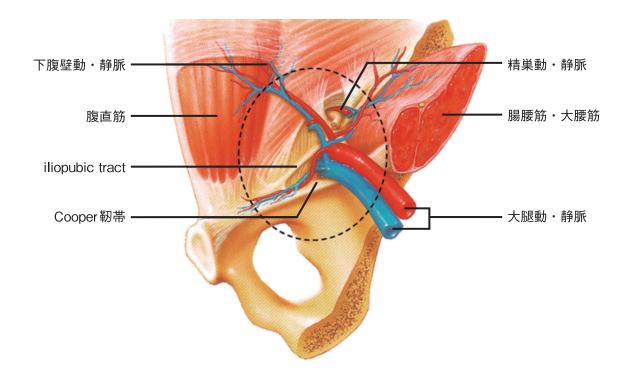
お茶の水醫學雜誌

Ochanomizu igaku zasshi 第63巻 第1号 2015年



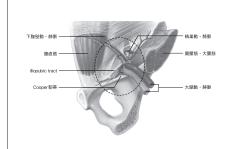


東京医科歯科大学お茶の水医学会

表紙の図

Myopectineal orifice

鼠径部へルニアの発生部位の図. 鼠径部を腹腔側からみると、前腹壁の筋(腹直筋、腹横筋、内腹斜筋、外腹斜筋など)と恥骨に囲まれた部分に横筋筋膜のみしかおおっていない部分がある. ここに鼠径のヘルニアの門となる内鼠径輪や Hesselbach 三角、大腿ヘルニアの発生する大腿血管裂孔および閉鎖孔ヘルニアの門となる閉鎖管がある. 1956 年 Fruchaud は、この部分がヘルニアの発生部位として myopectineal orifice (MPO:筋恥骨孔)と名づけた. 現代の外科治療では、このMPOをすべてカバーする術式が標準となっている. (「ヘルニア手術の歴史」36頁、中嶋 昭先生提供)



目 次

総説			
神経病理学における病変局在選択性の機序――大脳白質と淡蒼球の場合	桶田	理喜	1
心房細動カテーテルアブレーションの最前線	家坂	義人	21
ヘルニア手術の歴史	中嶋	昭	35
内因性カンナビノイドによるシナプス伝達調節	狩野	方伸	53
SaaS/クラウド型電子カルテで、医療と介護、病院と在宅をつなぐ	姫野	信吉	67
原著			
乳幼児を養育する父親と母親のワーク・ファミリー・ コンフリクトと職業性ストレスとの関連	山崎	恭子 他	81
プレスリリース研究			
水の通り道(アクアポリン水チャネル)が動く原動力を発見 ――尿崩症治療薬および新規水利尿薬の開発へ	野田	裕美	91
第 22 回・23 回・24 回お茶の水会医科同窓会研究奨励賞受賞研究			
神経難病に対する遺伝子治療の実現に向けて	仁科	一隆	103
関節内投与した滑膜幹細胞は関節内にとどまり半月板修復に寄与する	堀江	雅史他	119
マイクロ RNA による骨芽細胞分化の調節機構	猪瀬	弘之	129
イブニングセミナー			
傷が治る	岡崎	睦他	141
症例報告			
総胆管下部の"し"の字変形 ——十二指腸乳頭部腫瘤の遠位移動のサイン ····································	齋田	幸久 他	151
経口腸管洗浄薬内服後に敗血症性ショックを発症した1例	鈴木	道隆 他	157
剖検症例紹介————————————————————————————————————			
剖検症例から学ぶ疾病の転帰と病態生理:症例 No.122~141 ···································	•••••	•••••	163
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
寄付一覧			217
編集後記			219
お茶の水醫學雑誌投稿規程			220

Contents

Review article	
The mechanisms underlying selective vulnerability to neuropathology, with reference to the cerebral white matter and globus pallidus Riki Okeda	1
The front-line of catheter ablation to cure atrial fibrillation · · · · Yoshito Iesaka	21
Historical aspects of hernia surgery	35
$Modulation \ of \ synaptic \ transmission \ by \ endocannabinoids \ \cdots \cdots \cdots \ Masanobu \ Kano$	53
Integrating medical and care information using a SaaS/cloud-based electronic health record system Shinkichi Himeno	67
Original article	
Work-family conflict and job stress among working fathers and mothers caring for young children Kyoko Yamasaki, et al	81
Press release research	
Discovery of driving mechanism of the water channel aquaporin-2: a promising therapeutic target for diabetes insipidus and water retention	91
Research Promotion Award 2008, 2009, 2010 From TMDU Medical Alumm Association	
Tocopherol-conjugated siRNA; to overcome incurable neurological diseases	103
Intra-articular injected synovial stem cells differentiate into meniscal cells directly and promote meniscal regeneration without mobilization to distant organs in rat massive meniscal defect	119
A microRNA regulatory mechanism of osteoblast differentiation Hiroyuki Inose	129
Evening seminar	
Wound healing	141
Case report	
"Reversed J configuration of the common bile duct" as a sign suggestive of ampullar or periampullary tumors with distal migration	151
A case of septic shock and DIC caused by drinking polyethylene glycol electrolyte lavage solution	157
Brief autopsy reports	
Clinical course and pathophysiology of diseases reviewed from autopsy cases: No.122~141	163
TMDU PhD Thesis from Graduate School of Medicine	205
List of donations to the journal	217

総 説 Review article

神経病理学における病変局在選択性の機序 ――大脳白質と淡蒼球の場合

桶田 理喜 川崎幸病院病理診断科部長 東京医科歯科大学名誉教授

要旨:他臓器と異なり、領域によって組織構築がさまざまな中枢神経系では、病変発生部位に選択性を示す疾患が認められる。その中で大脳白質と淡蒼球を選択的におかす一酸化炭素(CO)中毒、抗癌剤 5-フルオロウラシルの白質脳症、高血圧が背景にある Binswanger 脳症の病変発生機序について研究してきた。その結果、これらで大脳白質が、また、急性 CO 中毒では淡蒼球も選択的におかされる機序には、大脳皮質の発達に伴った①白質の肥厚ならびに②髄質動脈の発生とその走行距離の延長、③この長い走行距離のために髄質動脈中膜厚が薄いこと、④脳動脈主幹部口径の増大に伴って、そこから分岐して淡蒼球を栄養する穿通枝の口径の本管のそれに対する比率がより高度に低下していることが決定的に関与していた。したがって、このような病変局在選択性を示す病変は、いわば"ヒト脳の宿命的病態"であるといえる。また、これら以外の局在選択性を示す病変の発生機序解明には、このような観点からの分析が必要である。

Key words: 大脳白質, 淡蒼球, 急性一酸化炭素中毒, 間歇型一酸化炭素中毒, Grinker's myelinopathy, 5-フルオロウラシル, 白質脳症, Binswanger 脳症, 低酸素性–虚血性脳症, 病変局在選択性, ヒト脳の宿命

I. はじめに

病理学は疾患の原因(病因 etiology)と病変の発生機序(病理発生 pathogenesis)を主に形態学的手法によって研究する分野で、病理形態学(pathomorphology)とも呼ばれる。日本の大学病理学教室の多くは脳を含めた体内の全臓器・組織病変を研究対象とする一般病理学(general pathology)を標榜してはいるが、神経病理学は敬遠される傾向にあり、その研究者は主に精神科医、神経内科医、脳外科医などの臨床医であったし、今もその傾向はあまりかわらない。ここでは一般病理学教室に身をおいた筆者が神経病理学にのめり込んだ経緯と、そこでみえてきたものについて述べることにする。

中枢神経系は形態と機能の面で、肝臓や腎臓など、 どこを切っても同じ臓器とはまったく異なる点で特異 である.したがって、同じ性状の病変でも、その発生 部位によって当然症状も異なってくる.そして重量は 成人で約1,250g(体重の約2.5%)あり肝臓に次いで

連絡先:桶田 理喜 okeriki@hotmail.com

大きく, また主症状が小さな病巣によって生じていることもあり, 神経・精神症状を説明するには, それぞれの症状の発生機序を推察したうえで, 多数の領域を検索せねばならない. おそらくこれが主な理由で, 一般病理医が神経疾患の研究に踏み込むのを躊躇しているのではと思うのであるが, これらの特徴をいったん頭に入れてしまえば, 神経疾患の病理を考える場面で病理総論を基盤にしていろいろな可能性が浮かび上がり, 充実した研究ができると思われる. その主な特徴をもう少し具体的に述べてみると,

形態学的特徵

- ①大脳~脊髄まで硬い骨で囲まれ脳脊髄液の中に浮いており、リンパ管やリンパ節はない.
- ②脳,脳幹,小脳,脊髄それぞれにおいて,神経細胞の多い灰白質と有髄線維からなる白質の配列や構築(組み上がり)が異なる.それに伴って各領域の栄養血管の構築も異なってくる.
- ③その構成細胞には、他臓器でもみられる血管結合 組織以外に、他臓器にはみられない神経細胞、グリア、 上衣がある。
- ④神経細胞は、近傍の神経細胞だけでなく 1m 以上 離れたところにある別の神経細胞との間を細胞突起で

連絡し合って、シナプスを介して機能を発揮する.

- ⑤脊髄液は脳室内の脈絡叢で産生され、脳室のみならず脳表全面にわたり連続してクモ膜下腔を満たしている.
- ⑥脳動脈の中膜(筋層)の厚さは、他臓器のそれよりも有意に薄い(機能的特徴の④と関連して).

機能的特徵

- ①ヒト成人脳は重量が体重の約 2.5% であるにもかかわらず, 心拍出量の 15% を受け取り, また全身酸素消費量の 18% を消費する.
- ②エネルギーのほとんどは、血液から摂取したブドウ糖を血液からの酸素で燃焼して得る。ブドウ糖の貯蔵はきわめて少ない。したがって、血流量および血中のブドウ糖と酸素濃度への依存性がきわめて高い。
- ③毛細血管と脳実質との間に血液・脳関門があり、 血中の物質は自由には脳実質に移行しない.
- ④生理的状態下では脳血流量は腎動脈と同じく自動調節によって調節されているが、腎とは異なり、臓器全体の血流量の変動はきわめて少ない.
- ⑤大脳皮質には言語,運動,知覚などの機能中枢の 局在が認められる.
- ⑥神経細胞は細胞分裂・再生をまずしない. また, さまざまな伝達物質を産生・分泌する.
- ⑦脳組織には髄鞘で囲まれた神経細胞突起(有髄線 維)が多く、脂質含有量がきわめて高い.

これらの特徴を踏まえたうえで研究を始めるわけで あるが、そのときには動機が必要となる、無論、上司 から命じられた場合もあるが、自らの疑問から出発す るのがもっとも自然である。神経疾患には実にさまざ まなものがあるが、最近2年間の日本神経病理学会の 演題内容をみると、その30~40%は変性疾患である。 変性疾患というのは、原因不明で、神経組織構成細胞 内外に異常な物質沈着や細胞の崩壊・消失が進行性に 生じる疾患であり、その代表格は Alzheimer 病であ るが、それ以外にも Parkinson 病、筋萎縮性側索硬 化症など実にさまざまなものがある。今日では、その 中には原因となる遺伝子異常や物質沈着機序が、主に 生化学分野から次第に明らかにされてきている.変性 疾患に次いで多い演題は、炎症・免疫・脱髄疾患およ び脳腫瘍、循環・血管・外傷、プリオン病、発達傷 害・てんかん、末梢神経・筋がそれぞれ5~15%を占 める. 代謝障害・中毒関連演題は1~2% しかない.

筆者がはじめて本格的病理学研究の動機を得たのは, このような学会演題の趨勢とは無関係に, 1965, 66 年ころに自らが行った一酸化炭素中毒(CO中毒)の 病理解剖例からであった. もっとも, このころには変 性疾患は今日ほどには注目を集めておらず、筆者の家 族にも研究の動機となりうるような変性疾患の病人は いなかった。また、当時は炭鉱事故が頻発して CO中 毒例がめずしくはなかったが、筆者の解剖例は炭コタ ツによる CO 中毒で植物状態となり、約1年後に死亡 した高齢者であった. 当時の成書によれば、急性 CO 中毒の脳病変は大脳白質と淡蒼球に選択的に生じると あり,淡蒼球病変は必発ではなく,大脳白質の皮質直 下の U 線維(その形がローマ字の U に似ているので U線維と呼ばれる) は変化をまぬがれるとあったが、 まったくそのとおりであった (図 la, b). これはそ れまでの文献例のみならず、筆者がパリのサルペトリ エール病院でみせていただいた10数例の剖検例でも 病変の大きさはさまざまであったが、その局在部位が 選択的であることを確かめることができた(欧州では 家屋は主に石作りであり、その暖房に当時は石炭を用 いたので CO 中毒が多かったようである). しかし. ではなぜ大脳白質が選択的におかされるのかそのメカ ニズムはとなると、とたんに記載は歯切れがわるくな り, "血液中の CO が脳組織内に移行して組織が壊れ る"とのラットを用いた動物実験からの推察が主流で あった.

この症例の後、ほどなくして間歇型 CO 中毒の病理 解剖にも遭遇した. 間歇型 CO 中毒は. 急性中毒から 回復した後,数日~約3週間の潜伏期間の後に言動の 異常など神経・精神症状が出現して、増悪・進行し死 亡することもある病態であり、急性 CO 中毒患者の 数%に生じる。この場合の脳病変は、大脳白質に選 択的に皮質直下の白質(U線維)を除き、広い範囲 に細血管周囲を残して有髄線維の髄鞘が不規則に脱落 し髄鞘染色では虎斑状にみえる状態となり、これは Grinker's myelinopathy¹⁾ と呼ばれる変化である(図 1c. d)「これと類似の病変はスギヒラタケ中毒でも 生じる]. 淡蒼球病変を欠く症例もあり、このように 病因も、また、それによって生じる病変の性状と局在 も明確なのにその病理発生機序が、とくにその病変局 在に選択性がある理由が不明確であることが強く頭に 残った. 1979年に大学へ赴任してはじめて動物実験 を行える状況となり、また、同じころに公衆衛生学教 室の高野健人教授が動物で CO 中毒実験を遂行中であ ったことも幸いし、先生のご協力を得てウサギ、次い でネコでの急性 CO 中毒実験を開始した. 最初の狙い は、動物にヒトと同じ脳病変を起こしうるか、病変を 起こしうる場合に必要な生理学的条件はなにかを探る ことであった.

ここで筆者の浅慮を告白しておかねばならない. 実 験をウサギで始めたのであるが、いくら繰り返しても

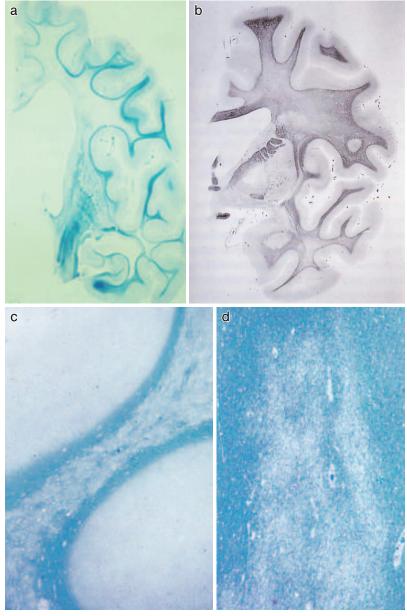


図 1. 急性 CO 中毒と間歇型 CO 中毒の脳病変(a~d: 髄鞘染色) a:急性中毒後に植物状態となり 1 年後に死亡した症例であり、大脳白質の有 髄線維は U 線維を除き広範に脱落している.

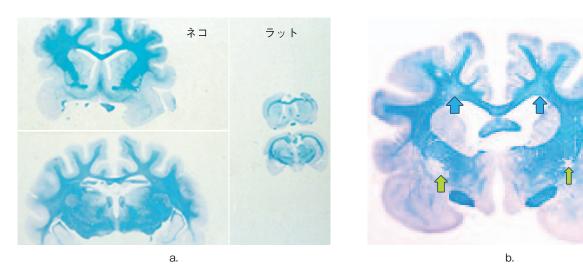
b: 急性中毒の急性期死亡例であり,大脳白質と淡蒼球に巣状病変がみられる。c, d: 間歇型中毒例に認められた Grinker's myelinopathy. U 線維は変化をまぬがれ,また白質に髄鞘脱落が斑状に多発しているが,細血管周囲は変化をまぬがれている.

脳病変はできないのである. あるとき病理の先輩にそれをこぼしたところ, ネコでやってみなさいよといわれ, しばらくは躊躇したものの, 本学の動物舎はそれを可能にしてくれていることがわかり, ネコに切り替えたところ, 見事に成功した. 振り返ってみると, ウサギの大脳白質はラットの脳と同様, 皮質の下に薄く張りついているだけで(図 2a), ネコ, イヌ, サル, ヒトなどの厚みをもった白質とはまったく異なること, 大脳白質病変を動物で再現しようとするときには, この点を配慮すべきだったのである. 先輩とはありがたいものである.

Ⅱ.一酸化炭素中毒の選択的脳病変の発生機序

1. ネコにおける急性 CO 中毒実験によってヒトと同じ性状と局在の脳病変を起こせるか、起こせるのならそれに必要な生理学的条件はなにか

ネコに 0.3% 濃度の CO ガスを約 3 時間吸入させると、ヒトと同じく、大脳白質と淡蒼球に選択的に性状も同じ病変が左右対称に生じた 2) (図 2b). 0.3% という CO 濃度は当時頻発していた炭鉱事故で坑内労働者に多数の急性 CO 中毒が生じた際の坑内 CO 濃度に近い値である。その場合の血中の CO ヘモグロビン濃度



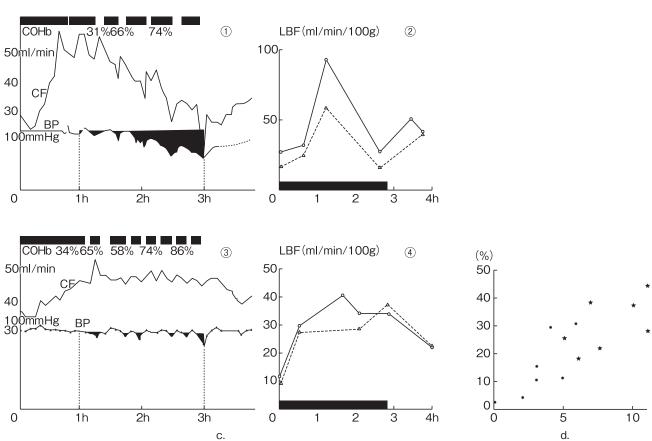


図 2. ネコの急性 CO 中毒実験における脳病変と生理学的因子の変化

- a:正常のラットとネコの大脳割面の髄鞘染色所見.
- b:ネコの急性 CO 中毒実験で生じた大脳白質病変と淡蒼球病変(矢印) [髄鞘染色].
- c: ①はネコ急性 CO 中毒実験における血中の CO ヘモグロビン (COHb), 総頸動脈血流量 (CF), 大動脈血圧 (BP), ②は大脳皮質 (実線) と大脳白質 (点線) の局所血流量 (LBF) の推移. ①, ②は実験群, ③, ④は CO 吸入をこまかく中断して血圧低下を抑制した例である.
- d:指数化した脳病変程度(横軸)と血圧低下程度(縦軸)の相関. 星印は淡蒼球病変を伴った例.

(COHb),全身血圧 (BP),総頸動脈血流量 (CF),大脳皮質と白質の局所血流量 (LBF)の推移を図に示す (図 2c).この上段 (①と②)は病変が生じた場合の,下段 (③と④)はそれと同じ程度の COHb 濃度を同じ時間もしくはもっと長く維持するが, CO 吸入を数分間頻繁にとめて血圧低下を極力抑制した場合を

示しており、後者の場合には CF、大脳皮質と白質の LBF ともに低下しておらず脳病変は生じなかった. 血圧チャートの黒く塗りつぶした領域は実験開始直前の BP 値以下に低下した領域を示すが、CO 吸入の最初は CF ならびに大脳皮質と白質の LBF は COHb の増加とともに増加するものの、1 時間を過ぎたころか

ら COHb が高いにもかかわらず低下し始め、この黒塗りの範囲が占める割合、つまり血圧低下程度も増大し、血圧が 70mmHg に低下したところでガス吸入をとめた(このまま吸入を続けるとネコは確実にその場で死亡し、脳病変が生じるか否かがわからなくなる)、この血圧低下程度の値とスコア化した白質病変程度の間には有意な positive の相関があり(図 2d)、血圧低下程度が 11% 以上に達した例では、淡蒼球病変が高頻度で生じていた。

したがって、0.3%CO ガス吸入という条件下で、急性 CO 中毒に特有の分布を示す脳病変を引き起こすには、約3時間吸入させて BP と LBF の低下をきたさせることが必要であることがわかった。吸入をとめた後には時間とともに COHb は減少していき、BP、LBF、CF は正常化していく。この実験から CF と大脳皮質と白質の LBF ともに、ガス吸入1時間後からは血圧 dependent となっている、つまり、脳動脈の自動調節能が消失して、血圧低下に伴って脳血流量も低下することが病変発生の必要条件であると結論された。では、

2. CO 吸入によってなぜ血圧が低下するのか

これは本学公衆衛生学教室の高野教授がウサギを用 いたきわめて巧緻な動物実験によって明らかにした3). それは、COを吸入した群以外に、全身の血液を人工 血液 (perfluorochemical emulsion) で置換してCO ヘモグロビンが関与しない状態にした群を設けたので ある。 両群の動物にいろいろの濃度の CO を吸入させ て低酸素状態にするのであるが、この際、これら両群 と CO を用いずに窒素ガス吸入のみによって同じ程度 の低酸素状態にした群との間で、血圧、心拍数、脈圧 を比較した. その結果、ヘモグロビンを欠いた群でも、 CO吸入によって窒素ガス吸入群よりも明らかに血圧 と脈圧が低下した. 心拍数には差はなかった. これに よって、CO はヘモグロビンを介することなく、直接、 心筋に作用してその機能を低下させることがわかった. これはおそらく、COが心筋ミオグロビンと結合して その収縮機能を低下させるためと考えられる. では

3. はたして急性 CO 中毒脳病変は CO でしか生じないのか, CO を用いずに高濃度窒素ガス吸入による低酸素血症では同じ病変は引き起こしえないのかという疑問が湧いてきた.

ネコを用い、人工呼吸下で吸入気の窒素ガス濃度を約2時間かけて94%まで増加させ、動脈血のPaO₂を19~26mmHgの低酸素血症状態にすると同時に、 瀉血や神経節遮断薬によって血圧を60~80mmHgに 低下させて、この状態を 1.5 時間維持してから吸入気を大気に戻した 4 (図 3a). PaO_2 低下がこの程度では、前項の結果からわかるように血圧低下は生じず、急性 CO 実験の状況に近づけるために上記の血圧低下処置をとったわけである。なお、 PaO_2 を 20mmHg 以下にすると、血圧が急速に低下してほとんどのネコはそのまま死亡する.

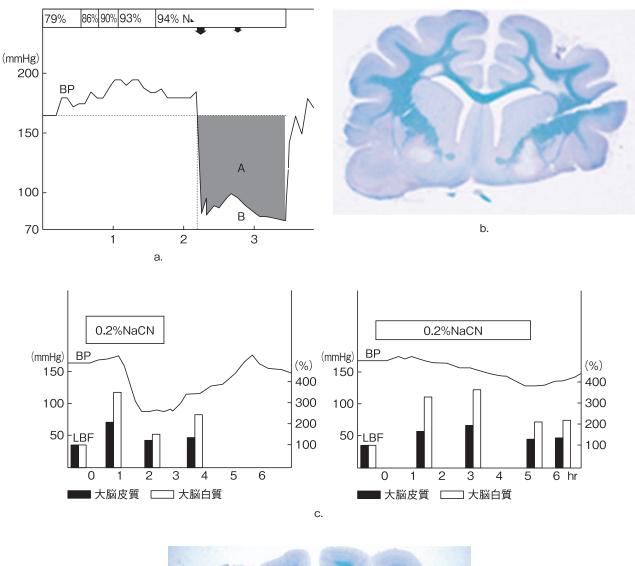
結果としては、15 匹中 11 匹に急性 CO 中毒実験の場合と同じ性状と分布の脳病変が生じた(図 3b). また, PaO_2 が $23\sim26$ mmHg に低下しても,血圧低下がなければ脳病変は生じないこともわかった. したがって,CO を用いずとも,高濃度の窒素ガス吸入による高度の低酸素血症と人為的血圧低下処置によって急性CO 中毒と同じ脳病変を起こせること,血液と脳組織の高度の低酸素状態と,それに続く脳血流量低下が急性CO 中毒の場合と共通しており,この条件が大脳白質と淡蒼球に選択的に病変が発生するためには不可欠であるといえる. とすると,

4. 組織の低酸素状態をもたらす組織毒であるシアン 化合物でも同じ脳病変が引き起こせるのではないか という疑問が湧いた.

ネコに人工呼吸下で0.2%シアンソーダ(NaCN)を時間をかけて少量ずつ静脈注射した5). 図 3c に示したように、投与によって大脳皮質と白質の局所血流量(LBF)が次第に増加していくが、投与を続けると1時間ほどで血圧(BP)が自然に低下に転じ、それに伴ってLBFも低下していく(図 3c 左). BPの自然低下が起こる前に神経節遮断薬でBPを100mmHg以下に下げた群、ならびに血液アシドーシスを同程度に保ちながら、BPの低下が100mmHgを下回らないようにゆっくり少量ずつ約2倍の長時間シアンソーダ投与を持続させた群(図 3c 右)も設けた. シアン化合物は細胞内のミトコンドリアの呼吸酵素チトクローム C を阻害して細胞内エネルギー産生をとめてしまう組織毒である.

結果としては、BPが100mmHg以下に自然低下した群と人為的に低下させた群に急性CO中毒と同じ脳病変が生じた(図3d). さらに脳梁や前交連などの白質にも病変がみられた. BP低下が100mmHgを下回らないようにした群では5匹中3匹には病変はなく、ほかの2匹にはごく軽微な同様の病変が認められただけであった.

したがって、組織毒であるシアンソーダによっても 急性 CO 中毒と同じ脳病変、すなわち大脳白質と淡蒼 球に選択的に病変を引き起こせることがわかった。以 上のことから、原因を問わず、脳組織の高度の低酸素



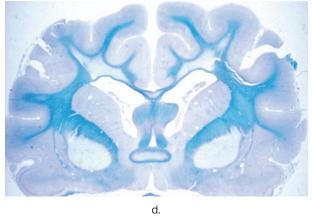


図 3. ネコに高濃度窒素ガス吸入あるいはシアンソーダ静注によって生じた大脳病変

- a:ネコで吸入気の窒素濃度を上げて低酸素血症にし、瀉血と降圧薬によって低血圧状態にした場合の生理学的所見.
- b: それによって生じた脳病変 (髄鞘染色).
- c: ネコで 0.2% シアンソーダをゆっくり静注した場合の血圧(BP)と脳局所血流量(LBF)の推移.右はその注入速度を落として血圧低下を極力抑制した場合の推移であり,この場合には脳病変はほとんど生じない.
- d:シアンソーダ注入によって生じた脳病変 (髄鞘染色).

状態とBP低下による脳血流量の低下が、大脳白質と 淡蒼球の選択的病変発生に必要にして十分な生理学的 条件であると考えざるをえない。では 5. 脳血流量低下は脳全体に生じているのに、なぜ大 脳白質と淡蒼球などの特定の領域のみがおかされる のか

が問題になってくる.

この疑問を解くために、ネコで急性 CO 中毒実験を行い、CO ガス を約 3 時間 吸入 させて BP が 70~80mmHg に低下した時点で 14 C-iodoantipyrine を用いて脳のさまざまな領域の局所血流量(LBF)を測定した 6 .

結果は、CO吸入をしなかった群の各領域のLBF値を100%とすると、急性CO中毒群では、それよりも増加した領域や低下した領域がみられるが(図4aの黒いカラム)、白質のみに限ると、小脳白質は100%を越えるのに対して、大脳白質のLBFはそれよりも、また、そのほかのいろいろの領域と比べてももっとも高度に減少していた。

したがって、COHb 増加に伴って脳血流量が BP 依 存状態に陥った状況下で、BP 低下に伴って大脳白質 の血流量が小脳白質やそのほかの領域に比べてもっと も高度に減少しており、そのために大脳白質に選択的 に虚血性病変が生じると理解できる。そのような状態 下で、なぜ大脳白質に血流量低下が高度になるのかに ついては、1969年の深沢70のヒト正常脳の研究から 理解できる. それは剖検例で正常脳の脳動脈の鋳型を 樹脂で作製し、その枝の太さと長さを計測し、物理的 に血圧がどの程度低下するのかを大脳皮質、白質、基 底核などについて調べたものである. それによると. ヒト大脳白質は厚みがあるために、脳表から進入する 白質栄養動脈、すなわち髄質動脈が長い走行距離をと らざるをえず(図4b), 生理的状態下であっても、こ の長い走行距離のために Hagen-Poiseuille の法則に より大脳深部白質では動脈血圧低下が高度になってい る. このことは実際に、大脳髄質動脈の中膜筋層の厚 さを組織計測しても裏づけることができる. 血圧が正 常であった剖検例で計測すると、図 9b に示したよう に、同一例で髄質動脈の中膜の厚さは脳表のクモ膜下 腔の同じ太さの動脈よりも有意に薄いのである. 動脈 の中膜筋層の厚さは心臓の左心室の厚さと同様に、そ の領域の血圧程度を反映しているので、同じ太さの動 脈の中膜の厚さが薄いことは、そこでは血圧がより低 いことを示していると考えられる。ネコの大脳は、ヒ トほどには発達してはいないものの固有の髄質動脈を もっており、ヒトに近い状態と推察される.では次に、

6. 淡蒼球の局所血流量はどうなっているのかが当然問題になってくる.

これを調べるために、ネコを急性 CO 中毒状態にするが、そのときに白金電極を病変が生じやすい淡蒼球と、それに隣接するが病変が生じない被殻に刺し込んで、水素クリアランス法によってそれぞれの組織血流量(LBF)を測定した⁸.

その結果、CO吸入とともに両者のLBF は増加していくが、BP低下が始まると両者ともに減少に転じる(図 4c). しかし、その減少の程度とすすみ方は淡蒼球のほうでより高度に、かつ、より早く生じている。CO吸入を停止する時点では、淡蒼球のLBF は被殻のそれよりも有意に高度に低下していた。血圧低下が100mmHg以下にならないように操作した群では、このようなLBF低下はみられなかった(図 4d). 淡蒼球と被殻へ分布する動脈は、両者ともに中大脳動脈主幹部から分岐する穿通枝と呼ばれる細い動脈である. そこで

7. 肉眼的には淡蒼球と被殻両者に分布する穿通枝は 同じように細い動脈にみえるが、それぞれの分布領 域の血流量にこのような明らかな差が生じる理由は なにか

という問題が必然的に生じてきた.

中大脳動脈主幹部から出る穿通枝は、被殻へ分布するものは外側線条体動脈、淡蒼球へのそれは内側線条体動脈と呼ばれており、前者は脳出血動脈とも呼ばれ、高血圧によって微小動脈瘤が生じやすい動脈であり、これが高血圧性被殻出血の原因とされている。そこに高血圧性動脈病変が生じやすい理由として、この穿通枝は中大脳動脈から逆行性に分岐する傾向があるので、中大脳動脈内の周辺部(壁面)を流れる血漿成分が穿通枝内に入りやすく、中心部の赤血球成分が入りにくいからと考えられていた。このため上記の疑問を解決するには穿通枝の分岐角度が重要となるが、もう一つはそれぞれの穿通枝の太さの要因も重要と考えた。

ここまでくると筆者の能力では如何ともしがたいので、東京農工大学から流体力学が専門の松尾 崇先生に助手(後には助教授)として赴任していただいた、先生には、合成樹脂でさまざまな分岐角度と管径比の分岐モデル管を作製し、そこに実際に流体を流して上記の二つの要因、すなわち分岐角度と分枝の太さが本管の血流変動に際してそれぞれの末梢部血流量、すなわち LBF にどうのような影響を及ぼすのかについて調べていただいた 9,100.

[結 果]

図 4e は分岐管モデルに液体を流して、分岐によって生じる分岐損失係数(エネルギー損失係数)を測定した結果を示している。この分岐損失係数は、分岐によって生じる流線の壁面からの剝離、渦の形成、あるいは複雑な二次流の発生など、流れの乱れに起因するものである。図中の Q_2 は分岐管の流量、 Q_0 は本管の流量、 ΔP は分岐による圧力損失、Vは本管の流速を示す。ここでは分岐角度を 45° 、 90° 、 135° の場合

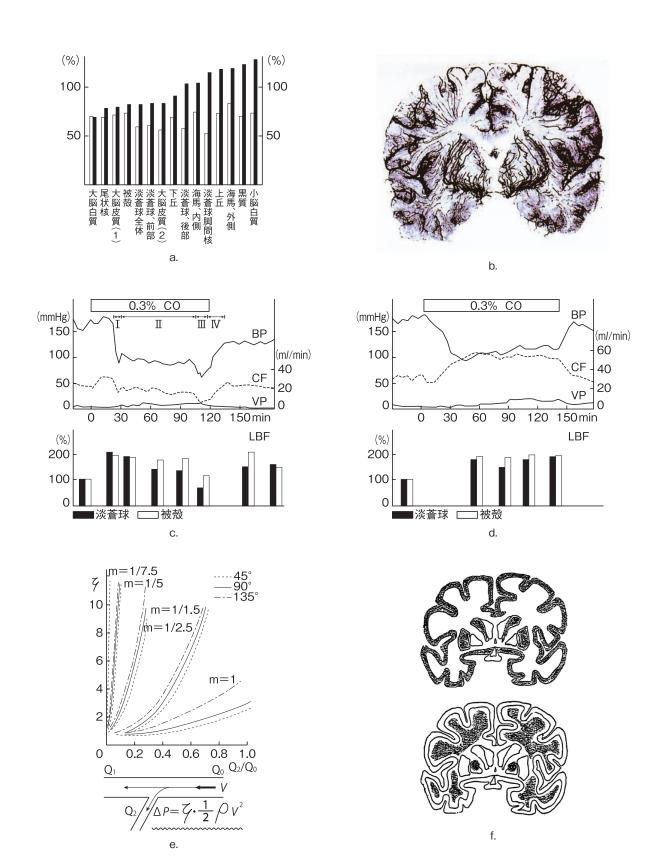


図 4. ネコの急性 CO 中毒における大脳深部白質と淡蒼球の選択的血流量低下とその機序

- a: ネコ急性 CO 中毒実験において,CO 吸入をとめる直前に ¹⁴C-ヨードアンチピリンで測定した脳のいろいろな部位 の局所血流量を黒色のカラムで無処置の対照例の値に対する % で示してある.白色のカラムは実験群と同程度の血圧 低下のみを負荷した場合の値である.
- b:ヒト脳動脈に造影剤を注入してソフテックス撮影した大脳断面.
- c:ネコ急性 CO 中毒実験における生理学的因子(上段)と淡蒼球と被殻の局所血流量(下段)の推移.
- d: その際に血圧が 100mmHg 以下にならないように制御した例. この場合には淡蒼球と被殻の LBF は低下しない.
- e: 分岐管モデルによる分枝の圧力損失係数に及ぼす分岐角度と分岐管管径比の要因の流体力学的分析結果.
- f: 虚血性脳症 (上) と低酸素性-虚血性脳症 (下) の脳病変分布. 黒い領域が病変部. 両者は写真のネガとポジの関係になる.

(135° は逆行性分岐)を、また、管径比(本管と分岐管の太さの比)m は 1 (同じ太さの分岐)~1/7.5 までの範囲で、流量比(Q_2/Q_0)をさまざまにかえて、 ΔP と V を実測して、同図の下の式から分岐損失係数 ξ を算出した。 ρ は流した流体の粘性係数である。このグラフから分岐損失係数は流量比と相関すること、分岐角度が大きいほど係数は大きくなること、そして、本管に対する分岐管の径が細いほどこの係数は大きくなることがわかる。分岐角度の要因は管径比の要因ほどには係数に影響を及ぼしていないこともわかる。

実際に、各穿通枝の太さを数例のネコ、サル、ヒト で測ってみると、被殻への外側線条体動脈の太さは中 大動脈主幹部の1/3~1/5であり、淡蒼球への内側線 条体動脈の太さはどの動物でもそれよりもさらに細く. 被殻への動脈の太さの 1/3~1/5 である. それゆえに 淡蒼球を栄養する内側線条体動脈はグラフの m=1/7.5 よりももっと細く、一方、被殻への外側線条体動脈は m=1/2.5 や m=1/5 に相当するので、前者の分岐損失 係数は、後者よりも圧倒的に大きい、したがって、組 織の低酸素症によって血管が最大限に拡張しきり、傍 側循環も、おそらく自動調節能も働かなくなった状況 下で、血圧低下による脳全体の血流量低下が生じると、 この大きな分岐損失係数の効果が主役として働き. 内 側線条体動脈の血圧と局所血流量がより高度に低下し て淡蒼球に選択的に病変が生じると考えられるわけで ある.

[総 括]

ネコ, サル, ヒトでの急性 CO 中毒では大脳白質と 淡蒼球に選択的に病変が生じるが, それは急性 CO 中 毒に特異的なものではなく, 同じ性状と分布の病変は 窒素ガス吸入による低酸素症やシアン化合物による組 織毒性低酸素症でも, 脳の高度の低酸素症に脳血流量 の低下が加われば起こりうる.

これらの場合の病変部位選択性の機序,すなわち大脳白質が選択的におかされるのは、その動脈構築つまり大脳髄質動脈は大脳白質が厚く発達しているために長い走行距離をとらざるをえないゆえである.

また淡蒼球が選択的におかされるのは、淡蒼球を栄養する中大脳動脈主幹部からの穿通枝(内側線条体動脈)の太さが隣接していながら病変が生じない被殻へのそれ(外側線条体動脈)に比べてはるかに細いことに起因する圧倒的に大きい分岐損失係数のゆえに、高度の低酸素症状況下で、もはや傍側循環が働かなくなった状態下で血圧低下が加わると、この動脈の局所血流量低下がとくに高度となることで説明できる.

ただし、穿通枝が本管に対してより細いからという だけであるなら、視床や中脳などへ分布する穿通枝に も細いものがありそうであるが、視床には病変は生じない、単に穿通枝の太さだけではなく、その長さや分布領域組織の酸素需要程度も重要な要因になると考えられ、今後検討されねばならない点であろう.

また低酸素症では、COHb 増加によるもの、いろ いろの原因によるPaO₂低下によるもの、また、シア ン化合物による組織呼吸障害による場合であれ、単に 組織の低酸素状態だけでは脳病変は生じず、そこに血 圧低下が加わり脳血流量低下が生じてはじめて大脳白 質(U線維を除く)と淡蒼球という特定の領域がと くに高度の虚血状態となって病変(図4f下)が生じ ると理解される. 筆者はこの病態を, もっぱら灰白質 がおかされる虚血性脳症(図4f上)に対して、低酸 素性-虚血性脳症(hypoxic-ischemic encephalopathy) と呼ぶことにした. そして, この脳症には大脳 皮質の発達に伴った白質の発達(肥厚)ならびに大脳 動脈主幹部の口径増大に伴った穿通枝の相対的細まり が密接に関与していることが明らかになった. また, これら二つの脳症は、虚血と低酸素症が関与する脳症 のスペクトラムの両端であり, 実際には患者の心不全 と呼吸不全の程度や前後関係, 持続時間, 脳動脈病変 程度によってこの両者の病変がさまざまに混在すると 思われる。

8. 間歇型 CO 中毒の脳病変の発生機序

この場合は急性 CO 中毒の数日~3 週間の潜伏期間の後に進行・増悪する神経・精神症状を示し、病理学的には上述した特徴をもつ Grinker's myelinopathy (図 1c, d)を示す。この幅の広い潜伏期間から免疫機序が働いている可能性は低いと思われる。筆者は急性中毒後のいろいろの時期に加わる呼吸や循環不全の要因に注目し、ネコで 0.3%CO ガスを 2 時間吸入させて(脳病変は起こらない程度に)2~3 日後に PaO2が 60~90mmHg の軽度ないし中等度の低酸素状態にし、さらにそこに神経節遮断薬によって 60~90mmHg の低血圧を 1 時間負荷した(実験群:図 5a, b)、対照として、CO 吸入のみの群、CO 吸入の 2~3 日後に同程度の低血圧のみ、および CO を吸入させないで同程度の低血圧のみを負荷した群も設けた 11).

[結果]

実験群では4匹全例に、対照群の中のCO吸入後に低血圧のみを負荷(低酸素状態は負荷しない)した群の15匹中6匹に大脳白質に斑点状の髄鞘淡明化がみられ、それは皮質直下のU線維には及んでいなかった(図5c, d. 図1c, dとよく類似している)。それ以外の対照群(CO吸入のみの群、CO吸入せずに血圧低下のみを負荷した群)には病変は認められなかっ

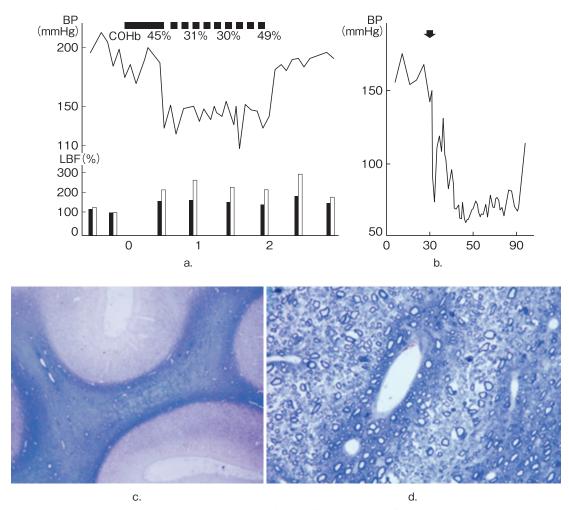


図 5. ネコにおける間歇型 CO 中毒病変作製の試み

- a:急性中毒病変が生じない程度に2時間0.2%COガスを吸入させる. LBFの黒のカラムは大脳皮質,白は大脳白質.
- $b: その2 \sim 3$ 日後に瀉血と降圧薬で血圧を約 70mmHg ほどにして 1 時間保つ.
- c, d: その結果, 大脳白質に図1c, dとよく類似した分布の髄鞘の淡明化が生じた. U線維と血管周囲は変化をまぬがれている (髄鞘染色).

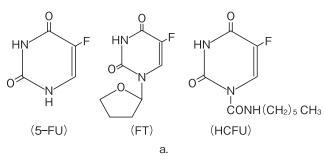
た. また、細血管周囲の白質は変化をまぬがれる傾向が認められた. この淡明化は、電子顕微鏡的に軸索と 髄鞘間の解離と間質の浮腫によるものであり、髄鞘の 破壊は認められなかった. 淡蒼球に病変はみられなかった.

「考察]

この実験から、0.3%COガスの2時間の吸入2~3 日後に低血圧のみあるいは低酸素血症と低血圧を負荷すると、大脳白質に選択的にヒトのGrinker's myelinopathyと類似した分布の髄鞘淡明化を引き起こしうるものの、ヒトのそれにみられる髄鞘の崩壊像は認められない点が異なっていた。この髄鞘の進行性崩壊をもたらす要因についてさらなる検討が必要であるが、急性CO中毒後、少なくとも2日後に低酸素状態や血圧低下でGrinker's myelinopathyと類似の分布を示す病変が生じることから、間歇型CO中毒の予防や早期発見のために、急性中毒後の呼吸と循環状態に注意 をはらう必要があるのかもしれない.

Ⅲ. 抗癌剤 5-フルオロウラシルとその誘導体 による大脳白質脳症の発生機序

ここまでは 1979~1983 年まで 4~5 年をかけての研究結果であるが、ちょうどそのころに国立衛生試験所勤務の先輩、林 祐造先生から抗癌剤 5-フルオロウラシル(5-FU)の神経毒性を調べてみないかとの提案があった。この薬剤は種々の悪性腫瘍に対して現在でも第一選択薬となっているが、筆者の興味を引いたのは、当時ごく数例の剖検例しかなかったが、その脳病変は大脳白質に選択的に広範な崩壊がみられ、それは急性 CO 中毒のそれとよく似ていた点である(図 6b)しかし、よく標本をみると、病変の経過時間にもよるのであるが、白質崩壊部周囲には大きな空胞が多発・密集し(図 6c)、淡蒼球病変を欠き、また、ごく小範囲であるが、U 線維も病変に巻き込まれる所見が急



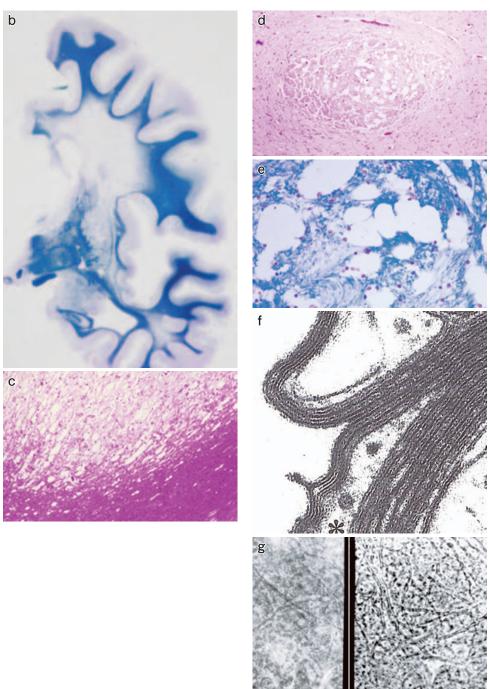


図 6. 抗癌剤 5-FU とその誘導体の神経毒性

- a:5-FU とその誘導体の化学構造.
- b:5-FU 誘導体の副作用によるヒト大脳白質の広範な病変(髄鞘染色).
- c:ヒト大脳白質病変の周辺部に大型空胞が多発・密集している(HE 染色).
- d. HE 染色, e. 髄鞘染色:ビーグル犬への 5-FU とその誘導体慢性投与による脳弓柱の大型空胞の多発.
- f:大型空胞の電子顕微鏡像. 空胞は髄鞘の周期間線の解離による. 濃くて太い線が周期線, 薄くて細い線が周期間線であり, 後者は隣接した細胞膜同士が密着したもの.
- g: ラット小脳組織培養で培養液に 5-FU 代謝産物添加によって生じた有髄線維の輪郭の不規則化(位相差顕微鏡像).

性 CO 中毒とは異なっていた。脳病変の局在選択性に強い関心をもっていたので、研究してみることにした。 先の CO 中毒実験で懲りていたために、ビーグル犬とネコを用いてヒトと同じ脳病変が生じないか実験を開始した。

1. イヌにおける 5-フルオロウラシル製剤の慢性経口 投与実験

5-FU 製剤には、最初に開発された 5-FU 以外に毒性を軽減し血中濃度を持続できるフトラフール(FT)とカルモフール(HCFU)があるので(図 6a)、これらのヒト投与量に近似した量を 6 ヵ月間経口投与し脳病変の有無を、また、その後 6 ヵ月間休薬して脳病変はどうなるかを調べた 12).

[結果]

どの薬剤でも6ヵ月後には第3脳室壁内の脳弓柱に大型空胞が多発し(図6d, e), それ以外の領域, たとえば内側視束前野, 内包内側部, 視床下核周囲, 乳頭体視床路にも認められる例があったが, ヒト剖検例で認められたような広範な大脳白質病変はみられなかった. 電子顕微鏡では, この空胞はヒトのそれと同じくミエリンの周期間線の解離によるものであったが(図6f), ミエリンの破壊はなく, 軸索やグリア細胞には明らかな異常は認められなかった. 6ヵ月休薬したイヌにはこのような変化は認められなかったので, この空胞性病変は可逆的であると結論した.

5-FUと HCFU を 2π 月間ネコに経口投与してみたが、イヌの場合とほぼ同様の所見が得られた。FT と HCFU は体内に入ると 5-FU となり、フルオロ酢酸(FA)と α -フルオロ- β -アラニン(FBAL)に分解される。両者とも分子内に 1 個のフッ素を有し、猛毒であることが知られている。

2. 代謝産物 FA と FBAL が、直接、有髄線維に作用 して空胞を形成している可能性について

この可能性を考えて、ネコの側脳室内に浸透圧ポンプを用いてFAとFBALを持続注入してみた¹³⁾. その結果、注入開始の1週間後から、薬剤の経口投与の場合と同様の脳病変が同じ領域に生じてきた. そして、この毒性はFBALのほうがFAよりも強いこともわかった. FBALは5-FUの代謝過程の上流にあり、FAとfluoromalonate semialdehydeとなってクエン酸サイクルに入るので、FAがクエン酸サイクル阻害を介して病変を引き起こすという説に従えば、FAの毒性のほうが強くてもよいはずであるので、この説には疑問が生じる. したがって、これらの代謝産物それぞれが脳組織、とくに有髄神経の髄鞘に直接に作用し

て、その解離を引き起こす可能性が高くなってきた. そこで.

3. ラット小脳の組織培養下でのFAとFBALの有髄 線維に対する作用について

ラット小脳組織培養で再生してきた有髄線維に対して、培養液に添加したこれらの代謝産物(FAとFBAL)が髄鞘の解離を引き起こしうるか調べた¹⁴. [結果]

FAとFBALを 7μ Mと 70μ Mの濃度で添加すると、 $1\sim2$ 日後から位相差顕微鏡下でミエリンの輪郭の不規則化が始まり(図6g)、4日目には電子顕微鏡で空胞が認められたが、ミエリンを形成しているオリゴデンドログリアやアストロサイトには変化は認められなかった。この 7μ Mという濃度は、HCFUをイヌに10mg/kg経口投与した場合の2時間後のFAとFBALの血中濃度に相当する。この1/10の濃度では変化はみられず、 70μ M以上の濃度では髄鞘が高度に崩壊した。

[考 察]

以上の実験結果から、5-FU 製剤の神経毒性すなわ ち, 有髄線維の髄鞘層板解離による大型空胞形成は, これらの代謝産物であるフッ素を1個含んだFAと FBALの髄鞘に対する直接作用による可能性がきわ めて高く、髄鞘を形成・維持するオリゴデンドログリ アや他臓器の関与はないと結論される. 動物にはヒト におけるような広範な大脳白質病変は引き起こせなか ったが、ヒト病変周辺部に多発・密集する大型空胞は 電子顕微鏡でも動物のそれと類似しており、血中から の FA と FBAL の直接作用によると考えられる。薬 剤内服を続けているうちに、脳内にこれらの代謝産物 が次第に沈着・蓄積してきて、一定量に達したところ から髄鞘層板の解離が生じるが、このような代謝産物 の沈着・蓄積が高度に起こりやすい領域がもっとも厚 く発達したヒト大脳白質中心部であり、そこにびまん 性病変をきたしたと考えざるをえない. これを確かめ るには、脳のいろいろな領域の FAと FBAL の白質 内蓄積量を測定して比較する必要があるが、フッ素が 1個入った有機物の組織内定量がきわめて困難とのこ とで、いまだ確かめていない.

5-FU 製剤の神経毒性における大脳深部白質の選択 的びまん性組織崩壊像は、ヒトの急性 CO 中毒と一見 類似しているが、そのメカニズムは、後者では大脳白 質の動脈構築の特性によるものであるが、前者では厚 く発達した白質における微小環境が血中から到来した 薬剤代謝産物の排出を滞らせていることにあると考え られ、両者は異なると考えられる。しかし、両者とも

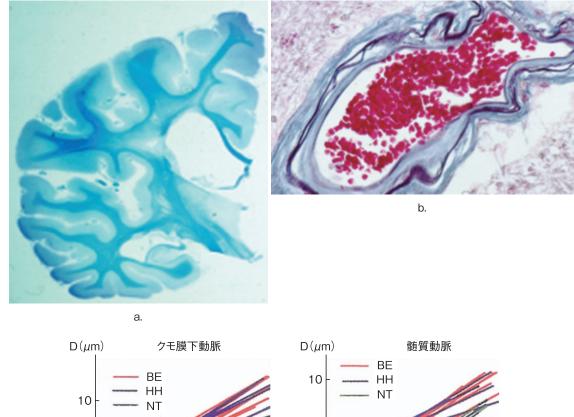


図 7. Binswanger 脳症

a:大脳深部白質のび漫性髄鞘淡明化と側脳室の拡大 (髄鞘染色).

b:大脳白質動脈には,このような内膜の線維性肥厚と中膜平滑筋の消失,ならびに外膜の線維化が segmental にみられる (Elastica-Masson 染色).

c, d: 剖検例で、組織計測によりクモ膜下動脈と髄質動脈の中膜の厚さを正常血圧 (NT: 緑色)、高血圧 (HH: 青色)、Binswanger 脳症 (BE: 赤色) の各5症例間で比較したもの、R: 動脈半径、D: 中膜の厚さ.

にその基盤に大脳白質の発達があることは注目に値する.

IV. Binswanger 脳症の大脳白質病変発生機序

割検例から得られた,筆者にとって非常に重要な研究動機がもう一つある. それは1971年にウイーン大学神経研究所に留学する直前にBinswanger脳症(BE)を検鏡したときに生まれた.

この疾患は、高血圧症を基盤に、臨床的には進行性の認知症を、また画像上、大脳白質に leukoaraiosis と脳室拡大を認め、脳血管性認知症の代表的位置を占める疾患である。病理学的には左右大脳半球白質に

U線維を除き選択的にびまん性髄鞘脱落ないし組織崩壊がみられ(図 7a),大脳髄質動脈に壁の硝子化による肥厚と中膜平滑筋消失および外膜の線維化がみられる(図 7b).この動脈病変程度は高血圧や白質病変程度とも相関するとされている.この動脈病変は前頭葉白質でもっとも高度であると報告されているが,脳表の動脈の中膜の肥厚程度や高血圧性病変は BE でとくに高度とはいえない(図 7c, d).淡蒼球が選択的におかされることはないが,しばしば基底核・視床,小脳,時には大脳皮質などにも小梗塞や小出血を伴う.この大脳白質病変は,その性状から白質の進行性・持続性浮腫によるとされている.高血圧症がまれではなかった数十年前には,この疾患は 40~50 歳台で発症

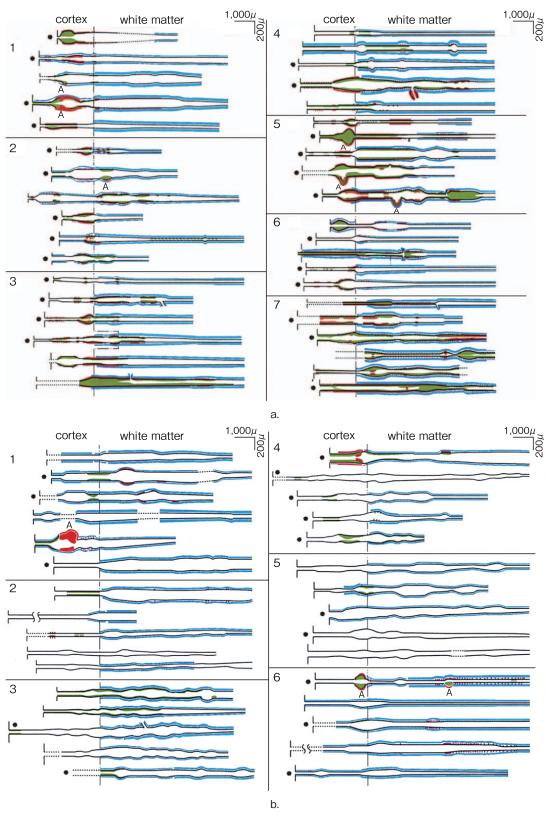


図 8. Binswanger 脳症(7 例:a)と高血圧(6 例:b)の大脳髄質動脈の連続切片再構築像 赤色は中膜筋層の消失領域,緑色は内膜の線維性肥厚と粥腫領域,橙色の膨隆部(A)は微小動脈瘤部, 青色は外膜の線維化領域を示す.星印は皮質直下で 90°近く屈曲している髄質動脈.

し70歳以前に死亡する例(いわゆる"古典型")が主体であったが、健康診断の普及によって高血圧症が制御されるようになり、それに伴って高血圧性脳出血とともに古典型BEも減少し、かわって60歳以降に発症する高齢者の症例が目立ってきている.

ウイーン大学では年間 1,500 例ほどの病理解剖があり、そのうち 500 例ほどの脳を神経研究所で検索することになっており、古典型 BE 例はまれではなかった.また興味深いことに、BE は高血圧症を基盤にするとはいっても、そのほんの数%に生じるにすぎず、高血

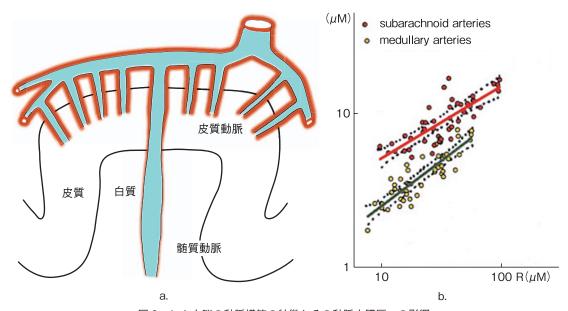


図 9. ヒト大脳の動脈構築の特徴とその動脈中膜厚への影響 a:ヒト大脳の動脈構築. 赤色部は中膜筋層を示し、それは髄質動脈では厚さが薄い.

b:組織計測によるヒト正常血圧例におけるクモ膜下動脈(赤色の線)と髄質動脈(緑色の線)の中膜厚を比較すると、後者のそれは有意に薄い、横軸 R は動脈半径、縦軸は中膜の厚さ、

圧症の程度も生前の血圧や剖検例の心肥大程度や動脈病変程度からみる限りBEで特別に高度であるとはいえない。古典型BEの剖検例で、大脳髄質動脈の中膜筋層の厚さを組織計測してみると、正常血圧者よりは有意に肥厚しているが、BEではない高血圧患者と比べて有意に厚いとはいえない(図7c,d).ただ、最近BEでは"non-dipper"(夜間就寝時の血圧低下が乏しい高血圧患者)が多いことが明らかにされた。これらの知見から、

1. Binswanger 脳症の大脳髄質動脈病変は実際には どのような範囲で広がっているのか

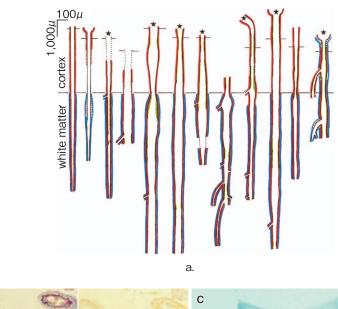
調べねばならなくなった. そのために7例の古典型 BE群と、6例のBEのない高血圧症群の剖検例で、 前頭葉の白質を含んだ領域を各例 1,000 枚の連続切片 を作製し、標本中の髄質動脈をトレースによって再構 築し、その中に認められる種々の動脈病変の範囲を計 測した 15). その結果, 両群ともに動脈病変には加齢 と高血圧に起因する内膜の線維性肥厚. 小動脈瘤. 中 膜平滑筋消失,外膜の線維化,内腔拡張が segmental に認められたが、BE に特異的といえる性状の病変は みられず、また BE (図8の上段a) では、中膜平滑 筋消失領域のみが高血圧群(図8の下段b)よりも全 例で広範囲に生じていた. 動脈中膜平滑筋は収縮・弛 緩によって内腔を縮小・拡張して血流量を調節する機 能を担っているが、平滑筋消失領域はいわば"土管 化"状態を意味する. BE でこの領域が広いわけであ るから、全身血圧の生理的変動に際して、大脳白質の 血行は血圧依存性に傾き、血圧変動が激しい場合には

虚血,あるいは逆に細血管内圧上昇による脳浮腫が生じ,これが反復することによって白質の髄鞘と軸索破壊がもたらされ,最終的に大脳白質の広範な病変にいたると考えざるをえない.なお,皮質直下のU線維は皮質枝で栄養されており,それよりも深部の白質とは動脈支配が異なり,そのような侵襲をまぬがれる.さて.ここで.

2. Binswanger 脳症では高血圧の程度がとくに高度とはいえないのに、なぜ大脳髄質動脈に高度な高血圧性病変の一つである平滑筋脱落、そして"土管化"がとくに広範囲に起こるのか

が次の疑問になる. まず第一に, この病理学的所見からは, 大脳髄質動脈に BE では選択的に, とくに高度な血圧負荷がかかっていたと考えざるをえない. そのメカニズムが問題なのであるが, それには大脳の動脈構築を考慮する必要がある.

図 9a に示したように、脳表で枝分かれした小動脈は多数の走行距離の短い皮質枝と、その数は皮質枝の 1/10 にも満たないが、走行距離がきわめて長い髄質動脈が並列で配置している。この動脈系は、血圧や血液がスの変動に対して平滑筋が収縮・弛緩して血流量を一定に保つという自動調節(autoregulation)機能をはたしている。この収縮によって生じる皮質と白質それぞれの領域における血流末梢抵抗を考えると、数が多い皮質枝でのそれは、数が少なく中膜平滑筋の厚さも薄い髄質動脈(図 9a, b)のそれを凌駕している可能性が大きいと推察される。この両方の領域間の末梢抵抗のアンバランスとそれによる血流の再配分は、



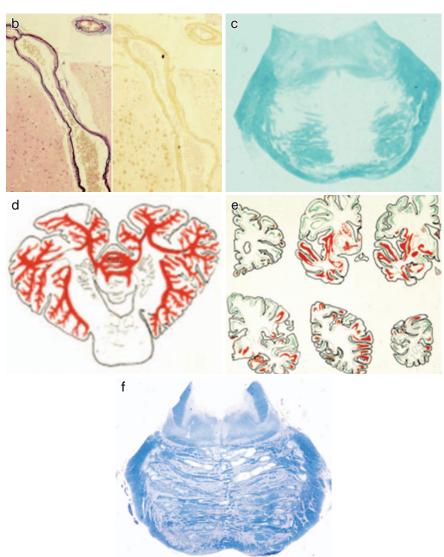


図 10. 動脈構築の特異性が関与している可能性のある病変

- a: CADASIL の髄質動脈の連続切片再構築像. 赤色は中膜消失領域, 緑色は内膜の線維化領域, 青色は外膜の線維化を示す. 星印は皮質下で直角に近く曲がる動脈.
- b: CADASIL における髄質動脈の実質内進入領域の Elastica-Masson 染色(左)と 同部の平滑筋アクチンの免疫染色(右). 平滑筋が完全に消失している.
- c: Central pontine myelinolysis の病変(左右対称に白く抜けた領域) [髄鞘染色].
- d, e: Extrapontine myelinolysis における小脳白質(d)と大脳白質(e)の病巣分布(赤色部).
- f : Multiple spongy necrosis of the pontine base の病変分布(多数の白く抜けたところ) [髄鞘染色].

この動脈構築からみて正常血圧者でもある程度は生じていると推察される。しかし高血圧症では、動脈は肥大した中膜平滑筋をもつゆえに、その収縮による皮質領域の末梢抵抗は生理的状態下以上に高度となり、その結果、末梢抵抗の低い髄質動脈に向けて血流と血圧負荷増大をもたらすと考えられる。

この状態は一種の "counter steal"であり、これによって髄質動脈に高血圧性病変が引き起こされると考えられるのであるが、実際には BE は高血圧症のほんの数 % にしか生じない. この点を説明するために、高血圧症患者の一部は高血圧に対する動脈の感受性がなんらかの機序で高い可能性があげられるが、BE の心臓や諸臓器動脈の病変程度をみる限り、この可能性は裏づけられない. また、大脳髄質動脈のみが感受性が高いとはまず考えがたいと思われる. むしろ、この脳動脈収縮が一部の高血圧症患者でより高度あるいはより長時間生じていると考えれば、大脳髄質動脈への血圧と血流の負荷が選択的に大きくなって、そのような患者では髄質動脈病変がより高度に生じることが説明できると筆者は考えている.

BE に "non-dipper" が多いというデータも、この両領域間の動脈末梢抵抗アンバランスが就寝時にも持続していて、大脳髄質動脈への血圧と血流負荷の曝露時間が長くなっていると推察され、この可能性と矛盾はしない。しかし、この場合にも、BE では動脈に先天的かもしれないが、特異な機能的異常があることを想定することになり、この点は今後の証明が必要である。

[考察]

BEにおいて大脳白質に選択的にびまん性脱落病変が生じる機序を解析してきた。それには大脳白質の発達に伴った動脈構築の特異性に基づいてBEでは髄質動脈に中膜平滑筋脱落が選択的に広範囲に生じて"土管化"し、その領域の血流は血圧依存性となり、白質の虚血や浮腫がもたらされること、そして、その背景に高血圧症の一部(数%)に髄質動脈への"counter steal"を増強させるような脳動脈の機能的異常があることを想定せざるをえないと結論した。

大脳白質に選択的にびまん性脱落病変が生じる疾患は BE のみではなく, cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) やアミロイドアンギオパチー, reversible posterior leukoencephalopathy syndrome (RPLS) もある. 前者では、遺伝子異常によって全身の動脈平滑筋が脱落し、それは中膜筋層がもともと薄い大脳髄質動脈でもっとも高度となり、その"土管化"の程度は BE のそれよりもはるかに広範囲

かつびまん性であり(図 $10a \sim d$),白質の広範な脱落を引き起こす $^{16)}$.またアミロイドアンギオパチーでは,クモ膜の動脈壁に β -アミロイド沈着が最初はsegmental に,次第にびまん性に広がり,脳表動脈の"土管化"が高度となって脳の中では心臓からもっとも遠い大脳深部白質にびまん性病変が招来されると考えられる.また,RPLS では激しい頭痛に伴って前・中・後大脳動脈共通の末梢領域である後頭葉白質に高頻度に浮腫・梗塞が広く生じるが,脳血管撮影では脳表動脈の segmental な攣縮が多発している例が認められ 17 ,この白質病変にもアミロイドアンギオパチーと同様に,大脳の特異な動脈構築が強く関与していると考えられる.

V. おわりに

以上,急性 CO 中毒においては大脳白質と淡蒼球が,抗癌剤 5-FU とその誘導体神経毒性および BE で大脳白質が選択的におかされる機序を探ってきたが,それらの根底には大脳皮質の進化に伴った大脳白質の厚さの増大が,さらには、それに伴った脳動脈主幹部口径の増大も大きくかかわっていることが明らかになったと思う.

ヒトでもっとも発達したもう一つの領域は橋の橋核であるとされているが、そこには central pontine myelinolysis $^{18)}$ (図 10 c) や pontine and extrapontine myelinolysis $^{19)}$ (図 10 d, e) および multiple spongy necrosis of the pontine base $^{20)}$ (図 10 f) と呼ばれる特有の分布を示す病変が生じる。これらの橋病変はほぼ左右対称に分布しているので、橋核の発達に伴って生じた動脈と組織構築の特異性が関与していると考えられる。

一定の機能系統が選択的に変性・脱落する変性疾患たとえば多系統萎縮症や脊髄小脳変性症などは別として、ここにあげた局在に選択性を示す病変は、いわば"ヒト脳の宿命"ともいえるものであり、このような局在選択性を示すそのほかの脳病変の原因と発生機序の解明に際しても、脳の発達に伴った血管を含めた組織構築の特異性の関与を考慮していく必要があると筆者は考えている²¹⁾.

文 献

- Grinker RR: Über einen Fall von Leuchtgasvergiftung mit doppelseitger Pallidumerweichung und schwerer Degeneration des tieferen Grosshirnmarklagers. Z Ges Neuro Pschiatr 98: 433– 456, 1925.
- 2) Okeda R, Funata N, Takano T et al: The patho-

- genesis of carbon monoxide encephalopathy in the acute phase-physiological and morphological correlation. Acta Neuropathol 54:1-10, 1981.
- 3) Takano M, Miyazaki Y, Shimoyama H et al: Direct effects of carbon monoxide on cardiac function. Int Arch Occup Environ Health 49: 35–40, 1981.
- 4) Okeda R, Funata N, Song S-Y et al: Comparative study of selective lesions in carbon monoxide poisoning and nitrogen hypoxia in cats. Acta Neuropathol 56: 265–272, 1982.
- 5) Funata N, Song S-Y, Okeda R et al: A study of experimental cyanide encephalopathy in the acute phase-physiological and neuropathological correlation. Acta Neuropathol 64: 99–107, 1984.
- 6) Okeda R, Matsuo T, Kuroiwa T et al: Regional cerebral blood flow of acute carbon monoxide poisoning in cats. Acta Neuropathol 72: 389–393, 1987.
- 7) Fukasawa H: Hemodynamic studies of cerebral arteries by means of mathematical analysis of arterial casts. Tohoku J Exp Med 99: 255–268, 1969
- 8) Song S-Y, Okeda R, Funata N et al: An experimental study of the pathogenesis of the selective lesions of the globus pallidus in acute carbon monoxide poisoning in cats; with special reference to the chronologic change in the cerebral local blood flow. Acta Neuropathol 61: 232–238, 1983.
- 9) 松尾 崇, 桶田理喜, 黒岩俊彦ほか:血管分岐の流 体力学的研究. 日バイオレオロジー会誌1:77-85, 1987.
- 10) Matsuo T, Okeda R, Higashino H: Hydrodynamics of arterial branching; the effect of arterial branching on distal blood supply. Biorheology 26: 799–811, 1989.
- 11) Okeda R, Song S-Y, Funata N et al: An experimental study of the pathogenesis of Grinker's myelinopathy in carbon monoxide intoxication. Acta Neuropathol 59: 200–206, 1983.
- 12) Okeda R, Karakama T, Kimura S et al : Neuro-

- pathologic study on chronic neurotoxicity of 5-fluorouracil and its masked compounds in dogs. Acta Neuropathol 63: 334–343, 1984.
- 13) Okeda R, Shibutani M, Matsuo T et al: Experimental neurotoxicity of 5-fluorouracil and its derivatives is due to poisoning by the monofluoroacetic acid and α-fluoro-β-alanine. Acta Neuropathol 81: 66-73, 1990.
- 14) Akiba T, Okeda R, Tajima T: Metabolites of 5-fluorouracil, α -fluoro- β -alanine and fluoroacetic acid, directly injure myelinated fibers in tissue culture. Acta Neuropathol 92: 8-13, 1996.
- 15) Tanoi Y, Okeda R, Budka H: Binswanger's encephalopathy; serial sections and morphometry of the cerebral arteries. Acta Neuropathol 100: 347–355. 2000.
- 16) Okeda R, Arima K, Kawai M: Arterial changes in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) in relation to pathogenesis of diffuse myelin loss of cerebral white matter; examination of cerebral medullary arteries by reconstruction of serial sections of an autopsy case. Stroke 33: 2565–2569, 2002.
- 17) 中島雅士: Reversible posterior leukoencephalopathy syndrome (RPLS). 脳神経 57:767-777, 2005.
- 18) Okeda R: Central pontine Myelinolyse; Pathogenetische Aspekte aufgrund morphometrischer Untersuchungen des Brückenfusses. Acta Neuropathol 27: 233–246, 1974.
- 19) Okeda R, Kitano M, Sawabe M et al: Distribution of demyelinating lesions in pontine and extrapontine myelinolysis; three autopsy cases including one case devoid of central pontine myelinolysis. Acta Neuropathol 69: 259–266, 1986.
- 20) Okeda R, Kuroiwa T, Funata N et al: Study on the etiopathogenesis of multiple spongy necrosis of the pontine base in three autopsy cases. Acta Neuropathol 96: 123–128, 1998.
- 21) 桶田理喜:病理学からみたヒト脳の宿命―神経病理 学における組織構築の意義,シュプリンガー・フェ アラーク,東京,2003.

The mechanisms underlying selective vulnerability to neuropathology, with reference to the cerebral white matter and globus pallidus

Riki Okeda

Chief, Department of Pathology, Kawasaki Saiwai Hospital Professor emeritus, Tokyo Medical and Dental University

Unlike other viscera, the CNS is characteristically composed of various components with differing configurations, and sometimes specific components may be selectively affected by certain pathologic processes. I investigated the specific features of the cerebral white matter that render it specifically vulnerable to acute carbon monoxide (CO) poisoning, leukoencephalopathy due to 5–fluorouracil (an antineoplastic drug) and its derivatives, and Binswanger's disease.

This selective vulnerability of the white matter to these pathologic processes, and in particular that of the globus pallidus in acute CO poisoning, would appear to be attributable to (1) thickening of the cerebral white matter, (2) the presence of long medullary arteries, (3) the thin medial layer of these medullary arteries in view of their long course, or (4) relative narrowing of the perforating arteries supplying the globus pallidus due to the wider caliber of the main cerebral arteries (in this area, the middle cerebral artery), all of which are universally involved in cortical development.

Therefore, these neuropathological states can be considered to reflect an "Achilles heel" of the human brain resulting from its structure, and this viewpoint may be relevant when considering the pathogenesis of other brain lesions showing selective localization.

Key words: Cerebral white matter, Globus pallidus, Acute carbonmonoxide poisoning, Carbonmonoxide poisoning of intermittent type, Grinker's myelinopathy, leukoencephalopathy of 5–Fluorouracil, Binswanger's encephalopathy, Hypoxic-ischemic encephalopathy, Selective localization, Achilles heel of the human brain

総 説 Review article

心房細動カテーテルアブレーションの最前線

家坂 義人 土浦協同病院循環器センター内科

要旨:心房細動(atrial fibrillation: AF)は、高齢者罹患率は10%を越え、持続すれば進行性の心不全と突然に発症する心原性脳梗塞を主病態とし、QOLのみならず生命予後の悪化をもたらし、今後の高齢化社会医療の課題でもある。非薬物・低侵襲治療による洞調律化が最善の方策となる。AFトリガーをその好発部位である肺静脈内に隔離し発作性 AFを根治する、カテーテルアブレーション治療(CA)が開発され、2003年から当院で実施し、6年以上の長期経過観察で89%の根治率を達成している。AF持続メカニズムが十分に解明されていない1年以上持続する慢性 AF(CAF)に対し、当院では独自の両心房内線状 CA を行い、術後1年間76%の洞調律維持が可能となっている。CAF持続機序の解明、CA デバイス改良・低侵襲 CA 術式開発により洞調律化率を向上させ、AF 患者の心不全、脳梗塞予防や生命予後改善が期待される。

Key words: 心房細動, 洞調律, 発作性心房細動, 持続性心房細動, 慢性心房細動, 脳梗塞, 心不全, カテーテルアブレーション, AFトリガー, AF基質

I. はじめに

心房細動 (atrial fibrillation: AF) は高齢者に多 く,2002年の欧米の65歳以上の全人口の4%,以後, 10歳高齢になるごとに2倍の頻度になると報告され. 75 歳以上では8%, 85 歳以上16% にみられるといわ れている1). わが国では人口の高齢化により、2020 年には AF 患者が 100 万人に達するとの予測がある²⁾. AF の診断は心電図により可能で、毎分 350 回以上の 不規則な心房興奮(f波)が等電位線を挟むことなく 記録され、絶対性不整脈と呼ばれ、心室興奮はまった く不規則に出現する. AF は持続性により病型が分類 される. 放置しても1週間以内に自然停止するものを 発作性 AF (paroxysmal AF: PAF). 1週間以上持 続しても抗不整脈薬や電気ショックにより停止が可能 であり、一定期間、洞調律の維持が可能であるものを 持続性 AF (persistent AF: PsAF), 停止処置が無 効となり1年以上持続しているものを長期持続性ない しは慢性 AF (long-standing persistent AF, chronic AF: CAF) に分類される. PAF が頻回になり持続 時間も長くなると、心房の機械的リモデリング、電気

連絡先:家坂 義人 iesaka@mtg.biglobe.ne.jp

的リモデリングを介して,PsAF へ移行するものが出 てくる. 2005 年の Canadian Registory の報告によれ ば、1週間以上の間隔で記録された心電図がどちらも AFであるものを持続化と定義した場合,年間8.6% の頻度で持続化が認められた³⁾. AFでは、まったく 不規則な心拍による動悸、心房収縮→房室弁閉鎖→心 室収縮による正常な血液拍出のメカニズムが消失し、 不規則な心室収縮のみが主に血液の拍出により、心房 および上下大静脈・肺静脈への血液逆流も伴い、心拍 出量の低下や血液逆流を原因とする特有の臨床症状、 心機能低下を発生する 4). AF が持続すれば、房室弁 口拡大による房室弁逆流の増大、頻脈原性心筋症も加 わり心機能低下が進行する. さらに左心房・左心耳内 の血液うっ滞による左心耳血栓の発生が心原性脳梗塞 などを引き起こす 5,6). 心原性脳梗塞は巨大な脳梗塞 を特徴とし、生命をも脅かし、一命を取りとめても、 失語や片麻痺など重篤な身体機能障害を残すことが多 い. 近年, すべてのタイプの認知症の早期の発病に AF が関連するとの報告も複数みられている 7). 今後, ますます進行する高齢化社会における社会医療体制整 備においても、AFは大きな課題といえる.

このような観点から、AF の洞調律化治療に対する 期待は大きく、今日の不整脈診療において注目されて いる最大のトピックである.

Ⅱ. 心房細動の病態生理

AFの病態は進行性の心血行動態異常と、合併する心原性血栓塞栓症によりもたらされ、多岐にわたる. ①まったく不規則な心拍、房室弁逆流による動悸、胸部不快などの出現、②不規則な心拍、房室弁逆流、心房一心室同期収縮の消失、過度の徐脈や頻脈による心拍出量の低下、③持続性頻拍を原因とする頻脈原性心筋症、左心機能低下、④心房の機械的リモデリングの進行とともに左心耳内血栓形成、⑤心原性脳梗塞(重傷例が多く、致命率も高い)、動脈血栓塞栓症の発症(リウマチ性弁膜症例の AFで 18 倍、孤立性 AFで 6倍)、⑥基礎の心血管系病変や脳梗塞による 2 倍の高死亡率、⑦最近では認知症の早期発症との関連性の報告が、などの多岐にわたる病態が派生することが知られている.

Ⅲ. 心房細動の治療方針

治療方針は、①基礎疾患の診断・治療および AF 誘因の除去、②血栓塞栓症の予防、③症例ごとに可能性、benefit/risk ratio 評価に基づいた洞調律化治療の実施、④洞調律化の適応が困難で頻脈(心室拍数>110/分)に起因する症状、心機能低下例における心拍数コントロール治療に要約される。

- 1) AF の基礎疾患や発症の誘因は多岐にのぼる. 左心房負荷を引き起こす種々の弁膜症,心筋症,高血 圧性心疾患などの器質的心疾患,高血圧,糖尿病,呼 吸器疾患(閉塞性肺疾患,睡眠時無呼吸症),内分泌 疾患(甲状腺機能亢進,褐色細胞腫),上室性期外収 縮,頻拍などの不整脈疾患に対する治療,そのほかア ルコール多飲,肥満などが主な誘発因子となる. AF 患者の診療においては,原因疾患や誘因の検討を行い, それらの是正,除去をただちに実施する必要がある.
- 2) 持続性のみならず発作性 AFであっても、同様に心原性脳梗塞発症のリスクとなる。AFに合併する脳梗塞の発症は、多くは左心耳内に形成された壁在血栓が、内頸動脈あるいは前・中・後大脳動脈を閉塞して起こる。したがって、細い穿通枝の閉塞によるラクナ梗塞、アテローム血栓性梗塞と比較して大梗塞を呈し、高率に致命的で重度の身体機能障害を発症する。脳梗塞発症のリスクは従来、CHADS₂スコアに基づいて評価され⁸⁾、抗凝血薬投与の適応が決定されてきた。CHADS₂スコアとは、心不全、高血圧、糖尿病、65歳以上の高齢などを各1点、脳梗塞、一過性脳虚

血発作の既往を 2 点とし、2 点以上には、ワルファリンなどによる抗凝血薬投与が必須であるとしてきた.最近、心筋梗塞、末梢動脈疾患、大動脈プラークなどの心血管病の既往を 1 点、75 歳以上の高齢を 2 点、女性 1 点(65 歳以上の年齢を有する場合に加える)などを追加した CHA_2DS_2 -VASc スコア(ESC ガイドライン 2010)が提唱され 9、従来の抗凝血薬投与の適応とならない $CHADS_2$ スコア 1 点グループのリスク評価を行い、抗凝血薬投与の適応をより厳密にすることが可能となった.

3) AF が持続することから派生する種々の問題を 解決するためには、AF の洞調律化とその維持が理想 的であることは自明の理として理解できる。しかしな がら、種々の抗不整脈薬が開発され、AF の洞調律化 に用いられてきたが有効性は十分とはいえず、徐脈頻 脈症候群や多形性心室頻拍の誘発といった重篤な有害 事象の発生も少なくないことが明らかとなってきた. このような AF に対する薬物治療の現状を背景に、抗 不整脈薬を投与し洞調律化とその維持を行う治療(リ ズムコントロール治療)と、洞調律化を追求せず、心 拍数のコントロール治療(レートコントロール治療) の成績を比較する大規模臨床試験が複数実施された. 2002 年に報告された AFFIRM 試験では、統計学的有 意差はみられないものの, 累積死亡率はリズムコント ロール群はレートコントロール群に比較して高く、抗 不整脈薬の有害事象のため入院イベント発生率も高い との結果が示された100.ただし、2年後に報告された 同試験のサブ解析では、抗不整脈薬投与群の死亡率が 非投与群に比べ49% 高く (p=0.0005). 洞調律維持 群の死亡率は非維持群に比べ47%低かった(p= 0.0001). この結果は、低侵襲の非薬物治療により、 洞調律化治療が可能であれば、AF 患者の生命予後の 改善がもたらされることが示唆された110. 一方, 1998年以降、低侵襲のカテーテルアブレーション治 療が Haïssaguerre ら ^{12,13)} により開発され、本邦にお いても広く行われるようになった。 当院においても 2002年以降、心房細動のカテーテルアブレーション 治療に積極的に取り組んでいる.

N. PAF に対するカテーテル アブレーション治療

1. アブレーション治療の誕生と進歩

通常のカテーテルアブレーション (CA) 戦略の開発には、しばしば、不整脈外科手術の経験が基礎となっている。Wolf-Parkinson-White (WPW) 症候群に対する副伝導路アブレーション、房室結節リエント



図 1. 右上肺静脈 (RSPV) 起源反復性異常興奮をトリガーとする発作性心房細動 先行する 2 拍の洞調律とは異なる興奮順序を伴い、★印に示された右上肺静脈起源反復性早期興 奮が先行し、心房細動発作が発生している。

リー頻拍に対する房室結節遅伝導路(slow pathway) アブレーションなどにおいて、開胸手術の成功がアブ レーション法の開発につながった。AF に関しては、 1987 年、Cox らが AF の multi-wavelets macro-reentry 仮説に基づき実施した左右両心房 Maze 手術にな らって、1994 年、Swartz らが Maze 手術を忠実に再 現したカテーテル Maze 法を行い、Jais らも簡略化し た両心房線状 CA を持続性 AF に対して実施した。こ れらの CA は、10 時間を超える術時間と脳梗塞など 重篤な合併症の高い出現率もあり、開発中止となった が、左房をも標的とした CA の実践が以下に述べる PAF の発生機序としての肺静脈起源説の発見につな がった。

1998年、Haïssaguerre ら ^{12,13)} は、PAF の多くが肺静脈(pulmonary vein: PV)起源の反復性異常興奮をトリガー(引き金)として発症するとの新知見を報告し、2000年に PAF の根治療法として、肺静脈隔離 CA 法(PV isolation: PVI)を開発した(図 1). PV 起源トリガーを原因とする PAF において、トリガー隔離により PAF の抑制が明瞭に示され、隔離のエンドポイントもきわめて明快であり、本 PVI 法は急速に普及し AFCA 隆盛の端緒が切り開かれた。トリガー隔離を目的とした PAF アブレーションの隆盛は、現在においても未解明の AF の発生機序について、AF のトリガー(引き金)と基質(substrate)の二つの面からアプローチする契機をもたらすことともなった。

2. 肺静脈拡大隔離アブレーション法の確立と隆盛

PVI法は効果や手技のエンドポイントが明瞭であ ることから、急速に普及することとなったが、PV入 口部の焼灼が同部の狭窄・閉塞の原因となること、ま た PV-LA 接合部(前庭部)における興奮伝導の不均 一性が細動の発生や持続に関与するとの仮説 "venous wave hypothesis"の提唱もあり、土浦協同病院にお いては、後壁側 PV-LA 接合部(前庭部)を広く包含 する周回状のアブレーションラインにより、同側の上 下2本のPVを一括して隔離する。同側上下肺静脈拡 大隔離(extensive encircling PVI:EEPVI)を 2002 年に創始した¹⁴⁾. ほぼ同時期に, circumferential PVI (CPVI) と呼ばれる拡大隔離が欧米においても 開始された¹⁵⁾. 当院の EEPVI においては、3本のカ テーテルシースを経中隔左房穿刺法により左房内へ挿 入し、同側の上下の PV にリング状多極電極カテーテ ルを挿入する double-lasso technique を実施し 16). 両 PV 内電位をモニター下に、上下 PV 周囲を一周する 焼灼ラインにより PV 隔離を行う (図2). 直後から CARTO システムを使用し、3D electro-anatomic mapping (3DEAM) モニター下に、透視時間を極力、 短縮してアブレーション・ポイントの全記録を行い. 連続性を確認しながら実施している (図3). 現在, PAF 例に対しては、PV 拡大隔離に加えて上大静脈 隔離 (SVCI) を必須 CA 戦略として実施している. さらに適応があれば、非PV 起源トリガー CA を追加 する.

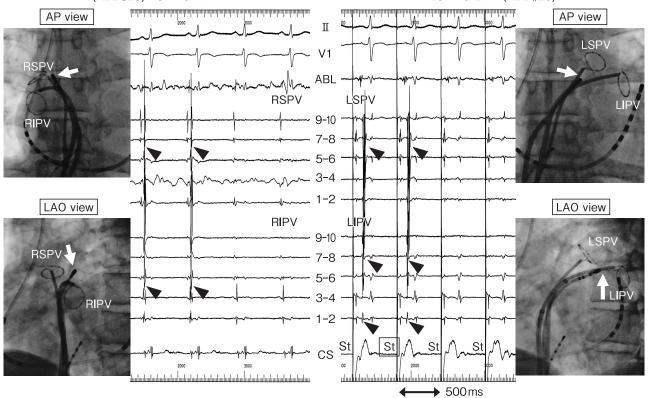
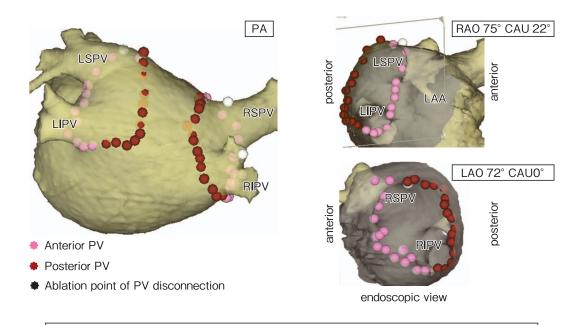


図2. 同側上下 PV に挿入した Lasso 型カテーテルによる PV 電位モニター下の拡大 PV 隔離法(EEPVI) EEPVI では上下 2 本の PV を大きなリング状のアブレーションラインにより、高率に上下 PV が同時隔離される. 図中、矢頭は左房からの興奮伝導による肺静脈興奮を示し、隔離が達成された 3 拍目から消失している. RSPV:右上肺静脈、RIPV:右下肺静脈、LSPV:左上肺静脈、LIPV:左下肺静脈



- ➤ Point-by-point ablation is performed in a linear fashion and both the ipsilateral PVs were simultaneously disconnected by an encircling continuous ablation.
- ➤ Radiofrequency energy of 25-40 W is delivered with a 3.5-mm-tip irrigation catheter with irrigation flow of 30ml/min for 25-35 seconds.

図3. 三次元 Electro-Anatomical Map システム(3DEAM)を用いた当院の拡大肺静脈隔離(EEPVI)3DEAMap システム(CARTO)を用い EEPVI を行う。術前に行った両心房・肺静脈 3D-CT 画像をCARTO 装置に立体画像として融合し、アブレーション電極も 3DEAM 画面上にモニターしながら、EEPVI 時に焼灼ポイントを記録し、位置・連続性・解剖学的情報を得ながら、アブレーションが可能である。患者、術者双方に大幅な被曝線量の軽減が図れる。

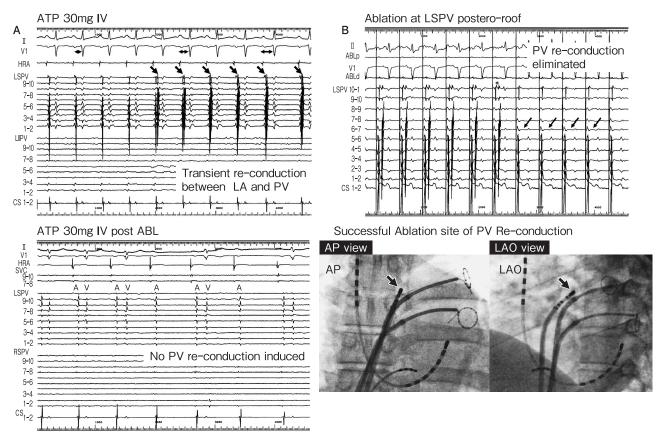


図 4. 肺静脈隔離終了後の ATP 負荷試験による潜在性左房-肺静脈間伝導の誘発テスト(文献 17 より引用) 肺静脈隔離後に潜在性伝導を誘発する目的で、イソプロテレノール点滴静注下に ATP(adenosine-tri-phosphate)30mg を急速静注する.一過性に A に示すように左房-肺静脈間再伝導が誘発される.一過性再伝導部位を同定し、同部に高周波通電を実施後、再度、ATP 負荷試験を行い、再伝導が誘発されなくなったことを確認し終了する.

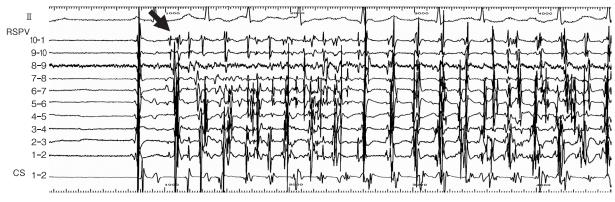
肺静脈隔離後の左房-肺静脈間再伝導再開率は高く. それに伴い初回セッション後の AF 再発率も 50% に 達し、再発率低下は大きな課題となった、当院におい て、本邦ではいち早く、隔離終了後にアデノシン (adenosine-tri-phosphate: ATP) 負荷による一過性 PV 潜在性伝導誘発法を用いて、再伝導部位への追加アブ レーションを加えて PV 再伝導率減少を試みた 17) (図 4). ATP による PV-LA 間潜在性伝導誘発手技に関 しては、初回 PVI 実施後再発例における PV トリガ ーの役割の検討において有用であることを、当院より 報告している 18). すなわち, 再セッションにおいて, ベースラインでは PV-LA 間再伝導がみられない場合 でも、ATP 投与により一過性に再伝導が起こり、臨 床で観察された再発心房性不整脈が誘発される症例が 約10%に認められ、本手技の臨床的有用性が示され た¹⁸⁾. 当院で実施する拡大 PVI には、PV-LA 接合部 を広く含み隔離することから、AFトリガー隔離効果 以外に、通常、AF 持続基質修飾さらには持続基質隔 離効果が発揮され、たとえ再伝導による心房期外収縮 が出現しても、AFが再発しないことも多く、とくに PVI 中 AF 停止群では AF 再発率が有意に低いこと を筆者らは認めている. AFのトリガーに加えてPVI

中に、AFトリガーおよびAF 起始さらにはAF 持続の基質が隔離されることもまれではない。図5に、AFトリガーのみならずAF 持続と維持の基質をも含めて隔離に成功した1 例を提示する 19 .

図 6 に当院の PAF に対する EPVI の長期治療成績を示す ²⁰⁾. 2003~2006 年の 3 年間に EEPVI および必要により非 PV トリガーアブレーションを実施した薬物治療抵抗性 PAF161 例(平均年齢 60.6 歳, 男性 119 例)において、平均 1.6 セッションのアブレーションを実施し、中央値 6.4 年の経過観察において、144 例(89%)において AF 再発はみられなかった ²⁰⁾. 本報告のような 1 施設における 6 年間の長期にわたる臨床経過の報告はみられていないが、最終セッション後の洞調律維持率が 90% 前後であるとの報告が多い.

V. 長期持続性 AF 治療に向けた AF 基質修飾法の変遷

前項でPAFに対するCA法の開発がAFの発生機序を、AFの引き金(トリガー)と基質(substrate)の二つの面からアプローチする契機をもたらしたことを述べた。また、拡大PVIがPV狭窄を避ける目的で開発されたが、AF持続の基質修飾効果も併せもち、



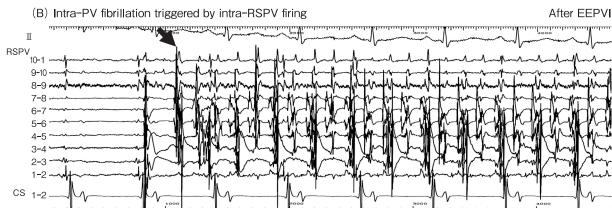


図 5. 拡大肺静脈隔離 (extensive encircling PVI: EEPVI) の作用機序

EEPVI 実施前の AF 自然発生時の記録を上段(A)に示す。EEPVI 終了後の記録を下段(B)に示す。右上肺静脈(RSPV)内に留置した Lasso カテーテルにより,A では右肺静脈内の firing により AF が誘発されている。拡大肺静脈隔離後の B においては,肺静脈内では A と同様の firing に続き肺静脈内細動が持続しているが,体表面心電図は洞調律を示している。これらの事実は,EEPVI では AF のトリガーおよび AF 起始および持続の基質をも含めて隔離されていることを示す。

持続性 AF の停止効果を発揮することも示した. しかしながら, 1年間以上持続する長期持続性 AF, すなわち慢性 AF (chronic AF: CAF) に対する停止効果は期待できず, CAF に対する有効な基質修飾法が新たな課題として取り上げられた.

2004 年、Haïssaguerre、Jaïs ら ^{21~23)} によって、Maze 手術にならった線状アブレーションの付加が基質修飾法として検討された。僧帽弁輪峡部ライン(左下 PV 入口部-後側壁僧帽弁輪峡部間ライン)と天蓋部ライン(左右上 PVI 間天蓋部ライン)の付加が試みられた。完全伝導ブロックラインの作製は容易ではなく、根治率の向上は 20% 程度にすぎなかった。

Nademanee ら ²⁴⁾ は、AF の停止をエンドポイントとして PVI は実施せず、両心房内に分布する complex fractionated atrial electrogram (CFAE) 記録部位を次々に CA する独自の方法を報告した. 彼らは、CFAE 電位を、①分節化電位(fractionation)、②連続電位(continuous activity)、③急速反復電位(short cycle length ≤120msec)のいずれかの特徴を有する電位と定義し、これらの電位が AF 興奮旋回路に出現

する伝導ブロック、緩徐伝導、興奮波衝突を表すとの仮説に基づくものである。彼らの報告では、86%のPAF、61%のCAFがCFAEアブレーションによりセッション中に停止し、平均1年の経過観察では、91%の症例で再発がみられなかったとのきわめて良好な成績であった。

CFAE の発現機序についてはまだ明らかではなく、① random reentry 起源説 ^{24,25)},② rotor からの fibrillatory conduction 説 ^{26,27)},③自律神経叢(ganglionated plexi:GP)過常興奮説 ^{28,29)},④ anisotropic conduction between overlapping muscle-bundles 起源説 ³⁰⁾ などの仮説が唱えられてきた。CFAE についての最近の検討からは ³¹⁾,①時間的・空間的に恒常性に乏しく短時間のうちに変化する。②調律や興奮伝導様式に出現部位が依存する。③発生条件として瘢痕化・線維化などの器質的異常を必要としない。④好発部位は、異なる走行の複数の心筋線維束が複雑に重畳する領域にほぼ一致しているなどの知見が報告されている。近年、Narayanら ³²⁾ の CFAE 部 位 の monophasic action potential(MAP)マッピングデータからは、大

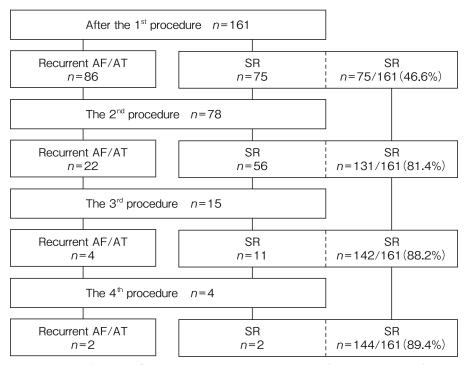


図 6. 161 例全例のアブレーション後, 平均 6.4 年の経過観察フローチャート (文献 20 より引用)

初回アブレーション後, 75 例 (47%) が洞調律を維持, 再セッション後, 洞調律維持 が可能となった 56 例が加わり 131 例 (81%) が洞調律維持, さらに, 少数例ではあるが 3 回目, 4 回目のセッション後には 144 例 (89%) において洞調律化が得られた.

部分のCFAEが far-field potential (遠隔電位)の混在により成り立っていることも報告され 32), 当初, 想定された rotor や micro-reentrant fociの局在を示すマーカーとしての意義に大きな疑問が示された. ただし, 臨床的には CAF 例において, 拡大 PVIに CFAE 電位記録領域の CA を付加することにより, CA 後の洞調律維持率が有意に向上したとの報告が多く, CFAE 領域に対する局所 CA は defragmentation と呼ばれ, 基質修飾法の主要な戦略として認識されている.

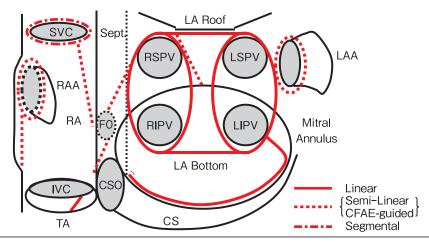
M. 長期持続性(慢性)AF に対する カテーテルアブレーション法

2005 年, PVI に線状 CA, CFAE 領域 defragmentation などの基質修飾法を組み合わせた stepwise アブレーション法が Haïssaguerre らによって提唱された ^{33,34)}. 左心耳内でモニターした平均 AF 周期の延長と安定化を, AF burden の除去, AF 基質修飾達成の指標とし, AF の停止をエンドポイントとして, PVI, CFAE defragmentation, 解剖学的心房線状 CA を順次実施する方法である ^{33,34)}. PV 隔離, CFAE は AF の持続を維持する micro-reentrant source のマーカーであるとの仮説 ³⁵⁾ のもとに CFAE 領域を焼灼,

ルーフ線状 CA, CS内・僧帽弁輪・心房中隔・左心耳基部・左房前壁 defragmentation, 僧帽弁輪峡部線状 CA を順次実施する。平均 17ヵ月の長期持続性 AF 60 例に対する成績を報告した ^{33,34)}。初回セッションにおいて 87% の症例で持続性 AF が停止し洞調律となり、同群の 95% の症例において抗不整脈薬非投薬下での平均 11ヵ月間の経過観察において、AF の再発がみられなかったとの驚くべき成績が報告された ^{33,34)}。

彼らパイオニアのきわめて良好な成績の報告を背景に、上記の方法は広く受け入れられ、多くの施設で行われた。しかしながら、多くの施設では良好な成績は再現されず、彼らと同様の方法を実施している Rostock らの報告 $^{36)}$ でも、平均 16 ヵ月の 395 例の長期持続性心房細動において、平均 $^{2.7}$ 回のセンション後、 38 において抗不整脈薬が投与され、 79 の症例において洞調律が維持されているにすぎない。

土浦協同病院においては、AF下に拡大PVIを実施し、以下のCFAE 好発部位(anisotropic conduction between overlapping muscle-bundles 仮説に基づき DFR を目的とした)に線状 CA を順次行う "Tsuchiura Method"を実施している ^{37~39)} (図7). 本法は、重畳した複数の筋線維束間の複雑な anisotropic reentry 回路による修飾を除去し、最終的に



Step 1. Extensive Encircling PV isolation

Step 2. LA roof line, LA bottom line

Step 4. Mitral annulus/isthmus line Step 5. LAA base line

Step 6. RA septum/CT/RAA ablation Step 7. SVC isolation, CTI ablation

図 7. 土浦協同病院で実施している CAF に対する段階的線状アブレーション法 "Stepwise Linear Ablation: Tsuchiura Method"の模式図(説明は本文参照)

LA:左房, RA:右房, RSPV/RIPV/LSPV/LIPV:右上・右下・左上・左下 肺 静脈, LAA: 左心耳, CS: 冠静脈洞, CSO: 冠静脈洞入口部, Sept: 心房中隔, FO: 卵円孔,

SVC:上大静脈, IVC:下大静脈, RAA:右心耳, TA:三尖弁輪

essential ordered macro- または micro-reentry 回路に アプローチして、持続性 AF の本質的な driving mechanism を消失させるアブレーション戦略である。実際 の方法は、両側の EPVI 終了後に、持続する AF の停 止をエンドポイントに、以下に示すあらかじめ設定さ れた順序で、基本的に線状アブレーションを行う、両 側上 PV 間天蓋部間, 両側下 PV 間底部, 左房中隔, 6~3 時の僧帽弁輪部/僧帽弁輪峡部. 左心耳基底部の CA 終了後, AF が停止せず右房内 AF 周期が左房内 周期より短ければ、右房中隔、傍室上稜部、右心耳基 底部にライン状 CA を順次行う. 全例で本法を実施す る場合はCARTOを使用し、3D-CTを取り込んだ (merged) モニターを監視しながら行い、すべてのア ブレーションポイントを CARTO 上に記録する(図 8). 連続した線状のアブレーション効果を創出し. 透 視時間を極力, 短縮することを常に心掛ける. 左房 CA中の洞調律化には、直接の洞調律化(図9)と AT 化を介しての洞調律化が認められた. Tsuchiura Method を実施した AF 持続歴 6~54ヵ月 (平均 24 カ月) の 135 例において(内訳は持続性 AF59 例, 慢 性 AF 76 例), 初回セッション AF 停止率は 51% で あった³⁸⁾. AF 停止時のアブレーション部位は大部分, 左房(肺静脈前庭部,中隔,左心耳基部,僧帽弁輪 部)であり、右房は少なかった(86 vs 14%)、平均 1.7±0.7回のセッション後1年, 2年間の洞調律維持 率は、おのおの 76%、64% であった。左房径 (LAD) ≥ 47.2 mm は、独立した AF、AT の再発予測因子で

あり、初回セッションでの AF 非停止は、初回セッシ ョン後 AF 再発の予後予測因子であり、一方、AF 停 止は、最終セッション後の洞調律維持の独立した予測 因子であった 39) (図 10).

Step 3. LA septum anterior & posterior line

Ⅷ. 持続性 AF の持続機序に関する新たな論争

持続性 AF の AF 持続の機序について、1988 年か ら行われてきた Cox maze Ⅲ手術 40) が立脚する macro-reentry 仮説 ²⁵⁾ に対して、最近、Narayan ら ^{41~43)} によって rotor 仮説が主張されている. 後者は Jalife らが^{26,27)},動物モデルにおいてrotor中心部分の 100msec 以下の規則正しい興奮とその周囲の細動様 興奮(fibrillatory conduction)をきわめて明快に提 示した. Narayan らは 41~43). CAF 例に限らず PAF を含め、AF中に64電極を有するバスケトカテーテ ルを左右両心房内へ挿入し、独自のマッピング装置を 用いて作製したカラーコード化マップにより、90% を超える症例において rotor の同定が可能で、rotor 局所の focal アブレーションにより、持続性 AF の根 治が可能であると報告していた、これに対して、従来 から macro-reentry 仮説を主張してきた Allessie ら は異論を唱える. Allessie ら ⁴⁰ が CAF 患者において 開心術時に実施した心外膜多点マッピングデータ.彼 らの動物実験データ^{45,46)},慢性AFにおける心筋線 維縦解離(longitudinal dissociation)あるいは心内 膜から心外膜への興奮 breakthrough など、自説を支

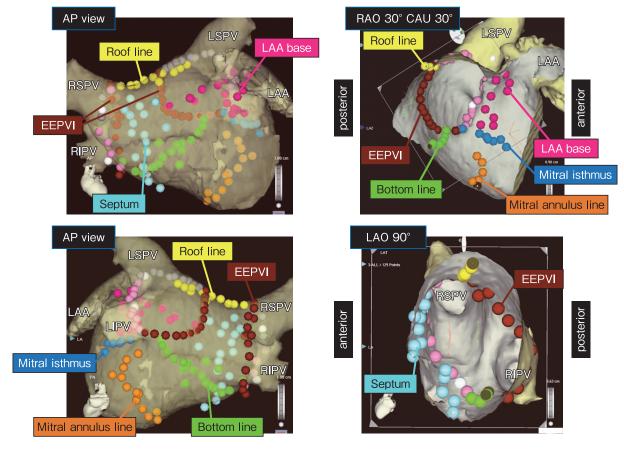
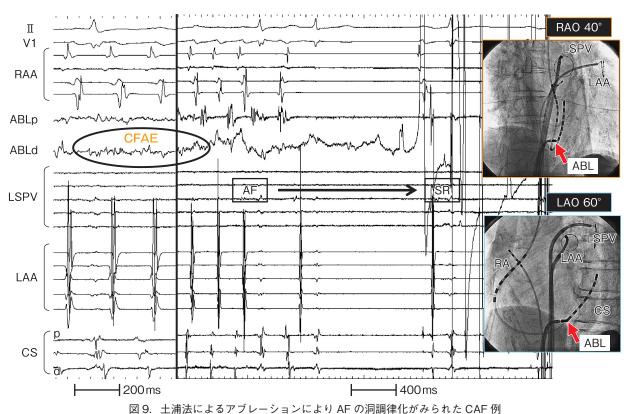


図 8. 土浦法によるアブレー部位の CARTO-merged 3DCT 画像上での表示(左側:outer view,右側:inner view)略語については図 7 参照.



EEPVI, 左房・右房の線状アブレーション終了後, 冠静脈洞入口部 (透視画像赤色矢印で表示) の CFAE 記録部位への通電により洞調律化した CAF 例.

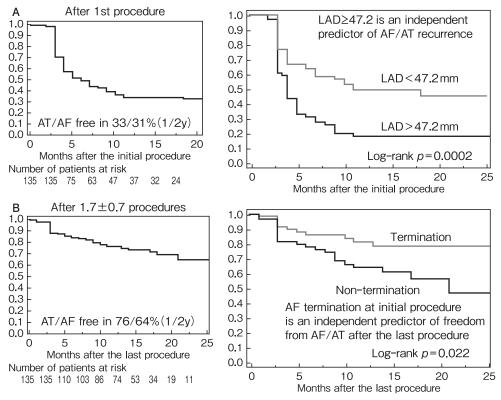


図 10. 土浦協同病院における持続性・慢性 AF に対する stepwise linear ablation (Tsuchiura Method) の効果 (文献 39 より引用)

初回セッション後の洞調律維持率は1年後33%,2年後31%(A)にすぎないが、平均1.7回の最終セッション後にはおのおの76%,64%であった。再発予測因子としては左房径(LAD)47mm以上の左房拡大が、本法の有効性予測因子としては初回アブレーションにおけるAF停止であることが示された。

持する複数の実験データを提示し反論している。それに対して、Narayanら rotor派は、詳細かつ妥当なマッピングデータ、局所電位データなど判断の根拠となるデータを示してはいない。彼らが rotor と断定していた点について、最近の論文⁴³⁾では "spiral-wave reentry"であり、2 cm 平方程度の広がりがあるとも述べるにいたっている。彼らの rotor の概念は前述した Jalife らのモデル、筆者が数例の臨床例において、肺静脈、上大静脈内で記録された rotor とも明らかに異なっている(図 11)。この論争を機に持続性 AFの機序解明が加速されることを期待したい。

Ⅷ. AF アブレーションの適応ガイド ラインについて

代表的な欧米および日本循環器学会の AFCA 適応 のガイドラインを提示する.

「2012 年 HRS/EHRA/ECAS Expert Consensus Statement」⁴⁷⁾ による欧米における AFCA 適応ガイド ラインによれば、術者が 30~50 例の AFCA の経験を 有する前提において、

クラス I : 1 種類以上の I/III 群抗不整脈薬が無効 の症候性発作性 AF クラス IIa: ①クラス I と同様の症候性持続性 AF

> ②薬物治療が行われたことのない症 候性発作性 AF

クラス IIb: ①1種類以上のI/III 群抗不整脈薬 が無効の長期持続性 AF

> ②薬物治療が行われたことのない症 候性持続性 AF および長期持続性 AF

最新の日本循環器学会の「カテーテルアブレーションの適応と手技に関するガイドライン」⁴⁸⁾ によれば, 年間 50 例以上の AFCA 実施施設においては.

クラスI: 高度の左房拡大・左心機能低下または 重傷肺疾患のない薬物抵抗性の症候性 AF

クラス IIa:①薬物抵抗性の症候性の発作性・持 続性 AF

- ②パイロット・公共交通機関の運転 手など職業上制限となる AF
- ③薬物が有効であるが患者が希望する場合

クラス IIb: ①高度の左房拡大, 左室機能低下を

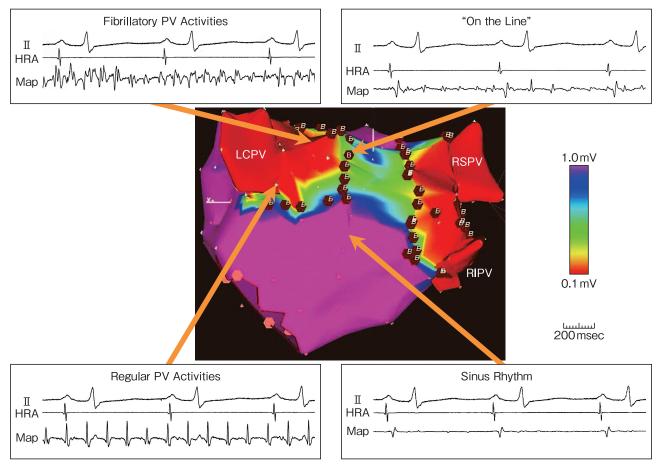


図 11. 左総肺静脈幹例の拡大隔離(EEPVI)後,PV内に rotor 領域と rotor 周辺への細動様興奮領域が認められた rotor 領域では周期 100msec のレギュラーな興奮が記録され,周辺で rotor から細動様興奮が記録された.隔離完成後であり,心房は体表面心電図が洞調律であることを示す.

認める薬物治療抵抗性の症候性の 発作性・持続性 AF

②無症候性あるいは QOL の著しい 低下を伴わない発作性・持続性 AF

クラス III: 左房内血栓が疑われる. 抗凝固療法が禁忌

とされている.

PAF に対する最終セッション後の有効性が65~90%と高いことが報告され、抗不整脈薬

(AAD) との有効性についての比較に関する最近のメタ解析では 49.50), CA の有効率は 77%・71% であり、AAD の 29%・52% に比べ CA の有効性が有意に高く、有害事象の出現率も CA 5%、AAD 30% と安全性の面でも CA が勝っている。 CA の薬物治療に対する優越性が示されているにもかかわらず、無症候性 AF の適応除外や、薬物治療抵抗性が CA 適応の必要条件となっているなどの問題点が認められる。ただし、AFCA には脳梗塞や心タンポナーデなどの致命性を有する重篤な合併症発生リスクがあり、合併症発生率

や有効性に施設間で差があることも否めない.

AFCA の長期有効性、QOL 改善効果、生命予後改善効果、脳梗塞・心血管イベント予防効果などのデータが CA 治療の位置付けには不可欠であり、進行中の死亡・心血管イベントをエンドポイントとした CA-BANA Trial の結果が待たれる.

区. 結語

PV 隔離 CA の導入により広く実施されるようになった AFCA は、発作性 AF に対しては 90% の長期有効性が認められ、薬物治療にかわり第一選択の治療法として確立されようとしている。持続性あるいは長期持続性 AF に対しても、75% に近い洞調律化率とその一定期間の維持が可能となっている。今後、AF 持続化メカニズムのさらなる解明による、高い安全性と有効性を有する低侵襲 AFCA を実現する方法論の導入やデバイスの開発が行われ、その結果、きわめて近い将来、AF 患者の morbidity および mortality の著明な改善がもたらされることが大いに期待される。

文 献

- Stewart S, Hart CL, Hole DJ et al: A population-based study of the long-term risks associated with atrial fibrillation; 20-year follow-up of the Renfrew/Paisley study. Am J Med 113: 359–364, 2002
- 2) Inoue H, Fujiki A, Origasa H et al: Prevalence of atrial fibrillation in the general population of Japan; an nalysisbased on periodic health examination. Int J Cardiol 137: 102–107, 2009.
- 3) Kerr CR, Humphries KH, Talajic M et al: Progression to chronic atrial fibrillation after the initial diagnosis of paroxysmal atrial fibrillation; results from the Canadian Registry of Atrial Fibrillation. Am Heart J 149: 489–496, 2005.
- Clark DM, Plumb VJ, Epstein AE et al: Hemodynamic effects of irregular sequence of ventricular cycle lengths during atrial fibrillation. J Am Coll Cardiol 30: 1039–1045, 1997.
- 5) Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB: Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke; the Framingham Study. Stroke **22**: 983–988, 1991.
- 6) Lin HJ, Wolf PA, Kelly-Hayes et al: Stroke severity in atrial fibrillation; the Framingham Study. Stroke 27: 1760–1764, 1996.
- Bunch TJ, Weiss JP, Crandall BG et al: Atrial fibrillation is independently associated with senile, vascular, and Alzheimer's dementia. Heart Rhythm 7: 433-437, 2010.
- 8) Gage BF, Waterman AD, Shannon W et al: Validation of clinical classification schemes for predicting stroke; results from the National Registry of Atrial Fibrillation. JAMA 285: 2846–2870, 2001.
- 9) Camm AJ, Kirchhof P, Lip GY et al: Guidelines for the management of atrial fibrillation; the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the Europian Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J 31: 2369–2429. 2010.
- 10) Wyse DG, Waldo AL, DiMarco JP et al: A comparison of rate control and rhythm control in patients with atrial fibrillation. N Engl J Med 347: 1825–1833. 2002.
- 11) Corley SD, Epstein AE, Dimarco JP et al: Relationship between sinus rhythm, treatment, and survival in the Atrial Fibrillation Follow-up Investigation of Rhythm Management (AFFIRM) Study. Circulation 109: 1509–1513, 2004.
- 12) Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC et al: Spontaneous initiation of atial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. N Engl J Med 339: 659–666, 1998.
- 13) Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC et al: Electrophysiological breakthroughs from the left atrium to the pulmonary veins. Circulation 102: 2463–

- 2465, 2000.
- 14) Takahashi A, Iesaka Y, Takahashi Y et al: Electrical connections between pulmonary veins; implication for ostial ablation of pulmonary veins in patients with paroxysmal atrial fibrillation. Circulation 105: 2998–3003, 2002.
- 15) Pappone C, Rosanio S, Oreto G et al: Circumferential radiofrequency alation of pulmonary vein ostia; a new anatomic approach for curing atrial fibrillation. Circulation 102: 2619–2628, 2000.
- 16) Ouyang F, Bansch D, Ernst S et al: Complete isolation of the left atrium surrounding the pulmonary veins; new insights from the double Lasso technique in paroxysmal atrial fibrillation. Circulation 110: 2690–2698, 2004.
- 17) Hachiya H, Hirao K, Takahashi A et al: Clinical implication of reconnection between the left atrium and isolated pulmonary veins provoked by adenosine triphosphate after extensive encircling pulmonary vein isolation. J Cardiovasc Electrophysiol 18: 392–398, 2007.
- 18) Miyazaki S, Kobori A, Komatsu Y et al: Clinical implication of adenosine test at repeat atrial fibrillation ablation procedure; the importance of detecting dormant thoracic vein conduction. Circ Arrhythm Electriohysiol 5: 1117–1123, 2012.
- 19) Iesaka Y, Otomo K, Nagata Y et al: Catheter ablation therapy for atrial fibrillation; current advancements in strategies. Circ J 71 Suppl: A82–A89, 2007.
- 20) Uchiyama T, Miyazaki S, Taniguchi H et al: Six-year follow-up of cathter ablation in paroxysmal atrial fibrillation. Circ J 77: 2722–2727, 2013.
- 21) Jaïs P, Hocini M, Hsu LF et al: Technique and results of linear ablation at the mitral isthmus. Circulation 110: 2996–3002, 2004.
- 22) Hocini M, Jaïs P, Sanders P et al: Techniques, evaluation and consequences of linear block at the left atrial roof in paroxysmal atrial fibrillation; a prospective randomized study. Circulation 112: 3688–3696, 2005.
- 23) Sanders P, Jaïs P, Hocini M et al: Electrophysiologic and clinical consequences of linear catheter ablation to transect the anterior left atrium in patients with atrial fibrillation. Heart Rhythm 1: 176–184, 2004.
- 24) Nademanee K, Mckenzie J, Kosar E et al: A new approach for catheter ablation of atrial fibrillation; mapping of electrophysiologic substrate. J Am Coll Cardiol 43: 2044–2053, 2004.
- 25) Konings KT, Smeets JL, Penn OC et al: Configuration of unipolar atrial electrograms during electrically induced atrial fibrillation in humans. Circulation 95: 1231–1241, 1997.
- 26) Berenfeld O, Zaitsev AV, Mironov SF et al: Frequency-dependent breakdown of wave propa-

- gation into fibrillatory conduction across the pectinate muscle network in isolated sheep right atrium. Circ Res 90: 1173–1180, 2002.
- 27) Kalifa J, Tanaka K, Zaitsev AV et al: Mechanisms of wave fractionation at boundaries of high-frequency excitation in posterior left atrium of the isolated sheep heart during atrial fibrillation. Circulation 113: 626–633, 2006.
- 28) Scherlag BJ, Nakagawa H, Jackman W et al: Electrical stimulation to identify neural elements on the heart; their role in atrial fibrillation. J Interv Cardiol Electrophysiol 13 (suppl II): 37–42, 2005.
- 29) Lin J, Scherlag BJ, Zhou J et al: Autonomic mechanism to explain complex fractionated atrial electrograms (CFAE). J Cardiovasc Electrophysiol 18: 1197–1205, 2007.
- 30) Ho SY, Sanchez-Quintana D, Cabrera JA et al: Anatomy of the left atrium; implication for radio-frequency ablation of atrial fibrillation. J Cardiovasc Electrophysiol 10: 1525–1533, 1999.
- 31) Jadidi AS, Duncan E, Miyazaki S et al: Functional nature of electrogram fractionation demonstrated by left atrial high-density mapping. Circ Arrhythm Electrophysiol 3: 32–42, 2012.
- 32) Narayan SM, Wright M, Derval N et al: Classifying fractionated electrograms in human atrial fibrillation using monophasic action potential and activation mapping; evidence for locarized drivers, rate acceleration, and nonlocal signal etiologies. Heart Rhythm 8: 244–253, 2011.
- 33) Haïssaguerre M, Sanders P, Hocini M et al: Catheter ablation of long-lasting persistent atrial fibrillation; critical structure for termination. J Cardiovasc Electrophysiol 16: 1125–1137, 2005.
- 34) Haïssaguerre M, Sanders P, Hocini M et al: Catheter ablation of long-lasting persistent atrial fibrillation; clinical outcome and mechanisms of subsequent arrhythmias. J Cardiovasc Electrophysiol 16: 1138–1147, 2005.
- 35) Haïssaguerre M, Wright M, Hocini M et al: The substrate maintaining persistent atrial fibrillation (editorial). Circ Arrhythm Electriphysiol 1: 2–5, 2008.
- 36) Rostock T, Salukhe TV, Steven D et al: Long-term single- and multiple-procedure outcome and predictors of success after catheter ablation for persistent atrial fibrillation. Heart Rhythm 8: 1391–1397, 2011.
- 37) Iesaka I: Frontier of catheter ablation for atrial fibrillation. J Cardiol 58: 99–107, 2011.
- 38) Komatsu Y, Uno K, Otomo K et al: Atrial defibrillation threshold as a predictor of clinical outcome of catheter ablation for persistent atrial fibrillation. Europace 13: 213–220, 2011.
- 39) Miyazaki S, Taniguchi H, Komatsu Y et al: Sequential biatrial linear defragmentation approach

- for persistent atrial fibrillation. Heart Rhythm 10:338–346, 2013.
- 40) Pasad SM, Maniar HS, Camillo CJ et al: The Cox maze III procedure for atrial fibrillation; long-term efficacy in patients undergoing lone versus concomitant procedures. J Thorac Cardiovasc Surg 126: 1822–1828, 2003.
- 41) Narayan SM, Krummen DE, Rappel WJ et al: Clinical mapping approach to diagnose electrical rotors and focal impulse sources for human atrial fibrillation. J Cardiovasc Electrophysiol 23: 447–454, 2012.
- 42) Narayan SM, Krummen DE, Shivkumar K et al: Treatment atrial fibrillation by the ablation of localized sources; CONFIRM (Conventional Ablation for Atrial Fibrillation With or Without Focal Impulse and Rotor Modulation) trial. J Am Coll Cardiol 60: 628–636, 2012.
- 43) Narayan SM, Shivkumar K, Krummen DE et al: Panoramic electrophysiological mapping but not electrogram morphology identifies stable sources for human atrial fibrillation; stable atrial fibrillation rotors and focal sources relate poorly to fractionated electrograms. Circ Arrhthm Electrophysiol 6: 58–67, 2013.
- 44) Allessie MA, de Groot NM, Houben RP et al: Electrophysiological substrate of long-standing persistent atrial fibrillation in patients with structural heart disease; longitudinal dissociation. Circ Arrhythm Electrophysiol 3: 606–615, 2010.
- 45) Verheule S, Tuyls E, Hunnik A et al: Fibrillatory conduction in the atrial free walls of goats in persistent and permanent atrial fibrillation. Circ Arrhythm Electrophysiol 3: 590–599, 2010.
- 46) Eckstein J, Zeemering S, Linz D et al: Transmural conduction is the predominant mechanism of breakthrough during atrial fibrillation; evidence from simultaneous endo-epicardial high-density activation mapping. Circ Arrhythm Electrophysiol 6: 334–341, 2013.
- 47) Calkins H, Kuck KH, Cappato R et al: 2012 HRS/EHRA/ECAS expert consensus statement on catheter and surgical ablation. Heart Rhythm 9: 632–696, 2012.
- 48) 日本循環器学会: 不整脈の非薬物治療ガイドライン (2011 年改訂版), 2011.
- 49) Piccini JP, Lopes RD, Kong MH et al: Pulmonary vein isolation for the maintenance of sinus rhythm in patients with atrial fibrillation; a meta-analysis of randomized, controlled trial. Circ Arrhythm Electrophysiol 2: 626–633, 2009.
- 50) Calkins H, Raynolds MR, Spector P et al: Treatment of atrial fibrillation with antiarrhythmic drugs or radiofrequency ablation; two systemic literature reviews and meta-analyses. Circ Arrhythm Electrophysiol 2: 349–361, 2009.

The front-line of catheter ablation to cure atrial fibrillation

Yoshito Iesaka, MD, PhD. FHRS (The Fellow of The Heart Rhythm Society)

Cardiovascular Center, Cardiology Division, Tsuchiura Kyodo Hospital

Summary

The incidence of atrial fibrillation (AF) in the highly elderly population is reported to be higher than 10%. AF complicates insidious heart failure and can cause abrupt cerebral infarctions resulting in deteriorated quality of life and longevity of the patient. This issue is a major social assignment for the medical care for the aged population. The ideal solution for AF should be radical cure of AF and long-lasting maintenance of sinus rhythm by a non-pharmacological and minimal invasive treatment. In 2003 we started an extensive encircling pulmonary vein isolation (EEPVI) of all 4 PVs for paroxysmal AF (PAF), which resulted in 89% of the PAF patients ablated having no AF recurrence during 6 years follow-up after a mean of 1.6 sessions. For persistent and chronic AF (PsAF/CAF) with an unknown maintenance mechanism of the AF, we developed an original stepwise bi-atrial linear catheter ablation (CA) technique (Tsuchiura Method), which resulted in 76% of the PsAF/CAF patients having no AF recurrence after a mean of 1.7 sessions. The elucidation of the driving mechanism of PsAF/CAF with improvement of the CA devices and development of further minimal invasive CA techniques can improve the life expectancy and quality of life of PsAF/CAF patients.

Key words: atrial fibrillation, sinus rhythm, paroxysmal atrial fibrillation, persistent atrial fibrillation, chronic atrial fibrillation, cerebral infarction, heart failure, catheter ablation

ヘルニア手術の歴史

中嶋 昭 公益財団法人日産厚生会 玉川病院 院長・外科・ヘルニアセンター

要旨:近代の鼠径ヘルニア外科手術は、解剖学的解明により欠損、脆弱部を自己組織で補強する術式となり、1880年代 Bassini の成功によって確立した.以来、自己組織による術式がその後約100年間標準術式として実施されてきた.その転機は組織内に留置できる人工素材としてポリプロピレンが開発され、それを用いた1980年代後半 Lichtenstein のテンションフリー法と呼ばれる方法の開発である。再発率は1%以下と圧倒的に良好で、その後約25年にわたってグローバルに標準術式となった。またこれ以降、さまざまなメッシュデバイスが開発され、おのおのの術式の優劣を競うメッシュ修復術の時代となった。さらに近年では、光学機器や関連機器の向上によって、良好な術後成績とともにその圧倒的な情報共有効果や教育効果のために腹腔鏡下手術が広まりつつある。この四半世紀におけるヘルニア手術の変遷について概説し、日本における"ヘルニア学"の成立過程についてもふれる。

Key words: テンションフリー法, myopectineal orifice (MPO), 腹膜前腔, 腹膜前筋膜, TAPP

I. はじめに

ヘルニア手術の歴史は外傷の手術的治療とともに外 科の歴史そのものといえる. 外科医 Pare (1510~90 年)の外傷の外科以前から、ヘルニアはその一部とは いえ致死的な疾患として認識され、外科的対象とされ ていた. 1600 年代ルネッサンス期の人体解剖学の発 展により、病態認識が深まった後でも、長く鼠径ヘル ニアの治療は暗黒の領域であった. 1880 年代 Bassini の成功1)以来, 自己組織による鼠径ヘルニア術式は 標準となり、以後約100年間にわたり継承されること になる. 筆者の外科研修時代 (1970~80年) におい ても基本術式は Bassini 法であり、またその発展型と するものであった. それらの再発率が10~30%と高 率であっても、当時はもはや疾患が致死的なものでは なくなっていたゆえに、 医師も患者もある程度の再発 はやむをえないものとの認識(諦観?)があった.わ が母校である東京医科歯科大学においても、さる高名 な外科教授に執刀してもらった患者が退院となり、お 茶の水橋を渡った途端に再発して病院に戻った。など

連絡先:中嶋 昭 caput@tamagawa-hosp.jp

ということが笑い話としてすまされる時代でもあった. この事情は彼我の差なく欧米においても同様で、再発 率の低い術式の開発は外科医にとっての大いなる課題 であった. 1980 年代 Lichtenstein は. 人工物 (ポリ プロピレン)を使った術式を開発した2). その成績は 驚異的なものであり、再発率を1%以下にまで改善し た³⁾. この術式 (Lichtenstein 法) はメッシュ修復術 の時代を拓くとともに、今なおグローバルにもっとも 多く実施されている術式となっている.その後は,こ の Lichtenstein 法を基盤としたさまざまな方法(多 くは製品化したメッシュの形状による差)が開発され ていった. そして、光学機器からデジタル機器の開発 などによって外科手術の世界でも内視鏡手術が発展し. ヘルニア修復術も腹腔鏡下になされる時代となった. 筆者はちょうどこのヘルニア手術のダイナミックな変 化のときに立ち会っており、ヘルニア外科の大発展を 目のあたりにした.

Ⅱ. 鼠径ヘルニアの定義と用語の解説

鼠径ヘルニアの定義:ヘルニアとは突出するものの 意味とされるが、従来その三要素はヘルニア門、ヘル ニア嚢、ヘルニア内容であるとされてきた. 鼠径ヘル

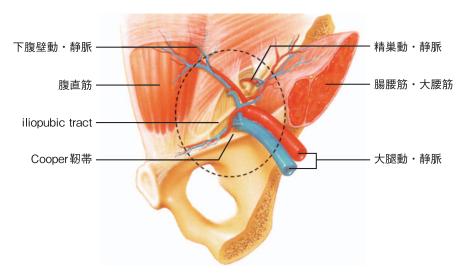


図 1. Fruchaud の myopectineal orifice (点線内)

ニアにおいてヘルニア嚢とは腹膜であり、ヘルニア内容は腸、大網、卵巣、膀胱など腹腔内臓器とされてきた。しかし近年、腹膜前脂肪組織のみが脱出し、腹膜および腹腔内臓器の関与がない例が認識されるようになった。患者には典型的ヘルニアと同様に、鼠径部の膨隆と疼痛、違和感などが症状となる。腹腔鏡下手術においてはこのような例がヘルニアとは認識されない場合が出てくる。European Hernia Society(EHS)ではヘルニアの定義を"腹腔内臓器もしくは腹膜前脂肪織の脱出"としている4).

用語の解説: ヘルニアの治療を述べるにあたって出てくる代表的な用語について解説しておく.

1. 鼠径管

鼠径靭帯の内側,斜めに腹横筋,腹斜筋の下端を貫く間隙である。胎生期の精巣下降の結果生じたトンネルで,精索(女性では子宮円索)を通す。この腹腔側開口部分が内鼠径輪,外側開口部が外鼠径輪である。鼠径管の前壁は外腹斜筋腱膜であり、そのつながりの鼠径靭帯が外側壁をなす。鼠径管後壁は筋,腱膜を欠き,横筋筋膜のみである場合が多い。

2. Hesselbach 三角 5)

下腹壁動静脈, 鼠径靭帯, 腹横筋腱膜弓によって囲まれた三角形の部分を呼ぶ. この部分は内腹斜筋, 腹横筋の筋・腱膜を欠くことが多く, 直接ヘルニアの発生部である.

3. Myopectineal orifice (MPO:筋恥骨孔) [図1] 鼠径部を腹腔側からみると前腹壁の筋,恥骨に囲まれた部分に横筋筋膜のみしかおおっていない部分がある.ここに鼠径部のヘルニアの門となる内鼠径輪, Hesselbach 三角,大腿血管裂孔および閉鎖管がある. 1956 年 Fruchaud は,この部分がヘルニアの発生部位として MPO と名付けた⁶⁾.

4. 横筋筋膜

腹部全体をおおう腹内筋膜 (endoabdominal fascia) の鼠径部部分とされる ⁷⁾. 鼠径管後壁をなし, 精索の部分では精管, 精巣動静脈を包む内精筋膜となっている.

5. 腹膜前腔

横筋筋膜と腹膜の間には特有の脂肪織(腹膜前脂肪織)を認める疎な結合織層が認められる。この部分を腹膜前腔と呼ぶ。そして近年、この腹膜前腔には2枚の筋膜が存在し、外側から腹膜前筋膜浅葉、深葉とし、腹腔鏡下修復術の場合、メッシュはこの二葉の間が適切であるとされる。

6. 鼠径ヘルニア関連の神経

鼠径ヘルニアの術後、慢性疼痛を起こす場合がある.これに関連する鼠径部の神経はL1から出る腸骨下腹神経、腸骨鼠径神経およびL2から出る陰部大腿神経である.これらは互いにネットワークを形成している.メッシュがこれら神経と接触するような術式では慢性疼痛の発現率は10%前後とされ、大きな問題となっている8.

Ⅲ. 鼠径ヘルニアの分類

鼠径ヘルニアの分類は、内鼠径輪から出てくる外鼠径ヘルニア(間接ヘルニア)とその内側の Hesselbach 三角から出てくる内鼠径ヘルニア(直接ヘルニ

表 1. Nyhus 分類 (Repair individualized to type of hernia)

Type of hernia	Repair
Type I: Indirect with normal abdominal ring	High ligation of sac*; no repair: anterior approach
Type ${ {\mathbb I} }$: Indirect with internal abdominal ring dilated,	High ligation of sac; transversalis fascia repair of
posterior abdominal wall intact	internal abdominal ring: anterior approach
Type Ⅲ: Posterior wall defects	Anterior approach: IPTR without mesh (Condon);
A. Direct	Shouldice repair; Cooper ligament repair; or
B. Large indirect	Posterior approach: IPTR with inlay buttress of poly-
C. Femoral	propylene mesh; Stoppa GPRVS with Mersilene
	Posterior approach: IPTR without mesh
Type IV: Recurrent	Posterior approach: IPTR with inlay buttress of poly-
	propylene mesh

^{*} Excision and ligation of hernial sac are performed for all indirect and femoral hernias. A direct sac is usually not opened, excised, or ligated.

GPRVS: giant prosthetic reinforcement of visceral sac, IPTR: iliopubic tract repair.

ア)および大腿ヘルニアの解剖学的分類で行われてきた.しかし,ヘルニアの病態の解明や治療法の展開によって,それらの外科的検討の基準となる分類が必要となった.近年ではヘルニア門の大きさや部位など複数の要素を取り入れ,治療法などの検証ができる分類となっている.同一基準の分類のもとでは,各分類型ごと①発生頻度,②適応する術式の検討,③再発率や合併症率の検討など,多施設間での比較・検討ができることとなる.

1. 解剖学的分類

解剖学的分類法は1940年代のCooper までさかのほり⁹⁾,以来100年以上にわたって外科における伝統的分類として使用された。ヘルニア門の部位による分類で、下腹壁動静脈を境として外側を門とする外鼠径ヘルニア(間接ヘルニア)と下腹壁動静脈内側(狭義のHesselbach 三角)を門とする内鼠径ヘルニア(直接ヘルニア),および大腿血管裂孔を門とする大腿ヘルニアに分類する。

2. 近年の分類

1950年代 Fruchaud の MPO 理論により、ヘルニアをこの MPO との関連でとらえるようになり、外科的治療法も新たな方法へのチャレンジが始まった. 以来、外科的修復法を意識した以下のような分類がなされてきた.

a. Lichtenstein 分類(1987 年)

6,000 例の経験から直接ヘルニアを5型に分け、大腿ヘルニアを独立した概念で、また間接ヘルニアは大きさによらず1型とした。

b. Gillbert 分類 (1989 年)

間接ヘルニアを門の大きさによって3型に,直接ヘルニアは後壁の全体か一部かによって2型に分類した.

表 2. EHS 分類

EHS groin hernia classification	Primary/recurrent
Lateral (L)	0 1 2 3 X
Medial (M)	0 1 2 3 X
Femoral (F)	0 1 2 3 X

C. Nyhus 分類 (1993 年) [表 1]

治療法(補強部位)と直結した分類 10) で、メッシ ュ修復の適応が加味されている. 間接ヘルニアのうち 後壁補強の必要ないものを門の大きさによってタイプ Ⅰ. Ⅱに、後壁補強が必要なものをタイプⅢとし、 A:直接ヘルニア、B:大きな間接ヘルニア、C:大 腿ヘルニアの3型とした。また。再発ヘルニアはタイ プⅣとして個別化した. 筆者らは, 1993年この分類 を日本にはじめて紹介した. 当時. 日本におけるヘル ニア分類は伝統的な解剖学的分類で論じられており, ようやく始まりつつあった鼠径ヘルニアの治療法の検 討に一石を投じた. その後, 病型と術式の関係や分類 と治療法の関係で論じられる場合には、この Nyhus 分類が取り上げられることが多くなった. しかし. や や複雑なことや、間もなく病型と関係なく実施するメ ッシュ法の開発と普及および日本ヘルニア学会分類の 制定によって、本分類も使用されなくなった.

d. Aachen 分類 (1995 年)

門の部位(L:間接, M:直接, Mc:合併, F:大腿)と大きさ(グレード I, Π , Π) の掛け合わせで分類するもので、後の EHS 分類につながった.

e. EHS 分類 (2009 年) [表 2]

EHS の成人鼠径ヘルニア治療ガイドラインの制定時に定められたもので、Lateral (L)、Medial (M)、Femoral (F) と大きさ $0\sim3$ で表現するシンプルなものである。このほかに初発か再発かを記載する.

分類	説明		
I. 間接(外)鼠径ヘルニア	ヘルニア門は内鼠径輪である.ヘルニア門の径の判定は,横筋筋膜レベルで行い,		
	鼠径部切開法では最大径とし、腹腔鏡下手術では上下径とする		
Ⅰ-1(軽度)	<1cm(1 横指 [*])未満		
Ⅰ-2(中等度)	≥1cm<3cm(1 横指以上 2 横指**未満)		
Ⅰ-3(高度)	≥3cm(2 横指**)以上		
Ⅱ. 直接(内)鼠径ヘルニア	ア 鼠径管後壁とは,内側は腹直筋(鞘)下端の外縁,外側は下腹壁動静脈とする.		
	ヘルニア門の径の判定は最大径とする		
Ⅱ-1(限局内側型)	ヘルニア門の径が 3cm(2 横指**)未満で,鼠径管後壁を 2 分した場合,ヘル		
	ニア門の中心は内側にある		
Ⅱ-2(限局外側型)	ヘルニア門の径が 3cm(2 横指**)未満で,鼠径管後壁を 2 分した場合,ヘル		
	ニア門の中心は外側にある		
Ⅱ-3(びまん型)	ヘルニア門の径が 3cm(2 横指**)以上である***		
Ⅲ. 大腿ヘルニア			
Ⅳ. 併存型	間接(外)鼠径ヘルニア,直接(内)鼠径ヘルニア,大腿ヘルニアあるいは特殊		
	型が併存している(各型を記載する)		
V. 特殊型	Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ以外の型		
再発ヘルニア	初発ヘルニアの分類に従う. はじめに Rec と記載		

*原則として第5指を用いる,**原則として第2指と第3指を用いる,***ヘルニア門の径が3cm以下でも,ヘルニア門が後壁全体の例も含める.

1. 直接(内)鼠径へルニアのII-1, II-2 ではヘルニア門の径を記載する, 2. ヘルニア嚢が鼠径管内か, 鼠径管外か, 陰嚢まで達しているかを記載する, 3. 再発ヘルニアでは, できる限り前回術式を記載する, 4. TAPP における分類は, 腹膜剝離後の状態で判定する. ただし, 腹膜剝離前において, ヘルニアが正中臍襞と内側臍襞の間にある例は, 膀胱上ヘルニアと追加記載する.

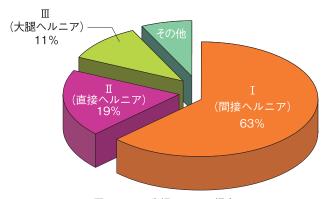


図 2. JHS 分類における頻度

f. 日本ヘルニア学会分類 (2004 年) [表 3]

日本ヘルニア学会(JHS)の発足により制定された。間接ヘルニア(I型)を門のサイズで 3 分類する。直接型(II型)は門の局在により内側,外側,びまん型に 3 分類する。その他大腿ヘルニア(III),混合型(IV),その他(V)などとし,再発例には Rec をつける。

IV. JHS 分類に基づく発生頻度

筆者らの施設における各病型の発生頻度は,JHS I型(間接ヘルニア)63%,Ⅱ型(直接ヘルニア)19%,Ⅲ型(大腿ヘルニア)11%,その他7%である(図2).しかし、この発生分布は年齢、性によって特徴がある(図3).

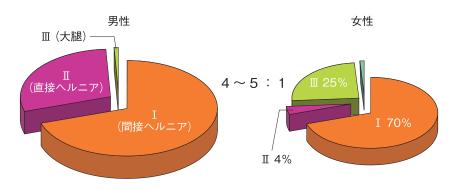
まず、ヘルニアの発生頻度そのものが男:女で5~

4:1 であり、Hesselbach 三角の形態の違いによるとされる。また女性における病型頻度を検討すると、 I型 70%、 II型 4%、 II型 25% と I型は全体とかわりないが、 II型が少なく II型が多いことが鮮明となる。

Ⅴ.診断

鼠径ヘルニアは鼠径部の膨隆として患者には自覚さ れ、その特徴は①立位で膨隆、②仰臥位で消失、③圧 迫するとグル音を伴って平坦化するなどである. 診断 は多くの場合、身体所見のみでなされ、診断率は70 ~90% とされる 11,12). 実施される鼠径ヘルニアの術 式は内鼠径・外鼠径いずれのタイプにも応用できるも ので、その術前診断はあまり追求されず、正確な診断 は手術時になされてきた. 2009 年の EHS ヘルニアガ イドラインでも、術前の画像診断については身体所見 の不明瞭なものに限るとし、推奨度 C となっている. しかし、そこでの問題は大腿ヘルニアであり、鼠径部 ヘルニア全体の3~5%の頻度であるものの、高齢・ 女性においては20~25%にも達する. 修復するレベ ルが違うことから、術中の見過ごし、未治療が起こり やすく、再発ヘルニアのうち大腿ヘルニアが多いこと、 とくに女性に再発ヘルニアが多いことは主に術前診断 の問題と関連している.

近年,各種の画像診断法が進歩し,ヘルニアの分野 でも身体所見が不明瞭なもの,膨隆の部位・形状が典



	I (間接ヘルニア)	Ⅱ (直接ヘルニア)	Ⅲ (大腿ヘルニア)
頻度	多い	少ない	少ない
年 齢	小児、年齢とともに増加	中~高齢	中~高齢
性	男性〉〉〉〉女性	ほとんど男性	ほとんど女性
膨隆の性状	囊状~梨状	半円球	卵円形・半球状
還納	時に困難	容易	非還納のもの多い
嵌頓	しばしば	少ない	多い

図3. 鼠径部ヘルニアの男女差と特徴



図4. 超音波による鼠径ヘルニアの診断 嵌頓臓器 (この例では虫垂) の血流状態を示す.



図 5. CT によるヘルニアの診断 大腿ヘルニア (矢印).

型的でないものなどについては、超音波、CT、MRI、ヘルニオグラフィーなどの診断手段が応用できる。筆者らは以前から"見るを司るは知識なり"の立場から、ヘルニアの臨床において正確な術前診断を行ってきた。それら診断法について述べてみる。

1. 超音波診断法 (図 4)

非侵襲的な診断法であるため対象に制限がない. リアルタイムのダイナミックな像が得られるため,身体所見の不明瞭なものについても腹圧の加減などによってヘルニアを描出できる. 嵌頓症例ではカラードップラーによる嵌頓臓器の循環障害の判定ができ,治療方針の決定につながる. 一方,病型診断については有用性が低いが,大腿ヘルニアについては大腿動・静脈との位置関係で診断可能である. 鼠径部の膨隆に関する鑑別診断の面では,リンパ節炎,脂肪腫,動・静脈瘤,

軟部腫瘍などの診断で有用性が高い.

2. CT, MRI (図 5)

近年その分解能は飛躍的に向上したものの、小さな ヘルニアの描出や病型の診断にはあまり有力ではない. しかし、動・静脈との関係から大腿ヘルニアの診断、体表からは診断できない閉鎖孔ヘルニアなどの診断に 有用である. また CT 値などにより脱出臓器の性状が わかり、とくに滑脱型のヘルニアや後腹膜からの脂肪腫の脱出例などでは治療上有用な情報が得られる. 今後はさらに分解能が上がり、画像の 3D 構築などによって、より有用性が増すものと考えられる.

3. ヘルニオグラフィー

腹腔内に造影剤を注入することによってヘルニア嚢を描出する診断法である. もっとも sensitivity の高

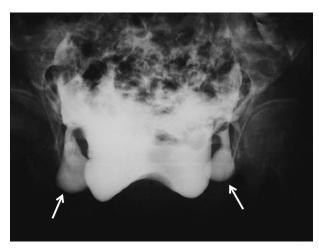


図 6. ヘルニオグラフィー 両側閉鎖孔ヘルニア (非嵌頓時) (矢印).

い検査法である。不顕性のヘルニアや合併ヘルニアの 描出、対側ヘルニアの診断などや病型診断に有用であ る。術前の診断法としては優れているが、腹壁を穿刺 することや造影剤の注入など侵襲的であることから、 EHS ガイドラインでは他の検査では診断不能例のみ に限るべきだとされている。また本検査法の弱点とし ては、嵌頓例や脂肪腫は描出できない。

本法は1967年、Ducharme ら ¹³⁾ によって小児を対象として手術時の対側情報を得るために実施された.しかし、その診断的有用性は認められたものの、当時の造影剤の問題、小児に行うことへの疑問、合併症(とくに腸管穿刺)などにより一般化されなかった.1980年 Gullumoら ¹⁴⁾ は、1,000 例以上の成人に対するヘルニオグラフィーの経験とその有用性を報告した.1990年、筆者らは日本においてはじめてのヘルニオグラフィーによる閉鎖孔ヘルニアの術前診断例を報告した ¹⁵⁾ (図 6). 以来約 1,200 例の鼠径部ヘルニア例に実施し、術前の病型診断と術式選定、大腿ヘルニアの術前診断による治療戦略の構築、フォローアップ検査によるヘルニアの形成過程の追跡など多くの有用性について報告した ^{16,17)} (図 7).

Ⅵ. 鼠径ヘルニアの手術

1. 自己組織修復時代

自己組織による手術は組織緊張(テンション)を伴うのでテンション法とも呼ばれる. 鼠径ヘルニアは解剖学的に腹膜鞘状突起の遺残あるいは腹壁防御の筋,腱膜欠損部で横筋筋膜のみしかない部位(Hesselbach 三角)の脆弱化によって発生するとされた. したがって、その治療理論は腹膜突起(ヘルニアサック)の剝離・切断および鼠径管後壁を周辺の組織の移動によって補強するというものであり、この補強の方

法によって数々の術式が出現した.

ここでは現在でもその存在意義を有しているいくつ かの術式についてふれる.

a. Bassini 法 (1883 年)

ヘルニア術式のうちもっとも有名で、開発より約100年間にわたって標準術式として世界的に採用されていた方法である。ヘルニアサックの高位結紮と外腹斜筋、内腹斜筋、腹横筋が腱膜状に一体化した弓状腱膜弓と後壁の横筋筋膜および鼠径靭帯を縫着することによって後壁補強を行い、内鼠径輪も補強する術式である。その後、このBassini 法はいくつかのバリエーションを増やしながら、いわゆるBassini 法としてグローバル化していった。しかし、その再発率が30%以上というのが現実であり、バリエーションの多さもそのことと関係していた。

Condon の iliopubic truct repair (1956 年) ¹⁸⁾ も同様の術式であり、Bassini 法は鼠径靭帯を補強の対象としていたのに対し、横筋筋膜に注目し、その肥厚部分である iliobubic truct を使うとしたものである。つまり、鼠径ヘルニアは横筋筋膜ないしはそのレベルの破綻であるから、横筋筋膜レベルの補強を行うという理論に基づくが、本質的に Bassini 法とあまり違いはない。

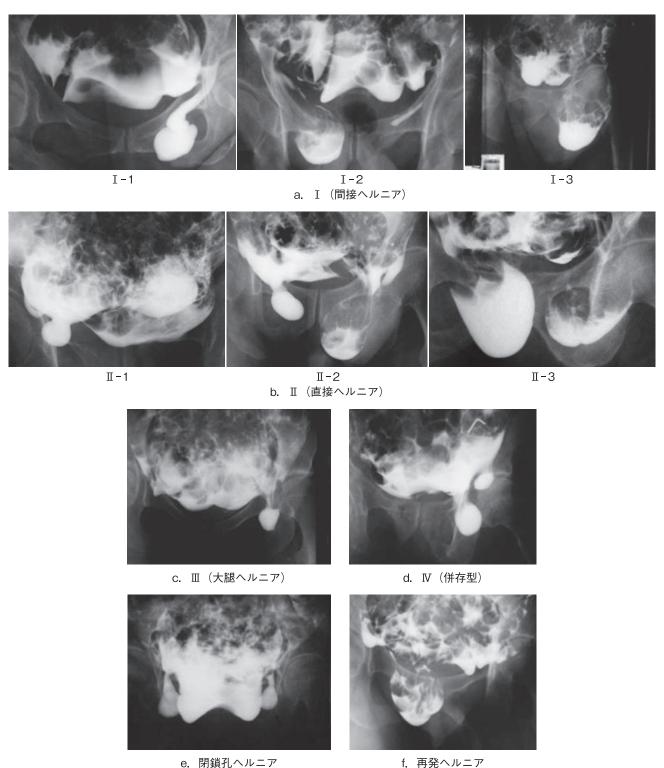
b. Marcy 法 (1887 年)¹⁹⁾

間接ヘルニアに適応する。ヘルニアサックの高位結 紮に鼠径輪縫縮を加える術式である。ほかの術式と比 較し後壁を補強しない点で特徴を有する。門の縫縮は 同部における横筋筋膜同士を縫い合わせることによっ て行う。同時代の Bassini 法や Halsted 法²⁰⁾ が後壁 補強を主体とし、内鼠径輪の縫縮は、より表面の腹横 筋腱膜を鼠径靭帯に縫着して行っており、往々にして 内鼠径輪の縫縮がなされていないことによる再発があった。そのような点における意義を有している。現在 でも鼠径管の補強を必要としない小児型間接ヘルニア、 若年女性の間接ヘルニアなどに適応される。

筆者らはメッシュ修復時代となった 1990 年以降,成人若年者 (30 歳以下)の小児型鼠径ヘルニア (門の開大のない間接型)にも一律にメッシュが使用される現実を憂慮してきた. 従来の鼠径ヘルニア術後再発率の高さは病型,年齢,性などの要素を区別せず一括論議されたもので,成人においても小児型のヘルニアは必ずしもメッシュを使用せずとも成績はよい. とくに生殖年齢世代,なかでも若年女性はほとんどが間接ヘルニアで小児タイプであるため,Marcy 法で十分良好な成績をおさめる.

c. MacVay 法 (Cooper ligament repair)

1898 年 Lotheissen ²¹⁾, 1954 年 MacVay ²²⁾ などの



閉鎖孔ヘルニア f. 再発ヘルニア 図 7.ヘルニオグラフィーによる JHS 分類の各型

報告がある。Bassini 法が後壁補強の一方の組織を鼠径靭帯としているのに対し、本法では Cooper 靭帯を使う。鼠径靭帯よりもいっそう深部の靭帯と腹横筋腱膜弓との縫着であるため、大腿ヘルニアにも適応され汎用性が高い。一方で、補強部の緊張が強く、減張切開などの追加処置を必要とする。再発率は 0.1~3.0%と良好であったが、この組織緊張による術後愁訴や大腿動静脈に対する影響への懸念などで、大腿ヘルニア、

再発ヘルニア、組織脆弱例などに対し Bassini 法のバックアップとして実施されることが多かった。またその汎用性から、一部では鼠径部ヘルニアの標準術式とされた。

d. Shouldice 法 $(1969 \oplus 23)$

カナダ・トロントの Shouldice 病院は 1950 年ころから鼠径ヘルニア専門病院として活動し、本術式を確立した。その術式は入院期間の短縮、術後愁訴の低減、

回復の速さ、再発率の低さなど良好な成績を誇り、 Canadian repair として外科医の注目と修得の的となり、また世界中から患者が治療を求めてやってくるというヘルニア専門病院の嚆矢となった。

その術式は後壁を切開し横筋筋膜を含む弓状腱膜とiliopubic truct を連続縫合で縫着する(第一層). 次いで連続縫合で弓状腱膜近傍と鼠径靭帯を縫着し, 第二層とする. さらに内腹斜筋腱膜部と鼠径靭帯を二重にわたって縫着する(第三, 四層). また精索上の外腹斜筋腱膜を連続縫合閉鎖することによって第五層目の補強とする.

メッシュ修復の時代となった現在でも,自己組織修 復術としてはもっとも評価されており,ヨーロッパで は今でも多く実施されている.また EHS ヘルニアガ イドラインでも,自己組織での方法としては本法が推 奨されている.

e. Nyhus posterior preperitoneal repair $(1960 \oplus)^{24)}$

上記の術式が前方から鼠径部へ直接アプローチするのに対し、本法は鼠径部のやや頭側から腹膜前腔にいたり、後方から鼠径ヘルニアを修復する。ヘルニアサックの処理や後壁補強の方法は iliopubic truct repair 法に準じた. 鼠径管を開放することなく後方より後壁補強を行うという利点があった. 理論的な魅力はあったものの、後方からの解剖認識が少なかったことや、術式の理解がやや複雑で、術野の確保が困難なことなどからあまり普及しなかった. Nyhus は後に、このアプローチでメッシュを使用する術式を報告し²³⁾、同じコンセプトとなる腹腔鏡下修復術のもととなった.

2. 人工補強材 (メッシュ)

近年においても、鼠径ヘルニアの自己組織による修復には一定程度(10~20%)の再発は避けることができず、その原因が後壁補強部分の組織緊張であるとされた。また再発率を抑えるための術式はより強固な補強となり、組織緊張のための術後愁訴や回復の問題もあった。これらの問題を解決するには、緊張のかからない人工物による補強(テンションフリー法)が期待された。

もっとも早い人工物の使用は1894年のPhelps²⁵⁾による銀線コイルの使用とされる.1948年 tantalum (タンタル)の使用経験²⁶⁾が報告され普及しかけたが、すぐに過剰な線維形成による運動障害や、感染の問題によって退場した。またステンレス製のメッシュ使用の報告は1975年 Mathiesonら²⁷⁾によってなされ、再発率、感染、術後愁訴いずれにおいても良好なもので、その展開が大いに期待された。しかし、MRI など診断機器の普及により金属製品の体内使用が大いに

制限されるなどにより使用されなくなった。1950年ころからナイロン、シリコン、ポリエステルなどの多くの非金属、非吸収性合成素材が開発され、応用されるようになった。これらの中でポリプロピレン、ポリエステル、e-PTFE(expanded polytetrafluoroethylene)などが現在使用されている。吸収性メッシュや生物製剤のメッシュの開発もなされているが、主に費用、組織反応、感染などの問題で実用にいたっていない。

a. ポリプロピレンメッシュ

1958 年 Usher は、マーレックスメッシュと呼ばれ るポリプロピレンメッシュが、体内留置に対して感染、 組織反応、術後愁訴などの点で優れ、人工補強材とし て有用であることを報告し²⁸⁾, 1962 年には再発の確 立が高いとされた困難例や巨大ヘルニア例に限って応 用し良好な成績をおさめた. このことによって. 最初 は再発ヘルニアや腹壁瘢痕ヘルニアにマーレックスメ ッシュが広く使用されるようになった. その後、その 成績のよさによって使用範囲が拡大し、感染創に使用 した成功例の報告などもあり、もっとも信頼性のある 素材として普及した. そして 1989 年. Lichtenstein 法の画期的な報告によってポリプロピレンメッシュを 使った修復術が標準となった。その後、さらに軽量化 や柔軟化の改良が加えられ、患者の術後 QOL も向上 した、素材としては標準となり、各種の形状、術式に 応じた製品化が行われ、多様な展開をとげている.

b. e-PTFE (expanded polytetrafluoroethylene)

当初人工血管に採用された素材であるが、腹腔内に使用しても腸管癒着を起こさない特徴を生かし、腹壁瘢痕ヘルニアに応用される. 鼠径ヘルニアでも困難例において使用されることがある. 反面、組織固着性が弱い点に難があり、ポリプロピレンと二重性のメッシュとして、主に腹壁瘢痕用に使用されている.

c. ポリエステルメッシュ

1960年ころからヘルニア修復術に利用され、その柔軟性、強度、弾力性などの優れた点や手術成績から、最初の標準的素材として普及した。1975年 Stoppaら 29) は、大きなポリエステルメッシュを腹膜前腔に留置し、前腹壁後面(myopectineal orfice:MPO)をおおうことで良好な成績をおさめた。約40年間にわたってヘルニア修復の標準素材として普及し、現在でも使用されているが、ポリプロプレンの普及とともに需要は縮小した。

3. メッシュ修復術

1950年ころから展開をみせたメッシュ修復術は、上記のごとく素材の開発とともにあった。そしてポリ

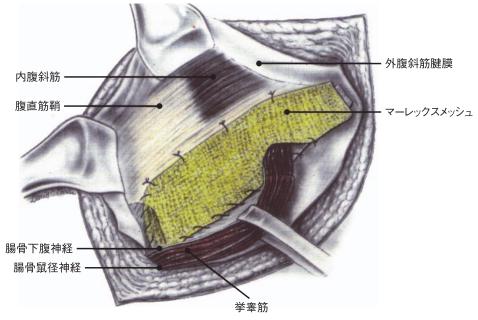


図8. Lichtenstein 法 (Hernia, 4th Ed, 1995より引用)

プロピレンの開発によって臨床応用が確定したが、その対象は再発ヘルニアや治療困難例に限られていた. Lichtenstein 法の画期的なことは、その術式の驚異的な再発率の低さもさることながら、すべての症例に応用し、成功したことであった。このことによって、ヘルニア修復術はドラスティックな展開をとげることになった。

a. Lichtenstein 法 (図 8)

1989年に報告された本法は、後壁前面にポリプロ ピレンメッシュを貼る(オンレイ法)ことによって後 壁補強とし、それ以前の自己組織による補強で生じる 組織緊張をなくしたテンションフリー手術の概念を築 き上げた. 最初の1,000 例で再発0. その後の集積で も 3,000 例以上で 4 例のみであった 3). この圧倒的な 成績と手術手技の普遍性、術後愁訴の優れた点、そし て局所麻酔下に実施でき、短期入院手術につながるこ となど、数々のメリットによりグローバルスタンダー ドとなった. 開発以来. すでに四半世紀以上たってい るが、いまだ世界的にはもっとも数多く実施されてい る. しかし. 日本においてはメッシュ法の紹介・導入 が遅れ、従来の自己組織修復術から一気に mesh-plug 法や腹腔鏡下修復術の導入・普及へと流れたため、 Lichtenstein 法はパスされた形となり、定着しなかっ た. 本法の成功は、その後のメッシュ法の展開につな がっている. 以下, 本術式の要点を述べる.

1) 麻 酔

局所麻酔を原則とする. 全身麻酔で行う場合も局所 麻酔を併用し, 術後の疼痛を和らげる. 局所麻酔は step by step 法で行い, 皮膚・皮下への浸潤→外腹斜 腱膜→腱膜切開→精索, 内鼠径輪, 恥骨結合部などへ と浸潤麻酔をすすめる.

2) 皮膚切開

鼠径管に沿った斜切開や Langer 皮膚割線に沿った 切開で 5~6cm 前後とする.

3) 鼠径管の開放と神経の同定・精索の挙上

鼠径管の直上(精索による膨隆部)で鼠径管を切開する.この筋膜下に存在する腸骨鼠径神経を温存し,次いで精索を鼠径管後壁から挙上しテーピングする.

4) ヘルニア嚢の処理

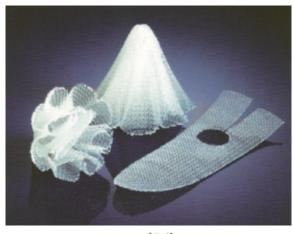
①外鼠径ヘルニア (JHS 分類 I): 精索の中の白色で光沢のあるヘルニア嚢 (サック)を同定し、全体を剝離する. 内鼠径輪のレベルで腹膜前筋膜(浅葉)と呼ばれる薄い半透明の膜を切開すると、特徴的な鮮黄色の腹膜前脂肪織が現れる. これを指標に精管、精巣動・静脈から十分な剝離を行っておく. この一連の操作は parietalization と呼ばれ、再発防止の重要な処置である. 遠位側サックは放置でよい.

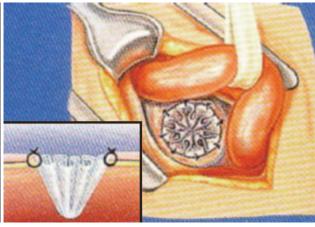
②内鼠径ヘルニア(JHS 分類 II): サックを腹腔側へ内翻してヘルニア門を確認し、ヘルニア頸部で全周を縫合閉鎖し、後壁を平坦化する。 テンションフリーの理論に順じ緊張がかからないように行う.

5) Pubic fascicle の処理とメッシュの挿入・固定

メッシュを貼る層である外腹斜筋腱膜と内腹斜筋の間を剝離する.腸骨下腹神経は温存するが,メッシュに接触して慢性疼痛の原因となる懸念があれば切断する.6.0×11cm 大のポリプロピレンメッシュを Hesselbach 三角状にトリミングし,3-0 吸収糸を用いて縫合固定を行う.

①**恥骨結合部への固定**:メッシュは恥骨結合部を 2.0cm ほどオーバーラップさせる. 内側最下端の恥骨





a. プラグ

b. 挿入シェーマ

図 9. Mesh-plug 法

結節前面の結合織に縫合固定する.

②鼠径靭帯への固定:次いで外側の鼠径靭帯に1.5~2.0cm 間隔で内鼠径輪の高さまで連続縫合,固定する.メッシュ上端から内鼠径輪の高さまでスリットを入れ精索を通す.

③内側の固定:内側はメッシュの萎縮(約20%とされる)を考慮し、弓状腱膜を超えて内腹斜筋、腹直筋外側前面までカバーし2~3針で縫合固定する。メッシュの縫合固定中は関連3神経の確認に注意する。

④内鼠径輪の補強:精索を挟んだ内側のテイルを外側テイルにオーバーラップさせ, 鼠径靭帯に縫着して内鼠径輪の補強とする.

6) 術後合併症, 成績など

①抗凝固薬や血小板機能抑制薬などを服用している症例では、術後血腫や皮下出血斑の拡大をみることがある。通常は観察のみとし、自然吸収を待つ、術後漿液種(セローマ)は4~5%で起きるが、観察のみでよい。

②術後慢性疼痛:メッシュ修復術が普及するに従って術後慢性疼痛が問題となってきた.いずれの術式にも共通する問題であるが、とくにオンレイ 法やプラグ法に多いとされる.使用するメッシュが次第に大きくなったことも一因と考えられる.この予防は術中の関連神経の確認と損傷を避ける操作や予防的切断などであるが、発生したときは術後慢性神経痛適応の鎮痛薬などで6ヵ月~1年くらいの経過をみる.無効な場合は関連三神経の切断を行う.

③理論的背景:理論的にはパスカルの法則にのっとりメッシュを腹膜前腔に貼る術式が正しいとされる. 一方, Lichtenstein 法でメッシュは横筋筋膜の前方であるが, 腹横筋, 内腹斜筋と同じレベルであり, さらに外腹斜筋腱膜によって補強されている. ヘルニアの防御としてはまったく問題ない. 四半世紀にわたりグ ローバルに実施されてきた実績がその正しさを証明している.

④ラーニングカーブと成績: Lichtenstein 法はもっともラーニングカーブが短く、かつ外科医の習熟度によるばらつきが少なく良好である⁴³⁾. 再発率はエキスパートの場合 1% 以下であり、専門医取得レベルの外科医が習得する鼠径ヘルニア手術としてはもっとも基本的なものといえる. エキスパートの指導のもとに確実な修復が比較的短期間で習得できる.

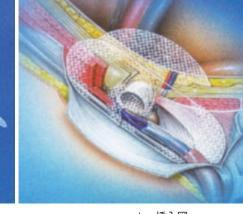
b. プラグ法

1968年 Lichtenstein は、シガレット状に巻いたポリプロピレンメッシュを大腿ヘルニアや再発ヘルニアに使用した 30). この方法の 3~20年のフォローアップで再発率 1.6%と報告した. しかし、このプラグは皮下にふれるようになるなど、移動が問題とされた. 1980年代後半、Gilbert は円錐状または傘状に形成したメッシュを考案した 31). 彼はこのプラグを腹膜前腔に差し込むことで傘状の広がった部分が後壁に固着するとし、縫合せず使用した. 小~中等度大の間接ヘルニア(初発、再発とも)に適用し、良好な成績であった.

c. Mesh-plug 法 (PerFix) (図 9)

Rutkow と Robbins は Gilbert のプラグ法の成功に学び、プラグをヘルニア門の大きさに応じてサイズを選択することや縫合固定することなどによって、すべての鼠径ヘルニア、大腿ヘルニアに応用した³²⁾. 1993 年商品化し、PerFix と名付けた. これはヘルニアデバイスのはじめての商品化となった. PerFix のプラグは大、中、小のサイズと、おのおのが二重構造になっており、ヘルニア門の大きさに合わせて調節ができるようになっていた. これらの組み合わせでヘルニアの大きさ、病型、再発などの違いを問わず、本法の適応となった. 1995 年の追跡調査発表以来、広く





a. PHS デバイス

b. 挿入図

図10. PHS法

採用されるようになった.とくに日本においては, 1994年の腹腔鏡手術の保険収載によってメッシュ使用へのアレルギーが解消しつつあったところに商品化され,供給と品質の安定したデバイスの出現と比較的簡便な術式であることが相俟って, 1995~1996年ころから爆発的に普及した.また,その後同様のコンセプトによるデバイスの商品が数多く出現した.

〈術式の要点〉

①間接ヘルニア:精索の中枢側で内精筋膜を切開し、ヘルニアサックを求める.腹腔側へ剝離をすすめ、parietalizationを行う.サックは腹腔側へ内翻し押し込む.内鼠径輪より腹腔側の腹膜前腔をプラグ挿入可能に十分な範囲を剝離する.プラグを円錐状の尖端から腹膜前腔に差し込み、プラグ全体が腹膜前腔におさまり、かつプラグ辺縁が後壁裏面に広がるように留置する.プラグ辺縁を吸収糸3-0を使い、内鼠径輪へ3~4針結節縫合で固定する.次いで同封されているonlay patch を後壁に貼り、精索を挟んだスリットの部分を縫合閉鎖する.原法ではこのonlay patch は使用していない.

②直接ヘルニア:ヘルニアサック(横筋筋膜)をその頸部(後壁のレベル)において全周性に切開し腹膜前腔にいたる。選択したプラグの直径よりも小さくてよい。サックを腹腔側へ押し込み腹膜前腔を剝離しプラグの留置スペースをつくる。プラグを差し込み,腹膜前腔で広がるように留置した辺縁と後壁を8~10針とやや密な結節縫合で固定する。Onlay patch を後壁に貼る。原法では固定縫合は行っていないが,多くの外科医が Lichtenstein 法に準じて後壁に固定し、mesh-plug 法と Lichtenstein 法のハイブリッドとして Plugstein repair と呼ばれた。

d. PROLENETM Hernia System (PHS) 法 (図 10) Gilbert の考案 ³³⁾ により製品化されたもので、underlay patch と onlay patch をコネクターでつないだ

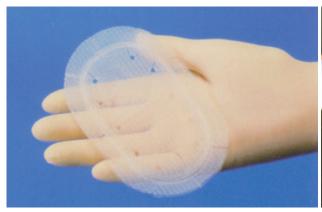
形状のデバイスである. Underlay patch は腹膜前腔に展開し、MPOをカバーするためにあり、onlay patch は鼠径管後壁の補強のためであり、またコネクターはヘルニア門に位置するプラグの役割をはたすとする. 二重構造によって補強がより強固となるよう設計されている. 構造からメッシュ素材の質量が大きいために、生体に対する負担、腹膜前腔への underlay patch の展開がブラインド操作となるため確実性に欠けるなどの問題が指摘された. しかし、強固な補強は再発、治療困難例などに有用である. メッシュ素材の質量については後に軽量化され、また網目を大きくしたソフトメッシュと呼ばれる改良が加えられた.

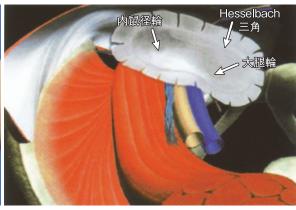
e. Kugel 法 (図 11)

鼠径管を開放せず、腹膜前腔にメッシュを広げる腹 膜前腔修復法である. 1999 年. Kugel は 2 枚のポリ プロピレンメッシュの間に形状記憶リングを挟んだ形 状記憶型のパッチを考案した34.このパッチを用い、 鼠径管よりやや頭側から腹膜前腔にいたり、ヘルニア サックなどを処理した後パッチを挿入し、後壁裏面に 貼る. MPO 全体をおおうように留置する. 固定は閉 創時に横筋筋膜と1針のみ縫合する. 本法は鼠径管を 開放しない腹膜前到達法であるため、表在の神経損傷 がなく術後疼痛の点で有利なこと、パッチは丸めて挿 入でき切開創を小さくできる。MPO すべてをカバー する、形状記憶パッチであるためメッシュの展開が容 易であるなどの利点を有する. 日本においては、その 紹介から理論的同調と形状記憶パッチによる手技的魅 力によってかなり多く採用されたが、腹膜前腔アプロ ーチへの不慣れとややラーンニングカーブが長い点な どから標準術式とはなりえていない.

f. Direct Kugel 法

上記の Kugel 法が鼠径管を切開しない腹膜前アプローチで、ややその解剖学的理解やパッチの適正な展開においてむずかしいことから、前方アプローチと同





a. Kugel パッチ

b. 挿入図

図 11. Kugel 法

様に鼠径管を開放し、ヘルニア門から直接形状記憶型の Kugel パッチを腹膜前腔に挿入、展開する方法である。前方アプローチに慣れた外科医にとって理解しやすく、歓迎された。パッチを展開する腹膜前腔を広く剝離する。挿入するパッチには S, M, L のサイズがあり選択する。パッチの適切な展開は直視下に行われる。術後疼痛の発生に関しては有利とされる。

4. 腹腔鏡下修復術 (LH)

腹腔鏡下ヘルニア修復術 (LH) は1990年初頭. Ger, Schultz, Corbitt らによって報告された ^{35~37)}. ちょうど腹腔鏡下胆嚢摘出術が爆発的に普及した直後 であった. 本法はまたたく間に普及し. さまざまな修 復法が開発された. 日本においても 1993 年に紹介 ³⁸⁾ され、1994年の保険収載によって多くの施設で採用 された. しかし、当時の技術や機器の問題、コストパ フォーマンスのわるさなどで下火となり、ごく一部の 外科医が継続したにすぎなかった. しかし欧米におい てはその後約10年間、オープン法との優劣が競われ つつ、次第に普及していった。その間の光学機器の発 達・改良と他領域の腹腔鏡手術の展開や手術手技の安 定. 鏡視下手術特有の情報共有による医療スタッフの 信頼獲得などなど諸条件の整備とも相俟って、日本に おいても LH は急速に普及しつつある。本法には①腹 腔内から修復する方法(transabdominal preperitoneal approach: TAPP), ②腹膜外腔からの方法 (total extraperitoneal approach: TEP) および③腹膜状に メッシュを貼る方法 (intraperitoneal onlay mesh: IPOM) がある. TAPP, TEP においてはメッシュを 貼る部位に関する論議が盛んで、腹膜前腔における腹 膜前筋膜の浅葉や深葉との関連が言及されている.

a. TAPP 39)

腹腔内から腹膜を剝離し、腹膜前腔にメッシュを貼ることでヘルニア修復を行う。MPOを十分に観察で

き,合併ヘルニアや対側のヘルニアなど診断能が高い. 気腹,体位などによって十分な操作空間(ワーキングスペース)を得ることができ,メッシュの展開,固定などで確実な修復が行える.また,前方アプローチ法で問題となる術後慢性疼痛に関しては,関連する腸骨下腹神経,腸骨鼠径神経,陰部大腿神経などの走行に影響しないレベルでの操作であり,術後疼痛の発生率は低い.一般に術後回復はオープン法よりも早いとされる.問題点は手技的に困難でラーンニングカーブが長く.医療費が高いことである.

1) 麻酔、体位、鏡視下手術機器の配置など

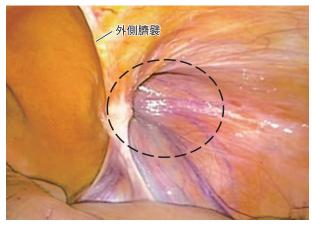
全身麻酔, 仰臥位で行う. 患者上肢は両側とも体幹に密着させ, 術者の操作スペースをつくる. 術者は患側の反対側に, またスコピストは患側に位置し, モニターを足側におく. トロッカー (臍部) を挿入し気腹した後, 頭低・骨盤高位で患側をやや高位とする軽度側臥位とし, 操作空間を確保する.

2) トロッカー, 気腹

スコープ用の第一トロッカーを臍部から、鉗子用の第二、第三トロッカーを左右の腹直筋外縁から挿入する。トロッカーサイズは必要に応じて変更するが、通常は10、5、5mmで行っている。気腹圧は8~10mmHgとしている。

3) 腹膜切開

JHS I 型(間接ヘルニア)の場合、ヘルニア門において全周性に腹膜を切開し(図12)、ヘルニアサックと腹膜を切離する。ヘルニアサックは原則放置する。次いでメッシュを展開する範囲の腹膜剝離を行う(図13).外側では精巣動静脈、精管などを腹膜から剝離し、腹膜と腹膜前筋膜深葉の間で剝離、スペースをつくる。外側臍襞の内側においては腹膜前筋膜深葉を突破し、浅葉との間の腹膜前腔に到達し剝離をすすめる。この部分は疎な蜂巣状で、無血操作で剝離が可能である。Cooper 靭帯、恥骨、腹直筋外縁などを確認する



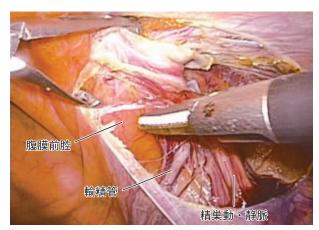


図 13. 腹膜の切離と腹膜前腔の剝離

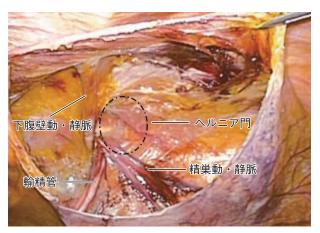


図 14. メッシュ展開のための MPO の露出

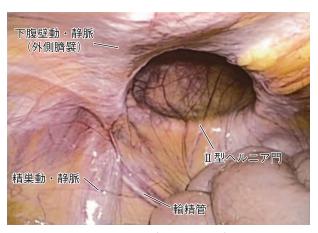


図 15. Ⅱ型(直接ヘルニア)

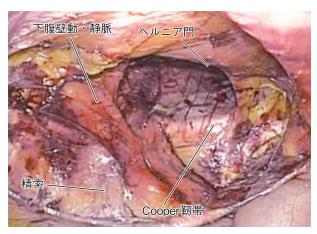


図 16. II型における腹膜前腔の展開と MPO の露出



図 17. 解放した MPO (腹膜前腔) 全体をカバーしメッシュを貼る.

(図14).

JHS Ⅱ型 (直接ヘルニア) (図 15) ではヘルニア門 外側に腹膜切開をおき、必ず外側から剝離をすすめる. 腹膜外腔にいたり直接ヘルニアの門にいたる. ここで 偽ヘルニア嚢となっている白色の横筋筋膜を見出し、これに癒着し脱出しているヘルニア嚢 (腹膜), 腹膜

前筋膜,腹膜前脂肪織を剝離し,ヘルニア門を露出させる(図16).この場合の剝離面は腹膜前腔から一層(浅葉)横筋筋膜寄りとなることも多く,MPO全体の剝離の途中で層の違いを連続させる.

4) メッシュの展開と固定

ヘルニア門より約3cm 広くカバーして MPO を十

分におおい、メッシュを貼る(図 17). とくに主病変の部分については適正なカバーを心掛ける. メッシュの固定はタッカーを用い、前腹壁側で下腹壁動静脈の外側と内側、最内側で前腹壁部、および Cooper 靭帯などを固定する. また、病変の状況やメッシュの固定具合などで適宜、数針の固定を追加する. しかし、外背側とくに iliopubic tract の背側には陰部大腿神経が走行するため固定の禁忌部位である.

5) 腹膜の縫合閉鎖

切開した腹膜を連続縫合で閉鎖する.このとき気腹 圧を6~7mmHgに下げ、腹膜の緊張をゆるめる.

b. $TEP^{40,41)}$

すべての操作を腹膜外腔で行うため、腹膜の切開・ 縫合を必要とせず、また腹腔内臓器との接触がないこ とから、それらに伴う合併症や煩雑さを避けることが できる.しかし、術野の認識やヘルニア嚢の処理に関 する手技などの習得が困難で経験を要する.

1) トロッカーの挿入と腹膜前腔への到達

第一トロッカーは臍部からオープン法で挿入する. 臍やや足側の腹直筋前鞘を切開し、後鞘にいたる.後 鞘の前面から恥骨方向にすすめると腹膜前腔にいたる. ここで PDB バルーンなどを使い、一気に腹膜前腔を 広げ、気腹を行う. 鉗子用の第二、第三トロッカーを 直視下に挿入する.

2) ヘルニア嚢の処理とメッシュの留置、固定

白色蜂巣状の結合織 (腹膜前筋膜浅葉) を剝離し、ヘルニア囊を求める. Ⅱ型 (直接ヘルニア) ではヘルニア嚢全体を門から剝離するが、 Ⅰ型 (間接ヘルニア) の大きなものでは、ヘルニア頸部において腹腔側を結紮し離断する. 剝離面を調節し、MPO 全体をおおうようにメッシュを留置する. タッカーによる固定は TAPP 法より少なくてよいとされ、数ヵ所に行う.メッシュの辺縁がめくれないように注意しつつ脱気し、終了となる.

c. IPOM 42)

腹腔内からヘルニア門に直接メッシュを貼り付ける方法で、メッシュの形状に特徴がある。ポリプロピレンやポリエステルメッシュに臓器癒着を起こさない素材でコーティングされたものや、ポリプロピレンとeーPTFEの二重性のものなどがある。腹膜や筋、筋膜などの切離や剝離がなく腹腔側からヘルニア門をおおい修復とするので、ほとんど侵襲がない。前方アプローチでは大きな侵襲となる腹壁瘢痕ヘルニアで適用されるが、鼠径ヘルニアでは治療困難例においてのみ適応となる。

d. 今後の展望.

腹腔鏡下手術に関してはより侵襲を少なくするため

に、カメラや鉗子の細径化、細いポートから挿入できるような柔らかいメッシュ、半吸収~吸収性メッシュ、 生物製剤などの開発、また臍部のポートのみから操作する単孔式手術などが展開されようとしている.

Ⅵ. おわりに

日本において、1990年初頭まではアッペ、ヘモ、ヘルニアと称されたように、鼠径ヘルニアの手術は外科医初期研修の対象疾患とされていた。学問としての取り組みはあまりなされず、全国レベルの学会において一部の専門家による術式に関するセッションが開かれるにすぎず、会場の聴衆もまばらな状態が続いた。1993年筆者らは、米国におけるミーティング:Hernia 93(於:インディアナポリス)に参加した。世界各国から専門家が集合して3日間、会場ホテルに缶詰め状態で議論し合う姿は衝撃的であった。ヘルニアに取り組む彼我の差をまざまざとみた思いがした。当時、米国ではメッシュ法がスタンダードで、腹腔鏡手術も大いに取り組まれつつあった。

翌1994年、日本においても腹腔鏡下ヘルニア手術 が保険収載されると、多くの施設がこの術式に取り組 んだ. しかし十分な成績を上げえず腹腔鏡下手術から は撤退したものの、人工物(メッシュ)の体内留置に は抵抗がなくなり、1990年代後半ころからメッシュ 法が普及するにいたった. 従来法からようやくメッシ ュ法という新しい修復法を得て、日本においてもヘル ニアの論議が高まり、外科系の学会でもシンポジウム などが増え、聴衆も集まるようになった。その後、メ ッシュデバイスの著しい展開によって、研究、検討課 題も豊富となり、ヘルニア手術を多く手掛けていた市 中病院からの発表も多くなり、学会のヘルニアセッシ ョンは盛況となった.このような状況のもと.2003 年、日本ヘルニア研究会(後の日本ヘルニア学会)が 発足し、鼠径ヘルニアを学術的に検討することとなっ た. Hernia 93 から 10 年を経て日本でもようやく鼠 径ヘルニアの専門学会ができて感慨深いものがあった. この後のヘルニア学と臨床の展開には目を見張るもの があり、学会のシンポジウムには黒山の人だかりがで き, 市中で開催される技術講習会なども大盛況で, そ して日帰り手術のヘルニア専門クリニックも多数開設 された。2000年代後半からはデジタル光学機器や鏡 視下手術機器の改良また専用デバイスの改良など環境 が整ったことに加え、手術手技が確立したことによっ て腹腔鏡下修復術が再び広まり始めた. その術後 QOL の高さに加え、鏡視下手術の圧倒的な情報共有、 教育効果などにより現在、急速な勢いで普及するにい

たっている. 鼠径ヘルニアという外科領域においては 小さな分野のことであるが, これほど多様に展開し進 化したことに対して, 改めて学問, 科学の面白さ, 素 晴らしさ知るところとなった.

文 献

- Bassini E: Sulla cura radicale dell'ernia inguinale. Arch Soc Ital Chir 4: 380, 1887.
- 2) Lichtenstein IL Shulman AG, Amid PK et al: The tension free hernioplasty. Am J Surg 157: 188–193, 1989.
- Amid PK, Shulman AG, Amid PK et al: The Lichtenstein open tension-free hernioplasty. Ingunal Hernia, ed by Arregui ME, Nagan RF, Radcliff Medical Press, Oxford, p. 185–190, 1994.
- 4) Sions MP, Aufenacker T, Bay-Nielsen M et al: European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients. Hrnia 13: 343–403, 2009.
- 5) Hesselbach FK: Anatomisch—chirurgische Abhandlung über den Ursprung der Leistenbrüche. Würzburg, Baumgärtner, 1806.
- 6) Fruchaud H: Anatomie chirurgicale des hernies de l'aine. G Doin & Cie, Paris, 1956.
- 佐藤達夫: 鼠径部の解剖. 手術 62:1625-1633, 2008.
- 8) Amid PK: Causes, prevention and surgical treatment of postherniorraphy neuropathic inguinodynia; triple neuroctomy with proximal end implantation. Hernia 8: 343–349, 2004.
- 9) Cooper AP: The Anatomy and Surgical Treatment of Inguinal and Congenital Hernia, T. Cox, 1804; and The Anatomy and Surgical Treatment of Crural and Umbilical Hernia, Part II, London, Longman, Hurst, Rees, and E. Cox, 1807.
- 10) Nyhus LM: Individualization of hernia repair; a new era. Surgery 114: 102, 1993.
- 11) Kraft BM, Kolb H, Kuckuk B et al: Diagnosis and classification of inguinal hernia. Sur Endosc 17: 2021–2024, 2003.
- 12) van den Berg JC, de Valois JC, Go PM et al: Detection of groin hernia with physical examination, ultrasound and MRI compared with laparoscopic findings. Invest Radiol 34: 739–743, 1999.
- 13) Ducharme JC, Bertrand R, Chacar R: Is it possible to diagnose inguinal hernia by X-ray?; a preliminary report on herniography. J Can Assoc Radiol 18: 448–451, 1967.
- 14) Gullmo A: Herniography; the diagnosis of hernia in the groin and incompetence of the pouch of Douglas and pelvic floor. Acta Radiol (Suppl) 361: 1–76, 1980.
- 15) 中嶋 昭,菅野範英,長浜雄志ほか:ヘルニオグラフィーによって術前診断しえた両側閉鎖孔ヘルニアの3例. 臨外45:393-396,1990.
- 16) 菅野範英, 中嶋 昭, 長浜雄志: ヘルニオグラフィ

- ーの成人鼠径部ヘルニア診断における有用性. 日臨外 52:760-764, 1991.
- 17) 中嶋 昭: ヘルニオグラフィー—成人鼠径部ヘルニアの客観的画像診断法. 臨放 40: 457-463, 1995.
- 18) Condon RE: Anterior iliopubic tract repair. Hernia, ed by Nyhus LM, Condon RE, 3rd Ed, Lippincott, Philadelphia, p137–153, 1989.
- 19) Marcy HO: The cure of hernia. JAMA 8: 589–592, 1887.
- 20) Halsted WS: The radical cure of hernia. Johns Hopkins Hosp Bull 1: 12–13, 1889.
- 21) Lotheissen G: Zur Radicaloperation des Schenkelhernien. Zentralbl Chir 25: 548–550, 1898.
- 22) McVay CB: Hernia; The Pathologic Anatomy of the More Common Hernias and Their Anatomic Repair, CC Thomas, Springfield, 1954.
- 23) Shouldice EE: The treatment of hernia. Ontario Med Rev 20: 1–14, 1953.
- 24) Nyhus LM, Condon RE, Harkins HN: Clinical experiences with preperitoneal hernial repair for all types of hernia of the groin. Am J Surg 100: 234–244, 1960.
- 25) Phelps AM: A new operation for hernia. NY Med J 60: 291, 1894.
- 26) Throckmorton TD: Tantalum gauze in the repair of hernias complicated by tissue deficiency. Surgery 23: 32, 1948.
- 27) Mathieson AJM, James JH: A review of inguinal hernia repair using stainless steel mesh. J Roy Coll Surg Edinb 20: 58-62, 1975.
- 28) Usher FC, Gannon JP: Marlex mesh; a new plastic mesh for replacing tissue defects; I. experimental studies. Arch Surg 78: 131–137, 1959
- 29) Stoppa R, Petit J, Henry X: Unsutured dacron prosthesis in groin hernias. Int Surg **60**: 411–412, 1975
- 30) Lichtenstein IL, Shore JM: Simplified repair of femoral and recurrent inguinal hernias by a "plug" technic. Am J Surg 128: 439–444, 1974.
- 31) Gilbert AL: Sutureless repair of inguinal hernia. Am J Surg 163: 331-335, 1992.
- 32) Rutkow IM, Robbins AW: 1669 mesh-plug hernioplasties. Contemp Surg 43: 141, 1993.
- 33) Gilbert AL: A bilayer patch device for ingunal hernia repair. Hernia 3: 161–166, 1999.
- 34) Kugel RD: Minimally invasive, nonlaparoscopic, preperitoneal and sutureless inguinal herniorrhaphy. Am J Surg 178: 298–302, 1999.
- 35) Ger R, Monroe K, Duvivier R et al: Management of indirect inguinal hernias by a laparoscopic closure of the neck of the sac. Am J Surg 159: 370–373, 1990.
- 36) Schultz L, Graber J, Pietrafitta J et al: Laser laparoscopic herniorrhaphy; a clinical trial, preliminary results. J Laparoendosc Surg 1:41–45, 1990.

- 37) Corbitt J: Laparoscopic herniorrhaphy. Surg Laparosc Endosc 1: 23–25, 1991.
- 38) 松本純夫:腹腔鏡下鼠径ヘルニア手術. 手術 47: 645-650, 1993.
- 39) Arregui ME: Laparoscopic prereritoneal herniorrhaphy. Paper presented at: Annual Meeting of American Endoscopic Surgeons. April 18–20, 1991.
- 40) McKernan JB, Laws HL: Laparoscopic repair of inguinal hernias using a totally extraperitoneal prosthetic approach. Surg Endosc 7: 26-28, 1993.
- 41) Phillips EH, Carroll BJ, Fallas MJ: Laparoscopic preperitoneal ingunal hernia repair without peritoneal incision. Surg Endosc 7:159–162, 1993.
- 42) Franklin M: Laboratory rationale for intraperitoneal placement of mesh in ingunal repair: Paper presented at; Hernia 93: advances or controversies, 1993.
- 43) Shulman AG, Amid PK, Lichtenstein IL: A survey of non-expert surgeons using the open tension-free mesh patch repair for primary inguinal hernias. Int Surg 80: 35–36, 1995.

Historical aspects of hernia surgery

Akira Nakashima

Director, Department of Surgery, Hernia center, Nissann Kohseikai Tamagawa Hospital

Summary

The evolution of modern hernia surgery began in late 1880s when the anatomical and surgical studies culminated in a more thorough anatomical understanding of the inguinal region.

Following Bassini's success with hernioplasty (Bassini Repair) in 1884, many procedures for tissue-based repair were developed and carried out over the next 100 years.

The next evolution was established by Lichtenstein in 1986, with his new procedure using polypropylene mesh. Lichtenstein Repair and other procedures with mesh, which were called "tension-free method", have since become the standard method for hernia repair.

Recently, laparoscopic hernia surgery has made steady progress due to its good results and effectiveness for surgical training. The two most common laparoscopic hernia repairs are TAPP (the transabdominal preperitoneal approach) and TEP (total extraperitoneal approach). The Japanese Hernia Association (JHS), which is a research institute focusing on the specialized field of herniology, was established in 2003.

Key Words: tension-free method, myopectineal orifice (MPO), preperitoneal space, preperitoneal fascia, TAPP

内因性カンナビノイドによるシナプス伝達調節

狩野方伸 東京大学大学院医学系研究科神経生理学分野

要旨:マリファナの精神作用は、主として脳内の1型カンナビノイド受容体(CB_1 受容体)を介する。その本来のリガンドである"内因性カンナビノイド"にはアナンダミドと 2-アラキドノイルグリセロール(2-AG)がある。このうち、2-AG は活動依存的にシナプス後ニューロンから産生・放出され、シナプス前終末に存在する CB_1 受容体を活性化し、神経伝達物質の放出を短期あるいは長期に抑制する。この"逆行性シナプス伝達"はさまざまな脳部位でみられ、普遍的なシナプス伝達調節機構であると考えられる。2-AG の産生・放出はシナプス後ニューロンでの細胞内カルシウム濃度上昇、Gq/11 タンパク質共役型受容体の活性化、およびこれらの相乗作用によって引き起こされる。一方、アナンダミドは、いくつかの脳部位でシナプスの長期抑圧に関与すると報告されている。内因性カンナビノイド系は、記憶、不安、痛み、依存症などのさまざまな脳機能に関係している。

Key words: 内因性カンナビノイド, 逆行性シグナル, シナプス, カンナビノイド受容体, 2-アラキドノイル グリセロール, アナンダミド

I. はじめに

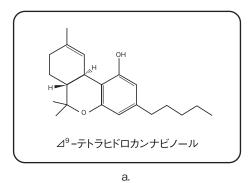
大麻草 (Cannabis sativa) の加工品であるマリファ ナは、千年以上前からリラクゼーションや治療の目的 で用いられてきた、マリファナの摂取は、幻覚、高揚 感,不安の軽減、鎮痛、運動障害などさまざまな精神 神経作用を引き起こすことが知られている. これらの 作用はマリファナに含まれる脂溶性の Δ⁹-テトラヒド ロカンナビノール(Δ^9 -THC)が脳内のカンナビノイ ド受容体に作用して発現する. 生体内でつくられるマ リファナ類似物質(内因性カンナビノイド)が"本来 のリガンド"としてカンナビノイド受容体を活性し、 さまざまな生理機能に関与しているが、 Δ^9 -THC はそ の機能を攪乱することによって、上記のような多様な 精神神経作用を及ぼすと考えられる。内因性カンナビ ノイドの主要な生理機能として、シナプス伝達の制御 が注目されてきたが、とくにこの 2001 年以降にその メカニズムの解明が飛躍的にすすんだ. 本稿では内因 性カンナビノイドによるシナプス伝達調節のメカニズ ムについて概説する.

連絡先:狩野方伸 mkano-tky@m.u-tokyo.ac.jp

II. 内因性カンナビノイドによるシナプス 伝達調節にかかわる分子

1. カンナビノイド受容体

1964 年に Δ⁹-THC が大麻から抽出され,強い精神 神経作用を引き起こすことが明らかとなった1)(図1). Δ^9 -THC のような脂溶性物質がどうして神経機能の変 調を起こすのかについて長い間不明であったが、1990 年になって、Δ⁹-THC を結合する Gi/o 共役型受容体 (カンナビノイド受容体) が同定され、CB₁ 受容体と 名付けられた²⁾. 続いて, 1993年に別のカンナビノ イド受容体(CB₂受容体)の遺伝子がクローニングさ れた. これらは7回膜貫通型の Gi/o タンパク質共役 型受容体であり、CB₁ 受容体は主に中枢神経系の細胞 に発現しており、CB。受容体は主に免疫系の細胞に発 現している. CB₁ 受容体は、脳全体に広く発現してい るが、とくに高次脳機能をつかさどる大脳皮質、記憶 の中枢である海馬、恐怖・情動行動をつかさどる扁桃 体、運動機能を調節している大脳基底核や小脳といっ た脳部位にとくに豊富である3). ニューロンでは、細 胞体や樹状突起における発現は弱く,神経終末に豊富 に存在しており、以下で詳述するようにシナプス伝達 の制御に深くかかわっている.



OR OR OR OR OR OR N-アシル転移酵素 NAPE-PLD NAPE-PLD N+1 アラキドン酸 N+1 N+1

b.

С

図 1. 内因性カンナビノイドの生合成と分解経路(著者原図. 生化学 83:704-714, 2011 より引用改変) $a:\Delta^9$ -テトラヒドロカンナビノール(Δ^9 -THC)の構造式

b: アナンダミドは、ホスファチジルエタノールアミン(PE)から、N-アシル転移酵素とN-アシルホスファチジルエタノールアミン-加水分解ホスホリパーゼ D(NAPE-PLD)という 2 段階の酵素反応によって産生され、脂肪酸アミド加水分解酵素(FAAH)によって、アラキドン酸とエタノールアミンに加水分解される.

c:2-アラキドノイルグリセロール(2-AG)は,膜のリン脂質,とくにホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸から,ホスホリパーゼ C(PLC)とジアシルグリセロールリパーゼ(DGL)という 2 段階の酵素反応によって産生され,主としてモノアシルグリセロールリパーゼ(MGL)によって,アラキドン酸とグリセロールに加水分解される.

グルタミン酸受容体などの一般的な神経伝達物質受 容体のリガンド結合部位が細胞外ドメインにあるのに 対して、CB₁ 受容体のリガンド結合部位は脂質二重膜 内の膜貫通領域にある4). したがって、脂質分子であ る内因性カンナビノイドは細胞膜に溶け込んだ後に膜 内を側方移動し、CB₁ 受容体を活性化させうると考え られる。神経終末での CB₁ 受容体の活性化は Gi/o タ ンパク質を介して電位依存性カルシウムチャンネルを 抑制、あるいは電位依存性および内向き整流性カリウ ムチャンネルを活性化する³⁾. その結果. シナプス前 終末に活動電位が伝導してきた際に生じるカルシウム 流入量が減少し、神経伝達物質の放出が抑制され、シ ナプス伝達が抑えられる. CB₁ 受容体はリガンドに長 く暴露されると、脱感作が起きることや、発現量が低 下することが知られている、海馬培養細胞を使った実 験では、CB₁ 受容体のアゴニストを長期間投与すると、 CB₁ 受容体の発現量が低下することが報告されてい る5). また、同様のアゴニストの長期間投与によって、 CB₁ 受容体が細胞膜上で神経終末のシナプス部からシ ナプス外へ移動することが報告されている 6. これら CB₁ 受容体の down regulation は神経回路の活動の恒 常性を保つための機構であると考えられている.

 CB_1 と CB_2 のほかに、オーファン受容体の一つである GPR55 受容体が、カンナビノイド受容体の一種である可能性が議論されている。 GPR55 受容体は Δ^9 -THC によって活性化される 7 が、 CB_1 受容体のアゴニストとして広く用いられている合成カンナビノイドである WIN55、212-2 を投与しても GPR55 受容体の活性化がみられないことが知られている。この受容体が真にカンナビノイド受容体として機能するかどうか、今後の研究が待たれる。

2. 内因性カンナビノイドとその生合成経路

1990年に CB_1 受容体が同定されると、カンナビノイド受容体に結合する内因性のリガンド(内因性カンナビノイド)が検索された。その結果、1992年にN-アラキドノイルエタノールアミド(アナンダミド)が、1995年に2-アラキドノイルグリセロール(2-AG)が同定された8~10)(図 1).現在、ほかにもいくつかの分子が内因性カンナビノイドの候補として報告されているが、アナンダミドと2-AGが主要な内因性カンナビノイドであると考えられている。2-AG はカンナビノイド受容体の full agonist であるが、アナンダミドはカンナビノイド受容体の partial agonist であり、バニロイド受容体の一つである transient receptor potential vanilloid receptor type 1(TRPV1)のアゴニストとしても働くことが知られている110.

アナンダミドは生化学的に、二つの酵素反応によっ て膜のリン脂質から産生されると考えられている(図 1). まず始めに、N-アシル転移酵素によって、ホス ファチジルエタノールアミン (PE) から N-アラキド ノイル PE が産生される.次に、N-アシルホスファ チジルエタノールアミン-加水分解ホスホリパーゼ D (NAPE-PLD) の働きによって N-アラキドノイル PE が加水分解されて、アナンダミドとホスファチジン酸 が産生される12).アナンダミドの産生はカルシウム 濃度の上昇に依存することが生化学的実験で報告され ている. しかし. NAPE-PLD ノックアウトマウスが 作製され、アナンダミド量が調べられたが、アナンダ ミドの産生に異常が認められなかった13). そのため、 生体内では上記と別のルートによってもアナンダミド が産生されると考えられるが、その経路についてはま だ明らかになっていない.

生化学的には、2-AG は複数の経路で産生されうるが、生体内では次の経路が主要であると考えられている(図 1). 2-AG の源は、rラキドン酸を含む膜のリン脂質、とくにホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸である。第一段階として、ホスホリパーゼ Cによって膜のリン脂質からジアシルグリセロール (DG) が産生される。次に、ジアシルグリセロールリパーゼ (DGL) によって DG から 2-AG が産生される 3.

3. 内因性カンナビノイドの分解

内因性カンナビノイドは、加水分解によって代謝さ れる (図1)14). 加水分解酵素の一つである脂肪酸ア ミド加水分解酵素(FAAH)はシナプス後部ニュー ロンに局在し、主にアナンダミドを分解する. アナン ダミドは FAAH によってアラキドン酸とエタノール アミンに分解される. また、シナプス前終末の細胞質 に局在するモノアシルグリセロールリパーゼ (MGL) は、2-AGを加水分解する酵素である。2-AGは MGL によって、アラキドン酸とグリセロールに分解 される. 最近. 新たに2-AGを分解する酵素として ABHD6と ABHD12が同定された¹⁵⁾. このうち, ABHD6 はシナプス後部ニューロンの細胞膜に存在し、 2-AG を分解すると考えられている。2-AG の 85% が MGL によって分解され、残りがおそらく ABHD6 に よって分解されると考えられている。マウスのミクロ グリア由来の BV-2 細胞で ABHD6 をノックダウンす ると、加水分解された 2-AG 量が減少することが報告 されている 16). また, アナンダミドと 2-AG はシク ロオキシゲナーゼ (COX-2) による酸化反応によっ ても代謝される¹⁴⁾. COX-2 は主にニューロンのシナ

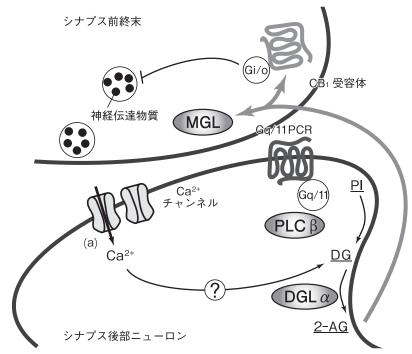


図 2. シナプス後部ニューロンのカルシウム濃度上昇による内因性カンナビノイド放出と逆行性シナプス伝達抑圧(著者原図. 生化学 83:704-714, 2011 より引用改変)

シナプス後部ニューロンの強い脱分極によって、電位依存性カルシウムチャンネルが開き、カルシウムイオンが細胞内に流入する。細胞内のカルシウムイオン濃度が数 μ M に達するとなんらかの経路(?)によってジアシルグリセロール (DG) が産生され、次いでジアシルグリセロールリパーゼ α (DGL α) の働きによって 2-AG が産生される。

2-AG はシナプス後部ニューロンから放出され、シナプス間隙を逆行性に移動してシナプス前終末の CB_1 受容体に結合して活性化し、伝達物質の放出を抑制する。その後、シナプス前部の細胞質に存在する MGL によって加水分解される。図には示していないが、MGL はアストログリアにも存在し、これも 2-AG の加水分解に関与する。

プス後部に存在するといわれている.

Ⅲ. 内因性カンナビノイドによる逆行性シナプス伝達抑圧

CB₁ 受容体が同定され、内因性カンナビノイドが生化学的に検索されていたころ、Llanoらは、小脳のプルキンエ細胞において、"逆行性シナプス伝達抑圧"という現象を発見した。小脳スライスのプルキンエ細胞からホールセル・パッチクランプ記録を行い、プルキンエ細胞を脱分極すると、抑制性シナプスの神経伝達物質である GABA の放出が抑制されるという現象を 1991 年に報告した ¹⁷⁾. GABA の放出の抑制は、シナプス後部ニューロンのカルシウムイオン濃度上昇を阻害することで消失する。したがって、シナプス後部ニューロンのカルシウムイオン流入が引き金になり、なんらかの分子がシナプス後部ニューロンから放出され、それがシナプス前終末に逆行性に作用して GABA の放出を抑制していることが示唆された、翌年、海馬でも同様の現象が発見された ¹⁸⁾. その逆行

性分子の正体としてグルタミン酸や一酸化窒素などが 候補にあげられていたが、決定的な証拠に欠けていた。 ほぼ 10 年が経過した 2001 年に、逆行性分子の正体が 内因性カンナビノイドであることを、筆者の研究室を 含む 3 研究室が同時に報告した $19\sim21$).

その後の研究により、神経活動依存的にシナプス後部ニューロンで内因性カンナビノイドが産生され、それが逆行性シグナルとして働き、シナプス前終末に局在する CB₁ 受容体を活性化することで神経伝達物質の放出を一過性に抑制することが解明された。この現象を逆行性シナプス伝達抑圧と呼ぶ。

以下にこれまでの研究で明らかにされた内因性カン ナビノイド産生を誘導する機構について詳述する.

1. シナプス後部ニューロンのカルシウム濃度上昇に よる内因性カンナビノイド放出と逆行性シナプス伝 達抑圧(図2)

シナプス後部ニューロンに強い脱分極刺激を加える と、電位依存性カルシウムチャンネルが開き、カルシ

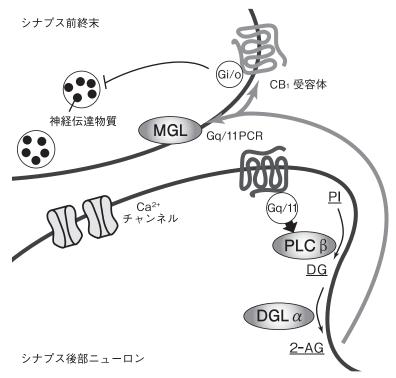


図3. シナプス後部ニューロンの Gq/11 タンパク質共役型受容体の活性 化による内因性カンナビノイド放出と逆行性シナプス伝達抑圧(著者原 図. 生化学83:704-714, 2011 より引用改変)

シナプス後部ニューロンの Gq/11 タンパク質共役型受容体の活性化によって、 $PLC\beta$ が活性化し、ホスファチジルイノシトール(PI)から DG がつくられる. 次いで $DGL\alpha$ の働きによって 2-AG が産生される. その後の 2-AG の働きは図 2 と同様である.

ウムイオンが細胞内に流入する。細胞内のカルシウムイオン濃度が数 μ M に達すると内因性カンナビノイドが産生され、逆行性シナプス伝達抑圧が起きる。この現象は、興奮性シナプスで起きる場合を depolarization-induced suppression of excitation (DSE)、抑制性シナプスで起きる場合を depolarization-induced suppression of inhibition (DSI) という.

DSE/DSIを引き起こす内因性カンナビノイドがアナンダミドであるのか、2-AGであるのかについては、長い間、決着がつけられていなかった。これまでの多くの研究では、2-AGの産生酵素である DGL の阻害剤を用いて DSE/DSI における 2-AG の関与が調べられてきた。しかし、阻害剤の特異性の問題や使用方法の違いのために、研究者間によって相反する結果が報告されていた ^{22~25)}.

筆者らは、DGL のノックアウトマウスを作製し、これらを詳細に解析することでこの論争に終止符を打った $^{26)}$. DGL には DGLa と $DGL\beta$ の二つのサブタイプがある $^{27)}$. 筆者らは、DGLa と $DGL\beta$ それぞれのノックアウトマウスを作製し、小脳、海馬、線条体の興奮性と抑制性シナプスで DSE/DSI がノックアウトマウスで消失しているかどうかを検証した。その結果、DGLa ノックアウトマウスでは上記の三つの脳

部位において DSE/DSI が完全に起きなくなっていること,一方で,DGL β ノックアウトマウスでは DSE/DSI が正常に起きることを明らかにした.すなわち DGL α によって産生される 2-AG が,DSE/DSI を引き起こす逆行性のメッセンジャーであることを証明した.なお,Gao らも筆者らと同時に,DGL α ノックアウトマウスによって海馬における DSI が消失していることを報告した 28 . また,遅れて,Yoshino らもマウスの大脳皮質前頭葉において,DGL α によって産生される 2-AG が DSE/DSI を引き起こすことを報告した 29 . 脱分極刺激によって流入したカルシウムイオンが,どのようにして DGL α を介する 2-AG 産生を誘導するのかについては不明であり,この点に関してはさらなる研究が必要である.

2. シナプス後部ニューロンの Gq/11 タンパク質共 役型受容体の活性化による内因性カンナビノイド放 出と逆行性シナプス伝達抑圧(図3)

2001年に筆者らは、小脳プルキンエ細胞のグループ I 代謝型グルタミン酸受容体の一つである mGluR1 の活性化によって、内因性カンナビノイドを介する逆行性シナプス伝達抑圧が生じることを報告した 300. その後、もう一つのグループ I 代謝型グルタミン酸受

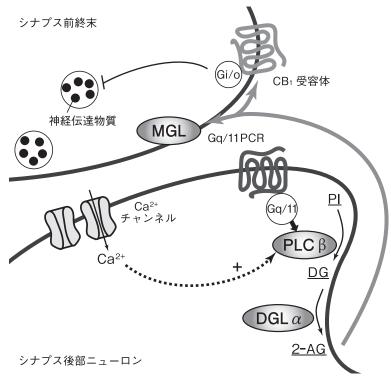


図 4. シナプス後部ニューロンのカルシウムイオン濃度上昇と Gq/11 タンパク質共役型受容体活性化の相乗効果による内因性カンナビノイド放出と逆行性シナプス伝達抑圧(著者原図. 生化学 83:704-714, 2011 より引用改変)

単独では 2-AG 産生を起こさない程度の弱い脱分極とそれによるカルシウム濃度上昇と、やはり単独では 2-AG 産生を起こさない程度の弱い Gq/11 タンパク質共役型受容体の活性化が同時に起こると、 $PLC\beta$ が活性化し、ホスファチジルイノシトール(PI)から DG がつくられる. 次いで $DGL\alpha$ の働きによって 2-AG が産生される. その後の 2-AG の働きは図 2、3 と同様である.

容体である mGluR5 や M₁/M₃ ムスカリン受容体の活 性化によっても、内因性カンナビノイドを介する逆行 性シナプス伝達抑圧が生じることが報告された 31). これらはいずれも Gg/11 タンパク質共役型受容体で あり、シナプス後部ニューロンに存在している。また、 シナプス後部ニューロンでカルシウムイオン濃度上昇 が起こらない条件でも、逆行性シナプス伝達は影響を 受けないことから、この場合の内因性カンナビノイド 産生にカルシウム濃度上昇は必要ないことがわかる. 上記の Ga/11 タンパク質共役型受容体が活性化され ると、その下流にある PLC が活性化され、PLC-DGL αの経路で内因性カンナビノイドである 2-AG が産生 される. オキシトシン受容体やセロトニンの 5-HT, 受容体といった Gq/11 タンパク質共役型受容体の活 性化によって 2-AG が産生されることが視床下部や延 髄の下オリーブ核で報告されている^{32,33)}. また, 筆 者らは、海馬の分散培養細胞で、同じく Gg/11 タン パク質共役型受容体である protease-activated receptor-1 の活性化でも 2-AG の産生が起き、抑制性シナ プスにおいて逆行性シナプス伝達抑圧が起きることを

報告した 34).

3. シナプス後部ニューロンのカルシウムイオン濃度 上昇と Gq/11 タンパク質共役型受容体活性化の相 乗効果による内因性カンナビノイド放出と逆行性シ ナプス伝達抑圧(図4)

弱い脱分極や、アゴニストによる閾値以下の弱い受容体の活性化という、それぞれ単独では 2-AG の産生が起きないような刺激でも、両者を同時に与えると 2-AG が効率よく産生され、逆行性シナプス伝達抑圧が起きる。これは、PLC の活性がカルシウムによって促進されるために、弱い受容体の活性化でも 2-AG が産生されることによる 31,35). 実際の生理的な条件下では、シナプス活動によってこれらの条件を満たす状況が頻繁にみられると考えられる。すなわち、シナプス前部の活動上昇による伝達物質放出がシナプス後部の Gq/11 タンパク質共役型受容体の活性化を引き起こし、同時に、シナプス後部ニューロンの活動上昇による脱分極が細胞内カルシウム濃度上昇を引き起こすという状況である。とくに興奮性シナプスにおいて

は、放出されたグルタミン酸によって、シナプス後部の mGluR1/5 の活性化と細胞内カルシウム濃度上昇が同期することが頻繁に起こりうることを考慮すると、この "相乗効果による逆行性シナプス伝達抑圧" がもっとも生理的な現象であることが予想される. 実際に小脳の平行線維とプルキンエ細胞間の興奮性シナプスにおいて、平行線維の高頻度刺激によって放出されたグルタミン酸が、プルキンエ細胞の mGluR1 と AMPA 型グルタミン酸受容体を活性化し、後者による脱分極と樹状突起のカルシウム濃度上昇が mGluR1 活性化と同時に起こることによって、2-AG 産生を引き起こすことが示されている 35).

4. 内因性カンナビノイドによる逆行性シナプス伝達 抑圧の終息

シナプス後部のニューロンから放出され、シナプス 前部の CB、受容体に作用して逆行性シナプス伝達抑 圧を引き起こした 2-AG は、主として MGL によって 加水分解されてその作用を終える. したがって. MGL の局在が逆行性シナプス伝達抑圧の強さや持続 時間に大きく影響するだろうと予測されていた. MGL は、脳の中で特定のニューロン種のシナプス前 終末の細胞質に強く発現しているが、MGLが発現し ていないシナプス前終末も混在している. また, アス トログリアにも発現していることが知られてい る 36,37). 最近筆者らは、小脳において、MGL が強く 発現するシナプスと発現していないシナプスの逆行性 シナプス伝達抑圧の持続時間を調べたところ. MGL ノックアウトマウスにおいて, いずれのシナプスにお いても、その持続時間が同じ程度延長しているという 意外な事実を発見した36).また、小脳皮質において、 アストログリアでのみ MGL が発現するコンデイショ ナルノックアウトマウスを調べたところ、野生型マウ スに比較して逆行性シナプス伝達抑圧の持続時間が延 長していた36). この結果から、逆行性シナプス伝達 抑圧を引き起こした 2-AG は、そのシナプス特異的に 分解されるのではなく. 一部のシナプス前終末やアス トログリアに発現している MGL によって、シナプス 非選択的に分解されるのであろうと考えられる.

5. "on-demand 2-AG synthesis model"と"preformed 2-AG pool model"はどちらが正しいか?

2-AG はカルシウム上昇などの刺激がニューロンに与えられた際に、そのつど、膜脂質から生合成されて放出されると考えられてきた(on-demand 2-AG synthesis model). しかし最近、長く信じられてきたこのモデルが妥当ではないのではないかという反論が起

こり、別のモデルが提唱された、これは、DGLa に よって生合成された2-AGは細胞内に貯えられており、 細胞に刺激が加わると貯えられた 2-AG が DGLαと は関係ないメカニズムで放出される (pre-formed 2-AG pool model) というものであった ^{38,39)}. この根拠 となったデータは、DGLa ノックアウトマウスでは2 -AGによる逆行性シナプス伝達抑圧が完全に消失す るのに対し^{26, 28, 29)}, DGL 阻害薬を用いた実験では、 一部逆行性シナプス伝達抑圧が消失しない場合がある というものである 40,41). 実は、DGL 阻害薬の逆行性 シナプス伝達抑圧に対する効果に関しては、これまで の報告で一致した見解が得られておらず、研究者や実 験条件によって、異なった結果が報告されていた、筆 者らは、DGL 阻害薬が脂溶性物質であるために、脳 スライスにきわめて浸透しにくいことを認識しており, これまでの結果の不一致は、研究対象としているシナ プス部位に十分に阻害薬が到達していない状態で記録 したデータが混在しているためではないかと考えた. 新たに開発された DGL 阻害薬を用い、これが十分に 脳組織に行き渡るような条件で、海馬、小脳、大脳基 底核線条体のスライスにおいて調べたところ、これら のすべてにおいて、カルシウム上昇または Gg/11 タ ンパク質共役型受容体活性化による逆行性シナプス伝 達抑圧が完全にブロックされた 42). また, 海馬の培 養標本では細胞が直接、細胞外液に接しているために、 DGL 阻害薬を直接対象とする細胞に与えることがで きるという利点を活かし、どの程度の時間で効果が表 れるかを調べた、その結果、わずか2分間で、DGL 阻害薬は逆行性シナプス伝達抑圧をほぼ完全にブロッ クすることが明らかとなった⁴²⁾. この結果は、"ondemand 2-AG synthesis model"が正しいことを強く 示唆している.

Ⅳ. 内因性カンナビノイドによる長期 シナプス可塑性(図5)

これまで述べてきた逆行性シナプス伝達抑圧は,数十秒程度持続する一過性の現象であるが,このような短期シナプス可塑性だけではなく,シナプス伝達効率が数十分にわたって低下する長期抑圧(long-term depression: LTD)にも内因性カンナビノイドが寄与することが明らかにされた⁴³⁾. 内因性カンナビノイドによるLTD は脳のさまざまな部位で報告されており,興奮性シナプスでは背側線条体,大脳皮質,側坐核,小脳,海馬,背側蝸牛神経核などで報告されている^{23,44~48)}. 一方,抑制性シナプスでは,扁桃体と海馬での報告がある^{22,49)}. 内因性カンナビノイドによるLTD を誘導するためには,LTD 誘発刺激中に内

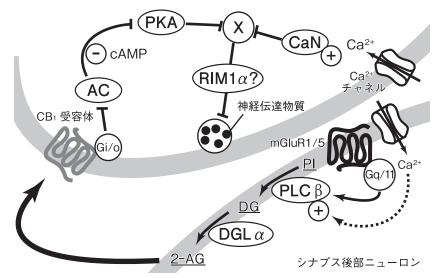


図 5. 内因性カンナビノイドによる長期シナプス可塑性

グルタミン酸作動性の入力線維の繰り返し刺激によって、シナプス後部で mGluR1/5、PLC β 、DGL α のカスケードが働いて 2-AG が産生され、シナプス 前部の CB、受容体を活性化する。これが 5~10 分続くと、シナプス前終末のアデニリルシクラーゼ(AC)とプロテインキナーゼ A の活性抑制が引き起こされ、未同定のタンパク質(X)の脱リン酸化が起こる。また LTD が起こるためには、シナプス前終末の活動によって流入したカルシウムがカルシウム依存性の脱リン酸化酵素である calcineurin(CaN)を活性化することが必須とされている。さらに X の下流に RIM1 α が関与すると考えられており、最終的に伝達物質放出が数十分以上にわたって持続的に抑圧される。

因性カンナビノイドが産生され CB₁ 受容体が持続的に活性化されることが必須である。また、これまでに報告された内因性カンナビノイド依存的な LTD は、小脳プルキンエ細胞を除く脳部位のすべてにおいて、シナプス前終末からの神経伝達物質放出の持続的抑圧によることが明らかになっている。これまでの報告によると、これらの LTD はほとんどが 2-AG を介するものであり、シナプス後部ニューロンからの 2-AG 放出のメカニズムは、これまで述べてきた短期シナプス可塑性の際のメカニズムと基本的に同じである。ここでは、もっとも研究がすすんでいる海馬の内因性カンナビノイド依存的 LTD を中心に紹介する。

海馬 CA1 錐体細胞の抑制性シナプスにおいて、内因性カンナビノイド依存的 LTD が起きることを Chevaleyre と Castillo らが発見した $^{22)}$. この LTD は放射状層を高頻度刺激することによって抑制性シナプスで誘導される. 彼らは、さまざまな薬理学的実験からmGluR1/5 と CB₁ 受容体の活性化がこの LTD に必須であることを明らかにした. mGluR1/5 の下流には、PLC β -DGL α を介する 2-AG 産生経路がある. 彼らはさらに、PLC と DGL を薬理的に阻害すると LTDが起こらないことを示した. 以上のことから、高頻度刺激によって mGluR1/5 が活性化されると 2-AG が

産生・放出され、抑制性シナプスに存在する CB₁ 受 容体が活性化されて LTD が誘導されると考えられて いる. ここで疑問に上がるのは、LTD が発現する抑 制性シナプスから放出される GABA は mGluR1/5 を 活性化できないのに、なぜ 2-AG が産生されるのかと いうことである. mGluR1/5の活性化には、いうまで もなくグルタミン酸が必要である. 放射状層には興奮 性の軸索が豊富に存在していることから、この部位の 高頻度刺激は興奮性シナプス終末からのグルタミン酸 放出を引き起こし、その結果、mGluR1/5が活性化さ れることで2-AGの産生を誘導していることが予測さ れた. 実際に、興奮性の入力がほとんどない錐体細胞 層を高頻度刺激しても LTD は誘発されなかったこと から、LTD を誘導する 2-AG 産生源は興奮性シナプ スであると考えられる. 以上の実験事実から、海馬 CA1 錐体細胞の抑制性シナプスにおける内因性カン ナビノイド依存的 LTD は、興奮性シナプス部位で産 生された2-AGが抑制性シナプス終末にあるCB、受 容体を活性化して起きる異シナプス性の LTD である と考えられている22).

海馬の内因性カンナビノイド依存的 LTD では、 LTD 誘導刺激後 $5\sim10$ 分間の CB_1 受容体の活性化が 引き金となり、シナプス前終末からの GABA の放出 が長期的に低下することで生ずる。図 5 に示すように、これには、ある未同定のタンパク質(X)の脱リン酸化と RIM1a、および抑制性ニューロンの活動が必須であることが報告されている 50,51).抑制性ニューロンの活動によってシナプス前終末に流入したカルシウムがカルシウム依存性の脱リン酸化酵素である calcineurin を活性化することが必須とされている.これは、シナプス後部ニューロンから放出された 2-AGが、そのときに活動している抑制性シナプス前終末だけに選択的に LTD を引き起こすためのメカニズムであると考えられる(図 5).

2-AGを介するLTDのほかに、海馬歯状回の顆粒 細胞に入力する貫通線維の興奮性シナプスにおいて、 アナンダミドが TRPV1 受容体を介してシナプス後部 ニューロン性にLTDを引き起こすことが見出され た $^{52)}$. このLTD の誘導には CB_1 受容体の活性化は不 要で、シナプス後部ニューロンで産生されたアナンダ ミドがシナプス後部ニューロンに局在する TRPV1 受 容体を活性化し、AMPA 受容体の細胞内への取り込 みを引き起こすことによって生ずると報告されている. 側坐核でもアナンダミドによって同様の LTD が起き ることが同時期に報告されている53). TRPV1 受容体 の活性化から AMPA 受容体の取り込みまでのメカニ ズムはいまだ不明であるが、このアナンダミドによる LTD は、これまで報告されてきた内因性カンナビノ イドによる LTD とは独立して起こるとされている. 線条体においては、2-AG が短期的なシナプス伝達抑 圧とLTD に関与するが、分界条床核においては、ア ナンダミドが短期的なシナプス伝達抑圧と LTD に関 与するという報告もある⁵⁴⁾.

Ⅴ. 内因性カンナビノイド系の生理的役割

Gq/11 タンパク質共役型受容体、PLC、DGL α 、MGL などの 2-AG の産生と分解にかかわる酵素と CB_1 受容体の発現量や分布が内因性カンナビノイド (2-AG) シグナルの調節に影響を与えることは、先に述べたとおりである。最近になって、生育環境や経験などの外的要因が、2-AG シグナル関連分子の活性や発現を調節したり、2-AG 産生や CB_1 受容体の発現量に変化をもたらしうることが明らかになってきた。

生後21日齢のラットを社会的に隔離すると、海馬で CB_1 受容体、DGL、MGL の mRNA レベルが上昇することが報告されている $^{55)}$. また、恐怖刺激を与えた翌日には、側坐核の中心核で CB_1 受容体の発現量が上昇し、DSE がより強く起きるようになることも報告されている $^{56)}$. 視床下部では慢性的な拘束ス

トレスによって、ストレスホルモンであるコルチコス テロン量が上昇すると、Gq/11 タンパク質共役型受 容体であるコルチコステロイド受容体を介する 2-AG の産生が増強される。そのため、視床下部で CB₁ 受 容体の脱感作および発現量の低下が引き起こされ、結 果として DSE/DSI が起こらなくなることが報告され ている ⁵⁷⁾. さらに, CB₁ 受容体の阻害薬を動物に投 与しておくと薬物依存になりにくいことから、薬物依 存の形成に内因性カンナビノイドシグナルが重要な役 割をはたすことが知られている 58). エタノールをラ ットに与えると、報酬系回路の一部を担う側坐核で2 -AG 量が増加する. 一方, モルヒネやヘロインは側 坐核の 2-AG 量を減少させる ^{59,60)}. 2-AG 量が増減す る原因の詳細は不明であるが、薬物の作用機序によっ て内因性カンナビノイドシグナルの役割が異なってい ることが示唆される. これらの研究は、環境・経験依 存的に内因性カンナビノイドシグナルが変化すること で、神経細胞に入力する情報を調節していることを示

M. 結 語

2001 年に内因性カンナビノイドがシナプス伝達を 逆行性に調節していることが明らかになってから,12 年ほどの間に,その分子メカニズムの理解はかなりす すんだが,まだ未解決の問題も多く残されている.た とえば,大きな疑問の一つとして,内因性カンナビノイドはどのようにニューロンから放出され,シナプス 間隙を移動してシナプス前終末の CB_1 受容体に作用 するのかについては,明らかになっていない.以前から,内因性カンナビノイドのトランスポーターが存在 するという研究報告がなされているが,そのトランスポーターの分子実体は依然として不明である.

内因性カンナビノイド系の生理的機能に関しては, 記憶,認知,不安,痛み,肥満や依存症などのさまざ まな脳機能にかかわることがわかっている.しかし, 実際に生体内で内因性カンナビノイドシグナルが,い つどのように機能することで,行動の表出につながる のかはまだ不明な点が多い.電気生理学,細胞・分子 生物学,生化学,行動学的解析を有機的に組み合わせ ることによって,内因性カンナビノイド系の脳機能に おける役割の理解がすすむことが期待される.

文 献

- 1) Gaoni Y, Mechoulam R: Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. J Am Chem Soc 86: 1646-1647, 1964.
- 2) Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein M et al: Struc-

- ture of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. Nature **346**: 561–564, 1990.
- Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimotodani Y et al: Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. Physiol Rev 89: 309–380, 2009.
- Song ZH, Bonner TI: A lysine residue of the cannabinoid receptor is critical for receptor recognition by several agonists but not WIN55212-2. Mol Pharmacol 49: 891-896, 1996.
- 5) Coutts AA, Anavi-Goffer S, Ross RA et al: Agonist-induced internalization and trafficking of cannabinoid CB1 receptors in hippocampal neurons. J Neurosci 21: 2425–2433, 2001.
- 6) Mikasova L, Groc L, Choquet D et al: Altered surface trafficking of presynaptic cannabinoid type 1 receptor in and out synaptic terminals parallels receptor desensitization. Proc Natl Acad Sci USA 105: 18596–18601, 2008.
- Ryberg E, Larsson N, Sjogren S et al: The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. Br J Pharmacol 152: 1092–1101, 2007.
- 8) Devane WA, Hanus L, Breuer A et al: Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. Science 258: 1946–1949, 1992.
- 9) Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A et al: 2-Arachidonoylglycerol; a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. Biochem Biophys Res Commun 215: 89-97, 1995.
- 10) Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L et al: Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. Biochem Pharmacol 50: 83-90, 1995.
- 11) Starowicz K, Nigam S, Di Marzo V: Biochemistry and pharmacology of endovanilloids. Pharmacol Ther 114: 13–33, 2007.
- 12) Cadas H, di Tomaso E, Piomelli D: Occurrence and biosynthesis of endogenous cannabinoid precursor, N-arachidonoyl phosphatidylethanolamine, in rat brain. J Neurosci 17: 1226-1242, 1997.
- 13) Leung D, Saghatelian A, Simon GM et al: Inactivation of N-acyl phosphatidylethanolamine phospholipase D reveals multiple mechanisms for the biosynthesis of endocannabinoids. Biochemistry 45: 4720-4726, 2006.
- 14) Vandevoorde S, Lambert DM: The multiple pathways of endocannabinoid metabolism; a zoom out. Chem Biodivers 4: 1858–1881, 2007.
- 15) Blankman JL, Simon GM, Cravatt BF: A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. Chem Biol 14: 1347-1356, 2007.
- 16) Marrs WR, Blankman JL, Horne EA et al: The serine hydrolase ABHD6 controls the accumulation and efficacy of 2-AG at cannabinoid recep-

- tors. Nat Neurosci 13: 951-957, 2010.
- 17) Llano I, Leresche N, Marty A: Calcium entry increases the sensitivity of cerebellar Purkinje cells to applied GABA and decreases inhibitory synaptic currents. Neuron 6: 565–574, 1991.
- 18) Pitler TA, Alger BE: Postsynaptic spike firing reduces synaptic GABA_A responses in hippocampal pyramidal cells. J Neurosci 12: 4122–4132, 1992.
- 19) Kreitzer AC, Regehr WG: Retrograde inhibition of presynaptic calcium influx by endogenous cannabinoids at excitatory synapses onto Purkinje cells. Neuron 29: 717–727, 2001.
- 20) Wilson RI, Nicoll RA: Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. Nature 410: 588–592, 2001.
- 21) Ohno-Shosaku T, Maejima T, Kano M: Endogenous cannabinoids mediate retrograde signals from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals. Neuron 29: 729–738, 2001.
- 22) Chevaleyre V, Castillos PE: Heterosynaptic LTD of hippocampal GABAergic synapses; a novel role of endocannabinoids in regulating excitability. Neuron 38: 461–472, 2003.
- 23) Safo PK, Regehr WG: Endocannabinoids control the induction of cerebellar LTD. Neuron 48: 647 –659. 2005.
- 24) Szabo B, Urbanski MJ, Bisogno T et al: Depolarization-induced retrograde synaptic inhibition in the mouse cerebellar cortex is mediated by 2–arachidonoylglycerol. J Physiol 577: 263–280, 2006
- 25) Hashimotodani Y, Ohno-Shosaku T, Maejima T et al: Pharmacological evidence for the involvement of diacylglycerol lipase in depolarization-induced endocanabinoid release. Neuropharmacology 54: 58–67, 2008.
- 26) Tanimura A, Yamazaki M, Hashimotodani Y et al: The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol produced by diacylglycerol lipase *a* mediates retrograde suppression of synaptic transmission. Neuron 65: 320–327, 2010.
- 27) Bisogno T, Howell F, Williams G et al: Cloning of the first sn1-DAG lipases points to the spatial and temporal regulation of endocannabinoid signaling in the brain. J Cell Biol 163: 463-468, 2003.
- 28) Gao Y, Vasilyev DV, Goncalves MB et al: Loss of retrograde endocannabinoid signaling and reduced adult neurogenesis in diacylglycerol lipase knock-out mice. J Neurosci 30: 2017–2024, 2010.
- 29) Yoshino H, Miyamae T, Hansen G et al: Postsynaptic diacylglycerol lipase mediates retrograde endocannabinoid suppression of inhibition in mouse prefrontal cortex. J Physiol 589: 4857–4884, 2011.
- 30) Maejima T, Hashimoto K, Yoshida T et al:

- Presynaptic inhibition caused by retrograde signal from metabotropic glutamate to cannabinoid receptors. Neuron 31: 463–475, 2001.
- 31) Hashimotodani Y, Ohno-Shosaku T, Tsubokawa H et al: Phospholipase Cβ serves as a coincidence detector through its Ca²⁺ dependency for triggering retrograde endocannabinoid signal. Neuron 45: 257–268, 2005.
- 32) Oliet SH, Baimoukhametova DV, Piet R et al: Retrograde regulation of GABA transmission by the tonic release of oxytocin and endocannabinoids governs postsynaptic firing. J Neurosci 27: 1325–1333, 2007.
- 33) Best AR, Regehr WG: Serotonin evokes endocannabinoid release and retrogradely suppresses excitatory synapses. J Neurosci 28: 6508-6515, 2008.
- 34) Hashimotodani Y, Ohno-Shosaku T, Yamazaki M et al: Neuronal protease-activated receptor 1 drives synaptic retrograde signaling mediated by the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. J Neurosci 31: 3104-3109, 2011.
- 35) Maejima T, Oka S, Hashimotodani Y: Synaptically driven endocannabinoid release requires Ca^{2+} -assisted metabotropic glutamate receptor subtype 1 to phospholipase $C\beta 4$ signaling cascade in the cerebellum. J Neurosci 25: 6826–6835, 2005.
- 36) Tanimura A, Uchigashima M, Yamazaki M et al: Synapse type-independent degradation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol after retrograde synaptic suppression. Proc Natl Acad Sci USA 109: 12195–12200, 2012.
- 37) Uchigashima M, Yamazaki M, Yamasaki M et al: Molecular and morphological configuration for 2-arachidonoylglycerol-mediated retrograde signaling at mossy cell-granule cell synapses in the dentate gyrus. J Neurosci 31:7700-7714, 2011.
- 38) Alger BE, Kim J: Supply and demand for endocannabinoids. Trends Neurosci 34: 304–315, 2011.
- 39) Min R, Di Marzo V, Mansvelder HD: DAG lipase involvement in depolarization-induced suppression of inhibition; does endocannabinoid biosynthesis always meet the demand? Neuroscientist 16: 608–613, 2010.
- 40) Edwards DA, Kim J, Alger BE: Multiple mechanisms of endocannabinoid response initiation in hippocampus. J Neurophysiol 95: 67–75, 2006.
- 41) Szabo B, Urbanski MJ, Bisogno T et al: Depolarization-induced retrograde synaptic inhibition in the mouse cerebellar cortex is mediated by 2–arachidonoylglycerol. J Physiol 577: 263–280, 2006.
- 42) Hashimotodani Y, Ohno-Shosaku T, Tanimura A et al: Acute inhibition of diacylglycerol lipase blocks endocannabinoid-mediated retrograde sig-

- nalling; evidence for on-demand biosynthesis of 2 –arachidonoylglycerol. J Physiol **591**: 4765–4776, 2013.
- 43) Hashimotodani Y, Ohno-Shosaku T, Kano M: Endocannabinoids and synaptic function in the CNS. Neuroscientist 13: 127–137, 2007.
- 44) Gerdeman GL, Ronesi J, Lovinger DM: Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. Nat Neurosci 5: 446–451, 2002.
- 45) Lafourcade M, Elezgarai I, Mato S et al: Molecular components and functions of the endocannabinoid system in mouse prefrontal cortex. PLoS One 2: E709, 2007.
- 46) Robbe D, Kopf M, Remaury A et al: Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. Proc Natl Acad Sci USA 99: 8384–8388, 2002.
- 47) Yasuda H, Huang Y, Tsumoto T: Regulation of excitability and plasticity by endocannabinoids and PKA in developing hippocampus. Proc Natl Acad Sci USA 105: 3106–3111, 2008.
- 48) Tzounopoulos T, Kim Y, Oertel D et al: Cell-specific, spike timing-dependent plasticities in the dorsal cochlear nucleus. Nat Neurosci 7:719 –725, 2004.
- 49) Marsicano G, Wotjak CT, Azad SC et al: The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. Nature 418: 530–534, 2001.
- 50) Chevaleyre V, Heifets BD, Kaeser PS et al: Endocannabinoid-mediated long-term plasticity requires cAMP/PKA signaling and RIM1α. Neuron 54: 801–812, 2007.
- 51) Heifets BD, Chevaleyre V, Castillo PE: Interneuron activity controls endocannabinoid-mediated presynaptic plasticity through calcineurin. Proc Natl Acad Sci USA 105: 10250–10255, 2008.
- 52) Chavez AE, Chiu CQ, Castillo PE: TRPV1 activation by endogenous anandamide triggers post-synaptic long-term depression in dentate gyrus. Nat Neurosci 13: 1511–1518, 2010.
- 53) Grueter BA, Brasnjo G, Malenka RC: Postsynaptic TRPV1 triggers cell type-specific long-term depression in the nucleus accumbens. Nat Neurosci 13: 1519–1525, 2010.
- 54) Puente N, Cui Y, Lassalle O et al : Polymodal activation of the endocannabinoid system in the extended amygdala. Nat Neurosci 14: 1542–1547, 2011.
- 55) Robinson SA, Loiacono RE, Christopoulos A et al: The effect of social isolation on rat brain expression of genes associated with endocannabinoid signaling. Brain Res 1343: 153–167, 2010.
- 56) Kamprath K, Romo-Parra H, Haring M et al: Short-term adaptation of conditioned fear responses through endocannabinoid signaling in the

- central amygdala. Neuropsychopharmacology **36**: 652–663, 2011.
- 57) Wamsteeker JI, Kuzmiski JB, Bains JS: Repeated stress impairs endocannabinoid signaling in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. J Neurosci 30: 11188–11196, 2010.
- 58) Maldonado R, Valverde, O, Berrendero F: Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. Trends Neurosci **29**: 225–232, 2006.
- 59) Caille S, Alvarez-Jaimes L, Polis I et al: Specific alterations of extracellular endocannabinoid levels in the nucleus accumbens by ethanol, heroin, and cocaine self-administration. J Neurosci 27: 3695–3702, 2007.
- 60) Vigano D, Valenti M, Cascio MG et al: Changes in endocannabinoid levels in a rat model of behavioural sensitization to morphine. Eur J Neurosci **20**: 1849–1857, 2004.

Modulation of synaptic transmission by endocannabinoids

Masanobu Kano

Department of Neurophysiology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

Summary

Various psychoactive effects of marijuana are mediated mainly by type 1 cannabinoid receptors (CB₁Rs) in the brain. Endogenous ligands for CB₁R ("endocannabinoids") are lipid in nature and include anandamide and 2–arachidonoylglycerol (2–AG), which are regarded as the two major endocannabinoids. Endocannabinoids, especially 2–AG, are released from postsynaptic neurons in activity-dependent manners, retrogradely activate presynaptic CB₁Rs, and cause short-term or long-term suppression of synaptic transmission. This 2–AG-mediated retrograde suppression of synaptic transmission is observed at various brain regions and is considered as a general mechanism of synaptic modulation in the brain. 2–AG release is triggered by postsynaptic Ca²⁺ elevation, activation of Gq/11-protein coupled receptors, or synergy of these two events. On the other hand, anandamide is reported to mediate long-term depression of synaptic transmission in several brain regions. The endocannabinoid system is involved in a variety of brain functions including memory, anxiety, pain, and addiction.

Key words: endocannabinoid; retrograde signal; synapse; cannabinoid receptor; 2-arachidonylg-lycerol; anandamide

SaaS/クラウド型電子カルテで, 医療と介護, 病院と在宅をつなぐ

姫野 信吉 医療法人八女発心会 理事長

要旨:慢性疾患や認知症患者の増大により、継続的なケアの必要性が増してきた.長期間にわたる多施設、多職種連携間の情報共有は必須である.ウェブサービスという技術の普及により、従来は困難であった情報連携が、SaaS/クラウドという形で安価かつ容易に実現できるようになった.この仕組みは、災害医療でも有用である.

Key words: SaaS, クラウド, 電子カルテ, 情報連携, 職種間連携, 介護, 在宅医療, 災害医療

I. はじめに

1977 (昭和52) 年に本学を卒業した筆者は、学生時代のかなりの時間を難治疾患研究所臨床薬理研究室で、佐久間昭教授が学生に開放してくれていた、当時最新鋭のデスクトップコンピュータにかじりついて過ごしていた。俗にいう"PCオタク"のはしりである。多変量統計解析から入り、有限要素法による力学解析、状態方程式という連立一次微分方程式で表現された動作系の数値シミュレーションなどなど、理学、工学系の教科書と首っ引きでプログラムを書き、機械を動かして遊んでいた。幸い、これらの基礎のうえで、専攻した整形外科の分野において一定の貢献ができたことは望外の喜びであった。

1991年7月に東京女子医科大学を辞して地元福岡県八女郡に戻り,55床の兄の病院を引き継いだ.情報システムの欠如のために起こる無駄な作業,頻発する作業ミスなど解決すべき問題が山積していた.1995年,140床の新病棟の完成に合わせ,オーダリングシステムを稼働させた.医師記事や看護記録も電子化し,併せて1997年からインターネットを介したカルテ開示システムを稼働させた.この試みは日本でもっとも早い事例に属する.当時,田舎の弱小民間病院は,電子カルテベンダーの営業対象外であったため,否応なしに自力開発/導入をすすめざるをえなかった.結果

連絡先:姫野信吉 shinkichi@himeno.or.jp

的には、ベンダーに囲い込まれることなく、最新で融 通性の高いオープンなシステムを安価で導入/運用す ることができた.

わが国の高齢化は急速にすすみ、複数の慢性疾病を 有し、認知症を合併した複雑な病像の高齢者が激増し てきた.同一医療機関ですべてが完結する時代は終わり、急性期、亜急性/回復期、慢性期、介護機関、在 宅を移動しながら必要な医療、介護を受けることとなった。複雑な病像、病歴などの把握、それに対応する 計画の策定には大変な時間と労力を要する。実際、当 院で計測したところ、新規入院患者1人に対し、担当 看護師が3時間かかっていた。この作業を移動のたび に繰り返していたら、とても業務が回らない。

この事態に対処するためには、長期間にわたる医療や介護記録を(時間の壁)、医師や看護師のみならず、介護士、リハビリテーションセラピスト、薬剤師等々多数の職種間で(職種間の壁)、しかも病院、施設、在宅にわたって(所在地の壁)、壁を超えて共有することが、接続コストを減らし見落としを減らすために必須である。途方もない夢物語と感じる方も多いかもしれない。本論文の目的は、この"夢物語"の実現に必要な技術は、すでに開発すみで実地運用を開始しており、費用も経営的に採算に合う状況にあることをご理解いただくことである。

まず,他施設との共有の前提条件として,自院内の 多職種間共有が必須であることを示す.施設間共有で は,自院の使い慣れた画面構成で,自院のデータと他 院のデータを並行表示することが理想である.そこま



図1. 当院の外来風景

でにいたらない段階では、他院のカルテの全情報を、たとえ文書の種類や項目立てが異なっていたとしても、容易に取得できることが重要である。在宅での情報共有は、紙媒体で運用されている連絡ノートの電子化から入るのが近道である。これらの運用形態は、きたるべき広域大災害の際、自院および近隣地域医療の事業継続のみならず、被災地支援に転用できることを示す。

Ⅱ. 自院内の情報共有

他施設との情報共有以前に、自院内の時間の壁、職種間の壁を取り払っておかなければ話にならない。筆者の運営する姫野病院、介護老人保健施設「舞風台」を例にとり解説する。

まず、"SaaS (サース: Software as a Service)/ク ラウド (Cloud) 型電子カルテとはなにか?"から簡 単に紹介しておきたい. SaaSとは、PC に標準添付さ れている、あるいは無償で入手できるウェブブラウザ を用い, ウェブの通信様式を介して, サーバー側に用 意されている標準形式のサービス (ウェブサービス: web service) を利用する形態である. クラウドと は、ウェブサービスなどを提供しているサーバー群が ウェブの向こう側にあり、ユーザーからみると、サー バーの物理的な位置を気にしなくてよい状態にあるこ とをいう、SaaS/クラウド型電子カルテとは、必ずし も院内にあるとは限らない電子カルテサーバーが、さ まざまな電子カルテ機能をウェブサービスの形で提供 し、医療スタッフは、PC 付属のウェブブラウザを用 いて、必要に応じて院内外の電子カルテウェブサービ スを利用するという形態の電子カルテシステムである (図5参照). この利用形態は、導入/運用コストが従 来の数分の1ですみ、ドラッグ・ドロップに代表され

る親しみやすい操作性で、施設の外でも電子カルテを 使える利点がある。

図1は、当院の外来ブース内の一光景である。医師、看護師、メディカルクラーク(medical clerk)の3人でユニットを組み、外来診療にあたっている。医師は診察、処置を行いながら医師記事を入力する。オーダー系の入力は、医師の口頭指示に基づき、メディカルクラークが担当している。

当院で運用している電子カルテ OpenNetKarte では同時並行入力が可能なので、医師が記事を入力しているときでも、同時に並行してクラークによるオーダー入力が行われる.入院が決まると、病棟のスタッフの準備入力も始まる.これにより、外来の診察効率が約5割向上している.

入院診療計画書や紹介状の返事を書くときには、メディカルクラークの ICD コード付き病名入力が終わると同時に、その病名オブジェクトを自分の端末 PC に呼び出す。そして、文書内の病名表示領域に、病名オブジェクトの中の必要なデータをドラッグ・ドロップするだけで、それらの書類を短時間で作成することができる。

旧来の電子カルテでは、ある患者のカルテを誰かが編集モードで開いたら、他のスタッフは同じカルテを参照モードでしか開けなくなり、並行して文書入力が許されないという致命的な欠点をもつ製品があった。ベンダーはさまざまな弁明をしているようであるが、基本設計ミスに起因する欠陥と思われる。これでは、クラークがいても効率は上がらないし、誤入力の危険がある。多数の職種がかかわるチーム医療の大きな障害になっている。早急な抜本的解決が求められる。

図 2 は、1995~2007 年まで当院で用いていた非ウェブ、非クラウド型電子カルテの画面例である。画面の枠組みは固定されており、一つか、せいぜい二つの記事しか画面に表示できなかった。バージョンアップのたびに端末 PC 1 台ずつソフトウェアの入れ替え作業が必要であり、運用の手間は少なくなかった。

医師は、たくさんの記事、データ、画像に目を通して、総合的な判断を下すことを要求される職種の最右翼であろう. 1人の患者について、目を通すべき記事やデータは、入院時、回診時、退院時で異なるし、外来初診、再診でも異なる. 診療科、疾患によっても異なるのはいうまでもない.

多忙な外来診療時に、参照したり記録したりする記事やデータの種類を一つひとつ切り替え、あるいは病棟回診時に患者がかわるたびに、画面を切り替えたり

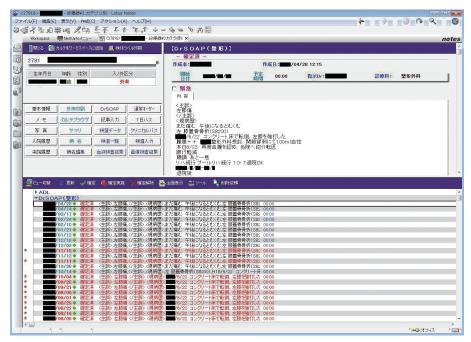


図 2. 従来型電子カルテの 1 例

しながら、記事やデータを確認していくのは、文字通り"莨の髄から天上覗く"ようなものである。一度確認したはずの文書でも、次々に文書を切り替えてみていくうちに記憶が曖昧になり、判断の誤りにつながりかねない。確認しようとするときには、すでにデータは消えているので、再度煩雑なボタン操作を繰り返さねばならない。この際、画面切り替えごとに10秒以上待たされると、まったく作業ははかどらず、イライラが昂じることにもなる。電子カルテシステム上でネットサーフィンをやっていては洒落にならないのである。

よく考えてみると、電子カルテ導入以前は、図3に示すようなカーデックスが使用されていた。全情報が一目で見渡せる利便性があり重宝していた。このような見え方をPCの画面上で実現できれば、従前の電子カルテの最大の問題点であった一覧性、俯瞰性の欠如を克服できる。しかし、この閲覧性の改善は、当時の技術水準では実現困難であり、21世紀に入りウェブサービスという技術が普及するまで待たねばならなかった。

OpenNetKarteでは、臨床の場面ごとに必要な任意の個数の記事やデータを一つの画面の中で一気に展開できる(図 4). 全体をパッと見渡せることで、快適に総合判断することが可能となっている. 職種,職位、状況によって必要となる情報は異なるが、スタッフ個人ごとに使用する状況に応じた画面構成を何パターンも自由に登録できるようにしている. この機能により、個々人にもっとも快適な画面をすぐに呼び出して効率よく仕事ができるのみならず、電子カルテの導入コス



図3. カーデックスは一覧性に優れていた

トのかなりの部分を占める画面設計コストを不要とすることができた.

図5は、画面構成の個別化を可能とした、ウェブサービスで統合されたシステム構成(サービス指向型アーキテクチャー: service oriented architecture)の例である。電子カルテサーバーは、すべてのデータをXMLというタグ付きテキストデータで管理して、個々の文書カテゴリーごとにウェブサービスを準備し、ウェブブラウザからの要求に応じて個々の文書データを送受信する。ブラウザ側は、受け取った文書データをもとに自由に画面構成を行うことができる。このマッシュアップ(mash up)と呼ばれるゆるいシステム統合技術が、電子カルテの自由度の向上にきわめて有用である。また、更新された文書データは一元管理さ

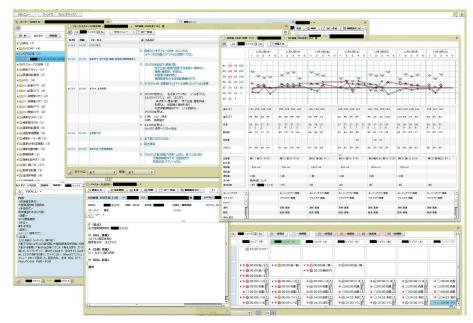


図 4. カーデックスを電子化し、必要な情報を一覧できるようにする

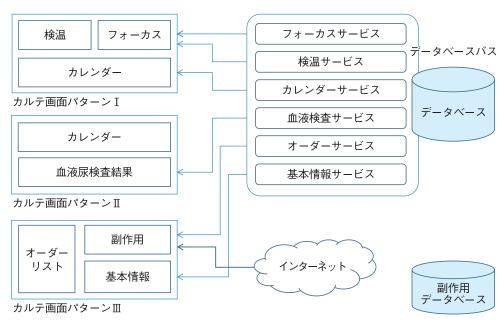


図 5. ウェブサービスで統合されたシステム

れたデータベースに書き込まれ、その文書を参照しているすべての画面に即座に反映される(データベースバス: database BUS). さらに、ある特定の文書が編集中であったとしても、その患者のほかの文書は自由に独立して編集できるので、スタッフは、他職種のスタッフが同じ患者のカルテをみたり入力したりしているかどうかを気にすることなく、自由に電子カルテを参照したり、自職種の文書の作成や編集といった同時並行入力が可能となる。この機能は、情報共有を基盤とするチーム医療の実践のうえで不可欠の機能である.

これに対して旧来の電子カルテは、部門システムの 寄木細工であった。医師向けの診療支援システム、看 護師向けの看護支援システム、ICU 向けの ICU 支援 システム等々、種々の部門システムがあり、それぞれが独自のデータベースを管理していた。データベース同士の互換性がないため、ある部門システムを立ち上げると、それまで立ち上がっていた部門システムは落ちてしまい、同時参照ができない。しかも部門システムの切り替えに時間がかかるとなると現場は回らない。結局はお蔵入りになったはずのカーデックスが闇で復活し、実務は紙で行い、別途電子カルテに入力するという二重作業となる。これが"貴院に最適な部門システムをよりどりみどり組み合わせることができる"モジュール型電子カルテの偽らざる実態であろう。

図6は、全職種の全文書カテゴリーの一覧である.

ワンクリックでその文書カテゴリーの全文書のリストが表示され、必要文書の内容表示、コピーが可能である。 ほかの職種の活動が同時並行して容易に把握できる。 図4に示した多数文書の一覧表示の際、自分の職種だけでなく、他職種の文書も同時に表示できることで、必要情報の漏れのない一覧が可能となっている。

たとえば、薬剤師が医師の処方に基づいて調剤を行う場合を考えてみよう. 処方意図、過去のアレルギー歴などの把握、副作用のモニターなどが必要であるが、このためには、内服や点滴などの処方箋はもちろん、医師記事、看護師の記録など多彩な記録の参照が必須である. 図4のように、必要な文書を画面上に呼び出し、配置を整え、画面構成の登録をすれば、次回からは、その画面構成を呼び出せば、他職種にわたっての必要な情報が一気に入手できる. 旧来のように、"○○支援システム"などをいちいち立ち上げ直していては仕事にならない.

また、ICUや手術室の記録を、電子カルテ本体とは互換性のない別システムで運用している病院も散見されるが、記録の一覧性を阻害し運用コストの増大を招くため、賢いやり方とはいえない、ICUチャートなども、単に記録密度の高い情報をいかにみやすく表示するかという見せ方の問題にすぎず、病棟記録と本質的な差はない、現時点で、一元的な運用が可能となっている。

病棟看護部門では、看護の必要性から、全部門のオーダー文書が集約される必要がある。図7は、ある日の当院N4病棟ワークシートの一部である。言い換えれば、このリストが本日予定されている点滴や検査などのオーダー、看護や介護介入予定のすべてである。あとは、担当者別に割り振り、時間順に実施していけばよい。実施報告書が入ると、オーダー文書のマークの色が変わるので、実施/未実施は一目でわかる。これにより実施漏れなどのミスは根絶される。

指示の中止,内容変更,新規指示の発生などは,急 性期病棟では当然,日常的に起こる.スタッフの誰も 手をつけていない状態の指示文書は元カルテで変更され,即座にコピー先の全関連部門に反映される.もし,確認,薬品出庫済,点滴作成などの作業がすすんでいた場合には,後工程から順次連絡して実施報告文書を解除し,すべての実施報告文書が解除された時点で,はじめて指示変更が可能となる.これにより,変更連絡の漏れによるスタッフ間の混乱が予防できる.

紙カルテ時代は、このワークシート作成に始業後1時間近くかかり、また実施漏れが終業近くなってみつかることが多々あったため、残業が日常化していた.

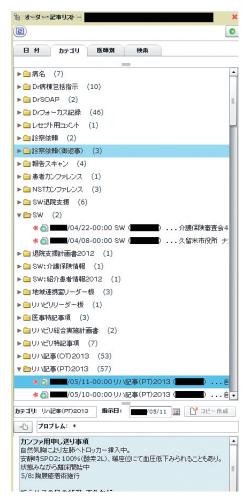


図 6. 全職種の全文書カテゴリーの一覧 (2014年)

現在は、この種の単純な機械的作業からスタッフが解放され、実施漏れもなくなったため、定時退社が普通となった。このことは、スタッフのワークライフバランスの改善に必須であり、今後さらに重要性が増すと思われる。ちなみに、患者の重症化に伴い最近増加傾向ではあるが、2014年4月実績では、看護、介護部門の全病棟全スタッフ150名の1ヵ月にわたる総残業時間は、50時間程度であった。当院では、この省力化だけで電子カルテ導入コストの5割が賄えた。

Ⅲ. 施設間の情報共有

患者が他院,他施設に移動した際,一から情報をとり直せば,軽く数時間を要する.可能なら,前機関の情報を引き継ぎ,看護や介護介入パターンも使い回して,最小限度の修正で,移動先でも医療,看護,介護を展開したいものである.スタッフの省力化はもちろんであるが,患者にとっても,介入パターンがほぼそのまま引き継がれることは安心のもとであり,歓迎すべきことであろう.

当院から4km離れたキャンパスにある介護老人保

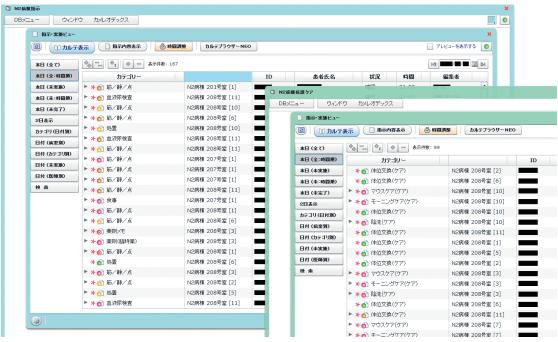


図7. ワークシートの自動作成

健施設「舞風台」では、2010年暮れに、2ヵ月ほどかけて OpenNetKarte を導入し、電子カルテのペーパーレス運用を開始した。当院サーバー内の OpenNetKarte を、インターネットの光回線を経由して、SaaS/クラウド形式で共同利用している(図 8)。図 9は、当院を退院してから舞風台に入所した患者のカルテ画面である。このように、入院中の医師、看護師、リハビリテーション・スタッフなどの記事、検査データ、画像データなどを、舞風台からも常時参照できる。逆に、舞風台から肺炎などで当院に入院してきた患者について、舞風台での介護記録などを病院スタッフが参照できることはいうまでもない。こういった情報を共有するインフラは、医療・介護・福祉の連携に際し、ケアの継続性を担保するうえで必須の機能である。

ここで、病院で作成された文書と舞風台で作成された文書が、同じ画面上で混在して表示されていることに留意されたい。図6で示した文書カテゴリーのリストは、姫野病院のみならず舞風台のリストも併存している。個々のスタッフが使い慣れた画面構成の中に、他施設の文書が自施設の文書と同様に表示されるので、操作しやすく、見落としの危険性が減少する。さらに、文書の書式が同一ならば、他施設の文書や処方の内容を、自施設の文書にドラッグ・ドロップ操作などで容易にコピーできる。

ところで、電子カルテを相互に参照するには、カルテを構成する文書カテゴリーや書式、送受信手順をあらかじめ擦り合わせて、統一しておく必要があると従

来はいわれていた.しかし,文書の種類やそれらの書式は,医療機関と介護機関ではまったく異なり,しかも施設の都合で,常時変更や追加が行われている.はなから統一なぞ不可能である.どのようにしたら情報共有が可能となるのであろうか?ここに21世紀に入り普及したウェブサービスの貢献がある.

別の施設の電子カルテを参照するには、カルテを構 成する文書の種類や書式、送受信手順を厳密に擦り合 わせる必要がある。旧来は、事前にこれらの要素を完 壁に擦り合わせて一致させておく必要があった。その ため、電子カルテの相互参照は大変な技術的困難と、 それに伴う労力とコストを要していた. 大手電子カル テベンダーに対して、"なぜお互いに参照できるよう に統合しないのか?怠慢だ!"と批判する声もあった. 現実には、大手ベンダーの電子カルテは、部門システ ムの寄木細工という院内情報共有すらままならない旧 式の技術を基盤としており、旧来の電子カルテのフォ ーマット統合は困難であるとするベンダーの弁明は. 技術的には正しい、ましてや、せっかく囲い込んだ顧 客の流出リスクを負ってまで統合するのは、商売とし てはありえないだろう. この点について、長い不毛な 質疑応答が繰り返されてきた.しかし、21世紀に入 り、ウェブサービスという技術の登場で、状況は一変 した.

旧来は事前の手作業での擦り合わせが必要であったが、ウェブサービスでは、文書のやり取りを行う直前に擦り合わせを自動的に行う。このため、文書カテゴリーや文書の書式が異なっていても、問題なく読み込

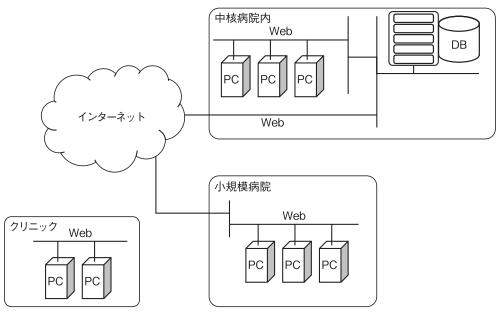


図 8. SaaS/クラウド型電子カルテは、多施設で共同利用できる

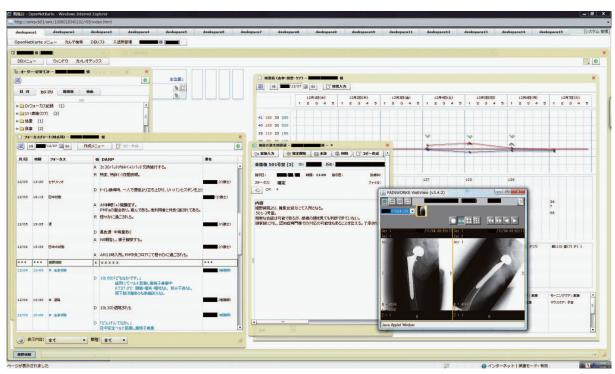


図 9. 介護施設からみた病院記事、データ

むことが可能となった。仕組みは次の通りである。送 受信プロトコルを、WSDLと呼ばれる文書で、送信 サーバー側のソフトウェア外部に明示的に定義(explicitly defined)している。通信の際は、WSDLを 読み込んで、メッセージを処理するためのブローカー プログラム(broker program)を動的に自動作成し (自動的な擦り合わせを行い)、送受信を行う。

したがって、たとえばサービス提供側がウェブサービスによって新しい機能を作成し、新機能を利用するためのプロトコルを追加するには、旧来であれば送

信・受信側のサーバー間で手動での通信手順の擦り合わせが事前に必要であったが、ウェブサービスでは、提供側のソフトウェアの WSDL に追加記載するだけでよいのである。要求側は、もしその機能が必要なら、WSDL を読み込んで追加要求を送信すればよいし、不要なら変更は必要ない。このように、ウェブサービスでは、運用を継続しながら機能の変更や修正、取捨選択を柔軟に行うことが可能である。

2000年ころから普及してきたが、ウェブの世界では、すでにウェブサービスが主流となっている.

XMLと呼ばれるタグ付きテキストデータを、WSDLというサービス提供側で明示された通信手順で送受信するため、きわめて汎用性が高く、ベンダーによるデータの囲い込みを本質的に許さない。

さまざまな機能をもつソフトウェア群をウェブサービスによってゆるやかに結びつける(疎結合する)ことで、システム全体の複雑化による管理困難を避けることができる。このような構造は、SOA(サービス指向アーキテクチャー:service oriented architecture)と呼ばれる.

複数のウェブサービスのマッシュアップ (mush up) が可能となり、外部サービスも含めて電子カルテの画面上で、必要に応じて複数のサービスから得られるデータを統合することができる。ウェブブラウザからは、SaaS として、クラウド型の電子カルテ利用が可能となる (図5を再度参照されたい).

Ⅳ. 他施設への情報提供

患者の移動に伴う情報の引継ぎに要する労力とミスを最小化するためには、施設間のカルテ情報の電子的な受け渡しが有用である。まず、当院で稼働しているカルテ開示システムについて述べる。次いで、現在普及がすすみつつある ID-link、HumanBridge につき論評する。

当院は、連携型の在宅療養支援病院となっているが、 図10は、紹介元の診療所に対して送っているカルテ 開示招待メールである. 患者が紹介され入院となった ときは、通常の紙の返事のほかに、この招待メールを 院長宛てに送付している、診療所では普通のメールソ フトでこのメールを開き、URL 部分をクリックする と、そのPCに備え付けのウェブブラウザでカルテ開 示画面が開く(図11).図6のような文書リスト形式, あるいは本図のような二号様式での表示などが利用可 能である. 開示を受ける側は, 通常のインターネット 接続環境と付属のブラウザ、メールソフトさえあれば 当院の電子カルテの開示が受けられる. 事前の準備は まったく不要である.費用も無料であり、当院の開示 コストも、限りなく低い、この開示招待メールは、必 要に応じて患者の移動先の病院や介護施設、かかりつ け医にも送れるので、紙の引継ぎ文書は最小限の要約 にとどめることが可能である.

前述のとおり、当院は1997年からインターネットを介した患者へのカルテ開示システムも稼働させているが、その際は、当院ホームページからカルテ開示画面にすすみ、患者IDと、開示申請の際に希望したパ

スワードを入力すれば、図10とまったく同じ画面が開くことになる。なお、未告知の悪性病名など開示が躊躇される場合は、開示設定画面でチェックを入れることにより、文書カテゴリーあるいは文書単位で非開示とすることができる。年に10~15件の開示請求があるが、開示に起因するトラブルは経験していない。

さて、近年 ID-link、HumanBridge といった連携システムが喧伝されている。これらのシステムは、①病院ごとに異なる患者 ID を統合した上位 ID に紐づける、②患者ごとに、カルテの存在する病院のリストを作成する、③ログインし開示を要求してきた PC に対し、当該患者のカルテの存在する病院のリストを示し、各病院の開示用サーバーを仲介する、④各病院の開示用サーバーから受け取った開示文書をブラウザ上に表示するといった手順で、病院間での情報共有が可能である。文書の送受信はウェブサービスを用いている。

一見よいように思えるが、技術的にみると問題は 多々ある. 地域医療再生基金から導入費用が出るとの ことで、当院も導入したが、気づいた主な点を以下列 挙する.

1) SS-MIX なる統一書式を(わざと?)介在させ、情報を劣化させると同時に、本来不要となるべき書式の擦り合わせ作業を温存している。前述したとおり、ウェブサービスを用いるのであるから、その病院の文書カテゴリー、書式をそのまま素直に WSDL に落とせばよいのである。この作業は半自動化されており、最小限の労力でカルテの全内容をそのままの書式で容易に開示できる。ところがこれらの製品では、無理矢理 SS-MIX への擦り合わせを強要し、変換された書式をウェブサービスに乗せている。当院では、開発元と連絡をとりながら自院で擦り合わせ作業を行ったが、一つの文書カテゴリーの擦り合わせ作業にすら数週間を要し、開示は最小限の文書カテゴリーに限局せざるをえなかった。

2) 患者 ID が、病院ごとの ID, ID-link, Human-Bridge 内の ID, ID-link, HumanBridge の上位 ID と三層構造になっている。ID-link 内の ID は日本全体で IID となっているので許せる範囲内であるが、HumanBridge は地区ごとに ID を付与する仕様となっている。福岡県久留米市と佐賀県鳥栖市は筑後川を挟んで一体の医療圏となっているが、川の両岸で IDの付番体系が異なっているため、両製品間の相互運用については複雑怪奇を極め、担当者が匙を投げている現状である。筆者にいわせれば、なぜ URL やメールアドレスのようなグローバル ID としなかったのか理解に苦しむ。



図 10. 自院の電子カルテを特定機関に開示する開示招待メール

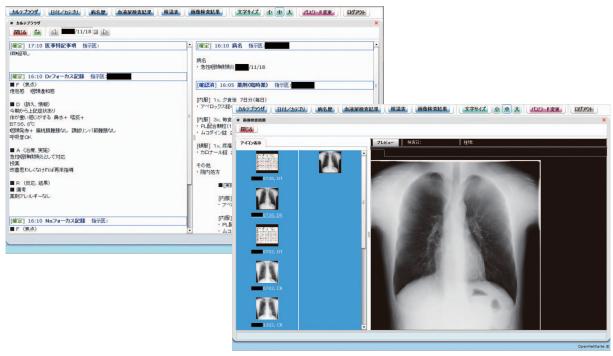


図 11. 自院の電子カルテを特定機関に開示する招待メールからカルテを開く

3) カルテ情報の表示画面が貧弱で使いにくい. 画面サンプルは,次の URL を参照されたい〈http://jpn.nec.com/medsq/solution/id-link/〉¹). 一覧性には程遠い. 当院では、前述の招待メール方式と ID-Linkの両方式で開示しているが、開示実績は招待メール方式の月 20 件超に対し、ID-Link は数件である.

4) 多額の費用を請求される. 導入費用の1,000万

円は地域医療再生基金から出たが、なんと先週、1年を経過したので、今後毎月2万1,600円払えといってきた。開示件数1件あたり1万円である。4年後のサーバー更新の際は、多額の費用を請求してくるであろうが、次回はすべて自腹となる。いずれにせよ、コストパフォーマンスがわるすぎる。



図 12. 紙カルテをスマートフォン / タブレットでクラウド内に取り込む

2013年10月、ハーバード大学のCIO(最高情報責任者)であるJohn D. Halamka 博士が九州大学での講演の折に、当院にも来訪され、しばしディスカッションの時間がもてた。当院のシステムをおみせした後、氏はハーバード大学のシステムにログインし、細君のカルテを閲覧、そこに表示されていた別の整形外科病院のURLをクリックし、その病院でのカルテを閲覧した。ウェブサービスで素直に構成された電子カルテの典型であり、当院と同一の基本設計であった。ボストンと八女、地球の反対側ではあるが、2007年ころほぼ同時期に独立して稼働したことがわかり、大笑いとなった。同氏は200万人が加入するメディカルサービスグループの電子カルテシステムを、3個所に分散したサーバー群からなるプライベートクラウドで実現

している。後日の情報では、ボストンマラソン爆発事件の際は、世界中から同システムに対してハッカーの攻撃が殺到したが、一切侵入を許さず、無事乗り切ったという。今後の電子カルテシステム発展の方向性に確信がもてた一日であった。

V. 在宅での情報共有

在宅医療では、病院と同様に医師、看護師、介護士、リハビリテーションセラピスト、介護福祉士など多数の職種が関与する. 患者宅をバラバラに訪問することが多く、別々の事業体に所属していることも多いため、一堂に会することが少ない. また、PC を含むデジタル機器の装備や使いこなし能力に相当な格差がある. お互いの情報交換には、患者宅におかれた紙の連絡ノートが活用されている. 紙とボールペンなので全員が使えるが、問題は、患者宅に行かなければ更新された情報を把握できないことである.

当院では、紙の連絡ノートをデジタルカメラやスマートフォンで撮影し(図 12)、その画像をクラウド上で共有する仕組みを提供している(図 13)、撮影された画像としての連絡ノートの内容は、ただちにその患者にかかわるスタッフ全員で共有される。ボールペンで書かれた連絡ノートを画像で撮影し、PC から、あるいはメール添付でサーバーに送信する。キーボード操作に慣れているスタッフは、通常の電子カルテと同様のテキストデータをメール形式で送信してもよい。

ID としてはメールアドレスを用いることを推奨し

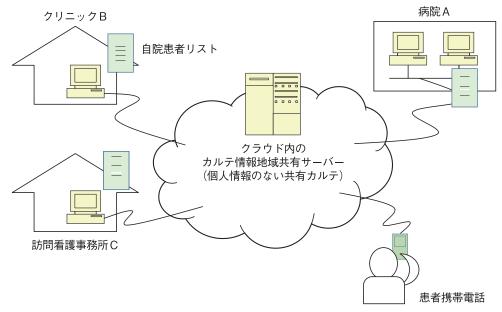


図 13. カルテ情報地域共有システムの全体像

ている. 実在のアドレスであればグローバル ID であり, 重複がありえないからである. 氏名などの個人情報は関係機関のみが自医院内でローカルに管理し, サーバー内には, 暗号化したアドレス以外は個人情報を記録させないようにしている. サーバーはクラウド上におくことで運用コストは最小限となるため, 現在無償で提供している.

M. 災害医療での情報共有

図14は、福島県新地町におけるクラウド型電子カルテを用いた避難所巡回診療風景である。同地では、当院が福岡県派遣の先陣を務め、2012年4月にクラウド型電子カルテを設営し、5月末まで計15チームにわたって同カルテシステムによる医療支援が継続された。支援終了とともに、カルテの全データをCDに焼付け、新地町役場、参加各医療機関に送付した後、カルテシステムを閉鎖した。

電子カルテシステム設営時、それまで使われていた紙のカルテをスキャナーにかけ、カルテシステムに取り込んだ。サーバーとしては、1,400 km離れた福岡県八女郡に位置する姫野病院の電子カルテサーバーを利用した。避難所などではWiFi端末を用いて、通常のノートPCで電子カルテによる巡回診療が可能であった。メールやツイッターが使用できる程度の電波状態であれば、電子カルテの運用は十分に可能であることが確認できた。

数個所ある避難所、救護所を問わず、既登録の患者 リスト検索が使えることができたので、たとえ被災者 が避難所を移動していたとしても、重複登録は回避で きた.このように、被災地支援の紙のカルテで問題に なっていた、同一被災者を別々のチームが続けて診療 し、説明や治療内容が微妙に異なるなどのカルテ情報



図 14. 避難所巡回

の重複,カルテ用紙の紛失,チーム間の引継ぎの困難さなどは、クラウド型電子カルテの使用により解消することが実証された.災害医療にクラウド型電子カルテを用いた例は過去になく、国際誌に報告が掲載された²⁾.

その後,原発避難訓練への協力経験を重ね,発災当 初は紙カルテへの記載に頼らざるをえないが,通信回 復に伴って紙カルテの画像をクラウド上に送信し共有, 落ち着いてきたら,入力自体をクラウド型電子カルテ に移行するのが最良と思われた.

図15は、日本医師会の広域災害支援でのICT活用訓練に協力した際のICTシステムの全体構成である. 広範囲にわたる被災地と、被災を逃れた全国の医師会組織は、ウェブを介して、クラウド上の仮想サーバーで連携する. 発災初期は、被災地でのウェブが使用不能である可能性が高いので、その間は JAXA 衛星回線で被災地とウェブを連結し、被災地からの情報をクラウドサーバーに送信する. 全国の支援医師会は、ク

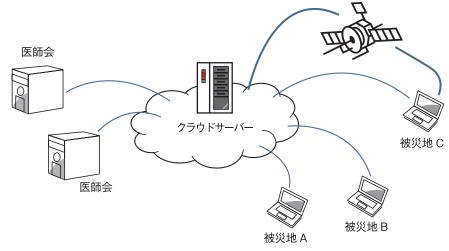


図 15. 被災地全体を一元的にカバーしたカルテ/ICT

ラウドサーバーにアップされた紙カルテや報告書のスキャン画像や映像をもとに、手分けして電子カルテや被災情報のクラウドサーバーへの入力作業を行う.このようにして、疲弊している被災地での入力作業を非被災地で肩代わりし、被災地の労力軽減を図る.

ウェブの回復に伴って、被災地の端末群は、クラウドサーバーに接続可能となり、発生源での情報入力が可能となる。この際、それまでに入力、蓄積されているクラウドサーバー上の情報を利用して、電子カルテへの移行は円滑となることが期待される。

災害支援 ICT の場合,発災直後から需要が急増し,数ヵ月持続する.その前後では、習熟訓練や撤収の打ち合わせなど、わずかな需要しかない.しかも、災害の規模は、事前に想定できない.このような需要に対して、支援組織が災害支援用のサーバーを自前で維持しようとすると、巨額の初期費用(サーバーの購入費、システム導入費など)と、多額の維持費用が継続的に発生する.さらに、災害規模が想定を超えた場合、その対応には、サーバーを物理的に増強する必要があるため、数週間の時間がかかり、その間は対応が不十分となる.

これに対して、クラウドサーバーの場合、10分程 度で簡単に数十倍の性能に増強することが可能である。 また、不必要になったら、記録を永続化した後、サーバーを容易に適切規模に縮小することができる。災害 の規模と経過時期に応じて、必要なだけの計算資源を 簡単かつ迅速に調達できるので、経済的な運用が可能 である。また、災害支援サーバー自体が被災しては話 にならないが、クラウド上の仮想サーバーでは遠隔地 に分散配備できるので、災害に対して生き残る可能性 は高い。さらに、元来、ウェブ上に構築されたシステムであるため、被災地も支援を行う地域も、日本国内 に限られない。東日本大震災で受けた外国からの支援 に対して、電子カルテ/災害支援 ICT でのご恩返しも 可能となると思われる。

このように、災害支援ICTとしては、SaaS/クラウド型の構成がもっとも適していると思われる。上記の利用形態は、前述の在宅医療支援クラウドとまったく同一である。そもそも修羅場では使いなじんだ道具しか役には立たないであろう。使い慣れたノートPCなどを、そのまま被災地支援に動員できる。筆者は、この形態が災害支援ICTとして、運用コスト、効率性

で優れていると考えている.

Ⅷ. おわりに

医療人にとっての電子カルテシステムは、"商売道 具"の最たるものであり、その使い勝手は医療活動の 効率に直結する。道具にすぎない電子カルテが、日常 診療の邪魔をすることは、あってはならないことであ る。道具は、手に馴染むものでありたいと願う。

医療業界のIT 化は遅れているといわれ続けてきた. 医療業界の保守性や頑迷さが元凶のようにいわれてきたが, そうではないと筆者は考えている. むしろ, 医療現場での高度な要求に応えられるだけの技術水準にIT が達していなかったのが実情である. 多種多様な記事, データ, 画像などの全体を見渡して, 総合的に判断するという医療本来の業務形態に対して, 従来の電子カルテが十分に応えてきたとはお世辞にもいえないであろう. そして, その矛盾がもっとも先鋭化したのが医師の業務においてである.

"医師にも優しい"電子カルテとは、総合的判断を行う医師をはじめとする医療スタッフの思考過程に沿って、必要な複数の情報を一気に全面展開できるものでなければならない。10年前、旧版 NetKarte では、関連した IT のレベルが不十分で、この要請を十分に満足させることは困難であった。インターネットの急速な発展により、ようやく本来の目標に近づけたこと、さらに地域での医療情報連携がいよいよ実用域に入ってきたことをうれしく思っている。

当院のICT 構築の経過,技術的詳細については, 文献 3.4 を参照されたい.

読者の施設のICT 化において、少しでも貢献できれば幸甚である。

文 献

- 1) 地域医療ネットワークサービス:〈http://jpn.nec.com/medsq/solution/id-link/〉
- 2) Nagata T, Halamka J, Himeno S et al: Using a cloud-based electronic health record during disaster response; a case study in Fukushima, March 2011. Prehosp Disaster Med 28: 383–387, 2013.
- 3) 姫野信吉:草の根からの電子カルテ導入記, 日経メディカル開発, 東京, 2002.
- 4) 姫野信吉: SaaS/クラウド技術で電子カルテはここまで進化する, 日経 BP コンサルティング, 東京, 2011.

Integrating medical and care information using a SaaS/cloud-based electronic health record system

Shinkichi Himeno, MD

President, Yame Hosshinkai, Incorporated Medical Institution

Summary

The growing number of patients with conditions such as chronic disease or dementia has increased the demand for continuous care. Long-term information sharing among many types of experts and many facilities has also become necessary. The widespread use of Web service techniques has enabled information to be shared easily and economically through the use of SaaS/Cloud systems, a goal that was previously difficult to achieve. Such systems are also useful for disaster medical care.

Key words: SaaS, cloud, electronic health record, coordination, medical information, care information, multi-professional coordination, care, home medical care, disaster medicine

原 著 Original article

乳幼児を養育する父親と母親のワーク・ファミリー・ コンフリクトと職業性ストレスとの関連

山崎 恭子 ¹⁾,大屋 晴子 ²⁾,福田 英子 ¹⁾ 東海大学健康科学部 ¹⁾ 昭和大学保健医療学部 ²⁾

要旨:ワーク・ライフ・バランスの制度が十分に浸透しているとはいえない現状において、働く父親、母親の仕事・家庭間の葛藤であるワーク・ファミリー・コンフリクト(WFC)が問題としてあげられている。そこで、保育園に乳幼児の保育を依頼し、正規雇用されている保護者を対象に、WFCと職場におけるストレス要因との関連を検討した。父親 98 名、母親 102 名から回答があり、回収率は 33.6% であった。父親では労働時間や心理的な仕事の量的負担や質的負担が WFCと関連していたが、上司、同僚や家庭のサポートとの関連はなかった。女性では職場の対人ストレスや職場環境のストレスが WFCと強く関連しており、さらに職場における上司や同僚からのサポートとも関連していた。この結果から今後の課題として、仕事と生活の調和において労働時間の調整も必要であるが、働く母親にとっては、職場の人間関係の調整も必要であることが示唆された。

Key words: 父親・母親, 育児, ワーク・ファミリー・コンフリクト, 職業性ストレス

I. はじめに

現在、ワーク・ライフ・バランスが政府の取り組み によって行われているが、内閣府の調査によると、育 児のための短時間勤務制度の導入は約8割とされ、法 定を上回る育児休業制度の導入は4割に届いていな い1). その一方、ワーク・ライフ・バランスの制度が 導入されることにより、施策利用者以外のメンバーで は仕事の負担が増したとの報告もあり、退職する母親 の本当の理由は、育児休業制度があっても職場の雰囲 気や仕事状況から取得しにくいと感じている人が多い 状況も考えられている2). さらに、中小規模事業者に おける「育児支援に関する調査」では、従業員数300 人以下の事業所は約半数が育児支援を導入していない 現状があり、とくに男性への勧奨措置はされてはいな い、そのうえ、育児支援を導入している事業所側には 実質的な効果があると思っていないとの報告もある. その一方で、女性が高学歴になるに従いキャリアアッ プを望むようになり、また育児に協力する父親におい

連絡先:山崎 恭子 kyoko-y@tokai-u.jp

ても、 育児を担うことによって仕事への制限が起こり、 それぞれのキャリアアップに影響を及ぼしている可能 性もある.しかし.内閣府の調査において. "両立支 援策利用者の仕事の意欲やキャリア意識を高める"こ とに関しては、管理職の32%が必要と感じているの に対して、会社の取組率はわずか9%にしかすぎな い1). つまり、育児をしながらの働く父親や母親にと って、家庭での役割、もしくは仕事での役割がはたせ ないことで、仕事の継続3)ややりがいにも影響を与 え. 仕事と生活の両立に困難を感じている状況が推察 される. このような仕事役割と家庭役割とが相互にぶ つかり合うことで生じる役割葛藤を "Work-Family Conflict (WFC)"として提唱している⁴⁾. WFC は, 家庭生活領域から仕事生活領域、仕事生活領域から家 庭生活領域の2方向性と時間、ストレス反応、行動の 3形態の葛藤から構成されている。また3形態のうち、 時間に基づく葛藤は仕事(家庭)役割に費やす時間量 が、家庭(仕事)に関する役割要請の遂行を妨害する 場合に生じる、ストレス反応に基づく葛藤は、仕事 (家庭) の役割ストレッサーが緊張, 不安, 疲労など のストレス反応を引き起こし、別の役割に関する要請 への対応を困難にするものとされている。そして、行

動に基づく葛藤は、ある役割に期待されている特徴的な行動パターン(たとえば、家族に対する慈愛的・情緒的行動)がもう一方の役割において対立・矛盾するときに生じるとされている⁵⁾.

近年、日本では共働き世帯が増加し、育児をしながら就労を継続している父親・母親が増加しているが、ワーク・ライフ・バランスの制度が十分に浸透していない現状では、日本の慣例として育児を担っている女性だけではなく、男性にも仕事上のストレスが、家庭と仕事から生じる葛藤に影響を与えていることが考えられる。しかし、日本において育児中の父親、母親のWFCと職場におけるストレス要因との関連を明らかにしている研究はほとんどない。

そこで、本研究では、育児中の父親・母親を対象に、WFCに影響を与える職場のストレス要因との関連を検討することで、仕事と家庭を両立するうえでの葛藤を減少させ、仕事と育児が遂行しやすい職場環境づくりについて示唆することを目的とする。

Ⅱ. 方 法

1. 調査対象と方法

政令市である A 市 B 区の認可保育園で、同じ法人系列の保育園 4 個所で乳幼児の保育を依頼している園児の保護者(父親・母親)を対象(720 人)とした.2013 年 7 月 20 日~8 月 31 日に各園から園児の保護者全員(世帯に 1 部)に父親用と母親用の無記名自記入式質問紙調査票を配布し、回答後、東海大学健康科学部看護学科に郵送で回収し、調査票の郵送をもって調査への同意とした。調査票には基本属性として年齢、性別、職業、就業年数、雇用形態、労働時間、子供の数、就業先の事業所規模、ワーク・ファミリー・コンフリクトには WFC 日本語版 5)、職場のストレス要因には職業性ストレス簡易調査票 6)を使用した.

2. 調查項目

a. Work-Family Cnflict Scale 日本語版 5)

Work-Family Conflict Scale 日本語版 (以下 WFCS) は、time-based Work Interference with Family (以下 WIF) [時間に基づく仕事から家庭への葛藤]、strain-based WIF (ストレス反応に基づく仕事から家庭への葛藤)、behavior-based WIF (行動に基づく仕事から家庭への葛藤)、time-based Family Interference with Work (以下 FIW) [時間に基づく家庭から仕事への葛藤]、strain-based FIW (ストレス反応に基づく家庭から仕事への葛藤)、behavior-based FIW (行動に基づく家庭から仕事への葛藤)の6つ

の下位概念について各 3 項目計 18 項目からなる調査 票となっている. 調査票は "全くあてはまらない"から"全くそのとおりである"までの 5 件法で回答し、 各項目の得点を加算し、項目数で除した数値をその概 念の得点としている. 得点が高いほど、その概念の葛 藤が高いということを示している. なお、WFCS 日 本語版の使用には作成者の許可を得た.

b. 職業性ストレス簡易調査票

厚生労働省「作業関連疾患の予防に関する研究班」 によって開発された調査票であり 6). 仕事のストレス 要因、ストレス反応、修飾要因の大きく三つ(全57 項目)から構成されている. 本研究では、仕事のスト レス要因として心理的な仕事の量的負担(3項目:以 下, "心理的仕事量負担"), 心理的な仕事の質的負担 (3項目:以下, "心理的仕事質負担"), 自覚的な身体 的負担度(1項目:以下, "身体的負担"), 職場の対人 関係でのストレス(3項目:以下, "職場対人ストレ ス")、職場環境によるストレス(1項目:以下、"職場 環境ストレス")、仕事の裁量度や自由度を示すコント ロール感 (3項目:以下, "コントロール度"), 技能の 活用度(1項目:以下,"技能活用"),感じている仕事 の適正度(1項目:以下, "仕事適正"), 働きがい(1 項目)の計17項目と、サポートに関して、上司(3 項目:以下, "上司サポート"), 同僚(3項目:以下, "同僚サポート")、家族友人(3項目:以下、"家族友 人サポート")の計9項目を使用した. 得点は「職業 性ストレス簡易調査票を用いたストレスの現状把握の ためのマニュアル7 に従い. "そうだ" 1点. "まあ そうだ" 2点, "ややちがう" 3点, "ちがう" 4点とし た. 心理的仕事量負担. 心理的仕事質負担. 身体的負 担、対人ストレス、職場環境ストレスは得点が低いほ どストレスが高く、コントロール度、技能活用、仕事 適正、働きがい、上司サポート、同僚サポート、家族 友人サポートは得点が高いほどストレスが高いと判定 される.

3. 解 析

個人属性の男女の比較については χ^2 検定, 年齢, 労働時間, 勤続年数, WFC の各項目の得点, 職業性ストレスの各項目の得点の平均値の比較には Mann-Whitney U 検定を使用した. また, 職業性ストレスの各項目と WFC の関係は散布図で確認後, Spearman の順位相関係数により検討した. 偏相関では各項目の得点をランクに置き換えたうえで検定を行った. 解析には SPSS 21.0 for Windows を使用した.

82

4. 倫理的配慮

本研究は東海大学健康科学部倫理審査委員会(承認番号13-9号)の承認を得て実施した.調査協力施設には調査前に本研究の目的と内容,調査への協力は任意であること,個人情報保護について文書と口頭で説明し,同意書に署名をしていただいた.調査協力者には同様の依頼書と調査票を同封し,同意は調査票の返信をもって同意とした.

Ⅲ. 結果

回答者は250名で、男性104名、女性146名(回収率33.6%)であった。回答者のうち、男性の正規社員100名、非正規社員4名、女性は正規社員102名、非正規社員44名であった。正規社員と非正規社員について労働時間、勤続年数をMann-Whitney U検定にて検討したところ有意に差があり、また働く母親において正規社員と非正規社員ではストレス要因に違いがあることが報告されていることから8)、本研究では正規社員に焦点をあて分析することとした。最終的に無回答の項目のあるものを除外し、男性98名、女性102名を分析対象とした。対象者の属性を表1に示す。男女ともに年齢は30代以上で、学歴では大学卒業以上、勤務先の規模では501人以上の大企業に勤務しているものが半数を超えていた。

表 1. 対象者の属性

衣 1. 刈家有の属性		
	男性	女 性
	例数(%)	例数(%)
年齢(歳)		
20~24	0(0.0)	0(0.0)
25~29	5(5.1)	3(3.1)
30~34	17(17.3)	30 (30.6)
35~39	44 (44.9)	45 (45.9)
40 以上	32 (32.7)	24 (24.5)
職業		
専門職	23(23.5)	19(19.4)
研究・技術職	30 (30.6)	14(14.3)
事務職	16(16.3)	54 (55.1)
製造職	3(3.1)	0(0.0)
営業職	22 (22.4)	6(6.1)
その他	4(4.1)	9(9.2)
学歴		
高校卒	12(12.2)	3(2.9)
専門学校・短大卒	14(14.3)	20 (19.6)
大学卒	52(53.1)	68 (66.7)
大学院卒	20(20.4)	11 (10.8)
役職		
一般職	60 (61.2)	90 (91.8)
中間管理職	20 (20.4)	9(9.2)
管理職	14(14.3)	3(3.1)
勤務先の規模(人)		
10 以下	9(9.2)	7(7.1)
30 以下	5(5.1)	8(8.2)
50 以下	2(2.0)	6(6.1)
100 以下	8(8.2)	6(6.1)
300 以下	11 (11.2)	9(9.2)
500 以下	6(6.1)	6(6.1)
501 以上	57 (58.2)	60 (61.2)

表 2. WFCS と職業性ストレスの男女別の得点

	男性	女 性	n 佶
	平均(SD)	平均(SD)	p 値
勤続年数(年)	11.90(6.56)	10.92 (5.46)	0.326
週の平均労働時間(時)	47.61 (22.10)	33.97(11.9)	0.000
職業性ストレス			
心理的仕事量負担(3~12点)*	5.00(1.84)	6.10(2.25)	0.001
心理的仕事質負担(3~12点)*	5.58(1.90)	6.51 (1.96)	0.002
身体的負担(3~12 点)*	2.92(0.98)	3.23(0.92)	0.016
職場対人ストレス(3~12 点)*	8.65(1.90)	9.30 (1.75)	0.009
職場環境ストレス(1~4 点)*	3.05(0.91)	3.23(0.94)	0.098
コントロール度(3~12 点)*	6.87(1.96)	6.77(2.06)	0.598
技能活用(1~4 点)	3.28(0.76)	3.12(0.79)	0.129
仕事適正(1~4 点)	2.05(0.77)	1.90(0.82)	0.133
働きがい(1~4 点)	1.99(0.88)	2.02(0.95)	0.933
上司サポート(3~12 点)	7.78(2.34)	7.62(2.46)	0.412
同僚サポート(3~12 点)	7.38(2.37)	7.13(2.29)	0.171
家族友人サポート(3~12 点)	5.19(2.86)	4.92(2.66)	0.338
WFCS			
time-based WIF	3.52(1.13)	3.11 (1.17)	0.016
strain-based WIF	2.83(1.08)	2.76(1.15)	0.604
behavior-based WIF	3.03(0.99)	2.64(1.07)	0.006
time-based FIW	2.53(1.06)	3.00 (1.13)	0.007
strain-based FIW	1.88(0.93)	1.77(0.83)	0.469
behavior-based FIW	2.75(1.01)	2.43(0.97)	0.007

Mann-Whitney U検定. *得点が低いほどストレスが高い.

WFCS: Work-Family Cnflict Scale, WIF: work interference with family, FIW: family interference with work

表 3. WFCS と職業性ストレスの相関 (Spearman の順位相関係数)

		· ·				
			男	性		
	time-	strain-	behavior-	time-	strain-	behavior-
	based	based	based	based	based	based
	WIF	WIF	WIF	FIW	FIW	FIW
勤続年数	0.118	-0.037	0.027	-0.147	0.025	-0.045
週の平均労働時間	0.425***	0.121*	0.037	0.054	-0.055	0.121
職業性ストレス						
心理的仕事量負担	-0.485***	-0.508***	-0.251*	-0.183	-0.071	-0.260^*
心理的仕事質負担	-0.345**	-0.478***	-0.259^*	-0.126	-0.107	-0.211*
身体的負担	-0.088	-0.084	0.077	-0.075	-0.078	-0.030
職場対人ストレス	-0.171	-0.159	-0.080	-0.155	-0.283**	-0.123
職場環境ストレス	-0.276**	-0.185	-0.140	-0.174	-0.111	-0.145
コントロール度	0.214	0.263**	0.002	0.097	0.153	0.076
技能活用	-0.064	-0.035	0.002	0.033	-0.103	0.044
仕事適正	0.194	0.246*	0.228^*	0.189	0.212^*	0.233^*
働きがい	0.295**	0.235^*	0.285**	0.152	0.255*	0.278**
上司サポート	0.022	-0.051	-0.043	-0.011	0.002	0.115
同僚サポート	0.022	-0.080	0.009	-0.059	-0.017	0.050
家族友人サポート	-0.001	-0.022	0.143	-0.011	0.252^*	0.095

			女			
			——————	11±		
	time-	strain-	behavior-	time-	strain-	behavior-
	based	based	based	based	based	based
	WIF	WIF	WIF	FIW	FIW	FIW
勤続年数	0.017	-0.012	0.054	-0.134	-0.028	-0.057
週の平均労働時間	0.218*	-0.002	-0.051	0.178	-0.137	-0.038
職業性ストレス						
心理的仕事量負担	-0.511***	-0.202*	0.093	-0.187	0.131	-0.068
心理的仕事質負担	-0.432***	-0.240^{*}	-0.007	-0.194	0.020	-0.025
身体的負担	-0.266**	-0.096	0.070	-0.134	0.054	-0.084
職場対人ストレス	-0.300**	-0.478***	-0.386***	-0.126	-0.267**	-0.381***
職場環境ストレス	-0.394***	-0.594***	-0.339***	-0.119	-0.199^*	-0.232**
コントロール度	0.262**	0.295**	0.213*	-0.001	0.087	0.252*
技能活用	-0.039	-0.249	-0.185	-0.068	-0.115	-0.165
仕事適正	0.092	0.324**	0.392***	0.049	0.101	0.333**
働きがい	-0.033	0.252^*	0.323**	-0.025	0.113	0.255
上司サポート	0.083	0.310**	0.342**	-0.085	0.128	0.280**
同僚サポート	0.086	0.348***	0.252*	-0.029	0.312**	0.225^*
家族友人サポート	0.084	0.223*	0.198*	0.257*	0.340**	0.058

^{*}p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

表2は勤務年数、労働時間、職業性ストレスの下位項目およびWFCSの下位項目の得点について、男女別にMann-Whitney U検定を行った。勤務年数には男女に差がなかったが、週の労働時間は男性のほうが女性より有意に長かった。職業性ストレスの下位項目では、男性のほうが心理的仕事量負担、心理的仕事質負担、身体的負担、職場対人ストレスが女性より高かった。WFCSでは男性のほうがtime-based WIF、time-based WIF、behavior-based WIF、そして behavior-based FIW が女性より高かった。一方、time-based FIW は男性より女性のほうが高かった。

WFC と職業性ストレスとの関連について Spearman の順位相関係数により男女別に検定した (表 3). 男性では、週の労働時間と time-based WIF に r=0.425 (p<0.001) で中程度の相関があった。職業性ス

トレスでは、心理的仕事量負担と strain-based WIF r = -0.508 (p < 0.001) でかなり高い負の相関、time-based WIF r = -0.485 (p < 0.001) で中程度の負の相関があり、心理的仕事量負担の得点が低い(ストレスが高い)ほど、strain-based WIF や time-based WIF が高くなっていた。また、心理的仕事質負担と strain-based WIF r = -0.478 (p < 0.001) で中程度の負の相関があり、心理的仕事質負担得点が低い(ストレスが高い)ほど、strain-based WIF が高くなっていた。しかし、WFC とサポート状況との関連はみられなかった。

一方、女性では、心理的仕事量負担と time-based WIF に r = -0.511 (p < 0.001) でかなり高い負の相関があり、心理的仕事量得点が低い(ストレスが高い)ほど、time-based WIF が高くなっていた。また、心

表 4. WFCS と職業性ストレスの Pearson の積率相関係数に基づく偏相関 (r) #

The Company of the Co						
			男	性		
	time-	strain-	behavior-	time-	strain-	behavior-
	based	based	based	based	based	based
	WIF	WIF	WIF	FIW	FIW	FIW
心理的仕事量負担	-0.404***	-0.443***	-0.234*	-0.213*	-0.146	-0.122
心理的仕事質負担	-0.298	-0.462^{***}	-0.287**	-0.136	-0.144	-0.204
身体的負担	-0.046	-0.063	0.025	-0.066	-0.066	-0.087
対人ストレス	-0.124	-0.187	-0.162	-0.135	-0.282**	-0.207
職場環境ストレス	-0.281**	-0.220*	-0.151	-0.230^{*}	-0.089	-0.230^{*}
コントロール度	0.149	0.275**	-0.010	0.071	0.129	0.057
技能活用	-0.087	-0.056	-0.005	0.066	-0.161	-0.014
仕事適正	0.057	0.200	0.249	0.147	0.224*	0.345**
働きがい	0.226*	0.263*	0.302**	0.134	0.297**	0.377***
上司サポート	0.018	0.002	-0.039	0.027	0.002	0.081
同僚サポート	0.103	-0.021	0.030	-0.033	-0.014	0.074
家族友人サポート	0.036	-0.047	0.095	-0.021	0.159	0.140

	time-	time- strain- behavior- time- strain- behavior-					
	based	based	based	based	based	based	
	WIF	WIF	WIF	FIW	FIW	FIW	
心理的仕事量負担	-0.378***	-0.139	0.062	-0.141	0.111	-0.091	
心理的仕事質負担	-0.330**	-0.203	-0.103	-0.195	-0.012	-0.105	
身体的負担	-0.177	0.042	0.086	-0.038	0.091	-0.055	
対人ストレス	-0.329**	-0.502***	-0.419^{***}	-0.102	-0.214*	-0.433***	
職場環境ストレス	-0.398***	-0.562***	-0.364***	-0.079	-0.217^*	-0.243^{*}	
コントロール度	0.244*	0.286**	0.299**	-0.017	0.096	0.318**	
技能活用	-0.114	-0.263^*	-0.221*	-0.178	-0.158	-0.176	
仕事適正	0.233*	0.367***	0.389***	0.141	0.057	0.365***	
働きがい	0.104	0.324**	0.325**	0.049	0.101	0.292**	
上司サポート	0.113	0.309**	0.297**	-0.074	0.053	0.279**	
同僚サポート	0.195	0.350**	0.208*	-0.010	0.278**	0.213*	
家族友人サポート	0.099	0.311**	0.254*	0.087	0.315**	0.179	

[#]勤続年数,労働時間を調整,*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001

理的仕事質負担と time-based WIF に r = -0.432 (p <0.001) で中程度の負の相関があり、心理的仕事質 負担得点が低い (ストレスが高い) ほど、strainbased WIF が高くなっていた. さらに、職場対人ス トレスでは、strain-based WIF r = -0.478 (p < 0.001) で中程度の負の相関, time-based WIF に r = 0.300 (p< 0.01), behavior-based WIF r = -0.386 (b < 0.001). behavior-based FIW r = -0.381 (p < 0.001) で負の相 関があり、職場対人ストレスの得点が低い(ストレス が高い) ほど、strain-based WIF、time-based WIF、 behavior-based WIF, behavior-based FIW が高くな っていた. 職場環境ストレスにおいても. strainbased WIF r = -0.594 (p < 0.001) と高い負の相関, time-based WIF r = -0.394 (p < 0.001), behaviorbased WIF r = -0.339 (p < 0.001) に負の相関があり、 職場環境ストレス得点が低い (ストレスが高い) ほど. strain-based WIF, behavior-based WIF が高くなっ ていた. ほかにも仕事の適正と strain-based WIF, behavior-based WIF, behavior-based FIW に中程度

の相関があり、仕事の適正の得点が高い (適性が低 い) と strain-based WIF. behavior-based WIF. behavior-based FIW が高くなっていた. 働きがいにお いては、behavior-based WIF と中程度の相関があり、 働きがい得点が高い(働きがいがない)ほど、behavior-based WIF が高くなっていた. さらに、サポート 状況においても上司サポートは strain-based WIF. behavior-based WIF に中程度の相関があり、上司の サポート得点が高い(サポートが低い)ほど. strainbased WIF, behavior-based WIF が高くなっていた. 同僚サポートについては, strain-based WIF, strainbased FIW と中程度の相関があり、同僚のサポート 得点が高い (サポートが低い) ほど, strain-based WIF, strain-based FIW が高くなっていた. 家族友 人のサポートでは strain-based FIW と中程度の相関 があり、友人家族のサポート得点が高い(サポートが 低い) ほど、strain-based FIW が高くなっていた.

さらに, 勤続年数と労働時間が職業性ストレスと関連していることから, この二つを制御変数として職業

性ストレスと WFCS の偏相関を検定した結果 (表 4). 男性では、心理的仕事量の負担と time-based WIF r = -0.404 (p < 0.001), strain-based WIF r = -0.443(*b*<0.001) で中程度の負の相関があった. また心理 的仕事量の負担と strain-based WIF に r = -0.462 (p<0.001) で中程度の負の相関がみられた. さらに, 仕事の適正について strain-based FIW, 働きがいに ついては behavior-based WIF, behavior-based FIW に中程度の相関があった.一方,女性では,職場対人 ストレスについて、strain-based WIF r = -0.502 (p<0.001) で高い負の相関、behavior-based WIF r= -0.419 (p < 0.001), behavior-based FIW r = -0.433(*p* = 0.001) に中程度の負の相関, time-based WIF r = -0.329 (b < 0.01) に負の相関があり、職場対人ス トレス得点が低い(ストレスが高い)と、とくに strain-based WIF が高くなっていた. 職場環境スト レスについても strain-based WIF r = -0.562 (p <0.001) で高い負の相関, time-based WIF r = -0.398(p < 0.001), behavior-based WIF r = -0.364 (p <0.001) に中程度の負の相関があり、職場環境ストレ ス得点が低い (ストレスが高い) と、とくに timebased WIF, behavior-based WIF が高くなっていた. また、仕事のコントロールに behavior-based FIW と 中程度の相関があり、仕事のコントロールが低いほど beh avior-based FIW が高くなっていた. 仕事の適正 では、strain-based WIF、behavior-based WIF、behavior-based FIW に中程度の相関があり、働きがいと behavior-based WIF に中程度の相関があった. サポ ート状況では上司,同僚,家族友人のサポートと strain-based WIF に中程度の相関があり、サポート が低いと strain-based WIF が高くなっていた. 家族 友人のサポートは strain-based FIW とも中程度の相 関があった.

Ⅳ. 考 察

本調査は、政令市でもある A 市内の B 区にある認可保育園の同じ法人系列の保育園の保護者を対象に調査を実施した。 B 区は A 市の中でも世帯の平均所得が高く、また高学歴の住民が多いことが区の統計情報に出ている。したがって、今回の調査でも大企業に勤務し、学歴も大学卒業以上の対象者が多かった。逆にいえば、女性でもキャリア志向が高い対象者がいることが推察できる。

職業性ストレスについて先行研究では、女性は男性よりも裁量度のなさや上司・同僚の支援のなさを感じているものが多いとの報告がある⁹⁾、本研究では、女

性のほうが男性より職業性ストレスにおいて、心理的 仕事の量, 質の負担, 身体的負担, 職場対人ストレス, 職場環境ストレスが高い状況にあった。一方、仕事の コントロール度や働きがいや仕事の適性など、仕事の 適正ややりがいに対するストレスには差はなかった. これは、調査対象者が男女ともに大学卒業の高学歴者 が多いことが影響しているのではないかと考えられる. WFC における男性、女性の差は、就学前児童をもつ 日本のIT エンジニアを対象に行った調査において、 仕事による家庭の障害 (WIF) レベルは、女性より も男性で有意に高く、家庭による仕事の障害 (FIW) レベルは女性において有意に高いと報告されてお り^{10,11)},本研究においても、WIFでtime-basedと behavior-based で男性のほうが高く. FIW timebased は女性のほうが高かった. したがって、男性は 仕事における役割葛藤が、家庭で過ごす時間がないこ とや、家庭内における父親としての役割が遂行できな いことによるストレスがあることがわかる。一方、女 性では、慣例的に子育て行う習慣があることから 12). 男性とは逆に、家庭にかける時間により思うように仕 事ができないことに対するストレスがあることが考え られる. とくに、本研究の調査女性の多くが大学卒業 ということもあり、自分のキャリアの遂行と家庭での 役割の間で葛藤が生じていることが推察できる. しか し、先行研究 10,13) と異なり、strain-based WIF に性 差はなかった。このことは、本研究の調査対象者の多 くが大学卒業以上で大手企業に勤務しているという特 徴から、男女平等とする雇用実態が反映され、男性だ けでなく女性にも仕事のストレスが家庭へ影響を及ぼ し、性差がなかったのではないかと考えられる.

WFCと職業性ストレスの関連では、職業性ストレ スの各項目の得点に男女に差があることから分析を分 けて検討した. 男性では週の労働時間が time-based WIF と関連があり、労働時間が長いことで、家庭で の役割がはたせないことに葛藤を抱いていた. 仕事が 忙しいことで思うように家事や育児にかかわることの できないジレンマは今後の心理的ストレス反応を高め ることが示唆されている14)ことから、内閣府の行っ ている仕事と生活の調和推進のための国民運動のさら なる推進が必要であることが示唆された. また. 労働 時間を制御変数とした偏相関において、心理的な仕事 量の負担は仕事・家庭間の時間的な葛藤だけではなく、 ストレス反応的な葛藤とも関連していた. さらに, 心 理的な仕事の質も同様に、仕事・家庭間のストレス的 葛藤と関連していた、このことから仕事の質的、心的 負担感によるストレスは、家庭での父親としての役割 をはたせないことへの葛藤につながり、父親としての

自覚 ¹⁵⁾ や夫婦関係の満足感 ¹⁶⁾, さらに共働きである 母親の心理状態 ¹⁷⁾ にも影響を与えることが報告され ていることから,児への影響が懸念される.したがって,今後の父子関係のためにも改善の必要性があると 考えられる.その一方,職場や家庭でのサポート状況と WFC との関連はなかった.これは,男性は仕事が 重要な局面にある状況では,仕事を優先しているとの 報告もある ^{12,18)} ことから,職場から家庭へのサポートの必要性はないのかもしれない.

女性における WFC と職業性ストレスの関連において、単相関での検討では、time-based WIF に心理的な仕事量の負担と強い相関が、心理的な仕事の質の負担においても中程度の相関がみられ、女性は仕事の時間が家庭生活に影響を与えることに葛藤を抱えているようであった。しかし、strain-based WIF は仕事の質的、心的負担感との関連がみられなかったことから、女性のほうが仕事の質や量より時間を制約されることで、現実に生じる生活への影響に葛藤を抱いていることが考えられる。

一方, 職場の対人ストレスや環境のストレスは, WIF O strain-based, time-based, behavior-based 12 影響を与え、さらに、FIWの behavior-based につい ても職場の対人ストレスの影響を受けていた。この二 つの職場のストレスは労働時間を制御変数とした場合, さらに強い関連が WIF, FIW ともにみられた. つま り、時間的な制約だけではなく、職場の人間関係によ るストレスからくる精神的疲れが、家庭での役割の障 害に強く影響していること示唆される. これは女性に おいて, 男性では関連のみられなかった上司, 同僚, 家族のサポートが strain-based WIF との関連があり. 職場の人間関係のストレスが大きな要因となっている ことからも推察できる. 先行研究において, 働く女性 の人間関係のストレスはうつ症状との関連が報告され ている19)ことから、働く母親にとって職場の人間関 係の改善が急務であるといえる。また、働く母親の就 労に影響を及ぼす要因として,同僚の理解や協力,職 場の配慮があげられていることから200.働く母親に とって、労働時間の短縮など育児支援制度の導入も必 要であるが、育児に関して理解を示すことができる職 場の雰囲気づくりが最重要課題であることが本調査よ り客観的に示唆された.

本研究には、いくつか限界がある。第一に調査対象者が政令市の中でも比較的収入が高く学歴の高い地域で実施していることから、年齢も30代が多く、大企業に勤務し福利厚生も恵まれ、また女性でもキャリア志向のものが多い可能性があるため、政令市以外の他地域では異なる結果になるかもしれない。しかし、女

性の大学進学率が 41.1%²¹⁾ と微増していることに伴い母親の出産平均年齢が 30.4 歳 ²²⁾ となっていること, さらに内閣府がすすめる男女共同参画により, 女性がキャリアアップしていく可能性があり, このような地域が今後増加する可能性もあることが推察されるため有用であると考える. 第二の限界として, 本研究の対象者が忙しい共働き子育て世帯を対象にしているため、回答率が低かったことにある. 仕事・家庭の役割で多忙な人ほど回答できないことによる選択バイアスが生じていることは否定できない. 今後は回答項目数を調整することを検討する必要がある. 第三の限界として, 本調査は質問紙による主観的指標のみによって回答を得ている点であり, 今後は乳幼児を子育て中の父親や母親がいる職場の上司や同僚などの他者からの評価も必要である.

以上のような限界はあるが、ワーク・ファミリー・コンフリクトと職業性ストレスとの関連として、男性、女性ともに労働時間の調整が課題としてあげられ、今後、国が推奨する仕事と生活の調和推進のいっそうの強化の必要性が示唆された. さらに、女性では労働時間の調整だけではなく、職場における人間関係の調整の必要性が客観的な知見として示唆され、男女参画における課題としてさらなる調査、研究が必要であると考える.

謝辞

本研究にご協力いただいた保育園の保護者の方々,また配布 にご協力いただいた各園の園長,保育士の方々,そして保育園 理事長に心より感謝申し上げます.

この研究は文部科学省基盤 C の助成を受けて行った研究の一部である.

文 献

- 1) 経済社会総合研究所: 平成 20 年度 ワークー・ライフ・バランス社会の実現と生産性の関係に関する研究. 内閣研究報告書, 2010.
- 2) 玉田太朗: すべての女性の幸せを願って―仕事と生 活の調和 (ワーク・ライフ・バランス: WLB) は 定着するか? 女性心身医 14:158-167, 2009.
- 3) Greenhaus JH, Parasuraman S, Collins KM: Career involvement and family involvement as moderators of relationships between work-family conflict and withdrawal from a profession. J Occup Health Psychol 6: 91–100, 2001.
- 4) Kahn RL, Wolfe DM, Quinn RP el al: Organizational Stress: Studies in Role Conflict and Ambiguity, Wiley, Oxford, p59, 1964.
- 5) 渡井いずみ,錦戸典子,村嶋幸代:ワーク・ファミリー・コンフリクト尺度(Work-Family Conflict Scale:WFCS)日本語版の開発と検討.産業衛誌48:71-81,2006.

- 6) 下光輝一, 原谷隆史, 中林 賢ほか:主に個人評価を目的とした職業性ストレス簡易調査票の完成. 「作業関連疾患の予防に関する研究」報告書, 労働省, p126-138, 2000.
- 7) 下光輝一:職場環境等の改善によるメンタルヘルス 対策に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金・労 働安全衛生総合研究, 2002-2004.
- 8) Seto M, Morimoto K, Maruyama S: Work and family life of childrearing women workers in Japan; comparison of non-regular employees with short working hours, non-regular employees with long working hours, and regular employees. J Occup Health 48: 183–191, 2006.
- 9) 水野恵理, 佐藤都也子, 岩崎みすずほか: 勤労者の ストレス状況とメンタルヘルス支援―職業性ストレ ス簡易調査票を用いて. 山梨大看会誌 6:31-36, 2008.
- 10) Watai I, Nishikido N, Murashima S: Gender difference in work-family conflict among Japanese information technology engineers with preschool children. J Occup Health 50: 317–327, 2008.
- 11) 長見まき子: ワークライフバランスを実践する某製造業従業員におけるワーク・ファミリー・コンフリクトの実態と精神的健康度との関係. 産業精保健 16:224-230, 2008.
- 12) 金井篤子, 若林 満:女性パートタイマーのワーク・ファミリー・コンフリクト. 産業・組織心理学研究11:107-122, 1998.
- 13) 鈴木淳平、松岡洋夫:労働者のワーク・ファミリー・コンフリクト―個人属性による仕事・家庭間葛

- 藤の相違.産業精保健 20:237-249, 2012.
- 14) 島田恭子, 島津明人, 川上憲人:未就学児を持つ共働き夫婦におけるワーク・ライフ・バランスと精神的健康. 厚生の指標 59:10-18, 2012.
- 15) 河野純子: Women's Health のプライマリケア—仕 事と子育てのバランスに悩む働く女性たちの実像. 治療 86: 1879–1884, 2004.
- 16) 朴 志, 金 潔, 近藤理恵ほか:未就学児の父親に おける育児参加と心理的ウェルビーイングの関係. 日保健科会誌 13:160-169, 2011.
- 17) 桐野匡史, 朴 志先, 近藤理恵ほか: 共働き世帯の 父親の育児参加と母親の心理的 well-being の関係. 厚生の指標 58:1-8, 2011.
- 18) 小堀彩子:子どもを持つ共働き夫婦におけるワーク・ファミリー・コンフリクト調整過程. 心理研 81:193-200. 2010.
- 19) Seto M, Morimoto K, Maruyama S: Effects of work-related factors and work-family conflict on depression among Japanese working women living with young children. Environ Health Prev Med 9: 220–227, 2004.
- 20) 山崎恭子, 大高のぶえ:働く母親の就労に影響を及ぼす要因について―乳児・幼児を育児中の就労女性関する研究の文献レビュー. お茶の水醫誌 60:297-303, 2012.
- 21) 文部科学省生涯学習政策局政策課:学校基本調查-平成22年度,文部科学省,2010.
- 22) 厚生労働統計協会:国民衛生の動向 2011/2012, 厚 生の指標 58: 1-499, 2011.

Work-family conflict and job stress among working fathers and mothers caring for young children

Kyoko Yamasaki¹⁾, Haruko Oya²⁾, Eiko Fukuda¹⁾

School of Health Sciences, Tokai University¹⁾
School of Nursing and Rehabilitation Sciences, Showa University²⁾

Summary

Childcare leave and "work-life balance" systems have been introduced to support working fathers and mothers. However, in practice it may be difficult for parents to use these systems. Work to family conflict (WFC) is therefore an important problem. A survey was distributed at a daycare center to evaluate the relationship between WFC and job stress among parents caring for young children. The response rate was 33.6% (98 males, 102 females). In men, there were statistically significant positive correlations between WFC and working hours, quantitative workload, and physical workload. By contrast, in women, WFC strongly correlated with interpersonal conflict in the workplace, the quality of the workplace environment, and the availability of social support. The health of the family was a strong factor in working mothers' decisions to continue working. These data suggest that future "work-life balance" policies should address not only work hours but also workplace rapport.

Key words: father/mothers, caring for young children, work-family conflict, job stress

水の通り道(アクアポリン水チャネル)が動く 原動力を発見 ――尿崩症治療薬および新規水利尿薬の開発へ

野田裕美 中野総合病院腎臓内科部長 東京医科歯科大学腎臓内科臨床教授

要旨:体内水分量に応じて尿量が調節されることは、ヒトの生命維持に必要不可欠である.この尿量調節を行っ ているのが水チャネルアクアポリン2(AQP2)であり、体内水分量を適切に維持している、体内が脱水になる と尿量が減少し、水のロスが減る. この仕組みを腎臓の集合管細胞にある AQP2 が担っている. 体内が脱水に なると、水の通り道である AQP2 が細胞内から細胞表面に動くことにより、尿から水分子が大量に再吸収され て体内水分が保持される. AQP2 の遺伝子異常では, 重篤な脱水をきたす腎性尿崩症を引き起こす. 一方, 心不 全、肝硬変、神経疾患などで水利尿不全(浮腫、肺水腫、腹水など)は生命予後悪化因子であるが、これも AQP2 の異常が原因である。しかし、AQP2 が動く分子機序の実体についてはまったく不明であった。

われわれは1分子レベルでの動態測定により、AQP2がモーターコンプレックスを形成し、局所での細胞骨格 分子をコントロールして輸送経路を切り開いていることを発見した. これにより腎性尿崩症および水利尿不全の 治療法開発のターゲットが明らかになった、現在、腎性尿崩症の治療薬は存在せず開発が望まれている、また、 水利尿不全は多くの疾患の生命予後悪化の原因であるだけでなく、高齢者の認知機能低下の原因でもあり、新規 水利尿薬は大きな役割をはたすと考えられる.

Key words: 尿崩症, 水利尿不全, アクアポリンモーターコンプレックス, うっ血性心不全, 肝硬変, SIADH, 低ナトリウム血症

I. はじめに

ヒトの体内で起こるあらゆる生命現象において、水 の移動は必要不可欠である. 代表的なものは尿の生成, 排出である. アクアポリン2 (AQP2) は水分子のみ を通し、ほかにはイオンなどを含めあらゆる物質を一 切通すことはないという特徴をもつ水チャネルであり. 尿量を調節することで体液恒常性の維持を担ってい る 1~6)、体内が脱水になると尿量が減少し、水のロス が減る. この仕組みを腎臓の集合管細胞にある AQP2 が担っている. 体内が脱水になると、水の通り道であ る AQP2 が細胞内から細胞表面に動くことにより、 尿から水分子が大量に再吸収されて体内水分が保持さ れる.

AQP2 の遺伝子異常では体内が重篤な脱水となる腎 性尿崩症をきたす. また. リチウムなどで多くみられ

連絡先:野田 裕美 ynodmed2@tmd.ac.jp

る薬剤性腎性尿崩症も AQP2 の異常が原因となって いる. さらに. 心不全. 肝硬変. 神経疾患などでは浮 腫、肺水腫、腹水などの水利尿不全が生命予後を悪化 させる問題になることが多いが、これも AQP2 の異 常が原因である。すでに、尿中 AQP2 量は体内水分 量の指標としての有用性が確立されているが、それだ けでなく、AQP2を標的とすることにより、現在は未 開発の腎性尿崩症の治療薬や新規水利尿薬の開発が可 能になることが期待されている.

体内が脱水になると下垂体後葉からバソプレシンが 分泌され、腎臓集合管細胞にある受容体に結合すると、 CAMP dependent protein kinase (PKA) 活性化を介 して AQP2 がリン酸化される. その後, AQP2 は細 胞内から細胞表面に移動し、大量に水が再吸収され尿 が濃縮される.この過程には多くのシグナル伝達系が 関与することが明らかになっていた. しかし. 最終的 に AQP2 がリン酸化されるという現象が、いかにし て AQP2 を動かすことにつながるのかということに ついてはまったく不明であった. つまり、AQP2 が動

く分子機序の実体についてはまったく不明であった. われわれは、AQP2 がモーターコンプレックスを形成していることを発見した 7^{-12}). さらに、蛍光相関分光法はよび蛍光相互相関分光法(FCS、FCCS)を輸送体研究に世界ではじめて導入し、コンプレックス構成分子の動態を 1 分子レベルで測定することに成功した。また、プロテオリポソーム再構成系での表面プラズモン共鳴(SPR)での実証も行い、AQP2 が動く分子動力学的機序の実体を明らかにすることに成功した 2.13^{-15} .

本稿では、明らかになった AQP2 の制御機序と臨床応用について概説する.

II. AQP2 の細胞内輸送の概略

AQP2 は尿の濃縮の最終調整が行われる腎臓の集合 管に存在している 1~3). 脱水により血液浸透圧が上昇 すると. 下垂体後葉から血中へ分泌されたバソプレシ ンが腎集合管主細胞表面の V2 受容体に結合し、G タ ンパクを介し, adenylate cyclase が活性化される. この酵素によって cAMP が産生され、PKA の活性化 へと続き、このことにより AQP2のC末にある Ser256 がリン酸化される. このことが引き金となり. 管腔側膜直下に存在していた AQP2 を含む細胞内小 胞が管腔側膜に癒合し (エキソサイトーシス). 膜の 水透過性が亢進する. すると原尿が流れる管腔側から 細胞内への水の再吸収が著しく増加し、尿が濃縮され る。この反応はバソプレシン刺激から数秒以内に認め られる素早いものである. またバソプレシン刺激がな くなると、AQP2を含む管腔膜は細胞内に取り込まれ る (エンドサイトーシス). このようにバソプレシン に応じて AQP2 が細胞内と管腔膜を行き来すること により、管腔膜の水透過性が調節され、水は集合管細 胞を通過して再吸収される. バソプレシン刺激から AQP2 輸送が起こる過程においては、さまざまな情報 伝達系の関与が明らかになっている.

Ⅲ. AQP2 のエキソサイトーシスにかかわる 情報伝達系

AQP2は4量体であるが、このうち3個以上がPKAによってリン酸化されることがAQP2輸送に必要である。しかしPKA自体は細胞質内に広く存在している。PKAが時間空間的に基質に有効に接近し、十分にコントロールされた効果を発揮するためにPKAと基質をリンクするものとしてAKAP(protein kinase A-anchoring protein)がある。このためAQP2の輸送にかかわるAKAPの存在が考えられ、最近

AKAP18 δ が同定された $^{16)}$. さらに近年,AKAP220 が AQP2 のリン酸化に関与していることが報告された $^{17)}$. 少 な く と も こ の 2 種 の AKAP が,PKA を AQP2 にリンクさせていると考えられる.

また PKA 以外にも AQP2 輸送制御にかかわる情報 伝達系が存在する 1^{-3}). 細胞内カルシウム濃度の増加 は AQP2 輸送を引き起こす 1^{8}). さらに cGMP/PKG 情報伝達系は PKA による AQP2 リン酸化を介して AQP2 輸送に関与する 1^{9}). 一方,プロスタグランジンは AQP2 の細胞内への取り込みを促進する 2^{0}). また,アルドステロンの関与も報告されており,AQP2 が管腔膜ではなく側底膜へ移動するようになることが認められているが 2^{1})、その機序は現時点では不明である. さらに,代謝性アシドーシスの条件下においては,AQP2 の管腔側膜への輸送が障害され,慢性腎不全時の尿濃縮能障害にかかわっていることが示されている 2^{20} .

われわれは AQP2 の C 末端は PDZ domain 結合モチーフ (class I) となっており、この部位を介して SPA-1 が AQP2 に結合し、輸送を制御していることを発見した $^{8\sim10)}$. SPA-1 は Rap1 シグナルを抑制するタンパク質 (GTPase activating protein) であり、Rap1 シグナルはアクチン細胞骨格の重合を介して AQP2 輸送に抑制的に働く、実際、SPA-1 のノックアウトマウスでは、AQP2 輸送障害とそれによる尿濃縮能の障害、水腎症が起こる。また、常染色体優性遺伝の腎性尿崩症では C 末の変異が多いことも、この部位の重要性を示している $^{3.7.23}$.

このように、現時点までにさまざまな情報伝達系の関与が世界中の数多くのグループから報告されてきたが、AQP2が動き始めることに、具体的にどのような機序でかかわるのかについてはまったく不明であった。しかし少なくとも AQP2のリン酸化が AQP2を動かす引き金となっていることは確かであり、もっとも重要なイベントである。われわれは、リン酸化が AQP2を動かす分子動力学的実体をはじめて解明することに成功した。これについては後述する。

Ⅳ. 細胞骨格の役割

AQP2 輸送には微小管システムも関与している 1~3). AQP2 を含む細胞内小胞にダイナインやダイナクチンも存在しており、ダイナインの阻害薬で AQP2 輸送は阻害される.

アクチン細胞骨格も AQP2 輸送において重要な役割をはたしている. バソプレシン刺激により腎集合管主細胞管腔膜直下のアクチンの脱重合が起き, このこ

とが AQP2 の管腔膜への輸送に必要である ^{7,14)}. また. 低分子 G タンパク質である RhoA は PKA によって リン酸化されてその活性が阻害され、アクチンの脱重 合が起こり、AQP2輸送を促進する効果をもつ、さら にプロスタグランジンは Rho を介してアクチンの重 合を起こしAQP2輸送を阻害する. このようにアク チン細胞骨格は、AQP2輸送を阻害するバリアーとし ての機能がある.しかし、それだけではなく AQP2 輸送を推進するアクチンケーブルとしての機能も明ら かとなっている14).後者の機能を示すデータとして は、アクチンケーブル上を動いて細胞内小胞などを運 ぶモータータンパクである myosin Vb が AQP2 のエ キソサイトーシスにかかわっていることなどがあ る²⁴⁾. つまり、AQP2 輸送におけるアクチン細胞骨 格の役割にはバリアーとケーブルの二つがあり、 AQP2 が動き始めるときには、この2 群間でアクチン 分子の再分配が起きるのではないかとわれわれは推測 している 14,15).

V. AQP2 を乗せた小胞の管腔膜への癒合

AQP2 を含む細胞内小胞の管腔膜への癒合の機序はシナプス小胞に類似する. つまり AQP2 を含む細胞内小胞には v-SNARE タンパク(vesicle soluble Nethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptors)が存在し、細胞膜側にはt-SNARE タンパク(target membrane SNAREs)が存在している。具体的には VAMP-2(vesicle-associated membrane protein-2)や synaptobrevin などの v-SNARE タンパクおよび SNAP-23(synaptosome-associated protein of 23kDa)や syntaxin 3、syntaxin 4 などの t-SNARE タンパクが AQP2 輸送に関与している 1~3)。 さらに Munc 18b が SNARE 複合体形成をコントロールして、AQP2 のエキソサイトーシスを抑制することが認められている.

Ⅵ. エンドサイトーシス

バソプレシン刺激がなくなると、AQP2を含む管腔 膜は細胞内に取り込まれる。このエンドサイトーシス はクラスリン依存性であり、管腔膜から小胞が分離し て細胞内に取り込まれるところでは、ダイナミンの GTPase 活性を要する。また、ヒートショックタンパ ク質もこの過程に関与する。AQP2がリン酸化される とヒートショックタンパク質の hsc70 が解離し、 AQP2のエンドサイトーシスが抑制される 25)。また、 MAL(myelin and lymphocyte-associated protein) はリン酸化 AQP2 に結合し、エンドサイトーシスを 抑制することも報告されている 26).

エンドサイトーシスされた後の過程については、AQP2ユビキチン化の役割が調べられている。AQP2のリソソームへの移行および分解は K270 でのユビキチン化に依存していることが明らかになり、一部の常染色体優性の腎性尿崩症の発症機序に関与していることが推測されている²⁷⁾.

さらに、AQP2 の L230-D243 の部分に LIP5 が結合 し、リソソームへの移行および分解の過程にかかわっていることが報告されている $^{28)}$.

Ⅲ. 恒常的リサイクリング

AQP2 輸送については上述のように各種シグナルによって引き起こされる調節輸送(regulated trafficking)だけではなく,恒常的に持続している恒常的リサイクリング(constitutive recycling)が存在する.つまり,通常状態でも常に AQP2 分子が細胞内と管腔側膜の間を一定速度で行き来しており, AQP2 存在比は一定に維持されている $^{13,14)}$. そのうえでさまざまなシグナル刺激を受けると,さらにエキソサイトーシスが増加したり,あるいはエンドサイトーシスが増加したりして,管腔側膜上と細胞内における AQP2 の存在比が変化する.このため,エンドサイトーシスを阻害する methyl- β -cyclodextrin やダイナミンのドミナントネガティブ変異体により,管腔側膜上の AQP2 が著明に増加する $^{3,7,13,14)}$.

Ψ. アクアポリンモーターコンプレックス による新規輸送制御メカニズムの解明

上述のように、現時点までにさまざまなシグナル伝達系が輸送制御に関与していることが明らかになっている。しかし AQP2 が最終的にどのような力を受けて動き出すのかという分子機序の実体についてはまったく不明であった。他の膜タンパク質においても輸送制御にかかわるシグナル伝達系については詳細が明らかになっているものが多いが、最終的にタンパク質がどのような力を受けて動き出すのかという分子機序の実体が明らかになっているものはほとんど存在しない。われわれはこの最終的な局面、つまり AQP2 タンパク質を動かす力が発生するメカニズムを解明することに成功した。

まず、AQP2 はモーターコンプレックスを形成していることを認めた 7^{-12})。さらに蛍光相関分光法、蛍光相互相関分光法(FCS、FCCS)による1分子レベルでの分子動態のリアルタイム測定や、リコンビナン

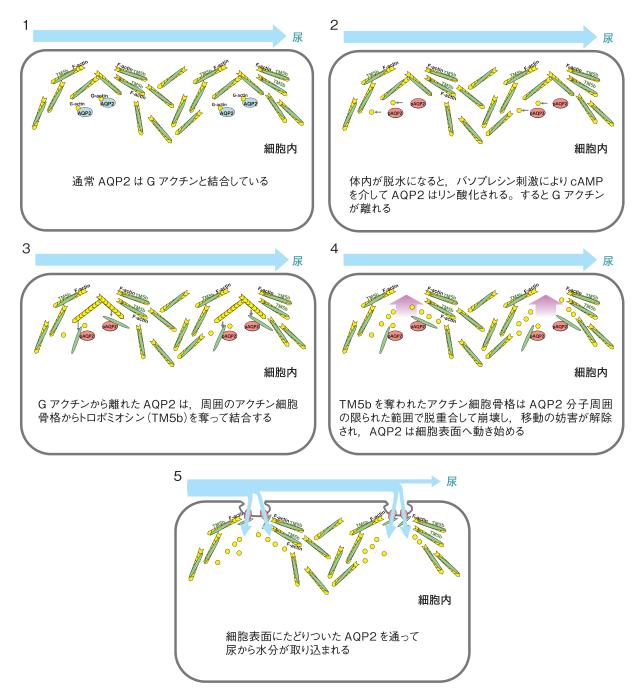


図 1. 腎集合管細胞でのアクアポリン2の輸送メカニズム

アクアポリン 2 (AQP2) 水チャネル分子自身が細胞骨格分子をコントロールすることにより、自らの輸送経路を切り 開いている。

トタンパク質によるプロテオリポソーム再構成系での分子動態の観察などにより以下の機序が明らかとなった(図 1)3.13~15). AQP2 は,通常の状態では細胞内の移動経路上で G アクチンと結合しており,トロポミオシンが結合して安定化されたアクチン細胞骨格により移動が妨げられた状態にある. 体内が脱水になると,バソプレシン刺激を受けて cAMP 情報伝達系を介して AQP2 は Ser256 でリン酸化される. このリン酸化により AQP2 は G アクチンから離れ,アクチン細胞骨格からトロポミオシン 5b を奪って結合する. このときトロポミオシン 5b を失ったアクチン細胞骨

格は、AQP2分子に近いごく狭い範囲で脱重合して崩壊し、その結果として移動の妨害が解除され、AQP2が細胞表面へ動き出すことを発見した。さらに AQP2が結合するトロポミオシン 5b は管腔膜直下に局在し、AQP2の移動の方向性を規定していると考えられた。この機序は、輸送されるタンパク質自体が細胞骨格タンパク質を制御して自分自身を動かす原動力を発生させるということを意味している。その後、Brownらのグループは、バソプレシン刺激が AQP2 発現細胞においてのみ細胞のエキソサイトーシスを著明に増加させることを証明したが 290、これも AQP2 自身がエ

キソサイトーシスをコントロールしているという結果と一致するものである。この結果から、現在は存在しない腎性尿崩症の治療薬や新規水利尿薬の開発につながることが期待される。さらに、これまで知られていなかったタンパク質輸送の仕組みが明らかになったことで、他の膜タンパク質においても同様の輸送が起きている可能性が推測される。

IX. 細胞内分子複合体の挙動を解明する 新しいアプローチ

FCS, FCCSによる1分子レベルでの動態測定およびプロテオリポソーム再構成系などを組み合わせた新しいアプローチをわれわれは開発したが、これは膜タンパク質研究全般においてもきわめて有効であると考えられる.

水チャネルだけでなく、輸送体などの膜タンパク質の多くは複合体を形成している。さらに細胞内で分子複合体は常にダイナミックに変化し離合集散しながら、その機能を制御していると考えられる。FCS、FCCSはこの分子複合体の挙動の解明においてとくに有効な方法である。つまり、複合体の全体および各構成分子のそれぞれの動きと結合、解離を1分子レベルで明らかにすることができるものである。

また,通常の顕微鏡観察では分子と分子の距離が接近しているという情報しか得られないが、FCS、FCCSでは時間軸のデータも加えることで機能的な結合のみを検出することができる. つまり, false positive がきわめて少ない. 細胞の中のいろいろな場所での単一分子の動きを観察することができるため, 細胞内輸送を起こす分子機序を明らかにするうえできわめて有効である.

さらに仮説を構成する分子のみでプロテオリポソーム再構成系を作成し、その現象を再現させる手法は、仮説の分子機序を実証することが可能である。このような分子動力学的アプローチは、生化学的手法や通常の顕微鏡観察では解明できない時空間分子プロセスを明らかにできるものであり、膜タンパク質機能異常が原因となっている多くの病態の分子機序解明および治療法開発のターゲットの探索において強力な手段になりうると考えられる。

X. 水チャネル活性の制御

上述のように、AQP2 水チャネルがリン酸化される と細胞膜表面に大量に移動することで、尿から水分子 が大量に再吸収される.しかし、個々の分子自体の水 チャネル活性がリン酸化によって制御されるかについ

XI. 浸透圧と AQP2

バソプレシン刺激とは独立して、腎臓集合管細胞が高浸透圧にさらされると AQP2 の細胞膜発現量が増加し水を再吸収する方向に働く.一方、低浸透圧下では AQP2 の細胞膜発現量が減少し水再吸収が抑制される 34~36). また、腎臓集合管細胞はバソプレシン刺激の有無で著しい浸透圧変化にさらされるため、強い細胞容積調節能を有する必要があるが、AQP2 は細胞骨格を制御することで細胞容積の恒常性維持にも働いていることをわれわれは発見した 37). つまり AQP2 は水チャネルとしてだけでなく、強い細胞骨格制御能力をもつことが明らかになった.

XII. AQP2 の異常による疾患

AQP2 の遺伝子異常では、体内が重篤な脱水となる腎性尿崩症をきたす。また、リチウムなどで多くみられる薬剤性腎性尿崩症も AQP2 の異常が原因である ^{1,3)}. さらに、心不全、肝硬変、神経疾患などでは浮腫、肺水腫、腹水などの水利尿不全が生命予後を悪化させるが、これも AQP2 の異常が原因である ^{1,3)}. 次に AQP2 が原因となっている病態を概説する.

1. 腎性尿崩症

腎性尿崩症はバソプレシン刺激を受けても腎臓が反応することができず、尿を濃縮することができない疾患である。 先天性の場合、出生直後から脱水症状による発熱、嘔吐、発育不全が生じる。 先天性腎性尿崩症の約 90% はバソプレシン V2 受容体の変異によるもので、X 染色体劣性遺伝であるが、約 10% は AQP2

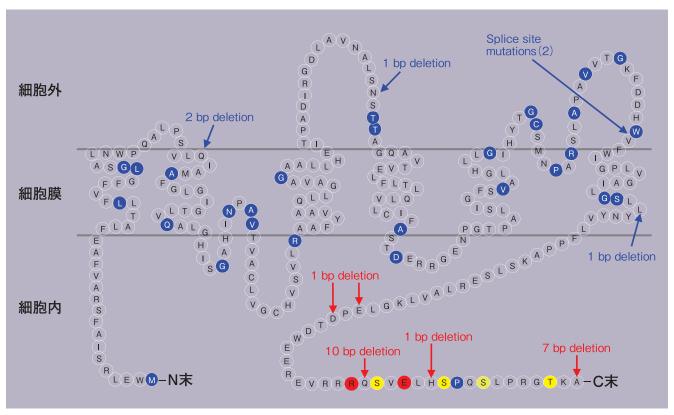


図2. 腎性尿崩症を起こす水チャネルアクアポリン2の遺伝子変異

常染色体劣性遺伝の腎性尿崩症を起こす変異を青色で,常染色体優性遺伝の腎性尿崩症を起こす変異を赤色で示した.リン酸化部位を黄色で示した. 位を黄色で示した.

の遺伝子異常によるものであり、常染色体優性または 劣性遺伝である。また先天性以外ではリチウムなどの 薬剤性の腎性尿崩症が多く存在するが、この場合も AQP2の機能異常を介している。

現在までに AQP2 の 43 種類の遺伝子変異がみつかっている (The Human Gene Mutation Database: http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php) [図 2]. 劣性遺伝の変異はタンパク質のミスフォールディングを生じ正常な構造形成が障害され、すぐに分解されてしまうタイプの変異である。AQP2 は 4 量体を形成するが、ミスフォールディングを生じる変異では、正常タンパク質と 4 量体を形成することがないため、正常のAQP2 タンパク質の働きを阻害しない。このため劣性遺伝となる。一方、優性遺伝の変異は AQP2 の細胞膜表面へのエキソサイトーシスを障害するものや、もしくはユビキチン化による分解を亢進させるものである。タンパク質の構造自体は正常であるため、正常のAQP2 タンパク質と 4 量体を形成する。このため正常AQP2 の働きも阻害するため優性遺伝となる。

腎性尿崩症自体に対する根本的な治療は現在存在せず、対症療法が行われる. つまり塩分制限と脱水防止のため十分な水分を補給する. とくに AQP2 などの遺伝子異常による場合は、生後初期から脱水や著明な高 Na 血症による意識障害をきたす危険があるので、

早期に診断し十分な水分補給を行うことが重要である. 多尿がコントロールできない場合には、サイアザイド系利尿薬による対症療法も行われる.サイアザイド系利尿薬では、遠位尿細管でNa-Cl共輸送体を抑制することによりNa 利尿が起き細胞外液量が減少し、それによって近位尿細管でのNa 再吸収を増加させ、遠位尿細管以降へのdeliveryを減少させることで尿量を減少させる.

AQP2 を標的にした根本的な治療法の開発・研究が 現在すすめられており、これについては後述する.

2. 水利尿不全

AQP2の機能低下により上記の腎性尿崩症が起きるが、AQP2の機能が異常亢進すると水利尿不全を起こす。もっともよく知られているものは、うっ血性心不全、肝硬変そして抗利尿ホルモン不適切分泌症候群(SIADH)である(図 3)1.3)。うっ血性心不全では心拍出量の低下から血管充満圧が低下し、圧受容体を介してバソプレシン分泌が増加し、AQP2の細胞膜発現量が増加し水再吸収が亢進する。これにより著明な体液量増加とそれによる希釈性の低ナトリウム血症(hypervolemic hyponatremia)を生じ予後を悪化させる。一方、肝硬変においては、一酸化窒素による脾臓での血管拡張および低アルブミン血症により有効循環血液

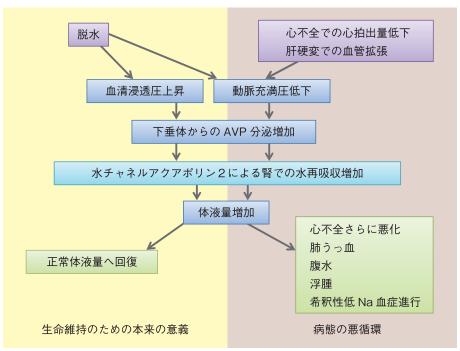


図3. 水チャネルアクアポリン2の本来の生理的意義と病態への関与水チャネルアクアポリン2(AQP2)の本来の機能は、体内が脱水になったとき尿から水分を再吸収して体液量を正常に維持することである。よって AQP2 の機能が阻害されると腎性尿崩症を起こす。一方、心不全や肝硬変などの病態では、AQP2 は水利尿不全を悪化させる原因となっている。このため、AQP2 の機能を調節することは腎性尿崩症および水利尿不全の根本治療となる。

量が減少し、AQP2を介して水再吸収が亢進し体液量が増加する。つまり、心不全と肝硬変における hypervolemic hyponatremia は AQP2 機能の異常亢進が原因であり、バソプレシン V2 受容体拮抗薬であるトルバプタンがすでに臨床で使用されている。SALT-1、2 試験では、心不全、肝硬変などの低ナトリウム血症の改善が認められている。また、EVEREST 試験やわが国での QUEST 試験などにおいて心不全患者の呼吸困難、浮腫、低ナトリウム血症などの改善が示されている。しかし、死亡や再入院などハードアウトカムを改善する効果は得られていない。やはりAQP2分子自体をターゲットにした純粋な水利尿薬の開発が望まれており後述する。

SIADHは、バソプレシン分泌過剰により AQP2による水再吸収が増加し低ナトリウム血症を生じる病態である。SIADHの原因としては中枢神経疾患(髄膜炎、くも膜下出血など髄膜刺激を伴うもの)や胸腔内疾患(肺炎、肺癌、人工呼吸など胸腔内圧を上昇させるもの)や薬剤によるバソプレシン分泌亢進、および異所性 AVP 産生腫瘍がある。SIADHの状態が長く続くと、低浸透圧血症が AQP2の細胞膜発現を部分的に軽減させ水再吸収も部分的に抑えられる(上述の「浸透圧と AQP2」の項参照)。これをバソプレシンエスケープ現象という。これにより SIADH では体液量

の増加がわずかとなり、euvolemic hyponatremia になるという特徴がある。SIADH による低ナトリウム血症の治療の原則は水制限であるが、効果が不十分な場合には V2 受容体拮抗薬が有効であり、わが国では異所性抗利尿ホルモン産生腫瘍に限りモザバプタンが使用可能である。

2. 体液量調節異常の評価に有用な AQP2 の 尿中排泄量

尿中に排泄される AQP2 タンパク質の量は AQP2 による水再吸収を鋭敏に反映するため,尿崩症や水利尿不全など体内水分調節が異常になるさまざまな病態での診断,鑑別にきわめて有用である ^{38,39)}. AQP2 は細胞内小胞由来のエクソソームに挿入された形で尿中に排泄されるが,AQP2 の細胞膜発現が増加するときに尿中排泄量も増加する. つまり体内が脱水となり水再吸収が亢進したときに,AQP2 の尿中排泄量も増加する. このため,心不全,肝硬変,SIADH などの水利尿不全状態では尿中 AQP2 量が増加している. 心不全では,V2 受容体拮抗薬投与による水利尿の増加を尿中 AQP2 量が鋭敏に反映するため治療効果判定にも有用性が期待されている.

W. AQP2 を標的にした腎性尿崩症の治療薬 および新規水利尿薬の開発

腎性尿崩症自体の治療薬は存在せず、上述のように 対症療法が行われている. 現在, AQP2を標的にした 根本的な治療薬の開発研究がすすめられている. 腎性 尿崩症モデルマウスにおいて AQP2 のリン酸化を増 加させる目的で種々のホスホジエステラーゼ阻害薬を 投与したところ、PDE4 阻害薬であるロリプラムに有 意な改善効果が認められている400.また、プロスタ グランジン EP4 受容体のアゴニストにより腎性尿崩 症が改善されたという報告もある⁴¹⁾. さらに, AQP2 遺伝子をウイルスベクターで導入発現させることで治 療効果が認められたという報告もある420. われわれ は、トロポミオシン 5b の機能を特異的に抑制するこ とにより、変異 AQP2 の輸送障害を改善することを 培養細胞で認めた 3,13~15). AQP2 輸送の最終局面で直 接輸送にかかわるトロポミオシン 5b の機能を抑制す れば、遺伝性のみならず薬剤性を含めた腎性尿崩症全 般に有効であると考えられる. 臨床現場への応用に向 けて多くのグループで研究開発がすすめられている.

心不全や肝硬変などでの水利尿不全に対しては上述の通り V2 受容体拮抗薬が使用されている。しかしその有効性は短期的な症状および低ナトリウム血症の改善にとどまっており,長期予後や死亡や再入院などのハードアウトカムを改善する効果は得られていない。このため,AQP2分子自体をターゲットにした純粋な水利尿薬の開発が望まれている。われわれは AQP2の細胞膜表面への移動にトロポミオシン 5b との相互作用が必要であることを解明した 3.12~15.43)。このためこの相互作用を阻害することにより新規水利尿薬の開発が可能になると考えられる。

XV. おわりに

FCS、FCCSによる1分子レベルでの動態測定、およびプロテオリポソーム再構成系などを組み合わせた新しいアプローチをわれわれは開発したが、これによりAQP2がモーターコンプレックスを形成し、局所での細胞骨格分子をコントロールして輸送経路を切り開いていることを発見することができた。この結果、腎性尿崩症および水利尿不全の治療法開発のターゲットが明らかになった。現在、腎性尿崩症の治療薬は存在せず開発が望まれている。また、水利尿不全は多くの疾患の生命予後悪化の原因であるだけでなく、高齢者の認知機能低下の原因でもあり、新規水利尿薬は大きな役割をはたすと考えられる。

文 献

- 1) Noda Y, Sasaki S: Regulation of water balance: urine concentration and dilution. Schrier's Diseases of the Kidney, 9th Ed, ed by Coffman TM, Falk RJ, Molitoris BA et al, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p132–158, 2012.
- 2) Fushimi K, Uchida S, Hara Y et al: Cloning and expression of apical membrane water channel of rat kidney collecting tubule. Nature **361**: 549–552, 1993.
- 3) Noda Y, Sohara E, Ohta E et al : Aquaporins in kidney pathophysiology. Nat Rev Nephrol 6: 168 –178, 2010.
- 4) Agre P, Sasaki S, Chrispeels MJ: Aquaporins: a family of water channel proteins. Am J Physiol: 265: F461, 1993.
- 5) Sasaki S, Fushimi K, Saito H et al: Cloning, characterization, and chromosomal mapping of human aquaporin of collecting duct. J Clin Invest 93: 1250–1256, 1994.
- 6) Sasaki S: Aquaporin 2; from its discovery to molecular structure and medical implications. Mol Aspects Med 33: 535–546, 2012.
- 7) Noda Y, Sasaki S: Regulation of aquaporin-2 trafficking and its binding protein complex. Biochim Biophys Acta 1758: 1117–1125, 2006.
- 8) Noda Y, Horikawa S, Furukawa T et al: Aquaporin-2 trafficking is regulated by PDZ-domain containing protein SPA-1. FEBS Lett **568**: 139–145, 2004.
- 9) Noda Y, Sasaki S: Molecular mechanisms and drug development in aquaporin water channel diseases: molecular mechanism of water channel aquaporin-2 trafficking. J Pharmacol Sci 96: 249 –254, 2004.
- 10) Noda Y, Sasaki S: Trafficking mechanism of water channel aquaporin-2. Biol Cell **97**: 885-892, 2005
- 11) Noda Y, Horikawa S, Katayama Y et al: Water channel aquaporin-2 directly binds to actin. Biochem Biophys Res Commun **322**: 740-745, 2004.
- 12) Noda Y, Horikawa S, Katayama Y et al: Identification of a multiprotein "motor" complex binding to water channel aquaporin-2. Biochem Biophys Res Commun 330: 1041-1047, 2005.
- 13) Noda Y, Horikawa S, Kanda E et al: Reciprocal interaction with G-actin and tropomyosin is essential for aquaporin-2 trafficking. J Cell Biol 182: 587-601, 2008.
- 14) Noda Y, Sasaki S: The role of actin remodeling in the trafficking of intracellular vesicles, transporters, and channels; focusing on aquaporin-2. Pflugers Arch 456: 737-745, 2008.
- 15) Noda Y, Sasaki S: Actin-binding channels. Prog Brain Res 170: 551–557, 2008.
- 16) Henn V, Edemir B, Stefan E et al: Identifica-

- tion of a novel A-kinase anchoring protein 18 isoform and evidence for its role in the vasopressin-induced aquaporin-2 shuttle in renal principal cells. J Biol Chem 279: 26654-26665, 2004.
- 17) Okutsu R, Rai T, Kikuchi A et al: AKAP220 colocalizes with AQP2 in the inner medullary collecting ducts. Kidney Int 74: 1429–1433, 2008.
- 18) Chou CL, Yip KP, Michea L et al: Regulation of aquaporin-2 trafficking by vasopressin in the renal collecting duct; roles of ryanodine-sensitive ca²⁺ stores and calmodulin. J Biol Chem **275**: 36839-36846, 2000.
- 19) Bouley R, Breton S, Sun T et al: Nitric oxide and atrial natriuretic factor stimulate cGMP-dependent membrane insertion of aquaporin 2 in renal epithelial cells. J Clin Invest 106: 1115–1126, 2000.
- 20) Nejsum LN, Zelenina M, Aperia A et al: Bidirectional regulation of AQP2 trafficking and recycling: involvement of AQP2-S256 phosphorylation. Am J Physiol Renal Physiol 288: F930-F938, 2005.
- 21) de Seigneux S, Nielsen J, Olesen ET et al: Long-term aldosterone treatment induces decreased apical but increased basolateral expression of AQP2 in CCD of rat kidney. Am J Physiol Renal Physiol 293: F87–F99, 2007.
- 22) Mouri T, Inoue T, Nonoguchi H et al: Acute and chronic metabolic acidosis interferes with aquaporin–2 translocation in the rat kidney collecting ducts. Hypertens Res 32: 358–363, 2009.
- 23) Kuwahara M, Iwai K, Ooeda T et al: Three families with autosomal dominant nephrogenic diabetes insipidus caused by aquaporin-2 mutations in the C-terminus. Am J Hum Genet 69: 738-748, 2001.
- 24) Nedvetsky PI, Stefan E, Frische S et al : A role of myosin Vb and Rab11–FIP2 in the aquaporin–2 shuttle. Traffic 8: 110–123, 2007.
- 25) Lu HA, Sun TX, Matsuzaki T et al: Heat shock protein 70 interacts with aquaporin-2 (AQP2) and regulates its trafficking. J Biol Chem 282: 28721-28732, 2007.
- 26) Kamsteeg EJ, Duffield AS, Konings IB et al: MAL decreases the internalization of the aquaporin-2 water channel. Proc Natl Acad Sci USA 104: 16696-16701, 2007.
- 27) Kamsteeg EJ, Savelkoul PJ, Hendriks G et al: Missorting of the aquaporin-2 mutant E258K to multivesicular bodies/lysosomes in dominant NDI is associated with its monoubiquitination and increased phosphorylation by PKC but is due to the loss of E258. Pflügers Arch 455: 1041–1054, 2008.
- 28) van Balkom BW, Boone M, Hendriks G et al: LIP5 interacts with aquaporin 2 and facilitates its lysosomal degradation. J Am Soc Nephrol 20:

- 990-1001, 2009.
- 29) Nunes P, Hasler U, McKee M et al: A fluorimetry-based ssYFP secretion assay to monitor vasopressin-induced exocytosis in LLC-PK1 cells expressing aquaporin-2 (AQP2). Am J Physiol Renal Physiol 295: C1476-C1487, 2008.
- 30) Kuwahara M, Fushimi K, Terada Y et al: cAMP-dependent phosphorylation stimulates water permeability of aquaporin-collecting duct water channel protein expressed in Xenopus oocytes. J Biol Chem 270: 10384–10387, 1995.
- 31) Lande MB, Jo I, Zeidel ML et al: Phosphorylation of aquaporin-2 does not alter the membrane water permeability of rat papillary water channel-containing vesicles. J Biol Chem 271: 5552-5557, 1996
- 32) Moeller HB, MacAulay N, Knepper MA et al: Role of multiple phosphorylation sites in the COOH-terminal tail of aquaporin-2 for water transport: evidence against channel gating. Am J Physiol Renal Physiol 296: F649-F657, 2009.
- 33) Eto K, Noda Y, Horikawa S et al: Phosphorylation of aquaporin-2 regulates its water permeability. J Biol Chem 285: 40777-40784, 2010.
- 34) Kasono K, Saito T, Saito T et al: Hypertonicity regulates the aquaporin-2 promoter independently of arginine vasopressin. Nephrol Dial Transplant 20: 509-515, 2005.
- 35) Saito T, Saito T, Kasono K et al: Hypotonicity reduces the activity of murine aquaporin-2 promoter induced by dibutyryl cAMP. Exp Physiol 93: 1147–1156, 2008.
- 36) Hasler U, Nunes P, Bouley R et al: Acute hypertonicity alters aquaporin-2 trafficking and induces a MAP kinase-dependent accumulation at the plasma membrane of renal epithelial cells. J Biol Chem 283: 26643-26661, 2008.
- 37) Li YH, Eto K, Horikawa S et al: Aquaporin-2 regulates cell volume recovery via tropomyosin. Int J Biochem Cell Biol 41: 2466-2476, 2009.
- 38) Kanno K, Sasaki S, Hirata Y et al: Urinary excretion of aquaporin-2 in patients with diabetes insipidus. N Engl J Med 332: 1540-1545, 1995.
- 39) Sasaki S, Ohmoto Y, Mori T et al: Daily variance of urinary excretion of AQP2 determined by sandwich ELISA method. Clin Exp Nephrol 16: 406–410, 2012.
- 40) Sohara E, Rai T, Yang SS et al: Pathogenesis and treatment of autosomal-dominant nephrogenic diabetes insipidus caused by an aquaporin 2 mutation. Proc Natl Acad Sci USA 103: 14217–14222, 2006.
- 41) Li JH, Chou CL, Li B et al: A selective EP4 PGE2 receptor agonist alleviates disease in a new mouse model of X-linked nephrogenic diabetes insipidus. J Clin Invest 119: 3115–3126, 2009.
- 42) Suga H, Nagasaki H, Kondo TA et al: Novel

treatment for lithiuminduced nephrogenic diabetes insipidus rat model using the Sendai-virus vector carrying aquaporin 2 gene. Endocrinology 149:5803–5810, 2008.

43) Noda Y: Dynamic regulation and dysregulation

of the water channel aquaporin-2: a common cause of and promising therapeutic target for water balance disorders. Clin Exp Nephrol 18:558-570, 2014.

Discovery of driving mechanism of the water channel aquaporin-2: a promising therapeutic target for diabetes insipidus and water retention

Yumi Noda, MD, PhD

Director, Department of Nephrology, Nakano General Hospital Clinical Professor, Department of Nephrology, Tokyo Medical and Dental University

Summary

The human body is two-thirds water. The ability of ensuring the proper amount of water inside the body is essential for the survival of mammals. The key event for maintenance of body water balance is water reabsorption in the kidney collecting ducts, which is regulated by aquaporin–2 (AQP2). AQP2 is a channel that is exclusively selective for water molecule and never allows permeation of ions or other small molecules. Under normal conditions, AQP2 is restricted in the cytoplasm in the collecting duct cells. But when the body is dehydrated and needs to retain water, AQP2 relocates to the apical membrane, allowing water reabsorption from the urinary tubule into the cell. Its impairments result in various water balance disorders including nephrogenic diabetes insipidus, which is a disease characterized by a massive loss of water through the kidney, leading to severe dehydration in the body. There is currently no cure for this disease. Dysregulation of AQP2 is also a common cause of water retention and hyponatremia that exacerbate the prognosis of congestive heart failure and hepatic cirrhosis. However, the molecular mechanism of AQP2 movement was completely unknown.

We discovered AQP2 forms a multiprotein motor complex. Furthermore, we succeeded to measure the spatial and temporal dynamics of components of AQP2 motor complex at the single molecule level, and discovered the direct mechanism that drives this channel to the targeted site. Our study suggests an appropriate therapeutic target for nephrogenic diabetes insipidus and water retention.

In the clinical practice, urinary AQP2 is a useful marker for body water balance. Moreover, AQP2 is now attracting considerable attention as a potential therapeutic target for water balance disorders commonly occurred in many diseases.

Key words: diabetes insipidus, water retention, aquaporin motor complex, congestive heart failure, hepatic cirrhosis, SIADH, hyponatremia

神経難病に対する遺伝子治療の実現に向けて

仁科 一隆 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学分野

要旨: Short interfering RNA(siRNA)を用いた RNA 干渉(RNA interference: RNAi)は有用な配列特異的な遺伝子発現抑制方法であり、臨床での応用が期待されている。しかし、その際に必要となる生体内における標的臓器への効果的かつ安全なドラッグデリバリーシステム(DDS)が確立されていない状態である。筆者らは、siRNA の生体内におけるベクターとして、ビタミンEの一種である α -tocopherol を化学修飾した siRNA に共有結合させた(Toc-siRNA)。マウス肝臓の内在性遺伝子に対する Toc-siRNA を設計してマウスの尾静脈から投与したところ、肝臓で標的遺伝子の発現量を有意に低下させ、明らかな副作用を認めなかった。その後のわれわれの研究により、Toc-siRNA をマウス高比重リポ蛋白(HDL)とともに脳室内投与した場合、神経細胞内での標的遺伝子発現量を有意に低下させることがわかった。Toc-siRNA はもともと DDS が内包されていないsiRNA に対して DDS を導入しており、この方法を応用することで、現在治療法のない神経難治性疾患における臨床応用が強く望まれる。

Key words:遺伝子治療,神経疾患,siRNA,ドラッグデリバリーシステム,化学修飾

I. はじめに

筆者は神経内科医であり、研修医時代から神経内科の臨床に携わらせていただいた.その際に一番残念であったことは、神経変性疾患を代表とする、いわゆる"神経難病"に対する治療法が確立されていないこと、とくに筋萎縮性側索硬化症をはじめとした一部疾患については治療法がまったくなく、手をこまねいているうちに亡くなってしまう患者を数多く経験したことであった.一方、一部の神経疾患については逆に治療法が確立されつつあり、今まで不十分な治療しかできなかった患者に対しても、新たな治療法を導入することで良好な転帰を得られることも数多く経験できた.そのような日々の中で、なんとか神経難病に対する治療を一つの疾患でもよいから確立したいというのが、筆者が研究の道にすすんだ直接のきっかけであった.

当時はそれまでの主流であった, 化学合成された 1本鎖核酸からなるアンチセンス核酸 (antisense oligonucleotide: ASO) に加えて, 21塩基の 2本鎖核酸からなる short interfering RNA (siRNA) が発見さ

連絡先:仁科 一隆 k-nishina.nuro@tmd.ac.jp

れたころで、核酸医薬を用いて新たな治療法を確立する方法を模索している時期であった。筆者も遺伝子治療の研究を siRNA を用いて開始したが、その一つの研究成果として発表した論文 ¹⁾ に対して、「平成 20年度お茶の水医科同窓会研究奨励賞」をいただいたことは、望外の喜びであった。その後も研究は続いており、世界レベルでは数多くの治験も行われ、一部疾患に対しては認可された遺伝子治療薬も出てきている。神経疾患に対する遺伝子治療薬はまだ存在しないが、今後新たな遺伝子治療薬を用いた神経難病の治療法が確立されることが期待されており、われわれもその一翼を担うべく日々努力している。

本稿では、最初に第22回お茶の水医科同窓会研究 奨励賞受賞論文である、ビタミンE結合 siRNA についての論文を紹介し、その後われわれの研究室を含めた世界レベルでの神経疾患に対する遺伝子治療の進捗 状況について報告したい。

Ⅱ. 受賞論文の紹介――ビタミン E 結合 siRNA を 用いた肝臓における遺伝子治療の可能性について

siRNA はさまざまな疾患に対する遺伝子治療法として期待されているが、安定性や有効性を大きく左右する核酸の各種化学修飾に加えて、生体内でのデリバ

a-tocopherol

1. apoB-1 Toc-siRNA Sense strand(27 RNAs):

5'-GuCAuCACACuGAAuACCAAUGCugG*A-3'
Antisense strand (Toc-29 RNAs)

5'-Toc-ucc*A*gc*AUUGGuAuUCAGUGuGAuGAc*a*C-3'

2. control Toc-siRNA

Sense strand (27 RNAs):

5'-GcACcUAUGCgAUGcGAAUGUUUcuA*C-3' Antisense strand (Toc-29 RNAs)

5'-Toc-gua*U*aa*ACAUUcGcAUCGCAuAGgUUa*u*U-3'

b.

図 1. Toc-siRNA のデザイン

a: ビタミン E 結合部の化学構造式.

b:本研究で用いた siRNA 配列. マウス ApoB 遺伝子に対する配列(apoB-1 Toc-siRNA:Toc apoB-1)と,無関係な遺伝子に対するコントロール配列(control Toc-siRNA:Toc control)の二種. 大文字:RNA, 小文字:2′-0-Methyl RNA, *核酸間 phosphorothioate 化修飾.

リーがもっとも問題となっている。とくに siRNA にはドラッグデリバリーシステム(DDS)が内包されていないため、なんらかの形で DDS を付加する必要がある。今までにウイルスベクター²⁾やハイドロダイナミクス法 ^{3,4)}を用いる方法が siRNA の DDS として検討されてきたが、実際の治療を考えた際には非ウイルスベクターがもっとも現実性があり、肝臓をはじめとしたさまざまな臓器や腫瘍へのデリバリーが試みられている。

現在もっとも研究されている非ウイルスベクターとしてカチオニックリポゾームや、それにさまざまな修飾を加えたものがある。これらのベクターの中には効率よく siRNA をデリバリーさせるものも報告されているが、肝機能障害 5 を代表とする副作用が指摘されている。これらの非ウイルスベクターの中で肝細胞を標的としたものに、N-アセチルガラクトサミン 6 やガラクトース 7 を肝細胞表面上のアシアロ糖蛋白のリガンドとして用いるものや、アポリポ蛋白 $A-I^{8}$ を肝細胞表面上のスカベンジャー受容体 B-I のリガンドとして用いるものが報告されている。これらの方法は有効かつ特異的なデリバリーを可能とするが、インターフェロン応答などの免疫系の賦活化が問題となる 6 .

われわれはベクターとして最適な条件として、対象 臓器または細胞において必要不可欠であり、なおかつ、 その組織では合成ができないものを考えた。ビタミン はそれにもっとも適合する物質であり、ビタミンE、 なかでももっとも生体内における分布や肝臓への輸送経路が判明していて、副作用の少ない脂溶性ビタミンであるα-tocopherol(Toc)を用いることを検討した.Toc は経口摂取後小腸で体内に吸収され、カイロミクロンなどのリポ蛋白によって肝臓に輸送され、その後低比重リポ蛋白や高比重リポ蛋白といったリポ蛋白に取り込まれて体内各臓器にデリバリーされる⁹⁾. そこでわれわれは Toc を siRNA に直接結合させることで、肝臓をターゲットとした生体内での Toc の生理学的輸送動態を用いた siRNA のデリバリーを試みた.

1. 方 法

Toc の 6 位の唯一の水酸基をアミダイト化し(図 1a)、一部を 2′-O-メチル 化 RNA(2′-O-Methyl RNA:OMe)や核酸間ホスホロチオエート化(phosphorothioate:PS)などの化学修飾を施した RNA で置換した 29 塩基からなる siRNA のアンチセンス鎖 5′末端にアミダイトを介して直接結合した 10). その後これに対応する、同様に各種化学修飾を加えた 27 塩基のセンス鎖をアニーリングさせた。siRNA の配列として、肝臓における内在性遺伝子であるアポリポ蛋白B(apolipoprotein B:ApoB)に対する siRNA と、コントロールとしてそのほかの内在性遺伝子に対するものの 2 種を設計した(図 1b). 化学修飾による血清中の RNA 分解酵素(RNase)に対する耐性を評価するために、マウス血清を Toc-siRNA に加え、一定時間温置した後電気泳動した.

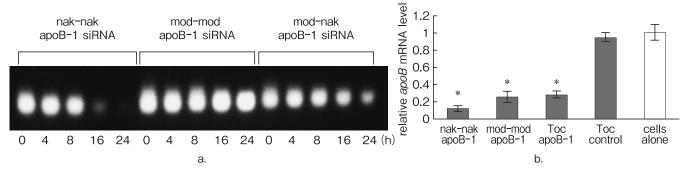


図 2. 化学修飾した siRNA の血清内での安定性および RNAi 効果の保持の証明

a:化学修飾した siRNA をマウス血清内で培養し、経時的変化を電気泳動で示す。いずれかの鎖を化学修飾していない siRNA(naknak, mod-nak)は 24 時間後には分解されたのに対して、いずれの鎖も化学修飾した siRNA(mod-mod)は 24 時間後でも分解されない。

b: 化学修飾した siRNA をマウス肝細胞の培養細胞系にリポフェクション試薬を用いてトランスフェクションした。24 時間後の細胞における標的遺伝子の発現を定量的 RT-PCR 法で測定した。化学修飾していない siRNA(nak-nak apoB-1)と比較して,化学修飾した siRNA(mod-mod apoB-1)およびさらにビタミンEを結合した siRNA(Toc apoB-1)は若干有効性が減弱するものの,有意に標的遺伝子の発現抑制効果を認める。平均値土標準偏差,各個体 3 匹ずつ施行。*p<0.005.

化学修飾や Toc 結合が siRNA の効果に影響するかどうか確認するために、トランスフェクション試薬を用いてマウス肝細胞に発現している ApoB に対する Toc-siRNA をマウス肝細胞の培養細胞系に遺伝子導入した.

生体内での Toc-siRNA の取り込みおよびその分布を調べるために、Toc-siRNA に蛍光色素である Cy3を結合させたものをマウス尾静脈から 8mg/kg で静注し、1時間後に全身臓器を取り出して固定後切片を共焦点顕微鏡で観察した。また細胞質内への取り込みを確認するため、尾静脈から 32mg/kg の Toc-siRNA を静注した 3時間後に肝臓を取り出し、肝臓内から短い RNA のみを抽出して、今回用いた Toc-siRNA のアンチセンス鎖を認識するプローブでノザンブロット法を行った。

次に、生体内における Toc-siRNA の効果を調べるために、マウス尾静脈から ApoB に対する Toc-siRNA を 2mg/kg で静注し、48 時間後に肝臓を取り出して標的遺伝子のメッセンジャー RNA(messenger RNA:mRNA)の発現量を定量的 RT-PCR(qRT-PCR)法を用いて調べた。その際、標的遺伝子以外の遺伝子の抑制を生じていないかどうかも評価した。その後この量を投与したときの効果持続時間を、静注後1、2、4日後の肝臓を用いて、同様に qRT-PCR 法で標的遺伝子の ApoB mRNA の発現量を評価した。また0.5~32mg/kg まで投与量を分け、静注後2日後の肝臓で同様に定量的 RT-PCR 法で標的遺伝子である ApoB mRNA の発現量を評価した。

ApoB に対する Toc-siRNA 投与による抑制効果として,投与後 1,2,4日後の採血から血清を得て,中性脂肪とコレステロールの変化を前値と比較して評価

した. また肝臓における ApoB の発現を抑制することで肝臓への脂肪沈着を生じることが知られているため, 投与 4 日後の肝臓の組織学的検索を行い, 脂肪滴の沈着を生じているかどうか確認した.

Toc-siRNA 投与によりインターフェロン応答をは じめとした副作用が生じているかどうか確認するため に、Toc-siRNA を 32mg/kg 投与されたマウスを静 注 3 時間後に採血を行い、血清中のインターフェロン -aを測定した。また、このマウスの肝臓におけるイ ンターフェロン $-\beta$ の mRNA 発現量を定量的 RT-PCR 法で確認した。さらに 2mg/kg 投与群で投与 1, 2 日後にも採血を行い、血算および血清の生化学を検 査した。

2. 結 果

化学修飾された Toc-siRNA を血清とともに温置した後電気泳動したところ、化学修飾を加えないものと比較して 24 時間後でも分解されずに残存していた (図 2a). 加えられた化学修飾により血清中の RNase に対する耐性が得られたものと考えられ、過去の報告 ^{11,12)} と同様、生体内にそのまま投与する siRNA には配列内の RNA の OMe RNA 化や核酸間 PS 化といったさまざまな核酸化学修飾を適切な位置に挿入することが必須であることを示した.

トランスフェクション試薬を用いた培養細胞系での遺伝子導入では、化学修飾および Toc 結合による内在性遺伝子発現抑制に有意差は認められなかった(図2b). 核酸の化学修飾を挿入する際に、配列上の場所によっては RNAi 活性を低下させるものも知られているが、今回選んだ場所については、化学修飾を加えても RNAi 活性に影響を及ぼさないことがわかった.

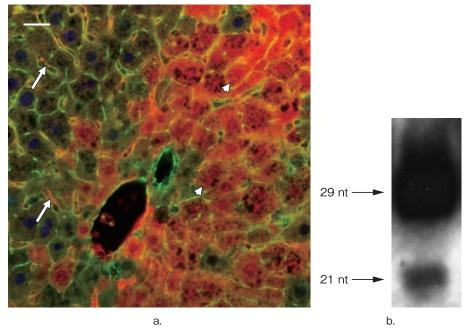


図3. 静注後の Toc-siRNA の肝臓へのデリバリー

a:蛍光標識 Toc-siRNA を 8mg/kg で静注し,1 時間後の肝臓における蛍光を共焦点顕微鏡で観察した。赤色の蛍光標識 Toc-siRNA を肝細胞(矢印)および非肝細胞(矢頭)のいずれにも認める。赤:蛍光標識 Toc-siRNA,青:核,緑:細胞膜,Bar=20 μ m. b:Toc-siRNA を 32mg/kg で静注し,3 時間後の肝臓から RNA を抽出して,ノザンブロット法で Toc-siRNA のアンチセンス鎖を検出した。Dicer で切断される前の 29 塩基と,切断された後の 21 塩基のいずれも確認できる.

実際の生体内投与において有用な情報であると考えられた.

蛍光標識 Toc-siRNA を静注したマウスの肝臓では、ほぼすべての細胞に Cy3 の取り込みを認めた(図3a). また、Toc-siRNA 静注後の肝臓における短い RNA 鎖を検出するノザンブロットでは、投与した長さである 29 塩基と、細胞質内の酵素である Dicer によって細胞内で切り出された長さである 21 塩基の、計2本のアンチセンス鎖をバンドとして検出した(図3b).

生体内における Toc-siRNA の効果については、2mg/kg で投与した場合に、投与 2 日後の肝臓での定量的 RT-PCR 法で標的遺伝子 mRNA の発現量が40%程度抑制されていた(図 4a)、標的遺伝子以外の内在性遺伝子の発現抑制は認められなかった。また肝臓における Toc-siRNA の標的遺伝子抑制効果は投与2 日目まで認められ、4 日目で元の状態に戻った(図4b)、また投与 2 日目の段階での Toc-siRNA による標的遺伝子発現抑制効果は用量依存性に認められた(図 4c)。

Toc-siRNA により標的遺伝子である ApoB mRNA の発現を抑制したところ,投与血清の中性脂肪値およびコレステロール値の低下が認められた(図 5a, b). またその結果として,投与4日目の肝細胞内にコント

ロール配列に対する Toc-siRNA を投与した群と比較して有意な脂肪滴の沈着を認めた (図 5c).

Toc-siRNA 投与 3 時間後の血清中インターフェロンー α 値は検出感度以下であり、肝臓でのインターフェロンー β の mRNA 発現はいずれも認められなかった。また血算における白血球数と血小板数の異常値、血清生化学における肝機能・腎機能障害はいずれも認められなかった(表 1).

3. 考 察

非ウイルス性ベクターによる siRNA の生体内でのデリバリーを考える際に、標的組織にとって不可欠で、なおかつ生体内での生合成ができないものがもっともよいベクターであると考えられる。ビタミンはこの条件をもっともよく満たしており、なかでも Toc は安全性の面でもっとも優れていると考えられる「3)。またカチオニックリポゾームなどのベクターを介さず、直接 siRNA と Toc を結合させることで、副作用をできるだけ少なくした。そのため、血清中の RNase に対して耐性をもたせるために siRNA 自体に化学修飾を施すことを必要とした。この化学修飾には、インターフェロン応答を生じないという利点もあった。また今回 Toc が siRNA の効果を減弱させないようにするために、アンチセンス鎖 29 塩基という長い RNA を

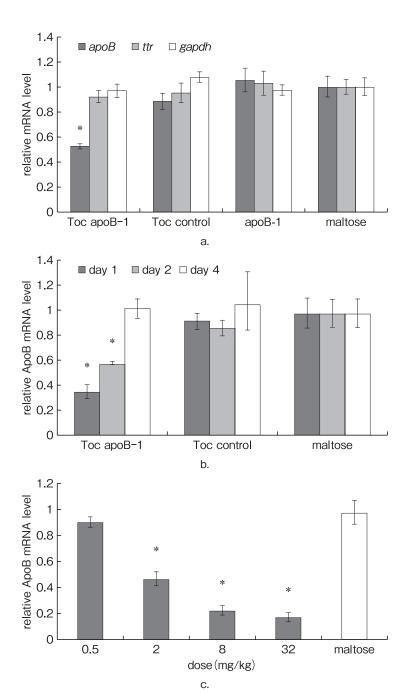


図 4. Toc-siRNA による肝臓での標的遺伝子発現抑制効果

a:Toc-siRNA 投与による配列特異的発現抑制効果. Toc apoB-1 を 2mg/kg で静注し,2 日後の肝臓から RNA を抽出し,標的遺伝子である ApoB 遺伝子およびそのほかの肝臓内在性遺伝子の発現抑制効果を 定量的 RT-PCR 法で測定した.標的遺伝子である ApoB の抑制を認めるが,そのほかの遺伝子については抑制効果を認めない.またコントロール配列やビタミン E 手結合 siRNA(apo B-1)についてはいずれの遺伝子の発現抑制効果も認めない.平均値±標準偏差,各個体 3 匹ずつ施行.*p<0.005.

b: Toc-siRNA 投与による肝臓の標的遺伝子発現の経時的変化. Toc apoB-1 を 2mg/kg で静注し、経時的に肝臓から RNA を抽出し、標的遺伝子である ApoB 遺伝子の発現抑制効果を定量的 RT-PCR 法で測定した. Toc apoB-1 の効果は投与 4 日目には消失している。平均値士標準偏差、各個体 3 匹ずつ施行。*p<0.005.

c: Toc-siRNA 投与による肝臓の標的遺伝子発現の用量依存性. Toc apoB-1 をさまざまな投与量で静注し,2日後の肝臓から RNA を抽出し,標的遺伝子である ApoB 遺伝子の発現抑制効果を定量的 RT-PCR 法で測定した. 用量依存的に標的遺伝子の発現抑制効果を認める. 平均値±標準偏差,各個体3匹ずつ施行.*p<0.005.

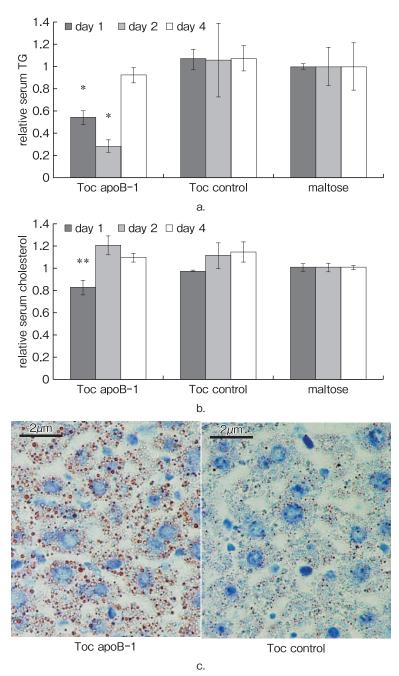


図 5. Toc apoB-1 投与による血中脂質代謝への影響 a, b: Toc apoB-1 を 2 mg/kg で静注し,経時的に採血して,血中中性脂肪値(triglyceride:TG)と総コレステロール値(total cholesterol:TC)を測定した.血中中性脂肪値は投与 2 日後まで(a),血中総コレステロール値は投与翌日まで(b),それぞれ低下を認める.平均値士標準偏差,各個体 3 匹ずつ施行. *p <0.01, *p <0.05。 c: Toc apoB-1 を 2mg/kg で静注し,4 日後の肝臓を脂肪染色して顕微鏡で観察した.Toc apoB-1 投与群のみ脂肪滴の沈着を認める.

選び、細胞質中の酵素である Dicer¹⁴⁾ に認識されて切断される場所に Toc を結合させた. 実際に短鎖を検出するノザンブロット法では Toc が結合したままである 29 塩基と、Dicer で切断された後の 21 塩基がともに検出された. この結果は Toc-siRNA が細胞質中にデリバリーされたことも示している.

今までに、脂質直接結合型 siRNA として、コレステロール (Chol) を結合した siRNA (Chol-siRNA)

が報告されている $^{15)}$. しかし、ApoB に対する CholsiRNA で有効な標的遺伝子発現抑制のために必要な量 は $50\sim100$ mg/kg で あった $^{4,15)}$. Toc-siRNA と Chol-siRNA の差については、Toc と Chol の血清中の肝臓への輸送経路の違いと、Toc が体内で合成不可能な点、それぞれの siRNA と脂質との結合部位および方式の違いや、結合している siRNA の長さおよび化学修飾の違いなどがあげられる $^{16,17)}$.

表 1. Toc-siRNA 投与時の血算・生化学

	IFN-α (pg/m/)	BUN (mg/d/)	TP (g/d/)	AST (U/I)	ALT (U/I)	WBC (/ μ <i>l</i>)	Plt (×10 ⁴ /μ <i>l</i>)
Toc-siRNA							
3h	<12.5						
24h		19.1 ± 1.0	5.1 ± 0.1	78±1	21±3	2,800±330	122.0±0.3
48h		24.0 ± 2.4	5.5±0.1	67±4	22±1	2,600±550	112.2±18.9
maltose							
3h	<12.5						
24h		22.0±0.9	5.5±0.1	79±9	25±2	2,600±560	117.9±13.8
48h		24.5±1.5	5.5±0.1	60±3	26±3	3,700±900	109.0±7.0

32 mg/kg の Toc-siRNA を静注した際のインターフェロン- α (IFN- α)値,および 2 mg/kg の Toc-siRNA を静注した際の尿素窒素(BUN),総蛋白(TP),アスパラギン酸アミノ基転移酵素(AST),アラニンアミノ基転移酵素(ALT),白血球数(WBC)および血小板数(PIt)の推移を示す.平均値士標準偏差,各個体 3 匹ずつ施行.

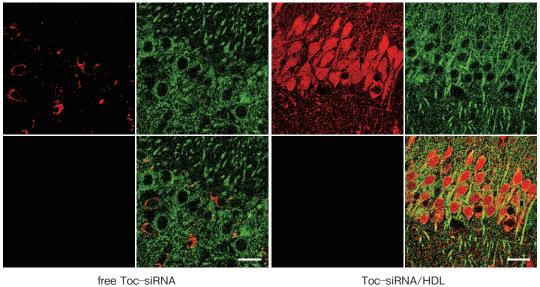
Toc-siRNA による明らかな副作用は認められなか った. Toc-siRNA を 2mg/kg で投与したときのマウ スへの Toc 静注量は $46 \mu g/kg$ であり、ヒトが 1 日に 必要とする Toc の摂取量が 125~200µg/kg であるこ とを考えると非常に少量である¹⁸⁾. またビタミン E の作用として抗酸化作用が有名であるが、この TocsiRNA では Toc の抗酸化作用を示す唯一の水酸基を アミダイト化しているため、抗酸化作用は失活化され ている. またとくにカチオニックリポゾームを用いて siRNA を投与したときに問題となるインターフェロ ン応答 ¹⁷⁾ は認められていない ¹⁹⁾. 生体内への siRNA 投与によりインターフェロン応答を生じる原因として siRNA の Toll 様受容体の認識などが認められており、 多くの場合 RNA に化学修飾を施すことで回避してい る^{20,21)}. Toc-siRNA がインターフェロン応答を生じ なかった原因として、化学修飾を施していない TocsiRNA もインターフェロン応答を起こしていないこ とから、Toc-siRNAのRNA自体に化学修飾を施し ていることに加えて、Toc-siRNA はカチオニックリ ポゾームとは肝臓に取り込まれる経路が異なり、Toc -siRNA の肝細胞への取り込み経路では、インターフ ェロン応答自体生じない可能性もある.

Ⅲ. 神経疾患への応用 ----Toc-siRNA のその後の展開について

Toc-siRNA は全身投与における肝臓での標的遺伝子発現抑制に成功したが、それにより治療可能となる神経難病は、肝臓に原因遺伝子が発現している家族性アミロイドポリニューロパチー(後述)程度であり、やはり神経細胞へのデリバリーを実現させない限り、さまざまな神経難病の治療については困難である。しかし、その際に最大の難関となるのが血液脳関門(blood brain barrier: BBB)であり、とくに siRNA

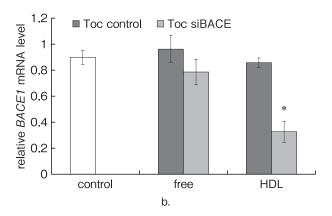
や ASO などの核酸医薬はほぼすべて水溶性の高分子であることから、BBB を通過させることは困難である. そこでわれわれは、BBB を無視することができる投与方法である脳室内投与法(intracerebroventricular injection:ICV injection)を用いて、Toc-siRNAの生体神経細胞における標的遺伝子発現抑制効果を確認した²²⁾.

具体的に、Alzheimer 病の原因遺伝子の一つであ δ β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE1) を標的とした Toc-siRNA を設計し、そ れを脳室内投与した. その際に、Toc-siRNA をマウ ス血清から抽出した高比重リポ蛋白 (high-density lipoprotein: HDL) とともに脳室内投与すると、神 経細胞への取り込みが増加することを確認した(図 6a). また Toc-siRNA/HDL の投与が大脳皮質の神経 細胞における標的遺伝子である BACE1 mRNA の発 現を抑制させることを、qRT-PCR法(図6b)およ びウエスタンブロット法(図6c)で確認した.マウ スは霊長類と異なり体内のリポ蛋白のほとんどが HDL であり、ビタミンEなどの脂質も HDL と結合 することで体内各臓器にデリバリーされている.一方. 脳内でも脂質は必須であり、そのデリバリーは主にア ストロサイトで産生される髄液中の HDL-like particle によってなされるといわれている ^{23, 24)}. しかし髄 液中の HDL-like particle 量はきわめて少ないとされ ており、Toc-siRNA のデリバリーに十分な量がない 可能性が高く、実際に Toc-siRNA だけを脳室内投与 しても効果が認められなかった. しかし血清から抽出 した HDL とともに Toc-siRNA を脳室内投与するこ とで、HDL が HDL-like particle のかわりになって神 経細胞への取り込みを促進したものと考えられる. HDL を抽出する必要があるこの方法は、血液製剤化 してしまうために実際の臨床応用はむずかしいが、



free Toc-siRNA

a.



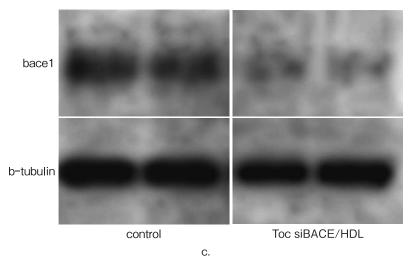


図 6. Toc-siRNA の脳室内投与時の有効性(文献 22 より改変引用)

a:蛍光標識 Toc-siRNA の脳室内投与.単独投与では一部の神経細胞内に蛍光標識された Toc-siRNA の 取り込みがみられるのみであるが、Toc-siRNA を HDL と結合させることにより大脳皮質神経細胞に広 範かつ著明な蛍光標識 Toc-siRNA の取り込みが認められた. 赤:蛍光標識 Toc-siRNA,緑:細胞膜, Bar= 20μ m.

b, c: Toc-siRNA を脳室内投与したときの標的遺伝子発現抑制効果. BACE1 遺伝子に対する TocsiRNA (Toc-siBACE) を HDL とともに投与することで、大脳皮質における標的遺伝子の発現を抑制す ることを qRT-PCR 法(b)およびウエスタンブロット法(c)で示した、平均値±標準偏差、各個体3 匹ずつ施行. *p<0.01.

表 2. 神経細胞を標的とした各投与方法の長所および短所 (文献 28 より改変)

投与法	長所	短所
静注投与	BBB を含めた脳全体にデリバ	BBB 通過が困難である
	リーさせることが可能である	1 1 1
脳室内投与	有効性が高く,局所投与のた	侵襲性が高い
	め全身の副作用が少ない	I I I
経鼻投与	もっとも簡単かつ安全な投与	有効性が低い
	方法である	1 1 1

HDLや HDL-like particle が神経細胞内に取り込まれる際に、これらに発現しているアポリポ蛋白 E (ApoE) が重要な役割をはたしており ^{25, 26)}、ApoE のリガンドペプチドを決定して siRNA に結合させることができれば siRNA 自身で神経細胞にデリバリーされる可能性があり、今後の研究が待たれる.

Ⅳ. 神経疾患に対する遺伝子治療における 最大の関門――血液脳関門について

前述のとおり、核酸医薬のみならず神経疾患に対する治療薬を検討する際に最大の問題となるのが BBB の存在である。BBB を通過する分子として、疎水性低分子(分子量 500Da 以下)であることが必要とされており ²⁷⁾、とくに核酸医薬のような親水性高分子(siRNA の場合、分子量 14,000Da 程度)を、BBB を通過して脳内に薬物を届ける方法はまだ確立されていない、過去の報告から、siRNA を脳内の各部位にデリバリーさせる方法について投与方法別に概説する。なお、各投与方法の長所と短所について表 2 にまとめた ²⁸⁾・

1. 静注による方法

静注により BBB を通過させて神経細胞に核酸医薬をデリバリーさせる方法は数少なく、いずれもペプチドを用いた報告である。まず、インスリン受容体やトランスフェリン受容体など、脳血管内皮細胞(brain capillary endothelial cells: BCECs)に発現している受容体に対するモノクローナル抗体をリポゾームに結合させ、その中に siRNA を内包してデリバリーさせる方法が報告されている ²⁹⁾.

最近、siRNA に狂犬病ウイルス外殻の一部の糖ペプチド配列(rabies virus glycoprotein:RVG)を結合させる方法が報告されている $30\sim32$)。RVG はアセチルコリン受容体(acetylcholine receptor:AchR)に対するリガンド配列となっており、AchR は BCECs および神経細胞に発現していることから、静注により神経細胞に特異的にデリバリーさせることが可能となる。RVG を siRNA に静電的に直接結合させる方

法³⁰⁾ や、エクソソームにRVGを発現させ、その中に siRNA を内包させる方法³²⁾ などが報告されている。最大の問題は、RVG の合成が容易でなく、医薬品化する際の精製は困難であると考えられている.

静注による siRNA の脳へのデリバリーとして. BCECs 自体を標的としたデリバリーが考えられる. 脳梗塞や多発性硬化症といった BCECs が病変の場と なる疾患だけでなく、Alzheimer 病などの神経変性 疾患においても、BCECs が病変の一端を担っている という報告がなされている33.われわれは過去に. 静注の際に大量の輸液をともに静注することで圧力を かけて投与する方法 (ハイドロダイナミクス法) 34) や. Chol-siRNA に HDL を結合させる方法 ³⁵⁾ で siRNA を BCECs にデリバリーさせ、BCECs における標的 遺伝子の有効な発現抑制を報告している.また BBB 同様に血液脳脊髄液関門 (blood-cerebrospinal fluid barrier:BCSFB)を構成する脳脈絡叢(choroid plexus: CP) についてもその存在および役割が見直 されてきており³⁶⁾. 最近われわれは ASO を静注する ことで CP にデリバリーさせ、CP における有効な標 的遺伝子発現抑制効果を報告している 37).

2. 脳室内投与による方法

脳室内投与はBBBを考慮する必要のない投与方法であり³⁸⁾,高い有効性を保って核酸医薬を神経細胞にデリバリーできる有力な方法であるが、最大の問題点は侵襲性が高いことである。siRNAと ASO のいずれも数種の報告がなされている^{22,39-42)}.なかにはsiRNAをそのまま脳室内投与した報告もあるが³⁹⁾,より高い効果を得るために各種の化学修飾を加えることや⁴⁰⁾,DDS分子を結合させる方法²²⁾が報告されている。一方、ASO は PS 化された核酸を用いることが一般的であるため、DDS など考慮せずそのまま投与されることがほとんどである^{41,42)}.また最近、通常2本鎖である siRNAを1本鎖にした siRNA(single-stranded siRNA:ss-siRNA)も報告されており、その脳室内投与で Huntington 病のモデルマウスを治療した報告がなされている⁴³⁾.

3. 経鼻投与による方法

経鼻投与はもっとも侵襲性の低い方法で、脳室内投与同様 BBB を無視することのできる方法である。簡便であることも利点であるが、鼻粘膜からの吸収率が非常にわるいために、それを向上させる各種の工夫が必要な点と、局所濃度が上がっても脳内全般には行き渡らない点が問題となる44)。最近の報告で、化学修飾した siRNA 自体を投与する方法450や、デンドリマーをキャリアとする方法46.47)が報告されている。いずれも上記の問題点を解決する必要があるが、頻回投与などで解決できる部分もあると考えられ、今後の進展が期待される。

V. 神経難病に対する遺伝子治療の実情 ---現在行われている臨床治験について

神経疾患に対する遺伝子治療の臨床への応用について、実際の標的遺伝子やその発現調節方法を含めて現状を概説する. 現在遺伝子治療で用いられる核酸医薬としては siRNA と ASO の二種が主であるが ⁴⁸⁾, ほかにも発現させたい目的の遺伝子を導入したウイルスベクターがあり、実際にはさまざまな方法が試みられている.

1. Duchenne 型筋ジストロフィー

Duchenne 型筋ジストロフィー(Duchenne muscular dystrophy: DMD) は、ジストロフィン遺伝子に 変異が生じたために筋細胞膜のジストロフィンという 蛋白が欠損する疾患である. ジストロフィンは筋細胞 膜裏打ち蛋白であり、これが欠損することにより筋線 維の壊死・変性を生じる。ジストロフィン遺伝子には エクソンが79個あるが、遺伝子の変異によりエクソ ンの欠失を生じて、遺伝情報の翻訳がずれてアウトオ ブフレームとなり、ジストロフィン蛋白が欠損する. 一方、ほかの病型として、不完全な機能を有するジス トロフィンを発現している Becher 型筋ジストロフィ - (Becker muscular dystrophy: BMD) がある. この疾患も同様にジストロフィン遺伝子に変異を生じ ているが、エクソンのずれを生じないインフレーム変 異であるために、遺伝情報が不十分ながら翻訳される ので、ジストロフィン蛋白が完全に欠損することがな く, 不完全ながら保たれている.

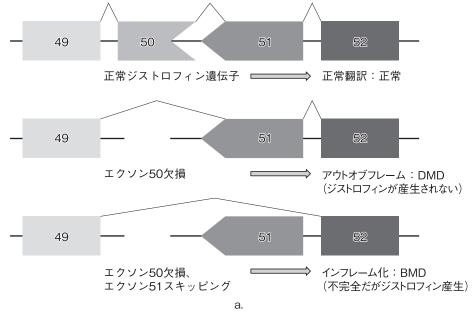
DMD に対する遺伝子治療として二つの方法が知られている ⁴⁹⁾. 一つは ASO を用いた方法である. ASO は相補となる標的 RNA の配列に特異的に結合する. ASO が結合することにより, 人為的に異常なエクソンを取り除くことが可能となる (エクソンスキッピン

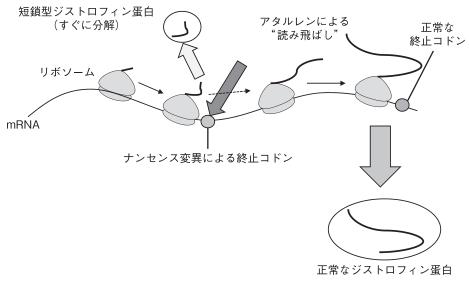
グ法). エクソンスキッピングを生じさせる ASO (splice-switching oligonucleotide: SSO) をアウトオ ブフレームである DMD のジストロフィン遺伝子に応 用することで、ジストロフィン遺伝子をインフレーム 化して、DMD から不完全ながらジストロフィンをも つ BMD とすることが可能になる. SSO を用いた DMD のジストロフィン遺伝子に対するエクソンスキ ッピングの応用として、エクソン51のスキッピング がある. 具体的には、エクソン50の欠失により生じ るアウトオブフレームに対し、その下流であるエクソ ン51を人為的にスキップさせることでフレームシフ トさせ、インフレーム化して、ジストロフィン蛋白を 発現させる方法である(図 7a). 強い化学修飾を施し た人工核酸からなる SSO のエテプリルセンが米国の Sarepta Therapeutics 社 (Cambride) などで開発が すすめられており、国際共同治験の第Ⅰ・第Ⅱ相を終 え、現在日本(国立精神・神経医療研究センターや熊 本大学など)を含め第Ⅲ相にある.

二番目の方法が、ジストロフィン遺伝子のナンセンス変異により途中で翻訳されなくなった異常遺伝子から、正常な蛋白を合成させる方法である(図 7b). これは、ナンセンス変異による翻訳終了を飛ばして翻訳を継続させる方法である(リードスルー法). この現象自体は抗生物質のゲンタマイシンによって生じることが確認されていたが、副作用の点で臨床応用にはいたらなかった. しかし最近、PTC Therapeutic 社(South Plaimfield)で開発されたアタルレンという低分子化合物によって、ジストロフィン遺伝子のリードスルーが生じることが確認され、こちらも米国で治験中である.

2. 家族性筋萎縮性側索硬化症・脊髄性筋萎縮症

家族性筋萎縮性側索硬化症(familial amyotrophic lateral sclerosis:fALS)の原因の一つとして、スーパーオキシドジスムターゼ1遺伝子(superoxide dismutase 1:SOD1)の点変異がある。また、脊髄性筋萎縮症(spinal muscular atrophy:SMA)の原因の一つとして、運動神経細胞生存遺伝子(survival motor neuron:SMN)の変異によるエクソン欠失が指摘されている。常染色体優性遺伝の fALS に対する遺伝子治療法として、ASO の中でも DNA を骨格に含む、結合後の標的 RNA を切断する能力をもつものを用いて、変異遺伝子の発現を抑制する方法が指摘されている 42)。また常染色体劣性遺伝の SMA に対する遺伝子治療法として、ASO をイントロンに結合することで、欠失したエクソンを発現させるようにスプライシングを正常化させる方法が検討されている 50~52)。





b. 図 7. Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)に対する遺伝子治療の戦略(文献 49 より 改変引用)

a:アウトオブフレーム化したジストロフィン遺伝子のフレームシフト(エクソンスキッピング法).BMD:Becker 型筋ジストロフィー.

b:ナンセンス変異をもつジストロフィンの翻訳終結阻害(リードスルー法). mRNA:メッセンジャー RNA.

具体的には、BBBの存在を考慮して上記 ASO を髄注 することで行われている。いずれも米国 ISIS pharmaceuticals 社(Carlsbad)で開発がすすめられており、こちらも米国で臨床治験が始まっていて、fALS に対する治験は第 I 相が終了している ⁵³.

3. 家族性アミロイドポリニューロパチー

家族性アミロイドポリニューロパチー(familial amyloid polyneuropathy: FAP)の原因として、肝臓におけるトランスサイレチン遺伝子(transthyretin: TTR)の変異が指摘されている。変異 TTR 遺

伝子が産生する変異トランスサイレチン蛋白が末梢神経に蓄積して末梢神経障害を生じる。よって肝臓における変異遺伝子の発現を抑制することが FAP の根治的療法となる。薬剤をデリバリーしやすい肝臓が原因となる難病のため、遺伝子治療のターゲットとして各社 ASO や siRNA などを用いた研究を展開しているが 54)、もっとも臨床応用に近いのは変異 TTR 遺伝子に対する siRNA をデリバリー担体であるカチオニックリポソームとともに静注 55)、もしくは化学修飾した siRNA そのものを皮下注 56) する方法である。いずれも肝臓にデリバリーされやすい担体や化学修飾を用

いており、有効性が示されている。Alnylam pharmaceuticals 社が開発していて、米国などで臨床治験中であり、静注による治験は第 I 相が終了している 57).

4. その他の神経変性疾患

Parkinson 病に対する遺伝子治療のアプローチとし て, 外来遺伝子を細胞内に導入して発現させる方法が とられている. ドパミン合成に必要な酵素である芳香 族-L-アミノ酸脱炭酸酵素 (aromatic L-amino acid decarboxylase: AADC) を発現する遺伝子を被殻・ 線条体に導入する方法,抑制性神経伝達物質である γアミノ酪酸を増加させるグルタミン酸脱炭酸酵素 (glutamic acid decarboxylase: GAD) 遺伝子を視床 下核に導入する方法、ドパミン神経に対する神経保護 効果をもつグリア細胞株由来神経栄養因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor: GDNF) 遺伝子を 被殻に導入する方法58)などが検討されており、この うちの一部は日本を含めて臨床治験も始まっているが, いずれもウイルスベクターを定位脳手術下に投与する 方法であり、一般の医薬化は困難と思われる. また、 Alzheimer 病に対する遺伝子治療の標的として, ① アミロイド β 蛋白 (amyloid β : A β) の産生を抑制 する、② Aβ の分解を早めることで脳内への蓄積を 減少させる、などがあげられ、①として、アミロイド 前駆蛋白から Aβ を切り出す酵素の一つである β-セ クレターゼを siRNA などで抑制する方法 ²²⁾. ②とし て Αβ 分解酵素の一つであるネプリライシンをウイ ルスベクターで脳内に発現させる方法 59) などが検討 されているが、まだ臨床治験にはいたっていない.

M. おわりに

Toc を用いた静注での肝細胞への siRNA デリバリー,および脳室内投与での神経細胞への siRNA デリバリーはいずれも効果的かつ安全であった。今後生理学的な取り込み経路の同定と、化学修飾を含めたさらなる改良が必要であるが、遺伝子治療における siRNA の重要かつ有効な輸送手段として期待される.

遺伝子医薬は実際に高脂血症治療薬として臨床応用にこぎつけたものもあり⁶⁰⁾,今後の抗体医薬と並ぶ分子標的医療の中心として,現在治療法のない神経難治性疾患における臨床応用が強く望まれる.

謝辞

本賞受賞に際して,選考委員の先生方に再度御礼申し上げます。また,一臨床医にすぎなかった筆者に研究の道をすすめ,ご指導いただいた脳神経病態学の水澤英洋教授・横田隆徳教授,そして苦楽をともにした研究室の歴代の全スタッフにこの場を

借りて深謝いたします. 最後に,このような発表の場をご提供いただいた「お茶の水醫學雑誌」編集委員の先生方,スタッフの皆様に心より感謝いたします.

文 献

- Nishina K, Unno T, Uno Y et al: Efficient in vivo delivery of siRNA to the liver by conjugation of α-tocopherol. Mol Ther 16: 734-740, 2008.
- 2) Davidson BL, Harper SQ: Viral delivery of recombinant short hairpin RNAs. Methods Enzymol 392: 145–173, 2005.
- 3) McCaffrey AP, Meuse L, Pham TT et al: RNA interference in adult mice. Nature 418: 38–39, 2002.
- 4) Hino T, Yokota T, Ito S et al: In vivo delivery of small interfering RNA targeting brain capillary endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun **340**: 263–267, 2006.
- 5) Zimmermann TS, Lee AC, Akinc A et al: RNA i-mediated gene silencing in non-human primates. Nature 441: 111–114, 2006.
- 6) Rozema DB, Lewis DL, Wakefield DH et al: Dynamic polyconjugates for targeted in vivo delivery of siRNA to hepatocytes. Proc Natl Acad Sci USA 104: 12982–12987, 2007.
- Sato A, Takagi M, Shimamoto A et al: Small interfering RNA delivery to the liver by intravenous administration of galactosylated cationic liposomes in mice. Biomaterials 28: 1434–1442, 2007.
- 8) Kim SI, Shin D, Choi TH et al: Systemic and specific delivery of small interfering RNAs to the liver mediated by apolipoprotein A–I. Mol Ther 15: 1145–1152, 2007.
- 9) Rigotti A: Absorption, transport, and tissue delivery of vitamin E. Mol Aspects Med 28: 423–436, 2007.
- 10) Will DW, Brown T: Attachment of vitamin E derivatives to oligonucleotides during solid-phase synthesis. Tetrahedron Lett 33: 2729-2732, 1992.
- 11) Chiu YL, Rana TM: siRNA function in RNAi; a chemical modification analysis. RNA 9: 1034–1048, 2003.
- 12) Czauderna F, Fechtner M, Dames S et al: Structural variations and stabilising modifications of synthetic siRNAs in mammalian cells. Nucleic Acids Res 31: 2705–2716, 2003.
- 13) Kappus H, Diplock AT: Tolerance and safety of vitamin E; a toxicological position report. Free Radic Biol Med 13:55-74, 1992.
- 14) Rose SD, Kim DH, Amarzguioui M et al: Functional polarity is introduced by dicer processing of short substrate RNAs. Nucleic Acids Res **33**: 4140–4156, 2005.
- 15) Soutschek J, Akinc A, Bramlage B et al: Therapeutic silencing of an endogenous gene by sys-

- temic administration of modified siRNAs. Nature 432: 173–178, 2004.
- 16) Zingg JM: Vitamin E; an overwiew of major research directions. Mol Aspects Med 28: 400–422, 2007.
- 17) Wolfrum C, Shi S, Jayaprakash KN et al: Mechanisms and optimization of *in vivo* delivery of lipophilic siRNAs. Nat Biotechnol 25: 1149–1157, 2007.
- 18) Food and Nutrition Board, Nat. Acad. Sci., Nat. Res. Council: Recommended Dietary Allowance, 10th Ed. National Academy Press, Washington, DC, p99–107, 1989.
- 19) Robbins M, Judge AD, Liang L et al: 2'-O-methyl-modified RNAs act as TLR7 antagonists. Mol Ther 15: 1663–1669, 2007.
- 20) Judge AD, Bola G, Lee AC et al: Design of non-inflammatory synthetic siRNA mediating potent gene silencing *in vivo*. Mol Ther **13**: 494–505, 2006.
- 21) Sioud M, Furset G, Cekaite L: Suppression of immunostimulatory siRNA-driven innate immune activation by 2′-modified RNAs. Biochem Biophys Res Commun 361: 122–126, 2007.
- 22) Uno Y, Piao W, Miyata K et al : High-density lipoprotein facilitates *in vivo* delivery of α -tocopherol-conjugated short-interfering RNA to the brain. Hum Gene Ther $22:711-719,\ 2011.$
- 23) Vance JE, Hayashi H, Karten B: Cholesterol homeostasis in neurons and glial cells. Semin Cell Dev Biol 2: 193–212, 2005.
- 24) Herz J, Chen Y: Reelin, lipoprotein receptors and synaptic plasticity. Nat Rev Neurosci 11: 850–859, 2006.
- 25) Pitas RE, Boyles JK, Lee SH et al: Lipoproteins and their receptors in the central nervous system. J Biol Chem **29**: 14352–14360, 1989.
- 26) Rothe T, Müller HW: Uptake of endoneurial lipoprotein into Schwann cells and sensory neurons is mediated by low density lipoprotein receptors and stimulated after axonal injury. Neurochem 6: 2016–2025, 1991.
- 27) Barchet TM, Amiji MM: Challenges and opportunities in CNS delivery of therapeutics for neuro-degenerative diseases. Expert Opin Drug Deliv 6: 211–225, 2009.
- 28) Nishina K, Mizusawa H: Yokota T; Short interfering RNA and the central nervous system; development of nonviral delivery systems. Expert Opin Drug Deliv 10: 289–292, 2013.
- 29) Boado RJ: Blood-brain barrier transport of nonviral gene and RNAi therapeutics. Pharm Res 24: 1772–1787, 2007.
- 30) Kumar P, Wu H, McBride JL et al: Transvascular delivery of small interfering RNA to the central nervous system. Nature 448: 39–43, 2007.

- 31) Kim SS, Ye C, Kumar P et al: Targeted delivery of siRNA to macrophages for anti-inflammatory treatment. Mol Ther 18: 993-1001, 2010.
- 32) Alvarez-Erviti L, Seow Y, Yin H et al: Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. Nat Biotechnol 29: 341–345, 2011.
- 33) Zlokovic BV: Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. Nat Rev Neurosci 12: 723–738, 2011.
- 34) Hino T, Yokota T, Ito S et al: In vivo delivery of small interfering RNA targeting brain capillary endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 340: 263–267, 2006.
- 35) Kuwahara H, Nishina K, Yoshida K et al: Efficient *in vivo* delivery of siRNA into brain capillary endothelial cells along with endogenous lipoprotein. Mol Ther **19**: 2213–2221, 2011.
- 36) Wolburg H, Paulus W: Choroid plexus; biology and pathology. Acta Neuropathol 119: 75–88, 2010.
- 37) Piao W, Nishina K, Yoshida-Tanaka K et al: Efficient *in vivo* delivery of antisense oligonucleotide to choroid plexus. J Med Dent Sci **60**: 9–16, 2013.
- 38) Cook AM, Mieure KD, Owen RD et al: Intracerebroventricular administration of drugs. Pharmacotherapy 29: 832-845, 2009.
- 39) Thakker DR, Natt F, Hüsken D et al: Neurochemical and behavioral consequences of widespread gene knockdown in the adult mouse brain by using nonviral RNA interference. Proc Natl Acad Sci USA 101: 17270–17275, 2004.
- 40) Nakajima H, Kubo T, Semi Y et al: A rapid, neuron-selective, in vivo knockdown following a single intracerebroventricular injection of a novel chemically modified siRNA in the adult rat brain. J Biotechnol 157: 326–333, 2012.
- 41) Senn C, Hangartner C, Moes S et al: Central administration of small interfering RNAs in rats; a comparison with antisense oligonucleotides. Eur J Pharmacol 522: 30–37, 2005.
- 42) Smith RA, Miller TM, Yamanaka K et al: Antisense oligonucleotide therapy for neurodegenerative disease. J Clin Invest 116: 2290–2296, 2006.
- 43) Yu D, Pendergraff H, Liu J et al: Single-stranded RNAs use RNAi to potently and allele-selectively inhibit mutant Huntingtin expression. Cell 150: 895–908, 2012.
- 44) Lochhead JJ, Thorne RG: Intranasal delivery of biologics to the central nervous system. Adv Drug Deliv Rev 64: 614-628, 2012.
- 45) Renner DB, Frey II WH, Hanson LR: Intranasal delivery of siRNA to the olfactory bulbs of mice via the olfactory nerve pathway. Neurosci Lett 513: 193–197, 2012.
- 46) Kim ID, Shin JH, Kim SW et al: Intranasal de-

- livery of HMGB1 siRNA confers target gene knockdown and robust neuroprotection in the postischemic brain. Mol Ther 20: 829–839, 2012.
- 47) Perez AP, Mundiña-Weilenmann C, Romero EL et al: Increased brain radioactivity by intranasal ³²P-labeled siRNA dendriplexes within in situ-forming mucoadhesive gels. Int J Nanomedicine 7: 1373–1385, 2012.
- 48) Kole R, Krainer AR, Altman S: RNA therapeutics; beyond RNA interference and antisense oligonucleotides. Nat Rev Drug Discov 11: 125–140, 2012.
- 49) Nelson SF, Crosbie RH, Miceli MC et al: Emerging genetic therapies to treat Duchenne muscular dystrophy. Curr Opin Neurol 22:532–538, 2009.
- 50) Rigo F, Hua Y, Krainer AR et al: Antisense-based therapy for the treatment of spinal muscular atrophy. J Cell Biol 199: 21–25, 2012.
- 51) Hua Y, Sahashi K, Rigo F et al: Peripheral SMN restoration is essential for long-term rescue of a severe spinal muscular atrophy mouse model. Nature 478: 123–126, 2011.
- 52) Passini MA, Bu J, Richards AM et al: Antisense oligonucleotides delivered to the mouse CNS ameliorate symptoms of severe spinal muscular atrophy. Sci Transl Med 3: 72ra18, 2011.
- 53) Miller TM, Pestronk A, David W et al: An an-

- tisense oligonucleotide against SOD1 delivered intrathecally for patients with SOD1 familial amyotrophic lateral sclerosis; a phase 1, randomised, first-in-man study. Lancet Neurol 12: 435–442, 2013.
- 54) Sehgal A, Vaishnaw A, Fitzgerald K: Liver as a target for oligonucleotide therapeutics. J Hepatol 59: 1354–1359, 2013.
- 55) Semple SC, Akinc A, Chen J et al: Rational design of cationic lipids for siRNA delivery. Nat Biotechnol 28: 172–176, 2010.
- 56) Akinc A, Querbes W, De S et al: Targeted delivery of RNAi therapeutics with endogenous and exogenous ligand-based mechanisms. Mol Ther 18: 1357–1364, 2010.
- 57) Coelho T, Adams D, Silva A et al: Safety and efficacy of RNAi therapy for transthyretin amyloidosis. N Engl J Med 369: 819–829, 2013.
- 58) Kaplitt MG: Parkinson disease; another player in gene therapy for Parkinson disease. Nat Rev Neurol 6: 7-8, 2010.
- 59) Iwata N, Sekiguchi M, Hattori Y et al: Global brain delivery of neprilysin gene by intravascular administration of AAV vector in mice. Sci Rep 3: 1472, 2013.
- 60) Jiang K: Biotech comes to its 'antisenses' after hard-won drug approval. Nat Med 19: 252, 2013.

Tocopherol-conjugated siRNA; to overcome incurable neurological diseases

Kazutaka Nishina

Department of Neurology and Neurological Science, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

Summary

RNA interference is a powerful tool for target-specific knockdown of gene expression. However, efficient and safe in vivo delivery of short interfering RNA (siRNA) to the target organ, which is essential for the rapeutic applications, has not been established. In this study we used α -tocopherol, an isomer form of vitamin E, which has its own physiological transport pathway to most of the organs, as a carrier molecule of siRNA in vivo. The a-tocopherol was covalently bound to the antisense strand of 27/29-mer siRNA at the 5'-end (Toc-siRNA). The 27/29-mer Toc-siRNA was designed to be cleaved by Dicer, producing a mature form of 21/21-mer siRNA after releasing a-tocopherol. The C6 hydroxyl group of a-tocopherol, associated with antioxidant activity, was abolished. Using this new vector, intravenous injection of Toc-siRNA, achieved efficient reduction of endogenous gene in the liver. Neither induction of interferons nor other overt side effects were revealed by biochemical and pathological analyses. Then, we apply this strategy to the brain. By combining high-density lipoprotein (HDL) as a second carrier with Toc-siRNA in the brain, we achieved dramatic improvement of siRNA delivery to neurons. After direct intracerebroventricular infusion of Toc-siRNA/HDL, extensive and specific knock-down of a target gene was observed, especially in the cerebral cortex. These results indicate that Toc-siRNA is effective and safe for RNA interference-mediated gene silencing in vivo, and could be used clinically for otherwise incurable neurological diseases.

Key words: Gene therapy, Neurological disease, siRNA, Drug Delivery System, Chemical modification

関節内投与した滑膜幹細胞は関節内にとどまり 半月板修復に寄与する

堀江 雅史¹⁾, 関矢 一郎²⁾, 宗田 大^{1,3)}, 市野瀬 志津子⁴⁾, 松本 健治⁵⁾, 斎藤 博久⁵⁾, 村上 孝⁶⁾, 小林 英司⁶⁾ 東京医科歯科大学 運動器外科学¹⁾ 東京医科歯科大学 軟骨再生学²⁾ 東京医科歯科大学 グローバル COE プログラム³⁾ 東京医科歯科大学 機器分析センター⁴⁾ 国立成育医療研究センター 免疫アレルギー研究部⁵⁾ 自治医科大学 臓器置換研究部⁶⁾

要旨:膝半月板は自己修復能に乏しく,損傷を放置したり広範囲に切除が行われると,対峙する関節軟骨の変性が生じる。半月板修復術の適応には限界があり,新たな治療法の開発が期待されている。本研究では,滑膜由来の間葉系幹細胞(MSC)の関節内投与により,損傷した半月板の再生が促進されるか検討した。野生型ラットの内側半月板を広範囲切除し,Luciferase/LacZ 陽性 MSC を膝関節内に投与して解析を行った。MSC 投与群では control 群に比べて,より早期に半月板欠損部が再生組織で充填されていた。投与した LacZ 陽性細胞は最終観察時(12 週)まで再生した半月板内に存在し,2型コラーゲン陽性の軟骨細胞に直接分化していた。in vivo追跡では,膝関節内のルシフェラーゼ活性は投与後 3 日で一過性に上昇し漸減した。関節内投与した MSC は膝関節以外の他臓器への移動を認めなかった。MSC を関節内に投与すると半月板欠損部に生着し,直接,半月板様細胞に分化し半月板再生を促進した。

Key words: 間葉系幹細胞、半月板再生、滑膜、ラック Z、ルシフェラーゼ

I. 背 景

膝関節内の大腿骨・脛骨の間に存在する半月板は線維性軟骨であり、荷重分散や関節安定性などの重要な機能を担っている.外傷や加齢性の変化によって半月板が損傷した場合、膝関節の痛み、引っかかり、水腫などの症状が生じる.半月板損傷に対する外科的治療としては修復術や切除術が一般的であるが、修復術の適応となる症例は限られることや、修復後に再断裂が生じる問題がある.また損傷を受けた半月板を切除すると、短期的には半月板の刺激症状は軽快するが、ヒトの半月板は自己再生能が低く、長期的には関節軟骨

連絡先:堀江 雅史 horie.orj@tmd.ac..jp

の変性が増悪する問題がある. 欧米では半月板の同種 移植も行われているが、供給数、治癒環境、手術侵襲 などの観点から、一般的な治療にまでは普及しておら ず、よりよい新たな治療法の開発が望まれている.

間葉系幹細胞 (MSC) は成体の間葉組織から採取でき、自己の細胞を使用できる点から、再生医療の細胞源として期待されている¹⁾. MSC は、骨髄由来のものがもっとも研究対象として普及しているが、脂肪や筋肉などのほかの間葉系組織からも採取可能である。なかでも滑膜から分離した間葉系幹細胞(滑膜 MSC)は、自己血清を用いた培養での増殖能が高く²⁾、軟骨分化能が高いことから 3~5)、半月板再生の細胞源として利用価値が高い.

これまで骨髄由来の MSC を動物の膝関節内に投与することにより、切除した半月板が再生されることを

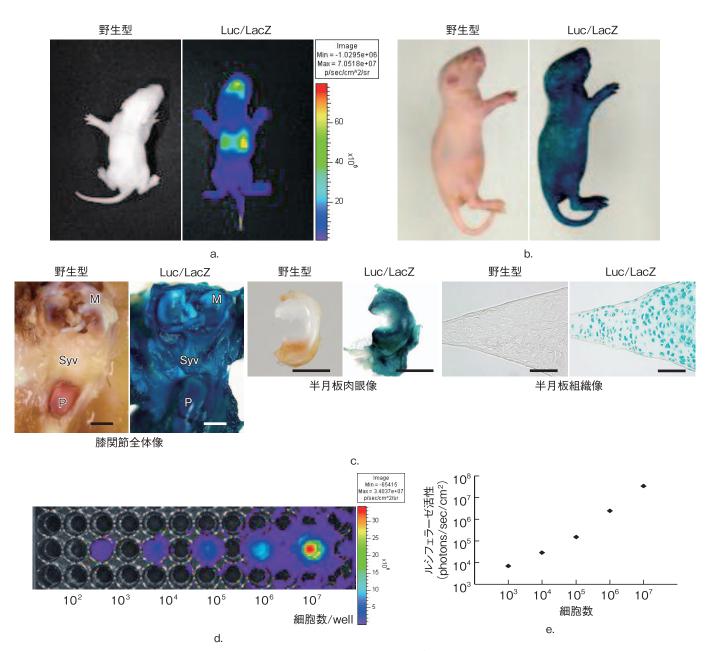


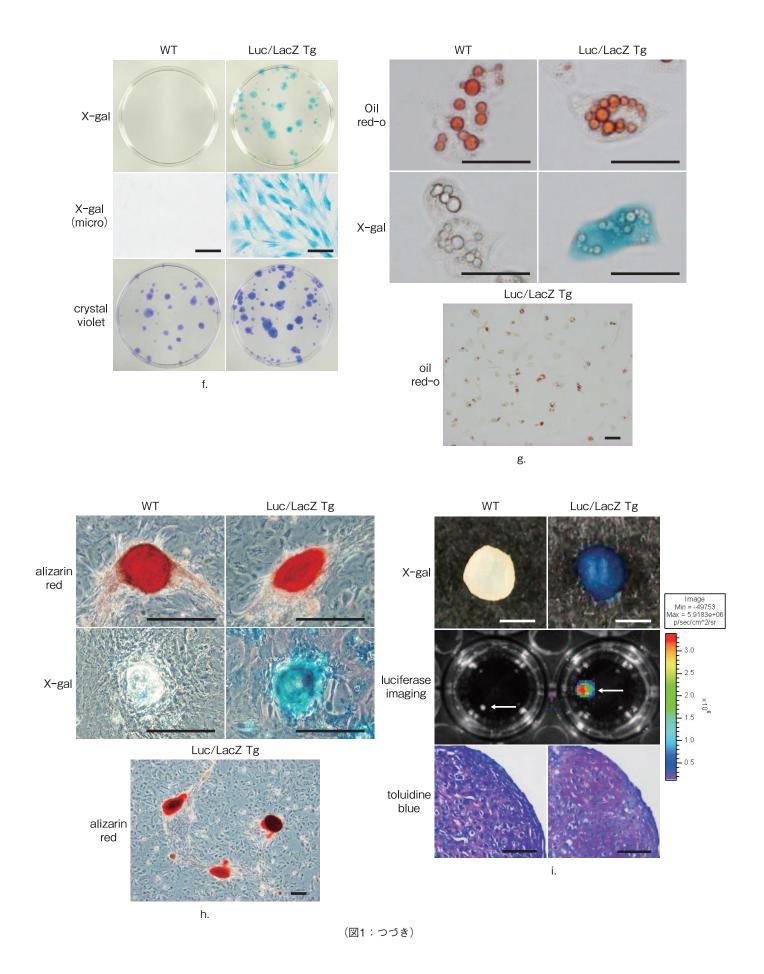
図 1. ルシフェラーゼ/LacZ Tg ラット由来の滑膜 MSC

- a:ルシフェラーゼイメージング.Luc/LacZ Tg ラットは全身性にルシフェラーゼ遺伝子を発現している.
- b: X-gal 染色. Luc/LacZ Tg は全身性に LacZ 遺伝子を発現している.
- c:X-gal 染色. Luc/LacZ Tg ラットの半月板,滑膜,膝蓋骨などの膝関節構成体はすべて LacZ 遺伝子を発現している.
- d, e:ルシフェラーゼイメージング(d)とルシフェラーゼ活性(e). Luc/LacZ Tg ラット由来の滑膜 MSC の数と,発光強度との関係を *in vitro* で解析すると,細胞数と発光強度は正の相関を示す.
- f: MSC の in vitro 培養. Luc/LacZ Tg ラット由来の滑膜 MSC はコロニー形成能を有し、LacZ 遺伝子を発現している.
- g~i:MSC の多分化能. Luc/LacZ Tg ラット由来の滑膜幹細胞は, *in vitro* で脂肪細胞(g),骨芽細胞(h),軟骨細胞(i)に分化する. 分化後も LacZ 遺伝子を発現している.

示した報告 6) はあったが、再生半月部の移植細胞の局在が必ずしも明確ではなく、移植細胞が直接半月板細胞に分化したのか、あるいは関節内注射した細胞が産生する栄養因子により再生が促進されるものなのか、明確ではなかった。また、MSC を関節内投与した後に、移植細胞が増殖するのかしないのか、あるいは関節内にとどまるのか、遠隔臓器に移動するのかが不明であった。そのため臨床応用にあたり、必要な細胞数

や, 投与回数, さらには安全性に関する疑問があった. また半月板損傷に対する滑膜 MSC の治療効果についてはほとんどわかっていなかった.

本研究では、ラット広範囲半月板欠損モデルを用いて、滑膜 MSC の関節内投与による半月板の再生効果と、移植細胞の全身動態に関して解析を行った.



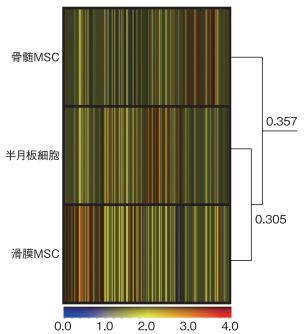


図 2. マイクロアレイによるクラスタリング解析 半月板細胞の遺伝子プロファイルは、骨髄 MSC よりも 滑膜 MSC により近似している.

Ⅱ. 方 法

ダブルレポーターラット(Luc/LacZ Tg ラット) の作成

移植細胞追跡のためにルシフェラーゼ(Luc)遺伝子と LacZ 遺伝子を同時発現するトランスジェニックラット(Luc/LacZ Tg ラット)を Rosa/Luciferase Tg ラットと Rosa/LacZ Tg ラットを交配させることで作成した. ルシフェラーゼの発現は *in vivo* imaging system を用いて確認し、LacZ の発現は X-gal 染色により確認した.

骨髄 MSC と滑膜 MSC の遺伝子プロファイル の比較

野生型ラットの滑膜および骨髄から MSC を分離し、マイクロアレイによるクラスタリング解析を行い、半月板細胞との遺伝子プロファイルを比較した.

3. 広範囲半月板切除と MSC 関節内投与

Luc/LacZ Tg ラットの膝滑膜および骨髄から MSC を分離した. 野生型ラットの膝内側半月板の前方半分を切除後に, Luc/LacZ 陽性の滑膜 MSC (500 万個)を含む浮遊液を片側の膝関節へ投与した (MSC 群). 比較のため, 反対側の膝には細胞投与を行わず (control 群), それぞれの半月板の修復過程を観察した. 2, 4, 8, 12 週後に再生組織を摘出し組織学的解析 (トルイジンブルー染色, X-gal 染色, 2型コラーゲン免疫染色), 12 週時に透過型電子顕微鏡による解析を行

った. また同数の骨髄 MSC を用いて 4, 8, 12 週時での組織学的解析を行った.

4. 関節内投与した MSC の全身動態

MSC 膝関節投与後の全身動態を解析するため、in vivo イメージングによる追跡を行った。Luc/LacZ 陽性 MSC(500 万細胞)を正常膝または半月板切除膝に投与し、投与後 $1\sim28$ 日目まで in vivo イメージングを行った。基質であるルシフェリンを投与後に解析を行いルシフェラーゼ活性を測定した。

全身臓器への細胞浸潤を確認するため、MSC 投与後3日時の各全身臓器(脳、心、肺、腎、肝、膝滑膜)から RNA を抽出し、MSC 由来の LacZ 遺伝子の発現をリアルタイム PCR により定量評価した。

Ⅲ. 結果

半月板の再生研究をすすめるにあたり、マウスでは小さすぎて半月板損傷モデルの作成は困難であるが、ラットではそれが可能である。共同研究者の小林らはルシフェラーゼと LacZ の二つの遺伝子を同時発現するトランスジェニックラットを開発したった。このダブルトランスジェニックラット由来の間葉系幹細胞を用いることにより、移植細胞の詳細な動態解析が可能となった。ルシフェラーゼはホタルの発光にかかわる酵素で、ルシフェリンと反応させることにより、レシピエントを生かしたまま移植細胞を発光させ、移植細胞の追跡を可能とする。また LacZ 遺伝子は、X-gal と反応させることにより移植細胞を青く特異的に染色させることを可能にし、移植細胞の正確な局在を明らかにできる。

ルシフェラーゼと LacZ 遺伝子のダブルトランスジェニックラットそのものにルシフェリンを投与すると体全体が発光した(図 1a). また出生直後のラットをwhole mount で X-gal 染色すると、体表のすべてが青く染色された(図 1b). さらに成熟したラットの膝関節を展開し X-gal で染色すると、半月板、滑膜、膝蓋骨など膝関節構成体がすべて青く染色された(図 1c). このラットの膝滑膜から分離した MSC はルシフェラーゼ遺伝子・LacZ 遺伝子ともに発現しており(図 1d~f), $in\ vitro\$ で脂肪細胞、骨芽細胞、軟骨細胞に分化することを確認した(図 1g~i).

クラスタリング解析による遺伝子プロファイルの検 討では、半月板細胞は骨髄 MSC よりも滑膜 MSC に より近かった (図 2).

野生型ラットの両膝関節を切開して、半月板の前方 半分を切除摘出(図3a)した後に、ルシフェラーゼ

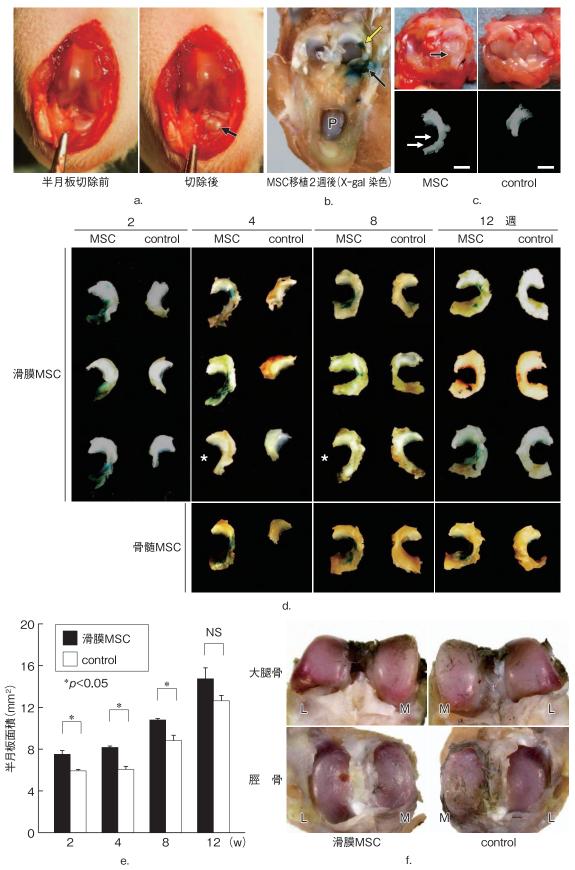
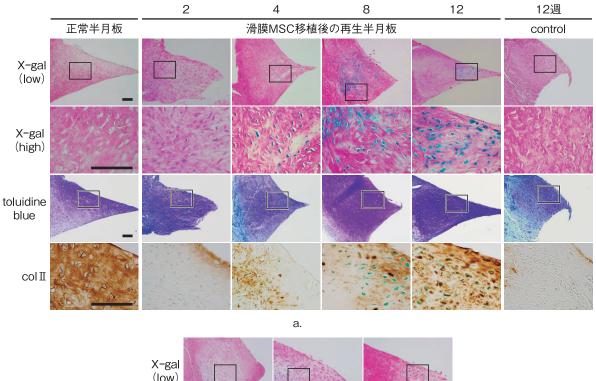
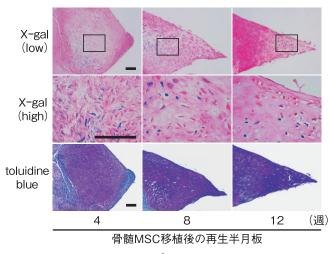


図3. 再生半月板の肉眼的評価

- a: 半月板切除前と切除後の肉眼像. 膝関節を切開後に内側半月板を露出させ(左), 前方 1/2 を切除した(右). 黒矢印は切除が行われた部位を示す.
- b:2 週時の膝肉眼像(X-gal 染色).LacZ 陽性組織(青)が半月板再生部(黄色矢印)と関節切開部(黒矢印)に認められる.
- c:4週時の肉眼像. MSC 群において半月板は control 群に比べてより大きく再生していた. 矢印は再生した半月板を示す.
- d, e: 再生半月板の肉眼像(d) と再生半月板面積の定量評価(e). 2, 4, 8 週では MSC 群において半月板は control 群に比べてより大きく再生していた. LacZ 陽性組織(青)が 12 週まで再生部分に認められる.
- f: 12 週時の大腿骨,脛骨の肉眼像. MSC 群において内側半月板と対峙する関節軟骨の変性が抑制されている.





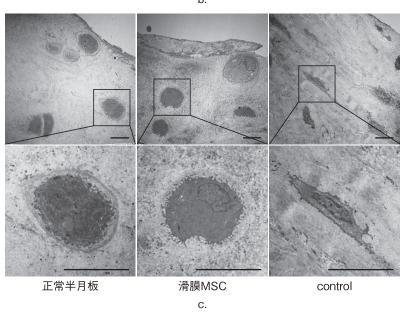


図 4. 再生半月板の組織像

a, b:半月板組織像. MSC 群では経時的にトルイジンブルー染色性, II 型コラーゲン発現が上昇し, 形態的にも正常の半月板に類似した組織再生が認められる. LacZ 陽性細胞(青)は 12 週時まで認められる(a:滑膜 MSC, b:骨髄 MSC).

c: 12 週時の半月板電子顕微鏡像、MSC 群では,再生組織には正常半月板細胞に類似した円形の半月板様細胞が認められる。control 群では紡錘形の線維芽細胞が大部分を占めている。

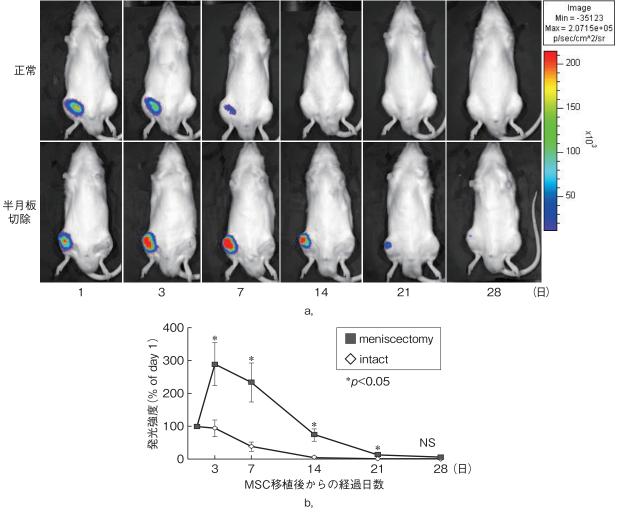


図 5. in vivo ルシファラーゼイメージング

a: in vivo イメージング像. ルシフェラーゼ陽性 MSC を正常膝または半月板切除膝に投与した. 半月板切除膝ではより長期間発光が認められる. 赤は発光強度が強く,青は発光強度が弱いことを示す.

b:ルシフェラーゼ発光の定量評価. 正常膝では幹細胞由来の発光は早期に減弱したが、半月板切除膝では一過性に上昇しゆるやかに減弱した.

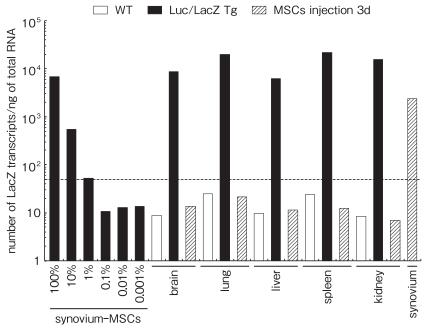


図 6. リアルタイム PCR による LacZ 遺伝子発現の定量評価 投与した膝滑膜でのみ LacZ 遺伝子の発現が認められ、他の臓器では検出限界以 下である.

と LacZ 遺伝子を同時に発現する滑膜幹細胞 500 万個を含む浮遊液を片側の膝関節へ投与した(MSC 群). 比較のため、反対側の膝には細胞投与を行わず(control 群). それぞれの半月板の修復過程を観察した.

2週後, 膝関節を展開し X-gal で染色すると, 半月 板欠損部と切開後縫合した関節包部に, LacZ 遺伝子 陽性細胞が観察された (図 3b). このことは、関節内 注射した滑膜幹細胞が組織損傷部に高率に生着するこ とを示している.移植後4週間経過すると、MSC群 では control 群よりも半月板が大きく再生していた (図3c). 12週までの半月板を観察すると、2、4、8 週で MSC を投与したものは、control 群よりも半月 板が大きく再生しており (図 3d, e), 12 週時では半 月板に対峙する関節軟骨の変性が抑制されていた(図 3f). また、半月板が再生した部位にはLacZ遺伝子 陽性の組織が含まれており、投与した細胞が生着し、 半月板を構成する細胞に直接分化することがわかった (図 4a, b). 12 週では, control 群でも MSC を投与し たものと肉眼的には同程度の大きさであったが、組織 学的に詳細に検討すると、MSC 群の半月板は、軟骨 組織に特徴的な2型コラーゲンを発現している一方, control 群では2型コラーゲンを発現しておらず、幹 細胞の注射により半月板の質が向上することが示され た(図4a). さらに電子顕微鏡により再生組織を観察 すると、MSC 移植後の半月板は正常半月板に近い細 胞形態であることがわかった (図 4c).

次に、in vivo イメージングによる移植細胞の全身動態を解析した. ルシフェラーゼ陽性の滑膜 MSC を正常膝(半月板損傷のない膝)の関節内に注射すると、発光強度が時間経過とともに減少し、7日以降では観察できなくなった. 他方、半月板を切除したもので同様の検討を行うと、発光強度は漸増し、3日でピークに達し、その後漸減した(図 5a, b). 正常膝では発光は早期に減弱していったのに対して、半月板損傷のある膝では、ルシフェラーゼ発光強度が増す、あるいはルシフェラーゼ陽性細胞の数が一過性に増加したという点は興味深い. また関節内投与した滑膜 MSC が、肺などの膝関節以外の臓器に移動する現象は認められなかった.

膝関節内投与した MSC の全身臓器への浸潤をより 詳細に検討するため、MSC 投与後 3 日時の各全身臓器(脳、心、肺、腎、肝、膝滑膜)から抽出した RNA の LacZ 遺伝子発現をリアルタイム PCR により定量 評価を行うと、投与した膝滑膜でのみ LacZ 遺伝子の 発現を認め、ほかの臓器では検出限界以下であった (図 6).

Ⅳ. 考 察

骨髄 MSC を用いた半月板の再生に関する研究は、これまでにいくつか報告されていたが、in vivo で MSC が直接半月板に分化することを明確に示した報告はなく、その機序もいまだわかっていなかった。本研究ではラット広範囲半月板切除モデルを用いて滑膜 MSC を膝関節内に投与することで半月板が再生されるか否かを検討した。ルシフェラーゼ遺伝子と LacZ 遺伝子を同時発現する特殊なトランスジェニックラットを作成し、そのラット膝滑膜より分離した Luc/LacZ 陽性の滑膜 MSC を用いることで、膝関節に投与した MSC の in vivo での全身細胞追跡を行うとともに、組織学的にも細胞追跡を行った。

移植した MSC は半月板切除部に接着し,12 週後には2型コラーゲン陽性の軟骨細胞に直接分化し,電子顕微鏡においても正常半月板類似の細胞形態を示した.

in vivo イメージングによる解析では、半月板切除 膝に MSC を投与した群では、正常膝に投与した場合 と異なり、投与初期に一過性にルシフェラーゼ活性が 上昇することから、損傷部に接着した MSCs は局所 でなんらかのシグナル(サイトカイン/ケモカイン) を受け増殖した可能性が考えられた。

滑膜 MSC は、骨髄 MSC に比べて採取が容易で、in vitro での増殖能・軟骨分化能も高いとの報告がある.本研究では滑膜 MSC は骨髄 MSC よりも半月板細胞の遺伝子プロファイルにより近いという結果を得た.われわれは滑膜 MSC と同様に、骨髄 MSC を関節内投与して半月板再生能の比較も行ったが、in vivoでの結果は骨髄 MSC と滑膜 MSC とでは明らかな差は認められなかった.しかしながら滑膜 MSC は、骨髄 MSC と比べて採取が容易であり、in vitro での増殖能は高く、より短時間で必要細胞数を得ることができるのは利点といえる.

臨床応用を目指すには、動物種による違いを考慮に 入れる必要がある。ラット半月板はヒト、大動物の半 月板に比べると自然修復能が高く、今後はより大きな 動物での検討が必要である。また本研究では、再生半 月板のバイオメカニカル・バイオケミカルな解析は行っておらず、再生した半月板がどの程度機能するのか、 関節軟骨の変性を長期的に抑制しうるかを検討するこ とも含め今後の課題である。

V. 結 語

本研究によって、滑膜間葉系幹細胞を関節内に投与すると切除した半月板の再生が促進されることが示さ

れた. ルシフェラーゼと LacZ 遺伝子のダブルトランスジェニックラットの滑膜由来の間葉系幹細胞を使用することにより, 移植細胞が損傷組織に生着し, 直接, 半月板様細胞に分化する機序が存在すること, 関節内投与した間葉系幹細胞は一過性に増殖するが, その後漸減すること, 関節内投与した細胞は他臓器へ移動しないことが明らかになった.

文 献

- 1) Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC et al: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 284:143-147, 1999.
- 2) Nimura A, Muneta T, Koga H et al: Increased proliferation of human synovial mesenchymal stem cells with autologous human serum; comparisons with bone marrow mesenchymal stem cells and with fetal bovine serum. Arthritis Rheum 58: 501–510, 2008.
- 3) Sakaguchi Y, Sekiya I, Yagishita K et al: Com-

- parison of human stem cells derived from various mesenchymal tissues; superiority of synovium as a cell source. Arthritis Rheum 52: 2521–2529, 2005.
- 4) Yoshimura H, Muneta T, Nimura A et al: Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue, and muscle. Cell Tissue Res 327: 449–462, 2007.
- 5) Koga H, Muneta T, Nagase T et al; Comparison of mesenchymal tissues-derived stem cells for in vivo chondrogenesis; suitable conditions for cell therapy of cartilage defects in rabbit. Cell Tissue Res 333: 207–215, 2008.
- 6) Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB et al: Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. Arthritis Rheum 48: 3464-3474.
- 7) Hara M, Murakami T, Kobayashi E: In vivo bioimaging using photogenic rats; fate of injected bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. J Autoimmun 30: 163–171, 2008.

Intra-articular injected synovial stem cells differentiate into meniscal cells directly and promote meniscal regeneration without mobilization to distant organs in rat massive meniscal defect

Masafumi Horie¹⁾, Ichiro Sekiya²⁾, Takeshi Muneta^{1, 3)}, Shizuko Ichinose⁴⁾, Kenji Matsumoto⁵⁾, Hirohisa Saito⁵⁾, Takashi Murakami⁶⁾, Eiji Kobayashi⁶⁾ President, Yame Hosshinkai, Incorporated Medical Institution

Section of Orthopedic Surgery, Tokyo Medical and Dental University¹⁾ Section of Cartilage Regeneration, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University²⁾

Global Center of Excellence Program and International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases, Tokyo Medical and Dental University³⁾ Instrumental Analysis Research Center, Tokyo Medical and Dental University⁴⁾ Department of Allergy and Immunology, National Research Institute for Child Health and Development⁵⁾

Division of Organ Replacement Research, Center for Molecular Medicine, Jichi Medical University⁶⁾

Summary

Osteoarthritis in the knees, which can be caused by meniscal defect, constitutes an increasingly common medical problem. Repair for massive meniscal defect remains a challenge owing to a lack of cell kinetics for the menisci precursors in knee joint. The synovium plays pivotal roles during the natural course of meniscal healing and contains mesenchymal stem cells (MSCs) with high chondrogenic potential. Here, we investigated whether intraarticular injected synovium-MSCs enhanced meniscal regeneration in rat massive meniscal defect. To track the injected cells, we developed transgenic rats expressing dual luciferase and LacZ. The cells derived from synovium of the rats demonstrated colony-forming ability and multipotentiality, both characteristics of MSCs. Hierarchical clustering analysis revealed that gene expression of meniscal cells was closer to that of synovium-MSCs than to that of bone marrow-MSCs. Two to 8 weeks after five million luc/LacZ+ synovium-MSCs were injected into massive meniscectomised knee of wild type rat, macroscopically, the menisci regenerated much better than it did in the control group. After 12 weeks, the regenerated menisci were LacZ positive, produced type 2 collagen, and showed meniscal features by transmission electron microscopy. In in vivo luminescence analysis, photons increased in the meniscus-resected knee over a three day period, then decreased without detection in all other organs. LacZ gene derived from MSCs could not be detected in other organs except in synovium by realtime PCR. Synovium-MSCs injected into the massive meniscectomized knee adhered to the lesion, differentiated into meniscal cells directly, and promoted meniscal regeneration without mobilization to distant organs.

Key words: mesencymal stem cells (MSCs), meniscus regeneration, synovium, LacZ, luciferase

マイクロ RNA による骨芽細胞分化の調節機構

猪瀬 弘之 東京医科歯科大学医学部附属病院整形外科

要旨:マイクロRNA (miRNA) は、タンパク質をコードしない小さなRNA 分子であり、発生・分化・増殖などさまざまな生命現象にかかわっていることが近年報告されてきた。しかしながら、これまでに骨芽細胞分化における miRNA の生理的な意義についての考察はほとんどなされていない。われわれは本研究において、骨芽細胞分化における miRNA の網羅的な解析を通じ、マイクロRNA206 (miR-206) が骨芽細胞分化における重要な調節因子であることを見出した。

miR-206 は骨芽細胞において発現しており、その発現は分化に伴い減少した。さらに、骨芽細胞に miR-206 を過剰発現することによりその分化は抑制され、逆にノックダウンすることによりその分化は促進された。そして、miR-206 の骨芽細胞分化における標的遺伝子はコネキシン43(Cx43)であった。最後に、骨芽細胞特異的 miR-206 トランスジェニックマウスを作成し、その骨量が減少していることを見出した。これらの結果より、miRNA が骨芽細胞分化の新たな調節因子であることが示された。

Key words: マイクロ RNA, マイクロ RNA-206, 骨芽細胞分化, コネキシン43

I. はじめに

「お茶の水醫學雑誌」より第24回(2010年度)医科同窓会研究獎励賞受賞研究掲載のご依頼をいただきました.この論文は学位論文であり、本奨励賞を幸運にもいただくことができ、心より感謝いたします.大学院卒業後は2010年から米国コロンビア大学医学部の遺伝・発生学教室にて博士研究員として研究留学をさせていただきました.その際に、本学より"若手研究者等海外派遣プログラム"に採用していただき、留学生活をご支援いただいたことについても感謝いたします.そして、2011年からは本学附属病院整形外科に勤務し、現在も脊椎外科の臨床の傍ら、骨代謝についての研究を継続しております.手術や外来といった臨床業務を行いながら、基礎と臨床をつなげるような研究ができるように今後も精進してまいりたいと考えております.

本稿の前半部分では、受賞論文においてわれわれが

連絡先:猪瀬 弘之 inoorth@tmd.ac.jp

行った研究について解説します.後半部分では、本研究以降さらに進展を認めている骨代謝領域におけるmiRNAに関する研究について概説します.

Ⅱ. 背 景

骨芽細胞は間葉系幹細胞を起源とし、骨格発達および骨形成に重要な役割をもっている。よって、骨芽細胞分化の調節機構を理解することは、骨粗鬆症のような骨量が減少する疾患に対する治療戦略を考えるうえで必須である。近年の分子生物学、遺伝学の進歩により、骨芽細胞分化のさまざまなサイトカインやホルモンによる調節機構が明らかとなっている。その中でも、bone morphogenetic protein (BMP)、Wntファミリー分子は、非常に重要な役割をはたしている。この調節機構において主要な役割をはたしている。この調節機構において主要な役割をはたすのは、Runx2、Osterix、 β -catenin、Atf4 などの転写因子である。さらに、C/EBP β 、Smad1、Smad5 は Runx2 に結合し、その転写活性を抑制させることが知られている。しかしながら、その構造の複雑性の相違にもかかわら

ず,脊椎動物と無脊椎動物のコーディング遺伝子数は それほどかわらないことを考えれば,転写因子以外に も骨格発達,骨形成を調節する機構が存在すると考え られる.

近年、マイクロ RNA (以下、miRNA) が腫瘍形成 やウイルス感染、細胞の分化、増殖などのさまざまな 発達や生理的なできごとの主要な調節因子であること が示されてきた。miRNAは20塩基前後の1本鎖 RNA であり、それ自身はタンパク質をコードせず、 その配列の相補性により標標的遺伝子のメッセンジャ - RNA (以下、mRNA) と結合し、mRNA を分解 するか、もしくはそのタンパクへの翻訳を抑制するこ とで作用する. miRNA は二つの連続したプロセスを 経て生合成される. 数百~数千塩基長の primary miRNA 転写物(以下,pri-miRNA)はステムループ のヘアピン構造を一つまたは複数もち、その多くは RNA ポリメラーゼ II を介した転写により産生される. そして、pri-miRNA は RNase Ⅲ系酵素である Drosha により、ヘアピン形態をとり、かつ 70 塩基程度 の中間前駆体である precursor miRNA (以下, premiRNA) となる. その後、pre-miRNA はキャリア タンパク質である Exportin 5 を介して核より細胞質 へと移送される. 細胞質では別の RnaseⅢ酵素である Dicer により、pre-miRNA から 2 本鎖 mature miRNA が産生される. 2本鎖 miRNA は Argonaute を含む RNA 誘導サイレンシング複合体(以下、RISC) に認 識され取り込まれる. Argonaute-miRNA 複合体は その後 RISC 複合体コアとなり、特定標的 mRNA の 転写後遺伝子発現調節に関与することになる. ほとん どの miRNA は、標的となる mRNA の 3′ 非翻訳領域 中に存在する部分的相補配列に結合し、そのタンパク 質への翻訳を抑制する. したがって、ほとんどの miRNA は複数の遺伝子を標的とすることになる. 驚 くべきことに、ヒトにおいては、全RNAのおよそ 98% 程度がノンコーディング RNA であると推測さ れており、ノンコーディング RNA とコーディング RNA の比率は、生物の複雑さに比例して増大すると 考えられている¹⁾.

しかしながら、われわれが本研究を報告した時点においては、miRNAの骨芽細胞および破骨細胞分化に対する影響について、いくつかの報告がなされていたものの、in vivo におけるその生理的な意義について検討した報告は存在しなかった.

われわれは本研究において、microRNA-206(以下、miR-206)が骨芽細胞において存在し、その発現が骨芽細胞分化とともに減少することを明らかにした²⁾. そして、骨芽細胞において miR-206 の発現を調節す

ることにより、Connexin 43(以下、Cx43)のタンパク蓄積が変化し、骨芽細胞分化が調節されることを示した. さらに、miR-206の骨芽細胞特異的トランスジェニックマウスを作成し、その骨量が骨芽細胞分化の障害により著明に減少していることを示した.

以上より、骨芽細胞分化がmiRNAによってin vivo においても調節されていることが明らかとなった.

Ⅲ. 骨芽細胞分化の過程において発現が 変動する miRNA の同定

まず、骨芽細胞分化の過程において関与している miRNA を同定するために、その過程において発現が 変動する miRNA を同定することを試みた。未分化間 葉系細胞である C2C12 細胞は骨形成因子である BMP -2を投与することにより骨芽細胞に分化するため、 確立された骨芽細胞分化のモデルとして用いられてい るが、その分化前、分化後でRNAを抽出して、 miRNA の発現をマイクロアレイにて網羅的に解析し た. これまでの報告と同様に、miR-133a は BMP-2 の投与により発現が減少したため、実験は適切に行わ れていると考えられた (図 la). 骨芽細胞には多くの miRNA が発現しており、そのうちの多く (36%) は BMP-2 投与により発現が減少したが、発現が増加し たものも 4% に認めた (図 la). われわれはそれらの うち、発現の変動がもっとも大きかった miR-206 に 注目した (図 1a).

miR-206 は、第1染色体上に位置する 22 塩基長の miRNA であり、これまでにその発現は筋肉において 特異的であると報告されている 3)。そのため、骨芽細胞におけるその発現を確認するために、初代培養骨芽細胞から RNA を抽出し、RNase protection assay、northern blotting、リアルタイム PCR、*in situ* hybridization を行い、miR-206 の骨芽細胞における発現に ついて検討した。

すると、RNase protection assay、northern blotting により、miR-206 は骨芽細胞において発現していることが確認できた(図 1b, c). また、リアルタイム PCR では、その発現が骨芽細胞分化の過程において減少していくことが確認された(図 1d, e). そして、 $in\ situ$ hybridization においては、胎生 14.5 日齢では軟骨膜上に miR-206 の発現を認めたが、その発現は胎生 16.5 日齢、18.5 日齢と進行していくに従い減少した(図 1f).

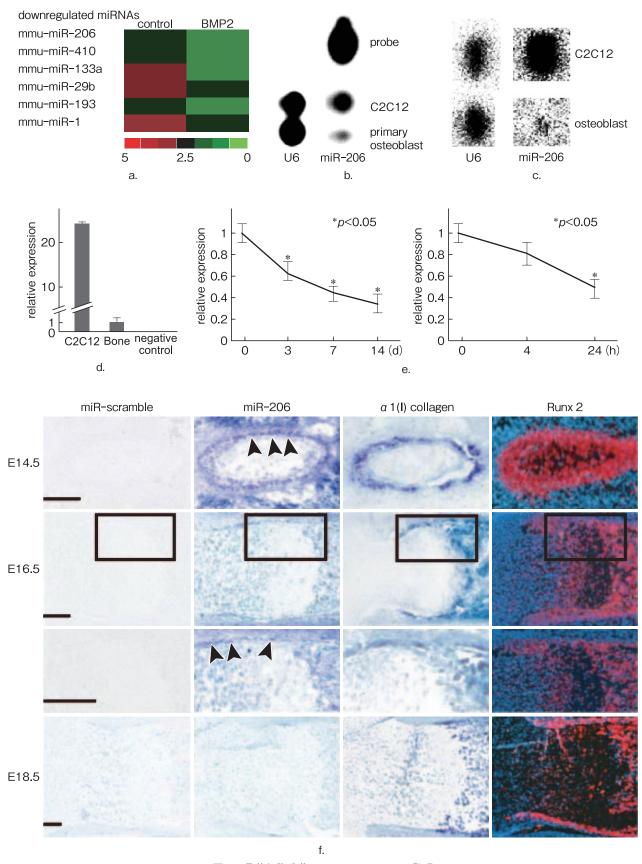


図 1. 骨芽細胞分化における miR-206 の発現

N. miR-206 は骨芽細胞分化を調節している

骨芽細胞分化の過程において miR-206 の発現が減少しているという現象から, miR-206 は骨芽細胞分

化に抑制的な作用をもつのではないかとの仮説を立てた. そこで, miR-206を過剰発現するベクターを作成し, それを C2C12 細胞に感染させ, miR-206 を恒常的に過剰発現している細胞株を樹立し, その骨芽細

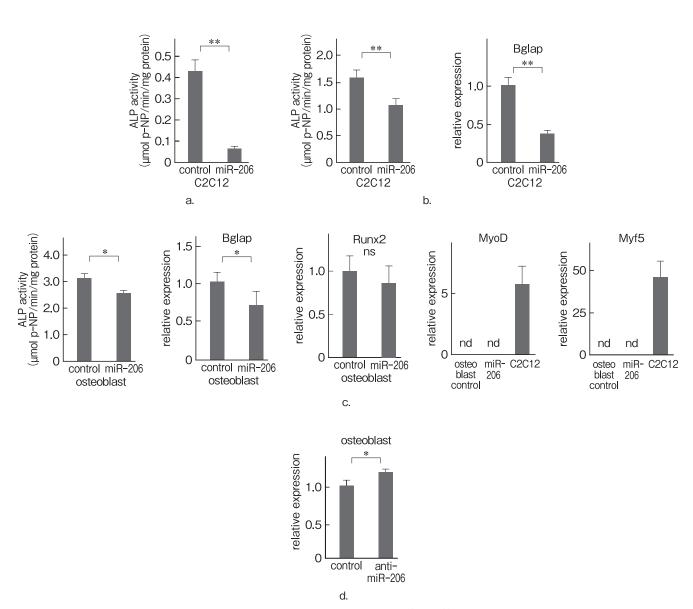


図 2. miR-206 による骨芽細胞分化の調節 *p<0.01, **p<0.05

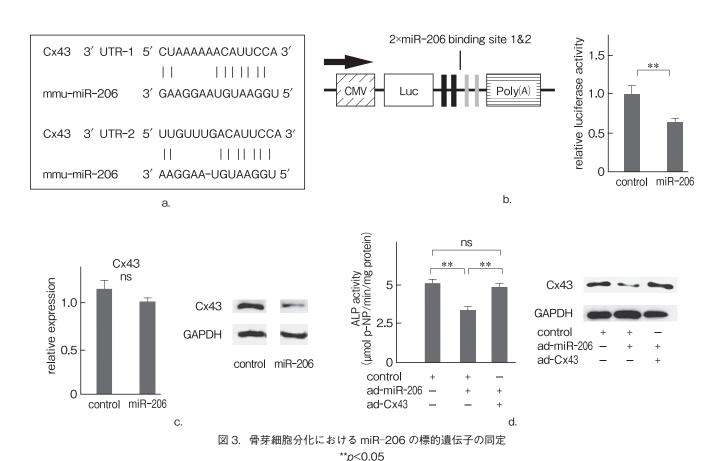
胞への分化能について検討した. すると, miR-206 を過剰発現している細胞株は、いずれも骨芽細胞への 分化能が障害されていた (図 2a). また, C2C12 細胞 へのプラスミドベクターを用いた一過性の過剰発現の 系においても、miR-206 は骨芽細胞への分化を抑制 した (図 2b). ところで、C2C12 細胞は未分化間葉系 幹細胞ではあるが、筋芽細胞由来である。そこで、わ れわれは miR-206 が骨芽細胞分化を生理学的に調節 するかどうか検討するために、マウスから採取した初 代培養骨芽細胞を用いてさらなる検討を行った. する と, 初代培養骨芽細胞においても, miR-206 を過剰 発現することによりその分化が抑制されることが、ア ルカリフォスファターゼ活性および骨芽細胞分化マー カーであるオステオカルシンの発現の減少により示さ れた (図 2c). 興味深いことに、miR-206 の過剰発現 は骨芽細胞分化のマスター調節遺伝子といわれる Runx2の発現には影響を与えなかったことから、

miR-206 が Runx2 とは独立して骨芽細胞分化を調節 している可能性が示唆された (図 2c).

これまでに miR-206 は筋肉分化を促進することが示されている ³⁾. したがって, miR-206 は骨芽細胞を筋肉へ脱分化させるのではないかとも思われたが, miR-206 の過剰発現により筋肉の分化マーカーである MyoD や Myf5 の発現は誘導されなかった (図 2c). よって, miR-206 は骨芽細胞の筋肉への脱分化を誘導しているのではないことが示された.

miR-206 の過剰発現により骨芽細胞分化が抑制されたことから、われわれは引き続いて miR-206 の発現を抑制することによる骨芽細胞分化への影響について検討した. すると、miR-206 をノックダウンすることにより、骨芽細胞分化は有意に促進された(図2d).

以上より、miR-206 は骨芽細胞において発現しており、生理的に骨芽細胞分化を調節していることが示



された.

V. 骨芽細胞において Connexin 43 が miR-206 の分子標的である

続いて、miR-206の骨芽細胞分化を抑制する分子 機構についての検討に移る。miR-206の標的遺伝子 を同定するために、Pictar および Targetscan という 二つの異なるデータベースを利用した。そして、二つ のデータベースによって予測された miR-206 の潜在 的標的遺伝子のうち、われわれは骨芽細胞において発 現しており、かつ、骨芽細胞分化および機能に主要な 役割をはたしている Connexin 43 (以下, Cx43) に 注目した. これまでに Cx43 欠損マウスは骨芽細胞の 機能異常により低骨量を呈することが示されている 4). Cx43の3′非翻訳領域にはmiR-206の想定結合部位 が二つ存在する (図 3a). そこで、miR-206と Cx43 の結合を確認するために、 ルシフェラーゼ遺伝子の 3′ 非翻訳領域に miR-206 の想定結合部位を挿入した レポーターベクターを作成し, miR-206 存在下での ルシフェラーゼ活性について検討した. すると, in silico における検討のとおり、miR-206 の存在下にお いてルシフェラーゼ活性は著明に減少したことから. miR-206 と Cx43 が Cx43 の 3′ 非翻訳領域上で結合す ることが示された (図 3b). そして, miR-206 を過剰 発現することは、Cx43のmRNA発現に影響を与え

ることなく, そのタンパク発現を減少させた (図 3c). 以上の結果より, Cx43 は miR-206 の直接の標的であることが同定された.

続いて、Cx43が骨芽細胞分化における miR-206 の標的遺伝子であるか同定するために、miR-206 を発現している骨芽細胞に Cx43を補充することにより、miR-206 の骨芽細胞分化に対する抑制的な影響が回復されるかについて検討した。すると、miR-206 を発現している骨芽細胞では、骨芽細胞分化および Cx43 タンパク質の発現が抑制されていたが、miR-206 と Cx43を共発現することにより、miR-206 の骨芽細胞への抑制的な影響は回復されることが示された(図 3d). したがって、miR-206 を発現している骨芽細胞において、Cx43 タンパク質発現を回復させることにより、正常な骨芽細胞分化が得られることが示された.

以上のことから、miR-206 は Cx 43 の発現調節を 介して骨芽細胞分化を調節していることが示された.

VI. miR-206 は *in vivo* における 骨形成の調節因子である

最後に, *in vivo* における miR-206 の骨形成における働きについて検討するために, I型コラーゲンプロモーターを利用して, miR-206 を骨芽細胞において過剰発現する骨芽細胞特異的 miR-206 トランスジェ

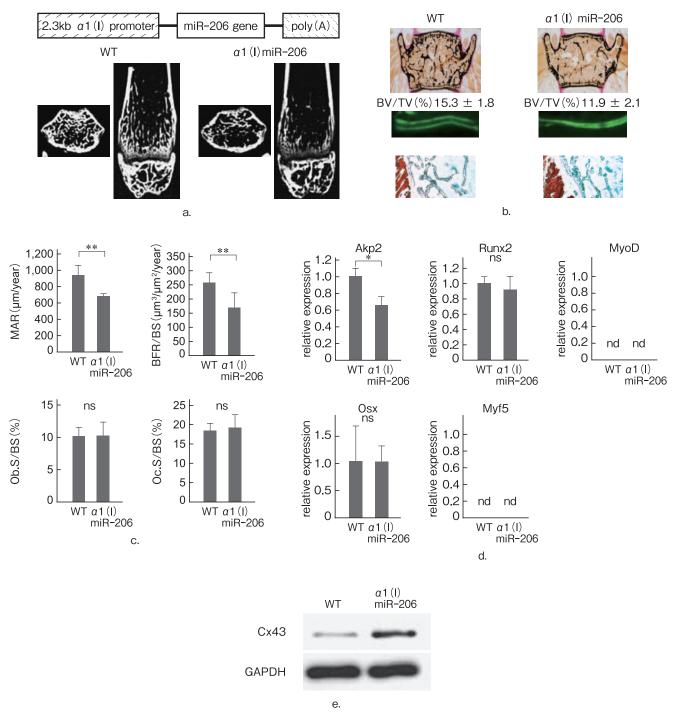


図 4. 骨芽細胞特異的 miR-206 トランスジェニックマウスの解析 *p<0.05, **p<0.01

ニックマウスを作製した. そして, その骨量をマイクロ CT および組織学的に検討したところ, トランスジェニックマウスは皮質骨においても, 海綿骨においても低骨量であった(図 4a, b). さらに, 骨形態計測法により, 骨芽細胞機能の指標である骨形成率は野生型マウスと比較して有意に減少していたが, 骨吸収の指標である破骨細胞面は野生型マウスと比較して有意な変化を認めなかった(図 4c). また, トランスジェニックマウスより抽出した骨芽細胞においては, 骨芽細胞のマーカーである Akp2 の発現が減少していた

(図 4d). Runx2, Osterix の発現については変化を認めなかったが、Cx43のタンパク質発現はトランスジェニックマウスにおいて有意に減少していた(図 4d, e). そして、組織学検討において筋肉のマーカーであるトロポニン I の発現を椎体内に認めないことから、異所性の骨芽細胞の筋肉分化を認めないことが示された(図 4b).

以上の結果より、骨芽細胞における miR-206 の過剰発現により骨芽細胞分化は抑制され、低骨量にいたることが示された。

Ⅷ. 考察

今回、われわれは miR-206 が骨芽細胞分化に対して抑制的な影響を与えることを示した。まず、miR-206 は骨芽細胞系の細胞において発現しており、骨芽細胞分化の過程において減少した。そして、骨芽細胞において miR-206 の発現を調節することにより、骨芽細胞分化は影響され、またその際の miR-206 が in vivo においても骨芽細胞分化を調節していることを示した。本研究が発表された時点において、骨芽細胞分化への miRNA の寄与についての報告がなされてはいた。しかしながら、これらの報告は細胞モデルのみに基づいたものであり、本研究は in vivo における miRNA による骨芽細胞分化の調節についてのはじめての検討である。

これまでに miR-206 が筋肉分化に関与することが 示されてきた³⁾. そのために、miR-206 の骨芽細胞分 化に対する抑制的な影響は、単に筋肉系の細胞への分 化の促進もしくは骨芽細胞を筋肉系の細胞へ脱分化さ せているのではないかという懸念があった。しかしな がら、miR-206を恒常的に発現している骨芽細胞に おいては MyoD や Myf5 といった筋肉のマーカーの 発現を認めなかったこと、骨芽細胞特異的 miR-206 トランスジェニックマウスの骨組織において異所性の 筋肉組織の出現を認めなかったことから、その懸念に ついては払拭された. とくに、骨芽細胞特異的 miR-206 トランスジェニックマウスを作成する際に用いた I型コラーゲンプロモーターは、骨芽細胞系の細胞に おいてのみ有効である. したがって. トランスジェニ ックマウスが低骨量を示したことは、miR-206の筋 肉分化における作用からは独立して、miR-206 が骨 芽細胞分化に直接影響を及ぼしたことを示唆するもの である.

また、miR-206が筋肉系の細胞においてのみ発現しており、筋肉系の細胞において骨芽細胞関連遺伝子を抑制したのではないかとの懸念もある。しかしながら、われわれは四つの異なる手法を用いて miR-206の骨芽細胞における発現を確認した。さらには、骨芽細胞において miR-206をノックダウンすることにより、その分化が促進された。以上より、miR-206は骨芽細胞において発現しており、その分化を調節していることが示された。

筋肉特異的 miRNA としては, miR-1, miR-133, miR-206 がこれまでに報告されてきた ^{3,5)}. 興味深いことに, miR-1, miR-133 についてはショウジョウバエおよび脊椎動物において発現しているが, miR-206

はショウジョウバエにおいては発現しておらず, 脊椎動物においてのみ発現している. このことからは, miR-206 は miR-1 や miR-133 とは異なる時期に発達しており, そのために miR-1 や miR-133 のもつ筋肉分化の調節以外の役割をはたすようになった可能性が示唆された.

miR-206の骨芽細胞分化に対する抑制的な影響が Cx43の補充により回復されたことから、Cx43は miR-206の骨芽細胞分化における真の標的遺伝子で あると考えられた. そして. miR-206 を発現してい る骨芽細胞は分化の障害を呈するものの、増殖の異常 を示さなかった. この結果は、Cx43を欠損した骨芽 細胞の増殖能は正常であったとするこれまでの報告と 同様であった⁴⁾. しかしながら、miRNA は複数の標 的遺伝子を調節するという概念からは,骨芽細胞分化 における miR-206 の標的遺伝子は Cx43 のみによる ものではないと考えられる. 実際に、骨芽細胞特異的 Cx43 欠損マウスの石灰化率は正常であるのに対し⁶⁾, 骨芽細胞特異的 miR-206 トランスジェニックマウス の石灰化率は野性型より30%の低下を示した.した がって、miR-206を介した骨形成の調節についても、 そのほかの標的遺伝子の関与が示唆される.

また、骨芽細胞分化の調節因子である副甲状腺ホルモン(以下、PTH)は、近年骨粗鬆症治療において保険適用が開始され、その骨形成作用が注目されている。PTH は Cx43 の mRNA の翻訳後修飾を介して Cx43 の発現を調節すること 7 、および Cx43 欠損マウスにおいて PTH への反応性が弱まること 6 がこれまでに報告されてきた。 miR-206 は骨芽細胞分化および Cx43 の mRNA の安定性いずれをも調節するために、われわれは PTH が miR-206 の発現を調節することにより Cx43 を調節しているかについても検討を行った。しかしながら、PTH は miR-206 の発現には影響を与えなかった。

miR-206 は軟骨膜において強く発現している一方で、海綿骨におけるその発現は少なかった。骨芽細胞が軟骨膜に存在する未熟な骨芽細胞前駆細胞から由来することを考えれば、miR-206 は骨芽細胞の成熟化を抑制する働きをもち、miR-206 の発現が減少することが正常な骨芽細胞分化において重要であることが示唆された。現段階では、骨芽細胞分化においてmiR-206 の発現が減少する機構は明らかでない。miR-206 は、筋肉、脂肪、骨芽細胞といった間葉系細胞に発現しており、筋肉および骨芽細胞それぞれの分化を調節しており、筋肉および骨芽細胞それぞれの分化を調節していることから、未分化間葉系幹細胞から特定の細胞系に分化していく際に関与している転写因子などがmiR-206 の発現を調節している可能性が考え

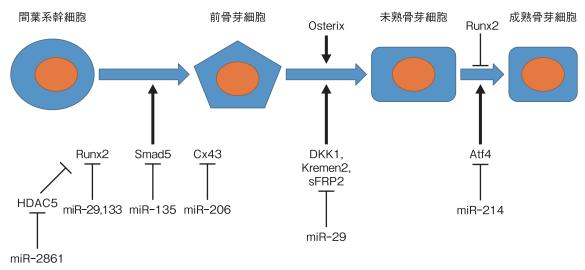


図 5. miRNA による骨芽細胞分化の調節

られた. これまでに筋肉分化に関与する因子が miR-206 の上流のシークエンスに結合することが示されており、骨芽細胞分化において重要な Runx2 や Osterix といった転写因子についても miR-206 の発現を調節している可能性がある. そして、実際に miR-206 の上流のシークエンスには、これらの転写因子の結合が予測される部位が多数存在していた.

結論としては、われわれは miRNA が in vivo において骨芽細胞分化を調節していることを示した。 臨床的な観点からは、 miRNA の発現を調節することが骨粗鬆症のような骨代謝疾患の新たな治療戦略へつながる可能性が考えられた.

WI. 骨芽細胞に関与する miRNA 研究における 最近の進展

Dicer は miRNA 生成において不可欠であるが、そのノックアウトマウスは胎生 7.5 日で死亡する 8). そのため、各組織における miRNA の機能を研究するために、それぞれの組織特異的 Dicer ノックアウトマウスの解析が行われてきた。 骨芽細胞前駆細胞において Dicer を欠損したマウスは骨形成を欠き、胎生 14.5 日で死亡する 9). したがって、骨形成において、miRNA のプロセッシングは不可欠と考えられている.

BMP2 シグナル経路は骨芽細胞分化および骨形成を促進するために重要な役割をはたす。BMP2 の投与により miR-133, 135 の発現は減少し、逆に筋肉細胞の分化に伴い増加する。また、miR-133, 135 の過剰発現により、骨芽細胞分化のマーカーの誘導は抑制される。miR-133 の標的遺伝子は骨芽細胞分化に必須な転写因子である Runx2 であり、miR-135 の標的遺伝子は Runx2 の共受容体である Smad5 である。したがって、BMP2 によりこれら miRNA の発現が抑制

されることが、骨芽細胞分化において Runx2 および Smad5 の発現増加に重要な役割をはたすと考えられる 10 .

miR-29 の発現は骨芽細胞分化の初期においては少なく、後期において増加する。miR-29 の標的遺伝子は Collal, Col3al といった骨基質に存在する遺伝子であり、miR-29 が増加することにより、コラーゲン合成が抑制され、ミネラル沈着をもたらされる。miR-29 を過剰発現することにより骨芽細胞分化は促進され、ノックダウンすることにより骨芽細胞分化は抑制される¹¹⁾.

また、骨芽細胞分化を促進する重要な調節機構である古典的 Wnt シグナリングも miR-29a、cの発現を誘導することが報告されている ¹²⁾. 古典的 Wnt シグナリングは骨芽細胞分化の過程において活性化されているため、骨芽細胞分化の過程における miR-29 の発現増加に対する Wnt の関与が考えられている. そして、miR-29a は Wnt のシグナリングと正のフィードバック関連にあり、骨芽細胞分化を促進する. ヒト骨芽細胞において miR-29a の転写は古典的 Wnt により誘導され、miR-29a は Wnt シグナリングの三つのインヒビターである DKK1、Kremen2、sFRP2 を標的とする. したがって、古典的 Wnt に反応した miR-29a の誘導により、DKK1、Kremen2、sFRP2 の発現が減少し、Wnt シグナリングが活性されることになる.

miRNA とヒトにおける骨粗鬆症の関連についてのはじめての報告として、骨粗鬆症患者において miR-2861 の不活型変異が同定された ¹³⁾. miR-2861 は骨組織および骨芽細胞において豊富に発現しており、マウスにおいて miR-2861 をノックダウンすることにより、骨形成が抑制され、骨量が減少した、そして、*in*

vitro においては、miR-2861 を過剰発現することにより骨芽細胞分化は促進された。そのメカニズムとして、miR-2861 が HDAC5 のタンパクコーディング領域に結合し、これを抑制することにより Runx2 のアセチル化が促進されることによると考えられている。

続いて、高齢の骨折患者の骨検体において、骨形成の低下と miR-214 の発現増加が負の相関をしていることが示された ¹⁴⁾. さらに、骨粗鬆症モデルマウスの骨形成マーカーの減少に伴い、miR-214 の発現が上昇していた. *in vitro* において miR-214 は骨形成を促進する転写因子である Atf4 を直接の標的とすることにより、骨芽細胞分化を調節し、骨形成を抑制する. そして、*in vivo* においても骨芽細胞特異的 miR-214トランスジェニックマウスの骨量は減少しており、骨において miR-214 の発現を特異的に阻害することによりその骨量は回復された.

以上のごとく、miRNA は骨芽細胞分化および機能、そして骨形成において重要な役割をはたしている可能性が明らかになってきている(図 5). 今後さらに骨芽細胞に関与する miRNA の知見が蓄積されることにより、転写因子やホルモンと同様に、miRNA も骨芽細胞分化のマーカーとして利用されうるようになる可能性があると考えられる. そして、われわれが注目した miR-206 についても、すでに骨芽細胞分化に対する抑制的な働きをもつ代表的な miRNA として用いられている ¹⁵⁾.

また、近年 miRNA は新たな治療標的として注目されている。たとえば、肝臓において豊富に発現している miR-122 は、C型肝炎ウイルスゲノムの 5′ 非翻訳領域と結合し、ウイルス RNA 量を増加させる。そして、miR-122 を抑制することにより、HCV 感染が抑制された 16 0. miR-122 に相補的な antimiR である miravirsen はすでに phase II 試験を終え、高い有効性が示されている。また、動物実験レベルではあるものの、miR-208a の発現を抑制することで心不全状態の心筋機能が改善され、生存期間が延長された 17 0. そのほかにも、miR-33 は動脈硬化を促進し、メタボリック症候群に関与する miRNA と考えられているが、霊長類メタボリック症候群モデルにおいて miR-33 を抑制することにより、メタボリック症候群が予防された 18 1.

骨代謝領域においても、卵巣摘出による骨粗鬆症モデルマウスへの miR-214 を抑制する薬剤の投与による骨量の増加が示されている 14 . したがって、miR-214 をはじめとする miRNA は、骨粗鬆症治療における新たな標的となりうると考えられる.

区. おわりに

本稿で述べてきたように、miRNA は骨代謝領域においても細胞の分化・増殖や疾患発症の重要な調節因子として認識されつつある。したがって、骨組織における miRNA の発現プロファイルやその調節機構を解明していくことは、骨代謝学のみならず、骨変性疾患や骨代謝疾患の治療戦略を考案するうえで重要である。そして、今後は miRNA を利用した核酸医薬の骨変性疾患、骨代謝疾患への応用も期待されている。しかしながら、おのおのの miRNA が多くの標的遺伝子をもつと考えられることから生じる off-target 効果やmiRNA の骨組織特異的な到達法の解明など、実用化に向けてはいまだに多くの課題が残されている。今後も miRNA に注目しながら、骨代謝領域の研究を継続していきたいと考えている。

謝辞

本賞受賞に際して、選考委員の先生方、そして研究をご指導いただいた竹田 秀先生、四宮謙一先生をはじめとする多くの 先生方に御礼申し上げます。また、発表の場を提供してくださった「お茶の水醫學雑誌」編集委員の先生方にも感謝いたします。

文 献

- Mattick JS: Non-coding RNAs; the architects of eukaryotic complexity. Embo Reports 2:986– 991, 2001.
- 2) Inose H, Ochi H, Kimura A et al : A microRNA regulatory mechanism of osteoblast differentiation. Proc Natl Acad Sci USA 106 : 20794–20799, 2009.
- 3) Kim HK, Lee YS, Sivaprasad U et al: Muscle-specific microRNA miR-206 promotes muscle differentiation. J Cell Biolo 174: 677-687, 2006.
- 4) Lecanda F, Warlow PM, Sheikh S et al: Connexin43 deficiency causes delayed ossification, craniofacial abnormalities, and osteoblast dysfunction. J Cell Biol 151: 931–944, 2000.
- 5) Sweetman D, Goljanek K, Rathjen T et al: Specific requirements of MRFs for the expression of muscle specific microRNAs, miR-1, miR-206 and miR-133. Dev Biol 321: 491-499, 2008.
- 6) Chung DJ, Castro CHM, Watkins M et al: Low peak bone mass and attenuated anabolic response to parathyroid hormone in mice with an osteo-blast-specific deletion of connexin43. J Cell Sci 119: 4187–4198, 2006.
- 7) Mitchell JA, Ou CW, Chen ZQ et al: Parathyroid hormone-induced up-regulation of connexin—43 messenger ribonucleic acid (mRNA) is mediated by sequences within both the promoter and the 3' untranslated region of the mRNA. Endo-

- crinology 142: 907-915, 2001.
- 8) Bernstein E, Kim SY, Carmell MA et al: Dicer is essential for mouse development. Nat Genet 35: 215–217, 2003.
- 9) Gaur T, Hussain S, Mudhasani R et al: Dicer inactivation in osteoprogenitor cells compromises fetal survival and bone formation, while excision in differentiated osteoblasts increases bone mass in the adult mouse. Dev Biol 340: 10–21, 2010.
- 10) Li Z, Hassan MQ, Volinia S et al: A microRNA signature for a BMP2-induced osteoblast lineage commitment program. Proc Natl Acad Sci USA 105: 13906-13911, 2008.
- 11) Kapinas K, Kessler CB, Delany AM: miR-29 suppression of osteonectin in osteoblasts; regulation during differentiation and by canonical Wnt signaling. J Cell Biochem 108: 216-224, 2009.
- 12) Kapinas K, Kessler C, Ricks T et al: miR-29 modulates Wnt signaling in human osteoblasts through a positive feedback loop. J Biol Chem **285**: 25221-25231, 2010.
- 13) Li H, Xie H, Liu W et al: A novel microRNA targeting HDAC5 regulates osteoblast differentia-

- tion in mice and contributes to primary osteoporosis in humans. J Clin Invest 119: 3666–3677, 2009.
- 14) Wang X, Guo B, Li Q et al: miR-214 targets ATF4 to inhibit bone formation. Nat Med 19: 93 -100, 2013.
- 15) Kim KM, Park SJ, Jung SH et al: miR-182 is a negative regulator of osteoblast proliferation, differentiation, and skeletogenesis through targeting FoxO1. J Bone Miner Res 27: 1669-1679, 2012.
- 16) Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A et al: Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. Science 327: 198-201, 2010.
- 17) Montgomery RL, Hullinger TG, Semus HM et al: Therapeutic inhibition of miR-208a improves cardiac function and survival during heart failure. Circulation 124: 1537-1547, 2011.
- 18) Rottiers V, Obad S, Petri A et al: Pharmacological inhibition of a microRNA family in nonhuman primates by a seed-targeting 8-mer antimiR. Sci Transl Med 5: 212ra162, 2013.

A microRNA regulatory mechanism of osteoblast differentiation

Hiroyuki Inose

Department of Orthopedics, Tokyo Medical and Dental University

Summary

Growing evidence shows that microRNAs (miRNAs) regulate various developmental and homeostatic events in vertebrates and invertebrates. Osteoblast differentiation is a key step in proper skeletal development and acquisition of bone mass; however, the physiological role of non-coding small RNAs, especially miRNAs, in osteoblast differentiation remains elusive. Here, through comprehensive analysis of miRNAs expression during osteoblast differentiation, we show that miR-206, previously viewed as a muscle-specific miRNA, is a key regulator of this process. miR-206 was expressed in osteoblasts, and its expression decreased over the course of osteoblast differentiation. Overexpression of miR-206 in osteoblasts inhibited their differentiation, and conversely, knockdown of miR-206 expression promoted osteoblast differentiation. In silico analysis and molecular experiments revealed connexin 43 (Cx43), a major gap junction protein in osteoblasts, as a target of miR-206, and restoration of Cx43 expression in miR-206-expressing osteoblasts rescued them from the inhibitory effect of miR-206 on osteoblast differentiation. Finally, transgenic mice expressing miR-206 in osteoblasts developed a low bone mass phenotype due to impaired osteoblast differentiation. Our data show that miRNA is a regulator of osteoblast differentiation.

Key words: MicroRNA, miR-206, Osteoblast differentiation, Connexin43

傷が治る

岡崎 睦. 森 弘樹. 植村法子. 田中顕太郎

東京医科歯科大学 形成・再建外科学分野

要旨:"傷が治る"ということは、生物が生命を維持するうえでもっとも本質的なことである。体表に生じた"いわゆる傷"に限らず、ヒトの体で生じたさまざまな"傷"は、絶えず再生と修復がなされている。このヒトが本来もっている再生と修復の能力を最大限に生かせるように助けることが、医師をはじめとする医療スタッフの役割である。本稿では、形成外科が扱っている体表の創傷について、"傷が治る"(創傷治癒)とは、どういうことかに始まり、創傷治癒を促進する因子と阻害する因子について述べ、とくに阻害する因子によって難治性となった創傷に対する形成外科の取り組みについて紹介する。代表例として、陰圧閉鎖療法と植皮によって再建した重症糖尿病性足壊疽の症例と、遊離肩甲骨つき胸背動脈穿通枝皮弁を用いて再建した放射線下顎骨壊死の症例を紹介する。

Key words: 創傷治癒, 上皮化, 再生, 修復, 陰圧閉鎖療法, 遊離組織移植, 糖尿病性壞疽, 放射線骨壞死

I. はじめに

"傷が治る"(創傷治癒)ということは、生物が生命を維持するうえでもっとも本質的なことである. 体表に生じた"いわゆる傷"に限らず、ヒトの体で生じたさまざまな"傷"に対しては、絶えず再生か修復が行われることにより生命が維持されている. このヒトが本来もっている再生と修復の能力を最大限に生かせるように助けることが、医師をはじめとする医療スタッフの役割である. 本稿では、形成外科が扱っている体表の創傷について、"傷が治る"(創傷治癒)とは、どういうことかに始まり、創傷治癒を促進する因子と阻害する因子について述べ、とくに阻害する因子によって難治性となった創傷に対する形成外科での取り組みについて紹介する.

Ⅱ. 体表の"傷が治る"とは

皮膚は、大きく分けて表皮と真皮からなり、真皮内には毛包、汗腺、脂腺などの付属器がある。表皮と真皮は発生学的にも別の組織であり、表皮は外胚葉由来

連絡先:岡崎 睦 okazaki.plas@tmd.ac.jp

で再生する臓器、真皮は中胚葉由来で再生しない臓器 である. "傷が治る" ことを直観的な言葉でいえば体 表にバリアができて"じゅくじゅくしなくなる"こと であるが、これには表皮が再生して体表を完全におお う必要がある。ここで、真皮内に存在する付属器は外 胚葉由来であり、幹細胞が存在し、表皮が完全欠損に なっても、この幹細胞から上皮化が進行し、創傷治癒 が行われる.一方で、真皮は損傷しても再生しないた め、損傷した部分は、肉芽 (瘢痕) 組織で置き換えら れるだけである. 修復によってできた瘢痕組織は真皮 と同じく主として膠原線維からなるが、真皮とは異な り膠原線維の配列はランダムであり、その上を表皮が 被覆しても、質感や外観の違ったものになる。つまり これが、一般的にいわれている"傷跡"である、Ⅱ度 熱傷の受傷部(真皮の一部が正常に残る)においては、 瘢痕を残して治癒するのはこのためである.

一口に創傷といっても、急性創傷と慢性創傷では行うべき対応が異なる。急性創傷に対する処置は、"血流を温存しながら、構造物をもとの場所に戻す"ことを基本とする処置が主であるため、本稿では慢性創傷について述べたいと思う。

表 1. 臨床的に創傷治癒に関係する因子

創傷治癒を阻害する因子	創傷治癒を促進する因子
末梢動脈疾患	酸素
糖尿病	栄養
慢性静脈不全	湿潤環境
感染	外用剤 など
慢性創	
放射線治療	
脊椎疾患	
ステロイド	
喫煙	
老化など	

Ⅲ. 創傷治癒を阻害する因子

創傷治癒はさまざまな理由で遷延する.ここでは, 細胞や分子レベルの基礎的な内容ではなく, 臨床的な 観点から問題になる因子をあげる (表 1).

a. 末梢動脈疾患

血流と酸素供給の減少、老廃物の除去障害により、主に足部末梢の痛みと創傷治癒の遷延をきたす。創傷を治癒させる目的で、血行改善の処置(経皮的血管拡張術[percutaneous transluminal angioplasty: PTA]、動脈バイパス術など)が行えればそれを先行し、その後に創閉鎖を行う。創治癒が可能かどうかの予測や下肢切断部位判定には経皮酸素分圧(TcPO₂)測定が行われる。報告により幅があるが、仰臥位の TcPO₂が40 mmHg 以上であれば治癒するための血流が保たれているとされている¹)。20 mmHg 以下であれば、治癒するための血流が不十分とされており¹)、壊死組織のデブリードマンを行っても、その後に健常にみえた周囲組織まで壊死が広がっていくことをしばしば経験する。

b. 糖尿病

糖尿病では末梢動脈疾患,神経障害,免疫異常を合併することが多く,また成長因子産生,血管新生反応,マクロファージ機能など100以上の細胞学的異常があると報告されている²⁾. 臨床上問題となるのは,主として足部・下腿に生じた潰瘍であり,感染を主原因とするものと,血流不全を主原因とするものに大まかに分けられるが,治療のストラテジーが異なる.前者では,末梢神経障害により痛みが少ないために潰瘍が進行したもので,血流は保たれていることが多く,適切なデブリードマンと感染のコントロールにより比較的良好な経過をたどる.一方後者では,壊死組織に対するデブリードマンを行っても,壊死が進行することが多く,なんらかの血行改善の処置が必要である.不可能な場合は,TcPO₂の評価を行い,血流の保たれている部位で切断する必要も出てくる.いずれにしても.



図 1. 74 歳・女性の乳癌に対する手術と放射線療法後の 胸部難治性潰瘍

乳癌に対する放射線療法後 10 年以上を経た後に生じてくることが多い. 慢性に経過するため, 形成外科受診時には肋骨骨髄炎や肋軟骨炎を生じていて, 治療が困難な症例も多い.

血糖コントロールが必要条件である.

c. 慢性静脈不全

下肢静脈交通枝の弁不全などにより深部静脈血が浅在静脈に逆流し、静脈圧が上がることで皮膚潰瘍をきたす。好発部位は内果上方5~10 cm の部位であり、原因静脈の治療を行わずに植皮などで再建しても、潰瘍は治癒しにくい³⁾.

d. 感 染

感染は酸素分圧を減少させる。また pH を下げ、コラゲナーゼ活性を上げ、上皮化と血管新生を遅らせ、 炎症と浮腫を長引かせる 4. これにより治癒が遷延するため感染のコントロールは重要である。

e. 慢性創

メタロプロテアーゼが豊富で、細胞外マトリックスの異常もあり、炎症期から増殖期への移行障害が起こる。デブリードマンはバイオフィルムとメタロプロテアーゼを取り除くことで慢性創を急性創に変換し、治癒を促進させる効果がある5.

f. 放射線治療

急性障害と慢性障害があるが、創治癒に影響を及ぼす慢性障害は照射後数ヵ月~数十年で生じ、皮膚・皮下組織の血管の障害と皮膚の萎縮・硬化が主体である。 潰瘍化した場合は保存的治療には反応せず、デブリードマンと血行のよい組織で再建するのが原則である。 潰瘍周囲の組織は潰瘍形成がなくても同様に、皮膚・皮下組織の血流障害と皮膚の線維化がみられるため、再建には遠隔部位の正常な組織を遊離皮弁として移植 する必要がある場合も多い. 重篤な放射線組織傷害は,治療後数年~数十年後に生じるため,癌が治癒して忘れたころにしばしば問題となる. 図1は,74歳・女性で,乳癌手術後に放射線治療を受け,癌は治癒したが,30年後に胸部に潰瘍が生じてきたため軟膏による保存的治療を行ってきたが,改善傾向がないため当科を受診した例である.

g. 脊椎疾患

脊髄損傷などにより皮膚の神経障害があると、慢性 創傷のリスクを増大させる.脊髄疾患は皮膚の知覚の みならず血管にいたるまでさまざまな変化をもたらし、 創傷治癒に影響を及ぼすとされる⁷⁾.

h. ステロイド投与

ステロイドは炎症を軽減し、上皮化を阻害し、コラーゲン産生を減少させる。10日以内の高用量ステロイドは創傷治癒に影響せず、手術30日前までにステロイドを服用をしていた場合、創傷合併症が2~5倍に増加するとの報告がある8.多くの場合、原疾患のコントロールのために服用中止は困難であり、適切なステロイドカバーと感染対策を行いながら創傷に対応することになる。

i. 喫 煙

喫煙は血管収縮により皮膚血流を低下させる. 創傷 治癒の炎症期は炎症細胞遊走能,酸化殺菌機序の減弱 によって障害される. 増殖期ではコラーゲン合成・沈 着減少,線維芽細胞移動・増殖減少が起こる. 禁煙に より4週以内に炎症期の反応は回復するが,増殖期の 反応は回復しない⁹. すなわち喫煙は創傷治癒の大敵 であるため,術前後は禁煙を徹底させるのが原則であ る.

j. 老 化

加齢により皮膚への血流・神経の供給は減少し、コラーゲン産生減少により真皮や基底膜も薄くなる.これらに伴い創傷治癒は遅延し、抗張力の減少、創哆開の増加などが起こる 10). われわれの研究結果でも、ヒトの皮膚を構成する表皮角化細胞や真皮線維芽細胞で産生される成長因子は、宿主の加齢により変化する結果が得られており、加齢による色素沈着や創傷治癒遅延への関連が推定されている 11).

k. その他

小血管動脈性疾患としてコレステロール塞栓症,壊疽性膿皮症,結節性多発動脈炎,強皮症,寒冷グロブリン血症,Wegener肉芽腫症,血栓性血管炎,ワルファリン関連壊死,ヘパリン起因性血小板減少症,プロテインC欠乏症,プロテインS欠乏症,抗リン脂質抗体症候群など,さまざまな疾患・因子が創傷治癒を妨げるとされている。また,抗癌薬の投与や、遺伝

性としては膠原線維の異常がある Ehlers-Danlos 症候群,早老症である Progeria 症候群, Werner 症候群, 弾性線維に異常がある弾力線維性仮性黄色腫,皮膚弛緩症があげられる.

Ⅳ. 創傷治癒を促進する因子

a. 栄養

栄養素は通常の食生活が行われていれば問題にならないが、不足している場合には補充により創傷治癒促進になりうる。 タンパク質、ビタミン C、亜鉛などがこれに該当する 12

b. 酸素

創傷治癒に酸素は欠かせないが、低酸素状態の創部では酸素療法が考慮される。高圧酸素療法は古くから知られており、2~2.4 絶対気圧下において創部の酸素圧を 400 mmHg に高める ¹³⁾. 欧米で機器が発売されている局所酸素療法については、高圧酸素ほどの酸素圧はない(1.07 絶対気圧未満)が、その有用性が報告されている ¹⁴⁾.

c. 湿潤環境

1962年にWinterによって、湿潤環境により上皮化が2倍早くなることが示された ¹⁵⁾. 当時はそれを実現する創傷被覆材がなかったが、1980年代以降に創傷被覆材が各種開発され、今日では湿潤環境での創治療が一般化した. 被覆材として入手できるものはポリウレタンフィルム、ハイドロコロイド、ポリウレタンフォーム、アルギン酸塩、ハイドロジェルがあげられ、創の深さ、浸出液の量によって使い分ける. 2000年ころより医療関係者や一般人の間で湿潤環境や密封療法の有効性が浸透し、十分な医療の知識のないままに普及したため、感染による創傷の増悪や敗血症を招く症例が散見された. とくに非医療材料を使用したラップ療法は、コストや手間がかからないという理由で一時は爆発的に普及したが、多くの危険性を指摘されるにいたり、現在はすすめられていない ¹⁶⁾.

d. 外用剤

肉芽の形成, 創の縮小を目的とする外用剤としてトレチノイントコフェリル, ブクラデシンナトリウム, プロスタグランジン E1, トラフェルミン (bFGF)¹⁷⁾, が使用されている. また本邦では発売されていないが, 血小板由来成長因子(PDGF-BB)製剤もある. 製剤ではないが, 自身の血液から作成する多血小板血漿についても, 治癒率・速度向上などの効果が報告されている ¹⁸⁾

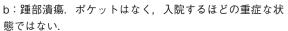
e. 人体の部位による創傷治癒の違い

口腔内に生じた創はすみやかに治癒することが知ら



a: V.A.C.® システムによる膝下切断端の皮膚欠損の治療. グラニューフォーム(断端部に当ててある黒いもの)をフィルムで密封し、吸引チューブを通して本体で吸引している。初代のシステムに比べ小さく改良され、持ち運びが楽になった.







c: Snap® 陰圧閉鎖療法システム. 外来通院で治療している.

図 2. NPWT に用いる器具

れているが、その主因は口腔粘膜上皮細胞が表皮角化細胞より増殖速度が速いためであるとされていた¹⁹⁾、われわれは、上皮細胞の下床に存在する組織・細胞も口腔内と皮膚では異なり、口腔粘膜固有層の線維芽細胞は、真皮線維芽細胞より多くのhepatocyte growth factor (HGF)と keratinocyte growth factor (KGF)を産生する特質があることを発見した²⁰⁾、このように、上皮・間葉の相互作用や部位特異的性質も、創傷治癒に影響を与えている。

V. 形成外科における創傷治療の実際

1. 陰圧閉鎖療法

今世紀に入ってからの創傷管理における最大の発展 は、陰圧閉鎖療法の導入である.

a. 歴 史

創傷の治療法として近年、陰圧閉鎖療法(negative pressure wound therapy: NPWT)が普及してきた. NPWTは、創傷に陰圧を付加することにより治癒を促し、通常の保存的治療に比較して治療期間を短縮することにより、患者の早期退院・社会復帰を促すものである. 創傷治癒に関する機械的応力が影響を与える

ことについては、1911年に Thoma²¹⁾ が最初に報告したとされる。陰圧による創傷管理は 1980年代から欧米を中心に報告があり、米国では 1995年に NPWTのシステムが製品化され、1997年には、開発者である Morykwas ら²²⁾ による基礎研究の報告および、Argenta ら²³⁾ により 300 例の創傷に対する有効性が報告された。現在普及している NPWT の手法は、彼らの理論が基礎となっている。治療の適応としては、褥瘡、糖尿病性潰瘍、末梢動脈疾患による潰瘍、術後潰瘍、外傷による皮膚欠損などがある。なお、本治療法 は以前、vacuum-assisted closure の略で VAC療法と呼称されていたが、現在は「V.A.C.®」(キネティック・コンセプト社:KCI) で商標登録されているため、NPWT と呼称するのが一般的である。

b. 方法と理論

NPWTでは、創傷にポリウレタンフォームを貼付し、その上をフィルムで被覆し、フィルムの一部に穴をあけ吸引チューブを配置し、陰圧をコントロールする器械を設置する(図 2a)、陰圧は状態に応じて、50~125 mmHgの間で設定する。フォームは、通常、週に 2~3 回交換する、作用機序は、①過剰な滲出液



a:第1趾は黒色壊死になっており、第1趾基部~第2, 3趾にかけて重度の血流障害がみられる。



b:壊死部のデブリードマン



c:感染が落ち着いた時点で V.A.C.® システムを装着



d:約2週間の NPWT の後に熱発があり NPWT を中止したが、植皮可能な肉芽形成を達成することができた。



e: 分層メッシュ植皮術. 分層メッシュ植皮術は, 感染に強いのが特徴である.



f: 術後1年1ヵ月の外観所見. 創の再発はなく, 良好にコントロールされている.

図3. 症例1:55歳・男性. 糖尿病性腎症で血液浄化療法中に生じた右足部壊死

の除去,②局所血流量の増加と細菌量の減少,③組織に対する物理的な刺激とされている²²⁾.その結果,肉芽形成の促進,浮腫の改善,感染・汚染の改善,創部の収縮などが促されると考えられている²⁴⁾.また,生化学的には,IL-8,VEGFの増加²⁵⁾や,matrix metalloproteinase (MMP)の減少²⁶⁾が報告されている.

c. 装置

以前は、さまざまな医療材料を用いた"手作りの"吸引装置が用いられていた 27 . 2010年に Vaccumassisted closure ATS®治療システム(KCI社)[以下、V.A.C.®システム]を用いた局所陰圧閉鎖処置が本邦でも保険収載された。本システムでは、肉芽形成を促すグラニューフォーム、フィルムおよび吸引チューブ

がセットになっており、陰圧維持管理装置を症例ごとにレンタルする仕組みとなっている。当初は装置が大きく移動が多い患者では不都合であったが、現在は小型化がすすみ、使いやすくなっている(図 2a). ほかに本邦では、RENASYS® 創傷治療システム(スミス・アンド・ネフュー社)、Snap® 陰圧閉鎖療法システム(センチュリーメディカル社)のシステムが利用可能である。Snap®(図 2b、c)は単回使用の小型な製品で、外来での利用も可能である。

d. 主な対象疾患

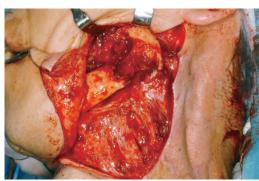
以下にあげる創傷が一般的な治療対象となる.ここで重要なことは、NPWTのみで創治癒が完了することはまれであり、NPWTを用いて創縮小を図り、その後、植皮や皮弁などで創部を被覆するのが通常のス



a: 術前所見. 左下顎部に変形した下顎骨の露 出を伴う皮膚軟部組織欠損がある.



b: 術前の 3D-CT. 皮膚欠損部に一致して骨の溶解所見がみられる.



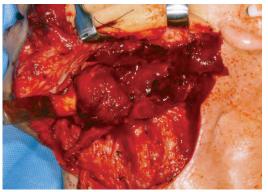
c: 術中に骨髄炎部を開創したところ.



d:骨髄炎と考えられる部位をすべて摘出した.



e:左側胸部から採取した胸背動静脈を栄養血管茎とする血管茎付き遊離肩甲骨付き胸背動脈穿通枝皮弁. 矢印は,皮弁動静脈の切離部をマイクロクリップでクランプしてある部位を示す. この一組の動静脈を,頸部の一組の動静脈に血管吻合することにより移植する. *は切除した下顎骨. ほぼ同じ大きさの肩甲骨を血管柄付きで採取し, さらに肩甲骨を欠損の大きさに合わせて下顎部に移植する.



f: 肩甲骨を下顎骨欠損部に移植してプレート固定したところ. 本例では, 頸部の血管にも放射線の影響があって使用不可能であったので, 反対側(右)の顔面動静脈に血管吻合した.



g: 術後8ヵ月の所見. 放射線潰瘍部に移植した皮弁(矢印) も完全に生着した.



h. 咬合も問題なく, 常食を摂取している.

図 4. 症例 2:43 歳・男性. 放射線療法後の下顎骨髄炎・下顎部潰瘍に対して血管柄付き遊離複合組織移植術を用いて再建を行った

トラテジーであるということである.

1) 褥瘡

難治性の褥瘡は骨に達する潰瘍となっている場合が多く、NPWTのよい適応となる²⁸⁾、NPWTを開始する前に壊死組織を除去し、ポケットの入り口が小さい場合は切開する必要がある。

2) 糖尿病性足潰瘍

糖尿病性足潰瘍は、原疾患および足の構造などさまざまな要因で治癒が困難な創傷である。NPWTにより、治療期間の短縮、切断率の低下などに効果があると報告されている²⁹⁾. 潰瘍に感染を生じた状態で受診することが多いので、まずはデブリードマンと抗菌薬の投与が行われる。感染が治まった状態でNPWTを開始する。NPWT後、表面が良好な肉芽でおおわれていても、趾骨や踵骨の骨髄炎が遷延している場合もあり、X線検査も含めた綿密な観察が重要である。

3) 術後潰瘍

胸部や腹部正中創の離開に対して行われることが多い。胸部正中創の場合は、胸骨骨髄炎を併発している場合が多く、確実なデブリードマンが必要である。腹部正中創の場合は、マイナーリークや腹壁の縫合糸膿瘍を併発している場合があり、滲出液や創面の観察が重要である。治療に難渋することが多いが、NPWTにより、入院期間の短縮を認めるとの報告がある300.

4) 外 傷

四肢の重篤な外傷では、広範な皮膚欠損を生じることが多い. 腫脹のため、一次的に創閉鎖できない場合もある. NPWT により、潰瘍だけではなく、腫脹の軽減も期待できる³¹⁾. 骨折を併発している場合、内固定や外固定との併用も可能である. 創面の状態が改善した後、皮弁や植皮などで創閉鎖を行う.

【症例 1】 糖尿病性足壊死に対して NPWT と手術療法を併用して治療を行った 55 歳・男性 (図 3)

糖尿病性腎症のため他院で血液浄化療法を行っていた。陥入爪感染を契機に右母趾とⅡ趾に潰瘍を生じ、壊死が急激に進行した(図3a)。血管外科によるPTAの後に形成外科で壊死部のデブリードマンを施行した(図3b)。その後にデブリードマンを追加した後、感染が軽快した時点でV.A.C.®システムを装着した(図3c)。約2週間のNPWTを行った後、良好な肉芽形成を認めたため、分層植皮術を施行した(図3d、e)。植皮の生着は良好で、退院後外来での経過観察を行っているが、術後1年1ヵ月の時点で潰瘍・壊死の再発を認めていない(図3f)。

2. 血管柄付き遊離複合組織移植術

潰瘍周囲の組織が局所皮弁として用いることができない場合で、遠隔部からの遊離植皮では再建不可能と考えられる創に対しての再建法としてとくに有用性が高い. 放射線障害による潰瘍や骨露出を伴う潰瘍などがよい適応となる. 創傷から離れた部位から、皮膚、脂肪、骨、筋肉などを、径1~2 mm の動脈と静脈で栄養される形で採取し、創部付近の動脈と静脈にそれぞれ血管吻合することにより移植して再建する.

【症例 2】 放射線療法後の下顎骨髄炎・下顎部潰瘍に対して血管柄付き遊離複合組織移植術を用いて再建を行った 43 歳・男性 (図 4)

40歳時に、他院において、中咽頭癌 (T₁N₂bM₆) に対して放射線療法 (70Gy), 頸部郭清が施行された が、翌年、再発し、腫瘍拡大切除と大胸筋皮弁による 再建が行われた. 42歳時に、下顎部瘻孔が出現し、 放射線下顎壊死の疑いで保存的治療がなされたが、難 治性となり紹介・受診となった、初診時は左下顎部に 下顎骨の露出を伴う潰瘍が存在した(図 4a). CT に より下顎骨の溶解と骨髄炎が確認された(図4b). 骨 髄炎の掻爬が必要なことと、局所皮弁での再建が困難 なことから. 血管茎付き遊離肩甲骨付き胸背動脈穿通 枝皮弁による再建が計画された. 潰瘍周囲の障害され た皮膚を含めて切除しながら下顎骨を露出させ骨髄炎 部分を確認し(図4c), 骨髄炎部を摘出した(図4d). 左側胸部から、胸背動静脈を栄養血管茎とする血管茎 付き遊離肩甲骨付き胸背動脈穿通枝皮弁を採取した (図 4e). 肩甲骨で下顎骨欠損分を再建し(図 4f), 胸 背動静脈を右顔面動静脈と血管吻合した。 採取した皮 弁を用いて、切除された下顎部皮膚を再建して手術を 終えた. 術後8ヵ月の所見では潰瘍は完治し(図4g), 咬合も回復している (図 4h).

W. おわりに

ヒトの体は本来,再生と修復機能を用いて創傷を自分で治癒させる能力をもっている.しかし,なんらかの創傷治癒を妨げている因子が存在する場合,必要に応じてその原因を取り除くことによって創処治癒を助けることが必要となる.その意味では,創傷治癒を理解し,それを妨げる因子と促進する因子について知識をもつことが重要である.今回述べたもの以外にも多くの因子が存在するのも事実である.たとえば精神的な要素もその一つと考えられ,医師と医療スタッフ全員がこれらの知識をもち,協力して患者の創傷にかかわっていくことが重要である.

文 献

- 1) 井上芳徳, 岩井武尚: 経皮的酸素分圧. 脈管学 45:299-304, 2005.
- 2) Brem H, Tomic-Canic M: Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. J Clin Invest 117: 1219–1222, 2007.
- 3) Deatrick KB, Wakefield TW, Henke PK: Chronic venous insufficiency; current management of varicose vein disease. Am Surg 76: 125–132, 2010.
- 4) Janis JE: Essentials of Plastic Surgery, 2nd Ed, CRC Press, Florida, p5–7, 2014.
- 5) Cornell RS, Meyr AJ, Steinberg JS et al: Débridement of the noninfected wound. J Vasc Surg 52: 31S-36S, 2010.
- 6) 岡崎 睦:創処置総論—放射線損傷. 形成外科 53:12, 2010.
- 7) West CR, Alyahya A, Laher I et al: Peripheral vascular function in spinal cord injury; a systematic review. Spinal Cord 51: 10–19, 2013.
- 8) Wang AS, Armstrong EJ, Armstrong AW: Corticosteroids and wound healing; clinical considerations in the perioperative period. Am J Surg **206**: 410–417, 2013.
- 9) Sørensen LT: Wound healing and infection in surgery; the pathophysiological impact of smoking, smoking cessation, and nicotine replacement therapy; a systematic review. Ann Surg 255: 1069–1079, 2012.
- 10) Lober CW, Fenske NA: Cutaneous aging; effect of intrinsic changes on surgical considerations. South Med J 84: 1444-1446, 1991.
- 11) Okazaki M, Yoshimura K, Uchida G et al: Correlation between age and the secretions of melanocyte-stimulating cytokines in cultured keratinocytes and fibroblasts. Br J Dermatol 153: 23-29, 2005.
- 12) Sernekos LA: Nutritional treatment of pressure ulcers; what is the evidence? J Am Assoc Nurse Pract 25: 281–288, 2013.
- 13) Dauwe PB, Pulikkottil BJ, Lavery L et al: Does hyperbaric oxygen therapy work in facilitating acute wound healing; a systematic review. Plast Reconstr Surg 133: 208E-215E, 2014.
- 14) Howard MA, Asmis R, Evans KK et al: Oxygen and wound care; a review of current therapeutic modalities and future direction. Wound Repair Regen 21: 503–511, 2013.
- 15) Winter GD: Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. Nature 193: 293–294, 1962.
- 16) 盛山吉弘:不適切な湿潤療法による被害いわゆる" ラップ療法"の功罪. 日皮会誌 120:2187-2194. 2010.
- 17) Hebda PA, Klingbeil CK, Abraham JA et al: Basic fibroblast growth factor stimulation of epidermal wound healing in pigs. J Invest Dermatol

- **95** : 626–631, 1990.
- 18) Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema H et al: The use of platelet-rich plasma in plastic surgery; a systematic review. J Plast Reconstr Aesthet Surg 66: 301–311, 2013.
- 19) Hata K, Kagami H, Ueda M et al: The characteristics of cultured mucosal cell sheet as a material for grafting; comparison with cultured epidermal cell shirt. Ann Plast Surg 34: 530–538, 1995
- 20) Okazaki M, Yoshimura K, Uchida G et al: Elevated expression of hepatocyte and keratinocyte growth factor in cultured buccal-mucosa-derived fibroblasts compared with normal-skin-derived fibroblasts. J Dermatol Sci 30: 108-115, 2002.
- 21) Thoma R: Ueber die histomechanik des gefassysterms und die pathogenese der angioklerose. Virchows Archive F, Path Anat 204: 1–74, 1911.
- 22) Morykwas MJ, Argenta LC, Shelton-Broun EI et al: Vacuum-assisted closure; a new method for wound control and treatment; animal studies and basic fondation. Ann Plast Surg 38: 553–562, 1997.
- 23) Argenta LC, Morykwas MJ: Vacuum-assisted closure; a new method for wound control and treatment; clinical experience. Ann Plast Surg 38: 563–576, 1997.
- 24) 小川 令, Origill DP: 陰圧閉鎖療法 (VAC 療法) の作用機序に関する考察. 日形会誌 **29**: 127-134, 2009.
- 25) Labler L, Rancan M, Mica L et al: Vacuum-assisted closure therapy increases local interleukin—8 and vascular endothelial growth factor levels in traumatic wounds. Trauma 66: 749–757, 2009.
- 26) Greene AK, Puder M, Roy R et al: Microdeformational wound therapy; effects on angiogenesis and matrix metalloproteinases in chronic wounds of 3 debilitated patients. Ann Plast Surg 56: 418 –422, 2006.
- 27) 黒川正人, 寺師浩人:本邦における局所陰圧閉鎖療法の変遷. 褥瘡会誌 14:43-48, 2012.
- 28) Isago T, Nozaki M, Kikuchi Y et al: Negativepressure dressings in the treatment of pressure ulcers. J Drematol 30: 299–305, 2003.
- 29) Zhang J, Hu ZC, Chen D et al : Effectiveness and safety of negative-pressure wound therapy for diabetic foot ulcers ; a meta-analysis. Plast Reconst Surg 134: 141–151, 2014.
- 30) Damiani G, Pinnarelli L, Sommella L et al: Vacuum-assisted closure therapy for patients with infected sternal wounds; a meta-analysis of current evidence. J Plast Reconstr Aesthet Surg 64: 1119–1123, 2011.
- 31) De Franzo AJ, Argenta LC, Mark MW et al: The use of vacuum-assisted closure therapy for the treatment of lower-extremity wounds with exposed bone. Plast Reconst Surg 108: 1184–1191 2001.

Wound healing

Mutsumi Okazaki, Hiroki Mori, Noriko Uemura, Kentaro Tanaka

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Tokyo Medical and Dental University

Summary

The "healing of wounds" is essential for all creatures in order to remain alive. Wounds occurring on the surface or at any site within the body heal due to regeneration and repair. It is the role of physicians and other paramedical staff to stimulate the patient's maximum capacity for innate regeneration and repair. In this paper, we describe the concept of wound healing and identify factors that facilitate or disturb this process. Furthermore, we herein introduce some recently developed treatments for refractory wounds, including negative pressure wound therapy for diabetic gangrene of the foot and free thoracodorsal perforator flap placement combined with scapular bone transfer for mandibular osteoradionecrosis in a patient with mesopharyngeal cancer.

Key words: wound healing, epithelization, regeneration, repair, negative pressure wound therapy, free flap, diabetic gangrene, osteoradionecrosis

総胆管下部の"し"の字変形

―― 十二指腸乳頭部腫瘤の遠位移動のサイン

齋田幸久¹⁾,森田有香²⁾,加茂実武²⁾,福田勝之³⁾

東京医科歯科大学 放射線科 1)

聖路加国際病院 放射線科 2)

聖路加国際病院 消化器内科 3)

要旨:通常,総胆管は左に凸のゆるやかな弧を描くように走行し,下端は右に向かう.ここでは,総胆管下部が右に凸に,下端が左に向かう"し"の字変形の画像所見に注目し,その臨床的意義について考察した.十二指腸乳頭部の粘膜下腫瘍と総胆管ステントの先端に形成された十二指腸結石の2例の画像所見を示した.いずれも,腸蠕動により十二指腸乳頭近傍の腫瘤は水平部に移動し,これに応じて総胆管の下端も左に偏位し,典型的な"し"の字変形をきたした.MRIによる胆管膵管描出法(MRCP)の進歩により非侵襲的な胆管観察が容易となり,日常臨床で頻繁に応用されるようになっている."し"の字変形は,Vater乳頭部あるいはその近傍発生の限局性腫瘤の存在を強く示唆する画像所見として臨床的意義があると思われる.

Key words: 総胆管, 十二指腸乳頭, 乳頭部腫瘍, 粘膜脱, MRCP, 腸重積症

I. はじめに

腸重積症は一般に広く知られた病態であり、小児の回盲部腸重積症のほか、成人においてもしばしば遭遇し、消化管の画像診断を行う際に腸重積の有無は常に考慮しなければならない現象である.腹腔内の消化管に比べ、後腹膜臓器である十二指腸では腸管の可動性は抑制される.しかしながら、それにもかかわらず十二指腸乳頭あるいはその近傍に起きた症例で Vater乳頭の位置が明らかに移動する症例をみることがある.また文献的にも duodeno jejunal intussusception = 十二指腸空腸重積症として症例報告が散見される 1~5).自験例 2 例を供覧し、その形態的特徴とその成因について考察する.

Ⅱ. 症例呈示

【症例 1】70 歳台, 女性.

鉄欠乏性貧血の精査のための上部内視鏡検査で、十

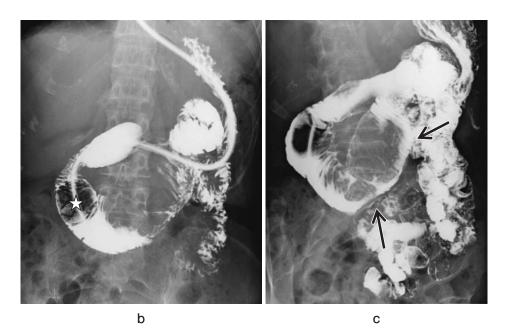
連絡先:齋田 幸久 siddrnm@tmd.ac.jp

二指腸乳頭近傍に内腔に突出する腫瘤を認めた.表面平滑で弾力に富む腫瘤であり、粘膜下腫瘍の形態を示した(図 1a). 術前のバリウムによる十二指腸造影では水平脚~上行脚にかけて大きさ 80mm の楕円形で輪郭平滑な陰影欠損を認めた(図 1b, c). 十二指腸内腔は拡張し、圧排発育する腫瘍である. 陰影欠損部分に重なって coil spring 様の粘膜ひだの変化がみられた.

MRI では腫瘍内部には多数の小さな嚢胞性変化を含む充実性腫瘍であり、総胆管は腫瘍内部のやや近位側に開口している(図 1d). 先端はくちばし状に鋭く左に屈曲している. バリウム造影で腫瘍が水平脚に局在すること, 先端が"し"の字形に屈曲変形することから, 腫瘍は乳頭近傍に発生し, 水平脚にまで移動した充実性腫瘍と画像診断した. 生検組織から病理組織学的に横紋筋肉腫と診断され, 引き続いて膵頭十二指腸切除が行われた(図 1e). Vater 乳頭部から有茎性に発育した pleomorphic rhabdomyosarcomaで, 腫瘍は Oddi 筋に浸潤するが, duodenum の筋層や膵に浸潤はなかった.



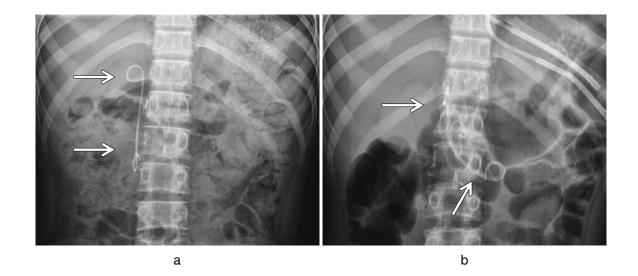
а

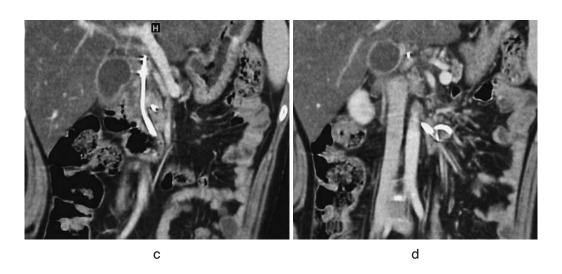


d

図 1. 症例 1:70 歳台・女性

- a: 貧血の精査のために施行された上部内視鏡像. 十二指腸乳頭の近傍に表面粘膜におおわれた隆起病変を認める.
- b, c:低緊張性十二指腸造影. \Diamond 印はバルーンによって生じた陰影欠損である (b). 腫瘍は矢印で示すように長径 10cm と大きく、内腔に大きく突出している (c).
- d:MRCP で総胆管下部が矢印で示すように左にカーブする"し"の字変形を示している. 外科的切除が行われ,多形性横紋筋肉腫と診断された.





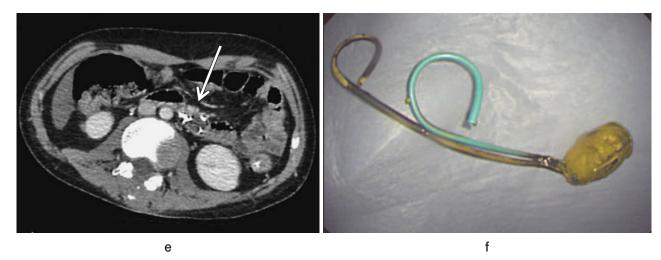


図 2. 症例 2:10 歳台・男性. Burkitt リンパ腫, 化学療法後

- a: 膵頭部周囲のリンパ腫による閉塞性黄疸の治療のために、チューブステントが挿入された(矢印). 当初、ステントは右上腹部で垂直の進行を示し、よく機能していた.
- b:腹痛で撮られた腹部画像でステント(矢印)は CBD 内にあるが,その先端は椎体の左側にまで移動している.
- $c\sim e$ (c, d): 冠状断再構成, e: 軸位断): CT ではステントの大部分は CBD 内にあり、先端のみが水平脚に到達している (c, d). ステント先端のループ内に低吸収腫瘤がみられる (e).
- f:ステント抜去後, 先端に固着した残渣の塊=腸石を認める.

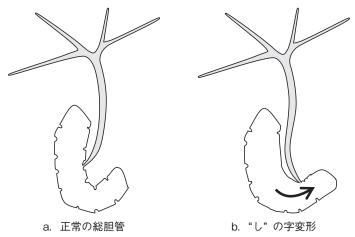


図3. 総胆管の走行シェーマ

【症例 2】10 歳台, 男性.

肝胆道系酵素の上昇と腹痛、黄疸を主症状とし、膵 の腫大で発症した Burkitt リンパ腫の若年男性である. 胆汁と膵液の排泄を図るために主膵管内および胆管内 にチューブステントを留置した(図 2a). 膵頭部周囲 の浸潤性腫瘍は化学療法により著明に縮小し、黄疸は 解消した. 腫瘍の寛解と判断し. 退院を考慮する時期 になって再び上腹部痛が出現した. 腹部単純 X 線像 で2本のチューブステントが一緒になって左方に移動 し、下端は水平脚にまで逸脱しているようにみえた (図 2b). CT で確認すると、ステントの総胆管内で の位置はほとんどかわらない (図2c) が、先端は十 二指腸水平脚にまで達していた (図 2d). 十二指腸の 壁構造の重複という重積症を示す所見はみられなかっ た. ステント先端のカーブの内側に低吸収構造がみら れた (図 2e). 内視鏡的にステントは抜去され、症状 は徐々に改善した. 摘除したステント先端のループ内 に 20mm 大の十二指腸石の固着がみられた (図 2f).

Ⅲ. 考 察

乳頭部の腫瘤性病変の2例を示した.これらの2例では、ともに十二指腸水平脚への腫瘤の移動がみられ、それと同時に総胆管下端も移動している.総胆管下部の"し"の字変形である.通常、総胆管は右方向にカーブしながら十二指腸下行脚内側に向かうので、総胆管下部の"し"の字変形は十二指腸乳頭の腫瘤の存在とその遠位への移動を示す重要な根拠となる(図3).

1. 腸管蠕動に伴う十二指腸腫瘍の画像的特徴

腸管には蠕動運動が存在するために, 腫瘍は常に肛門側に移動しようとする力を受ける. 十二指腸においても同様であるが, 後腹膜に固定されているために全

層性のいわゆる重積症は起こりにくい⁶. 十二指腸の固有筋層を巻き込み、腸壁が二重、三重になるような典型的な重積症の所見はみられない。比較的疎な結合織で構成される粘膜下層が粘膜面と筋層の間にずれを生じることで蠕動による牽引力を吸収し、結果として表層の粘膜のみがすべる、つまり粘膜茎の形成と粘膜のすべりであり、粘膜脱=mucosal prolapse と称すべき所見が関与している⁶.

2. 十二指腸乳頭あるいはその近傍に生じた腫瘍あるいは腫瘍類似病変の特徴

傍乳頭部の腫瘍も、十二指腸の"重積様"現象を起こす原因となる。このとき、先進部の肛門側への移動は、すなわち乳頭の移動であり、結果的に総胆管の下端やその周囲の膵組織も含めて乳頭周囲の組織が全体として左下方に牽引されて変形移動すると考えれば説明しやすい。これを支持する知見として、超音波画像での観察によれば、膵の位置が体位によって大きく移動するという報告がある7.また、この病態に関連して、膵炎や閉塞性黄疸などの膵胆道系の障害が合併する例が報告されていることもよく理解できる4.5)。

3. 十二指腸乳頭が大きく移動する条件

腫瘍が遠位に移動するには、腫瘍の付着部粘膜が牽引され粘膜茎が形成され、さらに粘膜下組織のずれによる重積症に準じた変化が起きなければならない。さらに、後腹膜脂肪織内で乳頭あるいは総胆管下部、周囲膵頭部が一塊となって移動して、それに追従していくことがその成立条件になると思われる。つまり、原因となる傍乳頭病変は周囲への浸潤が少なく、蠕動運動の影響を受けやすい程度の大きさをもつ限局病変ということになる。本稿では1例は粘膜下腫瘍、1例はステントに形成された十二指腸結石であった。

Ⅳ. ま と め

総胆管下部の"し"の字変形(図3)は乳頭または 傍乳頭部で十二指腸の内腔側に突出する限局型の腫瘍 を強く示唆する所見であり、MRCP検査が頻繁に行 われる現在、非常に興味深い画像所見となっている。

文 献

- 1) Ozer A, Sarkut P, Ozturk E et al: Jejunoduodenal intussusception caused by a solitary polyp in a woman with Peutz-Jeghers syndrome; a case report. Med Case Rep 8:13, 2014.
- Chalmers N, De Beaux AC, Garden OJ: Prolapse of an ampullary tumour beyond the duodeno-jejunal flexure. Clin Radiol 47: 141–142, 1993.

- 3) Madanur MA, Mula VR, Patel D et al: Periampullary carcinoma presenting as duodenojejunal intussusception; a diagnostic and therapeutic dilemma. Hepatobiliary Pancreat Dis Int 7:658–660, 2008.
- 4) Watanabe F, Noda H, Okamura J et al: Acute pancreatitis secondary to duodenoduodenal intussusception in duodenal adenoma. Case Rep Gastroenterol 6: 143–149, 2012.
- 5) Vinnicombe S, Grundy A: Obstructive jaundice secondary to an intussuscepting duodenal villous adenoma. Clin Radiol 46: 63–65, 1992.
- 6) Saida Y, Matsueda K, Itai Y: Distal migration of duodenal tumors; simple prolapse or intussusception? Abdom Imaging 27: 9–14, 2002.
- 7) Morgan RA, Dubbins PA: Pancreatic and renal mobility. Clin Radiol 45: 88–91, 1992.

"Reversed J configuration of the common bile duct" as a sign suggestive of ampullar or periampullary tumors with distal migration

Yukihisa Saida¹⁾, Yuka Morita²⁾, Minobu Kamo²⁾, Katsuyuki Fukuda³⁾

Department of Radiology, Tokyo Medical and Dental University¹⁾ Department of Radiology, St. Luke's International Hospital²⁾ Gastroenterology Center, St. Luke's International Hospital³⁾

Summary

In normal subjects, the lower segment of the common bile duct (=CBD) curves toward right in order to open at the Vater's papilla. In a few instances the lower CBD curves toward left conversely. So we are discussing about the etiology and clinical meanings of such "reversed J" configuration of the CBD.

We present here imaging findings in two patients showing "reversed J configuration", one with a large submucosal tumor of the Vater's papilla and the other with a duodenal stone formed at the distal end of CBD stent. The both of the leading lesions reached to the horizontal duodenum according to the peristaltic motion. The distal CBD and papilla were also changed the position to the left, and the CBD appeared as "reversed J configuration"

Together with widely used MRCPs, the entire course of the CBD has more easily and frequently visualized than before. "Reversed J configuration of the CBD" is thought to be a key finding suggestive of ampullary or periampullay tumors with distal migration.

Key words: common bile duct, duodenal papilla, ampullary tumor, mucosal prolapse, MRCP, intussusception

経口腸管洗浄薬内服後に敗血症性ショックを発症した1例

鈴木 道隆, 請川 淳一, 市來 一彦, 本田 光則, 矢崎 康幸 小林病院 消化器科

要旨:胃癌で入院した82歳・男性である。大腸内視鏡のため経口腸管洗浄薬(polyethylene glycol electrolyte lavage solution:PEG-ELS)21を2時間かけて飲用した。飲用終了2時間後に悪寒、発熱、血圧低下があり検査を中止した。呼吸器・消化器症状はなく、抗生物質を投与し経過観察した。翌日、炎症反応上昇、肝機能障害、腎機能障害を呈し、敗血症性ショックを疑いアルブミン製剤、gabexate mesilate などの投与を開始した。その翌日、血小板減少、AT3活性低下を認め、DICと診断し、血小板輸血、AT3製剤などの投与を開始した。治療の効果があり敗血症、DICは軽快したが、perfomance status低下のため胃癌の治療が不可能となった。PEG-ELSの副作用として敗血症はまれで、検索しうる限り症例報告は4例のみである。文献的考察を加えて呈示する.

Key words:大腸内視鏡, 経口腸管洗浄薬, 敗血症, DIC

T. はじめに

大腸内視鏡の前処置に用いる経口腸管洗浄薬として本邦でもっとも多く用いられているのは polyethylene glycol electrolyte lavage solution (PEG-ELS)である. 日本消化器内視鏡学会のアンケート調査によれば,経口腸管洗浄薬による偶発症の発生率は,2003~2007年の5年間の大腸内視鏡約331万件に対して114件(0.0034%)でまれである¹). 今回われわれは,PEG-ELS内服後に敗血症性ショックを発症した1例を経験した. 日常的に行われる検査においても,まれではあるが重篤な偶発症が起こる可能性があり,示唆に富むと考えたので,文献的考察を加えて報告する.

Ⅱ. 症例提示

【症例】82歳, 男性.

主 訴:自覚症状はなく、上部消化管内視鏡で胃癌 を指摘され精査・治療目的で受診した.

既往歴:脂質異常症・高血圧(60歳台から当院で内服治療中), 冠動脈バイパス手術(72歳, 他院で経過観察中), 腹部大動脈瘤手術(76歳, 他院で経過観

連絡先:鈴木 道隆 suzuki-tmd@umin.ac.jp

察中).

内服薬: aspirin, amlodipine, bisoprolol, famotidine, rosuvastatin.

現病歴:スクリーニング目的で行った上部消化管内 視鏡で胃癌を発見され,術前精査目的で入院となった.

身体所見:意識レベル正常. 血圧 99/51mmHg, 脈拍数 70 回/分, 酸素飽和度 96%, 体温 36.0℃. 腹部正中に大動脈瘤の手術痕あり. 腹部は軟で, 腫瘤, 表在リンパ節は触知しない.

血液検査所見: WBC 7,500/μl, Hb 13.2g/dl, Alb 3.4g/dl, ALP 362 IU/l, AST 54 IU/l, ALT 33 IU/l, LDH 233IU/l, CK 36IU/l, γ-GTP 87IU/l, CRP 0.2 mg/dl, CEA 5.0ng/ml, CA19-9 21U/ml.

画像所見:上部消化管内視鏡で,胃角から前庭部小 彎にかけて2型病変を認めた(図1a).腹部CTで, 胃壁の肥厚(図1b),胆嚢結石を認めた(図1c).明 らかなリンパ節転移,他臓器転移は認めなかった.

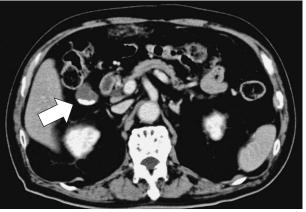
入院後経過:入院後, 胃癌の術前検査を行っていたが, 入院7日目に39.2℃の発熱があり, インフルエンザ迅速診断キットでインフルエンザA型と診断し, oseltamivirの内服を開始した. 翌日に解熱し, 入院11日目には迅速診断キットで陰性となった.

入院 12 日目: 大腸内視鏡のため, 8 時より PEG-ELS の内服を開始した. 2 時間かけて内服を終了した が, 排便はみられなかった. 12 時ころから 38.8℃ の



a.





C.

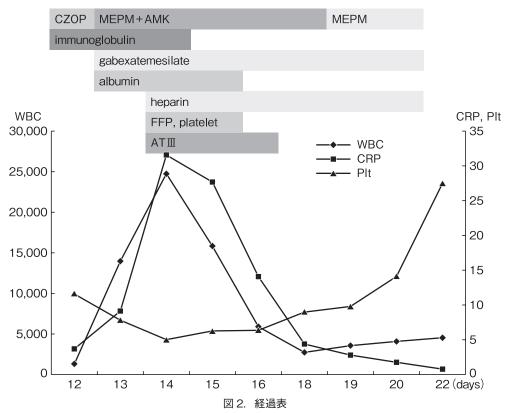
- 図 1. 上部消化管内視鏡 (a), 腹部 CT (b, c)
- a: 胃角から前庭部小彎にかけて2型病変を認める.
- b: 胃壁の肥厚を認め、腫瘍部位と判断した(矢印).
- c:胆囊結石症を認める(矢印).

表 1. 血液検査結果の詳細(入院 1~22 日目)

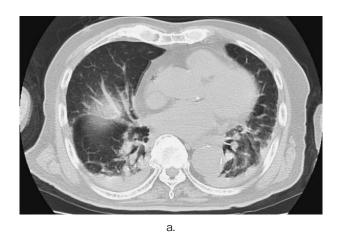
入院日数	1	12	13	14	15	16	18	19	20	22
Alb (g/d/)	3.4	3.5	3.2	1.8	3	3	2.7	2.5	2.6	2.8
T-Bil (mg/d/)	0.5	1.2	1.6	0.9	2.8	1.8	1.2	0.9	8.0	0.9
ALP (IU/I)	362	313	553	410	477	546	521	421	400	365
AST (IU/I)	54	50	443	173	126	121	77	66	51	45
ALT (IU/I)	33	19	141	92	71	70	52	47	37	30
γ-GTP (IU/I)	87	98	234	151	135	192	229	188	156	116
Cre (mg/d/)	0.95	1.68	3.07	2.55	1.52	1.09	0.86	0.77	0.78	0.72
CRP (mg/d/)	0.2	3.6	9	31.5	27.7	14.1	4.4	2.7	1.7	0.9
WBC (/μ/)	7, 500	1, 300	13, 900	24, 700	15, 800	5, 900	2, 700	3, 500	4, 100	4, 500
Hb $(g/\mu l)$	13.2	12.8	12.4	12.1	11.7	11.2	11.2	9.8	9.1	7.9
Plt(万/ <i>μl</i>)	18.2	11.6	7.8	5	6.2	6.3	8.9	9.7	14	27.3
D-Dimer (ng/m/)				12, 640	6, 140	6, 270	3, 920			
AT Ⅲ (%)	76			40	60	80	93			

発熱, 血圧低下(収縮期血圧 70mmHg 台)がみられた. 呼吸苦, 腹痛などそれ以外の症状はみられなかった. 採血検査を行ったところ, 白血球低下, CRP上

昇, Cre 上昇を認めた (表 1). 鑑別診断として誤嚥性肺炎, 腸閉塞を考えたが, 患者本人が無症状のため, 経過観察の方針となった. 絶食, 補液, 抗生物質 (ce-



入院 12~22 日目までの治療と血液検査結果の経過を示す.



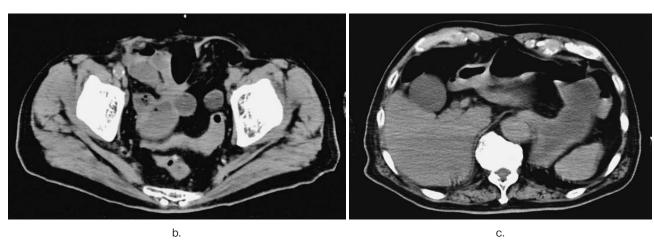


図 3. 胸・腹部 CT

- a:両肺野に少量の胸水貯留を認める.
- b: 胃内に液体貯留を認め、胆嚢がやや緊満しているが、明らかな炎症の所見はみられない.
- c:骨盤内小腸に中等度の液体貯留を認めるが、腸閉塞にはいたっていない. 腹水は認めない.

fozopran: CZOP) 投与, 免疫グロブリン製剤投与を 行った(図 2).

入院13日目:血液検査結果で炎症反応上昇, 肝機 能障害. 腎機能障害を認めた (表1). 敗血症性ショ ックを疑い、原因検索のため緊急で胸部・腹部 CT を 施行した. 胸部では胸水貯留, 腹部では胃内液体貯留, 胆囊緊満, 小腸内液体貯留を認めた (図3). 肝機能 障害があるため胆嚢炎、胆管炎の可能性も考えたが、 胆囊緊満はあるものの周囲に明らかな炎症の所見はみ られず、根拠に乏しかった、肝機能障害の鑑別診断と してショック肝も考えた. また、PEG-ELS内服後の 発症であることから、なんらかの大腸病変が存在し、 腸管内圧の上昇が原因で腸管から血液中への細菌移行 (bacteral translocation) が起こった可能性も考えた. 原因の確定診断は得られなかったが、敗血症性ショッ クの治療として、抗生物質を meropenem (MEPM) と amikacin (AMK) に変更し、またアルブミン製剤、 gabexate mesilate の投与も開始した (図 2).

入院14日目:血小板減少, AT3活性低下を認め (表1), DICと診断し, 血小板輸血, AT3製剤など の投与を開始した(図2).

その後、全身状態および血液検査結果は改善傾向を示し、入院 22 日目にはすべての薬剤投与を終了することができた. しかし、10 日間の侵襲と臥床によりperformance status は 1 から 3~4 に低下し、患者も胃癌の手術に対する意欲が消失したため、胃癌の手術は中止となった. 以降は退院・自宅療養に向けて長期間のリハビリテーションを行い、6ヵ月後に退院となった. 退院後 6ヵ月が経過した現在も、胃癌に対する治療は行っておらず、外来で経過観察中である.

Ⅲ. 考察

先述のとおり、経口腸管洗浄薬による偶発症の発生率は、アンケート調査の結果では 0.0034% とまれである ¹⁾. PEG-ELS は経口腸管洗浄薬としてもっともよく使われており、合併症として腸閉塞 ³⁾、腸管穿孔、虚血性大腸炎 ⁴⁾、Mallory-Weiss 症候群 ⁵⁾、ショッ

ク3)、アナフィラキシー様症状、低ナトリウム血症、誤嚥性肺炎、発疹などが報告されている。本例のような敗血症を起こした報告を、医学中央雑誌で"polyethylene glycol electrolyte lavage solution"、"腸管洗浄剤"、"敗血症"を組み合わせて検索すると(1990~2012年)、4例が該当した^{2,6,7)}(表2)。また、PubMedで同様に"polyethylene glycol electrolyte lavage solution"、"sepsis"で検索したところ、該当する報告はなかった。本邦の4例では、いずれもPEG-ELS内服後2~4時間で悪寒戦慄、発熱、血圧低下、意識障害などの症状を発症し、敗血症性ショックと診断された。全例が抗生物質、抗真菌薬、免疫グロブリンの投与や、緊急手術、エンドトキシン吸着療法などの集中治療を受け、軽快していた。

敗血症が起こる機序は以下のように考えられている. 高齢,悪性腫瘍,免疫抑制薬の使用²⁾,ステロイドの使用⁷⁾などの易感染状態を背景として,PEG-ELSの内服による腸管内圧の上昇が,腫瘍の潰瘍部や粘膜のびらん面から組織内への細菌の移行²⁾や逆行性の胆道感染⁶⁾を起こし,敗血症を発症すると推測されている.

本例は高齢者で、基礎疾患として胃癌をもち、易感 染状態にあった可能性がある. 大腸内視鏡は最終的に 施行できず、大腸病変の有無は不明である. しかし、 高齢であること, 脂質異常症, 高血圧, 冠動脈バイパ ス手術の既往症をもち動脈硬化の進行が明らかである こと、大動脈瘤の手術歴があり、下腸間膜動脈 (IMA) の再建が CT で確認できず、IMA 領域の慢性 的な血流不全の可能性があることから, 大腸粘膜障害, 虚血性腸炎をもっていた可能性は考えられる。ただし、 大動脈瘤術後の IMA の再建の有無と虚血性腸炎の関 連については、IMA 遮断時にS状結腸壁血流量の低 下がみられる場合は IMA を再建したほうがよいとい う報告®や、IMAの再建の有無と虚血性腸炎の発生 は関連性がないという報告9 があり、定まった見解 はない. 経過中に肝胆道系酵素の上昇を認めているが, 胆道感染が敗血症の原因となった可能性と. 敗血症性 ショックの結果、ショック肝で酵素が上昇した可能性

表 2. 症例一覧: PEG-ELS 内服後に敗血症を起こした 5 例 (本例含む)

報告年	報告者	年齢(歳)・性別	基礎疾患	転 機
2001	荒川 ⁶⁾	66・女性	うつ病	軽快
2001	荒川 ⁶⁾	53・女性	虚血性腸炎	軽快
2004	福富 ²⁾	58・男性	潰瘍性大腸炎	軽快
2012	佐藤 ⁷⁾	52・男性	AIDS, ニューモ シスチス肺炎	軽快
2013	鈴木(本例)	82・男性	胃癌	軽快

の両方が考えられる。身体所見と CT からは胆道感染の根拠が乏しかった。ショック肝は、ショックに引き続いて AST・ALT が AST 優位に 200 IU/I以上、時には $500\sim1,000$ IU/I以上に上昇し、 γ -GTP は 100 IU/I未満で、また数日のうちにすみやかに AST・ALT が低下するものと考えられている 10,110 . 本例の発症翌日 (13 日目)の血液検査(表1)では、AST・ALTの上昇はみられるものの、443 IU/I, 141 IU/I とそれほど高度ではなく、 γ -GTP が 234 IU/I と上昇している。その後の数値の低下は比較的すみやかである。これらの血液検査から、胆道感染とショック肝のどちらかであると断定することは困難である。

以上から、本例は、高齢、担癌を背景として、PEGELS内服が契機となり、大腸粘膜障害により腸管から血中へ細菌が移行したか、あるいは逆行性胆道感染から敗血症を起こした可能性があると推測したが、機序の断定は困難であった。

PEG-ELS は治療用ではなく前処置用の薬剤であり、日常診療では内視鏡のルーチンワークの中で自動的に処方されている場合も多く、副作用が意識されにくい、本例は PEG-ELS による重大な副作用の再認識という点で、示唆に富むと考えた。

Ⅳ. 結 語

基礎疾患,とくに易感染状態や消化管粘膜障害を有する患者の大腸内視鏡の前処置では、まれではあるが 重篤な合併症が起こる可能性があることを念頭におき、 服用時間の調節や観察下での服用などの配慮をするの が望ましい.

文 献

1) 芳野純治, 五十嵐良典, 大原弘隆ほか:消化器内視

- 鏡関連の偶発症に関する第 5 回全国調査報告—2003 年より 2007 年までの 5 年間. Gastroenterol Endosc **52**: 95–103, 2010.
- 2) 福富 尉, 田近正洋, 山崎健路ほか: Polyethylene glycol electrolyte lavage solution 内服後に敗血症, 椎間内膿瘍を併発した潰瘍性大腸炎の1例. Gastroenterol Endosc 46: 1181-1185, 2004.
- 3) 斉田芳久, 炭山嘉伸, 長尾二郎ほか:ポリエチレン グリコール内服にてイレウスおよびショックを発症 した S 状結腸癌の 1 例. 東邦医会誌 42:187-191, 1995.
- 4) 和賀正伸, スジャルオ, 宮川佳也ほか: 大腸内視鏡 検査前処置が誘引となった虚血性大腸炎の1例. 内 科82:177-179, 1998.
- 5) 西田幸弘,濱路政晴,坂口寛正ほか:大腸内視鏡前 処置で誘発されたマロリーワイス症候群の1例.日 消外会誌 **32**:997-1001, 1999.
- 6) 荒川穣二,新山幸俊,和田浩舗ほか:経口腸管洗浄 剤(ニフレック)の服用後,敗血症性ショックに陥った2例.日集中医雑誌8:216,2001.
- 7) 佐藤公俊, 中村ふくみ, 笠原 敬ほか:ニフレック 内服中に敗血症性ショックとなった AIDS の一例. 日本化学療法学会西日本支部総会プログラム・講演 抄録 225, 2012.
- 8) 井島 宏, 樗木 等, 堺 正仁ほか:腹部大動脈瘤 術後虚血性腸炎発生防止策としての腸管壁血流測定 の意義―レーザードップラー血流計の有用性について. 日血管外会誌 4:559-563, 1995.
- 9) 古屋隆俊,田中信孝,登 政和ほか:腹部大動脈瘤 手術に下腸間膜動脈再建は必要か―破裂例・非破裂 例および骨盤内血行遮断例の検討から.日血管外会 誌10:1-7, 2001.
- 10) 嶋田昌司, 松尾収二: AST・ALTの異常と病態. 臨床検査 57: 1485-1490, 2013.
- 11) Kobashi H, Toshimori J, Yamamoto K et al: Sepsis-associated liver injury; incidence, classification and the clinical significance. Hepatol Res 43: 255–266, 2013.

A case of septic shock and DIC caused by drinking polyethylene glycol electrolyte lavage solution

Michitaka Suzuki, Jun-ichi Ukegawa, Kazuhiko Ichiki, Mitsunori Honda, Yasuyuki Yazaki

Section of Digestive Disease, Kobayashi Hospital

Summary

A 82-year-old man was admitted to our hospital because of gastric cancer. To undergo colonoscopy screening, he drank 2 liters of polyethylene glycol electrolyte lavage solution (PEG-ELS). 2 hours later, he developed chill, fever and blood pressure decrease. He did not show respiratory or digestive symptom, so he was administered antibiotics and carefully observed. The next day, his labolatory data showed inflammation, liver injury and renal injury. Septic shock was highly suspected and administration of albmin and gabexate mesilate started. Further the next day, labolatory data showed low platelet and low antithrombin III activity, so we diagnosed him as DIC. Platelet transfusion was done, and antithrombin III was administered. Finally he recovered from septic shock and DIC. But his performance status was worsened, so aggressive treatment for gastric cancer became impossible. Sepsis as the adverse effect of drinking PEG-ELS is rare and we can find only four cases in past literature. We report this case with a review of the literature.

Key words: colonoscopy, polyethylene glycol electrolyte lavage solution, sepsis, DIC

剖検症例から学ぶ疾病の転帰と病態生理 ^{割検症例 No.122~141}

臨床現場で多くの患者さんを診断し治療する過程では、教科書だけでは学べない経験に基づく推論や知識も必要となります。若手医師は大学卒業後、研修病院で症例経験を重ねていきますが、患者さんが来院し種々の検査の後に診断を受けて治療が開始されるプロセスを経験するだけでは、最前線の病院で長く勤めてきたベテラン医師の臨床力にはなかなか到達できません。治療に伴う副作用や合併症あるいは病気の進行に伴って種々の病態が引き起こされて、患者さんが死にいたるまでの全過程を多く経験しているベテラン医師は、目の前にいる患者さんに起こりうるさまざまな病態の変化に対して、即座の推論のもとに検査を行い適切に対応しています。患者さんが診断・治療を受けた後、どのような経過をたどって最終的に死にいたるかという"疾病の転帰"を体験するためには、自分が診断した患者さんの、その後の経過を担当医としてすべて見届ける必要があります。しかしながら、そのような経験をできる環境は限られており、若い研修医時代においては、まず不可能に近いことだと思います。研修中には、患者さんの診断や治療にあたるか、治療後の病気の再発で来院した後を担当するか、死亡にいたる最終段階で患者さんを担当するかなど、"疾病の転帰"を部分的に経験するしかなく、多数の症例で部分的な経験を重ね合わせることにより"疾病の転帰"なるものを理解せざるをえないのが現状です。

研修期間中に自分が経験した病理解剖例の臨床経過と剖検所見をまとめることが義務づけられている大きな理由は、一人の患者さんが来院し死にいたるまでの全経過を俯瞰することで、"疾病の転帰"や病態生理を理解することにあります。しかしながら、研修医が経験できる症例は限られており、多種多様な疾病の転帰をこれからの診療に役立てるレベルにはなかなか達しないのが現状です。

「お茶の水醫學雑誌」では、とくに若手医師への教育的な観点から、病理解剖例の簡単なサマリーを紹介しています。日常診療の場で診断や治療に携わるような病気の患者さん達が、どのような経過をたどり死にいたったのか、経過中にどのような事態が発生したのかなどを、簡単に読み流す程度で理解できるような内容を掲載しています。通常作成されている病理解剖報告書ではなく、患者さんの臨床経過と病理所見との対応を意識して、豊富な画像所見を呈示しながら症例の概要を紹介します。

本企画では、とくに若い先生方に通常経験する症例の全経過を紹介することで、一般的な病気の転帰を効率的に理解いただきたいと考えています。このような病気のときには、こういう事態が発生しうるとか、病気の進行につれてどのような展開がありうるのかなど、若い先生方がこれから診療を行ううえで必ずや参考になるものと信じています。最後に、本企画に協力していただいている病理部の先生方や病理学関連分野の先生方には紙面を借りて御礼申し上げます。

症例 No.122 進行した膵癌と著明な転移・播種によって全身状態が悪化し死亡した症例

剖検依頼科:消化器内科

【概要】 膵癌, 肝転移, 腹膜播種を指摘され4クール化学療法を施行した後 best-supportive-care の方針となっていた73 歳女性である. 緩和ケアを目的とした入院中に急に吐血・心停止をきたし死亡した. 剖検では膵癌は10 cm 大の浸潤性膵管癌の所見で, 十二指腸や胃へ直接浸潤し, 肝・肺への血行性転移と著明な腹腔内播種を認めた. 吐血の原因としては膵癌が胃粘膜表層へ達したことによる消化管出血を第一に考える. 直接死因は高カリウム血症による不整脈と推定する.

【症例】73歳. 女性.

主 訴:食事摂取不良,疼痛.

家族歴・既往歴:特記すべきことはない.

生活歴:飲酒. 喫煙歴はない (夫がヘビースモーカー).

【臨床経過】

死亡1年前:検診で異常を指摘される.

9 ヵ月前:他院で膵癌, 肝転移, 腹膜播種と診断される. 化学療法を 4 クール行ったが, 血球減少を認め中断した (~死亡 3 ヵ月前まで).

20日前:食事摂取不良、疼痛コントロール不良のため入院となった(図1).

3日前:生化学検査では K6.5 mEq/l. スピロノラクトンを中止した.

死亡日:朝まで意識があったが、午前中に吐血・心停止の状態で発見され、蘇生処置を行ったが意識は戻らなかった。心停止後の検査で K7.6 mEq/l. 全経過9ヵ月.

【検索希望事項】

吐血の原因, 膵臓癌の状態, 転移・播種の広がり.

【剖検診断】

1. 浸潤性膵管癌 (肝転移, 肺転移, 腹腔内播種).

【剖検所見】

- A. 浸潤性膵管癌, 肝転移, 肺転移, 腹腔内播種
 - 1. 浸潤性膵管癌

膵頭部~体部にかけて 10×8×7 cm 大の中分化型管状腺癌を認める(図 2, 3). 腫瘍の一部は壊死に陥っているが, viable な腫瘍細胞も多く認められる. 腫瘍は十二指腸や胃, 膵前方・後方の結合組織内, 上腸間膜動脈神経叢へ浸潤する. 胃浸潤に関しては膵癌が胃粘膜表面まで達し, viable な腫瘍細胞に加え, 軽度の出血を伴う変性壊死部が露出する(図 4). またその近傍では腫瘍寒栓がみられる.

- 2. リンパ行性転移: 膵周囲リンパ節に転移巣がある.
- 3. 血行性転移
 - 1) 肝転移 (肝臓 1,205 g): 肝臓の全域に大小の転移巣を認める (最大 5.5 cm 大, 右葉前下部). 背景肝組織は軽度のうっ血肝で, 小葉内に小滴性の脂肪沈着が散在する.
 - 2) 両側肺転移 (左 255 / 右 435 g): 右 S2, 右 S3, 左 S3 領域に最大 8 mm までの転移巣がある.
- 4. 腹膜播種:多数の播種巣がある (図5).
- 5. 関連所見
 - 1) 消化管出血

消化管内容物は食道から胃にかけて血性を示し、量は胃の半分を満たす程度であった。十二指腸よりも下部では血性内容物はみられない。気管支内腔には血性の物質の付着を認め誤嚥が疑われるが、誤嚥性肺炎の所見は明らかでない。出血源に関連する組織所見は胃浸潤の項目を参照。

- 2) 腹水貯留:4,900 ml, 色調は淡黄色透明を示す.
- B. その他関連所見
 - 1. 食道:食道下部粘膜に複数の潰瘍・びらんを認め、逆流性食道炎の所見として矛盾しない、食道の内容物は血性を示す。
 - 2. 心 (195 g): 肉眼では明らかな変化は認めない. 組織学的には後壁の乳頭筋の一部に心筋の脱落と線維化がみられる程度である. 刺激伝導系にも目立った変化はみられない.

- 1. 膵癌は 10 cm 大の腫瘤を形成し浸潤性膵管癌の所見であった. 膵癌は十二指腸や胃へ直接浸潤し, 肝・肺への血行性転移と著明 な腹腔内播種を認めた. 本例では腹腔播種が著明であったことから 4,900 m/ と多量の腹水がみられた. また化学療法を 4 クール 行っていたが, 一部の腫瘍細胞に壊死を認める程度であり, 組織学的治療効果は軽度と考える.
- 2. 吐血の原因としては膵癌が胃粘膜表層へ達したことによる消化管出血と考える. 明らかな潰瘍などは確認できなかったものの, 粘膜表層まで達する癌の浸潤と赤血球を混じる壊死物に加え,近傍の切片に血管内の腫瘍塞栓がみられる点より,胃からの出血 が第一に疑われる. ただし食道には複数の潰瘍やびらんがみられ,出血源である可能性を否定できない.
- 3. 直接死因に関しては、臨床所見を合わせ高カリウム血症による不整脈と推定する。カリウムの異常に関しては著明な腹膜播種や腹水貯留、薬剤(スピロノラクトン)の影響が疑われる。ただし心臓の刺激伝導系には器質的に明らかな異常は認められず、吐血と不整脈の関連も明らかではなかった。

臨床画像



図 1. 造影 CT (入院時). 膵体部腫瘤, 多発肝転移, 腹膜播種がみられる.

病理画像

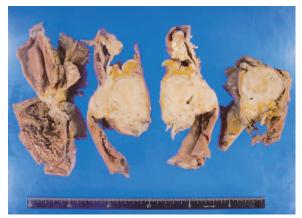


図 2. 摘出肉眼標本 (1). 膵癌. 腫瘤は灰白色調を示し, 内部は透明がかったゼリー状を示す.

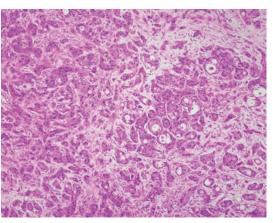


図 3. 病理組織像 (1). 膵癌 (HE 染色). 線維性間質の間に索状~小胞巣構造をとる腫瘍細胞を認める

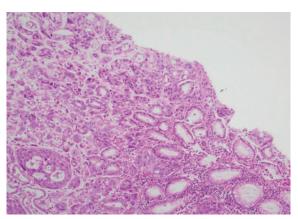


図 4. 病理組織像 (2). 胃浸潤部 (HE 染色). 胃粘膜表層まで腫瘍が達する.



図 5. 摘出肉眼標本 (2). 腹膜播種. 多数の腹膜播種巣を認める.

症例 No.123 肺腺癌により右上葉切除術および化学療法後,原因不明の上腹部腹腔内膿瘍 により死亡した症例

剖検依頼科:救命救急センター

【概要】肺腺癌により右上葉切除術および化学療法後、原因不明の上腹部腹腔内膿瘍の形成をきたし死亡した1割検例である。解剖時、肺など複数の臓器に真菌を伴う膿瘍形成があり、全身の真菌感染が示唆された。また、肺には広範な巣状融合性肺炎もあり、直接死因は全身性真菌感染と、巣状融合性肺炎および胸水貯留による呼吸不全と考えられた。脾膿瘍については、既往摘出脾臓に菌糸、脾門部結紮糸に真菌が認められ、上記の真菌感染に関係している可能性が示唆された。既往の肺腺癌に関しては、原発である右肺に再発を認めなかったが、左肺1ヵ所に肺腺癌とリンパ節転移を認めた。

【症例】65歳. 男性.

主 訴:発熱・悪寒.

家族歷:不明.

既往歴:心房細動 (アブレーション後)、心不全 (詳細不明)、

生活歴: 喫煙歴・飲酒歴不明.

【臨床経過】

4ヵ月前:他院で、右肺腺癌(図1)に対する右上葉切除術および術後化学療法を施行された.

1ヵ月前:発熱・悪寒があり、呼吸苦も認められたため他院呼吸器内科に入院した。CTで胃~脾周囲膿瘍(図 2)、脾梗塞、脾静脈血栓と診断され、抗生物質の投与を開始したが膿瘍は拡大した。

1日前:心肺停止状態となったが治療により自己心拍が再開した.

入院時:積極的救命処置の施行目的で、ドクターヘリで当院に救急搬送された. 脾膿瘍および腹腔内膿瘍に対して開腹脾臓摘出術, 腹腔内膿瘍ドレナージ術を施行した.

7日後:術後も抗生物質投与など治療したが、呼吸状態や循環動態が悪化し、死亡した.

【桳索希望事項】

死因の検索, 腹腔内膿瘍術後の状態, 既往脾膿瘍の原因, 肺癌の評価.

【剖検診断】

- 1. 右肺腺癌, 右上葉切除術および術後化学療法後の状態.
- 2. 巢状融合性肺炎, 多発肺膿瘍, 肺胞出血.
- 3. 左上腹部膿瘍に対する開腹洗浄および脾臓摘出術後,左上腹部術後血腫,全身性真菌感染.

【剖検所見】

- A. 右肺腺癌, 右上葉切除術および術後化学療法後の状態
 - 1. 右肺:右上葉切除術後(他院). 右上葉切離部および残存中下葉に明らかな腫瘤性病変を認めない.
 - 2. リンパ節転移:右傍気管リンパ節および右鎖骨下リンパ節に 1.5 cm 大の肺腺癌の転移として矛盾しない病変がある.
 - 3. 左肺内転移: 左肺 S6 に、 4.5×3.0 cm 大の空洞を伴う病変がある。組織学的に、淡好酸性の胞体と腫大した核をもつ腫瘍細胞が、乳頭状様を呈して増殖する(図 3、4). 免疫染色においても TTF-1 (+)、Napsin A (+)、CK7 (+)、CK20 (-) であり肺原発腺癌の転移の所見である。
 - 4. そのほか検索臓器に明らかな転移巣・播種巣はない.
- B. 全身の感染所見
 - 1. 巢状融合性肺炎, 多発肺膿瘍, 肺胞出血
 - 1) 肺重量: 左 955/右 675 g. 割面はうっ血調で含気不良である. 1 cm 大以下で黄白色調の出血を伴う膿瘍形成を多数認める. 組織学的には, 肺胞内の浸出液貯留と好中球浸潤を伴う巣状融合性肺炎の所見で, これらを背景として, 真菌を含む膿瘍が多発する (図 3.5).
 - 2) 胸水: 左 1,700 /右 3,200 ml. 黄色透明で少量フィブリン網を混じる.
 - 3) 培養結果 (右肺下葉): Candida albicans. Gram-negative rod (ブドウ糖非発酵菌).
 - 2. 左上腹部膿瘍に対する開腹洗浄および脾臓摘出術後, 左上腹部術後血腫
 - 1) 手術材料: 脾臓被膜に白色固形状の膿状物が付着している(図 6). 割面では脾臓実質内に最大径 3 cm 大の白色の膿瘍形成がある. 組織学的には、脾臓実質内に高度の好中球浸潤が壊死・出血を伴って認められる. 一部に少数の菌糸が認められる (Grocott 染色).
 - 2) 副検時:脾臓摘出術後. 左横隔膜直下~左上腹部にかけて, 25×14×9 cm 大の周囲に被膜を伴う血腫を認めるが, 粗大な膿瘍形成 (-) [図 7]. 組織学的に脾門部に相当する結紮糸残存部分には, 多数の真菌が認められる (図 8).
 - 3. 全身性真菌感染
 - 1) 左鎖骨下感染性静脈血栓:左鎖骨下静脈は、器質化・再疎通像を伴う血栓により狭窄し、血栓には真菌が多数認められる.
 - 2) 諸臓器の多発膿瘍:肺と腎臓に真菌を含む多数の膿瘍形成がある.心臓心筋内,甲状腺実質内に微小膿瘍がある.膿瘍部分に真菌 (-).心腔内の凝血塊に菌糸が少数混入する (Grocott 染色). 肝臓門脈域や小葉内に,好中球浸潤が目立つ.
 - 3) 培養結果 (血液): Gram-negative rod (ブドウ糖非発酵菌). Strenotrophomonas maltophilia. anaerobic GPC.

- 1. 解剖時, 肺, 腎臓に真菌を伴う膿瘍形成があり, 鎖骨下静脈には真菌感染を伴う血栓形成を認めた. 心臓や甲状腺に微小膿瘍, 心腔内凝血塊に菌糸の混在があり, 全身の真菌感染が示唆された. 肺に関しては, 膿瘍に加え, 広範な巣状融合性肺炎と著明な胸水貯留を認めた. 直接死因は, 全身性真菌感染と, 巣状融合性肺炎および胸水貯留による呼吸不全を考える.
- 2. 脾膿瘍については、既往摘出脾臓に少数ながら菌糸が付着し、脾門部結紮糸に真菌が認められることから、上記の真菌感染によって形成された可能性がある。剖検時には粗大な膿瘍形成はなく、左上腹部膿瘍のコントロールは比較的良好と考えられる。
- 3. 肺腺癌に関しては、原発である右肺に再発を認めなかったが、右傍気管リンパ節および右鎖骨下リンパ節に転移を認めた。また 左肺1ヵ所に、膿瘍形成と空洞を伴う肺腺癌を認め、肺内転移と考えられた。

臨床画像

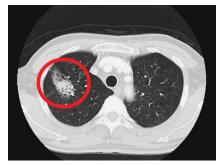


図 1. 入院 4ヵ月前の胸部 CT. 右上葉 に結節影がある (丸内).

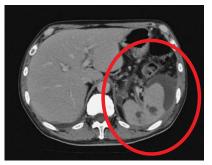


図 2. 入院 1ヵ月前の腹部 CT. 脾臓 周囲および脾臓内部に, 脾臓実質に 比して低吸収の領域を認める(丸 内).

病理画像



図3. 摘出肉眼標本(1). 左肺割面の一部(固定後). 左肺S6に4.5×3cm大の腫瘤(丸内)があり、背景には1cm大以下の膿瘍形成を多数認める(一部矢印で示す).

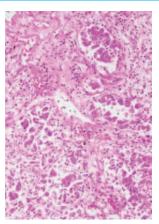


図 4. 病理組織像(1). 左 肺腫瘤部(HE染色). 乳頭状を呈する肺腺癌.

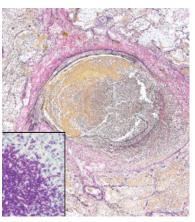


図 5. 病理組織像(2). 肺(EVG 染色,左下囲みPAS-AI染色). 一部血管を破壊するような膿瘍 形成があり,同部位に真菌を認 める(左下).

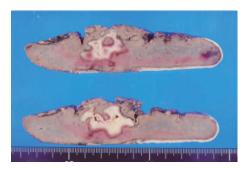


図 6. 摘出肉眼標本(2). 手術材料: 脾臓 割面(固定後). 脾臓被膜~脾臓実質内に 白色調の膿瘍形成を認める.



図 7. 摘出肉眼標本 (3). 左上腹部血腫割面 (固定後). 左横隔膜直下~左上腹部にかけて, 25×14×9 cm 大の周囲に被膜を伴う血腫を 認めるものの, 粗大な膿瘍形成は認められない。

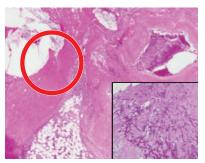


図8. 病理組織像(3). 左上腹部血腫(HE染色,右下囲みPAS-AI染色). 脾門部の結紮糸残存部分(丸内)には、多数の真菌が認められる(右下).

症例 No.124 喀痰の貯留, むせ, および呼吸困難により入院治療中, 突然の意識レベル低下 および血圧低下を起こし死亡した症例

剖検依頼科:練馬光が丘病院

【概要】喀痰の貯留, むせ, および呼吸困難により入院治療中, 突然の意識レベル低下および血圧低下を起こし死亡した1割検例である. 心囊内に軟凝血塊を含む流動血が充満し, 大動脈弁付着部~大動脈弓にかけての26cm 長の範囲に, 大動脈解離があり, 心囊内へ穿破していた. 肺には心囊血腫に伴ううっ血と, 喀痰貯留や誤嚥に関連した局所的な肺炎像や気管支周囲の炎症像が認められたが, 死因となりうるような高度・広範な誤嚥性肺炎像は明らかでなかった. 呼吸困難で入院中であり, 臨床的に肺に起因する死因が疑われたが, 死因は大動脈解離に伴う心囊血腫(心タンポナーデ)であった.

【症例】80歳,女性.

主 訴:咳嗽, 喀痰, 呼吸困難.

家族歴:父は胃癌、母は関節リウマチ.

既往歴:40歳代で緑内障,50歳~うつ病(通院中).

生活歴: 喫煙歴 (-), 飲酒歴 (-).

【臨床経過】

10 日前~: 鼻汁, 咳嗽があった.

1日前:喀痰の貯留. むせがあった.

入院当日:日中光が丘病院を受診し、上気道炎と診断され処方を受け帰宅した。夕方、喀痰の貯留・むせおよび呼吸困難が著明になり光が丘病院へ救急搬送された。口腔内には食物残渣はなく、白色痰(+)。胸部 X 線検査で右下肺野に浸潤影を認め、誤嚥性肺炎と診断した(図1,2)。入院後、絶食、抗生物質・酸素の投与を開始した。

1日後:午前中,突然閉眼・意識レベルが低下した.ただちに吸引を実施し,淡血性痰が多量に吸引された.その後治療を継続したが約1時間後自発呼吸がなくなり死亡した.

【検索希望事項】

死因の検索, 肺の所見 (気道閉塞や肺塞栓などの所見の有無).

【剖検診断】

1. 大動脈解離および心囊血腫

【剖検所見】

- A. 大動脈解離および心囊血腫
 - 1. 心臓:心囊内に軟凝血塊を含む流動血を 200 ml を容れる. 心外膜には, 大動脈弁付着部から 2 cm 上方のレベル~左心耳にかけての背側 6×4 cm の範囲に, 斑状脂肪織内出血を認める. 大動脈弁付着部から 1.5 cm 上方のレベルで, 後述する大動脈解離の心囊内穿破を認める (図 3, 5). 心筋には領域をもった心筋梗塞巣や心筋内出血はない. 大動脈弁は軽度硬化する. 左冠動脈優位. 冠動脈に血栓塞栓は認めず, 冠動脈の狭窄は最大 25% 程度である.
 - 2. 大動脈解離:大動脈弁付着部~腹腔動脈分岐部直上にかけての26 cm 長に,内膜側から3/4 の中膜に解離腔の形成がある(図4). 大動脈弁付着部から21 cm 末梢側に内膜入口部(エントリー)を認める. 解離は左総頸動脈分岐部から1 cm,左鎖骨下動脈分岐部から0.5 cm までに認められるが,右腕頭動脈や冠動脈には認められない. 解離腔は血液を容れるが,器質化は認められない.
 - 3. 関連所見
 - 1) 肺うっ血:肺重量は左375/右415g. 割面では左右背側を中心にうっ血調であるが、含気は比較的保たれる. 肺動脈に明らかな血栓塞栓はない(図6). 組織学的には、左下葉、右中下葉主体に中等度のうっ血を認める.
 - 2) 急性尿細管障害:腎臓重量は左115/右115 g. 表面は細顆粒状. 割面はうっ血調で,皮髄境界はやや不明瞭である. 組織学的には,尿細管上皮の核の染色性の低下,脱落,尿細管の拡張が認められる. 皮質に単核球の集簇巣が散見される. 髄質を中心に微小石灰化がある. 硝子円柱が散見される. 糸球体は年齢相応に保たれる.

B. 肺病変

気管支周囲間質の出血と炎症細胞浸潤,および巣状肺炎:気管下部~気管支粘膜は著明に発赤する.組織学的には,左右気管支粘膜にびらんがあり,間質には高度の出血と,一部好中球を混じる中等度の単核球浸潤が認められる(図7).左下葉には局所的に細気管支内および周囲肺胞腔内に好中球が浸潤する巣状肺炎像を認める.左肺舌区の一部には細気管支の粘液貯留像や炎症細胞浸潤,肺水腫がある.また腔内線維化巣が左舌区や両下葉などに散見される.気管支~肺胞腔内に,真菌や細菌塊は明らかでない.胸水貯留はない.

- 1. 心囊内に軟凝血塊を含む流動血 200 ml を容れ,大動脈弁付着部~大動脈弓にかけての 26 cm 長の範囲に大動脈解離があり,大動脈弁付着部付近で心囊内へ穿破していた。また腎臓には、急激な循環障害に伴うと考えられる急性尿細管障害の所見を認めた。直接死因については、大動脈解離に伴う心囊血腫(心タンポナーデ)であった.
- 2. 肺に関しては、心嚢血腫に伴ううっ血と、喀痰貯留や誤嚥に関連した局所的な肺炎像や気管支周囲の炎症像が認められた. しかし、死因となりうるような高度・広範な誤嚥性肺炎像や、気道閉塞、肺塞栓を示唆する所見は明らかでなかった.

臨床画像



図 1. 入院時胸部 X 線像. ところどころに淡い浸潤影を認める.

WBC	8,580	TP	7.7	Alp	209	Glucose	143
RBC	451	Alb	4.1	LDH		HbA1c	5.8
Hb	14.9	BUN	33	Na	143	CPK	2,159
Ht	43.3	Cr	1.12	K	4.1	СК-МВ	31
Plt	17.6	T.Bil	0.3	CI	106	Tr I	0.024
		GOT	52	Ca	8.9	CRP	4.78
		GPT	28	Р	3.6		
		YGTP	32				

図 2. 入院時の血液検査所見. CRP の軽度上昇を認める.

病理画像



図 3. 摘出肉眼標本(1). 心臓(固定前), 心臓背面,大動脈弁 付着部から1.5cm 上方に,大動脈解離 の心囊内穿破を認め る(丸内).

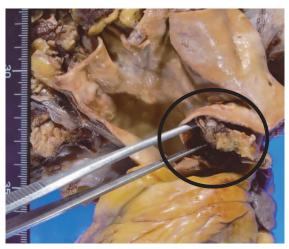


図 4. 摘出肉眼標本 (2). 心臓~上行大動脈 (固定後). 解離腔の形成を認める (丸内).

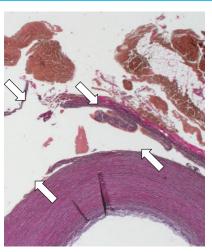


図 5. 病理組織像 (1). 上行大動脈 心囊 (EVG 染色). 心囊内へ穿破する部分. 上方が心嚢内で, 下方が解離した大動脈である (矢印は解離腔).



図 6. 摘 出 肉 眼 標 本 (3). 肺 (固定前). 左右背側を中心に うっ血調である. 気管内異物 (一), 肺動脈に明らかな血栓 塞栓 (一).

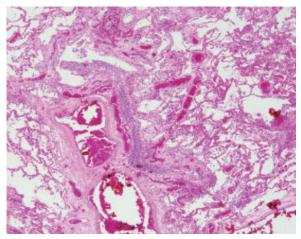


図 7. 病理組織像 (2). 肺 (HE 染色). 局所的に細気管 支内および周囲肺胞腔内に好中球が浸潤する巣状肺炎 像を認める. 背景はうっ血調である.

症例 No.125 卵巣癌に対する治療・経過観察中に多発脳梗塞を起こして死亡した症例

剖検依頼科: 産婦人科

【概要】卵巣癌のため、5ヵ月前から化学療法を開始したが奏功せず、2ヵ月前からは best supportive care に切り替え経過観察となっていた。1ヵ月前に多発脳梗塞を起こし、死亡した。剖検では、右卵巣には 10 cm 大の腫瘤が形成され、明細胞腺癌の所見であった。癌は、肝・横隔膜、脾、大動脈周囲リンパ節に多発転移していた。また、心臓僧帽弁には疣贅が付着しており、非細菌性血栓性心内膜炎(NBTE)を背景とした、多発梗塞巣(脳、心、腎、脾)を形成していた。卵巣癌に伴う Trousseau 症候群を呈した 1 例である。

【症例】40歳,女性.

主 訴:咳嗽,右側腹部痛.

既往歴:24歳時, 卵巣チョコレート嚢胞,26歳時,適応障害,躁うつ病.

【臨床経過】

- 8ヵ月前:咳嗽、および咳嗽時の右側腹部痛が出現した、近医を受診し、喘息が疑われた、
- 7ヵ月前:右側腹部の疼痛部位に発赤が出現し、37℃台の微熱が持続した、他院で、蜂窩織炎の診断で抗生物質の内服を開始した。
- 6ヵ月前:症状の改善はなく,当院皮膚科を紹介され受診した.CT,MRIで両側卵巣腫瘍を認め,当科を紹介され受診となった(図1).
- 5 ヵ月前: S 状結腸(AV より 30 cm) に壁外腫瘍浸潤があり、生検にて腺癌の診断となった、卵巣癌Ⅳ期と診断し、化学療法を開始した。
- 2ヵ月前: 化学療法(TC 療法)4コース目施行後,骨髄抑制からの回復不良となり,化学療法は継続困難となった.造影 CT で新 規病変の出現があり,化学療法は終了し,best supportive care へ切り替えとなった.
- 1ヵ月前:右上肢の脱力発作,意識レベル低下を認めた.造影 MRI で,右中大脳動脈 (MCA) 領域主体に多発脳梗塞を認めた (図 2). その後左 MCA 領域にも新規病変が出現した.意識レベルは徐々に低下し,右胸水貯留および肺野全体に浸潤影を認めた.次第に努力呼吸様となり,死亡した.全経過約 8ヵ月.

【検索希望事項】

卵巣癌の広がり、肺の状態、脳梗塞の原因検索.

【剖検診断】

- 1. 両側卵巣明細胞腺癌多発転移 (肝・横隔膜, 脾, 傍大動脈リンパ節).
- 2. 非細菌性血栓性心内膜炎 (僧帽弁).
- 3. 多臟器梗塞巣(心,脳,腎,脾).

【剖検所見】

- A. 両側卵巣明細胞腺癌
 - 1. 原発巣の状態: 肉眼的に, 両側卵巣に径 10 cm 大までの多房性嚢胞性腫瘤を認める(図3)[右 10 cm 大,左5 cm 大]. 両側とも嚢胞壁の一部に褐色~白色の乳頭状ないし充実部を伴う. 腫瘍はS状結腸に癒着している. 組織では,充実部に一致して,粘液に乏しい円柱状の癌細胞が乳頭状ないし複雑な管腔形成性に増殖する(図4). 充実性に近い部分もある. 淡好酸性細胞が主体で,一部では淡明な細胞の増殖もみられ, hobnail 状となる. 癌細胞はおおむね viable なものからなる. 免疫染色では,WT1(-),p53(focally+)を呈する. 背景に明らかな子宮内膜症を指摘できない. 以上より,組織像からは漿液性腺癌との鑑別が問題となるが. 臨床所見. 形態像. および免疫染色結果も合わせ. 明細胞腺癌と診断する.
 - 2. 遠隔転移:血行性転移(肝・横隔膜, 脾, そのほか副腎周囲結合組織の静脈内に癌細胞あり), リンパ行性転移(大動脈周囲リンパ節に最大3cmまでの転移あり).
 - 3. 腹膜播種: 左卵管表面に小結節状の播種がある.
- B. 非細菌性血栓性心内膜炎(僧帽弁);僧帽弁には疣贅の付着を認める(図5). 組織学的にはフィプリン主体の血栓よりなり,癌細胞は認められない.
- C. 多臟器梗塞巣

 - 2. 脳梗塞: 脳重量 1,300 g. 軽度の鉤ヘルニアがあり、大後頭孔ヘルニアはない. 両側中大脳動脈領域に広範に軟化巣が広がる.
 - 3. そのほか、腎、脾臓に梗塞巣がある.

- 1. 両側卵巣に明細胞腺癌を認めた. 病変の広がりは右卵巣を主座としており、右卵巣原発の明細胞腺癌と判断する. 化学療法施行後であるが、癌細胞はおおむね viable なものからなっていた. 生前から指摘されていたとおり、肝・横隔膜、脾、大動脈周囲リンパ節に多発転移を認めた. 卵管表面、胃漿膜面にも癌は認められ、腹膜播種を呈していた(胃漿膜面の癌については、横隔膜に転移した癌細胞が播種した可能性が疑われる).
- 2. 脳、心、腎、脾には梗塞巣が多発し、いずれも1ヵ月相当の時間が経過したものとして矛盾しない。僧帽弁には疣贅が付着し、非細菌性血栓性心内膜炎(NBTE)を呈していたことから、多臓器梗塞については、NBTE を背景とした動脈血栓塞栓によるものと考えられる。上述のとおり、いずれにも転移(腫瘍塞栓)は認められず、本病態は卵巣癌に伴う Trousseau 症候群に相当する。
- 3. 死因に関しては、肺病変は死に直結するものではなく、心筋梗塞・多発脳梗塞がもっとも考えられる.

臨床画像



図 1. 骨盤部 CT (6ヵ月前). 骨盤内腫瘍を認める (矢頭).

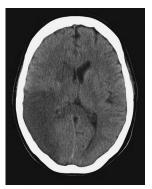


図 2. 頭部 CT (死亡 10 日前). 右 MCA 領域に 低吸収域が広がる.

病理画像

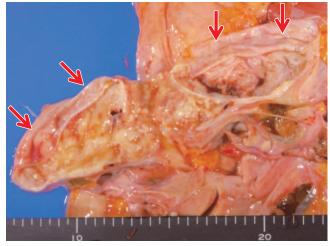


図3. 摘出肉眼標本(1). 剖検時の右卵巣腫瘍割面. 充実部を伴う嚢胞性病変(矢印)を認める.

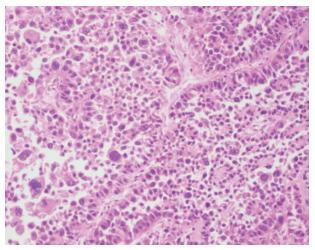


図 4. 病理組織像. 右卵巣腫瘍 (HE 染色). 漿液性腺癌との 鑑別が問題となる明細胞腺癌の所見である.

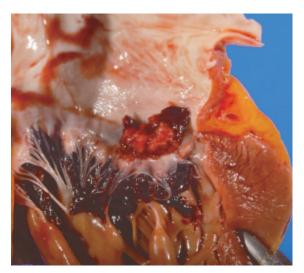


図 5. 摘出肉眼標本(2). 剖検時の僧帽弁. 疣贅の付着を認める.

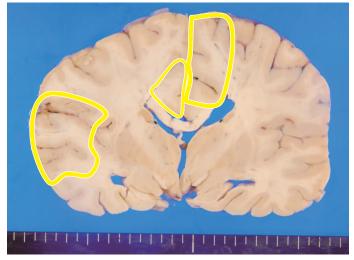


図 6. 摘出肉眼標本 (3). 剖検時の大脳割面. 梗塞巣が多発性に広がる (黄色の線で囲まれた範囲).

症例 No.126 上葉主体の胸膜下虚脱瘢痕を伴う間質性肺炎に誤嚥性肺炎を合併し死亡した 症例(局所解剖)

剖検依頼科:呼吸器内科

【概要】健康診断で胸部異常陰影を指摘され、近医にて間質性肺炎(IP)と診断される. 以降 IP 増悪に伴い治療したが改善されず、 気胸および胸腔内アスペルギルス感染も加わり、IP 急性増悪の経過をたどる. 病勢コントロールがつかず、呼吸不全をきたし死亡した 46 歳・男性である. 剖検では、左右肺ともに背景に間質性肺炎が広がり、アスペルギルス感染や誤嚥性肺炎像が認められた.

【症例】46歳, 男性.

主 訴:突発性の胸痛と呼吸困難.

家族歴:悪性腫瘍および遺伝性疾患はない.

既往歴: 虫垂炎 (23 歳), 肺炎 (37 歳).

生活歴: 飲酒歴はビール 3本/日、喫煙歴はない、HBsAg(-)、HCVAb(-)、TPHA(-)、その他ウイルス感染(HIV、Prion など)はない、粉塵・有機溶媒・アスベストの曝露歴および吸入歴はない、アレルギー歴は漢方薬(名称不明).

【臨床経過】

3年前:健康診断で胸部異常陰影を指摘され,1年後,近医で気管支肺胞洗浄(BAL),経気管支肺生検(TBLB)の結果,間質性 肺炎と診断される

1年前:胸部異常陰影の増悪に対し PSL25 mg 内服を開始し、以降、状態により PSL 量は 15 mg まで漸減される.

3ヵ月前:縦隔気腫併発と IP の増悪に対し PSL30 mg 内服を開始した.

2ヵ月前:在宅酸素導入.

入院時:突発性の胸痛と呼吸困難により当院救急外来に搬送され,胸部 X 線(図1)で左気胸を確認し,左胸腔ドレナージを開始し,呼吸器内科に転科した,右気胸併発,右胸腔ドレナージを開始し,左胸水よりアスペルギルスを検出した(図2). IP 増悪に対しステロイドハーフパルス療法施行(2回).

入院74日後:死亡した.全経過2年11ヵ月.

【検索希望事項】

直接死因:間質性肺炎かどうか、感染の有無、気胸、ブラの状態、癒着の状態.

【剖検診断】

- 1. 上葉主体の胸膜下虚脱瘢痕を伴う間質性肺炎.
- 2. 右肺誤嚥性肺炎.
- 3. 胸膜真菌感染.

【剖検所見】

1. 上葉主体の胸膜下虚脱瘢痕を伴う間質性肺炎および右肺誤嚥性肺炎

肺重量:左385/右555 g. 肉眼的に両側とも上葉(とくに肺尖部)に胸膜下~肺実質内に不規則に伸び出す線維化が認められ、下葉にも一部みられる。一方、右中~下葉および左下葉底部主体には含気の低下した淡褐色領域が広がる(図3)。組織学的には上葉肺尖部主体に胸膜下の虚脱瘢痕と膠原線維の密な増生を認め、一部下葉にも同様の所見がある(図4)。Fibroblastic foci や炎症細胞浸潤は目立たない。左下葉の淡褐色調領域では、肺胞隔壁は線維性肥厚を示し、狭小化した気腔内にマクロファージが認められる。一方、右中葉~下葉では、肺胞腔内や細気管支内に好中球やマクロファージを混じる高度な炎症細胞浸潤がみられ、フィブリン析出や腔内線維化がある(図5)。異物巨細胞や角化物がみられ、誤嚥性肺炎を考える(図6)。右下葉背側底部では虚脱瘢痕を伴う線維化と多数の拡張気腔、細気管支上皮化生を伴う蜂巣肺の所見があり(図7)。同部位にも上記の急性炎症の波及がある。

2. 左胸膜真菌感染

左肺上葉に胸膜の線維性肥厚があり、一部では胸膜外弾性板外側に膠原線維からなる囊胞構造がみられ、内腔に真菌塊を認める (図 8).

3. その他の所見

左右肺とも上葉下葉に 2.5 cm 大までのブラが多発する. 左肺に高度な癒着があり, 右肺は背面主体に癒着を認めた.

- 1. 両肺とも上葉肺尖部主体に胸膜下虚脱瘢痕が目立ち、下葉にも一部同様の所見が認められた。右下葉背側には蜂巣肺もあり、間質性肺炎の存在が示唆される。一方、右下葉~中葉では好中球を伴う肺炎像が広範にみられ、局所的に異物巨細胞や角化物を認めることから、誤嚥性肺炎が考えられた。一方、左下葉でみられた肺胞隔壁の線維化病変については、肺胞性/気管支肺炎の痕かびまん性肺胞障害(ないし間質性肺炎急性増悪)の痕かは判定困難である。
- 2. 間質性肺炎の原因・組織型については、感染や器質化などの二次的修飾が高度に加わっており、特定はむずかしいが、上葉胸膜下主体の虚脱癥痕が目立つ点で、特発性上葉限局型肺線維症(IPUF/網谷病)ないし pleuroparenchymal fibroelastosis (PPFE) に類似した特徴を認める。ただし本疾患では典型的には蜂巣肺を伴わないとされる点では、本例は典型例とはいいがたい。
- 3. 左肺胸膜面に認められたアスペルギルスの菌塊は、生前胸水から菌が検出された結果と一致する.
- 4. 両肺に最大 2.5 cm のブラが多数認められ、気胸の原因と考えられる.
- 5. 直接死因は呼吸不全と考える.

臨床画像



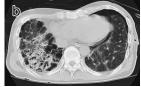


図 1. 入院時胸部 X線像(a),胸部 CT(b). 左肺に気胸,右肺に は高度な異常陰影を 認める.

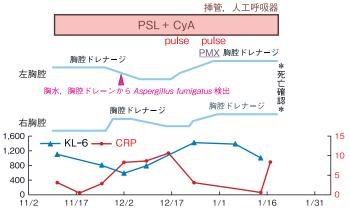


図2. 入院後経過. 左肺に続き右気胸に対し胸腔ドレナージ開始後に, 左胸水よりアスペルギルスを検出する.

病理画像



図3. 摘出肉眼標本. 固定後の肺

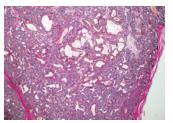


図 4. 病理組織像(1). 左右 肺の胸膜下の虚脱瘢痕化像 (EVG 染色)

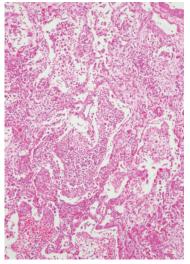


図 5. 病理組織像(2). 誤嚥性肺炎(HE 染色)

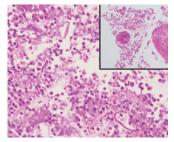


図 6. 病理組織像(3)[右上 囲みともに HE 染色]. 異物 巨細胞, 角化細胞を認める.

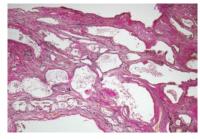


図 7. 病理組織像(4). 気管支上皮 化生を伴う蜂巣肺(EVG染色).



られる.

図 8. 病理組織像 (5). 臓側胸膜に認めた真菌塊 (a: EVG染色, b: Grocott染色). アスペルギルス菌糸が明瞭に認め

症例 No.127 肝細胞癌と肝内胆管癌を併発し死亡した症例

剖検依頼科:消化器内科

【概要】 C 型慢性肝炎・肝硬変を背景とし、死亡5年前から肝細胞癌が繰り返し発生していた76歳・男性である。死亡4ヵ月前にS8部に乏血性腫瘍を認め、死亡直前には肝性脳症や血便を認めた。剖検時、S8部には肝細胞癌、肝内胆管癌を独立して認め、肝内胆管癌はリンパ節や肺に転移巣を形成していた。背景肝は新犬山分類f4a2相当の進行した肝硬変の状態であり、肝性脳症を起こしても矛盾しない状態であった。血便に関しては明らかな出血源を認めなかった。

【症例】76歳, 男性.

主 訴:腹部膨満感, 黄疸.

既往歴: C型慢性肝炎 (1997年~).

生活歴: 飲酒歴はなく、喫煙歴 20 本×27 年間 (18~45 歳).

【臨床経過】

死亡5年前:S2領域に16 mm 大の肝細胞癌を認める. 経皮的ラジオ波焼灼療法を施行した.

3年前:S2, S4, S8 領域の肝細胞癌に肝動脈化学塞栓療法 (TACE) を施行した.

2年前:S2領域の病変の増大を認めたため、肝外側区域切除、脾・胆嚢摘出を施行した.

半年前:S4, S6/7 領域の肝細胞癌に TACE を施行した.

4 ヵ月前: S4 腫瘤に再度 TACE を施行した. 入院中の CT で S8 領域に乏血性腫瘍(肝内胆管癌・混合性肝癌) 疑いの腫瘤がみられた. Best supportive care 方針となる.

1ヵ月前:腹水貯留・黄疸の精査・治療目的で入院した. 肝門部腫瘤による閉塞性黄疸の診断により B8 にステントを留置した(図 1). 複数の肺転移巣を認めた(図 2).

1週間前: 肝性脳症が出現した.

前日:血便出現.

死亡当日:徐々に血圧が低下し死亡した. 全経過5年.

【検索希望事項】

肝癌の広がり、急に肝性脳症を起こした原因、血便の出血源、直接死因.

【剖検診断】

- 1. 肝細胞癌術後.
- 2. 肝内胆管癌 (重複癌), 肺転移, リンパ節転移.
- 3. 肝硬変 (C型肝炎).
- 4. 閉塞性黄疸.

【剖検所見】

- A. 肝細胞癌・肝内胆管癌 (重複癌), 両肺多発転移
 - 1. 肝(780 g)外側区域切除後. S8 に以下の二つの独立した腫瘍を認める(図3).
 - 1) 肝細胞癌:単純結節型, hepatocellular carcinoma; well>mod, eg, fc (+), fc-inf (+), sf (-), s0, vp0, vv0, va0, b0. 2.5 cm 大, 境界明瞭な褐色の類円形腫瘤で高~中分化型肝細胞癌の所見である(図 4). 被膜内への浸潤がある.
 - 2) 肝内胆管癌: 胆管浸潤型, adenocarcinoma: por>mod, ig, fc (-), fc·inf (-), sf (-), s0, im (+), vp1, vv0, va0, b1. 3.0 cm 大, 灰白色の境界不明瞭な不整形腫瘤で低分化型腺癌の所見である (図 5). 門脈・胆管に腫瘍の侵襲を認めるが, いずれも二次分枝より末梢である. 腫瘍から約 2 cm の位置にみられるステントは開存. 以下の転移は肝内胆管癌の転移である. 肝細胞癌は転移なし.
 - 2. リンパ節転移

膵周囲リンパ節(最大転移巣径 15 mm, 単発)と周囲脂肪組織への微視的な節外浸潤,

3. 両肺多発転移 (左 545/右 560 g)

肉眼で両肺に最大 18 mm までの複数の緑色結節が散在する. 組織学的には腺癌細胞が肺胞上皮を置換して広がる (図 6). 免疫染色では CK19 (+), CK7 (+), CK20 (弱 + ~ +), TTF-1 (-), Napsin A (-) で肝内胆管癌の転移に合致する.

B. 肝硬変とその関連所見

外側区域切除後の状態であり小さい(780g). 表面は粗大結節状で黄疸が目立つ. 組織学的には肝全体に厚い線維隔壁で区画された大小の偽小葉を認める. 新犬山分類 f4a2 の肝硬変である. 関連所見として黄疸, 腹水(5,400 m/), 食道静脈瘤がある.

- C. 血便関連所見
 - 1. 胃潰瘍:幽門側小彎部に 12×7 mm 大の粘膜下層に達する潰瘍(UI-Ⅱ)を認める. 胃内容物は非血性.
 - 2. 下部消化管:粘膜に著変はない. 内容物は緑色~褐色で, 非血性である. 小腸側はやや軟, 大腸側は固形状であり, 直腸にも明らかな出血源はない.

- 1. S8 部に2個の独立した肝癌を認め、組織型は肝細胞癌と肝内胆管癌であった。肝細胞癌は肝内にとどまっていたが、肝内胆管癌はリンパ節や肺に転移巣がみられた。肺転移巣の最大の腫瘤は肺胞置換型の増殖を示し、肺原発腺癌の可能性も疑われたが、肺腺癌マーカーである TTF-1 陰性、Napsin 陰性で非肺型の形質を示し、肝内胆管癌の肺転移と考える.
- 2. 背景肝は厚い線維性の隔壁と大小の偽小葉形成を伴う肝硬変の所見である. 外側区域切除後であることに加え, 著しい線維化を認め, 肝機能の低下と合致する所見を示す. 急に肝性脳症を起こした原因は特定しがたいが, 肝性脳症が起こっても矛盾しない状態であったと推測する.
- 3. 血便に関しては食道静脈瘤や胃潰瘍が出血源の候補である. しかし剖検時の消化管内容物は非血性であり, 直前の大量下血の臨床経過とはやや乖離を感じる. 消化管内容物が非血性であることにより直腸静脈叢からの出血を疑ったが, 明らかな出血源は認められない.
- 4. 直接死因は肝癌・肝硬変に伴う肝不全と考える.

臨床画像

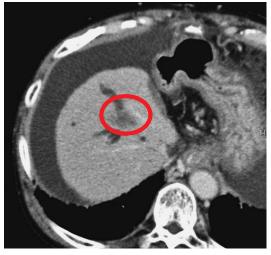


図 1. CT (死亡 1 ヵ月前). S8 に境界不明瞭な 22 ×13 mm の低吸収域がある.



図 2. CT (死亡 1ヵ月前). 肺に結節影がある

病理画像

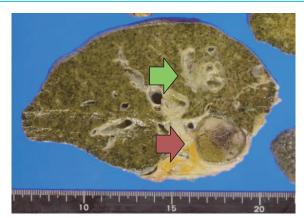


図3. 摘出肉眼標本. 肝癌. 肝細胞癌 (赤矢印), 肝内胆管癌 (緑矢印).

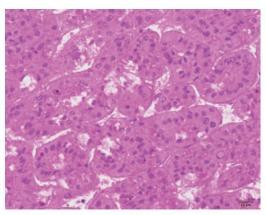


図 4. 病理組織像(1). 肝細胞癌(HE染色). 不規則な索状構造を示す.

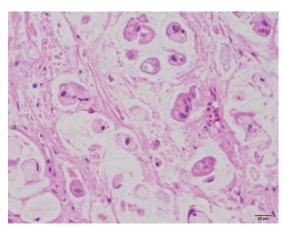


図 5. 病理組織像 (2). 肝内胆管癌 (HE 染色). 豊富な粘液産生を伴い, 索状~個細胞性に浸潤する低分化腺癌の所見である.

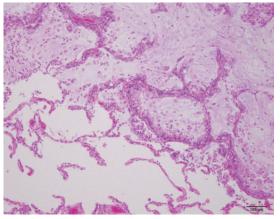


図 6. 病理組織像 (3). 肺転移巣 (HE 染色). 肺胞 上皮置換性の進展を示す.

症例 No.128 C 型慢性肝炎、肝硬変および肝細胞癌を背景とし、消化管出血により死亡した症例(食道、胃、肝臓のみの局所解剖)

剖検依頼科:消化器内科

【概要】C型慢性肝炎、肝硬変および肝細胞癌を背景とし、消化管出血により死亡した患者の1 割検例で、食道、胃、肝臓のみの局所解剖である。食道中部~下部、食道-胃接合部には、EVL (endoscopic variceal ligation) などに関連した治療痕が認められた。また、食道-胃接合部に潰瘍と比較的新しい出血が認められ、出血源として疑われた。食道・胃静脈瘤破裂を含む消化管出血は、肝細胞癌破裂とともに注意が必要な合併症であるが、門脈圧亢進や凝固系の障害をもつ肝硬変患者では、本例の既往である十二指腸潰瘍も致死的となりうると考えられ、検索範囲外の上部消化管病変からの出血の可能性も否定できない。

【症例】73歳, 男性.

主 訴:吐血.

家族歴:特記すべきことはない.

既往歷:糖尿病, 高血圧, 脂質異常症, 十二指腸潰瘍.

生活歴: 喫煙 10 本×10 年 (20~30 歳), 飲酒歴は焼酎水割 1 杯/日.

【臨床経過】

23 年前: C型肝炎と診断される.

13年前:インターフェロン療法を施行したが効果が認められなかった.

10年前~:画像診断で肝細胞癌を指摘され、TAE(transcatheter arterial embolization) + RFA(radiofrequency ablation)を施行した。以後再発を繰り返し、RFA、TAI(transhepatic arterial infusion)およびTACE(trancecatheter arterial chemoembolization)、ソラフェニブを投与したが治療効果は良好でなかった.

1ヵ月前:画像検査(図1), 食道静脈瘤に対し EIS (endoscopic injection sclerotherapy) および EVL を施行した(図2). 一時黒 色便が確認されたが、経過良好で退院した.

入院時:朝食後嘔気を訴え吐血し,近医に救急搬送される.気管挿管およびSBチューブを挿入し,いったん状態が安定したため 当院に救急搬送される.

入院3日後:治療を継続したが下血や胃内からの血液吸引が持続し,貧血や血圧の改善なく死亡した(全経過 23 年).

【検索希望事項】

出血部位の特定, 肝細胞癌の評価.

【剖検診断】

- 1. 肝細胞癌, RFA, TAI および TACE 後の状態.
- 2. 肝硬変
- 3. 食道静脈瘤および胃静脈瘤, EIS および EVL 後の状態.

【剖検所見】

- A. 肝細胞癌, RFA, TAI および TACE 後の状態, および肝硬変
 - 1. 既往
 - 1) 肝針生検材料(13 年前): Chronic hepatitis, in HCV carrier, needle biopsy, HAI score I −3, II −3, II −3, IV−3, total 12.
 - 2) 肝針生検材料(10年前): Well differentiated hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis, liver biopsy.
 - 2. 剖検時
 - 1) 肝臓 (1,365 g): 貧血調で、辺縁鈍、硬、表面は小結節状である。割面では 0.2~3 cm 大の黄色~暗赤色腫瘤性病変を 12 ヵ 所程度認める (図 3). 中枢側脈管に明らかな腫瘍栓はない、組織学的には、高~中分化型肝細胞癌の所見である (図 4). 門脈侵襲は高度. Viable な多数の腫瘍細胞が認められるが、時間の経過した凝固壊死巣や、比較的新しい壊死 / 変性巣が混在している。背景は、完成された肝硬変の所見である.
 - 2) 静脈侵襲: 食道壁内の静脈内部に腫瘍塊があり, 免疫染色は主病変同様である. AFP (-), EMA (-/+), HepParl (+), Glypican-3 (+).
 - 3) 観察範囲内(対象はごく一部に限られる)には明らかな胸膜播種や腹膜播種,腫大リンパ節はない.
 - 4) 腹水:淡血性 2,400 ml.
- B. 食道静脈瘤および胃静脈瘤、EIS および EVL 後の状態
 - 1. 食道静脈瘤, EIS および EVL 後の状態: 喉頭 level 以下を摘出し観察した. 食道中部~下部にかけて静脈が透見される. 中部食道~食道-胃接合部に, 1 cm 大の円形~楕円形潰瘍 (EVL 痕) が 10 ヵ所程度, 食道下部~食道-胃接合部に 5×5 cm 大の粘膜下出血を認める (EIS 施行部). 食道-胃接合部上に, 1×0.2 cm 大以下のびらん・潰瘍を 3 ヵ所程度認める (図 5). 食道-胃接合部には, 粘膜下組織を中心とし, 軽度の好中球および単核球浸潤を伴う中等度出血を認める. 静脈瘤破裂など, 断裂した血管像は認められない (図 6).
 - 2. 胃静脈瘤: 胃内容は凝血塊を多量に含む血液 800 m/. 食道-胃接合部から 1.5 cm 尾側の小彎部に胃静脈瘤を認める. 組織学的には、器質化・再疎通を伴う血栓を容れる高度に拡張した静脈瘤は確認されるが、出血を伴うびらんなどは明らかでない.

- 1. 本例では、腹水の性状や肝臓に明らかな肝細胞癌破裂の所見を認めなかった一方、胃内容は血液で十二指腸~直腸は緊満感のある暗赤色調、肛門に血性物の汚染があり、消化管出血による死亡と考えられた.
- 2. 食道中部~下部,食道-胃接合部には,EVLやEISに関連した治療痕が認められた.また,食道-胃接合部に潰瘍と比較的新しい出血が認められ,出血源として疑われたが,臨床上はSBチューブで止血されていた部分と考えられることや,SBチューブの合併症でもあることから,出血源と断定することは困難である.肝硬変を背景とする消化管出血の多くは,食道静脈瘤破裂によるが,門脈圧亢進や凝固系の障害をもつ肝硬変患者では,本例の既往である十二指腸潰瘍も致死的となりうると考えられ,検索範囲外の上部消化管病変からの出血の可能性は否定できない.
- 3. 肝細胞癌に関しては、剖検時、治療による壊死巣も一部に認められたが、肉眼的および組織学的に確認される結節性病変が多発していた。また、食道に静脈侵襲像を認めた、背景の肝臓は、完成された肝硬変の状態であった。

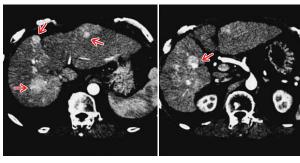


図1. 入院1ヵ月前の腹部造影 CT. 肝両葉に早期濃染, wash out を示す腫瘤が多発している (矢印). 門脈塞栓は ない.



図2. 入院1ヵ月前の上部消化管内視 鏡像. 一部発赤所見を伴う連珠状の 食道静脈瘤を認める.

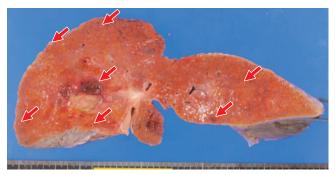


図3. 摘出肉眼標本(1). 肝臓(固定前). 貧血調で黄味を帯び る. 辺縁鈍, 硬. 表面は小結節状. 割面では 0.2~3 cm 大の 黄色~暗赤色腫瘤性病変を多数認める(矢印). 淡黄色~白色 調の部分は壊死巣である。中枢側脈管に明らかな腫瘍栓はな

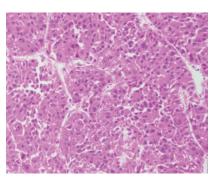


図4. 病理組織像(1). 肝臓(HE染 色). 数層の癌細胞よりなる索様構 造~中索状を呈する高~中分化型肝 細胞癌が認められる.

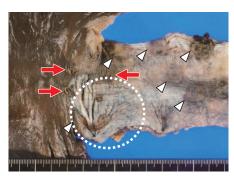
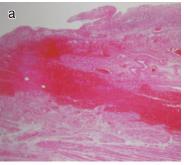
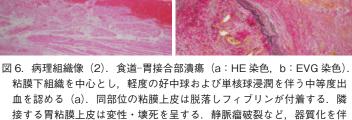


図 5. 摘出肉眼標本(2). 食道~胃(固定 後). 中部~下部にかけて静脈が透見さ れる. 中部食道~食道-胃接合部にかけ ての粘膜面に、1 cm 大の円形~楕円形 潰瘍(EVL痕)が複数認められる(矢 頭). 食道下部~食道-胃接合部にかけて 5×5cmの範囲に粘膜下出血を認める (EIS 施行部: 丸囲み). 食道-胃接合部 上に, 1×0.2 cm 大以下のびらん, 潰瘍 を 3ヵ所程度認める (矢印).





粘膜下組織を中心とし、軽度の好中球および単核球浸潤を伴う中等度出 血を認める (a). 同部位の粘膜上皮は脱落しフィブリンが付着する. 隣 接する胃粘膜上皮は変性・壊死を呈する、静脈瘤破裂など、器質化を伴 わない新しく断裂した血管像は認められない、背景には器質化血栓によ り閉塞した静脈が散見される (b).

症例 No.129 肝疾患や膵管内乳頭状粘液性腫瘍の経過中に急性膵炎をきたした症例

剖検依頼科:消化器内科

【概要】肝疾患および膵嚢胞で10数年来の経過を有し、6年前には赤芽球癆の既往がある。今回腹痛により外来を受診し、当初は軽症の膵炎と診断されたが、その後重症化し、治療が奏効せずに死亡した60歳代・男性である。剖検では広範囲に広がる急性膵炎がみられた。近傍の仮性嚢胞と腫瘍性嚢胞の穿通があり、病態に関与したと推測される。肝臓に関しては、赤芽球癆に対する輸血に伴う高度のヘモクロマトーシスや敗血症による炎症も混在しながら、原発性胆汁性肝硬変を示唆する変化がみられた。

【症例】60歳代, 男性.

主 訴:腹痛.

既往歴:自己免疫性肝炎・原発性胆汁性肝硬変, 膵管内乳頭状粘液性腫瘍, 赤芽球癆, 糖尿病, 変形性関節症.

生活歴:特記すべきことはない.

【臨床経過】

10 数年来: 自己免疫性肝炎・原発性胆汁性肝硬変, 膵管内乳頭状粘液性腫瘍により経過観察.

入院1ヵ月前:心窩部痛が出現し,軽快・増悪を繰り返す.

1週間前:腹痛が増悪し外来を受診した. 胆石が確認され, 胆囊炎の疑いにより抗菌薬による外来治療の方針となる.

2日前:疼痛が増強し再度外来を受診した. 造影 CT で急性膵炎の診断となったが (図1), 軽症でありいったん自宅療養の方針となる.

入院時: CRP15 mg/dl と上昇していたことから同日入院となる.

入院2日後:改善傾向がみられる (図2).

5日後:炎症が増悪, その後も CRP, WBC は高値のまま炎症状態が持続し, 腎障害も出現した (図2).

18日後:延命は希望せず死亡した.

【検索希望事項】

直接死因, 膵嚢胞性疾患の診断, 基礎疾患である肝疾患の評価.

【剖検診断】

- 1. 壞死性急性膵炎.
- 2. 膵管内乳頭状粘液性腫瘍.
- 3. 肝硬変
- 4. 赤芽球癆治療後ヘモクロマトーシス.

【剖検所見】

- A. 壞死性急性膵炎
 - 1. 膵および周囲の所見

膵臓を中心にして、上は食道下部周囲、下は横行結腸周囲や小腸腸間膜、左は脾臓、右は肝臓右縁にわたって広範囲に脂肪壊死がみられる。膵臓の割面では、膵内にも小結節状の壊死巣を認めるが、実質はおおむね保たれている。膵体部近傍の胃後面と尾部近傍に5cm大の仮性嚢胞の形成がみられる。仮性嚢胞の内腔面は不整で、褐色調の内容物を容れる。膵内に10mm大までの膵管内乳頭状粘液性腫瘍の嚢胞性病変が散見される(図3)。これらのうち一つが仮性嚢胞と穿通する。

- 2. 関連所見
 - 1) 腹膜炎・腹水:混濁した 3,000 ml の腹水. 直腸膀胱窩にも炎症性変化がある.
 - 2) 敗血症:肝臓と脾臓に好中球浸潤がある. 死亡前日の血液培養で Staphylococcus sp. を検出する.
- B. 膵管内乳頭状粘液性腫瘍

膵頭部主体に 10 mm 大までの嚢胞性病変が散見される。内腔面は平滑で、内部には粘液を容れる。組織学的に、嚢胞壁は粘液 産生性の単層円柱上皮からなり、良性に相当する組織所見を呈する(図 4)、主膵管との交通は確認できない。

C. 肝硬変 (1,040 g)

右葉は萎縮する。表面は $5\sim10~\mathrm{mm}$ 大の結節状となり、割面では黄疸を伴う(図 5)。組織学的には、線維化と再生結節の形成を認める。小~中型の門脈域では胆管の消失や胆管上皮の変性がみられる。小葉内には、肝細胞にびまん性のヘモジデリン沈着がみられる(図 6)。肝細胞には Mallory 小体形成や好酸体の形成など変性・壊死所見があり、胆汁うっ滞もみられる。

関連所見:脾腫(330g),軽度静脈瘤,(ステロイド治療関連)副腎皮質萎縮.

- D. 赤芽球癆関連所見
 - 1. 骨髄所見:炎症反応性に大腿骨髄と椎体骨髄は過形成となる. 胸骨は正形成性である. 赤芽球島の形成がある (M:E=3:1).
 - 2. (輸血治療関連) ヘモクロマトーシス:肝臓や膵臓は割面が褐色状を呈し,組織学的に,各臓器にヘモジデリン沈着がみられ,とくに肝臓と脾臓で目立つ.
- E. その他の所見
 - 1. 腎臓 (135/115 g): 左 10 mm 大の嚢胞形成, 部分的に慢性腎盂腎炎に相当する変化がある.
 - 2. 胆石症: 1.5 cm 大の胆石がある.

- 1. 膵周囲を主体に広範な壊死がみられ、膵炎の増悪が直接の死因と考える.
- 2. 膵炎に関しては膵臓自体が比較的保たれていることから、画像で疑われたように仮性嚢胞の破綻が炎症の誘因であった可能性が考えられる.また、仮性嚢胞と腫瘍性嚢胞の穿通が、炎症の惹起・遷延や増悪に寄与したと考えられる.
- 3. 肝臓は肝硬変の状態である。それに加え、ヘモクロマトーシスや敗血症の変化が加わっており、現病の変化を評価するのはむずかしいが、胆管の消失や Mallory 小体の形成は、原発性胆汁性肝硬変による変化と考えられる。ただし胆汁うっ滞に関しては、末期に炎症所見と比例してビリルビンが上昇していることから、敗血症によるものと考える。同時に疑われた自己免疫性肝炎を示唆する特徴的所見は確認できなかった。
- 4. 赤芽球癆に対して行われた輸血に関連した所見として、二次性のヘモクロマトーシスの状態であった。



図 1. 入院時腹部造影 CT. 膵頭部周囲に 炎症がみられる (黄矢印).

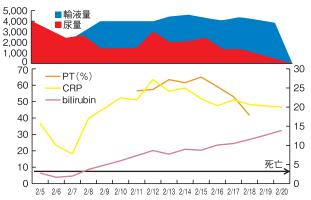


図 2. 入院後経過. CRP (黄色線) はいったん改善後に増悪 する

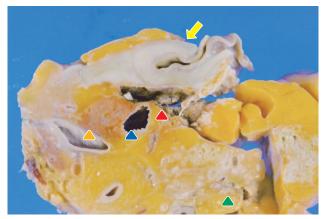


図3. 摘出肉眼標本(1). 膵臓ホルマリン固定後割面. 膵実質は保たれ, 周囲で炎症がみられる. 仮性嚢胞(赤矢頭), 膵臓(橙矢頭), 脂肪壊死(緑矢頭), 腫瘍性嚢胞(青矢頭), 胃(黄矢印).

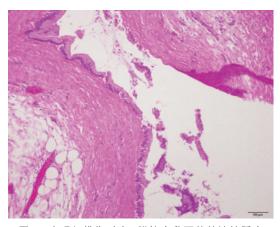


図 4. 病理組織像 (1). 膵管内乳頭状粘液性腫瘍 (HE 染色). 粘液産生性の単層円柱上皮でおおわれる.

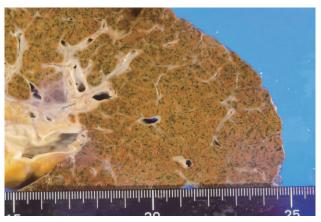


図 5. 摘出肉眼標本 (2). 肝臓ホルマリン固定後割面. 線維化と結節化がみられ、色調はヘモジデリン沈着に伴い全体が褐色を呈し、点状に緑色調の黄疸が確認できる.

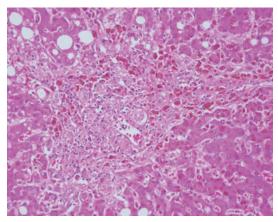


図 6. 病理組織像 (2). 門脈域 (HE 染色). 胆管上 皮は変性する. 周囲にはヘモジデリン貪食マクロ ファージが多数集簇する.

症例 No.130 肝細胞癌に対する下大静脈内腫瘍切除, 広範肝切除後に肝不全により 死亡した症例

剖検依頼科:練馬光が丘病院外科

【概要】C型肝炎を背景に発生した肝細胞癌に対し、下大静脈内腫瘍切除、肝右葉切除などの手術を行ったが、肝不全により死亡した 70 歳男性である。残肝は390gで肝硬変の状態であり、肝不全として矛盾しない状態であった。肝切離部の右側胸腹腔内に被包化 された膿瘍形成があったが、活動性の高い炎症は認められなかった。肝機能低下に対する肝細胞癌の根治を目指したが、術後の管理に難渋した症例であった。

【症例】70歳, 男性.

主 訴:食思不振.

既往歴:十二指腸潰瘍で開腹手術 (その際に輸血?), 癒着性腸閉塞では2回手術歴がある.

生活歴: 喫煙は40歳まで100本/日,その後禁煙,飲酒歴はない,職業歴は米軍傭兵→板前,アレルギー歴としてはピリン系薬剤にて発疹. 内服薬はブロプレス,ハルナール,アリセプト,ムコサール,アボルブ,マーズレン,マグラックス,プレタール,マイスリー.

【臨床経過】

死亡1年前:労作時息切れを自覚した.

- 9 ヵ月前: 体重が 6 kg 低下したため光が丘病院を受診した. 精査で肝細胞癌が下大静脈から右房に進展していた (S8, T3N0M0) [図 1]. 心臓外科にて手術 (右房内腫瘍除去,下大静脈切除).
- 3ヵ月前:門脈塞栓術後, 肝右葉切除. 術後から胸水・腹水貯留があり, ドレナージを施行した.
- 1ヵ月前:腹腔内膿瘍が出現した. 同部からは, *E. coli*, MRSA を検出した. 補液を開始したが意識レベルが低下した. その後, 肝機能不全に陥り, 血漿交換を行ったが改善せず(図2), 肝不全により死亡した.

【検索希望事項】

肝不全の原因, 腫瘍の残存の有無.

【剖検診断】

- 1. 肝細胞癌(C型肝硬变),下大静脈内腫瘍切除後,門脈塞栓術後,肝右葉切除後,肝細胞癌(異時発生).
- 2. 右側胸腹部膿瘍.
- 3. 十二指腸潰瘍, 幽門側胃切除後.

【剖検所見】

- A. 肝細胞癌(C型肝硬変), 下大静脈内腫瘍切除後, 門脈塞栓術後, 肝右葉切除後, 肝細胞癌(異時発生)
 - 1. 既往検体: Tumor emboli in the inferior vena cava.

Moderately differentiated hepatocellular carcinoma, liver (S8, massive, $5 \times 4 \times 3$ cm, vp4, vv1, Grade 1b, pT3aNX) [\mathbb{Z} 3].

- 2. 肝細胞癌 (異時発生): 切除部周囲に癌の遺残はないが、肝実質内には S4 と思われる部位に 1 cm 程度の中分化肝細胞癌がある. そこから 5 mm 離れた漿膜面にも癌がある (図 4, 5).
- 3. 肝硬変 (C型肝炎): 肝硬変の状態で, 新犬山分類で F4, A1 に相当する. 細胆管に胆汁うっ滞が目立つ (図 4).
- B. 右側胸腹部膿瘍

切除部周囲の肝横隔面から胸腔内にかけて被包化され、泥状液を容れる膿瘍が多発する. 胸腔と腹腔膿瘍はドレーン痕で連続する. 膿瘍壁は肉芽組織、線維化壁、胆汁色素と思われる褐色物を貪食する異物巨細胞が散見される. 内腔側では、組織球の浸潤があるが、炎症細胞浸潤は目立たない. 明らかな菌塊は認められない (図 6).

C. 十二指腸潰瘍, 幽門側胃切除後

消化管は腹壁との癒着は高度である。幽門側胃切除後、Billroth I 法により再建されている。内容物は残渣様で粘膜出血はない。縫合不全はない。小腸は内容物は便様で、出血はない。

- 1. 進行肝細胞癌に対して、侵襲の大きい手術が行われたが、治療対象となった低分化肝細胞癌は残存はない。剖検時の肝細胞癌は、 肝硬変 (C型肝炎)を背景に異時発生したものである。背景肝は、肝切除と肝硬変により著明に容量を減じていた。そのほかに、 肝臓では胆汁うっ滞が目立つ。
- 2. 肝切除部周囲~胸腔面にかけて、被包化された膿瘍が多発するが、炎症細胞浸潤に乏しく、菌塊も指摘できない. 局所の感染コントロールは良好であったと思われる. 心血管内、肺内に菌塊があり、菌血症の状態ではあったが、炎症反応はほとんどない.
- 3. 死因は、肝硬変を背景とした肝切除による肝容量減少、胆汁うっ滞に伴う肝不全と考える.





図 1. 初回入院時胸腹部造影 CT. 右心房内に腫瘍塞栓 (a), 肝 S8 に塊状の腫瘍細胞がある (b).

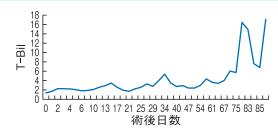


図 2. 肝右葉切除後, 血中総ビリルビン値の推移. 死亡直前に, 急激な血中ビリルビンの上昇がある

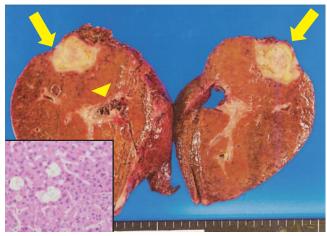


図 3. 摘出肉眼標本(1). 既往右葉割面像(固定後). 黄白色調の結節がある(矢印). 門脈塞栓術痕も確認される(矢頭). 腫瘍は中分化肝細胞癌の所見(左下囲み)である.

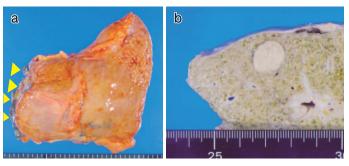


図 4. 摘出肉眼標本 (2). 剖検時肝臓 (a: 固定前) と割面像 (b: 固定後). 残肝は 390 g で, 切除面に被包化膿瘍がある (矢頭). 割面では 15 mm 大の結節がある. 背景では肝硬変と胆汁うっ滞がある.

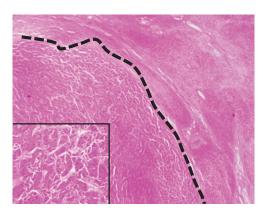


図 5. 病理組織像. 肝臓癌 (HE 染色). 点線の 左側に肝細胞癌がある. 高~中分化肝細胞癌 の所見 (左下囲み) である.



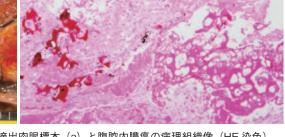


図 6. 右肺底部の膿瘍摘出肉眼標本 (a) と腹腔内膿瘍の病理組織像 (HE 染色) [b]. 被包化された膿瘍がある (矢印). 膿瘍壁は肉芽組織, 線維化壁, 胆汁色素と思われる褐色物で構成される. 菌塊および急性炎症細胞浸潤はない.

症例 No.131 肺内に多数の腫瘍性結節がみられ、著明な癌性リンパ管症をきたした左肺腺癌 の症例

剖検依頼科:呼吸器内科

【概要】左肺腺癌を指摘された74歳・女性である。化学療法を行うものの病変の進行をとめられず、呼吸不全により死亡した。剖検時、肺には多数の腫瘍性結節を認め、腫瘍の進展は縦隔脂肪組織や心外膜に及んでいた。複数のリンパ節転移や肝転移・骨転移も認めた。組織学的には中分化~低分化腺癌の所見で、原発巣はほぼ壊死に陥るものの、その周囲の腫瘍性結節は viable な細胞よりなり、化学療法の治療効果はごく軽度であった。脳転移に対しては y-ナイフを施行し、再発は認められなかった。

【症例】74歳. 女性.

主 訴:呼吸困難.

既往歴:家族性高コレステロール血症.

【臨床経過】

家族性高コレステロール血症に対し内服治療を行っていた.

死亡 18 ヵ月前:胸部 X 線像で結節影を認め精査したところ,左肺腺癌・脳転移と診断された.脳転移に γ -ナイフを施行した.死亡 17~8 ヵ月前にイレッサ,死亡 9~5 ヵ月前に CBDCA + PEM,死亡 4~2 ヵ月前にタルセバ・DOC を使用したが、病変の進行はとめられなかった

2ヵ月前: CT で両肺のすりガラス状陰影が増強し、呼吸不全が増悪した(図1). 多発肺動脈塞栓、右腓骨動脈の塞栓を認めたため抗凝固療法を行い、画像上血栓は消失した.

死亡時:徐々に呼吸状態が悪化し、死亡した、全経過1年6ヵ月.

【検索希望事項】

肺癌の状態・広がり、塞栓の有無、動脈硬化の程度.

【剖検診断】

- 1. 左上葉肺腺癌 (化学療法後), 肝転移, 骨転移.
- 2. 播種性血管内凝固症候群.
- 3. 甲状腺癌.

【剖検所見】

- A. 肺癌(化学療法後、 γ-ナイフ後)と関連所見
 - 1. 肺 (図 2~4): Adenocarcinoma, left upper lung, LU, mixed type (papillary type>acinar type), pT4: 25×20×18 mm, pl3 (心膜), G2, Lv1, V1, pm3, Ef1.

左 S1+2 領域に 2.5 cm 大の原発巣を認め、そのほかにも肺内には多数の腫瘍性結節を認める(図 2). 肺内の気管支血管束も厚みを増し、気管支や脈管に沿った腫瘍の進展を疑う(図 4). 両肺とも肺表面には複数の播種巣がみられ、内側部は縦隔脂肪組織や心膜を経由し心外膜との癒着がみられる. 心外膜にも播種巣がある. 組織学的には腫瘍は中分化~低分化型腺癌の所見である(図 3). 左 S1+2 領域の腫瘤はほぼ壊死に陥るが、その周囲の腫瘍結節は viable な細胞よりなり、化学療法の治療効果はごく軽度と考える. リンパ管内には腫瘍栓が目立ち、静脈や気管支の内部・肺胞内にも腫瘍細胞がみられる.

2. リンパ行性転移

肺門リンパ節、傍気管リンパ節、気管分岐部リンパ節、右鎖骨下リンパ節、腹大動脈リンパ節に転移がある。

3. 血行性転移

肝転移: 左葉に 10 mm 大, 右葉に 5 mm 大を最大とする複数の転移巣がある.

骨転移: L3 部に最大 1.5 cm 大の転移巣を認め、そのほか Th11、7、3、C7 や胸骨にも転移巣がある。

脳転移 (γ-ナイフ後), 再発なし:右頭頂葉皮質直下の白質に 5×3 mm 大の変性を伴う脳組織がある. 明らかな腫瘍細胞はない.

- 4. 背景肺:部分的に肺胞内に硝子膜の形成と好中球浸潤がみられる部位がある.
- B. 血栓関連所見:左肺下葉に径8mmの時間が経過した血栓があり、腎糸球体毛細血管内に多数のフィブリン血栓がある (図5).
- C. 動脈硬化関連所見:大動脈では全体的に中等度の粥状硬化を認め、大動脈弓部や総腸骨動脈分岐部付近で高度の粥状硬化がみられる.
- D. 甲状腺癌: 左葉に 5 mm 大と 3 mm 大の乳頭癌がある.

- 1. 肺癌は左 S1+2 領域の 2.5 cm 大の原発巣を主体とし、両肺内に多数の腫瘍性結節を伴っていた。とくにリンパ管内の腫瘍栓が目立ち癌性リンパ管症の状態となる。胸腔内にも多数の播種巣がみられ、縦隔の脂肪組織や心膜、心外膜にも腫瘍の進展がみられた。複数のリンパ節転移・血行性転移(骨・肝)を認めた。脳転移(γ -ナイフ後)相当部では腫瘍細胞の残存は認められなかった。原発巣と思われる 2.5 cm の腫瘤は壊死に陥っていたものの、そのほかの腫瘍性結節は viable な細胞よりなり、化学療法の治療効果はごく軽度であった。また部分的に硝子膜形成や好中球浸潤がみられ、肺胞への障害があったものと考える。
- 2. 解剖時に左肺下葉に8mm 径の血栓を認め、この血栓は線維芽細胞の増生を伴う比較的時間が経過した血栓であり、死亡2ヵ月前の多発肺動脈塞栓の残存として矛盾しない。腎では糸球体毛細血管内に多数のフィブリン血栓を認め、播種性血管内凝固症候群の所見であった。
- 3. 動脈硬化に関しては大動脈は中等度~高度の粥状硬化性変化を示した。年齢や家族性高コレステロール血症のことを鑑みると、 コントロール良好であったものと考える。
- 4. 直接死因に関しては、多発する腫瘍性結節、癌性リンパ管症、肺胞への障害を原因とする呼吸不全と、播種性血管内凝固症候群 に伴う臓器障害であると考える.

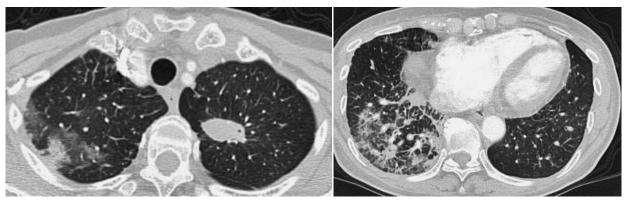


図 1. CT (最終入院時). 肺内に小結節が多発し, すりガラス状陰影がみられる.

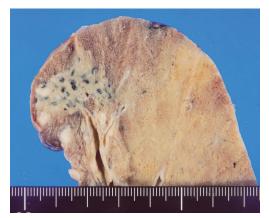


図2. 摘出肉眼標本 (1). 肺癌 (原発巣). 左 S1+2領域の2.5 cm 大腫瘤.

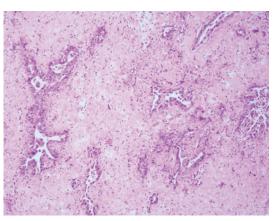


図3. 病理組織像(1). 肺腺癌(HE 染色). 乳頭状 ~小塊状を示す中分化~低分化腺癌.



図 4. 摘出肉眼標本 (2). 右肺下葉. 気管支や脈管に沿った腫瘍の進展が疑われる.

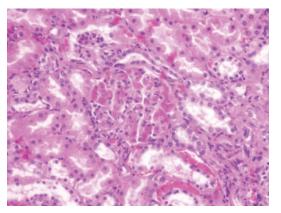


図 5. 病理組織像(2). フィブリン血栓(HE染色). 腎糸球体毛細血管内に多数のフィブリン血栓がある.

症例 No.132 後天性血友病 A の治療中に大量出血により死亡した症例

剖検依頼科:血液内科 臨床担当医:安田峻一郎, 小山高敏

【概要】後天性血友病 A に対してステロイド治療中の 84 歳・男性である。治療を開始して1週間後,急激な貧血の進行,呼吸不全,血圧低下を認め,気管内挿管,止血薬,昇圧薬,輸液負荷を行ったが反応せず死亡した。剖検時,左下背部,右大腿筋膜内,頸部,腸管に比較的大きく新鮮な血腫がみられ,直接死因は後天性血友病 A による失血死と考えた。

【症例】84歳, 男性.

主 訴:出血傾向, 貧血.

家族歴:特記すべきことはない.

既往歴:脳出血後遺症(ADL は屋内自立),高血圧,Alzheimer 型認知症,アルコール性肝障害,胃潰瘍術後(B-I 術後),糖尿症

【臨床経過】

死亡 11 ヵ月前:前医で軽度貧血 (Hb 10.1 g/dl) を指摘された.

4ヵ月前:右上腕に広範な皮下出血が出現(Hb 8.4 g/dl)したが、1ヵ月程度で徐々に改善した.

13 日前:左前腕皮下出血(Hb5.2 g/dl)を認めたため精査・治療目的で当院血液内科に入院した(図1, 2). 血液検査で APTT 延長, 第11四子活性 1%未満, 第11四子インヒビターが検出され,後天性血友病 A と診断された.

7日前:プレドニゾロン内服を開始した.

前日:左大腿部の伸展による疼痛の訴えが出現したが、視診・触診上血腫を示唆するものはみられなかった。鎮痛薬を使用し経過 観察とした。

死亡日:未明に呼吸困難が出現し、血圧は 90/50 mmHg となった。舌先が紫色に腫脹し、頸部では皮下出血や腫脹を著明に認めた。酸素 $10 \, l$ リザーバーマスクを装着した。採血で Hb 7.1 g/dl から $4.9 \, g/dl$ へと急激な貧血進行を認め、胸部 X 線像はやや肺水腫様を示した。心エコーを施行し、出血性ショックおよび急激な貧血進行に伴う左心不全が疑われた。輸液負荷および赤血球輸血、止血バイパス製剤を投与した。その後、血圧低下、徐脈(HR < 50 bpm)となり、 SpO_2 測定困難となった。意識レベルも悪化したが、頭部 CT では明らかな脳出血は認められなかった。アトロピン、昇圧薬(DOA、NOA)を投与し、気管挿管を行った。一時的に sBP $100 \, mmHg$ 程度にまでもち直したが、さらに血圧が低下した。14 時ころ突如心停止し、胸骨圧迫を試みるが蘇生せず死亡した。

【検索希望事項】

出血源, 血圧低下の原因, 直接死因.

【剖検診断】

- 1. 多発血腫.
- 2. 肝線維症.

【剖検所見】

A. 血腫と関連所見

外表では左前腕, 頸部, 左腋窩部に出血斑がある. 体内では左下背部 (25×20 cm 程度, 図3), 右大腿筋膜内 (15×5 cm 程度), 頸部 (舌根~声門上にかけての咽頭粘膜下, 舌尖~口底~甲状腺周囲までの軟組織内, 図4), 腸管 (上行結腸内腔直下に 2.5×1 cm 大, 腸管の漿膜面や腸間膜付着部に散在) に比較的大きく新鮮な血腫がみられる.

B. 肝線維症 (肝 895 g)

肝表面はやや粗造である (図 5). 組織学的には門脈-門脈, 門脈-中心静脈, 中心静脈-中心静脈間をつなぐ架橋線維化を認めるが, 偽小葉の形成にはいたらない (図 6). 部分的に細胞周囲性線維化が疑われる. 細胞内への脂肪沈着は軽度である.

- C. 糖尿病関連所見
 - 1. 腎 (左 120/右 145 g): 残存している糸球体の一部にはメサンギウム領域の拡大や細動脈壁の硝子様変性が疑われるが、変化はごく軽度である.
 - 2. 粥状硬化性変化:大動脈の粥状硬化性変化は全体的には軽度であるが、腹大動脈〜総腸骨動脈分岐部と大動脈起始部に中等度の粥状硬化がみられる.
 - 3. 膵:Langerhans 島に著変はみられない.

- 1. 全身のさまざまな場所で血腫がみられ、とくに左下背部、右大腿筋膜内、頸部、腸管では比較的大きな血腫がみられた。死亡前日の大腿部の疼痛、死亡日の呼吸困難はそれぞれ左下背部と頸部の血腫と関連しているものと考える。
- 2. 血圧低下の原因としては、多発した血腫による循環血液量減少性ショックを第一に考える. 心臓には特記すべき所見は認められず、心原性ショックは考えにくい.
- 3. 死因としては循環血液量低下による失血死と考える. 頸部の血腫による気道狭窄も疑われるが, 気管挿管を行っても救命できなかった点から窒息の可能性は否定的である.
- 4. 肝は肝線維症の状態であった. 生前よりアルコール性肝障害が指摘されており、組織学的にも軽度の脂肪沈着や線維化がみられることからアルコール性の肝線維症として合致する.
- 5. 糖尿病が指摘されており、動脈に軽度~中等度の粥状硬化性変化を認めた. 腎の変化はごく軽度であった.

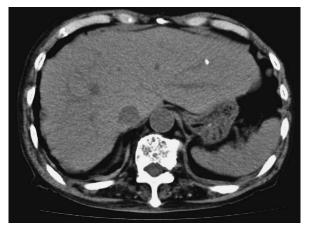


図 1. CT (入院時). 肝辺縁に凹凸がある.



図 2. 胸部 X 線像 (入院時). CTR54%, 両側 CPA: sharp.



図3. 摘出肉眼標本(1). 左下背部血腫(25×20 cm 程度)

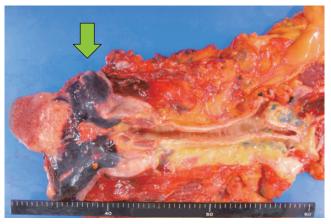


図 4. 摘出肉眼標本 (2). 頸部血腫 (矢印)

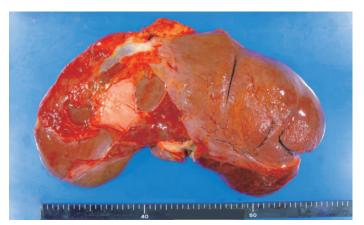


図 5. 摘出肉眼標本 (3). 肝外表. 表面はやや粗造となる.

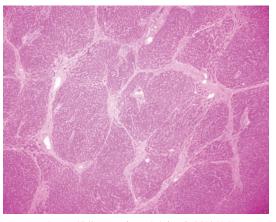


図 6. 病理組織像. 肝 (HE 染色). 架橋線維化がみられる.

症例 No.133 解離性大動脈瘤 Stanford B 型に対し保存的に治療中、瘤が破裂し死亡した症例

剖檢依賴科:循環器内科

【概要】突然の激烈な腰背部痛で発症した解離性大動脈瘤の症例である。解離は上行大動脈には及んでおらず Stanford B 型であり、 臓器障害もみられないことから降圧薬の使用で保存的に治療していた。 画像上は 3 層解離が疑われていた。 9 日後の胸部 X 線像で縦隔の拡大を認めたため緊急で造影 CT を撮影予定であったが、待機中に突然心肺停止状態となり、 CPR を施行したが死亡した。 病理解剖では大動脈弓部から 5 cm 程度遠位で解離性大動脈瘤の破裂部位が認められ、 胸腹部に多量の出血も確認されたことから、 出血性ショックで死亡したものと診断された。

【症例】49歳, 男性.

主 訴:激烈な腰背部痛. 家族歴:特記すべきことはない. 既往歴:44歳時~高血圧(無治療).

生活歴: 喫煙 20 本/日×30年, 機会飲酒なし, アレルギーなし.

【臨床経過】

入院当日:23 時ころ, 突然激烈な腰背部痛を自覚し, 1 時間ほと様子をみたが改善がないため救急を要請し, 他院に搬送される. 造影 CT で大動脈解離 Stanford B 型と診断され (図 1), 当院に転院, 入院となった. 精査の結果, 臓器障害も認めないことから降圧薬による保存的治療を行った. その後状態は安定していた.

9日後:胸部 X 線像を撮影すると縦隔の拡大を認め(図2), 緊急で造影 CT を撮影する方針となったが, 待機中に心肺停止となった. CPR を繰り返すも効果はなく, 死亡した. 全経過9日間.

【検索希望事項】

死因の確定,解離の状態.

【剖検診断】

- 1. 解離性大動脈瘤 (Stanford B型) 破裂.
- 2. 胸部出血, 腹部出血.

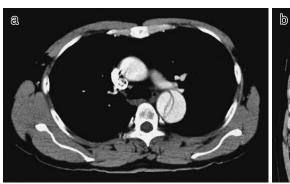
【剖検所見】

- A. 解離性大動脈瘤破裂
 - 1. 解離性大動脈瘤の状態
 - 1) 開胸時に、弓部からおよそ5cm 程度の個所に瘤の破裂部を認めた(図 3). 左右胸腔内 (1,500/700 ml) および腹腔内 (1,000 ml) に多量に血液が貯留し、また、縦隔~肺門部、後腹膜、腸間膜にも血液の流入がみられた。解離の最中枢側は左鎖骨下動脈直下で(図 4)、末梢側へは左右外腸骨動脈まで及ぶ Stanford B型であった。主要な動脈の中では左腎動脈へも解離は及んでいた。そのほか、左右鎖骨下動脈、腕頭動脈や腹腔動脈、上下腸間膜動脈、右腎動脈へは解離は及んでいなかった。 Entry は鎖骨下動脈から 3cm 程度遠位に確認された。 肉眼的には偽腔内の血栓は左鎖骨下動脈直下にわずかに認めるのみで、そのほかの部位では偽腔がほぼ開存している状態であった。
 - 2) 組織学的には偽腔は中膜が断裂して形成されており、わずかに器質化する血栓が付着するのみで開存していた。また、肉眼的には確認できなかったが、組織学的には一部で中膜が2層断裂することで、偽腔が2腔存在する部位が確認された(図5)、瘤の破裂部周辺では中膜より外側からなる壁の層構造が消失し、徐々に肉芽様組織に置換されながら菲薄化する像が認められた。背景の大動脈壁には内膜の線維性肥厚や粥腫の形成を軽度認めるものの、Marfan 症候群にみられるような囊胞性中膜壊死など、病的な動脈の変性像は認められなかった。
 - 2. 関連する所見

脾臓 (95 g) は虚脱脾の状態であった。また肝臓が貧血調であり、腎臓 (165/150 g) には近位尿細管の変性/壊死像を認めた。 B. その他の所見

心臓 (430 g) は心尖部〜後壁にかけて広範な破損がみられた (図 6). 割面では明らかな梗塞は認められなかった. 冠動脈には前下行枝に 50% 程度, 回旋枝に 60% 程度, 右冠動脈に 70% 程度の狭窄を認めた. 左右心耳に血栓はない. 大動脈弁にわずかに下垂があった. 心囊水は淡血性で少量であった. 組織学的には破損部を含めて虚血性変化および炎症細胞浸潤などを認めなかった.

- 1. Stanford B型の解離性大動脈瘤が破裂し、出血性ショックにより死亡した症例である。Stanford B型は比較的予後良好であり、保存的治療で行われることが多いが、その中でも本例のように偽腔が開存するケースでは、血栓により閉塞する場合より破裂のリスクがやや高いことが知られており、本例もそれを示す結果となった。
- 2. また本例は中膜が2層断裂することで偽腔が2腔存在するという特徴的な像が認められた. 画像上では胸部下行大動脈に広範囲にわたり偽腔が2腔認められたが、組織学的に確認できたのは1切片のみであった点において、画像所見と病理所見に相違があるが、この相違がどうして生じたかははっきりしなかった.
- 3. なお、心臓の破損は、心囊水中血液がごく少量な点や、破損部に壁の脆弱性をきたしうる病態を示す所見が得られないことから、 心停止後の心肺蘇生処置による破損と判断された.



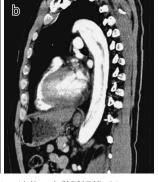


図 1. 入院時造影 CT (a:水平断, b:矢状断). 弓部より遠位に大動脈解離があり, 胸部では解離腔が 2 腔あるようにみえる.



図 2. 急変直前の胸部 X 線像. 縦隔 陰影の強い拡大を認める.

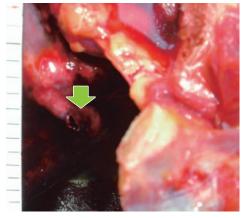


図3. 摘出肉眼標本(1). 解剖時縦隔, 開胸後. 弓部より5cm程度の個所に破裂部(緑矢印)を認める.

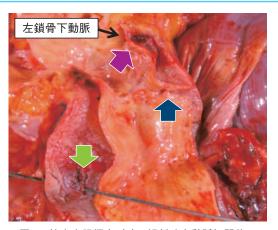


図 4. 摘出肉眼標本 (2). 解剖時大動脈切開後の 状態. 解離の最上部 (紫矢印) は左鎖骨下動脈 直下であり、Stanford B 型に相当する. 3 cm 下 方に entry (青矢印), さらに 2 cm 下方に瘤の破 裂部 (緑矢印) がみられる.

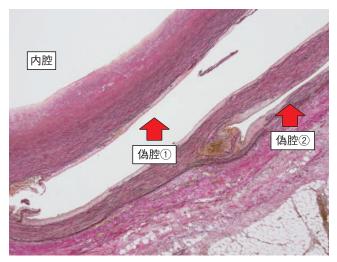


図 5. 病理組織像. 大動脈解離部 (EVG 染色, 20倍). 中膜が 2層断裂し, 偽腔を2腔形成している (赤矢印).

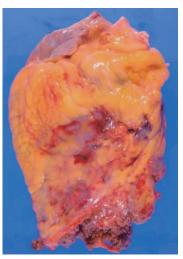


図 6. 摘出肉眼標本 (3). 心臓. 心尖部~後壁にかけて広範な 損傷があり, 蘇生処置による ものと思われる.

症例 No.134 急性骨髄性白血病に対する臍帯血移植後,血栓性微小血管障害(TMA)を 併発した症例

剖検依頼科:血液内科

【概要】急性骨髄性白血病に対する臍帯血移植後,血栓性微小血管障害(TMA)を併発した1例である.移植後から遷延していたコントロール不良の感染症により多臓器不全を起こし死亡した. TMA は,移植や感染,膠原病や薬剤などさまざまな原因で起こりうるもので,微小血管に血管内皮障害をきたし,血管壁の硝子様変性を伴う肥厚からなる微小血管障害をきたし,虚血性臓器障害を呈する疾患である.腎臓のみならず肝臓や腸管などのGVHD標的臓器を標的とし,臨床症状も類似していることから,それらを的確に鑑別することが重要である.本例は,破砕赤血球の出現を認めてから約1週間後に死亡しており,組織学的な変化はやや弱いものの,TMAに合致する所見が得られた症例であった.

【症例】50歳. 男性.

主 訴:咽頭痛,発熱および倦怠感. 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 15 本/日 10 年間, 飲酒 (機会飲酒).

【臨床経過】

移植5ヵ月前:咽頭痛と倦怠感, 微熱が出現した. 頸部・腋窩・鼠径リンパ節の腫大と消退があった. 翌月より歯茎の疼痛が出現 した. 38℃ の高熱を認めたため, 当院内科を受診した. 急性白血病の診断で, 緊急入院となる.

4ヵ月前: 寛解導入療法, 地固め療法2コース施行後, 寛解を維持していたが, 中枢神経浸潤を認めたため, 髄注+全脳照射で治療した. また FLT3-ITD 変異がみられたため, 第一寛解期での移植を行う方針となる.

6週間前:第1回臍帯血移植を施行した. 白血球は100/µl未満が持続し、生着徴候はみられなかった. カンジダ菌血症を併発していたが、2回目の移植前処置を開始するまで全身状態は保たれていた.

移植時:2回目の臍帯血移植を施行した.

3日後:38℃ 台の発熱と体重増加,浮腫,皮膚に紅斑を認め,生着前症候群が疑われる.

13日後:口腔粘膜からの出血および右頰部と頸部の腫脹を認めた。血液培養・口腔内の膿培養より、P. aeruginosa を検出した。 CRP が 33.7 mg/d/まで上昇した。広域抗菌薬を十分に使用していたが、感染症は悪化していた。同時期より末梢血に破砕赤血球(図 3)が出現し、LDH と T-Bil の上昇と併せて、TMA の合併が疑われた。

15 日後:急激な肝酵素上昇と腎機能障害の進行を認めた(図2). 感染症のコントロール不良の状態が続く.

21日後:生着の徴候は認められず、多臓器不全により循環動態の維持が困難となる.心房細動が出現し始め、それに伴い血圧が低下し死亡した.

【検索希望事項】

急性骨髄性白血病の状態について、敗血症の広がり、血栓性微小血管障害について、

【剖検診断】

- 1. 急性骨髓単球性白血病 (臍帯血移植後).
- 2. 血栓性微小血管障害.
- 3. 敗血症.

【剖検所見】

- A. 急性骨髓単球性白血病 (臍帯血移植後)
 - 1. 既往標本 (移植 5 ヵ月前):高 N/C 比の中型の芽球様細胞の増殖からなる急性白血病の所見である. MPO (+) であり, 急性骨髄単球性白血病 (M4) の診断であった.
 - 2. 剖検時所見:脂肪髄で、細胞成分がほとんど認められない著明な低形成性骨髄である. 腫瘍細胞の遺残はない.
 - 3. ヘモクロマトーシス:脾臓・肝臓にヘモジデリンの沈着が目立つ. 輸血後の変化をみているものと考える.
 - 4. 関連所見
 - 1) 肝中心帯壊死:割面はまだらな斑状の出血を伴う. 組織学的に、小葉中心性に肝細胞の変性・脱落が目立つ. 一部の中心静脈には閉塞を認め、肝静脈閉塞症 (VOD) が示唆される.
 - 2) 微小出血

肺:割面で 5~15 mm 大までの出血斑を認める. 肺胞構造はおおむね保たれており, 腔内に赤血球が充満する.

皮膚:全身茶褐色調,表皮は容易に剝離する状態である.組織学的に,真皮には深部まで小血管周囲主体に赤血球の遊出が目立つ.移植後3日後の皮膚生検材料(図4)にみられるような表皮基底層の液状変性や表皮へのリンパ球浸潤,satellite cell necrosis 像は目立たない.

心臓:割面で、広範に微小な点状出血を認める、心筋細胞に著変はなく、内膜直下の心筋細胞は保たれる、

- B. 血栓性微小血管障害
 - 一部の糸球体極部に血栓形成や、小葉間動脈末梢に内皮下浮腫の存在が疑われる(図5.6).
- C. 敗血症
 - 1. 頰部蜂窩織炎:口腔、咽頭、食道に粘膜上皮の著明な壊死を伴う、Grocott 陽性真菌 (+)、Gram 陽性球菌 (+)、
 - 2. 両側性肺炎:両側ともに重量を増す. 肺胞内には軽度の単核球浸潤とマクロファージの浸潤を認める.

- 1. 組織学的に、一部の糸球体極部に血栓形成や細動脈の内皮細胞の腫大がごくわずかにみられる. 小葉間動脈末梢には内皮下浮腫の存在が疑われ、TMA として矛盾しない所見である.
- 2. 移植に関連する変化として、肝臓に VOD を示唆する所見、肺や皮膚、心臓・心外膜に微小出血を認めた.
- 3. TMA および出血傾向の亢進に伴う全身性の微小出血および敗血症に伴う多臓器不全により循環動態の悪化をきたし死亡したと考える.

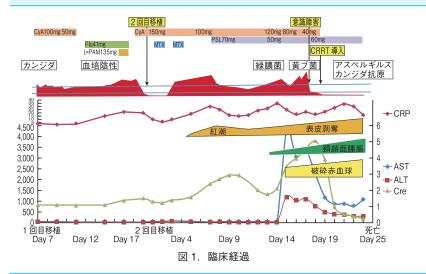




図2. 単純 CT (移植 15 日後). 肝酵素の急激な 上昇を認めるが、画像上、肝胆道系に明らかな 異常はない.

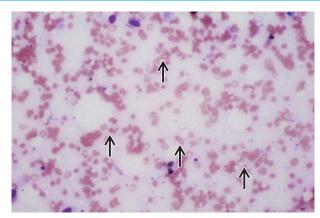


図3. 病理細胞像. 破砕赤血球 (スメア標本). 不整形~多 角形を呈する赤血球が多くみられる (矢印).

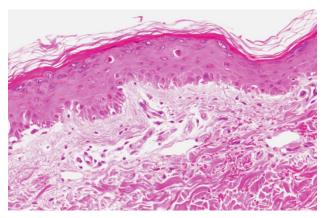


図 4. 病理組織像 (1). 2回目移植7日後の皮膚生検 (HE 染色). 表皮基底層の液状変性や表皮へのリンパ球浸潤, satellite cell necrosis 像がみられ, 急性 GVHD として矛盾しない.

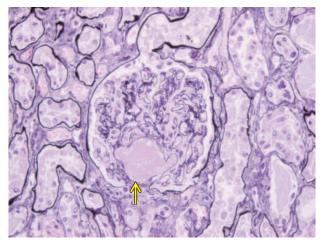


図 5. 病理組織像 (2). 腎臓 (PAM 染色). 一部の糸球体極 部には血栓形成 (矢印) がみられる.

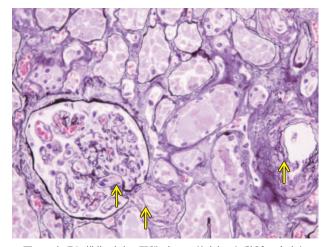


図 6. 病理組織像 (3). 腎臓 (PAM 染色). 細動脈の内皮細胞の腫大がごくわずかにみられる. 一部の小葉動脈末梢には内皮下浮腫 (矢印) の存在が疑われる.

症例 No.135 胎児側の臍帯狭窄を呈した在胎 19 週死産胎児の症例

剖検依頼科:周産女性科 臨床担当医:郡 悠介

【概要】在胎 19 週目に子宮内死亡した胎児である。臍帯は胎児側で狭窄しており、同部では Wharton's jelly の減少と線維化があった。この病変は死産例でもよくみられる所見で、これが血流低下、死産の原因となるかについての結論は出ていない。外表所見からは、両耳介低位がみられた。臓器組織所見では、肺では発達の遅れがあるものの、そのほかの臓器は週数相当の発達を示していた。明らかな大奇形は指摘できなかった。

【症例】母 29歳

家族歴:姉は不妊症(詳細不明), 姪・甥は先天性甲状腺機能低下症, 父は慢性腎不全(透析).

既往歴:5~6歳時左足骨折,上腕骨折,高プロラクチン血症(カバサール内服妊娠後中止). 輸血歴:なし.

生活歴:飲酒なし、喫煙なし.

常用薬:カバサール (妊娠後中止), アレルギー:ハウスダスト.

月経歴: 初経13歳,周期:31日(整),期間5日間,量は多量,凝血塊なし.経時障害は下腹部痛,腰痛があり,最終月経は妊娠

直前.

結婚歷: 結婚25歳, 夫(現在)30歳.

【臨床経過】

母親 (29歳) が不妊治療 (原因不明) により、人工受精 8 回目で妊娠成立. 15 週目まで健診上異常を認めなかった. 母体も異常はない.

19週3日:-2SD の発育不良により母体入院, 臍帯動脈の血流低下がある.

19週6日:午前にはエコーで血流を確認できたが、午後には血流が認められず、子宮内胎児死亡との診断であった.

20週2日:陣痛促進にて娩出. 臨床側より, 母親の自己抗体, 胎盤の染色体検査を提出されている.

【検索希望事項】

大奇形の有無.

【剖検診断】

1. 胎児側臍帯狭窄.

【剖検所見】

1. 胎児側臍帯狭窄(図1)

臍帯は27 cm で巻絡はない. 胎児臍帯付着部の1 cm の部位から,約1 cm にわたって臍帯の狭窄がある. 同部位ではWharton's jelly が減少し,間質の線維化,臍帯表層細胞の軽度腫大がみられる(図2). そのほかの部位では,臍帯の線維化と臍帯表層細胞の腫大は目立たない. 臍帯は1静脈2動脈で,明らかな血栓や閉塞はない.炎症細胞浸潤はほとんどない.

2. 外表所見

頭殿長 16 cm, 赤色調, 両耳介の低位があり (図 3), 閉眼, 鼻腔開存, 手足指は 5 本ずつある. 男児.

3. 臓器所見

心臓では明らかな心奇形は指摘できない. 肺は在胎 15~20 週の所見である. 消化器系ではヘルニアはない. 回腸は在胎 20 週程度の所見で. 腹水はほとんどない. 肝臓は軟化が目立つが. 在胎 20 週程度の所見で. 膵臓も在胎 20 週程度の所見である.

腎臓は2個あり,在胎20週程度の所見である. 副腎も在胎20週程度の所見. 陰茎と精囊様組織がある. 肋骨は左右12本ずつあり,脊椎も保たれている. 脾臓内に造血組織がある. 脳は軟化が目立ち,自壊が著しい. 皮質と思われる部位では, glia 細胞様の円形細胞が脳表側に密に配列する部位と,内部で疎に配列する部位があり,2層構造を形成する. 神経細胞は同定できない.

4. 胎盤

明らかな異常所見はない.

- 1. 臍帯は胎児側で狭窄しており、同部では Wharton's jelly の減少と線維化があった。明らかな血栓および血管閉塞は認められなかった。この病変は死産例でもよくみられる所見で、これが血流低下、死産の原因となるかについては、controversial である(Human Placental Pathology、p419-420)。本例においては、同部での臍帯の変化が強くみられることから、生前の臍帯血流低下に伴う変化と考えられる。
- 2. 外表所見からは、臍帯の狭窄、両耳介低位がみられた. 臓器組織所見では、肺では発達の遅れがあるものの、そのほかの臓器は 週数相当の発達を示していた. 明らかな大奇形は指摘できなかった.

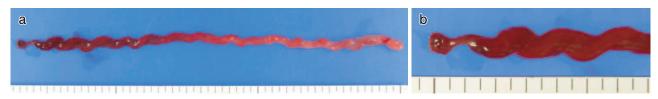


図 1. 肉眼標本 (1). 臍帯 (a:全長, b:狭窄部拡大. 固定前). 左端が胎児面であるが, 1 cm にわたり狭窄する. 胎児側では赤色調を呈する.

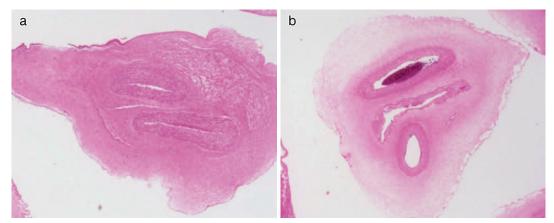


図 2. 病理組織像. 臍帯割面(a:狭窄部, b:母体側白色部)[HE 染色]. 狭窄部では白色部と比較して, Wharton's jelly が減少し, 間質の線維化, 臍帯表層細胞の軽度腫大がみられる.

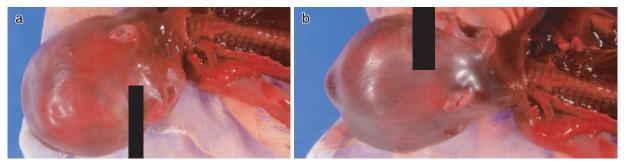


図 3. 肉眼標本 (2). 頭部像 (a:左耳介, b:右耳介). 両眼の位置と比較して, 両耳介がやや低位である.

症例 No.136 脳梗塞にて入院中, 肺炎・びまん性肺胞傷害を併発し死亡した大動脈解離術後・ 長期人工透析患者の症例

剖検依頼科:神経内科

【概要】慢性糸球体腎炎で15年前に人工透析を導入し、同年 Stanford A 型の大動脈解離に対し上行大動脈置換術を施行した。4ヵ月前には右透析腎癌に対して右腎摘出術を施行した。術後経過は良好であったが、右中大脳動脈領域の広範な脳梗塞を繰り返し、感染性肺炎を併発した。その後びまん性肺胞傷害に陥り、全身状態の悪化により透析コントロール不能となり死亡した。上行大動脈には血栓を容れた仮性瘤(内膜側の破綻を伴った解離)があり、同部の血栓が塞栓子となった可能性があるが、発作性心房細動の既往歴からは心原性脳梗塞の可能性もありうる。

【症例】70歳, 男性.

主 訴:透析終了時の左半身麻痺.

家族歴:脳卒中(父),悪性腫瘍および遺伝性疾患はない.

既往歷:高血圧症,発作性心房細動,C型慢性肝炎,慢性糸球体腎炎,大動脈解離(Stanford A型,上行大動脈置換術後:15年

前), 左下肢血栓塞栓症, 大腿動脈-大腿動脈バイパス手術, 右透析腎癌.

生活歴: 飲酒歴はビール 500 m/×4 本/日、喫煙歴あり (5 本/日、55 年)、アレルギーはない、輸血歴は不明である。

【臨床経過】

入院 4 ヵ月前:右腎透析腎癌に対し右腎を摘出した.その1週間後,突然の意識混濁により当院に救急搬送された.左上肢筋力低下もみられ,MRI で急性期右中大脳動脈前枝領域梗塞と診断された(図 1a).

3ヵ月前:脳梗塞に対し抗凝固療法施行,経過良好で1ヵ月後に退院した.

入院時:透析終了時に左半身麻痺,意識障害が出現し,当院に救急搬送され,CT,MRIにより右中大脳動脈領域の広範な脳梗塞と診断された(図1b).

2日後:インフルエンザA型を発症し、呼吸困難が出現した。右上肺野、左中肺野を中心に浸潤影を認め(図2)、喀痰培養にて Corynebacterium が検出され、細菌性肺炎と診断、その後抗生物質により治療を行ったが呼吸状態は改善せず、炎症反応高 値が持続した

2週後:全身状態が悪化し、透析コントロール不能な状態となり、死亡した.

【給壶差望重項

直接死因(肺炎, ARDS [急性呼吸促進症候群], 血栓塞栓が他臓器の梗塞を起こしているか), 脳梗塞(心内血栓の有無, 頸動脈・大動脈解離の状態について), 心不全の有無(心房細動による変化).

【剖検診断】

- 1. 両側気管支肺炎+びまん性肺胞傷害.
- 2. 脳梗塞 (右中大脳動脈領域).
- 3. 大動脈解離症 (Stanford A型/De Bakey I型), 上行大動脈置換術後.
- 4. 長期透析に伴う後天性嚢胞腎, 右腎癌術後 (再発なし).
- 5. C型慢性肝炎.

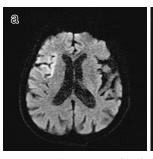
【剖検所見】

1. 両側気管支肺炎+びまん性肺胞障害(左 435/右 535 g)

右肺上葉を主体に巣状の気管支肺炎を散在性に認める。そのほかの部位にはびまん性肺胞傷害滲出期~器質化期に相当する腔内の滲出、硝子膜形成、および器質化を広範に認める(図 3).

- 2. 脳梗塞 (右中大脳動脈領域) (1,310 g)
 - 1) 右大脳半球:右中大脳動脈領域に、一部に出血を伴った広範な梗塞がある.組織学的には脳実質の融解壊死、泡沫状マクロファージの浸潤、神経細胞の脱落・変性からなり、グリオーシスは目立たない(図4).
 - 2) 脳幹・脊髄: 右大脳脚中~内側,右延髄錐体,頸髄~腰髄左側索にはマクロファージの浸潤,軽度の軸索腫大が観察される. 頸髄左側索には spheroid body がある.
 - 3) 血管の変化:右内頸動脈~右中大脳動脈には軽度の粥状硬化がある.血栓は確認されない.
- 3. 大動脈解離(Stanford A型/De Bakey I型),上行大動脈置換術後
 - 1) 上行大動脈置換術後の状態:大動脈弁上5cmの位置から3.5cmにわたり人工血管にて置換されている.
 - 2) 大動脈解離の広がり:人工血管のすぐ末梢から、大動脈全長に、大動脈左側を中心とした偽腔の形成がある(図 5). 弓部主要分岐では、右腕頭動脈〜右総頸動脈および左総頸動脈に解離が及ぶ、解離による右総頸動脈の狭窄・閉塞はない、腹腔動脈、上腸間膜動脈、下腸間膜動脈、右腎動脈には解離はない、大動脈末梢では左内外腸骨動脈起始部に解離がある。人工血管のすぐ中枢側の上行大動脈にも、内膜面の破綻を伴い仮性瘤化した解離腔が確認される。大動脈弓部下壁〜前壁(人工血管のすぐ末梢側)にエントリー(径 1.5 cm)がある。また、腹腔動脈の起始部、第 1~4 左腰動脈起始部が偽腔と交通する(リエントリー).
- 4. 長期透析に伴う後天性嚢胞腎, 右腎癌術後 (転移・再発なし).
- 5. C型慢性肝炎:架橋線維化を伴った慢性肝炎.炎症細胞浸潤・肝細胞の壊死反応は軽度である.
- 6. 脳以外の臓器に梗塞巣はない.

- 1. 肺には左右とも散在性の気管支肺炎とびまん性肺胞傷害が観察された。これらに伴った呼吸不全および全身状態の悪化を機に透析コントロール不能な状態に陥り、死にいたったものとして矛盾しない。
- 2. 右中大脳動脈領域には広範な脳梗塞を認めた. 組織学的に梗塞巣は比較的新鮮なものであり, 主に2度目の梗塞により形成されたものと考える. 1度目の脳梗塞巣と考えられるような陳旧性の変化はみられなかった. 右大脳脚〜右錐体〜脊髄左側索には脳梗塞に伴った軸索変性がある. 剖検時には右内頸動脈〜右中大脳動脈に明らかな血栓は確認されなかった.
- 3. また, 15 年前に Stanford A 型の大動脈解離の既往があり、上行大動脈置換術が施行されている。解離腔は大動脈のほぼ全長に及び、右総頸動脈にも解離が波及しているが、総頸動脈~内頸動脈に狭窄・閉塞は認められなかった。人工血管より中枢の上行大動脈には血栓を容れた仮性瘤(内膜側の破綻を伴った解離)がみられるが、同部の血栓が脳梗塞の塞栓子となった可能性がある。また、発作性心房細動の既往からは心原性梗塞が疑われるが、剖検時に心腔内血栓は認められなかった。
- 4. 長期にわたり人工透析が導入されており、左腎は多発性嚢胞腎の状態であった. 右腎は癌により摘出されている (再発なし).



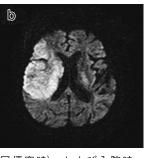


図 1. 入院 4ヵ月前 (a:初回梗塞時), および入院時 (b:2回目の梗塞時) の脳 MRI. いずれも右中大脳動脈 領域に広範な脳梗塞を認める.

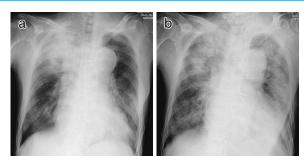


図 2. 入院 2 日後 (a), および入院 10 日後 (b) の胸部 X 線像. 入院 2 日後に右上肺野・左中肺野を中心とした浸潤影が出現する. その後, 浸潤影の拡大を認めた.

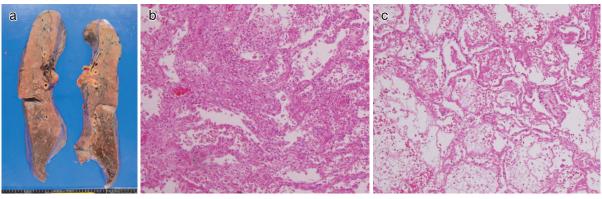


図3. 摘出肉眼標本 (1) [a], 病理組織像 (1) [b, c]. 両肺. 右肺上葉を主体に巣状の強い好中球浸潤が散在し, 気管支肺炎に相当 (b: HE 染色). そのほかの部位では腔内の滲出, 硝子膜形成, 器質化が広い範囲に認められ, びまん性肺胞傷害滲出期~器質化期に相当する (c: HE 染色. 滲出・硝子膜形成の目立つ部位).

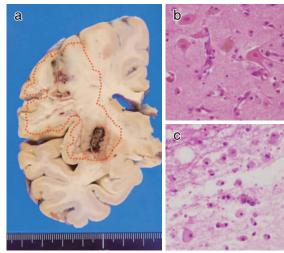


図 4. 摘出肉眼標本 (2), 病理組織像 (2). 右大脳半球. 梗塞の範囲は中大脳動脈領域に一致している (a: 梗塞巣を赤点線で囲む). 梗塞巣には神経細胞の消失・脱落 (b: HE 染色), 泡沫状マクロファージの浸潤 (c: HE 染色) が認められるが, グリア細胞の増生はみられず, 比較的新鮮な梗塞巣といえる.

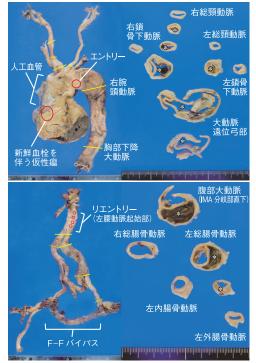


図 5. 大動脈およびその主要分岐. 割面(右)では、解離腔を*で示す. 解離は大動脈全長に及び、主要分岐では左右総頸動脈、左外腸骨動脈に及んでいる. 右総頸動脈に明らかな閉塞や血栓形成は認められない.

症例 No.137 発熱, 血便, 意識障害を伴い比較的急速に全身状態が悪化し死亡した症例

剖検依頼科:内科(光が丘病院)

【概要】発熱・血便・意識障害などのエピソードを伴い、入院後比較的急速に全身状態が悪化して死亡した79歳・男性の剖検例である。 剖検では肝細胞癌、僧帽弁逸脱症・腱索断裂、動脈硬化性病変と腎・脳の虚血性変化、宿便性潰瘍の所見が得られた。 直接死因につながる決定的な所見は見出せなかったが、複数の要因が複合的に絡み合った結果死亡したものと考えられた。

【症例】79歳, 男性.

主 訴:前胸部打撲.

既往歴: 虫垂炎 (手術後), 高脂血症, 糖尿病 (治療なし), 全身浮腫 (1年前から). HBV 抗原 (-), HCV 抗体 (-).

生活歴: アルコール (3ヵ月前までウィスキーコップ1杯. ビール 500 m/). 喫煙 (+) [39年前に禁煙].

【臨床経過】

死亡4週間前:階段で転倒し,歩行困難,嘔気,嘔吐のため外来を受診した.頭部 CT では異常はなく,経過観察の方針になった. フォロー中に食欲不振や低 Na 血症を認め治療を行った.

死亡 10 日前:転倒し前胸部を打撲し入院した. 入院時検査で僧帽弁逸脱症, 腱索断裂, 肝 S2 部腫瘤が指摘された (図 1, 2). 血液検査では白血球数 9,200/µl, CRP2.78 mg/dl, BNP236 pg/ml を示した.

8日前:肺炎(誤嚥性肺炎疑い),発熱が起こった.抗菌薬を投与したが反応は乏しかった.

5日前:血便が出現した.

4日前~死亡当日:意識障害が出現(JCS3→3 桁)し、腎障害が進行した。頭部 CT は異常はなかった。その後全身状態が悪化し死亡した。

【検索希望事項】意識障害の原因, 血便の原因, 僧帽弁逸脱症の状態.

【剖検診断】

- 1. 肝細胞癌.
- 2. 僧帽弁逸脱症, 腱索断裂.
- 3. 動脈硬化性病変と関連所見 (腎の虚血性変化, 脳梗塞).
- 4. 宿便性潰瘍.

【剖検所見】

A. 肝細胞癌 (図3)

St-L: 4.8 cm, 単純結節型, hepatocellular carcinoma: mod, eg, fc (+), fc-inf (+), sf (+), s0, im (+), vp0, vv0, va0. b0.

S2~3 領域に 4.8 cm 大の淡緑色~黒褐色調の中分化型肝細胞癌を認める. S1 領域には 1.8 cm, S8 領域には 1.3 cm の範囲に中分化型肝細胞癌の結節が密集し、肝内転移巣と考える、リンパ節転移はない、他臓器への転移や腹腔内への播種もみられない。

B. 僧帽弁逸脱症, 腱索断裂

僧帽弁後尖の一部が心房側に逸脱し、先が丸みを帯びた腱索が1本みられる(図4)、背景肝に巣状の好中球浸潤がある、線維 化は目立たない、

- C. 動脈硬化性病変および関連所見
 - 1. 全身の動脈硬化性変化:大動脈では全体的に中等度~高度の粥状硬化を示す部位が広がる.
 - 2 関連する所見
 - 1) 腎の虚血性変化: 左腎動脈では 95 % 程度の内腔狭窄がみられ, 左腎下極に 55×45 mm 大の虚血性変化を認める (図 5a).
 - 2) 脳梗塞(ラクナ梗塞): 大脳動脈輪では最大 50% までの内腔狭窄がみられ、左右の大脳基底核や橋に最大径 5 mm 大までの 小さな梗塞巣が多発する(図 5b). 海馬には 4 mm 大の比較的新鮮な梗塞巣がある. 背景の脳・脊髄や硬膜・頭蓋骨内面に 著変はない.
- D. 宿便性潰瘍:粘膜面は下行結腸~直腸にかけてややうっ血調を示す(図 6). 腸管内容物は非血性. 直腸に Ul-Ⅱ 相当の潰瘍がある.
- E. その他

血液培養で Corynebacterium sp, Staphylococcus aureus 以外の Staphylococcus sp, Stenotrophomonas maltophilia が検出される.

【病理所見まとめ】

- 1. 意識障害: 臨床的に意識障害の原因として, 脳梗塞, 硬膜外出血, 細菌性髄膜炎, 癌性髄膜炎, 肝性脳症, 尿毒症があげられていた. 脳梗塞巣はいずれも小さく, 意識障害を引き起こすほどのものではなく, 硬膜や頭蓋骨内面に血腫はみられなかった. そのほかの疾患も積極的に意識障害の原因とする根拠に欠けた.
- 2. 血便関連:直腸に潰瘍がみられ、潰瘍からの出血が疑われる.
- 3. 僧帽弁逸脱症の状態:僧帽弁後尖の一部は心房側に逸脱し、僧帽弁逸脱症の所見に合致する. 僧帽弁では先が丸みを帯びた細い腱索が1本みられ、エコーでみられた腱索断裂の所見と合致する.
- 4. その他

肝腫瘤は 4.8 cm 大, 単結節性の肝細胞癌であった. 肝内転移巣を認めたが, 他臓器への転移や播種はみられなかった. 感染症 関連では臨床経過では発熱のエピソードがあり, 生前の痰培養で黄色ブドウ球菌, 剖検時の血液培養で3種の菌が検出された. 組織では肝で巣状の好中球浸潤がみられた.

糖尿病が指摘されており、剖検所見では全身に高度の動脈硬化性変化がみられた。腎での糖尿病性変化は目立たなかった。 腎障害の進行に関しては、両側の腎動脈の狭窄により血流が悪化し機能低下していたところに、虚血性変化が加わったものと 考える.

直接死因に関しては心機能低下、腎障害の進行、感染症など複数の要因が複合的に関与したと考える.



図 1. 腹部単純 CT (入院時). 肝 S2~3 に結節がある.

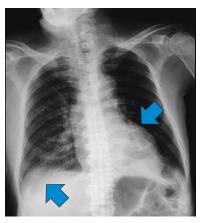


図2. 胸部 X 線像 (入院時). 心拡 大があり, 右下肺野に軽度の浸潤 影がある.

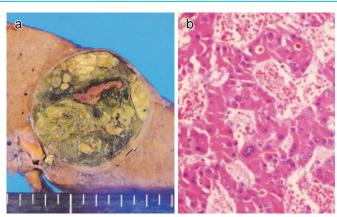


図3. 摘出肉眼標本 (1), 病理組織像 (1). 肝細胞癌. a: 4.8cm大の結節がある. b: 不規則な索状構造がある (HE 染色).

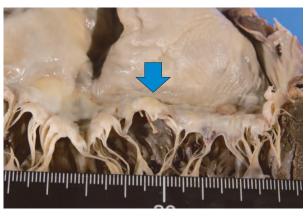


図 4. 摘出肉眼標本 (2). 僧帽弁逸脱症. 心臓:先の丸い 腱索がみられる (青矢印).

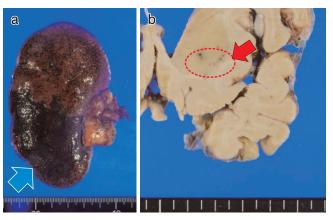


図 5. 摘出肉眼標本(3). 梗塞巣. a:腎梗塞(青矢印), b:脳梗塞(赤矢印).

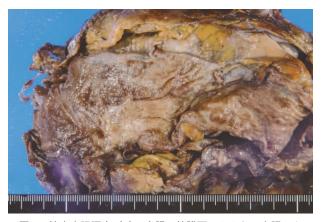


図 6. 摘出肉眼標本 (4). 直腸. 粘膜面はややうっ血調である.

症例 No.138 術後再発した肝癌の急速な浸潤増殖, 他臓器転移 (播種) に伴う全身状態悪化の 結果、循環不全をきたし死亡した症例

剖検依頼科:肝胆膵外科

【概要】健康診断で肝腫瘍を指摘されたが精査を行っていなかった. 1年4ヵ月後、肝細胞癌破裂の診断のもと肝中央2区域切除を施行した. 手術4ヵ月後、肝切離面に6cm大の再発巣を認めた. 腫瘍による肝門部 Glisson 鞘圧迫により肝機能が低下していたため、経皮経肝胆管ドレナージ (PTCD)、胆道内瘻化を施行した. 以降、対症療法を行ったが全身状態が悪化し死亡した. 剖検では再発肝癌の周囲臓器浸潤および他臓器転移を認め、さらに癌の発育・増殖により腎・脾が圧排されうっ血状態にあった. 癌の急速な増殖により致命的な循環不全に陥り死にいたったと考えられた.

【症例】62歳、男性.

主 訴:突然の腹痛.

家族歴:悪性腫瘍および遺伝性疾患はない. 既往歴:高尿酸血症(アロシトール内服).

生活歴: 飲酒歴はビール 500 ml×4 本/日, 喫煙歴はあり (20 本/日×3 年間, 40 年前に禁煙), アレルギーはなし, ウイルス感染なし (梅毒, TP 定性, HCV 抗体, HBV 抗原, HIV-1, 2 抗体, ほか Prion など).

【臨床経過】

2年2ヵ月前:健康診断の超音波検査で肝腫瘍(4cm大)を指摘されたが精査せず、そのまま放置した.

死亡10ヵ月前:突然の腹痛で救急搬送され、肝細胞癌破裂と診断された.血行動態が安定していたため保存的治療の方針となったが、精査・治療目的のために当科に転院した(第3病日).

9ヵ月前: 肝中央2区域切除および胆嚢摘出術施行(図1).

8ヵ月前:右肝動脈尾状葉枝・右下横隔動脈の分枝の仮性瘤に対しスポンゼル塞栓、コイル塞栓術を施行した.

6ヵ月前:右季肋部痛と倦怠感を自覚した.

5 ヵ月前: WBC 22,900 μ/l (異常高値), 肝切離面に再発巣 (7.7×10.2 cm 大) が認められた, 癌による肝門部 Glisson 鞘圧迫により 肝機能が低下していたため、 PTCD、 胆道内瘻化を施行し、 以降、 対症療法の方針となった (図 2).

34 日前:経口摂取困難にて緊急入院.

死亡当日:全身状態が悪化し死亡した(全経過2年2ヵ月).

【検索希望事項】直接死因、再発肝癌の広がり・再発肝癌の病理学的診断、白血球増多、感染のフォーカス、

【剖検診断】

- 1. 肝未分化癌術後再発.
- 2. 右側気管支肺炎.

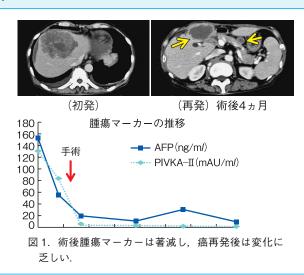
【剖検所見】

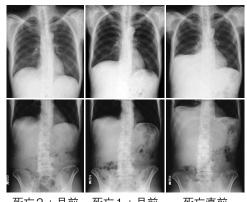
- A. 未分化癌術後再発
 - 1. 原発巣
 - 1) 中央2区域の初発の癌は、肉腫様成分と中分化~低分化の腺癌ないし肝細胞癌の像を示した(図3). 再発した癌は右下腹部に小児頭大(15×12 cm)の腫瘤を形成し、季肋部・腹壁・横隔膜と強固に癒着する(図4). 肝右葉を中心とした14×20×10 cm 大、塊状の腫瘍で、腫瘍の割面は白色~灰白色調を呈する. 充実性で、中心部には融解壊死巣を認める. 右第3肋間に相当する部分の胸壁に腫瘤(2.5 cm 大)がある. 組織学的に再発癌には、初発の癌にみられた肉腫様像を認める.
 - 2) 十二指腸, 結腸, 膵臓, 腹膜への癌浸潤が認められる (図 5). 右胸壁と右腹側胸膜に播種がある (図 6b). 傍大動脈リンパ 節転移がみられ, 背景には好中球浸潤が目立つ. 背景肝に肝硬変や線維化はない. 胆管癌の所見はない.
- B. 右気管支肺炎 (左肺 290/右肺 380 g)

胸水は左 120, 右 1,100 ml, 胸腔内血液量 350 ml. 気管内粘膜に軽度の浮腫を認める. 右上葉下方腹側に硬化巣 (4.5 cm 大)を認める. 灰白色調の胸膜肥厚がある. 組織学的に右肺上葉下方には, 気管支肺炎を認める (図 6c). 左肺組織より腸内常在菌が検出される (Enterobacter cloacae < 1 +).

- C. その他の所見
 - 1. 心臓:心囊水少量、心囊内に癌浸潤や露出は認められない、左室外膜側にみられるびまん性点状出血は心臓マッサージによる変化と考えられる、肺動脈内に血球成分を混じたフィブリン凝集塊がある。
 - 2. 癌の進展のみられた結腸肝彎部近傍~横行結腸の腸壁は線維性肥厚を示し、組織学的には、固有筋層の断裂を伴って全層にわたる癌浸潤を認める. 粘膜固有層は癌に占拠され、結腸粘膜上皮は消失している.
 - 3. 脾臓:重量の増加が著明である (230 g). 組織学的には、脾柱の疎開と脾洞の増生があり、門脈圧の上昇が示唆される.

- 1. 切除された肝中央 2 区域にみられた病変は、組織学的には、胎児型成分および肉腫様成分を伴う未分化癌と診断される。 術後 5 ヵ月で肝切離面にほぼ同様の組織像を呈する癌の再発を認めた。 癌は肝臓を広く占拠しており、腫瘍栓も目立つ。 再発した癌は、周囲臓器(十二指腸、横行結腸、膵臓、腹膜)へ直接浸潤する。 右胸壁と右腹側胸膜に癌の播種を認める。背景肝に機能低下を示唆する所見は認められない。
- 2. 肺実質内に癌は認められない. 剖検時に採取した左肺組織からの大腸菌検出は, 腸管への癌浸潤に関係しており, 腸管粘膜上皮にいたる癌浸潤が感染のフォーカスと考えられる.
- 3. 右上葉下方腹側に気管支肺炎像が認められるが、限局的な炎症性変化であり、呼吸不全は考えにくい. また、心臓に機能異常や感染、敗血症の所見はなく、心肺機能は保たれていたと考えられる.
- 4. 再発した癌の急速な発育増殖により、腎・脾は圧排されうっ血状態にあった. 以上から死因は、再発した未分化癌の急速な浸潤増殖および他臓器転移(播種)に起因した循環不全と考える.





死亡2ヵ月前 死亡1ヵ月前 死亡直前 図2. 胸部・腹部 X 線像にみられた癌の急速 な増大. 横隔膜位の変化が目立つ.



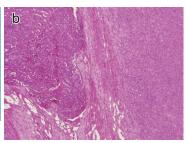


図3. 手術標本 (a), 病理組織像 (1) [b]. 初発の癌 (割面でみられる星状2個). 肉腫様成分と腺癌ないし肝細胞癌が認められた (HE 染色) [b].

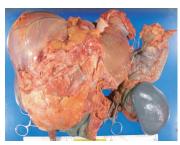
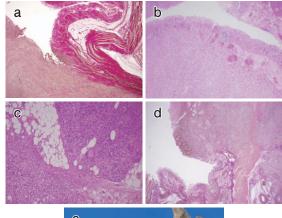


図 4. 摘出肉眼標本 (1). 右下腹部に小児頭大の腫瘤 (15x12cm)を認め,季肋部・腹壁・横隔膜との強固な癒着がみられる.



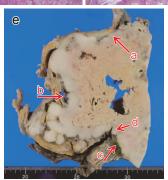


図 5. 病理組織像 (2). a:腹膜 (EVG染色), b:横 行結腸 (HE染色), c:膵臓 (HE染色), d:十二指 腸 (EVG染色), 肉眼標本 (e). 十二指腸, 結腸の 漿膜面からほぼ全層に広がる癌浸潤, および膵臓実 質内, 腹膜への癌浸潤を認める.

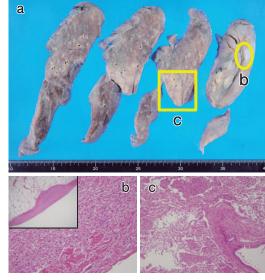


図 6. 摘出肉眼標本 (2) [a], 病理組織像 (3) [b, c: HE 染色]. b:右肺腹側胸膜に認めた癌の播種像. c:右肺上葉下方, 気管支肺炎を認める.

症例 No.139 難治性ネフローゼ症候群の治療中に、原因不明の出血傾向による出血性ショックで死亡した症例

剖検依頼科:腎臓内科 担当医:渡邊誠之

【概要】膜性腎症に伴う難治性ネフローゼ症候群の治療中に、消化管出血を契機に出血制御が困難となり、血管内塞栓や結腸切除が施されたが、出血制御不良で死亡した68歳・男性の症例である。後腹膜に巨大な血腫が形成されており、これが最終的な死因に直結したと考えられる。二次性膜性腎症と特定しうる腫瘍性病変は指摘できない。年余にわたるネフローゼ症候群の状態およびステロイド治療による小血管の破綻と修復遅延が、結腸穿孔、後腹膜出血をきたしたと考えられる。

【症例】60代. 男性.

主 訴:下腿浮腫,腎機能悪化.

家族歴:父は脳出血. 家族内に腎疾患はない.

既往歴: 虫垂炎 (手術あり), 高血圧症.

生活歴: 喫煙は10 本×10 年間で現在禁煙, 飲酒は機会飲酒である. 内服薬は, プロテカジン, アルファロール, コメリアン, ミカルディス, アモバン, ラシックス, フルイトラン, 柴苓湯, ブレディニン, リピトール, アムロジピン, プレドニゾロン

【臨床経過】

死亡2年前:検診で尿蛋白陽性をはじめて指摘された. 浮腫が増悪し、腎生検(他院)で早期膜性腎症の診断となった. プレドニゾロン (PSL) 45 mg で治療を開始されたが、不完全寛解であった. その後も、シクロスポリン (CyA) 導入、LDL 吸着療法によっても、ネフローゼ症候群の改善はなかった.

2ヵ月前:当院腎臓内科を受診した. 精査・治療目的で入院となった. 当院生検(左腎)においても膜性腎症との診断で,ステロイド治療を強化した. 二次性膜性腎症を疑い,全身精査したところ,膵臓の膵管内乳頭状腫瘍(IPMN)と大腸ポリープを指摘された.

17日前:大腸ポリープを EMR (図1) したが、その翌日に下血が出現し、その後出血性ショックをきたした (図1, 2). ICU に入院したが、出血の制御不良にて血管内塞栓術を施行した。

7日前:塞栓した領域の腸壊死により、結腸切除を行った、血性腹水あり、その後も出血は制御不良であり、死亡した、

【検索希望事項】

二次性膜性腎症の可能性について、出血傾向の原因、膵腫瘍の組織学的な検討.

【剖検診断】

- 1. 後腹膜大量血腫.
- 2. 難治性膜性腎症.
- 3. 大腸ポリープ切除後、結腸切除後.
- 4. 甲状腺乳頭癌.
- 5. 膵臓 intradectal papillary mucinous neoplasm (IPMN).

【剖検所見】

A. 後腹膜大量血腫

開腹時,淡血性腹水が少量あった. 右後腹膜を中心に, 肝臓横隔膜面~鼠径部まで充満する巨大血腫 (血液量 1,600 m/ 以上)があり, 腹腔内に著明に膨隆する (図 3). 肝臓, 右副腎, 右腎臓, 右尿管, 膀胱, 直腸などが血腫に巻き込まれる. 出血源は特定困難であったが, 右腸腰筋の凝固壊死, 血腫付着が目立つ.

B. 難治性膜性腎症

既往検体(死亡2ヵ月前)では、stage2(一部 stage3)の膜性腎症の所見であった(図 4). 剖検時も、糸球体では係蹄壁の肥厚、spike の形成がみられ、stage2~3 の膜性腎症の所見であった、糸球体、尿細管はよく残存する.

C. 大腸ポリープ切除後, 結腸切除後

既往検体(死亡17日前)では、大腸 sessile serrated adenoma の所見であった。横行結腸切除後(図5)で、切除端部で双孔式ストマが造設される。回腸と下部結腸の暗赤色調部では、粘膜内出血と腺管の脱落が目立つ。直腸直下には、後腹膜からの出血が及ぶ、封入体、アメーバはない。

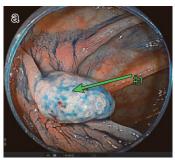
D. 甲状腺乳頭癌

甲状腺右葉に 0.8mm 大の乳頭癌がある (ラテント癌). 明らかな脈管侵襲はない.

E. 膵臓 intradectal papillary mucinous neoplasm (IPMN)

膵頭部主膵管部に、20mm 大の IPMN があるが、癌とするほどの異型は認められない(図 6、adenoma 相当). 周囲の腺房組織、Langerhans 島はよく保たれている. 膵周囲リンパ節に転移はない.

- 1. 後腹膜に巨大な血腫が形成されており、これが最終的な死因に直結したと考えられる。出血源については特定が困難であった。 一般的に、後腹膜出血の診断自体困難なうえ、破綻血管の同定はさらに困難である(日消外会誌 39:358-362)。後腹膜出血の原因としては、鈍的腹部外傷が最多であるが、そのほかに動脈瘤破裂、後腹膜腫瘍、血液疾患、抗凝固療法、血液透析、医原性などがあげられる。しかし剖検所見からは病態の特定は困難である。
- 2. 生前の結腸切除検体を見返すと、炎症細胞の乏しい幼弱な肉芽組織が目立った. これは年余にわたるネフローゼ症候群の存在, ステロイド投与に伴う生体修復反応の低下による影響が推測される. 小血管の破綻と修復遅延が出血の遷延をきたし, 生前の結腸穿孔, 後腹膜出血をきたしたと考えられる.
- 3. 膜性腎症は生検時と同様の所見であった. 本例では、腫瘍性病変としては、極小の甲状腺乳頭癌、膵臓 IPMN (良性) があったが、両者が二次性膜性腎症の原因となったとする報告は見当たらない、膜性腎症に関しても原因は不明である.



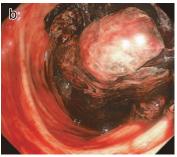


図 1. 大腸内視鏡像. 大腸 EMR 時の大腸腫瘍(a:死亡 17 日前)と, EMR 後の大腸重積の所見(b:死亡 15 日前). 上記の大腸腫瘍を EMR 後, その部位の血腫を先端とする重積がみられた.



図 2. 大腸 EMR 後の腹部 CT. 血性腹水が充満する(赤色 矢印)

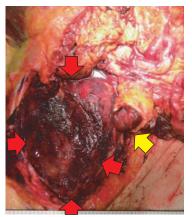
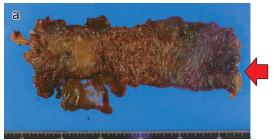


図3. 剖検時の開腹所見. 肝下部 ~右鼠径部にわたる後腹膜血腫 の形成があり(赤矢印), 双孔 式ストマがある(黄色矢印).



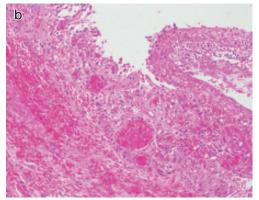
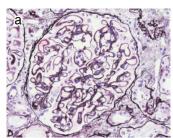


図 5. 摘出肉眼標本 (1), 病理組織像 (1). 既往結 腸切除検体 (a: 固定前, b: HE 染色). 出血をき たした潰瘍があり (赤矢印), 組織像では幼弱な 肉芽組織が目立つ.



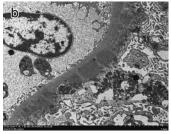
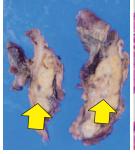


図 4. 病理組織像(2). 既往腎生検検体(a:PAM 染色),電子顕微鏡像(b). 腎基底膜上皮下に spike 形成が目立つ. 電子顕微鏡では,electron dense depositの取り込み像がある. 膜性腎症 stage2~3の所見である.



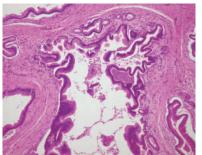


図 6. 摘出肉眼標本(2) [a:固定後], 病理組織像(3) [b: HE 染色]. 膵臓 IPMN 主膵管の拡張, 粘液充満がある(黄色 矢印). 組織像では IPMN の異型は目立たず, 腺腫相当である.

症例 No.140 2 度の人工血管置換術を施行後,移植人工血管を主体とした感染症により 死亡した症例

剖検依頼科:心臓血管外科

【概要】 交通多発外傷により大動脈解離を発症した62歳・女性の1例である.大動脈解離に対して1回目の人工血管置換術を施行し全身状態は一時改善したが,発熱の持続がみられ人工血管感染を疑い再度入院となった.2回目の人工血管置換術を施行したが依然感染の制御は困難であり,全身状態が徐々に悪化し死亡した. 剖検による検討では,人工血管および血管周囲に著明な感染所見が認められた.また肺,下部消化管にも感染所見がみられ,これらの病態の複合により死亡したと考えられた.

【症例】62歳,女性.

主 訴:発熱.

家族歴;母は高血圧.

既往歴:特記すべきことはない.

生活歴: 喫煙歴はなし、飲酒歴はホットワイン少量.

【臨床経過】

死亡1年4ヵ月前:交通多発外傷により当院救急外来へ搬送される. 多発骨折, 脳出血, 大動脈解離を認めた. 弓部大動脈人工血管置換術を施行した.

1年3ヵ月前:全身に掻痒感を伴う紅斑が出現し、皮膚生検で薬疹と診断されステロイドパルス療法を施行した.

1年1ヵ月前:全身状態は改善し、リハビリテーション目的に他院へ転院した。

7ヵ月前:38℃ の発熱が持続するようになり当院外来を受診した. CT で人工血管周囲に気泡と液体の貯留を認め (図1), 人工血管感染の疑いで同日入院し,以後抗生物質により治療した.

4ヵ月前:血液培養により多剤耐性緑膿菌が検出され、発熱が持続する.

3ヵ月前:感染人工血管を抜去した. 再人工血管置換術を施行し, 術後に抗生物質投与を持続したが感染は制御困難であった(図2)

1週間前:乏尿が出現した.透析は行わず経過観察とした.

死亡当日:血圧が低下し、アシドーシスが進行し、午前10時に死亡を確認した.

【検索希望事項】感染症の状態(人工血管,人工血管周囲,および消化管など).

【剖検診断】

- 1. 外傷性大動脈解離, 人工血管移植後.
- 2. 人工血管感染, 化膿性腹膜炎.
- 3. 器質化肺炎, 高度線維性胸膜炎.
- 4. 虚血性大腸炎.

【剖検所見】

- A. 外傷性大動脈解離, 人工血管移植後
 - 1. 既往検体: aortic dissection, compatible with traumatic.
 - 2. 剖検所見:腹部大動脈から左総腸骨動脈にかけて広く動脈中膜に解離が認められ(図3,4),解離腔には血腫成分が貯留する. 胸部大動脈盲端にも解離の痕跡がある.
- B. 人工血管感染. 化膿性腹膜炎
 - 1. 人工血管 [弓部大動脈人工置換術 (第1回手術), 人工血管再置換術など (第2回手術後)]: 人工血管と腹部大動脈のバイパス部内腔側, 人工血管弓部周囲, 人工血管下行部, 人工血管および右鎖骨下動脈との吻合部付近において, 好中球, フィブリン, 壊死組織からなる感染性疣贅を認める. 大動脈弁近傍の大動脈と人工血管の吻合部には細菌性疣贅が付着する (図5).
 - 2. 心臓 (一塊摘出のため重量未計測):心臓周囲に手術により充塡された大網との高度の癒着がある. 心囊と心外膜の空間には 褐色の汚い物質が充満し、化膿性炎症の所見を呈する. 心外膜のごく一部に急性炎症がある.
 - 3. 腹腔臓器はそれぞれ腹膜と高度に癒着し、慢性化膿性腹膜炎の所見を呈する. 腹水は 3,800 ml, 黄褐色.
 - 4. 培養:人工血管, 大動脈盲端, 胸腔などから Pseudomonas aeruginosa が検出された.
- C. 器質化肺炎, 高度線維性胸膜炎

肺(一塊摘出のため重量未計測):胸膜、心囊との癒着が高度で剝離困難であった。左肺は小さく硬化を伴う。右肺ではうっ血が目立つ。胸膜には線維組織の増生や単核球主体の炎症細胞浸潤からなる時間の経過した炎症像がみられ、炎症は小葉間隔壁を介して肺実質へと波及する。一方で小葉中心性の炎症もみられ、胸膜炎および気管支肺胞性肺炎の併存した状態である。

D. 虚血性大腸炎

S 状結腸より 50 cm 長にわたって粘膜が色調不良で、びらん・出血を伴う、粘膜表面には壊死物が付着し、腺管は構築を保ったまま組織が脱落する (図 6). 漿膜側には肉芽組織やフィブリンの付着を伴う慢性漿膜炎がある.

【病理所見まとめ】

200

- 1. 人工血管内腔および周囲には、Gram 陰性桿菌の存在を伴う細菌性疣贅など高度の化膿性炎症所見が認められた。生前に多剤耐性の緑膿菌が検出されており、剖検時の血液培養でも緑膿菌が同定されたことにより、本菌が感染の主体であったと考えられる。
- 2. 人工血管,心臓,肺,および腹腔臓器と,胸膜,腹膜および充填された大網などの組織は相互に著明な癒着を示しており,術操作による影響が加わっていたと推測される.肺には巣状の器質化肺炎および胸膜炎の波及,下部消化管粘膜には虚血性腸炎の所見がそれぞれみられ,これらの病態も患者の状態悪化に関与したと考えられる.

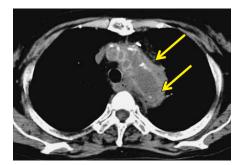


図 1. 死亡 7ヵ月前の胸部 CT. 人工血管 周囲に軟部影を認める (矢印).



図 2. 死亡 3 週間前の胸部 CT. 軟部影の 増大を認める.

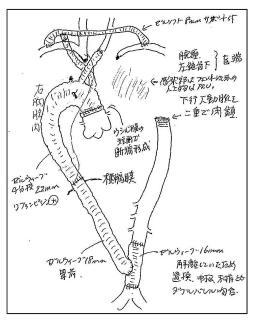


図3.2回目の人工血管置換術の模式図

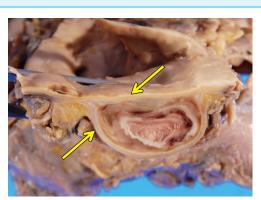


図 4. 摘出肉眼標本 (1). 腹部大動脈. 動脈中膜に解離が認められる (矢印).



図 5. 病理組織像(1). 腹部大動脈(EVG染色). 動脈中膜は解離し, 偽腔の形成を伴う(矢印).

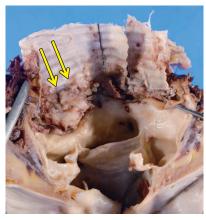


図 6. 摘出肉眼標本 (2). 大動脈弁 近傍の大動脈と人工血管の吻合部. 疣贅の付着を認める (矢印).

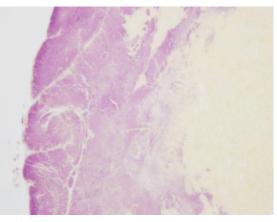


図7. 病理組織像(2). 図6で提示した疣贅の組織像(Gram染色). 疣贅には紫色調の細菌が多量に付着する.

症例 No.141 高齢で発症し全経過 1 年で死亡した進行性球麻痺型筋萎縮性側索硬化症の症例

剖検依頼科:神経内科

【概要】高齢で進行性球麻痺型筋萎縮性側索硬化症(ALS)を発症し、全経過1年で死亡した1例である。進行性球麻痺型ALSは上肢・下肢の機能低下よりも球症状が先行し、早い経過をたどることが多い。本例では、剖検時所見で大脳前頭側頭葉の萎縮および、頸髄主体に前索萎縮による脊柱管前方の volume loss を認めたが、進行性球麻痺型のような早い経過をたどる症例では組織学的な変化が弱いことも少なくない。本例では、Cystatin-C 染色での Bunina 小体検索、TDP や p62 免疫染色による封入体の検索、CD68 染色での脂肪顆粒細胞検索を行うことにより、診断と病変の分布をより正確に評価することができた1例であった。

【症例】81歳. 男性.

主 訴: 嚥下障害, 構音障害. 家族歴: 特記すべきことはない.

既往歷:発作性心房細動.

生活歷:独居.

【臨床経過】

死亡11ヵ月前:飲み込みづらさを感じ始め、食事でむせることが多くなった.

8ヵ月前:構音障害や食べるのが遅いことに別居の家族が気がついていた.

2 ヵ月前:食事摂取ができなくなり、食事摂取が3日ほど続いたところで歩行できず、寝たきりとなった.他院に救急搬送され、 経静脈栄養に続いて経胃管栄養を開始した.

3週間前:精査目的に当院神経内科に転院した. 頭部 MRI で前頭葉および側頭葉に萎縮を認めた (図 1). 球症状, 脳神経症状があり, 頸髄, 胸髄, 腰髄のいずれの領域においても筋電図で下位運動ニューロン障害を認めた. 頸髄・腰髄領域では深部 腱反射亢進を認め, 上位運動ニューロン障害が認められた. また慢性的な換気障害 (図 2) が認められたことにより, 進 行性球麻痺型筋萎縮性側索硬化症 (PBP: progressive bulbar palsy) と考えられた. また入院時より PSA の高値を認め, 前立腺癌が疑われたが生検は施行しなかった.

1週間前:痰が増え、 SpO_2 の低下を認め、酸素 21 を持続投与、酸素を調節しながら SpO_2 を 90% 台で維持していたが、本人と家族との相談で気管挿管は行わない方針となる.

死亡当日:徐々に SpO_2 が低下し、それに伴い血圧も徐々に低下し、家族の立会のもと、死亡を確認した。

【検索希望事項】

筋萎縮性側索硬化症の評価, 前立腺癌の評価, 副病変の有無.

【剖検診断】

- 1. 筋萎縮性側索硬化症.
- 2. 両側性器質化肺炎および誤嚥性肺炎.
- 3. 前立腺癌 (転移なし).

【剖検所見】

- A. 筋萎縮性側索硬化症
 - 1. 脳 (1,210g): 前頭側頭葉に中等度の萎縮がある. 大脳は割面では皮質の厚みは保たれており, 皮髄境界は明瞭である. 組織学的に、大脳皮質表層には海綿状変化を認める.
 - 2. 脊髄: 肉眼的に、頸髄主体に脊髄中心管前部の萎縮がみられる. 頸髄 C3, C4 では前索萎縮による脊柱管前方の volume loss が目立つ (図3). また頸髄~胸髄では、脊髄前根の萎縮がみられる (図4). 組織学的に、Kluver-Barrera 染色により前索~ 側索に染色性の低下を認める (図3). 免疫染色により CD68 陽性の脂肪顆粒細胞が目立ち、神経細胞には Cystatin-C 染色により Bunina 小体を認める (図5). 前核の細胞脱落は軽度であるが、前角細胞に TDP43 陽性細胞 (図6) を認める. 後索は保たれる.
 - 3. 筋肉:肋間筋、横隔膜、喉頭筋などで、ごく軽度の萎縮がみられる程度で、いずれの筋肉にも群生萎縮は明らかではない。
- B. 両側性器質化肺炎および誤嚥性肺炎

肺は 685/820 g と左右ともに重量は増加している. 器質化を伴う比較的時間の経過した肺炎像を認める. 一部に異物と異物巨細胞を認め, 誤嚥性肺炎として矛盾しない. また放線菌塊と膿瘍形成を少量認める.

C. 前立腺癌

割面では大小種々の結節形成と境界不明瞭な黄白色調の腫瘍の形成を認める。組織学的に、小型の腫瘍腺管が増殖する adenocarcinoma の所見 (rt/lt-PZ, adenocarcinoma, Gleason 3+4, EPE1, v1, ly0, pn1). 前立腺結節性過形成の合併を伴う.

- 1. 大脳では前頭側頭葉の萎縮を認め、脊髄では頸髄主体に、脊髄中心管前方部の萎縮が著明であり、筋萎縮性側索硬化症(ALS)に合致する肉眼所見を得た.
- 2. ALS の症例では、Cystatin-C 染色による Bunina 小体の検索が有用である。神経細胞内に認められる Bunina 小体(1~2 μm の 顆粒状構造物)は ALS に特異的である。また TDP43 に陽性を示す異常蛋白の存在も ALS の診断の補助となる。
- 3. 進行性球麻痺型 ALS は、経過が早く、とくに神経細胞の脱落の程度や、神経原性変化を伴う筋肉は組織学的な変化が弱いことがあるが、Cystatin-C 染色による Bunina 小体の検索や、TDP43 染色による異常蛋白の検索を行うことにより診断は比較的容易である。

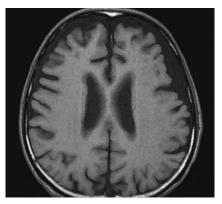


図 1. MRI (T1W1 強調像). 前頭葉および側頭葉に萎縮を認める.



図2. 入院時の胸部単純 X 線像. 左肺野の透過性の低下を認め, 肺炎が疑われる.

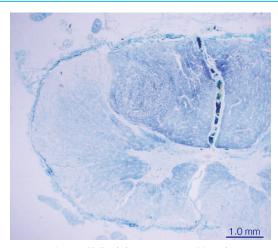


図 3. 病理組織像 (1). 頸髄 C3の割面 (Kluver-Barrera 染色). 前索萎縮による脊柱管前方の volume loss が目立つ (図中下方). 側索にも萎縮を認めるが, 後索は保たれる.

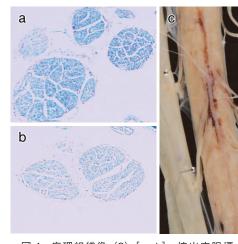


図 4. 病理組織像 (2) [a, b], 摘出肉眼標本 (1) [c]. a:後根, b:前根 (Kluver-Barrera 染色), c:脊髄 (ホルマリン固定後). 頸髄~胸髄に脊髄前根 (黄色矢印) に萎縮がみられるが,後根 (赤矢印) は保たれる.

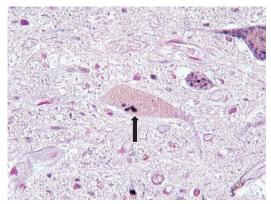


図 5. 病理組織像 (3). Bunina 小体 (Cystatin-C 染色). 脊髄前角細胞内にみられる $1\sim2~\mu$ m の 顆粒状構造物 (矢印). ALS に特異的な構造物である.

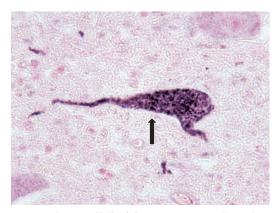


図 6. 病 理 組 織 像 (4). ユ ビ キ チ ン 化 蛋 白 (TDP43 染色). 脊髄前角および運動野の神経細胞が TDP43 陽性を示す (矢印).

水越 てるみ 博士 (医学) Terumi Mizukoshi

学位記番号 / 乙第 1758 号 学位授与 / 平成 26 年 4 月 16 日

学位論文

Failure in activation of the canonical NF-κB pathway by human T-cell leukemia virus type1 Tax in non-hematopoietic cell lines

(ヒトT細胞白血病ウイルス Tax は非リンパ系細胞株で転写因子 NF-κB の典型的経路を活性化しない)

Virology 第 443 巻第 2 号 226-235 頁 平成 25 年 9 月発表

論文審査委員/主査:神奈木 真理 副査:北嶋 繁孝 副査:山岡 昇司

〈論文要旨〉

ヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)は成人T細胞白血病(ATL)の原因ウイルスである。HTLV-1の Tax タンパク (Tax1) は宿主細胞の転写因子の活性化を通して ATL 発症に関与している。Tax1 が標的とする宿主細胞遺伝子には,抗原提示細胞上の膜糖タンパク質 gp34(OX40 リガンド・OX40L)がある。Tax1 は gp34 遺伝子プロモーターの NF-NB 結合(gpgB)サイトを通じて転写を誘導する。本研究では Tax1 による gpgB サイトとイムノグロブリン遺伝子 NF-NB 結合(IgIB)サイトの Tax1 による活性化の違いを解析した。血球系細胞では gpgB サイトと IgIB サイトは共に Tax1 により活性化された。非血球系細胞では IgIB サイトは Tax1 により活性化されたものの,gpgB サイトは活性化されなかった。非血球系細胞では RelA 強制発現による gpgB サイトの活性化が見られた。また,非血球系細胞でも NF-NB 典型的経路(canonical pathway)の RelA,p50 と非典型的経路(non-canonical pathway)の RelB はすべて発現していたが,Tax1 による RelA の核移行は認められなかった。さらに Tax1 により,RelB と p52 の IgIB サイトへの結合は見られたが,gpgB サイトへの結合は検出されなかった。以上の結果は,HTLV-1 Tax1 による NF-NB の活性 化には細胞特異性があることと,gp34 サイトが NF-NB 典型的経路と非典型的経路を区別する可能性を示唆している.

寺崎 宏明 博士(医学) Hiroaki Terasaki

学位記番号 / 乙第 1759 号 学位授与 / 平成 26 年 6 月 18 日

学位論文

A quantitative method for evaluating local perfusion using indocyanine green fluorescence imaging (ICG 蛍光測定法を用いた局所灌流の定量的評価法)

Annals of Vascular Surgery 第 27 巻第 8 号 1154-1161 頁 平成 25 年 11 月発表

論文審査委員/主査:下門 顕太郎 副査:岡﨑 睦 副査:大橋 勇

〈論文要旨〉

Indocyanine Green(ICG)は血中に投与されると直ちにタンパクと結合し蛍光を発する。さらに血管内にとどまり胆汁内に排泄されることが知られている。この蛍光は近赤外線であり人体を容易に通過するために体外からの観察が可能である。この性質を利用して局所の微小循環を定量的に評価する方法を考案し臨床応用した。励起光の光源と蛍光を感知するカメラが一体となった装置 PDE(Photodynamic Eye:HAMAMATSU Photonics K.K.)を用いてコンピューター上に蛍光を記録,一定の範囲での輝度をプロットし解析した。まず ICG の至適濃度を決定するために,採取した血液に濃度を変えた ICG を混合し,それぞれの輝度を測定プロットし,その値から検査に用いる濃度を 0.1 mg/kg と決定した。足部虚血を評価するために,足背の広範囲で輝度が上昇開始点から最大値の 1/2 に達した時間を 1/2 と規定した。中央値は Fontaine II 度:23sec(中央値)、III 度:41sec(中央値)と有意差を認めた。経皮酸素分圧検査(transcutaneous oxygen pressure:1/20 のプロブと同じ部位の輝度の上昇開始 1/21 の移るの値を 1/22 の元の指標である 1/23 の1/24 に対し ROC curve を用いてカットオフ値 1/28 が得られ、感度 1/260 にない、特異度 1/28 であった。

ICG 蛍光法を用いて局所の組織血流の定量的な評価が可能であった.

渡邊 さつき 博士 (医学) Satsuki Watanabe

学位記番号 / 甲第 2036 号 学位授与 / 平成 26 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) /全人的医療開発学系専攻(心療・緩和医療学分野)

学位論文

Aroma helps to preserve information processing resources of the brain in healthy subjects but not in temporal lobe epilepsy

(香りは健常脳の情報処理資源を効率化させるが、側頭葉でんかんではその効果が発現しない)

Seizure 第 22 巻第 1 号 59-63 頁 平成 25 年 1 月発表

論文審査委員/主査:西川 徹 副査:寺田 純雄 副査:杉内 友理子

〈論文要旨

香りが健常者の脳に影響を及ぼすことがこれまでに報告されている。本研究では、イランイランアロマオイルの香りが側頭葉てんかん患者および健常者の脳機能に与える影響を、事象関連電位 P300 を用いて比較検討した。対象は側頭葉てんかん患者群 14 人、健常者群 14 人である。P300 頂点潜時は香りにより両群で延長した。これは、イランイランアロマの沈静作用による情報処理速度の低下を反映していると考えた。P300 頂点振幅は、健常者群でパフォーマンスを悪化させることなく低下したが、側頭葉てんかん群ではこの変化がみられなかった。健常者群で香りにより脳の情報処理資源が保護された一方で、患者群では側頭葉における高次嗅覚情報処理過程が障害されているために香りの効果が現れなかったと考えた。

市川 理子博士(医学) Ayako Ichikawa

学位記番号 / 甲第 2037 号 学位授与 / 平成 26 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(血液内科学分野)

学位論文

Methotrexate/iatrogenic lymphoproliferative disorders in rheumatoid arthritis: histology, Epstein-Barr virus, and clonality are important predictors of disease progression and regression

(関節リウマチ患者における Methotrexate 関連,医原性リンパ増殖性疾患)

European Journal of Haematology 第91巻第1号20-28頁 平成25年7月発表

論文審査委員/主査:北川 昌伸 副査:神奈木 真理 副査:東田 修二

〈論文要旨〉

関節リウマチの患者はリンパ増殖性疾患を合併することが知られている。免疫抑制剤,特に Methotrexate(MTX)による免疫抑制と Epstein-Barr(EB)ウィルスの再活性化が大きな要因と考えられており,免疫抑制剤の中止のみでリンパ増殖性疾患が自然消退する例も報告されている。しかし,どのような症例が自然消退するのか,その予後,病理組織像など明らかになっていない。そこで,われわれは,102 例の関節リウマチ患者に発症したリンパ増殖性疾患(RA-LPD)の病理組織像,臨床像,予後を調査した。また EB ウィルス感染の有無,PCR 法による immunoglobulin heavy chain(IGH)の Clonality の有無,免疫抑制剤の使用状況を調べ,予後,自然消退の有無,再発の有無を比較した。102 例の RA-LPD の組織像は Diffuse large B-cell type 53 例,Hodgkin lymphoma 9 例,Polymorphic B-cell LPD 20 例,Reactive lymphadenitis 11 例,Peripheral T-cell lymphoma 4 例,Composite lymphoma 2 例,Follicular lymphoma 3 例であり,EB ウィルスは 60% で陽性であった。MTX を使用していた 47 例では 28 例(59%)で MTX の中止のみで自然消退がみられ,自然消退の頻度は EBV 陽性の症例,DLBCL 以外の組織型で有意に高かった。74 症例で PCR 法により IGH の Clonality を検索し、31 例で Monoclonal band がみられた.化学療法を施行した DLBCL において,IGH の clonality がみられた症例では有意に Disease free survival が短かった.

RA-LPD では、年齢 70 歳以上、組織型が DLBCL である症例で有意に Over all survival が短かった.

組織像, EBV 感染の有無, IGH の Clonality の有無が RA-LPD において,予後予測に有用であると考えられた.

增淵 達夫 博士(医学) Tatsuo Masubuchi

学位記番号 / 甲第 2038 号 学位授与 / 平成 26 年 3 月 31 日

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

学位論文

Clinicopathological significance of androgen receptor, HER2,Ki-67 and EGFR expressions in salivary duct carcinoma

(唾液腺導管癌におけるアンドロゲン受容体、HER2, Ki-67, EGFR の臨床病理学的検討)

International Journal of Clinical Oncology 平成 26 年 2 月 online 発表

論文審査委員/主査:江石 義信 副査:岡﨑 睦 副査:角 卓郎

〈論文要旨〉

唾液腺導管癌(Salivary duct carcinoma, SDC)は乳癌や前立腺癌と生物学的に類似点のある高悪性度の癌である。SDC の組織におけるアンドロゲン受容体(androgenic receptor,AR),human epidermal growth factor receptor 2(HER2),上皮成長因子受容体(epidermal growth factor receptor,EGFR),Ki-67 の発現を調べ,予後との関連を検討した。すべての因子が粗生存率(overall survival,OS)との関連性を認めなかったが,単変量解析において EGFR および AR 陽性例は,無病生存期間(disease-free survival,DFS)が有意に良好であった。多変量解析では EGFR 陽性のみが DFS 良好の予測因子となることが示された。本研究はこれらの因子が予後予測因子であることを示した初の報告である。

また、乳癌のサブタイプ分類に従って、AR, HER2, Ki-67 の発現の有無によって SDC を 5 つのサブタイプに分類することを試みた、Ki-67 の発現は全例で高値であり、SDC に対して細胞障害性化学療法薬が有効である可能性が示された。加えて、AR, HER2, EGFR のうち少なくとも 1 つの発現を認めた症例は 90% 以上であり、これらを標的とした分子標的治療薬や内分泌療法が有用である可能性が示され、SDC の全身的な治療法の選択に際してサブタイプ分類を用いた治療の個別化が有用となる可能性が示唆された。

楊 沢宇 博士 (医学) Zeyu Yang

学位記番号 / 甲第 2039 号 学位授与 / 平成 26 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(病態代謝解析学分野)

学位論文

Screening with a novel cell-based assay for TAZ activators identifies a compound that enhances myogenesis in C2C12 cells and facilitates muscle repair in the muscle injury model

(細胞を利用した TAZ 活性化剤探索により、マウス筋芽細胞の筋分化を促進し、マウス筋損傷モデルにおいて筋修復を促進する化合物が見いだされた)

Molecular and Cellular Biology 第34巻第9号1607-1621頁 平成26年5月発表

論文審査委員/主査:中田 隆夫 副査:淺原 弘嗣 副査:玉村 啓和

〈論文要旨〉

転写コアクチベーター TAZ は TEAD や SMAD など様々な転写因子と共役し多様な遺伝子転写を制御する。ヒト不死化乳腺上皮MCF10A 細胞に TAZ を過剰発現させ、かつ、TAZ を負に制御する蛋白リン酸化酵素 LATS1/2 の発現を抑制して TAZ を活性化すると、MCF10A 細胞は接着非依存性に生存可能となり、スフェアを形成する。この観察から TAZ を過剰発現させた MCF10A 細胞にスフェア形成能を付与する化合物は TAZ を活性化している可能性がある。そこでこの細胞を用いて 18,548 個の低分子化合物の中から、TAZ 活性化剤の候補を 50 個獲得した。そのうち 47 個は HEK293 細胞を用いた TEAD 応答性レポーター活性を上昇させた。TAZ は筋組織の増殖分化を促進することが知られている。TAZ 活性剤は筋萎縮治療に有用であると期待される。50 個の候補化合物からマウス筋芽細胞の分化を促進する化合物を選択し、特に効果が強い一つの化合物に着目した。この化合物は細胞レベルで、TAZ と MyoD の相互作用を増強し、MyoD の myogenin プロモーターへの結合を高め、myostatin による筋分化阻害に拮抗した。Cardiotoxin によるマウス筋損傷モデルでは筋組織の修復を促進し、dexamethasone による筋萎縮を阻害した。

西浦 希博士(医学) Mare Nishiura

学位記番号 / 甲第 2040 号 学位授与 / 平成 26 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) /全人的医療開発学系専攻(心療・緩和医療学分野)

学位論文

Assessment of sleep disturbance in lung cancer patients: Relationship between sleep disturbance and pain, fatigue, quality of life, and psychological distress

(肺がん患者における睡眠障害の実態とその評価に関する研究) Palliative & Supportive Care 平成26年2月 online 発表

論文審査委員/主査:三宅智 副査:稲瀬 直彦 副査:西川 徹

〈論文要旨〉

がん患者における睡眠障害は一般に比べ頻度が高い(30%-50%)と報告されている。睡眠障害は抑うつなどの精神症状の増加や倦怠感や日中の眠気などを含む不快な身体症状をもたらすと共に、痛みの閾値を下げることで、がん患者の QOL を低下させるだけではなく、抑うつを介して免疫力低下や致死率の増加まで起こるといわれている。本研究の肺がん患者の睡眠障害は全患者の 56% と高かった。睡眠障害群 / 非睡眠障害群の 2 群に分け、Quality of life(QOL)、抑うつ、痛み、倦怠感について検討した結果、すべての項目において、睡眠障害群は非睡眠障害群と比較し有意に悪かった。睡眠障害になることで痛みの閾値も下がっていることが示唆された。また各項目の相関について解析を行ったところ、すべての項目間で 0.4 以上(中程度)の相関が認められた。睡眠障害と抑うつ、倦怠感は互いに相関している症状クラスターが認められた。睡眠薬では、入眠困難、中途覚醒は改善されるものの、熟眠困難、早朝覚醒、日中の眠気など改善できていない。これらの結果から肺がん患者への不眠、抑うつを中心とした精神身体症状を総合的にケアすることが患者の QOL を向上させるために必要があることが示唆された。

濵田 勝彦 博士(医学) Katsuhiko Hamada

学位記番号 / 甲第 2041 号 学位授与 / 平成 26 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(先進倫理医科学開発学分野)

学位論文

/ Cell density impacts epigenetic regulation of cytokine-induced E-selectin gene expression in vascular endothelium (血管内皮細胞密度はサイトカイン誘導性の E-selectin 遺伝子発現をエピジェネティックレベルで制御する) PLOS ONE 第9巻第4号 平成26年4月 online発表

〈論文要旨〉

血管新生過程における内皮細胞は定常状態の内皮細胞と異なる特性を持っているが、両者間での炎症応答の違いに関しては知られていない。我々は粗(sparse)と密(confluent)の二条件における血管内皮細胞の単層培養系で、それぞれの炎症刺激による E-selectin 発現を検討した。Sparse と比較して confluent な内皮細胞では腫瘍壊死因子(TNFa)誘導性の E-selectin タンパク及び mRNA 発現レベルが有意に高かった。しかし、代表的転写因子である NF- κ B や JNK のリン酸化は confluent な状態でも増強していなかった。 E-selectin 遺伝子のエピジェネティック制御機構を調べるため、抗アセチル化ヒストン H3 抗体を使用した ChIP 解析を行なったところ、confluent においてより高度な E-selectin プロモーター領域のアセチル化を認めた。さらに、ヌクレアーゼを用いて E-selectin プロモーター領域のアクセシビリティを調べたところ、sparse と比較して、confluent な内皮細胞では E-selectin プロモーター領域のアクセシビリティが有意に高かった。以上の結果より、血管内皮細胞は細胞密度の変化に対応し、エピジェネティック制御を介してその炎症反応性を変化させていることが明らかになり、血管の成熟過程における炎症反応性変化の分子機序の一つとして注目できる。

秦野 雄 博士 (医学) Yu Hatano

学位記番号 / 甲第 2042 号 学位授与 / 平成 26 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(循環制御内科学分野)

学位論文

Tumor associated osteoclast-like giant cells promote tumor growth and lymphangiogenesis by secreting vascular endothelial growth factor-C

(腫瘍内に分化した破骨細胞様巨細胞は VEGF-C 分泌によって腫瘍増大と腫瘍周囲のリンパ管新生に寄与する) Biochemical and Biophysical Research Communications 第 446 巻第 1 号 149-154 頁 平成 26 年 3 月発表

論文審查委員/主査:竹田 秀 副査:北川 昌伸 副査:山口 朗

〈論文要旨〉

破骨細胞様巨細胞(Osteoclast-like giant cell,OGC)を伴う腫瘍の症例報告はあるが,OGC の腫瘍環境における機能的役割はあまり知られていない。本論文では腫瘍内に OGC 分化を誘導するモデルを作成して,腫瘍の表現型に与える影響を検討した。まず macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) を発現する HeLa 細胞と receptor activator of nuclear factor κ ligand (RANKL) を発現する HeLa 細胞を作成した。これら 2 種類の細胞と骨髄由来単核球を混合培養することで,破骨細胞様細胞分化が誘導できることを *in vitro* で確認した。さらに免疫不全マウスの皮下に移植する実験によって,*in vivo* でも OGC 分化を腫瘍内に誘導できることが確認 できた。OGC を有する腫瘍は,遺伝子導入をしていない HeLa 細胞や M-CSF,RANKL のみを発現している HeLa 細胞によって形成 された腫瘍と比較して有意に大きく,組織学的にはマクロファージ浸潤やリンバ管新生が亢進していた。

OGC 分化に伴い vascular endothelial growth factor (VEGF)-C の mRNA 発現レベルが上昇していることが *in vitro* で確認され、VEGF-C を高発現する HeLa 細胞は OGC を有する腫瘍と類似した表現型を呈した. 追加実験と併せて、OGC が分泌する VEGF-C がリンパ管新生促進とともに、血管透過性亢進やマクロファージ遊走促進を介して腫瘍増大に寄与している可能性を示した.

王 璐丹 博士(医学) Ludan Wang

学位記番号 / 甲第 2043 号 学位授与 / 平成 26 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(血液内科学分野)

学位論文

High-resolution genomic copy number profiling of primary intraocular lymphoma by single nucleotide polymorphism microarrays

(原発性眼内リンパ腫の遺伝子発現解析)

Cancer Science 第 105 巻第 5 号 592-599 頁 平成 26 年 5 月発表

論文審査委員/主査:北川 昌伸 副査:稲澤 譲治 副査:大野 京子

〈論文要旨〉

原発性眼内リンパ腫 Primary intraocular lymphoma (PIOL) の遺伝学的特徴を解明するため、硝子体液から抽出した DNA に対し Single Nucleotide Polymorphism (SNP) アレイ解析を行った。診断時の病変の部位が眼に限局するもの、眼と中枢神経 (CNS)のみに限局するもの、眼と CNS 以外の病変から進展したものに分け、それぞれを PIOL、IOL with a CNS lesion at diagnosis (IOCNSL)、secondary IOL (SIOL)とした。解析症例数は全体で 33 例、PIOL16 例、IOCNSL12 例、SIOL5 例で、全て B 細胞性リンパ腫であった。PIOL で最も頻度が高いゲノムコピー数増加部位は、染色体の 1q、次いで 18q、19q に、最も頻度が高い欠失部位は 6q に存在した。PIOL と IOCNSL とを比較すると両者のコピー数の変化部位には共通点が多かったが、予後不良因子として知られる PTPRK を含む 部位である 6q22.33 の欠失、および CDKN2A を含む 部位である 9p21.3 の欠失が IOCNSL に多い傾向にあった。6q の長い欠失は早期に CNSへ進行した PIOL4 例中 3 例に認められたが、長期生存者では認められなかった。IOLでは硝子体内の IL-10 濃度が良性ぶどう膜炎と比べ有意に高いが、IL-10 遺伝子が存在する 1q32 のコピー数の増加を認める例では、そうでない例より有意に硝子体内 IL-10 濃度が上昇していた。以上から、PIOL および IOCNSL は DLBCL に近く、両者は相同性が高いが後者はより予後不良を示唆する変化をもつと考えられた。また、硝子体中の IL-10 は腫瘍細胞が産生する可能性が示唆された。

渡邉(浅野) 貴子 博士(医学) Takako(Asano)Watanabe

学位記番号 / 甲第 2044 号 学位授与 / 平成 26 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 (分子内分泌代謝学分野)

学位論文 Cycloheximide inhibits starvation-induced autophagy through mTORC1 activation

(タンパク合成阻害剤シクロヘキシミドは mTORC1 活性を通して飢餓誘導オートファジーを抑制する)

Biochemical and Biophysical Research Communications 第 455 巻第 2 号 334-339 頁 平成 26 年 3 月発表

論文審査委員/主査:清水 重臣 副査:吉田 雅幸 副査:仁科 博史

〈論文要旨〉

シクロヘキシミド(CHX)のようなタンパク質合成阻害剤は、オートファジーを含むタンパク質分解を抑制することが知られる. CHX がオートファジーを抑制する機序は、これまで新規に合成されるタンパク質がオートファジーに必須なのだと解釈されてきた. しかし、CHX は細胞内アミノ酸レベルを上昇させることによりオートファジーの主要な抑制性制御因子である mTORC1 を活性化させることでも知られる. したがって、CHX はオートファジー活性を新規タンパク質合成抑制および/もしくは mTORC1 シグナルを修飾することによりオートファジーに影響しうる. 本研究では、オートファジーに特異的なマーカーを用いて CHX のオートファジーに対する効果を調べ、CHX は飢餓誘導オートファジーを抑制するが,mTORC1 抑制剤 Torin1 誘導オートファジーは抑制しないことを示した. CHX はまた、同じく mTORC1 に制御されるオートファジー形成過程の初期マーカーである飢餓誘導 GFP-ULK1 点状構造物の形成も抑制した. CHX はオートファジーを誘導しうる飢餓条件下でも mTORC1 を活性化した. そして,CHX による飢餓誘導オートファジーの抑制効果は,Torin1 によって解消された. 以上より,CHX は mTORC1 活性化を介して飢餓誘導オートファジーを抑制すること,及び少なくとも飢餓急性期にはオートファジーは新規タンパク質合成を必要としないことが示唆された.

野武 亮一博士(医学) Ryoichi Notake

学位記番号 / 甲第 2045 号 学位授与 / 平成 26 年 5 月 31 日

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

学位論文 / Experimental evaluations of head scatter factor calculation by use of a Gaussian function

(ガウス関数を用いたヘッド散乱係数計算の実験的評価に関する研究)

Radiological Physics and Technology 第7巻第1号114-123頁 平成26年1月発表

論文審査委員/主査:高瀬 浩造 副査:三浦 雅彦 副査:越野 和樹

(論文要旨)

リニアックを用いた放射線治療ではリニアックの出力を正確に計算することが重要である。ヘッドスキャッターファクター (S_h) は MU を計算する上で重要な係数の一つである。 S_h は照射野のサイズに依存して変化するが,不整形照射野の S_h を正確に計算することは難しい。 S_h はモニタ線量計への後方散乱 (S_b) と,フラットニングフィルタからの散乱の変化 (S_h) に依存する。我々は S_h を測定により求め, S_h を がウス関数を用いてモデル化した。モデル化にはクラークソン積分の手法を用いた。この方法を用いることで,従来法では 3% を超える誤差があるような照射野の設定でも 1% 以下の誤差で計算することが可能だった。また,この方法では特殊な測定器やソフトウエアを必要としない。

矢野 智之博士(医学) Tomoyuki Yano

学位記番号 / 甲第 2046 号 学位授与 / 平成 26 年 3 月 31 日

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

学位論文 / Anatomy of the middle temporal vein: Implications for skull-base and craniofacial reconstruction using free flaps (遊離皮弁再建を用いた頭蓋底および頭蓋再建への影響を考慮した中側頭静脈の解剖に関する研究)

Plastic and Reconstructive Surgery 第 134 巻第 1 号 平成 26 年 7 月発表予定

論文審査委員/主査:前原 健寿 副査:岸本 誠司 副査:角田 篤僧

〈論文要旨〉

頭蓋底や頭蓋領域において遊離複合組織移植術を用いた再建術は、その有用性が多数報告されている。通常、これらの領域では遊離複合組織移植のための血管吻合を再建部位の近傍である側頭部の血管と行っている。しかし、側頭部はレシピエント静脈になりうる血管の候補に乏しく、しばしば血管の確保に難渋することがある。

今回, 我々は新たなレシピエント静脈の候補として中側頭静脈に着目した. 本研究では, その解剖学的特性, 走行パターン, 臨床解剖のためのメルクマールと想定される機能をマクロ解剖を用いて明らかにし, その有用性を検討した.

福井 直降 博士 (医学) Naotaka Fukui

学位記番号 / 甲第 2047 号 学位授与 / 平成 26 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(泌尿器科学分野)

学位論文

Development of a novel interferon–α2b gene construct with a repetitive hypoxia-inducible factor binding site and its suppressive effects on human renal cell carcinoma cell lines in vitro

(HIF 依存性の IFN-alpha2b 遺伝子発現プラスミドの作成と腎細胞株への導入による増殖抑制効果に関する研究)

International Journal of Clinical Oncology 平成 25 年 6 月 online 発表

論文審査委員/主査:中村 正孝 副査:北川 昌伸 副査:稲澤 譲治

〈論文要旨〉

転移性腎細胞癌の治療は分子標的薬の登場により変化しつつあるが、これまで使用されてきたインターフェロン(IFN)- α も、単剤での奏効率は 15-20% 程度と限界があるものの、一部の症例で有用な治療選択肢である。腎細胞癌の特性として、低酸素誘導因子 (Hypoxia-inducible Factor、HIF) の発現が高頻度にみられる。これに着目して、複数の HIF 結合部位である低酸素応答性領域(Hypoxia Responsive Element、HRE)を遺伝子発現制御領域(プロモーター)の上流に組み込み、転写因子 HIF 依存的に IFN- α 2b 遺伝子を発現する 5HREp-IFN- α 2b プラスミドを構築し、腎癌細胞株に導入し増殖抑制効果を検討した。

この発現プラスミドをヒト腎癌細胞株へ導入し、HIF 依存性に IFN-a2b 蛋白が産生されるのを ELISA 法にて確認した。Deferoxamine mesylate (DFO) を用いて von Hippel-Lindau (VHL) 蛋白による HIF 蛋白の分解を阻害すると、VHL 遺伝子に異常のない腎癌細胞株(ACHN,KU19-20)では HIF 蛋白が安定化し、IFN-a蛋白の産生が有意に上昇した。一方、VHL 遺伝子に異常を持つ腎癌細胞株(786-O)では HIF 蛋白量が増加せず、IFN-a蛋白の産生に有意な変化は認められなかった。次に本発現プラスミドを培養腎癌細胞株に導入し増殖抑制効果を検討した。IFN-a遺伝子を含まないコントロールプラスミドと比較して 5HREp-IFN-a2b プラスミドを導入した全ての細胞株において有意な増殖抑制効果が認められた。

複数の HRE によって HIF 依存性に IFN-a2b 遺伝子を発現するプラスミドをヒト腎癌細胞株に導入し増殖抑制効果を検討した研究はこれまで報告されていない。今回の研究成果は、転移性腎癌における IFN 遺伝子治療の有用性を示唆しており、今後新たな治療選択肢となる可能性がある。

相原 浩太郎 博士 (医学) Kotaro Aihara

学位記番号 / 甲第 2048 号 学位授与 / 平成 26 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(先進倫理医科学開発学分野)

学位論文

/Oral administration of the milk casein-derived tripeptide Val-Pro-Pro attenuates high-fat diet-induced adipose tissue inflammation in mice

(乳カゼイン由来のトリペプチド Val-Pro-Pro の経口投与により、高脂肪食に起因したマウスの脂肪組織の炎症を抑制する)

British Journal of Nutrition 平成 26 年 5 月 online 発表

論文審査委員/主査:小川 佳宏 副査:下門 顕太郎 副査:玉村 啓和

〈論文要旨〉

内臓脂肪の慢性炎症は、メタボリックシンドローム・2型糖尿病・動脈硬化症の進展要因として注目されている。本研究では、カゼイン由来トリペプチドであるバリンープロリンープロリン(VPP)が高脂肪食マウスの内臓脂肪組織の炎症に与える影響を検討した。 C57BL/6J 雄性マウス(7 週齢)に、高脂肪食および飲水(HFD 群)あるいは 0.3 mg/mL の VPP を含む飲水(HFD + VPP 群)を 10 週間自由に摂取させた。 HFD + VPP 群では、末梢血単球の CD18 の発現が HFD 群と比べ有意に低下した。また、脂肪組織の間質・血管系画分(SVF)における活性化単球および炎症性マクロファージの浸潤を検討すると、HFD 群と比べ,HFD + VPP 群では炎症性マクロファージの浸潤が有意に減少していた。 さらに、脂肪組織における単球走化性タンパク(MCP-1)および IL-6 の発現は、HFD 群に比べ HFD + VPP 群では減少する傾向がみられた。以上の結果から、VPP の経口投与は高脂肪食マウスの脂肪組織の炎症を抑制し、慢性炎症に起因する疾患の一次予防にも効果があると考えられる。

清川 樹里 博士 (医学) Juri Kiyokawa

学位記番号 / 甲第 2049 号 学位授与 / 平成 26 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(脳神経機能外科学分野)

学位論文 Origin, course and distribution of the nerves to the posterosuperior wall of the external acoustic meatus (外耳道後上壁に分布する神経の経過に関する研究)

Anatomical Science International 平成 26 年 4 月 online 発表

論文審査委員/主査:杉原 泉 副査:寺田 純雄 副査:角田 篤信

(論文要旨)

ラムゼイハント症候群は、外耳道・耳介の皮疹と末梢性顔面神経麻痺を特徴とする疾患であるが、顔面神経だけではなく舌咽神経の障害や迷走神経の障害を含めた下位脳神経障害など、多彩な神経障害を示すことが知られている。本研究では、外耳道の皮膚に分布する神経を全長にわたって剖出し、またその周囲の神経との関係性を明らかにすることで、この疾患の病態を考察した。解剖実習体 11体 18側を用いて、外耳道に分布する神経、特に外耳道の後上壁に分布する枝について観察を行った。この神経は、迷走神経上神経節から分岐しており、その経過で顔面神経、舌咽神経、三叉神経などと吻合していた。外耳道に分布する神経は、互いにさまざまな交通を持っていることが分かり、このことにより、ラムゼイハント症候群の多彩な症状が説明できると考えられた。

河野 能久 博士 (医学) Yoshihisa Kawano

学位記番号 / 甲第 2050 号 学位授与 / 平成 26 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(脳神経機能外科学分野)

学位論文 / Validation and evaluation of the volumetric measurement of cerebellopontine angle cistern as a prognostic factor of

microvascular decompression for primary trigeminal neuralgia (三叉神経痛の病因および術後再発因子としての小脳橋角槽体積の検討)

Acta Neurochirurgica 第 156 巻第 6 号 1173-1179 頁 平成 26 年 6 月発表

論文審査委員/主査: 槇田 浩史 副査: 秋田 恵一 副査: 大橋 勇

〈論文要旨〉

三叉神経痛患者の術前情報から術後再発に関わる因子を抽出し、術前 MRI における解剖学的所見が三叉神経痛の発症や術後再発に関わる因子になり得るかを後方視的に検討した。当院で治療を行なった三叉神経痛患者のうち高解像度 MRI を施行し術後観察期間 1 年以上の70人(再発25人,無再発45人)を対象とした。また、高解像度 MRI を施行し三叉神経痛がない30人を対照群とした。MRI から三叉神経周囲の小脳橋角槽体積を両側で測定し、脳槽の左右差=歪みの程度を示す数値として "Cistern-Deviation-Index" を定義した。 臨床情報と脳槽の数量データを対照群と症例群、再発群と無再発群で比較した。 結果、小脳橋角槽体積は対照群では左右差がなく(P=0.162)、症例群では病側で有意に狭かった(P<0.001)、 Transposition による手術は interposition に比べて有意に再発が少なかった(P<0.001)。 Cistern-Deviation-Index は対照群に比べて三叉神経痛群で有意に小さく(P=0.048)、無再発群に比べて再発群で有意に小さかった(P=0.040)、小脳橋角槽の体積測定、特に Cistern-Deviation-Index は三叉神経痛の病因や術後予後因子、あるいは手術戦略に関わる因子として有用である可能性が示唆された。

清水 央子 博士(医学) Eiko Shimizu

学位記番号 / 甲第 2051 号 学位授与 / 平成 26 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) / 環境社会学系専攻(政策科学分野)

学位論文 / Assessment of medical information databases to estimate patient numbers

(「患者数」の推定を通じた医療情報データベースの評価)

Japanese journal of pharmacoepidemiology 第19巻第1号 平成26年6月発表

論文審査委員/主査:藍 真澄 副査:安原 眞人 副査:伏見 清秀

〈論文要旨〉

本邦ではナショナルデータベース (NDB) の活用はようやく緒に就いたところである. 一方民間レベルでは, 近年様々な医療情報データベース (DB) が構築されてきており, Real World Evidence (RWE) に基づく疫学研究が盛んになってきている.

これら医療情報 DB はいずれも全国カバー率は限定的であり、含まれる情報項目も異なるため、単独の DB から得られる情報だけで全国の実態を把握することは難しい。しかし各 DB の特性や偏りをよく理解しそれぞれから得られる情報を組合せることにより、多くの傷病や薬剤投与について患者数の推定を行うことが可能であった。

現在個別に運用されているこれらの DB を、マスタデータの設計により一元管理し、アクセス権の相互供与により民間、政府系 DB の情報から最大価値を生み出す環境の整備を検討するべき時期にきていると言えよう。

本田 丰司 博士 (医学) Keiji Honda

学位記番号 / 甲第 2052 号 学位授与 / 平成 26 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(耳鼻咽喉科学分野)

学位論文 / Ex vivo visualization of the mouse otoconial layer compared with micro-computed tomography

(マイクロ CT と比較したマウス耳石膜の画像化) Otology & Neurotology 平成 26 年 6 月 online 発表

論文審査委員/主査:秋田 恵一 副査:杉原 泉 副査:大橋 勇

〈論文要旨〉

(背景) 球形嚢耳石が欠失する Wriggle Mouse Sagami (WMS) と C57BL/6J (B6) の耳石膜をマイクロ CT により評価し、その有用性を検討した

(方法) 固定時間の影響を評価するために、固定時間の異なる B6 マウスの迷路骨包をマイクロ CT で撮像した。また加齢性変化の評価目的に、WMS ホモ接合体、ヘテロ接合体、野生型の迷路骨包を生後 14 日齢、21 日齢、3 ヵ月齢の時点で撮像した。各サンプルの耳石膜 2 次元断層像および 3 次元再構成像を取得し、得られた所見を実体顕微鏡による所見と比較した。

(結果) 高解像度の耳石膜画像が取得でき、耳石膜の空間的位置関係や3次元的曲面が明瞭となった。固定時間の異なるサンプル間での変化は認めなかった。WMS ヘテロ接合体と野生型は全年齢を通じて正常な耳石膜所見であった。ホモ接合体では、14日齢で球形嚢耳石膜が減少し、21日齢で消失した。卵形嚢耳石膜は3ヵ月齢で消失していた。

(結論) マイクロ CT は耳石膜の高精細な情報を最小のアーティファクトで取得可能であった。本手法は耳石器の生理的機能や加齢性変化を解明する上で有用と考えられる。

上野 真紀子 博士 (医学) Makiko Ueno

学位記番号 / 甲第 2053 号 学位授与 / 平成 26 年 3 月 31 日

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

学位論文 Coupling of the radiosensitivity of melanocyte stem cells to their dormancy during the hair cycle

(色素幹細胞の放射線感受性は毛周期に伴う細胞周期の変化と相関する)

Pigment Cell & Melanoma Research 第27巻第4号540-551頁 平成26年7月発表

論文審査委員/主査:田賀 哲也 副査:清水 重臣 副査:三浦 雅彦

〈論文要旨〉

1906 年にベルゴニーとトリボンドーが細胞の放射線感受性についての法則を発表して以来,一般に増殖頻度が高い細胞は放射線感受性が高いと考えられてきた。近年の幹細胞研究により,組織幹細胞など未分化細胞は,分化した細胞と比較して放射線感受性が高いことが確認されたが,組織幹細胞は一般に増殖頻度が低く大部分が休止状態にある事実と矛盾する。今回我々は,マウス毛包の色素幹細胞に放射線照射で DNA 損傷を与えることにより白髪が生じる現象に着目し,この疑問について検討を行った。色素幹細胞を安定的に可視化できる Dct-H2B-GFP トランスジェニックマウスと,増殖中の色素幹細胞のみを細胞死させる抗 Kit モノクローナル抗体を使用し,色素幹細胞の放射線感受性について検討した結果,静止期(G0期)にある幹細胞は放射線感受性が高く,増殖中の幹細胞は放射線感受性が低いこと,静止期と増殖期の幹細胞集団の共存により幹細胞プールとしては抵抗性を示すことが明らかになった。

小倉 俊郎 博士 (医学) Toshiro Ogura

学位記番号 / 甲第 2054 号 学位授与 / 平成 26 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(肝胆膵・総合外科学分野)

学位論文 / Clinicopathological characteristics and prognostic impact of colorectal cancers with NRAS mutations

(NRAS 遺伝子変異を有する大腸癌における臨床病理学的特徴と予後への影響) Oncology Reports 第32巻第1号50-56頁 平成26年7月発表

論文審査委員/主査:稲澤 譲治 副査:渡邉 守 副査:石川 俊平

〈論文要旨〉

大腸癌において KRAS, NRAS, BRAF やマイクロサテライト不安定性(MSI)のような分子マーカーは、より正確な個別化治療の発展における最も重要な要素の一つとなっている。特に近年開発された抗 EGFR 抗体薬は進行・再発大腸癌における key drug となっているが、 KRAS exon 2 変異型には無効であることが示されており、治療対象の選別化に有効なマーカーとなっている。またその後の biomarker 解析により KRAS exon 2 のみならず、KRAS exon 3 や exon 4、そして同じ RAS family に属する NRAS 遺伝子の変異型においても抗 EGFR 抗体薬の治療効果が得られないことが報告され注目を浴びている。大腸癌において NRAS 変異率は 2~5% と低く、また各種臨床試験は進行・再発大腸癌である Stage IV 症例を対象としていることから、Stage 0 から IV まで含めた臨床病理学的特徴や予後に与える影響についてはいまだ明らかにされていない。我々は埼玉県立がんセンターで切除した Stage0 から IV までの大腸癌標本 1304 例を用いて KRAS exon 2、3、4、NRAS exon 2、3、BRAF exon15 の変異の有無について調べ、臨床病理学的特徴および生存についての解析を行った。1304 例中、KRAS 変異は 553 例 42.4%、NRAS 変異は 35 例 2.7%、BRAF 変異は 59 例 4.5% に認められた。NRAS 変異大腸癌は KRAS 変異型および BRAF 変異型と比較し有意に左側大腸に多い傾向が認められた。多変量解析ではKRAS 変異型および BRAF 変異型はそれぞれ予後不良因子であったが、NRAS 変異大腸癌は有意でないものの予後良好な傾向が認められた(Hazards ratio(HR)=0.53、95% confidence interval(CI)0.27~1.03)、KRAS exon 2 変異 の 有無に 加え、NRAS および KRAS exon3、4 変異例を除外することにより、抗 EGFR 抗体薬の治療効果が望める対象を 62.7% から 48.4% に絞ることが可能になると示された。また、NRASと KRAS は同じ RAS family に属するものの、大腸癌においてその変異型では異なる特徴を持つことが明らかとなった。

田崎 篤博士(医学) Atsushi Tasaki

学位記番号 / 甲第 2055 号 学位授与 / 平成 26 年 3 月 31 日

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

学位論文

Anatomic observation of the running space of the suprascapular nerve at the suprascapular notch in the same direction as the nerve

(肩甲上神経の走行に沿って観察した肩甲切痕における神経走行領域に関する肉眼解剖学的研究)

Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy 平成 26 年 6 月 online 発表

-論文審査委員/主査:大川 淳 副査:星 治 副査:森田 定雄

〈論文要旨〉

肩甲切痕は肩甲上神経絞扼性障害が生じる代表的な部位とされ、病因として肩甲切痕の形態の多様さが指摘されている。現在まで骨形態の評価は肩甲骨正面像を用いて行われて来たが、その臨床的意義は未だ不明である。肩甲上神経は腕神経叢から分枝して頭尾、内外側方向に走行して肩甲切痕に達しているが、その神経走行方向に着目して形態を観察した既存の研究は無い。本研究の目的は、肩甲上神経の走行方向沿って肩甲切痕部神経走行領域の形態調査を行い、新しい知見を見いだす事である。本研究では15 体30 肩の解剖実習体を使用した。正面から前後方向にから肩甲切痕を観察すると、そのほぼ全域が肩甲下筋腱の上部により覆い隠されていたため、神経が前後方向に肩甲切痕を通過するとは考え難かった。一方腕神経叢から分枝する肩甲上神経が肩甲切痕へ至るまでの走行方向である頭尾、内外側方向で観察すると、肩甲下筋が前方、上肩甲横靭帯が後方、烏口突起が外側に位置して形成する一定の神経走行領域が認められた。そして、それぞれは神経走行方向に平行な面であったことから、肩甲切痕を通過する神経を保護するような構造を持つ神経走行領域として観察された。その走行領域の計測を行ったところ、神経の太さに比較して一定の広さを持つ領域が全例に認められた。本研究結果から、肩甲切痕部は神経の走行方向である頭尾、内外側方向に観察する事で、周囲の構成体が理にかなった神経走行領域を形成することが示され、むしろ肩甲上神経の走行を保護し、絞扼性障害を生じにくい構造と考えられた。そして頭尾、内外側方向に肩甲切痕を観察する方法は、臨床的に意義のある評価法になる可能性が示唆される。

ダゲット 留理 博士 (医学) Ruri Nakamura Daggett

学位記番号 / 甲第 2056 号 学位授与 / 平成 26 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(包括病理学分野)

学位論文 / Expression dynamics of CXCL12 and CXCR4 during the progression of mycosis fungoides

(菌状息肉症の進展における CXCL12 と CXCR4 の発現動態) British Journal of Dermatology 平成 26 年 4 月 online 発表

論文審査委員/主査:横関 博雄 副査:三浦 修 副査:江石 義信

〈論文要旨

菌状息肉症の皮疹部での CXCL12 とそのレセプターである CXCR4 の発現解析を行い、皮疹の病期ごとにその発現量を比較した、RT-PCR の結果、コントロール皮膚群に比べて、紅斑期から扁平浸潤期の前腫瘤期では CXCL12 と CXCR4 の発現量は有意に高く、病期が進行した腫瘤期では、その発現は減弱していた。免疫組織学的染色法においても、腫瘍細胞の CXCL12 と CXCR4 の発現量は同様の傾向を示した。CXCL12-CXCR4 を介したシグナルが菌状息肉症の進展に関与している事が示唆された。

長谷川 節子 博士 (医学) Setsuko Hasegawa

学位記番号 / 甲第 2057 号 学位授与 / 平成 26 年 3 月 31 日

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

学位論文 / Whole-exome sequence analysis of ataxia telangiectasia-like phenotype

(CD40LG 及び SIL1 変異は、神経変性および低ガンマグロブリン血症に関与する)

Journal of the Neurological Sciences 第340巻第1-2号86-90頁 平成26年5月発表

論文審査委員/主査:岡澤 均 副査:鍔田 武志 副査:石川 欽也

〈論文要旨〉

DNA 損傷修復応答に関わる遺伝子異常で生じる毛細血管拡張性運動失調症(AT)やナイミーへン症候群(NBS)は、神経変性、免疫不全、高発がん性、小頭症などを呈することが知られている。しかし疾患頻度が稀であるため、臨床症状のみからは適切に診断されていないことも多い。その経験から、今回我々は、神経症状、低ガンマグロブリン血症、毛細血管拡張、血清 α フェトプロテイン(AFP)上昇など AT を疑う臨床症状を呈しながら AT ではなかった 9 症例の診断目的に、全エクソン解析を行った。その結果、9 例中 2 例で責任遺伝子を同定した。1 例は、CD40 リガンド(CD40LG)欠損症で、もう一例は、SIL1 変異によるマリネスコ・シェーグレン症候群(MSS)であった。

CD40LG 欠損症と MSS はいずれも典型的には、AT とは異なる臨床症状を呈する疾患である。合併症や疾患の進行過程もしくは、他の遺伝子異常の併存などの関与により典型的な症状とは異なる臨床像を呈する可能性があると考えられた。発症頻度が稀な疾患の場合、表現形(phenotype)と遺伝子型(genotype)の解離が診断を困難にする場合がある。全エクソン解析によって、表現形からは予期しない遺伝子異常が見つかり、診断につながりうることが示された。

赤澤 直樹 博士 (医学) Naoki Akazawa

学位記番号 / 甲第 2058 号 学位授与 / 平成 26 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(人体病理学分野)

学位論文

Neuroendocrine carcinoma of the esophagus: clinicopathologic study of 10 cases and verification of the diagnostic utility of mASH1, NeuroD1, and PGP9.5

(食道神経内分泌細胞癌 10 例における臨床病理学的研究および診断マーカー mASH1, NeuorD1, PGP9.5 の診断的価値の検証)

Esophagus 第 11 巻第 4 号 245-257 頁 平成 26 年 9 月発表

論文審査委員/主査:渡邉 守 副査:北川 昌伸 副査:坂本 啓

〈論文要旨〉

食道癌の中でも神経内分泌細胞癌(NEC)は稀な組織型であり悪性度が高く予後不良な疾患である。診断には通常の組織学的評価に加え synaptophysin(Syn)、chromogranin A(CgA)、CD56 による免疫組織化学的評価(IHC)が用いられる。一方、近年新たなマーカーとして mASH1、NeuroD1、PGP9.5 などが報告されている。今回、外科的または内視鏡的に切除された NEC10 例、類基底扁平上皮癌(BSC)30 例、食道扁平上皮癌(SCC)32 例を用いて、臨床病理学的検討と IHC(Syn、CgA、CD56 と mASH1、NeuroD1、PGP9.5)の検討を行った。NeuroD1、PGP9.5 についてはモノクローナル抗体(モノ)およびポリクローナル抗体(ポリ)の両者を用いた。結果は NEC のうち 6 例が T1b、4 例が内視鏡的切除、T1 症例の 3 年 /5 年生存率は 66.7%/66.7%、T3-4 症例の 3 年 /5 年生存率は 25%/0% であった。mASH1、NeuroD1 モノ、NeuroD1 ポリ、PGP9.5 モノ、PGP9.5 ポリはそれぞれ 8、8、1、7、6 例で陽性だった。mASH1 陽性例は Syn 陽性例と一致し、CgA より感度良好で、CD56 より特異度良好であった。NeuroD1 や PGP9.5 は抗体による違いも含めて有用性はなかった。以上より、食道 NEC は SCC や BSC と比較し T1b 症例においても予後が不良であり、またmASH1 は良好な食道 NEC 診断マーカーであることが示された。

飯田 忠恒 博士 (医学) Tadatsune lida

学位記番号 / 甲第 2059 号 学位授与 / 平成 26 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(人体病理学分野)

学位論文 / Calcified granulomatous lung lesions contain abundant Mycobacterium tuberculosis components

(肺の石灰化肉芽腫性病変からは多量の結核菌成分が検出される) Mycobacterial Diseases 第4巻第1号 平成26年2月 online 発表

論文審查委員/主査:稲瀬 直彦 副査:北川 昌伸 副査:東條 尚子

(論文要旨)

結核菌は健常人の体内で、何の症状も呈さず何年にも渡り生き残る。体内に潜む結核菌は何らかのきっかけで再活性化し、成人結核を引き起こす。潜伏期間中は、結核菌は古い感染巣に増殖能や代謝活性を抑えて潜んでいると考えられているが、しばしば腫瘍との鑑別のために手術切除される古い結核病巣は、そのほとんどが培養陰性、抗酸菌染色陰性である。このような古い病巣内にどのくらいの量の菌が、どこに潜んでいるのかは、よくわかっていない。今回我々は、壊死を有する古い肉芽腫性病変、特に石灰化を有する病変には、培養陰性、抗酸菌染色陰性にもかかわらず多量の結核菌成分が検出されることを報告する。石灰化は、陳旧化した結核病巣のよく知られた特徴であり、組織学的に炎症がほとんど見られないため病変の治癒過程と捉えられてきたが、今回検索した石灰化病変はすべて結核菌ゲノムを含んでいた。抗酸菌染色はいずれも陰性であったが、菌壁成分リポアラビノマンナンに対する抗体で免疫染色を行うと、病巣内の壊死巣に顆粒状の陽性像が多数観察された。さらに、この抗体で免疫電顕を行うと陽性部に桿菌状の構造物が見られた。肺の石灰化病変は結核菌保菌者を選別するひとつの所見となると考えられ、このような病変が見られた場合は結核再燃のリスクを考慮するべきであろう。

Maha Mohamed Mahamoud Moussa Anani 博士 (医学)

学位記番号 / 甲第 2060 号 学位授与 / 平成 26 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(幹細胞制御学分野)

学位論文 / Sox17 as a candidate regulator of myeloid restricted differentiation potential

(Sox17 は骨髄球系への限定的分化能を誘導する制御分子の候補である)

Development Growth & Differentiation 平成 26 年 8 月 online 発表

論文審查委員/主査:北嶋 繁孝 副査:三浦 修 副査:仁科 博史

(論文要旨)

転写因子 Sox17 は、その欠損マウスにおいて成体型の造血幹細胞(HSCs)が認められない一方で、出生直後に欠損させると HSCs の数が急激に減少することから、胎生期および出生直後の HSCs の維持に必至な遺伝子として知られている。胎生期に最初に長期造血再建能を持つ HSCs が生じる大動脈―中腎―生殖原基(aorta-gonad-mesonephros:AGM)領域由来の未分化血液細胞である CD45lowc -Kithigh 細胞に、Sox17 遺伝子を導入して、ストローマ細胞上で増殖させた後に、致死量放射線照射を施したマウスに移植すると、長期造血再建能を持つことがこれまでに示されている。今回の研究において、まず Sox17 導入細胞をマウスへ移植した時に、移植されたマウスの骨髄において common myeloid progenitors(CMPs)が著しく増加していることを見出した。Sox17 導入細胞を OP9 ストローマ細胞と共培養すると、granulocyte/macrophage progenitors(以降 Sox17-GMPs)および CMPs(以降 Sox17-CMPs)を認めた。この Sox17-GMPs および Sox17-CMPs は in vitro において自己増殖能および多分化能を維持していた。また、Sox17-CMPs および Sox17-CMPs は赤芽球系および骨髄球系のコロニーへの分化能を保持する一方で、リンパ球系への分化能は減少していた。これらの結果より、Sox17 が造血前駆細胞の維持に機能し、骨髄球系前駆細胞の分化に重要な役割を持つことが示唆される。

山本 誠博士(医学) Makoto Yamamoto

学位記番号 / 甲第 2061 号 学位授与 / 平成 26 年 3 月 31 日

学位論文 / CDK9 inhibitor FIT-039 prevents replication of multiple DNA viruses

(CDK9 選択的阻害剤を用いた、幅広い DNA ウイルスに対する新規抗ウイルス薬の開発)

The Journal of Clinical Investigation 第 124 巻第 8 号 3479-3488 頁 平成 26 年 8 月発表

論文審査委員/主査:山岡 昇司 副査:玉村 啓和 副査:澁谷 浩司

〈論文要旨〉

現在、既存の抗ウイルス薬に対する耐性ウイルスの出現が問題視されている。それらを解決するため、我々は宿主キナーゼ cyclindependent protein kinase 9(CDK9)を標的とした抗ウイルス薬の開発を実施した。CDK9 阻害剤スクリーニングの結果、新規抗ウイルス薬 FIT-039 を見出し、インビトロでのウイルス RNA 転写抑制、幅広いウイルスに対する複製抑制、および、単純ヘルペスウイルス(HSV)/ 既存薬耐性 HSV マウス皮膚感染モデルに対する高い治療効果を確認した。また、FIT-039 は宿主細胞転写に対する影響が極めて低く、非臨床毒性試験においても顕著な毒性は認められなかった。これらのことから FIT-039 は画期的な新規抗ウイルス薬となり得ることが示唆された。

藤岡 友之 博士(医学) Tomoyuki Fujioka

学位記番号 / 甲第 2062 号 学位授与 / 平成 26 年 9 月 30 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(画像・核医学開発学分野)

学位論文 / Long-term follow-up using 18F-FDG PET/CT for postoperative olfactory neuroblastoma (18F-FDG PET/CT により長期経過観察を行った術後嗅神経芽細胞腫に関する研究)

Nuclear Medicine Communications 第35巻第8号857-863頁 平成26年8月発表

論文審査委員/主査:前原 健寿 副査:秋田 恵一 副査:角田 篤信

〈論文要旨〉

F-18 FDG-PET/CT は頭頸部悪性腫瘍の病気診断や術後のサーベイランスに有用との報告がされているが、術後嗅神経芽細胞腫に関してのまとまった報告はない。本研究は F-18 fluorodeoxyglucose (F-18 FDG) positron emission tomography (PET)/computed tomography (CT) により長期間経過観察を行った術後嗅神経芽細胞腫の患者を後ろ向きに検討し、PET/CT と magnetic resonance imaging (MRI)、内視鏡との結果を比較し、PET/CT の有用性を検討した。

観察期間中に24の再発病変を認め、このうち18病変(75%)がPET/CTで検出できた。局所再発3病変、頭蓋内転移3病変はPET/CTで検出できず、それぞれ内視鏡、MRIで検出できた。再発までの期間は平均51.4ヶ月であり、17病変(70.8%)が術後2年以上経過してから再発を認めた。

F-18 FDG PET/CT は嗅神経芽細胞腫術後患者のマネージメントに有用であるが、MRI や内視鏡と組み合わせた長期的な経過観察の必要性が示唆された。

Francis Ekow Dennis 博士 (医学)

学位記番号 / 甲第 2063 号 学位授与 / 平成 26 年 9 月 18 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(国際環境寄生虫病学分野)

学位論文

/Identification of novel Ghanaian G8P [6] human-bovine reassortant rotavirus strain by next generation sequencing (新たにガーナで分離された G8P [6] 型ヒト−ウシ遺伝子再集合体ロタウイルス株の次世代シーケンサーによる同定) PLOS ONE 平成 26 年 7 月 online 発表

論文審査委員/主査:山岡 昇司 副査:森尾 友宏 副査:村松 正明

〈論文要旨〉

ロタウイルス A 群(RAVs)は、世界中で五歳以下小児の急性胃腸炎を引き起こす病原体の中で特に重要である。ガーナではロタウイルス感染性胃腸炎による健康被害が甚大であり、その予防を目的に一価のロタウイルスワクチンであるロタリックス®が 2012 年 5 月から導入された。ワクチン導入によって、以前から流行していたウイルス株が変動することが予想されるが、そのモニタリングに必要な RAVs の全ゲノムレベルでの遺伝学的・系統発生学的情報が不足していた。そこで、本研究ではワクチン導入前の 2008~2010 年に実施されたガーナ国内のサーベイランスで採取されたロタウイルスのシーケンス解析を Illumina MiSeq を用いて行い、RAVs の遺伝的型や系統分類を研究することを目的とした。

その結果、GH018-08 と GH019-08 の二種類の RAVs 分離株が、G8-P [6] -I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H3 という従来報告のない遺伝子型を持つ事がわかった。それらが持つ 11 の遺伝子のうち 10 は同一又はほぼ同一配列であったが、VP1 領域のみが系統分類上多様な起源による事が明らかとなり、この場合はウシ由来のロタウイルスとヒト DS-1 様ロタウイルスが共存して、異種間感染や遺伝子再集合が繰り返し起こっている事が考えられた。

これらの知見は、遺伝子再集合と異種間感染が西アフリカ地域におけるロタウイルスの遺伝的多様性の形成に関与しており、そのことはヒトのロタウイルス株のみでなく、動物のウイルス株も同時にモニタリングすることの必要性を示すものである。

お茶の水医学会にご寄附をいただいた法人、団体および個人

- ◎一般財団法人 和同会
- ◎一般財団法人 東京医科歯科大学医科同窓会
- ◎公益財団法人 薬力学研究会
- ◎伊藤内科小児科クリニック 院長 伊藤眞一

(順不同・敬称略)

お詫びならびに訂正

本誌 62 卷 2 号 (2014 年) 丸山道生論文「世界の病院食・術後食」(151 頁) におきまして、連絡先メールアドレスに誤りがございました。お詫び申し上げるとともに訂正いたします。

誤 maruchons-3@mtg.biglobe.ne.jp

Ţ

正 maruch<u>a</u>ns-3@mtg.biglobe.ne.jp

「お茶の水醫學雑誌」編集委員会

編集後記

新生「お茶の水醫學雑誌」はお陰様で4回目の新年を迎えました。そろそろ「新生」の2文字を外す時期ではと考えています。昨年より財政上の都合により年2回の発行となりました。発行回数は減りましたが、1年を通して雑誌に掲載される情報量と質を落とさない方針でやってまいりました。その結果、雑誌の厚さ約5ミリ、重さ約500グラムとなり、さらに読みごたえのある雑誌になったとのお言葉をいただきました。嬉しいことに学部生の間でもその存在が知られ始め、閲覧に関する問い合わせがくるようになりました。その一方で、論文ご脱稿いただいてから掲載までより時間がかかり、ご多忙の中ご執筆いただいた先生方にはご迷惑をおかけする結果となっております。

さて、新しい企画として今号から、毎週金曜日の夕方、総合教育研修センターにより研修医の勉強を目的として行われているイブニングセミナーの講演内容の紹介が始まります。ご担当の先生方に講演の内容を論文としてまとめていただき、研修医のみならず、すでに第一線で活躍なさっている読者の方々にも臨床現場の新しい情報をわかりやすくお届けすることを目指しています。第1回目は、形成・再建外科分野の岡崎 睦教授にご執筆いただきました。これから順次さまざまな分野の先生方にご執筆いただく予定です。この企画について、皆様からのご意見・ご感想をお待ちしております。

昨年後半も、一般財団法人和同会、一般社団法人東京医科歯科大学医科同窓会、公益財団法人薬力学研究会および、伊藤内科小児科クリニック院長 伊藤眞一先生より、本雑誌発行のためのご助成をいただきました。

今回は、その中から公益財団法人薬力学研究会について紹介したいと思います.

薬力学研究会は昭和39(1964)年3月,薬力学の研究を奨励助成する目的で文部省(当時)の許可を受け東京医科歯科大学内に設置され活動を続けて、その後平成25(2013)年4月に内閣府の認定を受け公益財団法人として新たにスタートしております。

当法人は公益法人として日本全国におけるさまざまな活動に携わっております。具体的には研究者に対する研究費の助成および学術講演会、研究討論会の開催、刊行物助成等々を行い、薬力学に関する学術の振興と、国民の疾病の予防および健康維持増進を図り、もってわが国の学術と社会の発展に寄与しております。

本誌「お茶の水醫學雑誌」も薬力学研究会の刊行物助成事業の一つとして長年助成いただいております。本誌といたしましても、この薬力学研究会の長年にわたるご協力に謝意を表すとともに、本誌読者の方々におかれても、ぜひ薬力学研究会の活動にもご協力を願う次第であります。

この、薬力学研究会のみならず、皆様からの本誌に対する貴重な助成を最大限に生かすべく、新 しい企画に目を配りながら、読みやすくかつ内容の凝縮された雑誌作りに編集委員一丸となって精 進してまいりますが、読者の皆様方におかれましても、折にふれて、本誌に対するご意見、ご要望 をお聞かせいただければ幸甚です。

末筆となりましたが、ご執筆下さいました先生方を始め学術面、財政面等多方面でご尽力を賜りました関係者の方々に心より御礼を申し上げます。

平成27年1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12,000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 に公表されている.

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.



The Ochanomizu Medical Society

Tokyo Medical and Dental University, School of Medicine

Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo

Japan

編集委員会 委員長 江石 義信

委員河野辰幸秋田恵一古川哲史宮崎泰成明石巧沢辺元司

Editorial Committee Editor in chief

Yoshinobu Eishi

Editors
Tatsuyuki Kawano
Keiichi Akita
Tetsushi Furukawa

Yasunari Miyazaki Takumi Akashi Motoji Sawabe

お茶の水醫學雑誌 第63巻 第1号

発 行 2015年1月20日

編集権 発 行 お茶の水医学会 会 長 江 石 義 信

> 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

理想社

印刷