

博士論文要旨

論文提出者 廣澤 六 映

学位の種類	博士(医学)
学位記の番号	甲第1482号
学位授与の日付	平成25年10月11日
学位授与の要件	最終試験及び論文審査合格・統合医科学専攻
論文審査委員	教授 伏木信次・教授 水野敏樹・教授 八木田和弘

論文題目及び掲載誌

Hirosawa R, Narumoto J, Sakai Y, Nishida S, Ishida T, Nakamae T, Takei Y, Fukui K.
Reduced Dorsolateral Prefrontal Cortical Hemodynamic Response in Adult Obsessive-Compulsive Disorder as Measured by Near-Infrared Spectroscopy During the Verbal Fluency Task
Neuropsychiatric Disease and Treatment 2013; 9; 955-962.

審査結果の要旨

強迫性障害は精神疾患の中でも一般によくみられるものであり、日常生活への支障も大きく、その神経生理学的機序の解明が、非常に重要である。これまでに眼窩前頭一線条体回路に加え、背外側前頭前野を含む脳領域が重要な役割を果たすことが報告されてきている。また近年、非侵襲的に低コストで簡単に測定できる利点を活かして、様々な精神疾患における神経生理学的機序の理解に、近赤外線分光法(near-infrared spectroscopy: NIRS)が用いられており、言語流暢性課題を用いた認知賦活が行われることも多い。

申請者は、強迫性障害患者においてNIRSを用いて言語流暢性課題中に測定した背外側前頭前野での血液動態反応を評価し、それらを健常対照者と比較した。20名の強迫性障害患者と年齢、性別、利き手、そして推定知能指数を一致させた20名の健常対照者が参加した。診断は、精神疾患の分類と診断の手引第4版(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition: DSM-IV)に基づいた構造化面接によって行われ、明らかな身体疾患や脳に影響を及ぼしうる既往、他の精神疾患および発達障害の既往や妊娠を認める被験者は除外された。賦活課題として言語流暢性課題を用い、30秒の課題前区間、20秒の課題を3回(合計60秒)、70秒の課題後区間において、42チャンネルのNIRS装置を用いて0.22秒の標本抽出時間でヘモグロビン濃度変化を測定した。同日に、強迫症状をYale-Brown Obsessive-Compulsive Scale (Y-BOCS) および Maudsley Obsessive-Compulsive inventory (MOCI)、抑うつ症状をHamilton Depression Rating Scale (HAM-D)、不安症状をHamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A)を用いて測定した。アーチファクトは、詳細な観察と0.1ヘルツの高域遮断低域濾波装置を用いて解析前に除外した。左および右背外側前頭前野ならびに前頭極に置いた14のチャンネルで、強迫性障害患者と健常対照者との酸素化ヘモグロビン濃度変化のZ値を算出し、t検定によって解析を行った。結果、強迫性障害患者では、課題得点と年齢、推定知能指数、強迫性症状(Y-BOCS)得点とに有意な相関はなかった。前頭前野血液動態反応と課題得点との相関にも、有意な相関は認めなかった。言語流暢性課題中、著しい課題関連の賦活が、健常対照群において認められたが、強迫性障害群ではその賦活は小さく、右背外側前頭皮質における強迫性障害群の酸素化ヘモグロビン濃度変化は健常対照群のそれと比較して有意に小さかった($t=2.285$, $p=0.028$)。すなわち、強迫性障害患者では、言語流暢性課題中のNIRSで測定された右背外側前頭前野の血液動態反応減少が見られた。この結果から、強迫性障害の病態生理において背外側前頭前野が重要な役割を果たすという仮説を支持していることが示唆された。

以上が本論文の要旨であるが、強迫性障害における病態生理を臨床的に有用な手法を用いて明らかにした点で、医学上価値ある研究と認める。

参 考 論 文 (3編)

- 1) 吉田卓史, 秋篠雄哉, 松本良平, 廣澤六映, 福居顯二. Quetiapine の付加療法が奏功した衝動性が強かつ

- た強迫性障害の1例. 強迫性障害 2005; 4; 6: 105-109.
- 2) Kitabayashi Y, Otakara C, Hirose R, Narumoto J, Fukui K. Frontotemporal dementia complicated with schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* 2005; 59: 749-750.
- 3) Kitabayashi Y, Hamamoto Y, Hirose R, Narumoto J, Fukui K. Postpartum catatonia associated with atypical posterior reversible encephalopathy syndrome. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2007; 19: 91-92.

論文提出者 米田 政幸

学位の種類 博士(医学)
 学位記の番号 甲第1483号
 学位授与の日付 平成25年10月11日
 学位授与の要件 最終試験及び論文審査合格・統合医科学専攻
 論文審査委員 教授 奥田 司・教授 佐和貞治・教授 加藤則人

論文題目及び掲載誌

Yoneda M, Fujiwara H, Furutani A, Ikai A, Tada H, Shiozaki A, Komatsu S, Kubota T, Ichikawa D, Okamoto K, Konishi H, Murayama Y, Kuriu Y, Ikoma H, Nakanishi M, Ochiai T, Otsuji E.
Prognostic Impact of Tumor IL-6 Expression After Preoperative Chemoradiotherapy in Patients with Advanced Esophageal Squamous Cell Carcinoma
Anticancer Research 2013; 33: 2707-2713.

審査結果の要旨

IL-6 (Interleukin-6) を含めた炎症性サイトカインの発現が、癌の進展、予後と深く関連することが知られている。しかし血清中のIL-6とは異なり、癌細胞に発現するIL-6と癌の進展や予後との関連は、これまでにほとんど報告されていない。癌細胞に発現する種々のサイトカインの中から術前化学放射線療法(CRT)の奏効性や予後の予測に利用できるバイオマーカーを特定することは、進行食道癌に対するCRTを中心とする集学的治療の個別化において重要である。これまで申請者は、進行食道癌に対するCRT症例において、CRT終了後の血中IL-6が、奏効群に比べ非奏効群において有意に高く、IL-6が不良な予後とともにCRT抵抗性とも関連する可能性を報告した。そこで今回、申請者は進行食道癌切除標本のIL-6免疫染色を行い、癌細胞におけるIL-6発現と予後との関連について検討した。

2000年～2010年の間、術前CRTを施行した進行食道癌41例のうちGrade3を除いた34例(術前CRT群, cT3/T4: 11/23例)と前治療を行っていない進行食道癌21例(術前未治療群, cT3/T4: 20/1例)を対象とした。術前CRT症例では低容量FP療法を用いた。5-FUは200-250 mg/m²/dayを5日間持続投与し2日間休薬し、これを4週間繰り返し続けた。CDDPは5-7 mg/m²/dayを5-FU投与日に合わせ1時

間の点滴投与を行った。放射線治療は全例で外照射線量2Gy/回、5回/週の通常分割方法で行い、照射線量の合計を40Gyとした。CRT後の評価はCRT完了より2-3週間後に行い、手術はCRT最終日より4-6週間後に行った。手術は開胸あるいは胸腔鏡補助下にリンパ節郭清を伴う食道切除術を行った。切除標本における癌細胞のIL-6発現は抗IL-6モノクローナル抗体を用いた免疫染色により評価し、術前CRTの有無とIL-6発現との関連、IL-6発現と予後について検討した。

IL-6陽性率は術前CRT群で27.8%、術前未治療群で21.1%と、術前CRT群で高かった。Kaplan-Meier法による生存分析では、術前未治療群(p=0.639)においてはIL-6陽性例と陰性例との間に有意差は認めなかったが、術前CRT群(p=0.046)においてはIL-6陽性例は陰性例に比べ予後不良であった。また術前CRT群でコックス比例ハザードモデルによる多変量解析を行ったところ、IL-6発現は独立した予後因子であった(p=0.04)。各群においてIL-6発現と年齢・性別・根治度・病期の間には差を認めなかった。

申請者は、癌細胞におけるIL-6の発現が癌の進展と深く関連するとともに、CRT後の癌細胞におけるIL-6の発現が独立した予後因子となることを明らかにした。

以上が本論文の要旨であるが、進行食道癌切除標本を用いて、癌細胞における IL-6 発現と予後との関連を初めて明らかにした点で、医学上価値のある研究と認める。

参 考 論 文 (4 編)

- 1) Suchi K, Fujiwara H, Okamura S, Okamura H, Umehara S, Todo M, Furutani A, Yoneda M, Shiozaki A, Kubota T, Ichikawa D, Okamoto K, Otsuji E. Overexpression of interleukin-6 suppresses cisplatin-induced cytotoxicity in esophageal squamous cell carcinoma cells. *Anticancer Res* 2011; 31: 67-75.
- 2) Umehara S, Fujiwara H, Shiozaki A, Todo M, Furutani A, Yoneda M, Ikai A, Tada H, Komatsu S, Ichikawa D, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Otsuji E. PSK induces apoptosis through the inhibition of activated STAT3 in human esophageal carcinoma cells. *In Jo Oncolo* 2012; 41: 61-66.
- 3) Okamura H, Fujiwara H, Umehara S, Okamura S, Todo M, Furutani A, Yoneda M, Shiozaki A, Komatsu S, Kubota T, Ichikawa D, Okamoto K, Ochiai T, Sakakura C, Takahashi Y, Yoshimoto T, Otsuji E. COX-2 overexpression induced by gene transfer reduces sensitivity of TE13 esophageal carcinoma cells to 5-fluorouracil and cisplatin. *Anticancer Res* 2013; 33: 537-542.
- 4) Okamura S, Fujiwara H, Yoneda M, Furutani A, Todo M, Ikai A, Tada H, Okamura H, Umehara S, Shiozaki A, Kubota T, Komatsu S, Ichikawa D, Okamoto K, Ochiai T, Otsuji E. Overexpression of IL-6 by gene transfer stimulates IL-8-mediated invasiveness of KYSE170 esophageal carcinoma cells. *Anticancer Res* 2013; 33: 1483-1489.

論文提出者 岡村新一

学位の種類	博士(医学)
学位記の番号	乙第2099号
学位授与の日付	平成25年10月11日
学位授与の要件	学力の確認及び論文審査合格
論文審査委員	教授 奥田 司・教授 佐和貞治・教授 加藤則人

論 文 題 目 及 び 掲 載 誌

Okamura S, Fujiwara H, Yoneda M, Furutani A, Todo M, Ikai A, Tada H, Okamura H, Umehara S, Shiozaki A, Kubota T, Komatsu S, Ichikawa D, Okamoto K, Ochiai T, Otsuji E.
Overexpression of IL-6 by Gene Transfer Stimulates IL-8 Mediated Invasiveness of KYSE170 Esophageal Carcinoma Cells
Anticancer Research 2013; 33: 1483-9.

審 査 結 果 の 要 旨

食道癌を含む様々な癌種において、腫瘍組織内や体循環中の炎症性サイトカインの上昇は、病期の進行や不良な予後と相関することが報告されている。また、治療誘発性に腫瘍組織や腫瘍細胞中に過剰発現した炎症性サイトカインが、治療の効果や腫瘍細胞の悪性度にも影響を与える可能性も示唆されている。これまで我々は、進行食道癌に対する術前化学放射線療法(CRT)症例において、CRT終了後の血中IL-6が、奏効群に比べ非奏効群において有意に高く、IL-6が不良な予後とCRT抵抗性に関連する可能性を報告した。また、CRT終了後の遺残癌組織を用いた免疫染色にて、癌細胞におけるIL-6高発現が

CRT抵抗性とも関わることで、予後不良因子となることも報告した。今回、食道癌細胞株KYSE170を用いて遺伝子導入によるIL-6高発現株を作成し、IL-6の発現と浸潤能との関連について検討した。

申請者は、遺伝子導入によりIL-6高発現細胞株KYSE^{IL-6}を作成、Neomycin耐性遺伝子導入細胞KYSE^{Neo}をcontrolとして浸潤能を比較した。浸潤能は、8 μ mの小孔フィルターとMatrigelでコーティングされた膜を有する24-well dishを用いた。上段容器にSerum-freeの環境下で1 \times 10⁵ cells/well、下段容器にはculture mediumを入れて48時間培養し、上段容器の表面側で浸潤せずに残っ

た細胞を拭き取った後に、上段容器の膜を固定・染色し下段側へ浸潤した細胞数を計測した。siRNAによる実験では、siRNAを導入から48時間後に回収した細胞を浸潤能解析に用いた。siRNAを用いたIL-6及びIL-8の阻害により、siRNA controlとの浸潤能を比較するとともに、各細胞におけるIL-8/VEGF/HGF発現をRT-PCR及びELISAにて比較した。KYSE^{IL-6}、KYSE^{N₆₀}の浸潤能の比較では、KYSE^{IL-6}において有意な浸潤能亢進を認めた。siRNAにてIL-6を抑制したところ浸潤能は抑制された。

両細胞におけるIL-8/VEGF/HGF発現をRT-PCRおよびELISAにて比較したところ、KYSE^{IL-6}における有意なIL-8発現増強を認めた。そこで、siRNAによってKYSE^{IL-6}のIL-8発現を抑制したところKYSE^{IL-6}の浸潤能は抑制されたが、IL-6発現は高発現を維持したままであった。

以上が本論文の要旨であるが、遺伝子導入によるIL-6の過剰発現が食道癌細胞株KYSE170の浸潤能を亢進させること、更に、この浸潤能亢進の中心的役割は、細胞内の一方向性の情報伝達経路によってIL-6から誘導されたIL-8の働きによる事を明らかにした点で、医学上価値ある研究と認める。

参 考 論 文 (4編)

- 1) Fujiwara H, Suchi K, Okamura S, Okamura H, Umehara S, Todo M, Shiozaki A, Kubota T, Ichikawa D, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Sonoyama T, Otsuji E. Elevated serum CRP levels after induction chemoradiotherapy reflect poor treatment response in association with IL-6 in serum and local tumor site in patients with advanced esophageal cancer. *J Surg Oncol*. 2011; 103: 62-68.
- 2) Suchi K, Fujiwara H, Okamura S, Okamura H, Umehara S, Todo M, Furutani A, Yoneda M, Shiozaki A, Kubota T, Ichikawa D, Okamoto K, Otsuji E. Overexpression of interleukin-6 suppresses cisplatin-induced cytotoxicity in esophageal squamous cell carcinoma cells. *Anticancer Res*. 2011; 31: 67-75.
- 3) 岡村新一, 藤原 斉, 須知健太郎, 岡村寛子, 梅原誠司, 藤堂桃子, 栗生宜明, 生駒久視, 窪田 健, 中西正芳, 市川大輔, 菊池正二郎, 岡本和真, 落合登志哉, 阪倉長平, 國場幸均, 園山輝久, 大辻英吾. 食道癌組織におけるIL-6/COX-2発現と化学放射線療法奏効性および予後との関連. *癌と化療* 2009; 36: 1979-81.
- 4) Okamura S, Fujiwara H, Shiozaki A, Komatsu S, Ichikawa D, Okamoto K, Murayama Y, Ikoma H, Kuriu Y, Nakanishi M, Ochiai T, Kokuba Y, Sonoyama T, Otsuji E. Long-term survivors of esophageal carcinoma with distant lymph node metastasis. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 421-5.