

氏名 Ni Nengah Dwi Fatmawati  
授与した学位 博士  
専攻分野の名称 医学  
学位授与番号 博甲第 4670 号  
学位授与の日付 平成24年12月31日  
学位授与の要件 医歯薬学総合研究科社会環境生命科学専攻  
(学位規則第4条第1項該当)

学位論文題目 Phospholipase C Produced by *Clostridium botulinum* Types C and D: Comparison of Gene, Enzymatic, and Biological Activities with Those of *Clostridium perfringens* Alpha-toxin  
(ボツリヌスCおよびD型菌が産生するホスホリパーゼCとウエルシュ菌 $\alpha$ 毒素の遺伝子および生物学的活性の比較)

論文審査委員 教授 山田 雅夫 教授 草野 展周 教授 大原 直也

#### 学位論文内容の要旨

*Clostridium botulinum* type C and D strains have been reported to produce opacity around their colonies on egg yolk agar, which was suggested as a phospholipase C (PLC) activity. Until now, only alpha-toxin produced by *Clostridium perfringens* is well investigated among bacterial PLCs. To confirm that *C. botulinum* types C and D produce PLC (Cb-PLC) and to determine the enzymatic and biological activities of Cb-PLC, we sequenced predicted-*cb-plc* genes from eight strains employed, cloned *cb-plc* from type D-1873 as the representative gene, and then constructed and expressed the recombinant Cb-PLC as a GST-fusion protein. The enzymatic and biological activities of Cb-PLC were examined and compared with those of alpha-toxin. We found that each of *cb-plc* genes consisted of 1,200 nucleotides that encoded a 399 amino acid residue-immature protein. The protein consisted of 2 domains, the N- and C-domains, and the overall amino acid sequence identity between Cb-PLC and alpha-toxin was more than 50%, suggesting that Cb-PLC is a homolog of the alpha-toxin. The key residues in the N-domain was conserved, while those in the C-domain were not conserved compared with those of alpha-toxin. Cb-PLC showed PLC activities on egg yolk agar, egg yolk solution, and p-NPPC, and sphingomyelinase activity. It also demonstrated hemolytic on rabbit erythrocytes. However, the enzymatic and biological activities of Cb-PLC were somewhat weaker than those of the alpha-toxin. It is speculated that Cb-PLC might play a role in botulism pathogenesis, especially to assist the passage of neurotoxins through intestinal cells membrane, or in providing nutrition for bacterial life.

#### 論文審査結果の要旨

本研究は、ボツリヌスCおよびD型菌が産生するホスホリパーゼC (Cb-PLC) とウエルシュ菌 $\alpha$ 毒素の遺伝子および生物学的活性について研究したものである。まず、8種の株について Cb-PLC 遺伝子の塩基配列を決定し、代表株についてクローニングし組み換え Cb-PLC を発現した。次に組み換え Cb-PLC の各種酵素活性と溶血活性をウエルシュ菌 $\alpha$ 毒素のものと比較した。その結果、Cb-PLC 遺伝子は、399 アミノ酸の毒素蛋白をコードし、その前方に 27 残基のシグナルペプチドが存在する。この毒素蛋白は、NドメインとCドメインから構成され、ウエルシュ菌 $\alpha$ 毒素と50%以上のアミノ酸配列が同一で、Cb-PLC はウエルシュ菌 $\alpha$ 毒素のホモログであることが想定された。Nドメインの重要なアミノ酸は両方で保存されていたが、Cドメインの膜との相互作用に重要なアミノ酸は両方で保存されていなかった。予想された通り、組み換え Cb-PLC 蛋白は、卵黄リン脂質、人工基質 p-NPPC、スフィンゴミエリンを水解する酵素活性と溶血能を示したが、これらの活性はウエルシュ菌 $\alpha$ 毒素より弱いことが示された。

よって、本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。

氏名	藤 中 和 三
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博乙第 4385号
学位授与の日付	平成24年12月31日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)

学位論文題目 Effects of Propofol on Left Ventricular Mechanoenergetics in the Excised Cross-circulated Canine Heart  
(イヌ摘出交叉灌流心標本におけるプロポフォルの左室メカノエナジェティクスに与える影響)

論文審査委員 教授 成瀬 恵治 教授 伊藤 浩 教授 大月 審一

#### 学位論文内容の要旨

Propofolは静脈麻酔薬として広く臨床使用されているが、左室メカノエナジェティクスに及ぼす影響は明確でない。我々はイヌ摘出交叉灌流心標本の冠動脈内にPropofolを注入し、左室収縮期末圧容積関係の勾配 ( $E_{max}$ ) の変化と、それに伴う  $VO_2$  の変化を収縮期圧容積面積 (PVA) -  $VO_2$  関係を用いて検証した。Propofol注入安定後に左室容量を負荷して  $E_{max}$ ・PVA- $VO_2$  関係を測定し、左室容量を固定してPropofolを注入負荷して各濃度におけるPVA- $VO_2$  関係を測定し、Caを用いて同様に測定した。Propofol濃度上昇に伴い  $E_{max}$  は容量依存的に低下した。PropofolはPVAの酸素コストには影響せずに  $E_{max}$  の酸素コストに与える影響はCaと同等であり、Propofolはメカノエナジェティクスの上ではCaブロッカーかβブロッカーと同等である事が示唆された。

#### 論文審査結果の要旨

Propofolは静脈麻酔薬として広く臨床使用されているが、左室メカノエナジェティクスに及ぼす影響は明確でない。本研究ではイヌ摘出交叉灌流心標本の冠動脈内にPropofolを注入し、左室収縮期末圧容積関係の勾配 ( $E_{max}$ ) の変化と、それに伴う  $VO_2$  の変化を収縮期圧容積面積 (PVA) -  $VO_2$  関係を用いて検証した。Propofol注入安定後に左室容量を負荷して  $E_{max}$ ・PVA- $VO_2$  関係を測定し、左室容量を固定してPropofolを注入負荷して各濃度におけるPVA- $VO_2$  関係を測定し、Caを用いて同様に測定したところ、Propofol濃度上昇に伴い  $E_{max}$  は容量依存的に低下した。PropofolはPVAの酸素コストには影響せずに  $E_{max}$  の酸素コストに与える影響はCaと同等であり、Propofolはメカノエナジェティクスの上ではCaブロッカーかβブロッカーと同等である事を示した価値ある業績であると認める。

よって、本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。

氏名	岩戸英仁
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博乙第 4386 号
学位授与の日付	平成24年12月31日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)

学位論文題目      Role of VEGF and matrix metalloproteinase-9 in peritumoral brain edema associated with supratentorial benign meningiomas  
(テント上良性髄膜腫の周囲脳浮腫におけるvascular endothelial growth factor (VEGF) とmatrix metalloproteinase-9 (MMP-9)の役割)

論文審査委員      教授 阿部 康二 教授 吉野 正 准教授 大橋 俊孝

#### 学位論文内容の要旨

良性髄膜腫においてMMP-9が周囲脳浮腫に関与することが最近報告されているが、MMP-9と他の浮腫因子との解析は十分に行われていない。今回我々は、60例のテント上良性髄膜腫で、年齢、性別、腫瘍サイズ、pial blood supplyの有無、組織亜型といった臨床的特徴と、VEGFとMMP-9の発現を周囲脳浮腫との関係で検討した。VEGFとMMP-9の発現は免疫染色にて解析した。Pial blood supplyとVEGFの発現は、浮腫の有無と浮腫の程度の指標となるedema indexと有意な相関を示した。MMP-9の発現はedema indexとの間に相関傾向を認め、pial blood supplyの存在とVEGFの発現に有意に相関した。さらにVEGFとMMP-9が共に高発現の腫瘍ではedema indexも有意に高かった。MMP-9の発現がVEGFの発現やpial blood supplyの存在に介在し、周囲脳浮腫を促進させる可能性が示唆された。

#### 論文審査結果の要旨

本研究は、良性髄膜腫において周囲脳浮腫に関与するMMP-9と他の浮腫因子との解析を行うことを目的として計画された。方法は60例のテント上良性髄膜腫の摘出標本を対象として、年齢、性別、腫瘍サイズ、pial blood supplyの有無、組織亜型といった臨床的特徴と、VEGFとMMP-9の発現を免疫組織化学的に腫瘍摘出前脳MRI上の周囲脳浮腫との関係で検討したものである。その結果、pial blood supplyとVEGFの発現は、浮腫の有無と程度の指標となるedema indexと有意な相関を示した。またMMP-9の発現はedema indexとの間に相関傾向を認め、pial blood supplyの存在とVEGFの発現に有意に相関した。さらにVEGFとMMP-9が共に高発現の腫瘍ではedema indexも有意に高かった。すなわち本研究によりMMP-9の発現がVEGFの発現やpial blood supplyの存在に関与し、周囲脳浮腫を促進させる可能性が示唆されたものである。

よって本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。

氏名 中司 敦子  
授与した学位 博士  
専攻分野の名称 医学  
学位授与番号 博乙第 4387 号  
学位授与の日付 平成24年12月31日  
学位授与の要件 博士の学位論文提出者  
(学位規則第4条第2項該当)

学位論文題目 Vaspin Is an Adipokine Ameliorating ER Stress in Obesity as a Ligand for Cell-Surface GRP78/MTJ-1 Complex  
(バスピンは細胞表面のGRP78/MTJ-1複合体のリガンドとして作用し、肥満における小胞体ストレスを軽減するアディポカインである)

論文審査委員 教授 竹居 孝二 教授 大内 淑代 准教授 大橋 俊孝

#### 学位論文内容の要旨

肥満における脂肪組織では小胞体ストレスが亢進していることは報告されているが、アディポカインが小胞体ストレスを制御するかどうかは知られていない。我々は以前、肥満で脂肪組織に発現が亢進する遺伝子バスピンを同定した。本研究においてバスピンはメタボリックシンドロームにおける糖脂質代謝異常を改善することを遺伝子改変マウスで示し、またその作用機序を明らかにした。

バスピントランスジェニックマウスでは高脂肪食飼育による体重増加や脂肪肝、糖・インスリン負荷時の血糖上昇が有意に抑制された。また肝臓でGRP78発現やIRE1 $\alpha$ リン酸化、eIF2 $\alpha$ リン酸化が抑制され小胞体ストレスが軽減していた。逆にバスピノックアウトマウスでは、体重増加や脂肪肝の増悪、インスリン抵抗性の悪化を認め、肝臓における小胞体ストレスが増悪していた。我々はバスピンがGRP78と結合することを発見し、さらに肥満などの小胞体ストレス増強下ではGRP78が小胞体から細胞膜表面に移行し、アンカープロテインであるMTJ-1と複合体を形成して形質膜に局在していることを証明した。バスピンは肝形質膜のGRP78/MTJ-1複合体に結合して、その下流シグナルのAktやAMPKリン酸化を亢進させることでインスリン抵抗性を改善し、また肝臓の小胞体ストレスを軽減することを明らかにした。

#### 論文審査結果の要旨

肥満や2型糖尿病において脂肪組織でバスピンの発現が亢進することが知られている。本研究では、遺伝子改変マウスを用いてバスピンはメタボリックシンドロームにおける糖質代謝異常を改善することを示し、またその作用機序を明らかにした。バスピントランスジェニックマウスでは高脂肪食飼育による体重増加、脂肪肝、糖負荷時の血糖上昇が抑制され、逆にバスピノックアウトマウスでは体重増加や脂肪肝の増悪、インスリン抵抗性の悪化を認めた。バスピンはGRP78に結合することを*in vitro*で示し、さらに、肝細胞表面においてバスピンがGRP78/MTJ-1複合体に結合するとAktやAMPKのリン酸化が亢進されることを示し、これらのシグナル経路により、糖新生、脂肪酸合成が抑制されることを示唆した。

本研究は、肥満、2型糖尿病の分子病態について新しい知見を示した点で価値ある業績である。よって本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。

氏名 花山 宣久  
授与した学位 博士  
専攻分野の名称 医学  
学位授与番号 博乙第 4388 号  
学位授与の日付 平成24年12月31日  
学位授与の要件 博士の学位論文提出者  
(学位規則第4条第2項該当)

学位論文題目 Losartan/Hydrochlorothiazide Combination Therapy Surpasses High-dose Angiotensin Receptor Blocker in the Reduction of Morning Home Blood Pressure in Patients with Morning Hypertension  
(ロサルタン/ヒドロクロロチアジドは高用量ARBより早朝高血圧患者の早朝家庭血圧の降圧において優れる)

論文審査委員 教授 千堂 年昭 教授 光延 文裕 准教授 草野 研吾

#### 学位論文内容の要旨

アンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)は高血圧治療における第一選択薬とされているが、常用量で十分な降圧を達成できないことも多く、セカンドラインの降圧薬が重要になっている。本研究は、ARBとサイアザイド利尿薬との併用療法と高用量ARBとで、早朝血圧における降圧効果を比較検討した。常用量のARBを含む治療で早朝収縮期血圧が135mmHg以上の高血圧患者48名が登録され、ロサルタン/ヒドロクロロチアジド群(26名)と高用量ARB群(22名)に割り付けされた。観察期間は3ヵ月間で、その間の降圧薬の変更は行わなかった。3ヵ月後の早朝収縮期血圧・早朝拡張期血圧の低下度は、ロサルタン/ヒドロクロロチアジド群で有意に大きかった(いずれも $p < 0.05$ )。有害事象はロサルタン/ヒドロクロロチアジド群で23.1%、高用量ARB群で9.1%だったが、両群間に有意差は認めなかった。本研究において、ロサルタン/ヒドロクロロチアジドは、常用量ARBでコントロール不十分な早朝高血圧患者の早朝血圧の降圧において、高用量ARBより優れていた。

#### 論文審査結果の要旨

本研究は、アンジオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)、ロサルタンとサイアザイド系利尿薬、ヒドロクロロチアジドの併用療法と高用量ARBを早朝収縮期血圧の降圧効果を比較した研究成果である。

その結果、3ヵ月後の早朝収縮期血圧・早朝拡張期血圧の低下度は、併用群で有意に大きく、有害事象は併用群で23.1%、高用量ARB群で9.1%で有意差は認めない。

高血圧の中でも特に早朝高血圧は心血管イベントのリスクが高い事がわかっており、常用量ARBにて早朝高血圧のコントロールが不良な高血圧患者において、ARBとサイアザイド系利尿薬の組み合わせが優れていることを示した。本研究成果はARB単一で降圧目標の達成が困難な症例に対して、今後の治療戦略の指針に繋がるものとして価値ある業績であると認める。

よって、本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。

氏名	大野直幹
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博乙第 4389 号
学位授与の日付	平成24年12月31日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)

学位論文題目      Usefulness of Balloon Angioplasty for the Right Ventricle-Pulmonary Artery Shunt with the Modified Norwood Procedure)  
(ノーウッド手術に伴う右室肺動脈シャントに対するバルーン血管形成術の有効性)

論文審査委員      教授 伊藤 浩   教授 王 英正   准教授 大藤 剛宏

#### 学位論文内容の要旨

ノーウッド手術に伴う右室肺動脈 (RV-PA) シャント狭窄に対するバルーン血管形成術 (BAP) の有効性について検討した。1998年2月-2010年3月に RV-PA シャントの狭窄による重篤な低酸素血症を来した22例 (単心室系17例、additional flow5例) を対象とした。血管造影検査で狭窄部位を遠位部、近位部、シャント内部の3つに分類、BAP 前後の狭窄部径を測定、いずれも有意に拡大した。また平均動脈血酸素飽和度も有意に上昇し、単心室症例は平均6ヶ月半、体重5.6kgで全例BDGへ、additional flow5例のうち、3例は二心室修復術へ、1例はフォンタン手術 (TCPC) へ、もう1例はTCPC待機中。重篤な低酸素血症を来したRV-PA シャント狭窄に対するBAPはシャントの各部位で有効であり、全ての症例で術後早期の緊急手術を避け、適切な時期に計画的に次回手術を施行する事ができ、有効であった。

#### 論文審査結果の要旨

本研究は左心低形成症候群に対するノーウッド手術後の右室肺動脈シャントの狭窄に対するバルーン形成術の有効性を検討したものである。これは1998年に岡山大学が世界に先駆けて行った手技でもある。2010年3月までに22症例に施行し、全例で合併症なく良好なシャントの開大を得た。血行動態や低酸素血症の有意な改善が認められた。再狭窄もなく、次の外科的処置まで良好な経過であった。ノーウッド手術後に右室肺動脈シャントの狭窄が進行すると低酸素血症が進行し、緊急手術を要することもある。このような症例に対してバルーン形成術を行うことで緊急手術を回避でき、待機的な手術へのブリッジとして非常に有効である。その意味で臨床的な価値の高い論文である。

よって、本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。

氏名	松下公紀
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博乙第 4390 号
学位授与の日付	平成24年12月31日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)

学位論文題目 Effect of Taurine on Acinar Cell Apoptosis and Pancreatic Fibrosis in Dibutyltin Dichloride-induced Chronic Pancreatitis  
(ジブチルチンジクロライド誘発慢性膵炎での膵房細胞のアポトーシスと膵線維化に対するタウリンの効果)

論文審査委員 教授 山本 和秀 教授 八木 孝仁 准教授 小阪 淳

#### 学位論文内容の要旨

膵線維化と膵房細胞のアポトーシスとの関連は、十分な解明はされていない。我々は、ジブチルチンジクロライド (DBTC) による慢性膵炎モデルにおいて、タウリンが抗線維化作用を有することを報告した。しかし、膵房細胞のアポトーシスに対するタウリンの効果は、未だ不明である。そこで、我々は、DBTC 誘発慢性膵炎と膵房細胞株 AR42J において、タウリンの有無におけるアポトーシスを調べた。DBTC の単回投与で膵線維化を誘導した。ラットに、タウリン含有飼料または、普通飼料を与え、5 日目に犠牲死させた。膵房細胞株 AR42J は、DBTC の有無、タウリンクロラミンを加えて、培養した。アポトーシスは、TUNEL 法を用いて検出した。AR42J 細胞溶解液の Bad、Bcl-2 蛋白発現は、ウエスタンブロット法で検出した。DBTC 誘発ラットの膵房細胞のアポトーシスインドックスは、有意に増加した。DBTC に誘発された膵線維化と膵房細胞のアポトーシスは、タウリン投与により抑制された。膵房細胞株 AR42J の TUNEL 陽性細胞数は、DBTC 投与で有意に増加し、タウリンクロラミン添加により、改善した。結論として、実験慢性膵炎モデルにおいて、タウリンは、膵房細胞のアポトーシスと膵炎を抑制した。

#### 論文審査結果の要旨

本研究では、Dibutyltin Dichloride(DBTC)惹起慢性膵炎モデルにおけるタウリンの膵房細胞のアポトーシスと膵線維化に対する効果について検討した。

DBTC をラットに投与すると膵房細胞の減少と膵線維化を認めた。膵房細胞の減少にはアポトーシスが関与していた。一方、タウリン投与群では膵の線維化及びアポトーシスが減少していた。また膵房培養株である AR42J 細胞に DBTC を添加すると Bad 蛋白の増加、Bcl-2 蛋白の減少を認めたが、タウリンクロラミンを培養液に添加すると、その変化が改善された。しかし、タウリンそのものにはその作用がなかった。慢性膵炎実験モデルにおいて、タウリンのアポトーシス抑制作用と線維化抑制作用を示した点で興味深い。

よって本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。