

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	学位(博士)授与の記録
別タイトル	REPORTS OF DEGREES GRANTED (DOCTOR)
公開者	東邦大学医学会
発行日	2016.6
ISSN	00408670
掲載情報	東邦医学会雑誌. 63(2). p.145 157.
資料種別	その他
著者版フラグ	publisher
メタデータのURL	https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD55671390

学位（博士）授与の記録

はら
原

まなぶ
学

学位の種類：博士（医学） 学位番号：乙第2681号

学位授与の日付：平成27年6月25日

主論文：Comparison of the invasiveness of conventional discectomy and microendoscopic discectomy for lumbar disc herniation: Differences in the methods of approach
(腰椎椎間板ヘルニアにおける Conventional Discectomy と MED 法のアプローチの違いによる侵襲性の比較)

著者：Hara M, Takahashi H, Yokoyama Y, Wada A, Hasegawa K, Iida Y

公表誌：Asian J Endosc Surg 8: 40-47, 2015

論文内容の要旨

【目的】腰椎椎間板ヘルニアの手術療法として、1997年にFoleyとSmithが³ microendoscopic discectomy (MED) 法を発表して以来、本邦でも低侵襲手術法として普及してきた。従来法 (conventional discectomy) ではMED法と比較し、アプローチにおいて骨膜の剥離範囲が大きいこと、神経終末を広範に損傷すること、多裂筋を中心とした傍脊柱筋の損傷範囲がより大きいことから、術後の疼痛が大きいと考えられる。MED法では傍脊柱筋内に円筒レトラクターを留置するため、展開の際に棘突起、椎弓からの骨膜の剥離操作が不要であること、また、conventional discectomy と比較し傍脊柱筋のレトラクトによる侵襲が小さく、術後疼痛が少なく低侵襲と考えられている。

現在まで、術後採血での炎症反応の評価や visual analogue scale (VAS) を用いた疼痛評価などさまざまな検討は行われてきたが、それらは術式全体での評価であり、傍脊柱筋から骨膜に対するアプローチの違いによる侵襲性の相違を他覚的に評価した報告は見られない。そこで、今回われわれは、ラットを用いて、MED法のアプローチとconventional discectomyのアプローチの違いが手術侵襲に影響を与えるかどうか検討を行った。

【方法】生後6週、wister系で雄のラットを用いた。ヒトに対するMED法の展開をラットに対して行うため、ラット用のダイレーター、円筒レトラクターを作成した。ラットを以下の4群に分類した。なお、ラットの疼痛閾値を明確にするため、carrageenanを用いて、手術創部の炎症惹起を行った。

麻酔、手術ともに施行していないものをcontrol群、皮膚切開のみを加えたものをsham群、MED法のアプローチを施行したものをMED群、conventional discectomyのアプローチを施行したものをconventional discectomy群 (CD群) とした。行動学的検討はvon Frey testを応用して両群の術後疼痛閾値の測定を行った。血液生化学的検討は血中C reactive protein (CRP)、血中 creatine phosphokinase (CPK)、炎症性サイトカイン (interleukin-6 : IL-6, tumor necrosis factor-alpha : TNF- α) 測定を行い、組織学的検討は、hematoxylin-eosin (HE) 染色に加え、免疫組織染色 (IL-6, growth associated protein 43 : GAP-43) を行い組織損傷の程度を比較した。

行動学的検討、血液生化学的検討はsham群11例、MED群10例、CD群10例の3群で、組織学的検討はcontrol群10例、MED群10例、CD群10例の3群にて検討を行った。

【結果】von Frey testによる疼痛閾値はsham群60~300 g (平均161.818 g)、MED群26~300 g (平均148.6 g)、CD群10~100 g (平均71.1 g)であった。Sham群とMED群に差は認めなかった。CD群はsham群、MED群に比し、有意に低値であった。

血液生化学的検討では、CRPは3群ともに感度以下であった。

CPKはsham群で142~416 IU/l (平均216.36 IU/l)、MED群で129~351 IU/l (平均204.9 IU/l)、CD群で119~770 IU/l (平均375.6 IU/l)であり、sham群とCD群、MED群とCD群の間で有意差を認めた。

血清IL-6は、sham群ではいずれも感度以下であったが、MED群では62.6~429 pg/ml (平均220.94 pg/ml)、CD群で

は82.2~413 pg/ml (平均177.59 pg/ml)であった。MED群とCD群の間に有意差は認めなかった。血清TNF- α は、sham群では2.3~4.6 pg/ml (平均3.39 pg/ml)、MED群では2.3~5.1 pg/ml (平均3.39 pg/ml)、CD群では2.7~14.1 pg/ml (平均6.22 pg/ml)であった。Sham群とMED群に有意差は認められなかったが、CD群は、sham群、MED群に比べ有意に高値であった。

組織学的検討では、HE染色では、MED群は円筒レトラクターの挿入部に沿った傍脊柱筋の変性、炎症細胞浸潤を認めた。また、円筒レトラクターと椎弓が接触した部位では骨膜は消失していた。CD群では広範な筋肉の変性を認め、棘突起から椎弓にかけ、傍脊柱筋を剥離した部位の骨膜は消失していた。

免疫染色：GAP-43で、MED群はHE染色で骨膜が残存していた部位に一致し、神経終末が確認できたが、CD群は展開した部位の骨膜は消失していたため、骨表面に神経終末は確認できなかった。

IL-6で、MED群は傍脊柱筋内の円筒レトラクターが挿入された傍脊柱筋とその周囲、骨膜と接触した椎弓の周囲にIL-6の産生を認めた。CD群では骨周囲、傍脊柱筋内の広範な部位にIL-6の産生を認めた。

IL-6産生を認める部位の面積は、CD群では $4.12\sim 4.93\times 10^6\ \mu\text{m}^2$ (平均 $4.57\times 10^6\ \mu\text{m}^2$)、MED群では $2.56\sim 3.55\times 10^6$ (平均 $3.10\times 10^6\ \mu\text{m}^2$)であり、MED群で有意に小さかった。また、単位面積当たりのIL-6陽性数はCD群では35~55個/ $1.0\times 10^5\ \mu\text{m}^2$ (平均46.2個/ $1.0\times 10^5\ \mu\text{m}^2$)、MED群では22~36個/ $1.0\times 10^5\ \mu\text{m}^2$ (平均29.1個/ $1.0\times 10^5\ \mu\text{m}^2$)であり、MED群で有意に少なかった。

【考察】行動学的検討では、MED群の疼痛閾値はsham群と同等であり、CD群より低かったが、これはCD群の術後疼痛が強いため、疼痛閾値が低くなっていると考えられた。また、MED群の術後疼痛はsham群と同等に小さいため、疼痛閾値がsham群と同等に保たれていると考えられた。

また、血液生化学的検討と組織学的検討でもCD群ではMED群に比べ、CPKや炎症性サイトカインが多く産生されており、いずれの結果でもMED法のアプローチでは傍脊柱筋から骨膜に対する侵襲が小さいことが分かる。

今回のわれわれの研究では、傍脊柱筋から椎弓までのアプローチの違いによる傍脊柱筋と骨膜の侵襲のみを比較しているため、conventional discectomyとMED法そのものの比較検討にはなっていないが、アプローチの違いが、術後の疼痛を軽減させる低侵襲手術の1つの要素となっていると考えられる。

あま の ゆう いち
天 野 雄 一

学位の種類：博士(医学) 学位番号：乙第2682号

学位授与の日付：平成27年6月25日

主 論 文：受療行動からみた地域高齢者における大うつ病性障害の1年予後

著 者：天野雄一，端詰勝敬，吉田英世，藤原佳典，大淵修一，坪井康次

公 表 誌：心身医 55：247-254, 2015

論文内容の要旨

【目的】高齢社会の進展により心身医学領域の臨床場面においても高齢者のうつ病や認知症に遭遇する場面が増えていく。高齢者においては大うつ病に罹患すること自体が生命予後を悪化させるリスクファクターになりうるとされている。また気分障害の患者は1990年代に比べ2000年代の方が何らかの医療機関を受診する割合が増加していると報告されているが高齢者のうつ病患者は医療機関への受療行動を積極的にとらないことが指摘されている。さらに高齢者におけるうつ病は未治療である場合、必ずしも改善しない経過をたどるとされている。以上より、地域在住のうつ病患者の予後や受療行動を把握することは重要と考えられる。そこでわれわれは、未治療のうつ病高齢者を地域で把握した上でその1年後の予後と受療行動を明らかにすることを目的に本調査を立案した。

【方法】本研究は、東京都健康長寿医療センター研究所が2011年10月に実施した介護予防のための総合的健康調査(ベースライン調査)と2012年に実施したその追跡調査にあわせて行われた。ベースライン調査の参加者を対象に大うつ病性障害の者を同定し、1年後の受療状況を追跡調査時に把握した。ベースライン調査の対象は、板橋区内の一定地域の65~84

歳の男女全員で、この条件に該当する 7162 人を抽出し、施設入所者、過去の健康調査参加者を除外した 6699 人を本研究の対象とした。ベースライン調査では、厚生労働省の策定したうつ予防・支援マニュアルに基づくうつに関する基本チェックリストおよび Mini-Mental States of Examination (MMSE) を実施した。うつに関する基本チェックリストが陽性で、かつ MMSE が 24 点以上で認知機能の保たれている者に、医師による面接調査への参加を依頼した。医師による面接調査は 1 人の医師が担当し、構造化面接 Structured Clinical Interview Schedule for DSM-IV を用いた診断を行い、大うつ病性障害の者を同定した。

【結果】ベースライン調査の参加者 913 名のうち 159 名がうつに関する基本チェックリストが陽性で、そこから MMSE 得点が 23 点未満であった 21 名を除いた 138 名に医師面接調査への参加を依頼した。医師面接調査の参加者は 76 名で、診断面接により 13 名の未治療の大うつ病性障害の者が同定され、全員が専門医療機関の受診を希望し、紹介状が発行された。

追跡調査における医師面接は、ベースライン調査で大うつ病性障害と診断された 13 名を対象として実施し、このうち 12 名が追跡調査に参加した。1 年後の診断は、大うつ病性障害が 7 名で、大うつ病性障害部分寛解が 2 名であった。残る 3 名のうち 2 名は 2011 年時の診断がアルコール依存症と大うつ病性障害の合併と双極性障害によるうつ状態であったことが判明し、最後の 1 名は 2011 年に既に大うつ病性障害で治療を受けていた。そのため大うつ病性障害であった 7 名と大うつ病性障害部分寛解であった 2 名について Hamilton Depression Scale (HAM-D) の推移を検討した。HAM-D の 2011 年と 2012 年の平均点は 14.3 と 15.1 で、1 年後も大うつ病性障害であった 7 名で 14.9 点と 14.9 点、大うつ病性障害部分寛解であった 2 名では 13.5 点と 14.0 点であった。追跡調査参加者のうち専門医で治療を開始していた者は 1 名であった。アドヒアランスが不良で 2012 年時の診断は大うつ病性障害のままであった。なお 2012 年の追跡調査時にあらためて専門家への受診をすすめたところ 2 名が受診に応じている。

【考察】本研究ではベースライン調査で大うつ病性障害と診断されたものにすべてに紹介状を作成したにもかかわらず受療行動につながったものは 1 人のみであった。しかもその 1 人も通院アドヒアランスは良好とはいえなかった。この結果は高齢者の大うつ病性障害の患者を適切に医療機関への受診につなげることが困難であることを示している。先行研究では、医師側、患者側双方の理由により、うつ病自体が適切に診断されていないことが受療行動につながらない理由として言及されているが、本研究は、うつ病の診断がなされたうえでの受療行動を追跡し、受療行動をとっていないことを明らかにしたことが新しい知見といえる。本調査は他の健康調査を含むものであるため、参加者は健康への興味があるもの、健康を保つことへの意識が高いものが多い可能性がある。高齢者は身体的な問題についての受療行動に比べ精神的な問題への受療行動をとりにくいとの報告がなされており、本調査も同様であることが考えられた。また、本研究は、人数については 9 名とまだ十分な対象数とはならなかったが、高い追跡率を得ており、本邦においても高齢者うつ病が未治療である場合に 1 年予後は不良であることを明らかにしたものと見える。

【結論】地域で把握された大うつ病性障害の高齢者において受診勧奨により受診に至った者は 1 年間で 1 人のみであった。未治療の者の 1 年予後は不良であり、治療を開始した 1 名もアドヒアランスが不良で十分な改善が認められなかった。専門医療機関受診の支援とともに、受診後に治療効果が上がるよう継続的に支援することが重要であると考えられた。

すが さわ やす ゆき
菅 澤 康 幸

学位の種類：博士（医学） 学位番号：乙第2683号

学位授与の日付：平成27年6月25日

主 論 文：Use of culture-independent analysis to reveal alteration of intestinal microflora by heat-killed *Lactobacillus pentosus* in a mouse model of endogenous sepsis
(内因性敗血症マウスモデルにおけるラクトバチルス・ペントーサス死菌投与による腸内フローラ変化の非培養的手法を用いた評価)

著 者：Sugasawa Y, Saga T, Kimura S, Ishii Y, Yamaguchi K, Tateda K

公 表 誌：J Infect Chemother 19: 673-676, 2013

論文内容の要旨

【背景と目的】哺乳類宿主は自身の体にフローラ（微生物叢）を保有している。フローラの多様性やその変化が、宿主の健康状態や疾病にさまざまな点で関与していることが明らかにされつつあり、注目されている。腸内フローラは、偏性嫌気性菌が多くを占め、培養法での評価は原理的に困難であった。最近、培養によらず細菌の16Sリボソーム ribonucleic acid (RNA) 遺伝子塩基配列に基づいてフローラを評価する方法が開発され、腸内フローラ解析にも応用されてきた。末端標識制限酵素断片多型分析 (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism: T-RFLP) 法は、蛍光標識したユニバーサルプライマー (全細菌の16Sリボソーム RNA 遺伝子に共通する配列を狙って設計されたプライマー) で増幅した polymerase chain reaction (PCR) 産物を制限酵素切断したものをキャピラリー電気泳動装置にてフラグメント解析し、フローラ組成を推定する手法である。また、検出対象細菌群に特異的に設計したプライマーを用いた quantitative polymerase chain reaction (qPCR 法) では、特定細菌群の定量評価が可能である。T-RFLP 法は、腸内細菌叢の各細菌群の大まかな占有率を示すのに有用であり、qPCR 法は、各細菌群をより高い感度で評価するのに適している。

プロバイオティクスは、ヒトに良い影響を及ぼす微生物の総称であり、乳酸菌 (*Lactobacillus spp.*) がその代表である。最近、*Lactobacillus pentosus* strain b0240 を加熱して作製した死菌 (HK-b0240) にサルモネラ属菌を用いたマウス消化管感染モデルおよび肺炎球菌を用いたマウス呼吸器感染モデルで防御効果があることが示された。これらの機序として、HK-b0240 がマウスのパイエル版を刺激し、粘膜免疫で重要な役割を果たしている分泌型 immunoglobulin A (IgA) を増加させる作用が推測されている。最近、segmented filamentous bacteria (SFB) と呼ばれる培養不能細菌の存在がマウスの免疫成熟に重要な役割を果たしていることが報告され注目されている。一方、HK-b240 投与がマウス腸内フローラに及ぼす変化、およびマウス内因性敗血症モデルにおける HK-b240 投与による防御効果は評価されていなかった。

【対象と方法】本研究では、マウス内因性敗血症モデルにおける HK-b240 経口投与の効果を評価した。マウス内因性敗血症モデルは、ICR マウスに緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa* strain D-4) を 1×10^7 CFU/ml に調整し、飲水ボトルに入れ3日間 (Day0 から Day2) 経口摂取させた後、cyclophosphamide を 150~200 mg/kg で2回 (Day3 および Day7) 腹腔内投与して免疫抑制状態を誘導し、緑膿菌による内因性敗血症を引き起こす。HK-b240 投与群 (n=10) には、滅菌 0.45% 塩化ナトリウム溶液に HK-b240 を 10 mg 懸濁したものを1日1回、内因性敗血症の誘導に先立つ21日間 (Day-21 から Day-1) に経食道投与した。非投与群には滅菌 0.45% 塩化ナトリウム溶液を同様に投与した。内因性敗血症モデル実施は2回実施し、マウス生存数の経時変化を log-rank test で評価した。経過中のマウスの糞便を Day-21, Day0, Day4 および Day7 に採取し、ヒト腸内フローラ解析に対する方法に準じて DNA 抽出を行い、T-RFLP 法、および緑膿菌、乳酸菌、segmented filamentous bacteria (SFB) を検出対象として qPCR 法にて解析した。各菌種群の変化は、マウス個体ごとに処置前 (Day-21) の割合と比較し、群間の差は two-tailed unpaired t-test で $p < 0.05$ を有意と判定した。

【結果】HK-b240 投与によって有意な生存率改善結果は、観察されなかった。T-RFLP 法では、各検体に共通して、(operative taxonomic unit: OTU; T-RFLP 法で検出されるフラグメントサイズによる細菌群分類) 657 (基準株の塩基配列情報から、主に乳酸菌に相当すると推察される)、OTU460 (同、*Bacteroides spp.* に相当)、OTU166, OTU136, OTU106 が大部分を占めた。乳酸菌群は、T-RFLP 法での OTU657, qPCR 法のいずれにおいても、有意な変化を示さなかった。緑膿菌は T-RFLP 法および qPCR 法のいずれでも検出限界以下であった。一方、SFB については、T-RFLP 法で検出限界

以下であったものの、qPCR法ではDay0の時点（HK-b240を21日間投与後）でHK-b240投与群で有意に高く、それ以降有意差は観察されなかった。

【考察】SFBは培養不能菌であるため、今回培養によらない手法を用いてはじめてその割合変化を評価することができた。他のマウスモデルにおけるHK-b240の効果から推測すると、HK-b240投与によって免疫成熟に関与するSFBの割合増加が観察されたことは、投与によって起こったマウス腸内フローラの変化の一端を捉えることができた可能性が示唆される。しかしHK-b240とSFB増加の機序は現時点では判明しておらず、今後の検討が必要と考えられる。HK-b240投与で感染防御効果が観察された他のマウスモデルと比較して、本モデルでは有意な感染防御効果が見られなかった要因として、免疫抑制導入に用いたcyclophosphamideの作用が考えられる。すなわち本モデルでは、cyclophosphamideによる好中球減少による免疫における作用が、分泌型IgAの増加効果を上回ったこと、およびcyclophosphamideがB細胞系リンパ球に作用したことが推察された。またqPCR法で緑膿菌が検出限界以下であったことは、マウス内因性敗血症モデルにおける緑膿菌のバクテリアル・トランスロケーションが成立する際に、腸管フローラに緑膿菌が多く存在する必要はないということを示唆した。

【結論】従来の培養法に基づく解析では、評価できなかったフローラの変化を本研究で活用した培養によらない方法で解析することで、感染症をはじめとした種々の疾患の原因となるようなフローラの変化を見いだすことが可能になると考えられる。T-RFLP法は、菌種群の大づかみな解析に向く一方で検出フラグメントから菌種群そのものを推定することは難しく、qPCR法では対象菌群以外の評価ができない、この両検出法の特性を生かした活用が期待される。

あら き ただし
荒 木 正

学位の種類：博士（医学） 学位番号：乙第2684号

学位授与の日付：平成27年7月27日

主論文：Characterization of in-stent neointimal tissue components following drug-eluting stent implantation according to the phase of restenosis using a 40-MHz intravascular ultrasound imaging system

（冠動脈薬物溶出性ステント留置後のステント内新生動脈硬化を40 MHz血管内超音波により観察し再狭窄の時期によって認めた特徴について）

著者：Araki T, Nakamura M, Sugi K

公表誌：J Cardiol 64: 423-429, 2014

論文内容の要旨

【背景と目的】薬剤溶出性ステント（drug eluting stent：DES）の登場によりステント再狭窄（in-stent restenosis：ISR）は減少の一途を辿っているが、過去の報告の多くは観察期間が1年以内であることが多く、長期の成績に関してはいまだ不確かである。DES留置後のISRにはステントの薬理的な要素、機械的な要素、手技要素などが関連しているとされており、DES留置後1年を超えて再狭窄を生じる“late catch-up現象”が臨床において問題となっているが、その時期や機序については十分に研究されていない。われわれは詳細に組織性状を評価できるカラーコード血管内超音波（intravascular ultrasound：IVUS）の一種であるiMAP-IVUS（Boston Scientific Corp., Fremont, CA, USA）を用いて、再狭窄を生じた病変はその時期により、どのような組織性状に違いがあるかを調べた。

【方法】2009年7月～2013年9月にステント再狭窄のために経皮的冠動脈形成術を施行した狭心症患者53人のうち、再々狭窄6人、ステントフラクチャー4人、ステント血栓症2人、最小径バルーン拡張においてもIVUS不通過例2人、無症候性で再狭窄確認造影において病変を認めた1人、IVUSの画像不鮮明例1人の16人を除外した37人の患者、37病変を研究の対象とした。患者を1年未満で再狭窄を来した早期再狭窄群（E-ISR群）と1年を超えて再狭窄を来した遅発再狭窄群（L-ISR群）に分別した。iMAP-IVUSではプラークの組織性状をfibrotic（線維性）、lipidic（脂質）、necrotic（壊死性）、calcified（石灰化）の4つに分類可能であり、再狭窄を生じた病変の面積、体積、割合、病変長をそれぞれ算

出した。

【結果】 E-ISR 群は 18 例, L-ISR 群は 19 例であり, E-ISR 群の平均観察期間は 8.0 ± 2.2 カ月間, L-ISR 群の平均観察期間は 40.4 ± 23.9 カ月間であった。ほとんどの患者背景に両群間で差はなかったが, estimated glomerular filtration rate (eGFR) 値のみ E-ISR 群において L-ISR 群より大きな値であった。再狭窄を生じたステントの種類は E-ISR 群と比較し L-ISR 群で有意差をもって Cypher 挿入後の患者が多かったが, 他のステントに関して有意差はなかった。血管内超音波施行前に前拡張を必要とした症例が E-ISR 群で 22.2%, L-ISR 群で 52.6% であった ($p=0.11$)。冠動脈造影所見では L-ISR 群の方が, TIMIO ならびに完全閉塞の所見を多く認めた。さらに, L-ISR 群の方が E-ISR 群と比較して lipidic (脂質) ならびに necrotic (壊死性) の割合が多かった ($5.77 \pm 1.81\%$ vs. $4.51 \pm 1.71\%$, $p < 0.05$ and $12.20 \pm 2.97\%$ vs. $8.61 \pm 2.33\%$, $p < 0.001$, respectively)。また, L-ISR 群においては留置後の期間と necrotic (壊死性) の割合との間に正の相関を示した ($r=0.49$, $p < 0.05$)。

【結論】 DES 留置後の再狭窄部位における組織性状は再狭窄時期により違いを認めた。過去の病理報告では DES 留置後の再狭窄例では慢性期に“neoatherosclerosis”というステント留置後の病変に新生動脈硬化を生じることが知られており, 本研究でもこれらの現象を IVUS で認識しているものと推測された。DES 留置後の再狭窄症例では観察期間が長くなるとともに病変部位の動脈硬化が不安定化していることは, 今後 DES 再狭窄の機序を理解する一助に成りえると思われる。

かた やなぎ とも ゆき
片 柳 智 之

学位の種類：博士 (医学) 学位番号：乙第 2685 号

学位授与の日付：平成 27 年 8 月 24 日

主 論 文：Nasal methicillin-resistant *S. aureus* is a major risk for mediastinitis in pediatric cardiac surgery
(患児鼻腔内の MRSA 保菌は小児心臓手術後に縦隔洞炎を発生する重大なリスクになり得る)

著 者：Katayanagi T

公 表 誌：Ann Thorac Cardiovasc Surg 21: 37-44, 2015

論文内容の要旨

【背景と目的】 縦隔洞炎は予後を左右する重篤な術後合併症であり, 中でも Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) を起因菌とする縦隔洞炎は治療抵抗性であり, 罹病率および死亡率を高める結果を招く。東邦大学医療センター大森病院 (当施設) においても, 過去に MRSA を起因菌とする手術部位感染 (surgical site infection: SSI) のアウトブレイクを経験したため, 院内感染管理部の協力を得て, 小児心臓外科における総合的な SSI 防止対策 (術前鼻腔培養施行など) を導入した。これまで小児心臓外科領域において, 術前鼻腔培養の重要性について述べられた文献は少ない。そこで今回 SSI 防止対策の有効性を検証し, 術後縦隔洞炎発生に関与する因子について後方視的に検討した。

【対象と方法】 総合的な SSI 防止対策として, 1) 術前入院期間の短縮 (予定手術症例に関しては可及的に手術前日に入院), 2) 医療チームの standard precaution の徹底化, 3) 術前鼻腔培養における MRSA 保菌の有無によって MRSA 陽性例に対しては, 術前からのムピロシン軟膏の鼻腔内塗布, 術直前から術後 3 日までのバンコマイシン予防投与, および術後 intensive care unit (ICU) における個室管理, 4) バンコマイシン以外の予防的抗菌薬の投与期間短縮, を行った。

対象は術前に鼻腔培養スクリーニングが施行された小児心臓外科手術症例 174 例とした。

まず総合的な SSI 防止対策の有効性を検証するため, SSI 防止対策の導入前を前期群 (Group E, $n=73$), SSI 防止対策導入後を後期群 (Group R, $n=101$) とし, 2 群間の SSI および縦隔洞炎発生率を χ^2 検定により比較した。さらに術後縦隔洞炎発生に影響をもたらした因子を抽出するため, 術前, 術中, 術後因子についてロジスティック回帰分析を用いて統計学的な解析を行った。

【結果】SSI 発生率は、Group E : 17.0%, Group R : 6.9%, 縦隔洞炎発生率は、Group E : 13.0%, Group R : 3.0%といずれも後期群において有意な減少を認めた ($p < 0.05$)。術後縦隔洞炎発生に影響を及ぼす因子に関しては、術前因子としては「術前入院期間」, 「術前 MRSA 保菌の有無」(odds ratio はおのおの, 1.01, 7.14), 術中因子では「Aristotle basic Complexity score (術式難易度)」, 「手術時間」, 「人工心肺回路容積」, 「最低直腸温」(odds ratio はおのおの, 1.35, 1.27, 1.34, 0.78), 術後因子としては「輸血量」(odds ratio, 1.27) が有意であった ($p < 0.05$)。また「術前入院期間」は「術前の鼻腔内 MRSA 保菌 (colonization)」と有意な相関性を示し、術前鼻腔培養において MRSA が陽性であった患児は、術後に MRSA を起因菌とした縦隔洞炎を発生するリスクが著しく高まることが明らかとなった ($p < 0.05$; odds ratio, 16.30)。

【結語】小児心臓外科手術症例において、当施設で施行した総合的な SSI 防止対策は、SSI および術後縦隔洞炎の発生を有意に抑制し得た。また、術前入院期間短縮、手術時間短縮、人工心肺回路の低容量化は術後縦隔洞炎を抑制するうえで重要な因子であり、院内の環境整備と standard precaution の徹底化が重要であった。また MRSA の保菌、術式難易度の高い症例、人工心肺中の低体温症例、輸血量の多い症例は、術後縦隔洞炎を発症するハイリスク群になり得る。したがって心臓手術が予定された患児に対して、可及的早期に鼻腔培養を行い、MRSA 保菌の有無をチェックすることが重要であり、術後 MRSA 縦隔洞炎の防止を目的とした術前からの徹底した総合的 SSI 対策を講じる必要性がある。

くほた よし ひさ
久保田 喜 久

学位の種類：博士(医学) 学位番号：乙第2686号

学位授与の日付：平成27年10月22日

主 論 文：Efficacy of laparoscopic liver resection in colorectal liver metastases and the influence of preoperative chemotherapy
(大腸癌肝転移に対する腹腔鏡下肝切除の有効性および周術期化学療法の影響についての検討)

著 者：Kubota Y, Otsuka Y, Tsuchiya M, Katagiri T, Ishii J, Maeda T, Tamura A, Kaneko H

公 表 誌：World J Surg Oncol 12: 351, 2014 (DOI: 10.1186/1477-7819-12-351)

論文内容の要旨

【背景】腹腔鏡下肝切除 (laparoscopic liver resection : LLR) は近年普及しつつある術式である。一方で、大腸癌肝転移 (colorectal liver metastases : CLM) は正常肝であることが多く、個々の病変に対しては小範囲の肝切除で根治性が得られる反面、原発巣手術による腹腔内癒着や術前化学療法による肝障害といった不利な点も存在する。CLM に対する LLR と open liver resection (OR) の侵襲性と術後成績を比較するとともに、CLM に対する LLR の安全性と化学療法の影響の評価を行い、CLM に対する LLR の意義について検討した。

【方法】2006~2013年に大腸癌肝転移105例のうちLLR群43例、OR群62例が対象。各病理学的因子や術前化学療法の有無、手術時間、出血量、術後合併症、術後在院期間、低侵襲性の評価として Estimation of Physiologic Ability and Surgical Stress (E-PASS) scoring system を用いて比較検討した。両群間の overall survival (OS), disease free survival (DFS) を算出し比較した。また LLR 群における、術前化学療法の肝切除に与える影響の評価として、肝切除直前の肝予備能、化学療法後肝障害の有無、術後合併症の有無を評価した。

【結果】① LLR vs. OR : 背景因子では腫瘍個数では LLR 群で、単発例が有意に多かった。LLR 群 14 例で術前化学療法が施行された。LLR 群で術中出血量は有意に少なく、術後合併症罹患率は両群に有意差を認めず、術後在院期間は LLR 群で有意に短かった。E-PASS scoring system での評価では、preoperative risk score (PRS) は LLR 群、OR 群ともに差はなかったが、surgical stress score (SSS), comprehensive risk score (CRS) では LLR 群で有意に低値であった。観察期間中央値は 36.8 カ月で、3 年生存率は LLR 群が 88.4%, OR 群 72.4% で、OS, DFS とともに両群に有意差は認めなかった。また、LLR, OS 群のうち、単発例における OS, DFS の比較でも両群に有意差は認めなかった。

② LLR の安全性評価と術前化学療法の影響 : 76.1% の症例に開腹下原発巣手術がなされており、複数回の開腹歴や人工

肛門造設例も含まれていたが、腹部超音波による術前腹腔内癒着評価を行い、全例で合併症なく LLR を完遂できた。LLR 群での術前化学療法は抗瘍剤 + bevacizumab 10 例、抗瘍剤単独 4 例で、術直前の血算、生化学検査では術前化学療法群、手術単独群ともに正常値であり、有意差は認めなかった。また化学療法後肝障害では、5 例で類洞障害を認めたが、術中出血量、術後在院日数、合併症罹患率に有意差は認めなかった。また再肝切除は 6 例に行っており、このうち 3 例は LLR にて再肝切除を施行できた。

【考察】本研究における低侵襲性評価では、LLR 群と OR 群の術前のリスク (PRS) は同等であったが、手術リスク (SSS)、総合リスク (CRS) では LLR 群が有意に低値であった。また重度の合併症はなく、術後在院期間は OR に比べ短縮されたことから、LLR の低侵襲性が示唆された。大腸癌肝転移に対する治療の第一選択は肝切除とされており、本邦では従来から肝部分切除を標準術式として選択されてきた経緯がある。肝部分切除は LLR において最も標準的に行われている術式であり、大腸癌肝転移に対して術式の観点からは LLR の妥当性が考えられる。予後成績においては OS、DFS で LLR 群と OR 群に差は認めなかったが、LLR 群では、予後良好な因子である単発例が多いことが指摘できる。そこで単発例における OS、DFS の比較を行ったが有意差は認めなかった。近年、大腸癌肝転移に対し周術期化学療法の有用性が報告され、肝切除術前化学療法例が増加しつつあるが、化学療法後肝障害による悪影響も懸念される。一般に化学療法後には一定の術前休薬期間を設けており、手術直前の肝予備能評価では化学療法の影響は認めなかったものの、5 例に類洞拡張症を認めた。LLR を完遂するためには出血の制御が最も重要であり、さまざまなデバイスを駆使し肝離断操作を行う。類洞拡張症例では肝予備能のみならず術中出血も懸念されるが、肝細胞癌における硬変肝同様にデバイスを適切に使用することで、良好な出血制御が可能であり、手術単独例との間に術中出血量、術後合併症、術後在院期間に差はなく、術前化学療法が LLR に対して悪影響を及ぼす点は指摘できなかった。また、残肝再発例に対してしばしば再肝切除が必要となるが、初回 LLR 施行例では、癒着は軽微であり、再肝切除例の 50% で再度 LLR が可能であった。

【結語】CLM に対する LLR は許容でき、化学療法の影響は投与薬剤の特性を理解することでその悪影響はないと考えられた。

まつ ざわ やす お
松 澤 康 雄

学位の種類：博士 (医学) 学位番号：乙第 2687 号

学位授与の日付：平成 27 年 10 月 22 日

主 論 文：Change in serum marker of oxidative stress in the progression of idiopathic pulmonary fibrosis
(特発性肺線維症の進行における血清酸化ストレスマーカーの変化)

著 者：Matsuzawa Y, Kawashima T, Kuwabara R, Hayakawa S, Irie T, Yoshida T, Rikitake H, Wakabayashi T, Okada N, Kawashima K, Suzuki Y, Shirai K

公 表 誌：Pulm Pharmacol Ther 32: 1-6, 2015

論文内容の要旨

【背景】特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis : IPF) の病態には酸化ストレスの亢進が関与している。IPF 患者において分光光度法により測定された血清酸化ストレス値 (diacron reactive oxygen metabolites : d-ROMs テスト) はコントロールに比べて有意に高値を示し、努力肺活量 (forced vital capacity : FVC) や肺拡散能 (diffusing capacity of the lung carbon monoxide : Dlco) と負の相関を示すことが報告された。しかし、IPF の経時的進行と血清酸化ストレス値の変化の関係は明らかではない。

【目的】本研究の目的は IPF の経時的進行と血清酸化ストレス値の変化の関係を明らかにすることである。

【対象と方法】43 名の未治療 IPF 患者の血清酸化ストレス値を d-ROMs テストで測定し、30 例の健康対照と比較した。また、血清酸化ストレス値と各種血清マーカー、FVC、Dlco との関係を調べた。次に、27 名について、6 カ月間の酸化ストレス値と肺機能の経時的変化を検討した。さらに、13 例の IPF 急性増悪患者の酸化ストレス値について検討した。

【結果】43名のIPF患者の酸化ストレス値〔中央値，4分値範囲：Carratelli units (U. CARR)〕は健康対照に比べて有意に高かった(366, 339-443 vs. 289, 257-329, $p < 0.01$)。IPF患者27例の血清酸化ストレス値は，6カ月の間に有意に上昇した(353, 311-398 → 385, 345-417, $p < 0.01$)。6カ月間の血清酸化ストレス値の上昇(24.0, 6.0-49.0 U. CARR/6months)は，ベースラインのDlco値($r = -0.44$, $p < 0.05$)および6カ月間のFVCの低下($r = -0.54$, $p < 0.01$)との間に有意な負の相関を示した。IPF急性増悪患者の酸化ストレス値は安定期IPF患者に比べて有意に高値であった(587, 523-667 vs. 366, 339-443)。

【考察】過去の報告と同様，IPF患者の血清酸化ストレス値は正常対照より有意に高値を示した。しかし，既報と異なり，ベースラインの肺機能と血清酸化ストレス値の関係は明らかではなかった。血清酸化ストレス値は肺のみならず全身の酸化ストレス状態を反映することから1回の測定値がIPFの重症度と相関することはむしろ考えにくいと思われた。

近年の研究によるとIPF患者の予後をよく反映するのは，ベースラインのFVCよりもFVCの経時的変化である。ベースラインのFVCはIPFの重症度や活動性以外の要因の影響を受けるためと考えられる。今回，われわれは，6カ月の観察期間において，IPF患者の血清酸化ストレス値が経時的に有意に上昇したことを示した。さらに，その上昇は，IPF患者における予後因子である「FVCの経時的低下」と逆相関を示した。このことは，血清酸化ストレスの経時の上昇が，IPFの増悪の反映であり，肺線維症の予後因子ともなりえる可能性を示している。

Dlcoについては，FVCと異なり，ベースラインの値が予後と相関するという報告がある。われわれの検討でも，Dlcoは，FVCと異なり，ベースラインの値が，酸化ストレスの上昇と逆相関を示した。拡散能は，肺線維症の重症度以外の影響を受けにくいことが理由として考えられるが，測定値のばらつきもあり，解釈には慎重を要する。

IPF急性増悪と酸化ストレスの関係については，ほとんど知られていない。今回，われわれは，IPF急性増悪においても，酸化ストレス値が著明に上昇することを示した。そのメカニズムの詳細は不明であるが，IPFにおいて，慢性増悪のみならず，急性増悪においても，酸化ストレスの増大が関与していることを示唆するものである。

【結論】IPFの進行において，血清酸化ストレス値は経時的に有意に増大し，努力肺活量の減少と逆相関を示した。IPF急性増悪においても血清酸化ストレス値は著明に上昇した。これらの結果から，酸化ストレスはIPFの病因のみならず，その増悪にも関係していることが示唆された。

かね かわ たけ のり
金 川 武 徳

学位の種類：博士(医学) 学位番号：乙第2688号

学位授与の日付：平成27年10月22日

主 論 文：Importance of branched-chain amino acid in patients with liver cirrhosis and advanced hepatocellular carcinoma receiving hepatic arterial infusion chemotherapy
(肝動脈注入化学療法を受けている肝硬変患者および進行性肝細胞癌患者における分岐鎖アミノ酸の重要性)

著 者：Kanekawa T, Nagai H, Kanayama M, Sumino Y

公 表 誌：Cancer Chemother Pharmacol 74: 899-909, 2014

論文内容の要旨

【目的】日本肝臓学会の肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma : HCC) の肝治療アルゴリズムでは，経カテーテル肝動脈化学塞栓術 (transcatheter arterial chemoembolization : TACE) (Vp1またはVp2を来したHCC) および肝動脈注入化学療法 (hepatic arterial infusion chemotherapy : HAIC) が，4つ以上の腫瘍，主要門脈枝が関連する血栓，または門脈幹の血栓が存在する肝硬変 (liver cirrhosis : LC) 患者に推奨されている一方で，ソラフェニブはChild-Pugh (C-P) Aの患者のみに推奨されている。

HAICは，門脈の主要枝または門脈幹に血栓があるLC患者と同様にC-P AまたはBのLCを来した患者の進行性肝細胞癌 (advanced HCC : aHCC) の治療に対しては依然とした少数の残された選択肢の1つである。ドラッグデリバリーシ

システムの改善により、aHCCを来した患者において抗癌剤の反復肝動脈注入を行うことが可能となり、HAICは生存期間および生活の質の改善の双方をすることがこれまでに実証されてきた。

その一方で分岐鎖アミノ酸 (branched-chain amino acids : BCAA) を補給すれば、非代償性肝硬変症患者の栄養状態が改善し、肝の合併症が防止されることが報告されてきた。加えてC-P Aの患者ではBCAAの補給が肝硬変症患者におけるHCCの発生率低下に関係し、肝関連のイベントを防止すると報告されており、さらにBCAAの含有量に富む就寝前の軽食が、HAICを受けているaHCCに罹患する肝硬変症患者におけるエネルギー代謝およびグルコース耐性を改善すると報告されている。

この後向きコホート研究の目的は、肝機能に対するBCAAの効果およびaHCCに罹患してHAICを受けているC-P AおよびBのLC患者の予後を明らかにすることであった。

【方法】 患者：対象は診療録により2000～2011年にかけて東邦大学医療センター大森病院でHAICを実施し治療されたLC患者およびaHCC患者92名。同患者らは肝両葉に複数の腫瘍があり、外科的切除、TACE、経皮エタノール注射、マイクロ波凝固治療または高周波アブレーションなどの適応がなく施行されていない。これらの患者らをC-P AまたはBに分類され、多様な部分寛解 (partial responses : PRs) または不変に分類した。C-P Cに分類した患者11名および腫瘍進行による肝障害のため反応を示さなかった患者47名の患者は除外した。患者でHAICを単独投与するHAIC群 (n=43) とHAIC+BCAA投与による治療を受けるBCAA群 (n=49) に振り分けた。HAICは、4週間の期間に5日間隔で固有肝動脈を経て投与した。BCAA群は、12 g/日のLivact[®]配合顆粒 (味の素製薬 (株), 東京), または3包/日のアミノレバン[®]EN配合散 (大塚製薬 (株), 東京) の経口投与を行った。HAICの最初の治療から食後に服用した。血液サンプルは、化学療法の前後に患者から採取した。

ドラッグデリバリーシステム：動脈内カテーテルは大腿動脈を経て挿入し、皮下に埋め込んだリザーバーに接続した。原則として、胃十二指腸動脈および右胃動脈はコイルで閉塞した。

治療：皮下に埋め込んだリザーバーにカテーテルを接続し、4週間の期間に対して5日間隔で、固有肝動脈を経て24時間のHAICによる治療を実施した (leucovorin : LVは12 mg/時, cisplatin : CDDPは10 mg/時, fluorouracil : 5 FUは250 mg/m²/22時)。治療は同じ強度で可能な限り3カ月または4カ月ごとに実施した。

評価：治療4週間後に実施したcomputed tomography (CT) で、腫瘍の最大直径を2カ所測定し、その積を算出した。著効 (complete response : CR) は腫瘍の消失と定義した一方、PRは50%以上の積の減少と定義した。25%以上の増大は進行 (progressive disease : PD) と定義し、PRとPDの間のより小さい変化は不変 (stable disease : SD) と定義した。

【結果】 BCAA群では、HAIC実施後に血清アルブミンが有意に増加したが、血清総ビリルビン、血清アミノトランスフェラーゼ、プロトロンビン時間、腹水および肝性脳症における有意な変化はなかった。C-Pスコアは、C-P B患者におけるHAIC実施前と比較してHAIC実施後には有意に低下したが、C-P A患者では有意な変化はなかった。BCAA群の生存期間は、HAIC群の生存期間に比べて有意に長く、C-P B患者の生存期間中央値は426日対272日であった一方、C-P A患者では有意差がなかった。

【考察】 腫瘍の進行に起因する肝障害がaHCCに罹患してHAICを受けているLC患者の予後に影響することから、われわれは生存期間に影響する他の因子を見つけるために傾向スコアを算出した。BCAAによる治療がaHCCに罹患してHAICを受けている患者の生存期間を延長する可能性を示した。われわれは、BCAAによる治療がC-P AおよびBの患者の生存に関係していたことを確認するために、C-P AとBの患者を別々に調査した。コックス比例ハザードモデルを用いた多変量解析から、BCAA補給がHAICを受けているC-P AのaHCC患者の生存期間には関連しないことが示された一方、腫瘍のステージとAFPが同患者たちの生存期間と関係していることが示された。しかしながら、BCAA補給はHAICを受けているC-P BのaHCC患者の生存期間と関係していた一方、腫瘍のステージとAFPはこれらの患者の生存期間には影響を及ぼさなかった。BCAA群のC-P Bの患者において、血清アルブミンはHAICの後に有意に増加したが、血清総ビリルビン、血清alanine aminotransferase (ALT), prothrombin time (%) (PT (%)), 腹水または肝性脳症では有意な変化はなかった。

【結論】 分岐鎖アミノ酸は、aHCCに罹患してHAICを受けているC-P B患者において血清アルブミンを増加させることによって生存期間を長期化し、C-Pスコアを改善する可能性がある。

あん どう つね ひろ
安 藤 常 浩

学位の種類：博士（医学） 学位番号：乙第2689号

学位授与の日付：平成27年11月26日

主 論 文：Pathophysiological implication of computed tomography images of chronic pulmonary aspergillosis

（慢性肺アスペルギルス症におけるCT画像所見と病理組織学的解析）

著 者：Ando T, Tochigi N, Gocho K, Moriya A, Ikushima S, Kumasaka T, Takemura T, Shibuya K

公 表 誌：Jpn J Infect Dis 69: 118-126, 2016 (DOI: 10.7883/yoken.JJID.2015.028)

論文内容の要旨

【目的】慢性肺アスペルギルス症（chronic pulmonary aspergillosis：CPA）は長期治療を要し、時に致死的な呼吸不全や咯血を引き起こす難治性の真菌感染症である。しかしながら、その病理病態についてはこれまで十分な解析はなされていない。本研究では、現在でもなお議論の最中にある診断法や治療法確立の基礎となる病態解明を目的とし、渉猟可能なCPA症例群を対象として、臨床評価、胸部computed tomography（CT）所見と病理組織所見について解析・検討を行った。

【対象および方法】2000～2011年に日本赤十字社医療センターと東邦大学医療センター大森病院にてCPAと診断、治療および経過観察を行った30症例を用いた。うち14例は外科的切除、他の16例は病理解剖を行った症例であった。単純性アスペルギローマは今回の検討対象から除外した。電子カルテ等診療録から症状、基礎疾患等の臨床像と継時的な胸部CT所見の変化、さらに病理組織所見については病変の肉眼的観察と固定後切り出された標本切片にhematoxylin-eosin（HE）染色、Periodic acid-Schiff stain（PAS）染色、Grocott染色等各種染色を施し顕微鏡的に観察した。なお、本研究は両施設での研究倫理審査委員会の承認を得た（#268, #2600524051）。

【結果】1) 臨床所見の解析：男性28例、女性2例、年齢29～86歳（平均70.3歳）だった。全例基礎疾患を持ち13例は複数の疾患背景を有していた。陳旧性肺結核が最も多く15例（50%）で、次いで糖尿病8例（26.7%）、間質性肺炎5例（16.7%）、気管支喘息と肺非結核性抗酸菌症がそれぞれ3例（10%）に認めた。さらにその他、5例はステロイド剤の使用、4例には胸部外科手術の既往歴を有していた。臨床症状は咳嗽と血痰が最も多く15例（50%）に認め、次いで呼吸困難13例、発熱4例、咯痰3例であった。22例には各種抗真菌薬による治療がなされた。臨床経過として発症から外科切除あるいは剖検までの期間はそれぞれ、2カ月～5年間（平均16.6カ月間）と1.5カ月間～7年間（13.8カ月間）であった。剖検例における臨床的な死因として呼吸不全が14例、咯血が2例であった。うち7例は呼吸不全の急性な増悪を呈し、4例は人工呼吸器などによる呼吸管理を要した。2) 画像所見の解析：初期の病変の分布として右上葉が60%と優位であった。主なCT所見の頻度においては空洞100%、次いで菌塊70%、コンソリデーション（consolidation：Cons）67%、スリガラス影（ground glass opacity：GGO）40%であった。27例で観察されたCT画像所見の推移ではConsによる陰影拡大が70%、ConsとGGOによる陰影拡大と空洞の拡大がそれぞれ26%に認めた。陰影拡大症例の32%は対側肺へと陰影の進展を認めた。3) 病理組織学的解析：菌塊を含む空洞病変を29例に認めた。顕微鏡学的観察では主な所見として、空洞壁の潰瘍形成、気管支炎と器質化肺炎が観察された。菌糸は空洞壁のびらん面に接するが、菌糸による組織侵襲は観察されなかった。空洞の壁や連続する気管支では好中球を含む壊死物質などの炎症性の滲出物が種々の程度に観察された。一方、空洞周囲や末梢領域では肺胞空内の強い滲出を認め器質化肺炎の像を示していた。

【考察】臨床像では従来の報告のごとく男性高齢者に多く、全例が陳旧性肺結核、糖尿病、ステロイド治療、胸部術後状態などを背景として発症したことが確認された。主な臨床症状は咳嗽、血痰、呼吸困難であるが、予後不良な経過を取るものでは、胸部CTでConsとGGOの陰影の増悪を伴い呼吸不全で死亡に至るものが多かった。CT画像所見と病理組織学的解析では、器質化肺炎は胸部CT所見のConsやGGOの分布にほぼ一致していた。CPAの主な病理病態については空洞壁や気管支壁など菌塊が接する部分でびらんや潰瘍形成を生じ、その炎症に関連して器質化肺炎が生じることが推測された。器質化肺炎については肺炎球菌、肺炎マイコプラズマなどの感染症でも生じることが報告されているが、アスペ

ルギルス感染での報告は少ない。しかしながら *Aspergillus niger* (*A. niger*) ではシュウ酸カルシウムの沈着に関連した器質化肺炎は報告がなされており、この場合菌糸と離れた部位にも器質化が観察される。本研究においても器質化部位においてほとんど菌糸は認めず、経気道的な進展や末梢領域において器質化肺炎が観察された。器質化肺炎が、*A. niger* でのシュウ酸カルシウムの沈着と同様に、なんらかのアスペルギルス菌体由来の物質や壊死物質などに対する組織反応として生じている可能性が推測された。また、器質化肺炎が結果的に CPA の予後に影響する呼吸不全に関連していることも示された。

【結論】CPA では、菌が末梢気道の一部に限局するが、同部から排出される炎症性滲出物の経気道的拡散によって器質化肺炎が拡大し、治療抵抗性の不可逆的呼吸不全が進行することを明らかとした。

おおしまようこう
大嶋陽幸

学位の種類：博士(医学) 学位番号：乙第2690号

学位授与の日付：平成28年1月21日

主論文：NY-ESO-1 autoantibody as a tumor-specific biomarker for esophageal cancer: screening in 1969 patients with various cancers
(抗NY-ESO-1抗体は食道癌の特異的腫瘍マーカーである：1969例の各癌種におけるスクリーニングより)

著者：Oshima Y, Shimada H, Yajima S, Nanami T, Matsushita K, Nomura F, Kainuma O, Takiguchi N, Soda H, Ueda T, Iizasa T, Yamamoto N, Yamamoto H, Nagata M, Yokoi S, Tagawa M, Ohtsuka S, Kuwajima A, Murakami A, Kaneko H

公表誌：J Gastroenterol 51: 30-34, 2016 (DOI: 10.1007/s00535-015-1078-8)

論文内容の要旨

【背景と目的】Carcinoembryonic antigen (CEA), squamous cell carcinoma (SCC) 抗原, 血清 p53 抗体の3種の血清腫瘍マーカーは食道癌の体外診断薬として保険収載されている。血清 p53 抗体は比較的早期の食道癌においても20%前後の陽性率であるがCEAやSCC抗原ではほとんど早期癌診断は不可能である。p53抗体を含めたimmunoglobulin G (IgG) 抗体は早期癌の段階より血液中に癌抗原特異抗体として誘導されることからp53抗体以外の自己抗体で食道癌の診断に有用な腫瘍マーカーの開発が期待されている。NY-ESO-1は早期食道癌において血清抗体を誘導する食道扁平上皮癌の特異抗原としてクローニングされた。最近では、肺癌、乳癌、肝癌、胃癌、前立腺癌、大腸癌など他のいくつかの癌種において血清抗NY-ESO-1抗体が出現すると報告されている。しかし、これらの報告のほとんどは1つの癌種の被験者数が少なく、同時に複数の癌種における陽性率を比較したものはほとんどない。本研究では、合計1969例の多種類の癌種における血清抗NY-ESO-1抗体を解析して、NY-ESO-1抗体が食道扁平上皮癌患者において特異的な血清抗体であるかどうかを評価することを目的とした。

【対象】対象は治療開始前の1969例の固形癌患者である。内訳は食道癌176例、胃癌348例、大腸癌289例、肝臓癌114例、前立腺癌372例、乳癌386例、肺癌284例、健常者74例であった。治療開始前の血清サンプルはマイナス80度で保存した。

【方法】NY-ESO-1蛋白の作製：全長ヒトNY-ESO-1のcomplementary DNA (cDNA)をpolymerase chain reaction (PCR)法にて増幅させ、増幅した遺伝子をpGEX-4T-1プラスミドのBamH I-Xho I部位に挿入した。このプラスミドを大腸菌BL21-CodonPlus (DE3)-RILに取り込ませ形質転換し、組み換えNY-ESO-1蛋白を発現させた。組み換えNY-ESO-1蛋白は不溶のためゲル切り精製を行った。

ELISA測定系の確立：1969例の患者と74例の健常者の血清はenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)によって分析した。まず、精製した組み換え蛋白をELISAプレートに固相化させた。すべてのヒト血清は101倍に希釈しNY-ESO-1蛋白が固相化されたウェルにそれぞれ注入し、室温で1時間反応させた。洗浄バッファーで4回洗浄したのち、2

次抗体としてペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG 添加して、室温で 1 時間反応させた。洗浄バッファーで 4 回洗浄したのち、発色基質を添加し、室温で 30 分反応させた。反応停止液を加え酵素反応を止め、吸光度計にて吸光度を測定した。

【結果】健常者の血清抗 NY-ESO-1 抗体の吸光度の平均と標準偏差は 0.012 ± 0.051 であった。食道癌患者の吸光度 (0.625 ± 1.260) は健常者の吸光度よりも有意に高かった ($p < 0.001$)。他の癌種の吸光度は、肺癌 0.232, 肝臓癌 0.053, 前立腺癌 0.229, 胃癌 0.156, 大腸癌 0.122, 乳癌 0.119 であった。吸光度のカットオフ値を、健常者の血清抗 NY-ESO-1 抗体値の平均値に標準偏差の 3 倍を加えた値の 0.165 とし、この値より高い場合を陽性とした。食道扁平上皮癌患者における血清抗 NY-ESO-1 抗体の陽性率は 32% であり、すべての癌種の中で有意に高かった。肺癌, 肝癌, 胃癌, 前立腺癌の陽性率は 10% 以上であったが、大腸癌, 乳癌の陽性率は 10% 未満であった。食道扁平上皮癌患者において血清抗 NY-ESO-1 抗体の陽性率は、squamous cell carcinoma antigen (SCC-Ag) の陽性率 (25 から 40% 前後) 同等であった。健常者では、血清抗 NY-ESO-1 抗体の陽性率は 0% であり、偽陽性が低いことから特異性が高いと思われた。

【考察】既存の食道癌の腫瘍マーカーは次のような性質を持っている。SCC 抗原は通常、肺癌患者において高値し、CEA は喫煙習慣のある患者で偽陽性となり、大腸癌患者においては陽性率が高値となる。そして、血清 p53 抗体も大腸癌と乳癌で高い陽性率を示している。したがって、血清抗 NY-ESO-1 抗体は食道扁平上皮癌の血清腫瘍マーカーの第一選択となると考えられた。現在、進行食道癌患者に対する NY-ESO-1 ワクチンの有効性が臨床試験で検討されている。腫瘍検体における NY-ESO-1 抗原発現はワクチンの有効性の予測因子である。今後、血清抗 NY-ESO-1 抗体はワクチン治療における新たなバイオマーカーとなる可能性があると考えられる。今後は、血清抗 NY-ESO-1 抗体の感度と特異度を、CEA や SCC-Ag のような従来の血清腫瘍マーカーや血清 p53 抗体などと併用した場合の有用性について前向き多施設研究で検証する必要がある。