

## 信州大学において審査された医学博士論文要旨

氏名 (所属教室)	学位授与 番号	授与年月日	博 士 論 文 名	学位審査委員	
				主 査	副 査
小口 泰尚 (内科学(5))	乙第1232号	H31. 4.10	Ankle-Brachial Index as a Prognostic Indicator in Patients with Atrial Fibrillation Patients-A Subanalysis of the IMPACT-ABI Study (心房細動患者における予後予測指標としてのABI値-IMPACT-ABIサブ解析)	柴 祐 司	今村 浩 山田 充彦
山本 哲平 (泌尿器科学)	乙第1233号	R 1. 5. 8	Safety and Pain-relief Efficacy of Urethral Catheter with Local-anesthetic Injection Port (局所麻酔薬注入用ルーメン付きカテーテルの安全性と鎮痛効果の検討)	石 塚 修	川真田樹人 塩 沢 丹里
三村 享 (分子薬理学)	乙第1234号	R 1. 6.26	Influence of azole antifungal drugs on blood tacrolimus levels after switching from intravenous tacrolimus to once-daily modified release tacrolimus in patients receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (造血幹細胞移植におけるアゾール系抗真菌薬の違いがタクロリムスの注射製剤から経口徐放性製剤変更時の血中濃度の変動に及ぼす影響)	中 沢 洋 三	小 泉 知 展 栗 田 浩
大柴 弘行 (運動機能学)	乙第1235号	R 1.10. 2	Results of Bone Peg Grafting for Capitellar Osteochondritis Dissecans in Adolescent Baseball Players (思春期野球選手の上腕骨小頭離断性骨軟骨炎に対する骨釘移植術の成績)	藤 永 康 成	福島菜奈恵 高 橋 淳
出浦美智恵 (耳鼻咽喉科学)	乙第1236号	R 2. 1.22	Comprehensive analysis of syndromic hearing loss patients in Japan (日本人症候群性難聴患者の網羅的解析)	古 庄 知 己	中 沢 洋 三 杠 俊 介
樋口正太郎 (産科婦人科学)	乙第1237号	R 2. 2.27	Trophoblast type-specific expression of senescence markers in the human placenta (ヒト胎盤の栄養膜細胞のタイプ特異的な細胞老化マーカーの発現)	菅 野 祐 幸	中 山 淳 樋 口 京 一

Ankle-Brachial Index as a Prognostic Indicator in Patients with Atrial Fibrillation-A Sub-analysis of the IMPACT-ABI Study (心房細動患者における予後予測指標としてのABI値-IMPACT-ABIサブ解析)

小 口 泰 尚

(論文の内容の要旨)

**【背景】** 心房細動患者においてCHADS2スコア及びCHA2DS2-VAScスコアは確立された予後予測因子である。一方、ABI値は一般的に末梢動脈疾患の診断に有用なだけでなく心血管イベント、全死亡の良好な予後予測因子であることが知られている。しかしながら、心房細動患者においてABI値が良好な予後予測因子となり得るかどうかは不明である。本研究の目的は、心房細動患者においてABI値が心血管イベントに対する予後予測因子となりうるかどうかを調べることである。

**【方法】** 2005年から2015年まで信州大学循環器内科に心血管疾患で入院し、ABI値を測定した患者は3,131人であった。そのうち心房細動があり(401人)かつ入院時に測定されたABI値が<1.5の患者398人が本試験にエントリーされた。平均年齢は68.0±11.3歳であり平均追跡期間は4.6±2.7年であった。これら398人に対し入院時ABI値が0.92以上の群と0.92未満の2群に分けMACE(心臓血管死・心筋梗塞・脳梗塞の複合エンドポイント)発生との関係につき調査した。

**【結果】** ABI値によって分けられた2群は「高ABI群」が332人(83.4%)であり、「低ABI群」は66人(16.6%)であった。基本特性としてBMI値、冠動脈疾患、高血圧、脂質異常症、脳卒中、睡眠時無呼吸症候群の患者数は両群で差がみられなかったが、「低ABI群」では有意にCHADS2スコア、CHA2DS2-VAScスコア、血清クレアチニン値、NT-pro BNP値が高値でありヘモグロビン値、e-GFR値、HDLコレステロール値は有意に小さかった。退院時の内服薬としてスタチン製剤、アンジオテンシン転換酵素阻害剤(ACEIs)、アルドステロン受容体拮抗剤(ARBs)、アミオダロンにおいて両群に有意差を認めなかった。また、心臓超音波所見として左室駆出率が有意に小さかった。追跡期間中にMACEは398人中52人(13.1%)で生じた。内訳は心臓血管死が37人、心筋梗塞が4人、脳卒中が11人であった。入院時のABI値が0.92未満であった群は0.92以上であった群と比較して有意差をもってMACE発症が多かった(66人中17人

対332人中35人、ハザード比2.2、95%信頼区間1.3-3.6、p値=0.0056)。一方CHADS2スコアが2点以上の群と2点未満の群と比較したがMACE発症率に統計学的有意差はみられなかった。またCHA2DS2-VAScスコアが2点以上と2点未満の群においては2点以上の群で有意差をもってMACE発症率が大きかった(ハザード比3.0、95%信頼区間1.2-7.4、p値=0.0079)。

**【考察】** 心房細動患者は、脳卒中、心不全増悪入院、死亡の高リスクであり、心房細動患者においてCHADS2スコアおよびCHA2DS2-VAScスコアは脳梗塞や心不全、心血管死の予後予測因子として知られているが、ABI値も同様に予測因子となり得るかどうかは今まであまり知られていなかった。本研究では、心房細動患者にとって低ABI値がCHADS2またはCHA2DS2-VAScスコアと同様に心血管死、脳卒中、心不全増悪入院の予測因子となりうる可能性が示唆された。心房細動患者において入院時ABI値が低値である場合末梢動脈疾患のリスクであるのみならず、将来その患者は心血管イベント発症リスク、死亡リスクが高いと考えられ、積極的な心血管疾患に対する予防、治療などの介入を含め注意深い経過観察が必要であると考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

心房細動患者においてCHADS2スコア及びCHA2DS2-VAScスコアは確立された予後予測因子である。一方、ABI値は一般的に末梢動脈疾患の診断に有用なだけでなく心血管イベント、全死亡の良好な予後予測因子であることが知られている。しかしながら、心房細動患者においてABI値が良好な予後予測因子となり得るかどうかは不明である。本研究は、心房細動患者においてABI値が心血管イベントに対する予後予測因子となりうるかどうかを評価した。

その結果、以下の結果を得た。

1. 低ABI群では有意にCHADS2スコア、CHA2DS2-VAScスコア、血清クレアチニン値、NT-pro BNP値が高値でありヘモグロビン値、e-GFR値、HDLコレステロール値は有意に小さかった。また、心臓

- 超音波所見として左室駆出率が有意に小さかった。
- MACE は398人中52人 (13.1%) で生じた。内訳は心臓血管死が37人, 心筋梗塞が4人, 脳卒中が11人であった。
  - 入院時の ABI 値が0.92未満であった群は0.92以上であった群と比較して有意差をもって MACE 発症が多かった (66人中17人対332人中35人, ハザード比 2.2, 95% 信頼区間 1.3-3.6, p値=0.0056)。
  - CHA2DS2-VASc スコアが2点以上と2点未満の群においては2点以上の群で有意差をもって MACE 発症率が大きかった (ハザード比 3.0, 95% 信頼区間 1.2-7.4, p値=0.0079)。
- これらの結果から心房細動患者は, 脳卒中, 心不全増

悪入院, 死亡の高リスクであり, 心房細動患者において CHADS2スコアおよび CHA2DS2-VASc スコアは脳梗塞や心不全, 心血管死の予後予測因子として知られているが, 低 ABI 値が CHADS2または CHA2DS2-VASc スコアと同様に心血管死, 脳卒中, 心不全増悪入院の予測因子となりうる可能性が示唆された。心房細動患者において入院時 ABI 値が低値である場合末梢動脈疾患のリスクであるのみならず, 将来その患者は心血管イベント発症リスク, 死亡リスクが高いと考えられ, 積極的な心血管疾患に対する予防, 治療などの介入に寄与することが期待される。よって主査, 副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

## Safety and Pain-relief Efficacy of Urethral Catheter with Local-anesthetic Injection Port (局所麻酔薬注入用ルーメン付きカテーテルの安全性と鎮痛効果の検討)

山本 哲平

### (論文の内容の要旨)

【緒言】尿道留置カテーテルは, 泌尿器科で頻繁に使用される医療機器である。しかしながら, カテーテルの操作は痛みを伴い, 特に男性で顕著である。今日まで坐薬以外にカテーテルを留置している患者への効果的な鎮痛の処置はなかった。日本で新たに発売された局所麻酔薬注入用ルーメン付カテーテル (NMOC 3WAY カテーテル) は術後のカテーテルに関連する不快感及び抜去時の痛みを緩和するのに有用であると報告されている。しかし, NMOC 3WAY カテーテル (以下 NMOC) は, 尿路が損傷している患者では局所麻酔薬の副作用が考えられる為, 泌尿器系手術後の患者では添付文章上の適応はない。そこで, 私たちは尿道と膀胱に損傷があり, カテーテル操作時に大きな痛みを引き起こす可能性がある前立腺高線量率小線源療法 (以下 HDRB) 時の, NMOC の安全性と鎮痛の有効性を調査した。

【方法】通常のカテーテルの機能に加えて, NMOC は局所麻酔薬を注入するためのルーメンがある。NMOC にはバルーンから2cm 間隔で3つのスリットがあり, 局所麻酔薬はこれらのスリットから排出される。注入ポートから局所麻酔薬を注入し, 3つのスリットから直接尿道粘膜に局所麻酔を行う事が可能である。従来, 長野市民病院では HDRB は腰椎麻酔で行われる。前立腺に照射針を穿刺後に最初の照射が行われ, 2回目は8時間後に行う。追加の腰椎麻酔は行

わないため, 2回目の照射時には麻酔が切れている。2回目の照射の後, 持続的膀胱洗浄と膀胱内の凝血塊除去のために18Fr 3WAY カテーテルに交換し, 凝血塊を除去後, その後翌朝までカテーテル牽引固定をする。長野市民病院で2016年4月から12月に HDRB を受けた患者30名にアンケートで施術の痛みを評価した。このうち最初の10人の患者には従来の16Fr, 10mL バルーン, シリコーンフォーリーカテーテルで HDRB を受け, アンケートでカテーテル交換時, 膀胱内血腫除去時, カテーテル牽引時の痛みを評価した (コントロール群)。残りの20人の患者で, HDRB 開始時から NMOC (16Fr, 10ml バルーン, シリコーンフォーリーカテーテル) を挿入し, 2回目の照射後に NMOC から4%リドカイン溶液を10mL 注入し, コントロール群の質問内容に加え, 薬液注入時の痛みを評価した (NMOC 群)。術後, 不穏になり, アンケートができなかった患者やアンケートが回収できなかった患者は結果から除外し, その結果16名の患者で NMOC の有効性を数値的評価尺度 (以下 NRS) とフェイススケール (以下 FS) を用いて評価した。

【結果, 考察】コントロール群の患者の年齢は55~80歳 (中央値70歳) で, NMOC 群は62~80歳 (中央値68.5歳) だった。治療開始前の痛みスコアの中央値はコントロール群, NMOC 群ともに NRS, FS それぞれ0だった。2回目の照射中の痛みスコアの中央値は, コントロール群で, 0 (NRS), 1 (FS), NMOC 群

では0 (NRS), 0 (FS) であり, グループ間の患者背景に差を認めなかった。カテーテル交換時の痛みスコアの中央値は, コントロール群で, 7 (NRS), 4 (FS) であり, NMOC 群では1.5 (NRS), 1 (FS) だった。この事は NMOC 群ではコントロール群よりも有意に疼痛緩和できた事を示している (NRS,  $p=0.0055$ ; FS,  $p=0.0102$ )。カテーテル操作時の痛みのスコアの中央値は, コントロール群で6.5 (NRS), 4 (FS), NMOC 群で1.5 (NRS), 1 (FS) であり, NMOC 群はコントロール群より有意に疼痛緩和できた (NRS,  $p=0.0064$ ; FS,  $p=0.0084$ )。術後の鎮痛剤使用頻度は, コントロール群で50% であり, NMOC 群で68% だった (有意差なし)。術後の鎮痛剤使用回数の中央値は, コントロール群で0.5回, NMOC 群は1.5回だった (有意差なし)。鎮痛剤使用までの時間の中央値は, コントロール群で術後1時間20分, NMOC 群で3時間20分だった。NMOC 群は翌朝までの鎮痛剤使用頻度, 回数は減少しなかったが, カテーテル牽引に伴う鎮痛剤使用開始までの時間の中央値はコントロール群に比べ2時間長くなった。薬液注入時の疼痛は, NRS が0~1.5 (中央値0), FS は0~1 (中央値0) だった。合併症については, コントロール群で尿閉が1例あり, NMOC 群で術後不穏が1例あったのみで NMOC に伴う明らかな有害事象は確認されなかった。

**【結論】**さらなる調査が必要だが, NMOC は泌尿器系手術後の患者でも安全に使用でき, 従来の尿道カテーテルに比べ, カテーテル交換時, 操作時に痛みを軽減するのに有効であると考えられる。リドカインの効果は約2時間で, 痛みが出たときの局所麻酔薬の反復投与は膀胱反射を抑制する可能性があり, 術後のカテーテル法に伴う不快感のコントロール, 術後の鎮痛薬の量を減らす事が出来ると可能性がある。

(論文審査の結果の要旨)

局所麻酔薬注入用ルーメン付カテーテル (NMOC 3WAY カテーテル) は術後のカテーテルに関連する不快感及び抜去時の痛みを緩和するのに有用であると報告されているが, NMOC 3WAY カテーテル (以下 NMOC) は, 尿路が損傷している患者では局所麻酔薬の副作用が懸念されるため, 泌尿器系手術後の患者では添付文章上の適応はない。そこで, 山本は尿道と膀胱に損傷が発生し, カテーテル操作時に大きな痛みを引き起こす可能性がある前立腺高線量率小線源療法 (以下 HDRB) 時に NMOC を使用し, NMOC の安全

性と鎮痛の有効性を調査した。対象患者は長野市民病院で2016年4月から12月に HDRB を受けた患者30名にアンケートで施術の痛みを数値的評価尺度とフェイススケールを用いて評価した。最初の10人の患者には従来の16Fr オールシリコンフォーリーカテーテルを使用し HDRB を施行後にカテーテル交換, 膀胱内血腫除去, カテーテル牽引を行い, その痛みを評価した (コントロール群)。残りの20人の患者に, NMOC (16Fr オールシリコンフォーリーカテーテル) を使用し, 治療終了後に NMOC から4%リドカイン溶液を10 mL 注入し, 同様のカテーテル操作を行い, 痛みの評価をした (NMOC 群)。NMOC 群は薬液注入時の痛みも評価した。NMOC 群は解析可能であった16名の患者で NMOC の有効性を評価した。

その結果, 山本は次の結論を得た。

1. コントロール群と NMOC 群のグループ間の患者背景に差を認めなかった。
2. カテーテル交換時の痛みのスコアは NMOC 群で有意に低下した。
3. カテーテル操作時の痛みのスコアは NMOC 群で有意低下した。
4. 薬液注入時の痛みは極軽度であった。
5. NMOC 使用により, カテーテル牽引に伴う鎮痛剤の使用開始までの時間は2時間延長した。
6. 翌朝までの鎮痛薬の使用頻度と回数に有意差を認めなかった。
7. NMOC 使用に伴う明らかな有害事象は確認されなかった。

これらの結果により, NMOC は泌尿器系手術後の患者でも安全に使用でき, 従来の尿道カテーテルに比べ, カテーテル交換時, 操作時の痛みを軽減するのに有効であると考えられた。NMOC 使用により, 膀胱反射が抑制できる可能性があり, 局所麻酔薬の反復投与で術後のカテーテル法に伴う不快感のコントロール, 術後の鎮痛薬の量を減らせる可能性が示唆された。

よって, 主査, 副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

Influence of azole antifungal drugs on blood tacrolimus levels after switching from intravenous tacrolimus to once-daily modified release tacrolimus in patients receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (造血幹細胞移植におけるアゾール系抗真菌薬の違いがタクロリムスの注射製剤から経口徐放性製剤変更時の血中濃度の変動に及ぼす影響)

### 三 村 享

#### (論文の内容の要旨)

【背景・目的】 タクロリムス (Tac) は移植領域、自己免疫性疾患において広く使用されている免疫抑制剤であり、造血幹細胞移植では移植片対宿主病の予防に用いられている。Tac の体内動態は個人間・個人内変動が大きいことから、副作用の軽減や治療効果を高めるために治療薬物モニタリング (TDM) による投与量の調節が必須である。また、Tac は薬物相互作用の多い薬剤であり、移植領域では移植後に CYP3A 阻害作用を有するアゾール系抗真菌薬を併用することが多い。アゾール系抗真菌薬は薬剤毎に CYP 阻害作用が異なるため、アゾール系抗真菌薬毎の薬物相互作用のマネジメントは重要である。造血幹細胞移植患者を対象とした先行研究で経口 Tac 徐放性製剤 (Tac-MR) は、Tac の持続静脈用注射製剤 (Tac-iv) からの切り替えにより、血中濃度が変動することが報告されており、投与経路変更時には血中濃度の変化に注意が必要である。しかしながら、Tac-iv から Tac-MR に切り替わる際の Tac 体内動態の変動に、併用している経口アゾール系抗真菌薬の種類の違いがどの程度影響を及ぼすのか臨床的に評価を行った報告はない。Tac-MR は、従来の経口製剤とは体内動態が異なることが示されていることから、経口アゾール系抗真菌薬との相互作用の特性を明らかにすることは臨床にきわめて重要である。

そこで、本研究では、造血幹細胞移植患者において、Tac-iv から Tac-MR に切り替わる際の Tac 体内動態の変動に対する種々の経口アゾール系抗真菌薬の影響を検証することを目的とした。

【方法】 本研究は信州大学医学部附属病院 (当院) において実施された後ろ向き研究である。本研究の対象者は、2009年1月～2015年12月までに当院で造血幹細胞移植が施行された52名である。

経口変更後の Tac 血中濃度 (day 1-5) を持続静脈注射の影響が残っている day 1-2 と影響が少ないと考えられる day 3-5 に分類した。また、Tac 血中濃度には欠測データが存在したため、平均値を算出し評

価することとした。切り替え直前の持続静脈注射時の Tac 血中濃度 / 投与量比 ( $C_{iv}/D_{iv}$ )、Tac-MR 変更後 1-2 日、3-5 日の Tac 血中トラフ値 / 投与量比 ( $C_{po}/D_{po}$ ) を算出した。連続変数は中央値 (第 1-第 3 分位) で示した。統計解析には JMP®11 (SAS Institute Inc.) を用い、P 値が 0.05 未満を統計学的有意水準とした。本研究は信州大学医学部医倫理委員会の承認を得て実施した。

【結果】 52名の対象者〔フルコナゾール (FLCZ) 34名、ボリコナゾール (VRCZ) 18名〕を解析した。FLCZ 群と VRCZ 群の 2 群で投与経路変更時直近の Tac 投与量 ( $D_{iv}$ )、血中濃度 ( $C_{iv}$ )、 $C_{iv}/D_{iv}$  および Tac-MR 変更後の 1 日目から 2 日前の投与量 ( $D_{po1-2}$ ) と  $D_{iv}$  の比に有意な差は認められなかった ( $P>0.2$ )。Tac-MR のトラフ値である  $C_{po1-2}$  および  $C_{po3-5}$  は FLCZ 群と比較して VRCZ 群において有意に高値であった ( $P<0.05$ )。VRCZ 群における  $(C_{iv}/D_{iv})/(C_{po1-2}/D_{po1-2})$  と  $(C_{iv}/D_{iv})/(C_{po3-5}/D_{po3-5})$  は FLCZ 群と比較して有意に低値であった ( $P<0.05$ )。さらに、FLCZ 群における  $(C_{iv}/D_{iv})/(C_{po3-5}/D_{po3-5})$  は値のバラツキが大きかった。

【考察】 本研究は、造血幹細胞移植患者を対象に注射用 Tac 製剤から経口徐放性製剤への切り替え時に併用しているアゾール系抗真菌薬が Tac の血中濃度にどのように影響するかを評価した初めての報告である。本研究の結果 [( $C_{iv}/D_{iv})/(C_{po1-2}/D_{po1-2})$  と ( $C_{iv}/D_{iv})/(C_{po3-5}/D_{po3-5})$  に基づく] から、静脈注射用製剤から経口徐放性製剤へ切り替えた後に、VRCZ は FLCZ に比べて Tac 血中濃度をより顕著に上昇させることが示された。VRCZ は FLCZ よりも強く CYP3A の Tac 代謝活性を阻害することが示されている。Tac は投与経路を静脈内から経口へと変更することにより、その代謝は肝臓だけでなく腸管でも起こることとなる。そのため、腸管における Tac の代謝は経口投与されたアゾール系抗真菌薬によって阻害される。Tac-MR は徐放性製剤のため腸管に長くとどまることから、腸管における Tac とアゾール系抗真菌薬の薬物間相互

作用は長時間持続することが考えられる。

FLCZ 群の  $(C_{iv}/D_{iv})/(C_{po3-5}/D_{po3-5})$  のバラツキは VRCZ 群に比べて顕著に大きいことが示された。Tac は CYP3A4 と CYP3A5 により代謝される。VRCZ は CYP3A4 と CYP3A5 を同程度に阻害する。一方で、FLCZ の CYP3A4 阻害作用は CYP3A5 の約 9 倍強いことが報告されている。また、CYP3A5 には欠損型の遺伝子多型が存在し、CYP3A5 を発現しているヒトと発現していないヒトがいる。FLCZ による CYP3A 阻害における分子種選択性と CYP3A5 の発現の個人差が FLCZ 群の  $(C_{iv}/D_{iv})/(C_{po3-5}/D_{po3-5})$  のバラツキの要因である可能性が考えられる。FLCZ 併用時は Tac を経口へ切り替えた後も数日間は血中濃度の変動に注意が必要である。

【結論】 VRCZ は Tac 血中濃度を上昇しやすいが、FLCZ は血中濃度のバラツキを大きくしやすい。切り替え時はアゾール系抗真菌薬の種類により血中濃度の変動の様式が異なるため、アゾール系抗真菌薬の種類を考慮し切り替えを行う必要がある。

(論文審査の結果の要旨)

タクロリムス持続静脈注射から経口タクロリムス徐放性製剤に切り替えた際に併用している経口アゾール系抗真菌薬の種類の違いが、タクロリムスの体内動態の変動に与える影響を検討することは临床上重要であると考えられる。そこで、三村は2009年1月～2015年12月までに信州大学医学部附属病院で造血幹細胞移植が施行されタクロリムス注射製剤から経口タクロリムス徐放性製剤に変更された患者52名を対象に後ろ向きに検討を行った。

その結果以下の結果を得た。

1. 持続静脈注射時のタクロリムス血中濃度、1日投与量、それらの比である C/D に関してポリコナゾール群とフルコナゾール群で有意な差は認められ

なかった。

2. 切り替え後 day 1-2 のタクロリムストラフ値は VRCZ 群において有意に高値だったが投与量に関しては有意な差は認められなかった。C/D に有意差は認められなかったが、VRCZ 群において高い傾向であった。この傾向は切り替え後 day 3-5 でも同様であった。
3. Day 1-2 の経口時と持続静脈注射時のタクロリムスの投与量比は FLCZ 群、VRCZ 群共に中央値が 3.8 でありどちらの群でも同量で切り替えが行われていた。
4. ポリコナゾール群の 2 例は切り替え後の血中濃度が高値であったため経口タクロリムス徐放性製剤を中止した。
5.  $C_{iv}/D_{iv}$  と  $C_{po}/D_{po}$  の比は、フルコナゾール群と比較してポリコナゾール群で有意に低値であった。
6. Day 3-5 における  $C_{iv}/D_{iv}$  と  $C_{po}/D_{po}$  の比は、フルコナゾール群で個人間変動 (バラツキ) が大きかった。
7. 肝機能検査値と  $C_{iv}/D_{iv}/C_{po}/D_{po}$  との相関は認められなかった。

タクロリムス持続静脈注射製剤から経口タクロリムス徐放性製剤に切り変えた際の血中濃度の変動は併用しているアゾール系抗真菌薬毎に異なることが示された。ポリコナゾールはフルコナゾールと比較してタクロリムス血中濃度を上昇させやすく、フルコナゾールは上昇させる場合も、低下させる場合もあり、変動させやすい。アゾール系抗真菌薬の種類を考慮し切り替えを行う事により、投与経路切り替え後の適切な血中濃度のコントロールが可能となることが示された。したがって主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

Results of Bone Peg Grafting for Capitellar Osteochondritis Dissecans in Adolescent Baseball Players (思春期野球選手の上腕骨小頭離断性骨軟骨炎に対する骨釘移植術の成績)

大柴 弘 行

(論文の内容の要旨)

【背景】 上腕骨小頭の離断性骨軟骨炎 (osteochondritis dissecance: OCD) は学童期から思春期に投球動作など肘関節に繰り返し加わる圧迫や剪断力に起因する微小外傷の蓄積によって発症する。病態は、1) 小頭軟骨下骨の平坦化、2) 関節軟骨表面の部分的な亀裂、

3) 関節軟骨面と軟骨下骨の全周性の亀裂、4) 関節軟骨と軟骨下骨の病巣全体の遊離に至る。これら 1)~4) の病態は、関節鏡所見から順に OCD I, II, III, IV に分類される。OCD I では投球制限などの保存療法が、OCD III, IV では大腿骨の膝関節面から採取した骨軟骨柱移植術あるいは肋骨からの骨軟骨移植が行

われ、概ね良好な成績が得られている。OCD I で保存治療無効例と OCD II に対する治療法は意見が分かっている。本研究では、これらの病期例に骨釘移植術を行い、術後の臨床、画像成績を調査し、骨釘移植術の適応を検証した。

【方法】 6 か月以上の投球禁止後も病変部の改善傾向がない OCD I : 2 例, OCD II : 9 例の合計11例である。手術時年齢は13~16歳で、全例が男性の野球選手であった。手術方法は、肘頭より採取した3~5本の骨釘を、直視下に上腕骨小頭病巣部に挿入し骨軟骨病変を固定した。術後3週間の外固定後に徐々に肘の運動を開始し、術後6か月より野球に復帰した。術後1年と2年でスポーツ復帰、臨床所見、肘関節X線像とMRI評価を行った。

【結果】 11例中10例が術後12か月以内に元の野球競技レベルへ復帰した。Timmerman-Andrews rating system による臨床 score (満点200点) は術前平均171.8点から術後2年平均192.3点へ有意に改善した。術後2年の単純X線像では、病巣部が完全に癒合し軟骨下骨の形態が健側と同等である病巣完全治癒が8例で、残りの3例は小頭中央部に透瞭像や分離像が残存した部分治癒に留まった。術前正面X線像で病巣が中央に限局した4例中4例、病巣径が上腕骨小頭径の75%未満の8例中7例は、X線像上で完全治癒が得られた。Henderson MRI score (満点4点) は術前平均6.3点、術後1年平均6.3点、術後2年平均4.8点と徐々に改善した。MRI では、骨釘像は術後1年で7例に認められたが、術後2年ではこのうち5例で吸収消失していた。

【考察】 OCD I, II で保存治療無効例には、骨軟骨病巣を母床に固定する手術が行われることが多い。これらの固定術には、pull out wiring や骨内埋没型 screw など金属製内固定材による固定術、生体吸収材料による固定術などがある。本研究から、骨釘移植術は、局所の硝子軟骨を温存できる、骨釘が病巣の安定化に加え移植骨として癒合を促進し、異物では無いために合併症が無い、後に吸収されるために抜釘を要さないなどの利点を確認された。また、術後画像所見の検討からMRIによる追跡調査から骨釘移植による病巣と母床との癒合は術後2年まで継続して進行することが示された。

【結論】 ICRS 分類 OCD I あるいは II に対する骨釘移植術は術後12か月以内に91%に術前の競技レベルへの野球復帰が得られた。保存治療が無効であった

ICRS 分類 OCD I または II で、正面X線像で病巣が小頭の中央に限局し、病巣横径が上腕骨小頭横径の75%未満の例が骨釘移植術の良い適応と考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

透亮型あるいは分離型の上腕骨小頭離断性骨軟骨炎で、6か月以上の投球禁止後もX線像で病変部の改善傾向がなく、肘関節鏡視と肉眼所見でICRS分類OCD I あるいは II に分類される11例の野球選手を対象に骨釘移植による病巣骨軟骨片固定を施行した。全例に術後1年と2年で直接診察を行い、臨床所見、スポーツ復帰、X線像、およびMRI評価を行った。臨床評価は1) Timmerman-Andrews rating system による術前後の臨床 score を比較、2) 受傷前と同じ競技レベルへの運動復帰率と期間で検討した。3) 術後X線像は、完全治癒、部分治癒、不変にわけて評価し、術前の病巣の大きさ、病巣位置、骨端成長板の状態などとの関係を調査した。また4) 術後1年と2年のMRIの経時変化をHenderson score で点数化し評価した。

その結果、以下の成績を得た。

1. Timmerman-Andrews rating system は術前平均 $171.8 \pm 12.1$ から術後2年で $192.3 \pm 6.5$ へ有意に ( $p < 0.01$ ) 改善した。
2. 11例中10例が術後12か月以内に元の野球競技レベルへ復帰した。
3. 術後2年の単純X線像で、病巣部が完全に癒合し軟骨下骨の形態が健側と同等である病巣完全治癒が8例で、残りの3例は小頭中央部に透瞭像や分離像が残存した部分治癒に留まった。不変は認めなかった。術前正面X線像で病巣が中央に限局した例や、病巣径が上腕骨小頭径の75%未満の例では、X線像上で完全治癒が得られる傾向にあった。骨端成長板の開存の有無はX線像の完全治癒と関連はなかった。
4. Henderson MRI score は術前平均 $6.3 \pm 1.5$ から術後2年で $4.8 \pm 1.6$ に有意に ( $p = < 0.01$ ) 改善した。骨釘は術後1年で7例に残存しMRIの病巣の信号変化に影響していたが術後2年ではこのうち5例で吸収消失していた。

以上の結果から、保存治療で改善のないICRS分類OCD I あるいは II に骨釘移植術を行うと、ほとんどの例で術後1年以内に元の野球競技レベルに復帰可能であることが示された。骨釘移植術は、金属製内固定材による固定術、生体吸収材料による固定術など他の骨

軟骨病巣固定術より優れた方法と考えられた。X線像の分析から、病巣範囲が小頭の中央に局限し、病巣横径が上腕骨小頭横径の75%未満の例が骨釘移植術の良好な適応と考えられた。MRIの検討から、骨釘は予想よりも長期に病巣を安定する scaffold として留まる

可能性があること、骨軟骨病巣は骨釘移植術後2年まで継続して進行することが示された。

よって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

## Comprehensive analysis of syndromic hearing loss patients in Japan (日本人症候群性難聴患者の網羅的解析)

出 浦 美 智 恵

### (論文の内容の要旨)

難聴を伴う症候群は400種類以上存在しており、遺伝性難聴の約30%を占めるといわれている。本研究では、Branchio-Oto-Renal (BOR) 症候群、Waardenburg 症候群、コラーゲン異常症(骨形成不全症、先天性脊椎骨端異形成症、アルポート症候群、スティックラー症候群)、CHARGE 症候群、Jervell and Lange-Nielsen 症候群、Pendred 症候群、Klippel-Feil 症候群、Treacher-Collins 症候群、Norrie 病、Perrault 症候群、Auditory neuropathy with optic atrophy の14症候群の原因遺伝子36遺伝子からなる症候群性難聴パネルを開発するとともに、次世代シーケンサー(NGS)を用いた網羅的遺伝子解析を行った。

信州大学医学部耳鼻咽喉科が管理する日本人難聴データベース5,137例の中から、上記の症候群が疑われる140例を抽出し次世代シーケンサーを用いたパネル解析を行った。その結果、症候群全体では140例中79例(56%)の原因遺伝子変異を明らかにすることができた。また、症候群別にみると BOR 症候群では32%(確実例75%、疑い例17%)、Waardenburg 症候群では78%、Pendred 症候群では89%の症例で原因遺伝子変異を同定することができた。見出された変異としては、一塩基変異、欠失挿入変異に加え、EYAI 遺伝子および SOX10 遺伝子の copy number variation (CNV) がそれぞれ1症例、3症例に同定された。次世代シーケンサー法により検出された変異および CNV は、全て直接シーケンサー法あるいはアレイ CGH 法で確認を行った。

遺伝子変異が同定された症例の大部分は過去の報告と同様の臨床型を呈していたが、一部異なる例を認めた。Waardenburg 症候群 1 型の原因遺伝子としては PAX3 が知られているが、本研究の結果、同症候群 1 型と臨床診断された症例において、同症候群 2 型の原因である MTF, SOX10 変異がそれぞれ1症例に同

定された。同様の臨床型-原因遺伝子の不一致は他にも報告されているが、その原因として、日本人の眼間距離が欧米人より離れており、正常コントロールであっても 1 型の特徴である眼間距離が陽性と判断されやすいことが関係している可能性が示唆された。また、Waardenburg 症候群や BOR 症候群など各種臨床症状の浸透率が100%でない症候群においては、同一の遺伝子変異を有するにもかかわらず家系内で臨床症状に差を認める家系が複数あった。

症候群性難聴パネルを用いた次世代シーケンサー解析は、短時間に高い診断率で原因遺伝子変異の同定が可能であり、特に Waardenburg 症候群のように臨床所見を部分的にしか有していない症例の確定診断において大変有用であることが明らかとなった。

### (論文審査の結果の要旨)

症候群性難聴は遺伝性難聴の約30%を占めるといわれている。今回出浦は、耳鼻咽喉科にて比較的高頻度に遭遇する14症候群の原因遺伝子36遺伝子からなる症候群性難聴パネルを開発し、いずれかの症候群が疑われた日本人患者140例に対し次世代シーケンサーを用いた網羅的な遺伝子解析を行い、遺伝子変異の種類や頻度、臨床症状について検討した。

その結果は以下の通りであった。

1. 症候群全体では140例中79例(56%)の原因遺伝子変異を同定することが出来た。
2. BOR 症候群では全体の診断率は19/59(32%)であった。診断基準に照らし典型例では12/16(75%)、非典型例(耳瘻孔と難聴のみ)では7/43(17%)であった。
3. Waardenburg 症候群では18/23(78%)、Pendred 症候群では32/36(89%)の症例で原因遺伝子変異を同定することが出来た。
4. EYAI 遺伝子変異1症例と SOX10 遺伝子変異3症例に copy number variation (1コピー欠失)を



- 認めた。また、アレイ CGH 法にて確認を行った。
5. 遺伝子変異が同定された症例の大部分は過去の報告と同様の臨床症状を呈していた。
  6. Waardenburg 症候群 (WS) において、臨床的に WS1 型と診断された 4 症例のうち 2 症例に WS2 型の原因遺伝子 *MITF*, *SOX10* が同定された。WS1 型と WS2 型の区別は内眼角解離の有無で区別されるが、この臨床型 - 原因遺伝子の不一致は日本人の正常コントロールにおいても内眼角解離傾向を有することが原因と考えられた。
  7. Waardenburg 症候群や BOR 症候群などの疾患では、同一の遺伝子変異を有していても家系内で臨床症状に差を認める例があった。今回、次世代シーケンス解析を行うことにより初めて同一遺伝子変

異が原因であることが判明した家系があった。

以上より、症候群性難聴パネルを用いた次世代シーケンス解析は短時間に高い診断率で原因遺伝子変異を同定することが可能であり、また、Waardenburg 症候群等の臨床症状が部分的である症例の確定診断においても大変有用であること明らかとなった。Copy number variation についても精度の高さが確認された。遺伝学的検査によって原因遺伝子変異を明らかにすることは難聴や随伴症状の予測や、早期からの治療計画立案に有用であり、今後、臨床診療における活用が期待される結果であった。

したがって主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

## Trophoblast type-specific expression of senescence markers in the human placenta (ヒト胎盤の栄養膜細胞のタイプ特異的な細胞老化マーカーの発現)

樋口 正太郎

(論文の内容の要旨)

【研究の背景と目的】 ヒトの子宮は妊娠40週に陣痛が開始する。陣痛発来の機序はまだ解明されていないが、妊娠後期における機能的なプロゲステロン作用の減弱、子宮収縮作用のあるオキシトシンの産生増加と感受性の高まり、炎症性サイトカインの発現などが関与していると推測されている。一方、早産期での陣痛発来には細菌感染が関与していることが判明してきた。すなわち、膣や子宮頸部への感染により炎症系サイトカイン産生が惹起され、子宮頸管熟化、卵膜破綻や陣痛につながると考えられる。実際に炎症によって惹起された IL-6 や IL-8 などの炎症系サイトカインの上昇は子宮頸管熟化を誘発することが報告されている。一方、満期での陣痛発来にも炎症系サイトカインが関与することが示唆されているが、どのように炎症系サイトカインが惹起され、陣痛発来に関与しているかは不明である。胎盤は40週の妊娠の間に発育と老化を呈する非常にユニークな臓器である。今回、我々はサイトカイン産生の機序として胎盤の絨毛細胞の老化に着目した。不可逆的に細胞周期停止状態となった老化細胞からは IL-6, IL-8 などの炎症性サイトカインを含む SASP (senescence-associated secretory phenotype) が分泌されることが知られている。我々は胎盤が陣痛発来を制御する「時計機能」を担っており、妊娠経過による絨毛細胞の老化が陣痛発来に関与しているのではな

いかという仮説を立て、これを検証するためにまず胎盤絨毛の老化について検討することとした。胎盤の絨毛は内側の cytotrophoblast (CT) と外側の syncytiotrophoblast (ST) から構成されている。本研究では妊娠初期、妊娠中期、妊娠後期のヒト胎盤における細胞老化マーカーの発現をこの2つのタイプの絨毛細胞ごとに比較検討した。また、CT のモデルとしてヒト絨毛癌細胞である BeWo 細胞を用いて細胞融合過程における細胞老化の変化についても検討した。

【方法】 インフォームドコンセントが得られた患者において、人工妊娠中絶もしくは選択的帝王切開により摘出された胎盤組織を使用した。妊娠初期、中期、後期における細胞老化の状態を senescence-associated beta-galactosidase (SA- $\beta$ -gal), 細胞老化関連マーカーである p16, p21, promyelocytic leukemia (PML) を用いて検討した。同時に細胞増殖のマーカーである MCM7 の発現を免疫組織染色により評価した。また、forskolin を用いて BeWo 細胞の細胞融合を誘導し、細胞融合前後の SA- $\beta$ -gal, 細胞老化関連マーカーの発現の変化を検討した。

【結果】 MCM7 は CT ではすべての妊娠期間で高発現していた。SA- $\beta$ -gal は CT では妊娠初期および中期では強く発現し、妊娠後期では減弱していた。一方、ST では妊娠初期、中期では弱く、妊娠後期で発現が強まった。細胞老化関連蛋白 (p16, p21, PML) の免

疫組織染色ではすべての妊娠期間においてCTではSTより強く発現し、妊娠経過とともに増強した。BeWo細胞を用いた *in vitro* の実験では細胞融合後に SA- $\beta$ -gal, p21, PML の発現増強が認められた。

【結論】 今回の検討からCTとSTではSA- $\beta$ -galおよび細胞老化関連マーカーの発現様式は異なることが判明した。まずCTは増殖能は呈するものの、同時に妊娠初期から老化を呈してSTに融合され、ついで妊娠後期になってSTに老化が起きるという二峰性のパターンを示した。妊娠中のCTとSTに特異的な細胞老化マーカーの推移に関する報告は過去になく、CTとSTの協調した細胞老化が胎盤機能維持に重要である可能性が示された。

(論文審査の結果の要旨)

胎盤の絨毛は内側の cytotrophoblast (CT) と外側の syncytiotrophoblast (ST) から構成されている。本研究では妊娠初期、妊娠中期、妊娠後期のヒト胎盤における細胞老化マーカーの発現をこの2つのタイプの絨毛細胞ごとに比較検討した。また、CTのモデルとしてヒト絨毛癌細胞である BeWo 細胞を用いて細胞融合過程における細胞老化の変化についても検討した。

その結果、以下の成績を得た。

1. 妊娠初期・中期・後期の胎盤を用いた SA- $\beta$ -gal 染色ではCTでは妊娠全期間において SA- $\beta$ -gal 陽性細胞が高発現であり、STでは妊娠初期では低発現であるが妊娠が進むにつれて増強し、妊娠後期では有意に発現が増強していた。
2. 細胞老化関連蛋白 p16, p21, PML の発現レベルを免疫組織化学的に染色し、染色率を評価した。

CTに関して妊娠初期、中期、後期の p16の染色率は71, 78, 73%, p21の染色率は93, 93, 90%, PMLの染色率は67, 73, 67%であり、全妊娠期間において高発現していた。STに関してはp16では14, 14, 32%, p21では24, 24, 74%であり、妊娠後期で有意に高発現し、PMLにおいては6, 7, 10%と全妊娠期間で低発現であったが後期に発現が強まる傾向があった。

3. 細胞増殖マーカーMCM7の発現レベルはCTでは妊娠初期および中期で高発現であり、妊娠後期に有意に低下していた。STでは週数に関わらず、ごくわずかな発現のみであった。

4. 絨毛癌細胞 BeWo 細胞を用いて細胞融合過程の細胞老化マーカーについて、SA- $\beta$ -gal 染色, western blotting において検討した。細胞融合後では SA- $\beta$ -gal は増加しており、p21の発現は増強していた。p16は BeWo 細胞では欠損していた。

以上より今回の検討からCTとSTではSA- $\beta$ -galおよび細胞老化関連マーカーの発現様式は異なることが判明した。まずCTは増殖能は呈するものの、同時に妊娠初期から老化を呈してSTに融合され、ついで妊娠後期になってSTに老化が起きるという二峰性のパターンを示した。妊娠中のCTとSTに特異的な細胞老化マーカーの推移に関する報告は過去になく、CTとSTの協調した細胞老化が胎盤機能維持に重要である可能性が示された。したがって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。