

# 博 士 学 位 論 文

内 容 の 要 旨

お よ び

審 査 結 果 の 要 旨

令和6年4月～令和7年3月

和 歌 山 県 立 医 科 大 学

# 目 次

令和6年度（4月～3月）

(学位記番号)	(氏 名)	(論 文 題 目)	(頁)
博(医薬)乙第 1 号	奥平 隆太	Balloon-Assisted Portal Vein Embolization Using n-Butyl-2-Cyanoacrylate-Lipiodol-Iopamidol Mixture in Swine: A Comparison of 2 Formulations (ブタにおけるNBCA-リピオドール-イオパミドール混和物を用いたバルーン併用下門脈塞栓術での2種類の混合比の比較)	1
博(医薬)乙第 2 号	友松 晃一	Factors associated with cam deformity in Japanese local residents. (大規模住民コホートにおけるcam deformityと関連因子の検討)	4
博(医薬)乙第 3 号	井口 孝司	Effect of nephrostomy sheath size on renal pelvic pressure during endoscopic combined intrarenal surgery: artificial kidney model study (ECIRSにおいて細径腎盂鏡が腎盂内圧に与える影響: artificial kidney model study)	7
博(医薬)乙第 4 号	萬 翔子	Intravenous methylprednisolone therapy for ocular myasthenia gravis: A retrospective study. (眼筋型重症筋無力症に対するメチルプレドニゾロン静脈内投与の有効性評価)	10
博(医薬)乙第 5 号	垣本 信幸	Vasa vasorum enhancement on optical coherence tomography in Kawasaki disease (川崎病における光干渉断層法を用いたVasa vasorumの増生の検討)	12
博(医薬)乙第 6 号	山本 寛記	Protective roles of thrombomodulin in cisplatin-induced nephrotoxicity through the inhibition of oxidative and endoplasmic reticulum stress. (シスプラチン誘発性腎毒性におけるトロンボモジュリンの酸化ストレスと小胞体ストレスの阻害による保護的役割)	14
博(医薬)乙第 7 号	國立 晃成	Novel Peritoneal Sclerosis Rat Model Developed by Administration of Bleomycin and Lansoprazole (ブレオマイシンとランソプラゾールを用いた新たな腹膜硬化症モデル)	16
博(医薬)乙第 8 号	岩元 竜太	Small sized centroblasts as poor prognostic factor in follicular lymphoma - Based on artificial intelligence analysis. (小型中心芽細胞は濾胞性リンパ腫の予後不良因子である～人工知能の手法を用いた解析～)	19

# 目 次

令和6年度（4月～3月）

（学位記番号）	（氏 名）	（論 文 題 目）	（頁）
博(医薬)乙第 9 号	堀 善和	Utilizing Clinical Transformation Criteria for Prognostic Stratification in Follicular Lymphoma Prior to Initial Immunochemotherapy （濾胞性リンパ腫に対する初回免疫化学療法前の臨床的形質転換基準の活用）	22
博(医薬)乙第 10 号	林 宣秀	Neuroradiological, genetic and clinical characteristics of histone H3 K27-mutant diffuse midline gliomas in the Kansai Molecular Diagnosis Network for CNS tumors (Kansai Network) : multicenter retrospective cohort （H3K27変異びまん性正中グリオーマにおける神経放射線学的・遺伝的・臨床学的特徴：多施設共同後方視的コホート研究）	25
博(医薬)乙第 11 号	中村 諒	Risk factors for unsuccessful restoration of coronary flow reserve after Coronary bypass surgery （冠動脈バイパス術後冠血流予備能が改善しないリスク因子）	28
博(医薬)乙第 12 号	稲垣 貴也	Escalating the dose of high-dose-rate brachytherapy combined with external beam radiotherapy improves the disease control rate in patients with high- or very-high-risk prostate cancer （HighおよびVery highリスクの前立腺癌患者に対する外照射併用高線量率小線源治療において線量増加は制御率を向上させる）	30

学 位 記 番 号	博(医薬)乙第1号
学 位 授 与 の 日	令和6年8月26日
氏 名	奥平 隆太
学位論文の題目	Balloon-Assisted Portal Vein Embolization Using n-Butyl-2-Cyanoacrylate-Lipiodol-Iopamidol Mixture in Swine: A Comparison of 2 Formulations (ブタにおけるNBCA-リピオドール-イオパミドール混和物を用いたバルーン併用下門脈塞栓術での2種類の混合比の比較)
論 文 審 査 委 員	主 査 教授 川井 学 副 査 教授 北野 雅之 教授 園村 哲郎

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【緒言】

門脈塞栓術 (porta vein embolization; PVE) は、外科的肝切除の術前に切除予定肝葉の門脈を塞栓して非切除葉 (future liver remnant; FLR) を肥大させ、肝切除後の肝不全のリスクを低減させる血管内治療である。PVE には様々な塞栓物質が使用されているが、最適な塞栓物質は確立されていない。n-butyl-2-cyanoacrylate (NBCA) は経カテーテル塞栓術で使用する液体塞栓物質で、一般にNBCA-Lipiodol mixture (NL) として使用される。NL を用いた PVE は優れた FLR の肥大をもたらす可能性が示されているが、塞栓物質の非標的部位への移動の危険性がある。NBCA-Lipiodol-Iopamidol mixture (NLI) は NL よりも接着性が低いためにバルーンカテーテルとの併用が可能である。非接着性でマイクロカテーテルから注入可能な NLI の混合比率は 2:3:1 (NLI231) と 1:4:1 (NLI141) であったと報告されている。これらの混合比の NLI を用いたバルーン併用下 PVE は非標的塞栓のリスクを減少させると考えられる。本研究の目的は、基礎実験で NLI の粘稠度の経時変化を測定することにより適切なバルーン閉塞時間を決定し、ブタのバルーン併用下 PVE において NLI231 と NLI141 を比較検討することである。

### 【方法】

#### ■基礎実験

ブタの血液が入った 2.5mL シリンジ (内径 10mm) あるいは 10mL シリンジ (内径 15mm) 内に NLI231 あるいは NLI141 を注入し、重合の程度を粘稠度の経時変化を測定することで評価した。粘度計を用いてそれぞれの NLI の粘稠度のピーク値とピークに達するまでの時間を各々5回測定した。

#### ■動物実験

雌ブタ 8 頭を用いた。バルーンカテーテル (バルーン径 9mm) を塞栓対象の門脈枝近位部に留置し、マイクロカテーテルをその末梢部まで挿入した。バルーン閉塞下に NLI をマイクロカテーテルから注入した。バルーンでの閉塞を 3 分間継続した。塞栓対象は外側左葉と内側左葉の門脈分枝で、ブタ 4 頭のそれぞれ 2 本の分枝 (n=8) を NLI231 で、別のブタ 4 頭のそれぞれ 2 本の分枝 (n=8) を NLI141 で塞栓した。塞栓前、塞栓直後、3 日後の門脈造影で NLI とバルーンカテーテルやマイクロカテーテルの接着の有無、NLI の migration の有無、門脈の塞栓効果を評価した。3 日後に肝臓を摘出し、病理組織学的検討を行った。

### 【結果】

#### ■基礎実験

2.5mL および 10mL シリンジ内での NLI231 の粘稠度のピークまでの平均時間は、それぞれ 55.8 秒および 85.2 秒であり、NLI141 の平均時間はそれぞれ 129.2 秒および 254.0 秒であった。

#### ■動物実験

PVE 直後および 3 日後の NLI231 の migration は、8 門脈すべてにおいて認められなかった。NLI141

の migration は 6/8 門脈で認められた。塞栓物質の migration の頻度は、NLI231 群が NLI141 群よりも低かった (0/8 vs 6/8;  $P = .051$ )。病理組織学的には、NLI231 は血栓を伴わずに門脈を占拠していたが、NLI141 は門脈内の血栓を伴っていた。両群で塞栓された門脈周囲には炎症細胞浸潤が認められた。

#### 【考察】

NLI231 を用いたバルーン併用下 PVE は実現可能であることが、ブタを用いた動物実験で確認された。NLI231 群では NLI231 の migration は起こらなかったが、NLI141 群では 6/8 門脈で NLI141 の migration が認められた。意図しない NLI の migration は非標的領域の塞栓や不十分な塞栓効果につながる。NLI141 の migration が起こった原因として 3 つが考えられる。1 つ目は NLI141 に含まれる NBCA 濃度が低いことである。2 つ目は注入された NLI141 が一塊とならず小さな粒状の形状を示すことである。このため、NLI141 は NLI231 のように血管内を鑄型状に占拠できず、血栓形成を伴うことで塞栓効果を発揮すると考えられる。3 つ目は NLI の比重である。NLI は血液より比重が大きく、血流方向や体位に関連して NLI が末梢側や中枢側へ移動した可能性がある。今回の動物実験におけるバルーン閉塞時間は 3 分であった。基礎実験において、NLI141 が 10mm 径のシリンジ内で粘稠度のピークに達する時間は 3 分以内であったにも関わらず、動物実験において塞栓物質の migration が認められた。これは、基礎実験と動物実験の条件の違いが原因になっている可能性がある。NLI で塞栓された門脈周囲に炎症細胞浸潤がみられたことは、NLI を用いた PVE が NL を用いた PVE と同様に優れた FLR の肥大効果を示す可能性があることを意味する。

#### 【結論】

ブタのバルーン併用下塞栓術において、NLI231 は NLI141 よりも適した液体塞栓物質であると思われる。

### 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和 6 年 7 月 22 日に論文審査担当者は学位申請者の出席を求め、上記論文についての審査を行った。

門脈塞栓術(portal vein embolization: PVE)は、肝切除対象領域の門脈を事前に塞栓し、非切除肝葉の肥大を促す血管内治療である。PVE にはさまざまな塞栓物質が用いられるが、最適な物質は確立されていない。液体塞栓物質である NBCA-Lipiodol 混和液(NL)を用いた PVE は、優れた非塞栓肝葉の肥大効果を示す一方、標的外への NL の流出(非標的塞栓)が問題となる。放射線医学講座で開発、研究する液体塞栓物質 ; NBCA-Lipiodol-Iopamidol 混和液(NLI)は、塞栓物質の逸脱を防ぐバルーンカテーテルとの併用が可能である。NLI を用いたバルーン併用下 PVE により非標的塞栓の問題を解決できると考え、本研究に至った。

本研究の目的は、ブタのバルーン併用下 PVE において、臨床応用の可能性が示されている 2 種類の混合比率、NLI231 と NLI141 を比較することである。NLI の硬化に十分なバルーン拡張時間を検討するため、基礎実験を行った。ブタの血液を満たした 2.5mL または 10mL のシリンジに NLI231 または NLI141 を注入し、NLI の粘稠度がピークに達する時間、すなわち硬化に要する時間を測定した。続いてブタを用いた動物実験で、8 頭の雌ブタのそれぞれ 2 本の門脈枝(n=16)を、バルーン閉塞下に NLI231(n=8)または NLI141(n=8)で塞栓した。門脈造影を PVE の前、直後、および 3 日後に実施し、NLI の移動と塞栓された門脈枝の再開通の有無を評価した。その後、肝臓を摘出して病理組織学的評価を行った。

2.5mL および 10mL シリンジにおける NLI231 の粘稠度上限値到達時間はそれぞれ 55.8 秒(SD±7.0)および 85.2 秒(SD±6.3)であり、NLI141 の最高粘稠度到達時間はそれぞれ 129.2 秒(SD±11.8)および 254.0 秒(SD±21.8)であった。動物実験において、NLI231 群では 8 手技すべてで PVE 直後および 3 日後に塞栓物質の移動は観察されなかった。NLI141 群では PVE 後 3 日以内に 8 手技中 6 手技で塞栓物質の移動が認められ、うち 1 手技で塞栓された門脈枝の再開通が認められた。病理学的評価では、注入された領域において NLI231 は血栓を伴わず門脈内を占拠する一方、NLI141 は血栓を伴っていた。

NLI231 は注入時に一塊となる性質があるため、単独で門脈内を鑄形状に占拠することで強固で安定した塞栓効果を発揮し、塞栓物質の移動を来さなかったと考えられた。NLI141 は塞栓力を有するNBCAの含有率が低く、注入時に一塊とならず小さな粒状になる性質があるため、血栓を伴うことで塞栓効果を発揮すると考えられた。よって、塞栓力が弱く不安定で移動を来しやすいと考えられた。

本論文により NLI によるバルーン併用下 PVE は実現可能な手技で、用いる混合比は NLI231 がより適することが示された。動物実験を基に PVE における塞栓物質としての NLI の可能性を示した本論文は学位論文として価値あるものと認めた。

学 位 記 番 号	博(医薬)乙第2号		
学 位 授 与 の 日	令和6年10月2日		
氏 名	友松 晃一		
学位論文の題目	Factors associated with cam deformity in Japanese local residents. (大規模住民コホートにおける cam deformity と関連因子の検討)		
論 文 審 査 委 員	主 査	教授 廣西 昌也	
	副 査	教授 山田 宏	准教授 幸田 剣

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【緒言】

Ganz らによってその臨床的あるいは画像的特徴から、femoroacetabular impingement(FAI)による軟骨損傷のメカニズムが提唱された。FAI には3つの異なるタイプがあり大腿骨側に主因をおくものが cam type、臼蓋側に主因をおくものが pincer type、両者の混在しているものが combined type と分類されている。

近年 cam type FAI は変形性股関節症、人工股関節置換術のリスクファクターとする報告が認められるが、日本人においてその病態や関連因子については明らかにされていない。

以前の研究において cam type FAI の特徴的な形態である pistol grip deformity(PGD)の有所見率と関連因子について調査し、その有所見率が年齢とともに増大していると報告した。しかし、日本人においては PGD の有所見率は低く、また PGD が基準では定量的な評価ができていない。

### 【目的】

大規模一般住民コホート調査により、PGD を定量的に評価し、年齢との相関または関連因子について解明することである。

### 【対象】

本研究は、骨関節疾患をターゲットとした地域住民コホート研究である The Research on Osteoarthritis/Osteoporosis Against Disability (ROAD) study の第3次検診（2012年10月から2013年12月にかけて実施）に和歌山県内2地域（日高川町；山村部、太地町；漁村部）から参加した一般住民 1575 人のうち、股関節の手術歴やデータの不備があったものなどを除いた 1480 人(男性 491 人、女性 989 人、平均年齢 65.3 歳)を対象とした。

### 【方法】

対象者の年齢、性別、身長、体重、BMI、過去 1 か月以内の股関節痛の有無について調査した。単純 X 線両股関節正面像より  $\alpha$  角を測定し、 $\alpha$  角 60 度以上を cam deformity(CD)と設定した。

脊椎骨盤矢状面アライメントの評価は、全脊柱立位側面 X 線像より lumbar lordosis(LL)、sacral slope(SS)、pelvic tilt(PT)、pelvic incidence(PI)を計測した。

統計学的評価として、Cochran–Armitage 検定を用いて年齢階級ごとの有所見率を比較した。カイ二乗検定を用いて CD の有所見率を男女間で比較した。CD の有無における年齢、BMI、各脊椎骨盤アライメント変数の比較は t-検定を用いた。CD と股関節痛との相関を調査するためにカイ二乗検定を用いた。 $\alpha$  角との関連因子を調べるために、目的変数を  $\alpha$  角、説明変数を年齢、BMI、LL、PT、PI とし男女別に重回帰分析を施行した。

## 【結果】

CD の有所見率は 147/2960 (5.0%)であり、CD の有所見率は年齢階級ごとに増えていた。CD 群は非 CD 群と比較して有意に男性が多く、また年齢層が高かった。CD 群では LL と SS が有意に小さく、また PT が大きかった。147 の CD のある股関節の中で、1 股関節でのみ罹患側に股関節痛を認めた。 $\alpha$  角と年齢は正の相関を認めた。 $\alpha$  角は男女ともに BMI に相関を認め、また女性においてのみ  $\alpha$  角と PT は相関を認めた。

## 【考察】

今回の研究において CD の有所見率は 5.0%であった。欧米での報告においては男性 15~25%、女性 0~15%となっており、欧米における有所見率の方が高い傾向にある。

CD は股関節痛と相関を認めなかった。欧米において Gosvig らは CD の 16%に股関節痛が認められたとしている。日本人の股関節は臼蓋が浅く、大腿骨頸部の前後径が狭いという特徴があり、解剖学的な理由でインピンジメントを起こしにくいかもしれない。

前回の研究において PGD を調査しその有所見率が年齢に相関しているとしているが、日本人においては PGD の有所見率は少なく、また定量的な評価はできていない。そこで、本研究では大腿骨頭の非球面性を定量的に評価するために股関節正面像で  $\alpha$  角を測定し、 $\alpha$  角 60 度以上を CD として設定した。

CD の有所見率は年齢とともに増大を認め、また CD の基準を満たさない人を含めた全ての対象者において、年齢とともに  $\alpha$  角が増大していることがわかった。 $\alpha$  角が BMI とも相関を認めていることから、荷重負荷により  $\alpha$  角が増大する可能性が示唆された。

Weinberg らは FAI 患者では low PI であるとしているが、Husson らは健常人と FAI 患者では同様の脊椎骨盤アライメントであったとしている。

FAI 患者において脊椎骨盤アライメントに関しては一定の見解が得られていない。今回の研究では女性においては  $\alpha$  角と PT に相関を認め、男女によって  $\alpha$  角と脊椎骨盤アライメントは異なる関係であることが示唆された。

本研究にはいくつかの limitation が存在する。まず、この研究は横断研究であるために、評価している変数の因果関係を決定づけることはできない。このコホート研究の縦断研究による更なる調査が必要である。次に、この研究においては単純 X 線両股関節正面像でのみ、 $\alpha$  角が測定され CD が評価されている。CD は 3 次元的な異状であり、そして  $\alpha$  角はどの像で測定するか依存する。

最後にこの研究においては selection bias が存在している。股関節手術の既往歴がある人、K-L3 以上の OA を来している人は除外している。また若年者の割合は少なくなっている。

## 【結論】

CD は一般住民において認められたが、股関節痛との相関は認めなかった。CD と脊椎骨盤アライメントは男女によって異なった関係性であることが示唆された。日本人において  $\alpha$  角と CD の有所見率が年齢に相関して増えており、CD は加齢性変化である可能性が示された。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和6年8月9日、8月13日及び16日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を行った。

近年、FAI の中でも大腿骨側に主因をおく cam type FAI が、変形性股関節症、人工股関節置換術のリスクファクターとされ手術療法も増えてきている。しかし、日本人においてその病態や関連因子については不明な点が多い。先行研究において cam type FAI の特徴的な形態である pistol grip deformity(PGD)の関連因子について調査し、PGD の有所見率が年齢と正の相関を認めていると報告した。しかし、日本人においてはその有所見率は低く、また PGD という定性的な評価だけでは関連因子の詳細な評価は困難であった。



本研究は大規模一般住民コホート調査により、PGD を定量的に評価し、年齢との相関または関連因子について解明したものである。

参加者 1480 人(男性 491 人、女性 989 人、平均年齢 65.3 歳)に対し、単純 X 線両股関節正面像より  $\alpha$  角を測定し、 $\alpha$  角 60 度以上を cam deformity(CD)と設定した。脊椎骨盤矢状面アライメントの評価では、全脊柱立位側面 X 線像より lumbar lordosis(LL)、sacral slope(SS)、pelvic tilt(PT)、pelvic incidence(PI)を計測した。

$\alpha$  角、CD の関連因子について統計学的に検討した。

CD の有所見率は 147/2960 (5.0%)であり、CD の有所見率は年齢階級ごとに増えていた。CD 群は非 CD 群と比較して有意に男性が多く、また年齢層が高かった。CD 群では LL と SS が有意に小さく、また PT が大きかった。 $\alpha$  角と年齢は正の相関を認めた。 $\alpha$  角は男女ともに BMI に相関を認め、また女性においてのみ  $\alpha$  角と PT は相関を認めた。

本研究では大腿骨頭の非球面性を定量的に評価するために股関節正面像で  $\alpha$  角を測定し、 $\alpha$  角 60 度以上を CD として設定した。CD の有所見率は年齢とともに増大を認め、また CD の基準を満たさない人を含めた全ての対象者において、年齢とともに  $\alpha$  角が増大していることがわかった。 $\alpha$  角が BMI とも相関を認めていることから、荷重負荷により  $\alpha$  角が増大する可能性が示唆された。

FAI 患者において脊椎骨盤アライメントに関しては一定の見解が得られていない。今回の研究では女性においては  $\alpha$  角と PT に相関を認め、男女によって  $\alpha$  角と脊椎骨盤アライメントは異なる関係であることが示唆された。

本論文は、日本の一般集団において CD とその関連因子について解明したものであり、CD が加齢性変化である可能性を示唆したという点で非常に意義深く、学位論文として価値あるものと認めた。

学 位 記 番 号	博(医薬)乙第3号		
学 位 授 与 の 日	令和6年10月30日		
氏 名	井口 孝司		
学位論文の題目	Effect of nephrostomy sheath size on renal pelvic pressure during endoscopic combined intrarenal surgery: artificial kidney model study (ECIRS において細径腎盂鏡が腎盂内圧に与える影響: artificial kidney model study)		
論 文 審 査 委 員	主 査	教授 園村 哲郎	
	副 査	教授 荒木 信一	教授 原 勲

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【緒言】

上部尿路結石治療は内視鏡機器の発達とともに手術手技が劇的に進化しており、泌尿器科領域において主要な分野となってきた。特に軟性尿管鏡を使用した経尿道的尿管碎石術(f-TUL: Flexible - Transurethral Ureterolithotripsy: )においては、様々なデバイスが開発され、碎石や抽石といった手術手技のみならず、術中術後の感染症発生を抑えるため腎盂内圧についての研究なども盛んに行われている<sup>1</sup>。

上部尿路治療において灌流液の流入と排水は腎盂内圧に影響を与えるため重要であると考えられている<sup>2</sup>。腎盂内圧は生理学的条件下では 7.5 ~ 14.7 cmH<sub>2</sub>O であり、利尿作用により 7.5 ~ 25 cmH<sub>2</sub>O に増加することが示されている<sup>3</sup>。腎盂内圧の上昇が人体に及ぼす影響を調べた実験では、約 40 cmH<sub>2</sub>O (30 mmHg) の圧力で腎内逆流が誘発された<sup>1</sup>。腎盂内圧の上昇は腎内逆流を引き起こし、細菌やエンドトキシンの血液移入による敗血症や、高い灌流水圧での腎障害を引き起こす可能性がある<sup>4</sup>。

上部尿路結石の中でも主に巨大な腎結石においては経皮的腎尿管碎石術(PNL: Percutaneous nephrolithotripsy)も主要な手術手技とされており、PNL に TUL を併用した経皮・経尿道同時内視鏡手術(ECIRS: Endoscopic combined intrarenal surgery)もその一つである<sup>5</sup>。しかし、ECIRS で腎盂内圧を評価した報告は少なく、直径 10Fr 以下の極細デバイスを用いて検討・比較した研究はない。そこで、ECIRS における腎盂圧を評価するために、人工腎臓モデルを作成し、様々な条件下で評価を行いました。

### 【方法】

#### ● Artificial kidney model ; Figure. 1

人工腎臓モデルは山下らの研究を参考に、Urovac evacuator™を使用し作成した<sup>6</sup>。腎瘻シースは、腹臥位での下腎杯穿刺を表すように設計し、水平面から 70°上になるように Urovac evacuator™ に接続した。また、腎瘻シースを交換できるようにシリコンコネクターを取り付けた。腎盂尿管移行部を模した部位に尿管アクセスシース (UAS) を設置し、こちらもシリコンコネクターを使用することで交換可能となるように設計した。動脈圧測定ライン (Edward Phillips) を Urovac evacuator™ の頭頂部に取り付け、人工腎盂内圧を測定した。トランスデューサーの位置は Urovac evacuator™ のベースの高さに合わせて調整し、測定ごとにゼロ補正を実行した。

#### ● Irrigation pressure

腎盂鏡からの灌流には UROMAT E.A.S.I.™ ポンプ (Karl Storz) を使用し、安定した持続灌流圧力を実現した。40mmHg、80mmHg、120mmHg、160mmHg の4段階に調整した。

#### ● Flexible ureteroscope

ディスプレイ付き軟性尿管鏡 (f-URS) PU3033A (PUSEN Medical) を使用した。UAS を通して人工腎盂内まで挿入した。UAS は 10/12 Fr および 12/14 Fr Flexor (Cook Medical) の2種類を使用した。f-URS からの灌流圧は 80 cmH<sub>2</sub>O とした。使用しないときは、UAS を開放した状態で測定を行った。

## ● Nephroscope

腎盂鏡には、低侵襲 PCNL (MIP) Systems™ (Karl Storz) を使用した。4 種類の MIP システム™ を使用し、外筒のシース径に応じて 3 種類の腎盂鏡を使用した。MIP-L (軸径 25/26Fr) には 19.5Fr、MIP-M (軸径 16.5/17.5Fr) には 12Fr、MIP-S (軸径 11/12Fr)、MIP-XS (軸径 8.5/9.5Fr) には 7.5Fr の腎盂鏡を使用した。

各シースと腎盂鏡の長さは同一であり、腎盂鏡の挿入位置は全例で統一した。注水部位には UROMAT E.A.S.I. ポンプを接続した。

## ● Test combinations ; Figure. 2

MIP system™、UAS のサイズ、f-URS の有無、灌流圧において、複数の組み合わせでテストを実施した。すべてのテストにおいて、腎盂鏡と f-URS の両方の作業チャンネルは空であった。各試験ごとにゼロ調整を行い、測定開始から 30 秒以上経過後に腎盂内圧がプラトーに達していることを確認し、その値を測定した。すべてのテストは、組み合わせごとに 6 回繰り返し、平均値を算出した。

### 【結果】

#### 1. ECIRS setting (no f-URS inserted); Figure. 3 a, b

f-URS を挿入せずに UAS を開放している条件では、MIP system™、UAS のサイズや灌流圧に関係なく、腎盂内圧は低いままであり、30 mmHg を超えることはなかった。記録された腎盂内圧の平均値は 0.2 ~ 10.0 mmHg であった。

#### 2. ECIRS setting (f-URS inserted); Fig. 3 c, d.

f-URS を UAS に挿入した状態では、すべての条件で腎盂内圧は腎盂鏡サイズの減少 (MIP-L → MIP-M → MIP-S → MIP-XS) および灌流圧の増加 (40 → 80 → 120 → 160 mmHg) とともに増加した。この傾向は、より細い UAS (10/12 Fr) でより顕著であった。

12/14 Fr の UAS 使用下では、最も細い腎盂鏡(MIP-XS) かつ灌流圧が 160 mmHg の条件でのみ腎盂内圧が 32.3 mmHg と危険領域に達した (Figure.3 c)。

10/12Fr の UAS 使用下では、MIP-XS において、灌流圧 40、80、120、および 160 mmHg での腎盂内圧は 31.8 mmHg (SD: ±0.41)、55.3mmHg(SD:±0.52)、84.5mmHg(SD:±1.38)、109.5mmHg(SD:±1.38)といずれも危険領域の 30mmHg を超えた。一回り大きな径の MIP-S でも、灌流圧 120mmHg、160mmHg における腎盂内圧は 39.7mmHg(SD:±1.75)、48.7mmHg(SD:±2.25)であった(Figure. 3 d)。しかし、腎盂鏡の直径がより大きい場合 (MIP-M および MIP-L)ではどのような灌流圧でも 30 mmHg を超えることはなかった。

### 【考察】

尿路結石治療の機器や技術の進化に伴い、有効性だけでなく安全性やリスクも評価が必要である。腎臓生理学に関する研究では、30 mmHg を超える腎盂内圧が腎尿細管の組織構造に病理学的変化を引き起こす可能性があることが示されている<sup>7</sup>。術中の腎盂内圧上昇は術後の発熱や周術期の敗血症と関連しており、内視鏡治療における腎盂圧測定の研究が活発になっている。

しかし、ECIRSにおける腎盂内圧の研究は多くありません。f-URS<sup>8,9</sup>およびPCNL<sup>10,11</sup>研究から、ECIRSにおいてもUASと腎盂鏡シースのサイズが大きくなるにつれて腎盂内圧が低下すると予想されます。

Doizi らは人工腎モデルを作成し、15-30 Fr 腎盂鏡シースと 10/12 Fr UAS を使用して ECIRS の腎盂内圧を測定し、腎盂内圧が 50cmH<sub>2</sub>O (36.8 mmHg) を超えることはなかったと報告した<sup>12</sup>。しかし、ECIRS において超細経腎盂鏡を使用して腎盂内圧を比較した実験はありません。

我々の実験は、ECIRS で超細経腎盂鏡 (8.5/9.5 Fr) を使用して腎盂内圧を測定した初めての研究です。ECIRS の利点は、腎盂鏡と f-URS を同時に使用して手術ができることです。我々の実験では、f-URS が UAS に挿入されていなければ、いかなる条件下でも腎盂内圧を低く保つことができました。一方、f-URS を挿入した条件では、細経腎盂鏡と組み合わせることで腎盂内圧は上昇することが判明した。特に、8.5/9.5 Fr の超細経腎盂鏡シースと 10/12 Fr UAS の組み合わせでは、低灌流圧でも腎盂内圧が危険なレベルに達するため、避ける必要がある。

ただし、我々の実験にはいくつかの問題点があります。我々の人工腎モデルはコンプライアンスとい

う点でヒト組織との類似性は不明確です。動物モデルは、生物学的反応や生体内条件を再現するのにより適しているが、試行回数を多くすることは困難であり、結果が不安定であるという欠点がある。しかし、次の課題は動物を用いた実験モデルの作成です。

#### 【結論】

この研究は、細経および超細経 PCNL システムを使用する ECIRS において、f-URS の使用により腎盂内圧が増加することを示した。腎盂内圧を上昇させずに ECIRS の利点を得るには、使用する腎盂鏡シースと UAS の組み合わせに注意する必要がある。

### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

2024年9月27日および10月4日に、論文審査委員は学位請求者の出席を求め、上記論文について審査を行った。

上部尿路結石治療は内視鏡機器の発達とともに手術手技が劇的に進化しており、泌尿器科領域において主要な分野となっており、術中術後の感染症発生を抑えるため腎盂内圧についての研究が盛んに行われている。しかし、経皮・経尿道同時内視鏡手術 (ECIRS: Endoscopic combined intrarenal surgery) で腎盂内圧を評価した報告は少なく、直径10Fr以下の極細デバイスを用いて検討・比較した研究はない。そこで、本研究では、ECIRSにおける腎盂内圧を評価するために、人工腎臓モデルを作成し、様々な条件下で検討した。

本研究では、Urovac evacuator<sup>TM</sup>を腎盂に見立て、それにシリコンコネクターを用いて腎盂鏡シースと尿管アクセスシース(UAS)を接続することで、ECIRSの状態を再現した人工腎モデルを作成し、腎盂内圧の検討を行った。尿管アクセスシースに軟性尿管鏡(f-URS)を挿入していない条件では、腎盂鏡シースの径および灌流圧に関係なく、腎盂内圧は低値を示した。F-URSをUASに挿入した状態では、すべての条件で腎盂内圧は腎盂鏡サイズの減少および灌流圧の増加とともに増加した。この傾向は、より細いUAS (10/12 Fr) でより顕著であった。10/12FrのUAS使用下では、MIP-XSにおいて、灌注圧 40、80、120、および 160 mmHg での腎盂内圧は 31.8 mmHg (SD: ±0.41)、55.3mmHg (SD: ±0.52)、84.5mmHg (SD: ±1.38)、109.5mmHg (SD: ±1.38)といずれも危険領域の30mmHgを超えた。一回り大きな径のMIP-Sでも、灌注圧120mmHg、160mmHgにおける腎盂内圧は39.7mmHg (SD: ±1.75)、48.7mmHg (SD: ±2.25)であった。しかし、腎盂鏡の直径がより大きい場合 (MIP-M および MIP-L) ではどのような灌流圧でも30 mmHgを超えることがなかった。

本研究は、ECIRSで超細経腎盂鏡 (8.5/9.5 Fr) を使用して腎盂内圧を測定した初めての研究であった。ECIRSの利点は、腎盂鏡とf-URSを同時に使用して手術ができることだが、f-URSを挿入した条件では、細経腎盂鏡と組み合わせることで腎盂内圧が著名に上昇することが判明した。

特に、8.5/9.5 Frの超細経腎盂鏡シースと10/12 Fr UASの組み合わせでは、低灌流圧でも腎盂内圧が危険なレベルに達する可能性が高いと考えられた。

以上より、本論文は、ECIRS を施行するにあたって、腎盂内圧の異常な上昇に気をつけなければならないデバイスの組み合わせがあることを示したものであり、学位論文として価値あるものと認めた。

学 位 記 番 号	博(医薬)乙第4号		
学 位 授 与 の 日	令和6年10月30日		
氏 名	萬 翔子		
学位論文の題目	Intravenous methylprednisolone therapy for ocular myasthenia gravis: A retrospective study. (眼筋型重症筋無力症に対するメチルプレドニゾロン静脈内投与の有効性評価)		
論 文 審 査 委 員	主 査	教授 藤井 隆夫	
	副 査	教授 井原 義人	准教授 宮本 勝一

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【緒言】

重症筋無力症 (MG) は神経筋接合部に対する自己抗体によって引き起こされる自己免疫疾患で易疲労性の筋力低下を生じる。MGのうち眼瞼下垂、外眼筋麻痺、眼輪筋筋力低下という眼症状のみに限局する眼筋型重症筋無力症 (OMG) は、全身型に比べて軽症とみなされるが、15-item MG-specific quality of life scale で評価した OMG の QOL は眼に関連した項目以外にも広く障害される。OMG の治療は対症療法薬であるコリンエステラーゼ阻害剤 (AChE-I) で開始され、治療効果が不十分な場合に経口ステロイド (PSL) やカルシニューリン阻害剤 (CNIs) などの免疫抑制剤が推奨される。全身型重症筋無力症 (GMG) に対してのメチルプレドニゾロン静脈内投与 (ステロイドパルス療法: IVMP) は、経口剤でコントロール不良な症例に対しての治療法として確立されているが、OMG に対する IVMP はこれまで国内での症例報告やケースシリーズ報告が多く、本邦以外の諸外国のガイドラインでは取り上げられていない。そこで OMG に対する IVMP の有効性に関し、IVMP を施行しない従来治療の症例と比較検討した。

### 【方法】

2010年5月～2022年12月に当科で OMG の治療を行った患者を対象とし、IVMP の施行の有無で IVMP 群と non-IVMP 群に振り分けた。各群間の治療効果は、治療前および治療1か月後の  $\Delta$ ocular quantitative MG (QMG) スコアと  $\Delta$ ocular MG activities of daily living profile (MG-ADL) スケールによって評価した。それに加えて、治療後1,3,6,12か月後の MG Foundation of America (MGFA) postintervention status を評価した。

### 【結果】

対象症例は OMG 26人で男性が19人 (73%)、平均年齢が  $67.2 \pm 13.1$  歳、抗アセチルコリン受容体抗体陽性は24人 (92%) でした。26人中13人が IVMP を受け、IVMP 投与量の中央値 (四分位範囲) は 6000 (3000, 9000) mg で12人 (92%) が IVMP 後 PSL や CNIs にて治療された。一方、non-IVMP 群は AChE-I で治療開始後、12か月時点までに4人 (31%) が免疫療法を開始された。

治療開始1か月後の評価では、 $\Delta$ ocular QMG スコアおよび  $\Delta$ ocular MG-ADL スケールの中央値 (四分位範囲) は、それぞれ IVMP 群が 3 (1.5, 4) および 3 (2, 4.5) であり、non-IVMP 群の 1.5 (0, 3) および 1 (0, 2) に比較し有意に改善した ( $p = 0.038$  および  $p = 0.0027$ )。治療開始1か月後および12か月後の時点での MGFA postintervention status が軽微症状以上の割合 (MM 達成率) は、non-IVMP 群の 0 および 23% と比較して、IVMP 群の 77% および 92% と有意に症状改善効果を呈した ( $p = 0.0001$  および  $0.001$ )。重大な副作用はみられなかった。

### 【考察】

IVMP 後少量免疫療法は早期に OMG の症状を改善し、12か月に渡って症状緩和を維持した。12か月後の MM 達成率は IVMP 群 92% であり non-IVMP 群 23% や過去の MG の registry study (2012 年 62%、2021 年 72%) よりも高かった。さらに PSL を含めた従来治療では OMG の症状改善までに

平均 3-5 か月がかかっていたが、IVMP ではより早く治療効果が表れた。

近年、PSL (10 mg/d 以下) に比較し IVMP (1000 mg/m) が 1 か月後の  $\Delta$ ocular MG-ADL スケールを有意に改善することや、治療開始 3 か月以内の early IVMP が MM 達成率を改善することが本邦より報告され、本研究の結果を裏付けるものであった。なお、本研究では 13 人中 4 人が non-early IVMP であったものの、いずれも治療反応性は良好であった。

GMG では高用量 PSL の長期使用によって引き起こされる副作用を回避するため、非経口速効性治療 (FT) を早期より導入する早期速効性治療戦略 (EFT) が推奨されている。GMG における EFT と同様に、OMG に対し IVMP は治療開始早期に導入を検討してもよいのではないかと考えられた。

## 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和6年9月24日、論文審査担当者は学位申請者の出席を求め、上記論文についての審査を行った。

メチルプレドニゾロン静脈内投与 (IVMP) は全身型重症筋無力症 (GMG) において有効な治療の一つとされているが、一方で症状が眼症状のみに限局する眼筋型重症筋無力症 (OMG) ではその有効性は十分に評価されていない。本論文の目的は、OMG に対する IVMP の有効性を評価することであった。

2010年5月～2022年12月に当科でOMGの治療を行った患者を対象とし、IVMPの施行の有無でIVMP群とnon-IVMP群に振り分け、各群間の治療効果を、治療前および治療1か月後の  $\Delta$ ocular quantitative MG (QMG) スコアと  $\Delta$ ocular MG activities of daily living profile (MG-ADL) スケールによって評価した。それに加えて、治療後1, 3, 6, 12か月後のMG Foundation of America (MGFA) postintervention statusを評価した。

OMG患者26人のうちIVMP群は13人で、治療開始1か月後の評価では、 $\Delta$ ocular QMGスコアおよび  $\Delta$ ocular MG-ADLスケールの中央値 (四分位範囲) は、それぞれIVMP群が3 (1.5, 4) および3 (2, 4.5) であり、non-IVMP群の1.5 (0, 3) および1 (0, 2) に比較し有意に改善した ( $p=0.038$  および  $p=0.0027$ )。治療開始1か月後および12か月後の時点でのMGFA postintervention statusが軽微症状以上の割合 (MM達成率) は、non-IVMP群の0および23%と比較して、IVMP群の77および92%と有意に症状改善効果を呈した ( $p=0.0001$  および  $0.001$ )。重大な副作用はみられなかった。

本論文は、従来治療に比べて IVMP ではより早期に治療効果が現れること、IVMP 後少量免疫療法が 12 か月に渡って症状緩和を維持することを示した。GMG のみならず OMG に対しても IVMP が有効な治療方法であることを示し、今後の OMG の治療選択に影響を与えるものであることから、学位論文として価値あるものと認めた。

学 位 記 番 号	博(医薬)乙第5号		
学 位 授 与 の 日	令和7年1月8日		
氏 名	垣本 信幸		
学位論文の題目	Vasa vasorum enhancement on optical coherence tomography in Kawasaki disease (川崎病における光干渉断層法を用いた Vasa vasorum の増生の検討)		
論 文 審 査 委 員	主 査	教授 井上 徳光	
	副 査	教授 田中 篤	教授 徳原 大介

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [緒言]

川崎病は、全身の中小動脈の炎症を主病変とする原因不明の血管炎症候群で、乳児期に好発する疾患で、本邦では年間約1万人が罹患する。約2-3%の症例で冠動脈病変(CAA)を合併し、冠動脈瘤の破裂や、心筋梗塞をきたすこともある。冠動脈瘤が形成されたのちは、経時的に退縮し、冠動脈造影(CAG)上は正常血管径にまで戻る病変が存在する一方で、冠動脈瘤が長期に残存する症例も存在し、罹患児の将来にまで大きな影響を及ぼしてしまう。今回、OCTで得られる冠動脈血管壁の所見の一つとして、血管栄養血管であるVasa vasorum(VV)に注目した。成人の循環器領域では、アテローム性動脈硬化の進行、不安定化に冠動脈外膜に存在する血管栄養血管であるVVの増生や、VVからの新生血管が重要な役割を担っていると報告されており、川崎病遠隔期のCAAにおいてVVの増生と血管壁の治癒過程である内膜肥厚とに関連があるのではないかと考えた。

[方法] 当院で経過観察を行っている遠隔期の川崎病患者21名のフォローアップのCAG施行時に同時にOCTを施行し冠動脈の評価を行った。冠動脈枝を、遠隔期までCAAが残存しているCAA群、急性期にCAAを認め遠隔期に退縮したRegressed群、急性期のCAG施行時からCAAを認めなかったno CAA群の3群に分類し、当該病変部のOCT画像を用いて、それぞれの冠動脈枝のVVの個数と分布(外膜側か内膜側)、内膜壁厚を測定した。

### [結果]

対象症例21名に対してCAGを施行した。男:女16:5、川崎病罹患時年齢:中央値1歳1か月(0歳1か月-10歳11か月)、OCT施行時年齢:中央値17歳11か月(13歳3か月-18歳6か月)、臨床経過から、CAA群9枝、Regressed群16枝、no CAA群18枝に分類した。冠動脈径のZ scoreは、川崎病急性期のCAGでは、CAA群6.2(5.7-8.1) vs. Regressed群6.2(4.8-7.8)で有意差なく( $p=0.979$ )、遠隔期のCAGでは、Regressed群0.7(-0.1-1.4) vs. no CAA群0.3(-0.3-0.6)で有意差を認めなかった。

( $p=0.244$ ) 内膜壁厚はCAA群およびRegressed群でno CAA群より有意に高度であった(中央値:  $481\mu\text{m}$ 、 $474\mu\text{m}$ 、 $218\mu\text{m}$ 、 $p=0.001$ 、 $p<0.001$ )。Regressed群のVVの個数は、CAA群およびno CAA群に比べ有意に多かった(Table 3)。外膜側VVおよび内膜側VVの個数は、内膜の厚さとそれぞれ正の相関を認めた(それぞれ  $R=0.64$ 、 $p<0.001$ ;  $R=0.62$ 、 $p<0.001$ )。

### [考察]

今回の検討で、川崎病遠隔期病変において退縮した冠動脈血管壁の内膜肥厚と、VVの個数には正の相関を認めた。このことは、VVの増生がCAAの退縮や内膜肥厚などの治癒過程と関係があることを示唆している。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和6年11月25日、同12月2日に論文審査担当者は学位申請者の出席を求め、上記論文について口頭試問で審査を行った。

光干渉断層法（OCT）で得られる冠動脈血管壁の所見の一つとして、血管栄養血管である Vasa vasorum（VV）に注目し、川崎病遠隔期の CAA において VV の増生と血管壁の治癒過程である内膜肥厚とに関連があるのではないかと考えて検討を行った。

方法: 当院で経過観察を行っている遠隔期の川崎病患者 21 名のフォローアップの冠動脈造影(CAG)施行時に同時に OCT を施行し冠動脈の評価を行った。冠動脈枝を、遠隔期まで CAA が残存している CAA 群、急性期に CAA を認め遠隔期に退縮した Regressed 群、急性期の CAG 施行時から CAA を認めなかった no CAA 群の 3 群に分類し、当該病変部の OCT 画像を用いて、それぞれの冠動脈枝の VV の個数と分布（外膜側か内膜側）、内膜壁厚を測定した。

結果: 対象症例 21 名に対して CAG を施行した。男: 女 16: 5、川崎病罹患時年齢: 中央値 1 歳 1 か月 (0 歳 1 か月-10 歳 11 か月)、OCT 施行時年齢: 中央値 17 歳 11 か月 (13 歳 3 か月-18 歳 6 か月)、冠動脈病変数: 0 枝 2、1 枝 7、2 枝 7、3 枝 5 (Table 1)。画像的評価が十分に可能であった枝は 43 枝であった。臨床経過から、CAA 群 9 枝、Regressed 群 16 枝、no CAA 群 18 枝に分類した。冠動脈径の Z score は、川崎病急性期の CAG では、CAA 群 6.2(5.7-8.1) vs. Regressed 群 6.2(4.8-7.8)で有意差なく ( $p=0.979$ )、遠隔期の CAG では、Regressed 群 0.7(-0.1-1.4) vs. no CAA 群 0.3(-0.3-0.6)で有意差を認めなかった。( $p=0.244$ ) 内膜肥厚は CAA 群および Regressed 群で no CAA 群より有意に高度であった (中央値: 481  $\mu$ m、474  $\mu$ m、218  $\mu$ m、 $p=0.001$ 、 $p<0.001$ )。Regressed 群の VV の個数は、CAA 群および no CAA 群に比べ有意に多かった (Table 3)。外膜側 VV および内膜側 VV の個数は、内膜の厚さとそれぞれ正の相関を認めた (それぞれ  $R=0.64$ 、 $p<0.001$ ;  $R=0.62$ 、 $p<0.001$ )。

今回の検討で、川崎病遠隔期病変において退縮した冠動脈血管壁の内膜肥厚と、VV の個数には正の相関を認めた。このことは、VV の増生が CAA の退縮や内膜肥厚などの治癒過程と関係があることを示唆した。今回の研究から前述の結果が得られたことは、学位論文として価値あるものと認めた。



学 位 記 番 号	博(医薬)乙第6号		
学 位 授 与 の 日	令和7年1月8日		
氏 名	山本 寛記		
学位論文の題目	Protective roles of thrombomodulin in cisplatin-induced nephrotoxicity through the inhibition of oxidative and endoplasmic reticulum stress. (シスプラチン誘発性腎毒性におけるトロンボモジュリンの酸化ストレスと小胞体ストレスの阻害による保護的役割)		
論 文 審 査 委 員	主 査	教授 荒木 信一	
	副 査	教授 井原 義人	教授 近藤 稔和

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【研究目的】

シスプラチン（CIS）は、様々な固形腫瘍の治療に汎用されている化学療法剤であるが、しばしば急性腎機能障害（AKI）を引き起こすことが知られており、現在、CIS誘発性AKIを改善する有効な方法は報告されていない。トロンボモジュリン（TM）はトロンビンの単一膜貫通マルチドメイン糖タンパク質受容体であり、臨床的に重要な自然の抗凝固経路における補因子としての役割だけでなく、抗炎症作用を持つこともよく知られている。しかしながら、CIS誘発性AKIにおけるTMの機能は解明されていない。今回は、CIS誘発性AKIにおけるTMの病態生理学的役割を解析した。

### 【方法】

8～10週齢・雄・BALB/cマウスにCIS（15 mg/kg）を腹腔内投与し、24時間後にTM（10 mg/kg）またはPBSを静脈内に投与した。経時的に血液を採取し尿素窒素（BUN）、クレアチニン（CRE）を測定、腎臓の病理組織学・免疫組織学的解析及びRT-PCRによる遺伝子発現の解析を行った。また、腎近位尿管上皮細胞（RPTEC）を用いてin vitroで活性酸素種（ROS）産生、小胞体（ER）ストレス及びアポトーシスについて検討した。

### 【結果と考察】

CIS誘発腎障害に対するTMの効果について、対照群ではCIS投与3及び4日目にBUNとCREが上昇したのに対し、TM投与群では、それらの上昇は有意に抑制された。病理組織学的にも、対照群で出血、尿管壊死、円柱形成が観察されたが、TM投与群ではアポトーシスを含めた尿管傷害も軽減していたことから、TMがCIS誘発腎毒性を減弱させることを示した。炎症性サイトカインの腎内発現は、TM投与群で発現上昇が抑えられ、また腎臓に対して保護作用を示すIFN- $\gamma$ およびHO-1の腎内発現については、TM投与群で有意に高かった。したがって、TM投与はCIS誘発腎毒性に対して抗炎症作用並びに腎保護因子の発現を上方制御することが明らかとなった。CIS誘発腎毒性には尿管細胞でROSの過剰産生が関与していることが知られている。ROS阻害剤であるN-アセチルシステインの投与は、CIS投与後の血清BUN及びCREの上昇を抑制した。そこで、RPTECを用いて細胞内ROSレベルに対するTMの影響を検索したところ、TMにより細胞内ROS産生は抑制された。さらに、CISはERストレスを誘発し、最終的にはアポトーシスを引き起こすと考えられている。そこでERストレス阻害剤であるタウロウルソデオキシコール酸（TUDCA）がマウスのCIS誘発性AKIに及ぼす影響を検索したところ、TUDCA処理マウスでは、CIS投与後のBUNおよびCREの上昇が抑えられた。ERストレスは、カスパーゼファミリーを活性化し、細胞をアポトーシスへと導くことが知られている。特にER膜に関連するカスパーゼ12は、ERストレス誘発カスパーゼ活性化とそれに続くアポトーシスの制御因子であるが、TMの投与はCIS投与後の腎臓におけるカスパーゼ12や小胞体ストレス関連因子CHOP、eIF2 $\alpha$ の発現レベルを有意に減少させた。さらに切断型カスパーゼ3についても、TMの投与はその発現量を減少させた。実際、CIS投与の4日後、対照群では多数のアポトーシス細胞が観察されたのに対し、TM投与群ではアポトーシス細胞は大幅に減少した。こ

これらのことから、TM が CIS に応答した ROS 生成と ER ストレスを抑制することにより、CIS 誘発腎毒性に対する潜在的な保護物質として働くことが示唆された。

#### 【まとめ】

TM 投与は、尿細管細胞での細胞内 ROS 産生を抑制し、さらに CIS 投与後の腎臓におけるカスパーゼ 12、小胞体ストレス関連因子および切断型カスパーゼ 3 の発現レベルを有意に減少させ、アポトーシス細胞を大幅に減少させた。TM は CIS に応答した ROS 生成と ER ストレスを抑制することにより、CIS 誘発腎毒性に対する潜在的な保護物質として働くことが示唆された。

### 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和 6 年 11 月 25 日、29 日、および 12 月 2 日に論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文の審査を行った。

様々な固形腫瘍の治療に汎用されている化学療法剤シスプラチンは、しばしば AKI を引き起こすことが知られているが、現在 CIS 誘発性 AKI を改善する有効な方法は報告されていない。播種性血管内凝固症候群（DIC）の治療薬として使用されている TM は、臨床的に重要な自然の抗凝固経路における補因子としての役割だけでなく、抗炎症作用を持つこともよく知られており、動物実験では腸炎、膵炎、薬剤性肝障害への効果が報告されているが、CIS 誘発性 AKI における TM の機能については報告がない。本研究の目的は、CIS 誘発性 AKI における TM の機能を解明することである。

マウス（8～10 週齢・雄・BALB/c）腹腔内に CIS（15 mg/kg）を投与し、24 時間後に TM（10 mg/kg）または PBS を静脈内に投与し、両グループの比較を行った結果、対照群では CIS 投与後の、BUN、CRE の上昇は有意に抑制された。病理組織学的にも、対照群で出血、尿細管壊死、円柱形成が観察されたが、TM 投与群ではアポトーシスを含めた尿細管傷害も軽減していたことから、TM が CIS 誘発腎毒性を減弱させることを示した。炎症性サイトカインの腎内発現は、TM 投与群で発現上昇が抑えられ、また腎臓に対して保護作用を示す IFN- $\gamma$  及び HO-1 の腎内発現については、TM 投与群で有意に高かった。したがって、TM 投与は CIS 誘発腎毒性に対して抗炎症作用並びに腎保護因子の発現を上方制御することが明らかとなった。CIS 誘発腎毒性には尿細管細胞で、ROS の過剰産生が関与していることが知られている。そこで、RPTEC を用いて細胞内 ROS レベルに対する TM の影響を検索したところ、TM により細胞内 ROS 産生は抑制された。CIS は ER ストレスを誘発し、最終的にはアポトーシスを引き起こすと考えられている。ER ストレスはカスパーゼファミリーを活性化し、細胞をアポトーシスへと導くことが知られている。特に ER 膜に関連するカスパーゼ 12 は、ER ストレス誘発カスパーゼ活性化とそれに続くアポトーシスの制御因子であるが、TM の投与は CIS 投与後の腎臓におけるカスパーゼ 12 や小胞体ストレス関連因子の発現レベルを有意に減少させた。さらに TM 投与群ではアポトーシス細胞は大幅に減少した。これらのことから、TM が CIS に応答した ROS 生成と ER ストレスを抑制することにより、CIS 誘発腎毒性に対する潜在的な保護物質として働くことが示唆された。

以上、本結果は副作用を抑えた安全な化学療法への発展に寄与するものであり、学位論文としてして価値のあるものと認めた。

学位記番号	博(医薬)乙第7号		
学位授与の日	令和7年2月5日		
氏名	国立 晃成		
学位論文の題目	Novel Peritoneal Sclerosis Rat Model Developed by Administration of Bleomycin and Lansoprazole (ブレオマイシンとランソプラゾールを用いた新たな腹膜硬化症モデル)		
論文審査委員	主査	教授 北野 雅之	
	副査	教授 山本 信之	教授 井上 茂亮

## 論文内容の要旨

### 【諸言】

ランソプラゾール (LAP) は、活性酸素に応答して、NF-E2-related factor 2 (Nrf2) 経路を介して抗酸化ストレスタンパク質の発現が増加し、活性酸素によって誘導される細胞損傷を改善する。LAP は、活性酸素に応答して Nrf2 経路を介して抗酸化ストレスタンパク質の発現をすることで腸、肝臓および腎臓における炎症を改善することが報告されている。ブレオマイシン (BLM) は扁平上皮癌の抗癌剤である一方で、実験動物においては肺線維症モデルの作製に用いられている。我々は、LAP と BLM を投与した肺線維症マウスモデルにて偶発的に肝臓周囲で腹膜の肥厚が認められたことを見出したものの、その機序解明には至っていない。本研究では、BLM+LAP の投与によって起こる、ラット肝臓周囲の腹膜肥厚について経時的な検討を、ラット肝臓周囲の腹膜組織を組織学的に解析した。またこれらの組織学的変化に関連する遺伝子を探索するために、ラットの肝臓およびラット線維芽細胞由来の 3Y1-B 細胞において BLM+LAP 投与により誘導される遺伝子発現の変化を解析した。

### 【方法】

LAP または BLM 単独の皮下投与の影響と BLM+LAP 両投与の影響について評価するために6週齢の Wister 系雄ラットを 21 匹用意した。21 匹を 4 群 (コントロール群 (n=5)、LAP 群 (n=5)、BLM 群 (n=5)、BLM+LAP 群 (n=6)) に分け、毎回コース (2 週間または 4 週間の実験) を設定した。コントロールおよび LAP 群では生理食塩水を、BLM および BLM + LAP 群では BLM を、背中右側に皮下投与した。コントロールおよび BLM 群には背中左側に 0.5% の CMC 溶液を、ランソプラゾールおよび BLM+LAP グループには背中右側に 0.5% CMC を含むランソプラゾール懸濁液 (30 mg/mL) を皮下投与した。最後の薬物投与から翌日に、イソフルラン麻酔下で血液サンプルを採取し、生体組織サンプルを得た。細胞はラットの線維芽細胞由来株化細胞の 3Y1-B 細胞を用意し、異なる処理条件で 24 時間培地内で薬物処理を行った。(コントロール培地: 0.5% DMSO、培地: 0.5% DMSO および 50  $\mu$  M ランソプラゾール、培地: 0.5% DMSO および 10  $\mu$  g/mL ブレオマイシン、および BLM + LAP 培地: 0.5% DMSO、50  $\mu$  M LAP、および 10  $\mu$  g/mL BLM)。組織解析は、4%ホルマリン固定後にパラフィン包埋した薄切標本を用いて組織化学及び免疫組織科学を行った。遺伝子発現解析は、採取した組織より RNA 抽出を行い、逆転写反応後にリアルタイム PCR を行い動物組織標本は Actb 遺伝子、細胞標本は Gapdh 遺伝子との比から遺伝子の発現を定量した。

### 【結果】

4 週間の BLM+LAP の両薬剤投与で肝臓の腹膜が肉眼で視認できるほど肥厚することを確認した。この変化について組織学的に解析を行ったところ薬剤投与 2 週間でもこの肥厚を認めており、いずれか一方の薬剤投与ではこの肥厚はほとんど認められなかった。またこの肥厚部位にはコラーゲン繊維の蓄積やマクロファージおよび好酸球の浸潤を認めた。この原因を探索したところ、肝臓の特に腹膜周囲において Colla1 遺伝子の発現上昇を認め、さらにマクロファージを遊走させるケモカインの Mcp1 遺伝子やマクロファージおよび好酸球の遊走させるケモカインの Mcp3 遺伝子の発現上昇も腹膜周囲の肝組織で認めた。また、線維芽細胞を遊走させるオステオポンチン (Opn) 遺伝子の発現も両薬剤投与したラットの腹膜周囲の肝組織で認めており、ブレオマイシン・ランソプラゾールの両薬

剤処理による Mcp1, Mcp3 および Opn 遺伝子の発現上昇はラット線維芽細胞由来株化細胞の 3Y1-B でも認めた。また、4 週間の BLM+LAP の両薬剤投与で中皮細胞の一部が中皮細胞マーカーのサイトケラチンと線維芽細胞マーカーの  $\alpha$  SMA の両方が発現していることを認めた。

### 【考察】

この研究により、ラットにおいて BLM+LAP の投与により経時的に腹膜組織の肥厚が引き起こされ、肥厚した腹膜にはマクロファージと好酸球の浸潤、コラーゲン線維の蓄積が認められた。このメカニズムを明らかにするため、コラーゲンの蓄積に関わる遺伝子の好酸球およびマクロファージを遊走させるケモカインの遺伝子発現を解析したところ、特に腹膜周囲での肝組織において Col1a1、Mcp1 および Mcp3 遺伝子が上昇していたため、コラーゲンの蓄積には Col1a1 が、マクロファージの遊走には Mcp1 および Mcp3 遺伝子が、好酸球の遊走には Mcp3 遺伝子が関与していると考えられる。これらの遺伝子は線維芽細胞で発現しているため、ラット線維芽細胞由来株化細胞の 3Y1-B 細胞を用いて、BLM+LAP 処理でこれらの遺伝子発現が増加するかを確認したところ、腹膜周囲の肝組織と同様な発現上昇を確認した。このため、漿膜下に存在する線維芽細胞が BLM+LAP により Col1a1、Mcp1 および Mcp3 遺伝子の発現を増加させ、マクロファージと好酸球の浸潤、およびコラーゲン線維の蓄積により腹膜が肥厚するものと考えられる。また、線維芽細胞を活性化する Opn 遺伝子も BLM+LAP により腹膜周囲の肝組織と 3Y1-B 細胞で発現上昇を認めており、線維芽細胞は BLM+LAP により活性化され、腹膜肥厚に寄与している可能性も考えられる。

肥厚した腹膜について、中皮細胞マーカーのサイトケラチンと線維芽細胞マーカーの  $\alpha$  SMA タンパク質の発現を免疫組織化学的に解析したところ、BLM+LAP 投与したラットの腹膜に存在する中皮細胞ではサイトケラチンと  $\alpha$  SMA の両方の発現が認められたため、中皮細胞の一部が線維芽細胞に転換する中皮間葉転換が起こっている可能性が示唆された。

長期間にわたり腹膜透析を行った患者では腹膜が肥厚し Col1a1 の発現が増加することが知られている。この病態モデル動物は、アルコールや高濃度のグルコース液を腹膜に投与することで作製することが一般的であるが、本研究では腹膜を一切触らずに腹膜を肥厚させており、物理的な刺激なしで腹膜を肥厚させる新たなモデル動物となり、腹膜肥厚を予防する薬の開発で利用されることが期待される。

### 【結論】

BLM+LAP の投与は、漿膜下の線維芽細胞の Mcp1 および Mcp3 分泌を促しマクロファージおよび好酸球の遊走させる可能性を見出した。また、この両薬剤は線維芽細胞を活性化しコラーゲンの蓄積させた可能性も見出した。肝臓の臓側腹膜にある中皮細胞の一部が、BLM+LAP の投与より線維芽細胞に転換されている可能性を示唆した。ここで見られた腹膜肥厚は、腹膜透析に起因する既存の腹膜硬化モデル動物とは異なっており、新しい腹膜硬化モデルとなりうることを示唆された。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和7年1月10日に論文審査担当者は学位申請者に出席を求め、学位論文について審査を行った。腹膜硬化症（Peritoneal Sclerosis, PS）は、腹膜透析の長期使用によって発生する可能性があり、コラーゲンの蓄積や炎症細胞の移動を伴う。この研究では、扁平上皮癌の抗癌剤であるブレオマイシン（Bleomycin, BLM）とプロトンポンプ阻害薬ランソプラゾール（Lansoprazole, LAP）を用いて、新しい腹膜硬化症モデルをラットで開発した。

5週齢のWistar系雄ラットを使用し、4つの群に分けた：対照群、LAP投与群、BLM投与群、BLM+LAP併用群。それぞれ14日間または28日間の投与を行い、腹膜組織の厚み、遺伝子発現、コラーゲン沈着、および炎症細胞の浸潤を解析した。また、ラット由来線維芽細胞株（3Y1-B細胞）を使って遺伝子発現を評価した。

4 週間の BLM+LAP の両薬剤投与で肝臓の腹膜が肉眼で視認できるほど肥厚することを確認した。この変化について組織学的に解析を行ったところ薬剤投与 2 週間でもこの肥厚を認めており、いずれか一方の薬剤投与ではこの肥厚はほとんど認められなかった。またこの肥厚部位にはコラーゲン繊維の蓄

積やマクロファージおよび好酸球の浸潤を認めた。この原因を探索したところ、肝臓の特に腹膜周囲において Col1a1 遺伝子の発現上昇を認め、さらにマクロファージを遊走させるケモカインの Mcp1 遺伝子やマクロファージおよび好酸球の遊走させるケモカインの Mcp3 遺伝子の発現上昇も腹膜周囲の肝組織で認めた。また、線維芽細胞を遊走させるオステオポンチン (Opn) 遺伝子の発現も両薬剤投与したラットの腹膜周囲の肝組織で認めており、ブレオマイシン・ランソプラゾールの両薬剤処理による Mcp1, Mcp3 および Opn 遺伝子の発現上昇はラット線維芽細胞由来株化細胞の 3Y1-B 細胞でも認めた。また、4 週間の BLM+LAP の両薬剤投与で中皮細胞の一部が中皮細胞マーカーのサイトケラチンと線維芽細胞マーカーの  $\alpha$  SMA の両方が発現していることを認めた。

BLM+LAP の投与は、漿膜下の線維芽細胞の Mcp1 および Mcp3 分泌を促しマクロファージおよび好酸球の遊走させる可能性を見出した。また、この両薬剤は線維芽細胞を活性化しコラーゲンの蓄積させた可能性も見出した。肝臓の臓側腹膜にある中皮細胞の一部が、BLM+LAP の投与より線維芽細胞に転換されている可能性を示唆した。

本論文は、BLM+LAP の投与で腹膜肥厚が起きることを見出し、腹膜透析に起因する既存の腹膜硬化モデル動物とは異なり、新しい腹膜硬化モデルとなりうるということが示唆されたという点で学位論文として価値があると認めた。

学 位 記 番 号	博(医薬)乙第8号
学 位 授 与 の 日	令和7年2月5日
氏 名	岩元 竜太
学位論文の題目	Small sized centroblasts as poor prognostic factor in follicular lymphoma - Based on artificial intelligence analysis. (小型中心芽細胞は濾胞性リンパ腫の予後不良因子である ~人工知能の手 法を用いた解析~)
論 文 審 査 委 員	主 査 教授 江幡 正悟 副 査 教授 藤井 隆夫 教授 村田 晋一

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【緒言】

濾胞性リンパ腫は、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) に次いで一般的な B 細胞リンパ腫である。原則的には、胚中心細胞 (centrocyte) と中心芽細胞 (centroblast) がさまざまな割合で濾胞状構造を形成して増殖する B 細胞腫瘍として定義されている。胚中心細胞とは小型から中型でくびれた核を有する細胞で、中心芽細胞とは大型で類円形核、水疱状クロマチン、核膜に近接する 1-3 個の核小体を持つ、核胞体比の高い細胞である。1983 年に Mann と Berard により、中心芽細胞の密度を以て組織学的グレードを決定する方法が提唱され、現在に至るまで予後や一部の治療に影響を与える因子となっている (R.B. Mann, C.W. Berard, 1983)。中心芽細胞が 1 強拡大視野に含まれる個数が 5 個未満の場合 Grade 1、5 個以上 15 個未満の場合 Grade 2、15 個以上の場合 Grade 3a、更に 15 個以上で他細胞成分が介在しない高密度の腫瘍は Grade 3b と分類される。即ち現行の組織学的 grading は中心芽細胞のあくまで個数、密度に拠るのみであり、形態学的特徴の差異は必要とされていない。また中心芽細胞は、正書では周囲の細胞の 3 倍程度の大きさを有すると定義されているが (Histopathology, 2<sup>nd</sup> edition, 2017)、病理専門医間では厳密な形態学的基準が定まっておらず、observer's variation の大きい概念である。今回我々は中心芽細胞の形態学的パラメータを deep learning の手法を用いて客観的に評価し、予後と関連づける研究を行った。

### 【方法】

本大学附属病院における病理ファイルより、2015 年～2021 年の過去 6 年間の濾胞性リンパ腫の症例を収集した。リンパ節あるいは骨軟部組織に由来し、病理組織学的評価に十分な組織量が採取され、初発症例で診断後に化学療法が施行されており、患者の同意を得た 36 症例を研究対象とした。臨床経過において、初回治療から 60 ヶ月以内に無再発無増悪で経過が確認された症例を予後良好 (Excellent prognosis) 群、60 ヶ月以内に再発ないし形質転換した症例を予後不良 (Poor prognosis) 群、現時点まで再発や増悪を認めていないが、60 ヶ月の経過が得られていない症例を予後不明 (Indeterminate) 群とした。

各症例の HE 標本を virtual slide scanner (NanoZoomer 2.0-HT, Hamamatsu Photonics, Japan) でスキャンし、バーチャルスライドデータ (Whole slide image: 以下 WSI) を作成した。次に各症例の WSI より、背景画像を含まない 512×512 pixel のパッチ画像を 15 枚ずつ切り出し、病理医により中心芽細胞のアノテーションを付与して教師データとした。教師データはそれぞれ、training データ (Excellent 90 枚、Poor 60 枚)、validation データ (Excellent、Poor 各 30 枚) 及び test データ (Excellent、Poor 各 30 枚) に割り当てられた。物体検出アルゴリズム YOLOv5 のファインチューニングを行い、中心芽細胞の検出に特化した物体検出モデルを作成した。

作成した物体検出モデルを用いて、各症例の WSI に含まれる全ての中心芽細胞を検出した。更に、検出した中心芽細胞に対してセマンティックセグメンテーションを行い、個々の中心芽細胞の核のみを抽出し、核の形態学的パラメータを取得した。形態学的パラメータには、核の長径、短径、面積、核縁不整、クロマチン濃度が含まれた。セグメンテーションに際しては 2018 Data Science Bowl の最優秀アルゴリズムである [ODS.ai] topcoders を用いた。

まず予後良好群、予後不良群の代表例よりヒートマップを作成した。平均面積が  $55\mu\text{m}^2$  より大きな中心芽細胞を黄色で点描し、 $55\mu\text{m}^2$  より小さな中心芽細胞を赤色で点描した。

次いで、おのおの中心芽細胞の形態学的パラメータの平均値、標準偏差、上位 10% 群のみの平均値を症例毎に計測し、予後良好群と予後不良群の二項について Student t 検定により解析した。結果は箱ひげ図により視覚化した。

全 36 症例に対して、含まれる中心芽細胞の平均面積を算出し、平均面積  $55\mu\text{m}^2$  未満の Small 群と  $55\mu\text{m}^2$  以上の Large 群に二別し、Kaplan-Meier 法により event-free survival (EFS) の plot を行った。

得られたデータの統計解析には R を用いた。有意水準は  $p$  値  $<0.05$  とした。

### 【結果】

YOLOv5 の試行の結果、物体検出モデルの検証精度は 40-50 epochs でプラトーに達し、40 epochs 学習後のモデルを過学習に陥らない最良モデルとして採用した。平均適合率 (AP 値) は validation データで 0.724 の値を取った。各症例平均して 5659 個の中心芽細胞を検出した。組織学的 Grade 3a-3b の症例では最大 31363 個の中心芽細胞が検出された一方、組織学的 Grade 1 の症例では 69 個しか中心芽細胞が検出されなかった。予後良好群、予後不良群の代表例より作成されたヒートマップでは、いずれの群でも中心芽細胞は腫瘍性濾胞を主体に分布する一方で、濾胞外にも疎に分布していた。予後良好症例のヒートマップでは小型の中心芽細胞と大型の中心芽細胞が入り混じるのに対し、予後不良症例のヒートマップは小型の中心芽細胞が優勢となった。

核の面積は予後良好群で  $47.5 - 65.2\mu\text{m}^2$  (中央値  $59.1$ )、予後不良群で  $41.0 - 58.9\mu\text{m}^2$  (中央値  $51.1$ ) であった。予後良好群に比べ予後不良群では中心芽細胞の核の面積が有意に小さいことが示された ( $p = 0.013$ )。上位 10% 群平均も  $p = 0.024$  で有意差を認めた。核の長径は 予後良好群で  $8.73 - 10.27\mu\text{m}$  (中央値  $9.81$ )、予後不良群で  $8.33 - 10.13\mu\text{m}$  (中央値  $9.26$ ) であり、核の長径も有意に小さいことが示された ( $p = 0.042$ )。核の短径は予後良好群で  $6.97 - 8.14\mu\text{m}$  (中央値  $7.67$ )、予後不良群で  $6.37 - 7.51\mu\text{m}$  (中央値  $7.16$ ) であり、核の短径も有意に小さいことが示された ( $p = 0.007$ )。上位 10% 群平均もそれぞれ  $p = 0.020$  で有意差を認めた。長径/短径比、核縁不整、クロマチン濃度については、有意差を認めなかった。

Kaplan-Meier 法では、平均面積  $55\mu\text{m}^2$  未満の Small 群が Large 群に対して有意に EFS が低かった ( $p < 0.0123$ )。

### 【考察】

濾胞性リンパ腫については、Deep learning 誕生以前より機械学習による画像認識の試みが試みられてきたが、その数は少ない。また発表論文の多くは従来の組織学的グレードに基づくもので、今回のような個々の中心芽細胞の自体への病理形態学的アプローチは例がない研究である。

本研究では deep learning による中心芽細胞検出モデル作成、核パラメータ抽出に成功し、予後良好群に比べ予後不良群の中心芽細胞は核が有意に小型であるという、逆説的な結論を得た。病理医が HE 標本を観察するのみでは気付くことが困難な微かな大小の差異が、人工知能の物体検出およびセグメンテーションモデルにより明らかとなった。

小型中心芽細胞が予後不良因子たる理由については、免疫染色やシングルセル解析などの手法を用いた中心芽細胞の遺伝子学的な検討や、形態像との比較検討が今後の課題になると考える。

## 審査の要旨（審査の日、方法、結果）

令和 6 年 12 月 23 日および令和 7 年 1 月 7 日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、口頭試問により論文審査を行った。

濾胞性リンパ腫は B 細胞性リンパ腫の 20% 程度を占める一般的な腫瘍で、病勢は緩徐ながら再発や形質転換が問題となる。病理組織学的には、一強拡大視野内の中心芽細胞の数に基づく予後予測がこの数十年 **golden standard** として存在していたが、病理医間の評価には個人差があり、厳密な客観性を欠いていた。また、中心芽細胞の形態学的パラメータそのものについての詳細な検討はこれまでなされて来なかった。本論文ではこのような知見に基づき、客観性を有する新たな基準の確立を目的として、**deep learning** を用いて中心芽細胞の形態学的パラメータを客観的に評価し、濾胞性リンパ腫の予後との関連につき解析した。

本論文では 36 の濾胞性リンパ腫症例を対象とした。病理標本の HE 染色スライドをバーチャルスライド化し、YOLOv5 を用いた物体検出アルゴリズムで中心芽細胞を自動識別した。さらにセマンティックセグメンテーションを適用し、核の形態学的パラメータを抽出し、予後との相関を検討した。結果に関しては、中心芽細胞の面積は予後不良群で有意に小さく ( $p = 0.013$ )、核の長径 ( $p = 0.042$ )、短径 ( $p = 0.007$ ) も同様の傾向を示した。一方、長径/短径比、核縁不整、クロマチン濃度に有意差は認められなかった。Kaplan-Meier 解析では、中心芽細胞の平均面積  $55 \mu m^2$  未満の群が  $55 \mu m^2$  以上の群より有意に **event-free survival** が短かった ( $p < 0.0123$ )。以上より、小型中心芽細胞が予後不良因子として寄与する可能性が示された。これら小型中心芽細胞は腫瘍性濾胞内だけでなく、濾胞外にも疎密を伴い分布していた。

本研究では中心芽細胞の形態学的パラメータについて新基準を示すに至ったが、小型中心芽細胞の有する細胞形質や意義については解明されていない点も多く、免疫染色や遺伝子解析を組み合わせた発展的な研究が展望される。また一方で、今回提唱した新基準は病理医の視覚的評価では捉えにくい微細な形態学的差異であるが、病理画像のデジタル化が普及しつつある現在では、実地臨床の病理診断へフィードバック可能なモデルでもある。

本論文は、濾胞性リンパ腫に対して全く新たな組織学的基準を人工知能の手法により検出し、実用的な病理診断の予後予測に活用できる可能性を示したものであり、学位論文として価値あるものと認めた。



学 位 記 番 号	博(医薬)乙第9号		
学 位 授 与 の 日	令和7年2月5日		
氏 名	堀 善和		
学位論文の題目	Utilizing Clinical Transformation Criteria for Prognostic Stratification in Follicular Lymphoma Prior to Initial Immunochemotherapy (濾胞性リンパ腫に対する初回免疫化学療法前の臨床的形質転換基準の活用)		
論 文 審 査 委 員	主 査	教授 小泉 祐介	
	副 査	教授 村田 晋一	教授 園木 孝志

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【背景】

濾胞性リンパ腫(Follicular Lymphoma: FL)は2番目に多い非ホジキンリンパ腫である。FLは低悪性度リンパ腫であり自然経過が長く予後は良好で、生存期間中央値は15年を超えて延長している。一方で、FL患者の一部には早期再発が認められ、初回治療開始後24ヶ月以内に早期再発(Progression of Disease within 24 months: POD24)したFLの予後は不良である。その他の予後予測として濾胞性リンパ腫国際予後指数(Follicular Lymphoma International Prognostic Index: FLIPI)が幅広く使用されている。予後予測は、FLにおける最適な治療計画を決定する上で重要である。

FLがびまん性大細胞型B細胞リンパ腫に組織学的に形質転換することは、FLの臨床経過における重要なイベントである。形質転換は病勢の急速な進行をもたらす、その予後は不良となる。形質転換の確定には、組織学的な生検が必要である。しかし、FLは腫瘍間に異質性を示す。そのため、単一部分の生検では潜在的な形質転換を診断できない可能性がある。また、病変の存在部位によっては生検が困難な場合がある。再発時には、このような場合に臨床的に形質転換を予測する臨床的形質転換の基準が存在する。しかしこの基準が、初回治療前のFLの予後とも関連するかは明らかでない。そこで今回我々は、初発FLにおいて、臨床的形質転換因子の有無が予後に与える影響を後方視的に検討した。

### 【対象及び方法】

2009年1月-2023年2月において、当院で初回免疫化学療法を受けた20歳以上のGrade 1-3aのFL患者を後方視的に診療録から抽出し解析した。Grade 3bのFLや他のリンパ腫(FLとびまん性大細胞型B細胞リンパ腫の複合リンパ腫など)と診断された患者は除外した。初回免疫化学療法には、CHOP(シクロホスファミド、ドキシソルビシン、ビンクリスチン、プレドニゾン)様療法またはベンダムスチン療法と抗CD20抗体(リツキシマブまたはオビヌツズマブ)の併用療法を含めた。CHOP様レジメンには、CHOPレジメンに加えTHP-COP(ピラルビシン、シクロホスファミド、ビンクリスチン、プレドニゾン)レジメンを含めた。他の化学療法レジメンを受けた患者は除外されたが、初回免疫化学療法前にリツキシマブ単剤療法や放射線療法を受けた患者は本研究に含まれた。初回免疫化学療法の開始日を観察期間の開始点と定義した。臨床的形質転換基準は再発または病勢進行時に形質転換を臨床的に予測するために開発された基準である。LDH値が正常上限の2倍を超える急上昇、リンパ節の急速な増大、異常な節外部位での新たな浸潤(肝臓、骨、筋肉、脳など)、新たな全身症状の出現、新たな高カルシウム血症の出現の何れかを満たす場合に臨床的な形質転換の存在が予測され、その予後は不良である。

初発時にこの基準を適応し、LDH値が基準値の2倍を超える増加、高カルシウム血症、リンパ節の急速な拡大、または非典型的な節外病変の出現を満たした場合を臨床的形質転換と定義した。リンパ節の急速な拡大は、免疫化学療法開始前3か月以内で、長径と垂直径の積の合計が2倍以上に増加した場合と定義し、非典型的な節外病変は、骨/骨髄、肝臓、筋肉、肺、胸膜、皮膚、脳、神経に影響を及ぼす病変と定義した。骨髄におけるFDGの著しい集積を示す症例は臨床的形質転換陽性と分類したが、骨髄生検でのみ骨髄浸潤を示した症例は臨床的形質転換陽性とは分類しなかった。PET/CTで

は骨と骨髄の FDG 集積を厳密に区別することができないため、分析においては骨または骨髄のいずれかにおける集積を同等とみなした。再発の識別は放射線科医による評価に基づき、再発を示す画像が撮影された日を再発日と定義した。

統計解析：

カテゴリ変数の比較には Fisher の正確検定を用い、連続変数の分析には Mann–WhitneyU 検定を使用した。主要評価項目は無増悪生存期間 (PFS) とし、初回免疫化学療法から病勢進行、再発、または最終追跡調査までの期間を評価した。次評価項目は全生存期間 (OS) とし、初回免疫化学療法からあらゆる原因による死亡または最終追跡調査までの期間を評価した。データは最終追跡日である 2024 年 5 月 31 日で打ち切られた。PFS および OS は Kaplan–Meier 法を用いて推定し、ログランク検定で比較した。統計解析は EZR を用いた。

## 【結果】

### 患者背景

66 人の濾胞性リンパ腫 (FL) 患者が抽出された。年齢の中央値は 65 歳 (範囲 33~86 歳) で、15 人 (23%) が FL grade1、26 人 (39%) が FL grade2、19 人 (29%) が FL grade3a であった。14 人 (21%) が FLIPI 低リスク、17 人 (25%) が FLIPI 中間リスク、35 人 (53%) は FLIPI 高リスクであった。56 人 (85%) は臨床病期のステージ III/IV、28 人 (42%) に骨髄浸潤が認められた。30 人 (45%) が CHOP 様レジメンを受けた。初発時から臨床的形質転換を満たす群 (臨床的形質転換群) と非形質転換群の比較では、臨床的形質転換群でリツキシマブが投与された患者割合が有意に高かった ( $p = 0.0631$ ) が、LDH 値や維持療法の有無を含めたその他の要素に関しては両群間で有意差を認めなかった。CHOP 様レジメンで治療された患者間で、リツキシマブが 28 人 (93%)、オビヌツズマブが 2 人 (7%) だった。一方、ベンダムスチンで治療された患者間では、リツキシマブまたはオビヌツズマブの併用がそれぞれ 11 人 (31%) および 25 人 (69%) であり、ベンダムスチンで治療された患者では、オビヌツズマブの併用が有意に多かった ( $p < 0.001$ )。

### 予後

追跡期間の中央値は 4.2 年 (範囲 : 0.17~16.8 年) であり、臨床的形質転換群と非形質転換群で追跡期間に有意差はなかった (中央値 : 4.2 年 vs 3.5 年、 $p = 0.238$ )。全患者における 3 年および 5 年の無増悪生存率 (PFS) はそれぞれ 76.9% (95%信頼区間 [CI]: 63.2~86.0) および 57.4% (95%CI: 40.1~71.4) であった。全患者における 3 年および 5 年の全生存率 (OS) はそれぞれ 90.0% (95%CI: 78.9~95.4) および 81.9% (95%CI: 67.3~90.4) であった。

FLIPI 低リスク、中間リスク、高リスク群の 3 年 PFS 率はそれぞれ 82.5% (95%CI: 45.1~95.5)、92.9% (95%CI: 59.1~99.0)、および 65.6% (95%CI: 44.7~80.2) であり、各群間の PFS には有意差は認められなかった ( $p = 0.514$ )。一方、臨床的形質転換群の PFS 率は非形質転換群よりも有意に低かった (3 年 PFS: 52.5% (95%CI: 27.4~72.6) 対 88.7% (95%CI: 72.5~95.6)、 $p < 0.001$ )。特に、LDH の急速な増加および非典型的な節外病変の出現は、それぞれ 4.88 (95%CI: 1.04~22.9、 $p = 0.044$ ) および 4.96 (95%CI: 1.04~22.9、 $p < 0.0001$ ) の Hazard Ratio (HR) で低い PFS と関連していた。

次に CHOP 様レジメンで治療された患者とベンダムスチンで治療された患者において、PFS を評価した。ベンダムスチンで治療された患者の追跡期間は、CHOP 様レジメンで治療された患者に比べて有意に短かったが ( $p < 0.001$ )、PFS ( $p = 0.141$ )、OS ( $p = 0.988$ ) に有意差を認めなかった。CHOP 様レジメンで治療された患者では、臨床的形質転換群は非形質転換群より PFS が有意に短かったが ( $p < 0.001$ )、ベンダムスチン治療群では有意差は認められなかった ( $p = 0.623$ )。

### 臨床転化が POD24 に与える影響

少なくとも 24 か月の追跡期間がある 50 人の患者で POD24 を評価した。そのうち、16 人 (32%) が臨床的形質転換基準を満たした。臨床的形質転換群の患者 5 人 (31%) と非形質転換群の患者 2 人 (6%) が POD24 を示し、臨床的形質転換群に POD24 を示す患者割合が有意に多かった ( $p = 0.0274$ )。CHOP 様レジメンで治療された患者では、臨床的形質転換群の患者 10 人中 4 人 (40%) が POD24 を示したが、

非形質転換群では POD24 は生じなかった。ベンダムスチンで治療された患者では、POD24 と形質転換の有無に関連は認められなかった。

## 【考察】

初回免疫化学療法後の FL の早期再発は患者の 10～20% で発生する。特に治療開始後 2 年以内の早期再発 (POD24) は CHOP 療法、ベンダムスチン療法のどちらの治療においても予後不良であることが報告されている。一方で、ベンダムスチンで治療され POD24 を経験した患者の大半は再発時に形質転換を来しており、潜在的または早期の形質転換の存在が POD24 の主な原因である可能性が示唆されている。また、形質転換は POD24 よりも生存に影響するとも報告もある。我々の研究では、初発時から臨床的形質転換基準を満たす患者は満たさない患者に比べて POD24 を発症することが確認された。このことは、初発時から潜在的な形質転換 FL が存在する可能性を示唆している。本研究において、ベンダムスチンで治療された患者は、初発時の臨床的形質転換基準が PFS に明確な影響を及ぼさなかった。ベンダムスチンで治療された患者は、リツキシマブよりもオビヌツズマブが併用されていたことが原因の可能性がある。オビヌツズマブは、新たな抗 CD20 抗体であり、リツキシマブよりも抗体依存性細胞媒介性細胞傷害作用が強化されている。他方、リツキシマブを含む併用療法とオビヌツズマブを含む併用療法で再発時の形質転換発生率に有意差は認められないという報告もあり、ベンダムスチンで治療された患者の PFS と臨床的形質転換の関係にはさらなる検討が必要である。

## 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

2024 年 12 月 24 日、25 日 それぞれ論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文についての審査を行った。

濾胞性リンパ腫 (Follicular Lymphoma: FL) は 2 番目に多い非ホジキンリンパ腫である。FL の予後は良好である。しかし、FL はときに、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫などの高悪性度リンパ腫に組織学的に形質転換を来す。形質転換 FL は病勢の急速な進行をもたらす、その予後は不良となる。形質転換の確定には、組織学的な生検が必要である。しかし、FL は腫瘍間に異質性を示す。そのため、単一部分の生検では潜在的な形質転換を診断できない可能性がある。再発時には、生検が困難な場合に臨床的に形質転換を予測する臨床的形質転換の基準が存在する。しかしこの基準が、初回治療前の FL の予後とも関連するかは明らかでない。そこで今回我々は、初発 FL において、臨床的形質転換因子の有無が予後に与える影響を後方視的に検討した。2009 年 1 月-2023 年 2 月において、当院で初回免疫化学療法を受けた 20 歳以上の Grade 1-3a の FL 患者を後方視的に診療録から抽出し解析した。初回免疫化学療法には、CHOP (シクロホスファミド、ドキシソルビン、ビンクリスチン、プレドニゾロン) 様療法またはベンダムスチン療法と抗 CD20 抗体 (リツキシマブまたはオビヌツズマブ) の併用療法を含めた。初回免疫化学療法の開始日を観察期間の開始点と定義した。66 人の濾胞性リンパ腫 (FL) 患者が抽出された。年齢の中央値は 65 歳 (範囲 33～86 歳) であった。追跡期間の中央値は 4.2 年 (範囲: 0.17～16.8 年) であり、臨床的形質転換群と非形質転換群で追跡期間に有意差はなかった (中央値: 4.2 年 vs 3.5 年、 $p = 0.238$ )。全患者における 3 年無増悪生存率 (PFS) は 76.9% (95%信頼区間 [CI]: 63.2～86.0) 3 年全生存率 (OS) は 90.0% であった。臨床的形質転換群の PFS 率は非形質転換群よりも有意に低かった (3 年 PFS: 52.5% (95%CI: 27.4～72.6) 対 88.7% (95%CI: 72.5～95.6)、 $p < 0.001$ )。CHOP 様レジメンで治療された患者とベンダムスチンで治療された患者において、PFS を評価した。CHOP 様レジメンで治療された患者では、臨床的形質転換群は非形質転換群より PFS が有意に短かったが ( $p < 0.001$ )、ベンダムスチン治療群では有意差は認められなかった ( $p = 0.623$ )。

本論文は、初発時から臨床的形質転換基準を満たす FL の患者は満たさない患者と比較して再発率が高いことが明らかとしたものであり、初発時から潜在的に存在する形質転換 FL の存在が示唆され、学位論文として価値のあるものと認めた。

学 位 記 番 号	博 (医薬) 乙 第 10 号
学 位 授 与 の 日	令和7年2月27日
氏 名	林 宣秀
学位論文の題目	Neuroradiological, genetic and clinical characteristics of histone H3 K27-mutant diffuse midline gliomas in the Kansai Molecular Diagnosis Network for CNS tumors (Kansai Network) : multicenter retrospective cohort (H3K27 変異びまん性正中グリオーマにおける神経放射線学的・遺伝的・臨床学的特徴：多施設共同後方視的コホート研究)
論 文 審 査 委 員	主 査 教授 村田 晋一 副 査 教授 江幡 正悟 教授 中尾 直之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【緒言】

びまん性正中グリオーマはヒストン H3p. K28me3 (K27me3) の喪失を特徴とし、ヒストン H3. 3 (H3F3A) ないし H3. 1 (HIST1H3B/C) の H3c. 83A > Tp. K28M (K27M) 置換を含む腫瘍である。WHO 脳腫瘍分類第 5 版 (2021) では grade 4 に相当し、pediatric-type diffuse high-grade gliomas に区分されているが、小児のみの年齢分布だけではなくむしろ成人に多い報告もある。さらに腫瘍存在部位は視床・脳幹・脊髄で、ときに松果体・視床下部・小脳半球にも認めるとされているが、脳室・脳梁・基底核・鞍上部・大脳半球にも存在している。当該疾患は極めて予後不良で、最も大きなコホート研究 (n=164) では生存期間中央値は 10.5 か月と報告されている。当該疾患に関して本邦からのまとまった報告が未だなく、日本人の生命予後や予後良好因子については不明である。WHO 脳腫瘍分類第 5 版 (2021) と過去の文献的報告とから混沌とした部位分類を整理 (Kansai 分類) し、臨床項目や分子遺伝学的な観点から本邦における予後因子について解析した。

### 【対象と方法】

**対象** 2007 年 5 月～2022 年 7 月の期間に、関西中枢神経系腫瘍分子診断ネットワークに登録された初発・再発神経膠腫は全 4128 検体であった。その中で、H3F3A 変異を有する 116 症例と HIST1H3B 変異を有する 2 症例のうち、H3p. G34R/V 変異 9 症例を除いた H3p. K27M 変異 109 症例について検討した。WHO 脳腫瘍分類第 5 版 (2021) と過去の文献的報告とから、視床・脳幹・脊髄・松果体・視床下部・小脳・脳室を midline location に分類し、大脳半球・脳梁・大脳基底核を non-midline location に分類した。分類不能・脳梁・大脳基底核については上記正中部分を主として含む場合は midline location に分類し、非正中部分を主として含む場合は non-midline location に分類した (Kansai 分類)。H3p. K27M 変異 109 症例のうち、midline location の 93 症例について視床・脳幹・脊髄・その他の 4 群に細分類し臨床学的・分子遺伝学的に予後因子を解析した。

**検体** 画像を含む臨床データと手術検体は関西中枢神経系腫瘍分子診断ネットワークに集積された。MGMT プロモーター領域のメチル化 (MGMTp-met) は、quantitative methylation-specific PCR で測定 (1% 以上で陽性) し、H3F3A, HIST1H3B, IDH1 (R132), IDH2 (R172), TERT promoter, BRAF (V600), FGFR1 (exon12, exon14), EGFR (exon 7, exon20), TP53 は Sanger sequencing で解析した。病理中央診断を行い、WHO 脳腫瘍分類第 5 版 (2021) に準じて LGG (Low grade glioma), HGG (High grade glioma) without GBM (glioblastoma) features, GBM features に分類した。

**統計解析** SPSS Statistics version 29 (IBM, NY, USA, 2022) を利用した。4 群間比較において年齢項目は Kruskal-Wallis test、他の項目は Pearson's chi-square test で解析した。無増悪生存期間、全生存期間については log-rank test を用いた Kaplan-Meier 法で解析した。単変量解析は log-rank test で行い、統計学的に有意差のあった項目のみ Cox proportional hazards model で多変量解析を行った。

## 【結果】

**収集コホートの検証** Midline location の93例は、視床(47例)・脳幹(24例)・脊髄(12例)・その他(10例)に細分類できた。全年齢分布は4-78歳(中央値:31歳)、18歳以下は26例(28%)、全男女比は55(59%):38(41%)であった。その他部位に小児例は存在せず、他の3群に比し年齢中央値は45歳(36-71歳)で有意に高かった( $p=0.041$ )。各群において男女比、術前Karnofsky performance status (KPS) score、外科的切除率、再摘出率、術後補助療法、TERTp変異(3%)、MGMTp-met(9%)、TP53変異(57%)、BRAF変異(1%)、FGFR1変異(14%)、EGFR変異(3%)について有意差は認めなかった。MRIでの造影効果は脳幹部位で58%にとどまり、他の3群に比し有意に低かった( $p=0.016$ )。外科的切除率は生検術が最も多く(63%)、部分摘出(19%)、亜全摘術(12%)、肉眼的全摘出(5%)で、再摘出例は12%であった。病理組織に関して、LGG, HGG without GBM features, GBM featuresにおける生存期間中央値に有意差はなかった( $p=0.546$ )。化学療法は主としてTemozolomide(TMZ)療法が施行された(82%)。放射線照射量に関しては、80%で50Gy以上施行されたが脊髄部位で50Gy未満が多く(42%)、他の3群に比し有意に低線量であった( $p<0.001$ )。観察期間は0.5から63.5か月(中央値:15.6か月)で、無増悪生存期間中央値は $9.9\pm1.0$ か月(7.9-11.9, 95% CI)( $n=77$ )、全生存期間中央値は $16.6\pm1.4$ か月(13.9-19.3, 95% CI)( $n=87$ )であった。

**予後良好因子の探索** Log-rank testを用いたKaplan-Meier法による解析で予後因子の探索を行った。腫瘍存在部位(4群)・年齢(18歳以下 vs 19歳以上)・性別(男女)・術前KPS・外科的切除率・再摘出の有無・術後補助療法の有無・病理組織像・放射線照射量・分子遺伝学的変異の有無を検討した。腫瘍存在部位・年齢・外科的切除率・再摘出の有無・病理組織像・分子遺伝学的変異に有意差はなく、女性( $p=0.015$ )・術前KPS $\geq 80$ ( $p=0.025$ )・放射線治療+TMZ療法( $p=0.031$ )・放射線照射50Gy以上( $p=0.008$ )が単変量解析で有意差あり、多変量解析では女性( $p=0.007$ )・術前KPS $\geq 80$ ( $p=0.006$ )が独立した予後良好因子であった。女性が予後良好因子であることを示したのは本研究が初である。

## 【考察】

びまん性正中グリオーマの腫瘍存在部位は視床・脳幹・脊髄で、ときに松果体・視床下部・小脳半球にも認めるとされているが、H3 K27変異腫瘍は脳室・脳梁・基底核・鞍上部・大脳半球にも存在している。特に基底核と脳梁に関しては正中構造に含めるかどうか研究者によって意見が異なり、混沌としている。Kansai分類では基底核と脳梁は大脳皮質の一部と考え、またWHO脳腫瘍分類第5版(2021)に記載がないことから、これら部位を主座としたものはnon-midline locationに分類して本研究には含めなかった。年齢層に関しては本研究では19歳以上が72%を占め、他の2報告(57%, 49%)よりも高かった。女性が予後良好因子であることはグリオーマ一般で報告されているが、びまん性正中グリオーマでの報告は本研究が初めてである。病理組織でLGGは17%にすぎず、HGG以上が83%を占めたが全体のうちGBM featuresを有するものは43%であった。生検術を受けた53人中、造影病変であったのは37人で、そのうちGBM featuresを呈さないのは24人(45%)あり潜在的交絡因子となりうる。過去の文献では、予後因子として年齢・性別・腫瘍部位・腫瘍サイズ・切除率・放射線治療・病理像・Ki-67・H3 subtype・各遺伝子変異(EZH2, TP53, ATRX, TERTp, BRAF, FGFR1)について言及されているが、本研究では女性・術前KPS $\geq 80$ が独立した予後良好因子であった。治療としては切除率での予後に有意差はなく、放射線照射線量 $\geq 50$ Gyが予後良好因子であり、放射線治療の完遂が望まれる。

## 【結語】

びまん性正中グリオーマをKansai分類に則り4群に再分類して、その特徴と予後について解析した。より大規模な研究により詳細が明らかにされたいと考える。

## 審査の要旨(審査の日、方法、結果)

令和7年1月27日、論文審査委員は学位申請者の出席を求め、上記論文についての審査を行った。本論文は本邦における、びまん性正中グリオーマについての多施設共同後方視的研究である。本研究では、関西中枢神経系腫瘍分子診断ネットワークに登録されたH3F3A変異を有する116

症例とHIST1H3B変異を有する2症例のうち、H3p. G34R/V変異9症例を除いたH3p. K27M変異109症例について検討された。WHO脳腫瘍分類第5版(2021)における本腫瘍の定義ではmidline locationであることが必須である。WHO脳腫瘍分類第5版(2021)と過去の文献的報告とから、視床・脳幹・脊髄・松果体・視床下部・小脳・脳室をmidline locationに、大脳半球・脳梁・大脳基底核をnon-midline locationに分類された。分類不能・脳梁・大脳基底核については上記正中部分を主として含む場合はmidline locationに分類され、非正中部分を主として含む場合はnon-midline locationに分類された(Kansai分類)。本腫瘍のmidline locationについては研究者によって報告が異なり、過去の報告ではmidline locationでなくても本疾患として含められていた。本研究では、Kansai分類によりmidline locationが整理された。H3p. K27M変異109症例のうち、midline locationの93症例について視床・脳幹・脊髄・その他の4群に細分類され、臨床学的・分子遺伝学的に予後因子を解析された。予後良好因子として、腫瘍存在部位・年齢・外科的切除率・再摘出の有無・病理組織像・分子遺伝学的変異に有意差は認められなかった。女性( $p=0.015$ )・術前KPS $\geq 80$  ( $p=0.025$ )・放射線治療+TMZ療法( $p=0.031$ )・放射線照射50Gy以上( $p=0.008$ )が単変量解析で有意差あり、多変量解析では女性( $p=0.007$ )・術前KPS $\geq 80$  ( $p=0.006$ )が独立した予後良好因子であった。多施設共同後方視的研究のため、手術摘出率や術後治療は各施設・治療医によって一定でなく、またMRI診断機器・放射線照射装置や照射計画も施設毎に異なるため研究の制限・限界がある。しかしながら、本邦におけるびまん性正中グリオーマの特徴と予後因子について詳細に検討され明確となった。

本論文は、びまん性正中グリオーマの予後予測について手術摘出率よりも放射線照射の重要性を示唆したものであり、学位論文として価値あるものと認めた。

学 位 記 番 号	博(医薬)乙第11号		
学 位 授 与 の 日	令和7年2月27日		
氏 名	中村 諒		
学位論文の題目	Risk factors for unsuccessful restoration of coronary flow reserve after Coronary bypass surgery (冠動脈バイパス術後冠血流予備能が改善しないリスク因子)		
論 文 審 査 委 員	主 査	教授 園村 哲郎	
	副 査	教授 西村 好晴	教授 田中 篤

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【背景】

冠血流予備能 (coronary flow reserve: CFR) は安静時冠血流から最大冠血流になった際にどれだけ血流を増加させることができるかを反映する指標であり、心外膜血管および冠微小循環両方の血流予備能を反映する指標である。CFR の低下は虚血性心疾患や糖尿病、透析など冠微小循環に影響を及ぼす疾患を有する患者の心血管イベントのリスクを高める可能性があり、予後に関わる重要な因子と考えられている。冠動脈バイパス術 (coronary artery bypass grafting: CABG) は確立された冠血行再建方法であり、冠動脈狭窄後に血管をバイパスすることで CFR の改善、予後の改善が得られる。しかし、冠血行再建が成功しているにも関わらず、冠動脈バイパス術後に CFR が低値の症例を経験する。このような症例では将来の心血管イベントの発生や予後の懸念がある。

### 【目的】

本研究の目的は CABG 後バイパスが開存しているにも関わらず、術後 CFR の改善が得られないリスク因子を検討することである。

### 【方法】

2010 年 8 月から 2023 年 4 月に内胸動脈 (Internal mammary artery; IMA) を左前下行枝 (Left anterior descending artery; LAD) に吻合した症例で術前に LAD の冠内圧測定 (fractional flow reserve; FFR および instantaneous free-wave ratio; iFR) にて冠動脈虚血評価を行った症例の内、術後冠動脈 CT にてグラフトが開存しており、かつ術後 LAD の CFR を測定した 65 名を対象とした。虚血が生じる可能性がある CFR の cut off value を 2.5 とし、preserved CFR 群 (CFR  $\geq$  2.5) と impaired CFR 群 (CFR < 2.5) の 2 群に分け、その結果に関わる術前因子を検討した。

### 【結果】

14 名 (22%) が impaired CFR 群であり、51 名 (78%) が preserved CFR 群であった。患者背景は、impaired CFR 群では HbA1c が有意に高く (6.7% vs 6.0%,  $P < 0.01$ )、インスリン使用患者が有意に多かった (44% vs 4%,  $P < 0.01$ )。冠動脈造影 (Table 2) は impaired CFR 群では病変が有意に長かった (33mm vs 25mm,  $P = 0.04$ ) が、狭窄度は 2 群に差はなかった (60% vs 56%,  $P = 0.07$ )。LAD の冠内圧測定では FFR は 2 群に差はなかった (0.65 vs 0.64,  $P = 0.48$ ) が、iFR は impaired CFR 群で有意に低く (0.69 vs 0.81,  $P < 0.01$ )、術前に LAD の CFR を測定した症例では、impaired CFR 群は術前から CFR 値が有意に低く (1.9 vs 2.5,  $P < 0.01$ )、CFR の改善度 (post CFR-pre CFR) も乏しかった (0.2 vs 0.9,  $P < 0.01$ )。冠内圧測定のどちらが術後 impaired CFR を予測す

るかを ROC curve を用いた AUC の比較で検討した結果、iFR の方が FFR よりも術後 impaired CFR を予測でき (0.74 vs 0.42,  $P=0.01$ )、その cut off value は iFR 0.78 であった。

#### 【結論】

IMA-LAD が開存している患者において、約 20%の症例で術後 LAD の CFR が低値であった。コントロール不良の糖尿病、インスリン依存、びまん性冠動脈狭窄、iFR 低値、術前 CFR 低値がリスク因子であった。術後 CFR 低値の症例では冠血行再建後も微小循環障害が残存していることが示唆された。

#### 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和7年1月30日、論文審査委員は学位請求者の出席を求め、上記論文の精査を対面で口頭試問・ディスカッションの形式で行った。

冠血流予備能 (coronary flow reserve: CFR) は安静時冠血流から最大冠血流になった際にどれだけ血流を増加させることができるかを反映する指標であり、心外膜血管および冠微小循環両方の血流予備能を反映する指標である。CFR の低下は虚血性心疾患や糖尿病、透析など冠微小循環に影響を及ぼす疾患を有する患者の心血管イベントのリスクを高める可能性があり、予後に関わる重要な因子と考えられている。本研究の目的は CABG 後バイパスが開存しているにも関わらず、術後 CFR の改善が得られないリスク因子を検討することであった。

上記論文内容の要旨の結果であり、コントロール不良の糖尿病、インスリン依存、びまん性冠動脈狭窄、iFR 低値、術前 CFR 低値がリスク因子であった。術後 CFR 低値の症例では冠血行再建後も微小循環障害が残存していることが示唆された。

本論文は冠動脈バイパス術後の冠血流予備能が上らないリスク因子を述べた初めての論文であり、臨床的意義のある論文であると考え。上記内容を学位論文として価値あるものとして認めた。



学 位 記 番 号	博(医薬)甲第12号
学 位 授 与 の 日	令和7年3月24日
氏 名	稲垣 貴也
学位論文の題目	Escalating the dose of high-dose-rate brachytherapy combined with external beam radiotherapy improves the disease control rate in patients with high- or very-high-risk prostate cancer (High および Very high リスクの前立腺癌患者に対する外照射併用高線量率小線源治療において線量増加は制御率を向上させる)
論 文 審 査 委 員	主 査 教授 井 篁 一彦 副 査 教授 村 田 晋一 教授 園村 哲郎

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【緒言】

前立腺癌に対する治療法には外科的手術、ホルモン療法、放射線治療などがあるが、National Comprehensive Cancer Network (NCCN)ガイドラインではHigh-risk以上の前立腺癌に対して外照射(External Beam RadioTherapy : EBRT)併用の高線量率組織内照射(High Dose Rate BrachyTherapy : HDR-BT)が推奨されている。

我々は2000年からIr192線源を用いたHDR-BTを行っており、2008年に佐藤らが50Gy/25分割(fraction: fr)の外照射と15Gy/2frのHDR-BTを組み合わせた治療について報告した(Sato M, et al. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2008;72(4):1002-1009)。53名の前立腺癌患者を後ろ向きに解析し、T1c-T2b患者の3年生化学的無増悪生存率(biochemical Progression Free Survival: bPFS)が100%に対して、T3a-b患者の3年bPFSが42%と低かった。これ以降、T3a-b患者の制御率を改善する目的でHDR-BTの線量を増やし、現在ではEBRT 50Gy/25frとHDR-BT 18Gy/2frというプロトコルで治療している。

本研究の目的は、制御率が悪いと考えられるHigh-risk以上の前立腺癌患者で再発率に影響する因子を同定することである。

### 【方法】

本研究は後ろ向きコホート研究で、和歌山県立医科大学倫理審査委員会で承認された(承認番号3892)。

#### ■患者

和歌山県立医科大学附属病院で2010年1月から2018年12月までにNCCNリスク分類でHigh-risk以上と診断された前立腺癌患者のうち、EBRT併用HDR-BTを行った317例が対象である。追跡期間が3年未満の13名を除外し、最終的に304名が解析に含められた。

#### ■放射線治療

EBRTでは、前立腺および精嚢全体がClinical Target Volume (CTV)に設定された。CTVに対して直腸側は5mm、その他は8mm拡大してPlanning Target Volume (PTV)とした。PTV体積の50-95%に対して50Gyが投与された。153名(50.3%)で40Gy/20frの骨盤照射が行われた。骨盤照射には内外腸骨動脈周囲、仙骨前および閉鎖リンパ節領域が含まれた。HDR-BTはEBRT終了の1-2週間後に行われた。泌尿器科医によって前立腺に5-18本のアプリーターニードルが挿入された。EBRTと同様に前立腺+精嚢全体をCTVとし、CTV体積の90%に18Gy/2frの線量が投与された。

#### ■治療後の評価

データ収集の過程で線量にばらつきが見られた。前立腺の大きさ、直腸や小腸の線量を考慮したためと考えられる。そのため、照射線量を抽出し、生物学的等価線量(Biologically Effective Dose: BED)で比較した。再発は治療終了後に最もProstate Specific Antigen (PSA)が下がった値から2

ng/mL以上の上昇があった場合と定義された。全生存期間(Overall Survival: OS)、bPFS、癌特異生存期間(Cause-Specific Survival: CSS)、再発率をKaplan-Meier法を用いて算出した。OSとbPFSに与える影響についてはCox回帰分析を用いて単変量および多変量解析を行った。有害事象はCommon Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) version 5.0を用いて評価した。

#### 【結果】

追跡期間中央値は8.2年(3.4-13.7年)であった。10年bPFS、OS、CSSおよび再発率はそれぞれ77%、84.4%、98.8%および10.9%であった。bPFSについては、Grade group 5、治療前PSA  $\geq 40$ ng/mL、ホルモン療法(Androgen Deprivation Therapy: ADT)の有無および合算BED( $\alpha/B=1.5$ )  $\geq 240$ Gyで有意差が見られた( $P=0.021$ 、 $0.005$ 、 $0.015$  および  $0.020$ )。T因子はbPFSに影響しなかった。OSについては、治療時の年齢のみが関連していた。有害事象として、Grade3以上の直腸出血が0.3%、Grade3以上の血尿が2.0%、Grade3以上の尿道閉塞が1.4%で発生した。

#### 【考察】

我々は過去にT3aとT3bで再発率が高いことを報告したが、今回の解析ではT因子による再発率の差は見られなかった。線量の増加によって、腫瘍の被膜外浸潤や精嚢浸潤を克服できると考えられた。治療前のPSAやGrade Group5が再発率に関連しており、潜在的なリンパ節転移や遠隔転移が疑われる。骨盤リンパ節領域への予防的照射で再発率が下がるという複数の研究があるが、今回の解析では有意差が見られなかった。一方、ADTの有無が再発率に対して有意差が見られたことから、ADTの使用により潜在的なリンパ節転移や遠隔転移を制御できる可能性がある。

#### 【結語】

EBRT併用HDR-BTを受けたHigh-およびVery-high-risk前立腺癌患者において、線量増加およびADTは腫瘍制御率の改善と関連し、Group5および治療前PSA  $\geq 40$ ng/mLは腫瘍制御率の悪化と関連した。

### 審査の要旨 (審査の日、方法、結果)

令和7年2月18日と2月25日に論文審査委員は学位申請者の出席を求め、論文審査を行った。試験方法は口頭試験であった。井篁一彦教授、村田晋一教授、園村哲郎教授ともに結果は「優」であった。

本論文によりEBRT併用HDR-BTを受けたHigh-risk以上の前立腺癌患者の治療において、線量増加およびADT併用は腫瘍制御率の改善と関連し、Grade Group 5および治療前のPSA  $\geq 40$ ng/mLは腫瘍制御率の悪化と関連することを示したことから学位論文として価値あるものと認めた。