

博士の学位の授与に係る論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨の公表

報告番号	学位	氏名	題目	授与日
乙第2349号	医学	植村 法子	Anatomical and histological study to determine the border of sole skin (足底皮膚の境界を決定するための解剖学および組織学的研究)	平成28年3月16日
乙第2350号	医学	井上 潤一	Resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta might be dangerous in patients with severe torso trauma: a propensity score analysis (重症体幹外傷への大動脈遮断バルーンの使用は危険であるかもしれない: 傾向スコア分析を用いた解析より)	平成28年3月16日
乙第2351号	看護学	高橋 直美	精神科救急病棟における患者・医療者の感情活用に関する考察～援助関係の形成と患者の回復に焦点を当てて～	平成28年6月8日
乙第2352号	医学	川岸 将彦	Direct label-free measurement of the distribution of small molecular weight compound inside thick biological tissue using coherent Raman microspectroscopy (小分子化合物の生物組織内での分布の、コヒーレントラマン顕微分光を用いた非標識での直接測定)	平成28年9月7日
乙第2353号	歯学	國分 亮	In vivo evaluation of a Ti-based bulk metallic glass alloy bar (チタン基金属ガラス合金棒の生体内評価)	平成28年9月7日
乙第2354号	医学	渡辺 雄一郎	Autophagy controls centrosome number by degrading Cep63 (オートファジーはCep63を介して中心体数を制御する)	平成29年2月15日
乙第2355号	医学	西澤 真人	A comparison of the regional circulation in the feet between dialysis and non-dialysis patients using indocyanine green angiography (インドシアニングリーンを用いた透析患者と非透析患者の足部局所循環の比較に関する研究)	平成29年3月1日

学位論文の内容の要旨

論文提出者氏名	植村 法子
論文審査担当者	主査 横関 博雄 副査 星 治 北川 昌伸
論文題目	Anatomical and histological study to determine the border of sole skin
<p>(論文内容の要旨)</p> <p><要旨></p> <p>掌蹠部は、他の部位と比べて皮膚が厚い、色素が少ないなどの性質を持つ特殊部位である。このため、手指や足趾の皮膚欠損に対しては、足の内果下部や土踏まずからの植皮が広く行われている。しかし、足のどの位置から足底皮膚の性状となるのか正確に定義されていない。今回われわれは、屍体足部の皮膚を用いて、表皮・真皮の厚み、掌蹠部皮膚に特異的に発現するCytokeratin 9、メラニンの発現、真皮での弾性線維および膠原線維の割合について検討した。Cytokeratin 9は、内果および外果から、内果・外果間距離の約20%底側の位置から発現していた。皮膚の厚み、メラニンの発現、弾性線維の割合もほぼ同じ位置で変化していた。よって、Cytokeratin 9が発現している部分が足底皮膚であると考えた。その境界は、内果もしくは外果と足底接地面のほぼ中間に位置し、皮膚の浸軟が目安となる。内果下部の皮膚は手指および足趾の背側に、土踏まずの皮膚は手指および足趾の腹側に移植するのが望ましい。</p> <p><緒言></p> <p>手指や足趾の皮膚欠損に対しては、内果下部や土踏まずからの植皮が広く行われている。手掌側へ植皮する場合の採皮部としては、土踏まずが優れていると言われているが、内果下部から採皮されることも多い。Websterは、1955年に内果下部からの採皮を報告しており、その後多数の報告があるが、足のどの位置から、足底皮膚の性状を示すかについては、詳しい研究がなされていない。本研究の目的は、足底皮膚の境界について明らかにすることである。</p> <p>掌蹠部の皮膚の性状については、古くから研究が行われている。特徴として、主に、皮膚が厚いこと、メラニン色素が少ないことが挙げられる。また、掌蹠部に特異的に発現するケラチンとして、Cytokeratin 9 (以下CK9) が知られている。真皮では、膠原線維と弾性線維の太さや性状の違いが、荷重への抵抗力に影響しているとされる。</p> <p>これらの知見から、われわれは、足底皮膚の境界を決定する因子が何であることを検討した。</p> <p><方法></p> <p>解剖実習体12体の右足12側を用いて検討を行った。男性6体、女性6体、死亡時の年齢は、平均</p>	

83.8歳（73～91歳）であった。解剖体において、内果の再突出点から、足底を通り、外果の再突出点までの最短距離を計測した。同部位で、約1cmの幅で帯状に皮膚を採取した。採取した皮膚は、長さ2.5cm毎にパラフィン包埋し、厚さ4 μ mに薄切した。

画像解析は、オールインワン顕微鏡BZ-9000を用いて画像を撮影し、ImageJソフトを使用した。解析方法は、Bhawanの報告に従った。まず、画像をRGBカラーに分割し、目的とするパラメーターについて最もコントラストが得られるRed画像を使用し、画素の輝度分布を分析した。CK9の解析以外は、内果～外果の距離の10%毎の位置で解析した。

まず、皮膚の角層、非角層（基底層～顆粒層）、真皮の厚みの計測を行った。

次に表皮の検討を行った。マウスIgGモノクローナル抗体を用いて、CK9の免疫組織染色を行った。CK9の発現し始める位置を、内果側から計測した。また、メラニン色素が黒色に染まるフォンタナマッソン染色をおこなった。画像解析で、単位長さあたりのメラニン含有量（メラニンインデックスとする）を計測した。

最後に、真皮の検討を行った。弾性線維を黒紫色に、膠原線維を赤色に染色するエラスチカワソングーソン染色を行った。画像解析で、単位面積あたりの弾性線維および膠原線維の割合を計測した。

統計学的解析は、JMP統計ソフトを用いて行った。フリードマン検定による多重比較をおこなった。

<結果>

内果～外果間距離は平均19.4 cm（17.5–20.5 cm）であった。

皮膚の厚み：角層、非角層、真皮いずれも、内果および外果から足底に向かって徐々に厚くなった。角層と非角層は、内果より0%の位置が最も薄く、角層は平均 $19 \pm 6.8 \mu\text{m}$ 、非角層は平均 $37 \pm 11.4 \mu\text{m}$ であった。また内果より50%の位置がもっとも厚く、角層は平均 $213 \pm 124.9 \mu\text{m}$ 、非角層は平均 $157 \pm 40.2 \mu\text{m}$ であった。足底中央に相当する40%、50%、60%の位置は、内果もしくは外果側より有意に厚みが大きかった。真皮は、表皮に比べ緩やかに、足底に向かって厚くなった。内果より80%の位置が最も薄く平均 $504 \pm 177.7 \mu\text{m}$ 、内果より40%の位置が最も厚く平均 $1239 \pm 263.8 \mu\text{m}$ であった。40%の位置は、20%、80%および90%の位置より、有意に厚みが大きかった。

CK9の発現：CK9は内果より平均 $38.9 \pm 8.5 \text{ mm}$ の位置から発現し始め、外果より平均 $42.0 \pm 3.9 \text{ mm}$ の位置で発現を認めなくなった。これは、内果より約21%底側、外果より約22%底側の位置である。肉眼的には、CK9発現位置は皮膚が浸軟し白くなっている部分に相当した。また、足底の接地面と内果もしくは外果の中間の位置に相当した。

メラニンインデックス：メラニンの発現は、個人差が多かった。平均値では、80%の位置が最も高く、 10.3 ± 16.3 であり、50%の位置が最も低く、 0.06 ± 0.06 であった。足底中央の50%と60%の位置は、内果側より有意にメラニンインデックスが小さかった。標本での変化を見ると、平均して $25 \pm 7.1\%$ と $75 \pm 4.2\%$ の位置で急激に変化をしていた。これは、CK9発現位置よりやや足底側である。

真皮の弾性線維・膠原線維の割合：弾性線維の割合は、内果および外果から足底に向かって徐々

に少なくなった。足底中央の30%、40%、50%および60%では、内果もしくは外果側より有意に低値であった。一方、膠原線維の割合は、位置による変化が少なく、有意差も認めなかった。

<考察>

掌蹠部の皮膚は、他の部位と比べて厚い、色素が少ない性質などの特殊な性質を持つ。掌蹠部や手指や足趾の皮膚欠損に対しては、足の内果下部や土踏まずからの植皮が広く行われているが、足のどの位置から足底皮膚の性状となるのかは正確に定義されていない。今回われわれは、屍体足部の皮膚を用いて、組織学的、免疫組織学的検討を行った。

表皮・真皮の厚みは、内果・外果側から足底に向かって、徐々に厚くなっていた。また、真皮よりも表皮の方が変化が大きかった。足底の厚い皮膚は荷重と関係すると考えられている。しかし、本研究では、土踏まずは非荷重部であるが、同じ非荷重部である内果下部よりも皮膚が厚かった。土踏まずの表皮の厚さは、表皮細胞の性質によると考えている。

掌蹠部皮膚に特異的に発現するCK9は、足底の境界を決める鍵となるタンパク質であると考えている。CK9は、内果および外果から、内果・外果間距離の約20%底側の位置から発現していた。その位置は、皮膚の浸軟とほぼ一致し、ランドマークとしては、内果もしくは外果と足底接地面のほぼ中間が目安となる。

色素が少ないことも、掌蹠部皮膚の大きな特徴である。本研究では、メラニンインデックスとして評価を行ったが、その値は個体差が大きかった。しかし、どの個体でも、内果・外果から足底に向かって急激に変化していた。急激に変化する位置は、平均して内果から $25 \pm 7.1\%$ と $75 \pm 4.2\%$ の位置であった。これはCK9発現位置よりやや底側である。

真皮では、内果・外果側から足底に向かって、弾性線維の割合が減少していた。特に、内果から、20%と30%の間、および70%と80%の間で、急激に変化していた。

まとめると、皮膚の厚み、メラニンの発現、弾性線維の割合はほぼ同じ位置で変化していることがわかった。その位置は、CK9が発現しはじめる部分と同じかやや底側であった。CK9の発現している部分が足底皮膚であると考えられる。

臨床的には全層採皮が行われるが、一次縫合が可能であるとの理由で、内果下部を恵皮部とすることが多い。土踏まずの皮膚を恵皮部とすると、縫縮できず二段階植皮が必要となる場合が多い。これは、真皮の弾性が足底で少ないためであり、本研究結果に矛盾しない。しかし、組織学的に内果下部と土踏まずは異なる性状であり、内果下部の皮膚は手指および足趾の背側に、土踏まずの皮膚は手指および足趾の腹側に移植するのが望ましい。足底恵皮部の一次縫合が困難であることの対策としては、分層採皮も行われている。

<結論>

CK9の発現している範囲が足底であると考えられる。その境界は、内果もしくは外果から、内果外果間距離の約20～25%底側の位置である。内果もしくは外果と足底接地面のほぼ中間に位置し、皮膚の浸軟が目安となる。内果下部の皮膚は手指および足趾の背側に、土踏まずの皮膚は手指および足趾の腹側に移植するのが望ましい。

論文審査の要旨および担当者

報告番号	乙第 2349 号	植村 法子
論文審査担当者	主査 横関 博雄 副査 星 治 北川 昌伸	
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>1、論文内容</p> <p>掌蹠の皮膚は他の部位の皮膚と比べて皮膚が厚い、色素がすくないなど特殊な性質を持つ皮膚である。一方、足のどの部位から足底の皮膚の正常になるのかは明らかになっていない。そこで申請者は死体の足の皮膚を用いて、表皮、真皮の厚さ、掌蹠のみに発現する Cytokeratin9、メラニンの発現、真皮における弾性線維、膠原線維の割合を検討した。その結果、Cytokeratin9 は内果、外果から内果・外果間距離の訳 20% 足底側の位置から発現していた。皮膚の厚さ、メラニンの発現、弾性線維の割合もほぼ同じ位置であった。以上の結果から内果、外果と足底接着面のほぼ中間に境界が存在することが推測された。掌蹠の皮膚の境界部が明らかになることは植皮上非常に重要なことであり臨床的に意義のある研究と考えられた。</p> <p>申請者は自らの言葉で研究の背景と目的、研究方法、結果の解釈と意義、今後の課題などについての発表を行い、本研究が申請者自身の高度な研究能力とその基礎となる豊富な学識に基づき実践されたものであることが確認された。</p> <p>2、論文審査</p> <p>1) 研究目的の先駆性・独創性</p> <p>掌蹠の皮膚と他の部位の境界部を明らかにしたことは临床上非常に重要なことであり臨床的に意義のある研究と考えられ独創的で評価に値する。</p> <p>2) 社会的意義</p> <p>本研究で得られた結果は</p> <ol style="list-style-type: none">1. 足底の皮膚が内果、外果と足底接着面のほぼ中間に境界が存在することが推測されたことは解剖学上非常に有意義である。2. 掌蹠の皮膚の境界部が明らかになることは皮膚の植皮をする上で非常に重要なことであり臨床的に意義のある研究と考えられた。 <p>3) 研究方法・倫理観</p> <p>この研究には死体の足の皮膚を用いて、表皮、真皮の厚さ、掌蹠のみに発現する Cytokeratin9、メラニンの発現、真皮における弾性線維、膠原線維の割合を検討した。本手法は十分な解剖学的知識と外科的技術の裏付けのもとに遂行されており、申請者の研究方法に対する知識と技術力が十分に高いことが示されると同時に、本研究が極めて周到な準備の上に行われてきたことが窺われる。</p>		

3、審査結果

以上を踏まえ、本論文は博士（医学）の学位を申請するのに十分な価値があると認められた。

学位論文の内容の要旨

論文提出者氏名	井上 潤一
論文審査担当者	主査 荒井 裕国 副査 榎田 浩史、井上 芳徳
論文題目	Resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta might be dangerous in patients with severe torso trauma: a propensity score analysis
<p>(論文内容の要旨)</p> <p><要旨></p> <p>大動脈遮断バルーン(Resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta :REBOA)は循環が不安定な重症体幹外傷の出血制御における有効性が期待される血管内デバイスである。しかし REBOA の臨床的有用性と適応基準はいまだ明らかではない。本研究では日本外傷データバンクに登録された 18 万例の症例を用い、緊急手術もしくはカテーテル治療が行われた重症体幹外傷患者を対象に傾向スコアマッチを用いて REBOA の有用性を検討し、さらに操作変数法を用いた感度分析により統計学的に強固な解析を追加した。マッチ後の背景因子を調整した群間比較で、院内死亡率は REBOA 使用群が REBOA 非使用群より高く(61.8% vs 45.3%, 絶対差: +16.5% [95%信頼区間, +10.9%, +22.0%])、来院から初回手術までの時間は REBOA 使用群が REBOA 非使用群より短かった(97 分 vs 110 分、絶対差: -14 分 [95%信頼区間 -25 分, -3 分])。操作変数法による感度分析でも REBOA 使用群と非使用群の院内死亡率の差は変わらなかった(+16.4%, [95%信頼区間 -0.6, 33.3%])。循環が不安定な重症体幹外傷患者に対して、止血術開始に 97 分を要する状況下では、REBOA の使用は不適切でかつ危険である可能性が示唆された。</p> <p>【緒言】</p> <p>重症体幹外傷の治療戦略は 1993 年に Rotonodo により提唱されたダメージコントロール手術(damage control surgery: DCS) の登場により大きく変化した。DCS の治療ゴールは初回手術で根治をはかることなく止血と汚染防止にとどめ、その後の集中治療室での回復を経て二次的根治手術を行うことで、生理学的破綻のリスクを避け段階的に治療を進めるものである。この考え方にもとづきダメージコントロール蘇生、止血蘇生、ダメージコントロール血管内治療などの様々なコンセプトや治療技術が登場し、外傷治療はパラダイムシフトを迎えている。その中で大動脈遮断バルーン(resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta :REBOA)は経カテーテル的に大動脈内に挿入したバルーンを膨らませ、迅速かつ低侵襲に大動脈中枢側からの血流を制御するデバイスであり、出血性ショックを伴う体幹外傷の手術やカテーテル治療(interventional radiology : IVR) の術前、術中の施行が急速に広まりつつある。しかしその適応、有用性、そして安全性について、十分なエビデンスはない。</p>	

生命に危機的な状況下で使用される REBOA にランダム化比較試験を行うことは難しい。本研究の目的は日本外傷登録データバンク (JTDB) のデータを用いた傾向スコア解析により手術もしくは IVR が行われた重症体幹外傷に対する REBOA の有用性と安全性を、ランダム化比較試験を統計学的に模した傾向スコアマッチングを用いて評価することである。

【方法】

<研究デザイン>

本研究のデザインはJTDBに登録されたデータを用いた後ろ向きコホート研究である。このレジストリーに登録された、緊急手術もしくはIVRが行われた体幹外傷症例が対象とし、背景因子の一致したREBOAの使用群と非使用群を傾向スコアマッチングを用いて抽出し、群間比較した。

<データソースと症例選択>

JTDBは、日本外傷学会と日本救急医学会により2003年から運営され、全国の救命救急センターを中心とした234施設が参加する外傷レジストリーである。JTDBには病院前および来院後の患者の背景因子・治療・転帰に関する92変数が含まれている。

組み入れ基準は、胸腹骨盤のいずれかの部位に緊急手術または緊急IVRを受けた16歳以上の外傷患者である。来院時の血圧が0mmHgである例と、救命不能を意味する解剖学的重症度スコア (Abbreviated Injury Scale: AIS) を有する例は除外した。

<評価項目 (outcomes) >

主要評価項目は院内死亡率、副次的評価項目は救急室 (ER) での死亡率、来院から初回手術までの時間、および来院から輸血開始までの時間とした。

<統計学的分析>

すべての統計解析はR 3.2.0¹⁸ と以下のパッケージを使用した。数値変数の正規分布化にcar 2.0-25、外れ値の除外にoutliers 0.14²⁰、多重補完法とその解析統合にmice 2.22²¹、傾向スコアマッチングに Matching 4.8-3.4²²、生存分析に rms 4.3-1²³、回帰分析に Zelig 4.2-1²⁴、操作変数法にAER 1.2-4²⁵ を使用した。数値変数と順序変数の記述統計量は中央値と四分位数範囲 (interquartile ranges :IQRs)で、カテゴリー変数の記述統計量は単位とパーセントで表示した。統計学的有意差はp値0.05未満、または95%信頼区間 (confidence interval : CI) で評価された。サブグループ解析での統計学的相互作用はp値0.1未満で評価した。

<データ準備>

1. 数値変数は、Box-Cox変換を用いて正規分布に変換後に、Grubbs-Smirnov testを用いて外れ値を除外し欠測値とした。さらに多重補完法を用いて欠測値を補完した25個のデータセットを発生させた。

<傾向スコアマッチング>

患者の年齢、性別、受傷の状況 (事故、自殺、その他)、病院前のバイタルサイン、共存症、来院時のバイタルサイン、来院時のAISコード、外科治療が必要と判断した理由の合計70のベースライン特性の変数から、REBOAを行う確率 (Propensity score, PS) を計算した。ロジット変換した傾向スコアが0.002以内で一致するペアを抽出しマッチした。マッチの質は標準化平均差の絶対値で評価した。マッチング後に主要評価項目と副次的評価項目を群間比較した。

<感度分析>

傾向スコアマッチ後のREBOA使用群と非使用群のマッチバランスは良好でも、来院後のバイタルサインの変化や治療医の意向といったJTDBでは未測定の影響因子がREBOAの使用頻度や院内死亡率に交絡している可能性がある。この未測定の影響因子を調整するために操作変数法による感度分析を追加した。操作変数法は、介入には強く関連するが転帰とは介入を経由する以外には関連しない変数であり、これを用いた二段階最小二乗法を用いて未測定の影響因子が調整可能となる。REBOA選択には強く関連するが院内死亡率にはREBOA使用でしか関連しない操作変数として、施設の年間REBOA使用数がこれに合致することを見出した。

マッチ後の対象での院内死亡率への影響を、未調整モデル、解剖学的重症度(injury severity score:ISS)で調整後のモデル、外傷予測生存率(trauma and injury severity score: TRISS)で調整後のモデルで感度分析した。

<サブグループ解析>

REBOAの効果を修正する影響因子を明らかにするために、傾向スコアのマッチしたREBOA使用群と非使用群の死亡率の差を、年齢、性別、外傷タイプ(鈍的、鋭的)、来院時血圧、部位ごとのAIS、初回手術までの時間、年間のREBOA使用件数、IVRの有無のサブグループで検討した。

【結果】

JTDBに登録された183,457例の外傷症例から選択基準を満たす13,780例を選択した。更に傾向スコアマッチによりREBOA使用群と非使用群の各625例を選択した。2群の影響因子の標準化平均差の絶対値は全て0.1を下回り、マッチバランスは良好であった。

主要評価項目の院内死亡率はREBOA使用群が高かった(REBOA群61.8%、非REBOA群45.3%、絶対差+16.5%、[95% CI +10.9%, +22.0%])。30日生存曲線ではREBOA群が非REBOA群より低く(ハザード比1.59、[95% CI 1.36, 1.86])、とくに最初の2日間で有意に低かった(ハザード比1.71、[95% CI 1.43, 2.03])。しかし3日目以降では差はなかった(ハザード比1.12、[95% CI 0.76, 1.66])。

副次評価項目の評価では、ER死亡率はREBOA群で高く(REBOA群17.1%、非REBOA群9.7%、絶対値差+7.3%、[95% CI +3.5%, +11.2%])、来院から初回手術までの時間の中央値はREBOA使用群が短かった(REBOA群97分、非REBOA群110分、絶対値差:-14分 [95% CI -25分, -3分])。来院—輸血開始時間の中央値はREBOA群で短かった(REBOA群50分、非REBOA群64分、中央値差 -14分、95% CI -23分, -5分)。

各施設ごとの年間REBOA使用数を操作変数とした感度分析でもREBOA使用群と非使用群の院内死亡率の差は、未調整、解剖学的重症度ISSまたは予測生存率による調整の各モデルで違いは無く、統計学的にも頑健であった。

サブグループ解析では外傷型式(鈍的か鋭的か)、来院時収縮期血圧(80mmHg未満か以上か)、来院から初回手術までの時間(60分未満か以上か)、IVRの有無に有意な相互作用を認めた。性別、年齢、意識レベル、腹部と骨盤下肢領域の損傷度スコア(AIS)、施設ごとのREBOA年間使用件数、観察期間(2010年以前、以降)には有意な相互作用を認めなかった。

【考察】

手術もしくはIVRを行った外傷症例で、REBOA使用群は非使用群より高い院内死亡率と関連していた。これは、良好なマッチバランスを達成した傾向スコアマッチの結果であり、さらに未測定の変数因子を調整する操作変数法による感度分析を追加しても同様であったことから、統計学的にも頑健である。

REBOA使用群の高い院内死亡率は止血の遅れと関連していると考えられる。来院から初回手術までの時間（中央値）97分はREBOAを要するような重症症例に対しては長すぎる。サブグループ解析では来院-初回手術までの時間が60分以下では院内死亡率が改善する相互作用が認められた。日本では直ちに止血術が行われなければならない大量出血症例に対して、救命救急センターにおいても常時外傷外科医が対応できるような体制にはなっていない施設が多く、手術まで時間を要している。ER死亡率と手術後2日までの死亡リスクがREBOA使用群で高く、それ以降で低いことも、REBOAは初期の出血コントロールに十分機能していないと考えられる。

サブグループ解析において院内死亡率改善に相互作用のみられたその他の項目（鋭的損傷、来院時血圧80mmHg未満）については今後のさらなる検討が必要である。一方、現在鈍的実質臓器損傷や骨盤骨折の止血術としてわが国で有用と考えられているIVRが、院内死亡率増加と関連する相互作用を認めるという結果は、IVRの適応や実施時期、術者の技量、そして施設の特性などが病院間で異なることが影響しているかもしれない。さらに、これまでの研究でREBOAもIVRもよい適応とされている骨盤骨折に対して、我々の研究では死亡率改善との相互作用は認められなかった。骨盤骨折に対してIVRを行う症例へのREBOAの使用は、今後慎重な検討が必要である。

1990年代後半に登場したダメージコントロールの概念は重症外傷の治療にパラダイムシフトをもたらしたが、今回のサブグループ解析では観察期間と死亡率に相互作用は認められなかった。

JTDBを用い傾向スコア分析を行った先行研究では我々と同じくREBOA使用群は高い死亡率と関連するという結果を示した。その結論ではREBOAを瀕死の状態に対する最後の一手として捉えている。我々は、本研究の結果に照らすと、REBOAは迅速な根治的止血術と不可欠に組み合わせることで有効である可能性があるものとする。

本研究の限界として、REBOAの適応が一定でないこと、外傷データベースにREBOAに関する登録項目が十分とはいえないことがあげられる。また今回マッチバランスの極めて良好な傾向スコア法と未測定の変数因子も調整する操作変数法による感度分析を用いて解析したが、後ろ向き研究の限界を有する。したがって今後はREBOAの有用性と適応に関する前向き研究が必要である。

【結語】

わが国の外傷データベース18万症例に対して行った傾向スコア分析とバイアスを調整した操作変数法を用いた統計学的に強固な解析により、来院から手術まで中央値97分を要した循環動態が不安定な体幹外傷患者に対してREBOAを使用すると院内死亡率が増加する可能性があることを明らかにした。しかし挿入後に迅速な手術が行われればREBOAは有用である可能性も残さ

れている。今後 REBOA に関する詳細なデータを有する研究によりどのような外傷患者群に REBOA が有効か検討することが必要である。

論文審査の要旨および担当者

報告番号	乙第 2350 号	井上 潤一
論文審査担当者	主査 荒井 裕国 副査 榎田 浩史、井上 芳徳	
(論文審査の要旨)		
1. 論文内容		
本論文は、重症体幹外傷への大動脈遮断バルーンの使用の危険性（傾向スコア分析を用いた解析）についての論文である。		
2. 論文審査		
1) <u>研究目的の先駆性・独創性</u>		
大動脈遮断バルーン (Resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta :REBOA)は循環が不安定な重症体幹外傷の出血制御における有効性が期待される血管内デバイスであるが、REBOA の臨床的有用性と適応基準はいまだ明らかではない。このような背景の下、申請者は日本外傷データバンクに登録された重症体幹外傷患者を対象に傾向スコアマッチを用いて REBOA の有用性について解析を行っており、その着眼点は評価に値するものである。		
2) <u>社会的意義</u>		
本研究で得られた主な結果は以下の通りである。		
1. 傾向スコアマッチ後の背景因子を調整した群間比較で、院内死亡率は REBOA 使用群が REBOA 非使用群より高かった(61.8% vs 45.3%)。		
2. 来院から初回手術までの時間は REBOA 使用群が REBOA 非使用群より短かった(97分 vs 110分)		
以上のように申請者は、循環が不安定な重症体幹外傷患者に対して、止血術開始に 97 分を要する状況下では、REBOA の使用は不適切でかつ危険である可能性を明らかにしている。これは、臨床的にも極めて有用な研究成果であると言える。		
3) <u>研究方法・倫理観</u>		
研究には日本外傷データバンクに登録された 18 万例の症例のうち、緊急手術もしくはカテーテル治療が行われた重症体幹外傷患者が用いられ、傾向スコアマッチを用いて REBOA の有用性が検討された。さらに操作変数法を用いた感度分析により統計学的に強固な解析も追加されており、申請者の研究方法に対する知識と技術力が十分に高いことが示されると同時に、本研究が極めて周到な準備の上に行われてきたこと		

が窺える。

4) 考察・今後の発展性

更に申請者らは、本研究の結果について、臨床の現場で REBOA の適応が一定でないこと、REDOA に関する外傷データベースの登録項目が充分とはいえないことを指摘しており、今後、REBOA の適応基準の適正化に向けた前向き研究の必要性を指摘している。重症体幹外傷患者の救命率向上に向けて妥当な考察であり、今後の研究にて当該領域の治療成績が更に改善することが期待される。

3. その他

特になし

4. 審査結果

以上を踏まえ、本論文は、博士（医学）の学位を申請するのに十分な価値のあるものと認められた。

学位論文の内容の要旨

論文提出者氏名	川岸 将彦
論文審査担当者	主査 宇尾 基弘 副査 大野 京子・奈良 雅之
論文題目	Direct label-free measurement of the distribution of small molecular weight compound inside thick biological tissue using coherent Raman microspectroscopy
<p>(論文内容の要旨)</p> <p><要旨></p> <p>分子量が 300 kDa 以下の低分子化合物の、生物組織中での局在分布は、適切な測定方法がないため、あまり良く調べられていない。蛋白などの大きな生体分子では蛍光標識の技術が使えるが、低分子化合物では、標識と同程度の大きさのため、標識を使いにくいからである。この研究では、CARS (Coherent Anti-Stokes Raman Scattering, コヒーレント反ストークスラマン散乱)分光法を用いて、低分子化合物を非標識で検出同定する事を試みた。湿潤な組織での CARS 測定では、水分子由来の非共鳴背景ノイズが生じるため、その中から特異的な共鳴信号を検出するために、時間分解法、位相敏感法を用いた。この測定法による低分子化合物の検出のモデル実験として、タウリン溶液に浸漬したマウス角膜を測定したところ、角膜内部において、タウリンに相当する波数 1033 cm^{-1} のラマンピークを検出する事が出来、また、深さによる濃度分布も測定する事ができた。この CARS 分光法による測定は、低分子化合物を、非標識で、湿潤なままの組織で、検出し、分布を可視化する方法として、有用であると考えられる。</p> <p><緒言></p> <p>生物学において、分子の機能を解明する際に、その組織内、細胞内での分布、動態は重要な情報である。蛋白や核酸などの大きな生体分子の場合は、蛍光蛋白・色素などの標識を用いて局在を調べる手法が広く普及している。しかし、分子量数百 Da 程度の低分子化合物は、標識を付けると、観察したい分子自体の性質が変化してしまいやすいので、同じ方法で局在の情報を得るのは容易ではない。</p> <p>低分子化合物を検出する方法としては、従来、化学的標識、放射性同位体による標識、質量分析イメージングや、赤外やラマンなど、分子の構造に違いによって変化する固有振動の違いを調べる分光学的手法が使用されてきた。しかし、いずれの方法にも困難が伴い、必ずしも広くは使われていない。化学標識した化合物を、生体組織内で細胞程度の大きさの微小領域、微量から抽出するのは困難である。放射性同位体は高感度だが、合成に手間がかかり、また、長い測定時間が必要なため、ある一時点の測定しか出来ない。質量分析イメージングは高感度だが、生体組織のように多くの分子の混合物中からの検出では、検出感度が制限され、また、試料の調製が必</p>	

要なために、時間変化を追うのにも向かない。一方、赤外やラマンの分光法は、比較的測定が容易で、時間変化の観察も可能だが、従来法では、感度が不足していた。このように、低分子化合物を感度良く、時間変化を追える測定方法は確立しておらず、生体組織内での局在分布を観察する方法が望まれていた。

この研究では、ラマン分光を用いた方法の改善を目指した。ラマン分光で観察対象とする分子振動スペクトラムの信号を、従来法よりも高い感度で測定する事を目指し、CARSと呼ばれる光学現象を利用した。CARSは、3次の非線型光学過程で、共鳴により増幅されたコヒーレントなラマン信号を得るものである。CARSは従来、約 $4000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ の高波数領域で、2原子間の結合の振動を調べるのに使われる事が多い。この領域での信号は強く、生物領域では、脂質の分布や組成を見る事などに使われるが、生体分子では、原子間の結合の種類が限られるため、細かい分子種の区別は困難であった。一方、 $< 1500 \text{ cm}^{-1}$ の fingerprint region は、信号強度は低いが、分子の折れ曲りなど、多原子の関わる振動の信号が見られ、分子に特有のパターンを示す事が多い。これは分子種の区別に使える可能性があるが、しかし、この波数領域では、水分子が強い非共鳴ノイズを出すため、水を多く含む生物組織での観察は出来ていなかった。

この研究では、CARS分光を用いて、水を多く含む生物試料の中で低分子化合物の fingerprint region の信号を観測し、それによって低分子化合物の局在情報を得る事を試みた。

<方法>

測定には、東京農工大と共同開発中の、位相制御コヒーレントラマン顕微鏡のプロトタイプ機を援用した。CARS観測に付随して生じる非共鳴ノイズ信号を減らして、共鳴CARS信号を抽出するために、位相敏感法（物質特有の共鳴CARS信号は、入射光の位相に応じて強弱が変化するが、非共鳴ノイズ信号は変化しない。これを利用して、位相変化に同調する成分を抽出するもの）、時間分解法（非共鳴ノイズ信号は、3波長の入射光が同時に入射した時のみ生じるが、共鳴CARS信号は、共鳴を起こした分子の振動の寿命の範囲内なら、3波長のうちのプローブと呼ばれる光をずらしても発生する。これを利用して、共鳴信号の信号雑音比を改善するもの）の原理を組み合わせた光学系を組んでいる。

測定のモデル系として、マウスより採取した角膜組織をタウリン溶液に浸漬した試料を測定した。

<結果>

生物組織内での薬剤の測定のモデルケースとして、タウリンを使った。CARSによって fingerprint region での測定を行うと、水溶液で、波数約 1033 cm^{-1} の信号を観測でき、濃度は $6 - 10 \text{ mM}$ 程度まで検出できた。このタウリンを生物組織中で測定する事を目指し、マウスより採取した角膜組織を、タウリン溶液に浸漬し、それをモデルとした。CARS測定をしてみると、角膜の内部からタウリンの信号を検出できた。CARSは多光子過程であるため、従来のラマン散乱を用いた顕微鏡よりも、縦横および深さ方向に高い空間解像度を持つので、それを利用して、z軸(光軸)方向の濃度プロファイルも測定する事が出来た。

CARS顕微鏡は、新しい測定技術なので、従来の従来の定量法との比較も必要である。そこで、凍結、薄切、乾燥した角膜試料で、フーリエ変換赤外分光 (FT-IR) 顕微鏡を用いてタウリンを

定量し、それを CARS 測定と比較してみた。その結果、CARS 顕微鏡と FT-IR 顕微鏡とで、ほぼ同様の濃度プロファイルを得られた。

< 考察 >

CARS 法は FT-IR 法と同等に、生物組織内で、物質濃度の分布を測定するのに使える事が確認できた。赤外線を使う FT-IR 法では、赤外では特に z 軸方向の解像度が低く、また、赤外は水に吸収されるため、組織の薄切、乾燥が必要だったのに対し、CARS では湿潤なままの試料を、薄切せずにそのまま観察する事が出来た。この特徴は、将来的に生きた組織内での小分子の分布を測定する上で、有用であると考えられた。

今回の研究では、外部から過剰量に投与した低分子化合物の濃度分布の測定を行ったが、今後は、更に測定感度を上げて、組織に存在する様々な化合物の中で、特定の物質をどこまで少ない量で検出出来るかを探る事が課題になる。

< 結論 >

CARS (Coherent Anti-Stokes Raman Scattering, コヒーレント反ストークス散乱)分光法を用いて、角膜に外部から投与した低分子化合物を検出し、深さによる濃度分布も測定した。この CARS 分光法による測定は、低分子化合物を、非標識で、湿潤なままの組織で、検出し、分布を可視化する方法として、有用であると考えられる。

論文審査の要旨および担当者

報告番号	乙第 2351 号	川岸 将彦
論文審査担当者	主査 宇尾 基弘 副査 大野 京子、奈良 雅之	
【論文審査の要旨】 1. 論文内容 本論文はコヒーレント反ストークスラマン散乱分光法（Coherent Anti-Stokes Raman Scattering 以下 CARS）を用いて、生体組織中の低分子化合物を非標識で検出同定する方法の開発に関するものである。生体組織での CARS 測定では水分子由来の非共鳴なノイズが妨害するが、その中から特異的な共鳴信号を検出するために、時間分解法、位相敏感法を用いて低分子化合物の検出に成功した。具体的な対象物質としてタウリンを用い、タウリン溶液に浸漬したマウス角膜を測定したところ、角膜内部においてタウリン由来のラマンピークが検出され、深さ濃度分布が可能であることを明示された。 2. 論文審査 <u>1) 研究目的の先駆性・独創性</u> 本研究はこれまでの手法では検出が困難であった低分子量化合物を CARS と呼ばれる特殊なラマン分光法を用いて検出する方法について検討している。生物試料中には多様な化合物が存在し、通常の分光学的手法では妨害物質の影響を除去できず、目標分子の検出が困難となる。CARS は多光子励起による反ストークスラマン散乱現象を用い、加えて励起光の波長と励起タイミングを調整することで、目標分子のみを励起して、高いシグナル／ノイズ比を達成する優れた手法であり、CARS を本研究に応用した申請者の着想は極めて独創性の高い研究と言える。 <u>2) 社会的意義</u> 本研究で得られた主な結果は以下の通りである。 1) 生体に関わる低分子量化合物のモデルとしてタウリンを選択し、約 1033 cm ⁻¹ のラマンピークを対象として CARS による検出感度を評価したところ、濃度は最少 6 - 10 mM 程度まで検出可能であり、それ以上の濃度で濃度と信号強度間に線形性が得られることが判明した。 2) タウリンを含浸させたマウス角膜組織を用いて、角膜内部のタウリンの信号を CARS で検出すること、角膜組織を破壊すること無く、表面から内部までの角膜中タウリンの濃度分布を深さ分解的に評価できることが判明した。 以上のように、申請者は従来法では検出困難な生体組織中の低分子量化合物の非破壊的・位置特異的な分析を、CARS という新たな分光学的手法で可能にしており、本研究結果は基礎医学だけでなく、薬物動態の解析など臨床医学的にも極めて有用な研究成果と考えられた。		

3) 研究方法・倫理観

本研究では低分子量化合物のモデルとして生体内に豊富に分布し、点眼薬の成分としても用いられるタウリンを選択しており、組織モデルとして、透明性が高く分光学的に検出が容易である角膜を選択していることは、極めて理にかなったモデルであり、本実験が周到に準備され綿密な検討がなされたものであることを示している。また CARS の測定には光学装置の深い理解と精密な調整が必要であるが、申請者は共同研究者と共に生物組織の分析に適した CARS の測定装置と最適条件の構築を行っており、高い研究開発能力があることが示されている。

4) 考察・今後の発展性

生体試料に含まれる種々の微量成分の分析は病態解析や薬物動態解析など様々な分野で必要とされているが、物質科学的な実験と異なり、生物試料中の物質分布は不均一であり、三次元的に分布する微量物質を非破壊的に検出する必要がある。山岸の手法は従来法では検出が困難であった低分子量化合物の位置特異的な分析を可能にする試みである。本研究は動物実験に於いてその可能性を明示したものであり、今後、装置の検出感度や分析速度の向上により、病理学、薬理学など多様な分野への応用が期待される結果である。

3. その他

4. 審査結果

以上を踏まえ、本論文は博士(医学)の学位を申請するのに十分価値があるものと認められた。

学位論文の内容の要旨

論文提出者氏名	國分 亮
論文審査担当者	主 査 宇尾 基弘 副 査 原田 浩之 塩田 真
論 文 題 目	<i>In vivo</i> evaluation of a Ti-based bulk metallic glass alloy bar
<p>(論文内容の要旨)</p> <p><緒言></p> <p>バルク金属ガラス合金(以下 BMG)は長周期的な原子配列を持たない金属材料であり、熔融状態の素材を急速冷却し、結晶成長が生じないよう凝固させることで得られる。BMGは不規則な原子配列を有しており滑りの発生が抑制されることから大きな応力が負荷されるまで弾性変形が継続し、そのために通常の結晶質金属に比べて高い降伏強度を示す。さらに結晶粒界が存在しないために、優れた耐腐食性と耐摩耗性を有している。このような特長から BMGは新しい生体材料として注目されており、特に医療領域において広く用いられているチタンをベースとしたものはインプラント用材料としての応用が期待されている。そこで本研究では新しく開発されたチタン基 BMG ($\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Cu}_{34}\text{Pd}_{14}\text{Sn}_2$) について、その基本的な材料特性を明らかにするとともに骨組織への適用を想定しての動物実験を行った。具体的には生体適合性、骨接合性、全身および局所における金属イオンの拡散について評価を実施した。</p> <p><材料と方法></p> <p>動物実験用のチタン基 BMG の試料の大きさは直径 1.5 mm、長さ 4 mm とした。対照試料群用の純チタンは長さ 4 mm に切断して用いた。BMG の構成元素分析は誘導結合プラズマ発光分光分析装置を使用して行った。BMG の構造は X 線回折により解析した。BMG および純チタン試料の表面は走査型電子顕微鏡を使用して観察し、さらに表面粗さを形状測定レーザー顕微鏡により評価した。圧縮試験は材料試験機を使用して歪み速度を $5 \times 10^{-5}/\text{s}$ に設定して実施した。</p> <p>動物実験には雄性 SD ラット、15 週齢、体重 400~450 g を使用し、埋植部位は大腿骨とした。試料を骨内に埋植するために、全身麻酔下で直径 1.6 mm のドリルを使用して両側の大腿骨幹部に骨軸に垂直な骨孔を設けた。BMG 試料群では両側に BMG 試料を埋植し、対照試料群では両側に純チタン試料を埋植した。埋植した 12 週後に採血し、両群の血液サンプルから血清中銅イオン濃度を測定した。また両群から埋入試料を含む骨組織を採材し、固定後に樹脂包埋して薄切片非脱灰硬組織標本を作製した。切片の染色にはトルイジンブルーを用いた。組織標本は光学顕微鏡にて観察・撮像し、画像解析ソフトウェアを利用して定量的解析を行った。測定項目は、材料の骨結合率(インプラントに直接結合している部分の長さをインプラントの外周の長さで除したもの)、および材料表面での骨増生量(インプラント外縁より 200 μm の範囲内に新生した骨組</p>	

織の面積) の二つとした。採取試料における元素分析は、エネルギー分散型 X 線分光法により薄切標本の金属領域と骨組織領域の境界部位にまたがる直線上で行った。さらに埋植試料と骨との結合強度を測定するために、力学試験機で引き抜き試験を行った。負荷速度は 1 mm/min として試料が骨から分離されるまでの荷重-変位曲線を求め結合強度を評価した。測定されたこれらの結果の統計処理にはマン・ホイットニーの U 検定を用いた。p < 0.05 となった場合に BMG 試料群と対照試料群の平均値の間に有意差があると判定した。

<結果>

誘導結合プラズマ原子発光分光法により、作製された BMG 試料を構成する元素の比率は設計どおりになっていることが確かめられた。X 線回折においては緩やかに広がる回折パターンが観察され、結晶相に相当する回折ピークが存在しないことから、金属ガラス特有の不規則な原子配列を有していることが確かめられた。圧縮試験の結果より、降伏強度は 2,000 MPa、弾性変形限界は 2.2%、ヤング率は 93.3 GPa と算出された。走査型電子顕微鏡観察により BMG 試料、純チタン試料のどちらもほぼ同等の滑らかな表面性状を持っていることが示された。

動物実験においては、移植後 12 週における試料採取時の肉眼観察で BMG 試料の周囲に炎症反応は認められず、試料の脱落や移動などもなかった。組織標本観察では BMG 試料と純チタン試料の両者とも周囲を骨組織に囲まれており、周囲組織に炎症性細胞などは認められなかった。骨接合率を評価した結果、BMG 群の平均値は対照群よりもわずかに高かったものの統計的に有意な差は検出されなかった。このことから両群の骨接合率は同程度であることが分かった。また試料周囲の骨増生量については二群間での有意差は無く、周囲の骨への影響も同等であることが分かった。骨結合強度についても両群の間で有意差は無かった。エネルギー分散型 X 線分析の結果より BMG サンプル周囲に金属イオンの拡散はないことが示された。血清中銅イオン濃度において BMG 試料群と純チタン試料群の間に有意差はなかった。これらのことから BMG は純チタンと同等の優れた生体適合性と骨接合性を持つことが示された。

<考察>

チタン基 BMG としては、2007 年に謝らが Ti-Zr-Cu-Pd を作製して金属ガラス形成能を有し高い降伏強度と低いヤング率を示すことを報告している。しかしガラス化のためには急速冷却が必要であり、大きなサイズの製品を作ることが困難であった。そこでこのチタン基 BMG にスズを添加し、より高い活性化エネルギーを持つべく改良が継続された。本研究では結晶化のための活性化エネルギーが 334.3 kJ/mol のチタン基 BMG (Ti₄₀Zr₁₀Cu₃₄Pd₁₄Sn₂) について、その生体材料としての応用可能性を検討している。

BMG は長周期的な原子配列を持たないために結晶性合金よりも高い弾性限界を持つ。また結晶粒界を持たないために優れた耐腐食性、耐摩耗性を有している。本研究でのチタン基 BMG を圧縮試験により評価した結果、降伏強度が 2,000 MPa を超え、弾性変形限界は 2.2% でありヤング率は 93.3 GPa となった。一方、純チタンでは降伏強度は 800 ± 50 MPa、弾性変形限界は < 1%、ヤング率が 100 ± 7 GPa であった。皮質骨の降伏強度が 200 ± 100 MPa、弾性変形限界が < 2%、ヤング率が 40 ± 7 GPa と報告されていることから、本研究のチタン基 BMG は高い降伏強度と低い

ヤング率の点において従来から骨インプラントに使用されている純チタンよりも優れた機械的性質を持っていると考えられる。動物実験結果から、チタン基 BMG は優れた生体適合性と純チタンと同等の骨接合能を持つことが示された。また構成金属元素の周囲組織への拡散が無かったことから、優れた生体適合性を持つことが示された。これらのことからチタン基 BMG の骨に適用されるインプラントの材料としての応用可能性が示唆された。

しかしながら本研究でのチタン基 BMG 合金には銅やスズなどの生体為害性が危惧される金属が含まれており、これらの金属イオンの生体内への拡散の可能性を考慮すると、今後、一層の安全性の確認のために、より長期間での埋入試験での評価が必要であると示唆された。

< 結言 >

開発したチタン基バルク金属ガラス合金 ($\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Cu}_{34}\text{Pd}_{14}\text{Sn}_2$) の基本的な材料特性の評価と動物実験による評価を実施した結果、純チタンよりも格段に高い降伏強度を有していること、そして純チタンと同等の優れた生体適合性および骨接合性を持つことが示された。また埋入後3ヶ月においてもインプラントを構成する金属イオンの拡散はみられなかった。これらのことから、本材料は骨に適用するインプラント材料としての可能性を持つことが示された。

論文審査の要旨および担当者

報 告 番 号	乙 第 2353 号	國分 亮
論文審査担当者	主 査 宇尾 基弘 副 査 原田 浩之 塩田 真	
論 文 題 目	<i>In vivo</i> evaluation of a Ti-based bulk metallic glass alloy bar	
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>バルク金属ガラス合金（以下BMG）は不規則な原子配列を有しており、滑りの発生が抑制されることから通常の結晶質合金に比べて高い降伏強度を持つ。また結晶粒界が存在しないために優れた耐腐食性と耐摩耗性を有している。しかしながらその製造にあたっては結晶が成長しないよう急速に冷却し凝固させる必要があるため、大きなサイズの製品を作製することが出来ず実用化は困難とされていた。しかし最近になって高い活性化エネルギーを持ち結晶化し難いように設計された合金の開発が進められ、従来よりも大きな製品が作製可能になりつつある。このような状況を背景として、國分は生体材料として広く用いられているチタンをベースとして新しく開発されたチタン基BMG（$Ti_{40}Zr_{10}Cu_{34}Pd_{14}Sn_2$）について、その基本的な材料特性を明らかにするとともに骨組織への適用を想定し動物実験を行った。このように研究テーマの設定には新規性があり、研究の意義も大きい。</p> <p>実験においては、まず作製した材料の構成元素およびアモルファス構造を誘導結合プラズマ発光分光分析装置（ICP-AES）と X 線回折装置（XRD）によって確認した。次に走査型電子顕微鏡（SEM）で表面形状を観察し、レーザー顕微鏡（LM）にて表面粗さ（RMS）を測定した。また力学特性は圧縮試験によって測定した。</p> <p>動物実験では、SD 系ラットの左右大腿骨骨幹部中央に骨の長軸に対して垂直な貫通孔を直径 1.6 mm のドリルにて穿孔し、BMG 試料もしくは対照材料の純チタン試料を埋植した。いずれの試料も寸法は直径 1.5 mm 長さ 4 mm とし、埋植期間は 12 週間とした。</p> <p>12 週後に採血して血清中の銅イオン濃度を測定した。また周囲組織とともに試料を採材し、非脱灰薄切標本を作製しトルイジンブルー染色にて光顕観察後、画像解析により骨接合率及びインプラント周囲新生骨面積の評価を行った。さらにエネルギー分散型 X 線分析（EDX）によって試料からの周囲組織への金属イオンの拡散を評価した。また試料の引抜き試験により、試料と骨との結合強度を測定した。測定された結果の統計処理にはマン・ホイットニーの U 検定を用い、$p < 0.05$ となった場合に実験試料群と対照試料群の平均値の間に有意差があると判定した。これらの実験方法は妥当であり、実験計画は周到に計画され準備されたものと認められる。</p> <p>本研究で得られた主な結果は以下のとおりである。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 試料の構成元素解析および構造解析より、作製した試料は設計されたとおりの組成とアモ 		

ルファス構造を持つチタン基金属ガラス合金であることが確認された。

- ・力学試験により、作製した試料は純チタンよりも格段に高い降伏強度を持つことが確認された。
- ・動物実験により、作製した試料が純チタンと同等の骨接合率および骨結合強度をもつことが確かめられた。
- ・動物実験により、作製した試料から周囲組織への金属イオンの拡散はほとんど無く、優れた生体適合性を持つことが示された。

これらの結果より、國文は本研究のチタン基 BMG ($\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Cu}_{34}\text{Pd}_{14}\text{Sn}_2$) 合金が、骨組織に適用されるインプラントの材料として可能性があるとし、また含有する銅やスズといった生体為害性の危惧される金属イオンの溶出の可能性を考慮すると、実用化のためには更なる組成条件の改良や長期埋入実験での安全性の確認が必要であると考察している。これらの考察および結論は妥当であるものと評価できる。

このように本研究は新しいチタン基 BMG ($\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Cu}_{34}\text{Pd}_{14}\text{Sn}_2$) 合金が純チタンより格段に高い降伏強度を持つとともに、純チタンと同等の骨接合性、骨結合強度、生体適合性を備えており、骨組織に適用される新しい金属材料として応用できる可能性を示した。これらの研究成果は生体材料学における貴重な知見であり、新たな医療デバイスの開発に寄与するところ大と評価できる。よって、本論文は博士（学術）の学位を請求するのに十分価値があるものと認められた。

学位論文の内容の要旨

論文提出者氏名	高橋 直美
論文審査担当者	主査 本田 彰子 副査 田上 美千佳 松島 英介
論文題目	精神科救急病棟における患者・医療者の感情活用に関する考察 ～援助関係の形成と患者の回復に焦点を当てて～
<p>(論文内容の要旨)</p> <p><はじめに></p> <p>日本の精神科医療においては、地域医療の拡充と質の高い急性期医療の確保が急務となっている。</p> <p>研究者が精神科急性期病棟で行った先行研究によって、患者は精神症状に対する恐怖、同意によらない入院への怒り、将来の生活に対する不安などの否定的な感情を蓄積させている場合が多く、そのことが援助関係の形成や主体的な治療参加を阻害していることが明らかになった。また、医療者も患者から否定的な感情を投げかけられることによって否定的な感情を抱く場合が多く、そのことが患者の回復支援への無力感や諦めにつながっていた。従って、急性期医療の質的向上には患者、医療者が抱く否定的な感情の軽減、解消が不可欠であると考えられた。</p> <p>サロベイ等による感情知性理論は、否定的な感情を察知・識別し、感情が生じた背景を理解し、調整・管理することによって、人間関係上の問題解決を図ろうとするものである。また宮本は、否定的な感情への注目を糸口に援助関係の形成を図るための方法として、「異和感の対自化」を提案している。</p> <p>本研究では、感情知性や異和感の対自化の理論と方法に依拠しながら、精神科救急病棟の入院患者と医療者が、感情に目を向け、感情の理解を深め、感情を率直に表現し活用していくことすなわち感情活用が、援助関係の形成や病からの回復に及ぼす影響について明らかにすることを目的としている。</p> <p><研究方法></p> <p>本研究の研究デザインは、アクションリサーチの方法による質的研究である。</p> <p>研究者は、フィールドワークを行いながら、医療者に対してはグループで、患者に対しては個別に、感情活用の態度を身に付けることを目的とした学習支援のための介入を行った。さらには、介入の影響について明らかにするため、半構造化面接を実施した。患者の社会的背景や病気の経過については、診療録、看護記録から情報収集を行った。これらの過程を通じて得られたデータに、質的・帰納的分析を加えた。</p> <p>調査対象施設としては、首都圏にある精神科病院の精神科救急入院料病棟（以下 A 病棟）を選択した。調査対象者は A 病棟の医療者及び入院中の患者のうち、研究に同意が得られた者とした。</p>	

患者については認知症と未成年の患者を除き、言語的コミュニケーションが可能で、研究者が入院時からかわりを持つことができ、主治医、病棟師長、担当看護師の許可を得られた者に研究協力の依頼を行った。

本研究は研究対象施設及び東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会（受付番号 856、承認 2010 年 10 月 26 日）の承認を受け、承認された内容に従って実施した。

<結果>

本研究には、医療者 21 名、患者 6 名のからの協力が得られた。

1. 医療者に関する調査結果

調査協力の得られた医療者は 21 名であった。

研究者が介入を始める以前から、患者に言動の振り返りを促す目的で自分の感情を患者に伝えるよう心掛けていた医療者はいたが、意識的に否定的感情に目を向け、その意味理解に努めてきた医療者は存在しなかった。医療者はまた、感情表現への馴染みのなさ、否定的感情を表現すると批判を浴びるのではないかという恐れ、医療者は患者に対して否定的感情を抱くべきではないという役割意識などから、否定的感情の表現に消極的な態度を示す医療者がいた。一方で医療者は、医療不信や急性症状から、医療者に否定的感情をぶつける患者と日常的に接することによって、患者を理解し回復の見通しを立てることに困難を覚えていた。その結果、精神科救急医療への取り組みそのものに落胆、当惑、不安全感を抱いて、患者と理解し合えることへの可能性に悲観的となり、目的意識をもって否定的感情を表現する機会は限定されていた。しかし、一度抱いた否定的感情はなかなか解消しないため、否定的感情には目を向けず耐えしのぐことや、患者との関わり以外の場面で発散するという対処を行っていた。

研究者による介入の結果、対象者は患者支援の過程で多くの感情を味わっていることに気づき、それらの感情はその意味を理解し表現することによって受容が可能になり、否定的感情は緩和されるに至った。その結果、自分と患者それぞれの心情や、相互の関係性についての理解を深め視野を拡大させながら、感情活用による援助関係の形成という新たな患者支援の構えを身に付けていくことができた。医療者の中には、自分が患者に対して様々な否定的感情を抱いていたという気づきに戸惑い、否定的感情の率直な表現には消極的となる者もいたが、研究者との仲間意識や信頼感の形成によって、患者支援の新たな構えを身に付けることができた。

2. 患者に関する調査結果

介入以前の患者は、感情活用に馴染みがないため、病気の体験や臨床状況に起因した不快感の抑圧や抑制を重ねた後に、怒りや嫌悪を爆発させていた。介入の結果、患者は自分の抱えている不快感には様々な否定的感情が入り混じっていることに気づき、個々の否定的感情を識別し率直に表現することによる不快感の緩和を体験することができた。こうして患者は、漠然とした不快感に包まれた状態から抜け出す過程で、徐々に現実感を取り戻していった。感情活用の態度が馴染んでいくことにより、患者は自己の言動へのコントロール感覚を回復し、病からの回復に期待を抱きながらセルフケアに取り組むことができるようになった。中には感情活用の態度に馴染みきれない患者や、一時的に気分変動や病状再燃をきたした患者もいたが、研究者への親密感や信頼感を通じた援助関係の深化が、セルフケアの始動を後押しした。

<考察>

医療者が感情活用に困難を覚えた理由として、介入以前の医療者は感情活用に馴染みがなく、感情を表現する言葉を持っていなかったことがあげられる。また、精神科救急医療の場で患者から投げかけられる強烈な否定的感情は、時とすると外傷体験をもたらす可能性があり、否定的感情から目を逸らすことによって、医療者は身を守ろうとしていたと考えられる。さらには、医療者は患者に否定的感情を抱くことも表現することも禁じられているという固定観念へのとらわれが、感情表現の困難をもたらしていたという事情が示唆された。すなわち、否定的感情への抑圧的な感情管理という規範の根深い浸透が、医療者に負担を強いていると考えられた。

感情活用にに向けた介入によって、医療者は否定的感情の多様性を実感し、自らの感情の意味理解と率直な表現によって、否定的感情を緩和させながら患者理解を深め、援助関係を形成できるようになっていった。そのことから、入院期間の短い急性期治療においても、感情活用によって早期に患者理解の糸口を見出せば、患者との相互理解に基づいた支援を展開できると考えられる。精神科救急の場に身を置く限り、スタッフが精神的疲弊や外傷体験を被るリスクは伴うが、自他の感情への敏感さを高め、患者との間で率直に感情を表現し合いながら、否定的感情を緩和していくことは可能と言える。

一方で、患者は感情活用の態度を身に付けることによって、医療者と同様に否定的感情を緩和させることができていた。患者は更に、感情活用への取り組みを通じて、回復に向けたセルフケアに主体的に取り組む、そのことが病に対する無力感から脱し、自信を取り戻すことにつながっていったと考えられる。このことから、医療者が患者の感情を認め表現を促し共有する機会を確保していくことが重要であると考えられる。

医療者、患者の双方が並行して感情活用に取り組むことにより、感情語という共通言語を用いたコミュニケーションを図る機会が確保される。そして、立場や体験の違いを越えて対等な立場から援助関係を形成することが可能となり、相互理解に根差した回復への道筋が描けるようになると考えられる。

医療者・患者は、感情活用の態度が身に付くにつれて、否定的感情を緩和させるとともに、患者はセルフケアを始動することができていた。すなわち感情活用は、患者にとってはストレス対処としてのセルフケアの機会、医療者にとっては自らのストレス対処であると同時に、患者のセルフケア支援の機会となると考えられる。

医療者、患者が感情活用の態度を身に付けるためには、感情について安全に語れる機会の確保が重要であり、患者に対しては心理教育の中に、医療者に対しては研修やカンファレンスの中に感情活用を取り入れた教育的な支援が必要であると考えられる。

<結論>

精神科救急医療に携わる医療者は、感情を表現する語彙の乏しさ、外傷体験を回避したい思い、役割意識にとらわれた感情管理などの傾向によって、感情活用に困難を来たしていた。本研究における研究者の介入によって、医療者は自らの感情体験への注目、理解、表現を通じて、患者との相互理解に根差した援助関係の形成が可能になっていった。

患者は、感情活用によって否定的感情が緩和し、自己や状況への理解の深化や自己コントロール感覚の回復に根ざすセルフケアの始動に至り、失われた自信を取り戻していた。

医療者、患者は、感情という共通体験の確認と、感情語という共通言語の獲得を通じて、対等な

コミュニケーションの機会を共有するようになっていた。また、感情活用の態度は、医療者、患者の双方にとって、否定的感情の緩和と問題解決というストレス対処の2大目標の実現に寄与していた。

医療者、患者が感情活用の態度を身に着けるためには、安心して感情を語れる場と学習の機会を保証していく必要がある。

論文審査の要旨および担当者

報告番号	甲第 2351 号	高橋 直美
論文審査担当者	主査 本田 彰子 副査 田上 美千佳 松島 英介	
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>本論文の申請者は、精神科急性期病棟における怒りや怖れを抱き不安定で苦悩のただなかにある患者と、そのような状況で看護するために抱く否定的感情に悩まされる看護師の双方に目を向け、否定的感情の軽減、解消の必要性を感じた。そして、本研究では医療者-患者関係において感情を率直に表現し、活用することが援助関係の形成や病から回復にどのような影響を与えるのを明らかにすることを目的として取り組んだ。研究は医療職に対しては、感情活用に関する集団への教育介入を実施し、患者に対しては感情を表すことを促進する個別指導を行い、面接による質的データを分析する方法をとった。</p> <p>医療職 21 名、患者 6 名に対して介入と調査を行った。医療者調査のデータは質的に分析され構造化され、《患者支援における感情表現の困難さ》から、介入後に《感情活用による患者支援の始動》へと至る過程に、否定的感情との向き合い方の再考・研究者の関わりによる安心感が影響していることを示した。また、患者への介入においては、同様の構造が示され《回復過程における感情表現の困難さ》から、介入後に《感情活用によるセルフケアの始動》に至っており、同様の要素が影響し、自己コントロール感・自信の回復につながり、医療の場において安心して感情を語れる場が確保されることになっていた。このように、感情活用を目指した介入が急性期病棟での援助に効果的であることが示された。</p> <p>公開審査においては、研究の概要、および成果について資料を用いてプレゼンテーションを行ったのち、質疑応答を行った。感情活用について、対象ごとの感情活用の方法の特徴について等の質問に対して、適切に説明することができ、本研究の着目点の独創性や精神科救急医療分野における看護援助の質向上に貢献することも理解できた。</p>		

学位論文の内容の要旨

論文提出者氏名	渡辺 雄一郎
論文審査担当者	主査 三木 義男 副査 北川 昌伸、稲澤 譲治
論文題目	Autophagy controls centrosome number by degrading Cep63
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>【要旨】</p> <p>中心体数は、染色体分配や、ゲノム安定性に非常に重要な意味をもっている。これまで、中心体数の制御は、ユビキチン-プロテアソーム系の蛋白分解システムが行っていると考えられてきた。本研究において我々は、オートファジー欠損細胞が過剰な数の中心体を有していることを見出し、オートファジーも中心体数の制御に関わっていることを発見した。オートファジーによる中心体数の制御は、中心体構成タンパクの1つであるCep63の分解を介して行われており、野生型細胞ではオートファジーによって余剰なCep63が分解されている。しかしながら、オートファジー欠乏細胞ではCep63が細胞質に蓄積し、その結果、中心体複製に異常をきたし中心体数が過剰になる。さらに、Cep63は選択的オートファジーの基質認識分子であるp62と結合することも明らかにした。生体内においても、オートファジー欠損マウスやp62欠損マウスの血球系細胞で中心体数の増加を認めた。これらの結果は、オートファジーがCep63を介して中心体の数を制御していることを示している。</p> <p>【緒言】</p> <p>中心体は、細胞有糸分裂期に微小管形成中心として重要な役割を持つ、細胞小器官の一つである。細胞分裂前期に、中心体は細胞内の対極に移動し、それぞれが染色体分裂の紡錘体の極となる。それゆえ、中心体数の異常は、染色体不等分裂を引き起こし、結果としてゲノム不安定性をもたらす。通常、細胞G1期において、中心体は、2個の中心小体1組とそれを取り囲む周辺物質からなり、その数は、主にユビキチン-プロテアソーム系の蛋白分解システムによって厳密に制御されると言われてきた。</p> <p>マクロオートファジー（以後、オートファジー）は、ダメージを受けた細胞内タンパク質や小器官をオートファゴソームが取り囲み、リソソームと融合し消化する機構である。オートファジーは、細胞ストレスや飢餓状態等で促進される非選択的な消化機構であると以前は考えられていたが、近年の研究の進歩によって、選択的な消化も行っている（選択的オートファジー）ことが明らかになってきた。</p> <p>これまで、オートファジーの分子的機能は、変異酵母菌やマウスを使って調べられてきた。Ulk1</p>	

はオートファジーの初期段階に主要な分子である。まず、PI3kinase複合体の活性化により隔離膜が形成される。次にATG5-12系あるいはLC3系によって、オートファゴソームによる標的の囲み込みが行われる。オートファゴソームとリソソームが融合し、オートリソソームとなり、囲み込んだ標的を消化分解する。また、選択的オートファジーにおいて、p62は基質認識因子として機能している。

我々は、*Atg5*欠損マウス線維芽細胞(MEF)を電子顕微鏡で詳細に観察する中で、これらのMEFは過剰な中心体を有していることを発見した。そこで我々は、中心体の数は、ユビキチン-プロテアソーム系だけでなく、オートファジーによっても制御されているのではないかと考えた。さらに我々は、オートファジー欠損細胞が過剰なCep63ドットを有すること発見し、これが中心体数の過剰につながると考えた。同様の結果は*p62*欠損MEFにおいても認められた。また、生体内においても、オートファジー欠損あるいは*p62*欠損マウスの血球系細胞で中心体数の増加を認めた。我々はこの研究において、オートファジーがCep63を介して中心体の数を制御していることを示す。

【結果】

オートファジーが中心体数の制御に関与していることを確認するために、我々はまず、中心体タンパクであるytubulinの免疫染色により、野生型マウスおよび*Atg5*欠損マウス由来のMEFの中心体を染色し、中心体の数を数えた。通常、中心体の数は1個あるいは2個であるため、1つの細胞に3個以上の中心体を有する細胞は異常と考えられる。野生型MEFでは、ほとんどの細胞が2個以下の中心体を有しているのに対して、*Atg5*欠損MEFでは3個以上の中心体を有する細胞が約18%認められた。また、同様の結果は、野生型MEFに対するオートファジー阻害剤添加やオートファジー関連遺伝子のノックダウンにおいても観察された。これらの結果から、オートファジーは中心体数の制御に関与していることが明らかとなった。

*Atg5*欠損MEFにおける中心体数の異常に関与する中心体構成分子を同定するために、我々は様々な中心体構成タンパクをytubulinとともに、野生型および*Atg5*欠損MEFに染色し、詳細に観察した。その中で、中心体構成タンパクの1つであるCep63が特徴的な染色所見を示した。Cep63は、中心小体が2倍化する際の初期に機能するタンパクである。野生型MEFにおいて、Cep63ドットのほとんどがytubulinと共局在したのに対して、*Atg5*欠損MEFでは、ytubulinと共局在しないCep63ドット (extra Cep63) を多数認めた。

次に我々はこの、ytubulinと共局在しないCep63タンパクが、オートファジーにより除去されているかどうかを調べた。リソソームによるタンパク質分解を薬剤により阻害した野生型MEFにおいて、Lamp2とCep63を免疫染色すると、extra Cep63の多くが、Lamp2陽性小胞に囲まれていることが観察された。また、ytubulin染色陽性の中心体は、Lamp2陽性小胞に囲まれなかった。これは、野生型MEFにおいて、extra Cep63がオートファジーによって分解されている可能性を示唆する結果であった。

このCep63の分解にオートファジーの基質認識分子p62が関与するかについて解析を行った。GFP-p62を発現させた*Atg5*欠損MEFにおいて、Cep63とytubulinを免疫染色すると、ytubulinと共局在しないCep63のみp62と共局在することがわかった。p62とCep63のより詳細な関連性を

調べるため、p62抗体とGFP-Cep63あるいはFlag-Cep63を用いた免疫沈降法を行った。すると、GFP-Cep63およびFlag-Cep63ともにp62によって免疫沈降される結果を得た。また、p62欠損MEFに免疫染色を行うと、extra Cep63や過剰な数の中心体を認めた。p62のどのドメインがCep63との結合に重要であるかを解析するために、PB1、Zinc、UBAドメインを欠損させたmutant p62タンパクを用いて、中心体数やCep63との共局在を解析した。その結果、Zinc fingerドメインが、Cep63との結合に重要であることが明らかになった。

最後に、生体内での、オートファジーによる中心体数の制御を解析した。造血系および肝細胞特異的Atg7欠損マウスの脾臓細胞および骨髄赤芽球の中心体数をγtubulin免疫染色で調べると、野生型マウスに比べて明らかに過剰中心体を持つ細胞数の増加が確認された。同様の結果はp62欠損マウスにおいても観察された。さらに、Atg5欠損マウスの脱核後の赤血球系細胞において、通常はほとんど存在しない中心体が残存している細胞が多く認められた。これは、オートファジーが赤血球における中心体のクリアランスに関与することを示唆している。このように、生体内においても、中心体数はオートファジーに制御されていることが示された。

【考察】

今回我々は、選択的オートファジーが中心体数に関わるタンパク分解システムに関与していることを示した。おそらく、選択的オートファジーとユビキチン-プロテアソーム系の両方によって、それぞれが特定の分子を標的にした分解を行い、中心体数の制御を行っていると考えられる。オートファジーはどのようにして中心体数を制御しているのだろうか。はじめに我々は、完成（成熟）した中心体の余剰なものが出現した場合にオートファジーによって処理されることを予想した。しかし、成熟中心体はp62によって認識されず、オートリソソーム中に取り込まれることもなかった。したがって、成熟中心体は、オートファジーの標的にはならないと結論した。そのかわりに、オートファジー欠損細胞におけるCep63の異常な数や分布を発見し、この異常なCep63がp62に認識されオートリソソームに取り囲まれる、つまりCep63を介してオートファジーが中心体数を制御することがわかった。

これまでCep63は母中心小体の基部で機能すると報告されてきたが、今回ノコダゾール添加Atg5欠損MEFを観察すると多くのCep63が成熟中心体の近傍に存在した。つまり多数のCep63タンパクが母中心小体の近傍で産生されるのかもしれない。そしてこのCep63の大部分が、オートファジーが機能している細胞ではほとんど分解され、中心体の数が制御されているのかもしれない。一方、オートファジー欠損細胞では、この多数のCep63タンパクがp62に認識されCep152など他の中心体形成に関わるタンパク質とは結合せず成熟中心体は形成しない、しかしその中でいくつかのextra Cep63が中心体形成に関わるタンパク質と結合することで成熟中心体を形成し、結果的に異常な数の中心体が発生することになると考えられた。

【結論】

我々は、オートファジーによる中心体数の制御という新しい知見を発見した。

論文審査の要旨および担当者

報告番号	乙第 2354 号	渡辺 雄一郎
論文審査担当者	主査 三木 義男 副査 北川 昌伸、稲澤 譲治	
【論文審査の要旨】		
1. 論文内容		
本論文はオートファジーが Cep63 を介して中心体を制御するという、オートファジーの新規機能を報告した論文である。		
2. 論文審査		
<u>1) 研究目的の先駆性・独創性</u>		
中心体は、染色体分配やゲノム安定性に非常に重要な役割を持っている。これまで、中心体の制御は、ユビキチン-プロテアソーム系の蛋白分解システムが行っていると考えられてきた。今回、申請者は、オートファジーと中心体制御の新規関連について解析を行っており、その着眼点は評価に値するものである。		
<u>2) 社会的意義</u>		
本研究で得られた主な結果は以下の通りである。		
1. オートファジー欠損細胞が過剰な数の中心体を有していることを見出した。		
2. オートファジーによる中心体制御は中心体構成タンパクである Cep63 の分解を介して行われており、また、 Cep63 は選択的オートファジーの基質認識分子である p62 と結合することを示した。		
3. 生体内においても、オートファジー欠損マウスや p62 欠損マウスの血球系細胞で中心体数の増加を認めた。		
以上のように申請者は、オートファジーによる中心体制御を明らかにし、これはゲノム安定性を規定する中心体制御機構を解明する上で有用な研究成果であると言える。		
<u>3) 研究方法・倫理観</u>		
研究では、まず、オートファジー欠乏細胞の詳細な観察により、中心体に関する新規現象を見出し、細胞株を用いた解析、マウス生体内の解析を進め、高度な細胞生物学及び生化学的な知識と解析技術を駆使し遂行されており、申請者の研究方法に対する知識と技術力が十分に高いことが示されると同時に、本研究が極めて周到な準備の上に行われてきたことが窺われる。		
<u>4) 考察・今後の発展性</u>		
さらに申請者は、本研究結果について、選択的オートファジーとユビキチン-プロテアソーム系の両方によって、それぞれが特定の分子を標的にした分解を行い、中心体数の制御を行っていると考えられると考察している。これは先行研究と照らし合わせても極めて妥		

当な考察であり、今後の研究にてさらに発展することが期待される。

3. その他

4. 審査結果

以上を踏まえ、本論文は博士（医学）の学位を申請するのに十分な価値があるものと認められた

学位論文の内容の要旨

論文提出者氏名	西澤 真人
論文審査担当者	主査 磯部 光章 副査 下門 顕太郎、吉田 雅幸
論文題目	A COMPARISON OF THE REGIONAL CIRCULATION IN THE FEET BETWEEN DIALYSIS AND NON-DIALYSIS PATIENTS USING INDOCYANINE GREEN ANGIOGRAPHY
<p>(論文内容の要旨)</p> <p><要旨></p> <p>末梢動脈疾患を合併した透析患者において、インドシアニングリーン血管撮影検査(indocyanine green angiography; ICGA)を用いた足部局所循環を評価するための定量的指標の確立と、この検査法の有用性について検討した。対象は当科で2012年11月から2014年3月までに末梢動脈疾患に対する血行再建前にICGAを施行した62例で、そのうち透析患者20例、非透析患者42例であった。検査方法は足部より20cm離れた箇所にCCDカメラ(Photodynamic Eye™, Hamamatsu Photonics K.K., Hamamatsu, Japan)を設置し、肘静脈より0.1mg/kgのICG溶液を静脈注射した後、約5分間にわたって観察、録画した。この画像をもとに関心領域(region of interest; ROI)を設定し、ショパール関節部(ROI1)、リスフラン関節部(ROI2)、第1趾基節骨部(ROI3)に設定した。定量的指標としては、ICG最大輝度(I_{max})、ICG蛍光開始から最大輝度までの到達時間(T_{max})、最大輝度の半分までにICGが蛍光するまでの時間(T_{1/2})、最大輝度から最大輝度の90%に低下するまでの時間(T_{d90%})を設定した。重症虚血肢(critical limb ischemia; CLI)群と間歇性跛行(intermittent claudication; IC)群の比較では全てのROIにおいてT_{max}とT_{d90%}で有意差を認め、ROI2とROI3のT_{1/2}に有意差を認めた。CLI群をさらにRutherford 4と5+6に分けて比較したが、どのROIでも有意差は認めなかった。透析、非透析症例での比較ではROI1においてT_{d90%}、ROI3においてT_{max}、T_{1/2}、T_{d90%}で有意差を認めた。</p> <p>本研究では、透析症例においても、T_{max}、T_{1/2}、T_{d90%}が末梢動脈疾患の重症度の判定に有用であると考えられた。</p> <p><緒言></p> <p>慢性腎臓病は末梢動脈疾患(peripheral arterial disease; PAD)の独立した危険因子とされ、維持透析患者のPAD合併の頻度は11.5～37.8% (平均25.3%)と極めて高率であると報告されている。また透析患者のPADは、非透析患者と比較して重症虚血肢(critical limb ischemia: CLI)に陥りやすく、下肢大切断率が有意に高い。透析CLI群では非透析CLI群に比し5年生存率が有意に低く早期介入が必要と考えられている。透析CLI群では末梢側に病変分布があり、特に足</p>	

動脈弓に重症病変を認めるという特徴がある。

インドシアニングリーン (indocyanine green; ICG) は近赤外線の高光源として、臨床的には蛍光生体イメージングに用いられ、肝機能のマーカーや光力学的治療の光感受性物質としても用いられる。さらに ICG はアルブミンに代表される血清タンパク質と結合し、血管内腔に広がる特徴がある。インドシアニンググリーン蛍光造影法(indocyanine green angiography; ICGA)により、組織灌流の微細かつ情報量の多い画像を得ることができること、さらにそれにより組織灌流の状態を定量的に評価することが可能となった。

我々は、ICGA を用いて透析・非透析 PAD 患者における足部局所循環の違いについて、透析患者における ICGA の有用性について検討した。

<方法>

対象は、2012年11月より2014年3月にまでに当科で血行再建術を施行した末梢動脈疾患 62 例で、透析：20 例、非透析：42 例であった。検査方法は足部より 20cm 離れた箇所に CCD カメラ(Photodynamic Eye™, Hamamatsu Photonics K.K., Hamamatsu, Japan)を設置し、肘静脈より 0.1mg/kg の ICG 溶液を静脈注射した後、約 5 分間にわたって観察、録画した。この画像をもとにショパール関節部 (ROI1)、リスフラン関節部 (ROI2)、第 1 趾基節骨部 (ROI3) に設定し、部位別に解析した。定量的指標としては、ICG 最大輝度(I_{max})、ICG 蛍光開始から最大輝度までの到達時間(T_{max})、最大輝度の半分までに ICG が蛍光するまでの時間(T_{1/2})、最大輝度から最大輝度の 90%に低下するまでの時間 (T_{d90%}) を設定した。各指標を CLI 群と間歇性跛行 (intermittent claudication; IC) 群、透析群と非透析群、CLI 症例のうち Rutherford4 と 5+6 に分けてそれぞれを透析群、非透析群で比較し、各種解析結果はマンホイットニーの U 検定を用いて統計学的解析を加えた。

<結果>

透析群 20 例の平均年齢は 66 歳、非透析群 42 例の平均年齢は 71 歳で、患者背景や併存症では透析群の方が、ヘモグロビン、アルブミン値が有意に低かった。また、ABI(Ankle brachial pressure index)、TBI (Toe brachial pressure index) や TP (toe pressure) などの血行動態の指標は 2 群間に有意差は認めなかった。さらに、CLI 群と IC 群の比較では全ての ROI において T_{max} と T_{d90%}で有意差を認め、ROI2 と ROI3 の T_{1/2} に有意差を認めた。CLI 群をさらに Rutherford 4 と 5+6 に分けて比較したが、どの ROI でも有意差は認めなかった。透析、非透析症例での比較では ROI1 において T_{d90%}の中央値が透析群 49.3 秒 (4.9-117.6 秒)、非透析群 34.3 秒 (9.6-89.4 秒) で有意差を認め (p 値 0.003)、ROI3 において T_{max} の中央値が透析群 80.0 秒 (17.2-327.6 秒)、非透析群 40.6 秒 (17.4-279.8 秒)、T_{1/2} の中央値が透析群 18.9 (8.1-95.1 秒)、非透析群 15.4 秒 (7.2-125.8)、T_{d90%}の中央値が透析群 22.0 秒 (0.7-54.8 秒)、非透析群 13.4 秒 (0.2-60.3 秒) でそれぞれ有意差を認めた。p 値はそれぞれ <0.001、<0.001、0.021 であった。

<考察>

本研究では T_{max} 、 $T_{1/2}$ 、 $Td90\%$ が透析症例における末梢動脈疾患の重症度判定に有用であると考えられた。これまでの我々の経験では、 I_{max} のような ICG の輝度に関係する指標は ABI と相関関係がなく、 T_{max} 、 $T_{1/2}$ 、 $Td90\%$ を含む ICG を注射してからの時間の指標が ABI、TBI や TP と相関していることを示した。本研究でも、これまでの結果と同様に透析症例においても局所循環と T_{max} 、 $T_{1/2}$ 、 $Td90\%$ のような時間軸の指標が相関関係にあった。透析群と非透析群の比較では血行動態的には、明らかな違いは認めなかったが、透析群は非透析群に比し、より重症度が高かった。それゆえ、ICGA の指標は血行動態だけでなく、臨床所見も反映していると考えた。重症の血管疾患を有する透析患者では下肢に小さな AVF を有すると報告されており、臨床所見の違いは小さな AVF により引き起こされていることを我々は推測した。これまでの報告通り、特に $Td90\%$ のような時間軸の指標が、臨床所見をよく反映しており、透析症例と非透析症例を比較で、ICGA の指標が血行動態の指標と相関関係にあり、ICGA は臨床重症度の評価に有用であることが考えられた。

本研究にはいくつかの制限がある。ひとつは症例数が少ないことで、もう一つは炎症の存在により、ICGA は局所循環を過大評価してしまう傾向にあることだ。これらが今後の課題として考えられるが、ICGA は透析患者と非透析患者の比較において、末梢動脈疾患の血行動態評価だけでなく、臨床重症度の評価においても有用であった。

<結論>

本研究では、透析症例においても、 T_{max} 、 $T_{1/2}$ 、 $Td90\%$ のような指標が虚血肢の重症度の判定に有用であると考えられた。今後の研究で、とりわけ CLI 患者においてこれらの指標の信頼性を評価することが望まれるが、ICGA の定量的評価を用いた我々の研究が透析患者と非透析患者との比較のための臨床的診断手法として役立つのではないかと信じている。

論文審査の要旨および担当者

報告番号	乙第 2355 号	西澤 真人
論文審査担当者	主査 磯部 光章 副査 下門 顕太郎、吉田 雅幸	
【論文審査の要旨】		
1. 論文内容		
インドシアニンググリーン (ICG) を用いて透析患者における足部虚血の評価を行い、その効果について検討した論文である。		
2. 論文審査		
<u>1) 研究目的の先駆性・独創性</u>		
透析患者における足部虚血の評価は臨床上重要である。この研究は ICG 血管撮影検査を用いて、非侵襲的に足部局所循環を定量的に評価することの効果について検討を行ったものである。その着眼点については評価に値する。		
<u>2) 社会的意義</u>		
維持透析患者の末梢動脈疾患の合併頻度は極めて高く、非透析患者に比して、下肢大切断率が高い。ICG は近赤外線蛍光源としてイメージングに用いられているが、それを用いた血管撮影は非侵襲性であり、虚血領域が可視化できる点で臨床的に価値があり、社会的意義があると言える。研究成果として透析症例では傾向開始から最大輝度までの時間 (Tmax)、最大輝度の半分までに蛍光が減衰するまでの時間 (T1/2)、最大輝度からその 90% に低下するまでの時間 (Td90) がいずれも透析症例で、非透析例よりも低下を認めた。従って、透析症例においても本法が末梢動脈疾患の重症度の判定に有用であることが示された。		
<u>3) 研究方法・倫理観</u>		
血行再建を行う透析(20名)および非透析(42名)の末梢動脈疾患患者に ICG 血管撮影検査を行った。CCD カメラにて ICG 静注後の輝度変化を観察して、評価した。本手法は十分な解剖学的、外科的技術の裏付けのもとに行われており、申請者の研究方法に対する技術力が高いことが示されると同時に、周到な準備のうえに行われてきたことが窺われる。臨床研究として倫理的な問題の無い研究である。		
<u>4) 考察・今後の発展性</u>		
研究者は透析症例においても本法が末梢動脈疾患の重症度の判定に有用であることが示されることを考察している。これは妥当な結論と考察であり、今後さらに臨床への応用が期待される結		

果である。

3. その他

無し

4. 審査結果

以上を踏まえ、本論文は博士（医学）の学位を申請するのに十分な価値があるものと認められた。