

学位（博士）授与の記録

ま の よ う こ
真 野 容 子

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第522号

学位授与の日付：平成27年6月25日

主 論 文：Molecular analysis of the integrons of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates collected by nationwide surveillance programs across Japan
(日本の全国サーベイランスプログラムで収集された臨床材料から分離されたメタロ- β -ラクタマーゼ産生緑膿菌のインテグロン構造の分子生物学的解析)

著 者：Mano Y, Saga T, Ishii Y, Yoshizumi A, Bonomo RA, Yamaguchi K, Tateda K

公 表 誌：BMC Microbiol 15: 41, 2015 (DOI: 10.1186/s12866-015-0378-8)

論文内容の要旨

【背景と目的】カルバペネム系薬は、緑膿菌による感染症治療に対して有効性が高い抗菌薬である。しかし、近年臨床材料から分離される緑膿菌のカルバペネム耐性株の出現が問題となっている。カルバペネム系薬を分解するメタロ- β -ラクタマーゼ (metallo- β -lactamase: MBL) の産生は、カルバペネム系薬を含む多くの β ラクタム系薬に対して耐性を示すのみならず、多剤耐性を示す割合が高いことが特徴である。bla_{MBL} 遺伝子は、プラスミド上に存在し、複数の耐性因子をコードする遺伝子を蓄積する特異な構造のインテグロンと呼ばれる遺伝子カセット内に認められることが多い。そのような背景から、複数の耐性因子が菌種を超えて他菌株に同時に伝播することが可能となる。これまで本邦では、MBLを産生する緑膿菌に関して、MBLの種類としてIMP型の検出頻度が高いこと、また緑膿菌は multilocus sequence typing (MLST) による遺伝解析で sequence type (ST) 235 や ST357 の分離頻度が高いことが報告されている。しかし、これらはいずれも特定の地域から報告されたものである。したがって、全国レベルのサーベイランスプログラムで収集された MBL 産生緑膿菌の分子生物学的特徴はいまだ把握されていない。本研究は全国規模で収集された緑膿菌を対象として、MBL 産生緑膿菌の遺伝的背景を明らかにすることを目的に、MBL 産生株を選択しそれらの菌株のインテグロン構造を解析するとともに、MLST を実施した。

【方法】全国 47 都道府県、100 医療施設において臨床材料から分離された緑膿菌 2004 年 996 株および 2006 年 992 株、合計 1988 株が収集された。最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) は Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) が推奨する微量液体希釈法に準じて測定した。セフトジジムあるいはイミペネムに耐性を示す菌株を対象として、セフトジジム (30 μ g) とメルカプト酢酸ナトリウム (30 μ g) を用いた double-disk synergy test によりスクリーニングを実施した。表現型から MBL 産生が疑われた菌株は、保有する bla_{MBL} のグループ型別を polymerase chain reaction (PCR) 法で確認し、陽性の 44 株を得た。次いで、インテグロンの内部構造は、インテグロンに共通する塩基配列を利用して、PCR 法で増幅して得られた deoxyribonucleic acid (DNA) 断片をもとに、primer walking 法により解析した。緑膿菌の分子系統解析は、MLST およびパルスフィールドゲル電気泳動 (pulsed-field gel electrophoresis: PFGE) により解析した。

【結果】MBL 産生緑膿菌が分離された検査材料の多くが尿路由来検体であった。MBL 産生株はセフトジジム、イミペネム、シプロフロキサシンに耐性を示した。MBL 遺伝子の内訳は bla_{IMP} 保有株が 43 株で、その内訳は bla_{IMP-1} が 31 株、bla_{IMP-10} が 5 株、bla_{IMP-7} が 3 株、bla_{IMP-6} が 2 株、bla_{IMP-11} が 1 株、bla_{IMP-41} が 1 株であった。1 株は bla_{VIM-2} を保有していた。bla_{MBL} は、全て class 1 インテグロン構造内に存在した。MLST による系統解析から、44 株の緑膿菌は、ST235 と ST357 を含む 9 種類の ST 型に分類された。多くの ST235 株は関東地方から分離されていた。In113 に分類されるインテグロンは、高頻度で ST235/pulsotype B 株が保有していた。一方、ST357 は In994 のインテグロンを保有し、主に中部地方から分離された。

【考察】本邦で検出される主要 MBL 遺伝子は、bla_{IMP-1} group であった。bla_{IMP} 陽性緑膿菌 ST235 は、インテグロン構造内に aacA28 も保有する菌株の割合が 88.2% を占め、アルベカシンを除くアミノグリコシド耐性を示し、多剤耐性化に深

く関与していると思われた。アルベカシンは日本において methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 感染症の治療薬として使用されている。今回の検討から、多剤耐性緑膿菌に対する治療薬として有用であることが示唆された。本研究の限界の1つは、対象菌株が古い点で、結果は現在の臨床診療への応用が期待されていない可能性があることである。しかし、今回報告したインテグロン構造の大部分がINTEGRALLデータベース上に登録されていなかったことから、今回得られた知見は重要であると思われる。さらに、本研究からマイコバクテリウム属以外の菌種にも *fosI* が存在することが初めて明らかになった。

【まとめ】本研究は、全国規模で収集された緑膿菌を使って MBL 産生株の分子生物学的手法を用いて疫学情報を提供した初めての報告であり、今後 MBL 産生菌のサーベイランスに対して基本的な分子疫学情報を提供した。

と ば たか ひと
鳥 羽 崇 仁

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第523号

学位授与の日付：平成28年3月29日

主 論 文：Histological phenotype is correlated with the wall-invasion pattern of gallbladder adenocarcinoma
(胆嚢癌における壁浸潤様式と組織学的形質の相関)

著 者：Toba T, Kijima H, Hakamada K, Igarashi Y

公 表 誌：Biomed Res 35: 295-302, 2014

論文内容の要旨

【背景および目的】胆嚢癌は本邦では比較的多く見られ、その多くは進行するまで無症状に経過し、画像診断が進歩した現在でも早期発見が困難なことから予後不良な疾患の1つである。現在、外科切除が治癒を期待できる唯一の治療だが、術後治療に関して一定の知見はない。切除後の再発も高頻度に認められ、5年生存率は約10~30%と予後不良である。よって、胆嚢癌の予後不良群を予め抽出することは、切除後の経過観察や治療方針の決定において重要と考えられる。これまでにさまざまな研究が行われ、組織学的異型度、壁深達度、リンパ節転移の有無などの予後不良因子が報告されており、われわれも、先行研究において、進行胆嚢癌の壁浸潤様式を筋層破壊型 (destructive growth type) と非筋層破壊型 (infiltrative growth type) の2型に分類し、筋層破壊型が非筋層破壊型と比較して有意に予後不良であることを示してきた。今回、われわれは進行胆嚢癌の壁浸潤様式における組織学的形質、粘液形質の特徴を明らかにし、また、臨床病理学的因子との関連についても検討を行った。

【方法】2000~2012年までに弘前大学医学部附属病院および、その関連施設で根治的手術を施行した進行胆嚢癌 (pT2 以深) 61症例を対象とした。性別は男性18例、女性43例で、平均年齢は68.9 (44-92)歳であった。組織学的評価は、腫瘍の最浸潤部の切片を用いて行い、組織学的形質は、hematoxylin and eosin (H-E) 染色でWHO組織分類 (WHO classification of tumours of the digestive system, 4th ed. 2010) に基づき胆道型 (Biliary type)、胃型 (Gastric type)、腸型 (Intestinal type) の3型に分類し、また、壁浸潤様式を筋層破壊型、非筋層破壊型の2型に分類した。粘液形質は、免疫組織化学染色を行い、胆道型粘液形質のマーカーである mucin core protein (MUC) 1、腸型粘液形質のマーカーである MUC2、胃型粘液形質のマーカーである MUC5AC、MUC6 を用いて評価した。腫瘍全体の10%以上で染色されたものを陽性、10%以下のものを陰性と評価した。臨床病理学的因子については、胆道癌取扱い規約第6版 (日本肝胆膵外科学会) に基づき評価を行った。統計に際しては、胃型と腸型を合わせて化生型 (Metaplastic type) とし、胆道型と化生型の2群間で検討を行った。統計学的検討には χ^2 検定および Fisher の正確検定を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。本研究は、東邦大学医学部内科学講座消化器内科学分野 (大森) および弘前大学大学院医学研究科病理生命科学講座で行った。

【結果】61症例中、壁浸潤様式は、筋層破壊型29例 (47.5%)、非筋層破壊型32例 (52.5%) に分類された。筋層破壊型では、MUC1が全例陽性 (100%) となる一方で、MUC2は全例陰性 (0.0%) で、MUC5AC (17.2%)、MUC6 (13.8%) が陽性を示す症例は少なかった。非筋層破壊型では、それぞれの粘液形質マーカーの陽性率が、MUC1 (43.8%)、MUC2

(28.1%), MUC5AC (62.5%), MUC6 (59.4%) であり, 筋層破壊型と比較して, MUC2, MUC5AC, MUC6 の陽性率が高くなる傾向が見られた. 壁浸潤様式と臨床病理学的因子の単変量解析の結果では, 筋層破壊型は, 非筋層破壊型と比較して, リンパ管侵襲 ($p=0.003$), 静脈侵襲 ($p=0.032$), 神経周囲浸潤度 ($p=0.016$) が優位に高く, リンパ節転移陽性 ($p=0.003$) も高頻度に認められた.

61 症例は, 組織学的に胆道型 44 例 (72.1%), 化生型 17 例 (27.9%), 胃型 13 例 (21.3%), 腸型 4 例 (6.6%) に分類された. それぞれの組織学的形質における粘液形質マーカーの発現は, 胆道型では, MUC1 (77.3%) が高頻度で陽性となる一方, MUC2 (11.4%), MUC5AC (27.3%), MUC6 (22.7%) の陽性率は低かった. 胃型では, MUC1 (61.5%), MUC2 (15.4%), MUC5AC (84.6%), MUC6 (84.6%), 腸型では MUC1 (25.0%), MUC2 (50.0%), MUC5AC (50.0%), MUC6 (50.0%) となり, 化生型 (胃型+腸型) では, MUC2, MUC5AC, MUC6 の陽性率が高い傾向であった.

組織学的形質と臨床病理学的因子の単変量解析の結果では, 胆道型と筋層破壊型の浸潤様式との間に統計学的に有意な正の相関 ($p=0.020$) が認められた. また, MUC1 発現陽性と筋層破壊型の浸潤様式との間においても統計学的に有意な正の相関 ($p<0.001$) が認められた.

【結語】筋層破壊型の浸潤様式は進行胆嚢癌の予後不良因子である. 今回, われわれの研究において組織学的に胆道型であること, MUC1 粘液形質が陽性であることが, 筋層破壊型の壁浸潤様式との間に有意な正の相関を示すことが統計学的に証明された.

組織学的形質および粘液形質は, 進行胆嚢癌における悪性度の指標となり得ることが示唆され, 術後標本に対して, 組織学的形質, 粘液形質の評価を行うことで, 術後の個別化治療を行う上での一助となる可能性があると考えられた.

かたぎ じゅん
片木 淳

学位の種類: 博士 (医学) 学位番号: 甲第 524 号

学位授与の日付: 平成 28 年 3 月 29 日

主 論 文: Why can *dl*-Sotalol prolong the QT interval in vivo despite its weak inhibitory effect on hERG K⁺ channels in vitro? Electrophysiological and pharmacokinetic analysis with the halothane-anesthetized guinea pig model
(なぜ *dl*-sotalol は in vitro で hERG K⁺ チャンネル阻害作用が弱いにもかかわらず in vivo で QT 間隔を延長するのか? ハロセン麻酔モルモットを用いた電気生理学および薬物動態学的解析)

著 者: Katagi J, Nakamura Y, Cao X, Ohara H, Honda A, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Sugiyama A

公 表 誌: Cardiovasc Toxicol 16: 138-146, 2016 (DOI: 10.1007/s12012-015-9322-2)

論文内容の要旨

【背景および目的】近年, ほとんどの新規候補薬剤は, QT 間隔延長に起因する致死性不整脈である torsades de pointes を回避するため, QT 間隔延長に関する安全性薬理試験ガイドラインである International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) S7B に従って評価されてきた. その結果, torsade de pointes を引き起こすような新薬が臨床の現場ではみられなくなった. 一方, *dl*-sotalol のように, 生体心の QT 間隔を著明に延長するが, その原因であるヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 (human ether-a-go-go related gene: hERG) カリウムチャンネル電流の阻害作用が弱い薬剤は ICH S7B でも正確な評価が困難である可能性がある. 今回の研究では, *dl*-sotalol は hERG カリウムチャンネル電流阻害の IC₅₀ 値から予想される以上に QT 間隔を延長する機序を解明するために, その電気生理学的作用と薬物動態学的な特性をハロセン麻酔モルモットモデルを用いて評価し, その結果を臨床的に QT 間隔延長作用を「有する」10 種の薬剤および「有さない」4 種の薬剤と比較した. 一般的に心筋へ分布した薬剤が細胞膜に存在する hERG カリウムチャンネルを阻害することで QT 間隔が延長する. そこで, hERG カリウムチャンネル電流

阻害の IC_{50} 値、脂溶性の指標としての $\log P$ 、薬剤の心筋移行性の指標としての心臓/血漿中薬剤濃度比および Fridericia's corrected QT interval (QTcF) (Fridericia 式で補正した QT 間隔) を 10% 延長した薬剤の投与量 (ED_{10}) の相関関係を検討した。

【方法】臨床的に QT 間隔を延長する 11 種の陽性薬剤 (bepridil, haloperidol, *dl*-sotalol, terfenadine, thioridazine, moxifloxacin, pimoziide, sparfloxacin, diphenhydramine, imipramine および ketoconazole) と延長しない 4 種の陰性薬剤 (enalapril, phenytoin, propranolol および verapamil) の電気生理学的な影響と薬物動態学的な特性を同時評価した。雄性 Hartley 系モルモットを 100% 酸素の人工呼吸下に 1% ハロセンで麻酔を維持し、第 I 誘導心電図を記録した。各薬剤を頸静脈から累積的に 3 用量 (低, 中, 高用量) を各 30 分ずつ持続投与した。心拍数および QTcF の測定を投与前, 各用量投与後 5, 15 および 30 分で行った。高用量の投与終了後, 血漿と心臓を採取し, 血漿中および心筋内薬剤濃度を LC/MS/MS を用いて測定した。次に, hERG カリウムチャネル電流阻害 IC_{50} 値および $\log P$ (脂溶性の指標) は文献およびオンラインデータベースから入手した。最後に, hERG カリウムチャネル電流阻害 IC_{50} 値, $\log P$ (脂溶性の指標), 心臓/血漿中薬剤濃度比 (心筋移行性の指標) および QTcF を 10% 延長した薬剤の投与量 (ED_{10}) の関係を解析した。

【結果および考察】*dl*-Sotalol, thioridazine および sparfloxacin は, 心拍数を用量依存的に低下させたが, その他の薬剤では認められなかった。この結果はヒト臨床における薬剤の作用をよく反映するといわれているハロセン麻酔イヌモデルにおける結果と一致した。また, 11 種の陽性薬剤は用量依存的に QTcF を延長させたが, 4 種の陰性薬剤では認められなかった。この結果はヒトにおける臨床報告とよく一致していた。以上より, ハロセン麻酔モルモットモデルは薬剤による QT 間隔の延長作用の評価に適したモデルであることが確認された。

陽性薬剤の $\log P$ (脂溶性の指標) と hERG カリウムチャネル電流阻害の IC_{50} 値との間により相関が認められた。この結果は脂溶性の高い薬剤は hERG チャネルを強く阻害するという既存の報告と一致した。また, 陽性薬剤の $\log P$ (脂溶性の指標) と心臓/血漿中薬剤濃度比 (心筋移行性の指標) との間にもよい相関が認められた。この結果は脂溶性の高い薬剤ほど心筋への分布が高くなるという抗精神病薬の心筋への分布に関する報告と一致していた。QTcF を 10% 延長した薬剤の投与量 (ED_{10}) は, $\log P$ (脂溶性の指標) および心臓/血漿中薬剤濃度比 (心筋移行性の指標) よりも hERG カリウムチャネル電流阻害の IC_{50} 値と相関が認められた。最も強力な hERG カリウムチャネル阻害剤である pimoziide は, この相関の回帰式から期待されるより QTcF を 10% 延長した薬剤の投与量 (ED_{10}) が小さかった。以上より, 強力な hERG カリウムチャネル阻害剤は, 心筋組織に高く蓄積し, corrected QT interval (QTc) 延長作用を増強すると考えられた。また, *dl*-sotalol は陽性薬剤の中で, hERG チャネルに対する阻害作用は最も弱く, 心臓/血漿中薬剤濃度比 (心筋移行性の指標) も最も低値であった。それにもかかわらず, *dl*-sotalol の QTcF 延長作用は陽性薬剤の中で中程度であり, hERG カリウムチャネル電流阻害の IC_{50} 値から予測される以上に QTc を延長した。薬剤の生体内における hERG カリウムチャネル電流の阻害は, タンパク結合をしていないフリー体が作用することが知られている。*dl*-Sotalol のタンパク結合率はゼロであるが, 他の QT 間隔を延長する陽性薬剤は比較的高いタンパク結合率を示す。このため, hERG カリウムチャネルを阻害する *dl*-sotalol のフリー体濃度は, 他の陽性薬剤に比べてその濃度が相対的に高くなる。以上が *dl*-sotalol の hERG カリウムチャネル電流阻害の IC_{50} 値から予測される以上に QTc を延長する機序と考えられた。

【結論】ハロセン麻酔モルモットモデルは, 臨床的に QT 間隔を延長する薬剤と延長しない薬剤を従来の臨床報告通り評価できたので有用性が高いと考えられた。強力な hERG カリウムチャネル阻害剤は, 心筋組織に移行しやすいことが QT 間隔延長に起因する致死性不整脈の原因と考えられた。*dl*-sotalol の hERG カリウムチャネル電流阻害の IC_{50} 値から予測される以上に QTc を延長する現象は, *dl*-sotalol がタンパクに結合しないことで説明可能である。

あさ かわ たか すけ
浅 川 貴 介

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第525号

学位授与の日付：平成28年3月29日

主 論 文：Changes over the last decade in carotid atherosclerosis in patients with end-stage kidney disease

（末期腎臓病患者における臨床背景の経年的変化と頸動脈硬化の変遷）

著 者：Asakawa T, Hayashi T, Tanaka Y, Joki N, Hase H

公 表 誌：Atherosclerosis 240: 535-543, 2015

論文内容の要旨

【背景】慢性腎臓病（chronic kidney disease：CKD）患者において動脈硬化はステージを追うごとに促進的に進行することが知られている。その進行には年齢や血圧に代表されるような古典的危険因子に加えて、貧血やカルシウム・リン代謝など腎不全特有の危険因子が関与している。このためCKD診療の主眼は、CKDの進行予防とともに動脈硬化の進展を防ぐことに注がれている。2002年にこの概念が提唱されて以来、CKD診療は大きく変化している。レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系阻害薬での厳格な血圧管理や（3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A：HMG-CoA）還元酵素阻害剤（スタチン）による脂質管理は、腎機能障害の進行スピードを抑制するだけでなく、腎臓病特有の動脈硬化の進展予防にも貢献すると考えられる。しかしながら、このCKD対策の動脈硬化性疾患への効果は、現段階では明らかにされていない。

【目的】過去9年間における末期腎臓病患者（end-stage kidney disease：ESKD）の頸動脈硬化重症度の変化を検証し、並行して認められる臨床背景因子の変化を調査することで、CKD診療の変化と動脈硬化性疾患の変遷を検討する。

【デザイン】単施設横断調査の年代別比較研究。

【対象】2005年1月～2013年12月に東邦大学医療センター大橋病院腎臓内科において透析導入に至った患者連続284例から、透析開始時に頸動脈超音波検査を施行した150例を対象とした。

【方法】1) 頸動脈硬化の経年的変化：対象患者を透析導入日をもとに、3年ごと3つの時代グループに分類し（1期：2005～2007年、2期：2008～2010年、3期：2011～2013年）、3時代間比較検討を行った。導入3カ月以内に施行した頸動脈超音波検査から、内膜中膜複合体厚（carotid artery-intima media thickness：CA-IMT）とプラークスコア（plaque score：PS）を計測し、頸動脈硬化および臨床背景の経年変化を検証した。2) 頸動脈硬化への寄与因子の検討：頸動脈硬化の重症度に対する寄与因子を単変量および多変量回帰分析で検証した。

【結果】1) 頸動脈硬化の経年的変化と臨床背景因子の変化：PSは3時代間で12.8から5.4まで改善が確認され傾向解析でも統計学的有意であった（Jonckheere-Terpstra trend test $p=0.01$ ）。この改善と並行して時代とともに有意に変化した因子は、年齢の上昇、冠動脈疾患の既往率の上昇、スタチンの上昇、ヘモグロビンの上昇、血清P値の上昇、low-density lipoprotein cholesterol（LDL-C）、C-reactive protein（CRP）の低下であった。2) 頸動脈硬化への寄与因子：時代とともに有意に改善したPSへの関連因子を単変量回帰分析で検討した。PSと有意に正の関連を示した因子は、年齢、冠動脈疾患の既往、CA-IMT、アスピリン、estimated glomerular filtration rate（eGFR）、LDL-C、HbA1cであり、負の関連は拡張期血圧に認められた。スタチンの使用とPSに負の関連はなかった。3) 頸動脈硬化の独立寄与因子の探索：PSの改善に寄与しうる説明因子として、①時代とともに有意な変化が確認され、②単変量回帰分析においてPSとの有意な関連が見いだされ、かつ③治療介入可能な因子、の3つを満たす因子に着目し、LDL-Cが抽出された。この9年間にPSの改善に寄与した最も強力な因子はLDL-Cであるとの仮説をたて、LDL-Cを中心に8つのモデルによる多変量回帰分析を施行した。PSとLDL-Cの強固な関連は古典的、腎不全特有の危険因子を含む背景因子で補正を行った後にも維持された。4) スタチンの効果の検証：スタチン使用の有無別にPSの時代変化を確認したが、その使用の有無にかかわらずPSの経年的改善が確認された。

【考察】CKD概念が臨床に導入されて以後の末期腎臓病患者の頸動脈硬化の重症度の変化と臨床背景因子の変化を検証した。時代とともにスタチンの使用率の著しい増加が確認され、われわれの施設でも積極的に動脈硬化対策が講じられて

いることが確認された。一方この使用率の上昇と並行してLDL-Cの有意な改善とPSの改善が確認された。この結果は一見、スタチンの効果によるものと考えたくなる。しかし本研究ではスタチンとPSに有意な関連を認められなかった。スタチンは、どの時代でもPSの高い症例に使用されており、かつスタチンの使用の有無にもかかわらず、時代とともにPSは低下していた。このことは、PSの低下に最も寄与していたLDL-Cは、スタチンの使用という単独の影響ではなく、CKD診療導入による食事療法の実践やCKD患者自身の健康への意識向上といった複合因子が深くかかわっていることを意味している。

【結論】 ESKD患者の頸動脈硬化は過去9年間で改善しており、この改善には薬物治療も含めたLDL-Cの低下療法が寄与していることが示された。CKD患者の健康への意識改善や食事療法の影響、また薬物介入などの集約的治療が頸動脈硬化改善に寄与している可能性がある。

こばやし しん
小林 信

学位の種類：博士（医学） 学位番号：甲第526号

学位授与の日付：平成28年3月29日

主論文：Randomized clinical trial of skin closure by subcuticular suture or skin stapling after elective colorectal cancer surgery
(待機的結腸直腸癌における真皮縫合とステープラーによる閉創方法の無作為化臨床試験)

著者：Kobayashi S, Ito M, Yamamoto S, Kinugasa Y, Kotake M, Saida Y, Kobatake T, Yamanaka T, Saito N, Moriya Y

公表誌：Br J Surg 102: 495-500, 2015

論文内容の要旨

【背景および目的】手術部位感染症（surgical site infection：SSI）は一般的な術後合併症で、米国では年間50万件発生している。SSIは院内感染症の15%、外科患者の38%を占め、手術関連死亡の77%は感染が関連しており、SSIの予防は患者の安全並びに医療費抑制のために必須である。

真皮縫合は1890年にHalstedにより初めて記されて以来、清潔手術の閉創方法として好んで用いられており、創部SSIを減少させるとの報告がある。近年では消化器外科手術後の創部SSIも真皮縫合により減少すると報告されているが、この研究はサンプル数などのデザインの問題があった。そのためわれわれは、結腸直腸癌術後の閉創を医療用ステープラー（ステープラー）と真皮縫合のどちらで行うと創部SSIが減少するのか、無作為化比較試験を計画した。

【方法】待機的結腸直腸癌患者を対象とし、登録基準は、1) 全身状態良好、2) 臓器機能良好、3) 文書による同意、とした。対象患者は、術前無作為に1:1でステープラー群と真皮縫合群に割り当てられた。割り付け因子は、施設、手術方法（開腹 vs 腹腔鏡）、腫瘍部位（結腸 vs 直腸）、とした。盲検化はしなかった。

閉創方法は、筋膜閉鎖後に十分量の生理食塩水で創洗浄を行い、ステープラー群では10~15mm間隔でステープルを止め、真皮縫合群では4-0/5-0モノフィラメント糸で真皮結節縫合を行った。SSIの診断はCenters for Disease Control and Prevention (CDC) 基準に従い主治医以外の医師、看護師、感染管理チームが行い、術後30日時点での創部SSI発生率を主要検討項目とした。副次検討項目は、創問題（滲出、離解）発生率、術後入院期間、整容性、患者満足度、閉創時間とした。患者満足度、並びに退院後のSSI診断の一部には患者アンケートを利用した。

過去の後ろ向き検討から、ステープラー群の創部SSI発生率を14.0%、真皮縫合群の創部SSI発生率を8.0%と仮定し、 $\alpha=0.05$ 、 $\beta=0.1$ でのサンプルサイズ数を1240例と設定した。統計方法は、 χ^2 テスト、Mann-Whitney Uテストを用いて行い、 $p<0.05$ を有意差あり、と判定した。

【結果】日本国内16施設から1264名の患者が登録され、629名がステープラー群に、635名が真皮縫合群に割り当てられた。22名の患者が除外され、最終解析対象は、ステープラー群612名、真皮縫合群620名であった。患者背景に有意差は認めなかった。アンケート調査の回収率は81.6%だった。

術後 30 日以内の創部 SSI 発生率は、ステープラー群 9.8% に対し真皮縫合群 8.7% で有意差は認めなかった ($p=0.576$)。Kaplan-Meier 分析では、真皮縫合による SSI 発生はステープラー群より遅く ($p=0.019$)、術後 30 日以内のハザード比は 0.66 (95% 信頼区間 0.45–0.97) だった。創問題発生率 (ステープラー群 6.9% vs 真皮縫合群 5.8%, $p=0.484$)、術後入院期間 (9 日 vs 9 日, $p=0.510$)、整容性 (6 段階評価の最高点の取得者の割合 77.6% vs 80.8%, $p=0.182$) は有意差を認めなかったが、閉創時間は真皮縫合が有意に長く (1 分 vs 6.5 分, $p<0.001$)、患者満足度 (5 段階評価の最高点の取得者の割合 43% vs 52%, $p=0.002$) は真皮縫合が有意に高かった。

【考察】創治癒の生理では、24~48 時間以内に再上皮化が完成し、3~4 日以内に血管新生や線維化を通して真皮の再構築が起こる。真皮縫合は、皮膚の層を正しく密着させることにより再構築を促進し、ステープラーに比べて創部 SSI のリスクを抑制する可能性がある、と考えたが、本試験では両群の創部 SSI 発生率に有意差を認めなかった。Kaplan-Meier 分析では、術後 30 日以内の創部 SSI 発生が真皮縫合群で遅く、30 日以上追跡されていれば真皮縫合群で SSI 発生率が低くなった可能性がある。副次検討項目では、閉創時間が真皮縫合の方が有意に長かったが、200 分 (中央値) を超える手術時間に対して閉創時間の延長はわずか 5 分であった。

また、開腹手術のみで同様の検討をした Tsujinaka et al. の検討と比較し、本研究は腹腔鏡手術も検討しており、より実臨床に近い形となっている。消化器外科術後の創部 SSI 発生リスクにおいて、真皮縫合はステープラーと同等である、と双方の検討により示唆された。

最後に、本研究の問題点としては、退院後の SSI サーベイランス方法、アンケート調査の回収率、他施設研究における施設間格差などが挙げられるが、いずれも本研究の結果の解釈に影響するものではない、と考えられた。

たか まつ りょう
高 松 諒

学位の種類：博士 (医学) 学位番号：甲第 527 号

学位授与の日付：平成 28 年 3 月 29 日

主 論 文：A comparison of the surgical invasiveness of conventional discectomy and micro-endoscopic discectomy for lumbar disc herniation, based upon inflammatory cytokines and degree of pain

(腰椎椎間板ヘルニアに対する conventional discectomy と microendoscopic discectomy の手術侵襲の比較検討)

著 者：Takamatsu R, Iida Y, Yokoyama Y, Wada A, Hasegawa K, Takahashi H

公 表 誌：J Spine Res 6: 892–898, 2015

論文内容の要旨

【目的】腰椎椎間板ヘルニアに対する手術療法として、従来からの Love 法が現在もなお主流である。しかし、近年は低侵襲な手術療法として、内視鏡下椎間板摘出術 (microendoscopic discectomy: MED) が普及しつつある。これまでの複数の報告で、Love 法と比較して MED が低侵襲であることが検証されてきた。しかし、その検討項目は、血液検査における C-reactive protein (CRP) や白血球などの炎症マーカーや鎮痛剤の使用量、皮切の長さなど多岐にわたっており、定まったものはない。今回、われわれは手術後の疼痛に着目して、これまでの報告で有用とされた検討項目に術後疼痛の客観的評価を加えて、MED の低侵襲性をさらに検証した。

【方法】2012 年 6 月~2013 年 10 月に東邦大学医療センター大森病院整形外科で施行した MED 法の 28 例を対象とした。対照は、同期間に施行した Love 法の 12 例とした。検討項目は手術時間、術中出血量、術後の血清 interleukin-6 (IL-6)、interleukin-8 (IL-8)、tumor necrosis factor- α (TNF- α)、granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF)、術後疼痛とした。IL-6 は chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA)、IL-8、TNF- α 、G-CSF は enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) で測定した。術後疼痛の測定には、visual analogue scale (VAS) と知覚・痛覚定量分析装置 Pain Vision™ PS-2100 (ニプロ (株), 大阪) を使用した。手術時間と術中出血量は手術記録から、その他の検討項目は術後 24 時間、術

術後 48 時間, 術後 72 時間, 術後 7 日に測定を行った。

【結果】手術時間は, MED 群で 79.4 分, Love 群で 94.5 分と両群に有意差は認めなかった。術中出血量は, MED 群で 34.0 ml, Love 群で 78.2 ml と有意差を認めた ($p < 0.05$)。IL-6 は全ての測定時間で MED 群が Love 群と比較して有意に低値であった ($p < 0.05$)。また MED 群では IL-6 の有意な上昇を認めなかった。IL-8, TNF- α は各測定時間で両群に有意差は認めなかった。また, その増減の変化に有意な傾向は認めなかった。G-CSF は術後 24 時間と術後 48 時間で MED 群が有意に高かったが, 術後 72 時間では Love 群が有意に高くなり, 術後 7 日には両群に有意差は認めないなど, 測定期間中の両群の変化に一定の傾向を認めなかった。VAS による術後疼痛は術後 48 時間で有意差 ($p < 0.05$) を認めたが, その他の測定時間では有意差は認めなかった。Pain Vision™ PS-2100 による術後疼痛評価は, 術後 24 時間, 術後 48 時間で MED 群が有意に低かった ($p < 0.05$)。

【結語】これまでの報告で有用とされた術中出血量と IL-6 で, MED が Love 法と比較して低侵襲であることが, われわれの検証でも認められた。また, 今回われわれが着目した術後疼痛は, これまでの報告で頻繁に利用されてきた VAS では術後 24 時間の時点では両群に有意差を認めなかった。しかし, Pain Vision™ PS-2100 では, 術後 24 時間と 48 時間で両群に有意差を認めている。これは Pain Vision™ PS-2100 が, VAS よりも鋭敏に術後疼痛を捉えていることを示唆しており, MED が Love 法よりも術後疼痛が少なく患者にとって低侵襲であると考えられた。

おかもと よう すけ
岡 本 陽 祐

学位の種類: 博士 (医学) 学位番号: 甲第 528 号

学位授与の日付: 平成 28 年 3 月 29 日

主 論 文: Effect of skip lymphovascular invasion on hepatic metastasis in colorectal carcinomas
(大腸癌肝転移における非連続性脈管侵襲の影響)

著 者: Okamoto Y, Mitomi H, Ichikawa K, Tomita S, Fujimori T, Igarashi Y, Study Group for
Depth of Tumor Invasion projected by the Japanese Society for Cancer of the Colon and
Rectum (JSCCR)

公 表 誌: Int J Clin Oncol 20: 761-766, 2015

論文内容の要旨

【背景】本邦で大腸癌は女性のがん死亡数の第 1 位, 男性の第 3 位と主要な死因であり進行大腸癌の 5 年生存率は stage III で 63.7%, stage IV で 13.2% と依然として不良である。現在も tumor-node-metastasis classification (TNM 分類) のような予後予測因子に対し関心が寄せられているが, TNM 分類は原発巣の大きさあるいは深達度 (T stage), リンパ節転移 (N stage), 遠隔転移や播種 (M stage) に基づき分類され広く用いられている。また, TNM 分類によるステージに加え, リンパ管侵襲, 静脈侵襲, リンパ節構造のない壁外非連続性癌進展病巣, 神経周囲浸潤もまた重要な病理学的予後予測因子であるとされている。

腫瘍本体から連続性のないリンパ管侵襲および静脈侵襲(非連続性脈管侵襲)は, Union for International Cancer Control (UICC) TNM 分類第 7 版 (UICC-7, 2010) において T stage として考慮にいれられていない。現在まで大腸癌における非連続性脈管侵襲に関する研究はなく, その臨床病理学的取り扱いは不明であり T stage として考慮すべきか明らかでない。従って今回われわれは, 非連続性脈管侵襲の頻度, 臨床病理学的特徴について検討を行った。

【対象と方法】2005 年と 2011 年に大腸癌研究会参加 10 施設 (防衛医科大学校, 獨協医科大学, 新潟大学, 東京医科歯科大学, 帝京大学, 近畿大学, 広島大学, 東京都健康長寿医療センター, わたり病院, 順天堂大学) にて大腸癌の内視鏡摘除後の追加腸切除を含む外科切除例 1868 例に対し非連続性脈管侵襲陽性例の頻度につき後ろ向きアンケート調査を行った。次に, 追跡し得た 896 例の臨床病理学的因子を非連続性脈管侵襲の有無により比較した。

組織学的評価はヘマトキシリン・エオジン染色 (hematoxylin and eosin: H&E 染色) で行った。H&E 染色ではリンパ管侵襲と静脈侵襲の区別はしばしば困難であり併せて脈管侵襲として評価した。非連続性脈管侵襲は癌浸潤先進部より深

層に非連続性に認められるリンパ管内皮，静脈内皮に囲まれたスペースに腫瘍塞栓が認められた場合と定義し必要に応じ elastin stain を用いた．統計学的解析は χ^2 検定および Fisher の正確検定，Mann-Whitney U テストを用い， $p < 0.05$ を有意とした．

【結果】非連続性脈管侵襲陽性例の頻度は，2005年と2011年のコホート全体で20/1868例（1.1%）で，2005年コホートで16/926例（1.7%），2011年コホートで4/942例（0.4%）であった．非連続性脈管侵襲陽性20例の臨床病理学的特徴は，60歳以上が15例（75%），男性が13例（65%），平均腫瘍径は25.6（9-50）mm，直腸11例（55%），中分化腺癌12例（60%），直接浸潤は固有筋層（pT2）が17例（85%），リンパ節転移陰性例が17例（85%）であった．非連続性脈管侵襲が固有筋層にみられる例が2例（10%）認められ，直接浸潤はいずれも粘膜下層（pT1）であった．非連続性脈管侵襲が漿膜下層に認められる例が18例（90%）みられ，これらの症例の直接浸潤は1例がpT1で17例がpT2であった．肝転移は外科手術時4例（20%）にみられ，異時性肝転移は1例（5%）にみられた．特に，症例3は直接浸潤がpT1でありながら，漿膜下層に非連続性脈管侵襲を認め異時性肺・肝転移を来し術後22カ月で癌死した症例であった．

pT1/2大腸癌における非連続性脈管侵襲の有無での群間比較では，非連続性脈管侵襲陽性例では，陰性例に比較し有意に肝転移の多い結果であった（ $p < 0.001$ ）．さらに，非連続性脈管侵襲陽性大腸癌における肝転移の頻度は20例中5例（20%）であった．一方非連続性脈管侵襲陰性の直接浸潤が漿膜下層（pT3）の大腸癌では，448例中62例（13.8%）に肝転移が認められ，より低い結果であった（ $p = 0.185$ ）．

【考察】非連続性脈管侵襲陽性例の頻度は，全体で1868例中20例（1.1%）であった．また，pT1/2大腸癌において非連続性脈管侵襲陽性例では，陰性例に比し有意に肝転移が多くpT3大腸癌と同等の頻度であった．このことは非連続性脈管侵襲陽性例では非連続性脈管侵襲の存在する最深層へ直接浸潤した腫瘍と同等の生物学的態度を示す可能性を示唆している．現在stage III大腸癌に対し広く術後補助化学療法が行われているがstage I, II大腸癌に対する有用性は明らかではない．しかし，非連続性脈管侵襲陽性例のようなハイリスクグループに対しては術後補助化学療法が考慮されるかもしれない．

また，pT1大腸癌に対する内視鏡的切除は魅力的な治療であるが，非連続性脈管侵襲が存在する場合は癌巢の遺残を来す可能性があり十分な経過観察が必要と考えられる．

【結語】大腸癌における非連続性脈管侵襲は肝転移と相関があり，非連続性脈管侵襲をT因子に加えることは臨床上有用な可能性が示唆された．