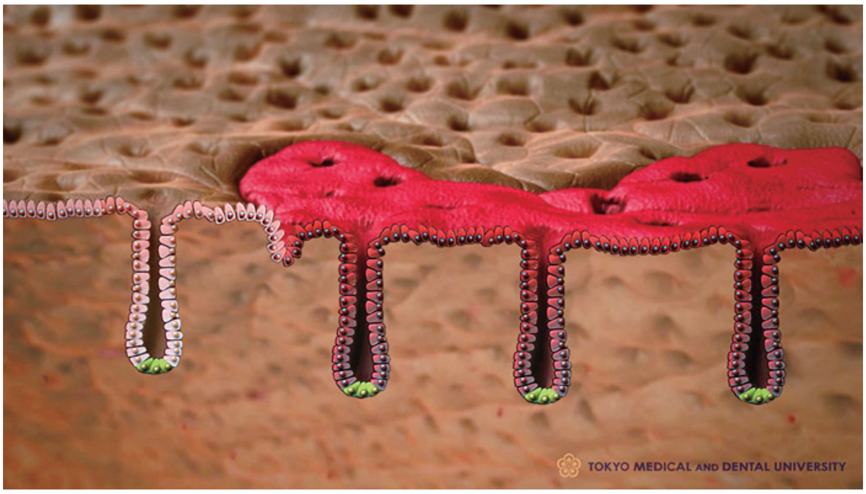
Vol.61

お茶の水醫學雑誌

Ochanomizu igaku zasshi

第61巻　第2号　2013年



東京医科歯科大学
お茶の水医学会

目　次

総　説

睡眠時無呼吸症候群の病態生理，診断，治療 …… 長谷川　誠　107

骨吸収抑制薬と顎骨壊死 …… 山口　朗　119

医療計画の効果と課題 …… 河原　和夫，菅河真紀子　129

プレスリリース研究

1 個の幹細胞から，傷ついた大腸の再生に成功 …… 中村　哲也　139

原　著

脳内温度分布を可視化する人体頭部数学モデルの構築
および脳模型モデルによる有用性の検討 …… 髙木　豊　147

剖検症例紹介

剖検症例から学ぶ疾病の転帰と病態生理 …… 163

お茶の水会医科同窓会第 26 回研究奨励賞，第 14 回田中道子がん研究奨励賞，第 15 回福岡臨床研究奨励賞選考について …… 197

学位論文紹介

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科医学博士学位論文紹介 …… 205

編集後記 …… 271

お茶の水醫學雜誌投稿規程 …… 272

Contents

Review article

Sleep apnea syndrome ; pathophysiology,
diagnosis and treatment …… Makoto Hasegawa　107

Anti-bone resorption drugs and osteonecrosis of jaw …… Akira Yamaguchi　119

Effectiveness and problems of medical care plan …… Kazuo Kawahara, Makiko Sugawa　129

Press release research

Functional engraftment of colonic epithelium expanded *in vitro*
from a single adult stem cell …… Tetsuya Nakamura　139

Original article

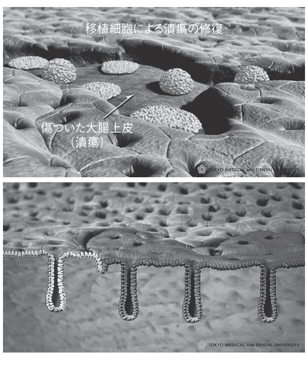
Construction of 3D-visualized mathematical models to human
head temperature distribution in the brain and study of
a availability with human head hard model …… Yutaka Takagi　147

Brief autopsy reports

Clinical course and pathophysiology of diseases
reviewed from autopsy cases …… 163

Research Promotion Award 2012 From TMDU Medical Alumni Association, Michiko Tanaka Cancer Research Promotion Award 2012 From TMDU Medical Alumni Association, Fukuoka Clinical Research Promotion Award 2012 From TMDU Medical Alumni Association
…… 197

TMDU PhD Thesis from Graduate School of Medicine …… 205



表紙の図

培養細胞移植による大腸傷害修復実験結果を示すイラスト概念図．単一幹細胞から培養した大腸上皮幹細胞（上段・緑）と非幹細胞（同・赤）を含む細胞群を移植すると，大腸粘膜傷害部（潰瘍）に生着し，上皮欠損部を被覆した．移植細胞はその後も幹細胞（下段・緑）として機能し，長期にわたり正常上皮を維持し続けることから（同・赤），培養上皮幹細胞を用いる消化管再生医療が理論上可能であることを示した．

お茶の水醫學雑誌　61：107-117（2013）

睡眠時無呼吸症候群の病態生理，診断，治療

長谷川　誠　前杏林大学医学部耳鼻咽喉科教授
前東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
歯科睡眠呼吸障害管理学講座主任

要旨：睡眠時無呼吸症候群（SAS）においては，睡眠中に繰り返し起こる無呼吸により睡眠の分断が生じ，その結果，日中の著しい眠気が引き起こされる．SASは閉塞型SASと中枢型SASに分けられるが，90% 以上は閉塞型SASである．閉塞型SASは主として咽頭腔の虚脱によって引き起こされる．一方，中枢型SASは呼吸筋による呼吸運動そのものが停止して起こる．咽頭腔の虚脱の原因としては肥満による咽頭腔の狭小化，小下顎症，舌の肥大，口蓋扁桃肥大，小児においては口蓋扁桃肥大に加えてアデノイドが主な原因となる．睡眠が分断されることによる日中の眠気のほかに，無呼吸によって生じる低酸素血症や高炭酸ガス血症による高血圧，不整脈，狭心症，心筋梗塞，心不全，脳血管障害などの循環器系への負担がある．未治療の重症のSAS患者では，健常者や治療を受けているSAS患者に比べて，致死的心血管障害の発生率は約3倍，非致死的心血管障害の発生率は5～6倍に達するといわれている．一方，SASは肥満を増強させる方向に働く可能性も示唆されており，糖尿病の増悪因子の一つとして考えられている．

SASの診断は終夜睡眠ポリグラフ検査により行われる．脳波，呼吸運動，動脈血酸素飽和度，筋電図などがモニターされる．治療としては，手術や，経鼻的持続陽圧呼吸療法（nCPAP），口腔内装置治療などが行われる．

Key words：睡眠時無呼吸症候群（SAS），閉塞型SAS，中枢型SAS，低酸素血症，肥満，心血管障害，糖尿病，終夜睡眠ポリグラフ検査，経鼻的持続陽圧呼吸療法（nCPAP），口腔内装置

Ⅰ．はじめに

睡眠時無呼吸症候群（sleep apnea syndrome：SAS）は睡眠中に断続的に呼吸が中断する疾患で，睡眠時無呼吸低呼吸症候群（sleep apnea-hypopnea syndrome：SAHS）とも呼ばれる．無呼吸に低呼吸が加えられ，“無呼吸低呼吸”とも呼ばれるのは，換気量が著しく低下する低呼吸（hypopnea）でも，呼吸が完全に停止する状態と同様の病態を引き起こすからである．睡眠中に呼吸が断続的に中断されると睡眠の分断が起こり，その結果，睡眠不足となり日中の著しい眠気が引き起こされる．そのために日常生活に著しい支障をきたし，時には重大な合併症を引き起こすことが知られている．SASの罹患率は人口の2～5%[1,2]といわれている．本稿においては，SASの病態生理，診断，治療について述べる．

連絡先：長谷川　誠　hasegawa.srrd@nifty.com

Ⅱ．発症の機序

1．閉塞型SAS

SASは，睡眠中の上気道の閉塞あるいは著しい狭窄により生じる場合がほとんどで，閉塞型睡眠時無呼吸症候群（obstructive sleep apnea syndrome：閉塞型SAS）と呼ばれている．SASの90% 以上はこの閉塞型である[3]．睡眠中に上気道の閉塞あるいは狭窄が生じると，無呼吸といびきが誘発される．いびきは閉塞型SASの特徴の一つである．上気道の狭窄によりいびきが発生し，閉塞により無呼吸が生じる（図1）．いびきの発生する個所と無呼吸を生じる個所は必ずしも一致はしないが，いびきは無呼吸の前段階で，無呼吸はいびきがさらに増悪した状態としてとらえることも可能である．閉塞あるいは狭窄が起こる上気道の部位は，概念的に①鼻腔，②アデノイド，軟口蓋，口蓋

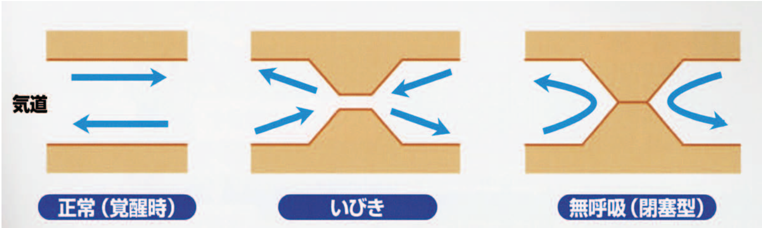


図 1．いびき，無呼吸の起こり方
上気道の狭窄と閉塞によって起こる．

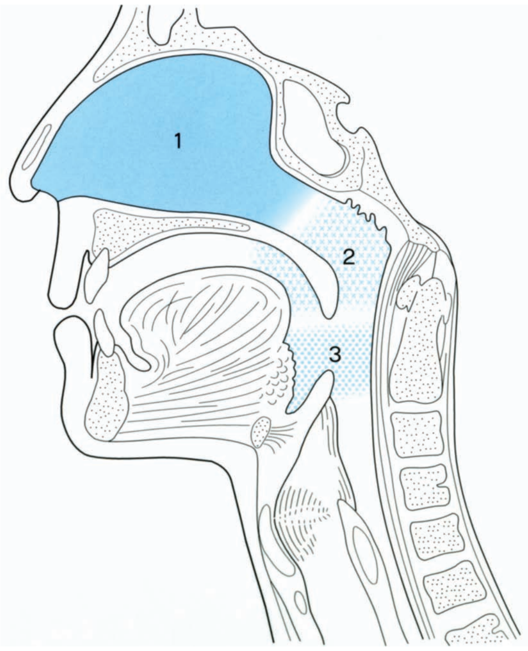


図 2．上気道の閉塞部位

扁桃領域，③舌根部である（図 2）[4]．鼻腔の気流路の閉塞すなわち鼻閉が直接 SAS を引き起こすことは少ないといわれている．鼻閉による SAS の症状は一般的に軽微であるが，睡眠中の鼻呼吸は睡眠の質に大きな影響を与えるので，睡眠中の鼻閉の有無は SAS の病態を考えるうえできわめて重要である．

鼻腔以外の領域②，③では，ほとんどの場合連合して閉塞，狭窄が起こり，咽頭腔の虚脱（pharyngeal collapse）が引き起こされる（図 3）．

中高年にみられる閉塞型 SAS においては，咽頭腔の虚脱は，睡眠中の咽頭筋の筋緊張低下や粘膜下の脂肪組織蓄積により引き起こされるといわれている．Molina ら（2011）[5] は閉塞型 SAS の咽頭筋の組織学的検討で，筋線維の収縮活動の低下を示唆する所見がみられたと報告している．中高年層に咽頭腔の虚脱が起こりやすくなる理由の一つに，咽頭筋・筋線維の収縮活動の経年性低下があるかもしれない．

小児の SAS 患者では，口蓋扁桃の肥大に咽頭扁桃の肥大（アデノイド）が加わり，咽頭腔が構造的に狭小化している場合が多い（図 4）．狭くなっている咽

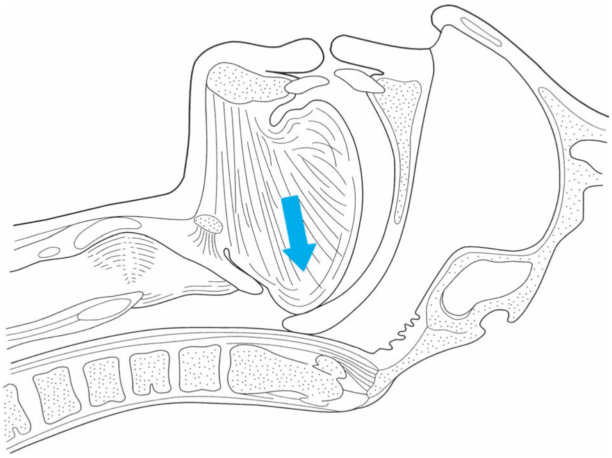
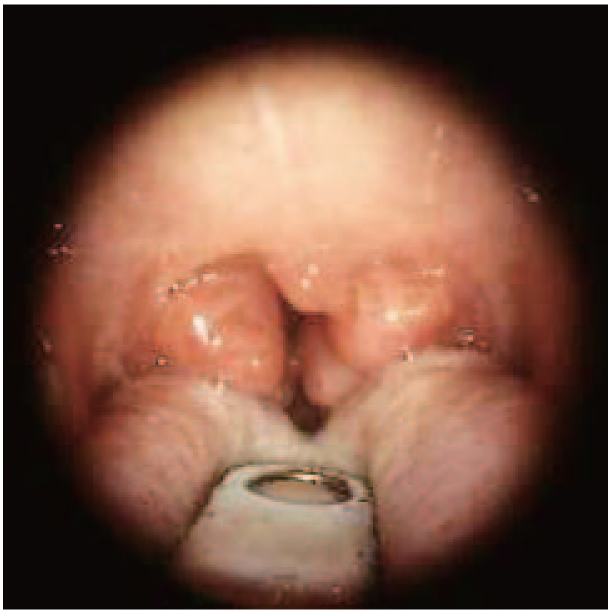


図 3．典型的な無呼吸の起こり方（咽頭腔の虚脱）

頭腔が睡眠中にさらに狭くなり SAS が誘発される．また顔面骨格の異常によって閉塞型 SAS が引き起こされることもある．Treacher Collins 症候群や Pierre Robin 症候群などはその典型例であり [6,7]，小下顎症が顕著である．小下顎症の場合には，口腔内容積に占める舌の体積が相対的に大きく，睡眠時に舌が後方に落ち込んで咽頭腔を塞ぎ，閉塞型 SAS を引き起こす．軽度の小下顎症であっても閉塞型 SAS は引き起こされる．小下顎症による閉塞型 SAS は，小児に限ったことではなく，成人にも少なからずみられる．成人では，小下顎症でなくてもしばしば舌の肥大がみられ，この場合，口腔内容積に比べて舌の容積が同様に相対的に大きくなるので，閉塞型 SAS を引き起こしやすい（図 5）．

中高年の閉塞型 SAS の発症には肥満も大きく関与している．わが国の閉塞型 SAS 患者の約 70% に肥満があるといわれている．わが国では，BMI（body mass index：体重 kg/身長 m の二乗）が 25 以上を示す場合肥満とされているので，わが国の閉塞型 SAS 患者の約 70% は BMI が 25 以上であると考えてよい．

肥満により粘膜下に脂肪組織が沈着し，咽頭を狭くしているといわれているが，それに加えて肥満は肺の機能的残気量の低下も引き起こす [8]．それはとくに仰臥位において著しい．肥満による換気能の低下や酸素消費量の増大，呼吸努力の増加，過剰な炭酸ガスの蓄



a. 内視鏡

b. X 線像

図 4. 小児の口蓋扁桃肥大とアデノイド

積などが引き起こされる．一方，閉塞型 SAS 患者では，たとえば，同じ 30 秒間の呼吸停止が起こっても，BMI の値が大きい人ほど動脈血酸素飽和度の低下が著しいことが明らかになっている[9]．肥満になればなるほど咽頭腔の虚脱が起こりやすく，無呼吸の持続時間も長くなり，同じ持続時間の無呼吸であっても酸素低下の値が大きくなるという事実は，肥満がいかに SAS の病態に大きな影響を与えているかを示すものである．

著しい肥満によって引き起こされる特殊なタイプの SAS として，肥満性低換気症候群（obesity hypoventilation syndrome）がある[10]．このタイプは重症型の閉塞型 SAS と考えられている．肥満性低換気症候群はかつて Pickwick 症候群と呼ばれていたもので，この疾患名は，太った少年が登場する Charles Dickens（1836）の小説「Pickwick club」の名称に由来している．Burwell ら（1956）[11] は，著しい肥満，日中の傾眠，周期性呼吸，チアノーゼ，二次性赤血球増多症，筋の萎縮，右心肥大，右心不全を Pickwick 症候群の 8 徴候としてあげている．

鼻呼吸の閉塞型 SAS への関与については先に述べたが，鼻呼吸の重要性について少しつけ加えたい．鼻腔は本来の生理的な呼吸経路の最初の入り口であり，下気道である肺を守る働きをしている．嗅覚機能，吸入する空気への加温・加湿機能，フィルター機能（吸入される空気中の塵，花粉，ウイルス，細菌などを取り除く機能）などが知られているが，そのほかに吸気と呼気の気流に抵抗を負荷し，肺の呼吸運動を滑らかにする機能や，喉頭やその下方の下気道，皮膚，循環系，内分泌系などとの間の反射系の存在などがある．そして鼻には，さらに重要な機能がある．それは，鼻を取り囲んでいる副鼻腔から一酸化窒素（NO）が産生されていることである[12]．NO は副鼻腔から鼻腔を通って吸気とともに肺胞にいたり，肺の毛細血管を拡張させて酸素の体内への取り込みを増加させている．副鼻腔粘膜の表面には，NO を産生する酵素が豊富に存在するが，不思議なことに鼻腔の粘膜にはそれがほとんどみられない．睡眠時にスムースに鼻呼吸ができているかどうかは，酸素の体内への取り込みに大きくかかわっており，したがって鼻呼吸が睡眠の質に与え

図 5. 舌の肥大
舌が肥大化して顎歯列弓からはみ出している．

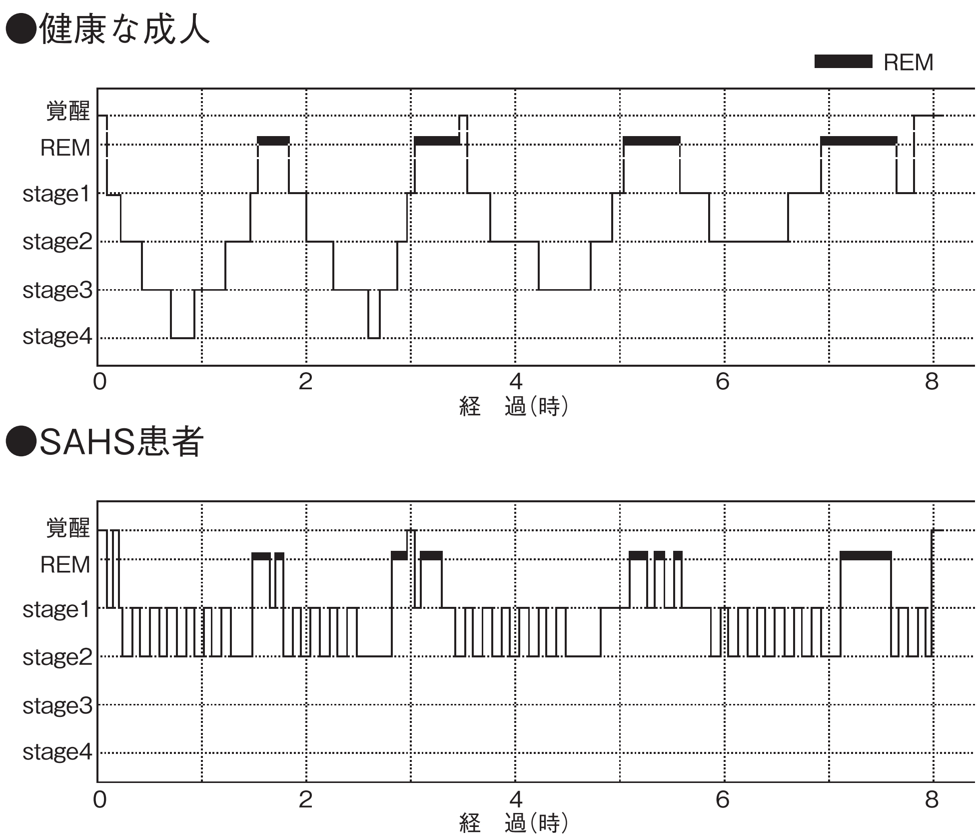


図 6.　夜間睡眠時の睡眠深度の変化

る影響は大変大きい．

2.　中枢型 SAS

呼吸筋の運動が中枢性に抑制され，その結果，呼吸運動が停止し無呼吸が生じる場合は，中枢型睡眠時無呼吸症候群（central sleep apnea syndrome：中枢型 SAS）と呼ばれる．独特な無呼吸パターンを示す Cheyne–Stokes 呼吸症候群（Cheyne–Stokes breathing syndrome：CSBS）も中枢型 SAS に属する．通常，個々の SAS 患者の睡眠中にみられる無呼吸のイベントは，閉塞型か中枢型のいずれかのタイプに偏っている場合が多いが，閉塞型，中枢型の呼吸イベントがほぼ半々近くに出現するケースもあり，このようなタイプをとくに複合型 SAS（complex SAS）と呼ぶことがある[3]．複合型 SAS においては，心不全を伴うケースが少なくない．一方，中枢性に低換気状態が引き起こされる病態がある．乳児や小児にみられる先天性中枢型低換気症候群（congenital central hypoventilation syndrome：CCHS）がそれに相当する[13]．“Ondine の呪い” とも呼ばれ，きわめてまれではあるが成人にもみられる．

さらに，進行性筋ジストロフィーや筋緊張性ジストロフィー，Charcot–Marie–Tooth 病などの進行性の神経筋疾患の患者の中には，その病態の進行に伴って睡眠呼吸障害が出現することがある[14, 15]．このような場合，咽頭筋の緊張低下や声門開大筋の機能低下により当初，閉塞型 SAS の所見がみられる場合があるが，中枢性に呼吸筋の運動が障害されることにより呼吸停止にいたる．

Ⅲ．SAS の症状

閉塞型 SAS，中枢型 SAS のいずれの場合も睡眠中に無呼吸が起こると，低酸素血症，高炭酸ガス血症が引き起こされる．動脈血酸素飽和度の低下，炭酸ガス濃度の上昇は無呼吸時間が長くなればなるほど顕著になるが，呼吸が正常に戻れば，動脈血中の酸素，炭酸ガスのレベルは正常に復する．閉塞型 SAS においては，睡眠が深くなると咽頭筋が弛緩し，咽頭腔の虚脱による無呼吸が生じ，低酸素血症，高炭酸ガス血症が引き起こされて覚醒反応が起こる．このような状態が睡眠中繰り返されるために睡眠が十分にとれなくなり，睡眠不足となって日中の著しい眠気が引き起こされる．睡眠はノンレム睡眠とレム睡眠よりなり，ノンレム睡眠は浅い睡眠の stage 1～深い睡眠の stage 4 までの 4 段階に分類される．閉塞型 SAS では深い睡眠ができず，睡眠深度が stage 3 に達することはまれで，stage 4 までにはいたらない（図 6）．また睡眠が分断される結果として，睡眠中に主として分泌されるホルモンや神経伝達物質の量が減少し，さまざまな身体症

状が出現する．たとえば，閉塞型SASでは夜間の頻尿，多尿がみられるが，睡眠分断によるオキシトシンの分泌低下もそれを引き起こす原因の一つとされている．

閉塞型SASの症状としては無呼吸のほかに，大きないびき，過度の日中傾眠，睡眠中の多動，夜間の頻尿および多尿，早朝の頭痛，性格の変化，不眠，夜間の窒息感，そのほか性欲減退，寝汗，夜間の咳などがみられる．閉塞型SAS患者の約70％に肥満があることは前述したが，肥満はSASの発症要因であると同時に，一方で閉塞型SASにより，さらに肥満が増悪する可能性も指摘されている．閉塞型SASによる日常生活のエネルギー消費や食習慣，夜間に分泌されるホルモンや神経伝達物質の量の変化などが，肥満の促進へと導いている可能性もある[16]．一方，繰り返される低酸素血症によって，酸化ストレス（oxidative stress：生体の酸化反応と抗酸化反応のバランスが崩れ，前者に傾き，生体にとって好ましくない状態）が発生する．脂質代謝の異常やインスリン感受性の低下あるいは耐糖能の低下を引き起こす可能性が指摘され，閉塞型SASが動脈硬化や糖尿病の増悪因子の一つとして考えられている[17〜19]．閉塞型SASは高血圧症の引き起こす独立因子の一つにもあげられている[20]．低酸素血症や高炭酸ガス血症に加えて，無呼吸イベントによる胸腔内陰圧の増大も，脳循環を含む循環系に多大の負荷をかける[21,22]．

胸腔内陰圧の増大が起こると，その結果として心筋の筋緊張がたかまり，不整脈や心筋障害が起こりやすくなり，最終的には心不全に発展する．心不全が慢性化すると肺の静脈圧が上昇し，肺のうっ血が起こる．それにより迷走神経反射の亢進が生じ過換気が引き起こされ，低炭酸ガス血症となり，その結果，中枢あるいは末梢性にchemoreceptorを介して呼吸抑制が起こると考えられている．したがって，心不全は中枢性SASを引き起こす原因にもなっている．

低酸素血症，高炭酸ガス血症それぞれが単独で循環系に及ぼす作用はほぼ同じであるが，この反応が同時に起こっている閉塞型SASでは，その影響は相乗的に増大する（図7）．Marinら（2005）[23]によれば，重症の未治療SASでは，健常者や治療を受けているSASに比べて致死的心血管障害の発生率は約3倍，非致死的心血管障害の発生率は5〜6倍に達するという．

Ⅳ．SASの診断

Guilleminaultら（1976）は“7時間の睡眠中，10秒以上の無呼吸が30回以上，または1時間当たり5回以上出現し，そのいくつかはノンレム睡眠期にも出現する”状態をSASと定義した[24]．この基準は現在でもSAS診断の基準となっている．ただし，現在は無呼吸に加えて低呼吸の数もカウントされる．低呼吸の定義としては，“換気量をモニターする気流曲線の振幅が50％以下になり，動脈血酸素飽和度が3％以上低下を示すか，あるいは脳波上の覚醒反応を伴うもの”（米国睡眠医学会リサーチ基準，1999年）が用いられている．一般に用いられている閉塞型SASの定義とその重症度の基準を表1，2に示す[25]．

SASの診断には終夜睡眠ポリグラフ検査（polysomnography：PSG）が行われる．PSGによる閉塞型，中枢型の判定の基本は，無呼吸の際の胸郭運動や腹部の動きの有無である．図8は閉塞型SASであり，胸郭，腹部の動きがある．無呼吸の経過とともに動脈血酸素飽和度が低下する．もし中枢型SASであれば，胸郭，腹部の動きはない．PSGの検査項目を表3に示す．SASの診断にはPSGのほかに簡易睡眠検査も用いられる．両者の基本的な相違は，睡眠脳波検査が

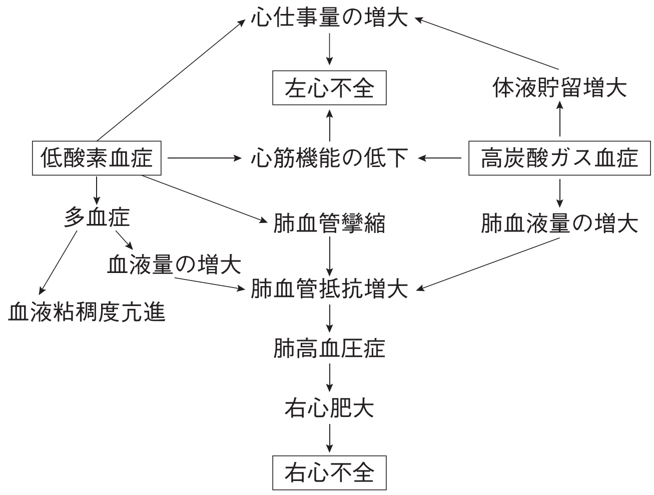


図7．低酸素血症と高炭酸ガス血症の心血管系への影響

表1．閉塞型SASの定義（AASM，1999）

A．日中の傾眠が他の原因では説明できないこと
B．下記のうち二つ以上の項目が他の因子で説明できないこと
　睡眠中の窒息感や，あえぎ呼吸
　睡眠中の頻回の完全覚醒
　熟睡感の欠如
　日中の倦怠感
　集中力の欠如
C．終夜のモニターで睡眠1時間当たり5回以上の閉塞性の呼吸異常があること．これらの異常には閉塞性の無呼吸，低呼吸，呼吸努力に関連した覚醒反応のいかなるコンビネーションも含まれる

AあるいはBのいずれかと，Cの条件を満たすこと

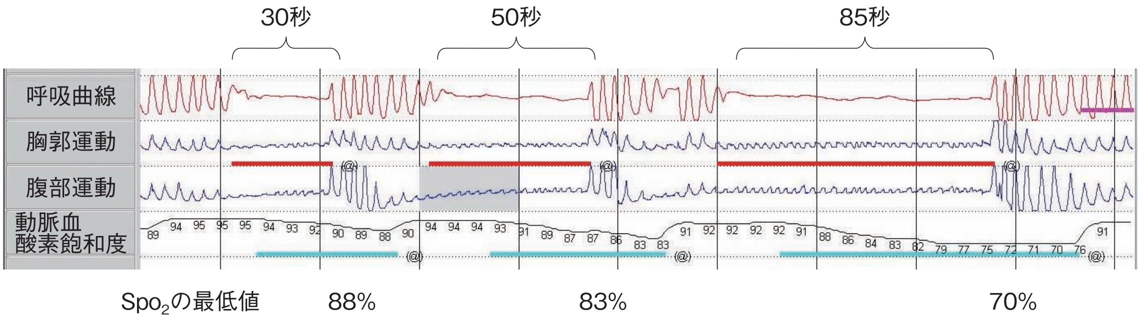


図 8. 閉塞型 SAS
無呼吸と動脈血酸素飽和度の低下.

表 2. 閉塞型 SAS の重症度（AASM, 1999）

A. 眠気
1. 軽症
あまり集中していないときに，思いがけない眠気や，気づかずに眠ってしまうエピソードが起こる（テレビをみているときや読書，乗客として旅行しているときなど）
2. 中等症
多少の集中が必要なときに，思いがけない眠気や，気づかずに眠ってしまうエピソードが起こる（コントロール不能な眠気がコンサート，会議，発表などに参加しているときに起こる）
3. 重症
かなり集中を必要とする活動時に，眠気や気づかずに眠ってしまうエピソードが起こる（コントロール不能な眠気が食事中，会話中，歩行中，運転中などに起こる）

B. 睡眠関連閉塞呼吸イベント
1. 軽症：1 時間当たり 5～15 回
2. 中等症：1 時間当たり 15～30 回
3. 重症：1 時間当たり 30 回以上

A か B のいずれか重症なほうをとる

表 3. 終夜睡眠ポリグラフ検査の検査項目

1. 睡眠検査：脳波，眼球電図，頤筋筋電図
2. 換気検査：鼻腔気流，口腔気流，胸腹壁運動
3. 循環検査：心電図，血圧，心拍数
4. 血液ガス：酸素飽和度，経皮 O_2・CO_2 電極
5. 体位体動：仰臥位，腹臥位，側臥位
6. 胸腔内圧：食道内圧測定（食道バルーン）

行われるか否かである．簡易睡眠検査では，脳波検査は行わない．脳波によって睡眠状態の把握が可能になるので，簡易睡眠検査では睡眠に関連した情報を解析することはできない．しかしながら，SAS の診断では無呼吸と動脈血酸素飽和度の情報がきわめて重要なので，簡易睡眠検査であってもその有用性は高い．

無呼吸の有無は口・鼻に装着した呼吸センサーにより記録し，呼吸運動の観察は，胸部，腹部に巻いたベルトの伸び縮みを電気信号にかえて記録する．動脈血酸素飽和度はパルスオキシメータで測定する．

1 時間当たりの無呼吸と低呼吸の数を示す無呼吸低呼吸指数（apnea-hypopnea index：AHI）の値は，一般に簡易睡眠検査に比べて PSG のほうが大きい値を示す．

V．SAS の治療

SAS の治療の基本は睡眠中の呼吸の中断を防ぐことで，閉塞型 SAS の場合，呼吸の中断はとくに咽頭腔の虚脱によって引き起こされることが大部分なので，これを防止する手段がとられる．睡眠障害の治療として睡眠薬の使用は避けるべきである．その理由は，覚醒反応は身体の防御反応とみるべきで，それを抑える方向での治療はむしろ有害である．

SAS の自己管理法としては，肥満の改善，飲酒の制限，睡眠姿勢の工夫などがあげられる．肥満は SAS を引き起こす最大の原因であり，また飲酒により睡眠中の筋の弛緩はさらに増大する．したがって，肥満を抑える努力，飲酒の制限は SAS の症状を悪化させないために必要となる．一方，睡眠姿勢を工夫することも大切である．仰臥位で寝ると無呼吸が起こりやすくなり，側臥位で無呼吸は軽減するので，なるべく側臥位で寝るように工夫することも大切である．

1. 手術的治療

小児の SAS のほとんどはアデノイド，口蓋扁桃の

図 9. UPPP 手術後の咽頭所見

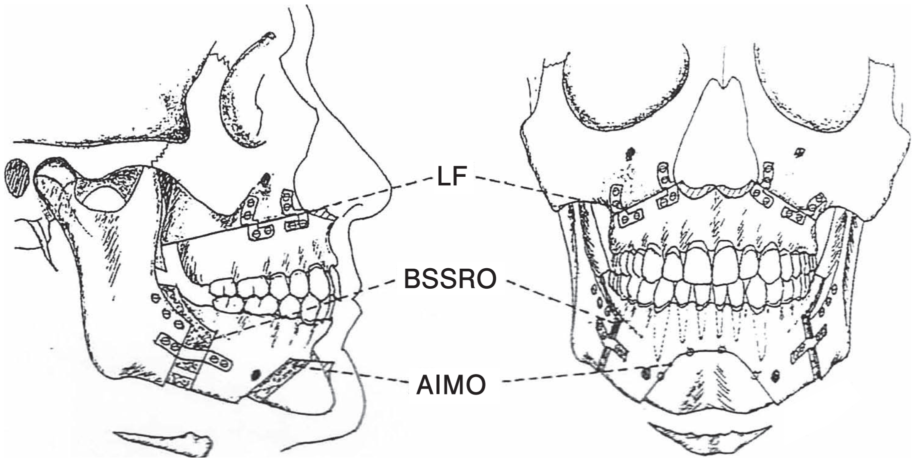
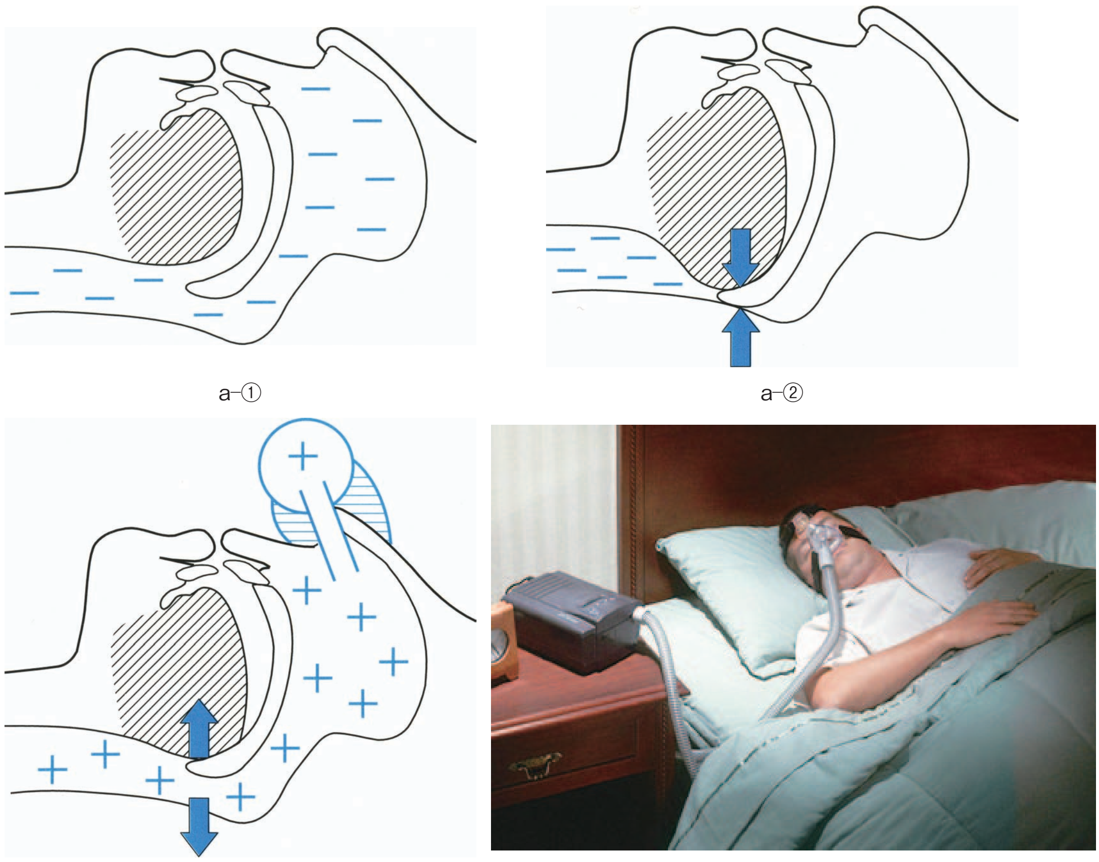


図 10．上顎・下顎前方移動手術
上顎，下顎を切って前方にずらし，固定する．



a–①　a–②　a–③　b.

図 11．経鼻的持続陽圧呼吸療法（nCPAP）
a. ①覚醒時，②睡眠時の咽頭腔の虚脱，③鼻からの加圧で咽頭腔を広げ，加圧下で呼吸させる．
b. 装置をつけての就寝．

肥大によるもので，治療としてはアデノイド切除術，口蓋扁桃切除術が行われる．小児では，顎・顔面形態に問題がない限り，SAS は劇的に改善する．

SAS の治療は鼻呼吸ができるということが前提となるので，鼻閉があればそれを取り除かなければならない．保存的治療で鼻閉が改善できないときには，手術的に改善させることが SAS 治療の前提となる．鼻中隔彎曲症やアレルギー性鼻炎で鼻閉が著しい場合，手術的に改善を図る．

成人の SAS では，中咽頭の粘膜や筋肉組織の一部を切除し，睡眠中の粘膜のたるみを是正し，咽頭腔の虚脱を起こりにくくする手術も行われる．これを口蓋垂・軟口蓋咽頭形成術（uvulopalatopharyngoplasty：UPPP）と呼ぶ（図 9）．レーザによる簡易な術式である口蓋垂・軟口蓋レーザ切除術（laser assisted uvulopalatoplasty：LAUP）や舌根部を一部切除する

a.

b.

図 12．スリープスプリント療法
睡眠中，プロテーゼにより下顎を前方に突出させた状態に保つ．

図 13．ソムノデント
分離した上・下顎のプロテーゼにより，睡眠中，下顎を突出させた状態に保つ．

正中舌根レーザ切除術（midline laser glossectomy：MLG）などもある．これらの術式はいずれも睡眠中の咽頭腔の虚脱を防止するために行うものであり，口蓋扁桃肥大があれば併せて口蓋扁桃切除も行う．

一方，咽頭の骨格を広げて，空気の通り道を広げる上顎・下顎前方移動手術も行われることがある[26]．この手術は上顎骨，下顎骨を切り離して前方にずらして固定し，咽頭腔を広げようとする手術である（図10）．欧米では盛んに行われている手術であるが，わが国においてはまだ少ない．わが国の閉塞型 SAS では 30% には肥満が認められず，その中には上顎・下顎の顔面形態の不良がその原因とみられるケースがある．その意味では，この手術は理にかなった方法であるが，一方でこの手術は容貌を著しく変えてしまうという特徴がある．さらに手術としてもかなり大掛かりなものであり，わが国ではあまり普及していない．

2. 経鼻的持続陽圧呼吸療法（nasal continuous positive airway pressure：nCPAP）

nCPAP は鼻マスクを介して，気道の閉塞をコンプレッサーで気道に圧力を加え，強制的に呼吸路を広げる方法である（図 11）．nCPAP には一定の固定圧をかけるタイプのほかに，呼気と吸気時に異なった圧を加える BiPAC，吸気時の適正圧を装置が判断して自動的に圧を変化させる autoCPAP などがある．現在，

一般的にはautoCPAPが用いられている．nCPAPの無呼吸改善の効果だけをみるとほぼ100％に近いが，治療を継続できないケースも少なくない．この治療コンプライアンスについては，どの時点で使用継続と判断するかによって異なるが，おおむね50〜75％が治療を継続していると報告されている．しかし，50％に達しないとする報告もみられる．

3. 口腔内装置治療（oral appliance：OA）

Cartwrightら[27]が1982年にtongue retaining device（TRD）の有効性をJAMAに報告したが，TRDは陰圧を利用して舌を前方に引っ張り出すという方法で，現在ではほとんど使われていない．わが国の口腔内装置治療としては，東京医科歯科大学において1980年代の中ごろに耳鼻咽喉科医，歯科医，呼吸器内科医，精神科医らによるSASの研究グループがつくられ，SASの診断，治療に関する集学的アプローチが開始された[28〜30]．メンバーの中川健三歯学博士を中心に考案されたスリープスプリントが口腔内装置として用いられた（図12）．これは下顎を前方に引き出し固定するレジン製のプロテーゼで，睡眠時に装着する．その後，同様なアイデアでいろいろなタイプの口腔内装置が考案され報告されている．これらの装置はおおむね次に述べる3タイプに分けられる．

1）上下顎一体型

スリープスプリントに代表される上顎，下顎のプロテーゼが一体となっているタイプの装置である．壊れにくく，装着が容易である．

2）上下顎分離・固定型

上下のプロテーゼは分離しており，下顎の位置を調節し適切な位置で固定する．下顎をある程度自由に動かせるタイプのものもある．このタイプのものでは，上顎のプロテーゼと下顎のプロテーゼが一部で連結している．

3）完全分離型

上顎と下顎のプロテーゼは完全に分離しており，下顎運動は制限されるもの下顎の前方移動の状態は保持される．ソムノデント（ソムノメッド社，東京）がそのタイプに属する（図13）．

上述した治療は，主に閉塞型SASに対する治療法である．中枢性SASに対しては有効な本格的な治療法はまだ見出されていないが，近年，適応補助換気（adaptive servo-ventilation therapy：ASV）の有効性の報告が散見される[31]．ASVはBiPAPをさらに改良したものであり，呼気と吸気の適正圧を装置が自動的に判断し，患者の呼気と吸気を補助する．閉塞型SAS，中枢方SASのいずれにせよ，単一の治療法でSASの改善を図ることはむずかしく，いろいろな方法を組み合わせる集学的なアプローチで治療に取り組まなければならない．したがって，複数診療科によるグループ診療が理想的である．

文　献

1）粥川裕平，岡田　保：睡眠時無呼吸．治療学 **30**：55–58，1996.
2）Jennum P，Riha RL：Epidemiology of sleep apnea/hypopnea syndrome and sleep disordered breathing．Eur Respir J **33**：907–914，2009.
3）Endo Y，Suzuki M，Inoue Y et al：Prevalence of complex sleep apnea among Japanese patients with sleep apnea syndrome．Tohoku J Exp Med **215**：349–354，2008.
4）黒崎紀正，黒田敬之（監），中川健三（編著）：いびきと睡眠時無呼吸症候群の歯科的治療，砂書房，東京，2004.
5）Molina FD，Santos FC，Falleiros Jr LR et al：Microscopical evaluation of extracellular matrix and its relation to the palatopharyngeal muscle in obstructive sleep apnea．Microsc Res Tech **74**：430–439，2011.
6）Plomp RG，Bredero-Boelhouwer HH，Joosten KF et al：Obstructive sleep apnoea in Treacher Collins syndrome；prevalence，severity and cause．Int J Oral Maxillofac Surg **41**：696–701，2012.
7）Spier S，Rivin J，Rowe RD et al：Sleep in Pierre Robin syndrome．Chest **90**：711–715，1986.
8）Lin CK，Lin CC：Work of breathing and respiratory drive in obesity．Respirology **17**：402–411，2012.
9）Sato M，Suzuki M，Suzuki J et al：Overweight patients with severe sleep apnea experience deeper oxygen desaturation at apneic events．J Med Dent Sci **55**：43–47，2008.
10）Chanda A，Kwon JS，Wolff AJ et al：Positive pressure for obesity hypoventilation syndrome．Pulm Med 2012，doi：10．1155/2012/568690.
11）Burwell CS，Robin ED，Whaley RD et al：Extreme obesity associated with alveolar hypoventilation；a Pickwickian syndrome 1956．Obes Res **2**：390–397，1994.
12）Lundberg JO，Farkas-Szailasi T，Weitzberg E et al：High nitric oxide production in human paranasal sinuses．Nat Med **1**：370–373，1995.
13）Trang H，Girard A，Laude D et al：Short-term blood pressure and heart rate variability in congenital central hypoventilation syndrome（Ondine's curse）．Clin Sci（London）**108**：225–230，2005.
14）Polat M，Sakinci O，Ersoy B et al：Assessment of sleep-related breathing disorders in patients with Duchenne muscular dystrophy．J Clin Med Res **4**：332–337，2012.
15）Aboussouan LS，Lewis RA，Shy ME：Disorders

of pulmonary function, sleep, and the upper airway in Charcot-Marie-Tooth disease. Lung **185**：1–7, 2007.

16) Ong CW, O'Driscoll DM, Truby H et al：The reciprocal interaction between obesity and obstructive sleep apnea. Sleep Med Rev **17**：123–131, 2013.

17) Pamidi S, Tasali E：Obstructive sleep apnea and type 2 diabetes；is there a link? Front Neurol **3**：126, 2012.

18) Del Ben M, Fabiani M, Loffredo L et al：Oxidative stress mediated arterial dysfunction in patients with obstructive sleep apnoea and the effect of continuous positive airway pressure treatment. BMC Pulm Med 2012. doi：10.1186/1471-2466-12-36.

19) Hulsmans M, De Keyzer D, Holvoet P：Micro RNAs regulating oxidative stress and inflammation in relation to obesity and atherosclerosis. FASEB J **25**：2515–2527, 2011.

20) Marin JM, Agusti A, Villar I et al：Association between treated and untreated obstructive sleep apnea and risk of hypertension. JAMA **307**：2169–2176, 2012.

21) Rossi VA, Stradling JR, Kohler M：Effects of obstructive sleep apnoea on heart rhythm. Eur Respir J：Dec 20（Epub ahead of print), 2012.

22) Pressman GS, Figueredo VM, Romero-Corral A et al：Effect of obstructive sleep apnea on mitral valve tenting. Am J Cardiol **109**：1055–1059, 2012.

23) Marin JM, Carrizo SJ, Vincente E et al：Long term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure；an observational study. Lancet **365**：1046–1053, 2005.

24) Guilleminault C, Tilkian A, Dement WC：The sleep apnea syndromes. Ann Rev Med **27**：365–484, 1976.

25) 井上雄一, 山城義広：睡眠呼吸障害 Update 2006, 日本評論社, 東京, 2006.

26) Princell JR：Maxillomandibular advancement surgery in a site-specific treatment approach for obstructive sleep apnea in 50 consecutive patients. Chest **116**：1519–1529, 1999.

27) Cartwright RD, Samelson CF：The effects of a nonsurgical treatment for obstructive sleep apnea；the tongue-retaining device. JAMA **248**：705–709, 1982.

28) 中川健三, 市岡正彦, 千田 守：いびきの治療―睡眠時無呼吸症候群に対するスリープスプリントの効果. 歯界展望 **73**：1535–1550, 1989.

29) Ichioka M, Tojo N, Yoshizawa M et al：A dental device for the treatment of obstructive sleep apnea；a preliminary study. Otolaryngol Head Neck Surg **104**：555–558, 1991.

30) Ichioka M, Hasegawa M, Nakagawa K et al：Effects of a prosthetic dental device used to treat obstructive sleep apnea syndrome, and compliance of patients using the device. Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi **33**：1191–1197, 1995.

31) Camevale C, Georges M, Rabec C et al：Effectiveness of adaptive servo ventilation in the treatment of hypocapnic central sleep apnea of various etiologies. Sleep Med **12**：952–958, 2011.

Sleep apnea syndrome ; pathophysiology, diagnosis and treatment

Makoto Hasegawa

Former Professor
Department of Otorhinolaryngology, Kyorin University
Department of Sleep Related-Respiratory Disorders,
Tokyo Medical and Dental University

Summary

Sleep apnea syndrome (SAS) induces remarkable daytime sleepiness. Repeated apneas cause interruption of sleep at night and consequently bring about the sleepiness in the daytime. SAS is basically classified into two types; obstructive SAS and central SAS. More than 90% of SAS patients are classified as obstructive SAS. Obstructive SAS is caused by collapse of the pharyngeal cavity, while central SAS is caused by interrupted movement of the respiratory muscles which are controlled by the central nervous system. The main causes of pharyngeal collapse are due to obesity, micrognathia, large tongues, hypertrophied pharyngeal tonsils, and particularly adenoids in children.

Apnea-induced hypoxia and hypercapnia produce cardiovascular disturbances such as hypertension, arrhythmia, angina pectoris, myocardial infarction or chronic heart failure. It is said that fatal cardiovascular events occur about three times more in patients with severe obstructive SAS than in healthy subjects or treated patients with obstructive SAS. Meanwhile, non-fatal cardiovascular events occur 5〜6 times more in the former group than in the latter group.

Obstructive SAS seems to have a potential role in the development and reinforcement of obesity. In addition, obstructive SAS is considered to be one of the aggravating factors of diabetes mellitus.

Diagnosis of SAS is made by polysomnography. It monitors brain waves, respiratory movement, arterial oxygen saturation, encepharogram and other parameters related with sleep.

As for the treatment of obstructive SAS, surgery, nCPAP or oral appliances are commonly used.

Key words : sleep apnea (SAS), obstructive SAS, central SAS, hypoxia, obesity, cardiovascular disorders, polysomnography, nCPAP, oral appliance

骨吸収抑制薬と顎骨壊死

山口　朗　東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科口腔病理学分野

要旨：ビスフォスフォネートは破骨細胞性骨吸収を強力に抑制する薬剤で，骨粗鬆症，癌の骨転移や多発性骨髄腫などによる骨破壊の予防と治療に広く利用されている．しかし，近年，ビスフォスフォネート投与患者で抜歯などの外科的処置を行った後に顎骨壊死を発症する症例があることが報告され，これらはビスフォスフォネート関連顎骨壊死（bisphosphonate-related osteonecrosis of jaw：BRONJ）と呼ばれている．現在までに多くのBRONJ例が報告されており，病理組織学的に，骨壊死（腐骨），細菌の存在（放線菌が主），骨髄炎，反応性骨増生，偽上皮性過形成などが観察される．また，多数の核（20〜40個）を有する巨大な破骨細胞 や骨表面から遊離した破骨細胞も目立つ場合がある．一方，最近，強力な骨吸収抑制薬である完全ヒト型RANKL抗体デノスマブ（商品名：ランマーク）投与患者でも顎骨壊死が発症し，その発生頻度はビスフォスフォネート製剤投与患者とほぼ同じであることが報告されている．そのため，American Society of Clinical Oncology（ASCO）は“bone-modifying agents（BMA）”としてビスフォスフォネートとRANKL抗体を位置づけている．BMAによる顎骨壊死は，医科側で投与した薬剤の副作用が歯科領域に出現するので，緊密な医歯連携による対応が必要な疾患（病態）の一つといえる．

Key words：骨吸収抑制薬，ビスフォスフォネート，RANKL抗体，bone-modifying agents（BMA），顎骨壊死，破骨細胞

Ⅰ．はじめに

強靱な支持組織である骨組織は，動きの乏しい静的な組織と思われがちであるが，骨組織の内部ではダイナミックな代謝が営まれている．骨を構成する細胞は造骨系の細胞（骨芽細胞）と骨吸収系の細胞（破骨細胞）に大別できる．両者の細胞は異なる細胞系に由来するが，直接あるいは間接的に相互の増殖，分化，機能を調節し，骨形成と骨吸収の平衡を保っている．そして，両者の均衡が崩れると骨量の減少や増加を伴う疾患が発症する．さらに，近年，骨基質の中に埋もれた骨細胞が骨代謝の過程で重要な役割を担っていることが明らかにされ，“第三の細胞”として注目されている．

骨粗鬆症や癌の骨転移病巣などでは破骨細胞による骨吸収が亢進し，著明な骨量減少や骨破壊が誘導される．そのため，骨量減少や骨破壊の進展を予防・治療するために種々の骨吸収抑制薬が開発されている．強力な骨吸収抑制作用を有するビスフォスフォネートは，骨粗鬆症や癌の骨転移病変などにおける骨量減少の予防・治療に有効な薬剤として広く利用されている．しかし，2003年にビスフォスフォネート投与患者に顎骨壊死が発症することが報告されたのを契機に[1]，多くの症例が報告され，それらはビスフォスフォネート関連顎骨壊死（bisphosphonate-related osteonecrosis：BRONJ）と呼ばれるようになってきた．

最近，強力な骨吸収抑制薬である完全ヒト型RANKL抗体デノスマブ（商品名：ランマーク）投与患者でも顎骨壊死が発症することが報告され[2〜8]，ビスフォスフォネート製剤だけではなく，他の骨吸収抑制薬でも顎骨壊死が生じると考えられるようになってきた．そして，米国臨床腫瘍学会（American Society of Clinical Oncology：ASCO）は2011年 に，ビスフォスフォネートとRANKL抗体を“bone-modifying agents（BMA）”として位置づけ，これらの薬剤の投与を受ける乳癌の骨転移患者では，BMAを使用する前に歯科検査と予防的歯科処置を行うことをすす

連絡先：山口　朗　akira.mpa@tmd.ac.jp

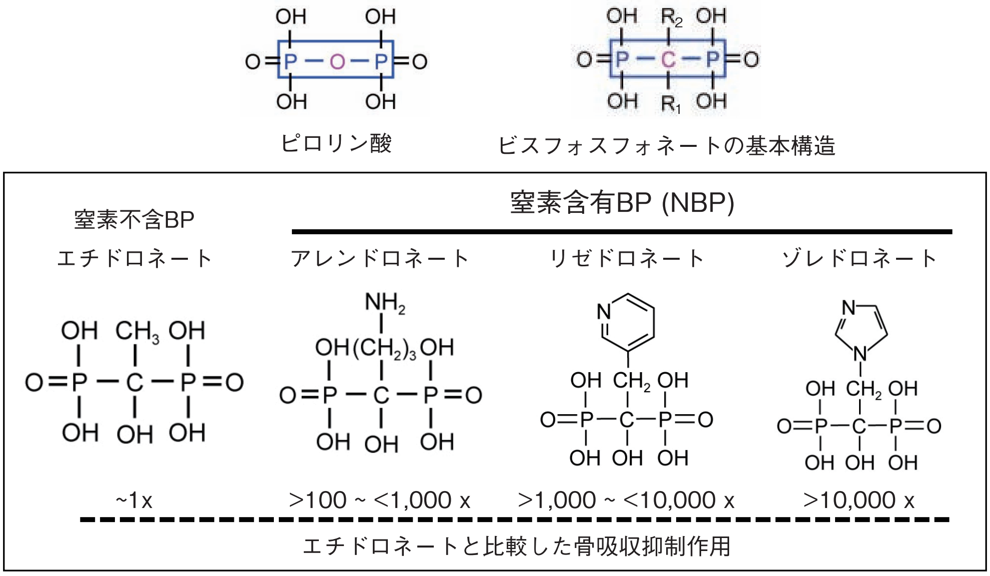


図1．ビスフォスフォネートの種類と骨吸収抑制作用の比較

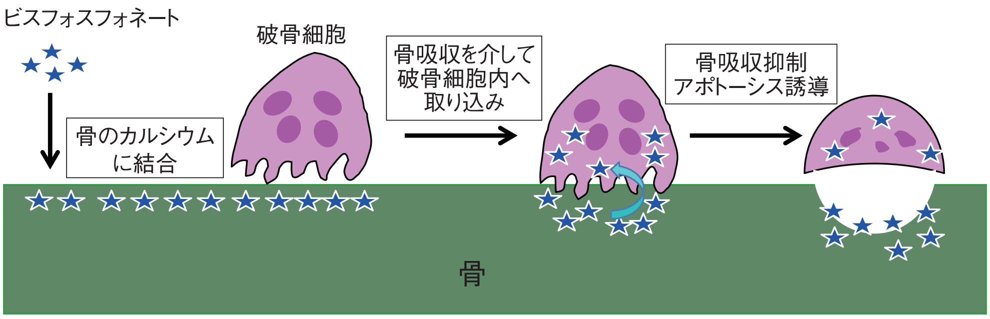


図2．窒素含有ビスフォスフォネートの作用機序
投与されたビスフォスフォネートは骨のカルシウムに結合して骨に沈着する．破骨細胞により骨が破壊されるとビスフォスフォネートが遊離し，破骨細胞に取り込まれ，骨吸収抑制作用を発揮する．

める臨床ガイドラインを発行した[9]．

骨吸収抑制薬による顎骨壊死は，医科側で投与した薬剤の副作用が歯科領域に出現するので，緊密な医歯連携による対応が必要な疾患（病態）の一つといえる．本稿では，骨吸収抑制薬による顎骨壊死の理解を深めていただくために，まずビスフォスフォネートとデノスマブの骨吸収抑制メカニズムを説明して，その後，これらの薬剤投与による顎骨壊死の病態について概説する．

Ⅱ．ビスフォスフォネートの骨吸収抑制作用

ビスフォスフォネートは，生理的石灰化抑制物質であるピロリン酸のアナログである．ピロリン酸はP–O–P骨格を有し，加水分解により容易に分解されて排出されるのに対して，ビスフォスフォネートはP–C–P骨格をもち，加水分解に抵抗性で，骨基質に蓄積して生体内で安定である（図1）．また，ビスフォスフォネート骨格の炭素側鎖（R_2側鎖）を窒素含有側鎖（アミノ基：$-NH_2$）に置換することで，骨吸収抑制作用が増強する（パミドロネート，アレンドロネートなど）［図1］．そして，R_2側鎖に窒素を含有する環状構造を有するものは，さらに骨吸収抑制作用を有する（レセドロネート，ゾレドロネートなど）［図1］．

ビスフォスフォネートはヒドロキシアパタイトに強い親和性を有するために，血中に入ったビスフォスフォネートの約50%は骨に蓄積し，それらは長期に残存する．アレンドロネートの骨組織における半減期は10年とされている[10]．これらの特徴がビスフォスフォネートの骨吸収抑制メカニズムで重要となる．つまり，骨組織に沈着したビスフォフフォネートは，骨吸収の過程で骨より掘り出されて破骨細胞内に取り込まれ，それが破骨細胞の細胞骨格の障害やアポトーシスなどを誘導して破骨細胞の機能を抑制する（図2）．

窒素含有ビスフォスフォネートは，コレステロールの合成系であるメバロン酸代謝経路のファルネシルピロリン酸合成酵素［farnesyl pyrophosphate（FPP）synthase］を阻害し，ファルネシルピロリン酸

(FPP）の合成を阻害する（図3）．その結果，メバロン酸代謝経路の下流のゲラニルゲラニルピロリン酸（GGPP）の合成も阻害され，Ras，Rho，Rac，Rabなどの低分子GTP結合蛋白のプレニル化（プレニル基を蛋白質に付加する反応）が抑制される（図3）．そのため，低分子GTP結合蛋白が関与する種々の情報伝達が阻害され，細胞膜上での局在や標的蛋白質への移動が障害される．破骨細胞で低分子GTP結合蛋白は細胞骨格形成，波状縁（ruffled border）形成，細胞内輸送，生存維持などの機能を担っているので[11]，低分子GTP結合蛋白のプレニル化が阻害されると細胞骨格が破綻して波状縁が消失し，アポトーシスなどが誘導されて，破骨細胞の機能が阻害される（図4）．

Weinsteinら[12]は，ビスフォスフォネート（アレンドロネート）の予防効果を検討するために，447例の閉経後の健康女性に3年間アレンドロネートを投与したグループの中で，腸骨生検を了解したボランティア55例から得た51抗体の骨生検標本を解析した．その結果，アレンドロネート投与例ではプラセーボ投与例より破骨細胞数が多く，それらは多数の核（20～40個）を有する巨大な破骨細胞（giant osteoclast），骨表面から遊離した破骨細胞（floating osteoclast），アポトーシスを呈する破骨細胞が目立つことを明らかにした．これらの結果は，ビスフォスフォネート投与により，破骨細胞の細胞骨格が障害され，機能を消失した破骨細胞が残存していたことを示唆している．つまり，ビスフォスフォネートは破骨細胞の分化過程より，むしろ成熟した破骨細胞の機能を抑制する作用が主となる．

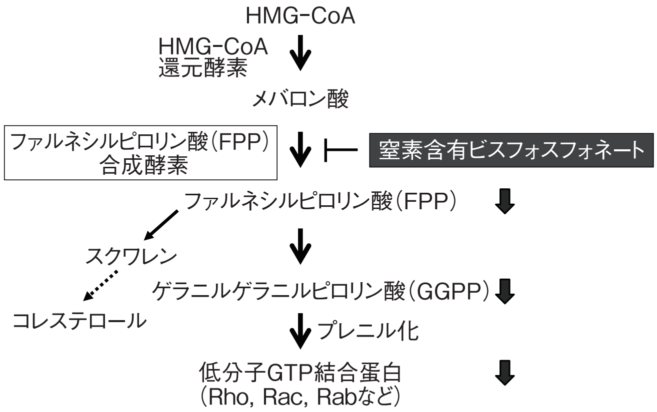
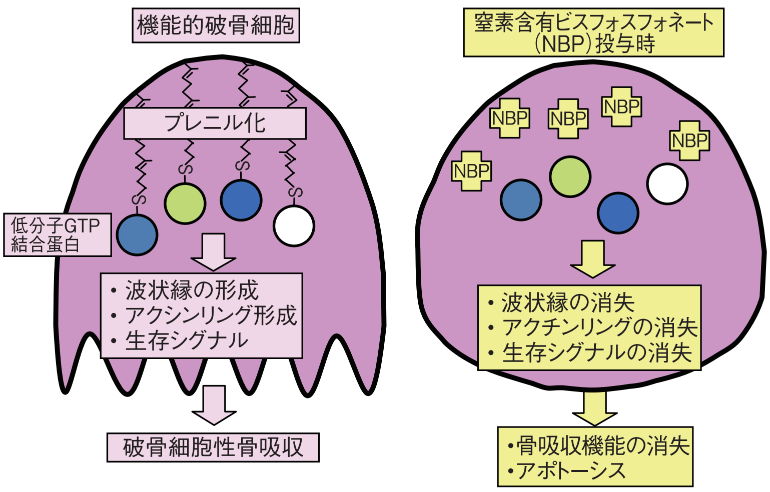


図3．窒素含有ビスフォスフォネートの作用機序
窒素含有ビスフォスフォネートは，メバロン酸代謝経路のファルネシルピロリン酸合成酵素（FPP synthase）を阻害し，低分子GTP結合蛋白のプレニル化を抑制する．

Ⅲ．デノスマブの骨吸収抑制作用

RANKLは破骨細胞の分化・機能・生存を制御するもっとも重要なサイトカインである[13,14]．骨芽細胞や間葉系細胞がRANKLを産生し，破骨細胞前駆細胞の発現するRANKL受容体（RANK）に結合すると破骨細胞の分化・機能を促進する[13,14]（図5）．一方，骨芽細胞や間葉系細胞はRANKLの囮受容体であるosteoprotegerin（OPG）を産生し，RANKLのRANKへの結合を阻害することにより，破骨細胞の分化・機能を抑制する（図5）．つまり，骨芽細胞や間葉系細胞の産生するRANKLとOPGのバランスにより，破骨細胞の分化・機能が制御されている（図5）．そのため，破骨細胞性骨吸収を抑制する薬剤としてのOPGやRANKLの中和抗体の開発が注目されて



a．機能的破骨細胞

b．窒素含有ビスフォスフォネート投与時の機能を消失した破骨細胞

図4．窒素含有ビスフォスフォネートの破骨細胞機能抑制作用メカニズム
（文献10より改変引用）

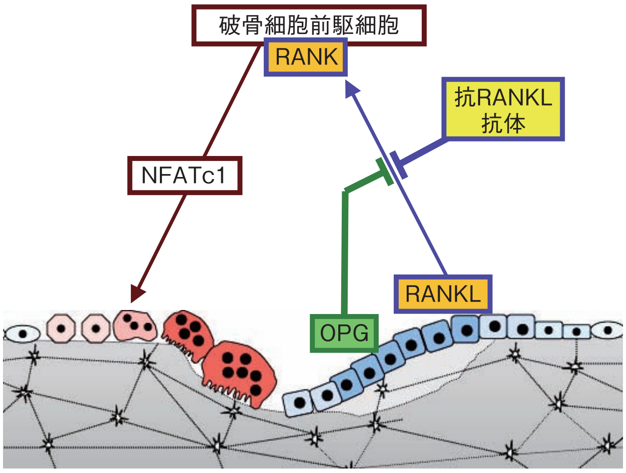


図5．破骨細胞の分化・機能を制御するRANK/RAKL/OPG
骨芽細胞，間質細胞が産生するRANKLは，その受容体であるRANKを発現する破骨細胞前駆細胞に作用し，破骨細胞の分化・機能を制御するマスター転写因子であるNFATc1を活性化し，破骨細胞の分化・機能が亢進する．一方，骨芽細胞，間質細胞はRANKLの囮受容体であるOPGを産生し，破骨細胞の分化・機能を負に制御する．抗RANKL抗体も破骨細胞の分化・機能を負に制御する．

いる（図5）．

現在までに，アムジェン社が開発した完全ヒト型抗RANKL抗体（デノスマブ：販売名ランマーク）[15]は強力な骨吸収抑制作用を発揮し，骨粗鬆症患者における骨密度増加作用や骨折防止効果を示すことが臨床治験で明らかにされている[16]．また，癌の骨転移病変でも，病的骨折，脊髄圧迫症状，抗カルシウム血症などの骨関連事象（skeletal-related event：SRE）の発生を減少させることが明らかにされている[4,5,17]．現在，わが国では骨粗鬆症への適応は認可されていないが，“多発生骨髄腫による骨病変および固形癌骨転移による骨病変”への適応が認可されている．RANKL抗体は，ビスフォスフォネートのように成熟した破骨細胞の機能を抑制するだけではなく，RANKを発現する破骨細胞前駆細胞から成熟した破骨細胞の分化，機能を抑制する．

Ⅳ．骨壊死と骨吸収抑制薬関連顎骨壊死の病態

骨壊死（osteonecrosis）とは，病理学的に骨小腔内の骨細胞の消失（空洞化：empty lacuna）と骨髄の壊死が起っている状態をいう[18]（図6）．古くはosteonecrosisといえば，感染性の骨組織の壊死を指していたが，現在では非感染性の壊死生病変をosteonecrosisとよぶことが多い[18]．つまり，感染性骨壊死は通常，骨髄炎に伴ってみられ，非感染性骨壊死は虚血性壊死であるので，循環障害によって生じる骨壊死のことを指す．2003年にMarxは，“Pamidronate（Aredia）and Zoledronate（Zometa）induced avascular necrosis of the jaws：a growing epidemic”という論文[1]を「Journal of Oral Maxillofacial Surgery」に発表した．Marxが用いた“avascular osteonecrosis”[1]という用語は大腿骨骨頭壊死などの虚血性骨壊死ととらえられやすいので，彼が用いた“avascular osteonecrosis”という用語がビスフォスフォネート関連顎骨壊死の病態を理解するのに混乱を招いたことは否定できない．

1．ビスフォスフォネート関連顎骨壊死（BRONJ）

わが国のBRONJに関する詳細は，ビスフォスフォネート関連顎骨壊死検討委員会（日本骨代謝学会，日

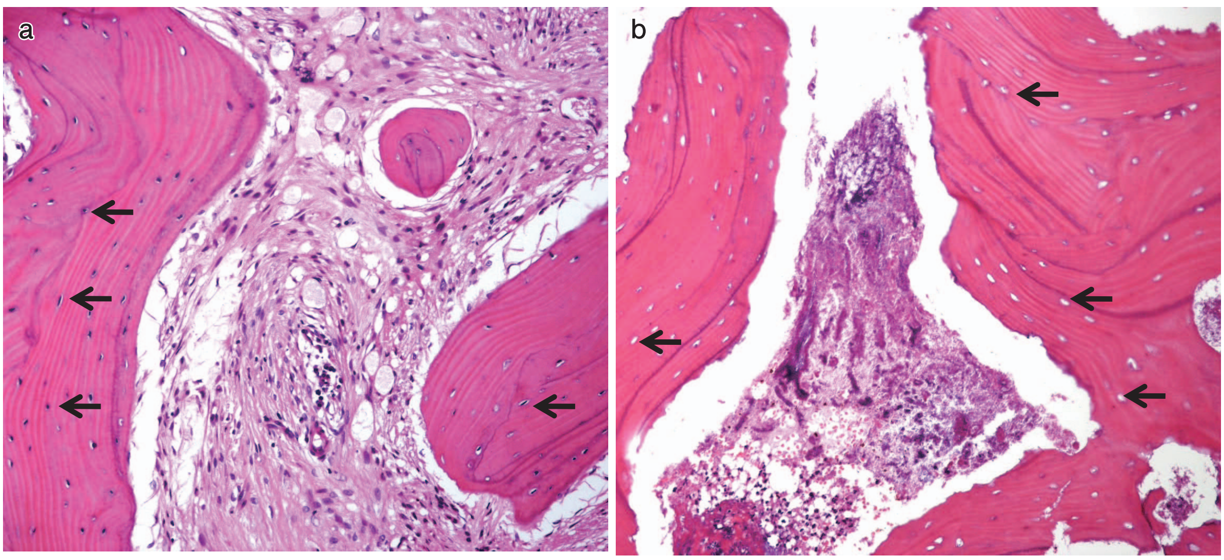


図6．生きた骨と骨壊死の組織像（HE染色）
生きた骨（a）には骨細胞（矢印）が認められるが，骨壊死（b）部では骨細胞が消失して骨小腔が空洞化（矢印）し，骨髄の壊死がみられる．

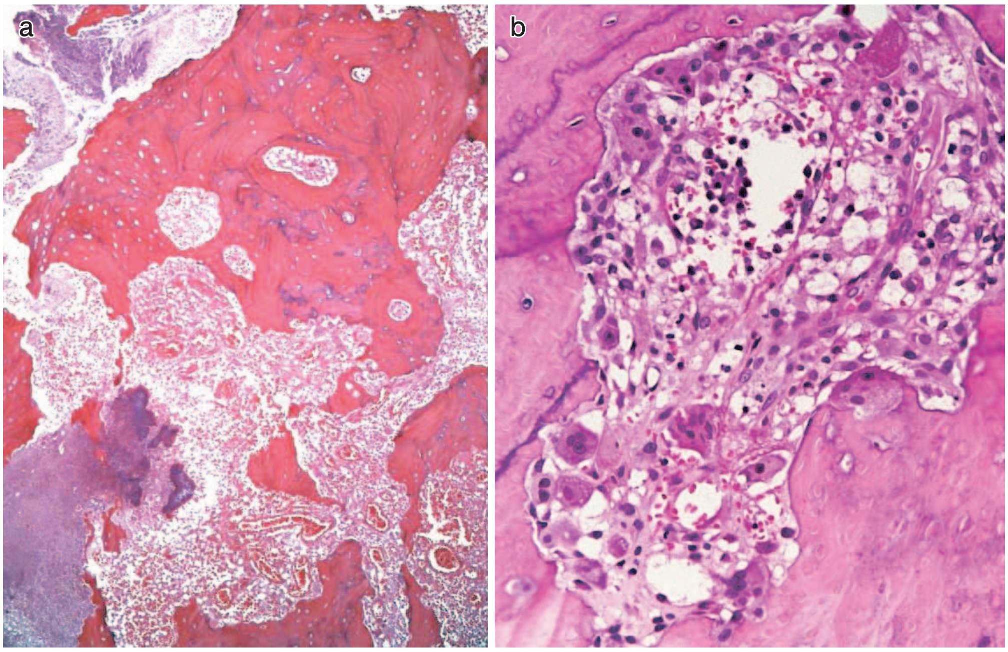


図 7. ビスフォスフォネート関連顎骨壊死の病理組織像（HE 染色）
a. ほとんどの骨は壊死（腐骨）に陥り，骨髄も壊死し，一部に細菌の集塊もみられる．
b. 骨壊死周辺部の骨周囲には多くの破骨細胞がみられることがあり，骨表面から遊離しているものもみられる．

本骨粗鬆症学会，日本歯科放射線学会，日本歯周病学会，日本口腔外科学会の合同委員会）が報告した「ビスフォスフォネート関連顎骨壊死に対するポジションペーパー」に記載されている[19]．また，日本口腔外科学会から 2006〜2008 年におけるわが国の BRONJ に関する臨床的なデータが報告[20]されているので，BRONJ の詳細に関してはこれらを参照されたい．

現在までに，BRONJ の病理組織学的所見として以下のような事項が報告されている．①骨壊死（腐骨）（図 6b），②細菌の存在（放線菌が主）［図 7a］，③骨髄炎（図 7a，b），④破骨細胞の変化（増加と減少の両者あり）［図 7b］，⑤反応性骨増生，⑥偽上皮性過形成，⑦血管数の変化（増加と減少の両者あり）．しかし，これらの所見は，ビスフォスフォネートを服用していない患者の顎骨骨髄炎にもしばしばみられる所見である．われわれは，BRONJ とビスフォスフォネート非投与例の顎骨骨髄炎の病理組織所見を比較・検討した結果，両者で大きな違いがみられたのは，破骨細胞の動態であった．つまり，BRONJ 例では，ビスフォスフォネート非投与例の顎骨骨髄炎に比べて，巨大破骨細胞と骨表面より遊離した破骨細胞の数が有意に多かった（未発表データ）［図 7b］．このときにみられる破骨細胞は，ヒト骨粗鬆例にアレンドロネートの経口投与例に観察された巨大破骨細胞，遊離破骨細胞と同様なものと考えられた[12]．このような破骨細胞が出現することは，前述したようにビスフォスフォネートが破骨細胞に取り込まれ，FPP synthase の阻害に始まり，Ras，Rho，Rac，Rab などの低分子 GTP 蛋白のプレニル化を抑制し，細胞骨格や細胞接着の破綻などをきたした結果と考えると理解しやすい．つまり，Weinstein ら[12]も指摘しているように，これらの破骨細胞の直下では骨吸収窩がほとんど観察されないため，BRONJ 例では破骨細胞は認められるが，それらの骨吸収機能は著明に抑制されていると考えられる．

2. デノスマブ投与による顎骨壊死

2009 年に，骨粗鬆症および前立腺癌骨転移におけるデノスマブの優れた治療効果が報告され，それらの論文[16,17]では顎骨壊死を引き起した症例はなかったと述べられている．しかし，2010 年にはデノスマブの大規模臨床治験を受けていた前立腺癌の骨転移患者に顎骨壊死が発症したという 1 例が報告された[21]．さらに，2011 年の癌の骨転移患者におけるビスフォスフォネート（ゾレドロン酸）とデノスマブの効果を比較した論文では，両者とも骨関連事象の発生率を同程度で予防したが，ほぼ同じ頻度で顎骨壊死も発症することが報告された[4,5]．これらの報告により，顎骨壊死はビスフォスフォネートだけではなく，デノスマブのような強力な骨吸収剤の投与によっても発症すると考えられるようになってきた．最近では，denosumab-related osteonecrosis of jaw（DONJ）という名称[6]も用いられており，デノスマブ関連顎骨壊死の症例や総説が報告されているが，BRONJ に比べる

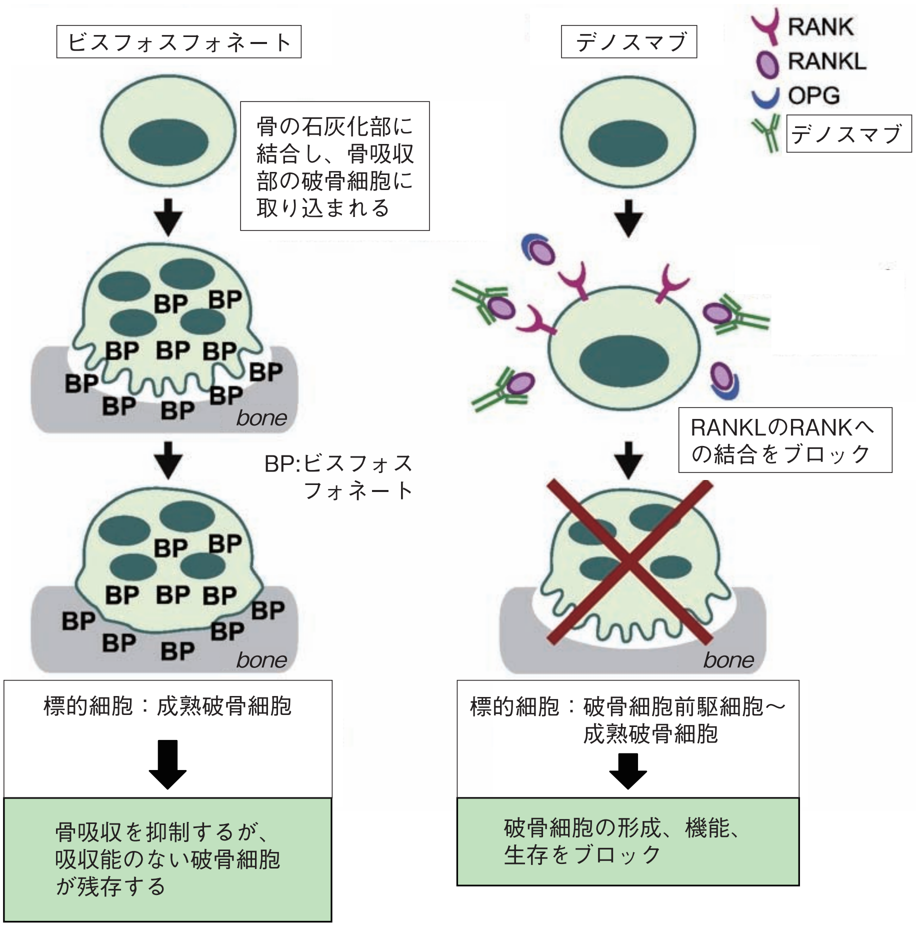


図 8.　ビスフォスフォネートと抗 RANKL 抗体（デノスマブ）の破骨細胞制御機構の違い
（文献 24 より改変引用）

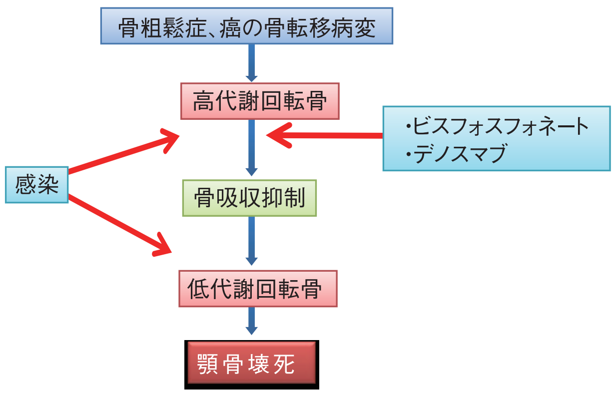


図 9.　BMA による顎骨壊死発生機序の仮説
骨粗鬆症，癌の骨転移病変部では骨吸収の亢進した高代謝回転の骨であるが，骨吸収抑制剤の投与で骨吸収活性が低下すると低代謝回転の骨になり，この時期に感染を起こすと顎骨壊死が誘導される．

と蓄積された症例数が圧倒的に少なく，さらなる臨床病理学的検討が必要である．

3.　Bone-modifying agents（BMA）関連顎骨壊死

米国臨床腫瘍学会（ASCO）は，乳癌骨転移におけるビスフォスフォネート使用に関して，EBM に基づいた臨床ガイドラインを 2000 年に発行し[22]，2003 年には改訂版を発行したが[23]，デノスマブ投与でも顎骨壊死が発生することを加味して，2011 年に再度，改訂版を発行した[9]．そして，この改訂版では顎骨壊死はビスフォスフォネートだけではなく，デノスマブのような強力な骨吸収薬でも出現するために，ビスフォスフォネートやデノスマブを BMA としてとらえることを提唱した．

また，この改訂版[9]で重要なポイントは，“乳癌骨転移のすべての患者は，BMA を使用する前に歯科検査と予防的歯科治療を受けるべき”という事項を key recommendations の一つとして加えたことである．また，“BMA 治療における ONJ の安全性に関する重要な点はなにか”という clinical question を設定した．そして，その回答の中でも，BMA 投与前に，良好な口腔衛生の維持と予防的歯科検診の必要性と，可能な限り侵襲的歯科処置を避けることを強調している．また，抜歯窩の初期の骨性治癒が起こるまでは BMA の使用を延期すること，および BMA 使用前に侵襲的歯科処置が決まっているときは臨床的状況が許す限り，創傷治癒が起こるまでの 14～21 日は BMA の投与を延期することを推奨している．

ビスフォスフォネートとデノスマブは破骨細胞抑制

表 1．乳癌骨移転における新規薬剤とそれらの標的分子（文献 25 より改変引用）

BMA	標的分子	前臨床試験	臨床研究	FDA 承認
pamidronate	ファーネシルピロリン酸合成酵素	○	Ⅲ	○
zoledoronic acid	ファーネシルピロリン酸合成酵素	○	Ⅲ	○
denosumab	RANKL	○	Ⅲ	○
odanacatib	カテプシン K	○	Ⅲ（進行中）	×
dasatinib	Src キナーゼ	○	Ⅱ	×
glembatumumab vedotin	膜貫通型糖蛋白 NMB	○	Ⅱb	×
plerixafor	CXC ケモカイン受容体タイプ 4	○	Ⅲ（HSC mobilization）	○（HSC mobilization）
DKK1-antibody	DKK1	○	×	×
IL-8 antibody	IL-8	○	×	×

HSC: hematopoietic stem cell，DKK1：dickkopf-related protein 1

に関するメカニズムがまったく異なる[24]（図 8）．ビスフォスフォネートは前述したように，破骨細胞が骨基質に埋もれているビスフォスフォネートを骨破壊の過程で細胞内に取り込み，FPP synthase が阻害され，細胞骨格の機能不全やアポトーシスが亢進して，破骨細胞の機能不全により骨吸収を阻害する．一方，デノスマブは破骨細胞の分化・機能に必須の分子である RANKL の機能を抑制して，破骨細胞の分化・機能・生存を抑制して，骨吸収を抑制する．このように骨吸収抑制メカニズムが異なる薬剤でも同様な顎骨壊死を誘導することは，強力な骨吸収抑制薬の作用により骨代謝が低回転になっていると，感染などを引金に顎骨壊死が発症しやすいと考えられる（図 9）．

米国臨床腫瘍学会の臨床ガイドライン[9]では，ビスフォスフォネートとデノスマブを BMA としているが，Suva ら[25]はパミドロナート，ゾレドロネート，デノスマブ以外にも，FDA で認可されていないが乳癌の骨転移に関する前臨床試験が行われている薬剤を BMA の範疇に入れている（表 1）．その候補には，カテプシン K，Src kinase，CXCR4，DKK1 などの阻害薬が含まれている．なかでも，カテプシン K 抑制薬（odanacatib）は骨吸収を抑制するが，ビスフォスフォネート，デノスマブと異なり，骨形成には影響を与えないか促進するために，その効果が期待されている[26]．今後，MBA で骨吸収を効率的に抑制して，顎骨壊死の発生を伴わない薬剤が開発されることが期待される．

Cheung ら[27]は，アレンドロネート投与患者で発症した顎骨壊死がテリパラチド（副甲状腺ホルモン）の投与で改善されたことを報告しているので，BMA 投与による顎骨壊死の治療に有効であるか，さらに検討する必要があろう．

Ⅴ．おわりに

ビスフォスフォネート製剤の投与により，顎骨壊死（BRONJ）が発症することがはじめて報告されてから約 10 年が経過している．この間に，BRONJ の発症メカニズムや病態解析に関する研究が行われてきたが，いまだに明らかにされていない点が多く残されている．さらに，最近では，強力な骨吸収抑制薬であるデノスマブの投与でも顎骨壊死が発症することが報告されている．ビスフォスフォネートやデノスマブの骨吸収抑制の作用メカニズムは分子レベルで明らかにされつつあるが，これらの薬剤の投与で，なぜ顎骨にだけ骨壊死が発症するのかはいまだに明らかにされていない．この点の解明が，骨吸収抑制薬関連顎骨壊死の発症メカニズムを明らかにするために重要なポイントとなる．今後，さらに緊密な医歯連携を構築して，これらの疾患（病態）の発症メカニズムの解明と予防法・治療法の開発に取り組む必要がある．

文　献

1) Marx RE：Pamidronate（Aredia）and zoledronate（Zometa）induced avascular necrosis of the jaws；a growing epidemic. J Oral Maxillofac Surg **61**；1115–1117，2003.
2) Kyrgidis A，Toulis KA：Denosumab-related osteonecrosis of the jaws. Osteoporos Int **22**：369–370，2011.
3) Diz P，López-Cedrún JL，Arenaz J et al：Denosumab-related osteonecrosis of the jaw. J Am Dent Assoc **143**：981–984，2012.
4) Henry DH，Costa L，Goldwasser F et al：Randomized，double-blind study of denosumab versus zoledronic acid in the treatment of bone metastases in patients with advanced cancer（exclud-

ing breast and prostate cancer) or multiple myeloma. J Clin Oncol **29**：1125–1132, 2011.
5) Fizazi K, Carducci M, Smith M et al：Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer；a randomised, double-blind study. Lancet **377**：813–822, 2011.
6) Epstein MS, Ephros HD, Epstein JB：Review of current literature and implications of RANKL inhibitors for oral health care providers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2012 Aug 15, [Epub ahead of print] PMID：22901640.
7) Van den Wyngaert T, Wouters K, Huizing MT et al：RANK ligand inhibition in bone metastatic cancer and risk of osteonecrosis of the jaw (ONJ)；non bis in idem? Support Care Cancer **19**：2035–2040, 2011.
8) Stopeck AT, Lipton A, Body JJ et al：Denosumab compared with zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced breast cancer；a randomized, double-blind study. J Clin Oncol **28**：5132–5139, 2010.
9) Van Poznak CH, Temin S, Yee GC et al：American Society of Clinical Oncology；American Society of Clinical Oncology executive summary of the clinical practice guideline update on the role of bone-modifying agents in metastatic breast cancer. J Clin Oncol **29**：1221–1227, 2011.
10) Chapurlat RD, Delmas PD：Drug insight；bisphosphonates for postmenopausal osteoporosis. Nat Clin Pract Endocrinol Metab **2**：211–219, 2006.
11) Rogers MJ, Gordon S, Benford HL et al：Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. Cancer **88** (Suppl 12)：2961–2978, 2000.
12) Weinstein RS, Roberson PK, Manolagas SC：Giant osteoclast formation and long-term oral bisphosphonate therapy. N Engl J Med **360**：53–62, 2009.
13) Yasuda H, Shima N, Nakagawa N et al：Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. Proc Natl Acad Sci USA **95**：3597–3602, 1998.
14) Lacey DL, Timms E, Tan HL et al：Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. Cell **93**：165–176, 1998.
15) Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS et al：A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women. J Bone Miner Res **19**：1059–1066, 2004.
16) Cummings SR, San Martin J, McClung MR et al：Freedom Trial；denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. N Engl J Med **361**：756–765, 2009.
17) Smith MR, Egerdie B, Hernández Toriz N et al：Denosumab HALT Prostate Cancer Study Group：Denosumab in men receiving androgen-deprivation therapy for prostate cancer. N Engl J Med **361**：745–755, 2009.
18) 石田 剛, 今村哲雄：非腫瘍性骨関節疾患の病理, 文光堂, 東京, 2003.
19) Yoneda T, Hagino H, Sugimoto T et al：Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw；position paper from the Allied Task Force Committee of Japanese Society for Bone and Mineral Research, Japan Osteoporosis Society, Japanese Society of Periodontology, Japanese Society for Oral and Maxillofacial Radiology, and Japanese Society of Oral and Maxillofacial Surgeons. J Bone Miner Metab **28**：365–383, 2010.
20) Urade M, Tanaka N, Furusawa K et al：Nationwide survey for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in Japan. J Oral Maxillofac Surg **69**：E364–E371, 2011.
21) Taylor KH, Middlefell LS, Mizen KD：Osteonecrosis of the jaws induced by anti-RANK ligand therapy. Br J Oral Maxillofac Surg **48**：221–223, 2010.
22) Hillner BE, Ingle JN, Berenson JR et al：American Society of Clinical Oncology guideline on the role of bisphosphonates in breast cancer；American Society of Clinical Oncology Bisphosphonates Expert Panel. J Clin Oncol **18**：1378–1391, 2000.
23) Hillner BE, Ingle JN, Chlebowski RT et al：American Society of Clinical Oncology 2003 update on the role of bisphosphonates and bone health issues in women with breast cancer. J Clin Oncol **21**：4042–4057, 2003.
24) Baron R, Ferrari S, Russell RG：Denosumab and bisphosphonates；different mechanisms of action and effects. Bone **48**：677–692, 2011.
25) Suva LJ, Brander BE, Makhoul I：Update on bone-modifying agents in metastatic breast cancer. Nat Rev Endocrinol **7**：380–381, 2011.
26) Williams SC：Potential first-in-class osteoporosis drug speeds through trials. Nat Med **18**：1158, 2012.
27) Cheung A, Seeman E：Teriparatide therapy for alendronate-associated osteonecrosis of the jaw. N Engl J Med **363**：2473–2474, 2010.

Anti-bone resorption drugs and osteonecrosis of jaw

Akira Yamaguchi

Section of Oral Pathology, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University
Global Center of Excellence Program, International Research Center for Molecular Science
in Tooth and Bone Diseases,
Tokyo Medical and Dental University

Summary

Bisphosphonates (BPs) are potent inhibitors of osteoclastic bone resorption, and are widely used to prevent excess bone resorption in osteoporosis, cancer bone metastases, and multiple myeloma. There have been increasing reports showing that osteonecrosis of jaw infrequently occurred following the surgical treatments such as tooth extraction in patients who have been treated with BPs, which is called bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). There have been many reports on BRONJ, and almost cases contained various amounts of sequestrum (osteonecrosis) associated with bacterial growth. The vital bone tissues surrounding the sequestrum showed a typical histology compatible with osteomyelitis. BRONJ cases often showed giant osteoclasts exhibiting increased number of nuclei compared to those in normal osteoclasts. They also often showed “floating osteoclast”, which are presumably non-functional osteoclasts detached from bone surface. It has been well documented that another anti-bone resorption agent, RANKL antibody (Denosumab), also causes osteonecrosis of jaw at similar incidence that caused by BPs. American Society of Clinical Oncology (ASCO) proposed a new concept that categorizes BPs and RANKL antibody as bone-modifying agents (BMA), which cause osteonecrosis of jaw. Since medical doctors give medication of BMA and BMA-related osteonecrosis occurred in jaws, intimate cooperation between medical doctors and dentists is necessary to prevention and treatment of BMA-related osteonecrosis of jaw.

Key words : anti-bone resorption drugs, bisphosphonate, RANKL antibody, bone-modifying agents (BMA), osteonecrosis of jaw, osteoclast

医療計画の効果と課題

河原　和夫，菅河　真紀子　東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科環境社会医歯学系専攻
医療政策学講座政策科学分野

要旨：第二次大戦で，日本の医療施設は徹底的に破壊された．そこで政府は，戦後30～40年の間，全国規模で医療提供体制を整備し，1985（昭和60）年までには医療施設の量的整備は完了した．しかし，量的整備は達成したものの，都市部と地方での病院の地域偏在が問題となった．加えて，救急医療，長期療養の高齢者医療，そしてへき地医療なども当時の医療課題であった．

医療計画制度は，このような背景のもとで1985年に設立されたものである．その目的は，救急医療や高齢者医療，へき地医療などの問題の解決を通じて，医療の質を向上することである．そしてこれら諸課題を解決する地理的範囲として，ほとんどすべての住民が日常的に医療を受けることができるエリアを“医療圏”として設定し，これらの圏域を基礎として医療の諸課題を解決するものである．また，医療圏に応じてその圏域内の基準となる病床数が算定されている．

その後，医療計画は4回改定され約30年間続けられてきた．計画にはさまざまな問題がある．たとえば，救急医療や高齢者医療などはいまだ問題が解決されていない．また，医療圏は機能的ではないともいわれている．

四半世紀以上経った今，地域医療に影響を与えてきた医療計画の役割などを評価しなければならない．

Key words：医療計画，医療圏，病床規制，4疾病5事業，精神疾患，在宅医療，Gini係数，医療格差，移動選好指数（MPI），GIS（地図情報システム）

Ⅰ．はじめに――医療計画の軌跡

1948（昭和23）年に制定された医療法は戦争により破壊された医療施設の復興をみすえ，いわば量的な医療供給体制の整備が盛り込まれたものであった．しかし，戦後の急速な医学・医療の進歩や高度経済成長とともに，医療機関の量的な整備はほぼ完了し，医療資源の地域偏在の是正を図ることとなどを目的に1985（昭和60）年に医療法が改正され，医療計画制度が設けられた．病床規制と医療圏の設定により，医療圏単位での医療格差の改善をめざしたものであったが，病床規制以外なんら成果をみずに四半世紀あまりが経過した．

病床数の量的規制しか明確な成果を上げてこなかった医療計画は，“医療の質・安全性の確保”，“医療資源の地域格差の是正，公平性の確保”，“医療機能分化・強化・分担・連携”や“情報の提供と選択の支援”，“患者，住民の視点”などの近年の国民の要望や新たな社会の動向に対処できなくなった．

そこで2008（平成20）年4月から4疾病5事業を主とし，さらに医療の質や安全性の向上，住民主体の医療提供体制の確立，そして医療資源の効率的な提供・利用，情報開示等の推進など，住民や患者サイドに立った新たな策定理念に基づく現行の医療計画が実施されているが，この見直しの契機となったのは総合規制改革会議からの指摘である．本来であれば医療計画は，従来の医療圏，基準病床数という量的整備から提供される医療の質や安全性の向上，住民主体の医療提供体制の確立，そして医療資源の効率的な提供・利用，情報開示等の推進など住民や患者サイドに立ち，これらの質的整備に方向転換しているはずであった．

医療計画は二次医療圏単位で基準病床数が算定され，4疾病5事業などの事業が組み立てられている．4疾病とは，癌，脳卒中，急性心筋梗塞，糖尿病であり，5事業は救急医療，災害医療，へき地医療，周産期医療，小児医療である．

2013（平成25）年4月から新しい次の5ヵ年間の

連絡先：河原　和夫　kk.hcm@tmd.ac.jp

表 1. 基準病床数に対する病床数の推移

基準病床数に対する病床数（1993 年度）	基準病床数（1993 年度）	病床数の推移				基準病床数（1993 年度）に対する割合（%）			
		1993 年度	1998 年度	2003 年度	2008 年度	1993 年度	1998 年度	2003 年度	2008 年度
120%～の県	162,000	204,615	201,013	193,664	190,748	126.3	124.1	119.5	117.7
100～120% の県	582,860	626,896	620,655	613,484	603,181	107.6	106.5	105.3	103.5
100% 未満の県	455,214	430,068	439,181	454,265	454,866	94.5	96.5	99.8	99.9

注）基準病床数の数値については，1994（平成 5）年 3 月 31 日現在で適用された基準病床数（平成 6 年版厚生白書による）．病床数の数値については，各年 10 月 1 日現在の数値（医療施設調査による）．

表 2. 小規模人口医療圏と大規模人口医療圏の格差

	有意確率（$p<0.05$）	オッズ比	95% 信頼区間
人口 1,000 人当たりの総病床数	0.00	0.816	0.765～0.870
人口 1,000 人当たりの一般病床数	0.00	0.792	0.707～0.887
人口 1,000 人当たりの療養病床数	0.00	0.699	0.612～0.799
人口 1,000 人当たりの病院勤務医数	0.10	2.088	1.194～3.649

医療計画が始まったが，従来の癌，脳卒中，急性心筋梗塞および糖尿病に加えて，精神疾患と在宅医療が重点的に対処すべき疾患となった．

本稿では，2013（平成 25）年 3 月まで行われていた都道府県医療計画の内容を分析し，問題点を同定したものである．

Ⅱ．医療計画により改善された事柄と残された課題

1. 二次医療圏間の格差

医療計画の作成は，医療法第三十条の四～十一に基づいて行われる都道府県知事に策定義務が課された法定計画である．おおむね 5 年ごとに見直しが行われている．

当初，病床規制のために，二次医療圏の設定と必要病床数（現在の“基準病棟数”に該当）の算定が法律に定められた事項であった．これらは都市部の中心病床（病院）や医師の集中を防ぎ，事実上，都市部での病院の開業を阻止することにより，人的・物的医療資源を不足している地方などに再配分することをめざしたものである．表 1 に示すように，2003（平成 5）年時点で，病床数が基準病床数を上回っていた県では病床数が減少し，病床数が基準病床数を下回っていた県では病床数が増加している．つまり病床の過不足は改善されてきている．

では，設定された二次医療圏とはいかなるものであろうか．それは，特殊な医療を除く一般の医療需要で，主として病院における入院医療を提供する体制の確保を図る区域のことである．地理的条件や日常生活や交通事情など社会的条件を考慮し，2012（平成 24）年 3 月 1 日時点で 349 圏域が定められている．

ちなみに一次医療圏とは，通常の外来診断，治療，健康管理，紹介などのプライマリケアの実践単位である．三次医療圏とは，特殊な医療需要（先進的技術を必要とする医療，発生頻度が低い疾病に関する医療など）に対応するために設定する区域で，基本的に都道府県単位である．

二次医療圏の平均人口は約 35 万人である．しかし全体の 66.5%（232/349）の圏域が平均以下の居住人口である．加えて，この平均人口も大規模人口を抱える二次医療圏により数値が引っ張られており，人口の中央値は 222,104 人である．面積では，平均 1,058 km^2（最大は北海道十勝医療圏の 10,828 km^2，最小は愛知県尾張中部医療圏の 42 km^2）である．中央値は 803 km^2 となっている．後ほど述べるが病床数の格差もある．加えて，患者が他の二次医療圏に移動していることも見過ごすことができない．

二次医療圏人口の中央値 222,104 人を境として，それ未満の“小規模人口医療圏”とそれ以上の“大規模人口医療圏”に区分してロジスティック回帰分析を行った結果，小規模人口医療圏に比して大規模人口医療圏は，人口 1,000 人当たりの総病床数，一般病床数および療養病床数ともに少なかったが，人口 1,000 人当たりの病院勤務医数は多かった（表 2）．

2010（平成 22）年の医師・歯科医師・薬剤師調査をもとに人口 10 万人当たりの各診療科医師数の二次

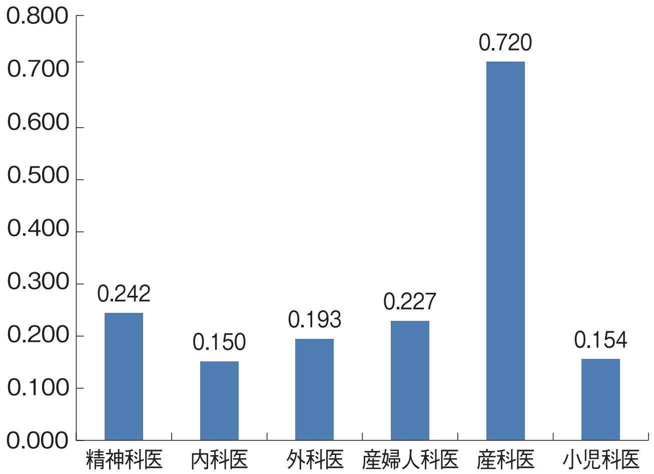


図 1．人口 10 万人当たりの各診療科医師数の Gini 係数（複数診療科選択）

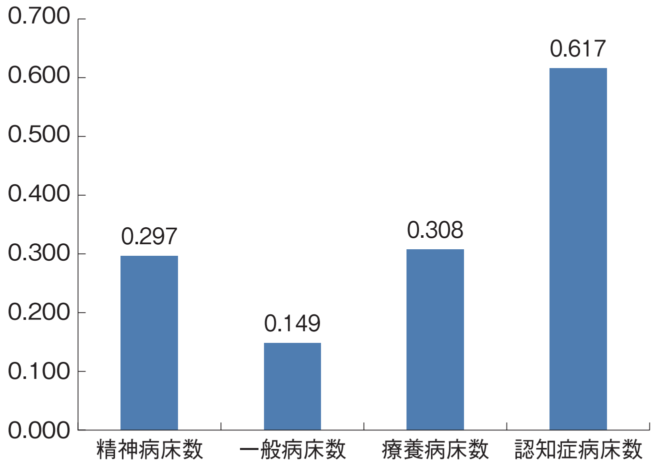


図 2．人口 10 万人当たりの病床数の Gini 係数

医療圏間の格差を示す Gini 係数を算出した．なお，複数の診療科に従事している場合，おのおのの科に重複計上した．精神科医 0.242，内科医 0.150，外科医 0.193，産婦人科医 0.227，産科医 0.720，そして小児科医は 0.154 であった（図 1）．同じく病床数の二次医療圏間の格差を示す Gini 係数は，精神病床が 0.297 であった．認知症病床数の二次医療圏 Gini 係数は 0.617 であった．一般病床数の Gini 係数は 0.149，療養病床数は 0.308 であった（図 2）．産科医や認知症病床の地域偏在が顕著である．

Gini 係数であるが，主として貧富などの格差を測る指標であり，0〜1 までの値をとり，分布が平等であれば 0 に近づき，不平等であれば 1 に近づく係数であり，値の大きさが不平等度を測る指標として用いられている．

2．患者の受診医療機関と二次医療圏

二次医療圏が前述のように特殊な医療を除く一般の医療需要で，主として病院における入院医療を提供する体制の確保を図る区域のことであるとすれば，二次医療圏を超えた患者移動は起こりえない．しかし実際は，全国的規模で二次医療圏を超えた患者移動が起こっている．

このように人口や面積要件で医療圏ごとの格差があるものの，医療圏に求められていることは，日常生じるほとんどの医療需要に対して，圏域内の医療機関が満足のいく医療供給を行うことである．つまり需給ギャップが生じていなければ，当該医療圏からの患者流出は移動期待値を超えて生じないのである．そこで，先行研究の手法を用いて，入院患者の住所地がある医療圏から他の医療圏にある医療施設に患者が流出しているかについて，移動選好指数（migration preference index：MPI）を下記に示す計算式を用いて算定した[1)]．また患者移動は当該都道府県内の移動のみを考え，患者住所地から他の医療圏にある医療施設への流出状況に関するデータは，厚生労働省の 2008（平成 20）年患者調査を参考にした．なお，この調査では，入院患者のデータはあるものの外来患者のデータはないため，入院患者しかわからない．

$$\mathrm{MPI} = \frac{Mij}{(P_i/P_t \times P_j/P_t) \times \sum_{i,j} M_{ij}} \times 100$$

MPI は i 医療圏の j 医療圏に対する入院患者移動の選好指数，P_i は i 医療圏に住所地を有する入院患者数，P_j は j 医療圏に住所地を有する患者数，P_t は都道府県の入院患者総数，M_{ij} は i 医療圏から j 医療圏への移動入院患者数とした．

MPI が 100 の場合，実際の移動患者と移動期待値が等しいとされ，MPI が 100 以内である医療圏は，当該医療圏で医療の需給が完結していることに加えて，むしろ他医療圏からの流入があることを意味している．349 個所の医療圏のうち 117 医療圏が，患者の流出はなく医療法による二次医療圏の要件を満たしていた．残りは差があるものの，二次医療圏として機能していない医療圏も存在していた．とくに，福島県南会津医療圏（MPI：790），長崎県上五島（718），高知県安芸（615），鳥取県中部（614），京都府山城南（529），高知県高幡（513），北海道宗谷（466），北海道根室（420），北海道南檜山（418），北海道日高（405）などの二次医療圏では，隣接医療圏への過剰な入院患者移動が確認された．これら医療圏は，移動期待値の 3 倍強〜8 倍近くの患者が県内の他の医療圏を受診していることを意味している．349 医療圏のうち 235 個所の医療圏（全体の 67.3%）で，理論値より過剰な入院患者が他の医療圏に流出していることが確認された．多くは過疎地をはじめとする地方の医療圏であるが，なかには表 3 のように都市部の医療圏も含まれている．

表 3. MPI 入院患者流出上位 5 医療圏と東京都と神奈川県の医療圏の順位

流出順位	都道府県	二次医療圏	MPI
1	福島県	南会津	790
2	長崎県	上五島	718
3	高知県	安芸	615
4	鳥取県	中部	614
5	京都府	山城南	529
126	東京都	区西部	158
135	東京都	区西南部	150
146	神奈川県	横浜南部	144
148	東京都	北多摩西部	143
152	神奈川県	横浜北部	141
156	東京都	区中央部	139
169	神奈川県	県央	133
174	東京都	区東部	128
201	神奈川県	川崎北部	116
202	神奈川県	川崎南部	116
204	神奈川県	横浜西部	115
213	東京都	区東北部	110
220	神奈川県	横須賀・三浦	108
233	東京都	区西北部	103
235	東京都	北多摩南部	101
236	神奈川県	湘南東部	101
242	東京都	北多摩北部	98
246	東京都	区南部	96
247	東京都	島しょ	95
285	神奈川県	県西	71
290	神奈川県	相模原	68
305	神奈川県	湘南西部	58
309	東京都	南多摩	55
315	東京都	西多摩	49

表 4 は東京都の A 区民の医療圏を超えた患者移動の状況である．外来では 74.1%，そして入院では 49.5% の区民が居住している医療圏で治療を受けていたが，ほかは流出していた．

地方での患者流出は，病床はあるものの医師が少なくて機能していないために生じていることが，一方，都市部では交通至便のため容易に二次医療圏間の移動ができることが考えられる．

3. 救急医療と医療計画

2013（平成 25）年 4 月から始まる新・医療計画は，5 疾病 5 事業および在宅医療分野の医療資源の配分計画となっている．その中でもとくに重要な救急医療を取り上げてその問題点を把握したい．

a. 救急医療体制の都道府県格差

1）最寄りの三次救急施設への搬送時間

この場合の搬送時間は，現場に到着した救急車に患者を収容してから最寄りの三次救急施設に到着するまでの時間とする．また，三次救急施設のほかは，途中いかなる医療施設に立ち寄らなかったものと仮定する．例示として東北地方を図 3 に示す．

GIS（geographic information system：地図情報システム）ソフトウェア Arc.View9.1（パスコ社，東京）を用いて，区市町村庁舎が所在する住所地（ほぼ人口重心に相当する）から最寄りの救命救急センター住所地までのアクセス時間の最大値，最小値，標準偏差，変動係数を算出した（表 5）．最大値と最小値の差を都道府県別に比較してみると，もっとも大きい値は北海道の 288 分，もっとも小さい値は富山県の 44 分であった（格差は約 6.6 倍）．一方，標準偏差を都道府県別に比較してみると，もっとも大きい値は北海道の 52.18 分，もっとも小さい値は東京都の 9.53 分であった（格差は約 5.3 倍）．一方，変動係数を都道府県別に比較したところ，愛知県の値が 0.71 でもっとも大きく，東京都は 0.62，神奈川県は 0.59 となっており，都市部の自治体においても，他の自治体と比べて相対的に値が大きかった（図 4）．このことは，都道府県別のアクセス時間の平均値ではみえてこない都道府県内部の格差にも注目する必要があることを示している．

なお，周産期の救急体制にふれるが，2002（平成 14）～2006（平成 18）年の間に周産期母子医療センターへのアクセス時間は，全国的にみれば中央値で 66.99 分から 39.09 分まで減少しており，アクセシビリティの改善が認められている[2]．

統計解析の結果，アクセス時間に影響を及ぼす因子として選択されたのは，1 救命救急センター当りの平均管轄面積の広狭，1 平方 km 当りの高速自動車国道延長距離，当該救命救急施設の管轄人口数であった[3]．

また，市町村面積重心点から最寄りの三次救急施設までのアクセス時間を推計した結果，アクセス時間の

表 4. 東京都 A 区民の外来/入院の別と受診医療機関の所在地

受診形態		受診医療機関の所在地						計（%）
		A 区内	同一医療圏	医療圏を異にする隣接自治体	その他の特別区	多摩地区	他道府県	
外　来	人数（%）	8,454（57.7）	2,405（16.4）	1,752（12.0）	1,610（11.0）	220（1.5）	219（1.5）	14,660（100.0）
入　院	人数（%）	188（33.5）	90（16.0）	114（20.3）	69（12.3）	64（11.4）	37（6.6）	562（100.0）
計	人数（%）	8,642（56.8）	2,495（16.4）	1,866（12.3）	1,679（11.0）	284（1.9）	256（1.7）	15,222（100.0）

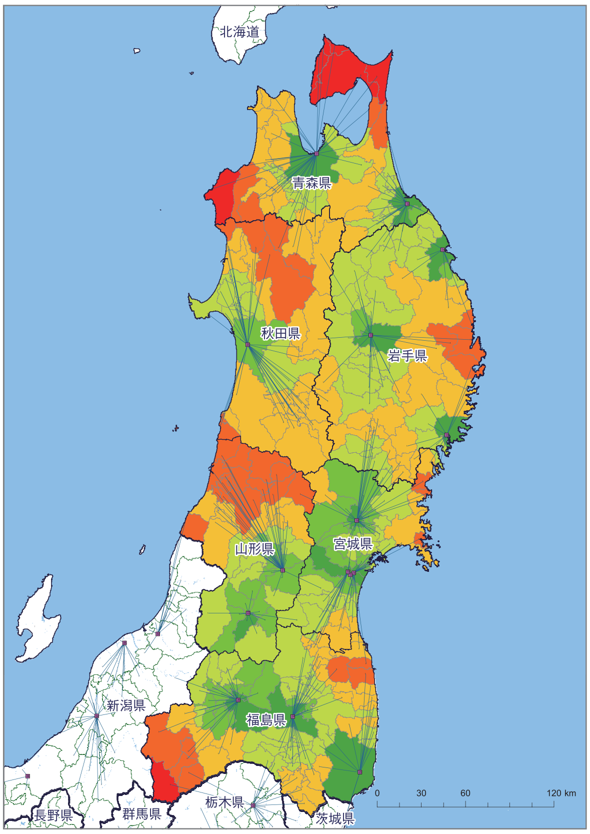


図 3. 市区町村役場から最寄りの三次救急施設までのアクセス時間分布（東北エリア：青森，岩手，宮城，秋田，山形，福島）

表 5. 都道府県別の域内におけるアクセス時間の格差

都道府県		最小値	最大値	標準偏差	変動係数	都道府県		最小値	最大値	標準偏差	変動係数
1	北海道	0	288	52.18	0.62	25	滋賀県	2	64	12.29	0.52
2	青森県	14	197	28.1	0.4	26	京都府	6	118	28.44	0.65
3	岩手県	1	117	18.03	0.32	27	大阪府	3	53	9.98	0.56
4	宮城県	2	97	22.76	0.56	28	兵庫県	5	86	17.98	0.43
5	秋田県	25	104	18.82	0.26	29	奈良県	2	133	30.15	0.71
6	山形県	13	120	37.46	0.57	30	和歌山県	4	136	32.58	0.59
7	福島県	8	136	26.3	0.48	31	鳥取県	3	71	20.66	0.5
8	茨城県	4	59	12.7	0.35	32	島根県	3	86	27.33	0.59
9	栃木県	0	87	18.5	0.58	33	岡山県	11	77	16.77	0.45
10	群馬県	2	102	20.7	0.46	34	広島県	4	94	22.53	0.58
11	埼玉県	3	79	14.46	0.45	35	山口県	6	87	19.29	0.52
12	千葉県	3	76	15.97	0.48	36	徳島県	6	108	26.39	0.66
13	東京都	3	60	9.53	0.62	37	香川県	4	50	11.39	0.35
14	神奈川県	3	56	13.44	0.59	38	愛媛県	4	86	22.39	0.61
15	新潟県	4	102	18.14	0.44	39	高知県	14	139	32.44	0.47
16	富山県	12	56	13.11	0.42	40	福岡県	2	85	17.29	0.56
17	石川県	6	100	21.43	0.49	41	佐賀県	9	81	18.31	0.53
18	福井県	10	121	30.4	0.63	42	長崎県	5	152	30.61	0.41
19	山梨県	11	98	19.39	0.42	43	熊本県	6	189	43.31	0.59
20	長野県	4	97	19.53	0.45	44	大分県	20	101	18.97	0.33
21	岐阜県	4	86	16.88	0.6	45	宮崎県	6	130	26.82	0.47
22	静岡県	1	99	22.93	0.51	46	鹿児島県	9	155	32.69	0.38
23	愛知県	2	113	18.85	0.71	47	沖縄県	7	87	22.04	0.67
24	三重県	8	138	36.1	0.64						

注）最小値が 0 となっているところがあるのは，三次救急施設と区市町村庁舎がきわめて隣接している（500 m 以内）ケースである．

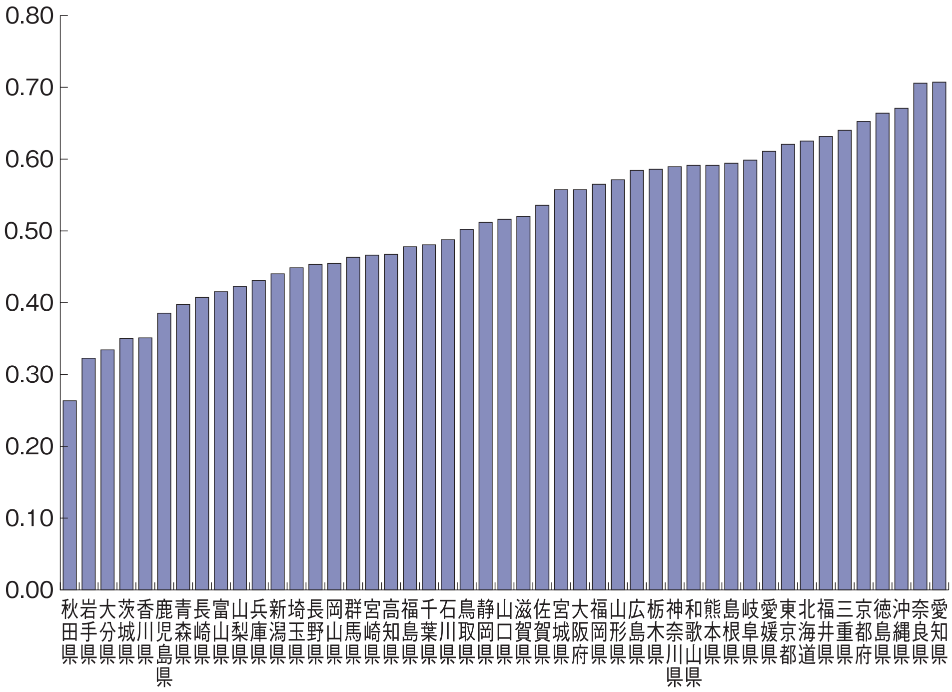


図 4．都道府県別のアクセス時間の変動係数

表 6．15，30，60，90，120 分以内に到達可能な人口割合の推計値

都道府県		搬送時間ごとにみた総人口に占める搬送可能人口割合（%）					都道府県		搬送時間ごとにみた総人口に占める搬送可能人口割合（%）				
		15 分	30 分	60 分	90 分	120 分			15 分	30 分	60 分	90 分	120 分
1	北海道	19.72	52.48	75.28	88.12	92.55	25	滋賀県	19.58	73.59	97.62	99.97	99.97
2	青森県	7.51	31.16	62.06	89.37	92.17	26	京都府	32.27	66.21	84.54	87.21	89.99
3	岩手県	10.98	27.51	54.93	84.79	96.06	27	大阪府	35.61	88.12	99.79	99.84	99.84
4	宮城県	17.52	52.45	85.33	94.42	97.96	28	兵庫県	13.87	50.03	91.34	98.67	98.9
5	秋田県	5.27	19.78	43.19	77.22	88.39	29	奈良県	19.09	75.13	97.71	99.21	99.48
6	山形県	8.24	41.45	64.03	74.79	97.24	30	和歌山県	19.79	48.8	78.93	88.19	91.91
7	福島県	10.39	33.86	74.4	92.89	98.68	31	鳥取県	31.08	60.01	82.39	98.19	98.44
8	茨城県	6.5	31	83.58	95.92	98.74	32	島根県	26.84	52.66	77.52	90.66	93.62
9	栃木県	18.37	63.18	98.28	99.83	100	33	岡山県	14.34	50.73	92.36	97.95	98.88
10	群馬県	12.16	41.78	87.03	98.23	99.88	34	広島県	15.71	45.93	86.26	94.88	96.72
11	埼玉県	16.7	62.96	98.39	100	100	35	山口県	17.18	59.05	88.2	95.08	95.83
12	千葉県	12.97	55.08	94.81	99.42	99.42	36	徳島県	17.86	57.27	92	94.88	96.73
13	東京都	53.4	96.21	99.69	99.72	99.72	37	香川県	26.26	54.63	93.38	93.94	93.94
14	神奈川県	35.16	86.85	98.97	99.42	99.42	38	愛媛県	20.77	51.54	76.76	93.17	95.32
15	新潟県	13.33	48.71	90.88	95.69	96.14	39	高知県	14.2	47.15	69.36	77.58	81.91
16	富山県	21.58	64.57	97.69	98.4	98.5	40	福岡県	30.22	73.32	96.05	99	99.13
17	石川県	8.87	32.98	89.9	96.07	97.86	41	佐賀県	20.55	39.97	81.12	97.59	98.56
18	福井県	11.91	45.16	86.9	90.61	95.31	42	長崎県	2.5	9.34	47.84	72.91	82.13
19	山梨県	11.55	39.59	80.09	98.21	99.7	43	熊本県	13.32	40.41	73.02	85.14	91.88
20	長野県	17.3	49.07	92.15	99.08	99.69	44	大分県	6.48	30.86	64.03	91.56	97.03
21	岐阜県	21.65	71.81	94.74	99.39	99.93	45	宮崎県	18.98	40.04	67.34	92.59	97.68
22	静岡県	13.63	43.39	92.69	98.22	98.84	46	鹿児島県	8.29	22.4	45.34	65.88	77.89
23	愛知県	24.9	79.54	98.77	99.51	99.64	47	沖縄県	32.93	72.83	84.85	87.41	87.59
24	三重県	6.77	22.52	76.75	88.25	93.78							

平均は 59.5 分，標準偏差 39.4 分であった．アクセス時間に有意な影響を及ぼす要因として人口密度，課税後所得，道路実延長が抽出され，人口が密集し，所得水準が高く，道路整備がすすんでいるという都市部の特徴が強いほどアクセス時間は短くなることが示唆された．1 個所の三次救急施設が担当する人口（当該施設に最短時間でアクセスできる人口）と 60 分以内で三次救急にアクセスできる人口割合との関係を都道府

県別にみると，人口割合が高いほど担当人口の規模のバラツキが大きいという傾向が認められた[4]．

人口重心，面積重心のいずれでも，道路や救命救急センターなどのインフラの整備状況が救急搬送時間に影響を及ぼしていることがわかった．これらは都市部と地方との救急医療の格差となって現れている．

2）単位時間内での搬送可能住民割合

三次救急施設に15，30，60，90，120分以内にアクセスできる住民が当該都道府県人口に占める割合を表6に示す．60分を目安にすると，もっとも良好なのは大阪府の99.79％である．一方，秋田県は43.19％とかんばしくない．全国的には15分以内に17.96±9.77％，30分以内で51.13±18.92％，60分以内で82.73±14.98％，90分以内で92.75±8.09％，120分以内では95.81±5.16％の住民が三次救急施設に到達可能であった．

b．今後の救急医療の医療計画上の位置づけ

現行医療計画では救急医療は事業系に位置づけられているが，5疾病の中の急性心筋梗塞，脳卒中，身体合併症を有するような精神医療と密接な関係がある．同じく事業系の小児医療，周産期医療，災害医療ならびに在宅医療とも少なからぬ重複がある．とくに急性心筋梗塞，脳卒中が二次医療圏を基盤に整備目標が立てられているにもかかわらず，これらと救急医療の両者との行政理念や施策体系の連続性があまりみられない．急性心筋梗塞や脳卒中は一刻を争う事態を招来する．とくにt-PAなどの有効な治療方法の出現は，搬送時間の長短が救命率とますます密接に絡むようになってきた．たとえば，急性心筋梗塞については，患者の居住地から30分以内に受け入れ施設があること，脳卒中については90分以内に治療可能な医療施設が存在することなど，疾病の種別に応じた医療圏を設定することが合理的であるので，三次救急を含む救急医療体制も枠組みの変更が求められる．もちろん，災害医療など全県的規模での即応体制を整備する視点も必要である．

c．医療計画に位置づけされた救急医療の政策体系

医療計画では，4疾病については二次医療圏をベースとした記述内容が多いが，救急医療も含めた5事業系は救急医療機能の向上や搬送体制の整備といった事柄が中心で，とくに二次医療圏を意識した構造にはなっていない．ここでは救急医療体制の中核をなす“三次救急医療体制”を取り上げることとする．現行の医療計画の施行直前の2008（平成20）年3月時点で，47都道府県のうち42都道府県の計画を入手することが可能であった．そこで，それらの救急医療の内容を分析したところ，42都道府県のうち35都道府県が救急医療における数値目標を設定していた（表7）．医療の質は，構造（structure），過程（process），結果（outcome）という三つの側面から評価できるとされている（Donabedian，1980，米国）．この評価視点に立って医療計画の救急医療分野を分析した．

数値目標設定の多い順に，構造（structure）に相当するものでは，救命救急センター数（15都道府県），初期救急体制（休日・夜間）の整備（12都道府県），AEDの設置数（10都道府県），二次救急体制（救急告知病院）の整備（9都道府県）があげられていた．過程（process）に相当するものでは，救命講習会の受講者数（8都道府県），平均収容所要時間（7都道府県）があげられ，結果（outcome）として，心肺停止傷病者の1ヵ月後の生存率（4都道府県）があげられていた．Structureの整備に重きをおく都道府県が多いが，なかでも救命救急センター数をあげる都道府県は全数値目標設定の中で最多であった．これは，その設置数・設置場所の妥当性はともかく，基本的な目標設定としては問題ないと考えられた．一方，AEDの設置数をあげるものも10都道府県あるが，従来からの既定路線であるうえ，わずかの設置数増加をあげる都道府県も少なくなく，“あげやすい・達成しやすい目標値”として使われている印象を受けた．Structureの整備をあげた都道府県が多かったのと対照的に，もっとも重要なoutcomeである“心肺停止傷病者の1ヵ月後の生存率”をあげたのは，数値目標を設定している35都道府県のうち，わずか4都道府県しかなかった．また，processとして重要と考えられる応急手当，収容・搬送時間，受け入れなどをあげる都道府県も，structureの整備と比較し少数にとどまった．Process指標として重要と考えられる“平均収容所要時間”をあげているところは7都道府県と少数であった．目標についても現状維持にとどまるもの，最初から達成可能な目標値をあげるもの（現状より低い目標値をあげるものもある），基準となる数値は示すものの，単に“増加”などとし，具体的な目標値をあげないものも認められた[5]．

救急医療の目的は死亡率や後遺症を有することになる者の減少である．しかし，前述の心肺停止傷病者の1ヵ月後の生存率などの本来求められるべき目標値を掲げているところは，4都道府県しかなかった．死亡率（生存率），救命率といった適切なoutcomeを設定すべきである[6]．

救急医療に限らず，都道府県の医療計画に記載されている目標値や施策の多くは，本筋から離れた枝葉の部分で，しかも達成が容易な目標値である．多くの都道府県は，計画にある数値目標が達成されたことから，

表 7．都道府県医療計画における救急医療の数値目標

		項　目	都道府県数	割　合（%）
結果（outcome）		心肺停止傷病者の 1 ヵ月後の生存率	4	11.4
過　程（process）	応急手当など	救命講習会の受講者数	8	22.9
		バイスタンダーによる応急手当実施率	5	14.3
	収容・搬送時間など	平均収容所要時間	7	20.0
		救急自動車による搬送時間が 1 時間以上の救急患者割合	1	2.9
		1 時間以内に救命救急センターに搬送可能な地域の人口カバー率	1	2.9
	受け入れなど	重症患者の救命救急センターへの搬送割合	1	2.9
		救急車が傷病者を搬送した医療機関が収容不能であったため，同一救急隊が引き続いて，同一傷病者を他の医療機関に搬送した“救急車の転送”の割合	1	2.9
		救急車で搬送する病院が決定するまでに，要請開始から，たとえば 30 分以上，あるいは 5 医療機関以上に要請を行った一定期間における件数と，その原因分析，全搬送件数に占める割合	1	2.9
		救命救急センターにおいて，消防機関からの救急搬送受入要請に対して実際に受け入れた人員の割合（救急搬送応需率）	1	2.9
	受診者数など	病院群輪番制病院おける救急患者の数および入院患者の割合	1	2.9
		救命救急センター救命者数	1	2.9
		救命救急センターの軽症患者の受診割合	1	2.9
	その他	厚生労働省による A 評価救命救急センターの割合	5	14.3
		救急医療情報システムアクセス回数	1	2.9
基　盤（structure）	施設・設備	救命救急センター数	15	42.9
		初期救急体制（休日・夜間）の整備	12	34.3
		AED の設置数	10	28.6
		二次救急体制（救急告示病院）の整備	9	25.7
		ドクターヘリの導入・配備	4	11.4
		ドクターカーを配備している救命救急センター数	1	2.9
		病院群輪番制の実施第二次医療圏数（医療圏）	1	2.9
		救急法等講習会の実施第二次医療圏数（医療圏）	1	2.9
		救急車の稼働台数とその配置	1	2.9
		救急医療情報システム参加医療機関数	1	2.9
		休日・夜間対応薬局（当番薬局制度）の実施地区数	1	2.9
		常備消防のない市町村の数	1	2.9
		管轄人口 10 万人未満の小規模単独消防本部の数	1	2.9
	人　員	救命救急士数	5	14.3
		救命救急士が配置された救急隊の割合	4	11.4
		気管挿管および薬剤投与可能な救命救急士数	2	5.7

（%）は 35 都道府県中の割合である．

行政の 5 年間の実りある成果として強調することであろう．

救急医療は，迅速な患者搬送体制の整備や専門性を有した受け入れ医療機関の確保が重要であることはいうまでもない．

東京都の 2009（平成 21）年の救急車の患者搬送時間などは，“出場～現場到着” までが 6.1 分（移動距離：2.1 km），次に “現場到着～搬送開始” までが 19.9 分，そして “搬送開始～病院到着” までが 11 分（移動距離：4.5 km）の合計 37 分であった．これは都道府県で最長時間であった．問題は現場での滞留時間の長さである．理由としては，医療機関側の事情により搬送できなかったほかに，現場近辺の道路が狭隘であったり，救急出動先のマンションなどのセキュリティの問題により収容に時間を要するという都市事情に起因する問題があることが考えられる．また，患者が医療に加えて，医療後の福祉問題を抱えたまま医療機関に運ばれ，医療機関にとって医療に加えて過度な福祉課題の解決まで強いられる事例もある．こうした点は医療計画には出てこない．しかし，これらを解決しない限り，救急医療の問題は本質的な解決ができない．医療計画を策定する際には，都市計画や福祉などの関連部局との中身が伴った連携が必要である．

Ⅲ．まとめ——医療計画の課題

救急医療体制でも示したように，“心肺停止傷病者の 1 ヵ月後の生存率” などの本質的な数値目標が設定

前 目次へ 次

されておらず，本筋から離れた救命講習会の受講者数やAED設置台数などの達成可能な目標が多く取り上げられている．もちろんこれらが重要でないということではないが，これでは真に救急医療体制の改善に資する政策とはならない．同様に災害医療対策は，“災害による死傷者の減少”を最優先の目標としてとらえなければならないのに，多くの都道府県がDMAT（disaster medical assistance team：災害時派遣医療チーム）指定病院数の整備・拡充やトリアージュ研修の充実などをあげている．しかし，これらが直接災害医療対策に寄与するとは思えない．本来ならDMAT指定病院などの災害医療施設を対策の空白域に設置し，人的資源と合わせてうまくオペレーションすることが災害医療対策となるのである．もっとも，最大の災害医療対策は発災前から“減災対策”を講じて死傷者の数を減らして，発災時の医療需要を極力抑えることである．これには住宅政策とのリンクが必要であることはいうまでもない．

癌，急性心筋梗塞，脳卒中，糖尿病対策もそれぞれ治療法や緊急度が異なるにもかかわらず，二次医療圏単位での体制整備をめざしてきた．二次医療圏域にかかわることなく，それぞれの疾病に応じた医療圏域を設定すべきである．それに，全国的規模で二次医療圏を越えた患者移動が生じている事実は，もはや二次医療圏が形骸化していることの表れである．二次医療圏は今や，病床規制のための基準病床数算定の地域単位や二次医療圏単位ですすめる新型インフルエンザ対策のための，補助金算定のための設定エリアとしての意義しか有していない．

医療計画は，たとえば“周産期医療体制を整備します．……”などの社会目標を論じた記述が多く，その目標を達成するための具体的な施策体系や事業計画が欠落している．これも医療計画の問題点であり，実効性が上がっていない原因になっている．厚生労働省は，都道府県に，地域の医療の問題点を同定し，医療計画の目標を設定するために，国が有する統計資料であるNational Data Base（NDB）やDPC dataの分析と活用を求めている．これ自体は科学的根拠に基づく行政を展開するために必要であるが，問題は，地域の医療課題を指標化する際に的確に一致するNDBなどのデータが少ないことである．もっとも，地域の医療関係者が一堂に会して議論すれば，時間をかけてNDBやDPCデータから得られた情報に劣らないものが短時間で得られると考える．2013（平成25）年4月から始まった新・医療計画は，2012（平成24）年度に都道府県で策定作業が行われた．筆者は，東京都の医療計画を取りまとめたが，事務局がNDBなどのデータ解析に時間をとられ，実質的な議論の時間が十分に確保できなかった．議論が深化すれば，よりよい施策体系や事業計画の策定に資することができたと考える．十分に討議時間を確保することが，医療計画の実効性の向上に直結する．

二次医療圏間の医療資源の格差は，地方にいくほど医療需要は散在あるいは偏在している．また，限られた医療供給量や逼迫する財源からすれば，格差を解消することは現実にはむずかしい．都市計画と連動して“コンパクトシティ”の考えのように需要を集積化し，今の限られた医療資源を効率的に運用するなどの工夫が必要である．

医療計画は過去四半世紀の間に，大きな策定理念や方法の改定が2回あった．新・医療計画では，5疾病と5事業に加えて，在宅医療の充実・強化が政策の主体となっている．これらの医療分野は，診療報酬や介護報酬制度から大きな影響を受けていることはいうまでもない．医療計画という行政手段で理念の達成をめざすより，全国一律ではなく地域性を反映した診療報酬制度などを設けて，地域の医療整備目標を診療報酬などを通じて政策誘導することを検討する必要がある．

過去二十数年間の医療計画の成果は，二次医療圏の設定と病床規制のための基準病床数の設定のみといっても過言ではない．これとても，患者移動や病床規制という規制を緩和して競争原理に基づき，地域医療の新陳代謝を高めていくという考えからすれば，もはや今日的意義を失っている．

文　献

1) 大場久照，谷川琢海，小笠原克彦：移動選好指数を用いた受療動向の評価に関する基礎的研究．日医療病管理会誌 **45**：299–310，2008．
2) Aoshima K, Kawaguchi H, Kawahara K：Neonatal mortality rate reduction by improving geographic accessibility to perinatal care centers in Japan. J Med Dent Sci **58**：29–44, 2011.
3) Miwa M, Kawaguchi H, Arima H et al：The effect of the development of an emergency transfer system on the travel time to tertiary care centres in Japan. Int J Health Geographics **5**：25, 2006.
4) 河口洋行，河原和夫：3次救急施設へのアクセス時間に関する研究—GISを利用したアクセス時間水系の結果より．病院管理 **43**：35–46，2006．
5) 河原和夫：医療計画事例—神奈川県；新計画の特徴はどのような形で表れているか．病院 **67**：804–806，2008．
6) 菅河真紀子，河原和夫：都道府県が策定する医療計画と救急医療体制はどうあるべきか．病院 **70**：833–838，2011．

Effectiveness and problems of medical care plan

Kazuo Kawahara, Makiko Sugawa

Division of Health Care Management and Planning,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

Summary

The medical facilities in Japan were completely destroyed during World War II. So the government has been focused on providing the medical facilities in the country for about 30–40 years. But until 1985 or around, the medical facilities had been quantitatively provided almost all over Japan. On the other hand, the distribution of the hospital was unequal between urban and rural areas. In addition to this, the emergency medical care, the long-term care for the elderly, and medical care in remote areas etc., were important issues to in those days.

The medical care plan was established in 1985 under these circumstances, and which purpose were to do the qualitative improvement of the medical care system with solving medical problems such as emergency care and geriatric medicine and the medical care in remote area. These issues must solve based on the geographic range where almost all inhabitants can access to the medical facilities in daily life are called "Medical area". And according to the each medical area, the standard the number of beds are set up.

Since then, the medical care plan has been carried out for about 30 years with 4 times revises.

There are many problems in this plan. For example, emergency care and geriatric medicine are still unsolved, and it is said that the medical areas are not functional.

It is necessary to evaluate the role that the medical care planning system that over a quarter of century passed served as for a community medicine.

Key words : medical care plan, medical area, regulation for the superfluous beds, 4 diseases and 5 services, in-home medical care, Gini's coefficient, health equity, migration performance index (MPI), geographic information system

お茶の水醫學雜誌　61：139–145（2013）

1個の幹細胞から，傷ついた大腸の再生に成功

中村　哲也　　東京医科歯科大学大学院消化管先端治療学

要旨：組織再生研究の進展が著しい今日，消化管組織においても組織幹細胞を利用する新しい再生医療に期待が集まっている．本研究では，正常なマウス大腸上皮幹細胞を単離し培養する新技術を確立した．またこの方法を用いて体外で増やした幹細胞，しかも，これがただ1個の幹細胞から増やした細胞の移植であっても，傷害大腸上皮を修復し，組織再生に寄与しうることをはじめて明らかにした．以上の成果により，培養幹細胞を用いる消化管上皮再生医療，および微小な組織から得る腸管上皮幹細胞を大量に増やし，広範囲な傷害上皮を治療する再生医療が理論的に可能であることが示された．

Key words：再生医学，腸管上皮幹細胞，組織幹細胞，細胞移植治療，Lgr5

Ⅰ．はじめに

体性幹細胞を単離し，体外で維持し，増やし，これを傷害臓器へ移入することで正常な臓器機能を取り戻す再生医療に大きな期待が集まっている．しかしながら，組織再生研究の進展がめざましい近年においても，培養幹細胞による組織再生医療は限られた組織のみで利用されるにすぎない．

消化管組織においても，潰瘍性大腸炎，Crohn病など重篤な炎症性腸疾患や放射線腸炎などにおける上皮再生不全，あるいは内視鏡的粘膜切除術後などにおける広汎な粘膜損傷に対し，上皮再生を促進するための新技術が期待される状況があるにもかかわらず，培養幹細胞を利用した上皮組織再生の試みはほとんどなかった．これは主として，正常な腸管上皮細胞培養技術が未確立であったことによる．本研究においては，正常な大腸上皮幹細胞を単離・培養する新技術を確立し，かつ，これで得られる培養幹細胞の移植が傷害上皮再生に寄与しうることをはじめて明らかにした．しかもこの移植実験では，ただ1個の幹細胞から体外で増やした幹細胞の移植によっても，傷害上皮の修復が可能であることが示された．本稿では，培養幹細胞を用いる消化管上皮再生医療が理論的に可能であることを示した本研究成果について解説する．

連絡先：中村　哲也　nakamura.gast@tmd.ac.jp

Ⅱ．傷害後の大腸上皮組織再生機構

腸管上皮組織が構造的・機能的に維持されるためには，細胞の増殖と複数種への分化（吸収上皮細胞，内分泌細胞，Paneth細胞，杯細胞など）が，生涯にわたり厳密に調節されることが重要である．腸管上皮組織の大きな特徴は，この調節機構が陰窩–絨毛という構造単位内で完結することにある．陰窩底部の幹細胞に由来する細胞は，増殖・分化の運命決定を重ねつつ移動し，終末分化を経た後，絨毛先端から管腔へ排出される（図1）．陰窩–絨毛構造を単位としたこの組織再生機構は，上皮恒常性の維持だけでなく，傷害上皮の修復機構とも密接にかかわることが知られている．損傷を受けた腸管が上皮の欠損を感知し，これに応答して修復に働く治癒過程は大きく二つのステップに分けられる．

第一は損傷直後にみられる急性応答で，restitutionと呼ばれる．これは欠落した上皮面（潰瘍面）を残存上皮が被覆し，管腔面と粘膜下を隔てる物理境界を再構築する過程である．Restitutionは上皮細胞増殖を介さず，潰瘍周囲の残存上皮が辺縁から中央に向かって再分布し，上皮細胞間接触を回復することで連続した上皮を再構築する過程とされている．

第二の段階として，盛んな細胞増殖を伴う上皮再生がこれに続く．Restitutionで欠損部を応急的に被覆した平坦な上皮は，数的に上皮細胞が不足した不完全な構造のままである．これを補正するため，restitu-

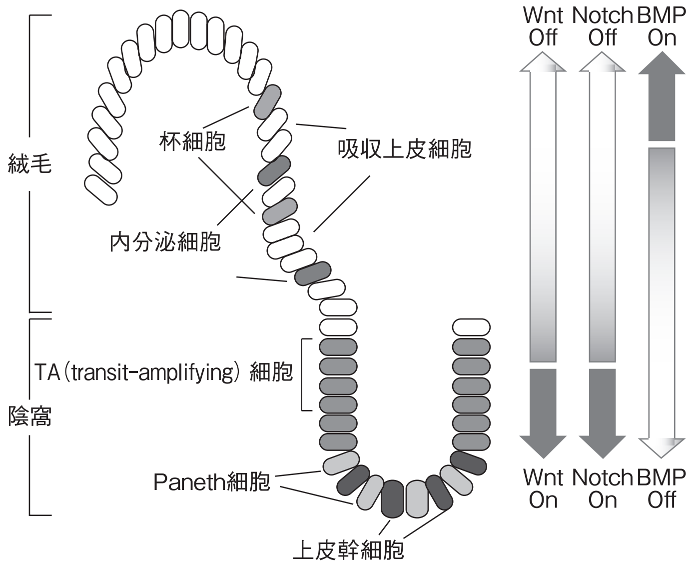


図1．消化管上皮の増殖・分化調節機構
消化管上皮は上部に絨毛，底部に陰窩を有し，各構造を単位とした組織再生を繰り返す．陰窩底部の Paneth 細胞に挟まれるように存在する Lgr5 陽性幹細胞が盛んに分裂する TA 細胞を供給し，これらが吸収上皮細胞，杯細胞，内分泌細胞，および Paneth 細胞を供給する．これら増殖と分化の調節には，Wnt，Notch，あるいは BMP シグナルが位置依存性の濃度勾配などを介して働くことが知られる．

tion に続く時期には正常時を上回る細胞増殖が起きることが知られ，組織学的に陰窩の延長と細胞増殖帯の増加を呈する再生上皮過程と一致する．ひとたび細胞数が回復すると，個々の分化形質をもつ上皮細胞が適切に配置されることで，再び本来の腸管上皮組織として機能を取り戻す．

これら上皮修復の各段階を制御する分子として，restitution の過程で上皮細胞から分泌される trefoil factor（TFF）や，間葉系細胞から分泌される transforming growth factor b（TGF-b）などが重要である[1]．また restitution に続く細胞増殖には，正常時における増殖・分化と同様に，Wnt，Notch，BMP シグナルなどがかかわると考えられている．

Ⅲ．腸管上皮細胞を用いる再生医療応用への期待

難治性腸疾患に対して，上皮修復・再生の促進をめざした新しい治療が注目を集めている．一つの戦略は，さまざまな生理活性物質や薬剤を用いて先に述べた上皮再生の各段階を人為的に促進する治療であり，実際に多くの試みがすすんでいる[1]．しかしながら，これらの詳細は他稿に譲ることとし，本稿では別のアプローチ，すなわち腸管上皮幹細胞を消化管創傷治癒促進の目的で用いる細胞治療の試みについて紹介したい．

ここ数年で腸管上皮幹細胞に関する基礎研究が大きく進歩した．特異的分子マーカーが相次いで同定され，これまで実体が明らかではなかった腸管上皮幹細胞が明瞭な細胞集団として解析できるようになった[2]．その結果，これら細胞がきわめて活発に増殖を繰り返すこと[2]，非対称ではなく対称分裂で増殖することなど[3]，腸管上皮組織幹細胞のユニークな挙動が明らかになってきた．これら研究の進歩に伴って，これまで長い間困難とされてきた技術，すなわち腸管上皮細胞の体外培養技術も大きくすすみつつある．2009 年には，マウス小腸上皮を三次元的に細胞外基質中に包埋し，各種増殖因子を添加し培養すると，長期にわたって Lgr5 陽性幹細胞を含む上皮細胞群が維持できると報告された[4]．この成果は，腸管上皮幹細胞を多分化能と自己複製能を有したまま体外で維持できることを示す重要な報告であった．その後同じグループは，胃[5]，大腸上皮[6] も類似の方法で体外培養が可能であることを示し，さらにはヒト腸管上皮細胞の維持方法も報告した[6,7]．

われわれも，三次元培養の手法を用いて，しかしながら既報とは異なる方法で，マウスの大腸上皮細胞を培養する技術の開発に成功した（図2）．本法（Tokyo Medical and Dental University 法：TMDU 法）では，単離した上皮細胞をコラーゲンゲルに包埋し，Wnt3a，Rspo1，EGF，HGF，Noggin，BSA を含む無血清培地で培養する．維持される細胞にはすべての分化細胞が含まれるのみならず，Lgr5 陽性大腸上皮幹細胞が数的に大きな割合を占め存在することが明らかとなった[8]．

Ⅳ．培養大腸上皮幹細胞の移植による大腸上皮再生

体外で増やした組織幹細胞を用いて傷害を受けた組織修復を図るアプローチは，造血幹細胞移植がすでに臨床的に利用される現況を考えれば，iPS 細胞や ES 細胞を用いる再生医療と比較し，より臨床応用に近い技術といえるかもしれない．では，腸管上皮の体外培養が可能となった今，これら培養細胞を用いて組織再生を図ることは可能であろうか？

われわれは，この課題に答えるために，先に述べた TMDU 法で維持される培養大腸上皮幹細胞が体内に再び戻った後にも幹細胞として機能するか，すなわち正常大腸上皮を再生するかを検討した．

この目的のために，EGFP（enhanced green fluorscent protein）トランスジェニックマウスから単離した大腸上皮を培養し，別のマウスをレシピエントとして移植実験を行った．レシピエントには DSS（dextran sodium sulfate）を 5 日間投与して大腸粘膜傷害を引

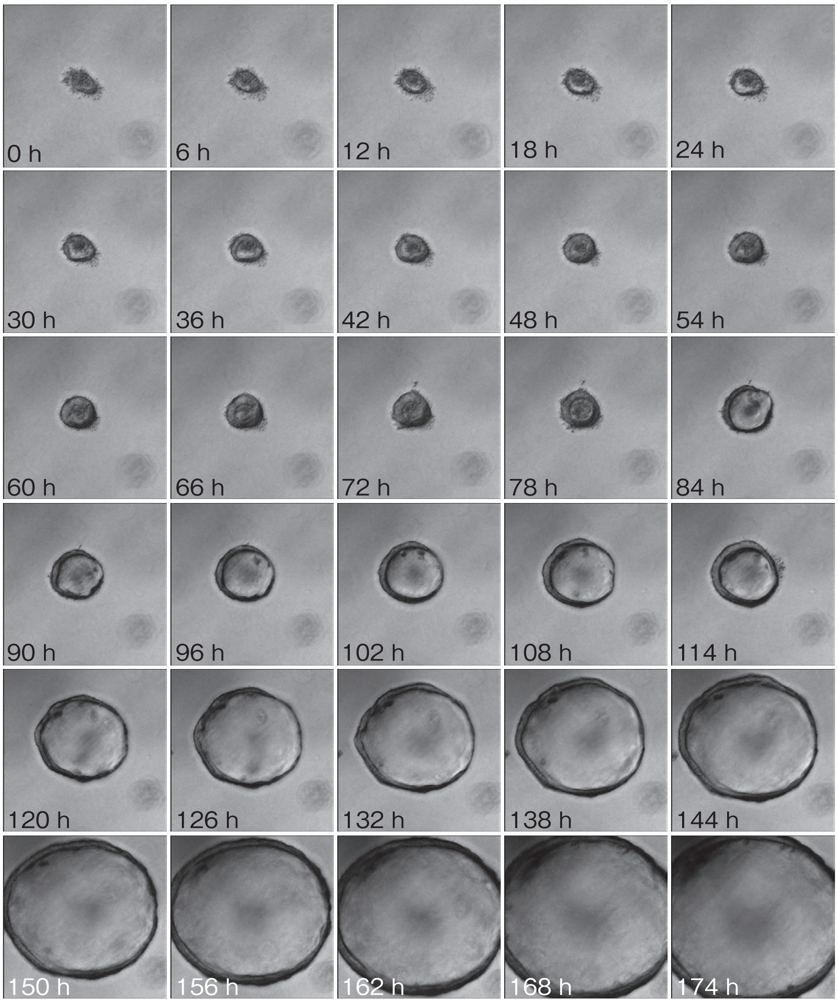


図 2．TMDU 法による大腸上皮培養（文献 8 より引用）
TMDU 法で培養した大腸上皮．マウスより単離し，三次元的に包埋した大腸上皮の挙動を観察したライブイメージング実験のデータを示す．1 週間を越える連続観察により，単離した大腸上皮細胞が球状嚢胞状構造を形成し，そのサイズを増大しながら増殖する過程が明らかとなった．

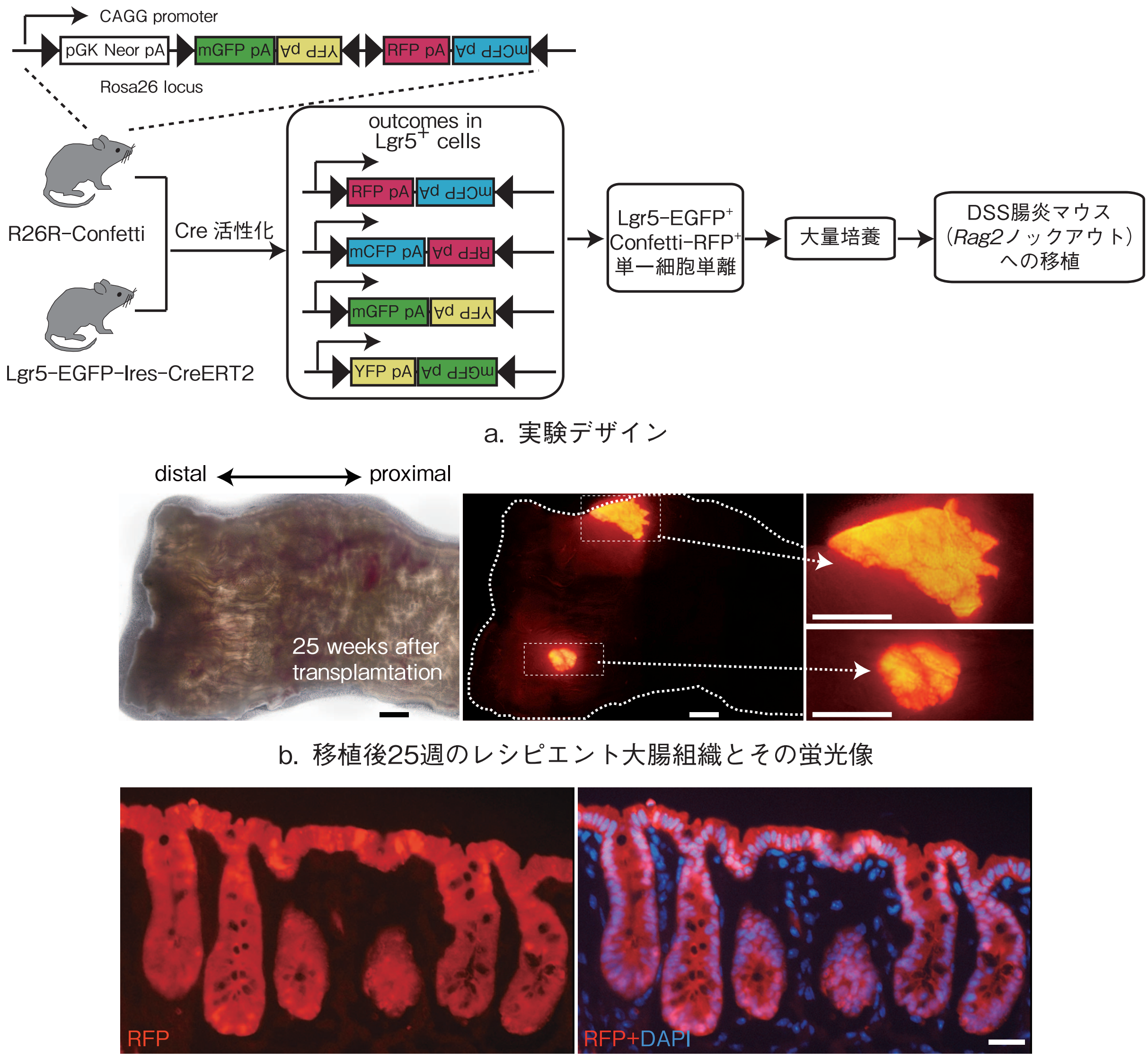
き起こし，培養ドナー細胞は，経肛門的に注腸法で移植した．移植方法の詳細な検討の結果，培養した EGFP 陽性ドナー上皮細胞がレシピエント大腸に生着する条件を見出した．移植後 1 週間の時点では，ドナー細胞は平坦なシート構造を呈し，上皮欠損部を被覆するように生着していた．さらに 4 週後の組織では，ドナー細胞が周囲組織と同様の正常構造をもつ陰窩構造を構築し，かつ，この中にはすべての大腸上皮分化細胞および増殖細胞を含むことが明らかとなり，培養幹細胞を用いる移植が技術的に可能であることをはじめて提示した[8)]．

V．1 個の幹細胞から増やした細胞の移植による大腸上皮再生

次にわれわれは，たった 1 個の大腸上皮幹細胞を体外で大量に培養した細胞群を用いることで，同様の移植が可能か否かを検討した．このために，Lgr5 陽性細胞で Cre リコンビナーゼによる組み換えを誘導でき，以後はこれに由来するすべての細胞が蛍光標識により追跡できるレポーターマウスを利用した[3)]．具体的には，Lgr5 プロモータ活性により EGFP を発現し，かつ *Rosa* 遺伝子座での Cre 依存性組み換えによって RFP（red fluorscent protein）を発現することとなった細胞を単離し，まったくの単一細胞から培養を開始した．この方法で増やした細胞を先と同様に，DSS 腸炎を引き起こした複数のマウスに移植した（図 3a）．

移植後のさまざまな時点でレシピエントマウスを解析したところ，複数のマウスで RFP 陽性の移植片を認めることができた．最長では 6 ヵ月後の時点においても移植片を認め（図 3b），かつ RFP 陽性上皮内にはすべての分化細胞と増殖細胞を含んでいた．このことから，ドナー由来移植片内に機能的な幹細胞が含まれることが明らかとなった．強調すべきは，単一の Lgr5 陽性細胞から増やした培養細胞が，複数のレシ

前 目次へ 次



c. bで示した移植片の組織像

図 3. 1 個の細胞から増やした培養大腸上皮による移植（文献 8 より引用改変）

a. Cre 依存性の組み換えによって確率論的に複数のうちの一つの蛍光タンパクを発現することとなるレポーターマウス（R26R-Confetti マウス）を，Lgr5-EGFP-ires-CreERT2 マウスと交配し，Cre による組み換えを誘導した．その後，EGFP と RFP の両者が陽性である幹細胞を単離し，単一細胞からの培養を行い増やした．これらを用いて移植実験を行った．

b. 最右側には，移植片部の蛍光像の拡大図を示す．左側の図から，レシピエント大腸の複数の部位に RFP 陽性のドナー由来組織が存在するのがわかる．

c. 左に RFP 蛍光像を，右に DAPI による核染色との結合像を示す．RFP 陽性のドナー由来上皮が複数の陰窩構造を含むことがわかる．長期間培養し，かつ移植後に長期を経過した移植片においても，明らかな細胞・組織異型を認めない．

ピエントマウスに複数の陰窩構造を再構築した点にある（図 3c）．このことは，培養の過程において，大腸上皮組織を再生することが可能な真の上皮幹細胞が，数のうえで増えたことを明瞭に示すものと考えられた．さらに，長期間培養し，かつ移植後に長期を経過した移植片においても，明らかな細胞・組織異型を認めないことから，体外培養による細胞腫瘍化のリスクは高くないと考えられた[8]．

Ⅵ. お わ り に

腸管上皮幹細胞研究の急速な進歩により，これら細胞の体外培養技術の発展もめざましい．本研究で示した TMDU 法は，“体内で大腸上皮を再生できる真の大腸上皮幹細胞”を体内での性質やふるまいにきわめて近い状態のまま体外で詳しく調べる有用なツールとして汎用され，本研究領域の進展を加速するであろう．

また，培養幹細胞の移植によって傷害された腸管上皮が修復・再生可能であるとの本研究成果は，培養腸

前 目次へ 次

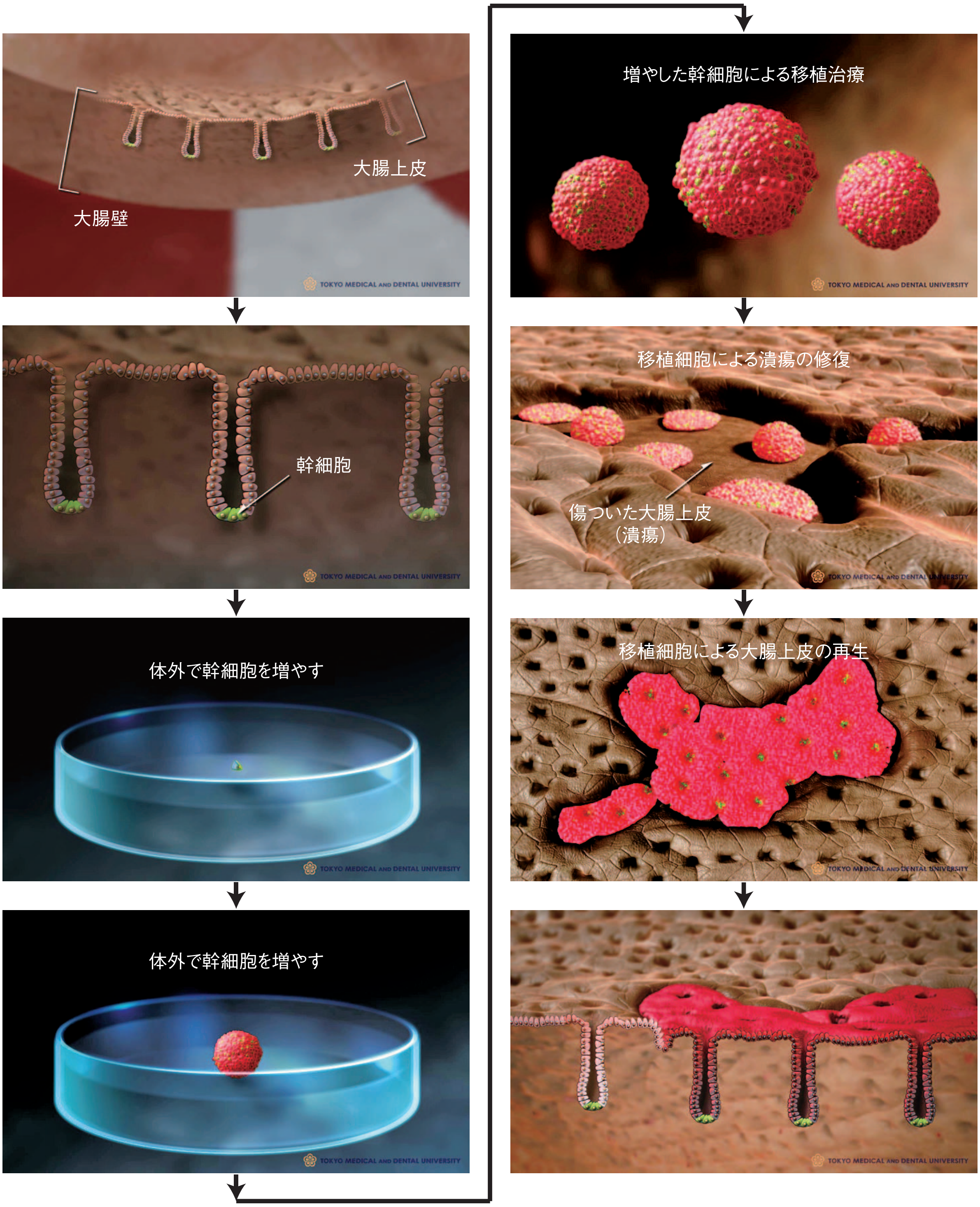


図 4．１個の幹細胞から始める細胞培養と移植治療

本研究ではマウスの正常大腸上皮細胞を培養する技術を報告した．この方法を用いて１個の大腸上皮幹細胞から培養を開始し，十分に増やした細胞群を移植した．その結果，移植細胞はレシピエントマウスの傷害を受けた大腸粘膜に生着し，正常な大腸を再生したのみならず，長期にわたり幹細胞として機能することを示した．この成果は，培養腸管上皮幹細胞を用いる再生医療技術が理論的に可能であることを示すとともに，さまざまな原因で生じる消化管上皮傷害を，同じヒトの健常部から採取したわずかな腸管上皮幹細胞を体外で大量に増やし，広範囲の傷害上皮を治療する技術の開発に重要な知見を提供するものと期待される．

管上皮幹細胞を用いる再生医療技術が理論的に可能であることを示す重要な基礎知見になるものと考える．さらに，たった１個の幹細胞から増やした細胞の移植で大腸上皮を再生できるとの本研究成果は，さまざまな原因で生じる消化管上皮傷害を，同じヒトの健常部分から採取したわずかな腸管上皮幹細胞を体外で大量に増やし，広範囲の傷害上皮を治療するという，iPS 細胞や ES 細胞による再生医療とは異なる視点に立った再生医療技術の開発に重要な知見を提供するものと期待される（図 4）．

文　献

1) Krishnan K, Arnone B, Buchman A：Intestinal growth factors；potential use in the treatment of inflammatory bowel disease and their role in mucosal healing. Inflamm Bowel Dis **17**：410–422, 2011.
2) Barker N, van Es JH, Kuipers J et al：Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. Nature **449**：1003–1007, 2007.
3) Snippert HJ, van der Flier LG, Sato T et al：Intestinal crypt homeostasis results from neutral competition between symmetrically dividing Lgr5 stem cells. Cell **143**：134–144, 2010.
4) Sato T, Vries RG, Snippert HJ et al：Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche. Nature **459**：262–265, 2009.
5) Barker N, Huch M, Kujala P et al：Lgr5（+ve）stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units *in vitro*. Cell Stem Cell **6**：25–36, 2010.
6) Sato T, van Es JH, Snippert HJ et al：Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts. Nature **469**：415–418, 2011.
7) Jung P, Sato T, Merlos-Suárez A et al：Isolation and *in vitro* expansion of human colonic stem cells. Nat Med **17**：1225–1227, 2011.
8) Yui S, Nakamura T, Nemoto Y et al：Functional engraftment of colon epithelium expanded *in vitro* from a single adult Lgr5+ stem cell. Nat Med **18**：618–623, 2012.

Functional engraftment of colonic epithelium expanded *in vitro* from a single adult stem cell

Tetsuya Nakamura

Department of Advanced Therapeutics for GI Diseases,
Tokyo Medical and Dental University

Summary

Adult stem-cell therapy holds promise for the treatment of gastrointestinal diseases. In this study, we describe methods for long-term expansion of colonic stem cells that are positive for Lgr5 expression in culture (TMDU protocol). To test if the cultured colonic stem cells could regenerate damaged colon epithelium in vivo, GFP^+ colon organoids were transplanted into the lumen of mouse colon superficially damaged by DSS treatment. Interestingly, transplanted cells readily integrated into the colonic tissues covering the area that lacked epithelium. At 4 weeks post-transplantation, the donor-derived cells constituted single-layered epithelium forming self-renewing GFP^+ crypts that were functionally and histologically normal. Moreover, successful, long-term engraftment was observed even with the transplantation of organoids that were derived from a single $Lgr5^+$ colon stem cell after extensive in vitro expansion. These data for the first time demonstrate the feasibility of colon stem cell therapy based on in vitro expansion of a single adult colonic stem cell. The present study would build a basis for developing a novel approach in regenerative medicine for patients with severe gastrointestinal epithelial injuries in humans.

Key words：regenerative medicine, intestinal stem cells, adult stem cells, transplantation, Lgr5

原　著 Original article　　お茶の水醫學雑誌　61：147-162（2013）

脳内温度分布を可視化する人体頭部数学モデルの構築および脳模型モデルによる有用性の検討

高木　豊　東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科
生体機能支援システム学分野

要旨：脳浮腫や脳腫脹による炎症から脳温が上昇する重症脳障害において，脳機能の回復を図る有効な手段に脳低温療法がある．全身脳低温療法では，低体温による免疫や凝固などの機能低下を注視しながら，精確な脳温管理が必要である．しかし，現在の脳低温療法は脳温の温度分布を均一とみなすため，炎症部位を適切に冷却していない可能性がある．MRI データを元にした人体頭部臓器数学モデルに熱特性を加えて，脳温を制御する選択的脳低温療法時の脳内温度分布変化をシミュレーションした．人体脳模型実験装置による実験では，数学モデルのシミュレーションと実測値が整合した．本研究により，脳内の部位で冷却効果が異なることが示され，脳内の温度分布を考慮した温度管理の必要性が示唆された．脳温分布シミュレーションを利用した冷却法の活用は炎症部位を適切な温度で冷却することで，選択式脳低温療法の治療成績の向上に有効なことが示された．

Key words：熱伝導シミュレーション，人体頭部モデル，脳低温療法

Ⅰ．はじめに

脳は神経活動の中心的な役割を担い，感情・思考・生命維持などにおいて重要な組織である．その脳が頭部外傷や脳卒中などにより生命が危険な状態に陥ると，頭蓋内の血腫などによる低酸素や虚血の状態によって脳浮腫や脳腫脹が起こり，脳温や脳圧が上昇する．さらに細胞レベルによる炎症性サイトカインの放出，活性酸素の発生などにより，時間とともに多くの脳細胞が増悪し，生命維持に危険を生じる場合がある．このような病態を最小限に抑え，脳機能の回復を図るうえで有効な手段の一つに，脳を冷却して組織を保護する脳低温療法がある[1)]．脳の障害部位に対する冷却が適切に行われなければ，二次的脳損傷へと発展し，脳機能の回復につながらない場合もある．温度変化に対する生体の時定数は2～3時間程度と大きく，刻々と変化する脳温の用手法での精密な温度管理は困難である．

現在，臨床で行われている全身冷却式脳低温療法[1)]では，患者の体幹および四肢に密着する冷水ブランケット内に温度を設定した水を流して体温を調節し，これに伴って温度が変化した血液が脳を循環してその温度を制御する．この手法では，低体温による脳保護作用効果と免疫機能低下などの生体侵襲が設定温度により同時に生じる．そこで，患者の状態を常に注視した精確な脳温管理が重要であり，長時間にわたり，20分ごとに温度計測と設定温度の調整が求められて[2,3)]，医療従事者は他の医療処置に専念することが困難になる．また，障害時の脳は炎症部位と正常部位では温度が異なり一様でないこと[4)]に加え，神経保護温度は脳内の組織によって異なることが指摘されている[5)]．一つの臓器としてとらえて脳温を管理する脳低温療法は，損傷部位ごとに冷却温度と設定温度に差を生じ，脳保護作用を十分に引き出していない可能性が示唆される．

温度調整の煩雑さと精密さを改善するために，若松らによって，全身脳低温療法中の脳温の自動制御法が検討されている[6~11)]．これらの方法は，人体を熱力学的な観点から体幹と末端に分類し，それぞれをコンパートメントと考える数学モデルで表現するが，脳を1-コンパートメントとして内部の温度分布を考えておらず，また低体温による生体侵襲も考慮されていない．これらの問題点を改善するために，頭部のみの冷却を可能にする選択式脳低温療法[12)]を念頭において，脳

連絡先：高木　豊　tkg.bse@tmd.ac.jp

内の温度分布を考慮しつつ，医療従事者への直感的な情報提供を可能にする数学モデルおよび，これを用いた可視化システムの構築と，このシステムに対応する模型を用いた温度制御実験による実用性の検討を行った．

Ⅱ．目　　的

現在，臨床で行われている脳低温療法では，非侵襲で短時間に測定が可能である膀胱，直腸などの温度からの推測，もしくは脳温にほぼ等しいとされる鼓膜や内頸静脈球の温度を脳温とみなして管理することが多いが[13,14)]，体幹と脳温には約2℃の温度差を生じることもあると報告されている[13,15)]．多くの病院で導入されている脳低温療法装置は，主に膀胱温を参照しながら医療従事者の経験に基づいてブランケット温度を決定し，手動入力により温度設定して使用する[8)]．このため精密な脳温制御が行われているとはいいがたく，さらに，障害の発生部位や代謝量の違いなどから生じる脳内の温度分布は考慮されていない．

この点を解決する方法として，数学シミュレーションにより，脳温分布をモニターすることが考えられている．脳低温療法は麻酔薬と筋弛緩薬の投与下で行われるので，筋肉の振動により熱産生するシバリングの体温調節機能を考慮する必要がない．このためホルモンなどによる代謝性調節機能のみを考慮した温度分布の理論的解析が可能であり，さまざまな数学モデルがこれまでに提案され，脳低温装置の冷却能力や制御能力の検討が行われてきた．

Zhu ら[17)]は，頭部を灰白質と白質からなる脳組織層，頭骨層，頭皮の組織層で構成する3層の半球で表し，均一な熱特性とする組織間の温度分布を考えるモデルを構築し，低体温のシミュレーションを行った．Xui ら[18)]は，頭骨層と脂肪，筋肉，皮膚を含む軟組織層および脳層を二次元の半球脳に表し，半径方向に細分化した領域ごとに熱交換する放射冷却による温度分布を検討した．van Leeuwen ら[19)]は，新生児において MRI 画像から脳のモデルを構築し，冷水キャップで脳をおおう脳低温療法の効果を脳表層から中心に向かって輪郭状に温度分布を表現した．若松ら[6)]は，人体を18の多段同心円筒で近似したコンパートメントで表した脳低温療法の温熱モデルを提案した．陸ら[7,8)]は，18のコンパートメントモデルを規範モデルとする脳低温療法において，時々刻々と変化する脳温に合わせて，制御装置の制御定数を変化させる適応制御のシミュレーションを行った．Wakamatsu ら[9)]は，これらの検討結果をもとに内部状態を推定し，これに合わせて制御パラメータを調節することで，患者の病態に合わせた制御を行う適応制御および“高い”，“低い”などの曖昧な医師の判断を数学的に定量化して，制御を行う fuzzy 制御により体幹をおおうブランケットの水温を自動制御する全身脳低温療法の臨床試験を行った．

これらの研究で用いられた数学モデルは実用に足るものではあるが，脳の温度で扱う集中定数系として検討されてきたので，脳内の温度分布が十分に考慮された脳低温療法は行われていなかった[10)]．そこで，本研究は脳内の温度分布に配慮した脳低温療法により解決をめざした．

本間らは，MRI データに基づいて仮想空間内に人体頭部形状を再現する臓器モデルを構築している[20,21)]．このモデルは，変形・破壊を表現する物理モデルを適用して，人体頭部に与える外力の影響を直感的に可視化できるモデルを提案している．本研究では，本間らのモデルを熱伝導モデルに置き換えて，選択式脳低温療法[12)]を前提とした実験モデルを構築した．そして，数学シミュレーションにより脳内の任意の部位の温度の可制御性および，このときの各部の冷却効果について検討するために，実測値と比較検討を行った．生体での実験は安全性および倫理的な観点から最小限とすべきであり，模擬的な装置を活用することが望ましい．そこで，実用化への最初のステップとして，人体頭部数学モデルと同一形状であり，生体の代謝性産熱および，血流による熱代謝を模擬する人体頭部模型を作製した．この模型を用いて数学シミュレーションと同様の計測実験を行い，その結果比較から，構築した人体頭部熱伝導数学モデルの有用性を脳低温療法の観点から検討した．

Ⅲ．方　　法

1．人体頭部数学モデル

a．代謝性熱産生を考慮した熱伝導数学モデルの構築方法

脳の内部で産生される熱の大部分は，体幹から流入する血液によって洗い流されて一定範囲の温度に保たれている．代謝による熱産生および流入する血液と脳組織の熱交換を図1に示す熱伝導モデルによって表現し，熱移動による温度分布の再現を可能とした．このモデルでは，図形要素の関係を表わす点であるノードを連続して接続した正四面体の各頂点に配置し，隣り合う周囲の12のノード間で熱伝導が生じると考える．生体内の熱移動は熱伝導，対流，血液による移流などによって生じるが，従来の研究[6,22)]ではこれらを熱

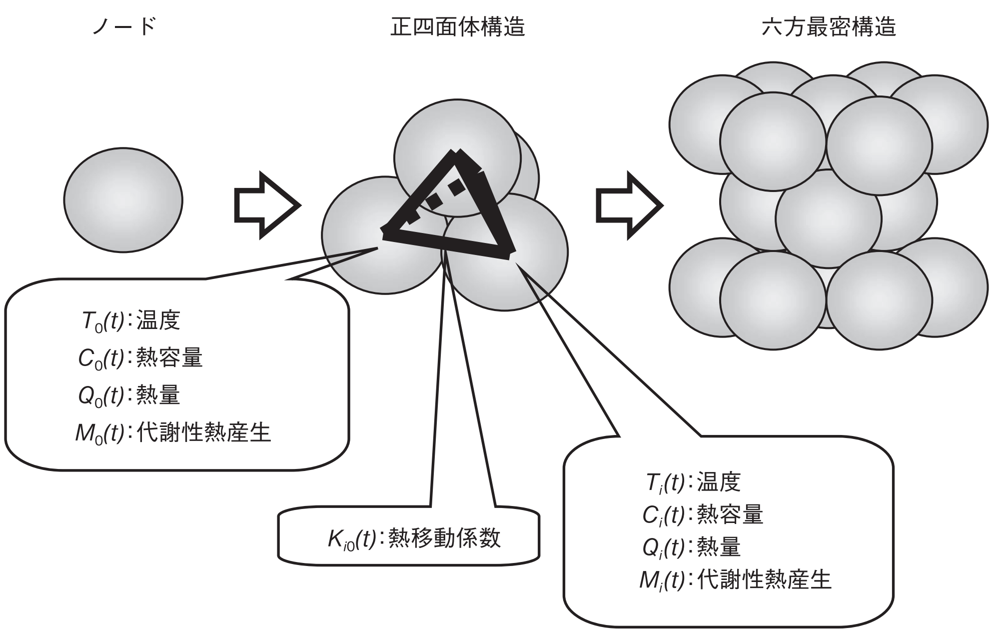


図 1. 熱伝達モデルの概要
物質を構成する実体を表し，外部からの観測可能な位置情報や量的な特性を表現するノードを，細密に六方細密構造で充填する．このときノードの中心は連続に接続した正四面体構造の各頂点に位置するので，任意のノードは隣接する 12 のノードとの間に熱伝導を生じる．

伝導で代表して計測したデータが示されており，本研究でもこれにならい熱伝導数学モデルを構築した．各ノード間の熱移動は Fourier の法則に従い，対流などの影響は考慮しないが，一部のノードは代謝性熱産生を行うことを考慮する．このとき，以下の式（1)〜(3）が成立する．$Q_0(t)$，$C_0(t)$，$T_0(t)$ はそれぞれ時刻 t におけるノード 0 のもつ熱量，熱容量，温度を表し，ノード 0 と隣接するノード i（i=1〜12）との温度差である $\varDelta T_{i0}(t)$ は式（2）で表される．時刻 t+1 におけるノード 0 の温度 $T_0(t+1)$ は，ノード 0 とノード i の間の熱移動係数 k_{i0} とノード 0 の代謝性熱産生 $M_0(t)$ を用いて式（3）で表される[23, 24]．熱移動係数 k は熱伝導率 λ より導出されるノードごとの熱移動の割合を表す．

$$Q_0(t) = C_0(t)\,T_0(t) \quad \cdots\cdots (1)$$

$$\varDelta T_{i0}(t) = T_i(t) - T_0(t) \quad \cdots\cdots (2)$$

$$T_0(t+1) = T_0(t) + \left\{\sum_{i=1}^{12} k_{i0}\varDelta T_{i0}(t) + M_0(t)\right\} / C_0(t) \cdots (3)$$

b. 頭部組織形態に即した三次元数学モデルの構築方法

人体頭部の温度分布を推定するために，連続的に撮影した MRI データに基づいて構成された頭部組織モデルは 40 枚の画像を等間隔に選択し，縦横各 40 個ずつの格子点を設定して，全体で 64,000（$=40^3$）ノードを上述の熱伝導モデルを頭部組織の形状に配置した．

人体頭部を脳，頭骨，眼球の各臓器形状モデルで構築し，脳は大脳，小脳，延髄を連続した一つの臓器とした．顔面の筋肉や耳下腺などの組織は頭骨に含め，組織モデル間を脳脊髄液が存在する．頭部の熱移動の経路としては，熱移動はノード間の伝導，血管は外部からの温度制御のための血流が通過する経路とした．頭部周辺の空間に存在するノードを空気として，頭部の熱放射に関与する皮膚モデルとして表層面の血流を概念的に考慮した．これらの組織に上述のノードを均一に配置し，熱移動により生じる脳内温度分布が演算可能な頭部組織数学モデルを構築した．

脳組織の形状およびパラメータを与えたノードの集合を頭骨，脳，眼球，血管，皮膚などの組織ごとに作成して，臓器モデルと定義した．人体頭部モデルは，これらの臓器モデルおよび脳脊髄液と周辺の大気すべてを考慮して，頭部全体を 7 つの部分からなるモデルとした．

c. 血管数学モデルの構築方法

脳の血液は内頸動脈と椎骨動脈の二つの動脈系に流入して，脳内に張りめぐらされた毛細血管内で血管壁を通過した血漿成分と細胞外液が混合する．また，イオンチャネルなどを経由して細胞膜を通過して，細胞内液と熱交換する．毛細血管による熱交換と主要血管に接する組織間の熱交換は同等であるとして，毛細管に分岐することなく，動脈系血管から静脈系血管に直接合流する主要な血管のみを平均的なパターンでモデル化し，図 2 に示すような脳内血管モデルを構築した．そして，組織を構成するノード間で血流を模擬して熱交換を行った．

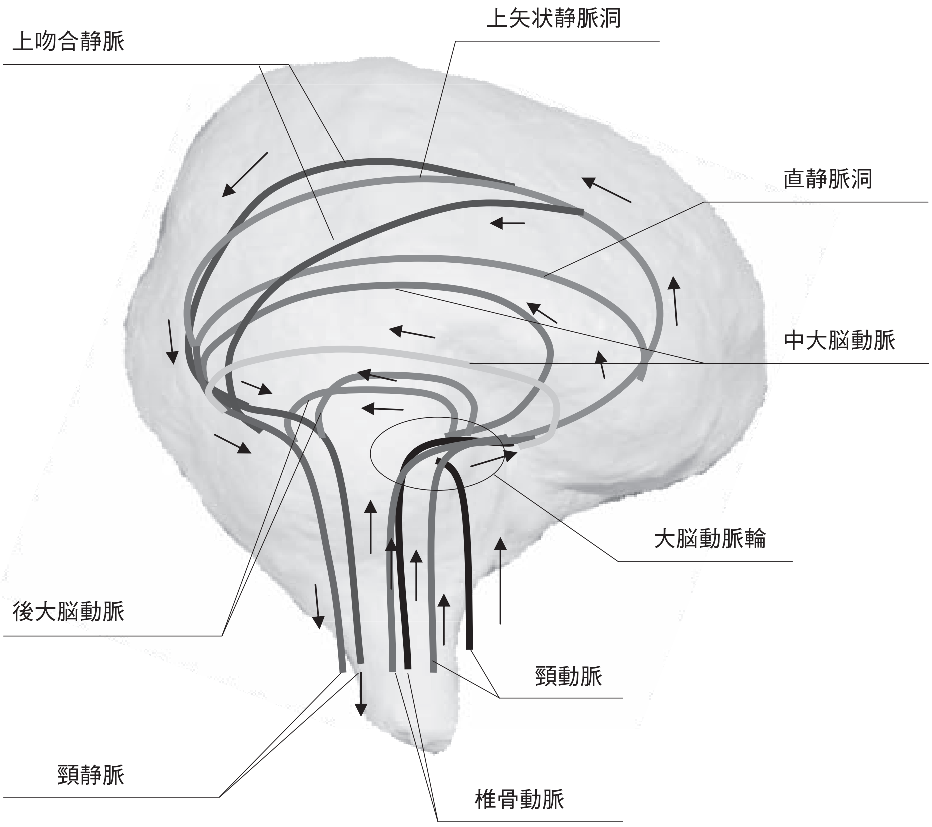


図 2. 脳内血管モデルの概念図
脳内の主要な血管は体幹部から上がってくる左右の頸動脈と椎骨動脈が脳底部で交叉し，大脳動脈輪を形成して前大脳動脈に接続する．頸動脈の合流部付近から中大脳動脈が分岐して脳の左右から中位を通過する．これらの動脈から血流は毛細血管から静脈洞を経て静脈血管に集合し，上矢状静脈洞と直静脈洞に接続する．上矢状静脈洞は上吻合静脈に分岐して中大脳動脈と脳後部で合流し，左右に分岐して頸静脈となる．この頸静脈に分岐した近辺に，大脳動脈輪から分岐した後大脳動脈が接続する．

表 1. 脳内の各組織におけるノード数およびパラメータ数値

特　性	組　織						
	脳	頭　骨	眼　球	血　管	脳脊髄液	頭　皮	空　気
ノード数	13,093	24,206	172	497	1,805	3,310	20,917
温度（℃）	37.10	35.47	36.57	36.41	35.21	36.57	25.00
代謝性産生熱 (W/m^3)	1.34×10^4	0	2.50×10^2	0	0	250×10^2	0
熱移動係数 (W/m・K)	5.28×10^{-1}	1.16	8.05×10^{-1}	5.49×10^{-1}	5.99×10^{-1}	9.60×10^{-1}	9.25×10^{-3}
比熱 (J/kg・K)	3.86×10^3	1.59×10^3	3.72×10^3	3.64×10^3	3.95×10^3	3.77×10^3	1.01×10^3

頭部モデルを構成する 6 つの組織と周辺の空気を構成するノードの数および過去の実測データ[12, 19]から，各組織の初期温度と代謝性熱産生量，熱伝導率，比熱を設定する．

このモデルでは，血管を構成するノード間で温度データをあらかじめ定めた方向に順次受け渡す疑似血流を再現した．一定の時間内での移動プロセスの繰り返しにより，血流速度を段階的に設定することも可能である．脳梗塞やくも膜下出血などにおいて，一過性に血管が異常収縮を起こす血管攣縮などの病態に対し，本モデルでは，血管の分岐もしくは合流部分の血流状態を表現するパラメータを変化させることで対応可能である．たとえば，狭窄領域の血流低下などを表現するために分岐の上流で血流を遮断すれば，これにつらなる血管の血流は連動して遮断する．

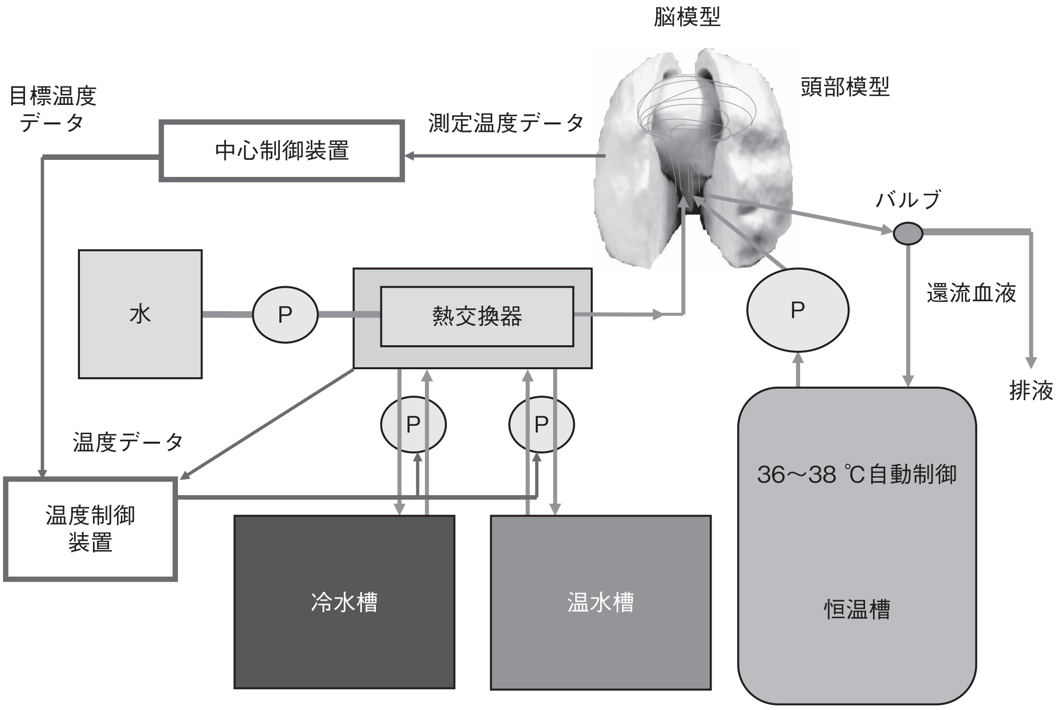


図 3．選択式脳低温療法を模擬する脳冷却実験装置の概略
37±0.1℃ の恒温水槽をヒトの体幹に見立て，血液の代用として水を循環させる．リンゲル液も水で代用し，脳から流出する代用血液の余剰分のみをバルブから排出する．またリンゲル液は熱交換器を通して目標温度に設定するので，冷水と温水を混合する混合槽を考える．混合槽から戻る水によって冷水槽と温水槽の温度は変化するが，断続的に稼動する冷却器もしくは加熱器によってあらかじめ設定した温度に維持される．

d．頭部数学モデルの組織ごとのパラメータの設定

脳組織の平均的な容積および重量[22]を 0.0015 m^3，1.5 kg として，ここから 1 ノード当たりの容積と重量を導出し，脳，筋肉，骨の密度[22]がそれぞれ 1,050，1,050，1,500 kg/m^3 であることを考慮して，それぞれのパラメータを表 1 に示すように設定した．さらにノード間の距離を 6 mm とし，計算の 1 サイクル時間を 1 秒とした．

e．数学モデルによる実験モデルの構築

本研究では，選択式脳低温療法を念頭に頭部模型を用いた実験を行い[25, 26]（図 3），上述の数学モデルによりシミュレーションした．

内頸動脈に温度を調節したリンゲル液を直接注入して，脳に流入する血液の温度を決定し，脳組織の温度を制御する選択式脳低温療法の手法[12]を念頭におく．この手法では，脳の機能が損なわれないように，酸素および栄養成分を送るための動脈を考慮して，内頸動脈に温度調節したリンゲル液を注入する．他の動脈から流入する体温と等しい温度の血液が，このリンゲル液と脳底動脈輪で混合し，血液の温度は変化する．この血液が脳組織と熱交換しながら脳内を循環し，左右の頸静脈から体幹に還流する．追加したリンゲル液に相当する量の血漿は透析器を用いて分離し，適切な濃度になった血液を加温器で加温して体幹に還流する．この手法により脳組織のみの温度制御が可能になる．この数学モデルは，脳温が目標とする温度になるように混合槽の混合水温設定値を変更するので，各水槽の容量や冷却器，加温器の温度調節能力，およびポンプの輸送能力や稼働状況も考慮してパラメータを設定し，シミュレーションを行った[27, 28]．

f．数学モデルによる温度測定部位の設定

臨床現場では，手術のために開頭した部位に，温度センサを留置して脳圧や温度などの生体情報を直接取得することがある．しかし，主に感染防御と外力による脳損傷を防ぐために一時的な処置にとどめ，通常は鼓膜温を脳温とみなして測定する[9]．本研究では，臨床では脳内の部位による温度差について考慮しないが，本モデルでは脳を構成する全ノードの温度データを利用することが可能なので，脳の中心部，頭頂部，前頭部，後頭部，右側頭部，左側頭部の 6 個所と，全ノードの平均をそれぞれ考える．ここで，左右の側頭部は臨床で温度測定が可能である鼓膜を想定して，解剖学的にもっとも近い位置のノードを選択している．

g．人体頭部数学モデルにおける可制御性

本研究では，これらを念頭に，脳内の温度分布を考慮して，たとえば炎症を起こした特定部位における脳

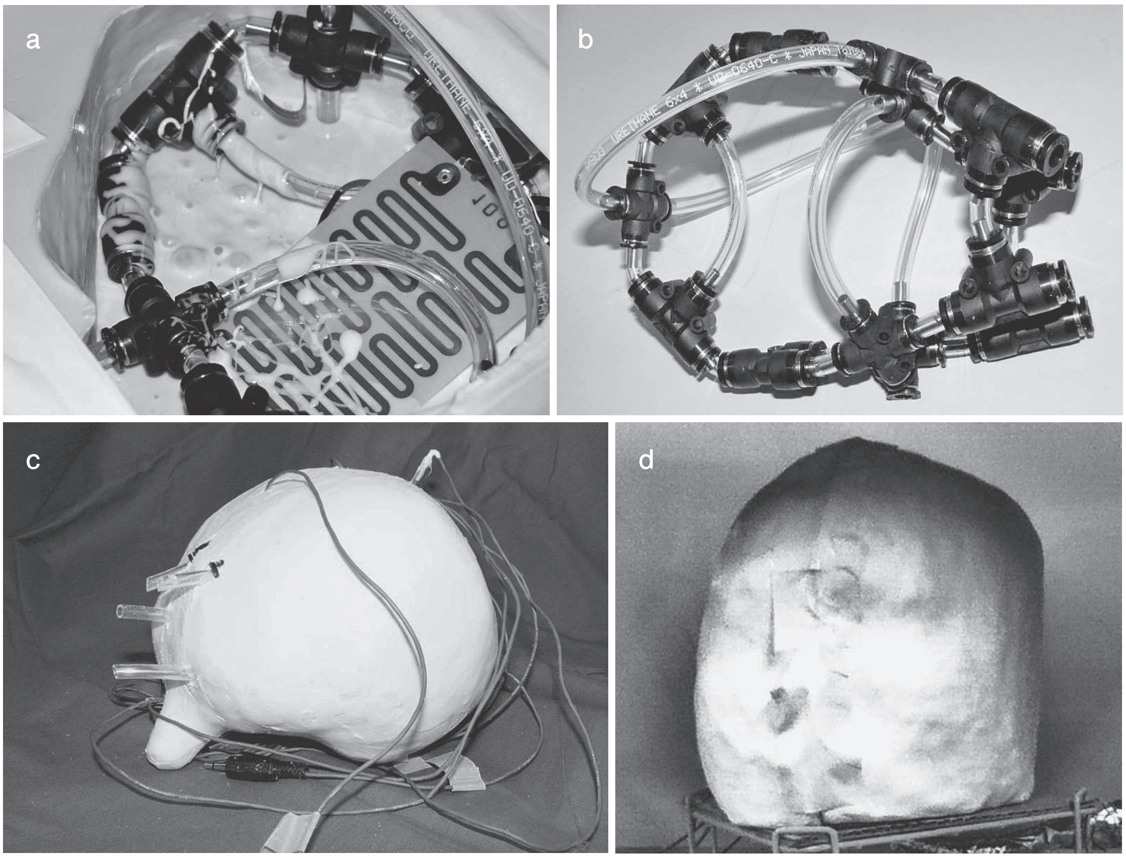


図 4．人体頭部模型の概要
脳模型内部にナイロンチューブと分岐継手で再現した血管模型（a），サーミスタおよびフィルムヒータの配置（b），
これらを一つにまとめた脳模型（c），2 分割して石膏で形成し，脳模型を左右から挟み一体化した人体頭部模型（d）．

温制御の可能性を検討する前段階として任意の部位の温度を，式（4）の伝達関数で表される PI 制御で目標温度に制御可能であることを示す．ただし，K_p は比例定数であり，T_I は積分時間である．ここでは，リンゲル液の温度を熱交換器で決定する混合槽の設定温度を操作量とし，脳中心部の温度を制御量として，上述の実験モデルでの可制御性を検討した．

$$G(s)=K_p+\frac{1}{T_I}\cdot\frac{1}{s} \qquad (4)$$

2．人体頭部模型の構築

a．人体頭部模型の製作方法

数学モデルによるシミュレーションの結果と比較するために，数学モデルで構築した頭部モデルと同一の形状をもつ人体頭部模型を製作した．図 4a に示すように，モデル血管部と分岐部をそれぞれ内径 4 ϕ のナイロンチューブと分岐継手で血管模型を再現し，脳内の主な血管を解剖学的形状に即してモデル化した血管モデルに従って，脳模型内部に配置可能な形状に製作した．代謝熱産生を模擬するための発熱源としてフィルムヒータ（FH-10：シンワ測定社，三条）を 3 枚と，内部の温度分布を測定するために 6 個の温度センサ（103JT-050：石塚電子社，東京）を図 4b に示すように内蔵した．図 4c に示すように，脳の数学モデルに対応する脳模型はシリコンゴムで，これらを一つにまとめて作製した．眼球および顔面の筋肉や耳下腺などの組織を含めた頭骨模型は上述の脳模型を組み込んで一体化するために，二分割して石膏で形成し，脳模型を左右から挟み込んで図 4d に示すような人体頭部模型を作製した．作製した脳模型の重量は約 2.9 kg であり，頭骨は約 4.8 kg であった．

b．人体頭部模型冷却実験装置の製作方法

選択式脳低温療法を想定した数学モデルシミュレーションと同一の条件で実験を行うために，脳に循環する血流を模擬する装置と，リンゲル液の温度調節を行う装置をそれぞれ開発し，制御コンピュータで同期して駆動する実験装置を開発した．

選択式脳低温療法は脳のみを冷却し，頭部以外の体温はほぼ一定に推移する．そこで，ヒトの全血液量を満たすことのできる大きめの恒温水槽をヒトの体幹に見立て，恒温水槽内の温度調整は IC コントロールヒータ（SCH-900SC：クマガイ電工社，大阪）で行っ

表 2．人体脳模型内各組織のノード数およびパラメータ

特　性	組　織						
	脳	頭　骨	眼　球	血　管	脳脊髄液	頭　皮	空　気
ノード数	13,093	24,206	172	497	1,805	3,310	20,917
温度（℃）	室温	室温	室温	室温	室温	室温	室温
代謝性産生熱 (W/m^3)	0	0	0	0	0	0	0
熱移動係数 (W/m・K)	9.34×10^{-1}	4.30×10^{-1}	4.30×10^{-1}	3.99×10^{-1}	9.34×10^{-1}	4.30×10^{-1}	9.25×10^{-3}
比熱 (J/kg・K)	2.01×10^{3}	8.35×10^{2}	8.35×10^{2}	1.01×10^{3}	2.01×10^{3}	8.35×10^{2}	1.01×10^{3}

人体頭部模型を用いた数学モデルのシミュレーションに使用するパラメータは文献値[19]を用いた．作製した人体頭部模型の組織構成に合わせて，眼球および頭皮のノード数以外のパラメータを頭骨と同値にし，各組織の代謝産生熱を 0 に設定している．

た．血液の代用として水を心臓に見立てたポンプ（RD-05H：Iwaki 社，東京）で脳模型に循環した．脳内に注入するリンゲル液も水で代用し，脳から流出する水の余剰分をバルブから排出して，体内の血液量が常に一定となる循環システムを構築した．代用リンゲル液の温度調整は冷水と温水を混合する混合槽内に配置した熱交換器で行った．混合槽内の水は冷水槽もしくは温水槽へ還流し，稼動する冷却器もしくは加熱器によって一定の温度範囲内で設定温度に維持した．混合水は冷水槽もしくは温水槽内の水量を考慮して，いずれかに還流した．冷却器は小型冷凍庫（ミニ冷凍庫：ロッテ社，東京）を用い，加熱器は投げ込みヒータ（H-500S：フジマック社，大阪）を用いた．

c．人体頭部模型に用いる数学モデルのシミュレーション方法

人体頭部数学モデルにおけるステップ応答および PI 制御の実験結果と比較するために，数学モデルを用いてシミュレーションを行った．各組織を構成するゴムや石膏などの熱伝達係数および熱容量は文献値[22]を用いた．ただし文献に記載されている値は，単位重量もしくは単位長当たりの数値であるので，実際の計算では上述した脳模型および頭骨模型の実測重量と，対応する熱伝導モデルを構成するノード数から 1 ノード当たりの熱容量を導出した．また，熱伝導モデルのノード間距離の設定値[25]が 6 mm であることを考慮して，1 ノード当たりの熱伝達係数を導出した．人体頭部模型は頭骨および脳を石膏，シリコンゴムで作製しているため，眼球および頭皮は頭骨に含めた構造にしている．そのため，脳模型シミュレーションでは眼球および頭皮のノード数以外のパラメータをまとめ直し，表 2 の濃い網掛け部分に示すように頭骨と同じ数値に設定し，各組織の代謝産生熱を 0 に設定した．

また，計算の 1 サイクル時間を 1 秒とした[25]．演算開始時の各組織の初期温度およびシミュレーション中の大気温は人体頭部模型による実験時の実測値を使用した．

d．人体頭部模型を用いた実験方法

1）熱伝達に関する応答特性の測定方法　開発した実験装置を用いて人体頭部模型の熱伝達応答特性とステップ応答を測定した．

フィルムヒータを 3 枚同時に作動させて，脳中心部温度を上昇させる過程と脳中心部温度が 42℃ の人体頭部模型に 9 ± 0.1℃ の冷水を循環させて冷却する過程の脳中心部および鼓膜の温度変化を測定した．また，室温の人体頭部模型に 37 ± 0.1℃ の代用血液を循環させたときのステップ応答を測定し，数学モデルを用いたシミュレーションと比較した．流速は人体の脳内血液量と模擬血管容積，および熱移動に必要な脳内血液滞留時間を考慮して 50 m*l*/ 分とし，脳内温度分布および室温をサンプリング周期 30 ms で測定した．なお，鼓膜は解剖学的に脳側頭部に位置することから，脳側頭部温度を鼓膜温とみなした．

2）脳中心部の PI 制御実験　現在臨床で行われている全身脳低温療法は医療従事者の用手的な温度調整で実施されている．適応制御もしくは fuzzy 制御による自動温度制御を行い，一定の成果を上げた臨床例[9]が報告されており，完全自動化により精確な温度管理を実現し，かつ医療従事者の負担を低減できることが示唆されている．

数学シミュレーションの有効性を検討するために，Ⅲ章で示したシミュレーションと同様の伝達関数を用いた PI 制御により，任意の部位の温度を一定に維持する実験を行った．臨床で行われている脳低温療法では，生命維持機能が多く集まる脳中心部の温度を連続的に直接測定することは，温度センサの挿入による損傷や感染防御などを考慮して通常は行われていない．

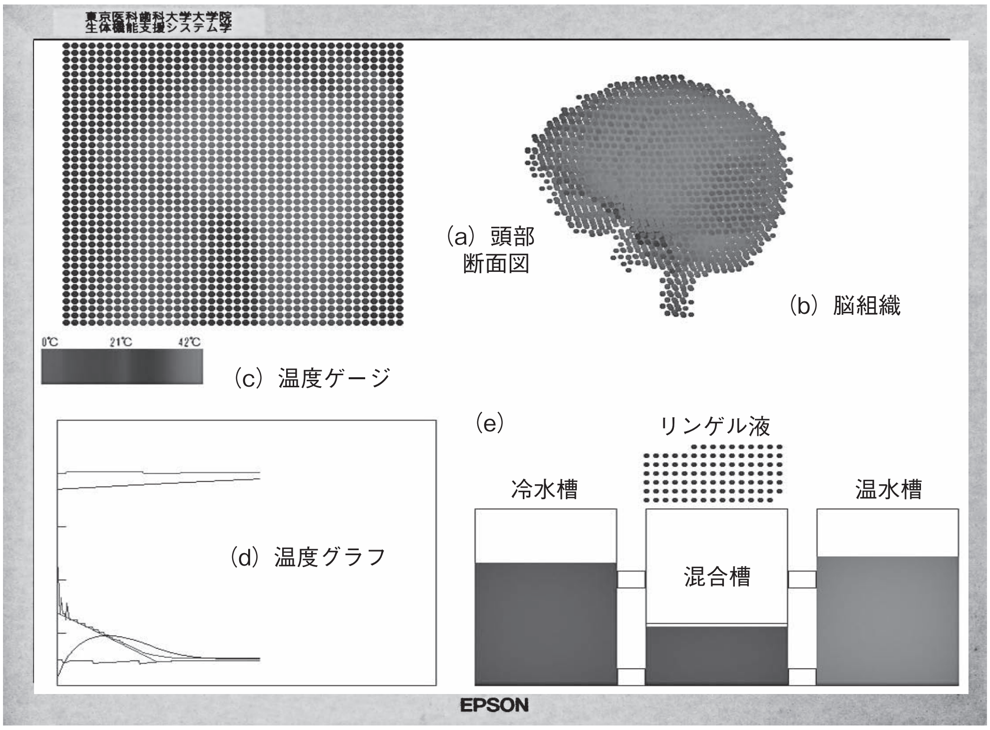


図 5. シミュレーション実施時の稼働状況 PC 画面

数学シミュレーションで描画した PC 稼働画面を示す．任意の座標における頭部断面図（a），頭部組織の三次元画像（b），0～42℃ の範囲を表示する温度ゲージ（c），各部の温度を 300 秒ごとに表示する温度グラフ（d），右下は実験モデルの冷水槽（e），混合水槽，温水槽に対応した各水槽内の水温は頭部組織のノードと同じ色調で表現した．本システムは人体頭部組織のみならず，実験装置内の機器稼働，水槽内の流量や移動，水温を含めて統一的に可視化した．

しかしながら，従来行われてきたような鼓膜温や膀胱温からの脳温測定[6, 16~19]では，集中定数系で考えているので，推定した温度を脳中心部の温度とみなしてきた．このため，本研究では脳中心部の温度を制御量とし，調整槽の温度を操作量とした．

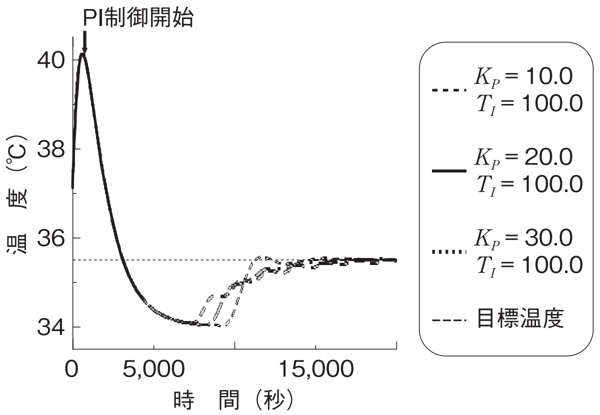
最初に 37±0.1℃ の模擬血流を循環させながら，脳中心部の温度が 40℃ に到達するまで，すべてのフィルムヒータに通電した．到達後はフィルムヒータを交互に切り替え，制御されていない状態で 40℃ を維持するように設定した．このように模擬的に設定した発熱状態において，脳中心部温度が 38℃ となるように目標温度を設定して PI 制御を行い，その動態を測定した．ただし，目標温度近辺でのばたつきを低減するために，±0.3℃ の不感帯を設定した．また，臨床において患者への過度の侵襲を避けることを想定し，脳模型による実験および数学モデルによるシミュレーションともに，冷水槽と温水槽の温度設定にリミッタを設定し，設定値を越える冷却もしくは加温は起こらないとした．このため，操作量である混合水槽の水温も 5～42℃ の間に制限した．

Ⅳ. 結　　果

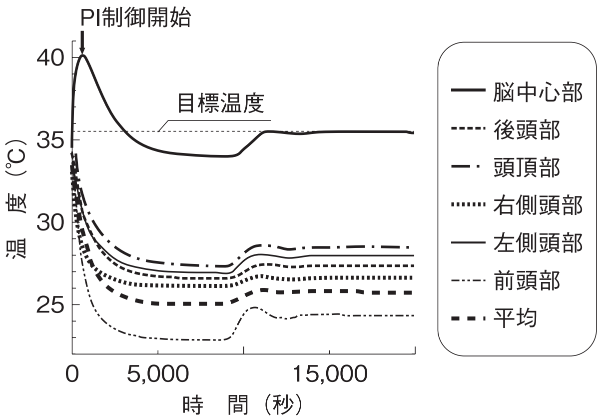
1. 数学モデルシミュレーションによる脳内温度分布の可視化

臨床応用における利便性を考慮して，脳温分布をわかりやすくデザインした．数学モデルを用いてシミュレーションし，描画を行っている PC 稼働画面を図 5 に示す．同図左上（a）は任意の座標における頭部断面図である．PC のキーボード操作で任意の部位の断面に切り替え可能であり，また図で示すような矢状面のほか，横断面あるいは冠状面などの表示にも切り替え可能である．同図の右上（b）の三次元画像は 6 つの頭部組織を任意に切り替えて表示することができ，ここでは脳を表示した例を示す．三次元画像については，シミュレーション中に任意の方向に回転して，任意の部位の温度を観測可能とした．

各ノードの表示色は温度の関数として独自に設定し，温度と色の関係を示す温度ゲージを断面図の下に表示した．図 5 の左中（c）の温度ゲージは 0～42℃ の範囲を表示している．これは，温度制御中に加温するための温水が，患者の低温熱傷を防止するために 40℃ 前後に，また凍傷を防止するために冷水が 5℃ 前後に設定されることを念頭においた数値である．



a. K_pを変化させたシミュレーション結果



b. 各部位のシミュレーション結果

図 6. 脳中心部温度制御における PI 制御によるシミュレーション結果

a. 目標温度を 35.5℃ に設定して，脳中心部の温度が 37℃ の状態から 40℃ に達した後に制御を開始したときの制御応答をシミュレートした．T_I=100.0 として，K_p を 10.0，20.0，30.0 に変化させた場合を示す．

b. 脳中心部の温度を制御しているときの K_p=10.0，T_I=100.0 における脳の中心部，頭頂部，前頭部，後頭部，右側頭部，左側頭部の 6 個所と，全ノードの平均の温度推移の結果を同時に示している．

図 5 の左下（d）はシミュレーション中の各部の温度を時間の経過に従って 300 秒ごとにグラフ表示している．さらに同図の右下（e）は実験モデルの冷水槽，混合水槽，温水槽に対応しており，各水槽内の水温は頭部組織のノードと同じ色調で表現する．各水槽中の高さは水量を視覚化したものであり，混合水槽の水温調節の際に生じる水の移動を考慮している．また，リンゲル液は初期状態では室温に維持されており，混合水槽中の熱交換器を通過して周囲の水温と等しくなる．混合水槽上部に表示したノードは熱交換器を表しており，室温から設定温度に変化する様子が色調の変化で示されている．

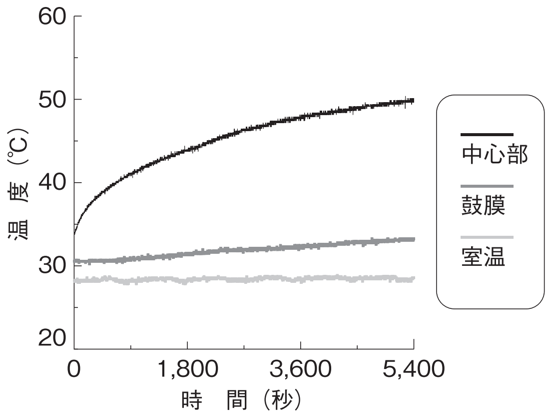
本システムは，人体頭部組織のみならず実験装置内の機器稼働もシミュレートして，機器の能力および制御方法も含めて検討するために，水槽内の流量や移動も合わせ，水温を含めて統一的に可視化している．

2. 人体頭部数学モデルを用いた PI 制御シミュレーション

臨床における脳低温療法の制御手法について，本研究で構築した人体頭部数学モデルを用いた検討が可能であることを示すために，上述した手法で PI 制御（propotinal integral controller）のシミュレーションを行った．脳内に生じた炎症による代謝量の上昇を想定して，通常より脳温が過度に上昇する状態を模擬するために，脳組織全体の代謝量を健常時の 2.8 倍に設定した．本モデルによるシミュレーションで制御を行わないとき，この代謝量で脳中心部温度がおよそ 45℃ で平衡状態になる．蛋白質の変成温度を考慮すると，生理学的に生体がこの温度に到達することはありえないが，一般的にシミュレーションは臨床と比較して環境の変化などがないので，制御が容易であることを念頭に，難度の高い制御条件を設定した．これを冷却して，脳中心部の温度を脳温として目標温度になるように制御を行った．

ここでは，まず目標温度 35.5℃ に設定して，脳中心部の温度が 37℃ の状態から 40℃ に達した後に制御を開始し，比例定数 K_p と積分時間 T_I を変化したときの制御応答をシミュレートした．T_I = 100.0 とし，K_p を変化した場合の応答の様子を図 6a に示す．本シミュレーションは，臨床で患者の安全のために冷水槽と温水槽の温度設定が上述のようになっていることを念頭に，リミッタを設定して，設定値を越える冷却もしくは加温は起こらないとした．このため，操作量である混合水槽の水温も 5～42℃ の間に制限される．なお，リンゲル液は左右の頸頚動脈から注入することとした．また，設定温度付近のばたつきを低減するために，脳温の目標設定値に ± 0.5℃ の不感帯を設けた．

次に，脳中心部の温度を制御しているときの，脳内各部の温度推移の一例として K_p = 10.0，T_I = 100.0 の場合の結果を図 6b に示す．このグラフでは，Ⅲ章で設定した 6 つの観測点と脳を構成する全ノードの温度平均値を同時に示している．シミュレーション開始直後，脳中心部の温度は高い代謝量で発生した熱量により温度が上昇した．これを冷却するために，PI 制御で低い温度に設定されたリンゲル液が注入され，冷却された血液の流れる血管からの距離に応じて中心部以外の温度が低下している．さらに，冷却の効果で脳中心部の温度が目標値より低くなると，逆にこれを加温するために高い温度に設定されたリンゲル液が注入さ



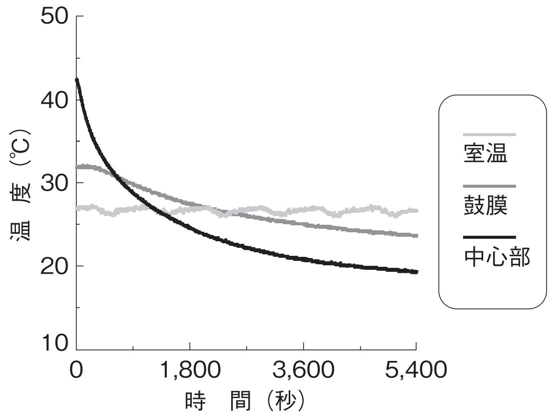


図 7. 脳模型の脳中心部および鼓膜部位の温度特性

a. 約 37℃ の代用血液を循環して一定温度になった脳模型内部のフィルムヒータを 3 枚同時に作動させたときの温度変化を測定した．5,400 秒後の脳中心部および鼓膜の温度は約 50℃，約 34℃ であった．

b. 脳中心部の温度が約 42℃ の脳模型に，約 9℃ の代用リンゲル液を循環させたときの温度変化を測定した．5,400 秒後の脳中心部および鼓膜の温度は約 19℃，約 23.5℃ であった．

れる．この結果，脳中心部の温度より早くほかの部分の温度が上昇した．PI 制御開始後の各部位温度は脳中心部以外はほぼ同様に変化し，平均温度に近い結果を示している．

このように，血管モデルからの距離が近い脳内の各部位は中心部より応答が早く，また中心部の温度が目標値にほぼ整定する 12,000 秒後はほかの部位も安定しており，部位による温度分布を生じることが示された．

3. 人体頭部模型の応答特性

選択式脳低温療法実施時の脳温変化を再現することを念頭に，作製した人体頭部模型の熱伝達の応答特性を脳中心部および鼓膜の温度について測定した．

室温の脳模型内に約 37℃ の水を循環させ，代謝熱産生を模擬するフィルムヒータを 3 枚同時に作動させた．図 7a に示すように脳中心部温度は急速に上昇した後，ゆるやかに上昇し 5,400 秒後には約 50℃ になった．鼓膜温度はゆるやかに変化し，5,400 秒後には約 34℃ であった．脳中心部および 鼓膜の時定数はおのおの約 1,700 秒，約 3,700 秒であった．また，脳中心部の温度が約 42℃ の脳模型に約 9℃ の冷水を循環させた．図 7b に示すように，脳中心部は初期段階で急速に下降し，その後，ゆるやかに下降して 5,400 秒後には約 19℃ であった．鼓膜温は実験開始直後から約 300 秒までは温度変化が認められなかった．その後，下降して 5,400 秒後には約 23.5℃ であった．脳中心部および鼓膜の時定数はおのおの約 1,100 秒，約 2,300 秒であった．

4. 数学モデルと人体頭部模型における実験結果の比較

a. ステップ応答特性の比較

室温が約 26.5℃ の環境において，37 ± 0.1℃ の代用血液を人体頭部模型に循環させたときのステップ応答の結果と同条件のシミュレーション結果について，脳中心部および鼓膜の温度の比較を図 8 に示す．数学シミュレーションでは，実験時の室温データを使用して実験時の環境を再現した．

頭部模型は脳中心部の温度は約 33.5℃ に急速に上昇後，おだやかに変化し，8,000 秒でさらに 0.5℃ ほど上昇した．鼓膜については脳中心部の温度と比較しておだやかに上昇した後，8,000 秒で約 31.5℃ まで上昇した．数学モデルによるシミュレーションでは脳中心部温度において，人体脳模型による温度変化と同様に推移したが，脳中心部の温度は 8,000 秒で頭部模型より 0.5℃ 低かった．鼓膜の温度は，頭部模型より早く約 31℃ まで上昇し一定に推移した．人体頭部模型および数学シミュレーションの時定数は脳中心部で約 1,300 秒と約 1,250 秒，鼓膜では約 2,600 秒と約 1,450 秒であった．

実験結果の再現性を確認する目的で，室温時の異なる環境において 3 回の実験を行い，ほぼ同様の結果が得られることを確認した．

b. PI 制御結果の比較

数学シミュレーションでは可制御性が示されているが，現実には外乱などの予期せぬ要因によって制御は発散する場合がある．このため，より臨床に近い形で可制御性を確認し，数学モデルの有効性について検討するために，脳模型の PI 制御による実験と数学シミュレーションの結果を比較した．

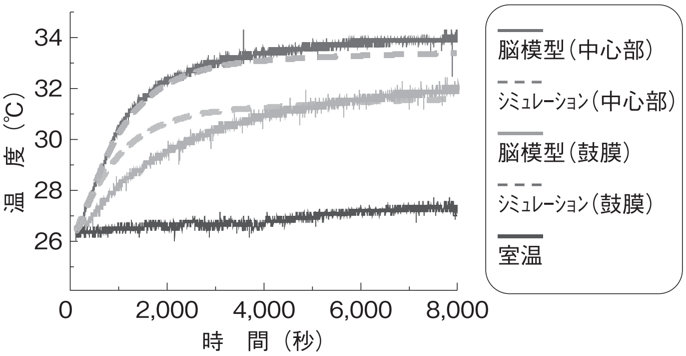


図 8．シミュレーションおよび脳模型の中心部および鼓膜における温度のステップ応答
頭部模型の脳中心部および鼓膜のステップ応答による温度は，模型では 8,000 秒ではそれぞれ約 34.5℃，約 31.5℃，数学モデルによるシミュレーションでは，それぞれ約 34℃，約 31.5℃ に上昇して静特性は良好に一致した．鼓膜においては頭部模型が数学シミュレーションよりやや遅れて温度が上昇した．

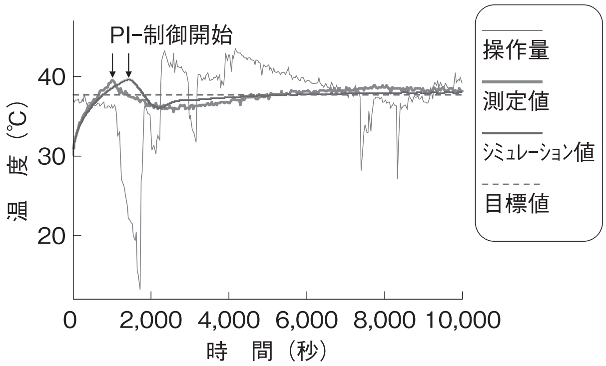


図 9．PI 制御による脳中心部温度の制御実験の結果（シミュレーションと脳模型を用いた実測データの比較）
PI 制御のパラメータは K_p＝20.0，T_I＝100.0 とした．37±0.1℃ の代用血液を循環させた脳模型をフィルムヒータで加温して約 1,000 秒後に脳中心部の温度が 40℃ に達し PI 制御を開始した．脳中心部の温度は約 10,000 秒後に目標値にほぼ整定した．シミュレーションにおいては脳中心部の温度が約 1,500 秒で 40℃ に達し PI 制御が開始され，約 2,000 秒まで温度が低下した．その後，温度が上昇して約 10,000 秒後では目標値に整定した．

図 9 に示すように，頭部模型の測定では，37±0.1℃ の代用血液を循環させた脳をフィルムヒータで加温して約 1，000 秒後に脳中心部の温度が 42℃ に達し，任意の温度に設定された代用リンゲル液を約 37℃ の代用血液に混合して脳内に循環させて，脳中心部の温度が 38℃ の目標温度になるように PI 制御を開始した．PI 制御のパラメータは K_p＝20.0，T_I＝100.0 とした．

制御開始とともに，脳を冷却するように操作量が設定され，これに伴って脳中心部の温度は低下した．その後，脳中心部の温度が目標値より低くなると，これを加温するように操作量が設定され，脳中心部の温度が上昇した．脳中心部の温度は約 10,000 秒後に目標値にほぼ整定した．

数学モデルでは約 1,500 秒後に脳中心部の温度が 40℃ に達して PI 制御が開始され，約 2,000 秒まで温度が低下した．この後の応答曲線は実測値とほぼ一致しており，脳模型の実験と同様に約 10,000 秒後に目標値に整定した．

V．考　　察

重症虚血性脳障害患者に対して，脳低温療法は短期でも 3 日程度，長期では 2 週間程度行われ，大学病院などの施設では同時に複数の脳低温療法を実施することもある．

全身脳低温療法実施時の医療従事者は患者の脳温管理のみならず，血圧，脳圧および体温低下による免疫や凝固の機能低下などによる生体変化を常時注意深く観察し，随時，体位変換や薬剤投与などの処置が求められる．臨床現場では全身のモニタリングデータを数値で記入した管理表を用いて集中管理する場合が多いので，提示される情報から患者の状態をただちに把握し，適切な対処をすることは相応の臨床経験を有する医療従事者においても困難である．

脳内温度を可視化して提示する本システムは，数値による従来のモデルと比較して，脳内温度分布や時系列グラフによる脳冷却過程の進行状況を直感的に把握することが可能であるので，脳温管理に費やす労力や時間を削減すること，患者の状態に適した医療行為を随時行える環境づくりに有用であると思われる．

1．人体頭部数学モデル

a．熱伝導の数学モデル

本研究で開発した人体頭部数学モデルは，力学モデルを用いた仮想物体の形状構築手法[20,21] を応用した．この手法は正四面体を連続配置した座標系を考え，すべてのノードを正四面体の頂点にある座標系と考える．演算に関してすべてのノードが等価であり，アルゴリズムを統一できるので，各ノードおよび要素に設定したパラメータのみシミュレーションの結果に反映される．本研究ではこの数学モデルを用いて，MRI データを基礎に 6 つの組織モデルを構築した．このとき，x，y，z 軸方向に各 40 のノードを設定した．これは主としてコンピュータの演算能力を考慮したことによる．

数学モデルのシミュレーションはおよそ 10,800 秒，

3時間程度でほぼ整定していることが示されている．若松らが構築した1−コンパートメントモデル[6]にステップ入力した場合の時定数が3時間であることから，現実の脳と同程度の整定時間であり，数学シミュレーションの正当性を示したと考えられる．微細な格子を設定しノードの数を増加させれば，より精密な演算が可能である．

このためには実時間の動作が望ましいので，ノードの数は演算に用いるコンピュータの速度と必要な演算精度を考慮して決定する必要がある．脳の形状は人によって異なるので，モデルの解像度をより高く設定し，脳低温療法開始前に撮影するMRIデータから形状データを抽出する手法を開発すれば，患者ごとの頭部組織形状および病態に合わせた脳内温度分布の表現が可能になると考えられる．

MRIを用いて非侵襲的に脳の温度を測定可能なMRスペクトロスコピー（MRS）という技術が提案されている[29]．MRSは組織の周囲で異なる原子核共鳴周波数の化学シフトを利用して，脳内分子成分の信号強度から血液動態を調べる方法であり[30]，睡眠障害などの脳機能画像としても利用されている[30]．Karazewskiら[4]は，脳卒中患者のMRSから温度測定を行い，炎症部位と正常部位は温度差が生じ，脳温が上昇する理由を虚血性の代謝反応，虚血流低下による熱交換障害などによると報告している．血流からの熱移動で温度分布を求める数学モデルとは測定手法が異なるが，脳低温療法ではCTのみならずMRIによる画像診断も適時行われるので，本研究で提案した手法と組み合わせてデータの修正を行い，あるいは内部状態推定によるパラメータ同定に利用することが期待できる．

なお，本研究で行った数学シミュレーションは選択式脳低温療法を規範とした実験装置を念頭においたので，装置の構成に用いる部品の基本的な特性をパラメータとした．このため，脳温制御の数学シミュレーションだけでなく，実験装置の設計段階で，使用する部品に必要な能力の算出もできるので有用である．

b. 数学モデルによるシミュレーションの結果

本研究で提案した人体頭部モデルについて，特定のノードの温度を指標として制御を行うことが可能であることが示された．本研究では目標値をステップ入力した場合について検討したが，臨床においては急速な温度変化による身体への負担を避けるために，たとえば24時間で1.0℃の範囲で変化するように目標値を低速で常に変化させながら，追値制御を行う[14]．本研究で行ったシミュレーションと比較して変化量が少ないので，より迅速に目標値を追従すると考えられる．

中心部以外の脳表面温度が開始直後より低下した理由として，代謝性の熱産生を行わないとした頭骨や脊髄液との熱交換により，健常の生理状態以上に高い冷却効果が現れたことが考えられる．また生理状態では自然な温度勾配があるが，組織ごとに均一な温度状態から数学シミュレーションを開始したことにより，温度の平衡状態に推移したことも影響していると考えられる．

一方，頭骨モデルに分類した領域は，現実には頭骨以外の表情筋や耳下腺などの組織が存在し，さらに体温とほぼ等しい温度の血流が流れる外頸動脈から分岐した血管が存在しており，これらがもつ熱量を無視することはできない．このため，概念上追加した皮膚モデルでは，表皮層からの熱交換が不十分である可能性がある．さらに，血流の影響を考慮して皮膚モデルを改良することが必要と思われる

実際の脳血流は本研究で開発した血管モデルと異なり，毛細管に分岐して脳全体を流れているので熱の洗い出しの効果も大きい．脳組織の熱移動係数を調整することで，一定程度の表現は可能であるが，血管モデルは周囲のノードとの熱交換を行いながら，あらかじめ定めた方向への迅速な熱の移動を与える特性をもつので，より正確な数学シミュレーションのためには，毛細管まで考慮した精密な血管モデルの構築が有用である．

2. 人体頭部模型による脳内温度変化

本実験は図3の概念に基づいて作製した実験装置により行った．シミュレーションを模擬する実験では，使用する実験装置に脳の神経保護を行う必要が生じる約42℃以上に脳温を上昇させるための機能があるとともに，温度が過剰に上昇した脳を一定時間に適切な温度に冷却させる性能が備わっていることが求められる．

正常脳の産生熱は約20Wであるが，本実験においては約25Wのフィルムヒータを同時に3枚作動させて，過剰に負荷をかけることで脳中心部温度を5,400秒で約50℃にすることができる．実験装置は，約42℃の脳損傷時の脳温を模擬するには必要十分な性能を有していると思われる．

一般的な脳低温療法では冷却期から管理期へ移行する際，脳温を約32℃から約37℃に約8時間以上かけて復温する[28]．本実験装置では，約1,000秒間で約7℃上昇させることが可能であり，復温時の温度上昇の模擬実験にも十分に対応可能であった．脳温が約42℃に上昇した脳に約9℃の冷水を流入して脳を冷却する模擬実験では，脳中心部は冷水の流入により急

速に温度が下降し，5,400 秒で約 18℃ に低下している．

Polderman ら[31] による冷却時間短縮の可能性の検討によれば，水冷式ブランケットを併用し，4℃ の生理食塩水 2,340 ± 890 ml を投与した場合に，膀胱温が冷却後 30 分で 36.9 ± 1.9℃ から 34.6 ± 1.5℃，60 分で 32.9 ± 0.9℃ に低下したと報告している．図 7b に示すように，本装置では約 9℃ の冷水流入により脳中心部の温度を約 42℃ から約 32℃ に約 500 秒で冷却できる機能をもっている．冷却方法や温度測定部位が異なるため単純に比較することはできないが，本装置は上述の方法による冷却効果以上の冷却機能を有していると考えられる．

これらの実験結果より，石膏とシリコンゴムで作製した人体脳模型は，実際の脳の温度上昇を反映させる特性を十分にもつとともに，作製した装置による実験により本シミュレーションの有効性を確認するためには十分な機能を有すると考えられる．

3. 数学モデルと人体頭部模型における実験結果の比較

a. ステップ応答

頭部模型によるステップ応答の実験と数学シミュレーションの結果の比較により，脳中心部において，温度上昇時は頭部模型による実測値と数学モデルの算出値がほぼ一致したが，整定値に若干の温度差を生じた．一方，鼓膜部位については温度上昇時に，実測値が数学シミュレーションより遅れて温度上昇するが，整定値はほぼ一致した．

解剖学の見地からヒトの脳を考察し，脳中心部と鼓膜近傍の位置を考えると，脳中心部は複数の血管に囲まれ，分岐した血管に流れる血液からの熱を比較的受けやすい位置にあり，血液からの熱伝達の効率が高い環境にある．一方，鼓膜は脳の左右の端に位置し頭骨にきわめて近い位置にあり，血管に流れる血液による熱伝達の効率は脳中心部と比較して低いと思われ，代謝熱を考慮しない場合，測定する位置関係が脳温に大きく影響すると考えられる．数学モデルでは脳脊髄液に相当するノードが存在するので，これを介して一定範囲の熱量が脳から頭骨に伝達する．

一方，脳模型と頭骨模型と組み合わせた頭部模型は完全に密着していないので，その間隙に存在する大気温の空気と直接熱交換を生じると考えられる．このため，脳の周辺部に位置する鼓膜相当部位では，実験開始時には数学モデルより空気による冷却効果が大きく，温度上昇に誤差が生じたと考えられる．一方，脳中心部ではこの影響が少なく，代用血液の流れる複数の擬似血管から熱伝達が効果的に行われるために上昇時の温度はほぼ一致している．間隙にある空気は大気と直接循環していないので，脳模型から放出された熱により温度が上昇して，実験中に脳周辺部とほぼ同一の温度になり，冷却効果が少なくなると考えられる．このため，実験開始から約 4,000 秒後には熱移動が少なくなり，その後，中心部では数学シミュレーションよりも若干の温度上昇があったと考えられる．

実験の結果では，整定時の鼓膜部位は脳中心部と比較して，約 2℃ 低い温度となっている．実際の人体頭部では，鼓膜は外頸動脈系の血流支配を受けるとともに，外気や顔面皮膚温の影響も受けるので，硬膜外温より 0.3~0.5℃ 低いとされる[6]．一方，脳中心部は外気による影響はほとんど受けないので，より高い温度であり，本結果と矛盾しないと考えられる．

実際の脳低温療法では，脳温上昇が求められる復温期は，管理期の脳温である約 32℃ から約 8 時間以上かけて約 37℃ に徐々に復温するため，短時間の急激な温度上昇変化は現実的には求められていない．そのため，鼓膜温度の上昇時において図 8 に示すような差が生じてはいるが，現実には，急激な温度上昇を必要としない脳低温療法では影響は少ないと考えられる．

b. PI 制御の性能

脳低温療法は，年齢や損傷内容を考慮した厳格な温度管理が予後改善の可能性を引き出す．本研究では，脳損傷後の代謝亢進により脳中心温度が 40℃ に上昇した患者を想定し，これを設定した目標温度の 38℃ まで冷却して一定温度に維持する PI 制御を行った．これは脳低温療法を想定したシステム制御であり，得られる二つの結果の比較から，脳内熱伝導により温度分布を推定する数学シミュレーションの有効性について検討することを目的としている．

フィルムヒータすべてを作動させて，制御を行わずに脳中心温度が 40℃ まで上昇する過程では，脳中心部の温度が約 38℃ までは頭部模型での実測値と数学モデルによるシミュレーション結果がほぼ一致している．その後，ステップ応答と同様に，制御が開始される 40℃ には，実測値が数学シミュレーションより若干早く到達している．これは上述したように，数学シミュレーションでは脳内に蓄積した熱が頭骨に移動しやすく，温度の上昇が若干遅いことによると考えられる．

40℃ 到達後は，同一の制御則による PI 制御が行われたが，数学シミュレーションのほうが実測値と比較して迅速に温度が低下している．一方，実測値は数学シミュレーションと比較して ± 1℃ 程度の誤差を生じつつ，ほぼ同じ時間で目標値に整定した．その後，数学シミュレーションでは一定値を維持したが，実測値

は若干の振動を生じた．これは，操作量が変化するとき，数学シミュレーションでは温水と冷水の混合に必要な水の移動と撹拌がほぼ一瞬で終了し，瞬間的に均一の温度となるのに対して，実験装置では冷却槽および温水槽から混合槽への送水速度の差による温度変化量の違いに応じた時間遅れを生じること，および温度測定時の計測誤差などによると考えられる．

本実測結果は若干の誤差を含むが，数学シミュレーションの結果と良好に一致していることから，数学モデルを用いた脳内温度分布の演算手法は，おおむね有効であると判断できる．なお，誤差の主たる原因と考えられる実験装置内部の水の移動や撹拌などの速度などを反映した数学シミュレーションモデルの構築は，実験装置の設計および改良と併せて必要であると考えられる．

Ⅵ．おわりに

人体組織の代謝性熱産生と熱容量および熱移動係数などの特性を反映した，脳内の温度分布を可視化する数学モデルを構築した．本モデルは血管内の血流を模擬し，温度を自由に設定可能であるため，脳内温度を制御する選択的脳低温療法時の脳内温度分布変化の状態を数学シミュレーションで再現できる．数学シミュレーションにより，脳内の部位によって冷却効果が異なることが示され，臨床で脳低温療法を行う場合も，脳内の温度分布を考慮した脳温管理が必要であることが示唆された．人体頭部数学モデルと開発した人体脳模型実験装置による結果の比較は良好に一致しており，脳低温療法時の臨床において，数学シミュレーションは有用な情報をもたらすと考えられる．脳障害の治療目標は知能障害や後遺症を残さない社会復帰であり，数学モデルのシミュレーションにより脳内温度分布を可視化することで，冷却部位の効果的な選択的脳低温療法が実現できれば，よりいっそうの治療成績の向上が期待される．

謝　辞

本研究に際し多大なご指導およびご助言を賜った東京医科歯科大学大学院 若松秀俊名誉教授，東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科生体機能支援システム学 本間　達助教，伊藤南教授に深く感謝いたします．

文　献

1）林　成之：脳低温療法の現状と今後の展開―脳低温療法の歴史と現状．ICU と CCU27：725–731，2003.

2）林　成之：低体温療法―重症脳障害患者の新しい集中治療法，医学書院，東京，1995.

3）山本保博，寺本　明：低体温療法―病態から患者管理まで，ヘルス出版，東京，1998.

4）Karaszewski B，Wardlaw JM，Marshall I et al：Measurement of brain temperature with magnetic resonance spectroscopy in acute ischemic stroke. Ann Neurol **60**：438–446，2006.

5）岩田欧介，岩田幸子，高嶋幸男ほか：脳保護戦略最前線―研究室から ICU へ，先進国から途上国へ．脳と発達 **42**，5–14，2010.

6）若松秀俊，陸　高華：脳低温療法のための患者生体温熱モデル．電学論 **9**：1537–1546，2003.

7）陸　高華，若松秀俊：脳低温療法のための脳温自動制御シミュレータ．脳死・脳蘇生 **16**：62–68，2004.

8）Wakamatsu H，Gaoha L：Adaptive control of brain temperature for brain hypothermia treatment using Stolwijk-Hardy model. Artif Life Robotics **8**：214–221，2004.

9）Wakamatsu H，Utsuki T，Mitaka C et al：Clinical system engineering of long-term automatic thermal control during brain hypothermia under changing conditions. Techno Health Care **18**：181–201，2010.

10）檮木智彦，若松秀俊：省電力化等による脳温自動制御装置の臨床使用性の向上．電学論誌 C **132**：615–622，2012.

11）若松秀俊，陸　高華：脳低温療法の臨床に則した脳温適応制御システム．脳死・脳蘇生 **15**：62–68，2004.

12）科学新聞：脳低温療法の新技術．2008 年 11 月 28 日.

13）武信洋平，成冨博章：脳温測定法．脳と循環 **11**：69–72，2006.

14）高山泰広，桑本健太郎，佐藤秀貴ほか：脳蘇生と頭蓋内圧モニタリングの現状について．日本臨牀 **69**：708–715，2011.

15）徳久琢也，茨　聡：脳低温療法．Neonatal Care **18**：10–20，2005.

16）田原良雄，鈴木範行，高木俊介ほか：蘇生後集中治療における新しい非侵襲的体表冷却装置の使用経験．ICU と CCU **34**：475–480，2010.

17）Zhu L，Diao C：Theoretical simulation of temperature distribution in the brain during mild hypothermia treatment for brain injury，Med Biol Eng Comput **39**：681–687，2001.

18）Xut X，Tikuisis P，Ciesbrecht G：A mathematical model for human brain cooling during cold-water near-drowning. J Appl Physiol **86**：265–272，1999.

19）van Leeuwen GM，Hand JW，Lagendijk JJ et al：Numerical modeling of temperature distributions within the neonatal head. Pediatr Res **48**：351–356，2000.

20）本間　達，若松秀俊：臓器および操作器具の数学モデルによる医学教育用力覚表示システムの開発．日本 VR 学会力触覚の提示と計算研究会報告書 **1**：11–14，2010.

21）若松秀俊，本間　達：バーチャルリアリティにおける力覚表示とその応用，共立出版，東京，2011.

22）Herman IP：Physics of the Human Body，Springer-Verlag，New York，2007.
23）本間　達，若松秀俊：人体頭部構造に基づく脳内温度分布の 3 次元表示モデル．平成 23 年電気学会全国大会講演論文集第 3 分冊：88–89，2011.
24）Honma S，Wakamatsu H，Takagi Y：Simulation of temperature distribution in a brain using 3D graphic model. Transactions of Japanese Society for Medical and Biological Engineering **49**：172，2011.
25）高木　豊，本間　達，若松秀俊：脳内温度分布の可視化モデルに基づく実験用人体頭部モデルの作製．臨床病理 **59**：237，2011.
26）高木　豊，本間　達，若松秀俊ほか：脳内温度分布を再現する人体頭部モデルを用いた熱伝導シミュレーション．平成 24 年電気学会電子・情報・システム部門大会講演論文集：1407–1410，2012.
27）本間　達，高木　豊，若松秀俊：脳内温度分布の可視化モデルを用いた脳冷却効果の検討．日本バーチャルリアリティ学会第 16 回大会論文抄録集：340–343，2011.
28）本間　達，高木　豊，若松秀俊：脳冷却効果を検討可能な脳内温度分布の可視化モデル．電気学会論文誌 C **133**：303–310，2013.
29）Kuroda K，Kumamoto E，Matsuoka Y et al：Non-invasive MR temperature imaging；work-in-progress. Med Imag Tech **21**：201–207，2003.
30）松浦雅人：睡眠障害と脳機能画像．臨精医 **39**：701–711，2010.
31）Polderman KH，Rijnsburger ER，Peerdeman SM et al：Induction of hypothermia in patients with various types of neurologic injury with use of large volumes of ice-cold intravenous fluid. Crit Care Med **32**：2744–2751，2005.

Construction of 3D-visualized mathematical models to human head temperature distribution in the brain and study of a availability with human head hard model

Yutaka Takagi

Graduate School of Health Care Sciences, Tokyo Medical and Dental University

Summary

Brain hypothermia requires controlling its temperature within an appropriate range, considering the change of body temperature in a long period. Therefore, it is important to keep accurate brain temperature for the better hypothermia treatment. But in the previous mathematical models, a hemisphere in a lumped parameter of a uniform temperature has been assumed as a simplified brain without considering the temperature distribution. The mathematical model has an approximate shape of each organ in a head based on MRI data, and visualization of intracerebral temperature distribution in hypothermia therapy was studied by the human head solid model. The results of simulation suggests that the various cooling effects are made clear in every region of brain, and that the temperature distribution can be known for the application of controlling brain temperature in a concerning part. This mathematical model can simulate the brain temperature distribution that takes into account the site of inflammation. Therefore, this mathematical model is considered to improve the treatment outcomes of selective brain hypothermia.

Key words : heat transfer simulation, human head model, brain hypothermia

剖検症例から学ぶ疾病の転帰と病態生理

剖検症例 No.36～51

症例 No.36　子宮頸癌に対し放射線治療中，S 状結腸穿孔，汎発性腹膜炎を合併し，S 状結腸切除および抗生物質による治療を継続したが，突然の呼吸不全を呈して死亡した症例

剖検依頼科：周産女性科

【概要】子宮頸癌に対し放射線治療中，S 状結腸穿孔，汎発性腹膜炎を合併した．S 状結腸切除，および抗生物質による治療を継続したが炎症反応は改善せず，経過観察中に突然の呼吸不全を呈して死亡した．剖検時，直腸断端にはリークを認め，腹腔内膿瘍，および腹膜炎を認めた．炎症所見高値持続の原因として，これが炎症のフォーカスと考えられた．呼吸器系には肺塞栓をはじめ，肺水腫や気管内異物，肺炎といった急性呼吸不全をきたす病変は認められなかった．心臓にも明らかな急性期梗塞の所見はなく，突然の呼吸不全を呈した原因については確定が困難であった．

【症例】81 歳，女性．

主　訴：不正性器出血．

家族歴：息子は大腸癌で 56 歳時に死亡．

既往歴：急性解離性大動脈瘤に対し弓部～上行大動脈人工血管置換術（76 歳）後，右冠動脈ステント留置（80 歳）後．

生活歴：喫煙歴なし，飲酒歴なし．

【臨床経過】

4 ヵ月前：血性帯下が出現．

1 ヵ月前：症状は改善しないため前医を受診し，子宮頸癌を疑われ当院を紹介され受診した．

入院時：精査の結果，子宮頸癌 1b2 期の診断（図 1，3）であった．放射線治療（外照射 50Gy/25fr（中央遮蔽 30Gy）および RALS（計 4 回）を施行した．

5 週後：RALS 施行後から意識レベルの低下，全身の浮腫，炎症反応高値，尿量低下が出現した．血液培養にて *Klebsiella pneumoniae* が陽性であり，敗血症の診断で抗生物質による治療を開始した．

6 週後：腹部 CT で，腹腔内膿瘍，free air を認め，腸管穿孔，腹腔内膿瘍，汎発性腹膜炎と診断された（図 2）．同日夜に緊急手術を施行したが（図 4），術後も炎症反応の改善はみられなかった．

9 週後：朝方より急激な呼吸不全をきたし，死亡した．

【検索希望事項】

炎症所見高値持続の原因，急激な呼吸状態悪化の原因，子宮頸癌放射線治療後の評価および S 状結腸穿孔の原因．

【剖検診断】

1. 子宮頸癌．放射線治療後遺残あり（扁平上皮癌，転移なし）．
2. 甲状腺癌（1 mm 大，ラテント癌，乳頭癌）．
3. S 状結腸穿孔（子宮頸癌放射線治療に伴う）に対して S 状結腸切除後，傍直腸膿瘍，化膿性腹膜炎．
4. 胸腹部大動脈解離症（胸部大動脈人工血管置換後）．
5. 陳旧性心筋梗塞（側壁），冠動脈硬化症（右冠動脈ステント挿入後）．

【剖検所見】

A. 子宮頸癌　放射線治療後遺残あり（扁平上皮癌，転移なし）

子宮頸部腺扁平上皮境界部 0～3 時方向に 13 mm 大の黄色調軽度隆起性病変を認める．組織像では，同部位にわずかに扁平上皮癌の小胞巣（non-viable）が散見されるが，癌はおおむね消失し，泡沫状マクロファージの集簇巣に置換される（図 5）．リンパ節転移や遠隔転移は認められない．

B. 甲状腺癌（1 mm 大，ラテント癌，乳頭癌）

C. S 状結腸穿孔（子宮頸癌放射線治療に伴う）に対して S 状結腸切除後，傍直腸膿瘍，化膿性腹膜炎

肉眼的に直腸断端は破綻しており，腹腔内には直腸断端部を主体として膿瘍形成がみられる（図 6）．組織学的に，断端部直腸壁は潰瘍化しており，滲出および好中球浸潤を伴う．漿膜にも炎症は波及し，Douglas 窩や肝，あるいは脾・膵漿膜面にも滲出を伴っており，化膿性腹膜炎の所見である．

D. 胸腹部大動脈解離症（胸部大動脈人工血管置換後）

1. 上行大動脈起始部～弓部大動脈，および右鎖骨下動脈起始部，右総頸動脈起始部，腕頭動脈起始部にかけて人工血管で置換される．左鎖骨下動脈起始部人工血管内には充満する血栓塞栓がある．
2. 末梢側の胸部大動脈下部～腹部大動脈腎動脈起始部にも 7 cm 長に及ぶ解離腔を認める．内部には軽度の器質化を伴う血栓を容れる．

E. 陳旧性心筋梗塞（側壁），冠動脈硬化症（右冠動脈ステント挿入後）

【病理所見まとめ】

1. 子宮頸癌に関しては放射線治療によりほぼ癌細胞は消失しており，リンパ節転移，遠隔転移は認めない．
2. S 状結腸（手術材料）には放射線の急性期障害として矛盾しない変化がみられ，二次的な憩室穿孔を伴っていた．
3. 剖検時，直腸断端にはリークを認め，腹腔内膿瘍，および比較的広汎な化膿性腹膜炎を認めた．炎症所見高値持続の原因として，これが炎症のフォーカスであったと考えられる．
4. 呼吸器系には肺塞栓をはじめ，肺水腫や気管内異物，肺炎といった急性呼吸不全をきたす病変は指摘できなかった．心臓にも明らかな急性期梗塞の所見はなく，突然の呼吸不全を呈した原因については確定が困難であった．

臨床画像

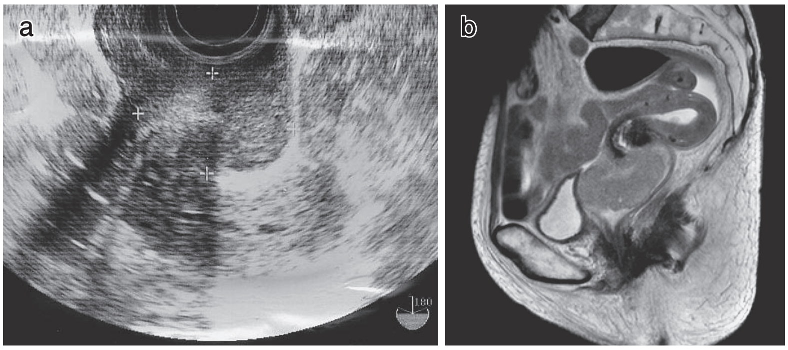


図 1．子宮頸癌に対する放射線治療前の経膣エコー（a）および MRI（b）．頸部に 6 cm 大の腫瘍性病変を認める．

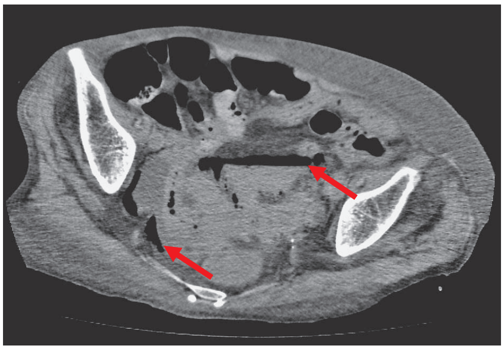


図 2．入院 6 週後の腹部 CT．Free air を認める（矢印）．

病理画像

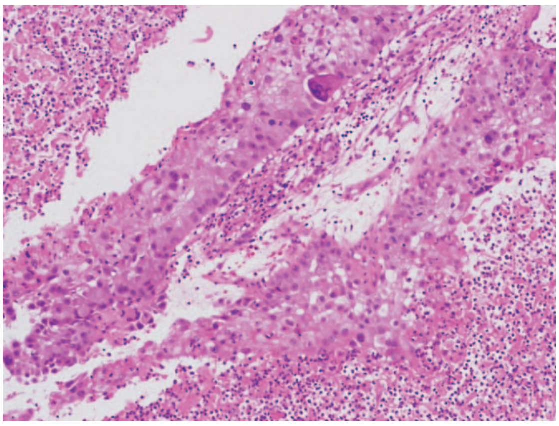


図 3．子宮頸部生検病理組織像（HE 染色）．シート状に増殖する扁平上皮癌の所見．

図 4．摘出肉眼標本（S 状結腸切除）．粘膜ひだは消失し，平坦化している．憩室が多発しており（矢印），一部では穿孔を伴う．

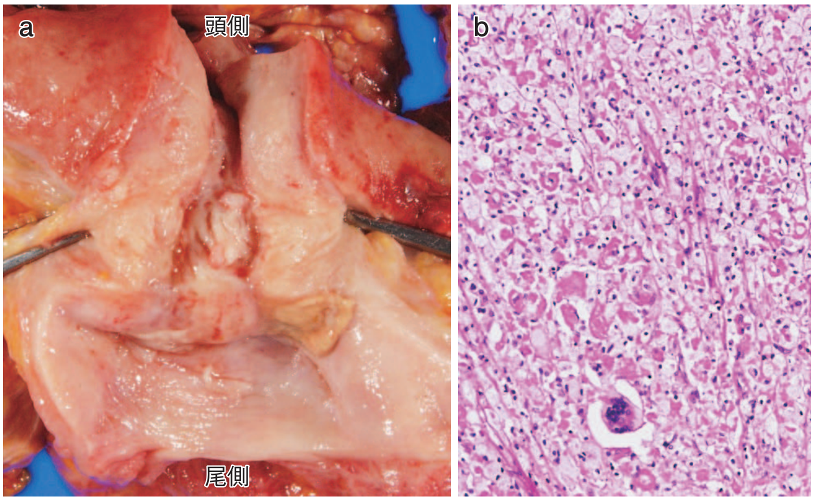


図 5．剖検時子宮腟部の摘出肉眼標本（a）および病理組織像（b）［HE 染色］．腫瘍性病変は明らかでなく，組織上も癌はおおむね消失し，泡沫細胞が集簇している．

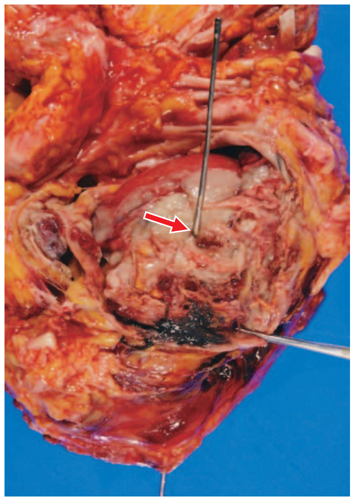


図 6．摘出肉眼標本．直腸断端（矢印）にはリークを認め，腹膜には滲出物が付着する．

症例 No.37　慢性心不全の経過観察中，慢性心不全の急性増悪を呈し死亡した症例

剖検依頼科：循環器内科

【概要】慢性心不全経過観察中，慢性心不全の急性増悪を呈し死亡した86歳・男性である．心臓に関しては冠動脈LCXの一部にステントが挿入されおり，LADに最大100% の完全閉塞を認め，心重量増加と前壁および側壁に広範な陳旧性心筋梗塞像を認めた．また肺，腎髄質や甲状腺に膿瘍形成と，脾炎の所見があり，敗血症を合併していた．死因に関しては，敗血症が死因に関連した可能性はあるが，直接死因は心不全と考えられた．本例は，高血圧，高尿酸血症，喫煙が，広範な心筋梗塞による心機能不全を呈し死亡しうることを再認識させてくれる貴重な症例である．

【症例】86歳代，男性．

主　訴：就寝時咳嗽および呼吸困難．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：高血圧，高尿酸血症，黄色靭帯肥厚（手術後），腰部脊柱管狭窄症．

生活歴：喫煙は20～53歳（Brinkman index 500），飲酒歴は20～35歳．

【臨床経過】

33年前：狭心症で入院した（以後33年間は心イベントによる入院なし）．

5ヵ月前：就寝時咳嗽および呼吸困難で当院に救急搬送され，慢性心不全急性増悪および肺炎の診断で入院となった．

4ヵ月前：LCX 99% 狭窄に対して percutaneous coronary intervention（PCI）施行後，退院した．

入院時：再び呼吸困難が増悪し当院に救急搬送される．来院直後，意識消失，心室頻拍となり，除細動・心臓マッサージ施行後，人工呼吸器管理下となる．

12日後：冠動脈造影を施行（図2），LADにも100% 狭窄認めるが，全身状態不良によりIABPで対応した．

1ヵ月後：治療したが心室頻拍や心機能のコントロールに難渋し，尿量低下，胸水貯留が増悪し死亡した（図1，2）．

【検索希望事項】

直接の死因，冠動脈や心臓の状態．

【剖検診断】

1. 陳旧性心筋梗塞，PCI後の状態．
2. 肺気腫および器質化肺炎．

【剖検所見】

A. 陳旧性心筋梗塞，PCI後の状態（図3）

1. 心臓：620 gと重量増加．弁輪拡大や弁の硬化，疣贅の付着はなく，心耳や心房内に血栓はない．左心室内腔の拡張，左室前壁および側壁の菲薄化がある．組織学的に同部位では心筋の脱落と膠原線維の密な増生を認める．急性期の心筋梗塞の所見はない．冠動脈はLCXにステントが挿入されている．最大でRCA90%，LAD100%，LC50% の狭窄を認める．
2. 胸水貯留：胸水（左）黄色透明150ml/（右）黄色透明1,200 ml．肺にヘモジデリン貪食マクロファージ（心不全細胞［図4］）が多数あり．

B. 肺気腫および器質化肺炎

肺重量は左530 g/右825 gと左右ともに重量増加を認める．両側上葉および下葉に7 cm大以下のブラの形成があり，気腫性変化は高度である．炭粉沈着は中等度．左下葉背側と右上葉背側を中心に，肺胞腔内への単核球浸潤を伴う器質化肺炎像を認める．

C. 敗血症（図5）

1. 脾炎：重量250 gで軟化している．好中球浸潤が目立つ．
2. 腎髄質の膿瘍形成：重量は左220/右180 g．髄質に微小膿瘍の形成が散見される．
3. 肺膿瘍：左舌区の一部に0.5 cm大の器質化を伴う膿瘍形成がある．
4. 甲状腺膿瘍：右上極に0.5 cm大の膿瘍形成がある．

D. その他の所見

急性胆嚢炎：胆嚢は15×12×1 cm大と胆嚢壁の肥厚があり，周囲と癒着している．粘膜直下～周囲脂肪織にかけて，肉芽組織の形成や膠原線維の増生を伴い，高度の好中球および単核球浸潤を認める．下部胆管および胆嚢内に胆石や胆管拡張を認めない．

【病理所見まとめ】

1. 心臓に関してはPCI後で，冠動脈は，LCXの一部にステントが挿入されており，LADに100% の完全閉塞を認めた．弁輪拡大や急性期の心筋梗塞の所見はないが，心重量増加と前壁および側壁に広範な陳旧性心筋梗塞像を認めた．肺には，心不全に関連して高度な胸水貯留や，いわゆる心不全細胞が多数認められた．
2. 肺，腎髄質や甲状腺に膿瘍形成と脾炎の所見があり，敗血症を合併していた．敗血症のフォーカスとして検索上は急性胆嚢炎の可能性があるが，臨床経過中，留置カテーテル感染もあったとのことで，こちらの可能性も否定できない．
3. 死因に関しては，肺に致死的な肺塞栓・血栓や気胸を認めず，その他臓器に関しても致死的な所見はない．経過中，不整脈のコントロールは不良で，VT出現により死亡にいたったという臨床経過で，敗血症が死因に関連した可能性はあるが，直接死因は心不全として合致すると考える．
4. 本例は，高血圧，高尿酸血症，脂質代謝異常症，喫煙（Brinkman index 500）を背景に，左室前壁・側壁の心筋梗塞による心機能不全を呈し，高度な胸水貯留や肺での心不全細胞の出現，肝臓や脾臓のうっ血・腫大を認めるにいたったと考える．

臨床画像

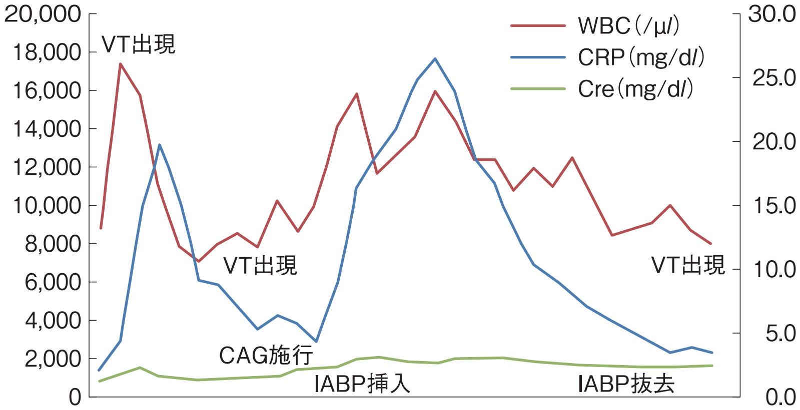


図 1．入院時～死亡時までの経過

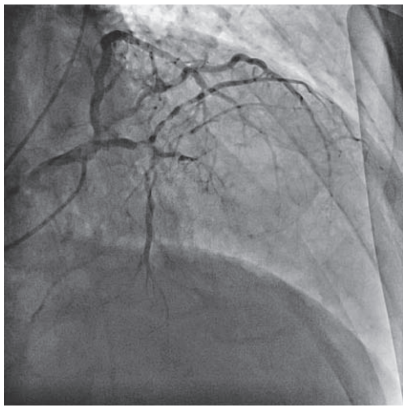


図 2．入院 12 日後冠動脈造影．LAD #6p 50%，#6d 90%，#7m 100%，D1 99%，D2 99%，D3 100%（CTO）．

病理画像

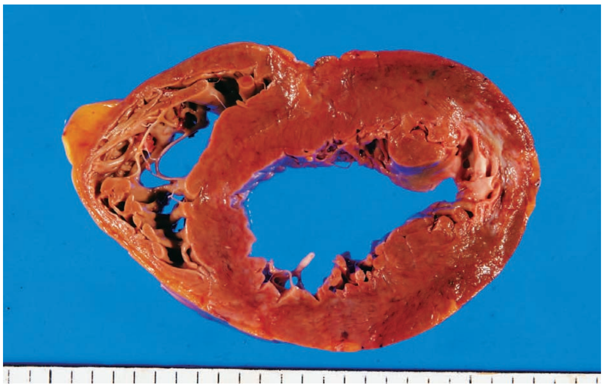


図 3．心臓の肉眼摘出標本．左室内腔の拡張，左室前壁および側壁の菲薄化がある．

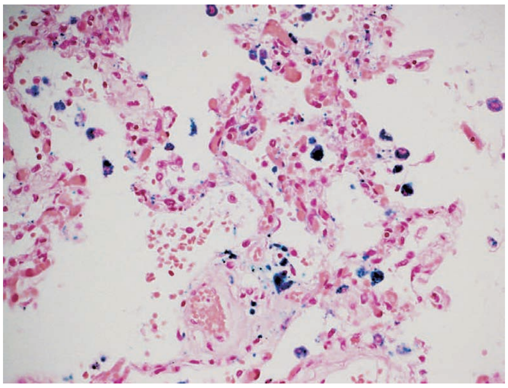


図 4．肺病理組織像（鉄染色）．心不全細胞（青色）を多数認める．

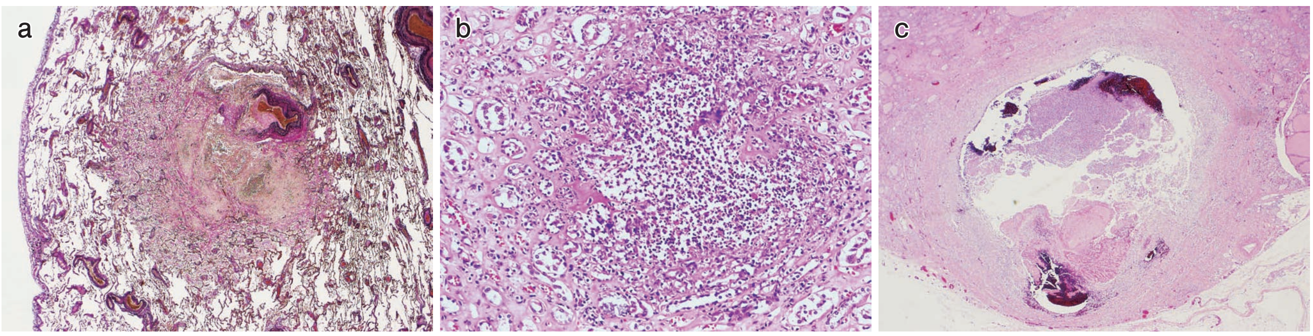


図 5．膿瘍形成の病理組織像．肺（a：EVG 染色），腎臓（b：HE 染色），甲状腺（c：HE 染色）に膿瘍形成がある．

症例 No.38　低分化肺腺癌に対する放射線化学療法中に急速な呼吸不全をきたした症例

剖検依頼科：呼吸器内科

【概要】非小細胞癌に対して放射線化学療法を施行中に，呼吸不全をきたし死亡した症例である．臨床的には肺炎もしくは癌性リンパ管症が疑われていた．解剖所見では両側肺内（右優位）に，viable な低分化腺癌よりなる多数の腫瘍塊が肺実質を占拠し，肺血管内では腫瘍塞栓と血栓形成がみられ，pulmonary tumor thrombotic microangiopathy（PTTM）に類似した状態であった．PTTM は癌とくに腺癌末期の肺動脈内腫瘍塞栓を契機に，凝固系亢進，血栓形成，小肺動脈から細動脈にかけて広範に線維細胞性の内膜増殖がみられる病態であり，急激な呼吸不全の原因となるが，画像所見に乏しいため，生前の特定が困難である．

【症例】70 歳代，女性．
主　訴：喀痰，咳嗽．
既往歴：脊柱管狭窄症，脊椎圧迫，十二指腸潰瘍．
喫煙歴：10 本/日×54 年（23〜77 歳）．

【臨床経過】
10 ヵ月前：健康診断の胸部 X 線検査で右中肺野に結節影を指摘される．胸部 CT で右 S6 に径 24×16 mm 大の結節影と両側肺野に 5 mm 以下の多発結節影を認めた．
5 ヵ月前：S6 腫瘤について気管支鏡検査で非小細胞癌と診断（図 1），cT2aN2M0 stageⅢA であり放射線化学療法を施行した（60Gy 30 回 45 日間，カルボプラチン＋パクリタキセル 6 回）．
3 ヵ月前：原発巣は縮小したが，両側肺野に多発結節影，縦隔リンパ節腫大の増大があり，progressive disease と判断した．
1 ヵ月前：2nd line としてビノレルビン 1 回投与．
入院時：右肺の浸潤影が増大したため，肺炎と判断し緊急入院となった（図 2）．
2 週間後：抗生物質を投与したが改善せず，急速に呼吸状態が悪化し死亡した．

【検索希望事項】
肺癌の組織型の同定，呼吸不全の原因．

【剖検診断】
右肺低分化腺癌，化学放射線治療後，多発転移．

【剖検所見】
1. 右肺低分化腺癌，化学放射線治療後，多発転移
両側肺内（右優位）に，低分化腺癌（充実腺癌）を主体とし，viable な腫瘍細胞が肺実質を占拠していた（図 3，4）．免疫染色にて腫瘍は TTF-1 一部（+），napsin A（+），CEA（+），p63（−）であり腺癌と考えられたが，一部ではやや好酸性の胞体を有する細胞もあり，扁平上皮への分化も疑われた．肺血管内では腫瘍塞栓と血栓形成がみられ，pulmonary tumor thrombotic microangiopathy（PTTM）様の状態であった（図 6）．原発巣周囲に，感染性肺炎，間質性肺炎の所見は明らかでない．心膜浸潤がある．癌の広がりとしては，多発肺内転移のほか多発リンパ節転移，右副腎転移がある（図 5）．右胸腔には大量の癌性胸水がある．

【病理所見まとめ】
1. 肺腫瘍は低分化腺癌（充実腺癌）を主体とするが，一部では扁平上皮への分化も疑われる組織像であった．
2. 原発巣および周囲の治療巣と思われる部位では，線維化と隔壁肥厚がわずかにあるが，治療による影響か，二次的な肺炎に起因するものか特定は困難であった．なお解剖時みられた腫瘍に変性像はほとんどみられなかった．
3. 右肺の浸潤影の増大および急速な呼吸不全の原因として，臨床的には肺炎，間質肺炎，放射性肺臓炎が鑑別にあがったが，急速な腫瘍の増大，脈管内の腫瘍侵襲（血管内における血栓形成，内膜肥厚を伴う腫瘍塞栓，癌性リンパ管症など）を反映していたものと考えられる．
4. PTTM とは，肺動脈内腫瘍塞栓（とくに腺癌）を契機に，凝固系亢進，血栓形成がみられ，さらに小肺動脈から細動脈にかけて広範に線維細胞性の内膜増殖がみられる病態である（Cancer **66**：587–592，1990）．臨床症状は進行性の呼吸困難であるが，画像所見に乏しいため，生前の特定が困難であり，剖検で判明する場合が多い．本例でも PTTM と類似した所見がみられ，本例と同様に，肺腺癌により PTTM をきたした症例報告もある（Oncology Letters 4：435–437，2011）．
5. 死因としては，急速な腫瘍の拡大による呼吸床の縮小，血管内・リンパ管内の腫瘍侵襲によるガス交換障害，大量の胸水貯留による呼吸不全を考える．

臨床画像

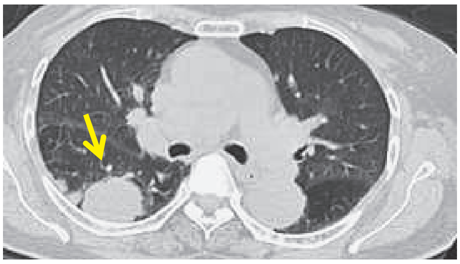


図 1．入院 5 ヵ月前．放射線化学療法前の胸部 CT．右 S6 に結節影がある（矢印）．

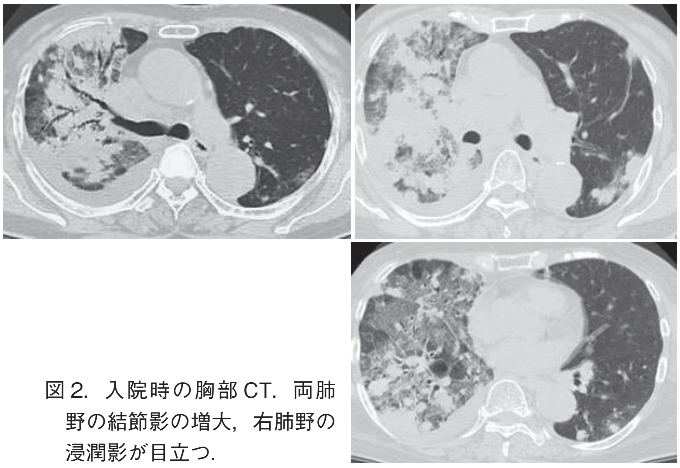


図 2．入院時の胸部 CT．両肺野の結節影の増大，右肺野の浸潤影が目立つ．

病理画像

図 3．右肺の摘出肉眼標本（水平断像）［左上：頭側，右下：尾側］．多発する白色結節性病変が肺内を占拠する．

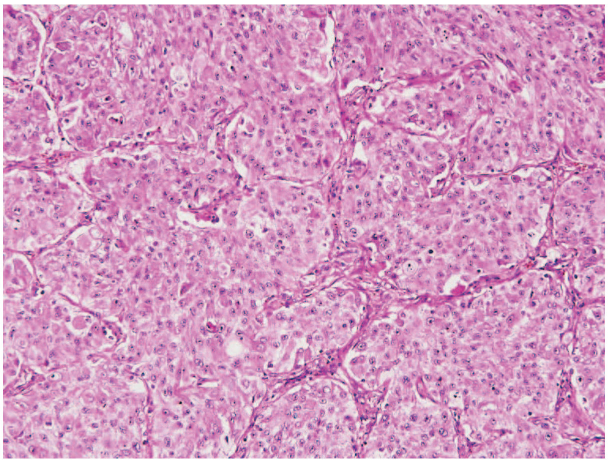


図 4．肺癌の病理組織像（HE 染色）．肺胞内に充満する低分化腺癌（充実腺癌）．

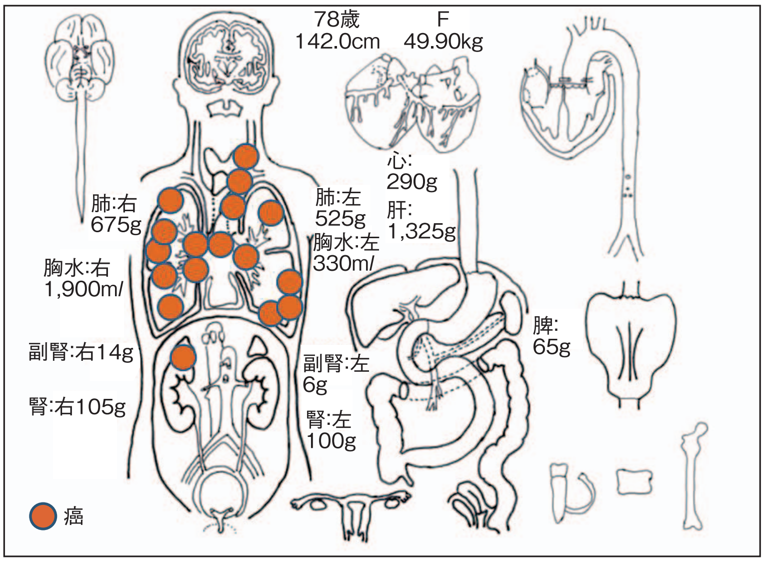


図 5．癌の分布

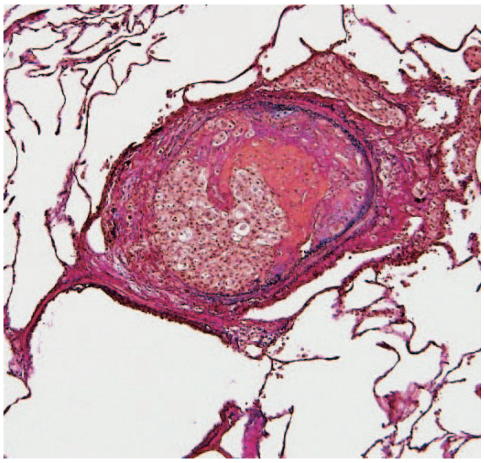


図 6．血管内腫瘍塞栓の病理組織像（EVG 染色）．細動脈内の腫瘍塞栓，血栓形成，線維細胞性の内膜増生をみる．

症例 No.39　長期にわたる免疫抑制状態を背景とし，寛解・再発を繰り返した多発性硬化症の1剖検例

剖検依頼科：神経内科/川口工業総合病院神経内科

【概要】 多発性硬化症は中枢神経系の脱髄疾患で，時間的空間的多発を一つの特徴とする．本例は，全経過7年半の寛解・再発型多発性硬化症で，副腎皮質ステロイド，インターフェロン，各種免疫抑制薬による治療により寛解するが，再発予防が困難であった．そして，長期免疫抑制状態を背景として肺炎，胸膜炎を引き起こし，敗血症，多臓器不全になり死亡した1例である．多発性硬化症については，生前の画像検査で指摘されていた部位とほぼ一致して多数の脱髄斑を認め，これらの部位ついても軸索密度の減少は目立たなかった．また，肺炎，胸膜炎および脳膿瘍は，結核菌とMRSAの混合感染による組織障害と考えられる．しかし，結核菌感染が病態に関与しているにもかかわらず，結核菌感染に特徴的な肉芽腫反応を欠いていた．多発性硬化症に関しては剖検例は比較的症例数が少なく，組織所見が観察される貴重な症例であった．結核感染に関しては，肉芽腫形成が乏しく，長期免疫抑制状態の関与による非典型的な組織所見と推測される．

【症例】 35歳，男性．

主　訴：痙攣再発予防のコントロール中の発熱．
家族歴：特記すべきことはない．
既往歴：特記すべきことはない．
生活歴：特記すべきことはない．

【臨床経過】

7年前：痙攣発作を認め，多発性硬化症を初発した（図1）．以後，15回の発作を起こし，高度の認知症，球麻痺，四肢不全麻痺を呈し日常生活動作（ADL）は車椅子の状態であった．

入院時：1週間前より39℃の発熱があり，CRP30 mg/d*l* と高値であった．長年の免疫抑制薬の使用により骨髄抑制がある．胸部X線像で両側に胸水を認め，肺炎，胸膜炎と診断し（図2），抗生物質投与を開始した．胸水は結核菌含め培養陰性，淡培養でMRSA検出，血中カンジダ抗原8倍であった．

2週後：痰の排出困難から心肺停止をきたしたがCPRにより心拍が再開し，人工呼吸管理を開始，自発呼吸をするが“植物状態”となる．

1ヵ月後：胆汁うっ滞型の肝機能障害，両側の肺炎，胸膜炎が進行した．

2ヵ月後：血圧が低下し，降圧薬の投与を開始した．

3ヵ月後：左緊張性気胸を併発，トロッカー挿入により灰茶色の胸水を多量に認め，胸水PCRにより結核菌陽性となる．PER，INH，EBを開始したが，多臓器不全により死亡した．

【検索希望事項】

死因について，多発性硬化症の病理．

【剖検診断】

1. 結核菌およびMRSA感染症．
2. 多発性硬化症．
3. 低酸素脳症．

【剖検所見】

A．結核菌およびMRSA感染症

1. 培養所見：生前には喀痰よりMRSA，胸水PCRより結核菌を検出していた．剖検時には，血液培養よりMRSA，*P.aeruginosa*，*Enterococcus* sp．を検出した．
2. 剖検所見：肺は両側ともに重量を増し，胸壁と癒着する．びまん性に含気の低下がみられ，右肺腹側に多数の空洞形成を伴う．組織学的には肺胞性肺炎の所見で，器質化を伴う．胸膜の滲出物の付着，膿瘍形成が目立ち，肺膿瘍，膿胸（図3）の所見も認められる．膿瘍内および胸膜表面の滲出物中には抗酸菌を多数認める（Ziehl-Neelsen染色陽性）．類上皮肉芽腫の形成，Langhans型巨細胞の出現は認めない．脳には左側頭頂葉の灰白質～白質にかけて13 mm大の膿瘍形成がある（図4）．そのほか右橋，外側溝頭側，小脳虫部に最大4 mm大までの膿瘍がある．血管炎はない．髄膜に目立った肥厚・白濁はみられない．

B．多発性硬化症

大脳白質には組織学的に，斑状～帯状の，最大10 mm大までの脱髄斑ないしシャドープラークの多発を認める（図5）．両側脊髄前索・側索には頸髄から腰髄にいたる連続性の脱髄がみられる（図6）．脱随病変内においても軸索は比較的保たれている．

C．低酸素脳症

頭頂葉主体に，両側大脳皮質に神経細胞の脱落，gemistocytic astrocyteの出現を認め，層状壊死の所見である．

【病理所見まとめ】

1. 肺炎・胸膜炎については，生前および剖検時の培養により結核菌やMRSAが検出されており，これらの混合感染が遷延化し，敗血症・多臓器不全にいたったと考えるが，本例では，長期にわたる免疫抑制在による影響のためか結核菌感染に特徴的な肉芽腫反応がみられなかった．
2. 多発性硬化症については，臨床的に多発性硬化症の病変と考えられた部位にほぼ一致して，延髄～橋の左腹側や左中小脳脚，右小脳などに多数の脱髄斑を認める．
3. CPR後の意識状態の悪化に関しては，頭頂葉，海馬での神経細胞の脱落，gemistocytic astrocyteの出現があり，低酸素血症による虚血性脳症と考えられた．

臨床画像

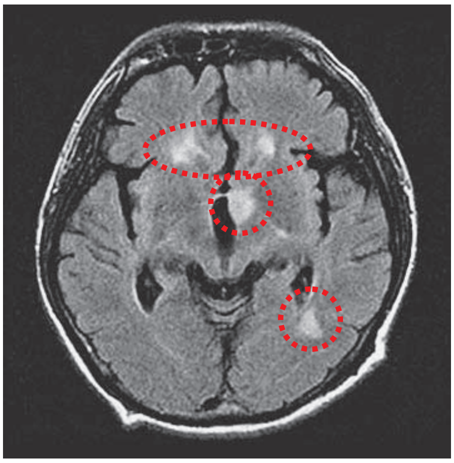


図 1．入院 1 年半前の MRI．左側脳室周囲白質などに T2/flair 高信号域（赤丸）を認める．内側側頭葉の萎縮が目立つ．

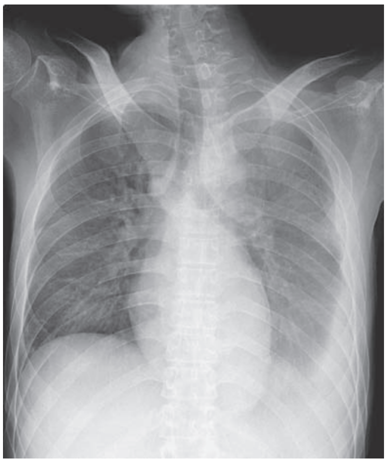


図 2．来院時の胸部単純 X 線像．両側胸水貯留がある．

病理画像

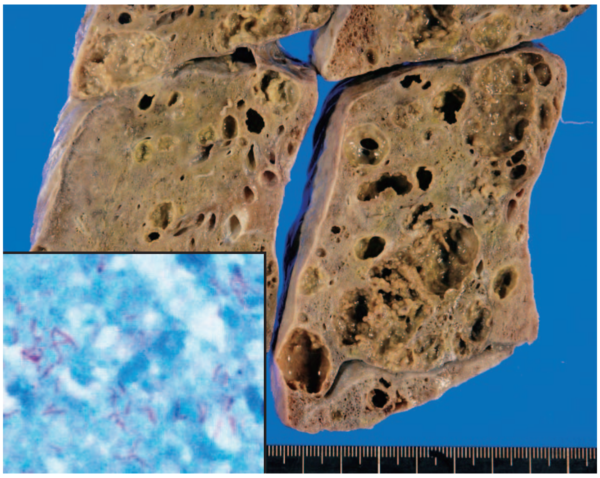


図 3．摘出肉眼所見（肺割面）．含気低下，嚢胞形成がある．挿入図は膿瘍内の抗酸菌（Ziehl-Neelsen 染色）．

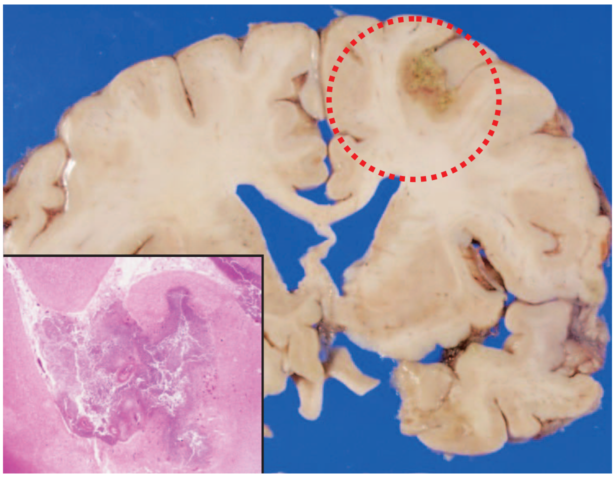


図 4．摘出肉眼標本（大脳割面）．頭頂葉大脳皮質に 13 mm 大の膿瘍（赤丸）を認める．挿入図は膿瘍の組織所見（HE 染色）．

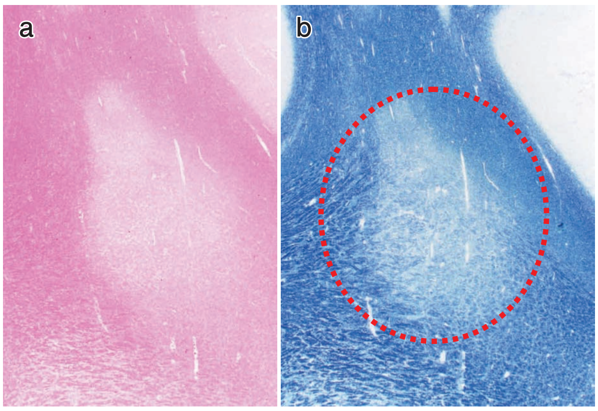


図 5．病理組織像（1）．大脳白質の脱髄斑（a：HE 染色，b：KB 染色）．赤丸部分が脱髄病変である．

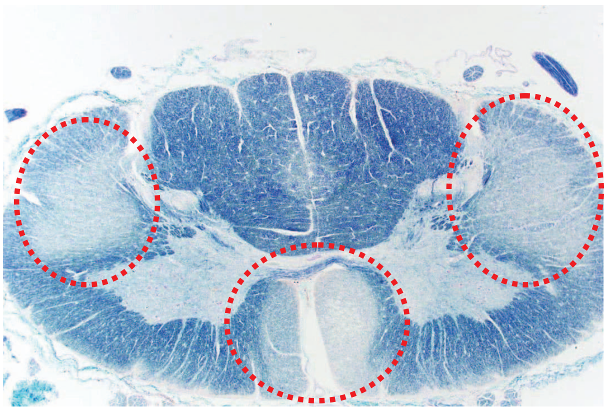


図 6．病理組織像（2）．腰膨大の前索・側索の脱髄斑（KB 染色）．赤丸部分が脱髄病変．

症例 No.40　下咽頭扁平上皮癌化学放射線療法後，癌の頸部・胸部への広範な進展がみられた症例

剖検依頼科：放射線科

【概要】下咽頭左梨状陥凹～後壁の扁平上皮癌に対し，化学放射線療法を施行した．原発巣の癌はほとんど消失したが，それより下方の咽頭・喉頭周囲～縦隔・胸腔に広範な直接浸潤が認められ，左胸腔は癌性胸膜炎の状態にいたっていた．これに両肺の気管支肺炎が合併し，呼吸困難により死亡した．

【症例】63 歳，男性．

主　訴：咽頭痛．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：特記すべきことはない．

生活歴：喫煙歴は 20 本/日×21 年，飲酒歴は日本酒 3 合/日．

【臨床経過】

死亡 1 年 11 ヵ月前：咽頭痛が出現した．下咽頭左梨状陥凹～後壁に潰瘍性病変を認め（図 1），生検で中分化扁平上皮癌と診断，その後，化学放射線療法が行われ，PET にて完全寛解と判定された．

6 ヵ月前：CT で左肺上葉に腫瘤影，および縦隔リンパ節腫大を認めた（図 2）．肺病変に対して血管内治療を行った．

3 ヵ月前：右肋骨，腰背部の疼痛が出現し，MRI にて腰椎転移を指摘された．放射線外部照射を行った．

3 日前：全身倦怠感，食欲不振，呼吸苦が出現したため緊急入院となった．

死亡 1 日前～死亡：血圧低下，呼吸状態の悪化を認め，死亡した．

【検索希望事項】

直接死因，下咽頭癌の状況，肺腫瘍が原発か転移かの確定，感染の有無．

【剖検診断】

A．下咽頭原発扁平上皮癌（化学放射線療法後）．

B．両側気管支肺炎．

C．胃潰瘍（Ul–IV）．

【剖検所見】

A．下咽頭原発扁平上皮癌

1．原発巣および頸部・胸部への直接浸潤

1）原発巣（咽頭左梨状陥凹～後壁）

約 5 cm にわたって間質の線維化がみられ，癌のほとんどは消失したが，1 個所のリンパ管内に癌細胞の小集塊が浮遊する（図 3）．

2）直接浸潤

・頸部：原発巣よりも尾側において，咽頭・気管周囲に viable な中～低分化型扁平上皮癌の広範な進展が認められる（図 6）．甲状腺はほぼ全体が癌に置換されている（図 4）．

・胸部（両側胸膜・肺［左 780 g（胸膜含む）/右 720 g］，心嚢，心［425 g］）：癌は頸部から連続性に下方進展し，左胸腔に露出している．左胸腔の壁側・臓側胸膜は癌の増殖により広範に肥厚・癒着し，癌性胸膜炎の状態である（図 5）．癌は右胸腔へも露出し，右肺胸膜には播種巣が散在する．また癌は大動脈，気管に沿うように進展し心嚢に及ぶ．心嚢は左胸膜同様に肥厚している．心嚢内腔面および心外膜には滲出物を伴った癌組織が広く認められ，癌性心外膜炎の状態である．

2．血行性転移

・両肺：左上葉には 3 cm 大の出血・壊死を伴う癌巣がある（図 5）．肺外の癌と一部連続性があり，胸腔からの直接浸潤の可能性もあるが，生前に転移が疑われ血管内治療が行われた個所に一致しており，血行性転移巣と考える．右上葉には 0.8 cm 大の転移巣がある．

・その他：骨（第 4 腰椎，右第 7・8 肋骨），左室心筋，肝（1,400 g）に転移巣がある．

3．リンパ行性転移：傍気管リンパ節の複数に転移がある．

B．両側気管支肺炎

両肺（左 780 g［胸膜含む］/右 720 g）に軽度ながらもびまん性に広がる気管支肺炎を認める．右肺では炎症の程度が強い．肺組織培養では少量の *S.aureus* が検出されたのみである．血液培養は陰性である．

C．胃潰瘍（Ul–IV）

体下部小弯に 15 mm 大の潰瘍がある．小腸に暗褐色液状の内容物を認め，潰瘍からの出血と考える．

【病理所見まとめ】

1．原発巣である咽頭にはリンパ管内の小集塊を除いて viable な癌は存在せず，化学放射線療法が奏効したと推測されるが，原発巣より尾側の咽頭・喉頭周囲～縦隔・胸腔には生前の原発巣生検検体と類似した viable な扁平上皮癌の広範な直接浸潤を認めた．とくに左胸腔および心嚢腔では漿膜に沿った広がりが目立った．両肺上葉には扁平上皮癌の血行性転移巣を認めたが，原発性肺癌と考えられる腫瘍は認められなかった．

2．直接死因は肺炎および癌性胸膜炎による呼吸不全を考える．

臨床画像

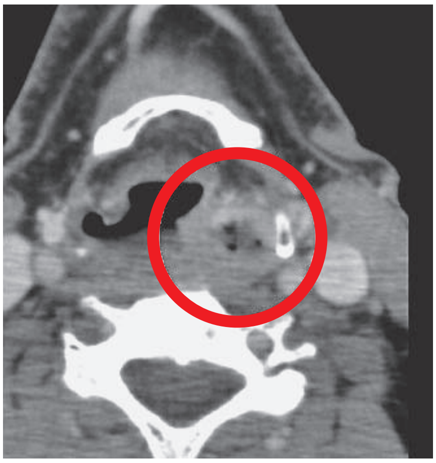


図 1．死亡 1 年 7 ヵ月前の頸部造影 CT．左梨状陥凹～後壁に最大径 24 mm の腫瘤が認められる（赤丸囲み）．

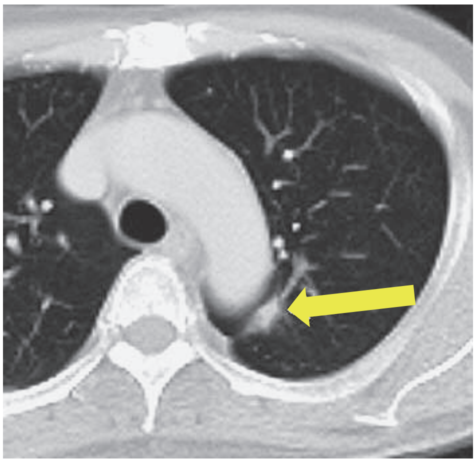


図 2．死亡 6 ヵ月前の胸部造影 CT．左肺 S1＋2 に最大径 16 mm の不整形結節が認められる（矢印）．

病理画像

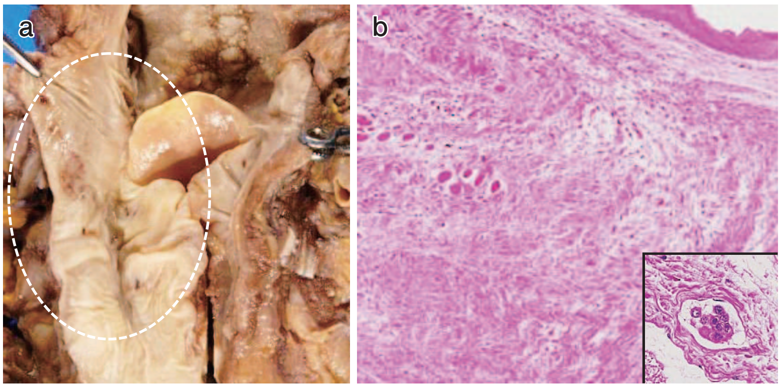


図 3．左梨状陥凹～後壁の原発巣の摘出肉眼標本（a）と病理組織像（HE 染色）[b]．原発巣には線維化が認められ（a），癌はリンパ管内にごく少量残存するのみである（b 挿入図）．

図 4．甲状腺の摘出肉眼標本．ほぼ全体が癌に置換され，壊死性囊胞状変化を伴っている．

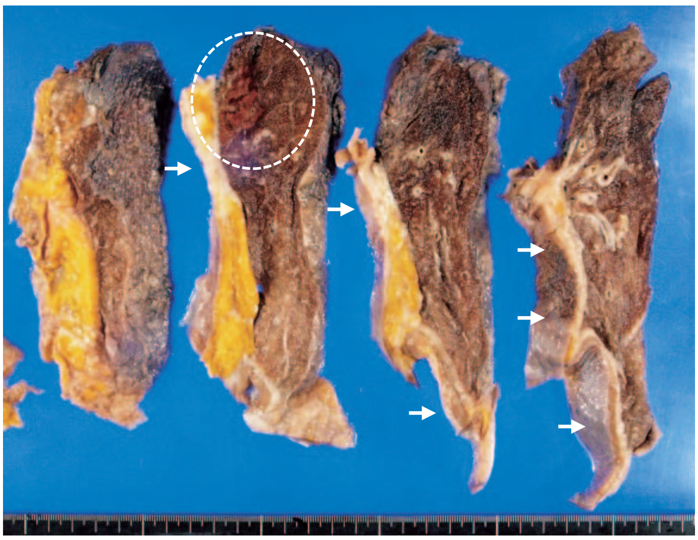


図 5．左肺および胸膜の摘出肉眼標本．臓側・壁側胸膜の肥厚・癒着がみられる（矢印）．肺尖部には出血を伴う転移巣がある（丸囲み）．

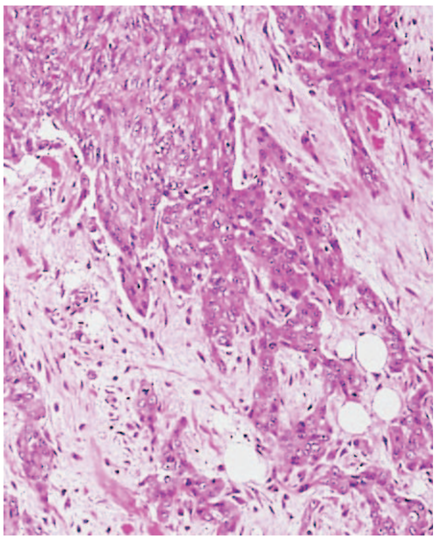


図 6．Viable な癌病理組織像（気管周囲）[HE 染色]．中～低分化扁平上皮癌．

症例 No.41　肝細胞癌治療後の多発再発巣が破裂し死亡した症例

剖検依頼科：肝胆膵外科

【概要】 HCV による肝硬変を背景に発生した肝細胞癌に対し，手術および化学療法を施行したが再発・転移をきたし死亡した症例である．肝細胞癌は肝内両葉にわたって再発腫瘤が多発し，右副腎に転移が認められた．肝外側区域に突出した最大腫瘤の破裂が疑われた．背景の肝組織は肝硬変の状態であった．回腸には穿孔を認め，血液培養により腸内細菌が検出されたことから，回腸穿孔による敗血症も存在していたと思われる．肝細胞癌の破裂を契機として発症した回腸穿孔による敗血症が直接死因と考えられた．

【症例】 69 歳，女性．

主　訴：腹痛，気分不快．

既往歴：15 歳時急性虫垂炎，58 歳，変形性膝関節症，65 歳，陳旧性脳梗塞．帝王切開 2 回，糖尿病．

生活歴：飲酒は機会飲酒，喫煙は 1 箱/週×30 年間．

【臨床経過】

2 年 8 ヵ月前：糖尿病により他院に通院中，C 型慢性肝炎を指摘され，当院を受診した．肝細胞癌と診断される（図 1）．

2 年 6 ヵ月前：肝 S4 区域切除術を施行した．

1 年 9 ヵ月前：肝内両葉にわたる多発再発に対し（図 2），肝動注化学療法を施行した．

7 ヵ月前：MRI で肝転移，腹壁転移，副腎転移を指摘される．

4 ヵ月前：右側腹部の腹壁転移巣に疼痛が認められ，手術にて切除した．その後も肝転移巣の増悪が認められていた．

入院時：腹痛，気分不快を主訴に当院を受診，意識障害，肝・腎機能障害，発熱が認められ，入院した．肝細胞癌破裂を疑われたが（図 3），全身状態不良のため保存的治療により経過観察した結果，症状はやや改善が認められた．

1 ヵ月後：再度意識障害，発熱を認め死亡した．

【検索希望事項】

肝細胞癌の状態，肝臓の状態，腹腔内出血の有無，急速に肝・腎不全を呈した原因．

【剖検診断】

1. 肝細胞癌多発再発破裂後（区域切除，化学療法後），肝硬変（HCV）．
2. 回腸穿孔（虚血性疑い），敗血症．
3. 両側融合性巣状肺炎．

【剖検所見】

A. 肝細胞癌多発再発破裂後（区域切除，化学療法後），肝硬変（HCV）

1. 肝細胞癌多発再発破裂後（区域切除，化学療法後）

a. 既往病理診断：肝 S4 亜区域切除標本（入院 2 年 6 ヵ月前）

Hepatocellular carcinoma（mod），S4/S8，6.0×5.5×6.0 cm，eg，fc（+），fc-inf（+），sf（+），s0，vp1，vv0，va0，b0，im（+），sm（-），LC（HCV）．

b. 剖検所見

1）肝内多発再発（肝 1,350 g）：両葉にわたり大小の境界明瞭な腫瘤が多数認められ（図 4），外側区域に 3 cm 大の突出した最大腫瘤がある．組織学的には低分化型肝細胞癌の所見である（図 5）．突出腫瘤部では腫瘍が露出し，出血とフィブリン析出が認められ，破裂後の状態である．

2）右副腎転移（右副腎 220 g）：右副腎は手拳大に腫大し，著明な壊死と出血を伴う肝細胞癌の転移の所見である．

3）血性腹水：腹腔内は既往手術により線維性に癒着していたため，腹水量は測定できなかったが，血性腹水が認められた．

2. 肝硬変とその関連所見

a. 肝硬変（HCV）：中型の再生結節が肝全体にびまん性に形成された状態である（図 6）．

b. 脾腫，脾梗塞（脾臓 305 g）：著明な重量増加と軟化がある．実質内に 1 cm 大の地図状の梗塞巣がある．

c. 下部食道粘膜下層にやや拡張した静脈が認められるが，活動性の出血病変ない．眼球結膜に黄疸がある．

B. 回腸穿孔（虚血性疑い），敗血症：Bauhin 弁から 20 cm の回腸に地図状潰瘍が形成され，組織学的には漿膜穿孔を呈する限局性化膿性腹膜炎の状態（図 7）である．腸粘膜の変化は比較的 segmental だったため虚血性変化が疑われたが，腸間膜の血管に明らかな血栓塞栓は認めなかった．血液培養により，*E.coli*，*K.pneumoniae*，*P.mirabilis* などが検出された．敗血症に関連する所見として脾炎がみられた．

C. 両側融合性巣状肺炎（左 765 g，右 815 g）：斑状の硬化巣が両肺に散在性に認められ，組織学的には肺胞性肺炎の所見である．一部に器質化がある．肺培養により *P.mirabilis*，*E.aerogenes*，α-*Streptococcus*，*S.aureus* を検出した．

【病理所見まとめ】

1. 肝細胞癌は肝内両葉にわたって再発腫瘤が多発し，右副腎に転移が認められた．肝外側区域に突出した最大腫瘤が破裂した可能性が高く，破裂が原因と思われる血性腹水も認められた．背景の肝組織は肝硬変の状態である．
2. また，回腸潰瘍穿孔による敗血症が急速な肝・腎不全に関与したと思われる．回腸穿孔の原因として虚血性変化が疑われたが，腸間膜の血管に明らかな血栓塞栓は指摘できなかったため，非閉塞性腸間膜虚血症（NOMI）がより考えられた．
3. 入院の契機となったのは肝細胞癌の破裂と思われる．それを背景として発症した回腸潰瘍穿孔による敗血症が，最終的な死因と考える．

臨床画像

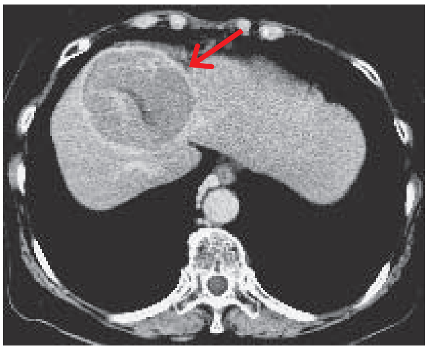


図 1. 入院 2 年 8 ヵ月前の腹部 CT. 肝 S4/8 に直径 7.5 cm の腫瘤を認める（矢印）.

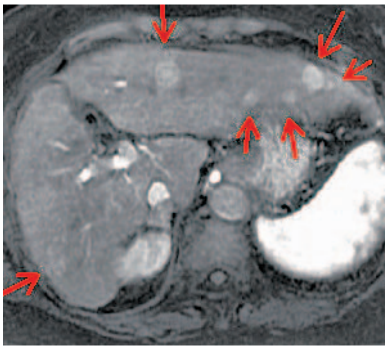


図 2. 入院 1 年 9 ヵ月前の腹部 MRI. 再発巣が多発している（矢印）.

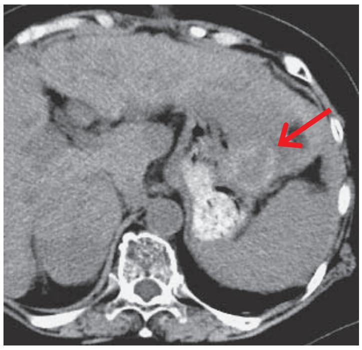


図 3. 入院時腹部 MRI. 外側区域背面の出血を呈した腫瘤（矢印）.

病理画像

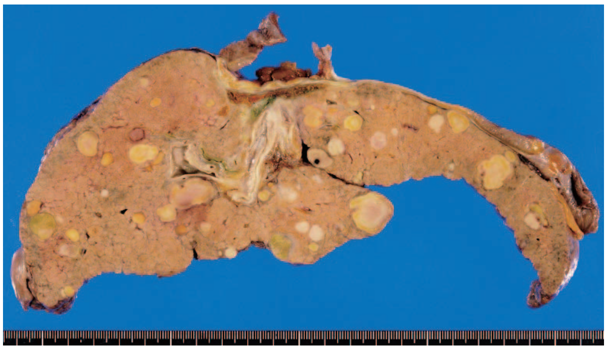


図 4. 摘出肉眼標本（剖検時の肝臓の割面）. 再発腫瘤が多発している.

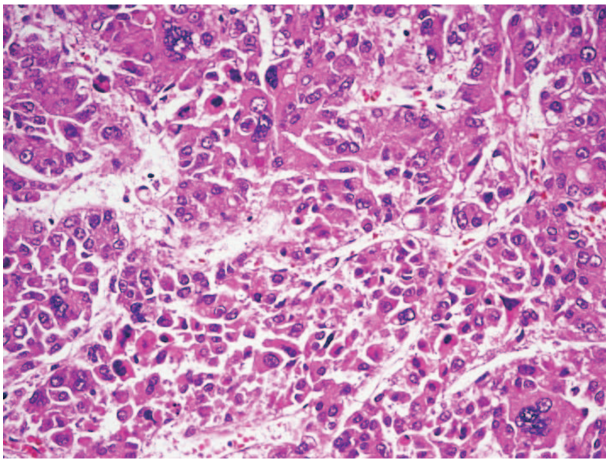


図 5. 肝細胞癌の病理組織像（HE 染色）. 低分化型肝細胞癌の所見である.

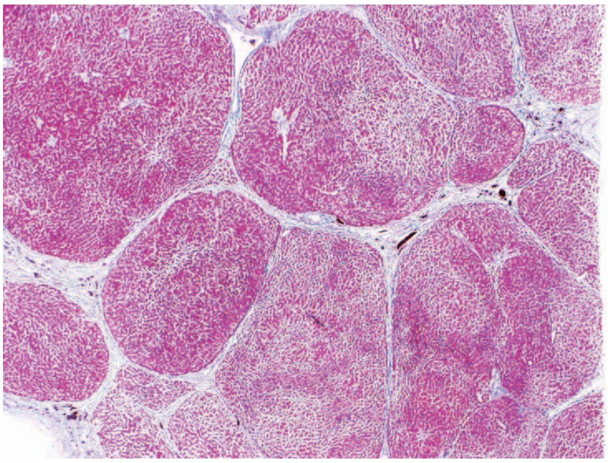


図 6. 非腫瘍部の肝臓の病理組織像（Masson 染色）. 肝硬変の状態である.

図 7. 摘出肉眼標本. 回腸穿孔部.

症例 No.42　悪性胸膜中皮腫の手術後1年で再発，Trousseau 症候群をきたし死亡した1例

剖検依頼科：呼吸器外科　　臨床担当医：熊澤紗智子

【概要】 咳，呼吸困難を契機として発見された悪性胸膜中皮腫である．左胸膜肺全摘術，化学療法施行後1年で右胸水貯留を発症し入院した．胸部 CT で右肺に多発の転移を認め，化学療法を行った．入院3週間後に左前腕の筋力低下を自覚し，頭部 MRI では多発脳梗塞，転移が疑われた．抗凝固療法に反応し，一時的に改善を認めたが，麻痺は進行し死亡した．剖検では悪性胸膜中皮腫の右肺転移と多発脳梗塞を認めた．脳転移はみられず，死因は Trousseau 症候群に伴う多発脳梗塞と考えられた．

【症例】 60歳代，男性．

主　訴：右胸水貯留．

既往歴：鎖骨骨折（高校生時）．

職業歴：溶接工（18～35歳，アスベスト曝露あり）．

【臨床経過】

1年前：当院呼吸器外科で左胸膜肺全摘術を行った（図1）．術後化学療法4コース（シスプラチン，アリムタ）を行う．

入院時：右胸水貯留（図2）．CT で右肺多発転移を認めた．

1週間後：化学療法（カルボプラチン，アリムタ）．

2週間後：左前腕筋力低下を自覚し，MRI で多発脳梗塞，転移が疑われた（図3）．ヘパリン，ラジカットで筋力低下の改善を認めた．

3週間後：左顔面麻痺　構音障害が出現した．

4週間後：死亡．

【検索希望事項】

悪性中皮腫の転移の程度，脳の病変について（梗塞か脳転移か），臨床的にみられた血小板減少の原因はなにか．

【剖検診断】

1. 左胸膜悪性中皮腫術後再発（右肺転移，リンパ節転移，術後放射線化学療法後）．
2. 血栓塞栓症による多臓器梗塞（脳，左室心筋，左腎）．
3. 静脈血栓症および出血性肺梗塞（右）．

【剖検所見】

A．左胸膜悪性中皮腫術後再発（右肺転移，リンパ節転移，術後放射線化学療法後）

1. 原発巣（既往検体）

左胸膜生検：epithelioid malignant mesothelioma.

左胸膜肺全摘：diffuse malignant mesothelioma（epithelioid mesothelioma）of the pleura，pT2N2.

2. 剖検所見

a．左肺胸膜全摘術後の状態：左胸腔は血性の胸水貯留を認める（1,100m*l*）．左胸腔は線維性に厚く肥厚している．悪性中皮腫の残存，再発は認めない．

b．右肺の多発転移巣（右肺 1,150 g；胸膜および横隔膜含む．図4，5）：右肺には2 cm 程度までの小結節を多数ふれる．組織学的には既往手術検体と同様の悪性中皮腫を認める．アスベスト小体は明らかではない．

c．リンパ節転移：右肺門，縦隔リンパ節に悪性中皮腫の転移を認める．

B．Trousseau 症候群による血栓塞栓症

1. 多発脳梗塞（1,300 g．図6，7）

割面では左右両側に灰白質，白質の軟化が多発しており，右側頭葉では出血がみられる．組織学的には比較的新しい脳梗塞の所見である．脳底動脈輪近傍の動脈内に一部器質化した血栓を認める．悪性中皮腫の転移は認めない．

2. 左腎梗塞（165/180 g）

左腎に 15 mm 程度までの楔状出血性病変が複数みられる．組織学的には腎梗塞であり，腎門部の太い動脈や弓状動脈レベルの動脈に血栓塞栓を認める．微小血栓は明らかではない．右腎には出血性病変はみられない．

3. 急性心筋梗塞（485 g．心外膜，横隔膜が付着した状態）

左室側壁にやや時間の経過した心筋壊死を認める．心臓に血栓は認めない．心膜は線維性に肥厚している．

4. 静脈血栓症および出血性肺梗塞

a．静脈血栓症：下大静脈（図8，9），左鎖骨下静脈，上矢状静脈洞に血栓形成を認める．血栓は一部器質化している．

b．右肺多発出血性梗塞：右肺に出血性梗塞と多数の血栓塞栓を認める．

【病理所見まとめ】

1. 悪性中皮腫の転移の程度

右肺，肺門リンパ節への転移がみられた．断端再発や他臓器への血行性転移は認めない．

2. 脳の病変について

大小さまざまの梗塞巣が認められる．マクロファージは目立たないものの，1～2週間程度の間に形成された病変と考えられる．病理学的に悪性中皮腫と多発脳梗塞が証明されていることから悪性中皮腫に伴う Trousseau 症候群（腫瘍に随伴する血栓塞栓症）として矛盾しない所見である（中皮腫に伴うものは非常にまれであるが，Matsui［2007］の報告がある）．

3. 臨床的にみられた血小板減少の原因：化学療法と Trousseau 症候群に伴う凝固線溶系の障害の関与が考えられる．

臨床画像

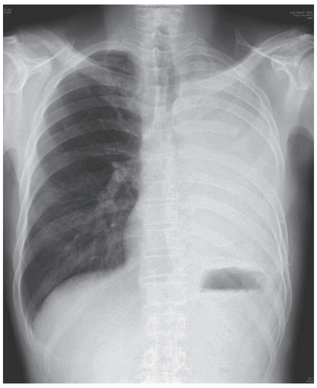


図 1．左胸膜肺全摘術後の胸部 X 線像

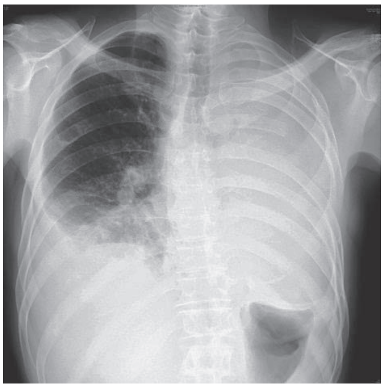


図 2．入院時の胸部 X 線像

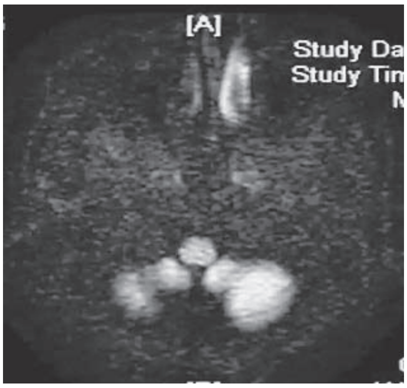


図 3．筋力低下がみられた際の頭部 MRI

病理画像

図 4．摘出肉眼標本（1）．悪性中皮腫の転移（白色結節：矢印）と出血性梗塞巣（矢頭）

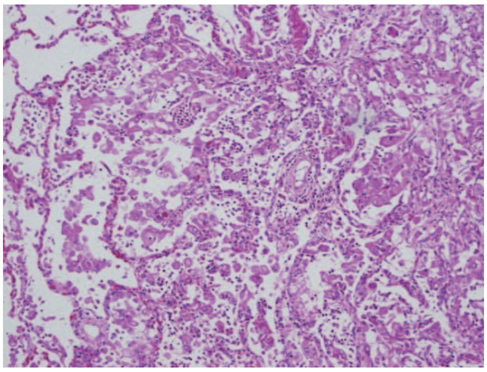


図 5．図 4 矢印の病理組織像（HE 染色）．悪性中皮腫の転移巣．

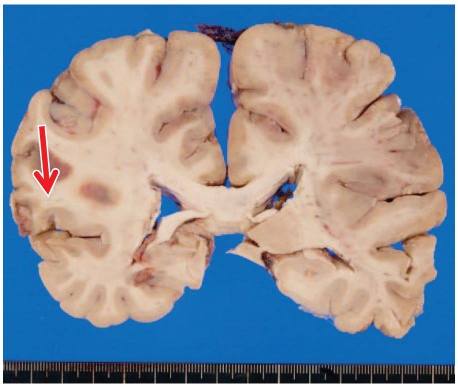


図 6．脳の摘出肉眼標本．出血と軟化（矢印）．

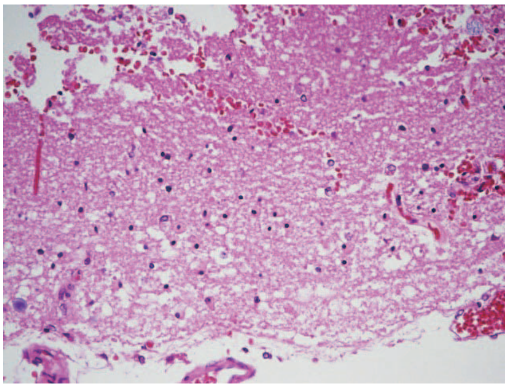


図 7．図 6 矢印の病理組織像（HE 染色）．比較的新しい脳梗塞を認める．

図 8．摘出肉眼標本（2）．鎖骨下静脈の血栓（矢印）．

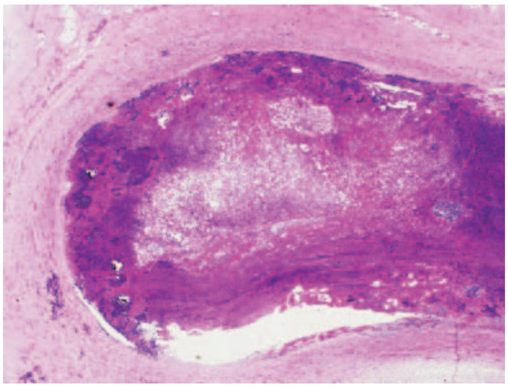


図 9．病理組織像（HE 染色）．一部器質化した血栓を認める．

症例 No.43　T 細胞性前リンパ球性白血病の全身浸潤により死亡した 1 例

剖検依頼科：血液内科

【概要】T 細胞性前リンパ球性白血病（T–PLL）は，治療抵抗性で緩徐進行性の予後不良な高齢者に好発する白血病である．本例では，死亡 11 年前から白血球増加を指摘されていた．死亡 2 年前には，血液中に異常リンパ球から T–PLL と診断され経過観察されていた．死亡 1 年 5 ヵ月前には白血球数が増加し各種化学療法を開始し，いったん症状は改善したが，腫瘍の再増殖をきたし，全身状態が悪化し死亡した．剖検では，T 細胞性の白血病細胞が骨髄，リンパ節，肝臓，脾臓をはじめ，全身臓器の大部分に及んでおり，腫瘍の広範な進展による死亡と考えられた．T–PLL は治療抵抗性で予後不良の疾患であるが，本例では治療により一時的であるが病状改善が得られた．病状改善時にはペントスタチンを投与しており，本例ではペントスタチン投与が一時的には有効であった．

【症例】87 歳，男性．

主　訴：腹部膨満．

家族歴；兄は食道癌，弟は胃癌．

既往歴：右腎癌，前立腺癌．

生活歴：喫煙歴はあるが，詳細不明．飲酒歴はなし．

【臨床経過】

入院 11 年前：白血球増加を指摘される．

入院 6 年前：右腎癌で右腎全摘出術を施行される．

入院 5 年前：前立腺癌を指摘され，化学療法が行われる．

入院 2 年前：血液中に異常リンパ球が出現し当院血液内科を初診した．CD3 陽性，CD4 陽性の異常リンパ球の増殖を認め T–PLL と診断し，経過観察とした．

入院 1 年 3 ヵ月前：白血球数が 6 万/μl に増加し（図 1），CHOP 療法などを行ったが効果は持続しなかった．

入院 6 ヵ月前：両側胸水貯留，全身皮疹が出現した．白血球数 80 万/μl に著増した．ペントスタチン投与により全身症状は一時改善した．

入院時：胸水，皮疹，腹部膨満が増悪し入院した（図 2）．ペントスタチン再投与や化学療法を行ったが効果はなく，全身状態は悪化した．呼吸状態も悪化し，オピオイドを使用し経過観察とした．

入院 2 ヵ月後：心拍数が低下し，約 30 分後に死亡した．

【検索希望事項】

T–PLL の浸潤範囲，皮疹および胸水の原因，腹部膨満感の原因．

【剖検診断】

三重癌

1. T 細胞性前リンパ球性白血病（化学療法後）．
2. 前立腺癌（化学療法後）．
3. 右腎細胞癌（右腎全摘後）．

【剖検所見】

三重癌

A．T 細胞性前リンパ球性白血病（化学療法後）

1. 骨髄穿刺吸引検体：T-cell prolymphocytic leukeima, compatible, bone marrow.
2. 剖検所見：骨髄は高度の過形成性骨髄の所見であり，びまん性に腫瘍細胞が認められる（図 3，4）．腫瘍細胞は小型異型リンパ球様細胞であり，核は形状不整でくびれをもつものも存在する．免疫染色で CD3 陽性，CD5 陽性，CD7 陽性，CD20 陰性，CD79a 陰性，CD34 陰性，Ki–67 標識率 40〜50% となる．T 細胞性前リンパ球性白血病として矛盾しない所見である．

　腫瘍細胞は，リンパ節（最大 45 mm 大，図 5），肝臓（1,390 g），脾臓（560 g）に多量に浸潤する．ほかに消化管（粘膜下層主体），真皮，心臓（255 g），肺（395/435 g），腎臓（120 g/全摘後），副腎，膵臓，顎下腺，甲状腺に腫瘍浸潤を認める．

　胸水（850/700 ml）は両側とも淡血性軽度混濁で，腹水（200 ml）は淡血性軽度混濁，心嚢水（少量）は黄色軽度混濁である．

B．前立腺癌（化学療法後）

1. 前立腺針生検検体：Adenocarcinoma of the prostate, needle biopsy. Gleason score 3+4=7.
2. 剖検所見：両葉後部辺縁域に独立腺管もしくは癒合腺管からなる腺癌の増殖を認める（図 6）．癌細胞には核の濃縮があり，変性が疑われる．

C．右腎細胞癌（右腎全摘後）

1. 既往検体：Renal　cell carcinoma（clear cell carcinoma），G2，of the right kidney.
2. 剖検所見：腎臓（120 g/全摘出後）は右後側腹部に 9 cm 長の手術痕がある．後腹膜や周囲結合織に硬結や癒着はなく，腎癌の再発はない．副腎，膀胱・尿管に癌の進展はない．

【病理所見まとめ】

1. T 細胞性前リンパ球性白血病は，骨髄，リンパ節，肝臓，脾臓のみならず，各種臓器の間質組織や，頸部，胸部，腹部の軟部組織などに浸潤し，広範に及んでいた．腫瘍細胞に変性を示唆する所見は指摘できない．皮疹や腹部膨満感についても，真皮や消化管・腹膜への腫瘍浸潤による変化と考えられる．
2. 前立腺癌は剖検時も残存しているが，前立腺に限局している．腎癌は術後再発は認められない．
3. 死因としては，多臓器への白血病細胞浸潤による死亡と考えられた．

臨床画像

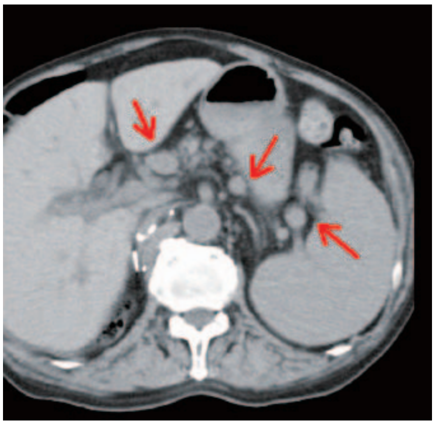


図 1．死亡 11 ヵ月前の腹部単純 CT．腹部に腫大したリンパ節（矢印）が多数認められる．

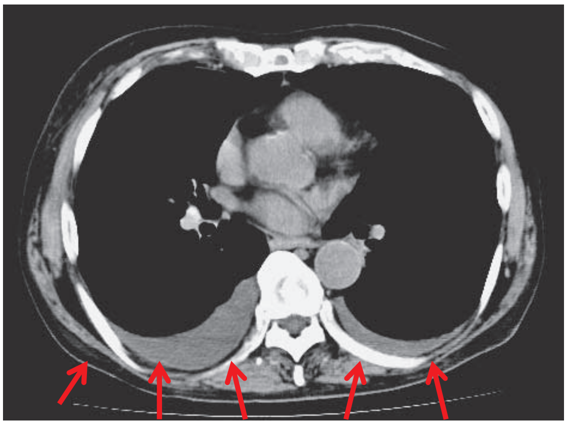


図 2．死亡 1 ヵ月前の胸部単純 CT．両側に胸水（矢印）が認められる．

病理画像

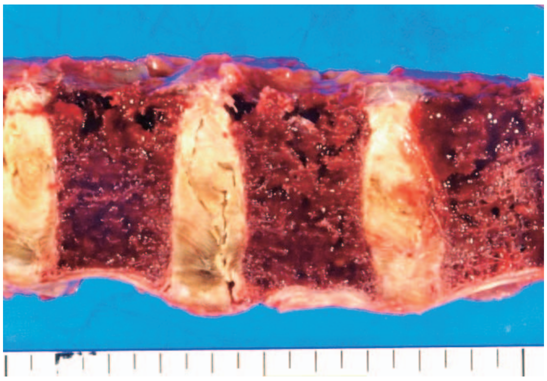


図 3．骨髄の摘出肉眼標本．赤色髄を呈する．

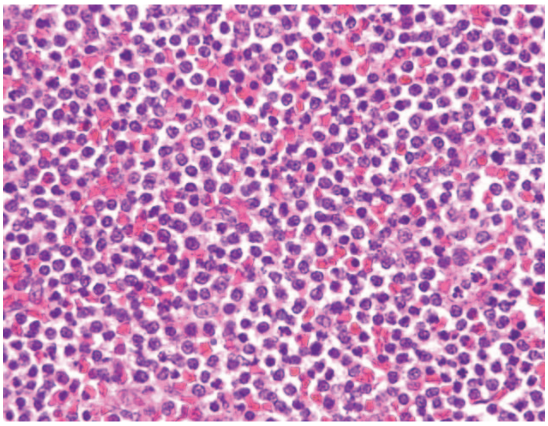


図 4．骨髄の病理組織像（HE 染色）．小型の異型リンパ球のびまん性増殖が認められる．

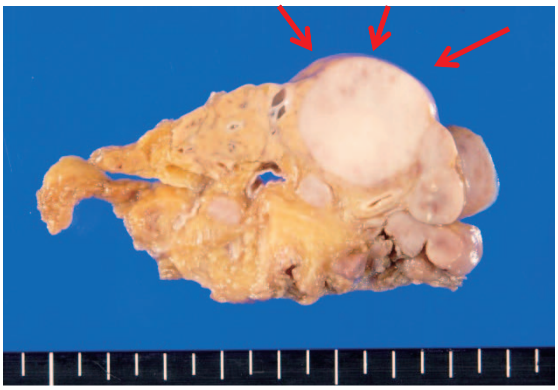


図 5．膵および周囲組織の摘出肉眼標本．長径 45 mm の腫大したリンパ節が認められる（矢印）．

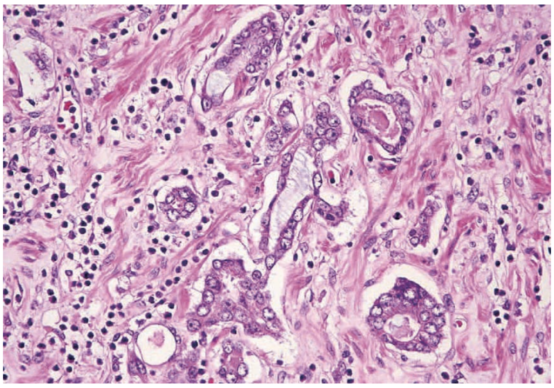


図 6．前立腺癌化学療法後の病理組織像（HE 染色）

症例 No.44　肝細胞癌の胆管内進展により総肝管閉塞をきたし，急性化膿性胆管炎から敗血症にいたり死亡した症例

剖検依頼科：肝胆膵外科

【概要】肝細胞癌術後，再発に対し肝動脈化学塞栓療法を繰り返していた症例で，腫瘍による総肝管閉塞から化膿性胆管炎をきたし，敗血症にいたり死亡した症例である．総肝管は完全には閉塞していなかったが，糖尿病に伴う易感染性の関与もあり，肝内胆管への感染が成立したものと考えられた．

【症例】70 歳代，男性．

主　訴：発熱，食思不振．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：60 年前に虫垂炎に対し手術，10 年前より糖尿病性網膜症，2 年前に増殖性網膜症，硝子体出血，白内障に対し手術した．

喫煙・飲酒歴：100 本/日×10 年間，ビール 3 本/日．

【臨床経過】

入院 5 年 2 ヵ月前：肝 S3 腫瘤を指摘され，肝硬変および肝細胞癌の診断となり当院を紹介され受診した．

入院 5 年 1 ヵ月前：肝外側区域切除術施行，以降，入院 3 年 5 ヵ月前，入院 1 年 11 ヵ月前，入院 1 年 4 ヵ月前，入院 1 年前，入院 3 ヵ月前の計 5 回，再発病変に対し肝動脈化学塞栓療法（TACE）を施行した．

入院 1 ヵ月前：1 週間ほどの期間で急速に黄疸が出現し，画像上，肝細胞癌の再発が疑われた（図 1，2）．

入院当日：発熱，食思不振により緊急入院となった．敗血症の診断で抗生物質による治療を行ったが改善しなかった．

入院後 7 日：死亡．

【検索希望事項】

直接死因，癌の進展，感染源，肝不全の急速進行の原因．

【剖検診断】

1. 多発肝細胞癌（胆管浸潤が著明），肝外側区域切除後再発，肝動脈化学塞栓療法後．
2. 急性化膿性胆管炎および肝膿瘍．
3. 敗血症．
4. 肝硬変，脾腫，食道静脈瘤（内視鏡的静脈瘤結紮術後）[門脈圧亢進症]．
5. 糖尿病性腎症．

【剖検所見】

A. 多発性肝細胞癌，肝外側区域切除後再発，肝動脈化学塞栓療法後

1. 左葉の一部に手術瘢痕があり，同部位を中心に 8×3 cm の黄色腫瘤がみられる．腫瘍は胆管内を進展し，総肝管内腔を充満するにいたる（図 3）．組織学的には中分化肝細胞癌で（図 4），既往の外側区域切除材料にみられた肝細胞癌に類似する．
2. その他，内側区域，全区域にまたがる 5×5 cm の低分化肝細胞癌があり（図 3，4），また，TACE により変性・壊死に陥ったと思われる 1 cm 大の腫瘤が後区域に 2 個，前区域に 1 個確認される（図 3）．
3. 肺血管内に 0.5 mm 大の微小な転移巣がある．

B. 急性化膿性胆管炎および肝膿瘍

肝内胆管全体にわたり種々の程度の急性化膿性炎症を認める．S8 には 3.5 cm 大および 1.0 cm 大の膿瘍形成がある（図 5）．これらの病変には Gram 陰性桿菌が確認される（図 6）．なお，肝内胆管の拡張は目立たない．

C. 敗血症

1. 生前の血液培養で *E.coli* が検出されている．
2. 剖検では，脾炎，骨髄反応性過形成，リンパ節腫大，血球貪食像などの敗血症関連所見が確認される．

D. 肝硬変および門脈圧亢進症に関連する所見

1. 肝には強い線維化がみられ，完成した肝硬変の状態である．
2. 門脈圧亢進症関連の所見としては，脾腫（380 g），腹水貯留（黄色混濁，1,800m*l*），食道静脈瘤が確認される．下部食道には内視鏡的静脈瘤結紮術の結紮痕と思われる小潰瘍が散見される．

E. 糖尿病性腎症

腎（240/200 g）に Kimmelstiel-Wilson 結節が散見され，メサンギウム細胞の増加，細動脈の硝子様が軽度みられ，糖尿病性腎症の所見である．そのほか，糖尿病関連所見として，大動脈の中等度粥状硬化，脾臓の細動脈硬化が確認される．膵臓は変化に乏しい．

【病理所見まとめ】

1. 肝細胞癌の再発巣として viable なものが 2 個所に確認された．手術瘢痕部に一致する左葉の癌は総肝管を充満しており，肝内胆管に胆汁うっ滞があったものと考えるが，胆管の拡張は目立たず，総肝管の完全閉塞にはいたっていなかったものと推察される．肝内胆管の急性化膿性胆管炎および肝膿瘍が観察されたが，その形成には，肝内胆管の胆汁うっ滞に加え，糖尿病に伴う易感染性が関与している可能性がある．
2. また，複数臓器に敗血症関連所見がみられ，直接死因は急性化膿性胆管炎を感染のフォーカスとした敗血症と考えられる．

臨床画像

図 1．造影 CT 動脈相．腫瘍に造影効果がある（矢印）．

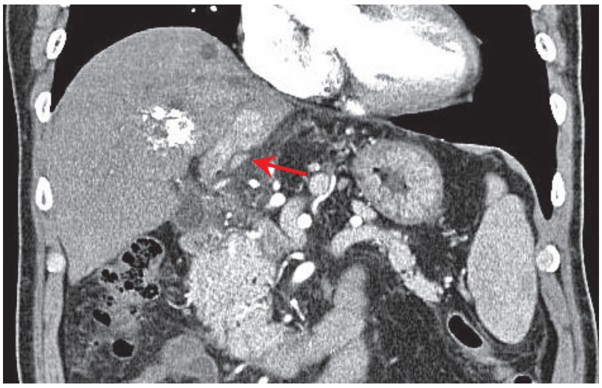


図 2．造影 CT 動脈相（冠状断像）．胆管へ連続する造影効果のある腫瘍を認める．

病理画像

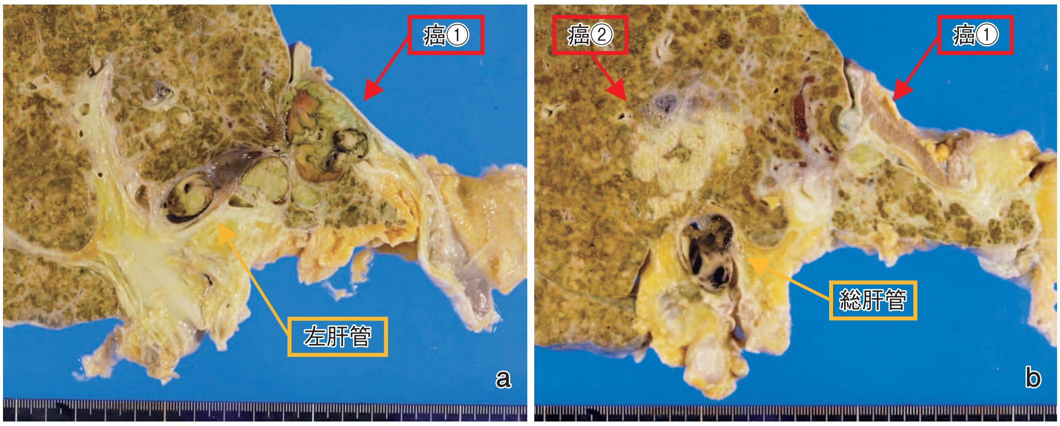


図 3．摘出肉眼標本．連続する肝の割面（a，b）．癌①，②は viable な肝細胞癌であり，癌①は胆管内を進展し（a），総肝管閉塞にいたっている（b）．

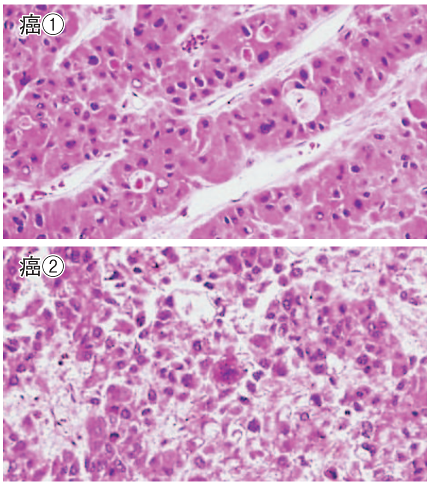


図 4．癌の病理組織像（HE 染色）．癌①：中分化肝細胞癌．癌②：低分化肝細胞癌．

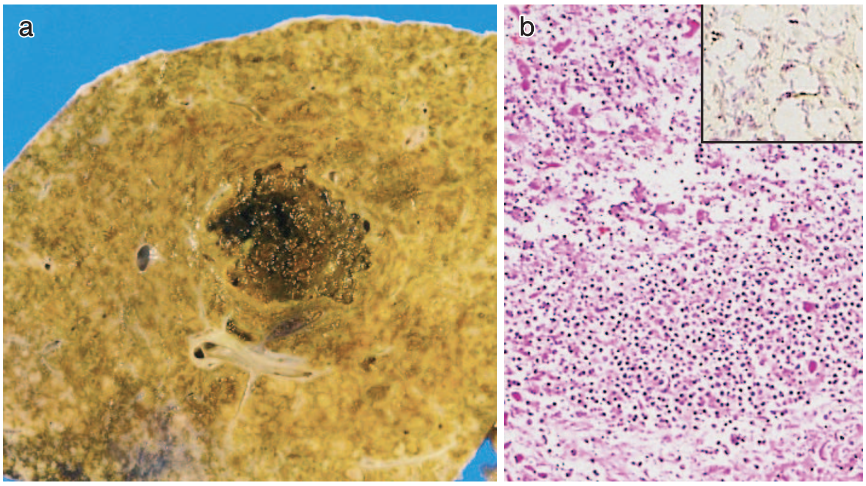


図 5．S8 の肝膿瘍の摘出肉眼標本（a）および病理組織像（HE 染色）［b］．肉眼的に背景の肝は黄疸を伴う肝硬変の像である．膿瘍組織の Gram 染色では Gram 陰性桿菌がみられる（b 挿入図）．

症例 No.45　肝癌術後，広範な門脈血栓症および，切離面出血コントロールのための動脈塞栓術により肝不全をきたし死亡した 1 剖検例

剖検依頼科：肝胆膵外科

【概要】肝細胞癌術後，切離面膿瘍の治療中に広範な門脈血栓症および切離面出血をきたした．門脈血栓症は治療したが再疎通は得られなかった．また，切離面出血コントロールのために TAE を施行したところ，前区域の肝梗塞をきたした．門脈血栓症と肝梗塞の両者により肝不全の状態となり死亡した．

【症例】75 歳代，女性．

主　訴：肝腫瘍を指摘された．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：40 年前に子宮外妊娠（輸血歴不詳）．

生活歴：喫煙歴なし，飲酒歴なし，鍼治療歴あり．

【臨床経過】

入院 21 年前：肝酵素の上昇があり．入院 16 年前に精査により C 型肝炎と診断される．入院 7 年前から当院でフォローしていた．

入院 1 ヵ月前：肝 S7，S3 に腫瘤を指摘され（図 1，2），手術の方針となり当院外科を紹介され受診した．また，食道静脈瘤に対し EIS を施行した．

入院 3 日後：肝後区域切除，肝 S3 部分切除，胆嚢切除術を施行した．

入院 13 日後：急速な腹水の貯留があり，精査により門脈前後区域分岐部に血栓を指摘され，入院後 15 日，ヘパリン化を開始した．

入院 16 日後：血栓が門脈本幹に達したため（図 3），門脈血栓融解，吸引術を施行するが，門脈血流は改善しなかった．

入院 38 日後：肝臓 S3，S7 の切離面に膿瘍形成あり，ドレナージを開始した．その後，入院 42 日後，S7 切離面から出血があった．

入院 54 日後：肝臓 S7 切離面から再度出血があり，TAE を施行した．

入院 63 日後：徐々に呼吸状態が悪化し，死亡した．

【検索希望事項】

門脈血栓の原因，範囲，血流動態，出血源，膿瘍の範囲．

【剖検診断】

1. 肝細胞癌（肝部分切除，TAE 後），肝切離面膿瘍および出血．
2. 門脈血栓症（術後），肝梗塞．
3. C 型肝硬変，脾腫，食道静脈瘤（EIS 治療後），直腸静脈瘤［門脈圧亢進症］．

【剖検所見】

A．肝細胞癌（肝部分切除，TAE 後），肝切離面膿瘍および出血

1. 既往標本．S7：中分化肝細胞癌．eg，fc（+），fc-inf（+），sf（+），s0，SM（−，margin 0.05cm），vp1，vv0，va0，b0，im0，p0，LC，S3：高分化肝細胞癌．ig，fc（−），fc-inf（−），sf（−），s0，SM（+），vp0，vv0，va0，b0，im0，p0，LC．
2. 剖検時所見：肝臓 S3 切離面に膿瘍形成があり，また後区域切離面に広範な血腫の付着があった（図 4）．いずれの箇所にも Gram 陽性の菌塊付着がみられた（図 5）．腫瘍の残存や遠隔転移は認めない．

B．門脈血栓症（術後），肝梗塞

1. 門脈血栓：肝内門脈は三次分枝まで閉塞している（図 6，8）．また肝外では，門脈本幹から上腸間膜静脈にいたるまで血栓がある．
2. 肝梗塞：前区域に一致した肝細胞の出血性凝固壊死がある（図 6，7）．肝動脈前区域枝近傍にコイル塞栓があり，医原性の梗塞と思われた．

C．C 型肝硬変，脾腫，食道静脈瘤（EIS 治療後），直腸静脈瘤［門脈圧亢進症］

肝臓は完成した肝硬変の像を呈する．脾腫は 295 g と著明に重量を増し，組織学的にはうっ血所見がみられた．また，食道および直腸に静脈瘤がある．食道の静脈には器質化血栓による閉塞したものが散見され，EIS 後の変化と思われた．

【病理所見まとめ】

肝細胞癌の術後再発および転移はない．術後切離面に膿瘍および血腫の形成がみられた．門脈血栓は肝内門脈および門脈本幹，さらに上腸間膜静脈内へと非常に広範に広がっている．こうした広範な門脈血栓症は非常にまれで，成因ははっきりしない．肝臓への門脈血流は途絶していたものと思われ，死亡 1 ヵ月前の急速な腹水貯留の原因であったと思われる．死亡直前にも急速な肝不全をきたしているが，これは，門脈血流が途絶し，肝動脈や側副血行路で代償されている状態下で，TAE によって医原性に肝梗塞をきたしたことが原因と考える．

臨床画像

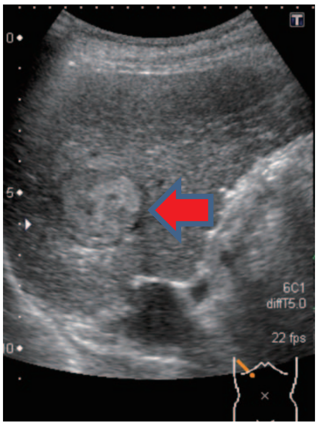


図 1．腹部エコー．後区域に高エコー腫瘤がある（矢印）

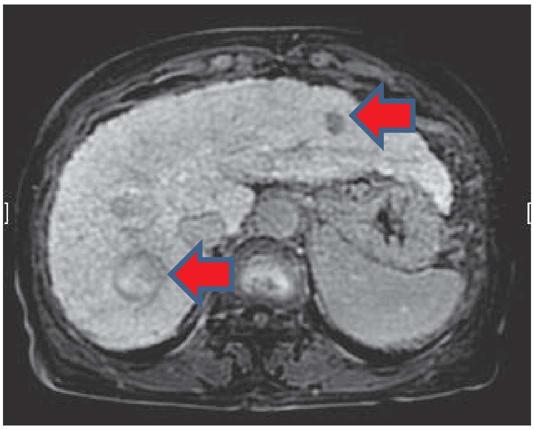


図 2．EOB-MRI 肝細胞相．外側区域，S3 に取り込みの低下する結節がある（矢印）．

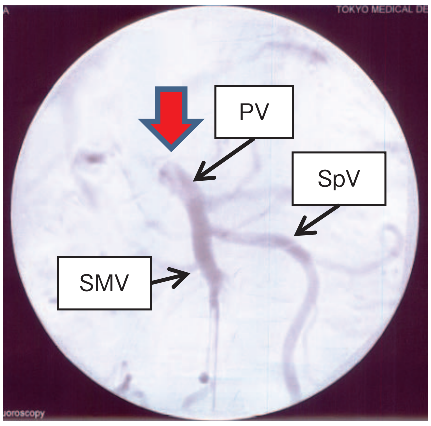


図 3．門脈造影像．門脈本幹が閉塞している（矢印）．

病理画像

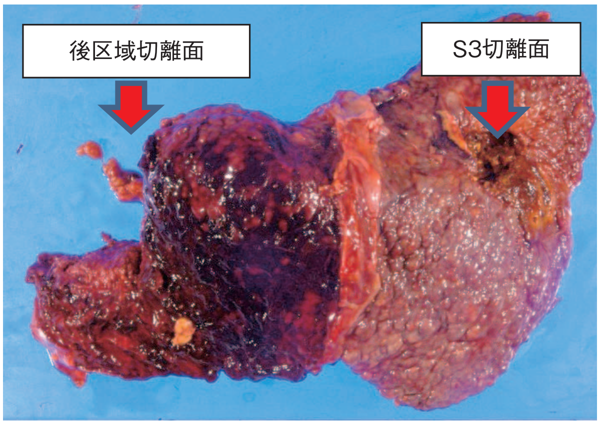


図 4．摘出肉眼標本（1）．肝臓全体像．後区域切離面出血および S3 切離面膿瘍．

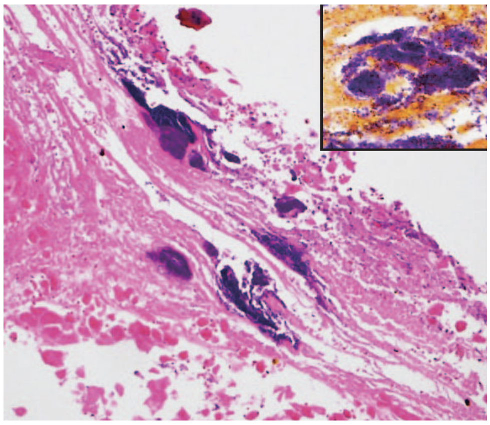


図 5．S3 膿瘍部の病理組織像（HE 染色）．壊死物質とともに菌塊の付着がある（右挿入図は Gram 染色）

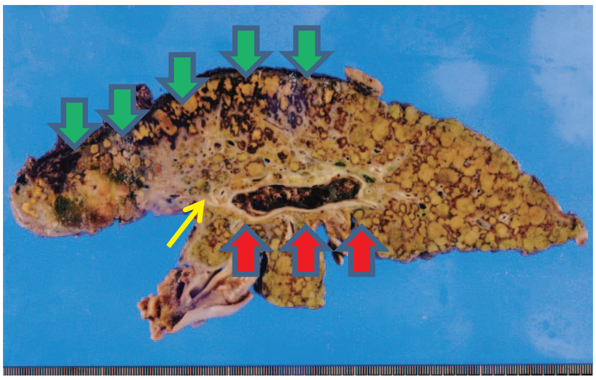


図 6．摘出肉眼標本（2）．肝臓の代表的割面．門脈本幹に充満する血栓（赤矢印），後区域の出血壊死（緑矢印），コイル塞栓がみられた部位付近（黄矢印）．

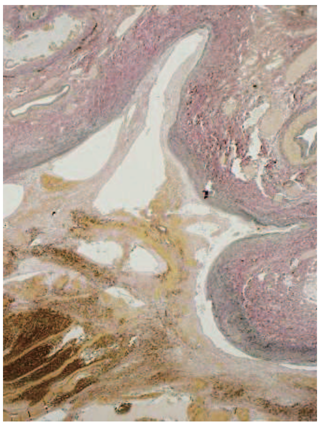


図 7．病理組織像（1）［EVG 染色］．門脈内血栓．

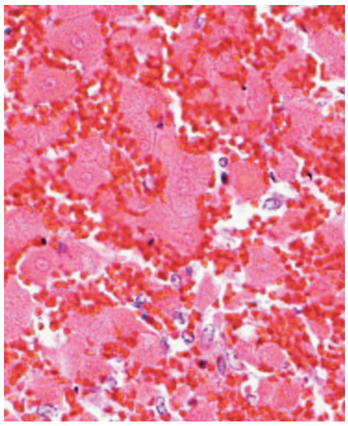


図 8．病理組織像（2）［HE 染色］．前区域肝細胞の出血性凝固壊死．

症例 No.46　長年にわたる血液透析歴を背景に心不全と胸痛を認めた１例

剖検依頼科：消化器内科

【概要】長年にわたる糖尿病歴と血液透析歴を背景に，大腸内視鏡的ポリープ切除直後に，心不全，肺うっ血をきたし，背部痛を訴えて急変した 70 歳代・男性例．全身の動脈硬化が高度であり，とくに心臓では 3 枝に高度狭窄があり，慢性虚血性変化に加えて，心内膜下を主体に急性の心筋変性がみられ，虚血性変化の急性進展が死因と考えられた．糖尿病と潜在性に進行した心筋虚血により，痛みの部位，性状は非典型的であったと思われるが，長年にわたる通院歴がありながらも，心筋病変を指摘，治療されずに経過した教育的症例である．

【症例】70 歳代，男性．

主　訴：特記すべきことはない．

既往歴：右股関節骨折（20 歳代），前立腺癌，糖尿病，慢性腎機能障害（66 歳から透析導入），閉塞性動脈硬化症（68 歳時より両下肢 4 回のバイパス手術），右足足趾壊疽・切断（69 歳）．

生活暦：喫煙は 100 本以上/日（20 歳から 43 年間，以降 10 年間禁煙），飲酒はビール 350m*l* 4〜5 本/日（20 歳から），アレルギー歴はなし，輸血歴はあり．常用薬：ワーファリン，プレタール，アンプラーグ，アダラート，ミカルディス，ザイロリック，パリエット，アルファロール，ユベラ，ドプス，プルゼニド，アローゼン，ハルシオン，フォスブロック．

【臨床経過】

死亡 3 ヵ月前：近医で行った下部消化管内視鏡でポリープを指摘され，当院消化器内科を受診した．

死亡 10 日前：入院し抗凝固薬，抗血小板薬を中止し，ヘパリン投与．

死亡 3 日前：S 状結腸に約 20 mm の Ip 病変がありポリペクトミーを施行した．問題なく終了したが，心房細動に伴う呼吸困難があった．

死亡前日：夕方に背部痛，呼吸苦の訴えがあった．表情苦悶様，冷汗著明．心筋梗塞は否定的であり，鎮痛薬で落ち着く．

死亡当日：朝に再び背部痛・呼吸苦の訴えがあった．その後，意識レベルは低下し，呼吸が停止した．蘇生処置を行ったが死亡した．

【検索希望事項】

死因，急性冠症候群・大動脈解離の有無，肺塞栓の有無，ポリープ切除による消化管穿孔の有無，胆嚢炎の有無．

【剖検診断】

1. 慢性虚血性心，内膜下急性心筋梗塞，左室肥大，高度僧帽弁輪石灰化症，2. 前立腺癌，ホルモン治療後，3. 大腸癌，ポリペクトミー後，4. 高度動脈硬化，閉塞性動脈硬化症の血管バイパス術後，5. 糖尿病性腎症による終末期腎，6. 高度肝線維症，7. 透析アミロイドーシス．

【剖検所見】

1. 慢性虚血性心，内膜下急性心筋梗塞，左室肥大，高度僧帽弁輪石灰化症
   心臓前壁を中心に，発症後 12〜24 時間程度と考えられる急性心筋梗塞様の所見と，全周性に心内膜側の心筋変性がある（図 1, 2）．冠動脈は 3 枝病変がある（図 3．右冠動脈 99%，左前下行枝 99%，左回旋枝 90% の狭窄がある）．大動脈弁，僧帽弁の動脈硬化性変化が目立つ．
2. 前立腺癌，ホルモン治療後
   既往検体は参照できなかった．左葉に 10 mm 長の viable cancer cell がある．組織学的治療効果は grade 0b 相当である．
3. 大腸癌，ポリペクトミー後
   既往ポリペクトミー検体では，高分化管状腺癌，深達度 M である．盲腸では瘢痕があるが，明らかな腫瘍の残存はない（図 4）．
4. 高度動脈硬化，閉塞性動脈硬化症の血管バイパス術後．
5. 糖尿病性腎症による終末期腎．
6. 肝線維症（図 5）：大小脂肪滴の沈着 20% 程度で門脈域間，門脈小葉中心間の架橋線維化がある．
7. 透析アミロイドーシス：椎間板，心筋，腎糸球体に，β_2-microglobulin（+）の軽度のアミロイド沈着がある．透析アミロイドーシスの初期変化と推測される．
8. 慢性胆嚢炎：Rokitansky-Ashoff sinus と全層性の線維化がある．炎症細胞浸潤は目立たない．

【病理所見まとめ】

1. 心臓前壁を中心に，発症後 12〜24 時間程度と考えられる急性心筋梗塞の所見があり，心内膜側の心筋変性が心室壁全周性に目立つ．冠動脈には明らかな血栓性閉塞を認めないが，高度の 3 枝狭窄がある．高度 3 枝病変下に血圧が低下すると，全周性の心筋変性をきたすことが知られている（Robbins and Cotran：Pathologic Basis of Disease，8th Ed.　p551）．大動脈解離，肺血栓塞栓症の所見はない．
2. 終末期腎，動脈硬化は糖尿病に伴う変化としても矛盾しない．高度線維化肝はアルコール性としても矛盾はしない．
3. ポリープ切除に伴う大腸穿孔の所見はなく，大腸癌の残存もない．前立腺癌もホルモン治療後で残存はあるが，原発部に限局していた．
4. 胆嚢は線維化の強い状態であるが，明らかな急性炎症所見はない．

病理画像

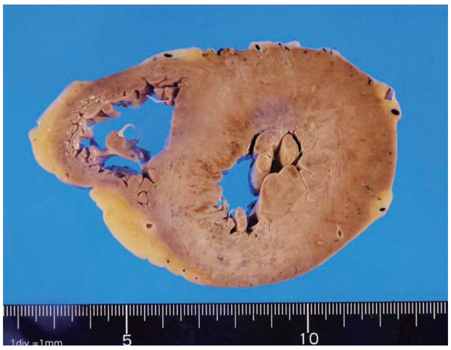


図 1. 摘出肉眼標本（1）. 心臓割面像（固定後）. 左室壁全周性に心内膜下を主体に白色病変がある.

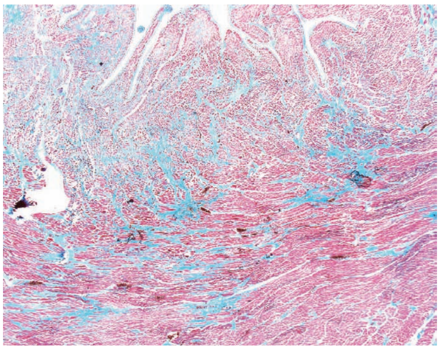


図 2. 心筋の病理組織像. 弱拡大像（Masson-trichrom 染色）. 心筋束間の線維化（青色部）が心内膜側で目立つ.

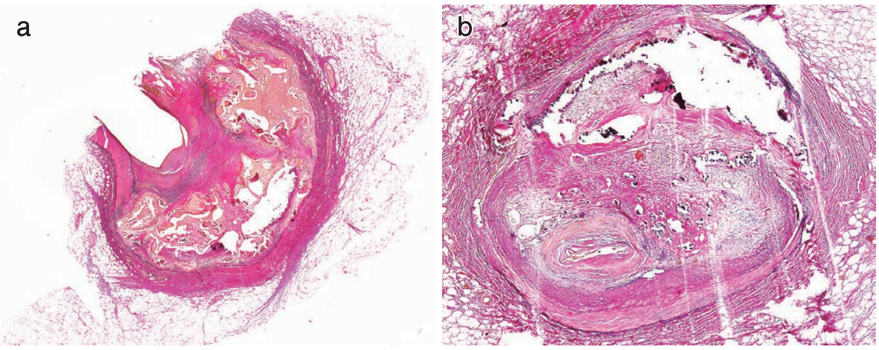


図 3. 冠動脈の病理組織像（EVG 染色）. a. 左前下行枝, b. 右冠動脈.
両者ともに石灰化を伴う動脈硬化による高度狭窄がある.

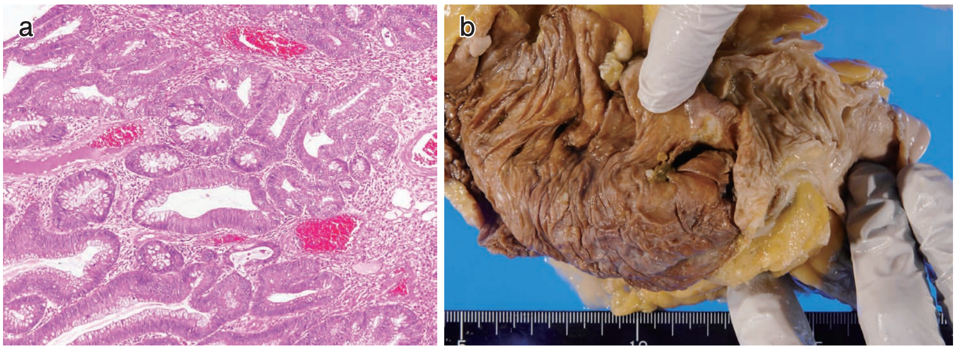


図 4. 大腸ポリペクトミー検体の病理組織像（a）［HE 染色］, 同部の摘出肉眼標本（b）. 高分化腺癌の所見である. 切除部では穿孔はなく, 癌の遺残はない.

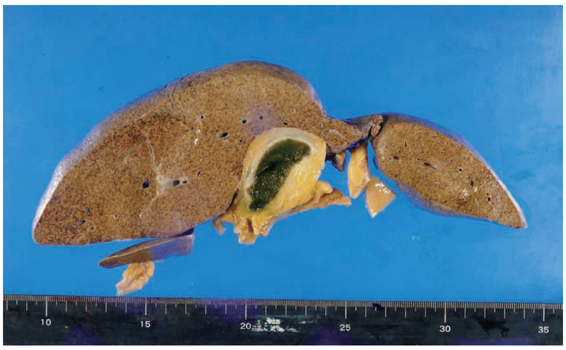


図 5. 摘出肉眼標本（2）. 肝臓に癒着する胆嚢. 胆嚢には線維化による壁肥厚がある. 急性炎症は明らかでない.

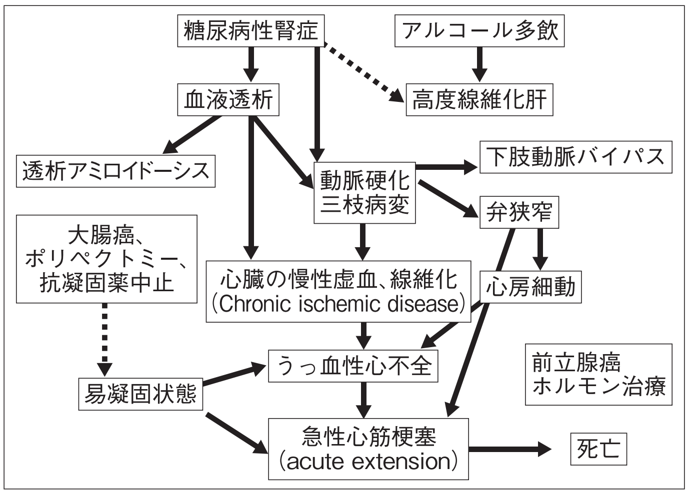


図 6. 本例のまとめ

症例 No.47　治療中に急死したIgM 型多発性骨髄腫の 1 剖検例

剖検依頼科：血液内科　　臨床担当医：秋山めぐみ，渡辺大介

【概要】胸部痛をきっかけに M 蛋白（“monoclonal” protein）がみつかり，多発性骨髄腫と診断され治療を開始したが，治療開始約 1 週間後に急速な循環不全を起こし死亡にいたった症例である．急変する直前まで全身状態は安定しており，また急変後は蘇生にほとんど反応しないという急激な経過をたどった．剖検時，骨髄腫細胞は椎骨をはじめ全身の骨に広がっており，治療効果が十分にみられる前の段階であったと考えられる．急死の原因は，心臓マッサージによる骨折の影響が考えられ確定はむずかしいが，骨髄腫細胞の浸潤による肋骨骨折で肋間動脈が損傷し，ショックを起こしたためと推測される．IgM 型を呈する多発性骨髄腫はまれであり，原発性マクログロブリン血症との鑑別を要したが，病理学的にも多発性骨髄腫を支持する所見であった．

【症　例】54 歳，女性．

主　訴：胸部痛．

家族歴：母は脳梗塞．

既往歴：6 歳時腎臓病（詳細不明），48 歳時子宮筋腫（子宮全摘）．

生活歴：喫煙歴なし，機会飲酒．

【臨床経過】

2 年前：検診で高尿酸血症，M 蛋白を指摘されたが，それ以上の検索はされなかった．

3ヵ月前：肋骨に沿った全周性の胸部痛が出現した．

2 週間前：他院で高カルシウム血症，高尿酸血症，M 蛋白，尿中 Bence-Jones 蛋白を指摘される．

入院時：当院血液内科を受診し，IgM 型多発性骨髄腫と診断される．全身の骨に溶骨性病変や骨折像がみられた（図 1，2）．

1 日後：過粘稠度症候群を認めたため，血漿交換療法を行う．

4 日後：化学療法（VCD 療法）を開始，その後全身状態は安定して経過していた．

11 日後：VCD 療法 8 日目早朝，大量の排便の後，呼吸困難，血圧低下，意識レベル低下が急速に進行し，ただちに蘇生術を行うが反応せず，死亡した．

【検索希望事項】

急速に循環動態が保てなくなった原因，多発性骨髄腫の病勢について．

【剖検診断】

1. 多発性骨髄腫．
2. 化学療法中．

【剖検所見】

A. 多発性骨髄腫，化学療法中

1. 椎骨，胸骨，大腿骨は脆く，割面で小豆大までの白色結節が多数みられる（図 3）．組織学的には異型形質細胞様細胞の密な増殖がみられ，赤芽球系・骨髄球系，巨核球は減少していた（図 4）．免疫組織化学的に，形質細胞マーカーおよび IgM が陽性であった．
2. 諸臓器への顕微鏡的なアミロイド沈着．肉眼的には著変はないものの，心内膜や肝臓，腎臓，肺の血管などに顕微鏡的な沈着がみられた（図 5）．

B. そのほか

1. 出血傾向
   a. 両肺門部から連続する気管支血管束や臓側胸膜などへの出血．
   b. 左血性胸水 1,950 m*l*（右は淡血性 200 m*l*）．
   c. 甲状腺から両肺門，心基部にいたる縦隔血腫（図 6）．
2. 多発肋骨骨折

【病理所見まとめ】

1. IgM 型の多発性骨髄腫はまれであり，原発性マクログロブリン血症との鑑別が問題となるが，本例では増殖する細胞が形質細胞様であり，リンパ球様の細胞を含まないこと，病変が骨髄にありリンパ節にみられなかったこと，溶骨性病変の存在などから多発性骨髄腫であったと考えられる．
2. 急死の原因については，心臓マッサージの影響があり確定はむずかしいが，骨髄腫細胞の肋骨浸潤，肋骨骨折により肋間動脈が損傷し，左胸腔内に出血して循環血液量減少性ショックをきたした可能性が考えられる．
3. 腫瘍細胞は椎骨ほぼ全体と，サンプリングした大腿骨，胸骨など骨髄に広く増殖している状態で，明らかな変性や壊死はなく，治療効果が十分に現れる前の段階であったと考えられる．

臨床画像

図 1．入院時頭部 X 線像．Punched out lesion がみられる．

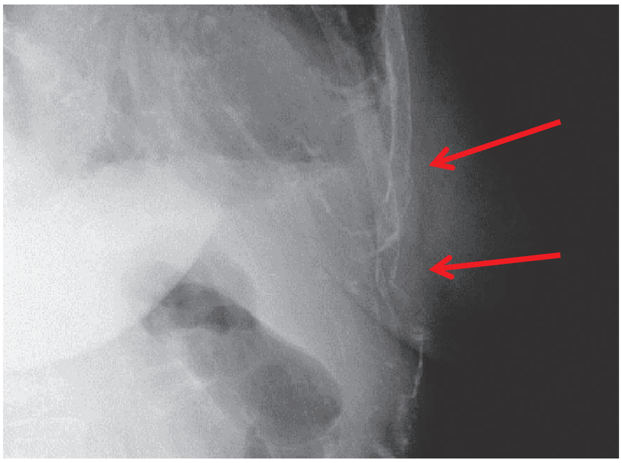


図 2．入院時胸部 X 線像．肋骨に多発骨折を認める（矢印）．

病理画像

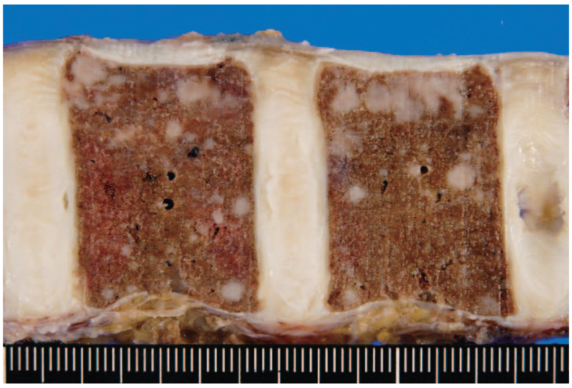


図 3．腰椎の摘出肉眼標本．白色調，結節状を呈する骨髄腫細胞の集塊が多数みられる．

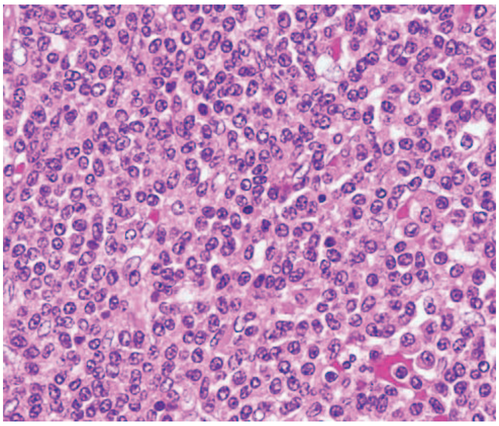


図 4．椎骨骨髄の病理組織像（HE 染色）．異型形質細胞様の骨髄腫細胞．

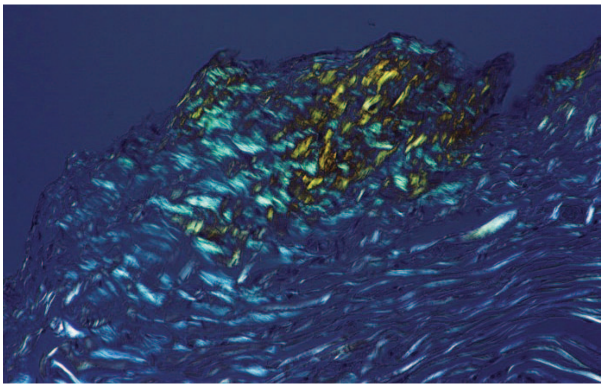


図 5．肝門脈枝壁の偏光顕微鏡像（コンゴーレッド染色）．Apple green を呈するアミロイド沈着がみられる．

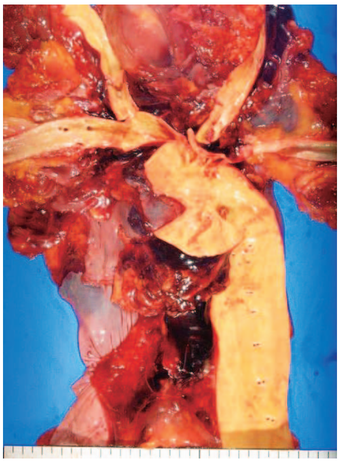


図 6．摘出肉眼標本（縦隔血腫）．黒色調の血腫が大動脈弓の後ろにみられる．

症例 No.48　原発性アミロイドーシスによる心不全で死亡した 1 例

剖検依頼科：循環器内科

【概要】下腿浮腫，労作時息切れの心不全症状で発症し，心エコーおよび皮膚生検で全身性アミロイドーシス，心アミロイドーシスと診断されていた症例である．解剖時，心臓は重量を増し，左心室の求心性肥大が顕著であった．組織学的には，心臓および全身臓器の間質に広くアミロイドの沈着がみられた．原発性アミロイドーシスにおいて，心臓は臨床症状を呈する頻度が高く，患者の死因は心不全に関連することが多いとされている．

【症例】85 歳，女性．

主　訴：下腿浮腫，労作時息切れ．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：18 歳時広島で被曝，36 歳時肺結核，50 歳頃くも膜下出血（手術なし），肝炎（non-A，non-B），63～64 歳時大腿骨頸部骨折（計 4 回），大腿部に γ-nail 挿入，77 歳時交通事故で全身打撲・左三叉神経麻痺，78 歳時下肢 DVT（右ひらめ静脈）．

生活歴：特記すべきことはない．

【臨床経過】

16 年前より：高血圧症で当院老年病内科に通院していた．

1 年前頃より：下腿浮腫が出現し，心不全を指摘される．

5 ヵ月前：うっ血性心不全で入院，利尿薬投与で改善し，退院した．

2 ヵ月前：心不全で再入院，心臓 MRI および皮膚生検を施行し，心アミロイドーシスと診断される．

1 ヵ月前：うっ血性心不全の増悪で再入院，症状は軽快したため転院した．

入院時：呼吸状態が悪化，下痢が出現し当院へ搬送され，入院した．偽膜性腸炎の診断で補液などの治療後，下痢は改善した．心不全に対し利尿薬，ドパミン投与による治療も行われていた．（図 1）

20 日後：心不全症状が増悪し，死亡した．

【検索希望事項】

アミロイドーシスの病型，アミロイド沈着の範囲．

【剖検診断】

1. 原発性 AL アミロイドーシス．
2. 血栓塞栓症．

【剖検所見】

A．原発性 AL アミロイドーシス

1. 心アミロイドーシス：心重量は 480 g と増加し，全体的に硬度を増していた．左心室は求心性肥大が顕著で，右心室にも軽度肥大がみられた．両心房は拡張，壁肥厚を伴っていた（図 2）．割面では蠟様の光沢を示していた（図 3）．組織学的には，HE 染色で淡い桃色に染まる好酸性の硝子様無構造物を血管壁や筋層内，心内膜下に認めた（図 4）．硝子様無構造物はコンゴーレッド染色では赤染し（図 5），偏光顕微鏡下では緑色複屈折を示した（図 6）．房室結節および左右の脚では特殊心筋線維間にアミロイドの沈着を認め，房室ブロックや脚ブロックへの影響が考えられた．免疫染色では，免疫グロブリン軽鎖 λ（+）κ（-），prealbumin（ATTR）（-），amyloid-A（-），β_2-ミクログロブリン（弱陽性）であった．病型は Aλ アミロイドーシスと考えられた．
2. その他の臓器のアミロイド沈着：舌，胃，小腸，大腸，肝臓，腎臓，脾臓，膀胱，皮膚，壁側胸膜など全身諸臓器の血管，筋組織内などにアミロイドの沈着があった．

B．血栓塞栓症

1. 心臓：左心耳および右心房に血栓を認めた．左心耳，右心房の血栓は赤血球，フィブリンなどからなり，表面には軽度の器質化を認める．再疎通像があった．
2. 肺（455/410 g）：左肺門部および左右肺動脈分枝に血栓が散見される．血栓には軽度の器質化を伴う．

C．その他の所見

1. 骨髄は混合髄で，C：F=1：1 程度の正形成性骨髄，M：E ＝ 3：1 である赤芽球島の形成がある．巨核球は 6 個/mm^2．形質細胞の割合はやや増加しているが，結節状の増生はみられず，κ，λ の偏りも明らかでない．明らかな形質細胞の腫瘍性増殖は認められない．リンパ節にも形質細胞の増殖はない．
2. 上部消化管に著変はない．下部消化管に偽膜の形成はみられず，上皮は一部にびらんを伴うが，壊死は認められない．

【病理所見まとめ】

免疫染色の所見や骨髄には明らかな形質細胞の腫瘍性増殖は認められない点から，原発性 AL アミロイドーシスと考えられる．心アミロイドーシスの病型の頻度としては，AL が最多である．AL アミロイドーシスの多くは，骨髄腫の基準を満たさない原発性アミロイドーシスであるが，約 90% の症例で骨髄における形質細胞の割合が増加するとされている．本例でも，骨髄における形質細胞の明らかな腫瘍性増殖はみられないものの，形質細胞の割合は増加していた．

臨床画像

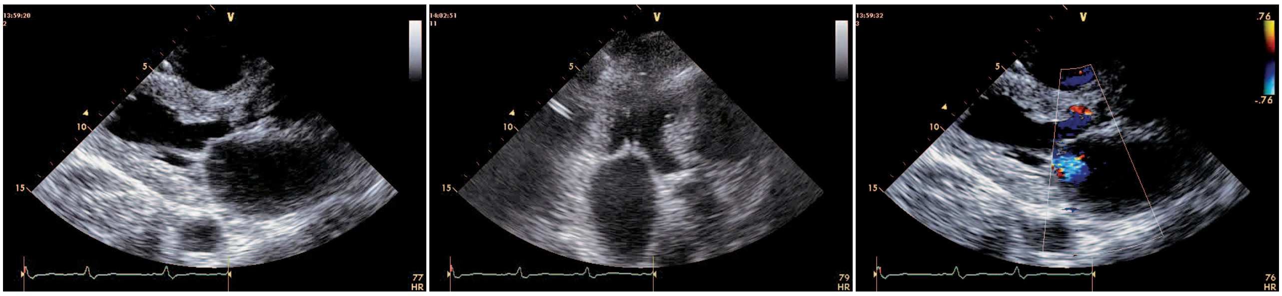


図 1．入院時心エコー．左室壁運動はびまん性に低下し，EF50% 程度である．左室肥大を認め，壁輝度は亢進している．A 弁，M 弁，T 弁は分厚く輝度亢進しており，MR3 度，AR1 度，TR moderate（⊿PG30 mmHg），PR mild である．

病理画像

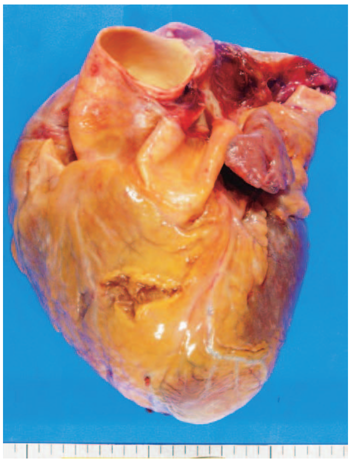


図 2．摘出肉眼標本（1）［心臓全体］心臓は硬く，弾力性をもち，重量を増している．

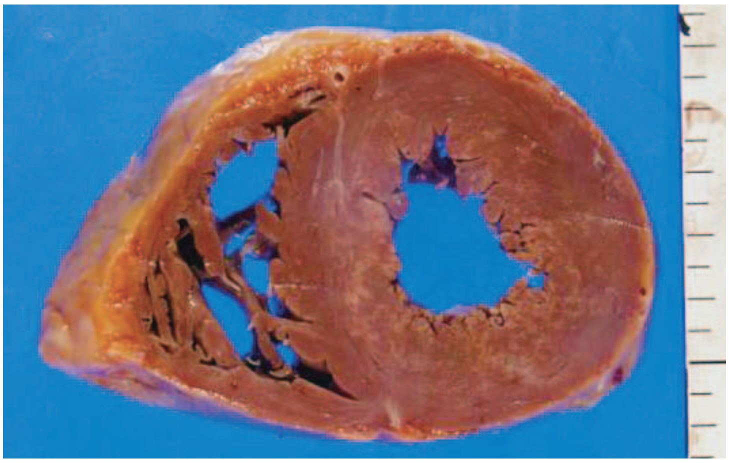


図 3．摘出肉眼標本（2）［心臓割面］．左室は求心性肥大が顕著で，蠟状の光沢を示す．

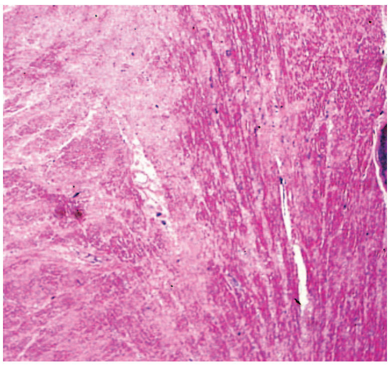


図 4．心臓の病理組織像（1）［HE 染色］．淡桃色のアミロイドが心筋間に沈着している．

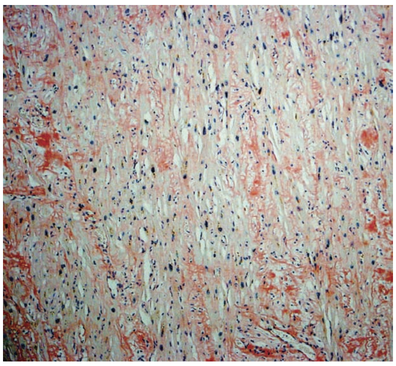


図 5．心臓の病理組織像（2）［コンゴーレッド染色］．アミロイドは橙色を呈している．

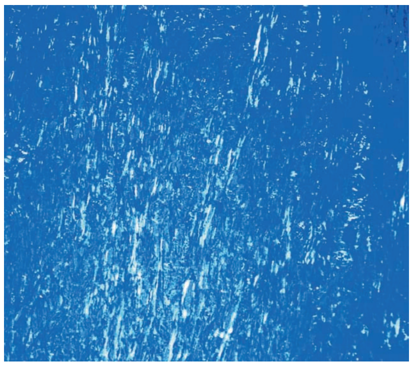


図 6．心臓の偏光顕微鏡像．アミロイドは緑色複屈折偏光を示す．

症例 No.49　膵癌術後多発肝転移および非アルコール性脂肪性肝炎による肝不全で死亡した 1 例

剖検依頼科：肝胆膵外科　　臨床担当医：入江　工，工藤　篤，田中真二

【概要】 膵癌術後に多発肝転移を発症し，抗癌薬治療を行ったが，腫瘍の増大をきたしていた症例である．死亡 1 ヵ月半前には腸管・尿路の感染症を発症し，いったん改善したが，死亡半月前から肝障害や意識障害を呈するようになった．肝転移巣の増大が認められ，癌の進行による肝障害，肝性脳症と考えられ，改善せず死亡した．剖検時には，膵癌の局所再発は認めないが，肝臓をはじめ広範な多発転移が認められた．背景の肝臓に関しては，非アルコール性肝炎による肝障害がみられ，癌とともに肝機能悪化に関与したと考えられた．膵癌の進行の早さと，治療中に出現・悪化した肝炎の治療のむずかしさを再確認させられる症例であった．

【症例】 68 歳，女性．

主　訴：全身倦怠感，食思不振，意識障害，黄疸．

既往歴：関節リウマチ（副腎皮質ステロイド），左大腿骨頸部骨折，糖尿病，高血圧，腹部大動脈瘤，右総腸骨動脈瘤，原発性胆汁性肝硬変．

生活歴：喫煙歴は不明，飲酒歴はない．

【臨床経過】

死亡 13 ヵ月前：腹部大動脈瘤と右総腸骨動脈瘤の精査 CT で膵頭部癌を指摘される（図 1）．

11 ヵ月前：膵癌に対し膵頭十二指腸切除術を施行した．術後，多発肝転移を指摘され，抗癌薬治療を行ったが腫瘍は増大した．

2 ヵ月前：左股関節痛の増悪により膠原病内科に入院した．左大腿頸部骨折と診断され整形外科で骨接合術を行う．

1 ヵ月半前：入院中に偽膜性腸炎や腎盂腎炎を発症し，それぞれ抗生物質による治療を行い病状は軽快する．

2 週間前から：全身倦怠感，食思不振が出現した．

1 週間前から：仮面様顔貌，抑うつ気分，意識障害，黄疸が出現した．血液検査で NH3 は 117 $\mu g/dl$ と高値であった．肝胆膵外科に転科した．腹部 CT で肝転移巣の増大を認め（図 2），転移巣の増大による肝機能低下および肝性脳症が疑われる．出血傾向や意識障害の増悪をきたし，徐々に全身状態が悪化し死亡した．

【検索希望事項】

直接死因，および癌の拡がり，肝性脳症による脳の変化．

【剖検診断】

1. 膵頭部癌術後化学療法後・多発転移．
2. 非アルコール性脂肪性肝炎．
3. 虚血性大腸炎．
4. 高度粥状硬化．

【剖検所見】

A. 膵頭部癌術後化学療法後再発・多発転移

1. 生前手術検体：Tubular adenocarcinoma of the pancreas

膵頭部に境界不明瞭灰白色調の 27 mm 大の腫瘍があり（図 3），組織学的には中分化～低分化管状腺癌である．静脈侵襲は高度で，神経周囲侵襲は中等度認められる．膵後方組織に浸潤する．剥離面，膵断端は陰性でリンパ節転移は陰性である．

2. 原発巣：残存膵や膵管空腸吻合部に腫瘍を認めない．局所再発はない．
3. 血行性転移：広範な肝転移がある（図 4，5）．他に肺，副腎，甲状腺，脾，脊椎に転移がある．
4. リンパ行性転移：傍大動脈リンパ節，右鎖骨下リンパ節，傍気管リンパ節に転移がある．
5. 腹膜，胸膜播種がある．

B. 非アルコール性脂肪性肝炎（図 6）

1. 肝臓：架橋線維化や細胞周囲性線維化が目立つ．肝細胞に混合滴性脂肪沈着をびまん性に認め，腫大や大小不同がある．Mallory 体がある．胆汁うっ滞があり，門脈域や小葉内にリンパ球の軽度浸潤があり，胆管周囲の線維化は目立たない．
2. 脳（1,140 g）：大脳に広範な壊死や海綿状変性，Alzheimer Ⅱ型グリアは認めない．橋に微小梗塞がある．

C. 虚血性大腸炎

上行結腸から下行結腸にかけて，粘膜の発赤と出血をびまん性に認める．組織学的には粘膜は壊死し，出血がある．一部に腺管の立ち枯れ像がある．壁全層に浮腫と好中球浸潤を中等度認める．虚血性大腸炎の状態である．

D. 高度粥状硬化

腹部大動脈以下の動脈に粥状硬化を高度に認める．右総腸骨動脈は動脈瘤の状態となっている．腹部大動脈にも拡張があり，動脈瘤として矛盾しない状態である．腹部大動脈～右腸骨動脈には内腔に壁在血栓の付着がある．

【病理所見まとめ】

1. 膵癌の局所再発は認めないが，広範な肝転移，胸腹膜播種，多臓器への転移を認める．
2. 肝臓には，癌の転移のほかに，非アルコール性脂肪性肝炎の所見を認め，肝不全として矛盾しない状態である．脳に組織学的な変化は乏しいが，肝性脳症の症状が出現しても，近年では治療により組織学的変化が少ないことも多いとされる．
3. 非アルコール性脂肪性肝炎に関しては，薬剤性もしくは膵頭十二指腸切除術に伴う変化が考えられる．
4. 虚血性腸炎に関しては，背景の動脈硬化に加え死亡直前の凝固異常が関与した可能性がある．
5. 直接の死因は，肝不全と考える．背景に存在した癌の多発転移や腸管壊死も状態悪化に関与したと考えられる．

臨床画像

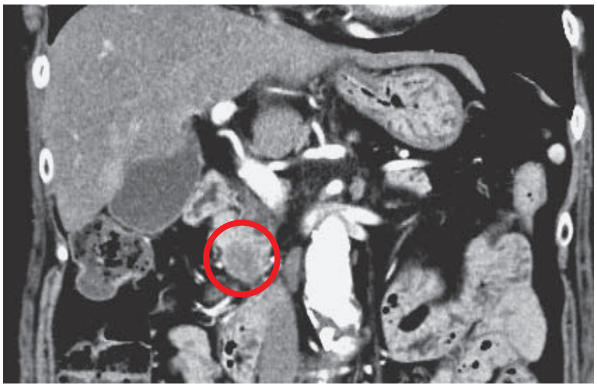


図 1．術前 CT．膵頭部に乏血性腫瘍を認める（赤丸）．

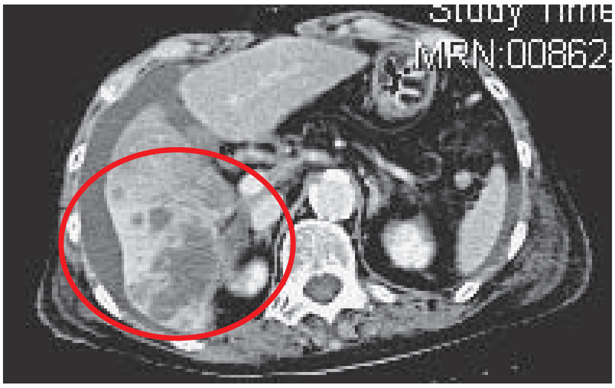


図 2．死亡直前造影 CT．肝転移巣．乏血性腫瘍（赤丸）が多発している．

病理画像

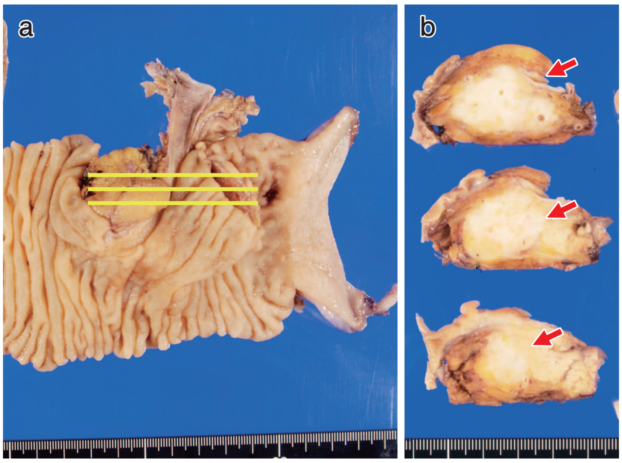


図 3．摘出肉眼標本（1）［膵頭十二指腸切除材料］．a．全体像，b．黄線部の割面．割面の矢印部分に腫瘍を認める．

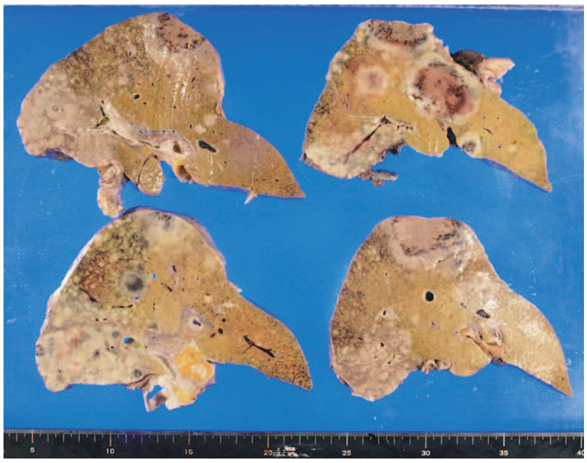


図 4．摘出肉眼標本（2）［肝臓割面］．多発肝転移を認め，50％ 程度の領域が癌により占められている．

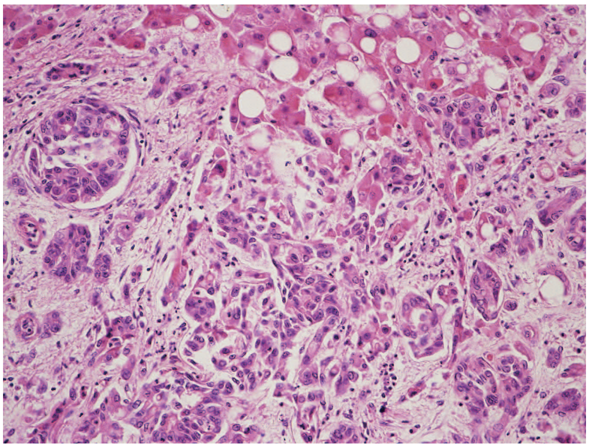


図 5．肝転移巣の病理組織像（HE 染色）．索状～一部管状を呈する癌の増殖を認める．

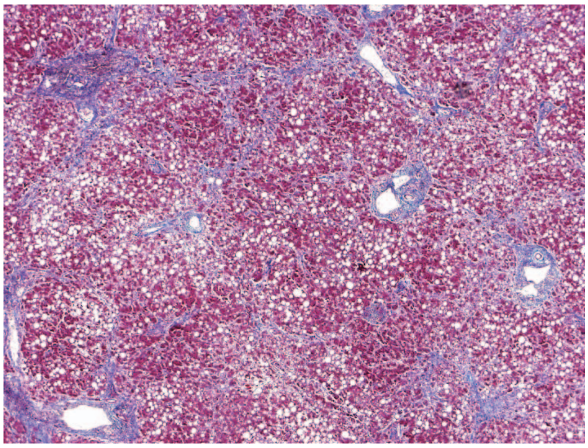


図 6．背景肝の病理組織像（Masson trichrom 染色）．線維化（青色）と肝細胞への脂肪沈着（空胞）が目立つ．

症例 No.50　一過性骨髄異常増殖症化学療法後に肝不全で死亡した Down 症候群の 1 例

剖検依頼科：小児科　　臨床担当医：佐塚真帆，山下　基，野村莉紗，杉江　学

【概要】 Down 症候群に伴う一過性骨髄異常増殖症（TAM），化学療法後の症例である．芽球は消失しているが高度な肝線維化と肝不全を呈し，死亡した．文献的に TAM に関連して肝線維化が起こることが報告されており，類洞に沿った diffuse な線維化や中心静脈の線維性狭窄，肝内胆汁うっ滞，肝細胞のヘモジデリン沈着などが特徴とされており，本例で認めた所見と類似していた．死因としては高度の肝線維化に伴う肝不全と考えられる．

【症例】 0 歳 2 ヵ月，女性．

主　訴：肝脾腫，呼吸障害，肝機能障害，末梢血芽球増加．

家族歴：特記すべきことはない．

既往歴：特記すべきことはない．

生活歴：特記すべきことはない．

【臨床経過】

1 日前：36 週 5 日，2,326 g にて出生．Down 様顔貌，肝脾腫（図 1）がある．芽球の増加（WBC 47,600/μl，blast 74%）［図 2］と肝機能障害がある．

入院時：21 トリソミーを認め，末梢血遺伝子検査で GATA1 変異があり一過性骨髄異常増殖症（TAM）と診断した．心合併症として動脈管開存（PDA），心室中隔欠損（VSD），卵円孔開存（PFO）または心房中隔欠損（ASD），肺高血圧を認めた．化学療法を開始し芽球は減少し，肝酵素も低下した．

10 日後：肝酵素およびビリルビン上昇があり，その後 2 回化学療法を行った．

22 日後：他院で PDA ligation，PA banding を施行した．

32 日後：中隔優位の心筋肥厚を指摘される．肝臓の状態は悪化し続け，肝線維マーカー，ビリルビンが上昇した．

59 日後：腹水や乏尿出現し出血傾向がある．

78 日後：死亡．

【検索希望事項】

肝臓の状態，心肥厚の状態，腎機能低下の原因．

【剖検診断】

1. Down 症候群　2. 一過性骨髄異常増殖症（TAM），化学療法後，3. びまん性の肝線維化，4. PDA 術後 および ASD，VSD，5. 中隔優位の心肥大，6. 肝臓，心臓，膵臓，リンパ節のヘモジデローシス

【剖検所見】

A. Down 症候群

21 トリソミーおよび眼瞼斜上，耳介低置がある．

B. 一過性骨髄異常増殖症（TAM），化学療法後

剖検時骨髄はやや過形成性で，骨髄球系細胞が主体をなす．芽球（CD7+CD34+c-kit+）の増殖はない．線維化は目立たない．その他全身臓器に芽球の増殖はない．

C. びまん性肝線維化およびヘモジデリン沈着（肝 130 g）

1. 肝臓の状態（参考：平均重量 167.1 g）：全体に黒褐色調である（図 3）．組織学的に肝細胞胞巣を取り囲むように類洞に沿った高度の線維化を認める（図 4，5）．中心静脈〜肝静脈枝には内膜の線維性肥厚と内腔狭窄がある（図 5）．胆汁うっ滞が高度である．
2. 関連所見：脾腫（40 g）［参考：平均重量 14.9 g］，腹水貯留（100 ml），胸水貯留（右 20ml，左 8ml）．

D. PDA 術後 および ASD，VSD の状態

心房中隔に小さな交通部がある．心室中隔には房室弁直下膜性周囲部に 1 mm 程度の欠損を認める．動脈管および肺動脈については術後で肺動脈周囲に縫合糸や人工物を認める．術部に著変はない．

E. 中隔優位の心肥大（心臓 50 g）［参考：平均重量 34.5 g］

心臓は球状で重量の増加がある．心室中隔主体に心肥大を認める（図 6）．中隔では心筋径，核ともにやや大型となり，心筋細胞に錯綜傾向がある（図 7）．同様の配列は側壁にも疑わしい．心筋にヘモジデリン沈着を認める．

F. 肝臓，心臓，膵臓，リンパ節のヘモジデローシス（図 8）

【病理所見まとめ】

TAM に関して解剖時明らかな芽球増殖は認められなかった．一方，肝臓にはびまん性の線維化と中心静脈や肝静脈の線維性内膜肥厚，胆汁うっ滞，ヘモジデリン沈着を認めた．文献的に TAM に関連して肝線維化が起こることが報告されており（Schwab ら，1998，Yagihashi ら，1995），類洞に沿った diffuse な線維化や中心静脈の線維性狭窄，肝内胆汁うっ滞，肝細胞のヘモジデリン沈着などが特徴とされており，本例で認めた所見と類似している．心臓は中隔優位の心肥大を認め，肥大型心筋症に類似する錯綜配列が認められた．腎については明かな器質的変化は認められず，機能的な変化を第一に考える．

死因は著明な肝線維化による肝不全と考える．

臨床画像

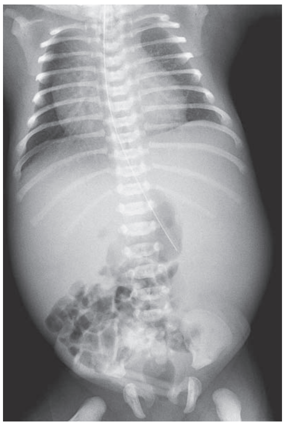


図 1. 入院時胸腹部単純 X 線像．CTR：57%，肝脾腫がある．

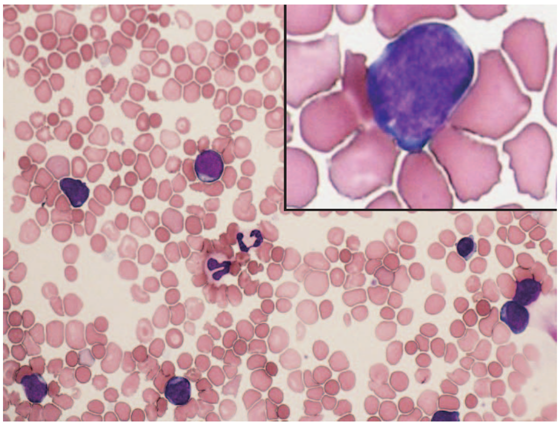


図 2. 入院時病理組織像（Giemsa 染色）［末梢血鏡検像］．中型～やや大型の芽球増殖がある．

病理画像

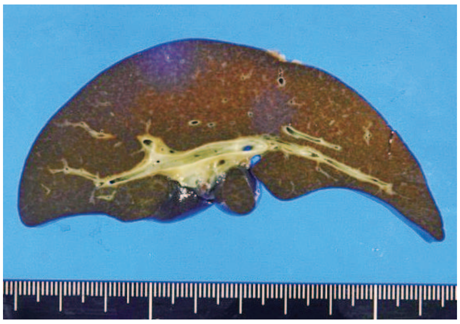


図 3. 肝臓の摘出肉眼標本（1）

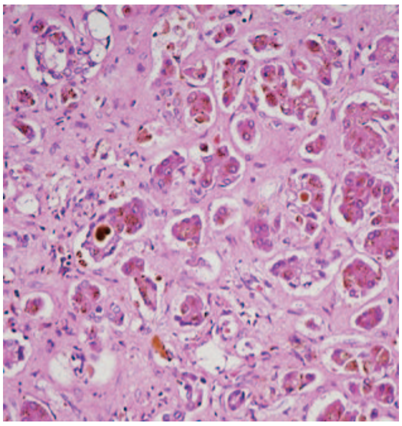


図 4. 肝臓の病理組織像（1）［HE 染色］．びまん性の線維化と胆汁うっ滞を認める．

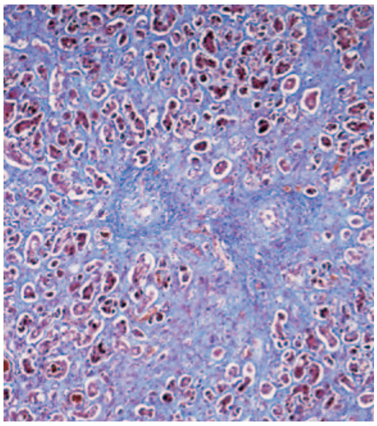


図 5. 肝臓の病理組織像（2）［Masson 染色］．びまん性の線維化と中心静脈の内膜線維性肥厚を認める．

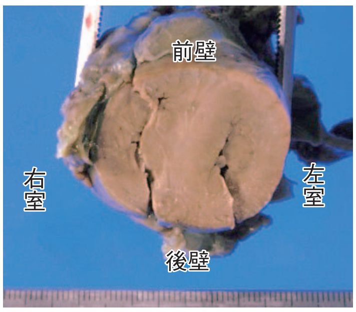


図 6. 心臓の摘出肉眼標本．中隔優位の心肥大がある．

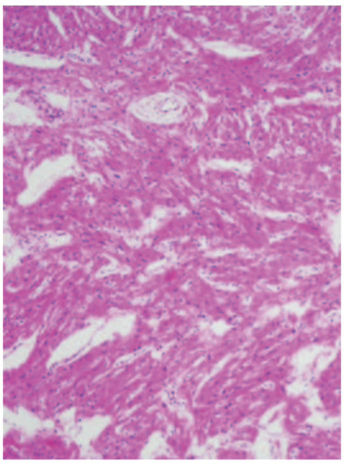


図 7. 心臓の病理組織像（HE 染色）．心筋肥大と錯綜配列を認める．

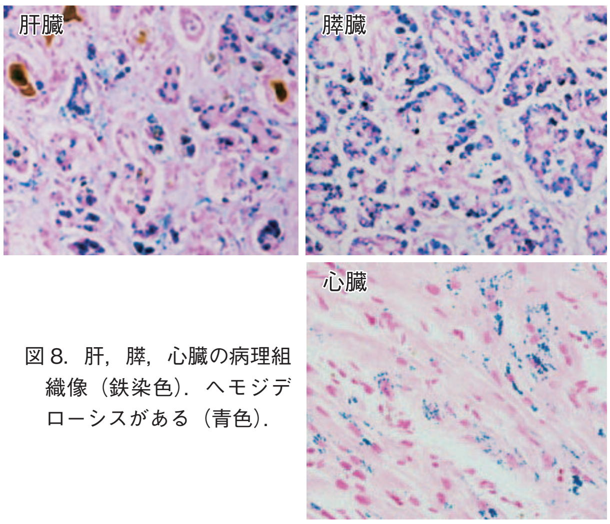


図 8. 肝，膵，心臓の病理組織像（鉄染色）．ヘモジデローシスがある（青色）．

症例 No.51　腹部膨満を主訴で来院し胆管癌が疑われたが，確定にいたらず死亡した症例

剖検依頼科：肝胆膵外科　　臨床担当医：赤星径一，入江　工，工藤　篤，田中真二

【概要】死亡 3 ヵ月前から腹部が膨満し，他院で胆管癌が疑われたが確定にいたらず，当院に紹介入院となった．当院でも著明な腹水と画像上で胆管癌を疑う所見がみられたが，組織学的確定がつかなかった．腹水のコントロールが不良となり，炎症所見が増悪し死亡した．剖検では，3 管合流部を主体に，周囲にびまん性に広がる硬化の強い胆管癌を認めた．腹膜には著明な播種を伴っていた．大腸には炎症所見や泥状便の原因と考えられる偽膜性腸炎が確認された．最終的な死因としては敗血症があげられる．著明な癌性腹膜炎の状態であったにもかかわらず，複数回の腹水細胞診において癌細胞を同定できなかった原因としては，癌が非常に硬化性であり，腹水の量に比して遊離した癌細胞が相対的に少数であった可能性が考えられた．

【症　例】78 歳，女性．

主　訴：腹部膨満．

家族歴：詳細不明．

既往歴：婦人科手術（詳細不明）．

生活歴：詳細不明．

【臨床経過】

入院 3 ヵ月前頃：腹部膨満を自覚し，他院を受診した．

入院 1 ヵ月前：他院に入院．CT で多量の腹水と肝門部胆管の壁肥厚を認め，胆管癌を疑われたが，腹水細胞診で classⅡであった．

入院時：当院でも同様の CT 所見が確認されたが（図 1，2），腹水細胞診で classⅡであった．

入院 20 日後：ERCP を施行したが傍乳頭憩室のため挿入が困難であった．施行後，炎症所見がみられ，抗生物質と膵炎を疑い蛋白分解酵素阻害薬を投与した．以後，腹水貯留が著明となる．

入院 1 ヵ月後：熱発があり胆管炎が疑われた．泥状便，血圧低下，尿量低下を認め死亡した．

【検索希望事項】

癌の確定診断，原発巣とその拡がり（胆管閉塞・門脈閉塞の原因）．

【剖検診断】

1. 胆嚢管腺癌．
2. 偽膜性腸炎．
3. 敗血症性ショック．

【剖検所見】

A. 胆嚢管腺癌

1. 検査：腹水細胞診で class Ⅱ，反応性の中皮細胞．
2. 原発巣：3 管合流部を中心に胆管周囲に 5 cm 大の境界不明瞭な白色調硬化部位を認める．胆嚢管内に 18×10 mm 大の結石があり，周囲は線維化を伴ってほぼ閉塞する．3 管合流部を含めて総胆管～総肝管にかけて，1.5 cm 長の領域が狭窄を伴って粘膜面が不整となる（図 3，4）．組織学的には，線維増生傾向の強い高分化～中分化管状腺癌（図 5）である．脈管侵襲は軽度で，神経周囲浸潤が多数みられる．胆嚢管～総胆管狭窄部位に粘膜内病変を認めるが，癌の量は胆嚢管でより多い．
3. 広がり：肝門部では周囲からの圧排で門脈本幹～右枝が狭窄する．周囲臓器は，胆嚢，胆嚢管から肝実質，膵実質，十二指腸粘膜下層に浸潤する．
4. 血行性転移：ない．
5. リンパ行性転移：直接浸潤範囲内にリンパ節転移を認めるが，周囲リンパ節に転移はない．
6. 腹膜播種：腸間膜・横隔膜に 1 cm 大までの多数の境界不明瞭な白色硬化斑（図 6）を認める．線維増生が強い癌浸潤巣からなる．
7. 関連所見
   肝内胆管が拡張するが，肝実質の黄疸は目立たない．食道下部に著明な静脈瘤を形成．軽度の膵炎：膵体部に 1～2 mm 大の脂肪壊死巣．

B. 偽膜性腸炎：回盲部から上行結腸に 18 cm にわたって偽膜形成がある（図 7）．

C. 敗血症性ショック

1. 血液培養：*S.aureus*，*Enterococcus*，*Smaltophilia*．脾炎は目立たない．
2. 肝細胞と尿細管に虚血性変化がある．

【病理所見まとめ】

1. 3 管合流部周囲に広がる胆管癌で，原発巣は癌の広がりや分布から胆嚢管原発と考えた．胆嚢管には胆石の嵌頓があり，発癌に影響した可能性が疑われる．癌の広がりとしては周囲臓器への直接浸潤と著明な腹膜播種がみられ，血行性やリンパ行性の遠隔転移は確認できなかった．
2. 腹水の原因は著明な腹膜播種であったが，非常に間質の線維増生が強い癌であったことと，腹水の量が多量であったことから，腹水中の癌細胞が相対的に少なく，複数回の細胞診においても同定できなかったと推察される．
3. 解剖時急性あるいは陳旧性の膵炎を示唆する所見は軽度であったことから，感染徴候に関しては，偽膜性腸炎による影響が大きかった可能性が考えられる．
4. 直接死因は胆管部ないし偽膜性腸炎からの敗血症性ショックを考える．

臨床画像

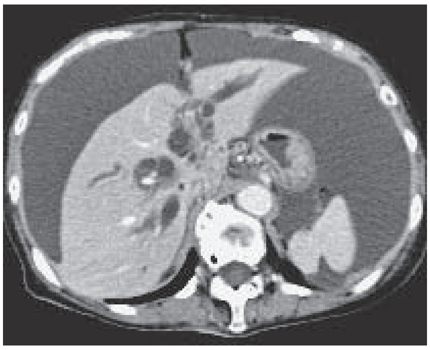


図 1．入院時の腹部造影 CT．著明な腹水貯留と両葉の胆管拡張を認める．

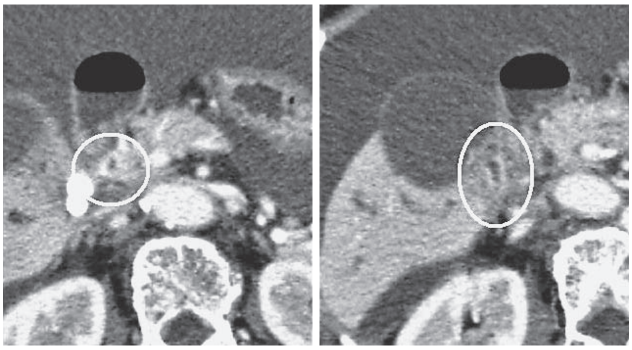


図 2．入院時の腹部造影 CT．肝門部から 3 管合流部にかけての限局性壁肥厚と胆管狭窄を認める（丸囲み）．

病理画像

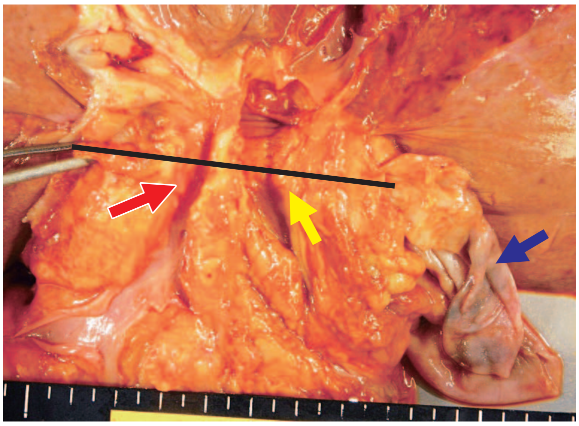


図 3．解剖時肝門部の摘出肉眼標本．3 管合流部（黄矢印）と門脈（赤矢印）が狭窄．胆嚢（青矢印）は腫大している．

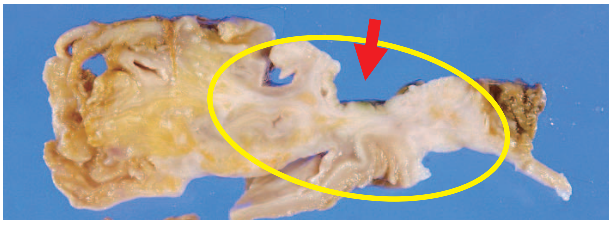


図 4．図 3 の黒線部割面．胆管（赤矢印）周囲に硬化巣（黄円）が広がる．

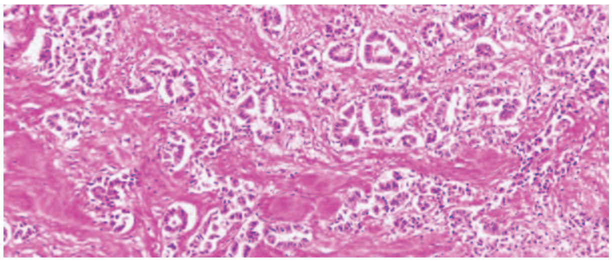


図 5．病理組織像（HE 染色）．密な線維化巣を伴って増殖する高分化〜中分化管状腺癌である．

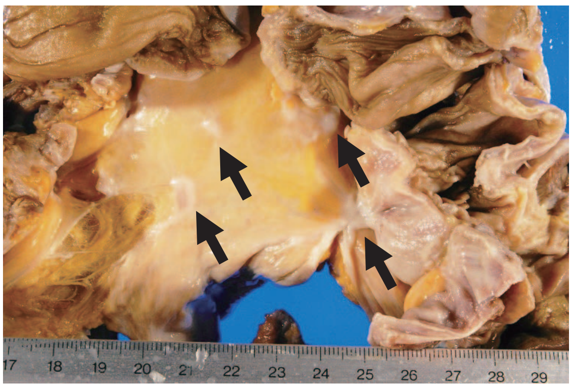


図 6．摘出肉眼標本（1）．腸間膜に境界不明瞭な白色斑を呈する多数の播種巣．

図 7．摘出肉眼標本（2）．上行結腸を主体に 18 cm にわたる偽膜形成．

お茶の水会医科同窓会 第26回研究奨励賞 第14回田中道子がん研究奨励賞 選考について

選考委員・同窓会学術担当理事
江石義信（医26・昭53卒）

■第26回研究奨励賞

第26回研究奨励賞・第14回田中賞の選考委員会が2013（平成25）年2月5日に行われた．学内外の選考委員7名が事前に論文を熟読して5点満点の評価を行い，その採点結果を参照しながら，佐藤同窓会理事長の司会のもと議論が行われた．今回は10名の応募があったが，内容や掲載論文のレベルは例年どおり高いレベルのものばかりであった．選考においては，主に研究内容の独創性や研究成果の社会への寄与度，将来の発展性などが議論され，最終的に全員一致の高い評価を受けて2名の受賞者が決定された．

磯田論文は，*ATM* 遺伝子の変異で起こる遺伝性毛細血管拡張性小脳失調症（ataxia telangiectasia：AT）の病態解明を目的として，*ATM* 遺伝子欠損マウスの解析とT細胞分化の解析を行い，ATにおけるT細胞減少に分化障害と染色体形成異常の双方が関与することや，その分子細胞メカニズムを詳細な観察により明らかにしたものである．本論文は，*ATM* 欠損によるT細胞の分化障害と染色体異常の過程を膨大なデータで段階的に解明した労作であり，コアな疑問を追求してその答えを見出すことで，臨床的にも有用な研究成果を達成したものとして高い評価を受けた．

藤田論文は，ビタミンE欠損のマウスモデルであるαトコフェノール輸送タンパク質欠損マウスが骨吸収の減少により高骨量を示すこと，一般的に摂取されているサプリメントに相当する量のαトコフェノールを添加した試料を野生型マウスやラットに与えると，骨吸収が亢進し骨量が減少することを発見した．本論文は，合理的な実験デザインでビタミンEが破骨細胞融合の制御を介した骨量の規定因子の一つであることを示し，ビタミンEの至適摂取量の検討が必要であることを世に問い正した点において，社会的にも医学的にもインパクトのある独創性の高い研究であると審査員全員から高い評価を受けた．

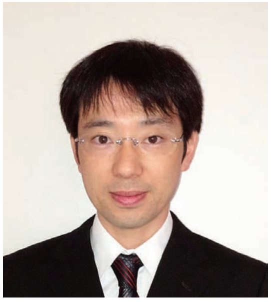
■第14回田中道子がん研究奨励賞

田中道子がん研究奨励賞においても医科同窓会研究奨励賞と同様の選考方法がとられた．本年度は3名の応募があり，いずれも研究奨励賞との同時応募であった．受賞した松村論文は，研究奨励賞選考においても受賞が検討されるレベルであったが，内容が癌研究に関連したものでもあり，癌関連研究に限定されている田中賞の受賞が適切であると判断された．

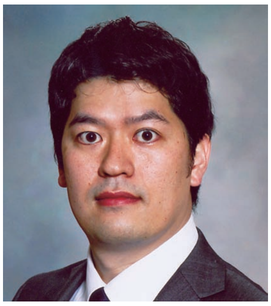
本研究は，肝細胞癌の新規癌抑制遺伝子を同定するため，2種類のマイクロアレイを用いてDNAメチル化を指標とした網羅的探索を行った．網羅的メチル化解析では，正常肝でメチル化陰性，肝癌でメチル化陽性となる候補遺伝子を，網羅的発現解析では，正常肝で発現し，肝癌で発現が消失かつ脱メチル化剤処理で発現回復する候補遺伝子を探索した．

最終的に，癌特異的過剰メチル化により発現抑制される癌抑制遺伝子候補として *MZB1* 遺伝子を同定し，臨床検体を用いた解析から *MZB1* 発現が独立した予後規定因子であることも判明した．本研究は，バイオインフォマティクスの工夫を凝らした活用と機能的アッセイにより，肝細胞癌の新たな予後予測あるいは遺伝子標的治療薬開発の病的分子候補を明らかにした点が高く評価された．

第26回研究奨励賞受賞者



磯田健志（いそだ たけし）
（愛媛大・平12卒）
Department of Molecular Biology
University of California, San Diego
Postdoctal Fellow



藤田浩二（ふじた こうじ）
（医50・平14卒）
Division of Endocrinology, Diabetes, Metabolism, & Nutrition,
Mayo Clinic
Research Fellow

第14回田中道子がん研究奨励賞受賞者

松村　聡（まつむら さとし）
（医50・平14卒）
本学
肝胆膵・総合外科
助教

●選考委員（平成23〜24年度：第25・26回）

●同窓会理事長
佐藤　達夫（医11・本学名誉教授・東京有明医療大学学長）
●医学部長
湯浅　保仁（医21・分子腫瘍医学教授）
●学　内
喜多村　健（昭48卒・耳鼻咽喉科学教授）
●学　内
西川　　徹（医25・精神行動医科学教授）
●学　外
別所　正美（医25・埼玉医科大学学長）
●学　外
中山　啓子（医34・東北大学医学系研究科附属創生応用医学研究センター細胞増殖制御分野教授）
●同窓会学術担当理事
江石　義信（医26・人体病理学教授）
●同窓会学術担当理事
古川　哲史（医31・難治疾患研究所生体情報薬理学分野教授）

※選考委員は研究奨励賞選考と田中道子がん研究奨励賞選考を兼務している．

前　目次へ　次

第26回お茶の水会医科同窓会研究奨励賞 受賞論文梗概

磯田健志（愛媛大・平12年卒），現職：Department of Molecular Biology, University of California San Diego, Postdoctoral Fellow

原著論文名：Process for immune defect and chromosomal translocation during early thymocyte development lacking ATM.

掲載誌：Blood **120**：789–799, 2012.

論文名：*ATM* 欠損早期T細胞におけるTリンパ球分化障害と染色体転座形成

梗　概：遺伝性毛細血管拡張性小脳失調症は *ATM* 遺伝子の変異で生じ，TおよびBリンパ球減少症をきたし，白血病リンパ腫が好発する先天性免疫不全症である．Tリンパ球減少は，V（D）J再構成異常による double positive（DP）期から single positive（SP）期への移行不良によるとされていたが，近年，*ATM* 欠損胸腺リンパ腫は，高率に14番染色体の TCRδ 鎖を切断点とする染色体転座を有することから，分化異常が早期より生じていることが示唆された．したがって，プロファイルが明らかでない *ATM* 欠損T細胞分化の double negative（DN）期に注目し解析を実施した．

ATM 欠損マウスの解析と合わせて，OP9–DLL1ストローマ細胞上で分化異常の検出を試みた．いずれにおいても，DN3a から DN3b 期への移行不良を確認でき，分化異常の本体は，TCRβ 鎖再構成異常が原因であると結論づけられた．さらに，*in vitro* でサイトカインを調節することで，初期T細胞の14番染色体転座を分化段階に応じて確認した．DN2–3a では TCRδ 鎖の切断が検出され，DN3b–4 に染色体転座形成を確認できることから，DN3a–3b の移行期に染色体転座を生じることが考えられた．本培養系では，TCRδ 鎖切断後に，二動原体染色体形成により TCRVα 領域の増幅を生じ，多段階に異常を蓄積しながら，リンパ腫で認められる染色体転座に近づく細胞を観察できた．

ATM 欠損T細胞分化の DN3a–3b 期では，リンパ球減少症につながる分化障害を生じ，同時に染色体異常形成への分岐点になることが確認できた．本実験系は，多段階発癌の初期異常を観察できることから，異常メカニズムの検討や試験管内での新薬効果判定にも応用可能と考えている．

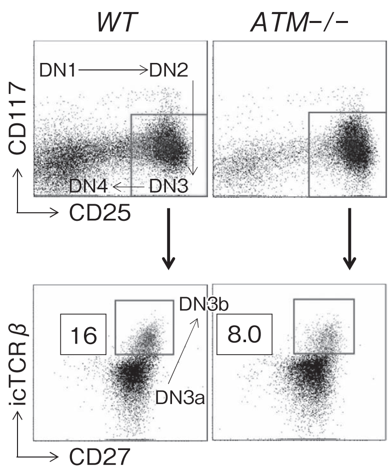


図1．上段はマウス胸腺細胞のフローサイトメトリーによる解析
上段において，*ATM* 欠損では，DN3 から DN4 への移行不良を示している．下段は，DN3 の細胞集団を，CD27 と細胞内 TCRβ 鎖で染色すると，*ATM* 欠損で DN3a から DN3b の移行不良があることがわかる．

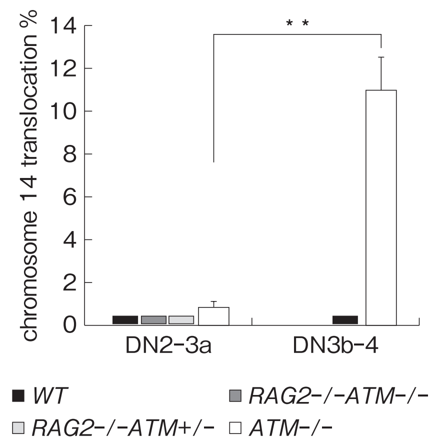


図2．*In vitro* 分化誘導系における FISH 法を用いた TCRδ 鎖を切断点にもつ染色体転座の検出
DN2–3a 期では転座形成はまばらであるが，DN3b–4 期で転座の検出率が上昇する．

第26回お茶の水会医科同窓会研究奨励賞 受賞論文梗概

藤田浩二（医50・平14卒），現職：Division of Endocrinology, Diabetes, Metabolism, & Nutrition, Mayo Clinic Research Fellow

原著論文名：Vitamin E decreases bone mass by stimulating osteoclast fusion.
掲載誌：Nature Medicine **18**：589–594, 2012.

論文名：ビタミンEは破骨細胞融合を刺激し，骨量減少を引き起こす

梗　概：骨の恒常性は，骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収のバランスにより維持されている．破骨細胞は，単核の破骨前駆細胞が融合することで形成される多核の細胞である．

ビタミンA，D，Kなどの脂溶性ビタミンは骨の恒常性維持にきわめて重要であることが知られていたが，同じ脂溶性ビタミンであるビタミンEの骨における役割は不明であった．一般には，ビタミンEは抗酸化作用を示し，動脈硬化や加齢に対して効果があると考えられており，実際にビタミンEサプリメントは非常に人気で，米国では人口の10％以上が定期的に摂取している．ビタミンEには8種類の異性体が存在し，生体内ではαトコフェロールが主に活性をもつ．小腸で吸収されたαトコフェロールは肝臓で輸送タンパクと選択的に結合し末梢組織へ供給される．

われわれは，ビタミンE欠損のマウスモデルであるαトコフェノール輸送タンパク質欠損マウス（*Ttpa*$^{-/-}$マウス）が，骨吸収の減少により高骨量を示すことを発見した．培養細胞での検討から，αトコフェノールが，その抗酸化作用とは独立した機構で，破骨細胞の融合を促進することを示した．これは，αトコフェノールがMAPキナーゼ14（p38）のリン酸化を介して小眼球症関連転写因子（mitf）を活性化し，続いて活性化されたmitfが破骨細胞融合に必須であるDC–STAMPをコードする遺伝子*Tm7sf4*のプロモーター領域に直接結合することによるものである．実際に，*Ttpa*$^{-/-}$マウスでみられる高骨量は，*Tm7sf4*トランスジェニックマウスと交配することで改善された．

さらに，一般的に摂取されているサプリメントに相当する量のαトコフェノールを添加した飼料を野生型マウスやラットに与えると，骨吸収が亢進し骨量が減少した．

この結果は，ビタミンEは破骨細胞融合の制御を介した骨量の規定因子の一つであることを示し，ビタミンEの至適摂取量の検討が必要であることを示唆する．

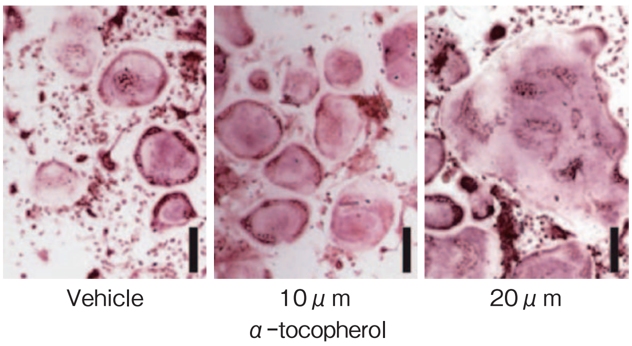


図1．破骨細胞培養系にαトコフェロールを添加すると、破骨細胞が融合し多核化した．

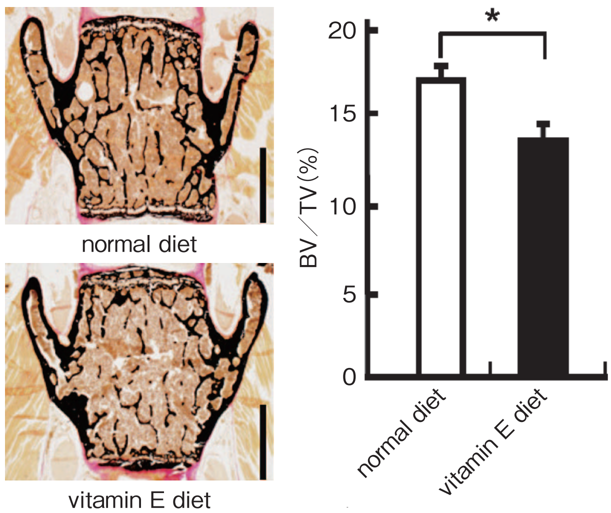


図2．野生型マウスに，一般的に摂取されているサプリメントに相当する量のビタミンEを添加した飼料を8週間投与すると，骨吸収が亢進し，骨量（BV/TV）が約20％減少する．野生型ラットにビタミンE添加食を投与しても同様に骨量減少を認めた．

第 14 回田中道子がん研究奨励賞 受賞論文梗概

松村　聡（医 50・平 14 卒），現職：本学肝胆膵・総合外科助教

原著論文名：Integrative array-based approach identifies MZB1 as a frequently methylated putative tumor suppressor in hepatocellular carcinoma.

掲載誌：Clinical Cancer Research **18**：3541–3551，2012.

論文名：統合的アレイ解析を用いた肝細胞癌における新規がん抑制遺伝子候補 *MZB1* の同定

梗　概：肝細胞癌（HCC）の新規癌抑制遺伝子を同定するため，2 種類のマイクロアレイを用いて DNA メチル化を指標とした網羅的な探索を行った．肝癌細胞株 3 株と正常肝組織を使用し，CpG アイランドアレイを用いた MeDIP–chip 法で網羅的メチル化解析を，発現アレイで網羅的発現解析を行った．MeDIP–chip 法は独自の解析アルゴリズムを作成し，正常肝組織でメチル化陰性，肝癌細胞株すべてでメチル化陽性であった 642 遺伝子を抽出した．一方，発現アレイ解析では，正常肝組織で発現を認め，肝癌細胞株すべてで発現はなく，かつ脱メチル化剤処理により発現回復を認めた 204 遺伝子を抽出した．

これらの結果を統合し，一つの既知癌抑制遺伝子（*SFRP1*）を含む 11 遺伝子を，CpG アイランドの過剰メチル化により発現抑制される癌抑制遺伝子候補として抽出した．肝癌細胞株と HCC 臨床検体を用いて候補遺伝子の検証を行い，癌特異的 CpG アイランド過剰メチル化により発現抑制されるがん抑制遺伝子候補として，*MZB1*（*marginal zone B and B1 cell-specific protein*）を同定した．続いて HCC 臨床検体 162 例で *MZB1* の免疫組織化学染色を行ったところ，全生存率，無再発生存率ともに *MZB1* 発現陰性群のほうが予後不良であり，多変量解析で *MZB1* 発現は独立した予後規定因子であった．さらに肝癌細胞株に *MZB1* 遺伝子を導入して強制発現株を作成した．*MZB1* 発現株は *in vitro* および *in vivo* ともに細胞増殖抑制効果を認め，アポトーシスによらない G_1–arrest が起こることが示唆された．

今回施行した二つのアレイを用いた網羅的遺伝子解析は新規癌抑制遺伝子探索に有用であり，今後 *MZB1* のさらなる分子メカニズムの解析を行うことによって，新規予後予測マーカーや分子標的薬への可能性が期待される．

第15回福岡臨床研究奨励賞選考について

選考委員長・医学部附属病院病院長
宮坂信之（医21・昭48卒）

本賞は，東京医科歯科大学医学部付属病院の医員・研修医・大学院生，看護師・技師などのコメディカルを対象に，臨床活動の向上に関する研鑽を支援するため，故福岡隆子氏のご遺族から贈られた基金により設定されたものである．

医員・研修医・大学院生に関しては，過去2年以内に発表した症例報告，症例研究についての論文が審査対象となる．また，看護師・コメディカル医療チームに関しては，過去2年以内において医療チームとして患者サービスおよび業務などの改善を行った成績が審査対象である．今回は前者に関しては4件，後者は1件の応募があり，病院長，医学科基礎系教授1名，内科系教授1名，外科系教授1名，看護部長の5名で選考を行った．

受賞論文について：

飯盛聡一郎氏（腎臓内科学特任助教）は，透析患者における骨密度と骨代謝マーカーの骨折予測の有用性について，485例の登録患者を対象にして行った5年間のコホート研究である（「Nephrol Dial Transplant」誌）．内容的にも優れており，文句なく受賞となった．酒井良子氏（薬害監視学助教）は，関節リウマチ患者におけるTNF阻害薬またはIL–6受容体阻害薬の継続率と中止理由を「生物学的製剤使用関節リウマチ患者登録システム（REAL）」データベースより得た1,022例を用いて解析をした力作である（「Ann Rheum Dis」誌）．第三位との間は僅差であったが，本研究が多施設前向き研究である点が評価されて受賞となった．

看護師・コメディカル医療チームについては，LVASパンフレット作成委員会（代表：米川亜希）のみの応募であった．当院では，2005（平17）年以降，9例の患者に対外設置型左室補助人工心臓（LVAS）を用いた治療を行ってきた．本チームは，その診療経験を活かして，長期にわたる療養生活の中で，良好なQOLを維持しつつ心臓移植を待つことを可能にする患者向けパンフレットを作成した．代表者がすでに2009（平21）年，2011（平23）年の受賞歴があったが，当院におけるさらなるチーム医療の発展を願って受賞となった．

第15回福岡臨床研究奨励賞受賞者

飯盛聡一郎（いいもりそういちろう）
（久留米大・平17卒）
本学
腎臓内科
特任助教

酒井良子（さかいりょうこ）
（昭和大・平15卒）
本学
薬害監視学講座
寄附講座助教

LVASパンフレット作成委員会
前列左より：尼田昭子看護師長，米川亜希SW，水野友裕医師，倉島直樹ME
後列左より：後藤由香里看護師，西川裕里看護師，石山純子看護師，上原佳代子看護師長，藤田修平医師

第15回福岡臨床研究奨励賞 受賞論文梗概

飯盛　聡一郎（久留米大・平17卒），現職：本学腎臓内科特任助教

原著論文名：Diagnostic usefulness of bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in predicting fracture in CKD stage 5D patients；a single-center cohort study.

掲載誌：Nephrology Dialysis Transplantation **27**：345–351，2012.

論文名：透析患者における骨密度と骨代謝マーカーの骨折予測の有用性についての単施設研究

梗　概：血液透析患者（CKD 5D）における目標とする副甲状腺ホルモン（PTH）値は2003年のK/DOQIガイドラインにおいて骨代謝回転を適正に保つという理由から150～300pg/m*l* に設定された．また透析患者における骨密度の測定は2009年のKDIGOによるCKD–MBDガイドラインにおいて骨折予測に有用でないとされている．その理由として骨密度は非CKD患者でみられるようには骨折リスクの予想に役立たず，また腎性骨異栄養症の組織型を予測できないことがあげられている．しかし，骨密度の測定は骨折予測に有用であるという文献も散見され，病態によっては有用性があると予想される．透析患者において，骨折リスクの予測に有用性の高い骨代謝マーカーは何なのか？　そして骨密度低下は，透析患者においても骨折リスクの予測に有用なのか？　これらのリサーチクエスチョンを解決するため観察研究を行った．

登録患者は485例である．定期的に骨代謝マーカーと骨密度を測定し，5年間のコホート研究を実施した．46例が観察期間中に新規に骨折し，29例が腰椎圧迫骨折を認めた．骨代謝マーカーは何が骨折リスクの予測に有用性が高いかを解析した．また骨密度は6つの部位（橈骨遠位1/3部位，腰椎側面，大腿骨頸部，大腿骨大転子，全股関節，全身骨）を測定し，どの測定が骨折リスクの予測に有用性が高いかを解析した．

ROC解析では血清骨型アルカリフォスファターゼ（b–AP）高値が新規骨折予測にもっとも有用性が高かった．Kaplain–Meier法では，PTH値が150pg/m*l* 以下であった群と300pg/m*l* 以上であった群は，150～300pg/m*l* を達成できた群と比較し有意に新規骨折のリスクが高かった．骨密度は全股関節（total hip）部位の骨密度低値が新規骨折予測にもっとも有用であり，性別とPTH値で層別化すると，女性かつ低PTHで有用性が高かった．既存の腰椎圧迫骨折は性別やPTH値にかかわらず，全身骨と腰椎を除くすべての骨密度低値で骨折予測に有用性が高かった．

第 15 回福岡臨床研究奨励賞 受賞論文梗概

酒井良子（昭和大・平 15 卒），現職：本学薬害監視学講座，寄附講座助教

原著論文名：Drug retention rates and relevant risk factors for drug discontinuation due to adverse events in rheumatoid arthritis patients receiving anti-cytokine therapy with different target molecules.

掲載誌：Annals of the Rheumatic Diseases **71**：1820–1826，2012.

論文名：関節リウマチ患者における生物学的製剤の投与継続率と有害事象による投与中止リスクに関する検討

梗　概：［研究目的］関節リウマチ（RA）患者における TNF 阻害薬または IL–6 受容体阻害薬の 2.5 年間の投与継続率，中止理由の比較および有害事象（AE）による中止リスクを「生物学的製剤使用関節リウマチ患者登録システム（REAL）」データベースを用いて詳細に解析した．

［方法］全国の RA 専門医療機関 27 施設から REAL に登録された患者のうち，REAL 登録時にインフリキシマブ（IFX），エタネルセプト（ETN）またはトシリズマブ（TCZ）を開始した患者（IFX 群 412 例，ETN 群 442 例，TCZ 群 168 例）を対象とした．観察期間は IFX または ETN または TCZ の開始から最長 2.5 年間とした．中止理由は AE の発現，効果不十分（LOE），疾患活動性の低下，その他の 4 種類に分類した．多変量解析には Cox 比例ハザードモデルを用いた．

［結 果］IFX 群では 157 例（38.1％），ETN 群では 130 例（29.4％），TCZ 群では 51 例（30.4％）が生物学的製剤を中止した．もっとも多く報告された中止理由は IFX 群では LOE，ETN 群では AE，TCZ 群では LOE と AE の発現であった．IFX 群における疾患活動性の低下による中止率は他の 2 群と比較して有意に高かった．Cox 比例ハザード（HR）分析により背景因子を調整した結果，IFX（HR1.69［1.14～2.51］）または TCZ（HR1.98［1.04～3.76］）の使用，年齢 10 歳増加ごと（HR1.64［1.38～1.97］），過去に使用した非生物学的疾患修飾性抗リウマチ薬の数≥3（HR1.86［1.30～2.67］）が AE による投与中止リスク因子として同定された．

［結論］最長 2.5 年までの観察期間において，投与中止理由の内訳は生物学的製剤によって異なり，IFX または TCZ を使用した場合には，ETN に比較して AE による投与中止リスクが有意に高いことが示された．

第15回福岡臨床研究奨励賞 受賞論文梗概

LVASパンフレット作成委員会：**米川亜希**（代表）［SW］，**尼田昭子**（看護師長），**水野友裕**（医師），**倉島直樹**（ME），**後藤由香里**（看護師），**西川裕里**（看護師），**石山純子**（看護師），**上原佳代子**（看護師長），**藤田修平**（医師）

標　題：LVAS患者向けパンフレット作成について

概　要：左室補助人工心臓（LVAS）治療は，強力な循環補助により慢性心不全，心不全急性増悪により死に瀕した患者を回復させ，長期循環補助を行い心臓移植へ橋渡しをすることを可能にする先進医療である．当院では，2005年に再開して以降9例の患者にLVASを使用し治療にあたってきた．日本の心臓移植の現状は，移植登録を受けてから2〜3年の長期待機が必要であるため，患者は移植への不安の中で長期療養生活を強いられる．LVAS治療は現在保険診療となったが，医療面，社会面とも解決すべき多くのさまざまな問題を抱えている．

LVASには，ポンプを体内に埋め込む“植込み型”と体外に留置する“体外設置型”がある．植込み型LVASは移植まで自宅待機，場合により職場復帰も可能となるが，体外設置型LVASは，短時間外出などは可能なものの，行動制限も多く，その管理のむずかしさゆえに退院は困難である．そのため，移植まで長期間入院生活を強いられ，入院生活上の多くの制約のため，精神的ストレスは過大なものとなる．また，社会面では，長期入院のため就労ができず，医療費・生活費について大きな不安を抱えている．さまざまな制度を利用することで金銭的サポートを受けることが可能になるが，患者・家族に適切な時期に社会福祉・社会保障制度についての情報を提供できることが望ましい．

体外設置型LVASを装着した患者が，長期にわたり当院で安心・安全な療養生活を送り，良好なQOL（生活の質）を維持しつつ，積極的に心臓移植を望んでもらうことを目的として，医師，看護師，ME，SWが協働して，医療面，看護面，社会面から必要とされる情報をまとめた体外設置型LVAS患者向けパンフレットを作成した．将来的には，植込み型LVASパンフレットに発展させる予定である．このパンフレット作成は，実際にLVASを装着し当院に長期間入院していた患者の要望を実現したものである．

佐藤　大介 博士（医学）　Daisuke Sato

学位記番号　／甲第 1881 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）環境社会医歯学系専攻

学位論文　／Impact of teaching intensity and academic status on medical resource utilization by teaching hospitals in Japan
（日本の臨床研修医療機関の医療資源使用量における教育密度の影響）
Health Policy　第 108 巻第 1 号　86-92 頁　平成 24 年 11 月発表

論文審査委員／主査：田中　雄二郎　　副査：河原　和夫　　副査：高瀬　浩造

〈論文要旨〉

臨床研修病院は患者への専門的な治療，研究開発，研修医への卒後臨床研修を提供しているが，臨床研修病院の医療資源使用量における教育活動の効果は不明確である．本研究では教育密度と学術種別の影響を量的に測定する．

日本の 40 の大学系医療機関と 12 の非大学系医療機関から収集された 47,397 件の退院患者の管理データを用いた．医療機関はベッド当たり研修医数（IRB）に従って 3 つの群に分類した．医療サービスの資源使用量は診断群別の出来高支払額相対値によって評価された．

検体検査，画像検査および投薬の医療資源使用量に 15% から 24% の増加が観察された．IRB が高くなると画像検査，注射および投薬が 10% から 15% 増加した．一方で在院日数は 5% 短くなり総資源使用量は変わらなかった．対照的に学術種別は検体検査，画像検査および投薬の医療資源使用量を 21% から 33% 増加させ，在院日数は 13%，総資源使用量は 10% 増加した．

教育密度による医療資源使用量の変化は臨床研修病院の直接教育費用を増加させなかったが，学術種別は有意に増加させたことから，大学系医療機関は効率性の改善と財務的補償の両方が必要であることを示唆した．

〈諸言〉

臨床研修病院は患者への専門的な治療，研究開発，研修医への卒後臨床研修を提供しており，臨床研修病院における治療の質と効率性はこれまで広く調査されている．

多くの研究が臨床研修病院は非臨床研修病院よりも高い治療の質を提供しているということが示されている．より高い教育密度を持つ臨床研修病院は患者安全度の点からもより良いことが示されている．対照的にこれらのように質が高いというレポートがある一方で，臨床研修病院は，しばしば医療提供において効率性が低いという批判もされている．

また，日本は，卒後臨床研修にかかるコストに取り組むべきという同様の挑戦に直面している．同時に日本の病院は 2004 年より，日々の医療資源使用の分析がより正確に行えるよう電子フォーマットで管理データでの報告が始まった．

これまでいくつかの卒後臨床研修の質について先行調査が行われているにもかかわらず，資源使用量と卒業臨床研修の関連は不明確なままである．本研究では教育密度と学術種別の影響を日本の臨床研修病院から得た管理データを分析することで量的に測定する．

〈方法〉

本研究で使用したデータは 2004 年 7 月から 10 月までの期間に対する病院の管理レコードを電子媒体で収集した．また，これらのデータは卒後臨床研修だけでなく，日本の医学研究や卒前医学教育を担う 40 の国立大学臨床研修病院と，単に卒後臨床研修を提供する 12 の非大学系臨床研修病院である．これらのデータは原疾患，副傷病，合併症に対する ICD-10 コード，人口統計，処置，投薬，医療材料の使用状況を含んでいる．

14 桁の診断群分類（DPC）コードはそれぞれの原疾患，副傷病，合併症に基づいた 1 日あたりの包括支払額患者記録はケースミックス調整として使用した．Charlson's comorbidity index は 12 の疾患データフィールドから計算された．

疾患は研修医が卒後臨床研修期間に経験し，症例報告を提出するよう推奨している厚生労働省による疾患リストと一致した DPC 診断群の疾患を持つ患者レコードを抽出した．

ある DPC コードを持つ症例数が 20 以下の場合，患者レコードは DPC コードから除外した．

合計で 20 の疾患を対象に 47,397 の入院患者を分析対象とした．病院は教育密度を表す 2004 年の IRB に従って 3 つの群（HIRB, MIRB, LIRB）に分類した．

研修医数は日本研修マッチングプログラムによって作成された研修マッチングプログラムの一覧に基づいている．各患者に対する関連医療資源使用量は治療にかかるコストを評価するために費用と請求額に高い相関がある出来高換算支払額に従って決定されている．

DPC コード分類によるケースミックス調整は以下のように行った．

まず，それぞれの DPC コード分類に対して，検体検査，画像検査等の診療行為カテゴリ毎の平均出来高請求額の値を計算した．次に，各患者の DPC コード分類に対して，診療行為カテゴリ毎の相対的な医療資源使用量を，診療行為カテゴリ毎の値を平均請求額で除した．

相対的な医療資源使用量は検体検査，画像検査，注射，投薬，手術以外の処置行為，手術行為で計算した．同様にケースミックス調整した相対的な平均在院日数を計算した．

年齢は 65 歳区切りで 2 つのカテゴリに階層化した．Charlson's comorbidity index は 5 つのグループ（0, 1, 2, 3, 4 以上）に分類した．

回帰分析は卒後臨床研修の活発さを表す教育密度と臨床研究や医学教育のような機能を表す学術種別の影響を対象にし，ケースミックスの差異を補正する調整変数として相対的な医療資源使用量，性別，年齢カテゴリ，Charlson's comorbidity index と疾患別の外科処置の相対的密度を用いて検証した．

外科処置の相対的密度は以下の通り計算した．まず，それぞれの DPC グループ毎の平均出来高診数請求額を計算した．次に患者別に外科処置の相対密度をその患者の外科処置の請求額を DPC グループの平均請求額で除した値を計算した．

〈結果〉

HIRB群には大学系病院が多かった．患者はHIRB群の病院で有意に若かったが，患者の性別の比率とCharlson Comorbidity Indexスコアの平均値は3群間で有意差は認められなかった．すべての入院患者サービスの相対的医療資源使用量，検体検査，画像検査，投薬，および平均在院日数はLIRB群の医療機関に比べてMIRBとHIRB群の医療機関で有意に高かった．

注射の相対的な医療資源使用量はLIRBの医療機関に比べてHIRBの医療機関で有意に高く，MIRBでは有意ではなかった．

入院患者の総支払額，注射と相対的な平均在院日数において，MIRBとHIRB病院における医療資源使用量の増加は比較的小さく10% 未満であった．直線性は，教育密度の増加と医療資源使用量との間で観察されなかった．非外科的処置と外科的処置のための相対的医療資源使用量は異なる教育密度の医療機関群の間に有意差はなかった．

多変量回帰分析によって検証した結果，画像検査，注射と投薬は，教育密度，学術種別と医療資源使用量が統計的に有意であった．

非外科的処置の医療資源使用量があまり教育密度と学術種別に影響されなかった．興味深いことに，在院日数は学術種別が約13%に増加したのに対し，教育密度では5% 短くなる結果が明らかとなった．その結果，学術種別が約10% の総支払額の増加に対し，教育密度は全体の医療資源使用量に大きな影響を与えなかった．

〈考察〉

本研究では教育密度の高さが，画像検査，注射，投薬の医療資源使用量を増加させたが，在院日数は減少し，結果として総資源使用量に有意な影響は与えなかったことを発見した．対照的に学術種別は検体検査，画像検査，投薬の医療資源使用量および在院日数を増加させ，結果として総資源使用量を10% 増加させたことを発見した．本研究は患者への治療において研修医のかかわり合いが，放射線と医薬品の分野において医療資源使用量を増加させるということを立証した．

興味深いことに，我々のデータは教育密度の高さが平均在院日数を減少させ，総医療資源使用量に影響がなかったことを示した．我々の分析では，効果的な対象群の中でケースミックスの差異を補正するいくつかの方策が用いられた．本研究におけるケースミックス補正と相対的な資源使用量の計算のためにDPC患者の階層化システムが用いられた．Charlson's comorbidity indexもまた，併存症の補正として取り込んだ．

我々の分析はケースミックスの多様性を減らすことが出来るという要素として，卒後臨床研修で要求されている正確な診断群に限定した．

外科的処置の資源使用量も，ケースミックス補正の追加重症度指標として用いた．学術種別に対する補正は教育密度の影響に関して独自の観察という別な理由かもしれない．

我々は総資源使用量と在院日数が学術種別に際立って大きな影響があることを発見した．一方でこれは教育密度においては影響が見られなかった．

我々の観察は，ケースミックスと学術種別に対する優れた多変量補正から，教育密度の高さは入院患者の治療の効率性を増加させ，学術種別そのものが教育密度とは関係なく，医療資源使用量において少なからぬ増加を引き起こすことを意味しているかもしれない．

医療政策への影響として，我々の結果は教育活動に対する財務的な補償が多くは必要ないことを示唆している．代わりに，我々の結果は大学系臨床研修病院における過剰なコストに対する医療政策評価の必要性を意味している．

〈結論〉

管理データの分析に基づくと教育密度による医療資源使用量の変化は臨床研修病院における直接教育費用を増加させていないかもしれない．一方で学術種別の高さが医療資源使用量を増加させたことは間接的な教育費用の増加，あるいは管理不足による非効率性を示唆している．

菊池　章史 博士（医学）　Akifumi Kikuchi

学位記番号　／甲第 1882 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　／Identification of NUCKS1 as a colorectal cancer prognostic marker through integrated expression and copy number analysis（遺伝子発現とコピー数の統合解析による大腸癌予後予測因子としての NUCKS1 の同定）
International Journal of Cancer　平成 24 年 11 月 online 発表

論文審査委員／主査：木村　彰方　　副査：稲澤　譲治　　副査：田中　真二

〈論文要旨〉

【目的】大腸癌遠隔転移関連遺伝子を抽出し，予後予測因子としての有用性を検索する．

【方法】当科にて根治手術を施行した大腸癌症例に対し，網羅的遺伝子発現解析（115 例）と網羅的ゲノムコピー数解析（122 例）を行った．遠隔転移例において高発現およびコピー数増幅を共に認めたものを候補遺伝子として抽出した．Validation study として，mRNA 発現を定量的 RT-PCR 法にて解析した（86 例）．タンパク発現を大腸癌 269 例を用いて免疫染色にて解析し，臨床組織学的因子との関連を調べた．

【結果】統合的解析により，3 遺伝子を遠隔転移関連遺伝子として抽出した．他の癌で高発現が報告されているが，大腸癌では報告のない NUCKS1 は，mRNA 解析において，大腸癌組織にて有意に高発現していた．NUCKS1 タンパクの高発現は，大腸癌患者の予後に関連し，かつ大腸癌再発の独立したリスク因子であった．

【結語】NUCKS1 は大腸癌の新たな予測因子，および治療のターゲットとなる可能性がある．

〈緒言〉

大腸癌治療において外科手術が最も効果的な手段であるが，根治手術を受けた患者においても転移再発を生じ，悪い経過をたどる症例が存在する．現在，臨床組織学的因子によって治療戦略を立てているが，これらの因子は患者個々にとって十分ではなく，個別化医療の確立には新たなバイオマーカーの同定が必要である．バイオマーカーとなり得る遺伝子の同定に有用な方法として，マイクロアレイを用いた発現解析があり，これによって一度に多くの癌関連遺伝子の解析を行うことが可能となっている．

癌の進展に，遺伝子の構造異常も重要な役割を果たしていることが知られており，大腸癌においてもコピー数異常が報告されている．最近では，SNP アレイを用いることで，高解像度でのコピー数解析が可能となっている．

遺伝子発現とコピー数異常の関連については，大腸癌を含め報告がなされている．遺伝子発現解析とコピー数解析を統合して解析する手法が，癌関連遺伝子の同定に有用であるとする報告もある．今回，我々は遺伝子発現解析とコピー数解析の統合解析を用いて，新たな大腸癌遠隔転移関連遺伝子を同定した．臨床上のマーカーもしくは治療の対象として用いやすい様，高発現およびコピー数増幅を共に認める遺伝子に着目した．

上述の統合解析により，大腸癌遠隔転移関連遺伝子として NUCKS1 を同定した．NUCKS1 はいくつかの癌腫において高発現が報告されているものの，大腸癌においてはいまだ報告がなされていない．本研究は，大腸癌において NUCKS1 の臨床組織学的な重要性を検証した初めての報告である．

〈方法〉

東京医科歯科大学医学部附属病院において根治手術を施行された大腸癌症例を対象とした．

【候補遺伝子の抽出】

GeneChip® Human Genome U133 Plus 2.0 Array（Affymetrix）を用い，115 例の大腸癌症例の遺伝子発現解析を行った．GeneChip® Human Mapping 250K Sty array（Affymetrix）を用いて，122 例の大腸癌症例のコピー数解析を行った．同時性もしくは異時性遠隔転移を認めた症例を転移群とし，転移を認めなかった症例を無転移群として，この 2 群間で比較検討した．コピー数解析において，転移群で有意差を持って増幅を認めた遺伝子を抽出した（$P<0.01$）．また，発現解析においても，転移群で有意に高発現を認めた遺伝子を抽出した（$P<0.01$）．それぞれから抽出された遺伝子で共通するものの中から，転移群において fold change>1.3 をもって高発現していた遺伝子を候補遺伝子として抽出した．

【定量的 RT-PCR】

86 例の大腸癌症例の癌部および正常部の bulk サンプルから cDNA を作成し，解析に使用した．Taqman® gene expression assay（Applied Biosystems）を用いて，7300 Real Time PCR System（Applied Biosystems）にて NUCKS1 の発現を調べた．

【免疫染色】

269 例の大腸癌症例を用いた．Rabbit polyclonal antibody to NUCKS1（ab84710, Abcam）を用いて，Streptavidin-biotin 法にて染色を行った．全症例において，染色強度と広がりをそれぞれ 4 段階でスコア化し，その合計を最終的なスコアとした．

〈結果〉

【候補遺伝子の抽出】

遺伝子発現解析から 331 個，コピー数解析から 1487 個の遺伝子が抽出された．それらに共通する 51 個の遺伝子の中から，fold change>1.3 で絞り込み，NUCKS1,SYNPR，及び TMEM63A の 3 遺伝子を候補遺伝子として抽出した．この中で，大腸癌を除く数種の癌腫で高発現の報告がある NUCKS1 を以降の解析の対象とした．

【定量的 RT-PCR】

NUCKS1 の mRNA 発現は，大腸癌組織において，正常部と比較して有意に高発現していた．

【免疫染色】

NUCKS1 タンパクの発現は，正常部では陰性で，腫瘍辺縁部において陰性から弱陽性を示し，腫瘍最深部において強い染色強度を示す傾向にあった．

【NUCKS1 発現と臨床組織学的因子との関係】

免疫染色の結果，高発現群と低発現群の 2 群に分けて解析を行った．腫瘍深度，リンパ管侵襲，血管侵襲，リンパ節転移，CEA 値，

および TNM Stage が NUCKS1 発現と有意に関連していた．Overall survival（OS）および relapse-free survival（RFS）のいずれもが，NUCKS1 の高発現群において，低発現群と比較して悪かった．多変量解析においても，NUCKS1 は大腸癌の OS・RFS の重要な予測因子であった．

〈考察〉

遺伝子発現解析とコピー数解析を組み合わせることで，今回我々は，大腸癌再発症例において有意に高発現している NUCKS1 を同定し得た．また，NUCKS1 タンパクの高発現は，治癒切除後大腸癌再発の重要な予測因子であった．本研究は，統合解析を用いて同定した癌関連遺伝子のタンパク発現の臨床的重要性を示した初めての研究である．

NUCKS1 は，染色体 1q32.1 に局在している．1q のコピー数増幅が，大腸癌の Duke's stage および肝転移に関連しているという報告があり，本研究の結果と矛盾しない．大腸癌においてはコピー数の増幅と高発現はあまり相関しないとする報告もあるが，稀である中で，それらを共に認める遺伝子は重要である可能性がある．今回，網羅的解析の統合により，コピー数増幅と高発現を共に認める NUCKS1 を同定し得た．さらに，NUCKS1 発現は大腸癌の再発および予後に関連していた．この結果から，遺伝子発現解析とコピー数解析を統合することは，癌関連遺伝子の同定において有用なアプローチであることが示唆される．

NUCKS1 は細胞周期に関連しており，細胞増殖において重要な役割を果たしていると報告されいる．さらに，数種の癌腫において高発現しており，oncogenesis に関連していることが示唆されているが，癌における機能は明らかにされていない．本研究が，大腸癌における NUCKS1 の局在と，予後と発現の関係を報告した最初の研究である．

大腸癌の最も有用な治療は外科手術であるが，治癒切除症例においても術後の再発を認める．最近では，いくつかの術後補助化学療法によって治癒率が向上しており，また，術後再発症例においても新たなレジメンによって生存期間の延長を認めている．しかし，これらの化学療法は，経済的負担が強く，また強い有害事象の発現のリスクを伴う．従って，再発のリスクが高く，補助化学療法やそれ以上の強い化学療法を行うべき症例を同定することが重要で，それにより，予後の改善のみならず経済的負担や有害事象のリスクを軽減することができる．そのためには，信頼性の高いバイオマーカーが必要である．本研究により，NUCKS1 が治癒切除後大腸癌における術後再発のバイオマーカーとなり得る可能性が示唆された．

〈結語〉

大腸癌における NUCKS1 の高発現は，大腸癌術後再発の独立した予測因子であった．従って，NUCKS1 が治癒切除後大腸癌における術後再発のバイオマーカーとなり得る可能性がある．また，NUCKS1 を抑制することが，大腸癌の新たな治療戦略の一つとなる可能性が示唆された．

北村　圭 博士（医学） Kei Kitamura

学位記番号　／甲第 1883 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　／Autophagy-related Atg8 localizes to the apicoplast of the human malaria parasite Plasmodium falciparum（オートファジー関連因子 Atg8 はヒト感染性熱帯熱マラリア原虫 Plasmodium falciparum ではアピコプラストに存在する）
PLoS ONE　第 7 巻第 8 号　平成 24 年 10 月発表

論文審査委員／主査：清水　重臣　　副査：中川　一路　　副査：赤尾　信明

〈論文要旨〉

オートファジー（自食作用）とは細胞質成分をリソソームで分解する細胞内分解機構であり，真核生物で広く保存されている．その過程に必須なオートファジー関連遺伝子 Atg（autophagy-related gene）は，酵母やヒトで約 30 種類同定されているが，原虫（原生動物）ではその一部しか保存されていない．しかし，Atg8 結合系に関連する分子群（Atg3, Atg4, Atg7, Atg8）は原虫類のほぼ全ての種で保存されている．今回我々は，熱帯熱マラリア原虫 Plasmodium falciparum の Atg8 ホモログ PfAtg8 の生化学的性質と局在について解析した．PfAtg8 は赤内型において発現しており，ステージの進行と共に発現量が増加していた．PfAtg8 は生化学的に脂質結合型の特徴を示し，抗体染色法や免疫電顕法による解析でアピコンプレクサ特有のオルガネラである，アピコプラストに存在することが分かった．これらのことは，マラリア原虫は Atg8 結合系をオートファジーとは異なる目的に利用していることを示唆している．

〈緒言〉

マクロオートファジー（以下オートファジー）とは，タンパク質やオルガネラなどの細胞質成分をリソソームに運び分解する細胞内分解機構である．その役割は飢餓応答だけでなく，細胞内タンパク質の品質管理，侵入細菌の分解，がんや神経変性の抑制など多岐に渡る．オートファジーの膜動態は複雑で，小胞体近辺に出現する隔離膜が細胞質成分を取り囲むところから始まる．隔離膜はその後閉じてオートファゴソームを形成し，リソソームと結合して内包する細胞質成分を分解する．この一連の過程を司るのは，オートファジー関連（Atg）因子と呼ばれ，機能的に以下の 6 つのグループ，Atg1 キナーゼ複合体（Atg1-Atg13-Atg17-Atg29-Atg31），Atg9，クラスⅢ型 PI3（ホスファチジルイノシトール 3）キナーゼ複合体（Atg6-Atg14-Vps15-Vps34），Atg2-Atg18 複合体，Atg12-Atg5-Atg6 複合体，Atg8-PE（ホスファチジルエタノールアミン）結合系に分けられる．

これらの Atg 因子はほとんどの真核生物で保存されているが，原虫では部分的にしか保存されていない．その保存様式は規則的で Atg8-PE 結合系は全て保存されているが他の分子群の保存性は低い．ユビキチン様タンパク質 Atg8 は，まず Atg4 によりその C 末端を切断され，ユビキチン E1 様酵素である Atg7 とユビキチン E2 様酵素である Atg3 により修飾される．その後，Atg8 の C 末端グリシン残基が PE と結合する．PE と結合した Atg8 は再び Atg4 により切断され，再利用される．Atg8 はオートファゴソームマーカーとしても用いられる．原虫の Atg 保存様式から示唆されることは，限られた Atg 因子でオートファゴソーム形成を行っているか，又はオートファジーとは異なる役割に Atg 分子を利用しているのかのどちらかである．

既にいくつかの原虫類においてオートファジーの機能的，形態的解析が行われている．赤痢アメーバでは栄養体の増殖と嚢子形成期にオートファゴソーム様構造体が観察され，クルーズトリパノソーマや大形リーシュマニアでは飢餓や分化時にオートファジーが機能することが報告されている．また，トキソプラズマでも飢餓によりオートファジーが誘導され，TgAtg3 のコンディショナルノックアウト株でミトコンドリア形態に異常が見られている．このようにこれまでの報告は Atg 因子が原虫でもオートファジーに関連するというものばかりであった．しかし，この論文では，熱帯熱マラリア原虫の Atg8 の生化学的性質と局在を中心に解析し，その結果，PfAtg8 がオートファゴソームではなく，アピコプラストに存在することを明らかにした．

〈方法〉

酵母とヒトのデータベースを使用した BLASTp, PSI-BLAST により熱帯熱マラリア原虫の Atg ホモログを検索し，Atg 保存様式を比較した．次にコムギ胚芽無細胞系タンパク質発現システムにより作製した，GST 結合 PfAtg8 全長組換えタンパク質をウサギに免疫し，得られた血清を精製して PfAtg8 抗体を作製した．同調培養させたマラリア原虫を用いて，各ステージのタンパク質発現量をウエスタンブロットにより調べた．PfAtg8 の生化学的性質を明らかにするため，細胞分画を行った．PfAtg8 の局在位置を確認するため，発現量の高かった後期分裂体を用いて PfAtg8 抗体と複数のオルガネラマーカーにより抗体染色と免疫電顕を行った．

〈結果〉

熱帯熱マラリア原虫で確認された Atg ホモログは Vps34 と Atg18 と Atg8-PE 結合系（Atg3, Atg4, Atg7, Atg8）であった．またドメインの保存が不完全だが，候補として Atg2 と Atg5 と Atg12 が挙げられた．Atg8 の C 末端ドメインは特徴的で，グリシン残基の後に終止コドンが来ており，Atg4 により切断されるべき延長配列はない．

PfAtg8 は赤内型ステージにおいて発現しており，ステージの進行と共にその発現量は増加していた．細胞分画の結果，PfAtg8 は膜画分に回収され，界面活性剤で可溶化されたが，NaCl や尿素では可溶化されなかった．このことは，PfAtg8 のほとんどは脂質と結合した形で存在することを示した．酸性分解コンパートメントの阻害剤であるクロロキンの処理によっても PfAtg8 の発現量は変わらなかったので，PfAtg8 は分解には関与しないことが示唆された．

次に PfAtg8 抗体を用いて抗体染色を行ったところ，PfAtg8 は 1 つの娘メロゾイトにつき 1 つの点状構造体として観察された．ロプトリー，マイクロネーム，デンスグラニュール，ミトコンドリア，アピコプラストを標識するオルガネラマーカーとの共染色を行ったところ，PfAtg8 はアピコプラストと最もよく共局在した．さらに，PfAtg8 陽性構造体をより詳細に解析するために免疫電顕法による観察を行った．その結果，PfAtg8 はアピコプラストの膜上に存在しており，このステージの細胞にはオートファゴソームは観察されなかった．

〈考察〉

PfAtg8 の生化学的性質と局在位置から，赤内型マラリア原虫は Atg 分子をオートファジーとは異なる特有の働きに利用していることが示唆された．アピコプラストは，光合成能を持たない独自のゲノムを保有するプラスチドであり，脂質やヘム，イソペンテニル二

リン酸，鉄–硫黄構造体の合成などの機能をもつ，生存にとって必須のオルガネラである．アピコプラストはミトコンドリアと同じく，1 細胞につき 1 つ存在し，ミトコンドリアと構造的にも機能的にも密接に関わっている．4 枚の膜を有するアピコプラストの起源は 2 回の紅藻類の細胞内共生と言われ，外側の膜は小胞体に由来し，外から二枚目の膜には小胞体関連蛋白分解（ERAD）様機構が存在する．核ゲノム由来のアピコプラスト局在性タンパク質は共通配列を持ち，ゴルジ体を介さずに運ばれるが，PfAtg8 はその配列を持たない．オートファゴソームは小胞体関連タンパク質を持たないが，小胞体から生まれ，小胞体と連続する膜モデルも提唱されている．これらを考慮すると，PfAtg8 は小胞体関連オルガネラの生合成において共通の役割を持つ可能性がある．

PfAtg8 の具体的な機能はまだ明らかでないが，アピコプラストが細胞分裂の短期間を除き，赤内型を通して 1 細胞につき 1 つ存在していることからアピコプラストがオートファジーによって分解される可能性は低い．また，PfAtg8 がマラリア原虫の生育にとって必須であるという報告があり，新たな薬剤標的となることが期待される．

マラリア原虫の Vps34 と PI3-リン酸は食胞とアピコプラスト膜に存在する．酵母やほ乳類では Vps34 を含む，クラスⅢ型 PI3 キナーゼ複合体は Atg8 結合系の上流に位置するため，PfAtg8 のアピコプラスト膜局在が Vps34 活性依存的であると予想された．しかし，PI3 キナーゼ阻害剤であるワルトマニンの処理で PfAtg8 の局在に変化はなかった．

今後 PfAtg8 結合系の更なる機能解析により，アピコプラストの膜動態および Atg8 因子がもつ本質的な分子機能について更なる知見を得ることができるだろう．

鈴木　聡 博士（医学） Satoru Suzuki

学位記番号	／甲第 1884 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	／Systems Analysis of Inflammatory Bowel Disease Based on Comprehensive Gene Information（炎症性腸疾患の網羅的疾患関連遺伝子解析） BMC Medical Genetics　第 13 巻第 25 号　平成 24 年 4 月発表
論文審査委員	／主査：渡邉　守　　副査：村松　正明　　副査：高瀬　浩造

〈論文要旨〉

ポストゲノム研究の一環として，疾患形成に関わる遺伝子群を網羅的かつ疾患横断的に解析する「ヒト疾患ネットワーク（HDN）」研究が注目されている．我々は HDN の概念を，未だ病因が明確ではない炎症性腸疾患（IBD）に適応し，本疾患の形成や進行に深く関与する遺伝子ネットワークの探索を試みることとした．

IBD 治療薬のうち，軽度で使用される薬剤および重度で使用される薬剤を選出し，それぞれの薬剤が有する適応症をグループ化して，各々の sibling 疾患と定義した．次に，軽度および重度の各 sibling 疾患を構成する適応症（疾患名）をキーワードとし，公的データベース 4 種において疾患関連遺伝子を網羅的に検索して約 1,000 件の遺伝子リストを作成した．次に各遺伝子のデータベース登録頻度と文献報告頻度を基に，遺伝子をランキングした．IBD 疾患との関連性が明確な遺伝子のランクを閾値とし，軽度では 250，重度では 253 の遺伝子を選出した．さらに，蛋白質相互作用が報告されていない遺伝子を除外し，医薬品の標的遺伝子と機能類似性の高い遺伝子のみに絞り込んだ．最終的に得られた HDN は，軽度および重度で共通した遺伝子ネットワークの他，軽度特有および重度特有のネットワークが示された．我々のアプローチは IBD の重要な構成要素を識別する効果的な方法であるとともに，他の疾患の HDN 解析にも応用できる可能性を有しているものと考えられた．

〈緒言〉

炎症性腸疾患（IBD: Inflammatory Bowels Disease）はクローン病（CD: Crohn's Disease）と潰瘍性大腸炎（UC: Ulcerative colitis）の 2 疾患からなる．共に腸粘膜に炎症や潰瘍を引き起こす原因不明の慢性疾患であり，ここ 20 年の間に日本の IBD 患者数は急速な増加を示すに至っている．IBD の成因には何らかの社会的環境要因と遺伝的素因とが関連するが，いまだ明確な答えは得られていない．IBD の疾患関連遺伝子探索により UC で 47,CD で 71 の遺伝子座が同定され，システム生物学的な解釈も進んでいる．

一方，ヒトゲノム解析に関連する研究が深化した結果，「大半の疾患は分子ネットワークの調節不全や歪みが基礎となって，発症・進行する」とする考え方が展開し，疾患に特異的な分子ネットワークの歪みを同定しようとする学問（Goh らが示した HDN: Human Disease Network や田中らのシステム病態学等）が発達した．我々はこうした網羅的疾患関連遺伝子の解析方法を IBD にも適応し，未だ不明確な部分の多い IBD の病態進展に関与する遺伝子ネットワークの探索を試みることとした．

〈方法および結果〉

IBD の軽度および重度での sibling 疾患の決定

IBD では，Truelove らの重症度分類（軽度，中等度，重度）に沿った薬物治療が行われる．日本，米国，英国における IBD 治療薬およびその適応症を調査した．アミノサリチル酸製剤は軽～中等度活動期に使用されるが，IBD（CD, UC）のほかに関節リウマチ（RA: Rheumatoid arthritis）も合わせ 3 疾患の適応を持つ．一方，重度で使用される抗 TNF 抗体は IBD（CD, UC）のほか，RA，乾癬（PS: Psoriasis），強直性脊椎炎（AS: ankylosing spondylitis），ベーチェット病（BD: Behçet's disease）の 6 疾患（CD, UC, RA, PS, AS, BD）に適応があった．以上より，軽度の sibling 疾患を CD, UC, RA，重度の sibling 疾患をそれ以外の PS, AS, BD として，それぞれの遺伝子ネットワークを構築することとした．

データベースの疾患遺伝子の収集

選択した 6 種の疾患名をキーワードとして，4 種の公的データベース（PharmGKB, GeneCards, PharmGKB, GAD）から疾患関連遺伝子を網羅的に取得した．各遺伝子のデータベース登録頻度と文献報告頻度を基に，遺伝子をランキングした．治療ターゲットとなる TNF および疾患の重症度マーカーとして採用されている CRP のランクを閾値として，ランクの高い遺伝子を選別した．軽度では 253，重度では 250 の遺伝子が選別された（94 遺伝子は両グループに共通）．さらに，生体機能の発揮に協調して働く組み合わせを得るため，蛋白質相互作用（PPI）で関連づけられる遺伝子のみを選出した．軽度では 146，重度では 151 遺伝子が選び出された（91 遺伝子は両グループに共通）．

軽度および重度における重要な遺伝子の選別

我々の最終目標は，IBD の疾患重症度の違いを反映する遺伝子を同定することである．本研究では，疾患重症度の違いを，治療に用いる薬剤の違いを指標として判断するアプローチを採用している．薬剤作用に関連性の高い遺伝子をさらに選択するため，薬剤の標的遺伝子と機能的類似性が高い遺伝子（スコア≧0.5）を選択した．スコアは Gene Ontology に基づき計算した．最終的に，軽度では 46，重度では 62 遺伝子が選び出された（27 遺伝子は両グループに共通）．

軽度ネットワークと重度ネットワークの比較

軽度および重度ネットワークの構成遺伝子の機能を調べると，いずれも①炎症および免疫応答，②腫瘍形成およびアポトーシス，に大別できることが分かった．軽度ネットワークでは①炎症および免疫応答に関する遺伝子がネットワークの大半を占め，結合数の高い密なリンク構造を形成してネットワークの中心構造を担っている．一方重度ネットワークでは②腫瘍形成およびアポトーシスに関連する遺伝子が増え，①炎症および免疫調節に関連する遺伝子との間で密なリンク構造を形成して，ネットワークの中心構造を分け合っている．この差異は，軽度と重度の状態の違いを分子レベルで表現していると考えられる．すなわち軽度においては炎症反応が主であるが，重度に移行するに伴い腫瘍形成およびアポトーシス反応が現れてくることを表現していると考えられる．

また，ネットワークの中で結合数が 10 以上の遺伝子は機能的に重要であると考えられるが，我々が得たネットワークではそのおよ

そ半分はIBDの全ゲノム関連解析（GWAS）で検出されたものであった．

〈考察〉

我々が示した結果は，IBDの病態の進行に伴い遺伝子ネットワークが変化することを示唆する．Knorらは，IBDのGWASメタ解析により同定された疾患関連遺伝子を網羅的に収集し，その機能を説明する18種のパスウェイをリストアップした．我々の解析結果と比較すると，軽度ネットワークに特徴的な遺伝子は，IL23/Th17細胞パスウェイおよびIL10抗炎症パスウェイに含まれ，一方，重度ネットワークに特徴的な遺伝子は，Th1細胞炎症性サイトカインパスウェイとアポトーシスパスウェイに含まれている．この対応関係は，これまでの病態学上の知見とも一致し，更にIBDの病態進行においてTh17細胞とTh1細胞とのバランスシフトを反映していることから，我々の結果はStrachanらが唱えた衛生仮説（Hygiene hypothesis）がIBDの病因に関与する説を支持するものと考えられる．

症状の強さによる区分は，これまで臨床でのみ行われていたが，我々が得た今回の結果は，遺伝子レベルにおいても両者に違いがあることを示す．本法は従来IBDで散見された疾患関連遺伝子の役割を網羅的にしかも疾患の進展ごとに評価できる可能性を示しており，今後のIBDの病態解明の一助となると考えられる．同時に今回我々が確立した方法は他の疾患においても適用可能であることから，今後，種々の疾患においても疾患重篤度に応じたシステム病態学的解析に応用できると考える．

森山　無価 博士（医学）　Muka Moriyama

学位記番号	／甲第 1885 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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	／Topographic Analyses of Shape of Eyes with Pathologic Myopia by High-Resolution Three-Dimensional Magnetic Resonance Imaging（3D MRI を用いた病的近視眼の眼球形状解析） Ophthalmology　第 118 巻第 8 号　1626-1637 頁　平成 23 年 4 月発表
論文審査委員	／主査：澁谷　均　　副査：秋田　恵一　　副査：北川　昌伸

〈論文要旨〉

病的近視は様々な眼球形状異常を呈することが知られている．眼球形状はこれまで主に超音波検査によって診断されており，眼球の全体像を把握することは困難であった．我々は MRI を用いることによって眼球を生体内で 3 次元に観察することに成功し，その画像から病的近視眼の眼球形状異常は 4 つに分類可能であった．さらに，近視性視神経症との特定の眼球形状異常との関連も示唆された．

3D MRI という手法を用いることで眼球形状異常を生体内で観察することが可能であり，今後病的近視眼の本質的病態である眼球形状異常のメカニズムを解明するのに有用であると思われる．

〈緒言〉

病的近視は特にアジアで頻度が高く，また我が国でも多治見スタディでは近視性黄斑変性は失明原因の第 1 位，Yamada らの報告でも病的近視が失明の原因疾患として緑内障についで第 2 位である．

病的近視眼では単に眼軸が前後方向に延長するだけでなく，後部ぶどう腫形成に代表される眼球後部形状の変形が特徴である．後部ぶどう腫の多くは 40 歳代に始まり，さまざまな強度近視特有の疾患の原因となる．

眼球の前後方向は眼軸長として光学的に高精度で測定することが可能である．一方，後部ぶどう腫の客観的形態観察には超音波 B-mode が多く使用されていたが，後部ぶどう腫全体を捉えることができず，また同じ部位を経時的に観察することは困難であった．眼球の全体像を把握するには摘出眼球の観察しかないが，標本数が少なく，また同一個人で継時的な変化を観察できないのが難点である．

一方，他科の分野では MRI を用いて臓器を 3 次元的に観察することは以前より行われている．今回，我々は病的近視眼球の MRI を 3 次元的に再構築し，病的近視眼の眼球形状異常を in situ で捉えて解析した．

〈方法〉

対象は正視眼 20 名 40 眼および病的近視（屈折度 −8.00 ジオプトリー以下または眼軸長 26.5mm 以上）を有する症例 44 名 86 眼である．

MRI は GE 社の MRI（SignaHDxt 1.5T），撮像法は Cube を用いて撮影．同社の付属画像解析ソフトにて volume rendering を行い，3 次元化した．

病的近視眼の眼球形状異常の特徴を解析し，さらに病的近視眼に合併する種々の合併症（近視性脈絡膜新生血管，近視性牽引黄斑症，近視性視神経症，近視性網脈絡膜萎縮）と形状異常との関連を検討した．

〈結果〉

眼球を下方から観察した像にて，眼球後部の突出部位から病的近視眼の眼球形状を 4 種類（鼻側偏位型，耳側偏位型，紡錘型，樽型）に分類できた．

片眼のみ病的近視を有する症例は 8 症例あったが，そのうちの 5 症例では強度近視眼を有さない眼球に形状異常は認められなかったが，3 症例では非強度近視であるにも関わらず形状異常が認められた．

両眼に病的近視を有する症例は 34 名 68 眼あった．そのうち 30 名（88.2%）で両眼の形状異常分類は同じものであった．両眼の形状異常が異なる 4 名は全てにおいて両眼の眼軸長の差が 2mm 以上あった．

両眼の形状異常が同じである症例 30 名 60 眼についてその形状異常の頻度を検討したところ，鼻側偏位型が 36.7%，耳側偏位型が 16.7%，紡錘型が 16.7%，樽型が 30.0% であった．これらの 4 群で年齢や眼軸長，屈折度には有意差がみられなかったが，病的近視の合併症との関連を解析したところ，近視性視神経症が有意に耳側偏位型で頻度が高いという結果であった．

〈考察〉

MRI を用いることで眼球を 3 次元的に再構築し，生体内で観察することが可能であった．正視眼ではその眼球形状はほぼ球形であるのに対し，病的近視眼では様々な眼球形状異常が見られた．

片眼のみに病的近視を有する症例の非病的近視眼においても形状異常が認められた．このことは屈折度や眼軸長に関わらず，片眼強度近視でも両眼の形状異常を呈する可能性があることを示唆するが，遺伝的な背景を含め今後の研究が必要である．

両眼性の病的近視眼ではそのほとんどで形状異常は同じであったが，数例形状異常が異なる症例があった．4 例と少数例なので断言はできないが，これらの症例は眼軸長が両眼で 2mm 以上の差があることから，眼軸長の変化で形状異常のタイプが異なってくる可能性がある．

眼球の形状異常は眼球を下方から観察した像にて 4 つに分類可能であった．このうち耳側偏位型にて有意に近視性視神経症の頻度が高いという結果であった．耳側偏位型では視神経付着部位近傍に急峻な突出が存在し，視神経付着部位近傍の眼球変形が視神経の走行に物理的に障害を起こしていると思われる．

〈結論〉

3D MRI を撮影することによって，これまで困難とされていた生体内での眼球全体の 3 次元的評価が可能となった．経時的変化を追うことによって，病的近視眼に伴う眼球形状異常の発生・病態の理解について有用であると考えられ，今後の発展が期待される．

小田邉　浩二 博士（医学）　Koji Otabe

学位記番号　／甲第 1886 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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）生体支持組織学系専攻

学位論文　　／Comparison of gingiva, dental pulp, and periodontal ligament cells from the standpoint of mesenchymal stem cell properties（歯肉，歯髄，歯根膜細胞由来の間葉系幹細胞の特性の比較）
Cell Medicine　第 4 巻第 1 号　13–21 頁　平成 24 年 8 月 online 発表

論文審査委員／主査：淺原　弘嗣　　副査：田賀　哲也　　副査：山口　朗

〈論文要旨〉

歯肉，歯髄，歯根膜などの歯周組織における間葉幹細胞の存在が報告されているが，それぞれの収率の違いやや分化能の高低といった部位特異的な性質の違いは十分には明らかになっていない．これらの細胞は齲蝕や歯周病で失われた歯牙，歯周組織の再生における有用な細胞源として期待される．臨床応用に向けて，限られた細胞数で，より効率よく移植，再生するためには，増殖能や分化能に関する比較が必要である．比較には同一被検者から歯肉，歯髄，歯根膜細胞を採取し，同じ継代数で比較することが望ましい．今回，抜去歯から得られた歯肉，歯髄，歯根膜由来の間葉幹細胞の増殖能と表面マーカー，in vitro の多分化能，in vivo の硬組織形成能を検討した．

12 例 12 歯，20–40 歳，齲蝕や歯周炎など口腔疾患の合併なく，矯正治療目的に抜歯した第 3 臼歯を採取した．抜去歯より歯肉，歯髄，歯根膜を分離し，2 時間のコラーゲナーゼ処理を行った．残存したデブリはフィルタリングし除去，有核細胞数をカウントし細胞密度を変えて播種した．2 週間後にコロニー形成能と細胞数を計測した．さらに継代後，フローサイトメトリーによる表面抗原解析を行った．Passage 2 の 2.5x105 細胞軟骨をペレットカルチャー法で 21 日間培養して軟骨分化誘導し，ペレットの軟骨基質を Toluidine blue 染色で，type 2 collagen 産生を免疫染色で評価した．1.0x102 細胞に対して 21 日間脂肪，骨分化誘導を行い，分化能をそれぞれ Oil red O 染色，Alizarin Red S 染色で評価した．また軟骨分化能，脂肪分化能，骨分化能を real time qRT-PCR 法により解析した．in vivo の検討のため，Fisher 344 rat より歯肉細胞，歯髄細胞を抽出し，βTCP disc の scaffold にマウントした後，背筋内に移植，6 週後に回収し μCT による解析を行った．細胞を移植しない scaffold のみの群を対照とした．

14 日間培養した歯肉，歯髄細胞は歯根膜細胞よりも高い細胞収率を示した．歯肉，歯髄細胞は CD44, CD90, CD166 といった間葉幹細胞に見られる代表的な表面抗原を発現していた．歯肉，歯髄細胞はペレットカルチャー法で軟骨分化のマーカーである collagen type 2 免疫染色陽性のペレットを形成し，分化誘導の前後で軟骨分化関連遺伝子である Aggrecan の mRNA 発現の増強が見られた．歯肉，歯髄細胞は脂肪分化誘導で Oil red O 陽性の油滴を形成し，分化誘導の前後で脂肪分化関連遺伝子である Adipsin の mRNA 発現の増強が見られた．歯肉，歯髄細胞は骨分化誘導で Alizarin Red S 陽性のコロニーを形成した．Fisher 344 rat の歯肉，歯髄細胞を骨分化誘導後に移植した βTCP disc には，コントロール群と比較して広い範囲で μCT 上で高吸収域が見られた．歯肉，歯髄組織には多分化能を有する細胞が含まれ，比較的容易に採取でき，組織再生に有用であると考えられる．

〈緒言〉

間葉幹細胞は間葉組織に由来し，コロニー形成能および骨・軟骨・脂肪分化能を有する細胞群と定義されている．その多分化能により組織の恒常性，リモデリング，損傷修復に関与していると考えられている．間葉幹細胞は種種の組織より抽出でき，その由来に関わらず共通した性質も多いが，その一方でもとの組織によって増殖能，分化能などに大きな違いがあるとする報告も増えている．

間葉系幹細胞は歯肉，歯髄，歯根膜といった口腔組織から抽出できるという報告がされている．しかし，抜去歯からの歯肉，歯髄，歯根膜から得た細胞を同一ドナー，passage などの同一条件下で比較した報告はない．

本研究では抜去歯より歯肉，歯髄，歯根膜細胞を同一手法により抽出した．そして抜去歯ごとの収率，表面抗原，分化能を比較した．このことにより再生医療への応用に最も有用な細胞源を明らかにすることを目的とした．

〈方法〉

12 例 12 歯，20–40 歳，齲蝕や歯周炎など口腔疾患の合併なく，矯正治療目的に抜歯した第 3 臼歯を採取した．抜去歯より歯肉，歯髄，歯根膜を分離し，3mg/ml の type 5 collagenase で 2 時間処理し，残存したデブリは 70μm nylon filter で濾過し除去，有核細胞数をカウントし 1 x 103, 1 x 104, 1 x105 cells/ 60-cm2 dish と細胞密度を変えて播種し 14 日間培養した．コロニーをクリスタルバイオレットで染色し，コロニー数をカウントして初代培養の至適濃度を決定した．残りの細胞は 0.25% トリプシンおよび 1mM EDTA で処理し，細胞数をカウントした．以後 14 日ごとに継代した．

passage 2 の細胞をフローサイトメトリーにより表面抗原解析した．また，2.5 x 105 細胞をペレットカルチャー法により軟骨分化誘導した．軟骨分化は高い軟骨分化能を有する滑膜間葉細胞をポジティブコントロールとし，軟骨分化のマーカーである type 2 collagen の免疫染色を行った．また aggrecan の real time RT-PCR によって，過去の集合体とする前の単層培養と発現を比較することで解析した．

passage 2 の細胞 100 個を 60cm2 dish に播種し 14 日間培養した後，脂肪分化誘導培地と骨分化誘導培地に置換し 3 週間培養した．脂肪分化能はコロニーの Oil red O 染色陽性率，および基本培地による単層培養と比較した Adipsin の real time RT-PCR によって評価した．骨分化能はコロニーの Alizarin red 染色陽性率，および基本培地による単層培養と比較した real time RT-PCR によって解析した．

in vivo における骨分化能は Fisher 344 rat より抽出した歯肉および歯髄細胞を基本培地で 2 週間培養後，骨分化誘導培地で 3 週間培養し，1x106 細胞を気孔率 75%，ϕ5mm の βTCP dish にマウントして Fisher rat の背筋内に移植した．6 週間後に dish を回収し μCT により解析した．

〈結果〉

14 日間培養した歯肉細胞および歯髄細胞は濃度に比例したコロニー形成能を示した．歯根膜細胞のコロニー形成能は非常に低かった．歯肉細胞と歯髄細胞の 1 歯あたりの収率は歯根膜細胞よりも有意に高かった．歯根膜細胞はその後の解析に必要な細胞数を確保することができなかった．

歯肉細胞および歯髄細胞の表面抗原解析では，造血系幹細胞のマーカーである CD34, CD45, CD117 の発現がほとんど認められず，間葉幹細胞のマーカーである CD44, CD105, CD146, CD166 の発現が認められた．解析した表面抗原の範囲では，歯肉細胞と歯髄細胞の間に有意な表面抗原の差は認められなかった．

軟骨分化能に関しては，歯肉細胞および歯髄細胞の両方で，分化誘導の前後で軟骨分化マーカーである Aggrecan の有意な発現上昇を認めた．また歯肉細胞および歯髄細胞の両方で Toluidine blue 染色および type 2 collagen 陽性の軟骨基質の産生を認めた．ただし，その染色性は，高い軟骨分化能をもつことが示されている滑膜間葉細胞よりも低かった．

脂肪分化能に関しては，歯肉細胞および歯髄細胞の両方で，分化誘導の前後で脂肪分化マーカーである Adipsin の有意な発現上昇を認めた．また歯肉細胞および歯髄細胞の両方で Oil red O 染色陽性のコロニー形成を認めた．コロニーの Oil red O 染色陽性率は歯肉細胞の方が有意に高かった．

骨分化能に関しては，歯肉細胞および歯髄細胞の両方で，分化誘導の前後で骨分化マーカーである osteocalcin の発現上昇を認めた．歯髄細胞においては，RUNX2 の発現上昇も見られた．また歯肉細胞および歯髄細胞の両方で Alizarin red 陽性のコロニー形成を認めた．コロニーの Alizarin red 染色陽性率は歯肉細胞の方が有意に高かった．

in vivo における骨分化能は Fisher 344 rat より摘出した歯肉，歯髄細胞を含む βTCP dish はコントロールをマウントした dish と比較して石灰化した領域が大きかった．

〈考察〉

本研究では歯根膜の細胞収率が歯肉や歯髄と比較して著しく悪かった．歯根膜からは 6 例中 5 例がその後の解析に必要な細胞数に達しなかった．原因としては，歯肉および歯髄組織と比較して歯根膜組織における有核細胞の占める割合が間質に対して低いこと，同一手法での抽出で比較したが 2 時間のコラーゲナーゼ処理が歯根膜組織にとっては過剰であることなどが考えられる．いずれにせよこの低い収率により，歯根膜細胞は再生医療の細胞源としては最適ではないと考えられる．

歯肉細胞および歯髄細胞は類似した表面抗原パターンを示し，造血幹細胞のマーカーである CD34, CD45, CD117 の発現は見られず，間葉幹細胞のマーカーである CD44, CD90, CD105, CD166 の発現が見られた．この発現パターンは骨髄間葉幹細胞や滑膜間葉幹細胞など他の間葉幹細胞とも類似していた．今回調べた表面抗原パターンの範囲ではこれらの細胞源の間に差異は認められなかったが，歯肉，歯髄，その他の間葉幹細胞を区別するような表面抗原が存在する可能性がある．

軟骨分化能に関しては歯肉，歯髄細胞ともに軟骨分化能を示したものの，組織学的解析では軟骨分化能の高い滑膜間葉幹細胞と比較し，軟骨基質産生能が低かった．これは軟骨分化誘導培地のサイトカインの組み合わせや濃度などの条件が滑膜間葉幹細胞に最適化したものを用いたためであり，必ずしも歯肉，歯髄細胞の軟骨分化に最適化されていないためと推測された．

脂肪分化能に関しては歯肉，歯髄細胞共に Oil red O 染色で陽性となるコロニーが認められたものの，その割合は一般的な間葉幹細胞の示す値よりも低値であり，これらの脂肪分化能は低いと考えられた．

骨分化能に関しては，歯肉，歯髄細胞共に Alizarin red 染色で陽性となるコロニーが認められ，その割合は一般的な間葉幹細胞の示す値と同等であった．さらに骨分化マーカーの発現上昇が見られ，また Rat の背筋内へ移植した歯肉，歯髄細胞を含む βTCP disc には石灰化した領域の拡大が認められた．これらのことは歯肉，歯髄細胞が高い骨分化能をもつことを示唆している．

歯肉細胞と歯髄細胞を比較した場合，摘出歯を犠牲にする必要のある歯髄と比較して歯肉は donor site の低侵襲性や高い修復能，増殖能，採取の容易さといった点で優れていると考えられる．歯肉細胞の有用性は Zhang らによるマウスの腸炎モデルでの抗炎症作用などで報告されている．しかし Lin らは，歯肉細胞は増殖能に優れるものの分化能の低い fibroblast 中心の population であるとしている．この差は細胞の抽出方法にあると推定される．

Lin らは歯肉細胞を抽出する際，explant culture 法を用いている．この方法は採取した組織を酵素処理せずに培地に置き，dish に遊走してくる線維芽細胞様細胞を回収する方法であるが，酵素処理を加える方法に比べ低侵襲であるものの，組織の比較的深部にある細胞群を回収できない可能性がある．Tang らや Marynka-Kalmani らは口腔粘膜の粘膜固有層に間葉幹細胞の表面抗原を発現する多くの細胞群が存在すると報告しており，collagenase などによる酵素処理を行う方がこれらの細胞を効率よく回収できると推定された．

〈結論〉

ヒトの抜去歯からの歯肉，歯髄，歯根膜間葉幹細胞の特性を明らかにした．歯肉および歯髄組織からは骨分化能に富み，高い増殖効率を持つ間葉幹細胞群が得られた．歯肉，歯髄組織は再生医療に有用可能な細胞源となりうると考えられた．

加地　啓介 博士（医学）　Keisuke Kaji

学位記番号　／甲第 1887 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　／The Effect of Mastication on Reaction Latency to Unanticipated External Disturbances in the Standing Position
（咀嚼が立位姿勢保持中に加えられた不意の外乱刺激に対する反応に与える影響）
Journal of Medical and Dental Sciences　第 59 巻第 4 号　83–88 頁　平成 24 年 12 月発表

論文審査委員／主査：宗田　大　　副査：下門　顕太郎　　副査：上野　俊明

〈論文要旨〉

咀嚼をすることによって，不意の外乱に対して，立位姿勢を保持しようとする反応の Latency（応答潜時＝外乱刺激の開始から床面を踏ん張ろうと反応した時間）が短縮するかどうかを調べた．対象は健常成人男性 32 名（平均年齢 21.1 歳）とした．Dynamic Posturography（EquiTest® system）の Motor Control Test（MCT）により得られた Latency を，①咀嚼の有無，②外乱刺激の方向，③外乱刺激の強度，の 3 条件について，反復測定 3 元配置分散分析ならびに条件分けしたより低次の分散分析にて比較した．Latency は，下顎安静位に比べ，咀嚼で有意に短縮した（P＜0.00001）．ただし，3 つの条件間には複雑な交互作用があり，咀嚼の単純主効果だけが有意ということはなかった．

咀嚼により，直立位において，外乱に対してバランスを保持する能力を高める効果が確認できたことから，転倒を起こしやすい高齢者などにガムなどを咀嚼させることにより，転倒を予防する可能性が考えられる．

〈緒言〉

咀嚼は，食物の摂取に関係するだけでなく，全身の運動機能にも色々な影響を与えることが知られている．影響を受ける身体機能の一つに立位バランス能力がある．例えば，咀嚼状態を維持することによって，静止立位時の重心動揺が抑制されることが報告されている．立位バランス能力に影響を及ぼす，足関節伸筋および屈筋の H 反射を計測した結果，咀嚼により，足関節伸筋および屈筋の H 反射が持続的に亢進したと報告されている．類似した研究として，咬合することにより，不意の外乱に対して立位姿勢を維持する外乱応答バランス能力が向上することが報告されている（Hosoda et al. 2007）．この研究では，外乱応答バランス能力は EquiTest® system の Motor Control Test によって得られる反応の Latency によって評価された．

高齢者の転倒等は，躓きや滑りのような予測できない状況で生じることから，転倒のしやすさを評価するためには，静的立位保持時の重心動揺よりも，外乱に対する外乱応答バランス能力の方が適切とされている．外乱応答バランス能力は，不意の外乱に対して重心を足の支持面内に安定させる能力であり，EquiTest® system により評価が可能である．EquiTest® system の検査項目のうち，MCT では，被験者を直立させた状態で支持面を急速に移動させ，刺激開始からの Latency を評価する．Latency が低値であるほど，反応時間は早く，バランス能力が高いと判断される．

EquiTest® system は，信頼性が検証され，加齢，性差，転倒経験の有無による違いが検出できることが示されている．

しかしながら，咬合によってバランス能力の向上が期待できても，日常生活の中で常に咬合状態を保って不意の外乱刺激に応答することは現実的に困難である．すなわち，咬合ではなく咀嚼によって，不意の外乱に対してバランスを維持する能力が向上することが期待されるが，これに関する研究報告は見られない．

そこで，本研究では，咬合状態に比べて，日常的に持続的運動が容易である咀嚼を選択して，咀嚼が直立位の外乱応答バランス能力を向上させるかどうかを調べた．

〈方法〉

対象は顎口腔機能や下肢に障害の既往がない，補綴していない健常成人男性 32 名とした（平均：年齢 21.1 歳，身長 173.3cm，体重 67.8kg）．バランス計測には，EquiTest® system の MCT を実施し，Latency を測定項目とした．下顎安静位の条件は口唇を閉じた状態で咬合はせず，口を楽にするように指示した．咀嚼条件を作るために，チューインガムを 1 枚噛ませた．バランス測定開始前 2 分間は起立台上で安静立位をとらせた．1 日の測定は，前方刺激，後方刺激の外乱刺激の方向性，弱，中，強の外乱刺激の強度を組み合わせた合計 6 条件を無作為の順序で行った．外乱刺激の強度について，弱，中，強の順で，プラットフォームの移動距離は 1.0, 2.5, 4.5 の比率で，刺激持続時間は 250,300,400 ms であった．移動距離は，被検者の身長で自動的に補正され 0.5, 1.25, 2.25 ×（height / 72）（cm）であった．同一条件につき 3 回の計測を連続して無作為の間隔（1.5〜2.5s）で実施し，左右それぞれのプラットフォームから出力される Latency の平均値を計算した．そして，Latency の左右の平均値のデータのうち，低値を採用した．32 名の被験者から得られた，咀嚼の有無 2 条件，外乱刺激の方向 2 条件，外乱刺激の強度 3 条件のすべての組み合わせの，12 条件のデータを対象として，反復測定 3 元配置分散分析を行った．反復測定 3 元配置分散分析の結果，交互作用が見られた場合には，多重比較として，反復測定 2 元配置分散分析および反復測定 1 元配置分散分析を行った．有意水準は 5% 未満に設定した．

〈結果〉

反復測定 3 元配置分散分析で，咀嚼の主効果は高度に有意であった（P＜0.00001）．ただし，咀嚼の有無，外乱刺激の方向，外乱刺激の強度の 3 要因が複雑に交互作用していたために，簡単には咀嚼の主効果を判断できなかった．この交互作用は，より低次の分散分析により，中強度の後方刺激において，咀嚼条件間で差が見られなかったことに起因していた．弱と強の刺激強度では，下顎安静位に比べ，咀嚼条件で Latency が顕著に短縮した．従って，総合的には，咀嚼によって Latency が短縮する傾向にあったと言える．

〈考察〉

咀嚼の外乱応答バランスへの影響：咀嚼条件においては，安静下顎位に比べて，不意の外乱に対して Latency が短縮する傾向にあることがわかった．このことから，咀嚼によって，バランスを維持する能力が向上することが示唆された．ただし，Latency には，咀嚼条件，移動方向，移動強度の間に複雑な相互作用があり，単純に咀嚼の効果だけを主張することはできなかった．

過去の研究との比較：Hosoda らの結果では，最大随意収縮（MVC）の 50% にて咬合状態を維持することにより，刺激強度が大きいほど咬合による Latency の短縮効果が大きくなった．一方，今回の咀嚼条件では刺激強度の差は見られなかった．しかし，転倒予

防という観点からは，転倒に備えて常に咬合状態を維持するということは現実的ではない．この点に関して，Kushiro らは，咀嚼により，重心動揺が減少し，静止立位時のバランス能力が向上したと報告している．今回の結果から，咀嚼は，静止立位時のバランスだけでなく，外乱応答バランスを高める効果もあることが確認された．

従って，転倒を起こしやすい高齢者にガムなどを咀嚼させることにより，転倒を予防する可能性が示されたと考えられる．

Latency が短縮した原因：咀嚼により，Latency が短縮した原因としては，脊髄反射の亢進が考えられる．Hagiya らは，足関節伸筋・屈筋の H 反射を計測した研究において，咀嚼により，H 反射が持続的に亢進したと報告している．この亢進は，咀嚼運動中の咬合状態の時にだけ見られるのではなく，咀嚼周期に依存せず，開口時にも観察された．すなわち，咀嚼中は，脳の活性化などを通して，脊髄反射の興奮性が高まり，立位の安定化に必要な下肢の伸張反射の興奮性も，持続的に高められ，不意の外乱刺激に対してすばやく反応できるようになり，この結果，Latency が短縮したと推測された．

咀嚼により高齢者の転倒を予防できる可能性を指摘したが，これを証明するためには，高齢者を対象にした同様な研究が必要である．

〈結論〉

咀嚼は，下顎安静位に比べ，MCT の Latency を短縮させた．すなわち咀嚼を行うことにより，立位での外乱刺激に対して素早く反応でき，外乱応答バランス能力が向上し，高齢者の転倒予防に寄与できるという可能性が示された．

西田　秀範 博士（医学） Hidenori Nishida

学位記番号　／甲第 1888 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　／Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Signaling Pathway Activates the WNK-OSR1/SPAK-NCC Phosphorylation Cascade in Hyperinsulinemic db/db Mice（高インスリン血症モデル db/db マウスにおける PI3K/Akt シグナル経路の WNK-OSR1/SPAK-NCC リン酸化カスケードに与える影響に関する研究）
Hypertension　第 60 巻第 4 号　平成 24 年 10 月発表

論文審査委員／主査：小川　佳宏　　副査：仁科　博史　　副査：澁谷　浩司

〈論文要旨〉

メタボリックシンドロームを有する患者でインスリン抵抗性による高インスリン血症や腎臓におけるナトリウム再吸収の亢進が見られるが，その関連についての詳細なメカニズムは不明である．我々はこれまでに遺伝性の塩分感受性高血圧疾患である偽性低アルドステロン症 II 型（PHAII）において，その原因遺伝子の 1 つである with-no-lysine（K）（WNK）キナーゼの変異により OSR1 及び SPAK の 2 つのキナーゼがリン酸化，活性化されることで腎臓の遠位尿細管にある NaCl 共輸送体（NCC）のリン酸化が亢進するということを明らかにしている．また，NCC のリン酸化の制御には塩分調節に関わる因子であるアルドステロンやアンジオテンシン II だけでなく，インスリンも関与していると最近報告した．しかしながら，インスリンの生理的状況下での NCC の制御調節についての関連は不明であった．今回，2 型糖尿病のモデルマウスである db/db マウス及び db/db マウスと OSR1 及び SPAK の不活化ノックインマウスとのダブルノックインマウスを用いて慢性の高インスリン状態において WNK-OSR1/SPAK-NCC リン酸化カスケードが亢進していること，またインスリンの下流に存在する phosphatidylinositol 3-kinase（PI3K）/Akt の阻害剤をマウスに投与した結果から PI3K/Akt シグナル伝達系が同カスケードの制御に重要な役割を果たしていることを発見した．このメカニズムはメタボリックシンドロームの様な慢性の高インスリン状態における塩分感受性高血圧の病態に関与している事が示唆される．

〈諸言〉

偽性低アルドステロン症（PHAII）は腎遠位尿細管での塩分再吸収亢進により塩分感受性高血圧を引き起こす遺伝性高血圧疾患である．PHAII の原因遺伝子として，with-no-lysine kinase 1 及び 4（WNK1 及び WNK4）が報告されている．これまでに我々は PHAII の疾患モデルマウスである Wnk4 D561A/＋ノックインマウスを作製し，その病態が WNK-oxidative stress-response kinase 1（OSR1), STE20/SPS1-related proline/alanine-rich kinase（SPAK)-NaCl 共輸送体（NCC）のリン酸化カスケードの亢進による NCC の恒常的機能亢進であると示した．

NCC のリン酸化に関与する調節因子にはアルドステロンやアンジオテンシン II，細胞外 K などが報告されており，WNK-OSR1/SPAK-NCC のリン酸化カスケードは PHAII のみならず生理的状況下における NaCl の恒常性や血圧の維持調節に重要な役割を果たしていると示唆される．

高血圧，耐糖能異常，肥満，脂質異常を伴うメタボリックシンドロームを有する患者が増加してきており，その対策は喫緊の課題である．メタボリックシンドロームにおいては塩分感受性が亢進しており，塩分感受性高血圧が見られると報告されているが，その詳細なメカニズムについては不明である．近年，我々はインスリンの急性負荷により OSR1/SPAK 及び NCC のリン酸化が亢進することを in vivo で示した．しかし生理的状況下における慢性の高インスリン状態で NCC のリン酸化が亢進しているかどうか，またそのシグナル伝達経路については不明であった．

本論文では，高インスリン状態と塩分感受性高血圧に関連するメカニズムの存在を明らかにするため，メタボリックシンドロームのモデルマウスである db/db マウス及び db/db マウスと OSR1 及び SPAK の不活化ノックインマウスとのダブルノックインマウスを用いて慢性の高インスリン状態における NCC のリン酸化の亢進及びそのメカニズムについて解析した．その結果，インスリンの下流のシグナルである phosphatidylinositol 3-kinase（PI3K）/Akt シグナルがその過程において重要な役割を果たしていることが示唆された．

〈方法〉

db/db マウス及びコントロールの db/m マウスに対し，サイアザイド感受性試験及び低塩食（0.01%）及び高塩食（4%）の負荷を行った．また，アルドステロンの影響を除外するためにエプレレノン投与を行い，各条件において tail cuff を用いた血圧測定及び腎臓を摘出し蛋白を抽出，ウエスタンブロッティングを施行した．次に，db/db マウスにおける NCC リン酸化の変化における WNK4-OSR1/SPAK の関与を調べるため，OSR1 及び SPAK の WNK4 によってリン酸化を受ける部位を不活化した変異マウス（Spak T243A/＋及び Osr1 T185A/＋）と db/db マウスを交配させダブルノックインマウスを作製，同様に血圧の測定及び腎臓の蛋白を抽出し解析した．db/db マウスにおける NCC リン酸化の変化におけるインスリンの影響を調べるために，インスリンシグナルの下流にある PI3K 及び Akt を阻害する薬剤を用いて，それらの薬剤に対する NCC リン酸化の変化及び血圧の変化を解析した．

〈結果〉

db/db マウスにおいて，コントロールマウスと比較し高インスリン血症及び高血圧が認められた．高血圧における NCC の関与を調べるため，NCC の阻害剤であるサイアザイドの感受性を調べたところ，コントロールマウスでは抑制されている低塩分食制限下においても db/db マウスにおける尿中の Na 排泄は亢進しており，サイアザイド感受性の亢進が認められた．db/db マウスでは低塩食においてのみでなく，アルドステロンが抑制される高塩食においても腎臓の OSR1/SPAK 及び NCC のリン酸化は亢進していた．さらにアルドステロンの影響を最小限とするためエプレレノン投与下の変化について解析したが，コントロールマウスと比較した db/db マウスにおける NCC リン酸化の亢進に変化は見られなかった．

db/db マウスの NCC リン酸化の亢進における WNK キナーゼ及び OSR1/SPAK の関与を調べるため，db/db マウスと Spak T243A/＋及び Osr1 T185A/＋のノックインマウスを交配させ，ダブルノックインマウスを作製した．それらのダブルノックインマウスにおいては，db/db マウスと比較し体重及びインスリン濃度，血糖及び脂質に変化は見られなかったが，亢進していた NCC のリン酸化は抑制され，血圧の低下も認められた．

db/db マウスの NCC リン酸化亢進におけるメカニズムを調べるため，インスリンシグナルの下流にある PI3K 及び Akt を，その阻

害剤を用いて抑制し解析した．まずコントロールマウスにおいて，インスリン投与によるNCCリン酸化の亢進はPI3K阻害剤であるNVP-BEZ235及びGDC-0941, Akt阻害剤であるMK-2206との併用投与により抑制されることを確認した．次に，db/dbマウス及びコントロールにこれら阻害剤の投与を行い，各タンパク質の発現及びリン酸化を評価した．その結果，PI3K/Aktの各阻害剤の投与によりdb/dbマウスにおけるOSR1, SPAK及びNCCのリン酸化の亢進はいずれも抑制された．また，血圧もNVP-BEZ235投与によりコントロールマウスと同程度まで低下した．

〈考察〉

これまでに当研究室では，遺伝子改変マウスを用いた実験を通して，腎臓におけるWNK-OSR1/SPAK-NCCリン酸化カスケードの存在及びそのNa再吸収に関わる重要性について示してきた．現在，このリン酸化カスケードは食事中の塩分量に伴うアルドステロンやアンジオテンシンII，細胞外K，インスリンなどにより制御を受けることが報告されている．このことから，WNK-OSR1/SPAK-NCCリン酸化カスケードはPHAIIの病態において重要であるとともに，生理的な状況下でのNaCl恒常性の維持及び血圧調節に重要であると考えられる．

メタボリックシンドロームが心血管疾患や慢性腎臓病，及び死亡のリスクを増加させることはこれまでに数多く報告されている．これまでに，メタボリックシンドロームを有する患者において血管のインスリン抵抗性からインスリンによる血管拡張作用がなくなる，また腎臓尿細管ではインスリン抵抗性が認められず高インスリン状態によるインスリン作用の増強から塩分再吸収亢進が生じるというメカニズムから塩分感受性を引き起こし，その結果塩分感受性高血圧が生じることも報告されている．

本研究で，メタボリックシンドロームモデルマウスであるdb/dbマウスにおけるOSR1/SPAK及びNCCのリン酸化が亢進していること，不活化ノックインマウスの解析結果からそのリン酸化亢進にWNKキナーゼによるOSR1/SPAKのリン酸化が必須であることが明らかとなった．これらの結果から，高インスリン状態における塩分感受性高血圧においてインスリン-PI3K/Akt-WNK-OSR1/SPAK-NCCリン酸化カスケードが重要な役割を果たしていると考えられた．また，高塩分食制限下において低アルドステロンによりWNK-OSR1/SPAK-NCCリン酸化カスケードは抑制されることが報告されているが，db/dbマウスにおいては高塩分食制限下でコントロールマウスと比較し有意に低アルドステロン状態にありながらもNCCリン酸化は亢進しており，このカスケードにおけるインスリン-PI3K/Aktシグナル伝達系がWNK-OSR1/SPAK-NCCリン酸化カスケードに及ぼす作用がアルドステロンによる作用とは独立しており，高インスリン血症が高塩食摂取による低アルドステロンによるWNK-OSR1/SPAK-NCCリン酸化カスケードのダウンレギュレーションによるNCCリン酸化の抑制を阻害する結果，塩分感受性高血圧を引き起こすことが示唆される．

PI3K及びAktの阻害剤がdb/dbマウスにおけるNCCリン酸化の亢進を抑制したことから，インスリン-PI3K/Aktシグナル伝達系がdb/dbマウスにおけるWNK-OSR1/SPAK-NCCリン酸化カスケードの亢進に重要な役割を果たしていることが示唆されるが，WNK自体の活性化に対し果たす役割については不明であり，今後の更なる検討が必要である．

〈結論〉

高インスリン状態にあるdb/dbマウスにおけるNCCリン酸化の亢進はPI3K/Aktシグナル伝達系により制御され，このインスリン-PI3K/Akt-WNK-OSR1/SPAK-NCCシグナルカスケードはメタボリックシンドロームをはじめとする高インスリン状態における塩分感受性高血圧の一因となる可能性がある．

Muhammad Zakir Hossain Khan 博士（医学）

学位記番号　／甲第 1889 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　／Phosphorylation of Na-Cl cotransporter by OSR1 and SPAK kinases regulates its ubiquitination（OSR1 と SPAK による NaCl 共輸送体のリン酸化制御におけるユビキチン化の関与に関する研究）
Biochemical and Biophysical Research Communications　第 425 巻第 2 号　456–461 頁　平成 24 年 8 月発表

論文審査委員／主査：畑　裕　　副査：古川　哲史　　副査：仁科　博史

〈論文要旨〉

1. Summary

Na-Clcotransporter（NCC）is phosphorylated in its amino terminus based on salt intake under the regulation of theWNK-OSR1/SPAK kinase cascade.We have observed that total protein abundance of NCC and its apical membrane expression varies in the kidney based on the phosphorylation status. To clarify the mechanism, we examined NCC ubiquitination status in mice fed low, normal and high salt diets, as well as in a model mouse of pseudohypoaldosteronism type II（PHAII）where NCC phosphorylation is constitutively elevated. Low-salt diet decreased NCC ubiquitination, while high-salt diet increased NCC ubiquitination in the kidney, and this was inversely correlated with total and phosphorylated NCC abundance. In the PHAII model, the ubiquitination of NCC in kidney was also lower when compared to that in wild-type littermates. To evaluate the relationship between phosphorylation and ubiquitination of NCC, we expressed wild-type, phospho-deficient and -mimicking NCC in COS7 cells, and the ubiquitination of immunoprecipitated total and biotinylated surface NCC was evaluated. NCC ubiquitination was increased in the phospho-deficient NCC and decreased in phospho-mimicking NCC in both total and surface NCC. Thus, we demonstrated that NCC phosphorylation decreased NCC ubiquitination, which may contribute to the increase of NCC abundance mostly on plasma membranes.

2. Introduction

The thiazide-sensitive NaCl co transporter（NCC）is essential for sodium reabsorption at the distal convoluted tubules（DCT）in the kidney. NCC is phosphorylated at several amino-terminal serine and threonine residues（T53, T58 and S71 in mouse NCC）by OSR1/SPAK, which is highly elevated in Wnk4D561A/+ knock-in mice, a model of pseudo-hypoaldosteronism type II（PHAII）. PHAII was shown to be caused by mutations in the with-no-lysine kinases 1 and 4（WNK1 and WNK4）, and we clarified that the pathogenesis of PHAII was the constitutive activation of a phosphorylation signal cascade consisting of WNK kinase, oxidative stress-responsive kinase-1（OSR1）, STE20/SPS1-related proline/alanine-rich kinase（SPAK）and NCC.

NCC phosphorylation is increased by a low-salt diet through aldosterone. Angiotensin II and insulin were also found to increase NCC phosphorylation. Interestingly, total protein abundance of NCC appeared to vary according to NCC phosphorylation in these cases. Similar phenomena were also observed in Wnk4D561A/+ knock-in, SPAK knockout, SPAK and OSR1 knock-in mice, thus suggesting that NCC phosphorylation is able to regulate its total protein abundance mostly on plasma membranes. However, the underlying mechanisms of how phosphorylation of NCC increases surface expression have yet to be clarified. Numerous membranous proteins, including various ion transporters of the kidney, have been shown to be degraded in a regulated manner that involves ubiquitination. In this study, we found that dietary salt intake regulates NCC ubiquitination and phosphorylation in vivo. Similarly, NCC ubiquitination was decreased in a PHAII mouse model. In addition, we clarified that NCC phosphorylation regulates NCC ubiquitination. Thus, ubiquitination of NCC may be an important determinant of NCC protein abundance and plasma membrane localization within cells.

3. Methods

To examine NCC ubiquitination status in wild-type mice fed normal, low and high salt diets and also in PHA-II model mice, NCC was immunoprecipitated from thesemice kidney homogenates. By western blotting of immunoprecipitated NCC, ubiquitination status was evaluated.

Relation between phosphorylation and ubiquitination of NCC was evaluated by transiently expressing the full-length wild-type T7-tagged NCC, phospho-deficient and phospho-mimicking mutant of wild-type NCC in COS7 cell. These three types of NCC were isolated from whole cell lysates by immunoprecipitation and from cell surface by cell surface biotinylation-immunoprecipitation-neutr-avidin pull down.

4. Results

NCC protein abundance and phosphorylation were increased under a low-salt diet and decreased under a high-salt diet, as reported previously. NCC ubiquitination was then evaluated under the same conditions. Ubiquitination of NCC was significantly elevated and reduced in kidneys from mice fed high-salt and low-salt diets, respectively.

In PHAII mouse model, both total and phosphorylated NCC was elevated in the kidney while mRNA was not increased. As observed in the mice fed low-salt diet, NCC was less ubiquitinated in the PHAII model mouse kidney, compared with wild-type littermates. These results clearly indicate that increased phosphorylation of NCC by activated WNK-OSR1/SPAK-NCC phosphorylation cascade results in decreased ubiquitination of NCC.

In mice, the major sites of NCC phosphorylation by OSR1 and SPAK are Thr 53, Thr 58 and Ser 71. To clarify the relationship between the phosphorylation of NCC at these sites and NCC ubiquitination, we transfected T7-tagged the phospho-deficient and -mimicking mutant NCC along with wild-type NCC into COS7 cells, and evaluated the ubiquitination of these mutants. Immunoblots of whole cell lysates revealed that total protein abundance of the phospho-mimicking NCC was significantly higher than wild-type and phospho-deficient NCC, thus suggesting that degradation of the phospho-mimicking NCC was decreased. Ubiquitination of the phospho-mimicking NCC was less than that of wild-type and the phospho-deficient NCC, and was inversely correlated with total NCC abundance. These results clearly indicate that phosphorylation of NCC at Thr 53, Thr 58 and Ser 71 decrease NCC ubiquitination, and as a result, increase NCC protein abundance.

Immunoblots of biotinylated cell surface protein with NCC antibody revealed that the cell surface expression of the phospho-mimicking NCC was much higher when compared with wild-type and phospho-deficient NCC.

Phospho-mimicking NCC in the plasma membranes showed less ubiquitination than wild-type and phospho-deficient NCC, indicating that the NCC phosphorylation decreases its ubiquitination within plasma membranes.

5. Discussion

In this study, we clarified the role of phosphorylation on NCC abundance by focusing on NCC ubiquitination. We found that total protein abundance of the phospho-mimicking NCC in COS7 cells was significantly increased, as compared to phospho-deficient and wild-type NCC. Moreover, ubiquitination of phospho-mimicking NCC is lower than that of wild-type and phospho-deficient NCC, and inversely correlated with abundance. These results clearly indicate that either phosphorylation of NCC inhibits or dephosphorylation of NCC promotes NCC ubiquitination, thereby regulating NCC abundance within cells. This notion was supported by the in vivo evidence, i.e., the decreased NCC ubiquitination in Wnk4D561A/+ knock-in PHAII model mice, where increased NCC phosphorylation and total protein abundance were observed in the kidney. As the mRNA of NCC was not increased in this PHAII mouse model, it was clear that the degradation pathway of NCC played a key role in increased protein abundance. In addition to the PHAII mouse model, we also confirmed in wild-type mice that the increased and decreased phosphorylation of NCC by different salt diets decreased and increased NCC ubiquitination, respectively. Based on these data, we concluded that the ubiquitination of NCC is a major mechanism for regulating NCC protein abundance in kidney following changes in NCC phosphorylation. In addition to total NCC protein abundance within cells, plasma membrane localization is important for NCC function in vivo. Ubiquitination regulates a number of cell surface proteins by stimulating their internalization from the cell surface. It was previously shown that NCC phosphorylated at Thr 53, Thr 58 and Ser- 71accumulated in the apical membranes of DCT, thus suggesting that phosphorylation of NCC is important for plasma membrane localization. However, the underlying mechanism（s）remain to be determined. In our biotinylation assay, we demonstrated that phosphorylation of NCC regulates surface expression as observed in the in vivo kidney. Furthermore, we found that the phospho-mimicking NCC showed less ubiquitination within the plasma membranes, thus suggesting that the phosphorylated NCC in the plasma membranes is less ubiquitinated, thereby increasing NCC abundance in plasma membranes. Although there have been several reports on the ubiquitination of NCC, further investigations will be required to clarify the detailed mechanism（s）of how phosphorylation of NCC affects the ubiquitination of NCC.

6. Conclusion

We demonstrated that NCCphosphorylation increased plasma membrane localization of NCC and decreased NCC ubiquitination. Decreased ubiquitination may be a major mechanism for accumulation of phosphorylated NCC in the plasma membranes.

〈要旨〉

サイアザイド感受性 NaCl 共輸送体（NCC）は腎臓遠位尿細管における Na 再吸収を担う輸送体である．最近，我々は WNK キナーゼが OSR1 と SPAK という 2 つのキナーゼのリン酸化を介して，NCC をリン酸化すると同時に尿細管管腔側膜での発現を増やし，遺伝性高血圧疾患である偽性低アルドステロン症 II 型（PHAII）を引き起こすことを明らかにした．この WNK-OSR1/SPAK-NCC リン酸化カスケードは生理的な NaCl の出納にも関わることも我々は報告しており，塩分制限やアルドステロンなどによって NCC リン酸化は亢進して塩分の腎臓での再吸収を亢進させる．しかし，NCC のリン酸化が細胞膜での発現をどのように調節しているかは不明であった．今回我々は，細胞膜での NCC 発現におけるユビキチン化の関与について野生型及び PHAII の病態モデルである Wnk4 D561A/＋ノックインマウスを用いて検討し，解析を行った．

NCC のリン酸化と蛋白発現は低塩分食や PHAII モデルマウスにおいて亢進していた．PHAII モデルマウスの NCC の mRNA は増加しておらず，蛋白発現の増加は degradation pathway によるものと考えられ，事実 NCC のユビキチン化が抑制されていることを発見した．NCC の OSR1/SPAK によるリン酸化部位がユビキチン化を制御しているとの仮説をたて，同部位の Phospho-mimicking NCC と Phospho-deficient NCC を用いて検証した．結果，NCC のリン酸化は NCC 発現を増加させると同時にそのユビキチン化を抑制し，ビオチン化を用いた細胞膜での検討でも同様に NCC ユビキチン化がリン酸化によって抑制されていた．これらの結果から，NCC のリン酸化により細胞膜での NCC ユビキチン化が抑制されることにより，細胞膜への発現が増加して塩分再吸収が亢進することが明らかになった．

宮脇　豊 博士（医学）　Yutaka Miyawaki

学位記番号　／甲第 1890 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　／Genomic copy-number alterations of MYC and FHIT genes are associated with survival in esophageal squamous-cell carcinoma（遺伝子 MYC および FHIT のゲノムコピー数異常が食道扁平上皮癌における有益な新規予後予測因子であることの同定および検証　に関する研究）

Canncer Science　第 103 巻第 8 号　1558–1566 頁　平成 24 年 8 月発表

論文審査委員／主査：杉原　健一　　副査：北川　昌伸　　副査：三木　義男

〈論文要旨〉

近年の診断学および癌治療の進歩に関わらず，食道扁平上皮癌（ESCC）患者の予後は依然として不良である．アレイ CGH 法をはじめとした種々のゲノムコピー数解析によって ESCC におけるゲノムコピー数異常がすでに数多く同定されているが，その臨床的意義の多くは依然として明らかでない．我々は当教室で自作したアレイ CGH 法を用いて，ESCC 患者群において高頻度なゲノムコピー数異常を認め，かつ予後との相関を認める 2 つの遺伝子領域として *FHIT* および *MYC* を同定した．この新規予後因子候補について，新たな独立した ESCC のコホートを用いて検証解析を行い，独立した予後因子であることを確認した．この 2 遺伝子のゲノムコピー数異常の有無を用いたリスク分類は，手術切除後の ESCC 患者に対する治療戦略において有益な指標となりえるものと考えられた．

〈緒言〉

食道扁平上皮癌（ESCC）は本邦における代表的な消化器癌であり，近年の癌治療における診断学および治療方法の発達にも関わらず，その予後は依然として不良である．また臨床においても，依然として病理学進行度等の限られた予後因子によって治療方針を決定しているのが現状であり，治療および診断学的に有益な分子生物学的バイオマーカーは実用段階にない．本研究は分子生物学的および臨床学的両面において，ESCC の有益な新規バイオマーカーの探索を目的としている．

〈方法〉

当教室では，既知の癌遺伝子および癌抑制遺伝子といった癌関連遺伝子における腫瘍特異的なゲノムコピー数異常の探索を目的に，厳選された既知の癌関連遺伝子 108 種類にそれぞれ対応した 108 個の細菌人工染色体（BAC）をプローブとして搭載した MCG Cancer Array-Mini と命名したアレイ CGH を製作している．45 例の食道癌手術切除検体に対して，MCG Cancer Array-Mini を用いたコピー数解析をゲノムワイドに行い，高頻度にゲノムコピー数異常が認められるゲノム領域を選出した．アレイ CGH にて選出された各プローブに対応した遺伝子群のコピー数異常の有無と 45 例の食道癌患者の術後生存期間との相関をそれぞれ検討し，*FHIT* と *MYC* のゲノムコピー数異常を食道癌の新規予後予測マーカー候補として選出した．この候補 2 遺伝子が独立した予後因子であることを明らかとするために，さらに新たな 92 例の食道癌根治切除症例検体に対して定量的ゲノミック PCR（gPCR）法を用いたゲノムコピー数解析を検証解析として行った．

〈結果〉

45 例の食道癌手術切除検体に対するアレイ CGH 法を用いたゲノムコピー数解析において，総数 344 の遺伝子増幅領域，124 の遺伝子欠失領域を認め，染色体上の不安定性を反映する 1 つ以上のプローブでのゲノムコピー数異常が認められた症例は全 45 検体中 41 検体（91.1%）であった．染色体上の不安定性を示した 41 検体において，108 個の BAC プローブのうち 93 個に増幅あるいは欠失を認め，4 ヶ所の遺伝子欠失領域および 9 カ所の遺伝子増幅領域は比較的高頻度（20% 以上）に ESCC 検体に共通したゲノムコピー数異常が認められた．この 45 症例における染色体不安定性（chromosomal instability: CI）と臨床病理学的因子との相関を検討した．染色体不安定性を評価するために，ゲノムコピー数異常を示したプローブ数の多寡から染色体不安定性の状態を 3 グループに分類し検討を行った．CI ステータスは年齢，性別，組織型，病理学的 TNM 因子，および病理学的進行度のいずれとも相関を示さなかったが，CI ステータスは OS に対しては関連を示した．この結果は腫瘍における CI ステータスが ESCC の発達になんらかの貢献していることを示していると思われた．次に，前述の 14 の遺伝子領域のコピー数異常の有無と ESCC45 例の術後全生存期間（OS）との関連をそれぞれ検討した結果，この 14 遺伝子の中でも特に *FHIT* と *MYC* をコードしている 3p14.2 領域の欠失と 8q24.21 の増幅の有無は有意に OS との関連を認めた（log rank test $P = 0.0273$, $P = 0.0356$）．さらに両遺伝子のコピー数異常の有無を 3 群に分類し，定義した FM-CNA score も有意に予後との関連を示した（log rank test $P = 0.0089$）．また CI ステータスは 3p14.2（*FHIT*, $P = 0.0273$）領域の欠失，8q24.21（*MYC*, $P = 0.0356$）領域の増幅および FM-CNA score（$P = 0.0089$）と関連が示された．これらの結果から，3p14.2（*FHIT*）領域の欠失および 8q24.21（*MYC*）領域の増幅は単独もしくは両者で，ゲノムワイドな染色体不安定性を少なくとも一部反映しており，ESCC 患者の有益な予後因子となりうる可能性が示されたものと考えた．そこで新たに独立した ESCC 患者のコホートにおいて，3p14.2（*FHIT*）領域および 8q24.21（*MYC*）領域におけるコピー数異常の有無と臨床病理学因子との関連を検討することとした．解析手法には定量的 gPCR を選択した．まず aCGH と定量的 gPCR によるコピー数解析の結果における調和性を検討した．アレイ CGH に用いた 45 症例のうち，FFPE から十分なゲノム DNA を抽出できた 34 例を対象として，アレイ CGH，定量的 gPCR での両遺伝子のゲノムコピー数解析の結果を比較し，ROC 曲線を作成した．AUC は *FHIT* の欠失，*MYC* の増幅でそれぞれ 0.929 , 0.858 を示し，最高の感度・特異度を示す値を定量的 gPCR におけるカットオフ値とした．92 例の食道癌根治切除症例における検証解析を行い，定量的 gPCR によるコピー数解析での *FHIT* 欠失，*MYC* 増幅の有無および FM-CNA score は OS（$P = 0.0011, 0.0104, 0.0008$）および術後無再発生存期間（DFS, $P = 0.0038, 0.0132, 0.0021$）と明らかに相関を示すことが確認できた．Cox 回帰分析を用いた多変量解析においてもこの 2 遺伝子のコピー数異常のいずれか一方を有することが OS（$P = 0.0120$）および DFS（$P = 0.0255$）に関連する独立因子であることが示された．また *FHIT*, *MYC* の少なくともどちらか一方のゲノムコピー数異常を認めた群（FM-CNA score 1. 2）の術後 5 年間における原病死および再発をきたす確率に対する感度はそれぞれ 87.5% , 79.6% であり，特度はそれぞれ 50.0% , 52.6% であり，精度はそれぞれ 68.8% , 68.5% であった．

〈考察〉

FHIT は癌抑制遺伝子であるとともに，食道癌を含む多くの腫瘍において高頻度に染色体異常を示している 3p14.2 領域における代表的な染色体不安定部である FRA3B に及んでいる．すでに他の研究グループによって *FHIT* 遺伝子領域のヘテロ欠失と *FHIT* の蛋白レベルでの発現低下あるいは消失が ESCC において高頻度に認め，*FHIT* は早期および進行 ESCC において高頻度にメチル化を認め，このことが FHIT の発現低下の主な原因となることが報告されている．上記の既知の報告と本研究による知見を併せると，FHIT 遺伝子の発現消失やメチル化の状態と ESCC 患者の予後との関連については依然として余地があるものの，FHIT のゲノムコピー数異常はメチル化の状態や遺伝子発現や不活性化の状態を反映しており，ESCC の進行度に寄与する妥当的かつ汎用性のある予後予測因子であると思われる．

MYC（*c-myc*）は細胞増殖能，分化能およびアポトーシスを制御する転写因子をコードする癌原遺伝子であり，その遺伝子増幅や過剰発現が様々なヒト腫瘍において観察されることが数多く報告されている．本研究においても ESCC において *MYC* の高頻度なゲノムコピー数の増加が認められたが，その予後因子としての臨床関連はごくわずかな報告にすぎず，手術単独あるいは集学的治療を施行した ESCC における検討において，*MYC* の増幅は全生存期間に関連を認めなかったことや，ESCC において *MYC* の遺伝子コピー数と発現レベルに関連を認めなかったことが報告されている．ESCC における MYC のゲノムコピー数の変化がどうような意義を有するかについては，依然として多くの点が不明であるが，過去の報告から *MYC* の遺伝子増幅そのものは *MYC* の発現活性および癌遺伝子としての機能の発揮に寄与していない可能性が示されている．本研究でも示されたように，ESCC における MYC のゲノムコピー数の変化は，MYC の機能的な標的である癌遺伝子の活性化や癌抑制遺伝子の不活性化に関与するゲノムコピー数の不安定性の状態を示す指標である可能性があるものと考えられた．したがって ESCC の癌化の過程に関与している様々な遺伝子の活性変化を機能的に意味する有効な指標にありうるものと思われた．

〈結論〉

FHIT および *MYC* の両者あるいは一方のゲノムコピー数異常は ESCC 患者の予後と関連し，外科的切除術後の原病死および再発を予測する独立した有効な予後因子であることが示された．一方で，外科的切除術後の ESCC 患者に対する治療成績に対し，より一層の貢献を果たすには治療の選択に直結した 2 遺伝子のゲノムコピー数異常に基づいたリスク分類を用いた更なる前向き研究が求められるものと考えた．

岡本　直子 博士（医学）　NAOKO OKAMOTO

学位記番号　／甲第 1891 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　／“Crawling-type” adenocarcinoma of the stomach: a distinct entity preceding poorly differentiated adenocarcinoma
（胃の “横這型” 腺癌は，低分化型癌に先行する特徴を持つ胃癌の一亜型である）
Gastric Cancer　平成 24 年 8 月 online 発表

論文審査委員／主査：北川　昌伸　　副査：杉原　健一　　副査：山口　朗

〈論文要旨〉

“横這型”胃癌（“crawling-type” adenocarcinoma: CTAC）は，低異型度の癌細胞から構成される不規則融合腺管から成り，粘膜内を水平方向へ広がる傾向の腫瘍である．本研究では，CTAC の臨床病理学的特徴を明らかにするために，粘膜内癌（M-CTAC）16 例，粘膜下層浸潤癌（SM-CTAC）9 例を含む計 25 例の CTAC を検討した．好発部位は胃角小弯側，肉眼型は表面型であった．組織学的には，全例に嚢状拡張腺管を，16 例に印環細胞を認めた．粘膜下層浸潤部は低分化腺癌から成り，間質増生を伴い浸潤性増殖を示した．背景粘膜は，15 例で腸上皮化生を伴わない胃固有粘膜か，腸上皮化生を部分的に認める粘膜であった．形質発現では 24 例が粘膜内で胃腸混合型を示した．粘膜内低分化成分（Intramucosal poorly differentiated component: PDC）の最大径が 10mm 超の群では粘膜下層浸潤が，20mm 超の群ではリンパ節転移の頻度が有意に高かった（P＝0.041，P＝0.039）．Ki-67 陽性細胞が粘膜内の 50% 以上占める症例では，粘膜下層浸潤を多く認めた（P＝0.027）．p53 過剰発現は，粘膜内では全例で陰性であった．

CTAC は従来の Laurén 分類では分類困難な一亜型といえる．さらに，PDC 増大と，Ki-67 陽性細胞分布の拡大が，粘膜下浸潤やリンパ節転移を予測する因子となりうることが示された．

〈緒言〉

胃癌は，腺管形成の有無により Intestinal type と Diffuse type に（Laurén 分類），組織発生の観点から分化型，未分化型に分類（Nakamura 分類）される．

早期胃癌，特にリンパ節転移の可能性が低い病変を対象とし，内視鏡治療が広く行われている．高分化成分と低分化成分が混在する早期胃癌に対する内視鏡的治療の適応については，エビデンスが不十分であり一定の結論が出ていない．本研究では，そのような病変の一つである“横這型”胃癌（“crawling-type” adenocarcinoma: CTAC）に注目した．

CTAC は，粘膜内を這う様な進展様式から滝澤らが命名したものである．組織学的には，低異型度の癌細胞から構成される不規則融合腺管が増殖帯を中心に水平方向に広がり，時に印環細胞を併存する．CTAC を認識することの重要性は過去に示されているが，臨床病理学的特徴は十分に述べられていない．本研究では，25 例の CTAC を検討し，CTAC 診断の臨床的意義を明らかにするとともに，粘膜下浸潤およびリンパ節転移を予測する病理学的危険因子についても検討した．

〈方法〉

2002 年 1 月から 2011 年 7 月の間に東京医科歯科大学医学部附属病院にて外科的切除，および 2003 年 10 月から 2011 年 7 月の間に九段坂病院にて内視鏡的治療が行われた前治療のない原発性胃腺癌（pT1）691 症例から CTAC を抽出した．Hematoxylin-Eosin 染色，Elastica van Gieson 染色，免疫組織化学的染色（Immunohistochemistry: IHC）を行い検討した．病理組織学的診断には滝澤らの診断基準を用いて，わずかでも CTAC 成分を含む腺癌を抽出した．二人の独立した観察者が判定を行い，相違ある場合は再検討し合意を得て判定を行った．

年齢，性別，治療法，占拠部位，肉眼型，潰瘍性変化の有無，リンパ節転移の有無について検討した．さらに，胃癌学会取扱い規約に従い，壁深達度の評価は癌が粘膜内に留まるものを M，癌が粘膜下層に浸潤する場合は SM に分類し，癌間質量は，髄様型，中間型，硬性型に，浸潤増殖様式は，INFa,INFb,INFc に分類した．背景粘膜の腸上皮化生の程度は，びまん性，部分的，なしの 3 群に分類した．形質発現の検討には，胃型マーカー（HGM，MUC6），腸型マーカー（MUC2，CD10，Cdx2）を用いた IHC を行い，10% 以上を陽性として，G-phenotype（胃型陽性，腸型陰性），I-phenotype（胃型陰性，腸型陽性），MG-phenotype（胃型・腸型陽性，胃型優位），MI-phenotype（胃型・腸型陽性，腸型優位），N-type（全て陰性）に分類した．粘膜内で腺管構造を持たない印環細胞または低分化腺癌のみから構成される成分を，粘膜内低分化成分（Intramucosal poorly differentiated component: PDC）と定義し，最大径を計測した．さらに Ki-67 陽性細胞の分布を検討し，陽性細胞が粘膜層の 50% 未満に留まるものを limited pattern,50% 以上を占めるものを expanded pattern とした．p53 過剰発現は，核濃染像をびまん性に認める場合を陽性とした．

統計解析は，Fisher の正確確率検定，Mann-Whitney の U 検定，Wilcoxon の符号順位検定を行い，P 値が 0.05 未満であれば統計学的に有意であるとした．

〈結果〉

CTAC 25 例（全体の 2.9%，M-CTAC: 16, SM-CTAC: 9）を抽出した．男女比は 21：4 で，年齢は 40–84 歳（平均 61），好発部位は胃体中部（76%），小弯側（40%）であった．腫瘍最大径は 16–185mm（平均 33）で，SM-CTAC における粘膜内最大径は浸潤部最大径より有意に大きかった（P＝0.008）．肉眼型は，表面陥凹型（84%）または表面平坦型（16%）に分類された．

組織学的には，低異型度の癌細胞から構成される不規則融合腺管が増殖帯を中心に広がり，全例に立方状の淡好酸性細胞質を有する癌細胞から構成される嚢状拡張腺管を，16 例に印環細胞を認めた．粘膜下層浸潤部は全例が低分化腺癌で構成されていた．3 例（SM-CTAC: 3）に脈管侵襲を，4 例（M-CTAC: 1, SM-CTAC: 3）にリンパ節転移を認めた．リンパ節転移の頻度は，壁深達度，潰瘍性変化の有無，脈管侵襲の有無により差を認めなかった．癌間質量は硬性型が 78%，浸潤様式は INFc が 56% を占めた．背景粘膜には腸上皮化生を認めない，または部分的に認める症例が過半数を占め，深達度と腸上皮化生の程度に有意差を認めなかった．M-CTAC 9 例は中間帯に主座があり，さらに 8 例は胃底腺が出現し始める境界線（boundary line）に跨って存在していた．形質発現では，M-CTAC 全例と SM-CTAC8 例が混合型でありそのうち 17 例が MG-phenotype，7 例が MI-phenotype に分類された．1 例の SM-CTAC は G-phenotype に分類された．SM 浸潤部においては様々な形質がみられた．過去文献との比較では，分化型癌，未分化型癌いずれとも異なる結果であった．

PDCは19例（M-CTAC:10, SM-CTAC:9）に認めた．PDC 10mm超の群では粘膜下浸潤の頻度が多くみられた（P＝0.041）．PDC 20mm以下の群ではリンパ節転移は認めず，20mm超の群では4例にリンパ節転移を認めた．Ki-67と深達度の関係では，limited pattern の頻度はM-CTACで有意に高かった（P＝0.027）．リンパ節転移はexpanded patternにのみ認めたが，limited patternとの比較では有意差は認めなかった（P＝0.30）．PDC 10mm超でかつexpanded patternの群では，粘膜下浸潤の頻度が有意に高かった（P＝0.033）．さらに，PDC 20mm超でかつexpanded patternの群にのみリンパ節転移を認め，残りの群と比較して有意差を認めた（P＝0.026）．

p53過剰発現は粘膜内では全症例で陰性，SM-CTAC 1例の浸潤部で陽性であった．

〈考察〉

この研究で，我々はCTACが胃癌の一亜型と認識されるべき独特の性格を有することを明らかにした．肉眼的には，表面陥凹型または表面平坦型に分類され，好発部位は胃体中部であった．肉眼型は，粘膜内増殖帯を中心に這うように進展するという組織学的特徴を反映していると考えられる．

CTACの診断において不規則融合腺管は重要な所見である．Katoらはアルファベットと類似していることから“WHYX lesion”という呼称を用いて重要性を強調している．細胞異型が目立たないため，構造異型に注目する必要があり，さらに嚢状拡張腺管や印環細胞が診断の一助となりうる．腸上皮化生と胃癌との関係については，腸上皮化生を前癌病変と見なす報告があるが，一方で，腸上皮化生と癌発生の間には関連はないとする報告もある．本研究の結果は後者を支持するものであり，腸上皮化生はCTACの発生・進展に必要不可欠条件ではないといえる．

内視鏡的切除は，リンパ節転移のリスクが低い早期胃癌が対象となる．本研究ではCTACにおいて壁深達度，潰瘍性病変の合併，脈管侵襲は，リンパ節転移との関連は認めなかった．CTACの内視鏡的治療を考慮する際，これらの因子以外のリンパ節転移予測因子が必要と考えられるが本研究で注目したPDC最大径とKi-67陽性細胞の分布は，粘膜下浸潤（PDC 10mm超，Ki-67 expanded pattern），リンパ節転移（PDC 20mm超，Ki-67 expanded pattern）を予測する因子として有用であった．

実臨床では，PDCの評価は拡大内視鏡などを用いると内視鏡でも可能であると報告されているが，その評価方法はいまだ不確定である．治療前のPDC評価が困難な場合は，内視鏡治療後の組織学的検討で確実に評価できる．一方，Ki-67陽性細胞の分布の評価には免疫組織学的評価が必要である．

早期胃癌におけるp53変異の頻度は，分化型腺癌では37–41％であるのに対し，低分化型腺癌では0–4％と報告されている．すなわちp53変異は分化型腺癌では比較的早い段階に起こるが，一方低分化型腺癌では稀な現象であると考えられる．本研究ではCTACのp53過剰発現は粘膜内ではみられず，粘膜下層浸潤部で1例のみ陽性であった．CTACはp53過剰発現の観点からは低分化型腺癌に類似した性格を有するといえる．

形質発現の検討において，分化型腺癌では微小癌では無形質であり，腫瘍の増大とともに胃型形質が増え，さらに浸潤とともに腸型形質が優勢となると報告されている．CTACでは，胃型優位混合型が多くみられた．粘膜内の拡がりが優勢であるCTACでは，腫瘍の進展に伴い粘膜内において胃型および腸型の形質が獲得されると予想される．一方粘膜下浸潤部の形質は，粘膜内における浸潤能を有する癌細胞の形質が反映されると考えられるが，CTACにおいては粘膜下層浸潤部が粘膜内成分に比して範囲が狭いことを反映してか，一定の傾向を示さない多彩な形質を示した．

この研究結果から，CTACの自然史について以下の仮説をたてた．まず，細胞異型に乏しい融合腺管が出現し，粘膜内を水平方向に這う様に進展する．次いで，巣状の印環細胞が出現しPDCを形成し拡大する．その後，間質増生を伴いながら低分化成分として浸潤する．Kushimaらは，CTACと類似した腺管を“手つなぎ構造”と呼び，“前未分化型”の一つとして報告しているが，これは，我々の仮説と矛盾しない．

形態学的には，CTACは腺管構造を有する点からは従来の分化型に類似するが，印環細胞の出現，粘膜下浸潤様式，p53過剰発現頻度の点では未分化型に類似した生物学的態度を示した．形質発現においては，分化型，未分化型とは異なる傾向を示した．

CTACは従来のLaurén分類では分類困難な一亜型といえる．さらに，PDC増大と，Ki-67陽性細胞の分布の拡大が，粘膜下浸潤やリンパ節転移を予測する因子となりうる．

小田　剛史 博士（医学）　Goshi Oda

学位記番号　／甲第 1892 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　　／Significance of stromal decorin expression during the progression of breast cancer（乳癌進展における間質 decorin 発現の検討）
Oncology Reports　第 28 巻第 6 号　2003-2008 頁　平成 24 年 9 月発表
論文審査委員／主査：三木　義男　　副査：河野　辰幸　　副査：江石　義信

〈論文要旨〉

細胞外マトリックスを構成するプロテオグリカンである decorin は，腫瘍増殖抑制効果や転移抑制効果を示すと最近報告されている．しかしながら，抗腫瘍効果をもつ decorin が乳癌の progression にともなってどのように変化するか，未だ明らかでない．本研究では臨床検体を用いて，間質 decorin の発現の変化を免疫組織化学的に検討した．結果，①浸潤性乳管癌の同一検体における検討では，正常乳管周囲に比べ非浸潤部で，非浸潤部に比べ浸潤部で，間質 decorin の発現が低下していた（$p<0.001$）．②非浸潤性乳管癌症例と浸潤性乳管癌症例の比較検討では，浸潤性乳管癌の間質 decorin の発現が低下していた（$p<0.001$）．以上より，乳癌組織における間質 decorin の発現低下は乳癌の発生や浸潤能獲得に深く関与している可能性が示唆された．

〈緒言〉

細胞外マトリックス（ECM）は組織構築をつかさどる生体の構成成分であるだけでなく，細胞の分化，増殖，創傷治癒などに深く関わり，癌細胞の浸潤，転移に関わる物質として注目を浴びている．細胞外マトリックスを構成するプロテオグリカンである decorin は，TGF-β や EGFR などと結合することで腫瘍の増殖を抑制すると報告されている．In vivo の検討でも腫瘍の増殖や乳癌の転移を抑制することが報告されている．

乳癌は正常組織から前がん病変，非浸潤癌，浸潤癌へと経過していく．非浸潤癌の予後は良好であるが，浸潤癌は予後不良であり，浸潤癌への変化は宿主にとって重要であるが，いまだその機序は解明されていない．癌特有の間質環境の変化が浸潤能の獲得に大きな役割を果たしていると考えられている．

間質環境の変化では間質細胞だけでなく細胞外マトリックスの変化も重要である．乳腺組織間質の主要な細胞外マトリックスである decorin は，プロテオグリカンの 1 つであり，その発現の低下が乳癌の浸潤に関与することが示唆されている．

本研究では，間質における decorin 発現と乳癌の発生や浸潤の関連を明らかにするために手術切除された乳癌組織の免疫組織学的解析を行い，正常乳管周囲の間質および，前癌病変や非浸潤性乳管癌，浸潤性乳管癌の間質における decorin 発現を比較検討した．

〈対象と方法〉

東京医科歯科大学医学部付属病院乳腺外科で 1999 年から 2003 年までに手術を施行された乳癌症例のうち，遠隔転移を認めない 22 例の非浸潤性乳管癌症例および 98 例の浸潤性乳管癌症例の検体をインフォームドコンセント得て用いた．パラフィン包埋されたホルマリン固定標本を用いて anti-decorin mouse monoclonal antibody（ab54728, Abcam, Cambridge, UK）による免疫組織化学用染色を行い，乳癌組織における間質 decorin の発現を解析した．decorin 発現の比較検討は，①浸潤性乳管癌患者の同一検体を用いて正常乳管成分，前癌病変成分，非浸潤成分，浸潤成分の間質における decorin 発現と，
②非浸潤性乳管癌症例の癌周囲間質と浸潤性乳管癌症例の癌周囲間質の decorin 発現について，それぞれ行った．

Decorin 発現強度の評価は ImageJ software（version 1.43u, National Institutes of Health,Bethesda, Maryland , USA）を用いて実施し，統計学的な解析を行った．

〈結果〉

①浸潤性乳管癌の同一検体における検討では，正常乳管周囲の間質における decorin 発現が最も高く，正常乳管周囲に比べ非浸潤部で，非浸潤部に比べ浸潤部で，有意差を持って間質 decorin の発現が低下していた（$p<0.001$）．

②非浸潤性乳管癌症例と浸潤性乳管癌症例の比較検討では，やはり浸潤性乳管癌の間質 decorin の発現が有意差を持って低下していた（$p<0.001$）．

間質の decorin 発現と臨床病理学的因子（年齢，閉経状態，腫瘍部位，マンモグラフィ濃度，ホルモンレセプター）の検討では有意な関連はなかった．

〈考察〉

我々は同一浸潤性乳管癌症例において，正常乳管組織から非浸潤成分へ，非浸潤成分から浸潤成分へと進展していくのに伴い，間質 decorin の発現が低下することを明らかにした．また，浸潤性乳管癌組織では非浸潤性乳管癌に比べ，間質の decorin の発現が有意に低下していることを示した．手術切除された乳癌組織を用いた免疫組織科化学的解析により decorin の発現を乳癌の発生や浸潤について解析した研究はこれまでになく，本研究は臨床検体を用いた検討により，間質の decorin 発現と乳癌の浸潤との関連を示した初めての研究である．

乳癌組織の間質において decorin の発現が低下する機序は明らかでない．2 つの仮説が考えられる．第一に乳癌周囲の線維芽細胞や筋線維芽細胞からの decorin の産生が低下している可能性がある．Decorin は間質の線維芽細胞や筋線維芽細胞から産生されているからである．第二にマトリックスメタロプロテアーゼ（MMPs）が decorin を分解している可能性がある．MMP2 や MMP7 は乳癌組織において高発現しており，decorin は MMP2, MMP3, MMP7 に分解されるとの報告があるからである．

間質 decorin の発現が低下していくのに伴い，乳癌の浸潤が促進される機序ははっきり解明されていない．3 つの機序が示唆されている．第 1 に，decorin はコラーゲン構造を正常に保つのに必須であると報告されており，間質 decorin の発現が低下することで，浸潤癌に対する物理的，機能的な防御機構が低下している可能性がある．第 2 に，TGF－β は乳癌の浸潤能獲得に重要な役割を果たしている．また decorin は TGF－β の機能を抑制することが明らかにされている．decorin 発現の低下により TGF－β の浸潤能獲得を促進している可能性がある．第 3 に decorin は EGFR と結合することにより腫瘍増殖を抑制する．decorin 発現低下によりこの抑制効

果が低下して，浸潤能獲得に有利に働いている可能性がある．

〈結論〉

乳癌組織における間質 decorin の発現低下は乳癌の発生や浸潤能獲得に深く関与している可能性がある．

間質 decorin の発現低下の機序，および乳癌の発生や浸潤における役割の解明を進めることが重要である．また，decorin タンパクの投与によりマウスでは乳癌の転移が抑制されることが報告されており，decorin タンパクを利用した新しい治療法の開発も期待される．

河田　宏 博士（医学）　Hiro Kawata

学位記番号　／甲第1893号　　学位授与　／平成25年3月26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　／Effect of sodium-channel blockade on early repolarization in inferior/lateral leads in patients with idiopathic ventricular fibrillation and Brugada syndrome（早期再分極を伴った特発性心室細動およびBrugada症候群のナトリウムチャネル遮断薬に対する反応）
Heart Rhythm　第9巻第1号　77–83頁　平成24年1月発表

論文審査委員／主査：古川　哲史　　副査：荒井　裕国　　副査：下門　顕太郎

〈論文要旨〉

研究要旨　近年，特発性心室細動において12誘導心電図の下壁（II, III, aVf）及び側壁（I, aVL, V4–6）に早期再分極（J波）を伴う症例が多いとの報告がなされ，早期再分極症候群（early repolarization syndrome; ERS）と呼ばれ，注目されている．我々は14名のERSと心室細動が確認されている21名のBrugada症候群（BS）において，その心電図，臨床的特徴およびナトリウムチャネル遮断薬への反応を比較した．BSと同様に，ERS群でも多くの例で睡眠時や安静時に心室細動の発作が起きているという共通点がある一方（BS 90%，ERS 79%），BSと比較してERSの患者では電気生理学検査（EPS）における心室細動の誘発率や加算平均心電図でも陽性率は有意に低かった．生存曲線における予後の比較では，ERSの方が予後の良い傾向はあったが，統計学的に有意な差は認められなかった．ナトリウムチャネル遮断薬への反応は，BSにおける右側胸部誘導のST上昇と異なり，ERS, BSともに下壁および側壁誘導のJ波は減高を認めた（93%，100%）．今回の検討から，ERSはBSと異なる特徴も有しており，下壁および側壁誘導におけるJ波の上昇はBSにおける右側胸部誘導のST上昇とは機序が異なる可能性が示唆された．

A. 研究目的

早期再分極は健常者にもしばしば認められ，健康な成人におけるその有病率は1–5%と推定されている．器質的心疾患を認めない特発性心室細動患者において，12誘導心電図上の下壁（II, III, aVf）および側壁（I, aVL, V4–6）誘導で早期再分極が見られる頻度が健常者に比べて多いとの報告が，近年相次いでいる．Brugada症候群（BS）は右側胸部誘導のSTおよびJ波の上昇を特徴とし，心室細動や突然死を引き起こす．早期再分極症候群（ERS）をBSの亜型として扱う考え方もあるが，両疾患の類似点や相違点に関しては不明な点が多い．今回，我々はERSとBSの両群における，心電図，臨床的な特徴やナトリウムチャネル遮断薬に対する反応を比較した．

B. 研究方法

1994年から2009年の間に特発性心室細動と診断され，国立循環器病センターに入院した38患者のうち，下壁および側壁の早期再分極は14人に認められた．これらの14人（27–64才，平均年齢44.7+/−13.6才）の患者は早期再分極症候群（ERS）と診断し，心室細動の既往を有する21人のBSとの比較を行った．ERS,BSはこれまでの報告およびガイドラインに基づき（13, 14），心エコー，冠動脈造影，MRI,CT，運動負荷試験などで器質的疾患がないことを確認した．特発性心室細動の患者において，ナトリウムチャネル遮断薬によりType 1波形のBrugada型心電図を顕在化させ，BSと診断することが可能であるが，今回のERSの患者14人はすべて，ナトリウムチャネル遮断薬負荷試験を受け，BSの診断に至る右側胸部誘導でのST波の上昇が誘発されないことを確認している．BSの患者21名は（男性19人，20歳から64才，平均年齢は39.7+/−12.6才），回避された突然死もしくは心室細動が心電図もしくはモニターで記録されている．ERSと比較するため，これらの回避された突然死もしくは心室細動が記録されているBSの患者のみを研究の対象とした．BSの患者21人のうち11人は安静時よりtype 1 Brugada型心電図を呈しており，残りの10人はナトリウムチャネル遮断薬負荷試験でtype 1 Brugada型心電図が誘発され，BSと診断されている．ERSおよびBSのすべての患者は，植え込み式除細動器（ICD）が植え込まれ，フォローアップが行われた．ICDで記録された心内心電図で心室細動が確認されるか，もしくは適切なショックが行われた場合，致死性不整脈イベントがあったと診断した．

I　心電図

QRS-ST接合部（J点）の2誘導以上にわたる基線からの1mm以上の上昇を早期再分極と定義した．記録されているすべての心電図を解析に用い，下壁誘導（II, III, aVf）および側壁誘導（I, aVL, V4, V5, V6）に早期再分極が認められているかを評価した．

BSとの鑑別を図るため，右側胸部誘導（V1–3）のST上昇およびJ波を有する心電図は対象から除外した．BSの診断は以下のとおりとした．安静時もしくはナトリウムチャネル遮断薬投与下において，右側胸部誘導にtype 1のST上昇（J点において0.2mv以上）が2誘導以上で認められるもので，以下のいずれかをみたしのもの：（1）心室細動もしくは多形心室頻拍が記録されている，（2）45歳以下の突然死の家族歴，type 1の心電図を有する家族がいる，（3）電気生理検査で心室細動もしくは多形心室頻拍が誘発されている，（4）蘇生された突然死，原因不明の失神，夜間苦悶様呼吸の既往がある．P波の幅，PQ, RR間隔はII誘導で評価した．QRSおよびQT間隔はII, V2, V5誘導で評価した．補正QT値（QTc）はBazettの式を用いて求められた．QTcが340msec未満もしくは440msec以上ある患者は研究対象から除外した．S波の幅と波高はIIおよびV5誘導で測定し，J波の波高は下壁（II, III, aVF），側壁（I, aVL, V4–6），もしくはその両方で評価した．

II　薬物負荷試験

薬物負荷試験はピルジカイナイド（1 mg/kg maximum 50 mg, 5 mg/min）もしくはフレカイナイド（2 mg/kg, maximum 100 mg, 10 mg/min）の静脈内投与で行った．2誘導以上の右側胸部誘導でtype 1 Brugada型心電図が出現した場合，陽性と判定した．

III　電気生理学検査（EPS）

電気生理学的検査（EPS）は全ての被検者に説明の上，同意を得て行われた．抗不整脈薬は使用せず，プログラム刺激は右室心尖部および右室流出路から3連発までの心室期外刺激を加えて行われた．誘発された心室性頻拍が15拍以上持続し，失神，血行動態の破綻，除細動を必要とした場合，陽性と診断した．

IV　フォローアップ

全ての患者は植え込み型除細動器（ICD）を植え込まれ，心室細動の再発に関して正確な情報が得られた．患者は4−6ヶ月毎に外

来でフォローされ，患者が動悸などの症状，ICD の作動を感じた場合は，ICD の心内心電図の詳細な解析を行った．

V　統計学的解析

連続変数は平均＋/－標準偏差で表した．ペアしている 2 群間の比較はスチューデントの t 検定で行い，カテゴリー変数はフィッシャーの正確検定を用いて行い，$p<0.05$ を有意とみなした． 生存曲線はカプラン・マイヤー法，ログランク検定を用いて検討した．

C. 研究結果

年齢，性別，家族歴，心室細動，心停止の起きた時間帯や状況などで BS,ERS 群の間に有意な差は認められず，BS の患者のうち 90%，ERS の患者のうち 79% は睡眠時もしくは安静時に心室細動を発症していた．BS 群の 21 人のうち 9 人において，下壁，または側壁の誘導で ER が認められた．加算平均心電図では BS 群と比較して ERS では陽性率が有意に低かった（ERS 1/14, 7%vs.BS 12/20, 60%; $p<0.01$）．また，BS 群のうち 17 人，ERS のうち 3 人に対して EPS が行われ，ERS 群におい陽性率が有意に低かった（0/3, 0% vs. 15/17, 88%; $p<0.05$）．ナトリウムチャネル遮断薬負荷試験は BS の 14 人の患者に対して行われ，その全員において陽性であった．BS, ERS 両群（BS12 人，ERS21 人）におけるナトリウムチャネル遮断薬負荷前後の心電図の比較を行った．ベースラインの心電図指標（RR 間隔，P 波の幅，PQ 間隔，QRS 間隔，QT 間隔，S 波の幅，及び波高）に有意な差は認められなかったが，負荷後における RR 間隔の延長，P 波の幅の延長，QRS 間隔の延長，QRS の延長，QTc 間隔の延長の程度は BS 群において有意に大きかった．ナトリウムチャネル遮断薬負荷試験を行った際，負荷前に下壁および側壁の誘導に J 波（$\geq$ 0.1 mV）が BS 群 5 人と ERS 群 14 人で認められていた．負荷前の下壁および側壁の J 波は BS 群で高い傾向にあった（0.244 ± 0.082 vs. 0.162 ± 0.069 mV, $p=0.057$）．特に下壁では BS 群が ERS 群に比べて優位に高かった（0.236 ± 0.081 vs. 0.120 ± 0.033 mV, $p<0.05$）．ナトリウムチャネル遮断薬負荷後では J 波は BS 群 5 名全てと，ERS 群 14 人のうち 13 人（93%）で減弱した．また，J 波の減弱がみられた症例は両群において，S 波の出現も伴っていた．下壁および側壁で J 波の最も高い点（J max, mv）は，ナトリウムチャネル遮断薬の投与で有意に減高した（$P<0.05$）．BS 群の一部の症例では，ナトリウムチャネル遮断薬の投与により，右側胸部誘導の ST（J 点）が有意に増高し，type 1 の Brugada 型心電図を呈しているのにも関わらず，下側壁の J 波は減高が認められていた．

平均のフォローアップ期間は BS 群で 118＋/－45 カ月，ERS 群で 37＋/－35 カ月と BS 群で有意に長かった（$P<0.01$）．致死性不整脈は ERS 群 14 名のうち 2 名，BS 群 21 名のうち 11 名で認められ，BS 群で有意に多い傾向にあった（$P<0.05$）．Electrical storm（24 時間以内に 3 回以上の心室細動）は BS 群 4 人，ERS 群 1 人で認められた．患者一人当たりの年平均の心事故発生率は BS 群 0.43 に対して，ERS 群では 0.13 であった（ハザード比 3.54）．カプラン・マイヤー法による生存分析では BS の方が予後の悪い傾向はあったが，両群間に有意な差は認められなかった（Log rank $p=0.093$）．

D. 考　察

下壁や側壁誘導における早期再分極（J 波）は，病的意義は乏しいと考えられてきた．しかしながら，近年，特発性心室細動の患者の中に早期再分極を認めるものが多いとする報告が増えている．下壁および側壁における早期再分極（J 波）BS における右側胸部誘導の J 波と同じ機序で説明し，ERS を BS の類似疾患とする報告もあるが，詳しい機序は未だ不明である．また，予後に関しても BS との鑑別がされていない報告が多く，不明な点が多い．今回，我々は ERS 全例でナトリウムチャネル遮断薬の投与を行い，心電図の変化，臨床的特徴や予後を比較した．BS で見られる右側胸部誘導の J 波の上昇と異なり，ERS や BS の下壁および側壁の J 波ではナトリウムチャネル負荷で減高し，S 波が出現することが明らかとなった．ナトリウムチャネル遮断薬が心室の伝導速度を遅らせたことで，QRS が延長し，それに伴い J 波の減高，S 波の出現が認められたとも考えられるが詳細な機序は不明である．ナトリウムチャネル遮断薬による P 波の幅，QRS 時間，QT 時間の延長は BS で ERS に比べて優位に長かった．予後に関しては，これまでの報告通り，BS では平均約 10 年のフォローアップで半数近くに心室細動の再発が認められた．一方，ERS でも平均約 3 年のフォローアップ期間で 14% に再発が認められ，カプラン・マイヤー法による予後解析では BS の方が ERS よりも予後の悪い傾向が認められたが，統計学的な有意差は認められなかった（$p=0.093$）．しかしながら，症例数が少ないこと，およびフォローアップ期間が有意に異なることもあり，予後に関してもさらなる検討が必要と考えられた．また，加算平均心電図における陽性率，EPS での心室細動の誘発率などの臨床的な相違点も認められた．

上記のように，ERS と BS で異なる点もあるが，急性期の心室細動の抑制にはイソプロテレノール，キニジンなどが共に有効であること，共に多くの症例で睡眠時や安静時に心室細動が起きているなどの共通点もあり，両疾患の機序や相違点に関しては，今後詳細な検討が必要と考えられた．

E. 結　論

Brugada 症候群（BS）における右側胸部誘導の ST 上昇と比較すると，BS や早期再分極症候群（ERS）で認められる早期再分極（J 波）は，ナトリウムチャネル遮断薬に対して，異なった反応を示し，下壁や側壁の早期再分極は BS の特徴である右側胸部誘導の ST 上昇とは機序が異なる可能性が示唆された．また，BS と ERS 群の臨床検査では，ERS で加算平均心電図における late potential の陽性率，電気生理学検査（EPS）における心室細動の誘発率が BS より低いことが明らかとなった．予後に関しては，BS が ERS よりも悪い傾向にあったが，両群間で有意な差が認められなかった．症例数が少ないこともあり，BS と ERS の共通点や相違点，下壁および側壁の早期再分極や不整脈の機序に関しては今後さらなる検討が必要であると考えられた．

寺石　俊也 博士（医学）　Toshiya Teraishi

学位記番号　／甲第 1894 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　／13C-phenylalanine breath test detects altered phenylalanine kinetics in schizophrenia patients（13C-フェニルアラニン呼気ガス検査による，統合失調症患者のフェニルアラニン動態の変化の検出）
Translational Psychiatry　第 2 巻第 119 号頁　平成 24 年 5 月発表
論文審査委員／主査：西川　徹　　副査：安原　眞人　　副査：高瀬　浩造

〈論文要旨〉

フェニルアラニン（Phe）は，カテコラミン生合成に必要な必須アミノ酸である．統合失調症（SZ）患者の血液や髄液中の Phe とその代謝産物濃度は，健常者（NC）と比較して有意に変化していることが報告されている．今回，L-[1-^{13}C］フェニルアラニン呼気ガス検査（^{13}C-PBT）を用い，SZ 患者と NC の間の Phe 代謝動態の違いの検出を試みた．SZ 患者 20 名と，NC20 名を対象とした．^{13}C フェニルアラニンを経口投与し，その後 $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ 比（‰）を 120 分間測定した．体重，年齢，診断という 3 つの因子は，呼気検査結果（$\Delta^{13}CO_2$ の経時的変化グラフの曲線下面積〈AUC〉と，^{13}C 累積回収率〈CRR〉）の有意な予測因子となることが判明した．$\Delta^{13}CO_2$ を従属変数として，年齢，体重を補正して反復測定共分散分析を行うと，患者群と健常群の経時的な $\Delta^{13}CO_2$ の変化に有意な差が見出され，また CRR を従属変数とした場合，時間と診断の間に相互作用があり，CRR の経時的な変化パターンが両群で異なることが示された．ラットの実験では，リスペリドン（RPD）またはハロペリドール（HPD）の慢性投与によって ^{13}C-PBT の結果は変化しなかった．^{13}C-PBT により SZ 患者の Phe 代謝動態の変化が検出可能であることが示され，またその変化は抗精神病薬の影響によるものではないことが示唆された．

〈緒言〉

L- フェニルアラニンはドーパミンやノルアドレナリンの生合成に必要であり，Phe と，チロシンを含めた Phe 代謝産物の濃度変化は，SZ のドーパミン仮説と関連づけられる．薬剤フリーの SZ 患者の血清 Phe 増加ならびにチロシン減少が，NC と比較した場合，それぞれ有意に認められることが報告されている（Poisner 及び Rao らによる）．一方で，Wei らは，薬剤フリーの SZ 患者と NC の血清 Phe 濃度に差はないが，早発性 SZ 患者でチロシン/フェニルアラニン比が低下していたことを報告した．また，脳脊髄液中の Phe 濃度は，抗精神病薬内服の有無にかかわらず，SZ 患者で上昇していたという報告がある（Reveley らによる）．

フェニルアラニン水酸化酵素（PAH）は，肝臓や腎臓において Phe をチロシンへ変換するが，補酵素としてテトラヒドロビオプテリンが関与する．PAH 遺伝子の変異による常染色体劣性遺伝疾患として，精神遅滞，てんかん等を呈するフェニルケトン尿症（PKU）が知られている．Penrose は，PAH ヘテロ接合体変異は，精神疾患の素因になり得る可能性を報告した．Kuznetsova は，PKU の親，つまり PKU の遺伝的変異をヘテロ接合性でもつ 300 人を対象とした調査を行い，同集団において晩発性 SZ の罹患率が高いことを示した．Richardson 等は，123 人の精神障害患者の PAH 遺伝子を調べ，K274E 変異をもつ SZ 患者は，同変異をもたない患者に比べて，Phe 動態が低下していることを示した．PKU はフェニルアラニン代謝を介し，SZ と関連することが示唆される．

^{13}C-PBT は，PKU における PAH 酵素の生体内活性測定に使用されてきたが，SZ を含む精神疾患に関連した多数例を対象とした報告はない．本研究では，^{13}C-PBT を用いて，SZ と NC の間の Phe 代謝動態の相違の有無を検証することを目的とした．

〈方法〉

DSM-IV で診断された SZ 患者 20 名と，性，年齢を一致させた NC20 名を対象とした．被験者は 0 時から絶食し，午前 10 時に炭素の安定同位体 ^{13}C で標識した Phe（99 atom％ ^{13}C; 100 mg）を経口摂取した．摂取後 120 分間，一定の間隔をおき呼気を 8 回採取した．採取した呼気中の $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ 比（‰）を赤外分析装置で測定した．^{13}C-PBT の指標として先行研究で用いられている $\Delta^{13}CO_2$ 最高値（C_{max}），最高値到達時間（T_{max}），AUC, CRR を用いた．HPD と RPD が ^{13}C-PBT に及ぼす影響について，動物実験で検討した．6 週齢のラットを，HPD 投与群，RPD 投与群，ビークル群に無作為に分け，各薬剤を調節して混ぜた飲水を 3 週間投与した．その後，0.1％の ^{13}C フェニルアラニンを腹腔注射（10ml/kg 体重）して，120 分間呼気ガス採取した．統計処理には統計ソフト SPSS を用い，統計上の有意水準は危険率 5% とした．血液検査値の比較，呼気検査指標の比較については t 検定または共分散分析，呼気検査指標と臨床データの関連についてはピアソンの相関係数の検定，呼気検査指標の予測因子については重回帰分析，経時的な $\Delta^{13}CO_2$ 及び CRR の変化については反復測定共分散分析または反復測定分散分析にて，それぞれ処理した．

〈結果〉

全被験者の肝・腎機能検査値は，正常値であった．患者群の ALT は健常群と比較して，有意に上昇していた（$p = 0.023$）．患者の 85% は入院患者であり，その処方は ^{13}C-PBT 実施前の三ヶ月間変化しておらず，高容量の抗精神病薬が処方されていた．つまり，SZ の被験者の大部分は慢性期であった．性，年齢，体重，診断等の因子は相互に相関しながら呼気検査結果に影響を与えている可能性がある．よって，まず上記因子が呼気検査結果に与えている独立の影響力を算出するため，呼気検査結果を従属変数，性，年齢，体重，診断を独立変数として，重回帰分析を行った．体重と診断が，C_{max} の有意な予測因子と判定された．体重，年齢，診断は AUC 及び $CRR_{0\text{-}120}$ の有意な予測因子であった．$\Delta^{13}CO_2$ は，8 回続けて経時的に測定しており，$\Delta^{13}CO_2$ が時間によりどのように変化していくかを解析することが全身的な Phe 代謝パターンのある一面を把握することにつながると考えられる．したがって年齢と体重を調整して反復測定共分散分析を行った．時間と診断の間に相互作用はなく（つまり変化パターンは同様），患者群と健常群の経時的な $\Delta^{13}CO_2$ の変化に有意な差があった．CRR を従属変数として反復測定共分散分析を行ったところ，時間と診断の間に相互作用があり，経時的な変化パターンが異なっていた．患者群の C_{max} は健常群と比較して有意に低下しており（t テスト，$p = 0.046$），年齢，体重を調整した共分散分析でも有意な差が残った（$p = 0.040$）．両群間の T_{max} に差はなかった．年齢，体重もしくは，年齢，体重，ALT で補正して共分散分析を行うと，両群の AUC に有意な差があった（それぞれ，$p = 0.044$, $p = 0.017$）．患者の $CRR_{0\text{-}120}$ は，健常と比較して有意に低下していた（t テスト，$p = 0.041$, 共分散分析，$p = 0.032$）．^{13}C-PBT の指標（C_{max}，AUC, $CRR_{0\text{-}120}$）と肝機能検査値との間に，有意な相関はなかった．患者の ^{13}C-PBT の指標と，PANSS 合計点数やクロルプロマジン換算量との間に有意な相関関係はなかった．重回帰分析で，C_{max}, AUC, $CRR_{0\text{-}120}$ の有意な予測因子となったのは年齢のみで，性別，体重，PANSS 合計点数，クロルプロマジン換算

量等の因子は予測因子にならなかった．
ラットの実験で，HPD または RPD 投与群の呼気検査結果は，ビークル群と比較して有意な差はなかった．

〈考察〉

Phe は PAH により主に肝臓で代謝されるため，^{13}C-PBT は元来，肝機能や PAH 活性度の評価に使用されてきた．全患者の ALT は基準値内であったが，健常群と比較して有意に上昇していた．ALT は ^{13}C-PBT の結果と相関しないことが報告されている（Ishii らによる）．患者の C_{max}，AUC または $CRR_{0\text{–}120}$ と，ALT との間のピアソンの積率相関係数は全て 0 に近かった（$r = 0.01$, $r = 0.09$, $r = 0.04$）．ALT 以外の肝・腎機能検査値は，^{13}C-PBT のいずれの指標とも有意な相関がなかった．よって患者群と健常群の間の ^{13}C-PBT の結果の違いは，患者群の肝・腎機能障害によるものではないと考えられた．

^{13}C-PBT で測定された $\Delta^{13}CO_2$ は，L-DOPA がドーパミンに変換されるときに発生する $^{13}CO_2$ の変化分も含んでいる．L-DOPA がドーパミンへ変換される反応は，量的に少ない経路であり，かつ中枢と末梢の両方で起きる．^{13}C-PBT の指標が SZ で低下しているのは，カテコラミン合成が低下していることと部分的に関係しているのかもしれない．カテコラミン合成の低下は，ドーパミン受容体の代償性の過感受性を引き起こし，これはドーパミン仮説と矛盾しない．

^{13}C-PBT で測定された指標は，上記に述べた代謝経路のみならず，生体内の他の複雑な生理的，細胞生物学的因子から影響を受ける．つまり，絶食時間，胃排出時間，消化吸収率，肝臓や腎臓への移行率，Phe やその代謝物の細胞膜輸送などの因子である．本研究では，T_{max} は，患者群と健常群で違いはなく，絶食時間も 10 時間以上と一定にした．よって，少なくとも消化吸収率や食餌内容の影響は非常に小さかったと考えられる．

本研究で得られたデータの解釈について考慮すべき点として重症度や抗精神病薬服用による検査結果への影響と，症例数のサイズの問題があげられる．動物のデータでは抗精神病薬の ^{13}C-PBT への影響は認められなかったものの，本研究の被験者は全員が抗精神病薬を内服中であり，大部分は長期入院中の重症度の高い SZ であった．今後，薬剤フリーの患者を含めた，より大規模な追試が必要と考えられる．

〈結論〉

本研究は，^{13}C-PBT を多数例の精神疾患に応用した世界初の試みである．慢性 SZ 患者の Phe 代謝動態が，NC と比較して有意に変化していることが明らかとなった．動物実験で，抗精神病薬による ^{13}C-PBT への影響はないことが示唆された．簡便で非侵襲的な安定同位体を用いた呼気ガス検査の精神疾患の診断や病態解明への有用性を，今後検討していくことが必要であると考えられる．

長澤　哲郎 博士（医学）　Tetsuro Nagasawa

学位記番号　／甲第 1895 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　／Occipital gamma-oscillations modulated during eye movement tasks: Simultaneous eye tracking and electrocorticography recording in epileptic patients（眼球運動により誘発される後頭葉のガンマ波：てんかん患者における視線追跡と頭蓋内脳波の同時記録）
NeuroImage　第 58 巻第 4 号　1101–1109 頁　平成 23 年 10 月発表

論文審査委員／主査：杉原　泉　　副査：望月　學　　副査：前原　健寿

〈論文要旨〉

眼球運動によってガンマ波がどのような変動をきたすのかを，視線追跡装置と頭蓋内脳波の同時記録によって明らかにした．てんかん外科手術を受けるてんかん患者に，モニタ上をランダムに動く標的を眼で追うよう指示した．標的の動きによって後頭葉の外側，下面および後頭極でガンマ波の有意な増大が見られた一方，それに引き続く眼球運動では後頭葉の内側で増大が見られた．これらガンマ波の増大は，一般的に滑動性眼球運動（Saccade）よりも跳躍性眼球運動（Pursuit）でより顕著であったが，後頭極においては逆に滑動性眼球運動でより強く見られた．さらに，スクリーン上の単語を読むというタスクでは，単語の表示直後に後頭葉で広範囲にガンマ波の増大が観察された一方，表示後の跳躍性眼球運動によって後頭葉内側の前方で特異的にガンマ波が増大した．

後頭葉の外側，下面および後頭極でのガンマ波の増大は動く標的に対する注意の集中によって引き起こされている可能性があるのに対して，側頭葉内側でのガンマ波の増大は眼球運動後に再構築された周辺視野によって引き起こされていると推測される．これら二つのタスクによる眼球運動の研究によって，眼球運動のパターンが大脳の活性化を規定する重要な要素であることがわかった．

〈緒言〉

頭蓋内脳波記録は，てんかん外科手術において感覚運動野から認知領域までさまざまな大脳皮質部位を決めるのに用いられている．特に，50–200Hz 周波数帯のガンマ波は様々なタスクによって増加することがわかっており，大脳皮質の活性化を測る指標として多数の報告がある．

眼球運動に関連した研究もあるが，頭蓋内電極を用いたものでは後頭葉に電極を充分に設置されていないため空間的な広がりが不明であり，機能的 MRI を用いたものでは時間分解能が 1 秒レベルのため時間的な前後関係が不明であった．今回，後頭葉に充分な電極を設置した 5 名の分析により，眼球運動と大脳活性化の関係を空間的・時間的にはじめて明らかにした．

〈方法〉

対象は，ミシガン小児病院と大学病院で二期的てんかん外科手術を受けた 13 歳から 21 歳の 5 名の患者で，脳奇形や視野欠損，発達遅延などがないことが確認されたもの．本研究はミシガン州立ウェイン大学倫理委員会の承認のもと，成人患者は本人の，小児患者は保護者の文章による説明と同意を得た．

タスク 1）モニタ上にランダムに動く標的の追視．てんかん手術のため後頭葉を含めた頭蓋内電極を設置した患者に対し，直径 5mm の白色標的がモニタ上をランダムに上下左右に動くのを眼で追うように指示した．標的の動きも，一瞬（跳躍性眼球運動）もしくは連続（滑動性眼球運動）が 50% ずつランダムに出現する．このタスクを行ったときの頭蓋内脳波と視線追跡装置の同時記録を用いて，眼球運動がガンマ波に与える影響を解析した．

タスク 2）モニタ上の単語を読む．モニタ上の簡単な単語（Dog など）を黙読するように指示した．タスク 1）と同様に，頭蓋内脳波と視線追跡装置の同時記録結果を解析した．このタスクの目的は，単語提示直後に生じる不随意の跳躍性眼球運動とガンマ波との関係を明らかにすることである．

タスク 1）および 2）の同時記録について，各タスクがガンマ波に与える影響を周波数解析ソフトを用いて明らかにした．具体的には，標的が動いていない時または単語の表示がない時のガンマ波の振幅を基準として，どのようなタイミングで，どの周波数帯で振幅が何 % 増大したかを横軸に時間，縦軸に周波数をとって表示して，ダイナミックに眼球運動と大脳皮質の活性化の関係を明らかにした．さらに，タスク 1）では跳躍性と滑動性眼球運動による増大率の違い，タスク 2）では単語表示に特異的に反応する部位とその後の不随意な跳躍性眼球運動に特異的に反応する部位の差についても分析した．これらの分析結果を，増大率（減少率）に応じた色分けで表示するとともに，脳の 3D 画像上にトポグラフィーを作成し，それを 5ms ごとに動かしてアニメーションを作成した．これによって，大脳活性化の空間的，時間的な変化の理解が容易になった．

解析は，周波数 20－200Hz の間で，10Hz×5ms をひとつの区画として行い，増大率の比較基準（ベースライン）として眼球運動が見られない（タスク 1）または単語が表示されていない（タスク 2）安定した時間帯の 200ms の平均を用いた．増大が統計学的に有意であるかどうかについては，ブートストラップ法を用いて解析して $p<0.05$ を満たすものを有意と判定した．

〈結果〉

行動データについては，タスク 1）で跳躍性眼球運動の反応時間（全対象者の平均）が 209ms（95% 信頼区間 CI: 201–217ms）であったのに対して，滑動性眼球運動では 299ms（95%CI: 286–312ms）と，前者のほうが有意に短かった．タスク 2）では，単語の提示から最初に見られた不随意の跳躍性眼球運動までの平均時間が 356ms（95%CI: 319–392ms）で，単語の提示から読み上げの開始までの平均時間が 880ms（95%CCI: 813–946ms）であった．

タスク 1）の跳躍性眼球運動に関連したガンマ波増大については，指標の移動直後に後頭葉外側，下面および後頭極でみられた一方，引き続く眼球運動後に後頭葉内側で主にみられた．また，タスク 1）の滑動性眼球運動に関連したガンマ波増大についても同様に，後頭葉外側，下面および後頭極で，そのあと後頭葉内側でみられたが，有意な増大を満たした電極は跳躍性と比べ明らかに少なかった．さらに，跳躍性と滑動性の増大率を比較したところ，32 の電極にて前者が有意に高かったのに対して，後者が有意に高かったのは 4 電極のみで，そのほとんどが後頭極に限局していた．

一部の対象者では，頭頂葉上部で有意なガンマ波の増大が，後頭葉の増大の後かつ眼球運動開始前に見られたが，ここは Parietal Eye Field（PEF）と考えられた．同様に，前頭葉の運動前野でも同じ順で有意な増大が見られたが，こちらは Frontal Eye Field

（FEF）と考えられた．

タスク 2）に関連したガンマ波増大については，単語の表示直後に後頭葉で広範囲にガンマ波の増大が観察された．さらに，増大率を単語の表示開始に合わせて解析した場合と，最初の跳躍性眼球運動に合わせて解析した場合を比べると，前者では後頭極でより高い増加率が認められたのに対し，後者では内側後頭葉の前方で増加率が高くなった．

タスク 1），2）のほかにも，不随意な瞬目によるガンマ波増大，眼球運動の方向別の解析を行った．その結果，瞬目に対して特異的に反応する電極および眼球運動の特異的な方向に反応する電極がいくつか見つかったが，有意に達した電極数が少なく一般化することはできなかった．

〈考察〉

本研究による新たな知見として，以下の点が挙げられる．1．標的の動きによって後頭葉の外側，下面および後頭極でガンマ波の有意な増大が見られた一方，それに引き続く眼球運動では後頭葉の内側で増大が見られた．2．これらガンマ波の増大は，一般的に滑動性眼球運動よりも跳躍性眼球運動でより顕著であったが，後頭極においては逆に滑動性眼球運動でより強く見られた．3．単語の表示直後に後頭葉で広範囲にガンマ波の増大が観察された一方，その後の跳躍性眼球運動によって後頭葉内側の前方で特異的にガンマ波が増大した．

タスク 1）について：後頭葉の外側，下面および後頭極でのガンマ波の増大は，標的の運動に注目することよって引き起こされたと考えられる一方，その後に引き続く内側後頭葉での増大は，周辺視野の画像再構築によって引き起こされると推測される．また，一般的にガンマ波の増大が滑動性運動よりも跳躍性運動でより顕著であったのは，すばやい動きのほうがより注意を引きやすいためと解釈できる．さらに，後頭極では逆に跳躍性運動よりも滑動性運動でガンマ波が増大した理由は，中心視野ではゆっくりした動きをしっかり捉えやすいためと考えられる．

眼球運動の研究では，常にアーティファクトの弁別が問題になる．本研究でも，一部の対象者では側頭葉前極でアーティファクトと考えられる眼球運動に一致したガンマ波の増大が見られたが，持続時間が 30ms 程度と他と比べて極端に短く，モンタージュを双極誘導に変えると消失してしまうことから，容易に区別が付いた．

これまで機能的 MRI を用いた研究にて，眼球運動と PEF や FEF との関係が指摘されているが，時間分解能が秒単位のために時間的な関係が不明であった．今回，時間分解能が格段によいガンマ波の解析により大脳の活性化の順番が明らかになり，前頭葉の運動前野が跳躍性眼球運動を制御していることが推測された．

タスク 2）について：単語表示後の跳躍性眼球運動により後頭葉内側の前方で特異的にガンマ波が増大することが，本研究によってはじめて明らかになった．このことは，跳躍性眼球運動後に周辺視野でイメージを再構築している過程を捉えていると考えられる．

本研究の限界として，電極をすべての脳表に設置していないこと，抗てんかん薬を使用した対象であること，正常ボランティアが得られないことなどが挙げられる．これらは，頭蓋内電極を設置するという侵襲の強い検査方法では，倫理的な制約からくるものであり，構造的な限界である．

〈結論〉

頭蓋内脳波を用いたガンマ波の解析によって，眼球運動の種類と大脳活性化の関係が時間的順序も含めて初めて明らかになった．

那須　久代 博士（医学） Hisayo Nasu

学位記番号　／甲第 1896 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　／An anatomic study of structure and innervation of the serratus anterior muscle（前鋸筋の構造と神経支配に関する肉眼解剖学的研究）
Surgical and Radiologic Anatomy　第 34 巻第 10 号　921-928 頁　平成 24 年 12 月発表

論文審査委員／主査：宗田　大　　副査：星　治　　副査：森田　定雄

〈論文要旨〉

前鋸筋の構造と機能は上部，中部，下部の 3 部に区分される．各部における形態学的特徴をさらに詳細に知ることができれば，機能不全の原因をより正確に見極めることができると考える．本研究の目的は，前鋸筋の各部における構造と神経支配の詳細を明らかにすることである．本研究では 5 体 10 側の解剖実習体を使用し，前鋸筋各部の構造と神経支配について調査した．上部には，肩甲挙筋枝から分岐する神経と，長胸神経の本幹が形成される前に分岐する 3〜4 本の短い枝が分布していた．中部では，長胸神経が前鋸筋の起始と停止の前 1/3 付近を下行していた．下部には，多数の枝に分岐した長胸神経と肋間神経外肋間筋枝の枝が分布していた．本研究から，前鋸筋は，神経支配について，上部，中部，下部で異なる特徴を有することがわかった．各部における特徴の違いから，上部は肩甲挙筋と親和性が高く，中部と下部こそが本来の前鋸筋であるということが示唆される．さらに，前鋸筋下部に肋間神経外肋間筋枝の枝が分布するという所見から，前鋸筋下部は上肢と体幹の中間的な要素をもつということが考えられる．

〈序論〉

前鋸筋は起始と停止の違いに基づいて 3 部に区分される．機能的にも，上部は肩甲骨の回旋中心を形成し，中部は肩甲骨を前方に突き出し，下部は上方回旋に与るとされている．長胸神経障害によって前鋸筋の機能不全が起こった場合，患者はいわゆる翼状肩甲となり，上肢の挙上動作やリーチ動作をすることができなくなる．この原因については様々な報告がなされており，理学療法士が前鋸筋の機能障害を治療するときには，何が機能不全の原因となっているのかということを的確に評価することが非常に重要となる．しかしながら，筋束の配列や停止，神経の経過や分布について総合的に詳細に行われた研究は少ない．各部の形態学的特徴が明らかになれば，理学療法士はより正確に機能障害の原因を見極めることができると考える．本研究の目的は，前鋸筋の各部の構造や神経支配の詳細を明らかにすることである．

〈対象と方法〉

本研究には東京医科歯科大学解剖実習体 5 体 10 側（男性 4 名，女性 1 名，平均年齢 77.8 歳）を使用した．観察には必要に応じて実体顕微鏡を用いた．

まず，肩甲挙筋，小および大菱形筋，前鋸筋，頸腕神経叢を剖出し，これら 3 筋を支配する神経の経過を観察した．前鋸筋の筋束の配列を調査したのち，菱形筋と前鋸筋を外側に反転しながら前鋸筋と胸壁との間で肋間神経外肋間筋枝の枝を剖出した．これら 3 筋と頸腕神経叢を摘出した後，3 筋を支配する神経の分節と分布を調査した．5 側では前鋸筋の筋内神経分布を調査した．さらに，肋間神経外肋間筋枝の枝の経過と分布について調査した．

〈結果〉

C3 および C4 から分岐する神経は主に肩甲挙筋を支配し，これらの神経は後外側に走行して肩甲挙筋の表面から筋内に進入していた．C4 および C5 から起こる神経は主に菱形筋に分布していた．前鋸筋は主に C5，C6，C7 分節からの神経に支配され，3 側では C4 分節，5 側では C8 分節も関与していた．

前鋸筋各部における神経支配について調査した．上部を支配する神経は 2 つの異なる起始を有していた．1 つは長胸神経の本幹とは関与しない独立枝，もう 1 つは長胸神経であった．独立枝は 9 側に認められた．この独立枝は，6 側では菱形筋を支配する神経から，1 側では肩甲挙筋を支配する神経から分岐し，2 側では両方の神経から分岐していた．長胸神経は 3〜4 本の短い枝を分岐し，これらの枝は後外側に走行して前鋸筋上部の表面から筋内に進入していた．このような走行は肩甲挙筋を支配する神経の走行と類似していた．中部では，長胸神経は起始と停止の前 1/3 を下行し，数本の枝を分岐していた．下部を支配する神経も上部と同様に，2 つの異なる起始を有していた．1 つは長胸神経であり，もう 1 つは肋間神経外肋間筋枝の枝であった．長胸神経は多数の枝に分岐して下部に分布していた．肋間神経外肋間筋枝の枝は，すべての例に分布していた．この枝には主として第 6〜8 肋間神経が関与していた．これらの枝は外肋間筋を貫いて，前鋸筋下部の裏面に進入していた．3 側では，肋間神経外肋間筋枝の枝が長胸神経と交通していた．

〈考察〉

各部における神経支配の特徴の違い

上部には菱形筋枝から分岐する独立枝が分布することから，上部は菱形筋と類似性が高いと考えられている．しかしながら，本研究では，3 側において独立枝が肩甲挙筋枝からも分岐することを確認した．個体発生学的にみると，9mm のヒト胚子において肩甲挙筋と前鋸筋は一続きの筋塊をなし，また，前鋸筋と肩甲挙筋との間の破格筋は 32.2% で認められると報告されている．さらに，系統発生学的にみると前鋸筋と肩甲挙筋は原猿類以前では一続きの筋であったことが知られており，下位頸椎に起始していた前鋸筋上部が進化の過程で徐々に上位肋骨に移行してきたと考えられている．このように，個体発生，系統発生の両面から考えると，前鋸筋上部と肩甲挙筋は非常に近い関係にあり，独立枝が肩甲挙筋枝から分岐することは自然なことであるといえる．また，上部には長胸神経から分岐する 3〜4 本の短い枝も分布し，この分布様式は肩甲挙筋の神経支配様式と非常に類似していることがわかった．これら 2 つの起始から分岐する神経支配の特徴から，前鋸筋上部は肩甲挙筋と高い親和性を示すということが示唆される．一方，中部と下部は上部とは明らかに異なる特徴を有しており，中部と下部こそが本来の前鋸筋であると考えられる．

下部では，すべての例で肋間神経外肋間筋枝の枝が分布していた．児玉（1986）は，前鋸筋または前鋸筋の深層に出現する異常筋に肋間神経外肋間筋枝の枝が分布する頻度は約 17% であったと報告している．しかし，本研究では，全例においてそのような所見を認め，肋間神経外肋間筋枝の枝が前鋸筋に関与する頻度はもっと高頻度に起こりうるといえる．さらに，発生学的研究によると，ニワト

リの肩甲板とこれに付着する筋はこれまで考えられてきた分節よりも下部の体節 17〜24 に由来すると報告されている．これらのことから，前鋸筋は頸部の体節だけではなく，胸部の体節によっても影響されると推測され，特に前鋸筋下部は，上肢と体幹の中間的な要素もつということが考えられる．

神経支配に基づく各部の機能

前鋸筋の各部は神経支配に関してそれぞれの特徴を有していた．前鋸筋上部は肩甲挙筋と親和性があるということが示唆され，機能的な面からみても上部は肩甲挙筋と協同して作用している可能性があると考えられる．また，中部と下部を支配する長胸神経の分布密度の違いは，下部による肩甲骨上方回旋が中部による肩甲骨前方突出よりも非常に強力であることを示していると考えられる．各部における神経支配の特徴を理解することは，機能障害の原因をより正確に見極めるために有効であるといえる．

また，前鋸筋には呼吸補助筋としての作用があると考えられている．下部において肋間神経外肋間筋枝の枝が常に分布していることから，前鋸筋は他の呼吸筋と協調して作用している可能性があるといえる．今後は，前鋸筋に分布する肋間神経外肋間筋枝の枝が運動神経か知覚神経かを明らかにしていくための追加研究を行っていく必要がある．

〈結論〉

前鋸筋の構造と機能は 3 部に分けられる．本研究は神経支配の特徴も各部で異なっているということを示した．各部の神経支配の特徴を理解することは，機能不全の原因をより正確に見極めるために有効であると考える．また，本研究では，前鋸筋が肋間神経外肋間筋枝の枝によっても支配されることを示した．この事実は前鋸筋の形態形成を考える上で，非常に意義深い．今後は，前鋸筋に分布する肋間神経外肋間筋枝の枝の機能について明らかにしていきたい．

片山　貴 博士（医学） Takashi Katayama

学位記番号	／甲第1897号　　学位授与　／平成25年3月26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	／Evaluation of sequential FDG-PET/CT for monitoring bone metastasis of breast cancer during therapy: correlation between morphological and metabolic changes with tumor markers（乳癌骨転移の治療中におけるFDG-PET/CTの経時変化の評価：形態および代謝の変化と腫瘍マーカーの関係） Annals of nuclear medicine　第26巻第5号　426–435頁　平成24年4月発表
論文審査委員	／主査：江石　義信　　副査：大川　淳　　副査：杉原　健一

〈論文要旨〉

乳癌骨転移の治療中の患者47名を対象とし，FDG-PET/CT所見の経時変化および腫瘍マーカーの変化の関連を検討した．PET所見とCT所見の変化はそれぞれ腫瘍マーカーの変化と比較し，重み付きカッパを用いて一致度を検討した．集積増加と溶骨の関連を補正したカイ2乗検定によって検討した．腫瘍マーカーとPET所見の変化はかなりよく相関，腫瘍マーカーとCT所見の変化は中等度に相関していた．集積増加と溶骨は有意に相関していた．硬化は集積低下と相関していたが，集積増加した病変もあった．FDG-PETは乳癌骨転移の治療中における評価に有用であった．

溶骨は増悪を示唆する所見である．骨転移の経時変化は溶骨–増悪パターンが多いが，まれに硬化–増悪パターンがある．骨転移の正確な評価には経過の評価が必要である．

〈緒言〉

骨転移の評価には，以前から腫瘍マーカー，単純X線写真，シンチグラフィー，CT，MRIなどが用いられてきたが，病勢の評価に十分とは言えなかった．FDG-PET/CTは多くの癌の治療効果の評価に用いられているが，乳癌骨転移における意義は確立されていない．今回FDG-PET所見の経時変化により治療効果の評価ができるかどうかを，腫瘍マーカーと比較することにより検討した．また，PET所見とCT所見の経時変化の相関も検討した．

〈方法〉

2005年11月から2009年8月までの3年9カ月間に少なくとも2回のFDG-PET/CT検査を受けた乳癌骨転移の患者53名のうち，検査時血糖180mg/dl以上だった3名と，FDG-PET/CT検査に対応する期間の腫瘍マーカーのデータがなかった3名を除外し，47名を対象とした．FDG-PET/CT検査のうち，最初の検査（ベースライン）から最後の検査への変化を検討した．

画像所見の評価方法

乳腺の画像診断とFDG-PET/CTの診断に携わる2名の放射線科医の合意により，後ろ向きに評価した．骨転移はCT所見または限局性のFDG集積により定義し，良性の可能性がある病変は除外した．複数の骨転移を有する患者についてはすべてを対象とした．経過中に出現した骨転移も対象に含めた．

PETの変化

病変ごとの評価では，SUVmaxの25%増減を境界とし，増加，不変，減少に分類した．患者ごとの評価では，FDG集積のある主要な骨転移の変化と，新出病変の評価により，増悪，不変，改善に分類した．

腫瘍マーカーの変化

腫瘍マーカーとFDG-PET/CTの間隔の中央値はベースラインで9日，最後の検査で7日だった．腫瘍マーカーはCEA, I-CTP, CA15–3, BCA225, NCC-ST-439の5種類を評価した．まず臨床的に病勢を反映していた腫瘍マーカーを選び，それぞれFDG-PET/CT検査と対応する時期の時系列グラフを用い，増加，不変，減少に分類した．腫瘍マーカーが基準値以内だった場合や，期間内に増加と減少がともにみられた場合は不変とした．次に個々の腫瘍マーカーの変化を総合し，全体の腫瘍マーカーの変化を決定した．腫瘍マーカーごとに異なる経過を呈した場合は不変とした．

CT所見の変化

病変ごとにCT所見の変化を4つ（硬化，溶骨，混合，不変）に分類した．混合は，1つの病変に硬化と溶骨がともにみられたものと定義した．患者ごとに，溶骨（少なくとも1個の病変が溶骨），硬化（溶骨を呈する病変がなく，少なくとも1つの病変が硬化），不変（すべての病変が不変）の3つに分類した．

統計分析

PET所見と腫瘍マーカー，CT所見と腫瘍マーカーの変化は患者ごとに重み付きカッパを用いて一致度を評価した．PET所見とCT所見の変化は病変ごとに集計し，補正したカイ2乗検定を用いて，溶骨とFDG集積増加の相関を評価した．

〈結果〉

47名，771病変が評価された．ベースライン時に認めた病変が444個，経過中に新出した病変が327個だった．34名（68%）に骨以外の転移があった．全ての患者が化学療法，ホルモン療法，ビスフォスフォネート，トラスツズマブ，放射線療法のうち少なくとも1種類の治療を受けていた．のべ1215回の評価のうち，FDG集積を認めた病変は743個（61.2%），SUVmaxは1.3–18.6（平均5.2, 中央値4.5）だった．

PETと腫瘍マーカーの比較（患者ごとの評価）

5種類の腫瘍マーカーには特に偏った傾向はみられなかった．腫瘍マーカー値は増加が24名，減少が10名，不変が13名だった．2

名は腫瘍マーカー間で異なる経過を示し不変とした．PET では FDG 集積増加が 26 名（新出病変 23，SUVmax の増加 3），改善が 12 名（SUVmax の減少 8，有意集積の消失 4），不変が 6 名，FDG 集積のない状態の維持が 3 名だった．重み付きカッパでの評価には，PET 陰性を維持した 3 名を不変として扱った．重み付きカッパは 0.703（線形の重み付け），0.780（二次の重み付け）で，かなりよい相関があった．

CT と腫瘍マーカーの比較（患者ごとの評価）

CT では溶骨が 20 名，硬化が 6 名，不変が 21 名だった．腫瘍マーカー値の増加は溶骨，腫瘍マーカーの減少は硬化と関連していた．CT で硬化，腫瘍マーカーが不変または増加した患者もみられた．重み付きカッパは 0.545（線形の重み付け），0.585（二次の重み付け）で，中等度の相関があった．

CT と PET の比較（病変ごとの評価）

溶骨時はほとんどの場合に集積増加がみられ，統計学的に有意だった（62/65, 95.4%，$p<0.05$，補正したカイ 2 乗＝6.46）．その 62 例中の多く（51 病変，82.2%）は新出の溶骨性転移で，残りは既存の転移に溶骨が加わったものだった．硬化時は FDG 集積が減少または陰性を継続したものが多く（370/432, 85.6%），混合性変化が起こったときは大部分に FDG 集積増加がみられた（18/22, 81.8%）が，多重比較のため統計分析は行っていない．硬化したにも関わらず FDG 集積増加した病変も少なからずみられ（35/432, 8.1%），うち 29 病変は新出，6 病変はベースラインから認められた．この 6 病変はすべて境界不明瞭で，半数はサイズの増大がみられた．3 回以上の検査で硬化と FDG 集積増加の傾向が続いた病変もあった．CT で変化なく FDG 集積増加した 104 病変の多く（87 病変，83.7%）は CT で所見がない新出病変だった．

〈考察〉

FDG-PET と腫瘍マーカーは相関しており，FDG-PET により骨転移の病勢が評価できると考えられる．FDG-PET は個々の骨転移の状態を評価できるので，骨転移の評価に適している．Yong や Tateishi らは SUV 減少と患者の予後が相関すると報告しており，今回の結果も合致する．今回の研究では骨以外の転移が腫瘍マーカーに影響を与えていると考えられるが，骨転移のみの患者もある程度含まれており，骨外病変の種類はばらついていたので，骨以外の特定の病変の影響が大きいと考える根拠はない．

溶骨時にはほとんどの場合に集積増加がみられた．溶骨があり集積が不変だった 1 例や減少した 2 例は，病変が一旦増悪してから改善した可能性もある．

硬化時は集積減少または陰性を持続した病変が多く，CT と腫瘍マーカーの比較でもこの傾向はみられた．しかし，硬化と集積増加がともにみられる病変もあり，Yong もこの性質を示す転移があると報告している．このような造骨性転移は，硬化と集積減少を呈する骨転移とは別の性質を持っている可能性がある．

このことから，骨転移は FDG-PET/CT で溶骨–増悪パターンと硬化–増悪パターンに大きく分けられると考えることもできる．前立腺癌など硬化しながら増悪する骨転移も知られている．今回の研究では乳癌においては溶骨–増悪パターンが主であったが，硬化–増悪パターンもみられた．通常我々は X 線画像により形態分類（溶骨性，造骨性など）を行うが，経過を考慮するとより正確な評価ができる．ただし，本研究はビスフォスフォネートを含めた治療中のため，骨転移の自然経過でないことに注意する必要がある．

CT で見えず PET のみで検出できる新出病変は骨梁間型の転移と考えられる．この評価は MRI が有用だが，全身スクリーニングの観点では PET の方が有用と考えられる．

いくつかの報告では造骨性転移の PET の感度が低いとされているが，これらは改善した病変の可能性がある．活動性のない病変を検出する意義はあまり高くないので，活動性を含めた評価を行う目的でも PET が有用と考えられる．

本研究の限界は，観察時点の間の経過が不明であること，治療の影響があること，CT 値の定量評価を行っていないこと，後ろ向き研究であることである．

〈結論〉

FDG-PET は治療中の乳癌骨転移の評価に有用である．CT の溶骨は増悪を示唆する．乳癌においては溶骨–増悪パターンが主であったが，硬化–増悪パターンもあった．骨転移の経過を評価することが正確な骨転移の評価に必要である．

町田　洋一 博士（医学）　Youichi Machida

学位記番号　／甲第 1898 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　／Diagnostic performance of fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography combined with ultrasonography-guided fine needle aspiration cytology for identifying axillary lymph node status in patients with breast cancer（乳癌腋窩リンパ節の転移における，FDG-PET/CT と穿刺吸引細胞診を合わせた診断能に関する研究）

European Journal of Surgical Oncology　第 39 巻第 1 号　26-30 頁　平成 25 年 1 月発表

論文審査委員／主査：江石　義信　　副査：杉原　健一　　副査：明石　巧

〈論文要旨〉

乳癌腋窩リンパ節転移における fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography（FDG-PET/CT）と超音波ガイド下穿刺吸引細胞診（US ガイド下 FNAC）とを組み合わせた術前診断の精度を評価することが，本研究の目的である．318 例の乳癌患者を後方視的に調査した．そのうち一部の症例は術前化学療法（NAC）を受けていた．FDG-PE/CT の感度，特異度を算出，また，US ガイド下 FNAC と FDG-PET/CT とを組み合わせが術前診断と，病理学的結果との関連を評価した．結果，271 例に FDG-PET/CT を撮像，そのうち 41 例が US ガイド下 FNAC を受けていた．NAC を受けていない患者における FDG-PET/CT の感度，特異度はそれぞれ，18.5%, 97.1% であった．NAC 症例での感度は 68.2%，NAC 症例もあわせた全体としての感度は 40.8% であった．腋窩の FDG 集積が陰性，かつ US ガイド下 FNAC で転移が同定されたのは 1 症例あり，この症例は TNM 分類で原発巣が T2，原発巣への FDG 集積は低かった．FDG-PET/CT は腋窩リンパ節転移において高い特異度を持つが，特に早期の症例において感度は低い．腋窩リンパ節の FDG 集積が陰性であった場合，US ガイド下 FNAC は，原発巣が大きくかつその FDG 集積が低い症例において，リンパ節転移同定に有用な可能性がある．

〈諸言〉

乳癌では，腋窩リンパ節転移の有無は重要な予後因子であり，超音波，CT, MRI, 18F-fluorodeoxyglucose（18F-FDG）を用いた PET（FDG-PET）など，複数のモダリティを用いての術前診断が行われている．このなかで，FDG-PET/CT は腋窩リンパ節転移診断に高い特異度を有することが知られているが，特に最近の方向では，その感度は低いとされる．一方で，超音波は術前診断に用いられているが，超音波ガイド下穿刺吸引細胞診（US ガイド下 FNAC）は中等度の感度と，高い特異度を有することが報告されている．

乳癌腋窩リンパ節転移の術前診断について，FDG-PET/CT と超音波を組み合わせた報告はいくつかあるが，FDG-PET/CT と US ガイド下 FNAC を組み合わせた報告はなく，今回我々は，FDG-PET/CT と US ガイド下 FNAC とを組み合わせた，乳癌腋窩リンパ節転移術前診断能について評価した．

〈方法〉

本研究は，当院における倫理委員会の承認を得て行われた．2005 年 12 月から 2009 年 11 月までの当院における乳癌症例を後方視的に評価した．術前に FDG-PET/CT が 318 例に撮像されており，その一部は術前化学療法（NAC）を受けていた．NAC を受けたために初診時の腋窩リンパ節転移の有無が不明となった症例は除外されたが，NAC 前に US ガイド下 FNAC にて，リンパ節転移が確定されている症例は解析に含めた．

FDG-PET/CT は 4 時間の絶食の後，3.7MBq/kg の 18F-FDG を静注し，東芝メディカルシステムズ社の Aquiduo を用いて撮像された．評価は 2 名の放射線科医が合意のもと，視覚的に行い，腋窩の FDG 集積が背景の集積と比較し高い場合を集積陽性，背景と同等あるいは背景未満の場合を集積陰性とした．乳癌原発巣と腋窩リンパ節の Maximal standardized uptake value（SUVmax）を測定した．

超音波は東芝メディカルシステムズ社 Aplio XG，または日立メディコ社の EUB-7500 を用いて 1 名以上の放射線科医によって行われた．腋窩リンパ節の形状などを評価し，皮質肥厚がわずかでも見られた場合に US ガイド下 FNAC を行った．複数のリンパ節が穿刺の対象となるような症例では，最も転移の疑われるリンパ節を対象とし，まったく正常なリンパ節のみの症例は穿刺対象としなかった．

FDG-PET/CT, US ガイド下 FNAC はいずれも術前に，他の臨床情報や検査結果が参照できる状態で，順不同で行われた．

術前に US ガイド下 FNAC で転移が診断されている症例は転移陽性確定とし，そのほかの症例は腋窩リンパ節生検または腋窩リンパ節廓清で得られた検体の病理診断を参照標準とした．

FDG-PET/CT, US ガイド下 FNAC の感度，特異度，陽性的中率，陰性的中率，精度，US ガイド下 FNAC の感度，陰性的中率を算出した．FDG-PET/CT と US ガイド下 FNAC を組み合わせた術前診断と参照標準との間の関係を評価した．

〈結果〉

318 症例のうち，91 例に NAC が施行されていた．NAC 施行群のうち，NAC 前に US ガイド下 FNAC で腋窩リンパ転移が確定された 13 例，最終的に病理で転移が確定された 31 名は解析に含め，残りの 47 例は除外し，NAC 非施行群 227 例と合わせて 271 を解析に含めた．そのうち 41 例に US ガイド下 FNAC が施行され，このうち 26 例が NAC 非施行例，15 例が NAC 施行例であった．

NAC 非施行群における FDG-PET/CT の感度，特異度，陽性的中率，陰性的中率，精度は 18.5%，97.1%，66.7%，79.2%，84.0%，NAC 施行群の感度は 68.2%，全体としての感度は 40.8% であった．また，NAC 非施行群における US ガイド下 FNAC の感度，陰性的中率，精度は 40.0%，72.7%，76.9%，NAC 施行群の感度は 86.7%，全体としての感度は 68.0% であった．

FDG-PET/CT, US ガイド下 FNAC の両者を術前に受けた 15 例のうち，12 例は両検査ともに陽性，2 例が FDG-PET/CT で集積陽性だったものの US ガイド下 FNAC で陰性で，最終的な病理診断で転移ありとされた．残りの 1 例は浸潤性乳管癌で，原発巣の浸潤径は 25mm, FDG-PET/CT で原発巣の SUVmax は 2.1，リンパ節の集積は陰性であった．超音波では腋窩リンパ節の皮質に軽度の肥厚を認め，同部の US ガイド下 FNAC で転移が確定した．

〈考察〉

これまでの報告では，乳癌リンパ節転移における FDG-PET/CT の特異度は 75% から 100% と高く，本研究においても NAC 非施行群における FDG-PET/CT の特異度は高い．一方で，感度は全体で 40.8% であり，これは半数以上の転移症例が FDG-PET/CT で診断できなかったことを意味する．さらに NAC 非施行群に限定すると感度は 18.5% まで低下するが，これは NAC 非施行群がより初期の乳癌であるためと思われ，初期症例において，FDG-PET/CT の腋窩リンパ節転移の感度が特に低いとするこれまでの報告と一致している．

今回の検討では，多くのリンパ節 FDG 集積陽性例において US ガイド下 FNAC で転移が確定された．ただし US ガイド下 FNAC が陰性だったことが必ずしも転移を除外することにならず，FDG-PET/CT 陽性例における US ガイド下 FNAC の有用性は限定的かもしれない．しかし炎症などによる FDG-PET/CT の偽陽性が疑われる症例では，US ガイド下 FNAC は有用であろう．また，FDG-PET/CT で腋窩リンパ節の集積が陰性であった症例においては，リンパ節転移リスクの高い症例に US ガイド下 FNAC は有用と思われる．FDG 集積陰性，US ガイド下 FNAC で転移が確定された 1 症例は，原発巣の浸潤径が 25mm で，原発巣の FDG 集積は 2.1 と低かった．Carter らは浸潤径の増大に伴いリンパ節転移の頻度が増大することを報告しており，比較的大きな腫瘍では腋窩リンパ節に FDG 集積が見られなくても転移の危険性が高くなる，加えて原発巣の FDG 集積が低い場合，同一の特性を有するであろう転移巣の FDG 集積も不明瞭化することが考えられ，このような状況下では US ガイド下 FNAC が有用となる可能性がある．

なお，本研究の限界点としては，NAC 施行例の一部が除外されていることや US ガイド下 FNAC が一部にのみ施行されている点などの選択バイアス，本研究が個体数の少ない後方視的研究である点があげられる．また NAC 非施行群 227 例のうち，US ガイド下 FNAC が施行されていたのがごく一部の症例（26 例）のみであったため，同群において，FDG-PET/CT と US ガイド下 FNAC を組み合わせた評価は行わなかった．今回の研究で明らかとなった事項を将来さらに検討することを計画している．

〈結論〉

FDG-PET/CT は腋窩リンパ節転移において高い特異度を持つが，特に早期の症例において感度は低い．腋窩リンパ節の FDG 集積が陰性であった場合，US ガイド下 FNAC は，原発巣が大きくかつその FDG 集積が低い症例において，リンパ節転移同定に有用な可能性がある．

鈴木　志郎 博士（医学）　Shiro Suzuki

学位記番号 ／甲第1899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）生体支持組織学系専攻

学位論文 ／Properties and usefulness of aggregates of synovial mesenchymal stem cells as a source for cartilage regeneration
（軟骨再生の細胞源としての滑膜間葉系幹細胞集合体の特性と有用性）
Arthritis Research & Therapy　第14巻第3号　平成24年6月発表

論文審査委員／主査：野田　政樹　　副査：浅原　弘嗣　　副査：田賀　哲也

〈論文要旨〉

滑膜間葉系幹細胞はその高い軟骨分化能により軟骨再生における有用な細胞源として期待される．臨床応用に向けて，限られた細胞数で，より効率よく移植，再生するためには，移植操作，細胞の軟骨分化能，などを改善することが必要である．間葉系幹細胞を3次元培養し集合体とすることがひとつの解決策として考えられる．今回，滑膜間葉系幹細胞集合体の特性，*in vitro*，*in vivo* の軟骨分化を検討した．

2.5x10^5 のヒト滑膜間葉系幹細胞を35μl の培養液に懸濁し，hanging drop 法で，3日間培養し，集合体を形成させた．遺伝子プロファイルを microarray, real time RT-PCR により解析した．集合体を軟骨分化培養液で，21日間培養し，*in vitro* の軟骨分化能を検討した．*in vivo* の検討のため，日本白色家兎の膝蓋大腿関節の大腿骨側に軟骨欠損を作成し，自己滑膜間葉系幹細胞集合体を移植した．細胞を移植しない群を対照とした．移植細胞を追跡するため，GFP を発現する兎の滑膜間葉系幹細胞集合体の同種移植も検討した．

3日間培養した滑膜間葉系幹細胞集合体は，大きさが約1mm で，容易には壊れず扱うことが可能であった．滑膜間葉系幹細胞集合体では，BMP2, SOX5, 6, 9 などの軟骨分化関連遺伝子や，TSG6, STC1 などの抗炎症遺伝子の発現が上昇していた．*in vitro* で，集合体は，従来の単層培養した細胞と比べて，多くの軟骨基質を産生した．*in vivo* では，集合体は，容易に骨軟骨欠損部へ接着させることが可能であった．低密度で移植した群で，良好な軟骨の再生が得られた．得られた再生軟骨には，GFP 陽性細胞を認めた．

予想に反し，低密度で移植した群で，良好な軟骨の再生が得られたが，原因としては，低栄養による細胞死が考えられた．滑膜間葉系幹細胞集合体は，移植操作が容易で，効率的に軟骨欠損部に接着させることが可能で，また軟骨分化能が高いことから，軟骨再生に有用であると考えられる．

〈緒言〉

間葉系幹細胞はその多分化能により再生医療の細胞源として推奨されてきた．特に滑膜由来の間葉系幹細胞は，高い軟骨分化能と増殖能から，軟骨再生医療の魅力的な細胞源である．我々は，以前に，滑膜間葉系幹細胞浮遊液を軟骨欠損部に10分間静置することで，約60% の滑膜間葉系幹細胞を軟骨欠損部に接着させることが可能で，軟骨修復を促進させることができることを報告している．この方法は，scaffold を使わず関節鏡を用いて移植が可能な低侵襲な方法で，有用である．しかし，細胞移植操作時に移植細胞がみえず，10分ですべての細胞が接着するわけではないことから，移植時に無駄にしてしまう細胞がある．臨床応用を考えると，得られる細胞数は限られていることから，より効率的な移植方法の開発が期待される．間葉系幹細胞を3次元培養し集合体とすることがひとつの解決策として考えられる．集合体とすることで，細胞が塊として扱えるため，移植がより容易になると期待される．しかし，滑膜間葉系幹細胞を集合体とした時の特性，軟骨欠損部移植時の動態は不明である．今回，滑膜間葉系幹細胞集合体の形態および遺伝子プロファイルといった特性，*in vitro*，*in vivo* の軟骨分化能を検討した．また *in vivo* の軟骨分化に関しては，移植集合体数などの軟骨分化に影響を与える因子についても検討した．

〈方法〉

ヒトおよび日本白色家兎の滑膜より，間葉系幹細胞を採取した．2.5x10^5 の滑膜間葉系幹細胞を35μl の培養液に懸濁し，hanging drop 法で，3日間培養し，集合体を形成させた．ヒト滑膜間葉系幹細胞を集合体とした時の遺伝子プロファイルを microarray,real time RT-PCR により，集合体とする前の単層培養時と比較することで解析した．ヒト滑膜間葉系幹細胞集合体および従来の単層培養した滑膜間葉系幹細胞を遠心し形成させた pellet を軟骨分化培養液で，21日間培養し，できる軟骨塊の湿重量，軟骨分化関連遺伝子発現を比較することで，*in vitro* の軟骨分化能を検討した．*in vivo* の検討のため，日本白色家兎の膝蓋大腿関節の大腿骨側に 5x5x1.5mm の軟骨欠損を作成し，自己滑膜間葉系幹細胞集合体を，それぞれ，5,10,20,40,80 個移植した．細胞を移植しない群を対照とした．移植細胞を追跡するため，GFP を発現する兎の滑膜間葉系幹細胞集合体の同種移植も検討した．移植後4,12週で，肉眼的，組織学的検討を行った．1.0x10^5 細胞からなる集合体，25個，100個の移植も行い，4週で肉眼的，組織学的検討を行った．移植細胞の生存率を検討するため，DiI で染色した集合体を10個，80個移植し，2週後の移植細胞の TUNEL 染色による検討を行った．また 96well plate で，1個または40個の集合体を1週間培養後の生存率を TUNEL 染色により検討した．

〈結果〉

3日間培養した滑膜間葉系幹細胞集合体は，大きさが約1mm で，容易には壊れず扱うことが可能であった．表層の細胞は紡錘形で，深層の細胞は円形であった．TUNEL 染色陽性細胞がみとめられたが，その数はわずかであった．

単層培養時と比較して，集合体では，被検者によらずほぼ同様に発現プロファイルが変化していた．621遺伝子が5倍以上発現上昇し，最も発現が上昇していた遺伝子は BMP2 であった．集合体では，BMP2, SOX5,6,9 などの軟骨分化関連遺伝子や，TSG6, STC1 などの抗炎症遺伝子の発現が上昇していた．

in vitro で軟骨分化培地で培養した集合体は，従来の単層培養した細胞と比べて，湿重量が重く，COL2A1, aggrecan, SOX9 を多く発現していた．

in vivo では，集合体は，容易に軟骨欠損部へ接着させることが可能で，移植翌日に移植細胞が軟骨欠損部に残存し，軟骨欠損部以外には細胞はみとめなかった．比較的低密度，10個の集合体を移植した群で，移植4週，12週後に最も良好な軟骨の再生が得られた．GFP 陽性細胞の集合体を10個移植し，4週後に再生した軟骨には，GFP 陽性細胞をみとめた．再生した軟骨は GFP 陽性細胞とともに GFP 陰性の細胞もみとめた．

集合体の大きさがその特性に影響するかもしれないため，より小さい大きさの，1.0x10^5 細胞からなる集合体，25個，100個の移植

も行った．移植4週後，より低密度な25個移植群で，良好な軟骨再生が得られた．
より多くの集合体を移植した時に，成績が不良な原因を検討するため，TUNEL染色による生存率の検討をおこなった．移植2週後に，10個の集合体移植時と比べて，80個の集合体移植時に，多くのTUNEL陽性細胞をみとめた．低栄養な環境が原因のひとつかもしれないため，*in vitro*での集合体の生存率の検討も行った．96well plateで，1個ないし40個の集合体を1週間培養すると，40個の集合体を培養したwellで，培養液の色が赤から黄色になり，またTUNEL陽性細胞を多くみとめた．

〈考察〉
本研究では，滑膜間葉系幹細胞の集合体を形成するため，Hanging drop法を用いた．この方法は，特に高価な特別な道具を必要としない，単純な方法である．滑膜間葉系幹細胞を集合体とすることで，劇的に遺伝子プロファイルは変化した．これは，おそらくは細胞間接着様式の変化，低酸素，低栄養といった環境の変化によるものと推測される．
日本白色家兎の軟骨欠損モデルを用いた*in vivo*の検討では，滑膜間葉系幹細胞集合体を比較的低密度で移植した群で，良好な軟骨の再生が得られたが，最も成績が不良であったのは，最も多くの集合体を移植した群であった．我々は以前にcollagen gelに包埋した滑膜間葉系幹細胞を軟骨欠損部に移植した時には，より多くの細胞を移植した群で，より良好な成績が得られていたことから，今回の結果は予想に反するものであった．
なぜ一定数以上の集合体を移植した時に，成績が不良となるのか？ 3つの理由が推測された．第一に，過剰に集合体を移植した時には，細胞を維持するのに必要な栄養素が枯渇していたと考えられる．*in vitro*での集合体の生存率の検討で，40個の集合体を1週間培養したwellでは，培養液の色が黄色に変色しており，集合体の数が過剰な時は，pHが大きく変化してしまっていた．第二に，過剰に集合体を移植した時には，細胞死をおこす細胞が増加していることがあげられる．第三に，過剰に集合体を移植することで，hostの軟骨前駆細胞が，骨髄や関節液から軟骨欠損部へ遊走することが阻害されたと考えられる．GFP陽性の滑膜間葉系幹細胞集合体を移植した実験で，得られた再生軟骨には，GFP陽性細胞と陰性細胞が混在した．骨髄や関節液中には，間葉系幹細胞が存在することは知られていることから，再生した軟骨は，移植した細胞が直接軟骨に分化しただけではなく，hostの細胞が関与してることが示唆された．
本研究では，比較的低密度で，移植した時に良好な結果が得られたが，臨床応用を考えると望ましい結果であった．我々はすでに，ヒトの軟骨欠損部への自己滑膜間葉系幹細胞移植の臨床治験を行っている．12症例の平均で，passage 0で5000万細胞を得ることができ，約280mm^{2}の軟骨欠損部へ移植している．今回の日本白色家兎のmodelでは，滑膜間葉系幹細胞集合体を無駄なく欠損部へ接着させることができ，10個の集合体（250万細胞）を25mm^{2}の欠損部へ移植した際に最も良好な結果が得られた．これらの結果から，ヒトにおいて，passage 0で十分な細胞数を得ることができるといえる．
過去の骨髄間葉系幹細胞の報告と同様に，滑膜間葉系幹細胞においても，集合体とすると，抗炎症遺伝子であるTSG6, STC1の発現が上昇していた．TSG6の過剰発現，リコンビナントTSG6の関節内投与は，関節炎を抑制すると報告されている．今回の日本白色家兎のmodelでは，関節炎は対照群でも強くなく，滑膜間葉系幹細胞集合体の抗炎症効果は確認できなかった．今後，他の動物modelで，滑膜間葉系幹細胞集合体の抗炎症効果の検討を行うことは大変興味深い．

〈結論〉
滑膜間葉系幹細胞集合体は，移植操作が容易で，効率的に軟骨欠損部に接着させることが可能で，また軟骨分化能が高いことから，軟骨再生に有用な細胞源であると考えられる．

重松　孝 博士（医学）　Takashi Shigematsu

学位記番号　／甲第 1900 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　　／Transcranial direct current stimulation improves swallowing function in stroke patients（経頭蓋直流電気刺激による脳卒中後の嚥下機能改善について）
Journal of Clinical Rehabilitation　第 19 巻第 11 号　1099–1103 頁　平成 22 年 9 月発表

論文審査委員／主査：下門　顕太郎　　副査：森田　定雄　　副査：杉原　泉

〈論文要旨〉

脳卒中後の嚥下障害は多くの合併症を引き起こし，患者の予後を悪化させるが，嚥下障害の有効な治療法は数が少ない．今回の前向き比較研究では，嚥下機能の訓練に加えて非侵襲的な大脳皮質の刺激が嚥下機能に及ぼす影響を調査した．

方法は，20 人の発症後少なくとも 1 ヶ月以上経過した嚥下障害を有する脳卒中患者に 1mA, 20 分間，10 セッションにて陽極の tDCS を行う刺激群と sham 刺激を行う対照群に分けて実施した．刺激前，刺激後，刺激後 1 ヶ月経過後の Dysphagia Outcome and Severity scale（以下，DOSS）にて評価した．結果は，刺激群が治療後，1.4 上昇（$p=0.019$），1 ヶ月後では 2.8 上昇（$p=0.0002$）を認めた．一方，対照群では 0.5 上昇（$p=0.358$），1 ヶ月後に 1.2 上昇（$p=0.024$）を認めた．以上より，刺激群と対照群の比較では，刺激群が刺激前後（$p=0.022$），刺激前から刺激後 1 ヶ月後（$p=0.006$）の両者で DOSS スコアの有意な改善を認めた．

以上より，損傷側への陽極の tDCS 刺激と嚥下機能訓練を組み合せで有意に嚥下機能を改善させた．

〈緒言〉

脳卒中後の嚥下障害は急性期には 50% 以上に認めるとされているが，多くの症例は自然軽快して慢性期まで遷延するものは 10% 程度とされている．嚥下障害は生活の質を低下させるだけでなく，肺炎や脱水，低栄養などにより生命の危機を生じさせる．これまで嚥下障害の改善には損傷側の脳機能を非損傷側が代償することで得られると考えられてきた．そのため，急性期の嚥下障害治療は肺炎や低栄養などの合併症を予防しながら，嚥下機能の回復を期待することが一般的であった．

脳卒中後の嚥下障害の治療には体位調整や食品調整などの代償的な治療が用いられることが多く，嚥下障害の病態が多種多様であるため，あらゆる病態に有効な治療法が少ないとされてきた．

嚥下運動は延髄に存在する Central Pattern Generator により生じ，両側大脳皮質の前頭葉により支配され，片側の大脳病変による嚥下障害は一時的であると考えられてきた．また，末梢器官や神経による感覚フィードバックは嚥下運動に重要な役割を果たし，嚥下機能は大脳，脳幹，末梢が密接に関わるとされている．しかし，多くの嚥下障害の治療法は末梢の感覚や運動の入力強化に視点が向けられており，大脳皮質へのアプローチはこれまで少ない．

近年，リハビリテーション医学の領域では反復経頭蓋磁気刺激（rTMS）や経頭蓋直流電気刺激（tDCS）が開発され，非侵襲的脳刺激法が運動機能の改善に有効であるという報告がある．これらは神経損傷による上肢機能，失語症，高次脳機能障害などの改善に有効であるとされている．

今回，我々は tDCS を用いて脳卒中後の嚥下障害治療を行った．

〈対象と方法〉

当初，研究の目的を理解可能な 23 人の嚥下障害患者をエントリーして，文書にて説明をして同意が得られたが，そのうち 3 名は呼吸器感染症のコントロール不良にて，治療開始前に状態悪化のため除外した．残りの 20 人を刺激群と対象群の 2 群に分けた．

嚥下機能評価はリハビリテーション医と言語聴覚士が実施した．評価スケールとして Dysphagia Outcome and Severity scale（以下，DOSS）を用いた．DOSS は，嚥下機能のみならず，食事形態や食事介助の有無，補助栄養の有無などの項目があり，非常に簡便に利用できるため有用であり，1 点から 7 点までであり，1 点が重度の嚥下障害，7 点が正常な嚥下機能を表す．
また，嚥下機能検査は，全例治療前に嚥下造影検査と嚥下内視鏡検査を行い，嚥下造影検査では口腔から咽頭，食道までの食塊の動きを評価し，嚥下内視鏡検査では，咽頭の器質的異常，喉頭侵入や誤嚥，咽頭残留などの有無を評価した．

嚥下機能訓練は，脳刺激治療中に実施した．訓練は，嚥下機能の重症度に合わせて，誤嚥のリスクが高い患者には食品を用いない間接訓練を行い，安全に摂食訓練が可能な患者には食品を用いた直接訓練を行った．

経頭蓋直流電気刺激は DC stimulator を用い，生理食塩水で浸した 2 つの電極を頭皮に当てて刺激した．本装置はコード入力により実刺激と sham 刺激の 2 つのモードに切り替えることが可能で，評価，治療に立ち会わない共同演者の一人が患者にコード発行をすることにより刺激群と対象群に分けた．

刺激強度は 1mA, 20 分間，刺激期間は 10 日間，刺激部位は陽極を損傷側の嚥下運動の一次運動野とされる頭皮上に，陰極は対側の前額部に置いた．sham 刺激には，同部位に，同様感覚を受けるように 40 秒間刺激した．患者は刺激しながら嚥下機能訓練を実施した．

統計解析には，嚥下機能の改善を刺激前，刺激後，刺激治療 1 ヶ月後の DOSS を測定して，各群の DOSS の平均値をマンホイットニー U 検定にて比較した．統計ソフトには SPSS ver18 を用い，p 値が 0.05 以下を有意水準とした．

〈結果〉

23 人中，除外された 3 人を除く 20 人を刺激群と対象群に 10 人ずつの 2 群に分けた．全例で合併症や有害事象なく刺激治療を完遂できた．

脳刺激治療による嚥下機能改善

刺激群と対象群に年齢，性別，脳梗塞のタイプ，病変部位，発症から治療までの期間，身体機能，治療前の DOSS で差を認めなかった．刺激群では，刺激前，刺激後，刺激 1 ヶ月後はそれぞれ 1.9 ± 0.7, 3.3 ± 1.3, 4.7 ± 0.9 であり，刺激前後（$p=0.019$）と刺激前から刺激 1 ヶ月後（$p=0.0002$）で有意な改善を認めたが，対象群では，刺激前，刺激後，刺激 1 ヶ月後は 2.3 ± 1.0, 2.8 ± 1.0, 3.5 ± 0.9 であり，刺激前後（$p=0.358$）では有意な改善を認めなかったが，刺激前から刺激 1 ヶ月後では $p=0.024$ と有意に改善を認めた．

両群を比較すると，対象群に比べて，明らかに刺激群が刺激前後（$p=0.022$）と刺激前から刺激 1 ヶ月後 $p=0.006$ と有意に改善を認

めた．

〈考察〉

本研究では，遷延する脳卒中後の嚥下障害に対して，損傷側に陽極の tDCS と嚥下機能訓練を組み合わせて行うことで sham 刺激に比べて嚥下機能の改善を認めた．

本研究の最も重要な点は，非侵襲的に大脳刺激を刺激することで嚥下機能の改善をする点である．嚥下機能は随意的部分と不随意的部分に分けられ，一般的には，皮質や皮質下の領域が随意的な嚥下運動の開始に関与し，脳幹が不随意的な運動に関与していると考えられている．また，末梢の感覚入力が嚥下運動に重要な役割を果たしていると考えられている．また，咽頭筋が両側大脳皮質の神経支配を受けており，脳卒中後の嚥下機能の改善には非損傷側からの代償が指摘されている．本研究を計画する際に，大脳皮質の刺激と末梢から感覚や運動の賦活する訓練と組み合わせることで咽頭機能がより改善すると仮説を立てた．

tDCS は 1～2mA の直流電流にて刺激部位の活動性を変えることが可能である．効果は 1～2 時間持続するとされている．健常人にて陽極刺激は咽頭の運動皮質を刺激すると報告されており，本研究では損傷側の咽頭領域へ陽極刺激が大脳皮質を活性化し，脳幹の嚥下中枢の賦活化され，嚥下機能改善したと考えた．また，本研究では大脳皮質の刺激と嚥下機能訓練との組み合わせに着目した．

従来の嚥下機能訓練の多くは末梢の筋肉や神経に着目しており，咽頭からの感覚入力は求心性に脳幹の嚥下中枢や大脳皮質の感覚領域を活性化し，さらに咽頭の感覚入力は嚥下の運動皮質も活性化するとされている．

ラットの研究では，リハビリ訓練と大脳への電気的刺激との併用が機能と大脳皮質の神経可塑性を改善すると言われており，慢性期の脳卒中患者でも tDCS と末梢の感覚運動の活性化させる活動や末梢神経の刺激を併用することで運動機能が改善するとされている．

本研究でも，tDCS と嚥下機能訓練との併用が嚥下機能訓練単独に比べて機能改善効果が高いことが示された．おそらく tDCS 単独に比べ併用療法の改善効果が高いことが予想される．また，大脳半球の刺激側として，多くの四肢機能や失語症では損傷側に陽極刺激している報告が多く，本研究では損傷側へ刺激した．

過去の嚥下機能についての報告では嚥下機能は両側支配で，嚥下機能改善は非損傷側の代償の関与より，非損傷側の陽極刺激がより有効であるとの考えが多く，過去の急性期脳卒中の報告は非損傷側刺激で改善を認めている．

脳卒中後の機能改善には他領域からの脳血流の改善や大脳皮質の可塑的な再構築，diachisis の改善が挙げられる．いくつかの脳機能画像の報告では損傷を受けた運動機能の改善には運動皮質で生存した部分の再活性化に基づいており，損傷側の刺激が嚥下機能改善にも有効である可能性がある．

本研究では，全例が 1 ヶ月以上経過後も誤嚥や咽頭残留などの嚥下障害の症状を有し，多くが経管栄養を必要とする重度の嚥下障害を対象としており，その大部分が経口摂取に移行できており，本研究の臨床的意義は大きい．

〈結論〉

脳卒中後の損傷側への tDCS による陽極刺激は，嚥下訓練と組み合わせることにより嚥下機能改善に有効であることがわかった．刺激部位や刺激回数，強度などの至適刺激条件の確立が今後望まれる．

新田　沙由梨 博士（医学）　Sayuri Nitta

学位記番号　／甲第 1901 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　／Hepatitis C virus NS4B protein targets STING and abrogates RIG-I-mediated type I interferon-dependent innate immunity（C 型肝炎ウイルスの NS4B 蛋白は STING を標的として RIG-I が介在する I 型インターフェロン依存性自然免疫機構を阻害する）
Hepatology　第 57 巻第 1 号　46–58 頁　平成 25 年 1 月発表

論文審査委員／主査：樗木　俊聡　　副査：田中　雄二郎　　副査：山岡　昇司

〈論文要旨〉

C 型肝炎ウイルス（HCV）の持続感染には NS3/4A などのウイルス蛋白によるインターフェロン（IFN）産生自然免疫応答シグナルの阻害が関与している．以前我々は HCV-NS4B 蛋白が RIG-I 誘導性 IFN 産生応答シグナルを阻害することを報告した（Tasaka, J Gen Virol 2008）がその機構は明らかでなかった．今回我々は，内在性 IFN 産生を誘導する蛋白である STING がフラビウイルスの NS4B 蛋白と相同ドメインを有することに着目し，HCV-NS4B と STING との IFN 産生シグナル伝達における分子間相互作用の解析を行った．NS4B は RIG-I, Cardif および STING 誘導性 IFN 転写活性化を抑制した．免疫沈降法および 2 分子蛍光補完（BiFC）法により，STING と NS4B の直接結合が示された．更に Cardif と STING の結合が NS4B により抑制された．免疫染色では STING と NS4B の共局在が観察された．以上より NS4B が STING に直接結合し Cardif と STING の結合を阻害する事によって IFN-β 活性を抑制していると考えられた．

〈背景〉

ウイルス感染時には，宿主の自然免疫機構が働きウイルスが排除されるが，HCV 感染ではウイルス蛋白による自然免疫応答の阻害がウイルスの持続感染および高率な慢性化に関与していると考えられている．自然免疫機構の一つである RIG-I 依存性 IFN 発現経路では HCV 感染後，細胞内レセプターである RIG-I がウイルスを認識し，Cardif や TBK1 などの下流分子へのシグナルを介し転写因子である IRF3 がリン酸化され核内移行する事により IFN 産生を誘導する．

HCV の非構造蛋白の一つである NS3/4A 蛋白は Cardif を切断する事により RIG-I 依存性 IFN 発現経路を抑制する．一方，我々は以前 NS4B が RIG-I 依存性の IFN 活性を抑制することを報告した．近年，RIG-I 依存性 IFN 発現経路において Cardif および TBK1 と結合し機能する分子として stimulator of interferon genes（STING）が同定された．STING は種々のフラビウイルスの NS4B と一部相同性を示し，黄熱病ウイルスの NS4B により STING 誘導性 IFN-β 活性が抑制されることが報告された．以上の知見より我々は，HCV-NS4B が STING との相互作用を介して IFN 抑制効果を示しているとの仮説を立て一連の実験を行った．本研究で我々は HCV-NS4B 蛋白が STING と直接結合し，STING と Cardif の結合を阻害する事により IFN 産生を抑制することを示した．

〈方法〉

IFN-β promoter を用いた promoter assay, western blotting によるリン酸化 IRF3（pIRF3）の検出により，NS4B が IFN 活性に及ぼす影響を調べた．蛍光二重免疫染色により NS4B と Cardif, STING の細胞内局在を観察した．生細胞内での蛋白相互作用の解析法である BiFC 法と免疫沈降法により NS4B, Cardif, STING の蛋白相互作用の解析を行った．

HCV の増殖モデルである，luciferase を組み込んだ HCV レプリコンを導入した細胞において siRNA により STING を knock down させ luciferase 活性を測定する事により HCV 増殖への影響を検討した．また，NS4B を発現させた細胞に HCV RNA を導入しウイルス粒子を形成する core 蛋白量を測定する事によりウイルス増殖への影響を検討した．

STING と相同性を有する HCV-NS4B の N 末端側が STING との相互作用に重要である可能性を考え，C 末端側を欠失し相同部位のみとした変異 NS4B（NS4Bt1–84），および相同部位を欠失した変異 NS4B（NS4Bt85–261）を作成し上記と同様に IFN-β promoter assay を行った．

NS3/4A により Cardif の C 末端側が切断された状態における，NS4B の IFN-β 産生抑制効果について検討を行うため，NS3/4A により切断され産生されるアミノ酸 1–508 から成る truncated Cardif（Cardif1–508）を作成し，IFN-β promoter assay を行った．

〈結果〉

promoter reporter assay では活性化型 RIG-I（ΔRIG-I), Cardif, STING の強制発現により誘導された IFN-β promoter の活性化が NS4B により抑制された．同様に， ΔRIG-I, Cardif, STING の発現により増加する pIRF3 が NS4B 共発現により抑制された．一方，STING の強制発現によっておこる IFN-β promoter の活性化および pIRF3 の産生は NS3/4A によっては抑制されないことから，NS4B と NS3/4A は異なった IFN シグナル抑制機構を有すると考えられた．蛍光二重免疫染色では，STING と NS4B はほぼ完全に共局在した．免疫沈降，および BiFC 法では，STING と NS4B の直接結合が示された．一方，Cardif と NS4B の結合は明らかではなかった．また既報の通り，免疫沈降で Cardif と STING の結合が示されたが，両者の結合は NS4B の発現によって阻害されたことから，NS4B は Cardif と STING の結合を阻害する事により IFN シグナルを抑制する可能性が示唆された．
HCV レプリコン細胞に siRNA を導入し STING を knock down させると，HCV の増殖を反映する luciferase 活性が有意に上昇した．また，NS4B 発現細胞に HCV RNA を導入すると，培養液中の core 蛋白量は有意に増加した．このことより，NS4B による STING を介した IFN 抑制作用は HCV 感染においてウイルス増殖を増強させると考えられた．

変異 NS4B を用いた検討では，STING と相同性を示す NS4Bt1–84 は NS4B と同様に ΔRIG-I, Cardif, STING の発現により誘導される IFN-β promoter 活性を強く抑制したが，NS4Bt85–261 は抑制効果を示さず，NS4B の N 末端側が IFN 抑制作用に重要であると考えられた．

最後に，NS3/4A によって Cardif が切断された状態での NS4B による IFN 抑制効果について検討を行った．Cardif1–508 の強制発現により全長の Cardif に比し弱い IFN-β-promoter 活性が誘導され，更に誘導された IFN-β-promoter 活性は NS3/4A の発現によっては全く抑制されなかったが，NS4B によりほぼ完全に抑制された．以上より NS4B は NS3/4A と協調的に作用し IFN 発現経路を抑制していると考えられた．

〈考察〉

HCV 感染では，ウイルスが自然免疫機構を回避する事により持続感染が可能となり，慢性化に至る一因と考えられている．我々は，NS4B 蛋白が NS3/4A と同様に RIG-I 依存性 IFN 発現経路を抑制する事を報告しており，NS4B が Cardif，もしくは Cardif と TBK1 との間の経路を標的としていると考えられたが詳細な機序は不明であった．

近年 Cardif と TBK1 とをリンクする足場蛋白としての役割を持つ STING という分子が同定された．IFN-β promoter assay および pIRF3 発現の解析において，NS4B が STING 誘導性 IFN 発現経路の活性化を抑制する一方 NS3/4A は抑制効果を示さなかったことより，両者は異なる機序によって IFN 産生を抑制していると考えられた．

また既報における黄熱病ウイルスでの検討と同様，HCV の NS4B 蛋白も STING と直接結合し，更に，Cardif と STING の結合を NS4B が阻害することによって IFN 産生を抑制する可能性が示唆された．また，STING と相同部位を示す NS4B の N 末端側が IFN 産生の抑制に重要であると考えられた．

STING は IFN 発現経路において Cardif の下流分子と考えられている．HCV 感染では NS3/4A によって Cardif が切断されるため，STING の上流で既に IFN シグナルは抑制されていると考えられる．しかし，Cardif1–508 を用いた検討より，NS3/4A による IFN 抑制効果は十分なものではなく，NS4B が STING を標的とすることにより残存した IFN 産生をほぼ完全に遮断すると考えられた．このことより NS4B は NS3/4A と協調的に作用し IFN 抑制効果を増強していると考えられた．

ウイルスを用いた検討では NS4B の発現によって HCV 複製が増強することが示され，上記の分子機構はウイルス感染細胞においても機能し，HCV 増殖に影響を与えることが示唆された．

近年 C 型肝炎に対して，NS3/4A 阻害薬をはじめとした抗ウイルス薬が開発され良好な成績が得られているが，依然として根治できない症例やウイルスの耐性変異等の問題が残っている．NS4B 阻害薬に関しては現在開発段階であるが，in vitro，あるいは臨床試験において一定の効果が得られるとの報告がある．NS4B 阻害薬の抗ウイルス効果の少なくとも一部は，今回明らかとなったような，NS4B による IFN 抑制作用の阻害を介している可能性がある．

本研究で明らかとなった NS4B の自然免疫機構に対する作用は，HCV 感染機構の解明や治療開発を行う上で重要な分子機構の一つと考えられる．

〈結果〉

HCV-NS4B は STING と直接結合し Cardif と STING との結合を阻害することにより IFN 発現経路を抑制し，ウイルス増殖に関わっていることを明らかにした．

大石　咲子 博士（医学）　Sakiko Oishi

学位記番号　／甲第 1902 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　／Stretch of atrial myocytes stimulates recruitment of macrophages via ATP released through gap-junction channels
（心房の伸展刺激により放出された ATP はマクロファージの遊走と催不整脈性を介在する）
Journal of Pharmacological Sciences　第 120 巻第 4 号　296–304 頁　平成 24 年 11 月発表

論文審査委員／主査：下門　顕太郎　　副査：小川　佳宏　　副査：平尾　見三

〈論文要旨〉

心房細動は多因子疾患であり，その危険因子の心房伸展と心房炎症の間には何らかの相関関係があることが示唆される．

今回，器官炎症の最終効果細胞であるマクロファージに焦点をあて，心房伸展と心房炎症の関係を検討した．

実験は *in vitro* 実験と *in vivo* 実験からなる．*In vitro* 実験では，マウス心房筋由来株化細胞である HL-1 細胞を機械的に伸展した時の共培養したマクロファージの遊走，ATP 分泌，および ATP の分泌経路の検討を行った．*In vivo* 実験では，大動脈狭窄術（TAC）により心房伸展を誘発したマウスを用いて，心房組織でのマクロファージの浸潤を検討した．

HL-1 細胞の伸展により，共培養したマクロファージの遊走，ATP の放出は有意に増加した．これらの増加はギャップジャンクションチャネル（GJC）阻害薬カルベノキソロン（CBX）により抑制された．マクロファージの遊走は，ATP 分解酵素アピラーゼ，P2 受容体阻害薬 PPADS により抑制された．HL-1 細胞ではパネキシンサブタイプのうちパネキシン -2 が主タイプであり，これをノックダウンすることにより，マクロファージの遊走と ATP 放出は抑制された．

TAC 施術心房において，マクロファージの浸潤，及び心房拡大が見られた．これらは，CBX 連日投与により有意に抑制された．

以上から，in vitro では心房筋細胞の伸展により，GJC から放出される ATP がマクロファージの遊走に少なくとも一部は関与すると考えられ，また，in vivo では GJC から放出される ATP が心房の炎症変化に影響を与えるものと考えられた．

〈緒言〉

心房細動は最も頻繁に見られる不整脈であり，心原性脳塞栓や心不全増悪の原因となり得ることから，心房細動の病態発現機序の解明が必要である．

心房細動は多因子疾患であり，高血圧・心不全など心房伸展を伴う危険因子が同定されている．また，心房拡大はもっとも普遍的にみられる臨床所見である．心房細動患者では炎症性サイトカインの上昇が見られることなどから，病態発現に心房の炎症が関与することが示唆される．以上から，心房伸展と心房炎症の間に何らかの因果関係の存在が示唆されるが，その詳細は不明である．

今回我々は，心房伸展が器官炎症の最終効果細胞であるマクロファージに及ぼす影響について検討した．

〈方法〉

in vitro 実験

・マクロファージ遊走能試験：マウス心房筋由来株化細胞（HL-1 細胞）に 20% 機械的伸展刺激を与え，共培養したマウス腹水由来マクロファージ細胞株（J774.1 細胞）の遊走を共焦点レーザー顕微鏡で観察した．遊走は，下記の式を用いて評価した．

Migration index（%）= cells in upper chamber /（cells in upper + lower chambers）× 100

・ATP 分析：HL-1 細胞に機械的伸展刺激を与えたときの細胞外 ATP 濃度の経時的変化を，ルシフェラーゼ発光測定を用いて評価した．

・ATP に対するマクロファージの走化性試験：ATP に対するマクロファージの走化性を，スライドチャンバーを用いて評価した．

in vivo 実験

心房拡大の *in vivo* モデルとして，マウスに大動脈狭窄術（TAC）を施したモデルを用いた．術後 10 日目に心臓を摘出し，免疫染色法（F4/80）によりマクロファージ浸潤を評価した．

〈結果〉

in vitro 実験

・マクロファージ遊走能試験：

HL-1 細胞の伸展により，共培養した J774.1 細胞の遊走は伸展しない場合と比較して増加した（11.0 ± 2.1% vs. 19.7 ± 1.2%，$p < 0.01$）．これは ATP 分解酵素アピラーゼ，P2 受容体阻害薬 PPADS によりそれぞれ 9.1 ± 3.4%（$p < 0.01$），11.9 ± 1.2%（$p < 0.01$）に抑制された．

・ATP 分析：

HL-1 細胞伸展により，細胞外 ATP 濃度は 4.0 ± 1.0 nM（伸展前）から 23.7 ± 6.7 nM（伸展 3 分後）に増加した（$p < 0.001$）．

・ATP に対するマクロファージの走化性試験：

スライドチャンバーで，J774.1 細胞を播種したリザーバーと反対側に 0～1 mM の各濃度の ATP を添加し，37 時間後に観察したところ，添加濃度 100 μM まで濃度依存的に J774.1 細胞の移動距離が増加した．

・ATP 放出経路としてのパネキシン（Px）の検討：

ATP 放出経路としてギャップジャンクションチャネル（GJC）が関与するか，GJC 阻害薬カルベノキソロン（CBX）を用いて検討した．共培養した J774.1 細胞の遊走は，CBX を添加しない場合と比較して有意に抑制された（20μM の時 13.8 ± 2.0%，$p < 0.05$,100 μM の時 9.2 ± 1.5%，$p < 0.001$）．伸展後の細胞外 ATP 濃度は CBX 20μM 添加により 3.1 ± 0.4 nM（伸展 3 分後）に抑制された（$p < 0.001$）．HL-1 細胞における GJC の Px の発現を定量 PCR 法により検討したところ，パネキシン -2（Px2）の発現が確認された．これを siRNA によりノックダウンすると，マクロファージの遊走は 13.2 ± 1.2% へ（$p < 0.01$），ATP 放出は 1.5 ± 0.8 nM（伸展 3 分後）へ有意に抑制された（$p < 0.001$）．

in vivo 実験

・マクロファージの浸潤：

心房拡大の *in vivo* モデルとして，マウスにTACを施したモデルを用いた．CBXは，PR, QRS間隔共に影響を与えない量（50nmol/g）を投与して行った．
術後10日目で，TAC施術心房においてマクロファージの浸潤が見られ，これはCBXの連日投与により抑制された（432 ± 54 vs. 288 ± 53 cells/mm^2，$p < 0.05$）．

〈考察〉
今回の研究により，以下の4点が明らかになった：1）心房筋の伸展により，マクロファージの遊走が刺激される；2）マクロファージの遊走にはATPが関係する；3）ATPはPx2を通して放出される；4）in vivoで心房伸展による炎症は，GJCを阻害することにより抑制される．
今回，心房伸展により，マクロファージが浸潤することが確認できた．今までに心房伸展による心房リモデリングの機序として，レニン・アンジオテンシン系やTGFβシグナルの関与が広く知られ，また，PDGFシグナルを介したマスト細胞の関与が報告されている．今回の実験で，ATPシグナルも心房リモデリングに関与することが初めて示唆された．
ATPに対して，マクロファージは走化性を示したことから，ATPのマクロファージ遊走作用はマクロファージに対する直接的作用であることが示唆される．しかし，心室筋細胞では，伸展刺激により放出されたヌクレオチドがオートクライン的に心室筋細胞自身に作用するとの報告もあり，心房筋でもマクロファージに対する直接的作用だけでなくオートクライン作用も同時に関与している可能性は否定できない．P2受容体阻害剤PPADSによりマクロファージの遊走が抑制されたが，関与する受容体のタイプが何かは今後明らかにする必要がある．
今回の研究では，マウス心房筋由来株化細胞を用いて，Px2を通してATPが放出されることが示された．今まで，胎児ラット心室筋細胞の伸展により，Px1を通してATP及びUDPが放出されること，また，これらはオートクライン作用によりGα12/13シグナルを刺激することが報告されている．本研究とは，ATP放出経路としてのPxのサブタイプが異なるが，この違いは，伸展刺激に対する心房筋と心室筋の反応性の違いを知る上で有効であると考えられる．
今回，心房の炎症と拡大は，ATP放出を阻害することにより抑制されることが分かった．GJCにはコネキシン（Cx）とPxがあり，Cxが生理的心筋の介在板でGJCを形成して電気刺激伝導に関与するのに対して，PxはGJCを形成せず，ヘミチャネルとして存在することが知られている．これまで，Cxの過剰発現により，Cxの細胞側面への転移が抑制されて介在板に残り，心房細動が抑制されたが，心房の炎症は抑制されなかったことが報告されている．また，CBXは低濃度ではPxを，高濃度ではPx, Cx両者を抑制すること知られているが，今回心房へのマクロファージの浸潤はCBXにより抑制された．更に，今回の *in vivo* モデルでは，PR, QRS間隔共に影響を与えない量のCBX投与により心房の炎症が抑制されたことから，ATP放出は，電気刺激伝導に関与するCxではなく，Pxからのものと考えられた．しかし，心筋に圧負荷をかけるとCxのヘミチャネルも発現が増えることが報告されているため，心房細動の発展におけるCxとPxの役割を明らかにするためには，KOマウスを使った検討が必要と考えられる．

〈結論〉
伸展された心房筋細胞において，ギャップジャンクションチャネルはマクロファージの動員に重要な役割を担うことがわかった．このメカニズムにおいて，細胞外ATPは重要因子の一つであると考えられた．GJC阻害薬により，in vivoでのマクロファージの浸潤は抑えられた．
これらのことから，心房伸展によりGJCから放出されたATPは，マクロファージの遊走を促し，また，心房の炎症変化に関与するものと考えられた．

Maung Kyi Chan Ko 博士（医学）

学位記番号　／甲第 1903 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　　／Association of COMT gene polymorphisms with systemic atherosclerosis in elderly Japanese（日本人老齢者における COMT 遺伝子多型と全身の動脈硬化度の関連に関する研究）
Journal of Atherosclerosis and Thrombosis　第 19 巻第 6 号　552‒558 頁　平成 24 年 6 月発表

論文審査委員／主査：木村　彰方　　　副査：北川　昌伸　　　副査：吉田　雅幸

〈論文要旨〉

背景

アテローム性動脈硬化症は加齢性病変であり，先進国で主要な死因のひとつである循環器系疾患の原因となる．動脈硬化症の進行には遺伝要因と環境要因が関わっている．家系解析により遺伝要因が 30% 以上を占めることが示唆されており，実際近年のゲノム研究から多くの動脈硬化症関連遺伝子が同定されている．カテコール -O- メチルトランスフェラーゼ（COMT）はドーパミン，アドレナリン，ノルアドレナリンなどのカテコラミン類を分解する酵素であり，COMT には酵素活性を変化させる Val/Met 多型が知られている．本研究では COMT 多型の動脈硬化度に与える影響を調べた．

方法

東京都健康長寿医療センターの 1536 例を連続剖検例サンプルとした．全身性動脈硬化度，冠動脈硬化度および脳動脈硬化度の指標として pathological atherosclerotic index（PAI），coronary stenotic index（CSI），および intracranial atherosclerotic index（ICAI）の判定量的な指標を用いた．COMT 遺伝子多型 rs4680（G/A = Val/Met）および rs4633（C/T）を Taqman 法でジェノタイピングし，関連解析を行った．

結果

遺伝子多型 rs4680 GG 多型および rs4633 CC 多型は PAI との間に有意な相関が認められた（p = 0.031 および p = 0.035，年齢，喫煙，飲酒，高血圧，糖尿病で調整後）．いずれの多型も CSI,ICAI との相関は認められなかった．男女別の解析においては，両多型と PAI の関連は女性でのみ認められ，男性では認められなかった．

考察

COMT の高酵素活性 Val アレルは動脈硬化の進展と関連しており，その効果は女性において顕著であった．COMT はカテコラミン類，エストロゲン，ホモシスチンの代謝を司っており，動脈硬化進展とのより詳細な検討が必要である．

Introduction

Atherosclerosis is the major cause of cardiovascular diseases that related morbidity and mortality all over the world. The etiopathology arises from vascular stiffening, focal asymmetrical thickening and intimal hardening due to cellular debris and lipid accumulation. Genetic and environmental factors cause disease initiation and progression. Diabetes, hypertension and obesity are confirmed risk factors in disease development but age and sex differences are still controversial. Genetic involvement in disease progression is approximately 38%, but the specific mechanisms are unclear.

The catechol-O-methyltransferase（COMT）gene encodes an enzyme for degrading estrogens and catecholamines（noradrenalin, adrenalin and dopamine）by the transfer of a methyl group from S-adenosylmethionine. The gene consists of a non-synonymous single nucleotide polymorphism（rs4680G/A）substitution of valine（G allele）to methionine（A allele）at 158 codon. The Val/Val genotype carriers have three-to-four times higher enzymatic activity than Met/Met genotype carriers. Also female Met/Met genotype carriers have a higher estrogen（estradiol）levels than Val/Val genotype carrier. COMT also influences homocysteine production, an independent risk factor for atherosclerosis and vascular endothelium damage.

This study primarily investigated the effects of two highly linked polymorphisms in the COMT gene, on systemic atherosclerosis in Japanese population. The secondary objective is to examine whether male and female differences exist in the two COMT gene polymorphisms.

Materials and Methods

Study Subjects

A total of consecutive 1536 autopsy cases in Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital from 1995 to 2003 were included in this study. Clinical data for age, total cholesterol, HDL, hypertension, diabetes, smoking and drinking were obtained from each patient's record, with ethical approval.

Pathological Assessment of Atherosclerosis

We measured the atherosclerotic severity in three distinct arterial systems by three indices, termed pathological atherosclerotic index（PAI）, coronary stenotic index（CSI）, and intracranial atherosclerotic index（ICAI）.

To determine the systemic atherosclerosis, eight large arteries were measured in PAI. They are the common carotid artery, subclavian artery, aorta, splenic artery, superior mesenteric artery, common iliac artery, external iliac artery, and femoral artery.

Each artery was evaluated by macroscopic examination of the luminal surface in the formalin-fixed arteries. The degree of atherosclerosis was scored according to the ratio of the occupying atheroma to the entire intimal area: 0–8: [0 (absent, <1/20 of the intimal areas occupied by the atheroma), 2 (minimal, 1/20–1/6), 4 (mild, 1/6–1/3), 6 (moderate, 1/3–2/3) to 8 (severe, 2/3–1)]. The pathological atherosclerotic index (PAI) was defined as the average atherosclerotic degree of these eight arteries.

To assess the vascular occlusion level near the coronary area, the coronary stenotic index (CSI) was measured. CSI was examined by using transverse sections at 5 mm intervals. The degree of coronary stenosis was scored from 0–5: [(0: no sclerosis, 1: slight stenosis, 2: 25% stenosis, 3: 50%, 4: 75%, and 5: 100% obstructions)]. CSI is the summed score coronary stenosis in the three branches: left anterior descending branch, left circumflex branch, and right coronary artery.

The intracranial atherosclerotic index (ICAI) was measured for vascular stenotic level near intracranial part. ICAI was established by observing the cut sections of the intracranial arteries and scoring the degree of stenosis from 0–3: [(0: no stenosis, 0.5: cases with only fatty streaks, 1: <50% stenosis, 2: 50%–90% stenosis, 3: 90% stenosis to occlusion)]. The intracranial atherosclerotic index (ICAI) is the sum of the stenotic scores of the left and right middle cerebral arteries and basilar arteries.

Genotyping

DNA samples were extracted from the renal cortex by the phenol/chloroform method.
The PCR primers and hybridization probes were obtained by ordering through Applied Biosystems (Foster City, CA, USA). The genotypes of SNPs (rs4633 and rs4680) in COMT gene were determined by TaqMan allelic discrimination assay with a commercial kit (Light Cycler, Roche, Penzberg, Germany) according to the manufacturer's instructions.

Statistical analysis

Hardy-Weinberg equilibrium was performed on the genotyping result. Linkage disequilibrium between the two SNPs was performed by HaploView 4.2. Statistical Package for Social Sciences for Windows, version 19.0 (IBM SPSS Statistics Desktop for Japan) was used for Fisher's exact test for categorical variables, Student's t-test for continuous variable and regression analysis for multiple risk factors.

Results

Excluding undetermined samples, after initial screeing,1399 subjects were included for rs4633 and 1412 subjects for rs4680. Both the two SNPs (rs4633 and rs4680) were under Hardy-Weinberg equilibrium ($p=0.2995$ & $p=0.0839$). The two SNPs were in high linkage disequilibrium (LD) with $D'=1$ and $r^2=0.916$.

The CC genotype of rs4633 and GG genotype of rs4680 showed significantly higher level in PAI ($p=0.026$ and $p=0.040$, respectively) after adjustment for age, hypertension, diabetes, smoking and drinking. There is no significant association of CSI and ICAI with either of the two genotypes. We then analyzed male and female group separately and found a significant PAI association in both rs4633 and rs4680 [$p=0.012$ ($\beta=-0.085$) and $p=0.027$ ($\beta=-0.076$), respectively] after adjustment for age, hypertension, diabetes, smoking and drinking.

Discussion

COMT likely exerts pleiotropic effects and the analysis of the COMT pathway may offer insights into the development of atherosclerosis.

COMT assists homocysteine synthesis possibly predisposing subjects to arterial stenosis and occlusion by thinkening of the arterial wall and narrowing the vascular radius. Thus, it is conceivable that higher levels of COMT activity may result in higher total plasma homocysteine and damage to vessels.

Sex difference observed in our study cannot be readily explained. The role of COMT in estrogen metabolism might be relevant to account for sex difference. Estrogen plays an important role in the protection of cardiovascular system. Interestingly, it has been reported that female Val/Val carriers have lower estradiol concentration than Met/Met genotype carriers. Our findings are consistent with the result that higher enzymatic activity in Val allele carriers is more susceptible to atherosclerosis, and probably accounts for gender based result differences.

There are some limitations in the study. Due to the sample characteristics, we could not obtain detailed clinical information, such as total homocysteine, estrogen level and hyperlipidemia. Mortality due to severe atherosclerosis at an early age may result in non-inclusion amongst our study population and predispose a survival bias in our results.

As conclusion, we found that a functional polymorphism in the COMT gene associates with atherosclerosis in elderly women but not in men.

中西　泰一 博士（医学）　Yasukazu Nakanishi

学位記番号　／甲第 1904 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　／A novel equation and nomogram including body weight for estimating prostate volumes in men with biopsy-proven benign prostatic hyperplasia（身体測定値を組み込んだ前立腺体積予測式とノモグラム）
Asian Journal of Andrology　第 14 巻第 5 号　703–707 頁　平成 24 年 9 月発表

論文審査委員／主査：江石　義信　　副査：澁谷　均　　副査：秋田　恵一

〈論文要旨〉

前立腺肥大症の評価には，排尿問診票のみならず，前立腺体積（total prostate volume：TPV）や下部尿路閉塞といった客観的評価が重要である．体積評価は，尿閉の出現や手術治療が不可避となるリスクの予測，5α 還元酵素阻害剤の反応性の予測などに有用であるが，経直腸超音波や MRI による測定は，前者は侵襲性，後者はコストの面で経時的に行う方法として限界がある．また，前立腺肥大症の治療を一般臨床医が行う場合も多く，簡便な前立腺体積を予測する手法が重要となる．近年，PSA や free PSA が前立腺体積と相関する報告がされているが，今回，我々は身体測定値を組み込んだ前立腺体積を評価する予測式とノモグラムを作成した．

2000 年 1 月から 2010 年 12 月までに PSA＜20ng/ml で前立腺多ヶ所生検（14 ヶ所以上）を施行し病理学的に癌を否定し得た 1852 例（東京医科歯科大学：1113 例，がん研有明病院：739 例）を対象とした．年齢（Age），PSA，%free PSA，直腸診に加え，身体測定値である身長，体重（BW），BMI，体表面積（BSA）を単変量解析で評価，次いで多変量解析で評価して独立かつ有意な予測因子を同定した．

東京医科歯科大学コホートを estimation set とし TPV を予測する式を作成，さらに TPV 30,40 および 50ml 以上をカットオフ値とする予測ノモグラムを作成した．がん研有明病院コホートを validation set とし外部検証した．

ノモグラムの予測精度は ROC 解析に基づく AUC 値により，予測特性は calibration plots により評価した．Age,PSA，%free PSA および BW が独立かつ有意な予測因子であった．TPV の予測式は以下のように示された．log TPV＝0.3889＋0.3453×log PSA＋0.3460×log % free PSA＋0.0040×Age＋0.0037×BW．また TPV＞30ml と＞50ml のノモグラムを示す．ノモグラムの予測精度である AUC 値はそれぞれ 0.824（TPV＞30ml），0.772（＞40ml）および 0.785（＞50ml）であった．外部検証での AUC 値は 0.799（TPV＞30ml），0.764（＞40ml）および 0.777（＞50ml）で，予測特性も優れた結果を示した．簡便に得られる測定値（PSA, free PSA，年齢および体重）で前立腺体積は予測可能である．

〈緒言〉

前立腺肥大症の評価には，排尿問診票のみならず，前立腺体積（total prostate volume：TPV）や下部尿路閉塞といった客観的評価が重要である．体積評価は，尿閉の出現や手術治療が不可避となるリスクの予測，5α 還元酵素阻害剤の反応性の予測などに有用であるが，経直腸超音波（trans-rectal ultra sound: TRUS）や MRI による測定は，前者は侵襲性，後者はコストの面で経時的に行う方法として限界がある．また，前立腺肥大症の治療を一般臨床医が行う場合もあるが，上記方法で前立腺体積を計測しきれていない現実もあり，簡便に前立腺体積を予測できる手法があることが望まれる．前立腺癌診断の上で PSA 測定が重要であることは周知のとおりであるが，PSA はあくまで臓器特異的であり癌特異的というわけではない．近年，PSA と前立腺体積との相関が欧米諸国やアジア諸国で報告され，さらに free PSA がより強い相関を示す報告もされている．一方，体重（Body weight: BW）や BMI（Body Mass Index）および腹囲といった肥満要素が前立腺体積測定値と相関することも示されてきており，前立腺体積を予測するモデルが欧米より報告されたが，アジア人のコホートでは検証されていない．今回，我々は身体測定値を組み込んだ前立腺体積を評価する予測式とノモグラムを作成した．

〈対象と方法〉

2000 年 1 月から 2010 年 12 月までに PSA＜20ng/ml で前立腺多ヶ所生検（14 ヶ所以上）を施行し病理学的に癌を否定し得た 1852 例を対象とした．対象の内訳は，東京医科歯科大学（Tokyo Medical and Dental University: TMDU）1113 例，がん研究会有明病院（Cancer Institute Hospital：CIH）739 例である．5α- 還元酵素阻害剤内服歴のある症例や尿路感染および経尿道的前立腺手術歴のある症例は除外した．前立腺体積は TRUS（7.5-MHz transducer）で計測（π/6×width×height×length）した．年齢（Age），PSA，%free PSA（%fPSA），直腸診に加え，身体測定値である身長，BW,BMI（BW×height-1×height-1），体表面積（BSA＝BW0.425×height0.72×0.007184）を評価項目とした．TMDU コホートを estimation set とし，単変量解析で評価，つづいて変数減少法による多変量解析で独立かつ有意な因子を同定した．F 値は 2 以上を有意とした．

モデル作成に Akaike Information Criterion（AIC）値を使用し，TPV を予測する式を作成，さらに TPV 30,40 および 50ml 以上をカットオフ値とする予測ノモグラムを作成した．さらに CIH コホートを validation set とし外部検証した．ノモグラムの予測精度は ROC（receiver operating characteristic）解析に基づく AUC（area under the curve）値により，予測特性は calibration plots により評価した．

統計ソフトは JMP version 8.0（SAS Institute, Cary, NC, USA）および S-PLUS version 8.0（TIBCO Software, Palo Alto, CA, USA）を使用．有意水準は両側 5% 未満とした．

本研究は東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会の承認を得た．

〈結果〉

Age（p＜.0001），PSA（p＜.0001），%fPSA（p＜.0001）および BW（p＜.0001）が独立かつ有意な予測因子であった．TPV の予測式は以下のように示された．log TPV＝0.3889 ＋ 0.3453×log PSA ＋ 0.3460×log % free PSA ＋ 0.0040×Age ＋ 0.0037×BW.
TPV>40ml をカットオフ値とした場合，age（p＝.0002), PSA（p＜.0001), % fPSA（p＜.0001）および BW（p＜.0001）が体積予測の独立因子であった．作成されたノモグラムの予測精度である AUC 値はそれぞれ 0.824（TPV＞30ml），0.772（＞40ml）および 0.785（＞50ml）であった．外部検証での AUC 値は 0.799（TPV＞30ml），0.764（＞40ml）および 0.777（＞50ml）で，予測特性も優れた結果を示した．

〈考察〉

本研究において，われわれは身体測定値を組み込んだアジア人初の前立腺体積の予測式を作成し，かつ世界初の前立腺体積予測ノモグラムを作成した．PSA に %fPSA, age および BW を加えることでモデルの予測能が向上することが示され，外部検証で立証された．我々の結果は，PSA が前立腺体積の予測に有用であるというこれまでの報告を支持するものとなった．また，%fPSA が前立腺がん検出のみならず前立腺体積にも相関している報告があり，本研究でも同様にこれらの結果を支持するものである．一方，肥満が前立腺体積に相関するため，体重や BMI および腹囲といった anthropometric measurement の重要性も立証されている．我々のコホートでは，PSA，%fPSA, age を加味した変数減少法による多変量解析で，BW，身長，BMI および BSA の中で BW が最も重要な独立因子であることが判明した．

欧米では PSA, age および BW を加味した予測式の報告がされており，これらの因子が前立腺肥大症のマネジメントに必須であると考えられる．

肥満と前立腺体積の病態生理は完全に明らかになってはいないが，その理由として挙げられるのが全身の炎症反応と酸化ストレスである．肥満と炎症反応および酸化ストレスの関連性が報告されている一方，前立腺肥大の手術検体では炎症反応が確認されており，Wu らは前立腺の炎症が肥大発生の一因であると報告している．別の見解としては，肥満による性ホルモンへの影響が考えられる．脂質の増加はアンドロゲンをエストロゲンに分化させる作用があり，前立腺組織内でのエストロゲンの増加が肥大の一因になるとの報告もある．

近年，循環血漿量の多い肥満男性は血清 PSA 値が低下することが検証され，hemodilution（血液希釈）と定義されている．同じ血清 PSA 値でも，肥満男性の方が非肥満男性に比べ PSA の実産生量が高いことを意味する．このように PSA と前立腺体積を評価する上で体型的要素は欠かすことができず，アジア人に比し肥満体型の多いとされる欧米諸国コホートとの体格差を考慮する上でも本モデルは非常に有用性が高いと考えられた．

本コホートはアジア人の研究では最大のものであるが，横断研究であるという点，前立腺多ヶ所生検で最大限に癌合併を否定しているが PSA range が広いという点が limitation と考えられる．さらに今後，体重管理などにより前立腺肥大症の進行が改善できるか，前向き検討も重要であると考えられた．

〈結論〉

TPV を予測する世界初のノモグラムを作成した．簡便に得られる測定値（PSA,free PSA，年齢および体重）で前立腺体積は予測可能である．

MAIS M. ABD-ALAMEAR 博士（医学）

学位記番号　／甲第 1905 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　　／Long-term results of brachytherapy in early mobile tongue cancer with 10-year minimal follow-up（舌癌小線源治療後10 年以上経過症例の治療結果について）
Anticancer Research　第 33 巻第 1 号　317–324 頁　平成 25 年 1 月発表

論文審査委員／主査：岸本　誠司　　副査：北川　昌伸　　副査：三浦　雅彦

〈論文要旨〉

早期（I-II 期）舌癌は手術/小線源治療の何れによっても予後が良好であるが，10 年以上に亘る長期生存例での小線源治療後の状態についての報告はこれまでない．今回の研究では 1980 年から 2000 年に当科で小線源治療が行われ，10 年以上長期観察された 187 例の患者の治療後の状態について追跡観察研究を行なった．

局所再発は 15 例で治療後の中央値は 36 ヶ月であり，14 例は局所手術/追加小線源治療で救済されていた．続発頸部リンパ節転移は 50 例であり（中央値は 5 ヶ月後），全例で頸部隔世手術後頸部に再発がなかった．49 例に舌潰瘍に認め，44 例が保存的治療で治癒していた．下顎骨髄炎は 8 例で認められ，4 例で治療に小手術を必要としていた．舌萎縮は 28 例に認めたがうち 25 例は外部照射併用例であった．唾液腺関連の障害は認めなかった．合併症や術前所見と治療結果との解析では腫瘍厚とスペーサの有無が下顎合併症と関連があり，舌潰瘍の多くは下顎合併症と共存する事が判明したが，治療時障害防止のスペーサの使用開始で下顎の骨髄炎合併はなくなっていることが判明した．

以上の結果から現在の様に全例にスペーサを作成し，コンピュータを用いた線量分布図を作成し，治療時間を決定する舌癌の治療は治療後の長期観察でも合併症のない治療法である事が証明された．

〈緒言〉

早期（I-II 期）舌癌は手術/小線源治療の何れによっても予後が良好とされている．ところが 10 年以上に亘る長期生存例での小線源治療後の状態についての報告はこれまでない．このため，治療後 10 年以上経過した症例の後期有害事象を中心に治療後変化について研究を行った．

〈方法〉

研究では 1980 年から 2000 年に亘り当科で小線源治療が行われ，10 年以上経過観察された 187 例の患者の治療後の結果について治療後の所見について追跡研究を行なった．舌癌小線源治療はセシウム針／イリジウムピン／放射性金粒子の低線量率（LDR 治療）で 70Gy/7 日を基準とし，刺入後にコンピュータで線量分布図を作成し至適治療時間を決定，1987 年からは下顎防護のスペーサを作成，利用した．

〈結果〉

187 例全例での 15 年，20 年生存は 88%，76% であった．局所再発は 15 例で最も遅いものは治療後 90 ヶ月（中央値 :36 ヶ月）であり，14 例は局所手術/追加小線源治療で救済された．続発頸部リンパ節転移は 50 例であり治療後 141 ヶ月後が最も遅く（中央値：5 ヶ月），全例で頸部隔世手術後頸部に再発がなかった．49 例に舌潰瘍に認め（中央値：10 ヶ月），44 例が保存的治療で治癒した．下顎骨髄炎は治療後 91 ヶ月（中央値 57 ヶ月）までに 8 例で認められ，4 例で治療に腐骨除去手術を必要とした．唾液腺関連の障害はなかった．合併症や術前所見と治療結果との解析では腫瘍厚とスペーサの有無が下顎合併症と関連があり，舌潰瘍は下顎合併症と共存する事が判明したが，これらはスペーサの使用で下顎の合併症がなくなった事が判明した．

〈考察〉

以上の結果から現在の全例に下顎スペーサを作成し，コンピュータを用いた線量分布図を作成し治療時間を決定する舌癌の治療は治療後の長期生存例での合併症をなくし，ほぼ理想に近い治療法である事が証明された．

〈Background〉

The long-term results of low-dose-rate interstitial brachytherapy（LDR-BT）at a minimum 10-year follow-up for early mobile tongue cancer（T1-T2N0M0）have not been reported to date. This study aimed to analyze the treatment results and late toxicities of LDR-BT focus on tongue complications, mandibular bone complications, xerostomia, and taste disorders with related prognostic factors.

〈Methods〉

We performed a retrospective study of 187 patients with early mobile tongue cancer, who met the study inclusion criterion of a 10-year minimum follow-up. All patients were treated using LDR-BT between 1980–2000, of them 25 cases were treated with external beam irradiation. The dose distribution was calculated by computer dosimeter on the actual X-ray film and a pacer to protect mandible were introduced in 1987.

〈Results〉

Actuarial overall survival at 15 and 20 years was 88.4% and 76.2%, respectively. Local recurrence was demonstrated in 15（8%）of the patients with a median interval of 36 months. The ultimate local control after salvage treatment was 93%. Fifty patients experienced neck metastasis with a median interval of 5 months. Late complications included tongue ulcer（44 cases: median interval of 10 months), tongue erosion（3%), tongue atrophy（2%). Eight osteoradionecrosis of the mandible was detected in eight patients treated without spacer with a median interval of 57 months. No patient showed xerostomia or taste disorders. Noteworthy, most of late toxicities developed within 10 years following treatment with little toxicities occurred after that. Multivariate analysis revealed that tongue ulcer and the spacer were significant prognostic factors for both bone exposure and ORN. None of the prognostic factors included in the analysis reached statistical significance for tongue complications.

〈Conclusion〉

Long-term results of LDR-BT for early stage mobile tongue cancer with spacer and computer dosimetry are acceptable with low rates of toxicity and better oral quality of life. A 10-year follow-up period may be sufficient to detect most of LDR-BT late toxicities.

藤田　啓史 博士（医学）　Hirofumi Fujita

学位記番号　／甲第 1906 号　　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　／Clustered fine compartmentalization of the mouse embryonic cerebellar cortex and its rearrangement into the postnatal striped configuration（マウス胎生期小脳皮質の緻密な細胞塊区画構築とその生後の縞状構造への再編成）
The Journal of Neuroscience　第 32 巻第 45 号　15688–15703 頁　平成 24 年 11 月発表

論文審査委員／主査：寺田　純雄　　副査：水澤　英洋　　副査：田中　光一

〈論文要旨〉

成熟した小脳皮質には線維連絡および分子発現パタンの異なるプルキンエ細胞集団による緻密な縦縞状の区画が存在するが，これら区画の形成過程の詳細は不明であった．本研究では，マウスを用い，胎生 17.5 日齢（E17.5）から生後 6 日（P6）の期間における小脳皮質全体の区画形成過程に関して詳細な形態学的解析を行った．まず，プルキンエ細胞集団の識別に有用なマーカー分子として FoxP2, PLCβ4, EphA4, Pcdh10, および 1NM13 マウスにおける β-galactosidase（β-gal）を選び，これらの発現様式の違いに基づき，E17.5 において全部で 54 のプルキンエ細胞集団を三次元的に同定した．次に，個々のプルキンエ細胞集団の発達を生後 6 日（P6）まで追跡した．E17.5 では三次元的に重なり合った細胞塊を作っているプルキンエ細胞集団は，集団として局所移動して表面に出現し，ほぼ P6 で完成する単一細胞層のプルキンエ細胞層において横並びの縦縞に再編成されることが明らかになった．この追跡の結果から，E17.5 マウス小脳で同定された約 50 個のプルキンエ細胞集団は成熟した小脳皮質で見られる縦縞状区画ひとつひとつの起源となっていることが示唆された．

〈緒言〉

脊髄前角，小脳皮質など脳内随所には細かな区画構造が形成されており，それは，概ね，異なる神経線維連絡によって異なる機能に関わるための構造である．小脳皮質には，横方向の小葉区分のほかに，異なる分子発現パタンをもつプルキンエ細胞による縦方向の区画が存在する．たとえば，Aldolase C の発現の強弱をみると，およそ 20 の縦縞状の区画が同定される．Aldolase C で同定されるこれらの区画のそれぞれについてプルキンエ細胞の投射先と登上線維の起始部位とが独特であることから，これらの区画のそれぞれが異なる機能単位であると考えられている．

この成熟期に見られる小脳の区画構造の形成過程の詳細は，これまでの研究ではほとんど明らかにされていなかった．その理由は，これまでの胎生期や幼若期の小脳の区画構造に関する報告は，区画特異的分子発現を利用してはいるものの，小脳の一部分を調べたものであったり，着目する分子が異なっていたり，プルキンエ細胞集団や小葉構造が完全には同定されていなかったりしたため，お互いに関連づけることが困難であったからである．さらに，それらの研究で用いられた多くの区画特異的マーカー分子の発現は発達時期によっては不安定であり，胎生期区画と成熟期区画を直接比較することは困難であった．

今回我々は，プルキンエ細胞を特異的マーカー分子 FoxP2 で標識したうえで，PLCβ4, EphA4, Pcdh10, および 1NM13 マウスにおける β-gal という発達を通して比較的安定して区画特異的に発現しているマーカー分子の標識を組み合わせて解析し，胎生期・幼若期の小脳区画を詳細に調べた．まず，区画構造の報告の多い E17.5 においてプルキンエ細胞集団の区画のすべてを同定し，三次元的に再構築した．次に，小脳皮質構造が成熟期の特徴を持つようになる P6 までの解析を行い，E17.5 の区画が P6 の区画へ発達する様子を追跡した．

〈方法〉

1NM13 マウスの胎仔および幼若個体を用いた．1NM13 系統は，トランスジェニックマウスで，正常の脳形態を持つが，一部のプルキンエ細胞集団がレポーター分子 β-gal を発現する．灌流固定した脳からの 40μm 厚の冠状断・水平断・矢状断連続切片および摘出小脳において，FoxP2, PLCβ4, EphA4, Pcdh10 に対する免疫染色および β-gal に対する X-gal 染色による多重標識を行った．免疫染色は，蛍光二次抗体法または DAB 法で可視化した．各分子の相対的発現強度は免疫染色写真上で画像ソフトウエア（Photoshop）によりピクセル毎の輝度を調べることで計測した．E17.5 におけるプルキンエ細胞集団は各分子の相対的発現強度の違いおよび集団間の隙間を組み合わせて同定した．連続切片すべてにおいて同定されたプルキンエ細胞集団は，二次元描画ソフトウエア（Illustrator）上でスケッチしたあと三次元描画ソフトウエア（Rhinoceros）上に移して三次元的に再構築した．三次元再構築と各染色・各断面の連続切片とをさらに詳細に比較することで，プルキンエ細胞集団を正確に同定し三次元再構築に反映させた．P6 でのプルキンエ細胞集団の解析，および E17.5 から P6 までのプルキンエ細胞集団の追跡のために，連続切片写真の一部を切り抜いて順番に並べる連続切片並置分析（Serial Section Alignment Analysis, SSAA）と名付けた手法を用いてプルキンエ細胞集団の連続性を詳細に調べた．小脳皮質の展開図および分子発現パタンの展開図上へのマッピングは藤田ら（2010）と同様の手順で行った．

〈結果〉

まず，プルキンエ細胞のマーカー分子として最近われわれが報告した FoxP2 の有効性を連続切片の免疫染色により再確認したうえで，プルキンエ細胞層が標識されたその連続切片の観察から未熟な脳溝で区切られた E17.5 小脳の小葉構造を明らかにした．さらに，この時期，プルキンエ細胞層の内部でプルキンエ細胞は隙間によって区切られた塊様の集団を形成していることが認められた．プルキンエ細胞における β-gal, PLCβ4, EphA4, Pcdh10 の発現を見ると，発現強度の違いによって区別される集団は大まかには隙間で区切られる塊様の集団と一致した．そこで，分子発現パタンまたは隙間で区別されるプルキンエ細胞集団の構築を E17.5 の小脳皮質の区画と捉えることとし，再構築によりその三次元的構築の詳細を明らかにした．プルキンエ細胞集団は半側の小脳全体で 54 個同定され，それらは，独特の分子発現様式，形状，そして上下に重なる立体的な配置をもち，個体差は認められなかった．

次に，P6 の小脳皮質におけるプルキンエ細胞集団の構築を SSAA により解析した．P6 において β-gal, PLCβ4, EphA4, Pcdh10 の発現強度の違いによって区別されるプルキンエ細胞集団は単一細胞層化したプルキンエ細胞層内で縦縞区画構造をとり，隣接する区画の間には顆粒細胞縫線（granule cell raphe）と呼ばれる顆粒細胞の詰まった構造がしばしば存在した．P6 小脳皮質全体での縦縞区画構造とマーカー分子発現パタンを明らかにした．

次いで，E17.5, P0, P1, P3, P6 の小脳の同じ部位で SSAA によってプルキンエ細胞集団を追跡すると，E17.5 でみられたプルキンエ

細胞集団間の隙間は顆粒細胞縫線となって存続し，E17.5 の三次元的に配置するプルキンエ細胞の集団は基本的にはこの隙間に区切られたまま小脳の表面へ局所移動して横に並び，ほぼ一対一の対応で P6 の小脳縦縞区画に発達することが明らかになった．この発達過程におけるプルキンエ細胞集団ごとの局所移動（再配置）の様式は，主として，上下に重なっていた集団が横に滑って横並びになる「横滑り」だが，他に，「吻尾分断」と「横ねじれ」が認められた．

小脳全体では，ほとんどすべての E17.5 プルキンエ細胞集団が P6 小脳縦縞に発達する様子が追跡された．また，小葉構造との関連を見ると，E17.5 である場所に存在した集団は，局所移動を経ても相対的な存在場所はあまり変えずに P6 での縦縞区画に再編成されることが観察された．

〈考察〉

本研究では，E17.5 の小脳皮質において約 50 余りの細かい区画が存在することを明らかにし，さらにそれらの区分がほぼ一対一の関係で P6 の縦縞区画に対応づけられることを示した．すなわち，成熟した小脳皮質で緻密な縦縞状区画を作るプルキンエ細胞集団は，すでに E17.5 において個別の区画を形成しているこ

中川　恵子 博士（医学）　Keiko Yuasa-Nakagawa

学位記番号　／甲第 1907 号　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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　／Cervical lymph node metastasis from early-stage squamous cell carcinoma of the oral tongue（初期舌扁平上皮癌の頸部リンパ節転移に関する研究）
Acta Oto-Laryngologica　平成 25 年 1 月 online 発表
論文審査委員／主査：喜多村　健　副査：北川　昌伸　副査：大橋　勇

〈論文要旨〉

初期舌癌患者における頸部リンパ節転移は最も重要な予後因子である．頸部リンパ節転移に対する最適な治療方針を決定するため，遡及的な研究を実施した．

対象は 1990 年から 2005 年までに東京医科歯科大学医学部付属病院放射線科において，舌病変に対し低線量率小線源組織内照射治療を施行し，後発で頸部リンパ節転移を認め，頸部郭清術を施行された 103 名の患者である．これらの患者のうち，当学にて頸部リンパ節の郭清術を施行された患者 80 名における 5 年無病生存率は 69.3%，頸部転移制御率は 85.3% であった．病理診断上，生命予後に有意な影響を与える因子は，転移リンパ節の節外浸潤，転移リンパ節の個数および大きさ，患者の年齢，舌病変治療から頸部転移確認までの期間であった．欧米では，頸部リンパ節転移が臨床的に確認されない場合でも，予防的に頸部郭清術を施行する場合があるが，今回の研究から，予防的郭清を施行した場合と，頸部リンパ節転移が臨床的に確認されてからの郭清との間で，生存率に明らかな差は認められなかった．

頸部郭清術を当学にて施行した症例と学外の病院にて施行した症例では，5 年無病生存率および頸部転移制御率に有意な差が認められた．術後，病理学的に進行期症例であった場合は，頸部への術後外照射が施行されるが，当学で郭清術を施行した症例では，術後放射線療法の施行による 5 年無病生存率および頸部転移制御率の向上は認められなかったが，学外の病院で郭清術を施行した症例では，術後放射線療法により，当学にて郭清術を施行した症例と同等の 5 年無病生存率，頸部転移制御率が得られた．また当学にて郭清術を施行した症例では，頸部郭清術後の術後外照射は，転移陽性リンパ節の個数が多い場合には推奨されることが示唆された．

〈緒言〉

初期舌癌における頸部リンパ節転移は，生命予後に対して最も重要な因子であることは疑いに余地がない．舌癌は初期であっても，後発で頸部リンパ節転移を認める割合が約 3 割と高率であることが報告されている．頸部リンパ節転移に対する治療は，舌の治療方法に関わらず，外科的な手法がとられることが一般的である．欧米では，頸部リンパ節転移が臨床的に確認されない場合でも，予防的に頸部郭清術を施行する場合があるが，国内ではまれである．頸部転移において，生命予後に有意な影響を与える因子についての報告が散見されるが，頸部転移に対する治療方針は，施設により異なるのが現状である．我々は初期舌癌からの頸部リンパ節転移の最も有効な治療方針を決定するため，遡及的な研究を実施した．

〈方法〉

1990 年から 2005 年までに東京医科歯科大学医学部付属病院放射線科において，舌病変に対し低線量率小線源組織内照射治療を施行した患者は 522 名であった．これらの患者のうち，後発で頸部リンパ節転移を認め，頸部郭清術を施行された患者は 103 名であったが，今回の研究ではこれらの患者を研究対象とした．103 名の年齢平均は 59 歳（範囲 24〜83 歳），男女比は 1.78：1.0（男性 66 名，女性 37 名），病期Ⅰ期が 21 名，Ⅱ期が 82 名であった．

頸部郭清術は，東京医科歯科大学医学部付属病院および歯学部付属病院にて施行された症例が 80 例，他院にて施行された症例が 23 例であった．

経過観察期間は，103 患者に関しては，中央値 58.4 か月（範囲 4〜217.6 か月），生存患者に関しては，85.4 か月（範囲 6〜217.6 か月）であった．統計計算には SPSS 社の解析ソフトウェアを使用した．生存率，局所制御率は Kaplan-Meier 法で算出し，群間比較は log-rank 試験で行い，$P<0.05$ を有意差ありと判定した．

〈結果〉

観察期間中に，東京医科歯科大学医学部付属病院放射線科にて，舌病変に対し低線量率小線源組織内照射治療を施行した 522 名の患者のうち，197 名に後発頸部リンパ節転移を認めた．頸部転移率は 36.5% であり，これは今までの文献に報告されている結果とほぼ同等であった．頸部転移の 90% が，舌治療後 630 日以内（最大 1077 日以内）に確認されている．

東京医科歯科大学医学部付属病院および歯学部付属病院にて頸部郭清術を施行された 80 名の患者に対する 5 年無病生存率は 69.3%（95% confidence interval（CI）= 59.1–79.5%），5 年頸部転移制御率は 85.3%（95% CI = 77.3–93.3%）であった．この群における，生命予後に有意な影響を与える因子は，転移リンパ節の節外浸潤が陽性（p = 0.045, Hazard ratio（HR）= 3.005），転移リンパ節の個数が 3 個以上（p = 0.01, HR = 2.85），および大きさが 3cm 以上（p = 0.007, HR = 3.112），患者の年齢が 42 歳以下（p = 0.048, HR = 2.429），原発舌病変治療から頸部転移確認までの期間が 50 日よりも短期（p = 0.013, HR = 1.749）であった．

東京医科歯科大学医学部付属病院放射線科では，頸部標本の病理学的診断において，転移リンパ節が 3 個以上であった場合，もしくは節外浸潤が陽性であった場合に，同側頸部への術後外照射を推奨している．当学において郭清術を施行した 80 症例のうち，56 例が術後外照射を推奨され，26 人が実際に術後照射を施行された．術後外照射推奨群では，節外浸潤陰性症例は 4 例だけであったため，節外浸潤陽性例のみを解析の対象とした．転移リンパ節が少数（1 個もしくは 2 個）の群では，術後外照射未施行群のほうが施行群よりも 5 年無病生存率が有意に良好であったが（43.6 %（95% CI = 17.5–70.0%）vs. 93.8 %（95% CI = 81.8–100%），p = 0.002），転移リンパ節の個数が 3 個以上になると，両群の 5 年無病生存率に有意差は認められなかった（44.4 %（95% CI = 11.9–76.9%）vs. 50.0 %（95% CI = 21.7–78.2%），p = 0.64）．

他院において頸部郭清術を施行された 23 例に関しては，5 年無病生存率および頸部転移制御率はそれぞれ 60.9%（95% CI = 40.9–80.9%）と 68.6%（95% CI = 49.4–87.8%）であった．この群では，生命予後に有意な影響を与える因子は，転移リンパ節の節外浸潤が陽性（p = 0.004, HR = 21.51）のみであった．

当学にて頸部郭清術を施行された80例と他院にて郭清術を施行された23例を比較すると，当学での頸部郭清術施行群の方が，5年無病生存率，頸部転移制御率ともに有意に良好であった（$p=0.002$ および $p=0.001$）．これらの中から，術後照射施行群のみを比較すると，当学郭清症例と他院症例の5年無病生存率，頸部転移制御率ともに有意差は認められなかった．

〈考察〉

初期舌癌患者522名に対し，低線量率小線源組織内照射治療を施行し，36.5% に後発で頸部リンパ節転移が出現した．522名の患者における5年無病生存率は約80% であり，これは今までの文献報告おける，舌治療時に予防的に頸部郭清術を施行した症例の5年無病生存率とほぼ同等である．したがって，舌病変を低線量率小線源組織内照射により治療後，頸部リンパ節転移に関しては，臨床的に確認されるまで予防的治療なしに経過観察し，確認された場合は頸部郭清術を施行するという我々の治療方針は，有効であることが確認された．しかしながら，年齢が若年であることや，舌病変治療から頸部リンパ節転移の確認までが短期であることは，予後不良因子であるため，緊密な経過観察が必要であり，頸部転移が確認された場合は外科的治療を施行し，病理診断に応じて術後外照射や化学療法による補助療法を施行することが推奨される．

術後外照射に関しては，今回の結果からは，転移リンパ節の個数が3個以上である場合に有効性が示唆されたが，明らかな5年無病生存率の改善は認められなかった．これはその他の因子の寄与が影響しており，特に節外浸潤が陽性の症例がほとんどであったため，その寄与が大であったと考えられる．つまり，今回の術後外照射は前方1門照射，総線量50Gyで施行した症例が多かったが，この線量は複数のリンパ節転移に対しては有効であったが，節外浸潤を制御するためには線量が不足していたことが疑われる．

当院にて頸部郭清術を施行した症例と他院にて施行した症例を比較すると，5年無病生存率，頸部転移制御率ともに，院内症例が有意に良好であったが，これは年間手術数が多い専門病院と一般的な総合病院の差であると考えられる．術後放射線療法を施行した症例では，当院にて頸部郭清術を施行した症例と他院にて施行した症例間の5年無病生存率，頸部転移制御率の差が縮小しており，術後照射により，差が補償されたためと考えられる．

〈結論〉

今回の研究により，初期舌癌の頸部リンパ節転移に対しての予防的頸部郭清術は必須ではなく，臨床的に確認された場合に頸部リンパ節郭清術を施行し，病理診断の結果に応じて，術後の補助療法として化学療法や術後外照射を考慮することも，有効な治療方針であることが確認された．また，若年者や舌病変の初期治療から頸部リンパ節転移までの期間が短期である場合，複数の転移がある場合，リンパ節の節外浸潤がある場合は，重点的な術後補助療法が推奨される．

川添　裕子 博士（医学）　Yuko Kawazoe

学位記番号	／甲第 1908 号　学位授与　／平成 25 年 3 月 26 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	／Retinoic acid from retinal pigment epithelium induces T regulatory cells（網膜色素上皮細胞由来のレチノイン酸は制御性 T 細胞を誘導する） Experimental Eye Research　第 94 巻第 1 号　32–40 頁　平成 24 年 1 月発表
論文審査委員	／主査：神奈木　真理　副査：上阪　等　副査：横関　博雄

〈論文要旨〉

眼は免疫特権を有する器官であり，そのメカニズムの一つとして，我々は網膜色素上皮細胞が TGF-β 存在下で制御性 T 細胞を誘導することを報告した．他方で，近年，ビタミン A とその代謝産物であるレチノイン酸が腸内で制御性 T 細胞誘導に重要な役割を持つことが報告された．ビタミン A とその代謝物であるレチノイン酸は重要な網膜の視覚伝達物質でもあり眼内に豊富に存在する．そこで我々は，眼内におけるビタミン A とその代謝物であるレチノイン酸の制御性 T 細胞誘導への関与を調べるために本研究を行なった．

我々はまず，網膜色素上皮細胞にレチノイン酸関連遺伝子が発現していることを，マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子解析にて確認した．次に，ビタミン A 欠乏餌を給餌してビタミン A 欠乏マウスを作成した．ビタミン A 欠乏マウスの血中では正常マウスと比べてビタミン A 濃度が有意に低値であり，また，その網膜色素上皮細胞の培養上清からは TGF-β を検出できなかった．また，正常マウス由来の網膜色素上皮細胞は TGF-β 存在下でレチノイン酸濃度依存的に T 細胞を制御性 T 細胞へ分化・誘導することができたが，ビタミン A 欠乏マウス由来の網膜色素上皮細胞では制御性 T 細胞誘導能が見られず，その制御性 T 細胞は標的活性化 T 細胞抑制能が減弱していた．また，レチノイン酸拮抗薬を添加，あるいはレチノイン酸結合蛋白の mRNA をノックダウンした網膜色素上皮細胞を用いた場合，その制御性 T 細胞誘導能は低下した．In vitro のこれらの実験により，レチノイン酸が TGF-β と共に網膜色素上皮細胞による制御性 T 細胞誘導に関与していると考えられた．また，in vivo でのレチノイン酸の制御性 T 細胞誘導への関与を検討するために，ビタミン A 欠乏マウスを IRBP 網膜抗原で免疫して実験的自己免疫性ぶどう膜炎を惹起させたところ，ビタミン A 欠乏マウスに生じた眼内炎症は正常マウスの眼内炎症と比較して臨床スコア・組織スコアは同程度であったが，眼内浸潤細胞における制御性 T 細胞の割合は正常マウスよりも低下していた．以上の結果より，網膜色素上皮細胞で産生されるレチノイン酸は，TGF-β 存在下で T 細胞を制御性 T 細胞へ誘導するために必要であると考えられた．

〈緒言〉

眼は脳，生殖器，胎盤と同様に免疫特権を有する器官であり，後眼部に位置してその免疫特権維持に重要とされる網膜色素上皮細胞は免疫学的抑制能を有する細胞として知られている．その網膜色素上皮細胞は TGF-β 存在下で T 細胞を制御性 T 細胞へ誘導し，別の炎症性細胞抑制能を示すことで眼の免疫寛容を成立させていると考えられている．近年，レチノイン酸が腸内において TGF-β 存在下で CD4 陽性 FOXP3 陽性制御性 T 細胞を誘導することが報告された．眼内においてもビタミン A とその代謝産物であるレチノイン酸は網膜の視覚伝達物質として知られており，網膜や網膜色素上皮細胞に豊富に存在しているが，そのレチノイン酸の眼内における制御性 T 細胞誘導への関与についての報告はない．

本研究の目的は，網膜色素上皮細胞による制御性 T 細胞誘導に眼内のビタミン A とその代謝産物レチノイン酸が果たす役割を解明することである．

〈方法〉

網膜色素上皮細胞は C57BL/6 マウスの眼球から抽出し，培養して使用した（primary culture）．T 細胞は正常マウスの脾臓を回収し，CD4 陽性 T 細胞を分離して使用した．網膜色素上皮細胞誘導制御性 T 細胞は，CD4 陽性 T 細胞と網膜色素上皮細胞を共培養して樹立した．標的活性化 T 細胞は抗 CD3 刺激抗体を用いて樹立した．その制御性 T 細胞抑制能は，標的活性化 T 細胞と共培養し，その増殖能をサイミジン取り込み試験にて測定した（細胞増殖試験）．これらの制御性 T 細胞は flow cytometry sorting system にて分離し，FITC 標識抗マウス FOXP3 で染色し，flow cytometry を用いて陽性細胞率を測定した．細胞内レチノイン酸結合蛋白をノックダウンさせるためその siRNA を網膜色素上皮細胞に transfection した．また，細胞を回収した後，その mRNA 発現量は定量 RT-PCR を用いて測定した．また，網膜色素上皮細胞の培養上清を用いて TGF-β 濃度を ELISA 法にて測定した．加えて，ビタミン A 欠乏マウスは，ビタミン A 欠乏餌を妊娠したマウスに与えて，また，離乳後のマウスにもビタミン A 欠乏餌を与え続けて作成した．実験的自己免疫性ぶどう膜炎誘導のために，マウスの頸部皮下に，結核死菌と網膜抗原 IRBP（Interphotoreceptorretinoid-binding protein peptide）を免疫した．その眼内浸潤細胞は免疫後 21 日目に眼球を摘出して回収した．

〈結果〉

正常マウス由来培養網膜色素上皮細胞から RNA を抽出しマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子解析を行なったところ，レチノイン酸レセプター（RARα・RARβ・RARγ），細胞内レチノイン酸結合蛋白（CRABP-II）などのレチノイン酸関連分子の発現を確認した．また作成したビタミン A 欠乏マウスの血中にはビタミン A がほとんどなく，その網膜色素上皮細胞は TGF-β を産生していなかった．

正常マウスの網膜色素上皮細胞と脾臓から採取した CD4 陽性 CD25 陰性 T 細胞（ナチュラルな制御性 T 細胞を事前に除去）を，TGF-β 添加の有無，レチノイン酸添加の有無，レチノイン酸の濃度と条件を変え，抗 CD3 抗体を加えてそれぞれ共培養し flow cytometry にて FOXP3 陽性細胞出現率を測定した．その結果，正常マウスの網膜色素上皮細胞では TGF-β 存在下でレチノイン酸は FOXP3 陽性 T 細胞の誘導を促進していた．

次に，網膜色素上皮細胞由来制御性 T 細胞の抑制能を検討するため，ビタミン A 欠乏マウス，正常マウスそれぞれから培養した網膜色素上皮細胞と CD4 陽性細胞を共培養し，網膜色素上皮細胞誘導制御性 T 細胞を誘導した．その誘導した制御性 T 細胞と標的活性化 T 細胞を共培養した後，細胞増殖試験を行なった．ビタミン A 欠乏マウス由来の網膜色素上皮細胞誘導制御性 T 細胞は正常マウス由来よりも標的 T 細胞増殖抑制能が減弱していた．また，ビタミン A 欠乏マウス由来の制御性 T 細胞の FOXP3（制御性 T 細胞マーカー）を flow cytometry にて測定したところ，正常マウス由来よりも FOXP3 陽性率が低値であった．即ちビタミン A 欠乏マウス由

来網膜色素上皮細胞はFOXP3陽性制御性T細胞の誘導能が極めて低下していた.

正常マウス由来網膜色素上皮細胞誘導制御性T細胞では，レチノイン酸レセプター拮抗薬を添加するとその制御性T細胞抑制能が障害された．また，網膜色素上皮細胞に細胞内レチノイン酸結合蛋白siRNAを導入しその発現を低下させたところ，その網膜色素上皮細胞は制御性T細胞誘導が低下していた．これらの結果より，in vitroで網膜色素上皮細胞の産生するレチノイン酸は制御性T細胞の誘導に必要であることが示された.

次に，in vivoでのビタミンAおよびレチノイン酸の眼内炎症への関与を検討するため，実験的自己免疫性ぶどう膜炎を使用した．IRBP網膜抗原でビタミンA欠乏マウスと正常マウスを免疫し，眼内炎症を惹起させた．それぞれのマウスの眼球から採取したCD4陽性T細胞のFOXP3陽性率を測定したところ，炎症を起こしたビタミンA欠乏マウスの眼では，正常マウス眼と比べて制御性T細胞が殆ど含まれていなかった．しかし検眼鏡的・臨床的な炎症スコアには両者の差が見られなかった.

〈考察〉

眼内において，ビタミンAは代謝されてレチナールとオールトランスレチノイン酸となる．今回我々は，in vitroにてビタミンA欠乏マウス由来の網膜色素上皮細胞はTGF-βを産生できず，FOXP3陽性制御性T細胞を誘導できないことを示した．正常の網膜色素上皮細胞では，TGF-βおよびレチノイン酸が産生され眼内浸潤T細胞の一部を抑制能を有する制御性T細胞へと変換することから，ビタミンAやその代謝物は制御性T細胞誘導に必要であることが示唆された．過去のいくつかの報告では，網膜色素上皮細胞が誘導する制御性T細胞はTGF-βは必要不可欠で，その存在下で眼の免疫寛容を形成すると考えられている．即ち眼内のビタミンAおよびその代謝産物であるレチノイン酸は眼の免疫寛容に大きく寄与していると考えられた．またin vivo動物モデルにおいても，眼内炎症を惹起したビタミンA欠乏マウスの眼内浸潤細胞中の制御性T細胞出現の割合が低下していたことより，TGF-βと共にレチノイン酸は制御性T細胞誘導に重要であることが示唆された.

〈結論〉

網膜色素上皮細胞に存在するビタミンAとその代謝産物であるレチノイン酸は，TGF-βと共に制御性T細胞誘導に重要な役割を示し，眼内の免疫抑制機構に寄与していることが示唆された.

山賀　美芽 博士（医学）　Mika Yamaga

学位記番号　／甲第1909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）生体支持組織学系専攻

学位論文　／Osteopontin level in synovial fluid is associated with the severity of joint pain and cartilage degradation after anterior cruciate ligament rupture（関節液中オステオポンチン濃度と前十字靭帯損傷後の関節痛の重症度ならびに，関節軟骨変性の重症度との間には関連が認められる）
PLoS ONE　第7巻第11号　平成24年11月 online 発表

論文審査委員／主査：野田　政樹　　副査：大川　淳　　副査：田賀　哲也

〈論文要旨〉

高齢化社会において変形性関節症（OA）は日常生活動作（ADL）を左右する大きな要因となっている．私たちは，変形性関節症の分子メカニズムを解明する目的で，関節軟骨の退行性変性の進行に伴って発現量の変化する遺伝子の網羅的解析を行い，それらの発現量と臨床症状との相関解析を行ってきた．その結果，滑膜及び関節軟骨にて発現が確認され，関節液中に分泌されるタンパクの一つであるオステオポンチン（OPN）が，前十字靭帯（ACL）損傷後の関節軟骨の退行変性及び関節痛の重症度に相関する事を見出したので報告する．ACL損傷後一カ月以内では関節液中の全長型OPN濃度（Full）・Thrombin切断型OPN濃度（N-half）共に関節痛の重症度と正の相関を示した．一方ACL損傷後一カ月以降では，OPN N-half濃度とスポーツ時の膝関節痛との間に負の相関を得た．また，ACL損傷時にもっともメカニカルストレスを受ける外側脛骨プラトーにおいて，変性軟骨は正常軟骨に比べOPN Full濃度が有意に高かった．更に，関節の炎症の指標となる関節液量はOPN Full濃度と正の相関を示した．以上の結果は，関節液中のOPN FullとN-halfが，関節損傷後の炎症ならびにそれに伴って生じると考えられる軟骨の退行変性と疼痛の発症に異なる分子機能を持って深く関わっていることを示唆している．

〈緒言〉

OAは関節痛・関節可動域の低下・局所炎症などの臨床症状を呈し，軟骨・軟骨下骨の退行性変性を伴う症候群である．アメリカ合衆国では2005年に65歳以上の人口の約80%2700万人がレントゲンにてOA変化を認め，入院治療を要する患者数が1993年には約32万人であったのが2006年には約74万人と急増している．日本でも40歳以上のレントゲン検査にてOA変化を認める人数は2500万人に及んでいる．高齢化社会においてADLを保つために，関節機能改善への対策が全世界的に求められている．

現在OAの治療戦略の多くが筋肉トレーニングと関節の局所炎症および疼痛を緩和するための対症療法である．しかしながら本療法は，積極的に軟骨修復を誘導するものではないため，大多数の症例に対してOAの進行を食い止めることは出来ず，患者の満足のいく結果とはなっていない．

これらの点から，OAの根治療法をめざし，OAの病態を解明するための研究がなされてきた．その一つはOAや関節ホメオスタシスに関わる遺伝子を同定し，その機能解析を通じてOAの分子基盤を明らかにしていくことである．OAやリウマチ（RA）で発現が上昇するものとして，これまでにMMP-13, OPN, ECRG4, hYKL40, hYKL39などが報告されている．

重症度の異なるOA患者由来の滑膜を用いて，私たちはこれまでにOAの進行に伴って発現の変動する遺伝子の網羅的解析を行ってきた．それらの中で，OPNならびにその翻訳語修飾酵素の一つであるFGL2がOAの進行にしたがって有意に変動する事を見出してきた．

OPNは，細胞外基質，サイトカインの両方の性質を有するタンパクで，インテグリンやCD44に結合し，細胞の接着や遊走，T細胞のTh1細胞の分化を促進するなど，炎症の誘導因子や，免疫応答の制御因子として多彩な機能を有していることが報告されている．OA, RAの進行に伴って関節液中の濃度が増大するため，関節病変のマーカーとしても報告されている．ノックアウトマウスを用いた実験では，OPN欠損下で，コラーゲン誘導関節炎モデルでは関節軟骨破壊は抑制されるのに対し，加齢変化による関節軟骨変性は促進されることが示されている．この一見矛盾した結果はOPNの異なる分子機能によると考えられるが，OAやRAの発症・増悪におけるOPNの機能は詳細には解析されていない．

今回われわれは，関節液中のOPNの量的，質的変化が変形性関節症初期の病態とどの様に関連するかを調べるため，ACL損傷患者を対象として解析を行った．ACL再建術を施行する患者は，一般的に若年者が多く，関節軟骨変性も認められないが，ACL再建術後8年以内に約30%以上の患者において，レントゲン画像上明らかなOA変化が観察される事が報告されている．これらの事から，ACL損傷はOAの重要な危険因子であり，変形性関節症の初期の病変の解析にあたって，その予後まで継続的に観察できる点に学術的意義がある．

〈方法〉

本研究は学内の倫理委員会の承認のもと行った．2009年1月から2011年10月までに，当科で施行された前十字靭帯再建術（ACL-R）の際，患者の合意のもと採取された関節液（n＝122）を遠心分離して不純物を取り除いたあと−80℃にて解析時まで保存した．関節液中の全長型OPN量（Full）並びにThrombin切断型OPN量（N-half）を，IBL社のOPN/OPN N-half ELAISA Kitを用いて測定した．日常生活動作・安静時・動作開始時・歩行時・スポーツ時のVisual analogue Scale（VAS: pain), Lysholm Score（pain), 膝蓋大腿関節の膝蓋骨面・大腿骨面，大腿脛骨関節の大腿内側顆・内側脛骨プラトー・大腿外側顆・外側脛骨プラトーの6か所の関節鏡所見（TMDU score），術前術後の血中CRP値，術直前の関節液量の測定を行い，関節液OPN量との相関解析を行った．

〈結果〉

ACL再建術4日後は術直前に比べて，OPN Full・N-half共に約30倍上昇した．ACL受傷後の期間が1カ月以内の患者とそれ以降の患者の関節液中のOPN濃度を比較すると，OPN Fullは時間と共に有意に減少したのに対し，N-halfは低濃度のまま変化が見られなかった．

関節液中のOPN濃度と関節軟骨の関節鏡所見との相関を検討したところ，OPN Full濃度の高い患者程，外側脛骨プラトーの損傷が有意に多く認められた．外側脛骨プラトーはACL損傷時に最も力学的負荷がかかる部位と考えられており，ACL患者のMRI所見において最も高い頻度で骨挫傷が認められる部位である．

ADL を最も低下させる関節痛と OPN 濃度との相関を検討したところ，日常生活動作での疼痛は，ACL 損傷後 1 か月以内では，OPN Full・N-half とも自覚的疼痛を表す VAS と正の相関を示した．客観的疼痛をあらわす Lysholm Score も同様に，受傷後 1 カ月以内で関節液中の OPN 濃度が高い程痛みが強い傾向を認めた．一方興味深いことに，受傷後 1 か月以降では N-half 濃度と，スポーツ活動時の VAS とに負の相関がみられた．

全身炎症の指標である CRP と OPN 濃度には術前・術後とも関連はみられなかった．局所炎症の指標の一つである関節液量とは，OPN Full 濃度と正の相関を示した．

〈考察〉

本研究において私たちは，関節液中の OPN 量が，関節軟骨の退行変性ならびに関節痛に相関する事を見出した．ACL 損傷後の関節液中の OPN 量の経時変化を検討したところ，OPN Full は時間漸次減少していくのに対し，N-half は速やかにベースラインまで低下し，一定値を取ることが明らかとなった．OPN Full, N-half ともに，再建手術の侵襲に対して速やかに約 30 倍までタンパク濃度が増大する事，滑膜における OPN mRNA の発現は，受傷後 1 ヶ月を過ぎた患者ではほとんど観察されない事から，関節における OPN の発現制御は一過的であり，且つ N-half 量は受傷直後の急性炎症期にのみ一過的に増大すると考えられた．

関節液中 OPN と関節軟骨変性の解析では，外側脛骨プラトーの軟骨変性が見られる患者で OPN Full 量が有意に高い事が示された．外側脛骨プラトーは ACL 損傷後 MRI で骨挫傷がもっとも観察される領域である．このことから，OPN Full は軟骨のメカニカルストレスに対し，直接あるいは，急性炎症を促進する事により，変性を促進させると考えられる．OPN Full が関節液量と正の相関を示したことは，この考えを支持している．

興味深いことに関節液中 OPN 濃度と関節痛とに相関がみられた．ACL 受傷後 1 カ月以内では，OPN Full・N-half と共に関節痛の重症度と正の相関を示した．OPN は炎症性サイトカインとしての機能をもち，シクロオキシゲナーゼ 2 と誘導型一酸化窒素合成酵素の発現を制御することが知られている．OPN は ACL 損傷後の急性炎症の時期には，プロスタグランディン E2 や一酸化窒素などの発痛物質の発現を促すと考えられる．一方，急性期を過ぎた受傷後 1 カ月以降では，OPN N-half 濃度が高い程，関節痛を感じにくい傾向が見られた．これらの結果は，OPN N-half が OPN Full の機能を阻害していることを示唆している．OPN は軟骨において発痛物質を阻害するとの報告もあることから，今後，関節痛における OPN Full と N-half の機能の解析が必要である．

これらのことから，OPN は膝関節痛や軟骨変性を促進する誘導因子として働く可能性がある．OPN は関節痛を緩和し，軟骨変性を抑制する OA の根治療法や，外傷後の OA 予防に役立つ可能性を持つと考えられる．

〈結論〉

関節液中の OPN 濃度は，外側脛骨プラトーの軟骨変性と ACL 損傷患者の膝関節痛の重症度と関連があった．これらの結果は変形性関節症患者の関節痛と軟骨変性の治療のターゲットとなる可能性を示唆している．

西村　立 博士（医学） Ritsu Nishimura

学位記番号 ／甲第 1910 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 ／The pulmonary tissue damage associated with the aspiration of gelatinizers in rats（ラットにおけるゲル化剤の誤嚥に起因する肺組織の損傷）
Journal of Medical and Dental Sciences　第 60 巻　1-8 頁　平成 25 年 3 月発表

論文審査委員／主査：稲瀬　直彦　　副査：喜多村　健　　副査：森田　定雄

〈論文要旨〉

摂食・嚥下障害患者に対して経口摂取が容易になる様々なゲル化剤が使用されている．しかし，これらを誤嚥した場合の肺への障害性を検討した報告はほとんどなく，評価が必要である．本研究の目的は各種ゲル化剤の肺への影響のうち急性炎症反応を，ラットを用いて組織学的に明らかにすることである．

8〜9 週齢，体重 280〜347g の雄性の SD ラットの気管内に 0.1% キサンタンガム xanthan gam, 0.35% ι-カラギーナン，0.5% κ-カラギーナン，1% ゼラチン，0.15% 寒天，生理食塩水，水道水，さらにイソプロパノール isopropanol で精製処理した 0.1% キサンタンガム，0.35% ι-カラギーナンをそれぞれ 0.2ml/kg 投与した．そして，24 時間後，72 時間後に肺を摘出し，Haematoxylin-Eosin 染色をして肺への好中球浸潤により組織学的評価をした．組織学的評価は肺胞腔への好中球の浸潤で評価し，ランダムに 30 ヶ所選択した 400 倍視野（high power fields）中の好中球の平均細胞数として表した．

キサンタンガム（451±204.0 個）投与群は，生理食塩水（33.0±22.6 個）投与群と比較して 24 時間後の好中球数が有意に多かった．しかし，それ以外の投与群では有意差はなかった．投与 72 時間後の比較では，いずれの群も生理食塩水（19.5±12.5）投与群と有意差を認めなかった．イソプロパノールで精製処理したキサンタンガム（90.2±47.3 個）投与群の 24 時間後の好中球数は，処理していないものに比べて有意に少なかった．

以上より，ゲル化剤の種類により，肺組織での炎症反応の惹起されやすさに違いがあることが示唆された．一方，キサンタンガムは精製処理することで肺組織障害が軽減した．よって，キサンタンガムは肺組織障害性を低減するため精製処理するべきである．

〈諸言〉

様々な種類のゲル化剤を食品に添加すると経口摂取しやすくなるため，摂食・嚥下障害患者に対する食事にも使用されている．これらは嚥下機能の検査，訓練，実際の摂食に用いられ，誤嚥予防に有効である[1]．しかし，これらを誤嚥した場合の肺組織の障害の程度，肺炎発症への影響を検討した報告はほとんどない．よって，各種ゲル化剤の肺への障害性を評価することが必要であると考えられる．

この研究の目的は，各種ゲル化剤の肺への影響のうち急性炎症反応を，ラットを用いて組織学的に明らかにすることである．

〈方法〉

8〜9 週齢，体重 280〜347g の雄性の SD 系ラットを使用した．入荷後，温度 23±3℃，湿度 55±15%，照明時間 12 時間（午前 7 時〜午後 7 時）の環境下で市販固形飼料（CE-2，日本クレア）と水を自由摂取させ，5〜9 日間予備飼育した．

食品に用いられる頻度が多いゲル化剤の中で，ゼラチン，キサンタンガム，カラギーナン，寒天，対照群として生理食塩水，水道水を試料として用いた．また，キサンタンガム，ι-カラギーナンについてはイソプロパノールを用いて精製処理したものも用いた．生理食塩水，水道水，ゼラチン以外の試料の所定濃度は，粘度が約 20mPa・S になるように調整した．

生理食塩水および水道水は 0.22μm フィルター滅菌後，試験に用いた．その他の試料は生理食塩水に所定濃度に溶解後，オートクレーブ滅菌（121℃，15 分）したものを試験に用いた．なお，生理食塩水，水道水，ゼラチン以外の試料の所定濃度は，粘度が約 20mPa・S になるように調整した．

ラットを 5% セボフルランで吸入麻酔し，45°の傾斜台に背位に固定した．耳鏡観察下に 16G カテーテルを気管に挿入し，これをガイドに 3Fr カテーテルを挿入した．シリンジポンプ（を用いて各試料 0.2ml/kg を一定流速（10μl/sec）で気管内に投与し，その後は通常通り飼育した．

試料投与後 24 時間後または 72 時間後に肺の摘出を行った．ラットを 5% セボフルラン麻酔下に腹大動脈の切断により脱血死させ，頸部を正中に切開して気管を露出した．甲状腺下部付近で気管軟骨を切開し，その断面からカテーテルを挿入し，10% 中性緩衝ホルマリン液を 20cmH2O の圧力で注入して（5〜7ml 相当）肺を固定した．その後，ホルマリン液が漏れないように気管を結紮し，胸部を切開して肺を露出させ，気管ごと肺を摘出し，ホルマリン液を満たした容器に浸漬した．それを，Haematoxylin-Eosin 染色して組織標本を作製した．

組織学的評価は肺胞腔への好中球の浸潤で評価し，ランダムに 30 ヶ所選択した 400 倍視野（high power fields）中の好中球の平均細胞数として表した．

〈結果〉

試料投与 24 時間後では，キサンタンガム（451±204.0 個）投与群は，生理食塩水（33.0±22.6 個）投与群と比較して好中球数が有意に多かったが，それ以外の投与群では有意差はなかった．投与 72 時間後では，いずれの群も生理食塩水（19.5±12.5）投与群と有意差を認めなかった．イソプロパノールで精製処理したキサンタンガム（90.2±47.3 個）投与群の 24 時間後の好中球数は，処理していないものに比べて有意に少なかったが，ι-カラギーナンでは処理前後で有意差を認めなかった．

〈考察〉

キサンタンガムとはデンプンを *Xanthomonascampestris* により発酵させて作られるもので，水と混合すると粘性が出ることから，嚥下食のトロミ付けなどゲル化剤として用いられている．しかし，*Xanthomonascampestris* はグラム陰性細菌で，細胞壁外膜には構成成分としてエンドトキシンの lipopolysaccharide（LPS）が含まれており，キサンタンガム中には精製段階では除去しきれない夾雑物として LPS が混入しているという指摘がある．

LPS は生体に対して多様な生物学的作用を引き起こす物質として知られており，急性肺傷害もそのひとつである．今回試料として

用いた0.1% キサンタンガムは，エンドトキシン試験で15,048EU/ml（水道水の3,000倍）含まれていた．一方，ゼラチン，寒天では水道水の1～10倍でキサンタンガムよりも顕著に少なかった．そこで，キサンタンガムをイソプロパノールで精製処理すると，エンドトキシン含量は172EU/mlに減少した．精製処理した試料では未処理の試料より肺組織での好中球数が減少した．よって，キサンタンガムではエンドトキシンによる肺組織の障害の可能性が示唆された．

カラギーナンはD-ガラクトースと硫酸から構成される陰イオン性高分子化合物で，室温でゲルを形成するため，様々な食品に用いられている．げっ歯類に投与すると炎症が惹起されることが知られているが，ヒトでは極めて毒性の低い物質とされている．今回 ι-カラギーナンについてイソプロパノールで精製処理すると，エンドトキシンは処理前で26EU/ml，処理後で20EU/mlと低値だった．今回，生理食塩水投与群と比較して好中球数に有意差を認めず，精製処理前後でも有意差を認めなかったことは肺障害性へのエンドトキシンの影響が考えられた．

また，今回はキサンタンガム，カラギーナン，寒天の粘度をほぼ同じにして肺組織の障害性を比較したが，投与される物質によって炎症反応の惹起されやすさに差を認めた．よって，物理的性質よりも化学的性質による炎症反応惹起への影響が示唆された．

〈結論〉

ラットを用いて，各種ゲル化剤の肺への影響のうち，急性炎症反応を組織学的に評価した．ゲル化剤の種類により，肺組織での炎症反応の惹起されやすさに違いがあった．物理的性質を均一にしても違いを認めたことから，エンドトキシンの化学的性質による肺障害の可能性が示唆された．キサンタンガムについては肺組織障害性を低減するために精製処理するべきである．

加納　嘉人 博士（医学）　Yoshihito Kano

学位記番号　／甲第 1911 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（消化器病態学）専攻

学位論文　／The acquisition of malignant potential in colon cancer is regulated by the stabilization of Atonal homolog 1 protein
（Atoh1 蛋白安定による大腸癌幹細胞形質獲得機構解析）
Biochemical and Biophysical Research Communications　平成 25 年 1 月 online 発表

論文審査委員／主査：杉原　健一　　副査：稲澤　譲治　　副査：安原　眞人

〈論文要旨〉

転写因子である Atoh1 は腸管上皮の分泌系細胞分化に必須の遺伝子である．我々は大腸癌において Atoh1 蛋白が Wnt シグナル活性の異常亢進により分解されることを報告したが，Atoh1 発現や機能については一定の見解が得られていない．さらには Atoh1 と癌幹細胞形質との関連についても明らかとなっていないため，我々は大腸癌における Atoh1 の機能解析を行った．

Atoh1 蛋白分解認識部位である 5 個のセリン残基をアラニン残基に置換し，散発性大腸癌細胞株に導入したところ安定して Atoh1 蛋白が発現し粘液産生能を獲得したのみならず，癌幹細胞マーカーである Lgr5 の発現，FUCCI システムを用いた細胞周期解析では G0/G1 期の延長，抗癌剤耐性形質の獲得を認めた．さらに興味深いことに野生型 Atoh1 遺伝子導入 Atoh1 蛋白分解細胞にても抗癌剤耐性を認めたため Atoh1 発現を解析したところ，抗癌剤が GSK3 活性を抑制することで Atoh1 蛋白が安定発現し，癌幹細胞形質を獲得することでアポトーシスシグナルを抑制していた．

マウス移入モデルにおいても同様の機構を認めた．これらのことから Atoh1 蛋白が大腸癌幹細胞形質を制御していることが明らかとなり，大腸粘液癌における抗癌剤耐性機構を示唆する．さらには Atoh1 遺伝子ならびに蛋白発現が大腸癌化学療法効果予測に有用であると考えられた．

〈緒言〉

大腸癌は世界的に頻度の高い癌腫であり，切除不能例は化学療法が効きにくく予後不良な疾患である．病理学的診断においては分化度評価により高分化から未分化まで分類され化学療法効果・予後を予測するが，その診断基準は形態学的な腺管形成が主であり癌細胞形質を直接評価した方法は未だ確立されていない．特に癌細胞の分化度と分化形質の関連は不明であり，印環細胞癌は分化形質が維持されているにもかかわらず病理的には未分化癌に分類されるなど「病理の分化度」と「細胞の分化度」は一致していない．

細胞分化に最も重要と考えられている転写因子である Atoh1 は腸管上皮における分泌系細胞分化に必須の遺伝子であるが，我々は APC 変異の散発性大腸がんでは Atoh1 蛋白は Wnt-GSK3 依存性ユビキチン–プロテアソーム系蛋白分解を受けることを報告した．一方で Kim らは予後不良な大腸粘液癌や印環細胞癌には Atoh1 蛋白が発現していることを報告している．また Flora らは脳腫瘍である髄芽種では Atoh1 は腫瘍促進因子であることを示している一方 Bossuyt らは皮膚メルケル細胞癌や大腸癌では腫瘍抑制因子であると報告しており，腫瘍における Atoh1 の機能に関しては明らかとなっていない．さらに大腸癌においては Atoh1 蛋白安定性の検討はされておらず，増殖能以外の悪性形質の検討は示されていなかった．そこで我々は Atoh1 蛋白安定性に焦点をあて，増殖能のみならず癌幹細胞形質，遊走能，抗癌剤といった様々な悪性形質の解析を行うことで Atoh1 の大腸がんにおける機能を明らかとし，さらには Atoh1 を指標とした「細胞の分化度」分類構築の可能性を模索した．

〈方法〉

蛋白可視化のため蛍光タグ mCherry と野生型 Atoh1 の融合遺伝子である mCherry-WT-Atoh1 遺伝子を作成した．さらに Atoh1 蛋白分解認識部位である 5 個のセリン残基をアラニン残基に置換した変異型との融合遺伝子として mCherry-5SA-Atoh1 遺伝子を作成し，それぞれレンチウイルスを用いて散発性大腸癌細胞株に導入した．これらを用いてコントロールである大腸癌 Mock 細胞，mCherry-WT-Atoh1 遺伝子安定大腸癌細胞，mCherry-5SA-Atoh1 遺伝子安定大腸癌細胞の 3 群に分け解析を行った．分化マーカーと癌幹細胞マーカーの発現は RT-PCR と蛍光免疫染色法により検討を行った．癌幹細胞形質として細胞増殖は MTS アッセイ，細胞周期解析は FUCCI（Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicator）システム，遊走能に関しては Migration アッセイ，抗癌剤耐性に関してはオキサリプラチンを用いた．Vivo での検討として各群の細胞をヌードマウスへ皮下移入し，オキサリプラチンあるいは DMSO を投与した．腫瘍組織の形質は HE 染色，アルシアンブルー染色，RT-PCR 法により解析を行った．

〈結果〉

大腸癌細胞では WT-Atoh1 は蛋白分解をうけるが 5SA-Atoh1 は安定して蛋白が発現した．さらに 5SA-Atoh1 導入癌細胞では Muc2, TFF3, HD6 の分泌系分化マーカーの発現上昇を認めた．

一方で癌幹細胞マーカーの Lgr5, CD29, CD166 の有意な発現上昇を認め Atoh1 蛋白が癌幹細胞形質を制御する可能性が示唆された．

そこで我々は 2011 年にリガンドが同定された Wnt 標的遺伝子の Lgr5 に注目した．Atoh1 が Wnt 活性を上昇させることが明らかとなり Lgr5 の発現上昇は Wnt 活性上昇による Tcf4 からの転写活性の上昇によると考えられたが，Lgr5 プロモーター領域の Tcf4 結合部位を欠失させても転写活性は維持されていたことから Lgr5 の転写活性の制御は他の因子が関係している可能性が想定された．さらに 5SA-Atoh1 導入癌細胞ではアポトーシス非依存的の細胞増殖低下を起こしており，G0/G1 期の有意な延長がみられた．また 5SA-Atoh1 導入癌細胞では遊走能の亢進もみられた．さらにマウス移入モデルでは 5SA-Atoh1 導入癌細胞は印環細胞癌形態を示していることが明らかとなった．また抗癌剤耐性形質の獲得を認め，粘液癌の形質である粘液産生と癌幹細胞形質を Atoh1 が同時に関与することを示唆した．

興味深いことに WT-Atoh1 導入癌細胞にても抗癌剤耐性を認めたため Atoh1 発現を解析したところ，抗癌剤が GSK3 活性を抑制することで Atoh1 蛋白が安定発現し，癌幹細胞形質を獲得することでアポトーシスシグナルを抑制していた．マウス移入モデルにおいても同様の機構を認めた．

〈考察〉

今回我々は変異型 Atoh1 遺伝子が大腸癌細胞において安定して蛋白発現させることに成功した．さらに Atoh1 蛋白安定により大腸

癌が粘液形質と癌幹細胞形質の両者を獲得することが明らかとなった．

意外にも Atoh1 蛋白安定が散発性大腸癌を印環細胞癌形態に変化させることは注目に値する．印環細胞癌においては細胞間接着を制御する PI3K-p38 経路などが関与することが示唆されているが単一の遺伝子の関与は報告されておらず，Atoh1 蛋白の発現制御が印環細胞癌形成機構の解明に寄与すると考えられる．さらに Atoh1 蛋白が粘液形質だけでなく癌幹細胞形質を獲得することを明らかとした．また興味深いことに Atoh1 蛋白が細胞周期において G0/G1 期を延長させせることが明らかとなった．

Atoh1 遺伝子は細胞周期を促進する Notch シグナルにより負に制御されると考えられているため，腸管上皮分化における細胞周期抑制は Atoh1 遺伝子よりむしろ Notch シグナル抑制によるものと考えられてきた．しかし近年大腸癌においては Atoh1 遺伝子欠失が Notch シグナル阻害による細胞増殖抑制を解除することが報告されており，Atoh1 が直接細胞周期を制御する可能性が示唆される．さらに Atoh1 が細胞周期を G0/G1 に誘導することにより G2 期エントリーを回避し抗癌剤耐性を示すことが明らかとなった．これらの結果は粘液癌の抗癌剤耐性機構解明に関し非常に有用であると考えられる．

また Atoh1 蛋白が抗癌剤により安定化されることは興味深い．我々はオキサリプラチンが GSK3 キナーゼ活性を抑制することを初めて明らかとした．散発性大腸癌において Atoh1 蛋白は分解されることから Atoh1 遺伝子の有無で癌細胞の形質には変化がないと考えられたが，抗癌剤により Atoh1 蛋白が安定化し抗癌剤耐性を示すという我々の知見から治療においては Atoh1 遺伝子発現の有無も重要であると考えられる．

これらのことから我々は Atoh1 を指標にした「細胞の分化度」と悪性度は負に相関することが示唆され，新分類の作成が有用ではないかと考えた．そこで我々は，Atoh1 タイプⅠ：Atoh1 遺伝子陰性，Atoh1 タイプⅡ：Atoh1 遺伝子陽性，蛋白陰性，Atoh1 タイプⅢ：Atoh1 蛋白陽性の 3 タイプに分類することを提唱する．治療の観点からはタイプⅡ/Ⅲは抗癌剤耐性の指標となり，癌細胞の特性としてタイプⅢは癌幹細胞形質を保有していることが考えられる．

〈結論〉

大腸癌における Atoh1 蛋白発現は印環細胞癌を模倣している可能性があり，癌幹細胞形質と分化形質の両面を持ち，抗癌剤耐性を示す．

浅山　真秀子 博士（医学）　Mahoko TAKEI-ASAYAMA

学位記番号　／甲第 1912 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　　／Effects of an hERG activator, ICA-105574, on electrophysiological properties of canine hearts（hERG 活性化薬剤，ICA-105574 のイヌ心電図に及ぼす影響）
Journal of pharmacological sciences　第 121 巻第 1 号　1-8 頁　平成 25 年 1 月発表

論文審査委員／主査：安原　眞人　　副査：平尾　見三　　副査：安田　賢二

〈論文要旨〉

急速活性型遅延整流性カリウムチャネルのサブユニットを形成する human *ether a-go-go-related* gene（hERG）遺伝子の機能獲得型変異（gain-of-function）を有する患者では，心電図 QT 間隔の短縮を特徴とする家族性不整脈の発症が報告されている．それ故，hERG チャネルの活性化作用を有する薬剤の不整脈を誘発する可能性が考えられる．近年，*in vitro* で hERG チャネルを活性化するいくつかの薬剤が報告されてきたが，薬剤の *in vivo* における心電図評価の情報が極めて少ない．従って，本研究では，2010 年に報告された hERG 活性化薬剤 ICA-105574（ICA）を用いていくつかの検討を行った．ICA は，hERG 過剰発現 HEK293 細胞において hERG チャネル電流を増加させ（EC_{50} 値：0.42μM, E_{max}: 5.5 倍 vs コントロール），2μM では，生理的電位範囲の hERG チャネル電流の内向き整流性が失われた．モルモットランゲンドルフ灌流心臓において 3μM の ICA は QT 及び QTc 間隔，並びに単相性活動電位を有意に短縮した．麻酔下イヌの心電図においては，最高用量の 10 mg/kg ICA の 10 分間静脈内持続投与により，QT 及び QTc 間隔を有意に短縮した．ICA のタンパク非結合型の血漿中薬物濃度はおよそ 1.7μM と推定された．ICA が hERG チャネルを活性化する濃度域において，麻酔下イヌの QT 及び QTc 間隔を短縮することが示され，ICA の心電図に対する作用は hERG に対する作用が反映したものと考えられた．

〈緒言〉

hERG チャネル電流は，活動電位の再分極過程に寄与している．hERG チャネルの機能欠損変異遺伝子を有する QT 延長症候群（LQT-2）では，催不整脈性の多型性心室頻脈の Torsade de pointes（TdP）を誘発する心電図の QT 間隔の延長が認められる．薬剤誘発性 QT 延長症候群の主なメカニズムは，hERG チャネル電流の抑制作用であり，抗菌薬や向精神薬など心疾患治療薬ではない薬剤においても多く報告されている．医薬品開発においては，hERG チャネル電流の阻害作用による QT 延長作用は回避すべき課題であり，これまでに，hERG チャネル電流の阻害作用と心電図に及ぼす影響が広く研究されてきた．

一方で，遺伝子変異及び薬剤による hERG チャネル活性化の情報は限られてきた．2004 年に QT 短縮症候群の原因遺伝子として hERG チャネルの獲得型変異（SQT-1）が初めて同定された．hERG チャネル阻害薬剤に比べてはるかに少ない数ではあるが，hERG チャネルを活性化するいくつかの薬剤が報告され，薬剤の hERG チャネルへの影響が検討されるようになってきた．hERG チャネルを活性化する薬剤の *in vivo* における心電図評価の報告は極めて少なく，*in vitro* と *in vivo* の関連性を示すデータがほとんどない．

hERG チャネルの活性化薬剤は少なくとも二つのグループに分類される．RPR260243（RPR）は hERG チャネルの細胞内に近い S5 ドメインと膜貫通 S6 ドメインに結合し，hERG チャネルの脱活性化を顕著に遅らせ，不活性化も阻害する．一方で，PD-118057（PD）は hERG チャネルのポアへリックス内の S6 ドメインに結合し，不活性化を阻害するものの脱活性化への影響は小さく，チャネルの開口確率を増加させる．2010 年に報告された ICA は，RPR または PD と重複する hERG チャネルとの結合サイトも有するが，他の hERG 活性化薬に比較して不活性化をポジティブ側に大きくシフトさせ，生理的条件範囲においては不活性化をほぼ完全に解除する．以上の報告から，ICA は RPR や PD と異なるタイプであり，第三のタイプの hERG チャネル活性化薬であるといえる．ICA はモルモットの単離心室筋細胞において活動電位持続時間を短縮するが，心電図への作用の報告はなく，特に *in vivo* における影響は全く不明であった．

本研究では，ICA-105574 を用いて，心電図に及ぼす単相性活動電位への影響をモルモットランゲンドルフ灌流心臓および麻酔下のイヌを用いて検討した．麻酔下イヌでは，薬物血漿中濃度の測定も行った．

〈方法〉

ICA の hERG チャネル電流に及ぼす影響を，hERG 過剰発現 HEK293 細胞を用いてパッチクランプ法より検討した．またランゲンドルフ灌流下のモルモット摘出心臓に ICA を暴露し，心臓全体での心電図および左心室壁における単相性活動電位（MAP）を測定した．心電図は洞拍動下で，MAP は 300（拍動数/分）のペーシング下で測定した．QT 間隔は，拍動数を考慮した補正（Van de Water 補正式，Bazett 補正式，及び Fridericia 補正式）により QTc 間隔を算出した．さらに，麻酔下イヌでは，ICA の持続静脈内投与をおこない，心電図の測定を行った．QT 間隔は，モルモットランゲンドルフ法と同様の補正を行った．麻酔下イヌの心電図測定時には，静脈より血液を採取し，血漿中の ICA 濃度を測定した．イヌ血漿中での ICA のタンパク結合率は超遠心分離法にて算出し，麻酔下イヌの心電図評価時の血漿中における非タンパク結合型の ICA 濃度を予測した．

〈結果〉

hERG チャネル電流の検討では，ICA が濃度依存的に脱分極時の hERG 電流を増加させた．EC_{50} 値は 0.42 ± 0.04μM（Hill 係数：2.5 ± 0.3）であり，コントロール電流に対する最大値は（E_{max}）5.5 ± 0.3 倍であった．電流・電圧特性（I-V カーブ）において，コントロールでは hERG チャネル電流の特徴である遅い活性化と速い不活性化を反映する内向き整流性の釣鐘型を示し，ピークが 0 mV であった．これに対して，2μM ICA を暴露した後では，－50mV 以上において内向き整流性は失われ，電流値が顕著に増加した．これは，不活性化の電位依存性が大幅にプラス電位側にシフトしたことを示唆した．

モルモットのランゲンドルフ灌流心臓における心電図及び MAP の測定では，3μM において QT 及び QTc 間隔（Van de Water 補正式，Bazett 補正式，及び Fridericia 補正式），並びに MAP_{90}（90% 再分極時の単相性活動電位持続時間）を有意に短縮した（n=5, p<0.05）．心電図の PR 及び QRS 間隔には影響を示さず，心室の再分極過程のみに影響していることが示唆された．

次に，*in vivo* への影響を確認するため，麻酔下イヌで体表面心電図を測定した．心電図パラメータは 10　mg/kg の ICA を持続静脈内投与 10 分後に最大変化を示した．心拍数の増加が認められていたが，拍動数を考慮したいずれの補正式を用いても QTc 間隔は

コントロール値に対して短縮した（QTc（Van de water）: 20 %，QTc（Bazett）: 13 %，QTc（Fridericia）: 19 %）（$n=4$，$p<0.01$）．麻酔下イヌの QTc 間隔が最も短縮した時点で，ICA の血漿中濃度は最大であり，血漿中のタンパク非結合型の ICA 濃度はおよそ 1.7 μM と推定された．

〈考察〉

本研究では，hERG チャネル活性化作用を有する新規薬剤である ICA が，hERG チャネルの不活性化を阻害する濃度域において，麻酔下イヌの心電図の QTc 間隔を短縮し，心拍数を増加させることを明らかにした．この結果は，hERG チャネル活性化作用を有する薬剤の *in vivo* の心電図への影響を理解する上で有用な知見となるだろう．

hERG チャネル電流を抑制する薬剤の *in vitro* と *in vivo* の情報は多く蓄積されてきたが，一方で活性化する薬剤自体が大変稀であり，さらに *in vivo* の情報はほとんど報告されてこなかった．我々が知る限りでは，活性化薬の *in vivo* の血漿中濃度と QT 間隔の短縮を示した報告は最初である．

ICA は，生理的電位範囲において hERG チャネルの内向き整流性を失わせることから，APD のプラトー相における外向き電流を増加し，心電図の QT 間隔の短縮が認められたと考えられる．本検討では，心室性頻脈および催不整脈性は認められなかったが，SQT の実験的モデルでの心室の貫壁性再分極相のばらつきの増大による催不整脈性を示唆する報告もある．hERG チャネルの活性化によるその機序は未だ不明であり，QT 短縮の催不整脈性については議論が分かれている．hERG チャネルの活性化作用を有する薬剤の催不整脈性の検討が，今後の課題である．

〈結論〉

ICA は，hERG チャネルの不活性化を阻害する濃度域において，麻酔下イヌの心電図の QTc 間隔を短縮した．ICA の in vivo 心電図に対する作用は，ICA の hERG 活性化作用によることが示唆された．

呉　楠 博士（医学）　NAN WU

学位記番号	／甲第 1913 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	／PECAM-1 is involved in BCR/ABL signaling and may downregulate imatinib-induced apoptosis of Philadelphia chromosome-positive leukemia cells（PECAM-1 の BCR/ABL からのシグナル伝達と Ph 陽性白血病のイマチニブ感受性制御機構への関与） International Journal of Oncology　第 42 巻第 2 号　419–428 頁　平成 25 年 2 月発表
論文審査委員	／主査：水谷　修紀　　副査：北川　昌伸　　副査：中村　正孝

〈論文要旨〉

PECAM-1 は CD31 とも呼ばれる 130kD の immunoglobulin superfamily の接着分子で，内皮細胞と造血細胞に広範に発現し，2 つのチロシンリン酸化部位 ITIM 領域を有し，細胞内シグナル伝達を制御することが報告されている．今回私たちは，慢性骨髄性白血病や Ph 陽性急性リンパ芽球白血病を引き起こす融合型チロシンキナーゼ BCR/ABL が，直接または Src ファミリー・キナーゼの活性化を介して，PECAM-1 の ITIM 領域をリン酸化することを見いだした．このリン酸化部位にはチロシンフォスファターゼ SHP2 が結合し脱リン酸化すると供に，Gab2 等とも複合体を形成し，細胞内シグナル伝達の制御にも関与することが推察された．BCR/ABL チロシンキナーゼ阻害薬 imatinib 耐性変異体 E255K や T315I はより強く PECAM-1 をリン酸化した．また白血病細胞株 K562 等で PECAM-1 の過剰発現により細胞接着は亢進し，imatinib や第二世代阻害薬 dasatinib による mitochondria 障害と caspase 活性化を介したアポトーシス誘導は部分的に抑制された．これらの結果より，PECAM-1 は Ph 陽性白血病細胞において，細胞接着やアポトーシス抑制等を制御する細胞内シグナル伝達機構を巧妙に調節し，imatinib 等への治療抵抗性獲得機構にも関与する事が示唆される．

〈緒言〉

PECAM-1 は 2 つの ITIM 領域を有し，この部位のチロシンリン酸化により SHP2 その他のシグナル因子と結合することでシグナル伝達にも関与し，抗アポトーシス機能や，SDF-1 依存性の造血幹細胞の骨髄への集積，integrin を介した細胞接着の亢進機能を有する．慢性骨髄性白血病（CML）や一部の急性リンパ芽球性白血病（ALL）では Ph 染色体を生じる染色体転座 t（9; 22）（q34; q11.2）を認める．この転座により産生される BCR/ABL は，恒常的活性化型の融合チロシンキナーゼで，種々の細胞内シグナル伝達経路を活性化し白血病化を引き起こす事が報告されている．これらの白血病は BCR/ABL キナーゼ阻害薬 imatinib や第二世代の阻害薬 dasatinib 等により，良好な治療成績が得られるようになっているが，一部の症例では BCR/ABL のキナーゼ領域に突然変異を生じ，これらの薬剤に耐性になることが臨床上問題となっている．E255K や T315I のアミノ酸置換をもたらす変異が最も頻度が高く，特に後者は dasatinib にも抵抗性が強く治療が困難である．そこで本研究では，PECAM-1 が BCR/ABL からのシグナルに関与する可能性と，BCR/ABL キナーゼ阻害薬への感受性に及ぼす影響につき検討した．

〈方法〉

急性転化した CML や Ph 陽性 ALL 患者の白血病細胞，急性転化 CML 細胞株 K562, Ph 陽性 ALL 細胞株 TMD5, BCR/ABL や imatinib 耐性変異体である E255K や T315I を発現させた造血細胞株 Baf3 と 32D 等を用いると供に，これらの細胞にレトロウイルスベクターを用いて PECAM-1 やその変異体および SHP2 やその変異体を発現させ検討を行った．また，293T 細胞での一過性発現系を用いても検討を行った．PECAM-1 等のチロシンリン酸化は免疫沈降と免疫ブロット法にて検討した．細胞接着能は蛍光ラベルした細胞のフィブロネクチンでコートした培養ディッシュへの接着により解析した．染色体 DNA の切断を指標としたアポトーシスの評価や，ミトコンドリア膜電位の低下および caspase-3 の活性化はフローサイトメトリーを用いて検討した．

〈結果〉

検討した 4 例の Ph 陽性白血病患者全例の白血病細胞において PECAM-1 の強いリン酸化を認め，imatinib や dasatinib の処理により強く抑制された．PECAM-1 のチロシンリン酸化は BCR/ABL を発現する様々の細胞株でも認められ，一部の細胞では imatinib による阻害は部分的で，Src ファミリーキナーゼも抑制する dasatinib によってのみ完全抑制を認めた．また，PECAM-1 は SHP2 と複合体を形成し，優勢抑制型変異体 SHP2-D425A の発現で PECAM-1 のチロシンリン酸化は著明に増強した．PECAM-1 の変異体を用いた 293T 細胞での一過性発現実験では，BCR/ABL や Src ファミリーキナーゼの Lyn は PECAM-1 の ITIM 領域をチロシンリン酸化することが明らかとなった．E255K や T315I の imatinib 耐性 BCR/ABL 変異体を発現した Baf3 細胞では，PECAM-1 のチロシンリン酸化と SHP2 への結合の増強を認めた．Dasatinib に完全耐性を示し，sorafenib では阻害される T315I 変異体を発現した Baf3 細胞では PECAM-1 のリン酸化はこれらの阻害薬により PECAM-1 のチロシンリン酸化はそれぞれ部分的に抑制されたが，293T 細胞で sorafenib のみが強い抑制効果を示した．

K562 において PECAM-1 の過剰発現によるフィブロネクチンへの細胞接着の亢進を認めた．また，BCR/ABL 発現 32D 細胞，K562 細胞供に，PECAM-1 およびその変異体の過剰発現により imatinib により誘導される細胞死が部分的であるが抑制された．また，imatinib や dasatinib による mitochondria 膜電位障害作用は PECAM-1 過剰発現により抑制され，caspase-3 の活性化も PECAM-1 やその変異体の過剰発現により抑制される傾向が認められた．

〈考察〉

患者白血病細胞を含めた BCR/ABL 発現造血系細胞において，PECAM-1 は BCR/ABL により直接的に ITIM 領域のリン酸化を受けると供に，BCR/ABL により活性化された Src ファミリーキナーゼによっても間接的にリン酸化されるものと考えられる．PECAM-1 リン酸化部位には SHP2 が動員され，脱リン酸化を誘導する供に Gab2 とも複合体を形成し，細胞内シグナル伝達の制御にも関与することが推察された．PECAM-1 のチロシンリン酸化や SHP2 との結合は，E255K や T315I の imatinib 耐性変異体でより強く認められ，これらの変異による増殖能の亢進や治療抵抗性獲得機構にも関与している可能性が考えられる．また，PECAM-1 は ITIM 非依存性に，BCR/ABL 発現白血病細胞において細胞接着の亢進をもたらし，キナーゼ阻害薬により誘導されるトコンドリア膜電位の障害を抑制し，caspase-3 の活性化を介したアポトーシス誘導に抑制的に制御するものと考えられる．これらの結果から，PECAM-1 は造血器腫瘍に

おいてBCR/ABLを介した細胞内シグナル経路活性化を巧妙に制御することにより，細胞の増殖，接着等の調節機構を統合しているものと推察され，BCR/ABLその他の活性化キナーゼによるこの調節機構の破綻が白血病の発症や進展に関わる可能性も想定され，今後この機構のさらなる解明が必要と考えられる．

〈結論〉

PECAM-1はPh陽性白血病細胞でBCR/ABLによりITIM領域にチロシンリン酸化をうけ，SHP2等と複合体を形成すると供に，アポトーシス抑制等を制御する細胞内シグナル伝達機構と細胞接着の活性化機構に関与し，チロシンキナーゼ阻害治療薬への白血病細胞の反応性を抑制することが見いだされた．

岩﨑　牧子 博士（医学）　Makiko Iwasaki

学位記番号　／甲第 1914 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　／Runx2 haploinsufficiency ameliorates the development of ossification of the posterior longitudinal ligament（Runx2 は後縦靭帯骨化の進展を調節する）
PLoS ONE　第 7 巻第 8 号　平成 24 年 8 月 online 発表
論文審査委員／主査：野田　政樹　　副査：上阪　等　　副査：田賀　哲也

〈論文要旨〉

後縦靭帯骨化症（以下，OPLL）における異所性骨化部位では軟骨細胞の増殖や BMP や TGF-β 等のサイトカインの発現が認められることから，OPLL の発症に内軟骨性骨化が関与することが示唆されているが，その本態は不明である．一方 Runx2 は骨芽細胞，軟骨細胞分化に重要な転写因子であり Runx2 欠損マウスでは著しい内軟骨性骨化の障害を認める．今回 OPLL における Runx2 の役割を調べるため OPLL モデルマウスである ttw マウスと Runx2 ヘテロ欠損マウスとの交配で得られたマウスを解析した．結果として異所性骨化部位では骨化に先んじて Runx2 が発現し，Runx2 ヘテロ欠損によって異所性骨化の減少が認められた．OPLL における異所性骨化に Runx2 を解する内軟骨性骨化が関与し，進展を調節することが示された．

〈緒言〉

後縦靭帯骨化症（以下，OPLL）は現在外科的治療が主体となっているが，日本人で有病率が高く，厚生労働省による特定疾患に指定され，病因の解明，外科的治療以外の治療法の確立が長く待たれている疾患であるといえる．

病因としては，肥満・糖代謝異常との関連が以前から報告されているほか，メカニカルストレスやサイトカイン等の局所因子も関係するとの報告もあり，多因子疾患と推測されるが，未だ不明な点が多く残されている．男性に多く，人種間で差があること，また，家族集積性，同胞内発症を認めることから，遺伝的背景の存在が強く示唆されている．

OPLL における異所性骨化については，靭帯の過形成・軟骨細胞の増殖がみられる [1] ことや組織学的に内軟骨性骨化に類似していることから，骨芽細胞分化のマスター遺伝子であり，軟骨細胞の成熟にも必須である Runx2 の関与について注目されており，OPLL 患者由来の脊椎靭帯の細胞では Runx2 の発現が増加していること，DNA マイクロアレイにおいては Runx2 の発現を抑制することで OPLL 患者由来の細胞でのみ connective TGF のような軟骨分化の因子の発現が減少することなどが報告されている [2] が未だ詳細なメカニズムはわかっていない．

Runx2 は骨芽細胞，軟骨細胞分化に重要な転写因子であり，Runx2 欠損マウスでは著しい内軟骨性骨化の障害を認め，Runx2 の持続的発現マウスでは軟骨肥大化が誘導され，内軟骨性骨化を介して異所性骨化を呈する [3]．近年ではメカニカルストレスと Runx 遺伝子の発現の関係も報告されている [4]．そこで，我々は OPLL における異所性骨化での Runx の意義について検討した．

〈方法〉

まず後縦靭帯における Runx2 の発現を in situ hybridization，LacZ 染色，免疫染色により確認した．続いて OPLL モデルマウスである ttw マウスと Runx2 ヘテロ欠損マウスとを交配し ttw との二重変異マウスを得た．それらマウスのにおける異所性骨化部位について runx2 の発現，組織学的変化を経時的に観察，またマイクロ CT を用いて骨化を定量し，検討した．

〈結果〉

椎体の骨芽細胞同様に後縦靭帯においても胎生期，出生後ともに Runx2 の発現が確認された．今回用いたモデルでは特に頭蓋骨・軸椎間の靭帯の骨化が著明であったため，同部位での骨化を観察，定量した．

組織学的には ttw マウスでは後縦靭帯に肥厚を認め，同部位には軟骨細胞の増殖がみられており，内軟骨性骨化の関連が示唆された．Ttw および runx2 ヘテロ欠損マウスでも軟骨細胞の増殖はみられたが全体として量は減少していた．

経時的には ttw マウスにおいて 4 週の時点で runx2 の発現は確認されるが石灰化は見られていなかった．8 週の時点で ttw マウス，ttw および runx2 ヘテロ欠損マウスともに石灰化が見られ，ttw および runx2 ヘテロ欠損マウスでは石灰化の量は ttw マウスと比較して減少していた．

骨化については組織切片では 2 次元的な評価しかできないため，骨化のボリュームをマイクロ CT を用いて計測した．マイクロ CT で撮影した画像を 3D で再構築後に骨化のボリュームを計測した．その結果，Runx2 ヘテロ欠損マウスとの交配において ttw マウスでみられる後縦靭帯の骨化量は約半分となっており，有意な減少を認めた．

〈考察〉

近年，OPLL 由来細胞でメカニカルストレスにより Runx2 の発現が上昇することや Ttw マウスに高リン食を与えると Runx2 の発現が上昇することが報告されており，OPLL における異所性骨化への Runx 遺伝子の役割が注目されている．

異所性骨化に関しては未だメカニズムが不明な点も多いが，OPLL モデルマウスにおいて Runx2 のヘテロ欠損により異所性骨化が軽減したことから，OPLL における異所性骨化に Runx2 を介する内軟骨性骨化が関与することが示された．また，今回の Runx2 ヘテロ欠損による異所性骨化の減少から，Runx2 の発現を局所的にコントロールすることにより靭帯の骨化を抑制できる可能性があると考えられ，動物モデルにおける検討をすすめているところである．

編集後記

厳冬の後，桜も咲き急ぐほどの温かさの中，新装「お茶の水醫學雑誌」も２年目の春を迎えることができました．これもひとえに皆様のご支援の賜物と心より感謝しております．

昨年は，本誌の内容の充実に集中して取り組んできましたが，２年目となる今年は，本誌の質を更に上げ維持するために必要なサポート機能を整え，安定的に高いレベルの雑誌を提供できるよう環境を整えます．今号のお茶の水医科同窓会会報にお知らせを掲載したように学内施設会員制度等，投稿しやすい制度をさらに充実させてまいります．公益財団法人となりました薬力学研究会と協調して，本誌の存在を広く知っていただくための活動も始めました．また，本誌のホームページも次号までには完成の予定です．

引き続き，総説，プレスリリース論文，症例報告，原著論文等，ご投稿をお待ちしています．学内／学外施設会員制度を利用すると，所属先が施設会員となった後は無料で投稿が可能です．なお，毎回好評をいただいている学位論文紹介ですが，学年末直後のため，多くの方が学位審査に合格しています．従いまして，誌面の関係上，今号と次号の２回に分けての掲載となります．

最後に，和同会からの資金援助，お茶の水医科同窓会からの資金援助及び運用面でのご協力は，常に本誌の大きな活力源です．ご協力いただいている関係者の皆様に，この場をお借りしまして，心より御礼申し上げます．

平成 25 年 5 月　編集委員長
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，ほか．
   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

お茶の水醫學雜誌　第 61 巻　第 2 号

発　行	2013 年 5 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

前　目次へ