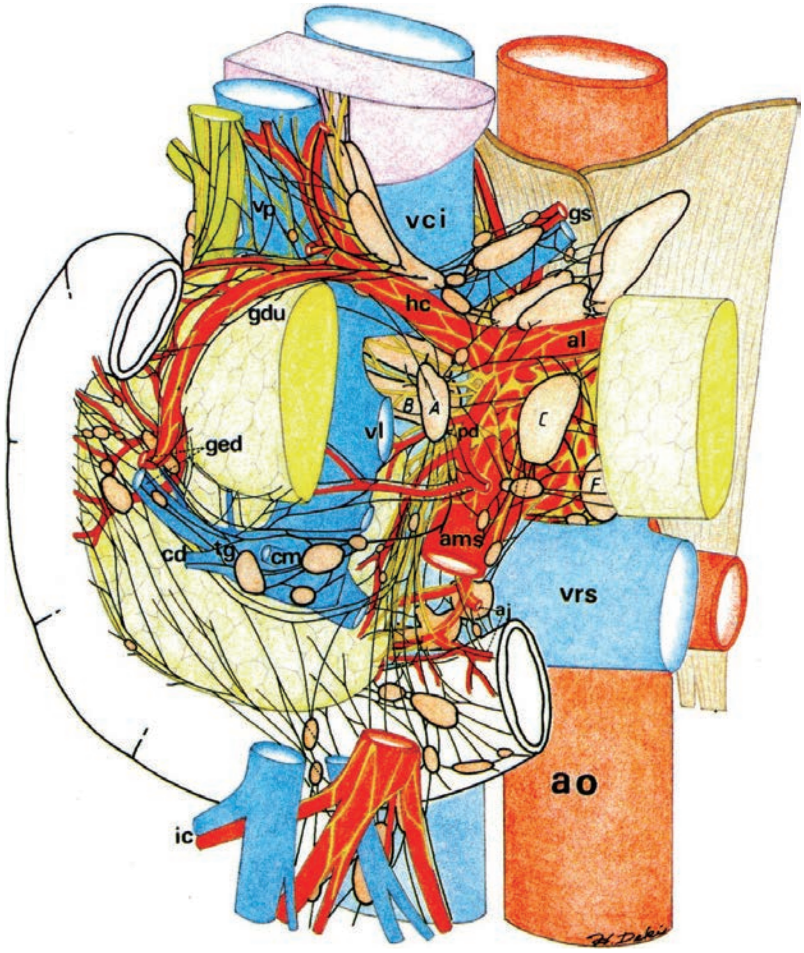
Vol.61

お茶の水醫學雜誌

Ochanomizu igaku zasshi

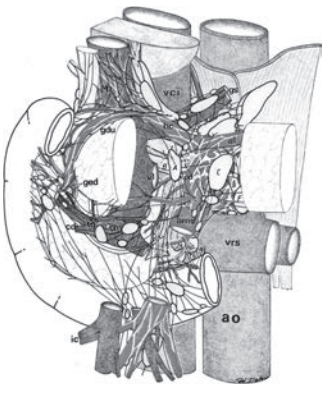
第61巻　第1号　2013年



東京医科歯科大学
お茶の水医学会

目　次

Contents



表紙の図

膵頭前面を中心としたリンパ系の精細な剖出所見である．膵蔵は腹腔動脈と上腸間膜動脈の間にはさまっているので，リンパ管群はこれら二つの動脈に遡行することが予想される．この所見では上腸間膜リンパ節に入る経路が主流であることが示唆されている．二つの動脈の周囲には自律神経叢も発達しており，リンパ管との絡み合いも複雑である．解剖と作図は，出来尚史（医26回生，昭54卒）の労作．

胃を中心とした上腹部リンパ系のマクロ解剖学

佐藤　達夫　東京医科歯科大学名誉教授
東京有明医療大学学長

要旨：旧解剖学第 2 講座では 1980 および 90 年代に，各種癌の「取扱い規約」に関連して，内臓のリンパ系のマクロ解剖学的研究が行われていた．そのうち，胃を中心とした上腹部のリンパ系の剖出所見を示説し，局所解剖学的考察を加えた．胃のリンパ系では，標準記載に加えて，胃体後壁から後胃動脈に随伴し脾動脈沿線に達する経路，大彎右半から右胃大網動脈に遡行して腹腔リンパ節に向かわずに，右胃大網静脈沿いに下がり上腸間膜リンパ節にいたる経路，および噴門部から左下横隔膜動静脈に沿って下がり左腎静脈上縁に達する経路などの存在を強調した．胆嚢と膵頭のリンパ管は腹腔・上腸間膜動脈周囲に集まるが，膵頭後面上縁には発達したリンパ節群（膵十二指腸後部リンパ節の上群）があり，膵頭後面のみならず胆嚢から垂直に下行したリンパ管も受け入れ，左腎静脈上下の大動静脈間リンパ節に送っている．この節は左側の大動脈外側リンパ節とともに重視すべきリンパ節である．

Key words：上腹部のリンパ系，癌外科のリンパ系，大動脈周囲リンパ節，大動静脈間リンパ節，膵頭のリンパ系

Ⅰ．はじめに

去る 2012 年 11 月 3 日，国立がんセンターにおいて胃癌学会主催の「胃癌取扱い規約」50 周年記念シンポジウムが開催され，規約の成り立ちから発展について約 10 名の先達が思い出を語ってくれた．その中で筆者にとって印象的であったのは，規約作成の牽引者としての役割をはたしたのが，本学元外科学第一講座教授の故村上忠重先生（在籍 1972 年 10 月～1981 年 3 月）であったということである．

「胃癌取扱い規約」ははじめ，「胃癌手術所見及び手術成績記載に関する規約（案）」として成案が得られ，1962 年 6 月に活字に印刷されて配布されたという [1]．起案者は，陣内伝之助，梶谷　鐶，久留　勝，槇　哲夫，村上忠重，武藤完雄，中山恒明，堺　哲郎という当時の本邦癌外科の最高権威たちである．しかし，このような取扱い規約が示されたのは当時では異例であり，多くの臨床家は戸惑いを感じたのではあるまいか．そのためか，起案者たちは 1963 年末に，“「外科における胃癌取扱い規約」の解説”と題して，外科系雑誌に紹介論文を掲載している [1]．その中に“…誰もが同じ標準の上に立って，胃癌切除術の遠隔成績を求めようではないか，そして日本としての胃癌切除術のまとまった成績を出すように出来ないものだろうか，またこのような共通の立場に立って胃癌の治療成績を外科医の手で向上せしめるには，胃の切除範囲やリンパ節の郭清範囲などを合理的に拡大する必要があるが，その基準や原則はどのように定めたらよいか，…”という文言が含まれている．

この論文の著者名は上記起案者と同じである（アルファベット順）．しかし論文の最後に，“本規約に関し，御批判やお問合わせの向きは著者の一人昭和医大村上宛て御連絡下さい”という付記が括弧書きで加えてあるところから，村上先生の関与度が高いと想像され，先生の規約に対する思い入れの大きさを察することができる．

その後，胃以外の種々の癌についても取扱い規約が作成・公刊され，本邦の癌診療の向上に多大な貢献をするようになったが，それに呼応して，新たに一つ大きな問題が生じてきた．実際の手術の現場では，リンパ節名は用語よりも番号で呼ぶのが便利である．しか

連絡先：佐藤　達夫　t-sato@tau.ac.jp

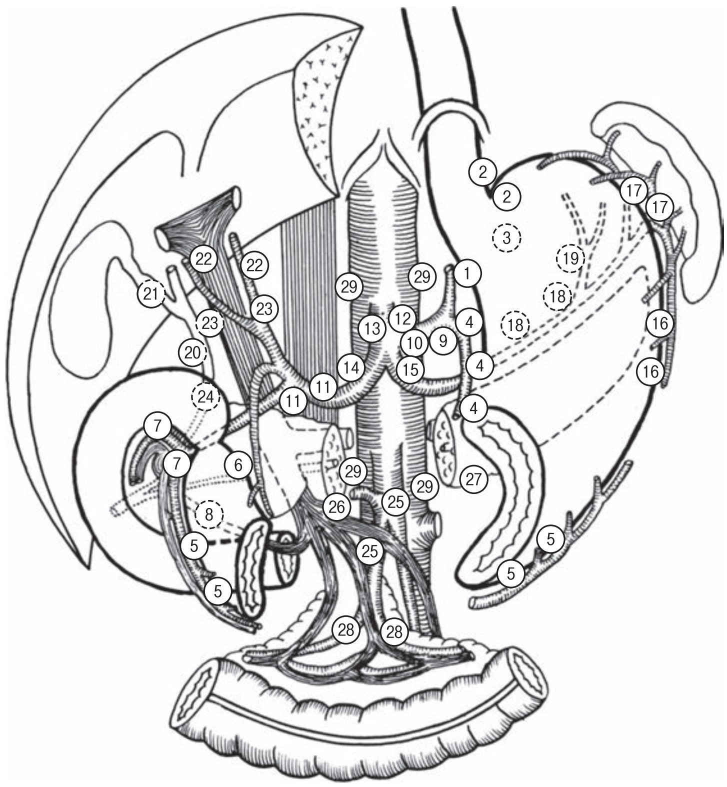


図 1．「胃癌取扱い規約」リンパ節図のもとになった井上論文の図[3)]

し各規約がそれぞれ独自の番号を与えているため，領域がまたがると複雑でわかりにくい．そのことがよほど気になったのであろう．1978 年の春ごろであろうか村上先生が，頭のてっぺんから足の先までリンパ節に通し番号を付けたいので手伝ってほしいと，私を誘ってくださった．しかし，その後間もなく村上先生が病に倒れられたので，この話は残念ながら沙汰やみとなってしまった．

当時は，癌の拡大根治手術と既存の解剖学との乖離にあきたらぬ外科医たちが，自主的に局所解剖を勉強しようという機運が高まっていたころでもあった．筆者も学内外からの相談に応じ，あるときは研究材料としての解剖体の提供の手助けをし，時には局所解剖書の翻訳を手伝い，また少人数の勉強会でともに学習し，その成果を外科雑誌に講座として連載したこともある．そうこうしているうちに，1980 年 7 月に仙台で開催された第 35 回胃癌研究会のリンパ節委員会にオブザーバーとして招かれ，星　和夫先生（旧第一外科，後に青梅市立総合病院院長）のお供をして出席し，これを機に胃のリンパ節表示にかかわることとなった．さらに，やがて食道，乳腺などの癌研究会の規約委員会にも参加を許され，とくに所属リンパ節の分類と表示模型図の作製や用語の整備などに関係することになった．

癌手術を通じて毎日のように，目的臓器と周囲の脈管に真剣勝負を挑んでいる外科医たちを啓発するに足る局所解剖は，一解剖教師の手に負えるはずがない．しかし，術後成績を少しでも向上させるべく努力を重ねている外科医たちの討議を聴いていると，部外者ながらなんとか手助けをせずばなるまいと思い始めた．ところが書架に並べた成書があまり役に立たない．当り前である．単純胃切の時代に一顧だにされなかった構造物が，リンパ節郭清を含めた癌手術ではクローズアップされてくる．さらに生活の質（QOL）を配慮すれば，リンパ系に加えて自律神経や臓側筋膜などとの関係が突然前景に浮上してくる．このように外科医のメスの及ぶ範囲の飛躍的な拡大と手術の質的転換に応じて，以前には意識されなかった構造物がはじめてみえてきたり，重要性を帯びてくることが少なくない．マクロ解剖学の蓄積した膨大な情報も，この変革に対応しきれるものではない．ここは少し腰を落着けて取り組まなければなるまいと痛感したことであった．

外科医がもたない武器として，われわれが保有しているのは実習解剖体である．もちろん機能の営みを停止しており，しかも固いという欠点はあるにしても，生体相手の手術とは異なり，視野と時間という制約を受けずに自由に剖出をすすめることができるのは大きな強みである．とりわけ筋膜，リンパ系，自律神経系

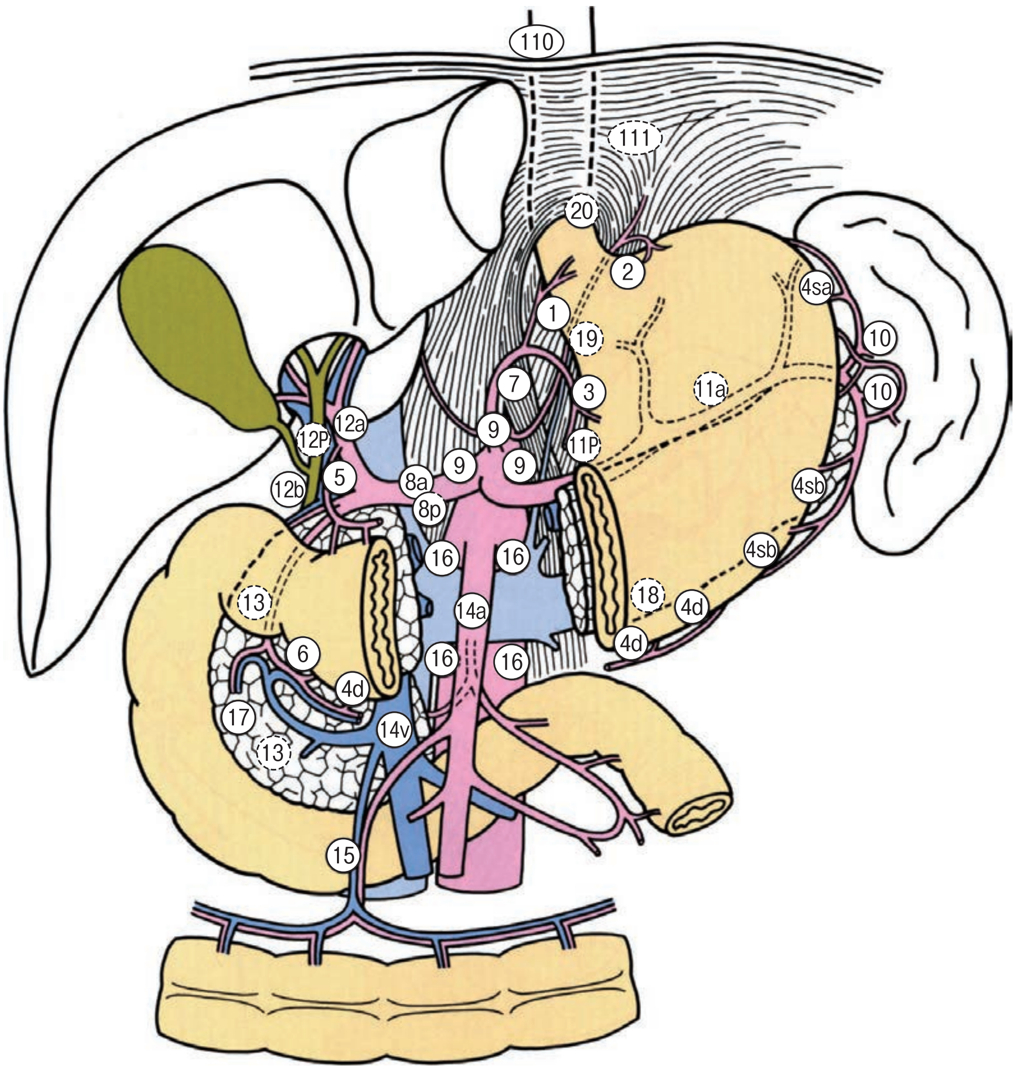


図 2．胃リンパ節模型図（胃癌取扱い規約・12 版）[2]．原図作成：出来尚史．

のように剖出しにくく，また法則性が乏しいために，従来のマクロ解剖学で軽視されてきた系統の精細な剖出，およびその概念化と映像をふくむ示説化に教室をあげて力を注ぐことになった．剖出のむずかしいリンパ管も最初は手術顕微鏡の世話になったが，肉眼でかなりの程度剖出できるようになった．それらの所見のうえに立って，ここでは，胃を中心に膵臓と胆嚢を含めた上腹部臓器のリンパ系について，なるべく剖出所見を中心に概説しておきたい．

Ⅱ．胃のリンパ系

1．胃のリンパ節の分類

まず，「胃癌取扱い規約」のリンパ節模型図を参考として示しておく（図 1，2）[2]．図 1 は井上[3] の労作に依拠したもので，書籍の形態ではじめて出版された「胃癌取扱い規約・4 版」（1966）[4] にすでに掲載されており，当時の規約委員会の見識の高さを物語っている．図 2 は精細な剖出標本をもとにわれわれの同僚の出来尚史が原図作製を担当した．

リンパ系はおおむね血管に沿って配列している．そして静脈よりも変異の少ない動脈と結びつけて考えると理解しやすいし，実際の手術においても，郭清は動脈の走行に沿って行われるからである．胃に分布する腹腔動脈は，まず左胃動脈，脾動脈および総肝動脈の三つの太い枝に分かれるとされているが，分布域の上・下と小・大彎を組み合わせて，4 枝すなわち上小彎枝（左胃動脈），下小彎枝（右胃動脈），下大彎枝（右胃大網動脈），上大彎枝（左胃大網動脈）の 4 つに解析して考えるとよい．その分類に準じて Rouvière はリンパ領域も 4 区域（図 3 のⅠ～Ⅳ）に区分している[5]．

しかし消化管のリンパ節を分類する際には，動脈の分布域による区域分類だけでは十分とはいえない．当該リンパ節が動脈の根部（起始部）に近いのか，それとも臓器に近く位置するのかということも転移の順序

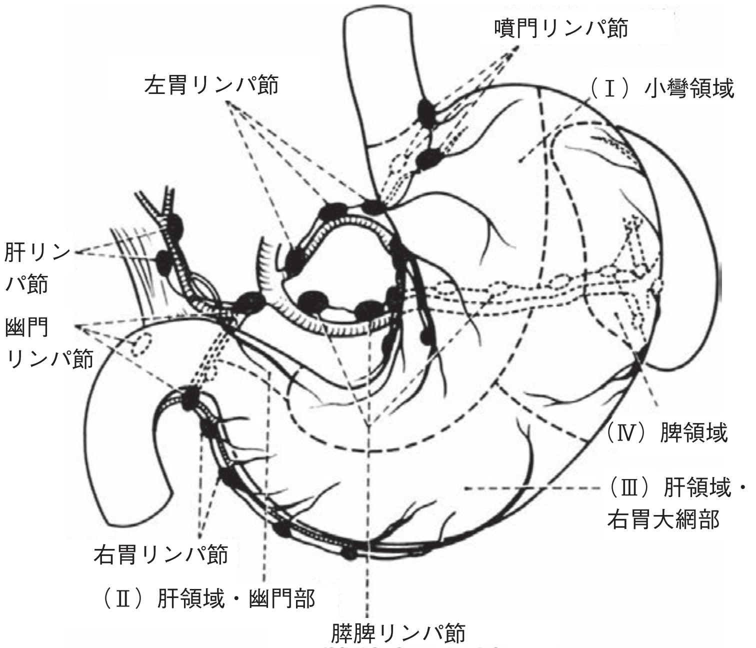


図 3. Rouvière（1932）の胃のリンパ節区域の模型図 [5)]

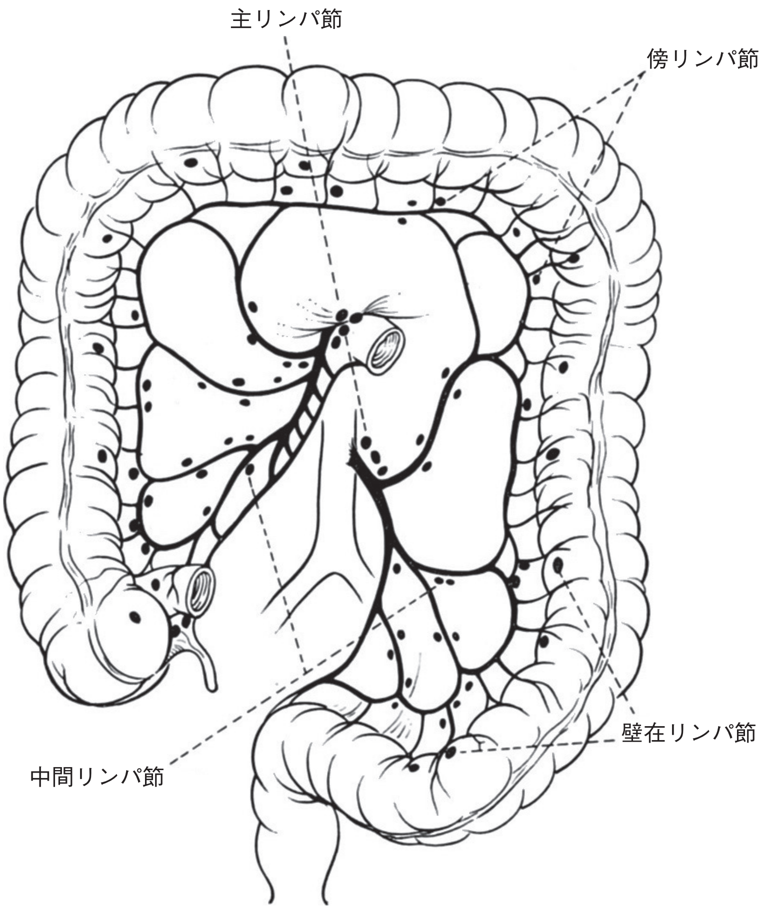


図 4. 大腸のリンパ節の分類法 [6)]

表 1.「胃癌取扱い規約」のリンパ節の解析

分布域＼区分	傍リンパ節	中間リンパ節	主リンパ節
Ⅰ	①②右・左噴門リンパ節 ③小彎リンパ節	⑦左胃動脈幹リンパ節	⑨左胃動脈根リンパ節
Ⅱ	⑤幽門上リンパ節	⑧総肝動脈幹リンパ節	⑨総肝動脈根リンパ節
Ⅲ	④大彎リンパ節 ⑥幽門下リンパ節	⑧総肝動脈幹リンパ節	⑨総肝動脈根リンパ節
Ⅳ	④大彎リンパ節（左上部） ⑩脾門リンパ節	⑪脾動脈幹リンパ節	⑨脾動脈根リンパ節

を考える場合に重要となるであろう．このことは，上・下腸間膜動脈の根部を中心としてほぼ270° の広角に扇を広げた形で配置した大腸を例にとると理解しやすい．大腸では，①最前線として結腸に近接した傍リンパ節（壁在リンパ節を含む），②各結腸動脈に沿う中間リンパ節，そして③動脈の根部の主リンパ節の3群が区別される（図4）[6]．以上の3群は，①動脈の分布（辺縁動脈），②同走行経過（動脈幹），③同起始部（動脈根）に対応して配列するといいかえることができる．動脈を中心としてリンパ節の分類を試みる際に，一方では動脈の分布域による区分が必要となり，また他方では，個々の動脈について根部からの遠近による区分も考慮しなければならない．胃では，Ⅰ～Ⅳの4分布域ならびに①～③の3区分を組み合わせると合計12群に分類することができる．そこで4×3＝12のます目をつくり「胃癌取扱い規約」のリンパ節を書き入れると，表1が得られる[7]．この表を参照すれば，規約の分類の論理性に納得がいくものと思われる．

2. 胃のリンパ系の概略

左胃動脈は食道下端と噴門前面に分枝するのが通例であるが，そのような枝を欠く場合がある．その場合，固有肝動脈から起こり小網内を左走して噴門近辺に達する副左胃動脈が認められ，この血管に沿って，噴門から固有肝動脈方向へ向かうリンパ管が剖出できる（図5）[8]．

総肝動脈は型どおり固有肝動脈と胃十二指腸動脈とに2分岐し，両者の股からあるいは固有肝動脈から右胃動脈が起きる．右胃動脈に沿うリンパ管は総肝動脈を遡行し，その根部のリンパ節へ接続する．図5では左右の胃動脈，副左胃動脈，肝動脈に沿って8の字状のリンパ管連鎖が解剖されている．

脾動脈に沿うリンパ管は，脾門において上方へは数条の短胃動脈に，下方へは左胃大網動脈に沿って大彎側に分布する．しかし，脾動脈は走行途中でしばしば上方へ太い枝を分けている．この枝は胃の穹窿部（胃底）の後壁に枝を与えているので後胃動脈と呼ばれ，その沿線のリンパ管は脾動脈へ下行する（図6）[8]．したがって短胃・左胃大網・後胃各動脈沿線のリンパ管は，膵体上縁の脾動脈幹リンパ節へ集まることになる．

右胃大網動脈沿線では，リンパ管の流れる方向が非常に興味深い問題を提供している．つまり，右胃大網動脈と静脈のどちらにリンパ管が伴行するのかという問題である．大彎に接岸して走る区間では動脈と静脈は伴走しているが，近心部では互いに離れてしまうからである（図7）．すなわち，動脈は胃十二指腸動脈を仲立ちとして膵臓の上方からくるのに対し，静脈は膵頭の前面を横走して，膵頸の下縁で上腸間膜静脈に流入してしまうのである．したがって胃の大彎右側部のリンパ管が右胃大網動脈と静脈のいずれに沿って流れていくのかという問題が生じる．実際の解剖によれば，問題のリンパ管は右胃大網静脈に遡行すると考えるのが正しいようである（図8）[9]．もっとも，上腸間膜静脈周囲に到達しても，この静脈から門脈主幹沿線へと上行するのではない．ただちに上腸間膜動脈に乗り移り，その根部に達するのである．このように大彎右側のリンパは，腹腔動脈周囲のリンパ節に上行せずに，上腸間膜血管周囲へ下行するものが主流であり，胃癌手術において考慮に入れておかなければならないと思われる．このような動脈・静脈・リンパ管の複雑な関係はすでに「胃癌取扱い規約・10版」（1975）の模型図に取り入れられている[10]．

左下横隔動脈沿線には，非定形的な経路として注意を喚起しておきたい．下横隔動脈は大動脈から直接，または腹腔動脈から起こり，左副腎の内側縁を走りながら数本の副腎枝（上副腎動脈）を与えた後，横隔膜の下面に分布する．その途中で食道裂孔の少し左方を通過することから，食道と胃の移行部に枝を出す可能性がある．半数以上の例で噴門食道枝がみられる．しばしば左噴門リンパ節から出たリンパ管が左下横隔動

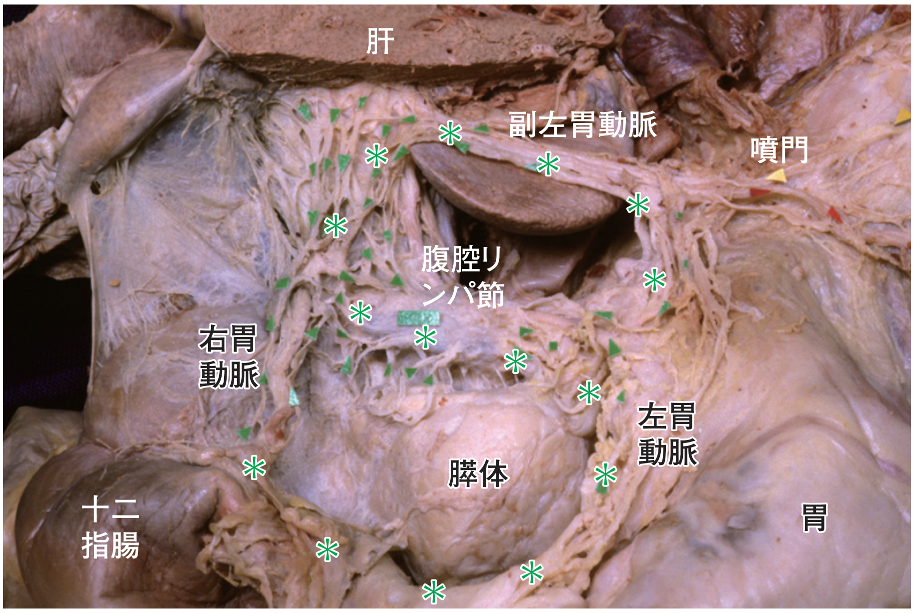


図 5. 小彎のリンパ節の解剖例[8)]
左右の胃動脈に沿うリンパ節に加えて，副左胃動脈に沿うリンパ節がみえる．リンパ節の連鎖には緑色の＊を付した．

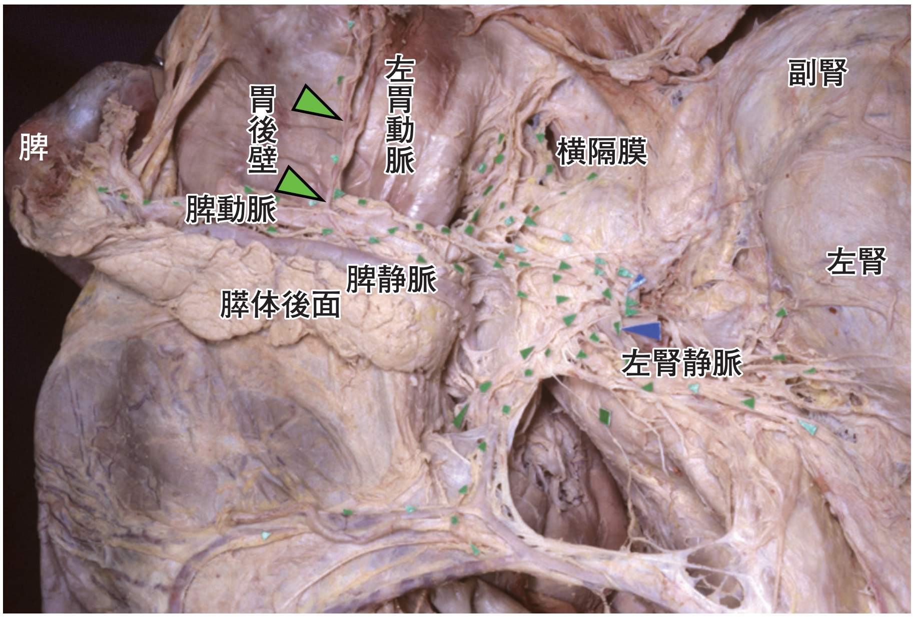
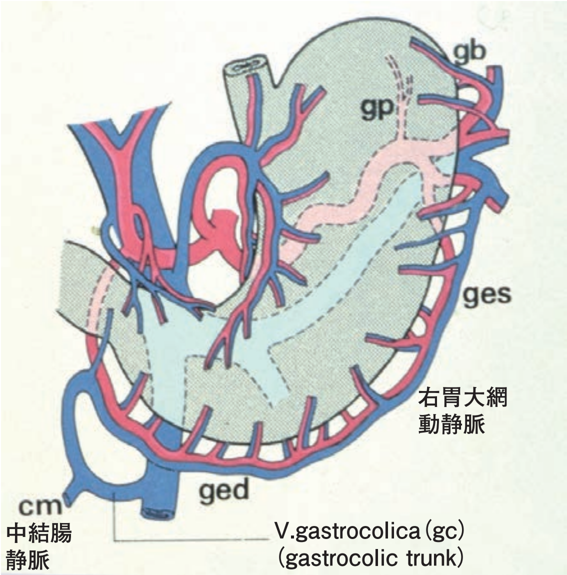


図 6. 後胃動脈に沿うリンパ管の解剖例[8)]
胃ならびに膵体・膵尾と脾臓を右方へ翻転し，胃の後面を垂直に走る後胃動脈とそれに沿うリンパ管（緑色の矢頭）を露出した．

脈の噴門食道枝に沿って下行しているのが認められる（図 9）[8)]．その行き先としては二つの路が考えられる．一つは，もちろん左下横隔**動脈**に沿って腹腔動脈根部のリンパ節にいたる路であるが，周囲の自律神経叢（腹腔神経叢）がバリアーとなるためか，この経路はあまり発達していない．むしろ左下横隔**静脈**に導かれて下行を続けて左腎静脈に達し，ここから大動脈外側リンパ節へ連絡する場合が多い．いずれにせよ，食道と噴門の移行部から左下横隔動静脈沿線を下行するリンパ経路が存在することには留意しておく必要がある．「胃癌取扱い規約・12 版」にも，この下横隔動脈の食道噴門枝がリンパ管経路の軸心になりうることが示されている（図 10）[2)]．



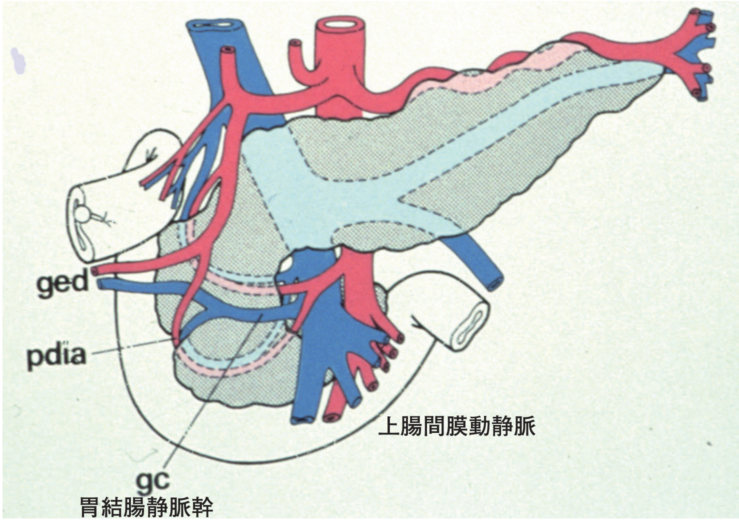


図 7．右胃大網動脈と静脈の走向

膵臓に対する位置関係が動脈の起始部と静脈の終末部で異なる．cm：中結腸静脈，gb：短胃動静脈，gc：胃結腸静脈幹，ged：右胃大網動静脈，ges：左胃大網動静脈，gp：後胃動脈，pdia：下膵十二指腸動静脈．

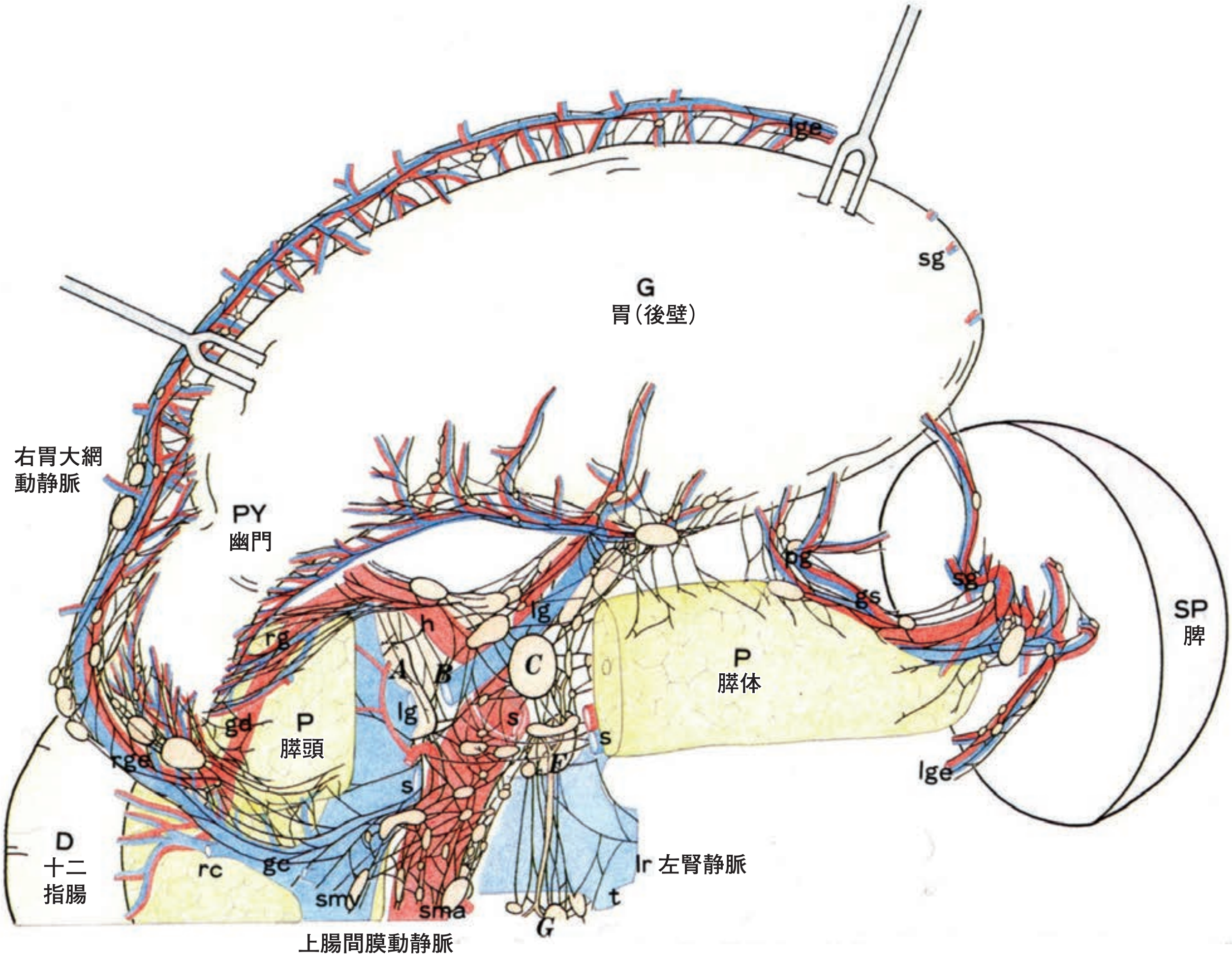


図 8．胃のリンパ系の解剖例[9)]

胃を上方へ翻転して，とくに右胃大網動静脈流域のリンパ管の流れる方向を示した．

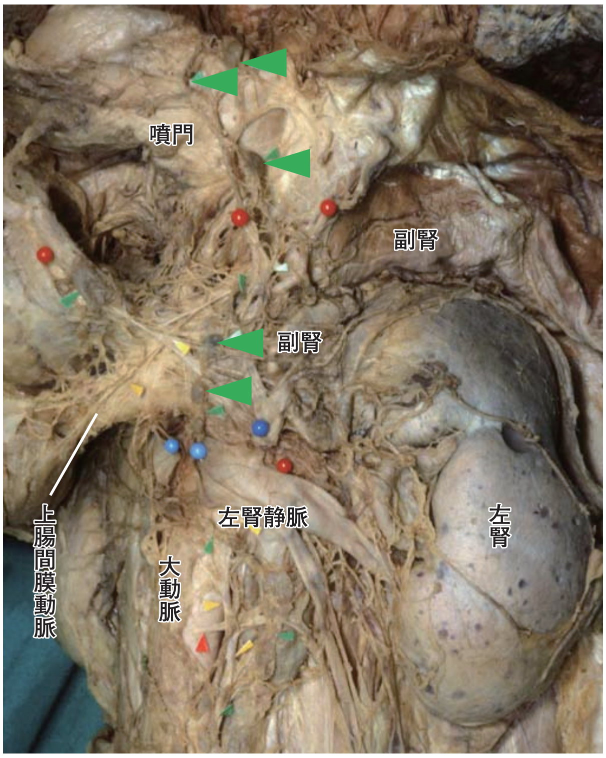


図 9．左下横隔動脈と随行するリンパ管の解剖例
胃および膵体・尾，脾臓を右方へ翻転して解剖した．
リンパ節は緑色の矢頭で示した．

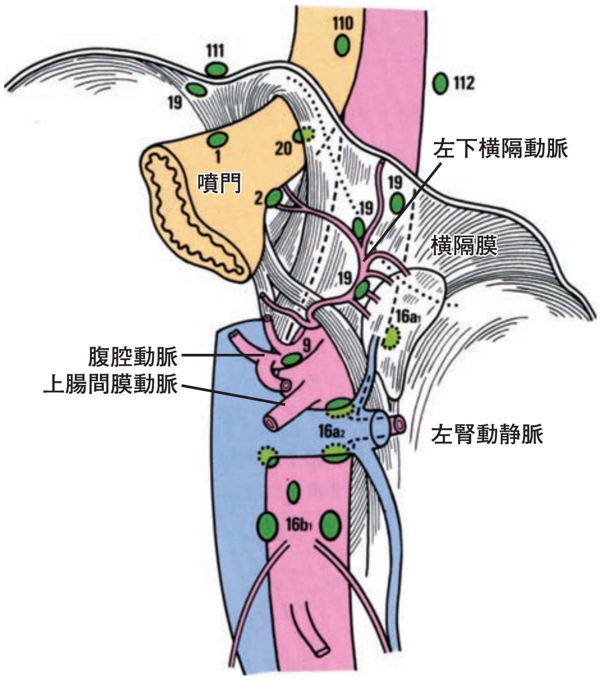


図 10．左下横隔動脈の噴門食道枝とその沿線のリンパ節（胃癌取扱い規約・12 版）[2]．原図作成：佐藤健次．

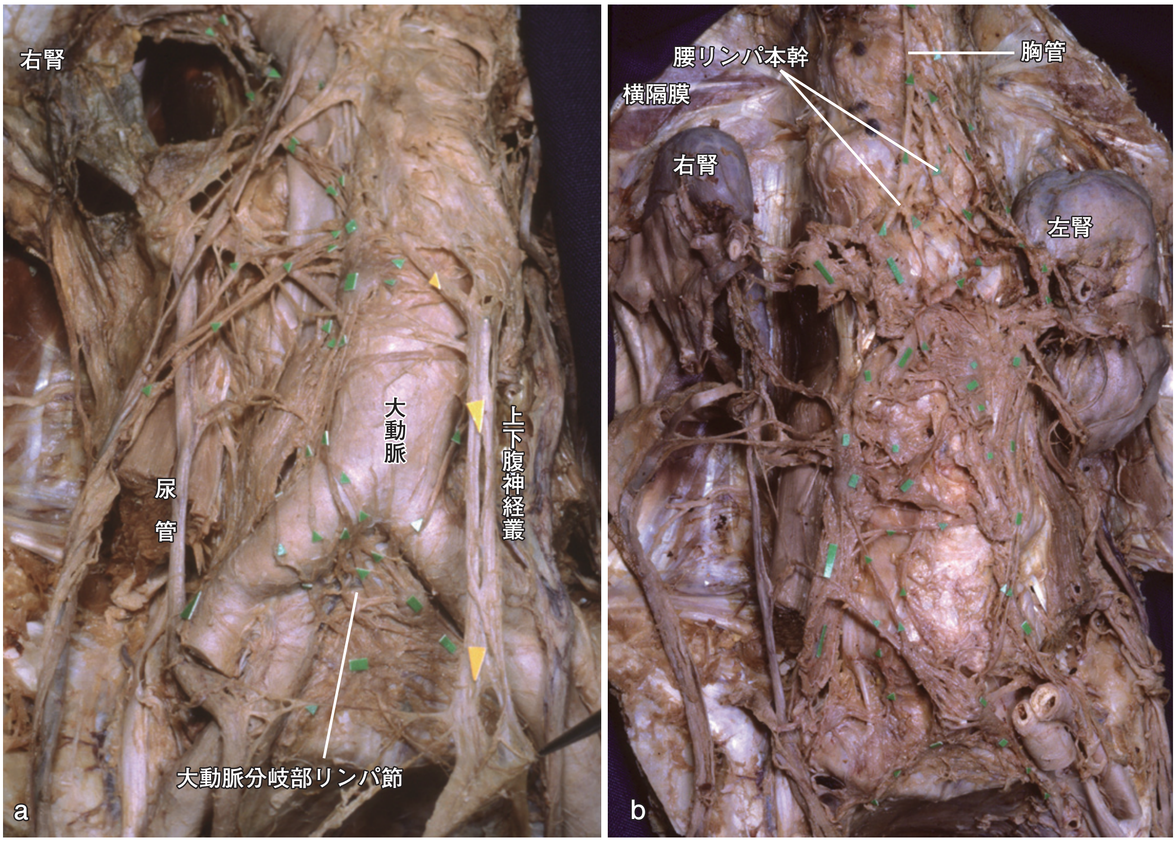


図 11．大動脈周囲のリンパ系の解剖
a：大動脈分岐部リンパ節群から大動脈の左右両側へ斜めに上がる太いリンパ管が明瞭である．
b：大動脈を抜き取って，その後方も含めてリンパ管群の連絡状態を示した．ほぼ腎の高さで左右の太い幹線リンパ管（腰リンパ本幹）が合流して胸管を形成している．

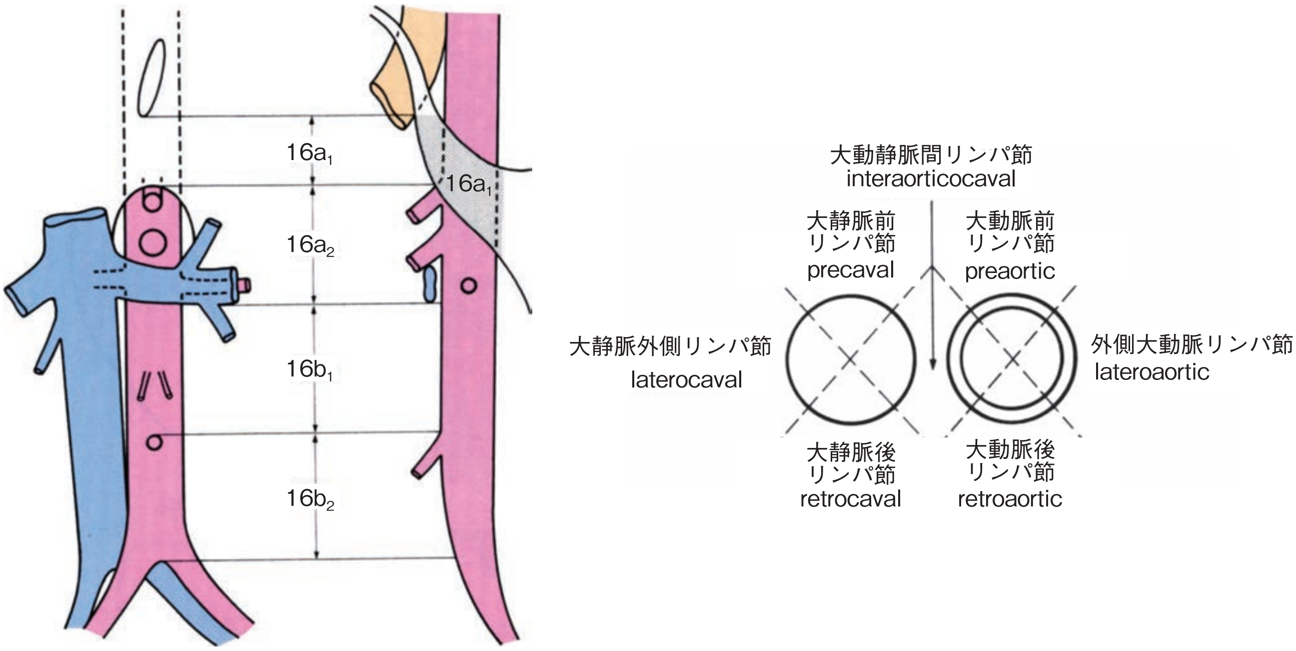


図 12．大動脈周囲リンパ節群の区割りと用語（胃癌取扱い規約・12 版）[2)]
縦割りは Rouvière に依拠し，横割りは規約委員会の協議による．

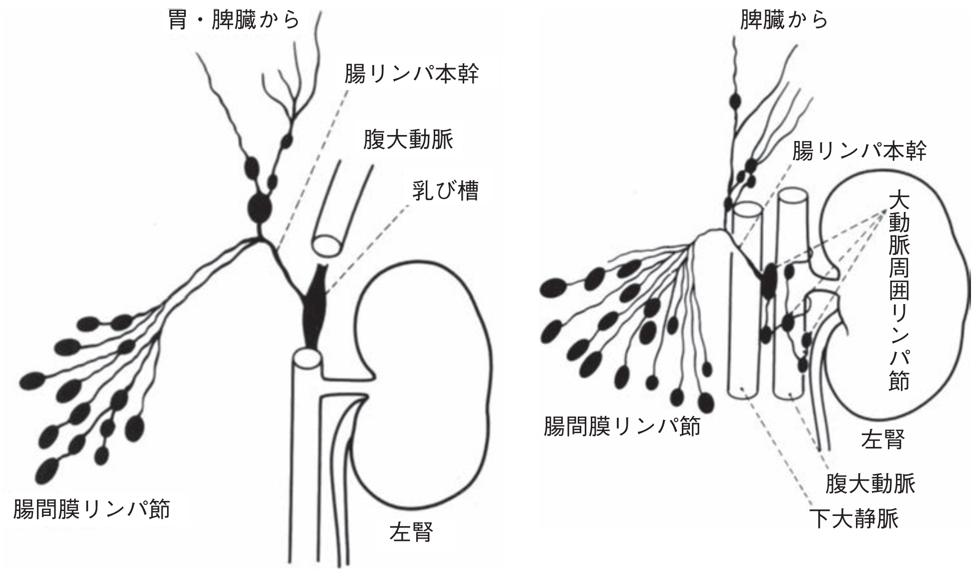


図 13．腸リンパ本幹の構成を示す模型図（忽那）[11)]
走向に注意．

Ⅲ．胃から大動脈周囲そして胸管へ

上に述べたように，胃のリンパ管は結局，腹腔動脈と上腸間膜動脈の根部周辺に集まってくる．次に，ここから胸管へ到達する経路を考えることにしよう．はじめに，腹腔動脈，上腸間膜動脈および腎動脈がこの順序で大動脈から起こり，しかも各起始部の高さが非常に近接していることに，また左腎静脈が大動脈をまたいで腎動脈の前を横走していることに留意しておきたい（図 10）．次に，腹部大動脈周囲にはリンパ節が発達している．この「胃癌取扱い規約」で大動脈周囲リンパ節と呼ばれるリンパ節群は，一般には大動脈傍または傍大動脈リンパ節，また解剖学用語では腰リン

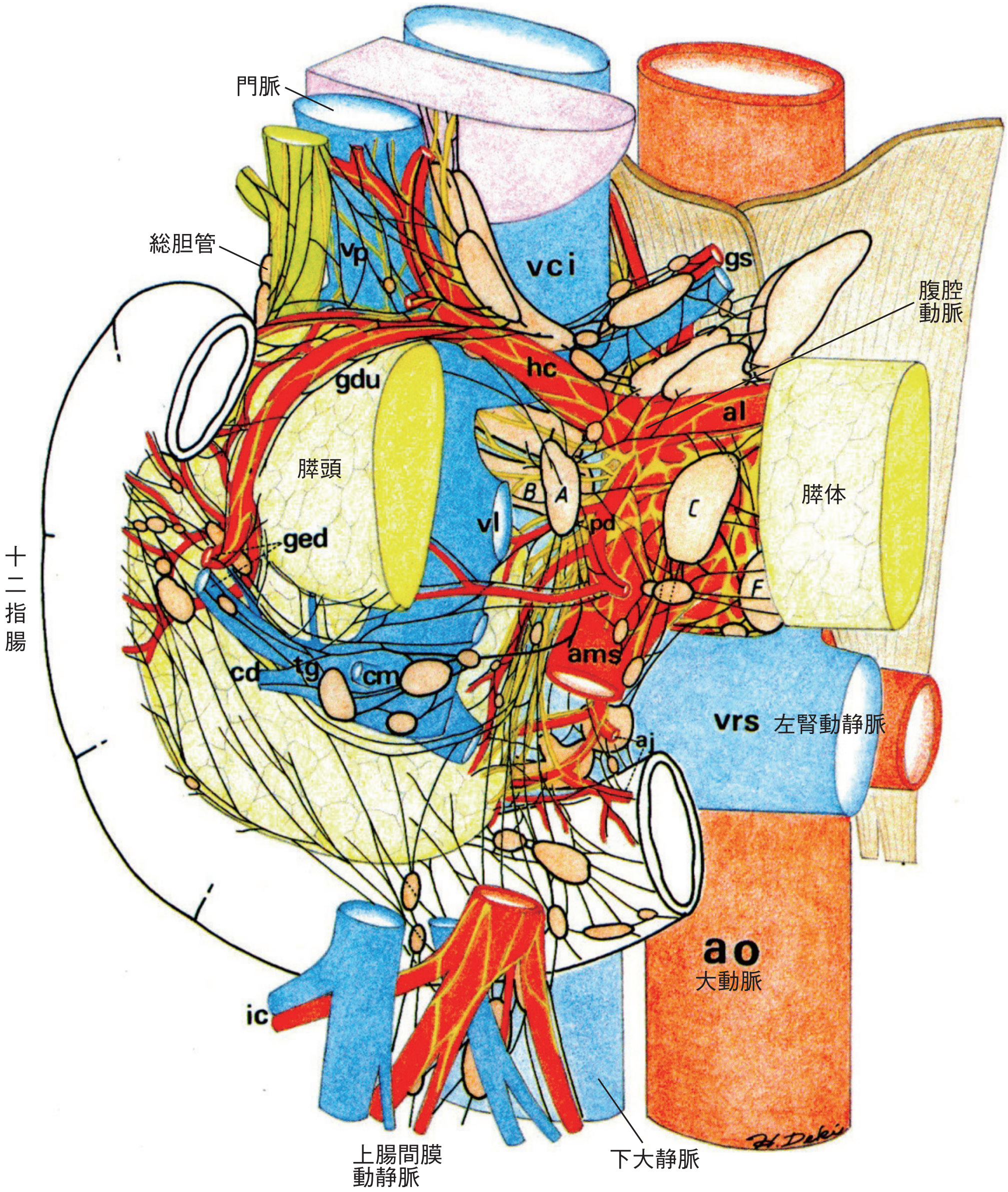


図 14. 膵頭前面のリンパ系の解剖例（Deki, Sato）[12]
大動脈，腹腔動脈，上腸間膜動脈周囲のリンパ系ならびに自律神経との位置関係に注目.

パ節とさまざまな名称で呼ばれている．このリンパ節群は，下肢と骨盤腔からのリンパ管がまず腸骨動静脈周囲に集まり，次いで大動脈周囲に上行した鎖状のリンパ節群である（図 11）．リンパ節群は大動脈だけでなく下大静脈をも包んでおり，図 12[2] のように 7 群に区分できる．しかし上行するにつれ，大静脈周囲のリンパ管群は左腎静脈のレベルまでに大動脈周囲に移動してしまう．これらのリンパ管群が最終的に流入するはずの胸管が大動脈の後ろに位置を占めているからである．結局，リンパ管群は左腎静脈のすぐ上下で大動脈の左右から後ろにもぐり込んで，左右の腰リンパ本幹をつくり，それらが合して胸管となる（図 11）．その高さは T12 ないし L1 の高さである．ちなみに横隔膜の大動脈裂孔は L1～L2 にかけて縦長の楕円をつくるのに対し，腎動静脈は L1/L2 の椎間板のレベルを横走しており，大動脈周囲のリンパ管が腎動静脈のすぐ上下で大動脈の後ろにもぐり込むことが了解できるところである．また胸管の起始部はやや膨れて乳び槽をつくるとされているが，解剖で明瞭な乳び槽を認めることはむしろ少ないようである．

先に述べたように，腹腔動脈と上腸間膜動脈の起始部は腎動脈よりも高い．したがって上腹部の胃・肝・胆などの臓器から腹腔動脈を遡行してきたリンパ管は，腸から上腸間膜動脈に沿ってきたリンパ管と合してから腰リンパ本幹へ入るまでに，さらに少しの距離を下行しなければならない．これが腸リンパ本幹である

前 目次へ 次

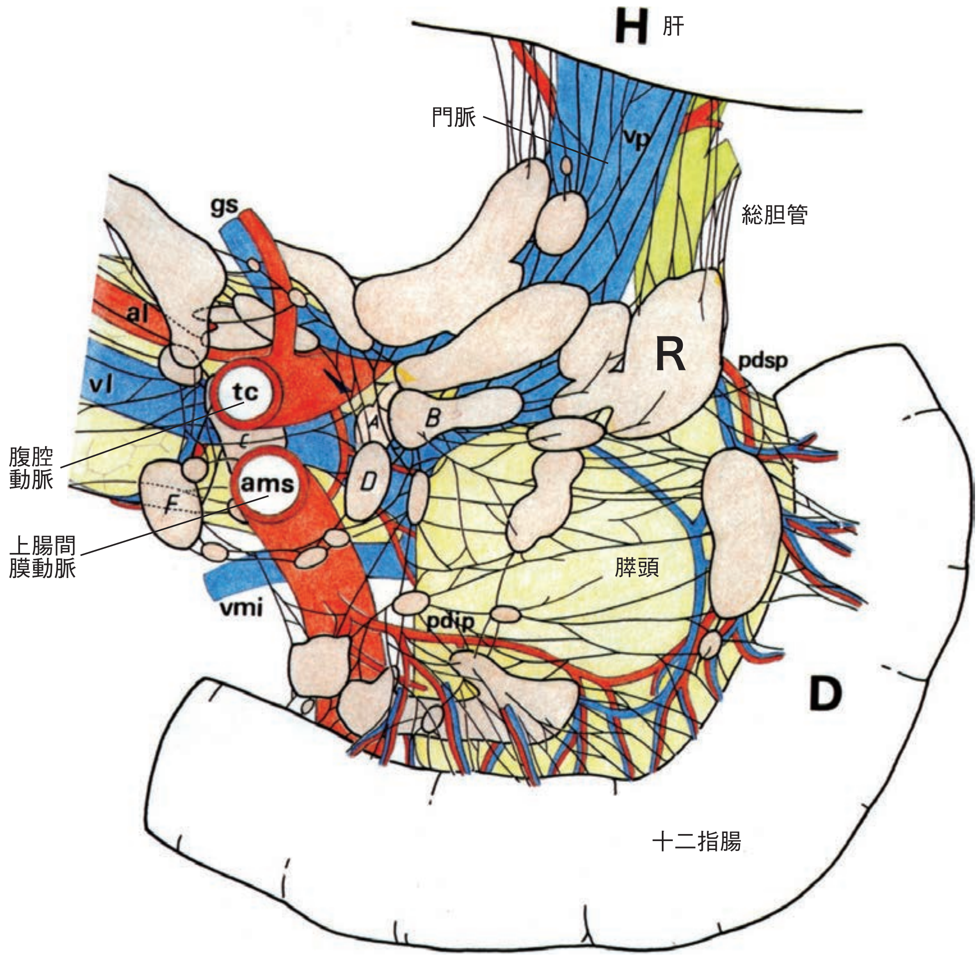


図 15．膵頭後面のリンパ系の解剖例（Deki, Sato）[12]
図 14 と同一標本．腹腔動脈と上腸間膜動脈の起始部を切って大動脈から取りはずした形で描写してある．膵頭後面のリンパ管には血管に沿わずに横走するものが多いこと，ならびに膵頭上縁と総胆管・門脈が交叉するところにリンパ節が発達しやすいことに留意しておきたい．R：膵十二指腸後部リンパ節の上群（Rouvière のリンパ節）．

(図 13)[11]．

これまで述べたように，胃のリンパ管は主として腹腔動脈周囲から上腸間膜動脈の左右を通って下がり，左腎静脈の上下の大動脈外側リンパ節と大動静脈間リンパ節へ達しており，これら二つのリンパ節群の存在が，「胃癌取扱い規約・12 版」で強調されているのである（図 10）．両者とも重要であるが，しかし胆嚢と膵頭後面のリンパの流路を加味して考えるならば，ここでは，あまり脚光を浴びていなかった大動静脈間リンパ節の重要性を強調したいと思う．

Ⅳ．膵頭・胆嚢のリンパ系と大動静脈間リンパ節の重要性

膵頭後面のリンパ管ならびに胆嚢のリンパ管の一部も大動静脈間リンパ節へ下行する．ここで膵頭のリンパ系について補足しておくと，膵頭前面のリンパ系は上中下 3 路に大別される（図 14）[12]．上部リンパ管は上行して総肝動脈根部のリンパ節に達するのに対し，中部リンパ管は横走して上腸間膜静脈周囲のリンパ節を経由し上腸間膜動脈周囲に達する．下部リンパ管は斜め左へ下がり，上腸間膜動脈の後ろのリンパ節群へ流入している．このような特異なリンパ管の走向は手術の際に十分考慮されるべきであろう．

膵頭後面のリンパ管群は膵十二指腸動脈アーケードに沿うものと，これらの血管と無関係に横走するものがあり，結局，腹腔・上腸間膜動脈根部右側のリンパ節群に流入する（図 15）[12]．膵頭後面に特異的なリンパ節として，膵頭上縁が総胆管ならびに門脈と交差する場所にみられる大きなリンパ節群があげられる．Rouvière[5] の膵十二指腸後部リンパ節の上群である．このリンパ節群は膵頭のみならず，胆嚢，胆道，門脈沿線，肝臓などのリンパ管から大動脈周囲へ下行する

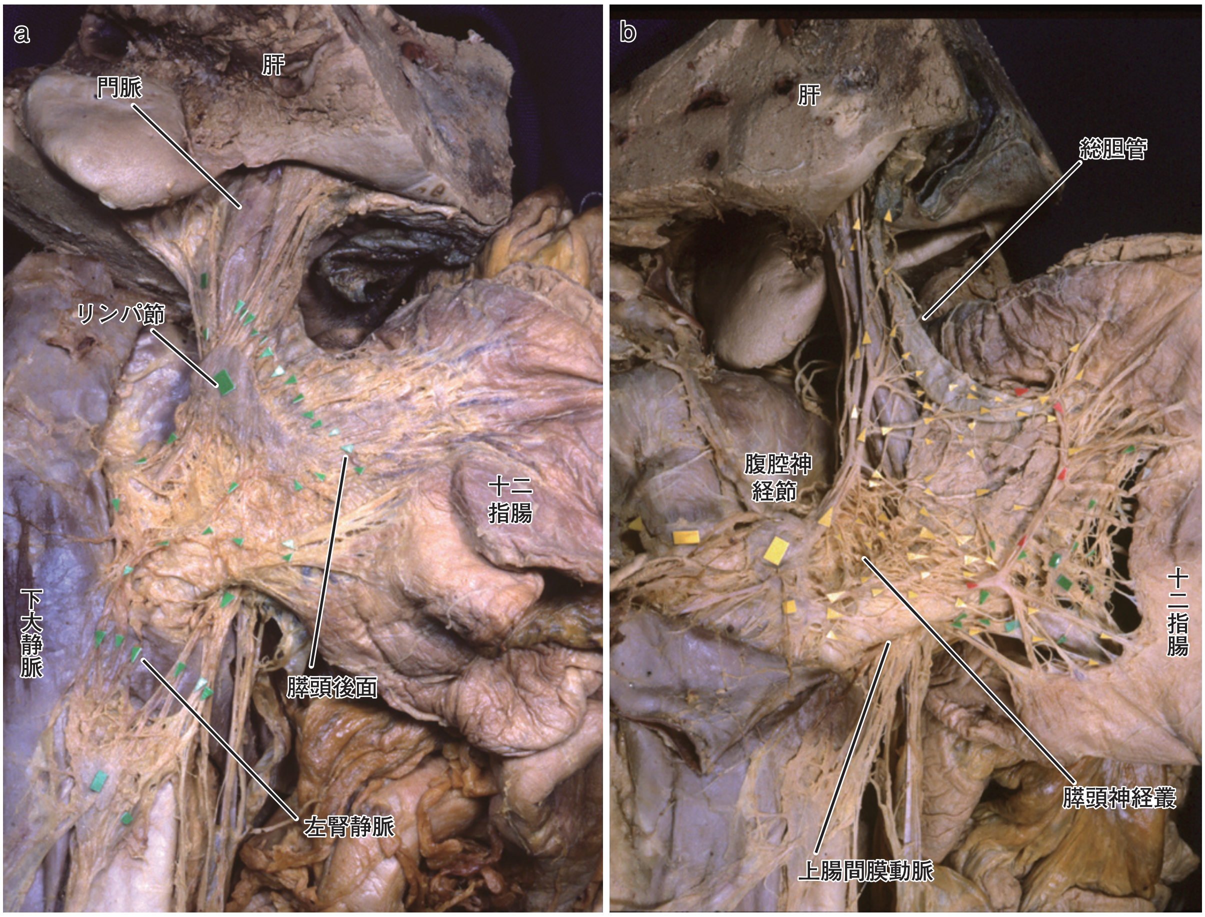


図 16. 膵頭後面のリンパ系と自律神経系の解剖例[8)]
図 15 と同一例．あらかじめ肝静脈を切って肝臓を下大静脈から離脱してから，膵頭十二指腸を左方へ翻転して解剖した．a：リンパ管群の剖出．膵上縁に大きなリンパ節があり，ここから出たリンパ管は左腎静脈の上下で大動静脈間のリンパ節に接続している．b：リンパ管群を注意深く取り除くと，自律神経のネットワークが現れる．

リンパ管群の中継リンパ節としての役割をはたしている．

なお膵頭の後面には，右腹腔神経節から出た自律神経枝が多数進入しており，リンパ管群は神経と錯綜しやすい．リンパ管群を取り除くと自律神経枝が現れる（図 16）[8)]．このようにリンパ系のほうが神経よりも浅い層となっており，いいかえれば，膵臓との密着度は神経のほうが高いのである．

胆嚢のリンパ管は一方で，胆嚢動脈・固有肝動脈・総肝動脈に遡行して腹腔動脈周囲に到達するのは当然である．しかし，ほかにも総胆管右縁，すなわち網嚢孔（Winslow 孔）前壁にみられる二つのリンパ節を介して垂直に下がるリンパ管が認められる（図 17）[13)]．二つのうち上方のリンパ節は網嚢孔リンパ節という．下方の大きなリンパ節は膵頭上縁に接しており，Rouvière は膵十二指腸後部リンパ節の上群（以下，命名者の頭文字をとって R リンパ節と略す）と呼んでいる（図 18）[13)]．胆嚢のリンパ管の一部は垂直に下がり，網嚢孔リンパ節を経由または直接に R リンパ節に流入している．次に，膵頭後面のリンパ節群と R リンパ節などから出た多数のリンパ管も，左腎静脈の上下の高さで大動静脈間リンパ節に流入する．以上から，胆嚢の一部と膵頭後面のリンパ管は大動静脈間リンパ節へ達しており，このリンパ節群の存在意義が認識されるのである（図 19）[2)]．

V．おわりに

胃癌，乳癌などの取扱い規約のリンパ節表示にかかわったことを縁に 1980～90 年代にかけて，旧医学部解剖学第 2 講座では，種々の内臓のリンパ系のマクロ解剖学的研究が主要課題の一つとなっていた．人体解剖学実習で主として対象となる系統は，筋・血管・内臓・脳脊髄神経（第 1 群構造物，仮称）であり，それに対して筋膜・リンパ管・臓側筋膜・自律神経（第 2 群構造物，仮称）は影が薄い．第 1 群に比べて第 2 群は規則性が希薄であり，しかも剖出がむずかしい．解剖とは，第 1 群を剖出するために，結合組織を取り除

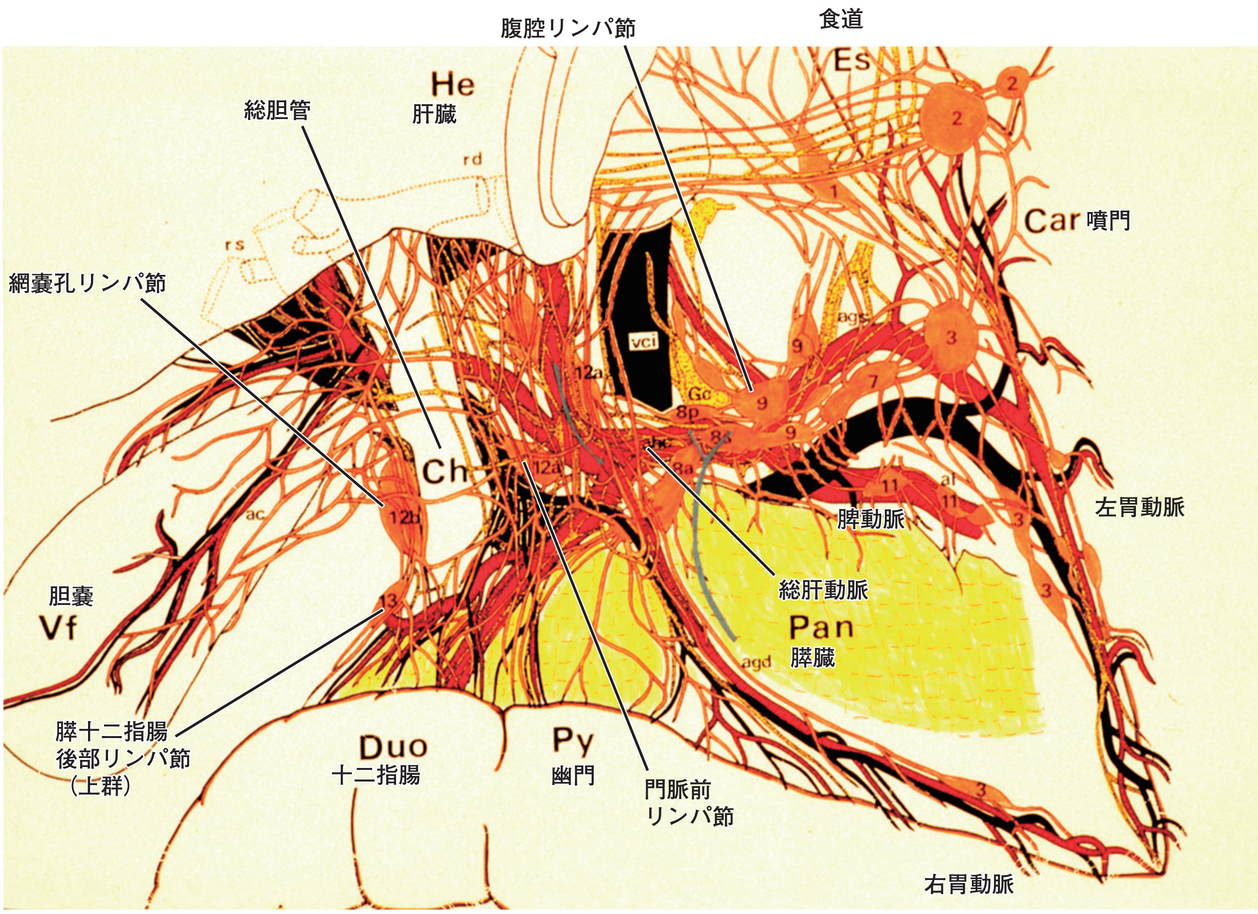


図 17．胆嚢のリンパ系の解剖例（Ito, Mishima, Sato）[13]
前方からみている．総肝動脈に遡行して腹腔動脈周囲に達する斜めのリンパ管群のほかに，垂直に網嚢孔リンパ節に向かって下がるリンパ管も認められる．

くことである，とはよくいわれるところである．そのような態度で解剖に臨めば，第 1 群を剖出する途中で第 2 群が犠牲にされやすいし，また筋膜そのものも結合組織の一形態にほかならない．とりわけ，リンパ管と臓側筋膜，ならびに細かい自律神経枝は解剖学実習で扱う時間的余裕がないに等しい．しかし最近の機能保全志向の癌手術で重要となるのは，むしろ，第 1 群よりも第 2 群の構造物にほかならないのである．したがって，高学年学生，研修医そして若手外科医の臨床解剖学教育には，第 2 群構造物の精細な剖出標本の示説で補い，イメージ形成を支援する必要がある．その目的から，われわれは本文の引用文献をはじめとして多くの所見を収録した「リンパ系局所解剖カラーアトラス」[14] を上梓し，また立体的理解を容易化するために，10 本ほどの動画映像ビデオ/DVD を製作してきた．

本稿に採録した研究は，拡大郭清手術全盛期の仕事であり，現在の縮小手術の時代には無用の長物化してしまったといえないこともない．しかし，拡大時代だからこそ得られた所見を基盤として，縮小手術の新しい術式も案出されているのではあるまいか．要するに，過去があって未来がある，といえようか．ともかく，このようにとるに足らぬ仕事を継続的に行うことは，大学にいるから可能であった．東京医科歯科大学，解剖学教室，献体の会に尊敬の念を捧げるとともに，執筆の機会を与えてくださった『お茶の水醫學雑誌』編集委員会に謝意を表したい．また，剖出所見の転載をお許しいただいた，かつての同僚，佐藤健次，出来尚史，伊藤雅史，坂本裕和の諸先生方に心から感謝申し上げる．そして，「胃癌取扱い規約」と関連した貴重な資料を貸与してくださった愛甲　孝先生（鹿児島大学名誉教授），宮永忠彦先生（医療法人社団親和会鳳永病院理事長）ならびに平山廉三先生（元埼玉医科大学教授）に深謝申し上げる次第である．

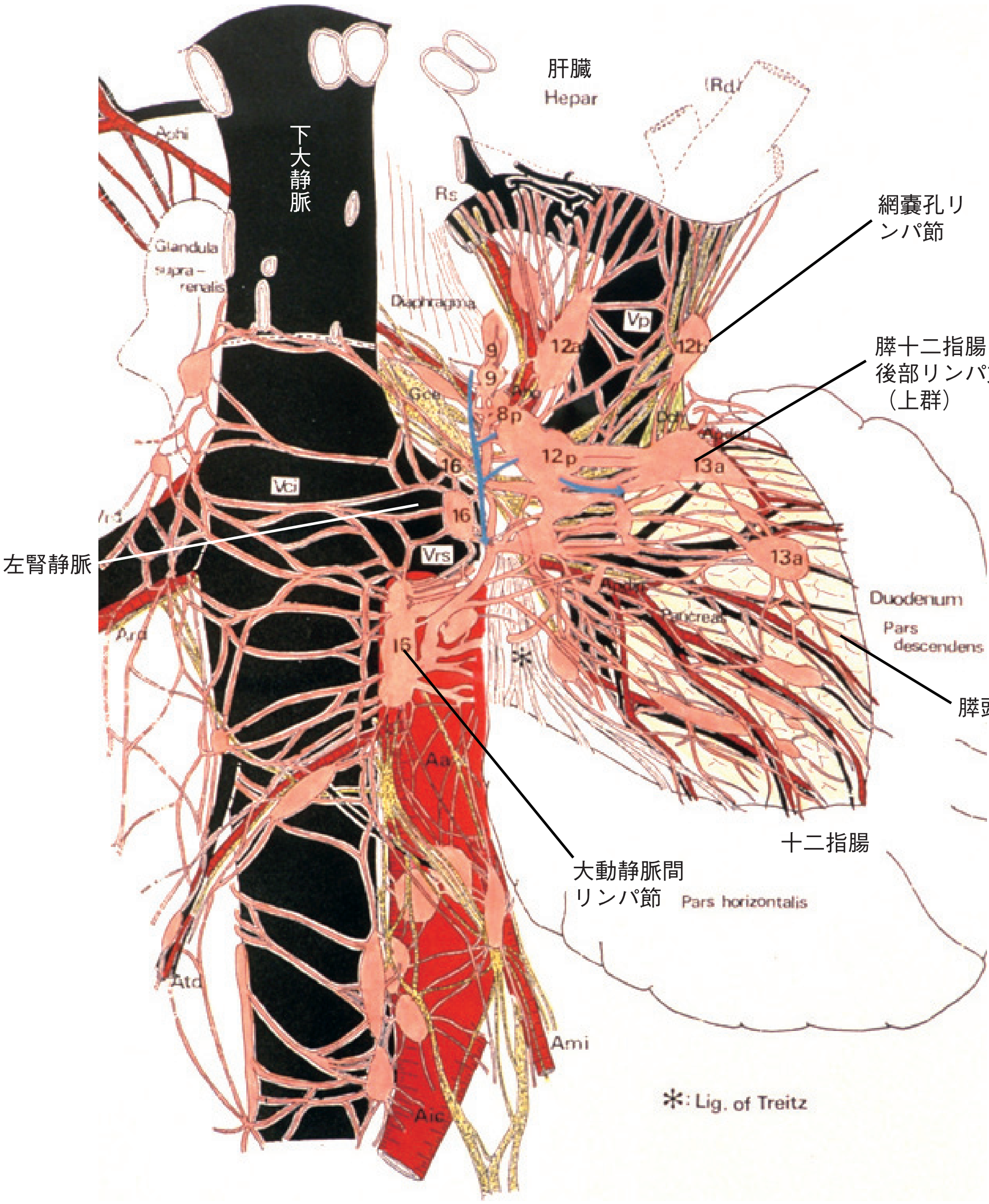


図 18. 胆嚢のリンパ系（Ito, Mishima, Sato）[13)]

図 17 と同一例．肝静脈を切って肝臓を授動化し，肝，肝茎，膵頭，十二指腸をまとめて右前方へ翻転して図示した．網嚢孔リンパ節から膵頭上縁のリンパ節群を経て，左腎静脈上下で大動静脈間リンパ節へいたる経路が解剖されている．

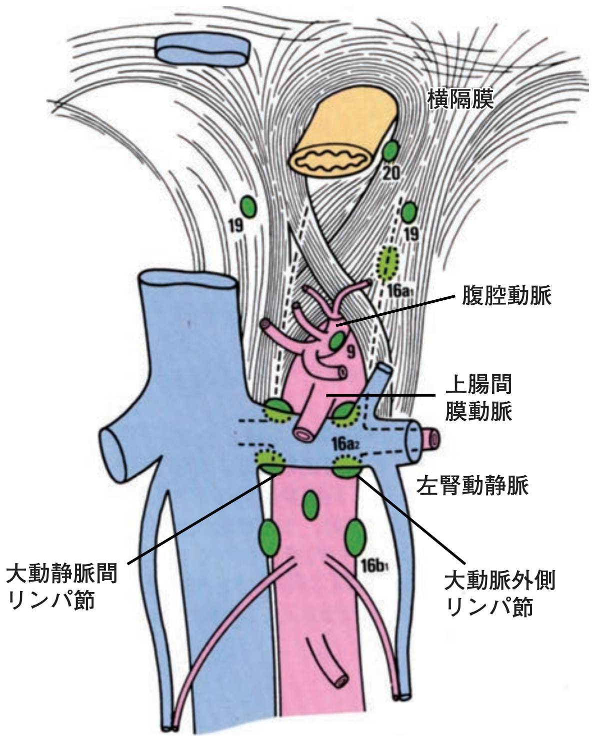


図 19. 大動脈周囲リンパ節群と腎血管との位置関係（胃癌取扱い規約・12 版）[2)]. 原図作成：佐藤健次.
大動脈と左腎静脈が交叉する上下の４隅が重要なことを示している.

文　献

1) 胃癌研究会：「外科における胃癌取扱い規約」の解説. 手術 **17**：951–959, 1963.
2) 胃癌研究会（編）：胃癌取扱い規約, 第 12 版, 金原出版, 東京, p34–51, 1993.
3) 井上与惣一：胃十二指腸, 膵臓並びに横隔膜リンパ管系統. 解剖誌 **9**：35–117, 1936.
4) 胃癌研究会（編）：胃癌取扱い規約, 第 4 版, 金原出版, 東京, p16–27, 1965.
5) Rouvière H：Les lymphatiques de l' homme, Masson, Paris, p294–302, 311–312, 358–361, 1932.
6) 出来尚史, 佐藤達夫：外科医のための局所解剖—大腸（直腸を除く）, その 3. リンパ系と神経. 手術 **38**：721–733, 1984.
7) 佐藤達夫：外科医のための局所解剖—胃, その 3. 静脈・リンパ系・神経. 手術 **38**：337–347, 1984.
8) 佐藤達夫, 坂本裕和：リンパ節解剖カラーフォトアトラス—2. 腹部のリンパ節. 手術 **57**：1371–1378, 2003.
9) 佐藤達夫, 出来尚史, 佐藤健次：胃癌手術における局所解剖, 特にリンパ管について. 手術 **47**：1527–1535, 1993.
10) 胃癌研究会（編）：胃癌取扱い規約, 第 10 版, 金原出版, 東京, p14–25, 1979.
11) 忽那将愛：日本人のリンパ系解剖学, 金原出版, 東京, p147–175, 1968.
12) Deki H, Sato T：An anatomic study of the peri-pancreatic lymphatics. Surg Radiol Anat **10**：121–135, 1988.
13) Ito M, Mishima Y, Sato T：An anatomical study of the lymphatic drainage of the gallbladder. Surg Radiol Anat **13**：89–104, 1991.
14) 佐藤達夫, 佐藤健次, 出来尚史, 村上　弦：リンパ系局所解剖カラーアトラス, 南江堂, 東京, 1997.

Macroscopic anatomy of the lymphatics of the upper abdominal organs with special emphasis on those of the stomach

Tatsuo Sato, MD, PhD

Professor Emeritus, Tokyo Medical and Dental University
President, Tokyo Ariake University of Medial and Health Sciences

Summary
From 1980 to 2000 at the Department of Anatomy (Faculty of Medicine) Tokyo Medical and Dental University we performed cadaveric dissection research of the internal organs for development of cancer surgery techniques. Here we present a pictorial demonstration of the lymphatics of the stomach and surrounding organs. On the lymphatics of the stomach, in addition to the known pathways, we add three other special pathways : 1) lymphatics from the posterior wall of the stomach accompanying the posterior gastric artery to reach the splenic artery lymphatics, 2) lymphatics from the right half of the greater curvature which do not accompany the right gastroepiploic artery to the celiac nodes, rather they descend along the same named vein to reach the upper mesenteric lymph nodes, 3) lymphatics from the cardiac region descend along the left inferior phrenic vessels to reach the upper margin of the left renal vein. Along the upper margin of the posterior surface of the pancreas, developed lymph nodes are seen (upper group of the retropancreaticoduodenal nodes of Rouvière). These nodes receive not only from the pancreas head, but also the descending lymphatics from the gall bladder and then send lymphatics to the interaorticocaval nodes just above and below the left renal vein.

Key words : lymphatics of the upper abdomen, lymphatics of cancer surgery, para-aortic lymph nodes, interaorticocaval lymph nodes, lymphatics of pancreas head

お茶の水醫學雑誌　61：017-035（2013）

加齢と免疫 ── メカニズム，評価と回復

廣川　勝昱　東京医科歯科大学名誉教授
健康ライフサイエンス（東京医科歯科大学オープンラボ内）代表
中野総合病院顧問

要旨：免疫系は感染や癌から体を守るだけでなく，動脈硬化の発生も関与することがわかってきた．したがって，加齢に伴う免疫機能の低下は，加齢に伴うさまざまな病気の発生と深くかかわっている．免疫系は自然免疫系と獲得免疫系に分けることができるが，加齢変化は後者の，とくにＴ細胞に関連した部分に起こりやすい．Ｔ細胞系の加齢変化は胸腺の早期の機能低下・萎縮に始まる．すなわち，胸腺のＴ細胞分化促進機能と末梢への供給は幼小児期にピークがあり，思春期は下降期に入っている．その胸腺機能の早期低下の後，末梢におけるＴ細胞には，①数の減少，②Ｔ細胞亜集団の構成の変化，③増殖能やサイトカイン産生などの質的変化が起こる．こうした免疫系の変化は20歳過ぎから始まり，免疫パラメータによっては，ピーク時のレベルと比べると，40歳代で1/2，70歳代では1/10に低下するものもある．

こうした免疫系の加齢変化は遺伝的にプログラムされているものと考えられるが，感染，ストレス，生活習慣などによるエピジェネティックな要因に強く影響を受ける．遺伝的，およびエピジェネティックな要因は個人差があり，したがって免疫系の加齢変化も，その結果である病気の易罹患性も当然個人差がある．そうなると，個々の人で，健康状態や易罹患性判断するときには，免疫機能の状態を定量的に知ることが必要となる．

そこで，われわれは末梢血液中のリンパ球を用いて，個々の人の免疫系のレベルを定量的に測定する方法を開発した．Ｔ細胞を中心に7～8項目の免疫パラメータを測定し，各パラメータについて，健常人（約500人）から得られたデータベースをもとに，1～3点のスコアを与え標準化処理を行った．それらのスコアを加算したものを免疫力スコアと呼び，個人レベルの総合的免疫力を反映するものと考えた．さらに，Ｔ細胞数とＴ細胞増殖能をもとにして，Ｔ細胞増殖係数（T cell proliferation index：TCPI）という新しい係数をつくった．TCPIは年齢と逆相関があり，TCPIから年齢を算定することが可能となり，それを免疫力年齢と名づけた．

最後に，ヒトにおける免疫力の回復方法について概説した．それらは，①生活習慣の改善，②栄養，③サプリメント，④ホルモン，⑤ワクチン，⑥漢方補剤，⑦，活性化Ｔリンパ球輸注である．どの方法でも回復の程度には個体差があり，人により異なることが明らかであった．

Key words：免疫系，Ｔ細胞系，胸腺，加齢変化，エピジェネティックな要因，定量的免疫力測定，免疫力年齢，免疫力回復，個体差

Ⅰ．はじめに

生物は次世代を担う子孫をつくり終えると，早晩寿命がつきて死ぬ．サケのように，生殖を終えるとすぐ死ぬものもあれば，ヒトのように，子孫をつくり，育てるという生物としての役割がすんでから何十年と生きながらえるものもいる．老化とは，基本的な生物学的役割を終えた個体が死ぬまでの過程であり，形態学的および生理学的な衰退現象ともいえる．一方，加齢変化とは，個体の誕生以降の時間的経過に伴う変化を意味するが，生殖の役割を終えた個体では，加齢変化も老化と同じような意味で使われることが多い．

この老化あるいは加齢に伴う衰退現象は，生体防御の主役である免疫系にも起こる．免疫系の変化は20歳代に始まるので，老化ではなく加齢変化である．免疫系の機能は感染防御だけでなく，癌に対抗し，動脈硬化症にも関連する．また，免疫系は神経・内分泌系

連絡先：廣川（ひろかわ）　勝昱（かついく）　hirokawa.pth2@tmd.ac.jp

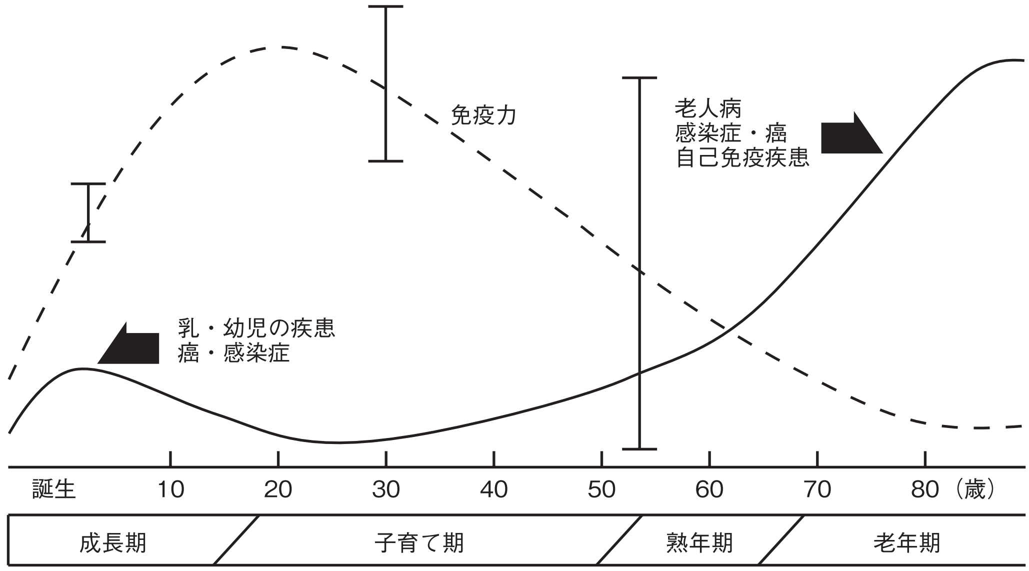


図 1．加齢，免疫力，疾患

加齢に伴う免疫力の変化（点線）．思春期にピークがあり，40 歳代でピークの 50%，70 歳代で 10% に減少する人もいる．しかし低下の程度は個人差が大きく，図中の縦の棒はその年齢における個人差の幅を標準偏差で示した．年齢とともに個人差が大きくなる．実線は病気の頻度を示す．高齢者では感染症，癌，自己免疫疾患が増加する．

と協調し，ストレスに対抗するシステムとしても働いている．したがって，加齢に伴う免疫系の機能低下は，体調不良や種々の疾患の発症と深く関連する．

厚生労働省の統計によると，日本人の三大死因は癌，心臓病，脳血管障害である．これは，医師が役所に提出する死亡診断書をもとにしたもので，ほとんど（97%）は，剖検による死因の確認は行われていない．しかし，剖検例で死因をみてみると，高齢者における第一の直接死因は肺炎などの感染症で，40% 前後になる．癌患者の剖検例をみても，20% は感染症で亡くなっている[1]．こうした事実は，生体防御の中核をなす免疫系が高齢になるに従い，機能低下することが多いことを物語っている．

個々人の免疫機能がどのくらいのレベルにあるかは，外見からでは判断しがたい．疲れやすい，風邪をひきやすい，口内炎がよく起こるなどの自覚症状があって，はじめて異常に気づくこともある．免疫系は，顆粒球やマクロファージからなる自然免疫系とリンパ球からなる獲得免疫系の二つの異なるシステムから構成される．顆粒球系の数は，感染のマーカーとなることもあり必ず測定するが，リンパ球の数に注目することは少ない．しかし，加齢に伴って機能低下を起こすのは，後者のリンパ球からなる獲得免疫系である．したがって，高齢者ではこのリンパ球数に注意を払う必要がある．

好中球やマクロファージからなる自然免疫系は誕生直後から活動し始め，死ぬ間際まで機能する．一方，リンパ球は誕生直後には未熟状態にあり，誕生後に環境にある病原体を含むいろいろな抗原物質にさらされ，刺激されることにより成熟し，有効な機能を獲得するので，獲得免疫系と呼ばれる．この獲得免疫系（以後，免疫系と略称）の機能は生後急速に発達し，思春期にはピークレベルに達するが，その後 20 歳を過ぎるころから徐々に低下し始める．そして，40 歳代でピーク時の 50% となり，70 歳代では 10% 前後にまで低下する人もいる[2,3]（図 1）．ただ，この低下の程度は個人差が大きく，若くても免疫機能の低い人もいれば，高齢者でも高い人もいる．

ヒトの寿命は第二次世界大戦後に急速に延びてきた．日本についていえば，1945 年からの 60 年あまりで，30 歳前後の延びである．それは感染症で死ぬ人が激減したからである．免疫系の第一の役割は，感染に対抗することである．しかし，歴史的にみると免疫系は感染に対しては劣勢であった．100 年くらい前までは，ペストや天然痘などの疫病により多くの人が亡くなったこと，そして 1940 年代までは，結核が死の病であったことなどを考えると，免疫系が感染症に負けていたことがわかる．それらの感染症が著減したのは，①抗生物質の登場，②ワクチンの普及，③栄養の改善による．免疫系の抗感染力はこれらのサポートにより補強され，感染症に打ち勝つことができたのである．その結果は，平均寿命の延長であり，高齢社会の到来で

ある．

現在の日本人の三大死因をみると，癌，心臓病，脳血管障害で，4位に肺炎がある．心臓病と脳血管障害は動脈硬化症が原因であるから，三大死因を癌，動脈硬化症，肺炎を含む感染症といい直すこともできる．40〜60歳代の人が病気で亡くなる場合には，単一の疾患が原因となることが多い．たとえば，それは癌であったり，あるいは心筋梗塞であったりする．しかし，高齢者の場合には複数の疾患をもつことが普通で，病理解剖例でみると，癌があり，動脈硬化症もあって，それに感染症を伴うということがめずらしくない．そして，これらの疾患のいずれもが，高齢者に多い免疫系の機能不全状態が深く関連する[4~9]．

Ⅱ．免疫系の機能不全がかかわる疾患

1．感染症

第二次世界大戦前後に抗生物質が登場し，ワクチンが開発され，さらには栄養状態の急速な改善が加わり免疫機能が補強された．その結果は，青少年〜中年の人達における感染症による死の激減であり，平均寿命の延長であることはすでに述べた．しかし，その結果増加してきた高齢者の多くは，免疫機能のレベルはかなり低い状態にある．抗生物質が有効なのは，もともとある免疫系が機能していることが前提である．その免疫系の機能レベルがきわめて低い場合には，抗生物質も効きにくい状態といえる．

現実に病理解剖例でみると，高齢者では癌や動脈硬化症もあるが，直接死因の第一は感染症であり，そのほとんどは肺炎であることが多い．統計的にみると，インフルエンザウイルスによる死亡例は新生児期と老齢期に多くなる．また，2003年に東南アジアで流行した新型のコロナウイルスによる重症急性呼吸器症候群（SARS）についてみると，感染後の死亡率は高齢者で圧倒的に高くなる．これらのデータも高齢者の免疫機能の不全状態を示している．

日常的に高齢者に起こる肺炎で多いのは誤嚥性肺炎である．これは細菌類を含んだ食物が誤嚥により気道に入ることにより起こる高齢者特有の肺炎である．身体の弱った虚弱高齢者では，①咳・嚥下反射の低下，②捕食・食塊の形成とその移送機能の低下，③口腔内細菌の増加がみられることが多い．そして背景に免疫不全があれば，誤嚥性肺炎は起こるべくして起こるといえる．

2．癌

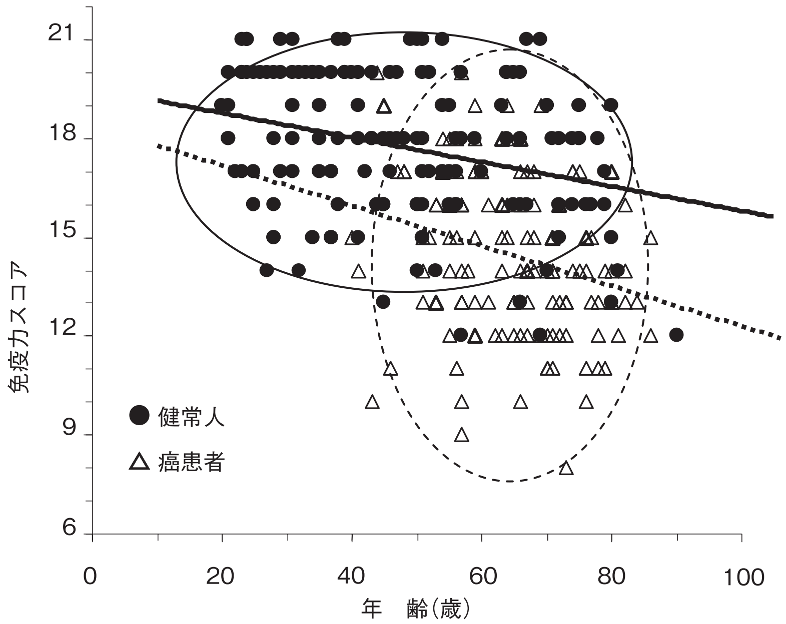
免疫系の本来の機能は自己と非自己を区別することにあり，外から侵入する病原体などは非自己として排除される．癌は細胞に遺伝子異常が起こり，異常に増殖する能力をもったものである．遺伝子異常であるから，正常の細胞とは異なる細胞膜表面抗原（いわゆる癌抗原）を発現し，それが免疫系に認識，攻撃され，排除対象となる．この免疫系による癌を排除する機構を免疫監視機構という．この免疫監視機構で第一に働くのがT細胞で，腫瘍細胞の発現するIDカード（MHCクラスⅠ）の溝の中にある癌抗原を認識して，癌細胞に対する傷害機構が作動する．癌細胞は遺伝子異常が基盤にあるから，MHCクラスⅠを発現しないものもあり，その場合にはNK（ナチュラルキラー）細胞の出番となる．MHCクラスⅠの発現する細胞にはNK細胞は作動しないようになっている．これは自己の細胞を傷つけないための仕組みである．これら免疫監視機能が順当に働いている青少年には，癌の発症は少ない．しかし，この免疫監視機構の能力が加齢とともに低下する中年以降になると，癌の発症が徐々に増加する．繰り返すことになるが，癌の発症も免疫不全状態が背景にあり，癌患者の免疫機能のレベルは健常人に比べて低いほうに偏る[3)]（図2）．

大腸癌の種々のステージにある100人余りの患者について，後述する方法で免疫力を測定してみた．ステージが進行した患者の免疫力が低下しているのは予想どおりであった．しかし，癌がまだ粘膜内にある初期状態であっても，免疫力の有意な低下が，対照群に比べて認められた[4)]（図3）．この結果は“免疫監視機構の低下が最初にあって癌が発症する”ということを間接的に示唆する臨床的なデータである．

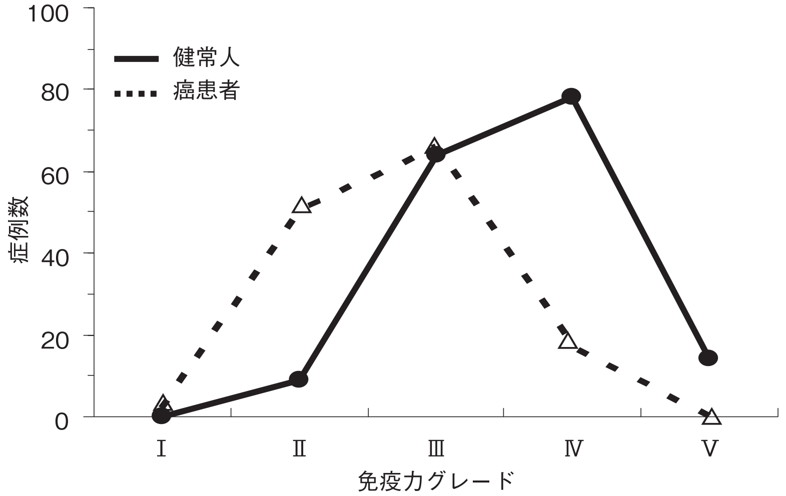
3．動脈硬化症

コレステロールの沈着からなる粥腫（アテローム斑）といわれる病巣が動脈硬化症で一番問題となる．コレステロールは脂肪であるから水には溶けないので，親水性のあるリポ蛋白と結合して運搬される．リポ蛋白の中で高比重のものをHDLといい，低比重のものをLDLという．血管からみると，HDLはコレステロールを運び出し，LDLは血管壁に搬入しアテローム斑の増大につながるので，HDLは善玉，LDLは悪玉ともいわれている．

従来のアテローム形成に関するプロセスは，LDLコレステロールの血管壁内侵入による受動的なものと考えられてきたが，ここ20〜30年の研究により，慢性炎症が深く関与することが明らかになってきた．動脈硬化病変を慢性炎症ととらえる考え方は，古くは150年前の近代病理学の祖といわれたVirchowに始まる．彼は動脈硬化を“慢性結節性動脈内膜炎”と診



a. 免疫力スコアによる比較



b. 免疫力グレードによる比較

図 2.　健常人と癌患者の免疫力スコアと免疫力グレードの比較
　a.　7 項目の免疫パラメータで算定した免疫力スコアによる比較．健常人（●）と比べて，癌患者（△）の免疫力スコアが低いところで分布していることがわかる．
　b.　7 項目の免疫パラメータで算定した免疫力グレードの比較．健常人（●）のピークはⅣにあるが，癌患者（△）のピークはⅢにある．

断した．この仮説は 100 年以上も眠っていたが，最近の細胞工学的進歩により，動脈硬化の病変はコレステロールが単に受動的に血管壁に沈着するのではなく，免疫細胞や種々のメディエイターが関与した炎症性プロセスであり，その中でコレステロール沈着が積極的に進行することがわかってきた．

アテローム形成のプロセスの解明には，動脈硬化が起こりやすい遺伝子改変マウスの作製が大きな進歩をはたした [10]．このマウスの動脈硬化病変を組織学的にみると，泡沫状のマクロファージに加えて，多数の T 細胞が存在することがわかった．このマウスを T 細胞とマクロファージに欠陥のあるマウスと掛け合わせると，T 細胞とマクロファージの両方の細胞がない子マウスができる．そうした子マウスでは，動脈硬化病変が進行しない．つまり，マウスをモデルとした実験的動脈硬化では，T 細胞とマクロファージがアテローム形成に必要ということになる．

T 細胞といえば，ヘルパー T 細胞とキラー T 細胞などがあって，体を守る働きをする役割をはたすのが普通である．しかし，アレルギーの場合には，同じシ

ステムが身体にとって都合のわるい働きをする．また，自己免疫疾患の場合でも，免疫機能に異常が起こり，自己に対して反応することが発症のメカニズムとなっている．動脈硬化病変の場合でも，T 細胞やマクロファージはアテローム形成を助長する方向に加担している．この免疫系のアテローム形成にはたす役割は，アレルギーなどと似ている．事実，マスト細胞などの加担も明らかになっている．しかし，さらに詳しくみると，T 細胞の中にもアテローム形成を促進するものと，それを抑制するものがあることもわかってきた．

一方，B 細胞が主役となる体液性免疫については，アテローム形成を抑制する作用がある．たとえば，変性した酸化 LDL コレステロールは抗原性があり，免疫系を刺激してつくられる抗酸化 LDL 抗体はアテローム形成を抑制する方向に働く．このように動脈硬化症の主要病変であるアテローム班の形成には，免疫系のバランスが関与している．つまり，動脈硬化症も免疫系の機能不全が関与することが次第に明らかになってきた．

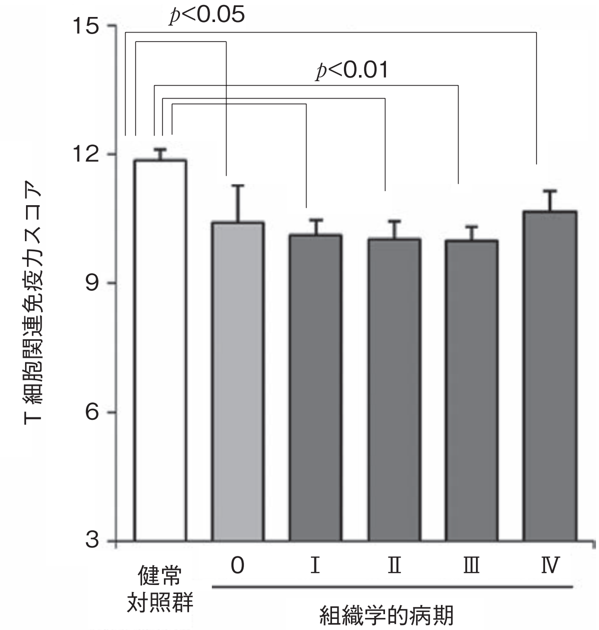


図 3．手術適応大腸癌症例（103 例）の初診時，治療前の T 細胞関連免疫スコア

手術標本上，癌が粘膜内に限局する組織学的病期（0）において，健常人対照例に比べて免疫力スコアの有意な低下が認められる．

Ⅲ．免疫機能の低下要因

人が生まれ，成長し，子孫をつくり，そして老いていく過程は遺伝子レベルでプログラムされている．胸腺萎縮から始まる免疫機能の加齢変化のプロセスも，遺伝子レベルのプログラムの中に含まれる．しかし，個々の人でみると，いろいろな病気になりやすい人，なりにくい人がいる．また，寿命の長短もかなり個人差がある．その個人差は，遺伝子の違いだけではなく，環境の差異が大きく影響している．同じ遺伝子をもっている一卵性双生児でも，環境の違いにより，かかる病気も寿命もかわってくる．つまり，エピジェネティックな修飾である．

エピジェネティックな修飾をもたらすものをもっと身近なものでわかりやすくいえば，それはいろいろな程度の感染やストレスであり，また食事を含む生活習慣といえる．いいかえると，加齢変化をもととし，それに加わる“感染＋ストレス＋生活習慣”が免疫機能の低下要因であり，その結果，個々の人に起こってくる免疫機能のレベルに個人差が大きくなり，発症する疾患パターンに深く関与する．

1．加齢に伴う免疫機能の変化

免疫機能の低下のはじまりは意外と早く，20 歳代から始まる加齢変化である．詳しいことは不明な点が多いが，この加齢変化は遺伝子レベルでプログラムされていると考えられている．

免疫機能の加齢に伴う低下のメカニズムは，おおよそ次のように理解されている[3, 5〜9, 11〜13]．

①免疫系を構成するリンパ球は T 細胞と B 細胞の 2 種類からなるが，機能の低下は T 細胞に依存する免疫機能に主として起こる．それらはたとえば，抗原による T 細胞の増殖反応，キラー T 細胞活性，あるいは T 細胞に依存する抗体産生能（抗 SRBC 抗体産生能）などで，その減少率は最大でピーク時の 1/10 以下のレベルに低下する

② T 細胞機能の加齢変化に先立って，胸腺の機能低下と退縮が起こる．

③一方，B 細胞の機能，たとえば B 細胞の増殖能を反映する LPS 反応性は T 細胞のような大きな変化を示さない．低下してもピーク時の 80〜90% レベルは維持されている．また，骨髄内の B 前駆細胞の減少や抗体の diversity（多様性）の減少が起こる．

④悪性腫瘍に対抗する NK 細胞の活性も加齢とともに低下するが，その程度は T 細胞ほどではなく，大きくても 50% 程度の低下である（図 4）．この場合，NK 細胞数そのものは加齢とともに増加傾向を示す．

このように T 細胞が加齢の影響を受けやすい主な理由は，胸腺の機能低下が幼少時に始まるからである．胸腺の T 細胞産生能力は新生児期にピークがあり，T 細胞の末梢リンパ組織への補充は新生児期を過ぎると急速に低下する．それは，免疫系の別の構成要素である B 細胞やマクロファージが生涯にわたって骨

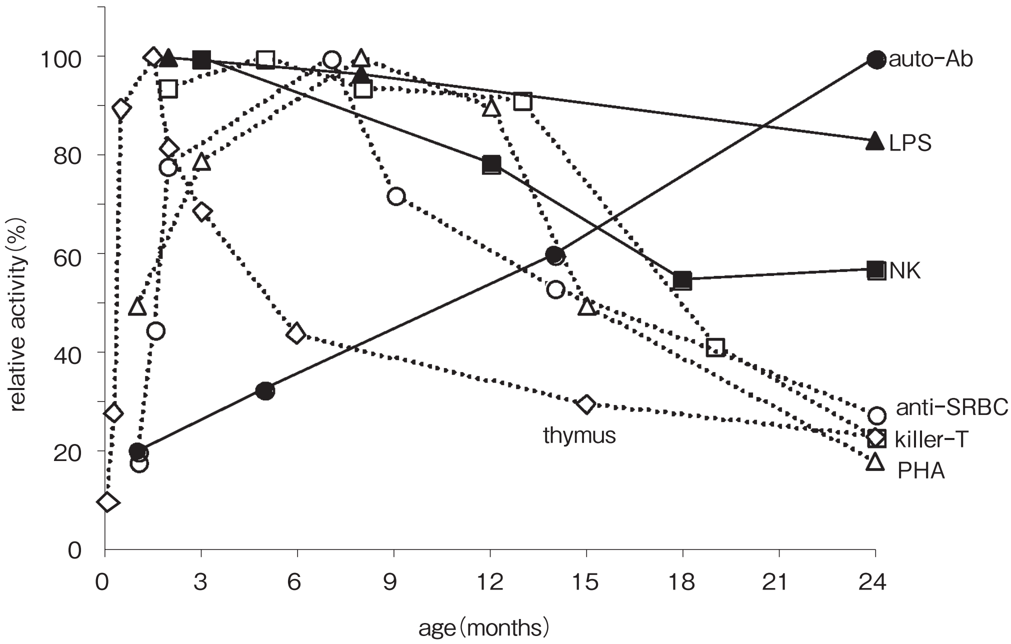


図 4. C57BL/6 マウスをモデルとした加齢に伴う免疫機能の加齢変化

胸腺は 1～2 ヵ月をピークとして急激に退縮する．それにやや遅れて，脾臓 T 細胞の増殖能（PHA），ヒツジ赤血球に対する抗体産生能（anti-SRBC），腫瘍細胞に対する傷害機能（Killer-T）が加齢とともに低下する．NK 細胞（NK）の腫瘍細胞傷害能も低下するが，50% レベルである．また，B 細胞の LPS 刺激（LPS）による増殖能も 10% ほどの低下である．それらとは逆に，血中の自己抗体価（auto-Ab）は加齢とともに増加する．

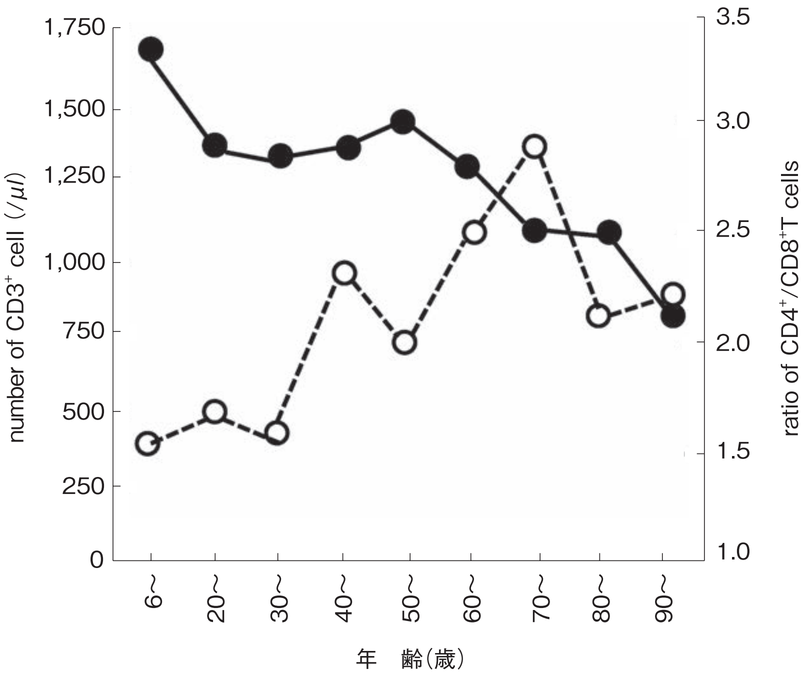


図 5. ヒト末梢血液中の T 細胞の加齢変化

健常人を対象にして，末梢血液リンパ球について調査した結果．黒丸（●）は $CD3^+$T 細胞数/μl で，小児・思春期に高く，成人では一度低下するものの，60 歳代まで安定しているが，70 歳代で低下が始まる．白丸（○）は $CD4^+$T 細胞と $CD8^+$T 細胞の比率（CD4/CD8 比）で，やや上下の揺れがあるが，加齢とともに増加する傾向を示す．

髄から補充されるのとは対照的である．そのために，T細胞は加齢とともに著明な機能低下を示すが，B細胞やマクロファージの加齢変化は比較的軽度なものとなる．

T細胞の加齢変化をさらに細かく解析すると，次のような三つのことがわかる．①T細胞の数の変化，②T細胞サブセットの比率の変化，③T細胞の質の変化である．図5はヒトの末梢血液内のT細胞数とそのサブセット（$CD4^+$T細胞と$CD8^+$T細胞の比）の加齢変化である．これらの中で，T細胞サブセットの変化は，免疫反応の調節に直接影響するので，加齢に伴う免疫機能の変化に大きな役割をはたす．質的変化の中では，T細胞の各種の抗原刺激に対する増殖能力の低下が問題となる．この変化は，抗原刺激を細胞膜から細胞内，そして，核へ伝える細胞内シグナル伝達の傷害による．

a．胸腺機能の加齢変化

胸腺の役割は，骨髄などの造血組織由来のT前駆細胞を胸腺微小環境内で処理し，成熟したT細胞を末梢リンパ組織，血液中に供給することである．この胸腺機能は，T前駆細胞の胸腺内移住，胸腺リンパ球の胸腺内における増殖・分化・選択，成熟T細胞の末梢リンパ組織への移住という3段階のステップからなる[14]．

これらの胸腺機能のピークは新生児期にあり，その後急激に衰退する．そのことは，マウス4週齢で胸腺を摘出し，致死量照射後，骨髄移植を行ったマウス（TXBマウス）に，いろいろな月齢の胸腺を移植するという約40年前の実験で明らかになった．すなわちTXBマウスでは，脾臓にはT細胞はほとんどないが，胸腺の移植によりT細胞が出現する．そのT細胞の数は，移植胸腺の週齢に従って低下するということが示された[15]．マウス（C57BL/6，平均寿命24ヵ月）を用いて，T細胞にマーカーのあるB10.Thy1.1マウスのマウス骨髄細胞を静注して移植するという実験がある．この場合，注射された骨髄細胞由来のT前駆細胞が胸腺内に移住，増殖し，胸腺外に移住してもマーカーがあるので区別できる．新生仔と4週齢の胸腺で比較してみると，T前駆細胞の胸腺内移住は15%，胸腺リンパ球の増殖率は65%，そして胸腺から末梢リンパ組織への移住は6%と激減する[16]（表1）．

このような胸腺機能の早期低下は，ヒトでもエビデンスが得られている．すなわち，白血病などの患者で大量の化学療法を行うと，腫瘍細胞だけでなく，T細胞系のリンパ球を含む血液細胞も激減する．その後の末梢血液中の$CD4^+$T細胞の回復をみると，患者が幼児であると回復は早いが，20歳を過ぎると，明らかに回復が遅れる[17]．これは明らかに胸腺機能の低下を意味する（図6）．

表1．胸腺機能の早期低下に関するマウス実験

	新生仔期（%）	4週齢（%）
T前駆細胞の胸腺内移住#	100	65
胸腺リンパ球の増殖能#	100	15
末梢へのT細胞の移住#	100	6
ヘルパーT細胞誘導能*	100	40
キラーT細胞誘導能*	100	25

#月齢の異なるC57BL/6マウス胸腺内にB10Thy1.1マウスT前駆細胞を直接注入する実験
*ヌードマウスに月齢の異なる胸腺を移植する実験

胸腺から外に移住するT細胞は，胸腺内でTCRの遺伝子レベルのrearrangementを行い，その際使用されないδ遺伝子は断片（T cell receptor excision circles：TREC）として残る．そのTRECは胸腺から移住してきたばかりのT細胞では明瞭に検出され，胸腺から移住してきた直後のT細胞マーカーとなる[18]．このTRECをマーカーとしてヒトの胸腺機能を調べてみると，機能低下はあるが，大人の胸腺でも意外と機能が残っていてT細胞をつくり，末梢リンパ組織に補充していると報告されている[19]．

胸腺機能の加齢変化は，胸腺微小環境の加齢変化に原因がある．それはヌードマウスに新生仔あるいは4週齢マウスの胸腺を移植する実験でテストすることができる．ヌードマウスの骨髄中のT前駆細胞は移植された胸腺に移住し，増殖分化し，脾臓に移住してくる．数のうえでは大きな差はないが，機能的に4週齢胸腺と新生仔胸腺を比べてみると，抗体産生におけるT細胞のヘルパー活性は40%，キラー活性は25%にまで低下する（表1）．さらに同じ実験系で，24ヵ月齢胸腺と新生仔胸腺を比較すると，ヘルパー活性は1/10，キラー活性は1/50に低下する[20]．

T細胞はいろいろなサブセットからなるが，胸腺のつくるT細胞サブセットの構成は加齢により変化する．老齢胸腺では，新生仔胸腺に比べて，$CD8^+$T細胞の供給が減少する．また，$CD4^+$T細胞はCD44^{low}CD45RB^{high}（ナイーブ）とCD44^{high}CD45RB^{low}（メモリー）の二つのサブセットからなる．若齢胸腺の供給する脾臓内の$CD4^+$T細胞はナイーブとメモリーの二つのサブセットを含むが，老齢胸腺の供給する脾臓の$CD4^+$T細胞にはナイーブT細胞の量が少ない[21]．

胸腺機能は神経・内分泌系と深く関連している．一般に，個体の成長期にある新生児期には成長ホルモン（GH）の血中レベルは高いが，幼児期に減少し始め，青年期には1/10に急減する．胸腺機能はGHレベルの高い時期に活発で，GHの低下とともに機能低下が

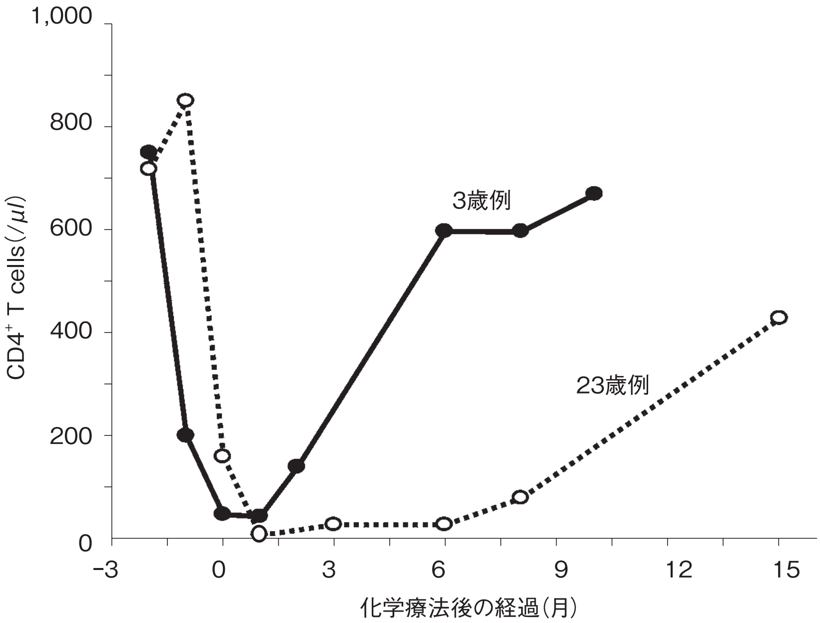


図 6. 悪性腫瘍例における強力な化学療法後の T 細胞の回復の年齢差（文献 17 より引用）

白丸（○）は 3 歳の non-Hodgkin リンパ腫例，黒丸（●）は 23 歳の脳腫瘍例である．いずれも，抗癌薬の投与後，末梢血液中の $CD4^{+}$T 細胞の急激な減少が起こる．$CD4^{+}$T 細胞数は，3 歳の症例では 3 ヵ月で元のレベルに近いところまで回復するが，23 歳の症例では，15 ヵ月経っても元の半分のレベルまでの回復である．

始まる．GH レベルは視床下部によりコントロールされているので，胸腺機能の加齢変化も視床下部のコントロール下にあるといえる[22]．

b．末梢リンパ組織，血液における T 細胞サブセットの加齢変化

胸腺から末梢リンパ組織・血液中に移住した T 細胞は抗原刺激を受け，分裂・増殖し，役目をはたした後，メモリー T 細胞を残す．T 細胞は無数のクローンからなり，その中には対応する抗原に出会わないものもたくさんあり，それはナイーブ T 細胞として残る．長い生涯の間に，いろいろな抗原に出会い，メモリー T 細胞は加齢とともに増加し，ナイーブ T 細胞は加齢とともに減少する[23]．個体差の少ない純系マウス（図 7b）では加齢に伴うナイーブ T 細胞の減少とメモリー T 細胞の増加は，対照的なパターンを示す．しかし，個体差の大きいヒトでは変動があり，70 歳以降ではメモリー T 細胞も減少をたどる（図 7a）．

上述したごとく，胸腺の $CD8^{+}$T 細胞の供給は加齢とともに減少することもあり，脾臓や血液中の $CD8^{+}$ T 細胞の数はマウスでもヒトでも減少する．それは，$CD4^{+}/CD8^{+}$T 細胞比についてみると，加齢に伴う増大として認められる（図 5 参照）．一方，T 細胞の活性化には，副刺激受容体として CD28 が重要な働きを示す．$CD8^{+}$T 細胞で CD28 受容体の発現は加齢とともに減少する[24]．逆にいえば，$CD8^{+}CD28^{+}$T 細胞は加齢とともに減少することになる．ヒトの年齢と $CD8^{+}CD28^{+}$T 細胞の逆相関性は高く，$CD8^{+}CD28^{+}$T 細胞数を計測することにより，年齢を推測することができる．われわれは，$CD8^{+}CD28^{+}$T 細胞数から算出される年齢を T リンパ球年齢として呼び，免疫力の一つの指標として用いている[25]．

T 細胞が刺激されると，いろいろなサイトカインを分泌する．そのサイトカインの産生パターンを基準にして，Th1 と Th2 の二つのサブセットに分類している．Th1 は IL−2，IFN−γを産生し，主として遅延型皮膚反応や腫瘍免疫などの細胞性免疫を担当し，一方，Th2 は，IL−4，IL−5，IL−6，IL−10，IL−13 などを産生し，抗体産生のヘルパー機能を担当し，アレルギーについていえば，亢進する方向に働く．若齢マウスから $CD44^{low}CD45RB^{high}$（ナイーブ）と $CD44^{high}CD45RB^{low}$（メモリー）の二つのサブセットをフローサイトメーターで分画し，サイトカインの産生パターンをみると，ナイーブ T 細胞は Th1 と，メモリー T 細胞は Th2 と近い性質をもつ．しかし，老齢マウスから同様に分画してきたナイーブ，メモリー T 細胞は Th1，Th2 の分類にはあてはまらないサイトカイン産生パターンを示す[26]．サイトカイン産生を指標としてみると，加齢とともに，IL−2 産生は減少し，

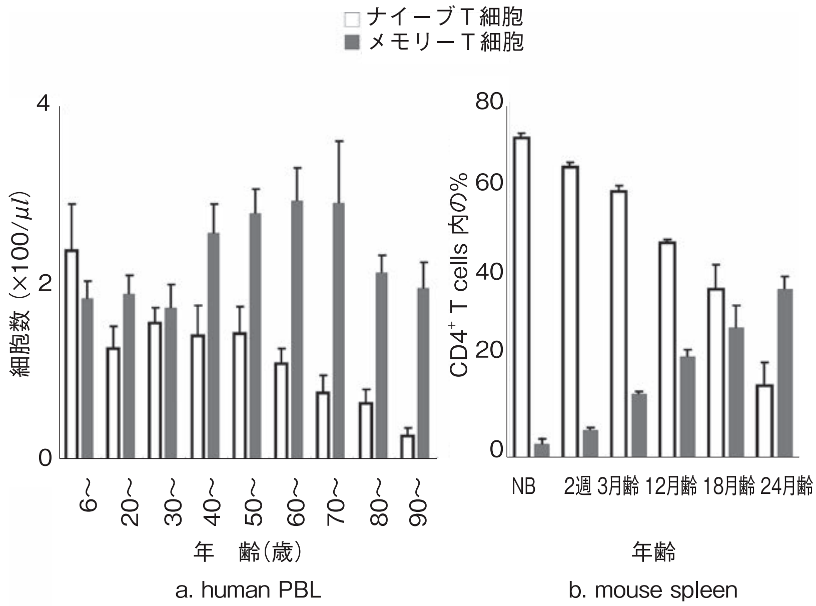


図7．ナイーブT細胞とメモリーT細胞の加齢変化
a：ヒト，b：マウス．どちらも$CD4^+$T細胞内のナイーブT細胞とメモリーT細胞の数（a）と比率（b）をみている．個体差の大きいヒトではやや変動があるが，年齢とともにナイーブT細胞の減少とメモリーT細胞の増加がみられる．80歳を超えると，全体のT細胞の減少に伴いメモリーT細胞も減少する．個体差の少ないマウスでは，加齢に伴うナイーブT細胞の減少とメモリーT細胞の増加が明瞭である．

IL–4，IL–5，IL–6の産生は増加する．すなわち，Th1は減少し，Th2は増加するパターンを示すが，むろんヒトの場合には個体差があり，一概にはいえない．

老化個体における免疫機能の低下は，IL–2産生能の低下によるT細胞増殖能の低下を反映している．また，いろいろな組織内にみられる形質細胞の増加や血清中の免疫グロブリンの増加は，IL–6などのB細胞増殖にかかわる因子の増加を反映していると考えられる[27]．

c．T細胞の加齢に伴う質的変化

T細胞が抗原刺激を受けたときの増殖能の低下とサイトカイン産生能の変化が，T細胞の加齢に伴う質的変化としてみられる．すなわち，老化個体のT細胞では，各種マイトゲン反応，混合リンパ球反応，ヘルパーT細胞活性，IL–2産生などの低下がみられる．静止期にあるT細胞について，T細胞受容体（TCR）の数，IL–2受容体の数，副刺激受容体CD28の数を調べても，加齢変化は検出されない．また，TCRなどへの刺激を増加させても，老齢T細胞の増殖能低下は改善されない．つまり，老齢T細胞では細胞外の刺激を細胞内から核へ伝えるシグナル伝達に異常があることがわかる．

CD3抗体による刺激後，細胞内のセカンドメッセンジャーの産生をみると，老齢T細胞ではIP3（イノシトール三リン酸）やDAG（ジアシルグリセロール）などのセカンドメッセンジャーの産生の低下が明瞭である．IP3やDAGの前駆体であるPIP3（ホスファチジルイノシトール三リン酸）の量には加齢変化がない．しかし，PIP3を分解するPLCγ1（ホスホリパーゼCγ1）の活性化が老齢T細胞では明らかに起こりにくい．PLCの活性化にかかわるZAP–70やfynの活性化も起こりにくいなど，シグナル伝達異常が老齢T細胞にはあることがわかっている[28～31]．

d．制御性T細胞（Treg）

T細胞の加齢に伴う機能低下が，制御性T細胞（Treg）の加齢に伴う増加に起因するという説がある．このTregは$CD4^+CD25^+$T細胞あるいは$CD4^+FoxP3^+$T細胞として検出される細胞群であるが，最近はFoxP3をマーカーとして使うことが多い．マウスでは加齢に伴うTregの増加がリンパ組織ではみられるが，末梢血液や胸腺ではみられないと報告されている．ヒトでは報告が限られているが，皮膚では明らかに増加するという報告がある[32]．われわれは100例以上の担癌例の末梢血液をみているが，$CD4^+CD25^+$T細胞が対照群に比べて増加があり，癌の進展と何らかの関連があるものと考えている[4]．

e. 自然免疫系

ここでは，単球・マクロファージと好中球について，簡単に述べる．

従来は，単球・マクロファージの貪食能は加齢変化を示さないと考えられていた．しかし，TLR（toll-like recepter）とその刺激による各種サイトカイン産生をみることができるようになってからは，加齢変化が起こるとする報告が多くなった[33]．

好中球については，寿命が短く，ターンオーバーが早いので，加齢変化は詳しく観察されていなかった．最近の報告をみると，ケモタキシス，貪食能，活性酸素種産生能などには加齢変化があり，これらは老人における感染に対する抵抗性の低下の一因となっていると説明されている[33]．

f. 老化と自己免疫，

加齢とともに胸腺に依存した免疫機能は低下し，外来抗原に対する応答は低下するが，一方，自己免疫現象は加齢とともに増加する（図 3）．本来，免疫系はその発達過程で自己に反応するクローンは除去するか，あるいはその発現が抑制されている．しかし加齢とともに，自己抗体の産生と自己反応性の T 細胞の出現がみられるようになる．その中のあるものは，自己免疫病としてみられるが，発症年齢は疾患により異なり，全身性エリテマトーデス（SLE）は 20 歳代，関節リウマチ（RA）は 40 歳代，橋本甲状腺炎は 50 歳代にピークがある．

自己免疫病の発生は限られたヒトにしか起こらないが，臨床的には問題にならない程度の自己抗体が血液中で老化とともに健常人でも検出されるようになる[34]．若齢マウスの血清中には自己組織と反応する自己抗体は検出されないが，老齢マウスの血清中には筋肉，神経細胞，肝臓，膵臓などに対するさまざまな自己抗体が検出される．ELISA 法を用いて，特定の蛋白，たとえばサイログロブリン，核蛋白，ケラチンなどに対する自己抗体の量を定量的に測定すると，確実に加齢とともに増加する[35]．

老齢マウスや老人のいろいろな臓器・組織には，巣状のリンパ球浸潤がみられる[36]．こうしたリンパ球浸潤巣は $CD4^{+}$T 細胞からなり，自己免疫的な機序で浸潤巣となっていることは，林らの Sjögren 症候群のモデルマウスの研究で明らかになっている[37]．

2. ストレスにより低下する免疫機能

われわれの身体は，外界からのいろいろなもの取り入れてなり立っている．毎日食べる食物はエネルギー源であり，五感を通して入るさまざまな刺激は，神経・精神を育む情報源で，どちらも身体にとって必須のものである．外界環境中には，身体にとって必ずしも好ましくないものもあり，その代表が病原体を含む各種の微小生物である．これらの微小生物を排除するシステムとして，免疫系があることはすでに述べたとおりであるが，適度な量の微小生物であれば，免疫系の発達に必要である．しかし，量が多かったり毒性が強いと，免疫系が対応できなくなり，感染症として発症する．

神経系に入ってくるさまざまな刺激も適度な量（身体の許容する量）であれば，身体や精神の健康を保つうえで必要な刺激として受容される．しかし，許容限度を超えると内部環境の恒常性を乱すので，それは身体にとってストレスとなる．とくに人間の場合には，“悩み” という精神的ストレスが多いのが特徴である．ストレスとなると神経・内分泌・免疫系が働き，身体全体の反応となり，アドレナリンとグルココルチコイドという二つの物質の分泌が亢進する[38]．

これら二つの物質は，ストレスによってもたらされる内部環境の恒常性を維持するうえで必須なものであるが，免疫系に対しては，抑制的に働く．ストレスによる影響も個人差が大きい．地震や火事のようなできごとは誰にとってもストレスになるが，それでもあまり驚かない人，跳び上がる人など，その影響には個人差がある．また，仕事上の人間的関係は交渉上手な人にとっては問題はないが，苦手な人にとってはストレスとなる．このように，ストレスに対する感受性が人により異なることが，もともと異なる免疫機能の個人差をさらに大きくする一因となっている．そして，さらに重要なことは，ストレス後の回復力の年齢差である．ストレスからの回復は若齢者では早いが，高齢者では遅れる[12]．このことが高齢者における免疫力の低下をさらに大きなものとしている．

3. 不適切な生活習慣

a. 食　事

第二次世界大戦前には，栄養不足が免疫機能を抑制する大きな要因であった．今でも，アフリカの難民にはそうした栄養不足の子どもがたくさんいる．食事が免疫機能に関連することを明瞭に示しているのは，第二次世界大戦後の日本人の寿命の延長である．60 年間で 30 歳も延長したのは，抗生物質が使えるようになっただけではなく，蛋白摂取の増加による免疫機能の改善があったことはすでに述べたとおりである．

その日本で，いまだに栄養不足になりやすいのは高齢者と癌患者である．癌だから仕方がないと放置されることが多いが，癌患者の栄養状態を積極的に改善することにより，生活の質（QOL）が上がってくる．

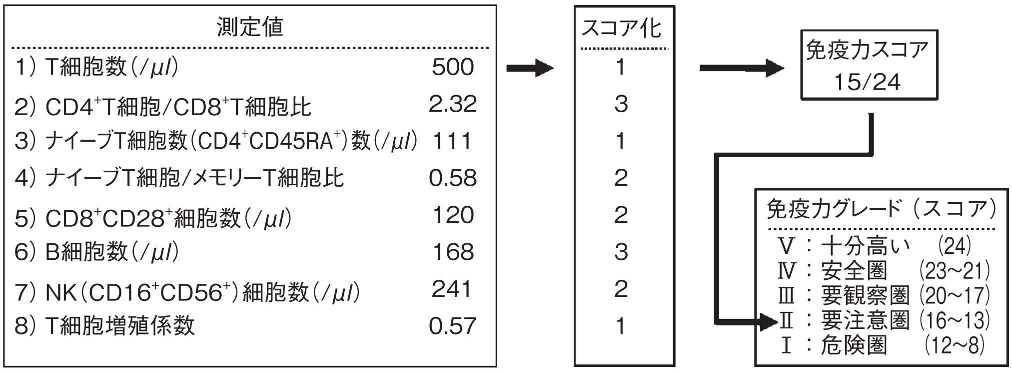


図 8. 免疫力算定手順

免疫パラメーターの測定値は，データベースと照合し，高いものには 3 点（累積度数 40% 以上），中程度には 2 点（累積度数 10〜40%），低いものには 1 点（累積度数 10% 未満）を与え，スコア化する．スコアを総計したものを免疫力スコアとする．さらに，免疫力スコアをさらに対数分布に従ってⅤ，Ⅳ，Ⅲ，Ⅱ，Ⅰの 5 段階に分けた．

若年・中年齢層で多いのは，不規則な食事，栄養素の偏った食事による免疫機能低下である．

b. 運　動

1 日 1 万歩を歩くとよいといわれるが，職場と家の間を交通機関を使って往復するだけでは，1 万歩の達成はなかなかむずかしい．適度な運動の前後で，後述する方法で免疫力を測定すると，かなりの免疫力向上効果があることがわかる．一方において，運動過剰は逆効果で，免疫力は低下することが知られている．

スウェーデンにおいて，40 歳代の 2,000 人以上の一般市民を対象とした 35 年間の追跡調査がある．調査項目は単純で，余暇にスポーツをするかしないかを聞き取り調査をした後に，生存しているかどうかを 35 年間調査したのである．生存カーブをみると，余暇にスポーツをしている群は有意に生存率がよいことがわかった[39]．過剰な運動は別として，適度な運動は免疫機能を維持するうえで必要なのである．ただ，この適度というのは個人差があり，運動をすることが習慣になっている人，そうでない人では，適度な運動量に大きな差がある．

c. 睡　眠

睡眠は気分，体力，免疫力の回復にとって必須である．実際には，睡眠は仕事を含めた生活習慣全般に関連する．働きすぎで眠る暇がないという場合と，悩みが多くて眠れないという場合がある．後者の場合には，適切なストレス解消法が必要である．

このように，加齢に伴う免疫不全状態が加齢変化をもととし，それに“感染＋ストレス＋不適切な生活習慣”などいろいろな要因の重なりから起こり，それが疾患発生の背景にあることがわかってきた．そうなると，個々人で，免疫力のレベルがどの辺にあるのかをみることが必要になってくる．免疫力を定量的・客観的に評価判定する方法を次に紹介する．

Ⅳ. 免疫力の低下やバランスを定量的に判定する方法

われわれは長い間にわたる免疫系と老化の研究で，加齢に伴う免疫機能低下は T 細胞系の機能を中心として起こることを明らかにしてきた．したがって，T 細胞系の細胞数や機能を中心に測定すれば，加齢やストレスに伴う免疫機能低下のレベルの指標になる[40,41]．まず，フローサイトメトリーによる解析としては，T 細胞数，$CD4^+$T 細胞数，$CD8^+$T 細胞数，$CD8^+CD28^+$T 細胞数，ナイーブ T 細胞数，メモリー T 細胞数，NK 細胞数，B 細胞数を測定する．バランスをみるために $CD4^+$T 細胞数と $CD8^+$T 細胞数の比率とナイーブ T 細胞数とメモリー T 細胞数の比率をみている（図 8）．機能的な面で重要なのは T 細胞増殖能である．アレルギーや自己免疫病があり，詳細な解析が必要な場合には，リンパ球を刺激物質の存在下で培養し，その上清中に検出される 10 種類以上のサイトカインを測定している．

個体の総合的な免疫機能を表現するときに，免疫力という言葉を用いている．この免疫力は多種類の細胞のさまざまな機能からなる．しかし，それらの免疫パラメータの数値を羅列しただけではわかりにくいので，おのおののデータに対して標準化という処理を行った．それには，年齢の異なる 1,000 人以上の健常人について多数の免疫学的パラメータを測定し，データベースを作成した．個々の測定値をデータベースと照合して，3 点満点のスコアを与えることにした．高いものは 3，中程度なら 2，低いものは 1 となる．このように，種類も基準値も異なるデータをスコア化することにより，

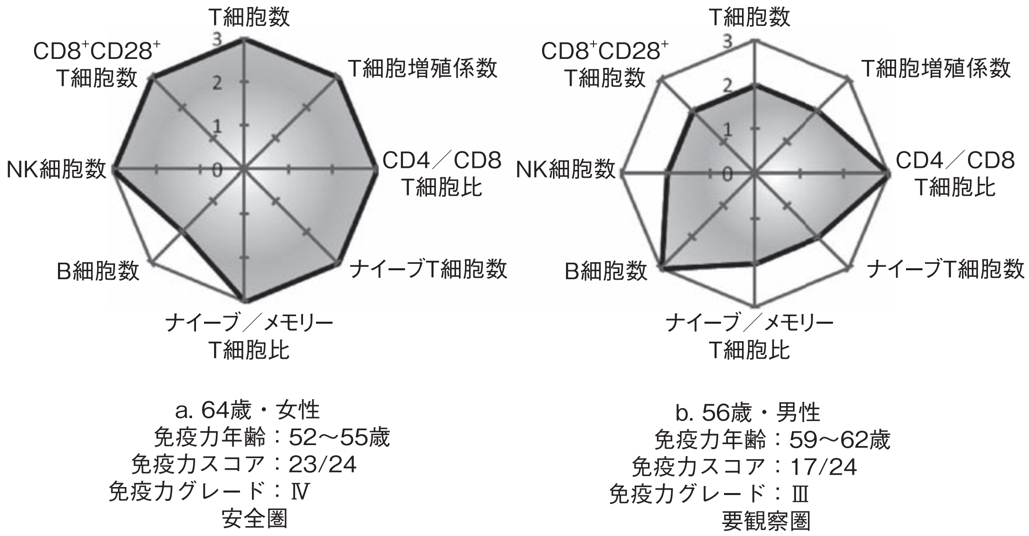


図 9. レーダーグラフによる免疫力の 2 例の表示サンプル
8 項目の免疫パラメータを用いて免疫力を表示した．64 歳の女性（a）では免疫力年齢が 52～55 歳と実年齢より若く，レーダーグラフもほぼ円形に近い．一方，56 歳の男性（b）では，レーダーグラフが縮小し，免疫力年齢も 59～62 歳と実年齢より高くなっている．

それらのデータをまとめて統計的に処理することができる（図 8）．

T 細胞増殖係数という新しい指標を設定した．T 細胞の増殖能は一定数のリンパ球を培養して測定したもので，個体レベルの機能を反映しない．そこで，

T 細胞増殖係数＝T 細胞増殖能×末梢血中 T 細胞数$(/\mu l)\div 1{,}000$

という式を用いて，T 細胞増殖能を個体レベルの指標に変換した．この指標は，個人差はあるが統計的には年齢との逆相関性が高い．この回帰式に，測定した個人の T 細胞増殖係数を代入すると計算上の年齢が得られる．この計算上の年齢について標準偏差（SD）を考慮して，ある程度，幅のある“免疫力年齢”として表現する方法を確立した（図 9）．

CD28 分子はほとんどすべての T 細胞に発現し，T 細胞の活性化に重要な働きをする細胞膜表面分子である．しかし，$CD8^+$T 細胞についてみると，その発現は加齢とともに減少する．つまり，$CD8^+CD28^+$T 細胞数は確実に年齢とともに減少し，年齢と高い逆相関性を示す．この回帰式に個人の $CD8^+CD28^+$T 細胞数を導入することにより，計算上の年齢を求めることができる．それを“T リンパ球年齢”として用いている．上述の免疫力年齢はリンパ球を 3 日間培養して求められるが，T リンパ球年齢はフローサイトメトリーで簡単に得られる．免疫力年齢と T リンパ球年齢の相関性も高く，リンパ球の培養ができないときには，T リンパ球年齢を免疫力年齢のかわりに用いることができる．

ヒトの免疫力を表現する場合，上記のフローサイトメトリーによるデータや T 細胞増殖係数などを含む複数の免疫パラメータの合計スコアを用いることができる．8 項目の免疫パラメータを用いると，スコアの合計は 24～8 点に分布する．この免疫力スコアをさらに対数正規分布により 5 段階に分け，免疫力グレードとした（図 8）．免疫力グレードは図 8 に示すように，Ⅴ：十分高い，Ⅳ：安全圏，Ⅲ：要観察圏，Ⅱ：要注意圏，Ⅰ：危険圏とした．要注意圏とは，免疫機能の回復を図ることが必要なレベルであることを意味する．また，危険圏に入ると，いつ感染が起きても不思議ではないので，できるだけ早く免疫機能の回復を図るべきであり，さもなければ無菌テントを必要とするレベルである．問診で，アレルギー，自己免疫疾患の傾向のある場合は，以上のパラメータに加えて培養下でリンパ球の産生するサイトカインの測定を行っている [42, 43]．

図 9 は，2 人の健常人における免疫力をレーダーグラフで示し，下に実年齢，免疫力年齢，免疫力スコア，免疫力グレードを示した．免疫力年齢は，実年齢より若くなる場合もあれば，逆に上になる場合もあるが，直感的に理解しやすいのが利点である．しかし，あくまでも大まかな目安として用いている．

Ⅴ．個人差の大きい免疫力

このようにしてデザインされた免疫力測定方法で，まず健常人約 500 人について 7 項目の免疫力スコアでデータをとってみたのが図 2a（●）である．一見してわかるのは，データが著しく散布し個人差が大きい

前 目次へ 次

ことである．免疫力スコアは20歳代でみても21〜14の間にあり，60歳代でみても21〜12となる．いいかえると，免疫力は健常人でみる限り，加齢に伴いゆるやかに低下する傾向を示すが，その加齢による影響より個人差のほうが大きい．

それでは，病気になったとき，どうなるかが問題になる．病気の代表として，癌患者（△）についてみると，癌は高齢者に発症することが多いので年齢が高いほうに偏っているが，一見して免疫力スコアが健常人（●）に比べて低いところに分布するのがわかる（図2a）．それらを免疫力グレードで比較すると図2bのごとくになり，健常人（●）と癌患者（△）間の差が明瞭である．と同時に，症例ごとの差が大きいこともみられる．

Ⅵ．免疫機能の回復方法

免疫力が低下していれば回復することが望ましい．この場合も，回復程度をみるには前述の定量的免疫力測定が有用である．免疫力低下をもたらす要因は，前述したごとく，“加齢＋ストレス＋不適切な生活習慣”である．実際に免疫力測定により免疫力低下が判明した人と話をすると，運動習慣を含めた生活習慣，ストレス環境，栄養状態のいずれかに原因があることが少なくなく，まれには，本人も気がつかなかった病気がみつかることもある．免疫力の低下した若年者に多いのは，仕事上の無理が重なったストレスである．高齢者における免疫力低下の原因の一つは加齢であるが，それに加えてなんらかの老人性疾患がある．そして，ストレス環境，生活習慣，食事についても，よく調べる必要がある．健康のためと思ってジムに通っている運動マニアでも，運動が過剰になれば免疫力は低下する．ストレスは避けることのできる場合には避け，不可能な場合には，ストレス解消方法を考える．そして生活習慣や食事などの日ごろの生活態度をかえるだけで免疫力はかなり回復する[44]．

実験的なものを含めて代表的な免疫力回復方法を列挙すると，①生活習慣の改善，②栄養療法，③抗酸化物質などのサプリメント，④ホルモン補充，⑤ワクチン，⑥漢方補剤，⑦活性化自己T細胞輸注，⑧音楽療法がある．

1．生活習慣の改善

この項目については，「Ⅲ．免疫機能の低下要因」の不適切な生活習慣の項（26頁）で述べたので，ここでは詳述しない．ただ，実際に免疫力の低下した多くの人と面談し，生活習慣の改善についてアドバイスしてみてわかったことは，次の二点である．第一は，生活習慣の改善はむずかしいことが多い，第二は，改善ができると，かなり免疫力の回復がみられるということである．

2．栄養療法

免疫力の維持・回復には栄養条件はもっとも大事な点である．栄養失調状態，なかでも蛋白質の摂取不足は免疫力の低下をもたらす．第二次世界大戦後，日本人の平均寿命が延びた原因の一つは蛋白質を中心とした栄養改善であることはすでに述べた．

逆に，カロリー制限が健康によく，寿命を延ばす効果があるというデータもある．はじめは，実験飼育室で飼育されているラット・マウスで給餌制限をすると，病気が少なくなり，寿命が延びるという報告に始まる．飼育室のラット・マウスはふんだんに餌が与えられ，過剰給餌の状態にあり，給餌制限をすれば寿命が延びるのは当然だという意見も多かった．しかし，酵母，線虫，ハエなどの下等生物でも，カロリー制限により寿命が延びることがわかってきた．しかも，その遺伝子解析から，サーチュイン遺伝子という寿命あるいは抗老化に関係する遺伝子が明らかされた．興味あるのは，いろいろな食物の中にあるポリフェノール類がこの遺伝子を活性化することである．免疫賦活作用も期待されているが，いまだ十分に信頼できるデータは得られていない．

米国では，カロリー制限による効果がマウスなどのげっ歯類だけでなく，サルを使った実験でも行われている．研究は現在も進行中で，カロリー制限をされているサルは外見も若くみえ，糖尿病，動脈硬化症などの老化に伴う病気の発症も低くなるが，寿命延長については明瞭ではないと報告されている[45]．

カロリー制限による寿命延長実験でそのメカニズムが明らかになれば，カロリー制限をしなくても，寿命に関連した遺伝子を活性化する物質の服用のみで，ヒトにおいても寿命延長効果やそれに類似した効果が得られると期待されているのである．

現在，メタボリックシンドロームによる健康障害が問題となっている．免疫力からみると，肥満に伴う糖尿病における免疫力抑制は明白である．糖尿病は血管系にわるい影響を与え，動脈硬化を進行させ，腎機能障害や網膜症をもたらす．そして，免疫力にも抑制的な影響を及ぼし，感染症にかかりやすくなることがよく知られている．

免疫力を維持するために必要な栄養条件は，よくいわれているようにバランスのとれた食事である．それを一言でいいかえれば，偏食せず，できるだけいろい

表 2. サプリメントの免疫系への影響

　a 表では 7 人，b 表では 4 人のボランティアで市販のサプリメント A について免疫系への影響をみた．a 表で T 細胞の増加が 7 人中 5 人にみられたが，1 人は不変，1 人は減少した．また，B 細胞数は逆に 7 人中 6 人が減少し，1 人が増加を示した．b 表では，IL–2 産生能が 4 人中 3 人で増加したが，1 人は減少した．逆に，IL–6 産生能は 3 人で低下し，1 人で増加した．このように，サプリメントによる効果がある場合でも，一人ひとりで効果のパターンが異なる．

a. サプリメント A の免疫系パラメータへの影響

免疫指標・機能	増　加	不　変	低　下
リンパ球数	3	3	1
T 細胞数	5	1	1
T 細胞数増殖係数	6	0	1
T 細胞関連指標	5	0	2
NK 細胞数	3	0	4
B 細胞数	1	0	6

b. サプリメント A のサイトカイン産生能への影響

サイトカイン産生能	増　加	不　変	低　下
IL–2 産生能	3	0	1
INFγ 産生能	2	2	0
IL–4 産生能	2	0	2
IL–6 産生能	1	0	3

ろなものを適量食べることである．

　われわれの身体の細胞はグルコースと酸素を使い，エネルギーを産生をしているが，その際に必ず活性酸素種が産生される．身体の中には，その活性酸素種を無毒化する酵素があり，バランスを保っている．しかし，時には無毒化されない活性酸素種が周囲の DNA，蛋白，細胞などを損傷することがあり，それが積もり積もって老化を引き起こすと考えられている[46]．活性酸素種を無毒化する物質は果物や野菜にも含まれており，その代表がビタミン C，ビタミン E，カロテノイド類である．毎日の食事に野菜や果物が欠かせないのは，こうした抗酸化物質の摂取も意味している．

3. サプリメント

　市販されているサプリメントの多くは，活性酸素類を無毒化する抗酸化機能を謳ったものが大分部である．サプリメントは薬品ではなく，食品に区分されるものなので，その効果について，はっきりとしたデータがなくても販売できるため注意が必要である．近年はヒト試験などによりしっかりしたデータをとっているものも増えてきているが，免疫系への影響まで明らかにされているサプリメントはまだ少ない[47〜49]．薬の場合は医師の処方によるので，問題が起これば投薬中止ということができる．サプリメント類の場合には，自分で購入し摂取するので，負の効果があってもそれに気がつかず長々と服用し，健康障害を起こす危険性がある．

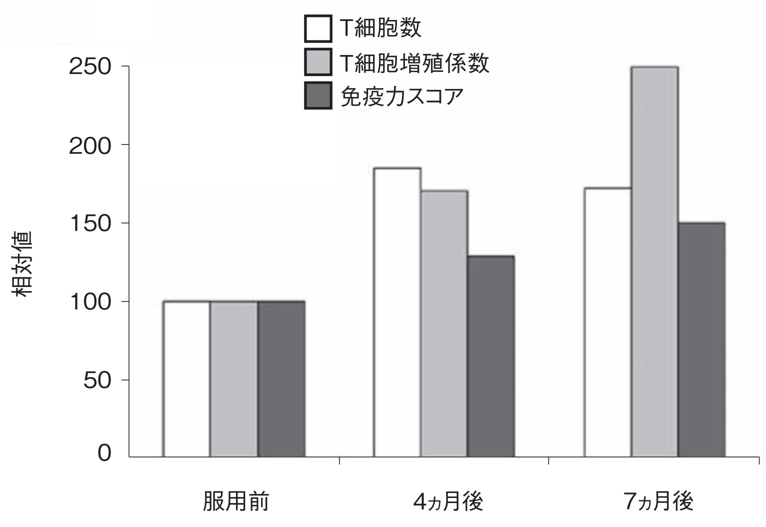
　表 2 は免疫力向上を謳って市販されているサプリメント A を 1 週間ボランティアに服用してもらい，その免疫系への影響をみた結果である．たとえば，T 細胞数は 5/7 例，T 細胞増殖係数は 6/7 例で増加を示すが，低下を示す例もそれぞれ 1 例ずつある．さらに B 細胞数についてみると，T 細胞とは逆で，増加が 1/7 例で，減少が 6/7 例となる．これらの結果から，このサプリメント A は T 細胞系には向上的効果，B 細胞系には抑制的効果をもたらすといえそうであるが，その効果は人によって違いがありそうなことがわかる．同じ実験の 4 人については，リンパ球を培養してサイトカイン産生をみてみた．その結果は，上述の結果をサポートするもので，IL–2 産生の増加が 3/4 例，IL–6 産生の減少が 3/4 例にみられた．このような少人数のボランティアで行う予備試験でもわかることは，サプリメント A の効果には個人差があることで，宣伝文句をそのまま信じて服用することは，サプリメントであっても危険であるといえる．

4. ホルモン補充

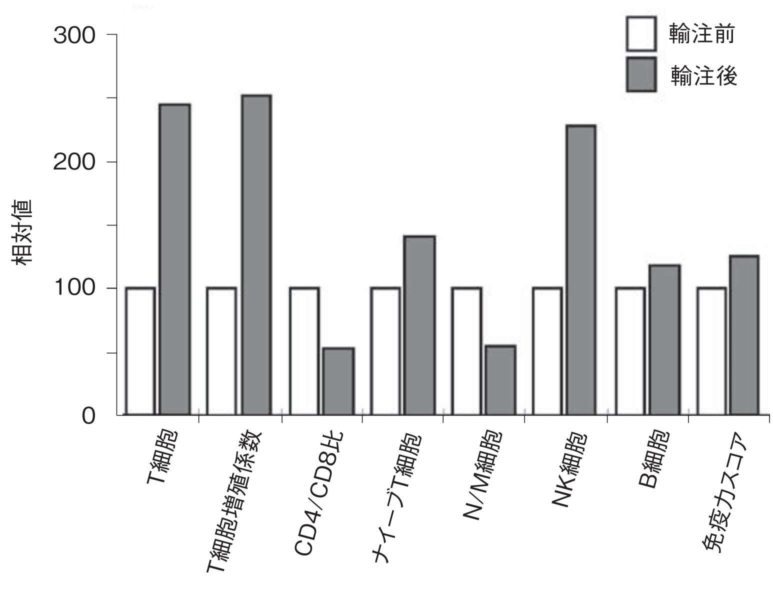
　ホルモンについては，女性についてはエストロゲンによるホルモン補充療法（HRT）がよく知られている[50]．しかし，エストロゲンが乳癌の発生を促進するデータが出て問題になっている．また男性では，男性ホルモンがアンチエイジング療法に使われている．いずれの場合も，免疫力については一致したデータは文献上みられない．また，成長ホルモンも年齢とともに減少することはよく知られており，その補充により，老化の進行が抑制されるという報告もある[51]．しかし高齢者は，前立腺や甲状腺に臨床的にも察知されない潜伏癌をもっていることがある．その潜伏癌が成長ホルモンの投与により成長が促進され，顕在化する危険性があるので注意が必要である．

5. ワクチン

　ワクチンは効きめのわかりやすい免疫賦活方法である．インフルエンザや肺炎球菌に対するワクチンは感染を完全に予防はできなくても，症状を軽減する効用があるのですすめられる．ただし，免疫力の低下している高齢者では，若年者と同様なワクチンの効果を期待できないことがある．この章で紹介したような免疫力回復方法と併用することが必要であろう．



a. 漢方補剤の服用



b. 活性化Tリンパ球静注

図 10. 免疫力回復のみられた例

a. 漢方補剤の服用が免疫力の向上を示した 1 例. 漢方補剤の服用により, T 細胞数, T 細胞増殖係数, 免疫力スコアのいずれもが改善を示した.

b. 癌症例で活性化 T リンパ球を静注した (2 週間ごと計 6 回) 後の各種免疫パラメータの変化. T 細胞数, T 細胞増殖係数, ナイーブ T 細胞数, NK 細胞数の増加が明瞭である. 総合的な免疫力である免疫力スコアの改善も軽度にみられる.

6. 漢方補剤

漢方補剤は副作用のないものが多いので, 服用して免疫力への効果をみる価値がある. 老化マウスを用いて漢方補剤の免疫機能への影響をみたことがある. 免疫機能が十分である若齢マウスでは, その機能をさらに増加させる作用はないが, 免疫力の低下した老齢マウスでは抗体産生能などの免疫機能が有意に増加する[52]. 図 10a は, ヒトに漢方補剤を投与して免疫力を測定した 1 例である. T 細胞数とその増殖能に大きな回復がみられ, 全体的な免疫力スコアも有意な回復を示している. この場合も注意しなければならないのは, その効果には個人差があることである. つまり, 免疫力を測定してチェックしながら, 個人個人に合う漢方補剤を選択する必要がある.

7. 活性化自己T細胞輸注

この方法はLAK療法[53]ともいわれ，癌細胞の殺傷を目的とした免疫療法で20年以上の歴史がある．はじめはIL-2の存在下，増殖した培養T細胞を使っていたが，最近は抗CD3抗体を用いて培養すると1,000倍以上に増殖させることができる．このように，非特異的に増殖したT細胞に特殊な癌細胞を殺傷する効果を期待することはむずかしい．臨床応用例をみると，全身状態の改善がみられるものの，癌が消滅したという報告はほとんどない．しかし，非特異的に増殖したT細胞は多数のクローンを含むので，低下した免疫機能を補うことができる．実験的にマウスでテストしてみると，輸注した活性化T細胞は血液内に残存するものは少ないが，脾臓，リンパ節などでみると5% 前後は残っている[54]．図10bは，癌患者で活性化T細胞の輸注を6回行った後の免疫力評価である．6回目の輸注後1ヵ月でみる限り，T細胞の増加，T細胞増殖能の亢進などがあり，免疫力の回復効果がみられる[4]．

リンパ球は，液体窒素内に長期間凍結保存することができる．健康時あるいは若いときにリンパ球を採取し保存し，病気や老化で免疫賦活が必要になったときに解凍し，培養して使用することができる．いわばT細胞バンクである．状態がわるいときに備えて健康時のリンパ球を用いて，活性化T細胞を調整したほうが増殖能率もよく，免疫賦活効果が期待できる．自分の細胞を自分のために使うので，組織タイプ（HLA）の不一致は問題にならず，免疫賦活のためにも大きな期待がもてる方法である．

8. 音楽療法

音楽を聴くことは，リラックスしてストレスを解消する手段として日常用いられている．その場合，どの程度免疫力に影響するかを調べた研究がある[55,56]．この場合，音楽を聴くのではなく，10人前後の人が集まり打楽器をもって，下手は下手なりに，指導者のもとで音楽を演奏するグループドラミングという方法を用いている．演奏するのは1時間であるが，その前後で比較すると，T細胞数，T細胞増殖能，NK細胞数，リンパ球のサイトカイン産生などの上昇がみられた．1時間のグループドラミングで免疫系のパラメータがある程度動くということは，神経・内分泌系の影響を受けて，身体の中の血液中と組織中のリンパ球の分布に変化が起き，あるいはリンパ球そのものの機能も変化することが考えられる．いずれにしても，免疫系がきわめて可塑性に富んだ組織からなっていることを示唆している．

Ⅶ. ま と め

免疫機能は自然免疫系と獲得免疫系の連携からなり，それぞれがさまざまな機能をもつ多種類の細胞から構成されている．加齢変化は多かれ少なかれ，どの細胞にも起こるが，もっとも顕著な変化は，獲得免疫系のT細胞系に起こる．T細胞系の発達は胸腺機能に依存するが，その胸腺機能は新生児（仔）期にピークがあり，その後，個体の成長とともに機能低下し，ヒトの場合でも，思春期を過ぎると形態的にも萎縮が明瞭となる．この生後意外と早い時期から始まる胸腺機能の低下が，T細胞系の加齢変化が顕著に起こる原因である．個体レベルでみると，免疫機能のピークは20歳前後にあり，40歳代でピークの50% 前後となるが，低下の程度は個体差が大きいのが特徴である．

個体の総合的な免疫機能を評価しようとすると，多数の免疫学的パラメータを測定する必要がある．しかし，その多数の羅列されたデータをみても，総合的な免疫機能を判断することは容易ではない．そこでわれわれは，それらのデータにスコアを与え標準化することにより，複数のデータをまとめて統計的に処理できる免疫力スコアリング法を開発した．この方法により，個々人の総合的な免疫機能を免疫力として，わかりやすい数値で表現することができるようになった．この免疫力スコアリング法を用いることにより，健常人における免疫力の推移が追跡できる．低くなったときは，健康上に問題があることが示唆される．また，病人の場合には，病気の進行状態のチェックにも利用できる．免疫力の低下があればその回復が必要であるが，この免疫力スコアリング法により，いろいろな免疫力回復方法の効果を客観的に評価することが可能である．そして，いろいろな薬剤，サプリメント，食品の免疫系に及ぼす影響も客観的に評価できる．今後測定する事例が増えることにより，免疫力測定の応用範囲が増えるものと期待している．

謝　辞

伝統ある『お茶ノ水醫學雑誌』が模様替えをして再出発するということで，編集担当者からreview articleを執筆するように要請があった．そこで，40年を超える研究を振り返るつもりで，一気に“加齢と免疫”について執筆してみた．1969年の石井教授の第2病理学教室から，米国のMakinodan研究室（1972～1974年），難治疾患研究所（1976～1981年），老人総合研究所（1981～1994年），そして再び大学の病理学教室に戻り（1994～2005年），現在，難治疾患研究所・駿河台棟にオープンラボを借りて仕事を続けている．研究成果はすべて，多くの先輩，同僚，友人，後輩，専門技術者の協力・援助と励ましによるもので，とても一人ではできるような仕事ではない．ここにお世話になった方々のお名前をとくにあげないが，深甚の感謝を申し上げる．また，研究のためということで，多くのわが

ままを許してくれた生涯の伴侶である紀子，そして子供達にはこころから感謝している．最後に，執筆の機会を与えてくれた本誌編集陣に御礼を申し上げる．なお，本稿で紹介した免疫力評価判定法は東京医科歯科大学に譲渡し，知財本部の努力で二つの日本の特許を取得している（特許第4608704，特許第5030109）．

文　献

1）廣川勝昱：老化と免疫．日老医誌 **40**：543–552，2003.
2）廣川勝昱：病気に強くなる免疫力アップの生活術，家の光協会，東京，p1–211，2008.
3）Hirokawa K，Utsuyama M，Makinodan K：Immunity and aging. Principles and Practice of Geriatric Medicine，4th Ed，ed by Pathy MSJ，Sinclair AJ，Morley JE，John Wiley & Sons，San Francisco，p19–36，2006.
4）Hirokawa K，Utsuyama M，Ishikawa T et al：Decline of T cell-related immune functions in cancer patients and an attempt to restore them through infusion of activated autologous T cells. Mech Ageing Dev **130**：86–91，2009.
5）Fulop T，Franceschi C，Hirokawa K et al（ed）：Handbook on Immunosenescence；basic understanding and clinical applications. Springer，New York，2009.
6）Utsuyama M，Kikuchi Y，Kitagawa M et al：Age-related change in subpopulations of peripheral blood lymphocytes in healthy Japanese population. Handbook on Immunosenescence，ed by Fulop T，Franceschi C，Hirokawa K et al，Springer，New York，p203–218，2009.
7）Hirokawa K，Utsuyama M：Neuro-endocrine immune network and its age-related changes. Handbook on Immunosenescence，ed by Fulop T，Franceschi C，Hirokawa K et al，Springer，New York，p709–832，2009.
8）Kitagawa M，Hirokawa K：Aging，cancer and apoptosis in animal models and clinical settings. Handbook on Immunosenescence，ed by Fulop T，Franceschi C，Hirokawa K et al，Springer，New York，p1165–1188，2009.
9）Hirokawa K，Utsuyama M，Kikuchi Y et al：Assessment of age-related decline of immunological function and possible methods for immunological restoration in elderly. Handbook on Immunosenescence，ed by Fulop T，Franceschi C，Hirokawa K et al，Springer，New York，p1547–1570，2009.
10）Hansson G，Hermansson A：The immune system in atherosclerosis. Natureimmunology **12**：204–212，2011.
11）Makinodan T，Kay MMB：Age influence on the immune system. Adv Immunol 29：287–330，1980.
12）Hirokawa K：Understanding the mechanism of the age-related decline of immune function. Nutri Revi **50**：361–366，1992.
13）廣川勝昱：老化と免疫機能．生体の科学 **53**：384–493，2002.
14）桂　義元，廣川勝昱：胸腺とＴ細胞，医学書院，東京，1998.
15）Hirokawa K，Makinodan T：Thymic involution；effect on T cell differentiation. J Immunol **114**：1659–1664，1975.
16）Hirokawa K，Utsuyama M，Kasai M et al：Understanding the mechanism of the age-change of thymic function to promote T cell differentiation. Immunol Lett **40**：267–277，1994.
17）Mackall CL，Fleisher TA，Brown MR et al：Age，thymopoiesis and $CD4^{+}$T-lymphocyte regeneration after intensive chemotherapy. N Engl J Med **332**：143，1995.
18）Ye P，Kirschner DE：Reevaluation of T cell receptor excision circles as a measure of human recent thymic emigrants. J Immunol **168**：4968–4979，2002.
19）Somech R：T cell receptor excision circles in primary immunodeficiencies and other T cell immune disorder. Curr Opin Allergy Clin Immunol **11**：517–524，2011.
20）Hirokawa K，Sato T，Makinodan T：Influence of age of thymic grafts on the differentiation of T cells in nude mice. Clin Immunol Immunopathol **24**：251–262，1982.
21）Kurashima C，Utsuyama M，Kasai M et al：The role of thymus in aging of Th cell subpopulation and age-associated alteration of cytokine production by these cells. Int Immunol **7**：97–104，1995.
22）Hirokawa K，Utsuyama M，Kobayashi S et al：Hypothalamic control of thymic function. Cell Mol Biol **47**：87–102，2001.
23）Utsuyama M，Hirokawa K，Kurashima C et al：Differential age-change in the number of $CD4^{+}$ $CD45RA^{+}$and $CD4^{+}CD29^{+}$ T cell subsets in the human peripheral blood. Mech Age Dev **63**：57–68，1991.
24）Effros RB，Boucher N，Porlter V et al：Decline in $CD28^{+}$ T cells in centenarians and in long-term T cell cultures；a possible cause for obth *in vivo* and *in vitro* immunosenescence. Exp Gerontol **29**：601–609，1994.
25）廣川勝昱，宇津山正典：免疫機能の評価法とその回復について．Biotherapy **23**：1–12，2009.
26）Wakikawa A，Utsuyama M，Wakabayashi A et al：Age-related alteration of cytokine production profile by T cell subsets in mice；a flow cytometric study. Exp Gerontol **34**：231–242，1999.
27）Suzuki K，Hirokawa K，Hatakeyama S：Age-related change of distribution of immunoglobulin containing cells in human bone marrow；changes in patients with benign monoclonal gammopathy and multiple myeloma. Virchow Arch A Pathol Anat Histopathol **404**：243–251，1984.
28）Utsuyama M，Varga Z，Fukami K et al：Influence of age on the signal transduction of T cells in mice. Int Immunol **5**：1172–1182，1993.

29) Utsuyama M, Wakikawa A, Tamura T et al：Impairment of signal transduction in T cells from old mice. Mech Age Dev **98**：131-144, 1997.
30) Hirokawa K：Age-related change in signal transduction of T cells. Exp Gerontol **34**：7-18, 1999.
31) Pawelelc G, Hirokawa K, Fülöp T：Altered T cell signaling in ageing. Mech Age Dev **122**：1613-1637, 2001.
32) Raynor J, Lages CS, Shehata H et al：Homeostasis and function of regulatory T cells in aging. Curr Opin Immunol **24**：482-487, 2012.
33) Panda A, Arjona A, Sapey E et al：Human innate immunosenescence；causes and consequence for immunity in old age. Trends Immunol **30**：325-333, 2009.
34) Hirokawa K：Autoimmunity and aging. Autoimmunity：Basic Concepts：Systemic and Selected Organ-specific Diseases, ed by Cruise JM, Lewis Jr RE, Karger, Basel, p251-288, 1985.
35) Kato K, Hirokawa K：Qualitative and quantitative analysis of autoantibody in aging mice. Aging Immunol Infect Dis **1**：177-190, 1985.
36) Hayashi Y, Hirokawa K：Immunopathology of experimental autoallergicsialadenitis in C3H/He mice. Clin Exp Immunol **75**：471-476, 1989.
37) Haneji N, Nakamura T, Takio K et al：Identification of alpha fodrin as a candidate autoantigen in primary Sjögren's syndrome. Science **276**：604-607, 1997.
38) 廣川勝昱：神経内分泌免疫系のクロストーク．ブレインサイエンス **5**：363-372, 1994.
39) Byberg L, Melhus H, Gedeborg R et al：Total mortality after changes in leisure time physical activity in 50 year old men；35 years follow-up of population based cohort. Br J Sports Med **43**：482, 2009.
40) 廣川勝昱：免疫系の老化と機能回復，特に免疫力評価の重要性について．アンチ・エイジ医 **2**：302-306, 2006.
41) Hirokawa K, Utsuyama M, Kikuchi Y et al：Scoring of immunological vigor；trial assessment of immunological status as a whole for elderly peopleand cancer patients. Immunosenescence, ed by Pawelec G, Landes Bioscience, Austin, p5-23, 2007.
42) 廣川勝昱：食品，サプリメントの免疫機能に及ぼす影響の判定方について．Food Style21 **16**：37-39, 2012.
43) 廣川勝昱：免疫機能の客観的評価判定とその機能回復について．ILSI **109**：5-17, 2012.
44) Hirokawa K, Utsuyama M：Animal models and possible human application of immunological restoration in the elderly. Mech Ageing Dev **123**：1055-1063, 2002.
45) Mattison JA, Roth GS, Beasley TM et al：Impact of caloric restriction on health and survival in rhesus monkeys from the NIA study. Nature **489**：318-321, 2012.
46) Harman D：Aging；a theory based on free radical and radiation chemistry. J Gerontol **11**：298-300, 1956.
47) 藤井文隆，橋本俊嗣，Verbruggen M ほか：エキナセアプルプレア製剤摂取による免疫機能賦活効果．応用薬理 **80**：79-87, 2011.
48) 赤塚耕一，西本富生，澤山道則ほか：FFC パイロゲンスペシャルスリーの免疫機能賦活効果．新薬と臨牀 **60**：1702-1711, 2011.
49) Suzuki N, Yamamoto K, Shiizuka K et al：The Zepri Gold Kiwi ingestion can improve immune strength. J Prevent Med **7**：17-23, 2012.
50) Fahlman MM, Boardley D, Flynn MG et al：Effects of hormone replacement therapy on selected indices of immune function in postmenopausal women. Gynecol Obstet Invest **50**：189-193, 2000.
51) Khorram O, Yeung M, Vu L et al：Effects of [norleucine[27]] growth hormone-releasing hormone (GHRH) (1-29)-NH_2 administration on theimmune system of aging men and women. J Clin Endocrinol **82**：3590-3596, 1997.
52) Utsuyama M, Seidlar H, Kitagawa M et al：Immunological restoration and anti-tumor effect by Japanese herbal medicine in aged mice. Mech Ageing Dev **122**：341-352, 2001.
53) Rosenberg SA：Progress in human tumour immunology and immunotherapy. Nature **411**：380-384, 2001.
54) Hirokawa K, Utsuyama M：Proper assessment and restoration of immunological function for the improvement of QOL and elongation of healthy lifespan in the elderly. Impact of Ageing；A Common Challenge for Europe and Asia. 7-9 June, 2006, Vienna, Austria.
55) Wachi M, Koyama M, Utsuyama M et al：Recreational music-makingmodulates natural killer cell activity, cytokines, and mood states incorporate employees Med Sei Monit **13**：CR57-CR70, 2007.
56) Koyama M, Wachi M, Utsuyama M et al：Recreational music-making modulates immunological responses and mood states in older adults. J Med Dent Sci **56**：79-90, 2009.

Age-related changes of immune system ; mechanism, evaluation and restoration

Katsuiku Hirokawa

Professor Emeritus, Tokyo Medical and Dental University

Summary
The immune system plays a major role in the protection of the body from infection and various diseases including cancer and atherosclerosis. Thus, the age-related changes of the immune system predispose people to various age-related diseases. The immune system consists of innate and acquired immunity, and the age-related changes mainly occur in the latter, especially of T cell-related compartment. Aging of T cell-related immune system is first caused by early decline of thymic function to promote T cell differentiation and to distribute mature T cells to the periphery. Age-related changes of T cells in the periphery consist of 1) a decrease in number, 2) a change in the composition of T cell subsets, and 3) qualitative changes such as proliferative activity and cytokine production.

Age-related decline of the immune system is considered to be primarily determined by genetic program, but thereafter strongly influenced by epigenetic modification which is conducted by infection, stress and various life-styles in daily life. Since the genetic program as well as epigenetic modification are different by individual people, the age-related change of immunological vigor and susceptibility to diseases is quite variable from people to people. It is therefore important to quantitatively assess the immune status of people, especially in the elderly people and patients to know the susceptibility to diseases and prognosis.

Thus we developed a method to quantitatively assess the immune status of individual people using peripheral blood mononuclear cells. We employed 7 or 8 immunological parameters, mainly using T cell related indices. Each immunological parameter is standardized by giving score of 1 to 3 (3 for high, 2 for moderate and 1 for low) according to data base obtained from 500 healthy subjects ranging in age from 20 to 80 years. Sum of scores of those immunological parameters assessed is referred to as score of immunological vigor. Score of immunological vigor is then subdivided into 5 grades and named grades of immunological vigor. In addition, we invented a new index, called T cell proliferation index (TCPI) using T cell number and T cell proliferation activity. Since TCPI is reversely correlated with age, it is possible to obtain "a calculated age" using regression line between TCPI and age. We called the calculated age "immunological age" which is useful for rough and direct image of immune status of each individual.

In the last part, several methods of immunological restoration were introduced ; 1) improvement of life-style, 2) nutrition, 3) supplements, 4) hormone, 5) vaccine, 6) Japanese herbal medicine, 7) infusion of autologous activated T cell. In any case, individual variation is an important factor and the effectiveness of immunological restoration is different from people to people.

Key words : immune system, T cell-related immune system, thymus, age-related changes, epigenetic factors, quantitative assessment of immunological vigor, immunological age, immunological restoration, individual variation

総　説 Review article　　お茶の水醫學雑誌　61：037–047（2013）

ナトリウムポンプのエネルギー変換機構

原　諭吉　　東京医科歯科大学名誉教授

要旨：動物細胞膜の代表的な膜タンパク質である Na^{+}, K^{+}–ATPase は細胞内外に Na^{+} と K^{+} の濃度勾配をつくるイオン能動輸送機構である．このイオンポンプは，ATP の加水分解エネルギーを用いてイオンを電気化学勾配に逆らって輸送すると考えられている．しかし近年，生体分子の1分子解析から，生体エネルギー変換には分子のブラウン運動が重要な働きをしていることが示唆されている．実際のポンプタンパク質には電気化学勾配に抗して直接イオンを移動させる仕組みはどこにもみられず，ATP のエネルギーは，もっぱらイオン結合部位のイオン親和性の変化とイオン通路にあるゲートの開閉に使われているようにみえる．Na ポンプにおけるイオンの移動や ATP によるタンパク質の構造変化の原動力はイオンの熱揺らぎやタンパク質分子のブラウン運動であることが予想される．

Key words：ナトリウムポンプ，能動輸送，アクセスチャネル，ブラウン運動，生体膜，イオン輸送，P型 ATPase，ATPase

Ⅰ．はじめに

Na ポンプは，ATP の加水分解を伴って細胞内外に Na^{+} と K^{+} の濃度勾配をつくるイオン能動輸送機構である．このポンプは細胞の生命維持に必須で，広く動物細胞の細胞膜に発現する．さらに高等動物では，腎尿細管での水再吸収や，ニューロンをはじめとするすべての細胞の膜電位の維持などを通じて個体の生命維持にも深く関与する．Na ポンプは Na^{+}, K^{+}–ATPase とも呼ばれ，ATP の化学エネルギーをイオンの位置エネルギーに変換するエネルギー変換機構の一つである．近年，Na^{+}, K^{+}–ATPase の結晶構造が解析され，イオン結合部位やイオンの通路が推定できるようになった．しかし ATP の β 位と γ 位リン酸間の加水分解に伴う化学エネルギーが，どのようにしてイオンの移動を引き起こすかは不明な点が多い．本稿では Na ポンプのエネルギー変換機構について，研究の流れをたどりながら述べる．

連絡先：原　諭吉　y.hara.mbch@tmd.ac.jp

Ⅱ．能動輸送

能動輸送とは電気化学勾配に逆らった溶質輸送のことで，ATP の加水分解エネルギーや光エネルギーなど，なんらかのエネルギー入力を必要とする．能動輸送を行う輸送体は，生体膜を貫通する膜内在タンパク質でポンプ分子と呼ばれ，とくに ATP を動力源とするものは輸送 ATPase と呼ばれる．生体にはさまざまな輸送 ATPase が発現している（表1）．本稿で扱う Na^{+}, K^{+}–ATPase[1] のほか，近縁なポンプ分子として Ca^{2+}–ATPase[2]（カルシウムポンプ），H^{+}, K^{+}–ATPase[3]（プロトン–カリウムポンプ）や H^{+}–ATPase[4]（プロトンポンプ）などが知られている．Ca^{2+}–ATPase は細胞膜や小胞体膜に発現し，細胞質の Ca^{2+} を細胞外あるいは小胞体内腔に輸送し，細胞質 Ca^{2+} 濃度を 10^{-7}M 程度の低い濃度に保持する．H^{+}, K^{+}–ATPase は胃腺壁細胞（gastric parietal cells）に特有のオルガネラである細管小胞（canalicular vesicle）の膜に発現している．ガストリン刺激によって細管小胞が胃内腔に面する細胞膜に融合することにより，H^{+}, K^{+}–ATPase は細胞膜に移行し，細胞質から胃内腔に向かってプロトンを輸送する．酵母や細菌などの単細胞生物や植物細胞の細胞膜には H^{+}–

表 1．イオン輸送 ATPase の分類

タイプ	ATPase	輸送イオン	機能・特性
P 型	Na^+, K^+–ATPase	Na^+, K^+	E1–E2 型とも呼ばれる
	H^+, K^+–ATPase	H^+, K^+	リン酸化中間体（EP）を経由
	Ca^{2+}–ATPase	Ca^{2+}	活性中心の配列；CSDKTGTL
	H^+–ATPase	H^+	
	Cu^{2+}–ATPase	Cu^{2+}	
V 型	V_0V_1–ATPase	H^+，Na^+	リソソームや液胞の酸性化，ナトリウムポンプ（原核生物），ATP 合成（原核生物）
F 型	F_0F_1–ATPase	H^+，Na^+	ミトコンドリア，クロロプラストやバクテリアで ATP 合成，ナトリウムポンプ（原核生物）

ATPase が発現し，細胞内 H^+ を細胞外に排出し，その結果，細胞内外に生じた H^+ 濃度勾配は H^+ 共役輸送体（H^+–coupled transporters）を介して，糖やアミノ酸などの栄養分子の取り込みや，Na^+ や Ca^{2+} などの細胞外への排出の動力源として利用される．これらの輸送 ATPase は一次構造，生体膜との位置関係，活性中心の構造や反応機構に共通性があり，とりわけ活性中心の保存性の高い配列（Cys–Ser–Asp–Lys–Thr–Gly–Thr–Leu）と，そのアスパラギン酸残基（下線部）に ATP の γ 位リン酸が転移してアシルリン酸結合を含む反応中間体をつくることから，phosphorylation に因んで P 型 ATPase と呼ばれる[5]．また後述するように，2 種の酵素型（E1 と E2）を行き来することで酵素反応が進行するために，E1–E2 型 ATPase とも呼ばれる．

これに対し，分子構造や反応機構を異にする V 型 ATPase と呼ばれる一群のイオンポンプが酵母の液胞膜（vacuolar membrane）に見出された[6]．V 型 ATPase はミトコンドリアやクロロプラストの F 型 ATPase（F_0F_1–ATPase）と近縁で，分子構造や反応機構が酷似する[7]．F 型と V 型には回転するサブユニットが分子内に存在し，F 型ではイオン流を回転トルクに変換し，さらにタンパク質の構造変化を介して ATP 合成を行うが，V 型では逆に．ATP の加水分解エネルギーをタンパク質の構造変化を介して回転トルクに変換し，さらにイオン流に変換する[8]．高等動物では，V 型 H^+–ATPase はリソソーム膜やエンドソーム膜などの細胞内膜に発現しオルガネラ内腔の酸性化にかかわるが，破骨細胞では骨吸収窩に面した細胞膜の波状縁（ruffled border）に発現して酸分泌にかかわる．バクテリアでは V 型 H^+–ATPase に加えて，Na^+ の排出を行う V 型 Na^+–ATPase[9] や，ATP 合成を伴う V 型 ATPase も知られている（表 1）．

Ⅲ．Na ポンプの起源と生理機能

生命は自己を再生産し続けることができる有機体で，その内部では生体分子の合成，遺伝物質の複製やエネルギー代謝など生命維持のためのさまざまな化学反応が営まれる．そのため反応に適したイオン環境が要求される．DNA 複製やタンパク質合成にかかわる酵素の多くが K^+ を要求するために，われわれの体を構成する細胞の細胞質は高 K^+，低 Na^+ であるが，これは生命が発生した 35 億年前の原始海水のイオン組成に由来すると考えられている．多細胞生物が発生した 10 億年前の海水の Na^+ 濃度は 0.9 % で，われわれの体液の Na^+ 濃度にきわめて近い．これは当時の海水中で，真核細胞塊とともに周りの海水をそのまま包み込んで多細胞生物が発生し，その海水の組成が現在の高等動物の内部環境として残存していると考えられる．

H^+–ATPase は生物界に広く存在することから，P 型 ATPase の中ではもっとも早く発生したイオンポンプで，代謝に伴って発生する H^+ の排出を行っていたと予想される．また，細胞内外に生じた H^+ 濃度勾配を動力源とし，H^+ 共役輸送機構によって栄養分子の取り込みや不要分子の排出が行われていたと考えられる．H^+–ATPase と H^+ 共役輸送機構は発生当初の真核細胞にも発現しており，Na^+ の排出は H^+ との共役輸送で行われていたに違いない．実際，現存する多くの生物に Na^+/H^+ アンチポーターと H^+–ATPase が一緒に発現しており，原核生物および陸生植物細胞では，H^+ 共役型 Na^+ 排出機構が Na^+ 排出の主たる経路となっている（図 1）．真核細胞が原始海水中で発生し，次第に海水の Na^+ 濃度が上昇するに従って細胞に染み込む Na^+ が増え，細胞内を低 Na^+ に維持するためには，Na^+ を強力に排出する必要が生じてきた．ATP の化学エネルギーを直接利用する Na^+, K^+–ATPase は高いエネルギー効率と大きなターンオーバー数をもつ強力な Na^+ 輸送機構であるが，触媒サブユニットの一次構造と反応機構の類似性から，真核細

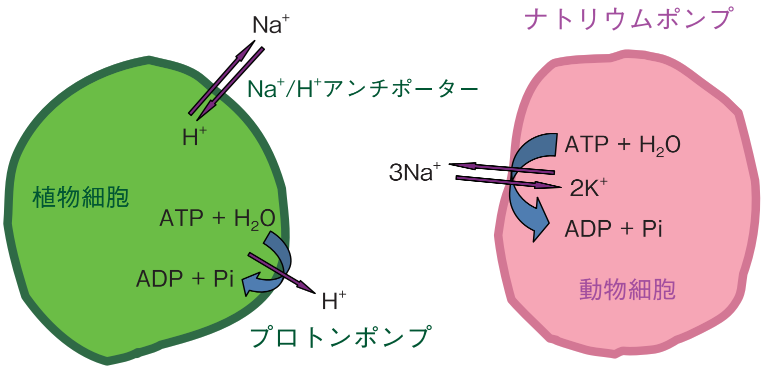


図 1. Na^+イオン排出機構
動物細胞では Na ポンプが，植物や原核生物では Na^+/H^+アンチポーターが細胞内 Na^+の排出に働く．

胞がすでに有していた H^+–ATPase から派生したと予想されている．ナトリウムポンプをもつようになった真核細胞はさまざまな Na^+共役輸送機構を発達させ，潤沢な ATP 産生と相俟って細胞の進化に寄与したに違いない．

Ⅳ．Na^+, K^+–ATPase の発見

1957 年，デンマーク Arhus 大学の生理学者 Skou は，カニ神経のミクロソーム（膜画分）に Na^+と K^+の共存によって大きく活性化される ATPase 活性を発見し，細胞膜を越えて Na^+と K^+の能動輸送にかかわることをはじめて示唆した[10]．また，Na^+と K^+の能動輸送の特異的阻害剤であるウワバイン（ouabain）が，この ATPase 活性を特異的に阻害することも間もなく見出された．続いて Ca^{2+}–ATPase，H^+, K^+–ATPase，H^+–ATPase などのイオン輸送 ATPase とイオン能動輸送との関係も次第に明らかになり，生体膜はエネルギー変換の場として重要であることが認識されるようになった．以降，イオン輸送と ATP 加水分解との共役についての研究が精力的に行われた．Skou は，これらの功績により 1997 年度ノーベル化学賞に輝いた．

Ⅴ．Na^+, K^+–ATPase の精製と分子構造(図 2)

精製の出発材料には，Na^+, K^+–ATPase の発現の高い組織である脳，腎臓，発電器官などが用いられる．東京医科歯科大学の中尾らは，ブタ脳の膜画分をヨウ化ナトリウム（NaI）で処理することによって，比活性の高い Na^+, K^+–ATPase 標品を得る方法を見出した[11]．この酵素標品はウワバイン非感受性 ATPase 活性が低いため酵素活性の測定がしやすく，反応動力学研究によく用いられた．その凍結乾燥品が試薬メーカー（Sigma-Aldrich 社，St. Louis）から現在も販売されている．脂質二重層にしっかり埋まっている膜内在タンパク質の精製には界面活性剤を使う必要がある．Copenhagen 大学の Jørgensen らは，ATP 存在下で低濃度のラウリル硫酸ナトリウム（SDS）を用いて膜を処理して Na^+, K^+–ATPase 以外の分子を溶かし去り，膜を回収することによって従来よりも飛躍的に高比活性の酵素標品を得る方法を開発した[12]．この標品は SDS–enzyme と呼ばれ，以降，世界中のラボで用いられるようになり，Na^+, K^+–ATPase 研究の進展に大いに寄与をした．精製によって，Na^+, K^+–ATPase は αと β の二つのサブユニットから構成されることが明らかになった．αと β の会合した分子はプロトマーと呼ばれ，ダイプロトマー すなわち $\alpha_2\beta_2$ が単位となって膜に存在する．α は分子量 100 K

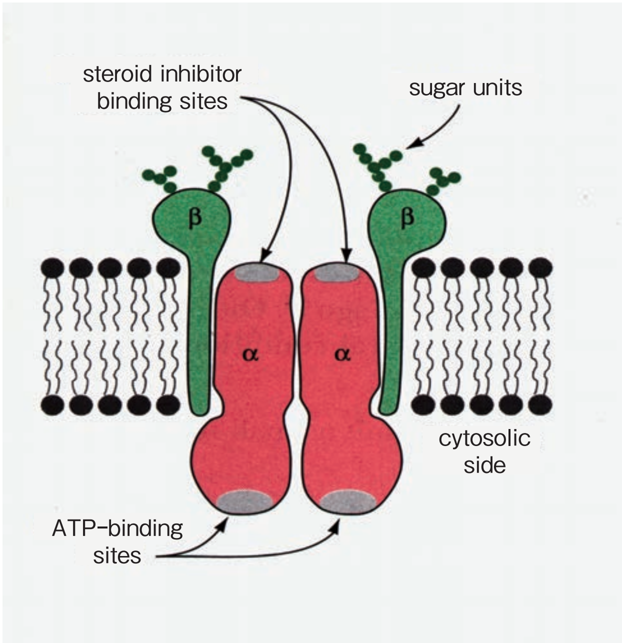


図 2. Na^+, K^+–ATPase の分子構造（Stryer L：Biochemistry, 4th Ed, WH Freeman, New York, 1995 より引用）
赤は α サブユニットを，緑は β サブユニットを表す．

のタンパク質で，10個の膜貫通ヘリックスを有し，触媒サブユニットとしてATPase活性，イオン結合能やウワバイン結合能などにかかわる配列を有する．一方，βは分子量50 Kの糖タンパク質で，短い細胞質ループと1個の膜貫通ヘリックスを有し，大部分は細胞外に存在する．βは新生αの安定性と細胞膜移行に必須であるばかりか，Na^+, K^+–ATPaseのK^+結合にも重要であることが報告されている．また，βアイソフォームの$\beta 2$はグリア接着因子としても知られている．腎臓，軟骨魚類の直腸腺やカモ類の塩腺などのNa^+, K^+–ATPaseにはγサブユニットと呼ばれる1回膜貫通型の脂溶性ポリペプチドが存在し，ポンプ活性を制御する[13]．γは細胞や組織の機能に応じてポンプやイオンチャネルの活性を微調整するFXYDタンパク質ファミリーに属することが知られている[14]．SDS–enzymeを用いて酵素反応に伴うタンパク質構造変化が研究され，プロテアーゼ切断パターンの違いから，後述するようにE1（Na^+結合型）とE2（K^+結合型）の少なくとも2種の構造をとることも明らかにされた[15]．

Ⅵ．反応経路とリン酸化中間体

1960年，Na^+, K^+–ATPaseがATP–ADP交換反応を示すことから，Skouはリン酸化中間体を経由してATPase反応が進行することを示唆した[16]．1962年，米国Vanderbilt大学のPostは，［γ–^{32}P］ATPを基質に用いてリン酸化酵素（EP）を作成し，EPがATPase反応の中間体であることを示した[17]．また，このリン酸化のリンは，活性中心のアスパラギン酸側鎖のカルボキシル基にアシルリン酸として結合をしていることも明らかになった[18]．酵素反応の解析は，もし反応中間体がみつかれば，その消長がどのような条件で起こるかを明らかにすることによって大きく進展する．とりわけイオン要求性を調べることにより，ATPase反応とイオン輸送との共役の仕方がわかると期待された．EP量を指標にしたATPaseの反応動力学解析から，反応機構がまもなく明らかになった．下記の反応図は，反応機構の解析で重要な働きをした2人の研究者の名前を冠して“The Post–Albers scheme”と呼ばれている[19,20]．

Na^+, K^+–ATPaseは少なくとも4種の酵素種を経由して反応が進行する．E1とE2は反応性や構造を異にする酵素種で，E1PとE2Pは，E1とE2それぞれのリン酸化型酵素種を表す．E1とE1PはNa^+に高い親和性があるが，K^+には低い親和性を示す酵素種で，一方，E2とE2PはNa^+には低いが，K^+には高い親和性をもつ酵素種である．E1はNa^+存在下でATPによってリン酸化されE1Pとなる（反応1）．続いてE1PはE2Pに構造変化をしてイオン親和性を大きくかえる（反応2）．E2PはK^+存在下で加水分解を起こし，リン酸（Pi）を放出してE2になる（反応3）．E2はATPの存在下で構造変化を起こしてE1に戻り，酵素反応が一巡する（反応4）．

$$\mathrm{E1+ATP} \xleftrightarrow{Na^+} \mathrm{E1P+ADP} \qquad \text{（反応 1）}$$

$$\mathrm{E1P} \longleftrightarrow \mathrm{E2P} \qquad \text{（反応 2）}$$

$$\mathrm{E2P+H_2O} \xrightarrow{K^+} \mathrm{E2+Pi} \qquad \text{（反応 3）}$$

$$\mathrm{E2} \xleftrightarrow{ATP} \mathrm{E1} \qquad \text{（反応 4）}$$

Ⅶ．イオン閉塞状態とイオン輸送機構

次に解決すべき問題は，ATPase反応経路がイオン輸送とどのように共役をしているのかであった．筆者らは，E1PとE2Pをそれぞれ分けて定量する方法を開発し，E1PからE2Pへの変換に伴って3個のNa^+が協同的に酵素から遊離することを見出した．また，Na^+に対する見掛けの解離定数がきわめて大きいこと（Kd = 0.57 M）から，反応2が細胞外へNa^+を遊離する反応段階であると考えた[21]．同じころ，反応4に伴って酵素からK^+が遊離すること，およびE2にはK^+が強固に結合し，おそらく分子内にイオンを閉じ込めたイオン閉塞状態（ion occluded state）[20]であることが，英国Cambridge大学生理学教室のGlynnらの巧みな実験によって証明された[22]．彼らは，Na^+, K^+–ATPase（以下，酵素）と放射性$^{42}K^+$の混合物を陽イオン交換カラムに通すことによって，酵素に結合していない遊離$^{42}K^+$を迅速に除き，溶出された酵素液の放射線量から$^{42}K^+$結合量を調べた．カラム流速をかえることにより，酵素とイオン交換樹脂の接触時間をかえて，酵素から$^{42}K^+$が遊離する速度を測定した．その結果，① E2からのK^+遊離速度は，蛍光プローブ法で測定したE2→E1変換速度と同じであった．② ATPによってE2→E1構造変化を促進すると，K^+の遊離速度も増大した．これらのことから，E2状態の酵素からはK^+は遊離しないが，E1に変換してはじめてK^+が遊離すると結論し，反応4のE2→E1が細胞質へのK^+遊離ステップであることを示唆した．閉塞K^+イオンを（K^+）で表し，イオンの出入りを加えて反応4は次のように表される．

$$\mathrm{E2\ (2K^+)} \xleftrightarrow{ATP} \mathrm{E1 + 2\ K^+}$$

酵素 E2 に結合しているイオン閉塞状態の K^+ は，溶媒中の K^+ と交換反応を起こさないため，K^+ はポンプ分子内部に閉じ込められていると予想された．すなわち Na ポンプによる K^+ 輸送の過程で，細胞外から K^+ をイオン結合部位に入れて外側のゲートを閉め，いったんポンプ分子内に閉じ込めてから，次に細胞質側のゲートを開けて K^+ を放出することが予想された．両方のゲートが閉じたイオン閉塞状態はゲートを交互に開け閉めする場合に必然的に生じる状態であるが，熱揺らぎなどにより，両方のゲートが万が一にも同時に開くのを防止するためにも，イオン閉塞状態を経ることは好都合であると考えられる．

それならば，Na^+ 輸送の場合にもイオン閉塞が生じるかもしれない．E1P→E2P に伴って Na^+ が細胞外に遊離するので，E1P で Na^+ のイオン閉塞ができると予想した．筆者らは Glynn らと共同で，Na^+ 閉塞状態の探索を始めた．E1P⇄E2P 変換速度を遅くした改変酵素標品を用いて，放射性同位体 $^{22}Na^+$ 存在下で E1P をつくり，E1P に結合した $^{22}Na^+$ がイオン閉塞状態であることを，前述の迅速イオン交換カラムを用いて明らかにした．また $^{22}Na^+$ 遊離速度は，E1P→E2P の構造変換速度と一致することも明らかにした．これらのことから，細胞質の Na^+ は E1P でイオン閉塞となってポンプ分子内に閉じ込められ，E2P への構造変化に伴ってイオン結合部位が細胞外へ開き，かつ Na^+ に対する親和性が下がることによって Na^+ が細胞外へ放出されると解釈した[23,24]．したがって反応 2 は，

$$\mathrm{E1P(3Na^+)} \longleftrightarrow \mathrm{E2P + 3Na^+}$$

と書き表せる．

Na ポンプでイオン閉塞が見出されたのが契機となり，Ca^{2+}–ATPase でも Ca イオン閉塞の存在が確認され，イオン閉塞状態は P 型 ATPase に共通なイオン輸送中間体と考えられている[25]．イオンの挙動を含めた ATPase 反応経路を図 3 に示す．

Ⅷ．cDNA クローニング

1985 年，自治医科大学の川上，京都大学の沼らのグループがシビレエイ発電器官から[26]，米国 Cincinnati 医科大学 Shull らのグループはヒツジ腎から[27]，それぞれ Na^+, K^+–ATPase α サブユニット cDNA のクローニングに成功し，10 個の膜貫通部位，リン酸化部位や ATP 結合部位などの機能ドメインの一次構造がはじめて明らかになった．その後 β サブユニットの構造も解析され，構造–機能相関の解析が始まった（図 4）．

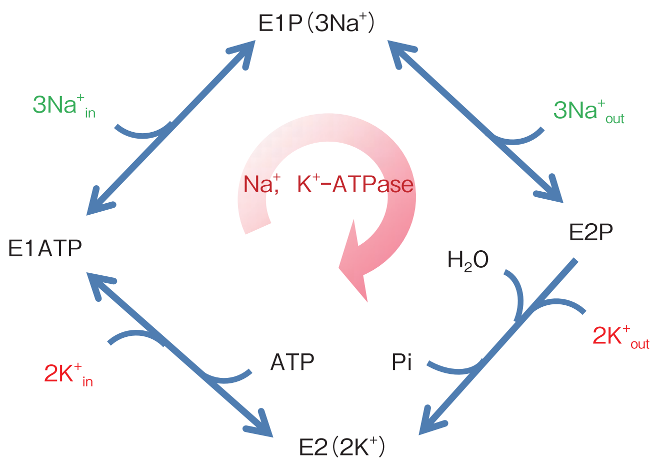


図 3. Na^+, K^+–ATPase とイオン輸送との関係
（ ）のイオンは閉塞状態を，イオンの添字の in と out は細胞質と細胞外を，円弧の矢印は ATPase 反応の進行方向を示す．

α と β のアイソフォームの探索も進み[28]，ヒトでは α が 4 種（α1, α2, α3, α4），β が 3 種（β1, β2, β3）見出され，それぞれ組織および発達ステージ特異的な発現をすることが明らかになった．α1 と β1 はもっとも基本的なアイソフォームで，ヒトのすべての細胞に発現する．一方，α2 や α3 は興奮性組織に発現する．近年 α2 の点変異が家族性片麻痺偏頭痛で，α3 の点変異が急性発症ジストニアーパーキンソン症候群でそれぞれ見出され，病因とのかかわりが議論されている．その詳細は藤川らの総説[29]を参照されたい．また配列類似性をもとにしたクローニングによって，Ca^{2+}–ATPase や H^+, K^+–ATPase などの P 型 ATPase ファミリーの cDNA クローニングが相次いで行われ[30]，構造上の共通点が次第に明らかになった．また Na^+, K^+–ATPase α サブユニットと一次構造が酷似するタンパク質が原生生物や古細菌の一部にも見出され，イオンポンプの起源や進化の研究も始まった[31,32]．P 型 ATPase ファミリーの配列データベースが web 上で公開されている[33]．

Ⅸ．立体構造の解析とイオン結合部位

2007 年，デンマークのグループによって Rb^+（K^+ の代用）を結合したブタ腎 Na^+, K^+–ATPase の結晶構造が 3.5 Å の解像度ではじめて解析された[34]．α サブユニットの N–末端付近と β サブユニットの大部分を占める細胞外ループの構造は解析されなかったが，膜貫通へリックス，K^+ 結合部位や γ サブユニットの構造などが明らかにされた．2009 年，東京大学分子細胞生物学研究所の豊島らのグループは，Rb^+ 結合型サメ直腸腺 Na^+, K^+–ATPase の構造を 2.4 Å の解像度で解析した[35]．同グループがすでに明らかにし

前 目次へ 次

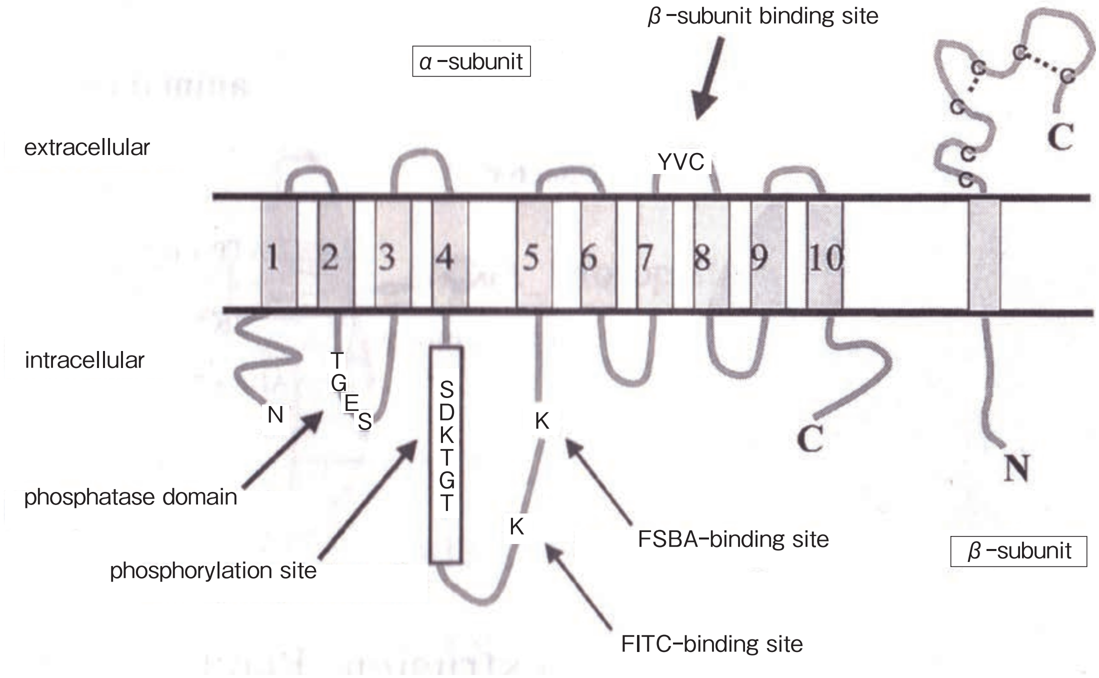


図 4. Na ポンプの一次構造と膜との位置関係
FITC（fluorescein isothiocyanate）と FSBA（5'-[*p*-fluorosulfonyl] benzoyladenosine）は P 型 ATPase の阻害試薬．N と C は N 端と C 端を，数字は α サブユニットの膜貫通部位番号を，点線はジスルフィド結合を表す．

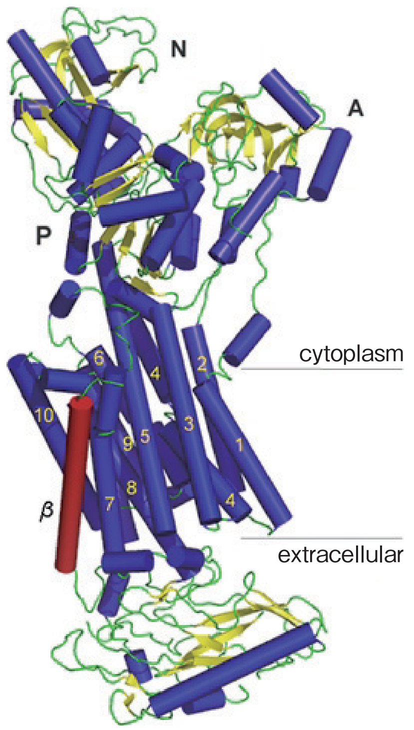


図 5. Na ポンプの立体構造（αβ プロトマー）
サメ直腸腺 Na^+, K^+-ATPase の立体構造．A，N と P はそれぞれ細胞質ドメイン A，N と P を，数字は膜貫通部位番号を表す．ヘリックス部分は円柱で，β サブユニットの膜貫通ヘリックスは赤の円柱で表示をした（PDB ID：2ZXE から引用）

ていた筋小胞 Ca^{2+}-ATPase と全体の構造はきわめて類似し，A，N と P の三つの細胞質ドメイン，10 個の膜貫通ヘリックスがみられ，さらに 2 個所の K^+ 結合部位，細胞外に大きく突出した β サブユニットなどが観察された（図 5）．K^+ 結合部位は細胞膜内の細胞質に近い部分に位置し，細胞外表面との間には膜貫通ヘリックスがイオンの通路を形成すると予想された．β サブユニットの膜貫通ヘリックスが K^+ 結合にかかわることもわかり，β サブユニットは K^+ 輸送に重要であることが示唆された．さらに同年，ウワバインを結合した Na^+, K^+-ATPase の結晶構造が同グループにより解析され，ウワバインは細胞外からイオンの通路を通して K^+ 結合部位まで入り込み，イオンのアクセスを妨害することが示された[36]．

X．電気生理学とアクセスチャネル

Na ポンプは $3Na^+$ と $2K^+$ を交換する起電性イオンポンプであるため，Na ポンプ活性を膜を横切る電流として検出することができる．Na ポンプを発現する細胞を全細胞モードのパッチクランプ法あるいは細胞内電極法を用い，電圧クランプ法によって膜電位を一定に保持するのに要する電流として測定する．複数のグループが Na ポンプの電流-膜電位の特性を明らかにした．膜電位が −80mV の静止膜電位付近ではポン

プ活性は低いが，膜電位の上昇とともに活性が増加し，0mV 以上で最大活性に達する傾向がみられた．その解析などから，イオン結合部位と細胞膜外表面との間で，イオンの動きが膜電位の影響を強く受けることが示唆され，イオン結合部位と細胞膜外表面との間には狭いイオンの通路，アクセスチャネル（high-field access channel）が存在することが予想された[37,38]．

XI．イオン輸送機構

ATPase の反応機構からイオン閉塞状態の存在が，立体構造解析からイオン結合部位とイオンの通路の存在が，電気生理学的研究からはアクセスチャネルの存在が示唆されている．これらの知見からイオン輸送機構を推定すると次のようにまとめることができる[39,40]．Na ポンプは二つのゲートとその間に挟まれたイオン結合部位からなり，イオン結合部位は膜内の細胞質よりに存在し，細胞外表面との間にはイオンの通路であるアクセスチャネルが存在する．Na ポンプは，ATP の加水分解に伴ってゲートの開閉とイオン親和性変化を起こすイオンチャネルとみなすことができる（図 6）．

E1 と E1P は Na^+ に対する親和性が高く，一方，

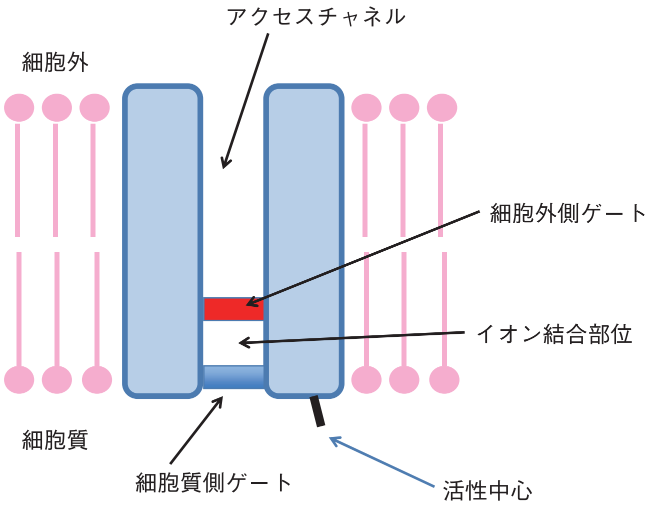


図 6．Na ポンプの概念図
Na ポンプは，機能的にはイオンの通路，イオン結合部位とそれをはさむ二つのゲート（青と赤）から構成される．ピンク部分は細胞膜を，細胞質側の突起は ATPase の活性中心を表す．

E2 と E2P は K^+ に対する親和性が高い酵素種である．図 7 下段右は E1ATP 状態で，細胞外に面するゲート（赤色）は閉じているが，細胞質側のゲート（青色）は開き K^+ を放出している．K^+ が遊離後入れかわりに細胞質の Na^+ が結合し（図 7 下段中央），Na^+ 結合部

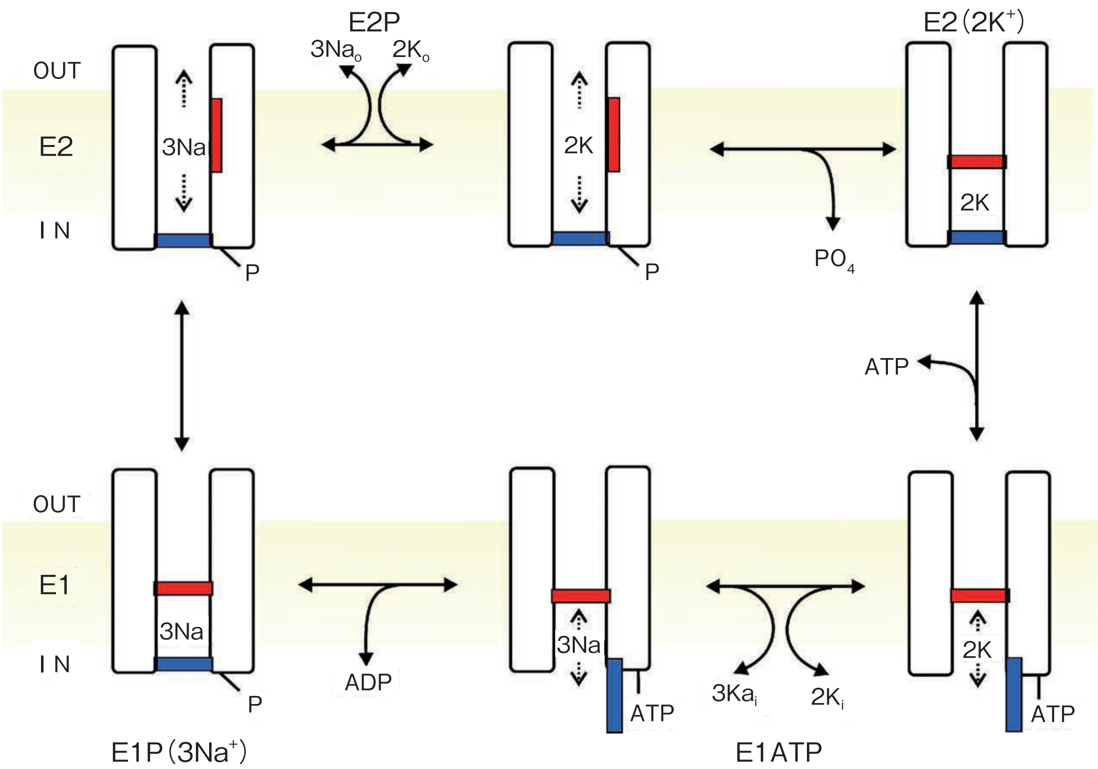


図 7．Na ポンプのイオン輸送機構（Artigas P，Gadsby DC：PNAS **100**：501–505，2003 の図 1 を一部改変引用）
黄色い帯は細胞膜を，IN と OUT，およびイオンの添字の i と o はそれぞれ細胞質側と細胞外側を表す．
酵素型 E1ATP，E1P(3Na$^+$)，E2P と E2(2K$^+$) の表記は図 3 に準じる．

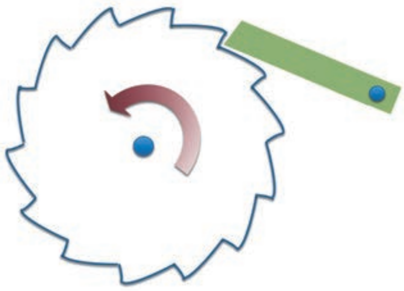


図 8．ラチェットによる回転方向の制御の仕組み
ラチェットは回転できる歯車と上下に可動な爪から構成され，爪は一定の力で下方向に力が加えられている．二つの小さな円は歯車の回転中心と爪の支点を示す．この場合には矢印の方向への回転が起きやすい．

位が 3 個の Na^+ で埋まるとゲートが閉じ，活性中心ではリン酸化が起こる．ADP が遊離すると細胞質側のゲートが閉じイオン閉塞状態 E1P($3Na^+$）になる（図 7 下段左）．次に，ポンプタンパク質が構造変化をして E2P となり，イオン結合部位を構成していた膜貫通ヘリックス TM4–6 の構造がかわり，Na^+ に対する親和性が大幅に低下する．細胞外に面したゲート（赤色）が開くとイオン結合部位の Na^+ は遊離し，アクセスチャネル内を拡散して細胞外に出ていく（図 7 上段左）．一方，細胞外から入ってきた K^+ は高い K^+ 親和性のために容易にイオン結合部位に結合する（図 7 上段中央）．2 個の K^+ が結合部位に納まると，水分子が活性中心のアシルリン酸結合を攻撃して加水分解を引き起こし，無機リン酸 Pi が放出され，同時に外側のゲートが閉じイオン閉塞状態 E2($2K^+$）になる（図 7 上段右）．次に，活性中心に ATP が結合することによって，E2K は E1K へと構造をかえ，K^+ 親和性が低下するとともに細胞質に面したゲートが開き K^+ が遊離する．

このように ATP のエネルギーはポンプタンパク質の構造変化を介して，ゲートの開閉とイオン結合部位のイオン親和性変化に使われており，膜内あるいはポンプ分子内のイオンの移動は，主にイオンの拡散すなわち熱揺らぎによる．少なくとも，電気化学勾配に抗してイオンを直接動かす仕組みはポンプ分子自体にはないようにみえる．ポンプと聞くと液体や気体をピストンで押し出す，あるいは陰圧で吸引するなどの力学的仕事のイメージがあるが，分子レベルのポンプは，高い親和性で目的のイオン種をうまく選択してポンプ分子の中に閉じ込め，後戻りができない状態にすることによって，結果として一方向に移動させているといえるかもしれない [41]．

Ⅻ．エネルギー変換機構

18 世紀の物理学者 Maxwell は，分子をその動きの早さで分別できれば，外部からエネルギーを加えなくても熱源をつくれると提唱し，熱力学第二法則に疑問を投げかけた．分子の動きを識別する能力をもつ仮想の生き物を“Maxwell の悪魔”と名づけた．分子の動きを感知し，フィードバックシステムを介して分子を分別する機構を作動させて“Maxwell の悪魔”を実現できたとしても，分子の動きの計測，情報処理とフィードバックシステム駆動にエネルギーが必要なことから，当初 Maxwell が提唱したような無から熱源をつくり出すことは熱力学的に不可能であると考えられている [42]．2010 年，中央大学理工学部の宗行らのグループは東京大学理学部の佐野らのグループと共同で，F_0F_1–ATPase の回転運動計測用の実験装置を用い，粒子の動きに応じて粒子を分別できることをはじめて示した [43]．すなわち，重力場でブラウン運動をする微小粒子について，上方に移動したときのみ仕切り板を粒子の下に挿入して落下を防ぎ，この操作を繰り返すことによって粒子を押し上げることに成功した．この研究は，結果的に分子の動きの情報を分子の位置エネルギーに変換したことになる．そのエネルギー変換効率はまだ低く（～30％）すぐに応用に結びつくわけではないが，情報をエネルギーに変換できることを実証した意義は大変大きいと思われる．

Na ポンプのイオン輸送機構においては，細胞内に存在する多種類のイオンの中から Na^+ 高親和性結合部位に結合させることによって Na^+ のみを選別し，イオン閉塞状態としていったんポンプ分子内にイオンを閉じ込め，次にイオン結合部位の Na^+ 親和性を大幅に低下させ，細胞外に面したゲートを開けて細胞外に輸送を行う．ポンプ分子内のイオンの位置を察知してゲートの開閉を行うのは，正に“Maxwell の悪魔”と同じことをポンプ自身が行っていることになるであろう．ナノスケールでポンプ分子やイオンを観測すると，すべての分子は静止しているのではなく，熱揺らぎによって振動をしている．しかも分子の熱揺らぎの大きさは，タンパク質の構造変化に匹敵することも知られている．生体分子は，この熱揺らぎを上手に利用してエネルギー伝達やエネルギー変換を行っているに違いない．Bioenergetics の分野では，ATP のエネルギーは，おそらく分子のランダムな熱揺らぎの中から一定方向の動きを取り出すための情報処理に使われていると多くの研究者が考えている．まだ全容はわからないが，タンパク質の構造変化には，ラチェット（ratchet：爪車）［図 8］のようにランダムな動きを

整流して，一方向の動きだけを取り出す仕掛けがいたるところに存在するらしい．H^+,K^+-ATPaseではβサブユニットの細胞質ドメインがラチェット機構にかかわるとの報告がある[44]．またミオシンとアクチンの滑りにも，ラチェット機構があるといわれる[45]．すなわち，ATPのエネルギーによってタンパク質に構造変化を起こさせるのではなく，熱揺らぎで振動するタンパク質がその構造をとるまで待機し，うまく目的の構造変化に到達したときに，その構造を安定化させるようなシステムがあるらしい．このようなエネルギー変換モデルは，細胞内の分子モーターや筋収縮においても提唱されており，生物の高効率のエネルギー変換機構の基礎をなすと予想されている．

XIII. おわりに

Naポンプは，医学領域では強心配糖体のレセプターとしてよく研究されてきた．また，内在性ウワバイン様物質と高血圧症との関係も知られ，近年，Na^+,K^+-ATPase αアイソフォームの点変異がいくつかの神経疾患で見出され，病因とのかかわりも注目されている．しかし本稿では，エネルギー変換機構に絞って解説をした．熱揺らぎの関与を直接証明する証拠はいまだ十分には得られていないが，状況証拠から確かであろうと考えている．生物は人工の機械にはない曖昧さと柔軟さをもつすばらしい仕掛けである．いつか将来，生物の仕組みが機械工学に画期的な変革をもたらすときがくることを夢みている．

文　献

1) Glynn IM：Annual review prize lecture；all hands to the sodium pump. J Physiol **462**：1–30, 1993.
2) Toyoshima C, Inesi G：Structural basis of ion pumping by Ca^{2+}-ATPase of the sarcoplasmic reticulum. Annu Rev Biochem **73**：269–292, 2004.
3) Yao X, Forte JG：Cell biology of acid secretion by the parietal cell. Annu Rev Physiol **65**：103–131, 2003.
4) Morsomme P, Boutry M：The plant plasma membrane H^+-ATPase；structure, function and regulation. Biochim Biophys Acta **1465**：1–16, 2000.
5) Kuhlbrandt W：Biology, structure and mechanism of P-type ATPases. Nature Rev Mol Cell Biol **5**：282–295, 2004.
6) Nishi T, Forgac M：The vacuolar(H^+)-ATPases；Nature's most versatile proton pumps. Nature Rev Mol Cell Biol **3**：94–103, 2002
7) Mulkidjanian AY, Makarova KS, Galperin MY et al：Inventing the dynamo machine；the evolution of the F-type and V-type ATPases. Nature Rev Microbiol **5**：892–899, 2007.
8) Yoshida M, Muneyuki E, Hisabori T：ATP Synthase；a marvellous rotary engine of the cell. Nature Rev Mol Biol **2**：669–676, 2001.
9) Murata T, Kawano M, Igarashi K et al：Catalytic properties of Na^+-translocating V-ATPase in *Enterococcus hirae*. Biochim Biophys Acta **1505**：75–81, 2001.
10) Skou JC：The influence of some cations on the adenosine triphosphatase from peripheral nerves. Biochim Biophys Acta **23**：394–401, 1957.
11) Nakao T, Tashima Y, Nagano K et al：Highly specific sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase from various tissues of rabbit. Biochem Biophys Res Commun **19**：755–758, 1965.
12) Jørgensen PL：Purification and characterization of (Na^+,K^+)-ATPase；III. purification from outer medulla of mammalian kidney after selective removal of membrane components by sodium dodecyl sulfate. Biochim Biophys Acta **356**：36–52, 1974.
13) Wetzel RK, Sweadner KJ：Immunocytochemical localization of Na-K-ATPase α- and γ-subunits in rat kidney. Am J Physiol Renal Physiol **281**：F531–F545, 2001.
14) Garty H, Karlish JD：Role of FXYD proteins in ion transport. Annu Rev Physiol **68**：431–459, 2006.
15) Jørgensen PL：Purification and characterization of (Na^+,K^+)-ATPase；V. conformational changes in the enzyme；transitions between the Na-form and the K-form studied with tryptic digestion as a tool. Biochim Biophys Acta **401**：399–415, 1975.
16) Skou JC：Further investigations on a $Mg^{++}+Na^+$-activated adenosinetriphosphatase, possibly related to the active, linked transport of Na^+ and K^+ across the nerve membrane. Biochim Biophys Acta **42**：6–23, 1960.
17) Post RL, Rosemthal AS：An intermediate compound in active transport. J Gen Physiol **45**：614A, 1962.
18) Post RL, Sen AK, Rosenthal AS：A phosphorylated intermediate in adenosine triphosphate-dependent sodium and potassium transport across kidney membranes. J Biol Chem **240**：1437–1445, 1965.
19) Albers RW：Biochemical aspects of active transport. Annu Rev Biochem **36**：727–756, 1967.
20) Post RL, Hegyvary C, Kume S：activation by adenosine triphosphate in the phosphorylation kinetics of sodium and potassium ion transport adenosine triphosphatase. J Biol Chem **247**：6530–6540, 1972.
21) Hara Y, Nakao M：Sodium ion discharge from

pig kidney Na$^+$, K$^+$-ATPase Na$^+$-Dependecy of the E1P ⇄ E2P equilibrium in the absence of KCl. J Biochem **90**：923–931, 1981.
22) Beauge LA, Glynn IM：Occlusion of K ions in the unphosphorylated sodium pump. Nature **280**：510–512, 1979
23) Glynn IM, Hara Y, Richards DE：The occlusion of sodium ions within the mammalian sodium-potassium pump；its role in sodium transport. J Physiol **351**：531–549, 1984.
24) 原 諭吉：Na$^+$イオンの輸送機構―Na$^+$イオンとナトリウムポンプの結合．蛋白質核酸酵素 **29**：564–572, 1984.
25) Glynn IM, Karlish SJD：Occluded cations in active transport. Annu Rev Biochem **59**：171–204, 1990.
26) Kawakami K, Noguchi S, Noda M et al：Primary structure of the α-subunit of *Torpedo californica* (Na$^+$+K$^+$) ATPase deduced from cDNA sequence. Nature **316**：733–736, 1985.
27) Shull GE, Schwarts A, Lingrel JB：Amino-acid sequence of the catalytic subunit of the (Na$^+$+K$^+$) ATPase deduced from a complementary DNA. Nature **316**：691–695, 1985.
28) Hara Y, Urayama O, Kawakami K et al：Primary structures of two types of alpha-subunit of rat brain Na$^+$, K$^+$-ATPase deduced from cDNA sequences. J Biochem **102**：43–58, 1987.
29) 藤川太郎，喜多村健：Naポンプとその異常．膜 **35**：285–290, 2010.
30) Shull GE, Lingrel JB：Molecular cloning of the rat stomach (H$^+$+K$^+$) ATPase. J Biol Chem **261**：16788–16791, 1986.
31) Shono M, Wada M, Hara Y et al：Molecular cloning of Na$^+$-ATPase cDNA from a marine alga, *Heterosigma akashiwo*. Biochim Biophys Acta **1511**：193–199, 2001.
32) Hara Y, Mikami Y, Shono M et al：Na$^+$, K$^+$-ATPase in the marine alga *Heterosigma akashiwo*. Ann NY Acad Sci **986**：628–629, 2003.
33) P-type ATPase Database. 〈http://www.traplabs.dk/patbase/〉［Accessed 2012］
34) Morth JP, Pedersen BP, Toustrup-Jensen MS et al：Crystal structure of the sodium-potassium pump. Nature **450**：1043–1049, 2007.
35) Shinoda T, Ogawa H, Cornelius F et al：Crystal structure of the sodium-potassium pump at 2.4 Å resolution. Nature **459**：446–450, 2009.
36) Ogawa H, Shinoda T, Cornelius F et al：Crystal structure of the sodium-potassium pump (Na$^+$, K$^+$-ATPase) with bound potassium and ouabain. Proc Natl Acad Sci USA **106**：13742–13747, 2009.
37) Hilgemann DW：Channel-like function of the Na, K pump probed at microsecond resolution in giant membrane patches. Science **263**：1429–1423, 1994.
38) Gadsby DC, Rakowski RF, DeWeer P：Extracellular access to the Na,K pump；pathway similar to ion channel. Science **260**：100–103, 1993.
39) Artigas P, Gadsby DC：Na$^+$/K$^+$-pump ligands modulate gating of palytoxin-induced ion channels. Proc Natl Acad Sci USA **100**：501–505, 2003.
40) Reyes N, Gadsby DC：Ion permeation through the Na$^+$, K$^+$-ATPase. Nature **443**：470–474, 2006.
41) 原 諭吉：イオンポンプはポンプではない？ 蛋白質核酸酵素 **52**：70, 2007.
42) 柳田敏雄：生物分子モーター，岩波書店，東京，2007.
43) Toyabe S, Sagawa T, Ueda M et al：Experimental demonstration of information-to-energy conversion and validation of the generalized Jarzynski equality. Nature Physics **6**：988–992, 2010.
44) Abe K, Tani K, Nishizawa T et al：Inter-subunit interaction of gastric H$^+$, K$^+$-ATPase prevents reverse reaction of the transport cycle. EMBO J **28**：1637–1643, 2009.
45) Iwaki M, Iwane AH, Shimokawa T et al：Brownian search-and catch mechanism for myosin-VI steps. Nature Chem Biol **5**：403–405, 2009.

Energy transduction mechanism in sodium pump

Yukichi Hara

Professor Emeritus, Tokyo Medical and Dental University

Summary
Na^+, K^+–ATPase is one of the typical membrane proteins exist in the plasma membrane of animal cells, and generats the Na^+ and K^+ gradient across the membrane. It is generally accepted that the ion pump uses energy from ATP hydrolysis for the movement of ions against an electrochemical gradient across the membrane. However, recent analysis revealed that the pump has no structural basis for moving ions directly against electrochemical gradient and suggested that the energy of ATP hydrolysis is used primarily for inducing both the affinity changes of ion binding sites and the conformational changes of proteins, including the opening and closing of gates on ion pathway. The direct energy sources for ion movement in the pump and conformational change of pump proteins are thought to be heat fluctuation of ions and the Brownian motion of protein molecules, respectively.

Key words：sodium pump, active trasport, access channel, Brownian motion, biomembranes, ion transport, P–type ATPase, ATPase

お茶の水醫學雑誌　61：049–055（2013）

肝癌の再発 ── その機序と防止対策の進歩

泉　並木　　武蔵野赤十字病院副院長・消化器科

要旨：肝細胞癌は原発性肝癌の 99% を占め，その 90% 以上が B 型や C 型肝炎ウイルス感染に由来する．最大の問題点は再発率が高いことである．生命予後改善のためには，再発を防止することが重要な課題である．

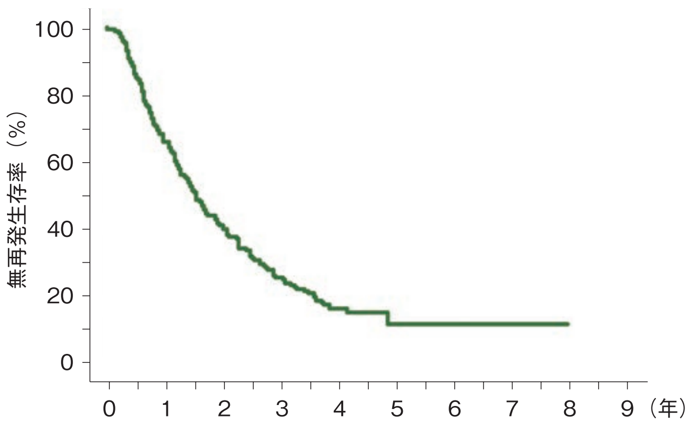
近年，肝細胞癌の再発に関与する分子生物学的解析が進歩している．腫瘍側の再発に関与する因子として，腫瘍の肉眼形態や脈管浸潤が再発と関連する．腫瘍自身の遺伝子解析から，肝内再発にかかわる因子が解析されている．とくに癌幹細胞由来と考えられ，さまざまな stem cell 由来のマーカーが解析されている．とくに epidermal cell adhesion molecule（EpCAM）が陽性の肝細胞癌は，生命予後が不良であるのみならず再発の頻度が高い．また，cytokeratin 19 が陽性の肝細胞癌は，ラジオ波焼灼療法後に早期に肝内他部位に再発しやすいことが認められた．肝細胞癌の中に，癌幹細胞由来と考えられる症例が存在し，転移しやすく臨床経過がわるいのが特徴でないかと考えられる．再発には，背景肝の遺伝子発現が関与する．外科切除例で癌周囲の非癌部の遺伝子解析が行われ，生存や再発に関与する遺伝子プロファイルから，肝細胞癌の再発に関与するパターンが示された．また，切除例の網羅的遺伝子解析から再発に関与する遺伝子が解析され，CYP1A2 が training set と多施設共同研究による validation set で，発現低下例が肝細胞癌の再発率が有意に高いことが証明された．Organic anion transporter 2（OAT2）の発現低下例に肝細胞癌の再発が多いと指摘されている．

再発抑制については B 型や C 型肝炎ウイルス由来の症例では，核酸アナログ内服やインターフェロンの有効性がメタ解析で示され，BCAA，ビタミン K，非環式レチノイドが肝細胞癌の再発抑制効果をもつ可能性があり解析されている．

Key words：肝細胞癌，再発，progenitor cell feature marker，CK19，EpCAM，CYP1A2，OAT2

I．はじめに

肝細胞癌は原発性肝癌の 99% を占め，その 90% 以上が B 型や C 型肝炎ウイルス感染に由来する．わが国では年間 3 万人以上が肝細胞癌で死亡し，あらゆる悪性腫瘍の中で第 4 位の死亡率となっている[1)]．わが国では高リスク症例が同定されており，サーベイランスが行われ，2 cm 以下の早期の段階で診断される症例が多い．外科切除やラジオ波焼灼療法など根治的治療ができる症例が多く，その予後が改善され 5 年生存率は 60% を超えるようになっている．しかし，最大の問題点は再発率が高いことである．われわれの施設で過去 449 例のラジオ波焼灼療法を行った症例で検討すると，5 年間の再発率は 90% に達する（図 1）．世



1 年（%）	3 年（%）	5 年（%）
65.6	24.7	10.9

図 1．ラジオ波焼灼療法によって根治できた症例の無再発生存率（武蔵野赤十字病院消化器科，*n*=449）

連絡先：泉　並木　nizumi@musashino.jrc.or.jp

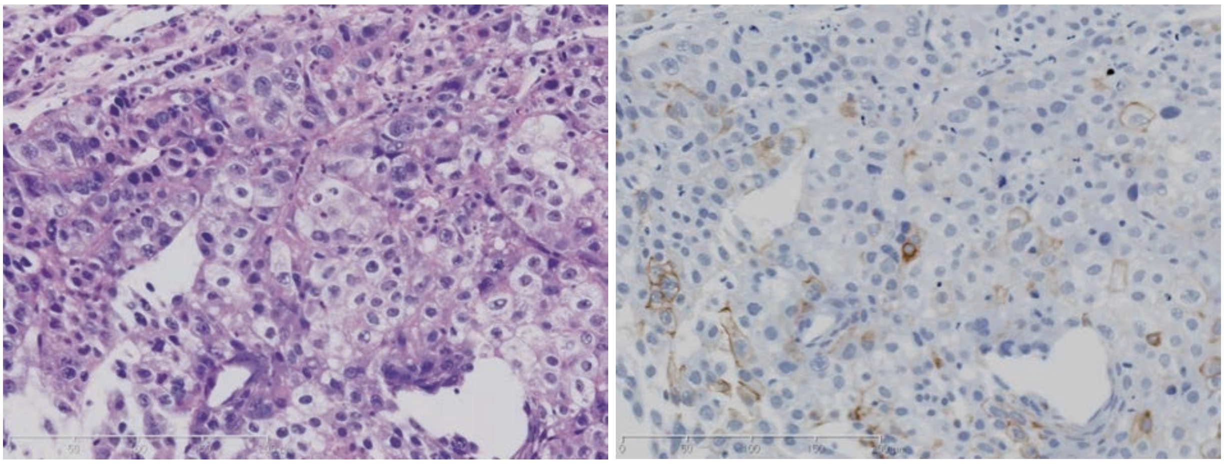


図 2. ラジオ波焼灼療法前の肝腫瘍生検標本の HE 染色（a）と cytokeratin 19 の免疫染色（b）
低～中分化型肝細胞癌（a：HE 染色）では cytokeratin 陽性例（b：酵素抗体法）が 1 割前後みられる.

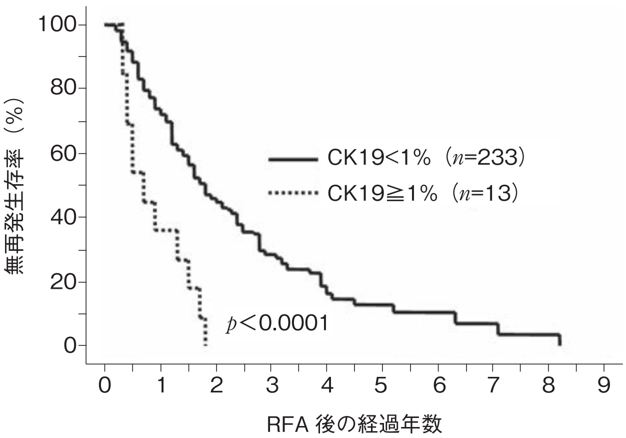


図 3. ラジオ波焼灼療法後の肝内異所性再発率：治療前腫瘍生検の cytokeratin 19 陽性例と陰性例の比較（文献 12 より引用）

界的にみても，肝細胞癌患者の再発率は 5 年で 70% 以上に達し，肝硬変による死亡よりも再発による死亡が上回っている [2]．したがって，死亡率を減少させるには再発を防止することが重要な課題である．

近年，肝細胞癌の再発に関与する分子生物学的解析が進歩している．再発にかかわる機序を解明することによって，再発の早期診断や予知マーカーの開発が期待され，さらに再発を防止するための分子標的薬への期待が高まる．肝細胞癌患者の予後改善のために，重要な課題となっている [3]．

Ⅱ．肝内の再発に関与する分子機構

1．腫瘍側の再発に関与する因子

切除標本で解析すると，腫瘍の肉眼形態が再発に関与する．肉眼形態が多結節融合型であった場合には，全生存率や無再発生存率が低いことが報告されている [4]．わが国では，脈管浸潤，とくに門脈への浸潤が切除後の再発と関連することが知られている．また肉眼形態では，単純結節型よりも単純結節周囲増殖型や多結節融合型において，肝内再発が多いことが判明している．

腫瘍自身の遺伝子解析から，肝内再発にかかわる因子が解析されている．とくに癌幹細胞由来と考えられる腫瘍が存在し，さまざまな stem cell 由来のマーカーが解析されている．とくに epidermal cell adhesion molecule（EpCAM）が多結節融合型肝細胞癌で表出されていることが多く，切除された肝細胞癌に免疫染色で検出されている [5]．この EpCAM 陽性の肝細胞癌は生命予後が不良であるのみならず，再発の頻度が高いことが示されている [4]．EpCAM は癌幹細胞由来のマーカーとして解析され，増殖能力が高いことが示されているが，新たな分子標的治療の対象としても検討されている [6]．

原発性肝癌の中で細胆管細胞癌（cholanhiocellular carcinoma：CCC）が存在し，これが癌幹細胞由来ではないかと考えられ，cytokeratin 19 が陽性である [7]．肝細胞癌の一部も免疫染色で cytokeratin 19 が細胞質に染色されるため，癌幹細胞由来の肝細胞癌が存在するのでないかと考えられるようになった．Intermediate hepatobiliary cells という用語が用いられるようになり，cytokeratin 7 と cytokeratin 19 が免疫染色で染まるものと定義されている．これらの陽性細胞が C 型肝炎由来の肝硬変組織に存在し，肝細胞癌の発生に両者が独立して関与している可能性が示されている [8]．近年，cytokeratin 19 陽性の肝細胞癌は切除後の予後不良因子であり，再発やリンパ節転移が多いことが示された [9~11]．また最近，土谷らによってラジオ波焼灼療法前の腫瘍生検で cytokeratin 19 陽性

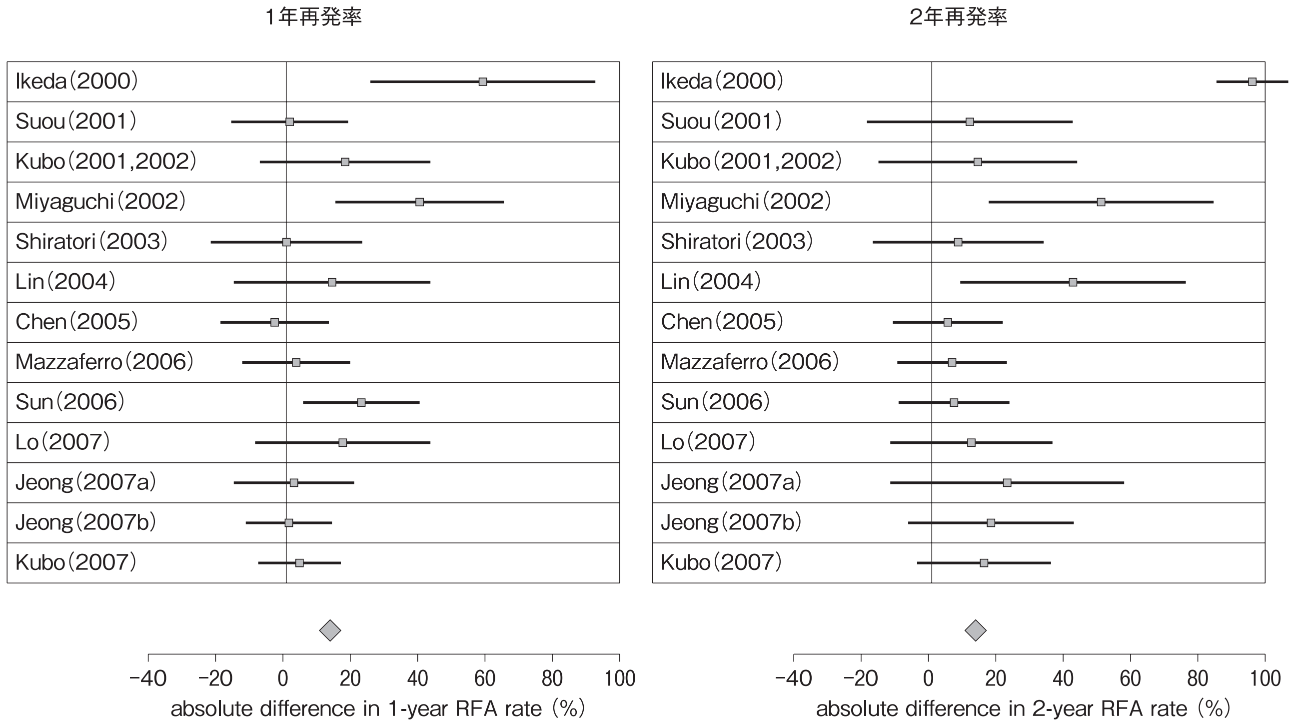


図 4. インターフェロンによる肝細胞癌の再発抑制に関するメタ解析（文献 23 より引用改変）

例が 7% 前後にみられることが酵素抗体法を用いて示された（図 2）. Cytokeratin 19 陽性例では，画像診断上では肝細胞癌との明らかな相違はなく，腫瘍全体が多血を呈していた．これらの cytokeratin 19 陽性腫瘍の症例では，ラジオ波焼灼療法で根治できた後であっても，早期に肝内の他部位に再発しやすいことが認められた[12]（図 3）．したがって，肝細胞癌の中に癌幹細胞由来と考えられる症例が存在し，転移しやすく臨床経過がわるいのが特徴でないかと考えられる．

癌幹細胞のマーカーとして，CD133 も解析されている．肝細胞癌の 22% に CD133 陽性例がみられ，細胞質と細胞膜の両者に検出される．CD133 は，肝細胞癌症例の全生存率に関連していた[13]．

2. 背景肝の遺伝子発現と再発

外科切除例で，癌周囲の非癌部の遺伝子解析が行われ，生存に関与するものが検討された[14]．生存に関与する因子のみならず，肝細胞癌の再発に関与する因子について解析され，これらの遺伝子プロファイルから肝細胞癌の再発に関与するパターンが示された[15]．別のグループからは，肝細胞癌の周囲組織の解析から，癌の早期および全体の再発に関与する遺伝子群を解析できたとしている[16]．

Tanaka らは，切除例の網羅的遺伝子解析から再発に関与する遺伝子を解析した．その結果，薬物代謝に関与する CYP1A2 が training set として抽出された．酵素抗体法により蛋白発現を含めて解析したところ，CYP1A2 の発現が低下している例で再発が多かった．これを多施設共同研究を行って検証したところ，同様に CYP1A2 の発現低下例で，肝細胞癌の再発率が有意に高いことが証明された[17]．

切除例の癌部と非癌部で vascular endothelial growth factor（VEGF）の発現を解析し，腫瘍部/非腫瘍部の比が高いほうが肝細胞癌の再発率が高いことが示された[18]．

最近，工藤らは切除された肝細胞癌の非癌部組織を網羅的に解析し，organic anion transporter 2（OAT 2）の発現低下例に肝細胞癌の再発が多いことを報告している．これらの非腫瘍部の遺伝子発現は，慢性肝炎や脂肪性肝炎などの肝疾患からの発癌予知や防止に用いることができる可能性があり，重要な課題として取り組む必要がある．

Ⅲ．インターフェロン（IFN）による肝細胞癌の再発防止

わが国では肝細胞癌の 70% 以上が C 型肝炎から発生する．そこでインターフェロン（IFN）によって再発が防止できるか否かが重要な検討課題である．2000 年に，Ikeda らによって IFNβ の投与によって肝細胞癌の再発が有意に抑制されたと報告された[19]．その後，多くの追試が行われたが，主として欧米の成績では IFN による再発抑止効果がみられなかったと報告

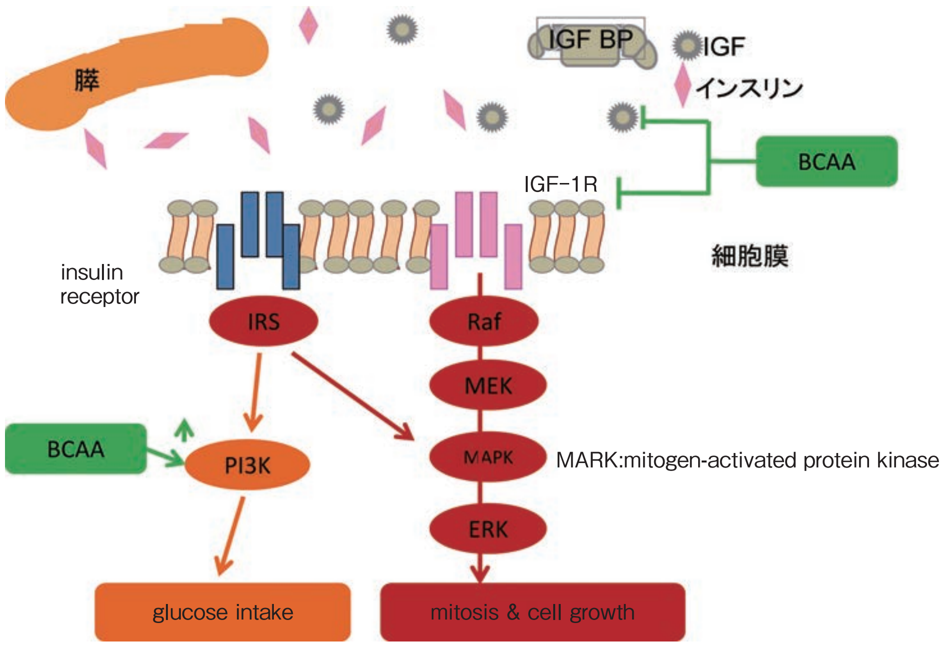


図 5．インスリン抵抗性と肝発癌：分岐鎖アミノ酸（BCAA）による抑制の機序（文献 27 より引用）

されている[20]．わが国の多施設共同研究によると，肝細胞癌の治療後に IFN を投与しても，初回と 2 回目の再発は抑制できなかったが，3 回目には有意に抑制されていた[21]．これらの膨大な成績のメタ解析が行われ，全体として IFN 投与によって 2 年目以降の肝細胞癌の再発が抑制できるとされている（図 4)[22,23]．ペグ IFN によってウイルス排除（sustained viral response：SVR）が達成された場合には，肝細胞癌の再発が抑制できたと報告されている[24]．抗ウイルス療法による再発抑制効果に関しては，さらに解析する必要がある．

Ⅳ．肝細胞癌の再発に対する chemoprevention

肝予備能がわるいほど肝細胞癌が再発しやすいのは，従来よりよく知られた事実である[25]．バリン，ロイシン，イソロイシンからなる分岐鎖アミノ酸（branched chain amino acid：BCAA）を補充すると，肝細胞癌の再発が抑制できたと報告されている[26]．BCAA がいかに肝細胞癌の再発を抑制するのかについては，十分明らかにされていないが，インスリン抵抗性改善（図 5）や蛋白代謝の改善によることが考えられ，欧米でもその機序が議論になっている[27]．

ビタミン K が肝細胞癌の再発抑制につながるのではないかと検討され，根治後有意に抑制したという報告がなされた[28,29]が，わが国で多施設共同による無作為前向き試験が行われ，再発抑制に関する有用性が示せなかった[30]．

表 1．肝細胞癌の再発様式

局所再発	ラジオ波焼灼療法や手術でマージンが十分確保できなかった場合
肝内転移	主として坦癌門脈を介して転移すると考えられる
多中心性発癌	新たな癌が *in situ* で発生する

現在，わが国でもっとも注目されているのは非環式レチノイドである．1996 年に Muto らによって，肝細胞癌の再発抑制効果があると報告された[31]．わが国で大規模無作為化試験が行われたが，容量依存性が証明できなかったため[32]，現在再度，多施設で前向き無作為比較試験が行われている．

このように肝細胞癌の再発抑制効果に対する薬効を証明することはきわめて困難である．それは，肝細胞癌の再発には表 1 のような三通りが存在するためである．薬剤による再発抑制は，多中心性再発を抑えることが主たる効果となるため，臨床で証明するためには，肝内再発を除外して多中心性発生だけを調べるようなプロトコルを作成することがきわめて重要な課題である．

文　献

1) Kudo M, Izumi N, Kokudo N et al：HCC expert panel of Japan Society of Hepatology. Dig Dis **29**：339–364, 2011.
2) Poon RT：Prevention of recurrence after resection of hepatocellular carcinoma；a daunting challenge. Hepatology **54**：757–759, 2011.
3) Izumi N：Prediction and prevention of intrahe-

patic recurrence of hepatocellular carcinoma. Hepatol Res **42**：226–232, 2012.
4) Villanueva A, Hoshida Y, Toffanin S et al：New strategies in hepatocellular carcinoma；genomic prognostic markers. Clin Cancer Res **16**：4688–4694, 2010.
5) Murakata A, Tanaka S, Mogushi K et al：Gene expression signature of the gross morphology in hepatocellular carcinoma. Ann Surg **253**：94–100, 2011.
6) Yamashita T, Ji J, Brudhu A et al：EpCAm–positive hepatocellular carcinoma cells are tumor-initiating cells with stem/progenitor features. Gastroenterology **136**：1012–1024, 2009.
7) Komuta M, Spee B, Vander Borght S et al：Clinicopathological study on cholangiocellular carcinoma suggesting hepatic progenitor cell origin. Hepatology **47**：1544–1556, 2008.
8) Ziol M, Nault JC, Aout M et al：Intermediate hepatobiliary cells predict an increased risk of hepatocarcinogenesis in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis. Gastroenterology **139**：335–343, 2010.
9) Yang XR, Xu Y, Shi GM et al：Cytokeratin 10 and cytokeratin 19；predictive markers for poor prognosis in hepatocellular carcinoma patients after curative resection. Clin Cancer Res **14**：3850–3859, 2008.
10) Uenishi T, Kubo S, Yamamoto T et al：Cytokeratin 19 expression in hepatocellular carcinoma predicts early postoperative recurrence. Cancer Sci **94**：851–857, 2003.
11) Zhuang PY, Zhang JB, Zhu XD et al：Two pathologic types of hepatocellular carcinoma with lymph node metastasis with distinct prognosis on the basis of CK 19 expression in tumor. Cancer **112**：2740–2748, 2008.
12) Tsuchiya K, Komuta M, Yasui Y et al：Expression of keratin 19 is related to high recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation. Oncology **80**：278–288, 2011.
13) Sasaki A, Kamiyama T, Yokoo H et al：Cytoplasmic expression of CD133 is an important risk factor for overall survival in hepatocellular carcinoma. Oncol Res **24**：537–546, 2010.
14) Hoshida Y, Villanueva A, Kobayashi M et al：Gene expression in fixed tissues and outcome in hepatocellular carcinoma. N Engl J Med **359**：1995–2004, 2008.
15) Villanueva A, Hoshida Y, Battison C et al：Combining clinical, pathology, and gene expression data predict recurrence of hepatocellular carcinoma. Gastroenterology **140**：1501–1512, 2011.
16) Teufel A, Marquardt JU, Galle PR et al：Novel insight in the genetics of HCC recurrence and advances in transcriptomic data integration. J Hepatol **56**：279–281, 2011.
17) Tanaka S, Mogushi K, Yasen M et al：Oxdative stress pathways in noncancerous human liver tissue to predict hepatocellular carcinoma recurrence；a prospective, multicenter study. Hepatology **54**：1273–1281, 2011.
18) Amaoka N, Osada S, Kaneoka T et al：Clinicopathological features of hepatocellular carcinoma evaluated by vascular endothelial growth factor expression. J Gastroenterol Hepatol **22**：2202–2207, 2007.
19) Ikeda K, Arase Y, Saitoh S et al：Interferon beta prevents recurrence of hepatocellular carcinoma after complete resection or ablation of the primary tumor；a prospective randomized study of hepatitis C virus-related cancer. Hepatology **44**：228–232, 2000.
20) Mazzaferro V, Romito R, Schiavo M et al：Prevention of hepatocellular carcinoma recurrence with alpha-interferon after liver resection in HCV cirrhosis. Hepatology **44**：1543–1554, 2006.
21) Shiratori Y, Ito Y, Yokosuka O et al：Antivairal therapy for chronic hepatitis C；association with hepatocellular carcinoma development and improved survival. Ann Intern Med **18**：105–114, 2005.
22) Miyake Y, Takaki A, Iwasaki Y et al：Meta-analysis；interferon-alpha prevents the recurrence after curative treatment of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. J Viral Hepat **17**：287–292, 2010.
23) Shen YC, Hsu C, Chen LT et al：Adjuvant interferon therapy after curative therapy for hepatocellular carcinoma (HCC)；a meta-regression approach. J Hepatol **52**：889–894, 2010.
24) Hagihara H, Nouso K, Kobayashi Y et al：Effect of pegylated interferon therapy on intrahepatic recurrence after curative treatment of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. Int J Clin Oncol **16**：210–220, 2011.
25) Kaihori M, Ishizaki M, Saito T et al：Risk factors and outcome of early recurrence after resection of small hepatocellular carcinomas. Am J Surg **198**：39–45, 2009.
26) Kouda H, Ushio A, Miyamoto Y et al：Effets of branched chain amino acid-enriched nutrient for patients with hepatocellular carcinoma following radiofrequency ablation；a one-year prospective trial. J Gastroenterol Hepatol **25**：1550–1555, 2010.
27) Kawaguchi T, Izumi N, Charlton MR et al：Branched-chain amino acids as pharmacological nutrients in chronic liver disease. Hepatology **54**：1063–1070, 2011.
28) Mizuta T, Ozeki I, Eguchi Y et al：The effect of menatetteone, a vitamin K_2 analogue, on disease recurrence and survival in patients with hepatocellular carcinoma after curative treatment. Cancer **106**：867–872, 2006.

29) Kakizaki S, Sohara N, Sato K et al : Preventive effects of vitamin K on recurrence disease in patients with hepatocellular carcinoma arising from hepatitis C viral infection. J Gastroenterol Hepatol **22** : 518–577, 2007.
30) Yoshida H, Shiratori Y, Kudo M et al : Effect of vitamin K_2 on the recurrence of hepatocellular carcinoma. Hepatology **54** : 532–540, 2011.
31) Muto Y, Moriwaki H, Nonomiya M et al : Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid, polyrenoic acid, in patients with hepatocellular carcinoma ; Hepatoma Prevention Study Group. N Engl J Med **13** : 1561–1567, 1996.
32) Okita K, Matsui O, Kumada H et al : Effetcs of peretinoin on recurrence of hepatocellular carcinoma (HCC) ; results of a phase II/III randomized placebo-controlled trial. ASCO Annual Meeting. Abstract No. 4024, 2011.

Recurrence of hepatocellular carcinoma ; recent progress in the investigation for the mechanism and its prevention

Namiki Izumi, MD, PhD

Vice President, Chief, Department of Gastroenterology and Hepatology, Musashino Red Cross Hospital

Summary

Hepatocellular carcinoma (HCC) develops from hepatitis B or C infection in more than 80% of patients, and the coexistence of life-threatening conditions, cancer and cirrhosis, makes prognostic assessments difficult. The long-term prognosis after surgical resection of HCC remains unsatisfactory compared with other common cancers because of the high rate of recurrence and lack of effective adjuvant therapy. Gene signatures from the tumor and adjacent tissue have been shown to be useful for predicting not only recurrence but also outcome. A progenitor cell feature markers of the tumor have been extensively investigated and a stem-cell epidermal cell adhesion molecule (EpCAM) and cytokeratin 19 (CK19) have been shown to be useful predictive markers for intrahepatic recurrence. Gene expression signature from the liver surrounding HCC that correlated with survival was established in patients with HCC. In the background liver tissue, CYP1A2 was shown to be correlated with the recurrence of HCC.

Prevention of the recurrence of HCC is an urgent issue to improve the prognosis of HCC. Anti-viral treatment such as nucleotide analogue and interferon are shown to reduce the risk of the recurrence and survival in the patients infected with hepatitis B or C infection. Chemopreventive agents including branched chain amino-acid, vitamin K, and acyclic retinoid have been examined to prevent the recurrence of HCC, and further chemotherapeutic agents such as molecular targeted agents should be investigated.

Key words : hepatocellular carcinoma (HCC), recurrence, progenitor cell feature marker, CK19, EpCAM, CYP1A2, OAT2,

お茶の水醫學雑誌　61：057-063（2013）

オートファジーと発癌

高村　聡人　　東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科膠原病・リウマチ内科学

要旨：オートファジーは細胞内のタンパク質やオルガネラを原則として非選択的に分解する経路である．オートファジーは飢餓時や代謝ストレス条件下などで誘導されるほか，栄養条件下でも低いレベルで働いており，細胞内の恒常性維持に有用と考えられる．

近年，オートファジーと癌に関する論文が多数報告され，オートファジーが発癌に抑制的に機能していることが明らかとなりつつある．また，そのメカニズムについても，p62 の関与をはじめとしたさまざまな仮説が論じられている．さらに，詳細な作用機序は不明ではあるが，ヒトの癌治療への応用も始まっており，今後の展開が期待される．

本稿では，オートファジーと腫瘍の関係について最新の知見や筆者の研究成果を交えて述べる．

Key words：オートファジー，癌，Beclin 1，Atg5，p62

Ⅰ．はじめに

オートファジーとは，ラテン語で“食べる”を意味する「phagy」に“みずから”を意味する「auto」を合わせた造語であり，日本語では“自食作用”と訳されている．オートファジーは，ユビキチン・プロテアソーム系とともに細胞内のタンパク質分解を担う二つの分解経路の一つである．ユビキチン・プロテアソーム経路では，ユビキチン化されたタンパク質が選択的に分解されるのに対して，オートファジーではオートファゴソームと呼ばれる小器官で囲まれた細胞質が原則として非選択的に分解され，バルク分解と呼ばれる．

オートファジーの初期には，隔離膜が徐々に伸張しつつ細胞質のタンパク質・オルガネラを囲い込み，その先端部が融合することにより，二重の膜に囲まれたオートファゴソームが形成される．その後，オートファゴソームは分解酵素をもつリソソームと融合し，その内容物が分解を受ける（図 1）．この一連の経路の中では，オートファジー関連遺伝子が重要な役割を担っており，酵母では 29 のオートファジー関連遺伝子（*Atg1*〜*29*）が同定されている．また哺乳動物においても，多くの *Atg* 遺伝子が保存されていることが知られている．

オートファジーの役割としては，これまで生体や細胞が栄養飢餓状態に陥った際のアミノ酸供給が中心的に考えられていた．マウスでは，通常の絶食以外にも出生直後にオートファジーが著明に亢進することがわかり，母体からの栄養供給が失われた際に細胞内タン

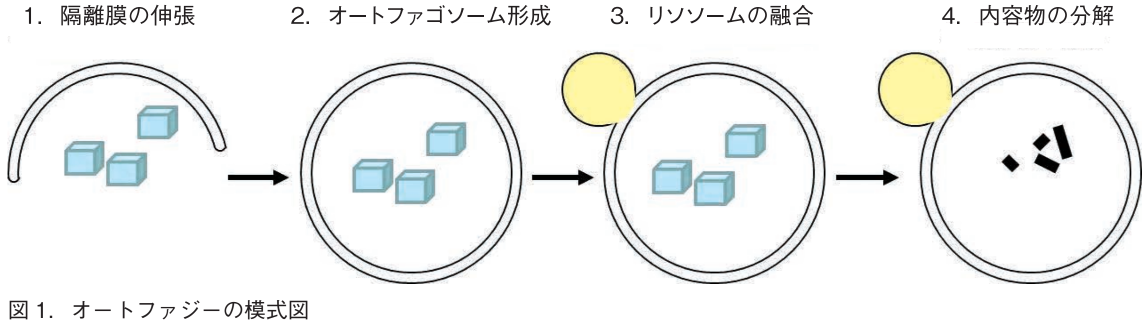


図 1．オートファジーの模式図

連絡先：高村　聡人　takamura.rheu@tmd.ac.jp

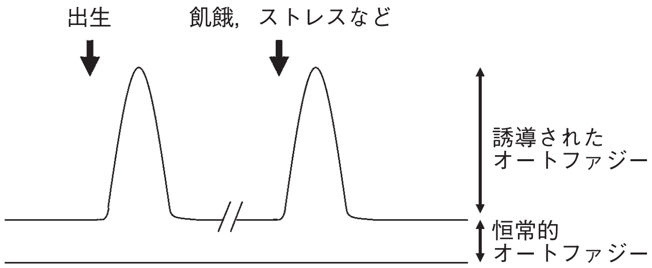


図2．生体におけるオートファジーの誘導

パク質を分解することで，必要なアミノ酸を供給していると考えられている[1]．また近年では，栄養豊富な条件下でもオートファジーが低いレベルで働いていることが知られ，この恒常的オートファジーによる細胞内クリアランスが細胞内の恒常性維持に重要であると考えられている（図2）．

現在，オートファジーの研究は，その分子機構や上流の制御因子に関する研究とともに，生体内における生理機能や疾患との関連についての研究も盛んになっている．すでに，オートファジーが神経変性疾患[2,3]や心不全[4]，細菌感染[5]などの疾患と深くかかわっていることが明らかとなっている．さらにオートファジーと腫瘍の関係についても，複数の報告がなされている．本稿では，オートファジーと腫瘍の関係について，最新の知見や筆者らの研究成果を交えて述べる．

Ⅱ．オートファジーと発癌

オートファジーが細胞内の恒常性維持に重要であることから，以前よりオートファジーは発癌に対して抑制的に働くと考えられてきた．この仮説の最大の論拠となっているのは，オートファジー関連因子 Atg6 の哺乳類ホモログである Beclin 1 に関する一連の報告である．まず，Levine らのグループにより，Beclin 1 と癌の関連が報告された．*Beclin 1* 遺伝子座はヒト乳癌や卵巣癌，前立腺癌で遺伝子欠失がよくみられる 17q21 に位置しており，乳癌細胞株や乳癌の原発腫瘍において，Beclin 1 の発現が減少していた．これらの乳癌細胞株で Beclin 1 を過剰発現させると，腫瘍形成能が抑制されることから，Beclin 1 が癌抑制に働くことが *in vitro* で示された[6]．また，*Beclin 1* ヘテロ欠損マウスに，肺癌や肝癌，リンパ腫の発生率が増加することから，*in vivo* でも Beclin 1 が癌抑制に働くことが明らかになっている[7,8]．

Beclin 1 の結合因子である UVRAG（UV irradiation resistance-associated gene）と癌の関連も報告されている．*UVRAG* 遺伝子座も乳癌や大腸癌で遺伝子欠失がよくみられる 11q13 に位置しており，UVRAG は大腸癌細胞株で発現の減少が認められた．また，大腸癌細胞株で UVRAG を過剰発現させることで，腫瘍形成能の抑制と Beclin 1 複合体の PI3 キナーゼ活性の増加がみられたことから，Beclin 1 と UVRAG が協調的に癌抑制に働くことが明らかになった[9]．ほかにも，*Bif-1* ノックアウトマウスにおける自然発癌率の増加[10]や *ATG4C* ノックアウトマウスにおける発癌誘発物質への感受性亢進など[11]，オートファジー関連分子ノックアウトマウスの表現型として癌の発生や増大が報告されている．しかしながら，これらの分子はオートファジー制御以外にも多機能を有するタンパク質であり，発癌性が真にオートファジーを介したものか否かは不明であった．

一方で，オートファジーが癌細胞にとって有益であるとする報告もある．リンパ腫のモデルマウスにおいては，オートファジーを阻害することで治療による癌細胞のアポトーシスが誘導され，治療効果が増強したことが報告されている[12]．また，癌組織中にみられる虚血状態や栄養飢餓によって癌細胞にオートファジーが誘導され，それが癌細胞の生存に有利に働くとする報告もある．

Ⅲ．オートファジーによる発癌抑制のメカニズム

1. DNA ダメージ

Degenhardt ら[13]は，オートファジー活性低下がゲノムの不安定化をもたらすことを報告した．Beclin 1 のヘテロ欠損細胞において，DNA ダメージマーカーである Histon H2A の増加が認められ，さらにオートファジー関連因子 Atg5 の欠損細胞においても同様の傾向が認められた．Atg5 はオートファジーに特異的な因子であり，この欠損が DNA ダメージを引き起こしたことは，オートファジーのゲノム安定化機能を強く示唆するものといえる．しかしながら，この報告は iBMK（immortalized baby mouse kidney epithelial）という特殊な細胞株で検証されたのみであり，この機能が生体内や他の細胞株で普遍的にみられるものか否かの検討が必要と思われる．

2. ミトコンドリア品質管理

オートファジーがオルガネラの品質管理に重要であることが知られている．とくにミトコンドリアについては，オートファジー関連遺伝子 *Atg1*，*Atg6*，*Atg8* および *Atg12* を欠損した酵母細胞において，ミトコンドリアのオートファジー分解が抑制され，膜電位の低下や電子伝達系の機能低下がみられること，それによって細胞内に酸化ストレスが蓄積することが報告さ

れている[14]．酸化ストレスの蓄積は発癌の大きな要因の一つであり，オートファジー欠損がオルガネラの機能低下を介して発癌を促進する可能性が考えられる．しかし現時点では，オートファジー欠損による発癌とミトコンドリアの機能低下を直接に結びつける報告はなく，このメカニズムはいまだ仮説にとどまっている．

3. 代謝ストレスに対するアポトーシス

癌組織においては，不十分な血管新生のために栄養，増殖因子，酸素などが十分に供給されないことで代謝ストレスが引き起こされる．アポトーシスは，代謝ストレスの生じた細胞を死に誘導することで抗腫瘍作用をもたらす．しかしながら，多くの癌細胞はアポトーシスシグナルに欠陥をもっており，代謝ストレス下でも生存できることが知られている．最近，White らのグループの報告により，この代謝ストレス状況下における癌細胞の生存にオートファジーが深く関与することが明らかになってきている．彼らは，胎仔マウス腎上皮細胞を用いた解析により，Bcl-2 を過剰発現したアポトーシス不全細胞では，代謝ストレス下でオートファジーが生じることを見出した．しかし，Bcl-2 を過剰発現した *Beclin 1* ヘテロ欠損細胞を用いたところ，代謝ストレス下においてアポトーシスやオートファジーが誘導されず，ネクローシスが増加した．彼らは，オートファジーが代謝ストレス下における癌細胞の一時的な細胞生存を促すことで，癌細胞のネクローシスを抑制し，二次的な炎症反応や腫瘍形成を抑制しているのだろうと結論づけている[13]．また，その後の解析で，*Beclin 1* ヘテロ欠損細胞や *Atg5* 欠損細胞において DNA 損傷の増加や染色体数の異常が観察され，染色体が不安定化していることが報告され，オートファジーが癌細胞におけるゲノム安定化にも関与していることが示唆されている[15]．しかしながら，これらの報告は特殊な細胞株で検証されたのみであり，この機能が生体内や他の細胞株で普遍的にみられるものか否かの検討が必要と思われる．

アポトーシスとオートファジーが密接に結びついていることも明らかになっている．まず，抗アポトーシス分子である Bcl-2，Bcl-XL が，Beclin 1 との結合を介して，オートファジーを抑制することが報告された[16]．Beclin 1 は BH3（Bcl-2-homology 3）domain を有しており，このドメインを介して Bcl-2 と結合し，Beclin 1 複合体の PI3 キナーゼ活性が負に制御されている[16,17]．最近の報告によると，オートファジーが誘導される際には，この Bcl-2/Bcl-XL と Beclin 1 の結合が阻害されることが重要であることもわかってきた．BH3 only タンパク質（BNIP3，Bad，Bik など）は Bcl-2/Bcl-XL と Beclin 1 の結合を競合的に阻害することで，オートファジーを促進する[18]．また，JNK1 は Bcl-2 を，DAPK は Beclin 1 をそれぞれリン酸化することで，Bcl-2/Bcl-XL と Beclin 1 の結合を阻害しオートファジーを誘導する[19]．

4. p62

p62/ SQSTM1（以後 p62）は，オートファゴソーム膜局在タンパク質である LC3（Atg8 の哺乳類ホモログ）と直接結合し，オートファジーによって選択的に分解されることが知られているタンパク質であり，オートファジーを欠損した肝臓や脳で凝集体を形成して蓄積することが報告されている[2]．また p62 陽性封入体は，Alzheimer 病や Parkinson 病などの神経変性疾患や，アルコール性肝炎，脂肪肝，肝癌の組織においても発見されており，これらの疾患との関連が示唆されてきた．

さらに，p62 は単なるオートファジーの基質ではなく，PB1 ドメインやユビキチン結合ドメインなどの多様なドメイン構造を介して，TRAF6（TNF receptor-associated factor 6）や aPKC（atypical Protein Kinase C），Caspase-8 などのシグナル伝達を担う分子群と相互作用するスカフォールドタンパク質と考えられている．そのため，オートファジーと発癌の直接的な関与を示す証左として，p62 の関与が注目されている．

とくに TRAF6 は NF-κB の活性化に関与する E3 ユビキチンリガーゼであり，p62 との相互作用によってオリゴマーを形成して活性化されることが知られている[20]．NF-κB は，種々のサイトカイン，ケモカイン，成長因子，接着分子，アポトーシス関連分子の発現を誘導する転写因子であり，多くの癌細胞において恒常的に活性化している．そのため，オートファジーの不活化による p62 の蓄積が，TRAF6-NF-・B 経路を異常活性化に導き，発癌を促している可能性が示唆されており，実際に p62 をノックアウトすることで，癌遺伝子 *Ras* によってもたらされる発癌が抑制されたことも報告されている[21]．また最近では，オートファジー欠損細胞に代謝ストレスを加えることで p62 が蓄積し，これが NF-・B を介してミトコンドリアの障害や DNA ダメージの蓄積をきたすことも明らかとなっており，p62 蓄積と発癌の関係が強く示唆される[22]．

Ⅳ．オートファジー欠損は多発性肝腫瘍を発症する

オートファジーと発癌の関係が未解明となっている

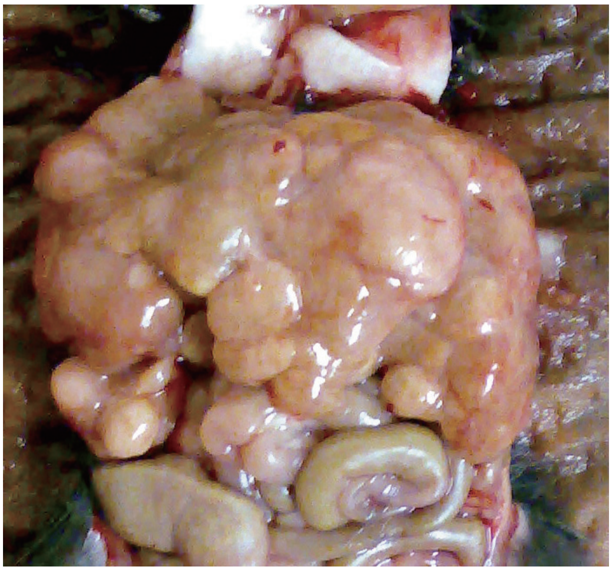


図 3. Atg5 モザイク欠損肝で形成される多発腫瘍（生後 19 ヵ月）

最大の要因の一つに，生体内におけるオートファジー欠損の長期経過が観察困難であることがあげられる．多くのオートファジー関連遺伝子は，その欠損によって胎生致死をもたらす．また，臓器特異的ノックアウトマウスは数ヵ月間の生存は可能であるが，臓器間の差を観察できない．

そこで筆者らは，オートファジーに必須な遺伝子である *Atg5* を全身でモザイク状に欠損させることにより，長期解析が可能なマウスを作成した[23]．このマウスは 19 ヵ月以上生育可能であり，このマウスの肝では生後 9 ヵ月までに多発性良性腫瘍が形成されることが判明した．これらの腫瘍は，オートファジー欠損細胞由来であり，加齢とともに増加・増大した（図 3）．一方，他の臓器でもモザイク状に Atg5 が欠損しているにもかかわらず，肝以外の臓器では腫瘍は認めなかった．肝腫瘍が形成されるメカニズムについては明らかではないが，活性酸素種の蓄積が一因である可能性が示唆される．Atg5 モザイク欠損肝では，ミトコンドリアの膨化，酸化ストレス応答や DNA 傷害応答の亢進が観察された．これは，機能不全に陥ったミトコンドリアがオートファジーによって分解されないために細胞内に蓄積し，その結果として活性酸素が産生され，DNA を損傷することによって腫瘍形成を促している可能性を示唆するものである．また多発性肝腫瘍は，肝特異的 *ATG7* 欠損マウスでも確認された[23,24]．

オートファジー欠損細胞では p62（別名 SQSTM1）の凝集体が蓄積するが，これも腫瘍形成に関与していると考えられる．p62 は TRAF6，aPKC などの多くの因子と相互作用するスカフォールドタンパク質である．p62 はさらにユビキチンリガーゼ Keap 1 とも相互作用し，Keap 1 による転写因子 Nrf2 のユビキチン化を阻害する．細胞がストレスにさらされると，Keap 1 と Nrf2 との相互作用が解除され，Nrf2 は安定化し，一連の抗酸化タンパク質の遺伝子発現を誘導する．一方，オートファジー欠損状態では，蓄積した p62 が Keap 1 をトラップすることで Nrf2 を介した酸化ストレス応答を異常活性化し，腫瘍のプロモーションを促しているものと考えられる．実際に，肝特異的 *Atg7* 欠損マウスと *p62* 欠損マウスを交配させた *Atg7/p62* 二重欠損マウスを解析した結果，*Atg7* 欠損肝臓の腫瘍増殖が p62 の同時欠損により大幅に抑制された[23]．

オートファジー欠損で確認される p62 の過剰蓄積や凝集化は，ヒト肝細胞癌においても観察される．Inami らは，肝細胞癌患者組織の約 25% において，p62–Keap1 陽性の凝集体が形成されること，さらにその腫瘍部位において Nrf2 が活性化されていることを見出した．また，p62 を蓄積し，かつ Nrf2 を活性化しているヒト肝細胞癌ラインにおいて，p62 を欠損させると足場非依存的な増殖が抑制されること，その増殖障害は p62 の野生型の過剰発現で回復する一方，Keap1 と相互作用できない p62 の過剰発現では回復されないことを確認した[24]．

これらの知見から，オートファジーは腫瘍形成を二段階に抑制している可能性が示唆される．すなわち，正常細胞では，オートファジーがミトコンドリアの品質を管理することで酸化ストレスを軽減して腫瘍のイニシエーションを抑制し，腫瘍細胞では p62 を分解することで腫瘍のプロモーションを抑制していると考えられる（図 4）．

しかしながら，筆者らが解析したこのマウスの肝腫瘍は病理学的に良性腫瘍であり，肝細胞癌にはいたっていなかった．したがって，本知見のみで真にオートファジーと発癌の関連を明らかにしたとはいいがたく，さらなる解析が必要である．

V．抗癌薬標的としてのオートファジー

これまでの一連の報告をもとに，癌細胞のオートファジーを活性化させることで，癌の進展を抑制するという試みがすでに行われている．現時点で臨床試験がもっともすすんでいるものとして，mTOR 阻害薬である sirolimus（rapamycin）や，その前駆物質である temsirolimus，everolimus などがあげられ，種々の悪性腫瘍で一定の効果が報告されている[25]．とくに腎細胞癌については，temsirolimus や everolimus の

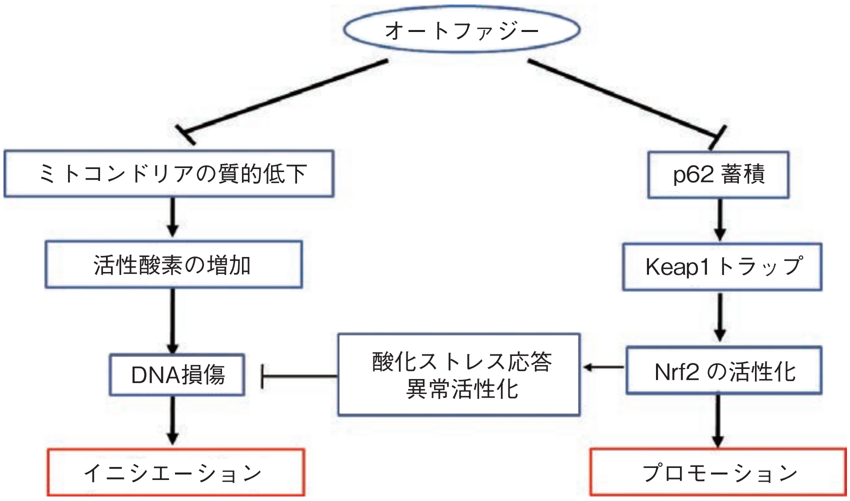


図 4．オートファジーによる腫瘍形成抑制メカニズム

有用性が証明され，すでに米国食品医薬品局（FDA）の承認を得ている[26]．本邦でも，今年に入り“根治切除不能または転移性の腎細胞癌”を適応症として製造販売が承認された．逆に，オートファジー阻害薬も抗癌薬治療や再発防止に有用であるという報告もある．抗癌薬単独投与に比べ，オートファジーを阻害する薬剤であるクロロキンを併用すると，抗癌薬の効果が増強される．これは，オートファジーを阻害することで，p53 依存的なアポトーシスを促進させることによると考えられている[27]．しかしながら，これらの薬剤はいずれもオートファジー特異的なものではなく，それらの薬効が本当にオートファジーを介したものかどうかは，今後慎重に解析する必要がある．

Ⅵ．おわりに

オートファジーと疾患，とくに発癌との関係に関する研究は多くなされているが，現時点ではオートファジーが発癌を抑制していることは完全には明らかにされていない．さらに，そのメカニズムについては多くの仮説があり，これからもさらなる研究が必要とされる分野である．現在も，多くの研究者が哺乳動物におけるオートファジーの生理機能や疾患への関与について研究を続けており，治療への展開を含めた今後の成果が期待される．

文　献

1）Kuma A，Hatano M，Matsui M et al：The role of autophagy during the early neonatal starvation period．Nature **432**：1032–1036，2004．
2）Hara T，Nakamura K，Matsui M et al：Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice．Nature **441**：885–889，2006．
3）Komatsu M，Waguri S，Chiba T et al：Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice．Nature **441**：880–884，2006．
4）Nakai A，Yamaguchi O，Takeda T et al：The role of autophagy in cardiomyocytes in the basal state and in response to hemodynamic stress．Nat Med **13**：619–624，2007．
5）Campoy E，Colombo MI：Autophagy in intracellular bacterial infection．Biochim Biophys Acta **1793**：1465–1477，2009．
6）Liang XH，Jackson S，Seaman M et al：Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1．Nature **402**：672–676，1999．
7）Qu X，Yu J，Bhagat G et al：Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene．J Clin Invest **112**：1809–1820，2003．
8）Yue Z，Jin S，Yang C et al：Beclin 1，an autophagy gene essential for early embryonic development，is a haploinsufficient tumor suppressor．Proc Natl Acad Sci USA **100**：15077–15082，2003．
9）Liang C，Feng P，Ku B et al：Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1–binding protein UVRAG．Nat Cell Biol **8**：688–699，2006．
10）Takahashi Y，Coppola D，Matsushita N et al：Bif–1 interacts with Beclin 1 through UVRAG and regulates autophagy and tumorigenesis．Nat Cell Biol **9**：1142–1151，2007．
11）Mariño G，Salvador-Montoliu N，Fueyo A et al：Tissue-specific autophagy alterations and increased tumorigenesis in mice deficient in Atg4C/autophagin–3．J Biol Chem **282**：18573–18583，2007．
12）Amaravadi RK，Thompson CB：The roles of therapy-induced autophagy and necrosis in cancer treatment．Clin Cancer Res **13**：7271–7279，2007．

13) Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B et al : Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. Cancer Cell **10** : 51–64, 2006.
14) Zhang Y, Qi H, Taylor R et al : The role of autophagy in mitochondria maintenance ; characterization of mitochondrial functions in autophagy-deficient *S. cerevisiae* strains. Autophagy **3** : 337–346, 2007.
15) Mathew R, Kongara S, Beaudoin B et al : Autophagy suppresses tumor progression by limiting chromosomal instability. Genes Dev **21** : 1367–1381, 2007.
16) Pattingre S, Tassa A, Qu X et al : Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. Cell **122** : 927–939, 2005.
17) Maiuri M, Le Toumelin G, Criollo A et al : Functional and physical interaction between Bcl-X(L) and a BH3-like domain in Beclin-1. EMBO J **26** : 2527–2539, 2007.
18) Lomonosova E, Chinnadurai G : BH3-only proteins in apoptosis and beyond ; an overview. Oncogene (Suppl) **1** : S2–S19, 2008.
19) Wei Y, Pattingre S, Sinha S et al : JNK1-mediated phosphorylation of Bcl-2 regulates starvation-induced autophagy. Mol Cell **30** : 678–688, 2008.
20) Moscat J, Diaz-Meco MT, Albert A et al : Cell signaling and function organized by PB1 domain interactions. Mol Cell **23** : 631–640, 2006.
21) Duran A, Linares JF, Galvez AS et al : The signaling adaptor p62 is an important NF-kappaB mediator in tumorigenesis. Cancer Cell **13** : 2008.
22) Mathew R, Karp CM, Beaudoin B et al : Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. Cell **137** : 1062–1075, 2009.
23) Takamura A, Komatsu M, Hara T et al : Autophagy-deficient mice develop multiple liver tumors. Genes Dev **25** : 795–800, 2011.
24) Inami Y, Waguri S, Sakamoto A et al : Persistent activation of Nrf2 through p62 in hepatocellular carcinoma cells. J Cell Biol **193** : 275–284, 2011.
25) Faivre S, Kroemer G, Raymond E : Current development of mTOR inhibitors as anticancer agents. Nat Rev Drug Discov **5** : 671–688, 2006.
26) Yuan R, Kay A, Berg WJ et al : Targeting tumorigenesis ; development and use of mTOR inhibitors in cancer therapy. J Hematol Oncol **2** : 45, 2009.
27) Maclean KH, Dorsey FC, Cleveland JL et al : Targeting lysosomal degradation induces p53-dependent cell death and prevents cancer in mouse models of lymphomagenesis. J Clin Invest **118** : 79–88, 2008.

Autophagy and cancer

Akito Takamura

Department of Medicine and Rheumatology,
Tokyo Medical and Dental University

Summary
Autophagy is a major pathway for degradation of cytoplasmic proteins and organelles. Today, many important roles of autophagy including adaptive response to starvation and quality control of intracellular proteins have been demonstrated. Evidence has suggested that autophagy is also involved in tumor suppression.
This review examines the multiple roles of autophagy in tumor suppression.

Key words：autophagy, cancer, Beclin 1, Atg5, p62

剖検症例から学ぶ疾病の転帰と病態生理

剖検症例 No.21～35

症例 No.21　粘液性子宮平滑筋肉腫の剖検例

剖検依頼科：周産女性科　　臨床担当医：小林真弓，若葉公雄

【概要】 5年前に10 cm大の腹部腫瘤を指摘され，単純子宮全摘術をすすめられたが，了承が得られず手術は行われなかった．1年前に腹部膨満感を主訴に当院を受診し，子宮全摘，両側付属器，腹腔内播種切除術が施行されたが，播種巣が残存した．腫瘍はmyxoidな間質を背景として異型を示す紡錘形細胞が束状に配列しており，免疫染色では腫瘍細胞はα–SMA（＋/－），Caldesmon（弱陽性）であり，平滑筋への分化を示した．核分裂像は少なく，明らかな壊死を認めなかったためSTUMP（smooth muscle tumor of uncertain malignant potentinal：悪性度不明の平滑筋腫瘍）との鑑別が問題となったが，明らかな浸潤性増殖を示し，播種巣も認められることから粘液性子宮平滑筋肉腫と診断された．術後4ヵ月より残存腫瘍の増大を認め，徐々に全身状態も悪化し，死亡した．解剖時には粘液の豊富な腫瘍が骨盤内，腹腔内を充満していた．

【症例】 49歳，女性．

主　訴：腹部膨満感，摂食困難．

家族歴・生活歴：特記すべきことはない．

既往歴：特記すべきことはない．

【臨床経過】

6年前：不正出血があり，単純型子宮内膜増殖症の診断．

5年前：子宮内膜子宮内掻爬術後も不正出血を認め，翌年MRIで子宮体部前壁に10 cm大の腫瘤を認めた（図1）．単純子宮全摘術をすすめられたが，了承が得られず経過観察としていた．

1年前：腹部膨満感を主訴に当院を受診．Dowglous窩に15 cmの腫瘤（図2，図3），腫瘍マーカー高値（CA125：219.1U/m*l*）を認め，子宮全摘，両側付属器，腹腔内播種切除術を施行した．播種は全摘出不可能であり，一部残存させて手術終了となった．化学療法は行わなかった．術後4ヵ月より残存腫瘍の増大があった．

入院時：全身状態悪化，best supported careの方針で入院となった．同月，徐々に衰弱し，死亡した．

【検索希望事項】

腫瘍の広がり．

【剖検診断】

Myxoid leiomyosarcoma of the uterus，state after ATH＋BSO.

【剖検所見】

既往標本：単純子宮全摘，両側付属器切除材料，2011年．myxoid leiomyosarcoma of the uterus，resection（図4）．

剖検時所見：粘液性子宮平滑筋肉腫の広がり

1. 腹腔内，骨盤内に粘液腫状の腫瘍が充満していた（図5）．腫瘍は腹腔内臓器を巻き込み，腹壁内にも腫瘍を認めた．腫瘍による圧排で横隔膜位は上昇していた．胸腔内および他に腫瘍は認めない．血行性，リンパ行性転移はない．
2. 組織学的には紡錘形の腫瘍細胞が粘液状の基質に浮遊する（図6）．凝固壊死は明らかでない．核分裂像は9個/10視野程度．手術時材料に比較して，腫瘍は充実性部分が乏しく，myxoidな性状が目立つ．
   免疫染色：Desmin（－），α–SMA（＋/－）［図7］，Caldesmon（弱陽性）［図8］，CD34（－），CD10（－），AE1/AE3（－），Ki67（10%）．

【病理所見まとめ】

1. 粘液性子宮平滑筋肉腫の残存腫瘍が増大し，腹腔内，骨盤内を占拠していた．
2. 血行性，リンパ行性転移はない．
3. 腫瘍細胞の形態は手術時に比較して，核異型，分裂像が目立ち，よりmyxoidな性状であった．
4. 死因は腫瘍の増大による衰弱，周囲組織の機能障害などの直接的影響，代謝，酵素系などの間接的影響である．
5. 粘液性子宮平滑筋肉腫は平滑筋肉腫の変異型であり，腫瘍細胞間に粘液腫状の基質が存在する．核異型は粘液性平滑筋腫と比較して高度であるが，平滑筋と平滑筋肉腫との差ほど顕著でないことが多い．粘液腫状基質のため通常型の平滑筋肉腫と比較して細胞密度が低く，核分裂像は良・悪性の基準として用いられない．凝固壊死の確認も困難である．粘液性平滑筋腫においてはSTUMP（悪性度不明の平滑筋腫瘍）に関する大まかな基準もいまだにない．
6. 本例は子宮体部に生じた粘液腫状の腫瘍であり，endometrial stromal sarcomaのmyxoid variantが鑑別にあげられる．
   以下に免疫染色の相違を示す．

	α–SMA	Desmin	Caldesmon	CD10
平滑筋腫瘍	++～+++	++～+++	++～+++	0～+
子宮内膜間質腫瘍	0～++	0～+	0	+～+++

臨床画像

図 1．5 年前の MRI 矢状断像．子宮体部から突出する腫瘍（矢印）［100×72×86 mm］．

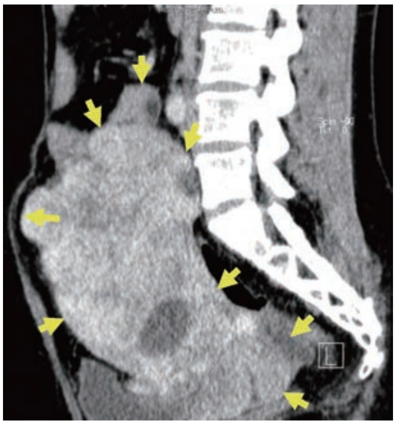


図 2．1 年前の MRI 矢状断像．一部液状変性を伴う内部不均一な腫瘍（矢印）［144×94×160 mm］．

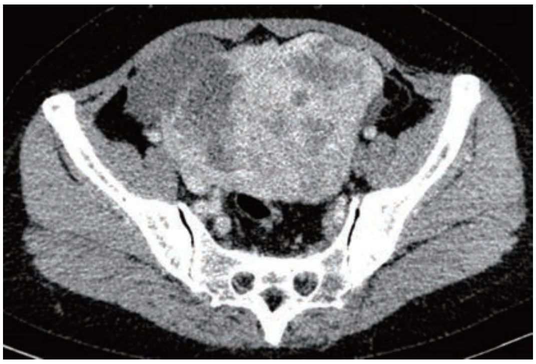


図 3．1 年前の MRI 水平断像．一部液状変性を伴う内部不均一な腫瘍（144×94×160 mm）．

病理画像

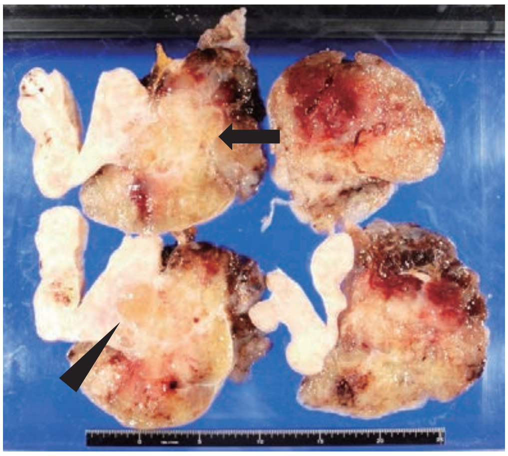


図 4．手術時の子宮全摘出肉眼標本．子宮外へ突出する粘液腫状腫瘍（矢印），筋層内白色充実性腫瘍（矢頭）．

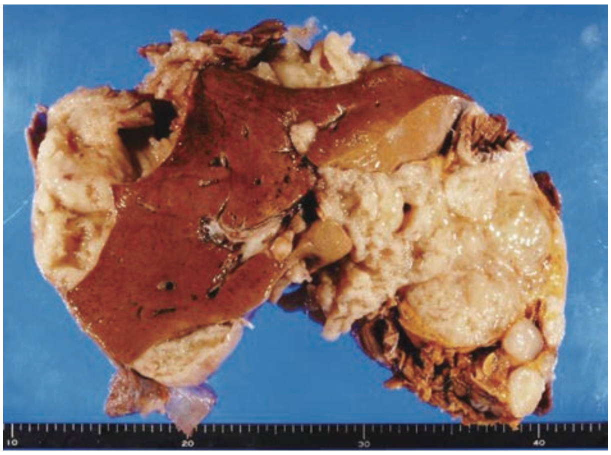


図 5．解剖時の摘出肉眼標本（腹腔内原発巣）．腫瘍が肝臓被膜や腸間膜に浸潤し癒着している．

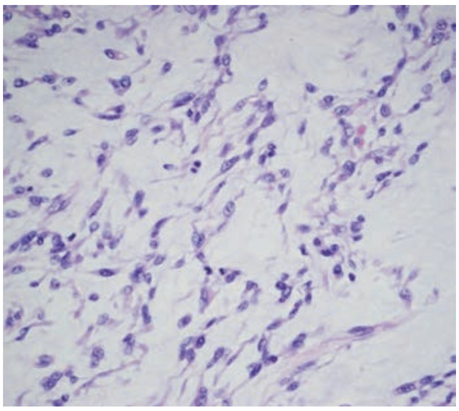


図 6．解剖時の病理組織像（HE 染色）．豊富な粘液基質の中に紡錘形の腫瘍細胞が浮遊する．

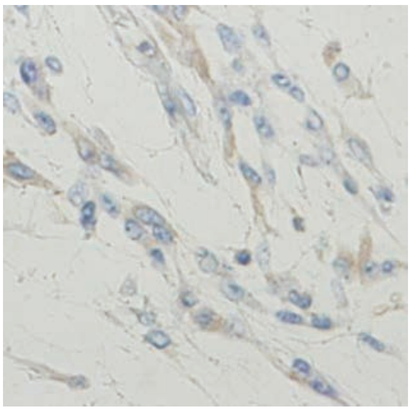


図 7．解剖時の病理組織像（Caldesmon 染色）．一部陽性を呈する．

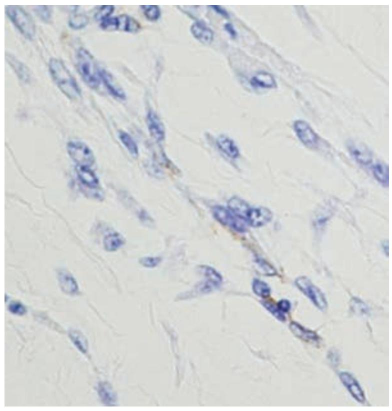


図 8．解剖時の病理組織像（α–SMA 染色）．ごく一部弱陽性を呈する．

症例 No.22　再生不良性貧血に対する ATG 療法中に *B. cereus* によると考えられる出血性肺炎で死亡した症例

剖検依頼科：血液内科

【概要】広範な皮下出血と飛蚊症を機に診断された再生不良性貧血で，治療中に多量の血性嘔吐があり死亡した 1 例である．抗胸腺細胞免疫グログリン（ATG）療法を開始して 2 週間半は概して順調な経過をたどっており，突然の血性嘔吐の際も出血部位は不明であった．血性嘔吐の後は急激に全身状態が悪化し，挿管チューブから多量の鮮血がみられたことにより肺からの出血と考えられたが，蘇生処置に反応せずに死亡した．剖検所見では，骨髄は低形成性ながらも T リンパ球の割合の減少と造血細胞の回復傾向がみられた．一方で，両肺には高度の肺炎，壊死がみられ，*B. cereus* と考えられる Gram 陰性桿菌が多量に認められた．*B. cereus* は一般に弱毒菌とされるが，毒性の強い菌株の報告もあり，好中球減少と相俟って広範な肺炎を引き起こしたものと考えられる．

【症例】71 歳，女性．

主　訴：眼底出血．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：両側卵巣囊腫（手術），高血圧症，糖尿病，変形性膝関節症，白内障．

生活歴：喫煙なし，飲酒なし．

【臨床経過】

3 週間前：自転車で転倒した際に両上肢と左下肢に広範な皮下出血．

2 週間前：飛蚊症で近医眼科を受診し，眼底出血と血小板減少を指摘される．

入院時：当院血液内科を受診，汎血球減少を認め緊急入院となった．再生不良性貧血と診断．

14 日後（day1）：ATG 療法開始．

15 日後（day2）：38℃ の発熱があったが，すぐに解熱（図 1）．その後は嘔気や心窩部痛の出現と消失を繰り返したが安定して経過．

20 日後（day7）：ATG 療法後いったん低下した白血球数が増加傾向となる．

30 日後（day17）：突然の血性嘔吐の後，意識レベル低下，呼吸不全，血圧低下（図 2）．気管挿管したところ挿管チューブから多量の鮮血がみられ，蘇生処置に反応せず死亡した．

【検索希望事項】

出血部位の同定と原因検索，造血の状態と治療効果

【剖検診断】

1. 再生不良性貧血（under treatment）．
2. 細菌性肺炎．

【剖検所見】

A. 再生不良性貧血（under treatment）

既往骨髄生検（入院直後）：低形成性骨髄．CD3（+）の T リンパ球が目立ち，CD34（+）の造血幹細胞はほとんどみられない．

剖検時骨髄：脂肪髄．低形成性だが，一部に造血細胞の集塊がみられる（図 3）．T 細胞の割合は減少し，骨髄球や造血幹細胞がやや増加する．

B. 細菌性肺炎

705/515 g と両肺重量は増加する．両主気管支粘膜は発赤し，血性泡沫状痰が多量にみられる．胸水は左右とも少量であった．割面で右肺全葉と，左肺下葉背側主体に暗赤調を示す（図 4）．暗赤調の部分で肺は凝固壊死に陥り，赤血球を含む滲出液が肺胞腔を満たす．Gram 陰性桿菌がびまん性，多量に認められる（図 5）．培養にて *B. cereus* を検出した．

C. 胃潰瘍

胃底部小彎に 13×5 mmUL-Ⅱの潰瘍がある（図 6）．線維化は乏しく，比較的新しい．

【病理所見まとめ】

1. 出血部位は肺と胃の可能性が考えられるが，胃潰瘍は浅く，大きな動脈を巻き込む像はないため，高度の壊死のみられた肺が主体と考えられる．
2. 肺から培養された *B. cereus* は一般に常在菌ないし弱毒菌とされるが，炭疽菌と類似した毒性をもち致死性の肺炎を起こす一部の菌株が報告されている．本例では好中球減少を背景に *B. cereus* が高度の肺炎を起こした可能性がある．
3. 骨髄は低形成性であったが，治療前と比べ T 細胞の割合が減少し，回復傾向を示していた．
4. 死因は細菌性肺炎によって呼吸不全と肺出血が引き起こされたためと考えられる．

臨床画像

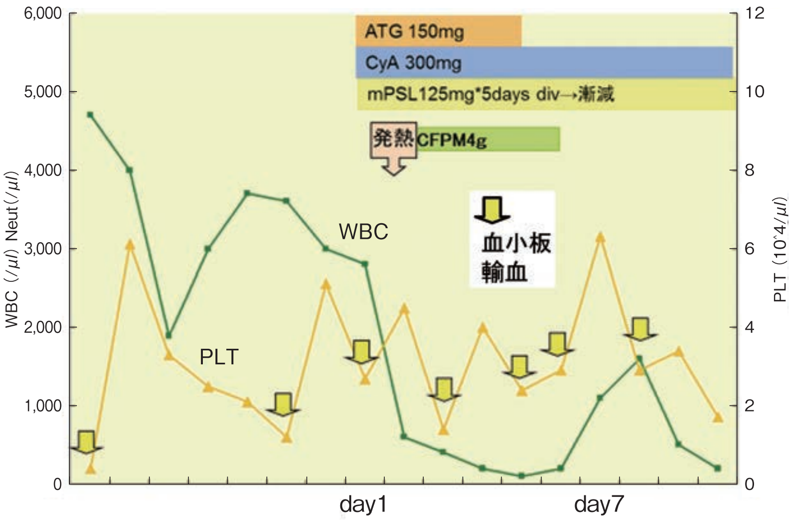


図 1．治療および白血球数，血小板数の経過

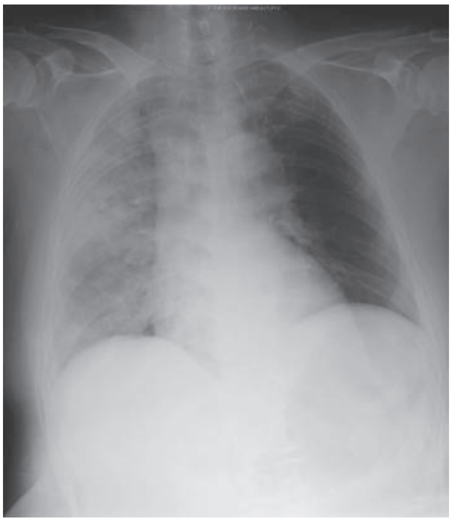


図 2．急変時（day 17）の胸部 X 線像．右下肺主体に浸潤影．

病理画像

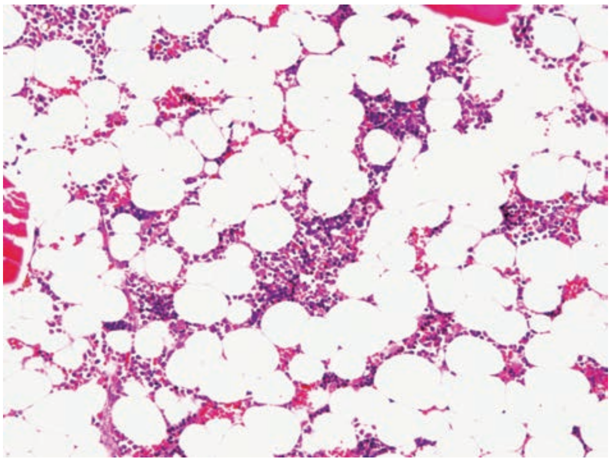


図 3．剖検時腰椎骨髄組織像（HE 染色）．低形成だが一部造血細胞集塊がみられる．

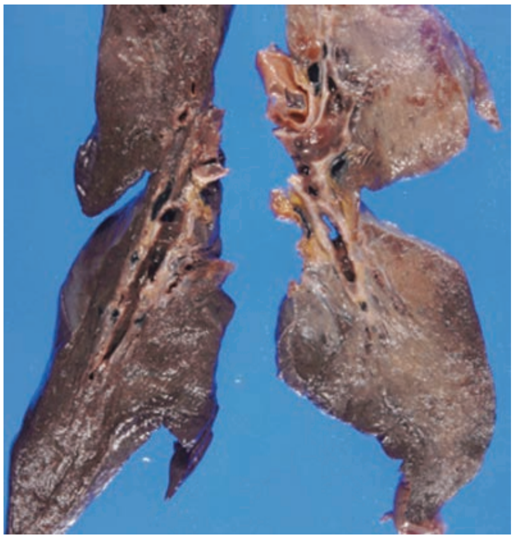


図 4．肺摘出肉眼標本．割面は暗赤色調を呈する．

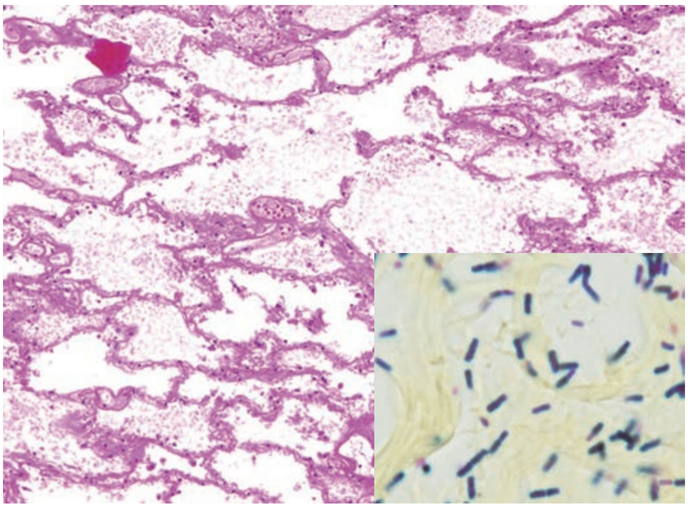


図 5．右肺下葉病理組織像（HE 染色）．肺は壊死し核の染色性が失われている．Gram 染色では多数の Gram 陰性桿菌がみられる（右下）．

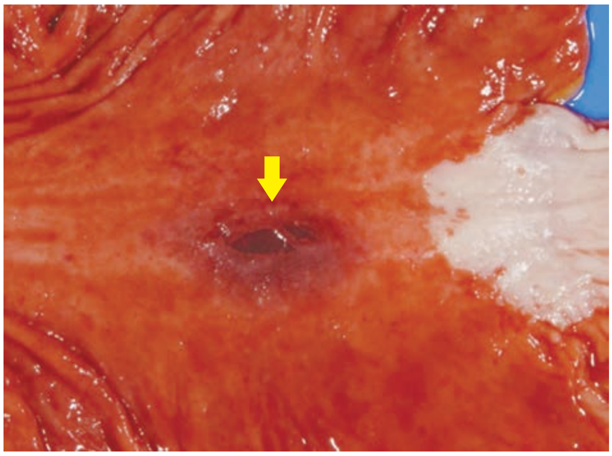


図 6．摘出肉眼標本．胃潰瘍は UL−Ⅱと浅く，主な出血源とは考えにくい．

症例 No.23　進行膵癌に出血性胃潰瘍を合併し死亡した症例

剖検依頼科：練馬光が丘病院総合診療科　　臨床担当医：濱田　治

【概要】 膵癌に対する1年半の抗癌薬治療の後，出血性胃潰瘍を合併し死亡した症例．膵癌は診断時に手術適応がないと判断され，経口抗癌薬で治療されていたが，癌の再増大を認めた後に胃潰瘍を合併した．癌による潰瘍と考えられ，積極的な延命治療は行わない方針とされていたため止血などは行わず，緩和治療の後死亡した．剖検時には，膵癌は周囲の胃や十二指腸などに直接浸潤がみられ，腹膜播種をS状結腸に認めたが，他に遠隔転移はなかった．胃には動脈の濾出を伴う深い潰瘍がみられた．潰瘍近傍の胃壁まで癌が浸潤していたが，潰瘍部までは達していなかった．また肺炎が両肺背側を中心に広く認められ，死因としては癌による衰弱を背景に，胃潰瘍からの出血，肺炎による呼吸不全が複合的にかかわったと考えられた．

【症例】 66歳，男性．

主　訴：吃逆，食思不振．

家族歴：不明．

既往歴：特記すべきことはない．

生活歴：喫煙不明，飲酒不明．

【臨床経過】

1年半前：膵癌 stage Ⅳa と診断（腹腔動脈と上腸間膜動脈への浸潤あり）．抗癌薬（gemcitabin：GEM）を開始した．全身状態は安定していた．

3ヵ月前：腫瘍の再増大がみられたため抗癌薬を変更した（tegafur，gimeracil，oteracil potassium：TS–1）．

入院時：吃逆，食思不振にて内科を受診した．CTで胃の拡張と幽門付近の肥厚あり（図1）．経鼻胃管を挿入するとコーヒー残渣様の胃内容物を認め，貧血が進行した．Best supportive care の方針であり，止血処置はせず，経過観察とした．

3週後：死亡．

【検索希望事項】

上部消化管出血の精査，膵癌の状態

【剖検診断】

1. 膵体尾部癌，化学療法後．
2. 出血性胃潰瘍．
3. 気管支肺炎．

【剖検所見】

A. 膵体尾部癌，化学療法後

1. 原発巣：膵体尾部を主座とする6 cm大の境界不明瞭な腫瘍（図3）．主膵管は閉塞していた．組織学的には中～低分化の管状腺癌（図4）．腹腔動脈，上腸間膜動脈，門脈に浸潤し，周囲の神経叢にも及ぶ．腫瘍は全体に viable であるが，膵尾部の一部にヘモジデリン貪食マクロファージの集簇巣があり，癌の消失後をみている可能性があった．
2. 胃幽門前庭部固有筋層，十二指腸水平部粘膜固有層，左副腎被膜への直接浸潤．
3. 膵周囲リンパ節への多数の直接浸潤は認められるが，リンパ行性といえる転移はない．
4. S状結腸間膜への播種．
5. 血行性転移はない．

B. 出血性胃潰瘍

1. 幽門前庭部後壁に5 cm大の胃潰瘍（UL–Ⅳ）が認められ，潰瘍底には損傷した動脈が露出する（図5）．胃内容物は黒色調．癌は潰瘍近傍まで浸潤するが，潰瘍底までは達していない．
2. ショック肝，肝線維症：肝重量1,130 gは基準値内であった．小葉中心性に肝細胞が変性脱落するが，中心静脈周囲の線維化を伴っており，一部で中心静脈–門脈の架橋線維化がみられる．
3. 全身臓器は貧血調を呈する．

C. 気管支肺炎：肺重量は530/730 gと増加する．両主気管支内に泡沫状痰の貯留があり，両肺背側を主体に気管支肺炎を認める（図6）．

【病理所見まとめ】

1. 膵体尾部を占める中～低分化の管状腺癌がみられ，腹腔動脈，上腸間膜動脈，門脈，胃，十二指腸，左副腎に浸潤していた．S状結腸に腹膜播種があった．血行性やリンパ行性の遠隔転移はなかった．
2. 動脈を巻き込む出血性の胃潰瘍が認められた．膵癌の直接浸潤はなかったが，近傍まで浸潤しており，壁運動低下，胃液うっ滞などが影響した可能性がある．
3. 肝はいわゆるショック肝の状態であったが，線維化があることから背景にアルコールや薬剤による肝障害があったのであろう．
4. 死因は，膵癌による全身衰弱に，胃潰瘍からの動脈性出血による出血性ショック，気管支肺炎が複合的にかかわったと考えられる．

臨床画像

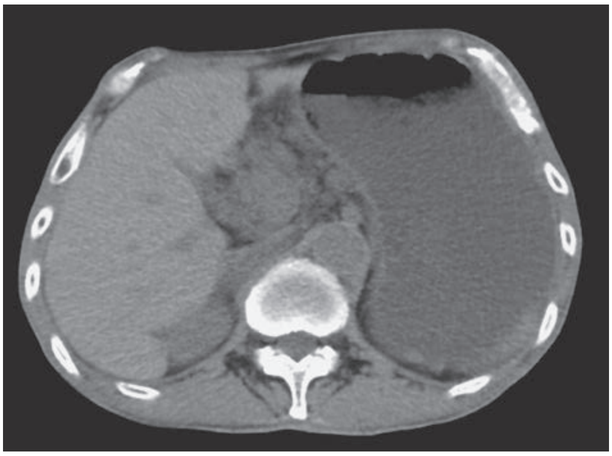


図 1．来院時腹部 CT（1）．胃内容物の貯留を認める．この後，経鼻胃管が挿入され血性内容物が流出する．

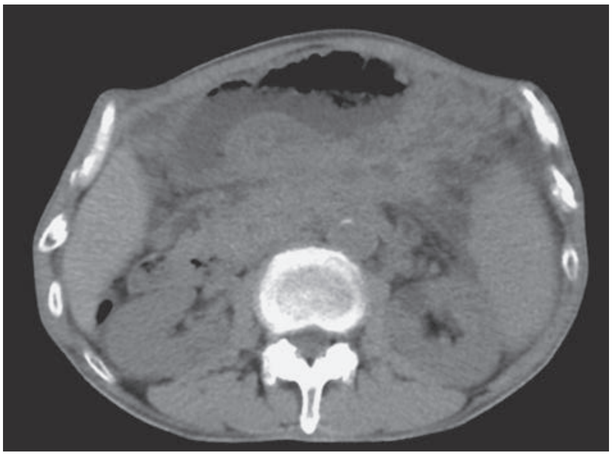


図 2．来院時腹部 CT（2）．膵に不整形の腫瘍を認め，幽門付近には胃壁肥厚がみられる．

病理画像

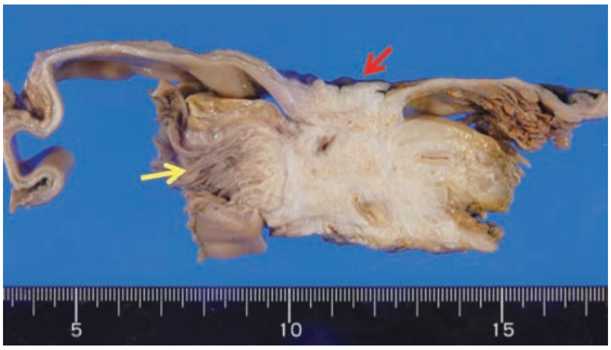


図 3．膵摘出肉眼標本割面像．境界不明瞭な腫瘍である．図上方向で胃（赤矢印），左方向で十二指腸へ浸潤する（黄矢印）．

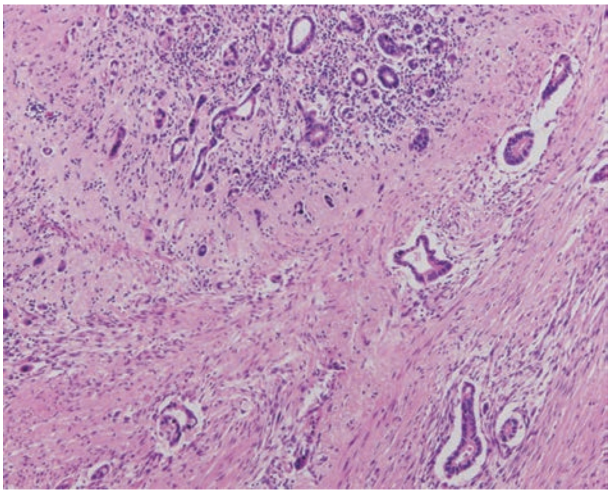


図 4．膵体部病理組織像（HE 染色）．腺腔形成する小型の癌胞巣がみられ，中分化管状腺癌の所見である．

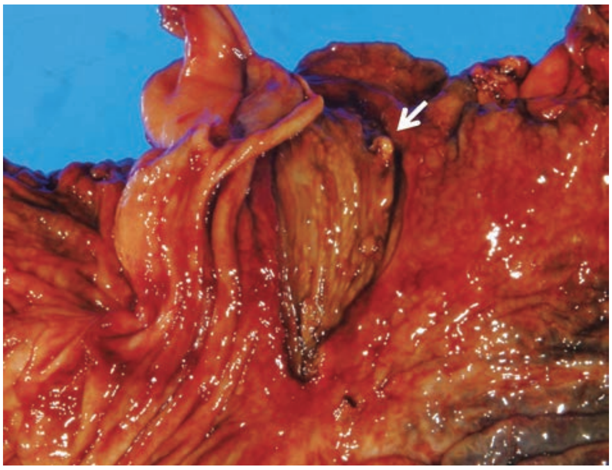


図 5．摘出肉眼標本（1）．幽門前庭部の胃潰瘍．矢印は損傷した動脈．

図 6．摘出肉眼標本（2）．左肺下葉の硬化巣．組織学的に気管支肺炎がみられる．

症例 No.24　右下肢血栓除去術施行後に治療抵抗性の低酸素血症をきたし死亡した症例

剖検依頼科：循環器内科

【概要】 両下肢のしびれ，疼痛を契機に発症した右下肢動脈血栓症である．血栓除去を行ったが，術後にうっ血性心不全，治療抵抗性の低酸素血症を発症した．うっ血性心不全のコントロール後も低酸素血症は遷延し，急性呼吸促迫症候群（ARDS）と診断され治療されるが，治療抵抗性であり死亡した．剖検時は両肺にびまん性肺胞障害（DAD）の所見を認め，また軽度の間質性肺炎を疑う線維化巣を背景に認めた．確定は困難であるが，DAD の原因としては間質性肺炎の急性増悪が考えられた．

【症例】 80 歳代，女性．
主　訴：両下肢のしびれ，疼痛．
家族歴：特記すべきことはない．
既往歴：右大腿骨頸部骨折（76 歳），交通外傷による脳挫傷（78 歳），右膝化膿症（88 歳，保存的治療）．
生活歴：喫煙歴はなし，飲酒歴は機会飲酒．

【臨床経過】 動悸，息切れなどの症状はなく，入院半年前の健康診断でも異常は指摘されていなかった．
2 週間前：数 m の歩行で下肢のしびれ，疼痛を自覚したが，安静で改善していた．
1 日前：下肢の疼痛としびれが増悪した．
入院時：症状は改善せず，右下肢急性動脈閉塞症との診断で血管外科に入院した．来院時より咳嗽，血性膿性痰，頻脈性心房細動，両肺野の透過性低下を認めた．
1 日後：血栓除去術を施行．術後の胸部 X 線像でうっ血像と肺野の透過性の低下を認め，心不全を疑って治療を開始した．
4 日後：治療に反応せず，低酸素血症が悪化したため循環器内科へ転科した（図 1）．転科時，ARDS を疑い，エラスポールを開始した．
1 日後：mPSL500mg/日×3 日間行い，その後 mPSL40mg/日で継続した．低酸素血症は一時改善した（図 2）．
10 日後：呼吸状態が再度悪化し，胸部 X 線像上も両肺野の浸潤影がさらに悪化した（図 3）．
17 日後：β–D–グルカン上昇を認め，喀痰培養で *C. albicans* が検出されたためフルコナゾールを開始した．
19 日後：呼吸状態は改善せず死亡した．

【検索希望事項】
低酸素血症/ARDS の原因，真菌感染のフォーカス．

【剖検診断】
1. びまん性肺胞障害（DAD）．
2. 間質性肺炎の疑い．
3. 両側心房拡大（心房細動），急性右大腿動脈閉塞症（血栓除去後），脾梗塞．

【剖検所見】
A. 肺の状態（435/565 g）
　1. びまん性肺胞障害：左右ともに重量の増した肺（435/565 g）で全体に含気は低下する（図 4）．組織学的には滲出期～増殖期のびまん性肺胞障害の所見である（図 5）．病変は上葉，中葉主体に一部下葉に広く認められる．一部で巣状肺炎，肺胞内器質化巣を認める．
　2. 間質性肺炎疑い：右肺胸膜直下，および左肺横隔膜面に虚脱線維化巣があり，軽度の蜂巣肺を認める．細気管支上皮化生，一部に扁平上皮化生を伴う．小葉中心性の線維化は明らかではない．軽度の間質性肺炎を疑う所見（図 6）．
B. 心臓（360 g）
　1. 陳旧性心筋梗塞：やや重量の増した心臓で，心尖部前壁に 10 mm 大の陳旧性心筋梗塞を認め，一部急性進展？を認める．
　2. 両心房拡張：両心房の拡張を認める．心耳に血栓は認めない．冠動脈には石灰化がみられ，右冠動脈に 50% の狭窄を認める．左冠動脈（LMT，LAD，LCX）は 25% までの狭窄を示す．左右ともに末梢まで有意狭窄は認めない．
C. 急性右大腿動脈閉塞症（血栓除去後），脾梗塞
　1. 急性右大腿動脈閉塞症（血栓除去後）：左右総腸骨動脈分岐部から左右浅大腿動脈まで粥状硬化と 50% までの内腔狭窄を認める．血栓，完全閉塞は認めない（図 7）．
　2. 脾梗塞：3.0 cm 大の梗塞巣と動脈内の器質化血栓を認める（図 8）．
D. 左頬粘膜癌
　左頬粘膜に高分化扁平上皮癌の浸潤を認める．

【病理所見まとめ】
1. 低酸素血症の原因について
肺全体に DAD がみられ，治療抵抗性の低酸素血症を十分に説明しうる．DAD は滲出期～増殖期に相当し，臨床経過とも時期的に一致する．なお両肺にみられる傍胸膜線維化は以前から存在するものと考える．
2. DAD の原因
本例では急性下肢動脈閉塞および血栓除去術後から呼吸状態の悪化がみられたが，文献的には急性下肢動脈閉塞症と DAD との関連を報告したものはなかった．一方，本例では傍胸膜線維化を認め，背景に間質性肺炎の存在が示唆され，その急性増悪が考えられる．その他，感染や医療行為に伴った侵襲がなんらかの形で DAD 発症に関与した可能性もあるが，いずれも関連性の有無は確定困難である．なお血管炎，膠原病を示唆する所見は認められなかった．

臨床画像

図 1．転科時の胸部 CT

図 2．ステロイドパルス療法後の胸部 X 線像

図 3．転科 10 日後の胸部 X 線像

病理画像

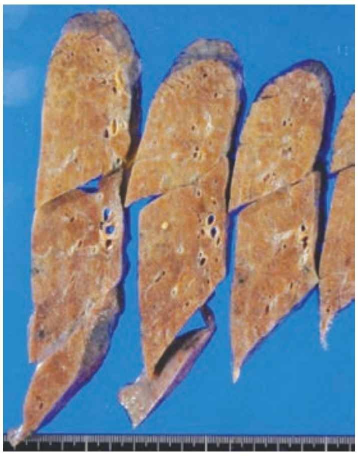


図 4．肺の摘出肉眼標本．含気は著明に低下する．

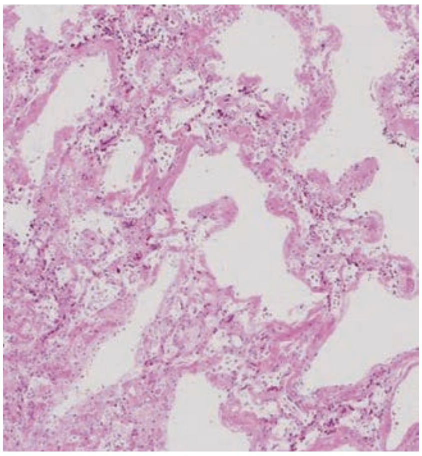


図 5．病理組織像（HE 染色）[1]．滲出期～増殖期のびまん性肺胞障害．

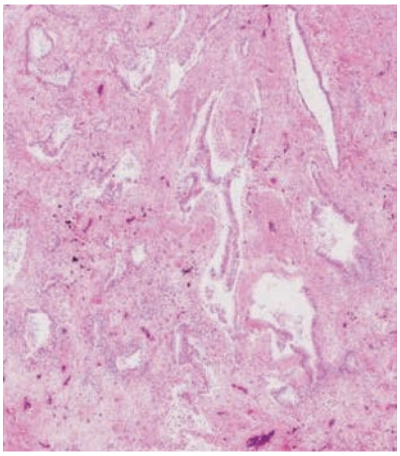


図 6．病理組織像（HE 染色）[2]．胸膜下の虚脱線維化巣を認める．

図 7．摘出肉眼標本（1）．総腸骨分岐部以下には粥状硬化，内腔狭窄を認めるが，完全閉塞，血栓は認めない．

図 8．摘出肉眼標本（2）．脾梗塞（白色部）

症例 No.25　肺炎の診断で入院中に突然気道内出血をきたし死亡したBehçet病および リウマチ性弁膜症を背景にもつ77歳・男性の1剖検例

剖検依頼科：救急科

【概要】 Behçet 病およびリウマチ性弁膜症を背景にもつ 77 歳・男性で，大動脈弁置換術後でワルファリン内服中であった．肺炎の診断で入院した 6 時間後に急速な肺出血をきたし，出血コントロールが効かず呼吸不全により死亡した．剖検では，左下肺野において，気管支肺炎の周囲に小葉中心性肺胞出血巣が無数にみられた．また，右 S6 では気管支 B6 と交通する空洞内に肺動脈の断裂および血腫がみられた．ワルファリン内服中は，コントロールが良好であっても肺炎により重篤な肺胞出血をきたす可能性があることを確認させられる症例であった．

【症例】 77 歳，男性．

主　訴：意識障害，呼吸困難．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：リウマチ熱（詳細不明），大動脈弁逆流症で 54 歳時に人工弁置換術を施行し，ワルファリン内服中である．Behçet 病（45 歳ころから）：左目失明，右目光覚弁，うつ病，認知症，人工骨頭置換術を施行した（3 年前）．

生活歴：喫煙歴は 20 本/日，20～30 歳時，飲酒歴はない．

【臨床経過】

入院 3 日前：湿性咳嗽，食欲低下により近医を受診したが経過観察となる．

入院時：転倒後に意識障害をきたし当院へ搬送される．胸部 X 線像（図 1），CT（図 2）では両側下肺野に肺炎を疑う浸潤影がある．

入院 6 時間後：急速な酸素化不良およびショックバイタルとなり気管支鏡を施行した．両側気管支に血液の垂れ込みがあったが出血部位は同定できず，人工呼吸管理とした．

入院 10 時間後：再度，気管支鏡および CT（図 3）を施行した．左主気管支からの出血と判断され，右肺換気に切り替えたが改善しなかった．

入院 13 時間後：カテコラミンサポートおよび胸骨圧迫を繰り返したが改善せず，死亡した．

【検索希望事項】

肺出血の原因と部位，Behçet 病との関連はあるか，出血傾向を説明する原因がワルファリン以外にあるか．

【剖検診断】

1. 誤嚥性出血性肺炎，右肺下葉血腫．
2. 大動脈弁置換後，リウマチ性僧帽弁膜症，左心肥大，両心房拡張．
3. Behçet 病寛解状態．

【剖検所見】

A. 誤嚥性出血性肺炎，右肺下葉血腫（左 975/ 右 950 g）

両側とも著明に重量が増していた．左下葉中心に血液が充満し（図 4），右下葉に B6 と交通する血腫があり（図 5），周囲に出血が広がる．組織学的には左下葉全域に気管支肺炎像を中心とした小葉中心性の肺胞出血巣（図 6，7）が無数にある．右肺血腫部には気管支肺炎像とともに，肺動脈の破綻像（図 8，9）が確認される．気管支肺炎像は左側優位である．

B. 大動脈弁置換後，リウマチ性僧帽弁膜症，左心肥大，両心房拡張

大動脈弁人工弁置換術後，疣贅の付着はない．僧帽弁の肥厚と腱索の癒合があり，組織学的にリウマチ性僧帽弁弁膜症の所見である．左房，右房の著明な拡大および軽度の左心肥大があり，肺には心不全細胞が出現していた．

C. Behçet 病の寛解状態

肉眼的に，口腔内，外陰部，皮膚，関節に潰瘍や腫脹などの関連所見はない．組織学的に血管炎や精巣上体はない．

【病理所見まとめ】

1. 肺出血について

臨床的には，画像上は左肺優位に血液が充満し，気管支鏡でも左気管支からの血液が湧き出し，右肺換気に切り替えた際にも気管チューブから血液は引けなかったことから，左側からの出血が考えられる．剖検においても，左肺のとくに下葉では出血性誤嚥性肺炎を認めたことから，この病変が出血の主因と考える．ただし，右肺でも同様の誤嚥性肺炎および右 S6 に臨床的に指摘されていなかった血腫を認めた．血腫に関しては肺動脈枝の損傷部位が同定されており，チューブ挿入などの医原性の動脈損傷の可能性も考えられる．ワルファリン使用中であり，出血の急速な進行に関与しているものと思われる．したがって，出血は左肺から始まったものの，右肺の血腫形成と出血により，呼吸不全が急速に進行したと考える．

2. Behçet 病との関連について

Behçet 病では，血栓性静脈炎とともに，動脈にも病変が及ぶことがあり，まれに肺動脈瘤を形成し破裂することが知られている．本例においては，右肺血腫部に血管の破綻像がみられるものの，剖検時に全身の血管炎の所見はなく，肺動脈瘤の存在を示唆する所見もないため，Behçet 病と今回のエピソードを積極的に関連づけるのは困難である．

3. 全身の出血傾向について

副甲状腺に出血がみられた以外は有意な出血所見はなく，骨髄の巨核球数は正常範囲内であり，肝臓にも著変はないことから，ワルファリン服用以外に出血傾向の原因があった可能性は考えにくい．

臨床画像

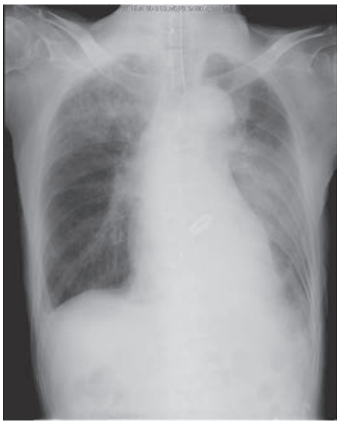


図 1. 入院時の胸部単純 X 線像．右上葉，左下葉に浸潤影がある．

図 2. 入院時 CT．両肺背側に浸潤影がある．

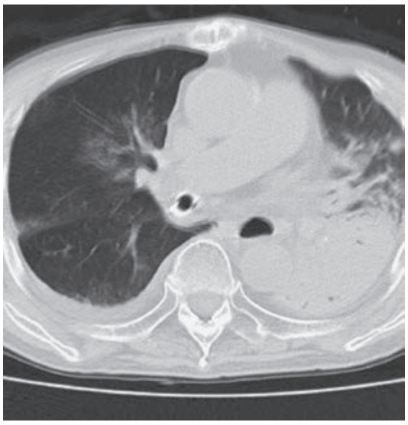


図 3. 入院後 10 時間後 CT．左下肺優位に高吸収域があり，出血の所見である．

病理画像

図 4. 摘出肉眼標本（1）．左下肺に血液が充満している．

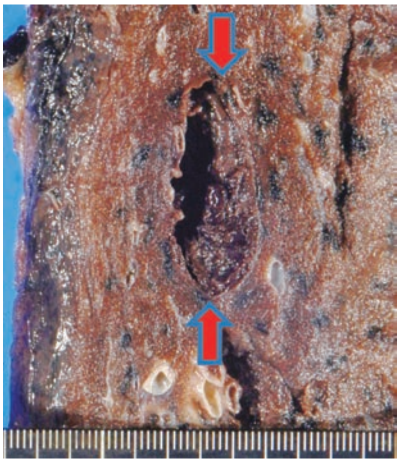


図 5. 摘出肉眼標本（2）．右肺，気管支 B6 と交通する血腫（矢印）．

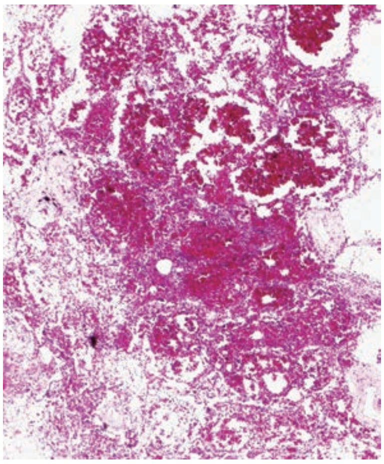


図 6. 病理組織像（HE 染色）[1]．左肺小葉中心性の出血．

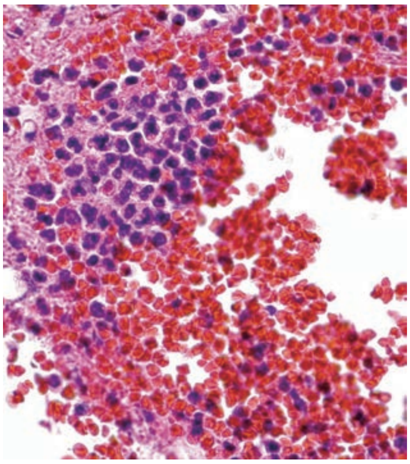


図 7. 病理組織像（HE 染色）[2]．左肺気管支肺炎周囲の出血．

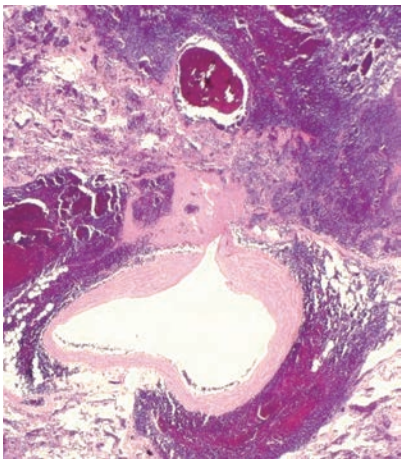


図 8. 病理組織像（HE 染色）[3]．右肺空洞病変の血管破綻像．

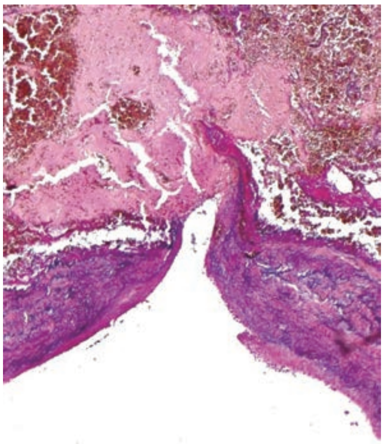


図 9. 病理組織像（EVG 染色）[4]．右肺血管破綻部．

症例 No.26　認知症で経過中に肝機能障害と誤嚥・呼吸状態悪化をきたして死亡した症例

剖検依頼科：練馬光が丘総合病院総合診療科　　臨床担当医：佐々木昭典

【概要】

71 歳時に横行結腸癌手術，78 歳時に食道癌手術が行われており，誤嚥性肺炎を繰り返すようになり，急速に低栄養が進行したと思われる症例である．解剖時は高度の低栄養状態を背景として，両肺下葉主体に多発性肺膿瘍と敗血症の所見を認め，死因となったと考える．肺内には多数の食物残渣と思われる異物を認め，顕性の誤嚥を繰り返した所見であり，肺膿瘍の直接原因と考えられた．なお肝機能障害については，抗生物質による薬剤性機序がもっとも考えられた．

【症例】 80 歳，男性．

主　訴：CV ポート増設目的，肝機能酵素異常．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：高血圧，脂質異常症，前立腺肥大，白内障，胃潰瘍（41 歳，胃 2/3 切除），横行結腸癌（71 歳，手術），食道癌（78 歳，手術）．

生活歴：アルコールは機会飲酒，タバコは 10 本/日×40 年．

【臨床経過】

6 ヵ月前：認知症があり前々医に入院した．

2 ヵ月前：誤嚥性肺炎と診断され，前医へ転院し抗生物質を投与される．

1 週間前：肝酵素上昇があり抗生物質を変更した．肝酵素上昇は遷延し，嚥下機能低下も著明であった．

入院時：精査および CV ポート作製目的で入院（図 1）．AST/ALT は 600～700 IU/*l* 程度であった．薬剤性肝障害を考え抗生物質を中止した．肝酵素上昇はピークアウトした（図 2）．

8 日後：呼吸状態悪化，発熱，胸部浸潤影を認め白血球減少（600/*μl*）があり，肺炎，敗血症を考え抗生物質を開始した（図 3）．

15 日後：血小板低下（1.4 万/*μl*）があり輸血し，薬剤性を考え抗生物質を中止した．NGtube により経管栄養開始した．

17 日後：心拍数低下，意識レベル低下があり死亡した．

【検索希望事項】

肝障害の原因，死因，手術後の癌の状態，骨髄の状態．

【剖検診断】

1. 両側肺多発膿瘍および敗血症．
2. 低栄養状態．

【剖検所見】

A. 両側肺多発膿瘍（左 340/ 右 560 g）

両側肺とも下葉に暗調含気低下があり，最大 4 cm までの膿瘍の多発を認め，一部は空洞化している（図 4）．膿瘍は下葉のみならず右上葉中葉にも散見される．組織学的には，いずれも壊死と好中球集簇からなり（図 5），一部で炎症は肺動脈内にも及び，血栓形成を伴い，肺実質の凝固壊死を認める．膿瘍内や瘢痕巣に異物（図 6）とそれを貪食する異物巨細胞が多発する．

B. 敗血症

1. 血液培養：*S. marcescens*，*Corynebacterium sp.*，*Enterococcus sp.*，*Staphylococcus*（*S. aureus* 以外）．
2. 脾炎（90 g）：軽度うっ血．好中球浸潤がやや目立ち，被膜内にも及ぶ．軽度ヘモジデローシス．
3. 肝臓（680 g）：門脈域に軽度の好中球浸潤を認める．類洞内にも好中球を散見する．胆汁うっ滞は目立たない．

C. 低栄養状態：

1. 外表所見上，るいそうが著明で，上下肢に浮腫を伴う．
2. 全身臓器脂肪組織の myxoid change，骨髄の膠様変性が高度である．
3. 副腎（左 6/右 5 g）：リポイド減少がある．

D. 胃・消化管手術後

1. 胃潰瘍および食道癌術後の状態：各種吻合部に著変はない．腫瘍の再発はない．転移はなかった．
2. 横行結腸癌術後の状態：吻合部の著変はない．腫瘍再発，転移はない．

E. 肝臓（680 g）：肝細胞索は萎縮調であり，小葉内には小さな肝細胞脱落と線維化を伴う部位が散見される（図 7）．

F. 骨髄の状態：C/F 比が不均一，骨髄球系軽度過形成，巨核球数は保たれる（14/mm^2 程度）[図 8]．

【病理所見まとめ】

解剖時，全身的な低栄養状態を背景として，両肺下葉主体に多発性の肺膿瘍と敗血症の所見を伴っており，これらが死因となったと考える．肺内に多数の食物残渣と思われる異物を認め，顕性の誤嚥を繰り返した所見であり，肺膿瘍の直接原因と考えられる．本例は 71 歳時に横行結腸癌手術，78 歳時に食道癌手術が行われており，誤嚥性肺炎を繰り返すようになり，急速に低栄養が進行したと思われる．肝臓については薬剤性肝障害として矛盾しない所見であった．骨髄については巨核球をはじめとする造血細胞は比較的保たれており，血小板減少については末梢性の機序（薬剤性あるいは血球貪食や敗血症に伴う変化など）を考える．

臨床画像

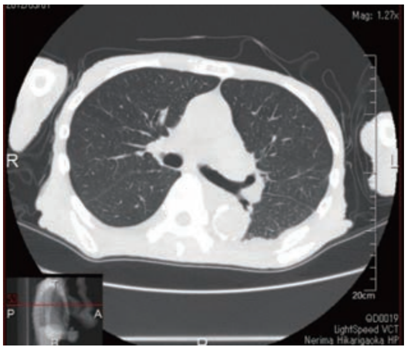


図 1. 入院時胸部 CT. 肺炎を疑うような所見に乏しい.

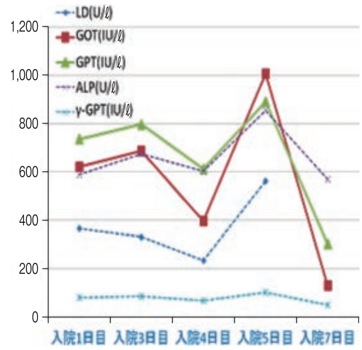


図 2. 肝機能の推移. 肝酵素は一時（入院 5 日目），GOT/GPT：1,006/889 まで上昇したが，入院 7 日目には GOT/GPT：129/301 まで改善を認める.

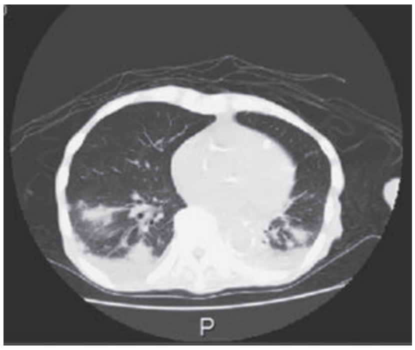


図 3. 入院 8 日目胸部 CT. 両側下肺野の浸潤影を認める.

病理画像

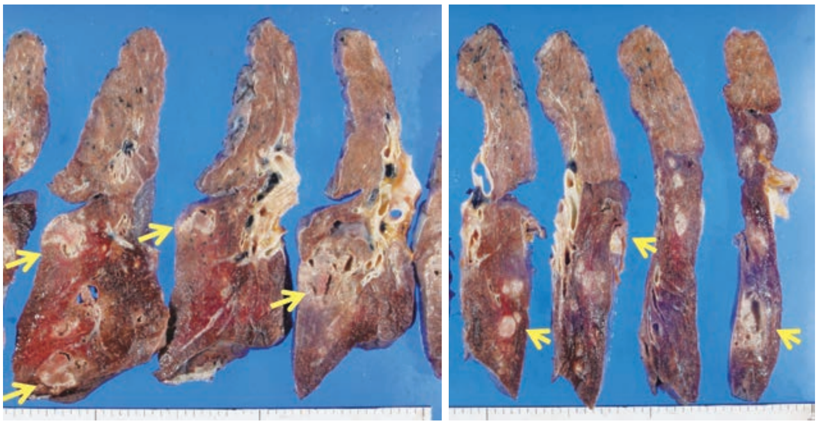


図 4. 摘出肉眼標本. 両肺下葉主体に多発する膿瘍（矢印）

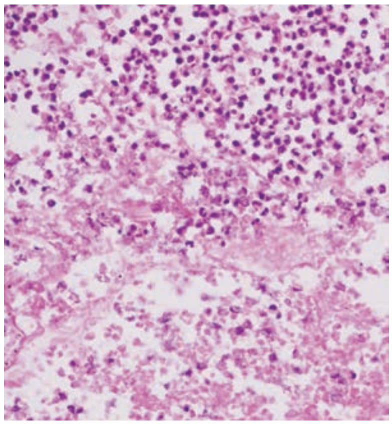


図 5. 膿瘍部の病理組織像（HE 染色，拡大図）. 好中球集簇と壊死からなる.

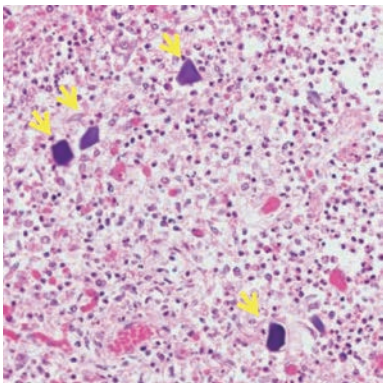


図 6. 病理組織像（HE 染色）. 膿瘍内に異物が認められる（矢印）.

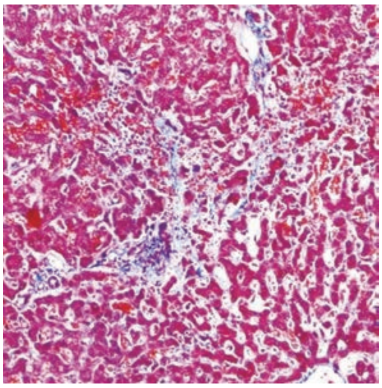


図 7. 病理組織像(Masson trichrome 染色). 肝臓に散在する肝細胞の脱落および線維化からなる病変である.

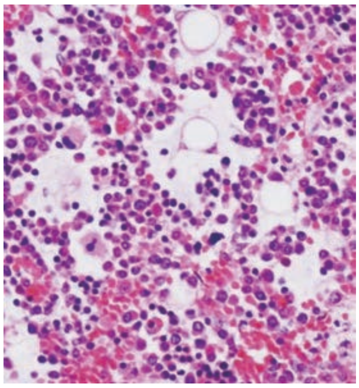


図 8. 骨髄組織像（HE 染色）. 造血細胞は比較的保たれている.

症例 No.27　甲状腺未分化癌の急速な増大により 1 ヵ月の経過で死亡した症例

剖検依頼科：頭頸部外科　　臨床担当医：野村文敬

【概要】左頸部に腫瘤を自覚してから 1 ヵ月で急速に増大し，死亡した症例である．頸部腫瘤は生前には組織型が確定できなかった．その急速な増大から甲状腺未分化癌が疑われた（図 1，2）．剖検時，頸部腫瘤は上縦隔，右肺に直接浸潤しており，組織型は未分化癌であった．肺は癌性リンパ管症を呈し，肝転移，副腎転移，頸部・縦隔リンパ節に転移がみられた．また既往に腹膜播種を伴う直腸腫瘍（神経内分泌癌）があり，剖検時に局所再発および腹膜播種，肝転移を認めた．死因は頸部腫瘤の気道圧迫と考えられたが，癌性リンパ管症や肺炎による肺予備能低下も複合的にかかわったと思われた．予後がきわめて不良とされる甲状腺未分化癌の進行の速さを実感する症例であった．

【症例】79 歳，女性．

主　訴：頸部腫瘤．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：直腸癌（手術）．

生活歴：喫煙，飲酒歴はない．

【臨床経過】

5 年前：下血を主訴に消化器内科を受診した．直腸生検で神経内分泌癌（neuroendocrine carcinoma）と診断し，直腸切除術を施行した．このとき腹膜播種があり，肝転移も疑われた．

4 年半前：抗癌薬治療（5-FU＋アイソボリン）を 3 コース施行した．通院を自己中断．

1 ヵ月前：頸部腫瘤を自覚し，その後急速に増大した．

10 日前：頭頸部外科を受診した．手術適応なし．

入院：呼吸困難で入院，翌日に死亡した．

【検索希望事項】

頸部腫瘤の組織診断，転移病巣の進展範囲．

【剖検診断】

1. 甲状腺癌（未分化癌，多臓器転移）
2. 直腸腫瘍術後再発（神経内分泌癌［NET G2］，局所再発，肝転移・腹膜播種を伴う）
3. 間質性肺炎（usual interstitial pneumonia：UIP）

【剖検所見】

A. 甲状腺未分化癌，多臓器転移

1. 甲状腺左葉を主座とする未分化癌（図 3）．頸部～上縦隔～右肺に広がる．声門下で期間周囲に全周性に浸潤し，内腔が狭窄されている．
2. 右胸壁と右上葉は癌性に癒着する．両肺に多数の転移巣および脈管侵襲を認め，癌性リンパ管症を呈する．
3. 肝転移（図 4），右副腎転移あり．
4. 頸部・縦隔リンパ節に多発転移あり．

B. 直腸腫瘍術後再発（神経内分泌癌［NET G2］，局所再発，肝転移・腹膜播種を伴う）

1. 既往直腸切除検体：直腸に位置する 3.5 cm 大の腫瘍．組織学的に神経内分泌癌（NET G2）がみられる（図 5）．リンパ節転移があり（3/4 個），腹膜播種があった．
2. 剖検時所見

局所再発：直腸吻合部に局所再発がみられ，膣に浸潤する．

多発肝転移，肺に顕微鏡的転移がある．

腹膜播種：大網，腸間膜に多数あり，右卵巣にも転移がみられる．

C. 間質性肺炎

左肺下葉を主体に蜂窩肺を呈する（図 6）．単核球浸潤と線維化を伴う間質性肺炎が認められる．

【病理所見まとめ】

1. 頸部腫瘤は未分化な癌であり，右肺原発の可能性も考慮したが，癌の中心部分に甲状腺の残存組織を認め，甲状腺原発未分化癌と考えた．1 ヵ月間という急速な経過で増大し死亡した点も合致する．
2. 未分化癌は頸部から縦隔，両肺に広がっていた．
3. 直腸の神経内分泌癌は局所再発し，腹膜播種を伴っていた．
4. 肝には未分化癌，神経内分泌癌の両方の転移がみられた．
5. 死因は，巨大腫瘤を形成した甲状腺未分化癌による気道閉塞と，肺転移や肺炎による肺予備能低下が複合的にかかわったと考えられる．

臨床画像

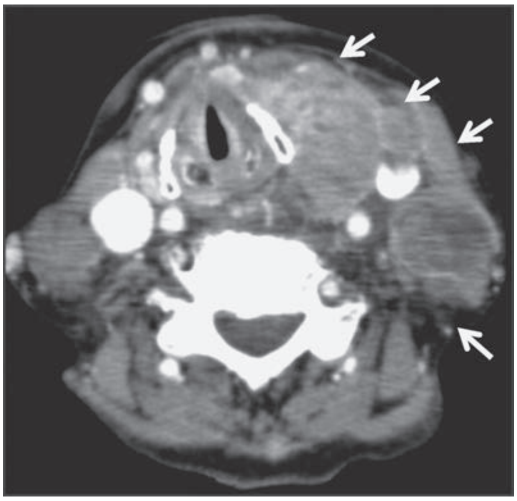


図 1．頸部 CT．左頸部を主体とする腫瘤がみられる（矢印）．

図 2．胸部 X 線像．頸部腫瘤は右肺上葉にまで及ぶ．

病理画像

図 3．頸部摘出肉眼標本（水平断）．左頸部を主体とする頸部腫瘤がみられる．矢印は腫瘍により狭窄された気管を示す．

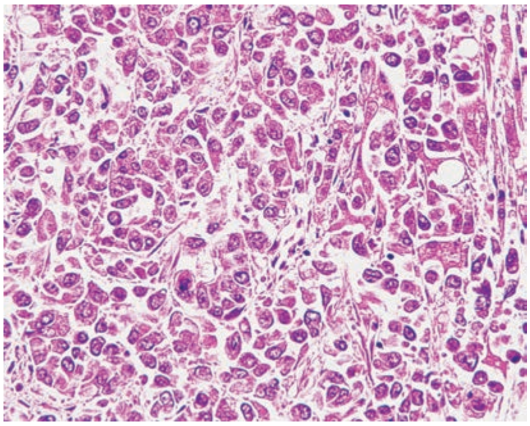


図 4．病理組織像（HE 染色）．肝転移巣における甲状腺未分化癌．特定の構造をとらず充実性に増殖する．

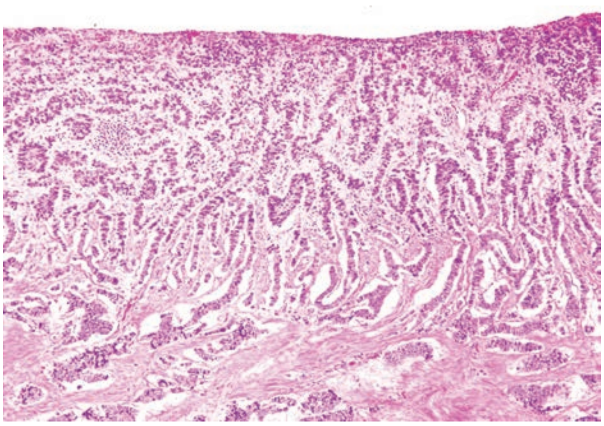


図 5．既往の直腸癌の病理組織像（HE 染色）．索状・リボン状を呈する神経内分泌癌がみられる．

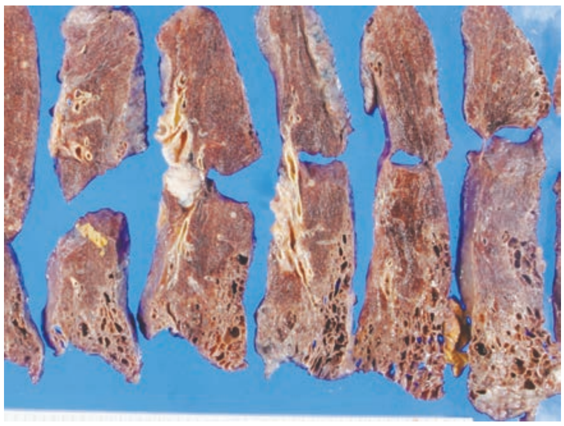


図 6．左肺摘出肉眼標本（前額断）．下葉に蜂窩肺がみられる．

症例 No.28　中咽頭癌の精査中に急速な敗血症，播種性血管内凝固症候群（DIC）をきたし死亡した 1 例

剖検依頼科：耳鼻科

【概要】中咽頭癌の診断で精査中に激烈な咽頭痛を自覚後，急速にショック状態となり死亡した 61 歳・女性．剖検により，敗血症および DIC が確認された．感染源は癌性潰瘍部であるものと推測された．低用量のステロイド内服のみで明らかな免疫不全状態がない状態であったことや，形態学的に一部は連鎖球菌様の所見が確認されたことから，劇症型 A 群連鎖球菌感染症が可能性として考えられた．

【症例】61 歳，女性．

主　訴：咽頭痛．

家族歴・既往歴：特記すべきことはない．

生活歴：喫煙歴は 20 本/日×30 年間，飲酒歴はビール 1 本/日．

【臨床経過】

入院 7 ヵ月前：頸部腫瘤を自覚した．近医で感冒と診断され内服薬治療を受けたが腫瘤は残存した．

入院 9 日前：近医内科より他院を紹介され受診した．咽頭潰瘍を指摘され，同部位の生検により中咽頭癌と診断される．

5 日前：深夜に咽頭痛，右側頭部痛が増悪し他院救急部を受診した．保存的に治療したが改善しなかった．

4 日前：前日と同様のエピソードで同救急部受診したが，同様の処置で帰宅した．

入院日：当院耳鼻科を受診した．疼痛が強く坐位保持不可能な状態のため緊急入院とし，疼痛コントロールを行った．

1 日後：午前 6 時ころより急にショックバイタルとなる．画像所見では明らかな疼痛の原因は指摘できなかった（図 1，2，3）．蘇生処置を繰り返したが回復せず，午前 9 時 58 分死亡した．

【検索希望事項】

中咽頭癌の進行度，死因．

【剖検診断】

1. 中咽頭癌．
2. 敗血症，DIC，出血傾向．
3. 甲状腺ラテント癌（乳頭癌）．
4. 陳旧性脳梗塞．
5. 副腎皮質腺腫．

【剖検所見】

A. 中咽頭癌

1. 既往標本：検体は 13×2 mm 大までの小片．組織学的には角化傾向を有する扁平上皮癌の浸潤性増殖がみられる．
2. 剖検時所見：右口蓋扁桃部に筋層が露出する深い潰瘍がみられ（図 4），組織学的には同部位に，最大径 25 mm の範囲に中～低分化扁平上皮癌の浸潤がみられた（図 5）．同部位に菌塊の付着があった．右中内深頸リンパ節および右下内深頸リンパ節に 1 個ずつ，最大径 15 mm の転移巣があった．遠隔転移はない．pT2N1 Stage Ⅲ相当．

B. 敗血症，DIC，出血傾向．

1. 敗血症：肺（430/485 g），脳（1,175 g），肝臓（1,990 g），腎臓（195/180 g），脾臓（75 g），心臓（390 g），皮膚など全身の血管内に Gram 陽性球菌の細菌塞栓がある．とくに肺では顕著で，無数の細菌塞栓が広範にみられ，周囲肺胞が出血壊死に陥っていた（図 6，7）．
2. DIC，出血傾向：腎糸球体毛細血管内に無数のフィブリン血栓があり（図 8），脾臓類洞内に広汎なフィブリン沈着があった．また，肺胞出血，心外膜の出血巣，胃や小腸，大腸における粘膜面の点状出血，副腎の顕微鏡的出血など，多臓器に出血をきたした状態であった．
3. Nikolsky 現象：表皮顆粒層での炎症細胞浸潤を伴わない表皮剥離があり，細菌の外毒素によるものと思われた．

C. 甲状腺ラテント癌（乳頭癌）

甲状腺左葉に 10 mm 大の石灰化を伴う結節があり，組織学的には乳頭癌であった．pT1a 相当．

D. その他

左頭頂葉の陳旧性脳梗塞，肝血管腫，軽度左心肥大，副腎皮質腺腫（10 mm 大），軽度動脈硬化があった．

【病理所見まとめ】

1. 中咽頭癌の癌性潰瘍部に菌塊が付着しており，同部位が感染源と思われた．既往標本には菌塊はみられず，生検後に感染が成立したものと推測される．感染後，敗血症により DIC が引き起こされ，多臓器不全をきたし死亡したと考える．
2. 咽頭痛に対して処方されていた 10 mg/日のステロイドが，細菌の急激な増殖に関与していた可能性は否定できない．
3. 明らかな免疫不全状態がない状態での急激な細菌感染である点や，形態学的に起炎菌は Gram 陽性球菌であり，一部は連鎖球菌様にみえる点から，劇症型 A 群連鎖球菌感染症の可能性が考えられた．

臨床画像

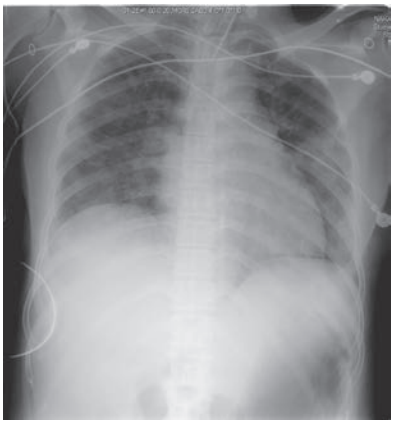


図 1．急変時胸部単純 X 線像．肺全域に網状影が多発している．

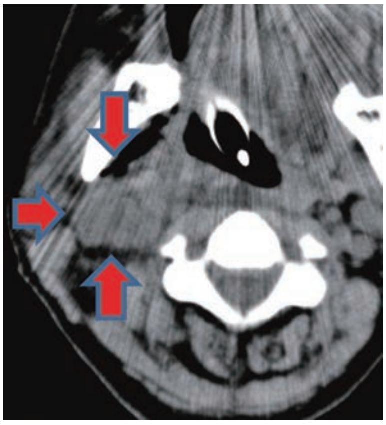


図 2．急変時 CT．咽頭境界不明瞭な腫瘤がある（矢印）．

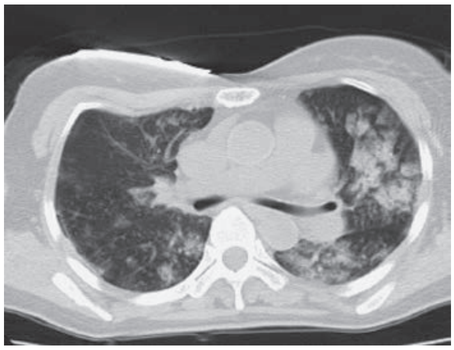


図 3．急変時 CT．肺に多発する高吸収域がある．

病理画像

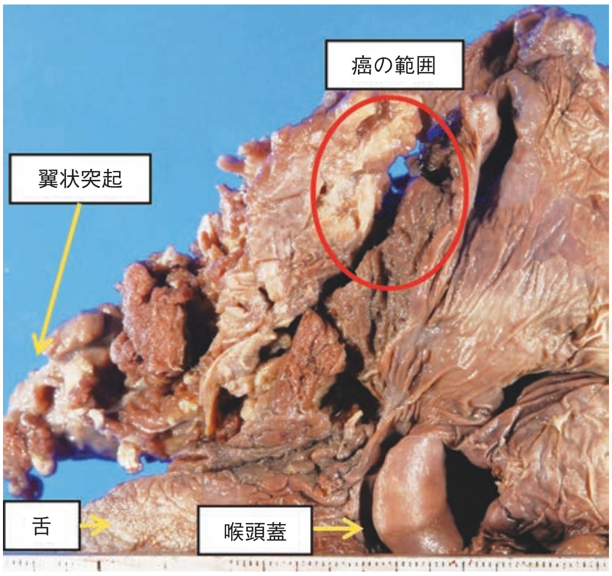


図 4．咽頭病変の摘出肉眼標本．筋肉が露出する潰瘍部に癌がある（丸囲み）．

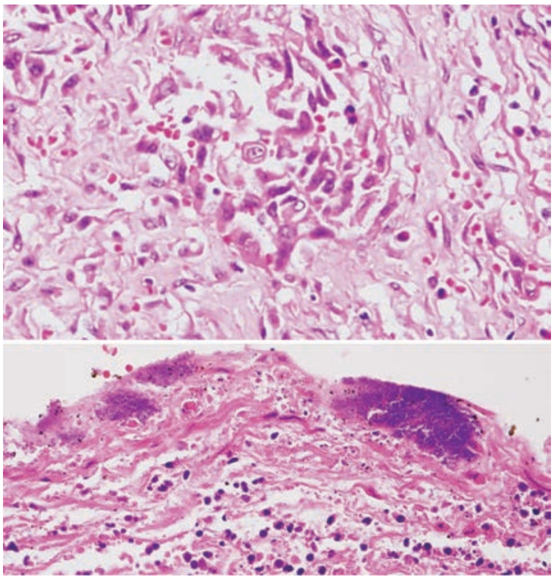


図 5．病理組織像（HE 染色）．咽頭の中～低分化扁平上皮癌（上）と癌性潰瘍部の菌塊（下）．

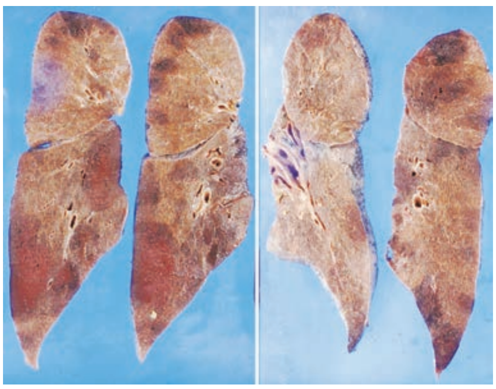


図 6．肺の摘出肉眼標本（割面）．出血班が両肺に多数散在する．

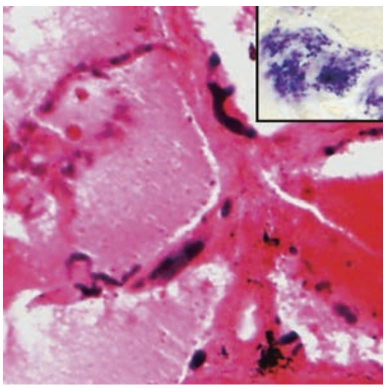


図 7．病理組織像（HE 染色）．肺の出血壊死および細菌塞栓（右上は Gram 染色）．

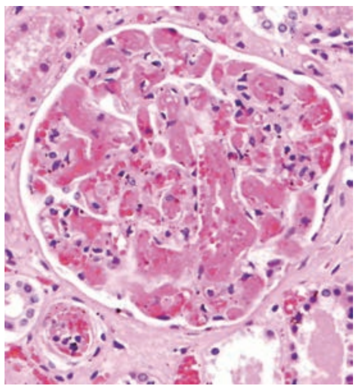


図 8．腎臓の病理組織像（HE 染色）．糸球体に微小血栓が充満している．

症例 No.29　未治療のまま経過した多発性骨髄腫で，意識障害，高カルシウム血症をきたし，来院後 1 週間で肺炎を併発し死亡した症例

剖検依頼科：練馬光が丘病院総合診療科　　臨床担当医：佐々木昭典

【概要】意識障害，高カルシウム（Ca）血症で救急搬送され，多発性骨髄腫を疑われたが未治療のまま来院後 1 週間で死亡した症例である．大腿，胸骨，腰椎と，複数個所で形質細胞様異型細胞が増生する多発性骨髄腫の所見を認めた．腎臓を含め諸臓器にアミロイド沈着は認められなかった．肺は誤嚥性肺炎の要素を伴う重度の気管支肺炎であり，脳や心臓に致死的な所見はなく，直接死因は気管支肺炎による呼吸不全と考えられた（図 1，2）．脳には，意識障害の原因となる器質的な変化はなく，高 Ca 血症など全身状態に伴って生じたと推測された．未治療のまま経過した多発性骨髄腫が，意識障害，るいそう，貧血，また死因となった感染症など多様な病態に重要な役割を演じるうることを示した症例である．

【症例】80 歳代，男性．

主　訴：意識障害．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：脊椎カリエス（手術後）．

生活歴：喫煙歴，飲酒歴はない．

【臨床経過】

1 年前：倦怠感，食欲低下，体重減少．

4 日前：倦怠感増強，ADL 低下．

入院時：意識障害で救急搬送され，意識障害，るいそう，高 Ca 血症，正球性貧血，脱水，腎障害により入院となった．CT では頭蓋底，腰椎，骨盤骨などに溶骨性変化があり，血液・尿：IgG（κ）型 M 蛋白と κ 型 B-J 蛋白を検出した．

2 日後：39℃ の発熱，心拍数が上昇，肺炎・敗血症の疑いで抗生物質を投与した．

1 週間後：呼吸状態悪化および尿量が低下し死亡した．

【検索希望事項】

直接の死因，骨髄において多発性骨髄腫を示唆するような所見があるか，意識障害をきたす疾患が頭蓋内にあるか．

【剖検診断】

1. 多発性骨髄腫．
2. 気管支肺炎．
3. 急性尿細管傷害．

【剖検所見】

A. 多発性骨髄腫

腰椎の骨髄は粘稠性で，淡白色病変が散在する（図 3）．組織学的には，大腿骨髄，胸骨骨髄，腰椎骨髄で，形質細胞様異型細胞の増生が散見される（図 4）．免疫染色：CD138（−/+），CD56（+），cyclinD1（−/+）．骨梁はやや細く，一部に破骨細胞の lining が認められる．背景の骨髄は，低形成ながら造血能は保たれている．

B. 気管支肺炎

重量 左 970/右 885 g と重量増加がある．左胸水は黄色透明 630 ml，右胸水は黄色透明 850 ml であった．割面では，気管〜気管支内に淡黄色粘液が多量に貯留しており，右気管支で著明であった．気管〜気管支粘膜は発赤し，左右下葉背側の含気は不良で浮腫を伴い，両下葉中心に膿瘍の形成を複数認める（図 5，6）．球菌の集塊が散見されるが，真菌の付着は認めない．一部に異物巨細胞がある．

C. 急性尿細管傷害

重量 左 160/右 175 g．組織学的には，時相のやや異なる局所的な急性尿細管壊死像が散在する．糸球体は比較的保たれており，線維化やアミロイド沈着（DFS），cast nephropathy の所見は明らかでない．

D. その他の所見

1. 脳（1,300 g）：左右レンズ核を中心にラクナ梗塞を認めるが，広域の梗塞巣・出血やヘルニア切痕を認めない．
2. 急性膵炎：十二指腸〜膵尾部にかけての脂肪組織に米粒大以下の淡黄色斑を複数認める．組織学的には，膵管内蛋白栓や好中球浸潤を伴う脂肪壊死を認める．

【病理所見まとめ】

1. 肺の所見については，右上葉の一部と中葉，左上葉の一部以外は含気不良，両肺下葉を中心に複数の膿瘍形成があった．肺膿瘍の形成を伴う気管支肺炎の所見であり，誤嚥性肺炎の要素も加わっていると考えられる．
2. 脳に関しては，ヘルニア痕，広範囲にわたる梗塞巣，出血は認められず，意識障害の原因となる所見は明らかでなかった．
3. 死因に関しては，脳や心臓に致死的な所見はなく，直接死因は気管支肺炎による呼吸不全と考える．
4. 大腿，胸骨，腰椎と，複数の部位で多発性骨髄腫を認めた．腎臓については，時相の異なる急性尿細管壊死像が認められたが，腎アミロイドーシスの所見は認めなかった．その他臓器についても，アミロイド沈着は認められなかった．
5. 多発性骨髄腫をもととして，骨融解による高 Ca 血症が意識障害や急性膵炎を引き起こし，造血能の低下が貧血や免疫力低下よる気管支肺炎発症の誘因になったと推測される．アミロイドーシスによる臓器障害は明らかでないが，本例は，背景に多発性骨髄腫が重要な役割を演じていたことが考えられる．

臨床画像

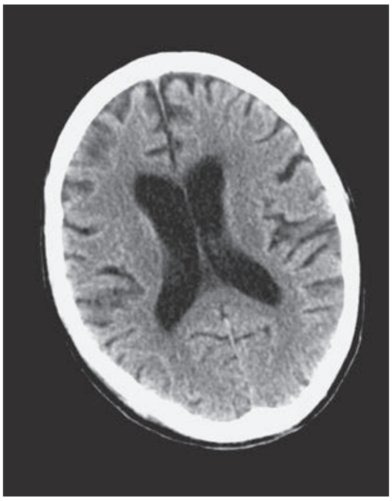


図 1. 入院時の頭部 CT. 明らかな急性期病変はない.

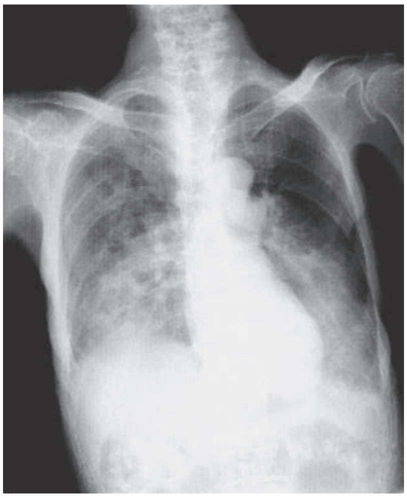


図 2. 入院 2 日後の胸部単純 X 線像

病理画像

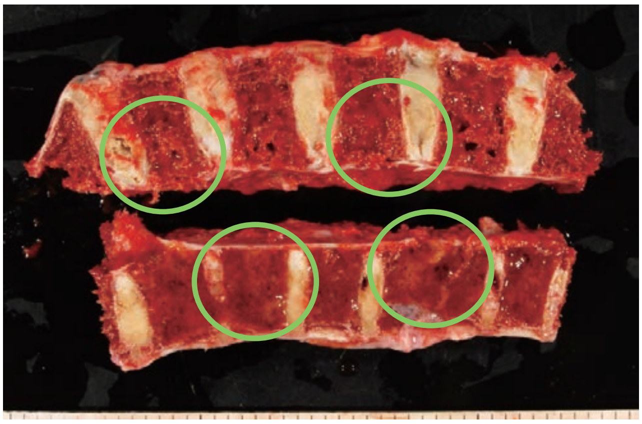


図 3. 腰椎～仙椎の摘出肉眼標本. 赤色髄に混じり淡白色病変を認める（丸囲み）.

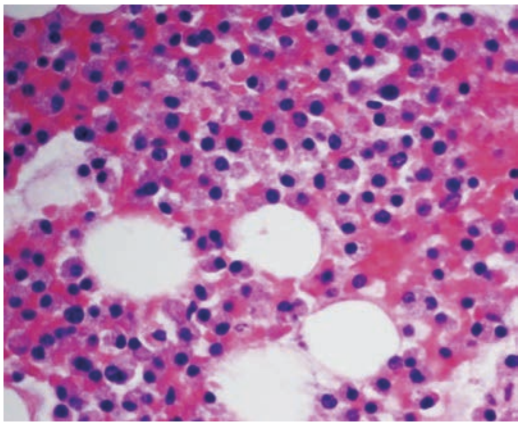


図 4. 骨髄病理組織像（HE 染色）. 形質細胞様異型細胞の増生を認める.

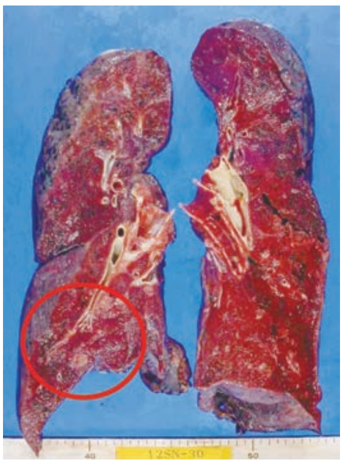


図 5. 肺の摘出肉眼標本. 全体に含気不良で, 下葉を中心に膿瘍の形成がある（丸囲み）.

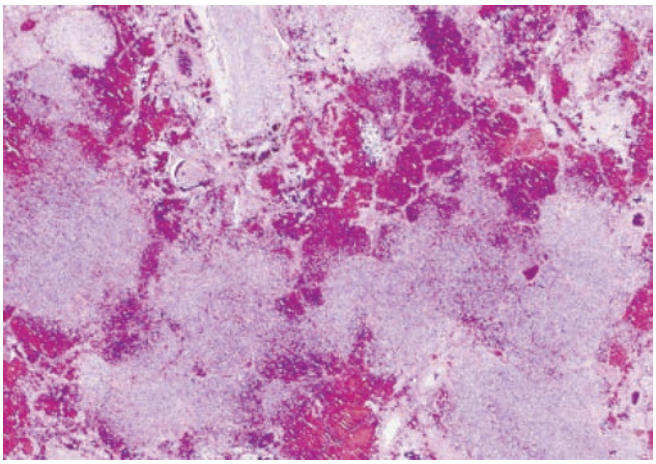


図 6. 肺病理組織像（HE 染色）. 気管支～肺胞腔内に高度の好中球浸潤がある.

症例 No.30　膵尾部癌の多発転移をきたし，膀胱転移巣からの尿路出血により死亡した症例

剖検依頼科：肝胆膵外科

【概要】死亡 1 年 4 ヵ月前から上腹部痛，背部痛，体重減少が出現した．この 2 ヵ月後に膵尾部癌および膵頭部膵管内乳頭粘液性腫瘍と診断され手術となったが，腹膜播種が存在し，根治術が不可能な状態であった．その後，化学療法を行い，8 ヵ月間は安定した経過であったが，死亡 4 ヵ月前には膀胱腫瘍による腎後性急性腎不全をきたした．死亡 1 ヵ月前には尿路出血が出現し，徐々に増悪した．最終的に出血性ショックで死亡にいたった．剖検では，膵尾部癌と膀胱をはじめとした多発転移が認められた．膀胱の転移巣は潰瘍化し多量の出血を伴っており，同部が出血性ショックの原因であった．原発巣，転移巣はそれぞれ病変が限局していたが，膀胱転移巣からの出血により死亡した．多発転移をきたした癌において，個々の転移巣の状態が，患者の生命予後にとって重要であると再確認させられた症例であった．

【症例】68 歳，男性．
主　訴：上腹部痛，背部痛，体重減少．
家族歴：特記すべきことはない．
既往歴：糖尿病．
生活歴：喫煙歴はなし，飲酒歴は不明．

【臨床経過】
入院 1 年 3 ヵ月前：上腹部痛，背部痛，体重減少を認め，近医で膵尾部腫瘤，膵頭部嚢胞を指摘された．
1 年 1 ヵ月前：当院肝胆膵外科で入院（1 回目）・精査し，膵尾部癌，膵頭部分枝型膵管内乳頭粘液性腫瘍と診断した（図 1）．
11 ヵ月前：当院にて手術を行ったが腹膜播種を認め，試験開腹のみで手術を終了した．以後化学療法を施行した．
3 ヵ月前：食思不振で入院（2 回目），膀胱腫瘍による腎後性腎不全と診断（図 2），右尿管ステント留置などにより軽快退院した．
入院時：腎不全，血尿が増悪し入院（3 回目）した．両側腎瘻造設．出血コントロールは不良であった．
1 ヵ月後：右腎瘻から多量に出血し，出血性ショックに陥り，改善が得られず死亡した．

【検索希望事項】
膵尾部癌の広がり，出血部位の同定，出血の原因確定．膵頭部腫瘍の状態．

【剖検診断】
1. 膵尾部癌多発転移（化学療法後）．
2. 尿路出血，出血性ショック．

【剖検所見】
A. 膵尾部癌多発転移
1. 既往検体（腹膜播種）：adenocarcinoma disseminating to the peritoneum，excision.
2. 原発巣：膵尾部に 55×25×13 mm 大の境界が比較的明瞭な乳白色腫瘤が存在する（図 3）．組織学的には中分化腺癌の所見である（図 4）．癌は局所において膵前方組織への浸潤があり，下行結腸へ直接浸潤する．また膵後方組織への浸潤も認められる．
3. 腹膜播種：膀胱，虫垂，小腸腸間膜，横隔膜に播種を認める．最大の播種巣は膀胱に認められ，前～右側壁に粘膜まで及ぶ 5 cm 大の腫瘤がある（下記 C–1 参照）．
4. リンパ行性転移：傍大動脈，鎖骨下，肺門部に癌のリンパ節転移があり，甲状腺，前立腺にはリンパ管侵襲がある．
5. 血行性転移：腰椎に骨髄転移がある．

B. 膵管内乳頭粘液腺腫
膵頭部に 13 mm 大の嚢胞状腫瘍がある．組織学的には，異型の乏しい円柱状細胞からなる腺腫の所見である．

C. 尿路出血，出血性ショック
1. 膀胱：前～右側壁腫瘍（上記 A–3 参照）は 5 cm 大で，表面の崩れた潰瘍形成を伴う（図 5，6）．同部より出血を認め，膀胱内部には多量の凝血塊が存在する．組織学的には癌が膀胱壁のほぼ全層を置換し，粘膜面に露出した状態である．
2. 腎盂・尿管：両側腎盂に腎瘻挿入後，右尿管にはステントがある．膀胱からの出血は右尿管を経由し右腎盂に及ぶ．左尿管は大腿動脈交叉部で腫瘍性に高度な狭窄がある．
3. 出血性ショックに伴う臓器障害
急性尿細管壊死：腎（180/185 g）と軽度腫大し，近位尿細管の上皮細胞に変性がある．
肝臓：中心静脈主体に肝実質の脱落・萎縮を認め，循環障害を示唆する所見がある．

【病理所見まとめ】
1. 膵尾部に腫瘤形成が認められ，組織学的には浸潤性膵管癌の所見である．癌は全身臓器へ転移しており，進展形式としては播種性，リンパ行性が主体である．癌に対する治療効果は，組織学的には軽度確認されるのみである．
2. 癌の転移巣の膀胱には潰瘍形成と出血が認められ，これによる尿路出血・出血性ショックが発生したと考えられる．
3. 臨床的には，右腎瘻カテーテルの周囲動脈穿破も出血の要因として考えられたが，剖検でカテーテルによる血管損傷は認められない．
4. 出血性ショックに伴う臓器障害を腎臓と肝臓に認め，死因は出血性ショックとして矛盾しない．

臨床画像

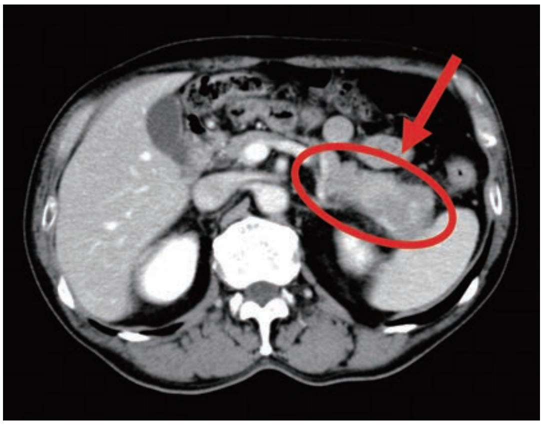


図 1．死亡 1 年 1 ヵ月前の腹部造影 CT．膵尾部に 45 mm 大の腫瘤が認められる（丸囲み）．

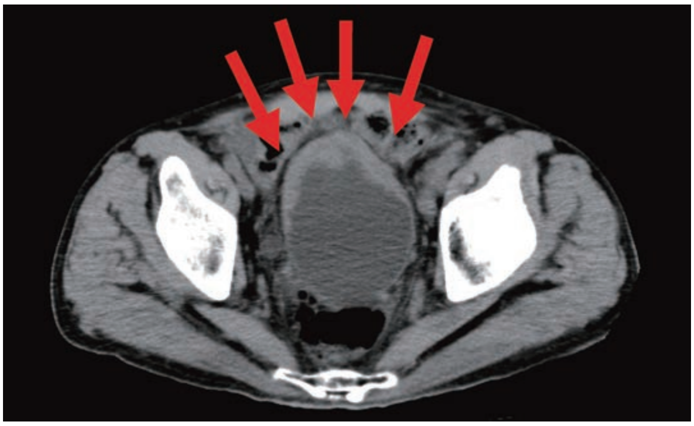


図 2．死亡 4 ヵ月前の腹部単純 CT．膀胱に前壁主体の肥厚が認められる（矢印）．

病理画像

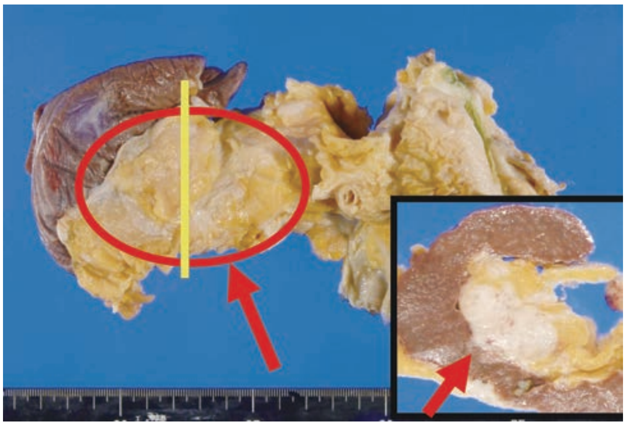


図 3．膵臓，十二指腸，脾臓の摘出肉眼標本．膵尾部に 55 mm 大の腫瘤が存在する．挿入図は腫瘍割面（黄色線）の所見である．

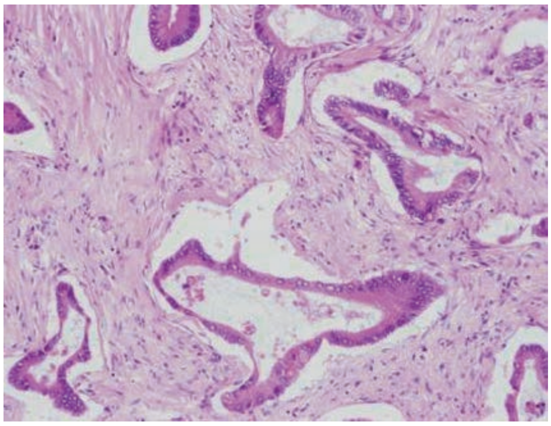


図 4．膵尾部病理組織像（HE 染色）．管状の腫瘍腺管の増殖を認める．腺癌の所見である．

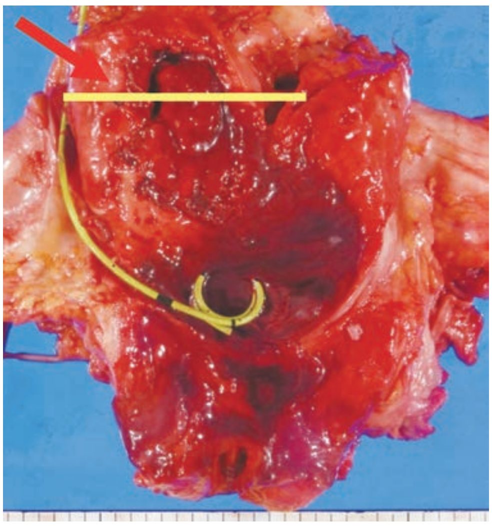


図 6．摘出肉眼標本（膀胱展開後）．前～右側壁に腫瘍が存在する．内腔は拡張し，多量の血液と凝血塊を伴っている．

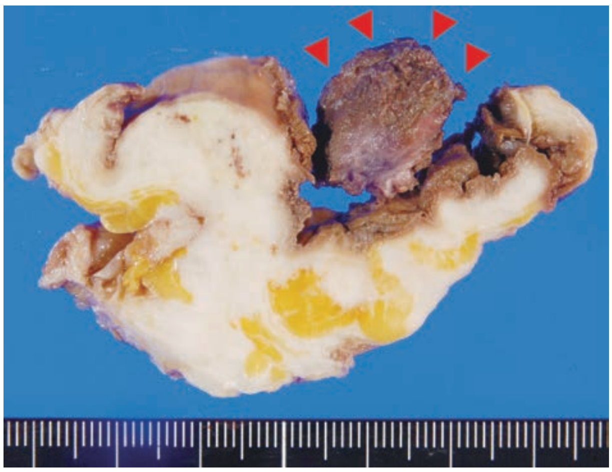


図 7．摘出肉眼標本（膀胱固定後割面）［図 6 の黄色線面］．腫瘍により壁全層が置換され，潰瘍形成と凝血塊の付着がある．

症例 No.31　40 年来の高安病を背景として，脳梗塞および脳出血をきたして死亡した症例

剖検依頼科：神経内科　　臨床担当医：一條真彦，大久保卓哉，石川欽也

【概要】 30 歳時，当院循環器内科で高安病と診断され，以降 40 年来外来で治療されていた．左上下肢優位の片麻痺が出現し，脳梗塞と診断され，抗血小板薬による治療を開始したが，2 日後，脳出血による急性水頭症および脳ヘルニアにより死亡した．剖検で，大動脈や主要分枝には高安病（瘢痕期）の所見を認め，脳には広範な出血がみられた．出血のため残存する梗塞巣を組織学的に確認できなかったが，大動脈や主要分枝に狭窄性病変が多数認められることから，これらからの血栓塞栓の可能性が考えられた．出血の原因としては，梗塞と出血の部位が合致していること，抗凝固療法後であることから，再灌流障害による出血が疑われる．

【症例】 72 歳，女性．

主　訴：左足が動きにくい，声が小さい．

家族歴：姉は乳癌，兄は Parkinson 病．

既往歴：高安病（30 歳），Ⅱ型糖尿病（40 歳），原発性胆汁性肝硬変（59 歳），Sjögren 症候群（65 歳）．

生活歴：喫煙歴はなし，飲酒歴は機会飲酒．

【臨床経過】

42 年前（30 歳時）：当院循環器内科で高安病と診断され，以降外来で治療されていた（入院時シクロスポリン 100 mg/日内服）．

入院当日：左上下肢優位の片麻痺，および構音障害が出現した．頭部 CT で右レンズ核線条体動脈領域に低吸収域があり，脳梗塞が疑われ，抗血小板薬による治療が開始された（図 1，2）．

2 日後：嘔吐，意識障害が出現し，頭部 CT で右被殻を中心とする脳出血，脳室穿破，急性水頭症を認めた（図 3）．

3 日後：家族との話し合いのうえ，脳外科手術，気管挿管は行わず，入院 3 日後死亡した．

【検索希望事項】

脳出血の原因（血管の脆弱性の有無など），CT 上認めた多発石灰化病変について，高安病と脳梗塞，脳出血の関連について．

【剖検診断】

1. 脳出血．
2. 大動脈炎症候群（高安動脈炎）．
3. Sjögren 症候群

【剖検所見】

A. 脳出血（脳：1,305 g）

1. 重量は軽度増加している．脳は浮腫が強く，脳溝は狭小化し，脳回は平坦化している．テント切痕ヘルニア，大後頭孔ヘルニアを伴う．
2. 割面にて，右被殻を主座とする脳出血を認める．出血は脳室へ穿破し，左右側脳室，中脳水道〜第四脳室内には，血腫が形成されると同時に，脳室の拡張（急性水頭症），midline shift を伴う変形が強くみられる（図 4）．
3. 中脳〜橋のレベルで，脳幹部に点状出血巣を認める（Duret の出血）[図 5]．
4. 臨床的に指摘されている脳梗塞は，出血巣内に包含されており，梗塞による壊死巣の残存は確認できない．
5. 脳底動脈には内膜の線維性肥厚，石灰化が散見され，25% 程度までの狭窄を認めるが，明らかな閉塞は認められない．右中大脳動脈にも石灰化があり．背景の脳内にある小血管壁にも石灰化が散見される．

B. 大動脈炎症候群（高安動脈炎）

1. 肉眼的に，大動脈弓部からの主要分枝（腕頭動脈，左総頸動脈，左鎖骨下動脈），腹部大動脈からの主要分枝（腹腔動脈，腎動脈，上腸間膜動脈），および右総腸骨動脈といった大型の動脈に閉塞性病変を認める（図 6）．病変部では血管内腔に突出・充満する顆粒状の狭窄性病変が多数形成される（図 7）．病変部より遠位の中型〜小型の動脈には変化が乏しい．
2. 組織学的には，病変部において内膜は細胞成分に乏しい線維性肥厚を示す．高度の石灰化を伴う．中膜には外膜側主体ないし全層にわたる弾性線維の断裂・消失が著明であり，いわゆる虫食い像を呈する（図 8）．外膜の線維化も著しい．外膜から中膜の栄養血管周囲に単核球主体の炎症細胞浸潤を巣状に認める．肉芽腫はない．

　以上より，高安病（瘢痕期）の所見．

C. Sjögren 症候群

肉眼的に唾液腺（顎下腺）は萎縮が強く，同定困難．組織学的には，脂肪組織内に島状に唾液腺組織が残存し，小葉内導管周囲にはリンパ球が集簇して認められ，Sjögren 症候群に一致する所見．

【病理所見まとめ】

1. 剖検時，大動脈あるいはその主要分枝に瘢痕期の高安動脈炎の所見がみられ，脳には臨床的に指摘されている脳梗塞巣を包含する脳出血を認めた．直接死因はこの出血に伴う脳ヘルニアである．
2. 高安動脈炎患者の 10〜20% 程度に脳梗塞が合併するといわれる．一般的な原因として，狭窄性病変ないし大動脈弁血栓（大動脈弁閉鎖不全）からの血栓塞栓があげられている．本例では，出血のため残存する梗塞巣を組織学的に確認できなかったが，大動脈や主要分枝に狭窄性病変が多数認められることから，血栓塞栓が生じた可能性は十分に考えられる．出血の原因としては，梗塞と出血の部位が合致していること，抗凝固療法後であることから，再灌流障害による出血が疑われる．
3. 背景の脳内には，CT 上の多発石灰化病変に相当すると考えられる小血管壁の細顆粒状石灰化が散見された．これらが，高安動脈炎あるいは Sjögren 症候群に伴う変化である可能性も疑われるが，高安動脈炎や Sjögren 症候群における頭蓋内血管炎の報告は少なく，今後の症例蓄積が待たれる．少なくとも頭蓋内に血管炎の所見は明らかでなかった．

臨床画像

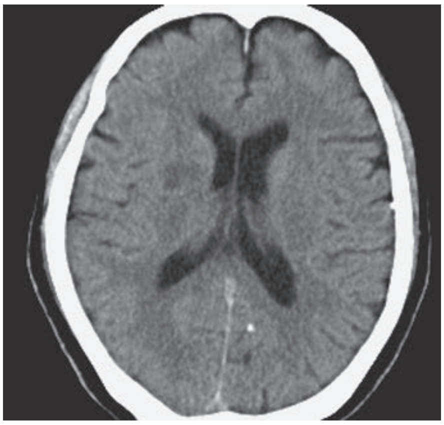


図 1．入院時の頭部 CT．右尾状核～被殻に低吸収域を認める．

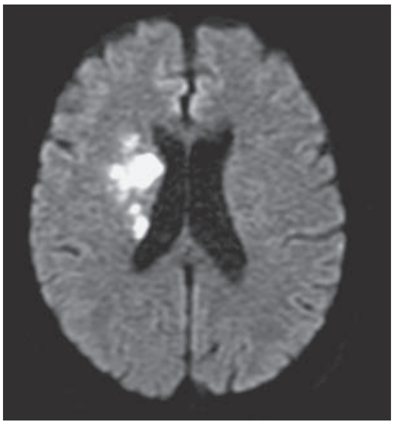


図 2．入院 1 日後の頭部 CT 拡散強調画像．右尾状核～被殻に高信号域を認める．

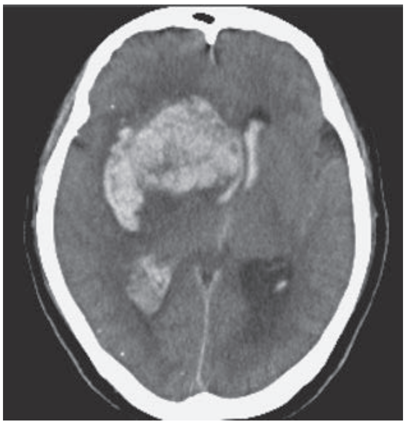


図 3．入院 2 日後の頭部 CT．右被殻を主座とする脳出血を認める．

病理画像

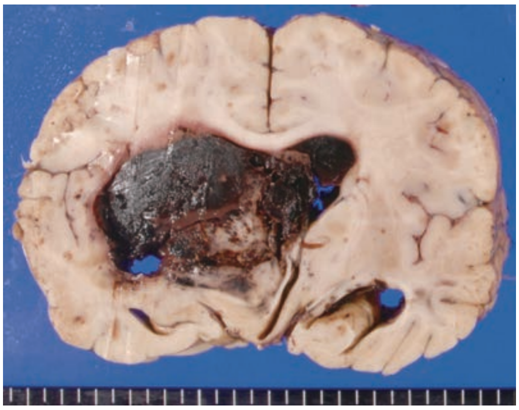


図 4．摘出肉眼標本（1）．大脳の前額断割面像．右被殻を主座とする脳出血，および脳室内に血腫の形成がある．

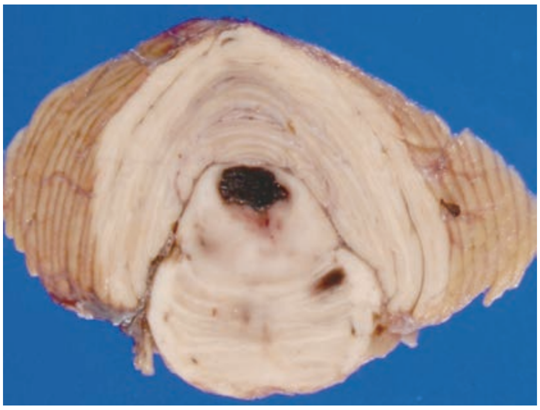


図 5．摘出肉眼標本（2）．橋レベルの脳幹および小脳水平断割面像．脳幹には出血を認める．

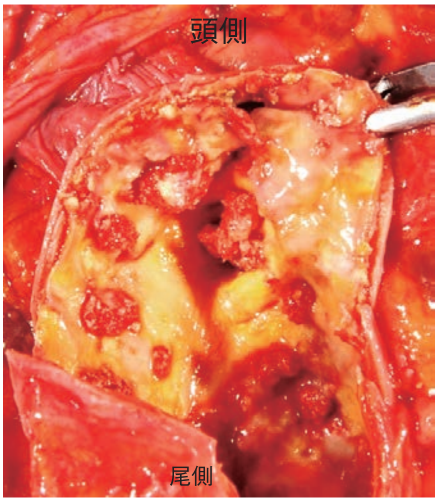


図 6．摘出肉眼標本（3）．大動脈弓部には顆粒状の狭窄病変を多数認める．

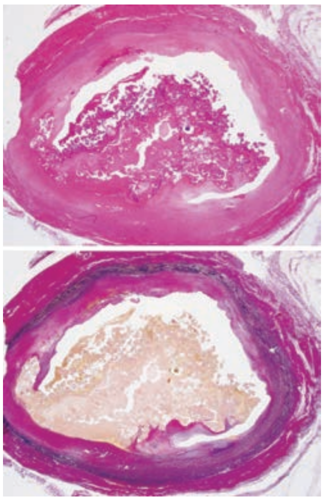


図 7．病理組織像（1）．腕頭動脈弱拡大像．上段（HE 染色），下段（EVG 染色）．

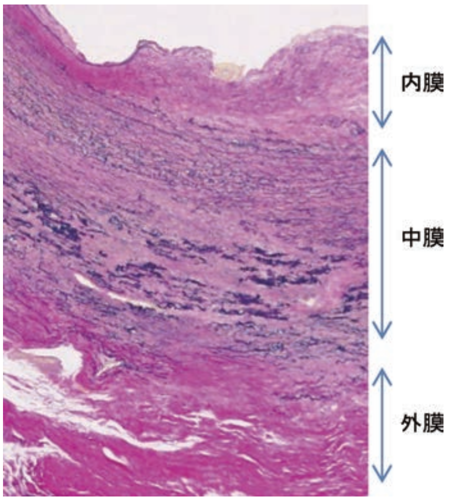


図 8．病理組織像（2）．腕頭動脈強拡大像（EVG 染色）．中膜弾性線維の断裂・消失，外膜の線維化を認める．

症例 No.32　上行大動脈瘤および冠動脈バイパス術後 4 ヵ月で脳ヘルニアを呈し死亡した 1 例

剖検依頼科：心臓血管外科　　臨床担当医：藤田修平

【概要】4 ヵ月前に胸部大動脈瘤手術および冠動脈バイパス術を施行した．術後経過中，1 ヵ月前に急性呼吸促迫症候群（ARDS）を発症し，1 週間前に突然の意識消失，脳幹反射消失，脳浮腫とヘルニアを認め，人工呼吸器管理を続けたが酸素化悪化し死亡した．解剖時，中枢神経についてはいわゆる respirator brain（non-perfusion brain）の様相を呈していた．Respirator brain の原因については二次的な変化が強く明確でなかったが，死因は広範な中枢神経壊死とびまん性肺胞傷害による呼吸障害，敗血症などが複合的に関与したものと考えられた．

【症例】80 歳代，女性．

主　訴：特記すべきことはない．
家族歴：特記すべきことはない．
既往歴：慢性閉塞性肺疾患．
生活歴：喫煙歴はなし，飲酒歴は機会飲酒．

【臨床経過】

3 ヵ月前：慢性心不全急性増悪のため循環器内科入院．
入院時：慢性心不全，虚血性心疾患（#4 99%）．胸部大動脈瘤，大動脈弁逆流症に対する手術目的で心臓血管外科に入院．
2 日後：上行弓部置換術および頸部 3 分枝再建，冠動脈バイパス術を行う．
7 日後：抜管し経口摂取開始．
3 ヵ月後：意識消失と痙攣があったがすぐにおさまる．CT，MRI により器質的原因は指摘できなかった（図 2）．集中治療室へ転床した．
転床 8 日後：肺炎/ARDS を発症し酸素化悪化し（図 1），非侵襲的陽圧換気法を開始した．その後気管切開を行う．ARDS は進行．
さらに 1 ヵ月後：突然，散瞳・脳幹反射消失．CT では大脳半球の脳溝消失と白質の著明な低吸収域を認めた（図 3）．脳浮腫・脳ヘルニア（＋）．
その 1 週間後：徐々に酸素化悪化し死亡した．

【検索希望事項】

脳の状態の確認，肺の状態，術後の状態．

【剖検診断】

1. Respirator brain
2. びまん性肺胞傷害（滲出期～器質化期），肺気腫，気管支肺炎．
3. 脳，肝，心の微小膿瘍（敗血症），黄疸．
4. 胸部上行大動脈瘤（上行大動脈および分枝の人工血管置換術後，大動脈弁生体弁置換術後），大動脈の高度粥状硬化症．
5. 冠状動脈硬化症（冠動脈バイパス術後），陳旧性心筋梗塞．

【剖検所見】

A. Respirator brain（脳：1,625 g）
大脳・脳幹・小脳は著明に軟化し，広範な好酸性壊死に陥っている（図 4，5）．白質の一部で微小膿瘍を認め，真菌感染を合併している．上矢状静脈洞および横静脈洞内には，辺縁に器質化を伴う比較的新鮮な血栓を認める（図 6）．Willis 動脈輪の動脈内腔にも凝血が充満し，わずかに器質化を伴う．いずれの血栓も二次的に形成された血栓の可能性がより考えられる．

B. びまん性肺胞障害および肺気腫，気管支肺炎（左 590/右 825 g）
全体にうっ血調で，下葉背側主体に全葉にわたり硬化と含気低下を認める．組織学的には肺胞腔内の線維化や隔壁の線維性肥厚炎症細胞浸潤を認め，拡張した気腔の形成が目立つ腔内には，新鮮な出血やフィブリン析出があり，一部は器質化している．滲出期～器質化期のびまん性肺胞傷害の所見である（図 7）．そのほか focal な気管支内あるいは肺胞内の好中球貯留巣（膿瘍）が散見される（図 8）．

C. 敗血症および関連所見
1. 血液培養：*P. fluorescens/putida*，*S. maltophilia*，*E. cloacae*，*P. aeruginosa*.
2. 脾臓（150 g）：軟化著明で脾炎の状態である．
3. 心臓：心筋内に小さな好中球浸潤巣が散見される．
4. 肝臓（1,260 g）：小葉内に微小膿瘍が散在し，門脈域に軽度炎症がある．毛細胆管に胆汁うっ滞が目立つ．

D. 胸部大動脈瘤術後，および冠動脈バイパス術後の状態
1. 各人工血管，大動脈生体弁，冠動脈バイパス吻合血管に著変はない．右冠動脈は粥状硬化著明で狭窄率は 90% 以上である．左冠動脈主幹部は 50%，左前下行枝，回旋枝も粥状硬化高度で 50～75% 狭窄．心臓は左室後壁中隔よりに貫壁性の陳旧性梗塞を認める．
2. 大動脈粥状硬化は中等度～高度で，下行大動脈に周径 8 cm，長さ 5 cm にわたる瘤状変化がある．

【病理所見まとめ】

1. 本例では 1 ヵ月前に原因不明の痙攣があったが，CT，MRI で器質的変化は認められなかった．その 8 日後，肺炎/ARDS を発症し，解剖時には経過に相当する器質化を伴うびまん性肺胞傷害と肺膿瘍の所見を認め，敗血症を伴っていた．
2. 一方，本例ではその 1 ヵ月後に突然の散瞳と脳幹反射消失，脳ヘルニアをきたし，1 週間後に死亡となったが，解剖時の状態としては中枢神経全体に好酸性壊死を認め，いわゆる respirator brain（non-perfusion brain）の様相を呈していた．
3. この respirator brain の原因として，前述の肺炎/びまん性肺胞傷害による低酸素状態や敗血症など全身状態の悪化が関与していた可能性もある．しかし，痙攣時から急変時までの画像的な経過は不明で，病変がどの時点から存在していたかが判定困難であることもあり，直接的な原因同定にはいたらない．
4. なお虚血などなんらかの頭蓋内疾患により，脳浮腫および頭蓋内圧亢進が起こった可能性についても否定はできないが，組織学的変化や病変の局在に特異性が乏しく，積極的にはいえないと考える．

臨床画像

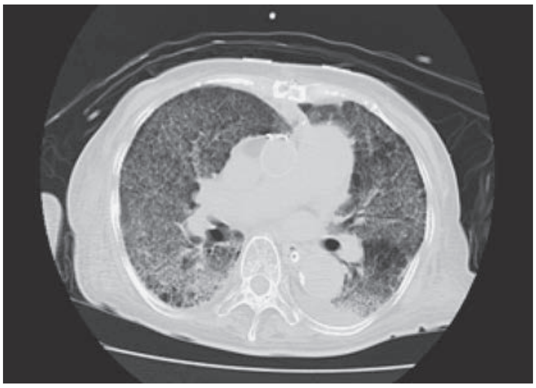


図 1．入院後３ヵ月目．肺炎/ARDS 発症時の胸部 CT

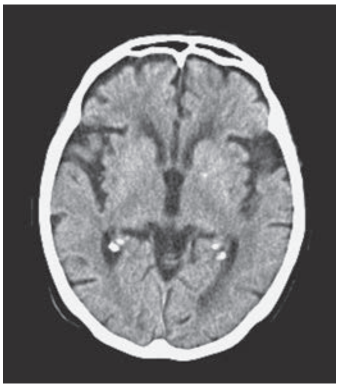


図 2．入院後３ヵ月目．痙攣発症時の頭部 CT

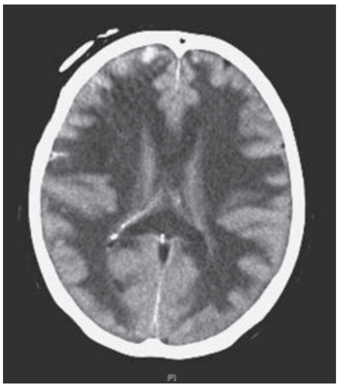


図 3．入院後４ヵ月目．脳浮腫発症時の頭部 CT

病理画像

図 4．摘出肉眼標本．解剖時の大脳および小脳，脳幹．著明な軟化を示す．

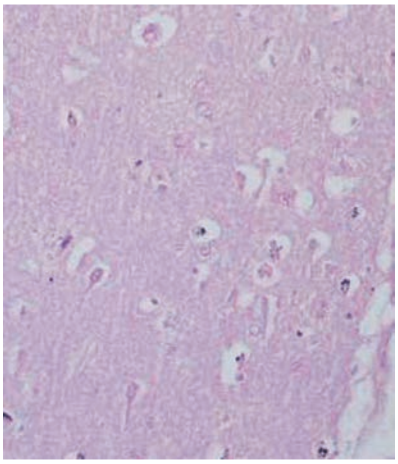


図 5．大脳の病理組織像（HE 染色）．大脳神経細胞の好酸性壊死を認める．

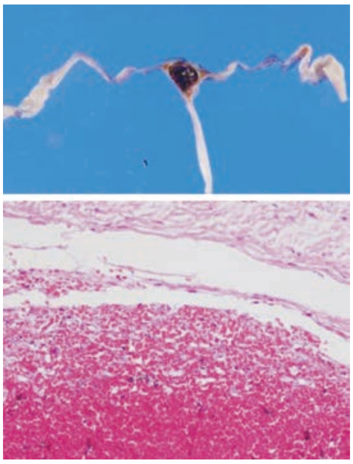


図 6．上矢状静脈洞内の血栓．上段：肉眼像．下段：組織像（HE 染色）．

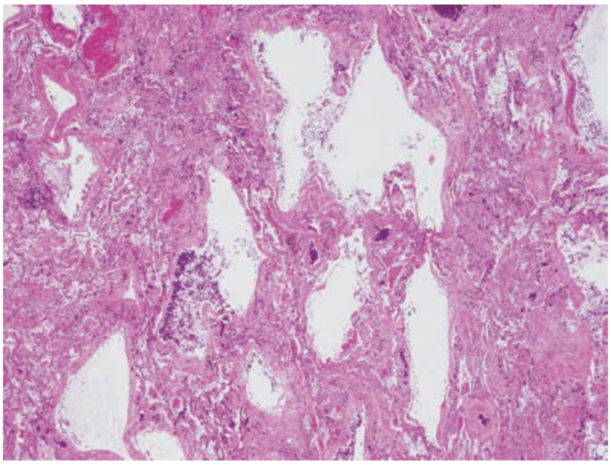


図 7．肺の病理組織像（1）［HE 染色］．滲出期〜器質化期のびまん性肺胞傷害．

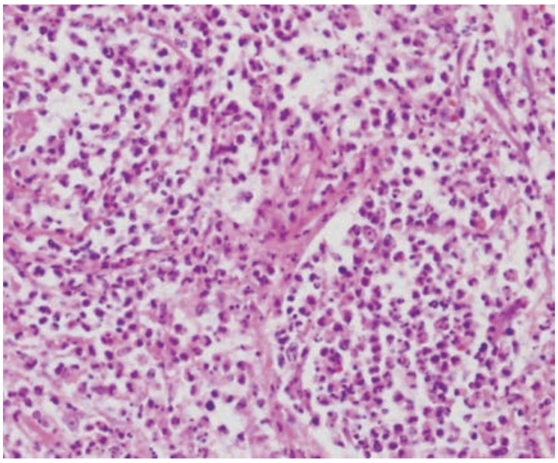


図 8．肺の病理組織像（2）［HE 染色］．肺膿瘍の所見．

症例 No.33　原発性か転移性かが問題となった肺癌と卵巣癌の二重癌の 1 剖検例

剖検依頼科：周産女性科

【概要】肺癌の担癌状態で，腹水と卵巣の腫大により当院周産女性科を受診した．多発肺腫瘤，肝腫瘤を伴っていた．臨床的には，肺癌と卵巣腫瘍について，それぞれが原発であるか，あるいはどちらかの転移かが問題となったが，病理解剖の結果，いずれも原発と診断できた．病理組織学的にも非常によく似た腺癌であったが，免疫染色での染色態度は明瞭に異なっており，免疫組織化学的にもそれぞれ別の原発の腺癌と診断できた．本例のように重複癌の原発性，転移性の推定には免疫染色が有用である．臓器/腫瘍特異的マーカー（TTF1，WT-1，GCDFP15，calretinin，thyroglobulin，HMB45 など）や，サイトケラチンプロファイル（CK7，CK20 など）が通常用いられる．

【症例】65 歳，女性．0 経妊 0 経産．

主　訴：腹部膨満感．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：高血圧（降圧薬内服中），肺胞上皮癌（62 歳時診断，担癌状態で当院呼吸器内科通院中）．

【臨床経過】

3 年 5 ヵ月前：両肺多発腫瘤を認め，生検で肺原発腺癌と診断し，以後 gefitinib 投与を開始した（図 1）．奏効せず，1 年 3 ヵ月後内服中止．

2 年 3 ヵ月前：腹部膨満感，食欲低下が出現．腹部エコーで多量腹水と両側付属器充実性病変を指摘された．

2 年 2 ヵ月前：当院周産女性科を初診（図 2）．卵巣は原発性卵巣癌と診断，多発肝腫瘤もあり，化学療法（TC 療法）を開始した（6 ヵ月間）．いったん腫瘤の縮小と腹水の消失を認め，partial response と判定した．

2 年 2 ヵ月前：下肢 DVT からの肺血栓塞栓症を発症した．下大静脈フィルターを留置し，以後ワルファリン内服．

1 年 4 ヵ月前：CA125 再上昇．CT 上，両側卵巣腫瘤，腹膜播種，縦隔リンパ節増大があり，再度化学療法（ドキシル単剤）を開始した（約 1 年）．

3 ヵ月前：GEM 開始したが，奏効せず，緩和療法へ．

入院時：食事摂取困難，全身倦怠感のため入院となった（図 3）．

22 日後：全身状態の悪化と低アルブミン血症で末梢静脈ライン確保が困難となり，輸液を停止した．徐々に意識レベルと血圧が低下した．

25 日後：死亡．

【検索希望事項】

卵巣癌はあるか，肺癌からの転移の可能性はあるか，肺癌は卵巣癌からの転移である可能性はあるか，直接死因．

【剖検診断】二重癌

1. 肺癌（左上葉，腺癌）：著明な肺内転移および肝，骨転移，リンパ節転移，胸膜播種．
2. 両側卵巣癌（漿液性嚢胞腺癌）：リンパ節転移，腹膜播種（多量の腹水）．

【剖検所見】

A. 左肺上葉腺癌（565/480 g）

1. 既往標本［08B03132］：右肺腫瘍 VATS 標本（部位不明）．Adenocarcinoma，mixed subtype（acinar ＞ bronchiolo-alveolar）of the lung．免疫染色で TTF1＋，Napsin A＋，CK7＋，CK20－．
2. 原発巣（図 4）：左肺上葉（B1＋2a 末梢）に胸膜陥入と周囲に虚脱を伴う 15 mm 大の病変がある．
組織学的に adenocarcinoma，mixed subtypes（acinar ＞ pap ＞ bronchiolo-alveolar）の所見（図 6）．Pl3，v＋，ly＋．免疫染色で TTF1＋，Napsin A＋，CK7＋，CK20－，ER－，PgR－，CA125＋，WT－1－，ALK－．砂粒小体の形成が目立つ．
3. 転移巣
a. 血行性転移：多発肺内転移（癌性リンパ管症の状態．腫瘍細胞は Napsin A＋，TTF1＋），多発肝転移，椎体転移．
b. リンパ節転移：肺門部，気管周囲，大動脈周囲のリンパ節に転移がある．
c. 胸膜播種：胸水（左少量，右 150 m*l*）．解剖時に採取した検体の細胞診で腺癌の集塊を多数認める．

B. 卵巣癌

1. 原発巣（図 5）：両側の卵巣に病変があり，左卵巣は 7 cm 大，右卵巣も 3～4 cm 大に腫大．内部は多房性で粘液性褐色調～暗赤色調の内容物を含む．嚢胞壁の一部には充実性の腫瘤形成がある．壊死＋．多房性の嚢胞の一部はチョコレート嚢胞，組織型は左右の卵巣とも漿液性嚢胞腺癌の所見である（図 7）．免疫染色で ER 一部＋，PgR 一部＋，CA125＋，WT-1＋，TTF1－，Napsin A－，CK7＋，CK20－．
2. リンパ節転移：膵周囲リンパ節，大網内，小網内，腸間膜のリンパ節．
3. 腹膜播種：腹水（1,600 m*l*），解剖時に採取した検体の細胞診で腺癌の集塊がある．

【病理所見まとめ】

1. 卵巣の病変と肺の病変は，肉眼像，組織像，および免疫染色結果からはそれぞれが原発性であったと考えられる．免疫染色では，卵巣の病変は通常，卵巣漿液性腺癌で陽性となる ER，PR，WT-1 が陽性となり，TTF1，Napsin A は陰性であった．肺癌の病変は，通常肺腺癌で陽性となる TTF1，Napsin A が陽性となり，ER，PR，WT-1 は陰性であった．
2. 肺は肉眼的に，左上葉に胸膜陥入，虚脱瘢痕を伴う病変があり，これが原発巣で，そのほかは原発巣からの肺内転移と考えられる．
3. 肺の病変は両肺にびまん性に肺内転移をきたしており，胸水貯留もあったことから肺機能が低下していたと考える．卵巣は肺癌と比較すると主要臓器への転移はないが，腹腔内のリンパ節転移や多量の癌性腹水を有する状態であり，循環動態は悪化していたと考える．
3. 以上，肺癌多発肺転移による呼吸不全，卵巣癌の癌性腹膜炎が直接死因である．卵巣癌は壊死に陥る部位も多いが，viable な癌は依然として存在する．肺癌はほとんどが viable な癌であった．化学療法に対する治療効果は低かったと考える．

臨床画像

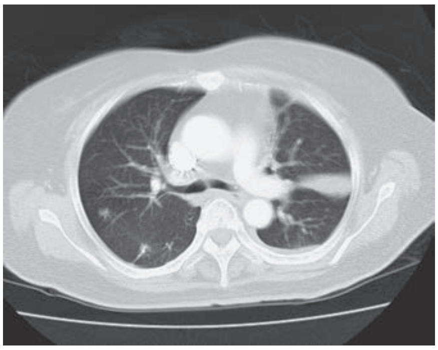


図 1．初診時の胸部 CT．結節性病変が散在性に認められる．

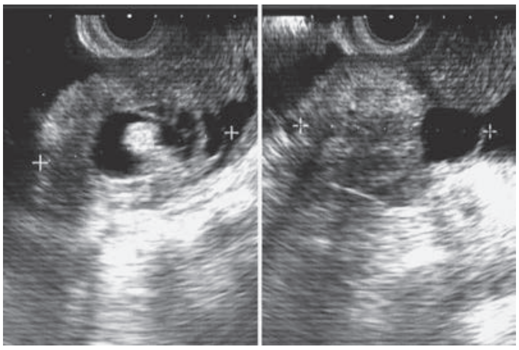


図 2．初診時の経腟超音波断層像．両側性に卵巣腫瘍を認める．充実性部分が混在し，悪性を示唆する所見である．

図 3．入院後の胸部単純 X 線像．両肺に結節が多発する．

病理画像

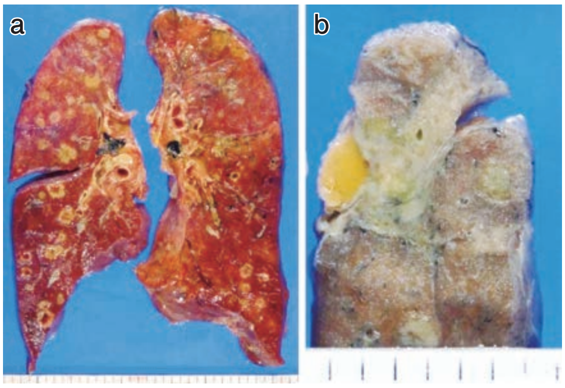


図 4．肺の摘出肉眼標本
a. 固定前．両側に境界明瞭な多発白色結節がある．
b. 固定後．左上葉．膜陥入や周囲に虚脱を伴う 15 mm 大の病変がある．原発巣と考えられる．

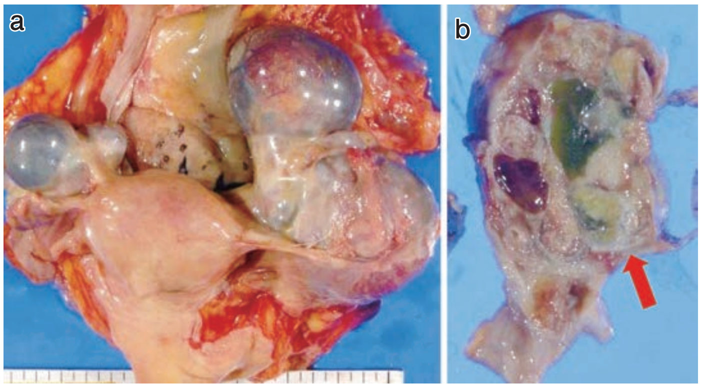


図 5．卵巣の摘出肉眼標本
a. 固定前．両側とも腫大し，多房性の嚢胞性病変を認める．
b. 固定後．左卵巣割面．多房性で，一部，壁の肥厚と内部に充実性病変を認める（矢印）．

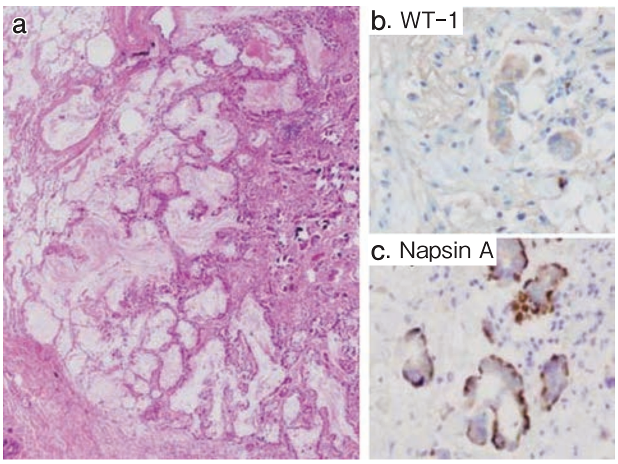


図 6．肺の病理組織像
a. HE 染色．混合型腺癌の所見．中心部はやや分化がわるい．
b，c. 免疫染色．腫瘍細胞は，WT-1 陰性，Napsin A 陽性である．

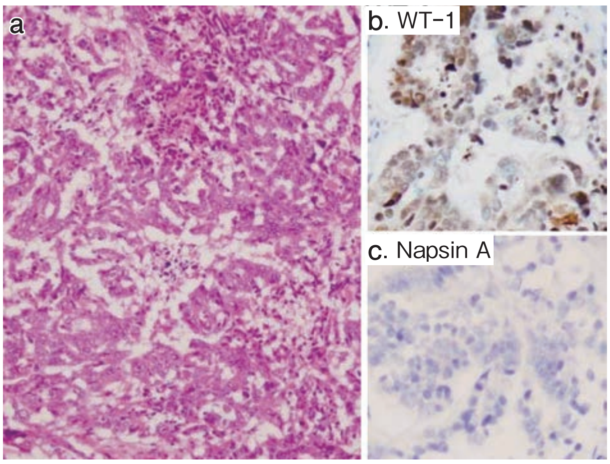


図 7．卵巣癌の病理組織像
a. HE 染色．漿液性嚢胞腺癌の所見．
b，c. 免疫染色．腫瘍細胞は，WT-1 陽性，Napsin A 陰性である．

症例 No.34　臨床的に原因不明の心肺停止で死亡したが，剖検により心臓 His 束の出血が判明した症例

剖検依頼科：救急科

【概要】突然の心肺停止に対して，蘇生に成功したが，蘇生後脳症のために積極的な治療を行わず死亡した 80 歳代の男性例．臨床的には突然の心肺停止の原因となる，心筋梗塞，大動脈解離，肺血栓塞栓症，脳血管障害などの急性疾患は否定的であった．剖検では，心臓 His 束の出血と刺激心筋の変性像があり，急激なブロックから致死性の心室性不整脈が引き起こされ，心停止にいたったものと推測された．剖検によりはじめて突然死の原因を特定しえた貴重な症例であった．

【症例】80 歳代，男性．

主　訴：昏倒．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：肝細胞癌に対しエタノール塞栓術を施行（70 歳ころ，他院），高血圧，前立腺肥大，内服薬服用は不明．

【臨床経過】

入院 2 日前：会社で昼食後にくつろいでいる際に突然前のめりに倒れ，意識不明となったため救急要請となった．救急隊到着時，心肺停止で心肺蘇生を開始し，当院救急科へ搬送された．

入院時：突然の心肺停止の原因として，急性冠症候群，大動脈解離，肺血栓塞栓症，緊張性気胸，脳血管障害が鑑別にあがったが，検査ではいずれも否定的であった（図 1）．蘇生に成功したが（図 2），蘇生後脳症が認められた．

2 日後：積極的治療を希望せず，死亡した．

【検索希望事項】

胸腹骨盤造影 CT で判断できない心肺停止の原因の有無，急性冠症候群の有無，肺血栓塞栓症の有無．

【剖検診断】

1. 心臓 His 束の出血．
2. 三重癌（肝細胞癌 エタノール塞栓後再発，甲状腺乳頭癌，前立腺癌）．
3. 誤嚥性肺炎．

【剖検所見】

A．心臓 His 束の出血（心臓 300 g）

刺激伝導系の His 束には新鮮な出血と刺激心筋の凝固壊死像がある（図 3）．洞房結節など他の刺激伝導部は保たれている．運動心筋においては明らかな梗塞像はなく（図 4），冠動脈の閉塞像はない．そのほか，臨床的に問題となった急性疾患の所見は認めない．

B．三重癌

1. 肝細胞癌 エタノール塞栓後再発（肝臓 800 g）：エタノール塞栓後と思われる凝固壊死巣に接して，10×10 mm の高分化肝細胞癌があり，病変は同部に限局する．
2. 甲状腺乳頭癌：甲状腺右葉に石灰化を伴う 5 mm 大の結節がある．すりガラス状核や核溝がある甲状腺乳頭癌の所見である．被膜浸潤および静脈侵襲があるが，転移はない．
3. 前立腺癌：肉眼的には明らかでないが，Gleason score 3＋3 相当の 5 mm 大の腺癌がある．転移はない．

C．誤嚥性肺炎（950/1,135 g）

肉眼的には，気管内に閉塞像はない．気管および肺胞内に，食物残渣とその周囲に膿瘍形成がある（図 5）．異物巨細胞はなく，比較的新しい誤嚥性肺炎の所見である．

【病理所見まとめ】

1. 心刺激伝導系 His 束分岐部に新鮮な出血があり，これが致死的な心室性不整脈を誘発した可能性が高い．過去にも心臓 His 束出血に起因すると思われる突然死 2 例を田中らが報告している（Therapeutic Research **15**：2956–2958，1994）．2 例ともに急な運動，行動の際に発症しており，本例においても，なんらかの動作後に発症した可能性がある．心筋梗塞を示唆する所見はなかった．
2. 両肺に細気管支レベルで食物残渣と肺胞内の急性炎症細胞の浸潤があり，誤嚥性肺炎の所見である．臨床経過からは，心肺停止後に二次性に誘発されたと考えられ，誤嚥による窒息の可能性は低い．
3. 肝細胞癌，甲状腺乳頭癌，前立腺癌ともに原発巣に限局していた．

臨床画像

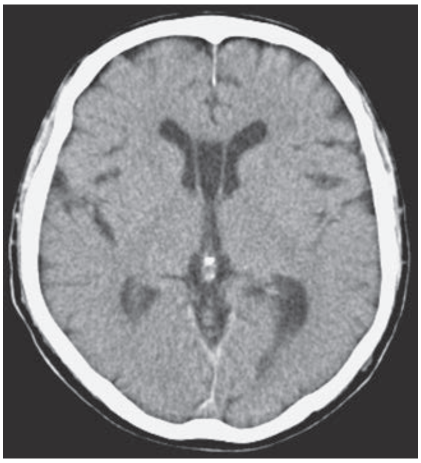


図 1．蘇生後脳 CT．脳浮腫はあるが脳血管障害は否定的である．

図 2．蘇生後の心電図．不完全右脚ブロックがある．

病理画像

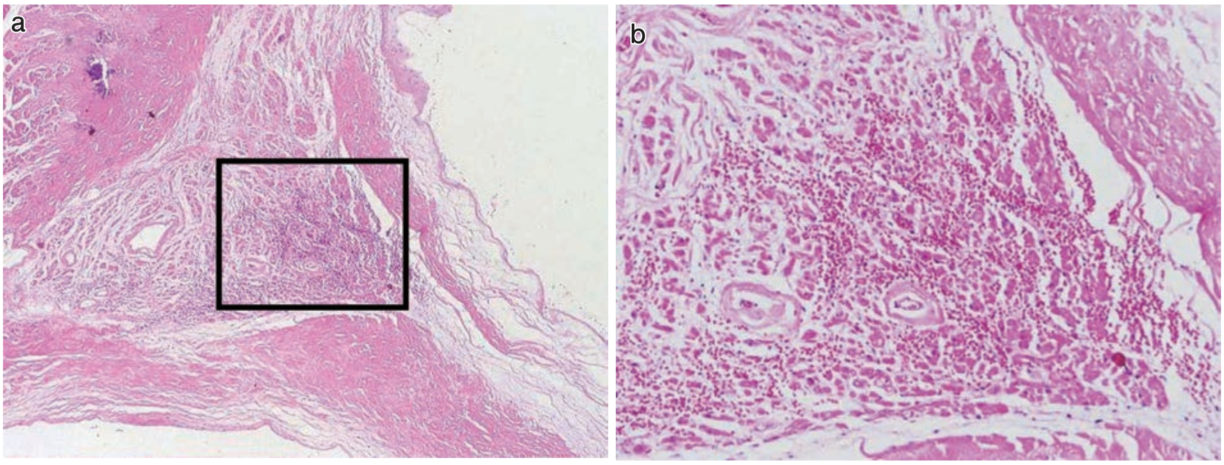


図 3．病理組織像．心臓 His 束の出血（HE 染色）．弱拡大像（a）では三角形の His 束が確認される．a の四角部の強拡大像（b）では，His 束内の出血と刺激心筋の凝固壊死像がある．

図 4．心臓割面の摘出肉眼標本（固定後）．明らかな梗塞像はない．

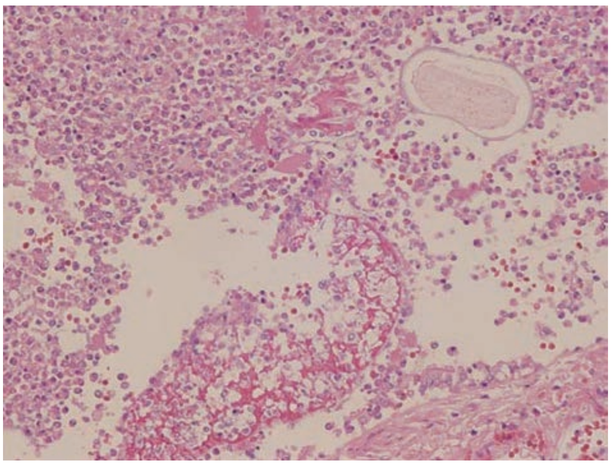


図 5．誤嚥性肺炎の病理組織像（HE 染色）．食物残渣と，その周囲の炎症細胞浸潤を認める．

症例 No.35　心窩部痛で発症し，原因不明の黄疸を認め，多臓器不全をきたして当院転院後3週間で死亡した1例

剖検依頼科：救命救急センター

【概要】心窩部痛で発症，原因不明の黄疸を合併し，救急搬送されたが多臓器不全をきたした1例．臨床的に黄疸の原因特定に苦慮し，また腎不全，呼吸不全に対して治療中，膵炎を契機にさらに全身状態が悪化し，多臓器不全へと進展した症例で，全経過3ヵ月，当院転院後3週間で死亡した．前医での治療介入後であり，初期感染源の同定が当院では困難であった．剖検では膵体尾部主体に急性壊死性膵炎の所見を認め，背景の膵には，線維化を軽度伴うことから慢性の膵炎の存在が示唆される．肝にはアルコール性肝障害に類似した所見を認めており，膵と肝の組織学的所見からはアルコール性で一元的に説明できるが，アルコール歴や増悪因子の有無などの臨床経過と併せた判断が必要である．

【症例】 71歳，男性．

主　訴：原因不明の黄疸，腎不全の精査（他院より転院搬送）．

既往歴：胃潰瘍術後．

生活歴：特記すべきことはない．

【臨床経過】

3ヵ月前：心窩部痛にて他院に緊急入院．

2ヵ月半前：嘔吐，点滴静注胆嚢胆管造影法-CT，磁気共鳴胆道膵管造影により胆嚢炎が疑われる．誤嚥性肺炎併発のため，挿管管理の後，軽快し抜管した．

2週間前：肝酵素・胆道系酵素の上昇はなく黄疸のみ進行し，腎不全も進行した．持続的血液濾過透析，血液濾過透析，ビリルビン吸着，エンドトキシン吸着を施行したが黄疸の原因は不明で，改善を認めない．

入院：原因不明の黄疸と腎不全の精査のため当院に転院した．入院時，肺炎を合併しており（図1），喀痰培養で緑膿菌を検出した．敗血症性と考えられるショック状態であり，抗生物質の点滴を開始した．

1週間後：膵由来のアミラーゼ上昇．造影CTで造影不染域を認め，急性膵炎が疑われた（図2）．全身状態がわるく，保存的治療の方針となる．抗生物質を変更した．

2週間後：抗生物質を再度変更した．炎症反応は上下したが高値継続しており，敗血症のコントロールが困難であった．

3週間後：代謝性アシドーシス，播種性血管内凝固症候群の進行を認め死亡した．

【検索希望事項】

膵炎の程度，精査，黄疸の原因，敗血症性ショックの原因巣，意識障害の原因．

【剖検診断】

1. 急性壊死性膵炎
2. 敗血症
3. 肺血栓塞栓症

【剖検所見】

A. 急性壊死性膵炎

膵体尾部主体に黒褐色調を呈し壊死に陥る（図3，4）．周囲の脂肪組織にも壊死・出血がみられる（血性腹水3,000 m*l*）．主膵管は膵頭部では追えるが，膵体部からは同定困難であった．組織学的には，膵体尾部を主体に実質の壊死と膵周囲脂肪壊死，炎症細胞浸潤，菌塊の付着を認める（図5）．実質小葉間に線維化を中等度伴う．

B. 敗血症性ショックに伴う変化

1. 脾炎（190 g）：赤褐色調でうっ血を認める．やや腫大している．
2. ショック肝（1,250 g）［図6］：中心静脈周囲ないし小葉内を主体に肝細胞が脱落し，肝細胞の大小不同が目立つ．門脈域辺縁部の細胆管には胆汁うっ滞が目立つ．類洞内に好中球浸潤が目立つ．
3. 血液培養：*Enterococcus sp.*，*S. aureus*（MRSA），*Staphylococcus*（肺と膵臓から *P. aeruginosa*）を検出．

C. 腎急性尿細管壊死（175/150 g）：尿細管上皮の脱落・変性あり．ビリルビン柱（++），球状硬化は1割程度．

D. 原因不明の肝線維症：一部に架橋形成を伴うアルコール性肝線維症に類似した所見．

E. 軽度の肺気腫（575/630 g）：左肺上葉主体に軽度の肺気腫．炎症細胞浸潤は軽度で活動性の肺炎はない．

F. 肺血栓塞栓症，静脈血栓症：両肺の末梢動脈内に血栓塞栓を認める．

【病理所見まとめ】

1. 膵炎の程度：膵の組織所見からは慢性的な膵炎の存在が示唆され，膵炎の増悪と寛解を繰り返していた可能性がある．発症時アミラーゼの上昇を認めなかったが，急性膵炎の否定にはいたらないと考える．胆嚢には漿膜側に炎症が認められたが，胆嚢炎はごく軽度であったと考えられる．胆石も認めなかった．
2. 黄疸の原因：肝にはアルコール性肝炎に類似した線維化を認める．肝線維症を背景として敗血症による胆汁うっ滞，ショックに伴う循環障害性の肝細胞の壊死・脱落をきたし，肝不全へ進行したと推測される．胆道に閉塞は認められない．
3. 敗血症性ショックの原因病巣：急性膵炎に合併した膵周囲壊死組織が原因である可能性が高い．そのほか，中心静脈カテーテル感染が考えられる．肺炎は活動性のある病巣を解剖時には認めなかった．
4. 意識障害の原因：脳には器質的変化を認めず，肝不全や敗血症に伴う意識障害であった可能性を考える．

臨床画像

図 1. 当院入院時の胸部単純 X 線像

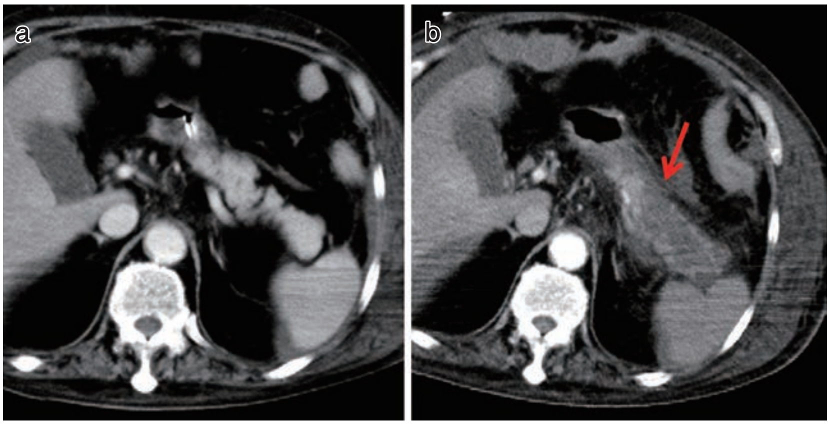


図 2. 造影 CT（a. 入院時，b. 入院 1 週間後）. b では，膵体尾部にかけて造影不染域（矢印）を認める.

病理画像

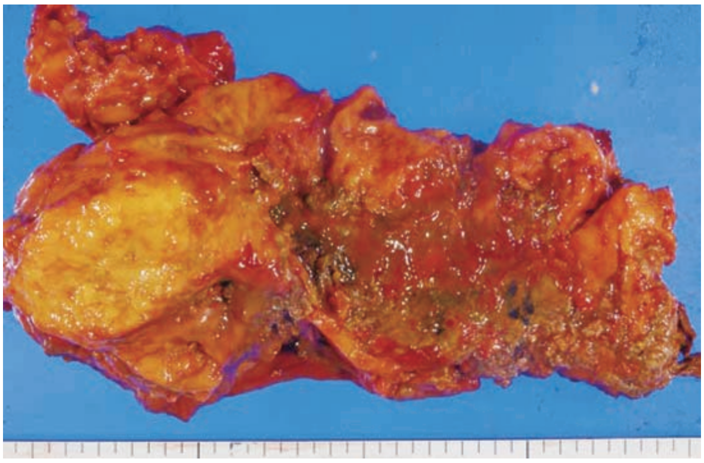


図 3. 摘出肉眼標本（1）. 膵臓（固定前）

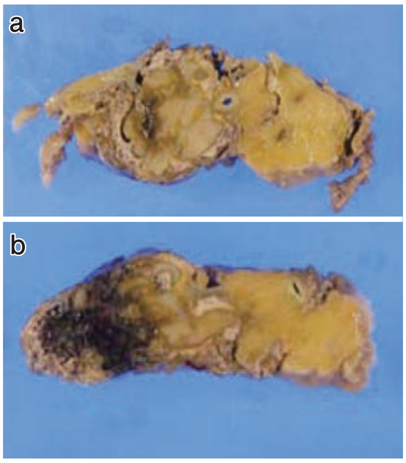


図 4. 摘出肉眼標本（2）. 膵臓の割面（ホルマリン固定）. a. 膵体部，b. 膵尾部

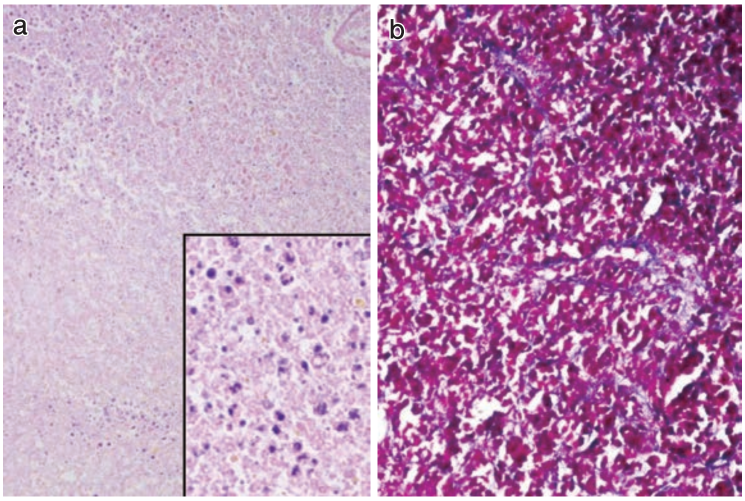


図 5. 膵臓の病理組織像.
a. 尾部の組織像（HE 染色）. 壊死組織内に好中球浸潤や菌塊を認める.
b. 頭部の組織像（Masson trichrome 染色）. 腺房周囲の軽度の線維化がある.

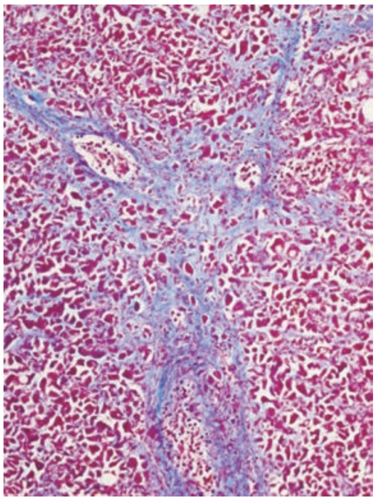


図 6. 肝臓の病理組織像（Masson trichrome 染色）. 中心静脈周囲に肝細胞の脱落と網目状の線維化が目立つ.

尾関　理恵 博士（医学）　Rie Ozeki

学位記番号　／乙第 1755 号　学位授与　／平成 24 年 10 月 17 日

博士の専攻分野／博士（医学）

学位論文　／Hepatic stellate cells mediate differentiation of dendritic cells from monocytes（肝星細胞は単球から樹状細胞への分化に関与する）
Journal of Medical and Dental Sciences　第 59 巻第 1 号　43 頁～52 頁掲載　平成 24 年 3 月発行

論文審査委員／主査：教授　田賀　哲也　副査：教授　仁科　博史　副査：教授　東　みゆき

〈論文要旨〉

急性・慢性の肝硬変，肝不全に対する有効な治療方法は生体肝移植のみであるが，その移植ドナーの不足や手術による大きな侵襲，医療経済の面から生体肝移植の代替療法が求められている．我々の研究グループでは，細胞移植治療に着目し，臍帯血より分離した有核細胞を FGF-1，FGF-2，LIF，SCF，HGF 存在下で培養するとアルブミン産生能を有する肝細胞様細胞へ分化することを示している．今回我々は，肝細胞の分化や機能に深くかかわっている細胞の 1 つである，肝星細胞と臍帯血や末梢血の単球との共培養を試みた．肝星細胞株である LI90 との共培養を行ったところ，肝細胞とは形態的に明らかに異なる，樹状様細胞が誘導された．そこで本研究では，この誘導された樹状様細胞の形質と機能を解析するとともに，樹状細胞への分化への肝星細胞の関与を示した．

〈緒言〉

樹状細胞は，生体内で免疫監視細胞として各組織，臓器に存在し，感染などの有事には，侵入した抗原に対する T 細胞を活性化する抗原提示細胞として働いている．肝臓では，樹状細胞は門脈域のグリソン鞘に存在し，感染が起こった際には成熟化しながら類洞を移動し，中心静脈域にある所属リンパ管へ遊走すると考えられている．しかし，その分化機構やホーミング機構などは明らかにされていない．一方，肝星細胞は多数の突起により類洞内皮細胞を Disse 腔側から包み込んでおり，内皮細胞の支持細胞としての役割を担っている．正常肝では肝星細胞は静止状態にあり，その細胞質にはビタミン A などを含む脂肪滴を有している．しかし，肝障害が生じると，肝星細胞の形質や機能は劇的に変化し，障害を受けた領域の星細胞は脂肪滴の減少，及び消失と a-SMA の発現がみられ，活発に増殖して各種サイトカインと細胞外基質を豊富に産生する活性化星細胞となる．部分肝切除後の肝再生過程では，残存する分化した肝細胞とその他の非実質細胞が増殖してくるが，ある種の病理的条件下では，これらの肝幹細胞が増殖，分化することによって再生が行われるとされている．肝細胞が増殖してくるときには，星細胞の増殖も同時に認められる．このとき，HGF，TGF-a，FGF-1 などの発現が増加し，これらの増殖因子に対するレセプターを肝幹細胞が発現していることから，*in vivo* での肝幹細胞の増殖，分化には星細胞から分泌される増殖因子が関与していると考えられる．

以上のことから，ヒト臍帯血中に含まれる幹細胞から肝（前駆）細胞への分化誘導を検討する際に，肝星細胞と共培養することにより，効率よく肝細胞を誘導できるのではないかと期待し，ヒト臍帯血細胞と肝星細胞株である LI90 との共培養を試みた．その結果，肝細胞とは形態的に明らかに異なる樹状様細胞が誘導された．そこで，本研究では，この誘導された樹状様細胞の形質と機能を解析すると共に，その誘導メカニズムについて検討を加えた．更に，肝臓内での免疫システムにおける星細胞の関わりについて検討した．

〈方法〉

インフォームドコンセントを得た，健常成人女性の正常分娩時の臍帯血を ACD-A 液を抗凝固剤として含有する 10mL 真空試験管（Nipro）に分注して，24 時間以内に使用した．臍帯血及び成人末梢血より単球を分離し，cell culture insert を用いて FGF-1，FGF-2，LIF，SCF，HGF 存在下で LI90 と 21 日間共培養した．得られた細胞の形質を免疫染色，RT-PCR により解析した．誘導された樹状細胞の抗原提示能を調べるために，リンパ球混合培養法を用いた．対象として本誘導細胞に樹状細胞の成熟化因子である TNF-a，PGE_2 を加え 2 日間培養した成熟化細胞を用いた．LI90 の培養上清に分泌されているサイトカインを検出するために，42 種類のサイトカインが同定できる，Human Cytokine Array 3 を用いて解析した．培養上清中の GM-CSF の経時的発現を ELISA 法により解析した．培養に用いた 5 種類のサイトカインのうち，GM-CSF の発現に関与しているサイトカインを同定するために，4 種類のサイトカインの組み合わせで LI90 を培養して，ELISA 法を用いて GM-CSF の発現を解析した．また，LI90 培養上清中の GM-CSF の効果を検討するために GM-CSF の中和抗体を添加した培地で培養を行った．Primary な星細胞での検討を行うために，ラットの肝臓から星細胞を分離した．活性化星細胞を得る為に，1.5mL/kg CCl_4 で肝障害を与えたラットから分離した．それぞれのラットの肝臓を pronase E と collagenase で灌流し，Nycodenz^{TM} に混和し，遠心分離により星細胞を得た．得られた星細胞を cell culture insert に移し，末梢血単球と共培養した．誘導された細胞の形質を RT-PCR により解析した．また，insert 上の星細胞における GM-CSF の発現を RT-PCR により解析した．

〈結果〉

LI90 との共培養により，単球から特異的な樹枝状突起を持つ細胞が誘導された．免疫染色による解析では肝星細胞のマーカーである a-SMA は，LI90 細胞の約 50% 以上が染色されるのに対し，本誘導細胞では染色されなかった．本誘導細胞は，樹状細胞マーカーである CD83，DC-SIGN（CD209）によって染色された．次に，RT-PCR による樹状細胞マーカーの発現を解析したところ，DC-CK1 の mRNA レベルでの発現を認めた．リンパ球混合培養法による抗原提示能の解析では，本誘導細胞は T リンパ球活性化能を有しており，成熟化させた細胞との比較でもほとんど差異が認められなかった．以上の結果より，誘導された細胞は成熟化樹状細胞であると示唆された．

我々の培養系における LI90 の培養上清中のサイトカインの検討では，検討した 42 種類のサイトカインのうち，GM-CSF，IL-1a，IL-1b，IL-4，IL-13，IL-15，MCP-2 が 5 倍以上の発現の増加を認めた．特に樹状細胞の誘導因子として知られている GM-CSF の発現が 49 倍に至っていたため，その発現を経時的に解析した．7 日ごとの培養上清中の GM-CSF 産生量を ELISA で解析した結果，培養

21日目までに7.8ng/mLの発現が認められた．また，GM-CSF中和抗体を添加した培養系では樹状細胞は誘導されなかった．培養系に添加している5種類のサイトカインのうち，GM-CSFの発現に関与しているサイトカインを同定するために，FGF-1，FGF-2，LIF，SCF，HGFのサイトカインのうち，4種類の組み合わせでLI90を培養し，GM-CSFの発現をELISA法により解析した結果，FGF-2を添加していない培養系ではGM-CSFの発現がほとんど認められなかった．以上の結果より，FGF-2存在下でLI90を培養するとGM-CSFを産生し，樹状細胞の誘導に関与していることが示唆された．

Primaryな星細胞での検討を行うために，正常ラット肝及びCCl_4による障害を与えた肝より星細胞を分離し，cell culture insertを用いて，単球との共培養を行った．その結果，正常肝から分離した星細胞との共培養ではほとんど樹状細胞の発現が認められなかったのに対し，CCl_4で障害を与えた肝臓から分離した活性化星細胞との共培養により，培養7日目より樹状細胞の発現が認められ，RT-PCRによる解析でも樹状細胞のマーカーであるDC-CK1の発現が見られた．また，insert上の肝星細胞をRT-PCRで解析した結果，活性化星細胞からGM-CSFの発現が認められた．

〈考察〉

FGF-1，FGF-2，LIF，SCF，HGFの存在下では，臍帯血有核細胞から肝細胞様細胞が誘導される．肝細胞の誘導の効率化と増殖を期待して肝星細胞の培養株であるLI90との共培養を行ったところ，肝細胞様細胞の誘導は完全に阻止され，機能的な樹状細胞様細胞が誘導された．LI90の培養上清を加えた培養系でも同様の結果が得られたために，LI90の分泌する液性因子が樹状細胞の誘導に関わっていると考えられた．Cytokine Arrayによる検討ではGM-CSFを含む7種類のサイトカインの増加（5倍以上）が認められ，これらのサイトカインには樹状細胞誘導因子であるGM-CSF，IL-4が含まれ，また成熟化因子であるIL-1bおよびIL-13が含まれていたため，誘導された細胞が成熟化した樹状細胞である可能性が高く，実際にも成熟樹状細胞の持つ抗原提示能を有していた．LI90のGM-CSF産生は経時的に増加しており，その発現及び産生は，FGF-2依存性であることが示された．

クッパー細胞は肝臓内で，N-アセチルグルコサミン特異的な受容体と結合する事で前駆樹状細胞をリクルートするという報告がある．さらに，ラットの胆管上皮細胞や非実質細胞とヒトの単球を共培養することで樹状細胞が誘導されるという報告がある．しかしながら，肝星細胞が樹状細胞の分化に関わっているとの報告は無いため，我々は活性化肝星細胞の樹状細胞の分化への関与を調べるために，ラットのprimaryな活性化肝星細胞とヒトの単球との共培養を試みた．その結果，活性化肝星細胞はGM-CSFを発現し，DC-CK1を発現する樹状細胞が誘導された．これらの結果は，肝臓内での樹状細胞の分化に星細胞が関与している可能性を示している．

肝障害時にDisse腔にある星細胞は活性化し，GM-CSFを含むサイトカインを分泌する．これらのサイトカインは単球あるいは樹状前駆細胞をDisse腔内に誘引し，樹状細胞への分化へ寄与する．活性化した肝星細胞がT cellの増殖を抑制するという報告があるが，肝臓内の免疫において肝星細胞の働きは明らかにされていない．本研究により，肝星細胞は肝臓の免疫システムに，直接もしくは間接的に，樹状細胞の分化を含む細胞間相互作用に関与していると考えられる．

一方で，ヒトの肝星細胞培養株であるLI90がFGF-2単独添加でGM-CSFを分泌する事を明らかにした．肝再生時に肝星細胞のFGF-2発現は増加し，autocrineあるいはparacrineにより肝再生に作用していると考えられている．従って，今後，障害肝においてGM-CSFを発現するような肝星細胞の誘導に関与するFGF-2産生細胞の同定が必要となる．

〈結論〉

LI90がGM-CSFを産生し単球から樹状細胞を分化誘導することを示した．肝臓内で肝星細胞が有事の際に液性因子を介して，樹状細胞を分化誘導することが示唆された．

工藤　琢巳 博士（医学） Takumi Kudo

学位記番号　／甲第 1864 号　学位授与　／平成 24 年 3 月 31 日
研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）脳神経機能外科学専攻
学位論文　／The RASSF3 candidate tumor suppressor induces apoptosis and G1–S cell-cycle arrest via p53（腫瘍抑制因子の候補である RASSF3 は，p53 を介して apoptosis 誘導と細胞周期制御を行っている）
Cancer Research　第 72 巻第 11 号　2901 頁～2911 頁掲載　平成 24 年 6 月発行
論文審査委員／主査：教授　中村　正孝　副査：教授　清水　重臣　副査：教授　三木　義男

〈論文要旨〉
哺乳動物には 10 個の RASSF 蛋白があり，腫瘍抑制因子として機能していることが報告されている．そのひとつである RASSF3 も腫瘍抑制因子として機能している可能性が報告されているがその基礎的な性質はよく分かっていない．今回私達は RASSF3 の腫瘍抑制因子としての機能とその分子機序を明らかにした．RASSF3 を発現させると apoptosis 及び G1/S arrest を誘導した．RASSF3 の発現抑制は UVB，VP-16 が誘導する細胞死と G1/S arrest を抑制した．この apoptosis と G1/S arrest は p53 に依存した．RASSF3 は p53 の E3 ligase である MDM2 の ubiquitin 化を促進し p53 を安定化した．RASSF3 を発現抑制すると UVB や VP-16 で誘導された DNA 損傷に対する DNA 修復が遅延し，多倍数体形成が促進された．以上の結果は RASSF3 が p53 を安定化して apoptosis と細胞周期制御を誘導し，腫瘍抑制因子として機能していることを示している．

〈緒言〉
RASSF 蛋白は 10 個から構成され，特に RASSF1 の splicing valiant である RASSF1A において研究が進んでいる．RASSF1A は apoptosis 誘導，細胞周期制御，microtubule の安定化などに関与し，また多種の癌細胞において promoter 領域の methylation に起因する発現低下が認められている．RASSF3 は RASSF 蛋白の内，最も小さな分子である．過去の報告では，乳癌易形成性を持つ MMTV/neu を遺伝子導入した mouse のうち，生後 11 ヶ月までに乳癌を形成した mouse の乳腺と，乳癌を形成しなかった mouse の乳腺の比較において，後者で RASSF3 の発現が増加していた．RASSF3 を乳癌細胞株に過剰発現すると細胞生存率が低下した．Cancer Genome Anatomy Project によると，胃癌，肝臓癌，大腸癌，肺癌において，RASSF3 の発現が正常組織と比較して抑制されている．以上から RASSF3 も腫瘍抑制因子として機能していると考えられるがその詳細な研究はなされていない．この論文では RASSF3 の腫瘍抑制因子としての機能と分子機序について解析した．

〈方法〉
Apotosis の解析は，核凝集陽性率と caspase 3 の切断陽性率を顕微鏡を用いて，annexin-V 陽性率と subG1 細胞の割合を FACS を用いて評価した．細胞増殖は MTT assay 及び BrdU の取り込み率を用いて評価した．細胞周期解析は，thymidine を用いて細胞周期を G1/S に同期させたのちに release し，経時的に固定して FACS を用いて DNA content を測定して評価した．DNA 修復は，γ-H2AX 陽性細胞率及び comet assay を用いて算出される DNA 損傷の陽性率をもとに評価した．多倍数体解析は DNA 損傷誘導後に DNA content を解析して評価した．相互作用解析は標的とする蛋白質を HEK293FT 細胞に共発現させ，免疫沈降し，Western blot 法を用いて共沈される蛋白質を検出した．ユビキチン化の評価は，標的とする蛋白質と HA tag 付きのユビキチンを HEK293FT 細胞に過剰発現させ，標的とする蛋白質を免疫沈降し，抗 HA 抗体を用いた Western blot 法を用いて評価した．

〈結果〉
RASSF3 を過剰発現した HCT116 p53+/+細胞は，核凝集陽性率，subG1 細胞率の増加を示した．RASSF3 を発現抑制した HCT116 p53+/+細胞では，UVB，VP-16 による apoptosis が部分的に抑制された．一方で，HCT116 p53–/–細胞では，RASSF3 が誘導する apoptosis は減少した．以上から RASSF3 が apoptosis 誘導に関与し，この apoptosis は p53 に依存することが示された．
RASSF1A，RASSF2，Nore1A（RASSF5A）は，腫瘍抑制シグナル伝達系である Hippo pathway の主な構成因子キナーゼである MST1/2 と相互作用して apoptosis を誘導する．RASSF6 は MST2 と相互作用してその活性を抑制し，Hippo pathway に依存せずに apoptosis を誘導する．これらの RASSF 蛋白と MST1/2 は SARAH domain を介して相互作用する．RASSF3 も SARAH domain を持つ．免疫沈降で MST1/2 は RASSF3 と共沈されたが，MST1/2 及び Hippo pathway の他の構成因子である LATS1/2 を発現抑制しても apoptosis 誘導に影響がなかった．RASSF1A と RASSF6 による細胞死には MOAP1 が関与する．RASSF3 も MOAP1 と相互作用し，MOAP1 を発現抑制すると部分的に apoptosis 誘導が減少した．以上から RASSF3 が誘導する apoptosis は Hippo pathway には依存せず，p53 に依存し，MOAP1 にも部分的に依存していることが示された．
RASSF3 を発現抑制した U2OS 細胞では細胞増殖が促進され，RASSF3 を過剰発現すると G1/S arrest を誘導した．RASSF3 を発現抑制すると UVB と VP-16 が誘導する G1/S arrest が部分的に抑制された．一方で p53 が欠損している H1299 細胞では RASSF3 は G1/S arrest を誘導しなかった．RASSF3 を発現抑制すると，正常な p53 を有する U2OS 細胞では BrdU の取り込みは増加したが，p53 を発現抑制した U2OS 細胞では変化しなかった．また，HCT116 p53+/+細胞では RASSF3 を発現抑制すると細胞増殖が促進したが，HCT116 p53–/–細胞では変化しなかった．RASSF3 が G1/S arrest を誘導し，この G1/S arrest は p53 に依存することが示された．
RASSF3 が誘導する apoptosis と細胞周期制御が p53 に依存していたため，RASSF3 が p53 の制御に関与しているかを調べた．RASSF3 を発現抑制すると p53 及びその転写標的である p21，BAX の蛋白量が減少し，mRNA レベルでは p21，PUMA は減少していたが p53 は減少していなかった．proteasome 阻害剤である MG132 を処理すると，RASSF3 を発現抑制しても p53 の減少は認められなかった．蛋白合成阻害剤である cycloheximide を処理して経時的に p53 の蛋白量を評価すると，RASSF3 を発現抑制した U2OS 細胞ではより敏速に p53 が減少した．p53 の主要な E3 ligase である MDM2 と RASSF3 を同時に発現抑制した U2OS 細胞では，RASSF3 単独を発現抑制したものと比較し，p53 の蛋白量が増加した．免疫沈降で RASSF3 と MDM2 との相互作用を確認した．また RASSF3 と MDM2 を共発現するとどちらの蛋白の発現量も減少するが，MG132 を処理するとその発現量の減少が緩和された．MDM2 は RASSF3 の，RASSF3 は MDM2 の ubiquitin 化を促進した．RASSF3 は MDM2 の自己分解を促進し，p53 の安定性に関与していることが示された．
RASSF3 を発現抑制した U2OS 細胞に VP-16 処理すると，VP-16 除去 24 時間後の γ-H2AX 陽性細胞率が control と比較して増加し，

comet assay における tail moment が増加した．RASSF3 を発現抑制した U2OS 細胞に VP-16 処理を行うと多倍数体形成が促進した．RASSF3 の発現抑制は DNA 損傷による p53 の発現増加による G1/S arrest を阻害し，結果多倍数体形成を起こすと示唆された．

〈考察〉

私達は RASSF3 が apoptosis を誘導すること，G1/S arrest を起こすこと，MDM2 の分解を促進して p53 を安定化していることを示した．RASSF3 を発現抑制すると DNA 修復が遅延し，また多倍数体形成が促進されることから，RASSF3 の発現抑制が細胞の癌化に影響を与えている可能性についても示した．RASSF3 を発現抑制することで p53 が分解され易くなり，MDM2 を更に発現抑制すると p53 の分解が抑制されたが，その効果は部分的だった．これは RASSF3 が，p53 を標的とした MDM2 以外の E3 ligase を抑制している可能性を示唆する．

本研究は RASSF3 が腫瘍抑制因子として機能していることを支持し，さらにその分子機序を明らかにした．本研究を臨床研究及び治療に結びつけるうえで生体を用いた研究は必須であり，生体の腫瘍モデル，転移モデルを用いて RASSF3 の腫瘍抑制因子としての機能解析が必要と考えられた．

〈結論〉

RASSF3 は MDM2 の分解を促進することで p53 の安定性に寄与し，apoptosis 誘導，細胞周期制御を行っている．RASSF3 は他の RASSF 蛋白と同様に腫瘍抑制因子として機能している．

重田　恵吾 博士（医学）　Keigo Shigeta

学位記番号　／甲第 1865 号　学位授与　／平成 24 年 3 月 31 日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）脳神経機能外科学専攻

学位論文　／Analysis of DWI ASPECTS and recanalization outcomes of patients with acute-phase cerebral infarction（急性期脳梗塞における DWI ASPECTS と再開通療法の治療成績に関する研究）
Journal of Medical and Dental Sciences　第 59 巻第 2 号　57 頁〜63 頁掲載　平成 24 年 6 月発行

論文審査委員／主査：教授　渋谷　均　副査：教授　下門　顕太郎　副査：教授　根本　繁

〈論文要旨〉
当研究は tPA 静注療法（IV tPA）の有効性を素早く見極めることを目的に行った後向き研究である．過去に IV tPA を行った症例のうち，脳の前方循環（内頸動脈領域）の血管閉塞を起こした 73 例を対象とした．MRI 拡散強調画像（DWI）を含む臨床データと治療成績を解析した．退院時転帰良好群（mRS 2 以下）は 31.5% だった．転帰良好群では，非転帰良好群と比較し，来院時 NIHSS が低く，DWI ASPECTS が高く，主幹動脈（ICA/M1）閉塞が少なかった（単変量解析，各々 P<0.05）．多変量解析では，DWI ASPECTS，主幹動脈閉塞で有意差が出た．転帰良好を予測する DWI ASPECTS は 7 以上だった．DWI ASPECTS 7 以上の群に転帰不良（mRS 5 以上）が 15% あり，いずれも主幹動脈閉塞の症例だった．一方症候性頭蓋内出血は DWI ASPECTS 6 以下の症例で起きていた．DWI ASPECTS と MRA の組み合わせは IV tPA 後の転帰を予測する上で有用だった．

〈諸言〉
急性脳血管閉塞は，組織プラスミノーゲン活性化因子静注療法（IV tPA）の開始で大きな転帰の改善を得た．しかしながら，主幹動脈閉塞例など，IV tPA 無効の症例があることが分かっている．近年は血管内治療による機械的血行再建や，発症から治療開始までの therapeutic time window の拡大など，さらなる再開通療法が模索されている．再開通療法の適応範囲拡大を決めるのに，拡散強調画像（DWI）と灌流画像（PWI）のミスマッチ（DWI–PWI mismatch）が有用とされる．しかし時間に制約のある急性期治療の現場で，PWI の作成・検討は全例でできるものでもない．現場では拡散強調画像と臨床所見のミスマッチ（DWI–clinical mismatch）で治療に踏み切る場合が多い．DWI の定量的評価として DWI ASPECTS（11 点法．DWI で虚血が認められる領域を減点する．全く虚血がないのが 11 点，すべて虚血は 0 点）の有用性が指摘されている．今後これまでの IV tPA から治療適応を拡大していく際に，IV tPA でなにが治療できており，何が治療できていないのか確認しておくことは重要である．IV tPA 時代の症例の DWI ASPECTS を検討し，これまでの再開通療法の治療成績を確認した．

〈対象と方法〉
当院で 2005 年 11 月から 2011 年 2 月までの期間，連続した 101 例の急性期脳梗塞例に対し IV tPA を行った．IV tPA は J–ACT の治療適応基準に原則準拠して行った．この内，IV tPA 前に MRI/A を行い，前方循環の血行障害が原因と判断した 73 例を対象とした．MRI（Intera Release 8；Philips Medical Systems，Best，the Netherlands）は DWI，MRA，T2*を含み，閉塞血管の同定をした．DWI ASPECTS で虚血性変化の起きている中大脳動脈領域を確認した．MRA で脳動脈の閉塞を確認した．閉塞血管は内頸動脈（ICA），中大脳動脈（MCA）の M1，M2，穿通枝に分類した．治療前に NIHSS を測定した．脳梗塞病型は TOAST 分類に準じて，心原性脳塞栓症・アテローム血栓性梗塞・ラクナ梗塞・分類不能の脳梗塞・その他の脳梗塞に分けた．治療開始後 36 時間以内に CT か MRI T2*で頭蓋内出血の有無を調べた．そのうち NIHSS が 1 以上悪化した出血を症候性頭蓋内出血と定義した．退院時 mRS を調べた．統計処理は PASW statistics 18（SPSS Inc．Chicago）で行った．転帰良好を予測する DWI ASPECTS の閾値を受信者動作特性（ROC）曲線で求めた．転帰良好を予測された群でのサブクラス解析を行った．症候性頭蓋内出血に関連する因子を解析した．この研究は東京医科歯科大学および，災害医療センターの倫理委員会で承認を得た．

〈結果〉
73 例中 48 例（65.8%）が男性だった．平均 71.6 ± 9.0 歳．臨床病形は心原性 58 例（79.5%），アテローム血栓性 8 例（11%），ラクナ梗塞 5 例（6.8%）．投与前 NIHSS は 15.0 ± 6.9．責任血管は ICA16 例（21.9%），MCA56 例（76.7%）だった．MCA の閉塞部位の内訳は M1 が 35 例（47.9%），M2 より末梢が 16 例（21.9%），MCA 穿通枝が 5 例（6.8%）だった．DWI ASPECTS は平均 6.7 ± 2.7 だった．
投与後 36 時間以内の頭蓋内出血は 14 例（19.2%）で，内 4 例（5.5%）が症候性だった．頭蓋内出血に起因する死亡は無かった．
退院時転帰良好群（mRS 0–2）は 31.5%，転帰不良群（mRS 5–6）は 32.9% だった．
退院時転帰良好群は来院時 NIHSS が低く，DWI ASPECTS が高く，主幹動脈（ICA/M1）閉塞が少なかった（単変量解析，各々 P<0.05）．単変量解析で有意差が出た因子を用いて多変量解析を行った結果，DWI ASPECTS，主幹動脈閉塞で有意差が出た．
投与前 DWI ASPECTS と退院時 mRS は負の相関（Spearman r = − 0.53，p<0.01）を示し，DWI ASPECTS が高値なほど転帰良好だった．
ROC 分析から転帰良好（mRS 0–2）を予測する DWI ASPECTS のカットオフ値を 7 以上（感度 79.2%，特異度 57.1%，AUC 0.767）と判断した．DWI ASPECTS 7 以上（n = 40）では退院時転帰良好（mRS 0–2）が 47.5% と 6 以下（n = 33）の 15.2% と比較し有意に多かった（p<0.01）．
DWI ASPECTS 7 以上の症例のサブクラス解析を行うと，転帰良好が 19 例あるのに対し，転帰不良が 6 例あった．転帰不良に関連する因子は高い NIHSS，主幹動脈閉塞だった．転帰不良の 6 例の閉塞血管を確認すると IC 閉塞 3 例，M1 閉塞 3 例といずれも主幹動脈閉塞例だった．多変量解析では転帰に関連する因子は検出できなかった．
IV tPA 後 36 時間以内の症候性頭蓋内出血に関連する因子は，単変量解析で低い DWI ASPECTS と M1 閉塞だった．多変量解析では関連する因子は検出できなかった．症候性頭蓋内出血を起した症例は全例が DWI ASPECTS が 6 点以下で平均 4.0 ± 2.2 であり，症候性出血が無かった症例の 6.9 ± 2.7 と比較し有意に低かった（p = 0.033）．DWI ASPECT　6 以下で症候性出血性合併症が 12.1% と 7 以上の 0% に比し有意に多かった（p = 0.038）．

〈考察〉

IV tPA を施行した急性脳血管閉塞症例の内，投与前 MRI/A で DWI ASPECTS の評価ができた前方循環閉塞例の臨床病形と転帰・合併症について検討した．DWI ASPECTS と転帰の関係はこれまでも報告されており，7 点以上で転帰が良好とする報告がある．我々の検討でも，投与前 DWI ASPECTS 7 以上で転帰良好例が多かった．転帰良好を予測される DWI ASPECTS 7 以上の症例についてサブクラス解析を行うと，中に転帰の改善が得られていない症例があり，検討すると主幹動脈が閉塞している症例だった．われわれが調べた限りでは，これまでに DWI ASPECTS の値によるサブクラス解析を検討した報告はない．

主幹動脈が閉塞しているにも関わらず DWI ASPECTS 高値ということは，側副血行路が保たれているということである．閉塞血管が再開通すれば梗塞に陥らず，良好な転帰が期待できる．ところが主幹動脈閉塞の場合は IV　tPA での再開通率が低いことが知られている．DWI ASPECTS が 7 以上にも関わらず，主幹動脈閉塞の場合転帰が不良になってしまうのは，IV tPA 単独では再開通が得られないからと判断できる．一方で IV tPA 後の機械的血行再建は再開通率が上昇することが報告されている．今後 DWI ASPECTS 高値の主幹動脈閉塞型は IV tPA 後に機械的血行再建を行い再開通させることで，転帰の改善が期待される．

症候性頭蓋内出血については，ASPECTS 6 以下で起きていることが分かった．ASPECTS 低値は，脳虚血が広い範囲で不可逆的になっていることを示し，再灌流障害により出血を起こす可能性がある．今後さらなる再開通療法を選択する場合も ASPECTS 6 以下の症例では出血性合併症に注意して行う必要がある．

DWI–PWI mismatch からペナンブラを個々に検討し，閉塞している MCA 末梢の 1 本を再開通させることで運動野，言語野を温存し，会心の回復が得られる場合がある．そういったあくなき追求が 1 例 1 例の転帰の改善につながることもあるだろう．一方で一刻の猶予もない梗塞急性期に十分な検討の時間が無い事実もあり，簡便な DWI–clinical mismatch の指標も必要である．今回の検討から，DWI ASPECTS 7 以上の症例で，良好な転帰が期待される一方，主幹動脈閉塞の場合は十分な転帰改善が得られていないことが分かった．この様な症例が，機械的血行再建を含む更なる血行再建が必要な症例の可能性がある．DWI ASPECTS と MRA の組み合わせは，PWI の解析と比べて短時間で行うことができ，IV tPA 後の更なる再開通療法を検討する際に DWI clinical mismatch の簡便な定量指標として有用な可能性がある．

〈結語〉

急性脳血管閉塞に対して IV rtPA を行った症例で，投与前 DWI ASPECTS 7 以上の場合退院時の転帰が良好である一方，7 以上でも主幹動脈閉塞型の場合 mRS 5–6 の転帰不良例が多いことを示した．また DWI ASPECTS 6 以下で症候性出血性合併症が多かった．現在当院では DWI ASPECTS 7 以上の主幹動脈閉塞型の iv–tPA 無効例に対し，機械的血行再建を行っているところである．実際にそういった症例の転帰を改善するかどうかは今後の調査を待たねばならない．

根木　真理子 博士（医学）　Mariko Negi

学位記番号　／甲第 1866 号　　学位授与　／平成 24 年 3 月 31 日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）人体病理学専攻

学位論文　／Localization of *Propionibacterium acnes* in granulomas supports a possible etiologic link between sarcoidosis and the bacterium（*P. acnes* はサルコイドーシス肉芽腫内に局在し本症との病因的関係が示唆される）

Modern Pathology　第 25 巻第 9 号　1284 頁～1297 頁掲載　平成 24 年 9 月発行

論文審査委員／主査：教授　稲瀬　直彦　　副査：教授　水澤　英洋　　副査：准教授　明石　巧

〈論文要旨〉

Propionibacterium acnes（以下 *P. acnes*）は，サルコイドーシス（以下サ症）病変組織からの細菌培養で証明された唯一の菌であるが，本菌が皮膚に細胞外棲息する常在菌であるがために原因細菌としての確定は困難な状況にある．本研究では，常在菌である本菌とサ症との病因論的因果関係を解明するために，本菌に特異的な二種類の単クローン抗体を作製し，サ症 196 検体に対照疾患 275 検体を加え免疫組織化学的に検討した．*P. acnes* 菌体破砕液を免疫して得られた抗体（PAB 抗体）と本菌由来 trigger factor リコンビナント蛋白を免疫して得られた抗体（TIG 抗体）はいずれも血清型や菌株を問わず *P. acnes* と特異的に反応した．本菌以外の Propionibacteria 属菌種や結核菌を含むその他の細菌類とは反応しなかった．PAB 抗体は細胞膜結合性のリポテイコ酸を認識し，TIG 抗体はリボゾーム結合性の trigger factor を認識していた．サ症の肉芽腫内には，肺 VATS 検体では 27 症例中 20 例（74%）に，肺 TBLB 検体では 50 症例中 24 症例（48%）に，リンパ節においては 119 症例中 105 例（88%）に PAB 抗体が陽性となった．結核など他の肉芽腫疾患 45 例の肉芽腫にはすべて陰性であった．肉芽腫以外の部位では，多くのサ症検体とともに，少数の非サ症検体において，肺胞内やリンパ節傍皮質領域の大型細胞内に陽性となった．二重染色法で，当該細胞は樹状細胞マーカー（fascin）陰性でマクロファージマーカー（Kp-1）陽性を呈した．リンパ節では，Hamazaki-Wesenberg（HW）小体にも二種類の抗体が陽性で，その出現頻度はサ症では 50%，非サ症では 15% であった．免疫電顕法で，PAB 抗体は HW 小体の外周辺縁に，TIG 抗体は HW 小体の内部に陽性となることから，HW 小体が細胞壁欠失型の菌体そのものである可能性が示唆された．多数の症例にて本症特異的に *P. acnes* が肉芽腫内に検出されたことは，本菌がサ症肉芽腫形成の原因細菌であることを強く示唆する．また，本菌の潜伏感染がリンパ節や肺のマクロファージに生じていることや，潜伏感染の内因性活性化がサ症の発症をトリガーしている可能性も示唆された．PAB 抗体の肉芽腫内陽性所見はサ症特異性であり，本抗体がサ症の病理組織診断にも有用である可能性が高い．

〈緒言〉

サ症は原因不明の肉芽腫性疾患で，遺伝的因子に加え，環境因子，特に感染性病原体に暴露され発症すると考えられている．Propionibacteria と Micobacteria はその代表候補で，PCR を用いた患者検体からの菌 DNA の検出や，患者検体と菌体の免疫応答等多数の報告がなされている．しかしこれら候補菌は少ない頻度ながらも対照群でも見出され，未だ病因の最終的な結論に至っていない．本研究では，サ症病変部から培養された唯一の微生物である *P. acnes* とサ症の病因論的因果関係について免疫組織化学的手法を用い検討した．マウスに *P. acnes* 破砕液や，*P. acnes* の trigger factor 蛋白を免疫し，本菌に特異的な単クローン抗体を作製し，サ症の肺およびリンパ節の肉芽腫内での本菌の検出頻度を対照群と共に検討した．

〈方法〉

サ症患者の肺（77 例），リンパ節（119 例）のホルマリン固定パラフィン包埋材料を用いた．対照疾患に，肺では結核（17 例），サルコイド反応（10 例），肺癌（44 例），特発性間質性肺炎（16 例），慢性過敏性肺炎（23 例）の計 110 例を，リンパ節では結核（28 例），サルコイド反応（24 例），肺癌の転移のない所属リンパ節（36 例），胃癌の転移のない所属リンパ節（20 例），大腸癌の転移のない所属リンパ節（20 例），反応性リンパ節炎（26 例），壊死性リンパ節炎（11 例）の計 165 例を用いた．東京医科歯科大学病理部，日赤医療センター病理部，Ruhrlandklinik（ドイツ）の検体を用いた．

新規単クローン抗体（以下 mAb）は，まず *P. acnes*（ATCC 株 11828）の破砕液と，trigger factor 蛋白を BALB/C マウスに免疫し融合細胞を作製した．ELISA で抗体価が高い融合細胞を用い，*P. acnes* を感染させたラットの肝臓，および *P. acnes* の DNA が多量に検出されたヒトサ症のリンパ節のホルマリン固定パラフィン切片を用いて選別し，各抗原につき 1 種類ずつ計 2 種類の mAb を得た．mAb の特異性は western blot にて確認した．*P. acnes* 破砕液を免疫し得られた抗体を PAB 抗体（以下 PAB-mAb），trigger factor 蛋白を免疫し得られた抗体を TIG 抗体（以下 TIG-mAb）とした．光学顕微鏡下での免疫組織化学的手法や免疫電子顕微鏡にて検討した．

〈結果〉

PAB-mAb と TIG-mAb は，血清型や菌株を問わず，すべての *P. acnes* 破砕液と反応し，本菌以外の Propionibacteria 属菌種や結核菌を含むその他の細菌類とは反応しなかった．PAB-mAb は *P. acnes* 特異的な細胞膜結合性のリポテイコ酸を認識し，TIG-mAb はリボソーム結合型 trigger factor 蛋白と反応した．

肺およびリンパ節の検体で，PAB-mAb はサ症肉芽腫内の類上皮細胞や多核巨細胞に小円形の陽性像を認めた．検出頻度は，肺 77 例中 44 例（57%）で，そのうち VATS 材料は 74% に，TBLB 生検材料は 48% に陽性であった．結核 17 例，サルコイド反応 10 例の肉芽腫には陰性であった．肺検体のサ症肉芽腫の周囲の炎症巣では，VATS 症例の 81%，TBLB 症例の 36% に陽性を認めた．

リンパ節では，サ症肉芽腫の 119 例中 105 例（88%）に陽性となった．日本とドイツの検体の陽性率に差はなく（88% と 89%），表在リンパ節と縦隔リンパ節との陽性率の差もなかった（86% と 89%）．結核 28 例，サルコイド反応 24 例の肉芽腫には陰性であった．

肉芽腫以外の部位では，肺胞内やリンパ節の傍皮質領域の大型細胞にも陽性となった．これらは，二重染色法で，樹状細胞マーカー（fascin）陰性で，マクロファージマーカー（Kp-1）陽性を呈した．陽性頻度は，サ症肺検体で 77 例中 28 例（36%），非サ症肺検体の 110 例中 18 例（16%）となり，有意に高くサ症患者の検体で陽性を認めた（$P = 0.0031$）．リンパ節においては，陽性頻度はサ症検体の傍皮質領域の貪食細胞の 119 例中 26 例（22%），非サ症検体の 165 例中 18 例（11%）であり有意にサ症患者の検体で高かった（$P = 0.019$）．

リンパ節洞内に認められる Hamazaki-Wesenberg（以下 HW）小体には，PAB-mAb と TIG-mAb が陽性で，頻度はサ症リンパ節で

有意に高かった（P＜0.001）．電顕法で，HW 小体は細胞壁の欠損した連続性の類円形構造体と確認した．免疫電顕法で，PAB-mAb は HW 小体の外周辺縁に，TIG-mAb は HW 小体の内部に陽性となった．

〈考察〉

肉芽腫は，人体に有害で感染性のある抗原が全身に広がるのを防ぐため引き起こされる遅延型過敏性反応の初期段階に形成される．候補抗原と，サ症との病因論的因果関係を解明するには，肉芽腫内にその抗原の局在を証明する必要がある．

本研究で，*P. acnes* に特異的な PAB-mAb が，サ症肉芽腫で，リンパ節検体の 88% に，肺検体の 57% に陽性であった．

サ症肉芽腫内に *P. acnes* 陰性の検体もあり，サ症発症には多様な原因があると推測される．例えば *Propionibacterium granulosum*（以下 *P.granulosum*）や *Mycobacterim tuberculosis*（以下 *M.tuberculosis*）など他の菌が原因の可能性もある．*M.tuberculosis* は特に欧米でサ症の原因菌として支持されてきた．しかしながら，定量的 PCR 法を用いた国際的共同研究では，欧州の多くのサ症患者検体から多量の *P. acnes* の DNA が，少数の患者検体から少量の *M.tuberculosis* の DNA が検出されたと報告された．本研究では，ドイツからのサ症リンパ節検体のうち 89% で肉芽腫内に PAB-mAb が陽性となった．以上から，欧州においても *P. acnes* が契機となるサ症が多いと推測される．また以前我々は，日本人のサ症検体 15 例に対し定量的 PCR を施行し，*P. acnes* が検出されなかった 3 例から多量の *P.granulosum* の DNA が検出され，他の 3 例で *M.tuberculosis* が少量検出されたものは多量の *P. acnes* が検出されたという報告をした．サ症検体で *P. acnes* が陰性であった症例については，*M.tuberculosis* よりも *P. acnes* と同じ属の *P.granulosum* がサ症発症の誘因になっている可能性が高い．

サ症肉芽腫内に *P. acnes* が陰性の場合，肉芽腫内で本菌が完全に消化された可能性もある．本研究でも，成熟した肉芽腫内より未成熟な肉芽腫のほうが本菌の陽性となる傾向が高く，同じ検体中でも，肉芽腫ごとに異なっていた．陽性率の差は検体の大きさに関係すると考えられ，VATS 検体（74%）と TBLB 検体（48%）での陽性率の差は検体中に含まれる肉芽腫数の差であると考えられる．

リンパ洞に認められる HW 小体はサ症に特異的ではないが，本研究ではサ症の 50% に，非サ症の 15% に HW 小体が見られ，PAB-mAb，TIG-mAb の両方が陽性となった．HW 小体は，電顕での観察から細胞壁を欠いた連続した構造体であり，細胞壁欠損型の細菌である可能性が示唆された．

P. acnes は非サ症の肺やリンパ節で高頻度に検出される常在菌であるが，本研究でも，非サ症の肺胞内マクロファージ（18%）やリンパ節の傍皮質領域のマクロファージ（22%）にもサ症より少数ながら一部で陽性となった．以上から，本菌の潜伏感染がリンパ節や肺のマクロファージに生じていることや，潜伏感染の内因性活性化がサ症の発症をトリガーしている可能性も示唆された．

サ症肉芽腫に高頻度かつ特異的に PAB-mAb が検出され，本菌とサ症発症に病因論的因果関係が存在する可能性を示唆する．PAB-mAb はサ症の診断に有意義であると考える．

岡本　師 博士（医学） Tsukasa Okamoto

学位記番号　／甲第1867号　　学位授与　／平成25年3月31日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）統合呼吸器病学専攻

学位論文　／Proteome analysis of bronchoalveolar lavage fluid in chronic hypersensitivity pneumonitis（慢性過敏性肺炎の気管支肺胞洗浄液におけるプロテオミクス解析）
Allergology International　第61巻第1号　83頁～92頁掲載　平成24年3月発行

論文審査委員／主査：教授　横関　博雄　　副査：教授　大久保　憲一　　副査：准教授　笠間　健嗣

〈論文要旨〉

過敏性肺炎は種々の吸入抗原により引き起こされるアレルギー性肺炎である．慢性過敏性肺炎の病理組織の多くはusual interstitial pneumonia（UIP）パターンとfibrotic nonspecific interstitial pneumonia（fNSIP）パターンである．UIPパターンはfNSIPパターンと比較し，予後が不良であり，また急性増悪のリスクとなることが知られている．そこでUIPパターン7例とfNSIPパターン4例の気管支肺胞洗浄液（BALF）中に発現している蛋白を，2次元電気泳動および質量分析を用いて解析した．UIPパターンにおいてsurfactant protein A（SP-A），immunoglobulin heavy chain α，α2 heat shock glycoprotein，haptoglobin β，immunoglobulin J chainが多く発現しており，一方fNSIPパターンにおいてvitamin D binding protein，glutathione S-transferase pi，β-actinが多く発現していた．BALF中のSP-Aについて対象症例を増やしELISAで解析したところ，UIPパターンのほうがfNSIPパターンよりも多く発現していた（2.331±1.656μg/ml vs. 1.319±1.916μg/ml，p＝0.034）．慢性過敏性肺炎のUIPパターンとfNSIPパターンにおいて発現量の異なる蛋白が明らかにされたが，これら蛋白は蜂巣肺を含む肺線維化に関わる可能性がある．

〈緒言〉

過敏性肺炎は種々の吸入抗原により引き起こされるアレルギー性肺炎である．過敏性肺炎は発症形式により急性と慢性に分けられる．さらに慢性は原因抗原の吸入によって急性症状を繰り返し，次第に症状が減弱し肺線維化をきたす再燃症状軽減型と，急性症状がなく労作時呼吸困難と咳嗽だけの症例や健診で発見される潜在性発症型に亜分類される．その病理組織像は特発性間質性肺炎と同様，usual interstitial pneumonia（UIP）パターン，fibrotic nonspecific interstitial peumonia（fNSIP）パターン，cellular nonspecific interstitial pneumonia（cNSIP）パターン，organizing pneumonia（OP）パターンに分類される．UIPパターンは潜在性発症型に多く，急性増悪のリスクとなることが報告されており，また，UIPパターンはfNSIPパターンよりも予後が悪い傾向にある．

体液のプロテオミクス解析はバイオマーカーの検索に有用な方法である．気管支肺胞洗浄液（bronchoalveolar lavage fluid：BALF）は肺胞被覆液を正確に反映する体液であり，気管支鏡検査の一つとして日常的に広く行われている．そのBALFを用いたプロテオミクス解析により発現している蛋白の変化や違いから病態に関わる重要な情報が得られる．過去にサルコイドーシス，特発性肺線維症（IPF），肺胞蛋白症，慢性閉塞性肺疾患などにおけるBALF中の蛋白を解析した報告があるが，組織型別に評価した報告はない．慢性過敏性肺炎のBALFを用いて，UIPパターンとfNSIPパターンについて組織型別に評価することで，病態に関わる蛋白を明らかにすることを目的とした．

〈方法〉

1998年から2008年の間に外科的肺生検を実施し診断された未治療の慢性過敏性肺炎11例（UIPパターン7例，fNSIPパターン4例）について検討した．BALF中の蛋白を2次元電気泳動に展開し，ゲルをSypro Rubyで蛍光染色した．FluoroPhoreStar 3000を用いてゲルを撮影し，その画像を解析ソフト（Progenesis PG220）で解析し，各spotを定量化した．UIPパターンとfNSIPパターンにおいて，発現量に差を認めたspotや興味深いspotについて蛋白の同定を行った．同定は質量分析（LC-nESI-MS/MS）およびSWISS-PROTなどのデータベース検索により行った．

さらにsurfactant protein A（SP-A）およびglutathione S-transferase pi（GST-pi）に注目し，対象症例を増やして血清（UIPパターン25例，fNSIPパターン17例）およびBALF（UIPパターン15例，fNSIPパターン9例）中のSP-AおよびGST-piをELISAで定量した．

〈結果〉

患者背景において年齢，喫煙歴，血液検査（KL-6およびSP-D），肺機能検査に差を認めなかった．2次元電気泳動では，分子量10kDa～200kDa，pI4～7の間に約500個のspotを認め，41種類の蛋白を同定した．UIPパターンにおいてSP-A，immunoglobulin heavy chain α，α2 heat shock glycoprotein，haptoglobin β，immunoglobulin J chainが多く発現しており，一方fNSIPパターンにおいてvitamin D binding protein，GST-pi，β-actinが多く発現していた．SP-Aについて注目すると，SP-A領域に9つのisoformを認めた．SP-Aの測定結果では，血清において2群に差を認めなかったが，BALFではUIPパターンにおいてfNSIPパターンよりも有意に高値を示した（UIP；2.331±1.656μg/ml，fNSIP；1.319±1.916μg/ml，p＝0.034）．GST-piについては血清，BALFで差を認めなかった．血清中のSP-A値とBALF中のSP-A値に相関関係を認めなかった（p＝0.583）．

〈考察〉

Proteomicsの手法を用いて，間質性肺炎の組織型別にBALFを評価した報告はこれまでにない．本報告では，UIPパターンとfNSIPパターンの比較において発現量が異なる8つの蛋白を明らかにした．これら蛋白発現の差がUIPパターンとfNSIPパターンの臨床経過や表現型の違いと関連している可能性が示唆された．

UIPパターンにおいてより多く発現していた蛋白を5つ認めた．α2 heat shock glycoproteinは，様々なストレスで傷害を受けて構造異常をおこした蛋白の修復や蛋白の合成，運搬，分解に関与する生体防御蛋白である．UIPパターンにおいてこの蛋白が上昇しているということは，より強い肺傷害が起きていることを反映している可能性がある．SP-AはII型肺胞上皮細胞で産生される肺サーファクタントの構成成分であり，肺胞腔内のリン脂質を一定に保ち，気道の感染に対する自然免疫作用がある．特発性肺線維症の検討では，増加あるいは低下の両方の報告があり一定の結論は出ていない．本研究においてはUIPパターンでSP-Aが上昇しており，II型肺胞上皮細胞によるSP-Aの合成・分泌の増加，および肺胞マクロファージによる回収や血流への吸収の障害がUIPパターンと関連

している可能性が示唆される．
一方，fNSIP パターンにおいてより多く発現した蛋白を 3 つ認めた．Vitamin D binding protein は肝臓で主に産生され，免疫，死細胞から誘導される細胞外 G–actin の除去，癌抑制などに関与する．特に細胞外 G–actin の除去能の低下は UIP パターンの病態と関連する可能性がある．GST–pi は脂質過酸化反応の際に発生し，細胞傷害を起こすヒドロキシアルケナールなどを無毒化する抗酸化作用がある．UIP パターンにおける GST–pi の低下は，酸化ストレスに対する防御反応の低下を反映している可能性がある．なお，これら本研究の結果は以前われわれが間質性肺炎を合併した強皮症と間質性肺炎の合併の明らかでない強皮症の BALF で比較したプロテオミクス解析と類似した結果であった．
SP–A について注目すると，SP–A 領域に 9 つの isoform を認めた．過去の報告では，これらは糖化，proline の水酸化，ジスルフィド結合，シアル酸付加などの様々な翻訳後修飾による変化であると考えられている．肺胞蛋白症や cystic fibrosis において SP–A の翻訳後修飾が関与しているという報告もあり，本疾患も翻訳後修飾が病態を反映している可能性がある．

〈結論〉
慢性過敏性肺炎の UIP パターンと fNSIP パターンにおいて発現量の異なる蛋白が明らかにされたが，これら蛋白は蜂巣肺を含む肺線維化に関わる可能性がある．

竹下　英毅 博士（医学）　Hideki Takeshita

学位記番号　／甲第 1868 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 31 日
研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）泌尿器科学専攻
学位論文　／Impact of renal function on cardiovascular events in patients undergoing radical nephrectomy for renal cancer（腎癌根治的腎摘除後の腎機能と心血管イベントに関する研究）
International Journal of Urology　第 19 巻第 8 号　722 頁～728 頁掲載　平成 24 年 8 月発行
論文審査委員／主査：教授　佐々木　成　　副査：教授　下門　顕太郎　　副査：講師　井上　芳徳

〈論文要旨〉
腎癌に対し根治的腎摘除（RN）を受けた日本人患者において，腎機能障害が心血管（CV）イベント発生や生存率へ与える影響を調べた．1980 年から 2010 年の間に RN を受けた 178 名の日本人患者を対象とした．Kaplan—Meier 曲線とログランク検定，および Cox の比例ハザードモデルを用いて，手術 1 ヶ月後の推定糸球体濾過量（estimated glomerular filtration rate：eGFR）が，CV イベント発生，全死亡および癌特異的死亡に及ぼす影響を解析した．中央値 68 ヶ月の観察期間のうち，23 名が CV イベントを発生し，32 名が死亡した．術後 CV イベントについては，年齢と心血管疾患の既往に加えて，術後腎機能障害（手術 1 ヶ月後の eGFR＜45mL/min/1.73m^2）が，独立したリスク因子であり，これは CV イベント発生のリスクを 3.48 倍増加させた．全生存率・癌特異生存率に対しては，術後腎機能障害は独立したリスク因子ではなかった．腎癌に対する RN 後の術後腎機能障害は CV イベント発生に有意な影響を与えることが示唆された．

〈緒言〉
慢性腎臓病（CKD）は心血管（CV）イベントや死亡のリスクを高めることがよく知られている．近年，小径腎癌（$\leq$4cm）の標準的治療は根治的腎摘除（RN）から腎部分切除（PN）へと変わりつつあるが，その理由の 1 つとして，RN が PN に比較して有意に eGFR＜60mL/min/1.73m^2 の CKD を増加させることが挙げられる．RN および PN 後の CV イベント発生率や死亡率についての研究はこれまでいくつも報告されてきている．これらの報告はいずれも，PN と比べて RN を受けた患者の方が CV イベント発生率および全死亡率が高まるというもので，その原因が RN によるより大きな腎機能障害にあると推察している．しかしながら，RN 後の腎機能障害が CV イベントや死亡へ実際に与える影響については，あまりよく知られていない．そこで今回我々は，RN を受けた日本人の腎癌患者において，腎機能障害が CV イベントや生存率へ与える影響を後ろ向きに解析した．

〈方法〉
1980 年から 2010 年までの間に，さいたま赤十字病院において 270 名の日本人の腎癌患者に対し，RN が施行された．末期腎不全患者（19 名），術前転移のある患者（52 名），フォローアップが 3 カ月未満の患者（9 名），周術期のデータが欠損している患者（12 名）は検討から除き，178 名の患者で解析を行った．
さいたま赤十字病院倫理委員会の承認のもと，我々は後ろ向きに，年齢・性別・BMI・術前からの高血圧症および糖尿病の有無，その他の合併症，術前後の血清クレアチニン値，術前 CRP 値，組織型，腫瘍径，病理学的 T ステージ，といった臨床・病理パラメータの収集を行った．術前・術後の eGFR は MDRD（the Modification of Diet in Renal Disease Study）式：eGFR（mL/min/1.73m^2）186 ×sCr（mg/dL）$^{-1.154}$×age（years）$^{-0.203}$（×0.742，女性の場合）を用いて計算した．Matsuo らは日本人の eGFR の算定には，日本人用に改訂した式の使用を薦めているが，本研究では 2006 年の Nakamura らの人口集団ベースの研究を参考にこの数式を用いて計算した．術後 eGFR は 1 ヶ月における血清クレアチニン値から求めた．
主要エンドポイントは術後 CV イベントの発生とした．2 次エンドポイントは，全死亡および癌特異死亡とした．CV イベントは，入院加療が必要であった心血管（例：心筋梗塞や慢性心不全），脳血管（動脈瘤や閉塞性動脈硬化症），末梢血管障害（脳卒中や脳梗塞）と定義した．術前に治療されていた心血管疾患が術後に再発した場合は，CV イベント発生にカウントした．

〈結果〉
手術 1 ヶ月後の eGFR を$\geq$60，45－59.9，＜45mL/min/1.73m^2 の 3 群で分けると，それぞれ 96 名（54%），59 名（33%），23 名（13%）であった．観察期間中央値 68 ヶ月のうち，23 名が CV イベントを発症し，32 名が死亡した．全死亡 32 名のうち，4 名が CV イベントによる死亡であった．
CV イベントを発症した 23 名は，すべて何らかの術前合併症を有していた．術後 eGFR＜45mL/min/1.73m^2 となった 23 名中 7 名（30%）が CV イベントを発症した．一方で，術後 eGFR$\geq$45mL/min/1.73m^2 であった 155 名では 16 名（10%）のみに術後 CV イベントが認められた．CV イベント非発生率は術後 eGFR＜45mL/min/1.73m^2 の群で有意に低かった（p＜0.001）．eGFR$\geq$60，45－59.9，＜45mL/min/1.73m^2 の 3 群における 5 年 CV イベント非発生率はそれぞれ，96.1，98.2，81.5% であった．多変量解析の結果，CV イベント発生の有意なリスク因子は，年齢（危険率 1.09，95% 信頼区間 1.03－1.15，p＜0.001）と，術後 eGFR＜45mL/min/1.73m^2（危険率 3.48，信頼区間 1.28－8.66，p＝0.016）であった．心血管疾患の既往は，full model の多変量解析では有意なリスク因子であったが（p＝0.045），reduced model では有意ではなかった．
32 名の死亡のうち，18 名（56%）が癌死であり，全死亡および癌特異死亡については，術後腎機能との関連を認めなかった．

〈考察〉
本研究により，RN 後の 1 カ月における腎機能障害が，術後の CV イベント発生のリスク因子であることが示された．我々の調べ得た限り，この報告は RN 後の腎機能障害の CV イベントへの影響を調べた初めてのものである．
最近，PN と比較して RN が，CV イベントのリスクを高めるといういくつかの報告があるが，その理由は十分に説明されていない．今回の我々の研究結果を考慮すると，術後腎機能 eGFR＜45mL/min/1.73m^2 の患者が増加するということが，これらの研究結果に影響していることが十分に考えられる．
本研究では，術後 eGFR＜45mL/min/1.73m^2 が CV イベントのリスク因子であった．この結果は，eGFR 60 よりも 45mL/min/1.73m^2 が日本人においてより重要なカットオフ値であるとする，Nakamura らや Nakagawa らの研究結果を支持するものであった．

術後腎機能障害がCVイベント発生を促進するメカニズムについて，現在のところ種々の研究がなされている．有力な説としては，レニン－アンギオテンシン系の活性化，酸化ストレスあるいは非対称性ジメチルアルギニンの発生，炎症性サイトカインの増加，脂質異常症の発症，等が腎機能障害によって引き起こされるというものである．これらの要素が血管内皮機能不全や動脈硬化症につながり，結果として，冠血管障害や心不全，脳卒中や末梢血管疾患を増加させると考えられている．

術後腎機能障害が全生存に与える影響については，議論の余地がある．The European Organization for Research and Treatment of Cancer（EORTC）によって行われた唯一のランダム化比較試験において，RN群はPN群と比較して，少なくとも同等の全生存率を示した．しかし，The Surveillance，Epidemiology and End Results registry（SEER）データベースを用いた米国の全国規模の研究結果では，RN群はPN群よりも明らかに悪い全生存率を示した．本研究では，RN後の腎機能障害は，全生存に有意な影響を認めなかった．しかしながら，CVイベント死亡が4例しかなく，術後腎機能の影響を受けないと考えられる腎癌死が比較的多く存在するため，現在のところ我々は，この問題について結論を出すことができない．この問題を解決するためには，より大きな集団を用いた研究が必要である．

本研究はいくつかの限界を有している．まず第一に，後ろ向き研究であり，少ない症例数と比較的少ないイベント数を扱っているということである．第二に，喫煙歴や脂質異常症といった確立されたいくつかのリスク因子を考慮しなかったことである．本研究は後ろ向き研究であるがゆえ，これらのデータを集められなかった．第三に，腎機能障害の指標として，術後1カ月目の腎機能を用いたことである．Yokoyamaらが過去に報告したように，術後経過とともに腎機能が回復する患者がいるため，術後の腎機能は不安定と考えられる．しかし，術後の心血管イベントの発生を予測するためには，術前または術後早期のパラメータを用いたほうが望ましい．このため術後1カ月での腎機能を用いることは，実際的と考えられる．もし，術前パラメータからRN後の腎機能障害や術後CVイベント発生が予測できるとしたら，より有用であろう．

〈結論〉

根治的腎摘除1ヶ月後のeGFR＜45mL/min/1.73m^{2}は術後心血管イベントの発生に有意な影響がある．腎癌に対しては，技術的に可能である場合には常に，術後腎機能を温存するため腎部分切除を考慮するのがよいと思われる．

Abudureheman Mayinuer 博士（医学）

学位記番号　／甲第 1869 号　　学位授与　／平成 24 年 3 月 31 日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）先端医療開発学系専攻

学位論文　　／ Upregulation of protein tyrosine phosphatase type IVA member 3（PTP4A3/PRL-3）is associated with tumor differentiation and a poor prognosis in human hepatocellular carcinoma（肝細胞癌における PTP4A3/PRL-3 の過剰発現が腫瘍の分化と予後不良に関連する）
Annals of Surgical Oncology　平成 24 年 10 月　online 発表

論文審査委員／主査：三木　義男　　副査：江石　義信　　副査：中村　正孝

〈論文要旨〉

PTP4A3/PRL-3 は転移関連フォスファターゼとして知られており，癌転移に複数の役割を果たしている．PRL-3 は，腫瘍の増殖，分化，成長を促進し，癌の様々な種類で細胞の運動性，転移や浸潤の増加に関与している事を示唆している．本研究では，我々は肝細胞癌（HCC）における PTP4A3/PRL-3 の発現および臨床病理学的特徴と予後との相関を調べた．42 例トレーニング HCC 症例のゲノムワイドな遺伝子発現解析に基づいて行った遺伝子発現プロファイリングにより，低分化型肝癌では PTP4A3/PRL-3 の過剰発現が検出された．単変量解析では，PRL-3 が過剰発現した患者の生存率が低く，再発率は高かった．この結果は，タックマン遺伝子発現アッセイおよび免疫染色によって独立して検証された．検証解析の結果，PTP4A3/PRL-3 転写およびタンパク質レベルでの発現が低分化型肝癌において有意差をもって高い事が示唆された．更に，患者の全生存率と無再発生存率の両方で有意に予後不良となった．多変量解析では，PTP4A3/PRL-3 過剰発現と脈管浸潤が全生存率の独立した予後不良因子であることが示された．PTP4A3/PRL-3 の発現は肝細胞癌の進行，浸潤，転移と深く関わっている可能性が考えられた．PTP4A3/PRL-3 が肝癌の予後因子であることが示唆された．

〈緒言〉

外科的切除は肝細胞癌に対する根治的治療であるが，肝細胞癌の臨床転帰は不良のままである．したがって，肝細胞癌の分子メカニズムを理解すること，そして腫瘍予後を予測できる分子マーカーを見つけることが新たな治療法を開発するために重要である．プロテインチロシンホスファターゼタイプ IVA，メンバー 3（PTP4A3）は，PRL-3 とも呼ばれ，プロテインチロシンホスファターゼ（PTP）のメンバーである．PTP はシグナル伝達経路におけるタンパクチロシンキナーゼと積極的に機能し，多くの基本的な生理学的プロセスに参加する調節酵素の大きなファミリーである．最近の研究では，PRL ホスファターゼ，特に PRL-3 は，増殖，成長の調節，様々な癌で細胞の運動性，転移や浸潤の増加に関与していることを示唆している．PRL-3 は特に，大腸癌由来の肝転移および浸潤性乳癌，卵巣癌，胃癌，食道扁平上皮癌，子宮頸部扁平上皮癌で過剰発現することが報告されている．また，PRL-3 は，いくつかのヒト癌で腫瘍の再発および患者の転帰の有用な指標であることが実証された．HCC では，PRL-3 が過剰発現することが腫瘍浸潤と血管新生に密接に関連するという報告があるが，HCC における PTP4A3/PRL-3 の発現と臨床病理学的諸因子との関連及び予後に関する報告はなされていない．DNA マイクロアレイ技術によって，悪性腫瘍の特異的な遺伝子発現ゲノムワイドプロファイルを分析することができるようになった．今日においては，このような研究は，HCC に対する新規分子標的治療の開発につながる可能性がある．本研究では，cDNA マイクロアレイ発現解析により PTP4A3/PRL-3 の発現が低分化型肝細胞癌と相関することがわかった．トレーニング解析の結果は，RT-PCR および免疫染色によって独立的に検証され，HCC の予後と再発を含め，臨床病理学的意義も検証された．

〈方法〉

肝細胞癌と転移性肝癌と診断され，外科的切除術を実施された 142 例の肝癌と 10 例の正常肝臓標本を対象とした遺伝子発現解析を行った．そのうち，42 症例をトレーニングセットとして用いた．マイクロアレイによる候補遺伝子の発現を検証するために，独立した症例を用いて qRT-PCR および免疫組織学的研究にて評価した．免疫組織学的染色は，二人の独立した研究者によって評価された．臨床病理学的特性の統計的比較は $\chi 2$ 検定またはフィッシャー検定により行った．全生存（OS）および無再発生存期間（RFS）の曲線は Kaplan-Meier 法を用いて得られ，ログランク検定で比較した．単変量および多変量解析は Cox 比例ハザードモデルで行った．

〈結果〉

トレーニング cDNA マイクロアレイの統合的解析の結果，低分化型肝癌組織では高分化型肝癌組織に比べて PTP4A3/PRL-3 遺伝子の発現は B 型或いは C 型肝炎ウイルス感染背景を持った患者において有意に上昇し，PTP4A3/PRL-3 が低分化肝癌では優位な分子であることが示された．更に，PTP4A3/PRL-3 過剰発現症例では患者の全生存期間が短く（$P=0.0106$），また無再発生存（$P=0.0021$）との間にも有意差を認めた．この結果は TaqMan 遺伝子発現アッセイによっても検証を行なった．PTP4A3/PRL-3 の発現については，cDNA マイクロアレイの結果と TaqMan 遺伝子発現アッセイの結果が有意な相関を示した．更に，PTP4A3/PRL-3 の発現は HBV（$P<0.01$）或いは HCV（$P<0.001$）の背景のある低分化型肝癌組織では高分化型肝癌組織よりも有意に高かった．トレーニング研究から得られた結果は，独立した 83 症例を用いて独立して検証を行なった．PTP4A3/PRL-3 の転写は肝細胞癌では正常肝臓組織に比べて有意に高かった（$P<0.01$）．低分化型肝癌では有意な過剰発現を認めた（$P<0.0001$）．免疫組織学的解析では，PTP4A3/PRL-3 タンパクは主に癌細胞の細胞質と核膜に局在し，まれに核での局在を認めた．PTP4A3/PRL-3 の蛋白発現は，腫瘍分化（$P<0.0001$），血清 AFP（$P=0.0118$），血清 PIVKAII 高値（$P=0.0214$），肝静脈への浸潤（$P=0.0374$），腫瘍血管浸潤（$P=0.0198$）および進行癌（$P=0.0047$）などと有意に相関した．全生存期間（$P=0.0024$）および無再発生存率（$P=0.0227$）の両方において，PTP4A3/PRL-3（＋）群が PTP4A3/PRL-3（－）群よりもはるかに低い生存率を示した．多変量解析では，PTP4A3/PRL-3 発現が全生存率の独立した，予後不良因子であることが示された．

〈考察〉

本研究では，マイクロアレイ解析によって，PTP4A3/PRL-3 の遺伝子発現プロファイルが低分化型肝細胞癌で有意に高く発現する事が判明した．この結果は，タックマン遺伝子発現アッセイおよび免疫染色によって独立して検証された．PTP4A3/PRL-3 の過剰発現は低分化型肝癌で有意に高く，更に患者の血清 AFP，PIVKAII，脈管浸潤，進行度と相関した．PTP4A3/PRL-3 の発現は，患者の全生存期間および術後再発と有意に相関する事が示唆された．PTP4A3/PRL-3 は，癌転移に複数の役割を果たしていることが報告され

ている．Zhaoらは，PRL-3の発現が，MMPの発現上昇とE-カドヘリンの発現減少を介して，血管新生，浸潤と相関したことを報告した．MMPファミリーは転移能と密接に関連し，変性コラーゲンや基底膜におけるIV型コラーゲンの存在を減少させることができる．我々のトレーニングマイクロアレイ解析では，MMP12が低分化型肝細胞癌で高く発現し，PTP4A3/PRL-3との有意な正の相関が示唆された（$r=0.721$，$P<0.0001$）．さらに，MMP1，MMP9およびMMP10（Wilcoxon $P<0.05$；FC>1.5）などメタロプロテアーゼファミリーの他のメンバーも，低分化症例において発現が上昇した（データはTableS2に示されていない）．MMP-1（$r=0.514$，$P=0.0004$），MMP-9（$r=0.501$，$P=0.0006$），MMP-10（$r=0.347$，$P=0.0236$）．いくつかの研究では，細胞接着に関連するE-カドヘリンの発現減少は，腫瘍の分化，浸潤，転移を増加し，肝細胞癌を含むヒト癌における予後不良につながる事が発表されている．我々のマイクロアレイ研究はまた，腫瘍組織におけるE-カドヘリンの発現減少が肝血管浸潤，低分化癌および肝細胞癌患者の再発と関連したことを示した（データは示さず）．しかし，トレーニング解析では，PTP4A3/PRL-3発現とE-カドヘリン発現の間に統計的相関関係は認めなかった．これらの結果より，肝細胞癌におけるPTP4A3/PRL-3の過剰発現は主に低分化肝癌と相関し，MMPsの発現上昇を介して，浸潤を促進させている可能性が考えられた．免疫染色では，PTP4A3/PRL-3は主に細胞質と核膜に局在していることが確認された．膜関連PRL-3の発現は，細胞膜におけるターゲット基板を脱リン酸化することにより，細胞の運動性と浸潤を促進するような形で細胞形質膜を調節する可能性がある．ヒダ，突起，いくつかの液胞のような膜の進展部を含むPRL-3関連膜構造は細胞の運動と浸潤に重要な役割を果たすことが実証されている．いくつかの最近の研究は，細胞周期および細胞遊走に重要な役割を果たすPI3K-Akt，Rho，およびCSK/Src経路などを含む複数のシグナル伝達カスケードをPRL-3が調節する事が実証されている．本研究では，肝細胞癌におけるPTP4A3/PRL-3の異常発現は腫瘍の分化度の低さ，浸潤能および患者の生存率の低下と関連している可能性を示した，その要因として肝上皮細胞の遊走，癌細胞の成長や，浸潤に欠かせない血管新生，再構築などによって癌を促進していると考えられる．現時点では，この仮説をサポートする十分なデータは得られておらず，更なる研究でこれらの可能性を検証する必要がある．

〈結論〉

PTP4A3/PRL-3の発現は肝細胞癌の進行，浸潤，転移と深く関わっている可能性を考えられた．PTP4A3/PRL-3が肝癌の予後因子であることが示唆された．分子標的治療のターゲット遺伝子として認識し，さらなる研究が必要と考えられた．

髙橋　千尋 博士（医学）　Chihiro Takahashi

学位記番号　／甲第 1870 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 31 日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）環境社会医歯学系専攻

学位論文　／ Factors associated with a protracted hospital stay after hip fracture surgery in Japan（日本における股関節骨折手術後の在院日数延長に関する要因）
Geriatrics & Gerontology International　第 11 巻第 4 号　474-481 頁　平成 23 年 10 月発表

論文審査委員／主査：河原　和夫　　副査／森田　定雄　　副査：高瀬　浩造

〈論文要旨〉

股関節骨折は高齢者において主要な怪我であり，QOL とヘルスケア資源に大きな影響を与える．本研究は，股関節骨折手術後の悪いアウトカムと在院日数長期化に関連する要因を同定することを目的とした．

本研究では，日本の 398 の急性期病院の 8920 件のデータを分析した．術後在院日数と関連する要因を決定するのに多重ロジスティック回帰分析を使用した．

分析の結果，より短い術後在院日数は高い手術ボリュームの病院への入院と関連していた（P＜0.001）．一方，より長い術後在院日数は，感染症合併症，民間病院への入院，入院から手術までの日数が 3 日以上（すべて P＜0.001），手術からリハビリテーション開始までが 1 日以上（P＜0.01）と関連していた．また，感染合併症はより高齢の患者（P＝0.003）と併存症を持つ患者（P＝0.03）で起こることを示した．

本研究の結果は，在院日数は入院後のより早い手術と，術後の感染の予防，手術の次の日からのリハビリテーションの開始により減らすことができることを示した．

〈緒言〉

股関節骨折は，高齢者に多い怪我で，身体機能の悪化や QOL の低下を招く．股関節骨折の治療は，手術やリハビリテーション，長期入院に関連する多くの医療資源を必要とする．そのため，この怪我は，高齢者のヘルスケアシステムにおいて主要な問題のひとつである．海外の先行研究において，股関節骨折手術のアウトカムに影響する多くの要因が確認されている．例えば，早期にリハビリテーションを開始したり，早期に歩行を開始した患者はより短い在院日数である．股関節骨折手術後の歩行の遅延は，精神錯乱や術後肺炎，悪い身体機能と死亡率の発生に関連している．長い在院日数は持続痛と関連している．しかしながら，硬膜外麻酔によるペインコントロールは身体的自立の回復を有意に促進することを示さなかった．さらに，低い手術ボリュームの病院への入院は，長い在院日数に関連し，肺炎のような術後感染と輸血の必要性の増加に関連する．死亡は，併存症，心肺合併症，感染，手術の遅延と関連していた．

日本の高齢者数は急増しているので，高齢患者のヘルスケアの効率を良くすることへの関心は高く，また平均在院日数も OECD の他の国の 2 倍以上である．先行研究から，日本の股関節骨折の患者は，欧米より，入院から手術までの期間が長く，術後の歩行開始までが長く，膀胱留置カテーテルと創部ドレーンをより頻回に使用し，少ないペインコントロールの治療を受けている．

本研究は，日本の高齢患者における，股関節骨折手術後の悪いアウトカムと在院日数長期化に関連する要因を明らかにすることを目的とした．

〈方法〉

DPC 適応病院である 449 病院の 2006 年 7 月から 12 月の DPC データを使用した．このうち，65 歳以上で，第一診断名が大腿骨頸部骨折または，転子骨折，転子下骨折で，観血的整復法か固定法または人工骨頭置換術を受けた患者からのデータを調査した．他の手術を受けている，以前に股関節骨折手術を受けている，両側の股関節骨折手術，関節全置換術を受けた，死亡，手術からリハビリテーション開始までが 8 日以上の例は除いた．また，血栓塞栓症の合併症の割合が異常に高かった 1 病院も除いた．その結果，本研究には 398 病院から 8920 例が含まれた．

一般病床での手術から退院までの日数と定義した術後在院日数（LPOS）を従属変数とした．分析のために，LPOS は中央値の 26 日で 2 値化した．年齢（65-84 歳，85 歳以上），性別，併存症の存在，合併症，転院，創部ドレーン，肺塞栓予防の使用，術後のオピオイドの使用，術後の抗凝固剤の使用，開設者，術式，病院手術ボリューム，入院から手術までの日数（1 日以下，2-3 日，4 日以上），手術からリハビリテーションまでの日数（1 日以下，2 日以上）を独立変数として分析に入れた．

先行研究から，合併症は次のカテゴリーにグループ分けした：心肺と脳血管疾患，感染，出血，血栓塞栓症，その他．病院手術ボリュームは，中央値（28 人/病院）で『低手術ボリューム』(1-27 人/病院）と『高手術ボリューム』(28 人以上/病院）に分けた．

カイ 2 乗検定は，LPOS とそれぞれの間の調整されていない関連を評価するのに使用した．多変量ロジスティック回帰分析は，LPOS とすべての他の変数との間の関連を割り出すのに使用した．

〈結果〉

対象は 82.7 歳（範囲：65-104 歳）．43.1%（n＝3843）は 85 歳以上であった．患者の多くは女性であった（82.5%，n＝7360）．患者の 24.4%（n＝2180）は併存症を持ち，10.7%（n＝952）は合併症があった．最も多い術式は，関節包外骨折の観血的整復法であった（63.6%，n＝5677）．多くの患者は，民間病院で治療を受けていた（75.2%，n＝6708）．また，多くの患者は高手術ボリューム病院で治療を受けていた（78.2%，n＝6978）．平均 LPOS は 32.2 日（範囲：0-204 日）．入院から手術までの平均日数は 4.7 日（範囲：0-87 日）．手術からリハビリテーションまでの平均日数は 2.2 日（範囲：0-7 日）であった．

短い LPOS は，高齢，転院，高ボリューム病院と関連していた（すべて p＜0.001）．長い LPOS は，創部ドレーン（p＝0.02）と，術後の感染合併症（p＜0.001），民間病院への入院（p＜0.001），入院から手術までの日数の増加（p＜0.001）と関連していた．多変量ロジスティック回帰では，高手術ボリューム病院に患者が入院した時か，転院したときに LPOS が減少したことを示した（p＜0.001）．一方，感染合併症（p＜0.001），民間病院への入院（p＜0.001），入院から手術までが 4 日以上（p＜0.001），手術からリハビリテーション開始までが 2 日以上（p＝0.01）で LPOS は増加した．また，連続変数を使用した多変量回帰分析の結果は，長い LPOS が心肺／脳血管合併症と術式と関連していることを除いて，多変量ロジスティック回帰分析の結果と同じであった．

2.8%（n＝249）の患者は，尿路感染（n＝158）や肺炎（n＝87）のような術後感染を経験し，術後感染は有意に LPOS の増加と関連し

ていた．感染合併症に関連する要因を特定するために追加して行った多変量ロジスティック回帰分析の結果，感染は高齢（$p=0.003$）と併存症（$p=0.03$）と関連していた．また，多くの患者は，入院中，膀胱留置カテーテルを必要とし（81.2%，$n=7247$），患者の約半数（55.2%，$n=4922$）は術後だけ膀胱留置カテーテルを必要とした．年齢と性別，併存症で調整後，尿路感染は術後の膀胱留置カテーテルの使用と有意に関連していることを発見した（$p=0.045$）．

〈考察〉

本研究において，日本の病院から蓄積された大きな行政データセットの使用と，患者特性と臨床プロセスの調整によって，股関節骨折手術後の退院の遅延が，術後の感染合併症と，民間病院への入院，手術からリハビリテーションの期間，入院から手術までの期間に関連していることを示した．特に入院の日やその翌日に手術を受けたり，手術日やその翌日にリハビリテーションが始まった患者は短い術後在院日数であったことは，入院から48時間以内に手術が行われなかった場合，術後合併症のリスクが増加することを示した研究や，移動の遅延が長い在院日数と関連することを示した海外の先行研究と合致する．

また，海外の先行研究で術後感染の発生と死亡率の関連が示されているおり，本研究において感染が退院の遅延と関連することを確認した．さらに，感染は，高齢患者と併存症を持つ患者により起きやすい傾向にあった．特に，尿路感染は術後に膀胱留置カテーテルを使用している患者に起きやすい，それは股関節骨折患者に頻繁に使われていることが示されている．私たちは，はじめにオピオイドの使用は早期のリハビリテーションを促進し在院日数を短縮するという仮説を立てた，しかし，私たちはこれらの2つの変数間に有意な関連を発見しなかった．痛みとLPOSの間の関連が示されなかったことは，私たちのデータセットが実際の痛みよりむしろペインコントロール薬の使用に焦点を当てていたことに起因すると考えられる．また，病院手術ボリュームがLPOSと関連するという結果は，低手術ボリューム病院は，適正な術後ケアと適切な提供時期においての経験が欠けているのかもしれないことを示唆する．

残念ながら，このデータセットは，患者の経歴や検査データ，痛みレベルのような，詳細な臨床情報に欠けている．加えて，この研究において調査された病院のLPOSに関連するかもしれない転院病院での在院日数のデータが利用できない．そのため，さらなる前向き研究を行う必要がある．

〈結論〉

医療資源の消費と関連する術後在院日数は，術後感染を防ぐこと，早期手術の提供，早期リハビリテーションの提供によって削減できることを発見した．患者の早期退院のため，ケア提供者は特に尿路感染と肺炎の予防に注意し，安定した患者には入院1日以内に手術を行い，手術1日以内にリハビリテーション開始をすすめるべきである．

木島　俊樹 博士（医学）　Kijima Toshiki

学位記番号　／甲第1871号　学位授与　／平成24年3月31日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）器官システム制御学系専攻

学位論文　／Prostate-specific antigen response to deferred combined androgen blockade therapy using bicalutamide predicts survival after subsequent oestrogen and docetaxel therapies in patients with castration-resistant prostate cancer
（遅延CAB療法に対するPSA responseは，ホルモン抵抗性前立腺癌患者のエストロゲン療法，ドセタキセル療法後の生存期間を予測する）
British Journal of Urology International誌　第110巻第8号　1149–1155頁　平成24年10月発表

論文審査委員／主査：久保田　俊郎　副査／江石　義信　副査：安原　眞人

〈論文要旨〉
去勢抵抗性前立腺癌に対する二次治療には，二次内分泌療法や化学療法があるが，その有効性には個人差が大きい．患者に合せた適切な治療方針を検討するために，これら二次治療の効果予測が重要である．過去の検討において，去勢単独治療再燃時に抗アンドロゲン剤を追加する遅延CAB療法に対する反応性が，治療開始からの全生存期間と関連することが示唆された．そこで遅延CAB療法に対する反応性から，二次治療の効果を予測しうるか検討した．遅延CAB療法によりPSAが50%以上低下した（PSA responseあり）症例では，エストロゲン療法およびドセタキセル療法後のPSA非増悪生存期間，癌特異生存期間がいずれも有意に長く，遅延CAB療法に対するPSA responseは，エストロゲン療法開始後の癌特異生存期間の予測因子であった．去勢単独治療と遅延CAB療法による順次的初期治療は，二次内分泌療法や化学療法による二次治療方針を立てるために有用な情報をもたらすことが示唆された．

〈緒言〉
前立腺癌細胞はアンドロゲン受容体（Androgen Receptor：AR）を有しており，ARを介したシグナル伝達により増殖が促進される．進行前立腺癌の治療として，70年以上前に米国のHugginsらが，アンドロゲン除去治療（Androgen deprivation therapy：ADT）の高い有効性を報告し，その画期的な業績に対してノーベル賞が授与された．進行前立腺癌の標準治療は現在においてもADTであり，その方法として従来の両側精巣摘除術（外科的去勢）の他に，最近ではLHRH製剤により精巣からのアンドロゲン分泌を低下させる内科的去勢がある．また，アンドロゲンは副腎からも分泌されているため，副腎性アンドロゲン阻害を目的として，ARアンタゴニストである抗アンドロゲン剤も使用される．これら両者の併用療法は，複合アンドロゲン阻害（Combined Androgen Blockade：CAB）療法と呼ばれ，進行前立腺癌の初期治療として本邦でも広く施行されている．しかしながら，去勢単独治療と比較して，CAB療法による生存期間の延長はわずかであり，一方で治療費用および有害事象の増加，QOLの低下を伴うため，現在では初期治療として必ずしも推奨されていない．
ADTは当初非常に有効であるものの，平均18–24ヶ月の奏効期間の後，ほぼ全例が去勢抵抗性前立腺癌となることが問題で，従来は去勢抵抗性になった後の生存期間は1年半程度であった．そのため適切な二次治療の開発が急務であったが，最近は二次治療の進歩により去勢抵抗性前立腺癌の生存期間は延長しつつある．去勢単独治療に抵抗性となった時点での抗アンドロゲン剤の追加投与は遅延CAB療法と呼ばれ，一般的に去勢抵抗性獲得後，最初に行われる治療である．その有効性は報告により差があるものの，東京医科歯科大学泌尿器科における過去の検討では，有効率66%，非増悪生存期間は中央値9.2ヶ月であった．この成績から，去勢単独治療と遅延CAB療法による順次的治療は，CAB療法と比較して，治療費用を抑制し良好なQOLを維持しつつ少なくとも同等かそれ以上の奏効期間が得られる治療であることが示唆されている．さらに同検討において，遅延CAB療法有効群は去勢単独治療開始からの全生存期間が無効群と比較して長いことが指摘された．この全生存期間の差は遅延CAB療法自体の非増悪期間（9.2ヶ月）よりも明らかに長かったことから，遅延CAB療法奏効例は，その後に施行された二次内分泌療法・化学療法へも反応性が良好であった可能性が示唆された．
去勢抵抗性前立腺癌に対する二次治療としては，遅延CAB療法に加え，エストロゲンなどの二次内分泌療法，ドセタキセルによる化学療法などがある．しかし，これらの二次治療の有効性には個人差が大きく，症例毎に適した治療方針を検討するために治療効果の予測が重要である．本研究では，遅延CAB療法に対する反応性から，その後のエストロゲン療法，ドセタキセル療法の治療効果を予測しうるか検討した．

〈対象と方法〉
2000年以降，初期治療として去勢単独治療および遅延CAB療法を受け，再燃後にエストロゲン療法を受けた進行前立腺癌患者56例を対象とした．集計時点において，56例中7例はエストロゲン療法を継続，16例はドセタキセル療法を施行せずに癌死，33例はエストロゲン療法再燃後にドセタキセル療法を施行されていた．全56例を用いエストロゲン療法後生存期間，ドセタキセル施行33例を用いドセタキセル療法後生存期間の解析を行った．
遅延CAB療法により，前立腺特異抗原（Prostate Specific Antigen：PSA）の50%以上低下（PSA response）を認めた群を有効群，それ以外を無効群とし，エストロゲン療法・ドセタキセル療法後のPSA非増悪生存期間（PFS），疾患特異生存期間（CSS）との関連を検討した．PFSおよびCSSはKaplan–Meier法により算出し，2群間の生存期間の差はlog–rank法により検討した．また遅延CAB療法に対するPSA responseの有無がエストロゲン療法開始後CSSの予測因子となりうるかを，Cox比例ハザード法で検討した．

〈結果〉
遅延CAB療法のPSA responseは27例（48%）に認められた．有効27例における奏効期間は平均8.9ヶ月であった．去勢単独治療中PSA再燃からの観察期間は中央値（範囲）3.3（0.9－9.8）年であり，33例（59%）が前立腺癌死した．PSA再燃からのCSSは，全56例で中央値3.8年であり，遅延CAB有効群（中央値5.8年）では無効群（中央値2.8年）よりも有意に長かった．遅延CAB療法に対するPSA response有りは，ADT中のPSA最低値4ng/ml未満，Gleason score 7以下，ADT開始時転移無し，と共にエストロゲン療法開始時からのCSSの予測因子であった．エストロゲン療法後のPFS（有効群3.2ヶ月，無効群2.1ヶ月，$p<0.01$），CSS（有効群3.0年，無効群1.5年，$p=0.04$），ドセタキセル療法後のPFS（有効群8.2ヶ月，無効群2.2ヶ月，$p<0.01$），CSS（有効群中央値未到達，無効群1.4年，$p<0.01$）のいずれにおいても，遅延CAB有効群が有意に長かった．

〈考察〉

本研究は，遅延 CAB 療法に対する反応性が，エストロゲン療法後 CSS の予測因子となるのみならず，その後のエスロトゲン療法・ドセタキセル療法後の PFS および CSS も予測することを示した．エストロゲン療法の去勢抵抗性前立腺癌に対する治療効果は広く認められているが，心血管系有害事象の頻度が高いため，その適応については議論がある．本研究の結果は，遅延 CAB 療法有効群がエストロゲン療法のよい適応であることを示唆する．一方，遅延 CAB 療法無効群は，エストロゲン療法・ドセタキセル療法ともに奏効期間が短いことが予測される．より強い抗腫瘍効果を持つ新規薬剤の早期に導入により，これらの患者の治療成績の改善が得られるかが，今後の検討課題である．

前立腺癌の去勢抵抗性癌化のメカニズムは多くの機序が関わっており，未だ十分に解明されていないが，近年，去勢抵抗性前立腺癌において，ADT により血清テストステロン値が十分に抑制されているにも関わらず，AR が持続的に活性化していることが注目されている．持続的 AR 活性化の機序としては，(i) AR 遺伝子の増幅や変異，過剰発現，(ii) 副腎性アンドロゲンからの変換，(iii) 腫瘍細胞自身によるアンドロゲン産生，などの機序が報告されている．抗アンドロゲン剤の作用機序は AR への拮抗阻害であるため，遅延 CAB 療法有効群では，これらの機序による AR 経路の活性化が増殖に強く関わっていることが想定される．

遅延 CAB 療法有効群ではエストロゲン療法・ドセタキセル療法の反応性も良好であったことより，これらの治療が抗アンドロゲン剤と共通の作用機序を有している可能性が示唆される．エストロゲンの去勢抵抗性前立腺癌に対する作用機序は十分に知られていないが，血清中アンドロゲンを去勢状態からさらに低下させる作用や，腫瘍内でのアンドロゲン合成抑制作用を持つことが知られている．またドセタキセルも AR 阻害を有することが報告されている．二次治療の効果と腫瘍の AR 経路への依存性の関連についてもさらなる検討が必要である．

〈結語〉

遅延 CAB 療法に対する PSA response は，その後のエストロゲン療法およびドセタキセル療法後の生存期間を予測した．ADT と遅延 CAB 療法による順次的初期治療は，奏効期間を損なうことなく治療費用を抑制し良好な QOL を維持しうるのみならず，その後の二次内分泌療法や化学療法による治療方針を立てるために有用な情報をもたらす．

岡澤　かおり 博士（医学）　Okazawa Kaori

学位記番号 ／甲第 1872 号　学位授与 ／平成 24 年 3 月 31 日

研究科専攻 ／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）顎顔面頸部機能再建学系専攻

学位論文 ／Permanent interstitial re-irradiation with Au-198 seeds in patients with post-radiation locally recurrent uterine carcinoma（子宮癌放射線治療後局所再発に対する放射性金粒子を用いた小線源治療成績に関する研究）
Journal of Radiation Research　平成 24 年 10 月　online 発表

論文審査委員／主査：久保田　俊郎　　副査：北川　昌伸　　副査：大橋　勇

〈論文要旨〉

1991 年から 2009 年に，放射線治療歴のある子宮癌患者 15 例の局所再発に対して放射性金粒子を用いた小線源治療を施行した．その治療効果，局所再発率，全生存率，副作用を retrospective に評価した．すべての患者は初回治療として根治的放射線治療あるいは外科手術を受けていた．局所再発に対して外科手術の適応はなく，小線源治療を行った．

8 例の患者が腟壁に，4 例が腟断端に，2 例が外陰に，1 例が子宮頸部に，小線源治療を施行された．腫瘍体積の中央値は 1.3cm3, 処方線量の中央値は 76Gy であった．経過観察期間の中央値は 19 ヶ月で，87%（15 例中 13 例）で complete response（CR）が得られた．しかし，その 77%（13 例中 10 例）が 2.5～49.7 ヶ月後に局所再発した．2 年局所制御率および 2 年全生存率は各々，33%, 64% であった．15 例中 2 例に遅発性の重篤な副作用が見られた．放射性金粒子による小線源治療は，放射線治療歴のある子宮癌患者の局所再発に対する治療法のひとつであると考えられる．

〈緒言〉

放射線治療は子宮癌の治療に寄与している．外部照射と腟内照射の併用療法は子宮頸癌の根治的放射線治療として確立しており，5 年生存率は Stage I，II，III/IV で各々 88–93.5%，69–77.0%，10–60.3% と報告されている．また，外部照射や腟内照射は，子宮癌の術後補助療法や，術後再発症例の救済治療としても用いられている．しかしながら，過去に照射した領域の中央部に局所再発が出現した場合の治療方法は確立していない．骨盤除臓術は中央再発に対する根治療法とされているが，適応は限られ，重篤な副作用も多く，QOL は低下する．また，外科手術を希望しない患者や適応のない患者にとって，可能性のある救済治療の選択肢はほとんど残らない．

当院では，1979 年より子宮癌放射線治療後の局所再発への放射性金粒子を用いた小線源治療が行われてきた．その結果を報告する．

〈方法〉

患者

1991 年 8 月から 2009 年 10 月までに，15 例に小線源治療が施行された．患者の年齢の中央値は 65 歳，12 例は頸癌で，3 例は体癌であった．すべての再発腫瘍は過去の照射野内にあり，病理学的に 11 例が扁平上皮癌，4 例が腺癌と診断された．3 例に遠隔転移が見られたが（各々，肺，肺と胸椎，傍大動脈リンパ節），それらのデータはこの研究に含まれている．なぜなら，遠隔転移は患者の生存に直ちに影響するものではないが，局所制御は彼らの QOL に影響すると考えられたからある．

すべての患者は過去に何らかの放射線治療を施行されている．15 例中 9 例は，初回治療として，根治的放射線治療を受け，このうち 1 例は放射線治療後に外科手術を追加している．9 例中 8 例が再発病変に対して小線源治療を受け，残りの 1 例が再発病変に対して外科手術，再々発病変に対して小線源治療を受けた．

15 例中 6 例は，初回治療として，外科手術を受けた．6 例中 3 例は術後外部照射を受け，残りの 3 例は腟内照射や外部照射を受けた．6 例中 1 例が再発病変に対して，6 例中 4 例が再々発病変に対して，6 例中 1 例が再々再発病変に対して小線源治療を受けた．

治療

全身精査（ステージング）を行った上で，15 例の患者に小線源治療がなされた．

金粒子は直径 0.8mm，長さ 2.5mm の小さな粒子で，プラチナで覆われている．半減期は 2.7 日，γ 線は 0.412MeV である．

小線源治療の治療体積は，腫瘍の周りに 2–5mm の辺縁をつけて直視下に決定し，処方線量は Paterson-Parker 法で計算した．金粒子は，砕石位にて局麻下に刺入した．腫瘍の深さが 7mm 以下の場合，一平面刺入，腫瘍の深さが 7mm 以上の場合，立体刺入とした．

経過と分析

すべての患者は定期的な婦人科的診察，細胞診検査を受けた．局所再発は，治療域の内部あるいは隣接部に発生し，生検によって再発と証明された病変と定義した．

Kaplan-Meier 法を用い，生存率・局所制御率について算出した．生存率・局所制御率とさまざまな因子との関連を Log-rank 検定を用いて検討した．P 値 <0.05 を有意差ありと考えた．

〈結果〉

8 例の患者が腟壁に，4 例が腟断端に，2 例が外陰に，1 例が子宮頸部に，小線源治療を施行された．腫瘍の厚さの中央値は 1cm, 体積の中央値は 1.3cm3 であった．刺入した金粒子の中央値は 11 個，処方線量の中央値は 76Gy であった．金粒子刺入日からの経過観察期間の中央値は 18.8 ヶ月であった．

局所制御

15 例中 13 例（87%）に局所の CR が得られたが，13 例中 10 例（77%）に局所再発（中央再発）を認めた．局所再発までの期間の中央値は 12.5 ヶ月であった．一方，残りの 2 例では初期治療効果は得られなかった．2 年局所制御率は 33% であった．

65 歳以上の患者の局所制御率は，65 歳未満の患者のそれより有意によかった（p＝0.006）．また，腫瘍体積が 2cm3 未満の患者の局所制御率は，2cm3 以上の患者のそれより有意によかった（p＝0.009）．その他の因子｛原発部位，組織型，再発部位，期間（既治療～金粒子刺入），再発回数，既放射線治療線量（BED10），処方線量｝はいずれも局所制御率に有意差はなかった．

全生存

2 年全生存率は 64% であった．

3 例では局所再発は起こらなかった．このうち 1 例は他の部位に中央再発し，再度小線源治療を受けたが死亡した．1 例は遠隔転移があるも生存しており，1 例は副作用で死亡した．この 3 例の生存率の中央値は 65 ヶ月であった．

残りの12例では局所再発の出現あるいは治療効果が不良であった．このうち7例は局所再発や遠隔転移により死亡し，残りの5例は局所再発や遠隔転移があるも生存している．10例の無再発期間の中央値は12.5ヶ月であった．

全生存率と，再発部位，治療体積，局所の初期治療効果との間には有意な関連があった．再発部位が腟内，治療体積が2cm3未満，局所の初期治療効果が良好であった患者の生存率は，そうでない患者のそれより有意に高かった（p＝0.02，再発部位；p＝0.03，治療体積；p＝0.02，初期治療効果）．その他の因子｛年齢，原発部位，組織型，期間（既治療～金粒子刺入），再発回数，既放射線治療線量（BED10），処方線量，M-stage｝は生存率に有意差はなかった．

副作用

重篤な副作用のあった患者は2例であった．1例は，腟壁への刺入後14ヶ月で直腸腟瘻が発症し，手術が施行されたが，敗血症で死亡．1例は，刺入後22ヶ月で直腸炎と膀胱炎が発症したが，保存的治療で管理された．

〈考察〉

放射線治療は子宮癌の治療にしばしば用いられる．しかしながら，放射線治療歴のある患者の照射野内再発の管理は難しく，確立していない．骨盤除臓術は，放射線治療歴のある照射野内中央再発への唯一の治療法と考えられている．Kasamatsuらは骨盤除臓術後の5年生存率は36%，操作に関連した死亡率は6%と報告しており，侵襲性の高い手術であるため，患者の選択は慎重になされるべきだと注意を促している．

再発婦人科腫瘍に対する再照射の成績は，限界がある．しかし，非常に限られた患者において，永久刺入再照射によるいくつかの成功例が報告されている．

当施設では，次のような理由で，限られた患者の中央再発への再照射に金粒子が用いられてきた．すなわち腫瘍本体に高い線量の照射が可能である，手技が簡単である，状態の不良な患者でも耐えられることである．

過去の研究で，局所制御率は46～63%，生存率は53～62%と報告されている．我々の研究の局所制御率はこれらの報告よりやや低かったが，これらの報告には様々な婦人科腫瘍や他部位の悪性腫瘍を含むため，単純には比較できない．

我々の研究では，治療体積は局所制御率や全生存率に関わっており，再発部位や初期治療効果は全生存率に有意に影響していた．よって腟に生じた小さな再発は最も適した症例かもしれない．

重大な副作用の発症率は5.3-35%と報告されているが，我々の研究では発症率に差はなく，副作用の発症に影響する因子は発見できなかった．

我々の研究は症例数が少なく，単施設のretrospective studyである点で制限がある．20例以上のデータを分析した研究もいくつか報告されている．また，副作用はretrospectiveに判断したものであり，すべての副作用を把握することは不可能である．長期の副作用を評価するにはさらなる観察継続が必要である．

〈結論〉

金粒子による小線源治療は，子宮癌放射線治療後の照射野内中央再発への治療法のひとつであり，腟に限局した治療体積2cm3未満の小さな再発腫瘍に特に適している可能性がある．

古澤　春彦 博士（医学）　Furusawa Haruhiko

学位記番号　／甲第 1873 号　学位授与　／平成 24 年 3 月 31 日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）老化制御学系専攻

学位論文　／Th1 and Th17 immune responses to viable *Propionibacterium acnes* in patients with sarcoidosis（サルコイドーシス患者における Propionibacterium acnes に対する Th1，Th17 反応の研究）
Respiratory Investigation　第 50 巻第 3 号　104-109 頁　平成 24 年 9 月発表

論文審査委員／主査：横関　博雄　副査：北川　昌伸　副査：望月　學

〈論文要旨〉

サルコイドーシス（サ症）は Th1 サイトカインが病気の形成・維持に中心的な役割を果たしている炎症性疾患である．また近年の研究で肉芽腫発生に Th17 が関与していることが示唆されている．一方外因抗原が病態形成に関与していることが疑われており，アクネ菌（*Propionibacterium acnes*）と結核菌が有力視されてきた．今回サ症患者と健常者から採取した末梢血単球（PBMC）を用い，アクネ菌生菌・BCG（結核菌群生菌），及び結核菌特異抗原である ESAT-6 にて刺激培養を行い ELISPOT assay で測定した．アクネ菌で刺激したサ症患者由来 PBMC は健常者と比較して高い IL-2 の分泌量を認めた．同様に刺激して発現する mRNA を定量 PCR で測定したところアクネ菌で刺激したサ症患者由来 PBMC から発現された IL-2，IL-12mRNA は健常者より有意に高い発現量であり，逆に IL-17mRNA はサ症患者で有意に抑制されていた．BCG と ESAT-6 による刺激では明らかな差は認められなかった．結論としてアクネ菌に対する Th1/Th17 バランスの異常がサ症発症の一因である可能性が示唆された．

〈諸言〉

サ症は類上皮肉芽腫が全身に形成される疾患であり遺伝子・免疫学的異常についてさまざまな解析がなされ Th1 サイトカインが病気の形成・維持に中心的な役割を果たしている炎症性疾患であると解明されている．また近年の研究でサ症の肉芽腫発生に Th17 が関与していることが示唆されている．一方外因抗原が病態形成に関与していることが疑われ，特にアクネ菌と結核菌が有力視されてきた．以前我々のグループではサ症患者由来リンパ節から高率にアクネ菌 DNA が検出され，他疾患ではほぼ検出されなかったと報告している．一方，Song らはサ症患者由来リンパ節を懸濁し MALDI-TOF で解析し結核菌由来蛋白である *M. tuberculosis* catalase-peroxidase（mKatG）を検出したと報告している．また Drake らは結核菌に特異的な抗原である early secretory antigenic target（ESAT）-6 で患者由来 PBMC・BALF 細胞を刺激したところ IFN-γ の分泌はサ症患者で有意に高かったと報告している．以上をふまえこの論文ではアクネ菌生菌，結核菌群生菌である BCG ならびに ESAT-6 を刺激抗原としてサ症患者と健常者の PBMC と共培養を行い Th1 サイトカインの分泌を定量 PCR と Enzyme-linked immunospot（ELISPOT）assay で解析し，サ症の病因抗原を同定することとした．また，定量 PCR で IL-17mRNA についても測定・解析を行い，刺激抗原に対するサ症患者由来 PBMC の Th1/17 免疫応答について検討した．

〈方法〉

当院にてサ症と診断した 21 例および健常者 13 例より PBMC を採取した．いずれも画像で過去に結核感染の既往がないことを確認し，サ症患者は全例で気管支洗浄液の培養を行い結核菌感染を否定した．アクネ菌・BCG および ESAT-6 を刺激抗原として PBMC と 18 時間共培養を行い分泌される IL-2 を ELISPOT assay にて測定した．また，同様に PBMC と刺激抗原を共培養し発現した IL-2，IL-12，IL-17 mRNA 量を定量 PCR で測定した．結果は reference gene である β-actin で除し，刺激抗原なしで培養したコントロール値との SI 値を算出し比較検討を行った．

〈結果〉

ELISPOT assay ではアクネ菌の刺激によりサ症患者は健常者と比較して有意に高い IL-2 の分泌を認めた（$p=0.037$）．定量 PCR でも IL-2mRNA の発現量は ELISPOT 同様，アクネ菌の刺激によりサ症患者は健常者と比較して有意に高い発現量を認め（$p=0.041$），IL-12 mRNA の発現量も同様にサ症患者由来 PBMC は健常者と比較して有意に高い発現量を認めた（$p=0.045$）．一方 IL-17 mRNA の発現量は反対にサ症患者で有意に低下していた（$p=0.007$）．

BCG と ESAT-6 は ELISPOT・定量 PCR のいずれにおいても健常者・サ症患者の 2 群間で有意な差は認められなかった．

〈考察〉

サ症患者と健常者から採取した PBMC に対して ELISPOT assay と定量 PCR を行い，アクネ菌の刺激により IL-2 の分泌はサ症患者で有意に上昇していた．さらに定量 PCR では IL-12 もサ症患者は健常者より有意に高い発現量を認めていた．一方結核菌由来の BCG・ESAT-6 の刺激では有意な差を両者で認めなかった．

アクネ菌は細胞内寄生の形態をとる常在菌であり感染性は弱い．しかし宿主の TNF-α や IFN-γ の分泌を亢進させることが知られている．この論文ではサ症患者の PBMC はアクネ菌に対して Th1 反応が特異的に強く，肉芽腫の形成が促進されサ症の発症に繋がることが示唆された．この反応は BCG や ESAT-6 では認められず結核菌は今回検討したサ症患者の発症とは関与していないと考えられた．この結果は Song らや Drake らの報告と矛盾するが，サ症患者由来 PBMC へ ESAT-6 で刺激し健常者と比較した検討は日本やドイツ・デンマークなどで行われているがいずれも negative study であり，今後症例を広げて検討していく必要がある．

一方アクネ菌の刺激で IL-17mRNA の発現量はサ症患者で健常者より有意に低下していた．細菌やウイルス細菌感染防御には Th1 が重要な役割を果たしており，寄生虫感染の排除には Th2 応答が重要な役割を果たしている．IL-17 は細菌や真菌感染の排除に一部関わっている．hyper-IgE syndrome（HIES）は Th-17 が産生されない疾患であり，皮膚や肺に真菌や S. aureus など一部の細菌感染を繰り返すことが報告されている．Veltkamp らは細菌やウイルスのリガンドである TLR-9 をサ症患者由来の PBMC と BALF 細胞に刺激し，IL-17 の産生が低下したと報告しており，サ症患者では細菌やウイルス感染に対する Th17 反応が低下している可能性を示唆している．今回の論文でも同様にアクネ菌の刺激によりサ症患者の IL-17mRNA の発現量は健常者と比して低下していたが BCG や ESAT-6 では両者に差は認められなかった．サ症は HIES と異なり感染傾向は通常認められないが，アクネ菌特異的に Th17 反応が低下することで患者リンパ節内での持続感染を促し結果としてサ症を発症させていると考えられた．

〈結論〉

サ症はアクネ菌に対する Th1/Th17 応答の不均衡が発症の一因となっていると考えられる．

海野　敏紀 博士（医学）　Toshinori Unno

学位記番号　／甲第 1874 号　学位授与　／平成 24 年 3 月 31 日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）認知行動医学系専攻

学位論文　／Development of Purkinje cell degeneration in a knockin mouse model reveals lysosomal involvement in the pathogenesis of SCA6（プルキンエ細胞変性をともなう脊髄小脳変性症 6 型ノックインマウスは病態発症にリソゾームが関係する）

Proceedings of the National Academy of Sciences　第 109 巻第 43 号　17693–17698 頁　平成 24 年 10 月発表

論文審査委員／主査：岡澤　均　副査：田邊　勉　副査：清水　重臣

〈論文要旨〉

脊髄小脳変性症 6 型（SCA6）はプルキンエ細胞変性を特徴とする優性遺伝性疾患で，変異アレルでは Ca_v2.1 電位依存性カルシウムチャネル遺伝子のポリグルタミンをコードする CAG リピートが異常伸長している．膜タンパクである変異 Ca_v2.1 が，プルキンエ細胞変性を引き起こすメカニズム明らかにするため，我々は，内在性プロモーター下で，伸長ポリグルタミン鎖を有する Cav2.1 を小脳で軽度に過剰発現する SCA6–MPI–118Q ノックインマウスを作製した．

SCA6–MPI–118Q マウスは，協調運動障害や，選択的プルキンエ細胞変性など，SCA6 患者に見られる多くの特徴を再現した．驚くべきことに，プルキンエ細胞に形成される変異カルシウムチャネル封入体は，リソゾームに集積していた．主なリソゾーム酵素の一つであるカテプシン B を欠損させた SCA6–MPI–118Q マウスでは，変異カルシウムチャネル封入体の形成を促進し，プルキンエ細胞脱落を加速させた．SCA6 の病態はリソゾーム分解経路が関係しており，この病理学的特徴はポリグルタミン病の病態解明及び治療に役立つと考えられる．

〈緒言〉

SCA6 は，常染色体優性遺伝性疾患であり，病理学的には，ほぼ限局したプルキンエ細胞の変性が特徴である．変異アレルでは，Ca_v2.1 電位依存性カルシウムチャネル遺伝子（*CACNA1A*）のポリグルタミンをコードする CAG リピートが異常伸長しており，ハンチントン病や，球脊髄筋萎縮症，歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症，SCA1，2，3，7，17 と並んでポリグルタミン病に分類されている．SCA6 の病態として伸長したポリグルタミンリピートによる gain of toxic function の機構が考えられるが，その詳細は不明である．SCA6 は，他のポリグルタミン病と比べていくつかの点が異なり，例えば，SCA6 以外のポリグルタミン病では，核内にユビキチン陽性の封入体を形成するが，SCA6 では細胞質に封入体を形成し，それらの封入体はユビキチンで染色されない点である．近年，我々のグループが，SCA6 のモデルマウスとして，マウス *Cacna1a* に 84 CAG リピートをもつノックインマウスを作製した（$Sca6^{84Q}$）．このマウスは多くの SCA6 の病態を再現していたものの，明確なプルキンエ細胞変性は観察されなかった．そこで我々は，プルキンエ細胞変性を起こす新たな SCA6 マウスモデルを作製し解析を行った．

〈方法〉

Cav2.1 遺伝子の CAG リピートが存在するエクソンは，主に 2 つのスプライスアイソフォーム（MPI と MPc）が生成される．その中で MPI のみが CAG リピート配列が含まれることが報告されている．$Sca6^{84Q}$ マウスがプルキンエ細胞変性を起こさなかった理由として，野生型と比較して，MPc 発現量が増え，MPI 発現量が低下していたためであると考えられた．そこで，我々は MPI の発現量を増やすため，スプライス変異を加え，発現量を増加させ，さらに CAG リピートを増やしたノックインマウスを作製した（Sca6 MPI 118Q / Sca6 MPI 11Q（コントロール））．作製したマウスを用いて，電気生理学的，行動学的，生化学，行理学的な手法を用いて解析を行った．

〈結果〉

Sca6 MPI 118Q マウスは，MPI アイソフォームのみ発現していること，MPI 発現量が野生型マウスと比較して増加していることを確認した．

行動学的解析においては生後 6 週齢以降から，週齢依存性に協調運動障害が見られた．さらにヘテロマウスにおいても 18 ヶ月齢において有為に協調運動障害が見られた．

電気生理学的解析においては，Sca6 MPI 11Q と Sca6 MPI 118Q と比較して基本的なカルシウムチャネルの性質には変化が見られなかった．

病理学的解析では生後 7 週齢以降，著明なプルキンエ細胞の脱落が見られた．プルキンエ細胞内には Ca_v2.1 陽性の封入体が観察され，ユビキチンでは染色されなかった．さらに，この封入体は，リソゾームマーカーと共局在しており，電子顕微鏡による解析においてもリソゾーム様の高電子密度構造物がプルキンエ細胞内に観察されたため，Ca_v2.1 封入体はリソゾームに局在していることが示唆された．そこで，リソゾーム機能と SCA6 病態との関連を調べるために，Sca6 MPI 118Q とカテプシン B ノックアウトマウス（代表的なリソゾーム酵素の一つでノックアウトしても神経変性は起こさない）と掛け合わせた二重変異マウスを作製し，さらに解析を行ったところ，二重変異マウスにおいては，Sca6 MPI 118Q と比較して，早期に協調運動障害が見られ，病理学的にも，プルキンエ細胞脱落，封入体の形成が促進された．

〈考察〉

Sca6 MPI 118Q マウスは，内在性のプロモーター下で，ヒト由来の伸長したポリグルタミンを含む Ca_v2.1 を発現する．このマウスは，SCA6 患者で観察される多くの特徴を再現しており，例えば，進行性のプルキンエ細胞変性や，プルキンエ細胞質封入体の形成，歩行失調が確認された．このマウスは，今後のさらなる SCA6 の病態解明や，治療法の開発に有用であることが考えられる．

SCA6 における変異カルシウムチャネルの封入体は，Sca6 MPI 118Q マウスにおいて，主にリソゾームに局在していることが，免疫染色の結果から明らかになった．さらに，電子顕微鏡による解析においても，リソゾーム様の高電子密度構造物がプルキンエ細胞質内に確認された．また，変異カルシウムチャネル封入体は小脳分子層まで分布しており，これらの封入体もリソゾームマーカーと共局在している．リソゾームは通常，神経の細胞体に存在しているが，アルツハイマー病や，微小管結合阻害剤やカテプシン阻害剤などの

薬剤負荷環境によって，リソゾームの樹状突起への位置異常がおこることが報告されている．そのため，リソゾームの分子層への位置異常は，プルキンエ細胞の細胞骨格異常や，リソゾームの機能異常が関係していると考えられる．

伸長したポリグルタミン鎖はタンパクの構造を変え，分解耐性を持ち，最終的には不溶性の凝集体を形成すると考えられている．Ca_v2.1 の分解メカニズムに関しては，不明な点が多いものの，細胞膜上に発現した Ca_v1.2 や Ca_v2.2 では，細胞内にエンドサイトーシスで取り込まれた後，NMDA レセプターやノイセプチンレセプターの活性化を通してリソゾームで分解されることが報告されている．従って，Ca_v2.1 においてもリソゾームで分解されることが考えられる．以上のことから，変異カルシウムチャネルのリソゾーム局在は，リソゾーム内の不十分な分解によるものと考えられる．

SCA6 以外のポリグルタミン病に関して，ポルグルタミンを含む封入体自体は神経に対して毒性を持たないことが数多く報告されているものの，Sca6 MPI 118Q マウスにおける変異カルシウムチャネルのリソゾームへの集積は，病態の進行とともに増加している．リソゾームへのタンパク質の集積は，CLN2 や CLN10 等のリソゾーム蓄積病でも報告されており，SCA6 の病態の一端として，リソゾームのタンパク分解機能低下によるプルキンエ細胞の恒常性維持の破綻が考えられる．

ポリグルタミン病の病態は非常に複雑であり，近年，タンパク質間相互作用の重要性が認識されている．

Ca_v2.1 遺伝子の CAG リピートが存在するエクソンは，主に２つのスプライスアイソフォーム（MPI と MPc）が生成される．その中で MPI のみが CAG リピート配列が含まれるが，この２つのスプライスアイソフォームの機能的な違いに関しては不明な点が多い．我々が行った MPI−11Q プルキンエ細胞の電気生理学的な解析から，これらの２つのスプライスアイソフォームに関して，基本的な電気生理学的違いは見られなかった．しかしながら，近年行われたインタラクトーム解析によって，MPI アイソフォームのみに結合するタンパクが複数同定され，小脳において生理学的な役割を担っていることが示唆された．さらに，Kaeser らは RIM タンパクが直接 MPI 型の Ca_v2.1 C 末端に結合して，Ca_v2.1 を前シナプス終末につなぎとめることを報告した．また，Kahle らによるインタラクトーム解析から，相互作用するタンパクは，ポリグルタミンの長さによって変化することが報告されているため，我々は，Ca_v2.1 の伸長したポリグルタミンに相互作用するタンパクが，SCA6 病態に関係していると考えている．

〈結論〉

MPI−118Q マウスは SCA6 の特徴を反映しており，リソゾームが病態に関係していることを明らかにした．変異カルシウムチャネル封入体を含むリソゾームの集積・蓄積は，プルキンエ細胞毒性に関係しており，リソゾーム機能を活性化することは，有効な SCA6 治療のターゲットとなる可能性がある．

小林　正樹 博士（医学）　Kobayashi Masaki

学位記番号　／甲第 1875 号　学位授与　／平成 24 年 3 月 31 日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）認知行動医学系専攻

学位論文　／Proliferating Immature Schwann Cells Contribute to Nerve Regeneration After Ischemic Peripheral Nerve Injury（未分化 Schwann 細胞の増殖は，虚血性末梢神経損傷後の神経再生に寄与する）
Journal of Neuropathology and Experimental Neurology　第 71 巻第 6 号　511–519 頁　平成 24 年 6 月発表

論文審査委員／主査：寺田　純雄　副査：岡澤　均　副査：槇田　浩史

〈論文要旨〉

虚血性末梢神経障害の病態解明は，血管障害に起因する末梢神経障害の治療開発に重要な示唆を与える．成熟 Schwann 細胞は，機械的損傷後に高い可塑性を示すことにより神経再生に寄与することが知られているが，虚血損傷での Schwann 細胞の挙動は未だ明らかでない．我々は，虚血損傷後の末梢神経変性・再生過程での Schwann 細胞の役割を検討するために，ラット脛骨神経の供給動脈を 5 時間閉塞後，再灌流した虚血性末梢神経障害モデルを作製した．虚血損傷後の脛骨神経の形態変化を明らかにし，損傷後早期に，p75 neurotrophin receptor（p75NTR）で標識される未分化 Schwann 細胞が出現することを実証した．これらの未分化 Schwann 細胞の増殖活性を検討するために，分裂細胞を Proliferating Cell Nuclear Antigen（PCNA）抗体で検出し，虚血後に出現した p75NTR 陽性細胞の多くが PCNA 陽性で，これらの二重陽性細胞は損傷後に増加し，1–2 週後にピークに達し，4 週後に減少する経過を示した．この過程で出現した分裂後 Schwann 細胞が成熟 Schwann 細胞に分化することを，bromodeoxyuridine（BrdU）取り込み試験で明らかにし，未分化 Schwann 細胞が虚血 2 週後に再生軸索を囲い，その後に髄鞘形成する分化の過程を免疫組織学的に明らかにした．ラット虚血性末梢神経障害モデルで，虚血損傷後の末梢神経には未分化 Schwann 細胞が多数出現し，強い分裂能と髄鞘形成能を示すことが例証されたことから，未分化 Schwann 細胞の制御による新たな治療法開発の可能性が示唆されたと考えられる．

〈緒言〉

虚血性末梢神経障害とは，糖尿病，血管炎，アミロイドーシス，動脈硬化性血管障害など様々な原因疾患によって，血流供給が絶たれた結果生じる末梢神経障害の病態を記述する用語である．虚血後末梢神経障害をモデル動物で検討したいくつかの報告があるが，Schwann 細胞の挙動に関する検討は，酸化ストレスとアポトーシスに限られている．機械的損傷（切断や圧挫による損傷）モデル動物において，損傷遠位部の Schwann 細胞が可塑性を示すことによって軸索の再生過程に寄与することが近年明らかにされてきたが，虚血損傷を受けた末梢神経での Schwann 細胞の可塑性については，未だ検討されていない．p75 neurotrophin receptor は，発達段階での未分化な Schwann 細胞に発現し，髄鞘形成に関与することがよく知られている．本検討では，この p75NTR を未分化 Schwann 細胞のマーカーとして，虚血損傷によって未分化 Schwann 細胞が出現することを，ラット虚血性末梢神経障害モデルを作製し明らかにした．さらに，損傷後に出現した未分化 Schwann 細胞の分裂能，分化能を明らかにした．

〈方法〉

ラット（n＝48）の右総腸骨・外腸骨・大腿・浅腹壁動脈をクリップで 5 時間閉塞後，再灌流し虚血性末梢神経障害モデルを作製した．虚血肢の血流は，足底に配置されたプローブによりレーザードップラー血流計でモニターした．虚血肢の機能評価は，神経学的スコア（0～11：大きい数字が機能良好を意味する）を用いた．虚血後 1，4，7，14，28 日に，sham operation 後 7 日に，脛骨神経を採取し，組織の固定を行い形態学的及び免疫組織学的に評価した．形態学的評価のために，エポン包埋トルイジンブルー染色での横断面の切片を作製し，質的な形態変化の観察と有髄線維密度の計測をおこなった．免疫組織学的評価のために，PFA 固定凍結横断切片を作製した．Schwann 細胞を S100β 抗体，軸索を SMI31 抗体，髄鞘を myelin basic protein（MBP）抗体で標識した．未分化 Schwann 細胞を p75NTR 抗体で，分裂細胞を PCNA 抗体で標識し，その 2 重陽性細胞数は各々ラットで無作為に選ばれた標本から神経束内の全数（per fascicle）として計測した．分裂後 Schwann 細胞の fate を調べるため，BrdU（50mg/kg/day）を虚血後 5～9 日に連日腹腔内投与し，14 日と 28 日に脛骨神経を採取し，免疫組織学的評価と BrdU 陽性細胞数を定量した．数値は mean ± SEM で記載した．

〈結果〉

供給動脈の閉塞により虚血肢の足底血流は，約 90% 低下した．虚血肢の機能は，神経学的スコアで虚血後 1 日目に著明に低下（2.9 ± 0.4，n＝8）したが，徐々に回復し 28 日後には，ほぼ full score（10.4 ± 0.3，n＝8）に回復した．

エポン包埋トルイジンブルー染色切片による虚血後脛骨神経の形態変化は，虚血後 1 週まで，神経線維の変性像が主体で有髄線維密度は低下（7059 ± 688 /mm^2，n＝4，sham control：14563 ± 949 /mm^2，n＝4）したが，2 週目以後は軸索再生像が主体で，4 週目に髄鞘は菲薄だが有髄線維密度は正常化（13945 ± 1486 /mm^2，n＝4）した．さらに，特徴的な形態変化として 1 週目には，肥大した S100β 陽性細胞が control（17.8 ± 3.1 /fascicle，n＝4）に比し，多く出現（68.5 ± 6.7 /fascicle，n＝4），2 週目に低下した．

虚血後の脛骨神経に p75NTR 陽性未分化 Schwann 細胞が出現した．p75 陽性細胞は，虚血後 14 日までに劇的に増加し，分裂能を持った未分化 Schwann 細胞（p75NTR＋/PCNA＋）数は，control（0 ± 0 /fascicle，n＝4）に比し，7 日（80.8 ± 12.0 /fascicle，n＝4），14 日（52.4 ± 3.5 /fascicle）に増加し，28 日（14.0 ± 3.5 /fascicle，n＝4）に減少した．

BrdU を取り込んだ分裂後 Schwann 細胞は，虚血後 14 日（99.1 ± 27.0 /fascicle，n＝4）および 28 日（50.4 ± 13.3 /fascicle，n＝4）に生き残った．虚血後 28 日に BrdU を取り込んだ S100β 陽性細胞の一部が髄鞘形成状態を示す ring 状の形態を示し，成熟した Schwann 細胞へと分化していた．また，虚血 14 日後は，p75NTR 陽性細胞にとり囲まれた SMI31 陽性の小径の軸索からなる nerve sprouting の像を，虚血 28 日後には，多発する ring 状の MBP 陽性髄鞘形成像を認めた．

〈考察〉

今回の一連の実験において，虚血損傷後の Schwann 細胞の表現型の時間変化が明らかとなった．虚血後 1 週までに形態学的に肥大化した Schwann 細胞が出現し，次に分裂能を持った未分化 Schwann 細胞が 1–2 週間をピークに出現し，4 週後に分裂後 Schwann 細胞が髄鞘形成し分化する過程を示した．

肥大化したSchwann細胞が虚血後早期に出現することを形態学的特徴として指摘した．このような形態変化は，末梢神経の圧迫モデルにおいて，損傷早期にみられ細胞内構成要素の形態的異常やある種のタンパク合成の亢進を伴うことが指摘されている．虚血性末梢神経モデルでは，類似の形態をもった細胞が酸化ストレスやアポトーシスマーカーが陽性であることが指摘されている．したがって，このような形態変化は虚血後早期の反応性形態変化を示唆するが，その意義については今後の検討を要する．

これまで，虚血性末梢神経障害モデルで未分化Schwann細胞の出現を示す報告はない．我々は，虚血後のp75NTR陽性Schwann細胞出現を実証し，それが著明な分裂能を持つことを明らかにした．これらの分裂する未分化Schwann細胞は，虚血後1–2週をピークとし，4週後に消退した．Schwann細胞のp75NTRは，発達段階で発現し軸索の髄鞘化へ寄与し，成熟Schwann細胞でその発現が消退することが知られてきたが，近年機械的損傷のモデルにおいて，軸索損傷後にSchwann細胞に再発現することが明らかにされ，Schwann細胞が可塑性を示すキー分子として注目された．我々は，虚血モデルにおいて，同様なp75NTR陽性未分化Schwann細胞の出現を示し，著明な分裂能を併せ持つことを証明した．

虚血損傷後に出現した分裂能を持った未分化Schwann細胞が再分化過程に寄与した証拠として，我々は，形態学的観察で豊富な再生線維がみられた28日目に，BrdUを取り込んだ分裂後Schwann細胞が成熟した細胞へと分化したことを示す病理像を同定し，さらに，未分化Schwann細胞が軸索再生に関与し，髄鞘形成へと分化してく過程を明らかにする病理像を同定した．BrdU陽性Schwann細胞数が，虚血後14日目から28日目へ統計学的有意でないが減少傾向にあることは，Schwann細胞の再分化とともに細胞死が生じている可能性があり，今後の検討が必要である．

〈結論〉

ラット虚血性末梢神経障害モデルで，虚血損傷後の末梢神経には未分化Schwann細胞が多数出現し，強い分裂能と髄鞘形成能を示すことを例証した．このような強い分裂能をもつ未分化Schwann細胞の制御が，虚血性末梢神経障害の新しい治療法開発に示唆を与える可能性がある．

田島　麻記子 博士（医学）　Tajima Makiko

学位記番号　／甲第 1876 号　　学位授与　／平成 24 年 3 月 31 日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）器官システム制御学系専攻

学位論文　／ Augmentation of Arginase II Expression in the Human Endometrial Epithelium in the Secretory Phase（ヒト子宮内膜の分泌期において arginaseII の発現が増加している）
Journal of Medical and Dental Sciences　第 59 巻 4 号　75–82 頁　平成 24 年 12 月 online 発表

論文審査委員／主査：江石　義信　　副査：中田　隆夫　　副査：畑　　裕

〈論文要旨〉
子宮内膜は月経周期により増殖・分化を繰り返しており，受精卵が着床し胎盤形成されていく上で重要な役割を担っている．Arginase は L–arginine を ornithine と尿素に変換する酵素で arginaseI（A–I）と arginase II（A–II）の 2 つの isoform が報告されており増殖・分化に重要な酵素であると考えられる．そこで今回子宮内膜における arginase の発現を検討した．
当院で良性疾患にて子宮全摘術を施行された患者のパラフィン切片を用い，A–I と A–II に対する免疫組織染色法を行った．子宮全摘術施行時に子宮内膜を採取し，RNA とタンパク抽出を行い，RT–PCR 法および Western blotting 法にて arginase mRNA とタンパクの発現の有無について検討した．いずれも患者からの informed consent を得ており，また当院の倫理委員会の認証を得ている．
免疫組織染色法では，A–I と A–II とも増殖期・分泌期双方で子宮内膜上皮細胞に強い発現を認めた．RT–PCR 法により子宮内膜から抽出した RNA に A–I と A–II の mRNA が検出され，Western blotting 法においても，A–II タンパクの発現を認めた．A–II は免疫組織染色法，Western blotting 法において子宮内膜分泌期で増殖期より有意に強い発現を認めた．
ヒト子宮内膜上皮細胞において arginase II の発現を認め，分泌期で有意に強い発現を認めた．分泌期における内膜増殖，胚の着床に関して役割を担っていることが示唆される．

〈緒言〉
子宮内膜は月経周期により増殖・分化・剥離を繰り返しており，受精後胚が着床し妊娠を継続していく上で重要な役割を担っている．子宮内膜では母体側の細胞と胚の間での相互作用が起こる場であり，サイトカインなど様々な因子がこの現象に関係していると考えられている．胚を受容する機構は未だ明らかではなく，女性，特に不妊女性での着床率を改善するには重要な機構であると考えられる．
L–arginine は 2 つの酵素 NOS と arginase の共通の基質である．NOS は L–arginine を NO と citrulline に変換し，血液循環や血小板凝集抑制に重要である．さらに白血球の活性化抑制や平滑筋細胞増殖の抑制にも働いている．Arginase は L–arginine を L–ornithine と尿素に変換する酵素であり，L–ornithine は細胞増殖に重要な polyamines と collagen 合成に必要な proline の前駆物質である．2 つの酵素は基質が共通しているため生体内では競合して働くと考えられており，2 者間のバランスが多くの生理的現象に影響を及ぼしている．
最近の研究で不妊女性が L–arginine を摂取することにより子宮血流が改善し，子宮内膜の厚みを増加させることが示された．NO は cGMP 系を通じて子宮動脈を拡張させ，欠陥抵抗を減少させることにより血流が改善されると考えられるが，子宮内膜の厚みが増すのは血流の改善のみでは説明できないと考える．そこで私達は L–arginine を基質とするもう一つの酵素 arginase を検索したいと考えた．
Arginase には arginase I（A–I）と arginase II（A–II）の 2 つの isoform が報告されており，その発現組織や臓器・細胞内の局在がそれぞれ異なる．またそれぞれ独立して制御されている．
NOS のヒト子宮内膜での発現や制御については既に報告されているが，arginase の発現や L–arginine–ornithine 経路の役割について解明されていない．この論文では子宮内膜の増殖期，分泌期における A–I 及び A–II の発現や組織分布を免疫組織染色法や RT–PCR 法，Western–blotting 法を用いて検索した．

〈方法〉
当院にて子宮筋腫あるいは子宮腺筋症の適応で子宮全摘術を施行された患者から子宮内膜組織の検体を採取した．子宮内膜の月経周期は病理学的診断により（Noyes et al. 1975）決定した．いずれの患者からも術前に informed consent を得ており，また当院の倫理委員会の認証を得ている．
パラフィン包埋された子宮標本を 4μm の薄切標本を作成し，免疫組織染色を行った．また各標本の DAB 濃度を NIH Image Program を用いて計測し増殖期，分泌期での発現強度を比較した．
採取した子宮内膜組織から RNA を抽出し A–II については RT–PCR 法を，A–I に対しては nested RT–PCR 法を用いて mRNA の発現の有無を検討した．
また，採取した子宮内膜組織からタンパクを抽出し Western–blotting 法にてタンパク発現の有無と増殖期分泌期での発現の強さを比較検討した．

〈結果〉
免疫組織染色法では，A–I と A–II ともに増殖期でも分泌期においても子宮内膜上皮細胞に強い発現を認めた．A–II は分泌期で増殖期より有意に強い発現を認めた．
RT–PCR 法により増殖期及び分泌期の子宮内膜組織から抽出した RNA に A–II の mRNA が検出され，nested RT–PCR 法にて A–I の mRNA が検出された．
Western blotting 法においては，子宮内膜組織において増殖期，分泌期共に A–II タンパクの発現を認めた．また，増殖期より分泌期で有意に強い発現を認めた．しかし A–I タンパクは検出されなかった．

〈考察〉
今回初めて免疫組織染色法，RT–PCR 法および Western blotting 法にてヒト子宮内膜において arginase の 2 つの isoform，A–I と A–II が発現していることを明らかにした．また免疫組織染色法で A–I，A–II は増殖期，分泌期双方において子宮内膜上皮細胞に局在

しており，更にA–IIの発現は月経周期内で変化することを示した．子宮内膜上皮細胞でのA–IIに対する免疫組織染色では増殖期に比べ分泌期で発現が強いことが示され，Western–blotting法においても分泌期の子宮内膜でA–IIタンパクの発現がより亢進していることを確認した．

Arginaseには A–I と A–II の2つのisoformがあり，それぞれ異なる染色体の異なる遺伝子にコードされている．発現組織や臓器・細胞内の局在が異なり，独立して制御されている．A–I は細胞質に存在し，肝細胞の尿素回路での最終段階を触媒している酵素であり，その他の組織でもある程度発現が認められている．今回ヒト子宮内膜から少量のA–Iは検出されたが，月経周期内での発現変化は認められなかった．

A–IIはミトコンドリア内に存在し腎臓，脳，小腸，乳腺など主に肝細胞以外で発現が認められている．近年ではarginaseの増加が気道の細胞増殖やコラーゲン沈着に関与し，喘息での持続的な気道内圧の上昇に寄与することが示唆され，また循環器系でarginaseの活性化が加齢による血管の変化に関与し，異常な血管壁，内膜の再生につながっていると言われている．今回認めた分泌期におけるA–IIの発現の増加は細胞増殖やコラーゲン合成につながり，着床準備として子宮内膜の肥厚と分化につながるのではないかと推測される．この仮説を証明するには更なる研究が必要である．

体外受精治療を受ける患者では子宮内膜が薄いと妊娠率が低下すると考えられているが，子宮内膜の厚さを改善させるのは非常に難しい．近年L–arginineの投与により子宮内膜の厚みが改善するとの報告がある．子宮血流の増加は子宮内膜の増殖には重要であると考えられるが，私たちは局所的な細胞増殖やコラーゲン合成も非常に重要と考えている．

L–ornithineはODCとOATによりそれぞれpolyaminesとpyrroline–5–carboxylateに代謝され，L–prolineの合成につながっている．データは示していないが，子宮内膜組織から抽出したRNAからRT–PCR法を用いODCとOATのmRNAが検出された．これらもarginase活性の増加により細胞増殖やコラーゲン合成が増加している可能性を支持する結果と考えられる．

L–arginineはNOSとarginaseの共通の基質である．NOSはL–arginineをNOとcitrullineに変換し，eNOSは子宮内膜上皮細胞で検出されている．しかしながらeNOSの子宮内膜における役割は明らかでない．A–IとA–IIの発現もeNOSと同じく子宮内膜上皮細胞に局在している．この2つの酵素は子宮内膜で競合しているという可能性とL–arginineの消費が増加しているという可能性が考えられる．しかしながらarginaseはNOとは独立した機序で細胞内の様々な機能を制御しているとも言われている．

今回の研究ではarginaseの発現の制御機序やヒト子宮内膜における役割を示すには至らないが，これらをさらに研究することによって不妊治療成績改善の鍵になりうると考えられる．

〈結論〉

ヒト子宮内膜におけるarginaseの発現を検討した．A–I，A–IIともに子宮内膜上皮細胞に発現を認め，A–IIは分泌期においてより強い発現を認めた．

佐々木　健至 博士（医学）　Sasaki Takeshi

学位記番号　／甲第 1877 号　　**学位授与**　／平成 25 年 3 月 31 日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）認知行動医学系専攻

学位論文　／Quantification of Dopamine Transporter in Human Brain Using PET with ^{18}F-FE-PE2I（^{18}F-FE-PE2I と陽電子放射断層撮影を用いたヒト脳内ドーパミントランスポーターの定量）
The Journal of Nuclear Medicine　第 53 巻第 7 号　1065-1073 頁　平成 24 年 7 月発表

論文審査委員／主査：澁谷　均　　副査：水澤　英洋　　副査：成相　直

〈論文要旨〉

^{18}F-(E)-N-(3-iodoprop-2E-enyl)-2β-carbofluoroethoxy-3β-(4-methylphenyl)nortropane（^{18}F-FE-PE2I）はドーパミントランスポーター（dopamine transporter：DAT）に対して高い親和性と特異性を有する新規リガンドである．これまで ^{18}F-FE-PE2I をヒトに投与した研究はない．今回我々は ^{18}F-FE-PE2I と陽電子放射断層撮影（positron emission tomography：PET）を用いてヒト脳内 DAT の定量を行い，より簡便で短時間での定量法について検討した．^{18}F-FE-PE2I の代謝物が定量に与える影響についても検討した．［方法］対象は 10 人の健常男性．各被験者に対して ^{18}F-FE-PE2I を経静脈的に投与し 90 分間のダイナミック PET スキャンおよび動脈採血を施行した．動脈血データを必要とする標準的手法（indirect kinetic 法）および動脈血データが不要な簡易法（simplified reference tissue model 法）の 2 法にて解析を行い，被殻，尾状核，中脳，視床，小脳の各関心領域において，DAT 密度を反映する結合能（binding potential：BP_{ND}）を算出して両法間で結果を比較した．また活性代謝物の DAT 定量に対する影響を，分布容積の time-stability 解析によって検討した．［結果］^{8}F-FE-PE2I の脳内への取り込みは良好であり，線条体で最も高い集積を示した．標準的手法と簡易法による BP_{ND} は各関心領域において良好な相関を示した．Time-stability 解析によって 60 分以降の定量性は安定していると確認された．60 分間および 90 分間のデータを用いた BP_{ND} は各領域で良好な相関を示した．［考察］^{18}F-FE-PE2I によって脳内 DAT の定量測定が可能であった．動脈採血が不要な簡易法により，線条体および中脳において，60 分間のスキャンで DAT の定量が可能であることが示唆された．^{18}F-FE-PE2I は有用性が高い DAT 用リガンドであると考えられた．

〈背景〉

ドーパミントランスポーター（dopamine transporter：DAT）は，パーキンソン病，統合失調症，注意欠陥多動障害，自閉症などの神経・精神疾患において，その機能や密度の異常が報告されており，これら疾患の病態と密接な関係があると考えられている．陽電子放出断層撮影（positron emission tomography：PET）を用いた DAT のイメージングは，これらの疾患の病態解明および診断にとって有用であると考えられている．

これまで多数の DAT 用リガンドが開発・使用されてきた．しかし ^{11}C 標識の代表的なリガンドである ^{11}C-cocaine，^{11}C-WIN35,428（CFT），^{11}C-β-CIT，^{11}C-dl-threo-methylphenidate は DAT への親和性が低いか，脳内動態の遅さが欠点であった．^{18}F 標識のリガンドはこれまでに ^{18}F-CFT（^{18}F-WIN 35,428），^{18}F-FPCIT，^{18}F-FECNT がヒトで使用されているが，どれも親和性，特異性の高さに優れている一方，動態が遅く，特に DAT 密度の高い線条体では取り込みが最大になるのに 90 分以上を要し，短時間での定量が困難であるという欠点があった．

近年，cocaine 類似物である PE2I が開発された．これを ^{11}C で標識した ^{11}C-PE2I は DAT への親和性，特異性が高いが，DAT 密度の高い線条体での動態が遅く，簡易法での定量の不正確さが指摘されている．一方 PE2I のフルオロエチル類似体を ^{18}F で標識した ^{18}F-FE-PE2I は，DAT への親和性，特異性ともに高く，線条体においても動態が早いことがサルで確認されている．

今回我々は ^{18}F-FE-PE2I を用いてヒト脳内 DAT のイメージングを行い，^{18}F-FE-PE2I による脳内 DAT の定量法について検討することを目的として実験を行った．また ^{18}F-FE-PE2I の活性代謝物が定量に与える影響についても検討した．

〈方法〉

対象は健常男性（28.1±6.9yr）10 名．^{18}F-FE-PE2I の合成は放射線医学総合研究所にて行った．PET 装置は ECAT EXACT HR＋（Simens）を用いた．^{18}F -FE-PE2I を bolus で静脈投与し（183.0±9.3 MBq），90 分間のダイナミック PET スキャンを行った．スキャン中，合計 32 回の動脈採血を行った．うち 10 回分は高速液体クロマトグラフィー（high performance liquid chromatography：HPLC）を用いて親リガンドとその代謝物の分画を調べ，他の採血データへ線形補間して，90 分間の動脈血漿中の親リガンド濃度の時間放射能曲線（time activity curve：TAC）を求めた．

Gyroscan NT（Philips）を用いて 1.5 テスラの T1 強調 MRI 画像を撮影した．被験者ごとに MRI 画像を PET の集積画像に coregister し，その coregister した MRI 画像上に，手動で被殻，尾状核，中脳，視床，小脳に関心領域（region of interest：ROI）を描いた．それらの ROI データを 90 分間のダイナミック PET データに当てはめ，各 ROI における TAC を求めた．

DAT の密度を反映する結合能（binding potential：BP_{ND}）を求めるため，動脈血漿中の TAC および各 ROI の TAC を，2 組織コンパートメント・モデル（2-tissue-compartment model：2-TCM）（図 1）に，非線形最小二乗法によりフィッティングし，速度定数 K_1，k_2，k_3，k_4 および分布容積（distribution volume：V_T）を求めた．なお速度定数 K_1 は血液脳関門を介したリガンドの血漿中から脳内への流入速度を，k_2 はその逆方向への流出速度をそれぞれ表す．また k_3 は脳内の遊離成分と非特異結合をまとめたコンパートメントから特異結合コンパートメントへの移動速度を，k_4 はその逆の移動速度をそれぞれ表す．BP_{ND} は理論的には k_3/k_4 に等しいが，一般的に k_3/k_4 は測定における標準誤差が大きいため不正確になることが多い．そのため今回の解析では BP_{ND} を k_3/k_4 として直接求めるのではなく，下記のように indirect kinetic 法で求めた．すなわちこの方法は，測定すべきトランスポーターの発現がない部位を参照領域とし，各領域の V_T を $V_{T\ (region)}$，参照領域の V_T を $V_{T\ (reference)}$ とした場合，BP_{ND} を次式，$BP_{ND}=(V_{T\ (region)}/V_{T\ (reference)})-1$ で求める方法である．DAT に関してはヒト死後脳の autobiography によって小脳には DAT の発現がないことが確認されているため，参照領域としては小脳を使用した．なお V_T は速度定数を用いて次式，$V_T=K_1/k_2\ (1+k_3/k_4)$ と表される．

動脈データを用いない簡易法としては simplified reference tissue model（SRTM）法を用いた．この方法は各 ROI の非特異結合が同じであると見なすなど，いくつかの近似を行うことによりパラメータ数を減らしたもので，近年広く用いられている．SRTM 法では，動脈血漿中の TAC は用いず，各 ROI の TAC のみを，非線形最小二乗法を用いてモデルにフィッティングし，パラメータの一つである BP_{ND} を求めた．その後 indirect kinetic 法で求めた BP_{ND} との間で線形回帰分析を行い相関を調べた．

活性代謝物がDATの定量に与える影響見るため，V_T の time stability 解析を行った．すなわち親リガンドのTACを入力関数として被殻および小脳において V_T を40〜90分まで10分刻みで求め，値の変化を調べた．

〈結果〉
^{18}F–FE–PE2I の脳内への取り込みは良好であり，線条体において最も高い集積を示した．中脳への集積も認められた．脳内集積の分布は既に報告されているヒト脳におけるDATのAutoradiographyの結果と類似していた．集積が高い線条体においてもピークは静注の10分後ほどであり，速い動態を示した．
HPLCによって，親リガンド，水溶性代謝物の他に，中間の脂溶性を持つ活性代謝物M1が検出され，投与20分後以降は親リガンドの1.3–1.4倍程度の量が常に存在した．
非線形最小2乗法による2–TCMへのフィッティングは各領域で良好であった．Indirect kinetic 法およびSRTM法で求めた BP_{ND} は良好な相関を示した（$r=0.990$，$P<0.0001$）．それぞれの方法において，60分および90分のデータを用いて推定した BP_{ND} は良好な相関を示した（indirect kinetic 法で $r=0.992$；SRTM法で $r=0.999$；両法で $P<0.0001$）．Time–stability 解析において，被殻および小脳において，V_T の60分値と90分値の誤差は10% 以下であり，60分以上において V_T の測定値は安定していると確認できた．活性代謝物M1による測定への影響は小さいと考えられた．

〈考察〉
^{18}F–FE–PE2I の脳内各部位への集積の程度は，これまでに報告されている autobiography によるものと同じ傾向であり，DAT密度をよく反映していると考えられる．高い集積が見られた線条体と共に，比較的低い集積であるが腹側の中脳が左右2つの領域としてはっきりと描出された．これらは黒質と腹側被蓋野のDATを反映している可能性が高いと考えられる．ただし autoradiography では中脳への集積は線条体の約50% と報告されているのに対し，今回，BP_{ND} の比較では中脳は線条体の BP_{ND} のわずか約13% であった．これは部分容積効果による誤差と考えられた．
HPLCにてM1という中間の脂溶性を有する活性代謝物が測定された．この代謝物の相同物は ^{11}C–PE2I を使用したラットの実験においても生成され，脳内へ移行しDAT定量に影響を与えたとされており，ヒトにおける影響の程度が問題視されていた．これに関して今回，小脳を含むすべての脳領域においてTACが最後まで減衰傾向を続けたことと，V_T の time stability 解析にて60分値と90分値の誤差が10% 以下であったことから，測定への影響はあったとしても少ない可能性が高いと結論した．
線条体においても中脳においても，Indirect kinetic 法とSRTM法による BP_{ND} が良い相関を示し，さらに60分および90分のデータを用いた BP_{ND} も良い相関を示したことから，動脈データが不要なSRTM法で，60分間という比較的短時間で，線条体および中脳におけるDATの定量が可能であることが示唆された．これらの点で ^{18}F–FE–PE2I は，^{11}C–PE2I や，ヒトで報告されている既存の ^{18}F 標識のDAT用リガンドに比べて優れていると考えられる．また ^{18}F は ^{11}C に比べて半減期が長く（110分 vs. 20分）サイクロトロンのない施設での使用も期待できる．

〈結論〉
^{18}F–FE–PE2I はヒトにおけるDAT測定に有用なリガンドであることが示された．60分のスキャン時間で，線条体においても中脳においても，非侵襲的なSRTM法で定量が可能である．また定量に対する脂溶性代謝物の影響は少ないと考えられた．

鄭　秀 博士（医学）　Xiu Aheng

学位記番号　／甲第1878号　　学位授与　／平成25年3月31日
研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）器官システム制御学系専攻
学位論文　／Suppression of *Hath1* Gene Expression Directly Regulated by Hes1 Via Notch Signaling Is Associated with Goblet Cell Depletion in Ulcerative Colitis（潰瘍性大腸炎ではNotchシグナル下のHes1が直接Hath1遺伝子発現を抑制し杯細胞減少を引き起こす）
Inflammatory Bowel Diseases　第17巻第11号　2251-2262頁　平成23年11月発表
論文審査委員／主査：中村　正孝　　副査：杉原　健一　　副査：江石　義信

〈論文要旨〉
ヒトの腸管上皮細胞の分化プログラムにおいて転写因子Atoh1/Hath1は重要な役割を果たす．今までの研究ではNotchシグナルが腸管上皮細胞の分化を抑制することは示しているがその機構については明らかにされていない．この研究ではヒトの腸でHath1遺伝子発現の抑制が腸管上皮の未分化を維持していることを明らかにしている．

〈緒言〉
腸管上皮細胞は生涯にわたり絶えず更新し，腸のクリプトの適切な構造と機能を維持しており，この過程には細胞の分化誘導と増殖の停止が高度に協調されている．腸管上皮細胞形成における分化システム制御の異常は大腸癌，クローン病や潰瘍性大腸炎などの腸疾患を引き起こす．

最近我々は潰瘍性大腸炎でNotch細胞内ドメイン（NICD）の異常発現が杯細胞減少を引きこすことを明らかにし，ヒト腸管上皮細胞におけるNICDの発現が杯細胞の表現型を抑制することを証明した．そこでAtoh1発現はNocthシグナルによって制御され，クリプト細胞の腸管上皮細胞系列決定を制御することが予想された．

しかし，ヒト腸管におけるHath1遺伝子発現機構は不明であり，Hath1遺伝子プロモーターについてもこれまで解析されていない．また，潰瘍性大腸炎で杯細胞の欠損は腸管上皮細胞のHath1発現によって影響されるかどうかも不明である．今回の研究ではNotchシグナル亢進によるHes1の発現増加がHath1の5’プロモーター領域のHes1結合部位に直接結合し，Hath1遺伝子の発現抑制することを明らかにした．さらに潰瘍性大腸炎ではHes1の発現増加とHath1の3’エンハンサー領域に作用するCDX2の発現減少がHath1遺伝子発現を抑制し，その結果杯細胞が欠損することを示した．

〈方法〉
培養細胞：
分泌系の分化形質を有するヒト大腸上皮由来細胞株LS174Tにテトラサイクリン誘導性発現系を構築し，それぞれNotch1細胞内ドメイン，HES-1，HeyLを誘導性に発現しうる細胞株を樹立した．
RT-PCR：
RNAをTrizol reagent（Invitrogen）にて抽出し，1μgRNAからcDNAを作成した．定量的PCRにより発現解析を行った．
Transient transfection and Reporter assays：
リポフェクションにより10ngのpRL-tkプラスミドと共に1μgのリポーター・プラスミドを遺伝子導入した．12h培養後，細胞を回収し，ルシフェラーゼ活性を測定した．
siRNA and GSI simultaneous experiment：
Hath1遺伝子発現抑制のため，LS174T細胞に20nMのHath1 siRNAを導入した．またNotchシグナル抑制のため，1μMのγ-secretase阻害剤を添加し，72h後に細胞を回収，解析を行った．
CHIP ASSAY：
HES1をドキシサイクリン（100ng/ml）で発現誘導し12h後に細胞を回収，超音波処理で500bpサイズに切断したゲノムにcontrol antibody，抗HES1抗体，抗ヒストン3抗体にてそれぞれ免疫沈降を行い，Hath1ゲノム各領域のPCRを行った．

〈結果〉
最初にヒト大腸癌細胞株LS174T細胞を用いてNotchシグナルによるHath1遺伝子の発現制御を解析した．Notchシグナル亢進により，杯細胞形質のMUC2の減少と同時にHath1遺伝子の減少を認めた．一方でNICDの発現増加によってもKlf4の遺伝子発現は変化しなかった．そこでNotchシグナルの下流のHesファミリーの中でどの遺伝子がHath1発現制御に関与するか調べたところ，HeyLではなくHes1だけがHath1とMUC2の発現を抑制した．

さらにNocthシグナルにおけるHes1の寄与度を解析するため，γ-secretase阻害剤の添加によるNocthシグナル抑制状態でHes1のみを発現させると，Hath1発現は定常状態と同じレベルまで抑制され，同時にMUC2発現も抑制された．以上よりNotchシグナルの下流として，Hes1のみを介してHath1発現を抑制することが示唆された．

Hes1によるHath1発現抑制を解明するため，Hath1ゲノムを解析したところ，Hath1の5’プロモーター部位にはHes1の結合サイトが3ヵ所存在し，Hath1の3’側にはエンハンサー領域が存在するがその領域内にも一ヵ所Hes1結合サイトが存在する．まず5’プロモーターのみを組み込んだレポーター解析を行ったところ，Hes1発現によりHath1転写活性は抑制されたが，Hes1結合サイト3カ所全てを欠失させるとその転写抑制は解除された．また2番目の結合サイトだけの欠失でも同様に転写抑制が解除されることから，この部位にHes1が結合しHath1の転写を抑制することが示唆された．

さらに3’側のHes1結合サイトの影響を解析するため，3’側の配列も組み込んだレポーター解析を行ったところ，5’の結合サイトのみの欠失だけで転写抑制は解除されることから，3’側のHes1結合サイトはHath1発現調節に関与しないことが示唆された．

そこでHath1ゲノム上のHes1結合部位を解析するためにCHIP assayを行ったところ5’側のHes1結合サイトにHes1が結合することが確認された．一方3’側のHes1結合サイトにはHes1結合が確認出来ないことから，5’側に直接結合し転写活性を抑制することが示唆された．

Hath1遺伝子発現抑制因子と促進因子のバランスを調べるため，マウスでAtoh1遺伝子発現を増加させるCDX2を解析したところ，

CDX2はNotchシグナルに依存しなかった．CDX2はHath1のどの領域に影響するかを調べたところ，Hath1の5' プロモーター領域ではなく3' エンハンサー領域で転写活性を増加させた．またHes1はCDX2によるHath1の3' エンハンサー領域での転写活性を完全に抑制できなかった．つまりHath1遺伝子発現はHes1とCDX2発現バランスによって制御されることが示唆された．

実際に潰瘍性大腸炎ではこのような現象が起こっているかを免疫組織化学染色で調べたところ杯細胞の減少しているところでHes1陽性細胞の増加とHath1，CDX2陽性細胞の減少を認めました．つまり潰瘍性大腸炎ではNotchシグナル亢進によるHes1発現増加とNotchシグナルに関わらないCDX2の発現減少がHath1遺伝子発現を抑制し杯細胞の減少を引き起こすことを示唆した．

〈考察〉

今回の研究で初めてHes1が直接Hath1遺伝子発現を抑制することを明らかにした．さらに潰瘍性大腸炎ではCDX2発現減少とともにHes1がHath1発現を抑制し杯細胞の減少を引き起こすことを示唆した．

さらに私たちはNotchシグナル下のHes1がHath1の5' プロモーター領域に直接結合することでHath1の発現を抑制し杯細胞分化を抑制することを見つけた．私たちはHes1が完全にHath1の3' 領域で抑制すると予想していたが，CDX2によるHath1の発現増加はHes1によって解除されなかった．さらに，CDX2の発現はNocthシグナルに影響しないことからCDX2とHes1はそれぞれ非依存的にHath1遺伝子を制御していることが示唆された．したがって，Nocthシグナル下のHes1によるHath1の抑制は不十分であり，Hath1の転写活性はCDX2およびHES1の発現バランスによって制御されることを示している．

潰瘍性大腸炎では炎症粘膜中のHath1の発現は報告されたが，杯細胞形質およびHath1発現の間の相関性は解明されていない．

そこで今回の研究は，潰瘍性大腸炎でHath1欠損によって引き起こされた杯細胞消失はHES1発現増加だけでなくCDX2発現減少によるものであることが示唆された．CDX2が潰瘍性大腸炎粘膜の中で抑制されることは報告されたがCDX2が食道と胃の炎症で増加し，大腸の炎症でなぜ抑制されているか分かっていない．いずれにしても，腸管上皮細胞でのCDX2発現制御を潰瘍性大腸炎の杯細胞消失のメカニズムの立場から解明する必要がある．

Hes1とCDX2の間の協調はHath1遺伝子発現を制御するのに重要であり潰瘍性大腸炎の杯細胞の形成に影響する．杯細胞消失に関連する潰瘍性大腸炎のあるいは他の炎症性腸疾患の様々な段階のHath1発現制御の詳細な解析は，様々なサイトカインおよび炎症性細胞浸潤下の炎症状態でHath1減少を理解するのに重要である．最後に，Hath1の抑制は潰瘍性大腸炎の杯細胞消失に関わっており，杯細胞消失の解明は潰瘍性大腸炎の新規治療法の開発のために期待される．

〈結論〉

Notchシグナル亢進によるHes1の発現増加が，直接Hath1の5' プロモーター領域のHes1結合部位に直接結合し発現抑制をすることを示した．さらに，潰瘍性大腸炎ではHes1の発現増加とCDX2の発現低下がMUC2遺伝子発現を抑制し，杯細胞減少を引き起こすことを示した．

大園　瑛子 博士（医学）　Ozono Eiko

学位記番号　／甲第 1879 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 31 日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）生体環境応答学系専攻

学位論文　／Tumor suppressor *TAp73* gene specifically responds to deregulated E2F activity in human normal fibroblasts（癌抑制遺伝子 *TAp73* はヒト正常線維芽細胞において制御を外れた E2F 活性に特異的に応答する）
Genes to Cells　第 17 巻第 8 号　660–672 頁　平成 24 年 8 月発表

論文審査委員／主査：北嶋　繁孝　　副査：三浦　雅彦　　副査：小崎　健一

〈論文要旨〉

癌抑制遺伝子産物 RB の標的である転写因子 E2F は，細胞増殖を促進する遺伝子と癌化抑制に関わる細胞増殖を抑制する遺伝子の双方を活性化し得る．細胞増殖において相反する作用を持つ遺伝子を E2F が制御仕分ける機構は不明である．本研究では，癌抑制遺伝子 *TAp73* が E2F 反応性エレメント ERE73 を介して，代表的な癌性変化である RB の機能不全によって生じた「RB の制御を外れた E2F 活性」によって，特異的に活性化されることを明らかにした．更に ERE73 が癌細胞株で活性化されており，正常な増殖細胞では活性化されていなかったことから，RB の制御を外れた E2F 活性は癌細胞特異的に存在する可能性が示唆された．以上から E2F は，正常な増殖刺激と癌性変化を識別して増殖関連遺伝子と癌抑制遺伝子の発現を仕分けていると予想される．

〈緒言〉

癌性変化に伴う異常な増殖刺激は，制御を外れた細胞増殖を促進し，癌化に貢献する．元来細胞には，異常な増殖刺激を感知して細胞周期停止やアポトーシスを誘導する癌化抑制機構が備わっている．RB 経路と p53 経路に代表されるこれらの癌化抑制機構が破綻し，制御を外れた細胞増殖を抑制しきれなくなると細胞は癌化すると考えられる．これより，内在性の癌化抑制機構の破綻によって生じた変化は癌細胞特異的なものと考えられる．

E2F は増殖刺激によるサイクリン依存性キナーゼ（CDK）の活性化を介して RB が不活性化されると活性化され，細胞増殖を促進する遺伝子を活性化することで細胞増殖に必須の役割を果たす．一方，E2F は細胞増殖に不都合な癌抑制遺伝子も活性化し得る．申請者らの報告より，癌性変化のひとつである RB の機能不全によって<u>E2F が制御を外れて活性化</u>されると，増殖刺激で<u>生理的に活性化された E2F</u> では活性化されない癌抑制遺伝子 *ARF* や CDK インヒビター *p27*^{Kip1} 遺伝子を活性化し，p53 経路と RB 経路の活性化に貢献することが分かった．

p53 ファミリーメンバーの 1 つである TAp73 は，p53 に独立してアポトーシスを誘導できる転写因子で，癌細胞株を用いた実験から E2F1 の直接の標的であることが報告されていた．しかし正常細胞において，RB の機能不全によって生じた<u>RB の制御を外れた E2F</u> と，増殖刺激で活性化された<u>生理的な E2F</u> によって，*TAp73* 遺伝子が如何に制御されているかは明らかにされていなかった．そこで本研究では，ヒト正常線維芽細胞 HFF における制御を外れた E2F と生理的な E2F に対する *TAp73* 遺伝子の反応性を調べることで，RB の制御を外れた E2F の癌化抑制における更なる役割の解明を試みた．

〈方法〉

癌性変化に対する正常細胞の反応を調べるために，主にヒト正常線維芽細胞 HFF を実験に用いた．RB の制御を外れた E2F 活性を生じさせるためには，E2F1 の過剰発現と，RB に結合して不活性化するアデノウイルス E1a または RB をノックダウンする shRNA（shRB）による RB の強制的な不活性化を用いた．後者は，内在性の RB の制御を外れた E2F 活性を生じさせる．生理的に E2F を活性化させる増殖刺激には血清刺激を用いた．mRNA の発現量は RT-PCR，プロモーター解析はレポーターアッセイ，タンパク質の発現はウエスタンブロット，細胞内遺伝子への転写因子の結合はクロマチン免疫沈降法（ChIP アッセイ）によって調べた．

〈結果〉

HFF に組換えアデノウイルスを用いて E2F1，E1a，shRB を各々導入したところ，*TAp73* 遺伝子の著しい発現誘導が認められた．しかし，血清刺激では *TAp73* 遺伝子の発現誘導は全く認められなかった．更に，E2F1 の過剰発現および RB の強制的な不活性化によって TAp73 の標的遺伝子（*NOXA*，*p21*，*PUMA*，*14-3-3σ*）の発現誘導が認められたが，血清刺激では認められなかった．一方で，細胞増殖の促進に関わる E2F 標的の *Cdc6* 遺伝子は，RB の制御を外れた E2F と血清刺激の両者によって発現誘導が認められた．これらの制御は，TAp73 プロモーター等を用いたレポーターアッセイによって再現された．以上から，*TAp73* 遺伝子は RB の制御を外れた E2F 活性によって特異的に活性化されると考えられる．

以前の報告に基づき，RB の制御を外れた E2F 活性によって DNA 損傷が誘導され，それによって TAp73 プロモーターが活性化される可能性を検討した．DNA 損傷誘発剤のエトポシドで HFF を処理した時，p53 反応性プロモーターは活性化されたが，TAp73 プロモーターは全く活性化されなかった．更に DNA 損傷の指標である γH2A.X の量をウエスタンブロットで調べたところ，エトポシド処理で検出されたのに対し，RB の制御を外れた E2F 活性を生じさせた時にはほとんど検出されなかった．以上から，*TAp73* 遺伝子を活性化する E2F 活性は，DNA 損傷で誘導された E2F 活性ではなく，RB の制御を外れた E2F 活性であると考えられる．

TAp73 プロモーターの種々の変異体を作成して検討した結果，4 個の E2F 反応性エレメント（<u>E</u>2F <u>R</u>esponsive <u>E</u>lement of TAp<u>73</u> promoter；ERE73）を同定した．ERE73 は，E2F1 の過剰発現と E1a による活性化が認められ，血清刺激では全く活性化が認められなかった．更に，4 個の ERE73 全てに点変異を導入した完全長 TAp73 プロモーターは，E2F1 の過剰発現と E1a に対する反応性がほぼ失われていた．また ChIP アッセイにおいて，*TAp73* 遺伝子の ERE73 を含む領域に E2F1 の過剰発現または E1a によって誘導された RB の制御を外れた E2F1 の結合が認められ，血清刺激由来の生理的な E2F1 の結合は認められなかった．以上から，TAp73 プロモーターは ERE73 を介して RB の制御を外れた E2F 活性と生理的な E2F 活性を識別していると考えられる．

レポーターアッセイで TAp73 プロモーターを活性化する活性化型の E2F ファミリーメンバーを調べたところ，E2F ファミリーメンバーの中で特にアポトーシス誘導に重要と考えられている E2F1 によって劇的に TAp73 プロモーターが活性化されることが分かった．増殖関連遺伝子の発現に重要と考えられている E2F3 による TAp73 プロモーターの活性化ほとんど認められなかった．E2F1 と E2F3 の中間の性質を持つと考えられている E2F2 では，TAp73 プロモーターの活性化が若干認められた．

ERE73 および TAp73 プロモーターの反応性を指標にして，癌細胞株と正常な増殖細胞に RB の制御を外れた E2F 活性が存在する

か否か検討した．3種類の*RB1*欠損癌細胞株に外来性RBを再導入すると，ERE73およびTAp73プロモーターの活性の抑制が認められた．この抑制は増殖中のHFFでは認められなかったことから，RBの制御を外れたE2F活性は，*RB1*欠損癌細胞株に特異的に存在すると考えられる．また*RB1*欠損癌細胞株にRBを再導入すると，内在性の*TAp73*遺伝子だけでなく，TAp73標的の*NOXA*遺伝子の発現抑制も認められ，ChIPアッセイではTAp73プロモーターに結合しているE2F1の量の減少が認められた．これより*RB1*欠損癌細胞株には，臓器の由来を問わずRBの制御を外れたE2F活性が存在することが予想される．

〈考察〉

*TAp73*遺伝子は生理的なE2Fでは活性化されないERE73を介して，RBの制御を外れたE2F活性に特異的に応答すると考えられる．RBの制御を外れたE2Fは，細胞が備え持つ主要な癌化抑制機構（p53経路とRB経路，TAp73経路）を活性化することから，癌化抑制おいてに中心的な役割を果たすと予想される．

RBの制御を外れたE2F活性は，増殖中の正常線維芽細胞では認められず癌細胞株特異的に認められことから，癌細胞と正常細胞を識別する指標として応用できる可能性が期待される．

〈結論〉

ヒト正常線維芽細胞において癌抑制*TAp73*遺伝子は，癌細胞株に特異的に存在するRBの制御を外れたE2F活性によって特異的に活性化される．

林　賢子 博士（医学）　Hayashi Satoko

学位記番号　／甲第 1880 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 31 日

研究科専攻　／東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科（博士課程）顎顔面頸部機能再建学系専攻

学位論文　／Salvage radiotherapy after radical prostatectomy：outcomes and prognostic factors especially focusing on pathological findings（前立腺癌全摘術後の救済放射線治療：治療成績と予後予測因子に関する検討）
Journal of Radiation Research　第 53 巻第 5 号　727-734 頁　平成 24 年 9 月発表

論文審査委員／主査：江石　義信　　副査：久保田　俊郎　　副査：三浦　雅彦

〈論文要旨〉

限局性前立腺癌に対して前立腺全摘術後に生化学的再発をきたした 41 人の患者に救済放射線治療を施行した．治療成績および生化学的再発の危険因子を遡及的に検討した．病理学的所見と救済放射線治療の治療成績とに関連性が認められた．とくにリンパ管浸潤は生化学的再発の予後不良因子として強い有意性を認めたが，血管浸潤は有意な予後不良因子と判定されなかった．

〈緒言〉

前立腺癌は男性で最も多い悪性腫瘍である．前立腺全摘術は限局性前立腺癌に対する有力な根治的治療法であるが，術後 10 年以内に約 3 分の 1 の患者が生化学的再発をきたす．放射線体外照射は前立腺全摘術後の救済治療や補助治療に用いられ，予後を改善することが知られている．

これまで予後予測因子として，臨床的因子では術前の前立腺特異抗原（PSA）値，放射線治療前の PSA 値，PSA 倍加時間，全摘術後救済放射線治療までの期間，総線量など，病理学的因子ではグリーソンスコア，切除断端浸潤，精嚢浸潤，被膜外浸潤，脈管浸潤，神経線維周囲浸潤などが報告されてきた．

本研究では，臨床的限局性前立腺癌に対する救済放射線治療の治療成績を検討し，予後予測因子を明らかにすることを目的とした．とくに病理学的所見に注目し，これまでリンパ脈管浸潤として扱われてきた所見をリンパ管浸潤と血管浸潤とに鑑別し，それぞれ予後予測因子として検討した．

〈方法〉

2000 年から 2006 年の間，臨床的限局性前立腺癌に対して前立腺全摘術施行後，PSA 上昇により生化学的再発と診断され救済放射線治療を施行した 41 人の患者を対象とした．前立腺摘出標本による病理学的病期分類は，18 人が T2，22 人が T3，2 人が N1，1 人が術前ホルモン治療により癌細胞の残存を認めなかった．41 人すべての患者の前立腺床に対して 10MVX 線による原体照射を，総線量 60-70Gy，26-30 分割で施行した．治療成績として各種生存率をカプラン・マイヤー法により解析した．また単変量および多変量解析を用いて生化学的再発の予後予測因子を解析した．放射線治療後の生化学的再発は 1999 年 ASTRO コンセンサスに基づいて判定した．

〈結果〉

救済放射線治療後 1 年以内に 18 人の患者が生化学的再発をきたし，全観察期間内に 23 人が生化学的再発，1 人が局所再発，2 人が遠隔転移をきたした．5 年臨床的無再発生存率は 87%，5 年生化学的無病生存（bDFS）率は 38% であった．

予後予測因子の検討では，生化学的再発との関連が有意であった因子は，多変量解析において高グリーソンスコア，切除断端陰性，精嚢浸潤陽性，リンパ管浸潤陽性，血管浸潤陰性，放射線治療前 PSA 値，放射線処方線量，照射野面積であった．これらの中でリンパ管浸潤陽性は予後不良因子として特に強い有意性を示した．単変量解析やカプラン・マイヤー解析においても高グリーソンスコア，精嚢浸潤陽性，リンパ管浸潤陽性は有意な予後不良因子であった．

〈考察〉

今回の検討により，高グリーソンスコア，精嚢浸潤陽性，リンパ管浸潤陽性は最も信頼性の高い予後不良因子と考えられた．切除断端陰性と放射線治療前 PSA 値も信頼性の高い因子と考えられた．高グリーソンスコア，精嚢浸潤陽性，切除断端陰性，放射線治療前 PSA 値が予後不良因子となることはこれまでの報告とも一致していた．

これまでリンパ管浸潤は血管浸潤を併せてリンパ脈管浸潤として扱われ，リンパ脈管浸潤が予後不良因子であるとする報告と，そうではないという報告とがあった．今回，リンパ脈管浸潤をリンパ管浸潤と血管浸潤とに鑑別して分析したところ，リンパ管浸潤陽性は生化学的再発の予後不良因子として強い有意性を認めたが，血管浸潤陽性は有意な予後不良因子と判定されなかった．この結果は，これまでのリンパ脈管浸潤に関する報告の相違を解明する一助となると考えられた．

救済放射線治療の総線量は 1999 年 ASTRO コンセンサスパネルで 64Gy 以上が推奨されているものの，至適線量は明らかとなっていない．今回，多変量解析により総線量の増加は予後の改善につながる可能性が示唆された．また照射野面積の拡大は有意性が弱いながらも予後不良因子と判定されたが，今回の研究対象は照射野が前立腺床に限られたものであり，骨盤照射のような照射野拡大の有用性については今後の検討が必要と考えられた．

放射線治療前 PSA 値は有意な予後予測因子として以前より知られているが，生化学的再発の PSA カットオフ値は 0.2ng/ml～2.5ng/ml と定まっていない．今回，放射線治療前 PSA 値が 0.2ng/ml 未満の群と 0.2ng/ml 以上の群では bDFS に有意差がみられた．さらにリンパ管浸潤陽性である患者 17 名のうち，放射線治療後に生化学的再発をきたさなかった 3 人全員の放射線治療前 PSA 値が 0.21ng/ml 以下であった一方，残り 14 人の生化学的再発をきたした患者のうち 12 人の放射線治療前 PSA 値が 0.2ng/ml 以上であった．PSA 値 0.2ng/ml 未満での早期照射が有効である可能性が示唆された．

救済放射線治療後の生化学的再発は，腫瘍細胞が照射を受けたにも関わらず照射野内に残存しているか，放射線治療時に既に照射野外に微小転移をきたしていた可能性を示唆する．病理学的所見において高グリーソンスコア，精嚢浸潤陽性，リンパ管浸潤陽性などの予後不良因子がみられた場合，総線量の増加，骨盤を含む照射野の拡大，追加照射，術後早期の補助放射線治療などが有効であるかもしれない．

〈結論〉

　病理学的所見と前立腺全摘術後の救済放射線治療の治療成績との関連性が認められた．リンパ管浸潤は生化学的再発の予後不良因子として強い有意性を認めたが，血管浸潤は有意な予後不良因子と判定されなかった．

編集後記

お陰様をもちまして，新生『お茶の水醫學雑誌』は，2年目を迎えることができました．初めに，一年間，厳しくも温かくお見守り下さいました関係者の皆様に心より御礼を申し上げたいと存じます．最初はご心配をいただくこともありました雑誌へのご投稿ですが，多くの方々からのご原稿をいただき，充実した内容を保つことができました．

素人集団故の危うさとエネルギーを併せ持ち，全力疾走をしてきた感がございますが，2年目に入りました今年は，エネルギーはそのままに安定感もある雑誌作りを目指してまいりたいと思います．

総説に関しましては，既に，本学名誉教授の先生を始め，学内外でご活躍の先生方にお願いをして，より一層の充実を図ってまいりたいと考えております．又，第60巻4号より掲載を始めましたプレスリリース論文は，本学ホームページで紹介がありました，プレスリリースを手軽に詳しく読むことのできる貴重な機会として好評をいただいております．今後は，本学出身者の海外を含む外部での活躍もプレスリリース論文として掲載できるよう力を入れて行く所存です．

原著論文は，査読の時間との関係もあり，必ず毎回掲載はできておりませんが，現時点でも何人もの先生方がご執筆中で，お問い合わせも多くいただいております．

症例報告論文は勿論引き続き投稿をお待ちしております．関連病院を対象に施設会員制度ができ，ご勤務されている施設を通して投稿していただき易い環境を整えました．個人での投稿は敷居が高いと考えられがちですが，この制度を活用いただければ幸いです．

プレスリリース論文と同じように，第60巻4号から始まりました新企画「剖検症例紹介」も，多くの反響をいただいております．毎回大量の原稿をご執筆いただく必要があり，担当の先生方にはご負担をお願いしておりますが，雑誌が出来上がったときの達成感を糧に毎回ご執筆いただいております．

学位論文合格者の論文紹介ですが，公開を希望されない方以外は，論文を紹介するシステムに変更いたしましたので，より多くの論文を紹介できるようになりました．

印刷技術上からも，紙面が綺麗に読みやすくなったと，お褒めの言葉を多くいただきました．写真を多く掲載し，できる限りカラー刷りを取り入れたことで，視覚的にも飛躍的に分かりやすい紙面になりました．

昨年同様，皆様からのご意見，ご批判等を励みに，2年目の新生『お茶の水醫学雑誌』をさらに育てて行こうと編集委員一同気持ちを引き締めております．

末筆となりましたが，『お茶の水醫学雑誌』を発行するにあたり，査読をして下さった先生方，資金面でのご協力をいただいております和同会関係者の皆様，資金面，雑誌の配送等でご支援をいただいておりますお茶の水医科同窓会関係者の皆様に，この場を借りて心より御礼申し上げます．

平成25年2月　編集長　江石義信

お茶の水醫學雑誌投稿規程

1. 投稿は原則としてお茶の水医学会会員に限る．
2. 日本語で書かれた学位申請論文，および総説，原著論文，症例（事例）報告，資料，教室研究業績等を受け付ける．
3. 論文の採否は編集委員会が決定する．掲載は採択順とする．特別掲載については別途考慮する．
4. 原稿は，A4 の用紙を用い，ワードプロセッサーを用いて作成する．原文と複写 2 部，計 3 部を投稿する．原稿の構成は表紙，要旨，本文，引用文献表，図の説明，表，図の順序とする．
   1）表紙：分類，論文題名，著者名，所属，連絡先，別冊希望部数を明記する．
   2）和文要旨：400 字以内で作成し（ダブルスペース），下に 5 語以内の key word を日本語と英語で付記する．
   3）英文要旨：300 語以内で作成する（ダブルスペース）．これに英文題名，ローマ字による著者名および所属名を付記する．なお英文については，native speaker による校閲済の証明を必要とする．この証明が無い場合には編集委員会が校閲を依頼し，その費用を別途著者に請求する．
   4）本文：ダブルスペースで作成する．新かなづかい，横書で原稿サイズは A4 判，文字サイズは 12 ポイントとする．改行は 1 字下げ，大見出しはⅠ. Ⅱ. Ⅲ.‥‥，中見出しは 1. 2. 3. ‥‥，小見出しはⅰ．ⅱ．ⅲ．‥‥，細見出しは a．b．c．‥‥とする．文中を欧文およびその仮名書きはできる限り避ける．
   なお省略語は初筆時に「正式名（省略語）」の形で記述することにより，それ以降用いても良い．
   5）文献表：引用文献は既刊あるいは掲載決定（要掲載証明）の著書，原著，総説に限る．本文中に引用順に 1），2），3）と番号を入れ，その順に整理する．
   ＊原著（雑誌名の省略は，医学中央雑誌および Index Medicus に準ずる.）
   例：1）　鈴木太郎，山田花子：糖尿病性神経障害の発生機序について．
   　　　　糖尿病　29：975–982,1986.
   　　2）Suzuki T, Yamada H: A study of mechanisms causing diabetic disorders of peripheral neurons. Diabetes 29：975–982, 1986.
   ＊著書（分担執筆）
   　引用文献の著者に関しては，3 名まで記述する．
   　和文では，4 名以下の方は，他．
   　英文では，4 名以下の方は，et al と表記する．
   6）図，写真，表
   　①そのまま縮小して印刷できる大きさ・画質の原画または表を本文とは別に作成する．
   　②図については，その上に図の番号を「図 1」，「図 2」のように記載する．なお図の説明は別紙にまとめて記載することとし，図番号，図の表題，図の説明文を和文で記載する．
   　③写真については，縮小印刷にも耐える鮮明な写真（デジタル写真の場合は十分な解像度で撮影した写真）として作成する．なおカラー写真の場合は別途費用を請求する．
   　④表については表番号，表題をまず記し，その下に表，表の下に表の説明を入れる．
5. 費用
   ①掲載料は 1 頁 12000 円とする．ただし編集委員会から依頼した原稿については徴収しない．
   ②別刷代は実費を著者が負担する．
   ③カラー図版がある場合はその印刷にかかる実費を著者が負担する．
   ④英文要旨の校閲を編集委員会から依頼する場合には，その費用を別途著者が負担する．

6. 症例における患者情報保護に関する指針
   社団法人日本病理学会より症例報告における患者情報保護に関する指針が，診断病理 vol.29 No.1 January 2012 に公表される．
   従って，以下の基準を順守のこと．

   ①患者の氏名，イニシャル，雅号は記述しない．
   ②患者の人種，国籍，出身地，現住所，職業歴，既往歴，家族歴，宗教歴，生活習慣・嗜好は，報告対象疾患との関連性が薄い場合は記述しない．
   ③日付は，記述せず，第一病日，3 年後，10 日前といった記述法とする．
   ④診断科名は省略するか，おおまかな記述とする（たとえば，第一内科の代わりに内科）
   ⑤既に診断・資料を受けている場合，他病名やその所在地は記述しない．
   ⑥顔面写真を提示する際には目を隠す．眼疾患の場合は，眼球のみの拡大写真とする．
   ⑦症例を特定できる生検，剖検，画像情報の中に含まれる番号などは削除する．

7. 施設会員
   お茶の水医学会の施設会員となっている病院に勤務する職員による投稿は，原則これを無料とする．又，二人以上の投稿があった場合も追加で料金を請求することはない．

東京医科歯科大学
お茶の水医学会

The Ochanomizu Medical Society
Tokyo Medical and Dental University, School of Medicine
Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo
Japan

お茶の水醫學雑誌　第 61 巻　第 1 号

発　行　　2013 年 2 月 20 日

編集権
発　行　　お茶の水医学会
会 長 湯浅 保仁

〒113-8519
東京都文京区湯島 1-5-45
東京医科歯科大学
人体病理学分野研究室内
TEL:03-5803-5172
ochamed.aps@tmd.ac.jp

印　刷　　理想社