

博士学位論文

内容の要旨及び審査の結果の要旨

長崎大学総務部発行

(号外 第161号) 平成15年9月30日

| 学位記番号             | 学位の種類  | 氏名    | 本籍  | 学位授与年月日      | 学位論文題目                                                                                                                                                                                                                                   | 頁  |
|-------------------|--------|-------|-----|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 博士(医)甲<br>第1,106号 | 博士(医学) | 河野 哲也 | 大分  | 平<br>15.7.23 | Cysteinyl Leukotrienes Induce NF- $\kappa$ B Activation and RANTES Production in a Murine Model of Asthma<br>(システイニルロイコトリエンはマウス喘息モデルにおいて、NF- $\kappa$ Bを活性化し RANTESの産生を亢進させる)                                                            | 4  |
| "<br>第1,107号      | "      | 金子 幸弘 | 長崎  | 平<br>15.8.27 | Clarithromycin inhibits overproduciton of muc5ac core protein in murine model of diffuse panbronchiolitis<br>(クラリスロマイシンは、びまん性汎細気管支炎類似マウスモデルにおける muc5ac コア蛋白の過剰産生を抑制する)                                                                   | 5  |
| "<br>第1,108号      | "      | 藤井 仁人 | 広島  | 平<br>15.9.17 | SATB1 Makes a Complex with p300 and Represses gp91 <sup>phox</sup> Promoter Activity<br>(SATB1はp300と複合体を形成し gp91 <sup>phox</sup> 遺伝子の転写活性を抑制する)                                                                                          | 6  |
| "<br>第1,109号      | "      | 中島 コト | 長崎  | 平<br>15.9.17 | Proteciton of mitochondrial perturbation by human T-lymphotropic virus type I tax through induction of Bcl-xL expression<br>HTLV-I taxはBcl-xL発現を誘導し、ミトコンドリア依存性アポトーシスを抑制する                                                                | 7  |
| 博士(医)乙<br>第1,691号 | "      | 加治屋勇二 | 鹿児島 | 平<br>15.7.31 | A Long-Term Follow-Up Analysis of Serial Core Promoter and Precore Sequences in Japanese Patients Chronically Infected by Hepatitis B Virus<br>B型慢性肝疾患の長期経過における HBV コアプロモーターおよびプレコア領域の解析                                                 | 9  |
| "<br>第1,692号      | "      | 重野 賢也 | 長崎  | 平<br>15.7.31 | Iterferon- $\alpha$ sensitizes human hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis through DR5 upregulation and NF- $\kappa$ B inactivation<br>IFN- $\alpha$ はTRAIL-Receptor2 (DR5)の発現増強及びNF- $\kappa$ B活性の抑制を介し肝癌細胞における TRAIL 誘導アポトーシスを増強する | 10 |

| 学位記番号             | 学位の種 類 | 氏 名   | 本 籍 | 学位授与年 月 日      | 学 位 論 文 題 目                                                                                                                                                                                                                                        | 頁  |
|-------------------|--------|-------|-----|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 博士(医)乙<br>第1,693号 | 博士(医学) | 三島 陽子 | 福 岡 | 平<br>15. 7 .31 | ENHANCED EXPRESSION OF HEAT SHOCK PROTEIN 47 IN RAT MODEL OF PERITONEAL FIBROSIS<br>(ラット腹膜線維症モデルにおける heat shock protein 47 (HSP47)の発現増強について)                                                                                                       | 11 |
| "<br>第1,694号      | "      | 廣瀬 涉  | 長 崎 | 平<br>15. 8 .31 | Age-associated increases in heme oxygenase -1 and ferritin immunoreactivity in the autopsied brain<br>ヒト脳におけるヘムオキシゲナーゼ1とフェリチンの加齢変化                                                                                                                 | 13 |
| "<br>第1,695号      | "      | 濱田 芳人 | 長 崎 | 平<br>15. 8 .31 | Factors affecting the family support system of patients with schizophrenia: A survey in the remote island of Tsushima<br>(統合失調症患者に対する家族の支援態勢への影響要因—離島・対馬を対象地域として—)                                                                                 | 14 |
| "<br>第1,696号      | "      | 麻生 憲史 | 福 岡 | 平<br>15. 8 .31 | Emergence of Rifampin-Resistant <i>Rhodococcus equi</i> with Several Types of Mutations in the <i>rpoB</i> Gene among AIDS Patients in Northern Thailand<br>タイ国北部地域の AIDS 患者における, 数タイプの <i>rpoB</i> 遺伝子変異を伴ったリファンピシン耐性 <i>Rhodococcus equi</i> の出現 | 15 |
| "<br>第1,697号      | "      | 野口 学  | 長 崎 | 平<br>15. 8 .31 | Biocompatibility of Poly2-methoxyethylacrylate Coating for Cardiopulmonary Bypass : X coating (poly2-methoxyethylacrylate) 人工心肺回路の生体適合性                                                                                                            | 16 |
| "<br>第1,698号      | "      | 坂本 一郎 | 長 崎 | 平<br>15. 9 .30 | Intrahepatic biloma formation (bile duct necrosis) after transcatheter arterial chemoembolization<br>肝癌に対する経カテーテルの動脈塞栓術後に生じた肝内 biloma の検討                                                                                                          | 17 |
| "<br>第1,699号      | "      | 真崎 宏則 | 長 崎 | 平<br>15. 9 .30 | Possible Relationship of PFGE Patterns of <i>Moraxella catarrhalis</i> between Hospital-and Community-Acquired Respiratory Infections in a Community Hospital<br>(市中病院における院内呼吸器感染症と市中呼吸器感染症との間の <i>Moraxella catarrhalis</i> の PFGE パターンの関連性)      | 19 |
| 博士(歯)甲<br>第117号   | 博士(歯学) | 山口 慶治 | 愛 媛 | 平<br>15. 9 .30 | Effects of stressful training on human pain threshold<br>(ヒト疼痛閾値へのストレス性訓練の影響)                                                                                                                                                                      | 20 |
| 博士(薬)甲<br>第51号    | 博士(薬学) | 牛 亜梅  | 中 国 | 平<br>15. 9 .17 | IL-13R $\alpha$ 1 と結合する新規蛋白, IL13RBP1 のクローニングおよび機能解析                                                                                                                                                                                               | 22 |

| 学位記番号           | 学位の種類  | 氏名        | 本籍   | 学位授与年月日        | 学位論文題目                                                                  | 頁  |
|-----------------|--------|-----------|------|----------------|-------------------------------------------------------------------------|----|
| 博士(海)甲<br>第242号 | 博士(工学) | 林 文忠      | 中国   | 平<br>15. 9 .18 | 多入力 DC-DC コンバータに関する研究                                                   | 25 |
| 博士(生)甲<br>第20号  | 〃      | ダワァ ガンバット | モンゴル | 平<br>15. 9 .18 | Laminar Heat Transfer in Non-Newtonian<br>Plane Poiseuille-Couette Flow | 26 |

河野 哲也

(大分県) 昭和45年7月4日生

授与年月日 平成15年7月23日

主論文 Cysteinyl Leukotrienes Induce NF- $\kappa$ B Activation and RANTES Production in a Murine Model of Asthma  
(システイニルロイコトリエンはマウス喘息モデルにおいて、NF- $\kappa$ Bを活性化しRANTESの産生を亢進させる)  
Tetsuya Kawano, Hiroto Matsuse, Yuki Kondo, Ikuko Machida, Sachiko Saeki, Shinya Tomari, Kazuko Mitsuta, Yasushi Obase, Chizu Fukushima, Terufumi Shimoda, Shigeru Kohno  
Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2003, 掲載予定  
長崎大学医学部内科学第二教室  
(主任：河野 茂教授)

#### 論文内容の要旨

##### 緒言

システイニルロイコトリエン (cysLTs) は強力な気管支収縮物質であるとともに、血管の透過性亢進や粘液産生亢進も来す気管支喘息の病態において重要なケミカルメディエーターである。近年、気管支喘息における cysLTs とサイトカインとの関連を示唆する報告が相次いでいるが、その詳細については未だ明らかではない。今回我々はマウスを用いた気管支喘息モデルにおいて、cysLTs がアレルギー性気道炎症と抗原刺激特異的サイトカイン産生に与える影響について検討を行った。

##### 対象

4週齢の雌 BALB/c マウスを用いて四群を作成した。

##### 方法

*Dermatophagoides farinae* (Df) 精製抗原を抗原として用い、水酸化アルミニウムをアジュバントとして全群とも Day1, 14 に腹腔内感作を施行した。腹腔内感作のみの群を Control 群 (Cont), これに加えて Df 抗原を Day14, 16, 18 に経鼻的に暴露を行った群をダニアレルゲン感作群 (AS) とした。AS 群の処置に加え、Day13 から 19 にかけて連日 cysLTs 受容体拮抗剤である Pranlukast を皮下投与した群を Pranlukast 群 (Pr1), ステロイド剤である Dexamethasone を皮下投与した群を Dexamethasone 群 (Dex) とした。全群とも Day20 に whole body plethysmography を用いてメサコリン吸入に対する気道過敏性を測定したのち、Day21 に頸椎脱臼死させ、肺組織を採取し

た。H&E 染色に加え、肺組織より単核細胞 (MNCs) のみを分離し、無刺激 (medium), Df 抗原刺激 (Df), ロイコトリエン刺激 (LT), Df 抗原とロイコトリエンの同時刺激 (Df+LT) の四種類の条件下で培養し、MNCs から産生されるサイトカイン、ケモカインについて検討を行った。さらに、MNCs について核内転写因子である NF- $\kappa$ B の活性を測定した。

##### 結果と考察

AS 群は Cont 群に比べメサコリン吸入に対する気道過敏性の亢進を示していた。Pr1 群ではこの気道過敏性が有意に抑制され、Dex 群では Cont 群とほぼ同等にまで抑制されていた。

正常な組織像である Cont 群に比べ、AS 群の肺組織では好酸球を含む著明な炎症細胞の浸潤、気道の収縮、粘液産生の亢進が認められており、このような炎症性の変化は Pr1 群では抑制されており、Dex 群ではさらに強く抑制されていた。

MNCs 培養上清中の IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-5, は無刺激 (medium) では全て測定感度以下であったのに対し、Df 刺激下では AS 群の MNCs は Cont 群に比べて有意な産生亢進を来たしており、Pr1 群ではこの Df 刺激によるサイトカイン産生亢進が有意に抑制されており、Dex 群ではさらに強く抑制されていた。LT 単独刺激では何れのサイトカインも全ての群において全く産生されなかった。LT+Df の同時刺激ではどの群においても Df 単独刺激とほぼ同等の結果であった。

これに対し、MNCs 培養上清中の RANTES については Df 刺激についてはサイトカインと同様の結果を認めていたが、LT 単独刺激にて AS 群で産生亢進を認めており、この産生亢進は Pr1 群では抑制されていたが Dex 群では抑制を認めなかった。Df+LT ではそれぞれの単独刺激と比べ相加的に産生亢進を認めていた。

培養上清回収後の MNCs より核蛋白を抽出し、NF- $\kappa$ B p65 の活性を測定した。Cont 群に比べて AS 群では著明な活性化亢進を認めており、Pr1 群、Dex 群では活性化が抑制されていた。また LT 刺激そのものによる NF- $\kappa$ B の活性化を検討したところ Pr1 群以外では LT 刺激による NF- $\kappa$ B の活性化亢進を認めており、AS 群では他の群に比べてより活性化が亢進していた。

今回の我々の検討により、マウス喘息モデルにおいて cysLTs 受容体拮抗剤は *in vivo* でアレルギー性気道炎症を抑制した。cysLTs は肺から分離した MNCs に対して直接的にはアレルゲン特異的サイトカイン産生作用を示さないが、RANTES を産生させ、NF- $\kappa$ B を活性化させることが示され、これらの反応は cysLTs 受容体拮抗剤によって抑制を認めたため、cys

-LTs 受容体を介した反応であることが示された。

結 語

cysLTs はアレルギー性の気道炎症において、気道の収縮、血管透過性の亢進、粘液産生の亢進といった直接的作用だけでなく、肺組織において NF- $\kappa$ B の活性化により RANTES 産生を亢進させていることが示された。この cysLTs による RANTES 産生亢進は気道炎症を増悪させているものと思われた。

論文審査の結果の要旨

1. 研究目的の評価

本研究はマウス喘息モデルを用いて、グニ抗原誘発喘息におけるロイコトリエンの役割とその拮抗薬の標的分子を明らかにすることを目的としており、研究目的は充分妥当である。

2. 研究手法に関する評価

既に確立されたマウス喘息モデルを使用しており、気道過敏性の評価法、サイトカイン、ケモカインの定量法、NF $\kappa$ B の活性化の測定法も最新の確立された手法を用いており妥当である。

3. 解析・考察の評価

本研究においてロイコトリエンが喘息モデルマウス気道浸潤細胞より NF $\kappa$ B の活性化を介して RANTES の産生を誘導することが初めて明らかにされた。今後ロイコトリエン拮抗薬の薬理作用の評価や臨床効果の判定に極めて重要な知見と考えられる

以上のように、本論文は喘息の病態の解明と喘息治療薬の開発に貢献するところが大きく、審査委員は全員一致で博士（医学）の学位に値するものと判断した。

|       |     |     |         |
|-------|-----|-----|---------|
| 審査担当者 | 主 査 | 教 授 | 片 山 一 朗 |
|       | 副 査 | 教 授 | 江 口 勝 美 |
|       | 副 査 | 教 授 | 近 藤 宇 史 |

金 子 幸 弘

(長崎県) 昭和47年 4 月29日生

授与年月日 平成15年 8 月27日

主 論 文 Clarithromycin inhibits overproduction of muc5ac core protein in murine model of diffuse panbronchiolitis (クラリスロマイシンは、びまん性汎細気管支炎類似マウスモデルにおける muc5ac コア蛋白の過剰産生を抑制する)  
Yukihiro Kaneko, Katsunori Yanagihara, Masafumi Seki, Misuzu Kuroki, Yoshitsugu Miyazaki, Yoichi Hirakata, Hiroshi Mukae, Kazunori Tomono, Jun-ichi Kadota, Shigeru

Kohno  
American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 2003, oct; 285 (4): L847-853  
長崎大学大学院医学研究科内科系専攻  
(指導教授：河野 茂教授)

論文内容の要旨

緒 言

長期マクロライド療法は、びまん性汎細気管支炎 (DPB) に対するきわめて効果的な治療法であり、患者の予後を著しく改善した。気道粘液 (ムチン) の過剰分泌は本疾患の特徴の一つであり、マクロライドは気道分泌の抑制に大きく関与しているが、その作用機序については不明である。本研究では、DPB 類似のマウス慢性気道感染症モデルを用いて、ムチンの主要なコア蛋白である muc5ac に対するマクロライドの抑制効果ならびにその作用機序について検討した。

対象と方法

実験動物は、ddY 系、6 週齢、雄、SPF マウスを用いた。菌株は、臨床分離ムコイド型緑膿菌株 NUS10株を用いた。菌を付着させた 3 mm の長さに切断したチューブを、経口的にマウスの気管支内に留置することで感染を惹起した。感染後7日目より、マクロライドの一つであるクラリスロマイシン (CAM, 10mg/kg/日) を経口投与した。対照群には生理食塩水を投与し、それぞれ7日間投与を行ったのち、検体を採取した。

組織学的には AB-PAS 染色を用いて評価し、ウェスタンブロッティング (WB) および RT-PCR 法を用いて、muc5ac の蛋白および mRNA レベルでの発現を検討した。

CAM の細胞内伝達機構に及ぼす効果について解明するため、mitogen-activated kinase (MAPK) の一つである extracellular signal-regulated kinase (ERK) 1/2 について検討した。ERK1/2 およびリン酸化 ERK1/2 に関しては WB を用いて解析した。さらに、muc5ac の発現における ERK1/2 の関与を確認するため、ERK1/2 のリン酸化阻害薬である PD98059 を感染 7 日目に投与し、対照群には dimethylsulfoxide (DMSO) のみ投与した。投与翌日に検体を採取し、WB により muc5ac の産生を比較した。

結 果

感染後のマウスの肺では AB/PAS 陽性細胞を多数認め、ムチンの過剰産生が観察された。また、経時的に muc5ac の産生が増加し、4 日目から14日目において持続的に過剰産生されていた。また、CAM 投与は AB-PAS 陽性細胞を減少させ、蛋白および mRNA レベルの両方において muc5ac の抑制効果を認めた。CAM 投与群と対照群との間で肺内生菌数に有意差を

認めなかった。

muc5ac が抑制される機序として、ERK1/2 について検討した。感染後に ERK1/2 のリン酸化を認めたが、CAM 投与により ERK1/2 のリン酸化が抑制された。また、ERK1/2 のリン酸化阻害薬である PD98059 は、muc5ac の産生を抑制しており、CAM の作用に ERK1/2 のリン酸化の制御が関与していることが示唆された。

考 察

気道におけるムチンは、宿主の病原体に対する初期の防御因子として重要な役割を果たしている一方で、その過剰分泌は細菌の定着に関連するなど生体防御において不利な側面も有している。ムチンの主要なコア蛋白である MUC5AC の過剰分泌は、気管支喘息、嚢胞性線維症、慢性気管支炎においては報告されているが、DPB に関する解析は行われていない。

今回の検討では、muc5ac の過剰産生が、慢性気道感染症において、緑膿菌の定着に関与している可能性が示唆された。ムチンのコア蛋白に対するマクロライドの効果については報告されておらず、今回明らかになった *in vivo* における CAM の muc5ac 抑制作用は、新しい知見である。

さらに、CAM の作用機序についても検討を行った。muc5ac は、NF- $\kappa$ B や AP-1 などの転写因子により制御されていることが知られている。また、CAM がこれらの転写因子を抑制するとの報告もある。本モデルにおいて、MAPK の一つである ERK1/2 のリン酸化が感染によって促進され、CAM 投与により抑制された。さらに、ERK のリン酸化阻害薬が muc5ac の産生を抑制したことは、CAM が ERK1/2 を含む細胞内伝達機構に作用していることを強く示唆した。

本研究は、*in vivo* において muc5ac の発現機序ならびに CAM による抑制機序を解明し、マクロライドの DPB に対する作用機序の一部を説明しようものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

1. 研究目的の評価

びまん性汎細気管支炎 (DPB) は慢性難治性呼吸器疾患の代表的なものであり、気道粘液 (ムチン) の過剰分泌が本疾患の特徴の一つとなっている。一方、長期マクロライド療法は患者の予後を著しく改善し、気道分泌の抑制に関与するとされるがそのメカニズムは不明であった。本研究は DPB 類似のマウス慢性気道感染モデルを用いて、ムチンの主要なコア蛋白である muc5ac に対するマクロライドの抑制効果を検討し、その作用メカニズムを明らかにしようとしたものであり目的は十分に妥当である。

2. 研究手法に関する評価

すでにマウス慢性気道感染モデルは DPB 類似の疾患モデルとして確立されたものである。組織学的に AB-PAS 染色による評価、ウエスタンブロットティング (WB) および RT-PCR 法を用いて muc5ac の蛋白および mRNA レベルでの発現を検討したもので、研究手法も妥当である。

3. 解析・考察の評価

上記手法で解析した結果、muc5ac の過剰産生が慢性気道感染症において緑膿菌の定着に関与している可能性が示唆された。ここで得られたムチンのコア蛋白に対するマクロライドの効果 (*in vivo* における CAM の muc5ac 抑制作用) は新しい知見であり、今後の DPB におけるマクロライドの作用メカニズムの解明に期待が持てる。

以上のように本論文は DPB におけるマクロライドの作用メカニズムの解明に貢献するところが大きく、審査委員は全員一致で博士 (医学) の学位に値するものと判断した。

|       |     |     |     |     |
|-------|-----|-----|-----|-----|
| 審査担当者 | 主 査 | 教 授 | 永 武 | 毅   |
|       | 副 査 | 教 授 | 江 口 | 勝 美 |
|       | 副 査 | 教 授 | 松 山 | 俊 文 |

藤 井 仁 人

(広島県) 昭和43年 6 月 4 日生  
授与年月日 平成15年 9 月17日  
主 論 文 SATB1 Makes a Complex with p300 and Represses gp91<sup>phox</sup> Promoter Activity  
(SATB1は p300 と複合体を形成し gp91<sup>phox</sup>遺伝子の転写活性を抑制する)  
(藤井仁人, 熊取厚志, 中村三千男)  
(Microbiology and Immunology・47巻 10号803-811頁 2003年)  
長崎大学大学院医学研究科病理系専攻  
(指導教授: 中村三千男教授)

論文内容の要旨

緒 言

gp91<sup>phox</sup>は食細胞に於ける活性酸素産生酵素である NADPH oxidase を構成する膜蛋白質であり、その遺伝子発現は細胞種特異的かつ細胞分化特異的に制御されている。gp91<sup>phox</sup>遺伝子発現活性化因子は数多く報告されているが、抑制因子については報告が少ない。我々は共に核マトリックス結合領域 (MAR) 結合蛋白であり gp91<sup>phox</sup>遺伝子発現抑制の報告がある SATB1 と CDP が結合する gp91<sup>phox</sup>転写調節領域に着目し、更なる結合因子の同定に抗体を使った electrophoretic mobility shift assay (EMSA) により試みた。その上で結合 DNA 配列への変異導入により結合配列を

詳細に検討し、それらの転写活性への影響をレポーターアッセイによって検討した。

対象と方法

EMSA は THP-1 核抽出液を対象とした。結合因子の同定は gp91<sup>phox</sup>転写調節領域の bp-115～bp-91 をプローブとし、反応液に CDP, SATB1, p300, CBP, CBF-A, TBP, YY1, PCAF, C23 への各抗体を加える事により検討した。結合配列の特異性は、既知の SATB1 結合配列または gp91<sup>phox</sup>転写調節領域 bp-115～bp-106 に 2bp ずつ、および全 10bp の変異を導入したプローブを用いた EMSA により検討した。免疫沈降法は Jurkat 細胞核抽出液を対象とし Protein G-sepharose により常法に従って行った。レポーターアッセイは、wild-type および EMSA 法と同じ変異を導入した gp91<sup>phox</sup>転写調節領域の bp-115～bp+12 を蛍ルシフェラーゼに結合したプラスミド DNA を、THP-1 細胞に electroporation により transient transfection して検討した。

結 果

gp91<sup>phox</sup>bp-115～bp-91 をプローブとし抗体を適用した EMSA により、抗 SATB1 と抗 p300抗体の両者により移動度が減少する (supershift) バンド(A)、抗 CDP 抗体でのみ supershift するバンド(B)、どの抗体によっても変化しないバンド (C, D, E) の 3 種 5 バンドが得られた。既知の SATB1 結合配列をプローブとして EMSA を行くと、検討した全ての配列において抗 SATB1 と抗 p300 抗体の両者で supershift する A バンドに対応したバンドが認められた。免疫沈降法では、抗 p300 抗体により SATB1 が十分量共沈したが、抗 CBP 抗体では微量の SATB1 の共沈しかみられなかった。抗 SATB1 抗体で免疫沈降すると p300 が共沈したが、コントロール抗体では共沈しなかった。gp91<sup>phox</sup>bp-115～bp-106 に変異を導入してプローブとした EMSA により、CDP のみ結合しない変異 (m1), SATB1/p300 複合体のみが結合する変異 (m2), SATB1/p300 のみが結合しない変異 (m5) が得られた。全 10bp 変異 (m6) では、すべての特異的バンドは消失した。レポーターアッセイにより、SATB1/p300 複合体は転写を抑制し、CDP はそれ自身では転写活性に影響しないが、SATB1/p300 複合体による抑制を阻害する事が示唆された。

考 察

MAR 結合蛋白である SATB1 と acetyltransferase(AT)である p300 が複合体を形成する事を初めて示した。p300 と相同性の高い AT 活性をもつ CBP では SATB1 との複合体形成能が非常に低い事は、SATB1/p300 複合体の高い特異性を示し、また細胞内で p300 と CBP がそれぞれ異なった役割を担ってい

る事を示唆している。その複合体形成は DNA には依存しない事から、さまざまな SATB1 機能に関与している可能性がある。gp91<sup>phox</sup>遺伝子転写調節領域においては SATB1/p300 複合体は抑制的に働き、CDP は SATB1/p300 複合体と置き換わる事で転写調節に関与している事が示唆された。P300 はヒストンや転写因子をアセチル化するとの報告が多数あり、p300 の AT 活性の gp91<sup>phox</sup>遺伝子発現への影響について検討する必要がある。

論文審査の結果の要旨

1. 研究目的の評価

本研究は食細胞における活性酸素産生酵素の構成成分である gp91<sup>phox</sup>の遺伝子発現制御における核マトリックス結合領域 (MAR) 結合蛋白質の機能について解析したものであり、研究の動機や目的は妥当である。

2. 研究方法の評価

独自に工夫した核蛋白抽出法および EMSA 法を用いた DNA 結合蛋白の同定、免疫沈降法による複合体形成の検討、変異 DNA を用いたレポーターアッセイによる転写活性の検討をしたもので、研究手法は妥当である。

3. 解析・考察の評価

上記の手法による一連の解析により SATB1 が p300 と特異的に複合体を形成し、gp91<sup>phox</sup>の転写活性を効果的に抑制する事を明らかにし、CDP の転写活性への影響は競合的な結合によるものである事を示唆した。

以上のように、本論文は SATB1 が p300 と複合体を形成し、gp91<sup>phox</sup>遺伝子の転写活性を抑制する事を初めて示したものであり、SATB1 の機能解明および gp91<sup>phox</sup>遺伝子の転写調節機構解明に貢献するものであると評価され、審査委員は全員一致で博士 (医学) の学位に値するものと判断した。

|       |     |     |         |
|-------|-----|-----|---------|
| 審査担当者 | 主 査 | 教 授 | 森 田 公 一 |
|       | 副 査 | 教 授 | 平 山 壽 哉 |
|       | 副 査 | 教 授 | 伊 藤 敬   |

中 島 コ ト

(長崎県) 昭和20年 9 月 8 日生

授与年月日 平成15年 9 月17日

主 論 文 Protection of mitochondrial perturbation by human T-lymphotropic virus type I tax through induction of Bcl-xL expression

HTLV-I tax は Bcl-xL 発現を誘導し、ミトコンドリア依存性アポトーシスを抑制する

中島コト, 川上 純, 飛田あゆみ, 山崎

聡士, 中村英樹, 蒲池 誠, 宮下賜一郎,  
田中史子, 和泉泰衛, 玉井慎美, 井田弘  
明, 古山雅子, 小路武彦, 中村龍文, 右  
田清志, 折口智樹, 江口勝美

The Journal of Laboratory and Clinical  
Medicine, 2003年, 論文出版中  
長崎大学大学院医学研究科内科系専攻  
(指導教授: 江口勝美教授)

## 論文内容の要旨

### 緒言

アポトーシス制御異常はヒト自己免疫疾患の発症・進展と密接に関連している。シェーグレン症候群(SS)の唾液腺浸潤リンパ球のアポトーシス抵抗性は、サイトカイン過剰産生などを介して唾液腺組織破壊を惹起すると考えられているが、これら細胞のアポトーシス抵抗性は抗アポトーシス蛋白である Bcl-2 や Bcl-xL に起因することが示唆されている。長崎市はヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-I) の高浸淫地域だが、同地域では HTLV-I は SS の病因ウイルスであることが疫学的に証明されている。宿主細胞に HTLV-I が感染すると宿主細胞機能が修飾されるが、これには HTLV-I tax による宿主細胞の遺伝子発現誘導が重要である。HTLV-I tax による遺伝子発現誘導には NF- $\kappa$ B 活性化が重要だが、アポトーシス関連蛋白である Bcl-xL も NF- $\kappa$ B 依存性に発現が誘導される。HTLV-I 関連脊髄症 (HAM) 患者は高率に SS を合併し、HAM 患者末梢血 CD4+T 細胞は Bcl-xL を強く発現しアポトーシス刺激に抵抗性であることも、HTLV-I tax を介する Bcl-xL 発現誘導が抗 HTLV-I 抗体陽性 SS の発症要因であることを示唆する。今回、私たちは HTLV-I tax transfectants を用い、HTLV-I tax の抗アポトーシス作用機序を検討した。

### 対象と方法

1. HTLV-I tax transfectants は JPX-9 細胞を用いた (東北大学 菅村教授から御供与)。JPX-9 細胞の tax は CdCl<sub>2</sub> 添加で誘導し、RT-PCR 法で発現を確認した。以下の実験では 10 $\mu$ M の CdCl<sub>2</sub> で 48h 培養し、tax+JPX-9 細胞とした。
2. tax-JPX-9 細胞および tax+JPX-9 細胞のアポトーシス関連蛋白発現を検討した。Bcl-2, Bcl-xL, Bax および death receptor5 (DR5) は western blotting で、また、Fas は FACS で解析した。
3. tax-JPX-9 細胞と tax+JPX-9 細胞のアポトーシス感受性を検討した。アポトーシス刺激は受容体依存性刺激として抗 Fas 抗体と TRAIL を、また、受容体非依存性刺激として pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC), etoposide および staurosporine を用いた。アポトーシスは DNA 断片化として

hypodiploid DNA, ミトコンドリア機能異常としてミトコンドリア膜電位の低下 ( $\Delta\Psi$ m), cytochrome c の放出および caspase 活性化を指標とした。Caspase 活性化は caspase-3 と caspase-9 活性化を検討し、各々 western blotting と蛍光基質を用いた enzyme assay で評価した。

### 結果

1. tax による Bcl-2, Bcl-xL および Bax 発現修飾を検討したが、tax+JPX-9 細胞は tax-JPX-9 細胞と比較し Bcl-xL 発現増強が認められた。Bcl-2 と Bax 発現は変化しなかった。NF- $\kappa$ B 阻害剤である PDTC は tax-JPX-9 細胞にアポトーシスを誘導し、これら細胞は PDTC 添加で hypodiploid DNA 陽性細胞率,  $\Delta\Psi$ m 陽性細胞率が増加し、また、細胞質への cytochrome c 放出と caspase-3/-9 活性化が検出された。しかしながら、tax+JPX-9 細胞は PDTC には顕著なアポトーシス抵抗性を示した。
2. PDTC 以外のアポトーシス刺激に対する感受性を検討した。tax+JPX-9 細胞は受容体依存性アポトーシス刺激 (抗 Fas 抗体と TRAIL) および PDTC 以外受容体非依存性アポトーシス刺激 (etoposide と staurosporine) に抵抗性を示した。しかしながらこれら 4 種のアポトーシス刺激への抵抗性は PDTC に比べ軽度にとどまった。また、JPX-9 細胞の Fas および DR5 発現は、tax 発現の有無で変化しなかった。

### 考察

アポトーシス刺激は受容体依存性刺激と受容体非依存性刺激に大別されるが、二つの経路はミトコンドリアに作用点を持つ Bcl-2 関連蛋白で制御される。JPX-9 細胞を用いた検討では、HTLV-I tax は Bcl-xL 発現を増強し、これら細胞は種々のアポトーシス刺激に抵抗性となった。tax 発現 JPX-9 細胞では NF- $\kappa$ B が活性化され、また、Bcl-xL 発現は NF- $\kappa$ B に依存しているので、tax+JPX-9 細胞のアポトーシス抵抗性は NF- $\kappa$ B 依存性に発現が誘導される Bcl-xL で惹起されることが考えられた。またこの作用は、 $\Delta\Psi$ m や cytochrome c 放出などのデータからミトコンドリア依存性と考えられた。HTLV-I tax は炎症性サイトカイン遺伝子発現を誘導するが、今回の検討でアポトーシス抵抗性も惹起することがわかった。以上の結果より抗 HTLV-I 抗体陽性 SS 患者では、HTLV-I tax の作用で T 細胞がアポトーシス刺激から回避し、また、炎症性サイトカイン産生も増強され、種々の自己免疫現象を惹起していることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

学位論文題名: Protection of mitochondrial pertur-



bation by human T-lymphotropic virus type 1 tax through induction of Bcl-xL expression

研究目的の評価

本研究は、ヒト T細胞白血病ウイルス (HTLV) が自己免疫疾患を引き起こす機序として従来明らかにされていなかったアポトーシス制御異常の可能性を明らかにする事を目指したものであり、目的は充分に妥当である。

研究手法に関する評価

HTLV Tax 蛋白の作用を明確にするために、その発現が重金属の刺激でコントロールできる細胞を利用し、Tax がアポトーシスに及ぼす効果を様々なパラメーターで解析したもので、研究手法も妥当である。

解析・考察の評価

上記手法で解析した結果、Tax が Bcl-xL の発現を増強させ、NF- $\kappa$ B 阻害剤によるアポトーシスの誘導に抵抗性を示すことを証明した。この結果は、シェーグレン症候群のようにこのウイルス感染に伴って発症する自己免疫疾患の病態の理解を深めるものであり、今後の発展に大いに期待される。

以上のように、本論文は HTLV と自己免疫疾患の関連の研究に貢献するところ大であり、審査委員は全員一致で博士 (医学) の学位に値するものと判断した。

審査担当者 主 査 教 授 森 内 浩 幸  
副 査 教 授 進 藤 裕 幸  
副 査 教 授 河 野 茂

加治屋 勇 二

(鹿児島県) 昭和38年10月25日生

授与年月日 平成15年 7 月31日

主 論 文 A Long-Term Follow-Up Analysis of Serial Core Promoter and Precore Sequences in Japanese Patients Chronically Infected by Hepatitis B Virus  
B 型慢性肝疾患の長期経過における HBV コアプロモーターおよびプレコア領域の解析

加治屋勇二, 濱崎圭輔, 中田恵輔, 宮副誠司, 武田宜士, 東眞一郎, 大久保和昭, 市川辰樹, 中尾一彦, 加藤有史, 江口勝美

Digestive Diseases and Sciences  
46: 509-515, 2001

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻  
(指導教授: 江口勝美教授)

論文内容の要旨

緒 言

B 型肝炎ウイルス (HBV) は持続感染し得るウイル

スであり、症例の一部は慢性肝炎を経て肝硬変、肝癌へいたる。HBeAg から anti-HBe へのセロコンバージョンは、臨床的治癒を意味することが多い。しかし、anti-HBe 陽性患者でも一部は肝機能障害が持続し、そのような患者から HBeAg 産生不能の変異株 (プレコア変異: G-to-A at nt-1896: A 変異) が同定された。さらに、A 変異はセロコンバージョン期前後に出現する事が示されている。一方、コアプロモーター変異 (A-to-T at nt-1762, G-to-A at nt-1764: TA 変異) は anti-HBe 陽性患者から高率に検出されるが、その後、HBeAg 陽性患者にも TA 変異が認められることが報告された。in vitro において、TA 変異はプレコア mRNA を減少させ HBeAg の分泌を低下させることが示されており、A 変異に加えて TA 変異もセロコンバージョンに何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられる。本研究では TA 変異及び A 変異と B 型慢性肝疾患の臨床経過との関連を検討した。

対象及び方法

- 1) 対象は 5 年以上経過観察し得た B 型慢性肝疾患患者 22 例, 男性 18 例, 女性 4 例で、平均年齢は 37 歳であった。
- 2) 血中 HBV ウイルス量は TMA 法で測定した。
- 3) 患者血清から DNA を抽出後、polymerase chain reaction (PCR) を用いて HBV-DNA を増幅し、その配列を direct sequence 法で決定した。

結 果

- 1) 対象 22 例の血清から検出された HBV はすべて genotype C で、nt-1858 は T であった。
- 2) HBeAg が陽性であった 16 例中 15 例で、経過中 anti-HBe へのセロコンバージョンがみられた。この 15 例において、当初 TA 変異が認められた 10 例中 5 例、野生型であった 3 例中 2 例で A 変異が出現した。さらに、当初 A 変異であった 1 例では最終的には TA 変異をともなっていた。
- 3) 当初から HBeAg が陰性であった 6 例において、当初野生型であった 1 例では TA 変異となり、TA 及び A 変異が認められた 4 例中 2 例では TA 変異が優位となった。
- 4) 経過中長期寛解にいたった 10 例における最終時の HBV-DNA 配列は HBV-DNA 陰性 1 例、野生型 1 例、TA 変異型 6 例、TA および A 変異型 2 例であった。同様に非寛解例 12 例においても、最終時 TA 変異型が 4 例、A 変異型が 2 例、TA および A 変異型が 6 例に認められた。
- 5) HBV の TA あるいは A 変異とウイルス量との関連はみられなかった。しかし、長期寛解群では非寛解群に比べ HBV-DNA 量が有意に低値であった。

## 考 案

TA 変異は genotype C に高頻度に認められ、A 変異は nt-1858 が T である場合にのみ起こることが報告されている。本研究の対象例から検出された HBV もすべて同様な genotype を有しており、これまでの報告と一致する結果が得られた。また、TA 変異は nt-1858 が T に比べ C の場合に出現し易いとの報告も一部ではみられるが、我々の成績では対象22例中19例で TA 変異が出現しており、この変異が nt-1858 の genotype とは独立して起こることが示唆された。TA 変異と A 変異の出現時期について検討したところ、これら変異は HBeAg から anti-HBe へのセロコンバージョンと関連して出現すること、さらに TA 変異が A 変異に先行してみられる傾向にあることが示された。一方、これら変異は血中ウイルス量の変化とは必ずしも一致せず、長期的な予後との関連も認められなかった。これに対し HBV-DNA 量は、長期寛解例で非寛解例に比べ明らかに低値であった。したがって、血中ウイルス量はウイルス変異の有無にかかわらず予後を反映する因子になり得ると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

## 1. 研究目的の評価

B 型慢性肝炎の臨床的治癒のマーカーである HBeAg(+) から anti-HBe(+) へのセロコンバージョンと、ウイルス (HBV) 変異との関連を明らかにしようとしたものであり、研究目的は妥当である。

## 2. 研究手法に関する評価

5 年以上の長期の追跡により集積した患者血清を材料として用いたことが他にはない本研究の特長であり、PCR 法と direct sequencing 法によるゲノム変異の検出手法も妥当である。

## 3. 解析・考察の評価

コアプロモーター変異(TA 変異)、プレコア変異(A 変異)はセロコンバージョンと関連して出現することを明らかにした。しかし、長期予後と密接に関連する血中ウイルス量とウイルス変異の相関は認められず、ウイルス変異の出現は予後を反映する因子とはなりえないとした考察の過程も評価できる。

以上、本論文は B 型慢性肝炎における HBV 変異の臨床的意義の解明に貢献するところ大であり、審査委員は全員一致で博士 (医学) の学位に値するものと判断した。

|       |     |     |     |     |
|-------|-----|-----|-----|-----|
| 審査担当者 | 主 査 | 教 授 | 片 峰 | 茂   |
|       | 副 査 | 教 授 | 兼 松 | 隆 之 |
|       | 副 査 | 教 授 | 河 野 | 茂   |

## 重 野 賢 也

(長崎県) 昭和41年10月10日生

授与年月日 平成15年7月31日

主 論 文 Interferon- $\alpha$  sensitizes human hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis through DR5 upregulation and NF- $\kappa$ B inactivation

IFN- $\alpha$  は TRAIL-Receptor2 (DR5) の発現増強及び NF- $\kappa$ B 活性の抑制を介し肝癌細胞における TRAIL 誘導アポトーシスを増強する

重野賢也, 中尾一彦, 市川辰樹, 鈴木佳澄, 川上 純, 阿比留正剛, 宮副誠司, 中川祐一, 石川博基, 濱崎圭輔, 中田恵輔, 石井伸子, 江口勝美

Oncogene 22: 1653-1662, 2003

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻

(指導教授: 江口勝美教授)

## 論文内容の要旨

## 緒 言

TNF superfamily に属する TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) は、正常細胞には影響せず腫瘍細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導することから、癌治療への応用が期待されている。TRAIL は、受容体である DR4, DR5 に結合し、FADD, caspase-8 といった death signal を活性化する一方、IAP family や Bcl-xL 等の survival factor を調節する NF- $\kappa$ B も同時に活性化する事が報告されている。Interferon (IFN)- $\alpha$  は抗ウイルス作用や腫瘍増殖抑制作用に加え、ある種の癌細胞ではアポトーシスを誘導し、また TRAIL 産生を誘導することも報告されている。

本研究では、IFN- $\alpha$  前処置後に TRAIL 投与し、肝癌細胞株のアポトーシス増強効果の有無、並びにその機序について検討した。

## 方 法

- 1) ヒト肝癌細胞株 (HuH-7, HepG2, Hep3B, PLC/PRF/5) における IFN- $\alpha$  前処置後 TRAIL 投与での cell viability を Colorimetric method を用いて検討。
- 2) アポトーシスの有無を PI-staining を行い flow cytometry により検討。
- 3) IFN- $\alpha$  投与による各種アポトーシス関連蛋白、TRAIL-Receptor (DR4, 5) の発現を western blotting を用いて検討。
- 4) IFN- $\alpha$  投与による DR4, 5 の発現の変化を、flow cytometry を用いて検討。
- 5) IFN- $\alpha$  投与による各種アポトーシス関連蛋白、

TRAIL-Receptor の mRNA 量の変化を RNAase protection assay により検討。

6) DR5 の関与について、DR5-specific blocking chimera antibody, DR5-specific agonistic antibody を用い、cell viability を Colorimetric method を用いて検討。

7) survivin の関与について、survivin expression vector を transfection し、cell viability を Colorimetric method を用いて検討。

8) アポトーシス増強効果における NF- $\kappa$ B の関与について、NF- $\kappa$ B plasmid を肝癌細胞株に transfection し NF- $\kappa$ B の発現量の変化を Luciferase assay により検討。

9) TRAIL による NF- $\kappa$ B 誘導に対する影響を gel shift assay を用いて検討。

10) TRAIL による caspase8の活性に対する誘導に対する IFN- $\alpha$  の影響を Colorimetric protease assay により検討。

**結 果**

1) IFN- $\alpha$  前処置後 TRAIL 投与により、HuH7、Hep3B では、細胞増殖抑制並びにアポトーシスの明らかな増強がみられた。一方 HepG2 ではこれらの増強効果はみられなかった。

2) HuH7、Hep3B では、IFN- $\alpha$  投与により蛋白レベルで DR5 の発現増強、survivin の発現低下が認められたが、HepG2 では認められなかった。HuH7 での mRNA の変化も同様であった。IFN- $\alpha$  投与による細胞表面の変化は、HuH7、Hep3B において DR5 の発現が増強し、HepG2 では不変であった。DR5-specific blocking chimera antibody は用量依存性に IFN- $\alpha$ /TRAIL 誘導アポトーシスを抑制した。DR5-specific agonistic antibody は TRAIL との併用により用量依存性にアポトーシスを誘導した。HuH7 において survivin expression vector を transfection すると、IFN- $\alpha$ /TRAIL 誘導アポトーシスは容量依存的に一部抑制された。

3) HuH7 では、IFN- $\alpha$  投与により、TRAIL による NF- $\kappa$ B 活性化が抑制されたが、HepG2 では抑制されなかった。

4) TRAIL 投与により p50-p65 からなる NF- $\kappa$ B の誘導が確認された。HuH7 では、IFN- $\alpha$  前処置により p50-p65 の誘導は抑制されたが、HepG2 では抑制されなかった。

5) HuH7 では、IFN- $\alpha$  前処置により TRAIL による caspase 8 の活性増強がみられた。

**考 案**

肝癌細胞株 HuH7、Hep3B において、IFN- $\alpha$  と TRAIL 併用により、アポトーシスの増強が認められ

た。その機序として IFN- $\alpha$  による TRAIL-Receptor (DR5) の発現増強、並びに生存シグナルに関わる NF- $\kappa$ B 活性の抑制が考えられた。

**論文審査の結果の要旨**

1. 研究目的の評価

本研究は、TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) による肝癌細胞株のアポトーシス誘導効果への interferon (IFN)- $\alpha$  前処理の影響並びにその作用機序を検討したもので、目的は十分妥当である。

2. 研究手法に関する評価

種々のヒト肝癌細胞株を用い、アポトーシス誘導に関しては flow cytometry 法により、また TRAIL 受容体である DR4 及び DR5 発現などのアポトーシス関連蛋白の解析には flow cytometry, western blotting 及び RNase protection assay 法を用い、更に NF- $\kappa$ B の活性化に関しては luciferase assay や gel shift assay を利用して検討するなど適切な方法を駆使しており、研究手法も妥当である。

3. 解析・考察の評価

上記手法で解析した結果、ある種の肝癌細胞株では IFN- $\alpha$  と TRAIL の併用処理により、アポトーシス誘導の増強が認められ、更にその機序として IFN- $\alpha$  による DR5 発現の増大並びに生存シグナル発現に関わる NF- $\kappa$ B 活性の抑制が示された点、今後のアポトーシス誘導因子による肝癌治療への進展が大いに期待される。

以上のように、本論文は TRAIL によるがん治療法の開発とその分子機序の解明に貢献するところ大であり、審査委員は全員一致で博士 (医学) の学位に値するものと判断した。

|       |     |     |         |
|-------|-----|-----|---------|
| 審査担当者 | 主 査 | 教 授 | 小 路 武 彦 |
|       | 副 査 | 教 授 | 上 平 憲   |
|       | 副 査 | 教 授 | 朝 長 万左男 |

**三 島 陽 子**  
(福岡県) 昭和42年11月19日生

**授与年月日** 平成15年 7 月31日

**主 論 文** ENHANCED EXPRESSION OF HEAT SHOCK PROTEIN 47 IN RAT MODEL OF PERITONEAL FIBROSIS  
(ラット腹膜線維症モデルにおける heat shock protein 47 (HSP47) の発現増強について)  
Yoko Mishima, Masanobu Miyazaki, Katsushige Abe, Yoshiyuki Ozono, Kei Shiohshita, Zhiyin Xia, Takashi Harada, Takashi Taguchi, Takehiko Koji,

Shigeru Kohno  
PERITONEAL DIALYSIS INTER-  
NATIONAL. Volume 23, Number 1, 14  
-22; 2003  
長崎大学大学院医学研究科内科系専攻  
(指導教授：河野 茂教授)

## 論文内容の要旨

### 緒言

硬化性被嚢性腹膜炎は、腹膜透析患者において、コラーゲンなどの細胞外基質の増生を特徴として、腹膜が進行性に肥厚する重篤な合併症の1つであるが、その発現進展機序については不明な点が多い。一方、熱ショック蛋白質(HSP)の1つであるHSP47はコラーゲン産生に特異的に関与している分子シャペロンである。今回我々は、クロールヘキシジン(CG)によるラット腹膜線維症モデルにおけるHSP47の発現を経時的に検討した。

### 対象と方法

6週齢の雄Wistarラット腹腔内に0.1%CGを2mlずつ28日間毎日投与した(CG群)。その溶解液である15%のエタノールを生食に溶解し腹腔内投与した群をコントロール群(C群)とし、比較検討した。

1週間ごとに腹膜組織を採取し、パラフィンブロックを作成した。免疫組織化学的にHSP47、コラーゲンⅢの発現を検討し、さらに腹膜肥厚関連因子の検討として、筋線維芽細胞の発現を抗 $\alpha$ -smooth muscle actin( $\alpha$ -SMA)抗体、マクロファージの浸潤を抗ED-1抗体を用い、血管の検出に抗Factor-VIII抗体を用いた酵素抗体法を行った。各マーカーの発現は画像解析装置を用いて半定量化した。また、HSP47と $\alpha$ -SMA、HSP47とcollagenⅢの二重染色を行った。

### 結果

C群に比しCG群で2週目より有意に腹膜は肥厚した。HSP47とコラーゲンⅢはCG群において、C群と比較し、中皮細胞および腹膜中皮下の肥厚領域により強く発現していた。 $\alpha$ -SMAは、C群では、少数の中皮細胞と血管壁に認めたのみであったが、CG群では、中皮細胞と肥厚した中皮下結合組織において有意に増加した。ED-1の発現は、CG群では、1週目より有意差をもってC群より増加しており、その分布は中皮下の肥厚領域を中心に、3週目にピークを持って増加した。また、CG群における血管新生の程度を調べるため施行したファクターVIIIの染色では、CG群では、経過とともにC群と比較し発現が増強した。また、HSP47とコラーゲンⅢを発現している細胞を同定するため、HSP47と $\alpha$ -SMA、HSP47とコラーゲンⅢの二重染色を施行した。HSP47を発現している細胞の多くは、 $\alpha$ -SMA陽性であり、HSP47陽性の細胞の多くは、コ

ラーゲンⅢを発現していた。また、CG群においてHSP47とコラーゲンⅢと $\alpha$ -SMAの発現は正の相関を認めた。

### 考察

CG投与による腹膜の線維化の進展と共に発現が増強したHSP47の発現部位は中皮細胞と肥厚している中皮下結合組織であり、2重染色の結果から、HSP47陽性筋線維芽細胞が直接コラーゲン産生を行っていることが示された。また、HSP47の発現が腹膜線維症進展度と正の相関があることより、HSP47が腹膜線維症の進展にコラーゲン産生を介して重要な役割をしていることが示唆された。

今回の我々の実験では、CGの化学刺激により腹膜線維症を惹起しており、我々の用いたモデルが腹膜透析患者の腹膜線維症のモデルであるとは言えない。しかしながら、HSP47の発現増強の他、マクロファージの浸潤や血管新生など、類似点も数多く認められており、CGモデルと腹膜透析患者の腹膜線維症の間には共通の経路が存在している可能性を示唆していると考えられる。

このようにHSP47は腹膜線維症において重要な因子であり、コラーゲン産生に必須の分子シャペロンであることを考えれば、HSP47の発現を抑制することにより線維症の進展を抑制できる可能性が示唆され、今後腹膜線維症の新しい分子治療標的としての検討も必要かと思われる。

### 結語

CG投与によるラット腹膜線維症モデルにおいて、その進展と共にコラーゲンの発現を伴ったHSP47の発現の増加が認められた。HSP47が腹膜線維症の進展に重要であり、腹膜線維症のマーカーとなりうる可能性があると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

### 1. 研究目的の評価

本研究は、硬化性被嚢性腹膜炎の動物実験モデルを用いて、腹膜線維症におけるHSP47発現の意義を検討したもので、目的は妥当である。

### 2. 研究手法に関する評価

ラット腹腔内への化学物質投与により腹膜線維症を誘導し、形態学的手法により経時的に腹膜組織を観察した。各マーカーの発現を画像解析により半定量化するなど工夫しており、評価できる。

### 3. 解析・考察の評価

ラット腹膜線維症モデルにおいて、腹膜組織におけるコラーゲンの増加とHSP47発現増加の相関を明らかにした。腹膜線維症の進展とHSP47発現の関連を明らかにし、今後の臨床的応用が大いに期待される。

以上のように本論文は腹膜線維症の成因解明に貢献

するところ大であり、審査委員は全員一致で博士（医学）の学位に値するものと判断した。

審査担当者 主 査 教 授 由 井 克 之  
副 査 教 授 佐 々 木 均  
副 査 教 授 下 川 功

廣 瀬 渉

（長崎県）昭和22年 7 月23日生

授与年月日 平成15年 8 月31日

主 論 文 Age-associated increases in heme oxygenase-1 and ferritin immunoreactivity in the autopsied brain  
ヒト脳におけるヘムオキシゲナーゼ 1 とフェリチンの加齢変化  
廣瀬 渉，池松和哉，津田亮一  
Legal Medicine, Vol.5, S360-S366, 2003  
長崎大学大学院医学研究科社会医学系専攻  
（指導教授：中園一郎教授）

論文内容の要旨

緒 言

ヘムオキシゲナーゼ（HO）はヘムをビリベルジン、一酸化炭素、鉄に代謝する酵素である。HO のファミリーである HO-1 は酸化ストレス等の暴露など種々のストレスによって発現が誘導され、32kDa 熱ショック蛋白質（HSP32）とも呼ばれている。また HO-1 によって遊離した鉄は HO-1 のシャペロン作用によって鉄貯蔵蛋白であるフェリチンと結合することも知られている。ところで、熱ショック蛋白質等のシャペロンは加齢によって発現量が増加することが判明している。そこで、我々は HO-1 およびフェリチンの発現量と加齢についての相関を明らかにするために、法医剖検脳を試料として免疫組織化学的手法を用いて検討した。

試料と方法

- (1) 法医剖検脳のうち、死後経過時間が 3 日以内の 3 歳から 84 歳までの急性窒息死 31 例を用いた。
- (2) 脳はホルマリン固定後、大脳皮質（頭頂後頭葉）および海馬（CA-1）についてパラフィン包埋後連続切片を作製した。染色法は H.E. 染色および免疫染色として HO-1 とフェリチンに対する抗体を用いた LSAB 法により行い、発現した陽性細胞数を統計学的に処理した。

結果および考察

ヒト脳における HO-1 陽性細胞の組織内分布を検討した報告はほとんど認められない。そこで、我々は HO-1 陽性細胞とフェリチン陽性細胞のヒト脳における組織内分布を検討した結果、ヒトの大脳皮質では

HO-1 陽性細胞はほとんどがグリア細胞であった。ラットの大脳皮質における HO-1 陽性細胞は主にグリア細胞であることが判明しており、今回の我々のヒトにおける結果も同様であった。一方、ヒトの海馬では神経細胞とグリア細胞のいずれにも HO-1 陽性細胞の発現を認めた。しかし、ラットの海馬における HO-1 の発現細胞は、神経細胞もしくはグリア細胞と様々な報告があり、その結果は必ずしも一致していない。従って、海馬における HO-1 の発現細胞はラットとヒトでは完全に一致しないのかもしれない。ヒト脳のフェリチン陽性細胞は大脳皮質および海馬ともグリア細胞のみに発現し、Ozawa や Connor らの報告と完全に一致した。

また、死後の経過時間と各症例の HO-1 およびフェリチン陽性細胞の発現数について検討したところ、明らかな相関は認められず、死後変化によるこれらの蛋白の発現への影響は少ないものと考えた。

ところで、Heat shock cognate protein 70 (HSC70) は 70kDa の熱ショック蛋白質ファミリーに属しており、ヒト脳で HSC70 は加齢に伴い増加することが報告されている。しかし、ヒト脳における HO-1 の加齢による変化は未だ検討されていない。そこで、3 歳から 84 歳までの法医剖検脳での HO-1 陽性細胞数を計測することによって、HO-1 の加齢による変化を検討した。その結果、大脳皮質、海馬ともに加齢と HO-1 陽性細胞数に強い有意な正の相関があることが判明した ( $r=0.894$ ,  $r=0.660$ )。従って HO-1 は HSC70 のような他のシャペロンと同様に加齢に依存してその発現量が増加することが示唆された。Barnes らはマウスの肝臓における加齢に伴う HO-1 蛋白量の増加の要因は、老化に伴う酸化ストレスの蓄積の結果であると推定している。我々のヒト脳での加齢による HO-1 発現量の増加も同様の要因と考えている。

次に、加齢とフェリチン陽性細胞数について検討した結果、大脳皮質では有意な正の相関が認められたものの ( $r=0.731$ )、海馬では有意な相関は認められなかった ( $r=0.033$ )。Connor らや Ozawa らは大脳皮質、海馬の両者ともに加齢に伴ってフェリチンが増加することを報告している。海馬におけるフェリチン陽性細胞数と加齢との関連における結果の不一致の原因は不明であり、海馬におけるフェリチンの発現様態について更なる検討が必要である。

HO-1 によってヘムから遊離された鉄は HO-1 の作用によりフェリチンと結合することが知られている。そこで、HO-1 陽性細胞とフェリチン陽性細胞との関連についても検討をおこなったところ、大脳皮質において正の有意な相関が認められた ( $r=0.656$ )。従って、フェリチンの加齢に伴う増加の一因として、加齢

に伴う HO-1 の増加が関与しているのかも知れない。しかし、海馬では有意な相関が認められておらず ( $r=0.101$ )、このことも今後の検討課題である。

今回我々は、ヒト脳において HO-1 が年齢に依存してその発現量が増加することを明らかにした。この結果は種々の病態でのヒト脳における HO-1 の動態を検討する際の基礎的なデータになるものと考ええる。

論文審査の結果の要旨

1. 研究目的の評価

本研究は、法医剖検脳を用いてヘムオキシゲナーゼ 1 とフェリチンの発現量と加齢についての相関を検討したもので、目的は妥当である。

2. 研究手法に関する評価

3 歳から84歳までの31例の法医剖検脳を試料とし、免疫組織化学的染色による陽性細胞数を統計学的に検討しており、評価できる。

3. 解析・考案の評価

ヒト脳におけるヘムオキシゲナーゼ 1 とフェリチンの発現増加と加齢による相関を明らかにし、その原因を老化に伴う酸化ストレスの蓄積と推定している。このことは今後のヒト脳における加齢変化や種々の脳障害の病態解明に応用できるものと考ええる。

以上のように本論文はヒト脳における加齢変化や脳障害の病態解析に貢献するところ大であり、審査委員は全員一致で博士（医学）の学位に値するものと判断した。

審査担当者      主 査      教 授      中 園   一 郎  
                         副 査      教 授      丹 羽   正 美  
                         副 査      教 授      下 川      功

濱 田 芳 人

(長崎県) 昭和33年11月19日生

授与年月日    平成15年 8 月31日

主 論 文    Factors affecting the family support system of patients with schizophrenia: A survey in the remote island of Tsushima

(統合失調症患者に対する家族の支援態勢への影響要因—離島・対馬を対象地域として—)

濱田芳人 (園田病院, 長崎大学医学部精神科神経科), 太田保之 (長崎大学医学部保健学科), 中根允文 (長崎大学医学部精神科神経科)

Psychiatry and Clinical Neurosciences  
Volume 57 161-168 2003

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻  
(教室主任代理: 江口勝美教授)

論文内容の要旨

緒 言

統合失調症の再発を含めた臨床経過や転帰に影響を及ぼす心理社会的要因の 1 つとして家族的要因がある。地域精神保健医療の視点では、家族の統合失調症患者に対する直接的な対応のみならず家族自体のメンタルヘルスも考える必要がある。家族は最も基本的な社会単位であり、その行動様式は地域社会の生活規範というフィルターを通して表出してくる。従って、家族の援助・介護態勢は、患者の住む地域の社会的文化的価値規範に影響されているということも見逃せない重要な視点である。

日本の離島の多くは、住民が過疎化と高齢化の中で伝統的文化を継承している。その地域性を踏まえて精神医療のあり方を考えるのは大切なことである。今回、長崎県の離島・対馬で生活している統合失調症患者とその家族について、精神的な健康状態や Quality of life (QOL) の評価、家族の患者に対する援助・介護態勢の評価などを通して両者の相互関係を探り、離島で統合失調症患者を抱える家族に対しどのような支援ができるかを調査・考察した。

対象と方法

対象者は、DSM-III-R で統合失調症と診断された在宅の患者の中で、本調査の目的と方法を詳細に説明し、承諾の得られた患者121名と、その家族121名を対象とした。

対象患者の精神症状の評価は、Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS) を用い、社会適応は WHO の Psychiatric Disability Assessment Schedule (DAS) を用いた。家族の精神的健康は、General Health Questionnaire30項目版 (GHQ) を用い、QOL の指標としてノイガルテンの Life Satisfaction Rating scales (LSR) を採用した。

患者に対する家族の支援機能を、大島が開発した「家族の協力態勢」尺度群を用いて評価した。援助者たる家族の側からみた患者と家族の関わり全体を、① 患者の日常生活に対する家族の援助協力行動 (協力度)、② 患者と共同生活していることによって生じる家族の日常生活上の障害 (生活困難度)、③ 患者を受容していく家族の心理的状況 (共感度) の 3 要素からとらえた。この 3 要素からなる全体を「家族の協力態勢」とした。

結 果

対象患者の97.5%が島内で生育しており、80.1%が自宅生活者であった。患者と同居している家族が78.5%を占め、歩いて行ける距離に居住しているキーパーソンを含めると94.2%が近くに住んでいた。

協力度の個別項目をみると、「病気についての勉強」

は60%の家族が「しない」と答えていた。生活困難度では、「近所に対する気遣い」が他調査と比べて高かった。

患者の精神症状と社会適応は有意な負の相関を示し、家族の精神的健康と QOL は有意な正の相関を示した。患者の精神症状と社会適応は、家族の精神的健康や QOL と有意な相関関係を示した。家族の協力態勢は、患者の精神症状や社会適応、家族の精神的健康や QOL との間に、有意な相関関係を示した。生活困難度の関連要因を調べるために、ステップワイズ法を用いた重回帰分析を行った。生活困難度は、患者の精神症状、家族の精神的健康、協力度、共感度と関連していた。

考 察

今回の調査で、統合失調症患者の精神症状や社会適応と、家族の精神状態や QOL の密接な関連が認められた。さらに家族の協力態勢は、患者の病状と家族の精神状態の両者と関係があることも認められた。

このことから家族の協力度を高め、生活困難度を軽減する態勢をつくるアプローチが、患者や家族の精神状態にプラスの影響を与える可能性が示唆された。しかし単に家族の協力度を増やすことは、困難度をも増加させてしまうことも今回の調査で確認されている。つまり、患者のケアの提供者であり、家族自身が困難を抱えた当事者であるという双方の視点から家族を捉えることが必要であると考ええる。この点において、家族の知識と共感度は重要である。両要因は、協力度を維持しつつも、それが家族生活を送る上で調和的に行われ、生活困難度を低めて、家族自身の自己実現をも阻害しない援助の鍵である。さらに離島は社会資源が少なく、患者及び家族は、血縁・地縁を通した生活共同体として地域と多層的に関係しているため、家族の協力態勢の向上には公的機関の介入が必要不可欠である。

論文審査の結果の要旨

1. 研究目的の評価

本研究は、離島での統合失調症患者を抱える家族の支援態勢への影響要因を解析し、どのような社会的支援が必要かを明らかにしたもので、目的は十分に妥当である。

2. 研究手法に関する評価

対象者を適切に選択し、精神症状、社会適応、家族の協力態勢については世界的に認められた評価方法を用いて評価し、解析したもので、研究手法も妥当である。

3. 解析・考察の評価

上記手法で解析した結果、統合失調症患者の精神症状や社会適応と家族の精神状態や QOL とは密接な関連があり、家族の協力態勢は、患者の病状と家族の精

神状態の両者に関係があることを明らかにし、今後の統合失調症患者を抱える家族への社会の適切な介入が患者治療において大いに期待される。

以上のように本論文は、統合失調症患者を抱える家族への支援の重要性を明らかにしたもので、統合失調症の治療に貢献するところ大であり、審査委員は全員一致で博士（医学）の学位に値するものと判断した。

|       |     |     |         |
|-------|-----|-----|---------|
| 審査担当者 | 主 査 | 教 授 | 江 口 勝 美 |
|       | 副 査 | 教 授 | 青 柳 潔   |
|       | 副 査 | 教 授 | 篠 原 一 之 |

麻 生 憲 史

(福岡県) 昭和39年 3 月 6 日生

授与年月日 平成15年 8 月31日

主 論 文 Emergence of Rifampin-Resistant *Rhodococcus equi* with Several Types of Mutations in the *rpoB* Gene among AIDS Patients in Northern Thailand  
タイ国北部地域の AIDS 患者における、数タイプの *rpoB* 遺伝子変異を伴ったりファンピシン耐性 *Rhodococcus equi* の出現

麻生憲史, 渡辺 浩, Marguerite Fines-Guyon, 渡辺貴和雄, 大石和徳, Weerayut Kositsakulchai, Tippaya Sanchai, Khemrassamee Kunsuikmengrai, Sumpun Kahintapong, Banyong Khantawa, Prasit Tharavichitkul, Thira Sirisanthana, 永武 毅

Journal of Clinical Microbiology・41巻  
6 号 2337-2340頁 2003年

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻  
(指導教授：永武 毅教授)

論文内容の要旨

緒 言

*Rhodococcus equi* は元来、家畜、特に子馬に呼吸器感染症を引き起こす原因菌として知られていた。1967年に初めて人への感染が報告されて以来、日和見感染症の原因菌として認識されてきた。その後1980年代の AIDS の流行により、人における呼吸器感染症の報告が増加し、既にタイ国北部地域ではまれな疾患ではなくなっている。*R. equi* の加療には erythromycin と rifampin(RFP) の併用が推奨されているが、既に RFP 耐性株は報告されている。近年 Fines らは結核菌などと同様に子馬から分離された *R. equi* において RFP 耐性に関与する *rpoB* 遺伝子のアミノ酸変異を報告している。しかし、人由来の耐性株がどのような遺伝子変異を持つのかは解っていない。

## 対象と方法

タイ国北部地域において1993年より2001年の間に分離された *R. equi* 30株に対し RFP に対する最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。その結果, 26株は MIC 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以下の感受性株であったが, 1株は MIC 8  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を示す軽度耐性株で, 残りの3株は MIC 64  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上を示す高度耐性株であった。これらの軽度耐性株と高度耐性株は1998年から2001年の間に分離されたものであり, その耐性株4株と, 同時期に分離された RFP 感受性株4株の合計8株を対象として *rpoB* 遺伝子のアミノ酸変異とパルスフィールド電気泳動法 (PFGE) による分子疫学的検討を行った。PFGE は菌株を BHI ブロスで35°C一夜静置培養したものを遠心し, 沈渣を PettIV で懸濁。懸濁液を2% Incert Agarose を用いてブロックとした。ブロック内の *R. equi* を Lysostaphin で溶菌後, Proteinase K で蛋白質を消化した。制限酵素 PshBI で切断後, CHEF Mapper を用いて電気泳動を行った。泳動時間は20時間18分とした。また, PCR は2つのプライマー (MF と MR) を用い RFP 耐性に関与する *rpoB* 遺伝子の増幅を行い, この PCR 産物をオートシーケンサーを用いて塩基配列を決定し, アミノ酸配列に翻訳した。

## 結 果

2株の高度耐性株は PFGE で A pattern, DNA sequencing にて531位のセリンがトリプトファンへの変異を示し, 1株の高度耐性株は PFGE で B pattern, DNA sequencing にて526位のヒスチジンがチロシンへの変異を示し, 軽度耐性株は PFGE で C pattern, DNA sequencing にて509位のセリンがプロリンへの変異を認めた。一方, 4株の感受性株は PFGE で耐性株とは違った型別を示し, *rpoB* 遺伝子のアミノ酸変異は認めなかった。

## 考 案

今回, 初めての人由来 RFP 耐性 *R. equi* の検討で, 526位のヒスチジンがチロシンへ変異し高度耐性を獲得していることを明らかにしたが, 変異したアミノ酸は異なるものの, この部位の変異は家畜由来の *R. equi* にても確認されており, やはり RFP へ高度耐性を示していた。また, 531位のセリンがトリプトファンへ変異し高度耐性を獲得したが, これも変異したアミノ酸は異なるものの, 531位のセリンの変異は家畜由来の *R. equi* にても確認されている。ただし, この場合は軽度耐性を示していた。一方, 結核菌においてもこの部位の変異は認められており, その際は高度耐性に関わっていた。そして今回, 軽度耐性株において509位のセリンがプロリンへ置換されていたが, この位置の変異は今まで *R. equi* においての報告はない。以

上, 我々の結果は, タイ国北部地域の AIDS 患者において数タイプの RFP 耐性 *R. equi* が広まりつつあることを示した。

## 論文審査の結果の要旨

### 1. 研究目的の評価

AIDS の蔓延により *Rhodococcus equi* による呼吸器感染症はタイ国北部地域でしばしば経験されるようになった。その治療薬として第一選択である rifampin に耐性の本菌の増加が問題となっており, 感染患者からの分離菌の耐性と遺伝子変異の関連を分子疫学的手法で解析しており, 研究の目的は妥当である。

### 2. 研究手法に関する評価

タイ国北部地域の患者より分離された *R. equi* の感受性検査法, パルスフィールドゲル電気泳動法, *rpoB* 遺伝子のアミノ酸変異に関する PCR 法と DNA sequencing 法による検出手法も妥当である。

### 3. 解析, 考察の評価

rifampin に高度耐性株の特徴的なパルスフィールド電気泳動法のパターンと *rpoB* 遺伝子の特定の部位のアミノ酸変異が明らかとなった。人獣共通感染症である本症における耐性獲得の機序に関する考察も妥当であり, 今後の研究の進展が大いに期待される。

以上のように, 本論文は *Rhodococcus equi* による呼吸器感染症において *rpoB* 遺伝子のアミノ酸変異の rifampin 耐性に関与する機序の解明に貢献するところ大であり, 審査委員は全員一致で博士 (医学) の学位に値するものと判断した。

|       |     |     |     |     |
|-------|-----|-----|-----|-----|
| 審査担当者 | 主 査 | 教 授 | 河 野 | 茂   |
|       | 副 査 | 教 授 | 平 山 | 壽 哉 |
|       | 副 査 | 教 授 | 中 込 | 治   |

## 野 口 学

(長崎県) 昭和38年8月13日生

授与年月日 平成15年8月31日

主 論 文 Biocompatibility of Poly2-methoxyethylacrylate Coating for Cardiopulmonary Bypass

:X coating (poly2-methoxyethylacrylate) 人工心肺回路の生体適合性  
野口 学, 江石清行, 多田誠一, 山近史郎, 迫 史朗, 泉 賢太, 谷川和好

Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 9巻. 1号 p22-28, 2003年

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻  
(指導教授: 江石清行教授)



論文内容の要旨

緒 言

新しいポリマーである poly2-methoxyethyl-acrylate は人工心肺回路に coating 可能 (X coating) で, in vitro で血球や蛋白の吸着を抑制する事で生体適合性を示す。X coating 人工心肺回路の生体適合性を in vivo で heparin coating 人工心肺回路と比較する。

対象と方法

2000年 3 月から2001年 2 月の12例の選択的冠動脈バイパス術症例。男性 6 例女性 6 例平均年齢69.3±1.9 歳。悪性疾患, 炎症性疾患, 自己免疫疾患, 腎不全, 低心機能, 1 枝バイパス術は除外した。X coating 人工心肺回路を用いた 6 例 (X 群) と heparin coating 人工心肺回路を用いた 6 例 (H 群) を対象とした。体外循環前 (T1), 体外循環終了直後 (T2), 体外循環終了4時間後 (T3), 体外循環終了24時間後 (T4) に下記パラメーターで生体適合性を検討した。

結 果

A サトカイン IL6: 血中濃度の peak はX 群で T2 (74.5±9.5pg/ml), H 群で T3 (108.3±20.4pg/ml) に認められ T4 で両群とも低下傾向だったが, それぞれの T1 の血中濃度より有意に高かった。IL8: 両群とも全ての測定点において検出限界以下だった。IL10: 血中濃度の peak は両群とも T2 (X 群: 293±53pg/ml H 群: 486±114pg/ml) で, T4 でほぼ T1 のレベルに復するものの, H 群では T1 と比較すると T4 の血中濃度は有意に高かった。

B 凝固系 TAT: 血中濃度の peak は両群とも T2 (X 群: 37.7±6.6ng/ml H 群: 66.1±15.1ng/ml) で, T4 でほぼ T1 のレベルに復するものの, 両群とも T1 と比較すると T4 の血中濃度は有意に高かった。

C 線溶系 D dimmer: 血中濃度の peak はX 群で T3(4.64±1.41μg/ml), H 群で T2(3.95±0.42μg/ml) に認められ T4 で両群とも低下傾向だったが, それぞれの T1 の血中濃度より有意に高かった。

D 好中球活性 好中球エラスターゼ: X 群の血中濃度の peak は T2 (230±39μg/ l) で, H 群では経時的に上昇した。

E 補体系 C3a: 血中濃度の peak は両群とも T2 (X 群: 2228±401ng/ml H 群: 1895±282ng/ml) で, T3 で速やかに T1 のレベルに復した。全て両群間に有意差は無かった。

考 察

X coating 人工心肺回路は凝固線溶系, 好中球活性, 補体系に対し heparin coating 人工心肺回路と同等の効果を示した。一方, 統計学的有意差はないもののサトカイン (IL6, IL10) の血中濃度は heparin coating 人工心肺回路より低い傾向が認められた。X coating

人工心肺回路は, heparin coating 人工心肺回路と同様に生体適合性を in vivo で示した。

論文審査の結果の要旨

1 研究目的の評価

新しいポリマーである poly2-methoxyethyl-acrylate は人工心肺回路に coating 可能 (X コーティング) で, in vitro で血球, 蛋白吸着の抑制する事で生体適合性を示す。X コーティング人工心肺回路の生体適合性を臨床的にヘパリンコーティング人工心肺回路と比較しようとしたもので, 目的は十分に妥当である。

2 研究手法に関する評価

生体適合性を検討するために, サイトカイン, 好中球, 補体系, 凝固線溶系の各種パラメーターの体外循環前とその後の経時的変化をX コーティングとヘパリンコーティングの人工心肺回路を用いた群で比較し, 統計的解析を加えており, 研究手法も妥当である。

3 解析・考察の評価

X コーティング人工心肺回路は, ヘパリンコーティング人工心肺回路と同等の生体適合性を有するが, より安価で, 生体材料を用いていない利点を持っている。さらに, 蛋白吸着が少なく凝固系の活性化が少ないので今後, このX コーティングが, 広く使用されるものと予想される。

以上の様に本論文は, 安価で生体材料を用いない新しいX コーティング人工心肺回路の生体適合性を明らかにしたものであり, 心臓血管手術に寄与するところが大きく, 審査委員は全員一致で博士 (医学) の学位に値するものと判断した。

|       |     |     |         |
|-------|-----|-----|---------|
| 審査担当者 | 主 査 | 教 授 | 相 川 忠 臣 |
|       | 副 査 | 教 授 | 澄 川 耕 二 |
|       | 副 査 | 教 授 | 矢 野 捷 介 |

坂 本 一 郎

(長崎県) 昭和33年 8 月 7 日生

授与年月日 平成15年 9 月30日

主 論 文 Intrahepatic biloma formation (bile duct necrosis) after transcatheter arterial chemoembolization.

肝癌に対する経カテーテル的動脈塞栓術後に生じた肝内 biloma の検討

坂本一郎, 岩永壮二, 長置健司, 松岡陽治郎, 芦澤和人, 上谷雅孝, 福田俊夫, 沖本智昭, 奥平定之, 大曲勝久, 林 邦昭, 松永尚文

American Journal of Roentgenology 181: 79-87, 2003

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻 (指導教授: 林 邦昭教授)

**論文内容の要旨****緒言**

肝癌の治療法として広く行われている経カテーテル的動脈塞栓術 (TAE) を安全に行うには、それに伴う合併症を把握しておくことが大切である。肝内 biloma は、塞栓物質により肝内胆管を栄養する胆管周囲血管叢が障害され、胆管が壊死に陥ることにより肝実質内に胆汁が漏出する状態であり、TAE に伴う重大な合併症の一つである。肝内 biloma の発生要因や臨床経過についての検討はこれまでほとんどなされていない。我々は、biloma の発生頻度、発生要因、臨床経過、画像所見および病理所見について検討した。

**対象と方法**

対象は、最近約12年間に長崎大学および関連3施設にて TAE (総計2,540回) を行った肝癌患者972人 (原発性: 920人, 転移性: 52人) である。TAE は通常の血管造影手技に基づいて行い、抗がん剤をリピオドールとの mixture (M) あるいは suspension (S) の形態 (原発性肝癌750人: M, 170人: S, 転移性肝癌患者52人: M) として肝動脈内に注入した後、gelatin sponge 細片を用いて肝動脈の塞栓術を施行した。2,450回の TAE について、biloma の発生頻度と発生要因について検討した。検討した項目は、肝癌の種類 (原発 VS 転移)、Child 分類、腫瘍の大きさ、門脈腫瘍塞栓の有無、塞栓物質の種類と注入部位、TAE の回数と間隔などであり、これらの危険因子と biloma の発生頻度について統計解析を行った。また、手術が行われた症例では、biloma の病理学的検索も行った。

**結果**

biloma は、全体で35例 (3.6%, 35/972) に発生した。原発性肝癌患者では、3.3% (30/920) に、転移性肝癌患者では9.6% (5/52) に発生し両者間に有意差がみられた ( $p < 0.05$ )。原発性肝癌患者では、腫瘍径 5 cm 以下の症例 ( $p < 0.05$ )、肝内胆管の拡張を伴う症例 ( $p < 0.05$ )、塞栓物質を肝動脈近位部から流した症例 ( $p < 0.01$ )、複数回の TAE が3ヶ月以内に行われた症例 ( $p < 0.01$ ) において biloma の発生頻度が有意に高かった。しかし、Child 分類、門脈腫瘍塞栓の有無、TAE の回数は発生頻度に影響を与えなかった。さらに、このグループでは、suspension で治療されたグループ (14/170, 8.2%) の方が mixture で治療されたグループ (16/750, 2.1%) よりも biloma の発生頻度が有意に高かった ( $p < 0.01$ )。転移性肝癌患者では、腫瘍径 5 cm 以下の症例や肝内胆管の拡張を伴う症例において biloma の発生頻度が高かったが、統計学的な有意差は見られなかった。さらに、このグループでは塞栓物質の注入部位、TAE の回数や間隔なども biloma の発生頻度に影響を与えなかった。

biloma を形成した35例中21例で内科的治療が行われた。この内、10例で biloma の消失または縮小を認めたが、11例では不変であった。感染所見を伴った9例の biloma では経皮的ドレナージが行われ、いずれも消失または縮小した。他の5例では、biloma の感染あるいは肝癌再発のために手術が行われた。biloma が直接死因となった症例はなかった。病理学的検索が可能であった6例では、胆管壊死、グリソン鞘に沿う胆汁漏出、肝実質の凝固壊死、肝動脈枝の血栓化などの所見が見られた。biloma を形成した5症例で、ERCP が行われいずれも左または右肝管近位部の狭窄が認められた。

**考察**

biloma の発生頻度は、原発性肝癌よりも転移性肝癌で高かった。これは、転移性肝癌は乏血性であり注入された塞栓物質が周囲の肝実質により高濃度集積しやすいと考えられる。原発性肝癌では、biloma の危険因子は腫瘍径 5 cm 以下、胆管拡張を伴うもの、塞栓物質の肝動脈近位部からの注入、TAE の間隔が3ヶ月以内、および抗がん剤の suspension としての投与であった。腫瘍径 5 cm 以下の症例で発生頻度が高いのは、腫瘍が小さいほど周囲の肝実質の胆管周囲血管叢に集積する塞栓物質の量が増加するためと思われる。胆管拡張を伴う例で発生頻度が高いのは、胆汁うっ滞および胆管炎により biloma が増強されるためと思われる。肝動脈近位部からの注入で発生頻度が高いのは、肝管近位部を栄養する動脈にも塞栓物質が注入され同部に狭窄をきたし胆汁うっ滞を引き起こすためと考えられる。suspension 投与症例で発生頻度が高いのは、この形態の薬剤は比較的長期間にわたり抗がん剤を徐放するために胆管周囲血管叢の障害の程度が強くなるためと思われる。

肝癌の TAE に際しては、今回の検討で明らかになった biloma の危険因子を把握した上で適切な塞栓方法を選択すべきである。

**論文審査の結果の要旨**

学位論文題名: Intrahepatic biloma formation (bile duct necrosis) after transcatheter arterial chemoembolization

**1. 研究の目的**

本研究は臨床例を対象に、肝悪性腫瘍に対する経カテーテル的動脈塞栓術 (TAE) の重大な併発症である肝内 biloma 発生の危険因子を明らかにする目的で行われたものであり、研究の動機や目的は明瞭かつ妥当である。

**2. 研究手法の評価**

肝悪性腫瘍972例に行った、のべ2,450回の TAE 後の biloma 発生頻度を調査し、それから臨床的背景、

TAE 関連事項を解析し、biloma 発生の危険因子を検討したもので研究手法は妥当である。

3. 解析・考察の評価

以上の一連の解析により、biloma の発生には腫瘍径や血管構造、周囲肝組織での胆管拡張の有無、TAE でのカテーテル先端の位置、剤型等が重要である事を明らかにしたものであり、臨床的に大いに評価できる。

以上のように、本論文は TAE により biloma を発生する頻度を示し、かつその危険因子を明らかにし、本療法の今後のあり方に示唆を与えたものであり、その臨床的意義は大きい。したがって、本論文は医学および肝腫瘍治療学の進歩に貢献するところ大であり、審査委員は全員一致で博士（医学）の学位に値するものと判断した。

|       |     |     |         |
|-------|-----|-----|---------|
| 審査担当者 | 主 査 | 教 授 | 兼 松 隆 之 |
|       | 副 査 | 教 授 | 下 川 功   |
|       | 副 査 | 教 授 | 佐々木 均   |

真 崎 宏 則

(長崎県) 昭和38年 2 月 5 日生

授与年月日 平成15年 9 月30日

主 論 文 Possible Relationship of PFGE Patterns of *Moraxella catarrhalis* between Hospital- and Community-Acquired Respiratory Infections in a Community Hospital

(市中病院における院内呼吸器感染症と市中呼吸器感染症との間の *Moraxella catarrhalis* の PFGE パターンの関連性)  
Hironori Masaki, Norichika Asoh, Kaneo Kawazoe, Kiwao Watanabe, Tomoko Onizuka, Seiji Shimogama, Takeshi Yamaryo, Hiroshi Watanabe, Kazunori Oishi and Tsuyoshi Nagatake.

Microbiol. Immunol., 47(6), 379-385, 2003

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻  
(指導教授：永武 毅教授)

論文内容の要旨

緒 言

*Moraxella catarrhalis* は、好気性グラム陰性双球菌であり、かつて上気道に常在する非病原菌と考えられた時期もあったが、1980年代に入って、病原菌として認識されるようになった。現在、*M. catarrhalis* は、肺炎球菌やインフルエンザ菌について、下気道感染症を引き起こす主要病原菌である。一般的には、*M. catarrhalis* は、市中発症型の呼吸器感染症や、中耳炎、副鼻

腔炎の主要病原菌と考えられているが、院内発症型の呼吸器感染症の一因となることも知られている。1980年代半ばより、*M. catarrhalis* による院内流行の報告はなされてきたが、確立した型別の方法がなく、解析は不十分であった。実際に、表現型、外膜蛋白、プラスミド、 $\beta$ ラクタマーゼ、バクテリオシン、フィンブリエなどに注目して解析が行われたが、株間の相違を識別する能力は、満足すべきものではなかった。最近、パルスフィールド電気泳動法 (PFGE) が菌株間の遺伝的関連を確認するのに有用な方法であることが報告された。

我々は、市中病院で分離された *M. catarrhalis* の前方視的・分子疫学的研究を行い、院内感染と市中感染をおこす *M. catarrhalis* の呼吸器分離株の型別に関連があるか否かを PFGE を用いて解析した。

対象と方法

*M. catarrhalis* による院内流行は、2000年 9 月から 2001年 9 月までの調査期間中に認められた。40株の *M. catarrhalis* が、32名の *M. catarrhalis* 呼吸器感染症患者から調査期間中に分離された。26株は、18名の入院患者から分離され、14株は、14名の外来患者から分離された。我々は、PFGE を用いて、気道（主に喀痰）から分離された40株の *M. catarrhalis* の PFGE パターンを比較検討した。

PFGE の実施方法および評価方法については、*Sma*I を制限酵素として PFGE を行い、172株の *M. catarrhalis* が、4-16の DNA フラグメントに切断されたこと、Tenover の分類を用いて、31パターンに分類が可能であったことを既に報告している (Martinez, G., et al. Epidemiol. Infect. 122: 417-422.)。したがって、今回も、制限酵素として、*Sma*I を用い、PFGE パターンの解析には、Tenover の分類を用いた。

結 果

PFGE パターン

40株の *M. catarrhalis* が、PFGE を用いて解析された。*M. catarrhalis* の PFGE パターンは、3 つのパターン (A, B, C) に分類され、さらに、13のサブタイプ (A1-3, B1-9, C1) に分けられた。*M. catarrhalis* の外来分離株は、3 つのパターン (A, B, C) に分けられ、8 つのサブタイプ (A3, B1, B4, B6-9, C1) が認められた。同様に、入院患者分離株は、2 つのパターン (A, B) に分けられ、サブタイプは、7 つのサブタイプ (A1, A2, B1-5) が認められた。

症例解析

院内呼吸器感染症は、26症例認められ、内訳は、慢性閉塞性肺疾患の 2 次感染 (肺炎 3 症例含む) 24症例 (92.3%)、急性気管支炎 2 症例 (7.7%) であった。基礎疾患は、慢性閉塞性肺疾患 (92.3%)、脳血管障害

(69.2%), 心疾患 (61.5%) の順に多かった。  
調査期間中 3 名の入院患者で複数回の *M. catarrhalis* 感染が認められた。うち 2 名は, 3 階病棟の321号室に入院しており, それぞれ約 1 ヶ月と 7 ヶ月の間サブタイプ A1 が検出された。5 階病棟の501号室入院患者は, 1 ヶ月で 2 回 *M. catarrhalis* に感染したが, サブタイプは, 異なっていた (A2, B4)。

院内呼吸器感染症と市中呼吸器感染症における *M. catarrhalis* の PFGE パターンの比較

3 つの PFGE パターンの内, 2 つのパターン (A, B) は, 入院患者および外来患者の両者において見い出された。興味深いことに, 13 のサブタイプの内, 2 つのサブタイプ (B1, B4) が, 入院患者および外来患者から見い出された。

考 察

本研究は, *M. catarrhalis* の院内流行が, 複数の PFGE パターンを含むことを示す一方で, PFGE パターンが, 外来患者と入院患者で近似していることや院内感染と市中感染の菌株間に何らかの関連が存在することを, 示唆した。

論文審査の結果の要旨

学位論文題名: Possible Relationship of PFGE Patterns of *Moraxella catarrhalis* between Hospital- and Community-Acquired Respiratory Infections in a Community Hospital

1. 研究目的の評価

本研究は, 従来証明が困難であった *Moraxella catarrhalis* による院内感染の可能性を明らかにする事を目指したものであり, 目的は十分に妥当である。

2. 研究手法に関する評価

パルスフィールド電気泳動法を用いることで菌株間の遺伝的相違 (genotype) を簡便に判別し, そのパターンをグループ分けすることで解析したもので, 研究手法も妥当である。

3. 解析・考察の評価

上記手法で解析した結果, 院内感染を強く示唆する疫学的データが分子生物学的に証明した。この結果は, 本菌の病原性の理解を深め, 本菌による感染症 (特に院内感染) のコントロールに応用できるものであり, 今後の発展に大いに期待される。

以上のように, 本論文は細菌の院内感染の研究に貢献するところ大であり, 審査委員は全員一致で博士 (医学) の学位に値するものと判断した。

審査担当者    主 査    教 授    森 内 浩 幸  
                  副 査    教 授    高 橋 晴 雄  
                  副 査    教 授    平 山 壽 哉

山 口 慶 治  
(愛媛県) 昭和43年 9 月25日生  
授与年月日    平成15年 9 月30日  
主 論 文    Effects of stressful training on human pain threshold  
(ヒト疼痛閾値へのストレス性訓練の影響)

論文内容の要旨

緒 言

疼痛感覚は, 感情や意欲といった精神的な要素に左右される。特に恐怖や不安といった感情的反応は, 容易に痛み感覚を変化させる。これとは反対に, ある種の休息や娯楽は, 疼痛感覚を減少させる。侵害反応は, 重力や寒中水泳, フットショックといったストレスにより影響を受け, しかも恐怖によるストレスによって疼痛反応は減少することが示されてきた。これらの反応はストレス誘発鎮痛としてよく知られている。ストレス誘発鎮痛は, 生物がストレスや痛みを緩解し生命を維持する役割を担っており非常に重要である。ストレス誘発鎮痛は様々な生物に生じるとされているが, 逆に疼痛感覚が増加したり知覚過敏になることもあると報告されている。それゆえ, 疼痛感覚は様々な種類のストレスにより誘発された精神的な状態によって変化するものと考えられる。極度のストレスの典型的な例は戦争である。負傷を負った兵士は戦闘間, 痛みを感じないことを経験している。現在, 陸上自衛隊で行われている過酷なレンジャー訓練も戦争の状況に極めてよく似ており, 極度のストレス状態のなかで疼痛閾値に変化をもたらすことが予測される。本研究ではレンジャー訓練の後, 皮膚や歯の様々な部位の疼痛閾値にどのような変化が生じているかを検討した。

対象と方法

対象は陸上自衛隊の約40日間にわたるレンジャー訓練を受けた19歳から21歳までの10名の健康な男性陸上自衛官である。研究への参加者には事前に研究の概要を説明し了解を得た。また研究にあたり陸上自衛隊から許可を得た。訓練中, 訓練の過酷さのため10名中 3 名が脱落した。

皮膚と歯の疼痛閾値の変化を 7 名の被験者に訓練前と後で測定した。

皮膚の疼痛閾値の測定にはフォンフライテストを用いた。フォンフライテストとは, まず皮膚に刺激針を軽くあて, 次第に強くしていった時に被験者が痛いと感じたときの加重を読みとり, この値を閾値とした。刺激針には歯科用25番リーマーを用い, 加重の測定には IITC 社の electric von Frey tester を用いた。測定には, 頭部 (額)・右手甲・左手甲・右足甲・左足甲の 5 部位を, それぞれ 3 回測定し平均値を求めた。

歯の疼痛閾値の測定には電氣的歯髓生活試験を行った。歯をロールワッテにて簡易防湿の後、通法に従い測定し、被験者が痛いと応答を示したときのデジタル数値を読みとり、この値を閾値とした。電氣的歯髓生活試験器には、Analytic Technology 社のものを用いた。測定には、上顎犬歯・上顎中切歯・下顎犬歯・下顎中切歯の4部位をそれぞれ3回測定し平均値を求めた。

統計学的処理には、対応のあるt検定、Wilcoxon signed-ranks test, repeated measure ANOVAを用い、 $p<0.05$ を有意差ありとした。

結 果

皮膚の疼痛閾値の測定では訓練後、7人の被験者の測定されたそれぞれの部位で、疼痛閾値の上昇傾向が観察された。部位別では、訓練後頭部で有意な増加が認められた。被験者ごとでは、7名中4名で訓練後有意な増加が認められた。

歯の疼痛閾値の測定では、部位別では訓練前後で有意な増加は認められなかった。しかしながら、被験者ごとでは7名中3名で有意な増加が、2名で有意な減少が認められた。

皮膚の疼痛閾値と歯の疼痛閾値では、それぞれの閾値の上昇に密接な相関が認められたのは、7名中2名であった。

考 察

今回の研究により、ストレス性のレンジャー訓練により皮膚の疼痛閾値に上昇が認められたことからストレス性訓練が手や足の皮膚の疼痛感覚に、鎮痛性の作用すなわちストレス誘発鎮痛を生じたと考えられる。しかしながら、歯の疼痛閾値では部位別で変化が認められなかったのは、ストレス誘発鎮痛が三叉神経系よりも脊髄神経系により大きく発現することを示唆している。部位別では頭部に強い鎮痛が認められたのは、最初に刺激をした部位において、反復されるテストの調整量や許容量を創り出す可能性も示している。

歯の疼痛閾値で、部位別では有意な増加がみられなかったが、被験者ごとでは3名で有意な増加を認めた。歯の刺激に対しては、痛みのみが生じることを考えれば、皮膚上の刺激に比較しより単一な疼痛感覚が惹起されるはずである。歯への刺激が皮膚のようにピンポイントではなく歯髓全体に及ぶことや、歯髓に電気刺激によってプリペイン感覚が生じている可能性などが、影響を与えているものと考察される。

訓練後測定を始めるのに10分程度要したにも関わらず鎮痛効果が認められたので、この鎮痛は比較的持続的であると考えられる。従って、ストレス性の訓練によって誘発されたこの鎮痛は、比較的持続作用があり部位毎に異なる作用を有する鍼治療時の鎮痛と類似し

ている。本研究で、ストレス性訓練が皮膚と歯の疼痛閾値に及ぼす影響を明らかにすることができたので、レンジャー訓練の効果およびヒトの健康状態の把握へと応用していきたいと考えている。

論文審査の結果の要旨

山口慶治は、平成8年3月徳島大学歯学部を卒業後、同年4月防衛庁陸上自衛隊に歯科医官として採用され、同年6月から臨床に従事している。平成11年10月長崎大学大学院歯学研究科社会人特別選抜（秋季入学）に入学し現在に至っている。学位論文の基礎となる研究の要旨は、歯学研究科が平成15年5月8日に実施した研究経過報告会において発表した。また、外国語試験（英語、ドイツ語）は、平成15年4月3日に合格した。

学位論文の主論文として「Effect of stressful training on human pain threshold」〔Stress and Health 19 (1): 9-15 (2003)〕を完成して歯学研究科長に提出し、博士（歯学）の学位を申請した。歯学研究科教授会は、これを平成15年5月21日の定例教授会に付議し、論文の内容の要旨ならびに申請の資格等を検討した結果、受理し差し支えないものと認めたので、3名の審査委員を選定した。審査委員は、共同で論文の内容を慎重に審査し、申請者から研究内容の報告を受けた後、試問を行い、論文審査の結果ならびに最終試験の結果を平成15年6月18日の歯学研究科教授会に報告した。本研究の内容は以下の通りである。

疼痛感覚は、感情や意欲といった精神的な要素に左右される。特に恐怖や不安といった感情的反応は、容易に痛み感覚を変化させる。これとは反対に、ある種の休息や娯楽は、疼痛感覚を減少させる。侵害反応は、重力や寒中水泳、フットショックといったストレスにより影響を受け、しかも恐怖によるストレスによって疼痛反応は減少することが示されてきた。これらの反応はストレス誘発鎮痛としてよく知られている。ストレス誘発鎮痛は、生物がストレスや痛みを緩解し生命を維持する役割を担っており非常に重要である。ストレス誘発鎮痛は様々な生物に生じるとされているが、逆に疼痛感覚が増加したり知覚過敏になることもあると報告されている。それゆえ、疼痛感覚は様々な種類のストレスにより誘発された精神的な状態によって変化するものと考えられる。極度のストレスの典型的な例は戦争である。負傷を負った兵士は戦闘間、痛みを感じないことを経験している。現在、陸上自衛隊で行われている過酷なレンジャー訓練も戦争の状況に極めてよく似ており、極度のストレス状態のなかで疼痛閾値に変化をもたらすことが予測される。本研究ではレンジャー訓練の後、皮膚や歯の様々な部位の疼痛閾値にどのような変化が生じているかを検討した。

対象は陸上自衛隊の約40日間にわたるレンジャー訓

練を受けた19歳から21歳までの10名の健康な男性陸上自衛官である。研究への参加者には事前に研究の概要を説明し了解を得た。また研究にあたり陸上自衛隊から許可を得た。訓練中、訓練の過酷さのため10名中3名が脱落した。

皮膚と歯の疼痛閾値の変化を7名の被験者に訓練前と後で測定した。

皮膚の疼痛閾値の測定にはフォンフライテストを用いた。フォンフライテストとは、まず皮膚に刺激針を軽くあて、次第に強くしていった時に被験者が痛いと感じたときの加重を読みとり、この値を閾値とした。刺激針には歯科用25番リーマーを用い、加重の測定にはIITC社のelectric von Frey testerを用いた。測定には、頭部（額）・右手甲・左手甲・右足甲・左足甲の5部位を、それぞれ3回測定し平均値を求めた。

歯の疼痛閾値の測定には電氣的歯髓生活試験を行った。歯をロールワッテにて簡易防湿の後、通法に従い測定し、被験者が応答を示したときのデジタル数値を読みとり、この値を閾値とした。電氣的歯髓生活試験器には、Analytic Technology社のものを用いた。測定には、上顎犬歯・上顎中切歯・下顎犬歯・下顎中切歯の4部位をそれぞれ3回測定し平均値を求めた。

統計学的処理には、対応のあるt検定、Wilcoxon signed-ranks test, repeated measure ANOVAを用い、 $p<0.05$ を有意差ありとした。

皮膚の疼痛閾値の測定では訓練後、7名の被験者の測定されたそれぞれの部位で、疼痛閾値の上昇傾向が観察された。部位別では、訓練後頭部で有意な増加が認められた。被験者ごとでは、7名中4名で訓練後有意な増加が認められた。

歯の疼痛閾値の測定では、部位別では訓練前後で有意な増加は認められなかった。しかしながら、被験者ごとでは7名中3名で有意な増加が、2名で有意な減少が認められた。

皮膚の疼痛閾値と歯の疼痛閾値では、それぞれの閾値の上昇に密接な相関が認められたのは、7名中2名であった。

今回の研究により、ストレス性のレンジャー訓練により皮膚の疼痛閾値に上昇が認められたことからストレス性訓練が手や足の皮膚の疼痛感覚に、鎮痛性の作用すなわちストレス誘発鎮痛を生じたと考えられる。しかしながら、歯の疼痛閾値では部位別で変化が認められなかったのは、ストレス誘発鎮痛が三叉神経系よりも脊髄神経系により大きく発現することを示唆している。部位別では頭部に強い鎮痛が認められたのは、最初に刺激をした部位において、反復されるテストの調整量や許容量を創り出す可能性も示している。

歯の疼痛閾値で、部位別では有意な増加がみられな

かったが、被験者ごとでは3名で有意な増加を認めた。歯の刺激に対しては、痛みのみが生じることを考えれば、皮膚上の刺激に比較しより単一な疼痛感覚が惹起されるはずである。歯への刺激が皮膚のようにピンポイントではなく歯髓全体に及ぶことや、歯髓に電気刺激によってプリペイン感覚が生じている可能性などが、影響を与えているものと考察される。

訓練後測定を始めるのに10分程度要したにも関わらず鎮痛効果が認められたので、この鎮痛は比較的持続的であると考えられる。従って、ストレス性の訓練によって誘発されたこの鎮痛は、比較的持続作用があり部位ごとに異なる作用を有する鍼治療時の鎮痛と類似している。本研究で、ストレス性訓練が皮膚と歯の疼痛閾値に及ぼす影響を明らかにすることができたので、レンジャー訓練の効果およびヒトの健康状態の把握へと応用していきたいと考えている。

下記審査委員会は本論文が、ストレスと鎮痛との関係をヒトを対象として科学的に明らかにしており今後の歯学の進歩に貢献するものと評価し、博士（歯学）の学位論文に値するものと認めた。

|       |     |     |     |     |
|-------|-----|-----|-----|-----|
| 審査担当者 | 主 査 | 教 授 | 林   | 善 彦 |
|       | 副 査 | 教 授 | 戸 田 | 一 雄 |
|       | 副 査 | 教 授 | 吉 田 | 教 明 |

|       |                                                                        |
|-------|------------------------------------------------------------------------|
| 牛     | 亜 梅                                                                    |
|       | (中国) 1974年12月29日生                                                      |
| 授与年月日 | 平成15年 9 月17日                                                           |
| 主 論 文 | IL-13 $R\alpha$ 1 と 結 合 す る 新 規 蛋 白,<br>IL13RBP1 の クローニング および 機能<br>解析 |

論文内容の要旨

緒 言

インターロイキン13(IL-13)は活性化されたTh2細胞から産成されるサイトカインとして見いだされたが、その作用の多くがインターロイキン4(IL-4)と重複しているため、IL-4の補助的なサイトカインとこれまで考えられてきた。しかしながら、最近アレルギー疾患などの種々の疾患で、IL-13が病態に重要な役割をはたす可能性が示唆され、その機能解明が注目されるようになってきた。

IL-13の作用はその受容体によって標的細胞に伝えられる。IL-13受容体はIL-4 $R\alpha$ とIL-13 $R\alpha$ 1のヘテロ二量体からなり、またIL-4受容体はIL-4 $R\alpha$ とIL-2 $R\gamma$ ( $\gamma_c$ )から構成される。IL-4 $R\alpha$ やIL-13 $R\alpha$ 1にはチロシンキナーゼであるJanus kinase(JAK)が恒常的に結合しており、リガンドの刺激によって活性化される。活性化されたJAKはシグナル伝達分子であるIRS-1やSTAT6を活性化し、下流へとシグナルを

伝えていく (Fig. 1)。今までに明らかになった IL-13 シグナル伝達機構の知見はほとんどが IL-4R $\alpha$  を介するものであり、IL-4 受容体と共有されるものであった。そこで我々は、IL-13R $\alpha$ 1 に結合し、そのシグナル伝達に関わる分子を明らかにすることを目的にして本研究を行った。

### 結果と考察

蛋白間相互作用を研究する方法として Yeast two-hybrid 法が用いられている。しかし、我々はチロシン残基特異的なリン酸化による制御を想定して Yeast tri-hybrid system をもちいて JAK2 キナーゼ JH ドメインを IL-13R $\alpha$ 1 細胞内ドメインと共に酵母内に発現させ、human fetal cDNA library のスクリーニングをおこなった。その結果、IL-13R に結合する約60個の独立した遺伝子断片を得ることができた。得られた遺伝子断片の中から、未知のタンパク質をコードする遺伝子断片 (c28) をクローニングし、IL13RBP1 と命名した。この遺伝子の発現をノーザンブロットで確認したところ、肺、肝臓、心臓、腸管、脾臓、血液細胞など広範な臓器で4.4kbと2.4kbの IL13RBP1 mRNA が確認された。また睾丸では前2者に加えて、2.5-2.7kb 付近に強い発現が観察され、その中から3種類の異なる長さの挿入を伴ったバリエーションを見出した。次に、我々は c28 をプローブにして、ヒト testis cDNA library から IL13RBP1 遺伝子の全長をクローニングした (Genbank Accession Number: AF242456)。得られた IL-13RBP1cDNA は全長2568 bp で691アミノ酸がコードされていた。一方、その他の組織由来の IL13RBP1 は625アミノ酸をコードしており、睾丸由来のものの中間部分が一部欠損していた。

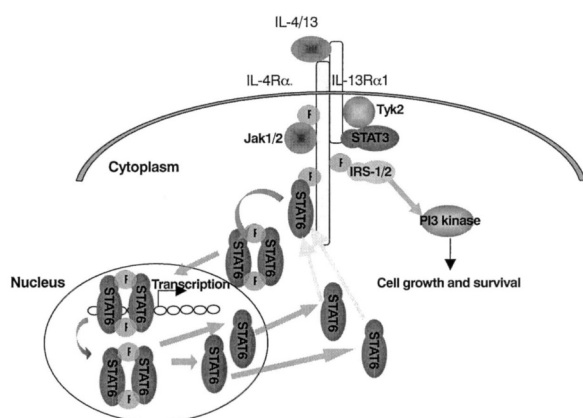


Fig. 1 IL-13 受容体シグナル伝達のメカニズム

IL-13 または IL-4 が IL-13 受容体に結合すると、レセプターに結合している JAK キナーゼが活性化される。活性化した JAK はまず、レセプターにあるチロシン残基をリン酸化する。そこにシグナル伝達分子である STAT6 や IRS-1/2 が結合する。STAT6 は JAK によってリン酸化を受け、二量体を形成し、核へ移行する。そこで DNA と結合し、転写が開始される。IRS-1/2 はリン酸化を受けると、PI3 kinase、Shc、Grb2 などのシグナル伝達分子と結合し、下流シグナルを伝える。IRS 経路は主に細胞の増殖や生存に関係している。

IL13RBP1 と IL-13R $\alpha$ 1 の結合は、Yeast two-, tri-hybrid system および動物細胞をもちいた免疫沈降実験にて確認し、この2つのタンパク質の結合はチロシンリン酸化に関係なくおこることがわかった。また、IL13RBP1 がその他の受容体コンポーネントである IL-4R $\alpha$ ,  $\gamma_c$  に結合するかを免疫沈降法で検討したところ結合せず、IL-13R $\alpha$ 1 選択的な結合であることが明らかになった。

次に IL13RBP1 の機能を調べるため、THP-1 細胞および COS7 細胞に遺伝子導入し、IL-4、IL-13 によるシグナル伝達に対する影響を観察した。その結果、IL13RBP1 は IL-13 および IL-4 による STAT6 リン酸化を容量依存的に抑制した。また、活性化 STAT6 の DNA 結合能を EMSA で、転写活性化能をルシフェラーゼアッセイで検討したところ、IL-13 により誘導される STAT6 の DNA 結合能および転写活性化を抑制することが明らかになった。

我々の IL13RBP1 発見後、IL13RBP1 は、TRAF3 と結合する蛋白 MIP-T3 (Microtubule interacted protein that associated with TRAF3) として Goeddel らにより報告されたものと同一の蛋白であることが判明した。MIP-T3-TRAF3 複合体は、CD40 に刺激が加えられると解離し、TRAF3 は CD40 と会合することが示されている。しかし、CD40 シグナル伝達系における MIP-T3 の詳細な役割は明らかではない。また MIP-T3 は微小管と結合しうることも示されており、サイトカインシグナルと細胞骨格系のつなぎ役としてもきわめて興味深いものである (Fig. 2)。

以上より、我々がクローニングした IL13RBP1 は IL-13 シグナル伝達抑制因子と考えられ、かつ、CD40 シグナル伝達系や細胞骨格系を結ぶ機能を有する可能性が示唆された。

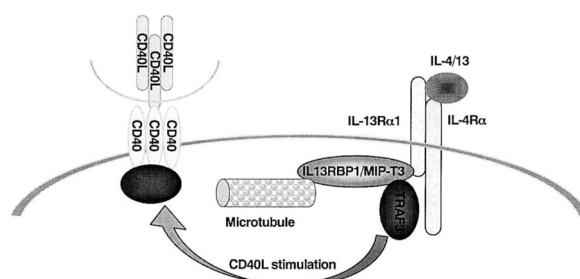


Fig. 2 IL13RBP1/MIP-T3 は TRAF3, 微小管および IL-13R $\alpha$ 1 と結合する。

IL13RBP1/MIP-T3 は IL-13R $\alpha$ 1 の細胞内ドメインと結合する。その結合には C 末端が関係している。この二つの蛋白の結合には IL-4/13 刺激は影響を与えない。さらに TRAF3 とその coiled coil domain を介して結合する。TRAF3-IL13RBP1/MIP-T3 複合体は CD40 ligand の刺激で分離し、TRAF3 は CD40 と結合する。また、IL13RBP1/MIP-T3 はその N 末端で微小管および tubulin 蛋白と結合し、HeLa 細胞における強制発現系では TRAF3 と微小管を会合させる作用が報告された。



**論文審査の結果の要旨**

牛亜梅は平成11年7月中国薬科大学大学院生物薬学科修士課程を卒業し、理学修士の学位を取得後同年8月に来日し、同年9月より長崎大学薬学研究科研究生として入学し、平成12年4月より薬学研究科博士後期課程に入学し現在に至っている。研究科博士後期課程においては一貫して IL-13 特異的シグナル伝達機構の解明に関しての研究を行い、平成15年1月15日に開催された研究科教授会において博士後期課程に課せられた所定の単位の修得が認定され、その間の研究成果を学位論文（主論文）「IL-13R $\alpha$ 1 と結合する新規蛋白, IL13RBP1 のクローニングおよび機能解析」としてまとめ、主論文の基礎となる原著論文1編を添え、平成15年8月27日開催の薬学研究科教授会に学位申請を行った。薬学研究科は同日、論文内容の要旨を検討した結果、学位申請の受理を決定した。論文審査担当者は平成15年9月8日行われた学位論文発表会において質疑応答を行い、個別に申請者に対して論文内容と関連分野に関する口頭試問を行った。

審査委員会は下記の審査結果および最終試験の結果を平成15年9月17日の研究科教授会に報告した。

主論文は4章からなりその内容は以下のように要約される。

**第1章 Yeast tri-hybrid 法による IL13R $\alpha$ 1 結合タンパク質のクローニング**

従来蛋白間相互作用を利用した遺伝子クローニングシステムとして Yeast two-hybrid 法が用いられている。しかし、申請者はサイトカインシグナル伝達系に於いてはチロシン残基特異的なリン酸化による制御が頻用されていることから Yoshimura らが開発した Yeast tri-hybrid system をもちいて JAK2 キナーゼ JH ドメインを IL-13R $\alpha$ 1 細胞内ドメインと共に酵母内に発現させ、human fetal cDNA library のスクリーニングを行った。

その結果、IL-13R に結合する約60個の独立した遺伝子断片を得ることができた。得られた遺伝子断片の中から、未知のタンパク質をコードする遺伝子断片(c28)をクローニングし、この遺伝子の発現をノーザンブロットで確認したところ、肺、肝臓、心臓、腸管、脾臓、など広範な臓器で4.4kbと2.4kbの特異的 mRNA が確認された。

また睾丸では前2者に加えて、2.5-2.7kb付近に強い発現が観察された。次に、申請者はc28をプローブにして、ヒト testis cDNA library から遺伝子の全長をクローニングした (Genbank Accession Number: AF242456)。得られた遺伝子を IL13RBP1 と命名した。この cDNA は全長2568bp で691アミノ酸がコードされていた。

**第2章 動物細胞における IL13RBP1 と IL-13R $\alpha$ 1 の結合確認**

IL13RBP1 と IL-13R $\alpha$ 1 の結合は、Yeast two-, tri-hybrid system および動物細胞をもちいた免疫沈降実験にて確認し、この2つのタンパク質の結合はチロシンリン酸化に関係なくおこることがわかった。また、IL13RBP1 がその他の受容体コンポーネントである IL-4R $\alpha$ ,  $\gamma_c$  に結合するかを免疫沈降法で検討したところ結合せず、IL-13R $\alpha$ 1 選択的な結合であることが明らかになった。また申請者は IL13RBP1 N端欠損変異体発現プラスミドを作成し、IL13RBP1 と IL-13R $\alpha$ 1 の結合は IL13RBP1 C末領域に存在する coiled coil 領域が関与していることを明らかにした。

**第3章 IL-13シグナル伝達における IL13RBP1 の役割**

申請者は IL13RBP1 の機能を調べるため、THP-1 細胞および COS7 細胞に遺伝子導入し、IL-4, IL-13 によるシグナル伝達に対する影響を観察した。IL-4/IL-13 シグナル伝達系ではこれまで IL-4R $\alpha$  に結合している Jak1/2 キナーゼがシグナル伝達の第一段階でリン酸化され、次にこのカイネースが IL-4R $\alpha$  をリン酸化する。次の段階では転写因子 STAT6 が IL-4R $\alpha$  リン酸化部位に結合し Jak1/2 カイネースによりリン酸化される。リン酸化 STAT6 は細胞質で2量体を形成し核内に移行し、転写因子として働くことが知られている。そこで申請者は IL13RBP1 の存在下に STAT6 のリン酸化を検討した。

その結果、IL13RBP1 は IL-13 および IL-4 による STAT6 リン酸化を容量依存的に抑制した。また、活性化 STAT6 の DNA 結合能を EMSA で、転写活性化能をルシフェラーゼアッセイで検討したところ、IL-13 により誘導される STAT6 の DNA 結合能および転写活性化を抑制することが明らかになった。現在のところ、IL13RBP1 がどのような機構で STAT6 の活性化を抑制するのか明らかではないが、IL13RBP1 と IL-13R $\alpha$ 1 の結合が、STAT6 のレセプター複合体への結合を立体的に阻害する可能性が考えられる。今回の結果では IL13RBP1 の STAT6 リン酸化抑制作用が IL-13 シグナルにより強く誘導され、IL-4 シグナルでは弱いことが見出された。この結果は IL-4 と IL-13 のシグナル伝達系を識別する役割を IL13RBP1 が担っている可能性を示唆するものである。

**第4章 IL13RBP1 と TRAF3 の結合**

申請者はこれまでの研究から IL13RBP1 を IL13R $\alpha$ 1 結合蛋白として初めて同定したが、申請者が研究を遂行する段階で全く同一遺伝子が CD40 リガンドシステムでシグナル伝達に関与する蛋白 TRAF3 結合蛋白 MIP-T3 として報告された。そこで申請者



は MIP-T3 と TRAF3 の結合が IL-4/IL-13 シグナル伝達系によって影響を受けるか検討した。

その結果 MIP-T3 と TRAF3 の結合は IL-4/IL-13 シグナル伝達系によって影響を受けないことが明らかとなった。

以上の内容に関して審査委員会は本研究がサイトカインシグナル伝達機構の解明においてアレルギー疾患と IL-13 の特異的制御の機構を解明する糸口と成る極めて独創的な研究であると評価した。

薬学研究科教授会は審査委員会の報告に基づき審査をした結果、本論文は薬学の進歩に貢献するものであることを認め、博士（薬学）の学位に値するものとして合格と判定した。

審査担当者

主 査 教 授 小 林 信 之

副 査 教 授 松 山 俊 文

副 査 教 授 村 田 育 夫

副 査 助 教 授 村 田 興

林 文 忠

(中国) 1965年 7 月20日生

授与年月日 平成15年 9 月18日

主 論 文 多入力 DC-DC コンバータに関する研究  
論文内容の要旨

近年、電子通信機器の高性能化が進み、これに伴って電源部の信頼性を向上させ、電子通信機器に電力を安定に供給することの重要性が増してきている。一方、エネルギーと環境問題が深刻化しており、電子通信機器の省エネルギー、地球環境を配慮した製品づくりが重要な課題となっている。また、マルチメディア社会の通信システムには、光ファイバケーブルの普及によってシステムを駆動するエネルギーの供給方式が変化しつつあり、太陽電池をはじめとする多様なエネルギー源を複合的に利用する新しい給電方式が期待される。このようなエネルギーや環境問題の解決策として、商用交流電源、バッテリー、太陽電池、燃料電池など電圧レベル、電力容量の異なる複数個の電気エネルギー源を入力として、負荷としての電子通信機器に電力を供給する電源システム、いわゆる多入力の電源システムが注目されている。

このような観点から、本研究では、多入力の電源システムで用いるためのリアクトルあるいはトランスの磁気結合を利用する新しい多入力 DC-DC コンバータを提案し、制御特性、電力効率の改善及びノイズの低減について研究を行った。本論文は 5 章からなり、各章の内容は以下の通りである。

第 1 章では、まずスイッチング方式電源における小型・軽量化、高効率化、低ノイズ化、省エネルギー化などの研究の動向、太陽電池や燃料電池などのクリーン

エネルギー源の利用やマルチメディア社会での給電方式の変化、本研究の背景及び研究の目的と意義について述べた。

第 2 章では、まず、多入力 DC-DC コンバータの基本回路構成及びその動作原理について述べた。次に、クリーンエネルギー源の利用を想定した場合、太陽電池等の電源から最大の電力を取り出すための最適動作点追尾の制御と出力電圧を安定化するための制御を同時に行うことが必要である。これを実現するための 2 種類の制御方式について比較検討し、又動作メカニズムを明確にした。また、多入力昇降圧形 DC-DC コンバータに対して、等価回路化を行った。この等価回路により、直流分に対する状態平均等価回路モデルが得られ、これを用いて 2 種類の制御方式における静特性の解析を行い、定常時における入力電流及び出力電圧、又定常偏差を明らかにした。さらに、規格化した 2 つの入力電源の電圧比をパラメータとし、2 種類の制御方式における入力電流及び出力電圧の安定化特性について比較検討を行った。

第 3 章では、まず、前章で得た多入力昇降圧形 DC-DC コンバータの等価回路を利用し、微小変化分に対する状態平均等価回路モデル化を行った。次に、これを用いてクリーンエネルギー源を利用する電源システムを想定して、多入力昇降圧形 DC-DC コンバータに 2 種類の制御方式を適用した場合の動特性の解析を行い、多入力昇降圧形 DC-DC コンバータの動作特性を明らかにした。また、規格化した 2 つの入力電源の電圧比、帰還回路の電圧利得及び電流利得をパラメータとし、2 種類の制御方式における系の安定性等について比較検討を行った。上述の解析結果と前章で示した静特性の解析結果により、多入力昇降圧形 DC-DC コンバータの主回路及び制御回路についての設計基準を明らかにした。

第 4 章では、2 入力昇降圧形 DC-DC コンバータについてリアクトルの入出力巻き線間の漏れインダクタンス、FET スイッチ素子の寄生容量及び出力整流ダイオードの順方向電圧降下による電力損失の解析を行った。また、漏れインダクタンス及び寄生容量により、スイッチのターンオン時及びターンオフ時に、サージ電圧及びサージ電流が生じており、リアクトルの一次巻線から二次巻線へのエネルギーの伝達を阻害し、コンバータ全体の電力効率を低下させ、ノイズ発生の要因となる。このため、2 入力昇降形 DC-DC コンバータに 1 つのアクティブクランプ回路を適用することにより、簡単な回路構成で、2 入力回路の 2 つの主スイッチとともにゼロ電圧スイッチングを行う新しい回路方式を提案し、設計基準を明確にするための解析を行った。提案回路方式により、スイッチのターン

オン時のサージ電流及びターンオフ時のサージ電圧の低減が図られ、従来漏れインダクタンス及び寄生容量に蓄積されていたエネルギーが入力電源に回生され、高効率化及び低ノイズ化を実現した。

第5章では、本研究の内容のまとめ、また、今後の課題について述べた。

#### 論文審査の結果の要旨

林文忠氏は、平成2年3月に中国福建省の福州大学大学院電気研究科修士課程を修了した。同年4月から平成3年5月まで中国福建省の福建易達電子公司に電子技術者として勤務した。平成3年6月から中国福建省の閩江大学工学部に転職し、助手として務め、平成4年9月から講師に昇格した。閩江大学ではシングルチップマイコンの応用、パルスレーザ電源、恒定圧力給水システムなどの研究に従事した。平成10年5月に閩江大学を退職し長崎大学工学部客員研究員として来日し、多入力DC-DCコンバータに関する研究を行った。平成11年4月に長崎大学大学院海洋生産科学研究科博士課程に入学し、現在に至っている。

同氏は大学院博士課程においては海洋資源学を専攻し、所定の単位を修得するとともに主として商用交流電源、バッテリー、太陽電池等の複数の電気エネルギー源からの電力を利用する多入力DC-DCコンバータに関して多くの研究業績を上げ、その結果を学位論文「多入力DC-DCコンバータに関する研究」としてまとめ、参考論文4編を添えて長崎大学大学院海洋生産科学研究科委員会に博士（工学）の学位を申請した。

長崎大学大学院海洋生産科学研究科委員会は、これを平成15年6月19日の同研究科委員会に付議し、受理を決定後、下記の審査委員を選定した。審査委員は、主査を中心に論文内容について慎重に審議し、公開論文発表会での発表を行わせるとともに、口頭による最終試験を行い、論文の審査及び最終試験の結果を平成15年9月18日の研究科委員会に報告した。

近年、電子通信機器の高性能化が進み、これに伴って電源部の信頼性を向上させ、電子通信機器に電力を安定に供給することの重要性が増してきている。このため、商用交流電源、バッテリー、太陽電池など電圧レベル、電力容量の異なる複数の電気エネルギー源を入力として、負荷としての電子通信機器に電力を供給する、いわゆる多入力の電源システムが注目されている。

提出論文は、リアクトルの磁気結合を利用した多入力DC-DCコンバータを用いて、回路構成が簡単で、信頼性が高く、高性能の電子通信機器用多入力電源の研究、開発を行ったものである。

第1章では、スイッチング方式電源における小形・軽量化、高効率化、低ノイズ化などの研究の動向、太

陽電池や燃料電池などのクリーンエネルギー源の利用やマルチメディア社会での給電方式の変化等について述べ、本研究の背景及び研究の目的と意義を明確にした。

第2章ではまず、提案する多入力昇降圧形DC-DCコンバータの基本回路構成、動作原理、制御方式について述べた。次に、多入力昇降圧形DC-DCコンバータの等価回路によるモデル化を行い、2つの制御方式を適用した場合における定常特性を明らかにした。

第3章では、第2章で求めた等価回路モデルを用いて、微少変化分に対する線形的な動特性等価回路モデルを導き、システムの安定性解析を行い、2入力昇降圧形DC-DCコンバータの主回路及び制御回路の設計基準を示した。

第4章では、2入力昇降圧形DC-DCコンバータに1つのアクティブクランプ回路を適用することにより、簡単な回路構成で2入力回路の2つの主スイッチがともにゼロ電圧スイッチングを行う新しい回路方式を提案し、設計基準を明確にするための解析を行った。又、提案した回路方式により、主スイッチのターンオン時のサージ電流及びターンオフ時のサージ電圧の著しい低減が図られ、高効率化及び低ノイズ化が実現できることを示した。

以上のように、本論文は電子通信機器用の多入力スイッチング電源の小形・軽量化、高効率化、高信頼化のための回路技術の進歩発展に貢献するところ極めて大であり、博士（工学）の学位に値するものとして合格と判定した。

|       |    |    |      |
|-------|----|----|------|
| 審査担当者 | 主査 | 教授 | 松尾博文 |
|       | 副査 | 教授 | 松尾寿夫 |
|       | 副査 | 教授 | 小山純  |
|       | 副査 | 教授 | 福永博俊 |

#### ダワァ ガンバット

(モンゴル) 1965年5月14日生

授与年月日 平成15年9月18日

主論文 Laminar Heat Transfer in Non-Newtonian Plane Poiseuille-Couette Flow

#### 論文内容の要旨

環状流路内の流動と伝熱の研究は、内管と外管がともに静止している場合には高温ガス炉や二重管熱交換器などの熱流動設計に関連して重要であるため古くから数多くの研究が行われている。一方、内管が軸方向に運動する環状流路内の流動と伝熱を含む問題は、押し出し・引き抜き・圧延などの金属やプラスチック材料の製造過程、長いトンネル内を高速で走行する列車および地下鉄の熱環境問題等において多く見られ、加

熱板あるいは円柱のロッドは周囲（環境）と絶え間なく熱を交換している。また、材料の製造過程等において冷却材として利用される流体は通常、水や空気のようなニュートン流体であるが、摩擦抵抗を減少させるためにポリマー水溶液等の非ニュートンの挙動を示す流体が用いられる場合もある。

環状流路を構成する二重管の内半径と外半径が等しくなる極限の場合は、平行平板間の流動と一致する。平行平板間を圧力差により流体が軸方向に流れる場合は平面ポアズイユ流れ (plane Poiseuille flow), 平行平板の片方が軸方向に運動するために誘起される流れは平面クウェット流れ (plane Couette flow) であるが、圧力差による流体の流れと片方の平板の軸方向運動とが共存する場合の平行平板間の定常流れは、平面ポアズイユ・クウェット流れ (plane Poiseuille-Couette flow) と呼ばれ、材料の製造過程等でしばしばみられる。平板の軸方向運動は壁面のせん断作用により平行平板間を流れる流体の速度分布の形状変化と速度勾配の変化を引き起こすが、このため壁面近傍の流体中で粘性逸散により熱が発生する。従って、このような境界(壁面)の運動が温度分布とヌッセルト数にどのような影響を与えるかを定量的に評価しておく必要がある。さらに、流体のペクレ数が小さい場合には、軸方向の熱の移動において対流によるものより熱伝導によるものが優勢となるため、流体の運動方向とは逆に、高温側の下流から低温側の上流への熱の移動が生じ、温度助走区間での熱伝達へペクレ数がどのような影響を与えるかを定量的に把握する必要がある。

本研究は、平行平板間の平面ポアズイユ・クウェット層流熱伝達に及ぼす流体の粘性逸散と軸方向熱伝導の影響をより一般的に解析するために流体として修正指数法則 (modified power-law model) で表現される非ニュートン流体を対象とし、熱的境界条件として運動している平板上で温度一定あるいは熱流束一定の条件が課せられた場合に対して、理論的に解析している。

第 I 章では、本研究の背景及び目的を述べ、研究の意義を明確にするとともに論文の構成を記述した。

第 II 章では、これまでに報告されている平行平板間に関する数多くの研究から本研究に関連する文献を調査している。文献はニュートン流体と非ニュートン流体に対して、1. 平行平板の片方の平板が軸方向に運動している場合、2. 粘性逸散の影響、3. 流体の軸方向熱伝導の影響、4. 粘性逸散および軸方向熱伝導の影響を同時に考慮する場合、の四つに分類して調査している。

第 III 章では、非ニュートン流体の平面ポアズイユ・クウェット流れにおける流体の速度分布と摩擦係数について解析している。次章以降では本章で得られる速

度場を使用して熱伝達を定量的に評価する。また、流体の粘性逸散により発生する熱量の大きさは流れる流体の速度勾配に関係する。従って、ここでは速度場をより正確に評価しておく必要がある。非ニュートン流体の速度場は、せん断速度（速度勾配）が小さい領域（零を含む）でも見かけの粘性係数が正しく評価される、Irvine の提案した修正指数法則を用いて流体力学的に十分発達した条件で数値計算により定めた。本章では、次章以降の熱伝達を解析するために必要な速度場の特徴を明らかにしている。

第 IV 章では、修正指数法則で表現される非ニュートン流体の十分に発達したポアズイユ・クウェット層流熱伝達を温度助走区間で解析し、粘性逸散と軸方向熱伝導の影響を明らかにするために、特に次のような解析方法を採用している。流体の軸方向熱伝導を考慮する場合には、熱伝導により流体中に下流（高温流体）から上流（低温流体）への熱移動が生じるので、エネルギー式を上流無限大から下流無限大までを対象として楕円型の偏微分方程式として解く必要がある。熱的境界条件として、上流無限大で入口温度一定、下流無限大で十分発達した温度分布を課し、壁面上では温度一定あるいは熱流束一定の条件を設定している。エネルギー式は軸方向座標の無限領域を逆正接変換法 (transverse-tangent transformation) で有限の領域に変換し、原点近傍において細かく格子を配置した有限差分法により精確に数値解析している。温度場やヌッセルト数に及ぼす非ニュートン流体の特性指数、運動する平板の速度、プリンクマン数およびペクレ数の影響を検討した結果、次の事を明らかにした。(1) 軸方向座標の原点より上流の非加熱部分でも、流体の温度は粘性逸散および軸方向熱伝導により上昇する。(2) 温度一定で加熱される平板のヌッセルト数はペクレ数が小さい場合、温度助走区間で大きくなる。(3) 粘性逸散の影響は非ニュートン流体の特性指数が大きい流体では強くなる。(4) 流体が、運動する平板と同じ方向に流れる場合は粘性逸散の影響は少ない。(5) 壁面上では熱流束一定条件の場合には熱伝達に及ぼす粘性逸散の役割が運動する平板の速度によって逆に変わる事がある。(6) 与えられたプリンクマン数およびペクレ数では、流体が運動する加熱された平板と同じ方向に流れている場合のヌッセルト数は、その平板が静止している場合より常に高い。

第 V 章では、修正指数法則で表現される非ニュートン流体の十分に発達したポアズイユ・クウェット流れの流体力学的および熱的に十分発達した層流熱伝達に及ぼす粘性逸散の影響を壁面熱流束が一定の場合に明らかにしている。流体の温度場とヌッセルト数に及ぼす非ニュートン流体の特性指数、運動する平板の速度

およびブリンクマン数の影響を検討し、流体が熱流束一定で加熱されて運動する平板と同じ方向に流れている場合はその平板でのヌッセルト数は粘性逸散によって大きくなるが、流体が逆方向に流れる場合には、ヌッセルト数は粘性逸散によって小さくなる事を明らかにした。

第Ⅵ章は総括で、第Ⅲ章から第Ⅴ章において得られた重要な知見をまとめた。

#### 論文審査の結果の要旨

ダワァ ガンバット氏は、1988年7月にモンゴル技術大学エネルギー部を卒業後、ウランバートルの火力発電所で3年間の実務を経験し、その後、自然エネルギー再生研究所を経て、5年間、母校のモンゴル技術大学の講師として熱工学に関する教育と研究に携わった。1997年10月に国費留学生として来日し、長崎大学留学生センターで6ヶ月の日本語研修を修了後、1998年4月に長崎大学大学院工学研究科修士課程機械システム工学専攻に入学した。2000年3月に同大学院修士課程を修了し、同年4月、長崎大学大学院生産科学研究科(博士後期課程)に入学し、現在に至っている。

同氏は、生産科学研究科に入学以降、海洋資源学を専攻して所定の単位を修得するとともに、平行平板間の層流熱伝達の研究に従事し、その成果を平成15年6月に主論文「Laminar Heat Transfer in Non-Newtonian Plane Poiseuille-Couette Flow」として完成させ、参考論文10編(うち審査付き論文2編)を付して、長崎大学大学院生産科学研究科教授会に博士(工学)の学位の申請をした。

長崎大学大学院生産科学研究科教授会は、平成15年6月19日の代議員会において論文内容の要旨を検討し、本論文を受理して差し支えないものと認め、下記の審査委員を選定した。委員は主査を中心に論文内容について慎重に審議し、公開論文発表会を実施するとともに、最終試験を行い、論文審査および最終試験の結果を平成15年9月18日の研究科教授会に報告した。

押し出し・引き抜き・圧延などの金属やプラスチック材料の製造過程および長いトンネル内を高速で走行する列車や地下鉄の熱環境等に関連する伝熱装置あるいは機器の設計においては、内管が軸方向に運動する環状流路内の流動と伝熱に関する知見が不可欠であるが、この分野においてはこれまで研究は少なく、流動と伝熱に関する基礎資料が不足している。環状流路内を流れる流体としては、通常、水や空気のようなニュートン流体が使用されるが、摩擦抵抗を減少させる観点からポリマー水溶液等の非ニュートン的な挙動を示す流体が用いられる場合もある。平行平板は環状流路を構成する二重管の内半径と外半径が等しくなる極限の幾何学形状であり、圧力差による流体の流れと

片方の平板の軸方向運動とが共存する場合の平行平板間の定常流れは平面ポアズイユ・クウェット流れと呼ばれる。平板の軸方向運動が存在する場合には、壁面のせん断作用により、圧力差で平行平板間を流れる流体の速度分布が変形、つまり、速度勾配が変化するため、それに対応して粘性逸散による発熱が生じ、流体の温度場が変化する。また、流体のペクレ数が小さい場合には、軸方向の熱伝導が対流による熱の移動より優勢となるため、壁面から加熱する条件の下では、高温側(下流)から低温側(上流)へと流体の流動方向とは逆に熱の移動が発生する。従って、伝熱設計に際しては、流体の粘性逸散と軸方向熱伝導が、温度助走区間の層流熱伝達にどのような影響を与えるかを定量的に解明しておく必要がある。

本論文は、平行平板間の平面ポアズイユ・クウェット層流熱伝達の解析において、エネルギー式中で従来省略されてきた流体の粘性逸散項と軸方向熱伝導項を同時に考慮し、非ニュートン流体を対象として、温度一定と熱流束一定の二種類の熱的境界条件を課して理論的に解明したものである。本論文では、流体の粘性逸散により発生する熱量の大きさは流れる流体の速度勾配に関係することから、せん断速度(速度勾配)が小さい領域(零を含む)でも見かけの粘性係数が正しく評価される、Irvineらの提案した修正指数法則を採用して流体力学的に十分発達した条件に対して速度場を有限差分法により精確に決定し、さらに修正指数則で表される非ニュートン流体の流れの特性指数と無次元せん断速度パラメータが速度場に及ぼす影響を一般的に議論している。

流体の温度場を決定するためには、流体の粘性逸散項と軸方向熱伝導項の両者を含むエネルギー式を数值的に解く必要があるが、エネルギー式は楕円型の偏微分方程式であるために上流無限大から下流無限大までを解析の対象として解かなければならない。本論文では、軸方向座標において無限領域を逆正接変換を用いて有限領域に変換し、熱的境界条件として上流無限大で入口温度一定、下流無限大で十分発達した温度分布および壁面上では温度一定あるいは熱流束一定の条件を課し、原点近傍で格子を密に配置する有限差分法を採用することにより、温度場の精確な解を得ている。本論文の伝熱解析から、次のような新しい知見が得られている。(1) 流体の温度は、粘性逸散および軸方向熱伝導により、原点より上流の非加熱部分で上昇し、このため、温度助走区間でのヌッセルト数は複雑な挙動を示す。(2) ペクレ数が小さい場合には、加熱される平板のヌッセルト数は温度助走区間で平坦化される。(3) 非ニュートン流体の特性指数が大きい流体の場合には、粘性逸散の影響が強くなる。(4) 流体の流れが

運動する平板と同方向の場合には、粘性逸散の影響は小さくなる。(5) 熱流束一定条件の場合には、壁面熱伝達に及ぼす粘性逸散の影響は運動する平板の速度の大きさに依存して特異な挙動を示す。(6) プリンクマン数とペクレ数が指定された場合、流体が運動する加熱された平板と同方向に流れている場合のヌッセルト数は、その平板が静止している場合より常に高くなる。

さらに、熱的に十分発達した場合の層流熱伝達に及ぼす粘性逸散の影響を壁面熱流束一定の場合に定量的に明らかにし、軸方向下流無限大で温度場とヌッセルト数の有用な解を得ている。

以上のように本論文は、平行平板間の非ニュートン流体の層流熱伝達に関する新しい知見を提供するとともに、材料の製造過程等の伝熱設計の基礎資料としても有用であり、伝熱工学に多大の寄与をするものと評価できる。生産科学研究科教授会は、審査委員会の報告に基づき審議した結果、本論文は伝熱工学の分野において極めて有益な成果を得るとともに、工学の進歩発展に貢献するところが大であり、博士（工学）の学位に値するものとして、合格と判定した。

|       |   |   |   |   |   |   |     |
|-------|---|---|---|---|---|---|-----|
| 審査担当者 | 主 | 査 | 教 | 授 | 茂 | 地 | 徹   |
|       | 副 | 査 | 教 | 授 | 児 | 玉 | 好雄  |
|       | 副 | 査 | 教 | 授 | 石 | 田 | 正弘  |
|       | 副 | 査 | 助 | 教 | 授 | 桃 | 木 悟 |