

信州大学において審査された医学博士論文要旨

氏名	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
塩澤 彩香	乙第1276号	R 6. 4.10	Effects of acid and lactone forms of statins on S-warfarin 7-hydroxylation catalyzed by human liver microsomes and recombinant CYP2C9 variants (CYP2C9.1 and CYP2C9.3) (ヒト肝ミクロソームおよび組換えCYP2C9酵素のS-ワルファリン7-水酸化酵素活性に対するスタチンのAcid体およびLactone体の影響)	桑原宏一郎	田中直樹 内藤隆文 川上純一
永江 歩	乙第1277号	R 6. 6.26	The Impact of Hyperuricemia on Patients With Low Body Mass Index After Endovascular Treatments: Data From the I-PAD Registry (末梢血管内治療後の低BMI患者に対する高尿酸血症の影響について:I-PADレジストリより)	駒津光久	瀬戸達一郎 桑原宏一郎 高間典明
新美妙美	乙第1278号	R 6. 9. 4	Developmental changes in prefrontal cortex activation in children with or without autism spectrum traits on near-infrared spectroscopy (近赤外分光法による自閉スペクトラム特性がある場合とない場合の子どもの前頭前野活性化の発達にともなう変化)	中沢洋三	古庄知己 鷺塚伸介 山中岳
渡邊 築	乙第1279号	R 6. 9.11	The prevalence and clinical features of MYO7A-related hearing loss including DFNA11, DFNB2 and USH1B (MYO7A関連難聴(DFNA11, DFNB2, アッシャー症候群1B型)の臨床的特徴と頻度)	古庄知己	村田敏規 工穰 松原篤
里見 英俊	乙第1280号	R 6. 9.25	Predominance of T-bet-positive Th1 cells in infiltrating T-lymphocytes in most of active arteritis lesions of giant cell arteritis (活動性を有する巨細胞性動脈炎の大部分では、T-bet陽性Th1細胞が優位に浸潤する)	関島良樹	柴祐司 菅野祐幸 石津明洋
藤森聰美	乙第1281号	R 7. 2.27	Human rights health care measures reporting physical fitness test for ages 6 to 17 with 10-year follow-up (6歳から17歳児の、10年をおいた体力テストの調査から、健康に関わる人権についての報告)	鷺塚伸介	友川幸 寺沢宏次 根本賢一
井出貴之	乙第1282号	R 7. 2.27	Thromboembolism during immune checkpoint inhibitor therapy: frequency and risk factors (免疫チェックポイント阻害薬治療中の血栓症:頻度とリスク因子)	牧島秀樹	平塚佐千枝 内藤隆文 川上純一
一之瀬優子	乙第1283号	R 7. 3.12	Spontaneous regeneration after resection of various lengths of hypoglossal nerve in rats (ラット舌下神経切除後の自然再生)	杠俊介	工穰 福島菜奈恵 金銅英二

田中泰裕	乙第1284号	R 7. 3.26	Usefulness of decision tree analysis of MRI features for diagnosis of placenta accreta spectrum in cases with placenta previa (前置胎盤における癒着胎盤の診断に対するMRI画像を用いた決定木モデルの有用性)	副島雄二	藤永康成 伊藤研一 中島彰俊
------	---------	-----------	--	------	----------------------

Effects of acid and lactone forms of statins on S-warfarin 7-hydroxylation catalyzed by human liver microsomes and recombinant CYP2C9 variants (CYP2C9.1 and CYP2C9.3) (ヒト肝ミクロソームおよび組換えCYP2C9酵素のS-ワルファリン7-水酸化酵素活性に対するスタチンのAcid体およびLactone体の影響)

塩澤彩香

(論文の内容の要旨)

【背景・目的】ワルファリンは血栓塞栓症の治療および予防に用いられるが、その効果には大きな個人差がある。ワルファリンは効果と副作用のバランスを保ちながら用量調節をする必要があるが、併用薬との相互作用が多い薬剤としても知られている。ワルファリンと併用されることが多いHMG-CoA還元酵素阻害薬(スタチン)は、これまでに併用によってワルファリンの抗凝固効果が増強する症例が多数報告されている。近年、ワルファリンとスタチンの相互作用の主な機序としてスタチンがワルファリン(S-体)の主要な代謝酵素であるシトクロムP450 2C9(CYP2C9)の活性を阻害することによるものであることが報告された。しかし、この報告はスタチンの未変化体のみの検討に留まり、投与後生体内で変換されるAcid体(A体)またはLactone体(L体)については解析されていない。また、日本人において見出されるCYP2C9遺伝子多型の1つであるCYP2C9*3をコードするCYP2C9.3酵素に対する影響についても不明である。

本研究では、スタチンのA体およびL体のCYP2C9活性に対する阻害効果を *in vitro*で明らかにすることを目的とした。

【方法】ヒト肝ミクロソーム(HLMs)、組換えCYP2C9.1(rCYP2C9.1)およびrCYP2C9.3を用いて、S-ワルファリン7-水酸化酵素活性に対するスタチンの阻害効果を検討した。阻害が認められた場合、50%阻害濃度(IC_{50} 値)および阻害定数(K_i 値)を算出した。

【結果】HLMsを用いた検討では、アトルバスタチン、ピタバスタチン、シンバスタチンはA体およびL体のどちらもS-ワルファリン7-水酸化酵素活性を阻害し、いずれもL体の方が強力であったが、フルバスタチン

はL体よりもA体の方が強く阻害した。ロバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチンはL体のみがCYP2C9活性を阻害した。最も強力に阻害したのはフルバスタチンのA体($IC_{50}=0.161\mu M$)で、次いでフルバスタチンのL体($IC_{50}=0.952\mu M$)であった。rCYP2C9.1に対するスタチンの阻害プロファイルはHLMsの結果と概ね一致していた。rCYP2C9.3については、フルバスタチンのA体とL体の阻害効果が同程度であったことを除き、rCYP2C9.1の結果と同様であった。

rCYP2C9に対して $IC_{50}<30\mu M$ の阻害作用を示したスタチンについて阻害の速度論的解析を行った。rCYP2C9.3に対するフルバスタチンのA体およびL体、ピタバスタチンのL体の K_i 値はrCYP2C9.1の場合の1.9~7.1倍であった。また、アトルバスタチン、ロバスタチンの各L体の K_i 値はrCYP2C9.1の場合の約0.5倍であった。一方、ロスバスタチン、シンバスタチンの各L体の K_i 値はrCYP2C9.1と同程度であった。

【考察】HLMsおよびrCYP2C9.1の活性に対するスタチンの阻害効果は、フルバスタチンを除き、L体が対応するA体よりも強いことが示された。一般に、スタチンのL体はA体に比べて脂溶性が高いことから、脂溶性が阻害作用に重要な役割を果たしている可能性が考えられた。しかし、フルバスタチンの場合、A体の方がより強力な阻害作用を示したことから、脂溶性のみでは説明できない。CYP2C9.1の活性中心における各スタチンの結合部位の違いが阻害の程度に寄与している可能性が考えられるが、詳細は不明である。

CYP2C9.3はIle359Leuのアミノ酸置換を伴う変異酵素であり、ワルファリンに対する結合親和性が低下している。本研究において、CYP2C9.3に対するスタチンの阻害効果(K_i 値に基づく)はCYP2C9.1の0.14~

2.3倍と様々な程度であったことから、このアミノ酸変異はスタチンに対する結合親和性にも影響を及ぼしている可能性が示された。これらの結果は、ワルファリンを服用している CYP2C9*3アレル保持者がスタチンを併用する際に注意を要することを示唆する。本研究で得られたスタチンの K_i 値は、フルバスタチンの A 体を除き血中濃度よりも著しく高かったため、ほとんどのスタチンでは CYP2C9阻害の臨床的影響は限定的であると考えられるが、ワルファリンとの相互作用が疑われた場合は考慮する必要がある。

【結論】フルバスタチン以外のスタチンの L 体は対応する A 体に比べて CYP2C9 の S-ワルファリン7-水酸化酵素活性をより強力に阻害することを明らかにした。さらに、CYP2C9 の 359番目のアミノ酸残基はスタチンとワルファリンの相互作用に重要な役割を果たしていることを示した。

(論文審査の結果の要旨)

抗凝固薬のワルファリンは、効果と副作用のバランスを保ちながら用量調節をする必要があるが、併用薬との相互作用が多い薬剤である。ワルファリンと併用されることが多い HMG-CoA 還元酵素阻害薬（スタチン）は、併用によってワルファリンの抗凝固効果を増強する症例が多数報告されている。ワルファリンとスタチンの相互作用は、スタチンがワルファリン（S-体）の主要な代謝酵素であるシトクロム P450 2C9 (CYP2C9) の活性を阻害することによるものであることが報告されたが、スタチンの未変化体のみの検討に留まり、投与後生体内で変換される Acid 体または Lactone 体については解析されていない。また、日本人において見出される CYP2C9遺伝子多型の 1つである CYP2C9*3 (Ile359Leu) をコードする CYP2C9.3酵素に対する影響も不明である。そこで、スタチンの Acid 体および Lactone 体の CYP2C9活性に対する阻害効果を *in vitro* で明らかにし、阻害様式および阻害定数を求めるために速度論的解析を行った。

The Impact of Hyperuricemia on Patients With Low Body Mass Index After Endovascular Treatments: Data From the I-PAD Registry (末梢血管内治療後の低 BMI 患者に対する高尿酸血症の影響について : I-PAD レジストリより)

永 江 歩

(論文の内容の要旨)

【目的】長年高尿酸血症は、肥満、腎不全などの患者背景の結果であり、動脈硬化因子とはとらえられてこ

その結果、以下の結果を得た。

- ヒト肝ミクロソーム (HLMs) および CYP2C9.1 の組換え酵素の S-ワルファリン7-水酸化活性をフルバスタチン以外のスタチンでは Lactone 体が強く阻害し、フルバスタチンは Acid 体が強く阻害した。最も強く阻害したのは、フルバスタチンの Acid 体であった。
 - CYP2C9.3の組換え酵素に対しては、フルバスタチンの Acid 体と Lactone 体は同程度の阻害作用を示した。
 - HLMs を用いた阻害の速度論的解析では、フルバスタチンの Acid 体と Lactone 体、ロスバスタチンの Lactone 体が競合阻害を、検討したその他のスタチンは混合型の阻害様式を示した。
 - CYP2C9.1では、ピタバスタチンの Lactone 体が混合型の阻害様式、その他のスタチンはすべて競合阻害であった。
 - CYP2C9.3では、フルバスタチンの Acid 体は競合阻害、ピタバスタチンの Lactone 体では非競合阻害、その他のスタチンは混合型の阻害様式であった。
 - CYP2C9.1と CYP2C9.3の阻害定数 K_i 値を比較すると、CYP2C9.3に対するフルバスタチンの Acid 体、フルバスタチンの Lactone 体、ピタバスタチンの Lactone 体では阻害効果が減弱し、アトルバスタチンの Lactone 体、ロバスタチンの Lactone 体では阻害効果が強かった。
- 以上より、フルバスタチン以外のスタチンでは Lactone 体の方が、CYP2C9 の S-ワルファリン7-水酸化酵素活性をより強力に阻害することが示された。さらに、CYP2C9 の遺伝子多型はワルファリンとスタチンの薬物間相互作用に重要であることが明らかとなった。本論文は、ワルファリンとスタチンの薬物間相互作用に関する有用な知見を示したものである。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。

なかった。しかし、高尿酸血症は近年冠動脈疾患の独立した予後規定因子であることが知られるようになってきている。しかし同時に、血管内治療 (EVT) 後の

末梢動脈性疾患（PAD）患者における高尿酸血症の予後への影響に関する報告はほとんどない。また、肥満のない患者における高尿酸血症に関するデータもほとんど報告されていない。そこで、EVT 後の PAD 患者および非肥満（BMI が低い）EVT 後の PAD 患者に対する高尿酸血症の影響を調査した。

【方法】I-PAD NAGANO レジストリは、長野県の10施設から2015年8月から2016年8月までに下肢の任意の PAD に対して EVT を受けた連続患者337人が登録された前向き多施設観察レジストリである。患者は、まず高尿酸血症の有無に基づいてさらに2つのグループに分けられ、それぞれ予後を比較検討した。さらには、 $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ （低 BMI）と 25 kg/m^2 以上（高 BMI）の2つのグループに分割し、さらに高尿酸血症の有無に基づいてさらに2つのグループに分けられ、それぞれ予後を比較検討した。主要評価項目および副次評価項目は、重篤な心血管イベントおよび四肢有害事象（MACLE），および EVT 後3年時点の全死因死亡とした。

【結果】高尿酸血症患者は、高尿酸血症でない患者に比べ、3年時点で MACLE の発症率が有意に高かった（57.0 vs 71.9 %, $p=0.0068$ ）。高尿酸血症患者の全生存率は、高尿酸血症でない患者の全生存率よりも有意に低かった（63.9 vs 81.7 %, $p=0.0012$ ）。BMI が低い高尿酸血症患者においては、BMI が低い高尿酸血症ではない患者に比べて、MACLE の発症率が有意に高かった（48.2 対 69.9 %, $p=0.002$ ）。低 BMI を有する高尿酸血症患者の全生存率は、低 BMI を有する高尿酸血症ではない患者の全生存率よりも有意に低かった（55.2 vs 77.1 %, $p=0.003$ ）。高尿酸血症患者は、BMI が低い場合でも、高尿酸血症でない患者に比べて MACLE が有意に高く、3年生存率が低かった。高 BMI 患者においては、高尿酸血症の有無で、MACLE の発症率、全生存率について、同様の傾向がみられたが、有意差はつかなかった。

【考察】本研究において、低 BMI 患者グループを含むすべての患者において、高尿酸血症が MACLE の危険因子であることが示唆された。さらに、総死亡に関しても、BMI に関係なく、高尿酸血症がすべての患者にとって危険因子となる可能性がある。高 BMI 群については、患者数が少なかったため（n=87）、Endpoint に有意差が見られなかった理由であった可能性があると考える。

この研究は、たとえ BMI が低い（肥満のない）患

者であっても、高尿酸血症の存在がアテローム性動脈硬化の残余リスクであることを示すことができたことが特筆すべき点であると考える。現在、尿酸と動脈硬化との関連を説明する可能性のあるさまざまなメカニズムが提案されているが、尿酸産生経路に関わる酸化ストレス作用以外の要因は肥満とは直接関係しておらず、高尿酸血症の存在自体が動脈硬化の危険因子であると考えられている。これらの報告は、本研究における、BMI に関係なく、高尿酸血症が予後因子である可能性があるという結果と一致するものである。

以上のように、本研究の結果の通り高尿酸血症は、肥満（BMI）に関係なく、PAD 患者の予後規定因子であることが強く示唆される。すなわち、PAD 患者の高尿酸血症に対しての積極的な治療介入の必要性を提起するものであると考えらえる。しかしながら、高尿酸血症を新しい予後予測因子として確立するには、適切に設計されたランダム化対照試験が必要である。

（論文審査の結果の要旨）

長年、高尿酸血症は、肥満、腎不全などの患者背景の結果と考えられ、動脈硬化因子とはとらえられてこなかった。近年冠動脈疾患の独立した予後規定因子であることが知られるようになってきているが、一方で、血管内治療（EVT）後の末梢動脈性疾患（PAD）患者における高尿酸血症の予後への影響に関する報告はほとんどない。また、肥満のない患者における高尿酸血症に関するデータもほとんど報告されていない。そこで、本研究は、EVT 後の PAD 患者および非肥満（BMI が低い）EVT 後の PAD 患者の予後に対する高尿酸血症の影響を、I-PAD NAGANO レジストリのデータベースを用いて、調査した。

I-PAD NAGANO レジストリは、長野県の10施設から2015年8月から2016年8月までに下肢の任意の PAD に対して EVT を受けた連続患者335人が登録された、前向き多施設観察レジストリである。第一に、患者を高尿酸血症の有無に基づいてさらに2つのグループに分け、それぞれ予後を比較検討した。次に、 $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ （低 BMI）と 25 kg/m^2 以上（高 BMI）の2つのグループに分割し、さらに高尿酸血症の有無に基づいてさらに2つのグループに分け、それぞれ予後を比較検討した。主要評価項目および副次評価項目は、重篤な心血管イベントおよび四肢有害事象（MACLE），および EVT 後3年時点の全死因死亡とした。

その結果、以下のことが示された。

1. 全患者において、高尿酸血症は、MACLE、総死

亡ともに、独立した危険因子である。

2. BMI が低い患者においても、高尿酸血症は、MACLE、総死亡ともに、独立した危険因子である。

本研究の臨床的意義は、低 BMI 患者グループを含むすべての患者において、高尿酸血症が MACLE の危険因子であることが示唆され、肥満と関係なく予後と関連する因子であることが示されたこと、および、末梢動脈性疾患の患者においても同様のことが示された点にある。現在、尿酸と動脈硬化との関連を説明するさまざまなメカニズムが提案されているが、尿酸産生経路に関わる酸化ストレス作用以外の要因は肥満とは直接関係しておらず、高尿酸血症の存在自体が動脈硬化の危険因子であると考えられている。これらの

報告は、本研究における、BMI に関係なく、高尿酸血症が予後と関連するという結果と一致するものである。

本研究は、末梢動脈硬化性疾患の患者において、肥満の有無の患者背景によらず、高尿酸血症が動脈硬化性疾患のリスクファクターであることを示唆した点において有意義であり、動脈硬化性疾患予防の観点から積極的な治療介入の可能性を提起するものであると考えられる。しかしながら、高尿酸血症を新しい予後予測因子として確立するには、適切に設計されたさらなるランダム化対照試験が必要である。

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。

Developmental changes in prefrontal cortex activation in children with or without autism spectrum traits on near-infrared spectroscopy (近赤外分光法による自閉スペクトラム特性がある場合とない場合の子どもの前頭前野活性化の発達にともなう変化)

新 美 妙 美

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】従来、自閉スペクトラム症（ASD）は一般集団とは異なると考えられていたが、最近の知見から、自閉的特性は実際には広く分布していることが示唆されている。ASD 患者と一般集団における自閉的特性を示す人々との間に明確な境界線はないが、現在のところ、診断の閾値は、自閉的特性が日常生活機能を著しく阻害するレベルに設定されている。しかしながら、自閉的特性を持つ小児における正確な神経発達の違いは依然として全く不明である。本研究は、社会的障害を伴わない自閉的特性を有する児とそうでない定型発達児との間の脳機能の神経発達学的差異を明らかにすることを目的とした。

【被験者と方法】知能指数が正常範囲で社会的障害のない健康なボランティア53名（男性32名、女性21名、平均 [標準偏差] 年齢：12.9 [2.5] 歳）を、日本自閉症協会版広汎性発達障害評定尺度（PARS）の得点によって2群に分けた。自閉的特性が一定程度以上ある PARS 高得点群（n=14）と、自閉的特性がほとんどない PARS 低得点群群（n=39）とした。前頭前野の活性化は、言語流暢性課題（VFT）中の近赤外分光法（NIRS）による酸素化ヘモグロビン濃度（ $\Delta [\text{oxy-Hb}]$ ）の変化を用いて推定した。まず自閉的特性と脳機能との関係を明らかにするために PARS 得点と平均 $\Delta [\text{oxy-Hb}]$ との関係を解析した。次に PARS 低

得点群と高得点群の各群について、前頭前野の活性化における加齢変化を評価した。さらに年齢と PARS 得点が、課題中の $\Delta [\text{oxy-Hb}]$ に及ぼす影響を二元配置分散分析により解析した。

【結果】 前頭前野における PARS 得点と平均 $\Delta [\text{oxy-Hb}]$ の間には負の相関が観察された。PARS 低得点群の前頭前野領域において、課題中の平均 $\Delta [\text{oxy-Hb}]$ と年齢の間に有意な正の相関が認められた一方で PARS 高得点群では有意な相関が認められなかった。課題中の平均 $\Delta [\text{oxy-Hb}]$ の二元配置分散分析では、右前頭前野または左前頭前野における年齢と PARS 得点との間に有意な交互作用は認められなかった。単純主効果分析では、右前頭前野で年齢と PARS スコアの両方が $\Delta [\text{oxy-Hb}]$ に有意な影響を与えた。左前頭前野では、単純主効果分析で、 $\Delta [\text{oxy-Hb}]$ に対する年齢の顕著な効果は示されなかったが、PARS 得点は $\Delta [\text{oxy-Hb}]$ に有意な効果を示した。なお、課題遂行能力は両群間で同等であった。

【考察】 先行研究では、ASD の障害の責任領域の一つに前頭葉が示唆されていること、VFT 課題中に NIRS で測定した前頭葉機能活性化が健常者に比べて ASD 患者で低下していること、健常小児における前頭葉機能の加齢的变化が報告されている。ASD は臨床的には健常発達と連続性を持ったものと言われよく知られているが、それを生物学的、脳機能的に証明した研究

は少ない。本研究では、神経学的診断のない小児において、知能指標と自閉的特性を詳細に評価し、NIRS を用いて VFT 課題における前頭葉機能の発達的な変化を調べた。その結果、PARS で同定された定型発達児において、年齢に関連した前頭前野の活性化が有意に高いことを明らかにし、ASD と診断されたことはないが自閉的特性を持つ健常ボランティアでは、課題の成績は同等であったにもかかわらず、定型発達児に比べて前頭前野の活性化が著しく低いことを明らかにした。本研究は、前頭前野の活性化低下が ASD 患者だけでなく、自閉的特性を持つ健常ボランティアにも存在することを示し、ASD が一般集団に広くみられる特性であるという事象を生物学的な側面からも裏付ける知見となった。

(論文審査の結果の要旨)

自閉スペクトラム症は、社会的コミュニケーションおよび社会的相互関係の障害、行動、興味または活動に限定された反復的な様式の特性を有し、診断基準としてはこの自閉特性により日常生活に支障をきたすレベルと設定されている。従来自閉スペクトラム症は一般集団とは異なる臨床症状と考えられていたが、最近では自閉的特性は実際には広く分布しているとも示唆されている。NIRS は近年開発された機能的ニューロイメージング技術で、非侵襲的で操作が簡単で、繰り返しスキャンが可能であり、高い時間分解能でデータが得られるといった特徴を持つ。

本研究では、社会的障害を伴わないが自閉的特性を一定以上を有する児と自閉的特性がほとんどない定型発達児との間の神経発達学的差異について明らかにすることを目的とした。

The prevalence and clinical features of *MYO7A*-related hearing loss including DFNA11, DFNB2 and USH1B (DFNA11, DFNB2, アッシャー症候群1B型を含む *MYO7A* 関連難聴の臨床的特徴と頻度)

渡 邊 築

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】*MYO7A* 遺伝子は1995年に初めて網膜色素変性症を併発する症候性難聴（アッシャー症候群1B型：USH1B）の原因遺伝子であることが報告され、その後の研究で常染色体顕性遺伝および常染色体潜性遺伝（DFNA11, DFNB2）を含む非症候性難聴の原因でもあることが解明された。*MYO7A* 遺伝子は内耳、網膜、肺、精巣、腎臓など多くの臓器で発現されてい

参加者全例に知能検査を実施し、保護者への半構造化面接を行い PARS（日本自閉症協会版広汎性発達障害評定尺度）得点をつけた。賦活課題として文字言語流暢性検査を行い、課題中の前頭前野活性化を NIRS を用いて測定し、以下のような結果を得た。

1. 年齢と PARS 得点で分けた各グループにおいて、男女比、FIQ、VIQ, PIQ、言語流暢性検査の成績について有意差を認めなかった。
2. PARS 得点と $\Delta[\text{oxy-Hb}]$ の間に、PARS 得点が高いほど $\Delta[\text{oxy-Hb}]$ が低いという有意な相関を得た。
3. 年齢と、課題中の $\Delta[\text{oxy-Hb}]$ について、低 PARS 群では有意な正の相関を認めた。
4. 課題中の平均 $\Delta[\text{oxy-Hb}]$ について年齢と PARS 得点による二元配置分散分析を行い、有意な交互作用は認められなかった。単純主効果分析で、右前頭前野では年齢と PARS 得点が有意な影響を与えた。左前頭前野では PARS 得点のみが有意な影響を与えた。

自閉的特性を持つ健常ボランティア児で課題の成績は同等であったのにもかかわらず、定型発達児に比べて課題中の前頭前野の活性化が低いことを明らかにした。本研究は、前頭前野の活性化低下が自閉スペクトラム症患者だけではなく、自閉的特性を持つ健常ボランティアにも存在することを示し、自閉スペクトラム症が一般集団に広く見られる特性であるという事象を生物学的な側面から裏付ける知見となった。

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。

るが、内耳では内有毛細胞、外有毛細胞に局在し、機械的構造の維持や伝達に関与している。

数多くの *MYO7A* 遺伝子関連難聴の報告があるが、その多くはアッシャー症候群についてのものであった。DFNA11, DFNB2についての報告は限定的で、大規模集団における *MYO7A* 関連難聴の詳細かつ包括的な臨床的特徴は依然として不明である。そこで本研究では、*MYO7A* 関連難聴の頻度および発症年齢、重症

度、進行性、随伴症状などの臨床的特徴、遺伝形式と表現型の関連について明らかにすべく調査した。

【方法と対象】当院および共同研究施設の日本人難聴患者遺伝子データベースに登録された10,072人の難聴患者を対象に、難聴の原因遺伝子として知られる63遺伝子を標的とした次世代シークエンス解析を実施した。検出された変異はコントロール群における頻度が1%未満であるものを抽出し、American College of Medical Genetics (ACMG) の基準に照らし合わせ、その病原性を評価した。候補に残った変異のそれぞれに対し直接シークエンス法にて確認し、家系解析を行った。
【結果】137症例がMYO7A関連難聴であり、日本人難聴患者遺伝子データベースの中での頻度は1.44%（137例/10,047症例）であった。常染色体顕性遺伝の症例におけるDFNA11の割合は4.06%（91例/2,243症例）であり、常染色体潜性遺伝においてはDFNB2で0.38%（25例/6,163症例）、USH1Bでは0.32%（21例/6,163症例）であった。本研究において、疾患の原因となる70種類のバリエントを特定し、そのうち36種類が過去に報告されてない新規変異であった。

臨床像としてはDFNA11の症例の多くは遅発性の進行性難聴を示した。一方、DFNB2の症例では、先天性または早期発症の難聴が多く見られた。USH1Bの症例では殆どが先天性重度の感音難聴を認め、5-15歳で視覚症状を発症し、6-15歳で網膜色素変性症が診断された。また、独歩を開始する月齢が20.5か月と有意に遅く、前庭機能低下が示唆された。

【考察】過去の報告では全体の難聴患者での頻度は1.79-5.7%であったが、本研究では大きな相違はなかった。臨床的特徴も過去の報告との矛盾はなく、限定的であった過去の報告を本研究にて裏付けることができた。

DFNA11の症例で同定されたすべてのバリエントがミスセンスまたはインフレームであった。DFNB2ではすべての患者が少なくとも1つのミスセンス・バリエントを含んでいたが、一方でUSH1Bの症例では、患者のほぼ半数が2つのヌル・バリエント（ナンセンス、スプライシング、フレームシフト）を持つアレルを有していた。このことは常染色体顕性遺伝においては優性阻害効果が、一方で常染色体潜性遺伝においては機能喪失が難聴に関与していることが示唆された。

本研究で得られた知見によりMYO7A遺伝子への理解が深まり、遺伝子治療などの将来的な治療の可能性へつながることが期待される。

（論文審査の結果の要旨）

MYO7A遺伝子は網膜色素変性症を併発する症候性難聴（アッシャー症候群1B型：USH1B）の原因遺伝子であり、一方で常染色体顕性遺伝および常染色体潜性遺伝（DFNA11, DFNB2）を含む非症候性難聴の原因でもあることが知られている。MYO7A遺伝子は内耳、網膜、肺、精巣、腎臓など多くの臓器で発現されているが、内耳では有毛細胞に局在し、機械的構造の維持や伝達に関与している。過去の報告の多くはUSH1Bについてのものであり、DFNA11, DFNB2の報告は限定的で、大規模集団におけるMYO7A関連難聴の詳細かつ包括的な臨床的特徴は依然として不明である。そこで渡邊は本研究にて日本人難聴者10,047名の巨大な母集団の遺伝子解析、臨床データとの照合を行うことにより、MYO7A関連難聴の頻度および発症年齢、重症度、進行性、随伴症状などの臨床的特徴、遺伝形式と表現型の関連について明らかにすべく調査した。

その結果以下の成績を得た。

1. 日本人難聴全体の中でのMYO7A遺伝子変異の頻度は1.44%（137/10047）であった。遺伝形式別にみるとDFNA11は4.06%，DFNB2は0.38%，USH1Bは0.32%の頻度であった。
2. 発症年齢はDFNA11では10歳代であったが、それ以降の発症も多く見られた。DFNB2・USH1Bでは10歳未満が最頻であった。DFNB2は0-9歳の範囲で分散していたのに対し、USH1Bはほとんどの症例が0歳発症（先天性）であった。
3. DFNA11は軽度難聴の割合が多く、DFNB2はそれと比較し中等度～高度の難聴の割合が多かった。USH1Bは先天的に高度～重度の難聴を示す例がほとんどであった。
4. DFNA11・DFNB2は進行性難聴による聽力低下を認めた。
5. DFNA11では視覚症状を認めた症例はなかった。DFNB2では20歳代以降に視覚症状が出現した症例を数件認めた。USH1Bの多くでは10歳前後から夜盲や視野狭窄などの視覚症状を認めたが、5歳以下の症例ではまだ視力症状がない症例もあった。
6. USH1Bでは独歩開始が平均20.5か月と有意に遅れていた。
7. いずれの遺伝形式でも人工内耳の装用効果は良好であった。
8. 本研究で検出した変異は70種類。そのうち新規変

異は36件であった。

9. DFNA11では全てのバリアントがミスセンスまたはインフレームであり、その一方でUSH1Bではヌル・バリアントの割合が多く、両アリルともヌル・バリアントの例が半数以上であった。DFNB2では少なくとも片方のアリルがミスセンス・バリアント、インフレーム・バリアントであった。

以上より、日本人難聴者の集団において、難聴にお

けるMYO7A遺伝子の関与する頻度が決して低くないことと、各遺伝形式における特徴が過去の報告と矛盾しないことがわかった。今回明らかになったDFNB2とUSH1Bの鑑別に有用である臨床的特徴により、難聴患者のQOL維持に大きく寄与できる可能性を示した。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。

Predominance of T-bet-positive Th1 cells in infiltrating T-lymphocytes in most of active arteritis lesions of giant cell arteritis (活動性を有する巨細胞性動脈炎の大部分では、T-bet陽性 Th1細胞が優位に浸潤する)

里見英俊

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】巨細胞性動脈炎（GCA）の病態形成には、CD4陽性T細胞の活性化を伴う免疫学的機序が関与していると考えられてきた。GCA患者の側頭動脈生検の凍結組織、末梢血、血漿を用いた多くの研究により、インターフェロン- γ とインターロイキン-17の関与が、蛋白レベル・mRNAレベルで明らかにされている。しかし、ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織標本を用いて病理組織像と免疫学的側面との関連性を検討する解析は限られていた。FFPE標本を用いてGCA病変における浸潤リンパ球の免疫組織化学的解析を行い、特にTh1、Th2、Th17、Tregの特異的転写因子であるT-bet、GATA-3、ROR γ T、Foxp3に対する抗体を用いた免疫組織化学的解析を行った。

【方法】GCA23例を対象とし、側頭動脈生検標本で3 μ m厚の連続組織切片を作製し、病変の形態学的所見・浸潤リンパ球の免疫組織化学的所見について検討した。形態学的には、ヘマトキシリン・エオジン染色、エラスチカ・ゴールドナー染色を併用し、動脈壁の半周以上に多核巨細胞を含んだ炎症細胞浸潤および弾性板の破壊を伴う「活動期」と、活動期以外の「非活動期」に分類した。免疫組織化学的にはT-bet、GATA-3、ROR γ T、Foxp3抗体を用いて各陽性細胞のCD3陽性T細胞全体に対する割合を、評価・スコアリングし、活動期・非活動期間の比較を行った。

【結果】14例の活動期病変のうち8例では、CD4陽性細胞のうちT-bet陽性細胞が最も優勢であった。非活動期病変の9症例すべてにおいてはT-bet陽性細胞以外の転写因子陽性細胞が最も多かった。T-bet陽性細胞のグレードスコアは、活動期のものが非活動期の

ものより有意に高いことが示された（p<0.01）。一方、他の転写因子陽性細胞のグレードスコアの差は有意ではなかった。さらに、Foxp3陽性細胞はGCA病変で最も恒常的に観察され、23例中19例ではFoxp3陽性細胞がCD3陽性細胞の3.3%以上を占めていた。

【結論】T-bet陽性Th1細胞が、GCAの活動性炎症病変において最も浸潤割合の高いThサブセットであったことから、GCAはTh1優位の炎症性疾患であることが示唆された。一方、GCAの非活動期では、ROR γ T、Foxp3陽性細胞が高頻度であり、Treg細胞とTh17細胞が主要なThサブセットであることが示唆された。これは、GCAの病態形成と免疫学的機序を結びつける新たな知見であると考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

巨細胞性動脈炎（GCA）の病態形成機序については、患者の側頭動脈生検の凍結組織、末梢血、血漿を用いた多くの研究により、CD4陽性T細胞の活性化を伴う免疫学的機序、およびインターフェロン- γ とインターロイキン-17の関与が、蛋白レベル・mRNAレベルで明らかにされてきた。しかし、ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織標本を用いて病理組織像と免疫学的側面との関連性を検討する解析は限られていた。今回、FFPE組織標本を用いてGCA病変における浸潤リンパ球の免疫組織化学的解析、特にTh1、Th2、Th17、Tregの特異的転写因子であるT-bet、GATA-3、ROR γ T、Foxp3に対する抗体を用い、活動期病変・非活動期病変ごとに、免疫組織化学的に浸潤リンパ球のサブセット解析を行った。併せて、マクロファージのサブタイプについても、Iba-1、CD163に対する抗体を用いて検討した。

その結果、里見は次の結論を得た。

1. GCA の活動期病変の多くにおいては、T-bet 陽性細胞が最も浸潤割合の高い Th サブセットであった。
 2. GCA の非活動期病変においては、ROR γ T, Foxp3 陽性細胞が高頻度であった。
 3. 活動期・非活動期を問わず Foxp3 陽性細胞が最も恒常に観察され、浸潤するマクロファージの半数以上が CD163 陽性であった。
- これらの結果から、GCA の活動期では Th1 が病態

形成の中心を担い、非活動期では Treg と Th17 が病態形成の中心を担うことが示唆された。加えて、活動期・非活動期のいずれにおいても、Treg と M2-type マクロファージによる免疫抑制的な微小環境が GCA 病態形成に関与している可能性が推察された。

以上より、これらの結果は GCA 病変局所での免疫学的な病態形成機序に新たな知見を加えるものと考えられた。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。

Human rights health care measures reporting physical fitness test for ages 6 to 17 with 10-year follow-up (6歳から17歳児の、10年をおいた体力テストの調査から、健康に関する人権についての報告)

藤森聰美

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】子どもへの健康教育は、子どもの成長に経済的効果があると報告されている。歩行数の減少は、生活習慣病を引き起こす可能性が指摘されており、子どもを含めた成人の歩行数および運動の減少が、懸念されている。身体活動により体力が維持され、健康も維持・増進していくことが知られている。本研究は2008年と2018年、日本における児童・生徒による体力テストを行い、得られた知見から、早期健康教育プログラムが実施され、健康寿命の延伸は可能かどうかについて探っている。調査は、6歳から17歳の成長と発達に関連する体力テストを2008年および2018年に長野県松本市の学校において実施し、2008年が551人、2018年が588人の合計1,139人の各参加者であった。体力テストは、安全面、および経済的、機能的、利便性から考慮し、文部科学省が推奨する65歳から79歳までの体力テストを実施した。実施された体力テストの内訳は、握力、上体起こし、長座体前屈、開眼片足立ち、10m障害物歩行、6分間歩行の6種目であった。加えて、文部科学省が実施している全国体力テストと共通である握力、上体起こし、長座体前屈については、全国データとの比較を行った。

【結果】体力テストの、2008年および2018年の結果を調査年、年齢、性別の三元配置の分散分析により解析したところ、2018年の10m障害物歩行（2008<2018, p<0.05）の歩行能力と6分間歩行（2008>2018, p<0.05）の持久力は、2008年よりも有意に劣っていた。その一方で、2018年の開眼片足立（2008<2018, p<

0.05）の平衡機能は、2008年よりも有意に優れていた。男女比較では、男子の握力である筋力、上体起こしの筋持久力、10m障害物歩行の歩行能力、6分間歩行の持久力は女子を有意に上回り（Boys>girls, p<0.001）、女子の開眼片足立ちの平衡機能は、男子を有意に上回っていた（Boys<girls, p<0.001）。また全国平均値と長野県との比較による上体起こしでは、全国と長野の両年において、加齢とともに近似値で増加していくものの、15歳から17歳で、長野県は全国よりも優れている傾向がみられた。そして長座体前屈において、長野県は全国の両年を上回る傾向にあった。

【考察】体力テストの調査年による比較において、2018年の10m障害物歩行と6分間歩行の結果は、2008年よりも有意に劣っていた。この結果は、子どもの歩数が徐々に減少していることと関係している可能性がある。先行研究においては、1979年の日本では、6～12歳の子どもの1日の歩数は約2万歩、2010年頃は1万2,000～1万6,000歩と減少傾向にあることが報告されている。同様の脚の筋力の低下は、1983年から2014年の間にスロベニアでも確認されている。1981年から2000年にかけて、海外の11か国では20mシャトルランテストによる測定値の低下が報告されている。性別の分析では、握力、上体起こし、10m障害物歩行、6分間歩行では男子が女子を有意に上回ったものの、逆に開眼片足立ちでは女子が男子を有意に上回っていた。本結果は、男子は必要な筋力、筋持久力、歩行能力、持久力が女子よりも有意に優れている反面、女子は平衡機能が男子よりも有意に優れており、男性と女性の

特徴的な結果が現れたものと思われる。

【結論】 2008年と2018年に、長野県松本市の小・中学校、高等学校においての6歳から17歳による子どもの体力テストについての調査結果による知見は、健康寿命の延伸において有用に活用できる可能性を持ち、幼児からの早期健康教育プログラムを実施していく必要性が考えられた。

(論文審査の結果の要旨)

体力の向上により健康寿命を延伸させ、平均寿命と健康寿命の差を縮めるために早期健康教育への期待がある。その有用性を検証する基礎データを得るために、2008年と2018年に、長野県松本市の小・中学校、高等学校各1校において、6歳から17歳である総計1,139人に体力テストが実施された。体力テストは、安全面、経済的、機能的、利便性から考慮し、文部科学省が推奨する65歳から79歳までの体力テストを実施した。実施された体力テストは、握力による筋力、上体起こしによる筋持久力、長座体前屈による柔軟性、開眼片足立ちによる平衡性、10m障害物歩行による歩行能力、6分間歩行による持久力の6種目であった。調査結果は、調査年、性別、年齢において三元配置の分散分析により解析された。また6種目である体力テストのうち握力、上体起こし、長座体前屈の3種目については、文部科学省が実施している全国体力テストと共通の測定種目であることから、それらのデータとの比較を行った。

その結果以下の知見を得た。

1. 2008年と2018年に長野県松本市の小・中学校、高等学校における6歳から17歳である体力テストにおいて、10m障害物歩行と6分間歩行の2018年は、2008年よりも有意に劣っていた。これより、歩行能力および持久力を向上させていく必要性が考えられ

Thromboembolism during immune checkpoint inhibitor therapy : frequency and risk factors (免疫チェックポイント阻害薬治療中の血栓症：頻度とリスク因子)

井出貴之

(論文の内容の要旨)

【背景と目的】 血栓塞栓症（TE）は、がん患者における化学療法中の合併症としてよく知られている。しかし、免疫チェックポイント阻害薬（ICI）に関するTEリスクは不明である。本研究は、ICIによる治療を受けた患者におけるTEの発生率および関連するリスク因子を明らかにすることを目的とした。

た。

2. 性別による比較において、握力、上体起こし、10m障害物歩行、6分間歩行は、男子が女子より有意に優れていた。これより、男子の骨格筋の成長が女子を上回り、筋力・筋持久力・歩行能力・持久力に関与していることが推察された。
3. 性別による比較において、開眼片足立ちは、女子が男子より有意に時間が長いことが認められた。これより平衡機能と関連する脳機能の発達が、女子は男子を上回る可能性が推察された。
4. 全国調査と共に測定種目である握力において、長野県の2008年と2018年の両年は、全国調査の同年両平均値と、同様な傾向を示した。
5. 全国調査と共に測定種目である上体起こしにおいて、長野県の2008年と2018年の両年と、全国調査の同年両平均値は、加齢により近似値で増加していた。しかし15歳から17歳では、長野県の両年が、全国の両年を上回っていた。また長野県の2018年は、2008年よりも上体起こしの回数が有意に多く、筋持久力は向上していることが示唆された。
6. 全国調査と共に測定種目である長座体前屈において、2008年と2018年の両年は、全国調査の同年両平均値を上回っていた。また長野県の2018年は、2008年よりも長座体前屈の値が有意に長く、柔軟性が向上していることが示唆された。

以上より、2008年と2018年に、長野県松本市の小・中学校、高等学校においての6歳から17歳の子どもの体力テストについての調査結果の知見は、健康寿命の延伸において有用に活用できる可能性を持ち、幼児からの早期健康教育プログラムを実施していく必要性が考えられた。したがって、主査、副査が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。

【方法】 2014年9月から2021年10月の期間に信州大学医学部附属病院でICIを1回以上投与された患者を対象に後方視的に診療録を調査した。ICI投与開始後のTE発症の有無を調べるとともに、年齢、性別、がん種、肥満度、既往歴、治療開始時の臨床検査値、処方歴の情報を抽出した。TE発症・非発症者間で各項目の単変量解析を行い、有意差の得られた項目について

多変量ロジスティック回帰分析を行い、リスク因子を同定した。

【結果】ICI を投与された548例が対象となり、年齢70歳（中央値）、男性71.4 %であった。追跡期間の中央値15.1か月（範囲；0.16–72.0か月）であった。投与されたICIはニボルマブが最も多く（45.8 %）、次いでペムブロリズマブ（23.9 %）、ペムブロリズマブ+抗癌剤（7.8 %）、ニボルマブ+イピリムマブ（5.1 %）の順であった。調査期間内にTEは38名（6.9 %）で発症していた（静脈血栓症 22例、動脈血栓症 16例）。多変量ロジスティック回帰分析によりTEと有意に関連したリスク因子は、脂質異常症（OR 2.44；95 % CI 1.17–5.09； $p=0.017$ ）、Khoranaスコア ≥ 2 （HR 2.40；95 % CI 1.14–5.04； $p=0.021$ ）であった。全生存期間に関してはTE発症と非発症者間で有意差はなかった（ $p=0.963$ ）。

【結論】ICI投与患者においても、TEに関連する症状や臨床検査値を注意深く観察する必要がある。さらに、脂質異常症を併存する患者、Khoranaスコア ≥ 2 と判定される患者は、ICI投与に伴うTE発症のリスクが高いことが示された。

（論文審査の結果の要旨）

血栓塞栓症（以下、TE）は、がん患者における合併症としてよく知られ、がん患者の死因の第2位を占めている。シスプラチニンやベバシズマブのような、がん薬物療法でもTEリスクの上昇が知られている。最近、がん薬物療法の主軸の一つである免疫チェックポイント阻害薬（以下、ICI）治療により、がん患者の予後がさらに改善しているが、TEの発症頻度を検討した研究は少ない。これまでに少数例のICI投与患者の解析によりTEの発症頻度が報告されているが、TEのリスク因子は明らかではない。本研究では、ICI治療を受けた患者におけるTEの発症率およびTEのリスク因子を明らかにすることを目的として解析を行つ

た。

その結果、以下の知見を得た。

1. ICI投与後のTE発症頻度は、対象症例548名中発症者38名により6.9 %であった。静脈血栓症（以下、VTE）は22例で4.0 %、動脈血栓症（以下、ATE）は16例で2.9 %であった。
2. 単変量解析により、Khorana scoreの平均値（ $P=0.023$ ）、Khorana score 2以上と判定（ $P=0.021$ ）、Khorana scoreが1点上昇するごと（ $P=0.037$ ）、WBCの平均値（ $P=0.038$ ）、Hbの平均値（ $P=0.026$ ）、好中球の平均値（ $P=0.008$ ）、高血圧症併存（ $P=0.013$ ）、脂質異常症併存（ $P=0.001$ ）、Angiotensin receptor blockers/Angiotensin-converting enzyme inhibitorsの併用（ $P=0.009$ ）、脂質異常症改善薬の併用（ $P=0.001$ ）、尿路上皮がん（ $P=0.035$ ）の項目で P 値が0.05未満であった。
3. P 値が0.05未満であった項目を説明変数、TE発症「あり」または「なし」を目的変数として、多変量ロジスティック解析を行った結果、がん患者のうち脂質異常症併存とKhorana score 2以上と判定が独立したリスク因子として検出された。
4. ICIの初回投与後から血栓症発現までの期間および、ICIの最終投与後から血栓症発症までの期間における累積発症率はVTEとATEの間で有意差はなかった。
5. TE発症者と非発症者間における全生存期間の比較において有意差はなかった。

以上より、ICIの投与がTE発症と関連していることが示唆された。脂質異常症併存、Khoranaスコアが2以上と判定の項目は、ICI投与に伴うTE発症の独立したリスク因子であることが明らかとなった。

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。

Spontaneous regeneration after resection of various lengths of hypoglossal nerve in rats (ラット舌下神経切除後の自然再生)

一之瀬 優子

（論文の内容の要旨）

【背景・目的】損傷された末梢神経はこれまでのラットの動物実験で、神経線維の欠損距離が短い場合には自然に再生することが知られている。一方で、欠損距離が長い場合には欠損部の架橋などの修復なしには神

経は再生しないと考えられている。

本研究は、成熟ラットの舌下神経を切除した場合、どれくらいの長さの欠損であれば軸索を切除された舌下神経核ニューロンが自然に再生し、さらに機能についても回復するのか調べることを目的とした。

【方法】 成熟雌ラットを対照群、神経切断群（切除距離0.0 mm）、神経切除群に分けた。対照群は右側の舌下神経の露出のみ行った。神経切断群は右側の舌下神経を1か所で切断し、切断端を合わせて神経上膜を2か所で縫合した。神経切除群は右側の舌下神経を2か所で切断し、切除した神経の長さをデジタルノギスで測定した。

手術から12週後、麻酔下でラットの舌を撮影した写真上で舌が正中から偏位した角度を測定し、麻痺の重症度を評価した。その後、逆行性の神経トレーサーである Fluoro-Gold (FG) をラットの舌に注入して舌下神経核内の運動ニューロンを標識させた。さらに7日後にラットを安樂死させて脳幹と舌を取り出した。取り出した舌からは凍結切片を作製し、蛍光顕微鏡で FG の注入部を確認した。また、舌下神経核を含む脳幹部からはパラフィン切片を作製し、抗 FG 抗体を用いた免疫染色により FG で標識された舌下神経核ニューロンを可視化した。2人の観察者が光学顕微鏡で両側の FG 陽性舌下神経核ニューロンの数を一定間隔の切片でカウントして平均値を出し、損傷側と非損傷側の値から損傷した舌下神経核ニューロンの再生率を算出した。

【結果・考察】 対照群と神経切断群では舌は左右対称で偏位角度はすべて0°であった。神経切除群では、すべてのラットで舌が右側（損傷側）に5.0°～22.0°偏位し、切除距離が短いラットでは偏位角度も小さい傾向が見られた。

FG 陽性舌下神経核ニューロンの数から算出した再生率すなわち、「〔損傷側の FG 陽性ニューロンの数〕/[非損傷側の FG 陽性ニューロンの数] × 100 (%)」は、対照群では $103.1\% \pm 2.0\%$ でほぼ左右差を認めなかつた。舌下神経を損傷した神経切断群と神経切除群の再生率は77%より大きいグループと6%未満のグループとに分けられ、その2つのグループの舌下神経の境界切除距離は約10.0 mm だった。切除距離が10.0 mm 未満のラットと10.0 mm より大きいラットの舌下神経核ニューロンの再生率はそれぞれ、 $68.3\% \pm 10.8\%$ 、 $1.2\% \pm 1.0\%$ であり、統計学的に有意差を認めた。

さらに、舌の偏位角度が15°未満のラットでは舌下神経核ニューロンの再生率は $88.6\% \pm 2.2\%$ であったのに対し、舌の偏位角度が15°より大きいラットでは舌下神経核ニューロンの再生率は $1.0\% \pm 0.6\%$ であり、こちらも統計学的に有意な差があった。

また、再生率が77%より大きいグループにおける

最大の切除距離は9.9 mm で、偏位角度は12.0°と中等度であり運動麻痺からの回復が認められた。

【結論】 成熟ラットの舌下神経を切除した場合、切除された神経線維が損傷部を越えて自然に再生できる限界の長さは約10.0 mm であった。切除距離が10.0 mm 未満の場合には形態学的および機能的に再生することが明らかになった。

(論文審査の結果の要旨)

成熟雌ラットを対照群、神経切断群（切除距離0.0 mm）、神経切除群に分け、神経切断群は右側の舌下神経を1か所で切断後に縫合し、神経切除群は右側の舌下神経を様々な長さで切除した。12週後にラットの舌を撮影した写真上で舌が正中から偏位した角度を測定し麻痺の重症度を評価した。その後、逆行性の神経トレーサー (FG) をラットの舌に注入して舌下神経核内の運動ニューロンを標識させた。さらに7日後に脳幹と舌を取り出し、脳幹部から作製したパラフィン切片を免疫染色し FG で標識された舌下神経核ニューロンを可視化した。光学顕微鏡で両側の FG 陽性舌下神経核ニューロンの数をカウントし、損傷側と非損傷側の値から損傷した舌下神経核ニューロンの再生率を算出した。

その結果以下の結論を得た。

1. 舌の偏位角度は、対照群はすべて0°、神経切断群はすべて0°、神経切除群は5°～22°すべて右側（患側）に偏位していた。
 2. 舌下神経核ニューロンの再生率は、神経切断群と神経切除群では77%より大きいグループと6%未満のグループに二分され、その2つのグループ間の舌下神経の境界切除距離は約10.0 mm だった。
 3. 切除距離が10.0 mm 未満のラットと10.0 mm より大きいラットの舌下神経核ニューロンの再生率はそれぞれ、 $68.3\% \pm 10.8\%$ 、 $1.2\% \pm 1.0\%$ であった。
 4. 舌の偏位角度が15°未満のラットと15°より大きいラットの舌下神経核ニューロンの再生率はそれぞれ、 $88.6\% \pm 2.2\%$ 、 $1.0\% \pm 0.6\%$ であった。
 5. 舌下神経核ニューロンの再生率が77%より大きいグループの中で舌下神経の最大の切除距離は9.9 mm であった。このラットの舌の偏位角度は12.0°で、機能回復においても良好なグループに入っていた。
- 以上より、成熟ラットの舌下神経を切除した場合、切除された神経線維が損傷部を越えて自然に再生できる限界の長さは約10.0 mm であり、舌下神経の切除

距離が10.0 mm 未満の場合には形態学的および機能的に再生すると考えられた。

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。

Usefulness of decision tree analysis of MRI features for diagnosis of placenta accreta spectrum in cases with placenta previa (前置胎盤における癒着胎盤の診断に対するMRI画像を用いた決定木モデルの有用性)

田 中 泰 裕

(論文の内容の要旨)

【目的】 癒着胎盤は胎盤の絨毛細胞が子宮筋層に侵入することで、胎盤が剥離せず、大量の産後出血を引き起こす産科合併症である。癒着胎盤発症の最も重要な危険因子は、既往帝王切開術後の前置胎盤であり、癒着胎盤の頻度は、既往帝王切開術の回数が増えるにつれて増加すると言われている。近年は帝王切開による分娩が増加し、癒着胎盤の有病率も著しく増加している。癒着胎盤を伴わない前置胎盤では、多くの場合、胎盤剥離後の出血は保存的に制御できる。一方、癒着胎盤を伴う前置胎盤では、胎盤を剥離する試みは、致命的な大量出血の危険性があるため、帝王切開後の子宮摘出術や内腸骨動脈閉塞バルーンカテーテル留置など、特別な準備をして帝王切開術を行う必要がある。このように、手術戦略を計画する際に重大な影響を与えるため、前置胎盤における癒着胎盤の有無を予測する方法が以前より望まれている。

いくつかの報告では、MRI を用いて術前に癒着胎盤を予測することが試みられている。Society of Abdominal Radiology and European Society of Urogenital Radiology (SAR-ESUR) からの声明に代表されるように、癒着胎盤予測では、個々の MRI 所見に注目するのではなく、複数の所見を有することが重視されるようになってきた。しかし、1つの症例が SAR-ESUR 声明に列挙されたすべての MRI 特徴を有することは稀であり、大半の症例では、数個の MRI 所見しか存在しない。したがって、各特徴の診断上の重要度を明らかにすることが重要である。

決定木分析はデータから一定の法則を見つける一般的な手法である。そこで本研究では、癒着胎盤を伴う前置胎盤を予測する MRI 所見を総合的に評価し、各所見の重み付けをして、術前に癒着胎盤を予測するのに有用な決定木モデルを作成することを目的とした。
【方法】 本研究では、2008年から2022年の間に信州大学病院で MRI を撮影され、帝王切開術が施行された前置胎盤145例を対象とした。年齢、以前の帝王切開の

数、胎盤の主な位置、および術後診断を含む患者データを診療録から収集した。また MR 画像をもとに、11個の癒着胎盤に関連する MRI 所見を抽出し、それぞれが癒着胎盤の病理診断とどのように関連するか単変量解析をした。またランダムフォレスト機械学習モデルを用いて癒着胎盤の診断に重要な MRI 所見を選定し、選ばれた特徴を用いて決定木モデルを構築した。

【結果】

- ・MRI 所見と癒着胎盤の有無の相関性

8 個の MRI 所見について癒着胎盤との有意な相関が認められた。特に myometrial thinning や placental/uterine bulge は癒着胎盤を示唆する高いオッズ比を示した。

・決定木モデルの構築

ランダムフォレスト機械学習モデルによる選択を通じて、最も重要とされた所見は以下の 5 個であった。

1. Myometrial thinning
2. Placental/uterine bulge
3. Serosal hypervascularity
4. Placental ischemic infarction/recess
5. Intraplacental T2 dark bands

これらを用いて構築された決定木モデルは、検証コホートにおいて感度 (90.0 %)、特異度 (95.5 %) と、癒着胎盤の存在を高い精度で予測した。

【考察および結論】 本研究では、前置胎盤に合併した癒着胎盤の事前予測において、MRI の特定の特徴を基にした決定木モデルが有効であることを示した。特に、Myometrial thinning と Placental/uterine bulge は癒着胎盤の診断において高い診断的価値を示した。また、新たな MRI 所見として Serosal hypervascularity も癒着胎盤と高い相関性があることを示した。決定木モデルによってこれらの所見を統合することで、癒着胎盤の予測精度が向上することが示された。決定木モデルは、癒着胎盤の予測において非常に高い特異度 (95.5 %) を示し、臨床現場での使用において有用なモデルとなる可能性がある。特に、癒着胎盤を疑う症例においては、MRI による事前評価が重要であ

り、決定木モデルがその判断をサポートすることが期待される。

本研究の限界 (limitation) は後ろ向き研究であることが挙げられ、決定木モデルの臨床応用に向けては、さらに多くの症例を用いた前向き研究が必要である。

総じて、この研究は MRI を用いた前置胎盤合併妊娠での癒着胎盤予測において、決定木分析を利用する新しい方法を提案し、臨床現場での予測精度向上に貢献する可能性があることを示した。

(論文審査の結果の要旨)

癒着胎盤は絨毛細胞が子宮筋層に侵入することで、胎盤が固着し、分娩時に胎盤が剥離せず、大量出血を引き起こす産科合併症である。いくつかの MRI 所見が癒着胎盤と相關することが示されているが、全ての MRI 所見が揃う症例は稀であり、大半の症例では数個の MRI 所見しか見られず、診断は担当医の経験等に依存していた部分が大きい。したがって、各所見の診断上の重要度を明らかにし、結果を統合する方法が望まれる。

そこで田中は、妊娠中に MRI を撮像し、帝王切開術が施行された前置胎盤145症例を対象として、癒着胎盤に関連する11個の MRI 所見の有無を調査し、それぞれが癒着胎盤とどの程度相関するか解析した。またランダムフォレスト機械学習モデルを用いて MRI 所見の重要度により順位付けし、選定した所見を用いて決定木モデルを構築した。

その結果以下の成績を得た。

1. 癒着胎盤で高頻度に認められた MRI 所見は、placental/uterine bulge, myometrial thinning, serosal hypervascularity, placental ischemic infarction/recess, intraplacental T2 dark bands であった。
2. 陽性であった MRI 所見の数は癒着胎盤の症例において、癒着胎盤でなかった症例よりも有意に多かった。
3. 単変量解析の結果、8 個の MRI 所見が癒着胎盤と有意に相關していた。
4. 個々の MRI 所見単独でも、高い特異度を示す所見が多いが、感度は低かった。
5. ランダムフォレスト機械学習モデルを用いて、各 MRI 所見の mean decrease Gini を算出したところ、最も高い値を示したのは、myometrial thinning であった。
6. Mean decrease Gini によって示された癒着胎盤の鑑別に有用とされた MRI 所見の上位 5つを選択し、決定木モデルを作成したところ、感度 90.0 %、特異度 95.5 %と、癒着胎盤の存在を高い精度で予測できた。

以上より、本研究では MRI を用いた前置胎盤合併妊娠での癒着胎盤の予測において、決定木モデルを利用する新しい方法を提案した。この決定木モデルは癒着胎盤の術前予測の精度向上に貢献する可能性がある。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。