

第83巻第4号

平成18年

12月

慶應醫學

Journal of The Keio Medical Society

綜 説

- 細胞接着現象抑制は癌転移防止につながるか
—E-セレクトイン, シアリルルイス-X およびシアリルルイス-A松本 純夫.....(215)
- 基礎情報として医学分野に役立つ構造生理学を目指して
Structural physiology going toward a better understanding
in medical field藤吉 好則.....(221)

講 座

- 音楽療法の神経疾患への応用
—アルツハイマー型認知症およびパーキンソン病における治療成績—岡部多加志.....(231)
- 麻疹ウイルス Update—分子ウイルス学と麻疹撲滅に向けて—中山 哲夫.....(241)

原 著

- 脱神経により廃用性萎縮をきたしたラット骨格筋に対する培養筋芽細胞の移植小山 太郎.....(251)

話 題

- メタボリックシンドロームとアディポサイトカイン酒井 隆.....(257)
- 乳児院にて蕪澤 眞理.....(258)
- 小児在宅訪問医療への取り組み山田健一朗.....(258)

学 会 展 望

- 第86回慶應医学会総会・シンポジウム(260)

第83巻総目次

-(267)
- Key Word 索引(270)
- 著者名索引(273)

学 位 論 文

- 縦断的前向き研究からみた閉経前女性における腰椎骨密度の経時的変化に関する検討
.....小武海成之.....(T57)

号 外

- 博士(医学)学位論文—内容および審査要旨—(第182号)(別頁)

綜 説

細胞接着現象抑制は癌転移防止につながるか
 —E-セレクトリン, シアリルルイス-X およびシアリルルイス-A

独立行政法人国立病院機構 東京医療センター

まつもと すゐ お
 松 本 純 夫

Key Words: 細胞接着抑制, 転移, E-セレクトリン, シアリルルイス-X, シアリルルイス-A

緒 言

炎症局所に白血球が集合して、白血球が集合すると炎症が始まる。まるで判じ物のような、鶏と卵の関係のような話題になるが、接着分子にまつわる話題を記述したい。

白血球と腫瘍細胞の接着の相似性

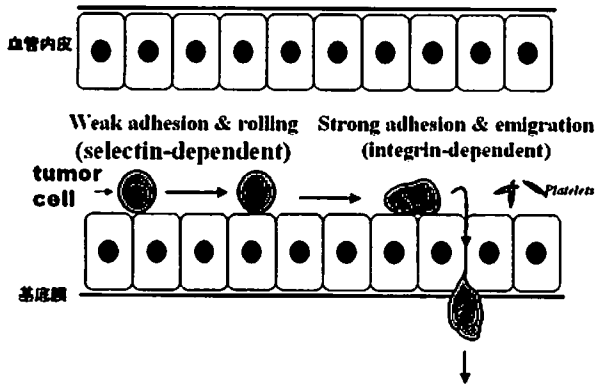
接着分子の一つ E-セレクトリンはセレクトリンファミリーに属し(表 1)、インターロイキン-1 (IL-1), -6 (IL-6)あるいは TNF- α などのサイトカインから刺激されると血管内皮表面に発現し、血流中を流れる白血球や腫瘍細胞の特異的なリガンドと結合する。これらの結合により、E-セレクトリンのリガンドとなるシアリルルイス-X および-A を表面に発言している白血球や腫瘍細胞は血管内皮上をローリングするようになる。活性化された白血球表面には IL-8 などの刺激で LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen, CD11a/CD18) が発現し、血管内皮側にはリガンドとしてインテグリングループの ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) や VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) が出現し、白血球は強く血管内皮に接着する。ローリングの弱い接着はセレクトリンに依存し、強いしっかりとした接着はインテグリンに依存した反応である。その後、膠着した白血球による乱流により、血小板が凝集する。その凝集する血小板からでるサイトカインによってマトリックスプロテアーゼが放出され、基底膜の破壊が起こり、白血球は炎症局所に集合する。腫瘍細胞の場合では血行性転移の最初のステップがセレクトリン依存で始まり、血管外に侵入して転移が成立することになる(図 1)。

表 1 白血球・内皮細胞間での接着反応に関わる分子

分子	細胞	リガンド
Selectins		
L-selectin	PMN, lymphocytes	CD34, Gly-CAM-1 ¹ Sialyl Lewis-X & others
P-selectin	Endothelial cell Platelets	P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) Sialyl Lewis-X & others
E-selectin	Endothelial cell	Sialyl Lewis-X & others
Integrins		
LFA-1 Mac-1	PMN, lymphocytes PMN	ICAM-1, ICAM-2 (CD11a/ CD18) ICAM-1 & others (CD11b/ CD18)
Immunoglobulin superfamily		
ICAM-1 ICAM-2 PECAM-1	Lymphocytes, EC Lymphocytes, EC EC, PMN, Lymphocytes	LFA-1, Mac-1 LFA-1 various platelets

¹these are ligands for lymphocyte L-selectin; the ligands for neutrophil L-selectin have not been identified. EC, endothelial cell; PECAM-1, platelet endothelial cell adhesion cell Molecule-1

図1



セレクトインファミリーの構造

E-セレクトインは白血球表面に恒常的に発現しているL-セレクトインおよび血小板・白血球に発現しているP-セレクトインとセレクトインファミリーを構成している。頭部にレクチンドメインがあり、その下に上皮増殖因子(EGF)様ドメインがあり、コンプリメント・レギュレーター・モジュール、膜貫通たんぱくが続き、細胞内でアンカー・プロテイン、アクチンフィラメントが連なっている構造である(図2)。E-セレクトインはIL-1、IL-6やTNF- α などサイトカインの刺激でごく短時間で血管内皮表面に顔を出し、およそ4時間で最大になる。その後、白血球表面にインテグリン受容体(LFA-1やVLA4)が活性化され、血管内皮細胞表面にインテグリンファミリーのICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1)やVCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1)が発現し、がっちりとした細胞間の接着が起こり、つづいて血管外へ逸脱する反応が生じる。

図2

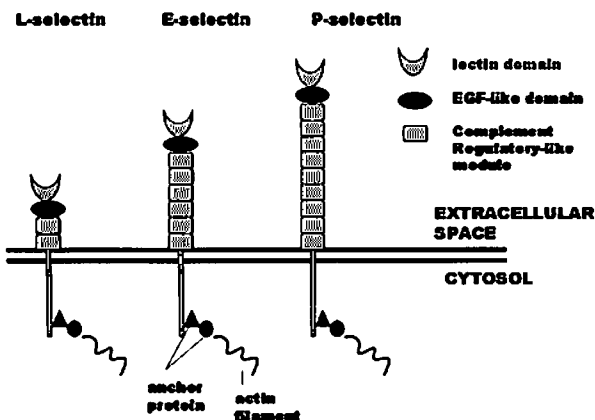


図3

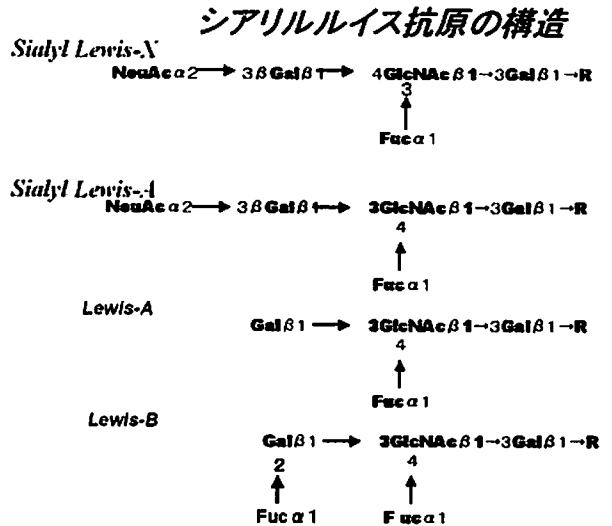
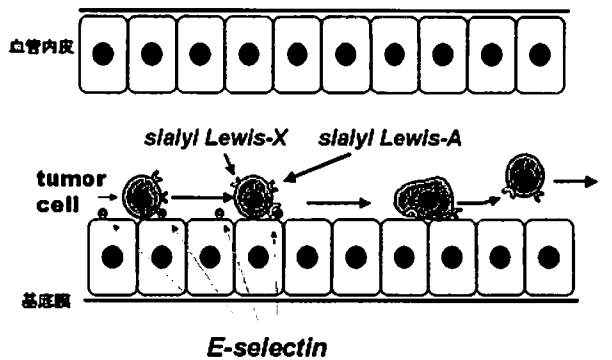


図4



シアリルルイス-X およびシアリルルイス-A

癌細胞表面に存在するシアリルルイス-X (sialyl Lewis-X: sLe^x) およびシアリルルイス-A (sialyl Lewis-A: sLe^a) (図3) はセレクトインのリガンドとして血管内皮上のE-セレクトインと結合する。それらの反応が血行性転移の最初のステップとして認識されるようになった(図4)。シアリルルイス抗原はシアル酸(NeuAc: N-アセチルノイラミン酸)と、ガラクトース(Gal)と、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)と、フコース(Fuc)から構成された糖鎖がたんぱく質に結合している。

シアリル Le^a 抗原はルイス式血液型抗原の Lewis A 抗原 (Le^a) に、シアル酸 (NeuAc) が、2→3 結合した構造をしている(図3)。シアリル Le^x 抗原は Le^x に

シアル酸 (NeuAc) が、2→3 結合した構造をしている。シアリルルイス-X (sLe^x) およびシアリルルイス-A (sLe^a) はルイス式血液型抗原と同様に、基幹領域に Gal-GlcNAc を有している。一型糖鎖である sLe^x では Gal と GlcNAc の結合が 1→3 であるのに対して、二型糖鎖である sLe^a では 1→4 結合している。

腫瘍マーカーとして知られている中でシアリルルイス-X 系に属するものに CSLEX やシアリル Le^xi を認識する SLX, difucosyl Le^x-1 を認識するシアリル SSEA-1, そのほか NCC-ST-439 などがある。

またシアリルルイス-A に属するものとしては有名な CA19-9 がある。SLe^a 抗原の合成には基幹領域の Galβ1→3GlcNAc のガラクトースに、まずシアル酸転移酵素である ST 酵素によりシアル酸 (NeuAc) 2→3 結合させシアリル Le^x 抗原 (sLe^x: DUPAN-2) が形成される。それからシアリル Le^x 抗原の GlcNAc に Le 酵素によりフコース (Fuc) を 1→4 結合させてシアリル Le^a 抗原 (CA19-9) が合成される。

CA19-9 はルイス抗原陽性の人では膵管、胆管、胆嚢上皮、胃腸上皮の一部細胞膜に局在している。通常膵管、胆管から消化管に排泄されている。したがって炎症や腫瘍で排泄障害が生じると血中に移行し高値を呈する。シアリルルイス-A 抗原の合成には Le 酵素が必要である。

その酵素が欠損している人 Le (a-b-) が日本人では 10 人に 1 人程度いるので、それらの人では癌でも CA19-9 が高くないことを知っている必要がある。しかし Le 酵素が欠損している人でも前駆体であるシアリル Le^x は上昇するので DUPAN-2 の測定が有用である。これらの人でも FUT6 酵素によりシアリル Le^x 糖鎖は合成できるので SLX 値は肺癌などがあると上昇する。

E-セレクトイン発現抑制の効果

われわれは H2 受容体拮抗薬のシメチジンが E セレクトインの発現を阻害することを見出し¹⁾、進行大腸癌を対象に術後補助療法の抗癌剤に併用する比較対象試験を 1990 年から 1992 年にかけて行った (図 5)。癌細胞表面に糖鎖抗原を強く発現している症例にシメチジン投与の効果があるのであろうと予測した。シアリルルイス-X 高発現群で予想通りシメチジン投与群の予後が良好で転移を抑制していることが示唆された (図 6)。シアリルルイス-A 高発現群でも同様であり (図 7)、糖鎖と E-セレクトインの結合を阻害する治療が成立する可能性を証明した²⁾。

実際にはシメチジンの転移予防効果、生存率延長効果が 3 年生存率の解析時に判明し³⁾、その後の研究で E-セレクトイン発現抑制作用が予後延長の理由になることを発見した。

図 5

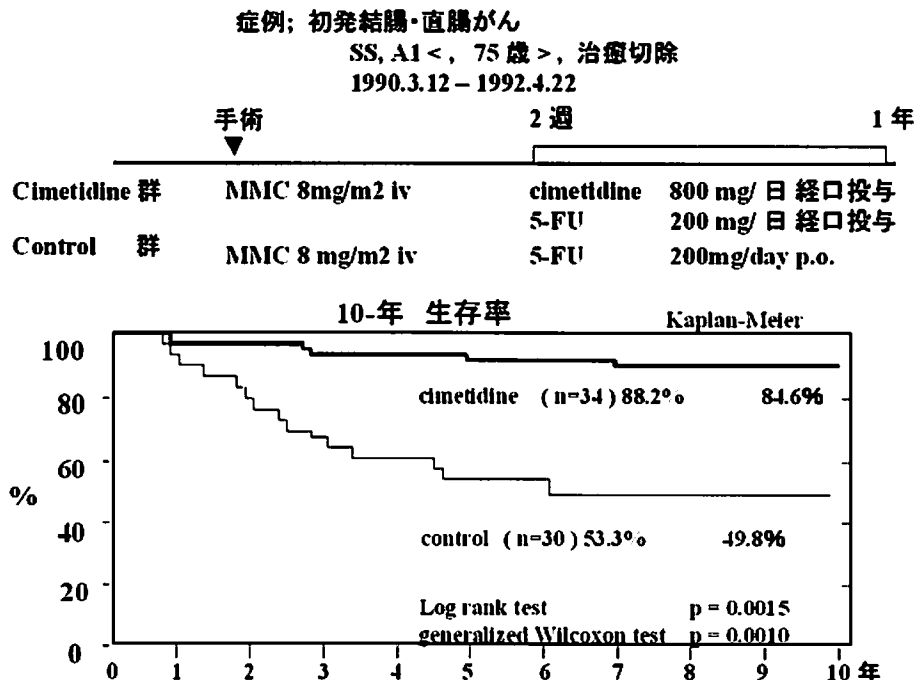


図6

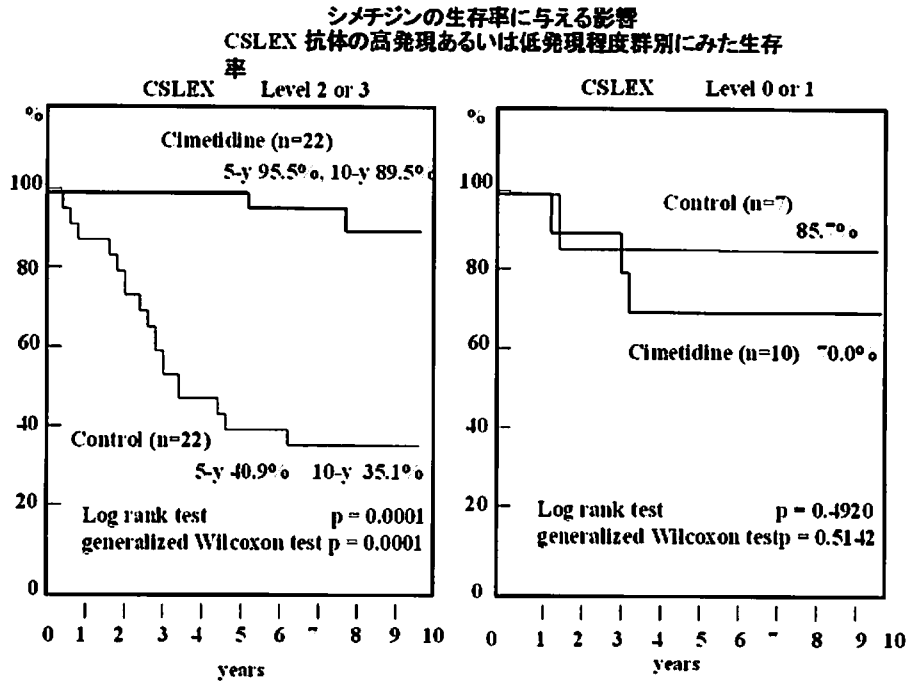
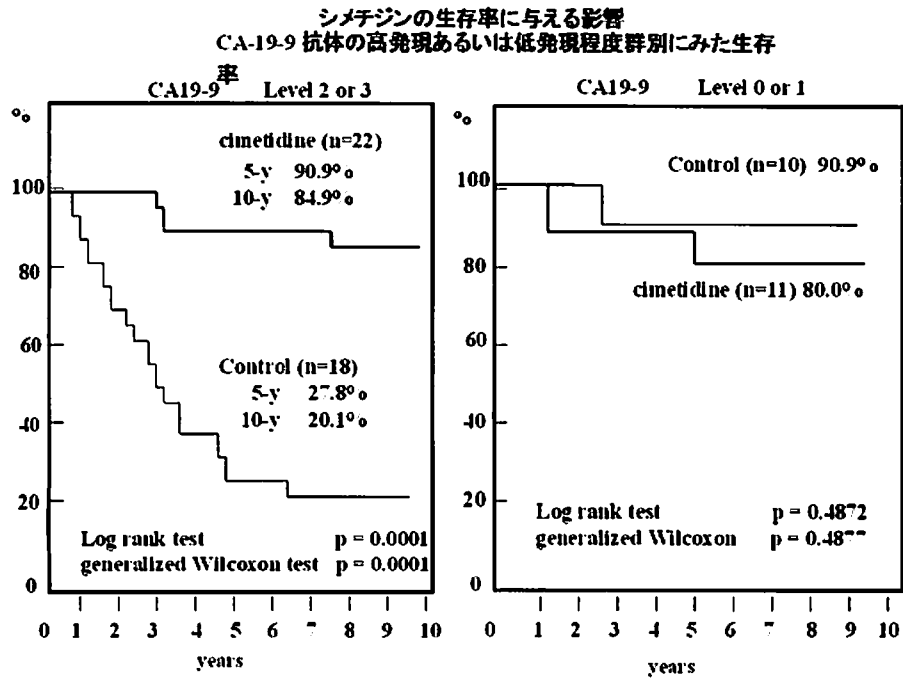


図7



結 語

それまで接着抑制が治療につながるとすれば E-セレクトリンによる弱い接着ローリングよりもインテグリンによる強い接着を抑える必要があると考えられていた。E-セレクトリンの発現を少なくすることで癌細胞の血管内皮への弱い接着を抑えることが転移抑制につながり、予後の延長まで認められることが始めて証明されたことになる。名古屋市立大学分子遺伝岡本尚教授や藤田保健衛生大学における小林健一講師、梅本俊治助教授、病理の今枝義博研究員ら共同研究者に感謝したい。

文 献

- 1) K Kobayashi, S Matsumoto, T Okamoto, et al : Cimetidine inhibits cancer cell adhesion to endothelial cells and prevents metastasis by blocking E-selectin expression. *Cancer Res* 60 : 3978-3984, 2000
- 2) S Matsumoto, Y Imaeda, S Umemoto, et al : Cimetidine increases survival of colorectal cancer patients with high levels of sialyl Lewis-X and sialyl Lewis-A epitope expression on tumour cells. *Br J Cancer* 86 : 161-167, 2002
- 3) S Matsumoto, Cimetidine and survival with colorectal cancer. *Lancet* 346 : 115, 1995

綜 説

基礎情報として医学分野に役立つ構造生理学を目指して

Structural physiology going toward a better understanding in medical field

京都大学大学院理学研究科

ふじ よし よしのり
藤 吉 好 則

Key Words : 水チャンネル, イオンチャンネル, 受容体, 極低温電子顕微鏡, 電子線結晶学

要 旨

情報伝達機構において、受容体やイオンチャンネルは重要な生理学的機能を担っている。また、イオンチャンネルが正常に機能するためには、浸透圧変化に対応する水の膜透過制御が必要である。ヒトには、13種類の水チャンネルが発現して様々な生理機能を担っており、病気との関連も明らかになってきている。脂質分子の中に存在する膜タンパク質の構造を、高分解能で解析できる極低温電子顕微鏡を開発した。それを活用する事で、水チャンネルなどの膜タンパク質の生理的機能を分子構造から詳細に理解できるようになってきた。ニコチン性アセチルコリン受容体の構造も解析されて、ゲーティング機構などが解明され、関連する病気がより深く理解されるようになった。

はじめに

多くのタンパク質構造が解析されるようになったが、生理的機能に関係なく単に解析する数を追うような構造分野の風潮は、基礎科学としての構造生物学にとってさえ良いことではない。医学や生理学との密接な関係を持った構造研究が必要で、それこそが医学分野にも興味を持たれる基礎科学であろう。

神経細胞などの情報は、各種受容体の働きと共にイオ

ンチャンネルの開閉制御に基づく膜電位の変化によって伝達される。細胞の中で最も多い分子である水が膜を透過する時に、イオンも透過すると情報伝達機能が成り立たなくなる。それゆえ、水とイオンの膜透過は、分離して制御されなければならない。最近、構造生理学とも呼ぶべき新しい研究分野が発展しつつある。生理学とは生命を論理的に理解する学問であるが、分子レベルから詳細な構造に基づいてさらに深く理解しようとするのが構造生理学であろう。この言葉が真に意味のあるものとなってきたのは、バクテリア由来の K^+ イオンチャンネル、KcsA の X 線結晶構造解析を嚆矢となす R. マッキノン博士らの研究によってであろう。彼らは、生理学、特に電気生理学の研究において長い間の不思議な疑問として残されていたイオン選択性の機構を、このチャンネルの構造解析に基づいて解明した¹⁾。すなわち、 K^+ チャンネルでは、半径 1.33\AA という大きい K^+ が、半径 0.95\AA の小さい Na^+ より 10,000 倍も速く透過されるという不思議に思われてきた機構を解明した。さらに、高い分解能の解析から、 10^6 イオン/秒にも及ぶ速いイオン透過を実現する機構も提案した²⁾。これらの研究で、R. マッキノン博士はノーベル化学賞を水チャンネルの発見者 P. アグレ博士と共に 2003 年に受賞することとなった。彼は引き続き、バクテリア由来のチャンネルの構造を解析して、ゲーティング機構についてパドルモデルと呼ばれている新しい提案を行った。しかし、この問題については研究者の

著者略歴

京都大学大学院理学研究科教授。1982年京都大学理学博士。専門は構造生理学。脳と神経系に興味を持って研究を進めており、チャンネルや受容体の構造を独自に開発した極低温電子顕微鏡で解析する研究が1つの柱となっていが、電気生理学的手法や光学顕微鏡などを含む様々な技術も導入して研究している。

間で論争が生じている。一方、アセチルコリン受容体の構造解析が極低温電子顕微鏡を用いて行われ、この受容体では一般に受け入れられるゲーティング機構が提案された⁹⁾。

水で満たされている細胞の膜では、情報伝達を担うイオンチャネルを通して行われるイオン透過に伴って、浸透圧の調整機構が必要である。この様に、細胞膜を通したイオンと水の透過制御機構は、生命機能を理解する上でも、健全に身体の恒常性を維持する機構を理解する上でも、それゆえ病気の原因を理解する意味でも必須の研究課題である。

ヒトにおける水チャネルの多様性

水チャネル、アクアポリン-1は赤血球から発見された分子量28 kDの膜タンパク質で、アフリカツメガエルの卵を使ってその水透過能がP. アグレらにより示された⁴⁾。水チャネルの水の選択的透過機構のモデルについては、電子線結晶学でアクアポリン-1の構造を解くことによって提案した⁵⁾。ほとんどすべての生物において水チャネルが発見され、ヒトではアクアポリン-0からアクアポリン-12と名付けられた13種類の水チャネルが同定されている⁶⁾。

アクアポリン-0はアクアポリン-1が見いだされる以前からその存在が確認されており、MIP (Major Intrinsic Protein) と呼ばれていた。この呼び名からも判るように、目の水晶体線維細胞に多く発現しており、水チャネルが発見される前はギャップ結合タンパク質のファミリーと考えられていた⁷⁾。しかし、水透過性のある水チャネルであった。このチャネルの場合、アクアポリン-1が見いだされる以前の発見という意味で、0という番号が与えられた。なお、アクアポリン-1とは異なり、水銀による水の透過阻害はなくて、細胞を接着する機能を有している。アクアポリン-1は眼圧の制御、緑内障などに関係しているが、アクアポリン-0は先天性の白内障などに関連することも分かってきている⁸⁾。

アクアポリン-1は赤血球から最初に発見されたが、この水チャネルは腎臓をはじめ多くの器官での発現が確認されている。各器官の中で、例えば、腎臓の刷子縁、近位曲尿細管、ヘンレ (Henle) ループの細い下降脚などの部分に特徴的に局在している⁹⁾。腎臓の他の部分には別の水チャネルが発現している。なお、各器官における水チャネルの分布の詳細は、高田等による文献9に詳しい。基本的にアクアポリン-1が無くても日常生活に重大な支障はないし、血清の浸透圧もアクアポリン-1

を持つ人と同じであった。明確な違いとしては、脱水状態においてアクアポリン-1を持つ正常なヒトは1000 mosmol/kg 程度に尿を濃縮するが、アクアポリン-1が無い患者さんの場合には、450 mosmol/kg 以上に尿を濃縮することができない⁶⁾。ただし、アクアポリン-1が無くても多尿症ではないし、腎臓の尿細管での水吸収に異常はみられない。それゆえ水に関する厳しい負荷がかからなければ、大きな支障なしに通常の日常生活を送ることができるようである。しかし、これらのことはアクアポリン-1が重要でないということの意味しているわけではない。

脳下垂体から放出されるバソプレッシンが体内の水調節を含むいくつかの重要な機能を担っていることが分かっていたが、腎臓の集合導管等に発現するアクアポリン-2が佐々木らによって見いだされた¹⁰⁾。この水チャネルは、バソプレッシン依存的にダイナミックな制御を受けることによって水の恒常性に重要な寄与をしている。バソプレッシンはその受容体を活性化し、Gタンパク質 (Gs) が活性化される。Gsがアデニル酸シクラーゼを活性化すると、cAMPの濃度が上昇してプロテインキナーゼA (PKA) が活性化されて、アクアポリン-2がリン酸化される。このリン酸化は、アクアポリン-2の膜表面への移動を制御しているので、結果として、水の吸収量、すなわち、尿として排泄する水の量を調節することができる。

アクアポリン-3は、水だけでなくグリセリンのような非イオン性の小さい水溶性分子をも透過する¹¹⁾。このタイプには、7, 8, 10, 11などの水チャネルが属するとされている⁶⁾。アクアポリン-3は肌を美しく保つためにも、怪我などをした場合の治癒にも効果があるとされている。この水チャネルはpHによって、その水の透過性が変化するゲーティング機構がある点でも興味深い⁹⁾。

アクアポリン-4は脳等に発現が見られる水チャネルで、血管を取り巻くアストロサイトにおいて、結晶性のアレイを形成している¹²⁾。このチャネルは、少なくとも長さの異なる2つのスプライズバリエーションが知られている¹³⁾。結晶性アレイの大きさは、それらの発現の比率で調節される¹⁴⁾。また、この水チャネルは視床下部にみられるグリア細胞の層状構造部分にも観察される¹⁵⁾。ドーパミンによるアクアポリン-4のゲーティングを示唆する論文¹⁶⁾もあり、この神経伝達物質による水チャネルのゲーティング制御機構は特に興味深い。

角膜での発現が確認されているアクアポリン-5は、目の病気・治療などで注目されている¹⁷⁾。坪田博士らに

より、ショーグレンタイプのドライアイがアクアポリン-5の涙腺への輸送の欠陥に関わるものであることが示されている¹⁸。さらに、感情が激したときの涙や、おいしいものを見たときにでる唾液にも関係していると考えられ、脳からの情報でこの水チャネルが制御されている可能性がある。

アクアポリン-6は不思議なチャネルで、安井博士らの研究では水ではなく陰イオンを透過することが解明された¹⁹。アクアポリン-1の構造のところで述べるアクアポリンフォールドと名付けた構造を安定化する上で重要な、保存されているグリシン（2番目のヘリックス上のグリシン）が、アスパラギンとなっている。これをグリシンに変異すると陰イオンチャネルではなくて、水チャネルになる。

アクアポリン-7は脂肪細胞に発現しており、絶食の時などに脂肪が分解されてできたグリセロールを透過して供給する出口となっている。それゆえ、この水チャネルは肥満等と関係するようである²⁰。

アクアポリン-8とアクアポリン-10は消化管での発現がみられており、それ以外での発現も確認されている。例えば、アクアポリン-8は膵臓の腺房や肝臓の細胆管などにおいても確認されている。アクアポリン-9は肝細胞に発現されて、水とともにグリセロールの透過の機能が知られている²¹。これら以外にも、アクアポリン-11と12もその存在や機能が研究されており、意味のある水チャネルと確認されつつある。

水の選択的透過機構

アクアポリン-1は、1秒間におよそ20億もの水分子を透過しながら、イオンだけでなくプロトンの透過も阻害する。この機構を理解するために、極低温電子顕微鏡^{19, 20}を用いてアクアポリン-1の構造が3.8Å分解能で解析された²²。その結果、アクアポリンフォールドと呼ぶ不思議な構造が明らかになった。特に注目すべきは、短いヘリックスがチャネルの一方の側にN末端を接するように配置した構造である。この2本のヘリックスが接している部分のそれぞれにはNPAモチーフと呼ぶ配列が高度に保存されている。そのモチーフの中で、アスパラギンのカルボニル基は主鎖のNH基と水素結合してヘリックスを開始する働きをしている。その結果としてアミド基がチャネルの中へ突き出ることになる（図1a）。短いヘリックスが作る静電場のために、アスパラギンの近くに来た水分子は酸素をこのアミド基の方へ配向させられることにより、極めてスムーズな水素結合形成が行

われる（図1a）。アスパラギンがチャネル軸に平行に配置されていることと、水の分子軌道のために、2つの水素がチャネルの軸に垂直に配向させられるので、この水分子は隣り合う水分子とは水素結合を形成出来ない（図1）。この水分子が他の水分子との水素結合のネットワークを断ち切られることで、プロトンの伝搬が阻止される。しかも、NPA配列の位置に形成される狭い穴に来た水分子はバルクの水と比較して水素結合の数が1つ少ないだけで、エネルギー障壁はたかだか3 kcal/molと低いので、20億水分子/秒という速い水の透過が可能である⁶。おそらくこれらの機構を実現するために、アクアポリンフォールドという、不思議なヘリックスの配置と短いヘリックスを膜内に挿入した驚くべき構造が作りだされたのであろう。

アクアポリン-0の高分解能解析

電子線²¹とX線結晶学²²によってアクアポリン-0の構造が解析されていたが、最近電子線結晶学を用いて、さらに高い1.9Å分解能でその構造が解析された²³。速い水透過を実現しながらプロトンさえも透過しない機構のモデルを解説する図1aの水分子の位置は、結晶学的に解析されたものではなく、チャネルの構造から類推して描いたものである。膜蛋白質の構造の詳細を知るには、脂質膜の圧力を受けているチャネルにおいて、水分子を観察する必要がある。図1bに矢印で示すように水分子も観察され、図1cにチャネル構造と共に示す水分子の位置から明らかのように、プロトン阻止のモデルが実証された。すなわち、1分子の水は高度に保存されているアスパラギンのアミド基と水素結合し、その両隣にある水分子とは水素結合しない水分子の配置が確認された²³。

アクアポリン-0は水晶体線維細胞を接着する分子として機能をしているが、レンズができあがるまでは水透過性があり、細胞接着性も弱い。C末端が分解酵素によって切断されると、N末端との相互作用がなくなり、細胞外に存在するループAが動いて細胞接着機能が強くなると共に、水チャネルが閉じて水を透過しなくなる。このゲーティング機構は理にかなっており、レンズができあがり、図2aに示すように毛様体筋によってレンズが形を変えても水が抜けて水晶体細胞がつぶれてしまわないようになっている。また、このアクアポリン-0は、水晶体線維細胞を接着する機能を担っているが、力が加わる状態でも脂質膜内に安定に存在しなければならない。膜内からはずれれば白内障のようにレンズが濁ることになってしまう。それゆえ、この分子と脂質分子の相互作

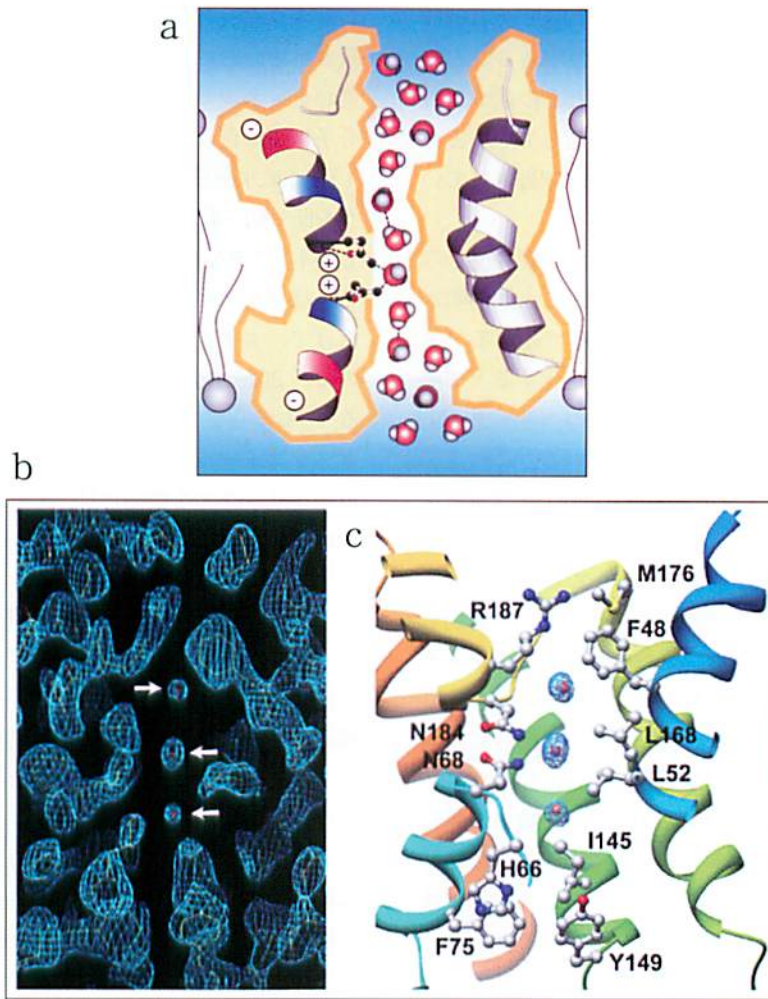


図1 水チャネルの断面の模式的構造
 アスパラジンと結合する水チャネルが他の水分子とは水素結合を形成できない様子を示す (a)。1.9Åで解析されたアクアポリン-0の密度図。矢印は水の密度を示す (b)。水分子を含むアクアポリン-0の構造図 (c)。(Thomasu Walz のグループとの共同研究)

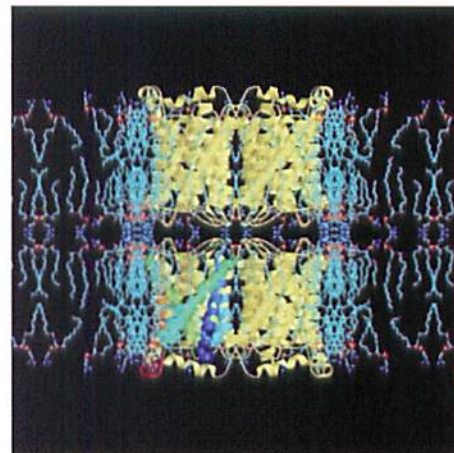
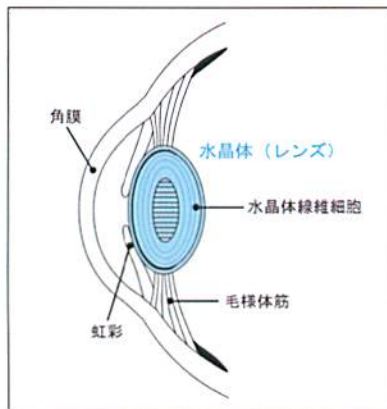


図2 (a) 目の模式図。レンズを形成する水晶体線維細胞
 (b) アクアポリン-0の4量体と規則的に結合した脂質分子。膜面に平行方向からの投影構造を示す。4量体から離れた部分にはアクアポリン-0が存在するがそれらを除いた図。(Thomasu Walz のグループとの共同研究)

- expressing red cell CHIP 28 protein. *Science* 256 : 385-387, 1992
- 5) Murata K, Mitsuoka K, Hirai T, Walz T, Agre P, Heymann JB, Engel A, Fujiyoshi Y : Structural determinants of water permeation through aquaporin-1. *Nature* 407 : 599-605, 2000
 - 6) Agre P, King LS, Yasui M, Guggino WB, Ottersen OP, Fujiyoshi Y, Engel A, Nielsen S : Aquaporin water channels-from atomic structure to clinical medicine. *J. Physiol.* 542 : 3-16, 2002
 - 7) Costello MJ, McIntosh TJ, Robertson JD : Distribution of gap junctions and square array junctions in the mammalian lens. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 30 : 975-989, 1989
 - 8) Shiels A, Bassnett S : Mutations in the founder of the MIP gene family underlie cataract development in the mouse. *Nature Genet.* 12 : 212-215, 1996
 - 9) Takata K, Matsuzaki T, Tajika Y : Aquaporins : water channel proteins of the cell membrane. *Prog. Histochem. Cytochem.* 39 : 1-83, 2004
 - 10) Fushimi K, Uchida S, Hara Y, Hirata Y, Marumo F, Sasaki S : Cloning and expression of apical membrane water channel of rat kidney collecting tubule. *Nature* 361 : 549-552, 1993
 - 11) Ishibashi K, Sasaki S, Fushimi K, Uchida S, Kuwahara M, Saito H, Furukawa T, Nakajima K, Yamaguchi Y, Gjobori T, Mruo F : Molecular cloning and expression of a member of the aquaporin family with permeability to glycerol and urea in addition to water expressed at the basolateral membrane of kidney collecting duct cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91 : 6269-6273, 1994
 - 12) Zeuthen T, Klaerke DA : Transport of water and glycerol in aquaporin 3 is gated by H⁺. *J. Biol. Chem.* 274 : 21631-21636, 1999
 - 13) Rash J E, Yasumura T, Hundson CS, Agre P, Nielsen S : Direct immunogold labeling of aquaporin-4 in square arrays of astrocyte and ependymocyte plasma membranes in rat brain and spinal cord. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95 : 11981-11986, 1998
 - 14) Neely JD, Christensen BM, Nielsen S, Agre P : Heterotetrameric composition of aquaporin-water channels. *Biochemistry* 38 : 11156-11163, 1999
 - 15) Furman CS, Gorelick-Feldman DA, Davidson KG, Yasumura T, Neely JD, Agre P, Rash JE : Aquaporin-4 square array assembly : opposing actions of M1 and M23 isoforms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100 : 13609-13614, 2003
 - 16) Nielsen S, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, Bourque C, Agre P, Ottersen OP : Specialized membrane domains for water transport in glial cells : high-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain. *J. Neurosci.* 17 : 171-180, 1997
 - 17) Zelenina M, Zelenin S, Bondar AA, Brismar H, Aperia A : Water permeability of aquaporin-4 is decreased by protein kinase C and dopamine. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 283 : F309-F318, 2002
 - 18) Nielsen S, King LS, Christensen BM, Agre P : Aquaporins in complex tissues. II. Subcellular distribution in respiratory and glandular tissues of rat. *Am. J. Physiol.* 273 : C1549-1561, 1997
 - 19) Tsubota K, Hirai S, King LS, Agre P, Ishida N : Defective cellular trafficking of lacrimal gland aquaporin-5 in Sjogren's syndrome. *Lancet* 357 : 688-689, 2001
 - 20) Yasui M, Hazama A, Kwon TH, Nielsen S, Guggino WB, Agre P : rapid gating and anion permeability of an intracellular aquaporin. *Nature* 402 : 184-187, 1999
 - 21) Kuriyama H, Kawamoto S, Ishida N, Ohno I, Mita S, Matsuzawa Y, Mtsubara K, Okubo K : Molecular cloning and expression of a novel human aquaporin from adipose tissue with glycerol permeability. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 241 : 53-58, 1997
 - 22) Tsukaguchi H, Shayakul C, Berger UV, Mackenzie B, Devidas S, Guggino WB, van Hoek AN, Hediger MA : Molecular characterization of a broad selectivity neural solute channel. *J. Biol. Chem.* 273 : 24737-24743, 1998
 - 23) Fujiyoshi Y, Mizusaki T, Morikawa K, Yamagishi H, Aoki Y, Kihara H, Harada Y : Development of a superfluid helium stage for high-resolution electron microscopy. *Ultramicroscopy* 38 : 241-251, 1991
 - 24) Fujiyoshi Y : The structural study of membrane proteins by electron crystallography. *Adv. Biophys.* 35 : 25-80, 1998
 - 25) Harries WEC, Akhavan D, Miercke LJ, Khadmi S, Stroud RM : The channel architecture of aquaporin 0 at a 2.2-Å resolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 : 14045-14050, 2004
 - 26) Gonen T, Sliz P, Kistler J, Cheng Y, Walz T : Aquaporin-0 membrane junctions reveal the structure of a closed water pore. *Nature* 429 : 193-197, 2004
 - 27) Gonen T, Cheng Y, Sliz P, Hiroaki Y, Fujiyoshi Y, Harrison SC, Walz T : Lipid-protein interactions in double-layered two-dimensional AQP0 crystals. *Nature* 438 : 633-638, 2005
 - 28) Brisson A, Unwin N : Tubular crystals of acetylcholine receptor. *J. Cell Biol.* 99 : 1202-1211, 1984
 - 29) Toyoshima C, Unwin N : Ion channel of acetylcholine receptor reconstructed from images of postsynaptic membranes. *Nature* 336 : 247-250, 1988
 - 30) Unwin N : Nicotinic acetylcholine receptor at 9 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 229 : 1101-1124, 1993
 - 31) Unwin N : *Nature* 373 : 37-43, 1995
 - 32) Miyazawa A, Fujiyoshi Y, Stowell M, Unwin N : Nicotinic acetylcholine receptor at 4.6 Å resolution : transverse tunnels in the channel wall. *J. Mol. Biol.* 288 : 765-786, 1999
 - 33) Miyazawa A, Fujiyoshi Y, Unwin N : Structure and

- gating mechanism of the acetylcholine receptor pore. *Nature* 423 : 949-955, 2003
- 34) Wick MJ, Mihic SJ, Ueno S, Mascia MP, Trudell JR, Brozowski SJ, Ye Q, Harrison NL, Harris RA : Mutations of γ -aminobutyric acid and glycine receptors change alcohol cutoff : Evidence for an alcohol receptor? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95 : 6504-6509, 1998
- 35) Mascia MP, Trudell JR, Harris RA : Specific binding sites for alcohols and anesthetics on ligand-gated ion channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97 : 9305-9310, 1998
- 36) Croxen R, Newland C, Beeson D, Oosterhuis H, Chauplannaz G, Vincent A, Newsom-Davis J : Mutations in different functional domains of the human muscle acetylcholine receptor α subunit in patient with the slow-channel congenital myasthenic syndrome. *Hum. Mol. Genet.* 6 : 767-774, 1997
- 37) Grosman C, Salamone FN, Sine SM, Auerbach A : The extracellular linker of muscle acetylcholine receptor channels is a gating control element. *J. Gen. Physiol.* 116 : 327-339, 2000
- 38) Ohno K, Hutchinson DO, Milone M, Brengman JM, Bouzat C, Sine SM, Engel AG : Congenital myasthenic syndrome caused by prolonged acetylcholine receptor channel openings due to a mutation in the M2 domain of the ϵ subunit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92 : 758-762, 1995
- 39) Wang HL, Milone M, Ohno K, Shen XM, Tsujino A, Batocchi AP, Tonali P, Brengman J, Engel AG, Sine SM : Acetylcholine receptor M3 domain : Stereochemical and volume contributions to channel gating. *Nature Neurosci.* 2 : 226-233, 1999
- 40) Labarca C, Nowak M, Zhang H, Tang L, Deshpande P, Lester HA : Channel gating governed symmetrically by conserved leucine residues in the M2 domain of nicotinic receptors. *Nature* 376 : 514-516, 1995
- 41) Sato C, Ueno Y, Asai K, Takahashi K, Sato M, Engel A, Fujiyoshi Y : The voltage-sensitive sodium channel is a bell-shaped molecule with several cavities. *Nature* 409 : 1047-1051, 2001
- 42) Sato C, Hamada K, Ogura T, Miyazawa A, Iwasaki K, Hiroaki Y, Tani K, Terauchi A, Fujiyoshi Y, Mikoshiba K : Inositol 1,4,5-triphosphate receptor contains multiple cavities and L-shaped ligand-binding domains. *J. Mol. Biol.* 336 : 155-164, 2004
- 43) Kelley SP, Dunlop JJ, Kirkness EF, Lambert JJ, Peters JA : A cytoplasmic region determines single channel conductance in 5-HT₃ receptors. *Nature*, 424 : 321-324, 2003
- 44) Finer-Moore J, Stroud RM : Amphipathic analysis and possible formation of the ion channel in an acetylcholine receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81 : 155-159, 1984
- 45) Imoto K, Busch C, Sakmann B, Mishina M, Konno T, Nakai J, Bujo H, Mori Y, Fukuda K, Numa S : Rings of negatively charged amino acids determine the acetylcholine receptor channel conductance. *Nature* 335 : 645-648, 1988
- 46) Galzi JL, Devillers-Thierry A, Hussy N, Bertrand S, Changeux JP : Mutations in the channel domain of a neuronal nicotinic receptor convert ion selectivity from cationic to anionic. *Nature* 359 : 500-505, 1992
- 47) Gunthorpe MJ, Lummis SCR : Conversion of the ion selectivity of the 5-HT (3a) receptor from cationic to anionic reveals a conserved feature of the ligand-gated ion channels superfamily. *J. Biol. Chem.* 276 : 10977-10983, 2001
- 48) Keramidas A, Moorhouse AJ, French CR, Schofield PR, Barry PH : M2 pore mutations convert the glycine receptor channel from being anion- to cation-selective. *Biophys. J.* 78 : 247-259, 2000
- 49) Corringer JP, Bertrand S, Galzi JL, Devillers-Thierry A, Changeux JP, Bertrand D : Mutational analysis of the charge selectivity filter of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *Neuron* 22 : 831-843, 1999

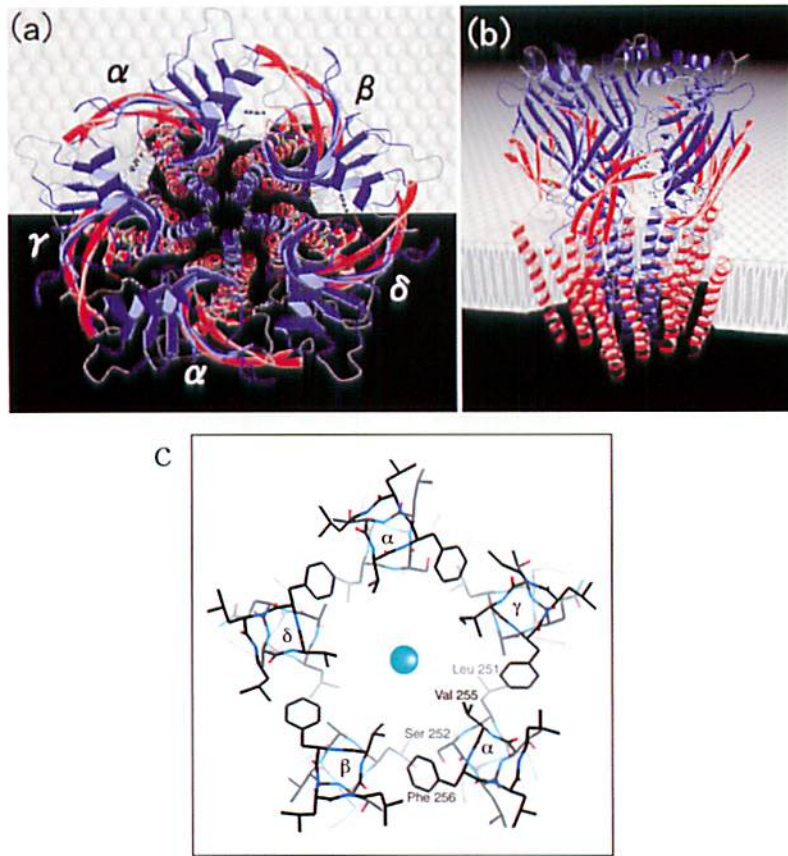


図3 nAChRの全体像

nAChRの三次元リボン構造モデルを、(a) 上から見た場合と、(b) 横から見た構造で、分子の半分から脂質膜を表示した図。5量体からなるnAChRの各サブユニットはそれぞれ4本の α ヘリックス(M1~M4)で膜を貫通しており、受容体全体では、膜を貫通している α ヘリックスは合計20本になる。膜貫通領域は内側リング(5本のM2ヘリックス)と外側リング(合わせて15本となるM1, M3, M4ヘリックス)から形成されており、内側リングはチャンネル内孔であると共に、イオンチャンネルのゲートとなる。受容体の活性化に伴い α サブユニットで構造変化の起こる細胞外領域の内側 β シートおよび内側リングは青色、受容体の外壁となる不動の細胞外領域の外側 β シート、および、膜貫通領域の外側リングは赤色で表示している。(c) チャンネルゲート部位のガードル構造。このファミリーの受容体で保存されているロイシン(Leu251)が隣のM2ヘリックスのアラニンやセリンといわゆるガードル構造を形成する。それゆえ、各サブユニットのM2ヘリックスにある疎水性アミノ酸残基が5回対称的に配置し、均等に相互作用している。閉じた状態で直径6Åだったチャンネルポアが、開いた状態では9Åに広がる。チャンネルの中心のイオンを青緑で示す。(Nigel Unwin, Atsuo Miyazawa との共同研究)

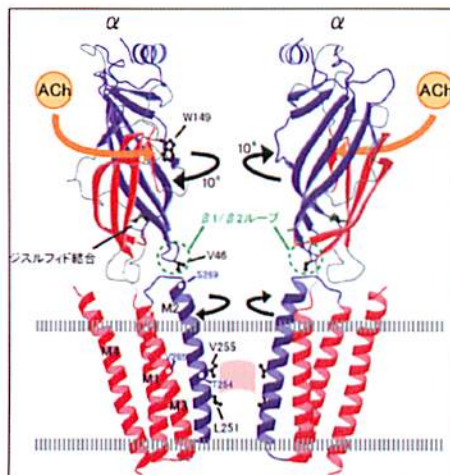


図4 ゲート開閉メカニズムのモデル図

nAChRの2つの α サブユニットだけを抜き出して描いてある。細胞外領域の内側 β シートおよび膜貫通領域の内側リングは青色、細胞外領域の外側 β シートおよび膜貫通領域の外側リングは赤色で表示している。細胞外領域の内側 β シート構造中にある短いループ部分($\beta 1/\beta 2$ ループ: 緑色で囲われた領域)の先端(バリン46)が、M2ヘリックスの末端にドッキングして回転運動を伝える。2本の平行破線は脂質二重膜を示す。(Nigel Unwin, Atsuo Miyazawa との共同研究)

用は安定でなければならない。図2bに示すように、アクアポリン-0が脂質分子としっかりと相互作用をしている構造が解析された。

アセチルコリン受容体

筋肉の動きを制御する運動神経の情報は、神経筋接合部において、神経終末から放出された神経伝達物質 (acetylcholine; ACh) が、筋肉の細胞膜 (ポストシナプス膜) に存在する受容体に結合することによって素早く伝達される。この情報伝達を担うのが、ニコチン性アセチルコリン受容体 (nicotinic acetylcholine receptor; nAChR) で、AChが結合することにより分子内で一過性の構造変化を起こしてイオンチャンネルを開口させる。その結果、細胞内外の電気化学的勾配に従って正イオンが通り抜けることにより筋細胞膜を脱分極させて、最終的には筋肉を素早く収縮させる。

1つの分子内に受容体とイオンチャンネルの2つの機能を合わせ持つ1群のタンパク質スーパーファミリー、リガンド開閉型イオンチャンネルには、nAChRの他にセロトニン (5-HT₃)、 γ -アミノ酪酸 (GABA_A, GABA_C)、およびグリシンの各受容体が知られている。特にnAChRは、シビレエイの筋肉由来の電気器官から大量精製でき、チューブ状結晶が成長する²⁹⁾。この結晶作製法では、界面活性剤による処理がないので、受容体や脂質分子が生体内に近い状態で保たれている。それゆえ、これまでもnAChRの静止状態および活性化状態の構造研究が行われてきた^{29,32)}。

アセチルコリン受容体の構造

我々が開発した極低温電子顕微鏡を用いて、2003年にnAChRの立体構造モデルを4Å分解能で解析することができた (図3)。この構造はnAChRの静止状態 (イオンチャンネルが閉じた状態) にある立体構造である³⁴⁾。nAChR分子は、5つのサブユニット (α , α , β , γ または ϵ , そして δ) からなる5量体で、それらが環状に配置して正イオン選択性のイオンチャンネルを形成している。nAChRは分子量約290 kDaの糖タンパク質で、外径は約80Å、膜に垂直方向の長さは約130Åで、そのうち細胞膜の外側に約70Åほど突出している。1サブユニットあたりM1からM4と呼ばれている4本の α ヘリックスが細胞膜を貫通している。5サブユニットから成る受容体1分子では、膜貫通領域は5本のM2ヘリックスからなる“内側リング”と、15本の α ヘリックス (M1, M3, M4) からなる“外側リング”の2つに分

割された形状をしている (図3a,b)。内側リングはチャンネルポアを形成しており、外側リングは細胞膜の脂質から内側リングを隔離する外壁となり、内側リングがチャンネルのゲートの開閉を引き起こすための構造変化ができるように、分子内に空間を確保する構造と考えられる。

またnAChRの構造から、同じスーパーファミリーに属しているグリシンおよびGABA_A受容体のアルコールや麻酔薬の結合部位が、膜を貫通している内側リングにあることが推測された³⁴⁾。これに関与するアミノ酸は、グリシン受容体の第267番目のセリンとGABA_A受容体の第270番目のセリンで、どちらも α サブユニットのM2ヘリックス上にある³⁵⁾。nAChRにおいて、これらのアミノ酸残基に相当するのは α サブユニットの第257番目のロイシンで、ここは細胞膜の脂質二重層内ではあるが、受容体の内側リングと外側リングの間にできた空間に面した位置にある。したがってnAChRの構造解析結果から、グリシンやGABA_A受容体に作用するアルコールや麻酔薬は、これら受容体の分子内にできた空間を通過して細胞膜内にある結合部位に到達していると説明できる。内側リングの作るチャンネルポアは、M2ヘリックス自身の屈曲と大きな疎水性アミノ酸残基の側鎖により膜の中央部で最も狭くなっており、そこでは隣り合う疎水性アミノ酸残基同士の均等な相互作用によって、5回対称的なガードル状構造が形成されている (図3c)。チャンネル内孔の直径は、最も狭くなっている第251番目のロイシンおよび第255番目のバリンの位置で約6Åほどである。

上記のように水チャンネルアクアポリン-1は、速い水透過を行うにもかかわらず狭い部分は直径3Åである。一方、nAChRの静止状態のチャンネル径は最も狭いところで6Åと水チャンネルの倍の内径であるが、イオンや水を透過しない。これは非常に不思議なことのように思われる。しかし、Na⁺やK⁺などの正イオンが水和していると、その第1水和殻の外径は最低でも8Å程度になる。アクアポリン-1の場合には2つのアスパラギン残基が水分子の酸素と水素結合して、直径2.8Åの水が3Åのチャンネルを透過する時のエネルギー障壁を低くしているが、nAChRのチャンネルにはそのような残基がなく、完全に疎水的な穴となっている。また、K⁺チャンネルでは、このチャンネル分子内に巧妙に配置された主鎖のカルボニル基が、水和したK⁺の水分子の代わりとなって水分子を自然にイオンから剥がす事ができて、K⁺を裸にできる構造が存在する³⁾。一方nAChRは、その機能上速い応答が重要と考えられるチャンネルで、正イオン選択性ではあるが、K⁺チャンネル、Na⁺チャンネル、またはCa²⁺チャンネルなどに見られる特定のイオンに対する選択性は無い。

実際、ガードル状構造周辺には、 K^+ チャンネルのように水に代わる極性残基がないために、水和したイオンから水分子を剥離することができない。しかも、チャンネルはガードル部分から緩やかにラップ状に緩やかに広がっており、水和状態のイオンはチャンネル内の適当な位置に詰まってしまうので、イオンも水もこのチャンネルを透過できないのであろう（図3a）。

アセチルコリン受容体のゲーティング機構

nAChR のリガンド結合部位に ACh が結合すると、 α サブユニットの細胞外領域にある内側 β シートが 10° 右回転する。この内側 β シートの最初の 2 つの β ストランドの間 ($\beta 1/\beta 2$) には短いループ領域があり、このループ先端の第 46 番目のバリリンが、M2 ヘリックスの先端に接触する構造になっている（図4）。このバリリンと M2 ヘリックスとの間にできた「ピンとソケット」状の相互作用は、 α サブユニットの内側 β シートの回転運動をチャンネル内孔に面した M2 ヘリックスに伝えて、膜貫通領域の中央部にあるガードル構造を壊す。すなわち、nAChR の構造変化は、（1）ACh の結合により 2 つの α サブユニットにある内側 β シートが 10° 右回転する。（2）この回転がバリリンで接触する M2 ヘリックスを右回転する。（3）M2 ヘリックスに伝えられた回転の動きが、ガードル状構造を保っていた疎水性アミノ酸残基間の相互作用を弱める。（4）M2 ヘリックスは外側リングに向かって右回転し、水和したイオンが透過できる大きさ（直径約 9 \AA ）までゲート領域が広がると同時に、膜貫通ポアに面していた疎水性側鎖がずれて疎水性が弱められる。こうして水和したイオンが通過できるようになり、すなわちイオンチャンネルが開くと考えられる。

5 量体構造をした nAChR において、リガンドの結合により回転する領域を持つ 2 つの α サブユニットが、このゲートを開口させるのに必要な最低限の数であると思われる。nAChR のイオンチャンネル内孔の立体構造と、M2 ヘリックスの協調的な回転運動によるチャンネルゲートの開閉機構モデルは、いくつかの突然変異実験から得られた解析結果と非常に良く一致する。ゲートの開閉に影響を及ぼすチャンネル内孔における突然変異は、その変異導入場所により、（1）M2 ヘリックスと細胞外領域との間の連結に影響する突然変異、（2）M2 ヘリックス間の隣り合うアミノ酸残基同士の相互作用に影響する突然変異、（3）M2 ヘリックス以外の部分にあって、その動きを妨げる突然変異、の 3 つに分類できる。

まず分類（1）の例の 1 つに、細胞外領域と直接連結している M2 ヘリックスの先端にある α サブユニット

の第 269 番目のセリン（図4）がイソロイシンに変化した自然突然変異がある。この突然変異は、遺伝性の筋無力症の原因であり、電気生理的な測定の結果から、イオンチャンネルの開口時間が長くなっていることが分かった^{36, 37)}。しかし、このチャンネルの開口時間の延長は、 α サブユニットではない他の 3 つのサブユニット (β , δ , ϵ) において、 α サブユニットに相当する場所での同じ突然変異では全く変化しない³⁷⁾。このことは、他のサブユニットの細胞外領域からの影響を受けないで、ACh 結合による細胞外領域の回転運動を膜貫通領域に伝達すると考えられる α サブユニットの持つ特別な役割と良く一致する。しかも、イソロイシンへの変異は、細胞外領域の回転運動を伝えるバリリンと M2 との接触を強くしすぎて、 10° の回転が生じてもその接触が離れないのでゲートが開いたままになる。これにより細胞毒性の強いイオンの流入が続き、細胞死、すなわち重篤な筋無力症が引き起こされるのであろう（図4）。

次に、 ϵ サブユニットの第 264 番目のスレオニンがプロリンに変異したものは、別の遺伝性筋無力症を引き起こす突然変異で、自発的で長く続くイオンチャンネルの開口を生じさせる³⁸⁾。この突然変異は、分類（2）の 1 つの例で、変異したアミノ酸残基が疎水性のガードル状構造またはチャンネルゲートを形成するための要素の 1 つであることによるものである。ゲートとなる M2 ヘリックスの一部を本来とは異なる方向に曲げてしまうプロリン残基の挿入は、静止状態におけるゲートの疎水的な相互作用を弱めて、チャンネルの閉口状態が不安定になってしまうようだと推測される。

さらに、遺伝性筋無力症の突然変異である α サブユニットの第 285 番目のバリリン（図4）のイソロイシンへの変異は、チャンネルの開口時間を異常に短くする方向に導くもので³⁹⁾、これは分類（3）の 1 つの例となる。 α サブユニットにおいて、この第 285 番目のバリリンは M3 ヘリックス上にあり、M2 ヘリックス上の第 261 番目のバリリンに立体配置的に非常に近い位置にある。もし、この位置にバリリンよりも大きいイソロイシンの側鎖がくると、“動かない M3 ヘリックス”と“動く M2 ヘリックス”の間の相互作用を強め、結果としてゲートの開閉の動きを立体化学的に抑制することになり³⁹⁾、ゲートの状態を閉口に有利な平衡状態に移すと考えられる。

最後に、ゲートの開閉メカニズムに関して多くの突然変異実験がなされているが、特にチャンネルのゲートとなっているガードル状構造を安定化している特徴的なロイシン残基 (α サブユニットでは第 251 番目) に最も注目が集まっている。その 1 つの例として、どのサブユニット

においてもこの位置にあるロイシンをセリンに置き換えると、イオンチャネルの開口感受性を上昇させるという結果が報告されている⁴⁰⁾。これは、このスーパーファミリー間で保存されるロイシンが、隣のM2ヘリックスのアラニンまたはセリンと相互作用して、すべてのサブユニットにおいて均等に形成されるガードルが重要であるという構造解析の結果と合致する。

チャネルのイオン選択性

受容体の細胞内領域には、5つのサブユニットの間隙それぞれに、表面が負に帯電していると考えられるスリット状の開口部がある。このような開口構造は、単粒子解析によって解明された電圧感受性Na⁺チャネルや、IP₃受容体にも見いだされている^{11,42)}。このスリットの大きさは、最大で幅10Å、長さが15Å前後であると思われる。このスリット状構造は、チャネル開口時にゲートを通じた正イオンがチャネル内孔より細胞質内へ出ていくための通路であり、細胞内の膜表面を正イオンが拡散して効率よく脱分極を誘起できると考えられる。開口部の表面は負に帯電しており、正イオンのみを選択的に通し、細胞質内の陰イオンの通過を妨げるイオンフィルターの役割を、同時に果たしていると考えられる。興味深いことに、5-HT_{3A}受容体の細胞内領域にも、同様なスリット状の開口部の存在が示唆されている⁴³⁾。一次構造上、M4領域の直前にある“HA-stretch”と呼ばれるアミノ酸配列⁴⁴⁾に点突然変異を起こすと、イオンチャネルのコンダクタンスに大きく影響することから、HA-stretchがスリット状構造を縁取るように配置しており、そこを通過するイオンのコントロールを行っているとの考えを支持する。

これまで、突然変異体を用いた電気生理学的測定により、nAChRのイオン選択性に関わるアミノ酸残基についての検討が行われてきた。例えば、筋肉型のnAChRでは、M2ヘリックスの細胞内末端付近に形成されている“負に帯電したアミノ酸残基のリング”の負電荷を減少させると、受容体の正イオンコンダクタンスが大きく減少することが示された⁴⁵⁾。また、α7型nAChRのイオン選択性は、3つの点突然変異（バリオンとスレオニン、グルタミン酸とアラニンの置換、そしてプロリンの挿入）により、正イオン選択性から陰イオン選択性に変化する⁴⁶⁾。また、同様なイオン選択性の変化が、同じファミリーに属する5-HT_{3A}受容体とグリシン受容体でも報告された。これら2つの受容体で、α7型nAChRの突然変異アミノ酸残基に相当する3つの残基をそれぞれ置

換すると、5-HT_{3A}受容体では正イオン選択性から陰イオン選択性に変化し⁴⁷⁾、逆にグリシン受容体では陰イオン選択性から正イオン選択性に変化した⁴⁸⁾。これらのことから、それぞれの受容体におけるイオン選択性の機構は、このスーパーファミリーにおいて共通の特徴であると考えられる。そのため、このイオン選択性に関わる一部の領域は、チャネルのイオン電荷選択性フィルターと呼ばれている⁴⁹⁾。しかしながら、nAChRの静電ポテンシャルモデルでは、チャネル内孔において非常に広範囲にわたり負電荷が分布している。したがって、突然変異実験により同定されたアミノ酸残基ばかりではなく、他の多くのアミノ酸残基も協調的に関与して、効率的な正イオン選択性と、その透過に必要なとされる静電的な環境を、チャネル内孔に造っていると思われる。

おわりに

多様な機能を有する水チャネルやイオンチャネルの構造と機能の解析が進むことによって、これらのチャネルがヒトの生理機能に重要であることがますます明らかになってきている。アクアポリン-0やアクアポリン-4が水チャネルでありながら細胞の接着の機能を有していることがそれらの機能上重要である事が判って来つつある。このようなアドヘネルと名付けた細胞接着とチャネルなどの複数の機能を併せ持つマルチファンクショナルチャネルの重要性もますます明らかになるであろう。チャネルや受容体の構造生理学研究の発展は医学分野へ詳細な情報を提供するので、これまで興味を持たれなかった構造研究が医学分野の先生方に興味を持って見ていただけるような構造生理学分野として発展することを願っている。

文 献

- 1) Doyle DA, Cabral JM, Pfuetzner RA, Kuo A, Gulbis JM, Cohen SL, Chait BT, MacKinnon R: The structure of the potassium channel: Molecular basis of K⁺ conduction and selectivity. *Science* 280: 69-77, 1998
- 2) Zhou Y, Morais-Cabral JH, Kaufman A, MacKinnon R: Chemistry of ion coordination and hydration revealed by a K⁺ channel-Fab complex at 2.0Å resolution. *Nature* 414: 43-48, 2001
- 3) Miyazawa A, Fujiyoshi Y, Unwin N: Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore. *Nature* 423: 949-955 2003
- 4) Preston G M, Carroll TP, Guggino WB, Agre P: Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes

講 座

音楽療法の神経疾患への応用

アルツハイマー型認知症およびパーキンソン病における治療成績

静岡赤十字病院神経内科

岡 部 多 加 志

Key Words : 音楽療法, music therapy ; アルツハイマー型認知症, dementia of Alzheimer type ; パーキンソン病, Parkinson disease ; デジタル脳波, digital electroencephalography ; リズム障害, rhythmic disorder

はじめに

21世紀の医療界における進歩発展はめざましく、次々と新しい治療法が開発され日常臨床に応用されている。しかしこの最先端の医療技術を駆使しても、満足のいく治療効果が得られない疾患がまだ多く認められる。特に神経難病といわれる神経変性疾患などに対しては、なかなか十分な効果が認められる治療法が確立されていない。そのため補助療法として、リハビリテーションや東洋医学など様々な治療法が臨床の場で試みられている。音楽療法もこの一つで、最近日常臨床の場で新しい治療手段の一つとして活用し始めた医療施設が増えてきた。一方全国各地の自治体も高齢化社会へ向けた対策として、音楽療法の効果に期待して行政支援を行うようになった。静岡県では、奈良県・岐阜県に次いで全国で3番目に行政支援を開始した。これを受けて当院でも2000年4月より各種神経疾患患者の高次大脳機能の活性化および日常生活動作の改善などを目的に、グループ・セッションによる音楽療法をスタートさせ少しずつその経験を積み重ねてきた。今回はまず音楽療法全体の流れについて解説し、次に当院におけるアルツハイマー型認知症およびパーキンソン病に対する音楽療法の治療成績を紹介する。

音楽療法について

1. 音楽療法の歴史

世界中には非常に多くの言語が存在し、異なった民族間でのコミュニケーションの障害になっていることは周

知の事実である。これに対して「音楽」は世界の共通言語といわれており、お互い言葉が通じ合わない民族間でも共通の理解や感動が得られる。原始社会においては、音楽は心身の病気を癒すためにシャーマンによる「悪霊払い」の道具として使用されていた。また旧約聖書にはハープの音がうつ病に効果があったとの記録が残されている。古代エジプトでは魔術、宗教、医療の3領域が分化していたが、僧侶や医師たちは音楽を魂の治療薬として医療の中に取り入れていた。ギリシャ時代の哲学者ピタゴラスやアリストテレスは、音楽を「聴く人の魂を動かす運動現象」として捉え、芸術による身体の浄化と共に音楽による魂の浄化(カタルシス)の重要性を説いた。現代社会においては、20世紀初頭にアメリカで統合失調症の治療に音楽療法を試みたのが始まりで、1950年頃には欧米で音楽療法に関する組織作りや音楽療法士の認定制度が確立されている(表1)。一方、我が国においては1902年の精神病院への慰問演奏の記録などを別にする、1955年以降から欧米の動向に啓発され積極的な活動が開始された(表2)。1971年臨床音楽療法協会が設立され、1986年には日本バイオミュージック学会が設立された。1995年4月にこの両者が統合され、全日本音楽療法連盟が発足した。

1997年4月には、我が国で初めての全日本音楽療法連盟による認定音楽療法士100名が誕生した。さらに2001年4月「日本音楽療法学会」と名称が変更され、その後毎年音楽療法士の資格認定試験が施行されている¹⁻³⁾。

表1 音楽療法のおゆみ(欧米)

1903年	米国聖トーマス・ギルドの「治療音楽会」による精神病院への慰問演奏を基盤として「ニューヨーク市治療協会」創立
1914年	第一次世界大戦中に兵士の戦場におけるストレス解消に米国海軍音楽バンドが活躍
1950年	全米音楽療法協会設立
1956年	米国公認音楽療法士制度の確立
1959年	オーストリア音楽療法振興協会創立
1969年	音楽療法協会設立(東独)
1972年	ドイツ音楽療法協会設立(西独)

表2 音楽療法のおゆみ(日本)

1902年	果鴨病院(現都立松沢病院)における慰問演奏 東京音楽学校の教師・学生が参加した
1955年	東京武蔵野病院で音楽療法を開始 松井紀和らが Podolsky 著 “Music Therapy” に啓発され始めた
1967年	日本音楽療法協会設立 加賀屋哲郎が恵まれない子供達を対象にリズム遊びなどを始めた また桜林仁がアルヴァン女史を英国より招聘した
1971年	臨床音楽療法協会設立 村井靖児ら精神科医が中心になって設立(集団精神療法)
1972年	東京ミュージック・ボランティア協会発足 赤星達彦が設立し活動を開始した
1986年	日本バイオミュージック学会設立 日野原重明ら心療内科系の医師が中心となって設立した
1995年	全日本音楽療法連盟の発足 臨床音楽療法協会と日本バイオミュージック学会が合併した
2001年	日本音楽療法学会と名称変更(4月1日)

2. 音楽療法の適応と分類

音楽療法の適応は表3に示すように、かなり広範囲な分野での効果が知られている。我々の病院においても、アルツハイマー型認知症をはじめパーキンソン病や脳血管障害後遺症の患者を対象に、疾患別のプロジェクト・チームを組んでグループ・セッションを行っている。各プロジェクト・チームを組むにあたり「音楽療法は応用科学である」という立場より、客観的な効果判定を得るために互いに独立した複数の効果判定方法を採用している。

また音楽療法には大きく分けて「活動的音楽療法(演奏療法)」と「受容的音楽療法(鑑賞療法)」があり、それぞれの目的に応じて使い分けられている。

前者の療法は、主に精神病院などで患者の集団療法として用いられる事が多かった。最近では病院以外にも老人施設などで、この方式で音楽療法が行われている。この療法の問題点としては、対象者の自発的な参加意志が

ないと効果が得られない。一方後者は、心療内科、ホスピス、緩和ケア、無痛分娩、手術室、歯科治療などにおいて、心の安らぎを提供するために行われている。我々のプロジェクト・チームでは、クライアントが自らの自由意志により積極的に参加する形式の「活動的音楽療法」によりグループ・セッションを施行している。

3. 音楽療法の今後の課題

今後高齢化社会が次第に進むのと共に、複雑な社会生活でのストレスの蓄積が加速すると予想される中、音楽療法の適応はますます拡大され需要も増大すると考えられる。一方毎年行われる音楽療法士の認定試験は、広範囲の分野にわたる知識と実技経験がないと合格しない厳しいものである。そのため我が国における音楽療法士の数はまだ限られており、また合格してもこの認定資格は日本音楽療法学会の認定のみで、資格に対する身分保証が何もないのが実情である。そこで数年前から国に働き

表3 音楽療法の適応

<p>1. 疾病の補助療法</p> <p>1) 心身症： 本態性高血圧、気管支喘息、 消化性潰瘍、過敏性腸症候群、 緊張型頭痛、片頭痛、状心症、 神経性食欲不振症など</p> <p>2) 神経症：</p> <p>3) うつ状態：</p> <p>4) 統合失調症：</p> <p>5) 更年期障害：</p> <p>6) 不眠症：</p> <p>7) 各種疼痛：</p> <p>8) その他： ストレス関連性障害 いわゆる不定愁訴</p>	<p>2. 疾病のケア・リハビリテーション</p> <p>1) 児童領域： 不登校、自閉症、精神遅滞、チック、 視覚・聴覚障害、肢体不自由児、 注意欠陥・多動性障害など</p> <p>2) 老年期： アルツハイマー型認知症など</p> <p>3) 術後・外傷後の不定愁訴：</p> <p>4) リハビリテーション： 片麻痺の改善、肺手術後の呼吸訓練、</p> <p>5) ターミナル・ケア：</p> <p>3. 予防医学</p> <p>1) 心身のリラクゼーション： 2) 感情のコントロール： 緊張・抑鬱・怒りなど</p> <p>3) 特殊環境における不安の軽減： 手術室、歯科治療、透析など</p>
--	---

かけ、音楽療法士の国家資格化および医療機関での音楽療法の保険点数化を要望してきたが未だに実現されていないのが現状である。よって今後の課題としては、将来の医療体制整備の観点からも国の迅速な法的整備が望まれる。

一方音楽療法の臨床効果については、担当の音楽療法士や現場に居合わせた者のみが実感するにとどまり、客観的事実に裏付けされた効果判定はまだ少ない。この点については、音楽療法の効果が広く客観的に認識されるように他職種の協力を仰ぎながら、科学的なエビデンスを得て行く事が必要であると思われる。

アルツハイマー型認知症における音楽療法

1. プロジェクト・チームの編成

前項でも述べたように「音楽療法は応用科学である」という立場から、得られた成績に対して客観的評価をするために、次のような多職種のスタッフからなるプロジェクト・チームを結成した。各評価項目についてもお互いに独立した複数の判定方法を採用して、音楽療法の期間終了後各判定結果について相互の信頼性について検討を加えた。

- 1) 臨床症候・画像診断 (MRI・MRA)：医師、放射線技師
- 2) 高次大脳機能検査：言語聴覚士
- 3) デジタル脳波検査：医師、生理機能検査技師
- 4) 音楽療法後の個人評価 (認知・意欲・表現)：音

楽療法士

- 5) 患者の日常生活の観察・介護・指導：家族、看護師、ヘルパー

2. 対象

アメリカ精神医学会で提唱されている DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 1994年版) に基づき、MRI 所見などを参考に診断された軽度の認知症を認めるアルツハイマー型認知症患者10名を対象とした。内訳は男性4名、女性6名で、年齢は66-84歳 (平均73.1±5.3歳)、罹病期間は4ヶ月～9年 (平均48.1±31.4ヶ月) であった。

3. 実施方法

5名～10名の小グループ制による能動的 (活動的) 音楽療法を、個人の意志による自由参加形式で施行した。頻度は週2回で1回60分とし、6ヶ月間 (25.2±4.2週間) 継続した。セッションはクライアントのプライバシー保護と集中度を高める為、クローズドの形態をとった。スタッフはセラピスト1名、アシスタントはクライアントの人数・状態に応じて1～3名程度で援助した。また家族や付き添いなど介護者は、クライアントの視界に入らぬ後方席にて任意に見学出来る形をとった。

評価は専任の記録者のメモと、入室から退室までを前方よりVTR撮影した記録を併用し、セッション終了後速やかにスタッフ全員で症例別に行なった。

アルツハイマー型認知症の音楽療法では①コミュニケー

ション能力の低下を改善する②社会性を取り戻し意欲的な社会生活への参加がスムーズになること、を目的にクライアントのQOLの向上を図った。内容としては療育音楽認知症高齢者対応プログラム⁹⁾をベースに『手の使用により脳を活性化する』『呼吸器の強化』『リズム感の養成と回復』といった基本理念(医学的バックボーン)⁹⁾に沿ってセッションをプログラミングし提供した。同時に認知症患者の脳の記憶の部位を活性化するための試みとして、歌唱曲にまつわる回想を随所に取り入れた。歌唱曲については過去の回想のみならず、クライアントの「今の気持ち」を表現するきっかけとしても活用し、他のクライアントとのコミュニケーションのツールとなるようアプローチした。プログラムの具体的な進行は、次のとおりである(各プロセスの詳細はパーキンソン病の項に記載した)。

- 1) 導入
- 2) 始まりの挨拶
- 3) 合奏
- 4) リズム・トレーニング
- 5) 終わりの挨拶

4. 効果判定法

1) 音楽療法士による判定

毎回セッション終了後に音楽療法士により、認知面(アイコンタクト、指示)、意欲面(自発性、集中力、持続性)、表現面(表現力、会話、歌唱)の各項目について点数評価して、その経時的変化を観察した。

2) 言語聴覚士による高次大脳機能検査

言語聴覚士により、音楽療法前と期間終了後に Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised (WAIS-R)、Mini-Mental Scale Test (MMST) を用いてクライアントの高次大脳機能の変化を点数評価した。

3) デジタル脳波計による観察

音楽刺激がクライアントの高次大脳機能にどのような影響を与えるかを検討する目的で、4種類のジャンルの異なった音楽を両耳にあてたヘッドホンから各々4分間聴くようにした。そして後半の2分間について頭皮上の14電極から導出された α 波パターンをデジタル脳波計で記録してパワースペクトルの形でマッピング表示した。各4分間の音楽刺激の間には1分間の休憩を入れた。さらに α 波は α_1 (8-10Hz 徐波成分)と α_2 (11-13Hz 速波成分)の2成分に分けて解析し、音楽療法前後での α 波反応性の変化について比較検討した。

5. 音楽療法施行後の成績評価

1) 音楽療法士による評価

音楽療法の期間終了後、音楽療法士(セラピスト・記録者・アシスタント)が各観察項目について評価した。音楽療法により10人中5人以上のクライアントに改善を認めた項目は集中力、歌唱、アイコンタクトであった。指示に関しては悪化が70%という結果が出たが、これは自発性の向上と反比例する形で自ら考え行動する傾向が高まったためであると思われる。また記録の記述評価上、回数を重ねるごとに各自がプログラムの進行を予測し、各々のペースでエネルギーの配分を調整するようになったことも記載されている。

量的評価に表れない部分では、質的評価として会話の内容に大きな変化が認められた。開始時は、セラピストの問いかけに対しYES・NOあるいは、二者選択のような形での応答であったが、3ヶ月を経過した頃より単語から文章へ、あるいはクライアントからセラピストや他のクライアントに対し問いかける場面もみられるようになった。

2) 言語聴覚士による高次大脳機能検査成績

音楽療法前後でのWAIS-Rにおける言語性IQ(VIQ)スコアの平均値はそれぞれ 87.0 ± 9.4 および 87.4 ± 11.5 であった。動作性IQ(PIQ)では 79.1 ± 14.1 および 80.3 ± 16.6 、全IQ(IQ)では 82.3 ± 9.8 および 82.8 ± 12.0 であった。MMSTにおける音楽療法前後のスコア平均値は 19.7 ± 4.2 および 19.0 ± 4.7 であった。これらいずれの平均値も音楽療法前後で推計学的に有意差を認めなかった。次にクライアント10人の個々の検査成績を音楽療法前後で比較した。音楽療法終了後WAIS-Rでは、VIQおよびIQで6人、PIQで5人にスコアの改善が認められた。MMSTでは4名にスコアの改善が認められた。

3) 音楽療法士の評価と高次大脳機能検査成績との相関

音楽療法士の評価および高次大脳機能検査成績の妥当性を検討する目的で、両者の相関性を検討した。音楽療法前後での音楽療法士による評価スコアの変化量と、WAIS-RのIQ・VIQのスコア変化量における相関係数および危険率は、それぞれ $r=0.63$ 、 $P=0.05$ および $r=0.66$ 、 $P=0.04$ であった。いずれも両者は危険率5%以下で有意に相関しており、推計学的にお互いの評価の妥当性が認められた。

4) デジタル脳波計による解析結果の評価

音楽療法を施行する上で、予め個人の好きな音楽を問診により聞き出しておくことは大切である。今回のプロジェクトでも、個々の好みの音楽を取り入れながら4種類のジャンルの異なった曲を組み合わせていくつかのセッ

トを作成した。図1は60歳の男性例におけるヘッドホンから音楽刺激がない状態（安静時）のデジタル脳波記録である。図の右側には実際の脳波の記録波形が示してある。左側には実波形をフーリエ解析して得られたパワースペクトルを示し、中央にはこれを α 帯域のデータとして頭部のシェーマ上にマッピング表示してある。マッピング上色が濃い部分ほど α 反応性が強いことを示している。図2はクライアントが「赤とんぼ」を聴いたときの記録であり、図3は「ラ・クンバルシート」を聴いたときの記録である。この男性は童謡が好きであり、脳波上においても「ラ・クンバルシート」に比べ「赤とんぼ」で強い α 波反応性を示した。

次に α 波を α_1 (8-10 Hz 徐波成分) と α_2 (11-13 Hz 速波成分) に分け、 α_2 成分の α_1 成分に対する比 α_2/α_1 の変化を音楽療法前後で検討した。図4は音楽療法前後の安静時および曲1、2、3、4を聴いた時の α_2/α_1 比の増減を示す。曲1は「赤とんぼ」、曲2はバッハの「トッカータとフーガ二短調」、曲3は「ソーラン節」、曲4はモーツァルトの「アイネ・クライネ・ナハトムジーク」である。音楽刺激時にはいずれの曲においても速波成分である α_2 が増加した症例数が不変または減少した症例数より多くみられる。特に「赤とんぼ」、「アイネ・クライネ・ナハトムジーク」では6例以上に α_2 成分の増加を認めた。

パーキンソン病における音楽療法

1. プロジェクト・チームの編成

パーキンソン病の音楽療法では、日常生活動作など身体能力の改善を目的とするため、手足の運動機能や肺活量の測定などを行うための新たな機能検査の項目を追加した。一方アルツハイマー型認知症における高次大脳機能検査などの項目は省略して、パーキンソン病のプロジェクトの目的にあった独自のチーム編成をした。

2. 対象

臨床症候および頭部MRI所見などにより診断されたHoen & Yahr重症度2～4度、日常生活機能障害度1～2度で、音楽療法に関心のあるパーキンソン病患者8名を対象とした。内訳は男性3名、女性5名、年齢は55～81歳（平均70.9±10.0歳）、罹病期間は4年3ヶ月～19年（平均10.3±5.3年）であった。また音楽療法施行中は、全例において抗パーキンソン病薬の用法・用量の変更はしなかった。

3. 実施方法

パーキンソン病患者8名の個々における身体能力を考慮した上で、小グループ制による能動的音楽療法を個人の意志による自由参加形式で行った。頻度は週1回、1回60分のセッションを10回施行し、期間は3ヶ月間継続した。また効果判定のため、音楽療法前後で各評価項目について諸検査を施行した。

音楽療法施行時の環境やスタッフの配置などは、基本的にはアルツハイマー型認知症のセッションと同じ設定とした。パーキンソン病の音楽療法では①身体的には日常生活動作を円滑に行えるように、全身の運動能力や心肺機能の改善・維持を図る②精神的には病気に対する十分な理解と生活改善のための努力目標を明確にすることにより、将来への不安を軽減し心的ダメージの回復を図る③社会的には、同じ病気の悩みを抱えた仲間と励まし合いながら音楽療法に参加することにより、お互いの連帯感やコミュニケーション能力の向上を図る、ことなどを目的とする。実際のプログラムは以下のような順序で施行した。

- 1) 入室：各自で更衣・着席する間、緊張感をほぐす明るい曲を流す
- 2) 導入：音楽に合わせて全身の筋肉の緊張を解きほぐす準備運動をする
 - ①歌唱と会話；曲に合わせて歌いながら指先でリズムをとる
 - ②上肢の運動；深い呼吸をしながら座位で上肢のストレッチ体操をする
 - ③顔面の運動；額のしわよせや開閉眼をして表情筋の体操をする
 - ④発声練習；ロングトーン、スタッカートなどで母音を発声する
- 3) 挨拶：曲に合わせてセラピストの呼びかけに一人ずつ順番に歌で答える
- 4) 音階練習：音階を歌いながら両手のカスタネットで腕の開閉運動をする
- 5) 楽器演奏：馴染みのある曲に合わせてオリジナル楽器を演奏する
- 6) 呼吸トレーニング：心肺機能および呼吸筋機能の維持・強化をはかる
 - ①下肢の運動；呼吸法の準備として座位で下肢の屈伸運動をする
 - ②呼吸法；立位でオリジナル曲に合わせて胸式・腹式呼吸を行う
- 7) リズム・トレーニング：歩行障害、姿勢反射障害、巧緻運動障害の改善

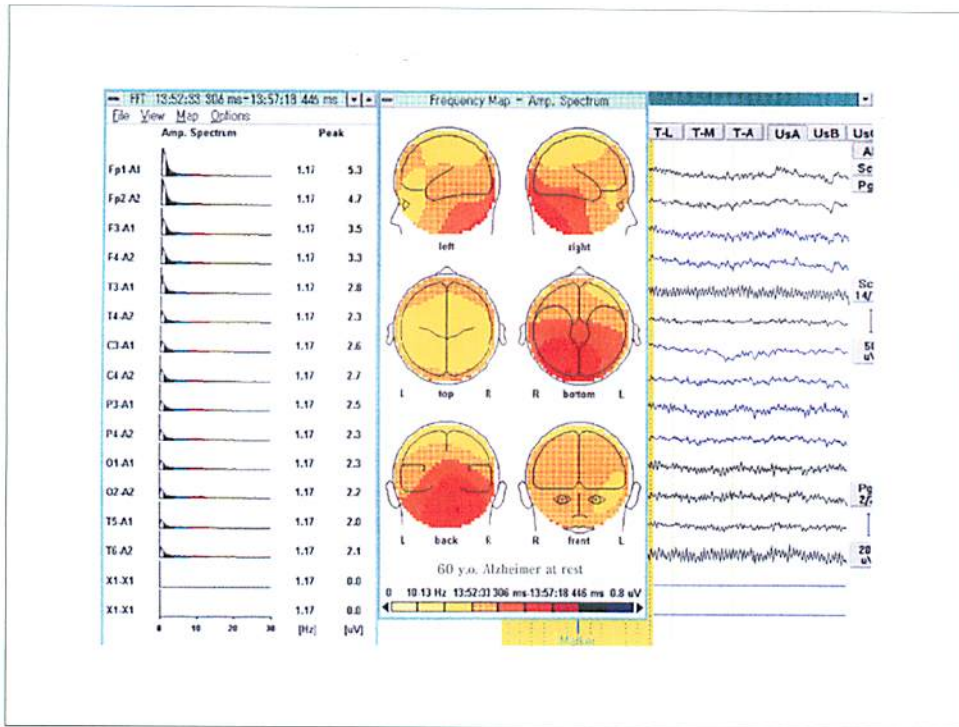


図1 デジタル脳波記録 (安静時)

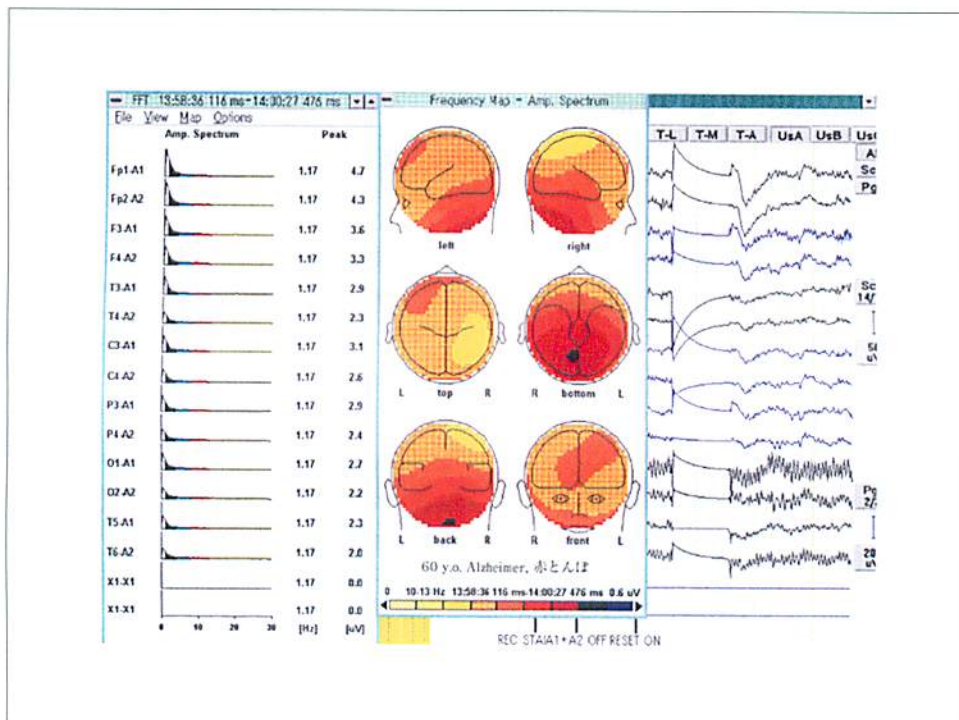


図2 デジタル脳波記録 (赤とんぼ)

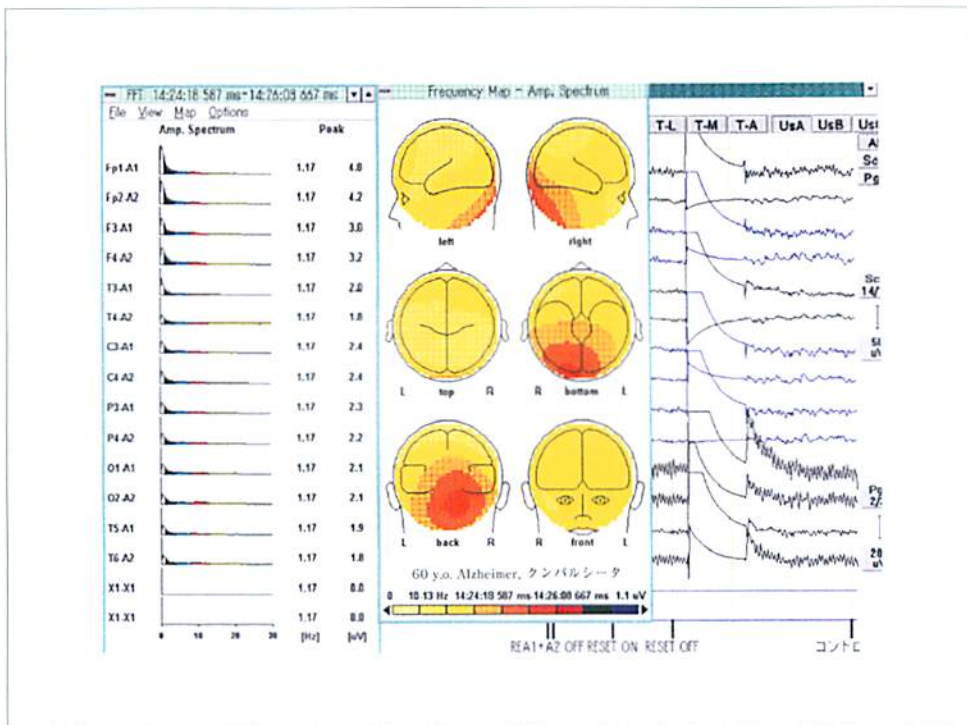


図3 デジタル脳波記録（ラ・クンバルシート）

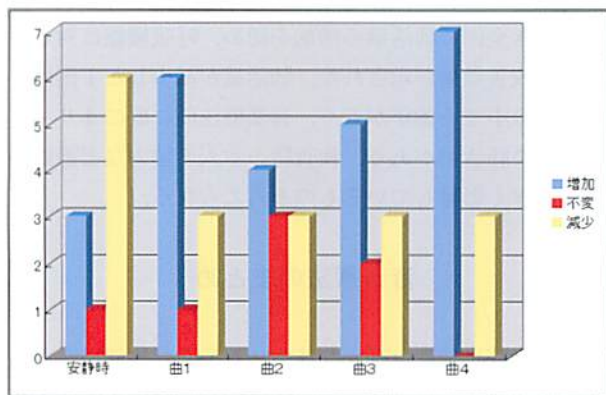


図4 音楽療法前後における α_2/α_1 比の変化

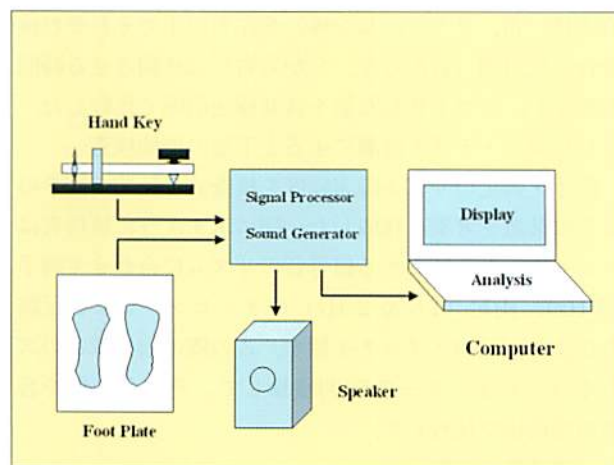


図5 リズム・テスト装置

- ①ステップ；懐メロに合わせて足踏み、手繋ぎ歩行、フリー歩行をする
 - ②サークル・ドラミング；曲のリズムに合わせて座位でフロアタムを叩く
- 8) 終了：ほぐし体操の後、参加者全員で終了の歌を合唱する

4. 効果判定法

1) 音楽療法士による判定

毎回のセッション終了後に音楽療法士により次の各項目について点数評価しその経時的变化を観察した。

(1) コミュニケーション能力

- ①言語 ②会話 ③表情 ④アイコンタクト

(2) 運動能力

- ①姿勢・動作：動作全体、座位姿勢の安定性、起立動作
- ②手の運動：腕の開閉運動、腕振りのリズム、回内回外運動
- ③足の運動：すくみ足の程度、ステップ・リズムの正確性

2) 作業療法用具による両手機能検査

日常生活動作における両手の機能を評価するために、作業療法用具 (STEF) のうち5種類の物品 (大球、中立立方体、布、コイン、ピン棒) を左右の手でそれぞれ検査台の反対側 (右から左、左から右) に移動させる時間を測定し、スコア化した値を音楽療法前後で比較した。

3) リズム・テスト装置による上下肢の機能検査

両手・両足のリズム障害程度を検査する目的で図5のような装置を考案・作成した。図に示すように被検者はスピーカーから聴こえる信号音のリズムに合わせて両手 (3 Hz)、両足 (1.5 & 2 Hz) のタッピングおよび足踏みにより回路のスイッチを押す。この際の信号音とのズレをコンピューターで50回積算して、その平均値を音楽療法前後で比較した。

4) 肺活量の測定

発声練習や歌唱によりクライアントの呼吸機能が改善されたかどうかを検討する目的で、音楽療法前後での肺活量を測定しその変化を観察した。

5. 音楽療法施行後の成績評価

1) 音楽療法士による評価

音楽療法終了後コミュニケーション能力の項目中、言語4例・会話2例・表情6例・アイコンタクト4例に改善を認めた。特に表情については笑顔の出る頻度がセッションの回を増すごとに多くなった。運動能力では5例

に動作全体の改善を認めた。また姿勢安定性では1例、起立動作では3例に改善がみられたが、他の例では変化は認められなかった。手の運動の項目では、開閉運動4例、リズム3例、回内回外運動3例に改善を認め、他は不変であった。

足の運動では、すくみ足の改善は1例であったがリズムは6例に改善を認めた。

2) 作業療法用具による両手機能評価

両手の機能テストの結果、8症例の両手において10手にスコアの改善を認めた。特にパーキンソン症候の軽い軽症側においては7例に改善を認めた。

3) リズム・テスト装置による機能評価

両手のリズム・テストでは、パーキンソン症候の軽症側5例、重症側4例に改善を認めた。軽症側での改善例が多かった事は、作業療法用具による両手機能評価の結果と一致した。

両足のリズム・テストでは、1.5 Hzで8症例の両足中8足、2 Hzで9足に改善を認め、2 Hzのリズムの方が改善率が良かった。また軽症側では1.5 Hzおよび2 Hz共に5例に改善を認め、重症側では1.5 Hzで3例、2 Hzで4例に改善を認めた。この結果は両手と同じく、1.5 Hzおよび2 Hz共に軽症側において改善効果が明らかであった。

4) 肺活量による評価

音楽療法前後での肺活量の変化を検討した。8例中1例を除き全例に肺活量の増加を認め、呼吸機能に対し何らかの改善効果が示された。肺活量が減少した1例はグループの中で一番年が若く、音楽療法前に既に4リットル以上の肺活量があり、検査時の本人の協力など施行条件が大きく影響しているものと考えられる。

音楽療法のまとめ

人の大脳半球には様々な能力に対応した機能局在があり、主に言語や論理機能は左大脳半球、図形・音楽・空間などのイメージ能力や直感・創造などの感性・感覚能力は右大脳半球優位に局在するといわれている。ビジネスマンなどの社会生活では主に左大脳半球の機能を活用することが多いが、音楽療法では口頭忘れがちな右大脳半球を刺激することにより大脳全体の機能バランスと活性化を計ることを目的としている^{6,7)}。

アルツハイマー型認知症のプロジェクトにおいては、音楽療法終了後の音楽療法士による評価および高次大脳機能検査による評価において様々な大脳機能の賦活効果が認められた。またこれらの方法による判定結果の信頼

性について検討したが、両者の評価には推計学的に有意な相関関係が認められた。

一方デジタル脳波検査では、各個人の興味ある音楽を聴くことにより α 反応性の増強を認めたことより、音楽療法には好みの音楽を取り入れていくことが重要であると考えられる。一般に人の脳波における基本律動(α 波)は年齢により少しずつ変化することが知られている。健康成人の α 波帯域は8-13 Hzとされているが幼少時の α リズムはこれより遅く、10歳位から次第に速くなり成人のパターンに近づいてくる。次に中年以後になると年齢が増すごとに再び α リズムは遅くなり、健康若年成人における α 波の優勢周波数が10 Hzであるのに対して平均75歳の老年者では9.0-9.5 Hzと徐波化を認める。さらに認知症など高次大脳機能の障害が認められる場合には実年齢よりさらに α 波の徐波化と出現性の低下が顕著となる。また加齢やアルツハイマー型認知症における α 波の徐波化など脳波所見の変化と知的機能低下は良く相関するという報告がある^{8,10)}。よって α 波の優勢周波数帯域の変化は大脳皮質機能の状態を良く反映しているものと考えられる。今回、音楽刺激が大脳皮質機能に及ぼす影響を観察する目的で、音楽療法前後での α 波の速波成分(α_2)の増減を α_2/α_1 比の変化として評価した。図4でみられるようにヘッドホンを介しての音楽刺激で4曲共に α_2 成分の増加例が認められ、特に「赤とんぼ」、「アイネ・クライネ・ナハトムジーク」では6例以上に α_2 成分の増加を認めた。 α 波の優勢周波数帯域の変化については、聴く曲のテンポにより影響されテンポの遅い曲では α 波リズムは遅い方向へ、テンポの速い曲では速い方向へシフトするという報告もある¹¹⁾。これらの結果より自分の興味のある音楽を聴くことは、大脳機能を賦活する上で有用な手段の一つといえる。

パーキンソン病の主要4症候は安静時振戦、歯車様筋固縮、無動、姿勢反射障害であり、発症初期にはこれらの症候は薬物療法に良く反応して、患者の日常生活動作は改善されることが多い。しかしパーキンソン病が進行してくると、振戦や筋固縮に対してはある程度薬剤効果が期待できるが、姿勢反射障害やすくみ現象は薬物療法では改善されなくなる。姿勢反射障害は、起立困難・突進歩行・易転倒性などとして認められ、顔の回転障害など体幹部の無動が原因とする説がある。またすくみ現象は上下肢の運動機能や発語機能障害として認められるが、最も頻度が高いのは歩行開始時のすくみ足である。このため患者は転倒による大腿骨頸部骨折や頭部打撲などを併発することが多くなり、日常生活動作は著しく制限さ

れる。すくみ現象の発生機序に関しては中枢神経内での「リズム形成障害」が原因とする説があり、大脳基底核の一部である線条体と前頭葉皮質(運動野)の機能的結合が関与しているとされている。パーキンソン病の音楽療法は文献的にもいろいろ試みられているが^{12,13)}、一定の規則的な目印(視覚刺激)やメトロノームの音(聴覚刺激)によりすくみ現象が改善したという報告がある^{14,15)}。今回のパーキンソン病に対するプロジェクトでも、リズム障害の改善を目的とした内容の音楽療法を施行し、その効果判定のため上肢の作業療法器具と独自に開発したリズム・テスト装置を使用して評価した。その結果2つの検査法共に音楽療法終了後において、半数以上の症例で改善効果を認めた。特にパーキンソン症候が軽症側の上下肢で改善例が多くみられた。以上よりパーキンソン病のリズム障害に対して、音楽療法は一定の改善効果を発揮したものと考えられる。

おわりに

自分の好きな音楽を聴いたり演奏することにより、過去に記憶されていた大脳内部の様々な音楽情報が引き出され、中枢神経内の神経回路網が刺激される。これが結果的に大脳機能の活性化につながり、神経難病などの臨床症候に対して改善効果をもたらすものと考えられる。従来音楽療法の存在や活動は、一般社会ではあまり知られていなかったのが現状である。しかし今後高齢化社会が進むのと共に、複雑な社会生活でのストレスが増大するにつれて、その需要は益々大きくなるものと思われる。現在最新の医療技術を駆使しても改善が見込まれない疾患や心のケアを中心に、将来への治療法の一つとして音楽療法に期待するところが大きいと考える。

文 献

- 1) 村井靖児：音楽療法の基礎 第2章 音楽療法の歴史。音楽の友社、p. 19-46, 1995
- 2) 栗林文雄：標準音楽療法入門(上)理論編 -第2章 音楽療法の歴史。春秋社、p. 19-31, 1998
- 3) 筒井末春、村井靖児、篠田知璋、五島雄一郎：「座談会」21世紀の医療と音楽の応用。日本医師会雑誌 122(7)：1145-1160, 1999
- 4) 赤星建彦：高齢者の療育音楽。音楽福祉事業株式会社、p. 52-53, 2005
- 5) 一番ヶ瀬康子、赤星建彦：療育音楽のすすめ。一橋出版、p. 14-31, 2000
- 6) 村井靖児：こころに効く音楽。保健同人社、p. 58-67, 1992
- 7) 谷口高士：音は心の中で音楽になる。北大路書房、p.

- 209-227, 2000
- 8) 繁田雅弘, 西川嘉伸, 森温理: 高齢者の知的機能と脳波コヒーレンス関数の関連性. 臨床脳波 31(1): 11-15, 1989
 - 9) Primavera, A. Novello, P. Finocchi, C. Canevari, E. Corsello, L.: Correlation between mini-mental state examination and quantitative electroencephalography in senile dementia of Alzheimer type. Neuro-psychobiology 23: 74-78, 1990
 - 10) 内山真, 宮坂松衛: 脳の老化—機能的側面から「脳波」. 老年期痴呆 6(2): 57-66, 1992
 - 11) 学阪満里子: 音楽傾聴時の脳波アルファ波ピーク周波数の特性. 日本音楽心理学音楽療法懇話会(編) 19: 22-35, 1990
 - 12) 中村容子: パーキンソン病患者の音楽療法—歩行における音楽の利用—日本バイオミュージック学会誌 14(1): 46-53, 1996
 - 13) 岩崎真希, 吉井文均, 志水哲雄: パーキンソン病治療における能動的音楽療法導入の有用性. 神経治療 21(5): 555-561, 2004
 - 14) 近藤智善, 作田学, 山本光利: パーキンソン病治療ハンドブック, V. すくみ足, 転倒. 医学書院, p. 133-142, 2001
 - 15) 美原盤, 藤本幹雄, 美原淑子: パーキンソン病患者の歩行障害に対する音楽療法の効果. (第1報, 第2報) 日本音楽療法学会誌 5(1): 58-71, 2005
-

講座

麻疹ウイルス Update

—分子ウイルス学と麻疹撲滅に向けて—

北里生命科学研究所 ウイルス感染制御 I

藤野元子, 中山哲夫

Key Words : 麻疹ウイルス, 分子疫学, 血清疫学, reverse genetics, 麻疹・風疹二混ワクチン

要 旨

麻疹は、発熱、上気道のカタル症状、全身の発疹を主症状とする小児期の急性ウイルス感染症で、肺炎、脳炎を合併し低開発国では致死率の高い疾患である。麻疹はワクチン接種を拡大することで撲滅可能な疾患でアメリカでは既に撲滅され発症する麻疹は日本、中国、ヨーロッパ等からの輸入感染である。麻疹ウイルスの分子疫学調査から麻疹の伝播経路を知ることが可能となり、麻疹排除のためには世界中が歩調をそろえた麻疹対策が必要となる。日本以外の先進国では2回接種を行っており、我が国でも2006年から麻疹・風疹二混ワクチンの2回接種法に移行することになった。麻疹ウイルスが初めて分離されて50年たつが、その病原性、麻疹ワクチン弱毒化のメカニズム等未だ解明されていない事も多い。麻疹ウイルス RNA を cDNA に変換し感染性ウイルスを回収する reverse genetics を確立し、分子生物学なアプローチによりウイルスの性状、病原性が解明されつつある。また、麻疹ワクチンウイルスの遺伝子の中に外来遺伝子を導入し、組換え麻疹ウイルスワクチンを作成し新規ワクチンの開発をめざしている。

1. はじめに

種痘接種を拡大することで天然痘は撲滅され、次のターゲットとしてポリオの撲滅は2005年を目標としてワクチン接種拡大計画を行ってきたが、ポリオ撲滅には至らず更なる努力が必要となってきた。ポリオ撲滅の次の目標は麻疹の撲滅であったが撲滅は困難であることから「麻疹排除」を目標として掲げている。低開発国にお

いては、慢性の低栄養に加えて麻疹感染後の一過性の免疫不全により細菌性肺炎を併発する他にも感染性下痢症の合併により致死率の高い疾患である。2000年にはウイルス学的に診断された麻疹患者数は817,161例と報告され、毎年世界中で約3,000万人の子供達が麻疹に罹患し、約80万人が毎年麻疹により死亡していると推定された¹⁾。1980年以前は世界の子供たちの麻疹ワクチン接種率は20%以下であったが、ワクチン接種により予防可能な疾病を撲滅するため子供達にワクチン接種を拡大する Expanded Programme on Immunization (EPI) が発足し1990年になって80%を超えるようになり麻疹は撲滅されるかに思われたが、その後は思うように接種率が増加することはなく、未だに撲滅には至っていない^{1,2)}。

ウイルスは細胞に感染し増殖する。その機能を解析するためにはウイルスを分離し大量のウイルスを精製しその性状を解析しようとしてきた。近年の分子生物学の進歩はめざましくウイルスのもつ生物活性の解析が分子レベルで行われるようになり、麻疹ウイルスのような RNA ウイルスも cDNA に変換し全長 cDNA から感染性ウイルスを回収する reverse genetics の技法が開発され「ウイルスは生物活性を持つ高分子集合体」と捉えられている。

我々の研究室では、「麻疹排除」をめざし、血清疫学調査、分離された麻疹ウイルスの分子疫学調査を継続し基礎データを集積してきた。また、当研究所で開発した麻疹ワクチン AIK-C 株の弱毒のメカニズムの解析と共に麻疹ウイルスの性状、病原性の解析を進めると共に遺伝子迅速診断へのアプローチをおこなっており、新たな知見について言及したい。

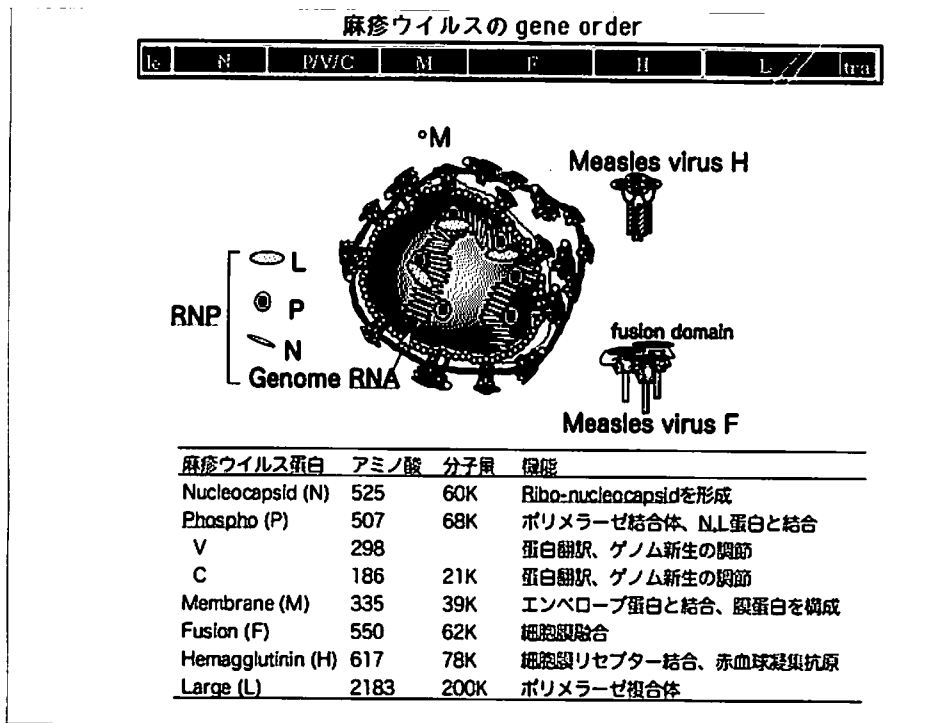


図1 麻疹ウイルスの模式図と構成タンパク質

2. 麻疹ウイルスの性状の解析

麻疹ウイルスは、ネガティブセンス・一本鎖 RNA ウィルスで15,894塩基よりなりゲノム RNA の構造は 3' 末端から leader 配列, N, P, M, F, H, L, trailer 配列の順に並んでいる。ウィルスの模式図と構成タンパクの機能をまとめて図1に示した。麻疹ウイルスは直径100-150 nm のウィルス粒子で、粒子の外殻には Hemagglutinin (H), Fusion (F) の2種類の糖タンパクが存在する。粒子内にはウィルスの転写・複製に必要な polymerase 複合体として Nucleocapsid (N), Phospho (P), Large (L)タンパクがゲノム RNA を取り巻き Ribonucleocapsid (RNP)を形成し、ウィルス粒子内膜を Membrane (M)タンパクが裏打ちしている³⁾。

麻疹ウイルスが感染するには、Hタンパクが宿主細胞表面の麻疹ウイルスレセプターに結合する必要がある。レセプターと結合するとHタンパクの立体構造が変化し、隣接するFタンパクに作用して、F1タンパクのアミノ末端に存在する疎水性タンパクが連なる Fusion domain が細胞の脂質二重膜に結合し、virus-cell fusion を起こし、ウィルス粒子内の麻疹ウイルス遺伝子が細胞内に流入して、感染の最初のステップが始まる^{3,4)}。感染したウィルス RNA から構成タンパクの転写・

翻訳がはじまり、次いでウィルス遺伝子の複製が始まる。我々は、麻疹ウイルスの細胞融合、転写・複製の生物活性を分子レベルで解明するためのシステムを構築し、模式的に図2に示した、細胞融合能を解析するための H, F タンパク発現実験、転写・複製機能を解析するための Mini-genome assay、さらに、ウィルス RNA から人工的に感染性ウィルスを合成する reverse genetics の手法を確立し、麻疹ワクチンをウィルスベクターとして利用する事が可能となった。

2-1) Cell fusion assay (細胞融合能の解析)

麻疹ウイルスの分離には Vero 細胞が用いられてきたが、最近では B95a 細胞を用いている⁵⁾。最近の麻疹ウイルスとワクチン株を含めた過去の流行株の性状の違いをまとめて表1に示した。麻疹ウイルスレセプターは CD46 と SLAM (CD150w) の存在が知られており、Vero 細胞には CD46、B95a 細胞には SLAM が発現されている^{6,7)}。最近分離株は SLAM を使って B95a 細胞に感染し細胞融合をおこし、Vero 細胞にも感染はするが細胞融合を起こさず、ウィルスの増殖は極めて低い。一方、1954年に世界で最初に分離された Edmonston 株や、この株に由来するワクチン株を含めた古い genotype の麻疹ウイルスは、Vero 細胞にも B95a 細胞にも

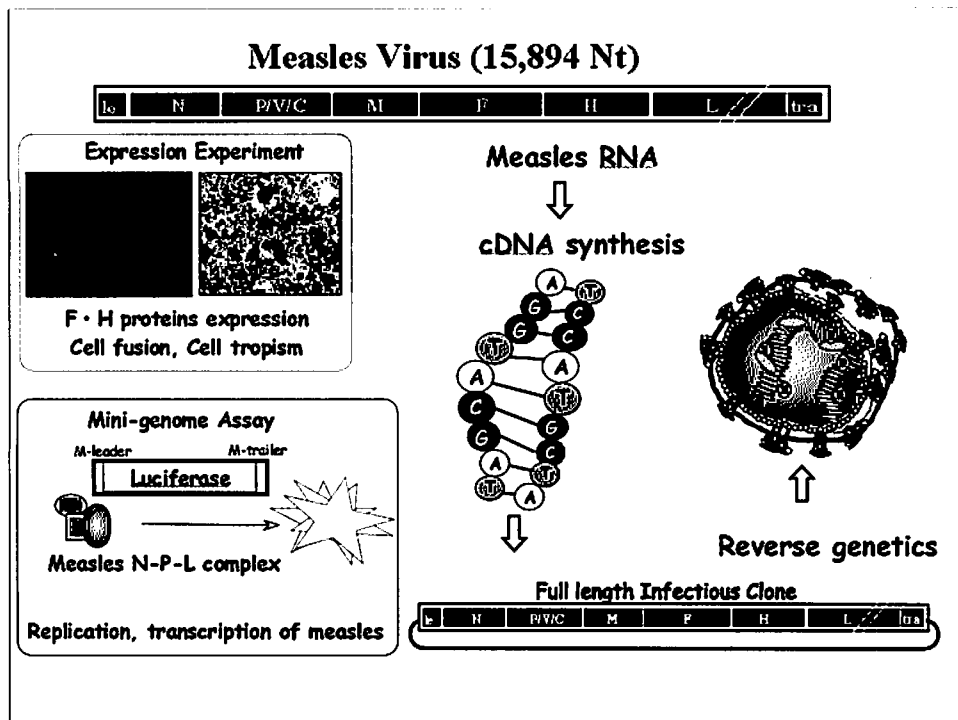


図2 麻疹ウイルスの性状を解析するシステム

- 2-1) cell fusion assay : F, H 発現プラスミドを構築し細胞融合を観察する。
- 2-2) Mini-genome assay : N, P, L 発現プラスミドを構築し麻疹ウイルス mini-genome RNA を細胞に co-transfection し Luciferase の発現を調べることで転写・複製能を定量化する。
- 2-3) Reverse genetics : 麻疹ウイルス RNA を cDNA に変換し感染性ウイルスを作製する。

第1表 麻疹ウイルス性状の変化

	最近分離株	ワクチン株, 以前の分離株
分離細胞	B95a 細胞	Vero 細胞
細胞 receptor	SLAM	CD46, SLAM
Genotype	Genotypes D3, D5, H1	Genotypes A, C1
CPE in B95a cells	+	+
CPE in Vero cells	-	+
HA 活性	-	+
HA 分子量	80-82K (genotypes D3, D5)	78K
39°Cの増殖能	+ ~ +++	- ~ ++

細胞融合をしめす。この細胞親和性の違いは感染の最初のステップ（吸着）に作用する H タンパクによると考えられ、481位もしくは546位のアミノ酸がレセプター結合に関与し、特に H タンパク481位が Tyr のワクチン株や古い麻疹ウイルスは Vero 細胞に親和性を示し、最近流行株では H タンパク481位は Asn で、SLAM を選択的に麻疹ウイルスレセプターとして使用し、B95a 細胞にのみ細胞融合を示すことが明らかとなった^{8,9,10)}。H タンパクは細胞膜の receptor binding に作用して立体構造に変化を起こし、この変化は隣接する F タンパ

クに立体構造の変化をもたらす事で一連のウイルス・細胞膜融合の反応が触媒される¹¹⁾。麻疹ウイルスの細胞融合を模式的に図3に示した。F タンパクは粗面小胞体で合成され、RRHKR の cleavage motif で宿主細胞内の protease により F1 と F2 に開裂し、疎水性アミノ酸が helix 構造の同一面に集まる heptad repeat (HR) A と HRB は分子内結合し F タンパクは3量体をとることで6 helix bundle を形成している。F1 の N 末端には疎水性アミノ酸が並ぶ fusion domain を形成し、F タンパクの立体構造変化により fusion domain を細胞の脂質

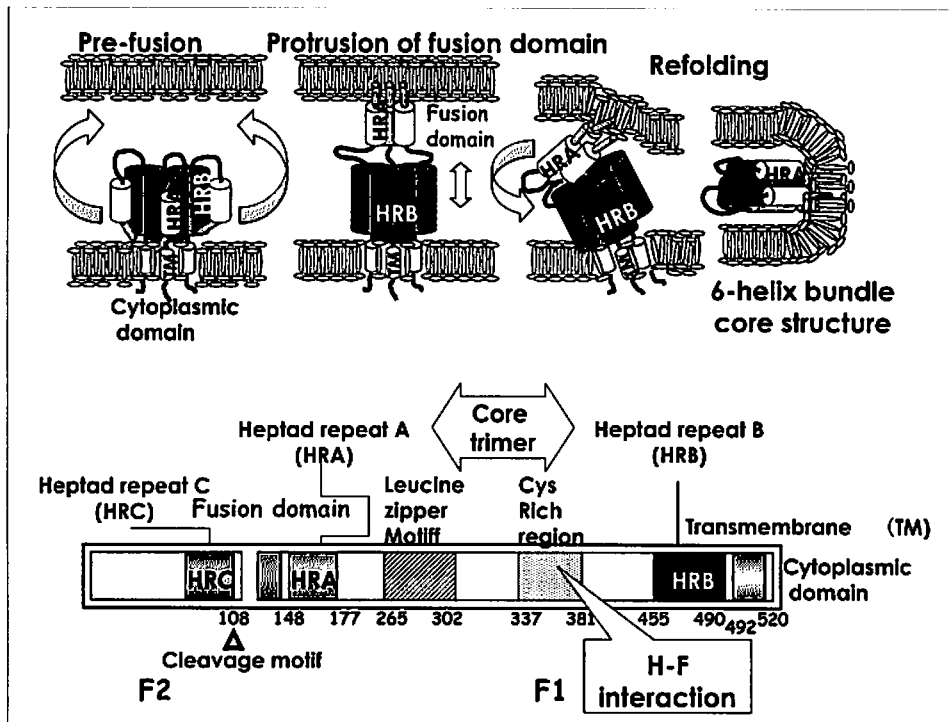


図3 麻疹ウイルスの細胞融合の模式図とFタンパクの機能ドメイン

二重膜に突き刺す。この立体構造の変化した状態は不安定であるために、安定した6 helix bundleの状態に戻ろうとして、脂質二重膜を引き寄せてくることで膜融合がおこる。FタンパクF1領域内のCysteine rich regionがF・H interactionに働く領域とされている¹¹⁾。

麻疹ウイルスの細胞融合能を解析するために、H, F発現プラスミドを作製し、T7 RNA polymeraseを発現する組換え Vaccinia virusを感染させた細胞にプラスミドをtransfectionして細胞融合を観察する。麻疹ワクチン AIK-C株はVero細胞にsmall plaqueを作り、感染の拡大が小さい性状を有しており、AIK-C由来のFタンパク発現プラスミドを用いた時には、AIK-Cワクチン株の親株の野生株 Edmonston株由来のF発現プラスミドを用いたplaqueよりは小さなplaqueを作ることから、FタンパクがAIK-Cのsmall plaqueに関与している事があきらかとなった。組換えF発現プラスミドを作製することでFタンパク278位のLeuが関与していることが明らかとなった¹²⁾。

2-2) Mini-genome assay (転写・複製能の解析)

麻疹ウイルスはN, P, Lタンパクがgenome RNAとRibonucleocapsid (RNP)を形成し転写・複製機能を担っている。ウイルスの転写・複製能は麻疹ウイルスの属す

るParamyxovirusで共通しておりN, P, Lタンパクの結合状態が解明されてきた¹³⁾。N, Pタンパクのfunctional domainと結合様式の模式図を図4に示した。Pタンパクはcoiled coil regionで4量体を形成し、この部位でLタンパクと結合する。Nタンパクは合成されるとN core領域とPタンパクのN0 binding domainと結合し、更にゲノムRNA 6塩基を巻き取って結合し、Nタンパク同士で多量体を形成する。多量体形成したNタンパクのtail regionとN0 bindingしたPタンパクのX domainが結合して、N-P bindingをより強固なものとし、N-P-L複合体が巻きとったgenomeから転写・複製を開始する¹⁴⁾。

麻疹ウイルスが増殖するためにはゲノムRNAからmRNAを転写し自己のタンパクを翻訳・合成する。麻疹ウイルス遺伝子は(-)センスで、複製の過程ではまず(+)相補鎖が合成された後に、これを鋳型に(-)センス娘遺伝子が合成される。転写・複製活性を知るために、麻疹ウイルス遺伝子の3', 5'非翻訳領域の間のN-L遺伝子をレポーター遺伝子(Luciferase)に置換した麻疹ウイルスMini-genomeを作製した。Luciferase発現量を測定することで麻疹ウイルスの転写・複製能を数値化できる。麻疹ウイルスの転写・複製にはN, P, Lタンパクが必要であり、細胞内にN, P, Lタンパク発現プラスミ

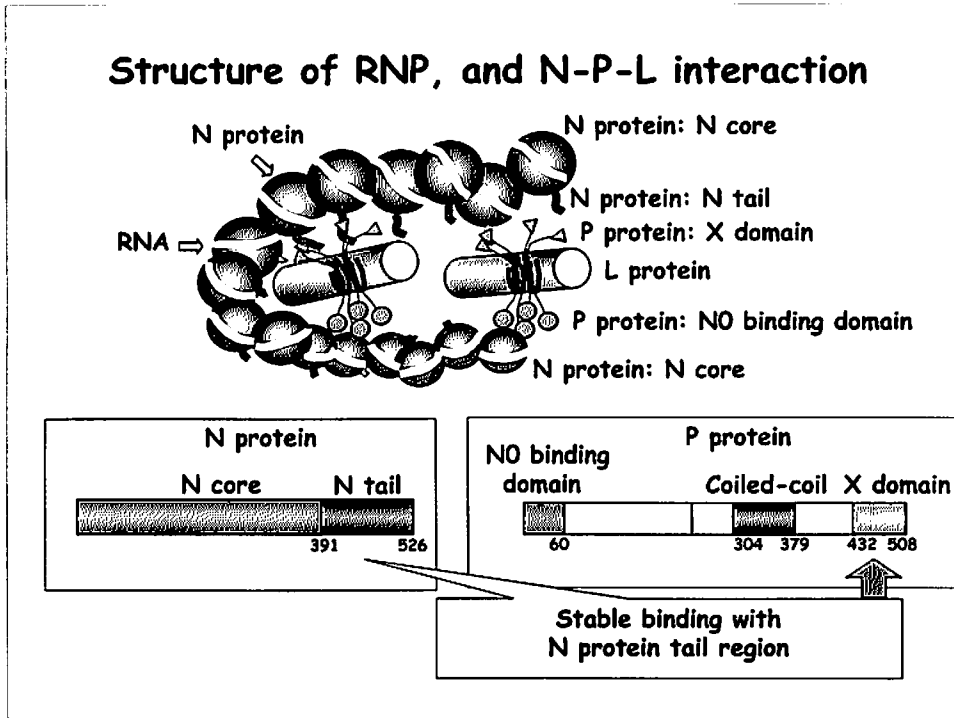


図4 N-P-Lタンパク複合体形成の模式図とN、Pタンパクの機能ドメイン

ドと共に Mini-genome RNA を co-transfection させ、T7 RNA polymerase を発現する組換え Vaccinia virus を感染させて、すべてのプラスミドが機能すれば、N、P、Lタンパクが合成され、N-P-L complex が Mini-genome RNA に結合して転写・複製が始まり、レポータータンパクの Luciferase が発現する。Luciferase 活性を測定することで麻疹ウイルスの転写・複製機能を定量的に評価するシステムである。

麻疹ワクチン AIK-C 株は、Edmonston 野生株を 32.5°C の低温条件下でヒツジ腎細胞、ニワトリ胎児胚細胞で継代弱毒化して樹立した株である。従って、39-40°C の高温では増殖しない温度感受性 (temperature sensitivity; ts) の性状を有しており、弱毒化のマーカーであるが、その分子基盤は不明であった。麻疹ワクチン AIK-C 株とその親株から N、P、L 発現プラスミドを作製し Mini-genome assay を行い、温度感受性は P タンパク 439 位のアミノ酸が Pro であることが ts の性状を担っている事が明らかとなった¹⁹⁾。

最近、流行野生株の中に 39-40°C の高温でも増殖するウイルスが存在し、これらのウイルスの N、P、L タンパクの転写・複製活性を解析している。N、P タンパク発現プラスミドを作製して Mini-genome assay を行い、P タンパクが重要である事が明らかとなってきた。また、

後述する麻疹ウイルスの genotype を決定する N タンパクの tail region は、P タンパクの X domain と結合し N-P binding をより強固なものとするが、この部位の結合性は genotype による結合性の差が認められる。

2-3) Reverse genetics (感染性ウイルスの人工合成)

麻疹ウイルスは 15,894 の遺伝子を持つ RNA ウイルスで、全長 RNA を cDNA に変換し感染性ウイルスを回収するシステムとして reverse genetics の系を確立し、fusion assay, mini-genome assay で明らかとなった重要なアミノ酸部位を cDNA に導入して組換え麻疹ウイルスを回収し、ウイルスとしての性状を解析できる様になった^{16,17)}。麻疹ウイルスは (-) センサー本鎖 RNA ウイルスで、Reverse genetics は RNA ウイルス遺伝子から cDNA を合成し感染性ウイルスを回収する分子生物学的手法で、我々の研究室で開発した Reverse genetics の方法を図 5 に示した。293T 細胞に T7 RNA polymerase を発現する組換え Vaccinia virus を感染させ、全長 cDNA を構築して N、P、L タンパク発現プラスミドと共に細胞に導入し、2 日後に麻疹ウイルスに感受性の高い B95a 細胞と混合培養を行う。T7 RNA polymerase のもとで N、P、L タンパクが発現し全長

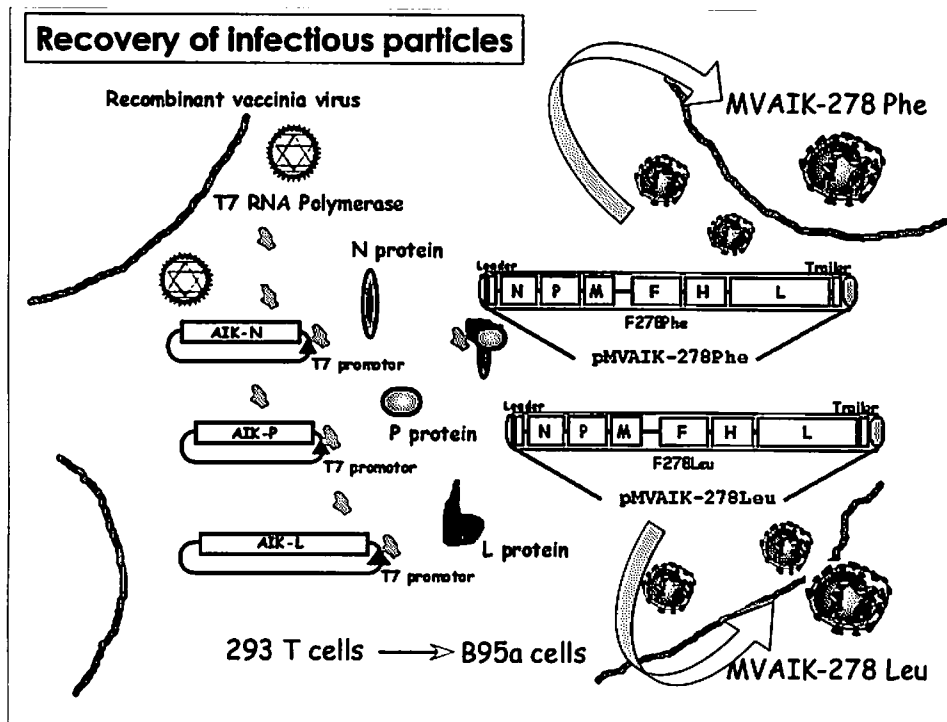


図5 Reverse genetics による感染性ウイルスの回収
293T 細胞に T7 RNA polymerase を発現する組み換え Vaccinia virus を感染させ、N, P, L 発現プラスミドと全長麻疹ウイルス cDNA を transfection し感染性ウイルスを人工的に作製する。

cDNA から感染性ウイルスを回収することができる。F, H タンパク発現プラスミドを作製し細胞融合を解析したところ F278位のアミノ酸が Leu では細胞融合が小さく、Phe では大きな細胞融合を示した。この変異を全長 cDNA に導入し回収したウイルスは細胞融合能の解析結果と一致することや、mini-genome assay により P4 39位の Pro が麻疹ワクチン AIK-C 株の温度感受性に関与し、これを野生株型に変換し感染性ウイルスを回収すると、野生株と同じ性状を示すことが明らかとなった^{12, 15)}。

麻疹ウイルスとしてその生物学的性状を解析するだけでなく、最近の麻疹ウイルスの細胞親和性や抗原性の差は麻疹ウイルス H タンパクの変異によると考えられ、今のところ大きな抗原性の変異は認められないが、更に変異が蓄積される危険性がある。AIK-C ワクチン株の H タンパク領域を野生株型に置換した組換え麻疹ワクチン株を合成し、さらなる変異にも対応出来ることを報告した^{18, 19)}。麻疹 AIK-C 株の全長 cDNA に変異を導入し、遺伝子レベルで自由に麻疹ウイルスをデザインし、麻疹ワクチンウイルス cDNA の中に他の外来性ウイルス遺伝子を挿入し、外来性タンパクを発現する組み換え麻疹ウイルスを合成することも可能となり、新規ワクチンの

発現に展開できる可能性を持っている。

3. 麻疹ウイルスの遺伝子タイプの変化とウイルスの性状

アメリカにおいては、麻疹ワクチン (MMR) の普及により順調に麻疹患者発症数は減少してきた。しかし、1989年各年齢層に麻疹の流行が観察され MMR 2 回接種を強化することで土着のウイルスは撲滅され、発症する麻疹症例は外国からの輸入感染であると報告している^{20, 21)}。世界の各地で流行している麻疹ウイルスの分子疫学情報を得ることは、麻疹伝播経路を知るうえで重要である。そして、麻疹の流行している各国の実情にあわせたワクチンプログラムを推進する事で、麻疹の撲滅に近づく。

現在、世界の麻疹ウイルスの genotype 分類は、変異率の最も高い N タンパクの C 末端約500塩基、H タンパクの塩基配列に基づき 8 群23の Genotype に分類されている²²⁾。我々は1984年から麻疹ウイルス分離を行い、その臨床分離株の genotype を調査してきた。麻疹ウイルスの Genotype 分類を世界の株と併せて検討し、その系統樹解析をおこない、我が国で流行した株と世界

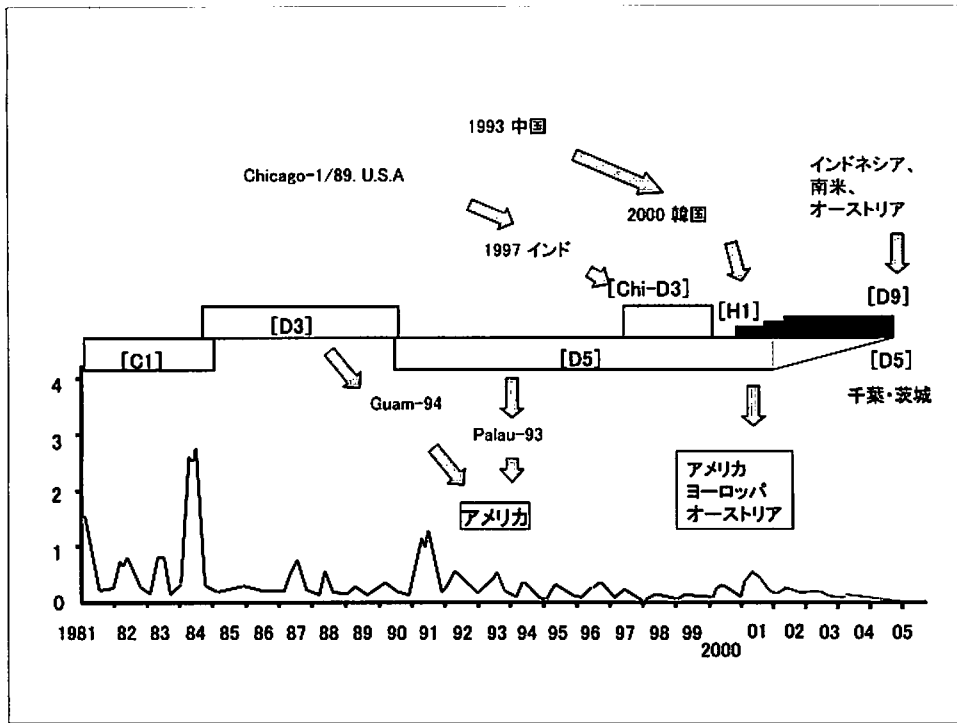


図6 麻疹流行状況と麻疹ウイルス genotype の変遷

の株との関連を模式的に図6に示した。我が国では麻疹の大きな流行は1984年、1987-88年、1990-93年、2001-02年に観察され、その流行毎に遺伝子タイプが変わっていた。1984年に分離された株はC1、1987-88年に分離された株はD3、1990年から1995年にはD5が流行してきた²³⁻²⁷⁾。この時代は、幼児連れで麻疹の潜伏期間に出国しグアム等に旅行して現地で麻疹を発症し、更にアメリカ本国まで流行を起し、「麻疹の輸出国」であると非難された時代である。1997年からは再びD3に戻ったが、1985-90年に分離されたD3とは異なり、1989年アメリカのChicagoで分離された株に近いウイルスであることが解った^{25, 26)}。我々は、1995年からインドの麻疹ウイルスの調査を続けておりインド固有の株はD4に属するものであったが、1997年のインドの大流行ではChicago typeのD3が検出された。Chicago D3は1989年のアメリカの最後の土着ウイルスとして分離されたが、その後アメリカでは伝搬のchainが途絶えたと報告されている^{20, 21)}。しかし、世界のどこかに伝搬してインドに大流行をおこし、同年の日本の流行株の中にChicago type D3が検出され、1985-90年に流行していたD3とは異なるクラスターに属していることから、1985-90年の流行株が変異を蓄積したと考えるよりもインドで流行して日本に持ち込まれたものと考えられ

た²⁷⁾。また2000年からは再びD5に戻っている。2000年の東京での散発流行時の成人麻疹患者から分離した株は、1993年に中国で分離された株H1に属するものであった。韓国でも2000年に麻疹の流行があり genotype H1が流行しており、日本固有の株が外国に輸出されるだけでなく、外国由来株がいつでも流入してくる危険性がある^{26, 27)}。

2004年山形県内の429名が在学する中学校において麻疹の流行が観察され、28例が発症した。流行期間中に他校の中学生にも散発発症例を認めたが大きな流行にはならなかった。発症した28例中18例にはワクチン接種歴があり、ワクチンの有効率は84.7%と報告されている。流行したウイルスの遺伝子解析の結果から、今まで我が国では検出されなかったD9株が検出されている。伝播のルートは解明されていないがD9株はインドネシア、南米、オーストラリアで検出されており輸入感染と考えられる²⁸⁾。

2006年4月末には千葉県、茨城県南部の小中学生に麻疹の流行が認められ、多くはワクチン接種歴のあるSecondary Vaccine Failure (SVF)であった。分離されたウイルスはD5で、1990年代から検出され2000年になって中国由来株(H1)が流行する前まで我が国で流行していた株であった。麻疹の流行規模が小さくなっ

でもウイルスの伝播は細々と続いていると考えられるが、どのように伝播の chain が繋がっているか不明である。

現在、世界中で使用されている麻疹ワクチンは、1954年に分離された Edmonston 株から弱毒したものであり、流行野生株との抗原性に変異してくる可能性があるが、現在までのところ中和抗体でみると2管以内の変異で現行のワクチンで十分に効果があることが報告されている²⁶⁾。しかしながら、中和抗体価が1:4の低いレベルではすべての genotype のウイルスを中和することはできず、中和されずに残ったウイルスが増殖することから、流行ウイルスの抗原性は少しずつ変化している事が明らかとなった^{26, 27)}。

遺伝子レベルで差が認められ、抗原性も少しずつ変化していることから、麻疹ウイルスの性状も従来と変わった性状のウイルスが分離されている。麻疹ウイルスは高温条件下で失活しやすく、39-40°Cでは増殖し難いが、最近分離された株の中には39-40°Cでも33-37°Cと同様に増殖する株が見つかった。39-40°Cでも増殖するウイルスと病原性の関連は明らかではないが、高温でよく増殖することは強毒のマーカーと考えられる。特に最近分離された Chicago-type D3, D5 は39-40°Cでよく増殖することが解った^{26, 27)}。このように麻疹ウイルスが変化し、性状や抗原性にも変化があることから麻疹ウイルスの性状を解析し、特に P タンパクが高温での増殖性に関与していることがあきらかとなった。

4. 麻疹撲滅に向けて

2006年4月から麻疹・風疹ワクチンの2回接種が始まった。麻疹に罹患すると二度と罹患することはなく終生免疫を獲得すると考えられ、生ワクチン接種後の免疫能も長期にわたって維持されるものと考えられていたが、麻疹が流行していた時期にはワクチン接種後不顕性感染を繰り返すことで booster 効果により抗体が維持されていることが明らかになった^{29, 30)}。ワクチンの普及により麻疹の流行は小さくなり、不顕性感染を受ける機会が減少することで、ワクチン接種後の免疫能が減衰し、ワクチン接種後数年たって麻疹に罹患する SVF が増加し、中・高校生や大学生に麻疹の流行が地域的に報告されている²⁸⁾。麻疹撲滅のためには、麻疹の感受性を減らすことが重要であり、そのためには高い免疫能をすべての年齢層で維持することが必要である^{1, 2)}。1980年代から麻疹中和抗体の血清疫学調査を継続しており、流行が全くなればワクチン接種5年後から中和抗体陰性になる児が出現し、接種6~7年後には麻疹中和抗体陽性者

は90%ぐらいに低下する。2006年4月から麻疹・風疹二混生ワクチンの2回接種に移行したが、2回目の接種前に中和抗体が存在すれば、ワクチン接種が無駄になる可能性が考えられた。麻疹ワクチン接種歴、自然感染の既往歴を有する者に麻疹ワクチンを接種すると、麻疹中和抗体が1:32までの中和抗体を持っていてもワクチン接種後にブースター反応を示し、接種後1週の末梢リンパ球からは麻疹ワクチン株の遺伝子が検出され、中和抗体1:32以下の児では確実にブースター効果を認めることが明らかとなった。世界中の多くの国では麻疹ワクチンの2回目接種は小学入学前の児童が中心となっている。我が国でも初回接種は1~2歳、2回目接種は小学入学前1年となった。小学1年入学時の中和抗体の分布を調査すると、麻疹の流行が続いていた1996年、その後麻疹の流行がなかった2001年、2001年に流行を経験した翌年の2002年の抗体分布を比較すると、流行のなかった年には高い抗体価を保有する児童は少なく流行の次の年には高い抗体価を持つ児童が多い。いずれの年でも中和抗体32倍以下は50%以上を占めている。小学校入学前に麻疹ワクチンを接種することは免疫能増強に有効と考えられる。

麻疹ワクチン (MMR) 接種を拡大することで麻疹は撲滅できる疾患であると認識されている³¹⁾。日本やヨーロッパの先進工業国において国民総生産 (GNP) の高い国での麻疹ワクチン接種率が低く、ヨーロッパ EU 諸国は2007年、東ヨーロッパでは2010年を麻疹排除の目標年と定めている。麻疹の流行している各国の実情にあわせたワクチンプログラムを推進する事で、麻疹の排除に近づく。イギリスにおいては MMR と白閉症、腸管の慢性炎症性疾患との関連が取りざたされ³²⁾、ワクチンに対する誤解から接種率が低下し、麻疹の再流行が報告されている^{33, 34)}。

麻疹ウイルスはヒトとともに移動し、社会経済の国際化に伴い麻疹ウイルスにも「国境」がなくなってきた。麻疹撲滅のためには、世界の情勢に歩調をあわせたワクチン政策をとり、同時に勧奨接種のワクチンとして勧奨した以上はワクチン接種率を高めていく責任がある。1歳代の麻疹ワクチン接種率は2004年には76%、2-3歳で93%に達し、2003年には8,285例の報告症例数も2004年は1,547例と減少し、2004年には過去最低の545例まで減少してきたが、地域的な散発流行を認め、まだまだ油断してはいけない状況である。コントロール期にはいると非定型麻疹の診断が困難であり、早期に麻疹対策を執る必要性からの迅速診断が必要となる。現在の日本のサーベイランスシステムは臨床診断のみで、ウイル

学的な診断は要求されていない。しかし、WHO 麻疹対策はウイルス学的に確認された Laboratory based surveillance を推奨している。麻疹の診断はウイルス分離、IgM 抗体の証明が主な検査法となっている。インフルエンザの迅速診断キットの出現がインフルエンザに対する考え方を変えたように、臨床現場で実施できる迅速診断キットの開発が望まれている。近年開発された DNA 増幅法である Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法による麻疹ウイルス遺伝子の迅速診断法を開発した³⁵⁾。臨床検体から RNA 遺伝子を抽出し 1 時間以内に、また、従来の nested PCR に匹敵する、もしくはそれ以上の感度で診断が可能である。

麻疹ウイルスの性状も徐々にあきらかになり、2006 年から麻疹ワクチン 2 回接種法に移行し 2012 年までに麻疹排除を目指している。

文 献

- 1) WHO : WHO-UNICEF joint statement on strategies to reduce measles mortality worldwide. *Wkly Epidemiol Rec* 77 : 224-228, 2002
- 2) WHO : Progress in reducing global measles deaths : 1999-2004. *Wkly Epidemiol Rec* 81 : 90-94, 2006
- 3) Griffin DE : Measles virus. *Fields Virology*, 4th ed. Edited by Knipe DM, Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2001. pp.1401-1441
- 4) Wild TF, Malvoisin E, Buckland R : Measles virus : both the haemagglutinin and fusion glycoproteins are required for fusion. *J Gen Virol* 72 : 439-442, 1991
- 5) Kobune F, Sakata H, Sugiura A : Marmoset lymphoblastoid cells as a sensitive host for isolation of measles virus. *J Virol* 64 : 700-705, 1990
- 6) Nanche D, Varior-Krishnan G, Cervoni F, Wild TF, Rossi B, Roubourdin-Combe C, Gerlier D : Human membrane cofactor protein (CD46) acts as a cellular receptor for measles virus. *J Virol* 67 : 6025-6032, 1993
- 7) Tatsuo H, Ono N, Tanaka K, Yanagi Y : SLAM (CDw150) is a cellular receptor for measles virus. *Nature* 406 : 893-897, 2000
- 8) Yanagi Y, Ono N, Tatsuo H, Hashimoto K, Minagawa H : Minireview Measles virus receptor SLAM (CD150). *Virology* 299 : 155-161, 2002
- 9) Masse N, Ainouze M, Neel B, Wild TF, Buckland R, Langedijk JPM. Measles virus (MV) hemagglutinin : evidence that attachment sites for MV receptors SLAM and CD46 overlap on the globular head. *J Virol* 78 : 9051-9063, 2004
- 10) Santiago C, Bjorling E, Stehle T, Casasnovas JM : Distinct kinetics for binding of the CD46 and SLAM receptors to overlapping sites in the measles virus hemagglutinin protein. *J Biol Chem* 277 : 32294-32301, 2002
- 11) Morrison TG : Structure and function of a paramyxovirus fusion protein. *Biochimica et Biophysica Acta* 1614 : 73-84, 2003
- 12) Nakayama T, Komase K, Uzuka R, Hoshi A, Okafuji T : Leucine at position 278 of the AIK-C measles virus vaccine strain fusion protein is responsible for reduced syncytium formation. *J Gen Virol* 82 : 2143-2150, 2001
- 13) Bourhis JM, Canard B, Longhi S : Structural disorder within the replicative complex of measles virus : functional implications. *Virology* 344 : 94-110, 2006
- 14) Johansson K, Bourhis JM, Campanacci V, Cambillau C, Canard B, Longhi S : Crystal structure of the measles virus phosphoprotein domain responsible for induced folding of the C-terminal domain of the nucleoprotein. *J Biol Chem* 278 : 44567-44573, 2003
- 15) Komase K, Nakayama T, Iijima M, Miki K, Kawanishi R, Uejima H : The phosphoprotein of attenuated measles AIK-C vaccine strain contributes to its temperature-sensitive phenotype. *Vaccine* 24 : 826-834, 2006
- 16) Sidhu MS, Chan J, Kaelin K, Spielhofer P, Radecke F, Schneider H, Masurekar M, Dowling PC : Rescue of synthetic measles virus minireplicons : measles genomic termini direct efficient expression and propagation of a reporter gene. *Virology* 208 : 800-807, 1995
- 17) Conzelmann KK : Nonsegmented negative-strand RNA viruses : genetics and manipulation of viral genomes. *Annu Rev Genet* 32 : 123-62, 1998
- 18) Kumada A, Komase K, Nakayama T : Recombinant measles AIK-C strain expressing current wild-type hemagglutinin protein. *Vaccine* 22 : 309-316, 2004
- 19) Uejima H, Komase K, Nakayama T : Passage in Vero cells alters the characteristics of measles AIK-C vaccine strain. *Vaccine* 24 : 931-936, 2006
- 20) Rota PA, Liffick SL, Rota JS, Katz RS, Redd S, Papania M, Bellini WJ : Molecular epidemiology of measles viruses in the United States, 1997-2001. *Emerg Infect Dis* 8 : 902-908, 2002
- 21) Riddell MA, Rota JS, Rota PA : Review of the temporal and geographical distribution of measles virus genotypes in the prevaccine and postvaccine eras. *Virology J* 2 : 87-95, 2005
- 22) WHO. New genotype of measles virus and update on global distribution of measles genotypes. *Wkly Epidemiol Rec* 80 : 347-351, 2005
- 23) Nakayama T, Mori T, Yamaguchi S, Sonoda S, Asamura S, Yamashita R, Takeuchi Y, Urano T : Detection of measles virus genome directly from clinical samples by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and genetic variability. *Virus Research* 35 : 1-16, 1995

- 24) Yamaguchi S : Identification of three lineages of wild measles virus by nucleotide sequence analysis of N, P, M, F and L genes in Japan. *J Med Virol* 52 : 113-120, 1997
- 25) Takahashi M, Nakayama T, Kashiwagi Y, Takami T, Sonoda S, Yamanaka T, Ochiai H, Ihara T, Tajima T : A single genotype of measles virus is dominant whereas several genotypes of mumps virus are co-circulating. *J Med Virol* 62 : 278-285, 2000
- 26) Zhou J, Fujino M, Inou Y, Kumada A, Aoki Y, Iwata S, Nakayama T : H1 genotype of measles virus was detected in outbreaks in Japan after 2000. *J Med Virol* 70 : 642-648, 2003
- 27) Nakayama T, Fujino M, Yoshida : Molecular epidemiology of measles virus in Japan. *Pediatric Int* 46 : 214-223, 2004
- 28) Mizuta K, Abiko C, Murata T, Yamada K, Ahiko T, Sakamoto M, Tsuchida S, Matsuzaki Y, Hongo S, Sunagawa T, Kudo K : An outbreak of measles virus infection due to genotype D9 at a junior high school in Yamagata, Japan in 2004. *Jpn J Infect Dis* 58 : 98-100, 2005
- 29) Sonoda S, Nakayama T : Detection of measles virus genome in lymphocytes from asymptomatic healthy children. *J Med Virol* 65 : 381-387, 2001
- 30) Sonoda S, Kitahara M, Nakayama T : Detection of measles virus genome in bone-marrow aspirates from adults. *J Gen Virol* 83 : 2485-2488, 2002
- 31) Orenstein WA, Strebel PM, Papania M, Sutter RW, Bellini WJ, Cochi SL : Measles eradication : is it our future? *Amer J Pub Health* 90 : 1521-1525, 2000
- 32) Wakefield AJ, Murch SH, Anthony A, Linnell J, Casson DM, Malik M, Berelowitz M, Dhillon AP, Thomson MA, Harvey P, Valentine A, Davies SE, Walker-Smith JA : Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive developmental disorder in children. *Lancet* 351 : 637-641, 1998
- 33) Atkinson P, Cullinan C, Jones J, Fraser G, Maquire H : Large outbreak of measles in London : reversal of health inequalities. *Arch Dis Child* 90 : 424-425, 2005
- 34) Zandotti C, Jeantet D, Lambert F, Waku-Kouomou D, Wild F, Freymuth F, Harle JR, de Lamballeria X, Charrel RN : Re-emergence of measles among young adults in Marseilles, France. *Eur J Epidemiology* 19 : 891-893, 2004
- 35) Fujino M, Yoshida N, Yamaguchi S, Hosaka N, Ota Y, Notomi T, Nakayama T : A simple method for the detection of measles virus genome by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *J Med Virol* 76 : 406-413, 2005

原 著

脱神経により廃用性萎縮をきたしたラット骨格筋に対する
培養筋芽細胞の移植

慶應義塾大学医学部形成外科学教室

こやま たろう
小山太郎

ABSTRACT

Myoblasts transplantation into denervated rat muscles

Taro Koyama, M.D.

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Keio University School of Medicine

The purpose of this investigation is to observe whether cultured myoblasts take in denervated muscle and differentiate myofiber without reinnervation. Cultured myoblasts survived in not only intact muscle but also denervated muscle without reinnervation at 1 week after transplantation. The cells differentiated myofibers in both intact and denervated muscles at 2 weeks and 4 weeks after transplantation. The ratio of denervated muscle weight to intact muscle weight decreased from 1 week to 4 weeks after myoblasts transplantation, but the decrease is not significant for first 2 weeks. These data suggest that transplanted myoblasts could survive and differentiate myofibers in denervated muscle and myoblasts transplantation before reinnervation may prevent denervated muscle atrophy and improve muscle regeneration after nerve repair.

Key Words : skeletal muscle, satellite cells, myoblasts, denervation, cell transplantation

緒 言

脱神経された骨格筋は筋線維が縮小し、廃用性萎縮が進行し筋力は急速に低下する¹⁻⁶⁾。骨格筋の筋線維の基底膜下には筋原性幹細胞である筋衛星細胞が存在し、筋損傷時にはこの筋衛星細胞が増殖し、損傷部位の筋再生が起こる^{7, 8)}。ラットの骨格筋を脱神経すると、3ヶ月間は筋衛星細胞は増殖し続けるが、筋肉への神経再支配が起こらない限り増加した筋衛星細胞による筋再生は起こらず、やがて筋衛星細胞は枯渇していく^{4, 9, 10)}。よって脱神経後、神経再支配までの期間が長くなるほど、筋衛星細胞の減少は進行し、神経筋接合部位の退行変性もあわせて、神経再支配後の筋力の回復は低下する^{9, 11)}。われわれは筋芽細胞を移植することで脱神経後の萎縮筋

内における筋衛星細胞の減少を補充することができれば、神経再支配後の筋再生、筋力改善を向上させられるとの仮説を立てた。

筋芽細胞を用いた細胞移植治療としてはデュシェンヌ型筋ジストロフィー^{12, 13)}や心筋梗塞後の心不全に対する治療報告がある^{14, 15)}。筋ジストロフィー mdx マウスの筋内に、ジストロフィン産生能をもった正常マウスの筋芽細胞を注射したところ、移植筋芽細胞がジストロフィンの欠損した筋細胞と融合し、筋細胞膜にジストロフィンを発現することに成功している¹²⁾。また虚血性心疾患の患者に対して、自家培養筋芽細胞を移植して心機能が改善したという報告もある^{14, 15)}。しかしながら、廃用性萎縮骨格筋に対する筋芽細胞移植の報告は少なく、移植した筋芽細胞が神経再支配の起きていない脱神経下の筋

肉に生着しうるのか否かは不明である。われわれは、green fluorescent protein (GFP) transgenic ラットの 下腿筋から筋芽細胞を採取、培養した。この培養筋芽細胞を脱神経による廃用性萎縮骨格筋に移植し、移植した筋芽細胞が神経再支配なしに生着しうるか、さらに筋線維に分化しうるのか否かを検討した。

材料と方法

雄の5週齢の Jcl/ Sprague-Dawley (SD) ラット (日本クレア) 11匹を用いた。手術操作はネブタール腹腔内麻酔下 (60 mg/kg) で無菌的に行った。手術操作後、ラットは別々のゲージで飼育した。ラットの手術及び飼育は本大学の動物実験倫理規定を遵守し行った。

脱神経：顕微鏡下に右坐骨神経を膝窩で切断した。切断した神経の筋肉への再支配を防ぐ為に両断端を8-0 ナイロン糸で結紮した。

筋芽細胞移植：神経切断から40日後に、あらかじめ培養しておいた雄の成獣 green fluorescent protein (GFP) transgenic Sprague-Dawley (SD) ラット (関西医科大学第一病理学教室足立靖先生よりご提供いただいた) 由来の筋芽細胞を脱神経した右腓腹筋と、健側の左腓腹筋に移植した。Preplating 操作^{16), 17), 18)}を7回行った筋芽細胞、約 1×10^6 個を300 μ l の PBS に浮遊させ 26 G インスリンシリッジを用いて直視下で注射した。

筋芽細胞の採取と培養：筋芽細胞の採取、培養には Yaffe らが報告した preplating technique を用いた^{16), 17), 18)}。雄の成獣 GFP トランスジェニック SD ラットの下腿筋を切除し、結合織を取り除いた後にメス刃で細切し、0.25%トリプシン EDTA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) と0.5 mg/ml コラゲナーゼ (和光純製薬、日本) にて37°Cの恒温器内で処理し細胞を遊離させた。細胞浮遊液を培養皿に移し、細胞を培養した。培地は Ham's F10 nutrient mixture (GibcoBRL, Gaithersburg, MD) に20%牛胎児血清、5 ng/ml bFGF、1%ペニシリン/ストレプトマイシン (Sigma-Aldrich) を添加して用いた。Preplating 操作により7継代した細胞を用意した。

免疫組織化学評価：細胞移植から1週、2週、4週目にラットの両腓腹筋 (右：脱神経、左：正常) を採取した。採取した腓腹筋は湿重量を計測した後、4%パラホルムアルデヒドで固定し OCT コンパウンドを用いて包埋し、液体窒素 (-160°C) で凍結して-80°Cで保存した。凍結保存した腓腹筋からクライオスタットを用いて長軸方向に8 μ m の厚さで切片を作成し空気乾燥した後

にアセトンに5分間浸漬し切片を固定した。蛍光免疫染色には以下の抗体を用いた。ウサギ Alexa Fluor488 化抗 GFP 抗体 (Invitrogen, Carlsbad, CA)、マウス抗 vimentin 抗体 (Sigma-Aldrich)、ウサギ抗 desmin 抗体 (Sigma-Aldrich)、マウス抗 skeletal myosin (FAST) 抗体 (Sigma-Aldrich)、マウス抗 α smooth muscle actin 抗体 (Sigma-Aldrich)、ヤギビオチン化抗ウサギ IgG (VECTOR, Burlingame, CA)、ウマビオチン化抗マウス IgG (VECTOR)。核染色には Hoechst 33258 solution (DOJINDO, 日本) を用いた。発色には Streptavidin texas red (Amrsham pharmacia biotech, UK) を用いた。

検体を PBS で希釈したそれぞれの一次抗体 (マウス抗 vimentin 抗体、ウサギ抗 desmin 抗体、マウス抗 skeletal myosin (FAST) 抗体、マウス抗 α smooth muscle actin 抗体) と1時間反応させた。その後 PBS で5分間、3回洗浄した後に二次抗体と (ウサギ抗 desmin 抗体にはビオチン化抗ウサギ IgG を、マウス抗 vimentin 抗体、マウス抗 skeletal myosin (FAST) 抗体、マウス抗 α smooth muscle actin 抗体にはビオチン化抗マウス IgG を用いた) 30分間反応させ、再び PBS で3回洗浄した。最後に Streptavidin texas red, Hoechst, ウサギ Alexa Fluor 488 化抗 GFP 抗体の混合液で30分間反応させた。各抗体は添付文書に記載された推奨濃度で使用した。標本は蛍光顕微鏡 (OLYMPUS SYSTEM MICROSCOPE BX51) にて鏡検した。vimentin 陽性細胞は fibroblastic cell, desmin 陽性細胞は myogenic cell と判断した。

結 果

免疫組織化学評価：細胞移植後、1週、2週および4週で、右腓腹筋 (脱神経) と左腓腹筋 (正常) の両側に GFP または抗 GFP 抗体で発色される移植細胞が認められた。

移植後1週では、筋線維の周囲に GFP 陽性の単核細胞が多数観察された (図1)。これらの GFP 陽性細胞は vimentin 陰性、desmin 陽性を示した。また、移植後1週の時点では、GFP 陽性の筋線維は認められなかった。

細胞移植後2週では GFP 陽性の筋線維が観察された。これら GFP 陽性の筋線維は vimentin 陰性、desmin 陽性、skeletal myosin 陽性、 α smooth muscle actin 陰性であった (図2、図3)。移植細胞が筋原細胞で、筋線維に融合し骨格筋として分化したことが示唆された。

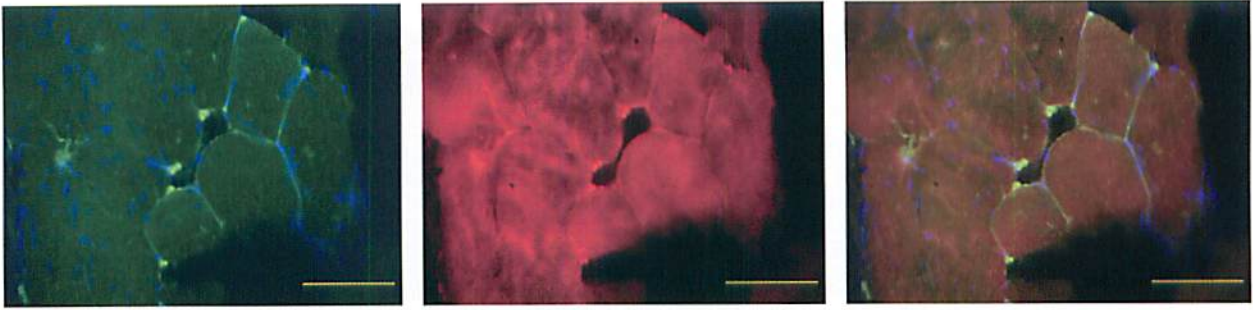


図1 細胞移植1週後の右腓腹筋(脱神経)の横断面
筋線維周囲に緑色に強く蛍光した GFP 細胞が確認できた(左), 筋線維と GFP 細胞は desmin 陽性であった(中央), 画像を重ねて GFP 細胞が desmin 陽性であることが確認できた(右), スケールバー(黄色線)は100 μm .

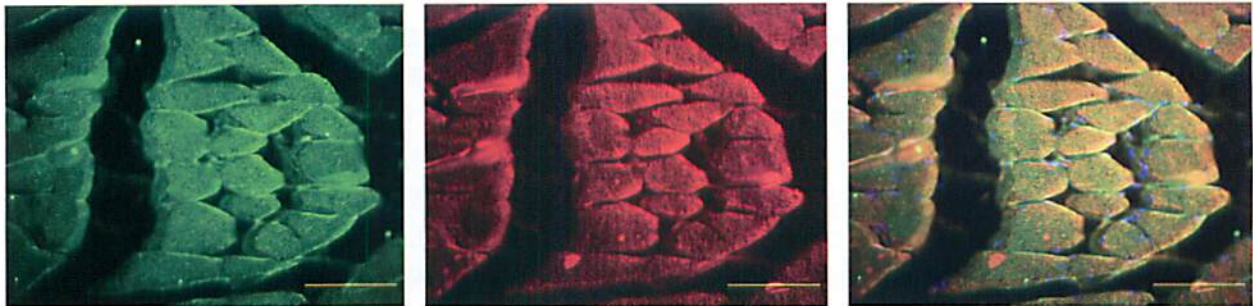


図2 細胞移植2週後の左腓腹筋(正常)の横断面
筋線維内に GFP が認められた(左), 筋線維は myosin 陽性であった(中央), 画像を重ねて筋線維内の GFP が myosin 陽性であることが確認できた(右), スケールバー(黄色線)は100 μm .

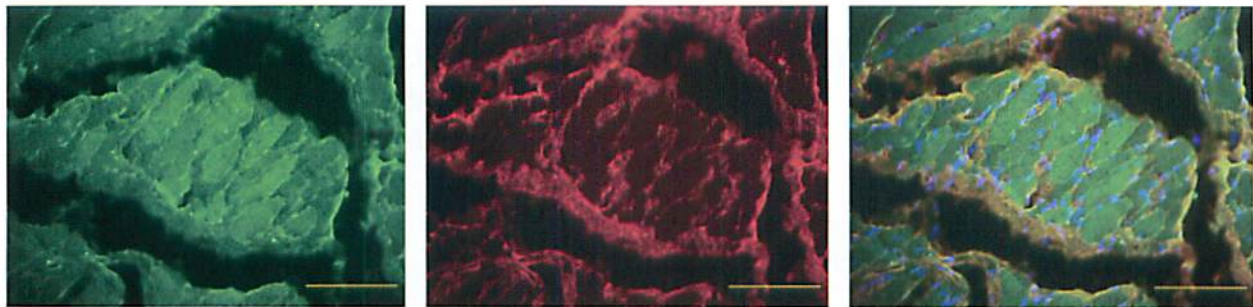


図3 細胞移植2週後の右腓腹筋(脱神経)の横断面
筋線維内に GFP が認められた(左), 筋線維は vimentin 陰性であった(中央), 画像を重ねて筋線維内の GFP が vimentin 陰性であることが確認できた(右), スケールバー(黄色線)は100 μm .

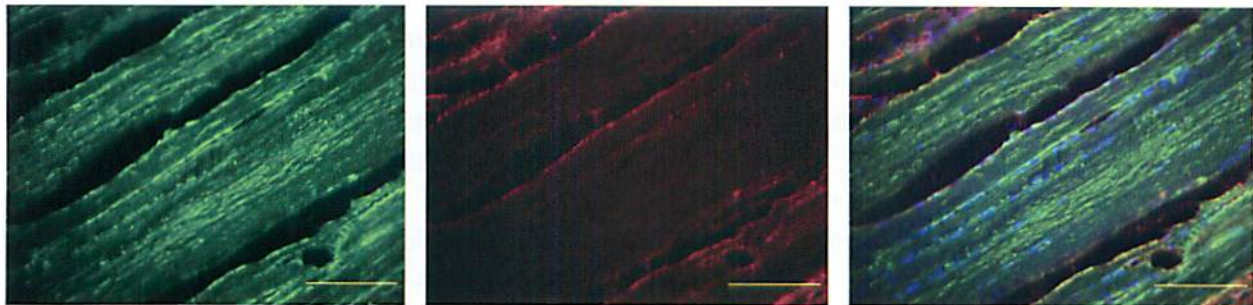


図4 細胞移植4週後の右腓腹筋(脱神経)の縦断面
筋線維内に GFP が認められた(左), 筋線維は α smooth muscle actin 陰性であった(中央), 画像を重ねて筋線維内の GFP が α smooth muscle actin 陰性であることが確認された, スケールバー(黄色線)は100 μm .

表1

	group 1 cell+(n=4)	group 2 cell+(n=4)	group 3 cell+(n=3)
体重(g)	327±33	346±26	434±31
右(脱神経)腓腹筋湿重量(g)	0.59±0.07	0.6±0.1	0.66±0.10
左(正常)腓腹筋湿重量(g)	2.13±0.12	2.29±0.36	2.96±0.22
右(脱神経)腓腹筋湿重量/体重×1000	1.85±0.27	1.71±0.26	1.50±0.15
左(正常)腓腹筋湿重量/体重×1000	6.68±0.54	6.50±0.57	6.80±0.15
右腓腹筋湿重量/左腓腹筋湿重量	0.27±0.02	0.26±0.03	0.22±0.02

group 1, 1 week after cell transplantation ; group 2, 2 weeks after cell transplantation ; group 3, 4 weeks after cell transplantation. Data are means±SEM. n. number of rats

細胞移植から4週後ではGFP陽性の筋線維が多数認められ(図4), 移植2週後の免疫染色結果と同様にvimentin陰性, desmin陽性, skeletal myosin陽性, αsmooth muscle actin陰性であった。移植細胞は筋線維に融合し, 4週後においても生着していることが確認できた。

筋重量評価: 筋芽細胞移植後1週, 2週, 4週の各時点で, ラットの体重は増加しており, これに比例して左腓腹筋(正常)の湿筋重量も増加していった。各時点での左腓腹筋湿重量/ラット体重の比は, ほぼ一定であった。しかしながら右腓腹筋湿重量/ラット体重の比は, 時間経過とともにわずかに減少していった。右腓腹筋湿重量(脱神経)と左腓腹筋湿重量(正常)の比も移植後1週から4週の間減少していったが, 移植後2週においてはその減少はわずかであった(表1)。

考 察

脱神経された筋では, 筋衛星細胞が一過性に増加するものの, 代償的に働くことができないまま廃用性萎縮が進行し, やがて筋衛星細胞は枯渇してしまう^{4, 9, 10}。脱神経後の筋衛星細胞の変化については様々な報告がある。脱神経により筋衛星細胞はアポトーシスを起こしやすくなる¹⁹。という報告や, 脱神経後の筋衛星細胞内では細胞周期の抑制因子であるGADD45およびp21のmRNAの発現が大幅に増加する²⁰という報告がある一方で, 脱神経後も筋衛星細胞自体の再生能, 分化能は維持されており, 周囲の細胞環境により融合が阻害されているだけであるとの報告もある^{6, 10}。このように, 脱神経後の筋肉内の筋衛星細胞については不明な点が多く, 培養筋芽細胞を移植した場合, どのようなことになるのかといった報告は現時点ではない。

われわれが渉猟した限りでは, 今回の実験が廃用性萎縮骨格筋に対する脱神経下での筋芽細胞移植の初めての報告である。今回, われわれは脱神経後の廃用性萎縮骨

格筋に移植した培養筋芽細胞が, 神経再支配がなくとも, 移植後4週までは廃用性萎縮骨格筋内で生着し, 筋線維に融合していることを確認した。

血管柄なしの遊離の筋移植片が筋芽細胞の供給源となりうると考えたChammasらは坐骨神経切断から3ヵ月後に神経縫合を行い, この3週間後に下腿三等筋に血管柄なしの遊離筋弁移植を行い, 筋力の大幅な改善を報告している²¹。Lazergesらはウサギの脱神経廃用性萎縮骨格筋に神経縫合を行い, 神経再支配後に筋芽細胞を移植することで筋力の改善を報告している²²。このように, 筋芽細胞移植は脱神経による廃用性萎縮を抑制し神経再支配後の筋力を改善する可能性がある。今回, われわれの実験では筋芽細胞移植のみで神経縫合を行っていないが, 移植後2週までは脱神経による筋重量の減少はわずかであった。この結果から脱神経後の神経縫合前の時期に筋芽細胞を移植することで廃用性萎縮の進行を抑制し, 神経縫合後の筋力回復結果を改善できる可能性が示唆された。

総 括

廃用性萎縮骨格筋に対する筋芽細胞移植の報告は少なく, 移植した筋芽細胞が神経再支配の起きていない脱神経下の筋肉に生着しうのかどうかは不明である。われわれは, green fluorescent protein transgenicラットの下腿筋から筋芽細胞を採取, 培養し, この培養筋芽細胞を脱神経により廃用性萎縮をきたした腓腹筋に移植し, 移植した筋芽細胞が神経再支配なしに生着しうのか, さらに筋線維に分化しうのかを検討した。脱神経後に移植した筋芽細胞は, 神経再支配がなくとも移植後1週で生着しており移植後2週には筋線維への融合が確認された。移植後4週においても筋線維に融合した移植細胞が確認できた。筋重量の計測では, 脱神経後, 筋重量は減少していったが, 移植後2週までは筋重量の減少はわずかであった。これらの結果から脱神経後の神経縫合前の時期

に筋芽細胞を移植することで廃用性萎縮の進行を抑制し、神経縫合後の筋力回復結果を改善できる可能性が示唆された。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、本研究の機会を与えていただき、また御指導御校閲を賜りました慶應義塾大学医学部形成外科学教室、中島龍夫教授に深甚なる謝意を表します。また直接研究の御指導をいただきました慶應義塾大学医学部形成外科学教室貴志和生講師に深謝いたします。さらに、本研究に御協力していただいた国立病院機構東京医療センター形成外科佐藤博子先生、慶應義塾大学医学部形成外科学教室玉田一敬先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Schmalbruch H. : Growth and denervation response of skeletal muscle fibers of newborn rats. *Muscle Nerve* 13 : 421-32, 1990
- 2) al-Amood WS, Lewis DM, Schmalbruch H : Effects of chronic electrical stimulation on contractile properties of long-term denervated rat skeletal muscle. *J Physiol* 441 : 243-56, 1991
- 3) Schmalbruch H, Lewis DM : A comparison of the morphology of denervated with aneurally regenerated soleus muscle of rat. *J Muscle Res Cell Motil* 15 : 256-266, 1994
- 4) Rodrigues A de C, Schmalbruch H : Satellite cells and myonuclei in long-term denervated rat muscles. *The Anat Rec* 243 : 430-437, 1995
- 5) Isfort RJ, Hinkle RT, Jones MB, Wang F, Greis KD, Sun Y, Keough TW, Anderson NL, Sheldon RJ : Proteomic analysis of the atrophying rat soleus muscle following denervation. *Electrophoresis* 21 : 2228-2234, 2000
- 6) Borisov AB, Dedkov EI, Carlson BM. : Abortive myogenesis in denervated skeletal muscle : differentiative properties of satellite cells, their migration, and block of terminal differentiation. *Anat Embryol* 209 : 269-279, 2005
- 7) Hawke TJ, Garry DJ : Myogenic satellite cells : physiology to molecular biology. *J Appl Physiol* 91 : 534-551, 2001
- 8) Morgan JE, Partridge TA : Muscle satellite cells. *Intern J Biochem Cell Biol* 35 : 1151-1156, 2003
- 9) Carlson BM, Faulkner JA : Reinnervation of long-term denervated rat muscle freely grafted into an innervated limb. *Exp Neurol* 102 : 50-56, 1988
- 10) Borisov AB, Dedkov EI, Carlson BM : Differentiation of activated satellite cells in denervated muscle following single fusions in situ and in cell culture. *Histochem Cell Biol* 124 : 13-23, 2005
- 11) Ijkema-Passen J, Meek MF, Gramsbergen A : Reinnervation of muscles after transection of the sciatic nerve in adult rats. *Muscle Nerve* 25 : 891-897, 2002
- 12) Jankowski RJ, Haluszczak C, Trucco M, Huard J : Flow cytometric characterization of myogenic cell populations obtained via the preplate technique : potential for rapid isolation of muscle-derived stem cells. *Hum Gene Ther* 12 : 619-628, 2001
- 13) Lynch GS : Therapies for improving muscle function in neuromuscular disorders. *Exerc Sport Sci Rev* 29 : 141-148, 2001
- 14) Chachques JC, Acar C, Herreros J, Trainini JC, Prosper F, D'Attellis N, Fabiani JN, Carpentier AF : Cellular cardiomyoplasty : clinical application. *Ann Thorac Surg* 77 : 1121-30, 2004
- 15) Pagani FD, DerSimonian H, Zawadzka A, Wetzel K, Edge AS, Jacoby DB, Dismore JH, Wright S, Aretz TH, Eisen HJ, Aaronson KD : Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. *J Am Coll Cardiol* 41 : 879-888, 2003
- 16) Richler C, D'Yaffe : The *in vitro* cultivation and differentiation capacities of myogenic cell lines. *Dev Biol* 23 : 1-22, 1970
- 17) Rando TA, Blau HM. : Primary Mouse Myoblast purification, characterization, and transplantation for cell-mediated gene therapy. *J Cell Biol* 125 : 1275-1287, 1994
- 18) Qu Z, Balkir L, Van Deutekom JCT, Robbins PD, Pruchnic R, Huard J : Development of approaches to improve cell survival in myoblast transfer therapy. *J Cell Biol* 142 : 1257-1267, 1998
- 19) Jejurikar SS, Marcelo CL, Kuzon WM Jr : Skeletal muscle denervation increases satellite cell susceptibility to apoptosis. *Plast Reconstr Surg* 110 : 160-168, 2002
- 20) Caiozzo VJ, Wu YZ, Baker MJ, Crumley R : Effects of Denervation on cell cycle control in laryngeal muscle. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 130 : 1056-1068, 2004
- 21) Chammas M, Rabischong E, Picot MC, Gaviria M, Roger P, Micallef JP, Prefaut C, Allieu Y : Functional and histologic effects of a free nonvascularised muscle graft implanted into a reinnervated muscle after prolonged denervation. *Microsurgery* 17 : 545-50, 1996
- 22) Lazerges C, Daussin PA, Coulet B, Boubakerel Andaloussi R, Micallef JP, Chammas M, Reyne Y, Bacou F : Transplantation of primary satellite cells improves properties of reinnervated skeletal muscles. *Muscle Nerve* 29 : 218-226, 2004

メタボリックシンドロームと アディポサイトカイン

最近テレビや新聞などでメタボリックシンドロームに関して報道される機会が増加しており、厚生労働省もその対策に取り組む方針である。メタボリックシンドロームは内臓脂肪型肥満が必須項目であり、病態の上流に位置づけられており、その内臓脂肪型肥満がインスリン抵抗性と密接に関連して高血圧、脂質代謝異常、耐糖能異常などの冠危険因子と複雑な相互作用を示し、動脈硬化症の形成に関与している病態である。1980年代後半より「死の四重奏」、「インスリン抵抗性症候群」、「内臓脂肪症候群」などの病態が提唱されてきたが、今回これらの概念がメタボリックシンドロームとして統一された。2005年4月日本内科学会、日本循環器学会、日本高血圧学会など8学会が検討し、本邦の診断基準を作成した。本邦の基準では腹囲による内臓脂肪型肥満が必須項目であり、血圧高値、血糖高値、脂質代謝異常の3つのうち2つ以上満たすことを条件としている。A) 内臓脂肪型肥満〔必須項目〕ウエスト周囲径が男性85 cm以上、女性90 cm以上。これはCT上内臓脂肪100 cm²以上に相当する。B) 以下の3項目のうち2つ以上満たすことを条件とする。

- (1)血圧高値 収縮期血圧130 mmHg以上かつ/または拡張期血圧85 mmHg以上。
- (2)血糖高値 空腹時血糖110 mg/dl以上。
- (3)脂質代謝異常 血清中性脂肪150 mg/dl以上かつ/またはHDLコレステロール40 mg/dl未満。

脂肪細胞は単なるエネルギーの貯蔵器官ではなく、さまざまな生理活性物質（アディポサイトカイン）を分泌している内分泌器官であり、アディポサイトカインの分泌異常、機能異常がメタボリックシンドロームの病態に複雑に関与していることが最近明らかになってきた。アディポサイトカインには善玉のアディポネクチン、悪玉のTumor Necrosis Factor (TNF α)、PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor Type 1)、レプチンなどが存在する。

アディポネクチンは脂肪細胞から特異的に発現が認められる物質であり、インスリン感受性促進作用、抗糖尿病作用、抗動脈硬化作用を持つことが明らかにされている。しかしながら脂肪細胞が肥大した内臓脂肪型肥満の状態ではアディポネクチンの発現、分泌が低下し、血中濃度が減少してくる特徴がある。アディポネクチンが減

少すると動脈硬化性プラーク破綻、虚血後再還流心筋障害、インスリン抵抗性促進、糖尿病発症に関与することが明らかになってきた。したがってアディポネクチンはメタボリックシンドロームの病態における中核的な分子であると考えられ、今後簡便な測定方法の開発が望まれる。

TNF α は筋肉、脂肪組織、肝臓での糖取り込みを抑制し、インスリン抵抗性を惹起し、アディポネクチンの産生を抑制し、PAI-1の活性化を誘導する。インスリンの受容体以降の情報伝達を抑制することによりインスリン感受性を下げ、インスリン抵抗性を増大させると考えられている。またTNF α は血管機能に障害を与える炎症性サイトカインとしても知られており、軽度の炎症が持続することがメタボリックシンドロームの特徴のひとつであり、高感度CRPは陽性を示すことが多い。

PAI-1は血栓形成に関与するアディポサイトカインとして冠動脈疾患など動脈硬化性疾患の発症との関連で注目されている。肥満形成時に内臓脂肪で特にその発現が上昇し、線溶活性の低下、血栓形成増悪に関与する。肥満、糖尿病患者では健常対照群と比較して血中PAI-1濃度は3倍に上昇する。逆に生活習慣改善による動脈硬化危険因子のコントロールはアディポネクチンの上昇とPAI-1の低下をきたすことにより冠動脈疾患の発症、進行を抑制しうると考えられる。

内臓脂肪型肥満では体脂肪量に比例して血中レプチン濃度は上昇しており、高レプチン血症が慢性的に存在する。レプチンは視床下部に働いて交感神経系を活性化させ、血圧を上昇させたり、インスリン抵抗性をもたらす。肥満によるインスリン抵抗性に関連した高血圧に関しては血管周囲の脂肪組織から分泌されるアディポサイトカインの局所作用により血管平滑筋および内皮細胞の機能が障害されていることを重視する報告もある。

脂肪細胞からさまざまなアディポサイトカインが分泌され、メタボリックシンドロームの病態生理に関与していることが解明されてきたのはこの数年来のことである。今後アディポネクチンの血中濃度がメタボリックシンドロームの治療マーカーとして活用されることも予測される。アディポサイトカインに対する遺伝子解析が臨床医学、予防医学の分野に応用され、メタボリックシンドロームの治療方針に貢献することが期待される。更に日本人を対象としたメタボリックシンドロームの治療に関するエビデンスの集積、重症度分類が重要である。

酒井 隆（ブリヂストン本社健康管理センター診療所長）

乳児院にて

私は縁あって、4年前から二つの乳児院に係るようになりました。乳児院とは勿論、様々な理由から家族と離れなければならない乳児を養育する施設です。その昔は、収容されるのは戦争孤児だったり、母子家庭の母親が就労するために、泣く泣く子どもを預けたりといったといったケースがほとんどだったようですが、時代の変化に伴って現代では、こども達の30%強が被虐待児です。乳児院での初日、こんなにも大勢の子ども達が親に虐待を受けたと知って、長く小児科医を続けている私でさえ衝撃を受けました。

骨折、火傷、頭蓋内出血などの後遺症に苦しみ、知的発達が遅れ、麻痺が残っている子もいます。大人に対して怯えたような目を向ける子ども達が、乳児院にたどり着くまでの記録からは、ニュースで知っているはずの社会問題がより生々しく、現実として伝わってきます。

未熟児だったために障害が残った我が子をどうしても愛せず、虐待してしまった症例があり、「新生児期の治療が後遺症なしにできてさえいたら、この子の人生は変わっていたのではないか」と小児科医として反省し、新生児、未熟児治療の段階での母子分離の問題も改善しなくてはならないと思いました。また、「子育てをやってみただけで、面倒くさくて無理」とネグレクトした若い母親に、「子育ては大変だけれど楽しい、泣くことも多いけれど、笑うことがたくさんある」といった母性の幸せを、先輩の母親からしっかりと伝えることができていれば、子どもを捨てないですんだかもしれないと考えました。小児科医の仕事は、病気を治すことだけではないと実感しています。

被虐待児の他には、母親の精神疾患のために養育が難しく、保護されて来る児が目立ちます。次々と出産しては、子ども全員を施設に預けている母親や、妊娠出産がもともと無理だったと思われる精神疾患の母親が見られるのは残念です。勿論、ティーンエージャーの母親など、望まれない妊娠であったために、分娩後すぐ保護される子どもが減る傾向はありません。

保母さん達の愛情を受けて成長した子ども達のうち、家族による引き取りや、養子縁組が成り立つのはほんのわずかで、ほとんどの子ども達は、3歳で次の施設に移っていきますが、一人が退所すればすぐ次の児が入所してきます。こんなに多くの子ども達が不幸な目にあっているということは実に驚きです。

一方、最近では子育て支援の一環として、両親が仕事や所用で保育できない時に、安価で子どもを乳児院で預

かるシステムが稼働しています。少子化の歯止めにと考察されたことですが、一週間預けている間に風邪がうつったと苦情を言う両親を見たとき、何やら複雑な思いでした。子どもは病気をしながら成長するものだという事、特に集団の中では感染する確率が高いことさえ知らずに子育てをしているのです。

子ども達を健やかに育てるためには、親が正しい知識と健やかな心を持っていなければなりません。出生率を上げても、きちんと育てられないのでは意味がありません。少子化対策として、保育園の充実など様々な対策を立てることも大切ですが、一方で、親としてふさわしい大人を教育し、育てることも急務と思われれます。大人たちの勝手に乳児院に収容される子ども達がこれ以上増えないように、小児科医として、若い世代を育てた親として何かできることがないかと模索しつつ、今日も乳児院で診察をしています。

斐澤眞理(東京都済生会中央病院小児科)

小児在宅訪問医療への取り組み

在宅訪問医療、聞きなれた言葉ではありますが我々病院勤務の医師にとっては、実践するにはかなりの障壁があります。一般には小児科は急性疾患を扱う科とのイメージが強いものと思いますが、長期入院のあけく後遺症を残し退院していく未熟児、退院後も人工呼吸器が必要な患児など症例数は少ないものの現場では非常に必要性を感じておりました。平塚市民病院では平成8年からこれまで成人に先駆けて小児の在宅訪問医療に取り組んできました。

最初に在宅医療を行ったAちゃん、在胎29週1380グラムで出生した極低出生体重児、慢性肺障害III型の患児で非常に思い出深い症例でした。出生時からの人工呼吸管理が長期におよんだことによる気管狭窄、声帯麻痺により抜管困難となりました。御家族は気管切開を希望されず、その後ついに2歳8ヶ月時に人工呼吸器から離脱に成功しました。2歳11ヶ月に経口摂取もほぼ確立し退院となりましたが、退院に対する家族の不安も強く、また呼吸障害も残存しており感染機会を減少を目的として3歳から3歳6ヶ月まで在宅訪問を行いました。在宅訪問導入にあたり、この第一例目には色々なエピソードがありました。当時、在宅訪問は病院として公的には認められておらず、勤務時間内に市民病院の医師が病院以外の場所で往診という形で診療行為を行うことは許されず、開業医の往診に同行するという形で時間外に訪問を行いました。その後、時代の流れと共に平成10年から

は病院全体として地域医療支援室という新しい組織を立ち上げ、小児・成人を含め当院の医師、看護師、地域の開業医、保健師、訪問看護ステーションと連携し在宅訪問医療を推進してきました。

病院として初めて公的な形で在宅訪問医療を行った第一例目、R君は生まれながらに睡眠中に無呼吸になってしまう難病、原発性中枢性肺胞低換気症候群（オンディーヌの呪い）で、在宅人工呼吸管理を行いました。生後4ヶ月時に気管切開を行い、在宅に向け家族へ人工呼吸器の取り扱い、吸引の指導を行い1歳1ヶ月時退院になりました。退院後は開業医、訪問看護ステーションとも連携をとり、当院からは1ヶ月に一度訪問し、耳鼻科医による気管カニューレの交換、ファイバーによる気管内肉芽の評価、小児科医による診察を行いました。その後、4歳1ヶ月まで訪問医療を行い、集団への参加、養護施設への入所を契機に訪問を中止しました。

地域医療支援室の役割は1. 医療依存度の高い患者の退院準備に向け病棟スタッフと協力し患者、家族へ看護、介護の支援を行う2. 訪問看護ステーション、保健師、開業医等の地域の関係機関が機能し在宅介護が安定するまでの期間、関係機関と連携、協同し支援を行う3. 必要に応じ在宅訪問医療を行う、事です。地域医療支援室は在宅を行いたい患者が発生した時、主治医、看護師、ソーシャルワーカーの窓口になるばかりでなく、地域の開業医、保健師、訪問看護ステーションの窓口、患者や家族の相談、照会窓口としても機能しています。

一般に在宅医療の適応は成人では経管栄養、気管切開、在宅酸素療法、在宅人工呼吸管理などを行っている医療依存度の高い患者あるいは終末期の患者とされています。しかし、小児において終末期医療は少なく、むしろ下気道感染などで原病が悪化する恐れのある易感染患児や後遺症等により育児や介護に対する家族の不安の強い患児も対象に加えるべきであると考えています。病院への通院は、それだけで感染のリスクになりえます。この為、

我々は病院でしか行えない検査を除き、例えば血液検査などは在宅で行い結果は電話で報告するようにしています。

小児在宅医療の問題点は、第一になんと言っても小児科医不足で、実際に行いたくても不可能な施設も多いものと思います。当院のある平塚地区でも一病院あたりの小児科医が少なく24時間の救急は複数の病院による輪番制でかろうじて維持されており、在宅患児の救急対応が非常に困難な状況にあるのが現実です。第二に、これは実際に訪問を続けて感じたことですが、中止時期の判断が難しいことです。長期間訪問していると家族の希望や不安が強く、我々に対する依存度も高くなり、なかなか「訪問は終了にします」と言い難くなるのが現実です。最後に今後の課題ですが、第一は医師、看護師に在宅医療に詳しい専門的なスタッフを育成していくこと、第二に先程も述べましたが小児科医不足を解消しマンパワーを確保すること、第三に在宅の導入や中止の決定を医師のみではなく、看護師や連携する関係機関がともに検討できるシステムを構築していくことです。当院では4人の小児科医で外来や入院の診療の合間に、在宅訪問を行っています。確かにマンパワーとしては非常に厳しい時代ですが、特に在宅医療は地域の中核病院の使命であり、今後もより充実させていきたいと考えています。

在宅訪問を行ってきて患児や家族の幸福そうな素顔に触れた時、また患児が成長し無事に在宅を終了できた時、本当に小児科医になってよかったと思える一瞬です。私が小児科医になった20数年前、入局時に恩師が「君たちはダイヤモンドの原石です。おのおの大きさの差はあるが将来磨いて光り輝けるかです。」と言われました。小児科医不足が叫ばれるなか、今後も小児科医皆が少しでも磨き光り輝き、その光を見てより多くの若い先生が小児科医への道を選択し、臨床の現場で在宅医療といった仕事にも積極的に参加してくれる事を願っています。

山田健一朗（平塚市民病院小児科）

学会展望

第86回慶應医学会総会・シンポジウム

日時 平成18年11月10日（金）15時～18時30分

場所 慶應義塾大学病院 新棟11階大会議室

主催 慶應医学会

共催 慶應義塾大学医学部

15:00 開会の辞 副会長 相磯 貞和（慶應義塾大学医学部解剖学）

15:05 総会議事, 三四会奨励賞授与式

司 会 監事 鹿島 晴雄（慶應義塾大学精神・神経科学）

シンポジウム『病院としての安全対策と危機管理』

司会 戸山 芳昭（慶應義塾大学医学部整形外科学教授）

（16:00～16:25）

I. 「異状死の届出義務と医療従事者の刑事責任について」

古川 俊治（慶應義塾大学法科大学院助教授 医学部外科, TMI 総合法律事務所（弁護士））

（16:25～16:50）

II. 「診療行為に関連した死亡の調査分析モデル事業について」

上家 和子（厚生労働省大臣官房参事官（健康・医政担当））

（16:50～17:15）

III. 「私立大学病院医療安全推進連絡会議について」

落合 和徳（東京慈恵会医科大学附属病院副院長）

（17:15～17:40）

IV. 「東京大学医学部附属病院における医療安全対策と機構改革」

永井 良三（東京大学医学部附属病院病院長）

（17:40～18:05）

V. 「緊急時の情報リスクマネジメント」

後藤 正彦（株式会社博報堂コーポレートコミュニケーション局長）

16:00~16:25

I. 異状死の届出義務と医療従事者の刑事責任について

慶應義塾大学法科大学院助教授 医学部外科, TMI 総合法律事務所 (弁護士)

ふるかわ とし はる
古川 俊 治

I. 「異状死」をめぐる議論

医師法第21条は、「医師は、死体又は妊娠四月以上の死産児を検査して異状があると認めるときは、24時間以内に所轄警察署に届け出なければならない。」と規定しており、第33条の2により、この届出義務に違反したときは、50万円以下の罰金に処することとされている。東京都立広尾病院事件に関する最高裁判所平成16年4月13日判決は、「医師法21条にいう死体の「検査」とは、医師が死因等を判定するために死体の外表を検査することをいい、当該死体が自己の診療していた患者のものであるか否かを問わない」として、本規定の届出義務が、診療継続中の患者であっても、診療に係る傷病と関連しない原因で死亡し、死体を検査して異状が認められる場合にも生じるものであり、医療事故の場合にも生じることを示した。しかし、現実の臨床実践上、具体的に如何なる場合に、本届出義務が生じるのか不明であり、臨床現場で混乱を招いてきた。日本法医学会、日本外科学会をはじめとする諸学会の中で、行政側を交えて議論が行われ、2005年9月には厚生労働省がモデル事業を開始するに至ったが、本届出義務は相変わらず不明確なまま存続し、また、モデル事業の対象事案自体の不明確さもあり、状況は混乱したままである。

この規定の本来の趣旨は、死体又は死産児については、殺人、傷害致死、死体損壊、墮胎等の犯罪の痕跡を止めている場合があるので、司法警察上の便宜のためにそれらの異状を発見した場合の届出義務を規定したものである（旧厚生省：医師法解第16版）。ところが、この届出義務は、従来、十分に周知され、行われてきたわけではなかった。例えば、毒物混入による保険金目的連続殺人事件において、過去の不審死が「病死」として扱われていたために、犯罪発見が遅れていたことなどが指摘されている。そのため、一般的な異状死の範囲は広く捉えられるべきであろう。

これに対し、診療行為の多くは適切に行なわれてもある程度の合併症の発生を避けられないものであり、診療行為に関連した異状死の範囲については、慎重な考慮が必要である。警察官憲は医療に関する解析・検証能力が乏しいに

もかかわらず、医療機関においては刑事被疑の対象となること自体が、警察署の介入による患者との信頼関係の崩壊、関与した医療従事者の長期の大きな精神的・時間的負担、院内における不信感、マスコミの片面的報道、萎縮医療など、大きな問題となる。たしかに、医療事故に関して、何らかの報告制度があることは望ましいが、その主たる目的は、①事故情報を収集・分析し、再発防止に役立てること、②予期せぬ結果に至った診療行為について疑問がある場合、第三者による公正な検証が行なわれる手続を確保し、医療過程の透明性を向上し、国民から信頼される医療を構築することである。医師法21条の本来の趣旨は警察官が犯罪捜査の端緒を得ることを容易にすることにあり、この目的に適合するものではない。全国的・永続的な中立的第三者機関による医療事故の新しい報告制度を創設し、医師法21条関係の法令（施行規則等）を改正することが最も合理的な問題解決であると考えられる。

II. 医療従事者の刑事責任について

近年、医療過誤事件に関して、医師が逮捕され、また、執行猶予つきながら長期の禁錮刑に処せられるなど、医療従事者に対する刑事責任の厳格化が顕著である（特に、実際に過った医療行為を行った担当医だけでなく、その指導医にも、禁固刑が適用される事案も出ている）。この傾向には、多くの問題点がある。特に、本年2月に福島県において、帝王切開における癒着胎盤処置に関する母体出血死について、業務上過失致死・医師法違反の疑いで産科担当医が逮捕された事件については、地方の産科医不足の問題も含めて、社会的な議論に発展した。

犯罪容疑者を逮捕するには、刑事訴訟法上、①罪を犯したと疑うに足りる相当な理由があること（逮捕の理由）、②証拠隠滅や逃亡のおそれがあること（逮捕の必要性）、が要件として要求される。今回の福島県の事件の場合、報道によれば、すでに2005年4月に同院に対する強制捜査・証拠書類の押収が行われており、また、福島県も事故調査を行ったうえで報告書を作成し、担当医の判断ミスを認め

て遺族に謝罪した上で、6月には同医師を減給1カ月の懲戒処分、病院長を戒告処分としていた。また、同医師はその後大野病院唯一の産婦人科医として献身的に勤務し続け、逮捕当日も診療中であった、というのである。本件においては、逮捕の必要性が認められるかどうか、大きな疑問がある。

また、医療過誤に関する刑事責任を考えた場合、本来、法律上の過失を問うためには、行為者に予見可能性が無ければならないが、刑事罰の対象になるような実行上の過誤(薬剤取違え等)は、予見可能性が乏しい。達成目的と刑事制裁という手段の関係の合理性を考えてみても、過誤を起こす危険な医療従事者を排除することが目的なら(社会

防衛の趣旨)、行政処分が有効であるし、刑罰という制裁を明示して医療従事者に予防的心理を働かせることが目的なら(一般予防の趣旨)、予見可能性が乏しいので機能しないと考えられるし、被害患者を慰謝することが目的なら(応報の趣旨)、民事賠償と行政処分に対応可能であろう。このように、医療過誤に関する刑事責任には不合理な点が多い。実際、米英では、医療過誤に対しては刑事制裁はほとんど適用されていない。

医療従事者に対する刑事処分の行き過ぎた状況は、すでに臨床現場を萎縮させ、リスクの大きな診療科の医師数が不足するという事態を招いている。異状死の問題とともに、抜本的な問題解決が必要である。

16：25～16：50

Ⅱ. 診療行為に関連した死亡の調査分析モデル事業について

厚生労働省大臣官房参事官（健康・医政担当）

かみ や かず こ
上 家 和 子

わが国においては、平成11年に特定機能病院での患者取り違え事件が発生して社会問題となり、医療事故に対する国民の関心が高まる契機となった。

平成14年4月には医療安全対策検討会議が「医療安全推進総合対策」を策定し、医療機関内の安全管理体制の整備、医療安全支援センターの整備、ヒヤリハット事例の収集等、医療安全対策の体制整備が図られてきた。さらに平成15年12月「厚生労働大臣医療事故対策緊急アピール」を出し、「人」「施設」「もの」の三つの柱を立て、新たな取り組みと対策の強化を進めることとした。平成16年10月からは第三者機関（（財）日本医療機能評価機構）による事故事案等の収集事業が開始され、わが国における医療安全対策の大きな枠組みができてきた。今後、これらの施策を充実していきたい。

「診療行為に関連した死亡の調査分析モデル事業」は、このような対策の一環であり、平成16年9月（19学会）に日本外科学会を始めとして関係学会から「診療行為に関連した患者死亡の届出制度と中立的専門機関の創設に向けて結果として努力する」旨の声明が出されたことを受けて実施

するものである。診療行為に関連した死亡について、臨床医、法医、病理医による解剖や臨床医による調査を実施し、専門的、学際的なメンバーで死因究明及び再発防止策を総合的に検討する。評価結果は遺族、医療機関に報告する。モデル事業を通じて医療の透明性を高め、医療の安全性の向上を目指している。

従来より、医療の現場では「第三者による死因究明制度の創設」の要望が強く、第164回通常国会における審議においては、医師法21条、裁判外紛争処理制度、無過失補償、さらには死因究明制度に関し検討の必要性が述べられ、現在具体化に向けた検討が進められている。この「モデル事業」は、実施する中で制度化への課題を整理しながら基礎資料を収集するとともに、医療機関と患者遺族等との調整を担う人材の養成方法等について検討する旨が提言されており、将来の新しい制度につながっていく重要な事業と考えている。

安全、安心で良質な医療を確保するため、本モデル事業の現況と将来について考えを申し上げ、関係者のご理解とご協力をお願いしたい。

16:50~17:15

Ⅲ. 私立大学病院医療安全推進連絡会議について

東京慈恵会医科大学附属病院副院長

おち あい かず のり
落合和徳

国立大学附属病院が院長連絡会議を通じて医療安全に関わる活動の連携を深めるなか、私立大学附属病院は、それぞれ独自に医療安全に取り組んできた。私立大学病院はベッド数も多く、医育機関としてまた医療を提供する場として重要な役割を担っている。今回、国立大学附属病院には遅れをとったが、私立大学病院医療安全推進連絡会議（以下本会議）が発足したのでその概要と取り組みについてご紹介したい。

目的：私立大学病院として医療安全に関する情報を共有し、協力して効率的な医療安全管理体制を確立すること
沿革：平成18年1月26日、東京都内の大学に声をかけ第1回の会議をもち、その後2回、実務者会議を4回開催した。

検討項目：

1. 本会議と私立医科大学協会の関係

私立医科大学を束ねる私立医科大学協会（私大協）と本会議の活動が重複する可能性が考えられたので、私大協内に設置された病院部会の中にある医療安全対策委員会と協議した結果、同委員会の実務的な作業部会として機能することとした。

2. 医療安全相互チェック

第三者による検証を行い、医療事故の防止・安全性向上を図ること、さらに評価する側、受ける側の双方が医療事

故防止の創意工夫を学び共有することが病院間相互チェックの目的である。本年11月から12月にかけて、全国を6ブロックにわけ、所属する施設同士が相互にラウンドして評価することとなり、本会議においてラウンドの実施要綱、評価表を作成した。評価は、医療安全対策委員会に報告され、委員会はこれを取りまとめて各施設に報告する。この際、改善の必要がある場合には同委員会から改善勧告を行なうものとする予定である。

3. 医療上の事故等の公表に関する基準と指針

「国立大学附属病院における医療上の事故等の公表に関する指針」をたたき台にし、私立大学附属病院としての整合性を持たせるようマイナーチェンジを行なった。公表に関する基準が施設によって異なるということは避けるべきであり、今後は「病院における医療上の事故等の公表に関する指針」として国立、公立、私立を問わず同一の指針で公表されることが望ましいと考えている。

4. 事故調査委員会の協力体制

医療事故の発生にともない、事故調査委員会が設置されることになる。議論の公平性を担保することから、調査委員会には院内関係者のみならず院外医療従事者を委員として参加させる必要がある。この際の協力支援体制について今後検討する予定である。

17:15~17:40

IV. 東大病院における安全対策と機構改革

東京大学医学部附属病院病院長

なが いりょうぞう
永井良三

医療過誤の背景はきわめて多彩である。高度化した医療は、部分的に自動化された医療機器、有効な薬剤、情報ネットワーク、多くの医療従事者数などに依存している。これらの医療器材、薬剤、情報システムは少人数による医療の提供に高い機能をもつ一方で、誤操作やコミュニケーションエラーによって多くの医療過誤の原因となる。このことは進歩した医療も発展途上であり、人間工学的には未完成であることを示している。医療過誤には、医療体制から個人の問題にまで及ぶ多段階の要因が存在する。これらを分析していけば、医療過誤における法則性を把握し、予防策を講じることも可能である。

医療機関における安全の確保は、患者の安全を図り社会との信頼関係を構築する上で極めて重要である。講演では以下の点について我々の取り組みを紹介したい。

(1) 確認の徹底

バーコードが導入されるまでは、薬剤や患者誤認を現場で徹底する必要がある。輸液や注射薬の確認が平素から行われているかを管理者は常にチェックする必要がある。

(2) 院内感染対策

手洗い励行によって MRSA の院内発生を抑えることができる。手洗い率の抜き打ち調査も有効である。

(3) IT を活用した知識の確認と情報伝達

院内 LAN における医療安全情報の提供、eラーニングによる学習システムなどを試みている。

(4) 教育研修体制

スタッフの入れ替わりが多い大学病院では、任用時の研修が重要である。院長の講話、研修センターによる指導を定期的に行っている。

(5) 医療事故の再現映像

医療事故の再現映像を作成して、院内外で研修に活用している。

(6) 組織改革

病院が医局の単なる集合体とならないよう、病院執行部に決定権を集約している。各診療科の運営を円滑化するために、入院診療運営部、外来診療運営部、医療安全評価研修部、企画経営部などの運営組織を設け、バランスのよい病院運営を進めている。

17:40~18:05

V. 緊急時の情報リスクマネジメント

株式会社博報堂 コーポレートコミュニケーション局長

ごとう まさひこ
後藤 正彦

博報堂には主に企業の広報機能をサポートする組織として「コーポレートコミュニケーション局」があり、その中に特に企業のリスク対応をサポートする「イシュー・コンサルティング」という機能を持っています。そこでは毎月、一定以上の規模を持つ企業が係わったリスク記事をクリッピングして分析しており、2005年は9000件を越えるリスク報道を集積しています。ちなみに、この数字は毎年増加してきています。

2003年に明らかになった東京慈恵会医科大学青戸病院の不祥事をきっかけとして、翌2004年からは「医療機関」という分類でクリッピングを始めましたが、その結果、2004年は204件、2005年は215件、そして今年は7月末までで157件の報道を把握しています。残念ながら、ここでも増加傾向が見られます。

医療機関を取り巻くリスク環境が年々厳しくなってきたのは明らかですが、その主要な原因として報道・マスコミの存在は無視できません。トラブルに直面して、事態の当事者にだけ向き合えば良い、という対応では許されなくなっています。2000年を中心に企業で発生した「偽装、隠蔽たたき」は医療機関も例外にはしていません。

ハインリッヒの法則として知られている重大事故発生確率(1つの重大事故が発生する前には29の中規模事故が発生しており、その前には300のヒヤリとしたりハッとさせる事態が発生している)を持ち出すまでもなく、重大事故を防ぐには平常時の予防措置が欠かせませんが、平常時対応では80%程度しか防ぎきれないとも言われています。予測不可能な事態が発生したときの組織へのダメージを最小限にするために、緊急行動計画の一つとしてマスコミを中心とする「情報リスクマネジメント」を用意しておくべきだと考えます。

今回は「平常時」「緊急時」「リカバリー時」という3段階の情報リスクマネジメント対応の中で、対応の仕方によって影響が大きく変わる「緊急時対応」にしばり、その基本対応ノウハウを企業対応の実務家の立場からお話します。

主な内容は以下のとおりです。

1. 第一報入手, 情報入手
情報窓口の一本化が必要
第一報は不完全で不正確と知る
「変化なし」も情報になる
与えられた時間を計算する
2. 対応機能と体制
調査, 渉外, 広報, 対策立案と連絡の5機能は必要になる
トップに直結させる
組織を代表できるスポークスマンを決める
3. 抗議対策
標準対応話法を用意する
4. 取材対応
メディアの関心事は事実, 経過, 原因, 対応策, コメント
まずポジションペーパーを作る
取材の制限について
5. 調査と評価
事態の正確な把握は必須
世論の把握が大切
6. 対応方針の決定
「世の中尺度」で方針を決める
最悪の事態を想定して対応策を用意する
関係先への協力姿勢を示す
7. 発表
とにかく文書を作る
分かっている事実だけしか話せない
冷静な対応
発表のタイミングを誤らない
8. 組織内部への対応
オピニオンの標準化を急ぐ
9. 対策の決定
被害者対応と関係者対応について

以上

慶 應 医 学

第 83 卷 総 目 次

平 成 18 年

Journal of The Keio Medical Society

Volume 83

2006

第 1 号

綜 説

- アレルギー性結膜疾患におけるケモカインの役割高野 洋之.....(1)
電動歯ブラシの清掃効果について中川 種昭.....(7)
大腸癌化学療法—標準的医療と遺伝子多型による個別化の試み—久保田哲朗.....(13)
卒前医学教育におけるパラダイムシフト—知の偏重から心と技の教育へ—大野 良三.....(21)

原 著

- 神経病原性レトロウイルス A8-V の *env* 遺伝子発現に見られた奇妙なスプライシング
Eccentric splicing found in *env* gene expression of neuropathogenic A8-V渡辺 里仁.....(29)
司法解剖例における心中の検討保科 光紀.....(37)

学 会 展 望

- 第 10 回慶應医学賞授賞式・受賞記念講演会・受賞記念シンポジウム(47)
第 11 回慶應義塾大学形成外科同門会学術集会(52)

学 位 論 文

- カスパーゼ活性化が腎形態形成に及ぼす影響の検討荒木 崇志.....(T 1)

号 外

- 博士(医学)学位論文—内容および審査要旨—(第 179 号)(別頁)

第 2 号

綜 説

- 着床前期胚の遺伝子発現プロファイリング浜谷 敏生.....(69)

講 座

- 内視鏡を用いた婦人科悪性腫瘍(子宮癌・卵巣癌)手術安藤 正明.....(81)
非定型的自己免疫性肝疾患をめぐる諸問題稲垣 恭孝.....(91)
呼吸の中樞性化学感受性とカリウムチャンネル小山田吉孝.....(97)

学 会 展 望

- 第 29 回慶應外科フォーラム(103)
第 12 回慶應義塾大学形成外科同門会学術集会(115)
慶應医学会平成 17 年度庶務・会計報告(122)

学 位 論 文

- 女性性器癌細胞における $\beta 1, 4$ -ガラクトース転移酵素の発現と
その細胞生物学的特性におよぼす影響山下 博.....(T13)
知覚変容発作に関する研究:抗精神病薬の副作用とする立場から内田 裕之.....(T23)

号 外

- 博士(医学)学位論文—内容および審査要旨—(第 180 号)(別頁)

第 3 号

綜 説

- 柔らかい脳と固い脳袖崎 通介.....(135)
脳研究とリハビリテーション医学—経頭蓋磁気刺激と脳の可塑性を中心に—出江 紳一.....(141)
禁煙治療と CYP2A6 遺伝子多型—ニコチン依存の機序解明と臨床応用について—仲村 秀俊.....(151)

話 題

- フリーアクセスの功罪原田 俊一.....(169)
脳動脈瘤に対する瘤内塞栓術赤路 和則.....(170)

学会展望

医療提供体制の改革に向けて	岩尾總一郎	(172)
新医師臨床研修制度—施行1年半を過ぎて	宇都宮 啓	(180)
独法化により国立病院はどう変わったか	矢崎 義雄	(191)
医療提供体制の改革—日本医師会の立場から	櫻井 秀也	(195)
構造生理学の登場とその展望	藤吉 好則	(198)
第15回クリニカル・ビデオフォーラム (CVF) のご案内と演題募集		(207)

学位論文

本邦中高年女性における不定愁訴の実態についての検討	池田 俊之	(T33)
日本人脊椎骨の解剖学的, 放射線学的研究	野尻 賢哉	(T45)

号外

博士(医学)学位論文—内容および審査要旨—(第181号)		(別頁)
------------------------------	--	------

第4号

綜 説

細胞接着現象抑制は癌転移防止につながるか

—E-セレクトリン, シアリルルイス-X およびシアリルルイス-A	松本 純夫	(215)
-----------------------------------	-------	-------

基礎情報として医学分野に役立つ構造生理学を目指して

Structural physiology going toward a better understanding in medical field	藤吉 好則	(221)
--	-------	-------

講 座

音楽療法の神経疾患への応用

—アルツハイマー型認知症およびパーキンソン病における治療成績—	岡部多加志	(231)
---------------------------------	-------	-------

麻疹ウイルス Update—分子ウイルス学と麻疹撲滅に向けて—

	中山 哲夫	(241)
--	-------	-------

原 著

脱神経により廃用性萎縮をきたしたラット骨格筋に対する培養筋芽細胞の移植	小山 太郎	(251)
-------------------------------------	-------	-------

話 題

メタボリックシンドロームとアディポサイトカイン	酒井 隆	(257)
乳児院にて	菲澤 眞理	(258)
小児在宅訪問医療への取り組み	山田健一朗	(258)

学会展望

第86回慶應医学会総会・シンポジウム		(260)
第83巻総目次		(267)
Key Word 索引		(270)
著者名索引		(273)

学位論文

縦断的前向き研究からみた閉経前女性における腰椎骨密度の経時的変化に関する検討	小武海成之	(T57)
--	-------	-------

号 外

博士(医学)学位論文—内容および審査要旨—(第182号)		(別頁)
------------------------------	--	------

Key Word 索引

第 83 卷 2006

4-galactosyl transferase.....(2)	T13	estrogen.....(3)	T33
A		estrogen.....(4)	T57
aging.....(3)	T33	F	
anatomy.....(3)	T45	follicle stimulating hormone.....(4)	T57
antipsychotics.....(2)	T23	G	
apoptosis.....(1)	T1	gene expression profiling.....(2)	69
atopic keratoconjunctivitis.....(1)	1	glutamate receptor.....(3)	135
B		H	
β -1.....(2)	T13	histochemistry.....(1)	29
C		J	
caspase.....(1)	T1	Japanese.....(3)	T45
CCL11(ecotaxin).....(1)	1	L	
celebellum.....(3)	135	Laparoscopic Debulking.....(2)	81
cell adhesion.....(2)	T13	lumber bone mineral density.....(4)	T57
cell transplantation.....(4)	253	M	
central nervous system.....(3)	141	memory.....(3)	135
chemokine.....(1)	1	menopause.....(3)	T33
chemotherapy.....(1)	13	mercy killing.....(1)	37
climacteric symptoms.....(3)	T33	metastasis.....(2)	T13
CNS.....(1)	29	methods of homicide.....(1)	37
colon cancer.....(1)	13	MGA.....(2)	69
corneal damage.....(1)	1	microarray.....(2)	69
critical period.....(3)	135	Minimally Invasive Surgery.....(2)	81
CYP2A6.....(3)	151	music therapy.....(4)	231
D		murder followed by suicide.....(1)	37
dementia of Alzheimer type.....(4)	231	myoblasts.....(4)	253
denervation.....(4)	253	O	
digital electroencephalography.....(4)	231	oculogyric crisis.....(2)	T23
dual energy X-ray absorptiometry.....(4)	T57	offender-victim relationship.....(1)	37
dystonia.....(2)	T23	organ culture.....(1)	T1
E		ovarian cancer.....(2)	T13
ecotropic.....(1)	29		
efficacy.....(1)	13		
endometrial cancer.....(2)	T13		

P	
packaging cell	(1) 29
Parkinson disease	(4) 235
Paroxysmal Perceptual Alteration	(2) T23
pharmacogenomics	(1) 13
plasticity	(3) 141
polymorphism	(1) 13
Preimplantation embryo	(2) 69
prempause	(4) T57

R	
Radical Hysterectomy	(2) 81
radiology	(3) T45
rehabilitation	(3) 141
retrovirus	(1) 29
reverse genetics	(3) 231
rhythmic disorder	(4) 231

S	
satellite cells	(4) 231
side-effect	(2) T23
skeletal muscle	(4) 254
spine	(3) T45
suicide pact	(1) 37
synaptic plasticity	(3) 135

T	
Total Laparoscopic	(2) 81
transcranial direct current stimulation	(3) 141
transcranial magnetic stimulation	(3) 141

U	
ureteric bud branching	(1) T1

V	
vernal keratoconjunctivitis	(1) 1

Z	
ZGA	(2) 69

あ	
E-セレクトイン	(4) 216
アーリーエクスポージャー	(1) 21
アルツハイマー認知症	(4) 231
イオンチャンネル	(4) 221
医学教育	(1) 21
遺伝子多型	(3) 151
音楽療法	(4) 231
音波振動式歯ブラシ	(1) 7

か	
化学感受性ニューロン	(2) 97
可塑性	(3) 141
カリウムチャンネル	(2) 97
経頭蓋磁気刺激	(3) 141
経頭蓋直流電気刺激	(3) 141
共用試験	(1) 21
極低温電子顕微鏡	(4) 223
禁煙	(3) 151
血清疫学	(4) 241
原発性硬化性胆管炎	(2) 91
原発性胆汁性肝硬変	(2) 91
後腹膜アプローチ法	(2) 81
後腹膜リンパ節郭清	(2) 81

さ	
細胞接着抑制	(4) 217
シアリルイス-A	(4) 216
シアリルイス-X	(4) 217
自己免疫性肝炎	(2) 91
受容体	(4) 221
診療参加型臨床実習	(1) 21
清掃効果	(1) 7

た	
中枢神経系	(3) 141
中枢性化学感受性	(2) 97
デジタル脳波	(4) 234
転移	(4) 215
電子線結晶学	(4) 223
電動歯ブラシ	(1) 7
統合カリキュラム	(1) 21

な
ニコチン(3) 151

は
パーキンソン病(4) 232
非定型的自己免疫性肝疾患(2) 91
分子疫学(4) 241

ま
麻疹ウイルス(4) 241
麻疹・風疹二混ワクチン(4) 241
水チャンネル(4) 221

ら
リズム障害(4) 231
リハビリテーション(3) 141

著者名索引

第 83 卷 2006

A
 赤路 和則 ……………(3) 170
 安藤 正明 ……………(2) 81
 荒木 崇志 ……………(1) T1

F
 藤吉 好則 ……………(3) 198
 藤吉 好則 ……………(4) 221

H
 浜谷 敏生 ……………(2) 69
 原田 俊一 ……………(3) 170
 保科 光紀 ……………(1) 37

I
 池田 俊之 ……………(3) T33
 稲垣 恭孝 ……………(2) 91
 岩尾 總一郎 ……………(3) 172
 出江 紳一 ……………(3) 141

K
 久保田 哲朗 ……………(1) 13
 菲澤 眞理 ……………(4) 258
 小山 太郎 ……………(4) 251
 小武海 成之 ……………(4) T57

M
 松本 純夫 ……………(4)

N
 中川 種昭 ……………(1) 7
 仲村 秀俊 ……………(3) 151
 野尻 賢哉 ……………(3) T45
 中山 哲夫 ……………(4) 241

O
 大野 良三 ……………(1) 21
 小山田 吉孝 ……………(2) 97
 岡部 多加志 ……………(4) 231

柚崎 通介 ……………(3) 135

S
 櫻井 秀也 ……………(3) 195
 酒井 隆 ……………(4) 257

T
 高野 洋之 ……………(1) 1

U
 内田 裕之 ……………(2) T23
 宇都宮 啓 ……………(3) 180

W
 渡辺 里仁 ……………(1) 29

Y
 山下 博 ……………(2) T13
 矢崎 義雄 ……………(3) 191
 山田 健一郎 ……………(4) 258

雑 報

慶應医学会例会第 1467 回

日 時 平成 18 年 5 月 9 日 (火) 午後 5 時 30 分
 場 所 新棟 11 階 臨床講堂兼大会議室
 演 題 Infant and child mental health for
 Pediatricians.
 演 者 Neil Boris, MD.
 Tulane University U.S.A.
 担 当 小児科学教室

慶應医学会例会第 1468 回

日 時 平成 18 年 6 月 6 日 (火) 午後 5 時 00 分
 場 所 リサーチパーク 1 階ラウンジ
 演 題 A Vertical Challenge : Role of Desmoglein 1 in
 Epidermal Morphogenesis
 演 者 Kathleen J. Green, Ph.D.
 Joseph L. Mayberry Professor Departments of
 Pathology and Dermatology Northwestern
 University Medical School Chicago, U.S.A.
 担 当 皮膚科学教室

慶應医学会例会第 1469 回

日 時 平成 18 年 6 月 6 日 (火) 午後 2 時 00 分
 場 所 リサーチパーク 1 階ラウンジ
 演 題 Forensic Aspects related to Pediatric Pathology
 1) Focus on SIDS : From Epidemiology to
 Pathophysiology
 2) Medico-legal Aspects of Pediatric Head
 Injuries
 演 者 1) Patricia Franco, MD, Ph.D.
 Professor of Physiology, Universite Claude
 Bernard, UFR(Unite de Formation et de
 Recherche Medicale) Lyon Nord, INSERM
 (Institut national de la sante et de la recherche
 medicale) Lyon, France
 2) Roger Byard, MBBS,CCFP,FCAP,FRCP.
 FRCPATH Marks Professor of Pathology, the
 University of Adelaide Chief Forensic
 Pathologist,Forensic Science Southern
 Australia Adelaide, Australia
 担 当 法医学教室

慶應医学会例会第 1470 回

日 時 平成 18 年 6 月 6 日 (火) 午後 5 時 00 分
 場 所 リサーチパーク 1 階ラウンジ
 演 題 Destabilizing Desmoglein : Mechanisms of
 Desmosome Disassembly in Pemphigus

演 者 Andrew P. Kowalczyk, Ph.D.
 Associate Professor Departments of Dermato-
 logic and Cell Biology Emory University School
 of Medicine Atlanta, U.S.A.
 担 当 皮膚科学教室

慶應医学会例会第 1471 回

日 時 平成 18 年 6 月 6 日 (火) 午後 5 時 00 分
 場 所 新棟 11 階 会議室
 演 題 Holoprosencephaly as a model to study normal
 and abnormal brain development
 演 者 Maximilian Muenke, M.D.
 National Institutes of Health, Medical Genetics
 Branch, Human Development Section
 Maryland, U.S.A.
 担 当 小児科学教室

慶應医学会例会第 1472 回

日 時 平成 18 年 6 月 20 日 (火) 午後 6 時 00 分
 場 所 リサーチパーク 1F ラウンジ
 演 題 ADAMs : Key Molecules in EGF-Receptor
 Signaling and in Prostate Cancer
 演 者 Carl P. Blobel, M.D., Ph.D.
 Program director, Arthritis & Tissue
 Degeneration and Cell Biology Program,
 Hospital for Special Surgery and Weill Medical
 College of Cornell University, New York U.S.A.
 担 当 病理学教室, 整形外科学教室

慶應医学会例会第 1473 回

日 時 平成 18 年 6 月 25 日 (日) 午後 3 時 00 分
 場 所 新棟 11 階 臨床講堂兼大会議室
 演 題 Intersubjectivity in Infants and Autistic
 Spectrum Disorders
 演 者 Kenneth Aitken, Ph.D.
 Pathway Charitable Trust Edinburgh, U.K.
 担 当 小児科学教室

慶應医学会例会第 1474 回

日 時 平成 18 年 7 月 10 日 (月) 午後 6 時 00 分
 場 所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ
 演 題 不整脈治療の新しい戦略
 (Future approaches to treating cardiac ar-
 rhythmia)
 演 者 Dr. Stanley Nattel
 Montreal Heart Institute, University of

Montreal CANADA

担当 内科学教室 (循環器)

慶應医学会例会第 1475 回

日時 平成 18 年 6 月 27 日 (火) 午後 6 時 00 分
場所 総合医科学研究棟 7 階 会議室
演題 Genetic Modification of Marmoset ES Cells and Controlling MHC Expression
演者 Peter A. Horn, M.D., Ph.D.
Institute for Transfusion Medicine, Hannover Medical School GERMANY
担当 再生医学教室

慶應医学会例会第 1476 回

日時 平成 18 年 7 月 3 日 (月) 午後 6 時 00 分
場所 総合医科学研究棟 9 階 会議室
演題 1) Controlling MHC expression in cellular therapeutics
2) Stem Cell Research at The German Primate Center Goettingen – Projects and Perspectives
演者 1) Peter A. Horn, M.D., Ph.D.
Institute for Transfusion Medicine, Hannover Medical School GERMANY
2) Thomas Mueller, Ph.D.
German Primate Research Center GERMANY
担当 再生医学教室

慶應医学会例会第 1477 回

日時 平成 18 年 7 月 13 日 (木) 午後 6 時 00 分
場所 総合医科学研究棟 会議室 6
演題 Role of CXCL12-CXCR4 Signaling on NF-kappaB Activation in Prostate Cancer Cells
演者 Krishna C. Agrawal, Ph.D.
Regents Professor and Chairman Department of Pharmacology, Tulane University Health Sciences Center New Orleans, U.S.A.
担当 泌尿器科学教室

慶應医学会例会第 1478 回

日時 平成 18 年 7 月 13 日 (木) 午後 6 時 30 分
場所 北里記念医学図書館 2 階 第 1 会議室
演題 Sudden cardiac death and remnant lipoproteins
演者 Ernst J. Schaefer, M.D.
Distinguished University Professor Tufts University School of Medicine and Friedman School of Nutrition Science and Policy at Tufts University Boston, U.S.A.
担当 法医学教室

慶應医学会例会第 1479 回

日時 平成 18 年 6 月 26 日 (月) 午後 7 時 00 分
場所 総合医科学研究棟 5 階カンファレンスルーム
演題 Understanding the Role of the Complement System in Renal Disease Through the Use of Mouse Models
演者 Richard J. Quigg, M.D.
Professor of Internal Medicine, Section of Nephrology, The University of Chicago, Pritzker School of Medicine U.S.A.
担当 内科学教室 (腎臓・内分泌・代謝科)

慶應医学会例会第 1480 回

日時 平成 18 年 7 月 18 日 (火) 午後 5 時 00 分
場所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ
演題 癌免疫療法と免疫制御性 T 細胞 (Regulatory T cells in immunotherapy of cancer)
演者 Rongfu Wang, Ph.D.
Department of Pathology and Department of Immunology Center for Cell and Gene Therapy Baylor College of Medicine Houston TX U.S.A.
担当 先端医科学研究所・細胞情報研究部門

慶應医学会例会第 1481 回

日時 平成 18 年 7 月 24 日 (月) 午後 5 時 00 分
場所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ
演題 Tips on publication in Surgical Journal
演者 Claude Deschamps, M.D.
Chair, Department of Surgery, Mayo Clinic, Rochester, Minnesota U.S.A.
担当 外科学教室 COE プログラム共催

慶應医学会例会第 1482 回

日時 平成 18 年 7 月 26 日 (水) 午後 6 時 00 分
場所 新棟 11 階 中会議室
演題 Remicade Therapy in Pediatric Inflammatory Bowel Disease
演者 北川 誠司 先生
Attending in Pediatric Gastroenterology Baylor College of Medicine Huston, U.S.A.
担当 内科学教室 (消化器)

慶應医学会例会第 1483 回

日時 平成 18 年 7 月 25 日 (火) 午後 6 時 00 分
場所 リサーチパーク 1 階ラウンジ
演題 Role of NLR Proteins in Innate Immunity and Disease
演者 Gabriel Nunez, M.D.

Professor of Pathology, The University of Michigan Medical School U.S.A.

担当 内科学教室 (消化器)

慶應医学会例会第 1484 回

日時 平成 18 年 7 月 25 日 (火) 午後 6 時 30 分
場所 リサーチパーク 1 階ラウンジ
演題 Role of NLR Proteins in Innate Immunity and Disease
演者 Gabriel Nunez, M.D.
Professor of Pathology, The University of Michigan Medical School U.S.A.
担当 内科学教室 (消化器)

慶應医学会例会第 1485 回

日時 平成 18 年 8 月 1 日 (火) 午後 6 時 00 分
場所 リサーチパーク 1 階ラウンジ
演題 1) Role of mammalian chitinases in inflammatory conditions
2) Dependence of intestinal granuloma formation on unique dendritic-like cells
演者 1) Emiko Mizoguchi, M.D., Ph.D.
Center for the Study of Inflammatory Bowel Disease, Gastroenterology Division, Department of Medicine, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, U.S.A..
2) Atsushi Mizoguchi, M.D., Ph.D.
Immunopathology Unit, Department of Pathology, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, U.S.A.
担当 内科学教室 (消化器)

慶應医学会例会第 1486 回

日時 平成 18 年 8 月 1 日 (火) 午後 6 時 30 分
場所 リサーチパーク 1 階ラウンジ
演題 1) Role of mammalian chitinases in inflammatory conditions
2) Dependence of intestinal granuloma formation on unique dendritic-like cells
演者 1) Emiko Mizoguchi, M.D., Ph.D.
Center for the Study of Inflammatory Bowel Disease, Gastroenterology Division, Department of Medicine, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, U.S.A..
2) Atsushi Mizoguchi, M.D., Ph.D.
Immunopathology Unit, Department of Pathology, Massachusetts General Hospital,

Harvard Medical School, Boston, U.S.A.

担当 内科学教室 (消化器)

慶應医学会例会第 1487 回

日時 平成 18 年 8 月 25 日 (金) 午後 6 時 00 分
場所 リサーチパーク 1 階ラウンジ
演題 Genetic testing in colorectal cancer : Who, when, how and why
演者 Nicholas O. Davidson, M.D.
Professor of Medicine, Director, Division of Gastroenterology, Washington University School of Medicine U.S.A.
担当 内科学教室 (消化器)

慶應医学会例会第 1488 回

日時 平成 18 年 7 月 27 日 (木) 午後 6 時 45 分
場所 新教育研究棟 2 F 講堂 1
演題 タキソールの基礎と臨床
演者 韓 万愚 博士
韓国新薬 会長
Han Kook Sin Yak Pharm., Korea
担当 内科学教室 (消化器)

慶應医学会例会第 1489 回

日時 平成 18 年 8 月 29 日 (火) 午後 6 時 30 分
場所 リサーチパーク 1 階ラウンジ
演題 Recent developments in functional dyspepsia
演者 Jan Tack, M.D.
Professor, Department of Gastroenterology, University Hospitals Leuven, Belgium
担当 内科学教室 (消化器)

慶應医学会例会第 1490 回

日時 平成 18 年 9 月 26 日 (火) 午後 6 時 30 分
場所 本館臨床講堂
演題 The Yin and Yang of effector and regulatory T cells in HCV pathogenesis
演者 Kyong-Mi Chang, M.D.
Assistant professor, GI Division, University of Pennsylvania & Director, GI Research and GI/Hepatitis Clinic, Philadelphia VA Medical Center U.S.A.
担当 内科学教室 (消化器)

慶應医学会例会第 1491 回

日時 平成 18 年 8 月 28 日 (月) 午後 6 時 00 分
場所 総合医科学研究棟 会議室 5
演題 Urology in South Africa
演者 Prof. Chris F Heyns

Departement Urologie Universiteit Stellenbosch en Tygerberg-hospitaal Suid-Afrika

担当 泌尿器科学教室

慶應医学会例会第 1492 回

日時 平成 18 年 8 月 31 日 (木) 午後 3 時 00 分
場所 新教育研究棟 4 階 講堂 3
演題 遺伝子改変マウスが空を飛び交う時代がやってくる!
—国内外のマウスバンクの最近の動向と増え続ける遺伝子改変マウスの凍結胚・精子の輸送—
演者 中瀧 直己 教授
熊本大学 生命資源研究・支援センター
担当 動物実験センター

慶應医学会例会第 1493 回

日時 平成 18 年 9 月 21 日 (木) 午後 7 時 00 分
場所 中央棟 5 階 カンファレンスルーム
演題 「大規模臨床試験での LDL コレステロール低下治療の効果」
“Update of Recent LDL-Cholesterol Lowering Trials”
演者 David Douglas Waters, M.D.
Chief, Division of Cardiology, San Francisco General Hospital Maurice Eliaser Jr. Distinguished Professor of Medicine, University of California, San Francisco USA
担当 内科学教室 (循環器)

慶應医学会例会第 1494 回

日時 平成 18 年 10 月 5 日 (木) 午後 4 時 45 分
場所 総合医科学研究棟・1 階ラウンジ
演題 Directed Differentiation of Embryonic Stem Cells into Midbrain Dopamine Neurons
演者 Johan Ericson, Ph.D.
Professor, Department of Cell and Molecular Biology, Karolinska Institute, Sweden
担当 分子生物学教室

慶應医学会例会第 1495 回

日時 平成 18 年 10 月 12 日 (木) 午後 6 時 00 分
場所 新棟中会議室
演題 The role of epithelial-mesenchymal interactions in limbal stem cell deficiency and regeneration
演者 Dr. Scheffer C. Tseng
Ocular Surface Center Ocular Surface Research & Education Foundation USA
担当 眼科学教室

慶應医学会例会第 1496 回

日時 平成 18 年 10 月 12 日 (木) 午後 6 時 00 分
場所 北里講堂
演題 1) The Science of Reading : Translating Research into Practice
2) The Neurobiology of Reading and Dyslexia
演者 1) Dr. Sally E. Shaywitz, M.D.
Professor of Pediatrics, Yale University School of Medicine Yale Center for the Study of Learning, Reading, and Attention
2) Dr. Bennett A. Shaywitz, M.D.
Professor of Pediatrics and Neurology, Yale University School of Medicine
担当 小児科学教室

慶應医学会例会第 1497 回

日時 平成 18 年 10 月 17 日 (火) 午後 6 時 00 分
場所 考養舎 2 階 マルチメディアカンファレンスルーム
演題 何処が違うか、アメリカと日本の臨床医療
演者 北野正射 (Masami Kitano, M.D.)
担当 医学教育統轄センター

慶應医学会例会第 1498 回

日時 平成 18 年 10 月 24 日 (火) 午後 6 時 00 分
場所 新教育研修棟 4 階・講堂 3
演題 Peri-implant osteolysis : Pathology teaches physiology
演者 Steven R. Goldring
Professor of medicine, Beth Isreal Deaconess Medical Center/Harvard Medical School USA
担当 整形外科教室

慶應医学会例会第 1499 回

日時 平成 18 年 10 月 25 日 (水) 午後 6 時 00 分
場所 本館臨床講堂
演題 Immune Surveillance and Defense in the Intestine.
演者 Hans Christian Reinecker, M.D.
Gastroenterology Department of Medicine, Massachusetts General Hospital USA
担当 消化器内科教室

慶應医学会例会第 1500 回

日時 平成 18 年 11 月 7 日 (火) 午後 5 時 00 分
場所 新棟臨床講堂兼大会議室
演題 Infant Mental Health : New Trend and Approach
乳幼児精神保健の新しい動向

演者 Tuula Tamminen M.D., Ph.D.
Department of Child Psychiatry, University of
Tampere Finland
担当 小児科学教室

慶應医学会例会第 1501 回

日時 平成 18 年 11 月 6 日 (月) 午後 6 時 00 分
場所 新棟 11 階 大会議室
演題 Curriculum Reform to emphasize Active
Learning
演者 Kanchan Rao M.D.
前ピッツバーグ大学医学部解剖学助教授
担当 医学教育統轄センター

慶應医学会例会第 1502 回

日時 平成 18 年 11 月 8 日 (水) 午後 6 時 00 分
場所 リサーチパーク 1 階ラウンジ
演題 Kinetic evolution of a diabetogenic CD8+ T-
cell response
演者 Pere Santamaria, MD, Ph.D.
Professor of Microbiology and Infectious
Diseases University of Calgary, Canada
担当 皮膚科学教室

慶應医学会例会第 1503 回

日時 平成 18 年 11 月 8 日 (水) 午後 5 時 45 分
場所 新棟 11 階 大会議室
演題 Molecular diagnosis of single molecules and
cells
演者 Mats Nilsson, Ph.D.
Department of Genetics and Pathology,
Uppsala University, Sweden
担当 分子生物学教室

慶應医学会例会第 1504 回

日時 平成 18 年 11 月 15 日 (水) 午後 5 時 30 分
場所 総合医科学研究棟 会議室 2
演題 Stem Cell Transplantation for Multiple
Myeloma
演者 Gösta Gahrton, M.D.
Professor of Medicine, Department of Medicine,
Karolinska Institute and Karolinska University

Hospital Sweden
担当 内科学教室 (血液研究室)

慶應医学会例会第 1505 回

日時 平成 18 年 11 月 16 日 (木) 午後 6 時 00 分
場所 包括先進医療センター 3F 会議室
演題 Insights about Innate Immunity Gathered from
our Experience in Human Intestinal
Transplantation
演者 Michael A. Zaslloff M.D., Ph.D.
Department of Surgery, Georgetown Univer-
sity Medical Center USA
担当 消化器内科教室

慶應医学会例会第 1506 回

日時 平成 18 年 11 月 28 日 (火) 午後 7 時 00 分
場所 総合医科学研究棟 7 階会議室
演題 Hand made cloning 法による体細胞クローン動
物作出
演者 Gabor Vajta, M.D., Ph.D.
Danish Institute of Agricultural Science
Denmark
担当 再生医学教室

慶應医学会例会第 1507 回

日時 平成 18 年 12 月 4 日 (月) 午後 6 時 00 分
場所 東校舎 1 階 セミナールーム
演題 TLR5-mediated immune responses to enteric
microbes
演者 Andrew Gewirtz, Ph.D.
Pathology, Emory University USA
担当 微生物学・免疫学教室

慶應医学会例会第 1508 回

日時 平成 18 年 12 月 8 日 (水) 午後 6 時 00 分
場所 新棟 11 階 大会議室
演題 Early Days of United States Emergency
Medicine
演者 Michael J. Krentz
Commanding Officer U.S. Naval Hospital
Yokosuka (横須賀米国海軍病院長)
担当 救急医学教室

慶應医学会における個人情報の取扱いについて

慶應医学会では会誌の発送、組織運営の改善や円滑な管理を行うために、会員の皆様から取得いたしました個人情報（特定の個人を識別できるもの、以下同様）を利用しています。その取扱いに際しましては、個人情報の保護に関する法律をはじめ個人情報保護に関する諸法令、およびガイドラインに定められた義務を遵守し、適正かつ安全に管理しています。以下慶應医学会における個人情報の取扱いについて基本方針を説明いたします。

1. 個人情報の利用目的

本学会は、(1)会誌の発送、(2)これに関する会員の皆様への連絡、(3)学会運営の改善や管理を目的として会員の皆様から取得いたしました個人情報を利用し、これらの目的以外に利用することはありません。万一これらの目的以外に個人情報を取得することが必要となった場合には、その都度、利用目的を明示いたします。

2. 個人情報の取得方法

本学会は、以下の方法で会員の皆様の個人情報を取得しております。

- (1) 入会、退会、登録内容の変更などの申請やお問合わせなどによる直接的な取得
- (2) 慶應義塾からの間接的な取得

3. 個人情報の第三者への提供

- (1) 本学会は、会員本人に連絡が取れない時に、会員本人の所属先の関係者へ連絡する場合を除き、取得しました個人情報を第三者に提供することはありません。
- (2) 本学会は、活動の年次報告などの中で、統計的な資料を公表する場合がありますが、この場合特に事前の同意をいただけない限り個々の会員を特定できる情報は公表いたしません。

4. 安全管理措置・委託先の監督

本学会は効率的に会員宛のサービスの提供を行うため、本学会が信頼できると判断し、機密保持契約を締結した法人等（以下、「業務委託先」とします）に個人情報を提供した上で業務を委託することがあります。業務委託先に対しては必要な目的の範囲内で必要な情報のみを開示し、サービスの提供を目的とする以外での情報の利用を禁止しております。

5. 個人情報の適切な管理

取得した個人情報を利用範囲内で正確・最新の内容に保つよう努め、不正アクセス、個人情報の紛失・破壊・改ざん・漏洩等を防止するために必要かつ適切な安全管理措置を講じます。

以上

『慶應医学』投稿規定

本誌は原著論文、学位申請論文、綜説、講座、シンポジウム、症例報告あるいは座談会の記録、学会または研究会の抄録、話題、雑報などを掲載します。原著論文は、その内容が過去に他誌に掲載されたり（ただし、抄録のみの掲載は該当しない）、あるいは現在投稿中もしくは掲載予定でないものに限り、新発見の所在が明確で、論旨が一貫して明解な論文をお寄せ下さい。記述は簡潔にし、類似する図表は省略して下さい。学位申請論文に関しては「学位申請論文」投稿の手引きを参照して下さい。

本誌に投稿する場合は、人を対象とする場合にはヘルシンキ宣言を遵守したものであることが必要です。また、動物実験に関しては関連の法規に従い、動物福祉の精神に基づいて倫理的に実施されたものであることが必要です。

論文の受付

原著、学位申請論文投稿は慶應医学会会員に限り、掲載の採否は編集委員会にて決定し、採用となった場合は速やかに掲載証明書を発行し掲載巻号を通知いたします。

原稿はオリジナルとコピーを一部ずつ下記あてに届けて下さい。

〒160-0016

東京都新宿区信濃町 35 信濃町煉瓦館 3 階
財団法人国際医学情報センター学会事務室
慶應医学「慶應医学」編集室

TEL 03(5363)3736 (直通)

E-mail: keio-igakkai@imic.or.jp

受付時間：平日 午前 9：00～午後 5：00

(土曜日は受付をしません)

初校の校正は著者をお願いします。校正期間は 3 日間です。校正では大幅な修正はできません。図表の校正も初校のみとなります。

印刷費は著者負担ですが、著者の負担を軽減するため、当分の間、1 篇につき印刷費の内 3 万円を本会より補助いたします。

論文原稿の作成上の注意

1. 原稿 文章は現代かなづかいにしたがって平仮名混じりとする。A4 判の白紙に横書き（35 字/行×23 行の約 800 字詰）で、上下を約 2.5 cm ずつ、左右を約 3 cm ずつあける。外国語の原語綴は行末で切れないよ

うにする。変換できない文字や記号は手書で明瞭に書き入れる。第 1 ページには、表題・著者名・所属を和文と英文で記入し、図表の数、希望別刷部数（50 部単位）、連絡先（郵便番号、住所、所属、電話および Fax 番号、e-mail のアドレスなど）を必ず記入する。編集や印刷上の注意事項があれば朱書で指示を入れる。原稿には頁数を各頁の右下に記入する。

2. 表題 論文の内容を表記した簡潔で明瞭な表題（40 字程度）をつけること。（“……の研究” というような大雑把な表記は避け、新事実を明瞭に表記する。）20 字以内の略題（running title）をつける。2 篇以上の原稿を同時に提出する場合はそれぞれに別の表題をつける。

3. Key Word 英語を原則とし Index Medicus の subjects にあるもので、5 項目以内を用意する。固有名詞以外は小文字とする。

4. 英文抄録（ABSTRACT）英語での表示とする。

1) 読者が一読して論文の主旨が明確にわかるもの。

2) 150 語ないし 200 語以内にまとめる。

3) ダブルスペースで A4 判の用紙にタイプする。

4) 題名にすでに表記されているものを最初の文章で繰り返さないこと。

5) 日本で特有の薬品テスト方法などについてふれる場合は、本文中にその説明がなくてもできるだけ説明を加えなければならない。

6) 数字が文頭にある場合はスペルアウトし、文中ではアラビア数字を用いる。

5. 緒言 見出しなしで始める。研究の位置づけを明記し、実験・研究の目的を明示する。しかし過大な歴史的考察は好ましくない。

6. 項目の記述 原則的に英文抄録（ABSTRACT）、研究・実験または検査の方法、研究成績または実験結果、考察または考案、結論または総括、謝辞、文献、のような順で記述する。ただし、綜説・講座はこの限りではない。

略語は各分野を通じて周知のもの以外は使わない。

7. 考察の内容 自己の所見と他人のものとの比較で異同を云々するだけの場合、「研究結果及び考察」の一章にまとめるようにする。

8. 結論または総括 刷り上がり半頁（原稿用紙 2 枚半位）以内にまとめ、一読で研究方法の概略も含めて所見および結論のポイントがつかめるようにする。

9. 見出しの振り方（参照例）

研究成績

1. 臨床的事項

1) 頻度

a)

(1).....

(i).....

10. 外国語 原語もしくはカタカナで書き、原語の場合は小文字（固有名詞やドイツ語の頭文字は大文字）とする。普通名詞は文頭に限って大文字とする。

11. 図（写真） そのまま印刷できる鮮明なものを用いること。光沢のある白い印画紙の上に焼き付けたものかそれに準じたものとする。手書は受け付けない。大きさは原則として横幅 8 cm もしくは 16 cm、縦（最長）23 cm 以内のものを用意する。電子顕微鏡写真および光学顕微鏡写真は倍率を明示すること。原図の裏に著者名・図番号・天地の指示（矢印）を鉛筆書きし、A4判の紙に貼付する。特に大きさや配置に希望のある場合は明記すること。原寸大として図に書き込まれている字の大きさは、最低 1.5 mm の高さが必要である。これ以下の大きさは印刷不可。

12. 図表の名称 第1図、第1表として、本文中と図表の名称を統一すること。図表の題名は写真板に含めない。図表中の文字・単語は英語でもよいが、図表の題名および説明文は日本語で記載すること。なお、定量的な実験あるいは検査の記述は表よりグラフを用いたほうがよい。同一のデータを図と表の両方で示すことは避けること。また、本文中の右欄外に図表の挿入箇所を朱書きで指示する。

13. 謝辞 できるだけ簡単にし、ここに研究費の出所なども記載する。

14. 文献 本文中では引用された順とし、“Smith”によれば、……という報告がある^{2,3)}。”のように肩に番号をふる。文献表は本文とは別とする。共著者のある場合すべての著者名を書き、スタイルはバンクーバー方式とする。論文のタイトルの文頭のみ大文字とし、あとは小文字で書く。雑誌名は公式の略号を用い、頁は最初と最後を必ず書く。（下記の例を参照する。）

論文：1) Counihan T, Messer AL, Sprague HB : The initial vibrations of the first heart sound. *Circ Res* 3 : 730-732, 1968

2) 田中一郎, 山田二郎 : 膠原病の成因. *慶應医学*, 42 : 162-198, 1965

著書：3) Link GKK : Bacteria in relation to plant diseases. *Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*. (Ed) Jerdan EO, Falk IS, Univ Chicago Press, Chicago, p. 590-606, 1967

4) 後藤修二 : 鼓室成形手術. *耳鼻咽喉科手術書* (堀口申作編集). 医学書院, p. 134-160, 1961

15. 略号 本誌の性格上、関連領域では周知のものでもなるべく避けること。やむを得ず使用する場合は、始めにスペルアウトし、以下（…と略す）と断わりを入れること。多くの略号が頻回に使用される場合は、論文の始めの方に一覧表を付けるなどの配慮をすること。

16. 単位, 符号 基本単位： $10^3 \rightarrow k$, $10^6 \rightarrow M$, $10^6 \rightarrow \mu$, $10^9 \rightarrow n$ として符号の前に付ける。略称のピリオドはつけない (g. でなく g)。長さ：A, nm, μm , mm, cm, m, km。面積： mm^2 , cm^2 , m^2 , $a = m^2 \times 10^2$, $ha = a \times 10^2$ 。容積： m^3 , mm^3 , ml, dl, l。質量：pg, ng, μg , mg, g, kg。時間：hr, min, sec, msec (本文中でジ・フン・ビョウと読む場合は時・分・秒と書いてもよい)。電気諸単位：(volt) ; μV , mV, V, kV, MV, (ampere) ; μA , mA, A, kA, (ohm) ; m Ω , Ω , k Ω , M Ω , (watt) ; μW , mW, W, kW, MW, (farad) ; pF, μF 。放射能諸単位：(becquerel) ; Bq, kBq, MBq, (sievert) ; mSv, Sv。放射性同位元素：¹³¹I, ¹⁴C, ³H。

17. 本誌に掲載された論文等の著作権は慶應医学会に帰属する。

18. フロッピーディスクによる入稿について 印刷工程の効率向上を図るため、フロッピー入稿を希望する。受理が決定した最終稿を入力したフロッピーディスクを印字原稿と共に提出する。入力テキスト形式で行うこと。使用したパソコン、ワープロ、ソフト名、ソフトの版等を著者名、略題とともにフロッピーディスクのラベルに記載する。

19. 論文作成に関する参考書を下記に示すので、参照のこと。

1) O'Connor M and Woodford FP : *Writing scientific papers in English*, Excerpta Medica, Amsterdam, 1979

2) CBE Style Manual Committee : *Council of Biology Editors style manual : A guide for authors, editors, and publishers in the biological sciences*, 4th ed. Council of Biology Editors, 1978

3) Day RA : *How to write and publish a scientific paper*. ISI press, Philadelphia, 1979

20. その他 詳細に関しては事務局に問い合わせ下さい。

(2003年1月)

「学位申請論文」投稿の手引き

「学位申請論文」について

「学位申請論文」は、「慶應医学」に掲載された Thesis である。学位を取得する目的で Thesis を提出することは国内外を問わず広く行われている。「慶應医学」では、従来の「原著」論文に Thesis 的要素を入れた論文を「学位申請論文」として掲載することにより、学位取得のための論文に関し、申請者の便宜をはかった。「学位申請論文」の設置に伴い、「原著」論文は学位取得をかならずしも目的とせず、むしろ一般的な原著論文として取り扱われる。「学位申請論文」は日本語を原則とするが英語での投稿も受付ける（英文投稿規定を希望する者は事務局に申し出ること）。「学位申請論文」についての留意点を以下に説明する。

1. 学位取得の十分条件ではない。

「学位申請論文」に受理された後に行われる学位審査等の手続きは、原著論文による場合と同様に行われる。「学位申請論文」の設置は、学位審査についての手続きを変更するものではない。

2. 二重投稿が回避できる。

「学位申請論文」は原著論文ではないので、その内容の一部あるいはすべてが、他誌（使用言語を問わない）にすでに出版されているか、あるいは印刷中であっても二重投稿にはならない。

また、「学位申請論文」に使用した内容を他誌へ投稿することも許されるが、「学位申請論文」の主たる内容は、著者が中心となって行った研究で既発表（印刷中を含む）のものとする。

また、「学位申請論文」の基礎となった既発表の原著論文は、将来、他者の「学位申請論文」として二重に使用することはできない。

他誌へ投稿する予定のない原稿は、「慶應医学」の「原著」として投稿されることをお勧めする。

3. プライオリティーを主張することはできない。

「学位申請論文」は論文検索のデータベースからは除外される可能性がある。「学位申請論文」を著者の業績リストに記載する場合は、原著論文とは別にして、学位申請論文と明記すべきである。

論文作成上の注意

「学位申請論文」は、申請者がファーストオーサーである論文をまとめて、Thesis として作成されたもので

ある。

論文作成上の注意としては、従来の「慶應医学」投稿規定を範とし、論文作成上の注意のうち、2. 表題、3. Key Word、6. 項目の記述、7. 考察の内容、8. 結論または総括、9. 見出しの振り方、10. 外国語、12. 図表の名称、14. 文献、15. 略号、16. 単位、符号については同様に注意されたい。「学位申請論文」が従来の投稿規定と異なる注意点のみを以下に記載する。

1. 原稿について：表紙ページ右上に、「学位申請論文」と記載すること。英文でのタイトル・著者名・所属は不要である。さらに、「学位申請論文」の内容の一部あるいは全部が、すでに原著として他誌に印刷中、あるいは出版済みの場合は、他誌の別刷（2部）、もしくは印刷中であることを証明する書類を添付すること。

4. 英文抄録（ABSTRACT）は不要である。

5. 緒言について：「学位申請論文」が「原著」論文よりも Thesis に近い性質であることを踏まえ、「原著」論文以上に研究の背景についての十分な説明が必要である。

11. 図表（写真）について：掲載する図表はオリジナルの外、すでに原著として、他誌に印刷中、あるいは出版済みの論文から引用して用いること。これら図表の主要な部分は学位申請者が、ファーストオーサーまたは主たる貢献者である論文から引用することが必要で、かつ著作権に関する許可を出版社より得たものに限る。出版社に転載許可を求める書式は編集部へ申請されたい。これらの場合（印刷中、印刷済み）には、当該論文の一部あるいは全部が、学位申請者の学位申請論文として使用されることにつき、共著者の承認が必要である。この書式も編集部へ申請されたい。ただし、学位申請者がファーストオーサーでない場合には、学位申請者がその論文の主たる貢献者であることを証明する共著者の署名も必要である。これらの書類への記入はできる限り手書きを避けること。

引用した図表を用いる場合、各図表の説明文の最終部分において、次の様式によって出展を明らかにすること。英文例：(Keio T et al : Nature 690 : 76-77, 1994 の Fig 1 を許可を得て転載)、和文例：(慶應太郎、他：内科、87 : 112-118, 1994 の第 2 図を許可を得て転載)。また、これらの図表、データのうち学位申請者がファーストオーサーでない論文から引用した場合には「図 X は（筆頭著者氏名）の論文から引用したが、このデータに関しては学位申請者がその主たる貢献者であり、共著者の同意を得て転載した」旨を謝辞の最後に記載するものとする。

図表は印刷に耐えうる鮮明な原図を用いること、図表に関する注意点は、投稿規定に基づくものとする。

13. 謝辞について：通常の謝辞に続き、段落を変えて、次の形式で「学位申請論文」に含まれる論文を記載すること。なお、本項目に記載された論文を、「慶應医学」の「学位申請論文」のために他の申請者が再使用することはできない。「本論文は、Keio T, Yotsuya M, Shinano O : The initial vibrations of the first heart sound. Lancet 22 : 345-349, 1992 の一部、Keio T, Link GK : Bacteria in relation to plant diseases. N Engl J Med 573 : 34-38, 1993 の一部、および慶應太郎、田中一郎、山田二郎：膠原病の成因。内科，87：112-118, 1994 の一部を含む。」

14. 文献について：「学位申請論文」のもととなった原著論文を本文中で必ず引用し、文献リストにのせる。

本来、研究はオリジナルなものであり、研究者はそれを発表することが当然の務めである。「学位申請論文」は学位申請のための Thesis であり、本来の意味での論文ではない。したがって、「学位申請論文」の内容が一般の学術誌に発表されたものと同じであることは当然であろう。「慶應医学」では、オリジナルな研究は「学位申請論文」に先立って他誌へ投稿し、受理された後に「学位申請論文」として投稿されることを原則と考えている。

「慶應医学」では原著も掲載しているので、「慶應医学」への発表をもって研究を終了し、他誌へ投稿する意志のない方は「原著」としての投稿を選択されることをお勧めする。

なお、ご不明の点については事務局に問い合わせ下さい。

(2002年5月)

用字用語の統一（括弧内は用いない）

明らか		その、それ、	（其の、夫れ）
あらゆる	（凡ゆる）	ただ	（只、唯）
あるいは	（或は）	ただし	（但し）
いう	（云う、言う）	たとえば	（例えば）
いずれ	（何れ）	ため	（為）
いたします	（致します）	ついて	（就て）
いたずらに	（徒に）	ないし	（乃至）
いただく	（頂く、戴く）	なお	（尚、猶）
いる	（居る）	ながら	（乍ら）
おいて	（於て）	など	（等）
行う	（行なう）	ならびに	（並びに）
おそらく	（恐らく）	ほとんど	（殆ど）
および	（及び）	ほぼ	（略之）
かかわらず	（拘、関、係らず）	また	（又）
かつ	（且つ）	まだ	（未だ）
かなり	（可成り）	まで	（迄）
かねて	（予て）	むしろ	（寧ろ）
ここ	（此处）	もし	（若し）
この	（此の）	もって	（以て）
これ	（之、是）	やすい	（易い）
ことに	（殊に）	やや	（稍々）
しかし	（併し、然し）	ゆえに	（故に）
したがって	（従って）	ように	（様に）
しばしば	（屢々）	よる	（因る、依る）
少ない		わかる	（判る、分かる）
すなわち	（即ち）	わたって	（亘って）
すべて	（総て、全て）		

編集後記

早いもので『慶應医学』も今年最後の号の刊行となりました。今号においては、基礎・臨床医学の多方面にわたって、新しい切り口の論文を掲載することができました。このように多種多様な分野の論文を収録できることも、同窓誌ならではの面白さでしょう。おかげさまで今年度の慶應医学会も無事に総会、シンポジウムを終えることができました。我々「慶應医学」編集委員も、講演録の編集など新たな試みに力を注ぎ、本誌をより魅力ある機関誌にすべく努力しております。読者のみなさまにつきましても、是非ともご意見をお寄せください。

(村田 満)

編集委員 (◎副会長, ○理事)

◎相磯貞和 ○岡田保典 ○末松 誠 ○戸山芳昭
櫻庭 了 上田政和 梅澤明弘 斎藤英胤
林 松彦 村田 満 村松太郎

平成 18 年 12 月 18 日 印刷

平成 18 年 12 月 25 日 発行

編 集 者 池 田 康 夫

発 行 者

印 刷 所 学術図書出版株式会社

電話 (3948) 7516 番

印 刷 者 富 田 進

発 行 所 慶 應 医 学 会

〒160-8582 東京都新宿区信濃町35番地

慶應義塾大学医学部企画室

電話(3353)1211(大代)内線64023

振替口座00170-7-54424番

©Published by The Keio Medical Society, 2002

本誌の内容を無断で複写・作製・転載すると、著作権・
出版権の侵害となることがありますのでご注意ください。

複写される方へ

本誌に掲載された著作物を複写したい方は、©日本複写権センターと包括複写許諾契約を締結されている企業の方でない限り、著作権者から複写権等の行使の委託を受けている次の団体から許諾を受けて下さい。

〒107-0052 東京都港区赤坂 9-6-41 乃木坂ビル (中法) 学術著作権協会
電話(03)-3475-5618 FAX(03)3475-5619 E-mail: jaacc@mtd.biglobe.ne.jp

著作物の転載・翻訳のような、複写以外の許諾は、直接本会へご連絡下さい。

アメリカ合衆国における複写については、次に連絡して下さい。

Copyright Clearance Center, Inc.
222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA
Phone 1-978-750-8400 FAX 1-978-646-8600

Notice about photocopying

In order to photocopy any work from this publication, you or your organization must obtain permission from the following organization which has been delegated for copyright for clearance by the copy right owner of this publication.

Except in the USA

Japan Academic Association for Copyright Clearance (JAACC)

6-41 Akasaka 9-chome, Minato-ku, Tokyo 107-0052 Japan

TEL: 81-3-3475-5618 FAX: 81-3-3475-5619 E-mail: naka-atsu@mju.biglobe.ne.jp

In the USA Copyright Clearance Center, Inc.

222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA

Phone: (978)750-8400 FAX: (978)750-4744

広告掲載：〒113-0033 東京都文京区本郷3-35-6 大石グリーンビル 株式会社 大矢商会

慶應医学 第83巻第4号別頁
平成18年12月25日

学位論文

慶應医学会

学位論文

縦断的前向き研究からみた閉経前女性における
腰椎骨密度の経時的変化に関する検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

(指導：野澤志朗教授)

こむかい しげ 成之
小武海 成之

(平成16年12月27日受付)

Key Words : premenopause, lumbar bone mineral density, estrogen, dual energy X-ray absorptiometry, follicle stimulating hormone

緒言

骨粗鬆症は明らかな性差の認められる疾患の一つであり、なかでも原発性骨粗鬆症に分類される退行期骨粗鬆症の罹患患者の大多数は女性である¹⁾といっても過言ではない。欧米諸国では高齢女性の半数以上が本症による影響を少なからず受けている²⁾といわれており、また日本人女性においても50歳以上の女性の約25%¹⁾が骨粗鬆症に罹患していると推定される。骨粗鬆症が男性より女性に多い理由としては、女性では男性に比べて生涯のうちで獲得する最大骨量 (peak bone mass : PBM) が元来少ないことに加えて、骨量の一生での変動自体が女性ホルモンの一つであるエストロゲン分泌のそれとパラレルであることが挙げられる。

1940年代に Albright ら³⁾は閉経後の女性に骨粗鬆症が発症しやすいことを既に見出しており、閉経後骨粗鬆症 (postmenopausal osteoporosis) という病態を提唱した³⁾が、今日では女性の骨量の獲得と喪失には女性ホルモンの一つであるエストロゲンが深く関与していることは周知の事実である。エストロゲンの分泌は初めての月経を迎える初経の頃すなわち10歳代初めから思春期にかけて急速に増大し、性成熟期に入ると安定する。思春期から性成熟期におけるエストロゲンの分泌低下の最たるものは無月経であるが、その原因別に運動性の無月

経⁴⁾、神経性食思不振症による無月経⁵⁾、卵巣摘出による無月経⁶⁾、早発閉経⁶⁻¹¹⁾などが挙げられ、それぞれに骨量低下を来することが知られている。

そして、更年期に入ると自然な形で卵巣機能の低下が始まり、その後急速にエストロゲン分泌が低下し、50歳前後で永久的な月経の停止を意味する閉経を迎える。原発性骨粗鬆症に分類される退行期骨粗鬆症は、さらに閉経後骨粗鬆症と老人性骨粗鬆症に分類されている¹²⁾が、Albright らの報告³⁾以来この「閉経後」の時期に急激な骨量の減少が認められることはこれまでも多くの報告が成されている。

しかし閉経はあくまで一つの現象を指す用語であり、日本産科婦人科学会の定義¹³⁾では「前回月経が認められてから、1年以上月経発来が無い状態をもって閉経とする」としており、突然起るものではない、すなわち閉経に至る前から徐々に卵巣機能の低下が進行し、その結果として閉経と判断されるため、厳密には閉経前の状態においても既に骨量の低下が進行している可能性は大いにありうるが、この点に関しては一定の見解が得られていない。

そこで、本研究では卵巣機能の低下を来す可能性がある40歳以上の健常閉経前女性を対象として、閉経前の腰椎骨密度減少が認められるか否かを縦断的に検討するとともに、その背景となる下垂体・性ホルモンおよび骨

本論文は、Komukai S, Ohta H, Makita K, Yanamoto S, Takamatsu K, Okano H, Yajima M, Nozawa S : One-Year Spinal Bone Change in Pre- and Perimenopausal Japanese Women : A Prospective Observational Study. Horm Res 59 : 79-84, 2003の一部を含む。

代謝指標についても検討したので報告する。

表2 研究対象者の背景 (Student's t-test による)

対象および方法

1997年4月から1998年3月までの1年間に慶應義塾大学病院産婦人科に併設されている更年期専門外来を受診した、表1に示した続発性骨粗鬆症の原因となる疾患や状態を有さない42歳から54歳までの未閉経女性のうち、本研究の目的と意図を説明し、同意の得られた214例を研究対象とした。1年間の経過観察の後、214例中17例は転居のため外来通院が不可能になったり、1年後の検査に来院できなかった等の理由で研究対象から除外し、最終的に研究対象者は197例となった。全対象者の背景を表2に示すが、平均年齢は48.2±2.3 (mean±SD) 歳で、体格因子としての身長は1.56±0.05 m、体重は53.0±8.0 kg、body mass index は21.9±3.1であり、BMIが25以上の肥満例や18.5以下のりい瘦例は認めなかった。

またこれらの対象者の中で、研究期間中に閉経と判断されたものは1例も認めなかった。

	全症例 (n=197)	閉経前期群 (n=90)	閉経周期群 (n=107)	p 値
年齢 (歳)	48.2±2.3	47.8±2.0	48.5±2.5	NS
身長 (m)	1.56±0.05	1.56±0.05	1.55±0.04	NS
体重 (kg)	53.0±8.0	53.5±7.4	52.4±6.5	NS
BMI	21.9±3.1	22.1±3.0	21.7±2.7	NS

今回の研究対象とした2群の体格因子には有意差を認めなかった。(Komukai S et al : Hormone Research 2003 ; 59 : 79-84の Table 1 を一部改変し、許可を得て転載)

そして本研究登録時とその1年後に以下の検査を施行した。

1) 腰椎骨密度測定

Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA) の XR-26 (Norland Corp., Fort Atkinson, Wisc., USA) を用いて、第2腰椎から第4腰椎までの骨密度を測定し、それらの平均値である L₂₋₄BMD を求め、登録時とその1年後の2回測定した L₂₋₄BMD の変化率 (%L₂₋₄BMD) で評価した。

2) 血液生化学的検査

腰椎骨密度測定と同様に、登録時およびその1年後に全対象例に対し、以下に示す血液生化学的検査を既報^{(10) (15) (16)}と同様に行った。

①下垂体・性ホルモン

血清中の follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E₂) を各々測定した。

②骨代謝関連指標

血清中の Ca, P, alkaline phosphatase (Alp), intact osteocalcin (OC), intact parathyroid hormone (PTH), calcitonin (CTN) を各々測定した。

尚、統計学的解析は、paired t-test および Student's non-pair t-test を用い、その分散に有意差がある場合には Welch の補正を行った。また分布が正規性からひどく外れている項目については Wilcoxon の符号付順位検定および Mann-Whitney の U 検定を行った。そして有意水準 5% をもって有意な差とみなした。

結 果

研究対象症例全体の登録時および1年後の検査データの比較を表3に示す。調査開始1年後にそれまでの月経状況から、月経が正順であった閉経前期群90例と月経

表1 続発性骨粗鬆症の原因

薬剤	内分泌疾患	結合織病
副腎皮質ステロイド	視床下部-下垂体性腺機能低下症	骨形成不全症
GnRH とその拮抗薬	Kallman 症候群	リウマチ
甲状腺ホルモン	Turner 症候群	SLE
抗癌薬	Klinefelter 症候群	ホモシスチン尿症
免疫抑制剤	神経性食思不振症	栄養性
消化器疾患	Cushing 症候群	慢性アルコール中毒
吸収不良症候群	原発性副甲状腺機能亢進症	重症の栄養不良
原発性胆汁性肝硬変	プロラクチン産生腫瘍	ビタミンC欠乏症
原発性硬化性胆管炎	甲状腺ホルモン中毒症	臓器移植後
胃切除後	I型糖尿病	その他
骨髄疾患	腎疾患	
多発性骨髄腫	尿細管性アシドーシス	
全身性肥満細胞腫症	高カルシウム血症	
悪性腫瘍の骨・骨髄転移	透析骨症	

表3 全症例の検査データの変化

*: paired t-test による
 **: Wilcoxon の符号付順位検定による

	登録時	1年後	p 値	
FSH (mIU/ml)	30.0±30.0	37.6±33.4	p<0.05	**
E ₂ (pg/ml)	60.6±67.4	38.2±27.0	NS	**
Ca (mg/dl)	9.1±0.3	9.1±0.3	NS	*
P (mg/dl)	3.4±0.5	3.4±0.5	NS	*
Alp (IU/l)	144.9±60.7	168.9±50.0	p<0.05	**
OC (ng/ml)	3.8±2.1	3.9±2.2	NS	**
PTH (pg/ml)	38.4±20.9	38.6±21.1	NS	**
CTN (pg/ml)	24.0±9.7	23.2±9.4	NS	**
L ₂₋₄ BMD (g/cm ²)	1.070±0.155	1.053±0.152	p<0.05	*

1年後は登録時に比し、FSH、Alpは有意に高値を、L₂₋₄BMDは有意に低値を示した。

表4 登録時、1年後の検査データの変化

	閉経前期群		閉経周期群	
	登録時	1年後	登録時	1年後
FSH (mIU/ml)	14.0±15.0	20.5±19.9	43.1±33.6	52.1±35.9
* * * ※ ※※				
E ₂ (pg/ml)	73.7±70.0	47±26.7	45.2±61.2	31.1±25
※ ※※				
Ca (mg/dl)	9.0±0.3	9.0±0.3	9.2±0.3	9.2±0.3
※ ※※				
P (mg/dl)	3.4±0.7	3.4±0.7	3.4±0.4	3.5±0.7
Alp (IU/l)	124±46.7	154±40.5	168±66.5	181±53.4
* * * ※ ※※				
OC (ng/ml)	3.3±1.7	3.3±1.7	4.3±2.4	4.4±2.5
※ ※※				
PTH (pg/ml)	37.3±17.1	37.0±15.3	39.6±24.9	39.5±21.9
CTN (pg/ml)	23.6±8.5	23.1±8.0	24.8±10.5	24.7±10.5
L ₂₋₄ BMD (g/cm ²)	1.08±0.16	1.07±0.16	1.06±0.15	1.04±0.16
* * *				

閉経前期群で登録時と1年後に有意差を認めた項目：* 閉経周期で登録時と1年後に有意差を認めた項目：**
 登録時で閉経前期群と閉経周期群に有意差を認めた項目：※ 1年後で閉経前期群と閉経周期群に有意差を認めた項目：※※

閉経前期群における登録時と1年後の比較では FSH、Alp は1年後が登録時に比し、有意に高値を示した。また L₂₋₄BMD は登録時が1年後に比し、有意に高値を示した。

閉経周期群における登録時と1年後の比較では FSH、Alp は1年後が登録時に比し、有意に高値を示した。また L₂₋₄BMD は登録時が1年後に比し、有意に高値を示した。

登録時における閉経前期群と閉経周期群の比較では FSH、Ca、Alp、OC は閉経周期群が閉経前期群に比し、有意に高値を示した。また E₂ は閉経前期群が閉経周期群に比し、有意に高値を示した。

1年後における閉経前期群と閉経周期群の比較では FSH、Ca、Alp、OC は閉経周期群が閉経前期群に比し、有意に高値を示した。また E₂ は閉経前期群が閉経周期群に比し、有意に高値を示した。

(Komukai S et al: Hormone Research 2003; 59: 79-84)の Table 1 を一部改変し、許可を得て転載)

が不規則になっていた閉経周期群107例に分類した。表2に閉経前期群と閉経周期群の背景を示す。年齢および体格因子には有意差を認めなかった。それをもとに閉経前期群、閉経周期群それぞれの登録時および1年後の検査データの比較を表4に示した。

①下垂体・性ホルモン

FSHは全症例、閉経前期群、閉経周期群ともに1年後は登録時に比し、有意に高値を示した。しかしE₂は全症例、閉経前期群、閉経周期群ともに登録時と1年後の間に有意差を認めなかった。また登録時、1年後ともに閉経周期群は閉経前期群に比し、FSHは有意に高値を示し、かつE₂は有意に低値を示した。

②血清CaおよびP

血清Caでは全症例、閉経前期群、閉経周期群では登録時と1年後に有意差は認めなかったが、登録時、1年後では閉経周期群は閉経前期群に比し、有意に高値を示した。

血清Pではどの比較においても有意差を認めなかった。

③骨代謝関連指標

全症例、閉経前期群、閉経周期群における比較では、Alpにおいてのみ1年後は登録時に比し、有意に高値を示した。

登録時、1年後における比較ではAlp、OCにおいては、閉経周期群が閉経前期群に比し、有意に高値を示した。

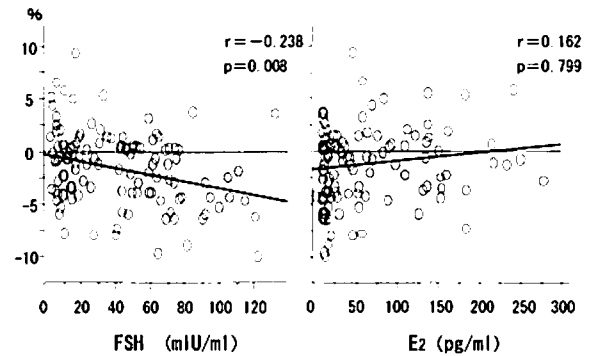


図2：FSH、E₂と%L_{2,3}BMDの相関
血清FSH値と%L_{2,3}BMDの間には有意な負相関を認めた。
(Komukai S et al: Hormone Research 2003; 59: 79-84のFig. 2を一部改変し、許可を得て転載)

④腰椎骨密度

全症例、閉経前期群、閉経周期群における比較では登録時は1年後に比し、有意に高値を示した。しかし登録時、1年後における比較では閉経周期群と閉経前期群との間に有意差を認めなかった。一方、1年間におけるL_{2,3}BMDの変化率(%L_{2,3}BMD)は、閉経前期群では-0.9±3.2%、閉経周期群では-2.2±3.9%となり、二群間に有意差を認めた(図1)。

⑤%L_{2,3}BMDと下垂体・性ホルモンとの相関

図2には、1年間の骨密度変化率である%L_{2,3}BMDと血清FSHおよびE₂の相関を示す。血清FSH値と%L_{2,3}BMDの間には相関係数r=-0.238と有意な負の相関を認めたが、血清E₂値との間には有意な相関を認めなかった。

考 察

骨粗鬆症には予防に勝る治療は無いと言われており、骨粗鬆症の発症を予防するためには可能な限り高い骨量を維持し、それを喪失しないことが重要と言われている。特に女性の場合は、骨量の急激な喪失の要因となりうるエストロゲン低下に十分留意する必要がある。

エストロゲン低下による骨量の低下のメカニズムとしては、骨の代謝動態である骨形成と骨吸収のバランスが、エストロゲン低下により骨吸収抑制不全に傾き、骨吸収が骨形成を上回ることによって生じる¹⁷⁾とされている。しかし、Turner syndromeのような先天的な性腺機能不全症や思春期の無月経をはじめとする各種卵巣機能不全では、思春期における急激な骨量の増加が認められないことも広く知られている。また無排卵性の月経や黄体機能不全

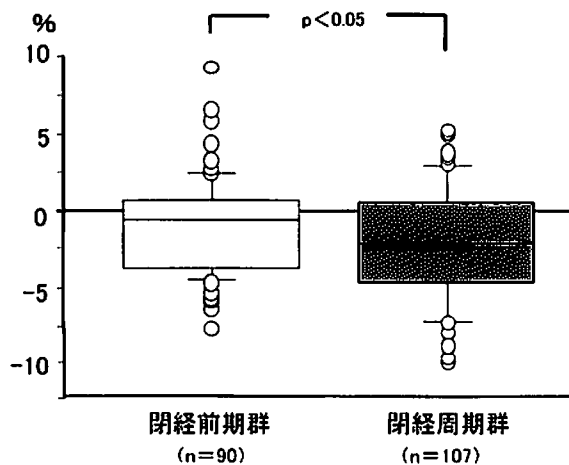


図1：1年後のL_{2,3}BMD変化率
閉経周期群では有意な骨密度減少を認めた。
(Komukai S et al: Hormone Research 2003; 59: 79-84のFig. 1を許可を得て転載)

症では、エストロゲンやプロゲステロンの正常な分泌がなされていないために、Prior JC ら¹⁸⁾によれば腰椎骨密度は年間4.2%も減少するという。

一方で閉経前の卵巣機能の低下による骨量への影響に関しては、閉経後と同様に骨量が低下することがある程度予測はされているものの、その詳細ははまだ明らかになっていない。通常、閉経はある時期に突然到来するものではなく、大多数は頻発月経を来したのち、稀発月経に移行し、最終的に1年以上の無月経となり閉経に至る。この間に当然一過性の血清E₂濃度の低下がみられ、それを反映してFSHの上昇がみられるが、閉経に至るまでの月経不順となる時期は卵巣機能にまだ余力があるため、E₂の分泌は再開する。この期間は通常1～3年位と考えられているが、このようなE₂の変動がある時期にも骨量の低下がみられるか否かを明らかにすることを目的として本研究を遂行した。

閉経前の骨量減少に関しては、これまでの主に横断的研究での報告^{19) 23)}をみると、腰椎骨の骨量減少率は年間0.3～1.3%であり、平均して0.7%であった。大腿骨での骨量減少率は平均すると年間1%以下^{20) 21)}であるが、Ward 三角の方が大腿骨頸部よりも海綿骨が多いことを反映して、前者が年間0.6～0.8%である^{20) 21)}のに対して、後者は0.2～0.6%であるとする報告^{19) 20) 23)}がみられる。これらの報告からは、エストロゲンの低下は海綿骨に大きな損失を与えることが示唆される。また、前腕骨におけるそれはDuppe H ら²¹⁾が報告しているが、近位皮質骨部位で年間0.4%、遠位海綿骨部位で0.6%であり、こちらも皮質骨よりも海綿骨の減少率がより大きいという。

一方、縦断的研究での検討を見ると、Smith EL ら²⁵⁾は閉経前女性19名について4年間の前向き研究を行い、橈骨骨密度が年間1%ずつ減少すると報告している。また、Bara ら²⁶⁾は3年間の前向き研究で腰椎骨は年間1%ずつ減少し、橈骨の皮質骨においても減少するとしているが、彼らが検討した対象者²⁶⁾は年齢が30～42歳であり、今回われわれが研究対象とした閉経前女性より更に若い年代であるためこの結果と単純には比較出来ない。われわれが検討したような閉経前女性を対象とした報告²⁷⁾では、5年間の橈骨骨密度測定で行った前向き研究から、その減少率は年間0.9%減少と報告されている。

本研究では、平均年齢48.2歳の閉経前女性において、調査開始1年後の月経状態から閉経周期と判断された群で、 $-2.2 \pm 3.9\%$ と閉経前期群に比し有意な骨密度減少を認め、これまでの報告以上の有意な変動が捉えられた。

過去の報告^{25) 26) 27)}では調査対象の背景が詳細不明であるが、我々の検討では閉経前のどのようなホルモン環境であったかを含めて検討が加えられた。

他方で、閉経前に骨量低下は認めないとする報告も散見される。すなわち縦断的研究としてMazess RB ら²⁸⁾は20～39歳の231例に対して椎骨と近位橈骨を前向きに2年間調査し、両者ともに有意な減少はなかったとし、Recker RR ら²⁹⁾も平均年齢49歳の閉経前女性25例に対して前向き研究を行い、椎骨と橈骨を測定して骨量は減少しなかったと報告している。一方、Nilas L ら³⁰⁾も29～55歳の婦人69例について横断的研究を行い、骨密度を測定して、その間の骨密度の減少はなかったとしている。

Mazess RB ら²⁸⁾や Nilas L ら³⁰⁾の報告において骨量低下を認識できなかった理由としては、各種身体部位のPBMはおおよそ35歳位で到達する^{20) 32)}とされているにも関わらず、35歳未満の者が対象に含まれていたことが第一に考えられる。また、Recker RR ら²⁹⁾の報告では平均年齢49歳ということではあるが、ホルモン動態を詳細に検討しておらず、実際にはエストロゲン低下をまだ認めていない症例が少なくなかったために明らかな骨量低下を認識出来なかった可能性も考えられる。

また、腰椎骨密度と同時に測定した骨代謝関連指標においては、調査開始1年後の状況で、閉経周期群で血清Ca、Alp、OCの有意な高値が観察された。一般にエストロゲン低下に伴う骨吸収の抑制不全が見られると、それに加えてCTNの分泌不全が認められるようになり、低骨量を助長する傾向がある。しかし、それに対抗してこのようなホルモン環境時には、骨形成も二次的に亢進するためAlpやOCが高値になる。ところが、骨形成を上回る骨吸収の亢進により結果的には低骨量となる。したがって、今回の閉経周期群での結果はCTNに関しては有意な差を認めなかったが、概ね上記メカニズムを反映した結果と思われる。

しかし、本研究にもいくつかの問題点がある。まず1点は、本研究施行時点では骨動態を比較的鋭敏に反映すると言われている骨吸収マーカーであるN-telopeptideや骨形成マーカーである骨型alkaline phosphataseなどの測定系が十分確立されておらず、そのため骨吸収の亢進の程度を客観的に評価することが出来なかった。CTNの濃度なども極く微量であるため、急速ないしは急激なエストロゲン低下時でなければ測定データに反映されない可能性もあり、これらの点も含めて今後新しい骨代謝マーカーでの検証が必要であると考え。次に、本研究の対象とした母集団は、地域的には東京を中心と

した都市部に在住しており、大腿骨頸部骨折が北日本での発生頻度が低く、西日本で高いという報告³³⁾や都市部では農村部に比し、骨折の発生率が高いという報告³⁴⁾を考慮すると、偏りがある可能性がある。また、大腿骨頸部骨密度は黒人で最も高く、白人、中国人、日本人の順に低いという報告³⁵⁾も考慮し、今後は地域差、人種差を含めた検討が必要であろう。また本研究では、女性ホルモンの低下を来たしはじめた状況で腰椎骨密度が低下することを示したが、閉経前後の女性ホルモンが大きく変動する期間は1~3年ほどあり、1年ではなく、さらに長期に調査することによりはじめて、変化の全貌が明らかになると考える。

本研究の結果から骨粗鬆症の予防は閉経後からではなく、閉経前からスタートすることが重要と考えられたが、単なる暦年齢よりはむしろその時点での月経状況がより重要である。すなわち、月経が不順となっている閉経周期例では、血清 E₂ 値の低下および FSH 値の上昇を認めるか否かを確認し、体格因子、遺伝的要因等閉経前の骨量減少のリスクを客観的に評価する必要がある。また今回検討した対象例は平均年齢48歳であるが、このような減少が認められたため、閉経までの間に月経不順の期間が1年ならば2~3%、3年ならば6~9%の減少が認められると推察される。したがって、閉経後だけでなく閉経前の1~3年の時期におけるスクリーニングによる骨密度評価と早期治療が、後年の骨折リスクの低下に対してもプラスに働くことが期待される。

総 括

閉経前に腰椎骨密度が減少するか否かを前向き研究的に検討することを目的として、慶應義塾大学病院産婦人科に併設されている更年期専門外来を受診した平均年齢48.2歳の未閉経女性197例を対象とし、1年間での腰椎骨密度の推移を下垂体・性ホルモンや骨代謝関連指標を絡めて検討することで、以下の事実を明らかにした。

1. 月経が規則正しく順調であった閉経前期群90例と月経が不規則になっていた閉経周期群107例の二群間で1年間の L₂₋₄BMD の変化率(%L₂₋₄BMD)を比較検討したところ、閉経前期群では平均-0.9%の変化であったのに対し、閉経周期群では、平均-2.2%と有意な骨密度減少を認めた。

2. 閉経周期群では、閉経前期群に比べ有意な血清 E₂ の低下と FSH の上昇が認められ、それを反映して血清 Ca、Alp、OC の有意な高値が観察された。

3. 血清 FSH 値と%L₂₋₄BMD との間には有意な負の相

関を認めた。

以上の結果より、閉経前であっても月経不順となっていたり女性ホルモンの低下を来しはじめた状況下では、腰椎骨密度が減少することを明らかにした。したがって、閉経後骨粗鬆症の予防は「閉経後から」ではなく「閉経前から」必要であり、本研究結果が閉経後骨粗鬆症のマネジメントを考える上で重要な示唆を与えるものと思われる。

本稿を終えるにあたり、懇切なご指導とご校閲を賜りました慶應義塾大学医学部産婦人科学教室野澤志朗前教授に深甚なる謝意を捧げます。また、本研究に際して直接御指導頂きました東京女子医科大学産婦人科学教室太田博明現教授、慶應義塾大学医学部産婦人科学教室牧田和也先生に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 山本逸雄：骨粗鬆症人口の推定。Osteoporosis Japan 7：10-11, 1999
- 2) Stevenson JC, Whitehead MI：Postmenopausal osteoporosis. Br Med J Clin Res Ed 285：585-588, 1982
- 3) Albright F：Osteoporosis. Ann Intern Med 27：861-882, 1947
- 4) Drinkwater BL, Nilson K, Chesnut CH 3rd, Bremner WJ, Shainholtz S, Southworth MB：Bone mineral content of amenorrheic and eumenorrheic athletes. N Engl J Med 311：277-281, 1984
- 5) Marcus R, Cann CE, Madvig P, Minkoff J, Goddard M, Bayer M, Martin MC, Gaudiani L, Haskell W, Gennant HK：Menstrual function and bone in elite women distance runners. Endocrine and metabolic features. Ann Intern Med 102：158-163, 1985
- 6) Jones PK, Ravnkar VA, Tulchinsky D, Schiff I：Comparison of bone density in amenorrheic women due to athletics, weight loss and premature menopause. Obstet Gynecol 66：5-8, 1985
- 7) Lloyd T, Buchanan IR, Bitzer S, Waldman CJ, Myers L, Ford BG：Interrelationships of diet, athletic activity, menstrual status and bone density in collegiate women. Am J Clin Nutr 46：681-684, 1987
- 8) Bachrach LK, Katzman DK, Litt IF, Guido D, Marcus R：Recovery from osteopenia in adolescent girls with anorexia nervosa. J Clin Endocrinol Metab 72：602-606, 1991
- 9) Ayers JW, Gidwani GP, Schumidt IM, Gross M：Osteopenia in hypoestrogenic young women with anorexia nervosa. Fertil Steril 41：224-228, 1984
- 10) Ohta H, Makita K, Suda Y, Ikeda T, Masuzawa T,

- Nozawa S : Influence of oophorectomy on serum levels of sex steroids and bone metabolism and assessment of bone mineral density in lumbar trabecular bone by QCT-C value. *J Bone Miner Res* 7 : 659-665, 1992
- 11) Ohta H, Sugimoto I, Masuda A, Komukai S, Suda Y, Makita K, Takamatsu K, Horiguchi F, Nozawa S : Decreased bone mineral density associated with early menopause progresses for at least ten years : Cross-sectional comparisons between early and normal menopausal women. *Bone* 18 : 227-231, 1996
 - 12) Riggs BL, Melton LJ 3rd : Involutional osteoporosis. *N Engl J Med* 314 : 1676-1686, 1986
 - 13) 日本産科婦人科学会編：産科婦人科用語解説集（第2版）。金原出版，p.181，1997
 - 14) 金 洪海，串田一博：DXAによる骨塩定量の実際 腰椎の前後方向，骨粗鬆症と骨塩定量-DXAによる骨塩定量-，メデイカルビュー社，p.40-47，1994
 - 15) Ohta H, Ikeda T, Masuzawa T, Makita K, Suda Y, Nozawa S : Differences in axial bone mineral density, serum levels of sex steroids, and bone metabolism between postmenopausal and age- and body size-matched premenopausal subjects. *Bone* 14 : 111-116, 1993
 - 16) Ohta H, Makita K, Suda Y, Masuzawa T, Ikeda T, Komukai S, Masuda A, Yoshimura Y, Taketomi S, Nozawa S : Urinary levels of pyridinium crosslinks of collagen and lumbar bone mineral density measured by DXA after oophorectomy *J Jpn Menopause Soc* 2 : 201-209, 1994
 - 17) Mundy GR : Bone remodeling and mechanisms of bone loss in osteoporosis. *Osteoporosis : Diagnosis And Management*. Martin Dunitz Ltd, London, 17-35, 1998
 - 18) Prior JC, Vigna YM, Schechter MT, Burgess AE : Spinal bone loss and ovulatory disturbances. *N Engl J Med* 323 : 1221-1227, 1990
 - 19) Buchanan JR, Myers C, Lloyd T, Greer RB 3rd : Early vertebral trabecular bone loss in normal premenopausal women. *J Bone Miner Res* 3 : 583-587, 1988
 - 20) Rodin A, Murby B, Smith MA, Caleffi M, Fentiman I, Chapman MG, Fogelman I : Premenopausal bone loss in the lumbar spine and neck of femur : a study of 225 Caucasian women. *Bone* 11 : 1-5, 1990
 - 21) Kroger H, Heikkinene J, Laitinen K, Kotaniemi A : Dual energy X-ray absorptiometry in normal women : a cross-sectional study of 717 Finnish volunteers. *Osteoporosis Int* 2 : 135-140, 1992
 - 22) Riggs BL, Wahner HW, Melton IJ 3rd : Rates of bone loss in the appendicular and axial skeleton of women : evidence of substantial vertebral bone loss before menopause. *J Clin Invest*, 77 : 1487-1491, 1986
 - 23) Hedlund LR, Gallagher JC : The effect of age and menopause on bone mineral density of the proximal femur. *J Bone Miner Res* 4 : 639-642, 1989
 - 24) Duppe H, Bardsell P, Johnell O, Nilsson BE : Bone mineral content in women : trends of change. *Osteoporosis Int* 2 : 262-265, 1992
 - 25) Smith EL, Gilligan C, Smith PE, Sempos CT : Calcium supplementation and bone loss. *Am J Clin Nutri* 50 : 833-842, 1989
 - 26) Baran D, Sorensen A, Grimes J, Lew R, Karellas A, Johnson B, Roche J : Dietary modification with dairy products for preventing vertebral bone loss in premenopausal women : a three-year prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 70 : 264-270, 1990
 - 27) Sowers MR, Clark MK, Hollis B, Wallace RB, Jannausch M : Radial bone mineral density in pre- and perimenopausal women : a prospective study of rates and risk factor for loss. *J Bone Miner Res* 7 : 647-657, 1992
 - 28) Mazess RB : Bone density in premenopausal women : effect of age, dietary intake, physical activity, smoking, and birth control pills. *Am J Clin Nutr* 53 : 132-142, 1991
 - 29) Recker RR, Lappe JM, Davies KM, Kimmel DB : Change in bone mass immediately before menopause. *J Bone Miner Res* 7 : 857-862, 1992
 - 30) Nilas L, Christiansen C : Bone mass and its relationship to age and the menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 65 : 697-702, 1987
 - 31) Gilsanz V, Gibbens DT, Carlson M, Boechat MI, Cann CE, Schultz EE : Peak trabecular vertebral density : a comparison of adolescent and adult females. *Calcif Tissue Int* 43 : 260-262, 1988
 - 32) Recker RR, Davies M, Henders SM, Heaney RP, Stegman MR, Kimmel DB : Bone gain in young adult women. *JAMA* 268 : 2403-2406, 1992
 - 33) Orimo H, et al : Trends in the incidence of hip fracture in Japan, 1987-1997 : the third nationwide survey. *J Bone Miner Metab* 18 : 126-131, 2000
 - 34) Chevally T, et al : Evaluation of the age-adjusted incidence of hip fractures between urban and rural areas : the difference is not related to the prevalence of institutions for the elderly. *Osteoporosis Int* 13 : 113-118, 2002
 - 35) Finkelstein JS, et al : Ethnic variation in bone density in premenopausal and early perimenopausal women : effects of anthropometric and lifestyle factors. *J Clin Endocrinol Metab* 87 : 3057-3067, 2002

慶應医学 第83巻第4号号外
平成18年12月25日

博士（医学）学位論文

内容および審査要旨

第182号

慶應義塾大学

論文の内容および審査要旨公表

本学では大学院医学研究科博士課程修了の次の者に対し、博士（医学）の学位を授与したので学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定により、その論文の内容の要旨および論文審査の結果の要旨を公表する。

慶應義塾大学

学位授与年月日 学位記号	氏名	生年月日
平成18年 9月11日 慶大博士甲第2655号	小河 アイリーン尚美	昭和50年12月13日
同 同 第2656号	藤 卷 亮 二	昭和48年 6月 9日
平成18年10月16日 同 第2661号	馬 原 啓 太 郎	昭和48年 6月28日

論文の内容および審査要旨公表

本学では大学院医学研究科の行う論文博士の審査および試験に合格した次の者に対し、博士（医学）の学位を授与したので学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定により、その論文の内容の要旨および論文審査の結果の要旨を公表する。

慶應義塾大学

学位授与年月日 学位記号	氏名	生年月日
平成18年 9月11日 慶大博士乙第4064号	相 佐 好 伸	昭和47年10月 2日
同 同 第4065号	青 木 真 彦	昭和47年 5月24日
同 同 第4066号	奥 島 雄 一 郎	昭和43年 7月 1日
同 同 第4067号	栗 原 稔 之	昭和40年11月16日
同 同 第4068号	笹 崎 義 弘	昭和40年 3月27日
同 同 第4069号	佐 藤 全 伯	昭和45年10月31日
同 同 第4070号	中 田 さ く ら	昭和42年 4月25日
同 同 第4071号	長 谷 部 光 泉	昭和44年 9月14日
同 同 第4072号	松 本 豊	昭和40年 3月13日

学位授与年月日 学位記号	氏名	生年月日
平成18年9月11日 慶大博士乙第4073号	森末光	昭和46年2月2日
同 第4074号	涌井昌俊	昭和39年12月18日
平成18年10月16日 同第4077号	酒井宏水	昭和41年9月19日
同 同第4078号	森山泰	昭和43年1月8日

目 次

小河アイリーン尚美	Contribution of High Mobility Group Box-1 to the Development of Ventilator-Induced Lung Injury (High Mobility Group Box-1が人工呼吸惹起性肺損傷の発症に与える影響) …… 5
藤巻 亮二	Involvement of Notch signaling in initiation of prechondrogenic condensation and nodule formation in limb bud micromass cultures (軟骨結節の初期形成におけるNotchシグナリングの関与 –肢芽細胞高密度培養系を用いた解析–) …… 6
馬原啓太郎	Aging Adversely Affects Postinfarction Inflammatory Response and Early Left Ventricular Remodeling after Reperfused Acute Anterior Myocardial Infarction (再灌流療法を施行した初回前壁心筋梗塞における心筋梗塞後免疫応答および左室リモデリングに対する加齢の影響) …… 7
相佐 好伸	Effects of Immunosuppressive Agents on Magnesium Metabolism Early after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (同種造血幹細胞移植後早期のマグネシウム代謝に及ぼす免疫抑制剤の影響) …… 8
青木 真彦	A Novel Human Monoclonal Antibody Derived from Tumor-infiltrating Lymphocytes in Lung Cancer Inhibits Cancer Cell Growth with Morphological Changes –癌細胞の形態変化および増殖抑制を及ぼす、肺癌浸潤リンパ球由来 ヒトモノクローナル抗体に関する分析– …… 9
奥島雄一郎	Lateral Translation of the Lumbar Spine: In Vitro Biomechanical Study (腰椎の側方並進に関する生体力学的研究) …… 10
栗原 稔之	Never-treated patients with schizophrenia in the developing country of Bali (発展途上地であるバリ島における未治療の統合失調症患者に関する研究) …… 11
笹崎 義弘	Deformation and failure of cartilage in the tensile mode (伸張負荷による軟骨の変形と破断のメカニズム) …… 12
佐藤 全伯	Survivin associates with cell proliferation in renal cancer cells: Regulation of survivin expression by insulin-like growth factor-1, interferon-γ and a novel NF-κB inhibitor (サーバイピンは腎癌細胞増殖に関連している：インシュリン様増殖因子1、インターフェロンガンマ及び新しいエヌエフカッパビー阻害薬によるサーバイピン発現の制御) …… 13
中田さくら	Chemosensitivity testing of ovarian cancer using the histoculture drug response assay: sensitivity to cisplatin and clinical response (組織片培養法を用いた卵巣癌に対する抗癌剤感受性試験：シスプラチンに対する感受性と臨床効果) …… 14
長谷部光泉	Fluorinated diamond-like carbon as antithrombogenic coating for blood-contacting devices (フッ素添加ダイヤモンド・ライク・カーボン薄膜の血液接触性医療器具への応用：抗血栓性コーティング) …… 15
松本 豊	Fluid Shear Stress Attenuates Tumor Necrosis Factor-α-Induced Tissue Factor Expression in Cultured Human Endothelial Cells (培養ヒト血管内皮細胞のTNF α 誘導組織因子発現に対するずり応力の影響) …… 16

森末 光	<p>A Novel Hydroxyapatite Fiber Mesh as a Carrier for Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Enhances Bone Union in Rat Posterolateral Fusion Model (ラット脊椎固定術モデルにおける、ハイドロキシアパタイトファイバーメッシュのrhBMP-2の担体としての有用性) …………… 17</p>
涌井 昌俊	<p>Genetic Dissection of Systemic Lupus Erythematosus Pathogenesis: Partial Functional Complementation between <i>Sle1</i> and <i>Sle3/5</i> Demonstrates Requirement for Intracellular Coexpression for Full Phenotypic Expression of Lupus (全身性エリテマトーデスの成因に関する遺伝学的解析：<i>Sle1</i>と<i>Sle3/5</i>の部分的機能補完は、完全なループス表現型発現のために細胞内共発現が要求されることを示す) …………… 18</p>
酒井 宏水	<p>Acute 40 percent exchange-transfusion with hemoglobin-vesicles (HbV) suspended in recombinant human serum albumin solution: degradation of HbV and erythropoiesis in a rat spleen for 2 weeks (ヘモグロビン小胞体 (HbV)-リコンビナントアルブミン分散溶液による40%交換輸血：ラット脾臓内HbV代謝と造血に関する2週間の観察) …… 19</p>
森山 泰	<p>アルコール依存症における軽度の認知機能障害 (高次脳機能障害) について—就労予後との関連から …………… 20</p>

Contribution of High Mobility Group Box-1 to the Development of Ventilator-Induced Lung Injury

(High Mobility Group Box-1が人工呼吸惹起性肺損傷の発症に与える影響)

小河 アイリーン尚美

内容の要旨

人工呼吸は、呼吸不全患者の治療において欠かせないものであるが、設定によっては人工呼吸自体が肺損傷を引き起こす。このような人工呼吸惹起性肺損傷の発症に、炎症性サイトカインは重要な役割を果たしている。High mobility group box-1 (HMGB1)は、敗血症性ショックや出血性ショックの後期メディエーターとしての働きを持つが、直接肺に投与した場合に、急性肺傷害を引き起こすことが近年明らかになった。そこで、HMGB1が人工呼吸惹起性肺損傷にも関与しているのではないかと考え、大きな一回換気量の人工換気を健常部に施行した時に、HMGB1が放出されるという仮説を検証した。次に、HMGB1の産生源を調べ、更に、HMGB1を阻害する事による人工呼吸惹起性肺損傷への影響を検証した。

まず、小さな一回換気量(8 ml/kg)もしくは大きな一回換気量(30ml/kg)で人工換気を4時間施行した兎肺から、気管支肺胞洗浄液および肺組織を採取し、比較した。また、大きな一回換気量を用いた人工換気を施行する直前に、生理食塩水、コントロール抗体、あるいは抗HMGB1抗体を気管内投与した兎肺より、気管支肺胞洗浄液および肺組織を採取し、比較した。

大きな一回換気量で人工換気した群では、好中球の集積、乾湿重量比の上昇、血管透過性亢進、気管支肺胞洗浄液中のinter leukin-8やtumor necrosis factor- α の濃度の上昇が見られた。気管支肺胞洗浄液中のHMGB1の濃度は、小さな一回換気量で人工換気した群と比較して、大きな一回換気量で人工換気した群では、5倍に増加していた。免疫組織学的検査および免疫蛍光染色検査により、大きな一回換気量の人工換気を受けた兎肺のマクロファージと好中球に、HMGB1の発現を認めた。HMGB1を阻害したことで、酸素化が改善し、血管透過性の亢進が抑制され、肺胞腔への好中球の集積が軽減、気管支肺胞洗浄液中のtumor necrosis factor- α の濃度が減少した。一方、乾湿重量比や気管支肺胞洗浄液中のinter leukin-8の濃度には、影響がなかった。

これらの結果により、HMGB1が、過伸展をもたらすような人工換気で肺胞内に放出されること、人工呼吸惹起性肺損傷の発症において部分的ではあるもののそれを悪化させる役割を持つことが明らかになり、今後の人工呼吸惹起性肺損傷の治療の標的となる可能性が示唆された。

論文審査の要旨

Ventilator-induced lung injury (VILI)の発症には様々なメディエーターが関与しているが、その全貌は明らかではない。本研究では、VILIへのHigh mobility group box-1 (HMGB1)の関与を検討した。ウサギに30ml/kgという大きな一回換気量での人工呼吸を施行してVILIをおこした結果、HMGB1が気管支肺胞洗浄液中で増加した。同様の人工呼吸をした肺に免疫染色を行い、マクロファージ、好中球および肺胞上皮細胞にHMGB1の増加を確認した。また30ml/kgによる人工呼吸直前に抗HMGB1抗体を気管内投与すると、VILIが軽減することが明らかとなった。

審査では、HMGB1は細胞の核内で転写調節因子として働くが、何故VILIとの関連を検討する研究に至ったのかの質問がなされ、敗血症や急性呼吸不全症候群患者の血中や肺胞被覆液中でHMGB1が増えること、HMGB1の気管内投与により急性肺損傷が惹起されることなどが報告されているためと回答された。また30ml/kg程の大きすぎる一回換気量での人工呼吸は臨床的にあり得ないのではという指摘に対し、急性呼吸不全症候群などでは肺内の傷害は均一ではなく、小さな一回換気量による人工呼吸でも健常部は過剰な伸展を受けるとされており、このような部分のモデルであるとの説明がなされた。免疫染色に関しては、本来全ての細胞にHMGB1が存在しているはずなのに、何故一部でしか陽性になっていないのかとの質問に対し、人工呼吸で物理的に損傷を受けた細胞では細胞内にHMGB1を保つ事が出来ないために染まらない可能性があること、HMGB1は多く存在している核内から炎症などの刺激により細胞質への移動が起こることなどがあげられた。VILIに関与するサイトカインとの相互作用について、まずHMGB1が産生され、その影響で他のサイトカインが産生されるのか、またはその逆なのかとの質問があり、更なる検討が必要であるとされた。最後に、HMGB1の阻害薬の開発によりVILIを治療できるのかと指摘され、VILIには物理的な傷害や様々なメディエーターが関与しているので、一つだけを阻害する事で改善できるか不明であるが、今後の課題とされた。

以上のように、本研究では更に検討されるべき課題を残しているが、初めてHMGB1がVILIに関与していると証明した有意義な研究と評価された。

論文審査担当者 主査 麻酔学 武田 純三
外科学 小林 絢一 内科学 小川 聡
病理学 岡田 保典
学力確認担当者：池田 康夫
審査委員長：小林 絢一

試問日：平成18年 8月18日

Involvement of Notch signaling in initiation of prechondrogenic condensation and nodule formation in limb bud micromass cultures

(軟骨結節の初期形成におけるNotchシグナリングの関与—肢芽細胞高密度培養系を用いた解析—)

藤 巻 亮 二

内容の要旨

Notchシグナリングは発生過程において様々な細胞の運命決定や組織の形態形成に関与している。しかしながら、軟骨形成におけるその役割は幾つかのin vivoの研究からその関与が疑われるが、詳細についてはいまだ明らかとなっていない。そこで本研究では、肢芽細胞高密度培養系を用いたin vitroの系で、Notchシグナリングの軟骨細胞分化、及び軟骨結節形成におけるその役割を解析した。

実験では胎生12.5日のC57BL6マウスの肢芽細胞を採取し 2×10^7 個/mlの細胞濃度で培養した。この培養系では軟骨細胞分化と結節形成がin vitroで再現される。この培養系における1) Notch関連遺伝子mRNAの系時的な発現をRT-PCRで計測し、2) 活性型Notch1蛋白の局在を免疫染色法で調べた。また、この培養系にNotchシグナルの抑制剤である γ -secretase阻害剤(DAPT)を投与しその軟骨細胞分化と結節形成に対する影響を以下の実験を行い検討した。3) アルシアンブルー染色を行い染色領域、結節数、結節の直径を定量、4) Sox9, type II コラーゲン $\alpha 1$ 鎖mRNAの発現量を半定量RT-PCRで計測、5) 軟骨結節の形態的な変化を観察、6) BMP4, GDF5, Id1の蛋白発現量をウエスタンブロット法で定量した。以上をDAPT処理群とコントロール群と比較した。その結果、1) Notch1, 2, 3およびそのリガンドであるDelta1, Jagged1, 2のmRNAは、結節形成が最も盛んになる培養3日から5日に最も高く発現した。2) 活性型Notch1蛋白は軟骨結節に局在し軟骨結節の成熟が進むと結節の辺縁部により強く染色された。3) DAPT投与群ではコントロール群に比し約2.5倍アルシアンブルー染色領域が大きかった。結節数および結節の大きさは共にDAPT群で有意に増加していたが、結節数の増加がより顕著であった。4) Sox9およびtype II コラーゲン $\alpha 1$ 鎖mRNAの発現量はDAPT群で高かった。5) DAPT投与群の軟骨結節の形状は辺縁が不明瞭であった。コントロール群では培養日数が進むと結節同士は接触しながらもその境界は保たれるのに対して、DAPT投与群では結節同士が融合しその境界は消失していた。6) DAPT投与群ではGDF5, Id1の蛋白発現量がコントロール群に比し増加していた。

軟骨結節の初期形成のメカニズムとそれに関わる遺伝子はあまり知られていない。今回の結果からNotchシグナルが軟骨細胞の初期分化を抑制し、さらに軟骨結節の境界形成に関与している事が示唆された。またこれらの分化や境界形成に対する役割はBMPシグナルと協調して行われている可能性が考えられた。

論文審査の要旨

Notchシグナリングは多様な細胞種の分化運命決定と組織の形態形成に関わっていることが知られているが、軟骨形成におけるその役割はほとんど明らかになっていない。そこで本研究では、肢芽間葉系細胞培養を用いたin vitroの実験系で軟骨形成におけるNotchシグナリングの役割を解析した。

肢芽間葉系細胞培養系におけるNotch関連遺伝子のmRNA発現を調べると、Notch1, 2, 3およびリガンドであるDelta1, Jagged1, 2は培養1日目から5日にかけて高発現していた。この結果はNotchシグナリングが軟骨結節の初期形成期によく機能していることを示唆している。次に活性型Notch1蛋白の局在を免疫組織染色法で調べた。活性型Notch1蛋白は軟骨結節の初期形成期には結節部位に一致して発現が見られ、結節間の領域には発現が見られなかった。また軟骨結節の成熟が進むと活性型Notch1の発現は結節の辺縁部に移行していた。次にNotchの阻害剤である γ -secretase inhibitor (DAPT)を投与してその表現型を調べると、DAPTの投与により結節数、結節の大きさは共に増えて軟骨分化が亢進していた。軟骨分化のマーカーであるSox9, type II collagenのmRNA発現、さらにBMP関連遺伝子であるGDF5, Id1の蛋白発現はDAPT投与により亢進していた。またDAPT投与群では結節の辺縁が不明瞭となり、軟骨分化の領域形成が正常に行われていなかった。この事実は、Notchシグナルを阻害することにより軟骨分化だけではなく軟骨結節の形態形成にも影響を与えることを示唆している。

審査では、まず実際の生体内でのNotchシグナルの役割に関する質問がなされた。それに対し軟骨細胞特異的にNotch1遺伝子をノックアウトした結果、表現型の異常は見られなかったと回答された。またその理由として、他の遺伝子によってその機能が代償されている可能性が高いと回答された。さらに、NotchとBMPの軟骨細胞での相関関係について質問がなされた。これに対し両者は軟骨形成においては拮抗的に働くことが示唆されたが、詳細な機序については今後さらに解析が必要であると回答された。次に軟骨結節の境界形成のメカニズムに関して質問がなされた。これに対し軟骨結節の境界形成に対して過去に着目した報告は少なく、その解析手法についても今後の検討課題であると回答された。

以上のように本研究は未だ検討されるべき点を残しているものの、軟骨細胞の初期分化をNotchシグナルが抑制する可能性を示した点、さらに軟骨結節の辺縁、領域形成という新しい視点を呈示し、それにNotchシグナルが関与する可能性を示唆した点で有意義であると評価された。

論文審査担当者 主査 整形外科学 戸山 芳昭
病理学 岡田 保典 発生・分化生物学 須田 年生
生理学 岡野 栄之
学力確認担当者:
審査委員長: 岡田 保典

試問日: 平成18年 8月 7日

Aging Adversely Affects Postinfarction Inflammatory Response and Early Left Ventricular Remodeling after Reperfused Acute Anterior Myocardial Infarction

(再灌流療法を施行した初回前壁心筋梗塞における心筋梗塞後免疫応答
および左室リモデリングに対する加齢の影響)

馬原 啓太郎

内容の要旨

急性心筋梗塞後に死亡した症例の75%は、70歳以上の症例であり、その原因の多くは心不全である。一方、心不全の原因となる左室リモデリングは、梗塞範囲、壁応力とともに、梗塞部治癒過程の障害が関与することが示されている。我々は、これまで炎症反応を反映する血清C反応性蛋白 (CRP) 値や血漿インターロイキン6 (IL-6) 濃度と左室リモデリングの関連について報告しており、炎症が過剰に遷延することによって梗塞後治癒過程を障害するのではないかと考えている。また、加齢に伴って免疫応答は変化し、不適切な免疫反応や創傷治癒過程の障害が起こる事もこれまでに報告されている。以上より、高齢者において心筋梗塞の予後が不良である一因として、梗塞後の過剰な炎症、免疫応答の関与があるのではないかと考え、臨床研究を行った。

【対象および方法】対象は発症24時間以内に経皮的冠動脈形成術に成功した初回前壁心筋梗塞102例で、70歳以上 (33例) 70歳未満 (69例) の2群に分けて検討した。血清クレアチンキナーゼ (CK) 値測定のため入院後6時間毎に24時間、静脈血採血を行った。また血清CRP値測定のため24時間毎に少なくとも4日間静脈血採血を行った。左室リモデリングを検討するため、入院時および入院2週間後に左室造影検査を施行した。入院時、発症2週間後、発症6ヵ月後に神経体液性因子およびサイトカイン測定のため静脈血採血を行った。退院後、少なくとも6ヶ月間観察した。

【結果】患者背景因子、冠動脈造影検査、薬物治療内容に2群間で有意差を認めなかった。血清ピークCK値は2群間で有意差を認めなかったが、血清ピークCRP値は70歳以上の群で有意に高値であった。またCRP値がピークに至るまでの日数も70歳以上の群で有意に大であった。院内合併症として、ポンプ不全は70歳以上の群で多く認められた。6ヶ月以内の心不全増悪による入院も70歳以上の群で多く認められた。左室リモデリングの指標として検討した発症直後から2週間での左室拡張末期容積および左室収縮末期容積の増大度は、ともに70歳以上の群で有意に大であった。入院時、発症2週間後、発症6ヵ月後の血漿心房性利尿ペプチド (ANP)、脳性利尿ペプチド (BNP) およびIL-6濃度は70歳以上の群で有意に高値であった。血清CRP値上昇 (5 mg/dl以上) の規程因子を検討するため、ロジスティック回帰分析を用いて多変量解析を施行したところ、年齢70歳以上が単独の規程因子となった。

【結語】これまで、高齢者が予後不良である原因として、消極的な治療法、陳旧性心筋梗塞の存在、他臓器合併症の存在などが指摘されていた。今回の研究ではそれらの条件を可能な限り同等にして検討したが、高齢者においては、梗塞後の高度な炎症反応の遷延とともに、左室リモデリングの増悪を認めた。加齢によって急性心筋梗塞後の免疫応答が変化し、左室リモデリングに影響を及ぼしている可能性が示唆された。

論文審査の要旨

急性心筋梗塞後に死亡した症例の75%は、70歳以上の症例であり、その原因の多くは心不全である。一方、心不全の原因となる左室リモデリングは、梗塞範囲、壁応力とともに、梗塞部治癒過程の障害が関与することが示されている。我々は、これまで炎症反応を反映する血清C反応性蛋白 (CRP) 値や血漿インターロイキン6 (IL-6) 濃度と左室リモデリングの関連について報告しており、炎症が過剰に遷延することによって梗塞後治癒過程を障害するのではないかと考えている。また、加齢に伴って免疫応答は変化し、不適切な免疫反応や創傷治癒過程の障害が起こる事もこれまでに報告されている。以上より、高齢者において心筋梗塞の予後が不良である一因として、梗塞後の過剰な免疫反応の関与があるのではないかと考え、臨床研究を行った。その結果、高齢者においては、梗塞後の高度な炎症反応の遷延とともに、左室リモデリングの増悪を認めた。加齢によって急性心筋梗塞後の免疫応答が変化し、左室リモデリングに影響を及ぼしている可能性が示唆された。

審査では、まずCRP上昇の機序について質問がなされた。心筋梗塞後に好中球やマクロファージが梗塞巣に浸潤しIL-6などの炎症性サイトカインを分泌し、それらが主に肝臓に作用してCRPが産生されると回答された。またCRPが生体内でどのような直接作用を有しているのかとの質問がなされた。最近CRPのレセプターがクロニングされたが、その作用についてはまだ不明なことが多く、おそらく炎症や免疫応答になんらかの影響を与えていると考えられるが、はっきりとしたことはまだ解っていないと回答された。最後に心筋梗塞後の炎症を抑制することで、予後を改善する可能性はあるのかとの質問がなされた。それに対して、心筋梗塞後の炎症が過剰なものは左室リモデリングの増悪をきたすと考えられるが、梗塞後に炎症細胞が浸潤し壊死心筋が貪食され膠原線維に置換されるという治癒過程において、炎症は必要なものであり、炎症を完全に抑制するのは予後を悪化させる可能性がある。しかし、以前否定された心筋梗塞後のステロイド投与も、近年のメタアナライシスにおいて再評価されており、抗炎症剤の投与時期と投与量を調節すれば予後を改善する可能性がある、と回答された。

以上のように、本研究には更なる検討課題を残しているものの、高齢者が心筋梗塞の予後不良である原因の一つとして梗塞後の過剰な炎症の関与を示した、有意義な臨床研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 小川 聡
外科学 四津 良平 病理学 岡田 保典
再生医学 福田 恵一
学力確認担当者:
審査委員長: 四津 良平

試問日: 平成18年 8月28日

Effects of Immunosuppressive Agents on Magnesium Metabolism Early after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation

(同種造血幹細胞移植後早期のマグネシウム代謝に及ぼす免疫抑制剤の影響)

相 佐 好 伸

内容の要旨

シクロスポリン (CSA) やタクロリムス (FK) のカルシニューリン阻害剤は、同種造血幹細胞移植 (HSCT) 後の移植片対宿主病 (GVHD) 予防に広く使用される。カルシニューリン阻害剤には高血圧、腎機能障害、脳症の他に、低マグネシウム (Mg) 血症の副作用がある。今回我々は、CSAとFKのHSCT後のMg代謝に及ぼす影響の違いを前向きに比較検討した。

対象は2003年1月から2004年7月までに慶応義塾大学病院血液内科でHSCTを受けた36症例とした。GVHD予防は、血縁者間移植ではCSA、非血縁者間移植ではFKを、HSCT前日から24時間持続静注で投与した。全例でメソトレキセートを併用した。血清Mgと24時間尿中Mg排泄量は移植前、移植後1-4週目に測定し、magnesium L-asparatate (アスパラ®) を用いて血清Mg $1.5-2.0\text{mEq/L}$ になるように補充した。低Mg血症は $<1.4\text{mEq/L}$ と定義した。

CSA (12症例)、FK (24症例) の両群間の患者背景には有意差を認めなかった。

HSCT後、全例で低Mg血症を認めた。血清Mgは両群でHSCT前と比較して、HSCT後1, 2, 3週目に有意に低下した。HSCT後1, 2, 3週目の血清Mgの低下は、CSA群に比較してFK群でより有意であった。しかし、HSCT後4週目には両群間の有意差は消失した。

24時間尿中Mg排泄量は両群でHSCT前と比較して、HSCT後2, 3, 4週目に有意に増加した。HSCT後3, 4週目の24時間尿中Mg排泄量の増加は、CSA群に比較してFK群でより有意であった。

1日補充Mg量は、HSCT後2週目から両群で有意な増加が認められた。HSCT後3, 4週目の1日補充Mg量は、CSA群に比較してFK群でより有意であった。

クレアチニン・クリアランスは両群でHSCT後2週目から徐々に低下したが、HSCT前値との比較、及び両群間での比較において有意差を認めなかった。

その他の低Mg血症の原因としては、ループ利尿剤、アミノグリコシド系抗生物質などの薬剤や糖尿病などがあるが、二群間のループ利尿剤総投与量、アミノグリコシド系抗生物質の使用期間、およびHSCT前の耐糖能異常の有病率にも有意差は認められなかった。

今回我々は、同種HSCT患者において、移植後早期 (カルシニューリン阻害剤開始直後) から尿中Mg排泄が増加し、低Mg血症が進行すること、そして、そのMg代謝に及ぼす影響は、CSAに比較してFKで有意に大きいことを示した。低Mg血症は、脳症などのカルシニューリン阻害剤の副作用との関連性が示唆されており、特にFK投与患者においては精密な血清Mg値の測定と予防的Mg補充が重要であると考えられた。

論文審査の要旨

同種造血幹細胞移植後の移植片対宿主病予防として使用されるシクロスポリン (CSA) やタクロリムス (FK) の免疫抑制剤は、副作用として低Mg血症を引き起こす。低Mg血症は不整脈や痙攣の原因にもなり、移植期間中の血清Mgの管理は臨床的に重要である。本研究ではCSAとFKのMg代謝に及ぼす影響を前向きに比較検討し、両者で移植後早期から尿中Mg排泄が増加し、低Mg血症が進行すること、その影響はCSAに比較してFKで有意に大きいことを示した。

審査ではまず、CSA及びFKの両群間の患者背景について質問された。具体的にはCSAとFKを各々、血縁者間移植と非血縁者間移植に特定して使用している点、統計学的な有意差はないものの、FK群で全身放射線照射 (TBI) を用いた骨髄破壊の前処置が多い点、非血縁者間移植 (FK群) でメソトレキセート (MTX) を多く使用している点などが指摘された。以前より血縁者間移植では、FKを使用すると再発率が多くなることが示されており、またFKはCSAに比してカルシニューリンを阻害する力価が約100倍高いことから、慶應では血縁者間移植ではCSAを、非血縁者間移植ではFKを使用していることが回答された。また、文献的にTBIやMTXがMg代謝に影響を及ぼすことを示唆するものではなく、TBI群と非TBI群で分別した場合にも、Mg代謝に有意差が見出されなかったことなども併せて回答された。次に、目標血中濃度をCSA $200-400\text{ng/mL}$ 、FK $15-20\text{ng/mL}$ に設定していることに関して、これらの血中濃度で両者の力価が対等なのか、あるいはMg代謝という側面から見れば、CSAの目標血中濃度を引き上げることが可能ではないか、という質問に対しては、CSAの血中濃度に関して $400-600\text{ng/mL}$ に調整した方が、生存率が改善するとの報告もあることから、CSA及びFKの至適血中濃度に関しては今後の検討課題であるとの回答がなされた。更に、Mg代謝はKやCaの代謝とも連動しているにも拘らず、本研究ではMg代謝のみを解析対象としている点の指摘があった。これに関しては、研究計画時点で、薬剤師や腎臓内科医を含め多方面からの検討に基づき試験デザインを設計することにより、質の高い研究成果が挙げられた可能性があると回答された。またそれに関連して、本研究では血清Mgの補正にKを含有したアスパラ® (アスパラギン酸マグネシウム) を使用したが、その他の電解質を含まないマグネソール® (硫酸マグネシウム) を使用した方が、純粋なMg代謝への影響を考察できた、との助言を受けた。

以上のように、本研究では患者のランダム化や臨床研究立案時の細部にわたるデザイン設計に関して、検討すべき課題を残しているものの、臨床における重要な課題を前向き研究として計画・実行したこと、そしてその結果を、免疫抑制剤開始と同時に血清Mg補正も開始するという形で移植医療の現場に還元していることに関して高く評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 池田 康夫
微生物学・免疫学 小安 重夫 薬理学 谷川原祐介
臨床検査医学 村田 満
学力確認担当者: 池田 康夫、小安 重夫
審査委員長: 小安 重夫

試問日: 平成18年 8月22日

A Novel Human Monoclonal Antibody Derived from Tumor-infiltrating Lymphocytes in Lung Cancer Inhibits Cancer Cell Growth with Morphological Changes

—癌細胞の形態変化および増殖抑制を及ぼす、
肺癌浸潤リンパ球由来ヒトモノクローナル抗体に関する分析—

青 木 真 彦

内容の要旨

癌浸潤リンパ球 (TIL) は、いくつかのヒト悪性腫瘍に対して高い特異性を示したとの報告があるが、悪性腫瘍に対する直接的な効果による臨床学的有用性はいまだ明らかでない。一方、近年、悪性腫瘍に対してモノクローナル抗体は一つの治療戦略として受け入れられているが、多くはマウス抗体など他の動物由来の抗体の一部を有するものであり、異種動物由来の蛋白による重篤な免疫反応が起こりうる。そのため、本研究では癌細胞に対する特異的反応性や生物学的機能を有する、ヒトモノクローナル抗体を肺癌組織より取得したTILをもとにハイブリドーマ方法にて取得できたので検証した。この研究は、当学倫理委員会承認 (13-57) による文書にて同意を得て、肺11例・脾6例、胃癌9例、大腸癌1例、転移性肺腫瘍1例の癌患者の手術検体から癌組織やリンパ節を術中に回収した。組織から得られたリンパ球をマウスミエローマ細胞 (P3U1) と融合し、抗体を産生するハイブリドーマを作成した。そしてcell ELISA法を用いて培養固定癌細胞株と反応を有する抗体を産生するハイブリドーマのクローンを選択し、抗体の取得・精製を行った。その後、抗体の癌特異的反応性の評価として、①共焦点顕微鏡にて蛍光標識した抗体と癌細胞表面との結合の有無の観察、②免疫組織化学染色にてマウス移植腫瘍組織や手術検体組織を用いて癌組織と抗体との反応の観察、また抗体の直接的作用の評価としては、③培養癌細胞株と抗体を接触させ、光学顕微鏡で肉眼的な変化の観察、④MTT assayなどを用いた癌増殖抑制効果の確認をした。反応性を示した有用な抗体に関しては抗原解析を試みた。肺癌組織浸潤リンパ球から取得されたヒトモノクローナル抗体HoAKs-1について検証した。共焦点顕微鏡による観察では、肺癌細胞株HLC-1、脾癌細胞株PANC-1に於いては癌細胞表面と反応性を示し、HUVECに対しては変化を示さなかった。マウスへの移植癌組織切片上で免疫組織化学染色では、43%の細胞株に反応性を有し、脾癌 (100%)、肺癌 (75%) で高い反応性を示した。また、臨床手術検体では、癌組織に反応し、正常組織と反応を示さず、癌特異的な反応性を有することが認められた。光学顕微鏡による観察では、胃癌MKN45、肺癌HLC-1、脾癌PANC-1に対し抗体接触後、癌細胞が樹状突起様の細胞質の形態変化を認め、HUVECでは変化を示さなかった。④MTT assayによる検討では、肺癌、胃癌の細胞株でそれぞれ47%、63%の増殖抑制効果があった。抗体の抗原解析では、分子量約55kDaの蛋白質に反応性を有することが確認された。本研究で取得された癌組織浸潤リンパ球由来のヒト抗体HoAKs-1はいくつかの癌細胞株に対して生物学的特性を示した。すなわち、①癌細胞の形態変化、②癌細胞増殖抑制効果、③癌細胞との特異的反応性であった。今後更に検討を続け、本抗体の臨床応用への可能性について評価していく必要がある。

論文審査の要旨

癌浸潤リンパ球 (TIL) がヒト悪性腫瘍に対しては高い特異性を示したという報告が散見され、将来、TILが有効治療として重要な役割を果たす可能性が示唆されている。一方、近年、悪性腫瘍に対してモノクローナル抗体 (MoAb) は一つの治療戦略として臨床応用されているが、多くのMoAbはマウス由来の抗体部分を有し、異種動物由来蛋白による免疫反応が問題視されている。本研究では、肺癌臨床検体由来のTILよりハイブリドーマ法にて取得したヒトモノクローナル抗体 (HuMoAb) に関して、癌細胞に対する特異的反応性や生物学的機能について分析を行った。

審査では、先ずハイブリドーマ作成後の培養下における安定性につき質問があり、ヒト抗体産生、癌反応性ハイブリドーマ中、クローニングで残存する確率は約40~50%であったと回答された。次に当該抗体による癌細胞の形態変化と増殖抑制の機序として、アポトーシス誘導による可能性が指摘された。特に、増殖抑制機序に関しては、細胞周期の検討で抗体投与による変化がなかったこと、抗体を除去後も形態変化後の状態で生存していたこと、長期に細胞増殖が停止している状態であったと説明された。分化誘導の可能性は考えられるかとの問いに対し、その可能性もあると回答された。補体活性による作用を検証したかとの質問に対し、補体を有するヒト血清中で細胞抗体反応を検証したが、明らかな作用が加わらなかった旨が回答された。ヒト抗体を用いた免疫組織化学染色の困難性が示され、その工夫点について質問がなされ、ヒト抗体と結合させる抗ヒト抗体が、ヒト組織と非特異的な反応を示すため、ヒト抗体に直接蛍光標識する必要があり、その点に難渋した旨が回答された。また反応増幅のための特殊キットを用いたため、抗体の濃度は通常濃度と同等であった旨が追加された。免疫組織化学染色での反応性を、既存の癌細胞株に加え、多くの肺癌・脾癌手術検体で反応性を確認すべきと指摘された。抗原解析におけるWestern Blottingでの50kDバンドの解析結果について質問があり、全てのアミノ酸配列は解析されていないが、細胞質の中間径フィラメントであるビメンチンの可能性が高いと回答された。抗原の局在に対する解釈についての議論がなされたが、細胞質と同様の抗体反応部位が癌細胞表面に存在している可能性が挙げられ、抗原解析については現在検討段階であると回答がなされた。

以上、本研究は今後更に検討すべき点はあるものの、ハイブリドーマ法により多くの固形癌に反応性を示すHuMoAbを取得でき、特に、その方法論は興味深いと評価された。また難治性の肺癌・脾癌に対して特異的な形態変化や増殖抑制を示す当該抗体が、将来的に臨床応用される可能性を含み、意義の有る研究であると結論づけられた。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹

先端医科学 河上 裕 病理学 坂元 享宇

微生物学・免疫学 小安 重夫

学力確認担当者: 池田 康夫、河上 裕

審査委員長: 河上 裕

試問日: 平成18年7月25日

Lateral Translation of the Lumbar Spine: In Vitro Biomechanical Study

(腰椎の側方並進に関する生体力学的研究)

奥島 雄 一 郎

内容の要旨

腰椎変性側弯においては、しばしば「椎体側方すべり」がみられ、椎間不安定性を示唆していると考えられている。側方並進を増加させる力の方向を生体力学的に研究することは、側方すべり現象を解明する手がかりとなるが、これについて詳細に記した報告はない。また、側方並進量と椎間関節や椎間板との関係は不明である。そこで本研究では、側方並進量を増加させる力の方向、および椎間関節や椎間板の関与を明らかにする目的で以下の実験を行った。

新鮮屍体12体の第12胸椎から仙骨までを一塊として摘出し、独自に作製した荷重試験機に設置した。荷重試験機の5本のケーブルのうち、2本は外腹斜筋を模擬し、側屈力と同時に前方屈曲力(LAF)を発生させた。また、別の2本で内腹斜筋を模擬し、側屈力と同時に後方伸展力(LPF)を発生させた。各椎体の前面に各々3個の発光ダイオードを取り付け、PSDカメラによってそれぞれの位置を計測した。実験-1では、LAFとLPFのどちらが側方並進に大きな影響を与えるかについて調べた。次に、実験-2として、椎間関節や椎間板が側方並進に与える影響を検討するため、切除実験を行った。この実験において、Group Aでは椎間板切除後に荷重を負荷して計測を行い、続いて椎間関節切除後に再度計測した。Group Bでは椎間関節、椎間板の順に切除した後に計測を行った。独自に開発したソフトウェアによって算出された各椎間の側方並進量、側屈角度、回旋角度について、LAFとLPF方向、およびGroup AとBのパターンの違いについて検討した。

実験-1では、側方並進はLAF方向の牽引時がLPF方向の牽引時に比べ有意に大きかった。LAF方向の前方屈曲モーメントはLPF方向のそれよりも明らかに大きいこと、側屈角は両者に有意な差がみられなかったこと、LAF方向の牽引時は前方屈曲角度が大きかったことから前方への力が後方への力に比して側方並進を増加させると考えられた。実験-2では、Group Bにおいて側方並進量の増加率が大きかったことから、側方並進は椎間板切除後よりも椎間関節切除後のほうが増加することが示唆された。

本研究の結果から、腰椎変性側弯などの不安定腰椎疾患の病態と症状発現機序の解明につながる有用な知見が得られたと考えられた。

論文審査の要旨

腰椎変性側弯症においては、しばしば椎体の「側方すべり」がみられ、椎間不安定性を示唆すると考えられているが、これについての報告は少なく、側方すべりの発生と椎間関節や椎間板との関係は不明である。本研究は、側方すべりを増加させる力の方向、および椎間関節や椎間板の側方すべり発生に対する関与を明らかにする目的で行った。ヒト新鮮屍体より腰椎部を一塊として摘出し、独自に作製した荷重試験機に装着させたケーブルを用いて、側屈力と同時に前方屈曲力あるいは後方伸展力を発生させた。各椎体の位置を、PSDカメラによって計測し、側方並進量を算出した。前方屈曲力あるいは後方伸展力のどちらが側方並進に大きな影響を与えるかについて検討したところ、側方並進量は前方屈曲力を加えることにより増加することが分かった。次に切除実験を行い、椎間関節や椎間板切除が側方並進に与える影響について調べたところ、椎間関節切除のほうが椎間板切除よりも側方並進量を増加させることが明らかとなった。

審査では、まずL5-S椎間が他椎間と異なる結果であった理由についての質問がなされた。これに対して、L5-S椎間は腸腰靭帯などにより安定化しており、椎間板や椎間関節切除による影響が他椎間に比し少ないためであろうと回答された。次に、上位椎間ほど結果の数値が大きい傾向にあった理由は何か、臨床においてもその傾向は観察されるのかとの質問がなされた。これに対して、上位椎間と下位椎間では骨形状が異なるための影響と考えられ、実際の臨床でも側方すべりは中・上位椎間に発生しやすい傾向にあるとの回答がなされた。次に、本研究において屍体を用いた意義は何であったかとの質問がなされた。これに対して、生体での研究では可動域そのものが小さいうえに、切除実験が出来ず、また有限要素法などのシミュレーション解析では入力される数値により結果が異なるため、屍体実験を行ったと回答された。また切除実験について、椎間板や椎間関節を切除された状態は実際の生体ではみられない現象ではないかとの指摘がなされた。これについて、実験は加齢による変性を調べるためというよりは、むしろ手術などによる切除の影響を検討するために行われたものであり、今後、加齢を模擬した実験方法も検討していく必要があると回答された。最後に、生体では多くの筋活動により側屈動作がなされるが、単純な方向の牽引のみで実験が行われたことについての指摘がなされた。これについて、本実験では腰椎の自然な側屈動作が得られたものの、今後、より多くの筋を模擬した荷重試験機を開発していく必要があると述べられた。

以上のように本研究は未だ検討されるべき点を残しているものの、不安定腰椎疾患の病態、特に椎体側方すべり発現機序の解明につながる有用な知見が得られたことは、臨床的にも有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 整形外科 戸山 芳昭
リハビリテーション医学 里宇 明元 解剖学 相磯 貞和
形成外科学 中島 龍夫
学力確認担当者: 池田 康夫、里宇 明元
審査委員長: 里宇 明元

試問日: 平成18年8月11日

Never-treated patients with schizophrenia in the developing country of Bali

(発展途上地であるバリ島における未治療の統合失調症患者に関する研究)

栗原 稔之

内容の要旨

発展途上国の統合失調症患者の実態は、コミュニティベースの研究が極めて少ないために、十分に明らかにされていない。本研究では、バリの農村地帯における統合失調症患者のprevalence、患者の治療状況、および未治療に関わる因子について調査検討を行った。

バリ島における全ての共同体の中から、ランダムに、かつ連続して選択された9つの共同体に属する全世帯1966戸8546人が、本調査の対象者である。これら対象世帯の全戸別訪問を施行し、標準化された精神科診断面接マニュアルを使用することにより、統合失調症患者のスクリーニングを行った。さらに、スクリーニングされた患者の精神症状をPositive and Negative Syndrome Scale (PANSS)により評価し、社会適応能力を、Eguma's Social Adjustment Scale (ESAS)により評価した。また、患者の暴力行為の既往を、半構造化面接を用いて調査し、詳細な治療歴を、家人の情報およびカルテから確認した。尚、本調査は、Indonesian Institute of Scienceの許可に基づいて行った。

対象人口のうち、39名の統合失調症患者がスクリーニングされ、point prevalenceは、人口1000人対4.2であった。39名の患者のうち、25名が男性、14名が女性であり、平均年齢は38.7歳であった。また、治療歴のある者は19名(48.7%)、治療歴のない者は20名(51.3%)であった。未治療の患者群は、治療歴のある患者群に比べ、PANSSのtotal scoreと、総合精神病理尺度のscoreが有意に高かった。さらに、治療群の対象者の方が、未治療群に比べ、暴力行為の既往が有意に多かった。暴力行為を起こしたことがない9名の患者は、すべて未治療のままであり、一方で、すべての治療群の患者に暴力行為の既往があった。カルテおよび家庭の情報から、すべての治療群の患者は、少なくとも1回の暴力行為を、初回受診前の1ヶ月間に起こしていることが分かった。

バリに於ける統合失調症患者のprevalenceは、他の報告と比較して、相対的にやや高かった。スクリーニングされた患者のうち、半数以上が未治療のままであり、彼らの精神症状は、治療歴のある患者と比較し、不良であった。また、この発展途上地においては、暴力の既往のない統合失調症患者は、医学的治療を受ける機会がないことがわかった。未治療の患者を減らしていくことはバリの精神医療の課題であり、そのための方策の一つは、暴力や著しい興奮を示さない患者や家族、およびその患者が属するコミュニティの人々に、医学治療を受けるモチベーションを提供することであると考えられる。

論文審査の要旨

バリのコミュニティで戸別訪問を行い、8546人中、39名の統合失調症患者を抽出した。有病率は人口1000人対4.2であり、他の研究より高かった。治療群、未治療群に分けると、治療群は暴力行為の既往が多く、未治療群の方は精神症状が重度であったが、暴力行為の既往は少なかった。

審査では、まずバリを避んだ理由について質問がなされた。バリは、人口の動きが少ない安定したコミュニティであること、民族的文化的に同質であること、地域住民が調査に協力的であること、農村が大部分を占める発展途上地であることなどが理由であると回答された。次に、日本とバリの地域差による診断の相違がないのかどうかの質問がなされた。調査者と現地の精神科医師が、同一の患者を別々に独立して診断した結果、診断者間の一致度は高かったと回答された。家族が患者の存在を隠すことがないのかという質問に対しては、コミュニティの住民が患者の存在を十分に知っているという文化的背景のもと、その可能性はないと回答された。続いて、有病率が高い理由について説明を求められ、これに対しては、病院ベースではなく、コミュニティベースで調査を行っており、潜在的な患者も把握されたことが理由の一つと考えられると回答された。また、治療群と未治療群の間に、経済的な格差はないのかどうかの質問がなされた。自給自足の社会で経済格差は少ないと思われるが、今後検討したいと述べられた。また、暴力が入院のきっかけになるとの結果であるが、それ以外の症状は、家族によって把握されていないのかという質問がなされた。他の症状や暴力行為以外の問題行動も把握はされているが、暴力的な行動が生じたときに、初めて治療対象となりうる傾向が強いと回答された。さらには、今後の研究におけるサンプリング方法と統計手法について、示唆がなされた。

以上の如く、本研究には、今後さらに検討すべき課題を残しているものの、これまでに具体的資料に乏しかったバリの精神保健の基本的データをフィールドワーク的な手法によって明らかにした点において、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 精神神経科学 鹿島 晴雄

内科学 鈴木 則宏 衛生学公衆衛生学 大前 和幸
衛生学公衆衛生学 武林 亨

学力確認担当者：池田 康夫、鈴木 則宏

審査委員長：鈴木 則宏

試問日：平成18年 7月26日

Deformation and failure of cartilage in the tensile mode

(伸張負荷による軟骨の変形と破断のメカニズム)

笹 崎 義 弘

内容の要旨

関節軟骨に加わる荷重負荷は軟骨表面において圧縮力だけでなく伸張力を生じる。しかし伸張負荷による軟骨の変形と破断のメカニズムは負荷を加えた軟骨組織を観察する手法がなかったため未だ明らかでない。本研究の目的は、実体顕微鏡、共焦点レーザー走査型顕微鏡 (CLSM)、走査型 (SEM) および透過型 (TEM) 電子顕微鏡を系統的に用いて伸張負荷による軟骨の変形と破断のメカニズムをマクロから超微細構造レベルまで解明することである。

実験では、5頭の成牛大腿骨膝蓋関節面から直径12mmの骨軟骨プラグを採取し、軟骨表面を針で穿刺しsplit line (軟骨表面におけるcollagen meshworkの優位な走行性を示すと考えられている) を作製した。マイクロトームを用いて骨軟骨プラグから関節面に平行に全層軟骨を切り出した後、split lineに対して平行または直交する長軸をもつダンベル型全層軟骨小片を作製し、平行群・直交群と分類した。小型伸張負荷装置を用いて、両群の軟骨小片にそれぞれ0%から完全断裂に至るまでの伸張負荷を加え、実体顕微鏡によりマクロの破断メカニズムを、CLSMにより細胞外マトリックス (ECM) と細胞の配列変化を、最後にSEMとTEMによりcollagen meshworkの配列変化を観察した。

その結果、平行群・直交群ともに軟骨破断の過程は同じであった。実体顕微鏡により伸張負荷による軟骨の破断は表層から深層に進行することが明らかとなった。CLSMによりECMと軟骨細胞は伸張負荷の方向に再配列することが明らかとなった。SEMとTEMにより、①軟骨表面のcollagen meshworkが伸張負荷方向に再配列し、細線維束を形成すること、②軟骨破断は表層のcollagen meshworkに始まり、深層へと進行すること、③平行群では直交群より低いstrainでcollagen meshworkの再配列と破断を生じることを明らかにした。

従来、伸張負荷による軟骨破断のメカニズムはsplit lineに平行に伸張負荷が加わった場合にはfibrilが、split lineに直交する負荷が加わった場合にはcross-linkが破断すると推測されてきた。しかし本研究により、①伸張負荷による軟骨破断のメカニズムは負荷の方向にかかわらず表層のcollagen meshworkの再配列と破断に惹起され、次いで深層のcollagen meshworkへと破断が進行すること、②split lineに対して平行に伸張負荷を加えた方が直交する方向に伸張負荷を加えるより低いstrainで負荷方向へのcollagen meshworkの再配列を完了することが明らかになった。

以上の結果から、臨床軟骨再生にscaffoldを用いる場合にはcross-linkされたmeshwork構造を必要とすることが明らかとなった。

論文審査の要旨

伸張負荷による軟骨損傷のメカニズムは、負荷を加えた状態で組織を観察する手法がなかったため未だ不明である。そこで、牛大腿骨関節面からsplit lineに対して平行または直交する長軸をもつ同一サイズのダンベル型全層軟骨小片を多数作製し、小型伸張負荷装置に装着し、両群の軟骨片に0%から完全断裂に至るまでの伸張負荷を加え、実体顕微鏡、共焦点レーザー走査型顕微鏡 (CLSM)、走査型 (SEM) および透過型 (TEM) 電子顕微鏡を用いて、伸張負荷による軟骨の変形と破断の過程を観察した。CLSMにより、マトリックスと軟骨細胞は負荷方向に再配列することが明らかとなった。SEMとTEMにより、①軟骨表面のcollagen meshworkが負荷方向に再配列し、collagen線維束を形成すること、②軟骨破断は表層のcollagen線維束に始まり、深層のcollagen meshworkへと進行すること、③直交群では平行群に比べcollagen meshworkの再配列が完了するまでに、より高いstrainを要することが明らかとなった。すなわち、関節軟骨は伸張負荷に対して、負荷の方向にかかわらず、collagen meshworkの再配列により変形し、その後、破断することが明らかとなった。

審査では、力学特性としてstrainだけでなくstressを計測したか、変形の可逆性は検討したか、1つの標本に連続的に負荷を加え形態変化を観察するべきではないか、との質問がなされた。これに対して、同一標本ではないが同一形状の標本を用いてstress-strain curveを計測した、linear phaseまでは可逆的であると推察される、collagenの配列を示すには固定が必要であるため連続的な超微細構造の観察は難しい、と回答された。

次に、切離した軟骨片と生体では力学特性・構造が異なるのではないかととの質問がなされた。これに対して、生体の軟骨表面には多方向に張力が加わっているが、本研究は一軸張力モデルである点が生体と一致しないこと、environmental-SEMを用いて湿潤状態の軟骨表面を観察したが、surface amorphous layerの水とproteoglycansによりcollagenが観察できなかったこと、が述べられた。

最後に、何がsplit lineの方向を決めるのか、split lineの臨床的意義はあるのかとの質問がなされた。これに対して、split lineの方向は生体軟骨表面にかかっている張力の方向とcollagenの走行を反映している、変形性膝関節症の膝蓋骨関節面に観察される亀裂の方向はsplit lineの方向と一致している、と回答された。

以上のように、本研究は未だ検討されるべき点を残しているものの、関節軟骨の変形とその破断メカニズムを解明したことは臨床的にも有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主任 整形外科学 戸山 芳昭

病理学 岡田 保典 リハビリテーション医学 里宇 明元
形成外科学 中島 龍夫

学力確認担当者：池田 康夫、岡田 保典

審査委員長：岡田 保典

試問日：平成18年8月8日

Survivin associates with cell proliferation in renal cancer cells: Regulation of survivin expression by insulin-like growth factor-1, interferon- γ and a novel NF- κ B inhibitor

(サーバイピンは腎癌細胞増殖に関連している：インシュリン様増殖因子1、インターフェロンガンマ及び新しいエヌエフカッパー阻害薬によるサーバイピン発現の制御)

佐藤 全 伯

内容の要旨

進行性腎癌の予後は極めて不良である。抗癌剤による治療は有効であることはなく、免疫療法の成績も満足できるものではない。癌増殖に関わる分子を標的とした新たな治療法の開発が望まれている。

サーバイピンは、カスパーゼを抑制することでアポトーシスを抑制し、癌の増殖に関与する分子である。多くの癌種でサーバイピンの発現が報告されている一方で、成熟した正常組織では発現が認められないことより、癌治療における新たな標的分子として注目されている。これまでサーバイピンの腎癌増殖における役割、あるいはその制御因子については解明されていない。

本研究では腎癌培養株KUI9-20を用いて、サーバイピンの発現と細胞増殖との関連、insulin-like growth factor-1 (IGF-1)、interferon (IFN)- γ 及び新たな NF- κ B 阻害薬である dehydroxymethyl-epoxyquinomicin (DHMEQ) によるサーバイピン発現の制御について検討した。

先ず、サーバイピンの制御因子について検討するために、IGF-1、IFN- γ 、DHMEQのサーバイピン発現及び細胞増殖に及ぼす効果について検討した。サーバイピンの発現はWestern blot法で、細胞増殖はAlamar blue法にて評価した。KUI9-20にIGF-1 (100-500ng/ml) を投与し、48時間培養を行ったところ、サーバイピンの発現と細胞増殖は、濃度依存的に増強された。一方で、IFN- γ (100-1000U/ml) を投与し、48時間培養すると、サーバイピンの発現及び細胞増殖は抑制された。更に、DHMEQ (5-20 μ g/ml) を投与し、48時間培養を行うと、サーバイピンの発現及び細胞増殖は濃度依存的に抑制された。また、IFN- γ と DHMEQ を同時に投与した場合は、サーバイピンの発現抑制および細胞増殖抑制効果は更に増強された。次いで、サーバイピンの発現の変化と細胞増殖の変化が直接関連していることを示すために、KUI9-20にサーバイピンに特異的なsmall interfering RNA (siRNA) をlipofectionを用いて導入し、サーバイピンの発現抑制および細胞増殖の変化について検討した。siRNAの細胞内への導入は、蛍光標識したsiRNAを用いて蛍光顕微鏡による観察で確認された。siRNAの導入後、72時間培養を行ったところ、サーバイピンの発現が抑制されると共に、細胞増殖も抑制された。

以上より、KUI9-20では、サーバイピンが細胞増殖に関連していることが示された。また、IFN- γ と DHMEQ の併用は、サーバイピン発現の抑制および細胞増殖抑制に有効であり、進行腎癌治療への応用が期待できるものと考えられた。

論文審査の要旨

サーバイピンは発癌に関与するアポトーシス抑制蛋白の一つである。本研究では腎細胞癌培養株KUI9-20においてインシュリン様増殖因子I (IGF-1) がサーバイピンの発現を増強し、細胞増殖も促進すること、またインターフェロン (IFN)- γ およびNF- κ B 阻害薬である dehydroxymethyl-epoxyquinomicin (DHMEQ) がサーバイピンの発現、細胞増殖を抑制することが示された。またIFN- γ と DHMEQ の併用によってサーバイピンの発現抑制、細胞増殖抑制効果は増強された。small interfering RNA (siRNA) を用いた検討では、サーバイピンの発現抑制とともに細胞増殖も抑制された。以上よりサーバイピンの発現は細胞増殖と関連することが示され、IFN- γ と DHMEQ の併用は進行腎癌治療への応用が期待できるものと考えられた。

審査では、まず本研究はKUI9-20単独の実験の結果であり、他の細胞株についても検討すべきとの指摘があった。次に正常組織でのアポトーシス抑制蛋白の発現について質問され、サーバイピン以外は正常組織でも発現が見られるが、サーバイピンは成人では癌に特異的に発現すると回答された。癌以外でのサーバイピンの役割についての質問に対しては、胎生期に発現していることより発生、分化に関わると回答された。手術標本においてサーバイピンが正常組織にも発現していることに関し、免疫組織化学による検討およびコントロールとして正常の尿管上皮細胞を用いた実験が必要な旨が指摘された。また細胞増殖抑制の評価に%survivalを用いるのは不適切と指摘され、サーバイピンの発現抑制によるアポトーシス誘導を検討したかとの質問があった。これに対しsiRNAによるサーバイピンの抑制が細胞周期解析ではsub-G1 fractionを増加させており、増殖抑制のみでなくアポトーシスも誘導しているとは回答された。IFN- γ によるサーバイピンの制御について質問がなされ、発現に変化がなかったと回答された。次いでIGF-1投与濃度の間隔設定が倍数であるべきとの指摘があった。またIGF-1、IFN- γ によるサーバイピンの制御機構について質問され、AktあるいはSTATを介してNF- κ Bが調節を受けサーバイピンの発現を制御している可能性があるとは回答された。この際にレセプター発現の有無を確認すべきと指摘された。またサーバイピンの発現を検討する際にWestern blot法の他にRT-PCR法も有用と助言された。siRNAを用いた実験ではコントロールとしてリボゾームのみ投与したものも加えるべきとの指摘があった。免疫治療の開発も進んでいるサーバイピンは有望な治療標的であるとの助言があり、臨床応用の展望について質問された。これに対し動物モデルにてIFN- γ 、DHMEQ、siRNAを用いた治療を行い、臨床応用を検討すると回答された。

以上のように本研究は今後さらに検討すべき課題を残しているが、腎癌におけるサーバイピンの発現と細胞増殖との関連を明らかにした点で有意義な研究と評価された。

論文審査担当者 主査 泌尿器科学 村井 勝
病理学 坂元 享宇 先端医科学 河上 裕
内科学 伊藤 裕
学力確認担当者：池田 康夫、坂元 享宇
審査委員長：坂元 享宇

試問日：平成18年 8月31日

Chemosensitivity testing of ovarian cancer using the histoculture drug response

assay: sensitivity to cisplatin and clinical response

(組織片培養法を用いた卵巣癌に対する抗癌剤感受性試験：シスプラチンに対する感受性と臨床効果)

中 田 さ く ら

内容の要旨

卵巣癌の治療成績は化学療法の進歩によって初回治療時の奏効率や一時的な寛解率は著しい改善を認めたものの、長期予後の改善には至っていない。1980年代以降、白金製剤シスプラチン (CDDP) を中心とした化学療法が標準的治療として確立され、近年ではタキサン系薬剤の導入により薬剤選択の幅が広がっている。治療成績のさらなる向上のためには、個々の症例に対し化学療法の効果を予測し、有効な薬剤を選択することが効果的と考えられることから、より精度の高い抗癌剤感受性試験の確立が望まれてきた。

そこで、本研究では卵巣癌治療のkey drugの一つであるシスプラチンを中心とした化学療法の臨床効果予測に組織片培養法を用いたhistoculture drug response assay (HDRA)を導入し、その有用性を検討した。さらに、アポトーシスによる形態学的変化を指標として、HDRAの腫瘍片に観察されるシスプラチンの効果を解析し、本法の妥当性に関しても検討を加えた。

卵巣癌173例を対象に腫瘍組織片を各種濃度のシスプラチンを含む培地で7日間培養した。培養後薬剤接触群の1g毎の平均吸光度から増殖阻害率 (IC₅₀値)を求め、得られた値がカットオフIC₅₀値 (25μg/ml)を越えるものを低感受性、カットオフ値以下を高感受性とした。また、アポトーシスの検出についてはHDRAの腫瘍片を用い、TUNEL法の原理に基づき組織化学的検討を行った。

本法の判定可能率は94.8% (164/173)であった。術後にシスプラチンを含む化学療法を行い、臨床奏効度の判定が可能であった29例を対象としてHDRAの成績と抗癌剤の臨床効果を検討した結果、真陽性率は90% (9/10)となり従来法に比べ高値であった。同様に、29例を高感受性群10例と低感受性群19例に分け、Kaplan-Meier法により5年累積生存率を比較するとそれぞれ50%、11%となり、高感受性群の予後は有意に良好であった (p<0.05)。

TUNEL法の結果としては、シスプラチン無添加の対照群においてTUNEL陽性細胞はほとんど認められなかったが、シスプラチンの濃度依存性にTUNEL陽性細胞数の増加が検出された。さらに、陽性細胞の出現頻度をシスプラチン感受性別に解析した結果、高感受性群におけるTUNEL陽性細胞の出現頻度は有意に高値であった (p<0.05)。このことから培養後の切片に対してシスプラチンによるアポトーシスを評価することが可能であり、本法の妥当性が明らかとなった。

以上より、HDRAは卵巣癌症例に対して従来法では得られなかった高い判定可能率と真陽性率が得られ、本法は個々の症例における有効薬剤の選択に有用であると考えられた。さらに、術後にシスプラチンを含む化学療法を行った高感受性群が低感受性群と比べて5年累積生存率が有意に高かったことから、HDRAを導入することにより卵巣癌の長期予後を改善しうる可能性が示唆された。

論文審査の要旨

卵巣癌患者に対し組織片培養法を用いた薬剤感受性試験法histoculture drug response assay (HDRA)を導入し、卵巣癌治療のkey drugのひとつであるシスプラチンに対して感受性試験を行い本法の有用性を検討した。その結果、本法は高い判定可能率を示し、臨床効果によく相関した結果が得られた。また、HDRAの組織片においてTUNEL染色を行い、薬剤添加後にみられたアポトーシスを評価することによって抗癌剤の効果を形態学的に評価することも可能であった。HDRAによって判定された高感受性群は低感受性群に比べ有意に高い生存率を示したことから本法は個々の患者における有効薬剤の選択に有用であり、さらに予後を改善させうる試験法であることが示された。

審査では、まず組織のサンプリングの方法や組織培養法について質問がなされた。これに対して腫瘍組織片の採取は肉眼所見にて行い、同時に一部の検体についてはHE染色標本を作り腫瘍組織の確認を行っており、7日間培養後の組織切片においても細胞分裂像が確認されている、と回答された。続いて、今回得られた判定可能率94.8%は高い値であるのか、卵巣癌以外の癌腫でも試験可能であるのかと質問がなされた。HDRAは従来の感受性試験法に比べ高い判定可能率を示し、大腸癌、胃癌、腎臓癌など他臓器の癌腫でも高い判定可能率が報告されており、婦人科領域では子宮体癌においても同様の検討中である、と回答された。また対象とした179例中臨床効果の判定が可能であったものが29例と少なかった理由についての質問には、治療効果を主として画像上の測定可能病変の変化で評価したため、手術後に残存腫瘍を画像で評価できた症例は実際には非常に少なかったと説明された。次にTUNEL法による組織化学染色の結果にはアポトーシスのみならずネクローシスの細胞も染色されており、他の方法によるアポトーシスの評価は行わなかったのかとの質問がなされた。これに対して、HDRAの組織片の大きさが限られているため他の方法を行うことが困難であったと説明された。また、TUNEL陽性細胞の出現頻度のカウントにあたっては盲検下で行う等客観性をさらに確保しバイアスを最小限にすることが重要であると指摘された。最後に、実際の臨床ではkey drugであるプラチナ製剤は必ず使われている薬剤であり、むしろプラチナ製剤と併用する薬剤の感受性をみる方が臨床的意味あることではないかとの質問がなされた。これに対し、タキソール、CPT-11といった薬剤においてHDRAを行っているものの、このような抗癌剤は、実際の臨床効果の判定が現時点では困難なため、今回と同様の方法で臨床効果との関係性を評価することは難しい、と回答された。新規薬剤への応用やさらに症例数を重ね検討することは今後の課題であると指摘された。

以上のように本研究はさらに検討すべき課題を残しているものの、HDRA導入により卵巣癌患者の長期予後を改善させうる可能性が示されたことから、本論文は個々の卵巣癌患者においてより有用な薬剤選択を可能とし、卵巣癌の治療成績の向上のためにも有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 産婦人科学 青木 大輔
薬剤学 谷川原祐介 産婦人科学 吉村 泰典
病理学 坂元 亨宇
学力確認担当者：池田 康夫、谷川原祐介
審査委員長：谷川原祐介

試問日：平成18年7月3日

Fluorinated diamond-like carbon as antithrombogenic coating for blood-contacting devices

(フッ素添加ダイヤモンド・ライク・カーボン薄膜の血液接触性医療器具への応用
: 抗血栓性コーティング)

長谷部 光泉

内容の要旨

近年、人工臓器をはじめとする医療用インプラントの急速な普及に伴い、生体適合性材料の開発が望まれている。従来、留置用医療器具は優れた機械的特性に重点が置かれ開発が行われてきたが、長期留置の臨床的経験が積み重ねられる中で、真の生体適合性をもつ「素材」の再検討が極めて重要であることが認識されてきた。

1970年代に人工ダイヤモンド作製中に発見されたダイヤモンド・ライク・カーボン (diamond-like carbon : DLC) はダイヤモンドの優れた特性を有する非結晶炭素系薄膜である。近年、DLCは、その抗血栓性・生体適合性が注目されており、人工心臓、人工血管、カテーテル、血管内ステントなどの抗血栓性を強く要求するデバイスから、人工関節のように耐摩耗性を要求されるデバイスなどへのコーティングの応用が期待されている。

本研究では、さらに高い抗血栓性獲得を目的としてDLC膜中にフッ素を混入させた「フッ素添加DLC (F-DLC) ナノコーティング (厚さ約40~50 nm)」を開発し、その抗血栓性、生体適合性の検討を行った。医療材料として使用されているステンレス・スチール (SUS316L) ワイヤーに、原料ガスとしてメタン (CH_4) およびフロンガス (C_2F_6) を使用し、高周波プラズマ化学蒸着装置内でDLC、F-DLCをコーティングした。X線電子分光法 (XPS) により分析した化学結合状態は、フッ素添加量の増加に従ってC-C結合が減少し、C-CF、C-F、C-F₂結合の増加を認めた。走査電子顕微鏡 (SEM) による観察では、DLC、F-DLCコーティングとも表面平滑で剝離を認めなかった。また、接触角の測定ではF-DLCの撥水性が最も高かった。

*In vitro*での抗血栓性の評価は、ヘパリン加新鮮血を用いた振盪浸漬法にて、血小板数、凝固線溶系因子の変動を測定した。F-DLC群では血小板消費数の有意な減少と血小板活性化因子 β -Thromboglobulin (β -TG)、トロンビン活性化の指標Thrombin antithrombin III complex (TAT) の有意な低下が認められた。*In vivo*での組織適合性については、SUS316Lディスク、F-DLCコーティングSUS316Lディスクのラット皮下埋め込み試験を行い、生体反応性を観察した。カプセル厚、カプセル内の単核細胞数、マクロファージ数について両群に有意差は認められなかった。F-DLCコーティングはSUS316Lと同等の生体適合性を有することが示唆された。F-DLCコーティングは*in vitro*で最も優れた抗血栓性を示し、また、*in vivo*でも生体適合性が高いと考えられているSUS316Lと同等の組織適合性を示した。F-DLCコーティングは血液接触性の医療用治療具、カテーテルなどの抗血栓性改善策として非常に有望なコーティングと考えられた。

論文審査の要旨

人工材料の優れた抗血栓性の獲得は、血液接触性医療器具の長期成績の向上、抗凝固薬大量投与による危険性軽減のため重大な課題である。本研究においては、従来工業分野で発見され、近年はその高い生体適合性から生体材料分野でも注目されている「ダイヤモンド・ライク・カーボン (以下DLC)」薄膜内にさらに高い抗血栓性獲得を目的としてフッ素を混入し、「フッ素添加ダイヤモンド・ライク・カーボン (以下F-DLC)」を新規に作成した。F-DLCはナノメートルオーダーの厚さでのコーティングが可能であり、人全血を用いた*in vitro*での評価にてDLC薄膜や生体適合性ステンレス・スチール (SUS316L) より優れた抗血栓性を示した。ラット皮下埋め込み試験においても、特記すべき有害事象は認められず、SUS316L基板と同等の良好な組織適合性を呈した。

審査では、まずDLCおよびF-DLCの抗血栓性のメカニズムについての質問がされた。特に血管内に留置した場合に、血管新生内膜が被覆しやすいため、あるいは血小板がつきにくいために抗血栓性を発揮するのか、という質問があった。血小板については本研究の副論文でも示されているように、F-DLC表面では血小板付着が有意に抑制されるとの回答があった。また、DLCについては追加実験により、血管内皮化が早期に起こることが確認されているが、F-DLCの血管内埋め込み試験の報告はなく今後の検討が必要であるとの回答がなされた。続いて、基板の種類とコーティングの密着性についての質問があった。本実験においては、コーティング後、走査型電子顕微鏡によって剝離や表面ひび割れがないかどうかの確認がされているが、一般的に言えば、DLC膜と金属あるいはポリマー基板との密着性はその種類によって様々であり、密着性が低い場合は中間層としてシリコンなどを数十ナノメートルの厚さでコーティングすることによって良好な密着性が得られると回答された。さらに、DLCおよびF-DLC膜の血栓付着抑制は、主に、血小板系に作用するのか、凝固系に作用するのかという質問がされた。これに対しては、全血を用いた本実験および副論文の濃厚血小板液を用いた実験から、血小板系の付着・活性化の抑制および凝固系活性化抑制の両面に作用していることが示唆されると回答された。また、F-DLCにおける血小板に対する作用で重要な点は、血小板付着数の減少というだけではなく、血小板活性化 (活性化すると偽足を出し、血小板が広がり、凝集していく) を抑制するためではないかという指摘があった。これに対しては、F-DLC上においては活性化されていない血小板形状のものが他の基板と比して有意に多かったとの回答がなされた。その他、F-DLCの血栓付着抑制のメカニズムとして、様々な種類の血漿タンパクの付着様式、タンパク質の構造変化の同定を行うことが重要であると指摘があった。また、本研究で行われていない流体中の抗血栓性の評価、動物を使った血管内留置評価についても実用化に向けて行うべきであるとの指摘があった。

以上のように、本研究は未だ検討されるべき点を残しているものの、F-DLC薄膜の医療用インプラントへの広い応用が期待されるといふ点で有意義であると評価された。

論文審査担当者 主査 放射線医学 栗林 幸夫
内科学 池田 康夫 外科学 四津 良平
臨床検査医学 村田 満
学力確認担当者: 池田 康夫
審査委員長: 池田 康夫

試問日: 平成18年 7月31日

Fluid Shear Stress Attenuates Tumor Necrosis Factor- α -Induced Tissue Factor Expression in Cultured Human Endothelial Cells

(培養ヒト血管内皮細胞のTNF α 誘導組織因子発現に対するずり応力の影響)

松 本 豊

内容の要旨

血管内皮細胞は血管の内腔を一層に覆う細胞で、絶えず血流に曝されている。血流によりもたらされる血行力学的な物理力であるずり応力が血管内皮細胞の種々の機能に遺伝子発現レベルにおいて影響を与えることが報告されている。内皮細胞の抗血栓性及び向血栓性機能に関してもずり応力による調節を受けているものがあることが報告されている。川合らは培養血管内皮細胞の線溶活性がずり応力及び炎症性サイトカイン刺激により相乗的に高まることを報告している。本報告においては、培養ヒト臍帯静脈内皮細胞において腫瘍壊死因子 α (TNF α)により誘導した組織因子 (TF) 発現に対するずり応力の影響を改良型コーン・プレート型粘度計を用いて検討した。生理学的レベルと考えられる大きさ (18 dynes/cm²) のずり応力はTNF α (100U/mL)により誘導したTF mRNAの発現を減弱させた。この抑制作用はずり応力の負荷時間に依存しており、ずり応力の負荷をTNF α 添加15時間前より開始しRNAのサンプリング時まで継続させた場合には、TNF α 添加1及び3時間後のTF mRNAレベルはずり応力負荷によりそれぞれ76%及び69%減少した。また、抗原量レベルにおいてもTF発現はずり応力の大きさに依存して有意に抑制された。抗TFモノクロナル抗体を用いたフローサイトメトリーにより測定した細胞表面におけるTF発現も18 dynes/cm²のずり応力をTNF α 添加の15時間前より負荷することにより1/3に減少した。さらに、活性化凝固第VII因子及びCa²⁺の存在下で凝固第X因子の活性化を指標に測定したTFの機能的活性も18 dynes/cm²のずり応力の負荷により有意に低下した。しかし、TFのmRNAの安定性はずり応力の負荷により影響を受けなかった。これらの結果より、ずり応力が内皮細胞におけるTF発現の重要な調節因子であることが示唆された。

論文審査の要旨

血管内皮細胞は血管内腔を一層に覆う細胞であるため血流によるずり応力を絶えず受けている。近年、培養血管内皮細胞を用いた試験において、内皮細胞の機能や遺伝子発現がずり応力の影響を受けることが報告されている。本研究においては、外因性凝固経路の開始因子である組織因子 (TF) のTNF α 刺激による発現が、mRNA、抗原量及び活性レベルのいずれにおいてもずり応力により抑制されることが示された。また、この抑制作用はずり応力の負荷時間及び強度に依存することが示された。

これまでに、ずり応力を培養血管内皮細胞に負荷することにより血小板の凝集を抑制するPGI₂及びNOの産生が増加すること、線溶活性化因子であるtPAの産生が増加する一方で、その阻害因子であるPAI-1の産生が低下すること、凝固抑制因子であるトロンボモジュリンの発現が増加することが報告されていることと本研究の結果を考慮合わせると、ずり応力刺激は血管内皮細胞の機能を協調的に抗血栓性に変化させ、血液の流動性を保つうえで重要な役割を果たしていることが示唆された。

審査では以上のような研究に対して、まず本研究で用いられたCone-Plate型粘度計が、近年汎用されているParallel plate型装置と比較して試験目的に適しているかどうかが議論された。当研究者は、Cone-Plate型粘度計は少量の培地で実験が可能で、培養シャーレ全体に均一なずり応力を負荷できるという利点があり、特に長時間のずり応力負荷試験に適していると回答した。それに加え、Cone-Plate型粘度計では培地全体のグルコースなどの栄養成分の濃度が均一に保たれるという利点があることが指摘された。

次に本試験でmRNAの定量法として用いられているRT-PCR-Southern blot法は定量性に欠けるのではないかと指摘がなされた。本試験で使用したPCR cycle数では生成物量の直線性が維持されていることを確認しており、定性的にはmRNAの増減を正確に判断できていると考えているとの回答がなされたが、Real time PCRなどのより定量性の高い方法が好ましいとの指摘がなされた。

本in vitro試験の結果は生体内において生理的な意味を有しているかとの議論がなされた。実験動物の敗血症モデルやヒト動脈硬化巣の病理像において、内皮細胞ではTF発現が認められないとの報告が幾つかなされており、本試験の結果がin vivoの観察においても支持されているとされた。

ずり応力によるTF発現の抑制機序について議論がなされた。本研究では阻害剤を用いた実験によりPGI₂及びNOによる間接的な抑制作用ではないことを示唆しているものの、内皮細胞は他にも多くの生理物質を産生しており、より多くの因子の関与を検討すべきであるとの指摘がなされた。

以上のように本論文ではmRNAの定量性の問題や作用機序の解明など改善すべき点があり、加えて論文が多少古いものの、その知見の生理的意義は現在でも保たれており、有意義な論文であると判断された。

論文審査担当者 主査 内科学 池田 康夫
医化学 末松 誠 病理学 岡田 保典
発生・分化生物学 須田 年生
学力確認担当者：池田 康夫、末松 誠
審査委員長：末松 誠

試問日：平成18年8月2日

A Novel Hydroxyapatite Fiber Mesh as a Carrier for Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Enhances Bone Union in Rat Posterolateral Fusion Model

(ラット脊椎固定術モデルにおける、ハイドロキシアパタイトファイバーメッシュの
rhBMP-2の担体としての有用性)

森 末 光

内容の要旨

Recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) は、局所的な骨形成の促進を目的として、すでに脊椎固定術などの臨床に用いられている。rhBMP-2の担体として、これまで様々な生体材料が用いられてきたが、ハイドロキシアパタイトはBMPと高い親和性をもつことから、その有用性が期待できる。本研究では、アパタイトファイバーから独自に開発したハイドロキシアパタイトファイバーメッシュ (HAM) がrhBMP-2の担体として脊椎固定術に適用可能か否かを検討した。

研究は*in vitro*、*in vivo*の二つの系で行い、HAM施行群をHAM群、比較対象として加工した市販品のアパタイトセラミックス多孔体 (以下HAB) 施行群をHAB群の2群に分け、この2群間の結果を比較した。*in vitro*実験では、同量のrhBMP-2を負荷したHAMおよびHABを、磷酸緩衝液 (以下PBS) に28日間浸し、PBSに含まれるrhBMP-2の濃度を測定、経時的な放出量の変化につき評価した。*in vivo*実験では、18週齢Wistar系ラットのL5/L6腰椎間にrhBMP-2 (0、5、10 μ g) を負荷したHAM、HABを移植骨として用い、後側方固定術を施行した。移植後2ヵ月以内に骨癒合の有無、及び骨形成の程度について病理組織学的検査、 μ CTを用いて評価した。

*in vitro*実験では、開始後28日までに放出されたrhBMP-2の当初負荷量に対する割合はHAM群で49.5%、HAB群で7.7%であり、HAM群で有意に高かった。*in vivo*実験では、rhBMP-2を0 μ g負荷時には、両群とも骨癒合例はなく、またHAMは術後8週以内にほぼ完全に吸収、消失していた。10 μ g負荷時には両群とも骨癒合率は80%以上だったが、5 μ g負荷時にはHAB群の骨癒合率20%に対しHAM群は80%以上と有意に高かった。 μ CTでは、HAB群で薄い殻状の新生骨がHABおよび脊椎より離れた位置に形成されたのに対し、HAM群ではHAMを囲む厚い新生骨の層が脊椎背側に旺盛に形成された。病理組織検査では、アパタイト内部への骨形成はHAMのほうがHABよりも明らかに緻密であった。

HAMは、メッシュ状の構造特性のため、より多くの蛋白の担持が可能で、また既存のアパタイトセラミックスよりも高い生体内吸収性を持つなど、rhBMP-2の担体として有利な条件を備えていると考えられた。HABと比較してHAMではより長時間、かつ、より多くのBMPの放出があったため脊椎近傍の豊富な骨形成と高い骨癒合率を得ることが可能であったと考えられた。これらの結果より、HAMは従来のハイドロキシアパタイト緻密体と比べrhBMP-2の担体としてより有用であり、至適濃度のrhBMP-2を用いれば脊椎固定術へも適用可能と考えられた。

論文審査の要旨

ハイドロキシアパタイトファイバーメッシュ (HAM) は、スポンジ状のメッシュ構造を持つアパタイト多孔体であり、高い生体親和性と生体内吸収性を備えており、recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) の担体としてその有用性が期待できる。本研究は、独自に開発したHAMがrhBMP-2の担体として脊椎固定術に適用可能かを検討する目的で行った。HAMと比較対照として使用した市販品のアパタイト多孔体 (HAB) にrhBMP-2を付加後、磷酸緩衝液に浸して保存、溶液内のrhBMP-2の濃度変化を経時的に測定した。HAMはHABよりも有意に多量のrhBMP-2を放出したため、HAMがHABよりも高いrhBMP-2放出能を持つことが明らかとなった。次に、ラット脊椎固定術モデルに対し、rhBMP-2を付加したHAM、HABを移植骨として利用、脊椎間に移植した。HAMを用いた場合、旺盛かつ緻密な骨形成が移植部脊椎周囲およびHAM内部に誘導され、HABに比べ有意に高い割合で骨癒合を得たことが明らかとなった。

審査では、まずポリ乳酸などの生体材料に比べHAMがrhBMP-2の担体として優れている点について質問がなされた。これに対し、ポリ乳酸は周囲の環境のpH値によりrhBMP-2放出が不安定になる可能性があること、また現在利用可能なコラーゲンはBSE等の問題が未解決であるのに対し、HAMは高い生体親和性を有する無機化合物であり、安全に使用可能である点で優れていると回答された。次に、HAMのアパタイト化合物として最も特徴的な点について質問がなされた。これに対し、HAMはアパタイトファイバーからなるメッシュ構造をしており、内部への組織侵入が容易で、高い生体内吸収性を備えており、このような構造特性と生体内吸収性を備えるアパタイト化合物は他には存在しないと回答された。また、HAMの力学的強度について質問がなされた。これに対し、HAMは力学的強度が低いため単独で移植骨として利用はできないと回答された。最後に、HABの*in vitro*でのrhBMP-2放出量が微量であることから、元々HABには少量のrhBMP-2しか付加できなかった可能性について指摘された。これに対し、HABに定量のrhBMP-2を付加し、完全乾燥後に使用しており、付加されていないとは考えにくい、放出されずにHABに残存するrhBMP-2量を定量することは、rhBMP-2放出能を評価するのに重要であり、今後の検討課題であると回答された。

以上のように、本研究は未だ検討されるべき点を残しているものの、HAMは従来のアパタイト多孔体と比べrhBMP-2の担体として優れ、至適濃度のrhBMP-2を用いれば脊椎固定術として臨床応用への可能性を示唆した点で有意義であると評価された。

論文審査担当者 主査 整形外科学 戸山 芳昭

病理学 岡田 保典 リハビリテーション医学 里宇 明元
形成外科学 中島 龍夫

学力確認担当者: 池田 康夫、岡田 保典

審査委員長: 岡田 保典

試問日: 平成18年8月21日

Genetic Dissection of Systemic Lupus Erythematosus Pathogenesis: Partial Functional Complementation between *Sle1* and *Sle3/5* Demonstrates Requirement for Intracellular Coexpression for Full Phenotypic Expression of Lupus

(全身性エリテマトーデスの成因に関する遺伝学的解析: *Sle1*と*Sle3/5*の部分的機能補完は、完全なループス表現型発現のために細胞内共発現が要求されることを示す)

涌井 昌俊

内容の要旨

全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus : SLE) は、複数の遺伝子が関与する多因子性自己免疫疾患である。ニュージーランドブラック (New Zealand Black : NZB) 系統とニュージーランドホワイト (New Zealand White : NZW) 系統のF1モデルをもとに樹立されたNZM2410系統マウスは、(NZB x NZW) F1と同様にループスを自然発症する。NZM2410系統から同定された2つのSLE感受性遺伝子座、*Sle1*と*Sle3/5*はそれぞれ1番染色体と7番染色体上に位置し、いずれもNZW系統のゲノムに由来する。C57BL/6 (B6) 系統を背景に、*Sle1*と*Sle3/5*のいずれか一方を有するコンジェニックマウス (B6.*Sle1*およびB6.*Sle3/5*) は、ループスに関連した免疫学的特徴を呈するものの、その程度は軽微である。一方、*Sle1*と*Sle3/5*の両方を有するコンジェニックマウス (B6.*Sle1.Sle3/5*) では顕著な病的表現型が認められることから、ループスの発症にはこれらのSLE感受性遺伝子座の相互作用が極めて重要であることが示唆される。混合キメラモデルを用いた先行研究により、*Sle1*と*Sle3/5*は異なる細胞群によって機能的に発現することが指摘された。したがって、B6.*Sle1*とB6.*Sle3/5*の骨髓を組み合わせてキメラを作成することでB6.*Sle1.Sle3/5*マウスで観察されるループス表現型が十分に再現されると予想された。我々は種々のドナー骨髓の組み合わせ (B6+B6、B6.*Sle1*+B6、B6+B6.*Sle3/5*、B6.*Sle1*+B6.*Sle3/5*、B6+B6.*Sle1.Sle3/5*、およびB6.*Sle1*+B6.*Sle1.Sle3/5*) による混合キメラについて、アロタイプマーカーを利用してドナー由来特異的に、または非特異的に免疫学的評価をおこなった。予想に反して、B6.*Sle1*とB6.*Sle3/5*の骨髓による混合キメラの表現型は、これらの遺伝子座の部分的な機能補完のみを示した。具体的には、マウスループスの典型的な表現型である脾腫、CD4/CD8 T細胞比の上昇、自己抗体のエピトープ拡大がB6+B6.*Sle1.Sle3/5*の混合キメラで顕著に進展したのに対して、B6.*Sle1*+B6.*Sle3/5*では軽度で認められるのみであった。このように本研究は、SLEの成立につながる遺伝子相互作用を完全に発揮するためにNZWゲノムに由来する2つの重要な疾患感受性遺伝子座が細胞内で機能的に共発現しなければならないことを明らかにした。

論文審査の要旨

本研究では、ループスコンジェニックマウスの組み合わせによる混合骨髄キメラの表現型に基づいて、2つの感受性遺伝子座、*Sle1*と*Sle3/5*の相互作用について検討した。その結果、著明なループス表現型をもたらす遺伝子相互作用を発揮するには、これらの遺伝子座の細胞内共発現が要求されることが示された。

審査では、まず*Sle1*および*Sle3/5*に相当する染色体領域の基本事項について問われた。これに対し、それぞれ約140cM、40cMの領域であり、その後の連鎖解析により、*Sle1*は*Sle1a-d*の4つの領域に、*Sle3/5*は*Sle3*と*Sle5*に分けられると回答された。*Sle3/5*領域では600個以上の遺伝子の存在が推定され、一方*Sle1*に関して有力な候補分子として最近Cr2遺伝子とLy108遺伝子が報告されていると回答された。パイコンジェニックマウスドナーを用いた混合キメラにおける脾臓B細胞の比率減少に関して、細胞数自体の変化について問われ、これに対し、正常ないし増加を示したとの回答がなされた。これに関連して、本論文では全体を通じて細胞サブセットを比率のみで論じていることが指摘され、むしろ細胞数で解析し検討する方が望ましいと助言された。各キメラの腎炎の評価に関する質問に対して、病理学者による予備的検討をおこなったところ、組織学的変化が観察されたものの、gradingのような数量化が困難で、他の表現型のような明瞭な評価が困難であったと回答された。*Sle1*と*Sle3/5*の相互作用が樹状細胞サブセットにもたらす効果についての質問に対して、今回用いたアロタイプマーカーでは樹状細胞のドナー由来を識別できないので内因性・外因性の評価が不可能であったと回答された。その評価を可能にするにはLy5 (CD45) アロタイプマーカーの利用が必要であることも回答された。ホスト由来細胞の残存に関する質問に対し、低用量照射を採用したのでホストの造血系細胞がある程度残存していると考えられ、このため一部のデータに関してはループスコンジェニックマウスドナー由来細胞の効果が希釈されて観察されたかもしれないと回答された。本研究ではホストがRag遺伝子ノックアウトマウスなので、ホスト由来のB細胞とT細胞は存在しないことも回答された。本論文中において*Sle3/5*によるT細胞のCD4:CD8比の上昇を論じる記述の一部が不明瞭であるとの指摘がなされ、根拠を明確に示すような工夫を求められた。最後に、今回New Zealand (NZ) モデルに着目した理由を問われ、これに対し、他の自然発症マウスモデルと比べてヒトSLEの臨床像により近いと考えられたためであると回答された。

以上のように、本研究は今後検討されるべき課題を残しているものの、遺伝学的側面からSLEの成因を解明するうえで有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 池田 康夫
微生物学・免疫学 小安 重夫 分子生物学 清水 信義
病理学 岡田 保典

学力確認担当者: 池田 康夫、小安 重夫
審査委員長: 小安 重夫

試問日: 平成18年 8月21日

Acute 40 percent exchange-transfusion with hemoglobin-vesicles (HbV) suspended in recombinant human serum albumin solution: degradation of HbV and erythropoiesis in a rat spleen for 2 weeks

(ヘモグロビン小胞体 (HbV)-リコンビナントアルブミン分散溶液による40%交換輸血：
ラット脾臓内HbV代謝と造血に関する2週間の観察)

酒 井 宏 水

内容の要旨

ヘモグロビン小胞体 (HbV) は、期限切れ赤血球から精製した高純度高濃度Hb溶液を脂質膜で被覆した、赤血球と類似の細胞構造の人工酸素運搬体である。HbVは赤血球に較べ血中半減期は短い、血液型なし、感染源なし、長期室温保存可能、小粒径 (250nm) などの特長は赤血球の性能を凌いでいる。申請者らはこれまでに交換輸血、出血性ショック蘇生試験等で、急性期に於ける赤血球と同等の酸素運搬機能を実証し、輸血代替として輸血回避或は遅延のための新しい医療手段としての可能性を示して来たものの、投与後の中長期的な観察は充分になされていなかった。そこで本論文では、術中の傾回出血に対する投与を想定した動物投与試験を行い、HbVの細網内皮系における代謝とHctの回復過程について、特にHbVの代謝臓器である脾臓に注目した検討を実施した。

Wistar系ラットを麻酔状態とし、頸動脈にカテーテルを挿入し、1 ml/minの脱血と、次に記す溶液を同量投与する操作を繰り返して40%の血液を交換した。投与溶液として、HbVを5%リコンビナントアルブミン (rHSA) に分散させた溶液 (HbV群, n=20)、ラット血液にCPDAI液を添加し1週間保存の後、赤血球を洗浄してrHSA溶液に分散させた溶液 (sRBC群, n=20)、およびrHSA単独の溶液 (rHSA群, n=20) とした。実験終了後、最長14日間生存させた。

1, 3, 7, 14日後に無作為に選択し、セボフルレン麻酔下、尾静脈採血を血球分析に、下大静脈血を血液生化学検査の検体とした。脾臓を摘出し重量測定と組織病理学的検討 (ギムザ、ベルリンブルー染色) を行った。

全例が犠牲死させるまで生存した。HbV群およびrHSA群は、血液交換後Hctが26%に低下したが、7日後には交換前の値 (43%) に復した。血中EPO値は1日後に全群で上昇し、特にrHSA群で貧血に起因する高値 (321 ± 123 IU/L) を示した (HbV群, 153 ± 22 ; sRBC群, 63 ± 7 ; 標準値, 21 ± 3)。脾臓重量の増大が全群で見られた (HbV群 > rHSA群 > sRBC群)。組織病理学的検討では、HbV群では脾臓マクロファージに捕捉されたHbVが経時的に減少し、14日後には消失した。また、赤芽球が多く存在し、造血が盛んであった。rHSA群でも3日目には赤芽球を多く認めたことから、脾臓肥大はEPOが造血を活性化した為と考えられた。また、sRBC群の脾臓肥大は、脆弱な保存赤血球の捕捉と造血作用の両方が考えられた。sRBC群およびHbV群では、ヘモジデリンが僅かに観測された。

結論として、ラットモデルにおいてHbVの投与 (40%血液交換) に際し、Hctは7日以内に回復し、またHbVは脆弱な保存赤血球の場合と類似の生理的経路により脾臓で捕捉代謝される過程が予想された。輸血代替としてのHbVの安全性に関する知見を得ることができ、臨床試験の実施が待たれる。

論文審査の要旨

ヘモグロビン小胞体 (HbV) は、高濃度のヒトHb溶液をリン脂質小胞体に内包した人工酸素運搬体であり、これまでに急性期に於ける機能と安全性が検討されてきた。本論文では、ラットを用い40%血液交換を行い、HbVの代謝とHctの回復過程について、特に脾臓に注目して検討を行った。その結果、Hctは7日以内に回復したこと、脾臓肥大は対照群でも認められたこと、ラットに特有な脾臓における著明な髄外造血がこれらに関与していること、HbVは脆弱な保存赤血球と同様の生理的経路により細網内皮系で捕捉代謝され、構成成分が支障無く排泄或は再利用される様相が明らかになった。

審査では先ず、血液交換1日後のHct値の低下について、白血球数、血小板数などがこれに対応して減少しない点が質疑された。白血球や血小板は体内にプールがある為と回答された。トリグリセリドの低下は、外科的侵襲により初期の食餌摂取量の低下の影響であることが体重変動から予想された。血中コレステロールが3日後に増大したのは、細網内皮系でHbVが捕捉分解した後に血中に遊離された為と回答された。また、放射化標識したコレステロールの体内動態から、胆汁中への排泄が明らかになりつつあるが、¹⁴C標識体で検討すべきとの指摘があった。一般にEPOは腎由来であるが、肝での低酸素誘導因子 (HIF) とEPOの分泌も最近報告されたので、肝微小循環の観察が興味深いと考えられた。また、HbVが造血機能に何ら障害を与えない点を明確にした事は評価できるとの意見があった。ヘモジデリン沈着が保存赤血球とHbVの投与で異なる点について、HbVは脾だけでなく肝・骨髄にも移行すること、HbVの血中半減期が短いことが影響すると回答された。また、ヒトHbを原料とするHbVをヒトに投与する場合のallo抗原性について、繰返し投与の検討が必要と考えられた。7週齢のラットでは脾臓に赤芽球が多量に存在し、髄外造血が盛んであるが、週齢、動物種、性別の影響などの検討も課題である。PEG修飾に関し、HbV粒子当たりのPEGの含量が僅かなため膠質浸透圧には影響しないこと、また血小板への影響も無いものの、一部のPEG-蛋白質製剤には止血抑制作用もあり、今後検討すべきとの意見があった。アロステリック因子ピリドキサル5'-リン酸はビタミンB₆類に属し、製剤として安定であるが、生体投与後の安全性を検討する必要性が議論された。血液生化学検査において、比色・比濁検査法におけるHbVの干渉作用を排除するため、高分子量Dextranを採血液に添加してHbVを遠心分離する簡便法の確立が紹介された。

以上のように、本研究は輸血代替として相当量のHbVを投与した場合について、成分の迅速な代謝と造血機能に重篤な影響を与えていないことを明らかにした。更に検討すべき点も残しているが、今後GMP製剤について非臨床、臨床試験を実施するにあたり重要な知見を有しているものと評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 小林 統一
内科学 池田 康夫 医化学 末松 誠
臨床検査医学 村田 満
学術確認担当者: 池田 康夫
審査委員長: 池田 康夫

試問日: 平成18年9月4日

アルコール依存症における軽度の認知機能障害（高次脳機能障害）について

—就労予後との関連から

森 山 泰

内容の要旨

論文審査の要旨

明らかな合併症を有さないアルコール依存症者の軽微な認知機能（高次脳機能）と、その検査施行時期（解毒後2、7週）、およびその予後（飲酒、就労）との関連につき検討を行なった。特に認知障害を検出する検査バッテリーとして、前頭葉機能障害の可能性を考え遂行機能評価のための検査バッテリーであるThe Behavioral Assessment of the Dysexecutive Syndrome (BADS)を施行し、その有効性につき検討した。

対象としたのは駒木野病院に断酒教育目的で入院した22名のアルコール依存症患者と年齢および教育歴を一致させた健常群15例である。

方法は解毒後7週にBADSを行なった。BADSはルール変換検査、行為組み立て検査、鍵探し検査、時間判断検査、動物園地図検査、修正6要素検査の6つからなり、下位検査の得点（1～4点）の総得点（0～24点）が算出される。

BADSの統制課題として、日本肝臓学会により作成された潜在性肝性脳症検出のためのコンピューター化された神経心理テストバッテリーの下位検査6つ、及びDigit Spanを施行した。これらはBADSと比較すると、より単純な注意やワーキングメモリーを評価する課題である。

解毒後2週には、コンピューター化された神経心理テストバッテリーの下位検査6つを行った。

予後の調査は入院後約18ヵ月での飲酒状況と就労状況についての予後を調査した。飲酒予後は高い信頼性が実証された質問紙を使用した。再飲酒群を飲酒予後不良群とし、断酒継続群を飲酒予後良好群とした。就労予後は患者が1週間で40時間以上かつ6ヶ月継続して就労した場合を完全就労とし、それ以下を部分就労とした。そして完全就労を就労予後良好群、部分就労及び未就労を就労予後不良群とした。

統計は飲酒及び就労の予後良好・不良群における、神経心理学的検査の成績について分散分析をおこない、多重比較検定を施行した。P<0.01を有意差ありとした。

結果は7週の時点では就労予後は7週でのBADSの2つの下位検査と総得点で有意差を認め、就労群がより成績良好であったが、他の心理検査では有意差を認めなかった。飲酒予後については良好・不良群の間でいずれの心理検査においても有意差を認めなかった。

一方2週の時点では飲酒・就労予後の良好及び不良群の間でいずれの心理検査においても有意差を認めなかった。

結論として

1. 7週の時点で、遂行機能評価バッテリーであるBADSの成績は患者の飲酒予後の予測はできなかったが、就労予後は予測しえた。なお解毒後2週の時期はBADSのような難易度の高い検査は施行困難である。

2. 単純な注意・ワーキングメモリー課題は2、7週のいずれも飲酒、就労予後を予測しなかった。

以上より「アルコール依存症者において解毒後7週にBADSを施行し、遂行機能障害を評価することが、就労予後を予測する上で有用であること」が示された。

本研究は、明らかな合併症を有さないアルコール依存症の軽微な認知障害を、前頭葉機能障害の可能性を考慮し、遂行機能の検査バッテリーであるThe Behavioral Assessment of the Dysexecutive Syndrome (BADS)で評価し、その成績と飲酒・就労予後との関連を検討したものである。解毒後7週の時点でのBADSの総得点は、就労予後不良群が良好群に比べ有意に低下していたが、統制課題として解毒後2、7週に施行した単純な注意・ワーキングメモリー課題では、7週のTrail Making Bを除き、予後良好・不良群の間に有意差を認めなかった。また2週の時点では著明な注意障害のため難易度の高いBADSの施行は困難であると考えられた。以上より、解毒後7週でのBADSによる遂行機能障害の程度がアルコール依存症の就労予後の予測に有用であると結論された。

審査ではまず本研究のアルコール依存症の代表性について問われた。それに対し、対象は駒木野病院アルコール病棟に1年間に入院した211例のうち、記憶障害ないし解毒目的のため断酒教育プログラムの適応外であったもの、同プログラムを中断したもの、脳血管障害、脳外傷、肝硬変・糖尿病他の疾患および薬物乱用を合併するものを除いた22例と回答された。次にBADSと注意・ワーキングメモリー課題との相違について質問がなされ、BADSで評価される遂行機能は注意やワーキングメモリーとの関連はあるが、注意・ワーキングメモリー課題がより実験心理学的な性格のものであるのに対し、BADSの各課題は道具を使用するなど日常生活を反映するより行動学的視点に立つものであると回答された。また入院前の社会機能が就労予後と関連しているのではとの質問がなされた。それに対し、入院前就労していた16例のうち5例が就労予後不良であり、それらのBADSの成績は予後良好群に比し低下していたことから、入院前の社会機能からは必ずしも予後が予測しえないと答えられた。ただし、入院前に就労していなかった他の6例は就労予後も不良であり、これらを対象に含めたことは本研究の結果に影響を及ぼした可能性があるとして答えられた。

以上のように、本研究は今後検討されるべき課題を残しているが、入院前の社会機能だけでは必ずしも推測しえない就労予後を予測する上で、BADSの有効性を示唆した点、臨床的、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 精神神経科学 鹿島 晴雄

医療政策・管理学 池上 直己 内科学 鈴木 則宏

衛生学公衆衛生学 大前 和幸

学力確認担当者：池田 康夫、池上 直己

審査委員長：池上 直己

試問日：平成18年7月26日



広範囲経口抗菌製剤

指定医薬品、処方せん医薬品*

クラビット[®]錠・細粒

Cravit[®] (レボフロキサシン製剤)

薬価基準収載

※注意 一医師等の処方せんにより使用すること

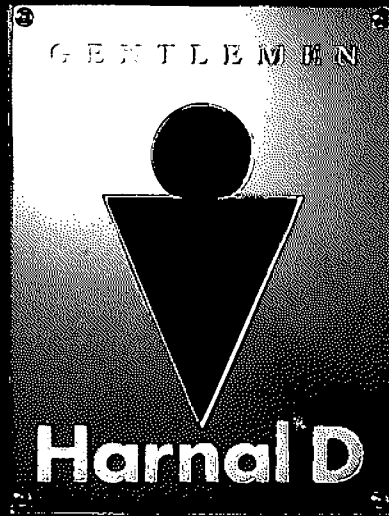
★効能・効果、用法・用量、禁忌および使用上の注意等につきましては、
製品添付文書をご参照ください。

いのち、ふくらまそう。



資料請求先
〒103-8234 東京都中央区日本橋三丁目14番10号
ホームページアドレス
<http://www.daiichipharm.co.jp/>

- ◎のみやすい口腔内崩壊錠なので、
これまで以上の服薬コンプライアンスが期待できます。
- ◎水なしでも服用できるので、お年寄りや嚥下困難な患者さんや、水分制限のある患者さんにも適しています。
- ◎微小な徐放性粒子の開発で、サラッとした服用感を実現しました。
- ◎ハルナールカプセルと生物学的に同等で、有効性・安全性は同じです。



前立腺肥大症に伴う
尿勢低下にも、
夜間頻尿にも。

【禁忌(次の患者には投与しないこと)】

- (1) 本剤の成分に対し過敏症の既往歴のある患者
- (2) 塩酸バルデナフィル水和物を投与中の患者

【効能・効果】 前立腺肥大症に伴う排尿障害
【用法・用量】 通常、成人には塩酸タムスロシンとして0.2mgを1日1回食後に経口投与する。なお、年齢、症状により適宜増減する。

【使用上の注意】(抜粋)

1.慎重投与(次の患者には慎重に投与すること) (1) 起立性低血圧のある患者〔症状が悪化するおそれがある。〕 (2) 重篤な肝機能障害のある患者〔血漿中濃度が上昇するおそれがある。〕 (3) 重篤な腎機能障害のある患者〔血漿中濃度が上昇するおそれがある。〔薬物動態〕の項参照〕 (4) 高齢者〔高齢者への投与〕の項参照
2.重要な基本的注意 (1) 本剤が口腔内で崩壊するが、口腔の粘膜から吸収されることはないため、唾液又は水で飲み込ませること。 (2) 本剤の過剰投与により血圧低下が予想されるので、投与量には注意すること。 (3) 立位血圧が低下することがあるので、体位変換による血圧変化に注意すること。 (4) 本剤による治療は原因療法ではなく、対症療法であることに留意し、本剤投与により期待する効果が得られない場合は、手術療法等、他の適切な処置を考慮すること。 (5) めまい等が

あらわれることがあるので、高所作業、自動車の運転等危険を伴う作業に従事する場合には注意させること。 (6) 本剤投与開始時に降圧剤投与の有無について問診を行い、降圧剤が投与されている場合には血圧変化に注意し、血圧低下がみられたときには、減量又は中止するなど適切な処置を行うこと。

3.相互作用【併用禁忌】(併用しないこと) 塩酸バルデナフィル水和物(レビトラ)
【併用注意】(併用に注意すること) 降圧剤、クエン酸シルデナフィル
4.副作用 ハルナールカプセル承認時及び市販後の使用成績調査における調査症例4,724例中、ハルナールカプセルとの関連が疑われる副作用(臨床検査値異常を含む)は104例(2.2%)に発現し、主なものはめまい、胃不快感等であった。(ハルナールカプセル再審査終了時) (1) **重大な副作用** 1) 失神・意識喪失(頻度不明): 血圧低下に伴う一過性の意識喪失等があらわれることがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には、本剤の投与を中止し適切な処置を行うこと。 2) 肝機能障害、黄疸(いずれも頻度不明): AST(GOT)上昇、ALT(GPT)上昇、黄疸等があらわれることがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には、本剤の投与を中止するなど、適切な処置を行うこと。

■その他の使用上の注意等につきましては、製品添付文書をご参照ください。



水なしでも服用できる
口腔内崩壊錠

前立腺肥大症の排尿障害改善剤(塩酸タムスロシン口腔内崩壊錠) 薬価基準収載

ハルナール[®]D錠 0.1mg
0.2mg

指定医薬品、処方せん医薬品(注意-医師等の処方せんにより使用すること) **Harnal[®]D**

製造販売 **アステラス製薬株式会社**
東京都板橋区蓮根3-17-1

[資料請求先] 本社/東京都中央区日本橋本町2-3-11