

---

**博士論文要旨**

---

論文提出者 田中章浩

学位の種類 博士(医学)  
学位記の番号 甲第1490号  
学位授与の日付 平成26年3月31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 水野敏樹・教授 福居顯二・教授 八木田和弘

## 論文題目及び掲載誌

Tanaka A, Akamatsu N, Yamano M, Nakagawa M, Kawamura M, Tsuji S.  
**A More Realistic Approach, Using Dynamic Stimuli,  
to Test Facial Emotion Recognition Impairment in Temporal Lobe Epilepsy**  
Epilepsy and Behavior 2013; 28:12-16.

## 審査結果の要旨

表情やボディールランゲージにより他者の感情を認知することは人間社会の生活や非言語意思疎通において極めて重要である。表情は一般的に基本6表情(恐怖、喜び、怒り、悲しみ、嫌悪、驚き)で表現される。内側側頭葉てんかん(mesial temporal lobe epilepsy, MTLE)の表情認知の研究の報告例はあるが、それらはいずれも静止画表情刺激課題(写真や絵)を用いて評価されている。

申請者は実際の表情により近い動画を用いた表情認知の評価法である動画表情刺激課題をてんかん患者に実施し、社会的認知機能を評価した。

対象はMTLE群63名、MTLEに対し手術治療を受けた(post-temporal lobectomy, PTL)患者群25名。MTLE群は病歴、脳波、各画像検査を含んだ包括的検査により国際抗てんかん連盟の診断基準に基づき定義した。さらに健常対照者群32名を設定した。表情認知の評価は、従来行われていた静止画とは異なり動画表情刺激課題を用いた。本課題は12.1インチ型モニタを使用し、俳優男女各1名が基本6表情を行い、各々の表情を撮影したものを被験者に提示し、各表情を選択肢により回答するものと設定した。

本課題の正答率は、健常対照者群が93%、MTLE群、PTL群は共に86%と後者2群の方が健常対照者群より有意に低かった。基本6表情の解析では、「嫌悪」、「恐怖」、「悲しみ」の表情の正答率が後者2群において低かった。またMTLE群では、てんかんの発症年齢が低い程、さらにてんかんの罹患期間が長い程、正答率が低い傾向が認

められた。

本研究はてんかん患者にビデオ動画表情刺激課題を用いて表情認知を評価した最初の報告である。MTLEおよびPTL患者の表情認知機能の障害を明らかにした。MTLE患者の表情認知機能障害は対人関係を困難にさせ社会生活を困難にさせている可能性がある。6表情の解析では、MTLE群、PTL群ともに「嫌悪」、「恐怖」、「悲しみ」の表情認知機能が低下していた。表情を処理する神経システムは部位特異性が報告されている。扁桃体、島はMTLEでてんかん放電により機能障害をきたす領域である。「恐怖」と「悲しみ」の表情認知障害は扁桃体が責任病巣と考えられる。「嫌悪」の認知障害は島皮質の関与が推測される。手術後の患者においても表情認知の低下を認め、手術後も表情認知機能が改善されないことも示唆された。てんかんの罹患期間の長さが表情認知の低下に影響していた。

以上が本論文の要旨であるが、内側側頭葉てんかんの患者の社会生活を困難にしている原因として表情認知の低下を明らかにした点で、またより実際の動画を用いて評価した点で、医学的価値のある研究と認める。

## 参考文献(7編)

- 1) Tanaka A, Akamatsu N, Shouzaki T, Toyota T, Yamano M, Nakagawa M, Tsuji S. Clinical characteristics and treatment responses in new-onset epilepsy in the elderly. Seizure 2013; 22: 772-775.

- 2) Toyota T, Akamatsu N, Tanaka A, Syouzaki T, Tsuji S, Saito K, Tanaka Y. Mesial temporal lobe epilepsy as a neuropsychiatric syndrome of systemic lupus erythematosus. *Epilepsia* 2013; 54: e33-36.
- 3) 赤松直樹, 田中章浩, 正崎泰作, 豊田知子, 山野光彦, 辻 貞俊. 高齢者のでんかんの特徴と治療の特異性. *Med Sci Dig* 2012; 38: 300-303.
- 4) 赤松直樹, 田中章浩, 正崎泰作, 豊田知子, 山野光彦, 辻 貞俊. 高齢者でんかんとレベチラセタム. *脳* 21 2012; 15: 335-338.
- 5) Tanaka A, Yoshida T, Yamada T, Isayama R, Fujiwara Y, Shiga K, Yamada K, Tanaka K, Nakagawa M. A case of cerebral aquaporinopathy. *Multiple Sclerosis* 2010; 16: 1252-1254.
- 6) 田中章浩, 永金義成, 細見明子, 栗山長門, 徳田隆彦, 中川正法. 突然発症の片麻痺に対してアルテプラーゼ静注療法を検討した急性脊髄硬膜外血腫の1例. *脳卒中* 2008; 30: 60-63.
- 7) 田中章浩, 吉田誠克, 諫山玲名, 藤原康弘, 笠井高士, 中川正法. 眼窩先端症候群を呈した非浸潤型副鼻腔アスペルギルス感染症の1例. *臨神経* 2011; 51: 219-222.

## 論文提出者 谷口将吾

学位の種類	博士(医学)
学位記の番号	甲第1491号
学位授与の日付	平成26年3月31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 水野敏樹・教授 八木田和弘・教授 渡邊能行

## 論文題目及び掲載誌

Taniguchi S, Narumoto J, Shibata K, Ayani N, Matsuoka T, Okamura A, Nakamura K, Shimizu H, Fukui K.

**Treatment in a Ward for Elderly Patients with Dementia in Japan**

*Neuropsychiatric Disease and Treatment* 2013; 9: 357-363.

## 審査結果の要旨

認知症の行動・心理症状 (Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia; BPSD) は重要な問題であり、時には入院治療が必要となる。認知症治療病棟は、精神科の医師、看護師、作業療法士、精神保健福祉士等による多職種で治療を提供する。欧米では、BPSDの入院治療の有効性に関する研究は多いが、わが国では多くない。また、過去の研究では、身体合併症の頻度が非常に多いことや、身体合併症が長期入院の予測因子であることが報告されている。

申請者は、認知症治療病棟での治療の有効性、身体合併症に関連したリスク因子、抗精神病薬使用による影響に関して後ろ向き調査を行った。88名の認知症患者が対象となり、認知症の重症度は Clinical Dementia Rating (CDR) を用い、ADLは Physical Self-Maintenance Scale (PSMS) を用い、BPSDは Neuropsychiatric Inventory (NPI) を用いて評価した。入院時と退院時の CDR, PSMS, NPI の比較には Wilcoxon の符号付き順位検定と  $\chi^2$  乗検定を用いた。身体合併症治療のため転院、転

棟した群とそれ以外の群の CDR, PSMS, 入院時の身体合併症の有無、退院時の抗精神病薬の処方の有無の比較には Mann-Whitney の U 検定と  $\chi^2$  乗検定を用いた。抗精神病薬の有無で患者を入院時と退院時で二群化し、それぞれの CDR, PSMS, NPI の比較にも Mann-Whitney の U 検定と  $\chi^2$  乗検定を用いた。データは SPSS 12.0 を用いて解析し、 $p < 0.05$  を統計学的有意とした。また、多重補正には Bonferroni 法を用いた。その結果、診断はアルツハイマー型認知症が最も多く 61% を占め、次いで血管性認知症が 18% であった。向精神薬の使用頻度は入院時と退院時で有意差を認めなかったが、抗精神病薬は半数以上で使用していた。約 1/3 が身体治療のため転院、転棟した。PSMS は退院時には有意に改善 (Bonferroni-corrected  $p < 0.01$ )、CDR は不変であった。退院時に多くの BPSD で消失傾向を認めたが、妄想と睡眠異常で特に顕著であった (uncorrected  $p < 0.05$ )。身体合併症により退院した 29 名とそれ以外の 59 名の比較では、身体合併症のために退院した群では有意に退院時の認知症の重

症度が高かった (Bonferroni-corrected  $p < 0.05$ ). 入院時と退院時の抗精神病薬使用の有無による2群間でのCDR, PSMS, BPSDの比較では, 退院時に抗精神病薬を使用されていた群では認知症重症度は高い傾向であった (uncorrected  $p < 0.05$ ). 本研究では, 認知症治療病棟での加療によって認知症患者のADLは有意に改善し, 妄想と睡眠異常を含めた多くのBPSDは消失傾向であった. 身体合併症治療のために転院, 転棟した群では有意に退院時の認知症の重症度が高かった. 退院時に抗精神病薬が使用されていた群では認知症重症度は高い傾向であった. このことから, 認知症治療病棟での治療の有効性, 認知症の重症度と身体合併症, 抗精神病薬との関連性が示唆された.

以上が本論文の要旨であるが, 認知症治療病棟での治療の有効性, 認知症の重症度と身体合併症, 抗精神病薬との関連性を示した点で, 医学上価値ある研究と認める.

#### 参 考 論 文 (4 編)

1) 成本 迅, 江口洋子, 内藤健三郎, 加藤佑佳, 松岡

照之, 岡村愛子, 谷口将吾, 柴田敬祐, 福居顯二. 成年後見用診断書の様式に関する全国調査. 老年精医 2012; 23: 74-79.

- 2) Matsuoka T, Narumoto J, Shibata K, Okamura A, Taniguchi S, Kitabayashi Y, Fukui K. Effect of tokishakuyaku-san on regional cerebral blood flow in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Evi Based Complement Alternati Med* 2012; 2012: 245091. doi: 10.11; 5/2012/245091, Epub 2012 Feb 12
- 3) Hatano Y, Narumoto J, Shibata K, Matsuoka T, Taniguchi S, Hata Y, Yamada K, Yaku H, Fukui K. White-matter hyperintensities predict delirium after cardiac surgery. *Am J Geriat Psychiatry* 2013; 21: 938-945.
- 4) Matsuoka T, Narumoto J, Okamura A, Taniguchi S, Kato Y, Shibata K, Nakamura K, Okuyama C, Yamada K, Fukui K. Neural correlates of the components of the clock drawing test. *Int Psychogeriatr* 2013; 25: 1317-1323.

論文提出者 吉 岡 崇

学位の種類	博士 (医学)
学位記の番号	甲第 1492 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 31 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 三木恒治・教授 矢部千尋・教授 松田 修

#### 論 文 題 目 及 び 掲 載 誌

Yoshioka T, Yogosawa S, Yamada T, Kitawaki J, Sakai T.  
**Combination of a Novel HDAC Inhibitor OBP-801/YM753  
 and a PI3K Inhibitor LY294002 Synergistically Induces Apoptosis  
 in Human Endometrial Carcinoma Cells due to Increase of Bim with Accumulation of ROS**  
*Gynecologic Oncology* 2013; 129: 425-432.

#### 審 査 結 果 の 要 旨

子宮体癌は女性の生殖管から発生する最も一般的な癌の1つであり, 子宮体癌の多くが閉経後に発症するが, 近年閉経前の若年子宮体癌が増加してきている. 現在まで様々な臨床試験が行われているが, 進行例や再発例に対する有効な治療法はほとんど無いのが現状である. HDAC 阻害剤は様々な癌治療に対して期待されており, 子宮体癌に対しても細胞周期停止やアポトーシスを誘導することが報告されている. また, 子宮体癌の多くに

PIK3CA や PTEN の変異に伴う PI3K/Akt 経路の異常活性化がみられ, PI3K 阻害剤が子宮体癌細胞に対し, 細胞増殖抑制効果を示すことが知られている. そこで申請者は, 新規 HDAC 阻害剤 OBP-801/YM753 と既存の PI3K 阻害剤 LY294002 の併用療法のヒト子宮体癌細胞株 HEC-1A 細胞に対する効果と分子メカニズムについて検証した.

申請者はまず OBP-801/YM753, LY294002 単剤での抗

腫瘍効果について検証した。WST-8 assayにおいて、これらの薬剤はヒト子宮体癌細胞株 HEC-1A 細胞に対し、濃度依存的に細胞増殖抑制効果を示した。colony formation assay を用いた併用効果の検討では、併用処理により著明な colony 数の減少を認めた。flow cytometry を用いたアポトーシス解析では、併用処理により著明なアポトーシス誘導効果が認められた。western blotting 法では、併用処理によりカスパーゼの活性化と Bim の増強が確認され、siRNA による Bim のノックダウンにより部分的なアポトーシスの抑制が認められた。さらに、併用処理により細胞内活性酸素種 (ROS) の有意な蓄積が見られ、N-アセチルシステイン (NAC) を同時処理することにより細胞内 ROS の蓄積が抑制され、さらに、カスパーゼの活性化と Bim の誘導が阻害された。これらの結果より、併用によって誘導されるアポトーシスは細胞内 ROS の蓄積を介した Bim の増加に関与していることが示唆された。また、本研究で用いている OBP-801/YM753 は入手可能な全ての HDAC 阻害剤の中で最も HDAC 阻害活性が強い HDAC 阻害剤であり、臨床で最も一般的である SAHA に比べ、LY294002 との併用効果が強いことを示した。以上の結果に基づいて、OBP-801/YM753 と LY294002 の動物実験における抗腫瘍効果をヌードマウスを用いて検討した。併用療法はコントロール群に比べ、有意に腫瘍増大を抑制し、併用群の 1 匹に腫瘍の縮小がみられた。

以上が本論文の要旨であるが、これは子宮体癌細胞株に対する HDAC 阻害剤と PI3K 阻害剤の併用効果を示した最初の報告である。また、HDAC 阻害剤単剤による Bim の増強は報告されているが、HDAC 阻害剤と PI3K 阻害剤の併用により Bim を増強させ、それによりアポトーシスが誘導されることを示した最初の報告でもあり、これらの薬剤の併用による新たな子宮体癌に対する

治療戦略が期待できる点で、医学的価値がある研究と認められる。

#### 参 考 論 文 (6 編)

- 1) Yamamoto T, Mori T, Sawada M, Kuroboshi H, Tatsumi H, Yoshioka T, Matsushima H, Iwasaku K, Kitawaki J. Estrogen-related receptor- $\gamma$  regulates estrogen receptor- $\alpha$  responsiveness in uterine endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2012; 22: 1509-1516.
- 2) 吉岡 崇, 大久保智治, 山口剛史, 木村 修, 北脇城. 尿生殖洞異常女児に対する Laparoscopic hysterectomy (LH) の経験. *日産婦内視鏡会誌* 2010; 26: 255-259.
- 3) 奥田知宏, 吉岡 崇, 秋山 誠, 山下貞雄. 急性虫垂炎と診断し、腹腔鏡下手術を施行、後日クラミジア腹膜炎と診断した 2 症例. *日産婦内視鏡会誌* 2010; 26: 392-396.
- 4) 奥田知宏, 吉岡 崇, 秋山 誠, 山下貞雄. 腹腔鏡手術を施行した uterine adenomatoid tumor の 1 例および adenomatoid tumor を疑った変性子宮筋腫の 1 例. *日産婦内視鏡会誌* 2010; 26: 429-434.
- 5) 奥田知宏, 吉岡 崇, 秋山 誠, 片岡 恒, 大坪昌弘, 山下貞雄. 当院で経験した腹腔鏡手術を施行後、ovarian mucinous borderline tumor と判明した 5 症例について. *日産婦内視鏡会誌* 2012; 28: 363-372.
- 6) Yamada T, Horinaka M, Shinnoh M, Yoshioka T, Miki T, Sakai T. A novel HDAC inhibitor OBP-801 and a PI3K inhibitor LY294002 synergistically induce apoptosis via the suppression of survivin and XIAP in renal cell carcinoma. *Int J Oncol* 2013; 43: 1080-1084.

論文提出者 中山 理祐子

学位の種類 博士(医学)  
学位記の番号 甲第1493号  
学位授与の日付 平成26年3月31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 中村直登・教授 奥田 司・教授 伊藤義人

## 論文題目及び掲載誌

Nakayama R, Kuroda J, Taniyama N, Yamamoto-Sugitani M, Wada S, Kiyota M, Mizutani S, Chinen Y, Matsumoto Y, Nagoshi H, Shimura Y, Kobayashi T, Horiike S, Sato K, Taniwaki M.  
**Suppression of SERPINA1-albumin Complex Formation by Galectin-3 Overexpression Leads to Paracrine Growth Promotion of Chronic Myelogenous Leukemia Cells**  
Leukemia Research 2014; 38: 103-108.

## 審査結果の要旨

慢性骨髄性白血病 (chronic myelogenous leukemia; CML) は、疾患特異的染色体異常である Philadelphia (Ph) 染色体から生じる融合蛋白 BCR-ABL1 の恒常的なチロシンキナーゼ (TK) 活性により発症することが知られている。最近、申請者らは CML 細胞において骨髄腫瘍環境特異的に  $\beta$ -ガラクトシド結合レクチンである Galectin-3 (Gal-3) が誘導されること、Gal-3 が CML 細胞において細胞増殖、アポトーシス抵抗性の獲得、多剤薬剤抵抗性獲得、骨髄嗜好性棲息など病態形成における多様な局面に重要な役割を果たすことを見出した (PNAS 2011; 108; 17468-17473)。同時に Gal-3 過剰発現 CML 細胞の培養上清 (conditioned medium; CM) は CML 細胞、骨髄間質細胞の増殖を促進することが明らかになったが、そのメカニズムは不明である。

申請者は、CML 細胞の CM を液体クロマトグラフィーにより分離し、液性因子の解析およびその CML 細胞増殖における効果について検討した。その結果、Gal-3 過剰発現が CM 中の SERPINA1-bovine serum albumin 複合体の濃度を制御していることを見出した。SERPINA1 は、52 kDa のセリンプロテアーゼインヒビタースーパーファミリーに属する糖タンパク質であり、炎症反応、細胞外基質のターンオーバー、血液凝固、造血幹細胞および造血前駆細胞の動員に関わる様々なタンパク質の分解過程に決定的な役割を果たしている。申請者は、Gal-3 過剰発現 CML 細胞の CM において、SERPINA1-albumin 複合体が減少あるいは消失していることを見出した。また、SERPINA1-albumin 複合体を含む親株 (MYL, K562) 由来の CM は、*in vitro* で CML 細胞の増殖を抑制することを明らかにした。さらに、ヒト血漿由来の SERPINA1

が *in vitro* で CML 細胞の増殖を用量依存性に抑制し、とくに MYL ではヒト組換え Gal-3 の添加がその抑制効果を見出した。また、flow cytometry を用いた解析の結果、SERPINA1-albumin 複合体は用量および時間依存性に CML 細胞にアポトーシスをすることを見出した。さらに、Gal-3 過剰発現 CML 細胞の CM における他のサイトカインの関与について検討した。その結果、Gal-3 過剰発現細胞株の CM における CXCL10 および IL-10 の濃度は、親株の CM における濃度の 50% 未満であることが明らかになった。対照的に、Gal-3 過剰発現細胞株の CM における TGF- $\beta$  の濃度は、親株の CM における濃度の 2 倍以上であることが判明したが、それらの細胞生物学的効果は現時点では未解明であり、今後の検討課題である。

以上が本論文の要旨であるが、Gal-3 の過剰発現は CML 細胞の培養上清における SERPINA1-albumin 複合体を減少することで、その細胞増殖抑制作用を阻害し、CML 細胞の増殖を保護することを明らかにした点で、医学上価値ある研究と認める。

## 参考文献 (3編)

- 1) Yamamoto-Sugitani M, Kuroda J, Ashihara E, Nagoshi H, Kobayashi T, Matsumoto Y, Sasaki N, Shimura Y, Kiyota M, Nakayama R, Akaji K, Taki T, Uoshima N, Kobayashi Y, Horiike S, Maekawa T, Taniwaki M. Galectin-3 (Gal-3) induced by leukemia microenvironment promotes drug resistance and bone marrow lodgment in chronic myelogenous leukemia. Proc Natl Acad Sci USA 2011; 108: 17468-17473.



- 2) Kiyota M, Kuroda J, Yamamoto-Sugitani M, Shimura Y, Nakayama R, Nagoshi H, Mizutani S, Chinen Y, Sasaki N, Sakamoto N, Kobayashi T, Matsumoto Y, Horiike S, Taniwaki M. FTY720 induces apoptosis of chronic myelogenous leukemia cells via dual activation of BIM and BID and overcomes various types of resistance to tyrosine kinase inhibitors. *Apoptosis* 2013; 18: 1437-1446.
- 3) Nakayama R, Matsumoto Y, Horiike S, Kobayashi S,

Nakao R, Nagoshi H, Tsutsumi Y, Nishimura A, Shimura K, Kobayashi T, Uchiyama H, Kuroda J, Taki T, Inaba T, Nishida K, Yokota S, Yanagisawa A, Taniwaki M. Close pathogenetic relationship between ocular immunoglobulin G4-related disease (IgG4-RD) and ocular adnexal mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2014; 55: 1198-1202.

---

論文提出者 清田実希

学位の種類 博士(医学)  
 学位記の番号 甲第1494号  
 学位授与の日付 平成26年3月31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 中村直登・教授 奥田 司・教授 伊藤義人

論文題目及び掲載誌

Kiyota M, Kuroda J, Yamamoto-Sugitani M, Shimura Y, Nakayama R, Nagoshi H, Mizutani S, Chinen Y, Sakamoto N, Kobayashi T, Matsumoto Y, Horiike S, Taniwaki M.

**FTY720 Induces Apoptosis of Chronic Myelogenous Leukemia Cells via Dual Activation of BIM and BID and Overcomes Various Types of Resistance to Tyrosine Kinase Inhibitors**

*Apoptosis* 2013; 18: 1437-1446.

審査結果の要旨

イマチニブ(IM)を始めとするチロシンキナーゼ阻害薬(TKI)の登場は慢性骨髄性白血病(CML)の治療成績を劇的に改善したが、一方でBCR-ABL1の変異やアポトーシス誘導蛋白BH3-only protein(BOP)のひとつであるBIMの機能障害、骨髄微小環境による庇護など様々な機序によるTKI耐性が問題となっている。FTY720は多発性硬化症に対する治療薬として既に臨床応用されているセリン・スレオニンフォスファターゼPP2Aの活性化剤である。申請者は、PP2Aの癌抑制分子としての機能、ならびにFTY720の抗腫瘍効果としての可能性に注目した。実際、近年になりFTY720はCMLを含む造血器悪性疾患に対しアポトーシス誘導を介した抗腫瘍効果を示すことが報告されているが、その詳細な殺細胞機序は未解明である。申請者は、FTY720のBOPに対する効果を明らかにするとともに、TKI耐性克服の可能性、CML治療への応用の可能性について検討した。

CML細胞株及び、各種遺伝子導入により安定的に樹立した亜株において、フローサイトメトリーを用いた細

胞死アッセイやウエスタンブロット等の手法を用いて、FTY720ならびにIMのアポトーシス誘導に際するBOPの制御メカニズムを検討した。その結果、申請者は、IMがBIMの誘導を介してCML細胞にアポトーシスを起こすのに対し(Kuroda J, PNAS 2006)、FTY720はBIMを介したミトコンドリア介在性内因系アポトーシス誘導経路を活性化するだけでなく、他のBOPの一つであるBIDも同時に活性化し、デスレセプター介在性外因系アポトーシス経路を介したアポトーシスを誘導することを見出した。更に、FTY720はBIM、BIDのdouble knockdown株とそれぞれのsingle knockdown株に対して同等の抗腫瘍効果を示すことから、FTY720によって動員、活性化されるBIMとBIDは相加的でなく相補的に機能するものと考えられた。くわえてFTY720は、その独自のBOP誘導効果により、BCR-ABL1変異やBIMの機能喪失をもたらす遺伝子多型等によるIM耐性細胞株に対しても非耐性株と同等の抗腫瘍効果を示した。また、骨髄微小環境誘導性薬剤抵抗性因子であるGalectin-3の過剰発現株に

対しても (Yamamoto-Sugitani M, PNAS 2011), IM との併用により親株に対する効果以上の抗腫瘍効果を示した。以上から、複数の BOP を誘導し、異なるアポトーシス誘導経路を同時に活性化する独自の効果により、FTY720 は CML 治療における重大な課題である TKI 耐性を克服しうることが示唆された。

以上が本論文の要旨であるが、FTY720 の作用機序を明らかにした点に加え、CML に対する新たな治療戦略を見出した点で、医学上価値ある研究と認める。

### 参 考 論 文 (3 編)

- 1) Kiyota M, Kobayashi T, Fuchida S, Yamamoto-Sugitani M, Ohshiro M, Shimura Y, Mizutani S, Nagoshi H, Sasaki N, Nakayama R, Chinen Y, Sakamoto N, Uchiyama H, Matsumoto Y, Horiike S, Shimazaki C, Kuroda J, Taniwaki M. Monosomy 13 in metaphase spreads is a predictor of poor long-term outcome after bortezomib plus dexamethasone treatment for relapsed/refractory multiple myeloma. *Int J Hematol* 2012; 95: 516-526.
- 2) Yamamoto-Sugitani M, Kuroda J, Ashihara E, Nagoshi H, Kobayashi T, Matsumoto Y, Sasaki N, Shimura Y, Kiyota M, Nakayama R, Akaji K, Taki T, Uoshima N, Kobayashi Y, Horiike S, Maekawa T, Taniwaki M. Galectin-3 (Gal-3) induced by leukemia microenvironment promotes drug resistance and bone marrow lodgment in chronic myelogenous leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 17468-17473.
- 3) Shimura Y, Kuroda J, Ri M, Nagoshi H, Yamamoto-Sugitani M, Kobayashi T, Kiyota M, Nakayama R, Mizutani S, Chinen Y, Sakamoto N, Matsumoto Y, Horiike S, Shiotsu Y, Iida S, Taniwaki M. RSK2Ser227 at N-terminal kinase domain is a potential therapeutic target for multiple myeloma. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 2600-2609.

論文提出者 岡 田 博 史

学位の種類	博士 (医学)
学位記の番号	甲第 1495 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 31 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 谷脇雅史・教授 水野敏樹・教授 丸中良典

### 論 文 題 目 及 び 掲 載 誌

Okada H, Fukui M, Tanaka M, Matsumoto S, Mineoka Y, Nakanishi N, Asano M, Yamazaki M, Hasegawa G, Nakamura N.

**Visit-to-visit Blood Pressure Variability is a Novel Risk Factor for the Development and Progression of Diabetic Nephropathy in Patients with Type 2 Diabetes**  
*Diabetes Care* 2013; 36: 1908-1912.

### 審 査 結 果 の 要 旨

最近の研究により、平均血圧のみならず血圧の変動が心血管障害や臓器障害の発症に関連することが報告されている。しかし、2型糖尿病患者において収縮期外来血圧の変動が腎症の発症や進行にどのような影響を与えているのかはまだ解明されていない。

申請者は 2008 年 4 月～2012 年 9 月に京都府立医科大学附属病院内分泌代謝内科、外来通院中の 2 型糖尿病患者 354 例を対象に、1 年間の外来受診ごとに測定した血圧データから算出した変動係数 (CV)、生化学検査値、

尿中アルブミン排泄量 (UAE)、投薬内容、BMI、喫煙習慣などをベースラインのデータとし後ろ向き研究を行った。フォローアップ期間終了後に UAE を測定し、重回帰分析により 1 年当たりの UAE の変化量に対するリスク因子を解析。また COX 比例ハザードモデルを用いて、正常アルブミン尿症例 (UAE <30 mg/g Cr) が腎症を発症するハザード比を解析した。なお、降圧剤の変更は血圧の変動に影響を及ぼす可能性があることから血圧データ採取中に降圧剤を変更した例、およびフォローアップ

期間中にUAEを改善させる可能性のあるACE阻害薬あるいはアンジオテンシンII受容体拮抗薬を新たに処方された例を除外した。1年間で一人当たりの血圧測定回数は平均 $7.19 \pm 2.02$ 回、血圧測定の間隔は平均 $1.67 \pm 0.47$ か月、収縮期血圧のCVは平均 $8.0 \pm 4.0\%$ であった。フォローアップ期間は平均 $3.76 \pm 0.71$ 年、1年当たりのUAEの変化量は平均 $16.1 \pm 28.7$  mg/g Crの増加であった。ベースライン時に正常アルブミン尿であった症例は218例、そのうちフォローアップ期間中に28例がアルブミン尿(UAE  $\geq 30$  mg/g Cr)に進展した。重回帰分析の結果、UAEの変化量に対する独立した関連因子は、平均収縮期血圧と収縮期血圧のCVであった。Cox回帰分析の結果でも収縮期血圧のCVは、正常アルブミン尿症例がアルブミン尿に進展する有意な危険因子であり、ハザード比は1.143 (95%CI; 1.008-1.302)であった。血圧の変動が腎症発症のリスクになる理由として、血管内皮でのNO産生低下や血管内皮機能の低下などが関与していると考えられる。外来血圧は交感神経の亢進、圧受容器の機能低下、心因的ストレス、気温などの環境因子などの他、服薬アドヒアランスによって変動する。血圧の変動が大きい症例では、平均収縮期血圧や血糖コントロールなどの腎症発症・進展のリスク因子のコントロールとともに、血圧変動を抑制することが重要である。以上が本論文の要旨であるが、本研究は2型糖尿病患者において外来血圧の変動が腎症の発症や進行のリスクになることを初めて示した点で、医学上価値ある研究と認める。

#### 参 考 論 文 (6 編)

- 1) Okada H, Fukui M, Tanaka M, Inada S, Mineoka Y, Nakanishi N, Senmaru T, Sakabe K, Ushigome E, Asano M, Yamazaki M, Hasegawa G, Nakamura N. Visit-to-visit variability in systolic blood pressure is correlated with diabetic nephropathy and atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2012; 220: 155-159.
- 2) Okada H, Fukui M, Tanaka M, Matsumoto S, Iwase H, Kobayashi K, Asano M, Yamazaki M, Hasegawa G, Nakamura N. A difference in systolic blood pressure between arms is a novel predictor of the development and progression of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2013; 230: 198-201.
- 3) Okada H, Fukui M, Tanaka M, Matsumoto S, Kobayashi K, Iwase H, Tomiyasu K, Nakano K, Hasegawa G, Nakamura N. Low serum bilirubin concentration is a novel risk factor for the development of albuminuria in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2014; 63: 409-414.
- 4) Okada H, Fukui M, Tanaka M, Akabame S, Tomiyasu K, Nakano K, Yamazaki M, Hasegawa G, Oda Y, Nakamura N. Low insulin level is associated with aortic stiffness. *Hypertens Res* 2011; 34: 336-340.
- 5) Okada H, Fukui M, Tanaka M, Matsumoto S, Mineoka Y, Nakanishi N, Asano M, Yamazaki M, Hasegawa G, Nakamura N. A difference of systolic blood pressure between arms or lower limbs is a novel risk marker for diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Hypertens Res* 2013; 36: 403-407.
- 6) Okada H, Fukui M, Tanaka M, Matsumoto S, Mineoka Y, Nakanishi N, Tomiyasu K, Nakano K, Hasegawa G, Nakamura N. Visit-to-visit variability in systolic blood pressure is a novel risk factor for progression of coronary artery calcification. *Hypertens Res* 2013; 36: 996-999.



論文提出者 松本しのぶ

学位の種類 博士(医学)  
学位記の番号 甲第1496号  
学位授与の日付 平成26年3月31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 谷脇雅史・教授 水野敏樹・教授 丸中良典

## 論文題目及び掲載誌

Matsumoto S, Yamazaki M, Kadono M, Iwase H, Kobayashi K, Okada H, Fukui M, Hasegawa G, Nakamura N.  
**Effects of Liraglutide on Postprandial Insulin and Glucagon Responses  
in Japanese Patients with Type 2 Diabetes**  
Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 2013; 53: 68-72.

## 審査結果の要旨

Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は消化管から産生されるインクレチンホルモンであり、食事に反応して分泌され、インスリン分泌刺激とグルカゴン分泌抑制を介して、食後高血糖を抑制する。リラグルチドはヒト GLP-1 のアナログ製剤であり、これまでに2型糖尿病の治療における有効性が報告されている。しかし既報は日本で承認されているリラグルチドの用法・用量とは異なる条件で評価されており、日本の日常臨床で用いられる条件で、かつ日常生活に近い食事内容摂取下でインスリン・グルカゴン分泌への影響を詳細に検討した報告はない。

申請者は、2011年1月1日から2011年9月30日の間に、血糖コントロール目的に当院に入院した2型糖尿病患者14名(年齢 $63.5 \pm 15.1$ 歳、糖尿病罹病期間 $15.5 \pm 8$ 年、HbA1c $8.7 \pm 1.7\%$ )を対象とし、強化インスリン療法からリラグルチド治療への切り替え前後における、テストミール摂取後の血糖値、C-ペプチド、インスリン、グルカゴンの血中動態の変化を評価した。また持続血糖測定器(CGM)による48時間の血糖測定も行った。リラグルチド単独治療では血糖コントロールが不十分(FBG $<8.3$  mmol/l, 2h-PBG $<11.1$  mmol/l)であった症例は、SU薬の併用を行った。テストミール負荷の採血結果は対応のあるt検定で、CGMで得られた血糖値は対応のあるt検定と反復測定分散分析で解析を行った。テストミール検査では、リラグルチド使用後で食後血糖値の有意な低下(60~180分;  $P<0.05$ )とインスリン、Cペプチドの分泌増加(0~180分;  $P<0.05$ )、0分値からの食後のグルカゴン増加率の有意な低下(15~60分;  $P<0.05$ )を認めた。CGMより得られた24時間の平均血糖値はリラグルチド使用前後で有意差は認められなかったが、血糖変動(SD)はリラグルチド使用後の方が有意

に小さく( $P<0.05$ )、夜間の低血糖を認めなかった。さらに、リラグルチド単独療法群と併用療法群を比較すると、平均血糖値とSDは単独療法群で有意に低値であった( $P<0.01$ )。しかし、2群間での患者背景の違いは認められなかった。リラグルチドは十分なインスリン分泌により肝臓からの糖新生を抑制し、空腹時血糖を抑え、さらに食後のグルカゴンの増加率を抑制することで食後血糖上昇の制御に重要な役割を果たしていると考えられた。今回はリラグルチドの効果の予測因子となる臨床的なパラメーターを見つけることができなかったが、今後このパラメーターを見つけ出す事が必要と考えられる。

以上が本論文の要旨であるが、日本人2型糖尿病患者においても、日常の食事内容で0.9 mgのリラグルチド投与を行うとインスリン分泌促進とグルカゴン分泌抑制を介して血糖コントロールが改善すること、またリラグルチドの効果をも活かした治療が単独療法であることを明らかにした点で、医学上価値ある研究と認める。

## 参考文献(6編)

- 1) Ushigome E, Fukui M, Sakabe K, Tanaka M, Inada S, Omoto A, Tanaka T, Fukuda W, Atsuta H, Ohnishi M, Mogami S, Kitagawa Y, Oda Y, Yamazaki M, Hasegawa G, Nakamura N. Uncontrolled home blood pressure in the morning is associated with nephropathy in Japanese type 2 diabetes. Heart Vessels 2011; 26: 609-615.
- 2) Okada H, Fukui M, Tanaka M, Inada S, Mineoka Y, Nakanishi N, Senmaru T, Sakabe K, Ushigome E, Asano M, Yamazaki M, Hasegawa G, Nakamura N. Visit-to-visit variability in systolic blood pressure is correlated with diabetic nephropathy and atherosclerosis in

- patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2012; 220: 155-159.
- 3) Okada H, Fukui M, Tanaka M, Matsumoto S, Mineoka Y, Nakanishi N, Tomiyasu K, Nakano K, Hasegawa G, Nakamura N. Visit-to-visit variability in systolic blood pressure is a novel risk factor for the progression of coronary artery calcification. *Hypertens Res* 2013; 36: 996-999.
- 4) Okada H, Fukui M, Tanaka M, Matsumoto S, Mineoka Y, Nakanishi N, Asano M, Yamazaki M, Hasegawa G, Nakamura N. Visit-to-visit blood pressure variability is a novel risk factor for the development and progression of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2013; 36: 908-912.
- 5) Okada H, Fukui M, Tanaka M, Matsumoto S, Mineoka Y, Nakanishi N, Asano M, Yamazaki M, Hasegawa G, Nakamura N. A difference in systolic blood pressure between arms and between lower limbs is a novel risk marker for diabetic nephropathy in patients with Type 2 diabetes. *Hypertens Res* 2013; 36: 403-407.
- 6) Ushigome E, Fukui M, Hamaguchi M, Matsumoto S, Mineoka Y, Nakanishi N, Senmaru T, Yamazaki M, Hasegawa G, Nakamura N. Morning pulse pressure is associated more strongly with elevated albuminuria than systolic blood pressure in patients with type 2 diabetes mellitus: post hoc analysis of a cross-sectional multicenter study. *Diabetes Res Clin Pract* 2013; 101: 270-277.

論文提出者 武田孝輔

学位の種類	博士(医学)
学位記の番号	甲第1497号
学位授与の日付	平成26年3月31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 大辻英吾・教授 奥田 司・教授 加藤則人

### 論文題目及び掲載誌

Takeda K, Sowa Y, Numajiri T, Nishino K, Ito K, Fushiki S.

#### **Adipose-Derived Stem Cells Promote Proliferation, Migration, and Tube Formation of Lymphatic Endothelial Cells *in vitro* by Secreting Lymphangiogenic Factors**

*Annals of Plastic Surgery* 2014 Jan 7. [Epub ahead of print]

### 審査結果の要旨

脂肪由来幹細胞 (adipose-derived stem cell: ADSC) がリンパ管新生の主体であるリンパ管内皮細胞 (lymphatic endothelial cell: LEC) に直接作用するか否かはこれまで明らかにされていない。本研究において申請者らは、ADSCの分泌因子がLECに対してリンパ管新生作用を示すか検討した。さらに、培地の違いと血清の有無がADSCのリンパ管新生因子の発現と分泌にどのように影響するか計測し、またADSC分泌因子がLEC特異的遺伝子の発現に及ぼす影響を解析した。

まず、マウス皮下脂肪組織から酵素処理と比重遠心法によってADSCを分離し、これを実験に用いた。すなわち、血清入りDMEM培地でADSCをコンフルエントになるまで培養し、その後EBM-2基本培地に置き換えてさらに48時間培養して、得られた上清 (ADSC-CM; conditioned

medium)をADSC分泌因子として回収した。次に、LEC細胞を購入して入手し、EBM-2に血清とサイトカインカクテル等を加えたEGM-2-MV培地での培養系を確立した。このLEC培養系にADSC-CMを作用させ、proliferation assay (WST-8 assay), migration assay (transwell chamber assay), そしてtube formation assay (growth factor reduced Matrigel-based)を行なって、ADSC-CMのリンパ管新生作用を評価した。ここではVEGF-C製剤を添加したLEC培養系を陽性コントロールとし、比較検討した。

続いてADSCを4通りの方法で培養した。すなわち、(a)血清入りDMEMあるいは(b)EGM-2-MVで培養したもの、(a)の後に(c)無血清DMEMあるいは(d)EBM-2で培養したものの、4群である。それぞれRNAと培養上清を回収し、リンパ管新生作用をもつ既知

増殖因子(VEGF-A, C, D, FGF-2, HGF, Angiopoetin-1, IGF-1)の発現変化を定量PCRとELISAで計測した。さらに、ADSC-CMをLECに作用させた際のLEC特異的遺伝子群(Prox1, VEGFR-3, podoplanin)の経時的変化(8, 16, 48時間)を定量PCRで測定した。

結果として申請者らは、ADSC-CMがLECの増殖、移動、管腔形成を、VEGF-Cよりも強力に促進することを見出した。ここでは、ADSCの既知リンパ管新生増殖因子の発現が、無血清培地下で発現が軽度低下する群(VEGF-A, FGF-2)と発現が劇的に上昇する群(VEGF-D, HGF, Angiopoetin-1, IGF-1)とに分類できたことから、ADSCはこうした増殖に不利な環境下で複数の因子を分泌し、それらの相乗作用によってリンパ管新生を引き起こしているものと申請者らは考察した。また、ADSC-CMによってLECにおける転写因子Prox1とその下流遺伝子であるVEGFR-3の発現が経時的に変化することも申請者らは観察しており、今後、これらの遺伝子発現に関与することが知られるサイトカイン、例えばIL-8、のシグナルの関与について検討を進めてゆく重要性が示されている。

以上が本論文の要旨であるが、脂肪由来幹細胞がリンパ浮腫のあらたな治療を確立するうえで有用となる可能性を示した点で、医学上価値ある研究と認める。

### 参 考 論 文 (6 編)

- 1) 武田孝輔, 黒川正人, 服部 亮, 野田和夫, 浅田佳邦. Swyer-James 症候群を合併した漏斗胸の1例. 日外科系連会誌 2005; 30: 24-29.
- 2) 武田孝輔, 黒川正人, 野田和男, 服部 亮. 耳下腺摘出術後30年を経て耳介周囲に再発した多形腺腫の1例. 日形会誌 2005; 25: 674-677.
- 3) 武田孝輔, 齊藤 晋, 川端梨乃, 鈴木義久. 指骨骨髓炎に対して抗生剤含有セメントスパーサーを用いた治療の経験. 日形会誌 2011; 31: 358-363.
- 4) Takeda K, Sowa Y, Numajiri T, Nishino K. Expansion abdominoplasty for a pregnant woman with severe abdominal wall contracture due to a major burn during child hood: a case report. Ann Plast Surg 2013; 70: 643-646.
- 5) 武田孝輔, 横田淳司. 腓腹神経を温存し静脈吻合を付加した逆行性遠位腓腹皮弁により治療した踵骨骨髓炎の1例. 整・災外 2013; 56: 1015-1018.
- 6) 素輪善弘, 井村徹也, 沼尻敏明, 武田孝輔, 伏木信次, 西野健一. 脂肪由来幹細胞を用いた末梢神経再生にシュワン細胞への分化誘導は有用か— *in vitro* における検討. 日形会誌 2013; 33: 649-657.

論文提出者 相 部 則 博

学位の種類	博士(医学)
学位記の番号	甲第1498号
学位授与の日付	平成26年3月31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 伊藤義人・教授 奥田 司・教授 谷脇雅史

### 論 文 題 目 及 び 掲 載 誌

Aibe N, Yamazaki H, Nakamura S, Tsubokura T, Kobayashi K, Kodani N, Nishimura T, Okabe H, Yamada K.  
**Outcome and Toxicity of Stereotactic Body Radiotherapy with Helical Tomotherapy for Inoperable Lung Tumor: Analysis of Grade 5 Radiation Pneumonitis**  
 Journal of Radiation Research 2014; 55: 575-582.

### 審 査 結 果 の 要 旨

手術不能な肺腫瘍に対する体幹部定位放射線治療(SBRT)は標準治療の一つとして考えられてきているが、症例報告のほとんどは通常のリニアックによる治療成績であり、画像誘導強度変調放射線治療専用機である

ヘイリカルトモセラピー(Helical Tomotherapy)によるSBRT(HT-SBRT)の中長期的な治療成績や有害事象に関する報告は少ない。ヘイリカルトモセラピーは精細な位置合わせが可能であるというSBRTに有利な機能を有し

ている反面、その装置特性上、低線量域は広がりやすく、動体に対する照射精度の不確実性を孕んでいる。このため HT-SBRT による治療結果の検証的な解析は重要である。

申請者は、HT-SBRT の中期的な治療成績と有害事象を知るために HT-SBRT を施行した症例を回顧的に解析するとともに回顧的解析において明らかとなった HT-SBRT によって発生した重篤な放射線肺臓炎について、その原因を解析し考察を加えている。申請者は、2007 年から 2013 年にかけて HT-SBRT により 50 Gy を 5 分割で処方した 30 症例、31 病変を調査し、経過観察中央値 36.5 ヶ月における HT-SBRT の 3 年局所制御率、原病生存率、無病生存率、全生存率がそれぞれ 82%、84%、69%、77%であったと報告している。このことから、申請者は他の HT-SBRT の報告結果と合わせ HT-SBRT による治療成績が他のリニアックによる SBRT の治療成績と同等であると結論付けている。また、HT-SBRT の有害事象において、グレード 3 以上の有害事象としてグレード 5 の放射線肺臓炎を 2 例 (6.7%) に認めたと報告し、一般的な発生率と比し高いこの発生率の原因を患者因子 (年齢、GTV 体積、PTV 体積、治療前の肺の間質性陰影)、線量分布的な治療因子 (線量集中性、線量均一性、平均肺線量、5 Gy/10 Gy/15 Gy/20 Gy/25 Gy における肺の照射体積割合) から説明できないか検討している。その結果、今回の症例データにおいて肉眼的腫瘍体積のみが有意な因子であったことを報告している ( $p = 0.025$ )。また、治療前の間質陰影に関しては、軽度な陰影しか有さない症例と中等度から高度な間質陰影を有する症例との比較において統計学的な有意差はなかったものの発生率に 4 倍の差 (4.2% vs. 16.7%) を認めており、治療前の間質陰影の存在が重篤な肺臓炎の発生に関与している可能性を他の文献の知見と合わせ報告している。

以上が本論文の要旨であるが、重篤な放射線肺臓炎のリスク要因を示唆するとともに HT-SBRT の中期的な成績を報告した点で、医学上価値のある研究と認める。

#### 参 考 論 文 (4 編)

- 1) Yamazaki H, Iwama K, Nishimura T, Iwai Y, Aibe N, Takenaka T, Miyake S, Tanaka E, Yoshida K, Oota Y, Ikeno H, Nakamura S, Okabe H. Comparison of calculated dose by helical tomotherapy treatment planning machine and measured dose of radio-photoluminescence glass dosimeter in lung lesions using rando phantom. *Anticancer Res* 2013; 33: 1679-1684.
- 2) Nishimura T, Yamazaki H, Aibe N, Nakamura S, Yoshida K, Okabe H. Exceptionally high incidence of grade 2-3 late rectal toxicity in patients with prostate cancer receiving hypofractionated (2.2 Gy) soft tissue-matched image-guided intensity-modulated radiotherapy. *Anticancer Res* 2013; 33: 5507-5510.
- 3) Yamazaki H, Shiomi H, Tsubokura T, Kodani N, Nishimura T, Aibe N, Udono H, Nishikata M, Baba Y, Ogita M, Yamashita K, Kotsuma T. Quantitative assessment of inter-observer variability in target volume delineation on stereotactic radiotherapy treatment for pituitary adenoma and meningioma near optic tract. *Radiat Oncol* 2011; 27: 6; 10.
- 4) Kodani N, Yamazaki H, Tsubokura T, Shiomi H, Kobayashi K, Nishimura T, Aibe N, Ikeno H, Nishimura T. Stereotactic body radiation therapy for head and neck tumor: disease control and morbidity outcomes. *J Radiat Res* 2011; 52: 24-31.

論文提出者 畠山 知也

学位の種類	博士 (医学)
学位記の番号	甲第 1499 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 31 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 佐和貞治・教授 奥田 司・教授 加藤則人

論 文 題 目 及 び 掲 載 誌

Hatakeyama T, Dai P, Harada Y, Hino H, Tsukahara F, Maru Y, Otsuji E, Takamatsu T.  
**Connexin43 Functions as a Novel Interacting Partner of Heat Shock Cognate Protein 70**  
*Scientific Reports* 2013; 3: 2719.

## 審査結果の要旨

コネクシンはギャップ結合を構成する膜タンパク質として知られており、ギャップ結合を介して細胞間コミュニケーションを行うことで、細胞増殖や分化、ホメオスタシスの維持において中心的な役割を果たす。その中でコネクシン 43 (Cx43) が最も多くの組織で発現しており、癌抑制遺伝子としても知られている。近年の研究では Cx43 はギャップ結合を介した細胞間コミュニケーションだけでなく、ヘミチャネルや他のタンパクとの相互作用を介して細胞増殖や分化、アポトーシスに深く関わっていることが明らかとなってきた。特に細胞周期においては、ギャップ結合を介さず細胞周期を抑制することが明らかになりつつあるが、そのメカニズムについてはほとんどわかっていない。

申請者は、Cx43 が細胞周期の制御に関わるタンパクと相互作用することにより細胞周期に関わっているのではないかと考え、プロテオミクスを用いて Cx43 と相互作用する新規タンパク質の探索を行ったところ、熱ショックコグネイトタンパク 70 (Hsc70) を同定することに初めて成功した。Hsc70 はサイクリン D1 と結合し、サイクリン D1 を核内に運搬することで G1 期から S 期への移行を促進することが知られている。そこで Cx43 と Hsc70 の相互作用がサイクリン D1 と Hsc70 の相互作用に影響を及ぼすかを調べる為に競合実験を行ない、Cx43 は Hsc70 に対してサイクリン D1 と競合的に結合することを明らかにした。また、Cx43 と Hsc70 の相互作用が細胞周期に及ぼす影響を調べるために、BrdU 取り込み試験とサイクリン D1 の免疫染色を行った。その結果、Cx43 を過剰発現させた細胞では BrdU の取り込みが低下しサイクリン D1 の核内蓄積も減少した。その一方、Cx43 と Hsc70 を同時に導入した細胞では BrdU の取り込みとサイクリン D1 の核内蓄積が有意に回復した。さらに、Hsc70 のスプライズバリエーションである Hsc54 を用い

て同様の実験を行ったところ、Hsc54 は Cx43 と結合するドメインを持たない為、Cx43 と同時に導入しても Hsc70 で見られたような BrdU の取り込みやサイクリン D1 の核内蓄積の回復は認められなかった。以上の結果から Cx43 と Hsc70 の相互作用が G1/S 移行期におけるサイクリン D1 の核内蓄積を抑制することで細胞周期を制御していると考えられる。

以上が本論文の要旨であるが、長らく不明であった Cx43 によるギャップ結合を介さない細胞周期の制御が Hsc70 という新たな相互作用タンパクによって達成されることを初めて解明した点において医学上価値ある研究と認める。

## 参考文献 (3 編)

- 1) Hatakeyama T, Shiozaki A, Fujiwara H, Ichikawa D, Okamoto K, Komatsu S, Murayama Y, Ikoma H, Kuriu Y, Nakanishi M, Ochiai T, Kokuba Y, Sonoyama T, Otsuji E. A case of a superficial carcinoma of the esophagus with isolated lymph node metastasis around the abdominal aorta. *Surg Today* 2012; 42: 676-680.
- 2) Hatakeyama T, Murayama Y, Komatsu S, Shiozaki A, Kuriu Y, Ikoma H, Nakanishi M, Ichikawa D, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Inoue K, Nakajima M, Otsuji E. Efficacy of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy using light-emitting diodes in human colon cancer cells. *Oncol Rep* 2013; 29: 911-916.
- 3) Suzuki T, Dai P, Hatakeyama T, Harada Y, Tanaka H, Yoshimura N, Takamatsu T. TGF- $\beta$  signaling regulates pancreatic  $\beta$ -cell proliferation through control of cell cycle regulator p27 expression. *Acta Histochem Cytochem* 2013; 46: 51-58.



論文提出者 飯高 大介

学位の種類 博士(医学)  
 学位記の番号 甲第1500号  
 学位授与の日付 平成26年3月31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 佐和貞治・教授 奥田 司・教授 加藤則人

## 論文題目及び掲載誌

Itaka D, Shiozaki A, Ichikawa D, Kosuga T, Komatsu S, Okamoto K,  
 Fujiwara H, Ishii H, Nakahari T, Marunaka Y, Otsuji E.  
**Blockade of Chloride ion Transport Enhances  
 the Cytocidal Effect of Hypotonic Solution in Gastric Cancer Cells**  
 Journal of Surgical Research 2012; 176: 524-534.

## 審査結果の要旨

胃癌は癌による死亡原因の中でもいまだに上位であり、またその再発形式は腹膜播種再発が多い。この腹膜播種再発は原発巣から腹腔内への遊離癌細胞が原因の1つと考えられており、この遊離癌細胞の制御が胃癌の腹膜播種再発、ひいては予後を改善する可能性は十分にある。胃癌切除術中において、腹腔内遊離癌細胞の死滅を目的とした蒸留水の腹腔洗浄は経験的に広く行われている。しかし、その効果を科学的に解析した報告は少ない。

申請者は、3種類の胃癌細胞株(MKN28, MKN45, Kato III)を用いて、それらの蒸留水及び低浸透圧溶液による形態学的変化、殺細胞効果を観察した。細胞は蒸留水により一度膨張し、その後破裂することが観察された。低浸透圧溶液では1分や5分で細胞が膨張していることが確認され、その後断片化することなく細胞容積が正常容積近くへと回復する様子を観察し、これは細胞膨張後の調節性容積減少(regulatory volume decrease: RVD)であると考えられた。殺細胞効果の検証では蒸留水暴露(1, 5, 10分間)後の各細胞を再培養し、その数の変化を解析した。MKN28及びKato IIIでは蒸留水暴露1, 5, 10分後の各群でコントロール群に比べ有意に細胞数の減少を認めた。その一方でMKN45では10分後群で有意な細胞数の減少を認めたものの、1, 5分後群では有意差を認めず、細胞種により蒸留水に対する抵抗性が異なる可能性が示唆された。次に申請者は、細胞が蒸留水に暴露され破裂することにより細胞内容が流出し浸透圧を上昇させ殺細胞効果の減弱につながっているのではないかと仮定し、細胞暴露前後の蒸留水及び低浸透圧溶液の浸透圧の変化を測定した。各溶液ともに平均で10から20 mosmol/kgH<sub>2</sub>Oの浸透圧上昇を認めた。このことより細

胞の破裂により蒸留水の浸透圧は上昇している可能性が示唆され、同様の現象が臨床検体でも観察された。

次に申請者は、臨床サンプルの洗浄後の浸透圧で、低浸透圧の殺細胞効果を増強させるため、Cl<sup>-</sup>輸送系に着目した。そこで申請者は2種類のCl<sup>-</sup>チャネルブロッカー(NPPB及びDIOA)を用い、低浸透圧溶液暴露時の細胞容積の経時的変化を測定した。結果はMKN45及びKato IIIにおいて、NPPB作用群でRVDの抑制は認めなかったものの、コントロール群に比し細胞容積の増大を認めた。その一方で、MKN28ではコントロール群とNPPB群では容積の有意差を認めず、DIOAでは有意差を認めた。このことより、細胞間により容積調節のメカニズムが異なる可能性が示唆された。再培養にてCl<sup>-</sup>ブロッカーのcell viabilityに与える影響を検証したが、容積実験と同様、MKN45及びKato IIIではNPPBでは再培養後の細胞数の減少を認め、MKN28では認めなかったが、DIOAを用いるとこれを認めた。

以上が本論文の要旨であるが、蒸留水洗浄におけるCl<sup>-</sup>チャネル制御の有用性を明らかにした点で医学上価値ある研究と認める。

## 参考文献(10編)

- 1) Kosuga T, Shiozaki A, Ichikawa D, Fujiwara H, Komatsu S, Itaka D, Tsujiura M, Morimura R, Takeshita H, Nagata H, Okamoto K, Nakahari T, Marunaka Y, Otsuji E. Pleural lavage with distilled water during surgery for esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology Report* 2011; 26: 577-586.
- 2) Nako Y, Shiozaki A, Ichikawa D, Komatsu S, Konishi

- H, Iitaka D, Ishii H, Ikoma H, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Nakahari T, Marunaka Y, Otsuji E. Enhancement of the cytotoxic effects of hypotonic solution using a chloride channel blocker in pancreatic cancer cells. *Pancreatology* 2012; 12: 440-448.
- 3) Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, Tsujiura M, Morimura R, Nagata H, Kosuga T, Iitaka D, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Circulating microRNAs in plasma of patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2011; 105: 104-111.
- 4) Iitaka D, Shiozaki A, Fujiwara H, Ichikawa D, Okamoto K, Komatsu S, Murayama Y, Ikoma H, Kuriu Y, Nakanishi M, Ochiai T, Kokuba Y, Sonoyama T, Otsuji E. Case involving long-term survival after esophageal cancer with liver and lung metastases treated by multidisciplinary therapy: report of a case. *Surg Today* 2013; 43: 556-561.
- 5) Shiozaki A, Kosuga T, Ichikawa D, Komatsu S, Fujiwara H, Okamoto K, Iitaka D, Nakashima S, Shimizu H, Ishimoto T, Kitagawa M, Nakou Y, Kishimoto M, Liu M, Otsuji E. XB130 as an independent prognostic factor in human esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 3140-3150.
- 6) Shiozaki A, Shen-Tu G, Bai X, Iitaka D, De Falco V, Santoro M, Keshavjee S, Liu M. XB130 mediates cancer cell proliferation and survival through multiple signaling events downstream of Akt. *PLoS One* 2012; 7: e43646.
- 7) Nakashima S, Shozaki A, Ichikawa D, Komatsu S, Konishi H, Iitaka D, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Kishimoto M, Otsuji E. Anti-phosphohistone H3 as an independent prognostic factor in human esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2013; 33: 461-467.
- 8) Takeshita H, Shiozaki A, Bai XH, Iitaka D, Kim H, Yang BB, Keshavjee S, Liu M. XB130, a new adaptor protein, regulates expression of tumor suppressive microRNAs in cancer cells. *PLoS One* 2013; 8: e59057.
- 9) Shiozaki A, Iitaka D, Ichikawa D, Nakashima S, Fujiwara H, Okamoto K, Kubota T, Komatsu S, Kosuga T, Takeshita H, Shimizu H, Nako Y, Sasagawa H, Kishimoto M, Otsuji E. xCT, component of cysteine/glutamate transporter, as an independent prognostic factor in human esophageal squamous cell carcinoma. *J Gastroenterol* 2014; 49: 853-863.
- 10) Shiozaki A, Nakashima S, Ichikawa D, Fujiwara H, Konishi H, Komatsu S, Kubota T, Okamoto K, Iitaka D, Shimizu H, Nako Y, Takemoto K, Kishimoto M, Otsuji E. Prognostic significance of p21 expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2013; 33: 4329-4335.

## 論文提出者 井上裕章

学位の種類	博士(医学)
学位記の番号	甲第1501号
学位授与の日付	平成26年3月31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 池谷 博・教授 中屋隆明・教授 奥田 司

## 論文題目及び掲載誌

Inoue H, Arai Y, Kishida T, Shin-Ya M, Terauchi R, Nakagawa S, Saito M, Tsuchida S, Inoue A, Shirai T, Fujiwara H, Mazda O, Kubo T.  
**Sonoporation-mediated Transduction of siRNA Ameliorated Experimental Arthritis Using 3 MHz Pulsed Ultrasound**  
*Ultrasonics* 2014; 54: 874-881.

## 審査結果の要旨

関節リウマチ (rheumatoid arthritis: RA) では腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor: TNF)- $\alpha$  を標的とした生物

学的製剤が使用されている。しかし、non-responder の存在、多関節に対する効果の不均一性および高額な医療費などの問題があるため、低価格で局所的に TNF- $\alpha$  を制御可能な治療法が切望される。一方、small interfering RNA (siRNA) は配列特異的に遺伝子発現を抑制し、*in vivo* での導入法として超音波を用いたソノポレーション法がある。臨床での超音波使用において有害事象は報告されておらず、ソノポレーション法は siRNA 導入法として安全性が高い。本研究では、TNF- $\alpha$  に対する siRNA (siTNF) をソノポレーション法でラット関節炎モデルの滑膜に導入し、安全性と有効性を検討することを目的とした。

申請者は、動物として8週齢の Dark Agouti ラットを用いた。膝関節滑膜から単離培養した滑膜線維芽細胞様細胞に siTNF をリポフェクション法で導入し、TNF- $\alpha$  の遺伝子発現を測定した。超音波の出力、有効照射面積、ビーム不均等率および周波数を解析した。*In vivo* では、超音波照射前後の皮膚温を計測した。ラット膝関節滑膜に蛍光ラベル siRNA をエレクトロポレーション法またはソノポレーション法を用いて導入し、蛍光顕微鏡で観察した。ラット膝関節滑膜に siTNF をソノポレーション法で導入し、TNF- $\alpha$  の遺伝子発現を解析した。ラットに II 型コラーゲンを感作させ RA モデルを作製した。膝関節内にソノポレーション法で siTNF を導入し、治療群とした。足部体積と関節腫脹率を計測し、X 線学的および組織学的評価を行った。

*In vitro* および *in vivo* における siTNF の導入により、TNF- $\alpha$  の遺伝子発現は有意に抑制された。超音波の出力、有効照射面積、ビーム不均等率および周波数はそれぞれ 0.282 W, 0.365 cm<sup>2</sup>, 3.762 および 3.101 MHz であった。ラットの平均皮膚温は超音波照射前 26.8°C で照射後 27.3°C であった。蛍光ラベル siRNA を導入した滑膜において、蛍光色素が観察された。RA モデルにおける足部体積および関節腫脹率は、治療群で有意に低かった。治療群において、X 線学的な関節破壊は軽度であり、組織学的な TNF- $\alpha$  陽性細胞数は明らかに少なかった。

ソノポレーション法を用いたラット滑膜への siRNA 導入が良好であること、安全であることを証明した。治療群における足部体積が有意に低いことから、siTNF をソノポレーション法で導入することにより関節炎の進行が抑制されることを明らかにした。また、X 線学的スコアは治療群で有意に低値であったことから、siTNF が破骨細胞分化を制御することで骨破壊を抑制した可能性がある。さらに、そのメカニズムとして、関節滑膜における TNF- $\alpha$  蛋白産生が減少したことから、siTNF が TNF- $\alpha$  遺伝子発現を特異的に制御したと考えた。

以上が本論文の要旨であるが、ソノポレーション法による siTNF の局所導入療法がラット関節炎モデルに対

し安全で効果であることを示した点で、医学的に価値ある研究と認める。

#### 参 考 論 文 (10 編)

- 1) Fujita S, Arai Y, Nakagawa S, Takahashi KA, Terauchi R, Inoue A, Tomomura H, Hiraoka N, Inoue H, Tsuchida S, Mazda O, Kubo T. Combined microwave irradiation and intraarticular glutamine administration-induced HSP70 expression therapy prevents cartilage degradation in a rat osteoarthritis model. *J Orthop Res* 2012; 30: 401-417.
- 2) Nakagawa S, Arai Y, Kishida T, Hiraoka N, Tsuchida S, Inoue H, Sakai R, Mazda O, Kubo T. Lansoprazole inhibits nitric oxide and prostaglandin E2 production in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Inflammation* 2012; 35: 1062-1068.
- 3) Hiraoka N, Arai Y, Takahashi KA, Mazda O, Kishida T, Honjo K, Tsuchida S, Inoue H, Morino S, Suico MA, Kai H, Kubo T. Mild electrical stimulation with heat stimulation increase heat shock protein 70 in articular chondrocyte. *J Orthop Res* 2013; 31: 894-900.
- 4) Tsuchida S, Arai Y, Kishida T, Takahashi KA, Honjo K, Terauchi R, Inoue H, Oda R, Mazda O, Kubo T. Silencing the expression of connexin 43 decreases inflammation and joint destruction in experimental arthritis. *J Orthop Res* 2013; 31: 525-530.
- 5) 井上裕章, 大久保直規, 長岡孝則. 広範囲腱板断裂によって骨頭変形にまで至った陈旧性肩関節脱臼の 1 例. *京都与謝の海病誌* 2008; 5: 38-41.
- 6) 井上裕章, 新井祐志, 藤田伸弥, 久保秀一, 長谷齊, 久保俊一. 体操選手の大腿骨滑車部内側に生じた離断性骨軟骨炎の 1 例. *整形外科* 2010; 61: 1407-1409.
- 7) 新井祐志, 井上裕章, 久保俊一. 加齢に伴う膝関節疾患 (変形性膝関節症). 久保俊一 編. *MED REHABIL.* 2011; 51-56.
- 8) 平岡延之, 新井祐志, 寺内 竜, 井上裕章, 大宝英悟, 南銀次郎, 原 邦夫, 久保俊一. 人工膝単顆置換術後骨折と脛骨近位端の形状の関連に対する検討. *JOSKAS* 2012; 37: 258-259.
- 9) 新井祐志, 井上裕章. 円板状半月板断裂. 久保俊一 編. 画像とチャートでわかる小児の整形外科診療エッセンス 2013; 158-159.
- 10) 吉原 靖, 新井祐志, 寺内 竜, 中川周士, 井上裕章, 村上幸治, 久保俊一. 人工膝関節全置換術後の伸展・屈曲バランス評価 10 年以上経過した症例に対して. *JOSKAS* 2013; 38: 264-265.

論文提出者 山岸哲哉

学位の種類 博士(医学)  
学位記の番号 甲第1502号  
学位授与の日付 平成26年3月31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 柳澤昭夫・教授 高松哲郎・教授 矢部千尋

## 論文題目及び掲載誌

Yamagishi T, Koizumi H, Yamazaki T, Kinoshita S.

**Fundus Autofluorescence in Polypoidal Choroidal Vasculopathy**

Ophthalmology 2012; 119: 1650-1657.

## 審査結果の要旨

滲出型加齢黄斑変性 (age-related macular degeneration: AMD) は黄斑部の脈絡膜新生血管 (CNV) 発生に伴う滲出性変化により視機能障害をきたす加齢性疾患であり, 社会的失明を引き起こす主因の1つとなっている。本邦の広義のAMDの約半数をポリープ状脈絡膜血管症 (polypoidal choroidal vasculopathy: PCV) が, 約3分の1を典型AMDが占めており, このサブタイプの割合は典型AMDが大半を占める欧米のそれとは異なっている。既存治療の効果や視力予後が異なるため, PCVと典型AMDとの鑑別は臨床でも重要である。しかしながら, その確定診断は他の眼底疾患同様, 造影剤の静注を用いる侵襲的な蛍光眼底造影検査に依存せざるを得ないのが現状であり, アナフィラキシーショックをはじめとするアレルギー性合併症の発生リスクを常に随伴する。このため, 昨今はより低侵襲な眼底イメージング手法の臨床応用に関心が集まっている。そのなかの1つとして眼底自発蛍光 (fundus autofluorescence: FAF) が挙げられる。これは網膜の最外層に位置する網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium: RPE) 細胞内に蓄積する代謝産物リポフスチンの自発蛍光を画像化したものであり, 蛍光眼底造影のように造影剤を用いずともRPE細胞の健全性を描出できる眼底イメージング手法である。網絡膜疾患に関するFAF所見は数多く報告されているが, その多数が網膜色素変性に代表される遺伝性網絡膜変性疾患に関するものであり, AMDでの解析は少なく, 特にPCVのFAF所見に関する報告は全くない状態であった。

そこで, 申請者は, PCVのFAF所見を解析することにより, FAF所見に基づいてPCVと典型AMDを鑑別できないかと考えた。無治療のPCV症例 (罹患眼92眼, 非罹患眼86眼) および典型AMD症例 (罹患眼31眼, 非

罹患眼24眼)のFAF所見を比較した。その結果, PCVでは74眼 (80.4%)にPCVの蛍光眼底造影上の特徴的病変であるポリープ状病巣に一致した境界明瞭な自発低蛍光所見を見出したが, 同様の所見は典型AMD症例の病変部では全く認められなかった。 ( $P < 0.0001$ ) これはポリープ状病巣が同部位のRPE細胞層に局所的にダメージを与え, その健全性を著しく障害していることを示唆すると考えられた。また, 無症候性の眼底自発低蛍光に関しては罹患眼の病変外 (PCV: 39眼 42.4%, 典型AMD: 6眼 19.4%,  $P < 0.05$ ), 非罹患眼 (PCV: 54眼 62.8%, 典型AMD: 7眼 29.2%,  $P < 0.01$ ) いずれにおいても有意にPCV症例に多い特徴を見出した。この無症候性自発低蛍光は中心性漿液性脈絡網膜症 (central serous chorioretinopathy: CSC) に散見される所見であり, CSCとPCVの共通した疾患特性を示唆する結果とも考えられる。申請者は, これらのPCVと典型AMDのFAF所見の差異が, 蛍光眼底造影に依存しない非侵襲的な鑑別診断法となる可能性を示した。

以上が本論文の要旨であるが, PCVのFAF所見を世界で初めて報告し, 臨床面において鑑別を要する類似疾患との低侵襲な確定診断に寄与する可能性を明らかにした点で, 医学上価値ある研究と認める。

## 参考文献 (5編)

- 1) Koizumi H, Yamagishi T, Yamazaki T, Kinoshita S. Predictive factors of resolved retinal fluid after intravitreal ranibizumab for polypoidal choroidal vasculopathy. Br J Ophthalmol 2011; 95: 1555-1559.
- 2) Yamagishi T, Koizumi H, Yamazaki T, Kinoshita S. Choroidal thickness in inferior staphyloma associated with posterior serous retinal detachment. RETINA



- 2012; 32: 1237-1242.
- 3) Koizumi H, Yamagishi T, Yamazaki T, Kawasaki R, Kinoshita S. Subfoveal choroidal thickness in typical age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2011; 249: 1123-1128.
- 4) Yamazaki T, Koizumi H, Yamagishi T, Kinoshita S. Subfoveal choroidal thickness after ranibizumab therapy for neovascular age-related macular degeneration: 12-month results. *Ophthalmology* 2012; 119: 1621-1627.
- 5) Koizumi H, Yamagishi T, Yamazaki T, Kinoshita S. Relationship between clinical characteristics of polypoidal choroidal vasculopathy and choroidal vascular hyperpermeability. *Am J Ophthalmol* 2013; 155: 305-313.

## 論文提出者 浅井 大介

学位の種類 博士(医学)  
 学位記の番号 甲第 1503 号  
 学位授与の日付 平成 26 年 3 月 7 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 谷脇雅史・教授 奥田 司・教授 田尻達郎

## 論文題目及び掲載誌

Asai D, Imamura T, Suenobu S, Saito A, Hasegawa D, Deguchi T, Hashii Y, Matsumoto K, Kawasaki H, Hori H, Iguchi A, Kosaka A, Kato K, Horibe K, Yumura-Yagi K, Hara J, Oda M.  
***IKZF1* Deletion is Associated with a Poor Outcome in Pediatric B Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia in Japan**  
*Cancer Medicine* 2013; 2: 412-419.

## 審査結果の要旨

急性リンパ性白血病(ALL)は小児がんの約40%を占める疾患である。その治療成績は、予後因子による層別化治療により向上しているが、なお既存の予後不良因子を持たない再発も存在する。近年、それらには、1) *IKZF1* 遺伝子欠失、2) *JAK2* 遺伝子変異、3) *CRLF2* 高発現を伴う例が多いことが欧米から相次いで報告された。

申請者は、これらの遺伝子異常が本邦においても予後不良因子となり得るか、全国スタディーの検体と臨床データを併用して検討した。対象は2002年4月から2008年5月までに日本小児白血病研究会(JACLS) ALL02 暫定 High Risk (HR) 臨床試験に登録された1~18歳までのB前駆細胞型 ALL (BCP-ALL) で、初期ステロイド治療に反応良好であり、予後不良因子の *BCR-ABL* 遺伝子陽性例、乳児例、およびダウン症候群合併例は除外した。1) *IKZF1* 遺伝子欠失については MLPA 法、2) *CRLF2* 発現量については real time RT-PCR 法、3) *P2RY8-CRLF2* 再構成については RT-PCR および MLPA 法、4) *CRLF2* 高発現例での *CRLF2 F232C* 変異、*IKZF1* 遺伝子欠失例での

*JAK2* exon16, 20, 21 変異については直接塩基決定法を用いて解析を行った。結果は、*IKZF1* 遺伝子欠失例は202例中19例(9.4%)であり、*CRLF2* 高発現例は107例中16例(15.0%)であった。*IKZF1* 遺伝子欠失のあった19例に *JAK2* 遺伝子変異は認めず、*CRLF2* 高発現の16例に *P2RY8-CRLF2* 再構成や *CRLF2 F232C* 変異は認めなかった。*IKZF1* 遺伝子欠失例は全生存率が有意に不良(5年全生存率71.8% vs. 90.2%, log rank p=0.02)であり、とくに NCI (National Cancer Institute)-HR (N=94) 例において顕著であった(5年全生存率62.3% vs. 84.7%, log rank p=0.0095)。*IKZF1* 遺伝子の欠失は全生存率について多変量解析で独立した危険因子であった(Hazard ratio: 2.668, log rank p=0.03 (95%CI, 1.086 to 6.553))。これらの結果は、*IKZF1* 遺伝子欠失は初期ステロイド治療に反応良好な NCI-HR 例においても独立した予後不良因子であることを示している。一方、*CRLF2* 高発現は16例に認められたが、うち1例も再発を認めなかった。これより、本異常は本邦では予後不良因子とならない可能性が示唆された。*JAK2* 遺伝子変異と *P2RY8-CRLF2*



再構成の陽性症例は認めなかった。

以上が本論文の要旨であるが、*IKZF1* 遺伝子欠失が本邦でも予後不良治療層別化因子となること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 (7編)

- 1) 今村俊彦, 浅井大介. 小児 B 前駆細胞型急性リンパ性白血病における *IKZF1/IKZF2/CRLF2* 遺伝子異常の意義. 日小児血液・がん会誌 2012; 49: 285-288.
- 2) Yoshida H, Imamura T, Sakamoto K, Asai D, Nakatani T, Morimoto A, Hosoi H. Dyskeratosis congenita complicated by hepatic fibrosis with hepatic vein thrombosis. J Pediatr Hematol Oncol 2014; 36: 308-11.
- 3) Sakamoto K, Imamura T, Asai D, Goto-Kawashima S, Yoshida H, Fujiki A, Furutani A, Ishida H, Aoki Y, Hosoi H. Acute lymphoblastic leukemia developing in a patient with Noonan syndrome harboring a PTPN11 germline mutation. J Pediatr Hematol Oncol 2014; 36: e136-139.
- 4) Asai D, Osone S, Imamura T, Sakaguchi H, Nishio N, Kuroda H, Kojima S, Hosoi H. Response to the article by Linnankivi et al., entitled 'Cerebroretinal microangiopathy with calcifications and cyst, Revesz syndrome and aplastic anemia'. Bone Marrow Transplant 2013; 1: 154.
- 5) Asai D, Imamura T, Hosoi H. Comments on the article by Mizuno Y. et al. entitled "Congenital infection-like syndrome with intracranial calcification". Brain Dev 2012; 6: 539.
- 6) Fujiki A, Imamura T, Furutani A, Hatano W, Asai D, Hirashima Y, Miyachi M, Tamura S, Tsuchiya K, Iehara T, Ishida H, Yoshihara T, Hosoi H. Quantitative RT-PCR analysis of the MOZ-CBP fusion transcript in therapy-related acute myeloid leukemia with t(8;16)(p11;p13). J Pediatr Hematol Oncol 2012; 5: 402-405.
- 7) Asai D, Osone S, Imamura T, Sakaguchi H, Nishio N, Kuroda H, Kojima S, Hosoi H. Allo-SCT in a patient with CRMCC with aplastic anemia using a reduced intensity conditioning regimen. Bone Marrow Transplant 2012; 8: 1126-1127.

論文提出者 越 野 勝 博

学位の種類	博士(医学)
学位記の番号	甲第1504号
学位授与の日付	平成26年3月7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 松田 修・教授 谷脇雅史・教授 久 育男

#### 論 文 題 目 及 び 掲 載 誌

Koshino K, Ushigome H, Sakai K, Suzuki T, Nobori S, Okajima H, Masuzawa N, Yoshimura N.  
**Outcome of Tonsillectomy for Recurrent IgA Nephropathy after Kidney Transplantation**  
 Clinical Transplantation 2013; 27 suppl 26: 22-28.

#### 審 査 結 果 の 要 旨

IgA 腎症は世界で最も頻度の高い原発性糸球体腎炎であり、約半数で末期腎不全に至る。腎移植の10~20%はIgA腎症を原疾患とするが移植腎においても20~60%の割合でIgA腎症は再発すると報告されている。再発IgA腎症に対する研究自体が少数であり、再発IgA腎症の治療法は現段階で特異的な治療法は確立されていない。今回、両側口蓋扁桃摘出(扁桃摘)によってIgA腎症による移植腎障害の進行を抑制できる可能性を見出した。

2007年より移植腎病理組織でIgA腎症の再発が診断さ

れた7症例で再発IgA腎症の治療として両側口蓋扁桃摘出術を施行した。扁桃摘前の移植腎病理組織を① hypercellularity ② segmental lesions ③ sclerosisのそれぞれを点数化することで移植腎のIgA腎症に伴う障害の程度を明確にし、合計が0~4を mild renal injury : 4症例, 5~8を moderate renal injury : 1症例, 9~12を severe renal injury : 2症例として3群に分けた。severe renal injury 群では扁桃摘後5年以内には全例の移植腎は廃絶した。moderate renal injury 群では扁桃摘後, 21ヵ月で尿所見は

寛解したもののすぐに尿所見は再発したが扁桃摘後4年経過するも移植腎機能の悪化は比較的遅く、現在も移植腎は生着中であった。 mild renal injury 群では全症例で移植腎機能の悪化を認めず、移植腎は生着中であった。原発性IgA腎症に対する扁桃摘の有用性について多くのものは尿所見を基にした(尿所見は腎障害を直接反映しておらず腎障害の程度が混在した状態)効果判定を行い、扁桃摘の有用性について意見が分かれている。数少ない病理所見を基にした(腎障害の程度別の)扁桃摘の効果判定を示したXieらの報告によれば尿蛋白が1.0 g/day以下かつ糸球体硬化が25%以下の軽度な腎障害症例では長期間にわたり、扁桃摘の効果が持続したが扁桃摘前に著しい腎障害があった症例では扁桃摘の効果は不明瞭であった。このことは今回、報告された再発IgA腎症における病理所見を基にした扁桃摘の有用性について移植腎障害が軽度な症例では扁桃摘が治療の選択肢となりうることを後押しするものと考えられる。この為、IgA腎症の術後再発には腎障害が進行する前に診断し、扁桃摘という選択肢を提案する必要がある。原発IgA腎症に対する扁桃摘治療は日本発であるが本研究において申請者は移植後IgA腎症再発においても早期であれば扁桃摘が治療の選択肢となりうる可能性を示した。

以上が本論文の要旨であるが、再発したIgA腎症による腎障害は扁桃摘出により移植腎機能を維持できる可能性を示した点で、医学上価値ある研究と認める。

#### 参 考 論 文 (8 編)

- 1) Koshino K, Okamoto M, Sakai K, Suzuki T, Nobori S, Matsuyama M, Ushigome H, Okajima H, Yoshimura N. The excellent outcomes of ABO-incompatible kidney transplantation with high titer ( $> \times 2048$ ) using anti-CD20 and anti-CD25 antibody without splenectomy: two case reports. *Transplant Proc* 2011; 43: 2379-2382.
- 2) Okamoto M, Koshino K, Sakai K, Nobori S, Matsuyama M, Ushigome H, Okajima H, Masuzawa N, Yoshimura N. A case of recurrent focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) involving massive proteinuria ( $> 50$  g/day) immediately after renal transplantation. *Clin Transplant* 2011; 25: 53-58.
- 3) Okamoto M, Koshino K, Nobori S, Ushigome H, Okajima H, Urasaki K, Yoshimura N. Analysis of pre-existing baseline kidney lesions revealed by biopsy in living kidney donors: relationship with clinical parameters at the time of donation. *Clin Transplant* 2010; 24: 27-30.
- 4) Yoshimura N, Ushigome H, Nobori S, Suzuki T, Sakai K, Koshino K, Okajima H, Okamoto M. Excellent results of high-dose mizoribine combined with cyclosporine, basiliximab, and corticosteroids in renal transplant recipients-4-year results. *Transplant Proc* 2013; 45: 1472-1475.
- 5) Sakai K, Okajima H, Koshino K, Suzuki T, Nobori S, Matsuyama M, Ushigome H, Ochiai T, Yoshimura N. Investigation of histological vascular invasion from preoperative evaluation in patients with hepatocellular carcinoma who underwent living donor liver transplantation. *Transplant Proc* 2012; 44: 409-411.
- 6) Ushigome H, Koshino K, Sakai K, Suzuki T, Nobori S, Matsuyama M, Okajima H, Okamoto M, Yoshimura N. Rare spontaneous remission of hepatic artery aneurysm following ABO incompatible living donor liver transplantation: a case report. *Transplant Proc* 2011; 43: 2424-2427.
- 7) Sakai K, Okamoto M, Koshino K, Suzuki T, Nobori S, Matsuyama M, Ushigome H, Okajima H, Yoshimura N. A case of living-donor renal transplantation for chronic renal failure caused by secondary amyloidosis. *Transplant Proc* 2011; 43: 2418-2420.
- 8) Ushigome H, Okamoto M, Koshino K, Nobori S, Okajima H, Masuzawa N, Urasaki K, Yoshimura N. Findings of graft biopsy specimens within 90 days after ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation compared with ABO-identical and non-identical transplantation. *Clin Transplant* 2010; 24: 16-21.

論文提出者 笹川 寿美

学位の種類 博士(医学)  
学位記の番号 乙第2107号  
学位授与の日付 平成26年3月7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 佐和貞治・教授 松田 修・教授 加藤則人

## 論文題目及び掲載誌

Sasagawa H, Shiozaki A, Iitaka D, Ichikawa D, Komatsu S, Fujiwara H, Okamoto K, Nakashima S, Kinoshita O, Murayama Y, Kuriu Y, Ikoma H, Nakanishi M, Ochiai T, Kokuba Y, Otsuji E.

**Ki-67 Labeling Index as an Independent Prognostic Factor  
in Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma**

Esophagus 2012; 9: 195-202.

## 審査結果の要旨

近年の手術手技や周手術期管理の進歩により、食道扁平上皮癌の手術成績は著しく改善しつつあるものの、進行癌においては未だ術後再発をきたす症例も多く存在するのが現状である。食道扁平上皮癌患者の予後を予測する上で、摘出標本における腫瘍細胞の増殖活性を把握することは極めて重要と考えられる。Ki-67標識率は、種々の腫瘍細胞増殖活性を反映する指標として、臨床病理において広く用いられている。しかしながら、食道扁平上皮癌においては、未だその臨床病理学的意義・予後との相関について一定のコンセンサスが得られていない。

申請者は、食道扁平上皮癌におけるKi-67標識率の至適カットオフ値を設定し、臨床病理学的因子との関係・予後因子としての意義を検証することを目的に、当院において1998年から2007年までに根治切除が施行された術前未治療の食道扁平上皮癌症例49例の切除標本をavidin-biotin-peroxidase法を用いてKi-67免疫組織化学により解析した。その結果、正常食道粘膜上皮においては、基底細胞層にのみKi-67の発現が認められた。腫瘍組織内ではKi-67標識率は5.3%~55.9%と腫瘍間で大きく異なることが明らかになった。次にKi-67標識率と様々な臨床病理学的因子との関係について解析したところ、pN因子において、Ki-67標識率の平均値はpN0症例で27.4%、pN3症例で40.3%と、pN因子の進行に伴い増加する傾向を認めた。また組織学的分化度に関しては、高分化型扁平上皮癌で28.1%、低分化型扁平上皮癌で31.6%と分化度の低下に伴いKi-67標識率が増加する傾向を認めた。5年累積生存率は、Ki-67標識率の増加に伴い不良となる傾向を認めた。Ki-67標識率35%をカットオフ値とし、症例を2群化したところ、5年累積生存は

35%未満82.9%、35%以上35.7%で有意差を認めた。pN1-3(pN陽性)の割合は、Ki-67標識率35%以上の症例で85.7%であり、Ki-67標識率35%未満の症例(48.6%)に比して有意に高値であった。さらに多変量解析では、pT因子、pN因子、Ki-67標識率が独立した予後因子として抽出された。

Ki-67抗原は、G<sub>0</sub>期を除く細胞周期のすべての段階で発現することが知られている。Ki-67抗体は増殖活性を示す細胞を識別する有効な手段として、臨床病理においても広く応用されている。食道扁平上皮癌におけるKi-67標識率と臨床病理学的因子との関係について、腫瘍径・pT因子・リンパ管浸潤等の相関に言及した先行報告が存在するが、未だ一定の見解は得られていない。Ki-67標識率とpN因子との相関を示した今回の結果は、Ki-67発現がリンパ節転移を含む食道扁平上皮癌の進展に関連しており、術後の治療方針を選択するための有用な指標となりえることを示唆している。

以上が本論文の要旨であるが、Ki-67標識率はリンパ節転移度と相関すること、至適なカットオフ値を設定することにより食道扁平上皮癌の独立予後因子となることを明らかにした点で、医学上価値ある研究と認める。

## 参考文献(1編)

- 1) Shiozaki A, Iitaka D, Ichikawa D, Nakashima S, Fujiwara H, Okamoto K, Kubota T, Komatsu S, Kosuga T, Takeshita H, Shimizu H, Nako Y, Sasagawa H, Kishimoto M, Otsuji E. xCT, component of cysteine/glutamate transporter, as an independent prognostic factor in human esophageal squamous cell

carcinoma. *J Gastroenterol* 2014; 49: 853-863.

論文提出者 福田 亘

学位の種類 博士(医学)  
 学位記の番号 甲第1505号  
 学位授与の日付 平成26年3月31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 八木田和弘・教授 奥田 司・教授 加藤則人

### 論文題目及び掲載誌

Fukuda W, Takagi T, Katada K, Mizushima K, Okayama T, Yoshida N, Kamada K, Uchiyama K, Ishikawa T, Handa O, Konishi H, Yagi N, Ichikawa H, Yoshikawa T, Cepinskas G, Naito Y, Itoh Y.  
**Anti-inflammatory Effects of Carbon Monoxide-releasing Molecule on Trinitrobenzene Sulfonic Acid-induced Colitis in Mice**  
*Digestive Diseases and Sciences* 2014; 59: 1142-1151.

### 審査結果の要旨

潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患 (Inflammatory bowel disease; IBD) は再発性・難治性の疾患であり、既存治療では十分な治療効果が得られないことも多く、新規治療分子の探索が重要な課題となっている。一酸化炭素 (Carbon monoxide; CO) は Heme の分解産物の一つとして内因性に産生され、ガス状メディエーターとして様々な生理作用を有することが知られている。これまで、マウス実験腸炎モデルにおいて、低濃度 CO ガスの吸入暴露により腸管炎症が軽減されることが報告されている。しかし、外因性に投与される CO ガスは血中 CO ヘモグロビン (COHb) 濃度を上昇し、CO 中毒が惹起されるため、CO の毒性克服が重要な課題となっている。近年、CO を安全かつ確実に組織に放出する新規 CO 放出物質 (CO-releasing molecules; CORMs) が開発・合成されており、血中 COHb 濃度を上昇させることなく局所において CO を放出することが知られている。

申請者は、ヒトクローン病のマウス実験腸炎モデルとして広く知られている 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) 惹起性大腸炎において、新規水溶性 CO 放出物質である CORM-3 の有効性について検討を行った。マウスに TNBS 惹起性大腸炎を作成し、治療群には CORM-3 を腹腔内投与した。結果として、TNBS 惹起性大腸炎群では大腸に著明な潰瘍形成を認め、大腸 damage score は正常対照群と比較し有意に高かった。CORM-3 治療群では大腸の潰瘍形成は抑制されており、大腸 damage

score は TNBS 惹起性大腸炎群と比較し有意に低下した。病理組織スコア、好中球浸潤の指標とされる大腸粘膜中のミエロペルオキシダーゼ活性についても、TNBS 惹起性大腸炎群では正常対照群と比較し有意に上昇し、CORM-3 治療群では有意に低下した。サイトカイン産生に関する検討においては、TNBS 惹起性大腸炎群では大腸粘膜中の TNF- $\alpha$ 、IL-17A mRNA 発現は有意に亢進し、IFN- $\gamma$  mRNA 発現も増加傾向を示したが、CORM-3 の投与によりこれらは有意に低下した。また、大腸粘膜中の TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-17A 蛋白量についても、TNBS 惹起性大腸炎群では有意に増加しており、CORM-3 の投与により TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  は有意に低下し、IL-17A は低下傾向を示した。さらに、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  の産生細胞として CD4<sup>+</sup> T リンパ球が重要な役割を果たしていると考え、マウス脾臓より単離した CD4<sup>+</sup> T リンパ球を用いて、抗 CD3/CD28 抗体刺激によるサイトカイン産生について検討を行った。単離 CD4<sup>+</sup> T リンパ球に対して抗 CD3/CD28 抗体にて刺激を行ったところ、非刺激群と比較し、上清中の TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  蛋白発現は有意に増加していた。一方、CORM-3 処理により TNF- $\alpha$  産生は有意に低下し、IFN- $\gamma$  産生においても低下傾向を示した。

以上が本論文の要旨であるが、CORM-3 の投与により、マウス TNBS 惹起性大腸炎の発症・進展が抑制されることを明らかにした。その機序の一つとして CD4<sup>+</sup> T リンパ球におけるサイトカイン産生の抑制が関与していることが考えられた。IBD における新規治療分子として

のCOの可能性を検討した点で、医学的価値ある研究と認める。

### 参 考 論 文 (1編)

1) 福田 亘, 内藤裕二, 堅田和弘, 高木智久, 水島か

つら, 吉田直久, 鎌田和浩, 内山和彦, 半田 修, 小西英幸, 八木信明, 南山幸子, 市川 寛, 吉川敏一. TNBS誘発腸炎マウスにおけるCO-releasing molecule (CORM-3) による炎症制御機構の検討. 消化器と免疫 2012; 49: 56-59.

### 論文提出者 稲 田 裕

学位の種類	博士 (医学)
学位記の番号	甲第 1506 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 31 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 伊藤義人・教授 加藤則人

### 論 文 題 目 及 び 掲 載 誌

Inada Y, Uchida H, Umemura Y, Nakamura W, Sakai T, Koike N, Yagita K.

**Cell and Tissue-autonomous Development of the Circadian Clock in Mouse Embryos**

FEBS letters 2014; 588: 459-465.

### 審 査 結 果 の 要 旨

生体活動には約 24 時間周期の概日リズムが存在する。時計遺伝子と呼ばれる一群の遺伝子群はその転写活性において概日リズムを形成しており、生体リズム発振に深く関与している。哺乳類の発生過程において、このような時計遺伝子転写活性の概日リズムは初期胚ではみとめられず、胎生期に形成されることが知られているが、その詳細な出現時期及び形成プロセスについてはいまだ不明な点が多い。

申請者は、様々な発生時期のマウス胎仔から得られた細胞および組織の培養、リズム観察を行い、母体や環境に由来する同調因子がない状況下での細胞、組織自律的な概日リズムの発生プロセスを明らかにすることを目的とした。

時計遺伝子の一つである Per2 のプロモーターにルシフェラーゼ遺伝子をつないだレポーター (mPER2::Luc) をノックインした mPer2Luc マウスを使用した。

細胞レベルでの概日時計の形成時期を明らかにするため、まず E10.5 に採取した mPER2Luc マウス胎仔由来の細胞 (主に線維芽細胞) を一晚培養したところ、ディッシュ全体の発光にリズムはみとめられなかった。しかし、この細胞をさらに 6 日間培養したのちに同調刺激を加えたところ、E15.5 の胎仔由来の細胞培養で観察された生体リズムと類似した、明瞭なリズムが観察された。単一細胞レベルにおける培養でも同様の結果が確認され

た。したがってマウス胎仔の発生に伴う概日リズムの形成は、環境因子に依存しない細胞自律的なものであることが明らかになった。

次に、組織レベルでの発生過程におけるリズムの観察を行った。E13.5 から 17.5、P30 の各時点で採取した唾液腺組織片の器官培養、発光観察を行ったところ、E15.5 以降で概日リズムの出現を認めた。また、E13.5 で採取した組織を継続的に培養したところ、E 13.5+6 日目よりリズムが観察された。以上の結果より、in vitro と in vivo との間でリズムの出現時期に違いは認められたものの、組織レベルにおいても分化に伴って自律的な概日リズムが形成されることが明らかになった。

次に E15.5 で採取した mPer2Luc マウス胎仔由来の線維芽細胞にリプログラミング因子を遺伝子導入し、発現誘導を行い、得られた 4 つの Cell line において多能性幹細胞マーカーである Nanog の発現を蛍光免疫染色で確認した。こうして得られたマウス胎仔由来の iPS 細胞株では、同調刺激を加えても明瞭なリズムは観察されなかった。しかし、分化誘導を行ったところ、分化誘導開始 14 日後には 4 つの cell line 全てにおいて概日リズムが観察された。

以上が本論文の要旨であるが、胎生初期中期 (E10.5) 頃までの胎仔細胞には概日時計の発振が認められないこと、しかし分化に伴い、細胞及び組織自律的に明瞭な振



動が形成されることを明らかにした点に加え、ルシフェラーゼを用いた生体細胞ライブイメージング手法が、生きた細胞や組織の発分化過程をリアルタイムに観察評価できる系として有用である可能性も示しており、医学上価値ある研究と認める。

#### 参 考 論 文 (7 編)

- 1) 稲田 裕, 高木智久, 内藤裕二. 炎症性腸疾患と概日リズム. *G.I. Res* 2012; 20: 402-407.
- 2) Inada Y, Yoshida N, Kugai M, Kamada K, Katada K, Uchiyama K, Handa O, Takagi T, Konishi H, Yagi N, Naito Y, Wakabayashi N, Yanagisawa A, Itoh Y. Prediction and treatment of difficult cases in colorectal endoscopic submucosal dissection. *Gastroenterol Res Prac* 2013; 2013: 523084.
- 3) Yoshida N, Yagi N, Inada Y, Kugai M, Yanagisawa A, Naito Y. Prevention and management of complications of and training for colorectal endoscopic submucosal dissection. *Gastroenterol Res Prac* 2013; 2013: 28713.
- 4) Yoshida N, Hisabe T, Inada Y, Kugai M, Yagi N, Hirai F, Yao K, Matsui T, Iwashita A, Kato M, Yanagisawa A, Naito Y. The ability of a novel blue laser imaging system for the diagnosis of invasion depth of colorectal neoplasms. *J Gastroenterol* 2014; 49: 73-80.
- 5) Yoshida N, Naito Y, Inada Y, Kugai M, Yagi N, Inoue K, Okuda T, Hasegawa D, Kanemasa K, Kyoichi K, Matsuyama K, Ando T, Takemura T, Shimizu S, Wakabayashi N, Yanagisawa A, Yoshikawa T. Multi-center study of endoscopic mucosal resection using 0.13% hyaluronic acid solution of colorectal polyps less than 20 mm in size. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 985-91.
- 6) Yoshida N, Yagi N, Inada Y, Kugai M, Kamada K, Katada K, Uchiyama K, Ishikawa T, Takagi T, Handa O, Konishi H, Kokura S, Inoue K, Wakabayashi N, Abe Y, Yanagisawa A, Naito Y. Possibility of ex vivo animal training model for colorectal endoscopic submucosal dissection. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 49-56.
- 7) Yoshida N, Naito Y, Inada Y, Kugai M, Kamada K, Katada K, Uchiyama K, Ishikawa T, Takagi T, Handa O, Konishi H, Yagi N, Kokura S, Wakabayashi N, Yanagisawa A, Yoshikawa T. Endoscopic mucosal resection with 0.13% hyaluronic acid solution for colorectal polyps less than 20 mm: a randomized controlled trial. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1377-83.

論文提出者 小林 覚

学位の種類	博士(医学)
学位記の番号	甲第1507号
学位授与の日付	平成26年3月31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 細井 創・教授 八木田和弘・教授 伊藤義人

#### 論 文 題 目 及 び 掲 載 誌

Kobayashi S, Taki T, Nagoshi H, Chinen Y, Yokokawa Y, Kanegane H, Matsumoto Y, Kuroda J, Horiike S, Nishida K, Taniwaki M.  
**Identification of Novel Fusion Genes with 28S Ribosomal DNA in Hematologic Malignancies**  
*International Journal of Oncology* 2014; 44: 1193-1198.

#### 審 査 結 果 の 要 旨

造血器腫瘍や軟部肉腫では、染色体の転座や逆位、欠失による融合遺伝子の形成が高頻度にみられ、病型や予後とも相関し、臨床的にも非常に重要であることが知られている。融合遺伝子による腫瘍化のメカニズムについ

ては、従来はインフレーションでの融合により形成される融合蛋白質によるものや、免疫グロブリン遺伝子やT細胞受容体遺伝子による相手遺伝子の活性化が知られていた。しかし近年、*PVT1*のような蛋白質をコードしない

遺伝子が関与する融合転写産物が様々な腫瘍で同定され、これまで知られていない新しいタイプの腫瘍化に関与する遺伝子異常が他にも存在する可能性が示唆された。

申請者は、腫瘍化における染色体異常の役割を明らかにすることを目的として研究を行い、リボソーム合成に関係する遺伝子 28S ribosomal DNA (*RN28S1*) が関与する複数の新規融合遺伝子を同定した。まず、t(6;14)(q25;q32) を有する混合表現型 (T/骨髄性) 急性白血病の白血球細胞を用いて FISH (fluorescence *in situ* hybridization) 解析を行ったところ、14 番染色体長腕 q32 上の *BCL11B* と 6 番染色体長腕 q25 上の遺伝子との融合を示唆する結果であった。cDNA バブル PCR 法による *BCL11B* の転座相手遺伝子の同定を行った結果、*BCL11B* のエクソン 3 と *RN28S1* の配列との融合を同定した。しかし、*RN28S1* が 6q25 上の遺伝子ではなかったことから、この融合遺伝子は t(6;14)(q25;q32) とは関係なく形成されているものと考えられた。そこで、同様の融合が他の造血器腫瘍細胞株においても存在するかを RT-PCR 法により検討した。その結果、複数の細胞株で PCR 産物が認められたが、パーキットリンパ腫の 1 株では *RN28S1-IGKV3-20* が、多発性骨髄腫の 1 株では *RN28S1-COG1* が新たに同定できた。この結果は、*IGKV3-20* と *COG1* の配列の中に、*BCL11B* に設定したプライマーと類似の配列が存在したことにより生じたものであると考えられた。*RN28S1* は蛋白質に翻訳されず、そして 3 つの融合相手遺伝子の融合点は全てエクソン内であった。また、*BCL11B* との融合は正常の転写方向とは逆向きに起こっていた。このような形での融合を形成することにより、相手遺伝子の正常な機能が阻害されることが腫瘍化に関与している可能性が示唆できる。今回同定した 3 種類の *RN28S1* との融合遺伝子の機能は不明であるが、腫瘍発生への関与が推察できるいくつかの報告がある。まず、リボソーム DNA (rDNA) 異常とがんとの関連性については、肺がんと結腸がんにおける rDNA の高頻度の再構成や前立腺がんでの rDNA の高発現が報告されている。さらに、rDNA の融合相手遺伝子についてもがんとの関連性がある。*IGK* は免疫グロブリン軽鎖遺伝子であり、B 細胞腫瘍での再構成が知られている。*BCL11B* は T 細胞腫瘍での再構成が知られており、これまでに *TLX3-BCL11B*、*BCL11B-TRDC* や *HELIOS-BCL11B* が報告されている。*COG1* はゴルジ複合体構成に必須であり、そのファミリー遺伝子のひとつの *COG5* は子宮平滑筋腫において *HMGA2* との融合が報告されている。これらのことから同定した 3 つの融合相手遺伝子も腫瘍化に密接に関与していると考えられた。

以上が本論文の要旨であるが、造血器腫瘍において、

rDNA が関与する新規の融合転写産物を同定したことは、腫瘍発生メカニズムの解明だけに関わらず、ゲノム構成やリボソーム DNA の機能解明にも貢献する新たな手掛かりになる可能性があると考えられ、医学上価値ある研究と認める。

#### 参 考 論 文 (5 編)

- 1) Kobayashi S, Taki T, Chinen Y, Tsutsumi Y, Ohshiro M, Kobayashi T, Matsumoto Y, Kuroda J, Horiike S, Nishida K, Taniwaki M. Identification of IGHC  $\delta$ -BACH2 fusion transcripts resulting from cryptic chromosomal rearrangements of 14q32 with 6q15 in aggressive B-cell lymphoma/leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50: 207-216.
- 2) Sasaki N, Kuroda J, Nagoshi H, Yamamoto M, Kobayashi S, Tsutsumi Y, Kobayashi T, Shimura Y, Matsumoto Y, Taki T, Nishida K, Horiike S, Akao Y, Taniwaki M. Bcl-2 is a better therapeutic target than c-Myc, but attacking both could be a more effective treatment strategy for B-cell lymphoma with concurrent Bcl-2 and c-Myc overexpression. *Exp Hematol* 2011; 39: 817-828.
- 3) Nagoshi H, Taki T, Hanamura I, Nitta M, Otsuki T, Nishida K, Okuda K, Sakamoto N, Kobayashi S, Yamamoto-Sugitani M, Tsutsumi Y, Kobayashi T, Matsumoto Y, Horiike S, Kuroda J, Taniwaki M. Frequent PVT1 rearrangement and novel chimeric genes PVT1-NBEA and PVT1-WWOX occur in multiple myeloma with 8q24 abnormality. *Cancer Res* 2012; 72:4954-4962.
- 4) Tsutsumi Y, Chinen Y, Sakamoto N, Nagoshi H, Nishida K, Kobayashi S, Yokokawa Y, Taki T, Sasaki N, Yamamoto-Sugitani M, Kobayashi T, Matsumoto Y, Horiike S, Kuroda J, Taniwaki M. Deletion or methylation of CDKN2A/2B and PVT1 rearrangement occur frequently in highly aggressive B-cell lymphomas harboring 8q24 abnormality. *Leuk Lymphoma* 2013; 54: 2760-2764.
- 5) Nakayama R, Matsumoto Y, Horiike S, Kobayashi S, Nakao R, Nagoshi H, Tsutsumi Y, Nishimura A, Shimura K, Kobayashi T, Uchiyama H, Kuroda J, Taki T, Inaba T, Nishida K, Yokota S, Yanagisawa A, Taniwaki M. Close pathogenetic relationship between ocular immunoglobulin G4-related disease (IgG4-RD) and ocular adnexal mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2014; 55: 1198-1202.