

令和2年度（FY 2020） 第2回

学位論文（博士）審査に係る研究発表会

抄録集

【日程】令和3年1月25日（月）～ 28日（木）

【会場】臨床講義室3（臨床講義棟2階）

論文目録

※整理番号	462	(ふりがな) 氏名	つつみ やすひこ 提 泰彦
学位論文			
Maxillofacial Injury in Cyclists: A Biomechanical Approach for the Analysis of Mechanisms of Mandible Fractures (自転車乗員における顎顔面損傷： 生体力学的アプローチによる下顎骨骨折メカニズムの分析)			
掲載雑誌名：Journal of Oral and Maxillofacial Surgery https://doi.org/10.1016/j.joms.2020.11.005			
著者名：Yasuhiko Tsutsumi, Daisuke Ito, Mami Nakamura, Shinya Koshinuma, Gaku Yamamoto, Masahito Hitosugi,			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	462	(ふりがな) 氏名	つつみ やすひこ 提 泰彦
学位論文題目	Maxillofacial Injury in Cyclists: A Biomechanical Approach for the Analysis of Mechanisms of Mandible Fractures (自転車乗員における顎顔面損傷：生体力学的アプローチによる下顎骨骨折メカニズムの分析)		
目的:	自転車乗員の身体は保護具なしで露出していることが多く、自転車から転倒したり、他の車両や物体との衝突に巻き込まれると、受傷しやすいとされる。受傷した自転車乗員を対象とした研究では、最も一般的な骨折部位は顔面で、28.2%を占めていることが報告されている。顎顔面骨折は、美容上の問題だけでなく、様々な症状を引き起こす可能性があると考え、顎顔面はコミュニケーションと日常生活の中心的な役割を果たしており、小さな障害であっても機能的・生理学的レベルで患者に深刻な結果をもたらす可能性があると考えられている。自転車関連の顎顔面損傷に関してさまざまな報告がされているが、自転車乗員の顎顔面骨折の発生に影響を与える要因を明らかにした報告はない。さらに、顎顔面骨折の発生について生体力学的に検証された報告もされていない。自転車乗員の顎顔面損傷を防ぐための効果的な介入を確立することを目的に、自転車乗員の顎顔面骨折の発生に影響を与える独立した要因を今回調査し、次に生体力学的分析により、自転車から転倒した際の下顎骨骨折の発生を確認することとした。		
方法:	2011年から2019年までの滋賀医科大学附属病院歯科口腔外科を受診記録をもとに、自転車乗車による顎顔面外傷を受傷した患者を選定し、身体的データ(年齢、性別、病歴)、ヘルメットの使用の有無、顎顔面の損傷の種類と領域、受傷した歯の数、Abbreviated Injury Scale (AIS)、Injury Severity Score (ISS)について調査した。対応のないt検定を使用して、顎顔面骨折のある患者とない患者の年齢と受傷歯数を比較した。カイ二乗検定を使用して、これら2つのグループ間の受傷部位の分布を比較した。マンホイットニー検定を使用して、これら2つのグループ間のAISとISSを比較した。顎顔面骨折の発生に独立して関連する変数を特定するために、強制入力法によるロジスティック回帰分析を実行した。 有限要素(FE)モデルを用いたコンピューターシミュレーションにおいて、自転車乗員が自転車から転落し、路面に向かって下顔面を強打する状況を再現した。		

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

結果:

患者 94 名 (男性 62 名, 女性 32 名, 26.1±17.3 歳) について分析を行った。20 名の患者 (21.3%) に顎顔面骨折を認め、下顎骨骨折が最も多かった (16 名)。ロジスティック回帰分析では、年齢のみが顎顔面骨折受傷の独立した予測因子であることが示された (オッズ比, 1.03; $P = .025$)。トータルヒューマンモデルを使用したコンピュータシミュレーションでは、下顎骨体への接触力も計算され、その結果、最初の接触から 14 ミリ秒後に 8kN の力が加えられ、高い圧縮応力が下顎骨内側に発生し下顎枝が横断面で変形したことを示した。

考察:

今回の研究では患者のうち 21.3% に顎顔面骨折を認め、そのうち下顎骨骨折が多く認められた。ロジスティック回帰分析では、年齢が顎顔面骨折に寄与する独立した要因であることを明らかにし、下顎骨骨折の閾値が年齢とともに減少することが示唆された。有限要素 (FE) 解析を適用することで、内部の生体力学的挙動を詳細に理解することができ、下顎の応力分布を評価し、直接および間接の力によって受傷した部位を確認することができた。下顎骨骨折のうち歯槽骨骨折または骨体骨折は直接的な力によって発生していた。直達力により下顎骨体中心が圧縮され、下顎枝が曲がり下顎頭が圧縮されたときの衝撃で、その後、フォンミーゼス応力の値が間接的に高くなり、下顎骨骨折の好発領域と一致していた。シミュレーションでは、8kN の接触力が得られたが、他の研究では骨折の許容度が約 4.5kN であることを示唆しており、今回の結果はこれらの値を超えており、自転車乗員の受傷状況が下顎骨骨折を十分に引き起こす可能性があることを確認した。シミュレーションでは、フォンミーゼス応力の最大値はそれぞれ 82.3MPa と 84.7MPa であった。以前の報告では、大腿骨の破壊応力は 104~120 MPa 以内であり、脛骨および腓骨の破壊応力は 104~125 MPa 以内であることが示唆されている。したがって、ほとんどの皮質骨では、骨折の閾値は約 100MPa と見なされており、シミュレーションで得られた値は、下顎骨骨折につながる値に近似していた。生体力学的分析によれば、自転車から転倒して下顔面を路面に直接受傷すると、下顎骨骨折を起こす可能性があることが確認された。

結論:

顎顔面骨折の可能性を減らして自転車に乗る人の QOL を改善するには、顔面への外力の減少が優先され、フェイスガード付きのヘルメットを使用することが提案された。子供用のヘルメット使用率を上げることに加えて、フェイスガードを装備することの重要性は、すべての自転車利用者にとっても啓発される事項であると思われる。リスクに対する意識を高め、セーフガードやヘルメットを使用した安全対策を推進する教育など、より強力な傷害防止戦略が必要と思われる。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名: 堤 泰彦

【着想】

申請者は歯科口腔外科臨床に従事しており、顎顔面外傷症例を治療する機会も多い。顎顔面の損傷は生命を脅かすことは少ないとされているが、特に顎顔面骨折の場合は機能喪失、外観の変化および多額の経済的費用を伴う事がしばしば認められている。近年では自動車事故による受傷についてはシートベルトの普及やエアバックの標準化により顎顔面骨折は減少しているが、自転車乗員の受傷に関しては防護具が一般的に普及していない。自転車は、買い物や駅への通勤など短距離の移動に利便性が高く交通手段として人気であり、利用者が小児から高齢者まで幅広く利用されている。自転車乗員の身体は多くがヘルメットなど防護具を使用せず身体が露出した状況であり自転車から転倒し自動車や他の物体との衝突に巻き込まれると受傷をしやすくなると思われた。自転車乗員を対象とした他の報告では最も一般的な骨折部位は顎顔面領域であり 28.2% を占めていると報告されている。自転車関連の顎顔面損傷に関するいくつかの研究が報告されているが、自転車乗員の顎顔面骨折の発生に影響を与える要因を明らかにした報告は無く、さらに顎顔面骨折の発生は生体力学的に検証されていない。そのため、自転車乗員の顎顔面損傷および骨折を防ぐための効果的な介入を確立するために、自転車乗員の顎顔面骨折の発生に影響を与える要因を今回、研究することとした。

【方法論】

申請者が 2011 年から 2019 年の期間に自転車乗員の顎顔面損傷にて滋賀医科大学歯科口腔外科受診した患者の診療録を用いて顎顔面受傷データを収集・分析した。統計学的分析については滋賀医科大学社会医学講座法医学部門一杉正仁教授の指導を受け申請者が行った。

受傷状況 (人が自転車から落ちて路面に顔を接触させる状況) を再構築するために、有限要素 (FE) モデルを使用して生体力学的分析を行ったがトータルヒューマンモデルを使用したコンピュータシミュレーションについては、専門的で実施設備が限定されるため、トータルヒューマンモデルを使用したコンピュータシミュ

レーションおよび解析については関西大学社会安全学部伊藤大輔准教授にコンピューターシミュレーションおよび解析をしていただいた。

【研究の施行】

データの整理および分析は滋賀医科大学社会医学講座法医学部門一杉正仁教授の指導を受け申請者が行った。トータルヒューマンモデルを使用したコンピューターシミュレーションおよび解析については関西大学社会安全学部伊藤大輔准教授に実施していただき、申請者が関西大学社会安全学部伊藤大輔准教授の助言と、滋賀医科大学社会医学講座法医学部門一杉正仁教授の指導を受け申請者が解析結果の取りまとめを行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学社会医学講座法医学部門一杉正仁教授から表現方法及び考察の助言を受けながら、申請者が作成を行った。トータルヒューマンモデルを使用したコンピューターシミュレーションについては関西大学社会安全学部伊藤大輔准教授の協力を得ながらデータを取りまとめた。論文は滋賀医科大学社会医学講座法医学部門一杉正仁教授の校閲を受けた。

【共著者が6名に至った理由】

(※共著者が申請者本人を含めて4名を超えない場合は不要)

滋賀医科大学歯科口腔外科受診患者の受診歴を用いたためデータ収集の際に滋賀医科大学歯科口腔外科学講座山本学教授、滋賀医科大学歯科口腔外科越沼伸也講師の多大なる協力および助言を得てデータを収集しております。トータルヒューマンモデルを使用したコンピューターシミュレーションについて専門的で実施設備が限定されるため、関西大学社会安全学部伊藤大輔准教授に実施および解析を依頼し、関西大学社会安全学部伊藤大輔准教授の多大なる協力及び助言を得ております。また研究指導、データ分析や論文作成について滋賀医科大学社会医学講座法医学部門一杉正仁教授、滋賀医科大学社会医学講座法医学部門中村磨美先生の多大なる指導および助言を頂いており、共著者が申請者を含め6名となっております。

論文目録

※整理番号	900	(ふりがな) 氏名	はまなか くにお 濱中 訓生
学位論文			
Both Autopsy and Computed Tomography Are Necessary for Accurately Detecting Rib Fractures due to Cardiopulmonary Resuscitation (心肺蘇生により引き起こされる肋骨骨折を正確に検出するためには解剖と死後 CT を併用する必要がある)			
Diagnostics 2020, 10(9), 697			
著者名: Kunio Hamanaka, Kei Nishiyama, Mami Nakamura, Marin Takaso, Masahito Hitosugi			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	900	(ふりがな) 氏名	はまなか くにお 濱中 訓生
学位論文題目	Both Autopsy and Computed Tomography Are Necessary for Accurately Detecting Rib Fractures due to Cardiopulmonary Resuscitation (心肺蘇生により引き起こされる肋骨骨折を正確に検出するためには解剖と死後 CT を併用する必要がある)		
研究の目的	<p>胸骨圧迫は心肺蘇生 (CPR) の最も主要な行為であるが、胸骨圧迫により身体損傷を引き起こす可能性があり、その中でも肋骨骨折は最も多い損傷である。長年、心肺蘇生と関連した身体損傷の診断は解剖が診断の gold standard であった。近年、死後 CT の進歩により、解剖に代わり死後 CT による診断が増えた。過去に心肺蘇生と関連した肋骨骨折について、解剖と死後 CT を比較した研究は少ない。心肺蘇生による肋骨骨折において解剖所見と死後 CT 所見が一致しているかどうか、一致していないとすれば、それぞれの利点と欠点を明らかにすることが今回の研究の目的である。</p>		
方法	<p>単施設後方視的研究である。滋賀医科大学で 2013 年 1 月から 2019 年 3 月までの期間に法医解剖された患者を対象とした。「死後画像診断が撮影されていない」、「外傷性心停止である」、「18 歳以下」、「CPR がされていない」を除外項目とした。年齢、性別、身長、体重、死因、肋骨番号、左右、部位、CT 画像での肋骨骨折パターンをデータとして抽出した。死後 CT は放射線科専門医が読影し、解剖では法医学専門医が解剖を行った。データ解析は JMP software version 10.0.0 を使用した。解剖と死後 CT の一致率については Cohen' s kappa coefficient を計算することで評価した。CT 画像での骨折タイプによる解剖での検出率の違いを検定するため、カイ二乗検定を行った。「解剖で指摘するが CT で指摘できない」及び「CT で指摘するが解剖で指摘できない」骨折の特徴を明らかにするため多変量解析で特徴を検定した。</p>		
結果	<p>62 人の患者が対象となり、339 か所の肋骨骨折が指摘された。CT では 289 か所の肋骨骨折が指摘され、解剖では 272 か所の肋骨骨折が指摘された。222 か所の肋骨骨折は CT と解剖での指摘が一致していた。63 か所の骨折は CT のみで指摘され、50 か所の骨折は解剖のみで指摘された。全体の Cohen' s kappa 値は 0.78 であった。肋骨骨折の特徴として、第 2、5、6 肋骨は、Cohen' s kappa 値が 0.8 以上でありおおよ一致していた。第 3、4、7 肋骨骨折は Cohen' s kappa 値 0.6-0.79 であり比較的一致とな</p>		

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2 千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

り、第8、9、10肋骨骨折はCohen's kappa値0-0.45とわずかに一致であり、肋骨番号により異なっていた。骨折の部位としては腹側の肋骨骨折はCohen's kappa値0.74-0.8と比較的一致していたのに対して、背側骨折はCohen's kappa値0.4-0.61と中程度の一致となった。

CT所見で分類された肋骨骨折パターンであるが、完全骨折では解剖で94%検出されたのに対して、不完全骨折であるouter fractureでは64%、inner fractureでは96%、buckle fractureでは62%の検出にとどまり、CT所見で分類した肋骨骨折パターンにより、解剖所見との一致率は有意に差を認めた。

多変量解析ではCTでは指摘できるが解剖で指摘できない肋骨骨折の特徴として不完全骨折、75歳未満が有意な要因であり、解剖では指摘できるがCTで指摘できない肋骨骨折の特徴として第1-3及び7-12肋骨の骨折及び背側の肋骨骨折が有意な要因であった。

考察

心肺蘇生により引き起こされた肋骨骨折を指摘するにあたりCTと解剖のCohen's kappa値は0.78であり、比較的一致にとどまり、正確な評価にはCTと解剖を組み合わせることが必要である。解剖での肋骨骨折の指摘は、CT所見で分類した骨折パターンにより有意に異なり、特にbuckle fracturesは解剖で指摘しづらい骨折であった。過去にbuckle fractureが解剖で指摘しづらいと述べられる論文はあるが、定量的に検討されるのは本研究が初めてである。

CTで指摘され解剖で指摘されない肋骨骨折の特徴として、不完全骨折と75歳未満が有意であった。解剖では骨折の検索として不安定性をみるが、不完全骨折では完全骨折と比較して、安定性が保たれているために解剖では検出されないと考えられた。75歳未満では骨のミネラルが保たれ、柔軟性が保たれているために肋骨骨折があっても胸郭の不安定性が評価しづらいために解剖では検出されないと考えられた。

解剖では検出できるがCTでは検出できない肋骨骨折の特徴として第1-3及び7-12肋骨の骨折及び背側の肋骨骨折であった。第4-6肋骨の腹側は胸骨圧迫骨折により直接的な力がかかる部位であり、第1-3及び7-12肋骨や背側肋骨は間接的に力がかかる部位である。直接的に力がかかる部位は骨折部位が転位しやすくCTで検出されるが、間接的に力が入る部位は完全骨折であっても転位が少なくCTで検出されないと考えられた。

結論

心肺蘇生により引き起こされる肋骨骨折を正確に指摘するためには解剖と死後CTを併用する必要がある。不完全骨折、75歳以上がCTで検出されるが解剖では検出されない要因であり、第1-3及び7-12肋骨や背側肋骨骨折では解剖で検出されるがCTで検出されない要因であった。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 濱中 訓生

【着想】

申請者は死後画像診断に興味を持ち、特に死後撮像されたCT画像所見と法医学解剖された剖検所見の評価の違いに着目した。特に心肺蘇生が行われた患者における剖検で検出された肋骨骨折と、死後画像診断として撮像されたCT画像で検出される肋骨骨折が一致していない事がしばしばあり、評価方法として、どのように異なるのか、臨床的意義を検討した。

【方法論】

法医学解剖された患者のうち、内因死と診断された症例で心肺蘇生が施行された患者を対象に、滋賀医大社会医学講座一杉正仁教授、高相真鈴助教、中村磨美助教により法医学解剖された結果から、心肺蘇生による肋骨骨折の部位および性状を調べた。同対象に対して、死後施行されたCTを申請者が読影し、肋骨骨折部位を確認した。それぞれ剖検データ及びCTデータを解析したが、解析においては滋賀医大社会医学講座一杉正仁教授、京都医療センター救命救急センター長西山慶先生の指導を受けた。

【研究の施行】

剖検データの収集は申請者が行い、執刀医である共同研究者と確認を行った。CTデータの収集は申請者が行った。解析方法については申請者が一杉教授の指導を受けながら検討し、中村磨美助教、高相真鈴助教の助言を受けた。統計ソフトを用いた統計解析は京都医療センター救命救急センター長西山慶先生が担当した。

【論文の作成】

滋賀医大社会医学講座一杉正仁教授から表現方法及び考察の助言を受けながら、申請者が論文の執筆及び図表の作成を行った。論文は滋賀医大法医学教室一杉正仁教授、高相真鈴助教、中村磨美助教及び京都医療センタ

一救命救急センター長西山慶先生の校閲を受けた

【共著者が5名に至った理由】

剖検所見での肋骨骨折の評価による肋骨骨折のデータ収集には法医解剖による剖検所見が必要であり、法医解剖を執刀した滋賀医大法医学教室一杉正仁教授、高相真鈴助教、中村磨美助教の指導及び助言が必要であった。また、統計解析については、京都医療センター救命救急センター長西山慶先生の指導を必要とした。以上より、共著者が5名に至った。

別紙様式2 (課程博士・論文博士共用)

論文目録

※整理番号	911	(ふりがな) 氏名	(モニルザマン) MONIRUZZAMAN
学位論文 (Doctoral Thesis Paper)			
Title: Relationship Between Step Counts and Cerebral Small Vessel Disease in Japanese Men (日本人男性における歩数と脳小血管病との関連)			
Authors: Mohammad Moniruzzaman , BSPT, MPhil; Aya Kadota, MD, PhD; Hiroyoshi Segawa, MD; Keiko Kondo, PhD; Sayuki Torii, MD, PhD; Naoko Miyagawa, PhD; Akira Fujiyoshi, MD, PhD; Takashi Hisamatsu, MD, PhD; Yoshiyuki Watanabe, MD, PhD; Akihiko Shiino, MD, PhD; Kazuhiko Nozaki, MD, PhD; Hirotugu Ueshima, MD, PhD; Katsuyuki Miura, MD, PhD; on behalf of the SESSA Research Group			
Journal: Stroke Year: 2020 Volume: 51 Pages: 3584–3591(Advanced publication) [Copy enclosed] DOI: https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.120.030141			
参考論文 (Referential Thesis Papers)			
1. Title: Seven-Day Pedometer-Assessed Step Counts and Brain Volume: A Population-Based Observational Study			
Authors: Mohammad Moniruzzaman , BSPT, MPhil; Aya Kadota, MD, PhD; Akihiko Shiino, MD, PhD; Akira Fujiyoshi, MD, PhD; Takahiro Ito, MD, PhD; Ali Haidar Syaifullah, MD; Naoko Miya-gawa, PhD; Keiko Kondo, PhD; Takashi Hisamatsu, MD, PhD; Hiroyoshi Segawa, MD; Ikuo Tooyama, MD, PhD; Hirotugu Ueshima, MD, PhD; Katsuyuki Miura, MD, PhD; on behalf of the SESSA Research Group			
Journal: Journal of Physical Activity and Health Year: 2021 Volume: 18(2) Pages:1-8 (In press)(Proof copy enclosed) DOI: https://doi.org/10.1123/jpah.2019-0659			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

別紙様式2の2 (課程博士・論文博士共用)

(続紙)

2. Title: Effects of Physical Activities on Dementia-Related Biomarkers: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials
Authors: Mohammad Moniruzzaman , BSPT, MPhil; Aya Kadota, MD, PhD; Maksudul Shadat Akash, BPH; Patrick J Pruitt, PhD; Katsuyuki Miura, MD, PhD; Roger Albin, MD, PhD; Hiroko Dodge, PhD
Journal: Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions Year: 2020 Volume:6 Pages: 1-21 (In press) (Proof copy enclosed) DOI: https://doi.org/10.1002/trc2.12109

別紙様式3 (課程博士・論文博士共用)

論文内容要旨

※整理番号	911	氏名(ふりがな)	(モニルザマン) MONIRUZZAMAN
学位論文題目	Relationship Between Step Counts and Cerebral Small Vessel Disease in Japanese Men (日本人男性における歩数と脳小血管病との関連)		
<p>BACKGROUND AND PURPOSE: Cerebral small vessel disease (CSVD) is a common feature of the aging brain and neurological disease in adults and the elderly. It causes stroke, cognitive decline, depression, dementia, including Alzheimer's disease, and death; however, there are no specific preventive or therapeutic measures to ameliorate this condition. Steps per day may contribute to its prevention. The primary aim of the present study was to investigate the association between step counts at baseline and MRI CSVD features measured by white matter hyperintensities (WMHs), lacunar infarcts (LIs), and cerebral microbleeds (CMBs) in a follow-up 5 years later in general Japanese men. The relationship between step counts and WMH volumes (WMHVs) was also examined.</p> <p>METHODS: We analyzed data from 680 men who were free of stroke and participated in the SESA (Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis)—a population-based observational study. Seven-day step counts were assessed at baseline (2006–2008) using a pedometer. CSVD was assessed at follow-ups (2012–2015) based on deep and subcortical white matter hyperintensities (DSWMHs), periventricular hyperintensities (PVHs), LIs, and CMBs on brain MRI. Two neurosurgeons, certified by the Japan Neurosurgery Society, independently assessed all MRI images in duplicate. Using a logistic regression analysis, we computed the adjusted odds ratios (ORs), with 95% CIs, of prevalent CSVD according to quartiles of step counts (reference: Q1). We mainly ran 2 models in these analyses: model 1 was adjusted for age (years) and model 2 for age and smoking and drinking status (current, past, and never). We also ran another model: model 3 was adjusted for variables in model 2 plus diabetes, dyslipidemia, and hypertension (yes/no) to explore what their presence may explain additional associations.</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

別紙様式3の2 (課程博士・論文博士共用)

(続紙)

We also investigated the association between step counts and WMHVs (total WMHVs, deep and subcortical WMHVs, and periventricular hyperintensity volumes) using a quantile regression. We computed β -coefficients and the corresponding 95% CI for each WMHV per 1000 increments in a 7-day average step counts at the 25th, 50th, and 75th percentiles. We reproduced the same models of the logistic regression, with the addition of the total intracranial volume to the models. We declared P less than the 2-sided significance level of 0.05 to be significant for all analyses. All analyses were performed using SAS version 9.4.

RESULTS: The mean (SD) age and educational attainment of all participants were 63.6 (9.2) and 12.7 (2.9) years, respectively. The 7-day average step count was 8525 (3537). Steps per day were significantly associated with lower ORs, with the lowest at Q3 (8175–10 614 steps/day), of higher (versus low or no burden) DSWMHs (OR, 0.52 [95% CI, 0.30–0.89]), PVHs (0.50 [95% CI, 0.29–0.86]), and LIs (0.52 [95% CI, 0.30–0.91]) compared with Q1 (≤ 6060 steps/day) but not CMBs. An inverse linear association was observed between step counts and WMHVs. These associations were independent of age and smoking and drinking status and remained consistent when adjusted for vascular risk factors.

DISCUSSION: In this population-based study on Japanese men who were free from stroke and cognitive decline, physical activity assessed by the 7-day average step counts was significantly associated with reduced MRI CSVD features (DSWMHs, PVHs, and LIs), except for CMBs, demonstrating a J-shaped relationship. We also found inverse linear associations between step counts and WMHVs (total WMHVs, DSWMHVs, and PVHs). These associations were independent of age and smoking and drinking status. These relationships remained consistent and similar in other models adjusted for vascular risk factors. To the best of our knowledge, this is the first study to investigate the associations between step counts and MRI CSVD features measured by WMHs (visual ratings and volumetric measures), LIs, and CMBs.

CONCLUSIONS: Our study showed a J-shaped relationship between physical activity assessed by step counts and prevalent subclinical CSVD (DSWMHs, PVHs, and LIs) in healthy Japanese men, with the significantly lowest risk being observed among participants who had ≈ 8000 to 10 000 steps/day, thereby supporting the Japanese and global public health recommendations. We also found that higher step counts significantly related to lower WMH volumes.

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名：MONIRUZZAMAN
(モニルザマン)

【着想】

The present (Ph.D. thesis) study's idea came after completing my another Ph.D. paper that investigated the association between seven-day pedometer-assessed step counts and brain volume. For this study, we analyzed data from 680 male participants of the SESSA (Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis) study. Even after controlling for confounding factors, we found a positive linear association between step counts and brain volumes, including prefrontal cortex and left entorhinal cortex in apparently healthy Japanese men without any indications of cognitive impairment. This finding, indeed, led me to investigate whether step counts were associated with subclinical cerebral small vessel disease (CSVD) – a pathological features of the brain—using the same study participants (n = 680). The literature review also revealed no evidence on the relationship between step counts and CSVD globally. Notably, there are no specific preventive or therapeutic measures to ameliorate this condition. Steps per day may contribute to its prevention. We herein investigated the association between step counts and CSVD in a healthy Japanese male population.

【方法論】

For this Ph.D. thesis paper, we analyzed data from 680 men who were free of stroke and participated in the SESSA—an ongoing population-based observational study conducted in Kusatsu city, Shiga, Japan that examines factors affecting subclinical atherosclerosis. Seven-day step counts were assessed at baseline (2006–2008) using a pedometer. CSVD was assessed at follow-ups (2012–2015) based on deep and subcortical white matter hyperintensities, periventricular hyperintensities, lacunar infarcts, and cerebral microbleeds on brain magnetic resonance imaging. I drafted the detailed methodology, and later on, it was thoroughly reviewed by my supervisor (Dr. Aya Kadota) and vice-supervisor (Dr. Katsuyuki Miura). Inputs from all co-authors were also incorporated. Finally, the study protocol was approved by the Institutional Review Board of Shiga University of Medical Science.

【研究の施行】

In this Ph.D thesis paper, I (Mohammad Moniruzzaman) conceptualized and designed the study, analyzed data and interpreted results, wrote the manuscript, prepared the manuscript for the submission to *Stroke* and revised the manuscript based on reviewers'/editor's comments/suggestions. Dr. Aya Kadota and Dr. Akira Fujiyoshi, conceptualized and designed the study, guided the manuscript writing, and interpreted results critically. Dr. Hiroyoshi Segawa, Dr. Keiko Kondo, Dr. Sayuki Torri, and Dr. Yoshiyuki Watanabe played major role in the acquisition of MRI related data. Dr. Naoko Miyagawa and Dr. Takashi Hisamatsu coordinated and supervised data collection, and controlled quality at all stages. Dr. Akihiko Shiino and Dr. Kazuhiko Nozaki individually assessed MRI images in duplication. Dr. Hirotsugu Ueshima and Dr. Katsuyuki Miura oversaw the quality control measures, provided overall guidance for manuscript writing. All co-authors reviewed the manuscript critically, provided their intellectual contribution to the paper, and approved their authorship. I also participated in the epidemiological research work of SESSA women study as a tech for blood samples.

【論文の作成】

As a lead author, I (Mohammad Moniruzzaman) drafted the manuscript and shared it with my supervisor (Dr. Aya Kadota) and vice-supervisor (Dr. Katsuyuki Miura) for their feedback. We had several meetings to improve the manuscript. Once my supervisor and vice-supervisor approved the manuscript, I shared it with all co-authors for their review comments and suggestions and approval for authorship. All co-authors approved the manuscript to submit to *Stroke*. Based on reviewers'/editor's (*Stroke*) comments and suggestions, I revised the manuscript in consultation with my supervisor and vice-supervisor. After that, I shared the revised manuscript with all co-authors for their inputs and feedback. I incorporated co-authors' inputs in the revised submission. Dr. Aya Kadota, as a corresponding author, performed the submission.

【共著者が0名に至った理由】

(※共著者が申請者本人を含めて4名を超えない場合は不要)

The present Ph.D. thesis paper included 13 authors. Each authorship was judged based on the engagement and individual contribution (please see the description in 研究の施行) to the submitted work, and following the authorship criteria of *Stroke*.

論文目録

※整理番号	907	(ふりがな) 氏名	わき 和氣	たかし 宗
学位論文				
論文題目: Waist Circumference and Domain-Specific Cognitive Function Among Non-Demented Japanese Older Adults Stratified by Sex: Results from the Takashima Cognition Study (非認知症日本人高齢者において性別にみた腹囲と領域別認知機能との関連: 高島認知機能研究)				
掲載誌: Journal of Alzheimer's Disease 2020;73(3):887-896.				
著者名: <u>Takashi Waki</u> , Sachiko Tanaka-Mizuno, Naoyuki Takashima, Hajime Takechi, Takehito Hayakawa, Katsuyuki Miura, Hirotsugu Ueshima, Yoshikuni Kita and Hiroko H. Dodge				

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	907	(ふりがな) 氏名	わき 和氣	たかし 宗
学位論文題目	Waist Circumference and Domain-Specific Cognitive Function Among Non-Demented Japanese Older Adults Stratified by Sex: Results from the Takashima Cognition Study (非認知症日本人高齢者において性別にみた腹囲と領域別認知機能との関連: 高島認知機能研究)			
【目的】	高齢化社会の進展は、認知症を含む長期的に病態が進行する疾患の発症増加を引き起こしている。そして、わが国においては、認知症の代表的なサブタイプであるアルツハイマー病の増加していることから、前臨床段階のアルツハイマー病や認知機能低下の予防が重要である。また、肥満は高血圧症や2型糖尿病など多くの非感染性疾患発症との関連が知られているが、認知機能を対象とした際は、老年期の肥満傾向は総合的な認知機能の高さと関連するObesity Paradox という現象が知られている。しかしながら、Obesity Paradox については中年期と老年期の比較のみを行っている報告が多い。このため、老年期を年齢別・性別に細分類し、肥満と詳細な領域別認知機能との関連を明らかにすることは、より効果的な認知機能低下予防策の立案に有益であると考えた。そこで、本研究は、非認知症日本人高齢者において、年齢別・性別に腹囲と詳細な領域別認知機能の関連を明らかにすることを目的とした。			
【方法】	高島認知機能研究は、2005-2006年に断面調査として実施された。対象者は65-74歳、75-84歳、85歳以上の3つの年齢層別で滋賀県高島地区から無作為抽出され、957名であった。そのうち、391名が研究への参加に同意し、対面調査が行われた。本研究は、このデータベースを用い、腹囲のデータを有し、MMSE(ミニメンタルステート検査)日本版において21点以上であったものを対象とした。曝露因子は腹囲とし、アウトカムはZ標準化した領域別認知機能検査の得点とした。領域別認知機能は、12の神経心理学的検査を用いて測定された。腹囲と領域別認知機能の関連は、線形回帰分析を用いて、年齢別・性別に評価した。共変量には、年齢、教育年数、高血圧の有無、飲酒状況、婚姻状況、運動の頻度、喫煙状況、老年期うつ病評価尺度、服薬数、高血圧の既往、循環器疾患の既往、糖尿病の既往、脳卒中の既往、がんの既往とした。Model 1を基本モデルとして年齢、教育年数を考慮した。Model 2はModel 1に高血圧の有無を加えた。全ての共変量を考慮したモデルをModel 3とし、感度分析を行った。全ての統計解析はSAS9.4を用いて行った。			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

【結果】

325名(うち女性160名)を解析対象とし、対象者の平均年齢±標準偏差は77.5±7.2歳(最小-最大:66.0-99.8)であった。また、腹囲±標準偏差は、83.4±9.9cm(最小-最大:56.0-115.0cm)であった。腹囲と領域別認知機能の関連についての多変量解析の結果、女性では、65-74歳で腹囲の大きさはDigit Span Forward test (Attention/ working memory) の得点の高さと有意な関連を認めた。また、男性では65-74歳において、腹囲の大きさはWord List Immediate Recall test (Learning/ acquisition) の得点の高さと関連を示した。75-84歳の男性においては、腹囲の大きさはWord List Immediate Recall test (Learning/ acquisition)、Word List Delayed Recall test (Memory)、Digit Span Forward test (Attention/ working memory)、Verbal Fluency Letter test (Language/ Fluency) のスコアの低さと有意な関連を示した。また感度分析においても特筆すべき結果の変化はなかった。

【考察】

老年期における腹部肥満と総合的な認知機能の高さと関連するという報告がこれまでは主であった。本研究では、65-74歳では男女ともに腹囲の大きさと領域別認知機能の高さとの関連があることは先行研究と一致していたが、75-84歳の男性では腹囲の大きさと領域別認知機能の低さとの関連を認めた。

この年齢群別と性別による腹囲と領域別認知機能との関連が認められた直接的な要因としては依然不明な部分もあるが、生物学的な要因と生活習慣に関連した要因が考えられた。生物学的な要因としては、脂肪細胞から放出されるエストロゲンやレプチンといった生体ホルモン量と高認知機能との関連が挙げられた。また生活習慣に関連した要因としては、運動介入が高認知機能と関連したとする報告がある。本研究では男性より女性で運動頻度が高かったことから、男性にのみ腹囲と認知機能の関連に負の関連を認めたと考えられた。

本研究の強みは、1) 65歳以上の非認知症日本人高齢者を対象に年齢層別で無作為抽出された者を対象としていること、2) 詳細な認知機能が12の神経心理学的検査で測定されたこと、3) 65-74歳、75-84歳、85歳以上に腹囲と領域別認知機能の関連を検討したことである。

一方で研究の制限は、1) 過剰な腹部肥満の影響は未測定であること、2) 日本人以外では体格は異なることから結果の一般化可能性については注意が必要であること、3) 断面調査であるため必ずしも因果関係は説明できないこと、4) 栄養摂取状況や臨床検査値を考慮できていないこと、5) 本研究の対象者では、教育年数が10年程度であることを考慮し、MMSE日本版のスコアのカット値を低く設定していることがある。

【結論】

腹囲で測定される腹部肥満は認知機能低下の修飾可能な危険因子であることが示唆された。また、日本人の高齢者では、高齢者の中でも比較的若年層(65-74歳)においてのみ腹囲の大きさは、Attention/working memoryとLearning/ acquisitionの高さと関連していることが明らかになった。また75-84歳の男性でのみ腹囲の大きさと領域別認知機能の低さが関連していた。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 和氣 宗

【着想】

申請者はこれまで認知症治療の開発戦略に関心を持ってきたが、根治的な治療法開発は困難であることから、予防医学に目を向けた。そして、認知症発症や認知機能低下は、長期的に進行する病態であるが、中年期と老年期では、肥満と認知機能の関連が異なるObesity Paradoxという現象に関心を持った。そして、高齢者の特性が多様化する現代社会では、老年期を年齢別・性別に細分類し、肥満と詳細な認知機能の関連を明らかにすることは、より効果的な認知機能低下予防策の立案に有益であると考えた。

【方法論】

2005-2006年に実施された高島認知機能研究の断面調査データを用い、日本人非認知症高齢者において年齢別・性別に肥満と詳細な認知機能の関連を疫学的に検討した。曝露因子は腹囲とし、アウトカムはZ標準化した領域別認知機能検査の得点とした。領域別認知機能は、12の神経心理学的検査によって測定された。統計解析手法、論文構成は、滋賀医科大学アジア疫学研究センター・公衆衛生学講座の三浦克之教授、医療統計学部門の田中佐智子准教授(当時)、オレゴン健康科学大学・ミシガン大学のDodge Hiroko教授にご指導いただいた。

【研究の施行】

本研究テーマの考案、デザイン、統計解析、結果解釈、論文執筆、論文提出を三浦克之教授、田中佐智子准教授(当時)、Dodge Hiroko教授の指導の下、申請者が行った。研究計画立案、論文執筆に際しては、滋賀医科大学アジア疫学研究センター・公衆衛生学部門の上島弘嗣特任教授、敦賀市立看護大学看護学部看護学科の喜多義邦教授、立命館大学衣笠総合研究機構地域健康社会学研究センターの早川岳人教授、藤田医科大学医学部認知症・高齢診療科の武地一教授、近畿大学医学部公衆衛生学教室の高嶋直敬准教授に多大なるご指導の下、申請者が行った。また公衆衛生学部門・アジア疫学研究センターが有する他の疫学研究のフィールドワーク

(高島研究、NIPPON DATA2010、滋賀医科大学滋賀動脈硬化疫学研究 (SESSA)) に参加し、データ収集や管理を含めて疫学研究の全体像を理解することに努めた。

【論文の作成】

申請者が表の作成、論文執筆を行った。論文作成に際し、三浦克之教授、田中佐智子准教授(当時)、Dodge Hiroko 教授、上島弘嗣特任教授、武地一教授、高嶋直敬准教授から結果の解釈、考察のあり方および論文の表現方法についてご指導をいただき、校閲を受けた。

【共著者が9名に至った理由】

疫学研究は、多数の研究対象者に対し、多様なデータが収集され、研究期間が長期間に及ぶ。このため、医学、疫学、統計学、公衆衛生学など複数の専門家からなる研究グループで実施される。このため、共著者が8名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	460	(ふりがな) 氏名	いしい わたる 石井 亘
<p>学位論文</p> <p>Factors influencing vehicle passenger fatality have changed over 10 years: a nationwide hospital-based study (自動車乗員の死亡率に影響を与える因子は10年間で変化している: 全国規模のデータベースによる観察研究)</p> <p>Scientific Reports 10・3316・2020</p> <p>Published: 24 February 2020</p> <p>著者名: Wataru Ishii, Masahito Hitosugi, Arisa Takeda, Mineko Baba, Ryoji Iizuka</p>			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	460	(ふりがな) 氏名	いしい わたる 石井 亘
学位論文題目	<p>Factors influencing vehicle passenger fatality have changed over 10 years: a nationwide hospital-based study</p> <p>(自動車乗員の死亡率に影響を与える因子は10年間で変化している: 全国規模のデータベースによる観察研究)</p>		
【目的】	<p>交通事故の傾向や交通外傷の特徴は、技術の進歩に伴って変化している。したがって、交通事故死低減に向けた効果的な予防策を講じるためには、最新の情報に基づいて交通事故死に影響を及ぼす因子を具体的内明かにする必要がある。本研究では、日本における全国規模の外傷データベース(Japan Trauma Date Bank; JTDB)を用いて、自動車乗員の交通外傷データを詳細に解析するとともに、死亡に影響を及ぼす因子について10年間の推移を明らかにする。</p>		
【方法】	<p>JTDBは、2017年までに約294,000人の外傷患者が登録され、2017年には日本の救命救急センターの約75%が登録に参加している全国規模のデータベースである。JTDBの選択基準は、AIS(Abbreviated Injury Scale)が3以上の外傷患者である。2004年から2017年間に294,274の症例が登録され、31,250人は四輪自動車事故関連の外傷患者であった。除外基準は、搬入時心肺停止(n=1600)・データの欠落(n=399)・受傷時15歳未満(n=888)とした。四輪自動車乗客28,423人を対象として、その中から2004年から2008年(n=4,684)を期間Aとし2016年から2017年(n=3,690)を期間Bとして比較検討した。検討項目は、年齢、性別、車両の乗車位置、救急要請から病院到着時間、病院到着時のバイタルサイン、FAST(Focused Assessment with Sonography for Trauma)、AISスコア、ISS(Injury Severity Score)、転帰である。統計解析であるが、2群間における平均値の比較にはStudentのt検定を、中央値の比較にはMann-Whitney検定、比率の比較にはカイ二乗検定を用いた。損傷を負った四輪自動車乗員において、死亡に予測する独立した因子を明らかにするためにロジスティック回帰分析を行った。</p>		
【結果】	<p>① 期間A群と期間B群の背景、バイタルサイン及び重症度の比較</p> <p>期間B群ではA群に比べ、有意に平均年齢が高く(53歳及び45歳)、女性及び後部座席乗員の割合が多かった。また、B群では、病院到着時の平均血圧、体温及びGCS(フルスケール!)がA群に比べて有意に高値であったが、心拍数、呼吸数及びFAST陽性の割合は有意に低値であった。ISSは2群間で有意差はなかったが、死亡率は期間B群で有意に低値であった(7.9%から4.3%)。</p>		

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

② 期間A群での生存群と死亡群の検討

死亡群で平均年齢と男性の割合が生存群に比べて有意に高値で、助手席乗員の割合が有意に低値であった。死亡群では病院到着時の拡張期血圧、体温及びGCSが生存群に比べて有意に低値であったが、ISS及び頸部と腹部のAISが有意に高値であった。

③ 期間B群での生存群と死亡群の検討

死亡群では生存群に比べて平均年齢、男性の割合、FAST陽性率、ISS及び胸部、腹部と下肢のISSが有意に高値であったが、病院到着時のGCSは有意に低値であった。

④ 期間A群と期間B群における死亡率の独立した予測因子の検討

期間A群において死亡を予測する独立した因子は、男性、助手席乗員、高齢、拡張期血圧低下、体温低下、GCS低値、頸部と腹部のAIS高値であった。期間B群の独立した予測因子は、男性、高齢、GCS低値、腹部のAIS高値及びFAST陽性であった。

【考察】期間A群と期間B群を比較すると、平均年齢が45歳から53歳に増加していることに関しては、日本の高齢化人口を反映していると考えられる。そして、死亡率が7.9%から4.3%へ減少し、多くの損傷重症度が低下し、生理学的パラメータが改善していた。本研究では、死亡率の減少や重症度の改善により、搬入時のGCSが増加し、やFAST陽性率が大幅に低下したと考えられる。死亡率の低下を一つの要因で説明することは困難である。今回の調査期間の間、2008年に後部座席でのシートベルトの使用を義務付ける法律と2007年に飲酒運転に対する罰則の強化がなされた。この結果、飲酒運転による交通事故の件数は大幅に減少した。さらに自動車安全装置の発展により、シートベルト着用率の向上やエアバッグ装着車両の割合も増加した。これら複数の要因が大きく関与していると考えられる。

期間A群において死亡の独立した予測因子は拡張期血圧低値、体温低値、GCS低値で、頸部と腹部のAIS高値、高齢男性の助手席乗員が挙げられた。しかし、期間Bになると拡張期血圧、体温、頸部のAIS、助手席乗客は独立した予測因子ではなくなった。両期間群で共通した死亡の予測因子はGCS低値と高齢であった。そして、期間Bにおいて死亡に独立した予測因子は腹部のAIS高値とFAST陽性所見であった。これは、シートベルトの使用率が高まり、前部座席でのエアバッグが標準装備なるにつれて、胸部や頭部の重症損傷が減少した一方で、シートベルト自体の外力による腹部臓器を損傷が増加したと考えられる。また、FAST陽性所見に関しては、日本での初期診療でのFASTの普及によって、腹部臓器損傷が検出されやすくなったことが挙げられる。

本研究のlimitationとして、1.日本における四輪自動車事故の総数を対象とした解析ではないこと、2.衝突速度や車種などの事故の詳細情報がなく、シートベルトの使用、エアバッグの展開などの情報が得られなかったこと、3.JTDBには欠落データが含まれていたこと、4.事故で即死し、搬送されなかった症例が含まれなかったことが挙げられる。しかし、これらの点を加味しても、信頼性のある結論が導き出せたと考える。

【結論】

本研究は、四輪自動車乗員の死亡に影響を与える独立した因子を明らかにできた。わが国における高齢化をはじめ、予防安全技術の進歩によって、死亡に影響を及ぼす因子も変化していくと考えられる。時代に即した効果的な交通死亡事故予防対策を講じるためにも、今回のような分析が定期的実施されることを願っている。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 石井 亘

【着想】

申請者は、救急医療現場での経験を通して、交通事故死者の損傷の特徴や分布が近年変化してきていることに興味を持っていた。そして、交通事故死者を低減するためには、交通事故の死亡率に影響を及ぼす因子を具体的に明らかにすべきと考えた。さらにその因子が、技術の発展などに伴って変化していくのではないかと疑問をもった。

【方法論】

全国の救急医療現場における症例を基にした日本外傷データバンクを用い、四輪自動車乗員の交通事故例について後方視的な解析を行った。データの解釈及び解析には、滋賀医科大学社会医学講座法医学部門一杉正仁教授から指導を受けた。

【研究の施行】

日本外傷データバンクからの症例の抽出及びデータの整理を申請者が行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学社会医学講座法医学部門一杉正仁教授からデータの抽出における整理、表現方法及び考察の助言を受けながら、申請者が論文の執筆及び図表の作成を行った。データ分析に関しては、慶應義塾大学医学部総合医科研究センターの馬場美年子助教及び滋賀医科大学竹田有沙大学院生の指導及び助言を受けながら、申請者が行った。論文は、滋賀医科大学一杉正仁教授及び京都第二赤十字病院飯塚亮二救命救急センター長の校閲を受けた。

【共著者が5名に至った理由】

日本外傷データバンクからの抽出したデータが、広範囲かつ専門的であることより、滋賀医科大学社会医学講座法医学部門一杉正仁教授、竹田有沙大学院生、慶應義塾大学医学部総合医科研究センター助教馬場美年子、京都第二赤十字病院飯塚亮二救命救急センター長の助言が必要であった。さらに、解釈や解析において、適宜指導を乞う必要があったため、共著者が5名に至った次第である。

別紙様式2 (課程博士・論文博士共用)

別紙様式2の2 (課程博士・論文博士共用)

(続紙)

論文目録

※整理番号	896	(ふりがな) 氏名	きたざわ じゅん 北澤 純
-------	-----	--------------	------------------

学位論文
Alteration in endometrial helper T cell subgroups in chronic endometritis
(慢性子宮内膜炎における子宮内膜ヘルパーT細胞亜群の変化の検討)

American Journal of Reproductive Immunology (in press)
2021年発行予定

著者名 : Jun Kitazawa, Fuminori Kimura, Akiko Nakamura, Aina Morimune,
Tetsuro Hanada, Tsukuru Amano, Shunichiro Tsuji, Kyoko Kasahara,
Hiroki Satooka, Takako Hirata, Ryoji Kushima, Takashi Murakami

参考論文1
Endometrial Immunity for Embryo Implantation and Pregnancy Establishment
(着床および妊娠成立のための子宮内膜免疫)

The Tohoku Journal of Experimental Medicine 250巻1号49頁～60頁
2020年1月発行

著者名 : Jun Kitazawa, Fuminori Kimura, Akiko Nakamura, Aina Morimune,
Akimasa Takahashi, Akiko Takashima, Tsukuru Amano, Shunichiro Tsuji,
Shoji Kaku, Kyoko Kasahara, Takashi Murakami

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

参考論文2

The effects of chronic endometritis on the pregnancy outcomes
(慢性子宮内膜炎の妊娠転帰への影響)

American Journal of Reproductive Immunology (in press)
2021年発行予定

著者名 : Aina Morimune, Fuminori Kimura, Akiko Nakamura, Jun Kitazawa,
Akiko Takashima, Tsukuru Amano, Shoji Kaku, Suzuko Moritani,
Ryoji Kushima, Takashi Murakami

別紙様式3 (課程博士・論文博士共用)

別紙様式3の2 (課程博士・論文博士共用)

(続紙)

論文内容要旨

※整理番号	896	(ふりがな) 氏名	きたざわ じゅん 北澤 純
学位論文題目	Alteration in endometrial helper T cell subgroups in chronic endometritis (慢性子宮内膜炎における子宮内膜ヘルパーT細胞亜群の変化の検討)		
<p>【目的】慢性子宮内膜炎(CE)は軽度の慢性炎症と考えられ、細菌感染や種々の要因が原因と考えられている。CEは軽度の不正出血や骨盤痛、性交痛、白色帯下などを認めることがあるが一般に臨床症状に乏しい。しかし、近年では我々や他の臨床研究より着床障害や流産の原因となることが示唆されている。組織学的には形質細胞の子宮内膜間質への浸潤を認めることから、免疫学的異常の関与が考えられているが、その詳細は明らかになっていない。</p> <p>子宮内膜には好中球やT細胞、B細胞、肥満細胞、マクロファージ、子宮ナチュラルキラー細胞などが免疫細胞として存在する。これらの細胞は月経周期に伴い変動が見られ、特に着床期には異物である胚を受容するために様々な子宮内膜免疫細胞が関与する。その中でヘルパーT(Th)細胞は少ないものの、着床や妊娠継続において重要な役割を果たしている。</p> <p>CEにおける子宮内膜免疫細胞の変化についての報告は少数で、中でもヘルパーT細胞亜群についての報告は現在まで認めていない。今回我々は、ヒトの着床期子宮内膜内のヘルパーT細胞亜群の分布とそのCEの病態への影響を検討した。</p> <p>【方法】対象は滋賀医科大学医学部附属病院で体外受精治療中の患者とした。経膈超音波検査での卵胞径の測定および排卵検査薬にて排卵日を特定し、着床期に子宮内膜を採取した。一部はパラフィン包埋標本を作製し、CD138免疫組織染色を施行して、形質細胞が1個/10HPF以上認めるものをCEと診断した。残りの検体は細切した後、コラゲナーゼおよび溶血処理した後、MACS SeparatorでCD45陽性細胞を分離した。分離したサンプルはTh1、Th2細胞解析用とTh17、制御性T(Treg)細胞解析用に分け、Th1、Th2細胞解析用はPMA、Ionomycin、Monensinを加えて37℃、5%CO₂下で4時間インキュベートし、Th17、Treg細胞解析用はPMA、Ionomycin、Brefeldin Aを加えて37℃、5%CO₂下で3時間インキュベートした。細胞表面抗原の染色後、固定・膜透過処理を行い、細胞内染色を行ったのち、Flow Cytometry (FACSCanto II) で解析した。また、Th細胞と形質細胞の関連を検討するため、CE患者の着床期子宮内膜パラフィン包埋標本に対してCD4およびCD138蛍光免疫染色を施行した。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

【結果】CE群12例、non-CE群7例を対象とした。CE群およびnon-CE群の子宮内膜におけるFlow Cytometryでの解析では、リンパ球あたりのCD4陽性T細胞数にはCE群およびnon-CE群で差は無かった。一方で、CE群はnon-CE群に比べTh1細胞が有意に多く、Th2細胞が少なかった。Th17細胞、Treg細胞については差は認めなかった。また、それぞれの細胞数の比を検討したところ、Th1/Th2細胞比はCE群で増加していたが、Th1/Treg細胞比、Th17/Treg細胞比に差は認めなかった。次に、Flow CytometryでのCD4陽性細胞中のTh1・Th2細胞の割合とCD138免疫組織染色での形質細胞数の相関を検討すると、CEではCD138陽性細胞が増えるほどTh1細胞は増加し、Th2細胞は減少した。子宮内膜におけるTh細胞と形質細胞の分布について検討するため、7例のCE症例において子宮内膜のCD4およびCD138蛍光免疫染色を施行したところ、CD4陽性細胞は有意にCD138陽性細胞周囲に集簇していることが明らかになった。

【考察】本研究により、CE患者の着床期子宮内膜ではTh1/Th2細胞のバランスがTh1細胞優位となることが明らかとなった。通常、着床期子宮内膜はTh2細胞優位となることが知られているが、CEではこのTh細胞のバランスが変動していた。また、CEでは子宮内膜の形質細胞数が増加するほどTh1細胞優位となり、Th細胞は形質細胞周囲に集簇していた。この要因として、以下の可能性が考えられる。

①CEの原因となる細菌やウイルスに対して、Th1細胞と形質細胞が共に免疫応答している。これまでCEの原因は腸球菌や大腸菌、マイコプラズマやウレアプラズマなどの細菌感染が考えられていたが、細胞性免疫に関与するTh1細胞が増加していることから、何らかのウイルス感染が関与している可能性も示唆された。

②Th細胞や形質細胞が子宮局所で分化しており、その分化に相互に関与している。この場合、子宮内に形質細胞の分化の場である胚中心が形成されている可能性がある。今回の検討では、Treg細胞やTh17細胞には変動は認められなかった。一方で、CE症例でTh1/Th2細胞比は上昇していたが、Th1/Treg細胞比には有意差が認められなかった。このことから、CEではTh1細胞増加による炎症状態は増強している一方で、Treg細胞による免疫寛容性は維持されている可能性が示唆された。

現在、CEの治療は主にドキシサイクリンやメトロニダゾール、シプロフロキサシンなどの抗菌薬が用いられている。抗菌薬治療でCEが陰性化すればnon-CE症例と同等の妊娠率に改善するが、抗菌薬治療を数クール施行してもCEが陰性化しない症例も存在する。このようなCE持続症例に対して、Th1/Th2細胞バランスの変動を改善するような免疫抑制剤が妊孕性の改善につながる可能性があると考えられた。

【結論】CEの子宮内膜Th1/Th2細胞バランスはTh1細胞優位となり、また、形質細胞の増加と共にTh1細胞の割合が増加すること、Th細胞は形質細胞周囲に集簇していることから、CEは着床期子宮内膜内のTh細胞バランスを修飾することを明らかとした。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 北澤 純

【着想】

申請者は「慢性子宮内膜炎と着床障害」の研究について興味を持ち、着床に関連する子宮内膜免疫細胞に着目し、その中でもヘルパーT細胞が慢性子宮内膜炎により変化しているのではないかと考え検討した。

【方法論】

ヒト子宮内膜組織の採取および酵素処理方法について滋賀医科大学産科学婦人科学講座木村文則准教授の、Flow Cytometryおよび蛍光免疫染色の方法について滋賀医科大学生命科学講座生物学里岡大樹助教の指導を受けた。慢性子宮内膜炎の診断のための免疫組織染色について滋賀医科大学臨床検査医学講座病理診断科九嶋亮治教授の指導を受けた。

【研究の施行】

ヒト子宮内膜組織の採取は滋賀医科大学産科学婦人科学講座中村暁子医員、森宗愛菜医員、花田哲郎助教と共に行ったが、それ以外のすべての研究手技及びデータの解析を、申請者が行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学産科学婦人科学講座木村文則准教授および滋賀医科大学生命科学講座生物学里岡大樹助教から表現方法及び考察の助言を受けながら、申請者が論文の執筆及び図案の作成を行った。論文は、滋賀医科大学産科学婦人科学講座天野創講師（学内）、辻俊一郎講師、笠原恭子講師、村上節教授、滋賀医科大学臨床検査医学講座病理診断科九嶋亮治教授および滋賀医科大学生命科学講座生物学平田多佳子教授の校閲を受けた。

【共著者が12名に至った理由】

（※共著者が申請者本人を含めて4名を超えない場合は不要）

実験的研究が広範囲かつ専門的であることから、滋賀医科大学産科学婦人科学講座木村文則准教授、天野創講師（学内）、辻俊一郎講師、笠原恭子講師、村上節教授、滋賀医科大学臨床検査医学講座病理診断科九嶋亮治

教授、滋賀医科大学生命科学講座生物学里岡大樹助教、平田多佳子教授から多大なる指導、助言をいただき、また極めて専門的な分野について産科学婦人科学講座中村暁子医員、森宗愛菜医員、花田哲郎助教に実験の分担を行っていただいたため、共著者が12名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	908	(ふりがな) 氏名	とみた いっせい 富田 一聖
学位論文	<p>SGLT2 Inhibition Mediates Protection from Diabetic Kidney Disease by Promoting Ketone Body-Induced mTORC1 Inhibition</p> <p>(糖尿病性腎臓病に対する SGLT2 阻害薬による腎保護効果には、ケトン体上昇を介した mTORC1 阻害が寄与している)</p> <p>Cell Metabolism Volume 32, 404-419, September 1, 2020</p>		
著者名	<p>富田一聖、久米真司、菅原翔、大澤紀之、山原康佑、山原真子、武田尚子、金崎雅美、金子達朗、Eric Mayoux、Michael Mark、柳田素子、扇田久和、荒木信一、前川聡</p>		
参考論文	なし		

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	908	(ふりがな) 氏名	とみた いっせい 富田 一聖
学位論文題目	<p>SGLT2 Inhibition Mediates Protection from Diabetic Kidney Disease by Promoting Ketone Body-Induced mTORC1 Inhibition (糖尿病性腎臓病に対する SGLT2 阻害薬による腎保護効果には、ケトン体上昇を介した mTORC1 阻害が寄与している)</p>		
【研究の目的】	<p>糸球体病変を主座とし高度蛋白尿を伴う典型的な糖尿病性腎臓病(DKD)に対する治療法の確立は依然として重要な課題である。一方で、蛋白尿を伴わない DKD の症例が増えており、加齢や肥満による細動脈硬化とそれに伴う近位尿細管障害が一因であると考えられているが、その抑制機構は明らかでない。そこで、申請者らは、多様な病態を呈する DKD において、糸球体を治療標的とし蛋白尿を減らすだけでなく、動脈硬化による近位尿細管障害を抑制することが、DKD のより良い予後に繋がると考えるようになった。</p> <p>近年、SGLT2 阻害薬がアルブミン尿の程度に関わらず糖尿病患者の腎機能悪化を抑制すること、また、同薬剤の臓器保護機構に血中ケトン体上昇の関与が報告されている。ATP 産生を糖代謝ではなく脂肪酸酸化に大きく依存している腎近位尿細管細胞では、この脂肪酸酸化低下を介した腎エネルギー代謝不全が腎障害進展に関わることが報告されており、その是正を目的とした新規 DKD 治療の解明が望まれている。そこで申請者らは、新たな DKD 治療標的として、もう一つの ATP 産生源であるケトン体供給が、SGLT2 阻害薬における腎保護に関与するとの仮説を立てた。また近年 DKD において、近位尿細管および糸球体局所での The mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1) の過剰亢進が病態の進展に関わることが報告されているが、その治療法は明らかとされていない。そこで、DKD における近位尿細管および糸球体での局所的な mTORC1 亢進に対して、絶食シグナルであるケトン体が抑制的に作用し腎保護効果を発揮するという仮説を立て、動脈硬化モデル、近位尿細管特異的 mTORC1 過剰発現モデル、肥満 2 型糖尿病モデルマウスを用いて以下の検証を行った。</p>		
【方法】	<p>①野生型・動脈硬化モデルマウスにおける近位尿細管での ATP 産生の検討 野生型マウスと高脂肪食負荷 ApoE 欠損マウス (HFD-ApoE^{-/-}) の腎近位尿細管細胞を単離培養し、ブドウ糖を含まないエネルギーフリーの緩衝液に置き換え、そのままの群と脂肪酸・ケトン体附置の 3 群に分け、回収した細胞の ATP 含量を測定した。</p> <p>②動脈硬化モデルマウスにおけるケトン体含有食・SGLT2 阻害薬での腎保護効果の検討 10 週齢から 16 週齢高脂肪食を加えた HFD-ApoE^{-/-}マウスを作成し、ケトン体前駆物質である 1,3-ブタンジオール (1,3-BD) および SGLT2 阻害薬エンバグリフロジン (エンバ) を 8 週間経口投与し、腎機能、腎組織障害、腎 ATP 含量、近位尿細管組織での mTORC1 活性を評価した。さらに内因性ケトン体合成律速酵素 Hmgcs2 と ApoE のダブルノックアウトマウスを作成し、エンバによる腎保護効果を検証した。</p>		

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

③近位尿細管特異的 TSC1^{-/-}マウスにおけるケトン体含有食・SGLT2 阻害薬での腎保護効果の検討
腎局所の mTORC1 活性亢進に対するケトン体の役割を解明するために、mTORC1 抑制遺伝子である TSC1 遺伝子の flox マウスと Tamoxifen 誘導型近位尿細管特異的 Cre 発現 (NDRG1-CreER^{TR}) マウス交配により Tamoxifen 誘導型近位尿細管特異的 TSC1 欠損マウス (PTEC-TSC1^{-/-}) を作製し、1,3-BD およびエンバ投与での腎保護効果を検証した。

④肥満 2 型糖尿病モデルにおけるケトン体含有食・SGLT2 阻害薬での腎保護効果の検討
10 週齢の db/db マウスに対して、1,3-BD およびエンバを 12 週間経口投与し、アルブミン尿の程度、糸球体障害、糸球体組織での mTORC1 活性について検討した。

【結果】
①野生型マウス尿細管では脂肪酸附置により ATP 含量が上昇したが、HFD-ApoE^{-/-}マウス尿細管では脂肪酸附置で ATP 含量は上昇せず、ケトン体附置により ATP 含量が上昇した。
②野生型マウスに比べ、HFD-ApoE^{-/-}マウスは、腎機能低下を示す血清シスタチン C 上昇、腎組織障害、腎組織内 ATP 含量低下を認めた。1,3-BD およびエンバ治療は、血中ケトン体濃度上昇を伴い、HFD-ApoE^{-/-}マウスの腎機能低下、腎組織病変を改善させ、腎組織内 ATP 含量を上昇させた。さらに、HFD-ApoE^{-/-}マウスの腎免疫組織染色では、近位尿細管領域で mTORC1 活性を示す pS6 発現の亢進と脂肪酸酸化酵素 CPT1a 発現の減弱が認められたが、1,3-BD およびエンバ治療で mTORC1 抑制と脂肪酸酸化の改善が認められた。Hmgcs2 と ApoE のダブルノックアウトマウスでは、エンバ投与による血中ケトン体濃度上昇を伴わず、腎保護効果は認められなかった。
③Tamoxifen 投与 4 週後の 12 週齢 PTEC-TSC1^{-/-}マウスでは、TSC1^{+/+}マウスに比べ、腎腫大、腎近位尿細管での mTORC1 の活性亢進と脂肪酸酸化の低下、腎機能低下を認めたが、1,3-BD あるいはエンバによるケトン体供給によりそれらの病変は全て改善を認めた。
④db/m マウスに比べ、db/db マウスではアルブミン排泄量増加、糸球体免疫組織染色での WT1 陽性細胞数の低下や線維化を示すフィブロネクチン陽性領域の増大などの糸球体障害、pS6 発現亢進を認めたが、1,3-BD およびエンバ治療では血中ケトン体上昇を伴い、それらの病変は全て改善を認めた。

【考察】
糖尿病を合併した動脈硬化による DKD の病態では、近位尿細管で ATP 産生が脂肪酸依存性からケトン体依存性に変化しており、さらに mTORC1 活性亢進が脂肪酸酸化の抑制に寄与し、腎障害の病態と深く関わっている可能性が考えられた。また、SGLT2 阻害薬によるケトン体上昇は、腎保護において不可欠であり、病態の進展に関わり脂肪酸酸化抑制をもたらす mTORC1 を抑制することが示唆された。つまり、DKD の近位尿細管に対するケトン体供給が、ATP 産生というエネルギー供給だけでなく、mTORC1 活性抑制による脂肪酸酸化の回復をもたらし、SGLT2 阻害薬による腎保護に寄与することが明らかとなった。また蛋白尿を呈する肥満 2 型糖尿病に対しても、SGLT2 阻害薬によるケトン体上昇が、糸球体における mTORC1 抑制を介して腎保護効果を発揮している可能性が示唆された。本研究の結果より、ケトン体による腎エネルギー代謝の改善および mTORC1 抑制は、DKD の新規治療標的となる可能性が示された。

【結論】
DKD に対する SGLT2 阻害薬の腎保護効果には、ケトン体による腎への直接的なエネルギー供給および mTORC1 抑制による脂肪酸酸化の回復が寄与している。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 富田 一聖

【着想】

申請者は「腎臓近位尿細管のエネルギー代謝」についての研究に興味を持った。これまでの報告で、SGLT2 阻害薬によるケトン体上昇が腎でのエネルギー代謝の改善に寄与する可能性が示されていたが、適切な遺伝子改変動物を用いた詳細な検討は未だなされていなかった。そこで申請者は近位尿細管におけるエネルギー代謝およびケトン体の役割を明らかにするべく検討を行った。

【方法論】

マウスの飼育、genotyping、血糖測定及び血清・尿採取方法、データの統計学的解析については久米真司学内講師に、臓器サンプルの採取、免疫染色法、Western blot 法に関しては山原真子助教に、近位尿細管単離法については菅原翔先生に指導を受けた。

【研究の施行】

上記の先生方へ実験方法および解析方法の指導を受け、全ての研究手技、データの整理を申請者が行った。

【論文の作成】

久米真司学内講師に表現方法、考察の助言を受けながら、申請者が論文の執筆、図表の作成を行った。各実験方法とその考察については、それぞれ指導いただいた先生より助言を受けながら完成させた。荒木信一准教授、前川聡教授からは研究の背景・方法・結果の解釈について専門的な助言を頂き、論文の校閲を受けた。最終的に全ての先生から作成した論文の校閲を受けた。

【共著者が 15 名に至った理由】

研究内容が広範囲かつ専門的であったため、各先生方より多大なる指導、助言を頂いた。そのため、共著者が 15 名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	898	(ふりがな) 氏名	はやし 林	かおり 香里
<p>学位論文</p> <p>The natural history of spontaneously occurred endometriosis in cynomolgus monkeys by monthly follow-up laparoscopy for two years (カニクイザルで自然発症した子宮内膜症の2年間の腹腔鏡観察による評価) The Tohoku Journal of Experimental Medicine 令和2年8月発行 著者名: Kaori Hayashi, Misako Nakayama, Chizuru Iwatani, Hideaki Tsuchiya, Shinichiro Nakamura, Kosuke Nonoguchi, Yasushi Itoh, Shunichiro Tsuji, Hirohito Ishigaki, Takahide Mori, Takashi Murakami, Kazumasa Ogasawara</p>				

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	898	(ふりがな) 氏名	はやし 林	かおり 香里
学位論文題目	The natural history of spontaneously occurred endometriosis in cynomolgus monkeys by monthly follow-up laparoscopy for two years			
<p>【目的】子宮内膜症は子宮内膜類似組織が子宮以外の部位で発育・増殖する疾患であり、生殖年齢の女性に月経困難症や不妊といった影響を与える。子宮内膜症の発症・進行するメカニズムについてはいまだ完全には解明されていない。子宮内膜症の確定診断は腹腔内の観察であるが、ヒトにおいてはその侵襲性から複数回の腹腔鏡観察を行うことができず、子宮内膜症病変の改善・増悪所見の経過を確認することはできない。カニクイザルはヒトと同様に月経周期を認め解剖学的にも類似しており、子宮内膜症を自然発症し病変の性質も酷似している。本研究ではカニクイザルで月1回腹腔鏡検査を行い病変の自然経過を確認し、病態についての検討を行った。</p> <p>【方法】動物生命科学センターにおいて子宮内膜症の診断が確定しているカニクイザル11頭に対して、全身麻酔下に腹腔鏡検査を月に1回2年間施行し、その好発部位や病変の自然経過を評価した。病変の経過を評価するために病変の大きさと癒着の範囲によりそれぞれ1-4点に分類し、その合計の値によるスコア化を行った。月1回の腹腔鏡検査による侵襲を評価するために体重の変化の観察を行った。また、組織標本の評価を行うためにHE染色および免疫組織化学染色を行った。</p> <p>【結果】観察期間中に継続的に体重減少を認めた個体はなく、初回と最終観察日の体重変化に有意差は認めなかった。観察期間中7頭では規則正しく月経を認めたが、3頭では月経は不規則で、1頭は期間中月経を認めなかった。腹腔鏡検査の際、1頭では頻繁に月経血の腹腔内への逆流を認め、他の2頭でも数回月経血の腹腔内への逆流を認めた。</p> <p>初回の腹腔鏡検査では、45.4%(11頭中5頭)で膀胱子宮窩のみに病変を認め、ダグラス窩のみに病変を認めたのは9.09%(11頭中1頭)で、卵巣に病変を認める個体はいなかった。1頭では2ヶ月後も膀胱子宮窩のみに病変を認めたが、その他の個体では経過とともにダグラス窩への進展を認めた。</p> <p>初回の腹腔鏡検査でダグラス窩のみに癒着を認めたのは9.09%(11頭中1頭)で、</p>				

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

ダグラス窩と付属器に癒着を認めたのは18.1%(11頭中2頭)で、72.7%(11頭中8頭)では癒着を認めなかった。18-24ヶ月後の観察では、全例でダグラス窩に癒着を認め、そのうちダグラス窩のみに認めたのは30%(10頭中3頭)であった。観察期間中すべての個体で新たな病変が出現し、2頭では小さな病変の消失を認めた。すべての個体で子宮内膜症の進行を認めたが、進行速度は個体により差があった。

進行した病変から生検した組織のHE染色では、ヒトの子宮内膜症と同様に子宮内膜に類似した腺構造と間質細胞を認め、マクロファージやリンパ球の浸潤を認めた。急性胃拡張で死亡した個体の初期病変では単核球の浸潤と腺様上皮を認めた。免疫組織化学染色では、CD3陽性T細胞と、CD163陽性マクロファージの浸潤を認めた。

【考察】本研究において、カンクイザルの子宮内膜症はヒトと同様進行性の病態で、進行速度は様々であることが明らかになった。初回の腹腔鏡検査ではヒトでの好発部位であるダグラス窩よりも膀胱子宮窩の方に病変を多く認め、2年間の観察後においてもヒトでの好発部位である卵巣子宮内膜症嚢胞を認めた個体はいなかった。膀胱子宮窩に病変が好発することはこれまでのサルにおける報告と一致している。好発部位が異なる理由として、ヒトと異なりサルは睡眠時でも仰臥位になることはなく、卵管采が膀胱子宮窩を向くため逆流月経血が膀胱子宮窩に貯まりやすいことが考えられた。また、ヒトと異なりカンクイザルではほとんど腹水を認めないため、逆流した子宮内膜の断片を含む可能性のある腹水に卵巣が接触しないことが考えられた。これはヒトの子宮内膜症の発生機序として広く受け入れられている子宮内膜移植説を支持する所見と考えられる。一方、これまでの報告においてカンクイザルで卵巣病変を認めるものもあり、移植説以外の病因も考えられる。本研究においても個体数を増やせば卵巣病変が認められる可能性があると考えられた。内膜症の進行に個体差がある理由として、霊長類ではヒトと同様遺伝的に多様性があること、月経血の逆流の程度や頻度に差があることが関係している可能性が考えられた。免疫組織化学染色において、CD3陽性T細胞と、CD163陽性マクロファージの浸潤を認め、小さな病変で自然消失するものがあつたことより、免疫反応により異所性子宮内膜が排除され消失した可能性が示唆された。

【結論】本研究ではカンクイザルで自然発生した子宮内膜症の自然史を初めて明らかにした。ヒトとカンクイザルの子宮内膜症は類似しており、ヒトの子宮内膜症の原因究明や管理方法を解明する際カンクイザルは有用な動物モデルとなり、非侵襲的なマーカーの発見や治療方法の開発につながる可能性がある。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 林 香里

【着想】

申請者は子宮内膜症の病態の研究について興味を持ち、ヒトと同様子宮内膜症を自然発症するカンクイザルで子宮内膜症の自然経過を観察することにより病態についての検討を行った。

【方法論】

滋賀医科大学動物生命科学研究センター土屋先生及び岩谷氏と共に腹腔鏡観察を行い、滋賀医科大学疾患制御病態学講座石垣助教及び仲山助教に免疫組織化学染色の指導を受けた。

【研究の施行】

腹腔鏡操作以外の研究手技とデータ解析を申請者が行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学疾患制御病態学講座伊藤教授から表現方法及び考察の助言を受けながら、仲山助教と共同で論文の執筆及び図表の作成を行った。論文は滋賀医科大学疾患制御病態学小笠原前教授、伊藤教授及び滋賀医科大学産科学婦人科学講座村上教授の校閲を受けた。

【共著者が12名に至った理由】

カンクイザルを用いる研究のため滋賀医科大学動物生命科学研究センター中村先生、土屋先生及び岩谷氏に、研究内容が専門的であることから同仁病院森先生、醍醐渡辺クリニック野々口先生、滋賀医科大学疾患制御病態学小笠原前教授・伊藤教授・石垣助教・仲山助教、滋賀医科大学産科学婦人科学講座村上教授及び辻講師に多大なる指導・助言いただいたため、共著者が12名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	463	(ふりがな) 氏名	(いとい なおこ) 糸井 尚子
学位論文			
Infiltration of CD4, CD8, CD56, and Fox-P3-positive lymphocytes in breast carcinoma tissue after neoadjuvant chemotherapy with or without trastuzumab. (抗 HER2 抗体 trastuzumab 治療による乳癌局所への CD4, CD8, CD56, Fox-P3 陽性リンパ球浸潤)			
Breast Disease, vol. 38, no. 2, pp. 57-65, 2019			
Naoko Itoi ¹ , Tomoko Umeda ^{1,2,3} , Mitsuki Ishida ⁴ , Satoshi Murata ¹ , Tsuyoshi Mori ¹ , Yuki Kawai ¹ , Kaori Tomida ¹ , Tomoharu Shimizu ¹ , Ryoji Kushima ⁵ , Masaji Tani ¹			
¹ Department of Surgery and ² Consortium for Community Medicine and ⁵ Department of Clinical Laboratory Medicine and Division of Diagnostic Pathology, Shiga University of Medical Science, Tsukinowa-cho, Seta, Otsu, Shiga, 520-2192, Japan.			
³ Department of Breast surgery, Japan Communnity Healthcare Organization (JCHO) Shiga Hospital, 16-1 Fujimidai, Shiga, 520-0846, Japan.			
⁴ Department of Pathology and Laboratory Medicine, Kansai Medical University, 2-3-1, Shin-machi, Hirakata, Osaka, 573-1191, Japan.			
Erratum			
Breast Disease, vol. 39, pp. 47-49, 2020			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	463	(ふりがな) 氏名	(いとい なおこ) 糸井 尚子
学位論文題目			
Infiltration of CD4, CD8, CD56, and Fox-P3-positive lymphocytes in breast carcinoma tissue after neoadjuvant chemotherapy with or without trastuzumab. (抗 HER2 抗体 trastuzumab 治療による乳癌局所への CD4, CD8, CD56, Fox-P3 陽性リンパ球浸潤)			
【研究の目的】			
HER2 陽性乳癌の標準治療薬であるトラスツズマブ(以下 Tz)は HER2 陽性乳癌患者の予後を劇的に改善する。Tz の主な作用機序は Antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) と考えられているが、近年獲得細胞性免疫も重要なことがわかってきた。しかし、Tz によるヒト腫瘍局所への T 細胞浸潤に関しては不明である。本研究では Tz による乳癌局所への細胞性免疫誘導を明らかにするために、Tz 療法により乳癌組織へ浸潤するリンパ球サブタイプの詳細な検討を行った。			
【方法】			
2011 年 1 月から 2014 年 12 月までに、滋賀医科大学附属病院で術前化学療法後に切除された初発乳癌 29 例を対象とした。全例、術前化学療法前に針生検で浸潤性乳癌と診断された。治療前生検組織および治療後の切除組織を用いて、それぞれエストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PgR)、HER2 について免疫組織染色を行なった。さらに、CD4、CD8、CD56 および Fox-P3 の免疫組織染色を行い、International TILs Working Group の評価法に基づいて、陽性細胞の存在部位別に①腫瘍内部 (intra-tumoral) ②腫瘍隣接部 (adjacent) ③腫瘍辺縁部 (distant) について、強拡大で 1 視野あたりの陽性細胞数をカウントし、3 視野の細胞数の平均値を測定した。			
術前化学療法に Tz を併用した群(Tz+群 15 例)と併用していない群(Tz-群 14 例)とにわけ、臨床病理学的な比較検討を行った。			
統計学的解析は χ^2 検定、Welch t 検定、Mann-Whitney U 検定を用いて行った。			
【結果】			
症例は全て女性、平均年齢は Tz+群 55 歳(42-72 歳)、Tz-群 50 歳(35-64 歳)で差はなかった。全ての症例に対して術前化学療法後に手術を施行した。最終の術前化学療法から手術までの期間は、両群間で有意差はなかった。臨床病理学的検討では、術前のホルモン受容体、腫瘍径、リンパ節転移、臨床病期、化学療法レジメンに両群で差はなく、化学療法後の病理学的奏功についても差はなかった。Tz+群では 3 例の腫瘍完全退縮 (CR) を認めた。			
術前化学療法前の針生検組織において、CD4、CD8、CD56、Fox-P3 陽性リンパ球数は Tz+群と Tz-群間で差がなかった。術前化学療法後の切除組織において、腫瘍隣接部の CD4、CD8、Fox-P3 陽性細胞数は Tz+群で有意に Tz-群より多かった(p<0.005)。腫瘍辺縁部での CD4、CD8 陽性細胞数も Tz 群で有意に Tz-群より多かった。腫瘍内部の CD4、CD8、Fox-P3 陽性細胞数には両群間で差がなかった。			
一方、natural killer (NK) 細胞を示す CD56 陽性細胞数には両群間で差を認めなかった。腫瘍隣接部の CD4 陽性細胞数と CD8 陽性細胞数の間には正の相関が認められた(Tz+群-			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2 千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

$r=0.76$ 、Tz-群 $r=0.66$)。腫瘍内部ではTz-群にのみ正の相関が認められた(Tz+群 $r=0.27$ 、Tz-群 $r=0.64$)。さらに、腫瘍辺縁部ではCD4陽性細胞数とCD8陽性細胞数に相関は認められなかった。

Tz-群では腫瘍内部へ浸潤するCD8陽性細胞数と腫瘍縮小率との間に相関を認めたが、Tz+群では有意な相関を認めなかった(Tz-群 $r=0.59$ 、Tz+群 $r=0.343$)。両群とも腫瘍浸潤CD4、CD8陽性細胞数と病理学的な化学療法効果との間には相関が認められなかった。

【考察】

近年、様々な腫瘍において腫瘍組織浸潤リンパ球 (tumor-infiltrating lymphocytes ; TILs) が腫瘍内免疫機能を評価する上で注目され、乳癌においてもTILsが予後予測因子や術前化学療法の効果予測因子となる可能性がある。なかでもHER2陽性乳癌やTriple negative乳癌ではCD8陽性TILsやCD8/Fox-P3比が死亡リスクや術前化学療法の完全奏功と関連していると言われている。しかし、Tz療法がTILsの誘導に関与しているかについての報告は少ない。

これまで、Tzの主な抗腫瘍効果はADCC活性によるものと考えられてきたが、本研究では化学療法後の手術摘出乳癌組織には、ADCCを担っているCD56陽性NK細胞はごく少数しか認めなかった。Tzの最終投与から腫瘍切除までの期間が長い(平均28.2日)ためにNK細胞への効果が終結していた為かもしれないが、一方でTzを投与した群では腫瘍局所への多くのCD8陽性T細胞浸潤が認められた。また、Tz療法後にはCD4陽性T細胞も腫瘍組織内に多数浸潤していた。CD4陽性Fox-P3陽性制御性T細胞であるが、Fox-P3陽性細胞数に比し同部位のCD4陽性細胞数のはるかに多いため、これらのCD4陽性T細胞の多くはヘルパーT細胞だと考えられた。Tzの直接の影響がなくなった後もヘルパーT細胞、細胞傷害性CD8陽性T細胞(CTL)が腫瘍に隣接して存在しており、Tz投与により乳癌局所に細胞性免疫が誘導されていると考えられた。

腫瘍組織内のCD8陽性T細胞が多い乳癌は予後が良いと報告されている。一方、Fox-P3陽性制御性T細胞の存在は予後不良との報告と、反対に予後が改善するとの報告がある。これは乳癌のサブタイプによる生物学的な違いや薬物療法の違いなどに起因するのかもしれない。本研究では、Tz療法群で腫瘍局所のCD8陽性細胞とFox-P3陽性細胞が増加しており、これらには相関が認められた。Tz療法により細胞性免疫が誘導されCTLが腫瘍局所に増加した結果、腫瘍の免疫逃避作用を担うFox-P3陽性制御性T細胞が組織内に誘導されたとも考えられる。

Tz-群では腫瘍へ浸潤するCD8陽性細胞数と腫瘍縮小率との間に相関を認めたが、Tz+群では有意な相関を認めなかった。その理由として、Tz+群では腫瘍消失したCR例のTIL解析ができなかったことや、腫瘍退縮が大きく腫瘍組織が少ない症例があったこと等が考えられる。

【結論】

術前化学療法に併用したTz療法は、乳癌組織にCD4陽性ヘルパーT細胞やCD8陽性CTLなどの細胞性免疫を誘導した。

この新たな免疫学的エビデンスは、Tz抗体治療や他の分子を標的とした抗体治療による新しい抗腫瘍免疫療法の開発に貢献できるであろう。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 糸井 尚子

【着想】

近年、様々な腫瘍において腫瘍へのリンパ球浸潤 (tumor infiltrating lymphocytes; TILs) が、治療効果や予後と関連があるのではないかと注目を集めている。乳癌でも、化学療法前にTILsが多い症例では、化学療法後に病理学的完全奏功 (pCR) 率が有意に高いことや、HER2陽性乳癌において化学療法前にTILsが多い症例ほどトラスツマブの治療効果が高く、予後も良好であることが報告されている。申請者は、トラスツマブ投与により細胞性免疫が獲得され抗腫瘍効果を発揮しているのではないかと考えから、トラスツマブ投与の有無での免疫細胞の腫瘍内浸潤について比較検討を行った。

【方法論】

腫瘍免疫学について村田聡先生にご教授頂いた。滋賀医科大学外科学講座で梅田朋子先生をはじめとする共著者らにより術前化学療法および手術が施行された乳癌組織を臨床検査医学講座(現関西医科大学病態検査学講座)石田光明先生に診断していただき、臨床病理学的検討のデータとした。免疫組織化学染色を村田聡先生、梅田朋子先生にご指導頂いた。

【研究の施行】

滋賀医科大学外科学講座谷眞至教授のご指導の下、梅田朋子先生、村田聡先生の直接指導を受けて申請者が臨床病理学的検討、CD4、CD8、CD56、Fox-P3の免疫組織化学染色および、陽性細胞のカウント、統計処理の研究を行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学外科学講座梅田朋子先生、村田聡先生から考察について指導を受けながら、申請者が論文の執筆および図表の作成を行った。論文は滋賀医科大学外科学講座谷眞至教授に校閲していただいた。出版後に図表の誤記載が判明したため、訂正を行いました。Erratumとして提出いたします。

【共著者が10名に至った理由】

術前化学療法および手術は滋賀医科大学外科学講座谷眞至教授、清水智治教授、梅田朋子先生、森毅先生、河合由紀先生、富田香先生ら共著者にご尽力いただいた。腫瘍免疫学について村田先生よりご教授いただき、乳癌組織の病理学的診断について臨床検査医学講座九嶋亮治教授と石田光明先生に多大なるご協力のご助言をいただいたため、共著者が10名に至った。

論文目録

※整理番号	914	氏名	高木 海
<p>学位論文</p> <p>題目: Fat tissue as an embolic material changes the embolization time in a size-dependent manner: A basic investigation using rabbits (塞栓物質としての脂肪組織は、サイズに依存して塞栓時間が変化する: ウサギを使用した基礎的研究)</p> <p>掲載誌: Japanese Journal of Radiology</p> <p>著者名: 高木海、新田哲久、大田信一、井上明星、渡邊嘉之</p>			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	914	氏名	高木 海
学位論文題目	<p>Fat tissue as an embolic material changes the embolization time in a size-dependent manner: A basic investigation using rabbits (塞栓物質としての脂肪組織は、サイズに依存して塞栓時間が変化する: ウサギを使用した基礎的研究)</p>		
<p>【目的】塞栓物質としての脂肪組織の有用性と、脂肪組織のサイズによって塞栓形成時間が変化するかどうかを評価すること。</p> <p>【方法】16匹のウサギを使用し、それぞれのウサギの鼠径部の皮下脂肪組織を摘出し、以下のように裁断した。(i)脂肪組織を2mm角に裁断した(Group 1)。(ii)2mm角に裁断した脂肪組織を5mlのシリンジに入れ、ポンピング法を用いて、細かく裁断した(Group 2)。ポンピング法とは、二つのシリンジを三方活栓に接続し、三方活栓を通して交互にシリンジを行き来させることで裁断する方法である。ポンピングは20回サイクル行った。左右どちらかの鼠径部のカットダウンを行い、外腸骨動脈に4Fr. シースを挿入し、そこから4Fr. コブラ型カテーテルを動脈内に挿入した。右または左腎動脈をカテーテルで選択し、裁断した2種類の脂肪組織のいずれかを動脈が描出されなくなるまで投与した。塞栓1日後または7日後に腎動脈の造影を行い、再開通した血管の割合を評価した。画像の解析にはImageJを用いた。再開通率に有意差があるのかを調べるために、SSPSを用いてt検定を行った。</p> <p>【結果】2mm角の脂肪組織(Group 1)のサイズの平均値は、1.95 ± 0.40 mm、ポンピング法で裁断した脂肪組織(Group 2)のサイズは、$1-139 \mu\text{m}$ ($13.0 \pm 14.1 \mu\text{m}$)であった。Group 1では、塞栓1日後および7日後の再開通率は、それぞれ$4.0 \pm 5.5\%$と$29.9 \pm 6.9\%$で、これらに間に優位差を認めた($p < 0.01$)。Group 2では、塞栓1日後および7日後の再開通率は$59.9 \pm 9.9\%$および$74.3 \pm 26.0\%$で、これらには有意差は認めなかった。塞栓1日後の再開通率では、Group 1とGroup 2との間に有意差を認めた($p < 0.01$)。同様に塞栓7日後の再開通率では、Group 1とGroup 2との間に有意差を認めた($p < 0.05$)。塞栓後に取り出した腎臓の肉眼所見では、Group 1では全体的に変色しており、Group 2では、まだらな変色を認めた。肉眼所見の変色していた領域に一致して、病理像で壊死が生じていることを確認した。</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

【考察】この研究の結果から、脂肪組織が塞栓物質として使用できる可能性があること、脂肪組織のサイズによって塞栓形成時間が増加する可能性を示した。ポンピング法を用いて脂肪組織を裁断する方法は簡単ではあるが、脂肪組織のサイズのばらつきが大きく、約半数が $10\mu\text{m}$ 以下であった。腎臓の毛細血管径は $10\mu\text{m}$ 程度のため、 $10\mu\text{m}$ 未満の脂肪組織は、毛細血管を通過するので、塞栓形成に影響しないと予測される。 $10\mu\text{m}$ 未満の脂肪組織を除去した場合、グループ2の平均サイズは $20.7\pm 16.4\mu\text{m}$ であり、これらが実際の塞栓効果を有するものと考えられる。腎動脈は終末動脈であるため、腎動脈閉塞後に一定期間で腎壊死が生じる。Group 1では、血管造影および病理学的所見により、 2mm 角の脂肪組織が主に分節動脈を塞栓しており、再灌流は認めなかったため、塞栓効果は1日以上続いたと考えられる。またほとんどの動脈が7日後も塞栓されていた。対照的に、Group 2では、塞栓1日後の再灌流率が約60%、塞栓7日後の再灌流率が約75%であった。病理組織では、腎臓の末梢に軽度の壊死を認めたことから、壊死が完成する前にほとんど再開通が生じたと考えられる。動脈閉塞による腎壊死は約4時間後に完成すると考えられており、ポンピング法で裁断した脂肪組織は塞栓約4時間後までに溶解したものと考えられる。以上のことから、 2mm 角の脂肪組織は永続的な塞栓効果を有しており、ポンピング法で裁断された脂肪組織は一時的な塞栓効果を有する可能性がある。ゼラチンスポンジ、金属コイル、NBCA (n-butyl-2-cyanoacrylate)などの塞栓物質は、発展途上国だけでなく、状況によっては先進国でもすぐに使用できない場合がある。皮下脂肪組織は、小さな皮膚切開を介して採取することで、いつでも利用することができる。私たちの実験結果では、 2mm 角の脂肪組織は出血などの近位血管病変に適していると推測され、一方ポンピング法で裁断した脂肪組織は一時的な塞栓形成に効果的と考えられる。

この研究にはいくつかの限界があるが、第1に症例数が少ないこと、第2にH&E染色により脂肪組織が溶解したため、動脈内に貯留する脂肪組織が観察できなかったこと、第3に腫瘍、血管病変、および出血に対する脂肪組織塞栓術の効果は不確かなことである。したがって、これらの問題を解決するためにも、さらなる実験を行う必要があると考えられる。

【結論】脂肪組織は塞栓物質として使用でき、塞栓物質としての脂肪組織はサイズによって塞栓形成時間を変化させる可能性を示した。特に、ポンピング法を用いて作成した脂肪組織は、一時的な塞栓物質として機能する可能性がある。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 高木 海**【着想】**

先行研究では、脂肪組織による塞栓を行うことは可能であると考えられるが、 1mm^2 以下の大きさの脂肪組織を使用した報告は存在しないため、この大きさよりも小さな脂肪組織が塞栓物質として機能するかは不明である。また脂肪組織による塞栓効果の持続時間や血管の再開通率を検討した先行研究は存在しない。そこで、脂肪組織の大きさが塞栓時間と再開通率に与える影響を検討した。

【方法論】

ウサギの取り扱いやカテーテルの操作などの動物実験の手技については、滋賀医科大学放射線講座新田前准教授（現岡本記念病院放射線科）、滋賀医科大学放射線医学講座大田講師の指導を受けた。

【研究の施行】

動物実験の手技は新田前准教授及び大田講師の指導のもと、申請者が行った。またデータの整理は申請者が行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学放射線医学講座渡邊教授、大田講師から表現方法及び考察の助言を受けながら、申請者が論文の執筆及び図表の作成を行った。論文は、滋賀医科大学渡邊教授及び大田講師の校閲を受けた。

【共著者が5名に至った理由】

動物実験における手技は専門的であることから、滋賀医科大学放射線医学講座渡邊教授、新田前准教授、大田講師、井上非常勤講師から多大なる指導、助言を頂いたため、共著者が5名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	906	(ふりがな) 氏名	エブティハルムハンマドサルマン Ebtehal Mohamed Salman
PhD Thesis Paper (学位論文):			
Title:	Relationship of four blood pressure indexes to subclinical cerebrovascular diseases assessed by brain MRI in general Japanese men (一般日本人男性において脳 MRI で評価した潜在性脳血管疾患と血圧指標の関係)		
Journal:	Journal of Atherosclerosis and Thrombosis. Accepted (acceptance letter has been attached to the PhD thesis application)		
Authors:	Ebtehal Salman, Aya Kadota, Takashi Hisamatsu, Hiroyoshi Segawa, Sayuki Torii, Akira Fujiyoshi, Keiko Kondo, Yoshiyuki Watanabe, Hisatomi Arima, Akihiko Shiino, Kazuhiko Nozaki, Hirotsugu Ueshima, Katsuyuki Miura, for the SESSA Research Group		

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	906	(ふりがな) 氏名	エブティハルムハンマドサルマン Ebtehal Mohamed Salman
学位論文題目	Relationship of four blood pressure indexes to subclinical cerebrovascular diseases assessed by brain MRI in general Japanese men (一般日本人男性において脳 MRI で評価した潜在性脳血管疾患と血圧指標の関係)		
<p>Purpose: A relevant amount of publications reported the association of blood pressure (BP) indexes, which are, systolic BP (SBP), diastolic BP (DBP), pulse pressure (PP), and mean arterial pressure (MAP) to subclinical cerebrovascular diseases (SCVDs). Nevertheless, the association is inconclusive and further understanding of the pathophysiological mechanisms of BP indexes and SCVDs is needed. The purpose of our study was to clarify the magnitude of the association of BP indexes measured at two different visits on SCVD outcomes assessed by MRI in community-dwelling Japanese men.</p> <p>Methods: The study population was the Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis (SESSA), a community-based observational study of general Japanese men from Kusatsu city in Shiga Prefecture. The total number of participants at Visit 1 [2006-2008] was 1094 between the age of 40-79. The participants were asked for a second visit (Visit 2) between 2010 and 2014, and the number then was 853, and again were asked to participate in an MRI visit between 2012 and 2015 in which the number complied was 740. Participants with history of myocardial infarction, stroke with symptoms, and participants with any missing data were excluded and the analyzed participants were 616.</p> <p>At both Visit 1 and 2, office BP was measured clinically following strictly the criteria of The Japanese Society of Hypertension Guidelines and the average from each visit was used to calculated four office BP indexes (SBP, DBP, PP, MAP). Following the classification of the Japanese Braindock guideline which is similar to Fazekas grading, five SCVD MRI outcomes were dichotomized as: Lacunar infarction= presence (≥ 1 lesion) or absence. Periventricular hyperintensity (PVH)= presence (Fazekas grade ≥ 2) or absence. Deep subcortical white matter hyperintensity (DSWMH)= presence (Fazekas grade ≥ 3) or absence. Microbleeds= presence (≥ 1 microbleed) or absence. Intracranial artery stenosis (ICAS)= presence ($\geq 1\%$ stenosis) or absence. Covariates adjusted in statistical analysis models were: age, BMI, HbA1c, LDL-C, HDL-C, smoking status, drinking status, hypertension medication, diabetes mellitus medication, and dyslipidemia medication.</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

Multivariable logistic regression adjusting for covariates was used to estimate the odds ratio (OR) and 95% CI of each prevalent SCVD for 1-SD higher office BP indexes. Statistical significance was set at $P < 0.05$ and all analyses were performed on SAS version 9.4.

Results: Among the 616 eligible participants mean age \pm SD was 63.6 ± 9.2 years at Visit 1 and 68.2 ± 8.1 years at Visit 2. Multivariable adjusted OR for the presence of MRI outcomes per 1-SD higher of each office BP index (SBP, DBP, PP, and MAP) at Visit 1 and Visit 2 revealed that SBP at Visit 1 associated with lacunar infarction, DSWMH, microbleeds, and ICAS, and at Visit 2 associated with lacunar infarction, microbleeds, and ICAS. DBP at both visits associated with lacunar infarction, PVH, and DSWMH, with a slightly higher OR at Visit 2 than at Visit 1 for microbleeds. Visit 1 and Visit 2 PP associated with lacunar infarction and ICAS, while Visit 2 PP only associated with microbleeds.

Considerations: Almost all BP indexes showed distinct associations between two visits of BP indexes and MRI assessed SCVDs. This is consistent with previous studies, however, we found association of SBP and DSWMH not reported before, while we did not find association between PP and PVH, DSWMH, or microbleeds. This might be due to differences in genetic and environmental backgrounds between populations like age, gender, and ethnicity. Visit 1 and 2 BP indexes showed almost similar associations to SCVDs, which were consistent with previous studies, however, the association was slightly stronger for microbleeds at Visit 2, which could be due to difference in underlying pathophysiological mechanisms. Recent increase in SBP, DBP seems to associate more with the pathophysiological pathway of microbleeds, whereas the progression of the other SCVDs is gradual and could vary in time to the onset of the outcome which could explain the stronger relationship of BP indexes at Visit 1 to the outcomes lacunar infarction, PVH, DSWMH, and ICAS. This is important for clinicians to carefully assess and separately evaluate four BP indexes as a tool for early prevention of potential stroke while considering cerebrovascular risk factors.

Conclusions: In conclusion, our study showed two different periods' measured BP indexes were associated to some but not all SCVDs. The distinct association of each periods' BP index to SCVDs helps understand particular pathophysiological mechanisms that are yet to be confirmed. Deliberate evaluation of each BP index separately, in addition to conventional cerebrovascular risk factors, may be used as a tool for early prevention of potential stroke.

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

(エブティハルムハンマドサルマーン)

学位申請者氏名 : Ebtehal Mohamed Salman

【着想】

I expressed to my supervisor, Prof. Aya Kadota, my interest in topics related to blood pressure and cerebrovascular diseases, and we discussed about the theme. I did the search and literature review on related publications, the methodologies used, and what is still lacking and decided on the final topic after consulting with Prof. Aya Kadota and Prof. Katsuyuki Miura.

【方法論】

The data set I used for my paper was the Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis (SESSA). After planning the study methodology and expected outcomes based on previous publications, I discussed this amply with Prof. Aya Kadota and received inputs from the co-authors to develop the paper. I avow all the analyses were performed by myself using the statistical software SAS version 9.4.

【研究の施行】

Following the literature review of this topic, I conducted to the research idea, analyses decision, interpreting results, writing the manuscript, submission process, and preparing reviewers' response letters. The data collection of the SESSA study I used in the paper completed in 2015, but I have been contributing to the data collection of another population under the same study in which I assist in participants' sample processing, dispensing, storing, and registration. Prof. Aya Kadota and all the co-authors contributed immensely to the development of the analyses and interpretations of this paper.

I also participated in the epidemiological research work of SESSA women study and Takashima study also as a tech for blood samples for four years. I also cleaned the raw data of home blood pressure for SESSA study.

【論文の作成】

Upon the completion of the analyses and interpreting the results, I drafted the full manuscript following the criteria suggested by the journal of interest and shared it with Prof. Aya Kadota and Prof. Katsuyuki Miura for their critical feedback, paper refinement suggestions, and finalization before circulating it with all the co-authors for their scientific input, comments, and approval. Once my supervisor and all the co-authors approved of the final version of the manuscript, it was submitted to the target journal with the guidance of Prof. Aya Kadota. All the co-authors were informed once the manuscript was submitted to the journal, updated on the status of the paper, and received the response letter and updated version of the manuscript when we received comments from the journal's reviewers. The response letter to the reviewers' comments have been prepared and discussed extensively with Prof. Aya Kadota and Prof. Katsuyuki Miura, in addition to sharing the response letter with the co-authors for their guidance. All the co-authors were informed when the manuscript was accepted for publication.

【共著者が13名に至った理由】

(※共著者が申請者本人を含めて4名を超えない場合は不要)

Including myself, this paper has thirteen co-authors in which all contributed greatly to the study population SESSA in the study plan and design, data collection, cleaning, and management. It is a standard practice in epidemiological research and papers to include the contributors of the study population used as co-authors (usually exceeds four co-authors). Furthermore, as previously mentioned, all the co-authors helped vastly in this study from the data collection of the study population used, to their suggestions and inputs on the manuscript.

別紙様式2 (課程博士・論文博士共用)

論文目録

※整理番号	897	氏名	堀井 常人
学位論文			
1. 題目			
The Usefulness of Re-attachability of Anti-adhesive Cross-linked Gelatin Film and The Required Physical and Biological Properties (癒着防止材熱架橋ゼラチンフィルムの再貼付時使用性と物理学的特性及び生物学的特性)			
2. 印刷公表の方法及び時期			
雑誌名: BIO-MEDICAL MATERIALS AND ENGINEERING An International Journal			
令和2年10月15日アクセプト			
令和2年11月26日 pre-press 発行			
著者名: 堀井常人、辻本洋行、影山進、吉田哲也、小林憲市、高森秀樹、湊博史、上田錠、萩原明郎、市川寛、河内明宏			
参 考 論 文			
(1)Biological properties of a thermally crosslinked gelatin film as a novel anti-adhesive material: Relationship between the biological properties and the extent of thermal crosslinking (新規熱架橋ゼラチンフィルムの生物学的特性: 生物学的特性と架橋度の関係性)			
雑誌名: Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials.			
平成27年10月発行			
著者名: 辻本洋行、丹沢あゆみ、宮本博恵、堀井常人、辻美咲、川澄あかり、田村篤、王震、阿部里恵、田中翔大、山中皓暉、的場麻里、鳥井裕子、小座本雄軌、高森秀樹、鈴木周子、森田真一郎、筏義人、萩原明郎			
(2)Physical and biological properties of a novel anti-adhesion material made of thermally cross-linked gelatin film: Investigation of the usefulness as anti-adhesion material (新規癒着防止材熱架橋ゼラチンフィルムの物理学的特性と生物学的特性: 癒着防止材としての有効性の検討)			
雑誌名: Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials.			
平成30年2月発行			
著者名: 堀井常人、辻本洋行、宮本博恵、山中皓暉、田中翔大、鳥井裕子、小座本雄軌、高森秀樹、仲町英治、筏義人、萩原明郎			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

別紙様式2の2 (課程博士・論文博士共用)

(続紙)

(3)The influences of a novel anti-adhesion device, thermally cross-linked gelatin film on peritoneal dissemination of tumor cells: The in vitro and in vivo experiments using murine carcinomatous peritonitis models (腹膜播種性腫瘍細胞に対する新規熱架橋ゼラチンフィルムの影響: マウス癌細胞腹膜炎モデルによる in vitro と in vivo での検討)

雑誌名: Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials.
平成30年8月発行

著者名: 宮本博恵、辻本洋行、堀井常人、小座本雄軌、上田錠、高木敏貴、斉藤直人、萩原明郎

論文内容要旨

※整理番号	897	氏名	(ふりがな) 堀井 常人
学位論文題目	The Usefulness of Re-attachability of Anti-adhesive Cross-linked Gelatin Film and The Required Physical and Biological Properties (癒着防止材熱架橋ゼラチンフィルムの再貼付時使用性と物理学的特性及び生物学的特性)		
<p>従来から臨床使用されているフィルム型の癒着防止材 HA/CMC フィルムは、脆弱で強度が弱いため臨床操作時に破損することが多く、癒着合併症を完全には防ぐことができないことから臨床効果の懸念や、腸管吻合部へ安全に巻いて使用することができないことなどの種々の問題を有している。そこで、上記問題点を克服するために、我々は、熱架橋ゼラチンフィルムを開発した。ゼラチンフィルムは熱架橋時間に依存して体内分解性を容易に調整することが可能である。これまでに我々は、熱架橋ゼラチンフィルムは、HA/CMC フィルムと比べて、より優れた物理学的強度を有することに加え、腹膜再生の伴った十分な癒着防止効果を有し、細胞毒性が無く安全性が高いことを証明し、さらに、イヌの腸管吻合部に対しても安全に巻いて使用することができる事を報告した。また、ゼラチンフィルムは腹膜播種性転移に対しても、癌細胞の足場とならず、死亡率を上昇させないことも分かっている。</p> <p>しかしながら、癒着防止材の臨床使用時においては、誤って目的外の場所に貼付し、再貼付する必要もあり、特に従来品 HA/CMC フィルムは剥がす際に破損するなどして再貼付は難しく、特に近年急速に汎用されるようになった鏡視下手術等での利用は著しく困難であった。そのため癒着防止フィルムが十分な強度を有し、再貼付可能かどうかを検討する必要がある。それに対して、フィルムの厚さを厚くすることで強度を上げる方法も考えられるが、必要以上に厚い場合、材料が硬くなりすぎ周辺組織に損傷を引き起こし、重大な合併症を引き起こすこともあるため、フィルムの硬さや組織損傷性を検討する必要がある。そこで、今回の研究においては、その熱架橋ゼラチンフィルムの再貼付の可能性とその際の癒着防止効果の有効性について、またそのために临床上必要な物理的特性、特にフィルム厚と脆弱性や組織損傷性 (座屈性)の観点から検討を行った。</p> <p>ゼラチンフィルムは、豚皮から抽出したアルカリ処理ゼラチンを溶解し、20, 30, 40, 60, 90 μm の厚さのフィルムになるように作製した。各フィルムは、7 日程度で体内分解されるように 140$^{\circ}\text{C}$、3.5 時間で熱架橋した。対照として、HA/CMC フィルムは、科研製薬株式会社のセプラフィルム[®]を使用した。実験方法として、まず単純引</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

張験にて各厚みのフィルム強度を求めた。さらに、体内臓器に対して貼付した際のフィルム強度を測定するために、イヌ腸管に対して、フィルムを30秒、120秒間貼付させた後に組織に平行に引き剥がし、その破断枚数と破断強度を測定した。次に、各厚みのフィルム座屈試験を行い、座屈強度を測定した。さらに、体内臓器に対するフィルム端の損傷を調べるために、フィルム端によるイヌ肝臓損傷性試験を行った。最後にこれらの結果から十分な強度を保ち組織損傷の起こらない最適厚のゼラチンフィルムを使用して、ラット盲腸擦過モデルに対して各フィルムを再貼付させた際に十分に癒着防止効果を有し、腹膜再生するかどうかを調べるために、癒着防止試験を行った。

単純引張試験の結果、ゼラチンフィルム厚が厚くなるに伴って引張荷重は上昇することが分かり、30 μm 以上で HA/CMC フィルムと有意差が認められた。さらに、フィルム引き剥がし試験の結果、30 μm 以上のゼラチンフィルムで殆ど破断せず、再貼付可能であったのに対して、HA/CMC フィルムは、殆ど破断し、再貼付不可能であった。座屈試験の結果、単純引張試験同様にフィルム厚が厚くなるに伴って座屈強度は高くなり、フィルム厚が 60 μm 以上で HA/CMC フィルムと有意差が認められた。さらに、フィルム端による肝臓損傷試験の結果、60 μm 以上の厚みで損傷が認められた。ゆえに、十分な強度を保ち、組織に対して損傷の起こらないフィルム厚の範囲は 30~40 μm であると考えられた。癒着防止効果試験の結果、再貼付を行った最適厚 (30~40 μm) のゼラチンフィルムは、無処置群に比べて有意に癒着スコアが強度と範囲ともに低く、癒着防止効果が認められた。また、炎症が殆ど無く良好に腹膜再生していた。

癒着防止材として再貼付有効性は、開腹手術のみならず腹腔鏡手術に対しても、効果的であると考えられる。現在、フィルム形状に加えて、メッシュ状、スプレー・ゲル状など様々な癒着防止材が臨床で使用されているが、いずれもメッシュ状では柔軟性に富むものの、物理的バリア効果が乏しいことにより十分な癒着防止効果を発揮しないことや、スプレー・ゲル状では腹腔鏡適用・操作性は良いものの流動性が高いため、目的組織から外れてしまう可能性がある。これまでフィルム状で汎用されてきた HA/CMC フィルムは、脆弱で再貼付することが不可能で、腹腔鏡手術への適用がかなり困難であったが、熱架橋ゼラチンフィルムでは十分な強度を有し、再貼付使用可能であり、将来的な臨床応用が期待されると考えられた。

以上より、熱架橋ゼラチンフィルムは、厚みを調整することにより、再貼付しても破断しない物理学的強度を有すると同時に、周辺組織に対しても損傷無く、また十分な癒着防止効果を有する優れた癒着防止材であり、鏡視下手術を含む様々な外科手術において臨床応用できる可能性があると考えられた。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 堀井 常人

【着想】従来品の HA/CMC フィルムは、植物性多糖類であるカルボキシメチルセルロースが用いられており、体内に分解酵素が存在しない。それに対し、ゼラチンは、コラーゲンの 3 重鎖を熱変性により 1 本鎖になった構造で、体内に分解酵素が存在することや熱架橋することにより容易に体内分解時間を調整し、癒着防止に必要とされる 1 週間物理的バリア効果を有するフィルムを開発することに成功した。申請者は、共著者萩原の発想の下、熱架橋や体内分解性、癒着防止効果について検討した。

【方法論】本研究においては、熱架橋ゼラチンフィルムの再貼付性について検討するために、フィルムの強度に加えて、座屈強度、肝臓組織に対する組織損傷性、組織接着した際の引き剥がし強度、さらに、再貼付を行った際の癒着防止効果及び腹膜の再生効果について検討を行った。申請者は、共著者らとともに実際にフィルム物性試験及び動物実験方法について、方法の検討を行った。

【研究の施行】フィルム物性試験（強度、座屈強度）及びラット癒着防止効果試験はいずれも申請者の堀井及び共著者の辻本、萩原が中心となって実施した。肝臓組織に対する組織損傷性及び組織接着した際の引き剥がし強度試験は、申請者と共著者の辻本、萩原、市川と共に実験を実施した。

【論文の作成】英語論文の作成は、申請者の堀井が中心となって作成し、共著者の辻本、萩原とともに内容の確認と英文チェックを行った。最終的には、泌尿器科学講座の河内に論文全体の確認を行った。

【共著者が 11 名に至った理由】本研究の実験実施にあたり、滋賀医科大学泌尿器科学講座並びに同志社大学生命医科学部、八幡中央病院、うえだクリニックに多大なご支援、ご指導をいただいたため、本論文に共著者として名前を記載している。

論文目録

※整理番号	909	(ふりがな) 氏名	(ナハ ナルン) Nurun Nahar
PhD Thesis Paper			
Title: Dynamic changes of mitral annulus in patients with degenerative mitral regurgitation and chronic atrial fibrillation undergoing mitral valve reconstruction.			
(慢性心房細動を合併した変性僧帽弁閉鎖不全症に対して僧帽弁形成術を施行する患者における僧帽弁弁輪形態の動的変化)			
Journal: General Thoracic and Cardiovascular Surgery. Published.			
Authors: <u>Nurun Nahar</u> , Takeshi Kinoshita, Tomoaki Suzuki, Katsuyuki Miura, Tohru Asai.			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	909	(ふりがな) 氏名	ナハ ナルン Nurun Nahar
学位論文題目	Dynamic changes of mitral annulus in patients with degenerative mitral regurgitation and chronic atrial fibrillation undergoing mitral valve reconstruction. 慢性心房細動を合併した変性僧帽弁閉鎖不全症に対して僧帽弁形成術を施行する患者における僧帽弁弁輪形態の動的変化		
Background and purpose Atrial fibrillation (AF) has been shown to be an independent, significant risk factor for mortality after mitral valve surgery in patients with degenerative mitral regurgitation (DMR). The onset of AF is a critical turning point in the disease progression suggesting that mitral valve repair may be complicated and difficult but little is still known about mitral annular dynamics in patients with AF undergoing mitral valve repair for DMR. We therefore evaluated mitral annulus size, shape, and motion during the cardiac cycle using three dimensional transesophageal echocardiography in DMR patients with AF compared with normal control subjects and DMR patients without AF.			
Methods and Results One hundred and fifty-one consecutive patients undergoing mitral valve reconstruction for mitral regurgitation due to myxomatous disease between July 2013 and May 2016 were included. Of these, 117 had a sinus rhythm (SR group) and 34 had chronic AF (AF group). Patients who underwent aortic surgery and were found to have no underlying cardiac valve disease nor coronary artery disease were included as the control group ($n = 20$). Real-time three-dimensional trans-esophageal echocardiography (3D-TEE) with mitral valve quantification (MVQ) analysis was used to assess mitral annulus shape, size, and movements. Annular areas in the control group were the smallest of the three groups and changed considerably through the cardiac cycle. Mean anteroposterior and intercommissural diameter measurements in the SR group were significantly larger but oscillated less than in the control group.			

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名：Nurun Naharナハ ヌルン

【着想】

Thorough analysis of mitral annulus and mitral valve complex is the prerequisite for Mitral valve repair. The surgery may become complicated and difficult in presence of atrial fibrillation but little is still known about mitral annular dynamics in patients with atrial fibrillation undergoing Mitral valve repair. There are many studies which have shown the relation between mitral annulus and mitral regurgitation but to our best knowledge a very few studies have clearly described the mitral annular dynamics in patients of atrial fibrillation by using 3D transesophageal echocardiography. Keeping this concept in mind I discussed with Prof Tohru Asai (Former professor of Cardiovascular Surgery at SUMS) and Dr Kinoshita (Associate Professor of Cardiovascular Surgery at SUMS) about the topic and decided the topic as my PhD thesis.

【方法論】

This retrospective clinical observational study included patients undergoing major cardiac surgery between the duration from July 2013 to May 2016. Specific methodology for my study (Patients selection, Inclusion & exclusion criterias, Baseline characteristics, three-dimensional transesophageal

Those diameters were the largest in the AF group and oscillated very little. Dilatation of the annulus in the AF and SR groups was accompanied by flattening and marked loss of oscillation in the height-to-intercommissural-width ratio which should peak in early systole.

Discussion

This study was conducted to show mitral annular geometry and dynamics in patients with DMR without AF and DMR with AF. Our findings are consistent with the view of a degenerative progression from normal, through DMR with annulus dilatation and loss of annulus dynamics, to further dilatation, with loss of annulus dynamics, with AF. The most obvious aspect of lost dynamics is the ratio of height to IC diameter. In terms of staging of disease, the loss of annulus dynamics without AF might be seen as a marker of mid-stage DMR, so although 3D-TEE is invasive, it might be useful for assessing DMR just before surgery. Real-time 3D-TEE allows thorough analysis of MV annular geometry and dynamics, which in turn allows accurate 3D modelling of the annulus, and facilitates understanding of valve structure and malfunction. Echocardiography guides surgeons considering valve repair, indicating appropriate timing of surgery by showing the severity of MR, ventricular and atrial dimensions, and reduces the risk of later need for reoperation by intraoperative assessment of the valve structure and residual mitral regurgitation.

Conclusion

In patients with DMR undergoing MV surgery, preoperative chronic AF is associated with more progressed annular remodeling, characterized by marked enlargement of annular area, circumference, and anteroposterior diameter.

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

echocardiography analysis and statistical methods) was discussed elaborately with Prof Tohru Asai and Dr Kinoshita based on hypothesis. All analysis was performed using SPSS version 22.

【研究の施行】

I participated in topic selection, Mitral Valve quantification analysis (MVQ) using MVQ software (Philips), manuscript writing, submission. Dr Kinoshita (associate professor of Cardiothoracic Surgery at SUMS) helped me and was involved in data analysis and correction of manuscript.

【論文の作成】

The initial draft of manuscript was written by myself and was consulted with my supervisor Prof Toru Asai. Other coauthors Dr Takeshi Kinoshita, Prof Tomoaki Suzuki, Prof Katsuyuki Miura were involved in the design and conceptualization of study. The manuscript was sent to all coauthors for critical review and approval. All coauthors contributed by their scientific reviews for the manuscript. Submission was performed by me with the guidance of Dr Takeshi Kinoshita. All coauthors participated to my thesis paper through their role in data collection, analysis and review.

【共著者が〇名に至った理由】

(※共著者が申請者本人を含めて4名を超えない場合は不要)

There are five coauthors in my PhD thesis. Now a days there is an increasing trend of multi author research papers in the medical and science journal. A relevant research cannot be done without a good team which includes the different specialists if required and an expert statistician. In my PhD thesis all authors contributed greatly through their role to the conception or design of the study, analysis, or interpretation of data and by drafting the work.

論文目録

※整理番号	912	(ふりがな) 氏名	ウンダラル ブヤンデルゲル Undral Buyandelger
PhD Thesis Paper			
Title: Effects of FTMT Expression by Retinal Pigment Epithelial Cells on Features of Angiogenesis (網膜色素上皮細胞によるミトコンドリアフェリチンの発現が血管新生に及ぼす影響)			
Journal: <i>International Journal of Molecular Sciences</i> 21, 3635, (2020)			
Authors: <u>Undral Buyandelger</u> , Douglas G. Walker, Daijiro Yanagisawa, Toshifumi Morimura and Ikuo Tooyama			
Other peer reviewed publications:			
1) Title: Novel fluorinated derivative of curcumin negatively regulates thioredoxin-interacting protein expression in retinal pigment epithelial and macrophage cells (新規フッ素化クルクミン誘導体は網膜色素上皮細胞およびマクロファージ細胞においてチオレドキシン相互作用タンパク質の発現を負に制御する)			
Journal: <i>Biochemical and Biophysical Research Communications, Elsevier</i> 532, 668-674 (2020)			
Authors: <u>Undral Buyandelger</u> , Douglas G. Walker, Hiroyasu Taguchi, Daijiro Yanagisawa and Ikuo Tooyama			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	912	(ふりがな) 氏名	ウンダラル ブヤンデルゲル Undral Buyandelger
学位論文題目	Effects of Mitochondrial Ferritin (FTMT) Expression by Retinal Pigment Epithelial Cells on Features of Angiogenesis (網膜色素上皮細胞によるミトコンドリアフェリチンの発現が血管新生に及ぼす影響)		
[Research Background] Pathological ocular angiogenesis/neovascularization, particularly in the retina and choroid, should be carefully controlled as it may lead to significant visual impairment. Age-related macular degeneration (AMD), a leading cause of vision loss, can result from pathological angiogenesis. As a mutation in the mitochondrial ferritin (FTMT) gene has been associated with AMD, its possible role in modulating angiogenic factors and angiogenesis was investigated. FTMT is an iron-sequestering protein primarily expressed in metabolically active cells and tissues with high oxygen demand, including retina. In a previous study we revealed that age-related increases of FTMT in murine retina. A number of studies have demonstrated that FTMT may have multiple properties, such as protective roles against oxidative stress and hypoxia in neuronal cells. Although expression of FTMT is usually very low to undetectable in most cell types, it is expressed at detectable levels in RPE cells.			
[Aim of this study] To examine the consequences of manipulating FTMT expression in RPE cells on expression of angiogenic factors including vascular endothelial growth factor (VEGF), and effects on angiogenesis.			
[Materials and methods] In this study, we utilized the human retinal pigment epithelial (RPE) cell line ARPE-19 to investigate interactions of FTMT and angiogenesis. First, we compared differentiated and undifferentiated ARPE-19 cells to extend the relevance of this model for FTMT expression. To be able to study the effect of FTMT on RPE cell phenotype, we produced stably transfected FTMT overexpressing cells. The effects of proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β and IFN- γ), FTMT knockdown, and transient and stable overexpression of FTMT were investigated on expression of pro-angiogenic VEGF and anti-angiogenic pigment-derived epithelial factor (PEDF).			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

We were also able to demonstrate in vitro tube formation assay that an altered pattern of secretion of angiogenic factors from FTMT overexpressing cells. We employed the hCMEC/D3 human cerebrovascular endothelial cell line as the indicator cell type in the in vitro angiogenesis tube formation assay and cell proliferation assay. Experiments were carried out with media from FTMT overexpressing and vector transfected cells and were used undiluted (100) or diluted (50:50) with original media.

[Result and discussion]

We demonstrated that proinflammatory cytokines TNF- α , IL-1 β and IFN- γ induced FTMT and VEGF transcription in ARPE-19 cells and VEGF secretion. As increased VEGF promotes angiogenesis in a number of retinal diseases, such as AMD and diabetic retinopathy, it has made VEGF a highly significant therapeutic target. Since both FTMT and VEGF mRNA, and VEGF secretion were significantly upregulated by TNF- α in ARPE-19 cells, we next investigated the association between them by using siRNA to inhibit FTMT gene expression and FTMT overexpression in ARPE-19 cells. FTMT gene silencing increased VEGF secretion compared to the control group. In contrast, the overexpression of FTMT served to reduce VEGF mRNA and protein expression in both TNF- α treated and untreated cells. Our results suggested that FTMT has an inhibitory effect on VEGF secretion in ARPE-19 cells. However, as the overexpression of FTMT did not abolish TNF- α induced increase in VEGF mRNA and protein secretion, this would suggest that the link between FTMT and VEGF could be indirect through multiple signaling mechanisms.

FTMT overexpression increased levels of mRNA for the differentiation marker retinal pigment epithelial-specific 65kDa protein RPE65. This could be related to the antioxidant properties of FTMT, but further studies are needed. Key findings were the inhibition of VEGF expression and increases of PEDF expression in RPE cells overexpressing FTMT. The effects of FTMT were evident in an in vitro angiogenesis assay, that demonstrated that conditioned media from FTMT overexpressing cells significantly inhibited most of the in vitro tube features of angiogenesis in brain endothelial cells. However, based on the current state of knowledge of the multiple features of FTMT, one can hypothesize that its potent antioxidant properties could be modulate gene expression of angiogenic and inflammatory factors in RPE cells, even under normal conditions.

[Summary]

From these findings, it can be concluded that FTMT has an inhibitory effect on VEGF expression and secretion in ARPE-19 cells; alters the phenotypes of overexpressing cells; and alters the secreted angiogenic factors from overexpressing cells, resulting in inhibition of angiogenesis.

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名 : Undral Buyandelger

【着想】 Idea generation

The idea to study the effects of FTMT in choroidal neovascularization was generated by Professor Tooyama and we made further discussion with Professor Walker and developed the idea under the guidance of Professor Tooyama.

【方法論】 Methodology

Methodology specific to my research was suggested by Professor Tooyama and Professor Walker. I received training on how to conduct experiments and project specific methodology at MNRC, SUMS under the supervision of Professor Tooyama, Dr. Yanagisawa. Analysis of data, development of methods and assessment of research progress was carried out by me in conjunction with Professor Tooyama and Professor Walker.

【研究の施行】 Conduct of Research

Professor Tooyama conceived the project rationale, provided resources and funding. Professor Walker provided recourse for angiogenesis tube formation assay and technical instructions on stable transfected cells. Dr. Yanagisawa provided technical support and advice. Dr. Morimura provided technical assistance to the preparation of FTMT expressing plasmid and immunocytochemistry. I carried out all experimental analyses using the techniques described in the original paper and prepared figures.

【論文の作成】 Manuscript writing

I prepared initial manuscript, in which the contents and data were edited by Professor Walker. Afterwards, it was circulated to all co-authors for critical review and approval. I carried out data analysis and figure preparation for all parts of the published manuscript.

【共著者が5名に至った理由】 The reason co-authors exceeded 4
(※共著者が申請者本人を含めて4名を超えない場合は不要)

There are total 5 co-authors in my PhD thesis. All co-authors contributed to data collection, interpretation and critical review of the manuscript.

論文目録

*整理番号	910	(ふりがな) 氏名	(ひろべ ゆう) 弘部 悠
学位論文	<p>Factors influencing the long-term hospitalization of bicyclists and motorcyclists with oral and maxillofacial injuries (自転車・自動二輪車乗員の口腔顎顔面外傷患者における長期入院に影響を及ぼす因子について)</p> <p>Dental Traumatology: accepted in press</p> <p>著者名:弘部悠、越沼伸也、馬場美年子、山本学、一杉正仁</p>		

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

*整理番号	910	(ふりがな) 氏名	(ひろべ ゆう) 弘部 悠
学位論文題目	<p>Factors influencing the long-term hospitalization of bicyclists and motorcyclists with oral and maxillofacial injuries (自転車・自動二輪車乗員の口腔顎顔面外傷患者における長期入院に影響を及ぼす因子について)</p>		
目的:	<p>自転車・自動二輪車乗員における事故は、口腔顎顔面部に受傷する機会が多く臨床で生活の質低下につながる症例がよく見られる。口腔顎顔面部の外傷はしばしば長期的な治療となり得るため、このような外傷を軽減、予防することは、患者の生活の質を改善するため重要である。本研究は自転車・自動二輪車乗員それぞれの口腔顎顔面損傷の傾向から損傷の特徴を比較し、これらの患者の長期入院に寄与する要因を特定し効果的な予防策を提案することを目的とした。</p>		
方法:	<p>本研究は24時間口腔顎顔面損傷患者受け入れ体制のある滋賀県内最大の病院での後ろ向き研究である。2011年から2018年までの診療記録から交通事故にあった歯科口腔外科を受診した自転車・自動二輪車乗員について調査した。年齢・性別の基本データ、顔面受傷部位・全身の受傷・顔面骨折・軟組織の損傷状態・歯牙損傷数・顎間固定および観血的整復固定術(ORIF)の有無・入院日数から口腔顎顔面外傷の特徴を調査した。また損傷の重症度を Abbreviated Injury Scale (AIS)値で顔面部と顔面以外の全身最大値(MAIS)でそれぞれ算出した。これらから損傷の特徴を比較した。年齢・性別・乗り物・歯牙損傷数・顔面骨折本数・顎間固定の有無・顔面 AIS・顔面以外の MAIS 重回帰分析により長期入院に影響する因子について分析した。</p>		
結果:	<p>対象は130人の自転車乗員82人・二輪車乗員48人であり平均年齢は28.0歳(3歳~85歳)であった。顎顔面骨折は13人(25.4%)に認められてそれらの骨折線は41本であった。103人(79.2%)になんらかの歯牙損傷を認め57人(43.8%)に軟組織損傷を認めた。口腔・顎顔面損傷の受傷率と部位は自転車・自動二輪車乗員間で有意差はなかった。顔面部のAIS値の中央値は自転車乗員で1、自動二輪車乗員で2と低い数値となった。自動二輪車乗員は自転車乗員よりも顔面AISと最大AIS(MAIS)の値が有意に高かった(顔面AIS: P = 0.003, MAIS: P = 0.019)。</p>		

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

重回帰分析では、顔面骨折線数と顎間固定の有無は長期入院に影響を与える独立した因子であることがわかった(標準回帰係数: 骨折線数; 6.795、顎間固定; 6.715、 $p < 0.001$)。

考察:

交通事故はしばしば顔面外傷を引き起こすものの、顔面外傷が起因して致命的となり難いため重症度の測定において重く捉えられる事は少ない。AIS は生命に関わる受傷に基づいて評価されるため顔面 AIS 値の中央値は自転車乗員で1、自動二輪車乗員で2と低い数値となった。この傾向は口腔・顎顔面外傷の AIS 値を調査した過去の報告と同様であった。このため交通事故に関与した自転車・自動二輪車の救急対応において AIS 値の高い重症の治療が優先となり得る。ただし、口腔・顎顔面外傷は長期間の顎間固定やリハビリテーションを要し、咬合不全や開口障害、審美障害などの機能障害や精神的・身体的ストレスとなり得る。したがって、AIS 値は低くても生活の質向上のための損傷予防対策が必要である。

顎顔面骨折を有する患者の割合は全体の 25.4%で自転車・自動二輪車乗員間で有意差はなかった。損傷様式としては下顎骨骨折が最も多く、単独または他部位骨折と付随しているといった傾向を認め、両グループ間での顔面損傷メカニズムに大きな違いはなかった。ただし、顔面 AIS は自動二輪車乗員に有意に高く、重複骨折や他部位の骨折も自動二輪車乗員に多い事から衝突速度の違いにより自動二輪車乗員の方が強い力を受ける事がわかった。顔面以外の MAIS が自転車乗員よりも自動二輪車乗員に多い事もこの理論に一致した結果となった。

重回帰分析により顔面の骨折線数と顎間固定の実施が長期入院に影響を与える独立した要因である事がわかった。患者のほとんどが 10 歳から 59 歳で仕事や学校で積極的に活動している年代であり、長期入院により大幅に QOL が減少する。したがって、いかに骨折線を少なくし顎間固定を避けられるかが予防のための課題である。そしてこれらの予防には顔面部への衝撃を減らすためフェイスガードやフルフェイスタイプのヘルメットの使用や下顔面の衝撃をさらに緩衝する様な防護具の開発を進めることを強く提案したい。本研究ではヘルメットの種類と重症度の関係は調査しておらず、今後の課題としたい。

結論:

自転車、自動二輪車乗員間での口腔顎顔面受傷率と受傷の部位は類似していたが、重症度は自動二輪車乗員で有意に高く衝突速度の違いにより強い力を受けることがわかった。自転車、自動二輪車乗員による顎顔面外傷では顎間固定を行う顔面骨折を予防することが長期入院を含めた QOL 減少の予防に寄与できることが考えられた。下顎骨骨折が多いことから下顔面の衝撃を緩衝する防護具の装着や新たな防護具の開発を進めることを提案したい。本研究はそのような顎顔面外傷の予防策の開発に寄与し、最終的には負傷した自転車・自動二輪車乗員の生活の質の改善が期待できるものとなった。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名: 弘部 悠

【着想】

申請者は自転車・自動二輪車乗員による顎顔面の受傷頻度が高く長期入院や摂食障害などの機能障害が多い事に興味を持った。自転車・自動二輪車乗員の外傷関連は文献的な報告が少ない事にも着目し、臨床での診療や患者 QOL 向上に役立つ様な損傷の傾向や特徴を検討した。

【方法論】

滋賀医科大学歯科口腔外科学講座山本学教授、滋賀医科大学歯科口腔外科学講座越沼伸也講師に指導を受け、電子カルテのデータ抽出を行った。統計学的な検討のため滋賀医科大学社会医学講座一杉正仁教授に指導を受け集計を行った。分析について滋賀医科大学社会医学講座馬場美年子客員助教から指導及び、最終的な校閲を受けた。

【研究の施行】

全てのデータの整理を申請者が行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学社会医学講座一杉正仁教授から表現方法や構成、考察の指導を受けながら申請者が論文の執筆、図表の作成を行った。

【共著者が5名に至った理由】

歯科口腔外科学、社会医学、統計学と広範囲かつ専門的であることから滋賀医科大学社会医学講座一杉正仁教授、馬場美年子客員助教、滋賀医科大学歯科口腔外科学講座山本学教授、越沼伸也講師の多大なる助言、指導を頂いたため共著者が5名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	913	(ふりがな) 氏名	(アリハイダーシャイフラ) Ali Haidar Syaifullah
PhD Thesis Paper			
Title: Alcohol Drinking and Brain Morphometry in Apparently Healthy Community-Dwelling Japanese Men (地域一般住民日本人男性における飲酒と脳の形態との関連)			
Journal: Alcohol. Accepted. *Acceptance proof has been attached to the PhD thesis paper			
Authors: Ali Haidar Syaifullah, Akihiko Shiino, Akira Fujiyoshi, Aya Kadota, Keiko Kondo, Takahiro Ito, Hiroyoshi Segawa, Mohammad Moniruzzaman, Takashi Waki, Naoko Miyagawa, Ikuo Tooyama, Hirotsugu Ueshima, Katsuyuki Miura, for the SESSA Research Group			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	913	(ふりがな) 氏名	(アリハイダーシャイフラ) Ali Haidar Syaifullah
学位論文題目	Alcohol Drinking and Brain Morphometry in Apparently Healthy Community-Dwelling Japanese Men 地域一般住民日本人男性における飲酒と脳の形態との関連		
Background and purpose: Alcohol consumption is increasing over the past decade and, in large amount, is well-known to be harmful to various organs, including the brain. However, evidence of subclinical effects on the GM in apparently healthy adults was unclear. Previous studies in apparently healthy individuals showed inconsistent regions of the brain associated with alcohol and direction of association. Furthermore, study on Asian population was scarce. An Asian population-based study with representative sample is essential because East Asians have a high prevalence of allele variant and different drinking culture compared to Westerners. Additionally, traditional voxel-based morphometry (VBM) procedures, the standard method in objective neuroimaging study, used by most previous studies have caveats that can be minimized by the application of up-to-date methodology. In this study, we aimed to clarify the subclinical association between of alcohol drinking and brain structure using voxel-by-voxel and volumetric analysis in a population of randomly sampled, apparently healthy, community-dwelling Japanese men.			
Method and results: We recruited cognitively intact Japanese men, aged 40-79 years, from a population-based cohort in Shiga, Japan. Brain magnetic resonance imaging was performed, on average, 2 years after demographic and medical information were obtained in 2010-2014. We analyzed 639 men using multivariable linear regression to investigate the association between the amount of alcohol consumed and GMV. VBM statistics were analyzed by threshold-free cluster enhancement with a family-wise error rate of <0.05.			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

We demonstrated that the amount of alcohol consumed was associated with lower GMV. VBM analysis showed lower GMV within the parahippocampal, entorhinal, cingulate, insular, temporal, and frontal cortices, and cerebellum in very heavy drinkers (≥ 42 ethanol g/day) compared to non-drinkers.

Discussion:

Volumetric analysis showed an independent association between very heavy drinking (≥ 42 g ethanol/day) and lower GMV as compared to non-drinkers in apparently healthy Japanese men. Voxel-by-voxel analysis showed that the association between alcohol consumption and lower GMV mostly affected the posterior region of the brain and cerebellum, the commonly atrophied regions in alcohol-related neurological diseases.

Conclusions:

These findings suggested the presence of subclinical brain changes and potentially promote a healthier drinking habit in the general population. Additionally, studies on alcohol and brain structure in apparently healthy individuals are scarce, especially in Asian population, therefore findings in Japanese men are essential. However, we did not find any association in light-to-moderate drinkers, in contrast to some previous studies in non-Asian individuals; this discrepancy warrants further investigation.

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名 : Ali Haidar Syaifullah
(アリハイダーシャイフラ)

【着想】

Alcohol consumption is still increasing over the past decade and is well-known to be harmful to the brain. However, evidence of subclinical effects on the GM in apparently healthy adults was unclear. Additionally, study on the Asian population was limited while Asian population have different genetic predisposition and drinking habit compared to the Westerners. Acknowledging this fact, I discussed the topic with my head and co-supervisor, Dr. Akihiko Shiino and Dr. Katsuyuki Miura, and explored the data availability and accessibility for a brain MRI study based of Asian population.

【方法論】

We recruited cognitively intact Japanese men, aged 40–79 years, from a population-based cohort in Shiga called Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis (SESSA). Compared to other brain imaging study, SESSA study had a relatively higher sample size and a standardized measurement for acquiring all variable. The methodology for this study was voxel-by-voxel and volumetric voxel-based morphometry (VBM), the current standard method in objective neuroimaging study. All the analysis was performed by myself using BAAD and SAS 9.4 software, under the supervision of Dr. Akihiko Shiino.

【研究の施行】

In this particular study, under the supervision of my supervisors, I was involved in the conceptualization, formal analysis, data cleaning and visualization, investigation, methodology, results interpretation, manuscript writing, submission and revision. All the co-authors have given their input and throughout the process and approved of the thesis.

【論文の作成】

From the draft until the finished version, the manuscript was written by myself and has been evaluated by my supervisors, Dr. Akihiko Shiino and Dr. Katsuyuki Miura. Other than my supervisors, Prof. Akira Fujiyoshi, Dr. Aya Kadota, Prof. Ikuo Tooyama, and Prof. Hirotsugu Ueshima have been closely involved in the study conceptualization. All co-authors gave critical feedback and approved of the manuscript prior to the submission and revision. Submission process was specifically supervised by Dr. Akihiko Shiino.

【共著者が〇名に至った理由】

(※共著者が申請者本人を含めて4名を超えない場合は不要)

There are 13 co-authors in this PhD thesis. The reason behind the number of co-author is because this thesis analysed the participants of Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis (SESSA), which has involved many researchers and staff to collect and manage all the data. Some of the co-authors included was also directly involved in the data collection and management of SESSA. Nevertheless, all co-author has been involved directly and closely throughout the writing of this thesis.

論文目録

※整理番号	899	氏名 (ふりがな)	中川 恵子 (なかがわ けいこ)
学位論文			
Liver fat accumulation assessed by computed tomography is an independent risk factor for diabetes mellitus in a population-based study : SESSA (Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis)			
(CT で評価した肝臓脂肪蓄積は一般住民研究における糖尿病発症の独立したリスクファクターである : SESSA (滋賀動脈硬化疫学研究))			
掲載誌名	: Diabetes Research and Clinical Practice		
巻・頁・年	: 2020 Feb;160:108002.		
著者名	: 布施恵子、門田文、近藤慶子、森野勝太郎、藤吉朗、久松隆史、門脇紗也佳、宮澤伊都子、卯木智、前川聡、三浦克之、上島弘嗣、SESSA 研究グループ		
参考論文	: なし		

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	899	氏名 (ふりがな)	中川 恵子 (なかがわ けいこ)
学位論文題目	Liver fat accumulation assessed by computed tomography is an independent risk factor for diabetes mellitus in a population-based study : SESSA (Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis) (CT で評価した肝臓脂肪蓄積は一般住民研究における糖尿病発症の独立したリスクファクターである : SESSA (滋賀動脈硬化疫学研究))		
【目的】	脂肪肝の有病率は近年世界的に増加している。脂肪肝と 2 型糖尿病との関連は多数報告されているが、既存研究は横断的な検討が多く、また脂肪肝の有無を腹部エコーや血中肝逸脱酵素で評価したものが主流である。一方、腹部 CT における肝脾 CT 値比(L/S 比)は客観的に肝臓の脂肪蓄積を評価できる画像診断術として認識されているものの、糖尿病発症との関連はほとんど明らかになっていない。また、日本人は欧米人と比較して肥満でない人でも糖尿病や脂肪肝を有しやすい傾向があることから、肥満、非肥満でその関連は同様であるのかを検討することは重要である。本研究では一般住民疫学調査の縦断研究を行い、L/S 比が糖尿病発症と関連するか、また肥満、非肥満において同様の傾向があるかを検討した。		
【方法】	滋賀県草津市在住の一般住民男性を無作為抽出した前向きコホート研究である滋賀動脈硬化疫学研究の参加者を対象とした。追跡開始時に空腹時採血、問診および腹部 CT 検査を実施し、約 5 年後に同様の検査を行い、糖尿病(空腹時血糖 126mg/dL 以上または HbA1c 6.5%以上または糖尿病治療者)発症有無を調査した。 追跡開始時に糖尿病を有する者及び各種変数の欠損者を除いた 640 名(平均年齢 63.5±9.9 歳)を分析対象とした。ロジスティック回帰分析を用いて、追跡開始時の脂肪肝有(L/S 比 1.0 未満)、あるいは L/S 比 1 標準偏差 (SD)低下あたりの糖尿病発症オッズ比(OR)および 95%信頼区間 (CI)を算出した。調整因子は以下の通りとした。 Model①: 年齢、CT の種別 Model②: Model①+糖尿病家族歴、喫煙、飲酒、運動 Model③: Model②+BMI Model④: Model②+腹囲 Model⑤: Model②+腹部皮下脂肪面積 (VAT) さらに、肥満指標(BMI、腹囲、VAT)を用いて肥満群、非肥満群に層別した層別解析を行い、交互作用があるかについても検討した。肥満群は BMI≥25kg/m ² または腹囲≥85cm または VAT≥100cm ² とし、非肥満群を上記に該当しない者と定義した。		

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

【結果】

対象者 640 名の平均 L/S 比は 1.12 ± 0.18 で、脂肪肝有(L/S 比 1.0 未満)は 121 名(18.9%)だった。脂肪肝有では脂肪肝無と比較し、肥満指標(BMI、腹囲、VAT)、空腹時血糖、HbA1c 値、中性脂肪、肝酵素、炎症マーカー、インスリン抵抗性指標(HOMA-IR)が高く、年齢、HDL コレステロール、インスリン分泌指標(HOMA- β)が低かった。 4.93 ± 1.35 年の追跡期間中、36 名(5.6%)が糖尿病を発症した。

脂肪肝有における糖尿病発症オッズ比(OR [95% CI])は、Model②で 2.78 [1.30-5.95]と、脂肪肝は有意に糖尿病の発症と関連していた。Model③、④、⑤で肥満指標(BMI、腹囲、VAT)を調整に加えると OR はやや低下したものの、依然有意な関連が認められた(Model⑤で 2.27 [1.00-5.14])。

L/S 比 1SD(0.18)低下あたりの糖尿病発症オッズ比は、Model②で 1.67 [1.24-2.25]、Model⑤で 1.57 [1.14-2.16]と、いずれの肥満指標を加えても有意な関連が認められた。

肥満指標(BMI、腹囲、VAT)を用いて肥満群、非肥満群に層別して行った解析では、両群間に統計的な交互作用は認められなかった。糖尿病発症オッズ比は肥満群では非肥満群よりやや大きいものの両群で 1 以上であり、L/S 比と糖尿病発症の関連は両群とも同じ傾向にあった。L/S 比 1SD(0.18)低下あたりの糖尿病発症オッズ比について、特に腹囲 $\geq 85\text{cm}$ (1.50 [1.04-2.16])と VAT $\geq 100\text{cm}^2$ (1.57 [1.11-2.21])の群では統計的な有意性が認められた。

【考察】

本研究は、客観的画像指標かつ連続量である L/S 比と糖尿病発症の関係を日本人一般住民で評価した初めての縦断研究である。L/S 比が低いほど将来の糖尿病発症と大きく関連すること、肥満、非肥満の双方で同様の傾向があることが明らかになった。

多くの既存研究では非飲酒者を対象としているが、本研究では飲酒者も対象としており、飲酒による脂肪肝も糖尿病の発症に関わるかを含めて評価している。肝臓への異所性脂肪蓄積はインスリン作用の低下による高血糖、肝臓への脂肪酸流入、各種炎症性物質の惹起等からインスリン抵抗性が増強し、糖尿病発症につながる可能性が報告されている。また、アジア人で多く認められる PNPLA3 の遺伝子変異が肝臓脂肪蓄積を惹起することや、2 型糖尿病発症に関わることから、日本人は遺伝的に非肥満でも脂肪肝および糖尿病を発症しやすい可能性考えられ、今回の結果が得られたと考えられる。

【結論】

一般住民を対象とした観察研究において、L/S 比は約 5 年の追跡期間における糖尿病発症リスクと関連し、この関連は肥満の有無にかかわらず同様であった。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 中川 恵子

【着想】

肝臓への異所性脂肪蓄積は糖尿病と関連することが横断研究にて報告されているが、縦断的に糖尿病発症との関連を検討した報告は少ない。またその多くは、超音波検査法を用いて肝臓脂肪蓄積の有無を評価している。一方 CT は半定量的に肝臓脂肪蓄積を評価する事ができる。そこで申請者は、「CT で評価した肝臓脂肪蓄積と糖尿病発症の関連」の研究に興味を持ち、滋賀県草津市在住の一般成人男性を対象とした SESSA において肝臓 CT 値比 (L/S 比) と新規糖尿病発症の関連を検討する、という着想を得た。

【方法論】

SESSA で得られたデータを用い、ベースライン調査における L/S 比および追跡調査における糖尿病発症の関連について、ロジスティック回帰分析と肥満指標での層別解析を行った。

【研究の施行】

滋賀医科大学社会医学講座公衆衛生学部門は、内科学講座、脳神経外科学講座、放射線医学講座等、学内共同で SESSA を実施している。申請者は、SESSA 女性の調査実務、心電図分析業務等に携わった。そして、公衆衛生学部門 門田文准教授、近藤慶子助教、糖尿病内分泌内科 前川聡教授、森野勝太郎学内講師らの指導の下、全てのデータ解析を申請者が行った。

【論文の作成】

公衆衛生学部門 門田文准教授、近藤慶子助教、糖尿病内分泌内科 前川聡教授、森野勝太郎学内講師から、表現方法及び考察の助言を受けながら、申請者が論文の執筆および図表の作成を行った。論文は全ての共著者の校閲、助言を受けた。

【共著者が 12 名に至った理由】

SESSA は平成 18 年から滋賀医科大学社会医学講座公衆衛生学部門が行っている疫学研究であり、その調査内容は多岐に渡り、様々な領域・部門の専門家が関与する国内では類を見ない研究である。本研究では特に滋賀医科大学社会医学講座公衆衛生学部門 門田文准教授、近藤慶子助教、糖尿病内分泌内科 森野勝太郎学内

講師、和歌山県立医科大学衛生学講座 藤吉朗教授、岡山大学医歯薬学総合研究科 久松隆史准教授、滋賀医科大学社会医学講座公衆衛生学部門 門脇紗也佳客員助教、糖尿病内分泌内科 宮澤伊都子病院助教、卯木智講師、前川聡教授、滋賀医科大学社会医学講座公衆衛生学部門 三浦克之教授、上島弘嗣名誉教授 に多大なる指導・助言をいただいたため、共著者が12名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	902	(ふりがな) 氏名	もりた やすひろ 森田 康大
学位論文	Clinical relevance of innovative immunoassays for serum ustekinumab and anti-ustekinumab antibody levels in Crohn's disease (クローン病患者における血清ウステキヌマブ濃度、抗ウステキヌマブ抗体濃度の革新的なイムノアッセイ法の臨床的関連性)		
	Journal of Gastroenterology and Hepatology, July 2020, Volume 35, Issue 7, pp1163-1170 Yasuhiro Morita, Takayuki Imai, Shigeki Bamba, Kenichiro Takahashi, Osamu Inatomi, Takako Miyazaki, Kenji Watanabe, Shiro Nakamura, Atsushi Yoshida, Yutaka Endo, Naoki Ohmiya, Tomoyuki Tsujikawa, Akira Andoh		
参考論文	Prototype single-balloon enteroscopy with passive bending and high force transmission improves depth of insertion in the small intestine (受動湾曲装置と高力伝達装置を備えたプロトタイプのシングルバルーン小腸内視鏡は、小腸への深部挿入を向上させる)		
	Intestinal Research, April 2020, Volume 18, Issue 2, pp229-237 Yasuhiro Morita, Shigeki Bamba, Osamu Inatomi, Kenichiro Takahashi, Takayuki Imai, Masaki Murata, Masashi Ohno, Masaya Sasaki, Tomoyuki Tsujikawa, Akira Andoh		

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	902	(ふりがな) 氏名	もりた やすひろ 森田 康大
学位論文題目	Clinical relevance of innovative immunoassays for serum ustekinumab and anti-ustekinumab antibody levels in Crohn's disease (クローン病患者における血清ウステキヌマブ濃度、抗ウステキヌマブ抗体濃度の革新的なイムノアッセイ法の臨床的関連性)		
	【研究の目的】潰瘍性大腸炎やクローン病を代表とする炎症性腸疾患(以下IBD)は原因不明の慢性再燃性消化管炎症疾患である。抗TNF抗体製剤をはじめ、近年様々な機序の生物学的製剤が登場してきている。ウステキヌマブは、ヒトIL-12/IL-23の共通サブユニットであるp40に対するヒトモノクローナル抗体(抗p40抗体)製剤である。私たちは血清ウステキヌマブ濃度および抗ウステキヌマブ抗体(以下AUA)濃度測定について、新規の測定法を考案した。その新規測定法の臨床的有用性を評価することを目的に検討を行った。		
	【方法】日本国内の5つの学術病院において、ウステキヌマブ維持投与中のクローン病患者38人を対象とした。血清ウステキヌマブ濃度は、非特異的なたんぱく質結合を最小限に抑えるために、アビジンELISAプレートを使用し測定した。また、AUA濃度は、患者血清中に存在するウステキヌマブとAUAの免疫複合体を0.1Mグリシン-HCLバッファーを用いて分離した後、プロテインGビーズを用いてIgGを単離したものを、ELISAプレート上に固相化し、HRP標識ウステキヌマブで検出し測定した。		
	それら患者の血清ウステキヌマブトラフ濃度、AUA濃度と、CRP、赤沈、血清アルブミン等の各種臨床パラメーターとの相関を検討した。		
	【結果】非特異的IgG結合が防止できていることを確認する目的に、健常者血清でウステキヌマブを希釈し、濃度が既知のウステキヌマブ(0,1,2,3,5μg/mL)を調整したウステキヌマブの濃度を新規測定法で測定し、測定結果が一致することを確認した。患者の平均血清ウステキヌマブトラフ濃度は2.54±2.1μg/mLであった。また38人の患者のうち3人(7.9%)がAUA陽性であった。AUA陽性患者から単離されたIgGが、ニトロセルロース膜に固定したウステキヌマブと反応することをウェスタンブロット法を用いて確認した。血清ウステキヌマブトラフ濃度とAUA濃度の間に関連は認めなかった。またROC解析によりCRP正常(≤0.3mg/dL)のウステキヌマブトラフ濃度のカットオフ値が1.67μg/mLであることが示された。ウステキヌマブのトラフ濃度は、CRP、赤沈、クローン病活動度指数(以下CDAI)と負の相関、血清アルブミンと正の相関を認めた。過去に生物学的製剤を使用していない患者群の方が、過去に生物学的製剤を使用した患者群よりも血清ウステキヌマブトラフ濃度は有意に高かった。一方でAUA濃度は両群に差は認めなかった。		

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

【考察】血清ウステキヌマブ濃度および AUA 濃度の新規測定法の日常臨床での有用性について検討を行った。新規測定法は安価であり、放射性同位元素や抗ウステキヌマブイディオタイプ抗体などの特別な材料を必要としない。またヒト IgG 抗体製剤であるウステキヌマブは、非特異的結合を容易に生じるが、特殊 ELISA プレートを使用し、血清 IgG の非特異的結合を完全に防止した。この点が本測定法の最も重要な工程である。

従来の抗薬物抗体の測定方法は、抗薬物抗体検出のために、捕捉抗体と検出抗体の両方にその薬物が使用される方法であった。しかし、この従来の方法では、患者の血清中の薬物が、抗薬物抗体と免疫複合体を形成し、酵素標識薬物による検出が阻害されていた。一方、新規の測定方法においては、酸緩衝液を使用することで、ウステキヌマブ-AUA 免疫複合体の形成を阻害し、HRP を標識したウステキヌマブで AUA をより正確に検出することが可能となった。

本研究と同様の測定方法を用いて、他の生物学的製剤であるインフリキシマブ、アダリムマブの抗薬物抗体の陽性率が、それぞれ 27.6% と 35% であることを過去に報告した。このことから、インフリキシマブやアダリムマブと比較して、ウステキヌマブの免疫原性は低いことが示された。

これまでの検討で、他の生物学的製剤であるインフリキシマブとアダリムマブにおいては、血清中の薬物濃度と抗薬物抗体濃度の間に負の有意な相関があることが示されている。しかし、本研究においては血清ウステキヌマブトラフ濃度と AUA に関連は認められなかった。これはウステキヌマブの免疫原性が低いためと考えられる。

生物学的製剤の使用歴がある患者よりも、生物学的製剤使用歴のない患者でウステキヌマブは効果的であり、その血清ウステキヌマブトラフ濃度も高いということが、世界的な臨床試験で報告されている。生物学的製剤の使用歴がある患者においては、抗薬物抗体が産生されやすくなり、血清トラフ濃度が低くなることを我々は過去に報告した。本研究では、他の報告と同様に、過去に生物学的製剤を使用している患者においては、生物学的製剤を使用していない患者よりも、血清ウステキヌマブトラフ濃度は高い結果であった。しかし生物学的製剤を使用した患者では AUA レベルの上昇は認めなかった。

【結論】血清ウステキヌマブトラフ濃度および AUA 濃度測定の新規測定法を作成した。またウステキヌマブの免疫原性は、インフリキシマブやアダリムマブなどの TNF α 抗体製剤と比較して非常に低く、ウステキヌマブに対する反応性喪失の発生率は低いことが示された。この新規測定法により、ウステキヌマブ投与中のクローン病患者の薬物治療モニタリングへの新しい洞察を提供することができた。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 森田 康大

【着想】

申請者は炎症性腸疾患患者の生物学的製剤に興味を持ち、その中でもウステキヌマブの血中濃度測定方法とその臨床の有用性に着目した。相互的な関係性を明らかにする目的にウステキヌマブ投与患者血清を採取し、血清ウステキヌマブトラフ濃度を ELISA 法で測定し、その臨床の有用性を検討した。

【方法論】

滋賀医科大学内科学講座(消化器・血液内科) 稲富准教授、馬場講師、兵庫医科大学炎症性腸疾患内科 中村教授、渡辺准教授、宮崎助教、大船中央病院消化器・IBD センター 遠藤センター長、吉田部長、藤田医科大学消化器内科大宮教授、東近江総合医療センター辻川副院長に患者の血清の検体採取に協力を頂いた。

患者血清中ウステキヌマブ血中濃度は滋賀医科大学内科学講座(消化器・血液内科)高橋助教、今井助教にご指導いただき測定を行った。

【研究の施行】

データの整理、解析を申請者が行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学内科学講座(消化器・血液内科)安藤教授から表現方法及び考察の助言を受けながら、申請者が論文の執筆及び図表の作成を行った。論文は、安藤教授の校閲を受けた。

【共著者が 13 名に至った理由】

研究・解析が専門的であること、滋賀医科大学内科学講座(消化器・血液内科)安藤教授、稲富准教授、河原講師、馬場講師、高橋助教、今井助教、兵庫医科大学炎症性腸疾患内科 中村教授、渡辺准教授、宮崎助教、大船中央病院消化器・IBD センター 遠藤センター長、吉田部長、藤田医科大学消化器内科大宮教授、東近江総合医療センター辻川副院長に多大なる指導、助言、協力を頂いたため、共著者が 13 名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	903	(ふりがな) 氏名	降矢温一
学位論文 Result of Coronary Artery Bypass Grafting in Non-dialysis Patients with Renal Dysfunction (非透析腎機能障害患者のCABG成績) Journal of Coronary Artery Disease Vol.26 No3 48-56 令和2年9月発行 著者名：降矢温一、東上震一、畔柳智司、薦岡成年、小島三郎、松浦誠、春日健介、竹本哲志、平松範彦			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	903	(ふりがな) 氏名	降矢温一
学位論文題目	Result of Coronary Artery Bypass Grafting in Non-dialysis Patients with Renal Dysfunction (非透析腎機能障害患者のCABG成績)		
<p>【目的】術前腎機能障害は心臓手術の重要なリスク要因である。特に透析患者の成績は著しく不良であることは周知の事実であるが、慢性腎臓病(CKD: chronic kidney disease)を有する非透析患者に焦点を当てた報告は少ない。当施設における腎機能障害を有する非透析患者に対する冠動脈バイパス術(CABG: coronary artery bypass grafting)の成績を検証した。【方法】2007年1月から2018年12月までの間に行った単独CABG1482例を対象とした。CKD grade Stage 3aから5の544例を、腎機能障害を有する非透析患者群(C群)とし、Stage 1と2の785例を腎機能正常群(N群)、透析群153例(H群)と分類し比較した。そして傾向スコアマッチングを行い、C群とN群間で525例ずつ計1050例を、C群とH群間で132例ずつ計264例をそれぞれ傾向スコアマッチングさせて比較した。また、CKD stage 分類ごとにStage 1 or 2、Stage 3a、Stage 3b、Stage4、Stage5に分類し成績を比較した。エンドポイントは早期成績として術後30日以内の死亡、在院死、遠隔期成績として全死亡、心臓関連死、主要心脳血管イベント(MACCE: Major Adverse Cardiac Cerebrovascular Events)発生とした。MACCEは総死亡、心筋梗塞、再血行再建と入院加療を要する致死性不整脈、脳梗塞及び脳出血と定義した。【結果】全患者において、平均年齢は68.9±9.5歳であった。平均追跡期間は48.8±41.4ヶ月、C群は45.5±40.9ヶ月、N群は54.3±42.7ヶ月、H群は31.8±28.5ヶ月であった。群間比較については、N群との比較ではC群は平均年齢が高く、女性、80歳以上、糖尿病、低左心機能(LVEF<0.35)、下肢閉塞性動脈硬化症(ASO: atherosclerosis obliterans)、頸動脈狭窄、脳血管障害既往の割合が多かった。またC群は平均術前LVEFが低かった。マッチング後では、C群は平均年齢が高く、80歳以上、低左心機能(LVEF<0.35)、頸動脈狭窄の割合が多かった。またC群は平均術前LVEFが低かった。H群との比較ではC群は平均年齢が高く、80歳以上、三枝病変、急性心筋梗塞既往、脂質異常症の割合、術前IABP挿入例の割合が多かった。またC群は平均術前LVEFが高かった。C群は糖尿病、ASOの割合が少なかった。マッチング後では、C群は急性心筋梗塞既往の割合が多かった。またC群は平均術前LVEFが高かった。C群は三枝病変の割合が少なかった。</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
 2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

早期成績として、30日以内死亡率は各群間に有意差は無かった(C群1.5%、N群0.5% $p=0.081$ 、H群3.9% $p=0.094$)。在院死亡率は、C群はN群より悪くH群と同等であった(C群3.9%、N群1.1% $p=0.002$ 、H群7.2% $p=0.122$)。マッチング後でも30日死亡に有意差は認めなかった(C群1.3% vs N群0.6% $p=0.341$ 、C群0.8% vs H群4.5% $p=0.120$)。在院死亡は、C群はN群より有意に多くH群より少なかった(C群3.6% vs N群1.1% $p=0.014$ 、C群1.5% vs H群8.2% $p=0.019$)。C群のロジスティック回帰解析による30日以内死亡リスク解析では、eGFRと年齢が該当した。遠隔期成績として、C群と他群との比較では、生存率はN群との比較では有意に不良であった($p<0.001$)。H群との比較では有意に良好であった($p<0.001$)。心臓関連死回避率はN群との比較では有意に不良であった($p=0.011$)。H群との比較では有意差を認めなかった($p=0.260$)。MACCE回避率はN群との比較では有意に不良であった($p<0.001$)。H群との比較では有意に良好であった($p<0.001$)。マッチング後の結果では、生存率はN群との比較では有意に不良であった($p<0.001$)。H群との比較では有意に良好であった($p=0.001$)。心臓関連死回避率はN群との比較では有意差を認めなかった($p=0.058$)。H群との比較でも有意差を認めなかった($p=0.189$)。MACCE回避率はN群との比較では有意に不良であった($p<0.001$)。H群との比較では有意に良好であった($p<0.001$)。CKD Stageごとの生存率比較では良好な順からStage 1 and 2(N群)、Stage 3a、Stage 3b、Stage 4/Stage 5/透析で有意差を認めた。Stage 4とStage 5と透析群の遠隔期生存率は同等であった。またC群のCOX比例ハザード分析による遠隔期死亡リスクは、慢性閉塞性肺疾患(COPD: Chronic Obstructive Pulmonary Disease)、eGFR、ASO、年齢、術前LVEFが該当した。遠隔期MACCEリスクは、頸動脈狭窄、COPD、eGFR、ASO、年齢、術前LVEFが該当した。【考察】eGFRに基づく重症度分類を用いた過去の報告では、eGFRがCABG手術の強い予測因子であることが示されており、eGFR60ml/min/1.73m²未満からStage3a、Stage3b、Stage4とCKDの重症度の順を追って生存率が低下するという結果は予想通りであった。さらにStage4・Stage5と透析患者の成績に有意差を認めなかった点は過去の報告にはない特筆すべき結果であった。CKD Stage4・Stage5では透析患者と同等のリスクマネジメントを要求されることは示唆された。また遠隔期死亡の独立危険因子はほとんどが加齢と共に増加、増悪していくものである。予後を改善させるリスクマネジメントとして手術介入を遅らせない必要性がうかがわれる。【結論】当施設での腎機能障害を有する非透析患者の単独CABGでは、手術死亡は腎機能正常例、透析群と同等であった。在院死は透析群より良好であった。長期成績では腎機能正常群より不良であり、透析群より良好であった。しかしその中でもStage 4とStage 5の遠隔期生存率は透析群に匹敵する不良な成績である可能性がある。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 降矢温一

【着想】

申請者は「冠動脈バイパス術の予後因子」の研究について興味をもち、数多く報告されている冠動脈バイパス術予後因子の中で腎機能障害に着目し、特に報告の少ない非透析患者における腎機能障害について検討した。

【方法論】

滋賀医科大学外科学講座関連施設である岸和田徳洲会病院の冠動脈バイパス術症例をデータとした。冠動脈バイパス術における考察は滋賀医科大学外科学講座心臓血管外科鈴木友彰教授の指導を受けた。

【研究の施行】

すべての研究手技及びデータの整理を、申請者が行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学外科学講座心臓血管外科鈴木友彰教授の助言を受けながら、申請者が論文の執筆及び図表の作成を行った。論文は、滋賀医科大学鈴木友彰教授の校閲を受けた。

【共著者が9名に至った理由】

臨床研究症例材料が広範囲かつ専門的であること。また各症例の担当医などから情報収集及び助言を頂いたため、共著者が9名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	901	(ふりがな) 氏名	モトモト 秀 榎本 匡秀
学位論文 Outcomes of surgical treatment for active infective endocarditis of mitral valve compared using complexity scoring (僧帽弁位の活動期感染性心内膜炎に対する外科治療成績の複雑性スコアを用いた比較) General Thoracic and Cardiovascular Surgery doi: 10.1007/s11748-020-01456-6. Published online: 04 August 2020 Authors: Masahide Enomoto, Tomoaki Suzuki, Takeshi Kinoshita, Noriyuki Takashima, Naoshi Minamitate, Junhun Lee, Hodaka Wakisaka, Tohru Asai			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	901	(ふりがな) 氏名	モトモト 秀 榎本 匡秀
学位論文題目	Outcomes of surgical treatment for active infective endocarditis of mitral valve compared using complexity scoring (僧帽弁位の活動期感染性心内膜炎に対する外科治療成績の複雑性スコアを用いた比較)		
【目的】	感染性心内膜炎は致命的な疾患であり、治療適応に関してはガイドラインで明確に示されている。治療方針に関しては様々な論文で議論され、長期生存において外科治療が非外科治療より優れ、さらに、早期の外科治療介入が望ましいとの報告がある。加えて、僧帽弁位の感染性心内膜炎に対する外科治療は、死亡率と再発率の観点から弁置換より弁形成が優れていたとの報告もある。以上を踏まえ、当科では僧帽弁位の活動期感染性心内膜炎の症例に対しては、早期の弁形成を可能な限り選択してきた。ただし、弁形成の難易度は、病変の量や場所といった僧帽弁の損傷の程度によって左右される。今回我々は、複雑性スコアを作成して感染性心内膜炎による僧帽弁の損傷の程度の定量化を試みた。そして損傷の程度により症例を群別して治療成績を比較することで、当科での僧帽弁位の活動期感染性心内膜炎に対する治療戦略の妥当性を検証した。		
【方法】	2002年9月から2016年11月にかけて僧帽弁位の活動期感染性心内膜炎に対して手術を行った連続51症例を後ろ向きに調査した。複雑性スコアは次のように算出した。疣贅が付着もしくは弁が破壊された範囲として、後尖1区画で1点、前尖1区画もしくは交連部で2点、左室や左房は2点、弁輪部や過去の僧帽弁手術部位は3点とし、症例ごとに合計した。複雑性スコアが1点もしくは2点の症例をSimple群、合計3点以上の症例をComplex群とし、成績を比較した。主要な評価項目は、院内死亡、5年生存、僧帽弁逆流の再発、感染性心内膜炎の再燃と定義した。		
【結果】	該当した51症例の全てで複雑性スコアを算出した結果、19症例がSimple群、32症例がComplex群に分類された。術前の患者背景は、心不全の重症度を示すNYHA分類が3以上である割合がComplex群で有意に高かった(Simple群: 32%, Complex群: 63%, $P < 0.05$)。Simple群では14症例(74%)、Complex群では25症例(78%)で血液培養が陽性となったが、原因菌の比率に有意差は無かった。		
	短期成績について調査すると、僧帽弁形成はSimple群の18症例(95%)、Complex群の26症例(81%)で達成していた。残りのSimple群の1例とComplex群の6例に対しては弁置換を行っていた。弁形成を達成するための弁の修復技術として、疣贅が付着し破壊された弁の部分切除と縫合、		

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

自己担当部分についての報告書

別紙様式3の2 (課程博士・論文博士共用)

(続紙)

自己心膜を用いたパッチ形成、弁穿孔部位の直接縫合、人工腱索を用いた腱索再建、僧帽弁輪形成が主に用いられていた。術中の心停止時間及び人工心肺時間、ICU 滞在時間を比較すると、いずれも2群間で有意差は無かった。院内死亡や主要脳心血管イベントは Simple 群では無く、Complex 群では院内死亡が2症例(6%)、主要脳心血管イベントは4症例(13%)あった。

中期成績を確認するための退院後の追跡は48症例(94%)で実施され、平均追跡期間は1461日だった。遠隔期死亡はComplex群で6症例あり、そのうち3症例は心血管関連死亡だった。5年生存率を2群間で比較すると、有意差が見られた(Simple群:100%, Complex群:79.6%, $P<0.05$)。5年間の僧帽弁逆流の再発の回避率において有意差は無く(Simple群:77.8%, Complex群:91.5%, $P=0.63$)、5年間の感染性心内膜炎再燃の回避率においても有意差は無かった(Simple群:93.3%, Complex群:92.2%, $P=0.76$)。

【考察】

当科では僧帽弁位の活動期感染性心内膜炎に対して、早期に外科治療を行い、可能な限り弁置換ではなく弁形成を選択する治療戦略を支持してきた。今回の調査では、複雑性スコアを定義し、感染性心内膜炎による僧帽弁の破壊の程度を症例ごとに点数化することで、限局し単純な病変の Simple 群と広範囲で複雑な病変の Complex 群に群別し、治療成績を比較検討した。

複雑性スコアを定義する際、Anelechi Anyanwu らによって提唱された変性病変による僧帽弁閉鎖不全症の複雑さの点数化(Anelechi CA et al. A complexity scoring system for degenerative mitral valve repair. J Thorac Cardiovasc Surg. 2016; 151: 1661-700.)を参考にした。彼らの点数化は、僧帽弁の構造に着目しており、病変が及ぶと形成が困難になる前尖や弁輪部の点数を高くするなどして治療の困難さを反映するものになっていた。変性病変と感染性心内膜炎病変は、疾患の違いはあるが、病変の部位や広がりによって弁形成の困難さが左右されることは変わりないと判断し、参考に至った。

僧帽弁位の活動期感染性心内膜炎に対する弁形成の実現可能性については複数の報告があり、15.9~82.7%と幅がある。今回の調査で、治療の難易度が上がる Complex 群でも同等の弁形成率が得られていることが分かった。

術後5年における僧帽弁逆流の再発や感染性心内膜炎再燃の回避率は共に有意差は無かったが、術後5年の生存率は有意差をもって Complex 群で低かった。当科の僧帽弁位の活動期感染性心内膜炎に対する外科治療は、病変の複雑さに関わらず一定の治療成績を残せていることが分かったが、検討の余地がある。生存率の差を生んだ原因について焦点をあてて研究を重ねることで、今回作成した複雑性スコアが予後予測因子の一つになる可能性があると考えている。

【結論】

当科の僧帽弁位の活動期感染性心内膜炎の症例に対する外科治療は、僧帽弁逆流の再発や感染性心内膜炎の再燃において、病変の複雑さに関わらず一定の治療成績を得ていた。

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 榎本 匡秀

【着想】

申請者は「感染性心内膜炎」の研究について興味を持ち、特に治療戦略について議論が多くなされている僧帽弁に着目した。今回、感染性心内膜炎による僧帽弁の破壊の程度を、新たに定義した複雑性スコアで点数化することで、病変の複雑さに関わらず一定の治療成績が得られているか比較検討した。

【方法論】

滋賀医科大学外科学講座心臓血管外科鈴木友彰教授及び浅井徹客員教授により執刀され治療を受けた僧帽弁位の活動期感染性心内膜炎の患者の診療経過は、滋賀医科大学外科学講座心臓血管外科木下武講師、高島範之助教、森本政憲(Junghun Lee)助教、南館直志助教、脇坂穂高医員によりデータ化された。手術所見や手術方法の確認は、鈴木友彰教授及び浅井徹客員教授の指導を受けた。

【研究の施行】

データ化された患者の診療経過の全ての確認と整理を、申請者が行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学外科学講座心臓血管外科鈴木友彰教授及び木下武講師から表現方法及び考察の助言を受けながら、申請者が論文の執筆及び図表の作成を行った。論文は、鈴木友彰教授の校閲を受けた。

【共著者が8名に至った理由】

2002年から2016年の14年間にわたる治療成績をまとめた論文であったことから、滋賀医科大学外科学講座心臓血管外科鈴木友彰教授、木下武講師、高島範之助教、森本政憲(Junghun Lee)助教、南館直志助教、脇坂穂高医員、浅井徹客員教授の多大なる指導、助言を頂いたため、共著者が8名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	905	(ふりがな) 氏名	むらかみ しょうこ 村上 翔子
学位論文	Similarities and differences in metabolites of tongue cancer cells among in 2D culture, in 3D culture and xenografts		
	(2D 培養、3D 培養、異種移植片における舌がん細胞代謝物の類似点と相違点)		
	Cancer Science in press		
著者名	Shoko Murakami, Hiroyuki Tanaka, Takahisa Nakayama, Naoko Taniura, Toru Miyake, Masaji Tani, Ryoji Kushima, Gaku Yamamoto, Hiroyuki Sugihara, Ken-ichi Mukaisho		
参考論文	Application of "tissueoid cell culture system" using a silicate fiber scaffold for cancer research		
	(シリカファイバーの足場を用いた"tissueoid cell culture system"のがん研究への応用)		
	Pathobiology 2020;87(5):291-301.		
著者名	Shoko Murakami, Ken-ichi Mukaisho, Takuya Iwasa, Masaaki Kawabe, Saori Yoshida, Naoko Taniura, Takahisa Nakayama, Masaharu Noi, Gaku Yamamoto, Hiroyuki Sugihara		

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	905	(ふりがな) 氏名	むらかみ しょうこ 村上 翔子
学位論文題目	Similarities and differences in metabolites of tongue cancer cells among in 2D culture, in 3D culture and xenografts (2D 培養、3D 培養、異種移植片における舌がん細胞代謝物の類似点と相違点)		
【目的】	従来からの 2D 培養では、細胞は生体とは違った構造や機能を示すことが報告されてきた。一方、3D 培養は、経済面や倫理面から動物実験の代替となりうると期待されており、最近では、スフェロイドやコラーゲンなどの細胞外基質を用いた 3D 培養系、がんオルガノイド系などが報告されている。本研究では、足場として Cellbed™(Japan Vilene Co., Tokyo) を使った新たな 3D 培養系"tissueoid cell culture system"を用いた。Cellbed は超微細シリカファイバーでできた線維集合体であり、その格子状構造は、生体の疎性結合組織の組織骨格に類似している。この空隙を通して、細胞は自由に移動できるため、生体に近い立体構造を呈する。細胞外基質を使用せず、純粋ながん細胞のみを取り扱うために、純粋ながん細胞から代謝物を抽出し、解析に使用することができる。本研究では、4 種類の舌癌細胞株を用いて、従来からの 2D 培養群(以下、2D)、tissueoid cell culture system を用いた 3D 培養群(以下、3D)、舌癌細胞をヌードマウスに異種移植した xenograft 群 (以下、xenograft) の 3 群を作成し、網羅的な代謝解析を行った。生体組織に近い xenograft を基準とし、3 群の代謝物の類似点と相違点を比較検討した。さらに、がん細胞の増殖、腫瘍生長に必要な不可欠なミトコンドリア代謝に注目し、ミトコンドリア機能解析を行った。		
【方法】	細胞株は、舌扁平上皮癌 (HSC-3, HSC-4, SCC-4, SCC-15) を用いた。動物実験は本学動物実験委員会の承認を得て行った (2019-4-1)。3 群で最終細胞数が等しくなるよう調整し、代謝解析を Human Metabolome Technologies, Inc. に委託した。HE 染色、ウェスタンブロット解析は、過去の報告 (参考論文) に準じて行った。細胞外フラックス解析は、2D と 3D で最終細胞濃度が等しくなるよう調整し、XF24° 細胞外 Flux analyzer(Seahorse Bioscience, North Billerica, MA)を用いて行った。統計解析は、代謝解析のみ Welch の t 検定を用い (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)、それ以外は student's t-test を用いた (*p<0.05, **p<0.01)。		
【結果】	以下に主な結果を示す。 ・HE 染色：2D ではすべての細胞株で単層構造が認められた。3D では高分化型の細胞株		

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

別紙様式3の2 (課程博士・論文博士共用)

自己担当部分についての報告書

(続紙)

(HSC-4, SCC-15)で扁平上皮癌に特徴的な層構造や異常角化が確認できた。xenograft ではすべての細胞株でシート様構造が認められ、高分化型(HSC-4, SCC-4, SCC-15)では低分化型(HSC-3)より大きな腫瘍胞巣が確認できた。

・代謝解析：主成分解析では、2D では3D, xenograft と異なり、ほとんどのプロットが狭い範囲に集まっていた。クラスタリング解析では、2D は3D, xenograft と比較しほとんどの代謝物のピーク値が著しく低かった。3D と xenograft では高いピーク値が類似している代謝物が多かった。3群のうち xenograft のみ低いピーク値を示したものは解糖中間体が多く、xenograft のみ高いピーク値を示したものは肝臓での代謝物である尿素やコリン代謝物、プリン代謝物が多かった。

・解糖系：乳酸量は2D では低値であったが、3D では高値であり、xenograft に近い値を示した。細胞外フラックス解析では2D と比較し、3Dの方がより高い解糖能を示した。

・ミトコンドリア代謝：ATP, ADP, AMP, 総アデニレート量は、2D ではすべて有意に低値であったが、3D と xenograft では高値であった。ウェスタンプロット解析にて、呼吸鎖関連酵素の発現は2D では低く、3D と xenograft では高発現を示した。細胞外フラックス解析にて、進行癌の細胞株(HSC-3, HSC-4)ではOCR(酸素消費速度)は2D より3Dの方が高値であった。全ての細胞株で3Dでは予備呼吸能が低下していた。

・Biomassの生合成：20種類のアミノ酸産生量やプリンヌクレオチド産生量は、2Dでは低値であったが、3Dとxenograftではともに高値を示した。

・酸化還元バランスの維持：PPPの過程で主に産生され強い還元作用を持つNADPHは細胞を酸化ストレスから保護する役割がある。NADPH/NADP⁺比は3Dではxenograftと同様に低値であり、NADPHが活性酸素除去のために消費されていることが分かった。ウェスタンプロット解析にて、活性酸素除去系酵素の発現は2Dでは低く、3Dとxenograftでは高発現を示した。

【考察】

2Dと3Dでは舌がん代謝は大きく異なっていた。一方、3Dの代謝物の多くはxenograftの代謝物と類似していた。しかし、xenograftはがん細胞周囲にある宿主由来の間質や血流の影響を受けるため、これらに起因する代謝物が他の群との違いとして現れていた。3Dでは、がん細胞のミトコンドリア機能は障害されておらず、がん細胞は好氣的解糖と同時にミトコンドリアによるエネルギー産生を行っていること、がん細胞が酸素を有効に使ってbiomassを生合成していること、酸化還元バランスを維持していることが示唆された。一方、2Dでは生体とは異なる条件下で生き抜くためにそれぞれの細胞独自の特徴が薄れ、単層培養特有の特殊な代謝が行われていることが示唆された。

【結論】

3Dとxenograftでは、グルコースなどの栄養素を使って解糖系やTCA回路を活性化し、biomass生合成、酸化的リン酸化によるATP産生、酸化還元バランスの維持を行っていることが明らかとなった。生体がん組織の形態と機能を模倣することができる3Dの代謝解析では、これまで報告されてきたがん代謝の理論に合った結果が得られた。

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 村上 翔子

【着想】

滋賀医科大学歯科口腔外科学講座山本学教授から「舌がんに関する研究」というテーマを与えられた。がん細胞の代謝性変化は腫瘍生長に寄与しており、がんの特徴の一つとされているが、がん代謝の研究は*in vivo*での報告が多く、3D培養系を用いた研究はほとんど報告されていないことに着目した。本研究では、生体組織の構造および機能を模倣する3D培養系を用いて、舌がん代謝の解析を行い、従来からの2D培養系、xenograft系と比較し、類似点と相違点を検討した。

【方法論】

3D培養法については滋賀医科大学医学・看護学教育センター向所賢一教授、滋賀医科大学病理学講座谷浦直子様からの指導を受けた。細胞外フラックス解析は滋賀医科大学外科学講座三宅亨講師の指導を受けた。代謝解析は滋賀医科大学生化学・分子生物学講座田中裕之講師の指導を受けた。

【研究の施行】

すべての研究手技及びデータの整理を申請者が行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学生化学・分子生物学講座田中講師から表現方法及び考察の助言を受けながら、申請者が論文の執筆及び図表の作成を行った。論文は、滋賀医科大学医学・看護学教育センター向所教授の校閲を受けた。

【共著者が10名に至った理由】

実験的研究が広範囲かつ専門的であるため、滋賀医科大学歯科口腔外科学講座山本教授、滋賀医科大学名誉教授杉原洋行先生、滋賀医科大学医学・看護学教育センター向所教授、滋賀医科大学病理学講座九嶋亮治教授、仲山貴永講師、谷浦様、滋賀医科大学生化学・分子生物学講座田中講師、滋賀医科大学外科学講座谷眞至教授、三宅講師共著者の先生方に多大なる指導、助言をいただいたため、10名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	461	(ふりがな) 氏名	はせがわ ひろし 長谷川 大
学位論文			
Efficacy and safety of cold forceps polypectomy utilizing the jumbo cup: a prospective study			
(ジャンボカップ生検鉗子を用いた通電を要しないポリペクトミーの有効性と安全性に対する前向き研究)			
Intestinal Research 第17巻第2号 265頁～272頁			
2019年4月発行			
著者名: Hiroshi Hasegawa, Shigeki Bamba, Kenichiro Takahashi, Masaki Murata, Taketo Otsuka, Hiroshi Matsumoto, Takehide Fujimoto, Rie Osaki, Hirotsugu Imaeda, Atsushi Nishida, Hiromitsu Ban, Ayano Sonoda, Osamu Inatomi, Masaya Sasaki, Mitsushige Sugimoto, Akira Andoh			
参考論文			
なし			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	461	(ふりがな) 氏名	はせがわ ひろし 長谷川 大
学位論文題目	Efficacy and safety of cold forceps polypectomy utilizing the jumbo cup: a prospective study (ジャンボカップ生検鉗子を用いた通電を要しないポリペクトミーの有効性と安全性に対する前向き研究)		
背景/目的:	ジャンボカップ生検鉗子を使用した通電を要しない内視鏡的ポリープ切除術 (cold forceps polypectomy: CFP) に関する前向き研究に対する報告はごく少数である。したがって、腺腫の全摘除 (clean colon) を達成するためにジャンボカップ生検鉗子を使用して CFP で治療された 5 mm 以下の微小ポリープの患者を前向きに集積し、手技の安全性と 1 年後の下部消化管内視鏡検査にてポリープの見逃し、または残存の再発率をフォローすることによってその有効性を評価した。		
方法:	2015 年 6 月から 2017 年 12 月までに、当院で 5 mm 以下の無茎性および亜有茎性の大腸腺腫に対し、CFP が実施され、病理学的に腺腫と診断された 361 症例 573 病変を解析した。今回の解析には初回の大腸内視鏡検査で腺腫 5 個までの摘除を行った症例を用いた。初回到 6 個以上の腺腫が摘除された症例 (11 例) は除外した。1 年後の内視鏡フォローを 165 症例に実施し、初回内視鏡時に摘除した 251 病変について遺残の有無を確認した。1 年後の内視鏡フォロー時にポリープが CFP 後の癒瘍上に存在する、もしくは初回摘除時の位置とランドマークや内視鏡像などから同じ位置であると考えられる場合に絶対再発と定義した。一方、フォローアップ内視鏡検査で絶対再発の定義を満たさず、初回 CFP 施行部位と同一セグメントにポリープを認めた場合は推定再発と定義した。		
CFP に対する患者への説明同意は内視鏡検査同意取得時に行い、前向きに症例を集積した。摘除判定は、NBI 拡大観察で摘除周囲粘膜を観察すること及び 1 年後の内視鏡フォローで摘除部位の観察をすることで判定した。抗血栓薬服用者に対する CFP は本邦の消化器内視鏡診療ガイドラインに準じて施行した。主要評価項目は、12 か月後の腺腫の再発率とした。副次評価項目として腫瘍径別一括摘除率、1 年後の内視鏡フォロー時の clean colon 達成率とし、それらを内視鏡従事年数別に評価した。また、出血・穿孔といった偶発症発生率も評価を行っている。出血は、摘除後 30 日以内に止血を要した出血と定義した。			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2 千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

結果：CFPによる一括切除率は3mm以下の病変で最も高く、病変サイズの増加とともに有意に減少した。術後出血は573病変中1病変(0.17%)で観察された。術後穿孔は認められなかった。フォローアップ内視鏡検査にて、初回切除部位に再発病変を認める絶対再発率は0.8%(2/251病変)であった。また、同一セグメントに認める推定再発率は17%であった。clean colonは初回摘除時に患者の55%で達成された。多変量解析により、clean colonは初回内視鏡時の腺腫の数および術者の内視鏡従事年数と有意に関連していることが明らかになった。

考察：CFPにおける既報のほとんどは、最大開口幅が7.3mmの標準容量鉗子または開口幅8.4mmの大容量鉗子の使用についての報告である。一方、本研究で使用した最大開口幅8.8mmのジャンボカップの使用に関する報告はごく少数である。2011年のDraganovらの報告では、標準容量鉗子または大容量鉗子とジャンボカップ鉗子を使用してCFPの比較研究を実施し、ジャンボカップで有意に高い一口切除率であったとの結果が示された。本研究では、切除後の病変再発率は0.8%とであり、既報で示された標準容量の鉗子を使用した際の4%という再発率と比較し低値であった。1年後のフォローアップ内視鏡検査により、45%の患者で初回の内視鏡検査で見落とされた病変を含む新たに検出された病変が明らかになった。1993年のWinawer、2006年のHirata、1997年のRexらの報告では、初回の大腸内視鏡検査後に認められた新しい病変の割合はいずれも40%~50%であると報告されており、これは本研究結果と同等であった。さらに、新たに検出されたポリープは、1年間の追跡調査で、主に上行結腸、横行結腸、S状結腸で他のセグメントと比較し有意に高率に検出された。これは、上行結腸や横行結腸、S状結腸ではハウストラが深く管腔内に入り込んでいたりことや横行結腸やS状結腸では後腹膜に固定されていないことによる腸管の自由度が腺腫の認識を低下させている可能性がある。また、本研究では初回内視鏡検査が内視鏡従事年数5年以上の経験を持つ内視鏡医によって行われた場合、1年後のフォローアップで新規病変の検出率が大幅に低いことが明らかになった。本研究でのLimitationは、単一の医療機関で実施されたため、選択バイアスの影響を受ける可能性があることが挙げられる。また、フォローアップ内視鏡検査で絶対再発と特定できたのは2例のみであった。肛門からポリープまでの距離を参考所見として判定時に用いたが、絶対的な指標とはならなかった。また、内視鏡検査で観察するには小さすぎる病変が残っている可能性を排除することはできないことも考えられるため、長期的なフォローアップが必要になる場合がある。

結論：ジャンボ生検鉗子を使用したCFPは安全であり、3mm以下の小さな病変に対して高い一括切除率を示した。絶対再発率が0.8%であったことは、ジャンボ生検鉗子を使用したCFPの信頼性を裏付けている。初回検査時の腺腫の数と術者の内視鏡従事年数は、clean colonを達成するための重要な要因であった。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 長谷川 大

【着想】

大腸癌は、そのほとんどがadenoma-carcinoma sequenceから発生するため、前癌病変である腺腫の摘除が推奨されている。申請者は、現在本邦で行われている「腺腫性ポリープに対する内視鏡摘除後の適正な全大腸内視鏡検査サーベイランス間隔の決定」と「ポリープ摘除がもたらす大腸癌罹患率抑制効果の評価」についての多施設共同前向き臨床試験を基盤に、jumbo cup forcepsを用いた大腸微小腺腫の摘除につき、手技の有効性及び安全性及び臨床的意義につき検討した。

【方法論】

申請者及び共著者により大腸内視鏡施行時に病変はjumbo cup forcepsを用いて、内視鏡的に切除された。切除手技は、申請者が中心になって行ったが、共著者にも分頂いた。

【研究の施行】

本臨床研究の研究手技は申請者及び共著者で行い、すべてのデータの整理を栄養治療部馬場重樹講師の指導のもと、申請者が行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学消化器血液内科講座安藤朗教授および栄養治療部馬場重樹講師から表現方法及び考察の助言を受けながら、申請者が論文の執筆及び図表の作成を行った。論文は、滋賀医科大学消化器血液内科講座安藤朗教授及び栄養治療部馬場重樹講師の校閲を受けた。

【共著者が16名に至った理由】

実験的研究が広範囲かつ専門的であること、また材料に切除材料を使用していることから、滋賀医科大学消化器血液内科講座安藤朗教授、栄養治療部馬場重樹講師の多大なる指導、助言をいただいた。また、本臨床研究における研究手技をその他共著者に施行していただいたため、共著者が16名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	895	(ふりがな) 氏名	まつの きとし 松野 悟之
<p>学位論文</p> <p>Contribution of somatosensory and parietal association areas in improving standing postural stability through standing plantar perception training in community-dwelling older adults. (地域在住高齢者における立位足底知覚トレーニングの立位姿勢安定性改善と体性感覚および頭頂連合野の関連)</p> <p>Journal of Aging and Physical Activity accepted for publication 発行日未定 著者名: Satoshi Matsuno (松野悟之)、Takuya Yoshiike (吉池卓也)、Atsushi Yoshimura (吉村篤)、Sachiyo Morita (森田幸代)、Yusuke Fujii (藤井勇佑)、Motoyasu Honnma (本間元康)、Yuji Ozeki (尾関祐二)、Kenichi Kuriyama (栗山健一)</p> <p>参考論文</p> <p>バランスパッドを用いた立位足底知覚トレーニング施行中の頭頂連合野の脳活動と足圧中心動揺指標との関連性の検討-高齢者 2 例での試み- 大阪行岡医療大学紀要 第 6 号 17 頁~22 頁 2019 年 3 月発行 著者名: 松野悟之、吉池卓也、吉村篤、森田幸代、藤井勇佑、栗山健一</p>			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	895	(ふりがな) 氏名	まつの きとし 松野 悟之
学位論文題目	<p>Contribution of somatosensory and parietal association areas in improving standing postural stability through standing plantar perception training in community-dwelling older adults. (地域在住高齢者における立位足底知覚トレーニングの立位姿勢安定性改善と体性感覚および頭頂連合野の関連)</p>		
<p>【目的】高齢者は立位姿勢制御能力が低下し、転倒・骨折に至ることがある。立位姿勢制御能力の改善を目的とした先行研究において、足底体性感覚機能の改善による立位足底知覚トレーニング(以下 SPPT)の有効性が報告されている。しかし、先行研究において、バランスパッドを用いた SPPT 施行中の脳活動を検証した報告は筆者の知る限りみられない。バランスパッドを用いた SPPT によって足底体性感覚機能を強化する際には、裸足の方が感覚入力の強化に適していて、靴下を着用することで感覚入力が増加することが推測される。また、靴下の着用の有無では、SPPT 中の脳活性化も異なることが予想されるが、それぞれの条件での SPPT 中の脳活性化は明らかにされていない。我々は、裸足における SPPT 中の脳活性化が立位姿勢制御能力の改善効果に寄与すると推察した。本研究では、裸足および靴下着用条件の 2 つの SPPT の立位バランス能力改善効果に着目し、2 つの SPPT を実施して、介入前後で立位姿勢制御能力改善効果を検証した。そして、裸足および靴下着用条件の SPPT 中の脳活動を計測することで、2 つの SPPT における立位姿勢制御能力改善効果に寄与する脳機能を検討することを主な目的とした。</p> <p>【方法】対象は、60 歳以上の男女 32 名とした。麻痺および感覚障害を有する者、Mini Mental State Examination(以下 MMSE)の得点が 21 点以下の者を除外した。</p> <p>本研究では SPPT 前後で、対象者の大腿四頭筋筋力、足趾把持力、足底二点識別覚、立位姿勢制御能力を評価した。対象者の立位姿勢制御能力は、SPPT 前後において重心動揺計を用いて閉脚閉眼立位の総軌跡長を評価した。本研究で実施した SPPT は、対象者の足底体性感覚機能を強化するために、バランスパッドを用いた。このトレーニングは、対象者がバランスパッド上で立位姿勢を維持する際に、足底でバランスパッドの素材を触知しながら立位姿勢を維持する足底知覚課題を実施することで足底の体性感覚機能を強化するトレーニングである。すべての対象者が、裸足条件と靴下着用条件の 2 条件で SPPT を実施した。トレーニング条件の順番は、乱数表を用いてランダムに割り付けした。安静立位保持後に、バランスパッド上での足底知覚課題を 30 秒ごとに交互に 10 回ずつ繰り返す SPPT を実施した。対象者には、バランスパッドに乗る際に足底の感覚に意識を集中させ、パッドの素材を感じとりながら身体の動揺を抑えて立つよう求めた。</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2 千字程度でタイプ等を用いて印字すること。2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

SPPT 施行中の脳活動は、近赤外分光装置を用いて、両側補足運動野、両側一次感覚運動野、両側頭頂連合野の酸素化ヘモグロビン濃度変化を評価した。酸素化ヘモグロビン濃度変化は、課題に関連した脳活動量を反映すると報告されており、本研究でも、酸素化ヘモグロビン濃度を脳活動の指標として用いた。安静立位時の酸素化ヘモグロビン濃度を基準として、トレーニング中の酸素化ヘモグロビン濃度の変化量を抽出するブロックデザインを用い、トレーニング中と安静立位の酸素化ヘモグロビン濃度変化の差分を求めた。トレーニング中の脳活性化は、10回の各トレーニングの加算平均を算出し指標に用いた。最終的に裸足および靴下条件の SPPT における総データから個人内の Z スコアを算出した。

立位姿勢安定性の指標である総軌跡長、大腿四頭筋筋力、足趾把持力、足底二点識別覚を SPPT 前後で比較するために、対応のある t 検定を用いた。SPPT の立位姿勢制御能力の改善に独立して関連する要因を検討するために、重回帰分析を用いた。従属変数を SPPT 前後の総軌跡長の変化量(介入前-介入後)、独立変数を年齢、性別、BMI、SPPT 前後における下肢筋力(大腿四頭筋筋力と足趾把持力)および足底二点識別覚の変化量、転倒恐怖感スコア、各 SPPT 施行中における各脳領域の酸素化ヘモグロビン濃度変化量を投入し、ステップワイズ法による重回帰分析を行った。統計解析は IBM SPSS Statistics Ver. 26.0 を用い、有意水準は 5%とした。

【結果】

SPPT 前後で足底二点識別覚、大腿四頭筋筋力、足趾把持力、立位姿勢制御能力が有意に改善した。重回帰分析の結果、立位姿勢制御能力改善に独立して関連する因子として、裸足条件における SPPT 中の右頭頂連合野の活性化のみが認められた($R^2:0.292$, 調整済み $R^2:0.268$, $p<0.001$)。

【考察】

頭頂連合野の活性化と立位姿勢制御能力改善との関連性が認められた要因として、頭頂連合野の感覚情報の集約・統合機能が関与していることが推測される。足底の固有受容器からの情報入力が増大し、中枢神経系における体性感覚の情報処理能力が強化され、右頭頂連合野の活性化につながったと考える。したがって、右頭頂連合野の活性化による体性感覚情報の統合処理の促進が立位姿勢制御改善に重要な役割を果たしていることが示唆された。重回帰分析の結果、靴下着用条件よりも裸足条件での脳活動を強く反映したが、これは裸足の方が足底の体性感覚情報が豊富であるという我々の仮説を指示する結果である。

【結論】

本研究で実施したバランスパッドを用いた SPPT により高齢者の立位姿勢制御能力改善が認められ、SPPT による立位姿勢制御能力改善効果の神経学的背景として右頭頂連合野の活性化および体性感覚の情報処理能力の強化が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また、足部は靴下着用よりも裸足の方が、足底体性感覚機能情報入力が増大する可能性が示唆された。(2100字)

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 松野 悟之

【着想】

申請者は高齢者に対する運動療法介入に関する研究について興味を持ち、これまでもリハビリテーションの分野を中心に臨床・研究に携わってきた。

先行研究において、立位足底知覚トレーニングの立位姿勢制御能力改善効果が認められていたが、立位姿勢制御能力改善に寄与する体性感覚機能および脳機能の影響は不明であった。そのため、立位足底知覚トレーニング中の脳機能を評価することで、トレーニング効果に寄与する神経学的背景に興味を持った。

【方法論】

被験者をリクルートし、共著者の先生方協力の下、滋賀医科大学医学部附属病院精神科外来にてデータを収集した。収集したデータの解析について、滋賀医科大学精神医学講座栗山健一前准教授、吉池卓也前助教、吉村篤講師に指導を受けた。

【研究の施行】

研究計画を通して本研究に携わり、データ収集及び解析を滋賀医科大学精神医学講座栗山健一前准教授指導の下で、吉池卓也前助教、吉村篤講師の協力を仰ぎながら申請者が行った。研究の実施に必要な重心動揺計を昭和大学生理学講座本間元康講師から貸与を受けた。

【論文の作成】

滋賀医科大学精神医学講座栗山健一前准教授、吉池卓也前助教、吉村篤講師、尾関祐二教授より解析方法及び考察の助言を受け、申請者が主となり論文の執筆及び図表の作成を行った。栗山健一前准教授、吉池卓也前助教より科学的整合性および臨床的妥当性に関し慎重な検閲・指導を繰り返し受け、申請者が論文をまとめ上げた。共同執筆者全員の校閲を受け、当該国際科学誌に投稿した。

【共著者が8名に至った理由】

本研究では、被験者の転倒防止や気分不良などのリスク管理のために多くの医師が関わった。リハビリテーションの専門家、認知行動療法の専門家、精神神経学分野の専門家が、慎重に研究プロトコルを推敲し、研究結果の解釈に意見を出し合うことで、斬新な仮説に基づく臨床研究を実施し、結果をまとめた。そのため、共著者が8名に至った次第である。

論文目録

※整理番号	904	(ふりがな) 氏名	NGUYEN THANH CONG
<p>学位論文 Efficacy of neuraminidase inhibitors against H5N6 highly pathogenic avian influenza virus in a non-human primate model. (非ヒト霊長類モデルにおける H5N6 高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するノイラミニダーゼ阻害薬の有効性) <i>Antimicrobial Agents and Chemotherapy</i>. 64, Issue 7, e02561-19, July, 2020 著者名: <u>Cong Thanh Nguyen</u>, Saori Suzuki, Yasushi Itoh, Hirohito Ishigaki, Misako Nakayama, Kaori Hayashi, Keita Matsuno, Masatoshi Okamatsu, Yoshihiro Sakoda, Hiroshi Kida, Kazumasa Ogasawara.</p> <p>参考文献. 1. Efficacy of a cap-dependent endonuclease inhibitor and neuraminidase inhibitors against H7N9 highly pathogenic avian influenza virus causing severe viral pneumonia in cynomolgus macaques. (重症ウイルス肺炎を起こす H7N9 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するキックアップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害薬とノイラミニダーゼ阻害薬のカニクイザルにおける有効性) <i>Antimicrobial Agents and Chemotherapy</i>. 65, Issue 3, e01825-20, March, 2021 著者名: Saori Suzuki, <u>Cong Thanh Nguyen</u>, Ayako Ogata-Nakahara, Akihiro Shibata, Hiroyuki Osaka, Hirohito Ishigaki, Masatoshi Okamatsu, Yoshihiro Sakoda, Hiroshi Kida, Kazumasa Ogasawara, Yasushi Itoh.</p> <p>2. Low replicative fitness of neuraminidase inhibitor-resistant H7N9 avian influenza A virus with R292K substitution in neuraminidase in cynomolgus macaques compared with I222T substitution. (ノイラミニダーゼ R292K 置換を持つノイラミニダーゼ阻害薬耐性 H7N9 インフルエンザ A ウイルスは I222T 置換をもつウイルスよりカニクイザルにおいて複製能が低い) <i>Antiviral Research</i>, 178:104790, 2020. 著者名: Saori Suzuki, Shintaro Shichinohe, Yasushi Itoh, Misako Nakayama, Hirohito Ishigaki, Yuya Mori, Ayako Ogata-Nakahara, <u>Cong Thanh Nguyen</u>, Masatoshi Okamatsu, Yoshihiro Sakoda, Hiroshi Kida, Kazumasa Ogasawara.</p> <p>3. Immune profiling of influenza-specific B cell and T cell responses in macaques using flow cytometry-based assays. (フローサイトメーターアッセイを用いたインフルエンザ特異的 B 細胞と T 細胞反応の免疫プロファイル解析) <i>Immunol & Cell Biol</i> 2020; 1-10. 著者名: Marios Koutsakos, Toshiki Sekiya, Brendon Y Chua, Thi Hoang Oanh Nguyen, Adam K Wheatley, Jennifer A Juno, Marumi Ohno, Naoki Nomura, Yuki Ohara, Tomohiro Nishimura, Masafumi Endo, Saori Suzuki, Hirohito Ishigaki, Misako Nakayama, <u>Cong Thanh Nguyen</u>, Yasushi Itoh, Masashi Shingai, Kazumasa Ogasawara, Yoichiro Kino, Stephen J Kent, David C Jackson, Lorena E Brown, Hiroshi Kida, Katherine Kedzierska.</p>			

(備考) ※印の欄には記入しないこと

論文内容要旨

※整理番号	904	(ふりがな) 氏名	NGUYEN THANH CONG
学位論文題目	Efficacy of neuraminidase inhibitors against H5N6 highly pathogenic avian influenza virus in a non-human primate model. 非ヒト霊長類モデルにおける H5N6 高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するノイラミニダーゼ阻害薬の有効性		
Purpose of study			
<p>Since first detected in humans in 1997, highly pathogenic avian influenza viruses (HPAIVs) such as H5N1 and H7N9 viruses have caused high human fatality rates. Currently, the ability of transmission among humans is low, but HPAIVs mutate and pose a significant public health threat.</p> <p>H5N6 HPAIV is the first influenza virus carrying N6 neuraminidase (NA) causing human mortality. Previous report showed that this HPAIV had a high potential for avian-human, human-human transmission and wide dissemination. However, the characteristics of H5N6 HPAIV infection and the efficacy of antiviral drugs against this virus have not been well clarified.</p> <p>The purpose of this study is to investigate the infectious disease induced by H5N6 HPAIV infection and the efficacy of current available and easily accessible antiviral drugs.</p>			
Methods			
<p>Cynomolgus macaques were challenged with H5N6 HPAIV and then treated from day 1 to day 5 with saline (control), oseltamivir, peramivir, and amantadine. Clinical signs of diseases in macaques were monitored every day with a clinical score system. Swab samples and blood samples were collected to examine virus replication and immune responses. Macaques were autopsied on day 7 post viral challenge to examine histology of lung tissues.</p>			
Results			
<ol style="list-style-type: none"> 1) H5N6 HPAIV infection led to high fever in cynomolgus macaques. 2) The lung injury caused by the viral infection was severe, with diffuse alveolar damage and infiltration of neutrophils and macrophages. 3) Levels of interferon alpha (IFN-α), interleukin-6 (IL-6), and monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) were significantly increased on day 1 and then decreased on day 3. The increase in IFN-α was inversely correlated with virus titers in the trachea and bronchus on day 1. 4) Oseltamivir and peramivir (both are neuraminidase inhibitors), but not amantadine, early reduced virus titration in swab samples. 			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： NGUYEN THANH CONG **Discussion**

- 1) The virus caused severe pneumonia and cytokine responses in macaques, comparable to the severe states in humans infected with H5N6 HPAIV.
- 2) Oseltamivir treatment and peramivir treatment were effective in early reduction of virus replication in swab samples. However, we detected virus in respiratory tract tissues of peramivir-treated macaques on day 7 without any reported antiviral resistant mutation. Treatment with peramivir more than 5 days should be considered in order to reduce completely the virus replication.
- 3) Amantadine treatment did not reduce virus titers in swab samples and no antiviral resistant mutation was found in the inoculum virus. This finding suggested that the efficacy of amantadine is also dependent on other factors than reported amantadine-resistant mutations. We detected lower virus titers in respiratory tissues of amantadine-treated macaques than in control macaques on day 7. Amantadine possibly induced reduction of virus in tissues via effect on immune responses of macaques.
- 4) Levels of lung inflammation were not greatly different among antiviral drug treated macaques and control macaques. Therefore, treatment of H5N6 HPAIV infection with current antiviral drugs within 48 hours as recommended widely may have limited effectiveness in level of lung inflammation until day 7. Combination of current antiviral drugs and other medications, and development of new antiviral therapies targeting into host factors are necessary.
- 5) Interferon alpha (IFN- α) significantly increased and was inversely correlated with virus titers, indicating that IFN- α may be a protective factor against H5N6 HPAIV infection. Early treatment with IFN- α might be a potential therapy.

Conclusion

Oseltamivir and peramivir, but not amantadine, were effective in reduction of H5N6 HPAIV replication. However, pathological findings of severe alveolar damage were not greatly different among antiviral-treated groups and the control group. Thus, the present study showed a need for close monitoring and further studies on viral pathogenicity and development of new antiviral therapies.

【着想】

2016年から2017年に日本各地において鳥類からH5N6亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスが検出された。この亜型のウイルスは人類で流行したことがないため、ヒトの間に感染するような変異を獲得した場合に大流行となる可能性がある。しかし、このウイルスは病原性と抗ウイルス薬の有効性が未だ明らかではない。そこで滋賀医科大学病理学講座伊藤靖教授及び北海道大学迫田義博教授はカニクイザルでこのウイルスの病原性を明らかにし、現在使用可能な抗ウイルス薬の有効性の評価し、人における病原性と抗ウイルス薬の有効性を予測することを着想した。

【方法論】

サルを用いる技術と病理学的な肺炎のレベルの評価、ウイルスゲノム解析は伊藤靖教授の指導を受けた。抗ウイルス薬に対する抵抗性を解析する試験管内試験とウイルス量の測定とサイトカイン量の測定は鈴木紗織特任助教の指導を受けた。

【研究の施行】

サルを用いる研究は申請者が滋賀医科大学病理学講座伊藤靖教授及び石垣宏仁講師、仲山美沙子助教、鈴木紗織特任助教、母子診療科林香里助教の協力と指導を頂いた。サルから採取したサンプルの解析は申請者が鈴木紗織特任助教の指導を受けた。データの整理と解析は申請者が伊藤靖教授の指導を受けて行なった。ウイルスゲノム次世代シーケンシングは北海道大学岡松正敏准教授と松野啓太助教に行って頂いた。

【論文の作成】

伊藤靖教授から表現方法及び考察の助言を受けながら、申請者が論文を執筆及び図表の作成を行なった。論文は、滋賀医科大学小笠原教授と北海道大学迫田教授、喜田教授の校閲を受けた。

【共著者が11名に至った理由】

実験分野が広範囲であること、またカニクイザルを用い、作業量が多く、滋賀医科大学病理学講座の先生方と北海道大学の先生方の多大なる指導、助言及び協力をいただいた為、共著者が11人に至った次第である。

論文目録

※整理番号	459	(ふりがな) 氏名	よねおか ゆたか 米岡 完
学位論文			
Treatment strategies for patients with advanced ovarian cancer undergoing neoadjuvant chemotherapy: interval debulking surgery or additional chemotherapy? (術前化学療法を行った進行卵巣癌患者に対する治療方針: 腫瘍減量術もしくは追加の化学療法か?) J Gynecol Oncol. 2019;30(5):e81			

(備考) ※印の欄には記入しないこと。

論文内容要旨

※整理番号	459	(ふりがな) 氏名	よねおか ゆたか 米岡 完
学位論文題目	Treatment strategies for patients with advanced ovarian cancer undergoing neoadjuvant chemotherapy: interval debulking surgery or additional chemotherapy? (術前化学療法を行った進行卵巣癌患者に対する治療方針: 腫瘍減量術もしくは追加の化学療法か?)		
【目的】 手術により完全切除が望めない進行卵巣癌に対しては、術前化学療法とインターバル腫瘍減量手術が推奨されている。一方で、術前化学療法および術後化学療法の至適なサイクル数については未だコンセンサスを得られておらず、施設、主治医によって大きな隔りがある。また、手術で完全切除ができなかが予後因子であるが、それを知る術前評価方法も確立されていない。 当院では術前化学療法を3サイクル施行した後にインターバル腫瘍減量手術を行い、術後化学療法を3サイクル施行する。インターバル腫瘍減量手術で完全切除が困難と判断する症例に対しては手術を行わず、追加で3サイクル化学療法を追加した後に腫瘍減量手術を行い、術後には化学療法を行わない。 本研究では、化学療法を3サイクル追加した後に手術を行う方針とした患者の予後を調査し、本治療法の有効性を検討する。また、完全切除の予知マーカーとして血清CA125値の有用性を検討する。			
【方法】 当院で2007年8月から2016年12月までに治療した卵巣・卵管・腹膜癌の患者を対象に診療録から情報を抽出した。IDS群は術前化学療法を3サイクル施行した後にインターバル腫瘍減量手術を行い、術後に3サイクル化学療法を施行した患者を対象とした。Add-C群は術前化学療法3サイクル後に手術が不可能と判断し、追加で化学療法3サイクル施行した群を対象とした。IDS群、Add-C群の患者背景および予後を後方視的に検討した。また、術前の血清CA125値と手術での完全切除の有無をReceiver operating characteristic curve (ROC) 曲線で示し、Youden index法でカットオフ値を検討した。			
【結果】 IDS群は117名でAdd-C群は26名であった。両群間で無再発生存率(p=0.09)および全生存率(0.94)に有意差は認めなかった。多変量解析では、術後に残存病変がある症例は無再発生存率(hazard ratio [HR]=2.18; 95% confidence interval [CI]=1.45-			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

3.28)および全生存率(HR=2.33; 95% CI=1.43-3.79)は有意に低く、施行した化学療法が6サイクル未満であった症例も無再発生存率(HR=5.30; 95% CI=2.56-10.99)および全生存率(HR=3.05; 95% CI=1.46-6.38)は有意に低かった。術前の血清CA125値と完全切除の関係を示したROC曲線のarea under curveは0.70であり、Youden index法で算出した術前CA125値のカットオフ値は30U/mlであった。陽性的中率は83.5%、陰性的中率は41.4%であった。

【考察】

術前化学療法3サイクル施行後に、さらに3サイクルを追加し腫瘍減量術を行うという治療方針は、インターバル腫瘍減量術を行った後に3サイクル化学療法を行うのと同等の効果があった。また、手術の時期に関わらず腫瘍の完全切除ができることと、化学療法を6サイクル以上行うことが予後因子となった。

卵巣癌に対する腫瘍減量手術は腸管切除や横隔膜切除、脾臓摘出などの侵襲の高い手術を要することがあり、その場合は術後合併症も少なくない。腫瘍の完全切除と6サイクル以上の化学療法が予後因子であるが、本研究でもIDS群の4名に術後合併症のため術後に化学療法を行えなかった症例があった。つまり、化学療法で3サイクル施行後のインターバル腫瘍減量手術で高い侵襲を要すると判断される症例では、追加で3サイクル施行後に腫瘍減量手術を行う方が適しているのかもしれない。

術前には複数の医師が画像検査や内診などで完全切除ができると判断したにも関わらず、本研究では37人(27.0%)が腫瘍減量手術で残存病変を認めた。CT検査やMRI検査で検出できないごく小さな腹膜播種結節が無数に腹膜や腸間膜に存在する症例も複数認められた。血清CA125値が30U/mlをカットオフ値とした場合の完全切除の陽性的中率が83.5%と高値であり、血清CA125値 \leq 30U/mlでは完全切除できる可能性が高いと判断して良いと考える。

本研究の限界は、術前評価は医師の臨床判断に委ねられている点である。それゆえ本研究結果を一般化しにくい。また、Add-C群が少数であり、さらに症例数を増やして本研究結果を再度検討する余地がある。

【結論】

進行卵巣癌に対する治療に関して、腫瘍減量手術での完全切除および6サイクル以上の化学療法が予後因子であり、血清CA125値 \leq 30U/mlは完全切除を予想する有用な因子である可能性がある。術前化学療法6サイクル後に腫瘍減量手術を行うという治療方針は、標準治療である術前化学療法3サイクル後にインターバル腫瘍減量手術を行い、術後に3サイクル化学療法を行うのと同等の予後を望める可能性がある。それゆえ、術前化学療法3サイクル後に完全切除が困難と考える症例は、追加で3サイクル化学療法を行ってからの腫瘍減量手術が望ましい可能性がある。

自己担当部分についての報告書

滋賀医科大学長 殿

学位申請者氏名： 米岡 完

【着想】

申請者は婦人科癌の中でも予後不良な卵巣癌に興味を持ち、国立がん研究センター中央病院での独特な治療方針に着目した。それは、抗がん剤治療を6サイクルに限定しており、手術のタイミングは3サイクル終了後または6サイクル終了後に固定されている点である。他の医療機関では化学療法のサイクル数及び手術のタイミングは固定されていないことが多い。未だコンセンサスが得られていない適切な手術のタイミングを検討した。

【方法論】

国立がん研究センター中央病院婦人腫瘍科の加藤友康先生、石川光也先生、植原貴史先生、清水華子先生、宇野雅哉先生および申請者により治療した卵巣、卵管、腹膜癌患者の臨床データを後方視的に検討した。

【研究の施行】

全てのデータ整理および統計学的検討を申請者が行った。

【論文の作成】

滋賀医科大学産科学婦人科学講座村上節教授および国立がん研究センター中央病院石川光也先生から考察および表現方法の助言を受けながら、申請者が論文の執筆および図表の作成を行った。論文は滋賀医科大学産科学婦人科学講座村上節教授、国立がん研究センター中央病院加藤友康先生、石川光也先生、植原貴史先生、清水華子先生、宇野雅哉先生の校閲を受けた。

【共著者が7名に至った理由】

対象患者の治療を国立がん研究センター中央病院加藤友康先生、石川光也先生、植原貴史先生、清水華子先生、宇野雅哉先生が行っていること、および論文作成に関して総合的なご指導を滋賀医科大学産科学婦人科学講座教授村上節教授にいただいたため、共著者が7名に至った次第である。

令和2年度（FY 2020） 第2回
学位論文（博士）審査に係る研究発表会 抄録集

令和3年1月20日 発行 Published on January 20, 2021

編集・発行 国立大学法人滋賀医科大学学生課大学院教育支援係
Edited and Published by Graduate School Educational Affairs Unit,
Student Division, Shiga University of Medical Science

〒520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町
Seta Tsukinowa-cho, Otsu, Shiga 520-2192 JAPAN
TEL : 077-548-2095・2096 FAX : 077-548-2799
E-mail : hqgs@belle.shiga-med.ac.jp

