

## 第140回 東邦医学会例会

平成24年6月14日(木) 午後1時～7時45分

平成24年6月15日(金) 午後1時～5時45分

東邦大学医学部大森臨床講堂 (5号館 B1)

6月14日(木)

### A. 大学院学生研究発表

#### 1. キノロン系抗菌薬低感受性の遺伝学的ハイスループット解析系の構築

青池 望 (機能系)  
指導：館田一博教授 (微生物・感染症学)

パイロシーケンス法は短いリード長の簡便迅速なリアルタイムシーケンス解析システムである。腸内細菌のキノロン感受性を左右する主要因子であるキノロン耐性決定領域 (quinolone resistance determining region: QRDR) のアミノ酸変異は狭い領域に位置しており、大量の検体をスクリーニングするにあたり、同法での QRDR 変異の検出が適していると考え、腸内細菌の QRDR のアミノ酸変異をパイロシーケンス法を用いて検出する系を構築した。

大腸菌の GyrA と ParC の既知の塩基配列から増幅プライマーとシーケンスプライマーを作成し、当院微生物検査室に保存されていた大腸菌 141 株について GyrA の 81-87 番目、ParC の 78-84 番目のアミノ酸配列をパイロシーケンス法を用いて解析した。対照として従来の Sanger 法を行い塩基配列を比較検討した。結果、いずれの方法でも同様の結果が検出された。パイロシーケンス法では塩基配列の結果を簡便、安価、迅速に得ることができ、今後の応用の範囲も広いと考えられた。

Keywords: pyrosequencing, quinolone resistance, *Enterobacteriaceae*

#### 2. 日本における metallo- $\beta$ -lactamase 産生緑膿菌の分子疫学と integron 構造の多様性に関する検討

眞野 容子 (機能系)  
指導：館田一博教授 (微生物・感染症学)

多剤耐性緑膿菌 (multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: MDRP) はカルバペネム、フルオロキノロン、アミノ配糖体の3系統の抗菌薬に耐性を示し、その感染症治療に単独で治療効果が期待できる抗菌薬が存在しない。MDRPの多剤耐性化には metallo- $\beta$ -lactamase (MBL) が関与しているとされている。そこで全国規模で行われた薬剤感受性サーベイランスで収集された菌株を用いて MBL 産生緑膿菌の詳細な特徴を明らかにすることを目的に研究を実施した。収集された菌株の中から 287 株のセフトジム耐性緑膿菌を選択し、10種類の抗菌薬に対する感受性検査を実施した。さらに MBL の産生が表現型から確認された 44 株に対して、MBL 遺伝子と周辺遺伝子構造の解析を実施した。さらに、multi-locus sequence typing (MLST) およびパルスフィールドゲル電気泳動 (pulsed-field gel electrophoresis: PFGE) を実施し、各菌株間の遺伝的関連性を明らかにした。今回対象とした MBL 産生株の 80% が MDRP であり、その内訳は *bla*<sub>IMP-1</sub> が 43 株、*bla*<sub>VIM-2</sub> が 1 株であり、*aac*(6')-Iae などのアミノ配糖体薬修飾酵素をコードする遺伝子などとともに integron 構造中に存在した。この結果は MBL 産生株が高率に多剤耐性株であることを示している。MLST による解析から、MDRP の世界的流行株として知られている、17 株の ST235 が検出された。今後、本邦でも ST235 に属する MDRP が拡散する可能性があると考えられた。

Keywords: multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, metallo- $\beta$ -lactamase, integron

### 3. 病理検体を用いた分子生物学的解析法による侵襲性糸状菌症の発生動向調査

職 玉珠 (内科系)  
指導：澁谷和俊教授 (大森病院病理学)

組織内真菌に関する組織学的診断の補助として polymerase chain reaction (PCR) 法と *in situ* hybridization (ISH) 法の有用性を比較するため、1968～2006 年において、東邦大学医療センター大森病院で施行された剖検例のうちアスペルギルスが記録あるいは菌種不明の深在性真菌症を抽出し、hematoxylin-eosin (HE) 染色と Grocott 染色でアスペルギルス菌を認めた 83 症例を用いて、ホルマリン固定パラフィン包埋切片 (formalin-fixed paraffin-embedded: FFPE) を使用した場合の PCR 法と ISH 法の有用性について検討した。

その結果、 $\beta$ globin 110bp の primer を用いて 17/83 例の陽性結果を得、 $\beta$ globin 250bp の primer では 1 例のみ陽性を示した。Panfungal 230bp の primer では 3 症例の陽性結果を得た。300bp の primer では DNA を検出されなかった。*A. fumigatus* 18S rRNA 領域 405bp の primer では 7/83 例の陽性率に対して、*A. fumigatus* 5.8S 領域 250bp の primer での陽性率は 31.3% (26/83) であった。この他、zygomycete 属と *Fusarium* 属の primer を用いて、弱いバンドを確認した症例は少数あるが、その特異性については、ISH 法での結果と併せての総合判断が必要となる。ISH 法では、panfungal probe で 70/80 症例で陽性の信号を得た。

FFPE 材料を用いた PCR 法は、偽陰性が多い。この一方、遺伝子を増幅しない ISH 法は、ブロック作成行程の影響を受け難く、真菌症の補助診断法としての有益性が示唆された。今後、*A. fumigatus* を対象とした probe である Afut-1、*Aspergillus* 属を対象とした alkaline phosphatase proteinase (ALP) probe を用いた ISH 法の有用性についての検討を続けたい。

Keywords: formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE), polymerase chain reaction (PCR), *in situ* hybridization (ISH)

### 4. トリコスポロン血流感染症に対するポリエン系抗真菌薬の治療効果と病態解析に関する病理学的研究

笹井大督 (内科系)  
指導：澁谷和俊教授 (大森病院病理学)

トリコスポロン血流感染症は、白血病治療による無顆粒球症など免疫能の低下した患者に発症する、致死率の高い深在性真菌症である。アゾール系抗真菌薬が第一選択薬として考えられているが、近年ではこれに耐性を示す臨床分離株が報告されている。そのため、異なる機序の抗真菌活

性を有するポリエンマクロライド系抗真菌薬の治療効果を、感染動物モデルを用いて検討した。さらに、臓器内生菌数と病理組織学的所見との関連についても検討した。

アゾール耐性もしくは感受性の *Trichosporon asahii* を感染させたマウスの腎臓を用い、臓器内生菌数および複数の設定項目を設けて病理組織学的検討を行った。

その結果、*T. asahii*・アゾール耐性株感染マウスに対して、liposomal-amphotericin B (L-AMB) の有効性が示され、アゾール感受性株感染マウスに対しても、fluconazole (FLCZ) と同等の治療効果を示した。また、病理組織学的な検討で、活動性炎症像を伴う病変の数は、おおむね腎臓内生菌数に比例していた。

Keywords: *Trichosporon*, antifungals, histopathology

### 5. 抗菌薬を徐放するコンタクトレンズ

柿栖康二 (外科系)  
指導：朽久保哲男教授 (大森眼科)

眼科領域における薬剤投与手段は点眼、眼軟膏によるもの、また結膜下や硝子体内への注射によるものがあるが、それぞれコンプライアンスの低下や組織侵襲、全身への副作用などの問題点がある。今回、コンタクトレンズ (contact lens: CL) 素材にアニオン性高分子ゲルを合成し、側鎖のイオン基を薬物担持リガンドとして作用させ、カチオン性抗菌薬とイオン交換反応した薬剤吸着量について検討した。また、日本白色家兎を用いて薬剤徐放量について点眼投与群と比較、検討した。アニオン基の構成比率の増加に依存した抗菌薬の吸着の増加が認められ、CL 1 枚あたり 1000～4000 $\mu$ g の吸着が可能であった。また CL 群の房水内濃度は 60 分後に最高値に達し、点眼群に対し高値を示した (<0.05)。房水内抗菌薬は CL 装用後 72 時間まで検出された。角膜および水晶体内濃度も検討中であり、臨床応用が期待される。

Keywords: drug delivery system, ion exchange, hydrogel

### 6. Activation of aryl hydrocarbon receptor mediates indoxyl sulfate-induced endothelial injury in HUVEC

渡邊一平 (内科系)  
指導：盛田俊介教授 (大森臨床検査医学)

Indoxyl sulfate (IS) is one of the uremic toxins cause vascular injury though induction of reactive oxygen species (ROS) production. However, little is known about the mechanisms involved. The aryl hydrocarbon receptor (AHR) is a ligand activated, basic helix-loop-helix/per-ARNT-Sim transcriptional factor which mediates adaptive

and toxic response in cells. Of note, activation cascade of AHR exhibits adverse effects on etiology of atherosclerosis by some exogenous compounds such as 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-para-dioxin (TCDD) mainly through induction of oxidative stress. Based on the evidence that many of tryptophan metabolites are recognized as ligands of AHR, IS can also have an endogenous activity as an AHR agonist. The aim of study is to investigate whether IS induces an AHR activation and subsequent inflammatory responses, contributing to development of atherosclerosis in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). We demonstrated that IS stimulates expression of AHR target genes, including CYP1A1 and CYP1B1 messenger ribonucleic acid (mRNA), in a time-dependent manner as well as translocation of AHR into nucleus from cytoplasm determined by Western analysis, indicating AHR activation. IS-stimulated AHR activation was accompanied by increase in oxidative stress proven by an enhanced Nox4 expression and dihydroethidium (DHE) staining. Additionally,  $\alpha$ -naphthoflavone (ANF) or CH223191, an AHR inhibitor, abolished IS-induced increase in monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) expression in a dose-dependent manner. Taken together, these results suggest that IS activates AHR as an endogenous agonist and induces MCP-1 expression through ROS production. In conclusion our findings give a novel understanding for physiological effect of IS on cardiovascular system and indicate possibilities for preventing cardio-renal syndrome.

Keywords : indoxyl sulfate, arylhydrocarbon receptor, endothelial injury

## 7. サイトカインによる高血圧性心不全心筋リモデリングの分子制御機構

木下利雄 (内科系)  
指導：山崎純一教授 (大森循環器内科)

近年われわれは塩基性線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor: bFGF) の直接心筋投与により、高血圧性心不全ラットにおける心筋リモデリング・心筋線維化の抑制を *in vivo* で実証した。このメカニズム解明のためラット心筋間質線維芽細胞を樹立し、線維化の各病期における線維化関連蛋白の発現動態を *in vitro* で解析し、また bFGF 添加による発現変化を検討した。その結果、活性化した線維芽細胞では matrix metalloproteinase 9 (MMP-9), collagen の発現が亢進しており、強い組織改築と線維素沈着を引き起こすと考えられた。そして bFGF 添加では tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) 発現増加と

collagen 発現低下を認め、MMP-9 活性の抑制を介し組織改築を抑制し、同時に線維素沈着を抑制して心筋線維化に抑制的に働くと考えられた。

Keywords : fibroblasts, fibrosis, basic fibroblast growth factor (bFGF)

## 8. Oseltamivir (タミフル) の心臓電気薬理学的作用

北原 健 (内科系)  
指導：山崎純一教授 (大森循環器内科)

Oseltamivir (Osel) による突然死が報告されているので、その心血管リスクを評価した。ハロセン麻酔犬に Osel 0.3, 3, 30mg/kg を累積的に静注し、非開胸下で血行動態および電気生理学的作用を洞調律時と心室ペースング時に評価した。さらにモルモット心筋筋を用いて、Osel 10, 100 $\mu$ M の電気生理学的作用を評価した。Osel の臨床血中濃度は 0.2 $\mu$ g/ml (1 $\mu$ M) である。その結果、ハロセン麻酔犬では、Osel は 30mg/kg で陰性変時・変力作用を示し、単相性活動電位持続時間と心室有効不応期の延長を示した。再分極の遅延に逆頻度依存性を示さなかった。この時の血中濃度は臨床有効濃度の >100 倍であった。モルモット心房では、自動能抑制、心房内伝導遅延、再分極遅延および有効不応期延長作用を示した。これらのことから、Osel は心血管系に対して >100 倍の安全域を有する薬物と考えられた。

Keywords : oseltamivir, torsades de pointes, safety margin

## 9. Alpha-synuclein in the cerebrospinal fluid differentiates synucleinopathies (Parkinson disease, dementia with Lewy bodies, multiple system atrophy) from Alzheimer disease

館野冬樹 (内科系)  
指導：鈴木康夫教授 (佐倉内科)

パーキンソン病 (Parkinson disease : PD), レヴィ小体型認知症 (dementia with Lewy body : DLB), およびアルツハイマー病 (Alzheimer disease : AD) 等の神経変性疾患では、その変性機序に  $\alpha$ -synuclein が関与することが知られており、PD, DLB では神経組織にレヴィ小体が形成される。 $\alpha$ -synuclein はレヴィ小体の主な構成成分であり、一部は髄液中に移行すると考えられる。われわれは髄液中  $\alpha$ -synuclein を測定し、神経変性疾患との関連について検討した。対象は 48 例で、男性 27 例、女性 21 例、AD 9 例、DLB 6 例、PD 11 例、多系統萎縮症 (multiple system atrophy : MSA) 11 例である。髄膜炎疑診例などの 11 例を対照群とした。測定は enzyme-linked immunosorbent as-

say (ELISA) 法を用いた。その結果、 $\alpha$ -synuclein 濃度は、対照群と比較して AD で有意に高く、PD で有意に低く、また AD と比較して DLB, PD, MSA で有意に低かった。以上より、髄液中  $\alpha$ -synuclein 測定は神経変性疾患の診断に有用であることが示唆された。

Keywords :  $\alpha$ -synuclein, Alzheimer disease, synucleinopathy

## 10. 運動筋の皮膚感覚刺激による筋活動の変化

菅原 仁 (機能系)  
指導：室 増男教授 (体育学)

皮膚感覚受容器からの求心性入力、脊髄介在ニューロンを介して、脊髄  $\alpha$  運動ニューロン ( $\alpha$  motor neurons :  $\alpha$ -MNs) を変調する。これまでの研究で、外側広筋上の皮膚冷刺激では、表層筋の筋活動に促進性の作用が生じることを明らかにした。しかし、皮膚触刺激による  $\alpha$ -MNs の変調については明らかになっていない。そこで、低負荷の等尺性肘屈曲運動を用いて、遅速的皮膚擦過刺激 (周波数 : 0.5~2.7Hz) を付加した時の筋活動の変調機構について検討した。その結果、皮膚擦過刺激による上腕二頭筋短頭の運動単位 (motor units : MUs) 活動は、浅層部の高振幅 MUs に抑制作用が、低振幅 MUs に促進作用が現れた。深層部の低振幅 MUs には促進作用が現れた。また、上腕二頭筋短頭の表面筋電図量は、速度依存性に顕著な減少を示した。平均周波数は皮膚擦過頻度の減少に伴って増加傾向を示した。皮膚擦過刺激による  $\alpha$ -MNs の変調は、脊髄介在ニューロンの影響による抑制作用を受けることが示唆された。

Keywords : skin friction, biceps brachii, alpha motor neuron

## 11. 痛みやフェンタニルに対する感受性と $\beta_1$ アドレナリン受容体遺伝子 (*ADRB1*) 多型との関連解析

森山彩子 (外科系)  
指導：加藤良二教授 (佐倉外科)

近年、痛みや鎮痛薬感受性の個人差が生じるメカニズムとして、個人間の遺伝子の相違が関係することが明らかになってきた。今回われわれは  $\beta_1$  アドレナリン受容体遺伝子 ( $\beta_1$  adrenergic receptor: *ADRB1*) に注目し、その 2 多型と痛みやフェンタニル感受性との関連性について解析を行った。下顎枝矢状分割術を受ける患者 216 名に対し、術前にフェンタニル投与前後で氷水に指をつけ、痛みを感じるまでの時間を測定した。術後痛は、patient controlled analgesia (PCA) ポンプにてフェンタニル必要量を管理し、visual analogue scale (VAS) を用いて疼痛を評価した。

その結果、A145G 多型では、フェンタニル投与前の痛み閾値の項目において、A-allele を持たない患者群は、A-allele を持つ群と比して痛み感受性が優位に低く ( $p=0.032$ )、G1165C 多型では鎮痛薬感受性の項目 (女性のみ) において、G-allele を持たない患者群は G-allele を持つ群と比較して鎮痛薬感受性が優位に高かった ( $p=0.020$ )。今回の研究により、*ADRB1* の 2 多型が痛みや鎮痛薬感受性個人差の一要因であると示唆された。今後は、遺伝子多型と個人差の関連研究の知見を基に、今後の疼痛緩和治療のテーラード化を推進し、安全で確実な疼痛治療の技術基盤を得ることが重要だと考えられる。

Keywords :  $\beta_1$  adrenergic receptor, gene polymorphism, individual difference

## 12. 夜間勤務中における女性看護師の自律神経バランスと中枢性疲労の関係

鈴木 (田中) 美穂 (機能系)  
指導：室 増男教授 (体育学)

看護師の自律神経活動バランスは、疲労の程度によって異なることが知られている。本研究では、夜間勤務前の看護師の自律神経活動バランス差と夜勤後の中枢性疲労の関連性について、心拍変動 (heart rate variability : HRV) 解析と選択肢反応および最大筋力発揮を用いて検討した。その結果、夜勤前の HRV  $\cdot$  total power (TP) 要素が低い被験者群は、高い群よりも夜勤中の HRV バランスが交感神経優位であり、仮眠中における HRV が有意に小さくなった。さらに、TP 要素の低い群は、選択反応時間や最大把持力で評価した疲労が検出されなかった。以上の結果から、TP 要素が低い被験者は高い者よりも蓄積性疲労を惹起している可能性が示唆された。

Keywords : heart rate variability (HRV), cumulative fatigue, autonomic nervous system

## 13. 大動脈弁 1 尖弁に対する自己心膜を用いた大動脈弁 3 尖再建術

河瀬 勇 (外科系)  
指導：尾崎重之教授 (大橋心臓血管外科)

大動脈弁 1 尖弁はまれな奇形であり若年期に手術を要することがある。弁膜症を発症した大動脈弁 1 尖弁に対する独自の再建術を報告する。

2007 年 4 月から 2011 年 1 月に 304 例の大動脈弁再建術を施行した。そのうち 9 例の 1 尖弁症例を後ろ向きに調査し本術式の妥当性を検討した。平均年齢は  $48.9 \pm 19.9$  歳であった。大動脈弁交連間距離を自己開発のサイザーで測り、その値に応じて自己開発のテンプレートをを用いグルタルア

ルデヒド処理した自己心膜から3弁尖を作成し各弁輪に縫着する。1尖弁の場合、新たな交連を2カ所作成する。

その結果、早期死亡や合併症はなく、平均 $551.1 \pm 51.4$ 日のフォローで全員が良好な経過である。術後1週間と1年の心エコー評価では、経大動脈弁最大圧較差がそれぞれ $10.6 \pm 3.3$ ,  $8.6 \pm 3.7$ mmHgで、1度以上の逆流は認めていない。

弁膜症を発症した大動脈弁1尖弁を独自の再建術で治療し良好な成績を得た。

Keywords : unicuspid aortic valve, aortic valve reconstruction, autologous pericardium

#### 14. 非侵襲的細径ステントグラフトの開発：エレクトロスピンニング法による生体適合性グラフトの試み

粕谷秀輔 (内科系)  
指導：寺田一志教授 (佐倉放射線)

大動脈瘤は破裂すると致死性の高い疾患であるが、近年、治療法としてステントグラフト内挿術が広く浸透しつつある。内挿術後の再発が問題であり、多くは血管内治療により修復が可能であるが、血管壁とグラフトの間隙からの血液の持続的な再流入 (type 1 エンドリーク) による再発が大きな問題である。また、挿入するシステムが広径で、外科的血管露出が必要となり、さらなる非侵襲的デバイスの開発が望まれている。

生体適合性が高く、かつ細径なステントグラフトの作製を目的とした。工業的技術として注目されているエレクトロスピンニング法を用い、生体適合性ポリマー (2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine : MPC) からナノファイバーを作製した。そして、ファイバーの観察評価、ファイバーに含浸させた薬剤の分光光度計による溶出量測定、血小板付着の評価を行った。

その結果、MPC 溶液濃度を変化させることで、MPC のナノ形状制御に成功した。MPC ファイバー径を変化させることで、薬剤徐放を制御しえた。MPC ファイバーは高い抗血栓性を示した。薬剤徐放が可能な MPC ファイバーを用いたステントグラフトの作製に成功した。

Keywords : stent graft, 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC), electro spinning

#### 15. MRI と SPM8-DARTEL を用いた白質の voxel-based morphometry によるレビー小体型認知症と他の変性性認知症との鑑別の有用性

中塚智也 (内科系)  
指導：寺田一志教授 (佐倉放射線)

Magnetic resonance imaging (MRI) を用いた voxel-based morphometry (VBM) では、アルツハイマー病 (Al-

zheimer disease : AD) とレビー小体型認知症 (dementia with Lewy body : DLB) で異なる灰白質の萎縮パターンを示すことが報告されている。しかし、白質萎縮パターンについて評価し、その鑑別有用性を検討した報告はほとんどない。今回われわれは、脳の voxel ごとの萎縮を検出できるソフトウェアである statistical parametric mapping (SPM) 8-diffeomorphic anatomical registration through exponentiated lie algebra (DARTEL) を用いて AD と DLB の白質を解析し、その鑑別有用性を検討した。認知症精査目的で MRI を施行した probable AD 30 例と possible/probable DLB 60 例を後方視的に検討した。DLB 30 例で年齢と全白質萎縮率を共変量として、白質の有意萎縮を求め volume of interest (VOI) とした。これを残りの DLB 30 例と AD 30 例に当てはめて Z score を求め、Z score による receiver operating characteristic (ROC) 解析を施行した。その結果、DLB 30 例で、年齢と全白質萎縮率を共変量にした解析では、中脳、橋、延髄、小脳に有意な萎縮を認めた。この VOI を、残りの DLB 30 例と AD 30 例に当てはめて求めた Z score の ROC 解析では、中脳に限局した VOI で、area under the curve (AUC) 0.75、感度 70%、特異度 70% と比較的高い値が得られた。以上より、SPM8-DARTEL を用いた AD と DLB の白質解析は、中脳に限局した VOI を用いると、鑑別に有用である。

Keywords : dementia with Lewy bodies, Lewy body disease, voxel-based morphometry

#### 16. 3 テスラ MRI における 3D 高速スピネコー法 (SPACE 法) を用いた膝関節 MRI の評価に関する研究

工藤秀康 (内科系)  
指導：寺田一志教授 (佐倉放射線)

膝 magnetic resonance imaging (MRI) は two-dimension (2D) 系シークエンスが主流であるが、近年、three-dimension (3D) 系シークエンスへと変化している。3D 系シークエンスでも signal-to-noise ratio (SNR) が高く、アーチファクトが少ないスピネコー系が期待されてきたが撮像時間が長く、specific absorption rate (SAR) が高く、あまり普及しなかった。今回、われわれはフリップ角を経時的に変化させ、SAR 低減、組織間コントラストの最適化が可能な 3D-スピネコー法 (sampling perfection with application optimized contrasts using different flip angle evolution : SPACE) に注目し、膝関節 MRI での有用性について検討した。3 テスラ (3T)-MRI、膝専用コイルを使用し、MRI の画質評価、診断能評価を行った。その結果、膝関節 SPACE 像と 2D-fast spin echo (FSE) 像の画質評価では 2D-FSE 像の方が良好であった ( $p < 0.05$ )。しかし、2D 系シークエンス MRI との診断能評価はほぼ同

等であったが、SPACE-MRIで半月板病変に高い確信をもって診断できた ( $p < 0.001$ )。SPACE法は半月板などの関節内微細病変の評価に有用であった。

Keywords : 3T, SPACE, knee MRI

## 17. 医療従事者における職業性ストレスの研究

伊藤慎也 (社会医学系)  
指導 : 長谷川友紀教授 (医療政策・経営科学)

医療従事者はストレスの強いことが想定されるが、各職種でのストレスの特徴は明確になっていない。本研究では医師、看護スタッフ、事務員のストレスの特徴を明らかにするために、20病院の医療従事者11694名を対象に職業性ストレス簡易調査票を用いた調査を実施した。調査票は『ストレス要因』『ストレス反応』『修飾要因』から構成され、各々が4~9の下位項目を持つ。総合健康リスク(全国平均100)は、全医療従事者が109、医師が91、看護スタッフが113であった。医師と看護スタッフは仕事の質的・量的負担度の評価が低かった。医師は職場の支援があるためストレス反応が弱かったが、看護スタッフは職場の支援が少ないためストレス反応が強かった。医療従事者は総合健康リスクが高いためストレス対策が重要である。患者と臨床の接点を持つ医師と看護スタッフは質的・量的仕事の負担度が強く、看護スタッフは医師と比べて量的仕事の負担度に対する職場の支援が少ない。

Keywords : job stress, healthcare worker, brief job stress questionnaire (BJSQ)

## 18. 胃がんの疾病費用 (Cost of illness) の推計

芳賀香代子 (社会医学系)  
指導 : 長谷川友紀教授 (医療政策・経営科学)

胃がんは、現在もわが国の死因の上位を占める疾患である。本研究は、胃がんの社会的負担を疾病費用 (Cost of illness : COI) 法によって表すことを目的とした。方法は、官庁統計データを用いて、1996、2002、2008年のCOI推計を行うとともに、2014、2020年の将来予測を行った。分析の結果、1996~2008年で死亡数には大きな変化がないが、COIの大きな部分を占める死亡費用は減少傾向にあり、将来推計では、現在の健康関連指標の推移が継続すると仮定すると、COIは大きく減少することが予測された。COIに影響を与える要因には「高齢化」「医療供給体制の変化」「医療技術の変化」があるが、特に、高齢化に伴う死亡費用の減少の影響が大きいことが明らかになった。本研究の結果に加え、他疾患でも同様の推計を行うことによって、疾病対策の優先順位を論ずる際に応用することができると思われる。

Keywords : stomach cancer, cost of illness (COI), health economics

## 19. 脊柱姿勢が将来のADL低下に及ぼす影響の検討 : 地域在住高齢者コホートより

神谷耕次郎 (社会医学系)  
指導 : 西脇祐司教授 (衛生学)

約800名の地域在住高齢者の脊柱姿勢をSpinal Mouse® (Index Ltd., Tokyo)を用いて非侵襲的に評価し、脊柱姿勢の4つのパラメータ、すなわち胸椎湾曲角、腰椎湾曲角、仙骨傾斜角、脊柱前傾角のうち、将来のactivities of daily living (ADL)低下ともっとも関連する指標はどれであるかを検討した。各パラメータを性特異的に4分位にわけ、ロジスティック回帰分析により、共変数を調整したうえで関連の強さをオッズ比およびその95%信頼区間で解析した。平均4.5年追跡の結果、唯一アウトカムとの関連が観察されたのは脊柱前傾角で、その関連はトレンド検定でも統計学的に有意であり、1四分位あたりのオッズ比の上昇は1.77であった。これまでの報告から、高齢者は前後の身体動揺に弱いとされている。矢状面での脊柱姿勢変化、特に前傾は、前後の身体動揺に影響を与え、重心線の変化、身体機能の低下、つまずき、転倒、骨折などを引き起こし、その結果、ADL低下につながるのではないかと考察した。

Keywords : spinal posture, dependence in activities of daily living, cohort study

## 20. パッチテスト反応の客観的評価 : 肉眼判定による評価と画像解析による紅斑指数の比較

大島 宏 (内科系)  
指導 : 石河 晃教授 (大森皮膚科)

遅延型アレルギーの原因物質判定に有効であるパッチテスト (patch test : PT) は、通常担当医が肉眼判定し診断する。PTは主観的評価であり、評価者間での結果の相違などの問題が生じる。判定の客観的評価をめざし、われわれはPTの紅斑強度を画像解析によって定量し、肉眼判定の結果と比較して、有用性を検討した。

121名の患者でPT陽性と肉眼判定した部位のデジタル画像を画像解析により紅斑指数 (erythema index : EI) 画像に変換した。PT陽性部位のEI (EI<sub>t</sub>)、EI<sub>t</sub>と近接部位とのEIの差分 ( $\Delta EI_t$ ) を算出し、医師が判定した評価値との相関を検討した。その結果、EI<sub>t</sub>に比べ、 $\Delta EI_t$ は肉眼評価値と非常に強い相関関係を示した。さらにすべてのスコア群間で、 $\Delta EI_t$ 平均値には有意な差がみられた。本結果から、画像解析から得られた $\Delta EI_t$ はPTにおける紅斑の定量的評価に適し、判定に迷う反応の評価や経験の浅い

評価者の補助的手段として活用できる可能性が示唆された。

Keywords : patch test, erythema index, visual grading

## 21. 腔分泌物培養検査からみた加齢と腔内環境の変化についての検討

福田麻実 (外科系)

指導 : 久布白兼行教授 (大橋産科婦人科)

婦人科外来診療において外陰部の掻痒や帯下の異常は全年代を通して、最も多い主訴のうちのひとつである。腔内の環境は加齢によるホルモンバランスの変化に伴い変化するが、加齢による腔内環境の変化と腔内菌叢の関連について詳細に検討した報告は少ない。一方、近年の日本の高齢化にともない、中高年女性の健康意識への注目はますます高まっている。このような背景から、外陰部の掻痒や帯下の異常の原因となりうる腔内細菌および真菌の検出頻度や検出菌種が加齢によりどのように変化するのかを検証するため、当科外来にて施行した腔分泌物培養検査 3393 検体の結果について、性成熟期世代 (18~44 歳)、更年期世代 (45~55 歳)、老年期世代 (56 歳以上) の 3 群に分け比較検討した。その結果、外陰部の掻痒や帯下の異常の原因となりうる腔内細菌および真菌の検出頻度や菌種は世代が変わるごとに大きく変化することが確認された。

Keywords : menopause, estrogen, pathogen

## 22. 4つの転写因子 (OCT4, SOX2, NANOG, LIN28) を 293FT 細胞に導入し aberrant ES 様細胞が得られた研究報告

岡 祐輔 (外科系)

指導 : 中島耕一教授 (大森泌尿器)

293FT 細胞は、ヒト胎児の腎臓細胞に由来し、SV40 を用いて不死化された培養細胞である。また、293FT 細胞は、遺伝子導入効率がきわめて高く、実験によく用いられる細胞である。最近、体細胞に特定の転写因子を導入することにより人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell : iPS 細胞) が誘導され、幹細胞研究が大きく飛躍を遂げている。われわれは不死化した細胞でもリプログラミングが起きるかどうかが検討を行った。4つの転写因子 (OCT4, SOX2, NANOG, LIN28) を、レンチウイルスを用いて、293FT 細胞に導入した。結果として、形態学的には embryonic stem (ES) 細胞と同様な円形のコロニーを形成し、明らかに元々の 29FT 細胞の形態とは異なっていた。しかし、*in vivo* での実験では、通常 iPS 細胞を免疫不全マウスに移植した際には三胚葉をもつ奇形腫を形成するが、この細胞群の移植では、奇形腫ではなく癌化がみられた。ゆえに、多分化能は有しておらず、不死化した細胞

群では、aberrant ES 様細胞が誘導できると結論づけた。

Keywords : transcription factor, aberrant ES-cell-like

## 23. 慢性咳嗽における Mostgraph 法と呼気一酸化窒素 (FeNO) 測定意義についての検討

中野千裕 (内科系)

指導 : 甲田英一教授 (大橋放射線)

近年、慢性咳嗽を主訴に受診する患者が増加傾向にある。慢性咳嗽患者を対象に Mostgraph 法、呼気一酸化窒素 (fractional exhaled nitric oxide : FeNO) 測定、肺機能検査を行い、慢性咳嗽の病態、鑑別診断、治療効果判定に対して Mostgraph 法、FeNO 測定、肺機能検査の測定意義および有効性について検討した。慢性咳嗽を主訴に来院した患者 120 名を対象とした。気道抵抗測定は呼吸抵抗装置 Mostgraph [チェスト (株), 東京] を用いた。FeNO 測定は NIOX-MINO (Aerocrine solna, Sweden) を用いた。肺機能検査はスパイロメトリーを使用した。補助診断として画像、血液検査等を施行した。治療薬は  $\beta$  刺激薬、吸入ステロイド薬の併用を中心とした。その結果、5Hz における気道抵抗 (Rrs5)、20Hz における気道抵抗 (Rrs20)、FeNO は慢性咳嗽患者では高い傾向にあった。症状の改善とともに気道抵抗、FeNO は有意な減少を認めた。肺機能検査では有意な変化は認めなかった。

慢性咳嗽患者では Rrs5、Rrs20 が高く、FeNO が高い傾向にあり、治療により低下した。モストグラフ法、FeNO 測定を併用することは非侵襲的で短時間に施行でき、慢性咳嗽の診断、治療効果判定に有用である可能性が示唆された。

Keywords : Mostgraph, FeNO, chronic cough

## 24. 食道扁平上皮癌における高分子サイトケラチン (CK34 $\beta$ E12) 発現と腫瘍進行の関連

小野真史 (内科系)

指導 : 五十嵐良典教授 (大森消化器内科)

食道扁平上皮癌 (esophageal squamous cell carcinoma : ESCC) は予後不良な癌の 1 つとして認識されている。高分子サイトケラチン (CK34 $\beta$ E12) は今までに前立腺や乳癌、肺の基底細胞癌などに対して研究されてきているが、ESCC の浸潤部での CK34 $\beta$ E12 の発現に関しては今までに報告は認めない。今回、170 症例の外科的に切除された ESCC を用いて、病理組織学的に CK34 $\beta$ E12 の発現との関連について明らかにした。CK34 $\beta$ E12 は ESCC の 85.3% (145/170) に発現を認め、さらに、CK34 $\beta$ E12 はリンパ節転移、癌の浸潤、分化度と有意な差をもって関連を認めた (66.2% (96/145),  $p=0.034$ , 57.9% (84/145),  $p=0.042$ , 82.1% (119/145),  $p=0.013$ )。この結果よりヒトの ESCC

の浸潤部におけるCK34βE12の発現が、リンパ節転移、癌の浸潤、分化度の指標となり、ESCCの新しい組織学的な指標となりえる。

Keywords : esophageal squamous cell carcinoma, CK34βE12, histopathological

## 25. 膵癌神経浸潤と腫瘍関連マクロファージおよび予後の検討

杉本元一 (外科系)  
指導：金子弘真教授 (大森一般・消化器外科)

膵癌において神経浸潤は切除の可否を規定する重要な予後不良因子である。近年腫瘍周囲微小環境に存在する腫瘍関連マクロファージ (tumor-associated macrophage : TAM) が腫瘍の増殖や浸潤、転移に重要な役割をもつ可能性が示されてきている。一般的なマクロファージではCD68が、TAMではCD204が高発現することが認識されている。膵癌神経浸潤部におけるTAMの集積を評価し、臨床病理学的特徴について検討した。膵頭部癌に対する膵頭十二指腸切除107例を対象とし、膵被膜より神経浸潤先進部までの距離を神経浸潤距離と定義し、CD68およびCD204免疫染色により同部における陽性細胞の占有率を評価し、予後との関係を検討した。その結果、膵外神経浸潤部においてCD204陽性細胞が多く認められ、そのような症例では早期に再発する傾向が認められた。膵癌神経浸潤に関与するTAMの存在を認識し、さらに今後TAMを集積させる腫瘍細胞の特徴や関連分子を研究することにより、TAM集積に関わる機序を解明できる可能性がある。

Keywords : pancreatic cancer, tumor-associated macrophage, neural invasion

6月15日 (金)

## B. 一般講演

### 1. 医学生における男女共同参画の意識

竹内 愛 (男女共同参画推進室)  
広田幸子 (周産期人材育成推進室)  
金井哲夫 (産学連携セン)  
並木 温 (教育開発室)  
中野弘一 (教育研究支援セン, 心身医学)

本邦では、深刻な医師不足が問題となっており、一因には女性医師の離職の問題が指摘されている。女性医師の復帰・継続就労支援において医学生の意識を知ることは、早期介入の方法探索の一助になるとと思われる。本研究では、医学部に在籍する543名に対して米国内科学会日本支部

Women's Committeeの学生委員が中心となって作成した質問紙を一部改編し、「結婚・子どもを持つこと」、「子育て参加」、「介護」、「医師という職の継続」について質問した。回答者440名のうち、90%以上の学生が結婚を希望し、将来子どもを持ちたいと答え、80%以上が医師を定年まで続けたいと回答した。子育てについては、女子医学生の78%、男子医学生の49%が不安と答え、介護についての不安を感じるのは男子61%、女子70%であった。結婚・育児を見据えたキャリアプランを早期から考える機会を作り、子育てや介護への不安には、医療現場の支援体制、育児や介護との両立について学生のころから知り、不安軽減を図ることが有益と思われる。

Keywords : work-life balance, medical student, gender equality

### 2. 研究の現状と研究支援に関する調査

竹内 愛 (男女共同参画推進室)  
広田幸子 (周産期人材育成推進室)  
金井哲夫 (産学連携セン)  
田崎美弥子 (心理学)  
中野弘一 (教育研究支援セン, 心身医学)

本研究は、本学臨床医学系教員の論文数と論文の質の向上を図るために、教員の置かれている研究環境の現状を把握し、研究支援のあり方を検討することを目的とした。平成24年1月18日から2月17日にかけて、本学教員795名に対し、インターネットを通じて研究状況に関する質問項目の回答を求めた。その結果、回答者108名のうち80%以上が研究時間を十分に確保できていないと回答した。その理由として、20~40代の男性は“診療・教育に時間が割かれる”、30歳代の女性は“育児・介護・家事などプライベートに時間が割かれる”ことが一番に挙げられた。研究数では、40代以上の男性が平均して10本以上あるのに対し、50歳代の女性で10本以上にあるのは10名中2名に留まった。学部をこえて、研究支援員派遣制度の対象拡大の要望は大きく、質の高い臨床研究の支援には、被支援者の状況に柔軟に対応する支援システムの構築が示唆された。

Keywords : research environment, support program

### 3. 臨床実習資格認定証授与式に父母が参加する意義についての検討

松崎淳人 (卒後臨研/生涯教育セン)  
岸 太一 (教育開発室)  
島田長人 (総診, M5臨床実習運営委員会)  
並木 温 (教育開発室, M5臨床実習運営委員会)  
松橋正和 (卒後臨研/生涯教育セン)



M5 臨床実習前の臨床実習資格認定証授与式で父母の参加の是非について参加学生と参加父母より任意で1) 参加すべきでない, 2) 希望者のみで良い, 3) もっと父母は積極的に参加すべきの3段階で任意に調査した. 参加学生23名および, 参加父母13名より有効回答を得た. 参加学生側回答は0/21/0で, 参加父母側は0/11/2であり参加父母は参加学生よりも参加について有意 ( $p=0.04$ , 正確確率検定) に積極的であった.

Keywords : medical education, professionalism, medical practice

#### 4. DxRで行うe-learning臨床推論演習とadvanced OSCEの評価との比較

藤代健太郎, 坪井康次, 並木 温, 菊池由宣  
岸 太一, 土井範子 (教育開発室)

5年生で臨床推論演習としてe-learningで行うDxRの評価と, advanced Objective Structured Clinical Examination (OSCE) の評価を比較した. 対象は20XX年医学部5年生97名である. DxRの評価は3日間の演習の3日目に解いた3症例の中であらかじめ決めた1例を用いた. Advanced OSCEの評価は, 身体診察と鑑別診断を述べるステーションでのチェック項目と概略評価を用いた. その結果, 概略評価と弱い相関があったものは, 総合スコアの素点 ( $r=0.158$ ), 診断能力スコア ( $r=0.134$ ), 臨床推論スコア ( $r=0.173$ ), 検査習熟度 ( $r=0.150$ ) であった. OSCEチェック項目とDxRとの相関はなかった. グループごとに対象症例が異なるので, 偏差値を用いた標準化を行った結果とDxRを比較したがその関係は弱かった. OSCEのチェック項目よりも概略評価の方がDxRの評価と弱い相関があった. 医師らしいと感じることは, 診断過程や検査の取捨選択が当を得ていることと考えられた.

Keywords : e-learning, advanced OSCE, clinical reasoning

#### 5. 気管内挿管時の歯牙脱落・損傷防止に対する東邦大学大森病院周術期センター口腔機能管理部門設置の効果

小山修示, 堀江彰久, 福井暁子, 藤本慶子  
米山勇哉, 金 佑謙, 関谷秀樹 (口腔外科)  
渡邊正志 (医療安全管理部)  
寺田亨志, 落合亮一 (大森麻酔科)

東邦大学医療センター大森病院の平成23年度の手術件数は, 7691件であり年々増加傾向にある. 周術期センターが2011年4月に創設され, 口腔外科は, 口腔管理部門を2011年11月に設置した.

今回, 周術期口腔管理部門を経由した患者の挿管時歯牙

脱落事故件数について, 麻酔科担当医より申告された挿管時から挿管後までの歯牙脱落について, 性別, 年齢, 診療科, トゥースガードの有無, 発生時期, 損傷部位, 損傷状態および口腔管理部門設置前後のトゥースガード作製件数について検討を行い, 周術期センター口腔機能管理部門設置前の平成23年5~10月の半年間ならびに口腔管理部門設置後の平成23年11月~平成24年4月の半年間に麻酔科術前外来を受診した全身麻酔患者を比較対象とした. その結果, 設置前に歯牙脱落した人数は5件, 歯牙保護目的のトゥースガード作製者は11名, 設置後, 歯牙脱落件数は0件であり, トゥースガード作製者は100名であった. 以上より, 設置前歯牙脱落発生率0.0018% 設置後発生率0%と明らかな減少傾向がみられた.

Keywords : tooth protector, center of perioperative management, dental injury

### C. 平成22年度プロジェクト研究報告

#### 6. SEREX抗原を標的とした胃癌分子腫瘍マーカー：胃癌症例における腫瘍抗原の検出システムの構築

谷島 聡, 鈴木 隆 (大森一般・消化器外科)

Serological identification of antigens by recombinant expression cloning (SEREX) 抗原を標的とする独自の血清抗体検出法により胃癌における新規腫瘍マーカーの開発を目的とした.

標的腫瘍抗原は, 特許情報あるいはPubMedにて公開され血清抗体陽性率10%以上のものを18種類選択した. これらのSEREX抗原遺伝子をクローニングし, 精製した組み替え蛋白を標的抗原とするenzyme linked immunosorbent assay (ELISA) 測定系を確立した. 研究目的に購入した胃癌症例の血液を用いた. 健常者血清中の抗SEREX抗体価の平均値+3SDを基準値として陽性率を算出した.

公開情報から診断的有用性が示唆される腫瘍抗原のうち以下の18種類の抗原について独自のELISAシステムを構築した[HSP40, p90, p53, galectin-1, annexinII, suiI, NY-ESO-1, HCC-22-5, cyclinB1, prx6, HCA25a, HSP70, RalA, p62, c-myc, HER2, KM-HN-1, vascular endothelial growth factor (VEGF)]. 健常者での血清抗体陽性率はいずれも5%未満である. 陽性率10%以上であったのはp90, p53, galectin-1, NY-ESO-1, HSP70, RalA, KM-HN-1の7抗原であり, 他の11抗原は診断的有用性が低いと判断された.

Keywords : SEREX, biomarker, gastric cancer

## D. 平成 23 年度プロジェクト研究報告

### 7. 直腸癌の術前化学放射線療法が肛門括約筋内の神経組織に与える影響

金子奉暁, 甲田貴丸 (大森一般・消化器外科)  
平野孝幸 (大森病院病理)

術前放射線療法を受けた患者の排便機能は、手術単独群に比べ優位に低下しており、原因として放射線による肛門括約筋や神経へ障害が予測される。内外括約筋間の神経を対象に組織学的変性についての検討を行い、その障害を明らかにすることを目的とした。

対象は腹会陰式直腸切断術を施行された進行直腸癌患者 21 名 (内訳は放射線化学療法併用群 5 名およびコントロールとして手術単独群 16 名)。齒状線を中心に 5mm の範囲で、連合縦走筋内にある末梢神経の評価を行った。評価項目として、核凝縮、空胞変性、好酸性変化、脱核、神経周膜変性、血管硝子化、炎症細胞浸潤を設定し、それぞれ 3 段階 (正常: 0, 軽度陽性: 1, 陽性: 2) (炎症細胞浸潤のみ 2 段階) で評価し、合計を点数化した (13 点満点)。その結果、併用治療群の平均値、中央値は、7.2, 7 点で、単独群の 0.69, 0 点と比較して高値であった。検定の結果は  $p$  値 0.014 ( $<0.05$ ) で、2 群間での有意差を認めた。

これらのことから、放射線治療の副作用として形態学的に神経変性があり、術後の肛門機能低下に影響を与えている可能性が示唆された。

Keywords : anal disfunction, radiotherapy, rectal cancer

### 8. 肝細胞癌症例における血清 galectin-1 抗体の解析

久保田喜久, 山崎有浩 (大森一般・消化器外科)

癌患者の血清中に誘導される腫瘍抗原特異的 immunoglobulin G (IgG) 抗体は、比較的早期から陽性となるため、新規の腫瘍マーカーとして有用である可能性がある。Galectin-1 は、肝細胞癌を含む種々の固形癌において悪性度との関連が報告されているが血清抗体を解析した報告はほとんどない。そこで本研究では肝細胞癌症例における血清 galectin-1 抗体を解析した。肝細胞癌患者 76 症例, stage I ( $n=13$ ), stage II ( $n=39$ ), stage III ( $n=18$ ), stage IV ( $n=6$ ) を対象として、独自に開発した enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) システムにより治療前の患者血清中の抗 galectin-1 抗体を解析した。健常者 72 名の抗体価の平均値 + 3SD を基準値として陽性率を算出した。その結果、肝細胞癌患者における陽性率は 76 例中 15 例 (19.7%) であり、健常者対照群における陽性率は 72 例中

3 例 (4%) であった。肝細胞癌患者では、galectin-1 抗体陽性率は健常者と比較して有意に高く新規バイオマーカーとして有用性が示唆された。

Keywords : hepatocellular carcinoma, tumor antigen, biomarker

### 9. 乳癌移植担ガンマウスに対する凍結療法による免疫学的変化の検討

齊藤芙美, 緒方秀昭 (大森一般・消化器外科)

乳癌治療において近年 non-surgical ablation が注目されている。今回乳癌担ガンマウスに対する低温療法の効果を血清サイトカインおよび病理組織学的な変化から検討を行った。凍結療法後の腫瘍は縮小効果を認めた。血清サイトカインでも凍結療法を施行することで変化を認めたことから凍結療法は病理組織学的な腫瘍縮小効果のみならず免疫学的腫瘍抑制効果をもたらされる可能性があるとして示唆される。

Keywords : breast cancer, cryotherapy, non-surgical ablation

### 10. キノロン系抗菌薬低感受性の遺伝学的ハイスループット解析系の構築

青池 望, 坂田竜二 (微生物・感染症学)

パイロシークエンス法は短いリード長の簡便迅速なリアルタイムシークエンス解析システムである。腸内細菌のキノロン感受性を左右する主要因子であるキノロン耐性決定領域 (quinolone resistance determining region : QRDR) のアミノ酸変異は狭い領域に位置しており、大量の検体をスクリーニングするにあたり、同法での QRDR 変異の検出が適していると考え、腸内細菌の QRDR のアミノ酸変異をパイロシークエンス法を用いて検出する系を構築した。

大腸菌の GyrA と ParC の既知の塩基配列から増幅プライマーとシークエンスプライマーを作成し、当院微生物検査室に保存されていた大腸菌 141 株について GyrA の 81-87 番目、ParC の 78-84 番目のアミノ酸配列をパイロシークエンス法を用いて解析した。対照として従来の Sanger 法を行い塩基配列を比較検討した。結果、いずれの方法でも同様の結果が検出された。パイロシークエンス法では塩基配列の結果を簡便、安価、迅速に得ることができ、今後の応用の範囲も広いと考えられた。

Keywords : pyrosequencing, quinolone resistance, Enterobacteriaceae

## 11. $\beta$ -barrel assembly machinery (BAM) complex を標的とした合成ペプチドによる緑膿菌感染症に対する新規治療法の基礎的検討

森 伸晃, 石井良和 (微生物・感染症学)

緑膿菌の薬剤耐性に関与する外膜の形成に BAM complex は中心的役割を果たす。BAM complex を構成する各タンパクの結合面と相同性のあるペプチドを合成し、緑膿菌の抗菌薬感受性への影響について検討した。

ペプチドと各種抗菌薬の緑膿菌に対する効果を、微量液体希釈法、チェッカーボード法、殺菌曲線およびマウス肺炎モデルにて評価した。またペプチドによる外膜タンパクと OprM 発現量の変化について検討した。その結果、ペプチドの併用でコリスチンおよびレボフロキサシンの抗菌効果は増強し、殺菌曲線でも同様の効果がみられた。ペプチド添加で外膜透過性が亢進し、OprM 発現量の一部減少が観察された。またマウス肺炎モデルでも併用効果がみられた。

ペプチドは、外膜透過性の亢進をきたし、特定の抗菌薬の緑膿菌に対する感受性を改善させた。詳細なメカニズムは更なる検討が必要だが、既存の抗菌薬とは標的が違うため新しい治療戦略となりうる。

Keywords : *Pseudomonas aeruginosa*, BAM complex, peptide

## 12. ヒトおよび家畜由来基質特異性拡張型 $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) 産生大腸菌の特徴

吉住あゆみ, 小口晋弥 (微生物・感染症学)  
小島泰子 (大森小児科)

本邦における extended-spectrum $\beta$ -lactamase (ESBL) 産生菌の分離頻度は近年増加傾向にあり、入院患者からだけでなく市中からも多く分離されてきている。今回われわれはヒトそして家畜由来 ESBL 産生大腸菌のクローナリティ、ESBL 型の分布頻度を明らかにすることを目的としてヒト由来株、家畜由来株を比較した。ヒト由来 ESBL 産生大腸菌 134 株 (2007~10 年患者由来 124 株, 2009~10 年健康人由来 10 株)、鶏由来 45 株 (国産鶏肉由来 13 株, 鶏糞便由来 32 株) を対象に ESBL 型 (CTX-M 型) と大腸菌の multilocus sequence typing (MLST) 型別を比較した。その結果、ESBL 型についてはヒト由来株は CTX-M27 が 35% を占めていたのに対し、鶏由来株は M2 が 45% を占めていた。また MLST および e-BURST 解析の結果、ヒト由来株では CC131 が 61% を占めていたのに対し、鶏由来株は多様な CC タイプで構成されていた。これらの結果から、今回対象としたヒト、鶏由来大腸菌の主要な遺伝子型および大腸菌が産生する主要 ESBL 型には違

いがあることが明らかとなった。

Keywords : ESBL, CTX-M, MLST

## 13. 緑膿菌耐性化機序の解明と抗菌薬適正使用に関する検討

吉澤定子 (感染管理部)  
神山裕一 (微生物・感染症学)

今回われわれは、抗菌薬適正使用の推進活動としてカルバペネム系抗菌薬は全数届出制とし、さらに長期投与者への介入を行った結果、同抗菌薬の長期投与者数、耐性緑膿菌検出数は有意に減少した。一方、緑膿菌が感性から多剤耐性となる機序について解明することを目的として、2008 年 1~12 月に同一症例において 2 剤耐性緑膿菌 (2 drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* : 2PA) および multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) の双方が検出されている症例を抽出し、それらの症例から検出されたすべての緑膿菌について minimum inhibitory concentration (MIC) を測定、AmpC, metallo  $\beta$ -lactamase (MBL) の産生性を調査し、抗菌薬使用状況と耐性化の関連性について検討を加えた。さらに、pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 法により同一性を調査し、MIC 結果と比較検討した。その結果、対象症例は 10 例で、全緑膿菌検出株数は 58 株であった。MBL と AmpC 検出率はそれぞれ 24% と 43% で、AmpC の検出には  $\beta$ ラクタム系薬の使用が関与している可能性が示唆された。一方、PFGE 解析結果は 17 クローンに分類され、複数の患者が同一の type に分類された。また、同一クローンの MIC が耐性から感性に推移したことがみられたが、これらのコロニー形態は類似していた。

今回の検討により、同一個体内に複数のクローンが存在する一方、同一クローンでも種々の MIC のものが併存し、検査ごとに薬剤感受性が異なっている可能性が示唆された。また、これらのクローンが個体から院内へと広がっている可能性が示唆された。

Keywords : MDRP, infection control, mechanism for multidrug resistance

## 14. 免疫抑制宿主に合併する難治性多剤耐性 *Nocardia* 属菌感染症の新規治療に関する研究

宮崎泰斗 (総合診療・救急医学)  
岩田基秀 (大森呼吸器内科)

難治性日和見感染症の一種であり近年増加が報告されている薬剤耐性 *Nocardia* 属菌感染症に対する新規治療を確立するため本研究を行った。

*N. farcinica* 8 株 (標準株, 臨床分離株) を用い、経口薬

を中心に抗菌薬 19 剤における薬剤感受性 (minimum inhibitory concentration : MIC) ならびに殺菌性 (minimum bactericidal concentration : MBC) を評価した。標準的治療薬である sulfamethoxazole/trimethoprim, ならびに近年効果が期待されている linezolid は、MIC での感受性率は良好であるものの殺菌性が乏しい結果であった。一方で sitafloxacin を中心としたキノロン系薬は感受性ととも殺菌性も良好であり、臨床効果の確実性がより高い可能性が考えられた。また、MIC 判定日を遅くすると MIC と MBC の乖離が小さくなる現象が観察され、簡易的な殺菌性評価として利用できる可能性が示唆された。

Keywords : nocardiosis, drug resistant, quinolones

#### 15. サイトカインによる高血圧性心不全心筋リモデリングの分子制御機構

木下利雄, 鈴木健也 (大森循環器内科)

近年われわれは塩基性線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor : bFGF) の直接心筋投与により、高血圧性心不全ラットにおける心筋リモデリング・心筋線維化の抑制を *in vivo* で実証した。このメカニズム解明のためラット心筋間質線維芽細胞を樹立し、線維化の各病期における線維化関連蛋白の発現動態を *in vitro* で解析し、また bFGF 添加による発現変化を検討した。その結果、活性化した線維芽細胞では matrix metalloproteinase 9 (MMP-9), collagen の発現が亢進しており、強い組織改築と線維素沈着を引き起こすと考えられた。そして bFGF 添加では tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) 発現増加と collagen 発現低下を認め、MMP-9 活性の抑制を介し組織改築を抑制し、同時に線維素沈着を抑制して心筋線維化に抑制的に働くと考えられた。

Keywords : fibroblasts, fibrosis, bFGF

#### 16. 子宮頸癌に対する新しい細胞診検体を用いた分子細胞学的検討

福田麻実, 山本泰弘 (大橋産科婦人科)

子宮頸がんは異形成から上皮内癌、浸潤癌に進展することが明らかにされている。また、その発癌機構にヒトパピローマウイルス (human papilloma virus : HPV) が関与していることが知られている。一方、子宮頸癌のスクリー

ニング法として液状化検体細胞診 (liquid-based cytology : LBC) が普及しつつある。LBC 法は細胞診標本作製に加え HPV 検査が可能なのが利点である。今回われわれは、比重遠心法による国産 LBC 法の細胞診標本作製後の残存細胞浮遊液を用いて、HPV genotyping 検査を実施した。HPV genotyping 検査は HPV-DNA を抽出し polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide (PCR-SSO) 法と Luminex<sup>®</sup> システムを用いて解析した。その結果、比重遠心法による国産 LBC 法の細胞診標本作製後の残存細胞浮遊液検体を用いた HPV genotyping 検査が可能であった。また、HPV subtype では 16 型に次いで本邦では 50 番台が多く感染していることがわかった。

Keywords : cervical cancer, human papilloma virus, liquid-based cytology

#### 17. 人工血管壁への細菌通過に関する研究 : エラストマーシールドダクロングラフトとゼラチンコーティングダクロングラフトにおける検討

佐々木雄毅 (大森心臓血管外科)

Khandakar Mohammad Anwarul Haque

(微生物・感染症学)

人工血管の外壁から内壁へ菌が侵入する時間と菌量を調査した。ゼラチンコーティング (G 群) とエラストマーシールド (T 群) ダクロングラフトを用い、菌は緑膿菌を生食懸濁液にして使用。人工血管を 6cm 長に切断後、容器内でループ状とし内側に生食、外側に緑膿菌生食懸濁液を注入し 60 時間まで人工血管内生食を採取しコロニー数を計測した。次に人工血管断面を電子顕微鏡で観察した。

その結果、G 群は 30 時間ですべてのモデルから菌が出現。T 群は菌出現までの時間がさまざまであった。T 群は中央値の 12 時間より菌の出現が早い群を TF 群、遅い群を TL 群とした。G 群を含めた 3 群の比較で TL 群は有意に菌量が少なかった。また電子顕微鏡でエラストマー層の厚さは不均一でありところどころに defect を認めた。

これらのことから、人工血管壁への細菌通過は直後より発生することは少なく、さらに T 群はエラストマー層を均一にすることで細菌の侵入を抑制できると推測される。

Keywords : vascular graft infection, bacterial invasion into vascular graft, elastomer-sealed Dacron graft