

高知大学学位授与記録

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

目 次

学位記番号	氏名	学位論文の題目	ページ
甲総医博第167号	齊藤 晃士	Novel germline STAT3 gain-of-function mutation causes autoimmune diseases and severe growth failure (新規の生殖細胞性機能獲得型STAT3変異が自己免疫疾患と重度の成長障害を引き起こす)	1
甲総医博第168号	有馬 直輝	Prospective multicenter screening with high-sensitivity cardiac troponin T for wild-type transthyretin cardiac amyloidosis in outpatient and community-based settings (一般外来における高感度心筋トロポニンTによる野生型トランスサイレチン心アミロイドーシスのスクリーニング多施設共同前向き研究)	6
甲総医博第169号	勝又 祥文	Impact of Protein Intake after Intensive Care Unit on Discharge Destination for Critically Ill Patients: A Single-Center Prospective Observational Study (集中治療後のタンパク摂取量が退院先に及ぼす影響：単施設前向き観察研究)	12
甲総医博第170号	中越 菜月	The impact of preoperative stress on age-related cognitive dysfunction after abdominal surgery: a study using a rat model (術前ストレスが開腹手術後の加齢に伴う認知機能障害に与える影響：ラットモデルを用いた研究)	17
甲総医博第171号	PODDER SAJIB	Synaptic plasticity and roles of orexin in distinct domains of the olfactory tubercle (嗅結節のシナプス可塑性とドメイン特異的なオレキシンの役割)	22

甲総医博第172号	刑部 有紀	<p>Clinical significance of amphiregulin in patients with chronic kidney disease</p> <p>(慢性腎臓病患者におけるアンフィレギュリンの臨床的意義について)</p>	28
甲総医博第173号	川添 哲嗣	<p>Analysis of urinary retention caused by selective β 3-adrenoceptor agonists using the Japanese Adverse Drug Event Report Database (JADER)</p> <p>(薬物有害事象データベース (JADER) を用いた選択的β3アドレナリン受容体作動薬による尿閉の解析)</p>	33
甲総医博第174号	岩本 昌大	<p>Analysis of the life cycle of <i>Helicobacter pylori</i> bacteriophage KHP40 belonging to the genus <i>Schmidvirus</i></p> <p>(シュミットウイルス属に分類されるピロリ菌バクテリオファージKHP40のライフサイクルの解析)</p>	39
甲総医博第175号	森部 玲子	<p>Health Effects of Electrolyzed Hydrogen Water for the Metabolic Syndrome and Pre-Metabolic Syndrome: A 3-Month Randomized Controlled Trial and Subsequent Analyses</p> <p>(メタボリックシンドローム及び予備群に対する電解水素水の健康影響：3か月ランダム化比較試験とその後の分析)</p>	44
乙総医博第69号	大石 拓	<p>Association between Maternal LDL Level during Pregnancy and Offspring LDL Level at Age 8</p> <p>(妊娠中の母親のLDLコレステロール値とその子どもの8歳時のLDLコレステロール値との関係)</p>	49

氏名(本籍)	齊藤 晃士 (兵庫県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第167号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和7年2月10日
学位論文題目	Novel germline STAT3 gain-of-function mutation causes autoimmune diseases and severe growth failure (新規の生殖細胞性機能獲得型STAT3変異が自己免疫疾患と重度の成長障害を引き起こす)
発表誌名	Journal of Allergy and Clinical Immunology: Global、3(4)、100312 オンライン掲載：2024年7月26日 誌面掲載：2024年11月
	審査委員
	主査 教授 内田 一茂
	副査 教授 中井 浩三
	副査 教授 増田 隆明

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

論文題目	氏名 齊藤 晃士 Novel germline STAT3 gain-of-function mutation causes autoimmune diseases and severe growth failure (新規の生殖細胞性機能獲得型 STAT3 変異が自己免疫疾患と重度の成長障害を引き起こす)
(論文要旨) <p>背景 STAT3 は、インターロイキン 6 等の炎症性サイトカインの下流で機能する転写因子である。近年、次世代シーケンサーによる遺伝子解析の普及により、生殖細胞性 STAT3 機能獲得型変異が、多臓器における自己免疫疾患を早期に発症し、高率に成長障害も呈する単一遺伝子疾患として同定され、トシリズマブや JAK 阻害薬といった標的治療の有用性も報告されている。私たちは、橋本病、特発性肺ヘモジデローシス、分類不能型炎症性腸疾患といった多臓器にわたる自己免疫疾患を早期に発症し、かつ重度の成長障害を呈していた男児において、全エクソームシーケンスで過去に報告のない生殖細胞性・ヘテロ接合性 STAT3 変異 (NM_139276. 2; c. 2144C>A, p. (P715Q)) を見出した。臨床症状より機能獲得型変異が疑われた。</p> <p>目的 全エクソームシーケンスにより見出された新規 STAT3 変異の機能・病的意義を評価する。機能獲得型変異と診断されれば標的治療の導入を検討し、その有効性を評価する。</p> <p>方法 患者末梢血の単核球細胞からクローニングした STAT3 遺伝子の配列をサンガー法で確認した。比較として、既知の機能獲得型 STAT3 変異体 2 種と機能喪失型 STAT3 変異体 1 種を、加えて点突然変異により生じうる 715 位のアミノ酸変異体 4 種を、野生型 STAT3 遺伝子を元に部位特異的変異導入により作成した。それらを含むベクターを肝細胞株である Hep3B に導入して STAT3 蛋白を強制発現させたうえで、ルシフェラーゼ・レポーターアッセイを用いて STAT3 シグナルの変化を評価した。ウェスタンブロットを用いて STAT3 活性化の際に必須である 705 位のチロシンリン酸化強度を評価した。DNA 結合アッセイにより STAT3 の核集積を評価した。</p> <p>結果 患者の末梢血単核球から、各アレル由来の野生型・変異型 2 種の STAT3 遺伝子をクローニングした。cDNA の配列を詳細に確認したところ、変異 STAT3 に認められた c. 2144C>A の変異箇所以外はゲノムデータベース上の参照配列と一致していた。本変異 STAT3 を強制発現させた Hep3B では IL-6 刺激の有無にかかわらず STAT3 シグナルの亢進を認めたため、機能獲得型変異であると結論付けた。DNA 結合アッセイでは、すべての 715 位のアミノ酸変異体の核集積が亢進していたが、ルシフェラーゼアッセイで STAT3 シグナルが亢進したのは p. P715Q と既知変異である p. P715L の 2 種のみであった。患者を STAT3 機能獲得型変異と診断後、病勢コントロールが困難であったため、標的治療として有用性が報告されている抗 IL-6 受容体抗体のトシリズマブを導入した。直後に特発性肺ヘモジデローシスの一過性増悪を認めたが、以降は肺線維化マーカーである KL-6 は低下し、導入から 18 か月で</p>	

ステロイド全身投与量を漸減することができた。また骨代謝マーカーの低下を伴う骨密度 Z-score の改善を認めた。

考察

STAT3 p. P715Q が機能獲得を呈する機序として、本変異が転写装置の動員に直接関与する TAD 領域に位置することから、核移行後の転写効率が変化している可能性が推測された。また、私たちが検証した 715 位のアミノ酸変異体の全てにおいて、転写活性の変化、または最終的な転写活性は変わらずとも核集積の変化を認めたことから、本部位のアミノ酸変異の重要性が示唆された。患者においては、トシリズマブ導入によりステロイド減量が可能となった。肺線維化マーカーも低下した。骨密度 Z-score は破骨細胞の分化や活性化の抑制により改善した可能性が推測された。STAT3 機能獲得型変異が疑われる症例においては、治療選択のために早期の遺伝子診断を、また過去に報告のない変異であった場合は変異蛋白の機能解析を実施することが望ましい。

論文審査の結果の要旨

	氏名	齊藤 晃士
審査委員	主査氏名	内田 一茂 
	副査氏名	中井 浩三 
	副査氏名	増田 隆明 

題目 Novel germline STAT3 gain-of-function mutation causes autoimmune diseases and severe growth failure
(新規の生殖細胞性機能獲得型 STAT3 変異が自己免疫疾患と重度の成長障害を引き起こす)

著者 Koji Saito, Minoru Fujimoto, Eiji Funajima, Satoshi Serada, Tomoharu Ohkawara, Masayuki Ishihara, Mamiko Yamada, Hisato Suzuki, Fuyuki Miya, Kenjiro Kosaki, Mikiya Fujieda, Tetsuji Naka

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年月
Journal of Allergy and Clinical Immunology: Global、3(4)、100312
オンライン掲載：2024年7月26日
誌面掲載：2024年11月

要旨 背景

Signal Transducers and Activator of Transcription (STAT)3 は、インターロイキン6等の炎症性サイトカインに反応して活性化する転写因子である。近年、次世代シーケンサーによる遺伝子解析の普及により、生殖細胞性 STAT3 機能獲得型変異が、多臓器における自己免疫疾患を早期に発症し、高率に成長障害も呈する単一遺伝子疾患として同定され、トシリズマブや JAK 阻害薬といった標的治療の有用性が報告されている。

目的

橋本病、特発性肺へモジデローシス、分類不能型炎症性腸疾患などの多臓器にわたる自己免疫疾患を早期に発症し、かつ重度の成長障害を呈していた男児の全エクソームシーケンスにより見出された新規 STAT3 変異の機能そしてその病的意義を評価する。

機能獲得型変異と診断された場合は、標的治療の導入を検討しその有効性を評価する。

方法

患者末梢血の単核球細胞からクローニングした STAT3 遺伝子の配列をサンガー法で確認した。比較として、既知の機能獲得型 STAT3 変異体 2 種 (p.P715L、p.T716M) と機能喪失型 STAT3 変異体 1 種 (p.V637M) を、加えて単一塩基置換により生じうる 715 位のアミノ酸変異体 4 種 (p.P715R、p.P715S、p.P715T、p.P715A) を、野生型 STAT3 遺伝子を元に部位特異的変異導入により作成した。

それらを含むベクターを肝細胞株である Hep3B に導入して STAT3 蛋白を強制発現させたうえで、ルシフェラーゼ・レポーターアッセイを用いて STAT3 シグナル強度を定量した。ウェスタンブロットにより STAT3 活性化の際に必須である 705 位のチロシンリン酸化強度を評価した。核抽出物のウェスタンブロットにより核集積を評価した。STAT3-DNA 結合アッセイにより DNA 結合を評価した。

結果

患者末梢血単核球から、各アレル由来の野生型・変異型 2 種の STAT3 遺伝子をクローニングし cDNA の配列を確認したところ、変異 STAT3 に認められた c.2144C>A の変異箇所以外はゲノムデータベース上の参照配列と一致していた。本変異 STAT3 を強制発現させた Hep3B では、既知の機能獲得型変異である p.P715L と p.T716M と同様に、IL-6 刺激の有無にかかわらず STAT3 シグナルが野生型と比較して増加しており、機能獲得型変異であると考えられた。全ての 715 位変異体のリン酸化強度は野生型と同等であった。核抽出物のウェスタンブロットでは、全ての 715 位のアミノ酸変異体の核集積が増加し、DNA 結合アッセイでは亢進していたが、ルシフェラーゼアッセイで STAT3 シグナルが増加したのは p.P715Q と既知変異の p.P715L の 2 種のみであった。患者を STAT3 機能獲得型変異と診断後、病勢コントロールが困難であったため、標的治療として有用性が報告されている抗 IL-6 受容体抗体のトシリズマブを導入し、導入後 18 か月の間にステロイド全身投与量を漸減することができた。さらに骨代謝マーカーの低下を伴う骨密度 Z-score の改善を認めた。

考察

STAT3 p.P715Q が機能獲得を呈する機序として、核集積 (二量体形成 かつ/または 核移行) の増加、DNA 結合の上昇が影響していると考えられた。また本変異が転写装置の動員に直接関与する TAD 領域に位置することから核移行後の転写効率が増加している可能性が推測された。また、申請者らが検証した 715 位のアミノ酸変異体の全てにおいて、核集積・DNA 結合・最終的な転写活性のいずれかの変化を認めたことから、本部位のアミノ酸変異の重要性が示唆された。本症例においては、トシリズマブ導入によりステロイド減量が可能となり、肺線維化マーカーも低下した。骨密度 Z-score は破骨細胞の分化や活性化の抑制により改善した可能性が推測された。STAT3 機能獲得型変異が疑われる症例においては、治療選択のために早期の遺伝子診断を、また過去に報告のない変異であった場合は変異蛋白の機能解析を実施することが望ましいと考えられた。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。これらの内容をふまえ、審査委員一同は本論文が高知大学博士 (医学) に相応しい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	有馬 直輝 (香川県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第168号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和7年3月3日
学位論文題目	Prospective multicenter screening with high-sensitivity cardiac troponin T for wild-type transthyretin cardiac amyloidosis in outpatient and community-based settings (一般外来における高感度心筋トロポニンTによる野生型トランスサイレチン心アミロイドーシスのスクリーニング多施設共同前向き研究)
発表誌名	Circulation Journal (in press) 2024年10月4日(早期公開)

審査委員	主査	教授	瀬尾	宏美
	副査	教授	降幡	睦夫
	副査	教授	池内	昌彦

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

	氏名	有馬 直輝
論文題目	Prospective multicenter screening with high-sensitivity cardiac troponin T for wild-type transthyretin cardiac amyloidosis in outpatient and community-based settings (一般外来における高感度心筋トロポニンTによる野生型トランスサイレチン心アミロイドーシスのスクリーニング多施設共同前向き研究)	
(論文要旨)		
<u>背景・目的</u>		
<p>本論文は、野生型トランスサイレチン心アミロイドーシス (ATTRwt-CA) の早期診断を目的とした多施設共同の前向きスクリーニング研究である。ATTRwt-CA は心不全入院患者の基礎疾患として過去に想定されていたよりも多いことが近年明らかにされてきた。ATTRwt-CA の診断、予後、治療指標において高感度心筋トロポニン T (hs-cTnT) の有用性が知られており、本研究では hs-cTnT を用いた ATTRwt-CA のスクリーニング検査を目的とした。</p>		
<u>方法</u>		
<p>研究の対象として、2019年6月から2021年7月までに高知県内の8ヶ所の内科診療所を受診し、本研究への参加に同意した70歳以上の連続した患者を登録した。心不全入院の既往、透析患者、既知の心アミロイドーシス患者は除外した。</p> <p>本研究は三段階で構成した。第一段階では地域の一般外来患者における、hs-cTnT の測定を施行した。Hs-cTnT 0.03ng/mL以上を陽性とし、陽性者は第二段階の精査を行った。第二段階では、高知大学医学部附属病院において hs-cTnT の再検査を含む血液検査、心電図検査、胸部レントゲン写真、心エコー図検査、^{99m}テクネシウムピロリン酸 (^{99m}Tc-PYP) シンチグラフィを施行した。第三段階として、各種検査により ATTRwt-CA が強く疑われた患者において、生検によるアミロイドーシスの確定診断を行った。</p> <p>ATTRwt-CA の診断は、(1) ^{99m}Tc-PYP シンチグラフィの取り込みが陽性であり、心エコー検査の基準をみたまず、一つ以上の臓器における生検によりトランスサイレチン (TTR) が証明されること、もしくは(2) 心内膜生検により TTR の沈着が証明された場合のいずれかに加え、遺伝子検査による TTR 変異の欠如、および/または遺伝性トランスサイレチンアミロイドーシスを示す明らかな徴候と家族歴が無いことにより確定した。</p> <p>統計解析はすべてのデータは Shapiro-Wilk 検定を用いて正規性を評価した。カテゴリー変数は数値 (パーセンテージ) で表し、連続変数は平均値±標準偏差 (正規分布変数) または四分位範囲 (IQR) 付き中央値 (非正規分布変数) で示した。統計解析は、IBM SPSS statistics version 21.0 (IBM Corp.) を使用した。</p>		
<u>結果</u>		
<p>第一段階では合計1,141例について評価した。年齢中央値は77歳 (IQR, 73 - 81歳) で、454人 (39.8%) が男性であった。hs-cTnT 値の中央値は0.010ng/mL (IQR, 0.007 - 0.015 ng/mL) であった。hs-cTnT 値の上昇 (≥0.03ng/mL) は、1,141例中55例 (4.8%)</p>		

に認めた。

hs-cTnT 高値患者は、第二段階の評価として高知大学医学部附属病院にて追加精査施行した。55 例の内、22 例 (40%) は遠方である事等を理由とし精密検査を希望しなかった。最終的に 33 例 (年齢中央値 81 歳、IQR 76-85 歳、男性 51.5%) が第二段階の評価を受けた。第一段階と第二段階において、いずれも hs-cTnT が高値を示したのは 22 例 (66.7%) であった。第二段階の精査を受けた 33 例の心エコー図検査結果として、LVEF 中央値は 61% で、左室肥大の所見は 5 例 (15.2%) に認めた。心アミロイドーシスに特徴的とされる apical sparing pattern は 2 例 (6%) に認めた。^{99m}Tc-PYP シンチグラフィでは、グレード 3 (陽性) の取り込みを 1 例、グレード 1 (ボーダーライン) の取り込みを 1 例に認めた。残りの 31 例はグレード 0 であり、^{99m}Tc-PYP シンチグラフィでは陰性と判断した。以上の結果から、^{99m}Tc-PYP シンチグラフィでグレード 3 の集積を認めた 1 例 (患者#1)、^{99m}Tc-PYP シンチグラフィはグレード 1 の集積であったが、心エコー図検査やその他の検査から ATTRwt-CA が疑われた 1 例 (患者#2)、合計 2 例が第三段階に進んだ。

第三段階において、患者#1 は腹壁脂肪生検により TTR が検出された。明らかな家族歴も認めず、臨床的に ATTRwt-CA と診断した。患者#2 については心内膜生検を行い、心筋から TTR の検出を認めた。遺伝子検査においても TTR 遺伝子変異は認めず、ATTRwt-CA と診断した。いずれの患者も、これまでに ATTRwt-CA が疑われていない患者であり、心不全入院を来す前に ATTRwt-CA が診断された。

考察

本研究により、hs-cTnT が地域の外来診療において未診断の ATTRwt-CA 患者をスクリーニングするための有用なツールである可能性が示された。Hs-cTnT 測定は設備や特殊な技術を必用としない点で、特にプライマリ・ケアにおいて有意義である。また、本研究における ATTRwt-CA の有病率は少なくとも 0.18% であった。本研究において第二段階の精査を行えていない患者が存在し、この事が有病率推定の限界となっている。

論文審査の結果の要旨

		氏名	有馬 直輝
審査委員	主査氏名	瀬尾 宏美	
	副査氏名	降幡 睦夫	
	副査氏名	池内 昌彦	

題目 Prospective multicenter screening with high-sensitivity cardiac troponin T for wild-type transthyretin cardiac amyloidosis in outpatient and community-based settings

(一般外来における高感度心筋トロポニンTによる野生型トランスサイレチン心アミロイドーシスのスクリーニング多施設共同前向き研究)

著者 Naoki Arima, Yuri Ochi, Toru Kubo, Yoshinori Murakami, Kiyoshi Nishino, Hironori Yamamoto, Koji Satou, Shinjiro Tamura, Makoto Okawa, Hiroshi Takata, Yuji Shimizu, Yuichi Baba, Naohito Yamasaki, Hiroaki Kitaoka

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Circulation Journal (in press)
2024年10月4日(早期公開)

要旨

【背景・目的】

本論文は、野生型トランスサイレチン心アミロイドーシス (ATTRwt-CA) の早期診断を目的とした多施設共同の前向きスクリーニング研究である。ATTRwt-CAは心不全入院患者の基礎疾患として過去に想定されていたよりも多いことが近年明らかにされてきた。ATTRwt-CAの診断、予後、治療指標において高感度心筋トロポニンT (hs-cTnT) の有用性が知られており、本研究ではhs-cTnTを用いたATTRwt-CAのスクリーニング検査を目的とした。

【方法】

研究の対象として、2019年6月から2021年7月までに高知県内の8ヶ所の内科診療所を受診し、本研究への参加に同意した70歳以上の連続した患者を登録した。心不全入院の既往、透析患者、既知の心アミロイドーシス患者は除外した。

本研究は三段階で構成した。第一段階では地域の一般外来患者における、hs-cTnTの測定を施行した。Hs-cTnT 0.03ng/mL以上を陽性とし、陽性者は第二段階の精査を行った。第二段階では、

高知大学医学部附属病院においてhs-cTnTの再検査を含む血液検査、心電図検査、胸部レントゲン写真、心エコー図検査、^{99m}Tc-PYPシンチグラフィを施行した。第三段階として、各種検査によりATTRwt-CAが強く疑われた患者において、生検によるアミロイドーシスの確定診断を行った。

ATTRwt-CAの診断は、(1) ^{99m}Tc-PYPシンチグラフィの取り込みが陽性であり、心エコー検査の基準をみたく、一つ以上の臓器における生検によりトランスサイレチン (TTR) が証明されること、もしくは(2) 心内膜生検によりTTRの沈着が証明された場合のいずれかに加え、遺伝子検査によるTTR変異の欠如、および/または遺伝性トランスサイレチンアミロイドーシスを示す明らかな徴候と家族歴が無いことにより確定した。

統計解析はすべてのデータはShapiro-Wilk検定を用いて正規性を評価した。カテゴリー変数は数値 (パーセンテージ) で表し、連続変数は平均値±標準偏差 (正規分布変数) または四分位範囲 (IQR) 付き中央値 (非正規分布変数) で示した。統計解析は、IBM SPSS statistics version 21.0 (IBM Corp.) を使用した。

【結果】

第一段階では合計1,141例について評価した。年齢中央値は77歳 (IQR, 73 - 81歳) で、454人 (39.8%) が男性であった。hs-cTnT値の中央値は0.010ng/mL (IQR, 0.007 - 0.015 ng/mL) であった。hs-cTnT値の上昇 (≥ 0.03 ng/mL) は、1,141例中55例 (4.8%) に認められた。

hs-cTnT高値患者は、第二段階の評価として高知大学医学部附属病院にて追加精査施行した。55例の内、22例 (40%) は遠方である事等を理由とし精密検査を希望しなかった。最終的に33例 (年齢中央値81歳、IQR 76-85歳、男性51.5%) が第二段階の評価を受けた。第一段階と第二段階において、いずれもhs-cTnTが高値を示したのは22例 (66.7%) であった。第二段階の精査を受けた33例の心エコー図検査結果として、LVEF中央値は61%で、左室肥大の所見は5例 (15.2%) に認められた。心アミロイドーシスに特徴的とされるapical sparing patternは2例 (6%) に認められた。

^{99m}Tc-PYPシンチグラフィでは、グレード3 (陽性) の取り込みを1例、グレード1 (ボーダーライン) の取り込みを1例に認められた。残りの31例はグレード0であり、^{99m}Tc-PYPシンチグラフィでは陰性と判断した。以上の結果から、^{99m}Tc-PYPシンチグラフィでグレード3の集積を認めた1例 (患者#1)、^{99m}Tc-PYPシンチグラフィはグレード1の集積であったが、心エコー図検査やその他の検査からATTRwt-CAが疑われた1例 (患者#2)、合計2例が第三段階に進んだ。

第三段階において、患者#1は腹壁脂肪生検によりTTRが検出された。明らかな家族歴も認めず、臨床的にATTRwt-CAと診断した。患者#2については心内膜生検を行い、心筋からTTRの検出を認めた。遺伝子検査においてもTTR遺伝子変異は認めず、ATTRwt-CAと診断した。いずれの患者も、これまでにATTRwt-CAが疑われていない患者であり、心不全入院を来す前にATTRwt-CAが診断された。

【考察】

本研究により、hs-cTnTが地域の外来診療において未診断のATTRwt-CA患者をスクリーニングするための有用なツールである可能性が示された。Hs-cTnT測定は設備や特殊な技術を必用としない点で、特にプライマリ・ケアにおいて有意義である。また、本研究におけるATTRwt-CAの有病率は少なくとも0.18%であった。本研究において第二段階の精査を行えていない患者が存在し、この事が有病率推定の限界となっている。

【結論】

hs-cTnTは、地域の外来診療において未診断のATTRwt-CA患者をスクリーニングするための有用なツールである可能性がある。

以上のように、本論文は未診断の野生型トランスサイレチン心アミロイドーシスのスクリーニング方法を示した初めての報告であり、疾患の早期診断、早期治療につながる可能性を示唆した、医学的に高い価値を有するものである。

よって、審査委員一同は本論文が高知大学博士（医学）に相応しい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	勝又 祥文 (大阪府)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第169号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和7年3月3日
学位論文題目	Impact of Protein Intake after Intensive Care Unit on Discharge Destination for Critically Ill Patients: A Single-Center Prospective Observational Study (集中治療後のタンパク摂取量が退院先に及ぼす影響：単施設前向き観察研究)
発表誌名	Annals of Nutrition and Metabolism 2024;80:287-293 2024年7月18日

審査委員	主査	教授	宮内	雅人
	副査	教授	北岡	裕章
	副査	教授	齊藤	源頭

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学 位 論 文 要 旨

論文題目	氏名 勝又 祥文
<p>(論文要旨)</p> <p>背景： 集中治療の進歩により重症患者の死亡率は低下してきた一方で、集中治療後にリハビリテーションや介護を目的に他の医療施設への転院が必要となる患者の割合は年々増加している。その要因に集中治療室獲得性筋力低下(ICU-acquired weakness: ICU-AW)の関与が考えられている。ICU 滞在中の栄養療法やリハビリテーションはICU-AW の重要な予防・治療方法と考えられているが、確立された方法は少なく、特に、ICU 退室後の一般病棟での栄養療法については研究されていない。そこで、ICU を退室した重症患者の入院期間中の栄養療法の現状を明らかにするとともに、退院先に影響を与えるかを単施設前向き観察研究で検討した。</p> <p>方法： 倫理委員会の承認後に研究を実施した。2020年12月から2023年3月の期間に72時間以上ICUに滞在した成人患者を対象とした。ICU入室中、ICU退室翌日・7日後・14日後の摂取エネルギー、タンパク量などのデータを収集した。主要評価項目は退院先とし、自宅退院群(A群)と転院・施設入所群(B群)の2群に分けた。退院先に影響を及ぼす因子として、目標タンパク摂取量の達成などを因子として事前に設定し、多変量解析で検討した。目標タンパク摂取量をICU滞在中は0.8g/kg/日、一般病棟では1.0g/kg/日と設定した。P値0.05未満を統計学的有意差ありとした。</p> <p>結果： 183人を解析対象として、A群134人、B群49人であった。ICU退室7日後、14日後の摂取エネルギー、タンパク量は15-20kcal/kg/日、0.8-1.0g/kg/日程度で両群に有</p>	<p>Impact of Protein Intake after Intensive Care Unit on Discharge Destination for Critically Ill Patients: A Single-Center Prospective Observational Study</p> <p>(集中治療後のタンパク摂取量が退院先に及ぼす影響： 単施設前向き観察研究)</p>

意差はなかった。A 群では一般病棟での目標タンパク量を達成した患者の割合が有意に高かった(60% vs 40%: $p=0.02$)。

多変量解析の結果、年齢、重症度スコア、リハビリテーション開始までの時間とともに、ICU 退室 7 日後・14 日後における目標タンパク摂取量の達成が自宅退院の独立した因子であった(オッズ比 2.2, 95%信頼区間 1.1-4.7, $p=0.03$)。

考察：本研究は ICU 退室後の重症患者の栄養療法の現状を明らかにし、一般病棟における栄養療法と身体機能予後との関連を検討するために、さらなる研究の必要性を示した。

ICU における栄養療法は、少量から開始し徐々に増加することが推奨されており、本研究でも、ICU でのエネルギー・タンパク質摂取量は 6.2kcal/kg/日、0.3g/kg/日と推奨に一致した管理であった。一方、ICU 退室後の栄養療法に関する推奨はない。日本では重症疾患発症 1 週間後における必要タンパク量は 1.0g/kg/日とされている。また、日本人高齢者の標準タンパク摂取量が 1.0g/kg/日であり、本研究においても一般病棟でのタンパク摂取目標量を 1.0g/kg/日とした。また、急性期のタンパク摂取量のわずかな違いが筋肉量や長期的な身体機能予後に影響するという報告ある一方で、タンパク摂取量と筋肉量の変化との間に関連がなかったとする報告がある。本研究でも退院時には退院先に関わらず 10-13%の筋肉厚の減少を認めており、タンパク質摂取量が身体機能に与える影響が、急性期とその以降で異なる可能性や筋肉量が退院先の予測には適さない可能性がある。

本研究は単施設観察研究であり、退院先は担当医によって最終決定されるため、退院先との関連について明確な結論は出すことができない。また、栄養摂取には消化管機能が影響するが、本研究では評価できていない。さらに、入院前の栄養状態や身体機能を十分に評価できていないため、栄養療法が元々の患者の状態よりも重要であるかは不明である。従って、本研究の結果の検証と一般病棟での至適栄養投与量決定のためには多施設前向き観察研究やランダム化比較試験を要する。

結語：本研究の多変量解析の結果から、重症患者に対する ICU 退室後の栄養療法が退院先に影響を与える因子であることが示唆された。一般病棟での栄養療法と退院先との関係を明らかにするには、さらなる研究が必要である。

論文審査の結果の要旨

	氏名	勝又 祥文
審査委員	主査氏名	宮内 雅人 
	副査氏名	北岡 裕幸 
	副査氏名	藤原 源顕 

題目 Impact of Protein Intake after Intensive Care Unit on Discharge Destination for Critically Ill Patients: A Single-Center Prospective Observational Study
(集中治療後のタンパク摂取量が退院先に及ぼす影響：単施設前向き観察研究)

著者 Yoshifumi Katsumata, Tomoaki Yatabe, Hajime Kuroiwa, Hideki Iwata, Shota Oda, Takashi Kawano

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Annals of Nutrition and Metabolism 2024;80:287-293
2024年7月18日

要 旨

【背景・目的】

集中治療の進歩により重症患者の死亡率は低下してきた一方で、集中治療後のリハビリテーションや介護を目的に他の医療機関への転院が必要となる患者の割合は年々増加している。その要因に集中治療室獲得筋力低下(ICU-acquired weakness:ICU-AW)の関与が考えられている。ICU滞在中の栄養療法やリハビリテーションはICU-AWの重要な予防・治療方法と考えられているが、確立された方法は少なく、特に、ICU退室後の一般病棟での栄養療法については研究されていない。そこでICUを退室した重症患者の入院期間中の栄養療法の現状を明らかにするとともに、退院先に影響を与えるかを単施設前向き観察研究で検討した

【方法】

倫理委員会の承認後に研究を実施した。2020年12月から2023年3月の期間に72時間以上ICUに滞在した成人患者を対象とした。ICU入室中、ICU退室翌日・7日後・14日後の摂取エネルギー、タンパク量などのデータを収集した。主要評価項目は退院先とし、自宅退院群(A群)と転院・施設入所群(B群)の2群に分けた。退院先に影響を及ぼす因子として、目標タンパク摂取量の達成などを因子として事前に設定し、多変量解析で検討した。目標タンパク質摂取量をICU滞在中は0.8g/kg/日、一般病棟では1.0g/kg/日と設定した。P値0.05未満を統計学的有意差ありとした。

【結果・考察】

183人を解析対象として、A群134人、B群49人であった。ICU退室7日後、14日後の摂取エネルギー、タンパク量は15-20kcal/kg/日、0.8-1.0g/kg/日程度で両群に有意差はなかった。A群では一般病棟での目標タンパク量を達成した患者の割合が有意に高かった(60%vs40%:p=0.02)

多変量解析の結果、年齢、重症度スコア、リハビリテーション開始までの時間とともに、ICU退室7日後・14日後における目標タンパク摂取量の達成が自宅退院の独立した因子であった(オッズ比2.2, 信頼区間1.1-4.7, p=0.03)

本研究はICU退室後の重症患者の栄養療法の現状をあきらかにし、一般病棟における栄養療法と身体機能予後との関連を検討するために、さらなる研究の必要性を示した。

ICUにおける栄養療法は、少量から開始し、徐々に増加することが推奨されており、本研究でも、ICUでのエネルギー・タンパク質摂取量は6.2kcal/kg/日、0.3g/kg/日と推奨に一致した管理であった。一方、ICU退室後の栄養療法に関する推奨はない。日本では重症疾患発症1週間後における必要タンパク量は1.0g/kg/日とされている。また、日本人高齢者の標準タンパク摂取量が1.0g/kg/日であり、本研究においても一般病棟でのタンパク摂取目標量を1.0g/kg/日とした。また急性期のタンパク摂取量のわずかな違いが筋肉量や長期的な身体機能予後に影響をするという報告がある一方で、タンパク摂取量と筋肉量との間に関連がなかったとする報告もある。本研究でも退院時には退院先に関わらず10-13%の筋肉厚の減少を認めており、タンパク摂取量が身体機能に与える影響が、急性期とそれ以降で異なる可能性や筋肉量が退院先の予測に適さない可能性がある。

本研究は単施設観察研究であり、退院先は担当医によって最終決定されるため、退院先との関連について明確な結論は出すことはできない。また栄養摂取には消化管機能が影響するが、本研究では評価できていない。さらに、入院前の栄養状態や身体機能を十分に評価できていないため、栄養療法が元々の患者の状態よりも重要であるかは不明である。従って、本研究の結果の検証と一般病棟での至適栄養投与量決定のためには多施設前向き観察研究やランダム化比較試験を要する。

【結論】

本研究の多変量解析の結果から、重症患者に対するICU退室後の栄養療法が退院先に影響を与える因子であることが示唆された。一般病棟での栄養療法と退院先との関連を明らかにするには、さらなる研究が必要である。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。集中治療の栄養管理は、生命予後、ICU-AW予防に影響を及ぼす重要な治療法の一つである。本論文はICU退室後の栄養療法も重要であることを示した初めての論文であり、今後の集中治療分野での栄養療法に影響を与える貴重な論文である。以上の内容をふまえ、審査委員一同は本論文が高知大学博士(医学)に相応しい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	中越 菜月 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第170号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和7年3月3日
学位論文題目	The impact of preoperative stress on age-related cognitive dysfunction after abdominal surgery: a study using a rat model (術前ストレスが開腹手術後の加齢に伴う認知機能障害に与える影響: ラットモデルを用いた研究)
発表誌名	BMC Research Notes 17(1): 369 2024年 12月 19日

審査委員	主査	教授	齊藤	源頭
	副査	教授	數井	裕光
	副査	教授	松下	拓也

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

	氏名	中越 菜月
論文題目	The impact of preoperative stress on age-related cognitive dysfunction after abdominal surgery: a study using a rat model (術前ストレスが開腹手術後の加齢に伴う認知機能障害に与える影響: ラットモデルを用いた研究)	
<p>(論文要旨)</p> <p>背景: 術後せん妄 (Postoperative Delirium, POD) は、手術後に生じる一過性の意識障害であり、精神的混乱や認知機能障害を特徴とする病態である。POD は通常短期間で改善するが、特に高齢患者においては術後の回復を遅延させる他、入院期間の延長や長期的な認知機能障害のリスクを増大させる可能性がある。POD の重要な原因の一つとして、ミクログリアの活性化とサイトカイン放出によって引き起こされる脳内神経炎症が報告されている。しかし、現在では POD の特異的な治療法は存在せず、予防的介入の重要性が強調されている。本研究では、術前ストレスが術後の認知機能障害と脳内神経炎症に与える影響に着目し、術前ストレス管理の重要性を明らかにすることを目的とした。</p> <p>方法: 若齢 (2~4 か月齢) と高齢 (17~19 か月齢) の Wistar 系雄性ラットを用いた。術前拘束ストレス (Preoperative Restraint Stress, PRS) は、ラットをプラスチック製の拘束装置に入れ、1 日 2 時間、3 日連続で負荷した。各ラットを、①非 PRS/非手術群、②PRS/非手術群、③非 PRS/手術群、④PRS/手術群、の 4 群に振り分け、それぞれ n=8 とした。開腹手術モデルとして、イソフルラン全身麻酔下に 2 cm の上腹部正中切開、小腸の機械刺激を施行し閉創した。術後 2 日目及び 28 日目に痕跡恐怖条件付け試験を行い、ラットのすくみ行動の割合により認知機能を評価した。評価後に海馬および内側前頭前皮質 (mPFC) を摘出し、炎症性サイトカインである TNF-α、IL-1β の濃度を ELISA 法で測定した。さらに、術後 28 日目には、海馬からミクログリアを単離し、リポ多糖 (LPS) に対する TNF-α 放出応答の反応性を検討した。</p> <p>結果: 術後 2 日目の痕跡恐怖条件付け試験では、PRS を受けた高齢ラットは、痕跡記憶・文脈記憶試験ともにすくみ行動が有意に低下した。一方、若齢ラットでは、PRS の有無により痕跡記憶・文脈記憶試験のすくみ行動に有意な差はなかった。術後 28 日目では、PRS を受けた高齢ラットは文脈記憶試験のすくみ行動が有意に低下したが、若齢ラットではどの群間においても有意な差は認めなかった。また、炎症性サイトカイン濃度の測定では、術後 2 日目において、PRS を受けた高齢ラットの海馬および mPFC 内の TNF-α、IL-1β 濃度が有意に高かった。さらに術後 28 日目においても、PRS を受けた高齢ラットでは、海馬内の TNF-α、IL-1β 濃度が有意に高い状態が持続していた。一方で、若齢ラットでは、術後 28 日目の脳内炎症性サイトカイン濃度はどの群間においても有意な差は認めなかった。術後 28 日目に単離したミクログリアの炎症応答は、PRS を受けた高齢ラットのミクログリアが、LPS に対し著しく高い TNF-α 放出を示した。若齢ラットでは、PRS の影響は認めなかった。</p> <p>考察: 本研究は、術前ストレスが高齢ラットにおいて、術後認知機能障害および脳内神経炎症を悪化させ</p>		

ることを明らかにした。特に、術前ストレスは、高齢ラットのミクログリアに免疫記憶を形成させ、これが長期的に過剰な炎症応答を引き起こす可能性が示された。一方で、若齢ラットでは術前ストレスが認知機能や神経炎症に与える影響は認めなかった。以上より、術前ストレス管理が、高齢患者における術後認知機能障害の予防において極めて重要であると考えられる。具体的には、心理的カウンセリングやリラクゼーション、ストレス軽減のための情報提供など、術前のストレスを軽減するための介入が有効である可能性がある。臨床応用には更なる研究が必要であるが、高齢患者の術前ストレスを正確に評価する方法を確立し、予防的介入を早期に実施することが、術後せん妄や認知機能障害の発生を防ぐことができる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

	氏名	中越 菜月
審査委員	主査氏名	齊藤 源頭 
	副査氏名	數井 裕光 
	副査氏名	松下 拓也 

題目 The impact of preoperative stress on age-related cognitive dysfunction after abdominal surgery: a study using a rat model
(術前ストレスが開腹手術後の加齢に伴う認知機能障害に与える影響: ラットモデルを用いた研究)

著者 Natsuki Nakagoshi, Fabricio M Locatelli, Sonoe Kitamura, Seiji Hirota and Takashi Kawano

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
BMC Research Notes 17(1): 369
2024年 12月 19日

要 旨

【背景・目的】

術後せん妄 (POD) は、高齢者において認知機能障害のリスクを高め、術後の回復を遅延させる重大な合併症である。その発症にはミクログリアの活性化を伴う神経炎症が深く関与しているが、現在のところ有効な治療法は確立されていない。近年、術前ストレスが神経炎症を増悪させる可能性が指摘されているものの、その具体的なメカニズムや長期的な影響については未解明な点が多い。本研究では、術前ストレスが術後の神経炎症および認知機能障害に及ぼす影響を加齢の観点から検討し、その基盤となるミクログリアの反応性変化を明らかにすることを目的とした。

【方法】

2~4 か月齢の若齢ラットおよび17~19 か月齢の高齢ラットを用い、術前ストレスの有無と腹部手術の有無によって4群に分類した。術前ストレス群には、手術前に3日間にわたり1日2時間の拘束ストレスを課し、その後、腹部手術または偽手術を実施した。術後の認知機能はトレース恐怖条件付け試験を用いて術後2日目および28日目に評価した。加えて、海馬および内側前頭前野における炎症性サイトカイン (TNF- α 、IL-1 β) の発現を測定し、さらに ex vivo 解析により海馬ミクログリアの炎症反応を評価した。

【結果・考察】

若齢ラットに比して高齢ラットでは術前ストレスが術後の神経炎症および認知機能障害を顕著に悪化させることが明らかとなった。術後2日目には、術前ストレスを受けた高齢ラットの海馬および内側前頭前野においてTNF- α およびIL-1 β のレベルが上昇し、この影響は術後28日間持続した。一方、若齢ラットでは、術前ストレスによる神経炎症や認知機能障害の影響は認められなかった。さらに、*ex vivo* 解析では、高齢ラットの海馬ミクログリアがリポポリサッカライド刺激に対して過敏な炎症反応を示し、この過敏性は術前ストレスによってさらに増強されることが確認された。

【結論】

これらの結果は、術前のストレス管理が術後の神経炎症を軽減し、高齢患者における認知機能障害の予防に寄与する可能性を示唆している。特に、高齢者ではストレス耐性が低下していることを考慮すると、術前カウンセリングやリラクゼーション介入などの非薬理的アプローチが、PODの予防において有効な戦略となる可能性が高い。今後の研究では、これらの知見を臨床応用へと発展させるため、ヒトにおける術前ストレスの評価方法や、その管理による術後転帰の改善について検討することが求められる。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。これらの内容をふまえ、審査委員一同は本論文が高知大学博士（医学）に相応しい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	PODDER SAJIB (バングラデシュ人民共和国)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第171号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和7年3月24日
学位論文題目	Synaptic plasticity and roles of orexin in distinct domains of the olfactory tubercle (嗅結節のシナプス可塑性とドメイン特異的なオレキシンの役割)
発表誌名	Frontiers in Neural Circuits, 18巻, 1473403 (01~09) 2024年11月7日

審査委員	主査	教授	齊藤	源頭
	副査	教授	中根	裕信
	副査	教授	松下	拓也

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

	氏名	PODDER SAJIB
論文題目	Synaptic plasticity and roles of orexin in distinct domains of the olfactory tubercle (嗅結節のシナプス可塑性とドメイン特異的なオレキシンの役割)	
(論文要旨)		
<p>1. 背景・目的</p> <p>嗅覚行動は非常に可塑的である。すなわち、個体の経験に基づいて情動やモチベーションと容易に関連付けられて変化する。この情動やモチベーションによって駆動される嗅覚行動に重要な脳領域の一つとして、嗅結節 [olfactory tubercle (OT)] が挙げられる。</p> <p>OT は、嗅皮質の一領域かつ腹側線条体の一領域で、学習に基づいて匂い情報を情動やモチベーションに結び付ける働きがある。具体的には、匂い情報を誘引行動へ結び付ける前内側ドメイン (amOT)、忌避行動に結び付ける外側ドメイン (lOT) がそれぞれ存在する。しかし、学習の素過程と考えられる OT シナプスの可塑性については、未だ不明な点が多い。</p> <p>シナプス可塑性は、一般的にシナプス入力や内因性物質の影響を強く受ける。OT では近年、誘引行動と結びつく amOT には神経ペプチドの受容体が種々発現していて、食欲促進作用を持つオレキシンの受容体は特に顕著であることが分かった。</p> <p>本研究では、OT シナプスの可塑性とオレキシンの機能、すなわち (1) 可塑性の素過程と考えられるシナプス伝達の長期増強 [long-term potentiation (LTP)] が OT シナプスで生じるのか、(2) OT シナプスの LTP 誘導にオレキシンのような効果を示すのかを明らかにするため、amOT と lOT を対象としてシナプス伝達の効率の変化を電気生理学的に解析した。</p> <p>2. 方法：電気生理学実験</p> <p>OT シナプスの伝達効率を解析するため、OT シナプスで生じる興奮性シナプス後電位 [excitatory postsynaptic potential (EPSP)] を記録した。厚さ 300 μm のマウス急性脳スライス標本作製、測定用チャンバー内で人工脳脊髄液 (ACSF) を灌流しながら顕微鏡下で amOT もしくは lOT の同一層内に刺激電極 (OT へ入力する神経線維を刺激する電極) と記録電極を設置、単発のパルス波刺激を与えた時に OT シナプスで生じる EPSP の集合電位 [field EPSP (fEPSP)] を記録した。</p> <p>OT シナプスに LTP を誘導する刺激には、2 Hz バースト刺激 (100 Hz の頻度で生じる 10 発のパルス波) を 2 Hz 周期で 5 s 刺激) を使用した。オレキシン受容体のアゴニストなど種々の薬剤は、ACSF に溶解して灌流投与した。</p>		

3. 結果

3.1 fEPSP の同定

単発のパルス波刺激を与えると、刺激によるアーティファクトの後、少なくとも2つの陰性電位変化が記録された。この陰性電位変化の薬理学的特性を調べたところ、NMDA 受容体アンタゴニスト AP-5 で変化はなく、AMPA 型・カイニン酸受容体アンタゴニスト CNQX で2つ目以降の陰性電位変化が完全に消失、電位依存性 Na⁺チャンネルブロッカーのテトロドトキシンですべての陰性電位変化が消失した。このことから、1つ目の陰性電位変化は OT に入力する神経線維に発生した活動電位、2つ目の陰性電位変化は非 NMDA 受容体を介したグルタミン酸作動性シナプスの EPSP だと考えられる。これ以降の実験では、パルス波刺激から陰性電位変化発生までの潜時を考え合わせ、2つ目の陰性電位変化をパルス波刺激による単シナプス性 fEPSP として解析した。

3.2 LTP の誘導

OT シナプスで LTP が誘導されるかどうか、すなわち fEPSP の増強が持続するかどうかを調べた。2 Hz バースト刺激1回の場合には fEPSP の増強が一過性であったのに対して、刺激3回の場合にはその増強が150分間持続した。すなわち、2 Hz バースト刺激3回で LTP が誘導された。以上の結果は amOT と 10T の両方で見られた。

3.3 オレキシンの効果

LTP に対するオレキシンの効果を調べた。amOT では、オレキシンの一種であるオレキシン A を投与すると、その150分後の fEPSP は有意に増強、すなわち LTP が誘導された。また、3.2 で使用した 2 Hz バースト刺激1回にオレキシン A の灌流投与を組み合わせると、fEPSP の増強が150分間持続、すなわち LTP が誘導された。これら2つの LTP はともに、オレキシン受容体1型アンタゴニスト SB334867 によって阻害された。一方、10T では、オレキシン A の効果は見られなかった。

4. 考察

4.1 OT シナプスの可塑性

バースト刺激の観察から、OT シナプスの伝達効率は入力依存的に持続的に増強、すなわち可塑的に変化すると考えられる。この結果は、OT シナプスの可塑的変化が、匂い情報を情動やモチベーションに結び付ける学習の素過程であるとの仮説を支持するものである。

4.2 amOT 特異的なオレキシンの LTP 促進作用

オレキシンによる LTP 促進作用は、amOT で見られ、10T で見られなかった。オレキシンの amOT 特異的な作用は、OT の役割のうち、報酬との連合学習に基づいてその匂いを誘引行動へ結びつける amOT の活性化へ寄与している可能性が考えられる。

5. 結論

本研究では、OT シナプスの可塑性において、グルタミン酸作動性入力と神経調節因子の寄与を明らかにした。これら2つの因子の組み合わせは、学習に基づいて匂い情報を情動やモチベーションに結び付ける働きを持つ OT において、ドメイン特異的なシナプス可塑性の促進、学習依存的な匂いの価値の獲得に重要な役割を果たしていると考えられる。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	PODDER SAJIB
審 査 委 員	主 査 氏 名 齊藤 源頭	
	副 査 氏 名 中根 裕信	
	副 査 氏 名 松下 拓也	

題 目 Synaptic plasticity and roles of orexin in distinct domains of the olfactory tubercle
 (嗅結節のシナプス可塑性とドメイン特異的なオレキシンの役割)

著 者 Sajib Podder, Yoshihiro Murata, Mutsuo Taniguchi, Shogo Shimizu and Masahiro Yamaguchi

発表誌名、巻 (号)、ページ (~), 年 月
 Frontiers in Neural Circuits, 18 巻, 1473403 (01~09)
 2024 年 11 月 7 日

要 旨

【背景・目的】

嗅覚行動は非常に可塑的である。すなわち、個体の経験に基づいて情動やモチベーションと容易に関連付けられて変化する。この情動やモチベーションによって駆動される嗅覚行動に重要な脳領域の一つとして、嗅結節 [olfactory tubercle OT)] が挙げられる。OTは、嗅皮質の一領域かつ腹側線条体の一領域で、学習に基づいて匂い情報を情動やモチベーションに結び付ける働きがある。具体的には、匂い情報を誘引行動へ結び付ける前内側ドメイン (amOT) 、忌避行動に結び付ける外側ドメイン (lOT) がそれぞれ存在する。しかし、学習の素過程と考えられる OTシナプスの可塑性については、未だ不明な点が多い。

シナプス可塑性は、一般的にシナプス入力や内因性物質の影響を強く受ける。OTでは近年、誘引行動と結びつくamOT には神経ペプチドの受容体が種々発現していて、食欲促進作用を持つオレキシンの受容体は特に顕著であることが分かった。

本研究では、OTシナプスの可塑性とオレキシンの機能、すなわち(可塑性の素過程と考えられるシナプス伝達の長期増強 [long term potentiation (LTP)] が OTシナプスで生じるのか、(OTシナプスのLTP誘導にオレキシンのような 効果を示すのかを明らかにするため、amOT とlOTを対象としてシナプス伝達の効率の変化を電気生理学的に解析した。

【方法】

OTシナプスの伝達効率を解析するため、OTシナプスで生じる興奮性シナプス後電位 [excitatory postsynaptic potential EPSP] を記録した。厚さ300 μm のマウス急性脳スライス標本を作製し、測定用チャンバー内で人工脳脊髄液 (ACSF) を灌流しながら顕微鏡下で amOT もしくは 1OT の同一層内に刺激電極 (OTへ入力する神経線維を刺激する電極) と記録電極を設置し、単発のパルス波刺激を与えた時にOTシナプスで生じるEPSPの集合電位 [field EPSP fEPSP] を記録した。OTシナプスにLTPを誘導する刺激には、2 Hz バースト刺激 (「100Hz の頻度で生じる10発のパルス波」を2Hz周期で5s 刺激) を使用した。オレキシン受容体のアゴニストなど種々の薬剤は、ACSFに溶解して灌流投与した。

【結果】

1. fEPSPの同定

単発のパルス波刺激を与えると、刺激によるアーティファクトの後、少なくとも2つの陰性電位変化が記録された。この陰性電位変化の薬理学的特性を調べたところ、NMDA受容体アンタゴニストAP-5で変化はなく、AMPA型・カイニン酸受容体アンタゴニストCNQXで2目以降の陰性電位変化が完全に消失、電位依存性 Na^+ チャンネルブロッカーのテトロドトキシンですべての陰性電位変化が消失した。このことから、1つ目の陰性電位変化はOTに入力する神経線維に発生した活動電位、2つ目の陰性電位変化は非NMDA受容体を介したグルタミン酸作動性シナプスのEPSPだと考えられる。これ以降の実験では、パルス波刺激から陰性電位変化発生までの潜時を考え合わせ、2つ目の陰性電位変化をパルス波刺激による単シナプス性fEPSPとして解析した。

2. LTPの誘導

OTシナプスでLTPが誘導されるかどうか、すなわちfEPSPの増強が持続するかどうかを調べた。2Hzバースト刺激1回の場合はfEPSPの増強が一過性であったのに対して、刺激3回の場合はその増強が150分間持続した。すなわち、2Hzバースト刺激3回でLTPが誘導された。以上の結果は amOT と 1OTの両方で見られた。

3. オレキシンの効果

LTPに対するオレキシンの効果を調べた。amOTでは、オレキシンの一種であるオレキシンAを投与すると、その150分後のfEPSPは有意に増強、すなわちLTPが誘導された。また、上記で使用した2Hzバースト刺激1回にオレキシンAの灌流投与を組み合わせると、fEPSPの増強が150分間持続、すなわちLTPが誘導された。これら2つのLTPはともに、オレキシン受容体1型アンタゴニストSB334867によって阻害された。一方、1OTではオレキシンAの効果は見られなかった。

【考察】

バースト刺激の観察から、OTシナプスの伝達効率は入力依存的に持続的に増強、すなわち可塑的に変化すると考えられる。この結果は、OTシナプスの可塑的变化が、匂い情報を情動やモチベーションに結び付ける学習の素過程であるとの仮説を支持するものである。オレキシンによるLTP促進作用は、amOTで見られ、1OTで見られなかった。オレキシンの amOT特異的な作用は、OTの役割のうち報酬との連合学習に基づいてその匂いを誘引行動へ結びつける amOTの活性化へ寄与している可能性が考えられた。

【結論】

本研究では、OTシナプスの可塑性において、グルタミン酸作動性入力と神経調節因子の寄与を明らかにした。これら2つの因子の組み合わせは、学習に基づいて匂い情報を情動やモチベーションに結び付ける働きを持つOTにおいて、ドメイン特異的なシナプス可塑性の促進、学習依存的な匂いの価値の獲得に重要な役割を果たしていると考えられる。

以上のように、本論文は OT シナプスの可塑性において、グルタミン酸作動性入力と神経調節因子の寄与を明らかにした。更にこれら 2 つの因子の組み合わせは、学習に基づいて匂い情報を情動やモチベーションに結び付ける働きを持つ OT において、ドメイン特異的なシナプス可塑性の促進、学習依存的な匂いの価値の獲得に重要な役割を果たしている事を示した。以上を総合的に判断し、審査員一同は申請者の学力および研究遂行能力が高知大学博士（医学）の学位を授与されるに相応するものと判断した。

氏名(本籍)	刑部 有紀 (東京都)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第172号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和7年3月24日
学位論文題目	Clinical significance of amphiregulin in patients with chronic kidney disease (慢性腎臓病患者におけるアンフィレギュリンの臨床的意義について)
発表誌名	Clinical and Experimental Nephrology、28巻、421～430 2024年2月25日

審査委員	主査	教授	齊藤	源顕
	副査	教授	井上	啓史
	副査	教授	北岡	裕章

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

論文題目	氏名 刑部 有紀 Clinical significance of amphiregulin in patients with chronic kidney disease (慢性腎臓病患者におけるアンフィレギュリンの臨床的意義について)
(論文要旨) 【背景】 慢性腎臓病 (CKD) は罹患率の高い疾患であり、心血管疾患のリスクや死亡率とも関連している。CKD を適切に評価し、進行抑制のための治療介入を行うことは临床上重要な課題となっている。CKD は様々な疾患や病態に伴って生じるが、その原因に関わらず、病理学的には進行性のネフロン喪失と尿細管間質の線維化を特徴とする。尿細管間質の線維化は、末期腎不全への進行と強く関連する因子であるが、腎機能の評価として臨床的に用いられる糸球体ろ過率 (GFR) やアルブミン尿との相関は弱い。したがって、尿細管間質線維化を評価する臨床上有用なバイオマーカーの開発、研究は重要な課題となっている。 Amphiregulin (AREG) は、上皮成長因子受容体 (EGFR) のリガンドであり、組織修復、炎症、免疫に関わる役割を持つ。組織の線維化は、膠原線維をはじめとする細胞外基質が沈着することで生じ、細胞外基質は主に筋線維芽細胞により産生されるが、これまでの研究で、AREG が線維化の過程における筋線維芽細胞の増殖に関わる重要な因子であることが示されている。さらに、急性腎障害 (AKI) や CKD の後に生じる組織線維化において、近位尿細管細胞における EGFR が持続的に活性化することが動物実験で報告されており、EGFR リガンドのうち AREG が線維化を誘導する主要な因子である可能性が示されている。また、AKI、CKD 患者の尿中で活性型の AREG である可溶性 AREG 濃度が上昇することが示されている。しかし、血清可溶性 AREG 濃度と腎機能や腎予後との関連については不明である。 本研究では、CKD 患者における血清可溶性 AREG 濃度と腎機能、その他の臨床項目との関連を解析し、血清 AREG 濃度が腎機能、腎予後予測のバイオマーカーとなりうるかについて検討を行った。 【方法】 2010年11月から2020年1月までの当院腎臓内科外来に通院中のCKD患者418名を対象とした。除外基準を、腎移植歴、悪性腫瘍の加療歴、腎後性腎不全、明らかな自己免疫性疾患とした。ELISA法を用いて血清可溶性AREG濃度を測定し、血清Cr、その他の臨床項目も同時に測定した。血清Crをはじめとする臨床項目については3年後まで測定を行った。 また、CKD患者の腎生検検体6例に対して、streptavidin-biotin法による抗AREG抗体を用いた免疫組織染色を施行した。 【結果】 血清可溶性AREG濃度は血清Crと有意な正の相関を認め ($p < 0.0001$)、eGFRと有意な負の相関を認めた ($p < 0.0001$)。また、尿蛋白Cre補正值 ($p = 0.002$)、尿中 $\beta 2$ -MG ($p < 0.0001$)と有意な正の相関を認めた。さらに、血清可溶性AREG濃度は2年後、3年後の腎機能変化率 (ΔCr) と有	

意な相関を認めた (2年後 : $p < 0.0001$ 、3年後 : $p < 0.048$)。

基礎疾患との関連については、血清可溶性 AREG 濃度は糖尿病性腎症、高血圧症の患者で有意に高値であり、ACE 阻害薬や ARB による治療歴との相関は認めなかった。血清可溶性 AREG 濃度に対して、血清 Cr、Hb、Alb、UA、年齢、高血圧の有無、糖尿病性腎症の有無を変数とした重回帰分析を行い、血清 Alb、Cr、Hb と有意な相関を認めた。

また、腎生検検体での AREG 発現において、腎障害の進行した症例では AREG の尿細管での発現を強く認め、腎機能が保たれた症例では弱く認める結果だった。また、血清可溶性 AREG 濃度は、糖尿病性腎症、高血圧症の患者で有意に高値であった。

【考察】

本研究で、血清可溶性 AREG 濃度が腎機能と相関し、腎機能が低下するに従い上昇することが示された。その理由として、①腎排泄の低下、②尿細管での産生増加、の機序が考えられるが、腎生検検体での AREG 発現において、腎障害の進行した症例では尿細管での発現を強く認め、腎機能が保たれた症例では弱く認めたことから、腎障害の進行した患者では尿細管での AREG 産生が増加していることが示唆された。血清可溶性 AREG 濃度は、腎障害後の尿細管での産生増加などを反映して、CKD の新規バイオマーカーとなる可能性が示唆された。

また、血清可溶性 AREG 濃度が、2年後、3年後の腎機能低下率 (ΔCr) と有意に相関することを示した。AREG の腎線維化における役割を考慮すると、血清可溶性 AREG 濃度が腎線維化の程度を反映していることが推測される。

血清可溶性 AREG 濃度が、高血圧症、糖尿病性腎症を有する患者で有意に高いことを示した。血管平滑筋、血管内皮細胞における血圧制御機構に EGFR 経路が関連していることは過去の文献で示されており、また、糖尿病性腎症の動物モデルにおける、高血糖条件下の培養腎細胞において、AREG の発現が上昇することが報告されている。今回の結果はこれらの機序を反映している可能性がある。

【結論】

本研究では、血清可溶性 AREG 濃度が CKD 患者における腎機能と有意に相関することを初めて示した。血清可溶性 AREG 濃度は、CKD 患者における腎組織の線維化を反映していることが推測される。また、血清可溶性 AREG 濃度は、2年後、3年後の腎機能低下率 (ΔCr) と有意に相関することを示した。血清可溶性 AREG 濃度は、腎予後予測のためのバイオマーカーとなる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	刑部 有紀
審 査 委 員	主 査 氏 名 齊藤 源頭 副 査 氏 名 井上 啓史 副 査 氏 名 北岡 裕章	  

題 目 Clinical significance of amphiregulin in patients with chronic kidney disease
(慢性腎臓病患者におけるアンフィレギュリンの臨床的意義について)

著 者 Yuki Osakabe, Yoshinori Taniguchi, Kazu Hamada Ode, Yoshiko Shimamura,
Satoshi Inotani, Hirofumi Nishikawa, Tatsuki Matsumoto, Taro Horino,
Shimpei Fujimoto, Yoshio Terada

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
Clinical and Experimental Nephrology、28 巻、421~430
2024 年 2 月 25 日

要 旨

【背景】

慢性腎臓病 (CKD) は罹患率の高い疾患であり、心血管疾患のリスクや死亡率とも関連している。CKD を適切に評価し、進行抑制のための治療介入を行うことは临床上重要な課題となっている。CKD は様々な疾患や病態に伴って生じるが、その原因に関わらず、病理学的には進行性のネフロン喪失と尿細管間質の線維化を特徴とする。尿細管間質の線維化は、末期腎不全への進行と強く関連する因子であるが、腎機能の評価として臨床的に用いられる糸球体ろ過率 (GFR) やアルブミン尿との相関は弱い。したがって、尿細管間質線維化を評価する臨床上有用なバイオマーカーの開発、研究は重要な課題となっている。

Amphiregulin (AREG) は、上皮成長因子受容体 (EGFR) のリガンドであり、組織修復、炎症、免疫に関わる役割を持つ。組織の線維化は、膠原線維をはじめとする細胞外基質が沈着することで生じ、細胞外基質は主に筋線維芽細胞により産生されるが、これまでの研究で、AREG が線維化の過程における筋線維芽細胞の増殖に関わる重要な因子であることが示されている。さらに、急性腎障害 (AKI) や CKD の後に生じる組織線維化において、近位尿細管細胞における EGFR が持続的に活性化することがわかっており、EGFR リガンドのうち AREG が線維化を誘導する主要な因子である可能性が示されている。また、AKI、CKD 患者の尿中で活性型の AREG である可溶性 AREG 濃度が上昇することが示されている。しかし、血清可溶性 AREG 濃度と腎機能や腎予後との関連については不明である。

本研究では、CKD 患者における血清可溶性 AREG 濃度と腎機能、その他の臨床項目との関連を解析し、血清 AREG 濃度が腎機能、腎予後予測のバイオマーカーとなりうるかについて検討を行った。

【方法】

2010年11月から2020年1月までの当院腎臓内科外来に通院中のCKD患者418名を対象とした。除外基準を、腎移植歴、悪性腫瘍の加療歴、腎後性腎不全、明らかな自己免疫性疾患とした。ELISA法を用いて血清可溶性AREG濃度を測定し、血清Cr、その他の臨床項目も同時に測定した。血清Crをはじめとする臨床項目については3年後まで測定を行った。また、CKD患者の腎生検検体6例に対して、streptavidin- biotin法による抗AREG抗体を用いた免疫組織染色を施行した。

【結果】

血清可溶性AREG濃度は血清Crと有意な正の相関を認め ($p < 0.0001$)、eGFRと有意な負の相関を認めた ($p < 0.0001$)。また、尿蛋白Cre補正值 ($p = 0.002$)、尿中 $\beta 2$ -MG ($p < 0.0001$)と有意な正の相関を認めた。さらに、血清可溶性AREG濃度は2年後、3年後の腎機能変化率 (ΔCr)と有意な相関を認めた (2年後： $p < 0.0001$ 、3年後： $p < 0.048$)。

基礎疾患との関連については、血清可溶性AREG濃度は糖尿病性腎症、高血圧症の患者で有意に高値であり、ACE阻害薬やARBによる治療歴との相関は認めなかった。血清可溶性AREG濃度に対して、血清Cr、Hb、Alb、UA、年齢、高血圧の有無、糖尿病性腎症の有無を変数とした重回帰分析を行い、血清Alb、Cr、Hbと有意な相関を認めた。

また、腎生検検体でのAREG発現において、腎障害の進行した症例ではAREGの尿細管での発現を強く認め、腎機能が保たれた症例では弱く認める結果だった。また、血清可溶性AREG濃度は、糖尿病性腎症、高血圧症の患者で有意に高値であった。

【考察】

本研究で、血清可溶性AREG濃度が腎機能と相関し、腎機能が低下するに従い上昇することが示された。その理由として、①腎排泄の低下、②尿細管での産生増加、の機序が考えられるが、腎生検検体でのAREG発現において、腎障害の進行した症例では尿細管での発現を強く認め、腎機能が保たれた症例では弱く認めたことから、腎障害の進行した患者では尿細管でのAREG産生が増加していることが示唆された。血清可溶性AREG濃度は、腎障害後の尿細管での産生増加などを反映して、CKDの新規バイオマーカーとなる可能性が示唆された。

また、血清可溶性AREG濃度が、2年後、3年後の腎機能低下率 (ΔCr)と有意に相関することを示した。AREGの腎線維化における役割を考慮すると、血清可溶性AREG濃度が腎線維化の程度を反映していることが推測される。

血清可溶性AREG濃度が、高血圧症、糖尿病性腎症を有する患者で有意に高いことを示した。血管平滑筋、血管内皮細胞における血圧制御機構にEGFR経路が関連していることは過去の文献で示されており、また、糖尿病性腎症の動物モデルにおける、高血糖条件下の培養腎細胞において、AREGの発現が上昇することが報告されている。今回の結果はこれらの機序を反映している可能性がある。

【結論】

本研究では、血清可溶性AREG濃度がCKD患者における腎機能と有意に相関することを初めて示した。血清可溶性AREG濃度は、CKD患者における腎組織の線維化を反映していることが推測される。また、血清可溶性AREG濃度は、2年後、3年後の腎機能低下率 (ΔCr)と有意に相関することを示した。血清可溶性AREG濃度は、腎予後予測のためのバイオマーカーとなる可能性がある。

以上のように、血清可溶性AREG濃度がCKD患者における腎機能と有意に相関するという新たな知見を示した。以上を総合的に判断し、審査員一同は申請者の学力および研究遂行能力が高知大学博士(医学)の学位を授与されるに相応するものと判断した。

氏名(本籍)	川添 哲嗣 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第173号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和7年3月24日
学位論文題目	Analysis of urinary retention caused by selective β 3-adrenoceptor agonists using the Japanese Adverse Drug Event Report Database (JADER) (薬物有害事象データベース (JADER) を用いた選択的 β 3アドレナリン受容体作動薬による尿閉の解析)
発表誌名	Die Pharmazie, 78 (5), 56-62 2023年 3月22日

審査委員	主査	教授	菅沼	成文
	副査	教授	井上	啓史
	副査	教授	畠山	豊

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

	氏名	川添哲嗣
論文題目	Analysis of urinary retention caused by selective β 3-adrenoceptor agonists using the Japanese Adverse Drug Event Report Database (JADER) (薬物有害事象データベース (JADER) を用いた 選択的 β 3アドレナリン受容体作動薬による尿閉の解析)	
(論文要旨)		
【目的】		
<p>過活動膀胱 (OAB) は、特に高齢者において、尿意切迫感、頻尿、夜間頻尿により患者の QOL を損なう慢性疾患である。抗ムスカリン薬は、OAB の治療において最も一般的に使用される第一選択薬であるが、副作用の一つである尿閉は臨床問題になることが多い。新しく開発された選択的β3-アドレナリン受容体作動薬 ($s\beta$3-アゴニスト) は、抗ムスカリン薬に比して OAB に対する有効性は同じであり、尿閉の副作用は有意に少ないことが知られているが、ランダム化比較試験や市販後調査において、頻度は低いものの尿閉発現は報告されている。しかしながら、$s\beta$3-アゴニストは外来患者への使用頻度が高いため副作用情報の報告症例数が少なく、尿閉発現に関する患者背景や他薬剤併用の影響そして尿閉発現時期については、明らかになっていない。そこで本研究では、$s\beta$3-アゴニストによる尿閉発現の特徴を明らかにするために、独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (PMDA) に自発的に報告された副作用データを集積した JADER (Japanese Adverse Drug Event Report) データベースを用い、患者背景、他薬剤併用の影響、そして発現時期について解析を行った。</p>		
【方法】		
<p>2012年4月～2020年12月に JADER に報告された医薬品の有害事象に関する症例データから、年齢・性別の情報が欠損した症例を除外した 380,604 症例を解析対象とした。有害事象と基礎疾患の定義は ICH Medical Dictionary for Regulatory Activities (MedDRA) v 24.0 を使用して、JADER データベースにリストされている有害事象と基礎疾患を抽出した。</p> <p>薬剤投与に関連する尿閉発現の評価に、報告オッズ比 (ROR : Reporting Odds Ratios) を用いた。本研究では、対象薬剤とおよび有害事象発現の有無で分けた 2×2 分割表により算出される粗報告オッズ比 (Crude ROR) 及び、ロジスティック回帰モデルにより算出される調整報告オッズ比 (Adjusted ROR) の 2 種類の ROR を用いて評価した。Adjusted ROR の算出には、有害事象報告年、性別 (男性)、年齢層、被疑薬、併用薬、基礎疾患で構成されるロジスティック回帰式を用いた。Adjusted ROR の 95% Confidence Interval (95% CI) の下限値が 1 を超えた場合を有害事象に対するシグナルが検出されたと判定した。</p> <p>有害事象の発現時期は、投与開始から有害事象発現までの日数、中央値: (day) およびワイブル形状パラメータを算出し評価した (ワイブル解析)。ワイブル解析には 2 つのパラメータ (α, β) があり、パラメータ α は 63.2% の有害事象が発現する分位点であり、発現時期の分布幅を示す。パラメータ β は分布関数の形状を表し、時間経過に伴う発現率を示す。パラメータ β の 95% CI の上限値が 1 未満の場合は早発傾向、95% CI の下限値が 1 を超える場合は遅発傾向、95% CI が 1 をまたぐ場合</p>		

は偶発傾向を示す。

本研究ではまず、JADERに報告された全症例を対象として、 $s\beta 3$ -アゴニスト（ミラベグロン及びビベグロン）と抗ムスカリン薬に多く発現する有害事象についてCrude RORを算出した。次に、尿閉に関する発現因子を解析するために、性別で層別化して、 $s\beta 3$ -アゴニストと抗ムスカリン薬の投与患者における有害事象報告年、年齢層、被疑薬、併用薬、基礎疾患のAdjusted RORを算出した。さらに、シグナルが検出された因子同士の交互作用の有無について評価した。

次に、 $s\beta 3$ -アゴニスト使用患者を性別で層別化し、尿閉発現に関する危険因子を解析するために、有害事象報告年、年齢層、併用薬、基礎疾患のAdjusted RORを算出した。さらに、前立腺肥大症を基礎疾患に持つ患者のサブグループ解析を行い、有害事象に対するシグナルが検出された因子同士の交互作用の有無について評価した。

最後に、 $s\beta 3$ -アゴニストに関連する尿閉の発現時期を調査するために、中央値: (day) およびワイブル形状パラメータ (α, β)を算出し評価した。

【結果・考察】

$s\beta 3$ -アゴニストのミラベグロンでは尿閉、高血圧、不整脈に、ビベグロンでは尿閉にシグナルが検出された。抗ムスカリン薬では尿閉、不整脈、せん妄、ドライアイ、口渇、便秘にシグナルが検出された。報告数は尿閉が最も多かった。

尿閉患者のデータを性別で層別化し、解析を行ったところ、男女ともに、尿閉発現と $s\beta 3$ -アゴニスト使用との間に有意な関連性が検出された。Adjusted ROR (95%CI) は、[男性：ミラベグロン66.8 (35.6—125)、ビベグロン276 (104—733)]、[女性：ミラベグロン125 (63.7-244)、ビベグロン88.0 (32.9—235)]であった。さらに尿閉発現に関する患者背景、既往歴そして併用薬の影響について相互の影響を解析したところ、背景として男性の前立腺肥大症の既往歴がある場合に ($p=0.022$)、また男女ともにミラベグロンと抗ムスカリン薬を併用した場合に ($p<0.001$)、尿閉発現に関する交互作用が検出された。

$s\beta 3$ -アゴニスト使用患者を性別で層別化し、解析を行ったところ、Adjusted ROR (95%CI)は前立腺肥大症の既往歴 [男性：2.43 (1.53—3.86)]および抗ムスカリン薬との併用 [男性：3.67 (1.97—6.85)、女性：2.59 (1.36—4.95)] についてシグナルが検出された。

前立腺肥大患者を基礎疾患に持つ患者のサブグループ解析においては、ミラベグロン、ビベグロン、抗ムスカリン薬にシグナルが検出された。それぞれのAdjusted ROR (95%CI)は [ミラベグロン：27.4 (19.2—39.2)、ビベグロン：191 (53.9—673)、抗ムスカリン薬：145 (107—198)]であった。また、ミラベグロンと抗ムスカリン薬を併用した場合に、尿閉発現に関する交互作用が検出された ($p<0.001$)。

$s\beta 3$ -アゴニスト使用患者における尿閉の発現時期を示すワイブル解析の結果、初回発現日数の [中央値および α, β (95%CI)]は、[男性：15日、 $\alpha=29.9, \beta=0.66$ (0.55—0.78)]、[女性：7日、 $\alpha=25.2, \beta=0.67$ (0.51—0.85)]であり、男女ともに早発傾向を示した。

以上のことから、 $s\beta 3$ -アゴニストはOABに対して有用であるが、男女ともに、抗ムスカリン薬のような尿道閉塞を誘発する薬剤を併用している場合、尿閉に繋がる可能性がある。また前立腺肥大症などのような尿道を閉塞させる器質的因子を有する患者への使用は、尿閉の強いリスク因子となると考えられる。 $s\beta 3$ -アゴニストを使用する際には、併用薬や基礎疾患を十分に考慮し、治療中の早期から安全性監視を開始すべきであると考えられる。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	川添 哲嗣
審 査 委 員	主 査 氏 名	菅沼 成文 
	副 査 氏 名	井上 啓史 
	副 査 氏 名	島山 豊 

題 目 Analysis of urinary retention caused by selective β_3 -adrenoceptor agonists using the Japanese Adverse Drug Event Report Database (JADER)
 (薬物有害事象データベース (JADER) を用いた選択的 β_3 アドレナリン受容体作動薬による尿閉の解析)

著 者 Tetsushi Kawazoe, Tomoaki Ishida, Kohei Jobu, Kei Kawada, Saburo Yoshioka, Mitsuhiro Miyamura

発表誌名、巻 (号)、ページ (~)、 年 月
 Die Pharmazie, 78 (5), 56-62
 2023年 3月 22日

要 旨

【背景・目的】

過活動膀胱 (OAB) は、特に高齢者において、尿意切迫感、頻尿、夜間頻尿により患者のQOLを損なう慢性疾患である。抗ムスカリン薬は、OABの治療において最も一般的に使用される第一選択薬であるが、副作用の一つである尿閉は临床上問題になることが多い。新しく開発された選択的 β_3 -アドレナリン受容体作動薬 (s β_3 -アゴニスト) は、抗ムスカリン薬に比してOABに対する有効性は同じであり、尿閉の副作用は有意に少ないことが知られているが、ランダム化比較試験や市販後調査において、頻度は低いものの尿閉発現は報告されている。しかしながら、s β_3 -アゴニストは外来患者への使用頻度が高いため副作用情報の報告症例数が少なく、尿閉発現に関する患者背景や他薬剤併用の影響そして尿閉発現時期については、明らかになっていない。そこで本研究では、s β_3 -アゴニストによる尿閉発現の特徴を明らかにするために、独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (PMDA) に自発的に報告された副作用データを集積したJADER (Japanese Adverse Drug Event Report) データベースを用い、患者背景、他薬剤併用の影響、そして発現時期について解析を行った。

【方法】

2012年4月～2020年12月にJADERに報告された医薬品の有害事象に関する症例データから、年齢・性別の情報が欠損した症例を除外した 380,604症例を解析対象とした。有害事象と基礎疾患の定義はICH Medical Dictionary for Regulatory Activities (MedDRA) v 24.0を使用して、JADERデータベースにリストされている有害事象と基礎疾患を抽出した。

薬剤投与に関連する尿閉発現の評価に、報告オッズ比 (ROR: Reporting Odds Ratios) を用いた。本研究では、対象薬剤とおよび有害事象発現の有無で分けた2×2分割表により算出される粗報告オッズ比 (Crude ROR) 及び、ロジスティック回帰モデルにより算出される調整報告オッズ比 (Adjusted ROR) の2種類のRORを用いて評価した。Adjusted RORの算出には、有害事象報告年、性別 (男性)、年齢層、被疑薬、併用薬、基礎疾患で構成されるロジスティック回帰式を用いた。Adjusted RORの95% Confidence Interval (95% CI) の下限値が1を超えた場合を有害事象に対するシグナルが検出されたと判定した。

有害事象の発現時期は、投与開始から有害事象発現までの日数、中央値: (day) およびワイブル形状パラメータを算出し評価した (ワイブル解析)。ワイブル解析には2つのパラメータ (α , β) があり、パラメータ α は63.2%の有害事象が発現する分位点であり、発現時期の分布幅を示す。パラメータ β は分布関数の形状を表し、時間経過に伴う発現率を示す。パラメータ β の95% CIの上限值が1未満の場合は早発傾向、95% CIの下限值が1を超える場合は遅発傾向、95% CIが1をまたぐ場合は偶発傾向を示す。

本研究ではまず、JADERに報告された全症例を対象として、sB3-アゴニスト (ミラベグロン及びビベグロン) と抗ムスカリン薬に多く発現する有害事象についてCrude RORを算出した。次に、尿閉に関する発現因子を解析するために、性別で層別化して、sB3-アゴニストと抗ムスカリン薬の投与患者における有害事象報告年、年齢層、被疑薬、併用薬、基礎疾患のAdjusted RORを算出した。さらに、シグナルが検出された因子同士の交互作用の有無について評価した。

次に、sB3-アゴニスト使用患者を性別で層別化し、尿閉発現に関する危険因子を解析するために、有害事象報告年、年齢層、併用薬、基礎疾患のAdjusted RORを算出した。さらに、前立腺肥大症を基礎疾患に持つ患者のサブグループ解析を行い、有害事象に対するシグナルが検出された因子同士の交互作用の有無について評価した。

最後に、sB3-アゴニストに関連する尿閉の発現時期を調査するために、中央値: (day) およびワイブル形状パラメータ (α , β) を算出し評価した。

【結果・考察】

sB3-アゴニストのミラベグロンでは尿閉、高血圧、不整脈に、ビベグロンでは尿閉にシグナルが検出された。抗ムスカリン薬では尿閉、不整脈、せん妄、ドライアイ、口渇、便秘にシグナルが検出された。報告数は尿閉が最も多かった。

尿閉患者のデータを性別で層別化し、解析を行ったところ、男女ともに、尿閉発現とsB3-アゴニスト使用との間に有意な関連性が検出された。Adjusted ROR (95%CI) は、[男性: ミラベグロン66.8 (35.6–125)、ビベグロン276 (104–733)]、[女性: ミラベグロン125 (63.7–244)、ビベグロン88.0 (32.9–235)]であった。さらに尿閉発現に関する患者背景、既往歴そして併用薬の影響について相互の影響を解析したところ、背景として男性の前立腺肥大症の既往歴がある場合に ($p=0.022$)、また男女ともにミラベグロンと抗ムスカリン薬を併用した場合に ($p<0.001$)、尿閉発現に関する交互作用が検出された。

sB3-アゴニスト使用患者を性別で層別化し、解析を行ったところ、Adjusted ROR (95%CI)

は前立腺肥大症の既往歴 [男性：2.43 (1.53–3.86)] および抗ムスカリン薬との併用 [男性：3.67 (1.97–6.85) , 女性：2.59 (1.36–4.95)] についてシグナルが検出された。

前立腺肥大患者を基礎疾患に持つ患者のサブグループ解析においては、ミラベグロン、ピベグロン、抗ムスカリン薬にシグナルが検出された。それぞれのAdjusted ROR (95%CI)は [ミラベグロン：27.4 (19.2–39.2) , ピベグロン：191 (53.9–673), 抗ムスカリン薬：145 (107–198)]であった。また、ミラベグロンと抗ムスカリン薬を併用した場合に、尿閉発現に関する交互作用が検出された ($p < 0.001$)。

sB3-アゴニスト使用患者における尿閉の発現時期を示すワイブル解析の結果、初回発現日数の [中央値および α , β (95%CI)] は、 [男性：15日, $\alpha=29.9$, $\beta=0.66$ (0.55–0.78)], [女性：7日, $\alpha=25.2$, $\beta=0.67$ (0.51–0.85)]であり、男女ともに早発傾向を示した。

以上のことから、sB3-アゴニストはOABに対して有用であるが、男女ともに、抗ムスカリン薬のような尿道閉塞を誘発する薬剤を併用している場合、尿閉に繋がる可能性がある。また前立腺肥大症などのような尿道を閉塞させる器質的因子を有する患者への使用は、尿閉の強いリスク因子となると考えられる。sB3-アゴニストを使用する際には、併用薬や基礎疾患を十分に考慮し、治療中の早期から安全性監視を開始すべきであると考えられる。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。これらの内容をふまえ、審査委員一同は本論文が高知大学博士 (医学) に相応しい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	岩本 昌大 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第174号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和7年3月24日
学位論文題目	Analysis of the life cycle of <i>Helicobacter pylori</i> bacteriophage KHP40 belonging to the genus <i>Schmidvirus</i> (シユミットウイルス属に分類されるピロリ菌バクテリオファージKHP40のライフサイクルの解析)
発表誌名	FEMS <i>Microbiology Letters</i> , Volume 371, 2024, fnae082 2024年10月

審査委員	主査	教授	宮地	英行
	副査	教授	大畑	雅典
	副査	教授	山岸	由佳

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

	氏名	岩本 昌大
論文題目	<p>Analysis of the life cycle of <i>Helicobacter pylori</i> bacteriophage KHP40 belonging to the genus <i>Schmidvirus</i></p> <p>(シュミットウイルス属に分類されるピロリ菌バクテリオファージ KHP40のライフサイクルの解析)</p>	
<p>(論文要旨)</p> <p>【背景・目的】 現在、薬剤耐性をもつ細菌感染症への新たな治療戦略が求められている。その可能性の一つに、細菌に感染するウイルスであるバクテリオファージ（ファージ）の溶菌活性を利用する、所謂ファージ療法がある。</p> <p>胃がん等の発症に関与する <i>Helicobacter pylori</i>（ピロリ菌）においても、同様に薬剤耐性化が懸念されている。以前に我々の研究グループでは、臨床分離株であるピロリ菌 KMT83 株から放出されるピロリ菌ファージ KHP40 を発見した。本研究では、KHP40 のライフサイクルの解析を行った。</p> <p>【方法】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・吸着活性 ピロリ菌株 3401、26695、HPK5 に対して KHP40 を添加し、未吸着ファージのプラーク（溶菌斑）数の減少により吸着活性を求めた。 ・潜伏期間とバーストサイズの測定 3401 株を宿主菌とし、1 段階増殖実験によって検討した。 ・pH 安定性 各 pH に調製した培地中で KHP40 を 25°C、1h 保温後、プラーク数を計測し検討した。 ・KMT83 の増殖と KHP40 放出 KHP40 を放出する KMT83 について、その増殖とファージ放出頻度の検討を行った。 ・KMT83 における KHP40 ファージ DNA の安定性 KMT83 由来の単一コロニーを分離し増殖させ、抽出した DNA について、KHP40 の 5 種の遺伝子を標的に PCR を行った。 ・KMT83 細胞内に含まれる DNA および放出されたファージ DNA の塩基配列の解読 次世代シーケンシング解析により、KMT83 の細胞内に存在する DNA の全塩基配列解読を行うとともに、KMT83 から放出されたファージ KHP40A についてサンガー法により全塩基配列を解読した。 <p>【結果と考察】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・吸着活性は他のファージと比べて緩やかであった。また、ピロリ菌株によって吸着活 		

性が異なることが示された。しかし、本ファージを調製する際に使用した宿主菌による違いは認められなかった。

- ・他のファージに比して、潜伏期間が 130 分と長く、バーストサイズはおよそ 3 と著しく小さかった。これらは、増殖速度が遅い宿主であるピロリ菌と共存するためのファージの生存戦略と予想された。

- ・pH2.5~12 の間でファージ活性を維持し、胃の酸性環境下に適応していることが予想された。

- ・KMT83 の対数増殖期に KHP40 を自然放出し、定常期では放出が減弱することを認めた。

- ・KHP40 DNA は、KMT83 を再分離した 9 クローン全てに認められ、KMT83 株内で安定して保持されていた。この現象は、ファージ DNA の脱落が高頻度にみられるピロリ菌ファージ KHP30 の場合と全く異なっていた。

- ・KMT83 の細胞内には 2 個の環状 DNA が認められた。一つはピロリ菌に固有の 1,578,403 bp からなる環状 DNA で、他の一つは KHP40 ゲノムとほぼ同じ 26,412 bp からなるエピソームであった。また KMT83 のピロリ菌固有 DNA 上には、欠失を有する KHP40 DNA の部位特異的挿入が認められた。この欠失した DNA 部分の一部は、菌ゲノム上の全く別の部分に転移していた。なお、NCBI BLASTn にて KHP40 ゲノムの塩基配列をホモロジー検索したところ、この転移部分が多数のピロリ菌株のゲノムに保存されていることがわかった。

- ・KMT83 の培養上清より放出されたファージ KHP40A の全塩基配列を解読したところ、本ファージは KMT83 細胞内のエピソームのゲノム情報をもとに構築・放出されていると考えられた。

本研究により、ファージ KHP40 の特殊なライフサイクルの概要が明らかとなった。本ファージの臨床応用においては、ファージ療法で不利に働く溶原化能を欠損させる必要があると予想された。また、ピロリ菌ゲノムの多様化形成に、ファージ DNA が関与している可能性を示した。

論文審査の結果の要旨

	氏名	岩本 昌大
審査委員	主査氏名	宮地 英行 
	副査氏名	大畑 雅典 
	副査氏名	山岸 由佳 

題 目 Analysis of the life cycle of *Helicobacter pylori* bacteriophage KHP40 belonging to the genus *Schmidvirus*
(シュミットウイルス属に分類されるピロリ菌バクテリオファージ KHP40 のライフサイクルの解析)

著 者 Masahiro Iwamoto, Michiko Takahashi, Hiromichi Maeda, Hiroaki Takeuchi, Jumpei Uchiyama, Takako Ujihara, Keizo Nagasaki, Kazuhiro Hanazaki, Satoru Seo, Naoya Kitamura, Tetsuya Yamamoto, Shigenobu Matsuzaki

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
FEMS Microbiology Letters, Volume371, 2024, fnae082, doi.org/10.1093/femsle/fnae082
2024年10月

要 旨

【背景・目的】

胃がん等の発症に関与する *Helicobacter pylori* (ピロリ菌) に感染するウイルスであるバクテリオファージのライフサイクルは未だに詳細な研究がなされていない。
本研究グループでは、臨床分離株ピロリ菌KMT83 株から放出されるピロリ菌ファージ KHP40 を発見したため、そのライフサイクルを解明する。

【方法】

- ・ピロリ菌株3401、26695、HPK5 に対してKHP40 を添加し、未吸着ファージのプラーク(溶菌斑)数の減少により吸着活性を求めた。
- ・3401 株を宿主菌とし、1 段階増殖実験によって潜伏期間とバーストサイズを測定した。
- ・各pH に調製した培地中で KHP40 を25°C、1h 保温後、プラーク数を計測し、pH 安定性を測定した。
- ・KHP40 を放出するKMT83 について、その増殖とファージ放出頻度の検討を行った。

- ・ KMT83 由来の単一コロニーを分離し抽出したDNAについて、KHP40の5種の遺伝子を標的にPCRを行った。
- ・ KMT83 細胞内に含まれる DNA および放出されたファージ DNA の塩基配列を次世代シーケンシング解析により解読した。
- ・ KMT83 から放出されたファージ KHP40A についてサンガー法により全塩基配列を解読した。

【結果と考察】

- ・ 吸着活性は他のファージと比べて緩やかであった。また、ピロリ菌株によって吸着活性が異なることが示された。
- ・ 他のファージに比して、潜伏期間が 130 分と長く、バーストサイズはおよそ3と小さかった。（これらは、増殖速度が遅い宿主であるピロリ菌と共存するためのファージの生存戦略と予想された。）
- ・ pH2.5~12 の間でファージ活性が維持されていた。（胃の酸性環境下に適応していることが予想された。）
- ・ KHP40 DNA は、KMT83 を再分離した9クローン全てに認められ、KMT83 株内で安定して保持されていた。
- ・ KMT83 の細胞内には2 個の環状DNA が認められた。一つはピロリ菌に固有の 1,578,403bp からなる環状DNAで、他の一つはKHP40 ゲノムとほぼ同じ26,412 bp からなるエピソームであった。また KMT83 のピロリ菌固有 DNA 上には、欠失を有する KHP40 DNA の部位特異的挿入が認められた。
- ・ KHP40 ゲノムの塩基配列をホモロジー検索したところ、この転移部分が多数のピロリ菌株のゲノムに保存されていた。

本研究により、ファージ KHP40 の特殊なライフサイクルの概要が明らかとなった。また、ピロリ菌ゲノムの多様化形成に、ファージDNA が関与している可能性が示唆された。

以上のように、本論文は、*Helicobacter pylori* (ピロリ菌) に感染する希少なバクテリオファージのライフサイクルを解析したものであり、医学的に高い価値を有するものである。発表の後、公開審査で質疑応答を行った。これらの内容をふまえ、審査委員一同は本論文が高知大学博士(医学)に相応しい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	森部 玲子 (福岡県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第175号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和7年3月24日
学位論文題目	Health Effects of Electrolyzed Hydrogen Water for the Metabolic Syndrome and Pre-Metabolic Syndrome: A 3-Month Randomized Controlled Trial and Subsequent Analyses (メタボリックシンドローム及び予備群に対する電解水素水の健康影響: 3か月ランダム化比較試験とその後の分析)
発表誌名	Antioxidants, 2024年13号, 145ページから14枚 2024年1月24日

審査委員	主査	教授	安田 誠史
	副査	教授	小林 道也
	副査	教授	浜田 幸宏

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名	森部 玲子
論文題目	<p>Health Effects of Electrolyzed Hydrogen Water for the Metabolic Syndrome and Pre-Metabolic Syndrome: A 3-Month Randomized Controlled Trial and Subsequent Analyses (メタボリックシンドローム及び予備群に対する電解水素水の健康影響：3か月ランダム化比較試験とその後の分析)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>背景・目的</p> <p>酸化ストレスは、「酸化物質と抗酸化物質のバランスが崩れ、酸化物質が優位になり、酸化還元シグナル伝達と制御が乱れ、分子が損傷する状況」と定義され、加齢に伴う認知機能低下、神経変性疾患、心血管疾患、代謝障害、慢性炎症、がんの原因に含まれる。そのため、フリーラジカルや活性酸素種 (ROS) を除去または中和する抗酸化物質は、さまざまな疾患に対する潜在的な治療介入として研究されてきた。最近、抗酸化特性を持つことが広く認識されている水素は、抗酸化研究の候補として注目されるようになった。近年、電解水素水を飲むと血液中の酸化物質が減少し、抗酸化作用が向上することが明らかになってきたが、メタボリック症候群及び予備群の電解水素水を長期飲用した場合の有益な効果はまだ明らかではない。本研究では、電解水素水を長期飲用することで、メタボリック症候群のさまざまな項目が改善されるかを検討した。本研究は、須崎市、日本トリム株式会社、高知大学の三者協定により、「健康をキーワードとした地方創生事業」の一環として実施された。</p> <p>方法</p> <p>須崎市に住むメタボリック症候群及びメタボリック症候群予備群の被験者に対する電解水素水 (EHW) の3か月間飲用の効果を実験室試験 (RCT) により検討した。</p> <p>試験水 (EHW) と対照水 (ろ過水: FW) は、電解水素水整水器: TRIMIONHYPER (日本トリム株式会社、大阪) を使用して生成された。被験者と被験者宅の設置者は水の種類を判別できないように、これらの器具の外観と操作方法は同一であった。試験水を飲むための専用のステンレスボトル (350mL) を配布し、被験者は3か月間毎日朝昼晩に試験水を350mL飲むように依頼した。飲んだ水の量は1日あたり1050mLであることをアンケートで確認した。この記録を詳細に評価し十分な水を飲んでいない被験者は分析から除外し研究対象者は181名となった。</p> <p>さらに運動中は酸化ストレスが増加しROSが増加するためアンケートに完答していた165名に対して「IPAQ 国際標準化身体活動質問票のデータ処理および解析に関するガイドライン-Short版-」を基に、高身体活動、中身体活動、低身体活動の3群でサブグループ解析を実施した。</p> <p>主要評価項目は、ベースラインからの腹囲の変化量である。</p> <p>副次評価項目は、①メタボリック症候群評価項目のベースラインからの変化量 (体重、BMI、腹囲、空腹時血糖値 (FBS)、HbA1c、総コレステロール、中性脂肪 (TG)、HDL-C、LDL-C、血圧)、②メタボリック症候群に影響を与える項目のベースラインからの変化量として、血液 (高感度CRP、IL6、アディポネクチン、MCP-1、TNF-α)、及び尿中 (8-OHdG、8-イソプロスタニン、ニトロチロシン) を検討した。</p>	

結果

主解析 (181名) : EHWとFWをそれぞれ3か月間飲用した群の主要評価項目と副次評価項目のどちらにも統計的有意差が認められなかった。

身体活動による層別解析 (165名) : 高身体活動群 (29名) では、EHW群は腹囲が1.87cm減少し、FW群は0.96cm増加した ($p=0.01$)。有意差は見られなかったが、高身体活動群ではいくつかの肯定的な結果が見つかった。尿中8-OHdG、尿中ニトロチロシン、HbA1c、および空腹時血糖値は、FW群で増加したが、EHW群では減少した。高感度CRPは、EHW群での増加が少なく、8-イソプロスタンはEHW群でより大きく減少した。中身体活動群 (47名) では、8-OHdGの変化量に有意な差が認められた ($p=0.02$)。EHW群では0.79増加し、FW群では0.73減少した。低身体活動群 (89名) では、総コレステロール ($p=0.02$) とHDL ($p=0.02$) の変化量に有意差が認められた。総コレステロールは、EHW群で9.84減少し、FW群で1増加した。HDL-CはEHW群で1.49減少し、FW群で2.18増加した。

考察

本研究では、メタボリック症候群及びメタボリック症候群予備群に対するEHWの健康効果として、高身体活動群においてのみ統計学的有意差をもって腹囲の減少が観察された。健常者よりも酸化ストレスのレベルが高いと言われるメタボリック症候群及びメタボリック症候群予備群の患者にとって、EHWを飲用しながらの高身体活動は腹囲の減少に役立つことが示唆される。身体活動や運動は酸化ストレスを増加させるが、EHWの摂取はこれらの影響を抑制または軽減する。

EHW摂取は、激しい身体活動による酸化ストレスの増加を効果的に潜めた。高身体活動群における介入群と対照群の差は、層別解析のサンプルサイズが小さい場合でも検出できるほど有意であった。EHW効果が酸化損傷を受けた生体分子を減少させる傾向を示した結果には、尿中8-OHdGとニトロチロシンの結果が含まれる。このような傾向は、FW群では増加したのに対し、EHW群では減少したHbA1cと空腹時血糖値にも見られた。さらに、EHWの抗炎症効果は、高感度CRP、アディポネクチン、IL-6、およびTNF- α の変化によっても示され、EHW群ではFW群に比べてこれらの増加が少ないまたは減少した。尿中8-イソプロスタンはEHW群でより減少する傾向があった。

高身体活動群では、FW摂取群は酸化ストレスの増加を示したが、EHW摂取群は酸化ストレスの増加を抑制または減少した。EHWを飲むことで、高身体活動によって引き起こされるはずの酸化ストレスの増加が抑制されたことが示唆された。その結果、代謝システムと腹囲の減少に寄与した可能性がある。EHWと高身体活動の複合効果を確認するには、さらに長期間にわたるより大きなサンプルサイズでの研究が必要である。

結論として、RCTでは主要評価項目、副次評価項目とも有意差はなかった。サブグループ解析では、予備群を含むメタボリック症候群において、EHW飲用は、高身体活動群において腹囲の減少していた。

論文審査の結果の要旨

	氏名	森部 玲子
審査委員	主査氏名	安田 誠史 
	副査氏名	小林 道也 
	副査氏名	浜田 幸宏 

題目 Health Effects of Electrolyzed Hydrogen Water for the Metabolic Syndrome and Pre-Metabolic Syndrome: A 3-Month Randomized Controlled Trial and Subsequent Analyses
(メタボリックシンドローム及び予備群に対する電解水素水の健康影響: 3か月ランダム化比較試験とその後の分析)

著者 Reiko Moribe, Marina Minami, Ryoji Hirota, Naw Awn J-P, Shigeru Kabayama, Masamitsu Eitoku, Keiko Yamasaki, Hajime Kuroiwa, Narufumi Suganuma

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年月
Antioxidants, 2024年13号, 145ページから14枚
2024年1月24日

要旨

[背景・目的]

酸化ストレスは、「酸化物質と抗酸化物質のバランスが崩れ、酸化物質が優位になり、分子が損傷する状況」と定義され、加齢に伴う認知機能低下、神経変性疾患、心血管疾患、代謝障害、慢性炎症、そしてがんの発症に関与すると考えられている。そのため、フリーラジカルや活性酸素種(ROS)を除去または中和する抗酸化物質を、これらの疾患の予防治療介入に取り入れる研究が実施されてきた。抗酸化特性を持つ水素が添加されている電解水素水の摂取により体内での酸化物質と抗酸化物質のバランスが改善し、メタボリック症候群及び予備群の改善に寄与する可能性があるが、その科学的根拠は整備されていない。電解水素水を3ヵ月飲用することで、メタボリック症候群の診断項目の一つである腹囲が改善されるかを、無作為割付比較対照研究(以下、RCT)のデザインで検討した。

[方法]

本研究は、高知県須崎市、日本トリム株式会社、高知大学の三者協定により、「健康をキーワードとした地方創生未来」の一環として実施された。

高知県須崎市に在住し、市の公的施設で実施した研究参加者募集に応じ、メタボリック症候群またはメタボリック症候群予備群の診断基準を満たした225名を被験者候補とした。そして、包含基準を満たしかつ研究参加に同意を与えた被験者200名を、電解水素水(以下、EHW)摂取群100名と対照水(ろ過水、以下、

FW) 摂取群 100 名へ無作為に割り付けた。被験者には、専用ステンレスボトル(350mL)を用いて試験水を朝昼晩に 350mL ずつ 1 日 1050mL、3 か月間毎日摂取するよう依頼した。試験水は電解水素水整水器: TRIMIONHYPER(日本トリム株式会社、大阪)を使用して生成された。被験者も被験者宅への器具設置者も試験水の種類を判別できないようにし、また、器具の外観と操作方法を同一にした。被験者には実際の飲水量を記録するよう依頼した。飲水量の記録から試験水を十分な量摂取しなかったと評価された被験者を分析から除外し、本論文の解析対象者を 181 名(EHW 群 91 名、FW 群 90 名)とした。

サブグループ解析として、運動習慣がある者では運動中の酸化ストレス増加により ROS が増加することに注目し、被験者を、高身体活動、中身体活動、低身体活動の 3 群に層別する解析を実施した。介入開始時点に実施したアンケートの項目として「国際標準化身体活動質問票 IPAQ-Short 版」を採用し、この質問票に完答した 165 名をサブグループ解析の対象とした。

主要評価項目は、腹囲のベースラインからの変化量であった。副次評価項目は、腹囲以外のメタボリック症候群診断項目(体重、Body Mass Index、空腹時血糖、ヘモグロビン A1c、総コレステロール、中性脂肪、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、血圧)のベースラインからの変化量、メタボリック症候群に影響を与えると考えられたバイオマーカー項目(血液では高感度 CRP、IL6、アディポネクチン、MCP-1、TNF- α 、尿では 8-OHdG、8-イソプロスタン、ニトロチロシン)のベースラインからの変化量であった。

[結果]

1. 主要評価項目

EHW 群と FW 群の間では、腹囲の変化量について統計的に有意な差は認められなかった。

2. 副次評価項目

EHW 群と FW 群の間では、どの副次評価項目の変化量についても、統計的に有意な差は認められなかった。

3. 身体活動度で層別したサブグループ解析

高身体活動群(29 名)では、主要評価項目である腹囲の変化量が、EHW 群では 1.87 cm 減少、FW 摂取群では 0.96 cm 増加で有意な差が見られた($p=0.01$)。高身体活動群では、統計学的に有意ではないものの、副次評価項目のいくつかについて肯定的な結果が見られた。すなわち、尿中 8-OHdG、尿中ニトロチロシン、血中ヘモグロビン A1c、および空腹時血糖が、EHW 群では減少したが FW 摂取群では増加し、尿中 8-イソプロスタンは、EHW 群では FW 群でよりも大きく減少した。中身体活動群(47 名)では、尿中 8-OHdG の変化量で有意な差が見られ、EHW 群では増加し、FW 群では減少した ($p=0.02$)。低身体活動群(89 名)では、総コレステロールの変化量と HDL-コレステロールの変化量で有意な差が見られ、総コレステロールと HDL-コレステロールが、EHW 群では減少し、FW 群では増加した(総コレステロールでも HDL-コレステロールでも $p=0.02$)。

[考察]

解析対象者全員を対象とした主解析では、メタボリック症候群及びメタボリック症候群予備群に対する EHW の効果は認められなかった。一方、サブグループ解析では、高身体活動群において、EHW 摂取が腹囲の減少と有意に関連した。また、高身体活動群においては、EHW 群では FW 群に比べると、酸化ストレスマーカーが改善する傾向が見られた。サブグループ解析の結果からは、メタボリック症候群及びメタボリック症候群予備群の者が運動による腹囲減少効果を求める場合には、運動による潜在的な酸化ストレス増加の影響に注意を払う必要があること、そして、EHW 摂取に関連する酸化ストレスの軽減が、腹囲減少効果を得られやすくする可能性が示唆された。ただし、サブグループ解析における副次評価項目についての結果から得られた示唆にとどまる。高身体活動群での EHW 摂取の複合的な効果を確認するために、さらに長期間にわたるより大きなサンプルサイズでの研究が必要である。

[結論]

RCT のデザインで、予備群を含むメタボリック症候群の者が電解水素水を 3 ヶ月摂取することが腹囲減少に有効かを検討した。解析対象者全員ではその有効性を示す結果は得られなかったが、サブグループ解析では、高身体活動群において EHW 飲用が腹囲減少に関連した。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。これらの内容をふまえ、審査委員一同は本論文が高知大学博士(医学)に相応しい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	大石 拓 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第69号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	令和7年3月21日
学位論文題目	Association between Maternal LDL Level during Pregnancy and Offspring LDL Level at Age 8 (妊娠中の母親のLDLコレステロール値とその子どもの8歳時のLDLコレステロール値との関係)
発表誌名	Tohoku Journal of Experimental Medicine, 264 (2)、(81~88) 2024年10月

審査委員	主査	教授	安田	誠史
	副査	教授	藤本	新平
	副査	教授	山岸	由佳

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

	氏名	大石 拓
論文題目	<p>Association between Maternal LDL Level during Pregnancy and Offspring LDL Level at Age 8 (妊娠中の母親のLDLコレステロール値とその子どもの8歳時のLDLコレステロール値との関係)</p>	
<p>【背景】脂質異常症は、動脈硬化性心血管疾患の危険因子であるが、母親の妊娠中のLDLコレステロール（以下LDL-C）値が、その子どもの脂質異常に関連するかどうかについては十分な検討が行われていない。</p> <p>【目的】本研究では、妊娠中の母親のLDL-C値と、その子どもの8歳時のLDL-C値との関連性について検討した。</p> <p>【方法】 本研究は、環境省が実施している全国的な出生コホート研究:エコチル調査（JECS）の追加調査として行った研究である。子どもが8歳時に対面調査を実施し、同意が得られた子どもに対して、高知ユニットセンター（KUC）で血液検査を実施した。KUCに登録された6,408組のJECS参加者のうち、8歳時にJECS 対面調査に参加しなかった人、本研究への参加の同意が得られなかった人、末梢血を採取できなかった人、他のユニットセンターから転入した人、および JECS登録時に母親の末梢血採取ができなかった人を除外し、1,226 組の母子を本研究の対象とした。このうちエコチル調査登録時に父親の末梢血も採取されていた540組は父親のデータも解析対象とした。</p> <p>曝露因子は、妊娠初期から中期に採取された母親の血清 LDL-C値と母親と同時期に採取された父親のLDL-C値である。</p> <p>アウトカムは、8歳時の子どもの血清LDL-C値である。子どものLDL-C値は、日本の小児の正常血清脂質値の基準に沿って、110 mg/dL未満を正常とした。</p> <p>【結果】 子どものLDL-C値が正常値を上回った母親のLDL-C値は、子どものLDL-C値が正常値の母親のLDL-C値よりも有意に高かったが、この2つのグループ間で父親のLDL-C値に有意差はなかった。妊娠中の母親のLDL-C値と子どものLDL-C値の間には弱い正の相関（$r=0.24$）が見られたが、父親のLDL-C値と子どものLDL-C値の間には相関はみられなかった（$r=0.14$）。多変量ロジスティック回帰分析では母親のLDL-Cと子どものLDL-Cの間に用量反応関係を認めたが、父親と子どものLDL-C値の間には関連は認められなかった。</p> <p>【考察】 妊娠中の母親のLDL-C値と子どもの8歳時のLDL-C値には関連があり、母親の妊娠中のLDL-C値が高いと、子どものLDL-C値も高い傾向があることが示された。遺伝的要因や生活習慣などの影響も考えられるが、父親と子どもの間には同様の関係がみられなかった</p>		

ことから、遺伝的要因や生活習慣だけでなく、妊娠中にLDL-C値が高いこと自体が子どものLDL-C値に影響を与える可能性も考えられ、妊娠中はコレステロール値についても注意を払うことが必要かもしれない。

本研究の強みは、妊娠初期からの長期にわたる大規模出生コホート調査のデータを利用したことである。一方で遺伝的要因や、生活環境、合併症や使用薬剤などの情報が不足していること、COVID19パンデミック中に実施した調査のため調査に参加できなかった母子が多かったことなどは本研究の限界である。また、母親の脂質は妊娠中に1回しか測定されていないため、妊娠中のLDL-C値の変化が子どもの脂質に与える影響は評価できなかった。

子どものLDL-C値は成長とともに変化するため、8歳時にみられた関連性が子どもの成長した後も持続するかどうかを検討するには、さらなる研究が必要である。

論文審査の結果の要旨

	氏名	大石 拓
審査委員	主査氏名	安田 誠史 
	副査氏名	藤本 新平 
	副査氏名	山岸 由佳 

題 目 Association between Maternal LDL Level during Pregnancy and Offspring LDL Level at Age 8
(妊娠中の母親のLDLコレステロール値とその子どもの8歳時のLDLコレステロール値との関係)

著 者 Taku Oishi, Naomi Mitsuda, Kota Watanabe, Mariko Araki, Ryuhei Nagai, Masamitsu Eitoku, Mikiya Fujieda, Narufumi Suganuma and Japan Environment and Children's Study (JECS) Group

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Tohoku Journal of Experimental Medicine, 264 (2)、(81~88)
2024年10月

要 旨

【背景】

脂質異常症は、動脈硬化性心血管疾患の危険因子であるが、母親の妊娠中のLDLコレステロール(以下、LDL-C)値が、その子どもの脂質異常に関連するかどうかについては十分な検討が行われていない。

【目的】

本研究では、妊娠中の母親のLDL-C値と、その子どもの8歳時のLDL-C値との関連性について検討した。

【方法】

環境省が実施している全国的な出生コホート研究:エコチル調査(JECS)で計画された子ども8歳時の対面調査の際に、高知ユニットセンター(KUC)が追加調査として子どもの血液検査を行った。KUCに登録された6,408組の母子から、8歳時の対面調査に参加しなかった4,488組、追加調査としての子どもの血液検査に同意を与えなかった545組、JECS登録時に母親の末梢血採取ができなかった147組、他のユニットセンターから転入した2組を除外して、1,226組の母子を本研究の対象とした。このうち540組では、JECS登録時に父親の末梢血が採取されていた。

曝露因子は、妊娠初期から中期に採取された母親の血清 LDL-C 値と母親と同時期に採取された父親の血清 LDL-C 値であった。母親の血清 LDL-C 値には、残差法によって母親の末梢血採取時の妊娠週数を調整した時の値を用いた。

アウトカムは、子どもの 8 歳時の血清 LDL-C 値であった。子どもの LDL-C 値の区分には、日本の小児の正常血清脂質値の基準値として提唱されている 110 mg/dL 未満/以上を採用した。

母親の妊娠中の LDL-C 値または父親の LDL-C 値を曝露因子、子どもの 8 歳時の LDL-C 値をアウトカムとして統計解析を行った。回帰分析モデルとして、子どもの LDL-C 値を連続変数として投入した線形回帰モデル、そして子どもの LDL-C 値が区分値以上であることのオッズ比を計算できるロジスティック回帰モデルの 2 つを当てはめた。回帰分析での調整因子は、母親の LDL-C 値を曝露因子とした時は、母親の年齢、妊娠前 Body Mass Index (BMI)、妊娠中の体重増加、妊娠中の喫煙、妊娠前の身体活動量、世帯収入、子どもの 8 歳児の BMI、子どもの性別であり、父親の LDL-C 値を曝露因子とした時は、父親の年齢、Body Mass Index (BMI)、喫煙、子どもの 8 歳児の BMI、子どもの性別であった。また、曝露因子とアウトカムとの間の用量反応関係を検討するために、制限付き 3 次スプライン補完のある回帰分析モデルをあてはめた。

【結果】

妊娠中の母親の LDL-C 値と子どもの 8 歳時の LDL-C 値との間の相関係数は 0.24、母親が妊娠中の父親の LDL-C 値と子どもの 8 歳時の LDL-C 値との間の相関係数は 0.14 であった。子どもの 8 歳時の LDL-C 値が区分値以上であった母親の妊娠中の LDL-C 値は、子どもの 8 歳時の LDL-C 値が区分値未満であった母親の妊娠中の LDL-C 値よりも有意に高かった。一方、この 2 つのグループ間で父親の LDL-C 値に有意差はなかった。多変量線形回帰モデル、多変量ロジスティック回帰モデルのどちらでも、母親の LDL-C 値と子どもの LDL-C 値との間には用量反応関係が認められたが、父親と子どもの LDL-C 値との間には関連が認められなかった。

【考察】

母親の妊娠中の LDL-C 値が高いと、子どもの 8 歳時の LDL-C 値も高い傾向にあることが示されたが、母親が妊娠中の父親の LDL-C 値と子どもの 8 歳時の LDL-C 値との間には関連が見られなかった。母子の間で認められた関連については、母子の間で共通する遺伝的因子や生活習慣が関与している可能性だけでなく、妊娠中に LDL-C 値が高いこと自体が子どもの LDL-C 値に影響を与える機序もあると考えられる。

本研究の強みは、妊娠初期からの長期にわたる大規模出生コホート調査のデータを利用したことである。一方、本研究の弱みは、遺伝的因子、特に家族性高コレステロール血症の家族歴、生活環境、合併症や使用薬剤などの情報が不足していること、COVID-19 パンデミック中の調査だったため調査に参加しなかった母子が多かったこと、そして、母親の LDL-C 値の測定を妊娠中の 1 回しか行っていないため、妊娠中の LDL-C 値の変化が子どもの LDL-C 値に与える影響を評価できなかったこと、などがある。

【結論】

1,226 組の母子を対象とした解析によって、妊娠中の母親の LDL-C 値が高いと子どもの 8 歳時の LDL-C 値も高い傾向にあることが明らかになった。子どもの LDL-C 値は成長とともに変化するため、8 歳時での関連性が子どもの年齢が進んでも認められるかを検討する必要がある。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。これらの内容をふまえ、審査委員一同は本論文が高知大学博士（医学）に相応しい価値あるものと判断した。