に保護的な作用を有することが報告されているが、iNOS については肺線維化を増悪させるという報告が多い反面、肺線維化を抑制させるとする報告も少なからず散見される。また、nNOS に関しては肺線維化への関連性については不明である。また、これまでの NOS 阻害剤や NOS シングルノックアウトマウスを用いた報告では、NOS 阻害剤の非特異的な作用の影響や、残った NOS が相補的に作用して NO の産生を補填することから、肺線維化における NO や各 NOS isoform の本質的な役割については十分には理解されていない。このため、本研究では、3種の NOS すべてを完全に欠失させた NO 合成酵素完全欠失 (n/i/eNOS^{-/-}) マウスを用いて、肺線維化における NO および NOS システムの役割について検討を行った。</p>	
【対象および方法】	
<p>Wild-type (WT; C57/B6)、シングル NOS ノックアウト (single NOS^{-/-})、n/i/eNOS^{-/-}マウスにブレオマイシン 8mg/kg 10日間連日腹腔内投与を行い、ブレオマイシン最終投与 14日後に肺の炎症と線維化の評価を行った。また、n/i/eNOS^{-/-}マウスに NO 補充を行うことによる効果を併せて評価した。</p>	
【結果】	
<p>ブレオマイシン投与により、WT/single NOS^{-/-}マウスと比較して、n/i/eNOS^{-/-}マウスでは、肺の線維化スコアやコラーゲン量の増加を認めた ($P < 0.05$)。また、肺線維化において重要なメディエーターである TGF-β1、CTGF の protein/mRNA level での上昇 ($P < 0.05$) を認めた。さらに、WT/single NOS^{-/-}と比較して、n/i/eNOS^{-/-}マウスにおいて気管支洗浄液中の炎症細胞の増加 ($P < 0.05$) や、炎症性サイトカインである IL-6/TNF-α の protein/mRNA level の上昇 ($P < 0.05$) を認めた。以上より、n/i/eNOS^{-/-}マウスでは WT/single NOS^{-/-}マウスと比較して肺線維化が増悪することが示唆された。加えて、n/i/eNOS^{-/-}マウスに NO 補充療法を行うことにより、肺の組織学的所見や肺線維化スコア、コラーゲン量の増加が抑制された ($P < 0.05$)。</p>	
【考察】	
<p>NO の肺線維化における本質的な役割を解明するために、すべての NOS をノックアウトさせ、NO の産生を可能な限り抑制した n/i/eNOS^{-/-}マウスを用いて、ブレオマイシン肺線維化モデルにおける検討を行い、WT/single NOS^{-/-}マウスと比較して、n/i/eNOS^{-/-}マウスでは肺線維化が増悪すること、また、この増悪効果は NO の補充により抑制されることを示した。このことから、ブレオマイシン肺線維化モデルにおいて、NO は重要な保護因子であることが示唆された。NO の肺線維化に対する抑制効果の機序に関しては、肺線維化における重要なメディエーターである TGF-β1 の上昇や、その下流に位置する CTGF を介した経路に対する作用が重要である可能性が示唆された。また、NO は肺胞マクロファージにより産生される炎症性サイトカインを抑制することが報告されているが、本検討において、NO 欠失により炎症性サイトカインの増加を認めたことや、肺組織で肺胞マクロファージの増加が認められたことから、肺胞マクロファージが NO の重要な標的因子である可能性も示唆された。今回の検討では、これらの機序の十分な解明はできておらず、今後さらなる検討が必要であると考えた。</p>	
【結論】	
<p>内因性 NO/NOS システムは肺線維化に保護的な役割を果たす可能性が示唆された。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	野口 真吾					
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	障害機構系	災害医学	部門	原田 大
			生体情報系	生殖生理情報	部門	楠原 浩一
			系		部門	部門
			系		部門	部門
論文題目						
Nitric oxide exerts protective effects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice (一酸化窒素はブレオマイシン肺線維化マウスモデルにおいて保護的な役割を果たす)						
学位論文審査結果要旨						
<p>一酸化窒素(NO)は呼吸の恒常性維持に重要な役割を果たしていると考えられている。一方、肺線維症の患者において、NO合成酵素(NOS)の発現の亢進とともにNO産生の指標である血清中のNOx(一酸化窒素酸化物)量の増加も認められていることから、肺線維化にもNOは関与していることが示唆されているが、その詳細については未だ不明な点が多い。NOSには3種類(iNOS、eNOS、nNOS)のアイソフォームがあり、肺線維症とこれらNOSとの関連について、NOS阻害剤あるいはシングルNOSノックアウトマウスを用いて検討した報告があるが、NOS阻害剤の非特異的作用の影響や、残存しているNOSアイソフォームによる代償作用の影響なども示唆されている。そこで本研究では3種類のNOSアイソフォームを全て欠失させたトリプルNOSノックアウトマウス(n/i/eNOS^{-/-})を用いて、肺線維化におけるNOならびにNOS系の役割について検討した。</p> <p>野生型(C57B/6)、3種類のシングルNOSノックアウトマウス(nNOS^{-/-}、iNOS^{-/-}、eNOS^{-/-}マウス)ならびにn/i/eNOS^{-/-}マウスに対してブレオマイシンを腹腔内投与(8 mg/kg、連続10日間)し、最終投与日から14日後に肺の炎症と線維化について肺組織染色と組織中のmRNA発現量、気管支洗浄液(BALF)の採取とBALF中の炎症細胞数およびケミカルメディエーター量の測定などから評価した。またn/i/eNOS^{-/-}マウスについては、肺線維化に対するNOドナー(硝酸イソソルビド)の飲水投与(0.6 mg/dLの割合でブレオマイシン投与3日前から生体試料採取日まで)によるNO補充の効果についても併せて検討した。</p> <p>野生型およびシングルNOSノックアウトマウスと比較して、n/i/eNOS^{-/-}マウスでは肺線維化面積、肺組織コラーゲン量、線維化の重要なメディエーターの一つであるCTGFの有意な増加を認めた。さらにTGF-βならびに炎症性サイトカイン(IL-6やTNF-α)の肺組織内におけるmRNA発現量も有意に増加しており、BALFを用いた検討でも、n/i/eNOS^{-/-}マウス由来のBALFにおける炎症細胞数およびTGF-β・炎症性サイトカイン量の有意な増加が認められた。またn/i/eNOS^{-/-}マウスに対するNOドナー投与により、肺線維化面積とコラーゲン量の増加は有意に抑制された。本研究の結果からn/i/eNOS^{-/-}マウスにおいてブレオマイシンによる肺線維化は増悪すること、またこの線維化の増悪がNOドナー投与により抑制されることが判明し、内因性NOは肺線維化に対して保護的作用を示すことが示唆された。またこのNOの保護的作用の機序として、肺胞マクロファージ由来の炎症性サイトカイン産生能、および線維化との関連が示唆されているTGF-β/CTGF経路に対する抑制作用である可能性が考えられた。</p> <p>本研究はNOSシステムの完全欠損マウスを用いることによって、肺線維化における内因性NOの役割をより明らかにしたものである。このNOの保護的作用の機序については今後さらなる検討が必要ではあるが、本研究の成果は間質性肺炎を中心とした呼吸器疾患患者の生体内NOレベルが疾患の重症度・進行・予後などの予測因子の一つとなる可能性、またその治療としてNOドナーによるNO補充療法が新たな選択肢の一つとなる可能性に繋がるものであると考えられたことから、本学学位論文として適格であると判断した。</p>						
平成26年12月15日						

氏 名	中本 充洋
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
Prognostic significance of WNT signaling in pancreatic ductal adenocarcinoma (膵管癌における WNT シグナル伝達の予後的意義について)	
論文要旨	
<目的>	
<p>膵癌(浸潤性膵管癌)は 5 年生存率が 25%以下と、ヒトでは最も予後の不良な癌の一つであり、KRAS 変異などの様々な分子生物学的な異常が存在している。一方、WNT シグナルは細胞分化や成長などに重要な働きを果たしている分子間シグナルであり、その経路における異常は大腸癌などの様々な癌で見い出されている。その活性化には β-catenin の核内移行を伴い、cyclinD1 や c-Myc などの癌関連遺伝子の過剰発現を介して異常細胞増殖を誘導すると考えられている canonical pathway (古典的経路) と、β-catenin に依存せず、Rho ファミリーの低分子 G タンパク質などを活性化し NFATc1 (nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1) などの核内移行を伴う non-canonical pathway (非古典的経路) が知られている。膵癌における、WNT シグナル経路の異常は、その発生や進展との関係が示唆されているものの、生命予後についての意義を検討した報告は乏しい。</p> <p>今回、我々は浸潤性膵管癌において、WNT シグナル (canonical/non-canonical pathway) 活性化の有無と予後(術後生存期間)との関係について調査した。</p>	
<方法>	
<p>1982 年から 2012 年までに産業医科大学第一外科で手術を行なった浸潤性膵管癌の症例 101 例を対象とした。WNT シグナル経路についての免疫組織学的染色を行ない、その結果と術後生存期間を含む臨床病理学的諸因子との関係について検討した。すなわち腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋組織を用いて、WNT シグナル経路に関わる代表的な蛋白である β-catenin、WNT2、NFATc1 に対する免疫染色を行い、β-catenin の核内発現陽性症例を canonical pathway 活性化群、β-catenin の核内発現陰性症例で WNT2 と NFATc1 陽性症例を non-canonical pathway 活性化群と判定して、それら経路の活性化と臨床病期や腫瘍径、リンパ節転移の有無、患者予後等との関係を統計学的に検討した。</p>	
<結果と考察>	
<p>β-catenin の核内発現を示した canonical pathway 活性化群の症例数は 59 例であり、これらは β-catenin の核内発現を伴わない症例の群(42 例)に比べて有意に予後が不良であった ($P=0.002$)。一方、WNT2 が陽性で、かつ NFATc1 の核内発現を伴う non-canonical pathway 活性化群は 25 例であったが、この経路の活性化の有無と予後との間に有意な関係は認められなかった ($P=0.268$)。canonical/non-canonical pathway の両者がともに活性化していた群(16 例)は、non-canonical pathway のみの活性化群(9 例)に比較して有意に予後が不良であった ($P=0.034$)。β-catenin 核内発現の有無も含めた臨床病理学的諸因子を、生存予後に関して単・多変量解析により検討したところ、β-catenin 核内発現 ($P=0.006$)、膵局所進展度 (pT 因子) ($P=0.041$)、遠隔転移 (pM 因子) ($P=0.001$)、腫瘍径($P=0.004$)が膵癌での独立した予後因子と判定された。</p>	
<結論>	
<p>以上の結果より、浸潤性膵管癌において β-catenin の核内発現で示される WNT 経路の canonical pathway 活性化は不良な予後の予測因子の 1 つである事が示され、膵癌症例の取り扱いにおいて有用な情報であると考えられる上に、将来の治療標的となりうる可能性が示唆された。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	中本 充洋					
論文審査委員	主査 所属	生体適応 系	生体機構 部門	中山 敏幸		
	副査 所属	障害機構 系	災害医学 部門	原田 大		
		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

Prognostic significance of WNT signaling in pancreatic ductal adenocarcinoma.
(膵管癌における WNT シグナル伝達の予後的意義について)

学位論文審査結果要旨

本研究は、浸潤性膵管癌における WNT 経路（特に canonical pathway）の活性化と予後との関連を、免疫組織化学的染色および単・多変量解析にて検討したものである。

膵癌（浸潤性膵管癌）は 5 年生存率が 25%以下と、ヒトでは最も予後の不良な癌の一つである。また、WNT シグナルは細胞分化や成長などに重要な働きを果たしている分子間シグナルであり、その経路における異常は大腸癌などの様々な癌で見出されている。WNT 経路の活性化には β -catenin の核内移行を伴い、cyclin D1 や C-Myc などの癌関連遺伝子の過剰発現を介して異常細胞増殖を誘導すると考えられている canonical pathway（古典的経路）と、 β -catenin に依存せず、NFATc1 (Nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1) 等の核内移行を伴う non-canonical pathway（非古典的経路）が知られている。膵癌における、WNT シグナル経路の異常と生命予後についての意義を検討した報告は乏しい。そこで本研究では浸潤性膵管癌における、WNT シグナル (canonical/non-canonical pathway) 活性化の有無と予後（術後生存期間）との関係について検討した。

1982 年から 2012 年までに産業医科大学第 1 外科で手術を行なった浸潤性膵管癌の症例 101 例を対象とした。WNT シグナル経路についての免疫組織学染色を行ない、その結果と術後生存期間を含む臨床病理学的諸因子との関係について検討した。膵癌組織のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いて、WNT 経路に関わる β -catenin、WNT2、NFATc1 の免疫組織化学染色を行い、 β -catenin の核内発現陽性症例を canonical pathway 活性化群、および β -catenin の核内発現陰性症例で WNT2 と NFATc1 陽性症例を non-canonical pathway 活性化群と判定し、各経路の活性化と臨床病期や腫瘍径、リンパ節転移の有無、患者予後等との関連を統計学的に検討した。

Canonical pathway 活性化群は 101 例中 59 例であり、 β -catenin の核内発現を伴わない症例の群（42 例）に比べて有意に予後不良であった ($P=0.002$)。一方、WNT2 陽性で、かつ NFATc1 の核内発現を伴う non-canonical pathway 活性化群は 25 例であったが、予後との間に有意な関係は認められなかった ($P=0.268$)。Canonical/non-canonical pathway の両者が活性化していた群（16 例）は、non-canonical pathway のみの活性化群（9 例）に比して有意に予後不良であった ($P=0.034$)。 β -catenin 核内発現の有無も含めた臨床病理学的諸因子を、生存予後に関して単・多変量解析により検討したところ、 β -catenin 核内発現 ($P=0.006$)、膵局所進展度 ($P=0.041$)、遠隔転移 ($P=0.001$)、腫瘍径 ($P=0.004$) が独立した予後因子と判定された。以上の結果より、浸潤性膵管癌において β -catenin の核内発現で示される WNT 経路の canonical pathway 活性化は不良な予後の予測因子の 1 つである事が示された。

本研究は、ヒト膵癌組織を利用し、免疫組織化学染色における蛋白発現の詳細な判定や解析、および多くの膵癌患者予後情報の調査と単・多変量解析の方法を用いた精緻な統計学的解析を行っている。また、得られた結果は、膵癌患者の取り扱いにおいて非常に有用な情報であると考えられ、更に将来の治療標的となる可能性が強く示唆されることから、本学学位論文として適格であると判断した。

平成 27 年 1 月 26 日

氏名

吉村 充弘

論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)

A role of nesfatin-1/NucB2 in dehydration-induced anorexia
(脱水誘発性摂食抑制における nesfatin-1/NucB2 の役割)

論文要旨

【目的】 Nesfatin-1/NucB2 は、PPAR γ アゴニストであるチアゾリジン系薬剤によって活性化される遺伝子群の検索によって発見された新規ペプチド (Oh-I et al., *Nature*, 2006) であり、強力な摂食抑制作用を有する。Nesfatin-1/NucB2 は脂肪細胞などの末梢組織の他、中枢においては、バゾプレッシンを産生する大細胞性神経分泌ニューロンの細胞体が局在する視索上核 (SON) および室傍核 (PVN) を含む視床下部に多く発現している。また、血漿浸透圧などを敏感に感知することができる血液脳関門の欠如した部位として知られる脳弓下器官 (SFO) にも発現している。SFO、SON および PVN は体液量調節および浸透圧調節に重要な神経核であることが知られており、nesfatin-1/NucB2 が摂食抑制のみならず、体液量や浸透圧の調節に何らかの役割を果たしている可能性が考えられた。一方、脱水状態に陥ると摂食は抑制される。これは脱水誘発性摂食抑制と呼ばれ、食事摂取によるさらなる浸透圧上昇を抑えるための生理学的な適応反応と考えられている。本研究では体液量調節、特に脱水誘発性摂食抑制に対する nesfatin-1/NucB2 の視床下部における生理学的意義に着目し、その機能解明を目的とした。

【方法】 成熟雄性ウイスター系ラットを用い、(1) SFO、SON および PVN における nesfatin-1/NucB2 を *in situ* hybridization 法 (ISH 法) を用いて、1) 48 時間摂食制限を行った際の解析をした。2) 48 時間飲水制限および 5 日間 2% 高張食塩水投与を行った際の解析をした。3) 飲水制限 (12、24 および 48 時間) および 48 時間飲水制限後 24 時間再飲水を行った際の解析をした。4) 血中 Na、浸透圧および総タンパク濃度との相関関係を調べた。5) 等張性容量減少モデルであるポリエチレングリコール (PEG) 腹腔内投与 (200 mg/kg 体重) 6 時間後に解析した。(2) 免疫組織化学的染色法を用いて、1) 48 時間飲水制限もしくは 48 時間飲水制限後に 24 時間再飲水を行い、SFO、SON および PVN における nesfatin-1/NucB2 免疫染色性を解析した。2) 48 時間飲水制限後の *c-fos* 改変緑色蛍光タンパク (*c-fos*-eGFP) トランスジェニックラットにおける nesfatin-1 と Fos タンパクの局在を、SON および PVN について解析した。(3) 48 時間飲水制限後に、1) nesfatin-1/NucB2 中和抗体 (8 μ g, 1 μ g/ μ L) もしくは、2) nesfatin-1/NucB2 (540pmol, 70pmol/ μ g) を脳室内投与し、その後の摂食量や飲水量などを測定した。

【結果】 (1) SFO、SON および PVN における nesfatin-1/NucB2 は、1) 48 時間の摂食制限後に有意に減少した。2) 48 時間の飲水制限および 2% 高張食塩水負荷によって顕著に増加した。3) 24 および 48 時間飲水制限後に有意に増加し、飲水制限時間依存的であった。また、48 時間飲水制限後の 24 時間再飲水でコントロール群と同程度となった。4) 血中 Na、浸透圧および総タンパク濃度と有意な正の相関を示した。5) PEG 投与後に有意に増加した。(2) Nesfatin-1/NucB2 免疫染色では、1) SFO、SON および PVN において、48 時間飲水制限に nesfatin-1/NucB2 免疫染色性の有意な増加を認め、48 時間飲水制限後の 24 時間再飲水でコントロール群と同程度となった。2) Nesfatin-1/NucB2 免疫染色陽性細胞では神経細胞の興奮マーカーとして汎用されている Fos タンパクも同時に発現していた。(3) 48 時間飲水制限後、すなわち nesfatin-1/NucB2 過剰状態下において、1) nesfatin-1/NucB2 中和抗体の脳室内投与後、飲水量は変化せず、摂食量が顕著に増加した。2) nesfatin-1/NucB2 の脳室内投与後、飲水量は変化せず、摂食量および体重は有意に減少した。

【考察】 以上より、中枢における nesfatin-1/NucB2 は飲水制限後の生理的摂食抑制状態を引き起こすのに重要な役割を果たし、摂食抑制物質としてのみならず、体液量および浸透圧の調節因子的役割を担っている可能性が示唆された。

【結論】 Nesfatin-1/NucB2 が脱水誘発性摂食抑制に関与していることを明らかにした。

学位論文審査結果要旨

氏 名	吉村 充弘			
論文審査委員	主査 所属	生体情報 系	生理情報 部門	藤木 通弘
	副査 所属	生体情報 系	病態情報 部門	鈴木 秀明
		生体情報 系	病態情報 部門	佐多 竹良
		系	部門	部門
		系	部門	部門

論文題目

A role of nesfatin-1/NucB2 in dehydration-induced anorexia.
 (脱水誘発性摂食抑制における nesfatin-1/NucB2 の役割)

学位論文審査結果要旨

【背景】以前から視床下部に nucleobindin 2 (Nuc2) という分泌性タンパクが存在することが知られていた。2006 年に群馬大学の大井らによって NucB2 の 1-82 アミノ酸残基部分である nesfatin-1 が摂食抑制を示すことが示された。末梢では脂肪細胞および膵臓の β 細胞に、中枢では視索上核 (SON) および室傍核 (PVN) を含む視床下部や脳弓下器官 (SFO) に発現していることが明らかになっている。これらの神経核は体液調節や浸透圧調節に重要であることから、nesfatin-1 がそういった機能になんらかの役割を果たしている可能性が考えられる。脱水状態では食欲が抑えられる現象が「脱水誘発性摂食抑制」として知られているが、本論文は、この働きに nesfatin-1 が関与している可能性について初めて明らかにしようとしたものである。

【方法と結果】オス成ラットを用いて、1) 48 時間給餌制限が nesfatin-1 遺伝子発現に及ぼす影響、2) 2% 高張食塩水投与、あるいは 48 時間飲水制限が nesfatin-1 遺伝子発現に及ぼす影響、3) 飲水制限が nesfatin-1 遺伝子発現に及ぼす影響、4) 体液量減少のみによる影響を見るためのポリエチレングリコール (PEG) の腹腔投与が nesfatin-1 遺伝子発現に及ぼす影響、5) 飲水制限が nesfatin-1 タンパク量に及ぼす影響、6) 48 時間飲水制限による浸透圧刺激後の nesfatin-1 中和抗体および nesfatin-1 の脳室内投与 (i.c.v.) が飲水および摂食行動に及ぼす影響、の 6 つの影響について実験を行った。なお、遺伝子発現測定は in situ Hybridization 法を用いて、タンパク量測定は免疫組織化学的染色による半定量法を用いて行った。SON、PVN および SFO における nesfatin-1 遺伝子発現は、1) 48 時間給餌制限で有意に減少し、2) 2% 高張食塩水投与および 48 時間飲水制限によって有意に増加し、3) 飲水制限の時間に比例して有意に増加し、再飲水 24 時間で対照と同程度となった。さらにこのとき各神経核における遺伝子発現は、測定した血液浸透圧、血漿ナトリウム、総蛋白濃度と正の相関を示した。4) 体液量減少負荷によっても有意に増加した。5) 48 時間飲水制限によって nesfatin-1 のタンパク量も各神経核で有意に増加し、再飲水 24 時間後に対照と同程度となった。6) 48 時間飲水制限後の nesfatin-1 中和抗体の脳室内投与は対照と比べて摂食が増加し、nesfatin-1 の投与は投与後 24 時間で対照と比べて摂食量と体重を減少させた。

【結論と考察】SON、PVN および SFO における nesfatin-1 遺伝子発現は、飲水制限あるいは高張食塩水負荷による浸透圧刺激によって増加し、体液量のみを低下させる刺激によっても増加した。本実験のその他の結果とも合わせて考えると、浸透圧が高い状態あるいは体液量が減少している際に、食餌性の浸透圧上昇をおさえるために nesfatin-1 が摂食抑制に働いていることが示唆された。

【審査結果】本研究は nesfatin-1 が脱水誘発性摂食抑制において重要な役割を果たしていることを明らかにした点において新規性があり、さらにこの知見は肥満対策など臨床医学への応用においてもたいへん重要であると考えられ、本学の学位論文として適格であると判断した。

平成 27 年 1 月 30 日

氏 名

岩瀧 麻衣

論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)

Measurement of Left Atrial Volume from Transthoracic Three-Dimensional Echocardiographic Datasets Using the Biplane Simpson's Technique

(経胸壁 3 次元心エコー図法による左房容量の計測 ; 2 断面シンプソン法を用いた検討)

論文要旨

【目的】2 次元経胸壁心エコー図法 (2DTTE) より求めた左房容量は、心血管病の予後を予測することが知られている。しかし、2D での左房容量の評価は幾何学的仮定に基づいており、測定する断面の違いにより左房容量の測定は不正確となる。近年、多列造影 CT (MDCT) により左房容量を検討した報告がなされている。我々は、3 次元経胸壁心エコー図法 (3DTTE) を用いることにより、MDCT と同様に左房容量の正確な計測が可能であると考えた。この研究は、1) MDCT を参照に、3DTTE より求めた 3D 定量法による左房容量の正確性を評価すること、2) 左房容量をより簡便に計測するために、3D 定量法を参照に、従来の 2D による 2 断面シンプソン法 (2D シンプソン法) と 3DTTE より切り出した画像を 2 断面シンプソン法へ応用する方法 (3D シンプソン法) で求めた左房容量を比較し、その有用性を比較することを目的とした。

【方法】プロトコール 1 : 3DTTE の精度を評価するために、3DTTE の施行 1 ヶ月以内に冠動脈疾患の評価のために MDCT を行った 20 例を後ろ向きに選択した。左房容量の計測は、収縮末期の時相に合わせ、3DTTE による 3D 定量法および MDCT を用いて最大左房容量の計測を行った。プロトコール 2 : 健常群 77 例、疾患群 123 例の計 200 例に対し 2DTTE と 3DTTE を用い、体表面積で補正した最大左房容量指数の測定を行った。2DTTE での左房容量の測定は、心尖四腔像と二腔像より 2D シンプソン法を用いた。3D での左房容量の測定には、解析ソフトを用いた 3D 定量法と 3D シンプソン法で行った。

【結果】プロトコール 1 : 3D 定量法で求めた最大左房容量は、MDCT で測定した最大左房容量よりわずかに小さいものの (98 ± 24 ml vs. 103 ± 23 ml)、良好な相関を認めた ($r=0.97$, $P<.001$)。また、3D 画像より切り出した左房の短軸像の形状は楕円形を示していた。プロトコール 2 : 2D シンプソン法と 3D 定量法による最大左房容量指数は相関し ($r=0.96$, $P<.001$)、最大左房容量指数の平均値は 3D 定量法より 2D シンプソン法が大きかった。さらに、3D シンプソン法と 3D 定量法はよい相関を認め ($r=0.99$, $P<.001$)、ばらつきは小さかった。また、最大左房容量の測定に要した時間は、3D 定量法 (135 ± 24 sec) と比較すると明らかに 2D シンプソン法が短く (82 ± 7 sec)、続いて 3D シンプソン法 (94 ± 11 sec) であった。

【考察】現在、様々な臨床状況で左房容量は予後予測に用いられている。通常、左房容量は 2D シンプソン法か area-length 法で測定することが、アメリカ心エコー図学会より推奨されている。しかし、2D シンプソン法を用いた測定では、左房の短軸の形状が楕円形であるため、適切な断面で測定することが困難で測定断面の違いにより誤差を起し、左房容量を過大評価すると考える。今回、我々の検討では、3D シンプソン法は、2D シンプソン法と比較すると、より正確で測定に要す時間も 3D 定量法よりも明らかに短いことから、有用な方法であると考えられる。

【結論】3DTTE による 3D シンプソン法は、左房容量を正確に評価するための簡便でより正確な方法であることが示唆された。

学位論文審査結果要旨

氏 名	岩 瀧 麻 衣						
論文審査委員	主査 所属	生体適応 系	機能調節 部門	上田 陽一			印
	副査 所属	生体情報 系	病態情報 部門	佐多 竹良			印
	副査 所属	生体情報 系	生殖生理情報 部門	蜂須賀 徹			印
		系					部門 印
		系					部門 印

論文題目

Measurement of left atrial volume from transthoracic three-dimensional echocardiographic datasets using the biplane Simpson's technique

(経胸壁 3 次元心エコー図法による左房容量の計測；2 断面シンプソン法を用いた検討)

学位論文審査結果要旨

左房容量は、左室充満圧（拡張期圧）をよく反映するため左室の拡張機能を推定することができ、種々の心血管病の予後予測に有用な指標である。

左房容量の評価は、シンプソン法もしくは area-length 法を用いた 2 次元（2D）2 断面測定がアメリカ心エコー図学会によって推奨されているが、誤差が生じやすく（過大評価しやすく）必ずしも正確な左房容量を測定できない。3 次元（3D）心エコー図法は、左房容量をより正確に測定することができるものの専用の解析ソフトが必要で解析に時間がかかり、臨床の現場では使用しづらい。

そこで著者らは、自験例において 1) 3D 心エコー図法から求めた左房容量をより正確であるとされている多列造影 CT（MDCT）の計測値と比較することによりその精度を評価すること、2) より簡便な 3D シンプソン法（3D 心エコーから 2 断面を抽出）で求めた左房容量について、2D シンプソン法および 3D 心エコー図法で求めた左房容量と比較してその有用性を評価すること、を目的とした。なお、本研究は産業医科大学病院倫理委員会承認の上、実施前にすべての被験者から承諾を得た。

その結果、1) 冠動脈疾患 20 例において、3D 心エコー図法で求めた最大左房容量（ 98 ± 24 mL）は、MDCT で計測した値（ 103 ± 23 mL）よりもわずかに小さかったが、両者はよく相関していた（ $r=0.97$, $P<0.001$ ）。2) 200 例（健常群 77 例、疾患群 123 例）において、3D シンプソン法で求めた最大左房容量（体表面積で補正）は、健常群 25 ± 5 mL/m² および疾患群 49 ± 17 mL/m² であった。2D シンプソン法で求めた値は、健常群 27 ± 5 mL/m² および疾患群 56 ± 21 mL/m²、3D 心エコー図法で求めた値は、健常群 25 ± 5 mL/m² および疾患群 48 ± 17 mL/m² であった。2D シンプソン法で求めた値は、健常群・疾患群ともに 3D シンプソン法および 3D 心エコー図法で求めた値よりも有意（ $P<0.01$ ）に大きかった。3D シンプソン法と 3D 心エコー図法で求めた値はよい相関を示した（ $r=0.99$, $P<0.001$ ）。測定に要した時間は、3D シンプソン法で 94 ± 11 秒、2D シンプソン法で 82 ± 7 秒、3D 心エコー図法で 135 ± 24 秒であった。

以上より、3D 心エコー図法で求めた最大左房容量が MDCT で計測した値とよく相関したことから正確な値に近いと考えられ、3D シンプソン法で求めた最大左房容量は 3D 心エコー図法で求めた値と健常群・疾患群ともにより相関を示すことを明らかにした。

申請者らの研究は、3D シンプソン法で求めた最大左房容量が 3D 心エコー図法で求めた値と近い値であること、測定時間が 3D 心エコー図法よりも短くより簡便であることを示すことで、臨床の現場における 3D シンプソン法による左房容量の計測の信頼性とその意義を見出したものであり、本学の学位論文に適格であると判断した。

平成 27 年 2 月 12 日

氏名	渡部 太一
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
Atrial pacing site and atrioventricular conduction in patients paced for sinus node disease (洞機能不全患者における心房ペーシング部位と房室伝導時間の比較と累積心室ペーシング率に与える影響の検討)	
論文要旨	
【目的】 洞機能不全 (SND) 患者において、累積心室ペーシング率 (cum%VP) の増加は心不全や心房細動を増加させるため、不要な心室ペーシングは回避すべきである。低位心房中隔 (LRAS) ペーシングは、解剖学的に房室結節及び心室に近接しているため、従来の右心耳 (RAA) ペーシングに比し短い房室伝導時間が得られ、cum%VP を低減できる可能性がある。 本研究では、LRAS ペーシング及び RAA ペーシングにおける房室伝導時間と累積心室ペーシング率に与える影響を比較検討した。	
【方法】 デュアルチャンバーペースメーカが留置された SND 患者連続 102 例を対象とし、植込み前の心電図において、1 度房室ブロックを有さない症例 (62 例、Group 1) と有する症例 (40 例、Group 2) に分割し、心房リード留置部位はランダムに低位心房中隔群 (LRAS 群) と右心耳群 (RAA 群) に振り分けた (Group 1: LRAS 群 28 例 vs. RAA 群 32 例、Group 2: LRAS 群 20 例 vs. RAA 群 20 例)。心房ペース後心室センス時間 (Ap-Vs) を心房ペーシング 60、80、100 及び 120ppm にて心内心電図を用いて測定した (ペースメーカ植込み直後、3 ヶ月後、1 年後)。また、累積心房ペーシング率 (cum%AP) 及び累積心室ペーシング率 (cum%VP) を植込み 3 ヶ月後及び 1 年後に測定した。	
【結果】 Group 1 及び Group 2 いずれも LRAS 群と RAA 群でペースメーカ設定及び自己房室伝導時間を含めた患者背景に差を認めなかった。Ap-Vs は RAA 群に比べ LRAS 群で有意に短かった (Group 1; LRAS 群 193 ± 32msec vs. RAA 群 220 ± 27msec, P=0.003, Group 2; LRAS 群 222 ± 41msec vs. RAA 群 281 ± 30msec, P<0.001)。また、この差はいずれのペーシングレートにおいても同様であった。累積ペーシング率においては、cum%AP は両群間に差は認めなかったが、cum%VP は RAA 群に比し LRAS 群において有意に低下した (Group 1; LRAS 群 1 ± 1% vs. RAA 群 8 ± 18%, P=0.03, Group 2; LRAS 群 7 ± 10% vs. RAA 群 48 ± 38%, P<0.001)。これらの結果は心房拡大の有無によらずに同様であった。	
【考察】 SND 患者において、不要な心室ペーシングを抑制するために、従来設定 AV インターバルの延長あるいは、心室ペーシング抑制アルゴリズムを使用するのが一般的であった。しかし、過度の設定 AV インターバルの延長やペーシングアルゴリズムは、房室不同期に伴う血行動態の悪化、ペースメーカ起因性頻脈や致死性不整脈の誘発の原因になりうると報告されている。LRAS ペーシングは、これらのデメリットなく房室伝導時間の短縮及び累積心室ペーシング率の低減が得られると考えられる。特に自己房室伝導能の低下した症例や心房拡大を呈した症例においては、その効果は顕著であった。更に、心房ペーシングレート上昇時にも有意に房室伝導時間が短縮されるため、変時不全患者に対するレートレスポンス機能を設定した場合においても LRAS ペーシングは有用であると考えられた。	
【結論】 右心耳ペーシングに比べ低位心房中隔ペーシングは、1 度房室ブロックの合併の有無、心房の拡大の有無によらずに房室伝導時間の短縮が得られた。その結果、長期にわたり累積心室ペーシング率を低下させた。	

学位論文審査結果要旨

氏 名	渡部 太一							
論文審査委員	主査 所属	生体適応 系	機能調節 部門	上田 陽一			㊟	
	副査 所属	生体情報 系	生理情報 部門	迎 寛			㊟	
	副査 所属	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

Atrial pacing site and atrioventricular conduction in patients paced for sinus node disease
 (洞機能不全患者における心房ペーシング部位と房室伝導時間の比較と累積心室ペーシング率に与える影響の検討)

学位論文審査結果要旨

失神などの症状をきたす洞機能不全症候群患者は、ペースメーカー植込み治療の適応となる。心臓ペースメーカーにはシングルチャンバ（1本のリードを右心房もしくは右心室に留置）とデュアルチャンバ（2本のリードを右心房と右心室にそれぞれ留置）の2タイプがある。右心室ペーシングの増加（累積心室ペーシング率で表す）は、心房細動や心不全の重症化を引き起こすため、不要な心室ペーシングは回避すべきであると考えられている。

そこで著者らは、デュアルチャンバペースメーカーの右心房リードを房室結節近傍（低位心房中隔：LRAS）に留置することで房室伝導時間を短縮させ、結果として累積心室ペーシング率を低下させる可能性を考え、従来から一般的に用いられている右心耳（RAA）留置の場合と比較検討した。

対象は、デュアルチャンバペースメーカーが留置された洞機能不全患者 102 例。ペースメーカー植込み前の 12 誘導心電図を用いて、房室伝導が正常な 1 度房室ブロックなし群（62 例、グループ 1）とあり群（40 例、グループ 2）に区別し、さらに右心房リード留置部位により LRAS 群と RAA 群に分けた。グループ 1、2 および LRAS 群、RAA 群において、1）心房ペーシング後から心室センスまでの時間（Ap-Vs interval）を心内心電図を用いてペースメーカー植込み直後、3ヶ月後および1年後に測定した、2）累積心房および心室ペーシング率をペースメーカー植込み3ヶ月後および1年後に測定した。

その結果、1）Ap-Vs interval は、グループ 1、2ともに、ペースメーカー植込み直後、3ヶ月後および1年後のいずれの時点においても LRAS 群の方が RAA 群よりも有意に短縮していた。2）累積心房ペーシング率は、グループ 1、2ともにペースメーカー植込み3ヶ月後および1年後の時点において、LRAS 群と RAA 群で有意差がなかった。しかし、累積心室ペーシング率は、グループ 1、2ともにペースメーカー植込み3ヶ月後および1年後の時点で、LRAS 群の方が RAA 群より有意に低下していた。また、RAA 群では左房拡大の程度と心室ペーシング率に正の相関を認めたが、LRAS 群では左房拡大との関連性を認めなかった。

以上より、低位心房中隔（LRAS）留置による心房ペーシングは、右心耳（RAA）留置の場合と比較して、1度房室ブロック合併や心房拡大の有無にかかわらず、植込み後1年目までの観察期間中、房室伝導時間を短縮させ、累積心室ペーシング率を低下させたことが判明した。

今回の臨床研究は、デュアルチャンバペースメーカーの右心房リードの低位心房中隔留置が房室伝導時間を短縮することにより累積心室ペーシング率を低下させることを見出したものであり、今後、心房ペーシング部位を右心耳から低位心房中隔に変えることによって、心房細動や心不全の重症化を予防することができる可能性を示唆したものである。したがって、本学の学位論文に適格であると判断した。

平成 27 年 2 月 12 日

氏 名	渡 邊 啓 太
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
Delineation of optic nerves and chiasm in close proximity to large suprasellar tumors with contrast-enhanced FIESTA MR imaging	
(造影 FIESTA 法による大きな鞍上部腫瘍に近接する視神経および視交叉の描出)	
論文要旨	
【目的】	
鞍上部腫瘍において術前に前部視路 (視神経、視交叉、視索) と腫瘍の位置関係を把握することは、術式の決定や合併症の減少に寄与する。また、鞍上部腫瘍の手術目的の一つに、視路への腫瘍圧迫解除による視機能障害の改善があるが、高度の神経障害により術後も視機能障害が残存する場合があります。非可逆的な視機能障害の術前診断は手術適応の決定に役立つ。Fast imaging employing steady-state acquisition (FIESTA) 法は高い信号雑音比と空間分解能を有するシーケンスである。高分解能の水成分強調画像として用いられ、脳脊髄液に囲まれた微細構造の描出に優れている。また、FIESTA の信号は T1 値にも影響されるため、ガドリニウム造影剤投与により増強効果がみられる。本研究では、造影 FIESTA を用いて、大きな鞍上部腫瘍により圧排・偏位した視路の描出、および非可逆的な視機能障害の診断能について検討した。	
【方法】	
2007 年 5 月から 2009 年 11 月に造影 FIESTA を術前に撮像した視路を圧迫する鞍上部腫瘍 28 例 (平均年齢: 54.0 歳、女性: 13 名、平均腫瘍径: 3.0cm、組織型: 下垂体腺腫 19 例、髄膜腫 6 例、頭蓋咽頭腫 1 例、chordoid glioma 1 例) を対象に後ろ向きに検討した。28 例の前部視路 5 部位 (左右視神経、視交叉、左右視索) の描出について、2 名の放射線科医が造影 FIESTA および従来の撮像方法 {T2 強調冠状断像、造影 T1 強調冠状断像、造影高分解能 3 次元 T1 強調画像; spoiled gradient echo (SPGR)} を 3 段階評価で比較した。また、造影 FIESTA と T2 強調画像において、前部視路の高信号の有無を判定し、非可逆的な視機能障害の診断能を比較した。	
【結果】	
造影 FIESTA は従来の撮像方法と比較して、前部視路の描出率が有意に高く {100% (140 部位中 140 部位) vs 78% (140 部位中 109 部位)、 $P < 0.05$ }、従来の撮像方法で描出出来なかった 31 部位全てが造影 FIESTA で描出された。また、開頭術を施行された 12 例について、造影 FIESTA で同定した視路の走行は全て術中に同定された走行と一致していた。視路の高信号を用いた非可逆的な視機能障害の診断能は、造影 FIESTA で感度 75% (4 例中 3 例)、特異度 96% (24 例中 23 例)、T2 強調画像で感度 100% (4 例中 4 例)、特異度 42% (24 例中 10 例) であった。造影 FIESTA の正診度 93% (28 例中 26 例) は T2 強調画像の正診度 50% (28 例中 14 例) より有意に優れていた。	
【考察】	
造影 FIESTA を用いて、従来の撮像方法では描出が困難であった巨大鞍上部腫瘍により圧排・偏位した前部視路の描出が可能であった。この理由として、造影 FIESTA の空間分解能の高さ、造影による腫瘍と視路のコントラストの向上がある。造影 FIESTA で視路は明瞭な低信号を呈するため、周囲の高信号の脳脊髄液や増強される腫瘍と良好なコントラストを得ることができる。さらに、脳脊髄液の流れによるアーチファクトが低減される、3 次元画像であり任意の断面での再構成が可能、といった利点がある。通常の T2 強調冠状断像では、腫瘍に強く圧迫された視路の信号が上昇し、腫瘍および脳脊髄液とのコントラストが低下する。また、造影高分解能 3 次元 T1 強調画像は、空間分解能は高いものの、視路と脳脊髄液がともに腫瘍に対して低信号として描出されるため、視路の同定が困難となる。さらに、造影 FIESTA における視路の高信号は非可逆的な視機能障害を反映した所見であることが示唆された。	
【結論】	
大きな鞍上部腫瘍を有する患者において、造影 FIESTA は術前の前部視路の同定に有用であり、また手術での圧迫解除後の視機能障害の残存を予見できる可能性がある。	

学位論文審査結果要旨

氏 名	渡 邊 啓 太					
論文審査委員	主査 所属	生体情報 系	病態情報 部門	近藤 寛之		
	副査 所属	生体情報 系	病態情報 部門	佐多 竹良		
	副査 所属	生体適応 系	生体構造 部門	菊田 彰夫		
		系		部門		
		系		部門		

論 文 題 目

Delineation of optic nerves and chiasm in close proximity to large suprasellar tumors with contrast-enhanced FIESTA MR imaging

(造影 FIESTA 法による大きな鞍上部腫瘍に近接する視神経および視交叉の描出)

学位論文審査結果要旨

鞍上部腫瘍は視神経や視交叉、視索といった前部視路にまたがり、視機能障害を生じる危険性が高い腫瘍である。脳外科的手術によって切除が可能であり、視路への圧迫が解除されれば視機能が改善しうる。そのためには術前に腫瘍と前部視路との位置関係を正確に把握し、最適な手術アプローチを選択する必要がある。しかしながら、このような解剖学的な関係を決定するために十分な画像診断方法は確立されていない。

Fast imaging employing steady-state acquisition (FIESTA) 法は高い信号雑音比と空間分解能を有する MR 検査法である。この方法は高分解能の水成分強調画像として用いられ、脳脊髄液に囲まれた微細構造の描出に優れているだけでなく、ガドリニウム造影剤投与により増強効果がある。論文提出者らは、造影 FIESTA 法は大きな鞍上部腫瘍により圧排・偏位した視路の描出、および視機能障害の評価に有用であると考え、その有用性を実際の臨床例を用いて研究した。

2007 年 5 月から 2009 年 11 月に、術前に造影 FIESTA 法を行った鞍上部腫瘍症例 28 例（平均年齢 54.0 歳、女性 13 名）を対象とし、造影 FIESTA 法及び従来の撮像法による前部視路 5 部位の描出能を 2 名の放射線科医が定性的に評価した。また、前部視路の高信号を非可逆的な視機能障害とみなして、その診断能を比較した。

造影 FIESTA 法は従来の撮像法と比較して、前部視路の描出率が有意に高く、従来の撮像法では描出できなかった部位全てを描出することができた。開頭術を施行した 12 例では造影 FIESTA 法で描出した視路は全て術中所見と一致した。造影 FIESTA 法で診断した非可逆的な視機能障害は、感度 75%、特異度 96%であり、正診度は従来の撮像法より有意に高かった。

論文提出者らは、大きな鞍上部腫瘍により偏位した前部視路は従来の撮像法では描出が困難であるが、造影 FIESTA 法では容易に描出できることを明らかにした。また、造影 FIESTA 法でみられる視路の高信号は非可逆的な視機能障害を反映したものであることを明らかにした。手術では合併症をできる限り少なくして視機能を回復させることが望ましいが、同時に回復しえない視機能障害を術前に予測しておくことも重要である。造影 FIESTA 法はこの目的のために極めて有用である。本研究は放射線学分野での画期的な成果であり、本学の学位論文として適格であると判断した。

平成 27 年 2 月 13 日

氏 名	北田 昇平
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
<p>Polypeptide N-acetylgalactosaminyl transferase 3 independently predicts high-grade tumours and poor prognosis in patients with renal cell carcinomas (糖転移酵素 GalNAc-T3 の腎細胞癌における発現は、高異型度および予後不良の独立した因子となり得る)</p>	
論文要旨	
<p>[背景] 腎細胞癌(RCC)は腎臓の悪性疾患の中で早期診断、手術にて予後改善を得られる疾患であるが、再発、転移時には有効な治療法が乏しいのが現状である。このような状況において予後を推測しうる生物学的マーカーを発見することは術後補助療法、再発・転移時の治療において非常に有用であるといえる。癌の転移には癌細胞の接着性及び浸潤能が重要であり、癌細胞表面における糖鎖修飾による発現変化が関与していることが知られている。中でも O 結合型糖鎖を付加触媒する <i>N</i>-アセチルガラクトサミン転移酵素 (GalNAc-Ts) にはヒトで約 20 種類程のアイソザイムがクローニングされており、哺乳類において最も一般的、かつ一大 family を形成している。特に、GalNAc-T3 と -T6 は配列が極めて類似しており、ほぼ同様の基質特異性と触媒作用を有している。GalNAc-T3 と -T6 の発現に関しては、様々な腫瘍の進展・転移と予後との相関において重要な臨床意義を持っていることが報告されているが、RCC については判明していない。今回、RCC における GalNAc-T3、-T6 の発現の有無、予後との関連性等について検討した。</p> <p>[目的] 腎細胞癌における GalNAc-T3、-T6 の発現と、予後を含めた臨床病理学的特性等との相互関係を評価する。</p> <p>[方法] 1) GalNAc-T3/-T6 特異的抗体の作成: GalNAc-T3、-T6 の各々のアミノ酸配列において、親水性及び抗原性に富む配列をコンピューター解析し、ペプチドを合成後、ウサギへの免疫により特異的なポリクローナル抗体を得た。培養 RCC 株(KPK1) に対して蛍光免疫染色を施行し GalNAc-T3、-T6 の細胞質、特に Golgi 体への発現を確認した。また、培養肺癌株 (PC9) に対して GalNAc-T3、-T6 を knockdown したのち Western blot を施行し GalNAc-T3、T6 の特異性を確認した。さらに GalNAc-Ts は Golgi 体に発現していたことから、非特異的な Golgi enzyme の発現との相違を確認するために、RCC 症例の腫瘍部と非腫瘍部の凍結切片に対して、GalNAc-T3、T6 および Golgi enzyme (<i>N</i>-アセチルグルコサミン転移酵素; GnT-II, GnT-III, GnT-V, α-マンノシダーゼ II; MAN2A1) を用いて蛍光免疫染色を施行した。GalNAc-T3 の強発現、-T6 の弱発現を認め、Golgi enzyme の発現は明らかでなく、GalNAc-T3、T6 の特異性が confirm された。</p> <p>2) 症例検討: 産業医科大学院及び協力施設において、1999 年から 2011 年まで RCC に対して根治的腎摘除術または部分切除術を施行され、予後追跡が可能な患者 254 例(男 181 例 女 73 例)を対象とした。</p> <p>3) 免疫組織染色と評価方法: デキストラポリマー法を用いた。RCC の全面積中、<10%の染色率は 0、10-30%は 1+、31-80%は 2+、>80%は 3+と判断した。cut-off 値は以下 4) を各々の条件で試行し、有意差を得た条件にて決定した。本研究では 0 を陰性、1+~3+を陽性とした。</p> <p>4) 統計学的検討: χ^2 検定を行い、GalNAc-Ts の発現と RCC の臨床病理組織学的な parameters(転移巣の有無、異型度、尿管侵襲、etc.)との相関を検討した。Kaplan-Meier 法で生存曲線を描き、Log-rank 検定を施行した。さらに COX 比例ハザードモデルによる単変量、多変量解析を行い、GalNAc-T3、-T6 が RCC の予後規定因子に成り得るか検討した。</p> <p>[結果] 免疫組織染色では、GalNAc-T3 は核周囲の細胞質に強発現、GalNAc-T6 は細胞質に弱発現を認めた。254 例中 GalNAc-T3 陽性例は 138 例(54%)、GalNAc-T6 陽性例は 62 例(24%)認められた。GalNAc-T3、-T6 陽性症例は、各々の陰性症例に比べて、術前 performance status は有意に不良であり、組織学的な腫瘍壊死及び尿管侵襲を有意に認め、有意に高異型度(high Fuhrman's grade)であり、低分化傾向にあった。特に RCC の尿管侵襲部において GalNAc-T3 の発現が強く認められ、反対に細胞接着因子である β-catenin の発現が明らかに低下していた。Kaplan-Meier 生存曲線において、GalNAc-T3、-T6 陽性症例は陰性症例に比べ、術後生存期間に対して有意に短縮が認められた。さらに、-T3(+)/-T6(-)症例、-T3(-)/-T6(+)症例、-T3(-)/-T6(-)症例について検討したところ、-T3(+)/-T6(-)症例、-T3(-)/-T6(+)症例は -T3(-)/-T6(-)症例に比べ、術後生存期間に対して有意に短縮が認められ、-T3、-T6 は相補的に作用する可能性が示唆された。COX 比例ハザードモデルによる単変量・多変量解析を行った結果、GalNAc-T3、-T6 では -T3 のみ有意差が認められ、GalNAc-T3 の発現は、performance status、尿管侵襲、Fuhrman's grade と同様に、RCC の独立した予後規定因子であることが示された。</p> <p>[考察および結論] RCC において、GalNAc-T3 および -T6 陽性症例では、陰性症例に比べ有意に腫瘍壊死、尿管侵襲、低分化傾向を認め、術後生存曲線も有意に短縮を認めた。尿管侵襲部において、特に GalNAc-T3 陽性例では β-catenin の発現低下も伴っており、腫瘍細胞の細胞接着性の消失、浸潤能の亢進が病理組織学的に強く示唆された。GalNAc-T3、-T6 は塩基配列、分子量が近似していることはよく知られており、このことから -T3、-T6 間の染色性に正の相関性が見られただけでなく、-T3、-T6 が相補的に作用していたのは納得いく結果と言える。現時点では RCC に対して、手術以外に有効な治療法はなく、再発、転移後では分子標的薬などいくつかの治療法が挙げられるものの、有効な結果は得られていない。また有用な腫瘍マーカーも存在しない。GalNAc-T3 の発現は RCC の核異型、腫瘍壊死、尿管侵襲に対して正に相関しており、予後規定因子に成り得ることから、GalNAc-T3 の免疫染色を手術検体に施行し、術後のリスク分類の一つとして評価することにより、GalNAc-T3 は RCC に対する腫瘍マーカーとしての可能性を十分に有していると言える。本研究では GalNAc-T3 は定性的に評価されたのみであり、定量化には至っていない。今後、GalNAc-T3 の定量化が簡便になれば、術前術後に測定を行うことで RCC の腫瘍マーカーや、リスク分類、予後に関して重要な項目に成り得ることが期待され、さらに GalNAc-T3 の発現をコントロール(knockdown)することで RCC に対し、有用な治療薬になる可能性もある。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	北田 昇平					
論文審査委員	主査 所属	障害機構	系	病態機構	部門	久岡 正典 (印)
	副査 所属	環境・産業生態	系	保健・疫学	部門	松田 晋哉 (印)
		障害機構	系	災害医学	部門	中村 元信 (印)
			系		部門	(印)
			系		部門	(印)

論文題目

Polypeptide *N*-acetylgalactosaminyl transferase 3 independently predicts high-grade tumours and poor prognosis in patients with renal cell carcinomas

(糖転移酵素 GalNAc-T3 の腎細胞癌に置ける発現は、高異型度および予後不良の独立した因子となり得る)

学位論文審査結果要旨

腎細胞癌は腎における最も代表的な悪性腫瘍であり、今日の日本においては年間約 16,000 人の新規患者が存在し、約 7,500 人の患者が死亡している。早期に診断されて外科的治療が可能であれば患者の予後は概して良好であるが、術後に局所再発や遠隔転移を生じた場合には有効な治療法は乏しく予後は不良であり、腫瘍の生物学的態度を予測することも容易でないのが現状である。ところで癌細胞ではしばしば細胞表面の糖鎖修飾の状況が変化することで転移能や浸潤能が獲得されることに加え、O 結合型糖鎖付加に関わる *N*-アセチルガラクトサミン転移酵素(GalNAc-Ts)の過剰発現が、大腸癌や肺癌などの様々な悪性腫瘍において不良な予後と関係していることが近年報告されているが、腎細胞癌における同酵素の発現状況と予後との関係についてはこれまで検討されていない。そこで申請者らは、GalNAc-Ts のうち代表的かつ構造・機能の類似した GalNAc-T3 と GalNAc-T6 に着目し、腎細胞癌組織でのこれらの酵素の発現状況を免疫組織化学的に評価し、その結果と種々の臨床病理学的因子や患者予後との関係を統計学的に解析した。

産業医科大学病院で切除された 254 例の腎細胞癌のホルマリン固定パラフィン包埋組織を対象とし、申請者らが以前に作成した GalNAc-T3/T6 に対するウサギポリクローナル抗体を用いて免疫染色を型の如く行い、腫瘍面積の 10%以上に染色が認められた場合を陽性例と判定した。なお、同抗体の特異性についてはウェスタンブロット法および合成ペプチドによる抗体吸収試験、培養腫瘍細胞における siRNA を用いた遺伝子ノックダウン法により確認した。免疫染色の結果と症例の臨床病理学的因子（全身状態や転移の有無、細胞の異型度、静脈浸潤の有無等）との相関性についてはカイ 2 乗法により検討し、患者予後については Kaplan-Meier 法による生存曲線を作成の後、Log-rank 検定により評価した。さらに、Cox 比例ハザードモデルを用いて単・多変量解析を行い、GalNAc-T3/T6 の過剰発現が予後因子となり得るか否かを検討した。

検索した 254 例中 138 例(54%)に GalNAc-T3 が陽性であり、62 例(24%)に GalNAc-T6 が陽性であった。いずれも陽性例では腫瘍壊死($P<0.01$)や静脈浸潤($P<0.001$)が有意に多く認められ、組織学的により高異型度・低分化な形態($P<0.001$)を示していた。特に腫瘍の静脈浸潤部において GalNAc-3 の発現が強く認められ、細胞接着に関わる β カテニンの発現が減弱していた($P<0.001$)。予後については GalNAc-T3/T6 陽性例は陰性例よりも有意に生存率が低下しており(GalNAc-T3: $P<0.001$, GalNAc-T6: $P=0.03$)、単・多変量解析にて GalNAc-3 の発現状況は全身状態や静脈浸潤、細胞異型度と共に独立した予後因子であることが示された。以上の事から GalNAc-Ts の過剰発現が腎細胞癌の悪性度や静脈浸潤を増強させている可能性が示唆された。

本研究は腎細胞癌の生物学的態度と GalNAc-Ts の発現状況との関係に初めて焦点を当てたものであり、単一施設における多数の症例の解析に基づいて得られた結果は信頼性が高く、その内容も論理的であると考えられる上に、今回見出された GalNAc-T3/T6 が腎細胞癌における予後の予測因子あるいは治療上の標的分子として将来臨床応用される事も十分に期待されることから、本学の学位論文として適格であると判断した。

平成 27 年 3 月 10 日

氏名	久間 昭寛
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
Role of WNT10A-Expressing Kidney Fibroblasts in Acute Interstitial Nephritis (急性間質性腎炎における WNT10A 発現腎線維芽細胞の役割)	
論文要旨	
<p>【目的】急性間質性腎炎は、炎症により惹起された酸化ストレスや、炎症後の組織修復過程における間質線維化が腎機能低下に関与していることが指摘されている。一方、WNT10A は皮膚の α-SMA 陽性線維芽細胞に発現して創傷治癒・ケロイド形成等の間質新生に関与していることが既に報告されている。そこで、急性間質性腎炎後の腎機能低下の原因を明らかにするために、WNT10A 陽性腎線維芽細胞の酸化ストレスに対する影響と線維化の機序について研究を行った。</p> <p>【方法】まず、ヒト腎組織における WNT 蛋白の発現と腎機能・腎線維化との関係を調べた。当院腎臓内科で施行した腎生検症例で、60 歳以上かつ男性の急性間質性腎炎所見を認めた 20 例を抽出した。20 例の腎組織を WNT1、WNT3、WNT4、WNT10A の抗体を用いて免疫組織化学染色を施行し、各 WNT 蛋白発現の有無と糸球体濾過率 (estimated Glomerular Filtration Rate; eGFR) との関連を解析した。また、WNT10A 発現と Fibronectin 発現・α-SMA 発現・線維化範囲との関連について免疫組織化学染色と Masson-Trichrome 染色を用いて検討した。次に、WNT10A による線維化の機序を培養細胞を用いて検討した。細胞株 COS1 (kidney fibroblasts of African green monkey) に WNT10A 発現プラスミドを導入して WNT10A 発現細胞を作製した。培養細胞での蛋白の発現を Western blotting にて解析した。また、酸化ストレスに対する影響を調べるために、過酸化水素刺激による生存細胞数を WST-8 法で測定した。</p> <p>【結果】腎組織 20 例のうち WNT1、WNT3、WNT4、WNT10A の陽性例はそれぞれ 11 例、8 例、5 例、10 例であった。WNT10A 陰性例の eGFR (median [interquartile range]) は、46.81 [35.45-84.91] mL/分/1.73m² であったのに対し、WNT10A 陽性例の eGFR は 11.12 [7.93-22.74] mL/分/1.73m² と有意に低かった (p=0.0002)。しかし、WNT1、WNT3、WNT4 は、陽性・陰性症例と eGFR 値との間に有意差は見られなかった。また、WNT10A 陽性例は WNT10A 陰性例に比べて α-SMA 陽性例が多く (p=0.0005)、さらに、線維化は広範囲に及んでいた (p=0.0191)。次に、WNT10A 発現細胞は細胞外マトリックス構成要素のひとつである Fibronectin の発現が親細胞に比べ 3~5 倍上昇した。ヒト腎組織でも同様に、WNT10A 陽性例は Fibronectin 陽性例が有意に多かった (p=0.0062)。WNT10A 発現細胞は抗酸化因子である peroxiredoxin (PRDX) 5 の発現が親細胞に比べて約 2 倍に上昇していた。過酸化水素を用いた細胞毒性試験では、過酸化水素処理 (15.6~62.5 μM) による WNT10A 発現細胞の生存細胞数は親細胞と比較して上昇していたが、逆に WNT10A 発現細胞の PRDX5 発現を siRNA で knockdown すると、siRNA コントロールに比べて過酸化水素存在下での生存細胞数が低下した。さらに、過酸化水素刺激時には細胞死マーカーである cleaved Caspase-3 と cleaved PARP の発現が親細胞では見られたが、WNT10A 発現細胞ではそれらの発現は低下していた。</p> <p>【考察】急性間質性腎炎においては、炎症後の治癒過程における組織修復と間質新生のバランスの乱れが腎線維化に関与しているとされている。WNT10A は Fibronectin の発現を亢進させ、腎線維化に作用することが分かった。WNT10A による腎線維化亢進の末、腎機能低下に影響を与えていると考えられる。また、WNT10A が抗酸化因子の PRDX5 発現誘導を介して、酸化ストレスによる apoptosis を免れていた。酸化ストレス下での線維芽細胞が、持続的に Fibronectin 産生を行えるものと考えられる。WNT シグナルの限定的阻害が急性間質性腎炎後の抗線維化療法になる可能性を示唆している。</p> <p>【結論】急性間質性腎炎において WNT10A が線維化亢進を招き、腎機能低下に関与していることを明らかにした。さらに、炎症による酸化ストレス下でも細胞生存能力を獲得していることが分かった。WNT10A 陽性腎線維芽細胞が Fibronectin 発現を正に制御し、急性間質性腎炎の治癒過程において持続的に間質新生を誘導していると考えられた。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	久間 昭寛					
論文審査委員	主査 所属	生体適応 系	生体機構 部門	中山 敏幸		
	副査 所属	環境・産業生態 系	環境適応医学 部門	上野 晋		
		障害機構 系	病態機構 部門	田中 良哉		
		系	部門			
		系	部門			

論文題目

Role of WNT10A-Expressing Kidney Fibroblasts in Acute Interstitial Nephritis
(急性間質性腎炎における WNT10A 発現腎線維芽細胞の役割)

学位論文審査結果要旨

急性間質性腎炎の発症機序はいまだ明らかではないが、炎症により惹起された酸化ストレスや炎症後の組織修復過程における間質線維化が腎機能低下に関与していることが指摘されている。一方、WNT10A は皮膚線維芽細胞に発現し、創傷治癒等の間質新生に関与している。本研究では、急性間質性腎炎後の腎機能低下の原因を明らかにするため、WNT10A 陽性腎線維芽細胞の酸化ストレスに対する影響と線維化の機序について研究を行った。

ヒト腎組織における WNT 蛋白の発現と腎機能・腎線維化との関係を調べるため、当院腎臓内科で施行した腎生検症例のうち、急性間質性腎炎所見を認めた 20 例の腎組織にて WNT1、WNT3、WNT4、WNT10A について免疫組織化学染色を施行し、各 WNT 蛋白発現と糸球体濾過率(eGFR)との関連を検討した。また、WNT10A 発現と Fibronectin、 α -SMA の発現・線維化範囲との関連について免疫組織化学染色と Masson-Trichrome 染色を用いて検討した。次に、WNT10A による線維化の機序を培養細胞を用いて検討した。腎線維芽細胞株 COS1 に WNT10A 発現プラスミドを導入し WNT10A 発現細胞を作製し、蛋白の発現を Western blotting にて解析した。また、酸化ストレスに対する影響を調べるため、過酸化水素刺激による生存細胞数を WST-8 法にて測定した。

腎組織 20 例のうち WNT1、WNT3、WNT4、WNT10A の陽性例はそれぞれ 11 例、8 例、5 例、10 例であった。WNT10A 陰性例の eGFR は、46.81mL/分/1.73m² であったのに対し、WNT10A 陽性例の eGFR は 11.12mL/分/1.73m² と有意に低かった(p=0.0002)。しかし、WNT1、WNT3、WNT4 は、陽性・陰性症例と eGFR 値との間に有意差は見られなかった。また、WNT10A 陽性例は WNT10A 陰性例に比べて α -SMA 陽性例が多く(p=0.0005)、線維化は広範囲に及んでいた(p=0.0191)。次に、WNT10A 発現細胞は Fibronectin 発現が親細胞に比べ 3~5 倍上昇した。ヒト腎組織でも同様に、WNT10A 陽性例は Fibronectin 陽性例が有意に多かった(p=0.0062)。WNT10A 発現細胞は peroxiredoxin (PRDX) 5 の発現が親細胞に比べて約 2 倍に上昇していた。過酸化水素処理による WNT10A 発現細胞の生存数は増加していたが、WNT10A 発現細胞の PRDX5 発現の siRNA による knockdown では、コントロールに比べて過酸化水素存在下での生存細胞数が減少した。さらに、過酸化水素刺激時には cleaved Caspase-3 と cleaved PARP の発現が親細胞では見られたが、WNT10A 発現細胞では発現は低下していた。

以上より WNT10A は Fibronectin の発現を亢進し、腎線維化促進に作用することが明らかになり、腎線維化亢進の末、腎機能低下に影響を与えていると考えられた。また、WNT10A が PRDX5 発現誘導を介して、酸化ストレスによる apoptosis を免れており、酸化ストレス下での線維芽細胞が、持続的に Fibronectin 産生を行えるものと考えられる。WNT シグナルの限定的阻害が急性間質性腎炎後の抗線維化療法となる可能性を示唆している。

本研究は、ヒト腎組織標本を用い免疫組織化学染色法による蛋白発現解析、さらに高度な分子細胞学的手法を使用し、詳細な検討を行っている。また得られた結果は、間質性腎炎の病態解明に非常に有用と考えられ、将来、患者の新たな治療法開発の可能性が強く示唆されることから、本学学位論文として適格であると判断した。

平成 27 年 2 月 25 日

氏名	井手 智
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	Internal structures of the globus pallidus in patients with Parkinson's disease: Evaluation with quantitative susceptibility mapping (QSM) (定量的磁化率マッピング QSM によるパーキンソン病患者の淡蒼球内部構造の評価)
論文要旨	<p>【目的】 難治性のパーキンソン病 (Parkinson's disease ; PD) に対する脳深部刺激療法では、治療成績の向上と合併症の低減の観点より、標的構造である淡蒼球内節 (medial Globus Pallidus ; GPm) の解剖学的同定が重要である。しかし、通常の MRI による GPm の正確な同定は難しく、過去の MR 研究でも十分な精度は得られていない。近年、開発された定量的磁化率マッピング (quantitative susceptibility mapping : QSM) は、組織の磁化率 (QSM 値) を定量的に評価できる MR 撮像法であり、新たなコントラストを提供する。本研究では、QSM を用いて淡蒼球内部構造の加齢に伴う変化を明らかにし、PD 患者における GPm の描出能およびその機序を検討した。</p> <p>【方法】 PD 患者 19 例 (平均 72.4±7.7 歳) と健常者 (Healthy Subjects ; HS) 41 例 (平均 52.3±19.1 歳、年齢分布 22-86 歳、PD 患者と年齢を適合させた健常者 19 例 [matched-HS] を含む) に対し、3T MRI 装置で QSM を撮像した。定量的評価として、HS については、GPm と淡蒼球外節 (lateral GP ; GP1) の QSM 値を計測し、加齢との関係を調べた。PD 患者では、GPm と GP1 における QSM 値を matched-HS と比較した。定性的評価では、GP 内部構造の描出を 4 段階 (Grade 1 ; GP が描出されない、Grade 2 ; GP は描出されるが、内部構造が描出されない、Grade 3 ; コントラストの違いにより、GPm と GP1 が分離できる、Grade 4 ; GPm と GP1 を隔てる内側髄板 [Medial medullary lamina ; MML] が描出される) に分類し、Grade 3 と 4 を GPm の描出が良好と定義した。</p> <p>【結果】 HS における QSM 値は、GP1 で年齢とともに有意に増加したが ($r=0.32$, $p=0.04$)、GPm では年齢による変化を認めなかった。PD 患者と matched-HS の双方で、GP1 の平均 QSM 値は GPm より有意に高かった (PD : 201 対 186、matched-HS : 210 対 191 [$\times 10^{-3}$ppm])。一方 PD 患者と matched-HS の比較においては、GP1 と GPm の平均 QSM 値に有意差がなかった (GP1 : 201 対 210、GPm : 186 対 191 [$\times 10^{-3}$ppm])。定性的評価では、HS の 93% で GPm の描出が良好であった。Grade 4 の割合は、60 歳未満で 54%、60 歳以上で 3% であったが、Grade 3 の割合は、60 歳未満よりも 60 歳以上で高かった (43 対 83 [%])。GPm の描出は、PD 患者の 87%、matched-HS の 89% が良好であり、両者間に有意差はなかった (Grade の平均 : 3.00 対 2.92)。</p> <p>【考察】 脳は多くの鉄を含み、GP は生理的に鉄が沈着する部位として知られる。磁化率に影響する生体内物質として鉄沈着、脱酸素化ヘモグロビン、ミエリン、石灰化などがあるが、今回の GP における QSM 値の変化は主に鉄沈着を反映すると考えられる。定量的評価では、GP1 の QSM 値が加齢に伴い増加する一方で、GPm では変化がなかった。従って、高齢者で Grade 3 が多い理由として GPm と GP1 の加齢に伴う鉄沈着の違いが考えられる。MML が GPm と GP1 の間の低信号帯として描出されるのは、反磁性体のミエリンが豊富なためと推察される。高齢者で MML の描出が不良となる理由として、加齢による MML のミエリン量の減少が考えられる。淡蒼球の鉄沈着の程度は PD と HS とで差がないとする報告があり、PD と matched-HS の間で GPm の描出に差を認めなかった我々の結果に一致する。</p> <p>【結論】 QSM は、60 歳未満では MML の描出により、60 歳以上では GPm と GP1 間の鉄沈着の違いにより、GP の内部構造を明瞭に同定できる。QSM は、PD 患者においても優れた GPm の描出能を有し、深部脳刺激への応用が期待される。</p>

学位論文審査結果要旨

氏 名	井手 智					
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	足立 弘明	(印)
	副査 所属	生体情報系	病態情報	部門	西澤 茂	(印)
		環境・産業生態系	環境適応医学	部門	上野 晋	(印)
			系	部門		(印)
			系	部門		(印)

論文題目

Internal structures of the globus pallidus in patients with Parkinson's disease: Evaluation with quantitative susceptibility mapping (QSM).

(定量的磁化率マッピング QSM によるパーキンソン病患者の淡蒼球内部構造の評価)

学位論文審査結果要旨

本研究は、近年、開発された定量的磁化率マッピング (quantitative susceptibility mapping : QSM) を用いて淡蒼球 (Globus Pallidus) 内部構造の加齢に伴う変化を明らかにし、パーキンソン病 (Parkinson's disease ; PD) 患者における淡蒼球内節 (medial Globus Pallidus ; Gpm) の描出能およびその機序を検討したものである。QSMは組織の磁化率 (QSM値) を定量的に評価できるMR撮像法であり、新たなコントラストを提供するものである。PDに対する脳深部刺激療法では、治療成績の向上と合併症の低減の観点より、標的構造であるGpmの解剖学的同定が重要であるが、通常MRIによるGpmの正確な同定は難しく、過去のMR研究でも十分な精度は得られていなかったために、著者らはQSMを用いたGpmの同定を検討した。

方法は、PD患者19例と健常者 (Healthy Subjects ; HS) 41例 (PD患者と年齢を適合させた健常者19例 [matched-HS]を含む) に対し、3T MRI装置でQSMが撮像された。定量的評価として、HSについては、Gpmと淡蒼球外節 (lateral GP ; GP1) のQSM値が計測され、加齢との関係が調べられた。PD患者では、GpmとGP1におけるQSM値がmatched-HSと比較された。定性的評価では、GP内部構造の描出を4段階 (Grade 1 ; GPが描出されない、Grade 2 ; GPは描出されるが、内部構造が描出されない、Grade 3 ; コントラストの違いにより、GpmとGP1が分離できる、Grade 4 ; GpmとGP1を隔てる内側髄板 [Medial medullary lamina ; MML] が描出される) に分類され、Grade 3と4をGpmの描出が良好と定義された。

結果では、HSにおけるQSM値は、GP1で年齢とともに有意に増加したが、Gpmでは年齢による変化を認めず、PD患者とmatched-HSの双方で、GP1の平均QSM値はGpmより有意に高かった (PD:201対186, matched-HS: 210対191 [$\times 10^{-3}$ ppm])。これは、GpmとGP1の加齢に伴う鉄沈着の違いによるものと考えられた。一方、PD患者とmatched-HSの比較においては、GP1とGpmの平均QSM値に有意差がなかった (GP1: 201対210, Gpm: 186対191 [$\times 10^{-3}$ ppm])。定性的評価では、HSの93%でGpmの描出が良好であり、Grade 4の割合は、60歳未満で54%、60歳以上で3%であったが、Grade 3の割合は、60歳未満よりも60歳以上で高くなった (43対83 [%])。これは高齢者でMMLの描出が不良になるためと考えられた。高齢者でMMLの描出が不良となる理由として、加齢によるMMLのミエリン量の減少が考えられた。Gpmの描出は、PD患者の87%、matched-HSの89%が良好であり、両者間に有意差はなかった (Gradeの平均: 3.00対2.92)。以上の結果より、QSMは、60歳未満ではMMLの描出により、60歳以上ではGpmとGP1間の鉄沈着の違いにより、GPの内部構造を明瞭に同定できると考えられた。

PDとHSとの淡蒼球の鉄沈着の程度の違いに関しては今後の検討課題と考えられるものの、本研究では、QSMがPD患者においても優れたGpmの描出能を有することを示し、深部脳刺激療法への応用が期待される結果を導き出したことより、本学の学位論文として適格であると判断した。

平成27年 2月 17日

氏 名	山口 晋作
論文題目(欧文の場合、和訳を付すこと)	
<p>Stereotactic body radiotherapy for lung tumors in patients with subclinical interstitial lung disease: the potential risk of extensive radiation pneumonitis. (非活動性間質性肺疾患を有する肺腫瘍患者への体幹部定位放射線治療: 広範な放射線肺炎の発症リスク)</p>	
論文要旨	
<p><目的> 体幹部定位放射線治療は、低侵襲でかつ摘出術に匹敵する高い局所制御率を有するが、主要な有害事象として放射線肺炎があり約10%が症候性である。特に活動性間質性肺炎を有する患者への胸部放射線治療は、放射線肺炎のリスクが高く、診療ガイドラインにおいて重篤な間質性肺炎例への体幹部定位放射線治療は相対的禁忌とされる。一方、CT画像のみで指摘される無症候性の間質性陰影は非活動性間質性肺疾患と呼称され、健常人喫煙者の約8%に認める。非活動性間質性肺疾患を伴う患者に対する定位放射線治療の報告は極めて限られる。本研究の目的は、非活動性間質性肺疾患を有する肺腫瘍患者に対する体幹部定位放射線治療の有害事象や有効性を遡及的に検討することである。</p>	
<p><方法></p>	
<p>2005年8月から2011年2月までに体幹部定位放射線治療を施行した連続する109例のうち、6ヶ月以上の経過観察がなされず放射線肺炎の評価ができなかった9例を除外した100例124病変を対象とした。63例が原発性肺癌、37例が転移性肺腫瘍であった。放射線治療は画像誘導放射線治療の可能な6MV X線リニアックを用い、体幹部固定具にて呼吸同期または呼気息止め照射を行った。103病変(83%)では計画的標的体積の95%以上に対して総48Gy/4分割で行い、21病変では他の線量分割で施行した。治療後の有害事象はCTCAE version 3を用いて評価した。非活動性間質性肺疾患の程度を治療前のCT画像で3段階(slight, mild, moderate)に分類した。放射線肺炎に関与する因子として患者の臨床的特徴、非活動性間質性肺疾患の有無や各種の照射線量パラメータを抽出し、発症との関連性を解析した。また治療後の全生存率、疾患特有生存率、局所制御率に関して統計学的に評価した。</p>	
<p><結果></p>	
<p>非活動性間質性肺疾患は16例(16%)に見られ、slight 2例、mild 5例、moderate 9例であった。Grade 2以上の放射線肺炎は13例(13%)に認めた(Grade 5が1例、Grade 4が1例、Grade 3が4例、Grade 2が7例)。Grade 2以上の放射線肺炎は非活動性間質性肺疾患を有する16例中3例(19%)に見られたが、非活動性間質性肺疾患の有無と放射線肺炎発生とに有意な関連はなかった。しかし、広範な放射線肺炎を生じた3例は全て非活動性間質性肺疾患を有しており、有意な関連があった($p=0.0035$)。非活動性間質性肺疾患の画像分類と放射線肺炎の重症度には有意な相関を認めなかった。照射線量のパラメータは、放射線肺炎発症と有意に関連した。全例の3年局所制御率は86%、生存期間の中央値は、原発性肺癌例で19か月、転移性肺腫瘍例で14か月であった。非活動性間質性肺疾患の有無は、局所制御率、疾患特有生存率および全生存率において有意な予後因子でなかった。</p>	
<p><考察></p>	
<p>本研究は、非活動性間質性肺疾患の有無と体幹部定位放射線治療後の放射線肺炎発症リスクを解析した初めての報告である。過去に、非活動性間質性肺疾患を伴う患者への肺手術や通常の胸部放射線治療後に、間質性肺炎の急性増悪を生じた報告がある。本研究では非活動性間質性肺疾患の有無は、治療の有効性やGrade 2以上の放射線肺炎と有意な関連がなかったが、3例と少数であるものの、間質性肺炎の急性増悪と推測される広範な放射線肺炎においては関連が認められた。非活動性間質性肺疾患の画像分類と放射線肺炎の重症度に関連性は認められず、現状では発症予測は難しいが、非活動性間質性肺疾患を有する症例では、十分なインフォームドコンセントおよび治療後の経過観察が必要と考えられる。</p>	
<p><結論></p>	
<p>肺腫瘍に対する体幹部定位放射線治療において、非活動性間質性肺疾患の存在は、Grade 2以上の放射線肺炎の有意な因子ではなかった。しかし非活動性間質性肺疾患を有する患者では、時に広範な放射線肺炎を生じる可能性がある。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	山口晋作					
論文審査委員	主査 所属	生体情報 系	生理情報 部門	迎 寛	(印)	
	副査 所属	環境・産業生態 系	環境生態 部門	明星敏彦	(印)	
		障害機構 系	災害外科 部門	田中文啓	(印)	
		系	部門		(印)	
		系	部門		(印)	

論 文 題 目

Stereotactic body radiotherapy for lung tumors in patients with subclinical interstitial lung disease: the potential risk of extensive radiation pneumonitis.

(非活動性間質性肺疾患を有する肺腫瘍患者への体幹部定位放射線治療： 広範な放射線肺炎の発症リスク)

学位論文審査結果要旨

体幹部定位放射線治療は、低侵襲でかつ外科手術に匹敵する高い局所制御率を有するが、約10%に症候性の放射線肺炎が出現する。特に症状を有する活動性間質性肺炎を合併している症例への胸部放射線治療は、放射線肺炎のリスクが高いために相対的禁忌とされる。一方、無症候性でCT所見のみ認める間質性肺炎を非活動性間質性肺疾患と称するが、この疾患における定位放射線治療の影響に関する報告は極めて少ない。本研究の目的は、非活動性間質性肺疾患を有する肺腫瘍患者に対する体幹部定位放射線治療での放射性肺炎などの有害事象や有効性を検討することである。

2005年8月から2011年2月までに体幹部定位放射線治療を施行した連続109例のうち、6ヶ月以上の経過観察がなされなかった9例を除外した100例124病変を対象とした。63例が原発性肺癌、37例が転移性肺腫瘍であった。放射線治療は6MV X線リニアックを用いた。103病変（83%）では計画的標的体積の95%以上に対して総48Gy/4分割で行い、21病変では他の線量分割で施行した。非活動性間質性肺疾患の程度を治療前のCTにて3段階（slight、mild、moderate）に分類した。患者の臨床的特徴、非活動性間質性肺疾患の有無や各種の照射線量パラメータを抽出し、放射線肺炎発症との関連性を解析した。また治療後の全生存率、疾患特有生存率、局所制御率に関して統計学的に評価した。

非活動性間質性肺疾患は16例（16%）に見られ、その程度はslight 2例、mild 5例、moderate 9例であった。Grade 2以上の放射線肺炎は13例（13%）に認めた（Grade 5が1例、Grade 4が1例、Grade 3が4例、Grade 2が7例）。Grade 2以上の放射線肺炎は非活動性間質性肺疾患を有する16例中3例（19%）、有さない84例中10例（11.9%）に見られ、非活動性間質性肺疾患の有無と放射性肺炎発症とに有意な関連はなかった。しかし、広範な放射線肺炎を生じた3例は全て非活動性間質性肺疾患を有しており、有意な関連性を認めた。また、照射線量のパラメータは、放射線肺炎発症と有意に関連した。全例の3年局所制御率は86%、生存期間の中央値は、原発性肺癌例で19か月、転移性肺腫瘍例で14か月であった。非活動性間質性肺疾患の有無は、局所制御率、疾患特有生存率および全生存率において有意な予後因子でなかった。

今回の検討で、非活動性間質性肺疾患の存在は体幹部定位放射線治療の有効性やGrade 2以上の放射線肺炎と関連性は認めなかった。また、非活動性間質性肺疾患の画像分類と放射線肺炎の重症度にも関連性は認められなかった。しかし、3例と少数であるものの広範な放射線肺炎の発症においては関連が認められた。本研究は、非活動性間質性肺疾患合併症例での体幹部定位放射線治療後の放射線肺炎発症リスクを解析した初めての報告であり、肺癌治療を行なう臨床現場に極めて貴重な情報をもたらした。よって、本論文は本学学位論文として適格であると判断した。

氏名	村上 優
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
Usefulness of quantitative susceptibility mapping (QSM) for the diagnosis of Parkinson's disease (パーキンソン病の診断における quantitative susceptibility mapping : QSM の有用性)	
論文要旨	
【目的】	
<p>パーキンソン病 (Parkinson's disease : PD) 患者の中脳黒質における、ドパミン産生細胞の変性・脱落に伴う鉄沈着は、通常の MRI では画像化できない。過去の MR 研究の多くが R2*マッピングを用いて黒質の鉄沈着を検討しているが、十分な診断精度は得られていない。近年、開発された定量的磁化率マッピング (quantitative susceptibility mapping : QSM) は、組織の磁化率 (QSM 値) を定量的に評価できる新たな MR 撮像法である。本研究では、R2*マッピングと比較することで、PD 患者における QSM の診断能を検討した。</p>	
【方法】	
<p>UK Parkinson's Disease Brain Bank の診断基準を満たす PD 患者 21 例と年齢を適合させた正常コントロール (NC) 21 例に対し、3T MRI 装置で QSM と R2*マッピングを撮像した。2 名の放射線科医が、regions of interest (ROI) 法を用いて、脳の 6 領域 (視床、被殻、尾状核、淡蒼球、黒質、赤核) の QSM 値と R2*値を計測し PD 群と NC 群で比較した。また、PD 患者の診断精度と計測者間一致率 (Kendall κ value) について、QSM と R2*マッピングを比較した。</p>	
【結果】	
<p>黒質の QSM 値と R2*値は、NC 群に比べ、PD 群で有意に高かった ($p < 0.01$)。その他の領域では、PD 群と NC 群の間に有意差を認めなかった。黒質の QSM 値と R2*値について、それぞれ最適なカットオフ値を設定 (QSM 値 > 0.210、R2*値 > 28.8) した場合、QSM の感度、特異度、正診度は、90% (19/21)、86% (18/21)、88% (37/42)、R2*マッピングでは 81% (17/21)、52% (11/21)、67% (28/42) であった。QSM 値の診断精度 (area under the curve : AUC) は、R2*値より有意に優れていた (AUC : 0.91 vs 0.69, $p < 0.05$)。QSM の計測者間一致率も、R2*より優れていた (Kendall κ value : 0.685 vs 0.415)。</p>	
【考察】	
<p>磁化率に影響する生体内物質として鉄沈着、脱酸素化ヘモグロビン、ミエリン、石灰化などがあるが、今回の黒質における QSM 値と R2*値の変化は主に鉄沈着を反映していると考えられた。従来、鉄沈着など磁化率の変化を評価する最も鋭敏な MRI 撮像法は R2*マッピングとされてきたが、定量性の低さやアーチファクトによる画質の低下が課題であった。今回、QSM の診断精度が R2*マッピングより優れていた理由として、QSM の高い定量性と黒質解剖の高い描出能がある。QSM の高い計測者間一致率は、黒質解剖が明瞭に描出できたことによる ROI 測定の精度向上が考えられた。</p> <p>過去に Positron Emission Tomography (PET) による PD 患者の高い診断精度が報告されているが、PET は、被曝を伴う、保険診療が認められていない、使用施設が限られるなどの制約がある。一方、QSM は、どの施設でも比較的簡便に施行できる有用な手法と考えられた。</p>	
【結論】	
<p>PD 患者における黒質の異常の検出において、QSM の感度は従来用いられてきた R2*マッピングよりも優れている。QSM は高い診断精度で PD 患者と正常者を区別でき、よって PD の診断と評価に有用と思われる。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	村上 優				
論文審査委員	主査 所属	生体情報 系	生理情報 部門	藤木 通弘	
	副査 所属	環境・産業生態系	環境適応医学 部門	中村 純	
		障害機構系	災害外科 部門	酒井 昭典	
		系	部門		
		系	部門		

論文題目

Usefulness of quantitative susceptibility mapping (QSM) for the diagnosis of Parkinson's disease
 (パーキンソン病の診断における quantitative susceptibility mapping : QSM の有用性)

学位論文審査結果要旨

【背景】本研究は、パーキンソン病 (PD) 患者にみられる黒質の鉄沈着を評価する方法として従来用いられている R2*マッピングと、近年開発された定量的磁化率マッピング (quantitative susceptibility mapping: QSM) という方法を、PD 患者の診断精度という観点から比較検討したものである。PD における中脳黒質の鉄沈着のメカニズムについては未だ明らかではないが、黒質のドパミン細胞の変性に伴って鉄沈着の程度が高度になるというこれまでの報告から、鉄沈着の程度を高い精度で MRI を用いて評価できれば、PD の確定診断や早期診断に資するのではないかと著者らは考えて本研究を行った。

【方法と結果】パーキンソン病患者 (Hoehn and Yahr スコア中央値 2) と年齢を適合させたパーキンソン病に罹患していない対照者、それぞれ 21 名で、3 テスラ MRI 装置を用いて R2*マッピングと QSM を同時に撮像した。2 名の放射線科医を検者として、画像から脳の 6 つの領域 (視床、被殻、尾状核、淡蒼球、赤核、黒質) をそれぞれのマップから別々に関心領域として手動で設定させ、各領域の R2*値と QSM 値を測定し、PD 群と対照群で比較した。これら 6 領域のうち、R2*値と QSM 値の両方で群間に有意差をみとめたのは黒質のみであった。それ以外の領域ではいずれの値も群間に有意な差は認めなかった。2 名の検者間の一致率は、R2*マッピング (Kendall W 値=0.415) よりも QSM (Kendall W 値=0.685) が優れていた。さらに、黒質の R2*値と QSM 値に最適なカットオフ値を Youden index を用いて求めたところ、QSM 値 >0.210、R2*値 >28.8 であった。この時の QSM の感度、特異度、正診度は、それぞれ 90%、86%、88%、R2*マッピングではそれぞれ 81%、52%、67% であった。Receiver Operating Characteristic (ROC) 曲線から area under the curve として求められる診断精度は、QSM (0.91) が R2*マッピング (0.69) より有意に優れていた。このように、正常でも鉄が存在する脳領域のうち、PD 患者で有意に高い R2*値と QSM 値を黒質のみに認めたことから、これらの値は病的な鉄沈着を反映していると考えられた。さらにこの二つの方法のうち、QSM の方が検者間一致率、診断精度の両面で優れた方法であることが示された。

【審査結果】本研究は PD の診断において、R2*マッピングに比べて QSM が優れていることを明らかにした点において新規性があり、さらにこの知見は比較的安価な PD の重症度評価のための検査方法として、今後 MRI を応用するための研究においてもたいへん重要であると考えられ、本学の学位論文として適格であると判断した。

平成 27 年 3 月 3 日

氏名	北川 雄大
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
<p>5-Aminolevulinic acid strongly enhances delayed intracellular production of reactive oxygen species (ROS) generated by ionizing irradiation: Quantitative analyses and visualization of intracellular ROS production in glioma cells <i>in vitro</i></p>	
<p>(5-アミノレブリン酸は、グリオーマ細胞において、放射線照射後遅発性細胞内活性酸素種産生を増強する:グリオーマ細胞における細胞内活性酸素種産生の定量的評価および視覚化)</p>	
論文要旨	
<p>[研究の目的] 悪性神経膠腫は、神経膠腫 (グリオーマ) の中で最も未分化で悪性度が高い腫瘍である。平均余命は約 12-14 ヶ月であり、集学的治療を行っても、有意な生存期間延長は認められていない。近年、5-アミノレブリン酸(5-ALA)の代謝産物であるプロトポルフィリン IX (PpIX) は、悪性神経膠腫内部に選択的に蓄積することが知られている。我々は、今までに、5-ALA の放射線増感作用を、グリオーマ細胞株を用いて証明し、放射線照射時に発生する活性酸素種がその殺細胞効果に関与していることをつきとめた。近年の研究では、放射線照射後数時間 (12 時間以降) で遅発性に細胞内活性酸素種の増加を認めることが報告されている。以上から、我々は、5-ALA が、放射線照射後に、遅発性に発生する細胞内活性酸素種産生量を変化させることにより、その放射線増感作用に関連していると推測し、検討を行った。</p>	
<p>[方法] <i>In vitro</i> で、ラットおよびヒトグリオーマ細胞を用いて、5-ALA から誘導される PpIX の細胞内蓄積量を、フローサイトメトリー (FCM) を用いた蛍光強度の測定により定量的に評価を行った。そして、放射線照射後のグリオーマ細胞株における 5-ALA から誘導される PpIX 産生量の継時的な変化を、照射後 4 時間、12 時間、24 時間で測定した。次に、放射線照射後 12 時間での遅発性細胞内活性酸素種産生量を、FCM を使用し定量的に評価を行い、さらに、共焦点レーザー顕微鏡で、発生した活性酸素種の局在の観察を行った。また、5-ALA 投与時期の違いによる放射線照射後の遅発性活性酸素種産生量の変化を、FCM を用いて測定した。統計解析は、分散分析を行い、Fisher の PLSD 法を用いて評価を行った。</p>	
<p>[結果] 各細胞株において、5-ALA を処理した場合に、コントロールの約 15~40 倍の PpIX 産生量の増加を認めた。その中で、増加率の高いグリオーマ細胞株 (9L, U251) を以降の実験に使用した。5-ALA から誘導される PpIX の産生量を、放射線照射後継時的に測定したが、PpIX の産生量低下は認められなかった。また、グリオーマ細胞株において、放射線照射直後の細胞内活性酸素種増加は認められなかったが、放射線照射後 12 時間では、放射線直後と比べ、細胞内活性酸素種産生量が増加することが確認された (9L:p=0.047;U251:p=0.010)。一方、5-ALA 前処理を行うことにより、この遅発性細胞内活性酸素種産生量が、5-ALA を処理していない 12 時間後の細胞と比べ、さらに増加していることが定量的に確認された (9L:p=0.009;U251:p=0.031)。さらに、共焦点レーザー顕微鏡を用いた評価により、放射線照射 12 時間後に産生された遅発性細胞内活性酸素種は細胞質内を中心に増加していることが分かった。特に、9L 細胞株では、放射線照射後に 5-ALA をグリオーマ細胞へ投与するよりも、放射線照射前に 5-ALA を投与することで、照射 4 時間後および 12 時間後に 5-ALA を処理した群に比べて、遅発性活性酸素種産生量の有意な増加が認められた (4 時間後 : p=0.0072;12 時間後 : p=0.0078)</p>	
<p>[考察] 今回の実験では、放射線照射は 5-ALA から誘導される PpIX 産生に影響を与えないことを、グリオーマ細胞株を用いて確認した。従来報告と同様に、放射線照射は、腫瘍細胞において、遅発性細胞内活性酸素種の増加を誘導するが、今回の実験で、5-ALA の前処理により、その遅発性細胞内活性酸素種がさらに増加することが定量的に証明された。また、発生した遅発性細胞内活性酸素種の局在が細胞質を中心に増加していることが分かった。したがって、グリオーマ細胞株における 5-ALA の放射線増感作用のメカニズムとして、5-ALA が放射線照射後の遅発性細胞内活性酸素種産生の増加に関与していると考えられた。</p>	
<p>[結論] 5-ALA は、グリオーマ細胞株において、放射線増感作用を示す。本研究により、そのメカニズムとして、5-ALA は、放射線照射後遅発性に発生する細胞内活性酸素種の増加に関与し、主に腫瘍細胞の細胞質内において、その活性酸素種を誘導することが本研究で明らかになった。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	北川 雄大					
論文審査委員	主査 所属	障害機構 系	災害医学 部門	中村 元信	(印)	
	副査 所属	生体適応 系	機能調節 部門	柳原 延章	(印)	
		生体情報 系	生理情報 部門	興梠 征典	(印)	
			系	部門	(印)	
			系	部門	(印)	
論文題目						
<p>5-Aminolevulinic acid strongly enhances delayed intracellular production of reactive oxygen species (ROS) generated by ionizing irradiation: Quantitative analyses and visualization of intracellular ROS production in glioma cells <i>in vitro</i></p> <p>(5-アミノレブリン酸は、グリオーマ細胞において、放射線照射後遅発性細胞内活性酸素種産生を増強する：グリオーマ細胞における細胞内活性酸素種産生の定量的評価および視覚化)</p> <p>学位論文審査結果要旨</p> <p>[背景、目的] 悪性神経膠腫は、神経膠腫（グリオーマ）の中で最も未分化で悪性度が高く、平均余命は約 12-14 ヶ月であり、集学的治療を行っても、有意な生存期間延長は認められていない。近年、5-アミノレブリン酸(5-ALA)の代謝産物であるプロトポルフィリン IX (PpIX) は、悪性神経膠腫内部に選択的に蓄積することが明らかとなった。これまで、5-ALA の放射線増感作用を、グリオーマ細胞株で証明され、放射線照射時に発生する活性酸素種がその殺細胞効果に関与していることが知られている。近年の研究では、放射線照射後数時間（12 時間以降）で遅発性に細胞内活性酸素種の増加を認めることが報告されている。以上から、5-ALA が、放射線照射後に、遅発性に発生する細胞内活性酸素種産生量を変化させることにより、その放射線増感作用に関連していると推測し、検討が行われた。</p> <p>[方法] <i>In vitro</i> で、ラットおよびヒトグリオーマ細胞を用いて、5-ALA から誘導される PpIX の細胞内蓄積量を、フローサイトメトリー (FCM) を用いた蛍光強度の測定により定量的に評価を行った。そして、放射線照射後のグリオーマ細胞株における 5-ALA から誘導される PpIX 産生量の継時的な変化を、照射後 4 時間、12 時間、24 時間で測定した。次に、放射線照射後 12 時間での遅発性細胞内活性酸素種産生量を、FCM を使用し定量的に評価を行い、さらに、共焦点レーザー顕微鏡で、発生した活性酸素種の局在の観察を行った。また、5-ALA 投与時期の違いによる放射線照射後の遅発性活性酸素種産生量の変化を、FCM を用いて測定した。統計解析は、分散分析を行い、Fisher の PLSD 法を用いて評価を行った。</p> <p>[結果] グリオーマ細胞株において、5-ALA を処理した場合に、コントロールの約 15~40 倍の PpIX 産生量の増加を認めた。5-ALA 前処理を行うことにより、グリオーマ細胞株における遅発性細胞内活性酸素種産生量が、5-ALA を処理していない 12 時間後の細胞と比べ、さらに増加していることが定量的に確認された。さらに、共焦点レーザー顕微鏡を用いた評価により、放射線照射 12 時間後に産生された遅発性細胞内活性酸素種は細胞質内を中心に増加していることが分かった。特に、9L 細胞株では、放射線照射後に 5-ALA をグリオーマ細胞へ投与するよりも、放射線照射前に 5-ALA を投与することで、照射 4 時間後および 12 時間後に 5-ALA を処理した群に比べて、遅発性活性酸素種産生量の有意な増加が認められた。</p> <p>[結論] 5-ALA は、グリオーマ細胞株において、放射線増感作用を示す。本研究により、そのメカニズムとして、5-ALA は、放射線照射後遅発性に発生する細胞内活性酸素種の増加に関与し、主に腫瘍細胞の細胞質内において、その活性酸素種を誘導することが明らかになった。</p> <p>[審査結果] 本研究は 5-ALA は、グリオーマ細胞株において、放射線増感作用を示す点において新規性があり、さらにこの知見は悪性神経膠腫治療への臨床応用も十分に期待される事から、本学の学位論文として適格であると判断した。</p>						
						平成 27 年 3 月 5 日

氏 名

愛甲 悠希代

論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)

Differential levels of amino acid transporters System L and ASCT2, and the mTOR protein in placenta of preeclampsia and IUGR.

(妊娠高血圧症候群と胎児発育不全の胎盤において、アミノ酸輸送体蛋白 (LAT1, 4F2hc, ASCT2) や mTOR の発現は正常胎盤と異なる)

論文要旨

[目的]

胎児期の栄養状態は胎盤の栄養素輸送機能に依存しており、子宮らせん動脈再構築障害による胎盤循環不全を背景にもつ胎児発育不全 (IUGR) や妊娠高血圧症候群 (PE) では、胎盤の栄養素輸送が制限され胎児は低栄養環境に曝露される。この低栄養環境に対し、胎盤絨毛表面の合胞体栄養膜細胞に存在するアミノ酸輸送体に変化する適応機構の存在が示唆されている。本研究では、Na⁺依存性の輸送体である ASC 型アミノ酸輸送体 (ASCT2)、必須アミノ酸を輸送する Na⁺非依存性の L 型アミノ酸輸送体 (LAT1, 4F2hc)、さらに細胞内環境に応じてアミノ酸輸送体タンパクの翻訳を制御する mTOR シグナルに焦点をあて、正常妊娠と IUGR や PE の胎盤におけるアミノ酸輸送機構を比較検討することを目的とした。

[方法]

当院で周産期管理を行った合併症妊娠群 (IUGR、PE) の各 10 例と、合併症がなく在胎期間に応じた新生児発育を示した正常産分娩群 10 例、及び合併症妊娠群と分娩週数をマッチさせた早産群 10 例の計 40 例を研究の対象とした。全例分娩直後に採取した胎盤組織をホルマリン固定しパラフィン包埋切片を作成した。L 型アミノ酸輸送体として LAT1 と 4F2hc、ASC 型アミノ酸輸送体として ASCT2 及び mTOR タンパクの免疫組織染色を行った。染色標本より各アミノ酸輸送体と mTOR タンパクの局在を詳細に評価し、さらに画像解析を用いそれぞれのタンパクの発現強度を定量化した。これらのデータを用い、正常群と合併症妊娠群において L 型および ASC 型アミノ酸輸送体と mTOR タンパクの局在と発現強度を比較検討した。

[結果]

L 型アミノ酸輸送体である LAT1 と 4F2hc は全群において合胞体栄養膜細胞の細胞質と微絨毛膜に局在していた。発現強度は正常群と比較して IUGR、PE 群において有意に強い傾向にあった。ASC 型アミノ酸輸送体である ASCT2 は主に合胞体栄養膜細胞の基底膜に局在しており、合胞体栄養膜細胞全体の発現強度は正常群と比較し IUGR 群に有意に強かった。しかし、母体血液と接する合胞体栄養膜細胞の微絨毛膜側に発現している ASCT2 は IUGR 群で有意に減少していた。mTOR は全群において主として細胞質に局在を認めたが、発現強度は IUGR 群においてのみ有意に強かった。また、妊娠前の母体 BMI と妊娠期間中の母体体重増加量は胎児期の栄養状態を規定する因子であるが、非妊娠時 BMI が高い群において ASCT2 と mTOR の発現増加を認めた。

[考察・結論]

IUGR や PE 群に認めたアミノ酸輸送体や mTOR タンパクの発現増加は、胎盤循環不全により低栄養環境にある胎児の適応反応であると考えられた。また、妊娠前の母体 BMI と胎盤アミノ酸輸送体発現に関連が認められることから、胎盤は胎児や母体の栄養環境に応じて mTOR シグナルを介しアミノ酸輸送を制御している事が示唆された。以上より、胎児は胎盤のアミノ酸輸送機能調節により低栄養環境に適応する可能性が示唆された。

学位論文審査結果要旨

氏 名	愛甲 悠希代							
論文審査委員	主査	所属	生体適応	系	生体構造	部門	森本 景之	(印)
	副査	所属	環境・産業生態	系	保健・疫学	部門	金澤 保	(印)
			生体情報	系	生殖生理情報	部門	楠原 浩一	(印)
				系		部門		(印)
				系		部門		(印)
<p>論文題目</p> <p>Differential levels of amino acid transporters System L and ASCT2, nad the mTOR protein in placenta of preeclampsia and IUGR.</p> <p>(妊娠高血圧症候群と胎児発育不全の胎盤において、アミノ酸輸送体蛋白 (LAT1, 4F2hc, ASCT2) や mTOR の発現は正常胎盤と異なる)</p> <p>学位論文審査結果要旨</p> <p>本研究は子宮らせん動脈再構築障害による胎盤循環不全を背景にもつ胎児発育不全 (IUGR) や妊娠高血圧症候群 (PE) における、胎盤絨毛表面のアミノ酸輸送体による適応機構を検討することが目的である。Na⁺依存性の輸送体である ASC 型アミノ酸輸送体、必須アミノ酸を輸送する Na⁺非依存性の L 型アミノ酸輸送体、また、アミノ酸輸送体タンパクの発現と関連が報告されている mTOR シグナルに焦点をあて、正常妊娠と IUGR や PE の胎盤におけるアミノ酸輸送機構を比較検討した。</p> <p>産業医科大学病院で周産期管理を行った合併症妊娠群 (IUGR, PE) の各 10 例と、合併症がなく在胎期間に応じた新生児発育を示した正常産分娩群 10 例、及び合併症妊娠群と分娩週数をマッチさせた早産群 10 例の計 40 例を研究の対象とした。全例分娩直後に胎盤組織を採取し、L 型アミノ酸輸送体として LAT1 と 4F2hc、ASC 型アミノ酸輸送体として ASCT2、および mTOR タンパクの免疫組織染色を行った。これらのデータを用い、正常群と合併症妊娠群において各アミノ酸輸送体と mTOR タンパクの局在の評価、および画像解析により各タンパクの発現強度を比較検討した。</p> <p>LAT1 と 4F2hc は合胞体栄養膜細胞の細胞質と微絨毛膜に局在し、その発現は IUGR、PE 群において有意に強い傾向にあった。ASCT2 は主に合胞体栄養膜細胞の基底膜に局在しており、合胞体栄養膜細胞全体の発現強度は正常群と比較して IUGR 群で有意に強かった。しかし、合胞体栄養膜細胞の微絨毛膜側に局在する ASCT2 は IUGR 群で有意に減少していた。mTOR は全群の合胞体栄養膜細胞の細胞質に局在し、発現強度は IUGR 群のみ有意に強かった。また、妊娠前の母体 BMI と妊娠期間中の母体体重増加量との関連については非妊娠時 BMI が高い群において ASCT2 と mTOR の発現増加を認めた。</p> <p>以上の結果より、合併症妊娠群 (IUGR、PE) では胎盤循環不全により、低栄養環境に対してアミノ酸輸送体や mTOR タンパクの発現増加による適応反応を示していると考えた。また、妊娠前の母体 BMI とアミノ酸輸送体発現の関連は、母体の栄養環境に応じて mTOR シグナルを介し、アミノ酸輸送を制御していることが示唆された。</p> <p>本研究は、胎盤アミノ酸輸送機能の調節を用いた胎児による低栄養環境への適応を示唆する重要な所見であり、本学学位論文として適格であると判断した。</p>								
平成 27 年 3 月 日								