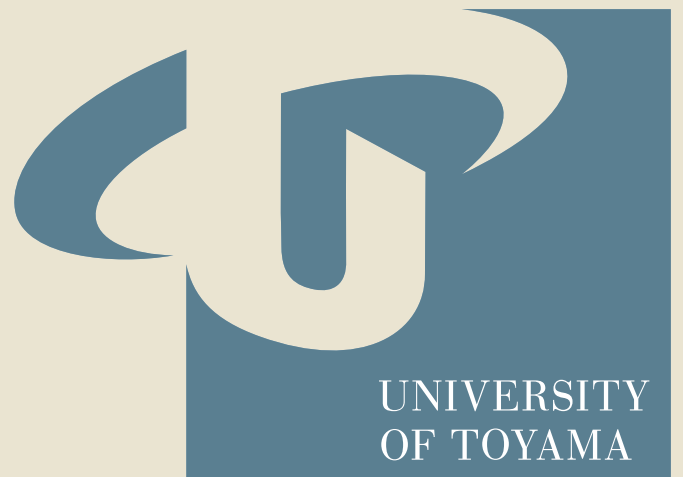


ISSN 2189-2466

TOYAMA MEDICAL

Vol.32 No.1 2021

JOURNAL



UNIVERSITY
OF TOYAMA

TOYAMA MEDICAL JOURNAL Vol.32 No.1 2021

CONTENTS

■Review

Involvement of the extrageniculate subcortical visual pathway
in innate recognition in primates 1-14
Hisao NISHIJO, Hiroshi NISHIMARU and Taketoshi ONO

■Original Article

Relationship between Sleep Quality and
Quality of Life (QOL) in Japanese Junior High School Children: Results of the
Toyama Birth Cohort Study 15-22
Shimako HAMANISHI, Michikazu SEKINE
Masaaki YAMADA, Yuko FUJIMURA
Lizhen HU, Hajime MINEMURA
Takashi TATSUSE

■原著

富山県における診療科別・二次医療圏別の医師偏在について 23-29
岡部圭介・竹村京子・峯村正実

当科における15年間の口唇・口蓋裂一次症例の臨床観察 30-34
石坂理紗・藤原久美子・高市真由・中道尚美・上浦 眸
今上修一・池田篤司・野口 誠

■Case Report

A Case of Cavernous Dural Arteriovenous Fistula complaining
Double Vision while Driving 35-36
Keiichiro KITA

■学位授与

博士 (医学) 37-38
博士 (看護学) 39
博士 (医学)《論文博士》 39
修士 (医科学) 40
修士 (看護学) 40

■令和2年度研究医養成プログラム修了報告 41-56

■記 事

富山大学医学会会則 57
富山大学医学会役員 58
富山大学医学会誌投稿規定 59-62

Review

Involvement of the extrageniculate subcortical visual pathway in innate recognition in primates

Hisao NISHIJO^{1,2}, Hiroshi NISHIMARU^{1,2} and Taketoshi ONO¹

Abstract

Vertebrates, including primates, can recognize or respond to specific stimuli that are important for survival, such as specific visual objects (natural enemies, prey animals, foods, etc.), sounds (e.g. animal barks), and odors or pheromones, even if they have never previously experienced those stimuli. That is, those stimuli can be recognized immediately after birth without learning (innate recognition), and the neural circuits involved in the detection of these stimuli are supposed to be genetically coded for innate recognition. In primates, the extrageniculate subcortical visual pathway (extrageniculate visual system), consisting of the retina, superior colliculus, pulvinar in the thalamus and amygdala (or association area, etc.), has been suggested to be involved in innate recognition of these stimuli. To investigate neural mechanisms of innate recognition in primates, we have analyzed single neuronal responses to these stimuli in the monkey pulvinar and superior colliculus. The results indicated that pulvinar and collicular neurons responded preferentially to facial patterns and snakes, detection of which is crucial for survival in primates. The response characteristics of these neurons suggest that the extrageniculate visual system is involved in processing visual information of faces and snakes at low resolution for rapid detection. These findings suggest that primate evolution might shape the extrageniculate visual system for innate and automatic (unconscious) detection of these stimuli to survive in the natural environment.

Introduction

Extensive studies suggest that all vertebrates including primates can respond to biologically relevant stimuli (e.g., visual stimuli, sounds, and pheromones) without any previous experience¹. For example, naïve rats can display aversive responses (flight or freezing) when they encounter a predator, even if they have not previously encountered the predator². In primates, the recognition of snakes is innate^{3,4}. Behavioral studies showed that isolation-reared (snake-naïve) monkeys avoided a toy snake model and snake odors^{5,6}. Humans and monkeys can more easily learn aversive conditioning between snakes and shock or fear than most other objects or visual stimuli⁷, and the presentation of snake images captured attention automatically and in shorter latencies than other threatening images⁸. Furthermore, naïve children detected striking snakes faster than non-striking snakes⁹. On the other hand, all vertebrates from fishes to primates commonly respond to facial stimuli including eyes/gazes^{1,10}. For example, human newborn babies and fetuses, as well as newly hatched chicks, preferentially respond to face-like patterns

(three dots configured like a face)¹¹⁻¹³, while human newborn babies, as well as newly hatched chicks, preferentially respond to the same human facial photos compared with their randomized photos¹⁴.

Innate recognition of these biological stimuli might be supported by “hard-wired” neural circuits in the brainstem including superior colliculus (SC), pulvinar, and amygdala^{1,11} (Fig. 1). The superficial layers of the SC receive afferents from the retinal ganglion cells^{15,16}. The pulvinar receives afferents from the superficial and deep layers of the SC¹⁷⁻¹⁹, and sends the afferents to the amygdala²⁰. It is noted that this subcortical visual route (extrageniculate visual system) consisting of the SC, pulvinar, and amygdala provides the cortex with a de-tour visual system independent of the striate cortex²¹⁻²⁵. This extrageniculate visual system has been commonly identified in fishes, amphibians, birds, and primates^{26,27}.

The extrageniculate visual system might function not only in neonates but also in adults in primates. Although the ordinary visual system (retina-lateral geniculate body-striate cortex: geniculo-striate system) plays a fundamental role in visual perception (Fig. 1), human pa-

(Received 2021.8.26 / Accepted 2022.1.11)

¹Faculty of Medicine, System Emotional Science, University of Toyama, Toyama 930-0194, Japan

²Research Center for Idling Brain Science (RCIBS), University of Toyama, Toyama, Japan

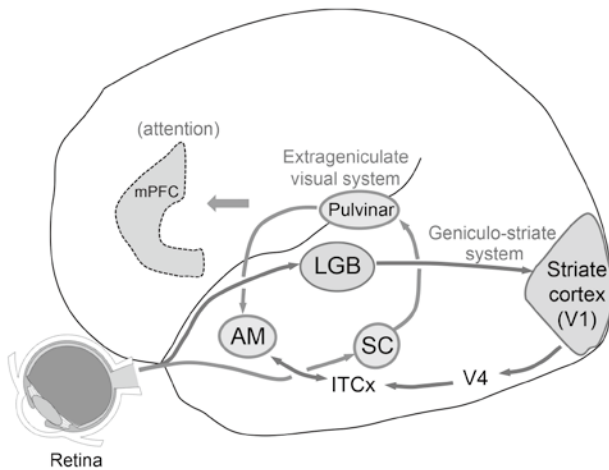


Fig. 1. Schema of the two visual pathways. SC, superior colliculus; AM, amygdala; LGB, lateral geniculate body; ITCx, inferior temporal cortex; mPFC, medial prefrontal cortex.

tients and monkeys with striate cortical lesions display some residual visual functions in the blind visual field (i.e., blindsight^{28,29}). These human patients could not consciously respond to stimuli in their blind visual fields nor consciously detect stimulus locations. However, they could unconsciously detect or discriminate visual stimuli such as facial photos^{22,30-32}. Imaging studies using such patients with blindsight showed activity increases in the extrastriate visual cortices when stimuli were presented to the blind visual field³³⁻³⁵. This suggests that the extrastriate cortices might receive visual information from the extrageniculate visual system, which does not involve the striate cortex. In this paper, we review characteristics of neurons in the monkey extrageniculate visual system based on our neurophysiological studies, and discuss the role of this system in innate recognition.

Aims of the neurophysiological studies in the monkey extrageniculate visual system

To investigate neural mechanisms of innate recognition in primates, we have been analyzing neuronal responses to faces and snakes in the extrageniculate visual system. Neuronal activity was recorded from the SC and pulvinar of monkeys while monkeys discriminated visual stimuli in a delayed non-matching to sample (DNMS) task. The first topic of our studies was to investigate responsiveness and latencies of neurons in the extrageniculate visual system to visual stimuli including faces and snakes that are important for primates. If the extrageniculate visual system is involved in innate

recognition and detection of those stimuli, high behavioral responsiveness to those stimuli in primates (see Introduction) suggests that monkey pulvinar and SC neurons would preferentially respond to faces and snakes with faster latencies compared with other stimuli, and that information to discriminate biologically important stimuli (e.g., faces, snakes) from other stimuli would be decoded from neuronal activity in the monkey pulvinar and SC. We also analyzed neuronal activity in the medial prefrontal cortex (mPFC) that receives visual information from the pulvinar and amygdala in the same way.

The second topic of our studies was gamma oscillation in the extrageniculate visual system. Gamma oscillations in feedforward processes may facilitate visual perceptual processing³⁶⁻³⁸. Gamma oscillations have been reported in the SC, pulvinar, and amygdala during sensory stimulation³⁹⁻⁴². Furthermore, in response to facial stimuli and gaze shift, gamma oscillations were elicited in various brain regions (i.e., the amygdala, pulvinar, temporal cortex, and occipital face area)^{40,42-44}. It has been reported that coherent meaningful stimuli (e.g., illusory Kaniza triangle, facial stimuli, etc.) induced stronger gamma oscillations compared with meaningless stimuli (e.g., non-illusory non-triangle, scrambled faces, etc.), suggesting that gamma oscillation might be involved in perceptual integration⁴⁵⁻⁴⁷. Consistent with this idea, gamma oscillatory activity may reflect temporal synchronization of ensemble neuronal activity, which could function as functional units to detect specific stimuli^{48,49}. Taken together, gamma oscillations in the extrageniculate visual system might contribute to detection of visual stimuli (i.e., facial stimuli and predators such as snakes). Furthermore, it has been proposed, based on computational inference, that oscillation strength might be correlated with some behavioral parameters⁵⁰. We hypothesized that the SC and pulvinar neurons would display gamma oscillations in response to faces and snakes, and that its strength of gamma oscillation might be correlated with behavioral performance in the DNMS task.

Representation of facial information in the monkey pulvinar and SC

We recorded neuronal activity from monkey pulvinar and SC neurons during the DNMS task, while monkeys discriminated 5 categories of visual stimuli [facial photos, line drawings of faces, face-like patterns (3 dark spots on a white oval), eye-like patterns, and simple fig-

ures] (examples of the stimuli are shown in Fig. 2)^{51,52}. Figure 2 shows a pulvinar neuron that responded to these visual stimuli. This neuron responded strongly to the face-like patterns (Fig. 2Da-c): the activity of the neuron initially increased robustly in response to the stimuli, then decreased rapidly. Similar neuronal responses to those stimuli were also observed in the SC. However, response latencies were faster in the SC (52.95 ± 1.71 ms; mean \pm SEM) than the pulvinar (63.38 ± 1.89 ms), while both latencies were faster than those in the striate cortex. This indicates that the extrageniculate visual system receives visual inputs independent of the striate cortex.

There is substantial evidence suggesting that the ex-

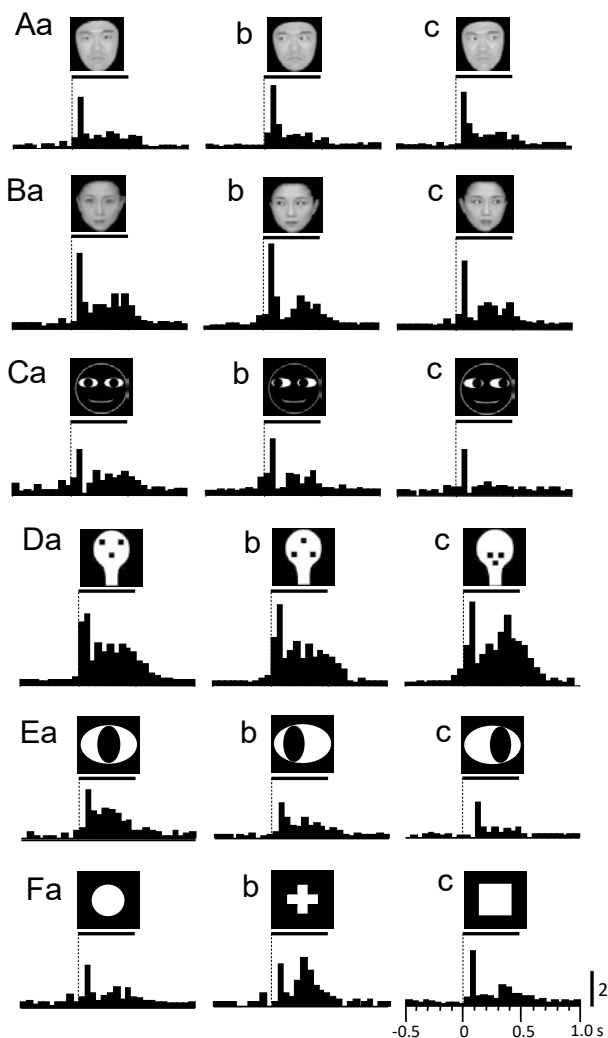


Fig. 2. An example of a visually responsive pulvinar neuron in response to human faces (A, B), line drawings of faces (C), face-like patterns (D), eye-like patterns (E), and simple figures (F)⁵¹. Horizontal bars above the histograms indicate the stimulus presentation period (500 ms). Zero on abscissas indicates the stimulus-onset point. Bin width, 50 ms.

trageniculate visual system is involved in discrimination of identity and gender of facial photos. Healthy human subjects showed a monocular (same eye) advantage in the recognition of facial identity when two facial stimuli were sequentially presented to the same or different eyes⁵³. Since the extrageniculate visual system receives dominant monocular information, these findings suggest that the extrageniculate visual system is involved in the recognition of facial identity⁵³. Furthermore, a patient with striate cortical lesions could unconsciously discriminate the gender of facial photos in the blind visual field⁵⁴, suggesting that the extrageniculate visual system can process gender information. Since individual SC and pulvinar neurons are broadly tuned (e.g., Fig. 2), we hypothesized that ensemble activity of visually responsive pulvinar and SC neurons would represent gender and identity of facial images (i.e., population coding). To investigate population coding of facial information in the SC and pulvinar, we analyzed ensemble activity of 112 SC and 68 pulvinar neurons in serial 50-ms epochs after stimulus onset in response to the 35 facial photos including profiles and frontal faces shown in Fig. 3A by means of multi-dimensional scaling (MDS)⁵⁶. In MDS, stimuli with similar ensemble activity patterns are located near in the space. Figure 3B shows the MDS results in the pulvinar in epoch 2 (50-100 ms) after stimulus onset: representation of the 35 facial photos in the 2D space in epoch 2. The results indicated that the profiles and frontal faces were perfectly separated: the profiles (gray symbols) and frontal faces (black symbols) were located in the left and right, respectively. Furthermore, within the frontal faces, there was clear clustering of gender: the female models (ellipses and circles) were located in the upper half of the 2D space, while the male faces (triangles, diamonds, and squares) were located in the lower half of the 2D space. In addition, the frontal faces formed clusters of the identity of each model. These clustering based on head orientation, gender, and identity was statistically significant not only in the pulvinar but also in the SC in epoch 2 (50-100 ms after stimulus onset) (discriminant analysis, $p < 0.05$), but less evident in epoch 1 (0-50 ms after stimulus onset). The MDS analysis of ensemble activity of 112 SC neurons indicated essentially comparable results⁵⁶.

These results indicated that facial (head) orientation, identity, and gender are represented by the population activity of the SC and pulvinar neurons. In the present studies, the frontal, but not profile, faces were clustered

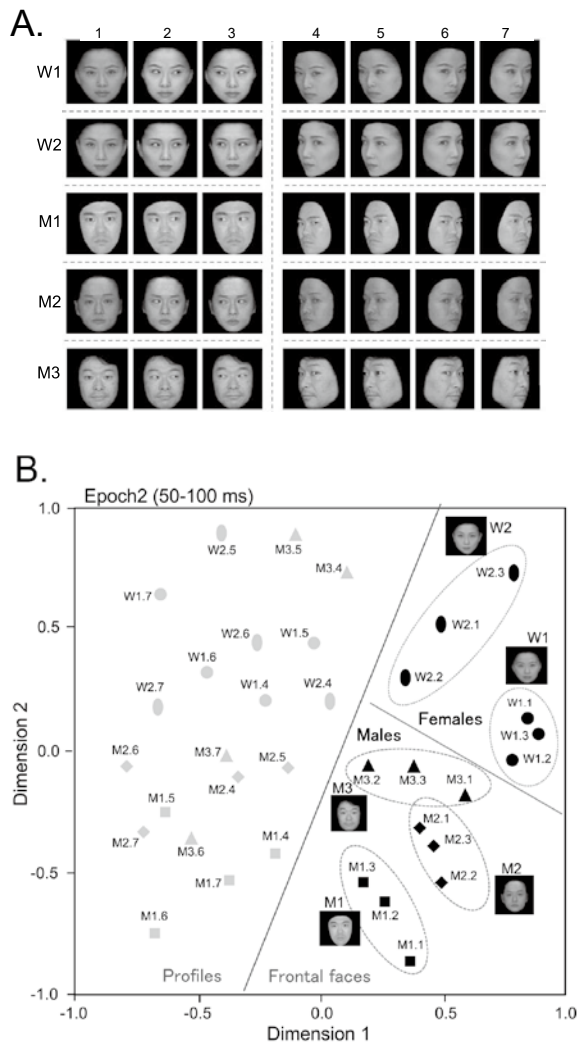


Fig. 3. Representation of the facial stimuli in the monkey pulvinar⁴². (A) The 35 facial stimuli that were presented in the DNMS task to elicit pulvinar neuronal responses. To analyze gamma oscillation in Fig. 4, the 35 facial photos were divided into 10 groups (separated by dotted lines). (B) Representation of the 35 facial photos in the monkey pulvinar in epoch 2 (50-100 ms). The labels near the symbols refer to the 35 visual stimuli shown in Fig. 3A.

well based on individual identity (i.e., view-dependent representation of facial identity). It is noted that this finding is different from previous studies: previous behavioral studies reported that the recognition of facial identity is view-independent not only in adult humans but also in infants older than 6 months⁵⁶⁻⁵⁸. Neurophysiological studies in monkeys also reported that population coding of facial identity by cortical face neurons is face orientation (view)-independent^{59,60}. However, the cortical visual system preferentially responds only to frontal faces in 5-month-old infants, although it responded to both frontal and profile faces in 8-month-old in-

fants⁶¹). These findings suggest that the cortical facial processing system in infants younger than 6 months relies more on the extrageniculate visual system, and as a consequence more sensitive to frontal faces, while, in adults, the cortical facial processing system relies more on the matured cortical visual system, and consequently the cortical facial processing system is view-independent. These findings are consistent with the idea that the extrageniculate visual system is hardwired and active in early infants. It is also noted that the monkeys discriminated only gaze direction in the DNMS task, regardless of other features of the facial photos including gender, identity, and head orientation, although facial orientation, identity, and gender were encoded by population coding in the present study. These findings support the idea that facial information is automatically processed in the innate module (i.e., the extrageniculate visual system) in the early stages⁶².

Gamma oscillation during presentation of human facial images in the monkey pulvinar and SC

We have also analyzed gamma oscillation of neuronal responses during the presentation of the facial photos⁶³. The 35 facial photos were divided into 10 groups (separated by dotted lines in Fig. 3A), and neuronal data were pooled in each group. Gamma oscillations of SC and pulvinar neuronal activity were analyzed in temporally three different phases around the stimulus onset [inter-trial interval (ITI) (1000 ms before trial onset), Early phase (0-200 ms after stimulus onset), and Late phase (300-500 ms after stimulus onset)]. In each phase, an auto-correlogram over 200 ms was computed in each stimulus group. Then, based on the method by König⁶⁴ and Engel et al.⁶⁵, the primary oscillation frequency was calculated. Figure 4A shows an SC neuron that displayed gamma oscillations during presentation of facial stimuli. This neuron responded strongly to facial stimuli (Aa). The autocorrelogram of activity of this neuron in Early phase showed gamma oscillations (Ab). Figure 4B shows the mean strengths of gamma oscillations of SC neurons with significant gamma oscillations in the three phases. The mean gamma frequency of all SC neurons with significant gamma oscillations was around 55 Hz in each phase. Early phase showed stronger strength of gamma oscillations than the other phases in the SC.

Thus, in Early phase, the monkey SC and pulvinar neurons showed gamma oscillations around 60 Hz. It is reported that gamma oscillations were induced in the human amygdala, lateral occipital face area, fusiform

face area, and temporal cortex in response to facial stimuli^{40,43,44,66,67}. It has been suggested that the extrageniculate visual system including the SC and pulvinar rapidly and roughly process facial stimuli^{51,52,55,68,69}, and that gamma oscillation facilitates visual perceptual processing by feedforward processes³⁶⁻³⁸. Furthermore, an fMRI study reported that stimulation of the SC induced activity increases in the pulvinar and extrastriate cortex in monkeys⁷⁰. In addition, silencing of pulvinar activity decreased gamma oscillation in the visual cortex^{71,72}, and also it decreased visual responses in the striate (V1) and extrastriate visual association cortices^{73,74}. These findings suggest that the extrageniculate visual system including the SC and pulvinar rapidly processes facial visual information in feedforward processes with gamma oscillations, which are sent to the cortical visual areas.

To investigate the role of gamma oscillations in monkey performance in the DNMS task, relationships between strengths of gamma oscillations of SC neurons in Early phase and correct ratios (task performance) in the DNMS task were analyzed across the 10 stimulus

groups (Fig. 4C)⁶³. The results indicated that the strengths of gamma oscillations in the SC were positively correlated with correct ratios. In the pulvinar, essentially the same results were observed. The following three mechanisms may explain an involvement of gamma oscillations in behavioral performance. First, gamma oscillation may aid visual perceptual integration processes of facial stimuli (see Introduction), which might be dependent on neural networks between the extrageniculate visual system and cortical face-processing areas^{25,75,76}. This perceptual integration might occur unconsciously⁷⁷⁻⁷⁹. Consistently, patients with blindsight could unconsciously discriminate intact and scrambled facial images⁸⁰. Furthermore, training for induction of gamma oscillation increased perceptual integration⁸¹. Taken together, gamma oscillation may aid perceptual integration of facial stimuli, which might facilitate stimulus discrimination and task performance. Second, gamma oscillations during sensory stimulation are implicated in subsequent successful memory retrieval of the stimuli⁸²⁻⁸⁴. An MEG study reported that such stimulus-induced gamma oscillations occurred in the occipito-

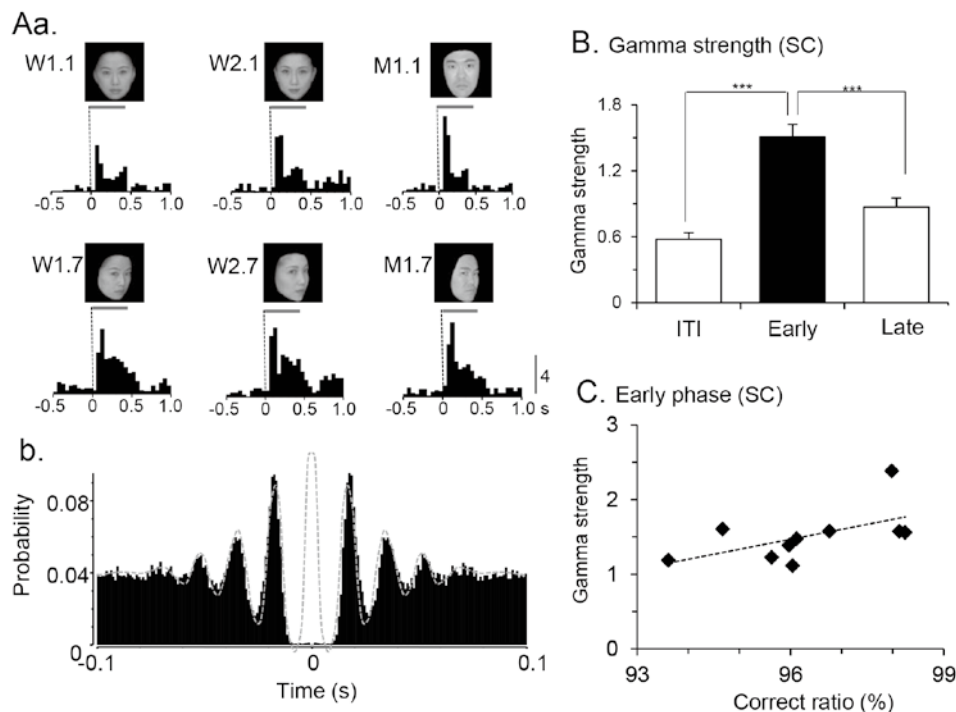


Fig. 4. Gamma oscillation in the monkey SC in response to human facial stimuli⁶³. (A) An example SC neuron that responded to facial stimuli (a), and showed gamma oscillation in an auto-correlogram of this neuronal activity in Early phase (b). A dotted line indicates a wave of significant gamma oscillation. (B) Mean gamma strength among the three phases. ***, $p < 0.001$. (C) Relationships between mean gamma strength and correct ratios during the presentation of 10 groups of the facial photos in the DNMS task.

temporal cortices⁸⁴), which receive projections from the pulvinar and amygdala (see Introduction). These findings suggest that the extrageniculate visual system may induce gamma oscillation in the occipitotemporal cortices in the sample phase of the DNMS to aid encoding of facial stimuli, which may enhance matching processes in which an incoming stimulus is compared with a previous sample stimulus in the DNMS task. Third, the extrageniculate visual system is also implicated in stimulus-response strategy through gamma oscillation. In humans, unconscious visuomotor priming was associated with increases in functional connections between the cortical ventral visual pathway and cortical motor-related areas and striatum⁸⁵. Both of the visual and motor-related areas receive projections from the extrageniculate visual system including the SC, pulvinar, and amygdala⁸⁶⁻⁸⁹. Furthermore, the presentation of emo-

tional body expressions activated the cortical visual and motor-related areas, as well as the thalamus and amygdala⁹⁰. In addition, in a visuomotor task in which subjects pressed buttons upon recognition of a face, gamma coherence between the vision- and motor-related areas increased⁹¹. Taken together, the extrageniculate visual system might synchronize the two brain regions required for stimulus-response strategy (the cortical visual and motor-related areas) through gamma oscillation.

Representation of snake information in the monkey pulvinar

To investigate neural mechanisms of innate snake detection (see Introduction), we recorded neuronal responses in the pulvinar while the monkeys discriminated visual stimuli in the DNMS task⁶⁹. Of the 91 visually-responsive pulvinar neurons, 37 neurons (40.6 %) re-

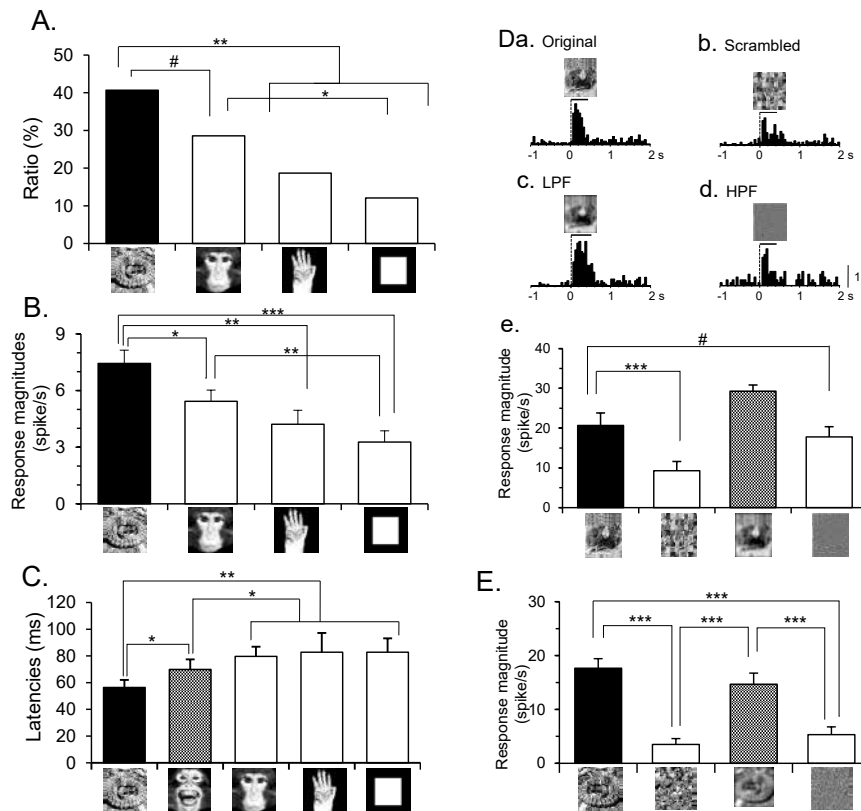


Fig. 5. Sensitivity of monkey pulvinar neurons to snakes⁶⁹. (A-C) Response characteristics of pulvinar neurons: categorization of the pulvinar neurons by best stimuli (A), mean response magnitudes (B) and response latencies (C) to the four stimulus categories. ***, **, *, #, $p < 0.001$, 0.01, 0.05, and 0.1, respectively. (D) An example of responses of one pulvinar neuron to the original (a), scrambled (b), low pass-filtered (LPF) (c), and high pass-filtered (HPF) (d) snake images, and the mean response magnitudes to the four visual stimuli (e). ***, #, $p < 0.001$, 0.10, respectively. (E) Averaged response magnitudes ($n = 20$) to the original and transformed snake images. ***, $p < 0.001$.

sponded best to snakes (snake-best neurons) (Fig. 5A). The ratio of the snake-best neurons was greater than those of the other groups of the pulvinar neurons. Figure 5B shows the mean response magnitudes of pulvinar neurons to the four stimulus categories. The mean response magnitudes to snakes were greater than those to other stimulus categories. Consistent with the previous studies^{51,92}, latencies of pulvinar neuronal responses ranged from 30 to 450 ms. Figure 5C shows mean response latencies to the four stimulus categories. The mean response latencies to the snakes were faster than those to the other categories. Furthermore, there was also a significant difference between the emotional faces and non-emotional stimuli including neutral faces, hands, and simple figures. The results indicated that response latencies to the fear-related stimuli (snakes and emotional faces) were faster than other stimuli. To investigate the possibility that population coding allows rapid detection of snakes, the data sets of the 91 visually responsive pulvinar neurons were subjected to MDS analysis⁶⁹. In epochs 2 (50-100 ms after stimulus onset) and 3 (100-150 ms), snakes were separated from the other stimuli. These results indicate early and consistent discrimination of snake stimuli in the pulvinar as compared to other kinds of stimuli.

To analyze stimulus characteristics to which the pulvinar neurons are sensitive, pulvinar neurons were tested with transformed visual stimuli⁶⁹. In spatial filtering, visual stimuli were processed through low pass filter (LPF) with 6 cycle/image and high pass filter (HPF) with 20 cycle/image^{68,93}. Figure 5D showed an example of a neuron tested with the transformed visual images. This neuron responded to not only the original but also the LPF-processed snake images (Da,c, e). However, scrambling and HPF-processing decreased responses to the snake images (Db,d, e). Figure 5E indicates mean response magnitudes of 20 pulvinar neurons to these stimuli, and the same results were observed. These findings indicate that stimulus coherency and low-frequency images are important factors to activate pulvinar neurons, suggesting that pulvinar neurons are sensitive to forms of snakes in low resolution, but not to low-level stimulus features.

Although we presented images of snakes regardless of their postures in the above study⁶⁹, behavioral studies reported that primates are highly sensitive to the postures of snakes. Naïve children without previous experience of snakes searched striking snakes faster than non-striking snakes⁹. Furthermore, monkeys responded

more strongly to snake models in striking posture than those in non-striking postures¹⁰¹. These previous findings suggest that monkey pulvinar neurons would discriminate snakes with and without striking postures. To investigate this issue, 6 snake images with and without striking postures were presented to monkeys in the DNMS task while pulvinar neurons were recorded¹⁰². The results showed that pulvinar neurons responded stronger to striking snakes than snakes without striking postures, and that population activity of the 78 visually responsive neurons discriminated striking and non-striking snakes in the first epoch (0-50 ms after stimulus onset). These results indicate that the monkey pulvinar neurons may discriminate snakes in a striking posture, that is, posing a greater biological threat than those in a non-striking posture (lower threat) in a bottom-up visual information processing. The above results indicated that the pulvinar was specifically sensitive to snake features including not only their forms but also their postures. According to Isbell³, snakes have exerted a strong evolutionary pressure upon the primate visual system in the evolutionary past, and even today they are dangerous animals where they coexist with primates⁹⁴. These results are consistent with the ethological significance of snakes for primate species.

Comparison of gamma oscillations among snakes, monkey faces, and human faces in the monkey pulvinar

We also analyzed gamma oscillations in response to snakes as well as monkey and human faces in three phases [Pre-stimulus, Early (0-200 ms after stimulus onset), and Late (300-500 ms after stimulus onset) phases]^{42,63}. The results showed that the mean strength of gamma oscillations was increased in Early phase for human faces (Fig. 4)⁶³ and snakes⁴². Stronger gamma oscillations in response to snakes in Early phase are consistent with previous behavioral studies reporting that monkeys, as well as humans, can rapidly detect snakes (see Introduction). However, mean gamma strength for monkey faces was increased in Late phase, while mean gamma strength for human faces was increased in Early phase⁶³. Conspecific (monkey) faces not only provide various information including existence of fear-related stimuli in the environment⁹⁵⁻⁹⁸, but also are important for social communication in primates^{10,99,100}. Thus, conspecific faces provide complex information in primates, and might activate more sophisticated and higher cortical areas. Late gamma oscillation for conspecific (monkey) faces might reflect cortical

cal top-down cognitive processes to interpret and utilize the information (see a review by Herrmann et al.¹⁰³). However, human faces are as aversive to monkeys as snakes, and consequently they induced gamma oscillations in Early phase. Taken together, our results suggest different roles of gamma oscillations in the pulvinar: feedforward processing for snakes and human faces in the extrageniculate visual system and integration and elaboration of conspecific monkey faces in the cortico-pulvinar-cortical networks.

Differential responsiveness of gamma oscillations to the three stimulus categories in the monkey pulvinar also suggest a pivotal role of the pulvinar in detection of aversive stimuli. Several previous studies have implicated the colliculo-pulvinar pathway as a fear module for fast visual information processing^{22,104-106}. The above characteristics of the pulvinar neurons (i.e., short response latencies to snakes, sensitivity to low spatial frequency, and gamma oscillation in Early phase) strongly suggest that the pulvinar function as a fear module. In this sense, we also reported that bilateral lesions of the SC, which sends afferents to the lateral and medial pulvinar^{17,18,107}, decreased avoidance responses to a snake model¹⁰⁸. This behavioral evidence also supports an involvement of the extrageniculate visual system, including the pulvinar, in fast detection of ethologically aversive stimuli such as snakes and human faces in monkeys.

Characteristics of monkey medial prefrontal cortical neurons

Biologically relevant stimuli (e.g., snakes and faces) capture attention automatically in a short latency (see Introduction), suggesting that the extrageniculate visual system might activate the cortical attentional system. Consistently, the medial pulvinar and amygdala project to the medial prefrontal cortex (mPFC)^{109,110}. The mPFC is involved in attentional allocation to biologically relevant stimuli^{111,112}. Human fMRI studies reported that virtual predators, live snakes, and emotional faces increased activity in the mPFC¹¹³⁻¹¹⁶. Furthermore, the PFC may be involved in fast and coarse visual processing^{112,117,118}. Thus, the mPFC might also contribute to fast and coarse visual processing to rapidly detect snakes and faces. Another issue is sensitivity to snakes compared with other predators of primates. Although carnivores and raptors are also predators of primates¹¹⁹, snakes are the first modern predators of primates^{3,4}. Thus, snakes were the main evolutionary pressure to

evolve a fear module for rapid detection of snakes^{3,4}. These findings suggest that mPFC neurons are more sensitive to snakes than other predators including carnivores and raptors. To investigate visual information processing in the mPFC to detect biologically relevant objects, mPFC neurons were recorded while monkey discriminated 8 categories of the stimuli in the DNMS task¹²⁰; snakes, monkey faces, human faces, monkey hands, non-predators, raptors, carnivores, and simple figures (a total of 32 stimuli).

The results indicated that the mPFC showed response characteristics similar to those in the pulvinar^{69,120}. Figure 6A shows the categorization of the 93 mPFC neurons by the best stimulus that elicited the largest responses. The ratios of "snake-best neurons" and "monkey face-best neurons" were significantly greater than those of "raptor-best neurons," "human face-best neurons," "non-predator-best neurons," "simple figure-best neurons," and "hand-best neurons", while the ratio of "snake-best neurons" tended to be greater than that of "carnivore-best neurons". The mPFC neurons also responded stronger and faster to snakes and monkey faces (Fig. 6B, C). Furthermore, mean response magnitudes and latencies in the mPFC¹²⁰ were positively correlated with those in the pulvinar⁶⁹. These findings suggest that the mPFC receives visual information from the pulvinar. The MDS analyses of the 93 mPFC neurons indicated that snakes were separated from the remaining stimuli in epoch 2 (50-100 ms after stimulus onset), while, in epoch 3 (100-150 ms after stimulus onset), snakes and monkey faces were separated from the remaining stimuli. Thus, the population activity of the mPFC neurons discriminated snakes and monkey faces. These mPFC neurons were located mainly in the pregenual and subgenual parts of the anterior cingulate cortex.

The results indicated that mPFC neurons preferentially responded to snakes and faces based on bottom-up inputs from the pulvinar. The mPFC has been implicated in attentional allocation, by which attention is directed to salient visual stimuli such as snakes and faces^{121,122}. Threatening stimuli automatically capture attention better than neutral stimuli, and the degree of attention to these stimuli was correlated with gray matter volume of the anterior cingulate cortex¹²³, where snake- and/or face-responsive neurons were located. These responsive neurons were putative interneurons in the mPFC¹²⁰. Interneurons in the mPFC are implicated in the induction of gamma oscillation and attentional con-

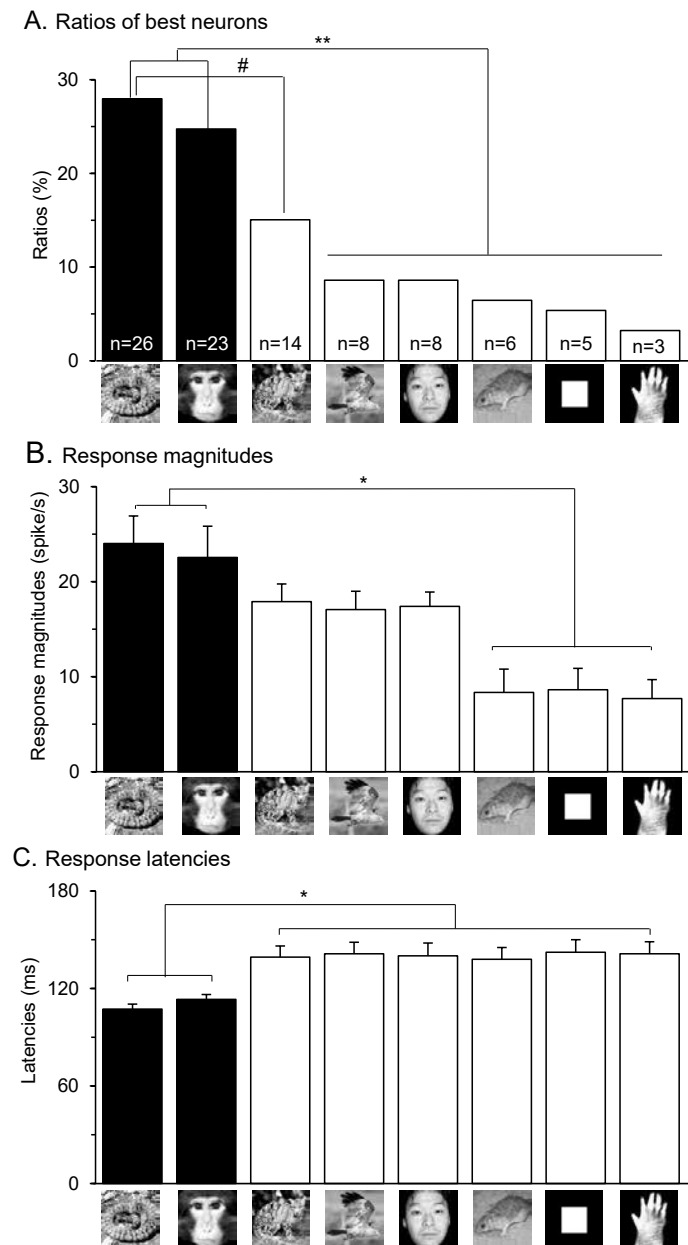


Fig. 6. Monkey mPFC neuronal responses to snakes and monkey faces¹²⁰. (A) Categorization of mPFC neurons by best stimuli and their ratios. **, #, $p < 0.01$, 0.10 , respectively. (B, C) Mean response magnitudes (B) and response latencies (C) to eight categories of visual stimuli. *, $p < 0.05$.

trol^{124,125}). Taken together, the mPFC may be involved in bottom-up attentional control when animals encounter emotionally salient stimuli such as snakes and faces.

Neural mechanisms of snake and face detection

We reviewed that neurons in the extrageniculate visual system selectively process snake and facial information^{13,14,42,63,69,92,102,126}; 1) monkey SC and pulvinar neu-

rons responded stronger and faster to snakes and facial photos, and 2) population activity patterns of pulvinar and SC neurons discriminated snakes and faces from other stimuli within 100 ms after stimulus onset. Moreover, snakes and faces elicited gamma oscillation in the monkey SC and pulvinar in the early phase^{42,63}). Thus, gamma oscillation in the pulvinar might be transferred to the mPFC in the feed-forward circuits directly, or by

way of the amygdala, to direct attention to threat stimuli (snakes and faces). The similarity of responses to these biologically relevant objects in the mPFC and extrageniculate visual system also suggests that the mPFC might receive coarse and rapid visual information from the extrageniculate visual system. These findings suggest that the extrageniculate visual system and mPFC form a functional unit and may be involved in coarse and rapid visual information processing to detect snakes and faces.

These findings further suggest that the extrageniculate visual system and mPFC are involved in attentional capture by snakes and emotional faces. The anterior cingulate cortex has been implicated in attentional allocation to emotional stimuli^{123,127,128}. When conscious recognition of emotional stimuli was blocked by backward masking, anterior cingulate cortical activity was correlated with amygdalar activity¹²⁸. Furthermore, in patients with visual extinction and neglect due to parietal lesions, unconscious presentation of emotional stimuli activated the PFC including the mPFC^{129,130}. These findings suggest that the mPFC can access to unconscious information from the extrageniculate visual system. Taken together, the extrageniculate visual system may function as a filter to automatically pick up biologically relevant objects in the early unconscious visual processing, and subsequent stronger activation of the mPFC may allocate attention to those objects.

Acknowledgments

The study was supported partly by Grant-in-Aid for Scientific Research (B) (16H04652, 20H03417) from the Japan Society for Promotion of Science (JSPS), Takeda Science Foundation, and research grants from University of Toyama.

References

- 1) Sowards T.V., and Sowards M.A.: Innate visual recognition in vertebrates: some proposed pathways and mechanisms. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 132: 861-91, 2002.
- 2) Blanchard R.J., and Blanchard D.C.: Defense reactions in the albino rat. *Learn. Motiv.* 2: 351-362, 1971.
- 3) Isbell L.A.: Snakes as agents of evolutionary change in primate brains. *J. Hum. Evol.* 51: 1-35, 2006.
- 4) Isbell L.A.: *Fruit, the Tree, and the Serpent: Why We See so Well.* Harvard University Press, Cambridge, 2009.
- 5) Nelson E.E., Shelton S.E., and Kalin N.H.: Individual differences in the responses of naïve rhesus monkeys to snakes. *Emotion* 3: 3-11, 2003.
- 6) Weiss L., Brandl P., and Frynta D.: Fear reactions to snakes in naïve mouse lemurs and pig-tailed macaques. *Primates* 56: 279-284, 2015.
- 7) Öhman A., and Mineka S.: Fears, phobias, and preparedness: toward an evolved module of fear and fear learning. *J. Pers. Soc. Psychol.* 80: 381-396, 2001.
- 8) Öhman A., Flykt A., and Esteves F.: Emotion drives attention: detecting the snake in the grass. *J. Exp. Psychol. Gen.* 130(3): 466-478, 2001. doi: 10.1037//0096-3445.130.3.466
- 9) Masataka N., Hayakawa S., and Kawai N.: Human young children as well as adults demonstrate "superior" rapid snake detection when typical striking posture is displayed by the snake. *PLoS ONE* 5: e15122, 2010.
- 10) Emery N.J.: The eyes have it: the neuroethology, function and evolution of social gaze. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 24(6): 581-604, 2000.
- 11) Johnson M.H.: Subcortical face processing. *Nat. Rev. Neurosci.* 6: 766-774, 2005.
- 12) Rosa —Salva O., Regolin L. and Vallortigara G.: Faces are special for newly hatched chicks: evidence for inborn domain-specific mechanisms underlying spontaneous preferences for face—like stimuli. *Dev. Sci.* 13(4): 565-577, 2010.
- 13) Reid V.M., Dunn K., Young R.J., Amu J., Donovan T., and Reissland N.: The Human Fetus Preferentially Engages with Face-like Visual Stimuli. *Current Biology* 27(12): 1825-1828, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.044>
- 14) Rosa Salva O., Farroni T., Regolin L., Vallortigara G., and Johnson M.H.: The evolution of social orienting: evidence from chicks (*Gallus gallus*) and human newborns. *PLoS One* 6(4): e18802, 2011.
- 15) Perry V.H., and Cowey A.: Retinal ganglion cells that project to the superior colliculus and pretectum in the macaque monkey. *Neuroscience* 12: 1125-1137, 1984.
- 16) Rodieck R.W., and Watanabe M.: Survey of the morphology of macaque retinal ganglion cells that project to the pretectum, superior colliculus, and parvicellular laminae of the lateral geniculate nucleus. *J. Comp. Neurol.* 338: 289-303, 1993.
- 17) Linke R., De Lima A.D., Schwegler H., and Pape H. C.: Direct synaptic connections of axons from superior colliculus with identified thalamo-amygdaloid projection neurons in the rat: possible substrates of a subcortical visual pathway to the amygdala. *J. Comp. Neurol.* 403: 158-170, 1999.
- 18) Grieve K.L., Acuña C., and Cudeiro J.: The primate pulvinar nuclei: vision and action. *Trends Neurosci.* 23: 35-39, 2000.
- 19) Kaas J.H., and Lyon D.C.: Pulvinar contributions to the dorsal and ventral streams of visual processing in primates. *Brain Res. Rev.* 55: 285-296, 2007.
- 20) Bridge H., Leopold D.A., and Bourne J.A.: Adaptive pulvinar circuitry supports visual cognition. *Trends Cogn. Sci.* 20: 146-157, 2016.

- 21) Day-Brown J.D., Wei H., Chomsung R.D., Petry, H.M., and Bickford M.E.: Pulvinar projections to the striatum and amygdala in the tree shrew. *Front. Neuroanat.* 4: 143, 2010.
- 22) Tamietto M., and de Gelder B.: Neural bases of the non-conscious perception of emotional signals. *Nat. Rev. Neurosci.* 11: 697-709, 2010.
- 23) Tamietto M., Pullens P., de Gelder B., Weiskrantz L., and Goebel R.: Subcortical connections to human amygdala and changes following destruction of the visual cortex. *Curr. Biol.* 22: 1449-55, 2012.
- 24) Rafal R.D., Koller K., Bultitude J.H., Mullins P., Ward R., Mitchell A.S., and Bell A.H.: Connectivity between the superior colliculus and the amygdala in humans and macaque monkeys: virtual dissection with probabilistic DTI tractography. *J. Neurophysiol.* 114: 1947-1962, 2015.
- 25) Soares S.C., Maior R.S., Isbell L.A., Tomaz C., and Nishijo H.: Fast detector/first responder: interactions between the superior colliculus-pulvinar pathway and stimuli relevant to primates. *Front. Neurosci.* 11: 67, 2017.
- 26) Ocklenburg S., and Gunturkun O.: Hemispheric asymmetries: the comparative view. *Frontiers in psychology* 3: 5, 2012.
- 27) Carr J. A.: I'll take the low road: the evolutionary underpinnings of visually triggered fear. *Frontiers in Neuroscience* 9: 414, 2015.
- 28) Stoerig P., and Cowey A.: Blindsight in man and monkey. *Brain* 120: 535-559, 1997.
- 29) Weiskrantz L., Cowey A., and Le Mare C.: Learning from the pupil: a spatial visual channel in the absence of V1 in monkey and human. *Brain* 121: 1065-1072, 1998.
- 30) de Gelder B., Vroomen J., Pourtois G., and Weiskrantz L.: Non-conscious recognition of affect in the absence of striate cortex. *Neuroreport* 10: 3759-3763, 1999.
- 31) Burra N., Hervais-Adelman A., Kerzel D., Tamietto M., de Gelder B., and Pegna A. J.: Amygdala activation for eye contact despite complete cortical blindness. *J. Neurosci.* 33: 10483-10489, 2013.
- 32) Solcà M., Guggisberg A.G., Schnider A., and Leemann B.: Facial blindsight. *Front. Hum. Neurosci.* 9: 522, 2015.
- 33) Goebel R., Muckli L., Zanella F.E., Singer W., and Stoerig P.: Sustained extrastriate cortical activation without visual awareness revealed by fMRI studies of hemianopic patients. *Vis. Res.* 41: 1459-1474, 2001.
- 34) Van den Stock J., Tamietto M., Sorger B., Pichon S., Grezes J., de Gelder B.: Cortico-subcortical visual, somatosensory, and motor activations for perceiving dynamic whole-body emotional expressions with and without striate cortex (V1). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 16188-16193, 2011.
- 35) Hervais-Adelman A., Legrand L.B., Zhan M., Tamietto M., de Gelder B., and Pegna A.J.: Looming sensitive cortical regions without V1 input: evidence from a patient with bilateral cortical blindness. *Front. Integr. Neurosci.* 9: 51, 2015.
- 36) Arnal L.H., and Giraud A.L.: Cortical oscillations and sensory predictions. *Trends Cogn. Sci.* 16: 390-398, 2012.
- 37) van Kerkoerle T., Self M.W., Dagnino B., Gariel-Mathis M.A., Poort J., van der Togt C., and Roelfsema P.R.: Alpha and gamma oscillations characterize feedback and feedforward processing in monkey visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111(40): 14332-14341, 2014.
- 38) Bastos A.M., Vezoli J., Bosman C.A., Schoffelen J.M., Oostenveld R., Dowdall J.R., De Weerd P., Kennedy H., and Fries P.: Visual areas exert feedforward and feedback influences through distinct frequency channels. *Neuron* 85(2): 390-401, 2015.
- 39) Shumikhina S., and Molotchnikoff S.: Visually-triggered oscillations in cat lateral posterior-pulvinar complex. *Neuroreport* 6: 2341-2347, 1995.
- 40) Sato W., Kochiyama T., Uono S., Matsuda K., Usui K., Inoue Y., and Toichi M.: Rapid amygdala gamma oscillations in response to fearful facial expressions. *Neuropsychologia* 49(4), 612-617, 2011.
- 41) Goddard C.A., Sridharan D., Huguenard J.R., and Knudsen E.L.: Gamma oscillations are generated locally in an attention-related midbrain network. *Neuron* 73(3): 567-580, 2012.
- 42) Le Q.V., Isbell L.A., Matsumoto J., Le V.Q., Nishimaru H., Hori E., Maior R.S., Tomaz C., Ono T., and Nishijo H.: Snakes elicit earlier, and monkey faces, later, gamma oscillations in macaque pulvinar neurons. *Sci. Rep.* 6: 20595, 2016.
- 43) Sato W., Kochiyama T., Uono S., Matsuda K., Usui K., Inoue Y., and Toichi M.: Rapid, high-frequency, and theta-coupled gamma oscillations in the inferior occipital gyrus during face processing. *Cortex* 60: 52-68, 2014.
- 44) Caruana F., Cantalupo G., Lo Russo G., Mai R., Sartori I., and Avanzini P.: Human cortical activity evoked by gaze shift observation: an intracranial EEG study. *Hum. Brain Mapp.* 35(4): 1515-1528, 2014.
- 45) Tallon-Baudry C., Bertrand O., Delpuech C., and Pernier J.: Stimulus specificity of phase-locked and non-phase-locked 40 Hz visual responses in human. *J. Neurosci.* 16(13): 4240-4249, 1996.
- 46) Zion-Golumbic E., and Bentin S.: Dissociated neural mechanisms for face detection and configural encoding: evidence from N170 and induced gamma-band oscillation effects. *Cereb. Cortex* 17(8): 1741-1749, 2007.
- 47) Gao Z., Goldstein A., Harpaz Y., Hansel M., Zion-Golumbic E., and Bentin S.A.: A magnetoencephalographic study of face processing: M170, gamma-band oscillations and source localization. *Hum. Brain Mapp.* 34(8): 1783-1795, 2013.
- 48) Gray C.M., and Singer W.: Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86: 1698-1702, 1989.
- 49) Singer W., and Gray C.M.: Visual feature integration and

- the temporal correlation hypothesis. *Annu. Rev. Neurosci.* 18: 555-586, 1995. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.neuro.18.1.555>.
- 50) Engelhard B., and Vaadia E.: Spatial computation with gamma oscillations. *Front. Syst. Neurosci.* 8: 165, 2014.
 - 51) Nguyen M.N., Hori E., Matsumoto J., Tran A.H., Ono T., and Nishijo H.: Neuronal responses to face-like stimuli in the monkey pulvinar. *Eur. J. Neurosci.* 37: 35-51, 2013.
 - 52) Nguyen M.N., Matsumoto J., Hori E., Maior R.S., Tomaz C., Tran A.H., Ono T., and Nishijo H.: Neuronal responses to face-like and facial stimuli in the monkey superior colliculus. *Front. Behav. Neurosci.* 8: 85, 2014.
 - 53) Gabay S., Burlingham C., and Behrmann M.: The nature of face representations in subcortical regions. *Neuropsychologia* 59: 35-46, 2014.
 - 54) Morris J.S., de Gelder B., Weiskrantz L., and Dolan R.J.: Differential extrageniculostriate and amygdala responses to presentation of emotional faces in a cortically blind field. *Brain* 124: 1241-1252, 2001. doi: 10.1093/brain/124.6.1241
 - 55) Nguyen M.N., Nishimaru H., Matsumoto J., Hori E., Maior R.S., Tomaz C., Ono T., and Nishijo H.: Population coding of facial information in the monkey superior colliculus and pulvinar. *Front. Neurosci.* 10: 583, 2016.
 - 56) Fagan J.F.: Infants' recognition of invariant features of faces. *Child Dev.* 47: 627-638, 1976.
 - 57) Cohen L.B., and Strauss M.S.: Concept acquisition in the human infant. *Child Dev.* 50: 419-424, 1979.
 - 58) Pascalis O., de Haan M., Nelson C.A., and de Schonen S.: Long-term recognition memory for faces assessed by visual paired comparison in 3- and 6-month-old infants. *J. Exper. Psychol. Learn Mem. Cogn.* 24: 249-260, 1998. doi: 10.1037/0278-7393.24.1.249
 - 59) Eifuku S., De Souza W.C., Tamura R., Nishijo H., and Ono T.: Neuronal correlates of face identification in the monkey anterior temporal cortical areas. *J. Neurophysiol.* 91: 358-371, 2004. DOI: 10.1152/jn.00198.2003
 - 60) Meyers E.M., Borzello M., Freiwald W.A., and Tsao D.: Intelligent information loss: the coding of facial identity, head pose, and non-face information in the macaque face patch system. *J. Neurosci.* 35: 7069-81, 2015. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3086-14.2015
 - 61) Nakato E., Otsuka Y., Kanazawa S., Yamaguchi M.K., Watanabe S., and Kakigi R.: When do infants differentiate profile face from frontal face? A near-infrared spectroscopic study. *Hum. Brain Mapp.* 30(2): 462-72, 2009.
 - 62) Vuilleumier P.: Faces call for attention: evidence from patients with visual extinction. *Neuropsychologia* 38: 693-700, 2000. doi: 10.1016/S0028-3932(99)00107-4
 - 63) Le Q.V., Nishimaru H., Matsumoto J., Takamura Y., Nguyen M.N., Mao C.V., Hori E., Maior R.S., Tomaz C., Ono T., and Nishijo H.: Gamma oscillations in the superior colliculus and pulvinar in response to faces support discrimination performance in monkeys. *Neuropsychologia* 128: 87-95, 2019.
 - 64) König P.A.: A method for the quantification of synchrony and oscillatory properties of neuronal activity. *J. Neurosci. Methods* 54: 31-37, 1994.
 - 65) Engel A.K., König P., Gray C.M., and Singer W.: Stimulus-dependent neuronal oscillations in cat visual cortex: inter-columnar interaction as determined by cross-correlation analysis. *Eur. J. Neurosci.* 2: 588-606, 1990.
 - 66) Lachaux J.P., George N., Tallon-Baudry C., Martinerie J., Hugueville L., Minotti L., Kahane P., and Renault B.: The many faces of the gamma band response to complex visual stimuli. *Neuroimage* 25(2): 491-501, 2005.
 - 67) Engell A.D., and McCarthy G.: The relationship of γ oscillations and face-specific ERPs recorded subdurally from occipitotemporal cortex. *Cereb. Cortex* 21(5): 1213-1221, 2011.
 - 68) Vuilleumier P., Armony J.L., Driver J., and Dolan R.J.: Distinct spatial frequency sensitivities for processing faces and emotional expressions. *Nat. Neurosci.* 6: 624-631, 2003.
 - 69) Le Q.V., Isbell L.A., Matsumoto J., Nguyen M.N., Hori E., Maior R.S., Tomaz C., Tran A.H., Ono T., and Nishijo H.: Pulvinar neurons reveal neurobiological evidence of past selection for rapid detection of snakes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110: 19000-19005, 2013.
 - 70) Field C.B., Johnston K., Gati J.S., Menon R.S., and Everling S.: Connectivity of the primate superior colliculus mapped by concurrent microstimulation and event-related fMRI. *PLoS One* 3(12): e3928, 2008.
 - 71) Molotchnikoff S., and Shumikhina S.: The lateral posterior-pulvinar complex modulation of stimulus-dependent oscillations in the cat visual cortex. *Vis. Res.* 36: 2037-2046, 1996.
 - 72) Shumikhina S., and Molotchnikoff S.: Pulvinar participates in synchronizing neural assemblies in the visual cortex, in cats. *Neurosci. Lett.* 272: 135-139, 1999.
 - 73) Purushothaman G., Marion R., Li K., and Casagrande V.A.: Gating and control of primary visual cortex by pulvinar. *Nat. Neurosci.* 15(6): 905-912, 2012.
 - 74) Zhou H., Schafer R.J., and Desimone R.: Pulvinar-cortex interactions in vision and attention. *Neuron* 89(1): 209-220, 2016.
 - 75) Pessoa L., and Adolphs R.: Emotion processing and the amygdala: from a 'low road' to 'many roads' of evaluating biological significance. *Nat. Rev. Neurosci.* 11: 773-783, 2010.
 - 76) Diano M., Celeghin A., Bagnis A., and Tamietto, M.: Amygdala response to emotional stimuli without awareness: facts and interpretations. *Front. Psychol.* 7: 2029, 2017.
 - 77) Mudrik L., Faivre N., and Koch C.: Information integration without awareness. *Trends Cogn. Sci.* 18(9): 488-496, 2014.
 - 78) Zhu W., Drewes J., Peatfield N.A., and Melcher D.: Differ-

- ential visual processing of animal images, with and without conscious awareness. *Front. Hum. Neurosci.* 10: 513, 2016.
- 79) Fahrenfort J.J., van Leeuwen J., Olivers C.N., and Hogenboom H.: Perceptual integration without conscious access. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114(14): 3744-3749, 2017.
- 80) Solcà M., Guggisberg A.G., Schnider A., and Leemann B.: Facial blindsight. *Front. Hum. Neurosci.* 9: 522, 2015.
- 81) Keizer A.W., Verschoor M., Verment R.S., and Hommel B.: The effect of gamma enhancing neurofeedback on the control of feature bindings and intelligence measures. *Int. J. Psychophysiol.* 75(1): 25-32, 2010.
- 82) Friese U., Köster M., Hassler U., Martens U., Trujillo-Barreto N., and Gruber T.: Successful memory encoding is associated with increased cross-frequency coupling between frontal theta and posterior gamma oscillations in human scalp-recorded EEG. *Neuroimage* 66: 642-647, 2013.
- 83) Sederberg P.B., Kahana M.J., Howard M.W., Donner E.J., and Madsen J.R.: Theta and gamma oscillations during encoding predict subsequent recall. *J. Neurosci.* 23: 10809-10814, 2003.
- 84) Osipova D., Takashima A., Oostenveld R., Fernandez G., Maris E., and Jensen O.: Theta and gamma oscillations predict encoding and retrieval of declarative memory. *J. Neurosci.* 26: 7523-7531, 2006.
- 85) Ulrich M., and Kiefer M.: The neural signature of subliminal visuomotor priming: brain activity and functional connectivity profiles. *Cereb. Cortex* 26(6): 2471-2482, 2016.
- 86) Avendaño C., Price J.L., and Amaral D.G.: Evidence for an amygdaloid projection to premotor cortex but not to motor cortex in the monkey. *Brain Res.* 264(1), 111-117, 1983.
- 87) Grèzes J., Valabrègue R., Gholipour B., and Chevallier C.: A direct amygdala-motor pathway for emotional displays to influence action: a diffusion tensor imaging study. *Hum. Brain Mapp.* 35(12): 5974-5983, 2014.
- 88) Urbanski M., Coubarde O.A., and Bourlon C.: Visualizing the blind brain: brain imaging of visual field defects from early recovery to rehabilitation techniques. *Front. Integr. Neurosci.* 8: 74, 2014.
- 89) Toschi N., Duggento A., and Passamonti L.: Functional connectivity in amygdalar-sensory/(pre)motor networks at rest: new evidence from the Human Connectome Project. *Eur. J. Neurosci.* 45(9): 1224-1229, 2017.
- 90) Pichon S., de Gelder B., and Grezes J.: Emotional modulation of visual and motor areas by dynamic body expressions of anger. *Soc. Neurosci.* 3(3-4): 199-212, 2008.
- 91) Rodriguez E., George N., Lachaux J.P., Martinerie J., Renault B., and Varela, F.J.: Perception's shadow: long-distance synchronization of human brain activity. *Nature* 397(6718): 430-433, 1999.
- 92) Maior R.S., Hori E., Tomaz C., Ono T., and Nishijo, H.: The monkey pulvinar neurons differentially respond to emotional expressions of human faces. *Behav. Brain Res.* 215: 129-135, 2010.
- 93) Rotshtein P., Vuilleumier P., Winston J., Driver J., and Dolan R.: Distinct and convergent visual processing of high and low spatial frequency information in faces. *Cereb. Cortex* 17: 2713-2724, 2007.
- 94) Headland T.N., and Greene H.W.: Hunter-gatherers and other primates as prey, predators, and competitors of snakes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108: E1470-E1474, 2011.
- 95) Adolphs R.: Fear, faces, and the human amygdala. *Curr. Opin. Neurobiol.* 18(2): 166-172, 2008.
- 96) Ewbank M.P., Lawrence A.D., Passamonti L., Keane J., Peers P.V., and Calder A.J.: Anxiety predicts a differential neural response to attended and unattended facial signals of anger and fear. *Neuroimage* 44: 1144-1151, 2009.
- 97) Sarlo M., and Munafò M.: When faces signal danger: event-related potentials to emotional facial expressions in animal phobics. *Neuropsychobiology* 62(4): 235-244, 2010. doi: 10.1159/000319950
- 98) Davis F.C., Somerville L.H., Ruberry E.J., Berry A.B., Shin L.M., and Whalen P.J.: A tale of two negatives: differential memory modulation by threat-related facial expressions. *Emotion* 11: 647-655, 2011.
- 99) Grüsser O.J., and Landis T.: Visual agnosias and other disturbances of visual perception and cognition. Macmillan Press, London, 1991.
- 100) Carey S.: Becoming a face expert. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 335(1273): 95-103, 1992. doi: 10.1098/rstb.1992.0012
- 101) Etting S.F., and Isbell L.A.: Rhesus macaques (*Macaca mulatta*) use posture to assess level of threat from snakes. *Ethology* 120: 1177-1184, 2014.
- 102) Le Q.V., Isbell L.A., Matsumoto J., Le V.Q., Hori E., Tran A.H., Maior R.S., Tomaz C., Ono T., and Nishijo H. (2014). Monkey pulvinar neurons fire differentially to snake postures. *PLoS One* 9(12): e114258, 2014.
- 103) Herrmann C.S., Munk M.H. and Engel A.K.: Cognitive functions of gamma-band activity: memory match and utilization. *Trends Cogn. Sci.* 8: 347-55, 2004.
- 104) Csatho A., Tey F., and Davis G.: Threat perception and targeting: The brainstem-amygdala-cortex alarm system in action? *Cogn. Neuropsychol.* 25(7): 1039-1064, 2008.
- 105) Maior R.S., Hori E., Uribe C.E., Saletti P.G., Ono T., Nishijo H., and Tomaz C.: A role for the superior colliculus in the modulation of threat responsiveness in primates: towards the ontogenesis of the social brain. *Rev. Neurosci.* 22: 697-706, 2012.
- 106) Morris J.S., Öhman A., and Dolan R.J.: A subcortical pathway to the right amygdala mediating "unseen" fear. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96(4): 1680-1685, 1999.
- 107) Benevento L.A., and Fallon J.H.: The ascending projections of the superior colliculus in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J. Comp. Neurol.* 160(3): 339-361, 1975.

- 108) Maior R.S., Hori E., Barros M., Teixeira D.S., Tavares M.C.H., Ono T., Nishijo H., and Tomaz C.: Superior colliculus lesions impair threat responsiveness in infant capuchin monkeys. *Neurosci. Lett.* 504: 257-260, 2011.
- 109) Porrino L.J., Crane A.M., and Goldman-Rakic P.S.: Direct and indirect pathways from the amygdala to the frontal lobe in rhesus monkeys. *J. Comp. Neurol.* 198: 121-136, 1981.
- 110) Romanski L.M., Giguere M., Bates J.F., and Goldman-Rakic P.S.: Topographic organization of medial pulvinar connections with the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 379: 313-332, 1997.
- 111) Carretié L., Hinojosa J.A., Martín-Loeches M., Mercado F., and Tapia M.: Automatic attention to emotional stimuli: neural correlates. *Hum. Brain Mapp.* 22: 290-299, 2004.
- 112) Bar M., Kassam K.S., Ghuman A.S., Boshyan J., Schmid A.M., Dale A.M., Hämäläinen M.S., Marinkovic K., Schacter D.L., Rosen B.R., and Halgren E.: Top-down facilitation of visual recognition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103: 449-454, 2006.
- 113) Bishop S.J., Duncan J., and Lawrence A.D.: State anxiety modulation of the amygdala response to unattended threat-related stimuli. *J. Neurosci.* 24: 10364-10368, 2004.
- 114) Mobbs D., Petrovic P., Marchant J.L., Hassabis D., Weiskopf N., Seymour B., Dolan R.J., and Frith C.D.: When fear is near: threat imminence elicits prefrontal-periaqueductal gray shifts in humans. *Science* 317: 1079-1083, 2007.
- 115) Mobbs D., Marchant J.L., Hassabis D., Seymour B., Tan G., Gray M., Petrovic P., Dolan R.J., and Frith C.D.: From threat to fear: the neural organization of defensive fear systems in humans. *J. Neurosci.* 29: 12236-12243, 2009.
- 116) Nili U., Goldberg H., Weizman A., and Dudai Y.: Fear thou not: activity of frontal and temporal circuits in moments of real-life courage. *Neuron* 66: 949-962, 2010.
- 117) Kawasaki H., Kaufman O., Damasio H., Damasio A.R., Granner M., Bakken H., Hori T., Howard M.A. 3rd, Adolphs R. 2001. Single-neuron responses to emotional visual stimuli recorded in human ventral prefrontal cortex. *Nat. Neurosci.* 4(1): 15-16, 2001.
- 118) Chaumon M., Kveraga K., Barrett L.F., and Bar M.: Visual predictions in the orbitofrontal cortex rely on associative content. *Cereb. Cortex.* 24(11): 2899-2907, 2014.
- 119) Isbell L.A.: Predation on primates: ecological patterns and evolutionary consequences. *Evol. Anthropol.* 3: 61-71, 1994.
- 120) Dinh H.T., Nishimaru H., Matsumoto J., Takamura Y., Le Q.V., Hori E., Maior R.S., Tomaz C., Tran A.H., Ono T., and Nishijo H.: Superior neuronal detection of snakes and conspecific faces in the macaque medial prefrontal cortex. *Cereb. Cortex* 28: 2131-2145, 2018.
- 121) Dalley J.W., Theobald D.E., Bouger P., Chudasama Y., Cardinal R.N., and Robbins T.W.: Cortical cholinergic function and deficits in visual attentional performance in rats following 192 IgG-saporin-induced lesions of the medial prefrontal cortex. *Cereb. Cortex* 14: 922-932, 2004.
- 122) Guillem K., Bloem B., Poorthuis R.B., Loos M., Smit A.B., Maskos U., Spijker S., Mansvelter H.D.: Nicotinic acetylcholine receptor $\beta 2$ subunits in the medial prefrontal cortex control attention. *Science* 333: 888-891, 2011.
- 123) Carlson J.M., Beacher F., Reinke K.S., Habib R., Harmon-Jones E., Mujica-Parodi L.R., and Hajcak G.: Non-conscious attention bias to threat is correlated with anterior cingulate cortex gray matter volume: a voxel-based morphometry result and replication. *Neuroimage* 59: 1713-1718, 2012.
- 124) Insel N., and Barnes C.A.: Differential activation of fast-spiking and regular-firing neuron populations during movement and reward in the dorsal medial frontal cortex. *Cereb. Cortex* 25(9): 2631-2647, 2015.
- 125) Kim H., Åhrlund-Richter S., Wang X., Deisseroth K., and Carlén M.: Prefrontal parvalbumin neurons in control of attention. *Cell* 164(1-2): 208-218, 2016.
- 126) Tazumi T., Hori E., Maior R.S., Ono T., Nishijo H.: Neural correlates to seen gaze-direction and head orientation in the macaque monkey amygdala. *Neuroscience* 169(1): 287-301, 2010. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.04.028
- 127) De Martino B., Kalisch R., Rees G., and Dolan R.J.: Enhanced processing of threat stimuli under limited attentional resources. *Cereb. Cortex* 19: 127-133, 2009.
- 128) Carlson J.M., Reinke K.S., and Habib R.: A left amygdala mediated network for rapid orienting to masked fearful faces. *Neuropsychologia* 47: 1386-1389, 2009.
- 129) Vuilleumier P., Armony J.L., Clarke K., Husain M., Driver J., and Dolan R.J.: Neural response to emotional faces with and without awareness: event-related fMRI in a parietal patient with visual extinction and spatial neglect. *Neuropsychologia* 40(12): 2156-2166, 2002.
- 130) Tamietto M., Cauda F., Celegghin A., Diano M., Costa T., Cossa F.M., Sacco K., Duca S., Geminiani G.C., and de Gelder B.: Once you feel it, you see it: insula and sensory-motor contribution to visual awareness for fearful bodies in parietal neglect. *Cortex* 62: 56-72, 2015.

Original Article

Relationship between Sleep Quality and Quality of Life (QOL) in Japanese Junior High School Children: Results of the Toyama Birth Cohort Study

Shimako HAMANISHI, MHPEd; Michikazu SEKINE, MD, MBA;
Masaaki YAMADA, MD, PhD; Yuko FUJIMURA PhD;
Lizhen HU, MD, PhD; Hajime MINEMURA, MSc;
Takashi TATSUSE, PhD.

日本の中学生における睡眠の質と生活の質との関連：富山出生コホート研究から

濱西島子・関根道和・山田正明・藤村裕子・Lizhen Hu・峯村 創・立瀬剛志

Abstract

Introduction: Sleep quality and quantity have been increasingly recognized to play an important role in child development and health. This study aimed to evaluate whether sleep quantity and quality are associated with the quality of life (QOL) of children at junior high school using data from a Japanese birth cohort.

Methods: The participants were 8278 children at a junior high school (4069 boys and 4209 girls) aged 12–13 years in Toyama prefecture, Japan. Questionnaire data were collected in 2002. QOL was evaluated using an item chosen from a Japanese version of the Dartmouth Primary Care Co-operative Project charts with five response categories; participants were divided into those with good QOL and those with poor QOL. Logistic regression analysis was performed to evaluate whether each sleep quality item was independently associated with QOL after adjusting for potential confounding factors.

Results: Multivariate analysis revealed that early and late bedtime, frequent night awakenings, poor feeling upon waking, sleep insufficiency, poor overall sleep quality, and longstanding illness independently associated with poor QOL. Difficulty in falling asleep in boys and long sleep latency and poor depth of sleep in girls were also associated with poor QOL.

Conclusions: Bedtime and several sleep quality measures strongly associated with QOL in children. Although longitudinal research is needed to clarify causality, more attention should be paid to children's bedtime and sleep quality to maintain and improve their QOL.

和文要旨

背景：睡眠は量だけでなく質も子供の発達には重要な影響があることが知られている。今回我々は、中学生における睡眠の量と質、生活の質（QOL）との関連について分析を行った。

方法：2002年、富山県在住の中学1年生8278名（男子4069、女子4209）を対象に、質問紙票による調査を行った。QOLは日本語版のCOOPチャートを使用し、2群（良い or 悪い）に区分した。“悪いQOL群”を従属変数とし、多変量ロジスティック回帰分析を性別に行った。

結果：男女とも、早いまたは遅い就寝時刻、頻回の夜間覚醒、悪い目覚めの気分、寝不足感、全体的に悪い睡眠の質、慢性疾患有り、が独立して悪い睡眠の質に関連した。性別では男子で寝つきの悪さ、女子で長い睡眠潜時と睡眠の浅さが悪いQOLと関連した。

結語：就寝時間と睡眠の質を示す項目が子供のQOLと強い関連があった。因果の同定には縦断研究が必要であるが、子供のQOLを上げるには就寝時間と睡眠の質について更なる関心もたれるべきである。

Key words: children, sleep, puberty, cross-sectional, quality.

Introduction

In Japan, sleep hours among both children and adults have been decreasing annually^{1,2)}. In Japan, the average sleep duration among children at junior high school was 8 hours 10 minutes in 1981 but only 7 hours 35 minutes in 2008¹⁾, which means sleep hours have decreased by 1 min per year in the last 30 years. Consequently, an international survey showed that Japanese children have the shortest sleep hours among children in developed countries³⁾.

Short sleep hours are known to cause various problems in both adults and children. In our previous study of Japanese children, short sleep hours were associated with obesity and poor mental health, both cross-sectionally and longitudinally^{4,7)}.

Compared with research on the influence of sleep quantity (i.e., short sleep hours) on health, there is still a lack of data on the associations between sleep quality and health. In adults, poor sleep quality is associated with various diseases, including cardiovascular diseases¹⁰⁾. In our previous study on Japanese civil servants, sleep quality was associated with both physical and mental health¹¹⁾. However, there have been few studies on the association between poor sleep quality and child health¹²⁾. Sleep quality comprises several components, such as poor sleep efficiency, poor sleep latency, poor sleep depth, and subjective desirable sleeping duration¹³⁾. There have been far fewer studies on the sort of sleep quality components that are more important for the deterioration of health than other sleep quality components.

The purpose of this study was, therefore, to clarify: (1) whether sleep quality and quantity are associated with QOL in Japanese children and (2) what sort of sleep quality components are more important for poor QOL than other sleep quality components.

Methods

Participants

The Toyama Birth Cohort Study^{4,9)} is a follow-up study of lifestyles and health in all children born between April 2, 1989 and April 1, 1990 in Toyama Prefecture, Japan. By means of a questionnaire on lifestyle and family history, children in the cohort were evaluated every 3 years from the start of the study until they were in high school. The goal of the overall study was to clarify the effects of social, parental, and lifestyle factors on children's health, and the details of this prospective study have been published elsewhere^{4,9)}.

In phase 4 of the survey, detailed questions on sleep quality measures were asked to the participants; therefore, we used data from this phase. In the phase 4 survey, all study subjects were enrolled in the first grade of junior high schools in Toyama Prefecture. In total, 10453 students at 86 junior high schools across Toyama Prefecture were included in the phase 4 survey. An invitation letter and questionnaire were sent to the subjects through their schools. The participants answered the questions and returned them in a sealed envelope. Written informed consent was obtained from all participants and their parents. Of those who had been contacted and had received a questionnaire, 9718 (93.0%) responded to the questionnaire.

The following respondents were excluded from the analysis: those who did not answer one or more questions concerning age, sex, sleep measures, and QOL. The remaining 8278 students (4069 boys and 4209 girls, 60.1% of respondents) were the final study subjects.

The Toyama Birth Cohort Study was approved by the institutional review board of Toyama Medical and Pharmaceutical University. The participants voluntarily participated in this study. Written informed consent was obtained from all participants.

Questionnaires

Quality of Life (QOL) Measure

To evaluate the QOL of junior high school children, we used the Dartmouth Primary Care Co-operative Project (COOP) charts^{12,14)}. The COOP charts is a self-administered questionnaire used to evaluate generic QOL. We developed a Japanese version of the COOP charts for children^{6,7)}, which has been used for research in Japanese children⁹⁾. Our previous study showed that the Japanese version has acceptable validity and reliability for use in Japanese school children^{5,6)}.

The COOP charts include nine domains: physical fitness, feelings, daily activities, social activities, pain, overall health, change in health, social support, and quality of life. For the purpose of this study, the "overall health" domain was used. The overall health domain was assessed using the question "During the past 4 weeks, how would you rate your health in general?" The response categories were (1) excellent, (2) very good, (3) good, (4) fair, and (5) poor. According to previous studies^{4,7)}, responses were dichotomized into good QOL for those who checked "excellent," "very good," or "good" and poor QOL for those who checked "fair" or "poor."

Sleep Quality Measure

For sleep quality, we used a questionnaire based on the Japanese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI)^{13,15}. The PSQI is a 17-item questionnaire that generates seven measures of sleep quality: subjective sleep quality, sleep latency, sleep duration, habitual sleep efficiency, sleep disturbance, use of sleep medications, and daytime dysfunction. The Japanese version of the PSQI has been used in the Japanese adult population¹⁶, and its psychometric properties are acceptable¹⁷. Because there was no authorized appropriate questionnaire for child sleep quality at the time of the survey, we chose items that are appropriate for assessing child sleep quality from the PSQI questionnaire. Question items we used in this study were: "daytime sleepiness at school," "minutes before falling asleep (sleep latency)," "taking time after in-bed (subjective difficulty in falling asleep)," "number of nighttime awakenings," "subjective habitual depth of sleep," "subjective feeling at awakening," "sleep sufficiency," and "overall sleep quality" and two questions concerning lifestyle, "sleep hours" and "bedtime on weekdays." We previously reported the validity of sleep quality and quantity measures as reported by junior high school children by calculating the correlations and differences between subjective measures (i.e., sleep diary) and objective measures (i.e., actigraphy) and found that children's sleep diary questionnaires can be applied to surveys for screening sleep habits¹⁸.

Longstanding illness

Longstanding illness could be a cause for both poor sleep quality and poor health and is therefore a potential confounder for the association between sleep quality and health. Longstanding illness was evaluated by asking participants to answer the question "Do you have a longstanding illness?"

Statistical analysis

Multiple logistic regression analysis was used to evaluate whether each sleep quality item was independently associated with QOL after adjusting for potential confounding factors by entering all sleep quality measures, age, and longstanding illnesses simultaneously in the model. Odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (95% CIs) were calculated. The Hosmer-Lemeshow test was used to validate the models¹⁹.

All analyses were performed separately according to sex. A two-tailed P-value of less than 0.05 was consid-

ered statistically significant. All statistical analyses were conducted using SPSS software.

Results

Table 1 presents the characteristics of the participants. Girls were more likely to have a late bedtime and shorter sleep duration than boys. In addition, girls tended to be more likely to have poor feelings upon waking, insufficient sleep, daytime sleepiness, and poor overall sleep quality.

Table 2 shows the association of sleep quality and quality of life (QOL) among boys. Boys with early or late bedtime, short sleep hours, long sleep latency, difficulty in falling asleep, frequent night awakenings, poor depth of sleep, poor feeling upon waking up, insufficient sleep efficiency, daytime sleepiness, poor overall sleep quality, and longstanding illness had significantly a higher prevalence of poor QOL. In the fully adjusted model, the association of early or late bedtime, difficulty falling asleep, frequent night awakenings, poor feeling upon waking, insufficient sleep, poor overall sleep quality, and longstanding illness with poor QOL remained significant.

Table 3 shows the associations of sleep quality and quality of life (QOL) among girls. In girls, those with early or late bedtime, short sleep hours, long sleep latency, difficulty falling asleep, frequent night awakenings, poor depth of sleep, poor feeling upon waking, insufficient sleep efficiency, daytime sleepiness, poor overall sleep quality, and longstanding illness had significantly a higher prevalence of poor QOL. In the fully-adjusted model, the association of early or late bedtime, long sleep latency, frequent night awakenings, poor depth of sleep, poor feeling upon waking, insufficient sleep, poor overall sleep quality, and longstanding illness with poor QOL remained significant.

The Hosmer and Lemeshow tests validated the multivariate models.

Discussion

This study showed that more girls than boys had a late bedtime, short sleep hours, insufficient sleep, and daytime sleepiness. In both boys and girls, there was a U-shaped relationship between bedtime and poor QOL; early and late bedtimes were related to poorer QOL. In both boys and girls, difficulty falling asleep, frequent night awakenings, poor feeling upon waking, insufficient sleep, poor overall sleep quality, and longstanding illness were significantly and independently associated

Table 1 Characteristics of the Participants by Sex

	Boys (n = 4069)		Girls (n = 4209)	
	n	%	n	%
Age				
12 years	2995	73.6	3170	75.3
13 years	1074	26.4	1039	24.7
Bedtime				
≤22:00	557	13.7	927	22.0
22:00~23:00	2436	59.9	1591	37.8
23:00~0:00	811	19.9	1443	34.3
0:00<	265	6.5	248	5.9
Sleep hours				
≤7 hours	633	15.6	964	22.9
7~8 hours	1719	42.2	1969	46.8
8~9 hours	1358	33.4	1071	25.4
9 <hours	359	8.8	205	4.9
Sleep Latency				
≤10 min	2207	54.2	2027	48.2
10-30 min	1417	34.8	1659	39.4
30-60 min	226	5.6	289	6.9
60 min<	219	5.4	234	5.6
Falling asleep				
Good	3545	87.1	3676	87.3
Bad	524	12.9	533	12.7
Night awakenings				
0 time	2559	62.9	2765	65.7
1-2 times	1447	35.6	1378	32.7
3 times ≤	63	1.5	66	1.6
Depth of sleep				
Good	3928	96.5	4041	96.0
Poor	141	3.5	168	4.0
Feeling at wake-up				
Good	2934	72.1	2817	66.9
Poor	1135	27.9	1392	33.1
Sleep sufficiency				
Insufficient	1892	46.5	2423	57.6
Sufficient	2177	53.5	1786	42.4
Daytime sleepiness				
Yes	2706	66.5	3331	79.1
No	1363	33.5	878	20.9
Overall sleep quality				
Good	3534	86.9	3427	81.4
Poor	535	13.1	782	18.6
Longstanding illness				
Yes	955	23.5	822	19.5
No	3114	76.5	3387	80.5

with poor QOL. Daytime sleepiness and short sleep duration in boys and girls and long sleep latency in boys were significantly associated with poor QOL in the age-adjusted model; the associations became non-significant in the fully adjusted model. These results suggest that both sleep quality and quantity could be important determinants of QOL in children at junior high school.

In this study, girls were more likely to have poorer sleep habits (i.e., late bedtime and short sleep hours) than boys. Previous studies of Japanese schoolchildren showed that girls tended to go to bed later and sleep for less than boys do¹⁾. The sex differences in sleep habits are partly explained by sex differences in after-school

activities; for example, more girls than boys go to cultural schools, such as piano school, leading to later bedtimes and shorter sleep hours among girls.

It is well known that there is a U-shaped relationship between bedtime and sleep hours and health^{11,20)}. Mechanisms underlying the U-shaped relationship have been suggested; late bedtime and short sleep hours are risk factors for the development of poor mental and physical health, while early bedtime and long sleep hours are associated with the presence of preclinical disease^{11,20)}. Therefore, the findings of this study are consistent with the existing data.

There has been a long history of research on the as-

Table 2 Associations of Sleep Quantity and Quality Measures with Poor Quality of Life (QOL) among Boys (n=4069)

	Poor QOL(%)	P value	Model 1 Age-adjusted Model			Model 2 All-adjusted Model		
			OR	(95% CI)	P value	OR	(95% CI)	P value
Age								
12 years	12.3		1.00			1.00		
13 years	13.4	0.357	1.10	(0.90 - 1.36)	0.356	1.04	(0.83 - 1.30)	0.730
Bedtime								
≤22:00	16.3		1.98	(1.52 - 2.57)	0.000	1.97	(1.48 - 2.63)	0.000
22:00~23:00	9.0		1.00		0.000	1.00		0.000
23:00~0:00	15.2		1.81	(1.43 - 2.29)	0.000	1.91	(1.47 - 2.48)	0.000
0:00<	30.2	0.000	4.36	(3.24 - 5.87)	0.000	4.34	(3.07 - 6.14)	0.000
Sleep hours								
≤7 hours	21.5		1.96	(1.55 - 2.49)	0.000	1.24	(0.95 - 1.62)	0.114
7~8 hours	12.2		1.00			1.00		0.096
8~9 hours	9.2		0.73	(0.58 - 0.92)	0.009	0.85	(0.66 - 1.10)	0.225
9< hours	11.7	0.000	0.95	(0.67 - 1.36)	0.797	1.12	(0.77 - 1.65)	0.554
Sleep Latency								
≤10 min	10.7		1.00			1.00		
10-30 min	12.1		1.15	(0.93 - 1.42)	0.186	0.85	(0.68 - 1.07)	0.170
30-60 min	15.9		1.58	(1.08 - 2.31)	0.019	0.60	(0.38 - 0.96)	0.032
60 min<	31.1	0.000	3.74	(2.73 - 5.14)	0.000	1.24	(0.83 - 1.84)	0.292
Falling asleep								
Good	10.6		1.00			1.00		
Bad	26.3	0.000	3.03	(2.42 - 3.78)	0.000	1.43	(1.08 - 1.89)	0.013
Night awakenings								
0 time	11.2		1.00			1.00		
1-2 times	14.3		1.33	(1.09 - 1.61)	0.004	1.31	(1.05 - 1.62)	0.015
3 times ≤	31.7	0.000	3.71	(2.15 - 6.39)	0.000	2.96	(1.55 - 5.63)	0.001
Depth of sleep								
Good	11.8		1.00			1.00		
Poor	34.8	0.000	3.98	(2.78 - 5.71)	0.000	1.33	(0.87 - 2.04)	0.192
Feeling at wake-up								
Good	8.6		1.00			1.00		
Poor	23.1	0.000	3.21	(2.65 - 3.88)	0.000	1.92	(1.54 - 2.38)	0.000
Sleep sufficiency								
Insufficient	18.2		2.66	(2.19 - 3.24)	0.000	1.35	(1.06 - 1.71)	0.014
Sufficient	7.7	0.000	1.00			1.00		
Daytime sleepiness								
Yes	14.8		1.92	(1.54 - 2.39)	0.000	1.17	(0.92 - 1.49)	0.202
No	8.3	0.000	1.00			1.00		
Overall sleep quality								
Good	9.0		1.00			1.00		
Poor	36.4	0.000	5.79	(4.69 - 7.15)	0.000	2.89	(2.22 - 3.75)	0.000
Longstanding illness								
Yes	17.1		1.63	(1.33 - 2.00)	0.000	1.55	(1.25 - 1.94)	0.000
No	11.2	0.000	1.00			1.00		

OR: odds ratio, 95% confidence interval

Model 1: adjusted for age

Model 2: adjusted for age, 10 sleeping items and longstanding illness

sociation between sleep quantity and health^{11,20}; short sleep hours are associated with the development of cardiovascular disease and mortality. Research on the association between sleep quality measures and health has been accumulated¹⁰; however, much of the research has focused on the associations in adults, and research on children is relatively limited. This study showed that sleep quality could also be an important determinant of QOL among children.

In addition, almost all sleep quality measures were significantly and independently associated with QOL. Overall sleep quality consists of various components. For example, the overall sleep quality of the PSQI comprises subjective sleep quality, sleep latency, sleep duration, habitual sleep efficiency, sleep disturbance, use of sleep medications, and daytime dysfunction^{13,15}. There has been a large amount of research on the cross-sectional and longitudinal associations between

Table 3 Associations of Sleep Quantity and Quality Measures with Poor Quality of Life (QOL) among Girls (n=4209)

	Poor QOL (%)	P value	Model 1 Age-adjusted Model		Model 2 All-adjusted Model			
			OR	(95% CI)	P value	OR	(95% CI)	P value
Age								
12 years	13.7		1.00			1.00		
13 years	14.0	0.810	1.03	(0.84 - 1.26)	0.821	0.94	(0.74 - 1.21)	0.636
Bedtime								
≤22:00	37.9		7.41	(5.90 - 9.30)	0.000	16.32	(11.8 - 22.5)	0.000
22:00~23:00	7.6		1.00			1.00		
23:00~0:00	2.6		0.32	(0.22 - 0.47)	0.000	0.29	(0.19 - 0.44)	0.000
0:00<	27.8	0.000	4.68	(3.35 - 6.54)	0.000	2.60	(1.65 - 4.10)	0.000
Sleep hours								
≤7 hours	19.5		1.52	(1.24 - 1.86)	0.000	1.17	(0.91 - 1.51)	0.232
7~8 hours	13.8		1.00			1.00		
8~9 hours	9.4		0.65	(0.51 - 0.83)	0.001	0.76	(0.57 - 1.02)	0.069
9< hours	8.8	0.000	0.60	(0.37 - 1.00)	0.048	0.65	(0.36 - 1.15)	0.139
Sleep Latency								
≤10 min	10.1		1.00			1.00		
10-30 min	14.0		1.46	(1.20 - 1.78)	0.000	1.13	(0.88 - 1.44)	0.334
30-60 min	24.6		2.91	(2.15 - 3.95)	0.000	4.81	(3.07 - 7.53)	0.000
60 min<	29.9	0.000	3.82	(2.78 - 5.23)	0.000	5.28	(3.39 - 8.23)	0.000
Falling asleep								
Good	12.1		1.00			1.00		
Bad	25.3	0.000	2.48	(1.99 - 3.08)	0.000	1.12	(0.82 - 1.54)	0.479
Night awakenings								
0 time	11.9		1.00			1.00		
1-2 times	16.5		1.47	(1.23 - 1.77)	0.000	2.85	(2.20 - 3.68)	0.000
3 times ≤	33.3	0.000	3.72	(2.20 - 6.29)	0.000	4.30	(2.16 - 8.57)	0.000
Depth of sleep								
Good	12.8		1.00			1.00		
Poor	36.9	0.000	4.00	(2.88 - 5.54)	0.000	2.02	(1.29 - 3.14)	0.002
Feeling at wake-up								
Good	8.8		1.00			1.00		
Poor	23.8	0.000	3.25	(2.71 - 3.88)	0.000	2.04	(1.62 - 2.57)	0.000
Sleep sufficiency								
Insufficient	18.6		2.95	(2.40 - 3.63)	0.000	1.49	(1.14 - 1.94)	0.004
Sufficient	7.2	0.000	1.00			1.00		
Daytime sleepiness								
Yes	15.4		2.23	(1.71 - 2.92)	0.000	0.80	(0.56 - 1.13)	0.211
No	7.5	0.000	1.00			1.00		
Overall sleep quality								
Good	9.9		1.00			1.00		
Poor	30.6	0.000	4.01	(3.32 - 4.85)	0.000	1.85	(1.42 - 2.41)	0.000
Longstanding illness								
Yes	17.8		1.48	(1.20 - 1.81)	0.000	1.38	(1.06 - 1.78)	0.015
No	12.8	0.000	1.00			1.00		

OR: odds ratio, 95% confidence interval

Model 1: adjusted for age

Model 2: adjusted for age, 10 sleeping items and longstanding illness

overall sleep quality and health status and the development of diseases¹⁰, while there is little research on which sleep quality measures are more important determinants of health. In our previous study of employed men and women, each component of sleep quality as measured by the PSQI contributed more or less to socioeconomic inequalities in QOL²¹.

In this study, all sleep quality measures were associated with QOL in the age-adjusted model, and almost all

measures remained significant in the fully adjusted model, although there were some sex differences in the strengths of the associations between sleep quality measures and QOL. These results suggest that each component of sleep quality is a potential determinant of QOL in children. To our knowledge, this is the first study to examine this association among children.

Limitations of this study

There are several methodological limitations to the interpretation of this study. First, this was a cross-sectional study, which was unable to determine a causal relationship between sleep quality and QOL in children. A follow-up study is needed to determine causality. However, the association between poor sleep quality and QOL could not be caused by reverse causality alone, because poor sleep quality and quantity are known risk factors for the development of various diseases.

Second, all question items used in this study were self-reported by the children. However, in our previous study of Japanese children, we evaluated the validity of self-reported sleep questionnaires using actigraphy and found that self-reported sleep habits were strongly associated with objective data¹⁸⁾. In addition, we examined the validity and reliability of the Japanese version of the COOP chart for children⁹⁾.

Conclusion

Poor sleep quality is associated with poor QOL. Some of the strengths of the associations of sleep quality and QOL differed between boys and girls. For school children, sleep is a lifestyle factor that is controlled and organized by each adolescent. To improve and maintain the QOL of children, much more attention should be paid to school children's sleep. Early intervention could be worth considering to maintain desirable sleep habits during childhood to lead to a healthier adulthood. Although longitudinal research is needed to clarify causality, more attention should be paid to child sleep quantity and quality to maintain and improve QOL.

Acknowledgements

We express our great appreciation to all children and their parents participating in this study. We are also indebted to the Toyama Society of School Health and Education Association of Toyama Prefecture, especially including principals and school nurses of all elementary schools, Junior high-schools in Toyama and all the research members of this Toyama Birth Cohort Study team whose their help and co-operation in administering of this study. The study has been supported by grants from the Ministry of Health, Labor and Welfare since the beginning of this Study (H13-Health-022), the Toyama Medical Association, and the Japan Heart Foundation, those funding organizations have never involved in the study design, conduct, interpretation and

analysis of this study, as well as our reviewing and been approved this study.

References

- 1) Japan Society of School Health. School Health Survey on School Children 2010.
- 2) Sekine C, Watanabe Y, Hayashida M. No more decline in sleeping time, more time now spent on necessary activities: from the 2015 NHK Japanese time use survey. NHK Monthly Report on Broadcast Research. 2016; May pp1-33.
- 3) Mindell JA, Sadeh A, Wiegang B, How TH, Goh DYT. Cross-cultural differences in infant and toddler sleep. *Sleep Med* 2010; 11; 274-280.
- 4) Sekine M, Yamagami T, Handa K et al. A dose-response relationship between short sleeping hours and childhood obesity: results of the Toyama birth cohort study. *Child Care Health Dev.* 2002; 28: 163-70.
- 5) Sekine M, Yamagami T, Hamanishi S, et al. Parental obesity, lifestyle factors and obesity in preschool children: results of the Toyama Birth Cohort study. *J. Epidemiol.* 12: 33-39, 2002.
- 6) Chen X, Sekine M, Hamanishi S, Wang H, Gaina A, Yamagami T, and Kagamimori S: Lifestyle and health-related quality of life (QOL) in Japanese school children: a cross-sectional study. *Prev Med.* 40: 668-678, 2005.
- 7) Chen X, Sekine M, Hamanishi S, Yamagami T, Kagamimori S. Associations of lifestyle factors with quality of life (QOL) in Japanese children: a 3-year follow-up of the Toyama Birth Cohort Study. *Child Care Health Dev.* 2005; 31: 433-439.
- 8) Liu J, Sekine M, Tatsuse T, Hamanishi S, Fujimura Y, Zheng X. Family history of hypertension and the risk of overweight in Japanese children: results from the Toyama birth cohort study. *J Epidemiol* 2014; 24(4): 304-311
- 9) Fujimura Y, Sekine M, Yamada M. The relationship between quality of life and pubertal timing in adolescence: the Toyama birth cohort study, Japan. *J Adolescent Health* 65 (2019) 790-798.
- 10) Chandola T, Ferrie JE, Perski A, Akbaraly T, Marmot MG. The effect of short sleep duration on coronary heart disease risk is greatest among those with sleep disturbance: a prospective study from the Whitehall II cohort. *Sleep.* 2010; 33: 739-44.
- 11) Sekine M, Tatsuse T, Cable N, Chandola T, Marmot M. U-shaped associations between time in bed and the physical and mental functioning of Japanese civil servants: the roles of work, family, behavioral and sleep quality characteristics. *Sleep Med.* 2014; 15: 1122-31.
- 12) Gaina A, Sekine M, Hamanishi S, Chen X, Wang H, Yamagami T, Kagamimori S. Daytime sleepiness and associated factors in Japanese school children. *J Pediatrics.* 151: 518-22, 2007.
- 13) Buysse DJ, Reynolds CF III, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instru-

- ment for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res* 1989; 28: 193-213.
- 14) Nelson E, Wasson J, Kirk J, et al. Assessment of function in routine clinical practice: Description of the COOP chart method and preliminary findings. *J Chronic Dis* 1987; 40: 55S-69S.
- 15) Doi Y, Minowa M, Okawa M, Uchiyama M. Development of the Japanese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. *J Psychiatry Treat* 1998; 13: 755-63 (in Japanese).
- 16) Doi Y, Minowa M, Okawa M, Uchiyama M. Prevalence of sleep disturbance and hypnotic medication use in relations to socioeconomic factors in the general Japanese adult population. *J Epidemiol* 2000; 10:79-86.
- 17) Doi Y, Minowa M, Uchiyama M, Okawa M, Kim K, Shibui K, et al. Psychometric assessment of subjective sleep quality using the Japanese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI-J) in psychiatric disordered and control subjects. *Psychiatry Res* 2000; 97: 165-72.
- 18) Gaina A, Sekine M, Chen X, Hamanishi S, Kagamimori S. Validity of child sleep diary questionnaire among junior high school children. *J Epidemiol* 2004; 14: 1-4.
- 19) Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied logistic regression*. New York: Wiley-Interscience; 1989.
- 20) Grandner MA, Hale L, Moore M, Patel NP. Mortality associated with short sleep duration: the evidence, the possible mechanisms and the future. *Sleep Med Rev* 2010; 191: 191-203.
- 21) Sekine M, Chandola T, Martikainen P, McGeoghegan D, Marmot M, Kagamimori S. Explaining social inequalities in health by sleep: the Japanese civil servants study. *J Public Health* 2006.

原 著

富山県における診療科別・二次医療圏別の 医師偏在について

岡部圭介・竹村京子・峯村正実

Distribution of Medical Doctors in Toyama Prefecture

Keisuke OKABE, Kyoko TAKEMURA, Masami MINEMURA

Department of Community Medical Support, Toyama University Hospital

要 旨

我が国において医師の地域偏在および診療科偏在は、医療政策上の重要な課題となっている。しかしこれまで各都道府県での医師の偏在に関する報告は少ない。我々は、富山県における医師数を評価し、今後の医師数確保、安定した医療体制の構築に資することを目的として、厚生労働省の公開している医師・歯科医師・薬剤師調査をもとに富山県および県内各二次医療圏の医師数の推移を評価した。富山県全体の医師数は、全国平均とほぼ同程度で推移しているが、診療科間、二次医療圏間では偏在が生じており、若手医師の比較的少ない年齢構成にも課題があると考えられた。若手医師の定着、女性医師を含め働きやすい環境の構築、研修体制の充実などにより安定的に医師数確保を行うとともに、診療科偏在についても将来の医療需要を見据えて解消に取り組むことが重要と考えられる。

英文要旨

The uneven distribution of medical doctors in local communities and across treatment departments is an important national issue. Herein, we investigated the changes in the number of the medical doctors in the Toyama prefecture to maintain a sustainable healthcare system in our local community. The Ministry of Health, Labour and Welfare conducts surveys of physicians, dentists and pharmacists every two years, which describes the number of the medical doctors. According to this survey, the number of the medical doctors per population in Toyama was almost comparable to that of the national average in Japan. However, medical doctors were unevenly distributed among the departments or second medical administration areas in Toyama. Additionally, the number of young doctors was relatively small compared to that of senior doctors. Our findings indicated that maintaining an adequate number of settling young doctors through attractive training programs and improved working environment would translate to sustainable medical system in Toyama.

Key words: uneven distribution of medical doctors, Toyama prefecture

【緒言】

我が国において医師の地域偏在および診療科偏在は、医療政策上の重要な課題となっている。また、各都道府県単位でも医師の地域偏在、診療科偏在が存在しており、二次医療圏単位での医療体制の構築を考えるうえで最も重要な要素の1つとなっている。厚生労働省が2年毎に実施している医師・歯科医師・薬剤師調査¹⁾(以下、三師調査)では、各都道府県、各二次医療圏における医師数、各医師の年齢、性別、診療科、従事する医療機関種別等の情報が集約され広く公開されている。しかし、これまで富山県全体、富山県内二次医療圏での医師数に

ついて詳細に検討された文献報告はほとんどなかった。今回、我々は、過去の三師調査を含め富山県の医師数の変化を縦断的に解析することにより、富山県における医師数を評価し、医師数の推移に影響する要因を検討することで今後の医師数確保、安定した医療体制の構築に資することを目的として本研究を実施した。

【対象と方法】

厚生労働省の公開している三師調査における「人口10万対医療施設従事医師数の年次推移、主たる就業地による都道府県・指定都市・特別区・中核市(再掲)別」よ

り富山県、近隣県（石川県、福井県、新潟県、長野県、岐阜県）および全国の人口10万対医療施設従事医師数を抽出し年次推移を比較した。また、三師調査における「人口10万対医療施設従事医師数、主たる従業地による都道府県—指定都市・特別区・中核市（再掲）、主たる診療科別」（平成8年～平成30年）を元に全国および富山県の主な診療科別人口10万対医療施設従事医師数の年次推移を比較した。富山県の公開する市町村別住民基本台帳人口²⁾および三師調査における「医療施設従事医師数、主たる従業地による二次医療圏、市区町村、主たる診療科別」から富山県各二次医療圏での人口10万対医師数を算出し年次推移を比較した。三師調査における「医療施設従事医師数、平均年齢、性、主たる従業地による都道府県—指定都市・特別区・中核市（再掲）、年齢階級別」および総務省統計局の公開する人口推計「都道府県、男女別人口及び人口性比—総人口、日本人人口³⁾」をもとに平成14年、平成30年について富山県および近隣県（石川県、福井県、新潟県、長野県、岐阜県）の性別・年齢階級別人口10万対医師数を算出し比較した。

【結果】

I. 富山県における医師数

A. 富山県における医師数の年次推移

富山県および近隣県、全国の人口10万対医師数の推移を図-1に示した。全国および各県の人口10万対医師数

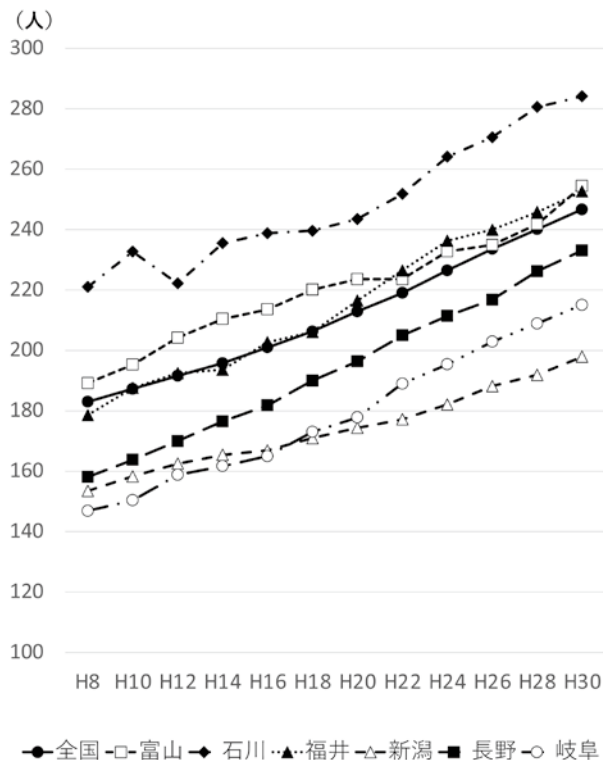


図-1 人口10万対医師数の年次推移，近隣県および全国との比較

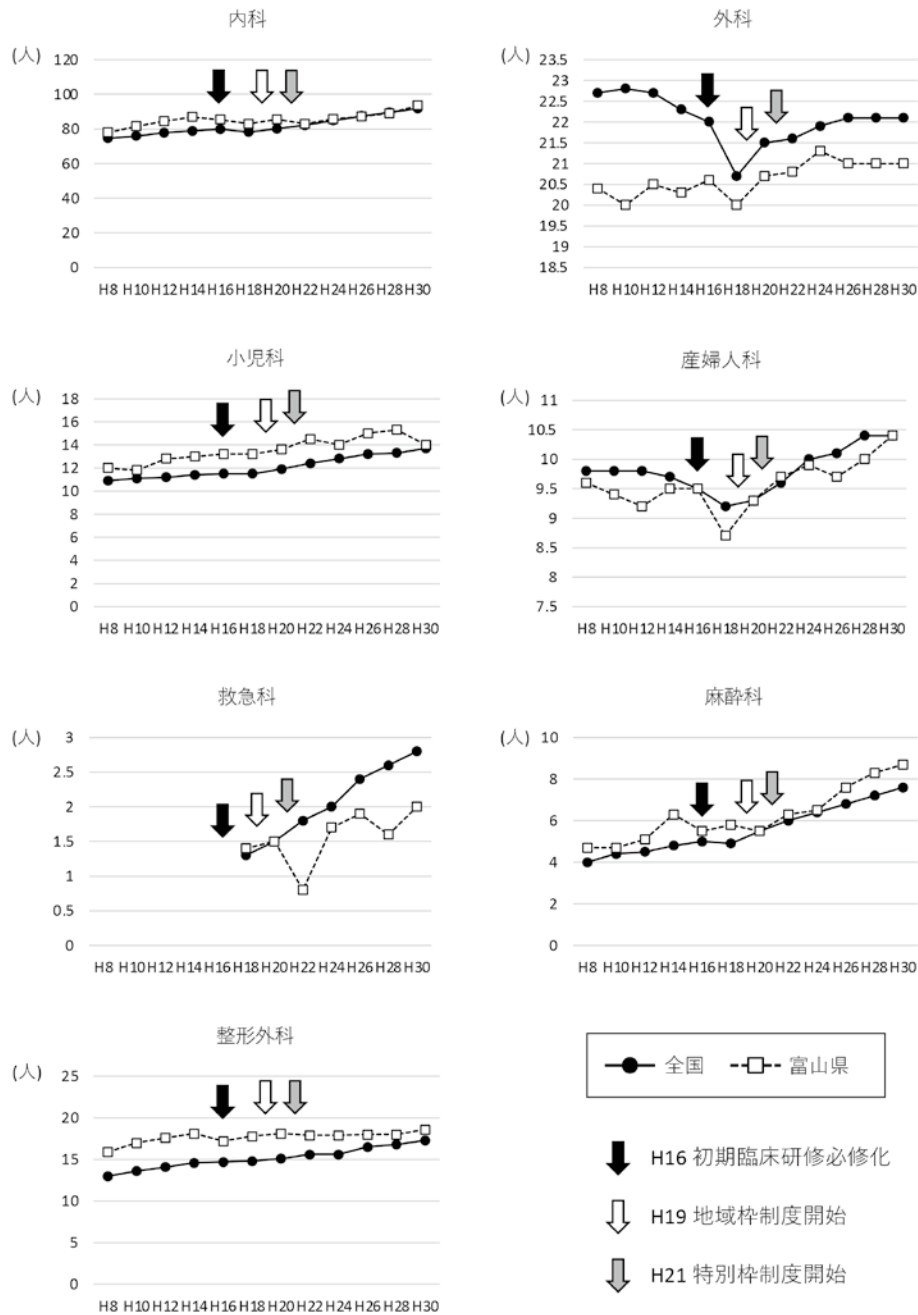
はいずれも経年的に増加している。富山県の人口10万対医師数は全国と同等以上の水準を維持している。石川県の人口10万対医師数は全国平均を大きく上回って推移している。福井県での人口10万対医師数は全国と同等だったが、平成20年ごろから全国を上回って推移している。長野県の人口10万対医師数は、一貫して全国を下回っているが、その差は少しずつ縮まっている。新潟県、岐阜県の人口10万対医師数は全国を大きく下回って推移している。平成20年頃までは増加率も他県に比して小さかったが、岐阜県では平成22年頃から大きく増加している。一方、新潟県では増加率も低調で全国および他県との差は開いている。

現在の臨床研修医制度の導入前の期間I（平成8年～平成16年）と導入後の期間II（平成16年～平成30年）の人口10万対医師数の年間の増加数を比較すると、期間Iでは、全国2.25人/年、富山県3.05人/年（全国比1.36）、石川県2.23人/年（全国比0.99）、福井県3.01人/年（全国比1.34）、新潟県1.68人/年（全国比0.74）、長野県2.96人/年（全国比1.32）、岐阜県2.26人/年（全国比1.01）、期間IIでは、全国3.26人/年、富山県2.91人/年（全国比0.89）、石川県3.24人/年（全国比0.99）、福井県3.56人/年（全国比1.09）、新潟県2.21人/年（全国比0.68）、長野県3.66人/年（全国比1.12）、岐阜県3.58人/年（全国比1.10）となり富山県では臨床研修医制度導入後に医師数の増加は大きく鈍化していた。石川県は期間I、期間IIとも全国と同等、福井県および長野県では期間IIで医師数の増加は鈍化したものなお全国を上回っていた。新潟県では、期間I、期間IIとも全国平均の増加数を大きく下回っていた。岐阜県では期間I、期間IIとも全国平均を上回り、期間IIでより増加していた。

また、各県の医学部定員（1学年）は、富山県（富山大学）105人、石川県（金沢大学と金沢医科大学）219人、福井県（福井大学）110人、新潟県（新潟大学）122人、長野県（信州大学）120人、岐阜県（岐阜大学）110人であり、人口10万人当たりの医学部定員数は、富山10.14人、石川県19.38人、福井県14.44人、新潟県5.47人、長野県5.91人、岐阜県5.62人であった。一方、平成28年～平成30年の期間の臨床研修医の年間採用数の平均値は、富山74.3人、石川県100.0人、福井県57.7人、新潟県105.3人、長野県135.3人、岐阜県125.0人であり、人口10万当たりに換算すると、富山7.18人、石川県8.85人、福井県7.57人、新潟県4.72人、長野県6.66人、岐阜県6.39人であった。

B. 富山県における主な診療科別医師数の年次推移

富山県の主な診療科別人口10万対医師数の推移を図-2に示した。富山県の内科医師数は平成20年頃までは全国を上回っていたが、以降は全国とほぼ同じ水準で推移している。富山県の外科医師数は一貫して全国を下回っ



図ー 2 診療科別医療施設従事医師数年次推移（人口10万対）

ている。平成16年の初期臨床研修必修化に伴い全国の外科医師数は大きく減少しており、富山県でもわずかに減少したが、その差は縮まった。その後全国の外科医師数は緩やかに回復しており、富山県での外科医師数も増加傾向にはあるがその差は再び拡大している。富山県の小児科医師数は以前から全国を上回る水準で推移していたが、平成30年に減少し全国とほぼ同水準となった。産婦人科医師数は外科医師数と同様、平成16年の初期臨床研修必修化に伴い減少しているが、その後増加傾向にある。富山県の産婦人科医師数は全国と同水準またはやや下回って推移している。

三師調査の診療科に救急科が加わったのは平成18年からである。富山県、全国とも主たる診療科を救急科とする医師数は少ないが、全国的には増加傾向で平成18年から平成30年にかけて人口10万対医師数で約2倍となっている。これに対し、富山県の救急科医師数は増減を繰り返しながら緩やかに増加しており全国に比して低調な増加率となっている。富山県での麻酔科医師数は以前から全国を上回る水準で推移している。平成14年から平成24年にかけて減少～横ばいとなったが平成26年から再び増加傾向である。整形外科医師数は、以前から全国を上回って推移しているが、富山県では近年ほぼ横ばいでほ

とんど増加はなく全国との差は縮まっている。

II. 富山県における二次医療圏別医師数

A. 富山県における二次医療圏別医師数の年次推移

富山県における二次医療圏別医師数の年次推移を図-3に示す。富山県における二次医療圏は新川、富山、高岡、砺波の4つから構成される。いずれの医療圏でも医師数は緩やかに増加傾向であるが、富山医療圏では以前から一貫して比較的医師数が多い。一方、他の3つの医療圏では比較的医師数が少ない。他の3つの二次医療圏（新川、高岡、砺波）を比較すると平成12年までは砺波医療圏での医師数が新川医療圏、高岡医療圏での医師数に比較して少なかったが、平成14年以降はほぼ同程度となり、平成26年以降は砺波医療圏の医師数がやや多くなっている。

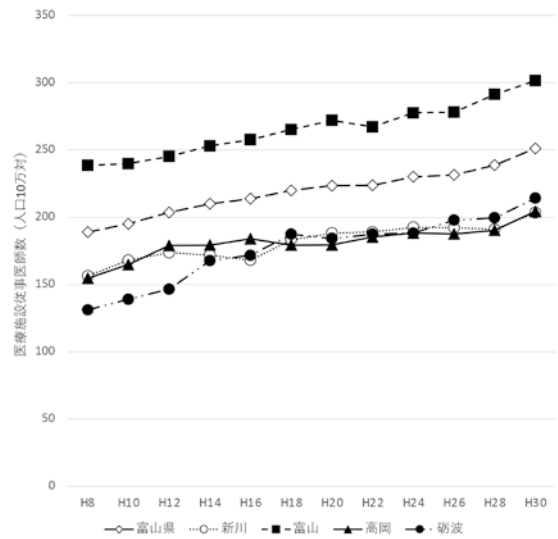


図-3 富山県二次医療圏別医療施設従事医師数（人口10万対）の年次推移（全診療科）

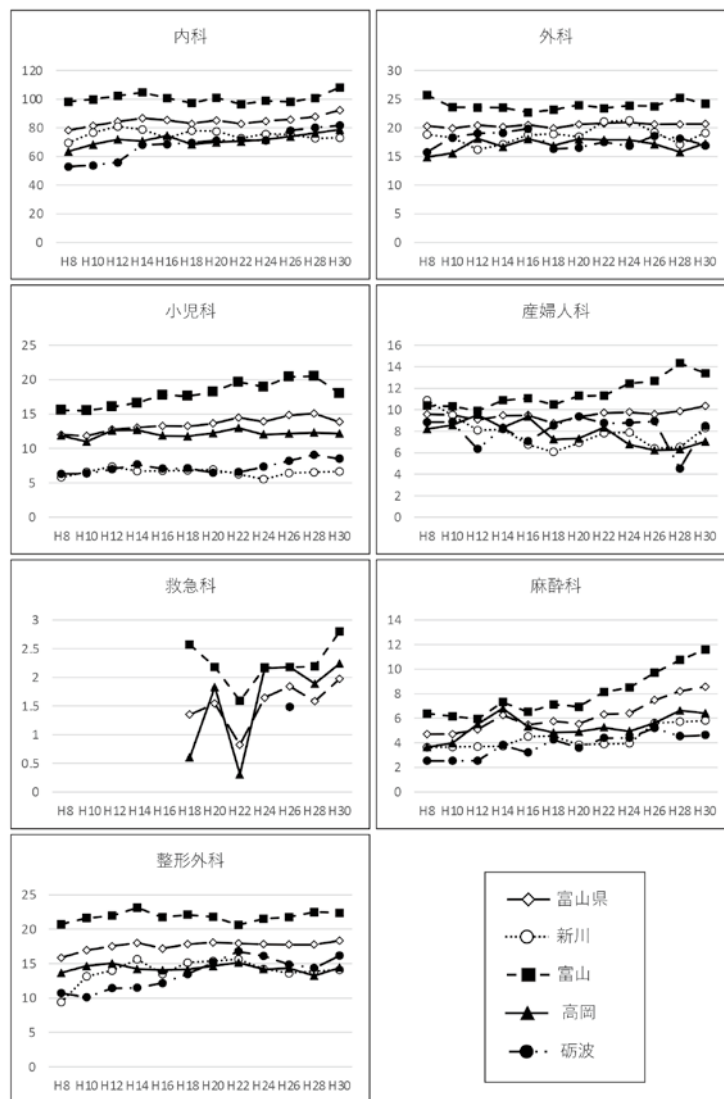


図-4 富山県二次医療圏別診療科別医療施設従事医師数（人口10万対）の年次推移

B. 富山県における主な診療科別二次医療圏別医師数の年次推移

富山県における主な診療科別（内科，外科，小児科，産婦人科，救急科，麻酔科，整形外科）二次医療圏別医師数の年次推移を図-4に示す。いずれの診療科においても富山医療圏で医師数が多く，他の二次医療圏（新川，高岡，砺波）で比較的医師数が少ない傾向はかわらない。これは前項同様の理由によるものと推測される。診療科別にみると，内科医師数は全体に緩やかに増加しており，全診療科医師数（図-3）同様，砺波医療圏での医師数の増加が大きい。一方，新川医療圏での内科医師数は平成8年から平成30年までの22年間でほとんど増加していない。外科医師数はいずれの二次医療圏においても平成8年から平成30年までの22年間でほとんど増加はみられず，ほぼ横ばいで経過している。小児科医師数は平成30年の調査では減少したもののそれまでは緩やかに増加している。しかし，新川医療圏，高岡医療圏ではほぼ横ばいでほとんど増加はなく，砺波医療圏で平成24年以降やや増加，最も大きく増加しているのは富山医療圏となっており，二次医療圏ごとの増減の差が大きい。産婦人科医師数についても小児科同様の傾向がある。富山県全体ではわずかに増加，富山医療圏で大きく増加しており，他の二次医療圏（新川，高岡，砺波）では減少している。救急科医師数は富山県全体として非常に少ないが，二次医療圏では富山医療圏，高岡医療圏に集中している。麻酔科医師数は平成8年から平成30年までの22年間で大きく増加している。いずれの二次医療圏でも増加しているが，なかでも富山医療圏での増加が大きい。整形外科医師数は，新川医療圏や砺波医療圏では多少の増減がみられるが，近年いずれの二次医療圏でもほぼ横ばいで経過している。

Ⅲ. 富山県および近隣県における年齢階級別・性別医師数の変化

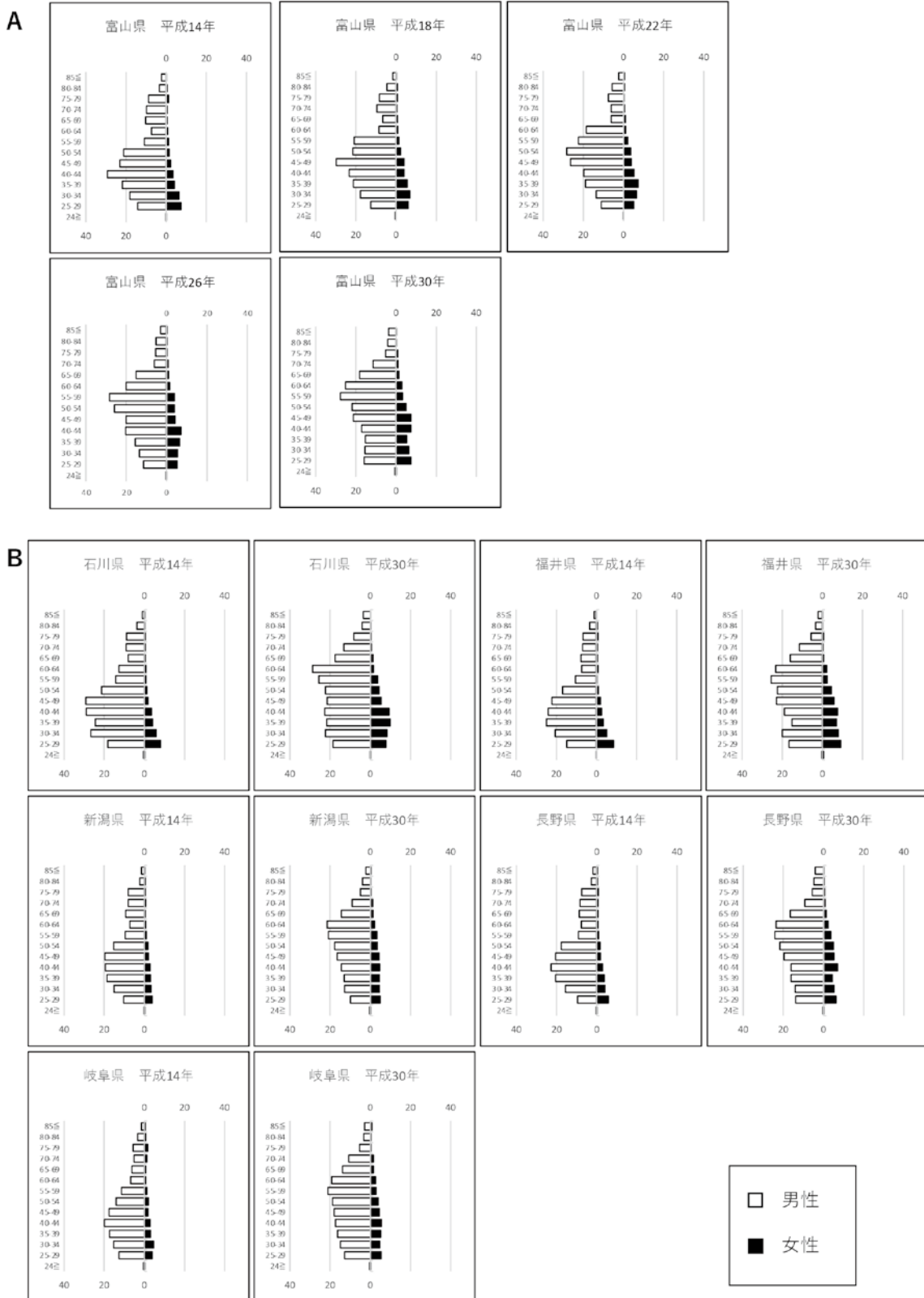
富山県および近隣県における年齢階級別・性別医師数について比較したものを図-5に示す。男性医師については，富山県およびいずれの近隣県においても平成14年には55歳以上の年齢階級で医師数が少なく，35～39歳，40～44歳，45～49歳の年齢階級を中心に医師数が多かった。16年後の平成30年にはこれが上方にシフトし，50～54歳，55～59歳，60～64歳の年齢階級の医師数が増えている。一方，30歳代以下の年齢階級の医師数は平成14年と比較し平成30年には横ばいまたは減少しているところが多い。女性医師はいずれの県，年齢階級においても男性医師に比べ非常に少ないが，平成14年と比較し平成30年には全体に増加していることがわかる。男女全体では平成30年には30歳代以下の若手医師数が少ない傾向にある県が多く，新潟県，長野県，岐阜県ではこの傾向が強い。石川県，福井県では比較的若手医師数が保たれている傾向にあり，富山県はこの中間程度である。

【考察】

富山県の近隣県でも人口10万対医師数で大きな差があったが，その原因として人口当たりの医学部定員数と臨床研修医数との関連が示唆された。平成18年の「新医師確保総合対策」および平成19年「緊急医師確保対策」により医学部の増員がなされ，地域での就労義務のある地域枠の創設により医師の地域偏在の改善がなされてきたが，十分な効果を上げているとは言えない。現在の施策を継続するとともに，地域勤務においても十分な医師のキャリア形成ができる環境の整備が必要であると考えられる。また，平成16年度に導入された臨床研修制度は都道府県格差の是正にある程度寄与している報告がある。富山県においても臨床研修医の数は増加傾向を維持しているが，富山県全体の医師増加数は，臨床研修制度導入後に小さくなっている。平成30年度から開始された新専門医制度における都道府県別の専攻医数をみると，研修医の増加が必ずしも専攻医数の増加に繋がっていない状況があり，医師偏在のさらなる改善には専攻医数のコントロールが必要と考えられた。

富山県の主な診療科別医師数の年次推移は診療科ごとに特徴がみられる。内科，小児科，麻酔科は全国と同程度の水準で安定して推移している。外科と産婦人科の医師数はいずれも初期臨床研修必修化に伴い大きく数を減らした。これは，初期研修修了後に専門とする診療科を決める段階でこれらの診療科が，業務の多忙に加え，医療訴訟リスクの高さなどから敬遠された可能性がある。産婦人科はその後全国，富山県いずれも増加傾向であるが，外科は他の診療科と比較しても増加が少なく，外科離れの傾向が続いている。特に富山県では全国と比較して外科医師数は少なく，外科医の不足が懸念される。また，本研究での解析はあくまでも全国平均との比較であり，“全国平均＝必要医師数”とは必ずしも言えない点には注意が必要である。実際に平成30年に全国平均と同レベルの水準にある内科，整形外科医師数であるが，厚労省の「医師偏在指標」で示される2018年足下充足率は，内科0.84，整形外科0.88と低値で，年間必要養成数は，内科50人，整形外科9人とされており，これら診療科が富山県において不足していることが示唆される。

富山県に従事する医師確保のため，富山大学医学部医学科では地元高校からの推薦枠である「地域枠」が平成19年度から導入され，さらに平成21年度からは修学資金貸与と11年間（臨床研修の2年間とその後の9年間）の富山県内勤務義務のある「富山県特別枠」が導入された。「富山県特別枠」では小児科，産婦人科，救急科，麻酔科，総合診療科，外科（特定診療科）のいずれかを専門として従事することが義務となっている。富山県特別枠第1期生が臨床研修を修了したのが平成28年度であることから，今回の医師数の解析への影響は限定的と考えられるが，今後の医師数の推移を検討する際には念頭



図ー5 富山県および近隣県における年齢階級別・性別医師数（人口10万対）

に置いておく必要がある。

富山県では富山医療圏に医師が多く、他の二次医療圏（高岡、砺波、新川）では医師が少なかった。この理由としては、富山医療圏には富山大学附属病院が含まれて

おり、富山大学での教育や研究を担うため多くの医師が必要であること、富山県立中央病院という富山県の医療の中核を担う病院が含まれること、病院・診療所の数が多いことが考えられる。小児科は富山医療圏に集中して

いるが、この理由として、少子化に伴い医療需要が変化し公的病院では医師を集約するよう配置している可能性がある。また、郊外ではより少子高齢化が進んでいることが考えられ診療所・民間病院の医師数も都市部に集中してきている可能性がある。産婦人科も小児科同様、診療科として集約化が進められた結果である可能性がある。救急科医師は、実際には、富山県内で三次救急を担う富山県立中央病院および厚生連高岡病院、そして富山大学附属病院にのみ勤務しており、他の病院では内科や外科など他の診療科医師が救急医療を担っている。救急科医師は大きく不足していると考えられ、今後、救急科医師数増加、各医療圏、各二次救急病院に一定数の救急科医師が配置されることが望まれる。麻酔科医師数は、平成8年から平成30年の22年間で大きく増加しており、中でも富山医療圏では約2倍に増加している。他の二次医療圏でも増加がみられるものの二次医療圏間での偏在は大きくなっている。しかし実際には、富山医療圏（富山大学附属病院等）に勤務する医師が非常勤医師として他の医療圏に位置する病院での麻酔を一部担っており、実務の面では、これほど大きな差はないのかもしれない。

富山県および近隣県の年齢階級別・性別医師数をみると石川県や福井県など近年医師数が伸びている県は30歳代以下の若い医師や女性医師数が増加しているように見受けられ、初期研修医や専攻医の確保が医師数増加に大きく寄与していると思われる。富山県でも一部その傾向はみられるが、十分とはいえない。また、富山県と近隣県で平成30年の男性医師数のピークは60歳前後であった

ことから今後5～10年で医師の高齢化が大きく進むことになる。安定的に医療需要に見合う医師数を確保するためには、若手医師の定着、女性医師を含め働きやすい環境の構築、研修体制の充実などが重要になると推測される。

厚生労働省の公開している三師調査をもとに富山県および近隣県、全国の医師数について経年的に比較し、富山県の医師数について分析を行った。また、富山県内各二次医療圏（新川、富山、高岡、砺波）の医師数について経年的に比較を行った。富山県全体の医師数は、全国平均とほぼ同程度で推移しているが、診療科間の偏在や若手医師の比較的少ない年齢構成に課題があると考えられる。また富山県内各二次医療圏の医師数については診療科ごとに特徴があり、ある程度均等化された医師配置を目指すのか、富山県全体または二次医療圏単位で集約化し医師を配置するのか、各診療科の特徴を踏まえてそれぞれ検討を重ねていく必要がある。

【参考文献】

- 1) 医師・歯科医師・薬剤師調査
<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&toukei=00450026&tstat=000001030962>
- 2) 富山県内市町村住民基本台帳人口
<https://www.pref.toyama.jp/140403/kensei/kouhou/toukei/kj00010908/index.html>
- 3) 総務省統計局人口推計
<https://www.stat.go.jp/data/jinsui/2.html>

原 著

当科における15年間の口唇・口蓋裂 一次症例の臨床観察

石坂理紗・藤原久美子・高市真由・中道尚美・上浦 眸
今上修一・池田篤司・野口 誠

Clinical observations of patients with primary cleft lip and/or palate
during 15 years in our hospital

Risa ISHIZAKA, Kumiko FUJIWARA, Mayu TAKAICHI, Naomi NAKAMICHI, Hitomi KAMIURA,
Syuichi IMAUE, Atsushi IKEDA, Makoto NOGUCHI

Department of oral and maxillofacial surgery, University of Toyama

和文要旨

(背景) 口唇口蓋裂は先天性体表異常で最も多い疾患であり、日本では出生500から600人に1人程度の発生頻度と報告されているが富山県での発生状況に関する報告はこれまでにない。そこで富山大学附属病院顎口腔外科特殊歯科における15年間の口唇口蓋裂患者の受診状況を調査し検討したので報告する。

(対象) 2005年から2019年までに当科を受診した口唇口蓋裂一次症例患者157人を対象とした。(結果) 裂型は口蓋裂が最も多く、次いで口唇口蓋裂であった。口蓋裂単独症例は女兒に多く、裂側では左側が多かった。合併症は51人(32.5%)の患児に認められた。(考察) 裂型や性別、合併症などはこれまでの本邦における報告と同様であった。富山県の出生児数の推移から考えると、当科での1次症例は治療を必要とする富山県内の口唇口蓋裂患者の多くを反映しているものと思われた。口唇口蓋裂は遺伝的因子と環境因子の多因子疾患であるため、今後も地域における口唇口蓋裂の発生状況に留意していきたい。

ABSTRACT

Cleft lip and/or palate (CL/P) is the most common malformation of the human body, and its incidence in Japan is reported to be about 1 in 500 to 600 births. We investigated the situation of patients with CL/P of department of oral and maxillofacial surgery, University of Toyama for 15 years, and examined the incidence of CL/P in Toyama Prefecture area. A total of 157 patients with primary CL/P who visited our department from 2005 to 2019 were included in the study. Cleft palate was the most common cleft type, followed by CL/P. Single cases of cleft palate were more common in girls, and the left side of the cleft was more common. Complications were seen in 32.5% of the children. The cleft type, sex, and complications were similar to those reported in Japan. Considering the trend in the number of births in Toyama Prefecture, the primary cases in our department seemed to reflect most of the CL/P patients in Toyama Prefecture who require treatment. CL/P is a multifactorial disease with genetic and environmental factors, so we will continue to pay attention to the incidence of CL/P in the region. Considering the trend in the number of births in Toyama Prefecture, the primary cases at our department reflect almost patients of cleft lip and palate patients in Toyama Prefecture. Since CL/P is a multifactorial disease with genetic and environmental factors, we will continue to study for the incidence of cleft lip and palate in the prefecture.

緒 言

口唇口蓋裂は、出生約500から600人に1人程度発生する比較的頻度の高い先天異常として知られている¹⁻⁴⁾。世界的には、アメリカ⁵⁾、中国⁶⁾、ヨーロッパ⁷⁾の報告があるが、日本の発生率は他と比較しても高い傾向があることが知られている⁸⁾。発生要因としては、遺伝的因子

と環境因子が影響を及ぼす多因子閾説で説明されている⁹⁻¹³⁾が、いまだ不明な点も多く、疾患の発生原因や予防法の研究において発生動向に関する疫学調査は重要である。先天異常児に関する調査では、海外では国内の口唇口蓋裂児の裂型や治療について集約的にデータベース化するシステムが構築されている国も多い。例えばイギ

リスでは、The Cleft Care UK Study¹⁴⁾として国内のすべての口唇口蓋裂治療病院（クレフトセンター）が登録されており、患者数や裂型・合併症だけでなく、術者や手術法などの情報も保存され、治療経過を含めた横断的研究が可能となっている。一方、日本ではそのような制度はなく、近年では2011年より環境省が主導する出生児に関する大規模疫学調査（エコチル調査）が行われているものの、全数を対象としたものではなく、正確な発生数を全国規模で把握することはできないのが現状である。そのため日本国内における口唇口蓋裂の発生調査は、白石²⁾ら、岐部¹⁵⁾ら、大杉¹⁶⁾ら、加藤¹⁷⁾ら、三古谷¹⁸⁾ら、などの報告のように各医療施設や地域単位で報告されているのみである。そこで、これまで北陸地方における口唇口蓋裂の発生状況に関する報告はなかったことから、富山県内で最も多くの口唇口蓋裂患者の治療を担当している本学附属病院における初診患者を調査し、罹患状況を検討したので報告する。

対 象

2005年から2019年までの約15年間に富山大学附属病院顎口腔外科・特殊歯科を受診した口唇口蓋裂一次症患者157人を対象とした。口唇裂および口唇口蓋裂は91例、口蓋裂単独は45例、粘膜下口蓋裂は18例、顔面裂は3例であった。

結 果

1) 初診患者数

最も多かったのが2011年の19例、最も少なかったのが2005年の3例であった。(図1)

2) 紹介元

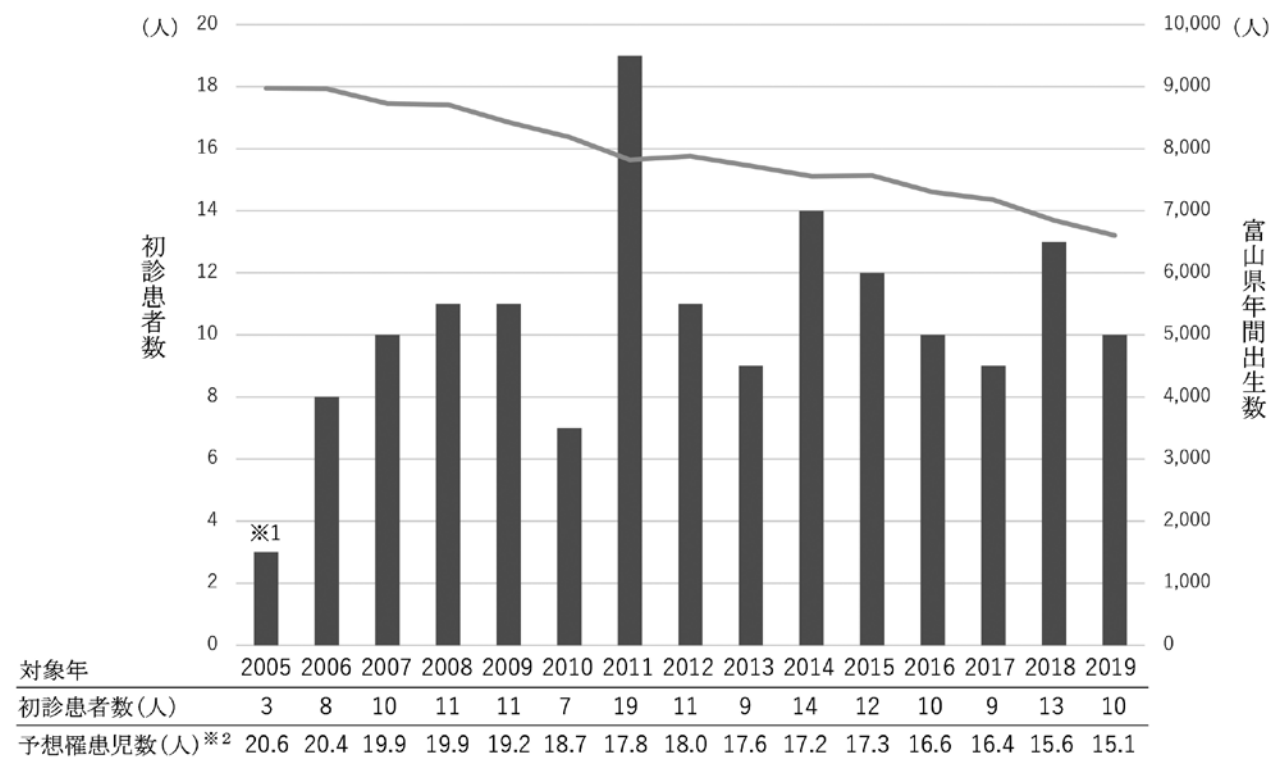
157例のうち、紹介患者は145例であり、紹介なく当科を直接受診した患者も12例あった。紹介患者のうち院内紹介は62例で、そのうち小児科43例、産婦人科17例、耳鼻咽喉科2例であった。院外紹介は83例で、小児科43例、産婦人科24例、歯科・口腔外科11例、耳鼻咽喉科3例、形成外科2例であった。(表1)

3) 初診時年齢

出生から1週間以内の紹介が最も多く63例であった。最も年齢が高かったのは粘膜下口蓋裂の12歳3か月の症

表1 紹介元の内訳 (人)

紹介あり	院内	小児科	43
		産婦人科	17
		耳鼻咽喉科	2
紹介なし	院外	小児科	43
		産婦人科	24
		歯科・口腔外科	11
		耳鼻咽喉科	3
		形成外科	2
紹介なし			12



※1 2005年12月より当科にて口唇口蓋裂治療を開始

※2 予想罹患児数はMaezawa³⁾らの報告(罹患率0.228%)を参考に富山県の年間出生数から予想した数

図1 初診患者数と富山県の年間出生数推移

例であった。初診時年齢の中央値は生後10日であり、裂型別の中央値は、口唇口蓋裂は生後8日、口蓋裂は生後16日、粘膜下口蓋裂は生後3歳8か月、顔面裂は生後3日であった。(表2)

4) 裂型

裂型では、口唇裂単独32例(20%)、口唇口蓋裂59例(38%)、口蓋裂単独(粘膜下口蓋裂を含む)63例(40%)、顔面裂3例(2%)であった。性差は、口唇裂では男女差はなく、口唇口蓋裂では男児36例、女児23例と男児が多かった。一方口蓋裂では、男児16例、女児29例で女児が多かった。(表3)

5) 披裂側

右側裂は26例であり、完全裂18例、不完全裂8例であった。左側裂は42例で、完全裂30例、不完全裂12例であり、左側裂が多かった。また両側裂は23例で、そのうち両側完全裂16例、両側不完全裂4例、完全裂および不完全裂3例であった。(表4)

6) 出生体重

出生体重の記録を入手できた138例では、平均2872g(2872±547.8)であった。低出生体重児は25名、極低出生体重児は2名、超低出生体重児は1名であった。極低出生体重児は両側口唇口蓋裂児と口蓋裂児、超低出生

体重児は左側口唇口蓋裂児であった。(表5)

7) 在胎週数

在胎週数を入手できた145例では、平均39週であった。それぞれ口唇裂は39週(37~41週)(n=32)、口唇口蓋裂は38週(25~42週)(n=57)、口蓋裂は39週(34~41週)(n=44)、粘膜下口蓋裂は38週(34~40週)(n=9)、顔面裂は38週(37~39週)(n=3)であり、裂型間における在胎週に有意差は認めなかった。(表6)

8) 合併症

157例中51例(32.5%)で合併症を認め、合併重複例も認められた。合併症の内訳は先天性心疾患が26例と最も多く、次いで消化器系、泌尿器系であった。裂型別では顔面裂3例で合併症あり(100%)、口蓋裂は22例(48.9%)、粘膜下口蓋裂は7例(38.9%)、口唇口蓋裂は16例(27.1%)、口唇裂は3例(9.4%)であった。(表7)さらに、染色体異常や症候群として診断されたものは、口唇口蓋裂3例、口蓋裂9例、顔面裂3例であった。内訳としては9番モノソミー1例(口蓋裂1例)、13番トリソミー2例(口唇口蓋裂2例)、18番トリソミー1例(口蓋裂1例)、ダウン症候群2例(口蓋裂1例、口唇口蓋裂1例)、4p(-)症候群1例(口蓋裂1例)、22q11.2欠失症候群2例(口蓋裂2例)、全前脳胞症3例

表2 初診時年齢(人)

初診時年齢	~1週間	~1カ月	~3カ月	~6カ月	~1年	~2年	~3年	~4年	4年以上
口唇裂	15	13	3	1	-	-	-	-	-
口唇口蓋裂	30	20	3	3	3	-	-	-	-
口蓋裂	14	12	10	2	1	4	1	1	-
粘膜下口蓋裂	2	-	1	-	1	2	-	5	7
顔面裂	2	-	-	-	1	-	-	-	-
計	63	45	17	6	6	6	1	6	7

表3 裂型別内訳(人)

	男	女	計
口唇裂	16	16	32
口唇口蓋裂	36	23	59
口蓋裂	16	29	45
粘膜下口蓋裂	13	5	18
顔面裂	2	1	3
計	83	74	157

表4 披裂側内訳(人)

		右	左	両
口唇裂	完全裂	8	5	-
	不完全裂	7	8	2
	完全裂+不完全裂	-	-	2
口唇口蓋裂	完全裂	10	25	16
	不完全裂	1	4	2
	完全裂+不完全裂	-	-	1

表5 出生時体重(n=138)(人)

出生時体重	口唇裂	口唇口蓋裂	口蓋裂	顔面裂
1000g未満	-	1	-	-
1000g以上1500g未満	-	1	1	-
500g以上2500g未満	1	9	13	2
2500g以上4000g未満	30	47	30	1
4000g以上	1	-	1	-

表6 在胎週数(n=145)(週)

中央値(最小値-最大値)	平均在胎週数
口唇裂	39(38-41)
口唇口蓋裂	39(25-41)
口蓋裂	39(34-40)
粘膜下口蓋裂	38(34-40)
顔面裂	38(37-39)

表7 合併症の有無 (人) (%)

	口唇裂	口唇口蓋裂	口蓋裂	粘膜下口蓋裂	顔面裂
あり	3 (9.4%)	16 (27.1%)	22 (48.9%)	7 (38.9%)	3 (100%)
なし	29 (90.6%)	43 (72.9%)	23 (48.9%)	11 (61.1%)	0 (0%)

(口唇口蓋裂2例, 正中裂1例), 第一第二鰓弓症候群1例(横顔裂1例), Stickler症候群1例(口蓋裂1例), Treacher-Collins症候群1例(口蓋裂1例), などを認めた。

考 察

口唇口蓋裂は日本人では約500から600人に1人の割合で出生する頻度の高い先天性疾患として知られている¹⁴⁾。本邦での口唇口蓋裂の発生状況について医療施設や地域単位での報告は多くあるものの, これまでに富山県に関連する報告はなかった。富山県の年間出生数は2005年から2019年までに8973人から6604人で推移しており¹⁹⁾, Maezawa³⁾らが報告した発生頻度から推測すると, 富山県内では年間およそ20.6~15.1人(平均18.0人)人程度の口唇口蓋裂児が出生していると考えられる。しかし臨床現場においては, 重度の心疾患や多くの合併症を伴う場合には生命予後の観点から当科を受診することなく死亡転帰となる症例も経験する。当科では2005年より口唇口蓋裂治療を開始し関連の診療科に対して周知を行い, その結果, 患者数が増え安定してきた。2015年以降の初診患者数が約9~13人前後で推移していることは, 治療が必要な口唇口蓋裂児のほとんどを反映していると考えられ, 県内の治療状況の指標になると思われる。また, 県内の居住地域における患者数については呉西呉東等による地域差も考えられるが, 本調査では明らかではなかった。

受診患者の紹介元は, 小児科から約6割を占めていた。口唇口蓋裂児には合併症を伴うことも多く^{10,11,20,21)}, 出生後に全身状態が安定してから口唇口蓋裂の加療について紹介となることが多いと考えられる。特に本調査では約30%に合併症を認めており, これまでの報告に比べてやや高い傾向を示していた^{2,15,16)}。このことは, 本学が周産期治療センターを併設していることから合併症を持つ症候群性口唇口蓋裂が多い可能性や, 他に合併症を持たない口唇口蓋裂では, 全身管理を特別必要としないため市中病院や他県の専門施設を希望する例があるためではないかと思われた。また産婦人科からの紹介例では, 胎児検診で口唇口蓋裂と診断され出生前に既に当科を受診していた例もあり, このような取り組みは両親との信頼関係の形成に役立つものと思われた。

初診時年齢については, 口唇口蓋裂はあきらかな体表

異常であり, その他の重度の合併症がなければ速やかに受診に至ると考えられる。しかし粘膜下口蓋裂は発見が遅く, 本調査では初診時年齢の平均は3.7歳であり, 最高は12歳であった。受診時年齢が高くなると, 口蓋裂手術の適切な時期を逃す可能性や, 正常な構音機能獲得に難渋することもあり²²⁾, 早期発見に努めることが課題と考えられた。

裂型に関しては, 過去の報告では口唇口蓋裂, 口唇裂, 口蓋裂の順に多いと報告されている²³⁾。しかし最近では, 口唇裂14.2~31.1%, 口唇口蓋裂31.0~43.3%, 口蓋裂27.6~46.6%などの報告もあり^{17,18,24)}, 本調査でも口唇口蓋裂59例(37.6%), 口唇裂32例(20.3%), 口蓋裂63例(40.1%)と口蓋裂を多く認めた。また裂型の性差に関しては, 本邦では口唇裂は男性にやや多く, 口唇口蓋裂は男性は女性の約2倍, 口蓋裂は女性は男性の約2倍の頻度で発生するとの報告が多い²⁵⁻²⁷⁾。本調査では口唇裂に関して男女差は認めなかったが, 口唇口蓋裂では男児が(61%), 口蓋裂では女児が(64%)多い結果であり, これまでの報告と同様の傾向であった。

以上より, 本調査ではこれまでの国内の各地域の報告と同様の裂型や性差の傾向を示していた。口唇口蓋裂は遺伝的因子だけではなく環境因子も大きな影響を与えるといわれており, 今後も地域ごとの発生状況に留意していきたい。

結 語

裂型や性別などはこれまでの本邦における報告と同様であったが, 合併症を有する割合は高い傾向であった。県内の出生児数の推移から考えると, 当科の受診患者数は県内における発生状況を反映していると考えられ, 今後も患者数の推移などを把握していく必要があると思われた。

文 献

- 1) 宮崎正, 白砂兼光, 作田正義ほか: 口腔外科学, 第3版. 医歯薬出版株式会社. 東京, 2011.
- 2) 白石麻美, 三島克章, 梅田浩嗣ほか: 当科における過去10年間の口唇・口蓋裂一次症例の臨床統計的検討. 山口医学, 第66巻第3号 169-174, 2017.
- 3) Maezawa H, Tomoyaki A, Yamamoto-Hanada K, et al.: Prevalence of congenital anomalies in the Japan Envi-

- ronment and Children's Study. *Journal of Epidemiology*. 2019 Jul 5; 29(7): 247-256.
- 4) Yoshida S, Takeuchi M, Kawakami C, et al.: Maternal multivitamin intake and orofacial clefts in offspring: Japan Environment and Children's Study (JECS) cohort study *BMJ Open* 2020; 10: e03 5817.
 - 5) Conway H, Wagner KJ.: Incidence of clefts in New York City: *Cleft Palate J*. 1966. Jul; 3: 284-90.
 - 6) 李寧, 袁文化, 邱蔚六: 中国と日本における口唇裂口蓋裂の発生率について: *日口蓋誌*. 17: 65-69. 1992.
 - 7) Stol P C, Qian J F, Feingold J, et al: Genetic variation in transforming growth factor alpha: possible association of BamHI polymorphism with bilateral sporadic cleft lip and palate. *Human Genetics*. 1993 Aug; 92 (1): 81-2.
 - 8) 高橋庄二郎: 口唇裂・口蓋裂の発生機序と発生原因. *日口蓋誌*, 15: 49-61, 1970.
 - 9) 小林八州男: 兔唇・口蓋裂の遺伝的研究. *人遺誌*, 3: 73-107, 1958.
 - 10) 赤坂庸子: 唇, 顎, 口蓋裂の成因に関する統計学的ならびに細胞遺伝学的研究. *人遺誌*, 15: 35-96, 1970.
 - 11) 田中俊彦: 口唇・顎・口蓋裂の臨床遺伝学的ならびに疫学的研究. *人遺誌*. 16: 278-308, 1972.
 - 12) 黒住静之, 岡崎英夫, 小坂直也ほか: 兔唇・口蓋裂の遺伝. *人遺誌*, 8: 120-127, 1963.
 - 13) Sato Y, Yoshioka E, Saijo Y, et al.: Population attributable fractions of modifiable risk factors for nonsyndromic orofacial clefts: a prospective cohort study from the Japan Environment and Children's Study. *Journal of Epidemiology*. 2021 Apr 5; 31(4): 272-279.
 - 14) Slator R, Perisanidou L L, Waylen A, et al.: Range and timing of surgery, and surgical sequences used, in primary repair of complete unilateral cleft lip and palate: The Cleft Care UK study. *Orthodontics & Craniofacial Research*. 2020 May; 23(2): 166-173.
 - 15) 岐部俊郎, 西原一秀, 淵上貴央ほか: 当科における口唇裂・口蓋裂患者の一時症例の30の臨床統計的観察. *日口外誌*. 63: 140-147. 2017.
 - 16) 大杉育子, 稲川喜一, 戒谷昭吾: 川崎医科大学附属病院形成外科・美容外科を受診した口唇裂・口蓋裂患者の臨床統計的検討. *日口蓋誌* 2019; 44: 23.
 - 17) 加藤伸一郎, 奥村嘉英, 山田道代ほか: 名古屋市立西部医療センターにおける26年間の口唇口蓋裂患者の臨床統計的観察—初診患者についての検討—. *日口蓋誌* 2015; 40: 3: 226-232.
 - 18) 三古谷忠, 松沢祐介, 曾我部いづみ他: 北海道大学病院口腔医療センターにおける口唇裂・口蓋裂患者の臨床統計的調査. *日口蓋誌* 2011; 36: 166-173.
 - 19) 厚生労働省「人口動態統計」
 - 20) 本田光徳: 唇・顎・口蓋裂患者の臨床的研究—(1) 統計的観察. *日口蓋誌*, 3: 50-59, 1978.
 - 21) 山城正宏, 儀間裕, 本村和弥ほか: 口唇裂口蓋裂の臨床的研究—第2報, 過8年間の統計的観察—. *日口蓋誌*, 9: 48-55, 1984.
 - 22) Boyse J O, Kilpatrick Nicky, Morgan A T, et al.: Speech and language characteristics in individuals with nonsyndromic submucous cleft palate -A systematic review; *Child: Care Health and Development* 2018 Nov; 44(6): 818-831.
 - 23) 高橋庄二郎: 口唇裂・口蓋裂の基礎と臨床, 第1版. 日本歯科評論社. 東京, 1996.
 - 24) 松村香織, 笹栗正明, 光安岳志ほか: 九州大学病院顎口腔外科における口唇裂口蓋裂患者の臨床統計的観察. *日口蓋誌*, 39: 217-223. 2014.
 - 25) 鬼塚卓弥: 唇裂・口蓋裂形成術. 形成外科手術書, 第3版pp. 371-383, 南江堂, 東京, 1999.
 - 26) 西野冽子, 坂本美和子, 鬼塚圭子ほか: 長崎大学医学部形成外科における口唇, 口蓋裂患者の統計的観察. *長崎医学会誌*, 63: 217-233, 1988.
 - 27) 大槻玲子, 森田展雄, 和田健ほか: 口唇・口蓋裂患者の臨床統計学的観察. *日口蓋誌* 51: 132-136. 2002.

Case Report

A Case of Cavernous Dural Arteriovenous Fistula complaining Double Vision while Driving

Keiichiro KITA, MD

運転中の複視を主訴に受診した硬膜動静脈瘻の一例

北啓一朗

和文要旨

65歳の女性が運転中の複視を主訴に当科を受診した。当科受診前にA病院救急外来、B眼科クリニック、C病院脳神経内科を受診しており、頭部CT、眼科的診察、頭部MRI検査を受けたがいずれも異常は指摘されなかった。症例は運転中の複視の他にシャワー浴の際に左目奥の拍動性疼痛を経験していた。フレンツェル眼鏡を用いた身体診察では左眼の外転制限、左瞳孔の軽度拡大、対光反射の低下を認めた。頭部MRI/MRAでは左海綿静脈洞に異常な強度を示し、左上眼静脈のわずかな拡張を認めたことより硬膜動静脈瘻と診断した。本例の場合、運転中の複視は遠方視で悪化する外転障害を示唆し、シャワーの頭痛は前屈姿勢に伴う海綿静脈洞の鬱血によるものと考えられた。通常眼振の評価に用いるフレンツェル眼鏡はわずかな眼球運動障害の検出にも有効であった。

Key words: cavernous, intracranial dural arteriovenous fistula, double vision

Case presentation

A 65-year-old woman sought consultation with the chief complaint of double vision while driving. She also experienced a throbbing headache deep in her left orbit when she was in the shower. She had already visited an ophthalmologist, a neurologist, and ER in her town. However, no abnormality was pointed out including brain Computed tomography (CT) and Magnetic resonance imaging (MRI).

A physical examination showed no remarkable findings except for a neurological deficit. A neurological examination revealed the abduction of her left eye was limited. The left pupil was slightly enlarged and react poorly to light. Frenzel glasses enhanced these slight oculomotor disturbances (picture A, B).

Laboratory findings showed no remarkable abnormalities, including blood cell count, liver and renal function, electrolytes, thyroid function, thyroid marker, and antinuclear antibody.

A radiologist reported that MRI/MRA showed an abnormal intensity in the left cavernous sinus and a slight dilatation of the left superior ophthalmic vein (picture C, D), which were characteristics of dural arteriovenous

fistula (dAVF). She was referred to a neurosurgeon in our hospital, and these symptoms disappeared after a successful endovascular embolization.

Discussion

The cavernous is the most frequent location of intracranial dAVFs in Japan¹⁾. The most common clinical symptoms of the cavernous dAVFs were ocular symptoms, such as exophthalmos, chemosis, and palpebral swelling²⁾³⁾⁴⁾. However, these classic symptoms are not present in some patients. On the other hand, Kurata et al reported that the most common initial symptom was diplopia in Japan²⁾. Elevated ocular venous pressure due to AV fistula may lead to edema or inflammatory changes in the surrounding tissue-extraocular muscles. Therefore, diplopia may develop without cranial nerve compression⁴⁾.

In this case, double vision while driving suggested an abduction defect, which worsens with far vision. The headache in the shower may have been due to the congestion of the cavernous sinus when leaning forward. Frenzel glasses are useful for evaluating slight oculomotor disturbances in outpatient clinics of primary care

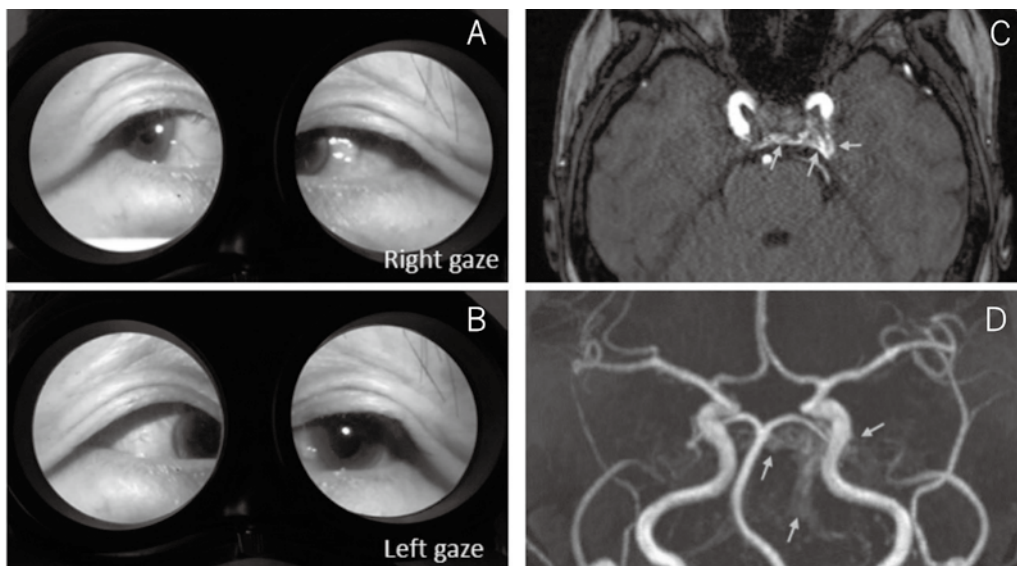
settings.

Conflict of interest

The author has no conflicts of interest to declare.

References

- 1) Hiramatsu M, Sugui S, Hishikawa T, et al. Epidemiology of dural arteriovenous fistula in Japan: analysis of Japanese Registry of Neuroendovascular Therapy (JR-NET2). *Neurol Med Chir (Tokyo)* 54: 63-71. 2014.
- 2) Kurata A, Suzuki S, Iwamoto K, et al. Dural arteriovenous fistulas in the cavernous sinus: clinical research and treatment. *ISRN Neurol.* 2011; 2011: 453834
- 3) Nomura M, Mori K, Tamase A, et al. Cavernous sinus dural arteriovenous fistula patients presenting with headache as an initial symptom. *J Clin Med Res* 8(4): 342-345. 2016.
- 4) Kim M, Han DH, Kwon O-Ki, et al. Clinical characteristics of dural arteriovenous fistula. *J Clin Neurosci.* 9(2): 147-155. 2002.



Pictures

- A, B: Left eyeball abduction dysfunction and pupil enlargement enhanced by Frenzel glasses.
 C: MRI shows an abnormal intensity in the left cavernous sinus.
 D: MRA shows a slight dilatation of the left superior ophthalmic vein.

学位授与

博士 (医学)

学位記番号 富医薬博甲第353号

氏名 伊東 雅美

博士論文名 Bone morphogenetic protein-2 enhances gonadotropin-independent follicular development via sphingosine kinase 1 (BMP-2はsphingosine kinase 1を介して, ゴナドトロピン非依存性の卵胞発育を促進する)

所属講座 東西統合医学専攻 (産科婦人科学)

学位記番号 富医薬博甲第354号

氏名 亀山 暁世

博士論文名 Sevoflurane-induced retrograde amnesia is associated with inhibition of hippocampal cell ensemble activity after learning. (吸入麻酔薬セボフルランによる逆行性健忘は学習後の海馬のセルアンサンブルの阻害と関連する)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (麻酔・周術期管理科学)

学位記番号 富医薬博甲第356号

氏名 桑野 剛英

博士論文名 Generation and characterization of a Meflin-CreERT2 transgenic line for lineage tracing in white adipose tissue (Meflin-CreERT2 マウスの作製と白色脂肪組織での系譜解析)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (内科学1)

学位記番号 富医薬博甲第357号

氏名 西村 歩

博士論文名 Adipose tissue-resident macrophages skew towards lipid-associated macrophages after high-fat diet administration (高脂肪食負荷により脂肪組織常在性マクロファージは脂質関連マクロファージへ変化する)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (内科学1)

学位記番号 富医薬博甲第358号

氏名 奈良 唯唯子

博士論文名 危機管理医学の視点から見た大規模イベントの疾病構造と今後の医療対策 (Analysis of disease structure and future medical measures at mass gathering events from the point of view of emergency and disaster medicine)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (救急・災害医学)

学位記番号 富医薬博甲第359号

氏名 山口 智史

博士論文名 Comprehensive analysis of TCR function using a novel system reveals the multiple unconventional tumor-reactive T cells in breast cancer-infiltrating lymphocytes (T細胞受容体の網羅的機能解析法の開発と乳癌腫瘍浸潤リンパ球中の非典型的T細胞の発見)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (内科学1)

学位記番号 富医薬博甲第360号

氏名 渡邊 善之

博士論文名 Gut microbiota, which is determined by the nutrient composition of the diet, drives modification of the plasma lipid profile and insulin resistance (栄養素によって構成される腸内細菌叢は宿主の血中脂質代謝産物を制御し, インスリン抵抗性に影響を与える)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (内科学1)

学位記番号 富医薬博甲第361号

氏名 川原 千香子

博士論文名 大学病院におけるRapid Response System (院内迅速対応システム)の現状と教育の効果 (Current Status of Rapid Response System and Education for Afferent Limb in University Hospitals)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (救急・災害医学)

学位記番号 富医薬博甲第362号
 氏名 小橋 大輔
 博士論文名 III度熱傷マウスの全層皮膚切除部位に対する、ハイパードライヒト乾燥羊膜とヒト羊膜間葉系幹細胞を用いた研究
 (Application of hyperdry human amniotic membrane and human amniotic mesenchymal cells for the full-thickness skin deficiency after a deep burn injury: a study in mice)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (救急・災害医学)

学位記番号 富医薬博甲第371号
 氏名 吉田 雅
 博士論文名 Configural cues associated with reward elicit theta oscillations of rat retrosplenial cortical neurons phase-locked to LFP theta cycles
 (報酬と連合した構成刺激は局所電場電位の θ リズムに同期したラット脳梁膨大部後部皮質ニューロンの θ オシレーションを誘発する)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (内科学1)

学位記番号 富医薬博甲第372号
 氏名 米原 啓介
 博士論文名 Tamoxifenにより生じるRSKを介したEphA2非定型的活性化機構
 (RSK-mediated non-canonical activation of EphA2 by tamoxifen)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (歯科口腔外科学)

学位記番号 富医薬博甲第373号
 氏名 森田 恵子
 博士論文名 CD8+T細胞のTCRレパートリーとPD-1発現の解析から明らかとなった流産および妊娠高血圧腎症における免疫機構の違い
 (Analysis of TCR Repertoire and PD-1 Expression of CD8+T cells Revealed Differential Immune Mechanisms in Miscarriage and Preeclampsia)

所属講座 東西統合医学専攻 (産科婦人科学)

学位記番号 富医薬博甲第378号
 氏名 林 政雄
 博士論文名 PDGFR α knockout mice promote tumor growth and metastasis via vascular hypoplasia and PDGF-stimulated EGFR activation in LLC (Lewis Lung Carcinoma) subcutaneous transplantation model

(Lewis Lung Carcinoma 皮下移植モデルにおいてマウスのPDGFR α ノックアウトは血管の低形成やPDGF刺激によるEGFRの活性化を介して腫瘍の増大や転移を促進する)

所属講座 生命・臨床医学専攻 (皮膚科学)

学位記番号 富生命博甲第127号
 氏名 小林 諭史
 博士論文名 Examination of the prefrontal cortex hemodynamic responses to the Fist-Edge-Palm task in naive subjects using functional Near-Infrared Spectroscopy
 (未経験被験者の前腕運動課題 (拳-手刀-手掌課題)における機能的近赤外分光法による前頭前野脳血行動態の解析)

所属講座 認知・情動脳科学専攻 (システム情動科学)

学位記番号 富生命博甲第128号
 氏名 ALI MOHAMED ALI CHOUCRY
 博士論文名 Forgetting unveils a temporal transition of engram function
 (記憶痕跡を維持する生理学的要因)

所属講座 認知・情動脳科学専攻 (分子脳科学)

学位記番号 富生命博甲第129号
 氏名 MOHAMED IBRAHEM SAYED IBRAHEM DARWISH
 博士論文名 Improvement of mouse genome editing protocol and the application: investigation of the physiological roles of glycine receptor alpha 4 subunit.

(マウスゲノム編集法のプロトコル改良とその応用: グリシン受容体 $\alpha 4$ サブユニットの生理的機能解析)

所属講座 認知・情動脳科学専攻 (行動生理学)

学位記番号 富生命博甲第130号
 氏名 MOHAMED HUSSEIN YOUSSEF ALY MOSTAFA
 博士論文名 Selective engram co-reactivation in idling brain inspires implicit learning
 (アイドリング脳における選択的エングラムの同時再活性化は潜在意識下の学習を刺激する)
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (分子脳科学)

学位記番号 富生命博甲第131号
 氏名 三原 晴美
 博士論文名 Utilizing eye gaze analysis using an eye tracker for clinical research on strabismus
 (アイトラッカーによる視線解析の斜視臨床研究への応用)
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (統合神経科学)

学位記番号 富生命博甲第135号
 氏名 Maha Essam Abdelkader Naguib Wally
 博士論文名 Uncovering long-term existence of a short-term memory using optogenetics, pharmacology and in vivo calcium imaging
 (光遺伝学的手法・薬理学的手法・カルシウムイメージング法による短期記憶の長期的存在の解明)
 所属講座 認知・情動脳科学専攻 (分子脳科学)

博士 (看護学)

学位記番号 富医薬博甲第363号
 氏名 中野 元
 博士論文名 手浴の効果に対する生理学的エビデンスの確立
 (Establishing physiological evidence for the effects of hand baths)
 所属講座 看護学専攻 (臨床・生体機能看護科学)

学位記番号 富医薬博甲第364号
 氏名 河相 てる美
 博士論文名 地域在住女性高齢者の足趾屈伸運動トレーニングの介入効果
 (Intervention effect of the toe extension-flexion training for the community-dwelling elder woman)
 所属講座 看護学専攻 (臨床・生体機能看護科学)

博士 (医学) 《論文博士》

学位記番号 富医薬博乙第78号
 氏名 頭川 峰志
 博士論文名 Active voluntary contraction of the ruptured muscle tendon during the wide-awake tendon reconstruction
 (Wide-awake腱再建手術により観察しえた断裂筋腱の随意性自動収縮)
 所属講座 整形外科学

学位記番号 富医薬博乙第77号
 氏名 土田 暁子
 博士論文名 Changes in the association between postpartum depression and mother-infant bonding by parity: Longitudinal results from the Japan Environment Children's Study
 (産後うつとボンディングの関連の経産による変化: 子どもの健康と環境に関する全国調査からの経時的な結果より)
 所属講座 公衆衛生学

学位記番号 富医薬博乙第79号
 氏名 本間 崇浩
 博士論文名 Postoperative neuropathic pain after thoracic surgery: risk factors and preventive efficacy of 50mg pregabalin
 (呼吸器外科術後神経障害性疼痛のリスク因子とプレガバリン50mg内服予防効果)
 所属講座 外科学1

学位記番号 富生命博乙第10号
 氏名 西園 啓文
 博士論文名 グリシンレセプター $\alpha 4$ サブユニットはマウス受精卵において初期発生に重要な因子である
 (Glycine receptor $\alpha 4$ subunit facilitates the early embryonic development in mice)
 所属講座 行動生理学

修士（医科学）

学位記番号 富医薬修第904号
氏名 荒石 康平
博士論文名 妊娠各時期における子宮ならびに脾臓での胎児抗原特異的制御性T細胞中の胸腺由来もしくは末梢誘導性Treg細胞の動態
所属講座 医科学専攻（産科婦人科学）

学位記番号 富医薬修第905号
氏名 沼田 和也
博士論文名 遺伝子改変マウスの網羅的行動解析によるNMDA足場タンパク質Frmpd2の生理機能の解明
所属講座 医科学専攻（行動生理学）

学位記番号 富医薬修第906号
氏名 横山 哲之
博士論文名 ガンマ帯域の変調を伴う超音波刺激が脳血行動態に及ぼす影響
所属講座 医科学専攻（システム情動科学）

学位記番号 富医薬修第907号
氏名 岩間 雄大
博士論文名 プラセボ効果における背外側前頭前野の役割—女性における年齢差の影響—
所属講座 医科学専攻（システム情報科学）

学位記番号 富医薬修第908号
氏名 海老名 翔平
博士論文名 トリガーポイントに対する鎮痛性電気刺激が脳領域間機能的結合性に及ぼす影響
所属講座 医科学専攻（システム情報科学）

修士（看護学）

学位記番号 富医薬修第896号
氏名 木工 達也
博士論文名 フィジカルアセスメント講座を受けた看護師の技術習得レベルの分析 ～SCATを用いて～
所属講座 看護学専攻（成人看護学）

学位記番号 富医薬修第897号
氏名 渡井 智代
博士論文名 看護学生の経膈分娩見学の希望の程度に関する因子探索的研究
所属講座 看護学専攻（母子看護学）

学位記番号 富医薬修第898号
氏名 山田 裕子
博士論文名 外来ホルモン療法を受けている中年期にある乳がん女性の苦痛
所属講座 看護学専攻（成人看護学）

学位記番号 富医薬修第909号
氏名 草島 彩和
博士論文名 超短波による腹部温罨法に関する研究
所属講座 看護学専攻（基礎看護学）

学位記番号 富医薬修第910号
氏名 田中 凌
博士論文名 医療系大学生におけるスピリチュアリティとパーソナリティに関する研究
所属講座 看護学専攻（精神看護学）

学位記番号 富医薬修第911号
氏名 根塚 理子
博士論文名 スマートフォン操作による細菌伝播と生存期間の検討
所属講座 看護学専攻（基礎看護学）

学位記番号 富医薬修第912号
氏名 石川 彩佳
博士論文名 重症心身障害児（者）への食事介助における摂食・嚥下障害看護認定看護師の専門的
技能
所属講座 看護学専攻（母子看護学）

健常人末梢血リンパ球を用いたWilms tumor 1 (WT 1) 特異的 T 細胞受容体遺伝子の取得

旭 和将 学術研究部医学系 免疫学講座 (指導教員: 小林 栄治助教, 岸 裕幸教授)

【はじめに】

近年, がん抗原特異的 T 細胞受容体 (TCR) を用いた TCR 遺伝子治療が新たながん免疫療法として注目され, 世界中で臨床試験が行われている。しかし, これらは数種類の抗原に対する TCR を用いた臨床試験に限定されている。その主な理由として, がん退縮を誘導できる高機能な TCR 遺伝子を取得することが困難であることが挙げられる。腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) は, 腫瘍特異的な T 細胞が蓄積していることから, 有用な TCR 遺伝子のソースとなることが期待されているが, 患者 TIL はその使用に制限があることから, がん抗原特異的 TCR を取得するための必ずしも有用なソースにはならないと考えられる。そこで, 我々は独自に開発した hTEC10 法を用いて, 健常人末梢血リンパ球より腫瘍退縮を誘導できる高機能な TCR 遺伝子のクローニングを試みた。

【材料および方法】

(方法 1)

健常人 4 人のヒト末梢血リンパ球 (PBMC) を分離し, HLA-A24 拘束性の Wilms Tumor-1 (WT 1) ペプチドおよびリコンビナント IL-2 (30U/mL) と共に 96 well plate (1×10^5 cells/well) にて 2 週間培養した。培養 2 週間後, 各 line (1~12) 毎に, A~H の 8 ウェルの細胞を半量ずつプールし, 合計 12 サンプルを WT 1 peptide/HLA-A24 テトラマーおよび CD 8 抗体で染色を行い, フローサイトメトリーで解析した。

(方法 2)

次に, 誘導が確認できた健常人の PBMC を 10 μ g/ml, 1 μ g/ml, 0.1 μ g/ml, 0.01 μ g/ml, 0.001 μ g/ml の濃度の WT 1 ペプチド濃度と同様に刺激して WT 1 特異的 T 細胞を誘導した。

(方法 3)

各濃度の WT 1 ペプチドで誘導した WT 1 特異的 T 細胞をそれぞれ WT 1 peptide/HLA-A24 テトラマーおよび CD 8 抗体で染色し, CD 8 陽性かつテトラマー陽性細胞の単一細胞ソーティングを行った。

(方法 4)

単一細胞 RT-PCR 法によりソーティングした細胞の TCR α 鎖および TCR β 鎖の塩基配列を決定した。

(方法 5)

解析の結果, クローナルに増殖している T 細胞の TCR 発現ベクターを作製した。

(方法 6)

作製した TCR 発現ベクターを用いて TCR 陰性 T 細胞株に発現させ, WT 1 peptide/HLA-A24 テトラマーで染色し, 取得した TCR の抗原特異性を評価した。

【結果】

(結果 1)

健常人 4 人の PBMC を WT-1 ペプチドで刺激したところ, 1 人の健常人 PBMC (ドナー D) からペプチド特異的 T 細胞を誘導できた。ドナー D では, WT 1 peptide/HLA-A24 テトラマー陽性かつ CD 8 陽性の WT 1 特異的 T 細胞が Line-1 では 0.03%, Line-2 では 0.02%, Line-3 では 0.01% だった。ドナー B, F, S ではどの Line からでも WT 1 特異的 T 細胞は検出されなかった。

(結果 2)

さらに, ドナー D の PBMC を用いた実験では, ペプチド濃度 10~0.01 μ g/ml までは WT 1 特異的 T 細胞が誘導されたが, 0.001 μ g/ml のペプチドでは WT 1 特異的 T 細胞は認められなかった。ドナー D の PBMC から誘導できた WT 1 特異的 T 細胞の割合は, ペプチド濃度 1 μ g/ml の line 1 では 1.0%, line 2 では 0.4%, line 3 では 0.1%, line 4 では 0.1% だった。また, ペプチド濃度 0.1 μ g/ml の line 1 では 0.1%, line 2 では 0.1%, line 3 では 0.1%, line 4 では 0.1% だった。また, ペプチド濃度 0.01 μ g/ml の line 1 では 0.1%, line 2 では 0.1%, line 3 では 0.1%, line 4 では 0.2% だった。

(結果 3)

誘導された WT 1 特異的 T 細胞を単一細胞ソーティングし, TCR α 鎖と β 鎖の塩基配列を決定した。解析した TCR の中で 2 個以上同一の TCR が得

られた時にそのクローンを「クローナルに増殖したT細胞」と定義した場合、ペプチド濃度1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のline 2では解析した73個中クローナルに増殖していたものは43個あり、またペプチド濃度0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のline 1では解析した74個中クローナルに増殖していたものは47個あった。

ペプチド濃度1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のline 2でクローナルに増殖したTCR α 鎖と β 鎖の組み合わせは、

(TCR α) : (TCR β)
 CAASPDSGYALNF : CASRRDRGSWYGYTF
 CAVDSSAKIIF : CASSQEGWWLYQETQYF
 CAAYTGGFKTIF : CASSYSKFRASADEQEF
 CAVSVLDSNYQLIW : CAISDDLSSSTDTQYF
 CAFYSASYNTDKLIF : CASSFGNNEQFF

の5個であった。

0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のline 1でクローナルに増殖したTCR α 鎖と β 鎖の組み合わせは、

(TCR α) : (TCR β)
 CVVNNRFQKLVF : CASSHGTGSDTEAFF
 CAVDSSAKIIF : CASSQEGWWLYQETQYF
 CAVSVLDSNYQLIW : CAISDDLSSSTDTQYF
 CGADGRSNGYALNF : CASSHGTGSDTEAFF

の4個であった。

1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ および0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ペプチド濃度の刺激により誘導されたWT 1特異的T細胞の最もクローナルに増殖しているTCRレパトアは一致しなかったが、それぞれで一致しているTCR α 鎖と β 鎖の組み合

わせは、

(TCR α) : (TCR β)
 CAVDSSAKIIF : CASSQEGWWLYQETQYF
 CAVSVLDSNYQLIW : CAISDDLSSSTDTQYF

の2個であった。

(結果4)

結果3で最もクローナルに増殖した4種類のTCRの抗原特異性評価を行うために、各TCR発現ベクターを作製し、TCR陰性T細胞株に発現させて、WT 1テトラマーで染色した。その結果、1種類のTCR発現T細胞株が染色された。WT 1特異的TCRは、結果3で最もクローナルに増殖したTCRレパトアであった。

【考察】

今回の結果から、特定の健常人末梢血リンパ球よりがん抗原特異的なT細胞の誘導が可能であることが明らかになった。今後、TCRの親和性や細胞障害誘導活性を測定することで、取得したTCRの有効性を検証していきたい。これらのTCRの有効性が確認できれば、健常人末梢血リンパ球はTCR遺伝子治療に用いるTCRの有望なソースであることが明らかになり、今後のがん免疫療法に与える意義は非常に大きいと考えられる。

【成果公表】

旭和将. 健常人末梢血リンパ球を用いたWilms tumor 1 (WT 1) 特異的T細胞受容体遺伝子の取得. 第74回富山県医学会. 2020.1.19 富山.

一般人および医療従事者におけるがんの知識・認識調査

小川 和起 臨床腫瘍部 (指導教員: 林 龍二教授)

【はじめに】

かつてない高齢者時代となった昨今、がん患者はさらに増加することが予想される。一方で、がんゲノム医療など、最新の技術が応用され、がん診療そのものも変革期にある。こうした中、医療者、患者双方のがんについての知識量・認識をアンケート調査により分析することに意義がある。

本研究の目的は、富山大学附属病院に来院する患者及び勤務する医療従事者、または医薬学ないし看護学を学んでいる富山大学学生とそうでない学生、

を対象にアンケート調査を行い、がんについての知識量・認識を調査し、比較することにある。

本研究の結果より、医療者とそれ以外の人との間における、がんについての知識量・認識の差を明らかにし、より有効な啓発活動に役立てることを目標とする。

【材料および方法】

I. 研究対象

アンケート①病院調査

富山大学附属病院の医師，看護師，外来患者

アンケート②大学調査

富山大学医薬系学生（医学部医学科，看護学科，薬学部学生），非医薬系学生

II. 研究デザイン

アンケートの質問事項は，年齢，性別，罹患疾患，職業，がんに関する知識を問う質問10題とした。選択肢は①知っている②聞いたことがある③知らない，の3つとした。

<質問事項>

Q.1 腫瘍には良性と悪性のあるものがある

Q.2 がんは遺伝子の異常により，細胞が異常に増える病気である

Q.3 がん治療は手術療法，抗がん剤治療，放射線療法が三本柱とされる

Q.4 日本人の二人に一人は生涯でがんを経験する

Q.5 緩和医療は身体的な苦しみだけでなく精神的な苦しみも対象とする

Q.6 ウイルスによって発生するがんがある

Q.7 がんの本質である遺伝子の異常を調べて，それに合った抗がん剤で治療する医療をがんゲノム医療という

Q.8 身体の免疫を使ってがんを治す治療を，総称して「がん免疫療法」という

Q.9 標準治療は科学的根拠に基づいた最良の治療である

Q.10 従来の腫瘍マーカーでは診断を確定するに至らない

アンケート①病院調査では自由記載質問を2題加えた。

<自由記載質問>

Q.1 がんを怖いと思うか。はいorいいえ

Q.2 がんを怖いと思う理由（自由記載）

Q.3 がんは予防できると思うか。はいorいいえ

Q.4 がんの予防方法（自由記載）

III. 統計学的解析

「知っている」を2点，「聞いたことがある」を1点，「知らない」を0点として各回答者の合計点（20点満点）を出し，「合計点＝回答者の知識量」と定義した。

主要評価項目は回答者の知識量，副次的評価項目は回答者のがんに対する認識とした。主要評価項目についてはJMP Pro14®を用いて，分散分析，t検

定を行った。副次的評価項目についてはMicrosoft Excel®を用いて3群以上の比率の差の多重検定を行った。各有意水準は $p=0.05$ とした。

【結果】

病院調査では，医師146人，看護師179人，外来患者196人から回答を得た。患者群の内，がん罹患している人は29.3%であった。大学調査では，医薬系学生444人（うち医学部医学科282人，看護学科・薬学部学生162人），非医薬系学生189人から回答を得た。

・回答者の知識量

医師における知識量の平均は19.3（SD：1.26），看護師では15.5（3.45），患者では12.9（4.84）であった。分散分析では $p<0.001$ であった。医薬系学生における知識量の平均は15.3（SD：4.56），非医薬系学生では7.70（3.86）であった。t検定を行うと $p<0.001$ であった。

・がんに対する認識

「がんを怖いと思うか」に対する「はい」の割合は全体で88.1%（458/520）であった。怖いと思う理由について，以下の9個に分類し，職種ごとの傾向について解析した。回答者割合が大きい順に並べている。

- ① 死・命（42.7%）
- ② 進行・転移（20.2%）
- ③ 治らない（16.7%）
- ④ 痛み・苦しみ（13.4%）
- ⑤ 生活・人生が変わる（12.6%）
- ⑥ 治療・副作用（11.3%）
- ⑦ 再発（5.1%）
- ⑧ 未知・漠然と怖い（4.8%）
- ⑨ 誰でも罹る（4.0%）

医師では他2群より，死・命を回答した人が多かった（ $p<0.05$ ）。看護師では他2群より，痛み・苦しき，治療・副作用を回答した人が多かった（ $p<0.05$ ）。

「がんは予防できると思うか」に対する「はい」の割合は全体で60.2%（309/513）だった。予防方法について，以下の6個に分類し解析した。生活習慣についてはさらに5つに分類した。

- ① 生活習慣（81.7%）
 - (ア) 食事（44.9%）
 - (イ) 喫煙（42.2%）
 - (ウ) 運動（22.1%）

- (エ) ストレス (16.7%)
- (オ) 飲酒 (14.1%)
- ② 検診 (26.2%)
- ③ ワクチン・感染対策 (18.3%)
- ④ 紫外線対策 (4.6%)
- ⑤ ピロリ除菌 (3.8%)
- ⑥ 遺伝子検査 (3.8%)

医師では他2群より、喫煙、ワクチン・感染対策を回答した人が多かった ($p < 0.01$)。また、医師では患者より生活習慣、飲酒、ピロリ除菌を回答した人が多かった ($p < 0.05$)。看護師では医師より、ストレスを回答した人が多かった ($p < 0.01$)。また、看護師では患者より、生活習慣、喫煙、飲酒を回答した人が多かった ($p < 0.01$)。患者では医師より、ストレス、検診を回答した人が多かった ($p < 0.05$)。

【考察】

・回答者の知識量

病院調査では医師、看護師、患者の順に平均点が高かった。当然の結果であるが、本調査の妥当性を裏付ける結果となった。大学調査においても、医薬系学生の方が非医薬系学生よりも平均点が高かった。

全対象を比較すると、高い順に以下の通りになった。医師 (19.3) > 看護師 (15.5) \geq 医薬系学生 (15.3) > 患者 (12.9) > 非医薬系学生 (7.70)。

患者と非医薬系学生の間には大きな差があるのは、患者が一般の人よりも病気への関心が強いことによると考えられる。また、患者は中年から高齢まで広い年代で回答しているのに対して、学生は10代後半から20代前半が主に回答しており、人生経験による差が存在する可能性がある。

質問ごとに解析すると、患者群において「知らない」と回答した人の多い順に以下の通りであった。Q.10 (50.1%) > Q.6 (47.2%) > Q.9 (33.3%) > Q.7 (29.7%) > Q.8 (23.1%)。

Q.10について、半数の人が腫瘍マーカーの意味を「知らない」状況である。がん種によっては診断に有効なものもあるが、腫瘍マーカーはあくまで参考値であることを啓発する必要がある。

Q.6は子宮頸がんワクチンの存在を意識して用意した設問である。47.2%の人が「知らない」と回答した。看護師においても28.5%が「知らない」と回答している。推察するに、多くの方はワクチンの存在は知っているが、子宮頸がんがウイルス性であること、ワクチンはウイルス感染を予防するものであることを理解していない可能性がある。子宮頸がんワクチンは、その接種率の低迷が問題となっている。ワクチンについての根本的な理解を手助けす

ることが重要である。

Q.9は標準治療の定義を問うた。33.3%という結果になった。「標準」という言葉の響きが患者に不安を与えている可能性がある。「標準」に対して、「応用」や「先進」といった言葉の方が、より安心感を与えるためだ。科学的根拠に基づいている標準治療は、余計なニュアンスが入らない「第一選択」治療などの表現に変えた方が良いのかもしれない。

Q.7とQ.8では最新のがん治療について問うた。筆者が想定していたより「知らない」と回答した人は少ない印象を受けた。しかし、まだ2~3割の人に引き届いていない。市民講演会等の取り組みを続けていくべきである。

・がんに対する認識

職業問わず、がんを怖いと思う割合は大きかった。怖いと思う理由について、医師では死・命に係わるといったものが多く、最終的な結末を想起する傾向が強かった。一方、看護師では痛み・苦しみ、治療・副作用に関するものが多く、疾患の経過を想起する傾向が強かった。患者を身近で看護している職業の特性が現れたものと考えられる。患者では有意に大きい項目はなかったが、他の職業と比べて進行・転移を恐れている回答が多かった。これは、がんに罹患している回答者が多いことによると考えられる。

がんは予防できると答えた人の割合は、医師、看護師、患者の順に高かった。医師の7割は予防できると答えているが、患者では5割にとどまった。

予防方法については、医師ではエビデンスベースの回答が目立った。看護師では、禁煙・節酒について患者より多く回答し、ストレス・検診については医師より多く回答していた。一方、患者ではストレス・検診について医師より多く回答していた。患者は生活習慣についての回答が有意に少なかった。

全体の傾向として、看護師は医師と患者の間のような結果となった。患者は生活習慣をより重視すべきであるし、医師は患者目線で二次予防としてのがん検診等を意識すべきである。予防医学の中心は一般の人々である。医師が持つエビデンスベースの予防医学知識を一般の人々へと伝えられるよう、システム構築が必要である。

・結論

アンケート調査の結果、医師・看護師・患者・大学生の知識量、また病院調査においてはがんに対する認識について、まとめることができた。

知識量は、医師、看護師、医薬系学生、患者、非

医薬系学生の順に多かった。

患者が知らない知識は「腫瘍マーカー」「ウイルス性がん」「標準治療」等であった。

がんに対する認識は、対象によってその特徴が浮き彫りになった。がんを怖いと思う理由は、医師で「死」、看護師で「痛み・苦しみ」「治療・副作用」であった。がん予防策について、看護師の回答が医

師と患者の間のような特徴を持つことが分かった。

【成果公表】

小川和起. がんに対する認識調査. 第17回日本臨床腫瘍学会学術集会

2019.7.19, 国立京都国際会館 グランドプリンスホテル京都 (京都府)

北信地域における非小細胞肺癌の年齢別治療状況

佐藤 元輝 臨床腫瘍部 (指導教員: 林 龍二教授)

【はじめに】

北信地域は全国と比較し、超少子高齢社会であり、将来の日本を反映したモデル地域と考えられる。したがって、北信地域の医療実態を把握、検討することにより、日本の将来が直面する医療課題を抽出しうる。

また癌の罹患率は高齢化に伴い増加する。日本の癌患者の多くは高齢者であるが、その治療のエビデンスは少なく実態は不明点が多い。

本研究では、北信地域における高齢者癌の実態を、非小細胞癌を例として明らかにすることを目的に行った。

【材料および方法】

2010年から2015年に北信がんプロ・地域がんデータベースに登録された非小細胞肺癌患者14220人(20歳~101歳)のデータを用い、10歳ごとの年齢階級に分け、臨床病期別に治療の有無を比較・検討した。

抽出した患者データは、年齢、病期、治療内容である。病期は術後病理学的ステージを抽出し、ステージ不明は含めていない。また手術なしの場合は、治療前ステージをその患者のステージとして解析した。治療内容は、外科的治療、体腔鏡的治療、内視鏡的治療のいずれかが有りのものを外科療法有りとし、免疫療法、内分泌療法、TAE、PEIT、温熱療法、レーザー等治療のいずれかが有りのものをその他の治療有りとした。外科療法、放射線療法、化学療法、その他の治療のいずれも無しのもを支持療法のみとして解析した。

【結果】

全患者の年齢分布は、65-74歳の群で最多であり、続いて75-84歳の順であった。次に全患者のステージ分布は、1, 2期の早期癌が55%、3期の局所進行癌が17%、4期の転移進行癌が28%であった。

行われた治療方針を病期別に解析した結果、ステージ1, 2期では全年齢において外科治療が多数を占めた。また65-74歳群、75-84歳群では早期であるが、支持療法のみを選択した患者が一定数みられた。次にステージ3期の年齢別治療選択の解析結果は、標準療法とされる化学放射線併用療法の他に、化学療法単独、外科療法単独も選択されており、支持療法のみを含め様々な治療が選択されていた。ステージ4期の年齢別治療選択の解析結果は、標準療法とされる化学療法単独も多いが、支持療法のみを選択した患者も多かった。65歳以降では支持療法のみが多くなっていた。

最後に、支持療法のみという選択に焦点を当て、年齢階級別に解析を行った結果は、ステージ1, 2期では74歳まではほとんどの患者が治療を受けており、75歳以上から支持療法のみ割合が増加していた。これは3期、4期でも同様の傾向がみられた。また病期の進行に伴い、支持療法のみ割合は各年齢階級を通して上昇していた。85歳以上では3期、4期の患者の半数以上は支持療法のみという結果になった。

【考察】

高齢者の癌治療ではovertreatment, undertreatmentになりやすいというデータが示されており、また標準療法が各病期で定められているが、そのエビデンスに高齢者は含まれていないこと

がある。

本研究で、年齢上昇に伴い外科、放射線、化学療法の選択する割合の減少、支持療法のみを選択する割合の上昇する傾向、すなわち高齢者では標準療法ができていないことを示唆するデータが示された。

55歳未満の若年者でも一定数支持療法のみが存在することについて、このデータベースは診断された病院での治療の有無を調べたもので、他院紹介が含まれている可能性があり、若年者でも一定数支持療法のみとなったと考えられる。

本研究の制限事項としては、患者の転帰に関するデータは得られず、選択した治療が適当か不適当であったかの評価ができない。治療選択において、その治療法を選択した理由や、performance statusのような患者背景についてのデータは得ることができず評価できない。また、このデータベースは2010年から2015年に登録された患者のデータを用いた研究であり、免疫チェックポイント阻害剤が使用されておらず、現状とは異なる可能性がある。実際の化学

療法のレジメン内容も不明である。

【結語】

55歳以上の非小細胞肺癌患者において、10歳ごとの年齢区分で見ると、年齢上昇に伴い、支持療法のみを選択する割合の増加がみられた。また病期の進行に伴い、支持療法のみとなる割合が増加した。

本研究は文部科学省・がんプロフェッショナル養成プラン補助金事業、北信がんプロによる「北信地域データベース研究」により行った。

【成果公表】

佐藤元輝, 小川和起, 高木広平, 中谷百花, 貝原毅, 三輪敏郎, 梶浦新也, 西野善一, 林龍二. 北信地域における非小細胞肺癌の年齢別治療状況. 第117回日本内科学会講演会医学生・研修医の日本内科学会ことはじめ, 2020.8.7-9, 東京.

がん細胞の温熱誘導細胞障害におけるBAG 3の役割

鳥越美沙子 眼科学 (指導教員: 柚木 達也講師(眼科学), 田淵 圭章教授(ゲノム機能解析研究室))

【はじめに】

がん温熱療法 (ハイパーサーミア) は、様々ながんに適用され、放射線治療や化学療法との併用で治療効果が確認されている。一方で、がん治療過程における温熱抵抗性獲得が問題となっている。この獲得には、分子シャペロンである熱ショックタンパク質 (HSP) 70 が関与することが報告されている。BAG (Bcl-2 associated athanogene) タンパク質ファミリーに属する BAG 3 は、HSP70 のコシャペロンであり、熱、重金属等のストレスによって発現が誘導される抗アポトーシスタンパク質である。BAG 3 は、Hsp70 と結合することでクライアントタンパク質のプロテアソームへの輸送を妨げ、安定させることができる。また、BAG 3 は乳癌、大腸癌など数多くのがんにおいて発現レベルが上昇し、BAG 3 が種々のタンパク質と相互作用することにより、がんの増殖や生存に関与することが示されている。以前の我々の研究においては、BAG 3 は脈絡膜悪性黒色腫で高発現していることが判明し、BAG 3 に加えて熱ショック転写因子 1 (HSF 1)

やHSP70の発現も上昇していた。今回履修した研究医養成プログラムでは、ヒトがん細胞を用いて、温熱誘導細胞障害における BAG 3 の役割を調べた。

【材料および方法】

ヒト口腔扁平上皮癌HSC-3細胞とヒト子宮頸癌HeLa細胞を用いた。コントロール細胞、siRNAによってBAG 3を一過性にノックダウンした細胞、ゲノム編集によりBAG 3を完全にノックアウトした細胞、レンチウイルス発現システムを用いてBAG 3を安定高発現させた細胞を用いた。

温熱負荷実験では、細胞を44℃で90分間ストレス負荷後、37℃で一定時間培養し、アポトーシス、細胞生存率やタンパク質の発現を検討した。

BAG 3の細胞内局在を検討する実験では、核をmCherryで赤色に、BAG 3をGFPで緑色に標識し、非ストレス状態を37℃、温熱負荷は44℃、60分間とした。

網羅的な遺伝子発現解析には、GeneChipシステムを用いた。

【結果】

HSC-3細胞の温熱誘導アポトーシスに対するBAG3のノックダウンの効果については、温熱単独では、アポトーシス誘導は約10%程度であったのに対し、BAG3ノックダウンにより顕著にアポトーシスが増加し、BAG3の一過性のノックダウンにより温熱誘導アポトーシスが增強すると分かった。

温熱誘導細胞障害に対するBAG3高発現の作用に関しては、コントロール、モック細胞では、細胞生存率が約40%だった一方、BAG3タンパク質を高発現させると細胞生存率が50%強まで上がったため、BAG3の高発現は、温熱誘導細胞障害を抑制すると分かった。

ゲノム編集によりBAG3を完全にノックアウトした細胞を用いた実験では、温熱単独による細胞生存率は、45%程度だったが、BAG3ノックアウトにより生存率が低下した。一方、このノックアウト細胞にウイルスを用いてBAG3を高発現させると、細胞生存率が回復した。これより、BAG3は、温熱誘導細胞障害に対して細胞保護作用を持つことが示唆された。

BAG3の細胞内局在に対する温熱の効果に関しては、温熱負荷の直後から、BAG3は速やかに核へ移動することが分かった。また、核をmCherryで、BAG3をGFPで標識したところ、非ストレス状態の37℃ではBAG3は主に細胞質に局在していたが、44℃、60分の温熱ストレスを与えるとBAG3が細胞質から核内に移行した。

BAG3の温熱感受性増強作用の分子機構について、網羅的な遺伝子発現と遺伝子ネットワーク解析を行ったところ、BAG3ノックダウンによる温熱感受性増強に関しては数多くの遺伝子の発現が変動し、BAG3ノックダウンに特異的な遺伝子が存在することが明らかとなった。細胞死の誘導に関与する遺伝子のネットワークにおいては、BAG3をノックダウンしたときERストレスやオートファジーに関与する数多くの遺伝子の発現が顕著に増加した。細胞死の抑制に関する遺伝子のネットワークにおいては、BAG3やHsp70 (HSPA1A)を含む数多くのHSPファミリー分子が含まれ、BAG3の発現低下が確認できた。

【考察】

ハイパーサーミアは種々のシグナル伝達系を介して細胞死を誘導した。また、同時に、HSF1を活性化し、Hsp70やBAG3を含む数多くの遺伝子の発現を誘導した。BAG3は細胞質から核に移行し、HSP70と相互作用し、細胞死を抑制すると考えられる。したがって、温熱誘導細胞障害に対して保護的に機能するBAG3の機能阻害は、がん温熱療法における新規の治療戦略になる可能性がある。

【成果公表】

鳥越美沙子. がん細胞の温熱誘導細胞障害におけるBAG3の役割. 日本薬学会北陸支部第131回例会. 2019.11.17, 石川

極低出生体重児における3歳時Bayley検査と6歳時WISC検査との相関

西島 瑞紀 小児科学講座（指導教員：吉田 丈俊教授）

【はじめに】

日本における極低出生体重児の救命率は世界的に高い水準を保っているが、合併症の発症率や神経発達予後に関してはまだまだ改善の余地があると考えられている。現在極低出生体重児のフォローアッププロトコルでは3歳時、6歳時にそれぞれ発達評価を行うことが推奨されているが、3歳で定型発達と判定したにも関わらず、6歳で境界領域と診断される症例も少なからず臨床現場では経験され、3歳での発達評価の妥当性についての検討が必要だと考えられた。そこで今回、3歳時のBayley検査と6

歳時のWISC検査との相関関係を調べた。

【材料および方法】

対象は2007年4月から2014年3月までに当院NICUに入院した極低出生体重児のうち、3歳児にBayley検査、6歳時にWISC-IV検査の両方の検査を受けた児とした。方法は、診療録から周産期情報、3歳時および6歳時の発達知能検査の結果を後方的に収集した。項目として、3歳時のBayley検査では認知・言語・運動の3つの尺度を使用し、6歳時のWISC検査では全体的な認知能力を表すFSIQ

(Full Scale IQ) を使用した。これらの相関についてPearson相関係数を算出し、6歳の知能指数正常(FISQ \geq 85)を予測する最適なカットオフ値をROC解析(receiver operating characteristic)を用いて算出した。

【結果】

対象全154名のうち、重篤な先天異常やフォローアップ脱落例などを除いた全75名を解析対象とした。3歳でのBayley検査の平均スコアは、認知95.7 \pm 6.5、言語92.9 \pm 8.6、運動99.1 \pm 13.1であった。認知において1人(1.3%)が軽度遅延(70~85未満)、言語では11人(14.7%)が軽度遅延、運動では9人(12%)が軽度遅延で1人(1.3%)が重度遅延(70未満)であった。6歳のWISC検査でのFSIQ平均スコアは91.9 \pm 13.1であった。WISC検査において、FSIQ 70~85未満の境界領域は17人(22.7%)が該当し、70未満の遅延と診断された児は3人(4%)であった。

Bayley検査の3つの尺度(認知、言語、運動)とWISC検査のFSIQとの間には有意な相関を認めた(全て $p < .001$, 相関係数はそれぞれ0.529, 0.489, 0.422)。特に認知スコアが最もFSIQに相関していた。

6歳でのWISC検査で定型発達範囲内(FSIQ \geq 85)に入ることを予測する3歳Bayley検査の最適なカットオフ値を検討するためにROC曲線を作成したところ、ROC下面積は認知0.758、言語0.787、運動0.768と言語が最大値を示した。6歳でFSIQ85以上を獲得できることを予測する3歳Bayley検査の最適なカットオフ値は認知95(感度90%, 特異度47.3%), 言語89(感度70%, 特異度78.2%), 運動91(感度60%, 特異度83.6%)とBayley検査の正常下限値85以上よりも高値であった。

【考察】

発達遅延のハイリスク児である極低出生体重児の、3歳時Bayley検査と6歳時WISC検査結果を後方視的に解析した。本検討で明らかになった発達検査の特徴としては、まず第一に3歳時のBayley検査結果は認知・言語・運動のすべての尺度で6歳時

のFSIQと強い相関を認めたという点である。既報では対象患者の年齢や実施時期の違いといった要因により相関関係の有無に関して結論が分かれているが、本検討からは強い相関が認められており、就学前の知的発達予測としてBayley検査は有用であると考えられた。また認知のみならず運動スコアもFSIQに相関していた点は非常に注目すべき点であり、他項目と同様に粗大運動の重要性が示唆される結果が得られた。第二に、6歳時WISC検査でのFSIQで定型発達域に入ることを予測する3歳Bayley検査の最適なカットオフ値は認知95、言語89、運動91であったという点である。これらはいずれも正常下限値とされるカットオフ値85よりも高値であり、特にFSIQと相関が強いとされる認知ではカットオフ値が10ポイントも異なる結果が得られた。

既報でもBayley検査は児の発達を過大評価してしまい、軽症の発達遅延児を見逃してしまう可能性が示唆されているが、今回の検討からもこれらの項目を臨床現場で用いる際には注意が必要であることが改めて示唆された。現在日本では国内での使用に向けてBayley検査の標準化が進められているが、これらの点数の特性や相関を十分に理解した上での使用が求められる。以上より、3歳時のBayley検査で85-95付近のスコアの児に対しては、発達支援の介入が遅れないように配慮すべきであると考えられた。具体的には、目と手の協調運動を促すような遊びの支援や、やり取り遊び・ごっこ遊びなどの社会性を促す遊びの紹介などが挙げられるが、必要に応じて理学療法や作業療法、言語療法なども適切に取り入れながら発達支援を行うことが望ましいと考えられる。

本検討では解析できた人数が少なくフォロー率も約50%と低いため、偏った集団を評価している可能性が考えられる。発達支援の必要な児を確実に抽出するためには、今後他施設共同の前向き研究が必須であり、将来的な知能指数にどのように関与しているか、という点についても今後の検討課題である。

【成果公表】

公益社団法人日本新生児医学会誌 第33巻1号掲載

がん細胞における亜鉛トランスポーター ZIP 7 の役割の解析

洞口 龍介 病理診断学講座（指導教員：井村 穰二教授, 大橋 若奈先生）

【はじめに】

亜鉛は人体に必要な不可欠であり、生体内では鉄に次いで多く含まれる必須微量元素である。一日10～15mg程度の摂取を必要とし、体内においてたんぱく質の機能や構造の維持に重要な役割を果たしている。亜鉛トランスポーターは亜鉛を細胞内外に輸送している膜蛋白であり、輸送の方向によりZIPとZnTの2つのファミリーに分類される。哺乳類において、ZIPトランスポーターは14種類が同定されており、細胞外と細胞内小器官から細胞質への亜鉛の輸送を行っている。ZnTトランスポーターは9種類が同定されており、ZIPトランスポーターとは反対方向の細胞質から細胞外や細胞内小器官への亜鉛の輸送を行っている。ZIPトランスポーターの一つであるZIP 7は腸陰窩に存在する腸上皮幹細胞の維持と幹細胞から生み出される一過性増殖細胞の増殖に必須であり、腸管の恒常性維持に重要な役割を担っている。大腸がん細胞においてZIP 7の発現が抑制されると増殖能が低下することから、大腸がん病態へのZIP 7の寄与が示唆される。そこで本研究では大腸がん形成においてZIP 7が果たしている役割とその分子機構の解析に取り組んだ。

【材料および方法】

- I. siRNAまたはshRNAによるZIP 7の発現抑制
SW480, HCT116, HT29の3種類の大腸がん細胞株を用いてsiRNA {ZIP 7 siRNAまたは、コントロール siRNA (siCTL)} をLipofectamine RNAiMAX試薬により導入した。一部の実験ではレンチウイルス法によりshRNAの導入を実施した。
- II. レンチウイルス法によるZIP 7過剰発現細胞の樹立
ヒトZIP 7 ORF領域を挿入したCSII-CMV-MCS (理研BRC) vectorを、pCAG-HVpg, pCMV-VSV-G-RSG-Rev (共に理研BRC) vectorと共にLenti-293T細胞にトランスフェクションして得た上清を目的細胞に添加後、プラスチシジン共存下で培養し過剰発現細胞を得た。
- III. ZIP 7発現抑制細胞及び過剰発現細胞の解析
 - a. フローサイトメトリー法によるアポトーシスの解析

FITC-Annexin VとPropidium Iodide (PI) 核染色液にて染色後、BD Accuriにて解析した。

b. Sphere formation assay

低吸着型6 well Plateに1 wellあたり3,000細胞を播種し、bFGF, EGF, GlutaMAX, B-27を含有するDMEM/F12培地にて7-10日間培養を行った。顕微鏡観察下、形成されたスフィア数を計測した。

c. In vivoにおける腫瘍形成能の評価

HT29細胞またはSW480細胞を免疫不全マウスの背部皮下に移植した。経時的に腫瘍の長径と短径をノグスにより測定し体積を算出した。15日後に腫瘍を摘出、重量の計測を行った。

【結果】

I. ZIP 7発現抑制によるアポトーシス誘導

siRNA導入後3日後において、ZIP 7 siRNA導入細胞では早期アポトーシス集団であるAnnexin-V (FITC) 陽性細胞はsiCTL導入細胞と比較して増加しており、また後期アポトーシス集団であるAnnexinV/PI二重陽性細胞集団も増加した。これは、ZIP 7をノックダウンすることによりアポトーシスされた細胞の割合が増えたことを示す。すなわち、ZIP 7の発現の抑制により細胞のアポトーシスが誘導されることが示唆された。

II. ZIP 7発現抑制による腫瘍形成能の抑制

がん細胞の特性である接着非依存的な増殖能を培養液中に形成された球状スフィアの数により評価した結果、ZIP 7 shRNA導入細胞が形成するスフィア数は、shCTL導入細胞が形成するスフィア数と比較し有意に減少することが分かった。ZIP 7の発現の抑制により接着非依存的な増殖能が低下することが示唆された。

III. レンチウイルス法によるZIP 7過剰発現細胞の樹立

ZIP 7の発現の亢進が大腸がん細胞の性質に及ぼす効果を検証するため、レンチウイルス法を用いて恒常的にZIP 7を過剰発現する細胞株の樹立を行った。ヒトZIP 7発現vectorを有するレンチウイルスの感染と薬剤選択の後、ウエスタンブロット法を用

いて、ZIP7の発現量を検証した。その結果、Mock細胞と比較しZIP7レンチウイルス感染細胞では、ZIP7の全長に相当する50kDa付近のバンド強度が顕著に高く、ZIP7の発現が亢進していることが示された。

IV. 生体内におけるZIP7の腫瘍形成能への寄与

shZIP7を導入した細胞が形成する腫瘍の体積及び重量はコントロール細胞の腫瘍と比して有意な減少を示した。一方で、ZIP7を過剰発現する細胞が形成する腫瘍は、重量がMockと比較し有意に増加し、平均体積も増加する傾向を示した。したがって、生体内においてZIP7を抑制することにより腫瘍形成能は抑制され、ZIP7を過剰発現することにより腫瘍形成能は亢進することが分かった。

【考察】

大腸がん細胞においてZIP7の発現が抑制されると増殖能が低下することから、大腸がん病態へのZIP7の寄与が示唆されていた。そして本研究のフローサイトメトリー法による解析から、ZIP7の発現低下による増殖能の低下の分子機構の一つとして、アポトーシス性細胞死の誘導の存在を示した。更にスフィアアッセイより、ZIP7は接着依存的な増殖のみならず、非接着性の細胞増殖においても重要な役割を果たしていることを明らかとした。また生体内においてZIP7の発現を抑制すると腫瘍形成能が低下しZIP7を過剰発現すると腫瘍形成能は亢進することからZIP7の発現量と腫瘍形成能は正に相関する可能性が示唆された。以上よりZIP7は大腸がんの増殖能や腫瘍形成能の病態において重要な役割を果たしており、今後の大腸がん治療においてZIP7が寄与する分子機構の制御が新しい治療経路となる可能性が示唆された。

【成果公表】

国際学会

1. Ohashi W, Horaguchi R, Yamamine N, Oda T, Hattori Y. Zinc transporter SLC39A7/ZIP7 contributes to the tumorigenic potentials of human colorectal cancer cells. WCP2018 (The

18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology). 2018.7.1-6. Kyoto.

2. Ohashi W, Horaguchi R, Yamamine N, Hattori Y. Contribution of Zinc transporter in the tumorigenic potentials of human colorectal cancer cells. International Society of Zinc in Biology ISZB 6th meeting. 2019.9.9-13. Kyoto.

国内学会

1. 山峯直樹, 大橋若奈, 織田哲郎, 洞口龍介, 服部裕一. 大腸がんにおける亜鉛トランスポーターZIP7の役割. 第68回日本薬理学会北部会. 2017.9.15-16. 山形.
2. 山峯直樹, 大橋若奈, 織田哲郎, 洞口龍介, 服部裕一. 亜鉛トランスポーターZIP7の大腸がんにおける機能解析. 2017年度生命科学系学会合同年次大会. 2017.12.6-9. 神戸.
3. 洞口龍介, 大橋若奈, 山峯直樹, 服部裕一. 亜鉛トランスポーターZIP7ががん細胞性へ及ぼす影響についての検討. 第18回日本亜鉛栄養治療研究会. 2019.2.8. 大阪.
4. Ohashi W, Horaguchi R, Hattori Y. Zinc transporter ZIP7 regulates tumorigenic potential in human colorectal cancer cells. 第92回日本薬理学会年会. 2019.3.14-16. 大阪.
5. 洞口龍介, 大橋若奈, 山峯直樹, 服部裕一. がん細胞における亜鉛トランスポーターZIP7の役割の解析. 日本生化学会北陸支部第37回大会. 2019.6.1. 福井.
6. 大橋若奈, 仙田幸音, 洞口龍介, 井村穰二. 大腸がんの腫瘍形成に関わる亜鉛トランスポーターZIP7. 第142回日本薬理学会関東部会. 2020.6.6.
7. 仙田幸音, 大橋若奈, 洞口龍介, 井村穰二. 亜鉛トランスポーターZIP7によるがん細胞形質の悪性化. 日本生化学会北陸支部第38回大会(誌上発表). 2020.6.
8. 仙田幸音, 大橋若奈, 洞口龍介, 井村穰二. 腫瘍形成における亜鉛トランスポーターの機能. 日本生化学会年会. 2020.9.14-16.

Rbm38はスプライシング阻害による転写伸長抑制を解除する

村岡慎太郎 遺伝子発現制御学講座（指導教員：甲斐田大輔准教授）

【はじめに】

真核生物において、転写後修飾の1つであるスプライシングは正確な遺伝子発現に必須の過程である。我々の先行研究から、強力なスプライシング阻害剤であるSSAによるスプライシング阻害により転写伸長が抑制されることが明らかになったが、その詳細な分子機構は分かっていない。そこで、スプライシング異常時の転写伸長抑制を解除できるRNA結合タンパク質（RBP）のスクリーニングを行い、その情報を元に詳細な分子機構を明らかにすることを目的とし実験を行った。

【材料および方法】

1. Cell Culture

Hela S3 と HEK293 を10% heat-inactivated fetal bovine serum (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) を含んだDulbecco's modified Eagle's medium (FUJIFILIM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan) を用いて、37°C, 5% CO₂ インキュベーターにおいて培養した。

2. Plasmid Construction

Rbm38, Rbm24の全長を発現させるプラスミド、Rbm38のRRM領域前後のN, C末端領域をRbm24のものと置き換えたものを発現させるプラスミド、Rbm38のRRM領域を欠損させたものを発現させるプラスミドを作製した。

3. RNA preparation and Quantitative RT-PCR

プラスミド導入はLipofectamine3000 Reagent (Thermo Fisher Scientific) を用いて行った。新規合成RNAはClick-iT Nascent RNA Capture Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いて細胞から抽出した。プラスミド導入された細胞を48時間培養し、MeOHまたはSSA (10 ng/mL) で1時間処理した。その後、新規合成RNAのラベリングのため、5-EU (200 μM) で2時間処理した。Total RNAはTRIzol Reagent (Thermo Fisher Scientific) を用いて培養細胞から抽出した。ラベリングされた新規合成RNAをクリック反応によりビオチン化した。ビオチン化したRNAをストレプトアビジンビーズを用いて精製した。Quantitative RT-PCRのため、

cDNAをSuperScript VILO cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific) と新規合成RNAを用いて合成した。Quantitative RT-PCRにはMX3000P system (Agilent, Santa Clara, CA, USA) を用いた。

4. Western Blotting

プラスミド導入された培養細胞を1 × SDS-PAGE sample bufferで直接懸濁しサンプル調整を行った。タンパク質はSDS-PAGEで分離し、電気泳動の後にPVDF membraneに転写した。その後、1次、2次抗体を処理しNOVEX ECL Chemiluminescent Substrate Reagent Kit (Thermo Fisher Scientific), ImageQuant LAS 4000mini (GE Healthcare) を用いて検出した。

5. Statistical Analysis

統計解析にはR Commanderを使用した。統計学的有意差の決定にはOne-way ANOVA with Tukey's multiple comparison testを用いた。p < 0.05を統計学的に有意とした。

【結果】

スクリーニングにおいて数種類のRBPが遺伝子特異的にスプライシング阻害による転写伸長抑制を解除することが分かった。その中でもRbm38に着目した。Rbm38には配列全体の相同性、特にRNA結合に必要なRNA結合モチーフ（RRM）領域配列の相同性が極めて高いRbm24というアイソフォームがあるため、Rbm38とRbm24の詳細な比較実験を行なった。さらに、Rbm38のRRM領域前後のN, C末端領域をRbm24のものと置き換えたキメラタンパク質やRbm38のRRM領域欠損タンパク質と、全長Rbm38との比較実験を行った。全長Rbm38ではコントロールに比べ有意に転写伸長抑制を解除したが、Rbm24やキメラタンパク質、RRM領域欠損タンパク質では転写伸長抑制を解除しなかった。

【考察】

Rbm38によるスプライシング阻害時の転写伸長抑制からの回復にはRRM領域以外の領域や、RNA結合能が何らかの役割を果たしていることが示唆さ

れた。現在、更に詳しくRbm38について調べるため、Rbm38の結合モチーフを含んだdecoy RNAを作成し同様の実験を行っていく予定である。

【成果公表】

論文発表

1. Muraoka S, Fukumura K, Hayashi M, Kataoka N, Mayeda A, Kaida D. Rbm38 Reduces the Transcription Elongation Defect of the SMEK2 Gene Caused by Splicing Deficiency. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 8799

学会発表

1. 村岡慎太郎, 林めぐみ, 甲斐田大輔. Rbm38はスプライシング阻害による転写伸長抑制を解除する. 日本生化学会北陸支部第37回大会,

2019.6.1, 福井

2. 村岡慎太郎, 林めぐみ, 片岡直行, 甲斐田大輔. Rbm38はスプライシング阻害による転写伸長抑制を解除する. 第21回日本RNA学会年会, 2019.7.17-19, 東京
3. 村岡慎太郎, 福村和宏, 林めぐみ, 前田明, 片岡直行, 甲斐田大輔. Rbm38はスプライシング阻害による転写伸長抑制を解除する. 第6回北陸エビジェネティクス研究会, 2019.10.30-31, 福井
4. 村岡慎太郎, 福村和宏, 林めぐみ, 前田明, 片岡直行, 甲斐田大輔. Rbm38はスプライシング阻害による転写伸長抑制を解除する. 日本生化学会北陸支部第38回大会, 2020.6.13, 誌上開催

N^α-(5-Fluoro-2,4-dinitrophenyl)-L-leucinamide (L-FDLA) による誘導体化とタンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) を組み合わせたアミノ酸光学異性体の分析法の開発, および老化マウス脳サンプルへの適応

山本 大慈 分子医科薬理学講座 (指導教員: 中川 崇教授)

【はじめに】

アミノ酸はグリシンを除き、不斉炭素中心を有している。したがって、各アミノ酸にはD体、L体という2つの光学異性体がある。哺乳類の生体内ではL-アミノ酸が多数を占めるが、D-アミノ酸も一定量存在し、L-アミノ酸とは異なった生物学的機能をもつことが知られている。例えば、脳などの組織では神経機能の調整に関与したり、精巣では内分泌系に作用するなど、D-アミノ酸は生体恒常性維持に重要な役割を果たしていると考えられている。現在までに、D-アミノ酸の役割についての研究が精力的に進められているが、生物学的サンプル中のD-アミノ酸の存在量はL-アミノ酸に比べ少ないため、D-アミノ酸の定量は容易ではない。我々は今回N^α-(5-Fluoro-2,4-dinitrophenyl)-L-leucinamide (L-FDLA) とタンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) を組み合わせて、生物学的サンプル中のL-アミノ酸とD-アミノ酸を同時かつ網羅的に定量できる分析法を開発した。さらにこの方法を用いてマウスの脳におけるアミノ酸量と加齢の影響について検討した。

【材料および方法】

I. 動物組織からの代謝物抽出

小脳、大脳皮質、海馬、視床を3ヶ月齢、24ヶ月齢のオスのC57BL/6Nマウスから摘出し、直ちに液体窒素で凍結し、-80℃で保存した。マルチビーズショッカーを用いて、30mgの組織を1mLの50%メタノール50%H₂Oとともに粉砕した。溶解液を遠心分離し、上清を新しいチューブへ移した。そして、同量のクロロホルムを上清に加え、遠心分離した。分離した水相を新しいチューブに移し、同じ手順を繰り返した。最後に、水相を乾燥させ、LC/MS用の超純水に溶解し、再構築した。

II. アミノ酸の誘導体化

標品のアミノ酸をHPLCにおける分離の前にL-FDLAを用いて誘導体化した。アミノ酸試薬を誘導体化するために、50μLの標準溶液を10μLの200mM重炭酸ナトリウムと10μLの1%L-FDLAのアセトン溶液と混合した。混合物を40℃、1時間インキュベートした。室温に戻した後、930μLの50%メタノールを加えた。続いて、10μLの溶液を490μLの水と混合し、0.45μm Millex フィルターユニット

を用いて濾過をした。

組織サンプルを誘導体化するために、上記の組織から抽出した代謝物サンプルを標品と同様に処理し、誘導体化した。

Ⅲ. LC/MS/MS

クロマトグラフィー分析は、Aglient 1290 HPLCシステムと組み合わせたAglient 6460 トリプル四重極質量分析計を用いて行った。代謝物の検出はポジティブESIおよびMRMモードを用いて行った。MRMの設定を最適化するために、標品を1 μ Mで準備し、10 μ Lを質量分析計に注入した。MRMのパラメーターは、 $[M+H]^+$ をプリカーサーイオンに選択した。プロダクトイオンを生成するための衝突エネルギーは各アミノ酸の最大強度のMSカウントを得られるエネルギー量を用いた。誘導体化したアミノ酸のHPLC分離は、MG 3 カラムを用いて行った。

Ⅳ. アミノ酸の定量化

L-及びD-アミノ酸の標準曲線を作成するために、組織含有量に合わせた濃度に標品を希釈した。誘導体化後、LC/MS/MSシステムを用いて分析を行い、各濃度の標品から得られたクロマトグラムを面積をMass Hunter定量分析ソフトを用いて積分した。各標品の濃度をX軸に、それらに対応するMSカウントをY軸にプロットし、標準曲線を得た。同様に誘導体化した組織サンプルを用いて、各アミノ酸のMSカウントを測定し、標準曲線から各サンプルにおけるアミノ酸濃度を計算した。統計分析には対応のないt検定を用いた。

【結果】

標準サンプルを用いた解析からは、実験に用いた10種類を検出することができ、L体とD体を分離することもできた。一般的なタンデム質量分析計の質量精度は0.5Daであるため、GlnとGlu、AsnとAspといった分子量差が約1 Daの分子はHPLCカラム分離を用いずに質量分析計で区別を行うことは困難であったが、L-FDLAによるアミノ酸の誘導体化とMG 3 カラムを組み合わせることにより、分子量差が約1 Daの分子についても区別することができ、L体とD体を分離することに成功した。また、すべてのアミノ酸において、L-アミノ酸がD-アミノ酸よりも先に溶出した。

本手法を用いてマウスの大脳皮質中のアミノ酸検出を試みた。大脳皮質サンプルでは、すべてのL-アミノ酸を検出することができたが、L-Leuについては予想される保持時間に2峰性のピークを認めた。

一方で、D-アミノ酸については、D-Ser、D-Asn、D-Asp、D-Phe、D-Ala、D-Proなどは検出できたものの、D-Glu、D-Gln、D-Leu、D-Metは検出できなかった。脳ではD-Serが最も高濃度のD-アミノ酸であるとの報告通り、D-Serについては顕著なピークを認めた。

つぎに、大脳皮質サンプルでD体が検出できたAsp、Asn、Ser、Pheを定量するために様々な濃度の標品のアミノ酸を用意し、検量線を作成した。すべての化合物において検量線は直線であり、 R^2 値>0.98であった。

最後に、3ヶ月齢、24ヶ月齢のマウスを用いて、加齢による脳の各部位におけるアミノ酸の変化を調べた。海馬では加齢によりD-Serが減少していた。しかし、小脳や皮質、視床では変化を認めなかった。さらにD-Aspも高齢マウスの海馬で著しい減少を認めた。L-アミノ酸については、L-Asn、L-Asp、L-Serも海馬で加齢による減少を認めた。D-Pheは、視床において加齢により有意に増加していた。

【考察】

本研究では、アミノ酸光学異性体の新しい絶対定量法を開発し、マウス組織サンプルへの応用を検証した。この方法は10種類すべてのアミノ酸で分離、定量が可能であった。一方で生物学的サンプルでは、検出可能なD-アミノ酸は限定的であり、D-Gln、D-Glu、D-Leu、D-Metを検出することはできなかった。

様々な組織におけるD-アミノ酸の分布を解明することは、D-アミノ酸の生理学的機能の解明につながる可能性がある。本研究では、海馬におけるD-SerとD-Aspが加齢により減少することが明らかとなった。また、視床におけるD-Pheは加齢により著しく増加していた。老化した視床におけるD-Pheの働きについてはほとんど報告がなく、どのような生物学的意義を持つのか興味深い。また、D-アミノ酸の量は腎機能や老化、糖尿病の潜在的マーカーであるとの報告もあり、今後は本手法を他の組織に応用することも重要であると考えられる。

【成果公表】

論文発表

1. [Yamamoto T, Yaku K, Nakagawa T. Simultaneous Measurement of Amino Acid Enantiomers in Aged Mouse Brain Samples by LC/MS/MS Combined with Derivatization Using \$N^{\alpha}\$ -\(5-Fluoro-2,4-dinitrophenyl\)-L-leucinamide \(1-FDLA\). *Metabolites*. 2021,11](#)

(1), 57.

学会発表

1. 山本大慈, 夜久圭介, 中川崇. LC-MSを用いたDL-アミノ酸分析法の開発. 日本生化学会北陸支部第38回大会, 2020.6.13, 誌上開催.

イタイイタイ病における腎病変は近位尿細管障害にだけ限局しているか

室 真樹子 病理診断学講座 (指導教員: 井村 穰二教授)

【はじめに】

富山県神通川流域で発生したイタイイタイ病 (イ病) は, カドミウムによる近位尿細管障害に基づく骨軟化症が病態とされる。これまで富山大学病理診断学講座では, 近位尿細管障害を客観的に評価する手段として, 近位尿細管マーカーであるLFABP: liver fatty acidic binding proteinに関して免疫学的検討を行い, 障害の程度を半定量化する評価方法を報告してきた。そこで, 本研究では, 近位尿細管のSegment 1-3 と共に遠位尿細管, 集合管に対する障害の有無を比較検討した。

【材料および方法】

1. 材料

富山大学にて剖検されたイ病患者30例および対照として他疾患で死亡された患者30例の腎組織のパラフィン包埋切片を用いた。

2. 方法

各切片に対して, 免疫組織化学的検討を行った。用いた抗体は, 近位尿細管の全般に対してClaudin-2 (abcam), Aquaporin-1 (abcam), segment3に対してSNAT3 (MBL), 遠位尿細管の直部に対してClaudin-16 (abcam), 膨大部に対してCalbindin (Santa Cruz), 集合管に対してAquaporin-2 (abcam)を使用した。免疫組織染色は免疫染色全自動システムVENTANA Bench Mark GX (Roche)で行った。

【結果】

近位尿細管において, イ病患者のClaudin-2, Aquaporin-1の陽性部位は対照と比較し, 明らかに減少を認めた。SNAT3の陽性部位の減少はClaudin-2, Aquaporin-1と比較すると顕著には認められなかった。近位尿細管障害はSegment1,2が主体であり, Segment3の障害は比較的軽度あるいは組織が残存していた。遠位尿細管において, イ病患

者のClaudin-16の陽性部位は対照と同程度であった。しかし, 組織を拡大して観察すると, 違いが見られた。Claudin-16は細胞のtight junctionを認識する。対照組織では陽性部位はtight junctionに局在していたが, イ病患者では細胞質全体が陽性を示していた。次にCalbindinの陽性部位も対照と同程度であったが, イ病患者においては表層で陽性部位の領域がより多く観察された。集合管においてはAquaporin-2の陽性部位は, イ病患者において組織内に偏りが見られた。

【考察】

近位尿細管の染色結果より, Segment3を認識するSNAT3の陽性部位がイ病患者では著減していなかったことから, Segment1,2の障害は明らかであるが, Segment3の障害の程度は1,2と比較すると軽度であり, 組織も残存していると考えられる。近位尿細管障害は全般的ではなく, Segment1,2が主体であるといえる。遠位尿細管に関しては, 直部におけるイ病患者のClaudin-16陽性認識部位が細胞質全体を示したことから, 組織は残存しているが, 何らかの細胞障害が生じている可能性が示唆される。また, 膨大部においてCalbindinの陽性部位がイ病患者で表層でより陽性が多く見られたことは, イ病患者の腎は表層の障害が強く, 表層の近位尿細管が消失することで遠位尿細管の密度が高くなったか, あるいは遠位尿細管が代償性に増生している可能性も考えられる。集合管に関しては, イ病患者のAquaporin-2陽性部位の偏りは腎臓の間質で線維化が起こっている部分が見られ, 線維化した部分では相対的に陽性部位の密度が低く, 線維化のない部分では相対的に陽性部位の密度が高くなることと考えられる。または, 近位尿細管の消失による代償性に増生した可能性も考えられる。

以上より, イ病における腎障害の主体は確かに近

位尿細管であり、組織は萎縮あるいは消失していた。その中でも特にSegment1,2の障害が強いことがわかった。これに対し、遠位尿細管、集合管は確かに残存していたが、陽性部位の局在の変化や領域の拡大が見られ、何らかの細胞障害の可能性が示唆された。この原因については、本研究では結論を出すには至らなかった。

遠位尿細管、集合管の陽性部位の領域拡大の要因、より微細な細胞レベルでの障害の有無は今後の

検討課題である。

【成果発表】

山本真樹子, 高木康司, 南坂尚, 西田健志, 八田秀樹, 三輪重治, 中嶋隆彦, 林伸一, 上田善彦, 井村稔二. イタイイタイ病における腎病変は近位尿細管障害にだけ限局しているか. 第105回日本病理学会総会. 2016.5.12-14, 仙台.

キノロン系抗菌薬によるサイトカイン産生抑制機序の解明

福士 路花 感染症学講座 (指導教員: 酒巻 一平准教授, 山本 善裕教授)

【はじめに】

日本紅斑熱は重症化することが知られ、感染対策上の大きな課題となっている。ツツガムシ病はテトラサイクリン系抗菌薬投与により臨床症状が劇的に軽快する例が多いが、日本紅斑熱は同薬単剤では有効ではない例も報告されている。日本紅斑熱ではツツガムシ病に比べ、急性期に炎症性サイトカインであるTNF α やIL-8の血中濃度が高いことが報告されており、これが重症化の一因と考えられている。テトラサイクリン系とニューキノロン系抗菌薬の併用が重症化回避のために有効性が高いとされているが、その機序は明らかでない。これまでにミノサイクリン(MINO)はTNF α を抑制することが報告されているが、今回新たにニューキノロンにも同様の作用があり、これらの抗菌薬の併用が炎症性サイトカイン産生を相乗的に抑制し、重症化回避の一因となっている可能性が示唆されたので報告する。

【材料および方法】

ヒト単球THP-1細胞株を使用し、LPSは*Pseudomonas aeruginosa*血清型10を使用した。抗菌薬、LPSは培地に溶解し使用した。

LPS刺激及び薬剤暴露はTHP-1細胞(2 \times 10⁵細胞/mL)にLPS(0.1 μ g/mL)と抗菌薬を添加し37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂下で4時間培養して行った。

薬剤暴露後、遠心分離にて上清を回収し、ELISAにてTNF α 濃度を測定した。薬剤暴露後、遠心分離によりTHP-1細胞を回収しウェスタンブロット、qPCRフローサイトメトリーを行った。

値は平均 \pm SDとして表した。データ処理は

Microsoft Excel 2008を用い学生t検定を用いて分析した。p値<0.05を有意とした。

【結果】

キノロン系抗菌薬のTNF α 産生阻害効果を調べるため、抗菌薬(50 μ g/mL)投与LPS刺激THP-1細胞の上清中TNF α 濃度をELISAにて測定した。レボフロキサシン(LVFX), ガレノキサシン(GRNX), モキシフロキサシン(MFLX), シプロフロキサシン(CPFX), シタフロキサシン(STFX)投与群のTNF α 濃度(pg/mL)はそれぞれ1036.00 \pm 114.65, 1032.73 \pm 26.42, 978.05 \pm 45.20, 792.00 \pm 69.09, 286.33 \pm 29.50であり、LVFXを除きLPS単独群(1181.20 \pm 20.75)と比較して有意に低下した(p<0.01)。特にSTFX投与群はGRNX, MFLX, CPFX投与群よりも有意に低値を示した(p<0.01)。

次にSTFXとMINO各50 μ g/mLを同時投与しLPS刺激細胞の上清中TNF α 濃度(pg/mL)を測定したところ、44.5 \pm 7.5とMINO 50 μ g/mL単独群468.4 \pm 22.4およびLPS単独群942.8 \pm 17.9に比べ有意に低下していた(p<0.01)。

STFXのTNF α 抑制機序を調べるため、STFX 50 μ g/mL投与群について、ウェスタンブロットにてリン酸化型NF- κ B, ERK, p38の経時的な発現パターンを、qPCRにてTNF α mRNA発現量を測定したところ、いずれもLPS単独群と有意差がなかった。フローサイトメトリーにて細胞内TNF α 量を定量したところ、STFX 50 μ g/mL投与群およびLPS単独群はそれぞれ16.2%, 4.4%であった。

【考察】

今回、STFXが他のキノロン系抗菌薬と比較してLPS刺激THP-1細胞の上清中TNF α 濃度を有意に低下させることを明らかにした。

STFX投与によりTNF α 産生シグナル伝達経路を担うNF- κ B, ERK, p38のリン酸化阻害効果と、その下流のTNF α のmRNA産生阻害効果は見られなかったが、細胞内TNF α の割合が増加した。このことからSTFXはTNF α の細胞外分泌を阻害する可能性が考えられる。

MINOはTNF α 産生シグナル伝達経路のI κ B α , やI κ Bキナーゼのリン酸化を阻害することが報告されている。今回見られた2剤併用時の強いTNF α 抑制効果はSTFXとMINOが異なる機序で相乗的

に作用したためと推測される。抗菌薬併用による日本紅斑熱の重症化回避が有効である一因として、サイトカイン産生抑制作用があると考えられており、現在は経験的にMINO+CPFXが用いられているが、MINO+STFXはより強いサイトカイン産生抑制作用を示したことから新たな治療戦略の可能性を示唆している。

【成果公表】

第89回日本感染症学会西日本地方会学術集会・第62回日本感染症学会中日本地方会学術集会・第67回日本化学療法学会西日本支部総会（学生セッション優秀賞受賞）

富山大学医学会会則

第1条 本会を、富山大学医学会という。

第2条 本会は、富山大学における医学研究の振興に寄与することを目的とし、その使命達成に必要な事業を行う。

1. 学術集会の開催
2. 学会誌の刊行
3. その他本会の目的達成に必要な事業

第3条 本会は前条の趣旨に賛成するものをもって組織する。

第4条 本会は、北陸医学会の会員となるものとする。

第5条 本会に次の会員をおく。

1. 会長 1名
2. 副会長 2名
3. 理事 若干名
4. 監事 若干名
5. 評議員 若干名

会長は、会務を総理し、会議の議長となる。

副会長は、庶務・会計・集会・編集の会務を分担する。

監事は、経理を監査する。

評議員は、会長の招集を受け、本会の重要事項を審議する。

第6条 役員の任期は2年とし、再任を妨げない。

第7条 役員は、次の方法によって選出する。

1. 会長、副会長、理事及び監事は、評議員の中から互選する。
2. 評議員は、会員中の教授ならびに教室員代表に委嘱する。
3. 役員の改選は3月に行うものとする。ただし、任期中に欠員を生じた場合は、この限りでない。

第8条 本会の事業年度は、年度制による。

第9条 本会の経費は、会員の会費、寄付金その他の収入をもってあてる。会費は1カ年3,000円とし、事業年度の当初に納入するものとする。

第10条 本会の事業内容ならびに会計については、毎年度の評議会にこれを報告する。

第11条 本会会則の改変には評議員の審議を要し、出席者の過半数の賛成を必要とする。

第12条 本会則の実施に必要な細則は別に定める。

付 則

この会則は、昭和54年4月1日より実施する。

昭和63年12月3日一部改変。

平成18年9月13日一部改正。

富山大学医学会役員

役員

会長	関根道和	令和3年9月～
副会長	森 寿	令和3年9月～
	川口善治	令和3年9月～

評議員 (50音順)

足立雄一, 一條裕之, 伊藤哲史, 稲寺秀邦, 井ノ口馨,
井村穰二, 貝沼茂三郎, 金森昌彦, 川口善治, 岸 裕幸,
北島 勲, 北村 寛, 絹川弘一郎, 木村裕三, 黒田 敏,
齋藤淳一, 笹原正清, 佐武利彦, 佐藤 勉, 嶋田 豊,
清水忠道, 將積日出夫, 鈴木道雄, 関根道和, 高雄啓三,
高岡 裕, 高村昭輝, 田村須賀子, 田村了以, 戸邊一之,
中川 崇, 中島彰俊, 長島 久, 中辻裕司, 西田尚樹,
西谷美幸, 野口 京, 野口 誠, 袴田優子,
長谷川ともみ, 服部憲明, 林 篤志, 林 龍二,
比嘉勇人, 藤井 努, 堀 悦郎, 森 寿, 森永芳智,
安田一朗, 安田智美, 八塚美樹, 山崎光章, 山本善裕,
吉田丈俊, 芳村直樹,

(以上55名)

(敬称略)

(令和3年9月1日現在)

理事

庶務・集会	森 寿	令和3年9月～
	嶋田 豊	平成16年4月～
会計	山崎光章	平成14年6月～
編集	○川口善治	令和3年9月～
	井村穰二	平成25年4月～
	黒田 敏	平成25年4月～
	將積日出夫	平成25年4月～
	山本善裕	平成25年4月～

監事

監事	林 篤志	平成31年4月～
	○委員長	(敬称略)

Toyama Medical Journal Instructions for Authors

1 Introduction

Toyama Medical Journal is the official publication of the University of Toyama Medical Association.

2 Types of papers

Reviews, original articles, case series, case reports, short communications and other articles which are approved by the Editorial Committee will be considered for publication.

3 Formatting guidelines

a) Article structure

Papers should be set out in the following order: title page, abstract, main text, acknowledgment, references, tables and figures. Manuscripts which are written by non-native English writer must be proofread by language services and required to provide a certificate in proofreading.

b) Format

Manuscripts should be prepared in A4 size and written by use of Microsoft Word software. Text should be written in double-spaced (25 lines in a page). The number of tables and figures is up to five in total.

c) Title page

The title page must have the category of the article (for example "original article"), the complete title of the paper, name(s) of author(s), affiliation(s), key words (up to five), running title, number of pages of text, number of tables and figures.

d) Abstract

Abstract must be written in 200 words and printed in double-spaced.

e) Main Text

Authors should use the following subheadings to divide the sections of their manuscript: Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. Heading in the text must be written as follows.

I, II, ……., A, B, ……., 1, 2, ……., a, b, ……., (1), (2), …….

Acknowledgments should be placed at the last section of the text.

f) Scientific names

Scientific names should be in italics.

g) Abbreviations and units

All abbreviations should be fully explained at their first occurrence in the text.

All measurements should be expressed in metric units, SI units.

[Length] m, cm, mm, μm , nm, Å

[Weight] kg, g, mg, μg

[Square] m^2 , mm^2

[Cubic measure] m^3 , cm^3 , mm^3

[Volume] l, ml, μl

[Mole number and concentration] mol, mmol, μmol , nmol, pmol, M(mol/L), Eq, N(normal), %

[Time] d, h, min, s, ms, μs

[Temperature] °C

[Pressure] mmHg, mber

[Electricity] V(volt), A(ampere), Hz(cycles/sec)

[Radiation] Gy, Bq, Sv

[Optical isomer] d-, l-, dll

[Administration] iv, ip, im, sc, po

[Statistics] SD, SEM

[Others] g(gravity), LD₅₀, ED₅₀

h) Reference

In the text, references should be cited using superscript Arabic numerals in the order in which they appear. If the work has equal to or more than five authors, list the first three authors followed by et al. The reference list should be written following the examples given below. Journal names should be abbreviated according to INDEX MEDICUS.

Journal articles

1) Kamimura K., Takatsu T. and Ahmed A.: A survey of mosquitoes in Karachi area, J Pak Med Assoc. 36: 181-188, 1986.

Book

2) Nakata T. and Katayama T.: Changes in human adrenal catecholamines with age. In: Urology (Jardan A. ed.) : 404-406. International B'Urologie, Paris, 1986.

i) Figures and tables

All figures and tables should be cited in text in consecutive numerical order. The printout of them should be attached in order after the last page of the text. Each table and figure should not extend beyond

one page.

4 Peer review and acceptance

Every article has been peer reviewed by 2 blinded reviewers. Acceptances are decided by the Editorial Committee of Toyama Medical Journal.

5 Proofreading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors. Substantial changes in content are not allowed.

6 Publication charges and reprints

Page charges: ¥ 10,000 for a page. Color prints are

available for extra charges. Reprints are not provided to authors. A PDF version of the article is available at University of Toyama Repository for Academic Information (<https://toyama.repo.nii.ac.jp/>).

7 Submission of manuscripts

Authors should send a PDF version of the manuscript to the Editorial Committee of Toyama Medical Journal, 2630 Sugitani, Toyama 930-0194 (E-mail: tmjed@med.u-toyama.ac.jp).

富山大学医学会誌投稿規定

- 1 投稿資格 原則として富山大学医学会会員に限る。
 - 2 投稿の種類 総説, 原著, 症例報告, 短報, その他, 編集委員会が適当と認めたもの。
 - 3 執筆規定
 - A 和文論文
 - a) 原稿の形式 Microsoft WordでA4サイズ, ダブルスペースで1頁25行とする。表紙, 和文要旨, 本文, 謝辞, 文献, 英文抄録, 表, 図の順で作成する(原則として図表5枚以内)。
 - b) 表紙の記載順序 投稿の種類, 和文題名, 著者名, 所属名, 英文題名, ローマ字の著者名(例 Tadashi KAWASAKI), 英文所属名, Key words(英文, 5語以内), 20字以内のランニングタイトル, 本文総枚数, 表, 図の各枚数とし, 編集部への希望事項は別紙に記入添付する。
 - c) 和文要旨と英文要旨 和文要旨は400字以内とする。英文要旨は英文校閲者による校閲を受け, 200語以内でダブルスペースでタイプする。
 - d) 本文形式 原著の項目は, はじめに, 材料および方法, 結果, 考察の順とするか, これに準じた形式がのぞましい。各項目の細分は次のようにする。
I, II, …… , A, B…… , 1, 2, …… , a, b, …… , 1, 2, ……。
 - e) 書体と用語 現代かなづかいのひらがな, 当用漢字を用いる。句読点, 括弧は1字分とする。学名はイタリック体で記載する。術語は日本医学会用語委員会制定の用語を用いる。
 - f) 度量衡の単位および略号 単位は国際単位(SI)を用い, ピリオドをつけない。次の例に準ずる。
[長さ] m, cm, mm, μm , nm, Å
[重さ] kg, g, mg, μg
[面積] m^2 , mm^2
[堆積] m^3 , cm^3 , mm^3
[容積] l, ml, μl
[モル数・濃度等] mol, mmol, μmol , nmol, pmol, M (mol/liter), Eq, N (normal), %
[時間] d(日), h(時), min(分), s(秒), ms, μs
[濃度] °C
[圧力] mmHg, mbar
[電気] V(volt), A(ampere), Hz(cycles/sec)
[放射線] Gy, Bq, Sv
[その他] g(gravity), LD₅₀, ED₅₀(median doses)
[光学異性体] d-, l-, dll
 - g) 文 献 引用順に本文中の引用箇所右肩に片括弧(例……Sase¹⁾)で番号を付し, 次の例の記載法で末尾に番号順にまとめる。著者が5名以上の場合は最初の3名を記し, あとは「ほか」(本文ではet al.)とする。とくに句読点に注意する。
和文原著文献
1) 久世照五, 八木欲一郎, 伊藤祐輔ほか: [1-¹⁴C] - 酢酸・Na投与後の呼気¹⁴CO₂排出と¹⁴C体内分布. 麻酔 34: 349-65, 1985.
和文単行本
2) 田沢賢次: ストーマの合併症とその対策—皮膚傷害—。ストーマケア基礎と実際(ストーマリハビリテーション講習会実行委員会編): 209-225. 金原出版, 東京, 1986.
英文原著文献
3) Kamimura K., Takasu T. and Ahmed A.: A survey of mosquitoes in Karachi area, Pakistan. J. Pakistan Med. Ass. 36: 181-188, 1986.
英文単行本
4) Nakata T. and Katayama T.: Changes in human adrenal catecholamines with age. In: Urology (Jardan A. ed.): 404-406. International B'Urologie, Paris, 1986.
 - h) 表, 図 大きさの限度は刷り上がり1頁以内におさまるものとし, 本文とは別にまとめ, Table 1か表1, Fig. 1か図1として, 本文中に挿入すべき場所を明記する。図表およびその説明は, 英文または和文に統一する。
- B 欧文論文
 - a) 原稿の形式 Microsoft WordでA4サイズ, ダブルスペースで1頁25行とする。表紙, 英文抄録, 本文, 謝辞, 文献, 和文要旨, 表, 図の順で作成する(原則として図表5枚以内)。原稿は英文校閲者の校閲を受けること。不完全なものは校閲料(添削料)を請求することがある。
 - b) 表紙の記載順序 投稿の種類, 欧文題名, 欧文著

[投与法] iv, ip, im, sc, po

[統計] SD, SEM

g) 文 献 引用順に本文中の引用箇所右肩に片括弧(例……Sase¹⁾)で番号を付し, 次の例の記載法で末尾に番号順にまとめる。著者が5名以上の場合は最初の3名を記し, あとは「ほか」(本文ではet al.)とする。とくに句読点に注意する。
和文原著文献

1) 久世照五, 八木欲一郎, 伊藤祐輔ほか: [1-¹⁴C] - 酢酸・Na投与後の呼気¹⁴CO₂排出と¹⁴C体内分布. 麻酔 34: 349-65, 1985.

和文単行本

2) 田沢賢次: ストーマの合併症とその対策—皮膚傷害—。ストーマケア基礎と実際(ストーマリハビリテーション講習会実行委員会編): 209-225. 金原出版, 東京, 1986.

英文原著文献

3) Kamimura K., Takasu T. and Ahmed A.: A survey of mosquitoes in Karachi area, Pakistan. J. Pakistan Med. Ass. 36: 181-188, 1986.

英文単行本

4) Nakata T. and Katayama T.: Changes in human adrenal catecholamines with age. In: Urology (Jardan A. ed.): 404-406. International B'Urologie, Paris, 1986.

引用雑誌の略称は「日本自然科学雑誌総覧」およびINDEX MEDICUSに準ずる。

h) 表, 図 大きさの限度は刷り上がり1頁以内におさまるものとし, 本文とは別にまとめ, Table 1か表1, Fig. 1か図1として, 本文中に挿入すべき場所を明記する。図表およびその説明は, 英文または和文に統一する。

B 欧文論文

a) 原稿の形式 Microsoft WordでA4サイズ, ダブルスペースで1頁25行とする。表紙, 英文抄録, 本文, 謝辞, 文献, 和文要旨, 表, 図の順で作成する(原則として図表5枚以内)。原稿は英文校閲者の校閲を受けること。不完全なものは校閲料(添削料)を請求することがある。

b) 表紙の記載順序 投稿の種類, 欧文題名, 欧文著

者名, 欧文所属名, Key words 5語 (英文), 40字以内の欧文ランニングタイトル, 本文総枚数, 和文題目, 和文著者名, 和文要旨, 表, 図の各枚数, 編集部への希望事項は別紙に記入添付する。

c) 要旨, 本文, 文献等 和文原稿の規定に準拠する。

- 4 採 否 論文は2名の査読者により査読され, 編集委員会で採否等を決定する。
- 5 校 正 初校を著者の責任において行う。原則として原文の変更追加は認めない。
- 6 掲 載 料 本文・図表を含め刷り上り1頁につき10,000円。カラー写真など特別な費用を要す図表は実費を申し受ける。別刷は作成しない (富山大学学術情報リポジトリToRePoからPDFを取得可能)。

7 原稿の送り先

〒930-0194 富山市杉谷2630 富山大学医学会
Toyama Medical Journal編集委員会

原稿は, PDFに変換して, 編集委員会 (tmjed@med.u-toyama.ac.jp) に電子メールで送付する。

1988年1月5日制定

1994年3月22日改訂

1996年2月9日改訂

2008年10月8日改訂

2021年12月22日改訂

Toyama Medical Journal

Vol. 32 No. 1

発行日 令和4年3月31日

編集発行 富山大学医学会

富山市杉谷2630番地

〒930-0194

TEL (076)434-2281(代)

E-mail: tmjed@med.u-toyama.ac.jp

印刷 電算印刷株式会社

松本市筑摩1-11-30

〒390-0821

TEL (0263)25-4329

TOYAMA MEDICAL JOURNAL Vol.32 No.1 2021

CONTENTS

■Review

Involvement of the extrageniculate subcortical visual pathway
in innate recognition in primates 1–14
Hisao NISHIJO, Hiroshi NISHIMARU and Taketoshi ONO

■Original Article

Relationship between Sleep Quality and
Quality of Life (QOL) in Japanese Junior High School Children: Results of the
Toyama Birth Cohort Study 15–22
Shimako HAMANISHI, Michikazu SEKINE
Masaaki YAMADA, Yuko FUJIMURA
Lizhen HU, Hajime MINEMURA
Takashi TATSUSE

■原著

富山県における診療科別・二次医療圏別の医師偏在について 23–29
岡部圭介・竹村京子・峯村正実

当科における15年間の口唇・口蓋裂一次症例の臨床観察 30–34
石坂理紗・藤原久美子・高市真由・中道尚美・上浦 眸
今上修一・池田篤司・野口 誠

■Case Report

A Case of Cavernous Dural Arteriovenous Fistula complaining
Double Vision while Driving 35–36
Keiichiro KITA

■学位授与

博士 (医学) 37–38
博士 (看護学) 39
博士 (医学)《論文博士》 39
修士 (医科学) 40
修士 (看護学) 40

■令和2年度研究医養成プログラム修了報告 41–56

■記事

富山大学医学会会則 57
富山大学医学会役員 58
富山大学医学会誌投稿規定 59–62