

# 慶應醫學

Journal of The Keio Medical Society

特別寄稿

- 慶應義塾大学医学所と大学医学部の創設 自然科学教育の重視 .....安田健次郎 .....(79)
- 慶應義塾大学「薬化学研究所」-創設から廃止までの60年- (補遺) .....柴田 徹一.....(111)

綜 説

- 食道癌集学的治療の現況と展望 .....北川 雄光.....(127)
- 乳癌と HER2/ErbB2 .....菊池 潔・上田 政和.....(137)
- 甲状腺外科：歴史と現状 .....高見 博.....(143)

講 座

- 上肢の先天異常とその治療 .....高山真一郎.....(149)
- 呼吸中枢 .....岡田 泰昌.....(159)

受賞記念講座 (坂口光洋記念慶應義塾医学振興基金奨励研究)

- 成体脳におけるニューロン新生 .....小島 拓郎・廣田 ゆき・澤本 和延.....(169)

受賞記念講座 (三四会奨励賞)

- STAT3/SOCS3 経路は網膜視細胞の分化のタイミングを制御する .....小澤 洋子.....(179)
- 非アルコール性脂肪肝炎の現況と今後 .....富田 謙吾.....(185)
- 脊髄損傷後の軸索再生制御機構の解明と軸索再生促進へのストラテジー .....金子慎二郎・中村 雅也・戸山 芳昭・岡野 栄之.....(191)

原 著

- Ⅲ度熱傷創の感染発症に対する経静脈投与抗菌薬の有効性と薬剤移行機序に関する実験的検討 .....田熊 清繼.....(197)

話 題

- これからの緩和医療 .....橋口さおり.....(211)
- アルドステロンと高血圧 .....柴田 洋孝.....(212)

第85巻総目次

- Key Word 索引 .....(217)
- 著者名索引 .....(219)

雑 報

- .....(220)

学 位 論 文

- 筋緊張性ジストロフィー脳の神経原線維変化と酸化的障害 .....小山田玲子.....(T13)
- 尺骨の短縮が遠位橈尺関節の安定性および圧に与える影響 .....西脇 正夫.....(T23)
- Calcium pentosan polysulfate による TIMP-3 産生亢進と ADAMTS4 アグリカナーゼ活性阻害作用 .....滝沢 雅之.....(T37)
- 日本人小児の肥満-診断・頻度・国際比較- .....井ノ口美香子.....(T53)
- 頭頸部扁平上皮癌における cyclin D1 遺伝子の異常増幅は化学療法、放射線化学療法への抵抗性の指標となる .....石黒隆一郎.....(T87)
- 小児、青年期における白衣高血圧と仮面高血圧の検討 .....松岡 誠治.....(T99)
- 突発性難聴におけるストレス反応に関する検討 .....伊藤 まり.....(T109)

## 慶應医学の休刊について

「慶應医学」の休刊を迎えることになりました。

永い歴史と伝統を持つ雑誌の休刊は、平成19年10月から医学部執行部が主導して参りました財務改革施策・若手医師支援策の一環としての措置であり、苦渋の決断であります。休刊にあたっては医学会構成員各位からご批判もいただきましたが、一方で激励のお手紙などもいただきました。慶應医学会としてはこれまで大学院生や無給医の先生方から徴収させていただいていた学会費を無料化するなど、若手研究者の方々のご負担を軽減する一方で、Keio Journal of Medicineを学会誌として英語化を推進、新たな学会活動として生涯教育セミナーへの協賛やニュースレターの発行を行うなどの工夫を行うことと致しました。また医学部創立100年に向けた記念事業の企画なども検討に入っております。何卒会員各位におかれましてはご理解をいただけますよう宜しくお願い申し上げます。

医学部長 末 松 誠



特別寄稿

慶應義塾医学所と大学医学部の創設  
自然科学教育の重視

慶應義塾大学名誉教授

やす だ けんじろう  
安田 健次郎

目次

緒言		e) 私立診療医育機関	
I. 慶應義塾医学所を発足させる発想の背景	80	2. 慶應義塾医学所創設とその動機	89
1. 自然科学受け入れの素地	80	a) その1	
2. 福沢諭吉と儒学	81	b) その2	
a) 儒教理解		c) その3	
b) 家庭から入った儒教の教義		d) その4	
c) 自分から特に守った事項		註1. 松山棟庵	
d) 福沢の主張の中で儒教的であると察せられる事項		註2. 前田政四郎	
e) 儒教とは一線を画す点		註3. ヘボン	
f) 儒教批判		3. 医学所の構成	90
g) 儒者と数学		註1. 新宮涼園	
3. 長崎遊学	82	註2. 杉田 武	
4. 適塾での修学	83	註3. 杉田玄瑞	
a) 緒方洪庵の人物		4. 医学所の学事	90
b) 適塾の学風		5. 医学所設置の背景	92
c) 工芸技術に熱意		a) 西洋医学への期待	
d) 電気の新知識を得る		b) 事前の西医養成	
e) 適塾時代の緒方洪庵による医療活動		c) 義塾発展の機運	
f) 物理学への理解を深める		d) 長与専斎の動向	
g) 「訓蒙 窮理図解」を執筆		e) 私立医育機関待望の状況	
h) 物理学専攻への憧れ		6. 本塾との関係	92
i) 自然科学習得後の漢学・儒学観		7. 特筆すべき点	92
j) 福沢における人文科学と自然科学の理解		8. 明治13年廃校	93
II. 慶應義塾医学所の創設	88	a) 経営の困難	
1. 明治維新後の医育機関の状況	88	b) 専任教員人事不安定	
a) 長崎医学校		c) 医学校増加	
b) 東京医学校		d) 卒業生教員の寡少	
c) 長崎・東京に次ぐ官立医学校		e) 医術開業試験	
d) 公立医学校・病院		f) 廃校の事後処理など	
		III. 医学部の創設	93
		1. 医学所廃校後の状況	93
		2. 理科系学科増設の動き	94

3. 北里柴三郎と医学科	95
4. 医学科・化学科設置の決定	95
5. 敷地	96
6. 本科開校と開院	97
7. 福沢・北里の恩人達	97
a) 福沢諭吉関係	
緒方洪庵	
木村摂津守	
b) 北里柴三郎関係	
マンスフェルド	
長与専斎	
福沢諭吉	
コッホ	
知人：長谷川 泰，森村市左衛門，後藤新平	
8. 開学精神の発現	103
a) 関東大震災に際して	
b) 東京大空襲に際して	
9. 建築物，家具等	103
a) 食養研究所	
b) 予防医学教室	
c) 特殊薬科学研究所	
d) 予防歯科医学研究所	
e) は号病棟	
f) 基礎第二校舎	
g) 基礎第三校舎	
h) 西病舎	
i) 戦後復興時における大量の家具寄贈	
10. 額に残る福沢諭吉，北里柴三郎の訓言	105
福沢諭吉関係	
a) 独立自尊迎新世紀	
b) 贈医	
北里柴三郎関係	
c) 終始一貫	
11. 福沢諭吉，北里柴三郎と医学	106
12. 両巨頭に共通の諸点	106
結 語	

## 緒 言

福沢諭吉先生（以下敬称略）は明治6年に慶應義塾医学所を発足させ，約300人の医師を養成したが医育制度の変化，西南戦争の影響，財政負担の問題などから明治13年に廃校とした。福沢は明治34年に逝去したが，義塾には大正6年に北里柴三郎博士（以下博士略）を中心に医学部が創設された。医学所と医学部の間には37

年の空白があり，機構上の連続性は無いが，底流には福沢の自然科学志向，理科系教育重視の意思が脈々と流れていたと言われる<sup>27, 57)</sup>。本文では福沢が成長の過程で受けた教育やその後の自己学習および体験の記録の中から，科学重視の考え方および自然科学系の教育の必要性を感得するに至る経緯を辿り，それを基とした医学所および医学部の創設について述べる。

## I. 慶應義塾医学所を発足させる発想の背景

医学所創設の事情については互いに僅かに異なる数種の挿話があるが詳細は後述する。いずれにせよ，福沢家の台所で松山棟庵と立ちながら雑談中に，福沢が塾にて英文の医学校を立てる所存だがと切り出され，自分は資金を供給するから，あなたは時間を提供して教育をしてくれ，と言われた事が発足時の状況である。突然の提案のように見えるが常々考えていた事が機を得て発露したのであろう。では，その後ろ盾である科学への理解はどのようにして養われて来たのであろうか。数段階に分けて分析する。

### 1. 自然科学受け入れの素地

福沢は生まれつき手先が器用で手工芸・工作が上手であった。平生家族日常における下駄の鼻緒修繕，箆笥の鍵が開かない時に釘の先を曲げて開けたり，畳表のつけ替え，屋根の雨漏り修理などが挙げられるが下級士族一般の常として扶持米の不足を補うために刀剣細工の内職も始め，鞘に漆を塗り，金物の細工などの手工労働も行っていた。刀剣の小道具，金銀銅鉄やその他の生産原料に注意を向けてそれらの性質を知るに至る。その結果，自然の物質は祈祷や呪いでは動かない事，それらを利用するには自然の法則を知らなければならない事を理解する。そして自然の法則の微妙な事に感嘆し，この法則を知る事により自然に従って自然を支配する事すなわち，自然の物質を利用する事に絶大な喜びを感じるようになった。かくして，手先の器用さによる手工労働は自然法則への親しみを感じさせ，将来の自然科学受け容れの素地を助けたと言われる<sup>33)</sup>。

（註）諭吉は福沢家の次男として生まれたが，生後間もなく中村家の養子となった。中村家は諭吉の叔父である福沢術平が養子に行った家であり，二代続けて福沢家から養子を入れた事になる。ただし，諭吉の場合，居所は変わらず，福沢家の中で育った。兄三之助の死亡により福沢家に復籍した。したがって，21才になるまでは中村諭吉であり適塾に在塾中で塾長（22才）になる以前の期間，文中では諭吉と記載する。



## 2. 福沢諭吉と儒学

文武両道は武士の嗜みであり、文の道としては儒学の教典である四書五経を漢文で読む事が一般に行われていた。儒教・儒学は道教や仏教のように宗教的世界観を説くよりも、人間の日常生活における道徳、倫理、礼儀などを説くものである<sup>9, 14)</sup>。四書とは「大学」「中庸」「論語」「孟子」であり、五経とは「易経」「書経」「詩経」「礼経」「春秋左氏伝」の五経典である。諭吉は5才頃から近所で漢学塾を開いていた服部五郎兵衛に四書の素読を受けた。中津藩の藩校「進脩館」には下級藩士の子弟が通い辛い雰囲気があり、行っていない。8才頃、兄も通っていた野本真城（豊後の儒者帆足万里の高弟）の塾に通い、神童ぶりを発揮していたが、野本は天保14年（1843）に藩内の上士と下士との対立に端を発した事件に連座して他の藩に去る。しばらく、漢学の修業は中断。14～15才になった頃、自ら求めて、荻生徂徠を奉ずる筑前の亀井学派の白石照山（常人）について4～5年間学ぶ。照山は特に「詩経」と「書経」を好み、何度も講義してもらったと言われる。また、蒙求世説、左伝、戦国策、老子、荘子のようなものの講義も聞いた。これらは道徳的なものや、哲学的なものが主である。ただ、照山は朱子が儒教を再編成した朱子学を信用していなかったが、この点も彼に影響を与えている。その先、一人で「史記」を始め「五代史」「原明史略」「春秋左氏伝」などの歴史書を読んだ。特に五経の中の一つである「春秋左氏伝」は、春秋時代（紀元前400年頃）から戦国時代（紀元前221年頃）にかけての群雄の歴史であり、15冊から成るが、これを11回通読し一部は暗記した。普通は4～5冊読んで止めてしまう経典である<sup>35, 40)</sup>。これにより、福沢の幕末から明治への日本の乱世を見る目が養われたと言えるかもしれない<sup>40)</sup>。照山に師事した時点で、漢学の勉強は佳境に入り、福沢は「一通り漢学者の前座ぐらいになった」と語っている<sup>3, 31)</sup>。白石もやがて藩内の職務分担に反対して去る。彼は二人の儒教の指導者を中津藩政の中で失う事になる。さて、江戸時代の儒学は多種あるが「朱子学」、伊藤仁斎・伊藤東涯の「古義派」と荻生徂徠の「古文辞学」に絞られる<sup>35)</sup>。いずれも、「道」というもの、すなわち、人間の生き方、社会のあるべき姿を追求する哲学であるが、それぞれ特長がある。要点のみを記すれば、朱子学は人間、社会、国、宇宙は道徳的な法則・秩序に則って動くように出来ている。したがって、個人とくに支配者はその秩序や法則にはずれない生き方をすれば社会も国家も理想の形となる。このように、道徳的な社会を実現するのが「道」とであると説く。伊藤の古義学は孔子の「論語」に立ち返っ

て考える主張で、人間には生まれつきいいものはいい、悪いものは悪いと思う感情・人情がある。社会の成員が自分の人情に従って誠心誠意生きて行く事で「道」は実現されると説く。伊藤のある種の平等性は福沢の考えと一致する。福沢の父君百助が心酔した主旨で朱子学に批判的な内容であり、そこには指導者・支配者がまず修身して人々を感化するという考は入っていない。荻生徂徠は孔子以前の古代社会を記した「孔子」を思考の参考にする。客観的にものを認識しようとする態度であり、さらに、経験的、客観的に認識されたもののみを信ずるという主旨である。この点で、福沢は荻生徂徠的であると言われる<sup>35)</sup>。上記のような江戸時代の儒教・儒学の教義と福沢の理解、思想との関係、評価などをみると次の諸点が挙げられる。

### a) 儒教理解

学んだ教典等は上述の通りであり、内容は福沢自身に内蔵され理解されているとみる。

### b) 家庭から入った儒教の教義

父百助は堀河の伊藤東涯が大信心で「誠意・誠心屋漏れに愧じず」に心掛けていた事を母から聞いている<sup>3)</sup>。またある時、兄にこれから何になるつもりかと聞かれ、大金持ちになって金を自由に使いたいと答えた。そして兄の心積もりを聞いたところ、自分は「死に至るまで孝悌忠信」と言った。これは父子の義（しんじみ）、君臣の義（正しいありかた）、長幼の序（ならび）、朋友の信（まこと）、の主旨であり、儒教倫理の五倫として述べられている徳目である。

### c) 自分から特に守った事項

何か漢書を読む中に「喜怒色に顕されず」の一句を読み金言だと思いこの教えを守ったと自伝に書かれている。

### d) 福沢の主張の中で、儒教の徳目そのものではないが、儒教的であると察せられる事項

福沢は「不仁、不義、不忠、不幸は絶対にならぬ」と言っている。これは、「仁、義、礼、智、信」を尊ぶ儒教的倫理の五常という徳目と同じ印象であり、「気品の泉源」とも共通している<sup>3, 35)</sup>。また、福沢は、松山棟庵への書簡の中で、個人の独立が家の独立に連り、家の独立が一国の独立に連り、一国の独立が天下の独立に連ると言われている。この発想は「大学」にある八条目の中の四項目「修身、齊家、治国、平天下」すなわち、正しい心を持って身を修めれば家は整い、国は治まり、天下平穩となるとの思考と似ている<sup>9, 22, 35)</sup>。



## e) 儒教とは一線を画す点

福沢は自分の教養の基礎は儒教であると言っている。漢書、儒教書を多く読むうちに、多くの教条・徳目に感動し、消化して取り込み自分のものとした訳であるが、中津での儒教修学の後の成長の過程、社会や環境の変化、洋学との接触、西洋の事情への開眼などの流れの中で形成された福沢の思考と、この三者、すなわち、朱子学の説く内容、伊藤東涯の主張、荻生徂徠の主旨、との間には相容れぬものもあり、福沢の将来の主張を理解する上で重要な点となっている。例を挙げると、朱子学は君臣や親子の別、上下の秩序を絶対視する大義名分論を唱えていたし、形式的で権威主義的であったし、儒者はもっぱら統治者たる君子は如何にあるべきかを教え、平民は養い難きものとして相手にしなかった<sup>21, 22)</sup>。また、個人が実現する「道」は既定の道徳である。そして、それを上の者が先ず治め下の者を導く。福沢の場合は定まった道徳ではなく、独立した個人が「智識を開く」事によって認識して行くべきであると説く。伊藤仁齋・東涯の場合には既存の共同社会が円滑に動いていくための精神、倫理を追求している。福沢の場合には、新たな文明に向かって動いていかねばならぬと主張する。荻生徂徠が論議の目標していたのは中国の神話を模範として現実を考える事であるが、福沢は西洋近代文明を目標としている。また、徂徠の場合には優れた支配者が客観的な認識に基き適切な制度・社会を作るとするが、福沢の場合には個人が客観的に現実を認識し自ら独立する<sup>35)</sup>。

## f) 儒教批判

後年、福沢は実学尊重の精神から漢詩文を嫌い過激な言葉で儒教・儒者を罵る事になる<sup>34)</sup>。「腐儒の腐説」を一掃するよう心掛けたとの記載もある<sup>3)</sup>。福沢は、儒教主義は決して純粋な道徳学ではなく、大半政治学を混じると言っている。四書五経の每章毎句同じではないが、一筋にこの主義で貫いている。分析するならば、その成分の七分は治国平天下を占め、残余の三分通りが道徳の部分である<sup>3)</sup>。福沢は孔孟を否定するのではない<sup>3)</sup>。すなわち儒教の倫理・道徳・礼儀の徳目を否定しているのではなく、西洋文明に接し、日本も文明に目覚めなければならないと思ひ啓蒙の必要性を痛感している時に、儒教の封建性や階級性に拘ってはいかぬと、次世代の人々に有益ではないとの観点からの儒教批判であろう。福沢は、西洋にあって儒教に欠けたものとして「有形において数理学と無形において独立心」を挙げている。ここで言う「有形」とは実証的で目で見えてわかる文明の事物、「無形」とはその文明を作っ

ている文明の精神あるいは人心や風俗、「数」は数学と解するべきではなく、科学一般あるいは法則科学を指し、「理」は合理的な論理を指すと理解されよう<sup>27, 34, 40)</sup>。福沢が文明または文明の精神と表現したものはこれであった<sup>33)</sup>。彼は自分自身の中に漢学が宿っている事を知っての上での儒教批判であった。

## g) 儒者と数学

諭吉の成長過程における「道」の修業の経緯と、後年西洋文化に接してからの儒教観は上記のようであるが、儒教の中に、やがては医学所設立の動機付けになるような理科系あるいは自然科学系の内容はあったであろうか。諭吉が儒学を勉強している頃、中津藩士族の一部には数学が重んじられていた。豊後日出藩の大儒帆足万里の影響である。中津藩の隣の藩の学者で福沢の父百助も師事した。もともと漢学者であったが決心して蘭語を学び当時画期的な自然科学の著作を残した人である<sup>16)</sup>。数学を悦び、「鉄砲と算盤は武士の重んずべきものである。その算盤を小役人に任せ、鉄砲を足軽に任せて置くのは大間違い」と説き、この説が隣国の中津でも流行し、士族の有志者の中には数学に心を寄せる人が多く出、兄三之助も先輩に倣って算盤の高尚な所まで進んだらしいとの事である<sup>3)</sup>。諭吉自身の数学への関心の程度や学習については直接の記録はないが、帆足万里の影響は彼の生来の実証的傾向を幾分なりとも助長する性質のものであったと言える<sup>34)</sup>。

## 3. 長崎遊学

嘉永6年(1853)に黒船が来航後、国内は動揺し、中津藩でも海防のために砲術を習得した者が必要となっていた。諭吉は、兄三之助の勧めにより蘭語を学び砲術を習得するために長崎に行く事になった。彼にとっては世界に目を開く第一の機転となる。安政元年(1854)兄が藩の公用により長崎に行くのに伴って長崎に行く。当時19才。長崎行きについては、中津藩家老奥平十学(後の壱岐)の長崎での砲術勉強上の雑用を依頼する人物として、以前に同じく野本真城に師事して漢学を習っていた諭吉が選ばれたのではないかと記載もある<sup>49)</sup>。いずれにせよ、長崎では奥平十学の母の実家である光永寺に十学と共に宿泊する。先ず、薩摩藩から長崎に遊学していた医師松平鼎甫にアルファベットを教えられ、次いで、通詞(通訳)榎原栄七、蘭方医石川桜所などに蘭語の手解きを受けた<sup>43)</sup>。そして十学と同じく、山本重和(物次郎)という蘭学者の所へ西洋砲術を習いに通った。そのうちに、才能と認められ、十学に薦められて山本家



の食客となり、目の悪い山本の読書を助け家の雑用をも手伝った。山本家には、砲術家高島秋帆が「蛮社の獄」（幕府による蘭学者弾圧事件）の際に没収されその後返還された砲術関係の本が多数保管されており、有料で貸し出しを行っていた。諭吉はその本の貸し出し事務を担当した。当然それらの本を読む機会に恵まれ、砲術に精通していき、やがては鉄砲の設計図も引けるようになり、諸藩の人が来れば、説明書を書くなどの世話もするようになった<sup>16)</sup>。勉学は大変良く進んだが、これに焦った十学の奸計により安政2年（1855）2月には長崎を去る事になる。僅か一年間の遊学ではあった。しかし、漢学で育った諭吉が、不規則で断片的ではあったが蘭語を学び、蘭語による砲術の学習を通じて工学系の実地を体験した事は理科系の学術と実地に接する最初の体験となり大変有意義であった。将来の活動に向けての貴重な布石となったと思われる。それにしても、兄三之助の秀でた知性と時代感覚および弟の資質の正確な分析が諭吉を導き将来の勉学の方向性を与えた点で大きな貢献をしている事は特筆に値する。

#### 4. 適塾での修学

適塾における勉学は福沢の人生にとって画期的な機会を作り出す動機付けとなり第二の転機と言われるが、長崎遊学から順調に大阪の適塾に入塾したわけではない。長崎では奥平十学は、家老の息子である自分が下級藩士の子である者に負ける事があるとはならないとの判断から諭吉の母親が病気であるとの情報を流し、諭吉を中津に追い返そうと計画した。十学は父親の元家老奥平与兵衛定次に計画を話し、父親は中津にいる諭吉の従兄の藤本元岱（帆足万里門下の俊才で医者）を呼び、「母親が病気だから中津に帰れ」と福沢に伝える事を強要した。藤本は「お願」（諭吉の母親）に事情を打ち明け、二通の手紙を書いて諭吉に送る。一通は元家老から命じられた通りの内容、他の一通は「母親の健康を案ずる必要はない」との内容であった。諭吉は怒りを抑えながら安政2年（1855）2月に長崎を去り、江戸に出て勉強する計画を立て、一先ず大阪の兄の家に寄った。兄からは、中津の母親のもとに帰らなかった事を「親不孝め」と強く怒られた。そして、兄も承知の上で母親に相談せずに江戸に行く事は賛成出来ない。大阪にも蘭学の塾がある。伝手があるから、そこで勉強しろと言われ、大阪に留まり緒方洪庵の適塾に入塾した。中津藩の蔵屋敷のすぐそばであった。このような経過で同年3月に入塾、20才であった。ここで本当の蘭学修業が始まり、工学・医学の本を読み、学ぶ事になった。

#### a) 緒方洪庵の人物

多くの俊英を育て、医者であるが蘭語を教え教育者として秀でた人であり、峻厳さと優しさの入り交じった不思議な魅力を備えていた。福沢は「誠に類ひ稀なる高德の君子なり」（原文のまま、福沢全集緒言）と賛辞を述べている<sup>16)</sup>。緒方洪庵と諭吉との出会いは偶然であったが、辿ってみるとその因縁は意外に浅くないものがある。洪庵は岡山吉備地方の足守藩（3万5千石）という小藩の下級武士の家に生まれた（文化7年、1810）。諭吉よりも25才年長である。名は章、字は公裁、号は適々斎であり、初め三平と称し後に洪庵と改めた。足守藩の初代藩主は木下家定（1543～1608）で、豊臣秀吉の正妻は北政所で“ねね”というが、“ねね”の兄である。戦国時代を駆け抜け、関ヶ原の戦いでも生き残り足守におさまった<sup>50)</sup>。家定の三男延俊が豊後の日出（ひじ）藩（3万石）の藩主となった。日出藩は中津藩の隣である。諭吉の父福沢百助の師事した帆足万里は日出藩の学者であり百助は隣の藩に行き勉強した。また、帆足万里は儒教の師でありながら数学を説き、西洋物理学の体系的紹介者で、「窮理学通」（物理学）を書く。兄三之助も影響された一人であり、従兄の医者藤本元岱は帆足に師事した。このような関係で、洪庵は初対面の時「中津から来たか」と言って親近の意を表したという。このようにして、日出藩を通じて洪庵と諭吉は多少の因縁を持つ事になる。洪庵は文政8年（1825）15才の時父親が大阪蔵屋敷留守居役を命じられたため大阪に出る。ここまでの家庭の事情は福沢家と極めて類似する。どうしても医者になりたくて、父の反対を押しきって大阪の蘭学者中天游の門人となり（天保元年、1830まで）、訳書により西洋医学を学んだ。この時から緒方三平と名乗る。その後天保2年（1831）上京して、江戸で最も有名な蘭方医である坪井信道に天保6年まで師事。蘭語、科学、医学の基礎を学ぶ。学問の進歩も早く坪井塾の塾長になった。坪井は深く洪庵の人物を愛し、自分の師であり、蘭学者、化学者として知られる宇田川玄真（榛斎）の門にも出入りせしめた。天保3年（1832）には宇田川の勧めで「人身窮理学小解」（註：人体生理学）などいくつかの翻訳を行う。苦学し下足番や按摩をやりながら学費を稼いだという。当時坪井の塾では「御礼」は僅か大豆一升、自炊である代わりに部屋代はとらず、塾の経費は自分の医者としての収入で賄っていた。貧しい者には屢々無料で治療を施し「生き仏」と呼ばれていた。「とびきりの親切者でなければ医者になるべきではない」と言うのが



洪庵の口癖であったが、これは師坪井信道の後ろ姿を見て来た洪庵の実感である。洪庵は師の中に医者、そして教師の理想の姿を見出していた<sup>16)</sup>。その後、天保7年(1836)から天保9年まで長崎に留学し蘭人について医学を学ぶ。この時から緒方洪庵と名乗った。長崎では、天保7年に青木周弼、伊東南洋と共同でM. W. プラッへの薬方書を訳し「袖珍内外方叢」と題した。天保9年1月に長崎を出、3月大阪で蘭学塾「適々齋塾、略して適塾」を開く。時に29才であった<sup>53)</sup>。洪庵の教育は知識の習得だけではなくクリストフ・W・フーフェランド(ベルリン大学教授)著、ドイツ語から蘭語に翻訳された医学の倫理書を抄訳して「扶氏経験遺訓」と称し、内容を塾生に徹底的に教え込んだ。その中には「裕福な患者が払う一握りの黄金と、貧しい患者が両の目から流す感涙と、その心において軽重はない」というような文がならび塾生は自ら襟を正した<sup>16)</sup>。洪庵は前にも述べた「人身窮理学小解」以外に「病学通論」を嘉永2年(1849)に書いている。また、フーフェランドの本からヒントを得て「医師の義務」を内容とする「扶氏医戒之略」も書いている<sup>53)</sup>。緒方の翻訳は分かりやすいことで知られている。現在用いられている健康、疾病、慢性、治療、遺伝病、流行病などの用語は緒方の造語であると言われている。

#### b) 適塾の学風

このような洪庵に論吉は師事する事になった。適塾の入門帳328番であった。ここでは洪庵が江戸幕府に呼ばれるまでの24年間に入門帳に署名した者は611人であり、年毎に約100人、実際には全体でおよそ3,000人が教えを受けた<sup>50, 53)</sup>。幕末から明治にかけて多くの俊才を生んだ。村田蔵六(後の大村益次郎)、橋本左内、大鳥圭介、長与専斎など多数(略す)。塾内では成績等級は八級ある。直上の級の者と一緒に原著を会読する事より勉強し、成績の良い者は順次昇級する。1級の上にはさらに最上級という級がありここでは互いに会読し、時には洪庵から直接講義を受ける事ができる。最上級の塾生の中で洪庵の代わりに講義が出来る者を塾長と呼ぶ<sup>16, 50, 53)</sup>。塾長の下に塾監を置く。8級の下に無等という級があり、最上級を加えると十級あることになる。入塾すると先ずグラマチカ(文法)とセインキタス(綴方)を学ぶ。その後、8級に属し、10~15人のグループとなり、10日に1~2回、7級の人と一緒に蘭語の原書を読んで訳す。会読という。各級に会頭を置く。会頭は塾長、塾監、最上級の人達が、学級の高低によってこれを分担する。

成績は会頭が決める。それぞれの階級で三ヶ月連続して一位であれば昇格出来る。高い点数を取った者が7級に昇級する。同塾所蔵の蘭書は物理学と医学合わせて10前後で、これらの一部を筆写して会読に出る。一回の会読量は半紙3~4枚。7級の人是一方で6級の人に教わる。この方式を「半学半教」と言い、適塾の特長であった。塾生は写本し、翻訳し、会読で良い成績を挙げるため、辞書を奪うようにして使った。しかし、辞書は唯一「ズーフ・ハルマ蘭日辞典」のみであった。これは、商館長ヘンドリック・ズーフがフランスワ・ハルマ著蘭仏辞典をもとにして通詞(通訳)吉雄如淵らの助力を得て作成したものであった。福沢は実質2年で安政四年(1857)塾長となる。その時22才で、塾長としては歴代最年少であった。洪庵は塾長ではない。塾生の中で一番出来る者が塾長である。この関係を福沢はやがて慶應義塾に取り入れられた。昇級していくと会読の相間に他の原書を読む余裕も出てくる。論吉が、リセランドの生理学書三冊を三回も読み返したことは適塾の伝説になっていた。ここで塾生は物理学、化学、解剖学、生理学を学び、福沢の科学主義はこの時点で揺るぎないものとなっていたと想像される<sup>3, 34)</sup>。

#### c) 工芸技術に熱意

適塾で物理学を学び西洋學術の妙に驚嘆した塾生は好んで物理化学の実験を試みた。福沢は塾長となり元来手工を好んでいたもので、おそらく率先してやったことであろう<sup>34)</sup>。器機の事にせよ化学の事にせよ大体の道理は知っているから、どうかして実地で試みたいと思ひ、原書を見て図を写し似よりの物を拵える事はなかなか骨が折れた<sup>3)</sup>。長崎にいる時に、塩酸亜鉛があれば鉄に錫をつける事が出来るという事は聞いて知っていた。相談して、塩酸亜鉛を作ろうとした。塩酸のつくり方は書物を見ればわかる。書物によりどうにか塩酸を造り、それに亜鉛を溶かして鉄に錫を着ける試みは成功した。次に、ヨジウムを造る事になり書物を調べて昆布、荒布のような海藻類を採って来て焙烙で煎って試みたが失敗であった。火山昇華物などとして産する等軸晶系の、皮殻状または繊維状の塩化アンモニウムを製造する野心を起こした。第一の必要は塩化アンモニウムを造る事であり、その試みから始まった。馬の蹄の削り屑をもらい、徳利に入れて火で蒸すとアンモニアがとれる事はとれるが悪臭を発し、周囲の者から苦情が出た。そこで、船を借り川の上で逃げ回って仕事を続けたが不成功であった。製薬も試みた。製薬には徳利が必要で、塾生は酒屋から酒をとり、酒



を飲んで徳利を返さない事が続いた、酒屋が塾僕に聞いたところ、実験に使っていると聞き、酒を持って来なくなって困った。

**d) 電気の新知識を得る**

洪庵は大阪の筑前屋敷に出入りしており筑前国黒田家の大阪での御出入り医師でもあった。黒田の殿様が江戸出府あるいは筑前への帰国のために大阪を通行する時には中の島の筑前屋敷に伺候し、ご機嫌を伺うのが常であった。安政3年か4年<sup>3)</sup>、筑前候黒田美濃守長濤が大阪を通る際に、洪庵は例の如く筑前屋敷に伺ったところ侯は一冊の原書を見せてくれた。そこで、洪庵は侯が大阪滞在の約三日の約束でその本を借りて来て塾生に見せた。それは、ワンダーベルトの物理書であった。福沢が音頭をとり、塾生総員が交代しながら二晩三日かかって最新の「ファラデーの電気理論」が書いてある本末の「エレキトル」の部分を書し取った。写した枚数は100~150枚あったであろう<sup>7)</sup>。後日、それによって電気理論を学んだ。そこには、ファラデーの電気説を土台にして電池の構造法（註：自伝による記載、製造法か？）などが出ていた。

**e) 適塾時代の緒方洪庵による医療活動**

洪庵は適塾では塾生に蘭学の学習を指導しながら医師として診療を続け、特に天然痘対策として種痘の普及、および、コレラの治療に大きく貢献した。天然痘の流行は日本の記録に残る最古のものは奈良時代の天平勝法7年(779)であるが、江戸時代では十数年ごと、19世紀に入っても数十年ごとに大流行があった<sup>7)</sup>。洪庵はやがて大阪に除痘館を発足させ天然痘の蔓延を防ぐ努力をすることになるが、そこに至るまでには日本における痘苗の獲得と選択に紆余曲折があった。古来日本では延享元年(1744)に中国から伝えられた人痘接種法が用いられていたが、天然痘になる危険性が高く不都合であった。文政6年(1822)にシーボルトはバタビアから牛痘苗を持参したが航海中に失活。牛痘法の技術だけを日本人に教授した。嘉永元年(1848)に蘭館医モーニッケが来日し、聴診器と牛痘漿を持参した。医師榊林宗建は通詞の子二名に接種したが変質していて善感しなかった。モーニッケはバタビアの医務局主任ボッシュに痘苗を要請し、嘉永2年(1849)に長崎に牛痘漿と牛痘痂がもたらされた。モーニッケが数人の子供に接種したところ、善感し、一人にはついた。これが日本における牛痘種痘の最初の例となった。ジェンナーが牛痘接種法に成功した寛政8年(1796)から約50年が経過していた。嘉永2年7月、長崎では江戸町のオランダ通詞会所を種痘所とし

て使用を開始した。この牛痘苗は半年の間に全国に普及した。10月16日には京都の除痘館に、11月7日には緒方洪庵と日野葛民、緒方郁蔵らが開設した大阪の除痘所に京都から分配された。日野はシーボルトの門下生、緒方郁蔵は洪庵と同じく坪井信道の門下であり、適塾開設時の塾長であった。大阪の除痘所は、はじめ大和屋喜兵衛の義侠によって別家大和屋伝兵衛の古手町の隠居所に開設されたが、やがて狭くなったので、万延元年(1860)高池屋清之助の協力により尼ヶ崎町に移動した<sup>1)</sup>。洪庵は文久2年(1862)幕府の奥医師になるまでに、医者となって各藩に帰属していた門下生らを通じ、北陸、中部、四国、九州にわたる広範囲に分苗所を作り天然痘の蔓延を防いだ。洪庵訳「謨私篤牛痘説」という写本はジェンナーの種痘法について書かれたものである。コレラの流行は第一回は文政5年(1822)、第二回は安政5年(1858)であった。第二回の流行は、長崎に入港したアメリカ軍艦ミシシッピー号の乗員のコレラ患者から感染し、東に向かって流行し28万人が死んだ。この時も洪庵は献身的に診療に当たった。治療に関して蘭館医ヨハネス・L・C・ボンベが治療指針を公にしたが、洪庵は自分の治療体験からボンベの指針に満足せず、蘭語の原書からコレラに関する部分を翻訳し、自己の意見も加えて「虎狼痢治準」一卷100部を刊行し、参考のため医師達に配布した<sup>8)</sup>。以上の活躍は牛痘苗を取得した嘉永2年(1849)から第二次コレラ流行の安政5年(1858)を経て幕府の奥医師となり江戸に出る文久2年(1862)までの期間であるから、安政2年(1855)に入塾し、同5年(1858)に江戸に呼ばれた福沢の適塾在塾期間とは重なっており、洪庵の活動を知っていたであろうが、自伝にもその記載はない。おそらく、診療助手としての参画もしていないであろう。福沢の在塾中のある時、道修町の薬種屋に丹波から熊が届いたとの事で、ある医者で紹介で後学のために解剖を拝見したいから誰か来て解剖してくれないかと塾に言って来た。塾生の数人は解剖に熱心で早速行ってやろうという事になった。自分は医者でないから行かぬが7~8人は行ったと自伝に記しておられる。福沢は生理学の本をはじめ塾にある医学関係の本を充分に読んでいたが、医学系の実習や医療行為の実際については、物理学や理科系の実験ほどには積極的に参加する意志はなかったように思われる。後述するが、福沢は生来血液を見る事を大変嫌っていたので、その影響かもしれない。



## f) 物理学への理解を深める

福沢が適塾で勉強した本は医学を中心とする自然科学諸分野に属する本であった。彼はここで、物理学、化学、解剖学、生理学を学び西洋学術の精妙さに驚嘆した<sup>33, 34)</sup>。そして、緒方洪庵が黒田侯から借りたワンダーベルトの物理書を解説する事により電気をはじめ物理学の重要性の認識を深めたと言ってよいであろう。前記のような実験経験と西洋自然科学書の勉強を重ねた後、適塾の塾長であった彼は中津藩の藩令により、江戸の中津藩屋敷の中に蘭学塾を開くために江戸に呼ばれる事になる。安政5年、24才の時であった。この時点で彼は物理学を含む科学に対して十分な理解をしていたであろう。福沢の理解する物理学は次のように説明されている。「物理学とは天然の原則に基き、物の性質を明らかにし、その働きを察し、これを採ってもって人事の用に供する学にして自ら他の学問とは異なる。たとえば、経済学を例にとれば、それは天然の原則に依るものではない。経済商売に自由の主義あり(英国)、保護主義あり(亜国)これを聞けば両方に道理がある。そこで、経済学では、両国でその趣を異にすると云わざるをえない。物理はそうではなく、歴史の初め以来原理は古今同一である。神代の水は摂氏100度で沸騰し、明治年間の水も同じである。西洋の蒸気も東洋の蒸気もその膨張の力は変わらない。これらを物理の原則と言ひ、その原則を究めて利用する事を物理学と言う(明治15年講演、49才)<sup>2)</sup>。福沢の念頭にあったのは、主として物理と化学であった。「理」と「数」、「証拠を求める」が彼が最も重きを置くところであった。「理」は合理的な論理、「数」は今日の哲学のようなもの。前記のように東洋の儒教主義に欠けているものは「有形において数理学と無形において独立心」を挙げている。文明または文明の精神と称するものはこれであったと解される。数理学とは科学一般、あるいは法則科学、精密科学というほどの意味に解せられる<sup>15, 27, 34)</sup>。有形とは外から見てわかる文明の事物、たとえば衣服、食物、機械、住居などから政令、法律に至るもの、無形とはその文明を作っている文明の精神、あるいは人心や風俗などを指すと思われる。その上で、無形を十分に問わずに有形の文明だけを論じる事を批判している。学問の分野では無形の学問とは、心学、神学、理学などを指す。心学とは儒教などに基づく伝統的な道徳を指し、理学とは、今日の哲学のようなものを指していると思われる。いずれにしても、思弁的で目で見ただけではわかりそうな学問を指す。有形の学問とは天文、地理、物理(窮理

学)、化学などを指している。なお、福沢の時代の物理学などは、いずれも実証的で目で見えてわかるものであった。この「数」、「理」および「独立」は知的な側面として数と理を、道徳的な事で独立を指しており、東洋に欠けている物として挙げているが、慶應義塾の創設時の教育方針であると明言している<sup>27, 40)</sup>。そして、これからは物理学がただ工芸(技術、芸術)や産業分野を支配するのみならず人文・社会の分野も進歩して物事の道理が明らかになるにしたがい、当世では無形の政治、経済、社会現象なども数学や統計学を用いて遂には物理のなかに取り込まれるので物理学的考察が大切になると指摘されている<sup>5)</sup>。

## g) 「訓蒙 窮理図解」を執筆

慶應義塾創始の慶應4年(1868、この年9月に元号は明治に変わる)に福沢は「訓蒙 窮理図解」(キンモウ キュウリズカイ)という本を出版した<sup>5, 40, 45, 54, 57)</sup>。自らの学習経験が進んでからそれを踏まえて纏めてあり、日本では初めての科学読み物である。教育の中に自然科学的要素を取入れる意図の現れであったと思われる。「窮理」とは自然科学<sup>5)</sup>、あるいは広義の物理学<sup>40)</sup>と説明されている。この本は次のような物理現象をわかりやすい図で説明している。三巻十章にわけられている。巻の一、第一章「温気の事」例、太陽熱、地熱、化学反応熱、膨張など、第二章「空気の事」例、空気圧、井戸ポンプ、気圧計など、巻の二、第三章「水の章」例、水圧、サイフォンなど、第四章「風の事」例、風圧、空気の温度差など、第五章「雲雨の事」例、風圧、洗濯物の日干し、富士山の笠雲など、第六章「雹、雪、霧、氷の事」の例、気化熱、氷の生成など、巻の三、第七章「引力の事」例、万有引力の存在、第八章「昼夜の別」例、地動説、地球の自転など、第九章「地球の公転と四季の別」、第十章「日蝕・月蝕」である。これらの現象につき日常生活の中で経験される事例を挙げながら自然現象の原理を理解しやすいように記載されている。たとえば、虫めがねで太陽の光を紙の一点に収束させると紙が燃える図、あるいは太陽(日輪と記載)と月および月の軌道と地球(世界と記載)との変動する相対的な位置関係を描いた日蝕および月蝕の説明図などである。出典は英米の物理書であるが、理解を容易にさせる説明は自身の発想による。以上の内容は自然現象の原因と結果が論理的に関係のある事を示すものであり物事の論理的考察が社会の啓蒙と教育とに欠かせない事を示唆している<sup>5)</sup>。ここで、「窮理」について考察してみる。福沢は幕末の時代に、今、必須の事は「古習の惑



溺」を一掃して西洋で行われている文明の精神を取り入れる事であると言っている。彼は、心のあり方が自由を欠いて一向になる事を感溺と呼んでいる。すなわち、既存の価値観や既成の思考パターンに捕らわれて、活発な知性の働きを欠いた固定的な態度を脱して、法則発見的な合理的思想の道である窮理の道を歩かなければならないと言っている<sup>36)</sup>。宋の時代の儒学を代表する朱子学では道德教育を重視する一方、その知的教育においても特長がある。儒教では人間は教育と勉強により、理想像である聖人に必ずなる事が出来ると説き、その過程を示す。朱子が選んだ「大学」の中に八条目という言葉（一部前出）はその過程を示している。すなわち「格物、致知、誠意、正心、修身、齐家、治国、平天下」である。格物とは物に格り（いたり）であり「物をきわめる事」、致知は知に至るの意味で「物の真理をきわめ、知識を得る事」である。全体として、人間は一步一步段階を踏んでなすべき事をきちんと行っていれば天下を治める事もなし得ると教えている。換言すれば、そうなる過程とは具体的な順序を踏んで、物について最高原理の理解に至る（理を窮める）ことである。彼らの言葉で言えば「窮理」である。儒学のこうした追求、段階的・論理的・因果律的推論の教示は、日本人を含む北部東洋人にとって、やがて、西欧の自然科学が流入した時、その自然科学的思考を理解出来る基盤となっていたのである。だからこそ物理学のことを、初期には「窮理学」とか「格学」とか「理学」と訳していたのである。朱子学が思考方法として主張した「格物致知」とか「窮理」は自然科学の因果律的思考に近い<sup>9)</sup>。

#### h) 物理学専攻への憧れ

福沢は明治26年(1893)、60才の時に「人生の楽事」と題して行った演説の中で次のように述べている。「自分は壮年の頃から今日に至るまで一日も忘れる事が無かったが、今日に至るまで果たす事が出来なかった事がある。自分は本来儒学生であったが40年前、年齢20才の頃洋学に志し、その入門としては適塾において物理学の修得があった。自分はこの学問に大変に感激し、この科を専門に修めようと思った。しかし乍ら家に資力無く、開国以来の世変を黙視する事が出来ず、著述などをして時間を費やしたが、物理学の事は心頭を離れなかった。造化の秘密は人間が探究しないから秘密なので、それを解明したいと思った」。すなわち、外交、政治、教育、時事問題に取り組んだ彼の心中には物理学に打ち込みたかったという悲痛なまでの願望があった<sup>45, 60)</sup>。

#### i) 自然科学修得後の漢学・儒学観

福沢は幼少時より漢学・儒学を学び、儒教の倫理、道德、礼儀を学び取り、自分の教養の基礎は儒学であると言ひ、その素養は浅くないものがあつた。しかし、前述したように、儒教の治国平天下という政治性と階級性を嫌っての厳しい批判をしていた。物理学をはじめとする自然科学を修めた後、従来の漢学者・儒学者の学問が迂遠不精密で耐え難いものに見えた。後年の事であるが、儒者が様々な自然現象を見ながら、これらを支配する因果の理法を探究しようとしないう怠慢を責めて、次のように言っている。「儒者は地獄・極楽の仏説を証拠のないものと排撃しながら、自分達は数百年の間、降雨の理由すら推究した者はいない。雨は天より降る、あるいは、雲凝りて雨となると言うのみで、蒸発の理（註：合理的なもの）と数（註：実証的なもの）に至ってはその証拠を求める事を知らなかった。朝夕に水を用いてその剛軟を論じながらその水は何物の集まりで形を成したのか、また、その水中に何物を混じ、あるいは何物を除去すれば剛水となり、あるいは軟水となるかの証拠を求めていない」<sup>2, 34, 35, 58)</sup>。

#### j) 福沢における人文科学と自然科学の理解

本誌の目的は医学所および医学部の設立の背景に福沢の自然科学重視の思考がある事の由来を解明する事であるが、慶應義塾は初め人文科学系として発足した。漢学、蘭学から英語と学び、西洋文化の摂取により日本社会の啓蒙を目指した福沢における人文科学の自然科学的理解に触れておく。西洋自然科学の精密・微妙な事に驚嘆し物理化学に傾倒した彼は、次いで英(米)書によって西洋の人文科学を知った。自然科学によって知り得た世界は厳格普遍的な法則の支配する世界であった。さらに西洋人文科学は彼に東洋のそれとは全く異なった経済論、道德論が成立している事を教えた。人文科学の中で最も法則的なものは経済学であり、福沢が文久二年(1862)にイギリスで購入し、その一部を翻訳したチャンパー書店版「学校用及び私修用経済学」は、極めて素朴に自然界にて行われている法則が人間の経済生活をも支配する事を認めている。すでに、自然界には法則の支配がある事を知り、「理」「数」「証拠」を重んずる事を痛感していた福沢にとって、社会人事も動かす事の出来ない定則の支配を受けるとこの説は大きな魅惑であったであろう<sup>33, 34)</sup>。次に明治2年(1869)アメリカから持ち帰ったウエイランドの経済書を江戸城の方向に砲声を聞きながらでも講義をするが、これについて自然科学的定則との関係を記した文献は見当たらない。福沢の自然科学観について



では、結論として次のように纏められる。彼は自然科学の業績に感嘆し、その進歩を信頼し、社会事物の考察においても、これに倣おうとする傾向が強かった。これは二つの点で現れる。一つは、社会的事物を考察するに当たり政治的、宗教的、道徳的の如何を問わず、その可否を言う前に先ずあるがままの実相を直視する。二つは、社会的事物、さらにその歴史的変動に、もし出来れば法則を求めようとする。この意味における科学主義は著書全体を貫いている<sup>34)</sup>。

## II. 慶應義塾医学所の創設

以上、福沢の自然科学教育の重視に至る思考の経過を辿って来たが、いよいよそれが有形化され、明治6年(1873)に慶應義塾医学所が創設された。細部に入る前に、当時の医学環境について述べる。

### 1. 明治維新後の医育機関の状況

#### a) 長崎医学校

官学の系譜として維新後最初に発足した。長崎医学校は徳川時代にペリー来航を初めとし諸外国の船や軍艦が続いて日本に来た時に幕府は対外防衛策としてオランダに依頼して海軍の軍事伝習所を作った。その伝習所の医療部門として軍艦医養成目的のための長崎医学伝習所の系譜である。オランダ医師ボンベ主導、日本側責任者は松本良順(奥医師、佐倉順天堂創始者佐藤泰然の実子)と佐藤尚中(泰然の継子)であった。明治維新後は幕府の担当者は去り、長与専斎(大村藩医、福沢の親友、適塾で福沢の次の塾長)が学頭に選ばれ、オランダ医師マンスフェルド、長崎裁判所総督沢宣嘉、同判事井上聞多などの助力により明治元年(1868)10月に長崎医学校を興した。予科と本科で通算5年制であった。

#### b) 東京医学校(大学東校)

旧幕府の医学所を接收し、明治元年7月に横浜の軍陣病院を下谷の藤堂屋敷に移し「大病院」としていたものである。明治2年、佐倉順天堂塾一門(佐藤尚中門下)の岩佐純(福井藩士)と相良知安(佐賀藩士)が医学校取調御用掛に任命され医学校の今後の方針・計画作成を担当していた。維新政府は相良などの進言によりドイツ(プロシャ)医学を日本医学の範とする方針を建て、明治2年にドイツ人教師(医師)二人の招聘を決めた。来日までの期間、英国公使館付武官ウイリスやシッドルの協力を得て大学東校規則の作成準備を行っていた。東京医学校は函館戦争負傷者の救援

までを任務としていたため、医学校としての設営・準備は長崎、大阪に比して著しく遅れた。加えて、相次ぐ所管変え、英蘭両国による主導権争い、皇漢学派との争いもあり、正則(洋書を読み、学科の順序を逐い、卒業大成する)5年制、変則(翻訳書により每学科の要領を得、早く成業する)3年制よりなる大学東校規則を定めたのは明治3年10月であった。明治4年7月にプロシャ医師二人ミュルレル(陸軍上等軍医正)とホフマン(海軍軍医正)が着任。同年9月に東京医学校を一旦閉鎖し、学生に一般試験を行い59人のみ合格。医制を改編し大学を予科3年(後に2年に変更)、本科5年の8年制とした。加えて、従来医学教育の本流としてきた邦語による変則医学教育制度(前記)を廃止し、また、国内数か所に大学区を設けて官立の大学を設置し、国の政策の一環として広く医療・医学を推進する方針を否定して、東京医学校をドイツ語による少数特権エリートの教育機関にするなど、今まで尚中達が築き上げて来た制度を大きく変更した。さらに患者数制限、初診料徴取など医制の変更のみではなく、学制にまで関与し、初等教育の重視、師範学校および外国語学校優先などを建議した。維新以後、東京医学校に登用され医制創建の任に当たってきた順天堂塾一派(佐藤尚中、岩佐純、相良知安など)はドイツ医師の影響を強く受けた維新政府との間に矛盾を深め逐次東京医学校を追われた。これらの学制の改革に当たっていたのは大木喬任文部卿である。大木は学制改革の建議の中で「我が国には我が国の文学、言語、風俗、学問がある。しかし、我が国に乏しいのは百般の工芸、技術および天文、窮理、医療、法律、経済などであり、これらのものは欧米諸国が遥かに優れていて我が国にない事実である。今これらの事実を習得するには、外国人について外国語で学ばなければならぬ。そして、その目的を達した後、邦人が邦語をもって邦人に相伝する事が出来る」と述べている。これは、明治という時代の精神でもあり、部分的には福沢の観点と共通する内容もあるが、明治の志士官僚大木の場合には欧化と日本国家の富強とが極めて楽観的にかつ直線的に結びつけられているわけで、大木の欧化主義は国権主義の一変種とも言い得るものであった<sup>13)</sup>。長崎医学校および東京医学校に次いで慶應医学所創設以前に設立されていた医学教育機関は次のような機関である。

#### c) 長崎・東京に次ぐ官立医学校

大阪医学校(明治3年創設、雇用外人教師は蘭人)、高知藩医学校(明治4年、蘭人)、熊本医学校兼病院(古城医学校、明治4年、蘭人)、官立函館医学校(開



拓使、函館医学所、明治3年、米人)、国立札幌病院(開拓使、明治2年、米人)、軍関係では陸軍軍医寮本病院(兵部省、東京、明治3年、蘭人)、海軍本病院(兵部省、東京、明治3年、英人)。

**d) 公立医学校・病院**

学校兼病院(鹿児島、明治2年、英人)、県立好生館病院(佐賀、明治2年、米人)、県立神戸病院(明治2年、米人)、新潟共立病院(明治3年、仏人)、医学館・大病院(岡山、明治3年、蘭人)、金沢県医学館・病院(金沢、明治3年、蘭人)、京都府療病院(明治5年、英国籍独人、京都府立医科大学の前身)、病院(医学講習所を併置、名古屋の西本願寺別院内、明治5年、米人、名古屋大学医学部医学部の前身)、大阪府病院(明治6年2月、大阪大学医学部の前身、蘭人、伴って大阪医学校は一ヶ月後に閉鎖)、東京府病院(教場、明治6年5月、英人)。

**e) 私立診療医育機関**

順天堂病院(佐藤尚中開設、下谷練堀町、明治6年2月、塾生を置き医育も行う初の私立病院)。東京医学校の計画に参画していた佐藤尚中は医学校を去った。それまでの尚中の方針は医を維新後の国政の柱として仁慈を普及し商売たる医を止めることであった。明治5年9月、共に大学東校を辞した数人の同志と博愛舎を起し診療を行った処、意外の盛況でありこれが下谷練堀町の順天堂病院の開院の動機となり、やがては明治8年の湯島順天堂病院設立に連なった<sup>12, 13, 31)</sup>。

**2. 慶應義塾医学所創設とその動機**

明治維新後6年間に上記のような医制の変化や病院医学校の発足が見られたが、私立では下谷の順天堂病院のみであった状況の下で、同じ明治6年の10月に慶應義塾医学所が創設された。その動機については互いに僅かに内容の異なる四種の記載がある<sup>45)</sup>。

**a) その1**

松山棟庵(医学所校長)著、義塾懐旧談、三田評論第235号、大正6年3月刊 によると次の通りである。『明治6年5月頃先生の家の手所にて、先生と立乍ら雑談中、先生曰く「塾にて英文の医学校を建てる所存であるが、自分は資金を給するから、足下は時間を与えられては如何」と。小生大いに同情を表せり。此時先生の傍らに立聞きして居たる前田政四郎を捉え「足下宜しく医学に従事し医者となるべし、どうか」と云われた。前田氏直ちに之を承諾せり。先生笑い乍ら曰く「今即座に先生と弟子が出来た。明日からでも始められる」と手取早く相談が纏まった。是れ即ち慶

應義塾医学所の発端なり。夫より小生丸善書店に命じ理化学書、解剖生理、内外科書を取寄せ開校の準備をなす。一方本塾の北側に在りし明地を選び、至急に塾舎の建築を始めた』。

**b) その2**

松山棟庵は「福沢先生を語る諸名士の直話」(箒庵高橋義雄編、岩波書店、昭和9年)の中で次のように述べている。『最初この医学所を設けんとする時、紀州で騎兵をしていた前田政四郎という者が参り合わせ医学をやろうという事を申し出ますと先生は例の活発な流儀で「先生が松山で弟子が君であれば学校は出来るではないか。直ちに始めるが良い」と言われた』。以下前文と同じ。

**c) その3**

やや異なる記載がある。『或日、前田政四郎が先生の所に来て「私はこれからドイツ語をやりたい」というので、先生は「なんの為にドイツ語をやるのか」と聞かれると「医者になりたいからです」と答えた。先生は「医学を学ぶのはドイツ語に及ばない。塾でも医学の修業が出来よう様にしよう」とて直ちに邸内に住んでいた松山棟庵を呼び寄せられた。松山が急いで来ると、先生は台所前の内庭で前田と立ち話をして居られたが松山に向かって「前田さんが医学をやりたいと言うが、塾で医学校を開いたらどうだろう」と言われたので松山は「それは面白いでしょう。やってみよう」と答えると「それでは私が出して塾舎を作るからあなたは時間を出して教えてくれ。ここに松山という教師があり前田という生徒があり、それで塾舎が出来れば医学校はすぐ開ける」と言われた』。以下(a)と同じ<sup>6, 23, 25, 30)</sup>。

**d) その4**

異なる趣の記載。『或日、前田政四郎が先生に向かって、医者になるために義塾を去ってドイツ語を学びたいと思っている旨述べたところ、先生はそれはドイツ語に限ったことではないから、塾でも医学の修業の出来るやうにしようと言われ、直ちに邸内に住んでいた松山棟庵を呼んで相談された』。以下(a, b, c)と同じ<sup>24, 26)</sup>。かくして東京府知事大久保一翁宛願書を出し設立を見た。

(註) 1. 松山棟庵：慶應2年鉄砲洲の福沢塾に入塾。紀州高野山の寺領安楽川荘の出身。京都に出て新宮涼民について蘭方医学を学び、一度和歌山に帰って開業。その後江戸に出るが船中で福沢と同時期に適塾で学んだ山口良蔵に会い、勧められて慶應2年福沢塾に入塾し英語を学ぶ。明治元年1月より6ヶ月間、横浜在留の米国医師ヘボンに師事す。明治2年2月より3年



12月まで紀州和歌山で医に従事。福沢がアメリカから持ち帰ったフリの内科書の一部を翻訳して出版。日本の英語医学書翻訳書第一号である。明治4年大学東校に出仕し大助教授となる。三田の塾内に住み翻訳などに従事。義塾医学所創設に際し所長となる<sup>25)</sup>。

2. 前田政四郎：紀州藩の騎兵である。福沢塾に入り、後の小田急電鉄社長草郷清四郎と共に福沢に乘馬を教えながら英語を学ぶ。後の陸軍一等軍医。日清、日露の戦いで活躍し金鵄勲章受章<sup>30)</sup>。

3. ヘボン：米国プリンストン大学卒業後ペンシルヴァニア大学医学部を卒業。フィラデルフィアで医師として活動。ニューヨークで13年間病院勤務の後、安政6年(1859)長老会宣教師として来日。布教と無料施療に従事。神奈川に施療所を作り診療。文久2年(1862)生麦事件で負傷したイギリス人を治療。慶應2年(1866)ヘボン式ローマ字を作り普及に努力。歌舞伎俳優沢村田之助の脱疽手術の後日本最初の義足を着用せしむ。横浜に居住し、夫妻で英語教育と宣教を行ったヘボン塾は後のフェリス女学院、明治学院の発祥となった。ヘボンの点眼薬は著効あり当時、中国の上海まで輸出された<sup>13)</sup>。J. C. Hepburn が名前であるが英語読みはヘップバーンである。当時の日本人は外国語に馴染まず、つまってヘボンとなった<sup>31, 32)</sup>と記載されているが、オランダ語読みにするとヘボンであるとも言われる(東忠尚塾員談)。

### 3. 医学所の構成

主要人事としては、松山棟庵が校長、新宮涼園と杉田武の両氏を教師兼監事として発足。後に医学所出身者の中から教員が出る。塾舎は福沢出資の三千元で現在の塾監局の後方の位置に建設。別に、三田通り沿いに杉田玄端を主任として診療所「尊生舎」を設ける<sup>26, 30, 45)</sup>。

(註) 1. 新宮涼園：新宮涼介(松山棟庵の実兄)の長男。幼時泉州岸和田藩儒相馬逸郎より漢学を学ぶ。慶應2年より京都の岩佐純に蘭学および医学を学び、傍ら西周において英語研究。明治2年より和歌山において叔父棟庵について英語医学を学ぶ。明治3年慶應義塾に入ったが、すぐに大学東校に転校。学則変更になり英語を廃してドイツ語を用いる事になったため退校。明治5年、横浜十全病院にて米医シモンズにつき医術研究中、慶應義塾医学所創設につき赴任。明治8年父涼介死亡し一時京都に帰り京都府療病院に勤務。翌年、上京し慶應義塾医学所教授。後に芝区医師会長、内務省衛生局判任御用係などを歴任。

2. 杉田 武：杉田玄端の次男。明治4年大学中得業生拜命。8年文部少助教拜命その後、東京医学校本科生となるも、学制変更となり退学して慶應義塾医学所に通学。医学所教員となる。一時渡米、後医学所に務む。後に海軍少軍医。

3. 杉田玄端：旧名吉野徳太郎、尾藩医師子弟。杉田立郷の門に入り医術を修む。天保9年立郷の子成郷の義弟となり、杉田玄端と名乗り、弘化8年、本家の杉田白玄の継子となる。その後、洋書調所教授となり福沢と共に生麦事件の際の英国公使からの抗議文を翻訳。開成所教

授、外国奉行支配翻訳御用頭取。明治維新の後、明治政府への仕官を断り、徳川家の後を追って駿府にて陸軍軍医学校教授。陸軍付属医師頭取となり沼津兵学校付属病院勤務中に勝海舟より海軍または宮内省に勤務する事を勧められるが福沢に相談の上断り、東京に帰着。福沢方に寄留し、開業準備。三田通りに適当な家を見付け診療所として「尊生舎」と名付け、松山棟庵と経営。慶應義塾医学所の生徒の実地指導に当たる。明治8年神田に診療所を設け同じく尊生舎と名付け死ぬまで診療に従事。後に学士院会員。三田の尊生舎は尊生堂病院となり松山棟庵が引き受けて経営。後の松山病院となる<sup>20, 27)</sup>。

### 4. 医学所の学事

英語の原書をもって医学を教える方針である。創設時の慶應義塾医学所規則類による学科および課程を知るために、当時の規定のままを記載すると次の通り<sup>19, 20, 24, 26)</sup>。

#### 予科

三等予科「素読」	(稽古三時間)	
単語篇	窮理初歩	文典
二等予科「素読・講義」	(同)	
博物学	化学初歩	万邦史
一等予科「講義・暗誦」	(同)	
理学書	化学書	算学初歩

#### 本科

五等本科「講義・暗誦」	(同)	
解剖学	健全学	実際算学
組織学	生理学	
四等本科「講義・暗誦」	(同)	
薬剂学	外科学	代数初歩
	産科学	
三等本科「(講義)(暗誦)」	(同)	
内科学		
臨床医学	病理学	幾何学
二等本科「講義」	(同)	
察病学	衛生学	精神生理
一等本科「講義」	(同)	
包帯学		
顕微鏡学	断訟医学	医史

要約すれば、理学と化学の二科を予科とし、解剖学、生理学、薬物学、内科学、外科学、産科学の六科を本科とす。以上二年をもって卒業す。稽古時間は毎日二時間とし、生徒は毎日二科目の講義を聴聞す。ただし一科目の講義時間を一時間とする<sup>19)</sup>。初学の者には予科に入る前に文典の素読および理化学初歩など読みやすい書を約六ヶ月間講義する。



学則はその後4回改正されている。第一回は明治7年6月で文章上の小変更のみ。第二回は明治8年9月で、解体、生理、薬剤、産科、外科、内科の六科にハルツホルン（註）の教科書を用いる事を学則に記す。第三回は明治9年1月で、予科の化学にもハルツホルンの教科書を用いる事を指定。「ハルツホルン七科書」全部を指定した事になる。第四回は明治9年12月で、本科を五期とし、予科を三期とし、各一期は5ヶ月とする。明治3年10月に制定された「大学東校規則」では予科3年、本科4年で計7年である事および教科書・参考書は慶應義塾医学所では英米の原著であるが大学東校ではドイツ語の翻訳書をも用いた事が医学所の規則と異なる。しかし、その他の大部分は大学東校のものと同じであり、それに倣って作られたものと思われる。その筈で、松山棟庵は明治4年頃大学東校で大助教授であったし、新宮涼園と杉田 武両名は大学東校で学んだ者であった。

（註）ヘンリ・ハルツホルン：1853年アメリカ最古のペンシルバニア大学医学部の教授になった。1866年、同大学初の衛生学教授に就任。主要著書に *Essential of Principle and Practice of Medicine* (初版1867), *A Conspectus of Medical Sciences* (1869), *Memo-randa Medica* (1868) がある。いずれも実用的簡易医学書として、同じフィラデルフィアのジェファソン医科大学のグロス (S. D. Gross) の名著 *A System of Surgery* (1859) と共に明治初期の日本医学に大きな影響を与えた。特に、明治9年1月に医術開業試験が施行され医科七科の試験が課されてからは、ハルツホルン著 *A Conspectus of Medical Sciences* の翻訳書「七科約説」(太田周成など、明治11年) は広く利用された。

慶應義塾医学所の教育はペンシルバニア大学医学部系医師の書いた教科書を中心に、グレイ（解剖学）やタンネル（外科学）などの英国系医師の書いた教科書を加えて行われた内容であった。また、校長の松山棟庵が師事したヘボンがペンシルバニア大学医学部の出身であった事も考慮に入れると、医学所での教育は独立後約100年を経過したアメリカの東部の医学教育を模したものであったであろうと思われる<sup>19)</sup>。

講義の方法は100人もの生徒に講堂で講義をするのではなく、個人教育のようなものであった。生徒一人一人の程度が異なっているからであった。教師は一人の生徒の前に行き前日の復習をする。前日の内容を聞き、暗誦するのを聞く。それで、前日のところまで理解している事を確かめると、次の頁を教師が読んでその内容を話してやる。このようにして一定のところまで読むと、今度は教師や生徒が多数いる前で試験を行う。すなわち、原書を出してある頁を開き、ここからここまで書いてある内容を聞く。以上は医学所出身で松山棟庵の甥の松山

誠二談である。なお、生徒数は明治7年は数十人、明治8年はおそらく最も多く百人以上であった<sup>12, 13, 19)</sup>。この方法は原書を読んでその意味を理解するための方法であり、このような洋書会読法は日本の洋学教育の伝統的方法であったが、当時のアメリカの医学教育もこのようなものであったと言われる。アメリカの場合は西部と南部の開拓が進み、急激な人口膨張の中での医療の必要性から修業年限2年程度の私立医学校の乱立が起こっている。そこでも会読方式の教育が行われた。この種の医学校の質は低くやがては漸次減少する。元々英米の医学教育はスコラの大学教育の埒外にあり、病院での徒弟的実地教育を特長としていたから、医学校はむしろ、そのための予備課程とみなされる傾向にあった<sup>19)</sup>。日本の場合の私学の出来方は、官学は学事を重んじ、臨床の実地面に力を注がないので市民が困りその対応に私学が創設された経過があるので、2年の修業年限や会読中心の教育法は似ているが、アメリカの場合とは事情は異なるという事になろう。

臨床の実地は、医者の子息は親に習い、通学生は医者の代診生となり、塾にいる者は前述の尊生舎などで傍観生となって修業を行った。臨床担当の教師は松山棟庵と隈川宗悦（医学所卒業生）の他に英米の宣教師で医者である者数人であった。築地病院の医師フォールズや隈川宅に横浜から出張して来るセメンズなどである。セメンズは福沢とも親しく、後に三田の塾内に居住していた。萬来舎である<sup>20)</sup>。

明治維新後の日本の官界にはドイツ崇拜の気風があり、特に、医学はドイツに限るとしドイツ人教師を雇い入れ、留学生をドイツに派遣する傾向が強かった<sup>20)</sup>。明治3～4年にかけて学制が変わり、それまで英語を採用していた大学東校はドイツ語を用いる制度となった。福沢は、英語は世界中どこでも通用するから医学も英語による事を決め、英米医学を選んだ。あちらがドイツ語ならこちらは英語だという機運もあった。また、慶應義塾という英語塾に付属して出来た医学所であるので、ドイツ医学勃興の時代に英語によって医学を学んだとしても何ら不自然ではないとの判断もあった<sup>19)</sup>。明治維新直後、東京医学校での教育計画を担当していた佐藤尚中門下の相良知安などが蘭人医師フルベッキの提言を聞いて明治政府にドイツ医学採用を提案している時に、福沢は横浜開港時の経験と三度の外遊時の体験から世界の流通語は英語である事を知っておられたし、幕末の医学界の主流は英国医学に傾いていたので、「医学の範をドイツに採るがごときは人の子を毒するものだ」とドイツ医学採用に反対の意見を持っていた（梶田 昭、医学の歴史、講談社、



2003年)。事実、日本の多くの医学校がドイツ語を用いるようになったのは明治14年頃からである<sup>61)</sup>。明治初期から中期にかけて、医学や医師に対する言葉として「日本橋から南にドイツ風吹かず」という言葉が話された。医学にはドイツ医学だけではなく、イギリス医学もアメリカ医学もあるのだぞという意味をこめてこのような風刺言葉が人々の口の端にのぼった。日本橋から南とは京橋、銀座、芝方面、横浜方面で、その方向には私立医学校、私立病院(イギリス医学)、歯科医(アメリカ人)があり、京橋には成医会講習所、海軍病院(イギリス系)などがあつた。日本橋から北とは神田、本郷から戸山が原にかけての地域を指す。その方向には、東京医学校、陸軍省軍医部、軍医学校などがあつた<sup>31, 32)</sup>。

## 5. 医学所設置の背景

直接の原因は、福沢邸の台所の庭における福沢と松山棟庵との立話、あるいは前田政四郎の医学志望の申し出であろうが、その背景は多様である。

### a) 西洋医学への期待

福沢の思考の中には、社会の文化を進め済生救命の道を全うするには西洋流の医学を普及せしめねばならぬ。医術は洋流に則らなければならないのに、日本の文化はいまだ日が浅く、洋方医学を教授する学校は大学東校くらいしかない。これでは不都合だから西洋医学を少年医生に教授して我が文化の進歩を補う、という考えがある。当時は殆どが漢方医であつた。福沢は漢方医術をただ排斥するばかりではなく、従来の漢方にとって代わるべき西洋医学の普及に心掛け、その一手段として慶應義塾に医学校を付属されたいと思つたのであろう。また、一口に西洋と言つても、西洋の中で英米の文明をとる事も明言して<sup>6, 20, 27, 30)</sup>。適塾の環境の然らしめる処であろうか、自ら医学に関心を持つようになっていた。

### b) 事前の西医養成

差し当たつての障害である漢学主義に伴う漢方医術を打倒せねばならぬ決心を早くから持っていた。そのためか、慶應義塾では開塾の当初から幾人かの洋医を養成し、後に名を成した者もいる。足立寛(鉄砲洲時代入塾、後に緒方塾に学ぶ、陸軍軍医総監)、印東玄得(慶應3年入塾、大学東校に移り、後に医科大学教授)および近藤良薫(明治元年入塾、横浜の十全病院長)など。福沢本来の科学教育尊重の精神からも医学所設立は当然とうなずける。

### c) 義塾発展の機運

義塾は明治4年(1871)に三田に移り、いよいよ

諸事発展の機運に向い、各方面に進出して学風の伸長を期そうとする時期であつた<sup>26)</sup>。

### d) 長与専斎の動向

盟友長与専斎が明治6年6月より文部省医務局長に就任し開設許可の見透しが得られた<sup>12, 13)</sup>。

### e) 私立医育機関待望の状況

中央の官立医学校がプロシヤ陸軍軍医学校を模して官医、学医の養成機関として定着して行くにつれ、国の医療行政からはみ出てくる「四方疾病に苦しむ人々」のために市中の病院として「専ら諸人の疾病を治療する事を企てる」私立病院が生まれ、かつ官立から締め出された多くの医学書生のために「皇朝の文(註:邦文)を以て教える」私立医学校が簇生して来る時代でもあつた<sup>13)</sup>。

## 6. 本塾との関係

医学所は慶應義塾の名を冠しており、当然同社とみなしてよい筈であるが、学科などの問題になると本塾とは互いに関係は薄く、教育体制などは学長の自由裁量に任せていた。一度決めたら責任者に任ず福沢独特の方法であつた。したがって、義塾の一分科ではあるが、自ら一種の分校をなして、一面、松山棟庵の私塾のような感がなきにしもあらずであつた。本塾の支社たる態をなさず、本塾との出入りについても、改めて手続きが必要であつた<sup>19, 24, 26)</sup>。

## 7. 特筆すべき点

開校当時、東京日日新聞551号に掲載された生徒募集広告に次のような文がある。「此度社中申合せ本塾の傍に医学所を設けたり。有志の子女は来たり学ぶべし」。実際に女性の志願者があつたか否か不明であり、少なくとも女性の入学者は無かつたようであるが当時としては注目すべき事であつた。明治6年は福沢が「明六雑誌」を興し明治啓蒙主義思想の旗揚げをした年である。米国でも女性の医師への道は茨の道であつた。それでも1850年にペンシルバニア医科大学の提携校として世界で初めてのペンシルバニア女子医科大学が創設されている。医学所がフィラデルフィアの医学担当者面々の意志をモデルとしたのか否か不明だがこの広告文は啓蒙主義思想家としての福沢の面目を伺わせるものである<sup>13, 26)</sup>。この思想を引いているのであろうか大正6年の慶應義塾大学医学科の創設にあつては女子学生三名の応募があつたという。参考までに述べると、日本では女性に医術開業試験受験の道が開けたのは、明治17年である。公許女医第一号は荻野吟子(明治18年上記試験合格)であ



り高階経徳の好寿医院出身。済生学舎（明治9年、長谷川 泰開舎）も明治17年より女性に門を開いた。鷲山弥生（後の吉岡弥生）が明治22年に同舎に入った時には、16人の女子学生がいたという<sup>19)</sup>。

## 8. 明治13年廃校

その理由には次の諸事項が挙げられる。

### a) 経営の困難

医学教育も漸く精密を要し、御遺体の収集、莫大な機器の購入、診療病院の充実などに多額な経費が必要であり、私立にはおよばぬ費用を要するようになってきた。

### b) 専任教員人事不安定

教育に従事する医師も止むをえぬ事情あり専任する事が出来なくなってきた。松山棟庵は事務多端のため、校務一切の摂理を新宮涼園に依頼して校長を辞任した。多忙の理由は明治8年東京医学会社を興し、また、杉田玄瑞と共同で経営していた尊生堂医院より杉田が手を引き神田に出張所を作り開業したため、一人で診療と生徒の教育とを行わねばならなくなった。この時、算数の教員を入れ、また、阪倉金次郎という洋行帰りの教師が精神生理を受け持ったが、共に長続きしなかった。明治11年新宮涼園、沖野嘉太郎は開業、前者は後に内務省に勤務、後者は間もなく病気で死亡した。そこで再び松山棟庵に校務を依頼し、さらに、三名の教員を採用した。内二名は医学所出身者であった。明治11年11月には上記三名も開業し、杉田武は海軍少将となって転出した。明治10年に西南戦争が起り、関係ある藩の士族の塾生はほとんど帰国して生徒数は激減した。このために塾は経営上大危機に面し、教師に支払う給料も十分な事は出来なかった。なお、西南戦争は廃刀令公布や俸祿の停止などに対する不平士族が鹿児島を中心に反政府の勢力となって兵を挙げたもので、戊辰戦争以来の大きな内乱となり8ヶ月続いた（詳説 日本史研究、五味文彦等著、2005、山川出版社）。

### c) 医学校増加

英語医学の大阪専門学校医学科（明治12年設立、英人解剖学教師フレーザー招聘）など各地に官公立の医学校や病院がおいおい出来、私立の済生学舎（佐藤尚中門下の長谷川 泰主催、ドイツ医学）も出来たので、無理算段して私立の医学校を維持するにもおよばなくなったと判断された。

### d) 卒業生教員の寡少

医学所が作られた目的は、元来は臨床医家養成にあっ

たため、出身者は主に開業し、せめても、時の医学界に名を成す者があればまだしも、医学所に残り、長く教鞭をとる者は僅かであった。

### e) 医術開業試験

加えて、医学所を卒業しただけでは直ちに診療する事は出来ず、改めて医術開業試験を受けなければならなくなった。また、ドイツ医学主体の試験であり英語医学を学んだ者が通過するには容易なものではなかった。以上の理由で入学する者は益々少なくなった。かくして、明治6年（1873）10月に開校した医学所は明治13年（1880）6月に廃校となった。足掛け8年、満6年6ヶ月の後に廃された。

### f) 廃校の事後処理など

医学所にあった物は全部売り払われ、得た800万円は慶應義塾に寄付された。松山棟庵、隈川宗悦などの関係者は後に志を合わせ、高木兼寛らと成医会講習所を作り後の慈恵会医院の基を作った。すなわち、医学所の学風は後の医学科には受け継がれず、慈恵会医科大学に伝わっている事になる。医学所の校舎は三田英学校が借りる事になった。同校は予備部門志願者のための予備校であり矢野文雄・武雄兄弟の創立による。後に愛宕下を経て神田に移り錦城学校となった<sup>13, 19, 26, 30, 45)</sup>。

## III. 医学部の創設

### 1. 医学所廃校後の状況

科学教育の必要性を重視し、その一環として実現された慶應義塾医学所が上記の諸種の理由で心ならずも廃校になり、福沢は医学所の継続不可能を遺憾とする発言をしている<sup>19)</sup>。ドイツで目覚ましい研究業績をあげて明治25年に帰国し、福沢の支援により伝染病研究所（私立と国立）、土筆ヶ岡養生園において研究・診療に活躍し、その結果、北里研究所を創設していた北里柴三郎は、福沢に何度か医学部の開設を勧めたが財政上の理由から受け入れられなかった。また明治26年3月15日付け松山棟庵宛の福沢の書簡に、「拙宅にて医友の小集相催し度に付ては、同日午後五時半より御命籠相願度、長与、北里諸氏へも案内致し置き候義、以下省略」との内容のものがあり、そのメンバーからすれば、当然義塾における医学教育が話題であったであろうと推察される<sup>4, 62)</sup>。土筆ヶ岡養生園は、もとの福沢の私有地にあり三田の本宅から別荘まで比較的近く、しばしば養生園に寄せられたそうで、おそらく北里とは医学部の件につき話しあわれる機会が多かったであろう（田端重晟日記、北里研究所



北里柴三郎記念室)。北里はその後も塾関係者に医学部設置の提案をしたが受け入れられなかった。医学所は廃止になったが実学を重んじ、医学や工学の教育に寄せる福沢の志は一生変わらなかったが、自然科学系学部の創立を見ることなく明治34年(1901)2月3日に逝去された。

## 2. 理科系学科増設の動き

この動きについては、慶應義塾七五年誌(昭和7年)、慶應義塾百年誌(中巻,前,昭和35年,同別冊大学編,昭和37年)、慶應義塾大学医学部十周年記念誌(昭和6年)、同二十周年記念誌(昭和15年)および同六十年周年記念誌(昭和58年)に記載があるが、特に、医学部二十年記念誌、同六十年記念誌および慶應義塾百年誌に詳しい。ここでは要約して述べる。義塾では明治23年に大学部が出来、理財、法律、文学の各科を置き、31年に政治学科を加えたが、これら無形の学問のみをもって甘んずるものではなく、有形科学の学科も併置して完全な総合大学にしたいとは、多年来の希望であった。明治35年11月15日に開かれた評議員会では、「大学部に機械、土木、化学、医学の各学科中より1~2科を選択して新分科を増設すべし」との新学科増設建議案が可決され調査委員会を設けて調査研究する事になった。委員三名は波多野承五郎、日原昌道、石河幹明である。委員会は、理学、化学、工学、医学の4学科の中から適当なものを選んで新設するとの結論を出した。これを受けて、新学科調査委員会が出来、鎌田栄吉、石河幹明、波多野承五郎の三人で研究の結果、工学科の方向に進む事になり、さらに二名の委員(阿部泰哉、永井好信)を加えて検討した結果、工学部増設には多額の費用を要し義塾の財政では不可能であるとの結論に達し、この増設案は廃案となった(明治37年2月,第6期,第19回評議委員会)。2年後の明治39年(1906)、義塾創立50年を迎えて記念事業が計画され、この時にも工学科増設の説が出たが、必要な資金が集まりそうにないという事で図書館を建設する事になった。しかし、資金を募集してみると15万円程度を予想していたところ、35万円の応募額が出来た。そこで図書館を木造にすれば10万円ですりぬくから、後の25万円で工科を増設したらどうかとの説も出たが、結局その説は実現しなかった。その後、工科増設の話は再三繰り替えされたが、中々進まなかった。ところが、大正3年(1914)、第一次世界大戦勃発し、商工業界は未曾有の好景気となった。大正6年、慶應義塾は創立60周年を迎える事となったが、これより先、大正4年の末頃から再び理科系教育を始めようと

の機運が起こり、評議員会でも新設の論議が頻繁に行われるようになった。そして「有形科学」の学科を設置して総合大学を目指すべし、という声が強くなった。この時は理学科、工学科および医学科のいずれか一学科を増設しようという計画であった。義塾出身者は実業家が多く、中でも銀行や商事会社に偏している趣があり技術者を持たない憾みを感じられていたから理工科新設論が高かった。当時の塾長である鎌田栄吉は塾監局幹事石田新太郎と共に、塾の評議員達から一番希望が多かった工学科に絞って九州帝国大学、京都帝国大学などの工科大学について創設費や諸経費などの調査を開始した。しかし、工学科を設立するにしても誰か中心人物がいなければならない。そこで、東京帝国大学工科大学学長、土木学会会長、理化学研究所長などを歴任した古市公威に中心人物となる事を交渉したが、多忙であり不可能であると断られた。鎌田塾長は京都帝国大学を調査の後、京都帝国大学理工科大学学長で電気工学専門の難波正のもとに石田新太郎を差し向けて帰京した。難波は東京帝国大学とパリ大学を卒業した工学博士であるが、親切に対応し、石田に対して次のように答えた。「古市公威さんがやってくれば人がついていけるだろうが駄目なら仕方がない。誘いを受けたが、自分も無理である。しかし、福沢諭吉とは切っても切れない関係の人に、北里さんというすごい有力者がいるではないですか。北里さんがいったん采配を振るえば天下の名医が立ちどころに集まり、立派な医学科が出来ること間違いなしですよ」。石田は帰って鎌田塾長に報告した。塾長はおおいに賛成して言った。「北里博士がやれば勿論立派に成立するだろう。その話は今が初めてではない。前に北里さんとは二度も三度も話したことがある」。そこで、北里に是非やって欲しいと頼むと「勿論非常に賛成だ。専門学校なら50万円、大学なら120万円かかる。」という返事であった。塾長は工学科から医学科に切り替える事に決めた。理由は、医学科の方が工学科よりも設立資金は高くつくが、付属病院からの収入で維持費を賄う事が出来る事と、工学科では得られない大物の中心人物とその一派の卓越した人々がいる事であった<sup>11)</sup>。かくして、鎌田塾長は具体案を作成し大正5年3月7日の評議員会の臨時会に提出した。審議の内容は、上記の理由による医学科設立の提案、その経費(敷地の購入を含め創設時と年間維持費)、これらの実施につき調査立案する特別委員会の設置であった。ところが、その時の評議員会では、工学科説が圧倒的であり、医学科設立なら金は出さないと明言する評議員もあり、わずかに池田成彬、石河幹明ら2~3名が賛成したのみであった。実業家の大部分は技術家を必要として



おり医者を雇う予定はない事、医者過剰と言われる時に医者を作る必要はなく、医学科の卒業生の捌け口に困るのではないかと、また、創設費が50万円では専門学校程度のもしか出来ず、せめて100万円を越す予算とし名実共に充実した医科のある大学にせよ、などが反対の理由であった。そこで、今回は特別委員5名を指名するのみとし、さらに調査研究を進める事になった。この中には北里も入っていた。その後、5人の特別委員は3回集まり、大正5年4月4日の評議員会で次のような報告を行った。「工学科か医学科か、設立には両者に一長一短があり決まらなかった。最後に、工学科と医学科とを同時に設立しその基金を150万円位として募金したらどうかという案も出た。これに対して、両方出来ればよいけれども、万一出来ない場合には医学科より始め、工学科は他日に譲るという案も出た。そこで、5人の委員会の中で多数決で決めるよりも評議員会に報告して熟議してもらおう事にした」。これを受けて、この評議員会で意見交換の後、まず医学科設立を標榜し、募金額90万円を目標とする。ただし、付帯条件として、医学科に化学科を付設する。ならびに、理工科の人物も育成するという事になった。100万円も無理であろうと思いつつ募金を始めたが、第一次世界大戦の影響もあり好景気のもとで、各方面への働きかけ、多くの企業や社中の協力により、皇室からの下賜貸金3万円をも含め結果として300万円<sup>25)</sup>~450万円<sup>52)</sup>が集まった。ただし、この間に建築費も約3倍に上昇していた。話は前後するが、鎌田塾長は、大正5年3月7日の評議員会に医学科の設立を提案した折りに、「医学科なら金を出さない」と言った評議員などに対し、「お前たちは慶應義塾の先輩だと言って世に立っているが、天下に公表した医学科設置に、先輩が金を出さないから成り立たないと言っていいか」と言って説得した。医学科なら金を出さぬという実例を挙げると、福沢を常に支持し、彼が北里に研究開始可能とさせた伝染病研究所を作成・助成した時にも援助した森村市左衛門の10万円の寄付は他日理工科設置のためとの指定寄付であり、鈴木梅四郎の隈川八郎洋行費寄付は、同人を後に理工科教授に採用する事を条件としたものであった<sup>25, 52)</sup>。また「医師過剰とさえ言われる時に、いかに中心人物たる北里を迎え得るといっても卒業生の捌け口に困るのではないかと」の説に対しては「成るほど東京の銀座あたりを見れば医師が多いかも知れぬが、一步地方を見れば、按摩だの生薬屋が漸く必要を満たしているくらいのものである。また、東洋の他の国でも医師は非常に少ない。医師の売れ口には決して困らない」と対応している。このような経過を経て、福沢が重視した自

然科学系教育関係で医学所に次ぐ学科として、医学科が大正6年4月から発足した。ここに導いたものは、北里の科学業績と福沢の広範囲にわたる庇護、鎌田塾長の英断とその英断の動機付となった塾外からの提示、すなわち京都帝国大学理工科大学の難波正学長の価値ある提言、そして社中ならびに財界各方面からの好意ある献金であったと言えよう。

### 3. 北里柴三郎と医学科

北里は福沢の存命中から屢々医学科の設立を進言していたが財政困難の理由で実現されなかったし、また、その後も鎌田塾長に働きかけていたが取り上げられなかった。その時点で北里は医学教育について多年の経験を持っていた。明治27年愛宕山下に伝染病研究所が新築された時に早速研究志願者の入所を許可した。研究期間は3ヶ月で、初めは毎期5~6名に過ぎなかったが、明治33年3月、研究所が内務省に移管されるまでに450人もの研究者を養成した。さらに、官立伝染病研究所となつてから講習は年3回、一期3ヶ月で細菌培養法、動物試験、臨床的診断などを習得させた。大正3年、同研究所が文部省に移管され北里が所長を辞任するまでに講習生は2,400人以上にのぼった<sup>17)</sup>。したがって、経営について独自の見識を持ち、福沢より受けた多年の恩顧に報いるのはこの時であると決然立って設立準備に当たった。以下は大正6年1月10日の「福沢先生記念会」での挨拶の内容である。「先生の厚い知遇を得た自分が同校を担任する事は大いに光栄である。飽くまでも微力を尽くす所存である。新大学では現下医育の弊風を一新して、基礎医学と臨床医学との連繫を密にし、学内は融合して一家族の如く全員挙って斯学の研鑽に努力するを以つて特色としたい。化学科は将来純然たる化学研究所の基礎として独立の経済を営む財源たる様計画を樹てた」(三田評論、235号、大正6年2月刊)<sup>26-28)</sup>。鎌田塾長は、三田評論(229号、大正5年8月刊)の中で、次のように記している。「北里は、もし学校の経済不如意の場合には北里一派の各自が自労自活して大学に貢献するを辞せぬ覚悟であるという事で、その熱意は実に敬服に堪えない」。そして北里自身は福沢の恩義に報いるための医学科創設と医学部長就任であるので、給料その他の報酬を受ける事は一切拒否した<sup>5, 17, 52)</sup>。

### 4. 医学科・化学科設置の決定

かくして大正5年6月20日、医科大学設置協議案を決定し、7月26日には常置委員として理事、顧問の他に北里柴三郎を含む10名の常置委員を指名し、8月に



は医学科化学科設立趣意書を発表して広く資金を募ることになった<sup>24, 25, 27</sup>。趣意書には次のように記されている。「(前略) 義塾は無形の学問のみを以って甘んずるものにあらず、更に進んで有形科学の発達を謀るは義塾本来の希望なり。福沢先生が終始一貫開業の必要を唱えて已まざりし所以も亦此に在り。即ち醫、理、工等諸學科増設の第一着手として先ず茲に醫學、化學の二科を創設し、以って我が學問界に貢献する所あらんとす(中略)。化學の一科に至りては醫學の研究と密接の關係を有するを以って同時に其設立を図りて假に之を醫科に附属せしめ、藥學其他の研究に便にし、他日理工科を開設するの開基たらしめんとす」。かくして、大正6年(1917)年1月に予科1年生を募集し、4月16日開講するに至った<sup>25</sup>。化学科の構想はやがて昭和12年(1937)に医学部所属の特殊薬化学研究所として実現する。初代所長は薬理学の阿部勝馬教授で、研究所につき次のように述べている。「(前略) 本研究所においては和漢薬、民間薬或は特殊の薬効を現す新薬等に就いて、化学的並びに薬理学的研究を併行して薬理学的に効果ありと認められたものは、実験治療に応用して、医薬の進歩改善に貢献したい」(三田評論、第481号、昭和12年9月刊)。その後、昭和19年11月に本塾直属の薬化学研究所に発展し、所長に西野忠次郎教授、副所長に阿部勝馬教授、主任教授に京都大学医学部薬学科から上田武雄教授が赴任した。上田教授は叙勲記念会の席上の挨拶で、小泉塾長との間に、薬化学研究所を発展させ、これを礎石として慶應義塾にも薬学部を創立させようという将来構想があったと述べている<sup>30</sup>。同研究所はその後も一度医学部所属となって機能していたが、平成8年廃止となり先端医科学研究所への吸収合併となった。

## 5. 敷地

鎌田塾長談<sup>25</sup>によると次のような状況であった。北里は凡そ12,000坪の地面が必要であると言った。その面積を持つ場所を鎌田塾長、北島多一(後の内科学教授)などが東京中を探し廻った。目黒駅寄りの福沢捨次郎邸、渋谷の福沢桃介邸、青山墓地脇の第一師団射的場、その他を見て廻ったが、広さおよび患者の交通の便の観点からどれも一長一短があった。今の場所を得るに至ったのは日匹信亮という人の努力であった。日匹は主計監をしていて楠瀬陸軍大臣の手伝いをしていていたが、楠瀬が大臣を罷めると同時に罷めて紀州徳川家の財務部長になっていた。日匹に陸軍に良い地所が無いかわかると、信濃町にある輜重大隊の隣に軍馬練習所がある事がわかった。その頃、陸軍は二個師団を拵えるために諸方の土地

を売って金を拵える事になっているとの話であった。そこで、直ちに見に行くと、非常に埃がひどい。とても病院には向かないと思われた。さらに他の場所を捜していると「そこは、やがて明治神宮外苑となってすっかり木を植え立派な公園になる」と言う。それでは、早速買う事にして、日匹氏を介して話を進めた。この間、60万円というが30万円にまけてくれという話を出し、鎌田塾長が長岡陸軍大臣、勝田主計大臣などへの説得・説明を経て、市木次官との交渉で、所有権の移動が後でよければ30万円で購入出来るという事になった<sup>25</sup>。ところが、この間、北島多一教授は知己の佐藤四谷区長から四谷区がその払い下げを受け、商店の並ぶ繁華街の作成を計画中である事を聞いた。そして、四谷区の区民が聞きつけて、大変な反対運動を起こした。当時区会議員であった鳩山一郎(後の総理大臣)も反対した<sup>62</sup>。その後東京府、内閣、陸軍省、大蔵省も骨を折ってくれて政治工作を施すと共に、区当局と区会とに折衝し、また、四谷区にこの土地を買う資金が無かった事もあって、円満解決を講ずる事が出来た。これには鎌田塾長の政治力が物を言った。結局、22,000余坪の土地を得た。用地買収に90余万円を要した<sup>64</sup>。この時四谷区が示した妥協条件は凡そ三箇条であった。その一は小学校の敷地として1,500坪を40万円で譲渡し、その内6万円を四谷区教育資金に寄付する。その二は小学校児童の通学の便に供するために医学部構内に東西に貫通する道路を設ける事(現在の東校舎の前の道路)、その三は看護婦養成所の存在する土地(現在の看護婦寮のある土地)約1,000坪を有租地として四谷区の税込増加に資する事である。なお、小学校の敷地に供する場所は現在の予防医学校舎の存在する場所を指定してきたがロックフェラー財団の寄付による予防医学校舎建設予定地であったので断り小学校は現在の位置に変えたものである。大正7年に赴任した加藤元一教授(生理学)の記載によると、現在の第二校舎以北には大きな池があった。この辺りは某名家の庭園であり池に臨んで見事な老松が枝を差し延ばしていた。ある時一人の子供が池に落ちて溺れそうになった時にこの枝に取りすがって助かった。以後「人助けの松」と呼ばれていた。加藤教授の発案でこの松を病院正門の左の土手上に植え替えた。枝は門の幅の半分の位置にまで達していた。人命を預かる病院の正門脇にあり、所を得たものといわれていた。この松は昭和35~42年頃弱りやがて枯れた。前記の池は病院建設時の残土で埋められた。加藤教授の神経伝導研究の材料の墓はこの池から採られた。同教授は新宿4-4の長善寺に墓塚を建立された(医学部新聞第457号、平成元年7月発行、同第



492号、平成4年6月発行、同第493号、平成4年7月発行)。

## 6. 本科開校と開院

この信濃町で校舎の一部が建ち、本科の授業が始まったのは大正8年(1919)の秋からであった。これに先立ち、その前年の大正7年4月には付属看護婦養成所も開設された。所長は北島多一で、校舎と宿舎は北里が経営する土筆ヶ岡養生園に建てられた。大正9年秋には木造二階建ての病院に外来・入院の諸科を揃え、病室数196、ベッド数300~400、建坪7,500坪の付属病院が完成した<sup>64)</sup>。大正8年の大学令により医学科は医学部と呼称変更となった。大正9年11月6日医学部の校舎と病院の完成の期に医学部開校と病院開院式が行われ、総理大臣原敬をはじめ多数が参列した。医学の元老石黒忠恵子爵は祝辞の中で次のように述べている。『明治初年頃に於ける福沢先生の勢力は偉大であった。「文部は竹橋にあるが文部郷は三田にあり」と称えられた事からも判るであろう。往年北里博士が外遊より帰り、伝染病研究所設立に際し逆境に立つや、予も其の相談に与り、予の同僚にして先生の友人なる長与専斎翁より先生に話し、先生と故森村翁との後援によって伝染病研究所の基礎を開くを得たのである。かかる縁故により北里博士を中心とした先生の宿志である医科大学が、斯も最大に開校式を挙行せらるる本日、予が眼前には故福沢先生の温顔を彷彿する』<sup>30, 37)</sup>。ここに至る経過で、諸種の障害を乗り越えて事が進んだ理由としては、福沢の恩に感じた北里の報恩の強い意志と、終生の仕事として当時の医学界で錚々たる医師を網羅した事、鎌田塾長が政界に隠然たる勢力を有して難問を易々解決した事、北里に配するに北島多一、鎌田に配するに石田新太郎がいて、合作の妙を得た事に帰しうるのである<sup>25)</sup>。北里(当時38才)はベルリンに滞在中、当時24才でストラズブルグ大学に留学中の生化学者荒木寅三郎(後の京都帝国大学総長)が訪ねて来た。その時、外国でも熱と誠があれば何でも出来る旨話をしたが荒木はこれに感激し、留学先で教授の信用は厚く成果を挙げて帰朝した。以後、北里を助け、研究所や創設期の慶應義塾大学医学部に有能な人材を送るなど深交が続いたと言われる<sup>39)</sup>。医学部開設時、荒木総長推薦の教授方は岡嶋敬治(解剖学)、加藤元一(生理学)、川上 漸(病理学)、阿部勝馬(薬理学)であった<sup>37)</sup>。

## 7. 福沢・北里の恩人達

医学科の誕生は福沢の本邦社会啓蒙思想に基礎を置い

た自然科学重視の考え、および北里の卓越した科学業績と医学科創設の熱意によるものである。さらにそれらの成因の背景を見ると、この二人の先人がそれぞれ恩を受けた人々の影響が極めて大きい事が察せられる。

### a) 福沢論吉関係

適塾の緒方洪庵および咸臨丸での航海時の提督であった木村撰津守喜毅の影響が大きい。

緒方洪庵の塾で医学書、理工学書を読み、また、後の明治維新前後に活躍した多くの医師と接触する機会が与えられ、自然科学の法則性その他医学、物理学などについての基礎的知識を学び得た。適塾での勉学の状況および緒方の指導などについては既に記載した。福沢は安政5年(1859)に江戸に出府し、洪庵は文久2年(1862)に徳川家の奥医師となり江戸に来たが、文久3年6月に没したので緒方の生前に具体的な形で恩に報いる機会はなかったが、毎年挨拶に上っていた。洪庵の死後は、八重子未亡人に事ある毎に礼を尽くし、明治19年に未亡人が亡くなるまでこの状態を続けた。ある時、訪れると未亡人は病に伏せていた。背中をさするなど看病をして後帰る際に布団の下に百円(今の百万円)を入れて、回りの人に看護を宜しく頼んで帰った。未亡人は後に「福沢さんは若い時から儉約家であったので、その心持ちを察して有難く頂くことに致しました」と述懐している。福沢家は元来余り裕福な家ではなかった。加えて福沢は、兄の没後、40両の治療費を払うために家財を売り、わずかに残った金を母のために置いて適塾に帰った。洪庵は事情を察して、奥平十学の蘭本を借りて福沢が写してきたペルの築城方法書を翻訳するという名目で食客にしてくれた。この事情を未亡人は当然知っていたのであろう。その福沢が置いていった百円を謝意表明と理解し、快く受け取ったという意味であったのであろう。未亡人の没後も在阪の折りには必ず緒方夫妻の墓参をしている。その時随行者が墓石を洗うなどの清掃に手を貸そうとすると、それを制し「この仕事は私がやることです」といって手をつけさせなかった<sup>7, 50)</sup>。

木村撰津守は安政6年(1859)幕府が日米通商条約の批准書交換のため、新見豊前守正興を正使とする一行をアメリカに派遣する事を決めた時に、軍艦奉行、派遣の監督、咸臨丸の提督であり、艦長は勝海舟であった。木村は桂川家第7代甫周国興の妻久邇の弟であり、両家は姻戚関係にあり、銭新座に住んでいた。桂川家は徳川家の奥医師の家系で、日本国中の蘭学医の総本山とも言われ、福沢は江戸に出ると直に桂川家を訪れ以後出入りした。桂川家には知的環境と人脈があり、



洋学者達が頻りに訪れ、海外事情を聞いたり、西洋の本を借りたりしていた。そこで咸臨丸の米国行きを知り、どうにかして木村のお供をしてアメリカに行きたいと思い、桂川の紹介状を持って木村を訪れ願意を述べた処、即刻許してくれ従者として渡航する事が決まった<sup>3, 48, 56)</sup>。これが最初の渡米の経緯であるが、この事はその後のヨーロッパ諸国視察および再度の渡米の契機となった。すなわち、それまでは日本国内で西洋文化の一部を垣間見る機会しかなかったが、この過程で西洋の文化、社会、医療、政治などの状況を見、かつ体験し、日本社会を啓蒙する意志が決定付けられたと考えられる。幕府の要職にあった木村は明治政府より出仕を勧められたが応じず、明治4年以後30年間著述と草木相手に悠々自適の生活を送った。福沢は以後木村に対して厚い礼節を尽くした。彼は従来他人の著書の序文を書く事を断ってこられたが、木村が後年書いた「三十年史」には喜んで寄稿し「今度の航海は論吉が机上の学問を實にしたものにして、畢生の利益これより大なるものなし。而して其利益は即ち軍艦奉行知遇の賜にして、終に忘る可からざるものなり。明治24年10月16日、木村旧軍艦奉行従僕福沢論吉誌」と書いている。益暮れは必ず挨拶され、明治26年7月木村が腸チフスに罹り赤十字病院に入院した時は親身になって看病に当たり、その費用を全額負担した。また、芝神明の大火の際には慶應の学生を連れて木村邸の火災を消した<sup>3, 48, 56)</sup>。

#### b) 北里柴三郎関係

北里が恩義を感じている人々は、マンズフェルト、長与専齋、コッホ、福沢論吉であり、また、色々な意味で支持してくれた知友は、長谷川 泰、森村市左衛門であろう<sup>4, 18, 37)</sup>。

セー・ゲー・ファン・マンズフェルトは慶應2年(1866)に来日し、長崎の精得館で医学伝習に参加した。ユトレヒト陸軍軍医学校で教育経験があった。明治元年の大政奉還により精得館は長崎医学校となり、幕府の関係者は退き、長与専齋が頭取(校長)となった。マンズフェルトは長与と共に医学教育に携わり明治4年からは3年間熊本県医学校で教育と診療に従事した<sup>51)</sup>。臨床医としても篤厚誠実で一人で基礎医学と臨床医学を教えた。彼の教育理想は「教師は学校にて直ちに学生を医者に仕立てるものではない。学生をして真の研究上行くべき道を示し且つ、学生自ら研究すべき方法を教えるものである」。北里を特に矚目し自宅に招いて熱心に教えた。親切な指導に応え、めきめき頭角を現した北里は二年後には教授の講義を口訳し

て学生に授ける助教となった。ある日、顕微鏡下に肉眼では見えない細胞・組織・細菌を観察し未知の世界に誘い込む医学の魅力の虜となった<sup>37, 55)</sup>。これを聞いたマンズフェルトは大変喜び「もうここで教える事は無い。自分もオランダに帰らなければならない。これから東京に出て東京医学校に行きなさい。そこで学んだら必ずヨーロッパに留学しなさい」と言い残して別れた。北里の将来の指針を与えた恩人となった<sup>8, 47)</sup>。マンズフェルトは京都、大阪の医学校で教鞭をとった後帰国したが帰国してから約20年後、北里は留学中のコッホ研究所から英国の学会に出席する途中オランダのハーグに旧師マンズフェルトを訪ね、旧恩に感謝した。

長与専齋は大村藩医の家に生まれ、福沢より一年前に適塾に入門した。安政5年(1858)に彼が江戸に出た後、次の塾長になる。万延元年(1860)長崎でボンベに学び、大村藩の侍医を経て、慶應2年(1866)再び長崎でボードウィンに学ぶ。明治元年長崎精得館(後の長崎医学校)の頭取。北里が東京医学校に入った時は同校の校長であった。北里の卒業時には初め130人程いた同級生は26名に減っていて、26人中8番の成績であった。非常に厳しい採点で全科目の平均で「甲」を取れた者は26人中2人のみで、あとは「乙」であった。長与が校長時代の最も才気に溢れ、かつ、気魄に富む教え子であった。卒業して内務省衛生局に入った時、長与は衛生局長であり、北里のドイツ留学および留学延長に陰に陽に尽力した<sup>8, 25, 37)</sup>。明治25年に北里帰国後、長与は福沢に頼み彼の借地に家屋を建てさせ、森村市左衛門の援助も加えてで私立伝染病研究所を立ち上げさせ、北里に研究を開始させた。当時、大日本私立衛生会副会頭であった長与らの努力で研究所は同衛生会の運営となり、明治27年2月、愛宕下に移り大日本私立衛生会伝染病研究所となり、その後国営となって北里が所長として活躍する道を開いた<sup>4, 17)</sup>。北里は「日本の衛生行政の父」と言われた長与を師として喜び、終生この人のために尽くそうとした。専齋が還暦の機に「長与衛生文庫」を計画した時には率先してこの事業の実現に努めた。専齋の長男称吉は東京大学医学科の一年後輩であり、同時期にドイツに留学し交流が深かった。胃腸病院長で日本消化器病学会会長であった称吉が腹膜炎の重症に陥った時、北里は後藤新平らと協力して当局に働きかけ、長与家に爵位を与える事に成功した。すなわち明治43年7月20日、父専齋の勲功を理由に称吉に男爵が授けられた。それから40数日後称吉は亡くなっ



た<sup>17, 52)</sup>。次に北里と長与専齋との関係の中で専齋の次男の又郎との話題に移るが研究所に関連する話なので、事前に当時の伝染病研究所を取り巻く状況について触れておく。前述のように北里は大日本私立衛生会伝染病研究所で研究かつ免疫血清作製および血清療法を行っていた。一方政府は明治29年に血清薬院を開き北里を院長とした。北里は私立研究所と両方の長となったので、研究所の血清製造の設備を同院に献納し、高弟の高木友枝を院長とし自分は顧問を引き受けた。同年、大日本私立衛生会が経営していた牛痘種継所が国立となり痘苗製造所と改名した。明治31年、国は私立伝染病研究所への補助金を打ち切り、32年から国立伝染病研究所を興し、管轄は内務省であった。所長を北里に依頼した。北里は引続き所長を引き受けるべきか否か福沢に相談したところ、政府が一切北里の意のままに運営させるなら受けてもよいだろう。しかし、政府というものは風の向き次第で何時どのように変わるか知れないものだから、足許が明るいうちに後日の用意だけは怠らないように注意した。北里は所長を引き受けた。そして国立の伝染病研究所、血清薬院と痘苗製造所と同じような伝染病対策機関が三つあることになり不経済だから合併するべきだと建議しそれが採用され、明治38年、白金台に広大な土地を得て合同庁舎が完成した。これが、白金の伝染病研究所（現在の東京大学医科学研究所）である。ところが大正3年、大隈重信内閣の時、文政統一および行政整理を理由に突然、所長の北里に相談一つ無しに所管を内務省から文部省に移し、追って帝国大学に属さしめ、医学部の傘下に置く計画を企てた。話は極秘裡に運ばれ、内務官でも知っている者は一人の書記官のみであった。従来、伝染病研究所は室内の研究に留まる事なく、予防や防疫の実践活動を伴うべきであるという北里の多角的予防活動の信念とは異なる体制であり北里は断固承諾せず、所属は変化した<sup>58)</sup>が22年間勤めた研究所の所長を辞した。福沢が注意した通りの事態となった。退所に際し培養、動物飼育、ワクチン・血清製造法、諸般の業務など遅滞なく事務引き継ぎを行った。のみならず、後任の不便を察し、開講中の講習もその終了まで講義を引き受けて支障ないように計らった。世間は飛ぶ鳥跡を濁さぬこの引き継ぎの模様を「赤穂の開城」に擬した。研究所の構成員である技師7人（北島多一、志賀 潔、秦佐八郎、宮島幹之助など）、技手10人（高野六郎 他9人）、囑託13人（小林六造など）、用務員など全員が北里に殉じて辞職した<sup>17, 30, 37)</sup>。伝染病研究所辞職後、北里は直ちに北里研究所の建設

に取りかかった。長与専齋の次男又郎にとって北里は結婚の仲人であった。彼は東京大学医学科の教授であり大正8年4月に上述の伝染病研究所の第4代所長に就任する事になった。又郎は伝染病研究所を運営するに当たり北里と話し合う必要があると痛感していた。伝移移管で北里がひとり淋しく伝研の建物から出て行く姿が目に見えていただけに気になった。北里には帝大派に積年の怨みがある筈である。それには、いくつかの理由があるが一例を挙げると、1888年、コッホ研究室で研究中、ドイツの医学誌にオランダのペーケルハーリングの脚気病原菌の発見と、北里の師の緒方正規の脚気菌に関する報告が抄録された時、同研究所でも話題となり、コッホの高弟レフレルは脚気病原菌に関する発表の正否を北里に問うた。北里はペーケルハーリングの研究の不備を指摘し、明治21年レフレルの勧めによりその見解を雑誌に発表した。さらに同じくレフレルより師である緒方の脚気菌に関する研究成績についても、純粋に科学的見地から意見を書くべきだと勧められ、その成績からは脚気の病原菌とは認めえない事を具体的に指摘した論考を発表した。これを見た森林太郎（鷗外）は「北里は識を重んぜんとする余り情を忘れてたり」と評し、帝大の加藤弘之総理も「師弟の道を解せざるもの」と快く思わない事を表明した。こればかりではないが、このような事が北里と大学との間の円滑を欠くようになる原因となったと言われる<sup>42)</sup>。又郎はこのような怨みをいつまでも引きずって争っているのはお互いのためにならない。いつか解消しなければならぬが、それには伝研の所長に就いた自分が北里の胸に飛び込むのが最良であると考えた。又郎は北里に挨拶に行き所長就任の報告と、6月26日に予定されている所長就任の招待会へ北里をはじめ北里研究所の所員（旧伝染病研究所所員）の列席を懇請した。北里は「いいとも、喜んで行かせてもらおう」と返事した。当日、帝国ホテルでの会には各界61人の列席者があり、北里は指名されて挨拶に立った。皆は北里が何を言うか注目した。北里は移管事件には全く触れず、長与専齋以来の自分と長与家との関係を語り、今日の招待に謝辞を述べ、伝研の更なる発展を祈念する旨話し着席した。翌日の新聞は「長与はオツなことをやる。北里も大きい」と論調した<sup>63)</sup>。

福沢諭吉には、留学から帰国後、長与専齋からの紹介で研究の場として私立伝染病研究所の建設以後、土筆ヶ丘養生園の建設、養生園の優れた経営と北里研究所創設の蓄財、同研究の円滑な運営と日記として年間の資料の作成をおこなった有能な事務長田端成晟の派



遣<sup>4)</sup>、伝染病研究所の文部省移管問題に対応する指導と実務上の援助など多方面に亙り世話になった。対する報恩の形が慶應義塾大学医学科(後の医学部)の創設と十数年にわたる無報酬の医学部長としての活躍であろう。福沢の忠告・指導の一部については既に言及したが、彼の実務上の援助は次のような経過の後に発足し、以後数回におよんだ。すなわち、北里はコッホ研究室で、破傷風菌の培養と同菌に対する抗体作成に成功、同様の手技でペーリングの扱っていたジフテリア菌についても成功に導き、コッホのツベルクリン作成にも関与して、科学者として大きな成果を収めた。長与専齋が配慮してくれた6年間の留学期間を終え、帰国準備中の明治24年(1891)10月に内務省より「帰国の途中、英、仏、米を巡視し、衛生事情を調べて欲しい」との訓令を受けた。視察したいずれの国でも北里の業績を知っていた。パリのパスツール研究所ではルイ・パスツールより研究の成果を称賛され、アメリカのペンシルヴァニア大学では雇用を勧誘されたが断り、ベルリンではプロイセン王国より外国人としては初のプロフェッソール(大博士)の称号を受けた<sup>52)</sup>。北里がドイツでの赫々たる学勲を持って明治25年5月に帰国した時、日本の学会は極めて冷淡であった。北里は日本のように伝染病が流行している国には早く伝染病研究所の設立が必要であると各方面に訴えた。大日本私立衛生会および中央衛生会(官立)は研究所の設置を計画し、文部省も東京帝国大学医科大学に伝染病研究所を設置する計画を立てていたが、いずれの計画にせよ予算が国会の承認を得るまでには最低2年を要する状況であった<sup>52)</sup>。その頃、長与専齋は内務省衛生局長を辞し大日本衛生会の副会頭であったが、ある日福沢を訪問した時、話のついでに北里の研究業績を語り、これだけの学勲を立てた者が帰国後半年も過ぎようとしているのに、研究所どころか研究室もないとは日本の恥であると嘆いた。それに対し福沢は「北里の研究がそのように重要なものであるなら、学問の研究の助成は自分の素願であるからおよばずながら自分の私財を抛って研究を助けようと思うが一度北里という男に会ってみたい」といった。一方、北里は日本で空しく日月を費やしているのを堪え難く思い、かつてイギリスのケンブリッジ大学の細菌学研究所の所長に招聘されたこともあり、また、帰国前にアメリカのペンシルヴァニア大学、ブルックリンおよびボルチモアの病院から好条件で招聘された事もあったので、イギリスまたはアメリカに行こうかと思うが、と長与に持ちかけた。長与は「まあそういうな、とにかく、

福沢諭吉が会いたいといっているから会ってみろ」と勧めた。北里が福沢を訪ねたのは明治25年9月末か10月初めと思われる。その時彼は「つまらん俗論にこだわってはいけぬ。この際、資金を集めてから仕事にかかるよりは、まず仕事を始め、それから方策を立てたらよい。私から行動を起こそう。幸い芝公園内に借りてた土地があるから、そこに必要なだけの家屋を構えてスタートしようじゃないか。また、毎月必要な研究費も自分が負担するから、どれだけの研究費が掛かるか計算してもらいたい」と促した。次いで友人森村市左衛門が設備・機器購入資金1,000円を寄付した。最初の援助は北里の学識と経験を生かせる伝染病研究所の設営であった。場所は御成門の傍で、芝公園5号3番地(現港区芝公園1丁目1番地)であり、現在松下電器産業東京支社が入るナショナル1号館のあたり<sup>52)</sup>あるいは中国料理店「留園」の辺りとの記載がある。かねてから福沢がおいおい成長する子女たちの新居を構えるために用意しておいた借地であった<sup>59)</sup>。元来、福沢は学者の研究を奨励助成したいという強い念願を持っていた。彼は適塾においてひたむきに学問修業に専念した。彼の周囲の塾生も同様であった。彼らは世俗の立身出世を顧みず、ただ学問研究に没頭した。そこに苦しみもあれば、したがっておのずから楽しみをも得ていた様子は「福翁自伝」の語るころであるが、福沢は自分の体験から科学探究者の気持や、その幸福感というものを知っていた。しかしその後の彼の境遇はあこがれた物理学の研究のような研究活動のみに専心することを許さなかった。そこで、自分が果たす事が出来なかったその念願を、他人の研究を助けるという事によって果たそうとしたものであろう。その念願の幾分かを果たしたのが北里に対する援助であった<sup>27)</sup>。学者をして発明・発見の功を遂げしめるには、機械材料などその研究実験に必要な諸般の設備を整えなければならぬのは勿論、その学者の一身にも生活上の不安なく、一切の俗事を顧慮せずして、一意専念終身その研究に没頭し得るの保証を与えねばならぬ。学生への講演で福沢は次のように話している。「老生が真実の目的を申せば、一種の研究所を設けて、5、6人~10人の学者を選び、之に生涯安心の生計を授けて学事の外に顧慮するところなからしめ、且つその学問上に研究する事柄もその方法も本人の思うがままに一任して傍より喩を容れず、その成績の果して能く人を利するか利せざるかを問はざるのみか、寧ろ今の世に云う実利益に遠きものを選んで其の理を究め、之を究めて之に達せざるも可なり、之が為に金を費



やして全く無益に属するも可なり。その人の一生涯に成らざれば中途にして第二世に遺すも可なり（以下略）。俗に言えば、学者を飼ひ放し、または飼ひ殺しにすることである<sup>6)</sup>。学生に話したのは明治26年(1893)11月14日で、10人の研究者をして思う存分研究させる費用として当時の物価で50,000円を考へておられた。すなわち、生活費として一人一年1,200円、10人で12,000円、生命保険料として一人一年2~300円、10人で2~3,000円、研究費として年間35,000円、以上合計50,000円である<sup>7)</sup>。芝公園の土地の建物は明治25年10月に工事を開始、一ヶ月後に落成した。建坪10坪余、二階建てで上下6室であり小型だが日本初の伝染病研究所となった。そうなるに北里周辺の他のメンバーも黙っていらなくなり、完成後間もなく大日本私立衛生会は副会長の長与専齋を通じて「新築家屋と土地をそのまま我々の会が貰い受けて経営したい」と申し入れた。福沢は「誰が経営しようとする自分の頓着するところではない」といい、土地、家屋共々一切無償で提供した。衛生会は研究所の運営を全て北里に委託し、その費用として年間3,600円の支出を決定し(明治25年11月19日)、かくして大日本私立衛生会伝染病研究所として明治25年11月30日に開所した。内務省は北里を「技士」(年俸1,200円)に任命し、自由に研究する事を許した。開所後、研究室は手狭であり、また、北里がツベルクリン研究に関与していた事を知って患者が多く来たり病室も不足であったので、明治26年1月、大日本私立衛生会は研究所の移転、新築を決めた。芝区愛宕町二丁目所在の内務省管轄地の貸下げが同2月に許可された。一方、政府は東京帝大医科大学付属伝染病研究所設立案を排し、長谷川 泰(国会議員)の努力により大日本私立衛生会伝染病研究所に対する国庫補助が決まった。ところが、工事着手の直前、明治26年4月、「伝染病」という名に敏感に反応した周辺区民が猛烈な反対運動を起こした。政治家、貴族院議員、前帝国大学総長などの著名人が反対運動に参加した。これに対し、長谷川 泰は5月の大日本私立衛生会臨時総会において政治家末松謙澄(伊藤博文の娘婿)の研究所排撃演説に対し4時間にわたる大演説を行った。さらに再び福沢が登場する。まず自らが主催する時事新報に3回、反対運動を非難する論説を書いた。さらに研究所の隣に息子捨二郎の家を新築し、安全性をアピールした。この間、北里は対策や交渉のため、本来の研究が全く出来ず、これでは研究所を引き受けた約束を守れないという理由で、委託を断ろう

としたが、星享衆議院議長、福沢などが押し止めた。ここで、福沢の三度目の登場となる。8月11日、福沢は再び「時事新報」の論説で北里が研究所長の辞意を表明した事を記し、北里が長与専齋副会長に提出した辞任書の内容を紹介した。曰く「細菌学者の如きは純然たる脱俗の境遇にて初めて出来るものなるに、この様な紛争に巻き込まれてしまい、いたずらに歳月を空しく過ごし、研究の実を挙げることが出来ない。これでは、本会の委託に背く事になるので辞任する」。実は、この辞任書は、福沢の筆になるものであった<sup>8)</sup>。論説には、同時に、政府は補助金は国会で決議したのに、この問題の解決に尽力したか否か、と政府の責任まで追求した。9月中旬に、政府の意向を受けた東京府知事は伝染病研究室と病院の建設を出願通り許可した。研究所は500坪余の敷地に、研究室、病院、事務室、培養室など8棟から成り、明治27年2月8日に移り、病室は17日から患者を収容した。福沢の第四番目の援助は「広尾土筆ヶ岡養生所」の建設である。研究所建設の経過を見ていた福沢は「今後は篤志家や政府の補助を頼りにする事は得策ではない。他力本願は駄目だから病院を建てて資金を蓄積し自力主義で進まなければならない」と主張しその方向に指導・実行していく事になる。研究所発足の直後から北里の名声を恭んで肺結核の治療を受けようと診察を乞う者が増えたが、研究所は本来診療所ではない。福沢は予め長与や森村と語り、既に明治26年4月に森村と費用を半分ずつ出し合い、10,000円かけて60人ばかり患者を収容できる建築物を作り広尾土筆ヶ岡養生所と名付けた。日本初のサナトリウムである。土地は白金の福沢の別荘の脇の土地で、2,000坪余の土地を借りた。同時に、経営感覚の優れた田端重晟を北海炭鉱鉄道より引っ張って事務長に送り込んだ。芝白金三光町(現港区白金5丁目9番1号)で現在、北里研究所病院が建っている場所である。明治26年9月16日に開園し26日には早くも60床の病室は悉く塞がった。その後、数回の増築を重ねた。ここでは、地代は高くはせぬがとにかくとる、10,000円に関しては安くはあるが利息をとることにした。ところが、翌年の暮れまでにほとんど10,000円を返還してしまった。次に、その土地の隣地に三井の土地があった。借りるよりは買ってしまえということで福沢はその土地を買入れた。養生園の地坪は4,000坪となった。園は長与を顧問格、北里を医長とし事務会計を田端とした。北里はここでも研究室を設け、ツベルクリンの臨床実験、ジフテリアや破傷風の免疫血清の作成と患者への血清



療法を行っていた。伝染病研究所は明治32年に大日本私立衛生会から国営に移され内務省管轄で北里が所長であった。福沢はその時次のように注意した。「今日は政府が北里を信頼して仕事をさせるといっていても、また何時気が変わる事があるかも知れないから決して油断せず足許の明るいうちに金を蓄えておくがよい。学者は一心に研究し、養生園の方は田端に任せておいて金を蓄えるのだ」。前述の通り、大正3年に、伝染病研究所は所長の北里に相談も無く闇討ち的に文部省に移管され、やがては東京帝大医学部の付属研究所となる事になった。北里は辞任し、北里研究所を設立したが、嘗て福沢が「政府の気は何時変わるかも知れぬ」と注意したが、その時が来たものである。そして、これも福沢の勧めにしたがって田端が蓄えた資金300,000円余を元に北里研究所が建ったのである。福沢は養生園の隣の別荘から週2～3回は病院を訪れ医員を激励慰問した<sup>25, 52, 59)</sup>。その別荘は、近時、高速道路作成の折に撤去された(北里柴三郎記念室、北里研究所中瀬安清名誉部長談)。移管の翌年の大正4年1月10日「福沢先生記念日」に、北里は塾長鎌田の依頼で「学問の神聖と独立」と題して講演を行った。その中で「伝染病研究所の移管問題が起った時、(中略)、私は断然辞めました。というのは、そこが私の福沢先生から精神的感化を受けた所で、人間の独立自尊は茲にあると考えたからであります」と語っている<sup>30)</sup>(三田評論 第211号、大正4年2月刊)。

ローベルト・コッホについては既に良く知られているが、細菌の染色法、培養法を自ら開発し、病原細菌学の分野を開拓し、従来の衛生学、防疫学を一変させた細菌学者で、多種類の病原菌を明らかにし、結核菌、コレラ菌を発見し、ツベルクリンを創製したなど多くの業績をあげ、1905年にノーベル医学賞を受賞した。北里はコッホの研究室に6年余留学し、破傷風菌の純培養、ジフテリアおよび破傷風の血清療法を含め19編もの論文を書いた。北里はコッホを深く尊敬し、明治41年にはコッホ夫妻を日本に招待し、滞在は40日におよんだ。この間、新設の伝染病研究所に案内し、上野の音楽学校講堂でのコッホ講演会では北里自ら通訳し、歌舞伎観劇では森鷗外が解説するなど至れり尽くせりの対応であった。さらに、日光、宮島、保津川、長良川に案内し、地元で官民挙げての歓待を受けた。神戸医師会からの着物をはじめ各地からの贈り物も夥しい量であったという。コッホは富士の遠景を望む由比ヶ浜の景色を特に好んだ。現在も稲村ヶ崎の海浜公園に訪日の記念碑が残る。コッホは明治43年

(1910)にバーデン・バーデンで亡くなった。北里は大変悲しみ、北里研究所にコッホ神社を作り、翌年(1911)命日の5月27日に祭事を行い、以後毎年命日に祭事をおこなった。これは、第一次世界大戦でドイツが敵国となった時にも続けられた。御神体は、コッホが理髪を望んだ時に床屋の主人に頼んで取って置いてもらった髪の毛と爪および神戸医師会から寄贈された紋付きの着物を着た写真である。現在髪の毛は研究所の恒温金庫に保管されている。一説によると、日本から付いて行ったコッホのお手伝いさん村木 清がコッホを散髪中に取りおいた毛髪を未亡人が写真と共に送ってきたとも伝えられる<sup>52)</sup>。昭和6年(1931)に北里が亡くなった時にお弟子さん達がコッホ神社とならべて北里神社を作ったが、昭和20年の戦災で北里神社だけ焼けた。コッホ神社は残ったので現在は、コッホ・北里神社となっている。第一時世界大戦後、ドイツが極端に困窮した時に北里は未亡人に15,000円を送った。当時としては高額な見舞いであった。これに対し、未亡人はグリユフ画伯の描いたコッホの肖像画を北里に送り感謝の意を表した。この絵は現在北里研究所の所宝として飾られている<sup>8, 17, 18, 37, 47, 52, 64)</sup>。熊本の友人杉浦奎吾(大正3年総理大臣)の北里への追悼辞の中の一章は北里が受けた恩について端的に纏めている。すなわち「北里博士はその四大恩人の恩義、すなわちマンズフェルドの教恩、長与専斎翁の指導、誘掖せられたる所(註：誘は前にあって導く意、掖は傍から助ける意)、コッホの研究的啓発、福沢先生の後援が原素となって大成を為し得た」<sup>17, 25)</sup>。

知人としては長谷川 泰、森村市左衛門、後藤新平が関係が深い。その他、医師会関係者、政治家などとの交際も広い。

長谷川 泰は佐倉順天堂の佐藤尚中の一門であるが、東京医学校長、長崎医学校長を勤めた後、医学の済生学舎を創立。内務省衛生局長の後、衆議院議員として活躍した。また、大日本私立衛生会で伝染病研究所の発足を推進させ国庫補助を受けられるように運動し、これを実現させた。また、伝染病研究所を愛宕下に作る際の住民反対運動に対し、先頭に立って演説・説明し、時には住民の暴力を押しきって事を進めた。

森村市左衛門は江戸京橋の老舗の袋屋の五代目森村市左衛門の長男として生まれた。安政の大火で傾いた家運を、開港後の横浜貿易によって挽回。以後、馬具製造、洋裁店を営み、御用商人として奥平藩(中津藩)江戸屋敷に出入りするうちに、福沢を知る。後に維新政府の御用商人となったが、独立自営の方針に転じ



「富国の原素は海外通商の外なし」と悟って、日本製の雑貨、陶器などの輸出業を営んで産を築いた。その後、多くの事業に参画したが、女子教育に関心を持って種々の援助を行い、また、北里の帰国後福沢が北里のために最初の私立伝染病研究所を建設した折には、機械、設備を寄贈した<sup>4, 17, 18)</sup>。

後藤新平は内務省に入ったのは北里より3ヶ月早い。二者の関係は内務省衛生局で始まったが、最初は決して円満なる関係ではなかった。後藤は明治20年コッホ研究所に3ヶ月とどまり、コッホの指示により北里に細菌学を学んだ。その後、互いに才能を認めあい相敬し、終生の交友となった。北里帰国時には長与専斎の後任の内務省衛生局長であり、また、大日本私立衛生会幹事であり、大日本私立衛生会伝染病研究所の作成に努めた。その後の後藤の政治的環境における医療・衛生関係の事項には北里は常に考えを述べ支援した<sup>4, 17, 18, 64)</sup>。福沢と北里のこれらの恩人、知人の支援・協力がやがて二人の成長・思想形成、および諸活動の原動力となり、社会に大きな影響を与え、延ては慶應義塾における医学科創設の背景を成したと理解される。

## 8. 開学精神の発現

前述の通り、北里は医学部開学に当たり、基礎医学と臨床医学の連絡を密にし、延ては学内共同一致は恰も一家族の如き融和を期待した。

### a) 関東大震災に際して

開学6年目の大正12年(1923)の震災に当たっては、首脳者より何らかの指揮命令が出る前に教職員学生は相い共に自衛の応急処置および自警の事務に従い、進んで救護・消火の任に当たり、薬局や教室など数か所から火が出たがいずれも消火に成功した。加えて、火災に会った9病院、医学部構内の西区域に作られ済生会の罹災傷病者救済のための臨時病院(後述)などの診断・治療を引き受けた。一病院は100~150ベッド分で、当然医師不足であったが、学四の学生が先生の診療を助け、外来14万人、入院10万人の処置を行う事が出来た。自己の病院の維持を自己で責任を持つ意識である私学以外ではこのような行動は期待出来なかったであろう<sup>24, 64)</sup>。

### b) 東京大空襲に際して

昭和20年(1945)5月24日と25日、米空軍210機による空襲で医学部・病院の木造建築は全焼、信濃町キャンパスの全建物の三分の二は焼失した。5月25日の朝日新聞は「勝利は若い者の力に、慶應病院の入院患者全員救出」の見出しで、次のように報じ

ている。「情熱と力溢れる学徒挺身隊80名、看護婦270名と医局員の一致敢闘により建物を猛火から救ったばかりでなく、重軽症混せて180名の入院患者をかすり傷一つ負わず無事救助した。加えて、防護団長鎮日専之助小児科部長よりの退避指令と同時に20名の担送車患者を中心に主任看護婦の導く晒し胴じめの急造誘導綱を手で一列になって闇の中をコンクリート建別館と付近の国民学校(小学校)へ緊急避難を了えた。激しい被爆の中にも拘らず入院患者を無事待避させると共に焼夷弾を手づかみで投げ捨てる」など若い学生と看護婦の活躍を激賞している<sup>30)</sup>。

## 9. 建築物・家具・掛け軸など

医学部・病院の建築物の大部分は、塾の基金、塾員を初め多くの関係者の寄付、銀行融資、企業からの寄付、財団などからの寄贈などによる。ここでは、団体、企業、財団などからの寄贈およびそれに準ずるものに限定して述べる。

### a) 食養研究所

病院開設の大正9年頃、日本では脚気病が流行していた。大森憲太教授はビタミン不足の食事と脚気病の発症との関係を証明した。これを契機に、栄養学の認識が高まり、三井の益田孝は日本人の栄養向上を図る必要があると考え、大森教授に研究所を寄贈することを計画した。益田孝、門野幾之進、団琢磨、根津嘉一郎、桐島像一、森村市左衛門らが率先して同志を勧誘し資金を集め、大正13年(1924)8月11日に医学部に寄付した。635坪で、大正15年8月31日に竣工した。現在の煉瓦館の位置にあった<sup>30)</sup>。

### b) 予防医学教室

草間良男教授の尽力により、ロックフェラー財団の寄付金39万円で、昭和4年4月、779坪の教室が竣工した<sup>30)</sup>。この建物の正面玄関の左右のスロープと二階のテラスを支えている柱のうち右側の柱の根本に一辺約5cmの六角形の傷がある。右スロープの傷はやや浅く観察し難い。これらは昭和20年5月25日の米軍機による空襲時に投下された焼夷弾の弾頭の圧痕である。米国の好意による建物に米軍の爆撃の痕跡が残っている事になる(医学部新聞第465号、平成2年3月発行)。

### c) 特殊薬科学研究所

味の素株式会社の鈴木三郎助の篤志により建設された。味の素本舗金尾清造顧問と阿部勝馬教授(薬理学)を介しての話であった。現在の先端医科学研究所の建物の東端に当たる位置にあった。昭和14年(1939)



10月15日竣工した。現在はない<sup>30)</sup>。

#### d) 予防歯科医学研究所

東京丸見屋商店主三輪善兵衛の篤志寄付により、現在のワックスマン財団の位置に建てられた。日支事変の最中で、万難を排し、昭和15年5月に建てられた。岡田満教授(歯科学)がゼオライトを含む磨歯剤を考案し、それが「ゼオラ歯磨」としてミツワ石鹸本舗丸見屋商店から発売された関係であった(医学部新聞第477号、平成3年3月発行、歯科ペンクラブ537号、平成19年4月刊行)。戦災に遭い現在はない。

#### e) は号病棟

日本興業銀行が職員の肺結核対策の一環として、同銀行の委託病棟を作る計画で建てられた。昭和25年11月18日に竣工。169坪余、建築費260万円、215床、完成は昭和27年2月であった。当初の目的を達成し昭和42年医学部の助教授・講師室に転用された。新棟建設時に撤去された<sup>29)</sup>(医学部新聞第505~510号、平成5年7~12月発行)。

#### f) 基礎第二校舎

昭和36年、アメリカのチャイナ・メディカル・ボードよりの寄付金3万ドルを主体に建設された<sup>29)</sup>。校舎前の樹木は、関田潔教授が前田友助元教授(赤坂前田病院長)の別荘から頂いて来たものである(医学部新聞第459号、平成元年9月発行)。

#### g) 基礎第三校舎(東校舎)

ロックフェラー財団の好意により昭和32年10月に竣工した<sup>28)</sup>。

#### h) 西病舎

関東大震災の直後大正12年(1923)10月、済生会は、罹災傷病者救済のため、医学部の西側の用地を無償で借り受け、臨時病院を建設し、その医務の経営は医学部が引き受けた。救済事業終了後、大正14年7月に東京府は同病院を借り受けて、簡易療養所を設置するが、医療は従来通り医学部が引き受けた。さらに、昭和3年3月簡易療養所の閉鎖と同時に医学部は済生会より同病院を借り受け直接経営することとし西病舎と称した。学用患者を主とし有料患者をも収容していたが、昭和6年3月1日閉鎖し、その建物を取り払った跡へ地階共5階の鉄筋コンクリート建て病棟を新築した。現在の別館である<sup>24)</sup>。この経過は寄付行為ではないが、使用と医務を担当したケースである。何故済生会に無償で土地を貸し、そこに建てた病院をやがて慶應が使うことになったのか、については特に記載された説明は見当たらないが、次の点は判断の材料になるのではないだろうか。すなわち、北里は明治

44年(1911)に恩賜財団済生会の評議員を委嘱され、大正4年10月に済生会病院長(初代)、震災の直前の大正12年7月に同院長を辞し、同年11月に創立した日本医師会の初代会長に任命されている。日本医師会はともかくとしても、震災の2ヶ月前まで済生会病院の院長であったことは慶應医学部と関係しやすい関係を想像させる。

その他、病棟の一部屋、研究・診療・教育機器、絵画など、好意による寄贈は非常に多いが、ここでは

#### i) 戦後復興時における大量の家具寄贈について述べる。

寄贈の経緯については少し説明を要する。昭和19年5月、医学部は当時の大東亜省(現在の外務省)の要請を受け入れビルマ(現在のミャンマー)に医療班を派遣することになった。約40人の構成で前田和三郎教授班長、植村操教授副班長(事実上の指揮者)であった。この時、大東亜省の会計課長をしていたのが根道広吉氏である。同氏は敗色濃いビルマ地区で戦線の後方であるにしても、在京の他有力校が断ったのに、慶應義塾大学医学部が医療班を派遣してくれる事に大変感激し、手厚い世話をした。医療班は昭和19年7月30日に輸送船で出発、潜水艦の襲撃、マラリアと赤痢に怯えながらマニラ、シンガポールを経てラングーンに到着し11月3日に診療所開設。現地の人に喜ばれ、常に満床であり外来は毎日200名を越えていた。しかし、戦況は著しく不利となり昭和20年4月26日病院を閉鎖。小舟でラングーンを脱出、以後泰緬鉄道の無蓋車で14日かけてバンコクに到着、ここで終戦を迎え、昭和21年6月帰国した。この間数回の米軍機の機銃掃射により看護婦二人が死亡、班員数人が外傷を負った。根道氏は困難を克服して班員を帰国に導いた植村副班長の指揮を高く評価した。昭和23年根道氏は眼疾患治療のため植村教授を訪ねた。当時、根道氏は特別調達庁の総裁であった。この時期、病院はまだ焼け跡のままであった。「慶應はどうする予定か」と尋ね、「とにかく片付けなければならないではないか」と意見を述べ、役所のブルドーザーをガソリン代のみ慶應の負担で貸して下さる事になった。その時、「慶應は卒業生が募金して病院を建てる計画を進めている所だ」と話した処、「さすがに慶應だ。自分にも手伝わせて欲しい。については、下町に特別調達庁の大きな倉庫があり、そこには進駐軍が家屋を接收した時に放出された家具が沢山ある。それを、大蔵省にいわせて再建を自分で進めている慶應病院に無償で貸したいと話して許可をもらうから、とにかく、事務員をよこして必要な家具をチェックするように」と言っ



た。その家具は時価 800 万円位で、無償で借りた。丁度、病院の建築は出来たが、家具を購入する資金が足りない状況にあった。半年程経過した時、来てくれと言うので、植村教授が訪ねると、「あれは、もう破損して使用に耐えないという手続きをしたから、二束三文で譲ろう」という事になり、確か 20 万円を支払った。以上は医学部 60 周年記念誌<sup>30)</sup>、植村名誉教授の口述（三四会で録音）と医学部新聞 第 543 号、平成 8 年 10 月発行の記事による。結果、戦後再建された木造の本院では外来の廊下にあった待合の長椅子を除いて全部上記の家具で足りた事になった。したがって部屋ごとに家具は異なり病院全体としては不揃いであつたと聞く。

## 10. 額に残る福沢諭吉、北里柴三郎の訓言

福沢諭吉については「独立自尊迎新世紀」と「贈醫」、北里柴三郎については「終始一貫」が医学部内にある。

### a) 独立自尊迎新世紀

昭和 10 年頃、植村操教授（眼科）の患者中村氏（赤坂星ヶ岡茶寮主人）が弟の印刷所に依頼して作成した複製を植村操教授に贈った。後に植村操名誉教授は新棟落成時に医学部も新しい時代を迎えるという記念に当時の植村恭夫医学部長に贈った。一説によると三越が義塾の了解を得て数部複製しそのうち何本かを義塾に寄贈したようだが、その間の事情は明らかではない。この掛け軸は医学部長室にある。原幅は、三田の義塾図書館所蔵（医学部新聞第 494 号、平成 4 年 8 月発行）。

### b) 贈醫

草書による七言絶句である。

無限輸贏天又人	（無限の輸贏 <small>しゅえい</small> 天また人）
医師休道自然臣	（医師 道 <small>い</small> 道を休めよ自然の臣 なりと）
離婁明視麻姑手	（離婁の明視 <small>めいし</small> と麻姑 <small>まこ</small> の手と）
手段達辺唯是真	（手段の達するの辺 唯是れ真 なり）

解説：医学というものは、自然と人間（天また人）との限らない知恵比べ（輸贏＝負け勝ち）の記録のようなものである。医師よ、自分たちは自然の家来に過ぎないなどと言うてくれるな。離婁のようなすばらしい眼力と麻姑のような行きとどいた手をもって、あらゆる手段を尽してこそ初めてそこに医業の真諦が生まれるのである（あらゆる手段を尽くすことこそ医学の真髄なのだ）。

註釈：「自然臣」とは直接には恩師緒方洪庵の「自

然之臣也」と題する和歌を踏まえている言葉であるが、我が国における西洋医学の開祖とも言うべき杉田玄白の造語「医事不如自然」（医事は自然に如かず）以来広く深く信奉されてきた観念である。これは古代ギリシャの名医ヒポクラテスの「人間の身体には健康に復そうとする自然の力（*physis*）があり、医者はその力を助けるのが任務である」という考え方に由来する。しかし、福沢諭吉は「自然之臣也」などと納まっていないで、自然を人智でもって征服する過程が進歩なのだと考えていたのである。「離婁」（リロウ）とは中国の伝説上の人の名前。百歩離れた場所にある毛ほどの小さいものも見わける視力を持つという。「麻姑」（マコ）は仙人の名。手の爪が長く、鳥のようだったという。麻姑搔痒という言葉は、麻姑に、自分では手が届かない痒いところを搔いてもらうとさぞ気持ちがいいだろうということ。所謂「孫の手」の語源は「麻姑の手」である<sup>46, 59)</sup>（医学部新聞第 495 号、平成 4 年 9 月発行）。この額は第一会議室にある。

### c) 終始一貫

北里の座右の銘であり北里の生き方そのものを象徴している訓言であると言われる。人間はいかなる場合にも、自分の主義主張を変えないで行うことを指している。額は北里家、慶應義塾大学医学部学部長室、北里研究所および、医学部史料委員会が北里図書館に保管しているものの 4 種ある。平成 18 年、北里研究所を訪ねていた時、北里柴三郎記念室の責任者である中瀬安清名誉部長から、オリジナルは二つあり一つは北里家にあるが、もう一つは慶應にあると思うが知らないか、という質問を受けた。学生に与えたと聞いたとの話であった。その時点では、医学部新聞（第 504 号、平成 5 年 6 月発行）にこの書のオリジナルの一つが北里から何時、誰に渡され、やがて医学部へ寄贈された経過が既に記載されていることを思い出せなかったので、早速、池田康夫医学部長に、事務系に依頼して医学部内を捜すようお願いした。結果、史料委員会が北里図書館に保管しているとの報告が来た。これは、昭和 6 年（1931）3 月卒業の 9 回生の卒業写真帖に掲載されているものの原本で、卒業アルバム委員であった三谷健次博士が所有していた。他界された時に子息の三谷哲史博士（39 回生）がアルバムに挟まっていた書を見付け、平成 4 年（1992）4 月 7 日に史料委員会を通じて寄贈された事が分った。子息の話では、尊父は北里に書をお願いしたがなかなか書いていただけず最後には院長室まで上がってお願いし、やっと書いていただいたとの事であった。なお、北里はその年



(昭和6年)の6月13日に逝去された。

## 11. 福沢諭吉、北里柴三郎と医学

両者共、幼少時には四書五経の素読など漢学を学んで育ってきたが、医家の出身でもなく、医学の雰囲気の中に育った訳でもない。

### a) 福沢諭吉

自伝<sup>3)</sup>によると、少年の頃から至極元気で時として大言壮語したことも多いが、生れつき気の弱い性質で殺生を嫌い、人の血を見ることは大嫌い。たとえば、適塾の頃、腕の血管から血を採る時、自分でも他人でも採血時に血の出るのを見て、心地良くないから目を閉じて見ないようにしていた。文久2年(1862)にヨーロッパ視察の折<sup>6)</sup>、6月29日(陰暦)にベルリンの病院を視察していた時に、子供の斜視の手術を見ていたところ気分が悪くなり逃げ出したと語っている。ベルリンではシャリテイ病院以外に訪れていないので、この病院での話であろう。また、8月10日(陰暦)にはロシアのペテルスブルグ(現在のレニングラード)の陸軍病院で石淋(膀胱結石)の手術を見ていた。医師が刀を執ってグッと刺すと大量の血が迸って医師の白衣が真っ赤になり、それから切り口に釘抜きのような物を入れて膀胱の中にある石を取り出した。その内に自分は変な心持ちになり、何だか気が遠くなった(失神)。山田八郎という男が私を外に連れ出し、水などを飲ましてくれてやっと正気にかえった。従来、物理学に憧れ専門家になろうと思ったことはあるとの記録はあるが(前述)、医師になる希望の表明はない<sup>3, 43, 46, 47, 49)</sup>。

### b) 北里柴三郎

慶應2年(1862)熊本の儒者兼医者田中司馬の塾に入りやがて藩儒柘原助之進の門下生となる。ここでは儒教よりも武芸の方が盛んであった。18才となった明治2年(1869)細川藩校の時習館に入るが翌年廃藩置県となり時習館は廃校となった。この時、自分としては大阪に開校された陸軍兵学寮に入り、将来は武人となることを希望したが、両親は熊本藩知事細川護久が開いた古城医学所及病院(明治5年に熊本医学校と改称)に進学する事を奨めた。かねてより北里は「我が志は天下国家なり。武を練り文を読んだのはそのため、医者と坊主は男一生の仕事に非ず」と豪語していた。幕末の海外諸国からの接触、鎖国の解除、外国文化の流入など、社会変動の兆があり、国としての開化の頃、大志を抱く青年達にとって、長袖の徒、医師は魅力ある職業ではなかった。医師はただ病氣や

外傷を治療するだけの賤しい技術「方技」を職業とするものと見られていた。福井藩の侍医の家に生まれ、適塾で蘭学と医学を学んだ橋本左内も14才の時に書いた「啓発録」に「嗚呼如何せん、吾身刀圭の家(医家)に生まれ、賤技に局々として、初年の志を遂げる事を得ず」と医家に生まれた事を残念がっている。しかし、北里は、この際はとにかく両親の勧めに従い医学校に入り、文明開花の窓口であるオランダ語を学び、雄飛する機会を他日に機そうとした。すなわち、軍人志望を胸底に蔵して医学校に入った。それは、必ずしも医者にならなくてもよい。蘭学を学びつつ機を伺う事にした訳である。かくして明治4年2月に古城医学所及病院に入学し、ここでマンズフェルドに出会う。マンズフェルドは北里の優秀なオランダ語の理解力に嘖目し、心から北里を愛して親切に導き、北里もまた師の学識、人格に心服して教を乞うた。毎夕、師の官宅に招かれ蘭語ばかりでなく地理学まで授けられた。ある時、将来の希望を聞かれ、自分は将来軍人になりたい。その方便としてオランダ語を学んでいる事を話した。マンズフェルドは「人の志はむやみにまげる事は出来ないが、一日を無駄にはいけない。医学とて無用の学問ではない。在任中は諸方面の勉強が出来る様に配慮するからしっかり勉強しなさい」といった。そしてある日、顕微鏡下に、肉眼では見えない細胞、組織を見、未知の領域に誘い込む医学の魅力の虜となり、「医学亦学ぶに足る」と感じたのが医学に進む動機付けとなった<sup>8, 17, 37, 47)</sup>。

## 12. 両巨頭に共通の諸点

幕末から明治にかけての日本社会を啓蒙し、論理性的の必要を指摘し、自然科学の重要性を説き、その実践として義塾に医学所を導入した福沢と、福沢の没後に、その遺志を受け継いで大学医学科を創設した北里とは、邂逅から九年間の交流であったが、師弟の交誼が結ばれていた。そして、両者の間には幾つかの共通点があることが指摘されている。すなわち、両者共に例を見ない開拓者であり、篤い情宜を体現し、学究者としては実学・実践を重んじ、常に気魄に燃えた百折不撓の男子であるが、その根底に流れるものは、人類愛、同胞愛、そして師弟愛という愛の心であった<sup>37)</sup>。さらに、つけ加えるならば、両者共に幼少時には漢学、儒学の教を受けており、教養の基礎は漢学・儒学から来ているものである。

これらの内、実学における考え方と実践に絞って考察する。実学という言葉は、元来、朱子学や日本儒教(特に伊藤仁斎など)によって江戸時代から使われ重視され



て来たが、それは「日常の生活において仁義五常の道を実践する事」を意味していた。このような江戸時代の実学は「倫理の実学」とも言われる<sup>41)</sup>。福沢は幕末の三回の渡航で、欧米諸国の自然科学発展による文明開化の状況を体験し、科学技術の成果に強い印象をうけた。そして、医学を初め、物理学、数学、化学、機械学などの学問が、18世紀後半に英国で始まり、その後欧州に広がった産業革命によって如何に発展したか、その道筋を調べた結果「科学を実地に应用する実学」が文明開化の基本にある事を知った<sup>5)</sup>。すなわち、欧州の科学革命以後の自然科学的な方法の影響を受けた近代の学問が福沢が想定する実学と考えられる(座談会、福沢論吉に学ぶ「実学」、三田評論、No.1087、2006年刊)。福沢の渡航は1860年に米国、1862年に欧州、1864年に米国であるので、産業革命の影響が欧米に広がり各国の諸産業が活き活きと動いている時期に相当する。福沢が最初に記載したのは「学問のすすめ」であろうと言われる<sup>34, 41)</sup>。ここでは実学とは「人間普通日用に近き実学」と言い、たとえば、イロハ文字を習い、手紙の文書、ソロバンの稽古、天秤の取扱などを心得、なおまた、進んで、地理、究理学、歴史、経済学、修身などを学ぶことを挙げている。また、実際に役立つ学問の事、さらに経験や実証に基く学問のことを言う<sup>41)</sup>。ある機会には振り仮名して「サイヤンス」とも表現している<sup>39)</sup>。さらに、2～3の説明を挙げると、漢儒の学を虚学視し、それに対するもので、実学の実は儒学の思弁的なるに対する「実証の実」、また儒学の浮文的なるに対する「実用的の実」を意味する<sup>34)</sup>。福沢の言う有形の学問すなわち自然科学は宇宙自然の真理に基いて物事の現象の原理や性質を観察し、分析、実験、調査などをして、そこから得られた知見を社会の利益に利用する実学に他ならない<sup>5)</sup>。実学には基本と应用到二つの面があると言われる。根本の部分では徹底して科学を通じて真理・真実を追求する。その成果をどのように使うか、に関しては、状況に応じて人として当たり前の日常生活に役立て、また、学問を実社会に用いて役立てる事を指す。たとえるならば、コンパスの軸のところが基本編(根本)であり、コンパスの円を描くところが応用編ということになる(座談会、前記)。

一方、北里は研究の到達点を実学に置き、研究成果の実践的応用を常に心掛けるように指導していた。具体的には、研究の実施に際しては、何か実際に役に立てよう、あるいは、研究の方法手段の助けになるように心掛ける。また、実際の治療あるいは予防の上に実益になるという方向に向かって研究計画を建てる。そして、得た事実の中に少しでも役に立つものがあれば、速やかに実施に移

すなどが指導の内容であった。北里は、基礎的学問(サイエンス)から応用的学問(テクノロジー)への移行の重要性を示し、リサーチ・アンド・ディヴェロップメント(R&D)を科学的発展のための両輪と捉えていた。そして、秩序立てて積み重ねられた研究ならば応用の道は自ら拓かれるとの信念を持っていた。北里の医療に対する基本的理念は明治11年(1878)、東京大学医学部在学中に纏めた「医道論」の中に実学的考えを見ることが出来るが、要点は次の通りである。すなわち「摂生保険の道を説いて病を未然に防ぐことが医の本道である。病気の原因説明と治療、つまり医術を徹底的に理解しないと達成できない。真の医を施すには医術の十分な研究が必要である。精巧で奥深い医術を究めてはじめて達成し得るから、医学を志す者は理論、技術とも甲乙なく徹底的に研究する必要がある」。その考え方の由来は青年期に体験した熊本実学党の教えにあると言われる。そして、熊本の実学派の横井小楠への私淑から来ていると言われ、「科学に基づく研究は自ずと応用の道が開ける」と信じていた<sup>38)</sup>。実学党の教えとは「学問を志す以上は、世の中のためにならねばならぬ。ただ知識として持っているだけでは意味がない」と言うものであり、北里はその教義を咀嚼し「医学における実学の精神」として結実させたと考えられる<sup>44)</sup>。すなわち、北里生来の精神基盤である報恩、開拓、英知と実践、不撓不屈<sup>5)</sup>の具体化の一面であった。慶應義塾大学医学部の創設の折りに「基礎と臨床の密接な交流を図る」と宣言した意味は、従来の大学におけるように、教室単位の縦割りの体制で研究活動と臨床の活動を別々に行われるのではなく、基礎的な研究の成果を臨床の防疫、治療に速やかにかつ着実に役立たせるために、学部内での各活動・情報の交流を円滑にして実を挙げよという意味と理解される。その背景には、一科の進歩というものは、他科の発展を促すものであり、相助け合い、そこで初めて人類の福利を増進する事ができる<sup>44)</sup>との期待があった。すなわち研究の場の如何に拘わらず、綿密な研究の後、成果を実行に移せという実学の契めである。

かくして福沢は欧米に遅れをとった日本社会を啓蒙する目的で、西洋社会を研究し、分析して諸種の情報を日本にもたらし、執筆して人々に情報を与えて向上心を誘い、やがて教育機関としての大学を作る行動を起こした。北里は日本国民の福利、日本の医療の発展を目指して医学の研究を疾病の予防・治療に取り入れて実践した。経過は異なるが二人が共に到達した点が「理論に基礎を置いた実践」の「実学」であった。福沢の実践が慶應義塾医学所を生み、福沢の意志と北里の実践が大学医学部の



設立を現実のものとした。

## 結 語

福沢諭吉は不穏な社会変動の可能性を潜めた幕末に、西洋文明を肌で感じる機会を得、西洋の社会情勢を広く観察し、その中で医学・医療の状況を知り、日本と外国の医学の違いを医学外の立場から切実に感じていた。そして、物事の科学的認識の必要性に目覚め、医学の教育過程刷新の重要性を感得した結果が、やがては難波 正の提言による鎌田塾長の英断と北里柴三郎の実行により、文科系大学の中の医学部誕生に連なったのである。本来は、医学には関係のない環境の中に育った福沢・北里兩人であるが、医学部は福沢諭吉の啓蒙思想・漢方からの脱出、自然科学教育重視の方針と、北里柴三郎の報恩の心構えと、自分自身で「学ぶに足る」と見出した医学への熱意とによって創成されたと言える。福沢においては、実兄の優れた指導が適塾での勉強の機会を与え、科学への開眼を誘った。そして、木村撰津守が与えてくれた咸臨丸乗船渡米の機会は、その後の欧米視察に連なり、広く諸外国の文化を知る有効な契機となった。それらの好指導と好意を充分に生かした彼の努力と吸収力が、やがて創作意欲を刺激し、日本の社会および教育の啓蒙者としての将来を決定づけ、慶應義塾大学発足の原動力となり、延ては医学部創設の引き金となった。北里柴三郎はマンスフェルドの熱心な指導によって開眼し、長与専斎の指導と福沢の恩誼に感謝しつつ秀でた実行力により大学医学部を現実のものとした。

稿を終るに当たり、史料収集における福沢研究センター西沢直子准教授および信濃町メディアセンター(北里記念医学図書館)館田鶴子事務長の助力に心から感謝する。

## 文 献

- 1) 伴 忠孝, 適塾と長与専斎 創元社 昭和62年
- 2) 福沢諭吉全集, 第8巻 岩波書店 昭和35年
- 3) 福翁自伝, 岩波書店 昭和53年
- 4) 福沢諭吉書簡集, 第7巻 岩波書店 平成14年
- 5) 藤江邦男, 実学の理念と起業のすすめ 福沢諭吉と科学技術 慶應義塾大学出版会 平成16年
- 6) 石川幹明, 福沢諭吉伝 第4巻 岩波書店 昭和7年
- 7) 石田純郎, 天然痘の流行, 種痘の伝来と普及, 緒方洪庵と蘭学 思文閣出版 平成4年
- 8) 伊藤真次, 佐野 豊, 日本医学のパイオニア(1)—明治に育った医星 丸善京都出版サービスセンター 平成

- 14年
- 9) 加地伸行, 儒教とは何か 中公新書 989 平成2年
- 10) 鎌田栄吉, 慶應義塾と医学の関係 三田評論 第227号 大正5年6月
- 11) 鎌田栄吉, 慶應義塾と医学の関係(続) 三田評論 第229号 大正5年8月
- 12) 神谷昭典, 日本近代医学のあけぼの 維新政権と医学教育 医療図書出版社 昭和54年
- 13) 神谷昭典, 日本近代医学の定立 私立医学校済生学舎の興廃 医療図書出版社 昭和59年
- 14) 川嶋真人, 蘭学の泉ここに湧く 豊前中津医学史散歩 西日本臨床医学研究所 平成4年
- 15) 菊池 功, 福沢先生と窮理学 三田評論 第946号 1993年
- 16) 北 康利, 福沢諭吉 国を支えて国を頼らず 講談社 平成19年
- 17) 北里柴三郎伝, 北里研究所 昭和7年
- 18) 北里柴三郎記念館, 学校法人北里学園 松濤企画 昭和62年
- 19) 北里文太郎, 慶應義塾医学所(上) 日本医史学雑誌 第1309号 昭和17年
- 20) 北里文太郎, 慶應義塾医学所(下) 日本医史学雑誌 第1310号 昭和17年
- 21) 楠 卓一, 西真一郎論述: 日本儒教の精神—朱子学・徂徠学 淡水社 平成10年
- 22) 串田久治, 儒教の知恵 中公新書 1685 平成15年
- 23) 慶應義塾大学医学部十周年記念誌, 昭和6年
- 24) 慶應義塾七五年史, 昭和7年
- 25) 慶應義塾大学医学部二十周年記念誌, 昭和15年
- 26) 慶應義塾百年誌 上巻, 昭和33年
- 27) 同 中巻(前), 昭和35年
- 28) 同 別冊(大学篇), 昭和37年
- 29) 同 下巻, 昭和43年
- 30) 慶應義塾大学医学部六十周年記念誌, 昭和58年
- 31) 小池猪一, 図説 日本の“医”の歴史 下, 大空社 平成5年
- 32) 小池猪一, 医(意)外史 日本小児医事出版社 平成8年
- 33) 小泉信三, 「解説」福沢諭吉著 学問のすすめ 岩波文庫 410 昭和17年
- 34) 小泉信三, 福沢諭吉 岩波新書 D116 昭和41年 1966年
- 35) 小室正紀, 江戸の思想と福沢諭吉 三田評論 No.1077 2005年
- 36) 子安宣邦, 福沢諭吉『文明論の概略』精読 岩波現代文庫 1100, 岩波書店 2006年
- 37) 長木大三, 北里柴三郎とその一門 慶應通信 平成元年
- 38) 中瀬安清, 世界の細菌学者 北里柴三郎先生の細菌学 日本細菌学雑誌 58巻4号 2003年
- 39) 中瀬安清, 北里柴三郎資料館 54 北里研究所 平成19年
- 40) 永田守男, 福沢諭吉の「サイアンス」 慶應義塾大学出版会 平成15年
- 41) 西川俊作, 実学 三田評論 No.1043, 2002年
- 42) 野村 茂, 北里柴三郎と緒方正規 熊本日々新聞社 平成15年



- 43) 大田臨一郎, 福沢諭吉と医学 福沢手帳 第32号 昭和57年
- 44) 大村 智, 解説「北里柴三郎博士」山崎光夫著 北里柴三郎(下) 中公文庫 2007年
- 45) 佐々木正五, 福沢先生と医学 三田評論 第935号 1992年
- 46) 佐々木正五, 福沢先生と医学 福沢記念選書 51 平成4年
- 47) 佐々木正五, 福沢先生と北里先生 北里研究所病院創立100周年記念 平成5年
- 48) 佐志 伝, 木村芥舟, 長尾幸作-咸臨丸の人々 三田評論 No.1080 2005年
- 49) 佐志 伝, 福翁自伝の研究(本文編) 慶應義塾大学出版会 平成18年
- 50) 柴田利雄, 福沢諭吉のレガシー 丸善株式会社 平成19年
- 51) 杉本つとむ, 江戸の阿蘭陀流医師 早稲田大学出版部 平成14年
- 52) 砂川幸雄, 北里柴三郎の生涯 NTT 出版株式会社 平成15年
- 53) 竹内 均, 人体を探究した科学者 ニュートンプレス 平成15年
- 54) 谷口真也, 福沢諭吉の理科絵本「窮理図解」の面白さ 科学的考え方を身近に 三田評論 No.1103 2006年
- 55) 土屋雅春, 医者を見た福沢諭吉 中公新書1330 平成8年
- 56) 戸沢行夫, オランダ流御典医「桂川家の世界」築地書店 平成6年
- 57) 富田正文, 訓蒙 窮理図解 福沢諭吉選集 第2巻 岩波書店 昭和56年
- 58) 富田正文, 福翁百話 福沢諭吉選集 第11巻 岩波書店 昭和56年
- 59) 富田正文, 「考証 福沢諭吉」下 岩波書店 1992年
- 60) 豊田利幸, 福沢諭吉と自然科学 福沢選書1 昭和45年
- 61) 安田健次郎, 西洋医学の伝来とドイツ医学の選択 慶應医学 82巻2号 平成19年
- 62) 山内慶太, 長与専斎・北里柴三郎・福沢諭吉と「医友」書簡に見る福沢人物誌 三田評論 No.1089 2006年
- 63) 山口一夫, 福沢諭吉の西洋巡歴 福沢諭吉協会叢書 文化総合出版 昭和55年
- 64) 山崎光夫, ドンネルの男・北里柴三郎(下) 生誕150年 日本経済新聞 平成15年



## 特別寄稿

## 慶應義塾大学「薬化学研究所」—創設から廃止までの60年— (補遺)

日本薬科大学教授

しば たてついち  
柴田 徹一

Key Words : 薬化学研究所, 慶應義塾と医学部, 化学療法と天然物化学, 合成遺伝子とナテグリド

## はじめに

平成8(1996)年4月「慶應義塾大学医学部附属薬化学研究所」は廃止され、「慶應義塾大学医学部附属先端医科学研究所」(所長 猿田享男)に改組された。従来の2部門(有機化学部門と化学療法部門)から、3部門(細胞情報研究部門、分子医科学研究部門そして生体制御部門)とした。同年9月に、河上 裕教授を「細胞情報研究部門」に迎え、その後順次体制を整えてきた。

本稿は、慶應義塾150周年を迎えた今年、改めて約60年間存在した「薬化学研究所」(以下、薬化研)の軌跡を辿って資料を収集して、総括を試みた。「本文」とこれを補う「資料」から2部構成として以下に提示する。

1937(昭和12)年、北里の逝去後6年目に慶應義塾医学部(資料-1)に化学系の「特殊薬化学研究所創設」が決定した。阿部勝馬教授と薬理学教室員の努力による「研究所構想」は、「エールリッヒ博士と秦佐八郎博士の“実験治療研究所”に匹敵する研究所を医学部に設置したい」と記述している(資料-2)。昭和14年、研究所発足後は社会状況の急変で「阿部教授の構想」とは全く異なり、医学部校舎空襲などで、苦難の道が続いた。

まず、発足後5年間の「薬化研の第1期」は、阿部所長と薬理教室員の努力で膨大な研究成果(年間20~30報)が支えた<sup>1a, b)</sup>。

次に昭和19年に改組されて、塾直属の「薬化研の第2期」は、第二次大戦終戦直前に上田教授が、戦後に柳田教授が赴任して、各々「化学療法」と「天然物化学」の2領域の研究が開始された。第2期での社会的成果は、上田教室で日本脳炎薬「PANS610」を上市し、有効で低毒性の「駆梅剤」も合成した。また、柳田教室では、

2次元から3次元表示する時代の最前線で「立体有機化学」をサントニンやウスニン酸還元体で研究し、24報以上を米国の有機化学会誌(JOC)に掲載している(資料-5)。

その後、各々の教室を継いだ豊島、稲山両教授は、「薬化研の第3期」にその伝統を、更に社会的寄与などにも拡大させ「多方面」に発展させた。すなわち、豊島教室は、糖尿病薬「ナテグリニド」の上市の他、ウイルスや癌の化学療法研究へと発展させた。そして稲山教室は「天然物化学」の他、「放射線増感剤」や「合成遺伝子での体内ペプチド探索」などの研究に結実した。

また、研究・教育担った教職員は、35人を超え、薬大教授など産官学の各方面へ人材供給した(資料-4)。中でも、広瀬講師は、米国での共同研究で「人類初の化学合成遺伝子の発現」を実現した。帰国後、日本でも遺伝子組み換えによるペプチドと蛋白類の作用解明やその医療や畜産・農業への応用の扉を開いた(資料-5)。

以下に、「慶應義塾大学医学部附属薬化学研究所」の約60年の軌跡を追ってみた。

## I. 慶應義塾大学薬化学研究所創設までとその略歴

1. 医学部創設時(1916(大正5)年3月)、「義塾評議会(第9期第28回)」へ北里柴三郎が提出した「医科大学創設に関する件」の「付帯事項2項目」に「医科大学内の薬学科に応用化学を付置する」と「理工系の人物も養成すべし」と記載があった(資料-1)。この「北里の願い」は、北里の逝去(1931年)後も、1935(昭和10)年3月の「慶應義塾大学昭和9年度会計報告」に、医学部建設寄付金(274万4909円58銭)と並んで化学科建設寄付金(12万7009円)が



残されていた。この2年後に待望の化学系研究所の「特殊薬化学研究所創設」が実現化されている<sup>3)</sup>(資料-1, 2)。

2. 上記の「北里の願い」が、その後の「薬化研」創設へ伝承されたか否かは、現時点では不明である。しかし、北里の直弟子の志賀潔と秦佐八郎が、恩師のコッホでなく、北里の兄弟弟子であるエールリッヒへ紹介している<sup>4)</sup>。これは、北里の視点が、病原菌発見から「病原菌の化学療法」に転じていた、と推測される。その後、化学療法の研究分野は慶應義塾の医学部創設時に、東北大学から赴任した阿部勝馬薬理教授<sup>5)</sup>(京大医学部出身)に託された、と筆者には見てとれる。

## II. 「慶應義塾大学薬化学研究所」の歴史

### (1) 第1期「特殊薬化学研究所」の創設

上述の様に、慶應義塾大学に「医学科」の創設時に、北里柴三郎は「医学科」に「化学科」を併設させ、「他日に薬学や理工学の根基とする」と主張した。また、1935(昭和10)年3月の「慶應義塾会計報告」には、医学部の寄付金と化学科建設寄付金が残されていた事実は、各々北里の意思であり、遺産でもある(資料-1)。

その2年後の1937(昭和12)年5月、味の素(株)顧問の金尾清造博士が、慶應義塾大学医学部の阿部勝馬教授(薬理学)のもとを訪れ、「特殊薬化学研究所」の創設資金(味の素株式会社と宝製薬株式会社からの寄付)「20万円の寄付申込」を行なった(10万円は「建設・設備費」に翌月払込まれ、残りの維持費は10ケ年の年賦)(資料-2)。

1914(大正3)年の第一次世界大戦では、日独は敵対関係で、「ドイツ医薬品」の輸入困難となった上に、日本の「医薬品産業」が未熟だった。これに「世界大恐慌」が日本を襲って来た。そして、日本は、昭和8年国際連盟脱退後、昭和12年日中戦争に突入した。

研究所の建設は、1938(昭和13)年塾評議員会(第15期第3回)で承認され、建物は14年10月に竣工した。落成式は11月11日に行った。慶應の組織上、研究所は当初の予定通り「医学部付属」(阿部勝馬所長)で発足した<sup>3)</sup>。創設以来5年間の「薬化学研第1期」の業績などの公式記録は、医学部図書館など信濃町には残っていない。また、阿部勝馬所長は、薬理学教室員と共に薬化研でも研究されたが、その私的な記録にも無い<sup>5,6)</sup>。

### (2) 第2期「塾直属薬化学研究所」への改組

1939年9月ドイツのポーランド侵攻で、第二次世界

大戦が欧州で始まり、1941年12月日本の真珠湾攻撃で、上述の様に、東南アジア(東亜)の医薬品供給不足に日本が対応する事が必要となった。慶應義塾も「戦時協力体制」の姿勢を示した。再び阿部勝馬教授のご尽力で、医学部付属から「塾直属の薬化学研究所」(西野忠次郎所長・医学部長、阿部勝馬副所長)へ改組し、協力体制を整えた。外部から人材を導入する事になり、阿部教授の人脈から、京都帝国大学医学部高木誠司教授のご推薦で、上田武雄教授(薬理第2講座)が招聘された。上田武雄教授は主任教授となり、1945(昭和20)年3月に式典と就任講演を行った(資料-2中、挿話-1)。

しかし、2ヶ月後の5月、東京大空襲で病院の木造建築物は焼夷弾で全焼して、コンクリート造の薬化研内の研究施設と「臨床試験用ベッド」は、共に「2号館」として患者病床に転用された。その為、薬化研は、一時的に京都大薬学科や三鷹の中島飛行機(株)に移転したが、信濃町の本来の建物への復帰は「西校舎の完成」後となった<sup>7)</sup>。その間、1948(昭和23)年に東京帝国大学医学部朝比奈泰彦教授のご推薦で、上海自然科学研究所・主任研究員の柳田昌一博士が教授として赴任され、「2教授体制の研究所」となった。その結果、当時の創業での基本、「化学療法」と「天然物化学」の両領域からなる「医薬資源を開発する研究所」が出来た(資料-2)。

1964(昭和39)年、上田教授は慶應大で(主に抗ウイルス薬)研究を行った176編の研究論文を残し、北里大学薬学部長で転出された<sup>8)</sup>。当時は、国公立薬学部や私立薬科大や製薬企業の中央研究所の新設が続き、慶應義塾「薬化研の教職員」から産・官・学の研究機関へ登用が続いた、現在も人材供給源として薬化研は大変注目されている(資料-2, 3, 4)。

### (3) 第3期「医学部付属薬化学研究所」への改組

1968(昭和43)年、牛場大蔵所長(医学部長)の下、「塾直属」から「医学部付属」への研究所規定改正が為された。その結果、柳田教授の第1研究室(後日「有機化学部門」)と豊島滋助教授の第2研究室(後日「化学療法部門」)として再出発した。人事も、1973年豊島教授の昇進と、1974年の柳田教授定年退職後、1977年稲山誠一教授の昇進と続いた。この第3期は、研究報告数も研究レベルも一段と高まり、研究内容に勢いがあつた時期と、現時点で評価されている(表-2, 3, 4, 5, 6)。

### (4) 「医学部付属薬化学研究所」から「先端医科学研究所」への改組

1996(平成8)年4月、「医学部付属薬化学研究所」



を廃止して、「先端医科学研究所」への研究所名と組織変更を行った。医学部附属「薬化学研究所の2部門制」から「先端医科学研究所の3部門制」、(①細胞情報部門(河上 裕教授)、②分子医科学研究所部門(平成19年、佐谷秀行教授就任で遺伝子制御部門に改称)そして③生体制御部門)で発足した。

従って、1937年から1996年までの「薬化学研究所」の歴史は、満60年でその活動を停止した。なお、薬化学研究所の旧教職員は、先端医科学研究所の3部門で、「研究の継続が可能」とした配慮が為された。

### III. 薬化学研究所に関する「話題」

#### 話題-1：ドイツ有機化学の2大潮流、「天然物化学」と「化学療法剤」

18世紀前半のドイツ薬学(主にリービッヒ学派)は、西洋生薬の活性成分を単離・精製する「天然物化学」を始めた。18世紀後半は、英国でパーキンがアニリンから染料「モーブ」を合成し、化学工業が起った。ドイツでも石炭タールからインジゴそして芳香族アゾ染料を抗菌薬に転用する研究が端緒になって、エールリッヒらによって合成染料から「化学療法剤」検索が始まった。これで有機化学の2大潮流(天然物と化学療法)が始まった。因みに、薬化学研究所の設立資金を持参した金谷清造博士は、ドイツ留学でリービッヒの孫弟子になる長井長義教授(東大)の指導の許で、1930年にエフェドリンを「合成して構造確認」した「天然物化学」研究者であった。当時は、味の素の顧問でこの役を果たした<sup>9)</sup>。

#### 話題-2：サルファ剤の系譜：ドイツ人が薬効を見つけ、フランス人(化学者)がサルファ剤を発見

- ①志賀と秦の二人の留学先は、上述の様に、北里の恩師コッホの研究所ではなく、1898年にフランクフルト・アン・マインに移転したエールリッヒ実験治療研究所であった<sup>4)</sup>。そこで、志賀も秦も、病原菌(in vitro)や感染動物(in vivo)の実験治療を行い、各々トリパノロト(抗トリパノゾーマ薬; 1903年)とエールリッヒ606号(商品名サルバルサン)(駆梅薬; 1909年)を発見し、「化学療法剤」時代を切り開いた。
- ②その後、ドマークは、IG Farben(独の6大化学会社の統合染料会社)から合成染料(アゾ色素類)を提供され、1932年プロントジル(抗レンサ球菌薬)を感染動物実験(in vivo)で発見した。しかし、in vitroで無効の理由は、仏のフルノーとトレフェル夫妻(化学者)が、1935年に「ジアゾ基」が還元解裂した

「スルホンアミド」を尿から単離して突き止めた<sup>10)</sup>。

- ③日本の三共(株)は、1937(昭和12年)年サルファ剤「テラポール」を発売し、ジューグフリード社が癩治療薬「プロミン」(サルファ剤系)も発売された。1955(昭和30)年慶応大学薬化研の上田教授は、日本脳炎の症状改善薬PANS610(p-アミノナフタレン・ドデカスルフォニアミド-1)の製造承認を得て、昭和30年4月「第一回日本薬学会 学術賞」を受賞した。

ただし、上記のサルファ剤開発の歴史で、このアゾ色素の活性物質が、体内還元された「スルホンアミド」だったとする、フランスの化学者の研究結果<sup>10)</sup>が、生前の北里柴三郎に届いていたか、は不明である。筆者は時代の流れを北里は読んでいたと思う。

#### 話題-3：創薬研究：糖尿病治療薬「ナテグリド」の上市

豊島研究室は、抗癌剤、抗ウイルス性あるいは抗炎症性物質の探索研究の他、内服インスリン製剤の開発を目指し、インスリンと併用し、その腸管吸収を可能にする物質の研究をおこなっていた。その過程で、それ自体が内因性インスリン分泌の促進作用による血糖低下作用を示す、N-アシル-D-フェニルアラニン誘導体を見出した。その後、味の素中央研究所と共同で、インスリン分泌刺激作用と血糖降下作用を指標とした化学構造の最適化を進め、1986(昭和61)年日本と米国の特許<sup>11a)</sup>を取得した。さらに、世界各国の特許を得て、1999(平成11)年、速攻型インスリン分泌促進性糖尿病薬「ナテグリド」が上市された<sup>11b)</sup>。

以上の様に、慶應義塾に医学科と化学科を併存させる「北里構想」は、昭和10年まで「化学科建設寄付金」として温存させていた。その2年後に、味の素(株)の寄付金を受け、その意図を阿部教授が継いで「薬化学研究所」が創設された。敗戦直後の薬化研第2期でPANS610そして第3期(薬化研廃止前)にナテグリドが上市され、北里柴三郎の創薬構想は見事に実現された。

#### 話題-4：合成遺伝子のペプチド発現から体内ペプチド・蛋白薬品の幕開けへ

1975(昭和50)年、カナダNIH研究所で、片桐と板倉が遺伝子の新化学合成法として「トリエステル法」を開発した<sup>13)</sup>。柳田・稲山両教授の許で合成化学の薫陶を受けた広瀬講師(有機化学部門)は、1977(昭和52)年米国シティーオブホープ研究所に移った板倉博士と共同研究で、このトリエステル法を用い、ソマトスタチンの「遺伝子を化学合成」した。これを大腸菌のミトコン



ドリア DNA に挿入して「ソマトスタチンのペプチド」発現 (生合成) に成功した<sup>13)</sup>。翌年、「ヒト・インスリン」も同様に発現に成功した。この「遺伝子合成法」を応用・拡大して、既知のペプチドや蛋白のアミノ酸配列の一部分に対応する「遺伝子断片」(プローベ DNA) を化学合成して、この断片に親和性のある「遺伝子 DNA を拾って」DNA レベルでペプチド全体の配列を決定する、新技術が可能となった。

さらに、遺伝子解析による生体反応解析手法を進展させ、各種サイトカインから抗体蛋白までを真核細胞で発現する一大産業 (ヒトのペプチド・蛋白生産) を創出させた。ペプチドや蛋白を「抗体カラム」による「純化技術の進歩」も相俟って、本来ヒトの体内成分を「補充療法薬」に分類される化合物として、ペプチドホルモン、サイトカインそして抗体医薬品などを高純度で、効率良く生産可能にした。

その結果、従来の「化学療法剤」や「抗生物質」とは全く異なる物質群の「遺伝子合成薬」が出現した。さらに、ヒト由来細胞に「合成遺伝子の導入」して欠損遺伝子を挿入するなどの、「遺伝子治療」の領域へも拡大した (資料-5)。

#### 話題-5：手術後の組織再建術式評価法と幹細胞 (体性幹細胞と ES/iPS 細胞) 補充の併用療法などの評価法などの開発

癌切除後などで「手術創部の再建術式」は、従来、大学別に臓器グループ独自の「術式」の伝統があった。1970年代後半に「術式の EBM 比較」を数値評価 (統計処理) する「日本創傷治癒研究会」が世界に先駆けて日本で発足した。慶應医学部外科系の各班からも「術式比較報告」が続いた。当時の耳鼻科斉藤教授から稲山教授に、声帯手術創部組織中の「コラーゲン定量法」で EBM 化への化学的協力依頼があった。柴田は、この定量法を精密化して「KISO 法」や「KISOFIA 法」を独自で開発した。さらに、微量 (湿重量 mg) の創部組織で「コラーゲン合成と分解酵素」の活性測定法を開発した。これらの研究は、慶應内外の「外科・内科各研究班」との約 50 テーマの共同研究として行った結果「標準術式」を国内外に提示・報告してきた。

現時点では、外科再建術式に新しく登場した「幹細胞補充による組織化療法 (再生医療)」を併用する「幹細胞補充組織化再建術式」の治癒評価法にも、上記技術が新展開した。これらは「治癒の数値評価法 (KOSmart-1~3 法)」として応用が進行していて、癒着回避して「手術後死亡ゼロの目標」への寄与が期待されている

(資料-5)。

#### 話題-6：低酸素癌組織への放射線照射と増感薬の併用効果

放射線照射の効果向上と照射線量の削減に、「放射線増感現象」の利用が提唱されてきた。稲山は、京都大学放射線の阿部教授らと、「文部省や厚生省の研究班」を立上げ、専ら「候補化合物の設計と化合物合成」を担当して「全く新しい放射線増感薬」を開発した。稲山は、合成前に「分子軌道法による分子設計」を行い、低酸素細胞 (in vitro) と担癌動物 (in vivo) で増感効果の結果と比較した。現在フェーズ II の段階で上市に至らないが、「ニトロイミダゾール類」の誘導体で強力な「放射線増感薬」を幾つか開発に成功した (稲山教授：慶應義塾賞受賞) (資料-5)。

#### 話題-7：薬化学研究所と慶應義塾大学薬学部発足

明治 16 年 10 月、北里柴三郎が東京大学医学科卒業の際、製薬学科では蔵田忠介 (山口県土族) 一人だけが卒業した。明治初期の西洋医学導入時には、医療職教育では、1240 年に始まった西洋伝統の「医薬分業」が、既に制度として受け継がれていた。

「薬化研第 2 期」に薬化研主任教授に赴任した上田武雄は、蔵田忠介の後輩で、昭和 7 年東京帝国大学医学部 (薬学科) 卒業後、高木誠司助教授の助手となり、昭和 14 年 4 月京都帝国大学医学部の薬学科創設で高木主任教授と共に京大助教授で赴任した。昭和 17 年京大薬学科第 1 回卒業生を出した後、昭和 19 年に高木教授から「慶應大学医学部の研究所教授」の招聘の話を上田が受けた。当然上田は、医学部薬学科を想定した。従って、慶應義塾へ赴任後も、薬学科創設を提唱した。しかし、「日本の医薬品の供給困難解消」を目的に改組した「第 2 期薬化研」は、塾直属に改組直後でも、医学部内では「戦災復興」が優先し、実現は無理だった。

北里研究所理事長 秦藤樹学長の Kitasatomycin (一般名 Leucomycin) の共同研究で、伊藤信也助手 (薬化研上田教室) を派遣した関係から、上田教授は「薬学部」創設を担って昭和 38 年北里大学に転出した。

その後も、昭和 50 年後半に「遺伝子組換え」で広瀬忠明講師 (稲山教室) が、日本での「体内ペプチドや蛋白研究」の軸になる「プローベ合成」を展開した時期、稲山誠一教授が再び「特徴ある薬学科構想」を提唱したが、周囲の理解を得るまでには至らなかった。

平成 15 年に星薬科大学が、平成 18 年に共立薬科大学が慶應義塾との法人合併を申し入れた。結果は、星薬



大は理事会の反対で破棄され、共立薬大は理事長の熱意が実を結んだ。平成20年4月1日慶應義塾と共立薬科大学は、「法人合併」して、慶應大学薬学部・大学院薬学研究科を開設した<sup>12)</sup>。安西塾長と橋本理事長の学校経営の問題点解決法として「法人合併」を敢行後、3月の慶應義塾薬学部入試合格者の成績は、各予備校の調査で、他大学の薬学部合格者との比較ではトップの評価を得て、義塾は薬学分野での人材獲得に成功した。なお、平成20年4月1日の朝、共立薬大元理事長橋本嘉幸慶應義塾常任理事は、初理事会出席の為、自宅の門を出た直後に倒れ、心不全で急逝した。

## おわりに

慶應義塾大学医学科創設時に、北里柴三郎は「化学科」の併設を提唱していた。しかし、諸般の事情から実現出来なかった。北里の死後6年して、阿部勝馬教授の活躍で、「薬化学研究所」が味の素と宝の両社の寄附で実現した。阿部は「エールリッヒの実験治療研究所に匹敵したい」とスタートした。

上記した「本文」と「添付資料集」に記述した「薬化研」の歴史は、阿部教授の当初の構想とは全く異なった結果となった。これらに対する評価は、読者のご判断にお任せしたい。

しかし、1804年化合物「モルヒネ」の単離からヨーロッパで始まった、化学物質で症状改善や原因治療する「化学療法」の流れは、北里柴三郎の直弟子の志賀潔や秦佐八郎が「日本人自身の研究結果」と「人物」を介して、ドイツから直接日本に持ち込んだ「方法論」である。これが今使用している近代医薬品による「治療」である。医療史上の発端は、クリミア戦争に看護婦（ナイチンゲール）が「救命」目的で、受傷者や感染者に立ち向かった。「医療体制の変化」も見逃せないが、2回の世界大戦や革命の度に「受傷や感染症蔓延による人命消失」に対し、医学研究者に診断と治療手段を求めて来た歴史は見逃せない。

感染症への挑戦は、パスツールからコッホへ、そして北里からその弟子へ、すなわち「感染菌発見」から「抗感染菌薬」の開発へと引き継がれ、さらに、癌やウイルスへ挑戦する時代になっても「慶應義塾薬化学研究所」は60年間研究を続けた。

これらの「軌跡」を「話題7題」で纏めて見た。「薬化研の研究者」は、資料-5, 6にも垣間見える様に、研究費を工面しながら、不完全な施設でも彼らなりに懸命に努力を重ねてきた。

今回、「薬化学研究所」から「先端医科学研究所」へと名が変わり、部門名も変わった。その意味するところは、狭い「天然物」や「化学療法」に固執せずに「医学最先端」で「総合的に原因治療」を目的にした「大変革」が必要な時期であろう。今話題の「再生治療」でも、「体性幹細胞」から「万能細胞」(ES細胞やiPS細胞)へと「細胞補充療法」の発展が期待されている。

最後に、資料-6に「論文の分類別報告数」を掲げた。興味を持った読者は、論文内容を参考文献に表示した「慶應義塾医学部年報」などを慶應義塾医学部図書館で閲覧して欲しい。

## 謝 辞

本稿の執筆の発端は、本年4月出版の「薬学の未来を拓く」の中に、「慶應義塾と薬学」<sup>12)</sup>と題して、安田健次郎元医学部長がご執筆される際、筆者に「薬化研の資料」を揃える様にご指示を戴きました。その資料をご覧戴いた安田先生が末松誠医学部長とご相談下さり、その結果「慶應義塾150周年誌」の原稿と本稿でその「補遺」を執筆する様に筆者にお勧め下さいました。本稿は、筆者の原稿案（ドラフト）作成後に、薬化研元教職員の稲山誠一元教授をはじめ、廃止時期の専任講師（2部門の4人）の先生方に「ご意見とご添削」をお願いし、各々ご返事を寄せて下さった内容を、最後に筆者の責任でまとめたものです。

以上、本稿を書くに当たり、お骨折り下さいました上記の先生方とご意見をお寄せくださいました旧教室員の諸先輩に厚く御礼申し上げます。（しばた てついち）

## 「本文」の参考書

- 1) 阿部勝馬教授業績集, p43-53, 昭和38年発行
- 2) 阿部勝馬君を偲んで, 昭和49年発行
- 3) 慶應義塾100年史, p777-834, 昭和35年発行, p507-511, 昭和39年発行
- 4) 長木大三著, 北里柴三郎とその一門 (増補第3版), p82, 112, 慶應出版会, 平成15年
- 5) 阿部勝馬君を偲んで, p374-37, 昭和49年5月発行
- 6) 阿部勝馬教授業績集, 1963 (昭和38)年発行
- 7) 慶應義塾と薬学, 安田健次郎, 「薬学の未来を拓く」, p190-199, 慶應義塾出版会, 平成20年4月発行
- 8) 上田武雄著, 折りたく薬の記, p62, 昭和59年発行
- 9) 山川浩司著, 国際薬学史, p73, 106, 南江堂, 平成12年
- 10) 山川浩司著, 国際薬学史, p122, 南江堂, 平成12年
- 11a) US patent 4816484 (1986, 1989) (Mitiglinide, Merck Index 14<sup>th</sup> No. 6211, p1072, 2006)



- b) 水島 裕編集, 今日の治療薬—解説と便覧—, p348, 南江堂, 2006
- 12) 「薬学の未来を拓く」, p204-209, 慶應義塾出版会, 平成20年4月発行
- 13) 日本生化学会編, 「続生化学実験講座」第1巻 遺伝子研究法 I, (株)東京化学同人, 1986
2. 慶應義塾大学医学部十周年記念誌, p1-21, 昭和5年発行
3. 慶應義塾大学医学部二十周年記念誌, p18-34, 昭和15年発行
4. 慶應義塾大学医学部六十周年記念誌, p677-688, 昭和58年発行
5. 慶應義塾大学医学部年曆, 大正4年度—昭和25年, 昭和26年発行
6. 慶應義塾大学医学部年報, 昭和36年~平成10年発行
7. 薬学教育協議会編集: 全国薬学教員名簿, 平成6年8月版, (株)じほう, 2004
- その他の参考図書と「添付資料集」作成時の参考図書**
1. 慶應義塾大学百二十周年史, p130-134, 昭和58年発行



添付資料集 薬化学研所開設から廃止への経緯

資料-1 医学科創設時

慶應義塾の医学部関係の歴史	慶應義塾以外での医学研究事項 病原菌発見と化学療法 (in vitro invivo)	時代の背景
<p><b>I. 医学科創設時</b></p> <p>1. 1883 (明治6) 年 慶應義塾「医学所」(所長 松山棟庵)を設立して、医学教育の開始。 1880 (明治13) 年 「医学所」を廃校。</p> <p>2. 1890 (明治23) 年 慶應大学部創立 (理財科, 法律科, 文学科)。後日, 政治科 (明治30年)。</p> <p>3. 1916 (大正5) 年7月 医学科・化学科設立計画を発表。 同年8月 福沢先生の縁故の北里柴三郎博士などが其局にあたり「医学部創設趣意書」<sup>(21)</sup>を発表し、基金募集着手。 同年10月 予定額の百万円以上に達して、12月27日文部省、医学科設立の認可<sup>(22)</sup>。</p> <p>4. 1917 (大正6) 年1月10日 宮内省より、金3万円を思召下賜せられるご沙汰書を賜る<sup>(23)</sup>。</p> <p>5. 同年3月 予科1年生の募集、同年4月16日 開校。同年7月 医学科校舎の建設起工。</p> <p>6. 1920 (大正9) 年1月 大学令により、医学科を医学部と改称。 同年11月 校舎及び病院の落成、同年6月6日開校式並びに開院式を医学部構内で挙る。 福沢社頭、鎌田塾長、北里医学部長が玄関に居並び、原 敬内閣総理大臣、中橋徳五郎文部大臣、後藤新平ら貴賓を迎えた。</p> <p>7. 1922 (大正11) 年までの寄付：口数、2,254口、金額、310,883円<sup>(24)</sup></p>	<p>1804年 モルヒネの単離 (セルターナー)</p> <p>1820年 キニーネの単離 (ベレチエラ)</p> <p>1833年 アトロピンの単離 (メインら)</p> <p>1861年 <u>パスツール</u>、好気性菌と嫌気性菌に分類 (液体培地)</p> <p>1876年 コッホ、脾脱疽菌発見 (固体培地)</p> <p>1879年 淋菌 (ナイサー) と癩菌 (ハンセン) を発見</p> <p>1881年 <u>パスツール</u>、加熱弱毒炭疽菌でワクチネーションに成功。翌年1882年狂犬病ワクチン接種で少年救命</p> <p>1882年 <u>コッホ</u>、結核菌を発見、コレラ菌 (1883年)</p> <p>1882年 フェールアイゼン、連鎖球菌を発見</p> <p>1885年 エフェドリンの単離 (長井長義と山梨元忠) とエフェドリンの散瞳作用を確認 (大澤謙二ら)</p> <p>1885年 <u>北里柴三郎</u>、<u>コッホ</u>研究所 (ベルリン) へ留学</p> <p>1890年 <u>北里</u>と<u>ベーリング</u>、共著で「破傷風菌」の「抗毒素血清」を著す。同年、<u>エールリッヒ</u>を、<u>コッホ</u>研に招待。</p> <p>1892年 伝染病研究所創立。</p> <p>1896年 <u>エールリッヒ</u> (フランクフルトへ赴任)</p> <p>1897年 志賀 潔、赤痢菌の発見</p> <p>1901年 アドレナリン単離 (高峰譲吉と上中啓二)</p> <p>1903年 トリパノゾーマ菌発見 (ルイス)</p> <p>1904年 志賀 潔、トリパンロート (抗トリパノゾーマ薬) 発明 (in vivo) (<u>エールリッヒ</u>の指導)</p> <p>1904年 アドレナリン合成 (ストール)</p> <p>1905年 梅毒のスピロヘター発見 (サウディンら)</p> <p>1909年 秦 佐八郎、サルバルサン 606号 (抗梅毒薬) 発明 (in vivo) (<u>エールリッヒ</u>の指導)</p> <p>1928年 <u>フレミング</u>、青カビの培養液でブドウ球菌の溶解を発見 (最初の抗生物質)。</p> <p>1929年 溶解する活性物質を「<u>ペニシリン</u>」と名付ける。</p> <p>1930年 エフェドリン合成 (長井長義と金尾清造)</p> <p>1932年 ドマークラプロントジール (IG Farbenの合成品) の抗連鎖球菌作用発見 (in vivo), in vitro で活性なし</p> <p>1935年 <u>フルノー</u>と化学者<u>トレフェル</u>夫妻、プロントジールの活性化化合物は、既存のスルフォンアミドと同定。(共同研究) (in vivo で還元開裂し、in vitro でも活性を示す)</p> <p>1937年 <u>三共</u>、日本初サルファ剤「<u>テラポール</u>」発売</p>	<p>化学・医学の先人6名 <u>リービッヒ</u> (1803-1873) <u>パスツール</u> (1822-1895) <u>パーキン</u> (1838-1907) <u>コッホ</u> (1843-1910) <u>北里柴三郎</u> (1853-1931) <u>エールリッヒ</u> (1854-1915)</p> <p>時代の流れ 1853-6年 クリミア戦争 1854年 <u>ナイチンゲール</u>、<u>イスタンブール</u>の前線病院 1866年 普墺戦争 1870-1年 普仏戦争後、<u>ドイツ帝国</u> 1894-5年 日清戦争 1904-5年 日露戦争 1914-18年 第一次世界大戦 1917年 <u>ロシア</u> 2月10月革命 1920年 国際連盟成立 1925年 <u>ドイツ</u>の6大化学会社統合 (<u>IG Farben</u>社) 1929年 世界的経済大恐慌</p>
<p>注1) 「化学科は、医学の研究と密接の関係を有するを以て同時に其設立を図りて仮りに之を医学部に付属せしめ、薬学其他の研究に便にし、他日理工科を開設するの根柢たらしめんとし」</p> <p>注2) 付帯事項として、次の2項目が付加された。 ①医科大学内の薬学科に、応用化学を付設すること、 ②並びに、理工科の人物も養成すべし。</p> <p>注3) 1917 (大正6) 年1月、<u>福沢先生お誕生記念会</u>で、<u>北里柴三郎</u>の挨拶 ①弊風を刷新し、統一ある医科大学を創設する。 ②共同研究の充実と門戸開放する。 ③予科2年間では、英独の外国語を専修させ、また、教授法の一新を工夫する。 ④化学科は、将来純然たる「化学研究所」の基礎とし、独立の経済・財源の計画を樹立する。</p> <p>注4) 1935 (昭和10) 年3月 (昭和9年度、慶應義塾学事及び会計報告の記載内容) ①医学部建設寄付金 274万4909円58銭 ②化学科建設寄付金 12万2100円 合計金額 286万7009円58銭</p>		



資料-2 薬化学研究所の歴史(改組と主な人事)

第1期.「特殊薬化学研究所」時代	国内外の治療環境	時代の背景
<p>発足: 1937(昭和12)年5月 味の素(株)と宝製薬(株)より20万円の寄付を、金尾清造博士(味の素顧問)が慶應義塾医学部に持参し、「特殊薬化学研究所」が発足する事となった。所長:阿部勝馬博士(薬理学教授)</p> <p>規模: 1938(昭和13)年8月18日同研究所起工 1939(昭和14)年10月15日竣工(鉄筋コンクリート3階:延べ面積:370坪,建坪:110坪) 同年11月11日同研究所落成式(*三田評論, S12年9月号)<sup>(45)</sup></p> <p>目的:「和漢薬,民間薬或いは特殊の薬効を現す新薬等について,科学的並びに薬理学的研究を併行して薬理効果ありと認められたものは,実験治療に応用して医学の進歩改善に貢献したい,と言う念願で研究を続けたい」(阿部勝馬)。P.エールリッヒ博士と秦佐八郎博士の「実験治療研究所」に匹敵する研究所を医学部に設置したい。</p> <hr/> <p>注5) 1. 構成:①第一と第二化学実験室,②第一と第二薬理研究室,③その他,付属実験室,④標本室。 2. 新しい試み:①人の実験的治療を行う目的で,4~6名の患者を収容する病室を設置する。 ②実験治療内容は,本研究所では,研究・創製せられた「治療薬」を主に,治療を行う。</p>	<p>1939年 ベチジン(合成麻薬)の合成</p> <p>1940年 ペニシリン再発見</p>	<p>1933年 国際連盟脱退</p> <p>1936年 理研サイクロトロン完成</p> <p>1937年 日中戦争開始</p> <p>1938年 秦佐八郎逝去</p> <p>1939-45年 ドイツ軍ポーランドへ(第二次世界大戦)</p> <p>1941(昭和16)年(12/8)日本真珠湾攻撃</p> <p>1943年9月 イタリア降伏</p> <p>1945年5月 ドイツ無条件降伏</p>
<p>第2期.「塾直属の薬化学研究所」時代</p> <p>改組: 1944(昭和19)年11月「塾直属の薬化学研究所」に発展。(所長:西野忠次郎教授,副所長:阿部勝馬教授)<sup>(46)</sup>。</p> <p>人事: 1945(昭和20)年2月1日 上田武雄教授が主任教授に就任(京都帝大医学部より着任)</p> <p>式典: 1945(昭和20)年3月16日 北里記念図書館講堂(小泉信三塾長の祝辞と上田武雄教授就任講演)<sup>(46)</sup></p> <p>空襲: 1945(昭和20)年5月23日 米軍の爆撃で病院延焼。同年6月 本研究所建物(2号館)は,小児科,産婦人科の病棟となる。薬化研は,三鷹校舎に移転(昭和31年に信濃町校舎に帰還)。 1947(昭和22)年2月1日「特殊薬化学研究所」を「薬化学研究所」と改称。同年6月 同研究所を武蔵野市の医学部に移転。</p> <p>人事: 1948(昭和23)年12月 柳田昌一教授 就任(上海自然科学研究所より)。 人事: 1964(昭和39)年4月 上田武雄教授 辞任(北里大学薬学部長へ転出)。</p> <hr/> <p>注6) 薬化学研究所審議会議員(1944(昭和19)年11月10日付)議長:小泉信三塾長,議員:西野医学部長兼所長,阿部副所長,名取評議員,北島医学部顧問,茂木副院長,加藤専門部部長,小林教授,末吉教授,大森教授,仁田教授,西田教授(11名)。</p>	<p>1944年 ストレプトマイシン発見</p> <p>1946年 ジフェンヒドラミン(抗ヒ薬)合成, PAS再発見(抗結核薬)</p> <p>1947年 ワルファリンの合成(抗凝固薬)</p> <p>1948年 クロラムフェニコール発見</p> <p>1949年 スキサメトニウム再発見(筋弛緩薬)</p> <p>1949年 ヒドララジン(合成降圧薬)</p> <p>1952年 イソニアジド再発見(抗結核薬)</p> <p>1952年 クロロプロマジン合成, コルチゾン立体化学合成, エリスロマイシン発見</p> <p>1953年 テトラサイクリン発見</p> <p>1956年 秦藤樹マイトマイシンC発見(抗癌薬)</p> <p>1956年 トルブタミド合成(糖尿病薬)</p> <p>1957年 梅沢浜夫, カナマイシン発見</p> <p>1957年 フルオロウラシル合成(抗癌薬)</p>	<p>1945(昭和20)年(8/10)ポツダム宣言</p> <p>1945(昭和20)年(8/15)「終戦の詔」(天皇)</p> <p>1945年 湯川秀樹 ノーベル賞(日本人初)</p> <p>1956年 ペニシリンショック(日高朝雄法学部教授死亡)</p> <p>1957年 志賀潔逝去</p> <p>1960年 薬事法改正</p> <p>1961年 サリドマイド胎児事件,国民皆保険実施</p> <p>1967年 副作用モニター制度実施</p>
<p>挿話-1 第2期に於ける人事と慶應大医学部の戦災</p>		
<p>1. 1944(昭和19)年5月,慶應義塾大学医学部 阿部勝馬教授から,京都大学で同期の京都帝国大学 荻生規矩夫教授(薬理学)経由で,京都帝大医学部薬学科 高木誠司教授への「人材の推薦依頼」が届けられた。内容は,「京大化学研究所の様な研究機関を慶應義塾大学に作りたい」という事であった。高木教授から推薦を受けた,医学部薬学科分析学教室の上田武雄助教授は,「慶応大学医学部に薬学科が出来る」と判断して就任を受諾した。 京大医学部長の船岡省三教授は,空席の医学科薬理第2講座担当教授に上田武雄助教授を昇任させ,慶應義塾大学への赴任人事に配慮した。</p> <p>2. 1944(昭和19)年11月,慶應義塾大学医学部 薬化学研究所に赴任した上田教授が,着任挨拶で小泉信三塾長に面会した際,塾長から「口頭辞令」を受けた。当時の慶應義塾には「辞令交付」の習慣は無かった。上田教授は,薬化学研究所の「運営主宰者」で,医学部教授(所員)として医学部の教育と研究所での研究する仕事になった。なお,助教授2人と助手4人の教室員の人事構成となった。</p> <p>3. 1945(昭和20)年2月に,薬化学研究所に赴任した上田教授は,3月16日の記念式典で講演した。その後,5月のB29空襲(焼夷弾)で慶應医学部病院の80%を焼失した為,コンクリート建の薬化学研究所は,急遽,病室や分娩室に転用された。</p> <p>4. 1949(昭和24)年,東京帝国大学医学部薬学科 朝比奈泰彦教授(生薬学・天然物化学)のご推挙で,上海自然科学研究所主任研究員の柳田昌一博士が医学部教授(所員)として赴任され,薬化学研究所は,2研究室体制となった。</p> <p>5. 1956(昭和31)年,昭和20年10月から三鷹分校(旧中島飛行機工場)に移転していた研究所が,四谷校舎に復帰した。</p> <p>6. 1958(昭和33)年,柳田教授の病気は,数ヶ月後復職した。</p>		



<p><b>第3期.「医学部付属薬化学研究所」時代</b>  改組：1968（昭和43）年5月「医学部付属薬化学研究所」（牛場大蔵所長下で、研究所規定改正）  ①第一研究室（有機化学部門；柳田昌一教授，稲山誠一助教授，柴田徹一講師）  ②第二研究室（化学療法部門；豊島滋助教授，高橋廉講師）  ③その他，教授（兼担）（西垣貞男教授），客員教授（上田武雄教授），教室幹事（広瀬忠明助手，藤田晴久助手）  人事：1973（昭和48）年4月 豊島 滋教授就任。  人事：1974（昭和49）年3月 柳田昌一教授定年退職。  人事：1977（昭和52）年2月 稲山誠一教授就任  人事：1985（昭和60）年7月 豊島 滋教授死亡退職  人事：1991（平成3）年3月 稲山誠一教授定年退職。</p> <p><b>挿話－2 慶應義塾大学の薬学部（科）について</b>  1. 1964（昭和39）年11月，松林医学部長は，慶應義塾常任理事会に「慶應大学の薬学科創設」の了承を得た後，医学部教授会にこの件を掛けたところ「出費を強いる薬学科設立」より「医学部再建」が優先する，との結論であった。  2. 昭和50年代後半，日本の「遺伝子組み換え」研究が薬化学研究所の広瀬講師（稲山研究室）を中心に展開した時期に，稲山教授が，再び「薬学科（部）創設」を提唱したが，周囲の理解を得るまでには至らなかった。  3. 1994（平成6）年，星薬科大学粕谷学長と慶應義塾細田医学部長とで，医療薬学大学院の講義と病院実習に関する契約を締結。翌年星薬科大学南原新学長と慶應義塾細田医学部長とで，上記契約の実施を確認後，人事交流が開始された。例えば，慶應より星薬へ，池田教授が客員教授で，また吉田講師が教授で赴任した。  2003（平成15）年，当時の星薬科大学永井恒司学長と安西塾長とで，星薬科大学と慶應義塾大学の「法人レベル」の合併の話し合いが行われた。しかし，星薬科大学の理事会（大谷理事長）の反対で中止され，2004（平成16）年1月永井学長は免職処分された。  4. 2006（平成18）年8月25日，慶應義塾長の下に「法人統合検討委員会」を設置し，同日委員会を開催。  同年9月26日，共立薬科大学理事会は，慶應義塾との法人合併を可決。同年11月1日共立薬科大学評議員会（臨時）で慶應義塾との法人統合を可決。  同年11月6日，共立大学橋本理事長と慶應義塾安西塾長のトップ会談で，橋本理事長から安西塾長へ，「法人合併の申し入れ」が正式に為された。  同年11月15日，慶應義塾理事会は，共立薬科大学との「法人合併」を前提に協議に入る旨，を承認した。  2007（平成19）年3月19日，慶應義塾理事会は，共立薬科大学との法人合併と義塾大学薬学部・大学院薬学研究科の設置を可決。  同年3月20日，慶應義塾評議員会は，共立薬科大学との法人合併と慶應義塾大学薬学部・大学院薬学研究科の設置を可決した。  同年3月26日，慶應義塾・共立薬科大学合併の契約締結。基本合意書の合意事項に基き，2008年4月を目処に法人合併を行う事とした。  2008（平成20）年4月1日，慶應義塾・共立薬科大学合併と義塾大学薬学部・大学院薬学研究科を開設し，4月3日「転籍式」を行い，共立薬科大学在校生（学部と大学院生）は，全員義塾大学薬学部・大学院薬学研究科の所属となった。</p>	<p>1970年 スモン・キノホルム事件，コラルジル中毒  1973年 クロロキン中毒  1974年 医薬分業制度 3師会長合意  1975年 クロロキン訴訟  1975年 片桐・板倉，トリエステル法で，遺伝子合成法を發明  1977年 板倉・広瀬は，ソマトスタチンの合成遺伝子を用い，大腸菌で発現（世界初）  1978年 板倉・広瀬は，インスリンの合成遺伝子で，大腸菌で発現  1985年 インターフェロンβ 発売（ウイルス性肝炎，メラノーマ薬）（最初のサイトカイン薬）  1987年 インターフェロンα 発売（ウイルス肝炎，腎癌薬），  1990年 血液製剤でエイズ感染  1990-91年 小柴胡湯で，肝障害と肺繊維症報告  1991年 3種ワクチンで髄膜炎  1993年 ソルブジン事件  1993年 インターロイキン2 発売（血管）肉腫薬）  1995年 ICH/GCP（日米欧治験制度）の合意</p>	<p>1971年 ドルショック  1974年 GMP実施  1979年 副作用被害救済金  1980年 GMP法制化  1981年 GLP実施  1990年 GCP実施  1995年 阪神淡路震災（1/17）  1995年 地下鉄サリン事件（3/20）  1995年 インターフェロン自殺者発生</p>
<p>改組して，「医学部付属薬化学研究所」新たに「医学部付属先端医科学研究所」へ  改組：1996（平成8）年4月「医学部付属薬化学研究所」を廃止し，新たに「医学部付属先端医科学研究所」（猿田享男所長）  i) 細胞情報研究部門，ii) 分子医科学研究部門，iii) 生体制御部門，の3部門に改組した，薬化学研究所教員・職員を生体制御部門に配属。  人事：1997（平成9）年9月 河上裕教授就任</p>	<p>1996年 ICH-GCP 横浜会議，同年PL法（製造物責任法）  2001年 トラスツズナブ（乳癌薬）とリツキシマブ発売（非ホジキンリンパ腫薬）（最初の抗体医薬品薬）</p>	<p>1998年 C-JD（狂牛病）発生  2002年 薬事法大改正  2003年 SARS患者日本入国</p>



資料-3 薬化研教職員の慶應医学部の教育への関与

1. 学部教育に関する寄与

- ①講義：昭和40年～平成2年に稲山誠一教授が医学部専門部1年（3年）の医化学講義（生体有機化学）と医化学実習を担当した。また、平成3年～6年、柴田徹一講師は、医化学講義（生体高分子）の講義を担当した。
- ②実習：昭和40年～平成6年、有機化学部門は、医化学実習（機器分析：MS, NMR, IR, UV）を担当（医科大学で初）。
- ③特別実習：（学部5年）を学部教育に初めて導入した「3か月の研究経験（実習）」を実施し、研究所も毎年7名程引受けた（第一回目の実習では、その一人（忍足君）が最優秀賞を受賞）。

2. 大学院医学研究科と医科学研究科（平成6年開設）の修士課程と博士課程への寄与

- ①講義：昭和37年～39年に、大学院医学研究科（博士課程）の講義を柳田昌一教授と上田武雄教授が担当した。  
平成5年開設の医科学研究科では、修士課程の講義を、微生物学（瀬戸講師）、遺伝学（広瀬講師）、生物化学（川又講師）そして分子薬理学（柴田講師）を担当した。
- ②実習：微生物学（瀬戸講師）と分子薬理学（柴田講師）担当した。

3. その他、医学部付属厚生女子学院（含、高等看護学院）

- ①講義：昭和41年から平成2年まで、厚生女子学院（看護学校）本科の生化学講義を柴田講師と川又講師が担当した。
- ②実習：高等看護学院の併設に伴い、生化学（講義・実習）を有機化学部門の教職員全員が担当した。



資料-4 薬化研教職員の人事記録<sup>注)</sup>

1. 上田武雄教授は、在任期間（1945（昭和20）年3月～1964（昭和39）年3月）、その後、北里大学薬学部薬学部長に就任した（京都帝国大学医学部薬学科卒）
  2. 柳田昌一教授は、在任期間（1948（昭和23）年～1974（昭和49）年3月）、定年退職した（東京帝国大学医学部薬学科卒）
  3. 豊島 滋教授は、助手、助教授（1958（昭和33）年4月～1964（昭和48）年3月）後、教授在任（1973（昭和48）年4月～1985（昭和60）年7月）、死亡退職した、（慶應義塾大学医学部卒）
  4. 稲山誠一教授は、助手、講師、助教授（1964（昭和39）年2月～1977（昭和52）年3月）後、教授在任1977（昭和52）年4月～1991（平成3）年3月）定年退職後、東洋医学研究所 所長に就任した（東京大学医学部薬学科卒）
  5. 柴田徹一助教授は、助手、専任講師（1968（昭和43）年4月～1994（平成6）年11月）後、助教授（1994（平成6）年12月～1995（平成7）年3月）、選択定年で、東海大学医学部付属病院・薬剤部長（治験センター長）に就任した。その後、日本薬科大学教授に就任（東北大学医学部薬学科及大学院卒）
  6. 高橋廉専任講師は、助手、講師（1958（昭和33）年4月～1970（昭和45）年3月）、その後明治薬科大学薬学教授（薬品分析学）に就任（京都帝国大学医学部薬学科卒）
  7. 小倉治夫専任講師は、助手、講師（1958（昭和33）年4月～1991（昭和39）年3月）、その後北里大学薬学部教授（薬化学）に就任した（東京大学医学部薬学科卒）
  8. 瀬戸淑子専任講師は、助手、講師（1972（昭和47）年4月～2000（平成12）年3月）、その後、資源研セトラボ代表に就任した（日本女子大学卒）
  9. 藤田晴久専任講師は、助手、講師（1972（昭和47）年4月～2004（平成16）年3月）、定年退職した（帯広畜産大学卒）
  10. 川又健専任講師は、助手、講師（1975（昭和50）年10月～2004（平成16）年3月）、その後日本大学薬学部非常勤講師に就任した（東北大学医学部薬学科及大学院卒）
  11. 広瀬忠明専任講師は、助手、講師（1976（昭和51）年7月～2002（平成14）年3月）、慶應義塾大学医学部非常勤講師（医化学）に就任した（星薬科大学卒）
  12. 福島清吾専任講師は、静岡県立薬科大学・教授（生薬学）に就任した（東京帝国大学医学部薬学科卒）
  13. 田原昭専任講師は、理化学研究所主任研究員（有機化学）に就任した（東京大学医学部薬学科卒）
  14. 大木英二助手は、三共中央研究所主任研究員に就任した（東京大学医学部薬学科卒）
  15. 平倉実助手は、田辺東京研究所主任研究員に就任した（千葉大学薬学部卒）
  16. 二木玲二専任助手は、星薬科大学薬学部教授（放射化学）に就任した（東京大学医学部薬学科卒）
  17. 山川浩司助手は、八幡製鉄中研主任研究員（荒川鉄研究室）、東京理科大学薬学部教授（薬品製造学）に就任した（明治薬科大学薬学部卒）
  18. 高田純助手は、北里大学薬学部助教授の後、教授（薬品製造工学）に就任した（京都大学医学部薬学科大学院卒）
  19. 高木要助手は、北里大学薬学部助教授（薬品分析学）に就任した（京都大学医学部薬学科大学院卒）
  20. 辻忠和助手は、日本女子大学理学部教授（有機化学）に就任した（京都大学医学部薬学科卒）
  21. 中田公助手は、明治薬科大学薬学部教授に就任した（京都大学医学部薬学科卒）
  22. 村岡全子助手は、日本女子大学理学部教授（有機化学）に就任した（日本女子大学家政学部卒）
  23. 秋浜澄行助手は、明治薬科大学薬学部 教授に就任した（京都大学医学部薬学科卒）
  24. 古川潮助手は、熊本大学薬学部教授に就任した（九州大学医学部薬学科卒）
  25. 堀均講師は、徳島大学工学部助教授の後、同学部教授に就任した（京都大学薬学大学院卒）
  26. 永沢秀子助手は、徳島大学工学部専任講師の後、岐阜薬科大学薬学部教授（薬化学）に就任した（岐阜薬科大学薬学部卒後、京都大学薬学大学院卒）
  27. 青木公子助手は、昭和大学薬学部専任講師（衛生化学）の後、日本大学薬学部教授（薬物動態）に就任した（筑波大学理学部卒）
  28. 福島紘司助手は、東京 SMO（事業部長）に就任した（北海道大学薬学部卒）
  29. 播磨屋健蔵講師は、明治製菓中央研究所（主任研究員）に就任した（東北大学薬学部卒）
  30. 星野忠夫助手は、佐藤病院（厚木市）（副病院長）に就任した（慶應義塾大学医学部卒）
  31. 長原勝彦助手は、北里大学薬学部助教授に就任した（北里大学衛生学部化学科卒）
  32. 岡本義久助手は、北里大学理学部教授に就任した（北里大学衛生学部化学科卒）
  33. 大倉多美子助手は、慶應義塾大学医学部助教（先端医学研究所）に就任した（東京薬科大学薬学部卒）
  34. 福岡万里子助手は、慶應義塾大学医学部 助教（先端医学研究所）に就任した（明治薬科大学薬学部卒）
  35. 桜井敏晴助手は、慶應義塾大学医学部助教（先端医学研究所）に就任した（昭和大学薬学部卒）
- 注) 戦後医学部の「助手の任用期間」は、有給と無給の交代等の慣習などで、本稿の調査期間内では特定できない教員が見出された。その為、講師任用記録も不備の例もあった。



## 資料-5 薬化学研究所 研究業績

## I. 有機化学部門

## 1. 柳田昌一教授

1- $\alpha$ -サントニン(回虫駆除シナ花の有効成分)の立体化学とウスニン酸(代表的地衣植物成分)の化学的比較研究

- ① $\Delta(1,4\text{-dien-3-one})$ は、ウスニン酸とサントニンに共通し、その転移反応の解析などの反応性の研究(柳田, 福島, 平倉)(J. Org. Chem., 27(8), 2948 (1962) など 24 報)。
- ②1- $\alpha$ -サントニンの還元で54種の立体異性体(6個の連続した不斉炭素で,  $2^n=64$ 種)のほぼ全異性体を合成した。なお、「薬学研究」に立体有機化学の総説を執筆した。
- ③eq-axの配位異性とchair-boatのconformation異性など、熱安定性を配慮した構造解析を広範囲に検討した(田原, 稲山, 小倉, 山川, 平倉, 柴田)。
- ④サントニンとウスニン酸に共通する, 4,4-dimethylと2,4,4-trimethyl置換cyclohexadienone合成や基本化学構造と駆虫作用など薬理作用との相関を確定した(稲山)。
- ⑤1- $\alpha$ -サントニンのtetrahydro非ジエノン誘導体3種( $\alpha, \beta, \gamma$ )の立体異性体の構造を解明した。更に、テトラヒドロサントニンの核間配位(C10/C5)での, トランス(10 $\beta$ /5 $\alpha$ )とシス(10 $\beta$ /5 $\beta$ )の反応性は、ステロイドのA/B環と同様に、トランスが強かった(田原, 日本薬学会奨励賞受賞)。
- ⑥柳田教室から稲山講師が渡米して、ウッドワード教授(ハーバード大学)チームに参画し、河豚毒「テトロドトキシン」の化学的全合成の一翼を担った(化学の領域, 19(5))。

## 2. 稲山誠一教授

## 1. 助教時代より継続した研究

- ①双環系ジェンの反応性研究。
- ②線形ジェンに対する、ミハエル付加の立体特異的反應経路を解明(稲山, 第一回立体化学討論会)。
- ③ $\alpha$ -ハロケトンデカロンに於けるハロケトン側鎖の立体配座の分別で、IR(赤外線)の各吸収波長による経験則を確立。そして、ORD(旋光分散)とCD(円二色性)吸収とNMR(核磁気共鳴)で、「 $\alpha$ -ハロケトン則」の一般則を確立した。教授就任後に、この「ケトン則」をX線結晶解析で証明し、裏付けた。

## 2. アメリカインディアンの民間薬(Gaillardia属植物)からの薬理活性物質の単離とその薬理作用の研究(川又)

- ①菊科植物“てんにんぎく”(Gaillardia族)から、「抗腫瘍と抗炎症」を併せ持つセスキテルペンアルカロイド類のpulchellidoneとプソイドグアイアン型セスキテルペノイドを多数単離・同定し、その絶対配位を含む全立体構造を決定した。また、三環性の新規ボルケロン化合物尾も単離し、上記化合物から変換した。これら化合物の抗腫瘍性との相関及び生合成的関連性を解明した。また、ブタクサの起炎性成分、アンブロシク酸の構造決定とX線結晶解析で確認した(関田)。生薬資源の漢方薬「郁金」からcurcumol, curdioneなどの多数のゲルマクラン型セスキテルペン化合物を単離し、絶対構造と10員環型化合物の立体配座解析を行った(川又:松永賞受賞)。
- ②多くのセスキテルペン化合物に共通の官能基、 $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ラクトンから $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ブチロラクトン基への選択的変換法の開発と、後者の系統的な生物活性(制癌作用)の検討を行った(川又)。PseudoguanolideとGuaianolide類の抗腫瘍性と構造活性相関(播磨谷)。加水分解酵素(リパーゼなど)を利用して、各種双環系化合物へ、不斉導入した(第40回香料・テルペン討論会(清水))。
- ③ $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ブチロラクトンの分子軌道法計算(MINDO/2)で、電子親和性と抗腫瘍性に良好な相関性を得た(26回IUPAC)。
- ④上記計算法を、マイトマイシン系に適用して、「定量的構造活性相関」(QSAR)を得た。固形癌と腹水癌への効果と電子親和性や双極子率との相関性を提示した(大阪)。
- ⑤上記の研究とは別に、川又講師は、P. Delongchamps教授(カナダ, シャーブルック大)と共同でエリスロマイシンAの全合成(形式的)を達成した。

## 3. コラーゲン代謝研究の「組織コラーゲン定量法」(KISO法)開発と精密化(KISOFIA法)、これを外科・内科治療のEBM手段とした(柴田)

- ①エールリッヒ以来の発色による「コラーゲン定量法」(誤差15%)を、脱水カラムで誤差5%以下の「KISO法」とし、「外科治療の術式比較評価法」とした(コラーゲン研究法)。
- ②KISO法を、フローインジェクション装置(FIA)に組み入れ「KISOFIA法」として、執刀外科医が自分で測定しても、実験誤差を1%以下を保障できた(武田賞(奨励賞)受賞)。
- ③これらの測定法で、塾内では一般・消化器外科(阿部教授)各班(食道, 胃, 肝胆膵, 大小腸など)と共同研究。肺外科(石原助教授)とは、癌切除後の再建術を比較して「標準術式」を提示した。また、東海大学消化器内科(三輪教授)と、胃潰瘍の病態解析や抗潰瘍薬の作用機序を「組織生化学」で解明して、 $H_2$ 阻害薬の「コラーゲン分解酵素阻害作用」であり、 $PGE_1$ は「二次的組織損傷完全抑制」である事を報告した。その他、南は鹿児島大から北は弘前大までの外科・内科と、40以上の組織の「創傷治癒」研究で50報以上報告となった。
- ④消化器外科の研究で、手術に用いる「メス, 縫合糸, 吻合法など」基本操作の材料や機器を予後で比較して、各々用いる手術材料や術式の選択順位を提示した。



⑤上記組織コラーゲンの新評価法を、進展させ「型別にコラーゲン」の i) 合成酵素活性と ii) 分解酵素活性そして iii) 組織内コラーゲン測定 (TFA 系)、この 3 つの新測定法研究方式を、「KOsmart I~III 法」と命名した。現在、本法は、唯一の「再生医療の定量的評価法」として、前臨床や臨床実験に応用されている。研究会が「再生医療学会」への改組時に柴田 (治験センター長併任) が、世話人 (4 人) に組み入れられた為であろう。

⑦なお、柴田の他分野の研究は、1981 (昭和 56) 年塾費派遣留学生制度で NIH (P450) と Tulane 大学 (GRF) で 1 年 4 ケ月研究した (J. Biol. Chem. 258(9)). その他、同時期に Tetrahydrosantonin-dithioacetals で、S 原子空 d-orbital 関与で、不斉炭素を認識する「電子を伝道する軌道が拡大する現象」を「DOPAR」とした (Heterocycles 30 巻)。

#### 4. 遺伝子の化学合成とその応用 (広瀬)

①1975 年カナダ NIH で片桐・板倉が開発した「Triester method」を、板倉博士はシティーホープ研究所 (USA) で応用研究を実施する際、稲山教室から広瀬講師が渡米した。1977-8 年、板倉・広瀬は、ソマトスタチンとインスリンの人工遺伝子 DNA を有機化学的に全合成して、大腸菌で発現させた (1978 年、世界科学トップニュース)。

②広瀬は帰国後、「ターゲット蛋白の DNA」の部分オリゴマープローブを化学合成して、これで遺伝子をクローニングし、全遺伝子を解析する研究を開始した。さらに、広瀬は、京都大学の沼、中西両教授をはじめ、国内の多くの研究機関との共同研究を行い、原報 (Nature, PNAS など) 50 報以上と著書・総説 20 編以上を著した (広瀬講師) (モルヒネ活性ペプチド、ニコチン性およびムスカリン性アセチルコリン受容体、副腎皮質刺激放出ホルモン (CRF)、サブスタンス P、(Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>) ATPase、Na および Ca チャネル等)。

#### 5. 放射線像感剤の開発研究 (堀、永沢)

放射線像感剤 KIN806 など 2-nitroimidazole 誘導体を合成して、低酸素細胞を標的とした腫瘍成長抑制と転移抑制効果など、基礎から実用化研究までを行った。

#### 6. 東洋医学と西洋医学の総合・融合の開発研究 (大倉)

「東西医療実の融合的アプローチ」のテーマで、皮膚インピーダンスによる特定生体制御反応のシステムの定量化をした。次に、次の段階での「各器管の異常性」を予測解析できる予防診断装置の開発に成功した (NEDO 大学発実用化開発事業)。

## II. 化学療法部門

### 1. 上田武雄教授

1. 砒素系化学療法薬の研究：サルバルサン 606 号より、「有効で、毒性の低い」駆梅毒の研究 (豊島滋、第 1 回慶應医学会・三四会賞受賞)

2. 「抗ウイルス性化学療法剤の研究」：日本脳炎の症状改善に著効した PANS<sub>610</sub> (p-aminonaphthylene-dodecasulfonnamido-1) の製造許可を受けた (上田武雄：昭和 30 年度日本薬学会学術賞受賞)

### 2. 豊島滋教授

1. 抗腫瘍薬の創薬研究：副作用の無い安全性の高い抗腫瘍薬の創製を目標に、藤田講師を中心に最も精力的に探索研究が行われた。アミノ酸誘導体とシリコン化合物の中から、数種の有望な化合物が選択され、前臨床試験の段階に至ったが、豊島教授の発病と病死により全て中止になった。

2. 抗ウイルス性薬開発のための基礎研究：

(1) インフルエンザウイルス肺炎 (藤田講師)。

(2) B 型肝炎ウイルスの HB<sub>s</sub> 抗原の迅速検出のための RIA 法の確立 (瀬戸講師)。RIA 法により見出された肝炎ウイルス不活性化消毒薬として、イルガサン DP300 と CAE (グルタミン酸誘導体) が商品化された (杉本)。

(3) 糖尿病誘発ウイルスの探索及びベネズエラ脳炎ウイルス隣親和性ウイルス株の単離とその感染によるゴールデンハムスターの糖代謝異常病態の発症機序解析 (瀬戸講師)。

3. 抗糖尿病薬の研究：インスリンの内服を可能にするため、インスリンと併用して経口投与し、インスリン活性本体の消化管吸収を図ることを試みた。手始めに、各種の消化酵素阻害剤について検討し、PAS (p-アミノ安息香酸)、さらに、ある種の小ペプチドなどにもインスリン吸収促進作用のあることを見出した (豊島教授、瀬戸講師)。その後、併用化合物自体、特に、ある種の D-フェニルアラニン誘導体に、強いインスリン分泌刺激作用と血糖効果作用を示す化合物をみいだした。

そこで、既存の糖尿病薬とは異なる新しい構造の糖尿病薬開発を目指し、味の素中央研究所の化学者と協力して、化学構造の最適化を展開し、速攻型インスリン分泌刺激薬「ナテグリニド」を創製した (慶應大薬化研と味の素中研)。

A-4166 (フェニルアラニン誘導体) がインスリンの血中濃度を上昇させたので「インスリン血中濃度上昇薬」として、1986 年に米国特許を得た。現在「速効性インスリン分泌促進薬 (食後血糖降下薬)」、一般名「ナテグリニド」として、味の素一三共他で、発売している (瀬戸)。

本薬の作用機序は、既存のスルフェニル尿素やグリベンクラミドと異なり、また、グリベンクラミドよりインスリンの放出が早い特徴がある (なお、慶應義塾に、「ナテグリニド記念豊島研究教育資金」が平成 14 年に豊島・瀬戸の寄附で設立された)。

4. 液体クロマトによる糖化ヘモグロビン (HbA<sub>1c</sub>) の定量法：糖尿病患者の血中糖化ヘモグロビンの指標、HbA<sub>1c</sub> 研究の初期のころから、分析法、基準範囲そして標準化の問題点の解釈に、先駆的な仕事が継続してなされ、注目されて来た。生体成分 (カテコールアミンなど) の他のマーカーにも、液体クロマト (HPLC) を用いて多くの業績をあげてきた (星野)。



資料-6 薬化学研究所 研究業績報告数 (分類一覧)

西洋暦 (日本暦)	教室名・ 部門別	論文数		学会報告		シンポジウム		著書		総説		部門別 在籍者数 (教員・職員)							
		英文	和文	国際 学会	国内 学会	国際 学会	国内 学会	英文	和文	英文	和文	教授	兼/客 教授	助教 教授	専任 講師	兼任 講師	助手 有給	助手 無給	職員
1961年 (昭和36年)	上田研究室	4	—	—	9	—	—	—	—	—	—	1	1	1	1	3	15	2	
	柳田研究室	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	2	1	3	—	2	
1962年 (昭和37年)	上田研究室	11	1	—	4	—	—	—	—	—	—	1	1	1	1	3	15	2	
	柳田研究室	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—	2	1	3	—	2	
1963年 (昭和38年)	上田研究室	14	—	—	7	—	—	—	—	—	—	1	1	1	1	3	16	3	
	柳田研究室	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	2	1	3	—	—	
1964年 (昭和39年)	上田研究室	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	2	1	1	1	3	15	3	
	柳田研究室	5	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	2	4	—	—	
1965年 (昭和40年)	上田研究室	—	—	—	6	—	—	—	—	—	—	2	1	1	1	3	15	2	
	柳田研究室	—	—	—	2	—	—	—	—	1	1	—	1	—	2	4	—	2	
1966年 (昭和41年)	上田研究室	5	—	—	7	—	—	—	—	—	—	2	1	1	—	4	17	2	
	柳田研究室	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	4	—	2	
1967年 (昭和42年)	上田研究室	1	—	—	11	—	—	—	—	—	—	2	1	1	3	4	6	2	
	柳田研究室	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	1	1	1	2	4	—	2	
1968年 (昭和43年)	上田研究室	—	1	—	10	—	—	—	—	—	—	2	1	1	3	4	6	2	
	柳田研究室	—	—	3	3	—	—	—	—	—	—	1	1	1	2	3	—	2	
1969年 (昭和44年)	上田研究室	—	3	6	8	—	—	—	—	—	—	2	1	1	2	4	7	2	
	柳田研究室	4	—	—	2	—	—	—	—	—	—	1	1	1	2	3	—	2	
1961-1969 報告数小計	上田研究室	35	4	6	66	0	0	0	0	0	1	—	—	—	—	—	—	—	
	柳田研究室	11	0	4	13	0	0	0	0	0	1	—	—	—	—	—	—	—	
1970年 (昭和45年)	第一研究室 (柳田研)	3	—	1	2	—	—	—	—	—	3	1	2	1	1	2	4	7	2
	第二研究室 (豊島研)	5	4	—	6	—	—	—	—	1	—	—	1	—	1	4	—	1	
1971年 (昭和46年)	有機化学部門	1	—	—	6	—	—	—	—	—	—	1	1	1	—	4	6	2	
	化学療法部門	3	3	4	16	—	—	—	—	1	3	—	1	—	1	4	—	1	
1972年 (昭和47年)	有機化学部門	2	—	—	6	—	—	—	—	—	—	1	1	1	—	4	6	2	
	化学療法部門	—	7	—	12	—	—	—	—	5	—	—	1	—	1	4	—	1	
1973年 (昭和48年)	有機化学部門	2	—	—	11	—	—	—	—	—	3	1	1	1	—	4	4	1	
	化学療法部門	—	4	—	8	—	—	—	—	4	—	1	—	2	1	4	—	1	
1974年 (昭和49年)	有機化学部門	2	—	—	2	1	3	1	—	—	—	1	1	1	—	4	3	1	
	化学療法部門	3	3	—	20	3	—	—	—	4	1	—	—	2	1	4	—	1	
1975年 (昭和50年)	有機化学部門	2	—	—	7	—	1	1	—	—	2	—	1	1	1	4	3	1	
	化学療法部門	4	3	—	19	—	—	—	2	—	6	1	—	2	1	4	—	2	
1976年 (昭和51年)	有機化学部門	3	—	—	7	—	1	—	—	—	—	1	1	1	2	4	3	1	
	化学療法部門	1	17	1	11	—	1	—	—	—	—	1	—	2	1	3	—	2	
1977年 (昭和52年)	有機化学部門	6	—	—	15	3	2	—	—	—	1	2	—	2	2	3	—	1	
	化学療法部門	6	1	1	23	—	—	—	3	—	1	1	—	2	1	3	—	2	
1978年 (昭和53年)	有機化学部門	10	—	2	13	—	—	—	—	—	—	1	2	—	3	2	4	—	1
	化学療法部門	6	10	4	14	—	—	—	3	—	1	1	—	2	1	3	—	1	
1979年 (昭和54年)	有機化学部門	11	2	1	20	1	3	1	1	—	1	1	2	—	3	2	4	—	1
	化学療法部門	4	—	2	15	1	1	—	3	—	10	1	—	2	1	3	—	1	
1980年 (昭和55年)	有機化学部門	19	5	—	17	—	5	—	2	—	—	1	2	—	3	2	4	—	1
	化学療法部門	2	—	1	27	—	1	1	5	2	16	1	—	2	1	3	—	1	
1981年 (昭和56年)	有機化学部門	17	4	4	46	—	—	2	—	—	—	1	2	—	3	2	4	—	1
	化学療法部門	2	1	—	37	3	2	—	—	—	14	1	—	2	1	4	—	1	
1982年 (昭和57年)	有機化学部門	21	1	3	38	3	3	1	—	—	—	1	2	—	3	3	4	—	1
	化学療法部門	1	2	1	13	—	1	2	—	—	—	1	—	2	1	4	—	1	
1983年 (昭和58年)	有機化学部門	30	3	1	53	—	1	4	1	—	—	1	2	—	3	4	4	—	1
	化学療法部門	4	2	1	6	2	—	—	1	—	2	1	—	2	1	3	—	1	



柴田：慶應義塾大学「薬化学研究所」

1984年 (昭和59年)	有機化学部門	25	—	—	27	—	—	2	—	—	2	1	2	—	3	5	4	—	1
	化学療法部門	4	2	7	14	—	—	—	—	—	—	1		—	2	1	3		2
1985年 (昭和60年)	有機化学部門	18	7	3	51	—	—	6	1	—	—	1	2	—	3	6	4	—	1
	化学療法部門	5	4	6	20	—	—	5	—	—	1	1		—	2	1	3		2
1986年 (昭和61年)	有機化学部門	33	6	—	52	4	—	6	1	—	1	1	2	—	3	6	4	—	1
	化学療法部門	7	5	1	18	—	—	—	—	—	—	1		—	2	2	3		2
1987年 (昭和62年)	有機化学部門	24	12	3	44	6	—	1	2	—	5	1	2	—	3	6	4	—	1
	化学療法部門	7	—	1	24	3	—	—	—	—	—	—		—	2	1	3		2
1988年 (昭和63年)	有機化学部門	31	10	—	24	1	—	—	3	—	4	1	1	—	4	6	3	—	1
	化学療法部門	5	—	6	18	—	—	—	—	—	—	—		—	2	1	3		2
1989年 (平成1年)	有機化学部門	24	8	6	26	—	—	2	2	—	2	1	1	—	3	8	4	—	1
	化学療法部門	4	1	3	13	—	—	—	—	—	—	—		—	2	1	3		2
1990年 (平成2年)	有機化学部門	18	11	4	20	—	1	1	—	—	4	1	2	—	3	8	4	—	1
	化学療法部門	1	4	2	13	—	—	—	—	—	—	—		—	2	1	3		2
1991年 (平成3年)	有機化学部門	6	—	—	11	—	—	1	2	—	1	—	3	—	3	7	4	—	1
	化学療法部門	2	—	2	14	1	—	1	3	—	—	—		—	2	1	3		1
1992年 (平成4年)	有機化学部門	1	5	2	11	2	—	1	—	—	—	—	3	—	3	7	4	—	1
	化学療法部門	3	—	—	15	—	—	1	2	—	—	—		—	2	1	3		1
1993年 (平成5年)	有機化学部門	2	2	6	14	—	—	1	1	—	—	—	3	—	3	5	4	—	1
	化学療法部門	3	1	—	13	—	—	1	2	—	—	—		—	2	—	3		1
1994年 (平成6年)	有機化学部門	5	1	—	7	—	1	—	—	—	—	—	3	1	2	5	3	—	1
	化学療法部門	4	1	5	6	—	—	—	—	—	6	—		—	2	—	3		1
1995年 (平成7年)	有機化学部門	—	1	3	4	—	—	—	—	—	—	—	3	—	2	1	3	—	1
	化学療法部門	4	3	4	8	—	1	—	—	—	—	—		—	2	—	3		1
1996年 (平成8年)	有機化学部門	3	1	1	3	—	—	—	—	—	—	—	3	—	2	1	3	—	1
	化学療法部門	3	3	1	11	—	—	—	—	—	—	—		—	2	—	3		1
1970-1996 累計報告数	有機化学部門	319	79	50	537	21	22	31	18	0	28								
	化学療法部門	93	81	53	414	13	6	10	21	13	64								



綜 説

## 食道癌集学的治療の現況と展望

慶應義塾大学医学部外科学

きたがわ ゆうこう  
北川雄光

### はじめに

開胸を行うことすら極めて危険であった 20 世紀初頭においてすでに食道切除術に挑んだ先達がいる。1930 年代には手術死亡率は 50% という高率であり、食道癌治療は困難を極めていた。1960 年代に入り、千葉大学中山恒明教授らが手術手技を大きく発展させ、我が慶應義塾大学外科は、当時の赤倉一郎教授の指導の下、千葉大学、東北大学と並んで食道外科御三家と称されるようになった。食道癌は消化器癌の中でも生物学的悪性度が高く、解剖学的な局在から外科的治療における侵襲も高度である。手術療法自体や周術期管理が大幅に発展し、今日では長期成績が改善されたものの切除例の 5 年生存率は、専門的な施設でも 60% 程度に留まっているのが現状である。一方、食道癌は他の消化器癌に比して化学療法や放射線療法などの非外科的治療も比較的奏効することもよく知られている。近年、高齢化社会の進行によって、耐術能不良症例も増加し、食道癌の遠隔治療成績の向上のためには、集学的治療の適正な導入、最適化に向けた臨床試験の遂行が極めて重要となってきている。治療の標準化からさらに個別化に向けて食道癌の集学的治療の現状と展望について述べる。

### 食道癌の疫学—最近の動向—

食道癌の組織型や占居部位などの臨床特性がアジア諸国と欧米では大きく異なる。本邦においては、扁平上皮癌が全体の 90-95% を占め、解剖学的局在としては胸部中部食道癌が約半数を占める。一方、欧米では胸部下部、腹部食道、あるいは食道胃接合部の腺癌が多く、近年の肥満傾向、これに伴う胃食道逆流症の頻度の増加から、Barrett 腺癌を含む食道腺癌が増加している<sup>1)</sup>。したがって、欧米で展開されている臨床試験の結果をその

表 1 食道扁平上皮癌と腺癌

危険因子	扁平上皮癌	腺癌
<b>Definite</b>		
Barrett 食道	None	40-fold increased risk
喫煙 (Current)	[HR] 9.2	[HR] 3.7
(Former)	[HR] 4.35	[HR] 2.82
飲酒*	[OR] 24.5	No Evidence
Body Mass Index	low BMI (低栄養)	high BMI (胃食道逆流との関連)
食道アカラシア	increased risk	increased risk
<b>Controversial</b>		
<i>H. pylori</i> 感染	increased risk (gastric atrophy)	decrease risk

HR : hazard ratio, OR : odds ratios

まま本邦の食道癌治療戦略に応用することは困難である。食道扁平上皮癌と腺癌では背景となるリスクファクターも大きく異なる。食道扁平上皮癌では喫煙、アルコール摂取、低栄養が危険因子となるが、腺癌ではアルコールとの関連は明確でなく、肥満傾向が危険因子となる(表 1)。また、治療に際して、扁平上皮癌と腺癌では、リンパ節転移分布、生物学的特性も異なり、外科的切除に際してのアプローチ、集学的治療の位置づけも異なることに注意が必要である。

### 食道表在癌に対する治療戦略

図 1 に日本食道学会による食道癌診断・治療ガイドラインにおける治療アルゴリズムを示す<sup>2)</sup>。リンパ節転移の可能性のない、一定の条件を満たす粘膜癌は内視鏡的治療の対象となり、遠隔臓器転移を伴う切除不能進行癌は化学療法、化学放射線療法などが行われる。これらについてはあまり議論の余地のないところである。アルゴリズムにおけるこれら以外の中間病期の食道癌の治療方



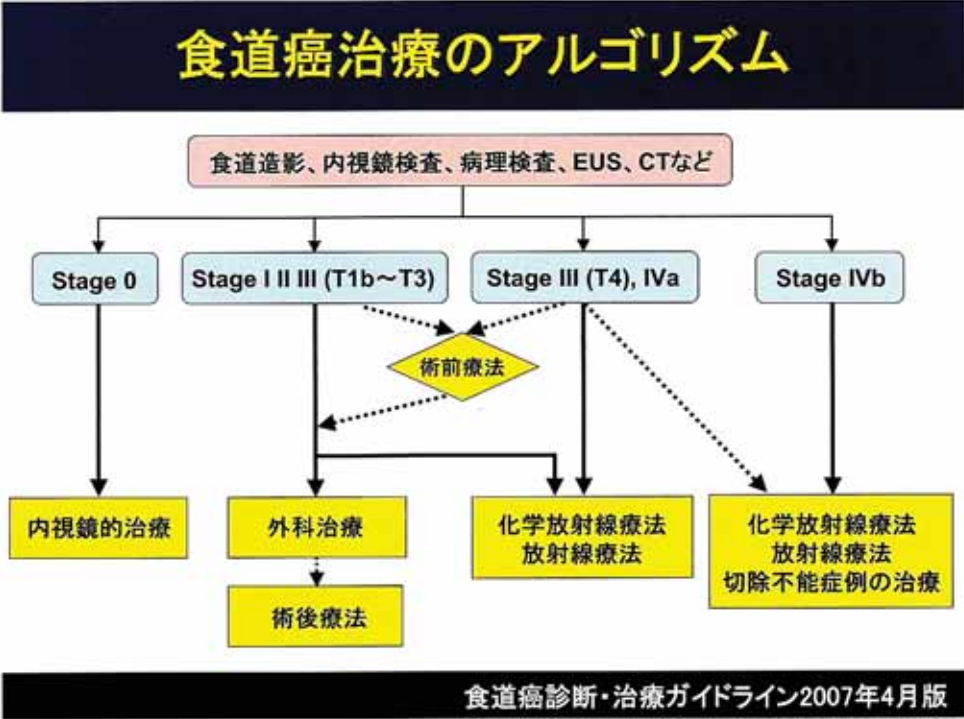


図1 食道癌診断・治療ガイドラインにおける治療アルゴリズム

針ははまだ一定の結論に収束していない。現在、これを検討するための臨床試験が複数進行中である。

食道扁平上皮癌においては、粘膜癌でも粘膜筋板に達するとリンパ節転移を認めることが知られている。したがって内視鏡的粘膜切除術 (Endoscopic mucosal resection, EMR) や内視鏡的粘膜下層剥離術 (Endoscopic submucosal resection, ESD) などの内視鏡的治療の絶対的適応は深達度が粘膜固有層までにとどまる粘膜癌に限定される。深達度 M3 以深の表在食道癌については、その潜在的リンパ節転移のリスクを考慮して臨床的にリンパ節転移陰性 (cN0) でも広範なリンパ節郭清を伴う根治術の対象となってきた。しかし、高度の外科的侵襲を伴う根治術では、合併症による他病死も無視できない。Japan Clinical Oncology Group (JCOG) では従来、耐術能不良例や手術拒否例に対して行われていた cT1N0 食道癌に対する根治的放射線の第 II 相臨床試験を施行した (JCOG9708)。その結果、従来の手術療法に匹敵する長期成績が観察され、現在、臨床病期 I (cT1bN0M0) の胸部食道扁平上皮癌を対象に食道切除術と根治的放射線療法とのランダム化比較試験が JCOG0502 として開始されている。この試験では非ランダム化部分のデータ登録を取り入れている。極めて性質の異なる 2 つの治療法をランダム化することの困

難性を予想した研究デザインとなっている。ところが、実際に試験を開始してみると、この 2 つの異なる治療のランダム化に同意する症例は予想以上に少なく、こうした性質の第 III 相臨床試験の困難性が浮き彫りとなった。

リンパ節転移が否定し得ないが、その頻度が比較的低い M3/SM1 癌の治療方針に関しては、近年多くの議論がある。局所に関しては内視鏡的治療で制御可能な病変に対して、まず診断的 EMR/ESD を施行してその病理組織所見から追加治療を決定する試みもなされている。そうした観点から計画された JCOG0508 (図 2) は、SM 1-2 が疑われる食道扁平上皮癌を対象に、まず EMR を行って病理組織学的所見を確認した上で、経過観察、予防的放射線療法、根治的放射線療法という段階的な治療方針が選択される。より負担の少ない治療から段階的に適用する戦略として、合理的かつ魅力的な治療戦略である。

食道表在癌においては、潜在的リンパ節転移の有無が治療方針に大きく影響することは明らかであるが、治療前の画像診断によって確定診断を得ることは困難である。また、リンパ節転移部位は、広範かつ多彩であり、腫瘍の占居部位からその症例における転移危険部位を予測することは容易でない。そこで、慶大外科では、センチネルリンパ節 (sentinel node, SN) の概念をこの領域に応



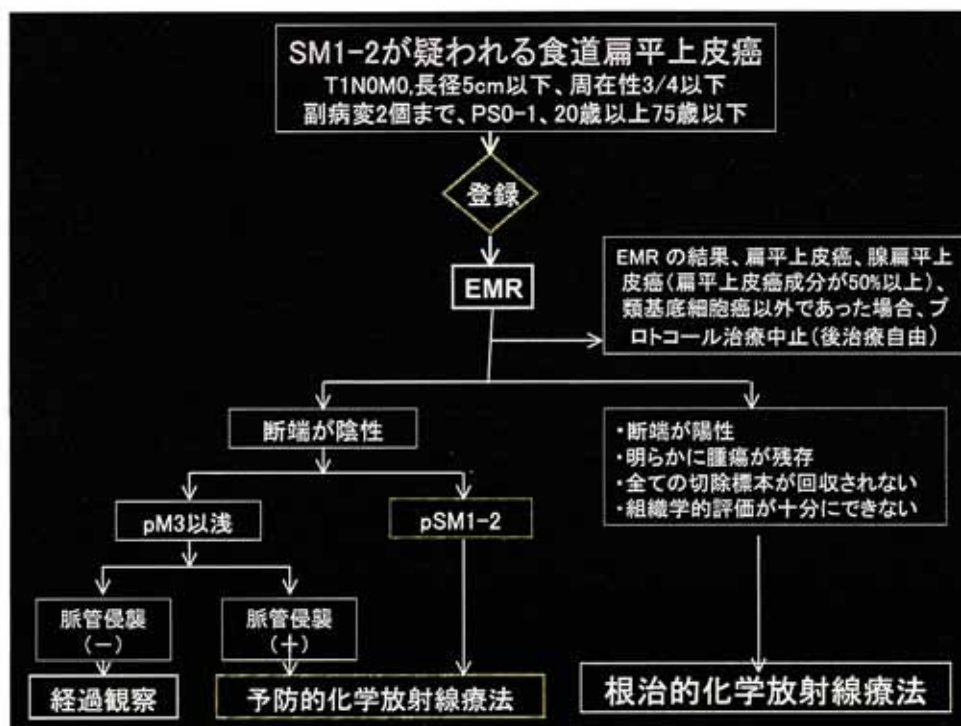


図2 JCOG 0508：粘膜下層浸潤臨床病期I期（T1N0M0）食道癌に対するEMRと化学放射線併用治療（CRT）の有効性に関する第II相試験

用することを検討してきた。

SNとは、腫瘍から最初のリンパ流が到達するリンパ節のことであり、最初のリンパ節微小転移が発生する場所と考えられている（図3）。このSN理論が正しければ、SNにリンパ節転移がない場合、その他のリンパ節転移は生じていないと判断することが可能である。sentinel node navigation surgery (SNNS)とは、SNの分布とSN生検による転移の有無を指標として、リンパ節郭清を個別的に縮小ないし省略し、それに伴って切除範囲を最小限とすることを目的とした手法である。

すでに悪性黒色腫や乳癌では、SN理論の妥当性、臨床的有用性が実証され、乳癌におけるSN転移陰性例での腋窩リンパ節郭清の省略など、SN転移診断に基づく個別化縮小手術が実践されている。消化器癌では早期胃癌において単施設報告ではあるものの、良好なSN生検の報告がなされており、現在SNNS研究会による早期胃癌におけるSN理論の妥当性を検証する多施設共同研究が行われ、その結果が注目されている。一方、食道癌でSN理論が成立するのかは現時点で明確なエビデンスがないのが現状である。われわれは1999年より食道癌に対するSN同定を試み、食道癌ではじめてその臨床的有用性を報告している<sup>3)</sup>。食道癌におけるSN同定・

生検法として、術前内視鏡下に<sup>99m</sup>テクネシウムスズコロイドを病変直下の粘膜下層に0.5 mlずつ全周4箇所注入している。このradioisotope法ではトレーサーを病変部へ投与した後、SN同定のための術前シンチグラフィにより、SNの撮像、同定が可能である。とくに食道癌に対しては、その多彩なリンパ節転移分布状況から、術前のシンチグラフィによりSNの部位を把握しておくことはきわめて有効である。さらに術中、SNに移行した<sup>99m</sup>テクネシウムスズコロイドのradioactivityを小型ガンマプローブにて検索し、SNを同定している。われわれは2007年までに約100例の食道癌根治手術症例に対してSN生検を施行しており、cT1N0、cT2N0食道癌症例では良好なSN同定率、リンパ節転移検出正診率を報告した<sup>9)</sup>。一方でcT3症例やcN1・sN1症例、術前化学放射線療法例では、本来存在したリンパ流が腫瘍や照射により破壊、変更されたことによるSN同定不能例や偽陰性例（SNに転移がみられないのに実際はSN以外のリンパ節に転移が認められる症例）が時折みられるため、現時点でのSN同定・生検の適応として慎重であるべきと考えている<sup>3)</sup>。

これまでの成績からcT1bN0食道癌においてはSN分布状況、転移状況に応じて、画一的な3領域郭清を避



## 食道癌におけるセンチネルリンパ節理論

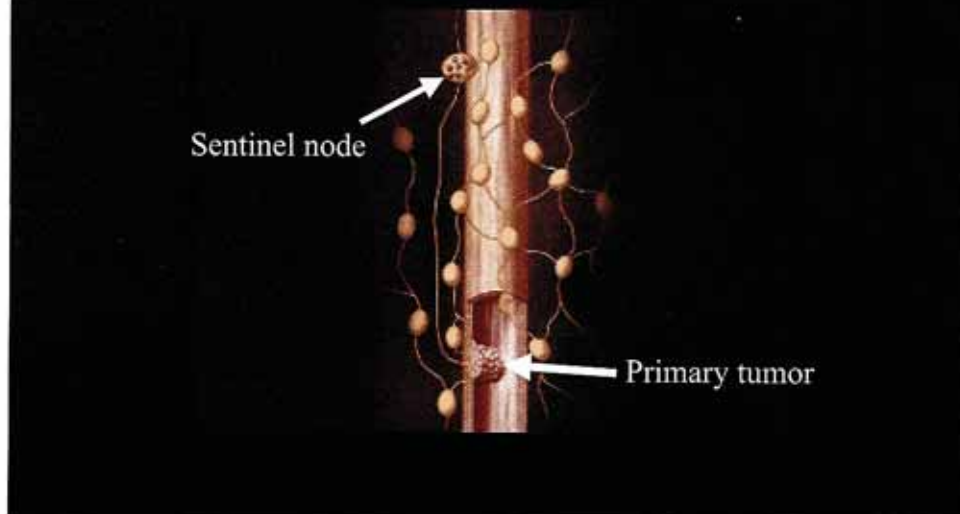


図3 食道癌におけるセンチネルリンパ節

け、個別的な郭清省略領域を策定することが可能である。例えば食道胃接合部癌においてSNが腹部だけに存在し、しかもSNに転移が認められない場合は縦隔リンパ節郭清を省略することが可能である。一方SNが縦隔内に存在する場合はSNを含めた縦隔リンパ節郭清を積極的に施行すべきであろう。今後、進行食道癌でのSN生検の精度を上げていく工夫が必要であるが、少なくともlymphatic mappingは表在癌のリンパ節郭清領域の設定に有用であると考えられる。

### 外科的切除を主軸とした 進行食道癌治療戦略の動向

本邦においては切除可能な臨床病期Ⅱ・Ⅲ食道癌治療に対する治療は外科的切除を中心に行われてきた。扁平上皮癌切除例におけるリンパ節転移分布について蓄積されたデータから頸部・胸部・腹部に渡る広範かつ多彩なリンパ節転移の実態が明らかとなった<sup>6)</sup>。1980年代中頃からは、頸・胸・腹3領域リンパ節郭清が導入され一定の成果を上げている<sup>7,8)</sup>。胸部食道の扁平上皮癌については欧米でもこの術式の治療的意義を支持する報告もなされている<sup>9)</sup>。一方、胸・腹の2領域リンパ節郭清に頸部リンパ節郭清を加えることの予後改善効果について

大規模なランダム化比較試験は行われていない。1980年代後半からの本邦における胸部食道扁平上皮癌切除例遠隔成績の向上は、3領域郭清導入によって、最も重要な上縦隔の反回神経周囲リンパ節郭清の徹底化、質の向上がなされた結果であると推測されている。一方、欧米において頻度の高い胸部下部食道、食道胃接合部腺癌については頸部、上縦隔へのリンパ節転移が比較的少ないことが知られている<sup>10)</sup>。したがって、開胸や広範な縦隔リンパ節郭清を回避して経腹的アプローチによる経裂孔的非開胸食道切除・再建術が広く行われてきた<sup>11)</sup>。本邦においては、低肺機能など耐術能の問題から開胸術が行えない症例や、リンパ節転移の可能性が少ない広範な粘膜癌などを対象にこの術式が採用されてきた。しかし、後述の化学放射線療法の導入、内視鏡的治療の進歩に伴い、根治的なリンパ節郭清が行えないにもかかわらず、食道を温存することができない本術式は本邦においてはほとんど行われなくなった。一方、欧米においてはリンパ節郭清、局所制御効果には限界があるものの、集学的治療の一環として本術式は一定の役割を果たしている。オランダのHulscherらは<sup>12)</sup>食道胃接合部腺癌に対する経裂孔的食道切除術と開胸による縦隔郭清、食道切除術のランダム化比較試験を施行した。食道癌手術において最も留意すべき合併症である呼吸器合併症の頻度は、開



## JCOG 9204 臨床病期Ⅱ・Ⅲ食道癌に対する術後化学療法

手術単独 vs. 術後化学療法 (CDDP+5FU)

1992年～1997年

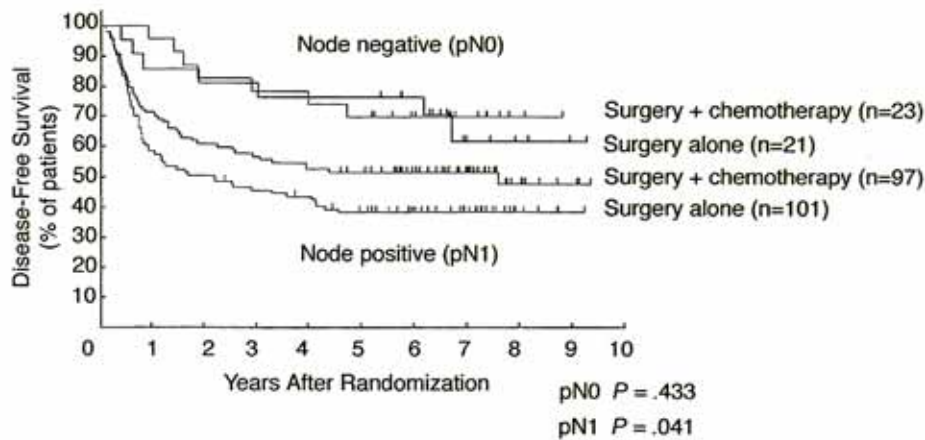
Ando N, Iizuka T, Ide H, et al. *J Clin Oncol* 21: 4592-4596, 2003

図4 JCOG9204 臨床病期Ⅱ・Ⅲ胸部食道癌に対する手術単独療法と術後補助化学療法のランダム化比較試験 (文献17より)

胸を行わない経裂孔的食道切除術では有意に低く、在院日数も少なかった。経裂孔的食道切除術の低侵襲性、安全性が示されたが、遠隔成績においては開胸による縦隔郭清、食道切除群が良好な傾向が示された。最近、本研究の長期成績が報告され<sup>13)</sup>、全体では両群の生存期間に有意差を認めなかったものの、1-8個のリンパ節転移陽性例においては、開胸による縦隔郭清、食道切除群は経裂孔的食道切除群に比して有意に良好な予後を示した。一方、リンパ節転移を認めない場合や、8個以上の高度なリンパ節転移を認めた場合は、両術式の長期成績に差は認めなかった。すなわち、食道胃接合部腺癌といえども、個々の症例におけるリンパ流や転移状況に応じた個別な術式選択が必要であることが示されたといえる<sup>14)</sup>。いずれにせよ、本邦と欧米における外科的切除療法の局所制御効果には大きな相違がある。前述のごとく臨床特性が大きく異なるので単純に比較はできないが、すでに報告されている多くの臨床試験における外科手術単独の成績を見る限り、欧米における外科手術単独の局所制御効果は本邦のそれに比して一般的に低いのが事実である。

欧米に比して成績のよい本邦の胸部食道扁平上皮癌に対する3領域リンパ節郭清は、一定の予後改善効果を認めたが、5生率は60%台で頭打ちとなっている。食道癌治療成績のさらなる向上を目指すには集学的治療の導

入が必要であることは言うまでもない。集学的治療における外科治療の役割も、本邦と欧米では大きく異なる。過去20年を振り返ってみるとJCOG食道がんグループは、主に外科的治療を中心として術後補助療法の上乗せ効果を検討するランダム化比較試験を展開してきた。JCOG9204では外科的切除可能な臨床病期Ⅱ・Ⅲ食道癌治療を対象として外科切除単独療法と5-FU, CDDPによる術後補助化学療法の上乗せ効果の有無が比較検討された<sup>15)</sup>。両群の全生存期間に有意差がなかったものの、無再発生存期間は術後化学療法群で有意に改善し、とくにこの効果はリンパ節転移陽性例において明らかであった(図4)。このデータに基づいて、本邦における切除可能臨床病期Ⅱ・Ⅲ食道癌に対する標準治療として、まず外科的切除を行い、病理組織診断によってリンパ節転移が証明された症例については化学療法の適応を検討するという戦略が一般的に採用されてきた。さらにJCOG9907によって化学療法施行時期についての標準化の検証が行われ、術前化学療法群が術後化学療法群に比して全生存期間、無再発生存期間ともに優れることが示された<sup>16)</sup>。すなわち現時点では、切除可能臨床病期Ⅱ・Ⅲ食道癌に対してまず5-FU, CDDPによる術前化学療法を行ったのち根治術を施行する戦略が標準となった。これまでまず外科的切除を行ったうえで術後補助療法を行う



という本邦の食道癌治療戦略が、術前療法へと大きく転換した点で本研究の意義は大きい。一方、術前化学療法による生存率改善効果の有無を検証したランダム化比較試験の報告は、欧米では数多くみられる<sup>2)</sup>。それらランダム化比較試験を基にしたメタアナリシスについても、エンドポイントの設定により生存率向上への効果は一定しない<sup>17,18)</sup>。食道癌診断・治療ガイドライン 2007年4月版では、これらメタアナリシスの結果を総合的に解析し、「切除可能例に対する術前化学療法の効果は明確でない」と記載されているが<sup>2)</sup>、今後 JCOG9907 の結果、さらにはさらなる術前化学療法レジメの改良により一定の効果が示される可能性がある。試験治療としては現在、切除不能または再発食道癌に対する臨床第 I/II 相試験が行われている (JCOG0807) docetaxel, CDDP, 5-FU の 3 剤併用療法の術前化学療法への応用などが模索されている。

本邦では術前化学放射線療法の意義を検証したランダム化比較試験は施行されていない。本来切除可能な食道癌に対して、質の高い切除、リンパ節郭清によりその治療効果を追求してきた本邦の外科医にとって、局所制御を目的として放射線療法を術前に加える意義が明確でなかったことが背景になっている。一方、前述のように外科的切除の局所制御効果の限界をある程度認識してきた欧米では、術前化学放射線療法に関するランダム化比較試験が 1980 年代後半より積極的に行われてきている。アイルランドのグループが食道腺癌を対象として行ったランダム化比較試験では、術前 40 Gy の化学放射線療法群が手術単独群に比して有意に良好な 3 年生存率を示した<sup>19)</sup>。しかし、手術単独群の 3 年生存率が 6% と極めて不良であり、本邦の外科医はこの試験で行われた手術療法の質に疑問を抱いている。しかし、その他多くのランダム化比較試験のデータを基にしたメタアナリシスの結果では、術前化学放射線療法は切除可能例の 3 年目以降の生存率を向上させると考えられる<sup>20)</sup>。

これまで本邦の外科医は局所制御効果の高い手術療法を第一に考え、化学放射線療法を術前療法として導入することに関して消極的であった。手術療法の局所制御効果に関する認識の相違が、集学的治療における手術療法の位置づけの違いに大きな影響を及ぼしているといえるが、今後放射線療法自体の安全性、効果が向上することにより、術前療法としての役割を果たすことも十分想定される。

## 切除可能食道癌に対する非手術療法の意義と今後の展望

近年、食道温存療法すなわち非手術療法に対する期待も高まっている。この分野では欧米におけるエビデンスの本邦への導入が積極的に行われてきた。米国 Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) での放射線単独療法 (64 Gy) と同時化学放射線療法 (5-FU, CDDP, 50 Gy) のランダム化比較試験 (RTOG8501) では、同時化学放射線療法の成績が有意に良好であり、非手術療法の標準治療として認識された<sup>21)</sup>。本邦においても根治的放射線療法として JCOG9906 が 2000 年から開始され、CR 割合: 68%, 3 年生存割合: 46% という結果が報告された<sup>22)</sup>。現在の外科的切除 +/- 化学療法による治療成績を凌駕するものではないが、食道温存療法としての意義が注目されている。本治療の遠隔成績のさらなる向上のためには晩期有害事象の軽減や安全な Salvage surgery の積極的導入が期待される。さらに RTOG を中心に行われた化学放射線療法における照射量に関するランダム化比較試験 (標準量: 50.4 Gy vs 高用量: 64.8 Gy) において標準量は 50.4 Gy であると結論づけられた<sup>23)</sup>。本邦においても従来行われてきた 60 Gy 照射による根治的放射線療法にかわって、この国際標準である RTOG レジメを導入した化学放射線療法の第 II 相臨床試験が行われ晩期毒性や salvage surgery における合併症が、相当程度軽減されている。本邦においては、従来危険視されてきた salvage surgery を適切な時期に安全に施行することでさらなる治療成績の向上を図る努力が内科医、放射線治療医、外科医の合同チームによってなされようとしている。現在、筆者は、JCOG 食道癌グループの次期第 II 相試験として、切除可能臨床病期 II・III 食道癌で一次治療としては手術療法を希望しない症例を対象に、まず RTOG レジメによる根治的放射線療法を行い、遺残ないし再発した場合に適切かつ迅速に救済治療 (salvage surgery もしくは salvage EMR/ESD) を施行する臨床試験を計画している (図 5)。可能な症例には食道温存を行った非手術的根治をはかりつつ、放射線化学療法が奏効しなかった症例には的確に救済治療を行って遠隔成績の向上を図る方針である。一方、欧米においては化学放射線療法後の追加外科手術に関して、治療効果よりも危険性を懸念する報告が多いのが現状である。



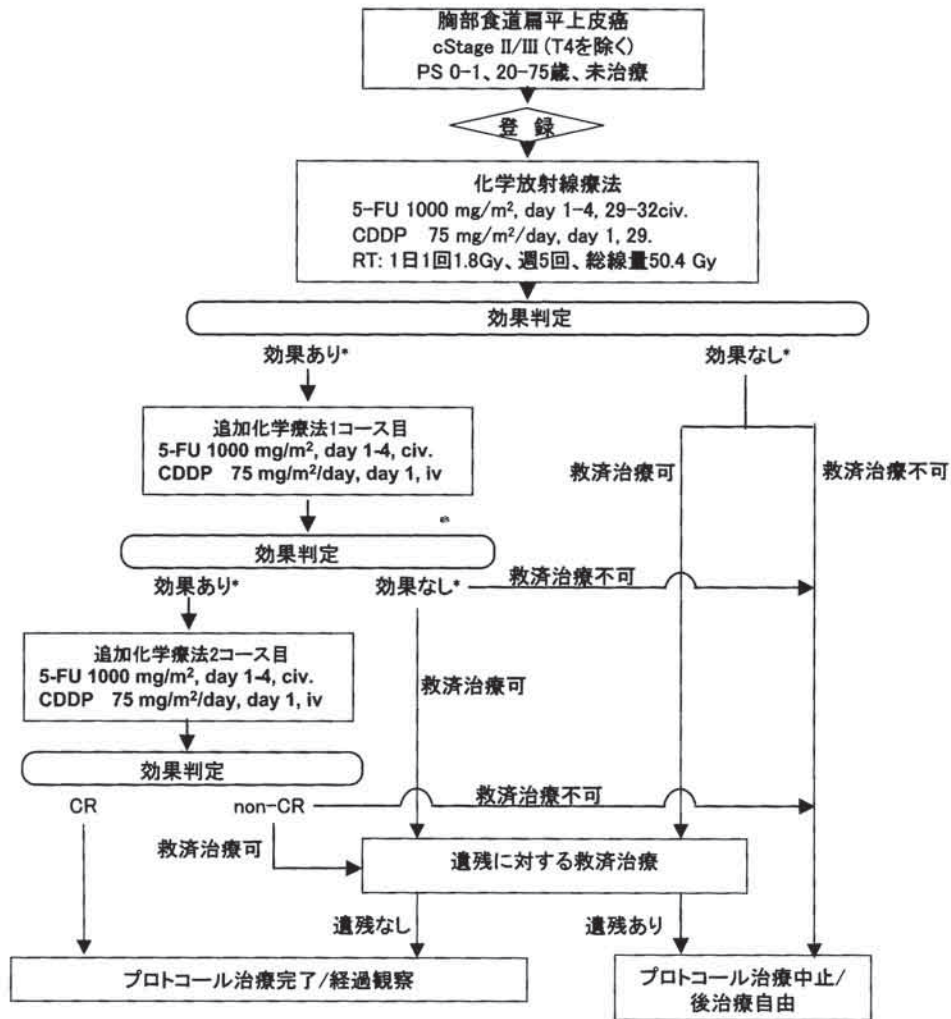


図5 臨床病期II・III胸部食道癌に対する根治的chemoradiotherapy +/- 救済治療

### 進行食道癌集学的治療戦略個別化の可能性

切除可能な進行食道癌に根治的chemoradiotherapyを施行した場合、最終的に手術療法を回避してCRとなる症例は全体の30-40%に過ぎない。その他の症例では、リスクの高いsalvage surgeryを要するか手術療法も適応できない再発をきたすこととなる。したがって進行食道癌の個別的治療戦略を考えるうえで、chemoradiotherapyに対する治療反応性の予測は極めて重要な課題である。現在、癌組織の遺伝子発現プロファイルなどから、治療反応性を予測する研究が進行中であるが、現時点では結果が得られていない。FDG-PETは腫瘍の代謝活性を評価する指標として、すでに広く臨床応用されている。chemoradiotherapyや、術前chemoradiotherapyの前と開始早期にFDG-PETを施行し、主病巣へのFDGの取り込み（standard

uptake value, SUV)の変化から治療反応を予測する研究が行われている<sup>24)</sup>(図6)。chemoradiotherapyや術前chemoradiotherapyの反応性が低いと予想される切除可能症例には早期に根治手術を適応することにより、有害事象や手術リスクを軽減し、結果として長期成績を改善することが期待される。本邦では、JCOG9907の結果を受けて、術前chemoradiotherapyが標準治療となった。この術前chemoradiotherapyにおける反応をより早期に鋭敏に評価し、chemoradiotherapyでCRが得られる症例を選別することが可能になれば、合理的な個別的集学的治療戦略となることが期待される。今後、induction chemotherapyによる治療反応性の評価が、進行食道癌における臨床研究の焦点になるものと考えられる。治療開始早期に鋭敏に変化する有用なバイオマーカーの同定が求められる。



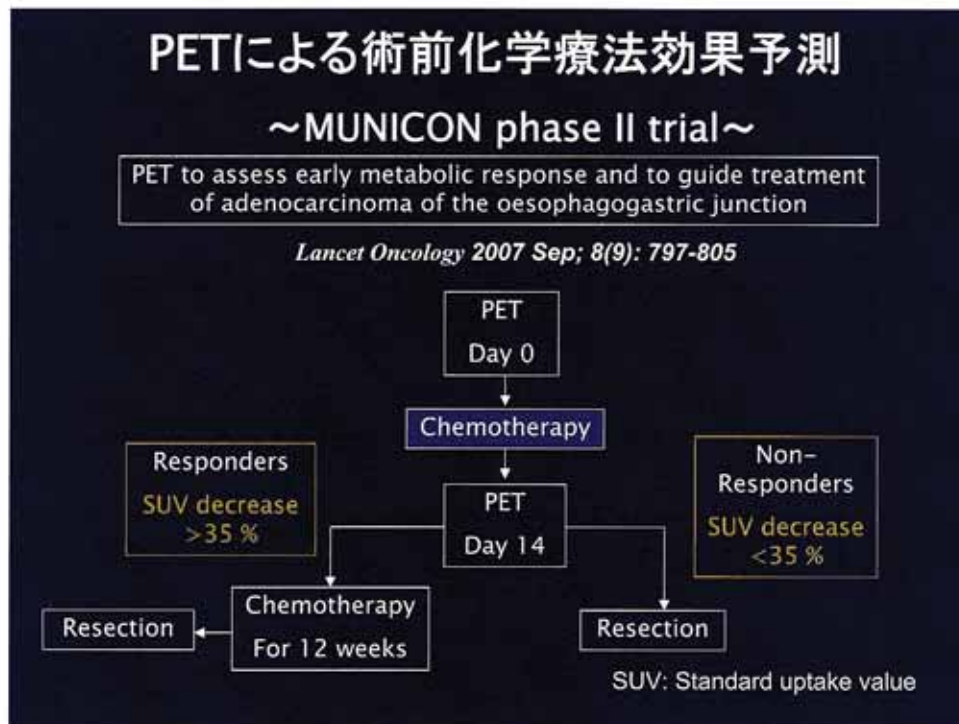


図6 FDG-PETによる術前化学療法の治療効果判定 (文献24より)

### おわりに

従来、外科的切除を主軸として行われてきた食道癌治療は急速に集学的治療の時代に入っている。切除可能な食道癌に対する非手術的療法、すなわち根治的化学放射線療法は放射線照射技術の進歩、化学療法の開発により今後さらに改良されることが期待され、現在の標準治療である術前化学療法+根治切除の長期成績に迫っていくことが予想される。術前治療を施行する中で治療反応性を評価して、個別的治療を展開するストラテジーの確立が強く求められている。質の高い臨床試験を積み重ね、最終的には画一的な治療でなく個別的な食道癌治療戦略が確立することが必要である。

### 文 献

- 1) Pohl H, Welch HG : The role of overdiagnosis and reclassification in the marked increase of esophageal adenocarcinoma incidence. *J Natl Cancer Inst* 97 : 142-146, 2005.
- 2) 日本食道学会 : 食道癌診断・治療ガイドライン 2007年4月版, 金原出版, 東京.
- 3) Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M, et al : The role of the sentinel lymph node in gastrointestinal cancer. *Surg Clin N Am*, 80 : 1799-1809, 2000.
- 4) Takeuchi H and Kitagawa Y. Sentinel node navigation surgery for esophageal cancer. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 56 : 393-6, 2008.
- 5) Takeuchi H, Kitagawa Y : Sentinel node navigation surgery for esophageal cancer. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 56 : 393-396, 2008.
- 6) Ando N, Ozawa S, Kitagawa Y, et al : Improvement in the results of surgical treatment of advanced squamous esophageal carcinoma during 15 consecutive years. *Ann Surg* 232 : 225-232, 2000.
- 7) Akiyama H : Radical lymph node dissection for cancer of the thoracic esophagus. *Ann Surg*, 220 : 364-373, 1994.
- 8) Watanabe H, Kato H, Tachimori Y, et al : Significance of extended systemic lymph node dissection for thoracic esophageal carcinoma in Japan. *Recent Results Cancer Res* 155 : 123-133, 2000.
- 9) Altorki N, Kent M, Ferrara C, et al : Three-field lymph node dissection for squamous cell and adenocarcinoma of the esophagus. *Ann Surg* 236 : 177-183, 2002.
- 10) Siewert JR, Feith M, Werner M, et al : Adenocarcinoma of the esophagogastric junction : results of surgical therapy based on anatomical/topographic classification in 1,002 consecutive patients. *Ann Surg* 232 : 353-361, 2000.
- 11) Stein HJ, Feith M, Mueller J, et al : Limited resection for early adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *Ann Surg* 232 : 733-742, 2000.



- 12) Hulscher JB, van Sandick JW, de Boer AG, et al : Extended transthoracic resection compared with limited transhiatal resection for adenocarcinoma of the esophagus. *N Engl J Med* 347 : 1662-1669.
- 13) Omloo JM, Lagarde SM, Hulscher JB, et al : Extended Transthoracic Resection Compared With Limited Transhiatal Resection for Adenocarcinoma of the Mid/Distal Esophagus *Ann Surg* 246 : 992-1000, 2007.
- 14) Kitajima M, Kitagawa Y : Surgical treatment of esophageal cancer-The advent of the era of individualization. *N Eng J Med* 21 : 1705-1709, 2002.
- 15) Ando N, Iizuka T, Ide H, et al : Surgery plus chemotherapy compared with surgery alone for localized squamous carcinoma of the thoracic esophagus : The Japan Clinical Oncology Group Study-JCOG 9204. *J Clin Oncol* 21 : 4592-4596, 2003.
- 16) Igaki H, Kato H, Ando N, et al : A randomized trial of postoperative adjuvant chemotherapy versus neoadjuvant chemotherapy for clinical stage II/III squamous cell carcinoma of esophagus. *J Clin Oncol*, 2008 ASCO Meeting Proceedings Supplement 4510, 2008.
- 17) Malthaner RA, Wong RK, Rumble RB, et al : Neoadjuvant or adjuvant therapy for resectable esophageal cancer : a systematic review and meta-analysis. *BMC Medicine* 2 : 35, 2004.
- 18) Urschel JD, Vasan H, Blewett CJ, et al : A meta-analysis of randomized controlled trials that compared neoadjuvant chemotherapy and surgery to surgery alone for resectable esophageal cancer. *Am J Surg* 183 : 274-279, 2002.
- 19) Ubra SG, Orringer MB, Turrisi A, et al : Randomized trial of preoperative chemoradiation versus surgery alone in patients with localized esophageal carcinoma. *J Clin Oncol* 19 : 305-313, 2001.
- 20) Gebski V, Burmeister B, Smithers BM, et al : Survival benefits from neoadjuvant chemoradiotherapy or chemotherapy in oesophageal carcinoma : a meta-analysis. *Lancet Oncol* 8 : 226-234, 2007.
- 21) Cooper JS, Guo MD, Herskovic A, et al : Chemoradiotherapy of locally advanced esophageal cancer : Long-term follow-up of prospective randomized trial (RTOG 85-01). *JAMA* 281 : 1623-1627, 1999.
- 22) Muro K, Ohtsu A, Ishikura N, et al : A phase II study of chemoradiotherapy in patients with II, III esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) : (JCOG9906). *J Clin Oncol*, 2007 ASCO Meeting Proceedings Supplement 15137, 2007.
- 23) Minsky BD, Pajak TF, Ginsberg RJ, et al : INT 0123 (Radiation Therapy Oncology Group 94-05) phase III trial of combined-modality therapy for esophageal cancer : high-dose versus standard-dose radiation therapy. *J Clin Oncol* 20 : 1167-1174, 2002.
- 24) Lordrick F, Otto K, Krause BJ, et al : PET to assess early metabolic response and to guide treatment of adenocarcinoma of the esophagogastric junction : the MUNICON phase II trial. *Lancet Oncol* 8 : 797-805, 2007.



綜 説

乳癌と HER2/ErbB2

山王病院外科<sup>1)</sup>, 慶應義塾大学医学部外科学教室<sup>2)</sup>

菊池 潔<sup>1)</sup>, 上田 政和<sup>2)</sup>

Key Words : HER2/ErbB2, 乳癌, trastuzumab, 分子標的治療

はじめに

乳癌の治療において近年目覚ましい発展を及ぼしてきたものに HER2/ErbB2 の発見があげられる。分子生物学的アプローチにより癌関連遺伝子産物である HER2/ErbB2 が発見され、過剰発現が乳癌の予後因子として重要な位置づけをされるようになった。さらにこれに対する標的治療としてモノクローナル抗体である trastuzumab が臨床応用されるようになり、最近では乳癌治療の大きな柱として位置づけられるようになってきた。また、これらの増殖因子受容体の研究により、細胞外からの刺激が細胞内のさまざまなシグナル伝達系を活性化させ、そのことが、癌細胞の発生・増殖に深く関与していることが徐々に解明されてきた。乳癌におけるこれらの働きについて、またそのメカニズムを応用した治療薬についても概説してみたい。

HER2/ErbB2 の構造

癌遺伝子である *c-erbB-1* はトリ赤芽球症ウィルスの *v-erbB* に相同する遺伝子として 1984 年に発見された<sup>1)</sup>。これは上皮増殖因子 (EGF : epidermal growth factor) の受容体 EGFR/HER1 (human epidermal growth factor receptor 1) を code する遺伝子と同一であることが示された。次いで発見されたのが HER2/ErbB2 である<sup>2,3,4)</sup>。さらに HER3/ErbB3, HER4/ErbB4 が相次いで同定された<sup>5,6)</sup>。これらは HER/ErbB ファミリーと呼ばれ、相同性を有している。それぞれの相同性は図 1 に示す。これらに共通していることは、細胞外ドメイン、膜貫通部、細胞内ドメインから構成されており、細胞外ドメインにリガンドが結合すると細胞内ドメインの

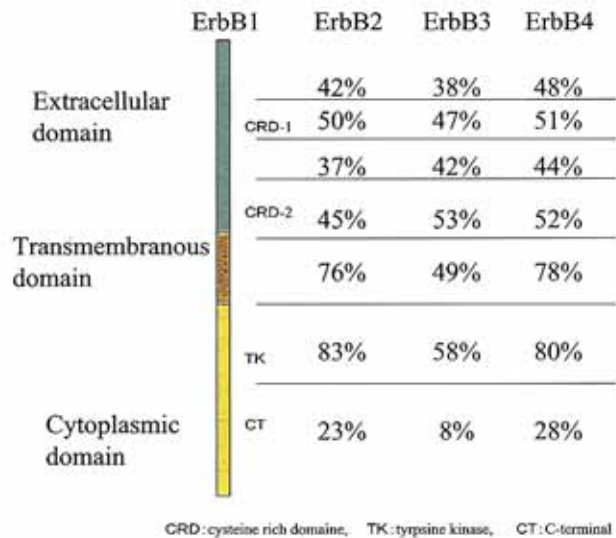


図 1 HER/ErbB ファミリーの相同性

チロシンキナーゼが活性化され細胞内に増殖分化のシグナルを伝達する。HER2/ErbB2 は通常単量体として細胞膜に存在するが、他の EGFR, HER3/ErbB3, HER4/ErbB4 としばしば異種 2 量体を形成し、これらの受容体に対するリガンドが結合することにより、強い形質導入活性を示す<sup>7)</sup>。HER/ErbB ファミリーのリガンドは特に EGFR において多く存在する。EGF, TGF- $\alpha$ , amphiregulin, heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF), betacellulin, epiregulin である。HER2/ErbB2 はリガンドが見つからない。HER3/ErbB3, HER4/ErbB4 は多くの neuregulin もしくは neu differentiation factors (NDFs) がリガンドとしてあげられる<sup>7,8,9)</sup>。2 対量体を形成する場合同種 2 量体は 4 通り、異種 2 量体は 6 通りが考えられるが、リガンド結合を受けた分子は、同種 2 量体を形成するよりは



異種2量体を作りやすい。特に重要な点は HER2/ ErbB2 は他の受容体と異種2量体を作ることにより HER2/ErbB2 特有のリガンドなしにシグナル伝達系を活性化することである。しかも HER2/ErbB2 を含む異種2量体は、含まない異種2量体より強い活性を有する。各種癌において HER2/ErbB2 の過剰発現は細胞内伝達系を活性化させている。また、HER2/ErbB2 の膜貫通部において1アミノ酸の点突然変異が起きた場合には、リガンドのない HER2/ErbB2 が同種2量体を形成し、常にシグナルを出し続けている場合もある。このように HER2/ErbB2 は悪性化、増殖に中心的働きを有している<sup>10)</sup>。

### HER2/ErbB2 のシグナル伝達系

2量体を形成することにより HER/ErbB ファミリーは細胞内のチロシンキナーゼを活性化し、リン酸化がおこることにより細胞内の伝達機構の活性化がおこる。これらのシグナル伝達系には mitogen-activated protein kinase (MAPK), phosphatidylinositol 3'-kinase (PI3K), c-src, shc, Grb-2, PLC $\gamma$ , GAP などの蛋白が関与している(図2)。MAPK は核内の転写因子を活性化し、多くの細胞の増殖・分化に関する遺伝子発現を亢進することが解っている。また、PI3K は 110kd (p110) の触媒ユニットと 85kd (p85) の調節サブユニットからなっている。HER2/ErbB2 は p85 の結合部位を持っていないが、HER3/ErbB3 との異種2量体を通して PI3K を活性化すると考えられている<sup>11)</sup>。PI3K の機能としては細胞生存、細胞分泌、小胞輸送、分化、細胞骨格調節、細胞増殖が上げられる。最近では、PI3K は bcl-2 ファミリーの調節に関与しているとの報告もある<sup>12)</sup>。PI3K は Akt を活性化させ Bad 蛋白をリン酸化させアポトーシスを阻害する。これらのことから PI3K は細胞の癌化に深く関与していると考えられている。上記のような下流のシグナル伝達系に様々な変化を細胞内と細胞間に与えることにより細胞の成長、分化、増殖、遊走、接着、血管新生、アポトーシスを制御している。

### HER2/ErbB2 の分解

一般的に受容体についてリガンドはエンドサイトーシスされ、ユビキチン化を介してエンドゾームで受容体と分離される。細胞膜に戻るか、ライソソームにリガンドとともに移送されそこで分解される<sup>13)</sup>。HER1/ErbB1

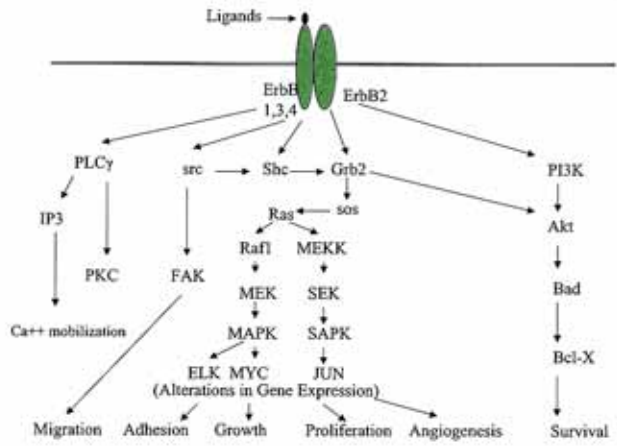


図2 HER/ErbB ファミリーのシグナル伝達系

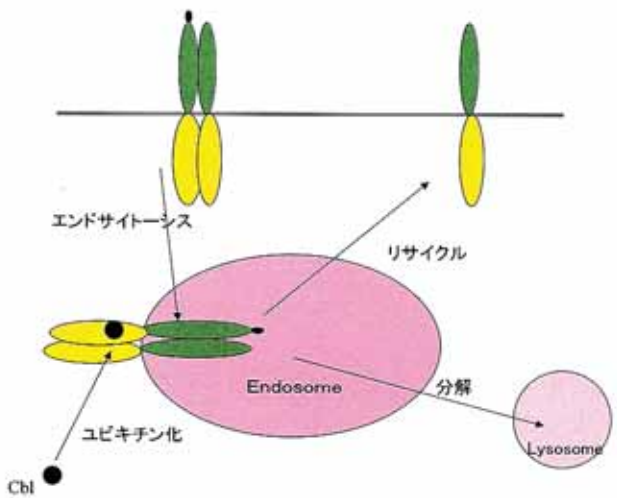


図3 HER2/ErbB2 の分解

の同種2量体はライソゾームに行き分解される。ところが、HER1/ErbB1 と HER2/ErbB2 の異種2量体の場合はリガンドとの結合が非常に強固であり高頻度で細胞膜にリサイクルされる<sup>14)</sup>(図3)。エンドサイトーシス活性を抑えて分解を遅らせることは、より長く刺激を出し続けることになり、細胞増殖を高めたり悪性度を高めることになる。従って trasutuzumab のような抗体療法は HER2/ErbB2 のリサイクルを抑え HER2/ErbB2 のライソゾームでの分解をうながすことになる。HER2/ErbB2 を減少させることにより他の HER/ErbB ファミリーとの2量体をつくることをできなくさせ、他のファミリーの同種2量体や、HER2/ErbB2 抜き異種2量体を造らせることによりシグナルを出させなくする効果がある。つまり悪性化を減少させることにつながる。



### 乳癌における HER2/ErbB2 の臨床的意義

HER2/ErbB2 遺伝子の過剰発現は乳癌症例の約 20~30%にみられ、予後不良であることが知られている。我々も 10 年以上経過した症例で検討したが、過剰発現した症例は有意に予後不良であった<sup>15)</sup>。また、予想試験においても同様の結果が得られた<sup>16)</sup>。他の多くの研究でリンパ節転移と HER2/ErbB2 陽性との相関が認められている。また、血清中の HER2/ErbB2 蛋白量の測定ができるようになったが、乳癌の進行度と蛋白量の相関が報告されており、再発例では治療効果の判定にも有用であることが示されている<sup>17)</sup>。

#### 1) HER2/ErbB2 と内分泌療法

HER2/ErbB2 の過剰発現症例で内分泌療法にあまり反応せず、治療抵抗性であるとの報告が多い。その理由として HER2/ErbB2 の過剰発現とエストロゲン受容体 (ER: estrogen receptor) との関係では、逆相関を示す報告が多く、ホルモン療法の効果を減弱させる要因の一つである。また、HER2/ErbB2 と ER との cross-talk が内分泌療法の治療抵抗性に関与していることが最近わかってきた (図 4)。抗エストロゲン剤である Tamoxifen (TAM) の重要な作用であるアポトーシス誘導が、HER2/ErbB2 のシグナル伝達系で発現するアポトーシス抑制因子である Bcl-2, Bcl-XL によって阻害される<sup>18)</sup>。さらに、HER2/ErbB2 遺伝子のプロモーター領域にはエストロゲン反応エレメント配列があり、エストロゲンは HER2/ErbB2 の転写を抑制できる<sup>19)</sup>。エストロゲンが

HER2/ErbB2 を減少させ抗エストロゲン剤によりこの作用が部分的に逆転する<sup>20)</sup>。また、HER2/ErbB2 のシグナル伝達系で活性化される MAPK は ER のリン酸化を刺激し転写・増殖を増加させることが示されている。Tamoxifen は抗エストロゲン剤であるが、弱いエストロゲン作用 (アゴニスト作用) を持つことが知られているが、このような場面では tamoxifen が示すアゴニスト作用はアンタゴニスト作用に勝っており、むしろ乳癌細胞の増殖に働く。Tamoxifen と trastuzumab を併用した臨床試験では、併用療法が単剤療法より抑制効果が高いことが明らかとなっている (図 5)。また、HER2/ErbB2 陽性症例では、TAM より aromatase 阻害薬 (AI) の方がよい成績が得られている<sup>21)</sup>。このことは HER2/ErbB2 の伝達系メディエーターが ER を活性化し、TAM はそのアゴニストとして作用してしまう。しかしながら AI 剤はエストロゲンを枯渇させてしまうため、ER は DNA に結合できず単量体のままで存在することになる。このようなことから AI 剤のほうが有効なのであろう。

#### 2) HER2/ErbB2 と化学療法

一般的にはリンパ節転移は予後を反映することが知られている。その中でもリンパ節転移陰性例でも約 30%は再発すると言われている。HER2/ErbB2 陽性症例はリンパ節転移陰性例でも予後不良であることが示されている。これらの症例に対し何らかの補助療法が必要になってくる。術後の補助療法として欧米では CMF 療法が標準治療であったが、HER2/ErbB2 陽性例では HER2/ErbB2 陰性例に比し治療抵抗性が高

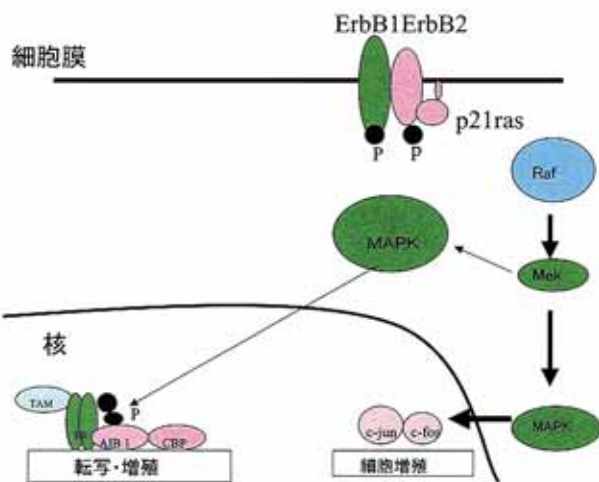


図 4 HER2/ErbB2 と ER の cross-talk

	tamoxifen	
	アンタゴニスト作用	アゴニスト作用
ER陽性、HER2陰性腫瘍	↑	↑
tamoxifen	↑	↑
ER陽性、HER2陽性腫瘍	↑	↑
tamoxifen	↑	↑
tamoxifen+trastuzumab	↑	↑

図 5 HER2/ErbB2 と ER における Tamoxifen の反応性



いことがいわれている<sup>22)</sup>。CALGB study では HER2/ErbB2 陽性例に高容量の CAF 療法は低容量 CAF に比べ有意に有用であったが、HER2/ErbB2 陰性例ではその有意性は認められなかった<sup>23)</sup>。その他の多くの Anthracyclin 系薬剤を加えた study でも HER2/ErbB2 陽性例で感受性が高いことが明らかとなった。これは、HER2/ErbB2 の検索が治療法を決定する際に重要な要因と考えられる。Taxan 系に関しては、術後 AC 投与後 paclitaxel を追加する CALGB 9344 研究において HER2/ErbB2 陽性例で無病率の改善が示唆されたが、種々の study でその関係もまちまちの報告があり、anthracyclin のような効果を予測できるものではなかった。

### 3) HER2/ErbB2 と抗体療法

抗 HER2/ErbB2 モノクローナル抗体が HER2/ErbB2 陽性乳癌細胞の成長を抑えることが認められたことから細胞外ドメインを認識する多くの抗体が検討されてきた。その中でもっとも強力な作用を有したものが 4D5 というマウス由来の抗体であった。マウス由来部分を極力減らしたキメラ型モノクローナル抗体が trastuzumab (Herceptin) である<sup>24)</sup>。この抗体が抗腫瘍効果をあらわすメカニズムにはいくつかある。細胞表面にある HER2/ErbB2 過剰発現を減少させたり<sup>25)</sup>、TNF の効果に対する感受性を上げたり<sup>26)</sup>、E-cadherin や integrin を正常レベルまで回復したりする<sup>27)</sup>。さらに Vascular endothelial growth factor (VEGF) の生成を押さえ血管新生を阻害し、thrombospondin-1 を活性化する<sup>28, 29)</sup>。また、多数の大規模試験では化学療法との併用で再発率の減少を導き出している<sup>30, 31)</sup>。ただし anthracyclin 系薬剤との併用は心毒性 (心不全, 心拍出量の低下等) のために使用が困難な状況にある。術後補助療法のみならず術前の補助療法においても有用であることが示されている<sup>32)</sup>。Taxan 系薬剤のほか vinorelbine, gemcitabine, 白金製剤, capecitabine 等との併用が検討されている。臨床前試験では併用療法における使用方法として順次投与より同時投与のほうが有効性が高いようである。2007 年の St.Gallen Consensus Conference では HER2/ErbB2 陽性症例には、どのカテゴリーでも trastuzumab の併用が推奨されている<sup>33)</sup>。内分泌療法との併用効果であるが先に述べたように、HER2/ErbB2 と ER とのクロストークの存在もあり、trastuzumab による内分泌療法への感受性の復活は十分期待できると思われる。現在 TAM, AI 剤との併用の試験が行われている。

### 4) そのほかの治療法

HER2/ErbB2 陽性乳癌に対しての新しい取り組みとしては、HER/ErbB ファミリーの tyrosine kinase をターゲットとした取り組みが行われている。いわゆる tyrosine kinase 阻害薬である。Gefitinib, erlotinib は HER1/ErbB1 に対するものであり、lapatinib, PKI-166, PD168393 は HER1/ErbB1 と HER2/ErbB2 の両方の tyrosin kinase を阻害する。また、PD12878, CI-1033 は HER/ErbB family すべての kinase 活性を阻害する。このなかでもっとも臨床的に進んでいるのが lapatinib である。抗体のように高分子ではなく低分子であるために経口投与が可能である。そのため脳転移に対する治療効果も期待される。Lapatinib は *Raf*, *Akt*, *Erk* のリン酸化を抑制する。Trastuzumab との併用では相乗効果が認められた<sup>34)</sup>。また、trastuzumab が無効例にも有効例がみられた。最近の phase III trial で capecitabine 単独と capecitabine+lapatinib 併用を調べているが、併用例で TTP の改善がみられた (4.4M vs 8.4M)<sup>35)</sup>。これらの結果からも有効な治療薬として期待されている。日本ではそろそろ認可されるとのことである。その他 HER2/ErbB2 をターゲットとした治療は 17-Allylaminogeldanamycin これは HSP90 の阻害薬であるが HER2/ErbB2 の degradation にも関与しているといわれ、治療薬としての期待がもたれている<sup>36)</sup>。

### おわりに

HER2/ErbB2 の過剰発現は我々にきわめて重要なターゲット療法を導いてくれた。trastuzumab の抗体療法、シグナル伝達系のメカニズムの解明やそれによる lapatinib のような kinase inhibitor の開発、これら分子標的薬はより有効な乳癌治療法へと導いてくれる。しかしながら、メカニズムの解明は未だ十分ではない。さらに今まで行われてきた内分泌療法、化学療法とどのように組み合わせればより有効なのかは、まだまだ不明な点が多い。また、個々の腫瘍の特性がわかれば、個別治療もさらに進むと思われる。小生が乳癌、胃癌における *c-erbB-2* 癌遺伝子増幅と臨床特性との関係の研究を始めたのがちょうど 20 年前であったが、その後のこの分野の発展には驚くばかりである。しかしメカニズムの解明やそれに伴う新薬の開発スピードは年々非常に速くなってきているので今後のさらなる発展に期待したい。



## 文 献

- 1) Downward J, Yarden Y, Mayes E, Scrace G, Totty N, Stockwell P, Ullrich A, Schlessinger J, Waterfield MD : Close similarity of epidermal growth factor receptor and *v-erbB* oncogene protein sequences. *Nature* 307, 521-527, 1984
- 2) Coussens L, Yang Feng TI, Liao YC, Chen E, Gray A, McGrath J, Seeburg PH, Libermann TA, Schlessinger J, Francke U, Levinson A, Ullrich A : Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 230, 1132-1139, 1985
- 3) King CR, Kraus MH, Aaronson SA : Amplification of a novel *v-erbB*-related gene in a human mammary carcinoma. *Science* 229, 974-976, 1985
- 4) Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T, Semba K, Nomura N, Miyajima N, Saito T, Toyoshima K : Similarity of protein encoded by the human *c-erbB-2* gene to epidermal growth factor receptor. *Nature* 319, 230-234, 1986
- 5) Kraus MH, Issing M, Popescu NC, Aaronson SA : Isolation and characterization of ERBB3, a third member of the ERBB/epidermal growth factor receptor family : evidence for overexpression in a subset of human mammary tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci* 86, 9193-9197, 1989
- 6) Plowman GD, Whitney GS, Neubauer MG, Green JM, McDonald VI, Todaro GJ, Shoyab M : Molecular cloning and expression of an additional epidermal growth factor receptor-related gene. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 87, 4905-4909, 1990
- 7) Carraway KL III, Cantley LC : A new acquaintance for erbB3 and erbB4 : A role for receptor heterodimerization in growth signaling. *Cell* 78, 5-8, 1994
- 8) Karunagaran D, Tzahar E, Beerli RR, et al : ErbB-2 is a common auxiliary subunit of NDF and EGF receptors : Implications for breast cancer. *EMBO J* 15, 254-264, 1996
- 9) Lewis GD, Lofgren JA, McMurtrey AE, et al : Growth regulation of human breast and ovarian tumor cells by heregulin : Evidence for the requirement of ErbB2 as a critical component in mediating heregulin responsiveness. *Cancer Res* 56, 1457-1465, 1996
- 10) Bargmann CI, Hung MC, Weinberg RA : The neu oncogene encodes an epidermal growth factor receptor-related protein. *Nature* 319, 226-230, 1986
- 11) Carraway KL, Soltoff SP, Diamonti AJ, et al : Heregulin stimulates mitogenesis and phosphatidylinositol 3-kinase in mouse fibroblasts transfected with erbB2/neu and erbB3. *J Biol Chem* 270, 7111-7116, 1995
- 12) Datta SR, Dudek H, Tao X, et al : Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. *Cell* 91, 231-241, 1997
- 13) Wells A, Welsh JB, Lazar CS, Wiley HS, Gill GN, Rosenfeld MG : Ligand-Induced transformation by a noninternalizing epidermal growth factor receptor. *Science* 247, 962-964, 1990
- 14) Lenferink AEG, Pinkas-Kramarski R, van de Poll MLM, van Vugt MJH, Klapper LN, Tzahar E, Waterman H, Sela M, van Zoelen EJJ, Yarden Y : Differential endocytic routing of homo- and heterodimeric ErbB tyrosine kinases confers signaling superiority to receptor heterodimers. *EMBO J* 15 : 17 (12) : 3385-97, 1998
- 15) 菊池 潔, 上田政和, 藤崎真人, 渡邊昌彦, 露木晃, 藤城保男, 北島政樹 : 癌の臨床特性からみた集学的治療の問題点—がん遺伝子・産物の異常を中心とした—日外会誌, 93 : 948-951, 1992
- 16) Kikuchi K, Ueda M, Tsuyuki A, Murai S, Fujishiro Y, Kitajima M, Significance of c-erbB-2 and int-2 gene amplification in human breast cancer for prognostic factor : Retrospective and prospective study. 85<sup>th</sup> American Association for Cancer Research (mini symposium), *Proc Am Ass Cancer Res* 35, (abstr) 228, 1994
- 17) Carney WP : Circulating oncoproteins HER2/neu, EGFR and CAIX (MN) as novel cancer biomarkers. *Expert Rev Mol Diagn* 7, 309-319, 2007
- 18) Pietras RJ, Arboleda J, Reese DM, Wongvipat N, Pegram MD, Ramos L, Gorman CM, Parker MG, Sliwkowski MX, Slamon DJ : HER-2 tyrosine kinase pathway targets estrogen receptor and promotes hormone-independent growth in human breast cancer cells. *Oncogene* 10, 2435-2446, 1995
- 19) Dati C, Antoniotti S, Taverna D, et al : Inhibition of c-erbB-2 oncogene expression by estrogens in human breast cancer cells. *Oncogene* 5, 1001-1006, 1990
- 20) Read LD, Keith D Jr., Slamon DJ, et al : Hormonal modulation of HER2/neu proto-oncogene messenger ribonucleic acid and p 185 protein expression in human breast cancer cell lines. *Cancer Res* 50, 3947-3954, 1990
- 21) Ellis M, Coop A, Singh B, et al : Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine therapy than tamoxifen for ErbB-1 and/or ErbB-2 positive, oestrogen receptor-positive primary breast cancer : evidence from a phase III randomized trial. *J Clin Oncol* 19, 3808-3816, 2001
- 22) Gusterson BA, Gelber RD, Goldhirsch A, et al : Prognostic importance of *c-erbB-2* expression in breast cancer. *J Clin Oncol* 10, 1049-1056, 1992
- 23) Muss HD, Thor AD, Berry DA, Kute T, Liu ET, et al : *c-erbB-2* expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N Engl J Med* 330, 1260-1266, 1994
- 24) Carter P, Presta L, Gorman CM, Ridgway JB, Henner D, Wong WL, Rowland AM, Kotts C, Carver ME, Shepard HM : Humanization of an anti-p185HER2 antibody for human cancer therapy. *Proc Natl Acad*



- Sci USA*, 89, 4285-4289, 1992
- 25) Austin CD, De Maziere AM, Pisacane PI, et al : Endocytosis and sorting of ErbB2 and the site of action of cancer therapeutics trastuzumab and geldanamycin. *Mol Biol Cell* 15, 5268-5282, 2004
  - 26) Hudziak RM, Lewis GD, Winget M, Fendly BM, Shepard HM, Ullric A : p185HER 2 monoclonal antibody has antiproliferative effects *in vitro* and sensitizes human breast tumor cells to tumor necrosis factor. *Mol Cell Biol* 9, 1165-1172, 1989
  - 27) D'Souza B, Berdichevsky F, Kypianou N, Taylor papadimitriou J : Collagen-induced Morphogenesis and expression of the  $\alpha 2$ -integrin subunit is inhibited in *c-erbB2*-transfected human mammary epithelial cells. *Oncogene* 8, 1797-1806, 1993
  - 28) Petit AM, Rak J, Hung MC, et al : Neutralizing antibodies against epidermal growth factor and ErbB-2/neu receptor tyrosine kinases down-regulate vascular endothelial growth factor production by tumor cells *in vitro* and *in vivo* : angiogenic implication therapy of solid tumors. *Am L Pathol* 151, 1523-1530, 1997
  - 29) Wen XF, Yang G, Mao W, Thornton A, Liu J, Bast RC, Jr., Le XF : HER2 signaling modulates the equilibrium between pro- and antiangiogenic factors via distinct pathways : implications for HER2-targeted antibody therapy. *Oncogene* 25, 6986-6996, 2006
  - 30) Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al : Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 353, 1659-1672, 2005
  - 31) Romond EH, Perez EA, Bryant J : Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 353, 1673-1684, 2005
  - 32) Buzdar AU, Ibrahim NK, Francis D, et al : Significantly higher pathologic complete remission rate after neoadjuvant therapy with trastuzumab, paclitaxel, and epirubicin chemotherapy : results of a randomized trial in human epidermal growth factor receptor2-positive operable breast cancer. *J Clin Oncol* 23, 3676-3685, 2005
  - 33) Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, et al : Progress and promise : highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. *Ann Oncol* 18, 1133-1144, 2007
  - 34) Konecny GE, Pegram MD, Venkatesan N, et al : Activity of the dual kinase inhibitor lapatinib (GW572016) against HER-2-overexpressing and trastuzumab-treated breast cancer cells. *Cancer Res* 66, 1630-1639, 2006
  - 35) Geyer CE, Forster J, Lindquist D, et al : Lapatinib plus capecitabine for HER2-Positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 355, 2733-2746, 2006
  - 36) Smith-Jones PM, Solit DB, Akhurst T, Afroze F, Rosen N, Larson SM : Imaging the pharmacodynamics of HER2 degradation in response to HSP90 inhibitors. *Nat Biotechnol* 22, 701-706, 2004



綜 説

甲状腺外科：歴史と現状

Thyroid surgery: history and current status

帝京大学医学部外科学講座

たか み ひろし  
高見 博

Department of Surgery, School of Medicine, Teikyo University

Hiroshi Takami, MD

ABSTRACT

The dawn of thyroid surgery began at the end of the 19th century. Many cases of diffuse goiter secondary to iodine deficiency were found in western countries, and although surgery was often performed to treat goiter, the results were miserable because of postoperative thyroid and parathyroid hypofunctions and recurrent laryngeal nerve palsy. After chemical synthesis of thyroid hormone and thyroid function tests were established, results of thyroid therapy improved, and thyroid surgery improved after World War II, as a result of advances in general surgery. Because the aggressiveness of thyroid tumors varies, individualized therapy is needed to obtain better surgical results. The development of innovative radiation therapy and hormone therapy is promising.

Key Words : thyroid surgery, hypothyroidism, tetany, recurrent laryngeal nerve palsy, degree of malignancy

はじめに

臨床の進歩は臨床の問題点を基礎研究で解決し、それを臨床に還元させ、大規模な疫学的研究でその有用性を明らかにしていくことで成立する (Translational medicine/research)。外科の中で甲状腺、副甲状腺、副腎、膵腸管内分泌組織の外科は、臓器が持つ特有の機能異常により病態がひきおこされやすい。したがって、内分泌外科医と科学者は問題点を共有し、アイデアを創造し、問題解決に努めなければならない。

本稿ではこれらの内分泌臓器 (組織) の歴史と概念について日本の業績を交え述べたいが、残念なところ現状では副甲状腺外科では日本の業績は皆無に等しい。副腎外科では浜松医科大学の Go<sup>1)</sup> が副腎腫瘍の内視鏡下手術に成功し、以後標準術式になるにいった。また、膵内分泌腫瘍の外科では Imamura<sup>2)</sup> が MEN 1 型の多発す

るガストリノーマの局在診断法 (SASI test) を開発したのが特筆される。

以下、甲状腺外科の歴史と現状について記す。

甲状腺外科の夜明け

19世紀後半に大きな外科学の革命がおきた。すなわち、全身麻酔、消毒法、止血法の臨床応用である。これらは外科の進歩に大きなインパクトを与えた。

当時、甲状腺の機能は知られていなかった。Theodor Kocher は 1872 年に 31 歳でベルン大学の教授になり、甲状腺の臨床と研究に誰よりも早く取り組んだ<sup>3)</sup>。一方、Theodor Billroth はウイーンでダイナミックな手術を行い、甲状腺と副甲状腺を摘出し、その結果、高度のテタニー (副甲状腺機能低下症) に悩まされていた。Theodor Kocher は繊細な手術手技で、甲状腺摘出後の粘液水腫 (甲状腺機能低下症) を克服した。Kocher



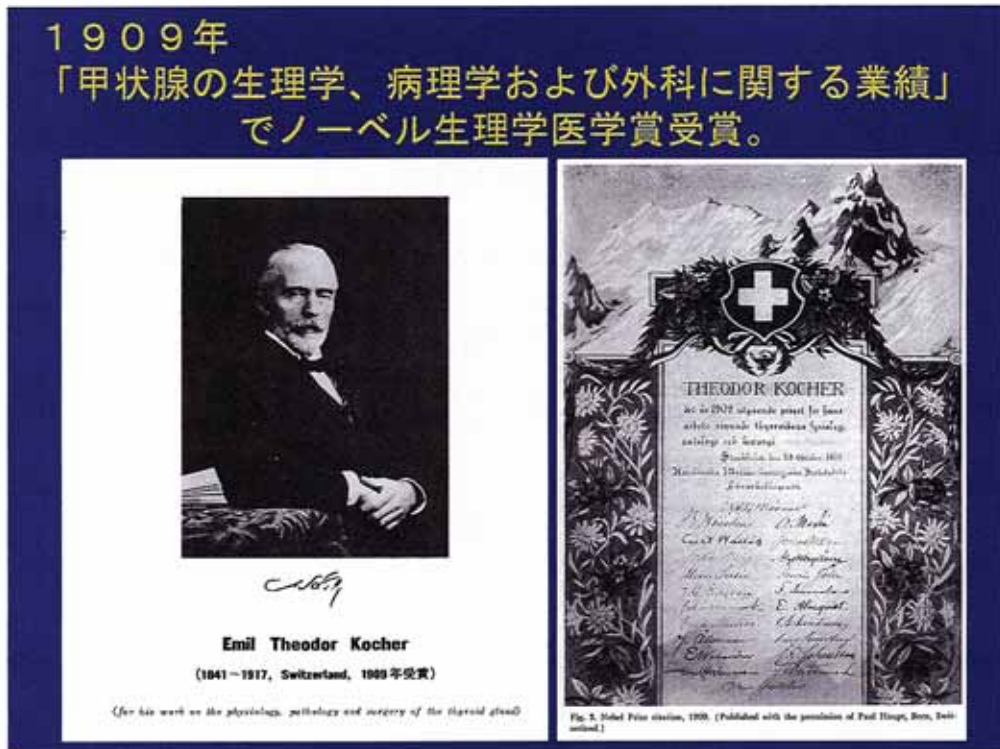


図1 Theodor Kocher は1909年に『甲状腺の生理学、病理学および外科に関する業績』でのノーベル生理学医学賞を受賞、外科医で唯一の受賞者 (Endocrine Surgery, eds by Paul Haupt, Bern Switzerland より改変)

は1883年に甲状腺手術の死亡率を13%まで下げ、1898年には0.2%までになった<sup>4)</sup>。当時の甲状腺の手術成績としては驚異的であり、1909年に外科医として現在まで唯一のノーベル生理・医学賞を受賞し(図1)、コッヘル鉗子として現在も頻用されている。一方、Billrothは1881年に胃切除に成功し、その術式は現在でも行われている名術式といえる。

甲状腺手術が欧米でこの時期に盛んに行われるようになった理由として、表在性の臓器であるほかに、ヨード摂取不足により慢性甲状腺腫が多発していたからである<sup>4)</sup>。この甲状腺の手術は、現在まで続く3つの大きな問題を惹起している。それは、甲状腺機能低下症、反回神経麻痺、テタニーである。

第一の甲状腺機能低下症は、Kocherが甲状腺全摘を行った患者の18例にクレチン症状に直面し、この病態をcachexia strumiprivaと命名した<sup>4)</sup>。この甲状腺の生理学的な活性物質の探求は長らく行われてきた。1914年にMayo ClinicのKendallはthyroxinを抽出した。臨床応用は1949年のChalmersによる合成以降であり、1952年にはGross, Pitt-Riversによってtriiodothyronineが発見、合成された。

第二の反回神経麻痺に関しては、Billrothが1881年

に48例中11例に一側麻痺、2例に両側麻痺を報告し、その防止策としてできるだけ外側で下甲状腺動脈を結紮することを提唱した<sup>5)</sup>。一方、Kocherは甲状腺後面の被膜を残すこと主張した。両者の性格がよく表れている。1938年になり、ボストンのLaheyはルーチンに反回神経の露出確認を行い、神経損傷率を0.3%まで下げた<sup>4)</sup>。

上喉頭神経外枝の損傷による音声の障害が報告されたのは1958年であり、それが一般に認識されるのはさらに遅い<sup>4)</sup>。

第三のテタニーは甲状腺手術の初期から大きな合併症であったが、その機序はなかなか明らかにされなかった。1907年にHalstedは副甲状腺の血管解剖を示し、防止策が講じられるようになった<sup>4)</sup>。

甲状腺機能亢進症の疾患概念は1835年にGraves、1840年にBasedowにより報告された<sup>3, 6)</sup>。しかし、手術をすると寛解することがわかるようになったのは20世紀にはいつてからである。1907年にMayoはhyperthyroidismという概念を提唱した<sup>6)</sup>。その後、バセドウ病の手術が行われたしたが、手術成績は悲惨であった。1920年にMayo ClinicのPlummerはバセドウ病手術の前処置にヨードを使用し、安全な手術にした<sup>7)</sup>。



彼らによると著効例 33%，有効例 25%で悪化したものはなく，死亡率は 1%になったという。1930 年に入り甲状腺両側葉の亜全摘術が普及してきた。1943 年には Astwood によって抗甲状腺剤 thiouracil が開発された<sup>9)</sup>。なお，放射線ヨードが診断に用いられるようになったのは 1938 年，治療に用いられるようになったのは 1942 年である<sup>9)</sup>。もちろん，日本では第二次世界大戦の後である。

バセドウ病の病因には諸説あるが，1956 年に Adams が LATS を発見し，以後 TBII, TSAB, TSBAB の発見と続き TSH 受容体に対する自己免疫疾患の一つとして認められるようになった<sup>9)</sup>。

甲状腺の炎症疾患の発見にはいずれも外科医によっている<sup>9)</sup>。1886 年，Riedel は硬く悪性のように浸潤性の繊維性甲状腺腫を報告した。いわゆる，Riedel 甲状腺炎であり，病因はいまだ不詳である。1902 年には de Quervain が現在亜急性甲状腺炎と称されている疾患を報告した。病因はやはり不詳である。1912 年には Hashimoto (橋本 策) が struma lymphomatosa の概念を報告した (図 2)<sup>10)</sup>。1956 年に Doniach が橋本病患者の血清中に抗甲状腺抗体の発見を契機に自己免疫性甲状腺炎であることが判明した<sup>3)</sup>。この Hashimoto's

thyroiditis は日本人の名前がついている疾患の中で最も多く用いられている疾患であると考えられる。

一方，日本ではヨード欠乏を主病因とする甲状腺腫は極めて少なく，ドイツ外科から輸入された日本の甲状腺外科は育たなかった。その中で，1922 年に野口病院が開設され，さらに隈病院，伊藤病院が独立された。この三大病院が日本の甲状腺手術の大部分を行ってきたといっても過言でない。それは現在まで引き継がれており，特に伊藤病院は多大な手術件数を有している。この三大病院ではドイツ医学におけるびまん性甲状腺腫に目をつけることなく，バセドウ病を対象とし，極めて高い治療成績を残した。バセドウ病の手術はヨーロッパからアメリカに移り，甲状腺亜全摘が主流となったが，それらは主にアメリカの代表的施設の医師である Halsted, Crile, Mayo, Lahe, Bartrett などであった。日本から 1929 年野口雄三郎院長が，ヨーロッパでバセドウ病 420 例の手術経験を発表したときには注目を浴びた<sup>11)</sup>。すでに，Plummer がバセドウ病手術の前処置としてヨードを報告していたが，野口の術前処置は安静と放射線照射のみであった。大学病院においては東北大学で 1941 年に丸田公雄がバセドウ病の外科治療を行っていた程度である。一方，甲状腺癌の手術は遅れていた。1953 年伊藤尹院



図 2 橋本 策先生の写真 (向かって左は高等学校入学時，中央は医学部卒業時，右はドイツ留学時)  
(橋本 策博士ご三男 橋本和夫氏よりご提供)



長らが5年間で103例の経験を発表<sup>12)</sup>、東北大学外科の佐野らは1954年も続いて発表している<sup>13)</sup>。日本における甲状腺外科80余年のうち最初の20余年はバセドウ病の外科が中心であった。

### 発展期から現在

第二次世界大戦とともに外科における第二の革命がおきた。すなわち、ヨード摂取不足の解消、気管内挿管による全身麻酔の出現、ペニシリンを初めとする抗生物質の登場、輸血と輸液の普及、などであろう。

ヨード摂取不足によりび慢性甲状腺腫は癌の病型にも大きな変化を与えた。ヨーロッパはヨード摂取不足の時代が長く続いた<sup>6)</sup>。その結果、多くの症例がび慢性甲状腺腫であった。食塩にヨード添加を始めたのは1960年代である。その後は、び慢性甲状腺腫が減少してきたのはもとより、以前は癌腫のうち、乳頭癌、濾胞癌、未分化癌の頻度がほぼ同率であったが、1970年以後は乳頭癌が増加し、未分化癌が減少してきた。アメリカの対応は早く、第二次世界大戦後には日本とほぼ同じ癌の病型を示すに至った<sup>4)</sup>。

甲状腺悪性腫瘍の病理組織が多数例で検討され新しい疾患概念が生まれてきた。1953年、Meissner, Warrenは甲状腺腫瘍の分類に以前からのpapillary carcinoma, undifferentiated carcinomaに加え、follicular carcinomaという病型を初めて用いた<sup>14)</sup>。1959年にはHazardは未分化癌と診断されていたものに、髄様癌があることを明らかにした<sup>15)</sup>。また、1970年代には小細胞癌と診断されていたものに悪性リンパ腫があることが判明した。

髄様癌の疾患概念の確立は1960年代に行われた<sup>11)</sup>。1961年にはSippleが甲状腺癌、副腎褐色細胞腫、副甲状腺病変の合併を報告した<sup>16)</sup>。1962年にはCoppはカルシトニンを発見した。1965年にはWilliamsはこの甲状腺癌は髄様癌であり、C細胞由来であると推測した。その後、本疾患は常染色体優性遺伝、多発性内分泌腫瘍腫(MEN)2A, 2B, 家族性甲状腺髄様癌などに分類されることが明らかになった<sup>17)</sup>。1969年にはカルシトニンのRIA法の確立、1971年にはPearseがカルシトニンは細胞から分泌されることをつきとめた。以後、カルシトニンによる家族スクリーニングや早期診断に基づく甲状腺全摘術が行われるようになった<sup>18)</sup>。遺伝性髄様癌、MENでは大きな変革がおきた。1993年にMulliganらによるMEN2Aに対するRET癌遺伝子による胚細胞変異の検出である<sup>19)</sup>。MEN2Bでも同様に

DNA検査による保因者診断が可能となった。1994年にはDNA診断による保因者に対する予防的甲状腺手術を提唱された<sup>20)</sup>。2002年にはMENの関するガイドラインが報告され、MEN2は悪性度を変異コドンと家系の合併により3つのレベルに分けた<sup>17)</sup>。このMENは早期手術で完治し、手術による機能障害、合併症も極めて少ないため、種々ある遺伝性腫瘍の中で最もよい治療対象であると考えられる。

一方、甲状腺外科の発展は甲状腺ホルモン検査進歩に依存している。1965年にはTSHのRIA法、1972年にはthyroxine (T<sub>4</sub>), triiodothyronine (T<sub>3</sub>)のRIA法が行われ、甲状腺機能が正確に判定できるようになった<sup>22)</sup>。1983年には遊離型T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>が測定可能となった。1974年、Löwhagenが穿刺吸引細胞診(ABC)の有用性を報告した<sup>23)</sup>。超音波検査は1970年ごろより行われており、機器の進歩とともに診断能は著しく向上している。超音波ガイド下穿刺吸引細胞診も行われるようになった<sup>24)</sup>。また、カラードップラーも血流の状態がわかり有用な器具になった<sup>25)</sup>。

一方、世界各地の事情により甲状腺疾患の病態は異なり、医療社会・経済の違いにより治療法も異なるが、戦後のアメリカでは甲状腺疾患の病態は日本と同じようになり、戦後は約数年遅れながらも、米欧から多くのことを吸収してきた。そして、1960年以降は日本でも優秀な研究が行われ、臨床成績も向上してきた。

この21世紀において、吸引細胞診(ABC, FNA)は甲状腺腫の診断に有用となり、乳頭癌ではほぼ確実に診断できるようになったが、濾胞性腫瘍では良悪性の鑑別が難しい。この点では日本の技術の方が米欧よりも優れていると考えている<sup>25)</sup>。濾胞性腫瘍を手術すると20-30%に悪性所見が見られる<sup>26)</sup>。ABCで細胞異型の認められない患者は経過観察がよいと考えられる。高分化癌に対し、低分化癌は予後不良であるが、ABCではその鑑別は困難である。放射線治療を頸部に受けた患者は甲状腺癌になりやすい。頸部に放射線治療の既往があり、かつ甲状腺腫を有する患者では、たとえABCで良性、あるいは良性の疑いの所見であっても、高頻度に癌が認められる。それは併存する腫瘍の一部に癌が存在するためと考えられる。今後は穿刺吸引による分子生物学的診断法が台頭して、遺伝子レベルでの診断が可能になることを期待したい。

日本でのBモードとパワードップラー超音波検査の技術の進歩はめざましい<sup>25)</sup>。優秀な検査士であると術前の超音波検査により、臨床的にリンパ節などを触知しなかった患者の30-40%にリンパ節転移巣を検出できる。



また、カラードップラーを併用し、腫瘍周辺、腫瘍内の微小血流を観察し、癌と考えられる一定の診断基準が作られている。この超音波検査の進歩は機器の進歩に依存しているので、今後も診断能は高まっていく。

サイログロブリン (Tg) によるモニターリングは、甲状腺分化癌の術後に有用である<sup>27)</sup>。

甲状腺分化癌で甲状腺全摘後 TSH 抑制療法中に、臨床的に転移がなく、Tg の基礎値が正常域でもリコンビナントヒト TSH (rhTSH) 投与後に、Tg 値は 2 倍以上上昇する<sup>28, 29)</sup>。そのうち、1/3 に経過観察中に転移が認められる。一方、<sup>131</sup>I 全身シンチグラムでは、rhTSH 投与後でも、これらの患者のうち転移が確認される患者は少ない。rhTSH 投与による TSH 刺激 Tg テストは、Tg 基礎値が正常域で臨床的に転移が認められない患者に対しても陽性化することが多い。しかし、本年 1 月に日本では保険でその使用が認可されたが、外国には大きな遅れを取っている。<sup>131</sup>I 全身シンチグラムでは陽性率が低いが、rhTSH 投与後に <sup>131</sup>I 大量療法を行えば、転移が確認される頻度は高まり、転移巣に対する治療効果も上がる<sup>30)</sup>。しかし、日本では法的規制と保険点数の低さから <sup>131</sup>I 大量療法が可能施設とそのベット数は限られている。この <sup>131</sup>I の ablation と大量療法の規制はアイソトプアレルギーの日本の甲状腺癌の手術成績の向上を抑制しており、外国との議論の中で勝てない部分である。

低侵襲性甲状腺切除術には頸部小切開開放手術<sup>31)</sup>、内視鏡補助下手術<sup>32)</sup>、完全内視鏡手術<sup>33, 34)</sup>がある。それぞれの方法は長所、短所を有しているが、適応が限られており、不必要な大きくない良性結節が手術されている傾向にある。頸部を除いた部位に皮膚切開をおく手術は日本、韓国を中心とした東南アジアでのみ多く行われている理由は何であろうか。

反回神経の理学的的方法による確認方法として、Electromyography (EMG) や neuromonitoring がある<sup>35)</sup>。これらの神経の確認のみならず、損傷を避けるために役立つ。大きな甲状腺や再手術例では有用性は高い。日本では認可されていない。

アメリカを中心に 1990 年ごろより分化癌の予後因子についての報告があり、それに基づいた個別化された手術が行われるようになってきた<sup>36, 37)</sup>。その因子として腫瘍径、年齢、性別、遠隔転移であるが、濾胞癌ではそれにリンパ節転移の因子も関与する可能性がある。しかし、リンパ節郭清が濾胞癌の生存率の改善に役立つか否かは今後の研究による。

気管に局所的に浸潤した甲状腺高分化癌に対し、気管

形成術などの周囲臓器合併拡大手術は延命に役立つ<sup>38)</sup>。rhTSH 投与後に <sup>131</sup>I 大量療法の施行や最新型の放射線外照射を行うことで根治性は高まる。

## おわりに

医学・医療の進歩は急速であり、特に甲状腺外科の分野では、医療の進歩は科学の進歩に極めて強く関連している。新しい技術が臨床応用されると、甲状腺外科の診療形態を一変させる可能性がある。それには外国で認可されている種々の薬剤、検査などを日本でも早く認可すること、外科系の学会において甲状腺外科の専門性を認知すること、などが大事である。

## 文 献

- 1) Go H, Takeda M, Takahashi H, *et al.* Laparoscopic adrenalectomy for primary aldosteronism: a new operative method. *J Laparoendosc Surg* 3: 455-459, 1993
- 2) Imamura M, Takahashi K, Isobe Y, *et al.* Curative resection of multiple gastrinomas added by selective arterial secretin injection test and intraoperative secretine test. *Ann Surg* 210: 710-718, 1992
- 3) Johnston IDA. The history of endocrine surgery. The thyroid. (ED) Welbourn RB, Praeger Publishers, New York, p. 19-88, 1990
- 4) Cady B, Sedgwick CE. History of thyroid and parathyroid surgery. *Surgery of the thyroid and parathyroid glands.* (ED) Sedgwick CE, Cady B, W.B. Saunders, Philadelphia, p. 1-5, 1980
- 5) Thompson NW. The thyroid nodule-surgical management. *Surgery 2: Endocrine Surgery.* (ED) Johnston IDA, Thompson NW, Butterworths, London, p. 14-24, 1983
- 6) Olbricht TH. Pathophysiologische Grundlagen für therapeutische Strategien. *Therapie der Struma* (ED) Weinheimer B, Walter de Gruyter Heidelberg. Berlin, p. 3-14, 1991
- 7) Plummer HS, Boothby WM. Value of iodine in exophthalmic goiter. *Collected Papers Mayo Clinic* 15: 565-74, 1923
- 8) Astwood EB. Treatment of hyperthyroidism with thiourea and thioracil. *JAMA* 122: 78-84, 1943
- 9) Burman KD, Cooper DS. The diagnostic evaluation and management of hyperthyroidism due to Graves' disease, toxic nodules and toxic multinodular goiter. *Medical management of thyroid disease.* (ED) Cooper D.S. Marcel Dekkar, New York, p. 33-92, 2001
- 10) Hashimoto S. Zur Kenntniss der lymphomatösen Veränderung der Schilddrüse (Struma lymphomatosa). *Arch Klin Chir* 97: 219-48, 1912



- 11) Noguchi Y : Über operative Leistungen und das Wesen des Rezidivs bei Morbus Basedowii. Arch Klin Chirurg 157 : 211-221, 1929
- 12) 伊藤 尹, 伊藤國彦, 金地嘉夫, 他. 悪性甲状腺腫. 臨床外科 8 : 763, 1953
- 13) 佐野 進, 大原梧楼, 和田徳男 : 中毒症状を有する悪性甲状腺腫. 東北医誌 51 : 50-61, 1955
- 14) Meissner WA, Warren S. Malignant tumors, General discussion. Atlas of tumor pathology. Tumors of the thyroid gland. (ED) Meissner WA, Warren S, AFPI, Washington DC, p. 55-69. 1968
- 15) Norton JA, Wells SA Jr. Medullary thyroid carcinoma and multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes. Surgical endocrinology : clinical syndromes. (ED) Friesen SR, Thompson NW, Lippincott, Philadelphia, p. 359-376, 1990
- 16) Sipple JH. The association of pheochromocytoma with carcinoma of the thyroid gland. Am J Med 163 : 1961-1968, 1961
- 17) Steiner AL, Goodman AD, Powers SR. Study of a kindred with pheochromocytoma, medullary thyroid carcinoma, hyperparathyroidism and Cushing's disease ; Multiple endocrine neoplasia type 2. Medicine 47 : 371-379, 1968
- 18) Chong GC, Beahrs OH, Sizemore GW, *et al.* Medullary carcinoma of the thyroid gland. Cancer 35 : 695-699, 1975
- 19) Mulligan LM, Kwok JBJ, Healey CS, *et al.* Germ-line mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. Nature 363 : 458-460, 1993
- 20) Wells SA Jr, Chi DD, Toshima K, *et al.* Predictive DNA testing and prophylactic thyroidectomy in patients at risk for multiple endocrine neoplasia type 2 A. Ann Surg 220 : 237-250, 1994
- 21) Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, *et al.* Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. J Clin Endocrinol Metab 86 : 5658-71, 2001
- 22) Ewins DL, McGregor AM. Medical aspect of thyroid disease. Surgical Endocrinology. (ED) Lynn J, Bloom SR, Butterworth-Heinemann, Oxford : p. 294-311, 1993
- 23) Löwhagen T, Grandberg P-O, Lundell G, *et al.* Aspiration biopsy cytology (ABC) in tumors of the thyroid gland suspected to be malignant. Surg Clin North Am 59 : 3-18, 1979
- 24) Danses D, Sciacchitano S, Farsetti A, *et al.* Diagnostic accuracy of conventional versus sonography-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules. Thyroid 8 : 15-21, 1998
- 25) Fukunari N. Thyroid ultrasonography. B-mode and color-doppler. Biomed Pharmacother 56 : 55-59, 2002
- 26) Sadler GP, Wheeler MH. The thyroid gland. Endocrine Surgery. (ED) Farndon JR, Saunders, London, p. 30-88, 2001
- 27) Mazzaferri EL, Robbins RJ, Spencer CA, *et al.* A consensus report of the role of serum thyroglobulin as a monitoring method for low-risk patients with papillary thyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab 88 : 1433-41, 2003
- 28) Pacini F, Molinaro E, Grazia M, *et al.* Ablation of thyroid residues with 30 mCi <sup>131</sup>I : A comparison in thyroid cancer patients prepared with recombinant human TSH or thyroid hormone withdrawal. J Clin Endocrinol Metab 87 : 4063-4068, 2002
- 29) Robbins RJ, Larson SM, Sinha N, *et al.* A retrospective review of the effectiveness of recombinant human TSH as a preparation for radioiodine remnant ablation. J Nucl Med 43 : 1482-94, 2002
- 30) Zarnegar R, Brunaud L, Kanauchi H, *et al.* Increasing the effectiveness of radioactive iodine therapy in the treatment of thyroid cancer using trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor. Surgery 132 : 984-990, 2002
- 31) Ikeda Y, Takami H, Tajima G, *et al.* Direct mini-incision thyroidectomy. Biomed Pharmacother 56 : 60-63, 2002
- 32) Miccoli P, Bellantone R, Mourad M, *et al.* Minimally invasive video-assisted thyroidectomy : Multiinstitutional experience. World J Surg 26 : 972-975, 2002
- 33) Ikeda Y, Takami H, Sasaki Y, *et al.* Clinical benefits in endoscopic thyroidectomy by the axillary approach. J Am Coll Surg 196 : 189-95, 2003
- 34) Takami H, Ikeda Y. Endoscopic thyroidectomy via an axillary or anterior chest approach. Minimally invasive endocrine surgery. (ED) Gagner M, Inabnet WB, Williams & Wilkins, Philadelphia, p. 56-63, 2002
- 35) Chan W-F, Lang B H-H, Lo C-Y. The role of intraoperative neuromonitoring during thyroidectomy : a comparative study on 1000 nerves at risk. Surgery 140 : 866-873, 2006
- 36) Hay ID, Bergstralh EJ, Goellner JR, *et al.* Predicting outcome in papillary thyroid carcinoma; Development of a reliable prognostic scoring system in a cohort of 1779 patients surgically treated at one institution during 1940 through 1989. Surgery 114 : 1050-1056, 1993
- 37) Shaha AR, Shah JP, Loree TR. Low-risk differentiated thyroid cancer. The need for selective treatment. Ann Surg Oncol 4 : 328-333, 1997
- 38) Sywak M, Pasiaka SM, Fadden Mc, *et al.* Functional results and quality of life after tracheal resection for locally invasive thyroid cancer. Am J Surg 185 : 462-467, 2003



講 座

## 上肢の先天異常とその治療

国立成育医療センター 第2専門診療部

たか やま しんいちろう  
高山 真一郎

Key Words : congenital anomaly, hand, polydactyly, syndactyly, hypoplastic thumb

### はじめに

上肢の先天異常は多彩で、発症原因・病態にはなお不明なものも多く、現在これらの疾患の名称は主に外観から命名されている。すなわち指の数が多ければ多指症、指が癒合していれば合指症というようにその形態によって命名・分類がなされてきたが、1976年にSwanson<sup>1)</sup>が発生学観点を取り入れた上肢先天異常の分類を提唱した。本分類は優れたものであったが、同一機序で発現すると考えられる裂手症、中央列多指症、合指症が異なるcategoryに分類されていることやsymbrachydactylyに含まれる典型的な合短指症と非定型的裂手症が別々な分類に入れられていることなどの問題点が指摘<sup>2)</sup>され、これらを解消させた国際手の外科連合による改良分類や日本手の外科学会の修飾分類(表1)<sup>3)</sup>が、現在上肢の先天異常の基本的分類法として広く用いられている。

本邦では先天異常は他の疾患や外傷と異なり、“形が奇なるもの”すなわち先天性の形態異常は家族にとって“恥ずべきもの”といった風潮があったが、社会的背景は徐々に変化しつつある。また“奇形”という用語は差別につながるという見方があり、現在は“先天異常”と呼称されることが一般的である。

診断の基本は外観の形態であるが、指の数・大きさといった基本的な事項以外、指の長さのバランス、側屈変形の有無、可動域制限なども重要な項目である。さらに爪の形態、指や手掌皮線(crease)、母指球筋などの筋肉の発育などの観察も必要である。もちろんX線による骨変化の評価も重要であるが、乳幼児では軟骨成分が多く、手指骨や手根骨の存在の判断が難しいことがあり、注意を要する。さらに手の奇形は骨系統疾患および症候

群の部分症であることも多く、他の先天異常の合併の有無を検索することも重要である。

これらの疾患に対しては、形態的・機能的両面の改善を考慮して治療計画を立てていくが、治療結果が完全に満足できる症例は限られる。形態異常が著しいほど一般に両親は早期治療を希望するが、治療の内容によっては一定の年齢まで待機してからの手術が薦められる疾患も少なくない。逆に至適時機を逸すると異常な動作パターンが固定化して機能改善が得難い疾患もあり、手術時期は機能障害の程度・再建目的などを十分検討して決定すべきである。またこれら生まれつきの障害は、外観からの予想より日常生活動作上の機能障害は軽度で患児自身が機能障害を訴えることは少ないが、一方で有効な機能再建術は上肢の機能を大幅に向上させ得ることも事実である。

以下頻度の比較的高い疾患について解説し、最近の治療の進歩や問題点について述べたい。

### 多指症(母指多指症)

上肢の先天異常の中で最も頻度が高く、多指症の大部分は母指である。家系発症例は10%以下であるが、男児に多く、両側性は約15%といわれている。母指多指症では先端が拡がり幅の広い爪をもつものから、第1中手骨レベルから完全に分かれ、2本が蟹のハサミのような形をとるものまで様々で(図1)、分岐高位に基づいたWasselの分類<sup>4)</sup>が広く用いられている。また母指は基節骨と末節骨の2節であるが、小さな中節骨を有する3節母指を伴うこともある。

治療の目標は、できるだけ正常に近い母指を形成することである。退化型では、皮膚と血管神経束のみで連続しており、基部の小皮切による切除で問題ないが、通常



表1 手の先天異常分類(日本手の外科学会先天異常委員会 改訂版2000年)

I. Failure of formation of parts 形成障害(発育停止):上肢の一部あるいは全体が形成されない異常
A 横軸列形成障害(symbrachydactyly 合短指症)
B 縦軸形成障害(橈側列形成不全 尺側列形成不全)
C Phocomelia(あざらし肢症)
D 筋腱形成障害
E 爪形成障害
II. Failure or differentiation of parts 分化障害:皮膚・骨・関節・筋・神経・血管などの構成単位がいったんは形成されたが、最終的な段階まで分化しなかった異常
A 先天性骨癒合症(橈尺骨癒合症, 中手骨癒合症など)
B 先天性橈骨頭脱臼
C 指関節強直
D 拘縮・変形(多発性関節拘縮症, 風車翼手, 屈指症など)
E 腫瘍類似疾患(血管腫, リンパ管腫, 神経線維腫症など)
III. Duplication 重複:指の数が過剰に形成される異常
A 母指多指症
B 中央列多指症(→category IV に分類)
C 小指多指症
D 対立可能な三節母指
E その他の過剰指節(症)
F Mirror hand
IV. Abnormal induction of digital rays 指列誘導異常:手板内に指放線が誘導され指の数が決まる際の障害
A 軟部組織:皮膚性合指, 過剰な指間陥凹
B 骨組織:骨性合指, 中央列多指, 裂手, 三節母指, 複合裂手
V. Overgrowth 過成長
A 巨指症
B 片側肥大
VI. Undergrowth 低成長
A 小手(症)
B 短指(症)
C 斜指(症)
VII. Constriction band syndrome 絞扼輪症候群:いったん形成された上肢に障害が加わり発現する異常. 絞扼輪・リンパ浮腫・先端合指・切断型
VIII. Generalized skeletal abnormalities & part of syndrome 骨系統疾患及び先天異常症候群の部分症
IX. Others その他(分類不能例を含む)



図1 母指多指症:分岐高位は様々である



母指多指症では両多指成分とも低形成で、一方の母指の切除のみでは細い母指が残ることは否めない。そこで両側の成分を合算して太い母指を形成する二分併合法 (Bilhaut-Cloquet 法)<sup>5)</sup> が生み出された。しかし整容的問題は単に指の太さだけではなく、爪・爪郭の形状、手術創が目立たないことなども重要である。二分併合法は末節骨の成長障害、指節間関節 (interphalangeal joint 以下 IP 関節) の屈伸障害、爪の変形などの合併症が生じやすく、良好な結果を得るためには技術的習熟が要求される。これに対し、合併した爪や IP 関節の変形を防止することを目的に、末節骨の片方のみを関節面に利用し、もう一方は末梢部分だけを併合する改良法<sup>6)</sup> が考案され、良好な成績が報告されている。

筆者は、橈側母指尺側母指ともに細く、それぞれの末節骨がほぼ同等のサイズな例に限って二分併合法を用い、その他の末節骨型には骨抜き皮弁法を適応している。これは橈側母指の末節骨を切除し、橈側母指の指尖と爪郭部を皮弁として利用する方法で、比較的安定した成績が得られている。この際皮弁の指尖部の不足や余剰がないように注意することが重要である<sup>7)</sup>。

基節骨型では、多くの症例で尺側を温存し橈側母指を切除する。尺側母指が細い場合、橈側母指の一部を皮弁として尺側母指を太く形成することがあるが、基部が太く先端が急速に細くならないように注意する。残存させる母指をできるだけ太く形成する目的で、切除母指の一部を皮弁として用いることもあるが、手術痕を考慮すると指背側の痕が目立ちやすく、側方の直線的な手術創が望ましい。皮弁を用いて形成を行うかどうかは、この点も考慮して選択すべきである。

橈側尺側母指とも IP 関節・中手指節関節 (metacarpophalangeal joint 以下 MP 関節) が側屈している場合、一方の母指を切除した後に母指の骨軸を整えることは機能的にも重要である。側屈変形が強い場合、矯正骨切りや側副靭帯再建などが必要だが、乳児期に正確な骨切りを行うことは容易でない。乳児期の不適切な骨切りにより、かえって著しい側屈変形と関節動揺性をきたしたという報告もある<sup>8)</sup>。筆者は、極端な側屈変形例を除き、初回手術では無理に矯正骨切りを施行しないで側副靭帯の縫合と Kirschner wire の仮固定による骨軸の保持のみとし、目立った変形が残存する時に二次的矯正を行っている。

基節骨型では切除する橈側母指基部に短母指外転筋 (APB) が停止している場合が多い。この際、同筋の停止部を骨膜ごと剥離し尺側母指基節骨に再縫合することは良く知られている注意点であるが、縫合部を MP 関

節屈伸軸の背側に定めることが重要である。APB は母指の掌側外転・回内という対立運動を司っているが、同時に一部は長母指伸筋 (EPL) 腱にも線維が連続し MP 関節伸展にも作用している。APB の停止部が基節骨掌側に偏位すると、対立運動の際に MP 関節が屈曲・橈屈し、機能障害の原因となる。初回手術でこの点の配慮が欠けたため、対立機能障害が生じた例はまれではない。APB の一部を EPL tendon あるいは基節骨背尺側基部の骨膜に縫合し、MP 関節の伸展・母指の回内機能が損なわれないように処理を行う。また対立障害遺残例に対しては、APB 末梢部をいったん剥離し、第 1 中手骨背側より基節骨尺側基部に移行させる再建術が有効である。

また母指多指症では IP 関節の自動屈曲が障害されている症例も少なくない。術前に IP 関節の自動他動運動を良く観察し、可能なら術中に長母指屈筋 (FPL) 腱を牽引して IP 関節の屈曲状態を確認する。FPL 腱が末節骨中央でなく側方へ偏位していたことが二次的 IP 関節側屈変形増強の原因と考えられた症例もあり、FPL 腱停止部の確認を要することがある。

母指多指症では正常な母指に余剰な母指が付着しているのではなく、2 本ともに正常の母指よりやや細く、動揺性あるいは変形を有することを認識しなければならない。本症は先天異常手の中では比較的安易に治療が行われる傾向があるが、術後の遺残変形を残すことも少なくない。余剰指型を除くと、変形や関節動揺性の矯正を目的とする追加手術の頻度は約 20% に達している<sup>9)</sup>。

小指の多指症も母指に次いで見られるが、多くは両側性である。その他示指や中指の多指症は稀で、母指多指症と区別され合指症・裂手症と同じグループに分類される。

## 合指症

多指症に次いで頻度の高い先天異常である。合指症は、軟部組織の指列誘導障害には分類され、皮膚のみが癒合しているものが多数を占めるが、指骨の一部あるいは全部が癒合しているものは骨性合指症と呼ばれる (図 2)。典型例は中指と環指の合指で、指尖まで完全に癒合しているものから、指間部がやや上昇して見えるだけの不全合指まで癒合レベルは様々である。骨性合指は裂手症との位置づけが問題になるが、治療は極めて困難であり、分離するとかえって動きが悪くなるような症例は、分離手術の適応にならない。

合指症の分離に際しては様々なデザインが提唱されているが、背側の矩形皮弁により指間部の形成を行い、指



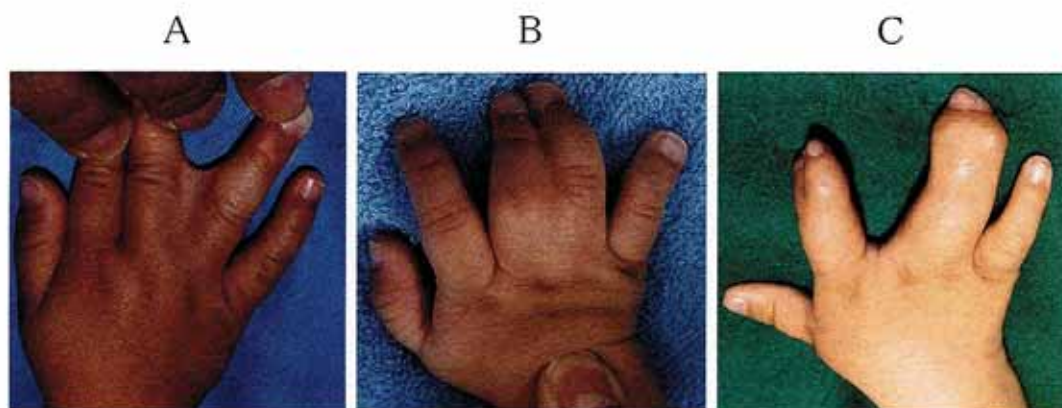


図2 合指症  
A・B：皮膚性合指（A：不全合指，B：完全合指）  
C：骨性合指

側面は全層植皮で被覆するという術式が一般的に行われている。指側面の欠損部に対しては、従来鼠径部よりの植皮が行われていたが、植皮部分の色素沈着が目立つため、足関節内果部よりの採皮が薦められる。全層植皮部分は比較的狭い範囲であるため、筆者は tie over dressing を行わず、指間部にナイロン綿を挿入して軽度の圧迫のみとしているが、植皮片の定着は問題ない。合指症術後の問題は主に皮弁の収縮による近位指節関節 (proximal interphalangeal joint 以下 PIP 関節) の屈曲拘縮と指間部の再上昇<sup>10)</sup>であるが、皮弁の良好な生着と PIP 関節の屈曲拘縮を防止するため、術後約4週間 Kirshner wire を用いて指尖より指伸展位で MP 関節までの仮固定を行っている。手術は1-2歳に行なうことが多いが、示指から小指まで4本の合指症の場合、すべての指間部の形成を同時に施行すると中央の指に循環障害が生じる危険性があるので、通常分離手術を2回に分けて施行している。皮膚性合指でも、指の側屈・回旋変形を伴う場合はまれでなく、分離後に矯正手術を要することもある。

また絞扼輪症候群、Apert 症候群などでも合指を呈するが、典型的な合指症とは形態が異なる。

### 橈側列形成不全・母指形成不全

尺側列形成不全とともに縦軸欠損と分類される疾患である。先天異常分類では形成障害の中の縦軸形成障害に位置づけられている。前腕部の欠損があると手関節が著しく橈屈するため内反手 (radial club hand) といわれ、手に障害がある低位型は母指形成不全症と表現されるが、いずれも橈側の細胞死の結果と考えられている。治療に

あたって注意すべきことは、心臓疾患や血液疾患など他の先天異常を合併する頻度が高いことで、Holt-Oram 症候群、VATER association、Fanconi 貧血などに伴う症例がある。

前腕では橈骨がやや短いものから完全に欠損するものまで、障害程度は様々である。母指の形成不全に関しても、正常と見極めのつきにくい軽度な症例から母指の全欠損まで多彩な病態を呈する。母指形成不全については Manske<sup>11)</sup>により修正された Blauth の分類<sup>12)</sup> (図3) が、前腕に関しては Bayne<sup>13)</sup> の分類が一般に用いられているが、前腕 (橈骨) の低形成と母指の低形成の程度は必ずしも一致せず、橈骨が全欠損でも母指にはほとんど異常が見られない症例もある。

母指形成不全症では重症型の母指欠損や著しい低形成を除くと外観は比較的目立たないため、比較的頻度が高いものの、診断や外科的治療の判断が遅れることが稀でない。本症の主たる治療目的は母指の機能改善であるが、手の機能面からみると、母指が安定して対立できることは極めて重要である。すなわち母指形成不全症の治療は単なる先天異常の治療という面に留まらず、手の機能再建を考える上で興味深い課題といえる。

母指形成不全の最も頻度の高い Blauth II および III A では、第1指間の狭小化・MP 関節の不安定性・母指球筋の低形成による対立機能障害が特徴で、小指外転筋 (ADM) 移行術による対立再建 (Huber<sup>14)</sup>、Little<sup>15)</sup> が報告しており本邦では Huber-Littler 法と呼ばれる) が標準的に行われている<sup>16, 17)</sup>。しかし MP 関節の動揺性が著しいと、つまみ動作で著しい母指 MP 関節橈屈変形 (ulnar-collapsed pattern) をきたし良好な機能は得難いが、その重要性については十分に認知されてい



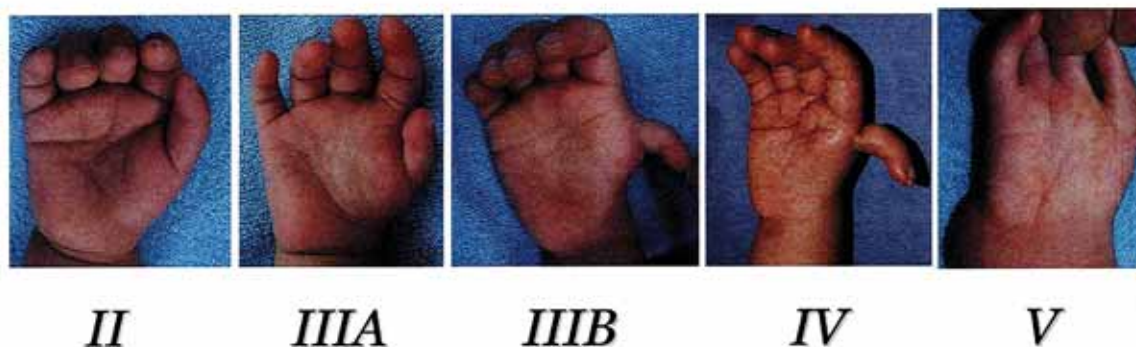


図3 母指形成不全 Manske らの改変による Blauth 分類

- Type I : ごく僅かな低形成  
 Type II : 第1指間の狭小化・MP関節の不安定性・母指球筋の低形成  
 Type IIIA : Type IIの特徴+手外筋の異常と第1中手骨の軽度の低形成  
 Type IIIB : Type IIIAの特徴+第1CM関節欠損(第1中手骨中極部の欠損)  
 Type IV : 浮遊母指  
 Type V : 母指の欠損

るとは言えない。MP関節安定性の獲得に対しては、関節包の縫縮、尺側側副靭帯形成、MP関節仮固定あるいは関節固定<sup>19)</sup>などが行われてきたが、筆者の経験ではいずれも満足とは言い難く、MP関節仮固定では挿入したKirschner wireが折損して抜去困難となった症例も経験している。さらに母指の対立運動は単に掌側外転運動だけでなく、母指と他の指との指腹部が向かい合うように回旋即ち母指の回内が重要だが、従来のADM移行術では十分な母指の回内が得られず、母指と他の指との指腹が対抗できない。これらの問題点を解消する目的で、移行筋腱末梢部をMP関節尺側に縫合する改良法<sup>18, 20)</sup>を考案し、良好な成績が得られている。母指形成不全の場合、年齢が進むと低形成な母指を使用せず示指と中指で物を挟むパターンが確立してしまうため、できるだけ早い時期(3-4歳頃)に手術を行った方が機能成績は良好である。

母指の全欠損や著しい浮遊母指では示指の母指化術が薦められ、比較的母指の大きさが保たれているBlauth III Bでも欧米では母指化術が適応されているが、本邦では家族が母指を温存する治療を希望することが圧倒的に多い。1973年矢部ら<sup>21)</sup>はこの様な症例に対し、第1中手骨近位部に骨端線を含む第4中足骨頭の遊離移植を行い、2次的に筋移行を追加して再建を報告した。われわれはこの方法でこれまで20例以上の再建を行ってきたが、本法は血管柄付でないものの、移植骨と第1中手骨末梢部の骨癒合は良好であった。多くの症例で移植骨片の骨端線は5年以上開存し長軸方向への成長が認められ、最長例で健側と同時期の15歳まで開存していた。これは、手術年齢(平均3歳)が大いに影響しているものと

考えている。半数の症例でほぼ正常に近い第1中手骨長が獲得され、母指は対立位で安定し、母指と示・中指間での物体把持が可能となった<sup>22)</sup>。類似の術式と比較して本法の優れている点は、可動域を有する安定した母指CM関節が形成できることである。Blauth III Bの症例では母指の内転力が存在しているが、浮遊母指では母指内転に作用する筋も存在しないため、小指外転筋移行のみでは母指が徐々に外転してしまう。これを防止するために、尺骨神経麻痺と同様に固有示指伸筋腱を用いた母指内転再建を加える必要があった。母指化術との機能評価の比較は難しいが、母指が温存できたことによる整容面での家族の満足度は高く、本法は母指化術と並ぶ選択肢となりうる(図4)。なお初期の症例では第4中足骨採取後に著明な第4趾の短縮が生じたが、1992年以後の症例では第4趾の短縮防止のため中足骨の欠損部にapophysisを含む腸骨移植を行った結果<sup>23)</sup>、移植腸骨片は他の中足骨とほぼ同様に成長し、趾の短縮は防止できた。

### 合短指症と短指症

上肢を横断するように形成障害が出現するものは合短指症と呼ばれ、手の先天異常分類ではカテゴリーIの横軸列形成障害と表現される。典型例では指が短く皮膚性合指を有し、中節骨の欠損や低形成が各指に見られる。重症型では合短指症という名称から想像される形態とはやや異なるが、中央列ほど形成障害が強く、示指から環指が基部以下で欠損することがある。さらに合短指症には母指のみしか存在しない例、すべての指が欠損する例



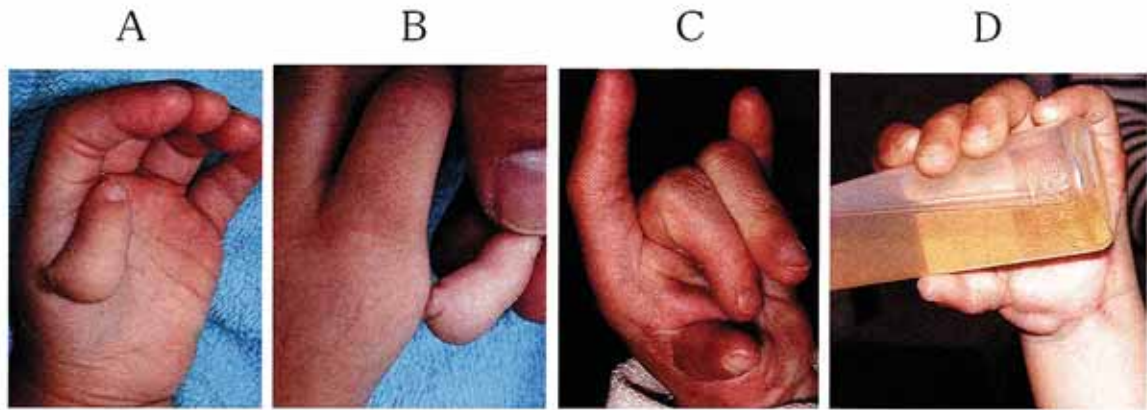


図4 母指形成不全 Blauth type IV 浮遊母指型  
A・B:術前 C・D:術後4年  
ふらふら状態の母指を中足骨移植で再建した症例で、短いながら母指として十分使用可能な状態となった

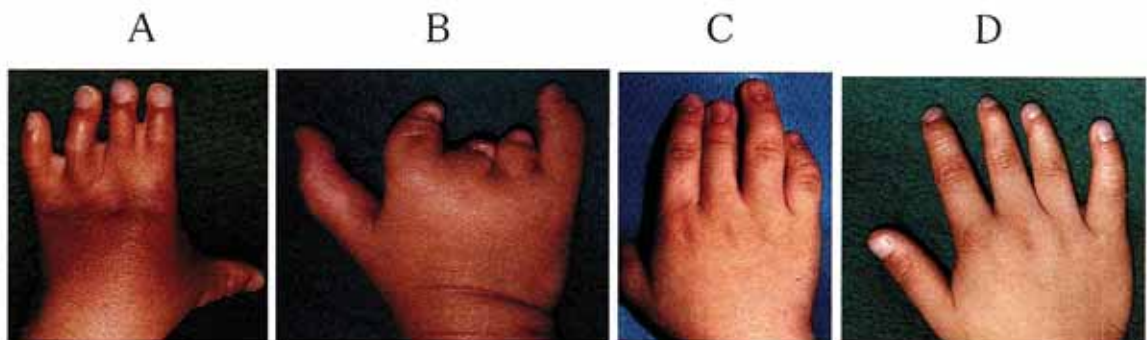


図5 合短指症と短指症  
A・B:合短指症:指がやや短く不全合指を呈する症例から、痕跡程度しか指が存在しない例まで多彩なパターンを含む  
C・D:短指症:中節骨が短いものや中手骨が短いものなどがある

などが含まれる (図5)。

治療は合指部分の分離や、骨移植や骨延長術などによる指の長さの再建が行われる<sup>29)</sup>。仮骨延長法による延長は骨移植を要しない点で従来の方法に優るが、軟部組織の緊張のため延長量に限界があること、延長した部分の長軸方向への成長が期待できないことなどが問題点である。

一方類似の名称である短指症は、カテゴリーVIの低成長に分類される疾患で、手指の中手骨・基節骨・中節骨あるいは末節骨の短縮により、すべての指あるいは特定の指の長さが正常より短い状態と定義される (図5)。短指症は軟骨無形成症・多発性骨軟骨腫・多発性内軟骨腫症・ダウン症など骨系統疾患をはじめとする様々な全身疾患の1症状として見られることも多い。様々な変異形態が含まれるが、手指の欠損があるものは除外される。短指症には生後直後より短縮が見られる場合と、早期骨

端閉鎖により10歳前後で短縮が明らかになる場合があり、短縮変形が出現頻度の高い部位は、小指中節骨・母指末節骨・第4および第5中手骨で、Type Aからtype EまでのBell分類<sup>29)</sup>が広く用いられている。短指症では、基本的にすべての手指骨・中手骨が存在するが、乳児で骨化が遅れている場合、末節骨が確認できないことがある。時に指骨は台形あるいは三角形を呈し、指骨間の癒合もみられる。

短縮の程度が軽度であれば、治療は不要だが、整容的改善を目的に中手骨・手指骨の延長が行われることがある。短指症に対しても創外固定を用いた骨延長がしばしば行われるが、サイズが小さいため特殊な創外固定器械を要する<sup>29)</sup>。中手骨では仮骨形成は良好だが、手指骨ではしばしば仮骨形成が不良なことがある。



## 裂手症（中央列形成不全）

典型例では中指が欠損し、示指と環指との間が深いV型の指間陥凹で手掌部まで裂けたような形をとるため、この様に呼ばれる（図6）。中指のみ欠損する典型例では、第3中手骨が存在する場合と欠損する場合があります。裂隙の深さは中手骨の有無と関連する。第3中手骨が存在する例では、欠損は中指のみに限定している。第3中手骨末梢に、示指あるいは環指に向かう横走骨・介在骨が存在することがあり、時に手根骨の異常を合併するため、上肢近位（手根骨前腕を含め）の検索を必要とする。重症例は中指だけでなく中央列の2指例（中指環指）あるいは3指例（示指中指環指）の欠損がみられる。また深い裂隙のみならず、蟹足様の斜指変形を呈することがある。さらに桡側・尺側の隣接指間に時に皮膚性合指合併や複数指欠損例ではしばしば母指の短縮や三節母指がみられる。発生上、中央列多指症・骨性合指症・斜指症などとの類似性・関連が議論されており、両側例も多く、時に裂足症を合併する。なお Barsky<sup>27)</sup>の述べた非典型

裂手は、現在では合短指症 symbrachydactyly と考えられ、別個のカテゴリーに分類されている<sup>28)</sup>。さらに指列減少を伴わない環小指間の異常な指間陥凹は、尺側列形成不全との関連が考えられ、裂手症とは区別される。

中指の欠損による典型例における機能障害は比較的問題が少なく、整容面での改善目的で手術が行われることが多い。母指の低形成や母指示指間の第1指間の狭小化を合併する症例では、把持機能障害の改善目的も合わせて手術を計画する必要がある、難易度が高い<sup>29)</sup>。

## 先天性多発性関節拘縮症

広範囲に軟部組織が侵され、手では屈指症、全指がMP関節で尺側に偏位する風車翼状手（windmill deformity）と呼ばれる特有な形態を呈する（図7）。また母指ではMP関節屈曲拘縮（伸展障害）を呈する状態を握り母指症と呼んでいる。これらと所謂先天性多発性関節拘縮症（Arthrogyriposis multiplex congenita 以下 AMC）や内反足・垂直距骨などを合併する distal arthrogyriposis、特異な顔貌で知られる Freeman



図6 裂手症（中央列形成不全）  
中指が欠損し手背中央部が裂けたように見える。他の指の異常を伴うことが多い

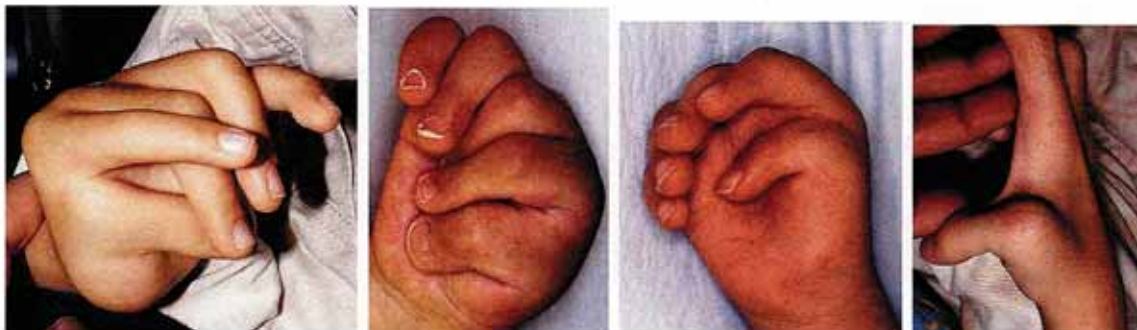


図7 先天性多発性関節拘縮症（AMC）  
著しい母指内転屈曲拘縮と中指から小指の屈曲拘縮を呈する



Sheldon 症候群との鑑別は明らかでない。重症な AMC では肘や手関節・手指の自動屈伸運動がほとんど不可能である。

手の機能障害の改善のためには、皮膚性の指伸展障害に対し手掌部から指基部掌側の皮膚移植による拘縮の改善を図り、第1指間に対しては有茎皮弁による形成が有用である<sup>36, 31)</sup>。本疾患に対しては、有効な治療法がないと記載している教科書もいまだにあり、多くの整形外科専門医が外科的治療の有効性を認知していない。本症に対しては乳幼児期の装具療法による拘縮改善が効果的であるが、装具のみではMP関節の伸展力が得られない。母指MP関節の伸展力障害(欠如)の再建は難しく、伸筋腱の剥離・短縮・移行などによってもMP関節の自動伸展が得られないことが多い。筆者はこの様な例に対し、母指形成不全症の対立再建の改良法にヒントを得て、短母指外転筋付着部を長母指伸筋腱の深層を通して母指MP関節尺側に移行する方法を考案し、良好な結果を得ている<sup>32)</sup>。

さらに拘縮が著しい症例では良肢位での関節固定を行わざるを得ない。本疾患では下顎の低形成を伴い、年長になると徐々に挿管が困難となるため、就学前に手術を行うことが推奨される。手術成績も低年齢で行った方が良好である。

### 先天性絞扼輪症候群

四肢の一部をゴムバンドで締め付けたような形を絞扼輪と呼ぶ。前腕や手指の部分的あるいは全周性の輪状の皮膚のくびれから、先端合指、遠位部の欠損まで、様々な形態が同一患者の四肢に種々の組み合わせで出現する(図8)。絞扼輪が強い場合にはその末梢部がリンパ浮腫

を呈し、さらに著しくなると切断となる。絞扼輪としばしば合短指症(symbrachydactyly)との鑑別が問題となるが、合短指症では片側罹患であること、中央指列(示指中指環指)に障害が強いこと、痕跡指がしばしばみられること、罹患上肢全体の形成障害が存在することなどが鑑別に有用な特徴である。また絞扼輪症候群では切断端の近位の骨形成障害をほとんど見られないことも参考になる<sup>33)</sup>。

本疾患の原因は不明であるが、家族発生はみられない。絞扼輪部分の形成には様々なデザインが報告されているが、筆者はZ形成術と陥凹部の切除を組み合わせを行っている。絞扼輪の合指症では、指の先端が判別困難な程度癒合している症例でも、指基部が分かれているため分離手術は可能で、変形の固定を防止するため可及的早期に手術を行うべきである。

### 先天性橈尺骨癒合症

肘周辺の先天異常では最も頻度が高い疾患で、男児に多く、時に家族性に発症し、両側例も見られる。前腕近位部で橈骨と尺骨が骨性に数センチ癒合しているが、橈骨頭は後方あるいは前方脱臼位を呈するものが多い(図9)。前腕の回旋運動制限が主たる症状だが、多くは手掌が下を向く前腕回内位で固定されている。前腕の回旋制限は肩関節である程度代償されるため、中間位で固定されている例では日常生活上問題が少なく診断が遅れることがある。手関節・肘関節の屈伸可動域は通常正常で、“お茶碗の持ち方がおかしい”、“鉄棒の逆上がりができない”、“洗顔時に手のひらで水をためられない”、“野球の時にグローブでうまくグロが拾えない”、などのエピソードで初めて障害が判明する例も少なくない。

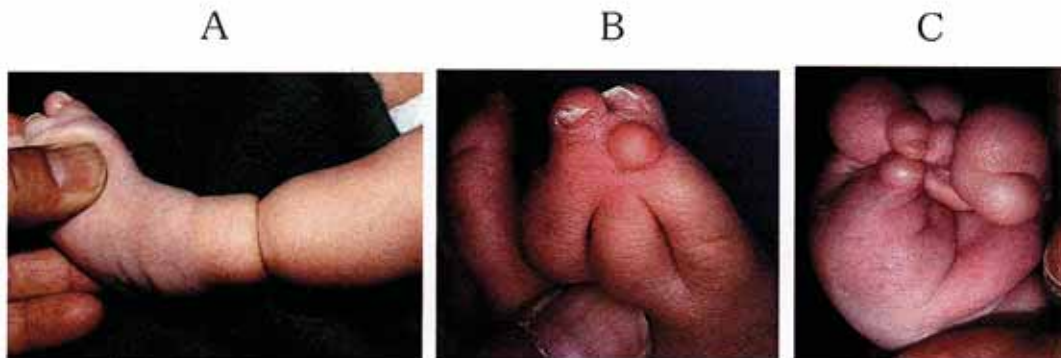


図8 先天性絞扼輪症候群  
 A: ゴムバンドが食い込んだような著しい皮膚のくびれ  
 B: 先端合指  
 C: リンパ浮腫





図9 先天性橈尺骨癒合症  
 橈尺骨近位部は数センチにわたって骨性に癒合している。  
 橈骨頭は低形成で前方あるいは後方に脱臼していることが多い。

日常生活で特に障害がなければ、治療は不要とする考え方もある。橈尺骨癒合症では単に癒合部分を切離しただけでは、回内外可動域を獲得することは困難で、また癒合部を切離しても再癒合することが多い。このため従来は、癒合部あるいは橈骨の遠位1/3部位での回旋骨切りにより、回内位の固定肢位を中間位あるいはやや回外位の肢位に変換する方法のみが行われていた。近年、癒合部の切離だけでなく、橈骨の骨切りによる腕橈関節の適合性改善および血管柄付の筋膜・脂肪の挿入などの術式の改良<sup>34, 35)</sup>により、回旋可動域獲得目的とした治療が進歩した。特に橈骨の彎曲異常による回内外運動時の偏芯性運動の改善が、良好な術後可動域獲得に重要で、骨切り術による橈骨の適切な矯正が鍵となる。

手術は年長になっても可能だが、強い回内位固定の症例では骨間膜や遠位橈尺関節の影響などから10歳を過ぎると分離授動術が難しくなるため、就学前の4-5歳ごろに行うことが推奨される。

## おわりに

国立成育医療センターでは現在年間100例以上の先天異常手の手術を施行しているが、本症の手術は整形外科・手の外科の中でも特に高度で繊細な技術が要求される。

外傷や腫瘍などにおける手術の目標は、“元来正常であったものが、何らかの原因で機能や形態の障害が生じた状態”を元に戻すことである。従って“元に戻すことができれば治療成績は100点”になるが、先天異常では、もともと形態異常・機能障害が存在し、どのような治療を行っても“完全に正常な状態”が獲得できることはない。“正常な手”に直して欲しいという患者側の要求は強いものの、現在の医学では、“ない指は創れない”、“もともと全く動かない関節は動かせない”という限界

が存在する。重度な先天異常では治療側・患者側ともに完全に満足な治療結果が得られる症例は限られ、治療の適切な到達目標設定も重要である。

本疾患の治療に携わるわれわれの使命は、機能的・整容的により満足度の高い治療方法を開発し、個々の症例に応じて実践していくことであるが、今後遺伝子レベルの研究による発現機序の解明と再生医療の進歩などにより、これまでは考えられなかった治療法の革新が期待される。

## 文 献

- 1) Swanson AB : A classification for congenital limb malformation. J Hand Surg 1 : 8-22, 1976
- 2) Ogino T, Minami A, Fukuda K : Congenital anomalies of the upper limb among the Japanese in Sapporo. J Hand Surg [Br] 12 : 343-348, 1986
- 3) 日本手の外科学会先天異常委員会：手の先天異常マニュアル. 日手会誌 17 : 353-365, 2000
- 4) Wassel HD : The result of surgery for polydactyly of the thumb, a review. Clin Orthop 64 : 175-193, 1969
- 5) Bilhaut M : Guérison d'un pouce bifide par un nouveau procede operatoire. Congr Fr Chir 4 : 107-116, 1890
- 6) Baek GH, Gong HS, Chung MS, Oh JH, Lee YH, Lee SK : Modified Bilhaut-Cloquet Procedure for Wassel type II and III polydactyly of the thumb. J Bone Joint Surg 89A : 534-541, 2007
- 7) 高山真一郎：母指多指症の治療のコツ。手の外科の要点と盲点（金谷文則編）。文光堂，p.392-394，2007
- 8) 塩野将平，仲尾保志，高山真一郎，下村哲史，戸山芳昭：母指多指症術後変形に対し複数回の手術を要した1例。関東整災誌 36 : 1-5, 2005
- 9) 斎藤治和，仲尾保志，高山真一郎，中村俊康，堀内行雄：再手術を要した母指多指症の検討。日手会誌 24 : 824-828, 2004
- 10) 児島忠雄：合指症手術の問題点。整形外科 51 : 103-110, 2000



- 11) Manske PR, McCarroll HR : Reconstruction of the congenitally deficient thumb. *Hand Clinic North Am* 8 : 177-196, 1992
- 12) Blauth W : Der hypoplastische Daumen. *Arch Orthop Unfall-Chirur* 62 : 225-246, 1967
- 13) Bayne LG, Klug MS : Long-term review of the surgical treatment of radial deficiencies. *J Hand Surg* 12 A : 169-179, 1987
- 14) Huber E : Hilfsoperation bei Medianuslahmung. *Dtsch Z Chir* 162 : 271-275, 1921
- 15) Littler JW, Cooney SGE : Opposition of the thumb and its restoration by abductor digiti quinti transfer. *J Bone Joint Surg (AM)* 45 : 1389-1396, 1963
- 16) Ogino T, Minami A, Fukuda K : Abductor digiti minimi opponensplasty in hypoplastic thumb. *J Hand Surg* 11B : 372-377, 1986
- 17) Manske PR, McCarroll HR : Abductor digiti minimi opponensplasty in congenital radial dysplasia. *J Hand Surg* 3 : 552-559, 1978
- 18) Kowalski MF, Manske PR : Arthrodesis of digital joints in children. *J Hand Surg* 13A : 874-879, 1988
- 19) 高山真一郎, 仲尾保志, 池上博泰, 大串一彦, 堀内行雄 : MP 関節動揺性を伴う母指形成不全症に対する小指外転筋移行術の工夫. *日手会誌* 17 : 494-497, 2001
- 20) Takayama S, Nakao Y, Ikegami H, Nakamura T : Modified Abductor Digiti Minimi Opponensplasty in Congenital Hypoplastic Thumb with Laxity of Metacarpophalangeal Joint. *Techniques in Hand and Upper Extremity Surgery* 6 : 166-170, 2002
- 21) 矢部 裕, 齊藤 守, 月村泰治 : Floating thumb に対する機能再建術. *整形外科* 24 : 120-122, 1973
- 22) 高山真一郎, 関 敦仁, 森澤 妥, 池上博泰, 中村俊康, 高木岳彦 : 母指形成不全. *整・災外* 51 : 167-176, 2008
- 23) Tsujino A, Itho Y, Hayashi, K : Reconstruction of floating thumb by transplanting the forth metatarsal. *J Bone Joint Surg* 76B : 551-554, 1994
- 24) 高山真一郎, 池上博泰, 長田夏哉, 堀内行雄, 矢部 裕 : 先天性疾患に対する仮骨延長法を用いた手指骨延長術. *日手会誌* 17 : 610-615, 2001
- 25) Bell J : Brachydactyly and symphalangism treasury of human inheritance, ed. L S Penrose, London Cambridge University Press 5 : 1-30, 1951
- 26) 高木岳彦, 高山真一郎, 日下部浩, 池上博泰, 中村俊康 : 手指先天異常に対する仮骨延長法の検討. *日手会誌* 23 : 118-123, 2006
- 27) Barsky J : Cleft hand : Classification, incidence and treatment. *J Bone Joint Surg* 46A : 1707-1720, 1964
- 28) 荻野利彦 : 先天異常手の分類と治療. *日整会誌* 72 : 447-461, 1998
- 29) 黒木知子, 栗原邦宏 : 特集 四肢先天異常診療マニュアル 裂手症. *PEPARS* 5 : 73-84, 2005
- 30) 荻野利彦, 三浪明男, 加藤博之, 高畑智嗣, 小林昌幸 : 多数指罹患屈指症の手術療法. *日手会誌* 7 : 798-800, 1990
- 31) 斎藤治和, 高山真一郎, 仲尾保志, 池上博泰, 市川 亨 : 風車翼手の治療経験. *日手会誌* 20 : 751-755, 2003
- 32) 高山真一郎, 日下部浩, 西脇 徹, 高木岳彦 : 手の先天異常とその治療. *小児外科* 37 : 1353-1360, 2005
- 33) 高山真一郎 : 症候からみた小児の診断学 V 筋骨格系の異常 手指の奇形. *小児科診療* 70 増刊号 : 272-276, 2007
- 34) 池上博泰, 高山真一郎, 仲尾保志, 矢部 裕, 堀内行雄 : 先天性橈尺骨癒合症に対する肘筋挿入術の治療成績. *日肘会誌* 8 : 49-50, 2001
- 35) Kanaya F, Ibaraki K : Mobilization of a congenital proximal radioulnar synostosis with use of a free vascularized fascio-fat graft. *J Bone Joint Surg* 80A : 1186-1192, 1998



講 座

呼吸中枢  
Respiratory Center

慶應義塾大学月が瀬リハビリテーションセンター内科

おかだ やすまさ  
岡田 泰昌

Department of Medicine, Keio University Tsukigase Rehabilitation Center

Yasumasa Okada, MD, PhD

I. はじめに

生命の維持において最も重要な生理機能である呼吸は、大脳の働きによりその頻度（呼吸数）、パターン、および振幅（一回換気量）を意識的に変えることができる。しかし、普段の呼吸は、睡眠中も含め無意識のうちに体内の酸素状態、酸塩基平衡状態が最適化されるよう維持・調節がなされている。無意識下での呼吸は、延髄を中心とする下部脳幹内に存在する呼吸調節神経回路網により、その維持と調節がなされており、この下部脳幹内の呼吸調節神経回路網を、あるいはそれが分布する脳幹内の領域を「呼吸中枢」と呼ぶ。

しかし、呼吸中枢については最も基本的な神経機構である呼吸リズム形成機構およびCO<sub>2</sub>/pH変化に対する呼吸調節システムである中枢呼吸化学受容機構についてさえ、(1) 脳幹内における正確な局在部位とそれらの機能を担う細胞の同定、および(2) 機能の発現メカニズムに関し、現在も多くの議論がなされている段階にある。本稿においては、呼吸中枢について、呼吸リズム形成機構、中枢呼吸化学受容機構に焦点を当てて脳幹内におけるそれらの局在およびそれらの機能に関し、研究の歴史から最新の知見までを解説する。

II. 呼吸リズム形成機構

自発的な呼吸リズムが脳内のどの部位で、どの神経細胞のどのような活動によって形成されているのかは、呼吸生理学上で最も重要な研究課題である。

呼吸リズム形成機構の局在

Lumsden<sup>1)</sup>は1923年にネコを対象として脳幹を吻側から尾側へと順次横切断する実験により、延髄の吻側半分を欠くと呼吸運動が消失することを報告した。その後、脳幹各部の破壊・機能障害、呼吸神経細胞活動の電気生理学的計測などの実験および解剖学的・組織学的検討によって、自発呼吸に同期した活動を示す呼吸神経細胞の集団として、延髄腹側部に位置する疑核のすぐ腹側で左右対称に縦方向に分布する延髄腹側呼吸神経細胞群 ventral respiratory group (VRG)/ventral respiratory column (VRC)、延髄背側で孤束核を中心として左右対称に分布する延髄背側呼吸神経細胞群 dorsal respiratory group (DRG)、橋吻外側部に位置する結合腕傍核 parabrachial nucleus および Kölliker-Fuse 核よりなる橋呼吸神経細胞群 pontine respiratory group (PRG) が同定された。1960年代から1990年頃にかけてこれら呼吸神経細胞群に属する各種の呼吸神経細胞について、呼吸周期に伴う発火パターンおよびそれら呼吸神経細胞間の機能的・解剖学的結合様式が詳細に解析されてきた。その解析結果に基づき、呼吸リズムは延髄 VRG のペースメーカー細胞により形成されるとの「ペースメーカー説」および、橋 PRG および延髄 VRG などの各種呼吸神経細胞間の興奮系と抑制系よりなるネットワークにより形成されるとの「ネットワーク説」とが提唱されてきたが、いずれも明確な実験的証明を欠き広い支持を集めるには至らなかった。これら古典的な研究については、当時の総説論文<sup>2-6)</sup>を参照していただきたい。なお、延髄 DRG は末梢からの低酸素などの化学受容および肺気道系の伸展度などの機械受容に関す



る情報を橋 PRG, 延髄 VRG へ伝達する中継機能を果たすもので, DRG を除去しても呼吸は維持されることから<sup>7)</sup>, DRG は呼吸リズム形成に必須ではないと考えられる。

一方, 1984 年に Suzue<sup>8)</sup>が *in vitro* で呼吸リズム活動を記録できる新生ラット摘出脳幹脊髓標本 (*en bloc* 標本)<sup>9, 10)</sup>を開発して以来, *en bloc* 標本に whole cell patch 記録法およびカルシウムイメージング・膜電位イメージングなどの光計測法<sup>11, 12)</sup>を応用することが可能となり, 呼吸中枢機能の解析が飛躍的に進んできている。ただし *en bloc* 標本については, 血流のない *in vitro* 環境で維持されるため標本深部は低酸素ないし無酸素状態となっており, 酸素が供給されている表面から約 500  $\mu\text{m}$  までの表層部のみが機能しているという点に注意する必要がある<sup>10)</sup>。Onimaru ら<sup>9)</sup>は *en bloc* 標本において横隔神経への軸索を含む頸髄 C4 前根の吸息性神経活動 (C4 出力) の開始直前にバースト発火を示す呼吸神経細胞を延髄吻腹外側部に見出し, 前吸息性神経細胞 *preinspiratory neuron* と名づけ, これが呼吸リズムを形成する主体であると提唱した。さらに Onimaru ら<sup>13)</sup>は, 生後1日目までのラットより作成した *en bloc* 標本に膜電位イメージング法を応用し, 延髄吻腹外側部で顔面神経核の腹外側に主に前吸息性の活動パターンを示す神経細胞集団を見出し, 傍顔面神経核呼吸神経細胞群 *parafacial respiratory group* (pFRG) と名づけ, この部位の破壊により呼吸数減少を認めたことより, pFRG (特にそれを構成する前吸息性神経細胞) が呼吸リズム形成を行っているとして主張している。

一方, ラット・マウスの *en bloc* 標本を吻側および尾側から様々なレベルで横切断する実験に基づき, 舌下神経核と舌下神経根を含んで舌下神経根から呼吸 (吸息) 様の周期的バースト神経出力を記録しうる厚さ数百ミクロンのスライス標本 (*breathing slice*) が開発された<sup>14)</sup>。延髄内で VRG の最吻側部は呼吸性神経細胞を多く含み, Bötzing complex と呼ばれているが, *breathing slice* 標本は Bötzing complex よりも尾側部のみを含む。このスライス内の左右の腹外側部で Bötzing complex の尾側に相当する小領域は, *preBötzing complex* (*preBötC*) と名づけられ, 呼吸リズムを形成する部位であると主張されている<sup>14, 15)</sup>。Johnson ら<sup>16)</sup>は *breathing slice* 標本から片側の *preBötC* 領域だけを切り出して作成した「*preBötC island* 標本」が呼吸様リズムを形成しうることも示し, *preBötC* の呼吸リズム形成における重要性は, 現在一定の支持を集めている。pFRG, *preBötC*-VRG より構成される延髄腹側部呼吸

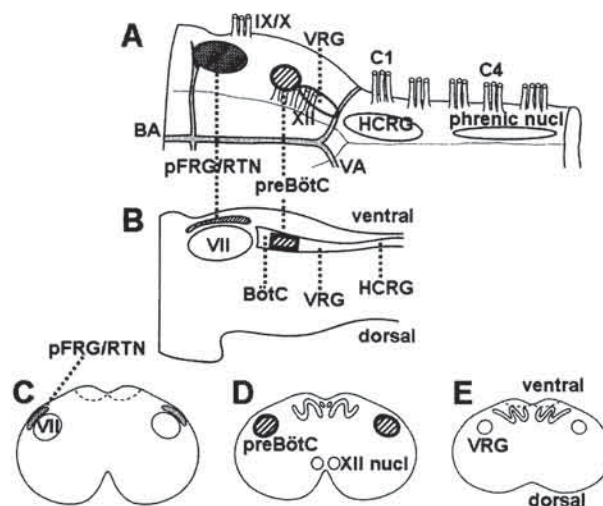


図1 呼吸中枢の構成・脳幹内における呼吸神経細胞群の局在  
A. 脳幹脊髓腹側表面 (左半分) に投影した呼吸神経細胞群の局在。脳幹内で縦方向のカラム状に分布する呼吸神経細胞群を腹側から見た脳幹頸髄の上に示す。B. 脳幹～高位頸髄の範囲で pFRG/RTN, *preBötC*-VRG, HCRG を結ぶ矢状断面における重要な呼吸関連領域。腹側面を上を示す。C. ~E. 延髄横断面における重要な呼吸関連領域。腹側面を上を示す。C. pFRG/RTN の高さでの断面。D. *preBötC* の高さでの断面。E. *preBötC* の尾側部の VRG の高さでの断面。BA: 脳底動脈, BötC: Bötzing complex, HCRG: 高位頸髄呼吸神経細胞群, pFRG/RTN: parafacial respiratory group/retrotrapezoid nucleus, phrenic nuclei: 横隔神経核, *preBötC*: *pre*-Bötzing complex, VA: 椎骨動脈, VRG: ventral respiratory group, VII: 顔面神経核, IX/X: 舌咽神経根・迷走神経根, XII: 舌下神経根, XII nuclei: 舌下神経核

神経細胞群の脳幹内における局在を示す (図1)。

著者らは, 膜電位イメージング法により C1-C2 レベルの高位頸髄に新しい呼吸神経細胞集団を同定し, 高位頸髄呼吸神経細胞群 *high cervical spinal cord respiratory group* (HCRG) と命名した<sup>17, 18)</sup>。以前より人工呼吸下のネコにおける *in vivo* 実験では, 延髄脊髓境界部で延髄と脊髓を離断すると自発呼吸 (横隔神経活動) は一旦停止した後に再開することがあるが, 脊髓を頸髄 C2 と C3 の境界部よりも尾側で離断した場合には自発呼吸が再開することはないと報告されており<sup>19)</sup>, C1-C2 レベルの頸髄にも第3の呼吸リズム形成神経機構が存在する可能性が指摘されていた。著者らが同定した HCRG は pFRG および *preBötC* とともに呼吸リズム形成に関与する神経機構である可能性が考えられるが, その機能的意義については今後の研究を待つ必要がある。

### 呼吸リズム形成の神経メカニズム

幼若動物より作成した *in vitro* 標本では抑制性神経伝達を遮断しても標本のリズム形成能が維持されることから, 幼若動物の呼吸リズムはペースメーカー機構により形成されているとの学説が支持されている<sup>15, 20)</sup>。



Koshiya ら<sup>21)</sup>は、breathing slice 標本にカルシウムイメージング法を応用し、preBötC 領域内の吸気性神経細胞活動を観察し、興奮性シナプス伝達を遮断した状態ではそれら神経細胞の周期的発火は持続するものの各細胞の活動は同期しなくなることを報告した。Johnson ら<sup>16)</sup>は、前述の preBötC island 標本において、抑制性神経伝達の遮断下でも呼吸リズムの形成を認めた。これらの観察結果は、遺伝子操作により抑制性神経伝達機能が減弱したマウスでも呼吸リズムを形成維持できるという観察結果<sup>22)</sup>とも一致する。ただし、幼若動物においても preBötC 内に抑制性 (GABA 作動性) の吸気性神経細胞が認められることより<sup>23)</sup>、幼若動物でも抑制性神経伝達は呼吸リズム形成に何らかの関与をしているものと考えられる。

幼若動物の preBötC で形成される呼吸リズム形成では、興奮性シナプスを介して相互に結合し、集団としてペースメーカー機能を発揮する神経細胞群によりリズムが形成されるとの group pacemaker 仮説<sup>15)</sup>が注目を集めている。幼若動物の呼吸リズム形成に関わるペースメーカー電流については、正常呼吸 eupnea の形成には riluzole で抑制される persistent sodium current および flufenamic acid で抑制される calcium-activated non-specific cation current の両方が必要で、低酸素時などに出現するあえぎ呼吸 gasping の形成には calcium-activated non-specific cation current は必要なく persistent sodium current によってペースメーカー活動が維持され、そして正常呼吸とあえぎ呼吸とは関与する神経細胞の分布も異なると報告されている<sup>24-26)</sup>。

Mellen ら<sup>29)</sup>は、en bloc 標本において麻薬様物質 (オピオイド) の投与によって呼吸数が徐々に (連続的に) 減少するのではなく間歇的に抜け落ちるように減少する現象 (quantal slowing) を見出し、それはオピオイドが前吸気性神経細胞から preBötC の吸気性神経細胞への興奮性ドライブ伝達を抑制するためと考察している。彼らはこの考察に基づいて pFRG の前吸気性神経細胞も preBötC の吸気性神経細胞もともに呼吸リズムを形成する能力を持っているとの仮説 (dual networks 仮説) を提唱している。さらに Janczewski ら<sup>30)</sup>は、pFRG は呼吸活動を、preBötC は吸気活動を作る中枢であるとの仮説を提唱している。このように、現在、pFRG および preBötC のそれぞれが呼吸リズム形成に果たす役割については意見が分かれているが、pFRG と preBötC とがともに呼吸リズム形成に関与しているとの考えは広く支持されている。そこで著者らは、生後4日目までの各日齢のラットより作成した en bloc 標本

に膜電位イメージング法を応用し、pFRG および preBötC の呼吸活動を詳細に解析し、生後1日目までは pFRG が preBötC に先行して前吸気相に活動を開始することにより呼吸リズムを形成するが、生後2日目以降では pFRG と preBötC とが同期して吸気相の最初 (C4 出力の開始と同時に) に活動を開始して呼吸リズムを形成することを明らかにした<sup>31)</sup>。膜電位イメージング法は、このように複数の神経回路網間の機能的結合を解析するには極めて有用な方法である (図2)。しかしそのデータ解析にあたっては信号処理法の設定次第で脳内各部位からの興奮の出現する順番が異なって解釈される恐れがあり、適切な統計学的な処理を行うことが重要である<sup>32, 33)</sup>。

幼若動物の呼吸リズム形成では、上に述べたようにペースメーカー機構が重要な役割を果たしているが、個体の発達に伴って呼吸リズム形成に関わる興奮性および抑制性のシナプス結合がより重要な役割を果たすようになると考えられる。成熟動物を用いた実験は主に in vivo 状態で行われてきたが、これまでのところ in vivo 成熟動物の脳幹において呼吸リズム形成に関わるペースメーカー細胞は同定されていない。新生動物と異なり成熟動物では抑制性神経伝達が正常呼吸のリズム形成に必要であり、成熟動物の呼吸リズムは呼吸神経回路網の活動によって形成されるとのネットワーク説が有力視されている<sup>34-36)</sup>。成熟動物の脳は低酸素耐性が低いため、成熟動物より作成した in vitro 標本の生存性は不良である。そのため成熟動物における呼吸リズム形成機構の解析は、従来 in vivo でしか行えなかった。しかし最近、成熟ラットにおいて脳幹を経動脈的に人工灌流することにより脳幹の呼吸神経回路網機能を維持しうる in situ 経動脈灌流標本 in situ intra-arterially perfused preparation (in situ 標本) が開発された<sup>24, 25, 37)</sup>。同標本を用いることにより、脳幹内部の生理的環境を維持しつつ、成熟動物の呼吸神経回路網機能を解析できるようになり、最近、橋 PRG が正常呼吸のリズム形成において重要な働きをしていることがあらためて注目されつつある<sup>36, 38)</sup>。今後、in situ 標本に whole cell patch 記録法や各種の機能イメージング法などを応用することにより、PRG, pFRG, preBötC/VRG, DRG, HCRG の各呼吸神経細胞群について、動物の各発達段階におけるペースメーカー細胞の特性や、興奮性並びに抑制性のシナプス結合の特性が詳細に解析され、呼吸リズム形成機構の全容が解明されることを期待したい。



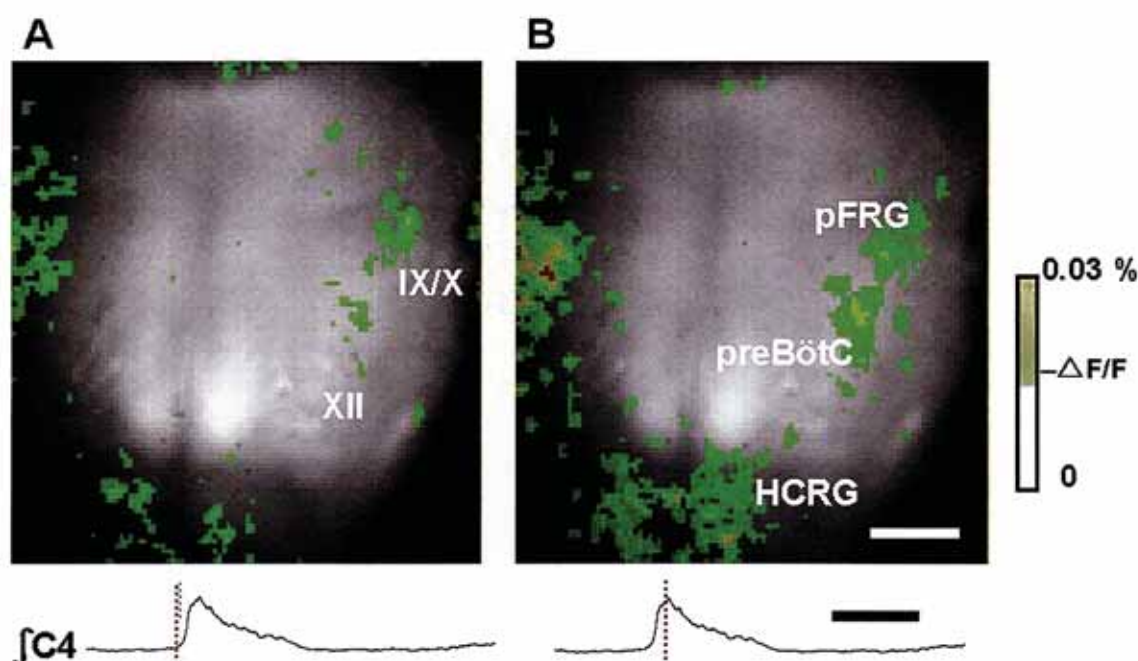


図2 延髄腹側表面での自発呼吸活動の膜電位イメージング画像

新生ラット抽出脳幹脊髄標本の延髄腹側面における吸息性神経活動(脱分極)に伴う蛍光信号変化を疑似カラーにより時系列的に示す。各画像の下段は頸髄C4前根より記録した吸息性神経出力で、各画像の取得時点を破線で示す。吸息に伴う神経活動はpFRGからpreBötC、HCRGへと下行性に伝播している過程がわかる。HCRG:高位頸髄呼吸神経細胞群, pFRG:parafacial respiratory group, preBötC:preBötzinger complex。スケールバー:500  $\mu\text{m}$ 、時間バー:1秒、兵庫医科大学・越久仁教授との共同研究による。

### Ⅲ. 中枢呼吸化学受容機構

体内のCO<sub>2</sub>レベル上昇, pH低下に対し, 換気量を増加させる呼吸化学受容機構では, 末梢の頸動脈小体もその機能の一部を担っていることは知られていたが, 脳内にもCO<sub>2</sub>/pHに応答する呼吸化学受容機構が存在しているかどうかについては1950年代まで議論があった。Leusen<sup>39)</sup>は1954年に麻酔下のイヌで, 側脳室に人工脳脊髄液を注入することにより脳表面を灌流する実験を行い, 灌流液のCO<sub>2</sub>レベルを上下させるとそれに応じて換気量が増減することを示し, 中枢呼吸化学受容機構の存在を証明した。中枢呼吸化学受容機構は, 狭義の呼吸中枢である脳幹部呼吸リズム形成神経回路網と結合して広義の呼吸中枢を形成している。中枢呼吸化学受容機構は, 生体の恒常性維持において極めて重要な働きをしているが, その局在, 構成細胞およびCO<sub>2</sub>/pH感受メカニズムは未だ正確には理解されておらず, 呼吸生理学において最も重要な研究課題の一つとなっている。以下に中枢呼吸化学受容機構の局在とCO<sub>2</sub>/pH感受メカニズムについて, 現在までに得られている知見を紹介する。

#### 中枢呼吸化学受容機構の局在と細胞構築

中枢呼吸化学受容体の局在については, 脳幹各部の局所化学刺激, 電気刺激, 冷却, 薬理学的ブロック, 神経細胞活動の化学感受性解析などから, 延髄腹側表層部の重要性が以前より注目されていた<sup>40-50)</sup>。一方, Nattieらのグループは, 脳幹内各部へのacetazolamide微量注入実験などから, 中枢呼吸化学受容機構は脳幹内で広範囲に散在しているとする「中枢呼吸化学受容機構のwide spread説」を提唱している<sup>46, 47)</sup>。しかし高濃度CO<sub>2</sub>液の微量注入刺激による延髄腹側のCO<sub>2</sub>/pH感受領域の機能的マッピング解析では, 主に延髄吻腹側の特に正中および傍錐体部の表層が強いCO<sub>2</sub>/pH感受性を示し, 吻腹外側部においても従来考えられていたより吻外側方向の広い範囲の表層部がCO<sub>2</sub>/pH感受性を示すことが明らかになった<sup>48)</sup>。これら延髄腹側表層部の各領域の解剖について, 正中は淡蒼縫線核表層部に, 傍錐体部はsuperficial parapyramidal nucleusに, 腹外側部はretrotrapezoid nucleus (RTN)にそれぞれ対応すると考えられる。さらに橋ではOyamadaら<sup>49)</sup>により青斑核が強いCO<sub>2</sub>/pH感受性を示すことが報告されている。著者らは中枢呼吸化学受容機構研究にも膜電位イメージング法を応用し, 橋においては青斑核とともに



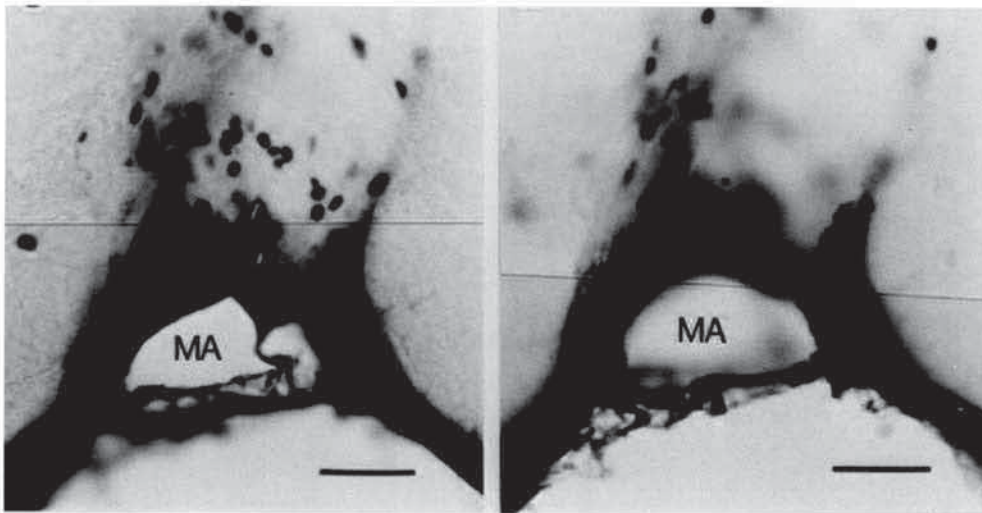


図3 CO<sub>2</sub>吸入刺激で核内にc-fosを発現したCO<sub>2</sub>興奮性細胞と延髄腹側表層部の小血管との関係  
CO<sub>2</sub>吸入に伴ってc-fosを発現し、核が黒く染まった延髄腹側表層部の小型細胞が、延髄腹側表面から深部へ向かう小動脈(MA)の周囲を取り囲んで存在している。これら小型細胞は、脳幹内へ入る血管周囲のCO<sub>2</sub>/pHレベルをモニターするのに最適な位置に存在しており、CO<sub>2</sub>/pHリセプター細胞と考えられる。  
スケールバー：60μm。

A5領域が内因性化学感受性を有することを明らかにした<sup>50)</sup>。さらに、CO<sub>2</sub>/pHで活性化された細胞の脳幹内における局在についてc-fos免疫組織学的マッピング解析を行い、シナプス伝達を介さずCO<sub>2</sub>/pHにより直接的に活性化される内因性化学感受性は、延髄深部では少なく、一方、延髄吻腹側表層部(正中部、傍錐体部、腹外側部)で表面の小血管を取り囲んで存在している小型細胞に備わっていることを明らかにし、これら延髄表面直下の小型細胞がCO<sub>2</sub>/pHリセプター細胞の候補と考え

られると提唱した<sup>51)</sup>(図3)。この小型細胞はその形態よりグリア細胞である可能性も考えられるが、その特性については今後の検討が必要である。著者らは、これらの知見に基づき、中枢呼吸化学受容機構の細胞構築モデルを提唱している<sup>52, 53)</sup>。すなわち、延髄吻腹側表層部で小血管周囲の小型細胞が主たるCO<sub>2</sub>/pHリセプター細胞であり、そこで感知された情報は表層部の介在細胞を介してあるいは直接より深部の呼吸神経回路網へと伝達されると考えられる(図4, 5)。

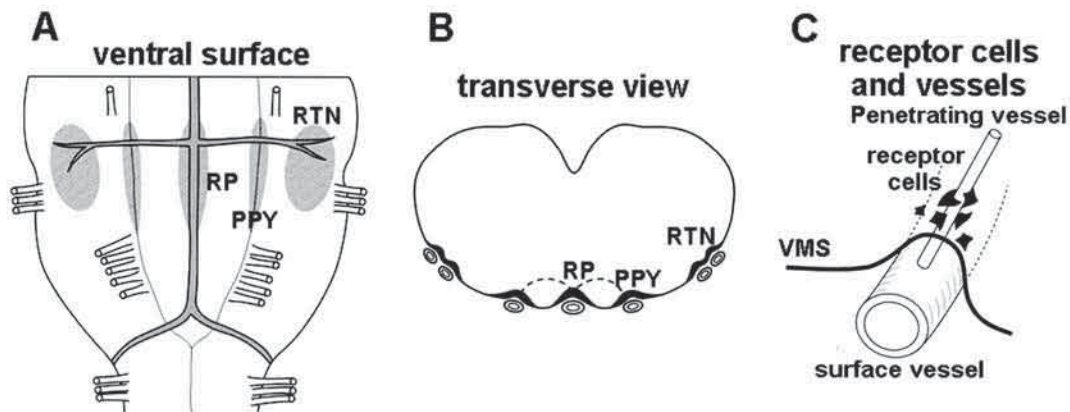


図4 中枢呼吸化学受容機構の局在と局所の解剖学的構築  
A. 延髄腹側表層部における化学感受領域を示す。化学感受領域は吻側延髄、特に正中部で脳底動脈の両側(および裏側)に位置する淡蒼線核表層部(RP)、傍錐体表層部PPY、延髄腹外側表層部のretrotrapezoid nucleus(RTN)に存在する。B. 吻側延髄横断面における化学感受領域。背面を上を示す。RP, PPY, RTNの各化学感受領域は、どれも表面の大血管の裏側で凹型を呈する延髄腹側表層部に存在するという共通した特長を呈する。C. 延髄腹側表面(VMS)のすぐ裏側にあるmarginal glial layer内に存在するCO<sub>2</sub>/pHリセプター細胞が、延髄表面の大血管から分かれて内部へ向かう小血管の周囲を取り囲んで構成する中枢呼吸化学受容体の局所構築モデルを示す。



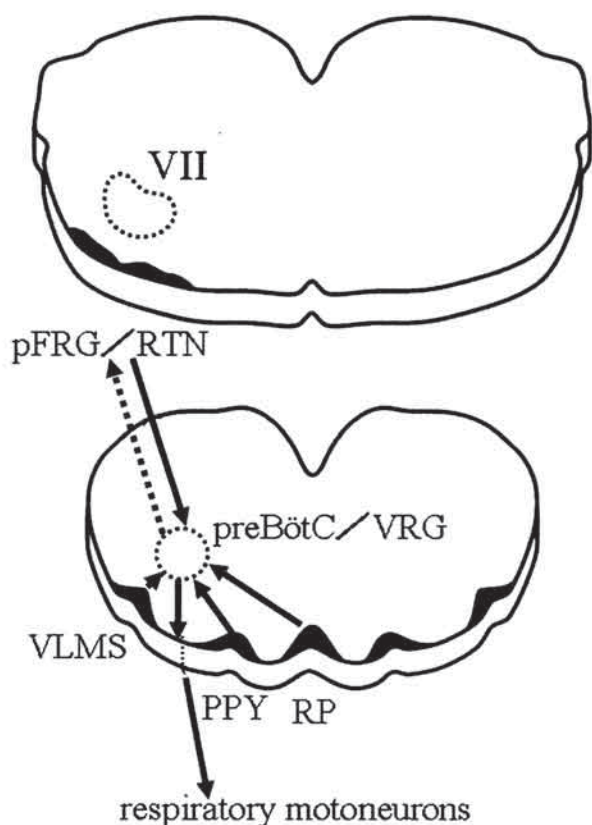


図5 化学感受領域と呼吸リズム形成機構との機能的結合様式  
 脳幹部細胞外液 CO<sub>2</sub>/pH レベルの変化は、延髄腹側表層部で顔面神経核 (VII) レベルの化学感受領域である傍顔面神経核呼吸神経細胞群 pFRG/RTN、それより尾側の化学感受領域である延髄腹側表層部 VLMS、傍錐体表層部 PPY、淡蒼線核表層部 RP で感受され、それらの情報は呼吸リズム形成機構 preBötC/VRG へ実線矢印で示すように興奮性信号として伝達され、preBötC/VRG で CO<sub>2</sub>/pH レベルに応じた呼吸リズムが形成される。なお、pFRG/RTN は化学感受性を有するとともに、自身も呼吸リズム形成能を有し、preBötC/VRG と同期して脳幹全体としての呼吸リズム形成に関わる。形成された呼吸リズムは preBötC/VRG から横隔神経核などに存在する呼吸運動神経細胞 respiratory motoneurons へ伝達され、呼吸運動出力が形成される。なお、破線矢印で示すように preBötC/VRG は pFRG/RTN に対し抑制的に働くと考えられる。

なお、pFRG, VRG, DRG を構成する呼吸神経細胞も一部の細胞は内因性化学感受性を有すると報告されているが<sup>54-57)</sup>、preBötC および preBötC よりも尾側の VRG の呼吸神経細胞は CO<sub>2</sub>/pH 刺激によりむしろ抑制されると考えられる<sup>53, 58, 59)</sup>。

### 中枢呼吸化学受容機構の CO<sub>2</sub>/pH 感受メカニズム

化学受容を担うリセプター細胞が CO<sub>2</sub>/pH を感受するメカニズムは未解明の重要課題であるが<sup>47)</sup>、そのメカニズムに関しては細胞膜に存在する各種のカリウムチャネルの関与が注目を集めている<sup>55, 60-64)</sup>。すなわち、CO<sub>2</sub> レベル上昇・pH 低下に伴って開口確率の低下するタイプのカリウムチャネルは、pH 低下時に細胞内に陽イオ

ンであるカリウムイオンをより多く留めて細胞を脱分極させることにより、CO<sub>2</sub>/pH センサーとして働いていると想定される。Wu ら<sup>63)</sup>は、pH 感受性を有する各種の内向き整流性カリウムチャネル Kir に注目するとともにその脳幹内分布を解析し、そのサブタイプである Kir4.1 と Kir5.1 が青斑核、延髄腹外側などの呼吸関連領域で強く発現していることを示した。Oyamada ら<sup>64)</sup>は、Kir2.2 を欠く遺伝子改変マウスの呼吸化学感受性を解析し、Kir2.2 は生後 14-15 日目頃の一時的にはあるが呼吸化学応答に関与することを示した。また、Kawai ら<sup>55)</sup>は、摘出脳幹標本において前吸息性神経細胞の CO<sub>2</sub>/pH 応答機構を解析し、これら神経細胞の呼吸性アシドーシス (CO<sub>2</sub> 上昇による pH 低下) に対する興奮はカリウムチャネル応答を介するが、代謝性アシドーシス (CO<sub>2</sub> 上昇を伴わない pH 低下) に対する興奮はカリウムチャネル応答を介さないことを報告した。これらカリウムチャネルが実際に中枢呼吸化学受容にどのように関わっているかは明確ではなく、さらなる解析が必要である。また、呼吸性アシドーシスで、リセプター細胞に対する刺激因子は水素イオンのみなのか CO<sub>2</sub> 分子も直接作用するのかという問題は未解明である。リセプター細胞に対し、水素イオンは細胞外から作用するのか細胞内から作用するのかも未解明であり、微小 pH 電極による細胞内 pH 測定<sup>65)</sup>などを応用したさらなる解析が必要である。

### 中枢呼吸化学受容機構と呼吸リズム形成機構との結合様式

呼吸リズム形成神経機構においては、リズム形成の主体がペースメーカー神経細胞群であるにせよ、あるいはペースメーカー機構を含まない呼吸神経細胞回路網であるにせよ、それらへの興奮性神経ドライブの入力が必要であると考えられ、そのドライブのソースとしては中枢呼吸化学受容体からの興奮性神経伝達が重要と考えられている<sup>47)</sup>。したがって、このドライブソースとしての化学受容体細胞を標本内に十分には含んでいないと考えられる breathing slice 標本では、呼吸出力を維持するため構成細胞の膜電位を脱分極方向へシフトさせるよう細胞外液のカリウム濃度を高くする必要がある<sup>14, 16, 21)</sup>。神経組織において細胞外液中のカリウムは神経細胞の膜電位を直接的に規定し、呼吸中枢機能に大きな影響を及ぼす。従来、細胞外液カリウム濃度が上昇すれば神経細胞の脱分極・興奮を、低下すれば過分極・抑制を起こすと単純に考えられてきたが、摘出脳幹脊髄標本を用いた解析により 4 mM 程度から 16 mM 程度までへの細胞外液



カリウム上昇は呼吸出力の  $\text{CO}_2/\text{pH}$  応答性を増強するとともに、個々の呼吸神経細胞に対しては直接的な脱極作用だけでなく、抑制性シナプス入力を受けている神経細胞では抑制性シナプス伝達増強により過分極を起こさせる場合もあり、脳幹部細胞外液中のカリウムは中枢呼吸化学受容機構、呼吸調節神経機構において従来考えられていたよりも複雑な修飾作用を及ぼす重要な因子であることが明らかにされ<sup>66)</sup>、また、細胞外液カルシウムの軽度の低下は呼吸出力の  $\text{CO}_2/\text{pH}$  応答性を増強することが明らかにされている<sup>67)</sup>。

中枢呼吸化学受容体の主要部が存在すると考えられる延髄腹側表層部から深部の呼吸神経細胞群への神経情報伝達機構の解析は重要な研究課題であり、特に延髄腹側表層部にある pFRG/RTN などの領域から preBötC/VRG などの深部呼吸神経細胞群への機能的・解剖学的結合については多くの報告がなされている<sup>45, 48, 68)</sup>。最近、延髄腹側表層部のグルタミン酸作動性神経細胞から同側 VRG、特に preBötC 領域ないし吻側 VRG (rVRG) 領域への解剖学的結合が同定され、 $\text{CO}_2/\text{pH}$  リセプター細胞はグルタミン酸を介して呼吸増強を起こすとの説が提唱された<sup>69)</sup>。しかし、 $\text{CO}_2/\text{pH}$  リセプター細胞からの情報伝達を担う神経伝達物質について、Richerson<sup>70)</sup> は serotonin が重要であると主張し、Gourine ら<sup>71)</sup> は adenosine tri-phosphate (ATP) が重要であるとし、さらに著者らは acetylcholine の重要性に着目しており、現在も論争が行われている。実際には様々な神経伝達物質が ATP とともに co-transmission されているものと想定される。中枢呼吸化学受容機構から呼吸リズム形成機構への情報伝達に関わる伝達物質の同定は今後の重要な研究課題である。

最近、著者らは、呼吸神経回路網機能の  $\text{CO}_2/\text{pH}$  応答様式について、膜電位イメージング法による解析を行い、呼吸性アシドーシスと代謝性アシドーシスは、個々の呼吸神経細胞に対し異なる発火パターンを誘発し、特に代謝性アシドーシスは pFRG の前吸息性神経活動を吸息性パターンに変容させ、pFRG と preBötC との間の機能的結合様式まで変化させること、すなわち、 $\text{CO}_2/\text{pH}$  レベルの変化・アシドーシスは、呼吸リズムの形成メカニズム自体も変化させうることを示した<sup>72)</sup>。したがって、呼吸中枢の  $\text{CO}_2/\text{pH}$  応答様式については、今後、個々の神経細胞のレベルだけでなく、神経回路網レベルでも解析を進めていく必要があると考えられる。

#### IV. おわりに

紙面の関係で触れなかったが、呼吸リズム形成機構、中枢呼吸化学受容機構の他にも呼吸中枢に関する重要課題が多く残されている。すなわち、呼吸中枢の形成・発達に関わる遺伝子レベルでの分子機構<sup>73)</sup>、呼吸中枢が魚類、両生類から哺乳類へどのように進化してきたかという系統発生<sup>74, 75)</sup>、呼吸出力が先行する呼吸神経活動のレベルにより影響を受ける「呼吸の可塑性」と呼ばれる神経機構<sup>47, 76, 77)</sup>、運動に伴う換気増強メカニズム<sup>77)</sup>、呼吸中枢機能の低酸素応答機構<sup>7, 78-80)</sup>、麻酔関連薬剤など呼吸中枢に直接作用する医薬品の作用機序<sup>81-83)</sup>、脳幹部の狭義の呼吸中枢からさらに高次脳・意識も関与する呼吸困難感の感知機構<sup>84)</sup>などの重要課題については、なお解明すべき課題が山積している。今後、神経活動の機能イメージング法や遺伝子操作動物などを用いた新しい研究手法の応用によって呼吸中枢に関する諸問題の解明が進み、その成果に基づいて臨床において問題となっている睡眠中の呼吸異常、乳幼児突然死症候群、新生児無呼吸、原発性肺泡低換気症候群、各種疾患に伴う呼吸調節異常など各種病態の解明<sup>15, 85-87)</sup>および呼吸中枢に作用する新しい薬理的治療法の開発<sup>88-90)</sup>が進むことを期待したい。

#### 謝 辞

呼吸中枢研究にあたり、御指導、御協力をいただきました石黒真木夫、石坂彰敏、越久仁敬、小山田良孝、河合章、桑名俊一、武田純三、戸山芳昭、山口佳寿博、横田茂文の諸先生に深甚なる謝意を表します。

#### 文 献

- 1) Lumsden T : Observations on the respiratory centers in the cat. *J Physiol* 57 : 153-160, 1923
- 2) Mitchell RA, Berger AJ : Neural regulation of respiration. *Am Rev Respir Dis* 111 : 206-224, 1975
- 3) Cohen MI : Neurogenesis of respiratory rhythm in the mammal. *Physiol Rev* 59 : 1105-1173, 1979
- 4) Richter DW : Generation and maintenance of the respiratory rhythm. *J Exp Biol* 100 : 93-107, 1982
- 5) von Euler C : Brain stem mechanisms for generation and control of breathing pattern. *In Handbook of Physiology. The Respiratory System. Control of Breathing, Sect. 3, Vol. 2, Chap. 1* (Ed) Fishman AP, Cherniack NS, Widdicombe JG, American Physiological Society, Washington DC, p. 1-67, 1986
- 6) Ezure K : Synaptic connections between medullary



- respiratory neurons and considerations on the genesis of respiratory rhythm. *Prog Neurobiol* 35 : 429-450, 1990
- 7) Okada Y, Kawai A, Mückenhoff K, Scheid P : Role of the pons in hypoxic respiratory depression in the neonatal rat. *Respir Physiol* 111 : 55-63, 1998
  - 8) Suzue T : Respiratory rhythm generation in the in vitro brain stem-spinal cord preparation of the neonatal rat. *J Physiol* 354 : 173-183, 1984
  - 9) Onimaru H, Arata A, Homma I : Primary respiratory rhythm generator in the medulla of brainstem-spinal cord preparation from newborn rat. *Brain Res* 445 : 314-324, 1988
  - 10) Okada Y, Mückenhoff K, Holtermann G, Acker H, Scheid P : Depth profiles of pH and P<sub>O</sub><sub>2</sub> in the isolated brain stem-spinal cord of the neonatal rat. *Respir Physiol* 93 : 315-326, 1993
  - 11) Okada Y, Chen Z, Yoshida H, Kuwana S, Jiang W, Maruiwa H : Optical recording of the neuronal activity in the brainstem-spinal cord : application of a voltage-sensitive dye. *Adv Exp Med Biol* 499 : 113-118, 2001
  - 12) Ruangkittisakua A, Okada Y, Oku Y, Koshiya N, Ballanyi K : Fluorescence imaging of active respiratory networks. *Respir Physiol Neurobiol* (in press)
  - 13) Onimaru H, Homma I : A novel functional neuron group for respiratory rhythm generation in the ventral medulla. *J Neurosci* 23 : 1478-1486, 2003
  - 14) Smith JC, Ellenberger HH, Ballanyi K, Richter DW, Feldman JL : Pre-Bötzinger complex : a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science* 254 : 726-729, 1991
  - 15) Feldman JL, Del Negro CA : Looking for inspiration : new perspectives on respiratory rhythm. *Nat Rev Neurosci* 7 : 232-242, 2006
  - 16) Johnson SM, Koshiya N, Smith JC : Isolation of the kernel for respiratory rhythm generation in a novel preparation : the pre-Bötzinger complex "island". *J Neurophysiol* 85 : 1772-1776, 2001
  - 17) Oku Y, Okabe A, Hayakawa T, Okada Y : Respiratory neuron group in the high cervical spinal cord discovered by optical imaging. *Neuroreport* 19 : 1739-1743, 2008
  - 18) Okada Y, Yokota S, Shinozaki Y, Aoyama R, Yasui Y, Ishiguro M, Oku Y. Anatomical architecture and responses to acidosis of a novel respiratory neuron group in the high cervical spinal cord (HCRG) of the neonatal rat. *Adv Exp Med Biol* (in press)
  - 19) Aoki M, Mori S, Kawahara K, Watanabe H, Ebata N : Generation of spontaneous respiratory rhythm in high spinal cats. *Brain Res* 202 : 51-63, 1980
  - 20) Onimaru H, Arata A, Homma I : Firing properties of respiratory rhythm generating neurons in the absence of synaptic transmission in rat medulla in vitro. *Exp Brain Res* 76 : 530-536, 1989
  - 21) Koshiya N, Smith JC : Neuronal pacemaker for breathing visualized in vitro. *Nature* 400 : 360-363, 1999
  - 22) Kuwana S, Okada Y, Sugawara Y, Tsunekawa N, Obata K : Disturbance of neural respiratory control in neonatal mice lacking GABA synthesizing enzyme 67-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase. *Neuroscience* 120 : 861-870, 2003
  - 23) Kuwana S, Tsunekawa N, Yanagawa Y, Okada Y, Kuribayashi J, Obata K : Electrophysiological and morphological characteristics of GABAergic respiratory neurons in the mouse pre-Bötzinger complex. *Eur J Neurosci* 23 : 667-674, 2006
  - 24) Paton JF, Abdala AP, Koizumi H, Smith JC, St-John WM : Respiratory rhythm generation during gasping depends on persistent sodium current. *Nat Neurosci* 9 : 311-313, 2006
  - 25) Potts JT, Paton JF : Optical imaging of medullary ventral respiratory network during eupnea and gasping in situ. *Eur J Neurosci* 23 : 3025-3033, 2006
  - 26) Pace RW, Mackay DD, Feldman JL, Del Negro CA : Role of persistent sodium current in mouse Pre-Bötzinger neurons and respiratory rhythm generation. *J Physiol* 580 : 485-496, 2007
  - 27) Pace RW, Mackay DD, Feldman JL, Del Negro CA : Inspiratory bursts in the preBötzinger Complex depend on a calcium-activated nonspecific cationic current linked to glutamate receptors. *J Physiol* 582 : 113-125, 2007
  - 28) Peña F, Aguileta MA : Effects of riluzole and flufenamic acid on eupnea and gasping of neonatal mice in vivo. *Neurosci Lett* 415 : 288-293, 2007
  - 29) Mellen NM, Janczewski WA, Bocchiaro CM, Feldman JL : Opioid-induced quantal slowing reveals dual networks for respiratory rhythm generation. *Neuron* 37 : 821-826, 2003
  - 30) Janczewski WA, Feldman JL : Distinct rhythm generators for inspiration and expiration in the juvenile rat. *J Physiol* 570 : 407-420, 2006
  - 31) Oku Y, Masumiya H, Okada Y : Postnatal developmental changes in activation profiles of the respiratory neuronal network in the rat ventral medulla. *J Physiol* 585 : 175-186, 2007
  - 32) Kawai S, Oku Y, Okada Y, Miwakeichi F, Tamura Y, Ishiguro M : A novel statistical analysis of voltage-imaging data by structural time series modeling and its application to the respiratory neuronal network. *Neurosci Res* 63 : 165-171, 2009
  - 33) Kawai S, Oku Y, Okada Y, Miwakeichi F, Ishiguro M, Tamura Y : Parametric modeling analysis of optical imaging data on neuronal activities in the brain. *In Optimization and Its Applications*. (Ed) Chaovalitwongse WA, Pardalos P, Xanthopoulos P, Springer, New York, (in press)
  - 34) Richter DW, Szyber KM : Studying rhythmogenesis of breathing : comparison of in vivo and in vitro models. *Trends Neurosci* 24 : 464-472, 2001



- 35) Ezure K : Reflections on respiratory rhythm generation. *Prog Brain Res* 143 : 67-74, 2004
- 36) Rybak IA, Abdala AP, Markin SN, Paton JF, Smith JC : Spatial organization and state-dependent mechanisms for respiratory rhythm and pattern generation. *Prog Brain Res* 165 : 201-220, 2007
- 37) Pickering AE, Paton JF : A decerebrate, artificially-perfused in situ preparation of rat : utility for the study of autonomic and nociceptive processing. *J Neurosci Methods* 155 : 260-271, 2006
- 38) St-John WM, Paton JF : Role of pontile mechanisms in the neurogenesis of eupnea. *Respir Physiol Neurobiol* 143 : 321-332, 2004
- 39) Leusen IR : Chemosensitivity of the respiratory center : influence of CO<sub>2</sub> in the cerebral ventricles on respiration. *Am J Physiol* 176 : 39-44, 1954
- 40) Schlaefke ME : Central chemosensitivity : a respiratory drive. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 90 : 171-244, 1981
- 41) Loeschcke HH : Central chemosensitivity and the reaction theory. *J Physiol* 332 : 1-24, 1982
- 42) Millhorn DE, Eldridge FL : Role of ventrolateral medulla in regulation of respiratory and cardiovascular systems. *J Appl Physiol* 61 : 1249-1263, 1986
- 43) Bruce EN, Cherniack NS : Central chemoreceptors. *J Appl Physiol* 62 : 389-402, 1987
- 44) Okada Y, Mückenhoff K, Scheid P : Hypercapnia and medullary neurons in the isolated brain stem-spinal cord of the rat. *Respir Physiol* 93 : 327-336, 1993
- 45) Okada Y, Chen Z, Kuwana S : Cytoarchitecture of central chemoreceptors in the mammalian ventral medulla. *Respir Physiol* 129 : 13-23, 2001
- 46) Coates EL, Li A, Nattie EE : Widespread sites of brain stem ventilatory chemoreceptors. *J Appl Physiol* 75 : 5-14, 1993
- 47) Feldman JL, Mitchell GS, Nattie EE : Breathing : rhythmicity, plasticity, chemosensitivity. *Annu Rev Neurosci* 26 : 239-266, 2003
- 48) Okada Y, Chen Z, Jiang W, Kuwana S, Eldridge FL : Functional connection from the surface chemosensitive region to the respiratory neuronal network in the rat medulla. *Adv Exp Med Biol* 551 : 45-51, 2004
- 49) Oyamada Y, Ballantyne D, Mückenhoff K, Scheid P : Respiration-modulated membrane potential and chemosensitivity of locus coeruleus neurones in the in vitro brainstem-spinal cord of the neonatal rat. *J Physiol* 513 : 381-398, 1998
- 50) Ito Y, Oyamada Y, Okada Y, Hakuno H, Aoyama R, Yamaguchi K : Optical mapping of pontine chemosensitive regions of neonatal rat. *Neurosci Lett* 366 : 103-106, 2004
- 51) Okada Y, Chen Z, Jiang W, Kuwana S, Eldridge FL : Anatomical arrangement of hypercapnia-activated cells in the superficial ventral medulla of rats. *J Appl Physiol* 93 : 427-439, 2002
- 52) Okada Y, Kuwana S, Oyamada Y, Chen Z : The cell-vessel architecture model for the central respiratory chemoreceptor. *Adv Exp Med Biol* 580 : 233-238, 2006
- 53) Okada Y, Kuwana S, Chen Z, Ishiguro M, Oku Y : The central respiratory chemoreceptor : Where is it located? *Adv Exp Med Biol* (in press)
- 54) Kawai A, Ballantyne D, Mückenhoff K, Scheid P : Chemosensitive medullary neurones in the brainstem-spinal cord preparation of the neonatal rat. *J Physiol* 492 : 277-292, 1996
- 55) Kawai A, Onimaru H, Homma I : Mechanisms of CO<sub>2</sub>/H<sup>+</sup> chemoreception by respiratory rhythm generator neurons in the medulla from newborn rats in vitro. *J Physiol* 572 : 525-537, 2006
- 56) Onimaru H, Ikeda K, Kawakami K : CO<sub>2</sub>-sensitive preinspiratory neurons of the parafacial respiratory group express Phox2b in the neonatal rat. *J Neurosci* 28 : 12845-12850, 2008
- 57) Conrad SC, Nichols NL, Ritucci NA, Dean JB, Putnam RW : Development of chemosensitivity in neurons from the nucleus tractus solitarii (NTS) of neonatal rats. *Respir Physiol Neurobiol* (in press)
- 58) Mitchell RA, Herbert DA : The effect of carbon dioxide on the membrane potential of medullary respiratory neurons. *Brain Res* 75 : 345-349, 1974
- 59) Takeda R, Haji A : Synaptic response of bulbar respiratory neurons to hypercapnic stimulation in peripherally chemodenervated cats. *Brain Res* 561 : 307-317, 1991
- 60) Jiang C, Xu H, Cui N, Wu J : An alternative approach to the identification of respiratory central chemoreceptors in the brainstem. *Respir Physiol* 129 : 141-157, 2001
- 61) Jiang C, Rojas A, Wang R, Wang X : CO<sub>2</sub> central chemosensitivity : why are there so many sensing molecules? *Respir Physiol Neurobiol* 145 : 115-126, 2005
- 62) Oyamada Y, Yamaguchi K, Murai M, Ishizaka A, Okada Y : Potassium channels in the central control of breathing. *Adv Exp Med Biol* 580 : 339-344, 2006
- 63) Wu J, Xu H, Shen W, Jiang C : Expression and coexpression of CO<sub>2</sub>-sensitive Kir channels in brainstem neurons of rats. *J Membr Biol* 197 : 179-191, 2004
- 64) Oyamada Y, Yamaguchi K, Murai M, Hakuno H, Ishizaka A : Role of Kir2.2 in hypercapnic ventilatory response during postnatal development of mouse. *Respir Physiol Neurobiol* 145 : 143-151, 2005
- 65) Ballanyi K, Mückenhoff K, Bellingham MC, Okada Y, Scheid P, Richter DW : Activity-related pH changes in respiratory neurons and glial cells of cats. *Neuroreport* 6 : 33-36, 1994
- 66) Okada Y, Kuwana S, Kawai A, Mückenhoff K, Scheid P : Significance of extracellular potassium in central respiratory control studied in the isolated brainstem-



- spinal cord preparation of the neonatal rat. *Respir Physiol Neurobiol* 146 : 21-32, 2005
- 67) Kuwana S, Okada Y, Natsui T : Effects of extracellular calcium and magnesium on central respiratory control in the brainstem-spinal cord of neonatal rat. *Brain Res* 786 : 194-204, 1998
- 68) Okada Y, Kuwana S, Masumiya H, Kimura N, Chen Z, Oku Y : Chemosensitive neuronal network organization in the ventral medulla analyzed by dynamic voltage-imaging. *Adv Exp Med Biol* 605 : 353-357, 2007
- 69) Guyenet PG, Stornetta RL, Bayliss DA : Retrotrapezoid nucleus and central chemoreception. *J Physiol* 586 : 2043-2048, 2008
- 70) Richerson GB : Serotonergic neurons as carbon dioxide sensors that maintain pH homeostasis. *Nat Rev Neurosci* 5 : 449-461, 2004
- 71) Gourine AV, Llaudet E, Dale N, Spyer KM : ATP is a mediator of chemosensory transduction in the central nervous system. *Nature* 436 : 108-111, 2005
- 72) Okada Y, Masumiya H, Tamura Y, Oku Y : Respiratory and metabolic acidosis differentially affect the respiratory neuronal network in the ventral medulla of neonatal rats. *Eur J Neurosci* 26 : 2834-2843, 2007
- 73) Borday C, Wrobel L, Fortin G, Champagnat J, Thaëron-Antônio C, Thoby-Brisson M : Developmental gene control of brainstem function : views from the embryo. *Prog Biophys Mol Biol* 84 : 89-106, 2004
- 74) Wilson RJ, Vasilakos K, Remmers JE : Phylogeny of vertebrate respiratory rhythm generators : the oscillator homology hypothesis. *Respir Physiol Neurobiol* 154 : 47-60, 2006
- 75) Oku Y, Kimura N, Masumiya H, Okada Y : Spatiotemporal organization of frog respiratory neurons visualized on the ventral medullary surface. *Respir Physiol Neurobiol* 161 : 281-290, 2008
- 76) Mitchell GS, Johnson SM : Neuroplasticity in respiratory motor control. *J Appl Physiol* 94 : 358-374, 2003
- 77) Eldridge FL : Central integration of mechanisms in exercise hyperpnea. *Med Sci Sports Exerc* 26 : 319-327, 1994
- 78) Kawai A, Okada Y, Mckenhoff K, Scheid P : Theophylline and hypoxic ventilatory response in the rat isolated brainstem-spinal cord. *Respir Physiol* 100 : 25-32, 1995
- 79) Fukuda K, Okada Y, Yoshida H, Aoyama R, Nakamura M, Chiba K, Toyama Y : Ischemia-induced disturbance of neural network function in the rat spinal cord analyzed by voltage-imaging. *Neuroscience* 140 : 1453-1465, 2006
- 80) Oyamada Y, Murai M, Harada N, Ishizaka A, Okada Y : Age-dependent involvement of ATP-sensitive potassium channel Kir 6.2 in hypoxic ventilatory depression of mouse. *Respir Physiol Neurobiol* 162 : 80-84, 2008
- 81) Sakuraba S, Kuwana S, Ochiai R, Okada Y, Kashiwagi M, Hatori E, Takeda J : Effects of neuromuscular blocking agents on central respiratory control in the isolated brainstem-spinal cord of the neonatal rat. *Neurosci Res* 47 : 289-298, 2003
- 82) Kashiwagi M, Okada Y, Kuwana S, Sakuraba S, Ochiai R, Takeda J : A neuronal mechanism of propofol-induced central respiratory depression in neonatal rats. *Anesth Analg* 99 : 49-55, 2004
- 83) Sakuraba S, Kuwana S, Eriksson LI, Okada Y, Ochiai R, Kashiwagi M, Hatori E, Lindahl SGE, Takeda J : Effects of neuromuscular blocking agents on central respiratory chemosensitivity in newborn rats. *Biol Res* 38 : 225-233, 2005
- 84) 岡田泰昌, 柏木政憲 : 呼吸困難感と呼吸調節. *medicina*, 41 : 1096-1101, 2004
- 85) Okada Y, Kuwana S, Iwanami M : Respiratory suppression induced by nicotine withdrawal in the neonatal rat brainstem : implications in the SIDS risk factor. *Adv Exp Med Biol* 499 : 187-194, 2001
- 86) Gozal D : New concepts in abnormalities of respiratory control in children. *Curr Opin Pediatr* 16 : 305-308, 2004
- 87) Benarroch EE, Schmeichel AM, Low PA, Parisi JE : Depletion of putative chemosensitive respiratory neurons in the ventral medullary surface in multiple system atrophy. *Brain* 130 : 469-475, 2007
- 88) Peña F, García O : Breathing generation and potential pharmacotherapeutic approaches to central respiratory disorders. *Curr Med Chem* 13 : 2681-2693, 2006
- 89) Ren J, Poon BY, Tang Y, Funk GD, Greer JJ : Ampakines alleviate respiratory depression in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 174 : 1384-1391, 2006
- 90) Tsujita M, Sakuraba S, Kuribayashi J, Hosokawa Y, Hatori E, Okada Y, Kashiwagi M, Takeda J, Kuwana S : Antagonism of morphine-induced central respiratory depression by donepezil in anesthetized rabbit. *Biol Res* 40 : 339-346, 2007



**受賞記念講座**  
(坂口光洋記念慶應義塾医学振興基金奨励研究)

## 成体脳におけるニューロン新生

<sup>1</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野, <sup>2</sup>慶應義塾大学医学部生理学教室

こじまたくろう<sup>1,2</sup>, ひろた<sup>1</sup>, さわもとかずのぶ<sup>1</sup>  
小島拓郎<sup>1,2</sup>, 廣田ゆき<sup>1</sup>, 澤本和延<sup>1</sup>

### 要 旨

従来、損傷した成体哺乳類の中樞神経系は、二度と再生できないものと考えられてきた。これは、神経幹細胞が胎生期や幼若期にのみ存在すると考えられてきたためである。しかし、最近の研究により、ヒトを含む成体哺乳類においても神経幹細胞が存在し、生涯にわたりニューロン新生がおこっている事が明らかとなってきた。そこで、脳の再生医学の新しい方法として、内在性神経幹細胞の活性化による治療の可能性が出てきた。

**Key Words** 成体脳 神経幹細胞 細胞移動 神経再生 脳梗塞

### はじめに

神経幹細胞とは、自己複製能・多分化能を併せ持ち、神経系を構成する様々な細胞へ分化する事が可能な未分化な細胞である。長い間、中樞神経系は胎児期および幼若期にのみ形成されるものであり、成体脳ではニューロン新生は起こっていないと考えられてきた。それは、神経幹細胞が胎児期および幼若期にのみ存在すると考えられていた事に由来する。しかし、1990年代、ニューロン特異的のマーカ―と細胞増殖マーカ― bromodeoxyuridine (BrdU) の登場により、免疫組織化学の手法を用いる事で新生ニューロンの解析が可能となった。そして、ヒトを含む成体哺乳類においてニューロン新生が生涯にわたり起こっている事が報告された<sup>1)</sup>。

成体哺乳類の脳においてニューロン新生は、①側脳室の側壁に面した脳室下帯 (subventricular zone: SVZ) ②海馬の歯状回 (dentate gyrus: DG) の主に2つの領域で産生されている (図1)。成体脳におけるニューロン新生は神経幹細胞の増殖・分化、そして特異的部位への移動・成熟といったステップによって成り立っている。一方、脳傷害時においても失われたニューロンが部分的に再生されることが近年報告されている。我々を含む複数の研究グループの解析により、傷害脳における新生ニューロンは、内在性の神経幹細胞から生み出された

ものである事が確認された。これらの研究成果は、成体脳のニューロン新生のメカニズムを解明する事により、内在性の神経幹細胞を活用する新しい脳の再生医療の方法を導き出す可能性を与えた。

本稿では、著者の研究室において注目しているSVZのニューロン新生について「正常脳」「傷害脳」という2つの観点から、概説を行う。

### 1. 成体脳のSVZにおけるニューロン新生

齧歯類の側脳室のSVZは成体脳最大のニューロン新生領域である。電子顕微鏡による微細形態観察および特異的のマーカ―分子の発現により、SVZには4種類の異なる形態と機能を有する細胞種が存在する事が明らかとなった<sup>2)</sup> (図1)。脳室壁表面には、繊毛を有する上衣細胞 (Type E cell) が存在している。SVZにおいては、アストロサイト (Type B cell) が神経幹細胞と考えられており、通常ゆっくりと分裂がなされ、自己複製すると同時に増殖能の高い前駆細胞 (Type C cell) が産生される。その後、Type C Cell から新生ニューロン (Type A cell) が生み出される。産生された新生ニューロンは前方の嗅球へ遊走し、嗅球において嗅覚に関与する介在ニューロンとして成熟する。SVZにおけるニューロン新生の特徴は、神経幹細胞が限局された部位にあり必要な部位に新生ニューロンが移動して成熟する事である。



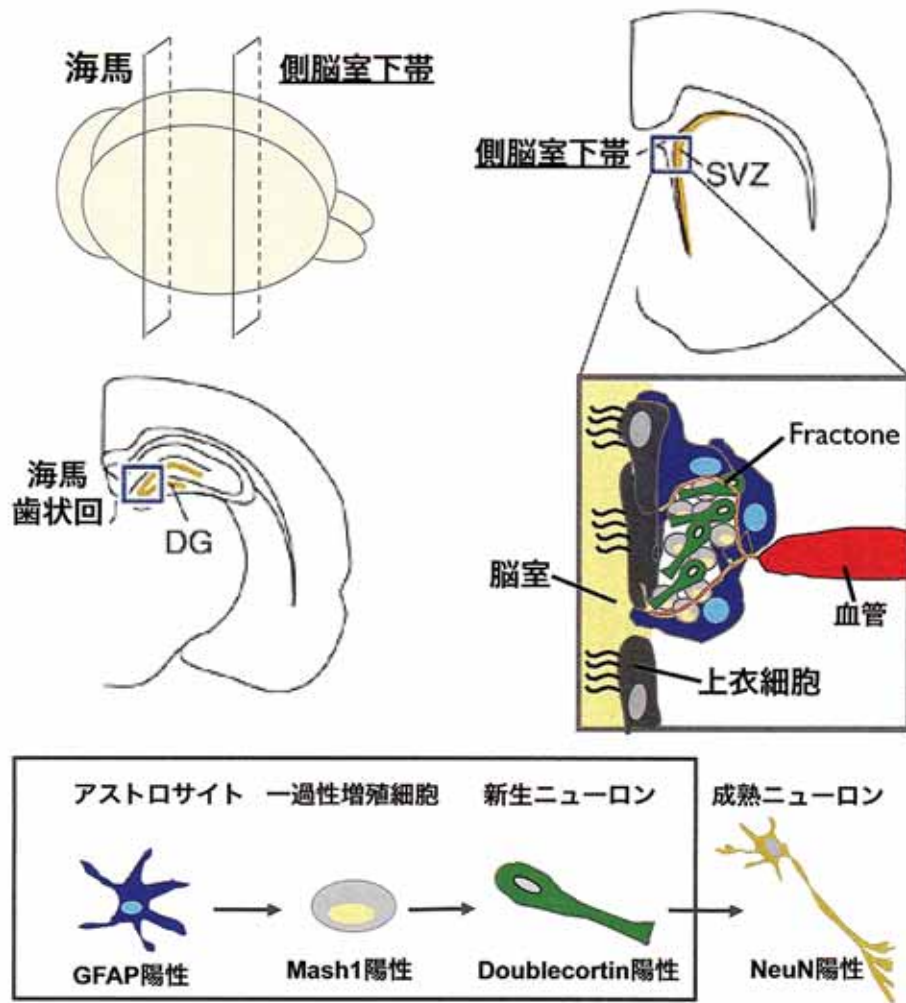


図1 成体脳のニューロン新生部位と、側脳室下帯の細胞構成図

## 2. 成体脳の SVZ における細胞の増殖機構

哺乳類の成体脳における神経幹細胞の存在は、組織学的方法と細胞培養の実験によって明らかにされてきた。組織学的方法として、ニューロン特異的マーカーと細胞増殖マーカー bromodeoxyuridine (BrdU) を用いる事で、ヒトを含む哺乳類の成体脳においてもニューロン産生が行われている事が示された<sup>1)</sup>。細胞培養実験で、神経幹細胞は EGF (epidermal growth factor) や FGF2 (fibroblast growth factor) の増殖因子の存在下で浮遊系の細胞培養を行うとニューロスフェアとよばれる細胞塊を形成する。ニューロスフェアを付着させ分化誘導を行うとニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトという神経系組織を主に構成する3種の細胞に分化する。また、ニューロスフェアは継代可能であり、再度、増殖因子存在下で浮遊した状態で培養を行うと、再びニューロスフェアが形成される。このように

ニューロスフェア形成・分化誘導実験によって神経幹細胞の存在を *in vitro* の実験において確認する事ができる<sup>2)</sup>。これらの実験より、成体哺乳類において、自己複製能と多分化能を併せ持つ神経幹細胞の存在が確認された<sup>3)</sup>。

さらに、成体哺乳類における神経幹細胞の細胞種を特定するために、Doetsch らは、抗癌剤投与による増殖サイクルの早い細胞を死滅させる実験を行い、成体脳において SVZ の増殖の遅いアストロサイトからニューロン産生が行われている事を示した<sup>4)</sup>。さらに、トランスジェニックマウスおよび Cre-loxp システムを用いた巧妙な細胞標識を行う事により、成体脳において GFAP 陽性のアストロサイトが神経幹細胞である事を結論づけた<sup>5)</sup>。また、近年の報告によると、成体脳の神経幹細胞は一様な性質を保持しているのではなく、SVZ の存在部位によって産生される細胞種が限定されている事が示



唆されている<sup>7-9)</sup>。

### 3. SVZにおける細胞増殖・神経分化に関わるシグナル

SVZのニューロン新生における増殖に関与するシグナルについては、発生期のニューロン新生と類似した分子群の関与が近年明らかとなってきた。たとえば、EGF受容体を活性化するTGF $\alpha$  (transforming growth factor- $\alpha$ )を欠損したマウスのSVZでは細胞増殖の低下が観察される<sup>10)</sup>。また、Shh (sonic hedgehog)のノックダウン実験によって、Shhにはアストロサイトおよび一過性増殖細胞の増殖を促進させる機能がある事が明らかとなった<sup>11)</sup>。最近の研究報告によると、Shhの伝達に必要であるSmoothedを成体脳の側脳室で特異的に欠失させると、アストロサイトと一過性増殖細胞の増殖が低下する事が確認された<sup>12)</sup>。他には、受容体型チロシンキナーゼであるEphシグナルがSVZの増殖の制御を行っている事が報告されている<sup>13)</sup>。神経分化を担うシグナルとしては、初期発生期の形態形成に重要な機能を果たす骨形成因子 (bone morphogenic protein: BMP)が重要である事が示された<sup>14)</sup>。BMPとその受容体の結合を阻害するため、拮抗物質であるNogginペプチドをSVZに投与するとBMPシグナルが阻害されニューロンの産生が促進された。SVZにおいては分泌性のポリペプチドNogginが上皮細胞から分泌されている事が示されており、ニューロン新生が行われやすい環境が形成されていると考えられている。

筆者らは、脊椎動物の発生過程において重要な役割を担うWntシグナルの下流因子である $\beta$ カテニンがSVZのアストロサイト、および一過性増殖細胞の核内へ特異的に蓄積し細胞増殖を促進する働きを持つ事を明らかにした (図2)<sup>15)</sup>。また、ガラクトースに対する結合特異性

を持つレクチンの一種で可溶性蛋白質であるGalectin1が、SVZのアストロサイトに発現し、その増殖を促進する事を報告した<sup>16)</sup>。さらに新生ニューロンの生存に関して、アセチルコリン受容体が新生ニューロンに発現しており、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤を投与すると新生ニューロンの生存が促進される事を報告した<sup>17)</sup>。

近年、血管の周囲に形成される環境に組織幹細胞が存在している事が報告されている<sup>18, 19)</sup>。SVZのニューロン新生においても、血管が重要な役割を果たしている事が示された。最近の報告では、SVZの神経幹細胞が血管近傍に存在しており、一過性増殖細胞の細胞増殖が行われる過程で血管に接していることが報告された<sup>20, 21)</sup>。興味深い事に、一過性増殖細胞の多くは血管の脳血流閉門の形成が不完全な部分に多く存在していた。また、近年SVZには血管由来の新しい構造が発見された。Mercierらは、血管から上皮細胞へと伸びている構造物を発見し、それをFractoneと名付けた。そして、SVZの電子顕微鏡解析により、神経幹細胞がFractone近傍に存在している事を見いだした<sup>22, 23)</sup>。そして、Fractoneからは、神経幹細胞の増殖に関与しているFGF-2が分泌されている事を報告した<sup>24)</sup>。これらの報告は、神経幹細胞、一過性増殖細胞の増殖が血管との相互作用、あるいは血管由来の因子によって制御されている事を示唆している。

上記に述べたシグナルは、SVZのニューロン新生に関与するシグナルの一部であり、その詳細に関しては未解明な点が多く残されている。SVZのニューロン新生を制御するメカニズムは複数のシグナル伝達系によって複雑に制御されていると考えられており、その詳細を明らかにする事が今後の課題である。

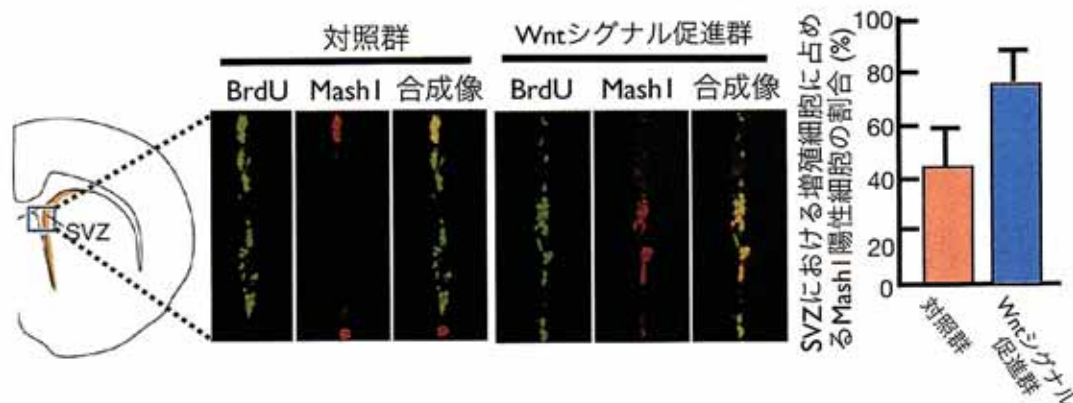


図2 一過性増殖細胞におけるWntシグナル伝達的作用：Wntシグナルの促進により、一過性増殖細胞の増殖が促進された。(文献15より改変)(Adachi K et al: Stem Cells 25: 2827-2836, 2007の第4図を許可を得て転載)



#### 4. 傷害脳における細胞増殖機構

近年の報告においては、脳に傷害を受けた際、ニューロン新生が促進される事が報告されている。SVZにおいても虚血刺激・針刺激などによる外傷、脳組織の吸引除去、ナイフによる脳組織の損傷などの刺激を加える事によりSVZにおいてニューロン新生が促進される事が報告されている。脳梗塞モデルを用いた実験においても虚血刺激によりSVZの細胞増殖が増加する事が報告された<sup>25-27</sup>。虚血刺激などの傷害を与えたモデルにおいては、様々な神経幹細胞に作用する遺伝子の発現上昇が観察されている。たとえば、脳梗塞モデルにBDNFやFGF2を投与すると神経幹細胞、一過性増殖細胞の増殖が亢進される<sup>28-29</sup>。筆者らは、脳梗塞モデルにEGF投与を行った実験により、EGFシグナルが一過性増殖細胞の増殖を促進する事を確認した<sup>30</sup>。虚血刺激後に、SVZでEGF受容体を発現する細胞が増加する事からも、

EGFシグナルが、一過性増殖細胞の増殖に重要である事が示唆された。

#### 5. 正常脳のSVZのニューロン新生における幼若ニューロンの移動

SVZのニューロン新生において最も特徴的な事は、「特定の場所にある神経幹細胞から新生ニューロンが産生され、目的とする部位へ移動し成熟する事」である。成体脳のニューロン新生において、新生ニューロンの移動は最も重要なステップの1つである。マウス脳では新生ニューロンは最高時速120 $\mu$ m以上という高速度でSVZから嗅球までの約1cmを2~6日間で移動する<sup>31</sup>。嗅球の中心部へ到達した新生ニューロンは嗅球の表層部へ向かって放射状に移動し主に嗅覚を担う介在ニューロンとなる(図3)。

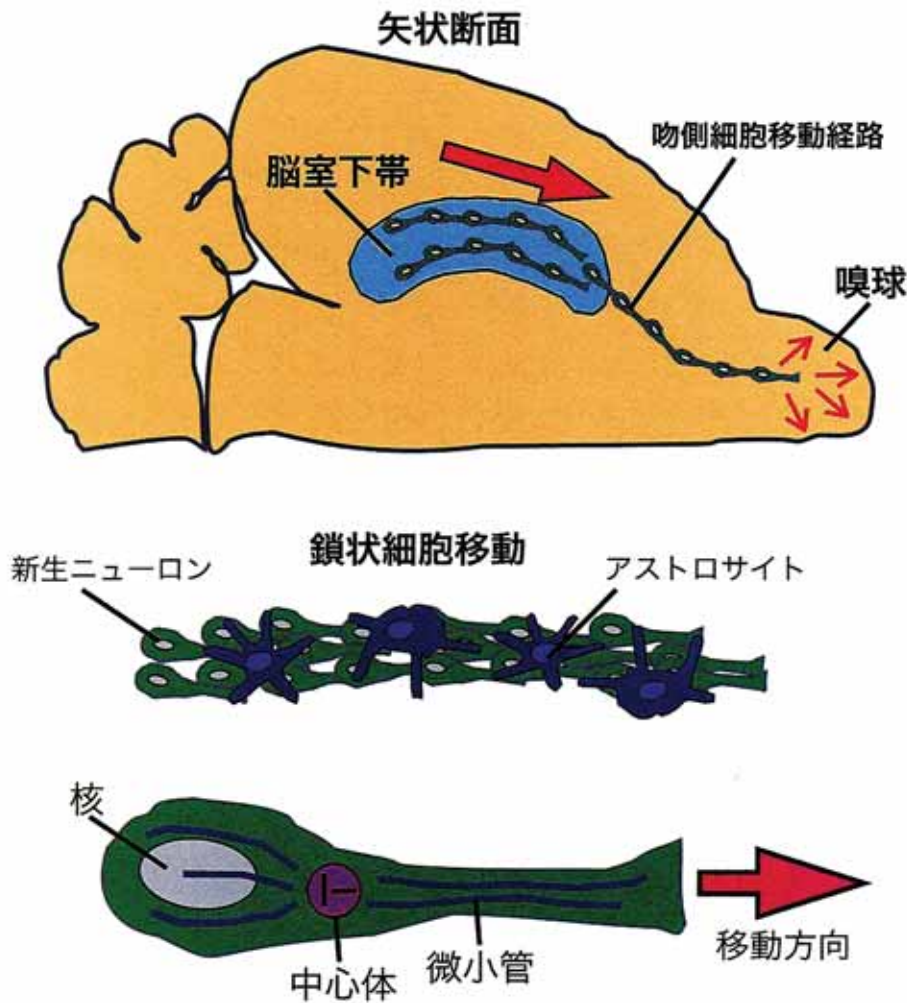


図3 SVZのニューロン新生における細胞移動



## 6. 新生ニューロンの移動様式

高速移動する新生ニューロンは、大変ユニークな移動様式をとる。新生ニューロンは互いに接触し細胞塊を形成して鎖状の形態をとり移動していく。この移動様式を鎖状細胞移動 (chain migration) とよぶ (図3)。そして、SVZにおいてchainを形成した新生ニューロンは、吻側細胞移動経路 (rostral migratory stream: RMS) とよばれるアストロサイトが形成するトンネルの中を高速に移動していく<sup>32)</sup>。

近年、新生ニューロンの移動メカニズムの一端が解明されている。chain migrationには、新生ニューロンどうしやアストロサイトとの相互作用が重要である事が考えられており、接着系分子の関与が示唆されている。新生ニューロンの細胞表面には、接着分子であるポリシアル酸が付加された NCAM (neural cell adhesion molecule: PSA-NCAM) が発現されており、正常な chain 形成に重要である事が報告された。PSA-NCAM ノックアウトマウスでは chain migration の異常に伴う嗅球への新生ニューロン供給が減少するため嗅球が小さくなるという表現型を示す<sup>33)</sup>。このマウスでは正常な chain は形成されず新生ニューロンとアストロサイトの接触が異常になる事から、chain 形成には新生ニューロンとアストロサイトの接触が重要である事が示された。

新生ニューロン同士の相互作用も chain migration にとっては重要である事が示唆されている。接着分子である  $\alpha 6 \beta 1$  インテグリンは多くの細胞種において移動に重要である事が示されている分子である。新生ニューロンにも  $\alpha 6 \beta 1$  インテグリンが発現している。 $\alpha 6 \beta 1$  インテグリンの中和抗体を用いた機能阻害を行うと、chain migration における新生ニューロン間の接触が異常になる事が報告された<sup>34)</sup>。また、 $\alpha 6 \beta 1$  インテグリンのリガンドであるラミニンを添加すると、chain migration の方向が変化し新生ニューロンはラミニンが添加されている部分に沿って移動して行く事が確認された<sup>35)</sup>。

## 7. 移動ニューロンに関わる細胞内分子

移動している幼若ニューロンの形態であるが、移動方向へ向けて長い先導突起を伸ばして移動する (図3)。移動のプロセスには (1) 先導突起の伸長、(2) 微小管の先導突起の中への移動、(3) 細胞核の移動、という3つのステップが含まれる。新生ニューロンの移動には先導突起に存在する中心小体から微小管が伸長して核を取り囲み、核を前方へ推進させるという仮説が提唱されている<sup>36, 37)</sup>。胎生期の神経細胞の移動を制御する分子として、微小管の制御に関わるリン酸化酵素である cdk5

が重要な役割を果たしている。cdk5 ノックアウトマウスにおいては、発生過程の大脳皮質における神経細胞の移動の異常により大脳皮質の層形成不全が生じ胎生致死となる<sup>38)</sup>。筆者らは、SVZ から嗅球への新生ニューロンの移動における cdk5 の機能を、コンディショナルマウスを用いて解析した。その結果、cdk5 は正常な鎖状細胞塊の形成に必要であり新生ニューロンの移動に細胞自律的な役割を果たす事を明らかとした<sup>39)</sup>。この結果は、SVZ から嗅球への細胞移動には cdk5 による微小管の制御が関与している事を示唆している。

## 8. 新生ニューロンの移動方向の制御

SVZ で産生されたニューロンは嗅球へ向かって動いていく。その移動方向の決定に関して分泌因子が関与する事が明らかとなってきた。筆者らは、分泌因子の Slit の濃度勾配が、新生ニューロンの移動方向を決定している事を近年明らかとした。Slit は神経軸索を反発する分泌性ガイダンス蛋白質であり受容体蛋白質 Robo を介して成長円錐の伸展方向の決定に関与している事が知られている<sup>40, 41)</sup>。これまで、組織培養の実験において、脳室周囲の脈絡叢から分泌される Slit が神経細胞の移動を制御している事が示されていた<sup>42, 43)</sup>。しかし、どのようにして Slit 蛋白質が神経細胞の移動に関与しているかは明らかではなかった。Slit 蛋白質は脈絡叢で生成され脳脊髄液内に分泌されると考えられている。脳室の脳室壁には、繊毛を持つ上皮細胞が存在し、繊毛運動により脳脊髄液の動きがコントロールされている事が知られている。筆者らは、新生ニューロンの移動方向が繊毛運動および脳脊髄液の移動方向と一致する現象を見いだした。また、脳室後方に Slit 蛋白質を注入すると、Slit 蛋白質は前方へと移動し脳室壁の後方から前方へ向けて濃度勾配を形成する事を明らかにした。さらに、繊毛の形成が異常となる Tg737<sup>opk</sup> 変異型マウスにおいては、正常な脳脊髄液流が起こらず、脳脊髄液の Slit の濃度勾配も形成されない事が確認された。また、Tg737<sup>opk</sup> 変異型マウスの新生ニューロンの移動を解析したところ、野生型マウスと比較して SVZ から嗅球への細胞移動が異常になる事が確認された。これらの結果より、上皮細胞の繊毛運動は脳脊髄液をコントロールし Slit タンパク質の濃度勾配を形成させる事で、新生ニューロンの移動方向の決定に関与する事が示唆された<sup>44)</sup>。

一方、Slit 蛋白質の反発作用に対して誘因因子の関与も報告されている。Prokineticin2 と神経栄養因子 GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor: グリア細胞株由来増殖因子) はいずれも嗅球で発現し、



RMS から嗅球内に入る新生ニューロンの誘因因子として機能する事が報告されている<sup>45, 46</sup>。

これらのように、SVZで産生された新生ニューロンは、後方からの分泌因子と嗅球内からの誘因因子によって、段階的にその移動方向が制御されていると考えられている。

### 9. 傷害脳における幼若ニューロンの移動

近年、脳が傷害を受けた際、神経幹細胞が活性化されニューロン新生が亢進する事が報告された。動物実験レベルであるが、海馬の傷害時に、梗塞巣において脱落したニューロンが特異的に再生され機能的回復をもたらすことが報告されている<sup>47</sup>。我々の研究グループでは、脳梗塞モデルとしてマウス MCAO (Middle Cerebral Artery occlusion: 中大脳動脈閉塞術) モデルを確立し、傷害時のニューロン再生について研究を行ってきた<sup>48</sup>。Arvidsson らは MCAO モデルを用いた研究により、形成された梗塞巣周囲に新生ニューロンが出現する事を報告した<sup>49</sup>。しかし、この研究では、梗塞巣周囲に存在している新生ニューロンの起源が明らかとされてはいなかった。そこで、筆者らは梗塞巣周囲に出現する新生ニューロンの起源を明らかにするために、遺伝学的手法を駆使し、部位特異的・細胞種特異的な細胞標識を行い、標識細胞の分化・移動様式を経時的に解析した。その結果、SVZで生まれた新生ニューロンが鎖状の構造をつくりながら梗塞巣へ向かって移動し、線条体でシナプスを形成した成熟ニューロンに分化する事を明らかにした<sup>50</sup> (図4)。この結果は、SVZの細胞が傷害部位の神経再生における供給源となる可能性を示唆している。

それでは、SVZで産生された新生ニューロンは、傷害部位へどのように移動するのであろうか？ まず、マ

トリックス分解酵素 (matrix metalloproteinase: MMP) が傷害脳におけるニューロン移動に関与している事が示唆されている。MMPは移動細胞の細胞外基質に関わる分解酵素である。Lee らは、梗塞巣へ向かって移動している新生ニューロンにおいては、MMP9の発現増加が観察される事から、MMP9阻害剤を投与し、阻害実験を行ったところ、梗塞巣へ移動する新生ニューロンが減少する事を報告した<sup>51</sup>。また、サイトカインの一種で細胞遊走に関わる作用を持つケモカインが新生ニューロンの移動に関与している事が報告されている。Thored らは、梗塞巣の新生ニューロンにケモカイン受容体である CXCR4 が発現しており、SVZから梗塞巣へ向かってそのリガンドである SDF1 (stromal cell-derived factor 1) の勾配が形成されている事を見いだした。そして、CXCR4の阻害剤を投与すると、梗塞巣へ移動する新生ニューロンが減少する事を報告した<sup>52</sup>。また、脳梗塞モデルでは組織の傷害に伴い血管新生が生じる。この時、血管新生に関するシグナルが新生ニューロンの移動にも影響を及ぼす事が示唆された。Ohab らは、新生ニューロンが血管新生の盛んな部位へ向かって移動している事を見いだした。脳梗塞モデルに血管新生の抑制剤を投与したところ、新生ニューロンの移動が抑制される事を示した。更に、血管新生に関するリガンド angiopoietin-1 の受容体である Tie-2 が新生ニューロンに発現しており、angiopoietin-1/Tie-2 シグナルの抑制剤を投与すると、新生ニューロンの移動が抑制される事を報告した<sup>53</sup>。この結果は、新生ニューロンの移動に血管新生因子が関与している可能性を示唆している。また筆者らが、線条体内の新生ニューロンについて解析したところ、鎖状の新生ニューロンの多くが血管に沿って存在している事を見いだした<sup>50</sup> (図4)。このことは、

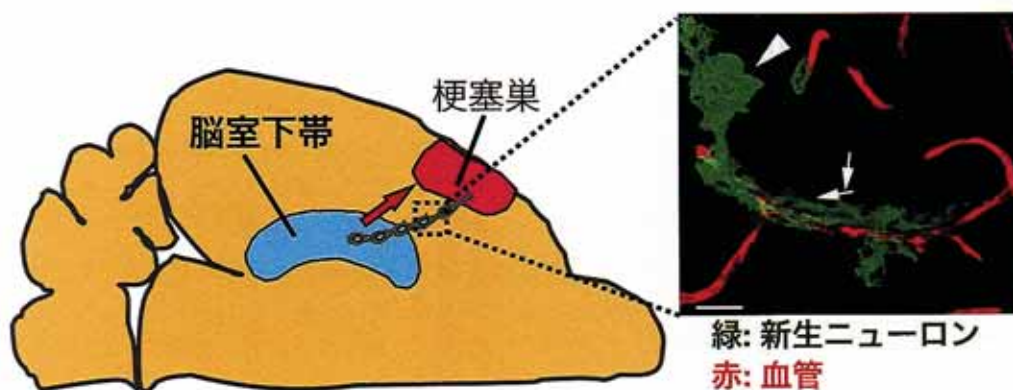


図4 傷害脳における新生ニューロンの移動 (文献50より改変)  
(Yamashita T et al: Journal of Neuroscience 26: 6627-6636, 2006の第5図を許可を得て転載)



血管が新生ニューロンをガイドする役割を果たす可能性を示唆している。

しかしながら、傷害部位への新生ニューロンの移動については、未解明の点が多く残されていると考えられ、そのメカニズムの解明が、傷害を受けた脳における新生ニューロンの移動を制御し、効率良い再生医療を行うために重要であると考えられる。

## 10. おわりに

高齢化社会を迎えた我が国においては、神経疾患の治療法の開発は重要な研究課題となっている。我々を含め多くの研究者が、幹細胞生物学の知見を元に組織再生に挑んできた。脳の再生医学においては、試験管内で目的とする細胞を作製し損傷部位へ移植する、あるいは、内在性の幹細胞を移植するというストラテジーが考えられている。しかし、より精度の高い効率的な治療を行うためには、補充された細胞が適正な位置に移動することが必要である。また、細胞移植を行わずに内在性の神経幹細胞が有する再生能力を生かした治療が可能となれば、倫理的・技術的に大きなメリットがある。筆者らの研究グループでは、成体脳の新生ニューロンの移動メカニズムについて主に研究を展開している。特に、筆者らは損傷した脳において活性化された内在性幹細胞から生まれる新生ニューロンが、どのようなメカニズムで損傷部位へと移動するかを明らかとする事を大きな目的としている。これは、細胞の移動という基礎生物学的な側面で大きな貢献が期待されるとともに、目的部位へ必要な細胞を移動させるという点で、脳の再生医学においても極めて重要な課題であると考えられる。

## 謝 辞

本総説論文で紹介した我々の研究の一部は、慶應義塾大学医学部生理学教室並びにブリヂストン神経発生・再生学寄附講座において行われたものである。名古屋市立大学へ移転した後の研究の一部は、慶應義塾医学振興基金医学研究奨励事業および慶應義塾大学グローバルCOEによる援助を受けて行われた。

## 文 献

- 1) Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH : Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4 : 1313-1317, 1998
- 2) Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM : Neurogene-

- sis in adult subventricular zone. *J. Neurosci.* 22 : 629-634, 2002
- 3) Reynolds BA, Tetzlaff W, Weiss S : A multipotent EGF-responsive striatal embryonic progenitor cell produces neurons and astrocytes. *J. Neurosci.* 12 : 4565-74, 1992
- 4) Reynolds BA, Weiss S : Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 255 : 1707-1710, 1992
- 5) Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A : Regeneration of a germinal layer in the adult mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96 : 11619-24, 1999
- 6) Doetsch F, Caillé I, Lim DA, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A : Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* 97 : 703-716, 1999
- 7) Young KM, Fogarty M, Kessar N, Richardson WD : Subventricular zone stem cells are heterogeneous with respect to their embryonic origins and neurogenic fates in the adult olfactory bulb. *J. Neurosci.* 27 : 8286-8296, 2007
- 8) Kohwi M, Petryniak MA, Long JE, Ekker M, Obata K, Yanagawa Y, Rubenstein JL, Alvarez-Buylla A : A subpopulation of olfactory bulb GABAergic interneurons is derived from Emx1- and Dlx5/6-expressing progenitors. *J Neurosci.* 27 : 6878-6891, 2007
- 9) Merkle FT, Mirzadeh Z, Alvarez-Buylla A : Mosaic organization of neural stem cells in the adult brain. *Science* 317 : 381-384, 2007
- 10) Tropepe V, Craig CG, Morshead CM, van der Kooy D : Transforming growth factor-alpha null and senescent mice show decreased neural progenitor cell proliferation in the forebrain subependyma. *J. Neurosci.* 17 : 7850-7859, 1997
- 11) Ahn S, Joyner AL : In vivo analysis of quiescent adult neural stem cells responding to Sonic hedgehog. *Nature* 437 : 894-897, 2005
- 12) Balordi F, Fishell G : Mosaic removal of hedgehog signaling in the adult SVZ reveals that the residual wild-type stem cells have a limited capacity for self-renewal. *J. Neurosci.* 27 : 14248-14259, 2007
- 13) Conover JC, Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Gale NW, Yancopoulos GD, Alvarez-Buylla A : Disruption of Eph/ephrin signaling affects migration and proliferation in the adult subventricular zone. *Nat Neurosci.* 3 : 1091-1097, 2000
- 14) Lim DA, Tramontin AD, Trevejo JM, Herrera DG, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A : Noggin antagonizes BMP signaling to create a niche for adult neurogenesis. *Neuron* 28 : 713-726, 2000
- 15) Adachi K, Mirzadeh Z, Sakaguchi M, Yamashita T, Nikolcheva T, Gotoh Y, Peltz G, Gong L, Kawase T, Alvarez-Buylla A, Okano H, Sawamoto K : Beta-



- catenin signaling promotes proliferation of progenitor cells in the adult mouse subventricular zone. *Stem Cells*. 25 : 2827-2836, 2007
- 16) Sakaguchi M, Shingo T, Shimazaki T, Okano HJ, Shiwa M, Ishibashi S, Oguro H, Ninomiya M, Kadoya T, Horie H, Shibuya A, Mizusawa H, Poirier F, Nakauchi H, Sawamoto K, Okano H : A carbohydrate-binding protein, Galectin-I, promotes proliferation of adult neural stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103 : 7112-7117, 2006
  - 17) Kaneko N, Okano H, Sawamoto K : Role of the cholinergic system in regulating survival of newborn neurons in the adult mouse dentate gyrus and olfactory bulb. *Genes Cells*. 11 : 1145-1159, 2006
  - 18) Kiel MJ, Yilmaz OH, Iwashita T, Yilmaz OH, Terhorst C, Morrison SJ : SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell* 121 : 1109-1121, 2005
  - 19) Yoshida S, Sukeno M, Nabeshima Y : A vasculature-associated niche for undifferentiated spermatogonia in the mouse testis. *Science* 317 : 1722-1726, 2007
  - 20) Tavazoie M, Van der Veken L, Silva-Vargas V, Louissaint M, Colonna L, Zaidi B, Garcia-Verdugo JM, Doetsch F : A specialized vascular niche for adult neural stem cells. *Cell Stem Cell*. 3 : 279-288, 2008
  - 21) Shen Q, Wang Y, Kokovay E, Lin G, Chuang SM, Goderie SK, Roysam B, Temple S : Adult SVZ stem cells lie in a vascular niche : a quantitative analysis of niche cell-cell interactions. *Cell Stem Cell*. 3 : 289-300, 2008
  - 22) Mercier F, Kitasako JT, Hatton GI : Anatomy of the brain neurogenic zones revisited : fractones and the fibroblast/macrophage network. *J Comp Neurol*. 451 : 170-188, 2002
  - 23) Mercier F, Kitasako JT, Hatton GI : Fractones and other basal laminae in the hypothalamus. *J Comp Neurol*. 455 : 324-340, 2003
  - 24) Kerever A, Schnack J, Vellinga D, Ichikawa N, Moon C, Arikawa-Hirasawa E, Efrid JT, Mercier F : Novel extracellular matrix structures in the neural stem cell niche capture the neurogenic factor fibroblast growth factor 2 from the extracellular milieu. *Stem Cells*. 25 : 2146-2157, 2007
  - 25) Zhang RL, Zhang ZG, Zhang L, Chopp M : Proliferation and differentiation of progenitor cells in the cortex and the subventricular zone in the adult rat after focal cerebral ischemia. *Neuroscience*. 105 : 33-41, 2001
  - 26) Zhang R, Zhang Z, Zhang C, Zhang L, Robin A, Wang Y, Lu M, Chopp M : Stroke transiently increases subventricular zone cell division from asymmetric to symmetric and increases neuronal differentiation in the adult rat. *J Neurosci*. 24 : 5810-5815, 2004
  - 27) Zhang R, Zhang Z, Wang L, Wang Y, Goussev A, Zhang L, Ho KL, Morshead C, Chopp M : Activated neural stem cells contribute to stroke-induced neurogenesis and neuroblast migration toward the infarct boundary in adult rats. *J Cereb Blood Flow Metab*. 24 : 441-448, 2004
  - 28) Benraiss A, Chmielnicki E, Lerner K, Roh D, Goldman SA : Adenoviral brain-derived neurotrophic factor induces both neostriatal and olfactory neuronal recruitment from endogenous progenitor cells in the adult forebrain. *J Neurosci*. 21 : 6718-6731, 2001
  - 29) Matsuoka N, Nozaki K, Takagi Y, Nishimura M, Hayashi J, Miyatake S, Hashimoto N : Adenovirus-mediated gene transfer of fibroblast growth factor-2 increases BrdU-positive cells after forebrain ischemia in gerbils. *Stroke* 34 : 1519-1525, 2003
  - 30) Ninomiya M, Yamashita T, Araki N, Okano H, Sawamoto K : Enhanced neurogenesis in the ischemic striatum following EGF-induced expansion of transit-amplifying cells in the subventricular zone. *Neurosci Lett*. 403 : 63-67, 2006
  - 31) Wichterle H, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A : Direct evidence for homotypic, glia-independent neuronal migration. *Neuron* 18 : 779-791, 1997
  - 32) Lois C, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A : Chain migration of neuronal precursors. *Science* 271 : 978-81, 1996
  - 33) Cremer H, Lange R, Christoph A, Plomann M, Vopper G, Roes J, Brown R, Baldwin S, Kraemer P, Scheff S, Barthels D, Rajewsky K, Wille W : Inactivation of the N-CAM gene in mice results in size reduction of the olfactory bulb and deficits in spatial learning. *Nature* 367 : 455-459, 1994
  - 34) Emsley JG, Hagg T : alpha6beta1 integrin directs migration of neuronal precursors in adult mouse forebrain. *Exp Neurol*. 183 : 273-285, 2003
  - 35) Belvindrah R, Graus-Porta D, Goebbels S, Nave KA, Müller U : Beta1 integrins in radial glia but not in migrating neurons are essential for the formation of cell layers in the cerebral cortex. *J Neurosci*. 27 : 13854-13865, 2007
  - 36) Schaar BT, McConnell SK : Cytoskeletal coordination during neuronal migration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102 : 13652-13657, 2005
  - 37) Tanaka T, Serneo FF, Higgins C, Gambello MJ, Wynshaw-Boris A, Gleeson JG : Lis1 and doublecortin function with dynein to mediate coupling of the nucleus to the centrosome in neuronal migration. *J Cell Biol*. 165 : 709-721, 2004
  - 38) Ohshima T, Ward JM, Huh CG, Longenecker G, Veeranna, Pant HC, Brady RO, Martin LJ, Kulkarni AB : Targeted disruption of the cyclin-dependent kinase 5 gene results in abnormal corticogenesis, neuronal pathology and perinatal death. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 93 : 11173-11178, 1996
  - 39) Hirota Y, Ohshima T, Kaneko N, Ikeda M, Iwasato T, Kulkarni AB, Mikoshiba K, Okano H, Sawamoto K :



- Cyclin-dependent kinase 5 is required for control of neuroblast migration in the postnatal subventricular zone. *J. Neurosci.* 27 : 12829-12838, 2007
- 40) Li HS, Chen JH, Wu W, Fagaly T, Zhou L, Yuan W, Dupuis S, Jiang ZH, Nash W, Gick C, Ornitz DM, Wu JY, Rao Y : Vertebrate slit, a secreted ligand for the transmembrane protein roundabout, is a repellent for olfactory bulb axons. *Cell* 96 : 807-818, 1999
- 41) Nguyen Ba-Charvet KT, Brose K, Marillat V, Kidd T, Goodman CS, Tessier-Lavigne M, Sotelo C, Chédotal A : Slit2-Mediated chemorepulsion and collapse of developing forebrain axons. *Neuron*. 22 : 463-473, 1999
- 42) Hu H : Chemorepulsion of neuronal migration by Slit2 in the developing mammalian forebrain. *Neuron* 23 : 703-711, 1999
- 43) Wu W, Wong K, Chen J, Jiang Z, Dupuis S, Wu JY, Rao Y : Directional guidance of neuronal migration in the olfactory system by the protein Slit. *Nature* 400 : 331-336, 1999
- 44) Sawamoto K, Wichterle H, Gonzalez-Perez O, Cholfin JA, Yamada M, Spassky N, Murcia NS, Garcia-Verdugo JM, Marin O, Rubenstein JL, Tessier-Lavigne M, Okano H, Alvarez-Buylla A : New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain. *Science* 311 : 629-632, 2006
- 45) Ng KL, Li JD, Cheng MY, Leslie FM, Lee AG, Zhou QY : Dependence of olfactory bulb neurogenesis on prokineticin 2 signaling. *Science* 308 : 1923-1927, 2005
- 46) Paratcha G, Ibáñez CF, Ledda F : GDNF is a chemoattractant factor for neuronal precursor cells in the rostral migratory stream. *Mol Cell Neurosci.* 31 : 505-514, 2006
- 47) Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto S, Hatano O, Kawahara N, Tamura A, Kirino T, Nakafuku M : Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell* 110 : 429-441, 2002
- 48) Yamashita T, Sawamoto K, Suzuki S, Suzuki N, Adachi K, Kawase T, Mihara M, Ohsugi Y, Abe K, Okano H : Blockade of interleukin-6 signaling aggravates ischemic cerebral damage in mice : possible involvement of Stat3 activation in the protection of neurons. *J. Neurochem.* 94 : 459-468, 2005
- 49) Arvidsson A, Collin T, Kirik D, Kokaia Z, Lindvall O : Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nat Med* 8 : 963-970, 2002
- 50) Yamashita T, Ninomiya M, Hernández Acosta P, García-Verdugo JM, Sunabori T, Sakaguchi M, Adachi K, Kojima T, Hirota Y, Kawase T, Araki N, Abe K, Okano H, Sawamoto K : Subventricular zone-derived neuroblasts migrate and differentiate into mature neurons in the post-stroke adult striatum. *J. Neurosci.* 26 : 6627-6636, 2006
- 51) Lee SR, Kim HY, Rogowska J, Zhao BQ, Bhide P, Parent JM, Lo EH : Involvement of matrix metalloproteinase in neuroblast cell migration from the subventricular zone after stroke. *J. Neurosci.* 26 : 3491-3495, 2006
- 52) Thored P, Arvidsson A, Cacci E, Ahlenius H, Kallur T, Darsalia V, Ekdahl CT, Kokaia Z, Lindvall O : Persistent production of neurons from adult brain stem cells during recovery after stroke. *Stem Cells.* 24 : 739-747, 2006
- 53) Ohab JJ, Fleming S, Blesch A, Carmichael ST : A neurovascular niche for neurogenesis after stroke. *J. Neurosci.* 26 : 13007-13016, 2006



## STAT3/SOCS3 経路は網膜視細胞の分化のタイミングを制御する

慶應義塾大学医学部眼科学教室

おざわ ようこ  
小澤 洋子

光は網膜視細胞を刺激し、網膜内の神経ネットワークを介して視覚を形成させる。なぜ、同じ生物種であれば、誰もが同じものを同じ形として見ることができるのか。言い換えれば、生物はどのようにして、同一企画の網膜という器官を形成するのだろうか。その答えの一端は非常に秩序だった網膜の各細胞の発生・発達機構にある。

網膜には6種のニューロンと1種のグリア細胞があるが、各種網膜細胞の分化の順番(図1)や数の制御については今までにも数々の報告がある。しかし、網膜細胞は光を受け取るだけでなくシナプスを介したネットワークを形成して情報処理もする複雑な器官であり、更に細かい分化のスケジュールが決まっているはずである。そこで我々は、網膜、特に視細胞の発生を解析し、視細胞分化のタイミングを細かく調節するメカニズムが存在することを明らかにした。運命が決まった細胞において、実際に分化し機能を持つ時期が調節を受けていることについては今まであまり注目されていなかった。しかし、最近の研究からは細胞分化の時期を同調させたりずらしたりすることは、網膜内のシナプスネットワーク形成の制御に関わる可能性があると考えられるようになっていく<sup>1)</sup>。つまり、分化時期の調節メカニズムも視覚形成に重要である可能性があるということである。

ここでは、桿体視細胞の分化開始のタイミングをSTAT3/SOCS3 経路が調節する、という知見について、我々が発表した次の2つの原著論文<sup>2, 3)</sup>を元に解説する。

- ① “Downregulation of STAT3 activation is required for presumptive rod photoreceptor cells to differentiate in the postnatal retina. (*Mol Cell Neurosci.* 2004)”
- ② “SOCS3 is required to temporally fine-tune photoreceptor cell differentiation. (*Dev Biol.* 2007)”

### 1. 網膜では、共通の網膜前駆細胞が分裂し、特定の時期に特定の細胞種への分化の運命が決定される

網膜には光受容体であり一次ニューロンである視細胞の他に二次、三次ニューロンである双極細胞や神経節細胞、二種の介在ニューロン、ミュラーグリア細胞といった様々な細胞があるが、それらは皆、同一の網膜前駆細胞が起源であるということが知られていた<sup>4, 5)</sup>。更に、特定の時期に特定の細胞の分化の運命が決定することも知られていた<sup>4, 5)</sup>(図1)。その調節機構の一つとして、先に分化した細胞(網膜神経節細胞など)が後から分裂・分化する細胞(視細胞など)の数を制御する機構<sup>6)</sup>や、サイトカインなどの特定の細胞外液性因子による制御の機構<sup>7, 8)</sup>が報告されていた。一方、各種網膜細胞の運命決定には、特定の転写因子の発現が重要な役割を果たす(Hatakeyama and Kageyama, 2004)、つまり細胞内因子により分化調節される機構の研究も進められていた。しかし、細胞外—細胞内因子間の関係に関する分子レベルの研究や、同一種類の個々の細胞の分化時期の調節機構についての研究はほとんどされていなかった。

### 2. 最終分裂を終えた予定視細胞は、時間をかけて分化の過程を完了する

網膜前駆細胞が何度も分裂を繰り返し、もうこれ以上は分裂しないという最終分裂をして視細胞へと運命決定すると、予定視細胞と呼ばれる。マウスでは予定視細胞は胎生13日目(embryonic day 13; E13)から出生後4日目(postnatal day 4; P4)くらいまでの間に誕生して徐々に増えていくが、桿体視細胞の最終分化マーカーであるロドプシンの発現はP0以降に限られることが知られていた(図1)。ロドプシンの上流の転写因子



Crx も、分裂後早期から低レベルで発現を開始するもの、ロドプシンの発現に必要な高レベルの発現を開始するまでには数日かかることが報告されていた<sup>9,10)</sup>。つまり、最終分裂後に視細胞に分化する運命が決まり、Crx を低レベルで発現した予定視細胞は、その後数日間、分化の過程を完了できず、最後に Crx の発現が急に上昇してロドプシンを発現し始める (ここではこれを、分化を開始したとよぶ)、という過程をたどるのである。また、分裂後に分化を開始するまでの時間は、胎生期に誕生した細胞の方が P0 以降に誕生した細胞より長いことが報告されていた<sup>11)</sup>。すなわち、分化を止められている期間が、予定視細胞の誕生時期により異なっていたのである。

これとは別に初代培養の実験から、予定視細胞は ciliary neurotrophic factor (CNTF) 存在下では、ロドプシンの発現を可逆的に抑制され、CNTF の除去により分化を開始しうることが知られていた<sup>12)</sup>。つまり細胞外因子である CNTF は視細胞の分化過程を抑制することができたわけである。しかし、このときの分化に必要な細胞内因子の動向については、未だ解析されていなかった。

ところで、発達期網膜での CNTF の発現については、

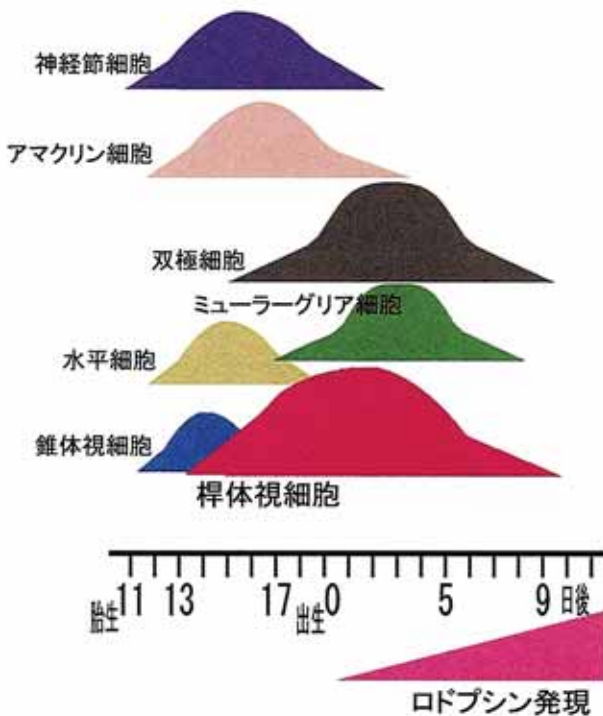


図1 各網膜細胞の誕生時期。網膜では、胎生期後期から出生後にかけて、特定の時期に特定の種類の細胞運命が決定されて分化を開始する。視細胞の最終分化マーカーであるロドプシンは出生0日目以降に発現する。(Marquardt et al. *Trends in Neurosciences* 2002 より改変)

胎生期終盤で高値を示し、P0 以降に急激に低下すると言うことが報告されていた<sup>13)</sup>。CNTF はその受容体を通して膜貫通型受容体 gp130 を活性化するが、この CNTF/gp130 シグナルが視細胞の分化の開始を負に調節する可能性があった。そこで、マウス網膜器官培養とノックアウトマウスを用い、視細胞の分化時期の調節機構につき次のような研究をした。

### 3. CNTF/gp130 シグナル下流の STAT3 が Crx・ロドプシンの発現を抑制し、視細胞の分化を抑制した

CNTF/gp130 シグナルの下流では細胞内で JAK/STAT3 経路、SHP2/MAPK 経路が活性化しうるが、そのいずれが Crx・ロドプシンの発現を抑制し、視細胞の分化を抑制するかは、不明であった。そこで我々はまずこの点を、網膜の発達をよく再現することで知られる網膜器官培養 (retinal explant) の系<sup>14)</sup>を用いて解析した。我々はこの retinal explant に直接、遺伝子をエレクトロポレーションにより導入する方法を開発し、ドミナントネガティブ型 STAT3 (STAT3F)<sup>15)</sup>を導入した。すると、STAT3F を導入された予定視細胞では、CNTF を添加しても、STAT3 の活性化は抑制され、ロドプシンを発現することができたのである。もう一つの

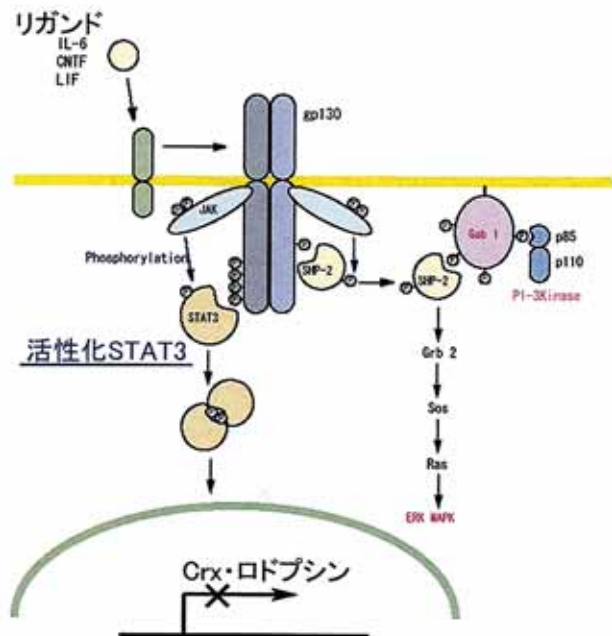


図2 炎症性サイトカインとして知られ、細胞外液性因子である CNTF などは膜貫通型受容体 gp130 を介して細胞内で STAT3 を活性化し、予定視細胞での Crx・ロドプシンの発現を抑制する。



経路, SHP2/MAPK 経路を抑制しても, CNTF の視細胞分化抑制効果を相殺することはできなかった. よって, 視細胞の分化は CNTF が予定視細胞内で STAT3 を活性化することで抑制される, ということが明らかになった (図2).

#### 4. E18 の予定視細胞では STAT3 が活性化しているが, P0 になると大きく低下した

マウスでは最終的に形成される視細胞の約半数が, 胎生期に予定視細胞として誕生するが, ロドプシン発現は P0 まで始まらない. それでは, 胎生期 (E18 まで) の予定視細胞では STAT3 が活性化しているのか, 興味深いことに, 実際, 胎生期の予定視細胞層ではほぼすべての細胞で STAT3 が活性化しており, P0 で急激に下がっていることが, 活性化 STAT3 の免疫組織染色により明らかになった (図3).

#### 5. 網膜特異的 STAT3 ノックアウトマウスでは, 視細胞分化の開始が早まっていた

では, STAT3 が胎生後期に活性化していなければ, 視細胞の分化は早く開始するのか. STAT3 のノックアウトマウスは胎生致死で解析ができないため, 我々は網膜特異的 STAT3 ノックアウト ( $\alpha$ -Cre STAT3<sup>flax/flax</sup>)

マウスを用いて解析した. このマウスでは, E12 から STAT3 を発現しなくなるのだが, E18 でロドプシンの上流転写因子の *crx* の発現が上昇していた. このことから, 生体内でも実際に, 誕生した予定視細胞は活性化 STAT3 により分化過程を途中で止められており, それ解除されることで視細胞分化が開始する (図4) ことが示された. ただし, もし胎生後期に STAT3 が活性化されていなくても, 予定視細胞の誕生後直ちに視細胞の分化が開始するわけではなかった. すなわち, 分化の開始にはいくつかの条件が整う必要があり, 活性化 STAT3 の発現が低下しても充分ではないが, 低下しない限り分化の開始に必要な条件がそろわないといえた.

#### 6. P0 で網膜内 STAT3 活性が急に低下しても, すべての予定視細胞が同時に分化を開始するわけではなかった

前述のように P0 で網膜内 STAT3 活性は急激に低下するが, そのわりには P0 以降にロドプシンを発現し始める細胞は急激には増加しない (図3). そこで我々は, リガンドの発現低下以外に, さらに細かく細胞ごとに STAT3 活性を調節する分子があるに違いないと考えた.

一方, STAT3 活性を抑制する分子の一つに SOCS3 があつた. STAT3 はリガンドが gp130 受容体を活性化すると働く Janus kinase (JAK) により活性化され

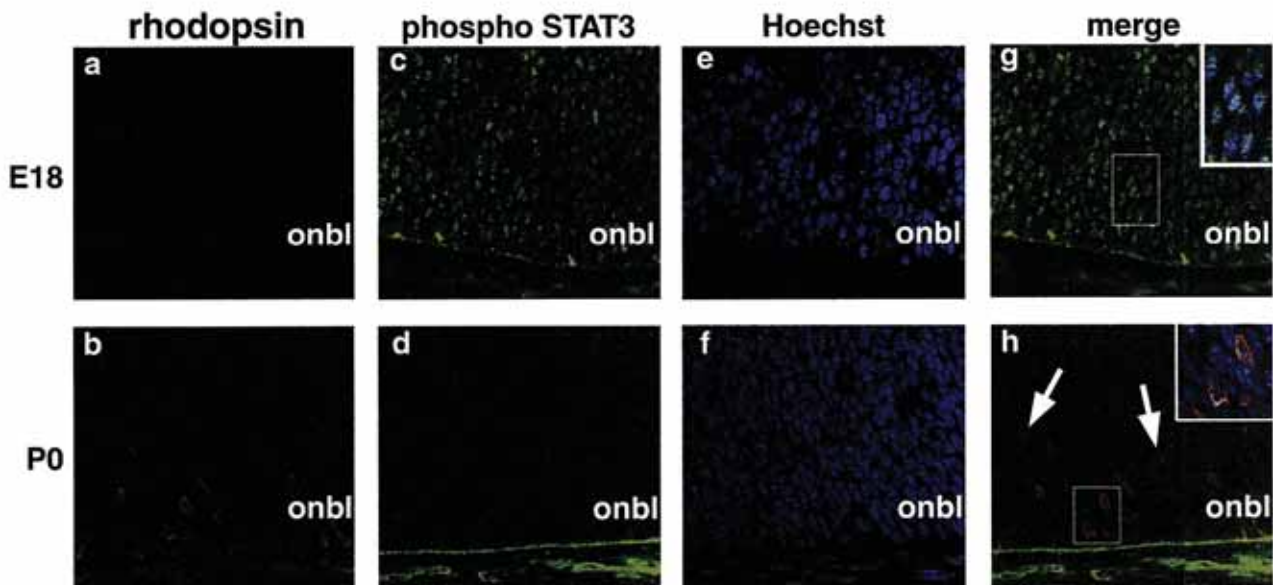


図3 E18 には予定視細胞で STAT3 が活性化しており (c, g; 活性化 STAT3 は核内移行していた), ロドプシンの発現は見られないが (a, g), P0 では急激に活性化 STAT3 の発現が低下し (d, h), 一部の予定視細胞でロドプシンの発現が開始した (b, h). P0 でわずかに活性化 STAT3 が残存する細胞では, ロドプシン発現は見られなかった (h, 矢印). Hoechst: 核染色. (Ozawa et al. *Mol Cell Neurosci.* 2004 より)



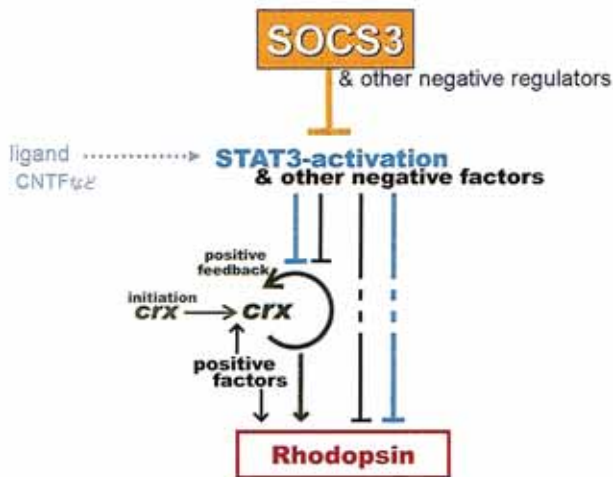


図4 予定視細胞では、低発現していた Crx が（おそらく positive feedback 機構により）急激に発現上昇するとロドプシンの発現が開始し分化するが、STAT3 が活性化していると、Crx は低発現のまま発現上昇せず、ロドプシンの発現が開始しない。これに対し SOCS3 は、STAT3 の活性化を抑えるため、Crx の急激な発現上昇を促しロドプシンの発現、つまり視細胞の分化を開始させる。（Ozawa et al. *Mol Cell Neurosci.* 2004 より改変）



図5 STAT3 は、細胞外因子（リガンド）が gp130 受容体を活性化すると働く Janus kinase (JAK) により活性化される。SOCS3 は、STAT3 活性化により転写活性が上昇し誘導され、JAK の活性を抑制することで STAT3 の活性化を抑制する。

るが、この JAK の活性を抑制するのが SOCS3 である（図5）。また SOCS3 は活性化 STAT3 により転写を促進されるので、STAT3 の negative feedback modulator の一つとされている。興味深いことに、SOCS3 は P0 以降、常にロドプシンの発現開始に先んじて予定視細胞層で発現していた（図6E, F）。すなわち SOCS3 が発現して STAT3 を抑制した細胞でのみ、視細胞の分化を開始できる可能性があった。

### 7. 網膜器官培養において、SOCS3 機能を抑制すると、視細胞の分化は抑制された

上述の仮説を証明するために、我々は再度 retinal explant に直接、遺伝子をエレクトロポレーションで導入する方法を用いて解析した。これにより、SOCS3 を強制発現した細胞は CNTF を添加しても STAT3 の活性化は抑制され、視細胞分化を開始できることを示した。

更に、ドミナントネガティブ型 SOCS3 (F59D-JAB) により SOCS3 の機能を抑制すると、CNTF を添加しない通常の培養条件下であっても、視細胞の分化は開始できないことを示した。

### 8. 網膜特異的 SOCS3 ノックアウトマウスでは、視細胞分化の開始が遅延していた

SOCS3 が欠損しているとき、生体内でも視細胞の分化が抑制されるのか。P3 の網膜で比較すると網膜特異的 SOCS3 ノックアウト ( $\alpha$ -Cre SOCS3<sup>flax/flax</sup>) マウスでは活性化 STAT3 は高値を、Crx・ロドプシンの発現は低値を示した（図6）。すなわち、P0 以降、たとえリガンド発現の大幅な低下により活性化 STAT3 が胎生期に比べると大きく低下しても、SOCS3 を欠損すると、ある閾値以上の STAT3 活性が残存して視細胞の分化を開始することができないと考えられた。P0 以降残存した活性化 STAT3 をシャットダウンし、視細胞の分化を開始させるには、SOCS3 が必要であった（図4）。

P3 より後、このマウスでの視細胞の分化は成体になるまでに野生型に追いついて行くが、その速さは個体によってまちまちであった。一方、分化する細胞の順番から、各細胞のシナプスネットワークを形成する相手を見間違わないようにしている可能性があることは、他の現象の解析からも考えられている<sup>1)</sup>。そのため、網膜全体に敷き詰められるように存在する視細胞が正常な順番で、上位ニューロンとタイミングを合わせて分化することで、正常なシナプスを形成する可能性がある。事実、網膜特異的 SOCS3 ノックアウトマウスの成体では、ロドプシンの発現は野生型と同様にまで追いついていたが、二次ニューロン以上の機能を網膜電図で見ると低下していることを、我々は最近明らかにした<sup>17)</sup>。

### 9. 生体内の SOCS3 の発現は、転写後調節を受けていた

従来 SOCS3 は活性化 STAT3 により転写活性が上昇して誘導される negative feedback modulator として知られている<sup>16)</sup>。ということは、STAT3 活性の高い胎生後期 (E18 まで) で SOCS3 が誘導されてしまうはずである。しかし、実際には生体内の SOCS3 タンパクの発現は P0 以降に始まった（上述 6. 参照）。そこで我々は、E18 までは SOCS3 mRNA は誘導されても転写後抑制により SOCS3 タンパクが誘導されないという仮説



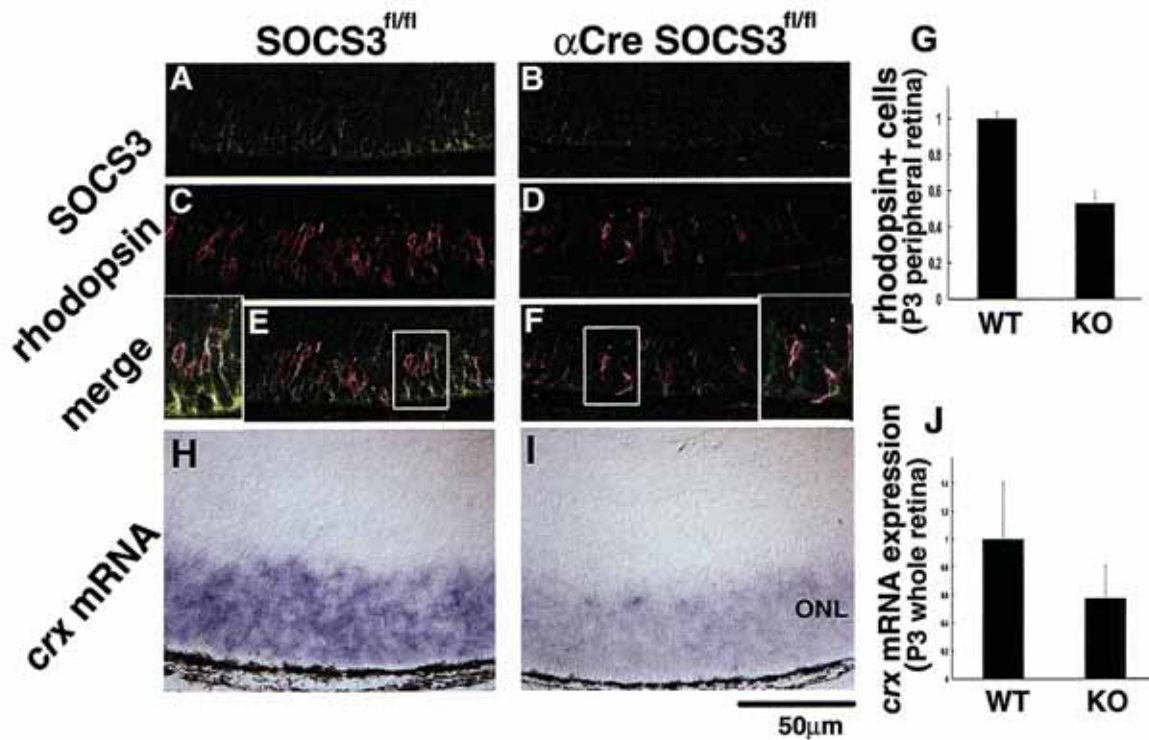


図6 網膜で SOCS3 発現が著しく低下した  $\alpha$ -Cre SOCS3<sup>fl/fl</sup> マウスの網膜では (A, B), P3 でロドプシンを発現する細胞数が低下していた (C, D, E, F, G). ロドプシンは, SOCS3 を発現した細胞の一部で発現していた (E, F).  $\alpha$ -Cre SOCS3<sup>fl/fl</sup> マウスの網膜ではロドプシンの上流転写因子, Crx の発現が低下していた (H, I, J). SOCS3<sup>fl/fl</sup>; 野生型マウス,  $\alpha$ -Cre SOCS3<sup>fl/fl</sup>; 網膜特異的 SOCS3 ノックアウトマウス (Ozawa et al. *Dev Biol.* 2007 より)

を立て、これを解析した。すると仮説の通り、E18では既に SOCS3 mRNA の発現は P0 と同様の値にまで上昇していたが、SOCS3 タンパクの発現は P0 の半分以下に抑えられていた。このように転写後抑制があることで、SOCS3 タンパクが E18 以前に誘導されて STAT3 の活性化が抑制されることはなく、視細胞の分化開始時期を P0 以降にそろえることができたのである。その上、胎生期に mRNA をすでに発現していることは P0 から quick & timely に SOCS3 タンパクの発現を開始することに貢献していたのである。この転写後抑制のメカニズムは今のところわかっていないが、タンパク合成の抑制による可能性があった。

このように、網膜桿体視細胞の分化は、CNTF/gp130 受容体のリガンドである細胞外因子が、細胞内因子である STAT3 を活性化すると抑制され、SOCS3 のタンパク発現が始まると、細胞内での STAT3 活性化が抑制されることで細胞内因子である Crx・ロドプシンの発現が上昇し、開始していた (図4)。すなわち視細胞の分化は細胞外因子が細胞内因子に作用しつつ、調節されていることが示された。

さらにこのことは、発生という興味だけでなく、網膜再生法の開発のためにも重要な知見となったことを付け加えておきたい。網膜再生が必要な障害網膜では、各種炎症性サイトカインの発現が亢進しており、STAT3 は容易に活性化される。しかし、その微少環境下では、たとえ再生医療により新しい細胞が補填されても、視細胞として必要な Crx やロドプシンを発現すること、つまり分化誘導されることは難しいと言うことを意味していた。

## 謝 辞

この研究は生理学教室の岡野栄之教授と、眼科学教室の小口芳久名誉教授、坪田一男教授、およびそれぞれの教室のスタッフ・メンバーのご指導ご支援により達成されました。ここに深謝申し上げます。



## 文 献

- 1) Godinho L, *et al.* Nonapical symmetric divisions underlie horizontal cell layer formation in the developing retina in vivo. *Neuron* **56** : 597-603, 2007.
- 2) Ozawa Y, *et al.* SOCS3 is required to temporally fine-tune photoreceptor cell differentiation. *Developmental biology* **303** : 591-600, 2007.
- 3) Ozawa Y, *et al.* Downregulation of STAT3 activation is required for presumptive rod photoreceptor cells to differentiate in the postnatal retina. *Molecular and cellular neurosciences* **26** : 258-270, 2004.
- 4) Livesey FJ, Cepko CL. Vertebrate neural cell-fate determination : lessons from the retina. *Nat Rev Neurosci* **2** : 109-118, 2001.
- 5) Marquardt T, Gruss P. Generating neuronal diversity in the retina : one for nearly all. *Trends Neurosci* **25** : 32-38, 2002.
- 6) Mu X, *et al.* Ganglion cells are required for normal progenitor-cell proliferation but not cell-fate determination or patterning in the developing mouse retina. *Curr Biol* **15** : 525-530, 2005.
- 7) Levine EM, Fuhrmann S, Reh TA. Soluble factors and the development of rod photoreceptors. *Cell Mol Life Sci* **57** : 224-234, 2000.
- 8) Watanabe T, Raff MC. Rod photoreceptor development in vitro : intrinsic properties of proliferating neuroepithelial cells change as development proceeds in the rat retina. *Neuron* **4** : 461-467, 1990.
- 9) Furukawa A, Koike C, Lippincott P, Cepko CL, Furukawa T. The mouse Crx 5'-upstream transgene sequence directs cell-specific and developmentally regulated expression in retinal photoreceptor cells. *J Neurosci* **22** : 1640-1647, 2002.
- 10) Furukawa T, Morrow EM, Cepko CL. Crx, a novel otx-like homeobox gene, shows photoreceptor-specific expression and regulates photoreceptor differentiation. *Cell* **91** : 531-541, 1997.
- 11) Morrow EM, Belliveau MJ, Cepko CL. Two phases of rod photoreceptor differentiation during rat retinal development. *J Neurosci* **18** : 3738-3748, 1998.
- 12) Ezzeddine ZD, Yang X, DeChiara T, Yancopoulos G, Cepko CL. Postmitotic cells fated to become rod photoreceptors can be respecified by CNTF treatment of the retina. *Development (Cambridge, England)* **124** : 1055-1067, 1997.
- 13) Kirsch M, Lee MY, Meyer V, Wiese A, Hofmann HD. Evidence for multiple, local functions of ciliary neurotrophic factor (CNTF) in retinal development : expression of CNTF and its receptors and in vitro effects on target cells. *Journal of neurochemistry* **68** : 979-990, 1997.
- 14) Tomita K, *et al.* Mammalian hairy and Enhancer of split homolog 1 regulates differentiation of retinal neurons and is essential for eye morphogenesis. *Neuron* **16** : 723-734, 1996.
- 15) Minami M, *et al.* STAT3 activation is a critical step in gp130-mediated terminal differentiation and growth arrest of a myeloid cell line. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **93** : 3963-3966, 1996.
- 16) Yoshimura A, Mori H, Ohishi M, Aki D, Hanada T. Negative regulation of cytokine signaling influences inflammation. *Current opinion in immunology* **15** : 704-708, 2003.
- 17) Ozawa Y, *et al.* Roles of STAT3/SOCS3 pathway in regulating the visual function and ubiquitin-proteasome-dependent degradation of rhodopsin during retinal inflammation. *J Biol Chem.* **283** : 24561-24570, 2008



受賞記念講座 (三四会奨励賞)

非アルコール性脂肪肝炎の現況と今後

Nonalcoholic steatohepatitis: present and future

北里研究所病院消化器内科

とみ た けん こ  
富田 謙 吾

Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine,  
Kitasato Institute Hospital

Kengo Tomita

ABSTRACT

According to a recent report, nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) afflicts as much as 20% of the US adult population. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH), part of the spectrum of NAFLD, is the most prevalent liver disease in the US and is thought to affect approximately 3-5% of the population. In Japan, NAFLD is present in approximately 10% of the population, and NASH is thought to affect 1% of the Japanese population. Because NASH is a progressive disease, it is necessary to develop and establish diagnostic and therapeutic methods to reliably diagnose and treat this disorder. Currently, liver biopsy—an invasive procedure that is associated with various complications—is the only reliable method for differentiating simple steatosis from NASH and evaluating the histological severity of the disease. This limits both the diagnostic screening of the increasing number of NAFLD patients and the therapeutic interventions that can be employed to treat this patient population.

Key Words : Nonalcoholic steatohepatitis, Nonalcoholic fatty liver disease, Metabolic syndrome

緒 言

平成 16 年の我が国の国民健康・栄養調査によると、40 歳から 74 歳までで、約 940 万人の人がメタボリックシンドロームが強く疑われ、約 1020 万人がその予備群と考えられている。つまり 40 歳から 74 歳の男性の 2 人に 1 人、女性の 5 人に 1 人が該当することとなり、その数の多さは、社会問題を引き起こしている。この飽食の時代の肝臓病であり、まさにメタボリックシンドロームの肝臓における表現形とも言える病態が、非アルコール性脂肪性肝疾患 (Nonalcoholic fatty liver disease : NAFLD) であり、その中の重症病型が非アルコール性脂肪肝炎 (Nonalcoholic steatohepatitis : NASH) で

ある。

我が国では、2008 年 4 月より、メタボリックシンドロームに焦点を当てた特定健診・特定保健指導が始まり、生活習慣病の早期是正に国を挙げて取り組む方向である。その過程で、我が国におけるメタボリックシンドローム・生活習慣病とそれに伴う NASH・NAFLD 患者の実態が、顕在化してくるものと予想される。実地臨床においては、メタボリックシンドロームは必ずしも肝臓病専門医により診断されているわけではなく、むしろ糖尿病専門医・一般内科医、または健康診断医が担当することの方が多いため、増加が予想される NASH・NAFLD の診断・治療に関し、肝臓病専門医との連携がこれまで以上に重要な位置づけを持つことになる。

前述したように、メタボリックシンドロームに合併す



ることの多い脂肪肝だが、従来、増悪することのない“良性の疾患”と考えられていた。ところが近年、その一部が、脂肪肝炎を経て肝硬変へと進行することが明らかとなり、原因不明であった肝硬変・肝臓癌の多くを説明する可能性が出てきた。本稿では、日常診療で頻繁に遭遇する脂肪肝・メタボリックシンドロームをみた時には、是非とも念頭に浮かべていただきたい疾患として、NASH・NAFLDをここに概説したい。

## NASHの疾患概念

NASHは、アルコール非摂取者で肥満、糖尿病、長期経静脈栄養などによる過剰栄養摂取などが原因と考えられる肝障害に対する疾患概念である。歴史的には、1979年Adlerらが肥満患者の肝生検組織像で、アルコール性肝障害にきわめて類似し線維化や肝硬変への進展がみられる症例があると報告したのが最初である<sup>1)</sup>。さらに、1980年、Mayo clinicにおいてLudwigらが、飲酒歴がないにもかかわらず、肝組織所見がアルコール性肝障害に類似した20症例を報告し、この疾患概念をnonalcoholic steatohepatitis (NASH)と命名した<sup>2)</sup>。Ludwigらはアルコールを摂取していないのにアルコール性肝障害に非常によく似た病理組織像をもつ点に注目し、脂肪肝炎であるが、アルコール性肝障害とはまったく違う病態として分類しようと提唱した。現在この考えはNASHの疾患概念として一般に受け入れられている。このように、NASHとは、アルコール性肝障害に類似した組織所見を有するが、アルコール摂取歴がなく、ウイルス、自己免疫などの他の要因を除外したものと定義された。脂肪滴の沈着した肝臓をベースとして、そこに炎症性細胞浸潤・肝細胞変性(マロリー小体・肝細胞の風船様腫大)・肝線維化所見が加わった病態である。現在になって、NASHは疾患概念として一般に受け入れられているが、当時は多くの人に懐疑的に見られ、最初の報告はLudwigの属するMayo clinicのプロシーディングにより発表できたという経緯がある。それより20余年を経て、NASH患者数は急増し、米国成人の3%から5%が本症に罹患していると考えられる現在、その診断法、治療法の整備が急がれる所である<sup>3,4)</sup>。

## NAFLDとNASH

後述するように、現在の所、NASHには血液マーカーなど非侵襲的な診断マーカーがなく、肝生検による病理組織診断が、診断のGold standardとなっている。そ

のため、肝細胞に中性脂肪が蓄積した肝障害で、アルコール、ウイルス、自己免疫など他の要因を除外したものを総称して、NAFLDとしている。つまり、NAFLDは、単純性脂肪肝(Simple steatosis)とNASH(肝線維症・肝硬変も含む)に大別され、NAFLDの中の重症病型がNASHということになる。実際の臨床の現場においては、NAFLDの診断は、病理所見なしに行われていることが多い。しかしながら、NAFLDの重症型であるNASHは進行性の病態であるため、NAFLDからのNASHの拾い上げは極めて重要である。

## 疫学的背景

米国では、成人の約20~30%がNAFLDであり、成人人口の約3~5%がNASHであろうと推察されている<sup>3)</sup>。米国の肝臓病の患者数は、C型肝炎が人口の1.3~2.0%、アルコール性肝疾患が1%、B型肝炎が0.3~0.4%とされており、NASHは現在米国でもっとも患者数の多い肝疾患であることを銘記する必要がある。我が国においては、検診受診者の約1割がNAFLDと考えられ、そのまた約1割がNASHである。本邦のNAFLD患者数は100万人を超えると推定されており、その約1割の約100万人がNASH患者と想定されている。米国ほどでないにしろ患者数は多く、また今後、肥満、糖尿病患者数の増加とともに、さらに増加していくことが予想されている。

NASHが進行性の疾患であることは様々な疫学的検討より明らかとなっている。10年間の追跡で、NASH患者の20%が肝硬変へと進行し、8%が肝臓死に至ったと報告されている<sup>5)</sup>。また経時的な肝生検による検討では、4.3年の観察でNASHの約1/3が進行し、肥満とBMIがその進展と相関を有するという結果が得られている<sup>6)</sup>。近年の、平均観察期間を13.8年に設定した経時的肝生検による検討では、肝臓線維化に関して、41%の患者で増悪を認めている<sup>7)</sup>。

気をつけるべき点は、これらの肝臓病変の進展と、血液肝機能データ(血清AST, ALT値)とが必ずしも相関していないということで、この事が、NASHの診断をより困難なものにしている。

## NAFLD・NASHの診断

NAFLDの診断としては、

- 1) 原則として飲酒歴のないこと(エタノール換算で、男性20 g/day以下、女性10 g/day以下)



- 2) ウイルス性, 自己免疫性, 薬剤性, 代謝性などの他の原因による肝疾患が除外されること
- 3) 画像検査や肝生検により脂肪肝と診断されることが挙げられる。

NASHに特有の臨床症状はほとんど存在しない。病態が進行すれば、一般的な肝臓病の進展に伴う自覚症状が出現するだけであり、むしろ背景因子としてリスクファクターを有するか否かに着目すべきである。NAFLDではメタボリックシンドロームの各因子を、複数合併することが多いが、その中でも、単純性脂肪肝に比べNASHではより多くの危険因子を合併している。

混乱を避けるため本稿では言及を避けるが、他のリスクファクターとして、外科手術後、中心静脈栄養、アミオダロンなどの薬剤、急激な体重減少などの、肝臓の脂肪化を引き起こすさまざまな要因があることにも留意しなければならない。

現在の所、前述したように、NAFLDからNASHを確定診断するためには、肝生検が必要となるため、非侵襲的な診断法（血液マーカー、画像診断）の早期確立が必須課題である。

全世界で様々な取り組みがなされているが、近年報告された、NAFLD fibrosis scoreは、NAFLD患者の中から、肝臓線維化の進展した、進行NASH患者を診断するのに有用なマーカーである。NAFLD fibrosis score =  $-1.675 + 0.037 \times \text{age (years)} + 0.094 \times \text{BMI (kg/m}^2) + 1.13 \times \text{IFG/diabetes (yes=1, no=0)} + 0.99 \times \text{AST/ALT ratio} - 0.013 \times \text{platelet (X10}^9/\text{l)} - 0.66 \times \text{albumin (g/dl)}$  と定義され、値が、0.676以上で肝臓線維化の進展（stage3以上の肝臓線維化）が、感度51%、特異度98%で診断されるというものである<sup>8)</sup>。我々は、本指標に、血清4型コラーゲン値、ヒアルロン酸値を組み合わせる事で、さらに感度を上昇させた形で、進行NASH患者のスクリーニングを可能にした（Tomita K, et al. In submission）。しかしながら、単純性脂肪肝と、比較的中等度までの線維化を有するNASH（stage2までの線維化症例）との血液検査での鑑別は困難である。血清アディポネクチン値や、高感度CRP値などの有用性の報告もあるが、施設により結果が一定しない状況であり、現時点では実用の域には達していない<sup>9-12)</sup>。

一方、画像検査では、従来、腹部超音波検査・CT検査・MRI検査が脂肪肝の診断に用いられているものの、単純性脂肪肝とNASHとの鑑別をおこなうことはできなかった<sup>13)</sup>。

慶應義塾大学病院消化器内科では、放射線診断科との共同研究で、SPIO造影MRI検査がNAFLDからのNASH絞り込みに有用であることを明らかにしている<sup>14)</sup>。また、慶應義塾大学病院放射線治療・核医学科との共同研究では、フチン酸シンチグラフィ検査が、NASH診断に有用であることを明らかとした<sup>15)</sup>。この両手法は、単純性脂肪肝と、早期NASHとの鑑別も可能であるため、今後の大規模スクリーニングへの応用が期待されるものである。

## NASHの病理組織診断

前項でも述べた通り、現在の所、最終的にNASHは、肝臓の病理組織所見により確定診断される。Matteoniらは、NAFLDを、単純性脂肪肝にあたるタイプ1、さらに小葉内の炎症をともなったタイプ2、脂肪肝に肝細胞風船様変性をともなったタイプ3、タイプ3にさらに線維化ないしMallory bodyをともなったタイプ4とに分類し、タイプ3とタイプ4をあわせたものがNASHに相当するとの提案をしている<sup>16)</sup>。一方、現在NASHの病理分類として広く使用されているのはBruntの分類であるが、NASHの病理組織を、脂肪化、活動性(Grading)と線維化の程度(Staging)によって分類している<sup>17)</sup>。

NAFLDの病理組織診断にはどうしても病理医の主観が入り、NASH診断基準が一部あいまいな部分があることより、steatosis (0-3), lobular inflammation (0-2), hepatocellular ballooning (0-2)をスコア化し、その総計で単純性脂肪肝とNASHとを区別する提案が近年なされ広く活用されている<sup>18)</sup>。詳細は他稿に任せるが、病理診断の全世界共通のコンセンサスの早期確立が不可欠である。また、end-stageのNAFLDでは、炎症像や脂肪化像が消失した病理組織像(Burned-out NASH)を呈してくるため、留意が必要である。

## 単純性脂肪肝とNAFLD

単純性脂肪肝は現在まで、進展することのない良性的病態と考えられてきた。そのため、特に軽度の脂肪沈着のみを有する単純性脂肪肝をNAFLDの軽症型と称してしまっただけなのか？つまりそれらは、“disease”なのか？という問題が度々議論となるところである。NAFLDではなくNAFLではなからうか？ということである。この答えは、今後の疫学的な検討結果を待たねばならない。そのためにもNAFLD全病態に関する臨



床研究・基礎研究が必要である。

また、NASHの病態機序として、two hit hypothesisが現在もっとも支持されている<sup>19)</sup>。これは、脂肪、特に脂肪酸およびトリグリセリドが肝臓へ蓄積し(1st hit)、肝臓が外界からの刺激に易感受性になったところに、酸化ストレス・脂質過酸化・エンドトキシンなどにより惹起されるサイトカインの放出・インスリン抵抗性などの肝細胞障害性因子(2nd hit)が加わり、肝細胞壊死・アポトーシスが、肝実質の炎症とともに進行するというものである。このtheoryによると、単純性脂肪肝はNASHの前駆病変となり得るため、良性の病態として楽観視できないことになる。この問題を明らかとし、単純性脂肪肝の、NAFLDの中での位置づけを明らかにする上でも、今後さらに詳細なメカニズムの検討が必要である。

## NASHの治療

NASHの治療法に関しては、未だ確立された標準治療は存在しない現状である。今後、長期間にわたる2重盲検ランダム化大規模臨床試験により、治療法の確立が重要であるが、治療効果の確認に、肝臓病理組織所見が必要であるという点が、臨床試験を困難なものとしている。

### 食事療法・運動療法

様々な知見より、NASH病態に、インスリン抵抗性状態が関与することは明らかである。そのため、その改善が治療の一つの柱となる。肥満を呈する症例には食事療法及び運動療法を施行し、減量と、それに伴うインスリン抵抗性の改善を図る。減量は、背景に存在するmetabolic syndromeの病態改善にも有効であるため、まず試みられるべき加療である。急激な体重減少はかえってNASHの増悪を来すことがあるため注意を要する。一ヶ月に1~2kgの減量で充分である。

腹腔鏡下胃バンド装着術による体重減少により、付随するmetabolic syndromeとともに、NASHの改善が得られたとの米国の報告により、あらためて減量の重要性が再確認された<sup>20)</sup>。また、近年の報告によれば、BMIが25以上のNASH患者に対し、1年間の継続的な栄養指導を施行することにより、減量・ウエスト周囲径の減少にともなうかたちで、NASH病態の改善が得られた<sup>21)</sup>。食事・運動療法の詳細は、他稿にまかせることとする。

## 薬物療法

本邦においては、肥満のないNASH患者も多く存在する。また、実際の臨床においては、食事療法・運動療法を遂行し得ない患者が非常に多い。一度減量に成功してもリバウンドするケースも多く、体重の増減を繰り返し、かえってNASHの病態を増悪させる症例もある。そのため、我々は、多くの症例に対し、食事・運動療法に加え、病態の十分な改善のため薬物療法を追加し、良好な成績を得ている。近年、この分野の薬物療法は、我々の施設も含め、全世界的に精力的な臨床的検討がおこなわれている<sup>22)</sup>。

現在、全世界的に主に用いられている薬剤としては、インスリン抵抗性改善薬(チアゾリジン誘導体: Pioglitazone, Rosiglitazone, ビグアナイド剤: Metformin), 抗酸化剤(Vitamin E, Vitamin C, Betaine, EPL), 肝底護剤(UDCA), 抗高脂血症剤(フィブラート系薬剤, Probucol, スタチン系薬剤), 降圧薬(アンジオテンシンII受容体拮抗薬)などがあり、抗TNF $\alpha$ 製剤の有用性が注目を集めている。また、瀉血療法を施行している施設もある。患者の病態に併せて、上記治療を組み合わせて加療されている場合が多い。我々は、アンジオテンシンII受容体拮抗薬Telmisartanと、EPLとの併用療法により、良好な成績を得ている(Tomita K, et al. In submission)。

## おわりに

近年、本邦でも、生活習慣病・metabolic syndrome患者の急増を認めるが、まさにNASHはその肝臓での表現形とも言える病態である。そして、NASHもまた、他の生活習慣病と同様、進行性の疾患であることを銘記せねばならない。肝移植に際しても、NASHドナーよりの肝臓摘出後、ドナーが肝不全へ進行するという症例を本邦でも経験しており、今後治療指針の早期確立が急務である。

肥満、脂肪肝が、ウイルス性肝疾患、代謝性肝疾患等、他要因の肝障害を増悪させることが明らかとなっている。また、NAFLD・NASHは、逆にメタボリックシンドロームの増悪因子として、病態の悪循環を増長させる。

このように、NAFLD・NASHの診断・加療は、21世紀の肝臓病・生活習慣病全体の診断・加療に直結するものである。今後、この分野の研究の進展により、新たな治療展開が期待できる。



現在、慶應義塾大学病院消化器内科外来においてもNASH・NAFLD外来を設け（担当 横山裕一、富田謙吾）、NASH・NAFLD患者の早期診断・治療に尽力している。

## 謝 辞

最後に、本稿を終えるにあたり、これまで多大なる御指導・御鞭撻を頂いた、慶應義塾大学医学部消化器内科日比紀文教授に深謝いたします。また、このような執筆の機会を与えて頂いた慶應義塾大学医学部末松誠医学部長に深謝いたします。現在までに、御名前を挙げきれないほど多数の先生方に御指導・御協力をいただきましたが、この場を借りて、お世話になった全ての先生方に心より深謝いたします。

## 文 献

- 1) Adler M, Schallner F : Fatty liver hepatitis and cirrhosis in obese patients. *Am. J. Med.* 67 : 811-816, 1979.
- 2) Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ : Nonalcoholic steatohepatitis : Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin. Proc.* 55 : 434-438, 1980.
- 3) McCullough AJ : Pathophysiology of nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 40 (3 Suppl 1) : S17-29, 2006.
- 4) Harrison SA, Kadakia S, Lang KA, Scenker S : Non alcoholic steatohepatitis : what we know in the new millennium. *Am J Gastroenterol* 97 : 2714-2724, 2002.
- 5) Falck-Ytter Y, Younossi ZM, Marchesini G, McCullough AJ : Clinical features and natural history of non-alcoholic steatosis syndromes. *Semin Liv Dis* 21 : 17-26, 2001.
- 6) Fassio E, Alvarez E, Dominguez N, Landeira G, Longo C : Natural history of nonalcoholic steatohepatitis : a longitudinal study of repeat liver biopsies. *Hepatology* 40 : 820-826, 2004.
- 7) Ekstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, Kechagias S : Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology* 44 : 865-873, 2006.
- 8) Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, Enders F, Saksena S, Burt AD, Bida JP, Lindor K, Sanderson SO, Lenzi M, Adams LA, Kench J, Therneau TM, Day CP : The NAFLD fibrosis score : a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 45 : 846-854, 2007.
- 9) Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J : Beyond insulin resistance in NASH : TNF- $\alpha$  or adiponectin? *Hepatology* 40 : 46-54, 2004.
- 10) Shimada M, Kawahara H, Ozaki K, Fukura M, Yano H, Tsuchishima M, Tsumi M, Takase S : Usefulness of a combined evaluation of the serum adiponectin level, HOMA-IR, and serum type IV collagen 7S level to predict the early stage of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 102 : 1931-1938, 2007.
- 11) Anty R, Bekri S, Luciani N, Saint-Paul MC, Dahman M, Iannelli A, Amor IB, Staccini-Myx A, Huet PM, Gugenheim J, Sadoul JL, Le Marchand-Brustel Y, Tran A, Gual P : *Am J Gastroenterol* 101 : 1824-1833, 2006.
- 12) Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Iida H, Yonemitsu K, Kato S, Takahashi H, Kirikoshi H, Inamori M, Nozaki Y, Abe Y, Kubota K, Saito S, Iwasaki T, Terauchi Y, Togo S, Maeyama S, Nakajima A : High-sensitivity C-reactive protein is an independent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also of the severity of fibrosis in NASH. *J Gastroenterol* 42 : 573-582, 2007.
- 13) Charatcharoenwitthaya P, Lindor KD : Role of radiologic modalities in the management of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2007 ; 11 : 37-54.
- 14) Tomita K, Tanimoto A, Irie R, Kikuchi M, Yokoyama H, Teratani T, Suzuki T, Taguchi T, Noguchi M, Ohkura T, Hibi T : Evaluating the severity of non-alcoholic steatohepatitis with superparamagnetic iron oxide-enhanced Magnetic Resonance Imaging. *J Magn. Reson. Imaging* 2009 in press.
- 15) Kikuchi M, Tomita K, Nakahara T, Kitamura N, Teratani T, Irie R, Yokoyama H, Suzuki T, Yokoyama T, Taguchi T, Tanaka S, Noguchi M, Ohkura T, Hibi T : Utility of quantitative  $^{99m}\text{Tc}$ -phytate scintigraphy to diagnose early-stage non-alcoholic steatohepatitis. *Scand. J. Gastroenterol.* 2009 in press.
- 16) Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ : Nonalcoholic fatty liver disease : a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 116 : 1413-1419, 1999.
- 17) Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR : Nonalcoholic steatohepatitis : a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 94 : 2467-2474, 1999.
- 18) Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YV, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ : Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 41 : 1313-1321, 2005.
- 19) Day CP, James OF : Steatohepatitis : a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 114 : 842-845, 1998.
- 20) Dixon JB, Bhathal PS, Hughes NR, O'Brien PE : Non-alcoholic fatty liver disease : Improvement in liver histological analysis with weight loss. *Hepatology*



- 39 : 1645-1654, 2004.
- 21) Huang MA, Greenon JK, Chao C, Anderson L, Peterman D, Jacobson J, Emick D, Lok AS, Conjeevaram HS : One-year intense nutritional counseling results in histological improvement in patients with nonalcoholic steatohepatitis : a pilot study. *Am J Gastroenterol* 100 : 1072-1081, 2005.
- 22) Nugent C, Younossi ZM : Evaluation and management of obesity-related nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 4 : 432-441, 2007.
-



受賞記念講座 (三四会奨励賞)

脊髄損傷後の軸索再生制御機構の解明と軸索再生促進へのストラテジー  
Strategy for elucidating the mechanism controlling  
axonal regeneration and achieving enhanced axonal regeneration  
after spinal cord injury

<sup>1</sup> 慶應義塾大学医学部整形外科, <sup>2</sup> 慶應義塾大学医学部生理学,

<sup>3</sup> ハーバード大学医学部ボストン小児病院神経科学部門,

<sup>4</sup> 独立行政法人国立病院機構村山医療センター整形外科/臨床研究センター

かね こ しんじろう なか むら まさ や と やま よし あき おか の ひで ゆき  
金子 慎二郎<sup>1-4</sup>・中村 雅也<sup>1</sup>・戸山 芳昭<sup>1</sup>・岡野 栄之<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Keio University School of Medicine, Department of Orthopaedic Surgery

<sup>2</sup> Keio University School of Medicine, Department of Physiology

<sup>3</sup> Division of Neuroscience, Children's Hospital Boston, Harvard Medical School, USA

<sup>4</sup> National Hospital Organization, Murayama Medical Center,  
Department of Orthopaedic Surgery and Clinical Research Center

Shinjiro Kaneko<sup>1-4</sup>, Masaya Nakamura<sup>1</sup>, Yoshiaki Toyama<sup>1</sup>, Hideyuki Okano<sup>2</sup>

概 要

哺乳類成体中枢神経系のニューロンの軸索は末梢神経系のニューロンの軸索に比して再生能に乏しいが、その理由の1つとして中枢神経系の損傷部においては軸索の再生を阻害する様々な因子が存在するという事が挙げられる。一方、中枢神経系においては末梢神経系に比して損傷を受けたニューロンの軸索の intrinsic な再生能自体が乏しいという側面もあり、これらの軸索再生制御機構を分子生物学的に解明する事は、脊髄損傷等の中枢神経系の損傷後に、より良い軸索の再生を得るためには極めて重要な課題の1つであり、本稿ではこれらの事項に焦点を当てて概説する。

**Key Words** : conditioning lesion, intrinsic growth ability, 軸索再生阻害因子, ミエリン関連蛋白質, Semaphorin 3A

背 景

哺乳類の成体中枢神経系のニューロンの軸索は末梢神経系のニューロンの軸索に比して再生能に乏しい。その理由の1つとして、中枢神経系の損傷部の環境による、いわゆる extrinsic factor (外的要因) が挙げられ、大別すると、(1)ミエリン debris 中に存在する種々のいわゆるミエリン関連蛋白質と、(2)瘢痕組織中に存在する種々の細胞外基質の2つが主な軸索再生阻害因子である

と考えられて来た (図1)。一方で、これらの extrinsic factor の作用は、損傷を受けたニューロンの軸索側の intrinsic な伸長能を適切な手段により促進させる事により、少なくとも部分的には相殺可能なものである事も示されて来た。したがって、中枢神経系軸索の損傷後の再生能力は、損傷を受けたニューロンの軸索側の intrinsic な再生能と損傷部環境側の extrinsic な軸索再生阻害因子の力のバランスによって決まって来るものと考えられる。



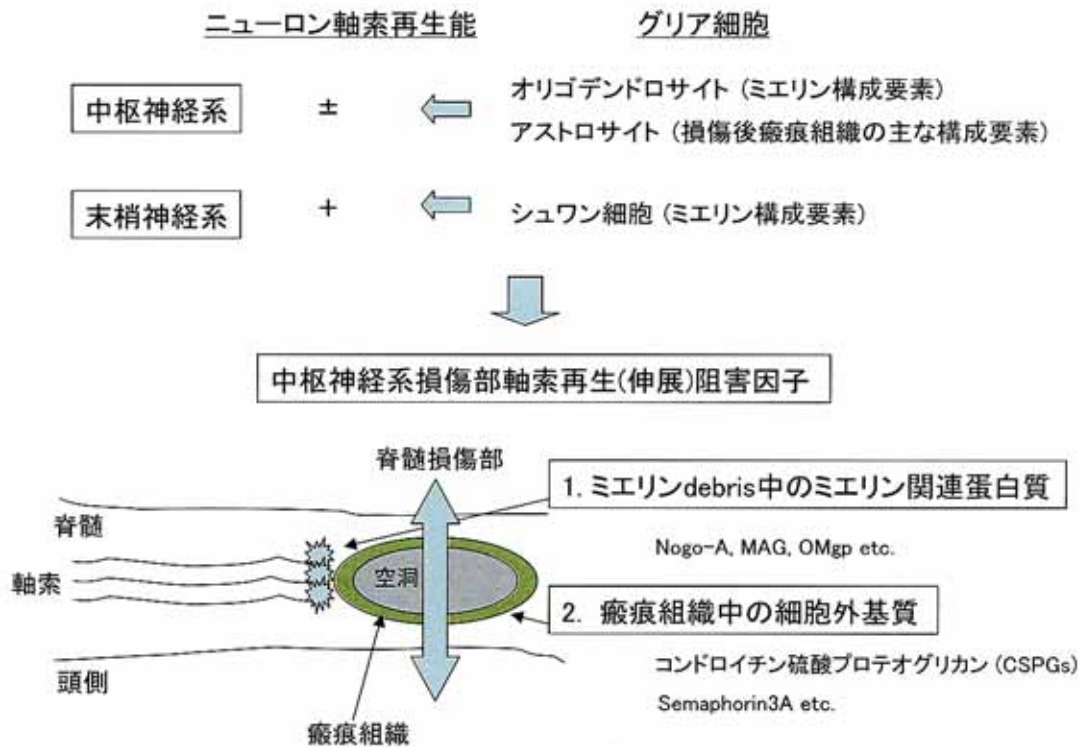


図1 末梢神経系と中枢神経系のニューロン軸索再生能の相違と構成要素の相違の関係/中枢神経系における様々な軸索再生(伸展)阻害因子  
末梢神経系と中枢神経系のニューロン軸索再生能の相違は、その構成要素の相違などとも密接な関係がある。中枢神経系に存在する様々な軸索再生阻害因子は、主に、(1)損傷部ミエリン debris 中に存在する種々のミエリン関連蛋白質と、(2)損傷部癒痕組織中に存在する種々の細胞外基質の2つに大別される。

## 1. 軸索再生制御機構の解明の手掛かり

これらの相互関係を解明する上で、ひいては軸索再生制御機構そのもののメカニズムに関する研究を進めていく上で非常に有用なモデルとして知られているのが、後根神経節(dorsal root ganglion; DRG)のニューロンを用いた conditioning lesion model である。DRGニューロンの特徴として、末梢組織に innervate していく末梢側の枝と脳幹部まで脊髄内の dorsal column の中を走行していく中枢側の枝と、2本の軸索を DRG 内にある細胞体から伸ばしているという点が挙げられる(図2)。興味深い事に、末梢側の軸索(枝)は損傷後の再生能が高いのに比して、中枢側の軸索(枝)は損傷後の再生能が低く、同じ細胞体由来する2つの軸索の再生能の違いという点が、軸索再生のメカニズムを調べる上で、非常に有用なモデルとなっている要因の1つである。さらに興味深い事に、末梢側の軸索(坐骨神経)に先に損傷を加えた後に、中枢側の脊髄の dorsal column に損傷を加えると、通常はほとんど再生しない中枢側の

軸索の有意に促進された再生が認められ、これがこの系におけるいわゆる“conditioning lesion”の効果と呼ばれるものである<sup>1)</sup>(図2)。実際、軸索再生のメカニズムを調べる上で、conditioning lesion の様に一貫して劇的な軸索再生促進効果が認められるモデルが現時点では他にほとんど知られていないため、本稿のテーマである軸索再生における分子生物学的制御機構を研究していく上で、非常に有用な貴重なモデルとなっている。

## 2. extrinsic factor としての軸索再生阻害因子とそのシグナル伝達のメカニズムの解明

### 1) ミエリン debris 中に存在する軸索再生阻害因子 (ミエリン関連蛋白質)

いわゆる extrinsic factor としての軸索再生阻害因子としては、先程述べた如く、損傷部のミエリン debris 中に存在する種々のミエリン関連蛋白質と、損傷部癒痕組織中に存在する種々の細胞外基質の2つに大別されるが、前者として、Nogo-A<sup>2,3)</sup>、MAG<sup>4,5)</sup>、OMgp<sup>6)</sup>などの分子が、後者としてコンドロイチン硫酸プロテオグリ



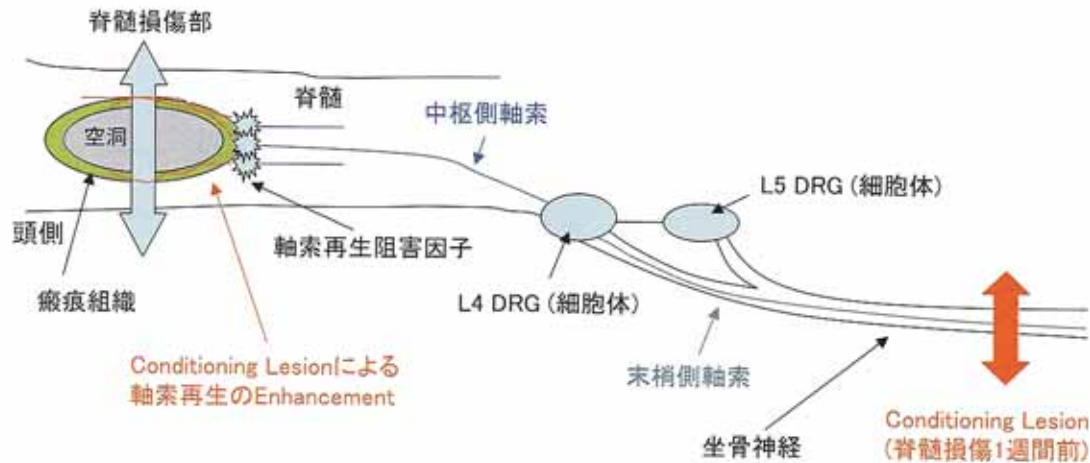


図2 後根神経節 (DRG) ニューロンにおける conditioning lesion モデル

後根神経節 (DRG) ニューロンは、(1)中樞側と末梢側に再生能の異なる2つの軸索 (枝) を持っている、また、(2)脊髄損傷を加える約1週間前に坐骨神経 (末梢側の枝) に損傷を加えておく (conditioning lesion) 事により脊髄損傷後の脊髄 dorsal column (中樞側の枝) における再生が促進される、という2点において軸索再生のメカニズムを調べる上で非常に有用な系である。

カン (CSPGs)<sup>21</sup> や Semaphorin3A<sup>8,9)</sup> などの分子が同定されてきた (図1)。本稿においては、これらについての詳細は紙面の制限の都合上、割愛するが、前述の Nogo-A<sup>2,3)</sup>、MAG<sup>4,5)</sup>、OMgp<sup>6)</sup> の3分子は、大変興味深い事に、構造上全く異なる分子でありながら、共通のレセプター、Nogo Receptor<sup>10)</sup> に ligand として結合する<sup>4,6,10)</sup>事が明らかにされ、その co-receptor として同定された p75<sup>11-13)</sup>、TROY<sup>14,15)</sup>、LINGO-1<sup>16)</sup> などを通じて、軸索再生 (伸展) 阻害のシグナルを細胞内に伝達して行くというメカニズム (図3) が解明された事から、これらの分子のノックアウトマウスを用いた脊髄損傷モデルにおける軸索の再生能を調べる研究に近年、多くの研究者達の興味が集まった。しかしながら、Nogo-A<sup>17-19)</sup>、Nogo-Receptor<sup>20,21)</sup>、p75 のノックアウトマウスを初めとして、これらのシグナル伝達系に関与する分子群のいずれのノックアウトマウスにおいても (研究室間でやや結果が異なるような要素も存在するものの基本的には) 期待された程の劇的な軸索の再生は認められず<sup>17-21)</sup>、これらの結果から、瘢痕組織中の細胞外基質としての軸索再生阻害因子の役割やニューロンの軸索側の intrinsic な伸長能のメカニズムの解明といった方向に、現在の研究の中心は移行しつつある。

## 2) 損傷部瘢痕組織中の軸索再生阻害因子

中枢神経系損傷部瘢痕組織中に存在する細胞外基質としての代表的な軸索再生阻害因子のうち、グリア瘢痕組織中に存在する CSPGs に関しては、その機能を減衰させる薬剤 (chondroitinase-ABC) による軸索再生促進

効果に関する報告<sup>22)</sup>を初めとして、軸索再生を阻害する分子としての重要度に関する様々な報告がこれまでにも成されて来たが、主に fibroblast (線維芽細胞) による瘢痕組織中に存在する Semaphorin3A に関する同様の報告に関しては、これまで詳細には成されて来なかった (図3)。

すなわち、Semaphorin3A が脊髄損傷後の軸索再生を阻害する分子として重要な役割を果たしている可能性としては過去にも示唆されて来たが<sup>8,9)</sup>、Semaphorin3A のノックアウトマウスの致死性の高さなどが原因となり、それを直接的に証明する報告は成されて来なかった。そこで我々は大規模なスクリーニングにより Semaphorin 3A に対する阻害活性および選択性の極めて高い薬剤、SM-216289 を開発し、Semaphorin3A の損傷後の脊髄内における役割に関する薬理的なアプローチによる解明を試みた<sup>23)</sup>。その結果、SM-216289 の投与により脊髄損傷後の、損傷部における軸索再生の促進、損傷部へのシュワン細胞の migration の促進と再生軸索に対する末梢神経型の髄鞘形成の促進、損傷部におけるアポトーシスの抑制、損傷部における血管再生の促進、さらにはこれらとの因果関係が示唆される運動機能の回復の有意な促進などを認め、Semaphorin3A 阻害薬の脊髄損傷の治療に対する有効性が示唆されるとともに、損傷後の脊髄内において、Semaphorin3A は様々な再生反応を阻害する因子としての中心的役割を果たしている可能性が示唆された<sup>23)</sup>。

以上、ここで挙げて来たそれぞれの分子の軸索再生阻害因子としての重要度 (関与の度合い) に関して、それ



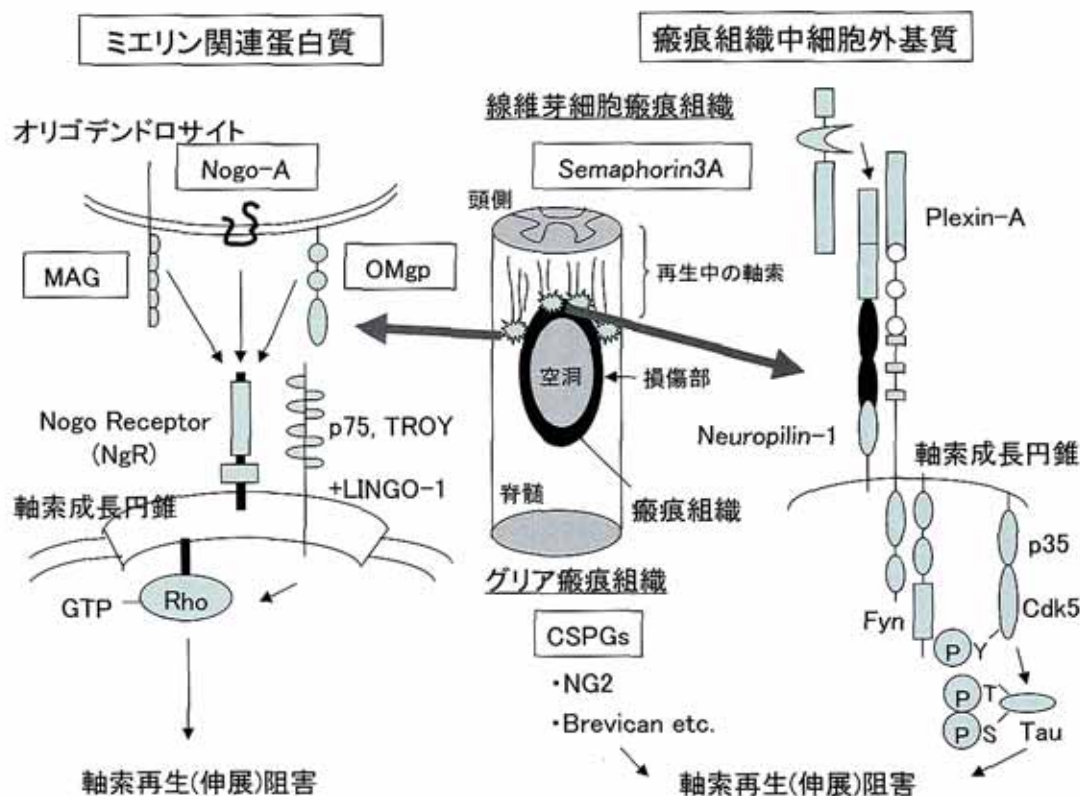


図3 中枢神経系における軸索再生(伸展)阻害因子のシグナル伝達経路  
 ミエリン関連蛋白質のうち Nogo-A, MAG, OMgp の3分子は、興味深い事に構造上全く異なる分子でありながら、共通のレセプター、Nogo Receptor に ligand として結合し、その co-receptor として同定された p75, TROY, LINGO-1 などを通じて、軸索再生阻害のシグナルを細胞内に伝達していく。

らを直接的に比較するような研究はこれまでは報告されていないが、それぞれの分子がそれぞれの場所で重要な役割を果たしているものと一般的には見なされており、これらを包括的にコントロールするような手段を開発する事が、臨床的にはより良い軸索再生を得るために重要な課題の1つであると考えられる。

### 3. ニューロンの軸索側の intrinsic な growth ability の制御機構の解明

一方、ニューロンの軸索側の intrinsic な伸長能の制御機構の解明という点においては、先程述べた DRG における conditioning lesion のシステム<sup>1)</sup>(図2)を利用する事により、幾つかの興味深い報告が成されてきた。その1つとして、細胞内の cAMP の level を上昇させる事により、extrinsic な軸索再生阻害因子の作用を相殺する事が可能であり、また、DRG 内に *in vivo* で cAMP を注入する事により、conditioning lesion の効果<sup>1)</sup>が mimic 可能である事などが報告されて来た<sup>20)</sup>。また、細胞内の情報伝達路の中で、JAK2/STAT3 系の

pathway が、DRG ニューロンに対して同様な効果を持つ事も報告されて来ている<sup>20)</sup>。DRG における conditioning lesion のシステム<sup>1)</sup>の前述したような有用性を利用して、マイクロアレイなどを用いたスクリーニングも近年は多々行われており、軸索再生を制御する intrinsic なメカニズムに関する分子生物学的解明は、様々なアプローチから進んで来ている。

### 今後の課題・展望

初めにも述べた如く、哺乳類の成体中枢神経系のニューロンの軸索は末梢神経系のニューロンの軸索に比して再生能に乏しいが、これらの分子生物学的制御機構を解明する事は、脊髄損傷等の中枢神経系の損傷後に、より良い軸索の再生を得るためには極めて重要な課題の1つであり、本稿では主にこれらに焦点を当てて概説して来た。当然予測出来る事ながら、extrinsic な軸索再生阻害因子の機能の減衰と intrinsic な伸長能の促進をそれぞれ得る手段を併用した際に、相加的な軸索再生が認められ



たという報告もあり、こうした異なった様々なアプローチからの軸索再生促進戦略の併用といった点も、特に臨床的観点からは重要である。また同時に、再生後の軸索の適切なる wiring の制御の問題も極めて重要な次なる課題の一つであり、これらを包括的に制御可能な手段の開発に向けて、様々なアプローチ・角度からの研究が世界各地で現在、行われている所である。

## 文 献

- 1) Neumann S, et al. : Regeneration of dorsal column fibers into and beyond the lesion site following adult spinal cord injury. *Neuron* 23 : 83-91, 1999
- 2) Chen MS, et al. : Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1. *Nature* 403 : 434-439, 2000
- 3) GrandPre T, et al. : Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a Reticulon protein. *Nature* 403 : 439-444, 2000
- 4) Liu BP, et al. : Myelin-associated glycoprotein as a functional ligand for the Nogo-66 receptor. *Science* 297 : 1190-1193, 2002
- 5) Domeniconi M, et al. : Myelin-associated glycoprotein interacts with the Nogo66 receptor to inhibit neurite outgrowth. *Neuron* 35 : 283-290, 2002
- 6) Wang KC, et al. : Oligodendrocyte-myelin glycoprotein is a Nogo receptor ligand that inhibits neurite outgrowth. *Nature* 417 : 941-944, 2002
- 7) Jones LL, et al. : NG2 is a major chondroitin sulfate proteoglycan produced after spinal cord injury and is expressed by macrophages and oligodendrocyte progenitors. *J. Neurosci.* 22 : 2792-2803, 2002
- 8) Pasterkamp RJ, et al. : Peripheral nerve injury fails to induce growth of lesioned ascending dorsal column axons into spinal cord scar tissue expressing the axon repellent Semaphorin3A. *Eur. J. of Neurosci.* 13 : 457-471, 2001
- 9) Winter FD, et al. : Injury-induced class 3 semaphorin expression in the rat spinal cord. *Exp. Neurol.* 175 : 61-75, 2002
- 10) Fournier AE, et al. : Identification of a receptor mediating Nogo-66 inhibition of axonal regeneration. *Nature* 409 : 341-346, 2001
- 11) Wang KC, et al. : P75 interacts with the Nogo receptor as a co-receptor for Nogo, MAG and OMgp. *Nature* 420 : 74-78, 2002
- 12) Yamashita T, et al. : The p75 receptor transduces the signal from myelin-associated glycoprotein to Rho. *J. Cell Biol.* 157 : 565-570, 2002
- 13) Yamashita T, et al. : Neurotrophin binding to the p75 receptor modulates Rho activity and axonal outgrowth. *Neuron* 24 : 585-593, 1999
- 14) Park JB, et al. : A TNF receptor family member, TROY, is a coreceptor with Nogo receptor in mediating the inhibitory activity of myelin inhibitors. *Neuron* 45 : 345-351, 2005
- 15) Shao Z, et al. : TAJ/TROY, an orphan TNF receptor family member, binds Nogo-66 receptor 1 and regulates axonal regeneration. *Neuron* 45 : 353-359, 2005
- 16) Mi S, et al. : LINGO-1 is a component of the Nogo-66 receptor/p75 signaling complex. *Nat. Neurosci.* 7 : 221-228, 2004
- 17) Zheng B, et al. : Lack of enhanced spinal regeneration in Nogo-deficient mice. *Neuron* 38 : 213-224, 2003
- 18) Simonen M, et al. : Systemic deletion of the myelin-associated outgrowth inhibitor Nogo-A improves regenerative and plastic responses after spinal cord injury. *Neuron* 38 : 201-211, 2003
- 19) Kim JE, et al. : Axon regeneration in young adult mice lacking Nogo-A/B. *Neuron* 38 : 187-199, 2003
- 20) Zheng B, et al. : Genetic deletion of the Nogo receptor does not reduce neurite inhibition in vitro or promote corticospinal tract regeneration in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102 : 1205-1210, 2005
- 21) Kim JE, et al. : Nogo-66 receptor prevents raphe-spinal and rubrospinal axon regeneration and limits functional recovery from spinal cord injury. *Neuron* 44 : 439-451, 2004
- 22) Bradbury EJ, et al. : Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury. *Nature* 416 : 636-640, 2002
- 23) Kaneko S, et al. : A selective Sema3A inhibitor enhances regenerative responses and functional recovery of the injured spinal cord. *Nat. Med.* 12 : 1380-1389, 2006
- 24) Qiu J, et al. : Spinal axon regeneration induced by elevation of cyclic AMP. *Neuron* 34 : 895-903, 2002
- 25) Qiu J, et al. : Conditioning injury-induced spinal axon regeneration requires signal transducer and activator of transcription 3 activation. *J. Neurosci.* 25 : 1645-1653, 2005



原 著

### Ⅲ度熱傷創の感染発症に対する経静脈投与抗菌薬の有効性と 薬剤移行機序に関する実験的検討

東北大学大学院医学系研究科 外科病態学講座救急医学分野

たくまきよつぐ  
田熊清継

#### ABSTRACT

Experimental study on the mechanism of penetration of systemically administered antibiotics into burn eschar, and their antiseptic effect Kiyotsugu Takuma<sup>1)</sup>

1) Department of Emergency Medicine and Critical care Medicine, School of Medicine, Tohoku University

Systemically administered antibiotics are assumed to be ineffective in controlling infection in eschar (full-thickness burn wounds) because of their avascularity. This series of studies was undertaken to determine the prophylactic effect of systemic antibiotics on the development of full-thickness burn wound sepsis, and the mechanisms of drug penetration into eschar. Their effect was evaluated by investigating the following : 1) penetration into the eschar, 2) prevention of infection of eschar contaminated by bacteria, 3) the differences of antiseptic effect in drug administration of post-burn days, 4) differences between drug concentration in eschar and surrounding normal skin, 5) drug penetration from the normal subcutaneous tissue into eschar, 6) influence of occlusive dressings on wound penetration by the antibiotics. Four different antibiotics, cefoperazone, ceftazidime, ceclidine, and cefluprenam, and two different species of bacteria, *S. aureus* and *P. aeruginosa* were used in an animal burn model. The following results were obtained. 1) There was good penetration of the eschar by the systemic antibiotics, and the antibiotics prevented infection of contaminated eschar. 2) Early administration resulted in better penetration than later administration. 3) Systemic antibiotics penetrated eschar better when the wound was uncontaminated. 4) The systemic antibiotics is carried from vessels to eschar by the convection and condensed on the surface by evaporation.

**Key Words** : burn wound, infection, systemic antibiotics, pharmacokinetics

広範囲熱傷患者の死亡原因として、受傷後早期のショック、腎不全、ならびに呼吸不全は減少し、最近では熱傷創感染症などから引き起こされる敗血症と感染症に合併する臓器不全が主要死亡原因となった<sup>1,2)</sup>。したがって、死亡率改善のためには感染のコントロールが重要な課題となっている<sup>3)</sup>。

広範囲熱傷患者の治療経過中には種々の感染症が高率に発生し、治癒までの長い経過中に発症するすべての感染症を予防することは困難であるが、受傷後早期に創感染を起こすと重症化しやすく、その後の手術など侵襲を

伴う治療を困難にすることから、無菌的創管理や抗菌薬投与により早期の創感染を防止することが治療の原則となっている。しかし、患者の来院時に既に創が汚染されていることもあり、また全身に及ぶ熱傷創の無菌的管理を完璧に行うことは困難なことが多い。したがって、創感染防止のために創部にはスルファジアジン銀含有クリームなどの抗菌性局所療法剤が用いられ、さらに創感染の場となるⅢ度熱傷の壊死組織（以下「焼痂組織」という。）の早期切除と植皮術が行われている<sup>4,5)</sup>。

一方、細菌により汚染された創面から焼痂組織の深部



に侵入した細菌増殖を、創面に塗布する抗菌性局所療法剤だけで抑制するには限界があるため、経静脈投与による抗菌薬投与の効果が期待されてきた。しかしながら、経静脈的に投与された抗菌薬が創感染症を防止できるか否かについては、未だに結論が得られていない<sup>6,7)</sup>。Baxter や Moncrief などの熱傷分野で指導的立場にあった医師たちは、経静脈的に投与された抗菌薬には効果がないと主張しており、この主張が一般に信じられてきた<sup>8,9)</sup>。皮膚全層が熱により傷害され壊死組織となった焼痂組織では、血管が破壊されているため血流がなく、経静脈的に投与された抗菌薬が血流から焼痂組織に移行しないと推測が彼らの主張の根拠となっている<sup>10)</sup>。しかし、実際に焼痂組織への薬剤移行性を測定したデータは示されていない。

著者は、緑膿菌による汚染を受けたⅢ度熱傷創に対して経静脈的に投与した抗菌薬が創感染防止効果を有し、薬剤が焼痂組織に移行することを動物実験で示した<sup>11)</sup>。この報告以降、同様の知見が散見されるようになった<sup>12-14)</sup>。

経静脈的に投与された抗菌薬の創感染抑制における有効性をさらに明確にして臨床応用の科学的根拠を得るには、薬剤移行性に関して、受傷後の薬剤投与時期や創汚染による影響、さらには血流のない焼痂組織への薬剤移行の機序を解明する必要がある。

本研究の目的は、経静脈的に投与された抗菌薬の焼痂組織への移行性とその機序を解明することである。さらに、経静脈的投与と抗菌薬の創感染防止効果の有無を明らかにすることである。

## 対象と方法

### 1. ラットのⅢ度熱傷モデルの作製

Wistar 系雄性ラット(8週齢, 体重 260-310 g)を用いた。ラットは個別にゲージに入れ、飼育用 MF 食(オリエンタル酵母工業株)と水を *ad libitum* に与えた。

ペントバルビタール(35 mg/kg)を腹腔内投与して麻酔した後、電動バリカンと脱毛クリームを用いて背部を脱毛した。Ⅲ度熱傷の作製には沸騰した熱湯を用いた。作製すべき熱傷創の形状の穴をあけた耐熱プラスチックプレートを沸騰した熱湯面上に置き、その上から麻酔したラット背部を熱湯に10秒間接触させた。熱湯の温度は95~100°Cであった。本法(以下、「熱湯法」という。)により皮膚全層にわたるⅢ度熱傷が作製されることは、既に示されている<sup>11,15)</sup>。熱傷創部は滅菌ガーゼで被覆した上から弾性絆創膏を用いて閉鎖し固定した。非

熱傷ラットは、ペントバルビタール麻酔と脱毛ならびに脱毛部の閉鎖・固定をしたが、熱湯に接触させないラットとした。

### 2. 検討対象抗菌薬と薬剤濃度の測定

下記実験1の薬剤移行性の検討には、cefoperazone (CPZ), ceftazidime (CAZ), cefluprenam (CFLP) の3種のセフェム系薬を用いた<sup>16)</sup>。実験2, 3, 6にはCFLPを用いた。実験4, 5にはcefclidine (CFCL)を用いた<sup>11)</sup>。

血中薬剤濃度の測定には、採取血液を遠心分離(3000 rpm, 15分)して血清を分離、組織内薬剤濃度測定には、生検あるいは切除した皮膚全層あるいは焼痂組織(*Panniculus carnosus* を含まず)から浸出液を拭き取り秤量、共に濃度測定時まで-20°Cで凍結保存した検体を用いた。組織検体は解凍後に1/15 mol (pH 7.0) リン酸緩衝液を加え、Kinematica® polytron homogenizer を用いてホモジネートし、4°Cで24時間静置後に上清を分離した。解凍後の血清と組織ホモジネートからの上清について、薬剤濃度を薄層ディスク法によるバイオアッセイにて測定し<sup>17)</sup>、血液1 mlあるいは組織1 gあたりの濃度として算出した。検定菌は、CPZには *Micrococcus luteus* (ATCC9341), CAZには *Proteus mirabilis* (ATCC21100), CFLPには *Escherichia coli* (ATCC27166), CFCLには *E. coli* (E01174)を用いた。

### 3. 汚染創の作製

熱湯法により熱傷創を作製した直後の熱傷創面に *Staphyrococcus aureus* (E310221) 10<sup>2</sup> cfu/cm<sup>2</sup> と *Pseudomonas aeruginosa* (NCTC10490) 10<sup>4</sup> cfu/cm<sup>2</sup> とを塗布し創部を閉鎖・固定した。

### 4. 実験1: 薬剤移行性の検討

9匹のラットを用い、熱湯法により1×1 cmのⅢ度熱傷創を1匹あたり7部位作製した(n=9, 63部位)。熱傷作製1時間後に抗菌薬CPZ, CAZ, あるいはCFLPを、それぞれ3匹のラットに尾静脈から1回投与した。各薬剤の投与量は50 mg/kgとした。対照は非熱傷ラット(合計9匹)とし、同様に3種の薬剤をそれぞれ3匹のラットに投与した。

薬剤投与後30分, 1, 2, 4, 8時間に、ジェテルエーテル吸入麻酔下にて、血液と焼痂組織あるいは非熱傷皮膚を採取して、薬剤濃度を測定した。



## 5. 実験2：汚染創における感染防止効果と薬剤移行性の検討

10匹のラットを用い、熱湯法により1×1cmのⅢ度熱傷創を1匹あたり2部位（背部左右に1部位ずつ）作製し、上記方法で汚染創とした（n=10, 20部位）。ラットを2群に分け、5匹のラット（n=5, 10部位）は治療群として、受傷1時間後からCFLPを1回50mg/kg, 1日2回, 5日間尾静脈から投与した。同様に熱傷と汚染創を作製したが薬剤を投与しない5匹のラット（n=5, 10部位）を非治療対照群とした。

- 1) 創の肉眼的観察：最後の薬剤投与の24時間後に創を開放し、創部の肉眼所見を観察した。
- 2) 病理組織所見の観察：ジエチルエーテル吸入麻酔下に、2部位の創組織を切除して、一方の創組織をホルマリン固定、パラフィン包埋切片をヘマトキシリン・エオシン染色し、病理組織学的所見を観察した。
- 3) 創生菌数：上記方法で採取した他方の創組織に、滅菌生食水1mlを加え、Pyrex® glass homogenizerでホモジネート後、5段階10倍希釈を行い、BTB培地およびNAC培地に塗布し、37℃, 24時間培養後、コロニー数を測定し、採取組織重量当たりの生菌数（cfu/g）を測定した。

## 6. 実験3：熱傷後の薬剤投与時期と創汚染とが薬剤の組織移行性に与える影響の検討

8匹のラットを用い、熱湯法により1×1cmのⅢ度熱傷創を1匹あたり6部位作製し、上記方法により汚染創とした。（n=8, 48部位）。ラットを3群に分け、熱傷作製の1時間後（n=3）、1日後（n=3）、ならびに5日後（n=2）に、CFLPを1回50mg/kg, 尾静脈から投与した。CFLP投与の1, 2, 4, 6, 8, 24時間後にジエチルエーテル麻酔下で焼痂組織を採取し、焼痂組織内のCFLP濃度を測定した。また、対照として6匹の熱傷非汚染ラット（n=6, 36部位）について、同様にCFLP投与後の焼痂組織内のCFLP濃度を測定した。

## 7. 実験4：薬剤移行機序の検討：周囲皮膚からの移行の検討

4匹のラットを用い、熱湯法により35cm<sup>2</sup>（5×7cm）のⅢ度熱傷創を1部位作成し、1時間後にCFCLを尾静脈から投与した。CFCLの投与1時間後（n=2）ならびに4時間後（n=2）に、ジエチルエーテル吸入麻酔下で血液を採取し、焼痂組織を切除した。血清中薬

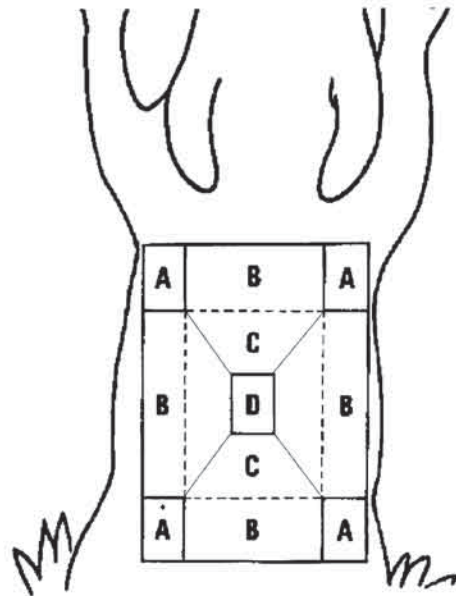


図1 実験4：周囲皮膚からの薬剤移行性の検討  
経静脈的投与抗菌薬の焼痂組織への良好な移行は、周囲の正常皮膚からの移行ではないことを確認するため、作成した5×7cmのⅢ度熱傷創（4匹, 4部位）を各A～Dの4区画に分けて焼痂組織内の薬剤濃度を測定した。対照は非熱傷ラットにおける同一サイズの正常皮膚組織（1匹, 1部位）とした。

剤濃度を測定し、焼痂組織は、図1に示したように周囲の健全皮膚との境界ならびに距離により4分画に分けて、それぞれの分画中の薬剤濃度を測定した。各分画は、健全組織と接する境界が2辺あるA区画、境界が1辺あるB区画、境界がないC区画、健全組織との境界がなくC区画より健全組織との距離が離れている創中心部のD区画とした。

## 8. 実験5：薬剤移行機序の検討：熱傷創底からの移行の検討

3匹のラットを用い、熱湯法により1×1cmのⅢ度熱傷創を1匹あたり7部位作製した（n=3, 21部位）。熱傷作製1時間後にCFCL50mg/kgを1回尾静脈から投与し、薬剤投与の15分, 1時間, 4時間, 6時間後にジエチルエーテル吸入麻酔下で経時的に採血と焼痂組織を採取した。また、3匹の非熱傷ラットにおいても同じ方法で血中および皮膚組織内の薬剤濃度を測定した。さらに、薬剤投与の1時間後と4時間後に採取した焼痂組織について、デルマトームを用いて厚さ0.1mmの3層（表層, 中層, 深層）に分け、各層の焼痂組織内薬剤濃度を測定した（n=3）。



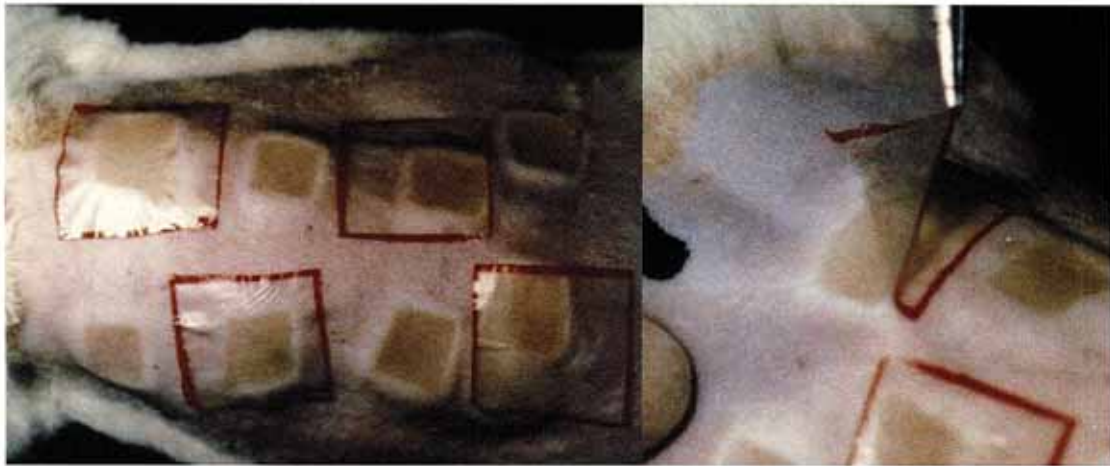


図2 実験6：移行機序の検討：被覆材の影響

3匹のラット背部に、ペントバルビタール麻酔下、 $1 \times 1$  cmのⅢ度熱傷創を各8部位作成した。直後に各4部位をポリウレタン製の閉鎖性被覆材で覆い、残りの各4部位はガーゼで覆った。熱傷1時間後に cefluprenam を経静脈投与し、焼痂組織内濃度の相違を検討した。

### 9. 実験6：組織移行機序の検討：被覆材の影響

3匹のラットを用い、熱湯法により $1 \times 1$  cmのⅢ度熱傷創を8部位作成し、熱傷直後に4部位をポリウレタン製の閉鎖性被覆材 (Opsite® wound : Smith & Nephew®) で覆い、残りの4部位はガーゼで覆った (図2)。熱傷作製1時間後に CFLP50 mg/kg を尾静脈から投与し、CFLP投与の1, 2, 4, 8時間後に焼痂組織を採取し、実験5と同様の方法で3層にスライスした各層の薬剤濃度を測定した。

### 10. 統計処理

結果の値は平均値±標準誤差で表示した。実験1の薬剤移行性の検討、実験3の熱傷後の薬剤投与時期と創汚染とが薬剤の組織移行性に与える影響の検討、実験5の薬剤移行機序の検討 (熱傷創底からの移行の検討)、実験6の移行機序の検討 (被覆材の影響) では、repeated measure ANOVA で検定した。また、実験2の汚染創における感染抑制効果の検討では Mann-Whitney's U test で検定した。実験4の薬剤移行機序の検討では、one-factor ANOVA で検定した。なお、統計解析ソフトは Statcel 2 を用いた。

## 結 果

### 1. 実験1：薬剤移行性の検討

3種の薬剤の血清中濃度と焼痂組織内あるいは正常皮膚組織内濃度と薬剤投与後時間との関係を図3に示した。

CPZ の濃度 (mean ± SEM ; 以下同) は、熱傷ラッ

トでは、30分後で血清中  $59.3 \pm 6.4 \mu\text{g/mL}$ 、焼痂組織内  $22.4 \pm 5.5 \mu\text{g/g}$  であった。その後血清中濃度は低下したが、焼痂組織内濃度はやや上昇し、投与後2時間値で  $32.7 \pm 14.6 \mu\text{g/g}$  と血清中濃度の  $13.8 \pm 4.6 \mu\text{g/mL}$  よりも高値を示した。投与後8時間の値においても焼痂組織内濃度  $15.3 \pm 3.3 \mu\text{g/g}$  と血清中濃度より高値を示した (図3a)。一方、非熱傷ラットにおける薬剤濃度は、投与後30分値で血清中濃度  $39.1 \pm 6.3 \mu\text{g/mL}$ 、皮膚組織内濃度  $24.9 \pm 0.9 \mu\text{g/g}$  であったが、血清中濃度は熱傷ラットより低く推移し、投与後1時間値では血清中濃度  $11.7 \pm 1.7 \mu\text{g/g}$ 、皮膚組織内濃度  $9.3 \pm 1.9 \mu\text{g/g}$  と低値を示した。

CAZ の濃度も CPZ の濃度とほぼ同様の推移を示した。すなわち、熱傷ラットでは、30分後で血清中濃度  $63.8 \pm 5.3 \mu\text{g/mL}$ 、焼痂組織内濃度  $36.1 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$  を示し、その後血清中濃度は低下したが、焼痂組織内濃度の低下は緩やかで、投与後2時間値の焼痂組織内濃度は  $24.5 \pm 0.3 \mu\text{g/g}$  で、投与後2時間値の血清中濃度  $15.0 \pm 2.7 \mu\text{g/mL}$  を越えて高値を示した。一方、非熱傷ラットにおける CAZ の濃度は、投与後30分値で血清中濃度は  $66.3 \pm 6.0 \mu\text{g/mL}$  と高い値を示したが、皮膚組織内濃度は  $27.3 \pm 1.3 \mu\text{g/g}$  で投与後30分値の焼痂組織内濃度と比較し低値であり、投与後2時間の皮膚組織内濃度は  $2.9 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$  でも低値を示した (図3b)。

CFLP についても、血清中濃度および焼痂組織内濃度ともに他の薬剤の濃度とほぼ同様の傾向を示し、焼痂組織内濃度は1時間値を最高値  $42.8 \pm 5.2 \mu\text{g/g}$  とし、その後、高い組織内濃度は長時間持続し、投与後4時間値



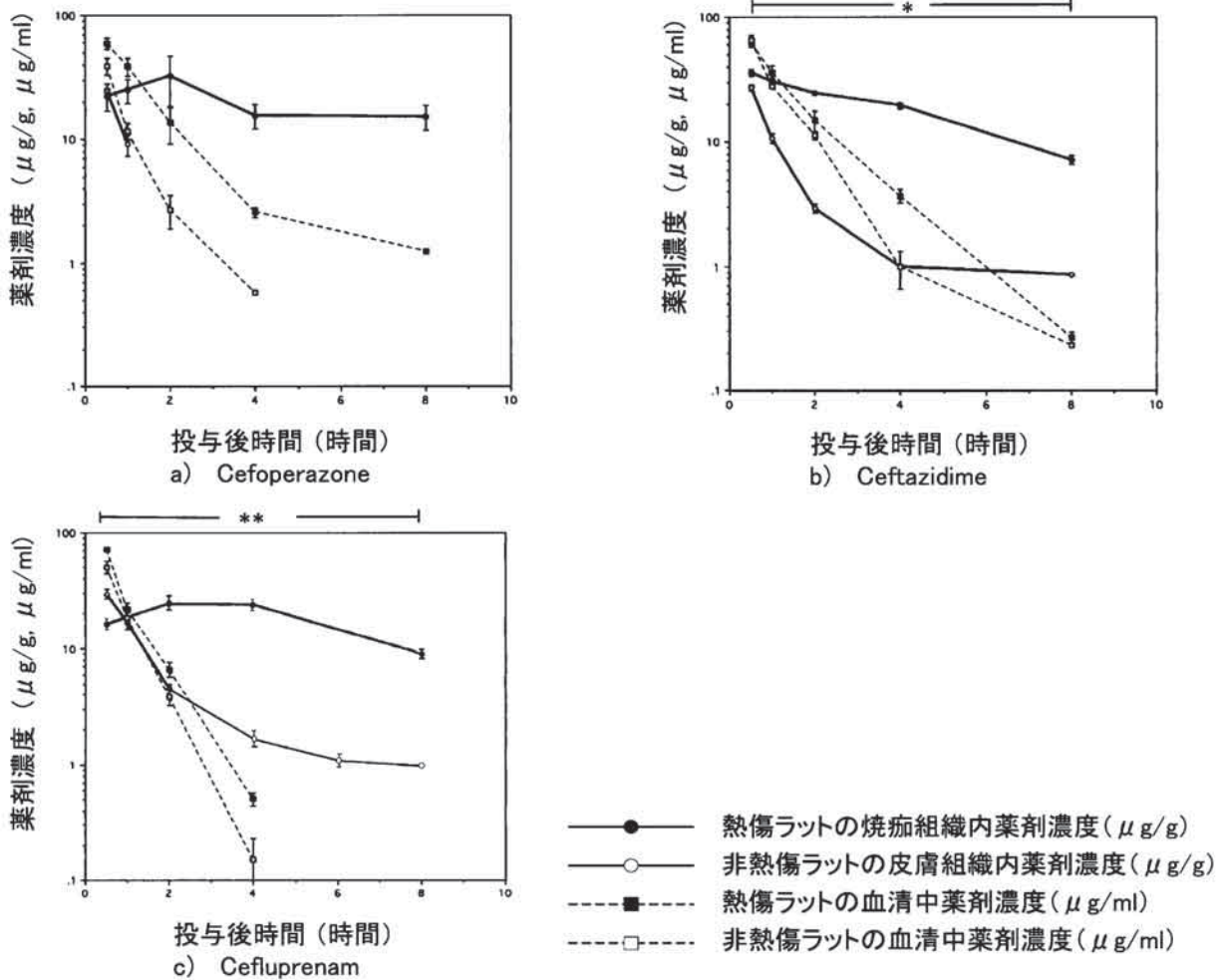


図3 実験1：経静脈的投与抗菌薬の焼痂組織への移行性の検討結果

各薬剤、3匹のラットに抗菌薬 50 mg/kg を投与、一匹あたり 5 部位の焼痂組織内濃度を経時的に測定した。薬剤濃度は平均値±標準誤差で示す。CAZ と CFLP の焼痂組織内濃度は非熱傷ラットの皮膚組織内濃度と比較し有意に高値を示した (repeated measure ANOVA: CAZ  $P=0.007^*$ , CFLP  $P=0.034^*$ )。

においても  $25.6 \pm 5.4 \mu\text{g/g}$  を示した (図 3c)。

焼痂組織内濃度は、CPZ, CAZ, CFLP の 3 剤すべてにおいて、薬剤投与 2 時間値以降も長時間高く維持する傾向を示し、非熱傷ラットの皮膚組織内濃度と比較し、より高値で CAZ と CFLP において有意差を示した (repeated measure ANOVA: CAZ  $P=0.007$ , CFLP  $P=0.034$ )。

## 2. 実験 2：汚染創における感染抑制効果の検討

1) 肉眼所見：非治療対照群では、5 匹 10 創の創部位すべてにおいて、創部の膿と周囲の発赤ならびに褐色斑状の組織融解を認めたが (図 4a)、治療群では、炎症所見はより軽微で組織融解を認めなかった (図 4b)。

2) 病理組織所見：非治療対照群では、5 匹 10 創部

位の組織すべてにおいて、皮下組織層を中心に焼痂組織内に高度の好中球浸潤が認められ、創感染の所見を示した (図 5a)。治療群では、5 匹 10 創部位の組織の真皮層に相当する焼痂組織内に好中球浸潤をわずかに認めた。

3) 創生菌数：非治療対照群では、5 匹 10 創部位中、1 創部位 (*S. aureus*  $10^{3.96}$  cfu/g) を除き、9 創部位から  $10^5$  cfu/g 以上の *S. aureus* が検出され、10 創部位すべてから *P. aeruginosa*  $10^7$  cfu/g 以上が検出された (表 1)。治療群では、5 匹 10 創部位中、1 部位 (*P. aeruginosa*  $10^{3.9}$  cfu/g) を除き、9 部位で *S. aureus* および *P. aeruginosa* の検出はなかった。また、両群から他種の細菌は検出されなかった。細菌数  $10^5$  cfu/g 以上の検出を感染と考えると、治療群では有意に感染を抑制できた (Mann-Whitney's



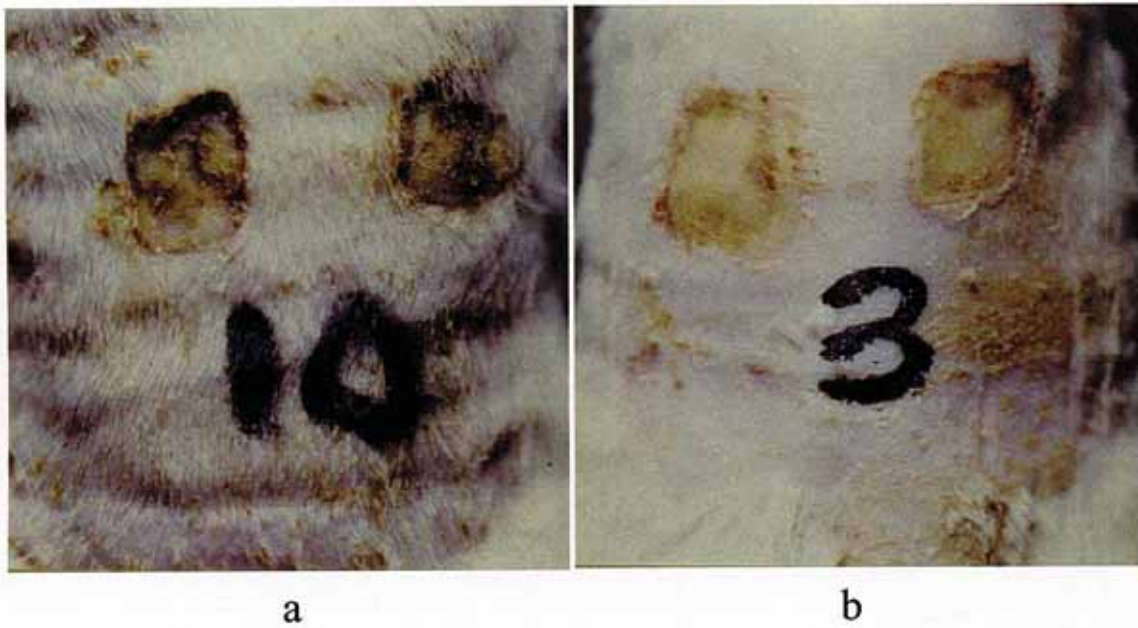


図4 実験2：汚染創における感染防止効果と薬剤移行性検討結果：受傷5日後のラット背部肉眼所見  
 a 非治療対照群では、5匹の創部位全てにおいて、創部の膿と周囲の発赤と褐色斑状の組織融解を認めた。  
 b 治療群では、炎症所見はより軽微で組織融解を認めなかつた。

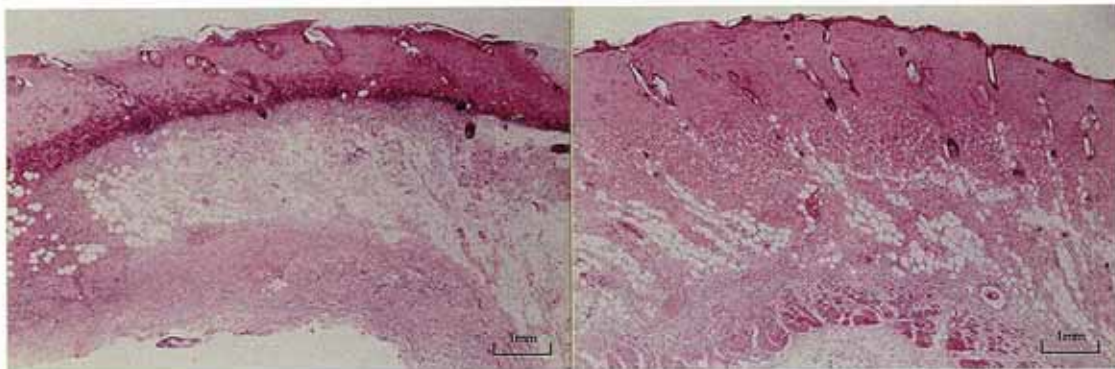


図5 実験2：汚染創における薬剤移行性と感染抑制効果の検討結果：熱傷作成5日後のラット背部創部の顕微鏡所見（HE染色）  
 a 非治療対照群では、5匹の創組織において、皮下組織層を中心に焼痂組織内に高度の好中球浸潤が認められ、創感染の所見を示した。  
 b 治療群では、5匹の創組織において真皮層に相当する壊死組織内に好中球浸潤をわずかに認めた。

U test :  $P < 0.01$ ).

### 3. 実験3：熱傷後の薬剤投与時期と創汚染とが薬剤の組織移行性に与える影響の検討(表2)

汚染創における受傷後1時間投与群では、CFLPの焼痂組織内濃度の最高値は投与後2時間値で  $24.3 \pm 3.2 \mu\text{g/g}$  を示し、その後も焼痂組織内濃度は維持する傾向を示し、投与後8時間値でも  $9.0 \pm 0.9 \mu\text{g/g}$ 、投与後24時間値で  $3.2 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$  を示した。汚染創における受傷後1日投与群では、CFLPの焼痂組織内濃度の最高値は

投与後2時間値で  $13.3 \pm 1.0 \mu\text{g/g}$  を示し、汚染創における受傷後1時間投与群と比較し最高値は低下し、投与後6時間値では  $6.0 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$  であった。対照とした非汚染創における受傷後1日投与群の焼痂組織内濃度の最高値は2時間値の  $30.2 \pm 3.1 \mu\text{g/g}$  であるので、汚染創における受傷後1日投与群の焼痂組織内濃度は非汚染創の1/2以下まで低下していたことになる。また、汚染創における受傷後5日投与群では、CFLPの焼痂組織内濃度の最高値は投与後1時間値で  $21.7 \pm 1.9 \mu\text{g/g}$  の高値を示したが、2時間値の  $16.9 \pm 0.5 \mu\text{g/g}$ 、以降は低下し、



表1 実験2：汚染創における感染防止効果と薬剤移行性の検討：創生菌数

	ラット No.	焼痂組織内生菌数 (log 10 cfu/g)			
		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		右創	左創	右創	左創
非治療対照群 (5匹, 各2部位)	6	7.74	7.41	8.85	8.62
	7	5.53	6.18	8.46	8.92
	8	5.71	8.48	8.23	7.73
	9	6.52	7.36	8.78	8.53
	10	3.96	7.93	7.45	8.30
治療群 <sup>a)</sup> (5匹, 各2部位)	1	- <sup>b)</sup>	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	3.90
	5	-	-	-	-

a) 創面に *S. aureus* 10<sup>2</sup>cfu/cm<sup>2</sup> および *P. aeruginosa* 10<sup>1</sup>cfu/cm<sup>2</sup> を塗布し, 1時間後から cefluprenam (50 mg/kg) を経静脈的に5日間投与した.

b) 細菌数 10<sup>2</sup>cfu/g 以下を「-」とした.

細菌数 10<sup>2</sup>cfu/g 以上の検出を感染と仮定: Mann-Whitney's U test: P<0.01

投与後4時間値と6時間値においても, それぞれ 6.7±0.3 μg/g, 4.5±0.1 μg/g と低値を示し, 同時期の非汚染創と比較しても焼痂組織内濃度は低下傾向を示した. 汚染創では受傷からの投与時期が1時間後, 1日後, 5日後と遅くなるほど, 投与初期, 焼痂組織の薬剤濃度は有意に低下した (repeated measure ANOVA: P=0.006).

#### 4. 実験4：薬剤移行機序の検討：周囲皮膚からの移行の検討

図1のA-D区画のいずれの熱傷部位の焼痂組織内濃度は, 投与1時間値では16.9 μg/g (C区画) から19.7±3.3 μg/g (D区画) 以内にあり, 区画間で差を認めなかった (表3). 中心に位置するD区画の焼痂組織内濃度は, 周囲と比較し, 特に低くはなく, 4時間値においても, 区画間に優位の濃度差はなかった (投与1時間値: one-factor ANOVA: P=0.34, 投与4時間値: one-factor ANOVA: P=1.00).

表2 実験3：熱傷後の薬剤投与時期と創汚染が, 経静脈投与抗菌薬の組織移行性に与える影響の検討

#### 1) 創汚染のないラットにおける受傷後薬剤の投与時期による影響

非汚染創	Cefluprenam 投与後の各時間の薬剤濃度					
	1時間	2時間	4時間	6時間	8時間	24時間
血清 (μg/ml)						
受傷後1日投与群 (3匹, 各6部位)	34.5±2.5	10.7±0.2	1.4±0.1	0.1	NT	ND
受傷後5日投与群 (3匹, 各6部位)	35.1±2.8	9.37±1.2	1.9±0.1	0.3	NT	ND
焼痂組織 (μg/g)						
受傷後1日投与群 (3匹, 各6部位)	21.3±2.6	30.2±3.1	17.9±0.7	8.0±1.0	NT	ND
受傷後5日投与群 (3匹, 各6部位)	38.3±2.4	29.6±0.4	14.1±1.1	6.2±1.3	NT	ND

数値は平均値±標準誤差を示す. NT: Not Tested, ND: Not Detected

#### 2) 創汚染のあるラットにおける受傷後薬剤の投与時期による影響

汚染創	Cefluprenam 投与後の各時間の薬剤濃度					
	1時間	2時間	4時間	6時間	8時間	24時間
血清 (μg/ml)						
受傷後1日投与群 (3匹, 各6部位)	13.1±1.6	3.7±0.1	0.6±0.2	0.1±0.1	NT	<0.1
受傷後5日投与群 (3匹, 各6部位)	11.9±3.2	4.2±0.1	0.8	0.2	NT	<0.1
焼痂組織 (μg/g)						
受傷後1時間投与群 (3匹, 各6部位)	18.6±3.5*	24.3±3.2*	23.7±2.2*	NT	9.0±0.9	3.2±2.0*
受傷後1日投与群 (3匹, 各6部位)	12.5±0.9*	13.3±1.0*	11.0±0.5*	6.0±0.2	NT	<0.1*
受傷後5日投与群 (3匹, 各6部位)	21.7±1.9*	16.9±0.5*	6.7±0.3*	4.5±0.1	NT	<0.1*

数値は平均値±標準誤差を示す. NT: Not Tested, ND: Not Detected

受傷からの投与時期が1時間後, 1日後, 5日後と遅くなるほど, 投与初期, 焼痂組織の薬剤濃度は低下: repeated measure ANOVA: P=0.006\*



表3 実験4：周囲皮膚からの薬剤移行性の検討

採取測定時間	焼痂組織内濃度 (μg/g)				血清中濃度 (μg/ml)
	A 区画	B 区画	C 区画	D 区画	
1時間値 (2匹)	17.6±1.1*/***	18.1±1.4*/***	16.9*/***	19.7±3.3*/***	23.6
4時間値 (2匹)	8.5±3.4**	8.8±3.8**	8.5±2.9**	8.6±3.3**	4.4±4.7
対照群：非熱傷 1時間値 (1匹)	20.5***	19.5***	19.2***	20.7***	14.4

数値は平均値±標準誤差を示す。  
D区画と周囲の焼痂内濃度 (投与1時間値：one-factor ANOVA：P=0.34\*、投与4時間値：one-factor ANOVA：P=1.00\*\*)、A-D区画の焼痂内濃度と対照群の組織内薬剤濃度 (投与1時間値：two-sided Student's t test：P=0.02\*\*\*).

表4 実験5：熱傷創底からの薬剤移行機序の検討：Cefclidin 経静脈投与後の熱傷ラットの焼痂組織内濃度と血清中濃度、および非熱傷ラットの皮膚組織内濃度と血清中濃度

薬剤投与後時間	15分					1時間					4時間					6時間				
	焼痂組織	血清	正常皮膚	血清	非熱傷ラット	焼痂組織	血清	正常皮膚	血清	非熱傷ラット	焼痂組織	血清	正常皮膚	血清	非熱傷ラット	焼痂組織	血清	正常皮膚	血清	非熱傷ラット
熱傷ラット	49.9±2.1	106.0±26.4	77.7±13.0	133.0±10.8	42.8±5.3	45.4±6.2	27.9±0.8	52.5±4.6	25.6±5.4	2.9±0.7	2.0±0.3	1.6±0.2	0.4±0.1	9.0±2.0	0.9±0.2	1.6±0.2	0.4±0.1			

数値は平均値±標準誤差を示す (n=3)。単位は焼痂と皮膚内濃度はμg/g、血清中濃度はμg/mL

5. 実験5：薬剤移行機序の検討：熱傷創底からの移行の検討

CFCL 投与後の焼痂組織内濃度は15分値が49.9±2.1 μg/gで、正常組織の77.7±12.0 μg/gと比較して低値を示したが、1時間値以降ではすべてで正常組織内より高値を示した (表4)。

3層に分割した焼痂組織内濃度は、表層では1時間値は33.0±11.0 μg/g、4時間値は20.2±0.4 μg/gであり、深層の1時間値の20.5±1.2 μg/g、4時間値の11.4±0.6 μg/gと比較し、焼痂組織の深層よりも表層で高濃度を示した (repeated measure ANOVA：P=0.027) (表5)。

表5 実験5：熱傷創底からの薬剤移行性の検討：Cefclidin 経静脈投与後の焼痂組織3層内の薬剤濃度

薬剤投与後時間	1時間	4時間
表層	33.0±11.0	20.2±0.4*
中層	26.4±8.0	17.6±1.0*
深層	20.5±1.2	11.4±0.6*

数値は平均値±標準誤差を示す。単位はμg/g。3匹のラットにつき薬剤投与後、1時間と4時間で各1部位ずつ焼痂組織を採取し3層に分離後に測定した。表層は深層よりも高濃度を示した。(repeated measure ANOVA：P=0.027\*)

6. 実験6：移行機序の検討：被覆材の影響

ガーゼで覆った創のCFLP投与後2時間の焼痂内濃度は、深層で28.9±1.8 μg/gであり、表層の15.0±0.9 μg/gと比較し高値を示したが、投与後4時間では逆転し、表層が27.7±4.7 μg/gとなり、深層の20.3±4.5 μg/gよりも有意に高値を示した (repeated measure ANOVA：P=0.002) (図6)。

一方、閉鎖性被覆材で覆った創のCFLP投与後2時間の焼痂内濃度は、深層で25.3±0.9 μg/gであり、表層の14.9±3.5 μg/gと比較し高値を示したが、ガーゼで被覆した場合は異なり、4時間値でも深層24.8±1.1 μg/g、表層18.1±2.8 μg/gと、表層の濃度の上昇は僅かであった (repeated measure ANOVA：P=0.087) (図7)。

考 察

現在、重症熱傷における創感染の予防や治療は、スルファジアジン銀含有クリームなどの局所療法剤の使用と、早期に焼痂組織を切除し植皮することである<sup>18,19)</sup>。しかし、局所療法剤のみでは受傷直後に創面に付着していた細菌は急速に皮下組織へ侵入して増殖することが知られており<sup>20)</sup>、創面に塗布した抗菌性局所療法剤が皮下まで到達して、細菌の増殖抑制効果を発揮するには限界があ



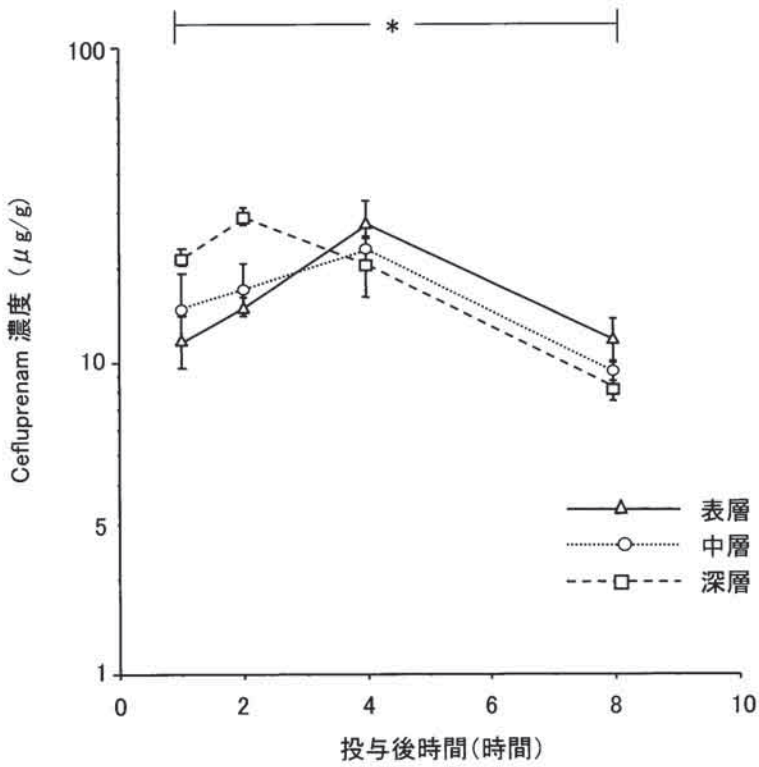


図6 実験6：ガーゼで覆った部位の焼痂組織内の cefluprenam 濃度  
薬剤投与後2時間までは、深層の濃度が最高値 ( $28.9 \pm 1.8 \mu\text{g/g}$ ; 2時間値) を示したが、投与後4時間からは逆転し、表層が最高値 ( $27.7 \pm 4.7 \mu\text{g/g}$ ; 4時間値) を示した (薬剤濃度は平均値±標準誤差, repeated measure ANOVA:  $P=0.002^*$ )

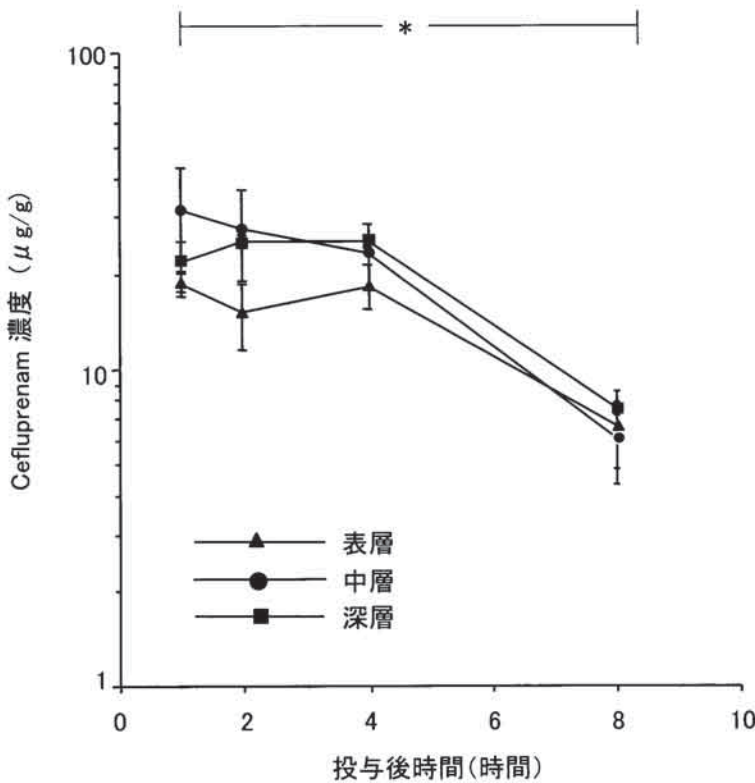


図7 実験6：閉鎖性被覆材で覆った部位の焼痂組織内の cefluprenam 濃度  
薬剤投与後の焼痂内濃度の最高値は、 $31.2 \pm 11.4 \mu\text{g/g}$  (1時間値, 中層),  $25.3 \pm 0.9 \mu\text{g/g}$  (2時間値, 深層) で、中層と深層が高値を示し、その後も最高値は  $24.8 \pm 1.1 \mu\text{g/g}$  (4時間値, 深層) で、深層で僅かに高値を示したが、投与後4時間以降は創による差が明らかでなく、ガーゼで覆った焼痂組織内薬剤濃度とは異なる傾向を示した。(薬剤濃度は平均値±標準誤差, repeated measure ANOVA:  $P=0.087^*$ )



る<sup>21)</sup>。また、早期の壊死組織除去術と植皮では、既に感染が成立している創においては切除時、菌血症となり全身状態を悪化させる危険がある<sup>22, 23)</sup>。

熱傷創感染に対する経静脈的投与抗菌薬の有効性や適応に関しては意見の一致がみられていない。感染菌に対し抗菌力を有する薬剤が血中から創内に十分移行し細菌増殖を抑制できれば、創感染の予防や治療ができるはずであるが<sup>24)</sup>、焼痂組織に薬剤が十分に移行しなければ効果が得られないばかりか、不十分な薬剤濃度環境から耐性菌を増加させる可能性もある。

本研究では同様の条件を設定するため動物モデルを用い、経静脈投与抗菌薬のⅢ度熱傷組織への移行性、細菌感染抑制効果、受傷後時期ならびに創汚染の有無による薬剤移行性への影響、移行機序について検討した。

組織移行性の検討(実験1)で使用した各抗菌薬は、血清中濃度と同様に時間の経過と共に、非熱傷組織内(正常皮膚)濃度が、急速に低下したのに対して、焼痂組織内濃度は正常皮膚内濃度より高く、高濃度を長時間持続していた。特に、注目されるのは、投与後2時間以降では、焼痂組織内濃度が血清中濃度よりも高値を示したことである。

実験1で検討した複数の抗菌薬の焼痂組織への良好な移行を証明できたため、汚染焼痂組織において感染抑制効果を調べた(実験2)。良好な移行性を示した3種類のセフェム系抗菌薬のうちCFLPを用い、熱傷創感染の起原菌として臨床的に問題となっている*S. aureus*と*P. aeruginosa*の混合汚染によるⅢ度熱傷創での感染抑制効果を検討した<sup>25, 26)</sup>。抗菌薬投与群では肉眼所見および組織所見共に感染は抑制されており、創生菌数の所見からもCFLPの経静脈投与には感染抑制効果があることが証明できた。

重症熱傷患者に対する経静脈的抗菌薬投与の適応は前述のごとく賛否が分かれているが、汚染された熱傷創を有する場合、既に創感染を起こし全身症状のある場合には抗菌薬投与が考慮されていることが多い。しかしながら、薬剤の焼痂組織への移行性や有効性は熱傷受傷後の投与時期や創汚染状況により異なる可能性がある。従来の検討ではこれらの点は考慮されていなかった。そのため、経静脈的抗菌薬の焼痂組織内への移行性への受傷後投与時期の影響と、創汚染の有無による影響を調べた(実験3)。その結果、受傷後投与時期が遅くなるほど、投与後1時間値は高いが焼痂組織内濃度は急速に低下し、薬剤は長時間組織内に留まらない。あるいは移行しにくいことが判明した。また、汚染創においては、非汚染創に比べて、組織内濃度は低く移行性が悪いことが明らか

となった。

本結果から、薬剤移行性は投与時期および細菌汚染により影響され、感染が成立していない受傷後早期では、薬剤の焼痂組織への移行性は良好であり感染抑制効果も期待できるが、これと比べて受傷後、長時間経過した汚染創では、移行性は低く創感染予防や治療を目的とした経静脈的抗菌薬投与の有効性は低いと考えられた。この結果を考慮すると、経静脈的投与抗菌薬の有効な投与方法は、汚染創を有する重症Ⅲ度熱傷患者に対して、受傷後数日以内の早期手術を前提とし、受傷直後から、焼痂組織への移行性に優れ汚染菌に対して抗菌力がある抗菌薬を選択し経静脈的に投与すれば、感染症発生の一時的な抑制は可能であると考えられ、創切除に際しては、術中の菌血症や術後感染の頻度を減らすことができるものと考えられた。

経静脈的投与抗菌薬の熱傷創への移行機序については、Ⅱ度熱傷創では熱傷受傷直後から起こる微小血管壁の透過性亢進により、滲出液とともに抗菌薬が組織間隙に移行するため血中濃度とほぼ比例して熱傷組織に移行することが知られている<sup>27)</sup>。しかし生理的機能が破綻し循環が途絶したⅢ度熱傷の焼痂組織への薬剤の移行機序については十分に解明されていない。焼痂組織への経静脈的投与抗菌薬の移行については、焼痂組織下(熱傷創底)の充血層に血管から漏出した薬剤を含んだ滲出液が溜まり<sup>28)</sup>、焼痂組織の毛嚢の孔や脂肪組織などの空胞状になった部位から、浸出液が毛細管現象により浸透し、さらに表面の蒸発により吸い上げられ薬剤が移行すると推測した報告もある<sup>29)</sup>。しかし薬剤の移行経路を考えると、周囲の健全組織から焼痂組織へ移行している可能性もある。そこで本研究では、周囲の健全組織との境界の状況別に焼痂を区分して、焼痂内薬剤濃度を検討した。その結果、周囲の健全組織に多く境界を接するⅢ度熱傷と比較して、境界がなく、健全組織と離れている区画中心部の創における濃度との有意差がなかったことから(実験4)、周囲の健全組織からの薬剤が移行するのではないことが裏付けられた。従って経静脈的投与薬剤の焼痂組織への良好な移行は、焼痂組織下から創面に向かって移行している可能性が高いと考えられた。

仮に経静脈的投与抗菌薬の焼痂組織への移行が毛細管現象と創面での水分の蒸発で薬剤を含んだ滲出液が表層方向に吸い上げられることによるとすれば、焼痂内組織の薬剤濃度に差ができる可能性がある。実験5では焼痂組織を3層に分離しそれぞれ層の薬剤濃度を測定した。その結果、表層では中層と深層よりも薬剤濃度が高かった。この結果は、薬剤が焼痂組織下から表層に向かって



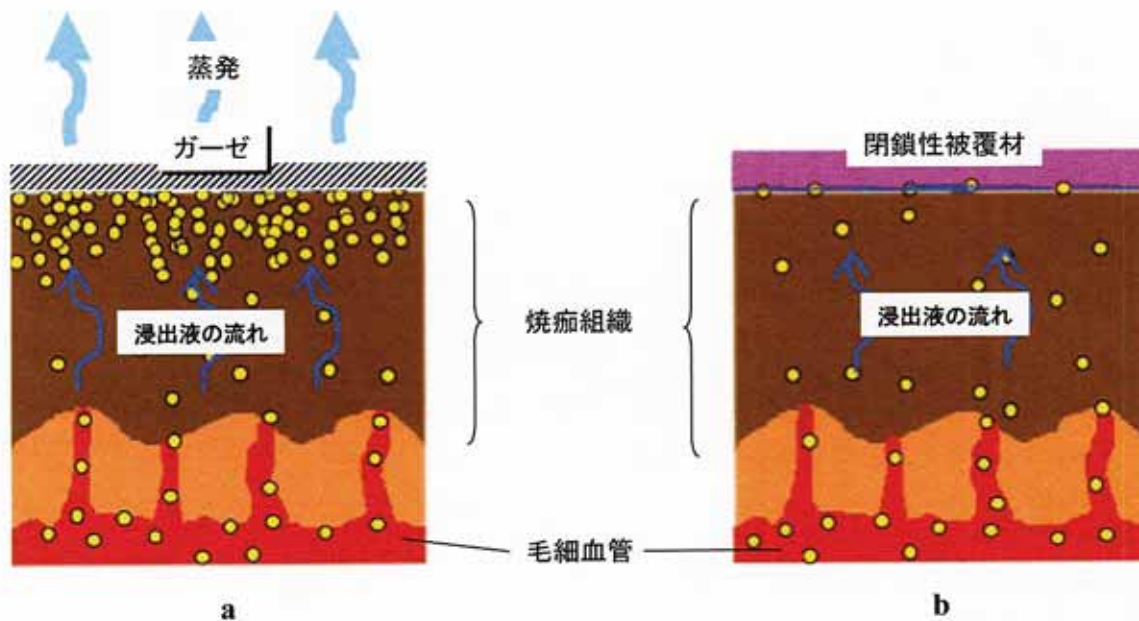


図8 経静脈内投与抗菌薬の焼痂組織への移行機序の模式図

- a ガーゼで被覆した創では、薬剤は浸出液と共に毛細管現象と蒸発により吸い上げられることで、浸出液中の薬剤 (O) は表層に移動する。創表面で浸出液の水分が蒸発することにより、薬剤の濃縮がおこると考えられる。  
 b 閉鎖性被覆材で被覆した創では蒸発がなく、薬剤を含んだ浸出液の移行は少ない。

移行し焼痂組織表面で浸出液が蒸発して薬剤が濃縮されているためと考えられた。

そこで、この移行機序に関する仮説を証するため、焼痂組織表面での蒸発を抑制した場合の焼痂内薬剤濃度について検討した。その結果、ポリウレタン膜の閉鎖性被覆材で創を覆い、蒸発を抑制した焼痂では、薬剤の移行性は低く、深層で濃度が高くなる傾向が認められたが、時間経過に従い各層間にほとんど差を認めなくなった(実験6)。この結果は、蒸発を抑制すると、焼痂組織への移行が妨げられることを示すものであると解釈できる。

以上の実験5と6の結果から、経静脈的投与抗菌薬は熱傷創底である焼痂組織下層から毛細管現象により浸出液と共に表層に移行するとともに、創面で水分が蒸発することにより浸出液が創面方向に移動し、創の表面で濃縮され、高濃度となるという仮説が裏付けられた(図8)。なお、実験5の表4と表5に示したデータは、同一のラットから採取した焼痂組織を3層にスライスしたものであるが、1時間値の全層では焼痂組織内薬剤濃度は $42.8 \pm 5.3 \mu\text{g/g}$ であるのに対し(表4)、これを3層にスライスした場合は、本来であれば平均が $40 \mu\text{g/g}$ 以上となるはずである(表5)。しかし、焼痂組織各層の薬剤濃度は明らかに低値を示している。この理由としては、デルマトームでスライスした際、組織液が失われるため、組織内濃度が一律に低値となったものと考えた。

良好な焼痂組織への薬剤の移行は、皮下に溜まった浸出液が毛細管現象と蒸発により、焼痂組織の毛嚢の孔や脂肪組織などの空胞状になった部位を通り、吸い上げられると考えられる。この現象を考慮すると、受傷後投与時期が遅いほど、また創汚染があるほど、焼痂組織への移行性が悪くなる理由は、受傷後、時間経過と共にフィブリンの浸出で焼痂組織が硬化すること、また細菌汚染創においては、細菌が産生するコラーゲナーゼなどによるコラーゲンの分解により、焼痂組織の空胞構造も破壊される<sup>30)</sup>、ことに起因すると考えられる。

受傷後、数日後からの投与や汚染創では、焼痂組織内薬剤濃度は投与直後に高い濃度を示し、その後に急速に低下することが明らかになったが(実験3)、この現象は、閉鎖性被覆材でカバーしたときの焼痂組織内薬剤濃度の変化(実験6)と類似している。このことから、焼痂組織が変性し、特に創の表面の空胞構造が破壊されると、閉鎖性被覆材でカバーされたときと同様、浸出液の蒸発と吸い上げなくなり、焼痂組織下部に溜まった薬剤は滞留するため焼痂組織内の濃度が低下するものであると推測した。



## 総 括

経静脈的に投与された抗菌薬の焼痂組織への移行性と  
その機序を解明, および経静脈的投与抗菌薬の創感染防  
止効果の検討を行い, 以下の結論を得た。

1. 経静脈的投与抗菌薬はⅢ度熱傷組織に良好に移行し,  
細菌で汚染されたⅢ度熱傷創の感染を抑制することが  
できる。
2. 経静脈的投与抗菌薬のⅢ度熱傷組織への移行性は,  
受傷後の投与時期に影響され, 受傷後早期の投与は,  
受傷1～5日後に投与する場合と比較して, より良好  
に焼痂組織へ移行する。
3. 経静脈的投与抗菌薬のⅢ度熱傷組織への移行性は創  
汚染の有無により影響され, 汚染後時間が経過した創  
よりも, 汚染後早期の創に投与した方が抗菌薬はより  
良好に移行する。
4. 経静脈的投与抗菌薬の焼痂組織への良好な移行は周  
囲の健全組織からではない。
5. 経静脈投与抗菌薬は, Ⅲ度熱傷創を閉鎖性被覆材よ  
りもガーゼで覆った場合に, 焼痂組織の表層へより良  
好に移行する。
6. 上記の4と5により, 経静脈投与抗菌薬の焼痂組織  
への移行は熱傷創底である焼痂組織下層から上方に向  
かい, その機序は毛細管現象による移行と蒸発による  
濃縮にあると考えられる。
7. 以上の結果は, 創汚染の可能性のあるⅢ度熱傷の創  
感染発生防止における経静脈的抗菌薬化学療法の有効性  
に関する基礎的情報となるものと考えられた。

## 謝 辞

本稿を終えるにあたり, 実験から発表, 論文作成に至  
るまでのご指導と論文のご校閲を賜りました慶應義塾大  
学医学部救急医学相川直樹教授に深甚なる謝意を表しま  
す。

本研究の一部は, 第31回ICAAC会議 (Inter-  
science Conference on Antimicrobial Agents and  
Chemotherapy) (1991, Atlanta, USA), 第33回  
ICAAC会議 (1993, New Orleans, USA), 第34回  
ICAAC会議 (1994, Orlando, USA), 第9回ISBI会  
議 (International Society for Burn Injuries) (1994,  
Paris, France), 第16回日本熱傷学会 (1990, 東京都),  
第17回日本熱傷学会 (1991, 東京都), 第18回日本  
熱傷学会 (1992, 箱根, 神奈川県), 第22回日本熱傷

学会 (1996, 東京都), 第39回日本化学療法学会  
(1992, 東京都), 第40回日本化学療法学会 (1993,  
名古屋市), 第68回日本感染症学会 (1994, 長崎市)  
において発表した。

## 文 献

- 1) Aikawa N, Shinozawa Y, Ishibiki K, Abe O,  
Yamamoto S, Motegi M, Yoshii H, Sudoh M :  
Clinical analysis of multiple organ failure in burned  
patients. *Burns* 13 : 103-109, 1987
- 2) Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R :  
Burn wound infections. *Clin Microbiol Rev* 19 : 403-  
434, 2006
- 3) Bang RL, Sharma PN, Sanyal SC, Najjadah IA : Sep-  
ticaemia after burn injury : a comparative study.  
*Burns* 28 : 746-751, 2002
- 4) 相川直樹, 篠澤洋太郎, 田熊清継 : 熱傷治療最近の話題 :  
早期切除・植皮術. *手術*, 44 : 507-513, 1990
- 5) Muller M, Gahankari D, Herndon DN : Operative  
wound management. (Ed) Herndon DN, *Total burn  
care 3rd ed*, Saunders & Elsevier, p. 177-195, 2007
- 6) Durtschi MB, Orgain C, Counts GW, Heimbach DM :  
A prospective study of prophylactic penicillin in  
acutely burned hospitalized patients. *J Trauma* 22 :  
11-14, 1982
- 7) Donati L, Periti P, Andreassi A, Dioguardi D, Gliori A,  
Magliacani G, Marinelli LF, Masellis M, Barachini P,  
Micali G, Papadia F, Rapisarda V, Savoia A : Increa-  
sed burn patient survival with once-a-day high dose  
teicoplanin and netilmicin. an Italian multicenter  
study. *J Chemother* 10 : 47-57, 1998
- 8) Baxter, CR, Curreri, PW, Marvin, JA : The control of  
burn wound sepsis by the use of quantitative bacte-  
riologic studies and subescher clysis with antibiotics.  
*Surg Clin N Amer* 53 : 1509-1518, 1973
- 9) Moncrief JA : Burns II. Initial treatment. *JAMA* 242 :  
179-182, 1979
- 10) Seligman M : Burn wound infections. Acute manage-  
ment of the burned patient. (Ed) Martyn JAJ, WB  
Saunders, Philadelphia, p. 288-305, 1990
- 11) 田熊清継, 相川直樹, 石引久弥, 堀進悟, 篠澤洋太郎,  
阿部令彦, 八谷 滋, 佐藤 勝 : 細菌汚染を受けたⅢ度  
熱傷創に対する抗菌薬全身投与の効果に関する実験的研  
究. *熱傷 (日本熱傷学会雑誌)*, 17 : 9-15, 1991
- 12) 本間賢一, 吉田哲憲, 大浦武彦, 菅野弘之, 木村 中,  
巖 文哉, 飯田和典, 本田耕一 : Ceftazidime の熱傷組  
織への移行についての検討. *熱傷 (日本熱傷学会雑誌)*,  
19 : 220-225, 1993
- 13) 杉原平樹, 吉田哲憲, 皆川英彦, 川嶋邦裕, 堀内克己,  
本田耕一, 竹内章晃, 本間賢一, 前多一彦, 竹野巨一,  
木村 中, 堤田 新 : 熱傷創感染症に対する pazuflo-  
xacin 注射薬の臨床的検討および組織移行性の検討. *日  
本化学療法学会雑誌*, 48 : 401-416, 2000



- 14) Varela JE, Cohn SM, Brown M, Ward CG, Namias N, Spalding PB : Pharmacokinetics and burn eschar penetration of intravenous ciprofloxacin in patients with major thermal injuries. *J Antimicrob Chemother* 45 : 337-342, 2000
- 15) Linares HA, Dolecek R, Aikawa N. Report of the laboratory services committee of the ISBI. *Burns* 30(6) : A1-13, 2004
- 16) Watanabe NA, Hiruma R, Katsu K : In vitro evaluation of E 1077, a new cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. *Antimicrob Agents Chemother* 36 : 589-597, 1992
- 17) O'Connell CJ, Gehl J, Klyde B : Practical notes on antibiotic bioassay by the disk method. *Am J Clin Pathol* 59 : 384-387, 1973
- 18) Matsumura H, Yoshizawa N, Narumi A, Harunari N, Sugamata A, Watanabe K : Effective control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a burn unit. *Burns* 22 : 283-286, 1996
- 19) McManus WF, Goodwin CW Jr, Pruitt BA Jr : Subeschar treatment of burn-wound infection. *Arch Surg* 118 : 291-294, 1983
- 20) Teplitz C, Davis D, Mason A, Moncrief JA : Pseudomonas burn wound sepsis I, pathogenesis of experimental pseudomonas burn wound sepsis. *J Surg Res* 4 : 200-216, 1964
- 21) Vindenes H, Bjerknes R : Microbial colonization of large wounds. *Burns* 21 : 575-579, 1995
- 22) Sasaki TM, Welch GW, Herndon DN, Kaplan JZ, Lindberg RB, Pruitt BA : Burn wound manipulation-induced bacteremia. *J Trauma* 19 : 46-48, 1979
- 23) Park DH, Linares HA, Tompson PD : Surgical management of burn wound sepsis. *Surg Gynecol Obstet* 153 : 374-376, 1981
- 24) Leibovici L, Paul M, Poznanski O, Drucker M, Samra Z, Konigsberger H, Pitlik SD : Monotherapy versus beta-lactam-aminoglycoside combination treatment for gram-negative bacteremia, a prospective, observational study. *Antimicrob Agents Chemother* 41 : 1127-1133, 1997
- 25) Gang RK, Bang RL, Sanyal SC, Mokaddas E, Lari AR. *Pseudomonas aeruginosa* septicemia in burns. *Burns* 25 : 611-616, 1999
- 26) Cook N : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* versus the burn patient. *Burns* 24 : 91-98, 1998
- 27) Nishizaki A, Okuda J, Aoyama H, Izawa Y, Mizuta E : Study of transfer of injected cefmenoxime to exudates (blister) of wounds of burn patients. *Chemotherapy* 33 : 1069-1073, 1985
- 28) Teplitz C : The pathology of burns and the fundamentals of burn wound sepsis. *Burns, a team approach.* (Ed) Artz CP, Moncrief JA, Pruitt BA, Saunders, Philadelphia, p. 45-93, 1979
- 29) Polk RE, Mayhall CG, Smith J, Kline BJ, Swensson E, Haynes BW : Gentamicin and tobramycin penetration into burn eschar. *Arch Surg* 118 : 295-302, 1983
- 30) Robson MC, Edstrom LE, Krizek TJ, Groskin MG : The efficacy of systemic antibiotics in the treatment of granulating wounds. *J Surg Res* 16 : 299-306, 1974



## 「これからの緩和医療」

近年、緩和医療の社会的ニーズが高まっている。特に2007年4月にがん対策基本法が施行されて以来、多くの施設で整備が進み始めた。しかし、がん医療をはじめ、一般診療に従事する医師の緩和医療に関する認識や能力の不足や、緩和医療を専門とする医師の不足は、本邦における緩和医療の充実を阻害する一因となっている。

### 1. 緩和医療とは

緩和医療の歴史は比較的新しく、1967年の英国のシリー・ソンドラスの活動が最初といわれている。当初は積極的な医療というよりは、チャリティやボランティア活動を中心に広がった。1967年には米国のキューブラー・ロスの「死ぬ瞬間」が出版され、ホスピス推進運動の契機となった。日本に緩和医療の概念が持ち込まれたのは1973年ごろのことであり、1981年に聖隷三方原病院に日本最初のホスピスが誕生している。その後全国にいくつか緩和ケア病棟ができ、しばらくは経営が苦しい状態が続いていたが、1990年に厚生省が緩和ケア病棟入院料の算定を決めたことから、緩和ケア病棟が増加した。2002年には一般病棟での緩和ケアのコンサルテーションチーム活動に算定されるようになって全国的に緩和ケアチームの数は増え、現在に至る。このように、キリスト教的なホスピスやボランティア活動を中心に考えられた歴史から、緩和医療というと“何もしない”、“敗者の医療”と勘違いをしている医師は多い。WHOの新しい定義によると、緩和医療とは、「生命を脅かすような疾患、特に治療することが困難な疾患を持つ患者および家族の quality of life の向上のために、療養の場にかかわらず疾患の全経過にわたり、医療や福祉およびその他の様々な職種が協力して行われる積極的で全人的な医療」とされる。敢えて“積極的で全人的な”と入っているのは、これまでの医療の歴史の中で、治療困難とされた患者に対する医療が不十分であったことに対する反省から来ているのであろう。病気と診断され治療を進めていく上で、患者や家族は様々な困難に直面するが、いかなる病期であっても患者とともに考え、支え、最良の医療を提供するという、医療の最も根本を形成するのが緩和医療である。がん対策基本法には、「がん医療に携わるすべての医師が緩和医療について知らなければならない」とされており、緩和医療を提供することは医療者の義務となっていることから、今後さら

に重要性は増していくであろう。

### 2. 緩和医療はチーム医療

緩和医療を必要とする患者の苦しみは「全人的痛み：total pain」といわれており、身体的苦痛、精神的苦痛、社会・経済的苦痛、スピリチュアルペイン（実存の苦痛）が混在している。このような状況に医師個人で対応することは困難であり、様々な職種の協力が必要になる。対応に苦慮する身体的苦痛は、がん性疼痛に代表されるような厳しい疼痛のほか、食欲不振、倦怠感、呼吸苦、消化器症状、皮膚症状など多岐にわたる。鎮痛のための麻薬使用については、最近は医療者側に心理的な障壁は少なくなってきたようで、躊躇することなく使用が開始されてきている。しかし、患者への説明などを十分に行う余裕がない例も見られ、薬剤師の力を発揮してほしい分野である。終末期には症状緩和に加え、輸液や鎮静についても習熟しなくてはならない。終末期輸液や鎮静については、「患者の苦痛をいかに緩和するか」ということに重点をおいたガイドラインがエビデンスとともに日本緩和医療学会から示され、ホームページでも閲覧できるので、ぜひ参考にされたい。最近は「看取りのパス」という、死にゆく患者のためのクリニカルパスが考案されており、本邦でも一部の医療施設で導入されている。これにより、終末期には不要で苦痛を伴うような検査などの医療処置を減らし、患者・家族と医療者が合意の上で、できるだけ苦痛を伴わない看取りを実現できる。精神的苦痛については、せん妄や鬱など、専門家の診療が必要になる状態はもちろんのことであるが、それ以前のメンタル面でのサポートに対するニーズは高い。複雑な例には精神科リエゾンコンサルテーションや、臨床心理士などの職種が関わるが、それ以前に診療に携わる医師のコミュニケーション能力によるところも大きい。社会的苦痛については、経済的なことや療養環境の調整に関わることであり、ソーシャルワーカーが中心となり、介護保険をはじめとした制度やリソースの活用についての患者支援が重要となる。最近は、患者の医療情報支援のための相談窓口や患者図書館の設置などに積極的な施設が増加している。最適な療養の場を提供しスムーズに連携するための工夫も欠かせない。地域によっては医療施設間の連携パスの導入も試みられているが、東京のように患者の移動が複雑な地域では、個々の医療施設での努力による解決は困難であり、より大きなレベルでの統制が必要になるであろう。スピリチュアルペインについては、



なかなか対応が難しい。終末期に近い多くの患者は日々体力も気力もなくなり、生きる意味そのものが問われるような場面に遭遇する。そのような患者にとって、少しでも何かをすることの意義は大きい。当院ではリハビリテーション科の協力のもと、最期まで生きる努力を支援している。

### 3. 慶應義塾大学病院の現状

1997年より9N病棟をモデルケースとして、疼痛・緩和ケアナースによる疼痛緩和の活動が始まり、チームとしては非公式ではあったが、麻酔科、精神科、放射線科の有志が参加して草の根活動を展開してきた。麻酔科と疼痛・緩和ケアナース主催による癌性疼痛研究会は70回以上開催され、疼痛だけではなく、全人的苦痛への対応についての勉強会を重ねた。2007年、がん対策基本法の制定や慶應義塾大学のがんプロフェッショナル養成プログラムへの参加にあたり、緩和医療が必須とされたことから、麻酔科の特殊外来として緩和医療外来を開設し、精神科、放射線科やリハビリテーション科、看護部とともにチーム活動を本格化させることになった。ただ、慶應義塾大学病院では多職種チームによる横断的活動の例はこれまでなく、カルテが各科管理で情報の共有が難しく、また事務手続き上いずれかの科で患者登録する必要があり本来のチーム活動が行いにくい状況である。2009年4月よりチームの拠点となる「緩和ケア資料室」が作られ、今後さらに活動を充実させる予定である。

### 4. 医療発展への貢献

今後、慶應義塾大学病院の将来構想にあたり、様々な先進的分野を積極的に取り入れていく構想が打ち出されている。しかし、医療はその中心に“患者がいる”ことを忘れてしまっている。未来の発展はない。医療者のための医療ではなく、患者のための、ひいては人類のための医療を目指すためにも、医療者に緩和医療の考えが定着し、緩和医療を広く提供できるような環境の創造が必要である。患者が訴えるまで待つのではなく、常にスクリーニングを行い、適切な時期に専門医を含めた適切なリソースが活用できるようなシステムの構築を行うことを目標に、今後の緩和医療を展開していきたいと考えている。

橋口さおり

(慶應義塾大学医学部麻酔学教室)

## アルドステロンと高血圧

「慶應医学」誌が休刊になると聞き、何となく寂しく思っている。私が「慶應医学」誌に初めて論文を書いたのは、1992年の自分の医学博士論文(副腎皮質におけるアルドステロン合成チトクロームP-450の発現調節)である。当時は、医化学教室の石村巽教授、荻島正博士が世界に先駆けて副腎におけるアルドステロン合成酵素(チトクロームP450ald)の蛋白の単離精製に成功した直後であり、アルドステロンが内分泌領域では大きなブームとなっていて、私の博士論文は、猿田享男名誉教授と医化学教室の先生方の御指導のもとでP450aldの発現調節に関するものであった。それから18年経ち、近年はまたこのアルドステロンブームとなっている。今回、このアルドステロンに関して話題提供させていただきたい。

アルドステロンは、今から約50年前に発見された副腎皮質で作られる鉱質コルチコイドであり、血圧や血液中のNa、Kなどの電解質バランスの調節に重要であることは周知の事実である。ある書物では、ヒトが水中から陸へあがってくるのができたのはこのホルモンのおかげであるというような記述もみられることから、生命維持に重要と思われる。しかし、飽食の時代となり、肥満者が年々増えている現代は、高血圧のみならず、脂質異常症や糖尿病なども激増しており、これらのリスクが一個人に集積した結果がメタボリックシンドロームとして注目されている。この4月からは、厚生労働省も「特定健診」という名称で、このメタボリックシンドロームを撲滅して医療費を減らそうということで大きく保健行政も変わりつつある。アルドステロンは、上皮性細胞である腎臓の皮質集合管細胞で、Na<sup>+</sup>を再吸収して、K<sup>+</sup>を排泄する鉱質コルチコイドであるが、実は腎臓以外にも、心筋、血管平滑筋、大脳などの非上皮性細胞にも作用することにより、炎症を惹起して、線維化を起こして心血管障害につながる事が示されている。学生時代に習った内分泌学の知識の中で、これほど大きく変わった事実は少ない。

つまり、今やアルドステロンは生命に不可欠なホルモンというよりは、高血圧、心肥大、腎障害、脳血管障害などを起こす心血管リスクホルモンととらえられている。

減塩食を食べるとレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系が活性化されて、高アルドステロン血症を示すが、これは生理学的調節の範囲であり病態的役割は少ない。しかし、食塩摂取過剰に高アルドステロン血症が加わると、アルドステロンは一転して心血管リスクホル



モンとして炎症を誘導することになる。原発性アルドステロン症は、副腎の病変により高アルドステロン血症を示す疾患であり、食塩摂取量にかかわらず高アルドステロン血症を示すことから、アルドステロンによる心血管疾患が起きやすい。実際に、同程度に血圧をコントロールした本態性高血圧症と比べて、脳卒中、心血管疾患などが明らかに多いことが社会問題となっており、この疾患の治療は、高血圧だけではなく、高血圧と高アルドステロン血症の2つを治療しなくてはならないということを示している。

原発性アルドステロン症は、私が学生時代に講義で学んだ頃は高血圧症の1%未満であると習ったが、近年は5%~10%という報告が多く、日本人の高血圧患者が約3500万人であることをふまえると、想像を超える数の原発性アルドステロン症患者が診断されていないと思われる。したがって、内分泌代謝科専門医である我々のみならず、内科に高血圧で受診された患者さんを対象に、原発性アルドステロン症の診断を推進する必要がある。幸いにも私は、日本内分泌学会の原発性アルドステロン症検討委員会と厚生科学研究費補助金「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班」に参加して、日本における診断ガイドライン作成に従事する機会を得ることができた。今後、このガイドラインの啓蒙と実践により、一人でも多くの原発性アルドステロン症が診断されて、適切な治療を受けることにより、日本人に多い脳卒中等が

減ることを祈っている一人である。

また、降圧薬を3種類以上内服しないと血圧がコントロールされない難治性高血圧も問題となっている。これらの中に、睡眠時無呼吸症候群やメタボリックシンドロームなどが含まれており、これらの例では4剤目の薬剤としてアルドステロン受容体拮抗薬を少量加えるだけで、著明な血圧低下がおきることが示されている。つまり、明らかな高アルドステロン血症がなくても、アルドステロンが高血圧の大きな原因となっているような症例が増えている（我々は、この病態を「アルドステロン関連高血圧」として提唱している）。当科の診療では、伊藤裕教授の指導のもとで、数多くの高血圧患者の中から治療可能な原発性アルドステロン症を見つけると同時に、原発性アルドステロン症よりもさらに患者数が多いと予想される「アルドステロン関連高血圧」をいかに高血圧症例の中からスクリーニングすべきかを明らかにする臨床研究を予定している。アルドステロンは、1990年初めにその合成酵素P450aldoの発見により研究レベルで一大ブームを呼んだが、その後18年ほどを経て、再び、内分泌臨床上の大きな話題となっている。「慶應医学」誌も休刊の後にまた新たな形で再出発する日が楽しみである。

柴田洋孝

(慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科)



慶 應 医 学

第 85 卷 総 目 次

平 成 21 年

Journal of The Keio Medical Society

Volume 85

2009



## 第 1 号

### 特別寄稿

日米医学部学生の臨床研修交流 .....安田健次郎.....( 1)

### 講 座

肺腫瘍の凍結療法 .....川村 雅文・泉 陽太郎・塚田 紀理・朝倉 啓介・中塚 誠之・  
屋代 英樹・井上 政則・栗林 幸夫・小林 紘一.....( 5)

### 受賞記念講座 (北島賞)

Helicobacter pylori 感染症と慶應医学 .....鈴木 秀和.....( 13)

### 受賞記念講座 (三四会奨励賞)

神経変性と小胞体ストレス .....伊東 大介.....( 25)

インスリン抵抗性改善剤の有用性と使用の動向 .....河合 俊英.....( 31)

感音難聴への治療戦略 .....山下 大介.....( 39)

### 話 題

医学研究における光技術の応用 .....塗谷 睦生.....( 47)

「木を見て森を見る」研究者と「森を見て木を見る」医師 .....涌井 昌俊.....( 48)

まだ、皮膚潰瘍やびらんを消毒していますか .....木花 光.....( 49)

### 学会展望

第 14 回慶應義塾大学形成外科同門会学術集会プログラム .....( 51)

第 15 回慶應義塾大学形成外科同門会学術集会プログラム .....( 58)

第 16 回慶應義塾大学形成外科同門会学術集会プログラム .....( 64)

### 学位論文

傍黄斑部網膜毛細血管血流の定量的評価法の確立と黄斑部疾患への応用 .....木村 至.....(T 1)

## 第 2 号

### 特別寄稿

慶應義塾大学医学所と大学医学部の創設 自然科学教育の重視 .....安田健次郎.....( 79)

慶應義塾大学「薬化学研究所」-創設から廃止までの 60 年- (補遺).....柴田 徹一.....(111)

### 綜 説

食道癌集学的治療の現況と展望 .....北川 雄光.....(127)

乳癌と HER2/ErbB2 .....菊池 潔・上田 政和.....(137)

甲状腺外科：歴史と現状 .....高見 博.....(143)

### 講 座

上肢の先天異常とその治療 .....高山真一郎.....(149)

呼吸中枢 .....岡田 泰昌.....(159)

### 受賞記念講座 (坂口光洋記念慶應義塾医学振興基金奨励研究)

成体脳におけるニューロン新生 .....小島 拓郎・廣田 ゆき・澤本 和延.....(169)

### 受賞記念講座 (三四会奨励賞)

STAT3/SOCS3 経路は網膜視細胞の分化のタイミングを制御する .....小澤 洋子.....(179)

非アルコール性脂肪肝炎の現況と今後 .....富田 謙吾.....(185)

脊髄損傷後の軸索再生制御機構の解明と軸索再生促進へのストラテジー  
.....金子慎二郎・中村 雅也・戸山 芳昭・岡野 栄之.....(191)

### 原 著

Ⅲ度熱傷創の感染発症に対する経静脈投与抗菌薬の有効性と  
薬剤移行機序に関する実験的検討 .....田熊 清継.....(197)



話 題	
これからの緩和医療	橋口さおり……(211)
アルドステロンと高血圧	柴田 洋孝……(212)
第 85 巻総目次	……(214)
Key Word 索引	……(217)
著者名索引	……(219)
雑 報	……(220)
学 位 論 文	
筋緊張性ジストロフィー脳の神経原線維変化と酸化的障害	小山田玲子……(T13)
尺骨の短縮が遠位橈尺関節の安定性および圧に与える影響	西脇 正夫……(T23)
Calcium pentosan polysulfate による TIMP-3 産生亢進と ADAMTS4 アグリカナーゼ 活性阻害作用	滝沢 雅之……(T37)
日本人小児の肥満—診断・頻度・国際比較—	井ノ口美香子……(T53)
頭頸部扁平上皮癌における <i>cyclin D1</i> 遺伝子の異常増幅は化学療法、放射線化学療法への 抵抗性の指標となる	石黒隆一郎……(T87)
小児、青年期における白衣高血圧と仮面高血圧の検討	松岡 誠治……(T99)
突発性難聴におけるストレス反応に関する検討	伊藤 まり ……(T109)



# Key Word 索引

第 85 卷 2009

<b>A</b>		homogeneously staining region (HSR).....(2)	T87
ADAMTS4.....(2)	T37	hypoplastic thumb .....(2)	149
ambulatory blood pressure monitoring ... (2)	T99	hypothyroidism .....(2)	143
apoptosis .....(1)	39	<b>I</b>	
<b>B</b>		infection.....(2)	197
body mass index .....(2)	T53	insulin resistance .....(1)	31
brainstem .....(2)	T13	intrinsic growth ability.....(2)	191
burn wound .....(2)	197	<b>L</b>	
<b>C</b>		Lipodystrophy .....(1)	25
CaPPS.....(2)	T37	lung cancer .....(1)	5
childhood obesity .....(2)	T53	<b>M</b>	
cochlear blood flow .....(2)	T109	macula .....(1)	T1
conditioning lesion .....(2)	T191	masked hypertension.....(2)	T99
congenital anomaly .....(2)	149	metabolic syndrome .....(1)	31
cryoablation .....(1)	5	Metabolic syndrome .....(2)	185
cyclin D1 .....(2)	T87	metastatic pulmonary tumor .....(1)	5
<b>D</b>		Motor neuron disease .....(1)	25
degree of malignancy .....(2)	143	myotonic dystrophy .....(2)	T13
distal radioulnar joint .....(2)	T23	<b>N</b>	
drug delivery system.....(1)	39	national references .....(2)	T53
<b>E</b>		neoadjuvant chemotherapy (NAC) .....(2)	T87
Endoplasmic reticulum stress.....(1)	25	neurofibrillary tangles .....(2)	T13
epiretinal membrane .....(1)	T1	neuropeptide Y .....(2)	T109
<b>F</b>		noise exposure .....(1)	39
fluorescence <i>in situ</i> hybridization (FISH) .....(2)	T87	Nonalcoholic fatty liver disease .....(2)	185
Free Radical Analytical System 4.....(2)	T109	Nonalcoholic steatohepatitis .....(2)	185
<b>H</b>		normal .....(1)	T1
hand .....(2)	149	<b>O</b>	
head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC).....(2)	T87	osteoarthritis .....(2)	T37
HER2/ErbB2 .....(2)	137	oxidative products .....(2)	T13
		<b>P</b>	
		pharmacokinetics .....(2)	197
		polydactyly .....(2)	149



pressure	(2)	T23
Proteasome	(1)	25
pulmonary tumor	(1)	5

R

recurrent laryngeal nerve pasly	(2)	143
regeneration	(1)	39
retinal blood flow	(1)	T1
reverse white coat hypertension	(2)	T99
rheumatoid arthritis	(2)	T37

S

Semaphorin 3A	(2)	191
sensorial hearing loss	(1)	39
stability	(2)	T23
stress	(2)	T109
sudden deafness	(2)	T109
syndactyly	(2)	149
systemic antibiotics	(2)	197

T

tetany	(2)	143
thiazolidinedione	(1)	31
thyroid surgery	(2)	143
TIMP-3	(2)	T37
trastuzumab	(2)	137
triangular fibrocartilage complex	(2)	T23

U

Ubiquitin	(1)	25
ulnar shortening	(2)	T23

V

visceral fat	(1)	31
vitrectomy	(1)	T1

W

waist circumference	(2)	T53
white coat effect	(2)	T99
white coat hypertension	(2)	T99

か

合成遺伝子とナテグリド	(2)	111
化学療法と天然物化学	(2)	111
慶應義塾と医学部	(2)	111

さ

細胞移動	(2)	169
軸索再生阻害因子	(2)	191
神経幹細胞	(2)	169
神経再生	(2)	169
成体脳	(2)	169

た

転移性肺腫瘍	(1)	5
凍結療法	(1)	5

な

乳癌	(2)	137
脳梗塞	(2)	169

は

肺がん	(1)	5
肺腫瘍	(1)	5
分子標的治療	(2)	137

ま

ミエリン関連蛋白質	(2)	191
-----------	-----	-----

や

薬化学研究所	(2)	111
--------	-----	-----



# 著者名索引

第 85 卷 2009

H  
橋口 さおり ……………(2) 211  
廣田 ゆき ……………(2) 169

I  
伊東 大介 ……………(1) 25  
伊藤 まり ……………(2) T109  
石黒 隆一郎 ……………(2) T87  
井ノ口 美香子 ……………(2) T53

K  
金子 慎二郎 ……………(2) 191  
河合 俊英 ……………(1) 31  
川村 雅文 ……………(1) 5  
菊池 潔 ……………(2) 137  
北川 雄光 ……………(2) 127  
木村 至 ……………(1) T1

小島 拓郎 ……………(2) 169  
木花 光 ……………(1) 49

M  
松岡 誠治 ……………(2) T99

N  
西脇 正夫 ……………(2) T23  
塗谷 睦生 ……………(1) 47

O  
岡田 泰昌 ……………(2) 159  
小澤 洋子 ……………(2) 179  
小山田 玲子 ……………(2) T13

S  
澤本 和延 ……………(2) 169  
柴田 徹一 ……………(2) 111

柴田 洋孝 ……………(2) 212  
鈴木 秀和 ……………(1) 13

T  
高見 博 ……………(2) 143  
高山 真一郎 ……………(2) 149  
滝沢 雅之 ……………(2) T37  
田熊 清継 ……………(2) 197  
富田 謙吾 ……………(2) 185

Y  
安田 健次郎 ……………(1) 1  
安田 健次郎 ……………(2) 79  
山下 大介 ……………(1) 39

W  
涌井 昌俊 ……………(1) 48



## 雑 報

### 慶應医学会例会第 1546 回

日 時 平成 20 年 1 月 12 日 (土) 午後 4 時 30 分  
 場 所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ  
 演 題 Stem cell-based regenerative therapies in patients with acute and chronic myocardial infarction: determinants and predictors of functional benefit  
 演 者 Andreas M Zeiher, M.D., Ph.D.  
 Chairman and Professor,  
 Department of Medicine, J. W. Goethe University  
 Germany

担 当 再生医学教室

### 慶應医学会例会第 1547 回

日 時 平成 20 年 1 月 22 日 (火) 午後 6 時 30 分  
 場 所 中会議室  
 演 題 Chronic Graft-versus-Host Disease : Murine Models and Human Therapy  
 演 者 Paul J Martin, M.D.  
 Fred Hutchinson Cancer Research Center  
 University of Washington. Dept of Medical  
 Oncology  
 U.S.A.

担 当 内科学 (血液) 教室

### 慶應医学会例会第 1548 回

日 時 平成 20 年 1 月 23 日 (水) 午後 7 時 00 分  
 場 所 講堂 2 (新教育研究棟 3 階)  
 演 題 1) Tendon transfers for paralytic hand & upper extremity principles and clinical application. (麻痺手に対する腱移行)  
 2) Traumatic lesion of the forearm interosseous membrane (前腕骨間膜の外傷による損傷)  
 演 者 1) Caroline Leclercq, Professor  
 2) Chrischan Dumontier, Professor  
 Institute de la Main, Paris,  
 France

担 当 整形外科教室

### 慶應医学会例会第 1549 回

日 時 平成 20 年 2 月 9 日 (土) 午前 9 時 00 分  
 場 所 新教育研究棟 4 階 講堂 3  
 演 題 1) Airway Pressure Release Ventilation (APRV) and Role of Spontaneous Breathing  
 2) Practical Application of APRV  
 3) Workshop : APRV Case Studies  
 演 者 1) Penny Andrews, RN, DSN

Staff Nurse, Neurotrauma Critical Care Unit,  
 R Adams Cowley Shock Trauma Center

2) Toru Kotani, M.D.

東京女子医科大学麻酔科学准教授

3) Nader M Habashi, M.D., FACP, FCCP

Associate Professor, Department of Medicine,

University of Maryland, School of Medicine

担 当 麻酔学教室

### 慶應医学会例会第 1550 回

日 時 平成 20 年 2 月 12 日 (火) 午後 6 時 00 分  
 場 所 新棟 11 階大会議室  
 演 題 Vascular Research : From Bench to Bedside  
 演 者 Aruna R. Natarajan, M.D., FAAP  
 Assistant Professor of Pediatrics and Attending  
 Physician,  
 Division of Critical Care, Georgetown University  
 Hospital,  
 Pediatric Critical Care Medicine,  
 U.S.A.

担 当 小児科学教室

### 慶應医学会例会第 1551 回

日 時 平成 20 年 3 月 13 日 (木) 午後 6 時 00 分  
 場 所 リハビリテーションセンター  
 演 題 Prevalence of musculoskeletal conditions in the elderly with coronary artery disease and its impact on their ability to participate in a cardiac rehabilitation program.  
 演 者 Carmen M. Terzic, M.D., Ph.D.  
 Department of Physical Medicine and Rehabilitation,  
 Mayo Clinic College of Medicine, Minnesota,  
 United States.

担 当 リハビリテーション医学

### 慶應医学会例会第 1552 回

日 時 平成 20 年 3 月 13 日 (木) 午後 6 時 30 分  
 場 所 第一会議室  
 演 題 Motor cognition : body schema and body ownership  
 演 者 Patrick Haggard, Ph.D.  
 Institute of Cognitive Neuroscience, University  
 College London

担 当 精神・神経科学教室



**慶應医学会例会第 1553 回**

日 時 平成 20 年 3 月 22 日 (土) 午後 4 時 00 分  
 場 所 新教育研究棟 3 階 講堂 2  
 演 題 シュウ酸からオキサロースまでの 30 年の歩み  
 演 者 Yoshihide Ogawa, M.D.  
 琉球大学医学部泌尿器科  
 担 当 泌尿器科学教室

**慶應医学会例会第 1554 回**

日 時 平成 20 年 3 月 22 日 (土) 午前 9 時 00 分  
 場 所 新教育研究棟 4 階 講堂 3  
 演 題 Genetics of autism and mental retardation :  
 similarities and differences  
 演 者 Christopher A. Walsh, M.D., Ph.D.  
 Professor of Neurology and Pediatrics,  
 Harvard Medical School  
 U.S.A.  
 担 当 小児科学教室

**慶應医学会例会第 1555 回**

日 時 平成 20 年 3 月 14 日 (金) 午後 5 時 00 分  
 場 所 リサーチパーク ラウンジ  
 演 題 Platelets in vascular pathobiology :  
 a link between viral infection and hemostasis  
 演 者 Zaverio M Ruggeri, M.D.  
 Department of molecular and experimental  
 medicine,  
 the scripps research institute  
 U.S.A.  
 担 当 内科学 (血液) 教室

**慶應医学会例会第 1556 回**

日 時 平成 20 年 3 月 31 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 Cardiac Stem Cells : Engineered to Enhance  
 Myocardial Regeneration  
 演 者 Mark Alan Sussman, Ph.D.  
 Professor, Department of Biology,  
 San Diego State University,  
 U.S.A.  
 担 当 再生医学教室

**慶應医学会例会第 1557 回**

日 時 平成 20 年 4 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 Barrier dysfunction due to defensin deficiency  
 in Crohn's disease  
 演 者 Eduard F Stange, M.D.  
 Chefarzt  
 Abteilung für Innere Medizin 1

Schwerpunkte Gastroenterologie, Hepatologie  
 und Endokrinologie  
 Robert Bosch Krankenhaus  
 担 当 消化器内科学教室

**慶應医学会例会第 1558 回**

日 時 平成 20 年 4 月 22 日 (火) 午後 5 時 00 分  
 場 所 新棟 11 階大会議室  
 演 題 ワークショップ :  
 「エビデンス・レベルだけでは論じられない症例  
 報告の価値」  
 演 者 John Carey, MD, MPH, FAAP  
 Professor, Department of Pediatrics  
 University of Utah College of Medicine,  
 U.S.A.  
 担 当 小児科学教室

**慶應医学会例会第 1559 回**

日 時 平成 20 年 4 月 25 日 (金) 午後 5 時 00 分  
 場 所 東校舎 1 階 セミナー室  
 演 題 OPG and RANKL : cellular and molecular  
 mechanism and their involvement during  
 osteoarthritis pathology  
 演 者 Steeve Kwan Tat, Ph.D.  
 Osteoarthritis Research Unit,  
 University of Montreal Hospital Centre,  
 Notre-Dame Hospital, Montreal, Quebec,  
 Canada  
 担 当 微生物学・免疫学教室, 整形外科学教室, 病理学  
 教室

**慶應医学会例会第 1560 回**

日 時 平成 20 年 4 月 22 日 (火) 午後 6 時 00 分  
 場 所 新教育研究棟 4 階 講堂 3  
 演 題 Advances in management of PUJ obstruction  
 演 者 Narmada P Gupta, M.D.  
 All India Institute of Medical Sciences  
 India  
 担 当 泌尿器科学教室

**慶應医学会例会第 1561 回**

日 時 平成 20 年 5 月 7 日 (水) 午後 6 時 00 分  
 場 所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ  
 演 題 1) Genetisc of Tolerance  
 2) Treg control of diabetes progression  
 演 者 1) Christophe Benoist, M.D. Ph.D.  
 Joslin Diabetes Center  
 U.S.A.  
 2) Diane Mathis, M.Sc.Ph.D.  
 Joslin Diabetes Center



U.S.A.  
担当 内科学教室

**慶應医学会例会第 1562 回**

日時 平成 20 年 5 月 9 日 (金) 午後 6 時 00 分  
場所 講堂 3  
演題 Role of the Renin-Angiotensin System in the  
Development of the Ureteric Bud and Renal  
Collecting System  
演者 Ihor V. Yosypiv, M.D.  
Section of Pediatric Nephrology,  
Department of Pediatrics,  
Tulane University Health Sciences Center  
U.S.A.

担当 小児科学教室

**慶應医学会例会第 1563 回**

日時 平成 20 年 5 月 12 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 1) The role of dendritic cells in tolerance induc-  
tion  
2) New insights into cutaneous dendritic cells  
演者 1) Alexander H. Enk, M.D.  
Professor and Chairman  
Department of Dermatology  
University of Heidelberg  
Heidelberg  
F.R.G.  
2) Mark C. Udey, M.D., Ph.D.  
Chief, Dermatology Branch and Deputy  
Director  
Center for Cancer Research  
National Cancer Institute, NIH  
U.S.A.

担当 皮膚科学教室

**慶應医学会例会第 1564 回**

日時 平成 20 年 5 月 21 日 (水) 午後 5 時 00 分  
場所 東校舎 1 階 会議室  
演題 制御性 T 細胞の分化ならびに機能に関する転写  
因子  
演者 Masahide Tone, Ph.D.  
Pathology and Laboratory Medicine  
University of Pennsylvania  
U.S.A.

担当 微生物学免疫学

**慶應医学会例会第 1565 回**

日時 平成 20 年 5 月 23 日 (金) 午後 6 時 00 分  
場所 東校舎講堂

演題 「死の臨床における一考察  
ースピリチュアル・ペインをめぐってー」  
演者 Alfons Deeken, Ph.D.  
東京・生と死を考える会  
上智大学名誉教授  
担当 医学教育統轄センター

**慶應医学会例会第 1566 回**

日時 平成 20 年 5 月 28 日 (水) 午後 6 時 30 分  
場所 マルチメディアカンファレンス  
演題 High Stakes Medical Simulation  
-Integrating Human Simulation into NASA  
演者 HAROLD KENNETH DOERR, M.D.  
Associate Professor  
Director for Houston Center for Advanced  
Patient Simulation  
Department of Anesthesiology  
Baylor College of Medicine  
U.S.A.

担当 医学教育統轄センター

**慶應医学会例会第 1567 回**

日時 平成 20 年 6 月 11 日 (水) 午後 6 時 30 分  
場所 リサーチパーク 1 F ラウンジ  
演題 Teaching lymphocytes where to go :  
mechanisms imprinting gut-homing lympho-  
cytes  
演者 J. Rodrigo MORA, M.D., Ph.D.  
Massachusetts General Hospital,  
Harvard Medical School  
U.S.A.

担当 消化器内科学教室

**慶應医学会例会第 1568 回**

日時 平成 20 年 6 月 13 日 (金) 午後 5 時 00 分  
場所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ  
演題 1) Type-1 Immunity for Brain Tumor Immuno-  
therapy -Roles of chemokines and micro-  
RNAs  
2) Multidisciplinary Management of High-  
Grade Gliomas  
演者 1) Hideho Okada, M.D. PhD.  
Department of Neurosurgery and Surgery  
University of Pittsburgh School of Medicine  
U.S.A.  
2) Victor A Levin, M.D.  
Department of Neuro-Oncology  
The University of Texas  
M. D. Anderson Cancer Center  
U.S.A.



担 当 脳神経外科・先端医学研究所

**慶應医学会例会第 1569 回**

日 時 平成 20 年 6 月 10 日 (火) 午後 6 時 00 分

場 所 東校舎講堂

演 題 ふたごが明かす脳と行動の形成過程

演 者 安藤 寿康 先生

慶應義塾大学文学部 教授

担 当 小児科学教室

**慶應医学会例会第 1570 回**

日 時 平成 20 年 6 月 30 日 (月) 午後 6 時 00 分

場 所 東校舎 1 階セミナー室

演 題 Treg suppressive mechanism by apoptosis

「アポトーシスを介した制御性 T 細胞の作用機序」

演 者 Michael J. Lenardo, M.D.

Chief, Laboratory of Immunology,

Molecular Development of the Immune System  
Section,

National Institute of Allergy and Infectious  
Diseases,

National Institute of Health

U.S.A.

担 当 微生物学・免疫学教室

**慶應医学会例会第 1571 回**

日 時 平成 20 年 7 月 1 日 (火) 午後 7 時 00 分

場 所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ

演 題 Innate immune responses to bacteria in the  
lungs

演 者 Joseph P Mizgerd, Sc.D.

Department of Environmental Health,

Harvard School of Public Health

U.S.A.

担 当 内科学 (呼吸器内科) 教室

**慶應医学会例会第 1572 回**

日 時 平成 20 年 7 月 4 日 (金) 午後 6 時 00 分

場 所 東校舎講堂

演 題 Ethics and clinical research : How much risk  
should we accept?

演 者 Reidar Lie, M.D., Ph.D.

NIH Clinical Center

Professor of Philosophy, University of Bergen,  
Norway

担 当 医学教育統轄センター・クリニカルリサーチセン  
ター

**慶應医学会例会第 1573 回**

日 時 平成 20 年 6 月 28 日 (土) 午後 3 時 00 分

場 所 新臨床研究棟 1 階ラウンジ

演 題 New Radiographic Technique for Investigating  
the Lymphatic System in a Cadaver

演 者 Hiroo Suami, M.D., Ph.D.

The Jack Brockhoff Reconstructive Plastic  
Surgery Research Unit, Department of Ana-  
tomy and Cell Biology,  
University of Melbourne, Parkville, Victoria,  
Australia

担 当 形成外科学教室

**慶應医学会例会第 1574 回**

日 時 平成 20 年 7 月 9 日 (水) 午後 7 時 00 分

場 所 新教育研究棟 2F 会議室 1

演 題 Development of Cell Replacement Therapy for  
the Cochlea

演 者 Albert Edge, Ph.D.

Department of Otology and Laryngology,  
Harvard Medical School Eaton-Peabody Labo-  
ratory, Massachusetts Eye and Ear Infirmary  
U.S.A.

担 当 耳鼻咽喉科学教室

**慶應医学会例会第 1575 回**

日 時 平成 20 年 7 月 14 日 (月) 午後 6 時 30 分

場 所 総合医科学研究棟 会議室 3

演 題 The use of Information Technology in a Medi-  
cal Anatomy Curriculum

演 者 Kanchan H. Rao, M.D.

Department of Medicine

University of Pittsburgh School of Medicine

Office of Development

Robert Morris University School of Osteopa-  
thic Medicine

U.S.A.

担 当 医学教育統轄センター

**慶應医学会例会第 1576 回**

日 時 平成 20 年 7 月 26 日 (土) 午前 11 時 00 分

場 所 中央棟 5 階 カンファレンスルーム

演 題 Perioperative Regulation of Thrombin Forma-  
tion

演 者 Kenichi Tanaka, MD, MSc

Associate Professor of Anesthesiology

Emory University School of Medicine

U.S.A.

担 当 麻酔学教室



**慶應医学会例会第 1577 回**

日 時 平成 20 年 7 月 28 日 (月) 午後 7 時 00 分  
 場 所 新教育研究棟講堂 2  
 演 題 The Cognitive Neuroscience of False Beliefs  
 演 者 Martin L. Albert, M.D., Ph.D.  
 Professor and Chief,  
 Behavioral Neurology Section, Boston University  
 School of Medicine, and Director, Aphasia  
 Research Center  
 U.S.A.  
 担 当 精神・神経科学教室

**慶應医学会例会第 1578 回**

日 時 平成 20 年 7 月 25 日 (金) 午後 7 時 00 分  
 場 所 中会議室  
 演 題 New approaches to AML in the U.S.  
 Novel agents and Risk stratification  
 演 者 Stephen Hans Petersdorf, M.D.  
 Seattle Cancer Alliance  
 U.S.A.  
 担 当 内科学 (血液) 教室

**慶應医学会例会第 1579 回**

日 時 平成 20 年 8 月 4 日 (月) 午後 7 時 00 分  
 場 所 総合医科学研究棟 1 階 ラウンジ  
 演 題 Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Risk  
 : A Nanotechnology Approach  
 演 者 Preston Mason, M.D., Ph.D.  
 Cardiovascular Division  
 Department of Medicine Brigham & Women's  
 Hospital  
 Harvard Medical School  
 President and Founder Elucida Research LLC  
 U.S.A.  
 担 当 再生医学教室

**慶應医学会例会第 1580 回**

日 時 平成 20 年 9 月 2 日 (火) 午後 6 時 00 分  
 場 所 新棟 11 階 大会議室  
 演 題 Adolescent Depression and Suicide  
 演 者 Donald Everett Greydanus, M.D.  
 Professor of Pediatrics and Human Development  
 Michigan State University College of Human  
 Medicine  
 Michigan,  
 U.S.A.  
 担 当 小児科学教室

**慶應医学会例会第 1581 回**

日 時 平成 20 年 9 月 29 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 Immune regulation by Dendritic cells and regu-  
 latory T cells  
 演 者 Gosse Adema, Prof.  
 Nijmegen Centre for Molecular Life Sciences,  
 Radboud University Nijmegen Medical Centre  
 Netherland  
 担 当 先端研 (細胞) 教室

**慶應医学会例会第 1582 回**

日 時 平成 20 年 9 月 17 日 (水) 午後 5 時 30 分  
 場 所 総合医科学研究棟 1 階 ラウンジ  
 演 題 The Roles of Beta 1-integrins during Focal  
 Cerebral Ischemia  
 演 者 Gregory J. del Zoppo, Ph.D  
 University of Washington, Seattle  
 U.S.A.  
 担 当 神経内科教室

**慶應医学会例会第 1583 回**

日 時 平成 20 年 9 月 18 日 (木) 午後 6 時 00 分  
 場 所 総合医科学研究棟 1 階 ラウンジ  
 演 題 Macrophage Iron Signaling and Myofibroblast  
 Cell Fate Regulation  
 演 者 Hidekazu Tsukamoto, DVM, Ph.D.  
 Professor of Pathology  
 Director  
 Southern California Res. Center for ALPD and  
 Cirrhosis  
 Keck School of Medicine of the University of  
 Southern California  
 U.S.A.  
 担 当 消化器内科学教室

**慶應医学会例会第 1584 回**

日 時 平成 20 年 9 月 27 日 (土) 午後 4 時 00 分  
 場 所 新教育研究棟 2 階 講堂 1  
 演 題 藤田保健衛生大学における献腎移植  
 演 者 星長清隆 教授  
 藤田保健衛生大学 泌尿器科学教室  
 担 当 泌尿器科学教室

**慶應医学会例会第 1585 回**

日 時 平成 20 年 9 月 29 日 (月) 午後 7 時 00 分  
 場 所 総合医科学研究棟 1 階 ラウンジ  
 演 題 Interstitial cells of Cajal in health and disease  
 演 者 Kenton N Sanders, Ph.D.  
 University of Nevada Reno



U.S.A.  
担当 消化器内科学教室

**慶應医学会例会第 1586 回**

日時 平成 20 年 9 月 30 日 (火) 午後 4 時 30 分  
場所 総合医科学研究棟 1F ラウンジ  
演題 1) Immunoregulatory roles for STAT 3 and  
STAT 5  
2) Mechanisms Controlling type I Interferon  
Responses by Plasmacytoid Dendritic Cells  
演者 1) Stephanie S Watowich, Ph.D.  
Department of Immunology  
UT MD Anderson Cancer Center  
U.S.A.  
2) Wei Cao, Ph.D.  
Department of Immunology  
UT MD Anderson Cancer Center  
U.S.A.  
担当 微生物学免疫学教室 G-COE SEMINAR 2008 共  
催

**慶應医学会例会第 1587 回**

日時 平成 20 年 10 月 6 日 (月) 午後 5 時 00 分  
場所 東校舎 1 階会議室  
演題 Dendritic cells are specialized antigen present-  
ing cells to control  
antigen specific Foxp 3+ regulatory T cells  
演者 山崎小百合先生  
Rockefeller University  
U.S.A.  
担当 微生物学免疫学教室

**慶應医学会例会第 1588 回**

日時 平成 20 年 10 月 10 日 (金) 午後 6 時 00 分  
場所 総合医科学研究棟会議室 3  
演題 Evolving Emergency Medicine in the world  
演者 Jeffrey L Arnold, M.D.  
Santa Clara Valley Medical Center  
U.S.A.  
担当 救急部

**慶應医学会例会第 1589 回**

日時 平成 20 年 10 月 14 日 (火) 午後 6 時 00 分  
場所 孝養舎 202  
演題 Symposium "Update on the therapeutic strat-  
egy for sensorineural hearing loss"  
1) Gene therapy and cell-replacement therapy  
for sensorineural hearing loss  
2) Progress Towards the Development of an  
Inner Ear Drug Delivery System

3) Value of genetic testing in determination of  
therapy for auditory disorders  
4) Cochlear implantation : Effects of Child-  
hood Development

演者 1) Sho Kanzaki, M.D., Ph.D.  
慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科  
2) Michael J Mckenna, M.D.  
Massachusetts Eye and Ear Infirmary/  
Harvard Medical School, Boston, Massachu-  
setts, U.S.A.  
3) Tatsuo Matsunaga, M.D., Ph.D.  
国立病院機構東京医療センター 耳鼻咽喉科/  
臨床研究センター聴覚障害研究室  
4) John K Niparko, M.D.  
Department of Otolaryngology-Head and  
Neck Surgery,  
John Hopkins School of Medicine  
担当 耳鼻咽喉科学教室：大学院講義

**慶應医学会例会第 1590 回**

日時 平成 20 年 10 月 14 日 (火) 午後 6 時 00 分  
場所 第 2 校舎 4 階漢方医学センター  
演題 Clinical Research Methods for Complementary  
and Integrative Medicine  
演者 Claudia M Witt, MD, PhD, MBA  
Institute for Social Medicine,  
Epidemiology and Health Economics,  
Charite University Medical Center Berlin  
Germany  
担当 医学教育統括センター

**慶應医学会例会第 1591 回**

日時 平成 20 年 10 月 14 日 (火) 午後 6 時 00 分  
場所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ  
演題 How to get publish the best papers to "Nature  
Medicine"  
演者 Michael Basson, Ph.D.  
Nature Medicine  
U.S.A.  
担当 再生医学教室

**慶應医学会例会第 1592 回**

日時 平成 20 年 10 月 17 日 (金) 午後 6 時 00 分  
場所 マルチメディアカンファレンスルーム  
演題 Incorporating Professionalism into medical  
Education : The Mayo Clinic Experience  
演者 Paul S. Mueller, MD., M.P.H., FACP  
メイヨークリニック 内科  
U.S.A.  
担当 医学教育統括センター



**慶應医学会例会第 1593 回**

日 時 平成 20 年 10 月 24 日 (金) 午後 6 時 40 分  
 場 所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ  
 演 題 Integration of lipid metabolism and inflammation by LXRs  
 演 者 Peter Tontonoz, M.D., Ph.D.  
 Pathology and Laboratory Medicine  
 University of California, Los Angeles  
 U.S.A.  
 担 当 腎臓内分泌・代謝内科学教室

**慶應医学会例会第 1594 回**

日 時 平成 20 年 10 月 31 日 (金) 午後 5 時 00 分  
 場 所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ  
 演 題 Initiating Treatment in Parkinson's Disease :  
 the Challenges  
 演 者 Anthony E. Lang, M.D., FRCPC  
 Division of Neurology,  
 Toronto Western Hospital, Movement Disorders Clinic,  
 University of Toronto  
 Canada  
 担 当 神経内科教室

**慶應医学会例会第 1595 回**

日 時 平成 20 年 10 月 31 日 (金) 午後 5 時 00 分  
 場 所 総合医科学研究棟 3 階 会議室 3  
 演 題 Nitric Oxide Update 2008  
 演 者 Warren M Zapol, M.D.  
 Department of Anesthesia & Critical Medicine,  
 Massachusetts General Hospital  
 U.S.A.  
 担 当 呼吸器外科教室

**慶應医学会例会第 1596 回**

日 時 平成 20 年 11 月 4 日 (火) 午後 6 時 00 分  
 場 所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ  
 演 題 Signaling by hair cells and afferent neurons in  
 the vestibular inner ear  
 演 者 Ruth Anne Eatock, Ph.D.  
 Massachusetts Eye and Ear Infirmary/Harvard  
 Medical School, Boston, Massachusetts,  
 Depts. of Otology and Laryngology and Neurobiology  
 U.S.A.  
 担 当 耳鼻咽喉科学教室

**慶應医学会例会第 1597 回**

日 時 平成 20 年 11 月 4 日 (火) 午後 6 時 30 分  
 場 所 マルチメディアカンファレンスルーム (孝養舎 2

階)

演 題 What is Professionalism? Can it be taught?  
 演 者 Linda S. SNELL, M.D., MHPE  
 McGill 大学 内科 教授  
 Canada  
 担 当 医学教育統轄センター

**慶應医学会例会第 1598 回**

日 時 平成 20 年 11 月 19 日 (水) 午後 6 時-8 時  
 場 所 総合医科学研究棟 1 F ラウンジ  
 セミナー: Bone and Bowel  
 演 題 1) Ecto-purinergic Surface pH Regulation in  
 Bicarbonate Secreting Tissues  
 2) Osteoporosis in Gastrointestinal and Liver  
 Diseases  
 3) The Fate of Gastric Epithelial Cells During  
 Infection with H. pylori : From Birth, to  
 Death and Back  
 演 者 1) Jonathan D. Kaunitz, M.D.  
 Professor of Medicine  
 UCLA  
 2) Sheila E. Crowe, M.D., FRCPC  
 Professor  
 Department of Internal Medicine University  
 of Virginia  
 3) Peter B. Ernst, D.V.M., Ph.D.  
 Professor  
 Department of Internal Medicine University  
 of Virginia  
 担 当 微生物学・免疫学教室と内科学教室

**慶應医学会例会第 1599 回**

日 時 平成 20 年 11 月 21 日 (金) 午後 6 時 30 分  
 場 所 新教育研究棟 2 階 講堂 1  
 演 題 What are the limits of endoscopic sinus sur-  
 gery? : The expanded endonasal approach to  
 the skull base  
 演 者 Carl H Snyderman, M.D.  
 Department of Otolaryngology,  
 University of Pittsburgh Medical Center  
 U.S.A.  
 担 当 耳鼻咽喉科学教室

**慶應医学会例会第 1600 回**

日 時 平成 20 年 11 月 14 日 (金) 午後 6 時 00 分  
 場 所 北里図書館 第一会議室  
 演 題 The disorder of body ownership and embodi-  
 ment  
 演 者 Prof. Olaf Blanke, M.D.  
 Laboratory of Cognitive Neuroscience,



Brain Mind Institute, Swiss Federal Institute of  
Technology,  
Lausanne,  
Switzerland

担 当 精神神経科学教室

**慶應医学会例会第 1601 回**

日 時 平成 20 年 12 月 8 日 (月) 午後 6 時 00 分  
場 所 東校舎 2 階講堂  
演 題 Human and viral micro RNAs controlling NK  
activity  
演 者 Ofer Mandelboim, B.A., M.Sc., Ph.D.  
Associate professor  
Molecular Immunology,  
The Lautenberg Center for General and Tumor  
Immunology,  
The Hebrew University Hadassah Medical  
School  
Jerusalem, Israel

担 当 皮膚科学教室 G-COE プログラム共催

**慶應医学会例会第 1602 回**

日 時 平成 20 年 12 月 8 日 (月) 午後 6 時 00 分  
場 所 孝養舎 2 階 202 教室  
演 題 米国家庭医からみた日本版総合医プログラムへの  
提案  
演 者 Masahito Jimbo, M.D., Ph.D., MPH  
Department of Family Medicine  
University of Michigan  
U.S.A.

担 当 漢方医学センター

**慶應医学会例会第 1603 回**

日 時 平成 20 年 12 月 9 日 (火) 午後 6 時 00 分  
場 所 総合医科学研究棟 1 階ラウンジ  
演 題 Urinary Angiotensinogen as a Novel Bio-  
marker of Intrarenal RAS Activity

演 者 Hiroyuki Kobori, M.D., Ph.D.  
Associate Professor of Departments of Medi-  
cine and Physiology  
Tulane University Health Sciences Center  
U.S.A.

担 当 腎臓内分泌代謝内科学教室

**慶應医学会例会第 1604 回**

日 時 平成 20 年 12 月 16 日 (火) 午前 8 時 00 分  
場 所 放射線治療科会議室 (包括医療センター地下 1 階)  
演 題 Radiation Therapy with TOMO THERAPY  
演 者 Shi-Long Lian, M.D., Ph.D.  
高雄医学院放射線治療部 教授  
台湾

担 当 放射線治療・核医学教室

**慶應医学会例会第 1605 回**

日 時 平成 20 年 12 月 17 日 (水) 午後 4 時 00 分  
場 所 総合医科学研究棟 1F ラウンジ  
演 題 細胞分化における核内レセプター機能制御因子の  
同定と解析  
演 者 高田伊知郎 博士

東京大学分子細胞生物学研究所  
核内情報研究分野  
担 当 微生物学免疫学教室

**慶應医学会例会第 1606 回**

日 時 平成 20 年 12 月 22 日 (月) 午後 6 時 30 分  
場 所 新教育研究棟 3 階講堂 2  
演 題 The Staging and Prognostic Factors of Esopha-  
geal Cancer after Neoadjuvant Chemoradiation  
演 者 Daniel King Hung Tong, M.D.  
Department of Surgery  
The University of Hong Kong  
Queen Mary Hospital  
Hong Kong

担 当 一般・消化器外科学教室



編集委員 (◎副会長, ○理事)

◎栗林幸夫 ○岡田保典 ○四津良平 ○戸山芳昭  
饗庭了 竹内裕也 梅澤明弘 斎藤英胤  
林松彦 村田満 村松太郎 門川俊明

平成21年4月25日 印刷

平成21年4月30日 発行

編集者 末松 誠

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

〒160-0016 東京都新宿区信濃町35番地

国際医学情報センター内

電話(5363)3736

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下さい。

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、(財)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85巻第2号別頁  
平成 21 年 4 月 30 日

# 学 位 論 文

慶 應 医 学 会



## 学位論文

## 筋緊張性ジストロフィー脳神経原線維変化と酸化障害

慶應義塾大学精神神経科学教室

(指導：鹿島晴雄教授)

おやまだ れい こ  
小山田 玲子

Key Words : brainstem, myotonic dystrophy, neurofibrillary tangles, oxidative products

筋緊張性ジストロフィー (myotonic dystrophy, 以下 MyD と略) は緩徐進行性の多系統が障害される疾患で、ミオトニア、筋萎縮、前頭禿頭、白内障、睾丸萎縮、内分泌疾患、心疾患などの身体症状に加え、知的障害、軽度認知障害、多幸性、社会常識の欠如など様々な精神症状を示す、有病率 5 人/10 万人の疾患である。MyD の病理についてこれまでに、約 950 本の論文が報告されており、神経病理学的には、神経原線維変化 (neurofibrillary tangles, 以下 NFT と略)、視床小体、マリネスコ小体などを認める<sup>1-6)</sup>。これら身体症状の一部や神経病理学的所見は加齢に伴う変化として知られている。一方、代表的な加齢性変化としてアルツハイマー型認知症で多発する老人斑は、MyD では出現しない。これまで、アルツハイマー型認知症、パーキンソン病や筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患においては、すでに酸化障害に関係する分子の免疫組織化学的検討が報告されているが、MyD に関する報告は少ない。本研究では、加齢性変化の指標とされる NFT の分布を詳細に調べると共に、酸化物質の沈着につき、特に中脳中心灰白質と橋縫線核に注目して、免疫組織化学的に検討した。

## 対象と方法

臨床・病理学的に MyD と診断された 12 症例を対象とした。Table 1 に診療録調査に基づく臨床所見を示した。全症例がミオトニア、筋力低下、内分泌障害、精神症状を示し、神経病理学的には軽度脳萎縮に加え NFT と視床小体などを認めた。19 番染色体長腕 13.3 myotonic dystrophy protein kinase 遺伝子における cytosine-thymine-guanine (CTG) triplet repeat の伸長は検索した全例 (症例 7, 10, 11) で認められた。

各症例の家族に神経病理学的解析の同意を得た。ホルマリン固定脳の冠状断スライスを作成し、パラフィン包埋した。海馬を含む側頭葉皮質、基底核、中脳、橋上部の連続切片にヘマトキシリン・エオジン染色、ボディアン染色、ガリアス染色、メセナミン銀染色を行った。免疫組織化学的には microwave で抗原賦活化後 1% 過酸化水素で内在性のペルオキシダーゼ活性を抑制した。リン酸化タウに対するマウスモノクローナル抗体 (AT-8, Innogenex, CA 以下 AT-8 と略) を 1 : 2500 で, advanced glycation end product<sup>7)</sup> (熊本免疫科学研究所以下 AGE と略) を 1 : 1000 で, 4-hydroxy-2-nonenal-modified protein<sup>8)</sup> (4-HNE, Wako 化学, 東京 以下 4-HNE と略) を 1 : 1000 で, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine<sup>9)</sup> (同 以下 8OHdG と略) を 1 : 1000 で,  $\alpha$  シヌクレイン<sup>10)</sup> に対するウサギポリクローナル抗体 (Zymed Laboratories, CA) を 1 : 2 の濃度で使用した。免疫反応は streptavidin-biotin-complex/3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride 染色キット (ニチレイ, 東京) で可視化した。免疫組織化学的に 8OHdG として核酸を検出するために 10 U/ $\mu$ l の deoxyribonuclease I で切片を 37°C, 1 時間処理した。これらの免疫組織化学染色では中枢神経系に病理学的変化を認めない 4 例 (55, 58, 60, 70 歳) のコントロールを用いた。また、免疫染色の対照として、一次抗体の代わりに正常免疫グロブリンで切片を反応させた標本を用いた。NFT の出現については著者およびもう 1 名の神経病理学者により、ガリアス染色と AT8 免疫組織化学染色標本を鏡検した。一般的に後者の方がやや鋭敏であるとされるため、NFT の出現程度を AT8 免疫染色結果をもとに、4 段階 (対物 10 倍視野で 0 個 : - , 1 ~ 10 個 : 1 + , 11 ~ 30 個 : 2 + , 31 個 ~ : 3 +) に



Table 1 臨床所見

症例	罹病期間(年)	年齢(歳)	性別	IQ	HDS	記銘力障害	自発性低下	睡眠障害	その他の精神症状	死因
1	3	35	女	70	*	-	+	-	衝動的	気管内出血
2	6	65	女	*	*	-	-	-		心不全
3	7	58	女	*	*	-	-	不眠	拒絶	呼吸不全
4	9	46	女	82	23.5	+	+	過眠	病識欠如	心不全
5	9	60	女	*	*	+	-	不眠	徘徊など(注3)	肺水腫
6	12	55	男	*	*	+	-	-	病識欠如, 失計算	直腸癌
7	17	57	男	80	*	-	+	+		不整脈
8	18	54	男	82	27.5	+	+	睡眠リズム障害		肺炎
9	21	51	女	70	17.5	+	+	睡眠リズム障害	拒絶	不整脈
10	34	59	男	99	29	-	+	+	前頭葉機能障害(注1)	肺炎
11	35	59	男	*	21	-	-	+	病識欠如	肺炎
12	36	56	男	50	*	-	+	-	行動障害(注2)	窒息

IQ: 知能指数, HDS: 長谷川式簡易知能評価スケール, \*: 検査未実施, (空欄): 特に記載がなかった症例

(注1): 前頭葉機能検査(仮名拾い検査など)にて低下を示した

(注2): 大音量でラジオのイヤホンを片耳にだけつけ、テレビを見るなどの行動がみられた

(注3): 本文中の症例提示欄参照

自発性低下+: 具体的な無為・好癖な様子の記載が診療録にあった症例

-: 徘徊, 多動などの行動の記載から, 自発性低下が認められないと判断された症例

睡眠障害+: 不眠, 過眠, 睡眠リズム障害などの具体的記載でなく, 「睡眠障害あり」などの記載があった症例

-: 「良眠」など, 睡眠障害をみとめなかったという記載があった症例

-: 「良眠」など, 睡眠障害をみとめなかったという記載があった症例

(Oyamada R, et al: Neuropathology. 26: 107-114, 2006のTable 1を許可を得て転載)

分けて表記した。AGE, 4-HNE, 8OHdGについても同様に評価した。

加齢性変化をヘマトキシリン・エオジン, ボディアン, ガリアス, メセナミン銀およびAT8,  $\alpha$ シヌクレイン染色にて判定し, 4-HNE, AGE, 8OHdG染色にて酸化的障害を評価した。また, 12症例中診療録の記載が豊富であった1症例につき臨床症状を詳述し, 病理所見と対比した。

## 結 果

一般染色では視床小体やマリネスコ小体をみとめたが, ボディアン染色およびメセナミン銀染色で辺縁系, 基底核, 脳幹において対照およびMyDの全例で老人斑を認めなかった。 $\alpha$ シヌクレイン抗体による免疫染色では側頭葉, 海馬, 基底核, 脳幹のニューロピルが対照群とMyD群ともに染色された。また,  $\alpha$ シヌクレイン染色ではMyDの3例で黒質ないし青斑核においてレビー小体やpale bodyが認められた。

### 1. ガリアス染色・AT8免疫組織化学染色 (Table 2)

対照例4例には海馬CA1, 海馬台にわずかにNFTが認められた。それに比し, MyDの12例中11例に中側頭回, 海馬傍回皮質と海馬台に軽度から高度までのさまざまな程度にNFTが出現していた(Fig. 1)。症例1のみこれらの部位でNFTを認めなかった(Table 2)。

海馬ではMyDでNFTを認めた11例中9例でCA1にNFTを認め, その他の部位でNFTを認めたのは11例中の半数以下だった。また, 中脳と橋上部でも12例中11例にNFTを認めた。これら11例の中には辺縁系にNFTを全く認めなかった症例1も含まれている。症例9では橋にNFTを認めず, 中脳は検索できなかった。罹病期間・死亡年齢はNFTの出現程度や範囲に関連はなかった。脳重量1000g以下の症例2で辺縁系・脳幹共にNFTが多く出現しているのを除けば, 一般に脳萎縮の程度を反映するとされる脳重量もNFTの出現とは明らかな関連は認められなかった。精神症状(Table 1)とNFTの出現(Table 2)との関連を検討するために, 12症例を, NFTが多発している5例(症例2, 5, 6, 10, 12)を第1群と, NFTが少ない7例(症例1, 3, 4, 7, 8, 9, 11)を第2群とに分類したところ, 睡眠障害は, 第2群では6例(86%)であるのに対し, 第1群では1例(20%)のみであった。自発性低下を示したのは, 第2群では5例(71%), 第1群では2例(40%)であった。このように, 第1群に比し第2群の方が睡眠障害と自発性低下を呈した例が多かった。認知症症状, 記銘力障害, その他の精神症状の出現頻度については, 両群間に明らかな差はなかった。

### 2. 酸化物質の免疫組織化学

酸化物質の免疫組織化学染色として4-HNE, AGE, 8OHdGの3種を行ったが, 対照群4例においては, 4-



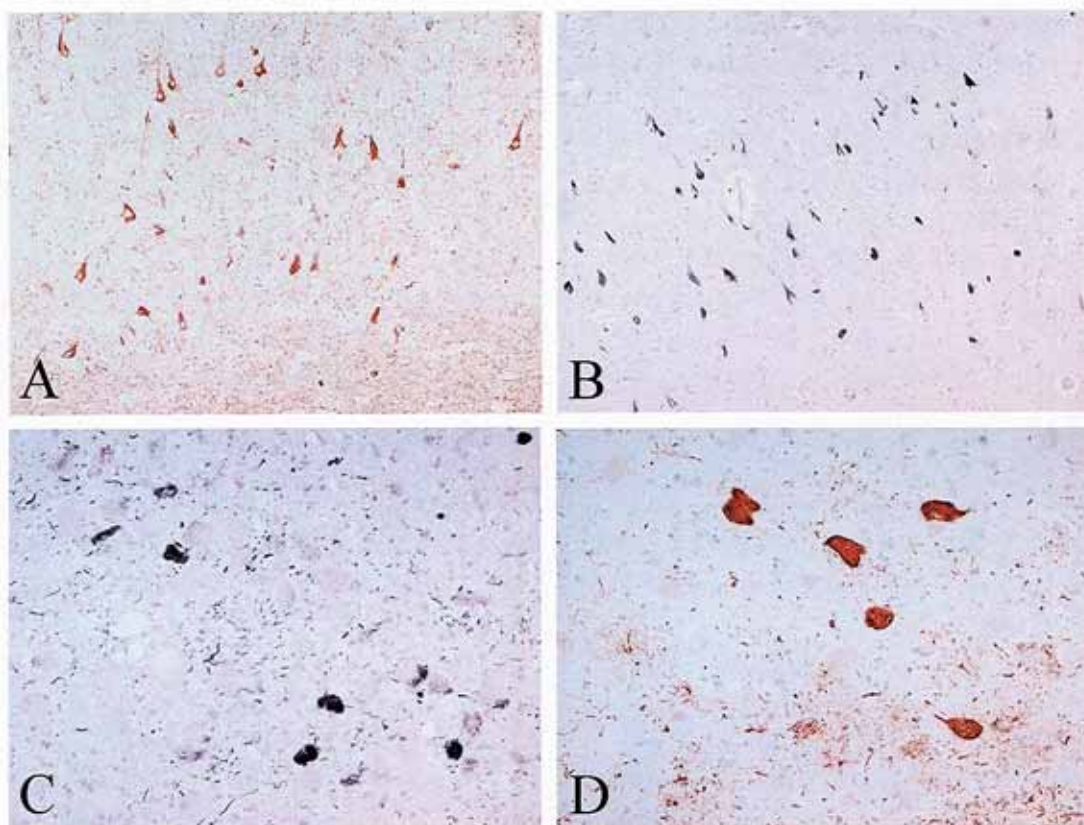


Fig. 1 ガリアス染色・抗 AT8 免疫染色所見

- A: 症例 2 海馬台の多数の NFT 抗 AT8 免疫染色 (×100)
- B: 症例 2 海馬台の多数の NFT ガリアス染色 (×100)
- C: 症例 10 青斑核の NFT ガリアス染色 (×200)
- D: 症例 3 中脳中心灰白質の NFT 抗 AT8 免疫染色 (×200)

(Oyamada R, et al: Neuropathology, 26: 107-114, 2006 の Fig. 1 を許可を得て転載)

Table 2 AT8 免疫組織化学染色の結果

症例	剖検時間 (時間)	脳重 (g)	Braak 分類	海馬			海馬台	嗅内皮質	中側頭回	黒質	CGM	青斑核	縫線核
				CA4	CA2,3	CA1							
1	4	1120		-	-	-	-	-	-		1+	1+	1+
2	4	936	III	1+	1+	2+	3+	3+	2+	1+	3+	1+	1+
3	2	1242	II	-	-	1+	1+	1+	1+	-	2+	1+	1+
4	8	1085	II	-	-	-	1+	1+	1+	-	1+	1+	1+
5	17	1072	III	1+	-	2+	2+	3+	2+	1+	2+	1+	1+
6	-	1070	III	1+	2+	1+	2+	3+	2+	1+	1+	1+	1+
7	12	1220	II	-	1+	1+	1+	2+	1+	1+	1+	1+	1+
8	2	1100	II	-	-	1+	1+	2+	1+	1+	1+	1+	1+
9	2	1100	II	-	-	1+	1+	2+	1+			-	-
10	12	1113	III	2+	1+	2+	3+	3+	3+	2+	2+	2+	2+
11	12	1370	II	-	-	-	1+	1+	1+	1+	-	1+	-
12	4		III	1+	-	1+	2+	3+	2+	1+	2+	1+	2+

CGM: 中脳中心灰白質

NFT の分布については AT8 免疫染色にて 2 名の神経病理学者 (RO, MH) により評価し、対物 10 倍視野で、0 個: -, 1~10 個: 1+, 11~30 個: 2+, 31 個~: 3+ に分類した。

(Oyamada R, et al: Neuropathology, 26: 107-114, 2006 の Table 2 を許可を得て転載)



HNE 染色でわずかに陽性を示す神経細胞が中側頭回皮質で認められるのみであった。AGE, 8OHdG は陰性であった。

8OHdG 染色では MyD の症例 5, 6 で中脳中心灰白質や大脳白質の神経細胞核に陽性所見を得た (Fig. 2)。

AGE による免疫活性は MyD12 例中, 中脳中心灰白質の神経細胞体で 4 例, 橋縫線核の神経細胞体で 3 例, 陽性を示した (Table 3, Fig. 2)。一方, 同免疫活性は中側頭回皮質や辺縁系では 12 例とも陰性であった。

Table 3 で示したように, 4-HNE の免疫活性は, 症例 1, 4 を除いた 12 例中 10 例 (83%) が嗅内皮質や中側頭回皮質の神経細胞体で陽性となった (Fig. 2)。また, 縫線核では症例 5, 8 を除いた 10 例 (83%) が同免疫活性を示した。MyD12 例の CA2, CA3, CA4 では 83%, 中脳中心灰白質では 64% で 4-HNE の免疫活性が認められた (Table 3)。

他方, 4-HNE 染色は, CA1 では半数以下の 5 例でしか陽性とならず, 海馬台では全症例で陰性であった (Table 3)。前述の 2 群間で神経細胞における 4-HNE の免疫活性の出現態度に明らかな差がなく, 同免疫活性は, NFT の分布, 程度および精神症状のいずれとも明らかな関連は見出せなかった。

### 3. 症例呈示

MyD 患者の精神症状について詳細な記述が得られた症例 5 につき経過と神経病理学的所見を検討した。

症例は, 死亡時 60 歳, 女性。同胞 8 名中 5 名が同病, 長女は同病かつ発達障害の遺伝負因あり。42 歳時, C 型肝炎と診断され, 48 歳時, 子宮筋腫手術, 51 歳時, 白内障手術の既往歴あり。幼少時より, 走るのが遅かった。24 歳時に結婚。25 歳頃より, 歩行も遅くなり, 手に持った物を落とすやすくなった。28 歳時に長女を出産。50 歳頃より, 腰を落とした姿勢で歩くようになり, 知的能力の低下を周囲に気づかれるようになった。53 歳頃より, 転倒しやすくなったが, 不眠, 無気力, 憂鬱感, 不安感 (一人で自宅にすることができず, 夫の職場に何回も電話する), 食思低下, 体重減少 (2 ヶ月で 10 kg 減), 希死念慮を訴えて, Y 病院精神科を初診。家事もできず, ヘルパーを利用してしたが, 2 ヶ月後, 転倒して右足骨折し, 同院入院。

入院時, 眼脂が眼瞼周囲に付着し, 口唇周囲は汚染, 頭髪は乱れており, 身なりは整っていなかった。洗面が雑で清潔を保てず, ベッド周囲も乱雑。構音障害を認め, 発語不明瞭。会話は一方的で, どころなく奇異な印象があり, 認知症もしくは慢性期の統合失調症を思わせた。用意された食事は摂らないが, 好きなみかんは一度に 5

個も食べるなど, 食思低下というよりもむしろ極度の偏食を示し, 健康に配慮した摂食が不能であった。入院前は家事が満足にできず, ヘルパーに頼っていたが, 「家事は出来る」「退院する」と現実検討能力も低下。時の失見当識, 失計算あり。介助時に協力的動作を示さず, 骨折部のシーネをはずしてしまう。脱衣, 寝巻きを裏返しに着る, バスタオルを着ようとする, 「自衛隊が怖い」「校長先生が…」「夫がアラスカに行ってしまう」隣の患者を「おかあさん」と呼ぶ, スプーンを握って座っている, 独語など, せん妄を思わせる言動あり。更に「逃げる」っていわれたからとベッドから降りようとし, 「ジェット機に乗ってる?」と聞くなど幻聴の存在を疑わせる言動もみられた。その他, 被害妄想 (看護師に「殴ったでしょ」と尋ねたり, 「殺される」と言うなど), 錯視 (車椅子を子供という), 人物誤認 (兄弟が面会に来てても別の兄弟の名を呼ぶ), 失見当識 (日付, 曜日, 住所, 年齢, 生年月日をいえない) などの症状を認め, 常識的知識が欠落し (信号色をいえないなど), 簡単な指示動作 (左手で右耳をつまんでなど) に従うことができなかった。

以上のような症状を認めていたが, 骨折の治療を終え, 54 歳時に退院し, H 病院へ転入院。55 歳時に退院後は半年毎に Y 病院に通院。59 歳時にも不眠, 食思低下, 希死念慮を呈して Y 病院に入院。入院直後より, 食思改善し, 1 ヶ月後に退院したが, 入院中何度も同じ質問を繰り返すなど, 健忘の悪化がうかがえた。以後も同様の症状を認め, K 病院へ入院した。

その後も同様な状態が持続し, 夫が介護に疲弊したため, 60 歳時 Y 病院へ再入院。ナースコールが頻回だが, 看護師が訪室すると「忘れました」といったり, 「トイレ」というので連れて行くと用を足さないうちに「終わりました」と部屋へ戻る。車椅子で徘徊し, 他患の部屋へ入ってしまったり, 食事中も落ち着かず, 多動。1 割しか食べていなくても, 「全部食べました」と答える。夜間せん妄があり, 要素性の幻聴や幻視を認める。毎日, 夫が面会に来ているにもかかわらず, 「来ない」という。前日の入浴も想起不能。脳波上, 基礎波は 6 Hz と徐波化していた。肺炎を合併し, 1 週間後に死亡。

家族の承諾の下, 死後 17 時間後に病理解剖を実施。全身の横紋筋は萎縮しており, 心臓および平滑筋には特記すべき所見は認めなかった。病理学診断も MyD であった。その他, 肺水腫, 非誤嚥性の出血性気管気管支炎, 腎脾のうっ血, 肝臓の萎縮, 慢性膀胱炎, 軽度動脈硬化を認めた。骨髄は正常, 子宮筋腫による子宮摘出と虫垂切除術を受けている。剖検により採取された脳は,



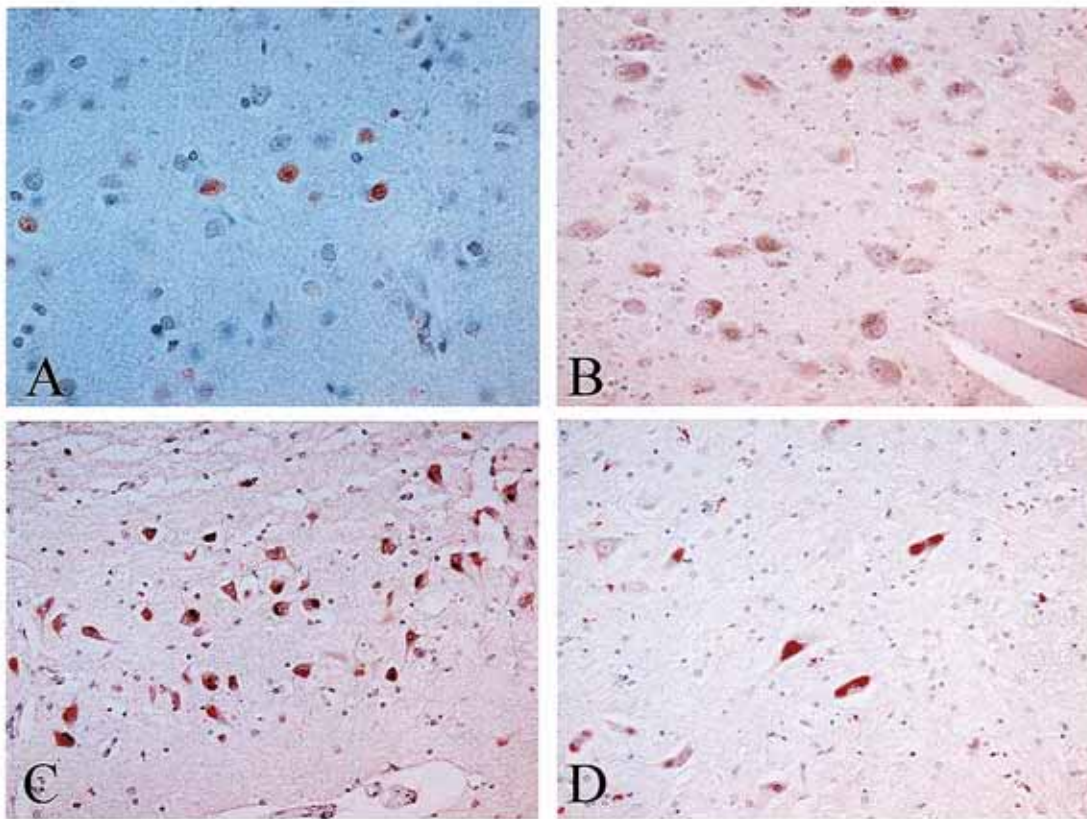


Fig. 2 酸化産物に対する免疫組織化学染色所見

- A : 症例 5 大脳白質における細胞核の 8OHdG の免疫活性 (×400)  
 B : 症例 5 中脳中心灰白質における細胞質の AGE の免疫活性 (×200)  
 C : 症例 7 海馬 CA3 における細胞質の 4-HNE の免疫活性 (×200)  
 D : 症例 11 中脳中心灰白質における細胞質の 4-HNE の免疫活性 (×200)  
 (Oyamada R, et al : Neuropathology, 26 : 107-114, 2006 の Fig. 2 を許可を得て転載)

Table 3 酸化産物に対する免疫組織化学染色の結果

症例	4-HNE										AGE	8OHdG
	海馬			海馬台	嗅内皮質	中側頭回	黒質	CGM	青斑核	縫線核		
	CA4	CA2,3	CA1									
1	-	2+	-	-	-	-	-	-	-	1+	-	-
2	2+	2+	1+	-	1+	1+	-	1+	-	1+	CGM, 縫線核	-
3	1+	-	-	-	1+	1+	-	1+	-	1+	-	-
4	-	-	1+	-	-	-	-	1+	-	1+	-	-
5	1+	1+	-	-	1+	1+	-	-	-	-	CGM	大脳白質
6	1+	1+	-	-	1+	1+	-	-	-	1+	縫線核	CGM
7	2+	2+	1+	-	1+	1+	-	1+	-	1+	-	-
8	2+	2+	1+	-	1+	1+	-	1+	-	-	CGM	-
9	1+	1+	-	-	1+	1+	-	-	-	1+	-	-
10	1+	1+	-	-	1+	1+	-	-	-	1+	-	-
11	1+	1+	-	-	1+	1+	-	1+	-	1+	-	-
12	-	-	1+	-	1+	1+	-	1+	-	1+	CGM, 縫線核	-

AGE : Advanced glycation end products

4-HNE : 4-hydroxy-2-nonenal-modified protein

8OHdG : 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine

AGE, 4-HNE, 8OHdG に対する免疫染色についても同様に評価した

(Oyamada R, et al : Neuropathology, 26 : 107-114, 2006 の Table 3 を許可を得て転載)



1072 g と重量がやや減少し、全体的に萎縮していた。髄鞘染色標本にて大脳半球白質に淡明化を認めた。リン酸化タウをガリアス・AT8にて染色すると、NFT, neuropil threads が扁桃核、海馬、海馬傍回、中側頭回皮質、中脳中心灰白質に中等度、マイネルト核、嗅内皮質、動眼神経核には高度に、黒質、青斑核、縫線核には軽度出現しており、Braak's stage III<sup>11)</sup> に相当していた。老人斑は認められなかった。αシヌクレイン染色では陰性であった。AGE染色では中脳中心灰白質で、8OHdG染色では大脳白質に陽性所見を得た。4-HNE染色では海馬CA2～4・嗅内皮質・中側頭回皮質で軽度陽性の所見であった。

## 考 察

MyDにおいては、NFTは比較的若年より辺縁系皮質を中心に出現する事が多く、アルツハイマー型認知症で多発する新皮質には少ないとされ<sup>12, 13)</sup>、また、MyDにおけるNFTの分布は正常の加齢と差はないといわれている<sup>13)</sup>。NFT、黒質のレビー小体、マリネスコ小体の早発はMyDにおいて加齢性変化が促進している可能性を示唆するが<sup>14, 15)</sup>、加齢に伴いほぼ必発するアミロイド沈着や老人斑の増加は見られない。本研究でもNFTは辺縁系または脳幹に全例で出現していたが、老人斑を認めた例はなかった。同様にNFTを示すが老人斑を伴わないか、もしくは少ない疾患には、進行性核上性麻痺、limbic neurofibrillary tangle dementia、認知症をともしなうパーキンソン病、石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化などが知られている<sup>16, 17)</sup>。NFTは、20歳代から嗅内皮質に観察され始め、辺縁系よりも広がるのは85.7歳くらいであり、老人斑は40歳代から大脳皮質に観察されるようになるといわれている<sup>18)</sup>。このように、NFTと老人斑は出現開始時期も広がり方も異なっている。また、NFTはglycogen synthase kinase 3β (GSK-3β)などのタウ蛋白をリン酸化する酵素が活性化し、脱リン酸化する酵素の活性が相対的に低下した結果、高度にリン酸化されたタウ蛋白が重合して神経細胞内に沈着したものであり、老人斑はamyloid precursor protein (APP)やプレセニリンの遺伝子変異によりAβが増加して形成されるとされ<sup>19)</sup>、出現機序も異なることから、NFTと老人斑はどちらも加齢により出現しやすくなるとはいえ、出現に解離が見られる疾患の存在もなづける。MyDでは第19番染色体長腕上にあるDM protein kinase (DMPK) 遺伝子の3'側非翻訳領域に存在する伸張したCTG repeatによりCUG repeat

が伸張したmRNAが、DMPK, cardiac troponin T, muscle specific chloride channel, microtubule-associated protein tau, insulin receptorなどの遺伝子のスプライシング異常を呈することにより多臓器障害が引き起こされると考えられる<sup>19-21)</sup>。現在のところは、DMPKを含むタウ蛋白リン酸化酵素を中心として各酵素およびその基質を染色した、病理学的研究論文は乏しいので、MyDの病因解明に向け、今後、この方面での研究を重ねていくことが有用であろう。また、本研究上、最年少の症例1(35歳)では脳幹のみにNFTを認めた。これはMyDでNFTの出現が大脳皮質よりも脳幹に先行する可能性を推測させるが、今後さらに症例を蓄積し、検討する必要がある。

MyDの患者は記憶力障害、無関心、無感情、自発性低下などの様々な精神症状を呈し、前頭葉機能検査や視覚特殊認知検査で明らかとなる障害を示すとされる<sup>22)</sup>。Mizukamiら<sup>23)</sup>はMyDではNFT、視床小体、黒質のレビー小体、マリネスコ小体などの一部あるいは全てが同時に出現することが多く、それが本症における精神症状と関係があるのではないかと述べているが、必ずしも一致した見解とはなっていない。12例を対象とした本研究でも、NFTの出現は死亡年齢、脳重量、IQ、記憶力障害の有無、無関心などその他の精神症状の有無のいずれとも明らかな関連を認めなかった(Table 1)。本研究では抗αシヌクレイン免疫組織化学染色を行ったが、黒質などの好発部位に、レビー小体は検出されなかった。本研究の12例全例で、脳幹にNFTの出現を認めたことから(Table 2)、脳幹症状としての睡眠障害や自発性低下は全例に出現すると予想されるが、実際にはそれらの症状が明確でない症例もあった。これは、障害される範囲の拡大により、脳幹症状が覆われた可能性がある。

アルツハイマー病、パーキンソン病、ダウン症候群などの様々な神経変性疾患における酸化的ストレスの関与については、すでに多くの研究がある<sup>24, 25)</sup>。DNAの酸化的障害は核酸の酸化的ストレスの最も代表的なマーカーの一つである8OHdGで評価した。これらの疾患における8OHdGによる免疫化学染色についてはすでに報告があり、Nunomuraら<sup>26)</sup>はアルツハイマー病におけるアミロイドβの沈着と核酸の酸化的障害の関連を報告している。しかし、我々が検討した症例では老人斑を欠いており、かつ8OHdGに対する免疫反応も乏しかったことから、核酸の酸化的ストレスはMyDでみられる神経変性の主要因とはいえないのではないかと考えられた。更に、AGEの蓄積も目立たず、少数例で脳幹神経細胞に免疫活性を認めるのみであった(Table 3)。以上より、



アルツハイマー病とは異なり、蛋白の酸化的障害も MyD の中枢神経病変を生じるとは考えにくい。一方、4-HNE の神経細胞への沈着はより明確かつ広範囲にみられ (Table 3)、嗅内皮質、中側頭回皮質、橋縫線核では 12 例中 10 例 (83%) と高頻度に陽性所見を認めた。4-HNE を含む脂質の過酸化がアルツハイマー病やパーキンソン病ではよくみられる<sup>27, 28)</sup>。また、小児期発症の神経変性疾患で 4-HNE が沈着することも報告されている<sup>29, 30)</sup>。4-HNE の沈着と NFT の出現はその程度と部位が必ずしも一致していなかった。しかしながら、NFT 形成にはタウの蓄積と重合を要し、過剰リン酸化によって微小管との結合能を失ったタウが、細胞質に蓄積して、酸化ストレスにより活性化された酵素がタウの 2 量体化、ひいては繊維化を引き起こすが<sup>31)</sup>、過酸化脂質の中間代謝物である HNE はタウと結合して脱リン酸化を阻止することが報告されている点で<sup>32)</sup>、関連性があると考えられる。また、脂質の過酸化は MyD におけるその他の中枢神経病変を生じている可能性がある。他方、海馬台、黒質、青斑核で 4-HNE の免疫活性を示さないことが MyD の特徴ではないかと考えられた。特に、海馬では陽性であるのに対し、海馬台では陰性である点につき、病理所見の更なる比較や機能の違いなどについての知見を深めることが、MyD を研究する上で有用と考えられた。しかしながら、両部位は相互に神経線維が連絡しており、特に両者の病理所見や機能の違いを述べたこれまでの知見は乏しかった。今後、双方の所見に着目した研究を重ねていく必要がある。

Ono ら<sup>33-36)</sup> は MyD の機能的脳幹所見について述べている。Ono ら<sup>35)</sup> と Jouvret<sup>37)</sup> は縫線核のセロトニン作動性ニューロンの減少と過眠が関連すると指摘し、さらに延髄網様体および延髄弓状核のカテコラミン作動性ニューロンの減少と臨床的な低換気との関係を示唆している<sup>34, 36)</sup>。本研究では中脳中心灰白質と橋縫線核に NFT が出現し、4-HNE 沈着が明らかであった。特に橋の縫線核で高頻度 (83%) に 4-HNE の沈着が認められ、臨床的には 12 例中 9 例 (75%) が睡眠障害を示し、8 例 (67%) が自発性の低下を示した (Table 1)。よって MyD では網様体賦活系の障害により覚醒度の低下が生じ、そのため自発性が低下すると考えれば、本研究の結果は Ono らの考察を支持するものといえよう。また、セロトニンと疼痛の関係が報告されており<sup>38, 39)</sup>、MyD においても疼痛症状の存在が推測される。本研究の 12 症例では、疼痛症状は明らかではないが、MyD において、半数以上に疼痛の訴えが見られたという報告もある<sup>40)</sup>。今後は中脳中心灰白質と橋縫線核において、モノ

アミン作動性ニューロンの免疫組織化学的検索を行うことにより、MyD の症状形成メカニズムの解明により近づく可能性がある。

最後に、臨床症状が詳細に記載されていた症例 5 の臨床・病理相関について考察する。臨床的には生来格別知的な問題なく、主婦および母として生活を送っていた女性が、50 歳頃に認知症を思わせる症状 (知的能力の低下) を呈するようになり、健忘よりもむしろ常識の欠如に由来する理解力、判断力の低下が目立っていた。さらにうつ状態や幻覚を思わせる症状に加え、不眠、夜間せん妄も認めた。神経病理学的には、NFT が海馬・中側頭回皮質・嗅内皮質・中脳中心灰白質・黒質・青斑核・縫線核に出現していたが、大脳皮質には広汎には認められなかった。酸化的障害を反映する AGE 染色では中脳中心灰白質で陽性であったが、橋網様核では陰性であった。4-HNE 染色によれば海馬 CA 2~4・嗅内皮質・中側頭回皮質で軽度陽性であったが、やはり、大脳には広汎な陽性所見は認められなかった。常識の欠如、理解力や判断力の低下は、側頭葉内側部や前頭葉眼窩面の障害に基因する可能性がある。しかし、大脳白質の髄鞘は広汎に淡明化しており、この病変が認知症症状の責任病巣である可能性も否定できない。MyD の精神症状の基盤となる脳病変の解明には、更なる症例の蓄積とより精緻な手法を用いた解析が必要である。なお、精神症状の把握は診療録の記載からなされており、不十分である可能性もある。神経病理所見についても標準化されなかった切片に所見がないとは明言できず、よって、双方の関連について検討するにあたっては限界があることをこわしておく。

## 総 括

12 例の MyD の症例につき、神経病理学的な加齢性変化として NFT の分布に着目し、精神症状との関連を検討し、MyD の中枢神経系における酸化的障害について免疫組織化学的検討を行い、下記の結果を得た。

- 1) 辺縁系、特に海馬 CA1 および脳幹に NFT の出現頻度が高かった。
- 2) NFT が少ない症例で睡眠障害・自発性低下が出現しやすい傾向が見られた
- 3) 罹病期間・死亡年齢・脳重量・認知症症状・記銘力障害・その他の精神症状と NFT の出現程度や範囲に相関はなかった。
- 4) 嗅内皮質・中側頭回皮質・海馬 CA 2~4・中脳中心灰白質・橋縫線核で 4-HNE の免疫活性が高



頻度に陽性を示し, CA1 では陽性率が50%にとどまり, 海馬台では陰性であった.

- 5) 8OHdG・AGEの免疫活性は少数例でわずかに陽性所見を認めるのみであった.

以上よりMyDにおけるNFTの出現が脳幹に先行する可能性が示唆され, MyDの中樞神経病変の要因として核酸や蛋白の酸化的ストレスは関連が乏しく, 脂質の過酸化は何らかの関連性をもつ可能性がある. また, 網様体で4-HNEの沈着が高頻度に認められ, MyDの睡眠障害や自発性低下などの臨床症状形成に関与している可能性が示唆される. 今後はより多数例に対し脳幹網様体のモノアミン作動性ニューロンを免疫組織化学的に検索することによってMyDにおける精神症状形成のメカニズム解明に近づくことが期待される.

## 謝 辞

本稿を終えるにあたり, 御指導・御校閲を賜りました慶應義塾大学医学部精神・神経科学教室鹿島晴雄教授に深甚なる謝意を表します. また, 本研究を直接ご指導くださり, 論文の御校閲をいただきました東京都神経科学総合研究所林雅晴先生, 東京都立神経病院水谷俊雄先生, 独立行政法人国立病院機構下総精神医療センター富永格院長に深謝いたします. さらに, ご協力をいただきました都立松沢病院土谷邦秋先生, 独立行政法人国立病院機構下総精神医療センターの諸先生方に感謝いたします.

本研究の一部は, 第45回日本神経病理学会において発表した.

本論文はOyamada R, Hayashi M, Katoh Y, Tsuchiya K, Mizutani T, Tominaga I, Kashima H: Neurofibrillary tangles and deposition of oxidative products in the brain in cases of myotonic dystrophy. *Neuropathology*. 26: 107-114, 2006の一部を含む.

## 文 献

- 1) Corsi B, Danni M, Del Pesce M, Provinciali L. Neuropsychological profile in myotonic dystrophy. *J Neurol* 237: 251-256, 1990
- 2) Ono S, Inoue K, Mannen T, Kanda F, Jinnai K, Takahashi K. Neuropathological changes of the brain in myotonic dystrophy—some new observations. *J Neurol Sci* 81: 301-320, 1987
- 3) Chang L, Anderson T, Migneco OA *et al.* Cerebral Abnormalities in myotonic dystrophy. *Arch Neurol* 50: 917-923, 1993
- 4) Vermersch P, Sergeant N, Ruchoux MM *et al.* Specific tau variants in the brains of patients with myotonic dystrophy. *Neurology* 47: 711-717, 1996
- 5) Ono S, Takahashi K, Fukuoka Y *et al.* Intracytoplasmic inclusion bodies of the substantia nigra in myotonic dystrophy. Immunohistochemical observations. *J Neurol Sci* 148: 193-198, 1997
- 6) Toscano A, Messina S, Campo GM *et al.* Oxidative stress in myotonic dystrophy type I. *Free Radic Res*. 39: 771-6, 2005
- 7) Horiuchi S, Araki S, Morino Y. Immunochemical approach to characterize advanced glycation end products of the maillard reaction. *J Biol Chem* 266: 7329-7332, 1991
- 8) Toyokuni S, Miyake N, Hiai H, *et al.* The monoclonal antibody for the 4-hydroxy-2-nonenal histidine adduct. *FEBS Lett* 359: 189-191, 1995
- 9) Toyokuni S, Tanaka T, Hattori Y, *et al.* Quantitative immunohistochemical determination of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine by a monoclonal antibody N 45.1: its application to ferric nitrilotriacetate-induced renal carcinogenesis model. *Lab Invest* 76: 365-374, 1997
- 10) Giasson BI, Jakes R, Goedert M, *et al.* A panel of epitope-specific antibodies detect protein domains distributed throughout human  $\alpha$ -synuclein in Lewy bodies of Parkinson's disease. *J Neurosci Res* 59: 528-533, 2000
- 11) Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82: 239-259, 1991
- 12) Yoshimura N, Otake M, Igarashi K, Matsunaga M, Takebe K, Kudo H. Topography of Alzheimer's neurofibrillary change distribution in myotonic dystrophy. *Clin Neuropathol* 9: 234-239, 1990
- 13) Kiuchi A, Otsuka N, Namba Y, Nakano I, Tomonaga M. Presenile appearance of abundant Alzheimer's neurofibrillary tangles without senile plaques in the brain in myotonic dystrophy. *Acta Neuropathol* 82: 1-5, 1991
- 14) Ono S, Inoue K, Mannen T *et al.* Intracytoplasmic inclusion bodies of the thalamus and the substantia nigra, and Marinesco bodies in myotonic dystrophy: a quantitative morphological study. *Acta Neuropathol* 77: 350-356, 1989
- 15) Kumada S, Uchida T, Hayashi M *et al.* Promyelocytic leukemia protein is redistributed during the formation of intranuclear inclusions independent of polyglutamine expansion: an immunohistochemical study on Marinesco bodies. *J Neuropathol Exp Neurol* 61: 984-991, 2002
- 16) 池田研二: 非アルツハイマー型変性痴呆の最近の分類と知見. *老年精神医学* 14: 279-286, 2003
- 17) Armstrong RA, Lantos PL, Cairns NJ. Progressive supranuclear palsy (PSP): a quantitative study of the pathological changes in cortical and subcortical



- regions of eight cases. 114 : 1569-77, 2007
- 18) Braak H, Braak E. Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol Aging* 18 : 351-357, 1997
  - 19) Kawai M. Myotonic dystrophy-recent advances and current clinical problems. *Neurological Medicine* 60 : 339-342, 2004
  - 20) Dansithong W, Paul S, Comai L, Reddy S. MBNL1 is the primary determinant of focus formation and aberrant insulin receptor splicing in DM1. *J Biol Chem*. 280 : 5773-80, 2005
  - 21) O'Coilain DF, Perez-Terzic C, Reyes S *et al*. Transgenic overexpression of human DMPK accumulates into hypertrophic cardiomyopathy, myotonic and hypotension traits of myotonic dystrophy. *Hum Mol Genet*. 13 : 2505-18, 2004
  - 22) Roses AD, Harper PS, Bossen EH. Myotonic muscular dystrophy. In : Vinken PJ, Bruyn GW (eds) *Handbook of Clinical Neurology*, Amsterdam : Elsevier/North-Holland. 40 : 485-532, 1979
  - 23) Mizukami K, Sasaki M, Baba A, Suzuki T, Shiraishi H. An autopsy case of myotonic dystrophy with mental disorders and various neuropathologic features. *Psychiatry Clin Neurosci* 53 : 51-55, 1999
  - 24) Takedo A, Yasuda T, Miyata T *et al*. Immunohistochemical study of advanced glycation end products in aging and Alzheimer's disease brain. *Neurosci Lett* 221 : 17-20, 1996
  - 25) Nunomura A, Perry G, Pappolla M A *et al*. Neuronal oxidative stress precedes amyloid-beta deposition in Down syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 59 : 1011-1017, 2000
  - 26) Nunomura A, Perry G, Aliev G *et al*. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 60 : 759-767, 2001
  - 27) Markesbery WR, Carney JM. Oxidative alterations in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 9 : 133-146, 1999
  - 28) Smith MA, Rottkamp CA, Nunomura A, Raina AK, Perry G. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* 1502 : 139-144, 2000
  - 29) Hayashi M, Araki S, Arai N *et al*. Oxidative stress and disturbed glutamate transport in spinal muscular atrophy. *Brain Dev* 24 : 770-775, 2002
  - 30) Hayashi M, Arai N, Satoh J *et al*. Neurodegenerative mechanisms in subacute sclerosing panencephalitis. *J Child Neurol* 17 : 725-730, 2002
  - 31) Friedhoff P *et al* : Rapid assembly of Alzheimer-like paired helical filaments from microtubule-associated protein tau monitored by fluorescence in solution. *Biochemistry*. 37 : 10223-10230, 1998
  - 32) Mattson MP *et al* : 4-hydroxynonenal, a product of lipid peroxidation, inhibits dephosphorylation of the microtubule-associated protein tau. *Neuroreport* 8 : 2275-2281, 1997
  - 33) Ono S, Kanda F, Takahashi K *et al*. Neuronal cell loss in the dorsal raphe nucleus and the superior central nucleus in myotonic dystrophy : a clinicopathological correlation. *Acta Neuropathol* 89 : 122-125, 1995
  - 34) Ono S, Takahashi K, Jinnai K *et al*. Loss of catecholaminergic neurons in the medullary reticular formation in myotonic dystrophy. *Neurology* 51 : 1121-1124, 1998
  - 35) Ono S, Takahashi K, Jinnai K *et al*. Loss of serotonin-containing neurons in the raphe of patients with myotonic dystrophy : a quantitative immunohistochemical study and relation to hypersomnia. *Neurology* 50 : 535-538, 1998
  - 36) Ono S, Takahashi K, Kanda F *et al*. Decrease of neurons in the medullary arcuate nucleus in myotonic dystrophy. *Acta Neuropathol* 102 : 89-93, 2001
  - 37) Jouvet M. The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. *Ergeb Physiol* 64 : 166-307, 1972
  - 38) Hamel E. Serotonin and migraine : biology and clinical implications. *Cephalalgia*. 27 : 1293-300, 2007
  - 39) Schuh-Hofer S, Richter M, Geworski L *et al*. Increased serotonin transporter availability in the brainstem of migraineurs. *J Neurol*. 254 : 789-96, 2007
  - 40) Jensen MP, Hoffman AJ, Stoelb BL *et al* Chronic pain in persons with myotonic dystrophy and facio-scapulothoracic dystrophy. *Arch Phys Med Rehabil*. 89 : 320-8, 2008.



学位論文

尺骨の短縮が遠位橈尺関節の安定性および圧に与える影響

慶應義塾大学医学部整形外科学教室

(指導：戸山芳昭)

にしわきまさお  
西脇正夫

Key Words : ulnar shortening, distal radioulnar joint, triangular fibrocartilage complex, stability, pressure

緒言

三角線維軟骨複合体 (triangular fibrocartilage complex ; 以下 TFCC) は橈骨手根関節と遠位橈尺関節 (distal radioulnar joint ; 以下 DRUJ) を隔てる線維軟骨-靭帯複合体であり、尺側手根骨の運動滑走面となり、DRUJ と尺骨手根骨間関節 (ulnocarpal joint ; 以下 UCJ) の安定性の保持、UCJ の荷重伝達および荷重分散を同時に行っている<sup>1-3)</sup>。教室の Nakamura ら<sup>3)</sup>は TFCC の立体構造および機能解剖学的な見地から TFCC は遠位、近位、尺側の 3 つの portion から構成されることを示した。すなわち、TFCC の遠位 portion は disc proper, meniscus homologue, 尺骨月状骨間靭帯、尺骨三角骨間靭帯で構成され、全体として hammock 状を呈し、TFCC 近位 portion は尺骨小窩と尺骨茎状突起の基部より起始し、扇状に広がり橈骨尺骨切痕に停止する靭帯構造を有する橈尺靭帯 (三角靭帯とも呼称する)、尺側 portion は尺側関節包と尺側手根伸筋腱鞘床から構成される機能的な尺側側副靭帯で、これらが相補的に支持し合うことで DRUJ と UCJ の支持性が達成されていることを報告した。さらに橈尺靭帯は dorsal, central, palmar の 3 部位に分けられ、dorsal portion と palmar portion は強靭な線維構造であることを確認した。

DRUJ の安定性には TFCC のみでなく、関節適合性、方形回内筋や尺側手根伸筋による動的因子、関節包、前腕骨間膜なども関与しているが、橈骨と尺骨を直接連結する靭帯構造である TFCC 近位の橈尺靭帯が最も重要であることで多くの研究の見解は一致している<sup>4-12)</sup>。また、臨床的には多数の患者が外傷により橈尺靭帯を断裂

し、DRUJ の不安定性を生じている<sup>8,11)</sup>。DRUJ の安定性が損なわれると、手関節尺側部痛、握力低下、不安定感、click などの症状が出現し、脱臼、亜脱臼を生じて回旋制限を呈することもある<sup>8,10,11)</sup>。さらに、DRUJ 不安定症が適切に治療されないと、二次的に変形性関節症を生じる可能性もある<sup>11)</sup>。

尺骨の橈骨に対する相対長 (ulnar variance) には個人差があり、尺骨頭が橈骨の月状骨窩より遠位に突出する場合には "ulnar plus (positive) variance", 月状骨窩より近位にある場合には "ulnar minus (negative) variance", 等長の場合には "ulnar neutral (null または zero) variance" と定義されている<sup>13-15)</sup>。尺骨頭が TFCC および尺側手根骨に衝突し、手関節尺側部に疼痛、腫脹、可動域制限を生じる場合には尺骨突き上げ症候群と診断される<sup>16-20)</sup>。尺骨突き上げ症候群は ulnar plus variance の患者に生じることがほとんどであり、先天的に ulnar variance が大きいことにより生じる一次性的の場合と、橈骨遠位端骨折後の短縮変形や橈骨遠位の骨端線早期閉鎖、橈骨頭切除後の橈骨の proximal migration などにより ulnar variance が増大することにより生じる二次性的の場合がある<sup>16-21)</sup>。また、ulnar neutral variance や ulnar minus variance 例でも回内動作や握り動作に伴い ulnar variance が動的に増加することにより尺骨突き上げ症候群を生じることがもある<sup>17,19,20)</sup>。尺骨突き上げ症候群では、尺骨頭と TFCC、尺側手根骨の慢性的な圧迫により、TFCC や月状骨三角骨間靭帯の変性断裂を生じることが多く、月状骨および尺骨頭の関節軟骨の磨耗、変性、剥離、潰瘍、さらには関節症性変化を生じることがもある<sup>16-21)</sup>。

尺骨短縮術は、1941 年に Milch<sup>22)</sup> が橈骨遠位端骨折の変形治癒に伴う ulnar plus variance の是正に行った



報告が最初であり、1980年代に入り一次性および二次性の尺骨突き上げ症候群に対する第一選択の手術方法として用いられるようになり、良好な成績が報告されている<sup>16-18)</sup>。長年、尺骨短縮術の症状改善の機序はUCJの除圧であると考えられてきた<sup>2, 16-18)</sup>。近年、多くの臨床家が臨床上的所見として本術式によってUCJの除圧のみならずDRUJの安定化が得られることを経験し、尺骨短縮術は尺骨突き上げ症候群のみならず、TFCC損傷やDRUJ不安定症に対しても適応されるようになった<sup>23-28)</sup>。尺骨短縮術によるDRUJ安定化の機序として尺側支持機構の緊張が挙げられているが<sup>16, 23, 25-29)</sup>、緊張が生じる部位を詳細に検討し、その機序を明らかにした研究はなかった。

一方、尺骨を短縮すると橈骨尺骨切痕と尺骨頭の適合性が変化し、さらに尺側支持機構の緊張によりDRUJの圧が増加し、DRUJの関節軟骨が障害される可能性が危惧される<sup>30)</sup>。このことを裏付けるものとして、尺骨短縮術の長期経過例では高頻度に単純X線上DRUJに変化が認められている<sup>24, 26, 28)</sup>。DRUJの軟骨損傷は、疼痛、可動域制限、握力低下などの原因となる可能性がある<sup>31)</sup>。しかし、尺骨の短縮に伴うDRUJの圧変化について検討した研究は少ない。

かかる見地から本研究では尺骨短縮術によるDRUJ安定化の機序を解明する目的で、新鮮屍体上肢を用いてTFCCが正常な状態および様々な損傷状態で尺骨短縮前後のDRUJの安定性の変化を生体工学的手法で解析した<sup>32)</sup>。さらに、理論上危惧される尺骨を短縮することによるDRUJの圧変化についても生体工学的手法で解析し、尺骨短縮術の適応と臨床上の限界および至適な尺骨短縮量について検討した<sup>33)</sup>。

## 対象および方法

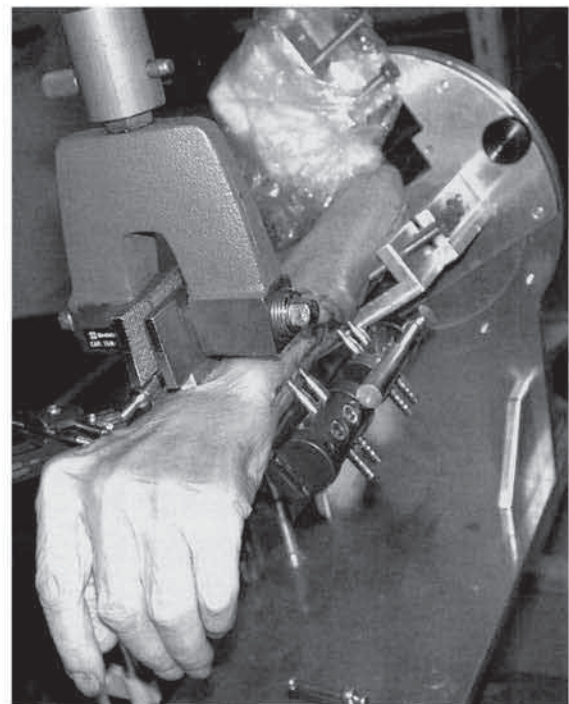
### 研究1：尺骨短縮前後のDRUJ安定性変化

本人および家族の承諾を得て慶應義塾大学医学部解剖学教室に献体された新鮮屍体の上肢6肢(60~70歳、平均67歳)を対象とした。上肢を上腕中央で離断し、肘関節以遠の皮膚、筋肉、靭帯などの軟部組織をすべて温存した。肉眼所見での三角線維軟骨の変性例は対象に含めたが、橈尺靭帯断裂例、手関節単純X線像における骨関節異常例は対象から除外した。実験前に撮影した単純X線像で測定したulnar varianceは、+1mmが1肢、+2mmが2肢、+3mmが3肢であった。

前腕の回旋が60°毎に可能になるように設計した自家考案の固定台上上腕骨および尺骨を肘関節90°屈曲位で

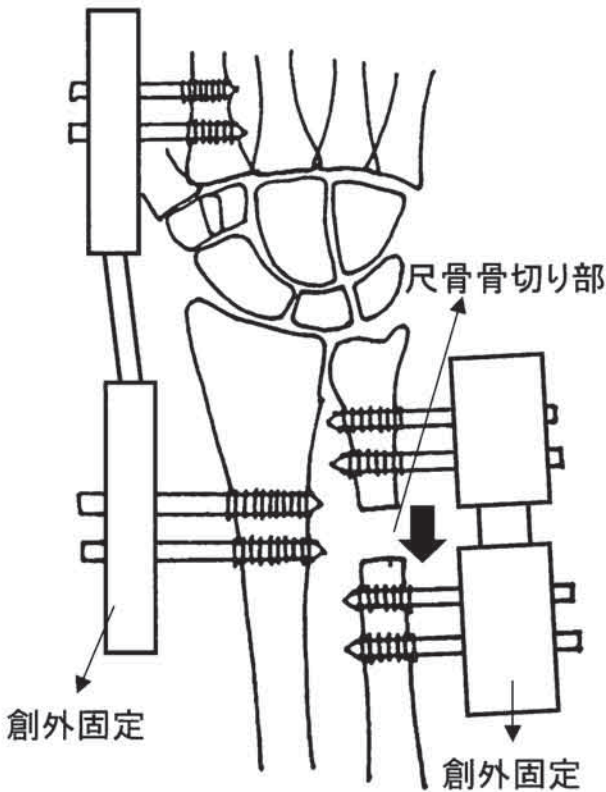
固定し、橈骨手根関節は創外固定器(Pennig Wrist Fixator; Orthofix S.R.L., Verona, Italy)で固定した(第1図)。尺骨に骨延長用創外固定器(Limb Reconstruction System Pediatric Short Model, Orthofix S.R.L.)を装着し、尺骨を短縮できるように尺骨の遠位1/4で10mmの骨切除を行った(第2図)。橈骨遠位部に冠状面と垂直方向に把持ロッドを挿入して、ロードセルを介して荷重試験器(AUTOGRAPH AG-10 TD; 島津製作所, 京都)に接続し、背側および掌側方向に1.25mm/秒の定速度で変位を負荷し(設定最大荷重は60N, 最大変位は10mm)、ロードセルから出力される荷重から変位-荷重曲線を作製した。計測は、中間位、回内60°位、回外60°位で、尺骨短縮前および尺骨を1mm毎に6mmまで短縮させた状態で行った。尺骨の短縮量は、骨延長用創外固定器のクランプに取り付けられたcompression-distraction unitを用いて調節した。

これらの計測は、TFCCが正常な状態と、より臨床例に近いTFCCが損傷された状態で行った。すなわちTFCCが正常な状態で6肢の計測を行った後、橈尺靭帯を部分損傷状態(3肢は橈尺靭帯のdorsal portionを切離、残りの3肢はpalmar portionを切離)にして同様の計測を行い、最後には6肢とも橈尺靭帯を完全に



第1図 前腕の回旋が60°毎に可能な固定台上上腕骨および尺骨を固定し、橈骨遠位部に挿入したロッドを荷重試験器で把持した。(Nishiwaki M et al: J Hand Surg 30A: 719-726, 2005のFigure 1を許可を得て転載)

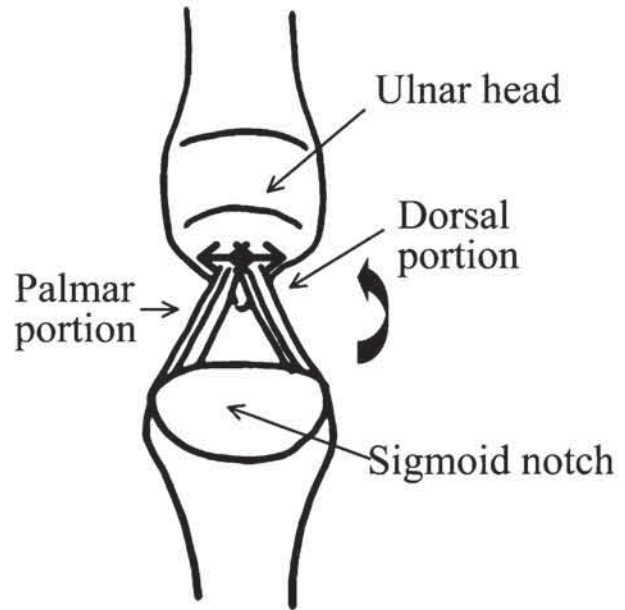




第2図 橈骨手根関節は創外固定器で固定した。尺骨に骨延長用創外固定器を装着し、尺骨短縮が行えるように遠位1/4で10mmの骨切除を行った。(Nishiwaki M et al: J Hand Surg 30A: 719-726, 2005のFigure 2を許可を得て転載、改変)

切離して計測した。尺側手根伸筋腱の腱鞘床は最後まで温存した。橈尺靭帯を切離する際には創外固定器をはずし、尺骨の骨切り部より遠位部分を遠位に翻転させて橈尺靭帯を近位側より観察することにより、尺骨小窩および尺骨茎状突起の起始部で確実に切離した(第3図)。

変位-荷重曲線の linear legion の傾きを DRUJ stiffness と定義し、TFCC が正常な状態で各肢位で尺骨短縮前に橈骨を尺骨に対して背側および掌側に変位させた際の DRUJ stiffness を control (100%) とし、尺骨短縮後の橈骨の背側方向および掌側方向への DRUJ stiffness を control に対する比で %stiffness として表した。TFCC が正常な状態、橈尺靭帯 dorsal portion または palmar portion を部分切離した状態、橈尺靭帯を全切離した状態のそれぞれにおいて尺骨を 0 mm から 6 mm まで 1 mm 毎に短縮させた際の橈骨の背側方向および掌側方向への DRUJ stiffness を control と比較し、統計学的解析を行った。統計学的解析は一元配置分散分析法 (one-way ANOVA) で行い、個別解析を Fisher 法による *post hoc test* で行い、統計学的有意水準を 5% とした。



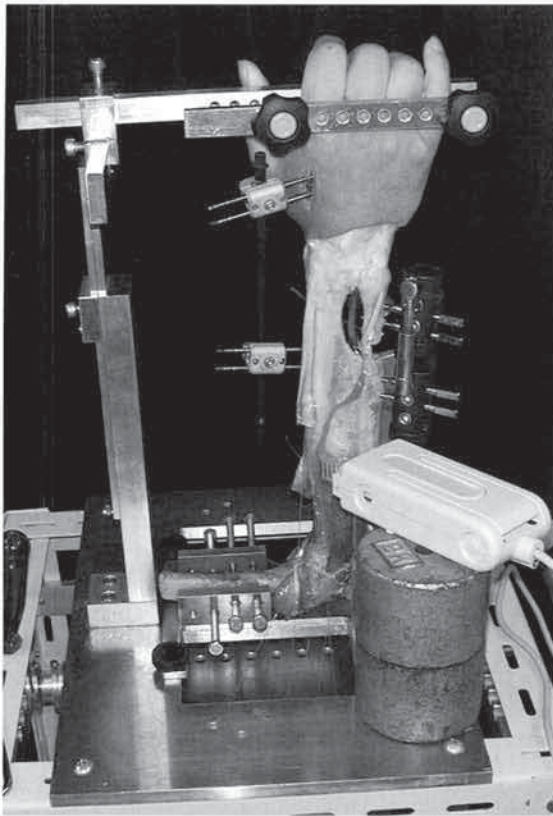
第3図 橈尺靭帯を切離するために、尺骨を遠位に翻転させて橈尺靭帯を近位側より観察した。(Nishiwaki M et al: J Hand Surg 33A: 198-205, 2008のFigure 2を許可を得て転載)

### 研究2：尺骨短縮前後の DRUJ 圧変化

研究1とは別の新鮮屍体上肢7肢(51~78歳, 平均63歳)を対象とした。研究1と同様に、三角線維軟骨の変性例は対象に含め、橈尺靭帯断裂例および単純X線像における骨関節異常例は除外した。単純X線像で測定した ulnar variance は、0 mm が2肢、+1 mm が1肢、+2 mm が2肢、+3 mm が2肢であった。橈骨尺骨切痕の傾き<sup>34)</sup>は $-2^{\circ} \sim 12^{\circ}$ (平均 $4^{\circ}$ )であり、遠位尺側から近位橈側に向かうもの(positive angle)が4肢、逆に遠位橈側から近位尺側に向かうもの(negative angle)が1肢、尺骨の骨軸と平行なもの(neutral angle)が2肢であった。手関節より近位の皮膚、皮下組織、筋肉は切除し、長橈側手根伸筋、短橈側手根伸筋、尺側手根伸筋、橈側手根屈筋、尺側手根屈筋、上腕二頭筋、円回内筋の腱は筋に負荷を加えるために残した。

上腕骨および尺骨を肘関節 $90^{\circ}$ 屈曲位で研究1とは別の自家考案固定台に設置した。各前腕回旋肢位(中間位、回内 $60^{\circ}$ 位、回外 $60^{\circ}$ 位)が保てるように上腕骨長軸に対して $0^{\circ}$ あるいは $\pm 60^{\circ}$ の角度で固定された2本の棒を用いて中手骨基節骨間(MP)関節レベルで手を掌背方向より挟み込んだ(第4図)。これらの棒は、前腕回旋肢位を維持したまま、掌背方向及び橈尺方向へは自由に移動できるようにした。橈骨手根関節は創外固定器(Pennig Wrist Fixator; Orthofix S.R.L.)で固定した。





第4図 上腕骨長軸に対して0°あるいは±60°の角度で固定された2本の棒を用いて手を挟み込むことにより各前腕回旋肢位(中間位, 回内60°位, 回外60°位)が保持可能な固定台上に腕骨および尺骨を固定した。(Nishiwaki M et al : J Hand Surg 33A : 198-205, 2008のFigure 1を許可を得て転載)

研究1と同様に尺骨に骨延長用創外固定器(Limb Reconstruction System Pediatric Short Model, Orthofix S.R.L.)を装着し, 尺骨を短縮できるように遠位1/4で10 mm切除した(第2図)。

1.69 mm<sup>2</sup> (1.3 mm×1.3 mm) ごとに圧測定ができる薄型圧センサー(I-SCAN 10×10; Nitta社, 大阪, 日本)をDRUJに挿入した。圧センサー挿入のために, DRUJ関節包を切離し, 前腕骨間膜の遠位膜様部は切除した。圧センサーを橈骨側に残存したDRUJ関節包に縫合することにより橈骨尺骨切痕に固定した。圧センサーを圧測定装置(I-SCAN圧測定装置; Nitta社)に接続し, 圧分布を測定した。計測は, 中間位, 回内60°位, 回外60°位の各肢位で, 筋に負荷を加えない状態(筋無負荷時)および筋に負荷を加えた状態(筋負荷時)で, 尺骨短縮前および尺骨を1 mm毎に6 mmまで短縮して行った。筋負荷の方法は, 長橈側手根伸筋腱と短橈側手根伸筋腱には合わせて糸をかけ, 尺側手根伸筋腱, 橈側手根屈筋腱, 尺側手根屈筋腱, 上腕二頭筋腱, 円回内筋腱にはそれぞれ糸をかけて, 各々の糸に20 Nの重錘

を負荷した。また, 回外筋および方形回内筋は停止部に腱を有さない筋であるため, 筋の橈骨停止部に開けた骨孔に糸を結び, 各々の筋の尺骨起始部に開けた骨孔の中に通して20 Nの重錘を負荷した。

計測は, 研究1と同様にTFCCが正常な状態とTFCCが損傷された状態で行った。すなわちTFCCが正常な状態で7肢計測した後, 橈尺靭帯部分損傷状態(4肢は橈尺靭帯のdorsal portionを切離, 残りの3肢はpalmar portionを切離)にして同様の計測を行い, 最後は7肢すべてで橈尺靭帯を全切離して計測を行った。尺側手根伸筋腱の腱鞘床は温存した。橈尺靭帯の切離は, 研究1と同様に尺骨を遠位に翻転させて橈尺靭帯を近位側より観察し, 尺骨小窩および尺骨茎状突起の起始部で行った(第3図)。

DRUJ圧の閾値は0.15 MPaに設定し, 筋無負荷時および筋負荷時に各前腕回旋肢位で尺骨を0 mmから6 mmまで1 mm毎に短縮させた際のDRUJの最大圧, DRUJ間を伝達する力の総和(total force transmitted across the DRUJ; 以下DRUJ force), DRUJの接触面積の各々を計算し, 尺骨短縮前の計測値と比較した。DRUJ最大圧は, 橈骨尺骨切痕の中で, 最も高い圧を示した部位における圧と定義した。また, 尺骨短縮によるDRUJの接触部位の変化についても検討した。統計学的解析は, 一元配置分散分析法(one-way ANOVA)を用い, 個別解析はTukey法によるpost hoc testで行った。統計学的有意水準を5%とした。

## 結 果

### 研究1: 尺骨短縮前後のDRUJ安定性変化

TFCCが正常な状態では, 尺骨短縮前のDRUJ stiffnessは橈骨の掌背方向ともに中間位, 回内60°位, 回外60°位とも1.0 N/mm前後であった(第1表)。尺骨を短縮すると, DRUJ stiffnessは尺骨短縮量にほぼ比例して増加した。統計学的な有意差は, 橈骨を背側に変位させた際には中間位および回内60°位で3 mm以上。

第1表: TFCC正常例での尺骨短縮前の橈骨の背側方向(dorsal)および掌側方向(palmar)へのDRUJ stiffness (N/mm)。(Nishiwaki M et al : J Hand Surg 30A : 719-726, 2005のTable 1を許可を得て転載)

	dorsal	palmar
neutral	1.03±0.20	0.90±0.17
pronation	1.00±0.11	0.99±0.21
supination	0.90±0.21	0.99±0.30

The data are presented as mean values±standard deviation. n=6

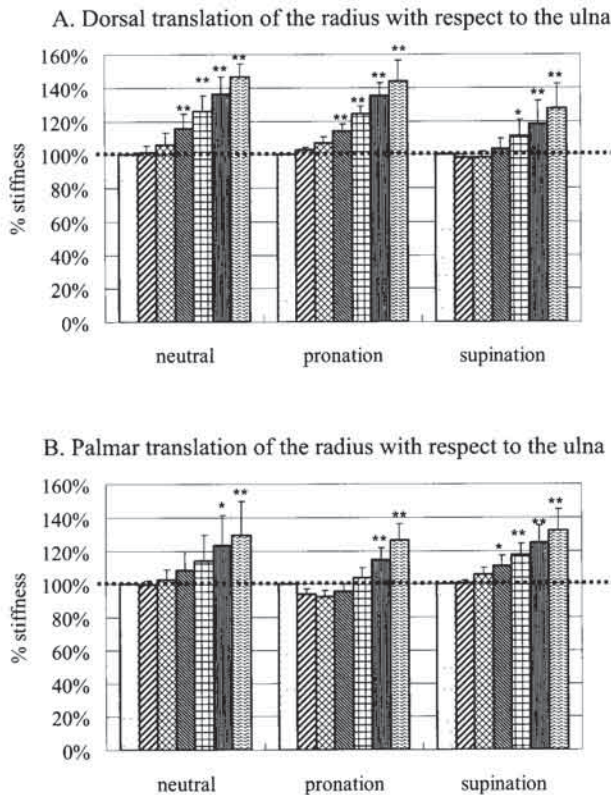


回外 60°位で 4 mm 以上尺骨を短縮した場合にみられ、掌側に変位させた際には中間位および回内 60°位で 5 mm 以上、回外 60°位で 3 mm 以上短縮した場合にみられた ( $p < 0.05$ ) (第 5 図 A, B).

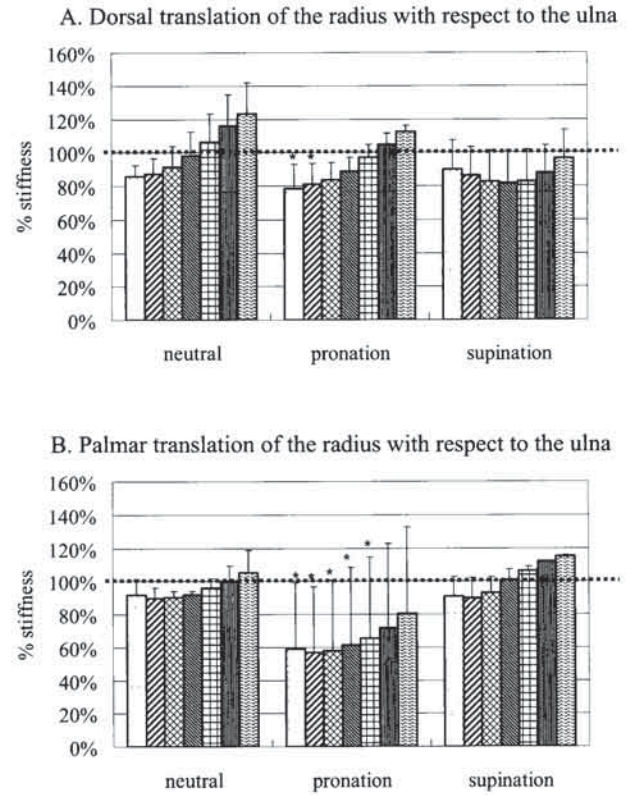
橈尺靭帯の dorsal portion を切離すると、DRUJ stiffness の平均値は中間位では 8~14% ( $p > 0.05$ ), 回内 60°位では 22~41% ( $p < 0.05$ ), 回外 60°位では 9~11% ( $p > 0.05$ ) 減少した (第 6 図). しかし、尺骨を短縮すると DRUJ stiffness は増加し、橈骨の背側方向への DRUJ stiffness の平均値は回外 60°位を除いて 4~5 mm 以上の短縮を行うことにより TFCC が正常な状態 (=100%) と同等以上にまで改善した (第 6 図 A). 橈骨の掌側方向への DRUJ stiffness の平均値は回内 60°位を除いて 3~5 mm 以上の短縮を行った際に TFCC が正常な状態と同等以上に回復した (第 6 図 B). 橈尺靭帯の palmar portion を切離した場合も、dor-

sal portion を切離した場合と同様の傾向を示した. 橈尺靭帯の palmar portion 切離により、DRUJ stiffness の平均値は中間位では 10~20% ( $p > 0.05$ ), 回内 60°位では 17~47% ( $p < 0.05$ ), 回外 60°位では 21~22% (掌側方向は  $p < 0.05$ ) の減少を示した. しかし、尺骨を短縮することにより DRUJ stiffness は増加し、橈骨を背側方向に変位させた場合には回外位を除いて、掌側方向へ変位させた場合には回内位を除いて 5~6 mm の尺骨短縮により DRUJ stiffness の平均値は TFCC が正常な状態 (=100%) と同等以上に回復した (第 7 図 A, B).

橈尺靭帯を全切離した場合には、DRUJ stiffness の平均値は中間位では 44~54%, 回内 60°位では 31~57%, 回外 60°位では 33~56% とすべての肢位で有意に減少した ( $p < 0.01$ ). 尺骨を 6 mm 短縮しても、回外 60°位で橈骨を掌側方向に変位させた場合を除き、



第 5 図 TFCC が正常な 6 肢の中間位、回内 60°位、回外 60°位での尺骨短縮前後の橈骨の背側方向 (A) および掌側方向 (B) への DRUJ stiffness の変化. X 軸は尺骨短縮量 (□ 0 mm; ▨ 1 mm; ▩ 2 mm; ▪ 3 mm; ▫ 4 mm; ▬ 5 mm; ▮ 6 mm), Y 軸は control (TFCC 正常例での尺骨短縮前の DRUJ stiffness) に対する DRUJ stiffness の比 (%stiffness) を表す. \*Fisher 法による post hoc test で control と比較して有意差あり ( $p < .05$ ). \*\*Fisher 法による post hoc test で control と比較して有意差あり ( $p < .01$ ) (Nishiwaki M et al : J Hand Surg 30A : 719-726, 2005 の Figure 5 を許可を得て転載)



第 6 図 橈尺靭帯 dorsal portion を切離した 3 肢の中間位、回内 60°位、回外 60°位での尺骨短縮前後の橈骨の背側方向 (A) および掌側方向 (B) への DRUJ stiffness の変化. X 軸は尺骨短縮量 (□ 0 mm; ▨ 1 mm; ▩ 2 mm; ▪ 3 mm; ▫ 4 mm; ▬ 5 mm; ▮ 6 mm), Y 軸は control (TFCC 正常例での尺骨短縮前の DRUJ stiffness) に対する DRUJ stiffness の比 (%stiffness) を表す. \*Fisher 法による post hoc test で control と比較して有意差あり ( $p < .05$ ). \*\*Fisher 法による post hoc test で control と比較して有意差あり ( $p < .01$ ) (Nishiwaki M et al : J Hand Surg 30A : 719-726, 2005 の Figure 6 を許可を得て転載)



DRUJ stiffness は TFCC 正常時よりも有意に低下したままであった ( $p < 0.05$ ) (第8図A, B).

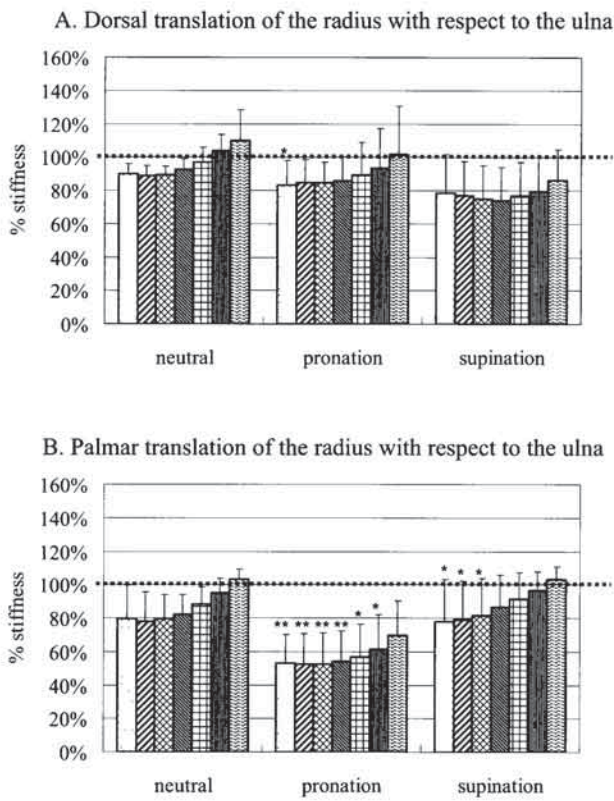
研究2：尺骨短縮前後の DRUJ 圧変化

1) DRUJ の最大圧

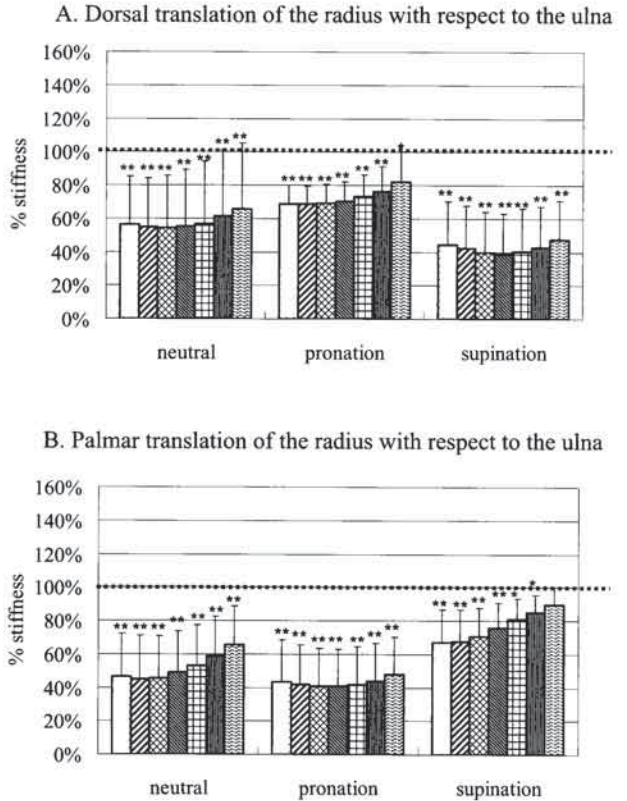
TFCC が正常な状態では、尺骨を短縮する前の DRUJ の最大圧は筋無負荷時には筋負荷時よりも遥かに小さかった。尺骨短縮前には DRUJ の最大圧の7肢の平均値は、筋無負荷時は中間位 0.05 MPa, 回内 60°位 0.06 MPa, 回外 60°位 0.18 MPa であり (第9図A), 筋負荷時は中間位 0.67 MPa, 回内 60°位 0.16 MPa, 回外 60°位 1.04 MPa であった (第10図A)。尺骨を短縮すると、DRUJ の最大圧は、筋無負荷時には中間位 ( $p < 0.001$ ), 回内 60°位 ( $p = 0.02$ ), 回外 60°位 ( $p = 0.003$ ) ともに有意に増加した。筋負荷時には中間位でのみ有意に増加し ( $p = 0.04$ ), 他の肢位でも増加傾向ではあったが、

有意差はなかった ( $p > 0.05$ )。尺骨を 4 mm 短縮すると筋無負荷時の DRUJ の最大圧の平均値は、中間位 0.72 MPa, 回内 60°位 0.13 MPa, 回外 60°位 1.02 MPa となり、筋負荷時の尺骨短縮前の値とほぼ同等になった。尺骨を 6 mm 短縮した際の DRUJ の最大圧の平均値は、筋無負荷時には中間位 2.48 MPa, 回内 60°位 0.83 MPa, 回外 60°位 2.28 MPa であったのに対し、筋負荷時には中間位 2.06 MPa, 回内 60°位 0.68 MPa, 回外 60°位 2.84 MPa であった。

橈尺靭帯の部分切離後には、尺骨を短縮することによる DRUJ の最大圧の増加は、筋無負荷時、筋負荷時ともに TFCC 正常時より小さくなった (第9図B, 第10図B)。橈尺靭帯を全切離した場合には尺骨短縮による DRUJ の最大圧の増加はさらに小さくなった。橈尺靭帯全切離後に尺骨を 6 mm 短縮した際の DRUJ の最大圧の平均値は、筋無負荷時は中間位 0.84 MPa, 回内 60°



第7図 橈尺靭帯 palmar portion を切離した3肢の中間位, 回内 60°位, 回外 60°位での尺骨短縮前後の橈骨の背側方向 (A) および掌側方向 (B) への DRUJ stiffness の変化。X 軸は尺骨短縮量 (□: 0 mm; ▨: 1 mm; ▩: 2 mm; ▪: 3 mm; ▫: 4 mm; ▬: 5 mm; ▮: 6 mm), Y 軸は control (TFCC 正常例での尺骨短縮前の DRUJ stiffness) に対する DRUJ stiffness の比 (%stiffness) を表す。\*Fisher 法による post hoc test で control と比較して有意差あり ( $p < .05$ )。\*\*Fisher 法による post hoc test で control と比較して有意差あり ( $p < .01$ )。 (Nishiwaki M et al : J Hand Surg 30A : 719-726, 2005 の Figure 7 を許可を得て転載)



第8図 橈尺靭帯を全切離した6肢の中間位, 回内 60°位, 回外 60°位での尺骨短縮前後の橈骨の背側方向 (A) および掌側方向 (B) への DRUJ stiffness の変化。X 軸は尺骨短縮量 (□: 0 mm; ▨: 1 mm; ▩: 2 mm; ▪: 3 mm; ▫: 4 mm; ▬: 5 mm; ▮: 6 mm), Y 軸は control (TFCC 正常例での尺骨短縮前の DRUJ stiffness) に対する DRUJ stiffness の比 (%stiffness)。\*Fisher 法による post hoc test で control と比較して有意差あり ( $p < .05$ )。\*\*Fisher 法による post hoc test で control と比較して有意差あり ( $p < .01$ )。 (Nishiwaki M et al : J Hand Surg 30A : 719-726, 2005 の Figure 8 を許可を得て転載)

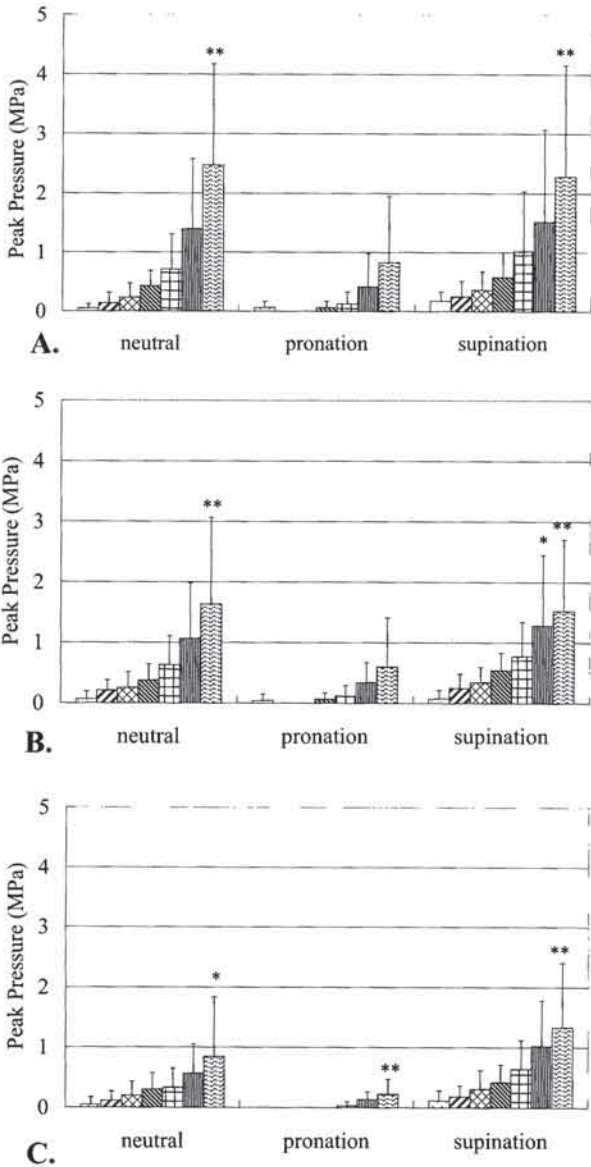


位 0.23 MPa, 回外 60°位 1.33 MPa であり (第 9 図 C), 筋負荷時は中間位 1.21 MPa, 回内 60°位 0.28 MPa, 回外 60°位 2.00 MPa であった (第 10 図 C).

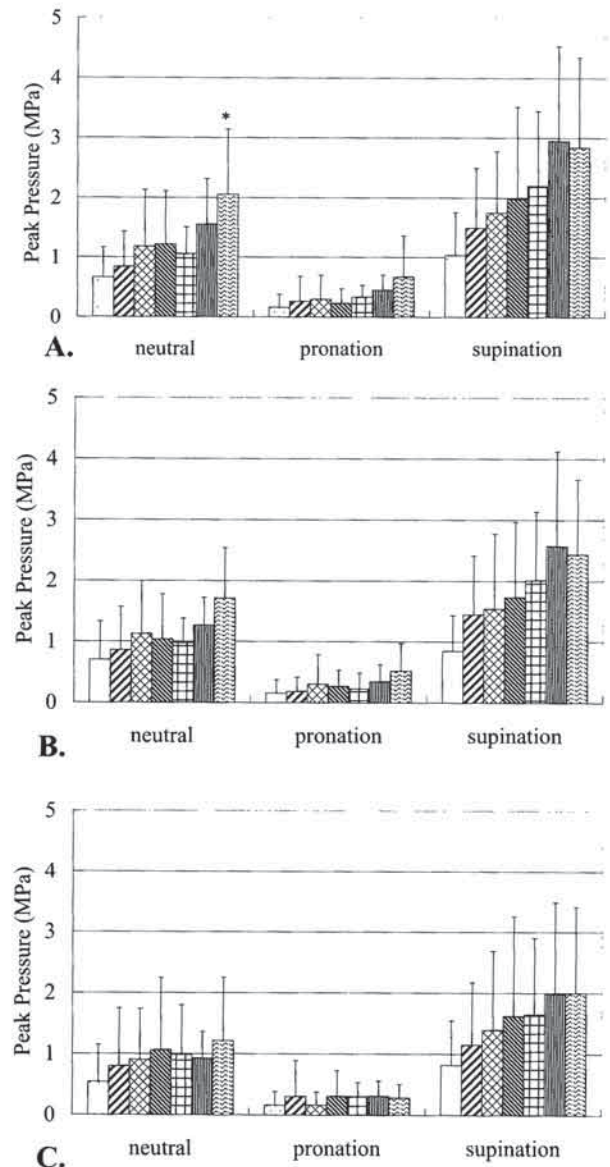
2) DRUJ force

TFCC が正常な状態では, 尺骨短縮前の DRUJ force は, 最大圧と同様に筋無負荷時には筋負荷時よりも遥かに小さかった. 尺骨短縮前の DRUJ force の 7 肢の平均

値は, 筋無負荷時には中間位 0.09 N, 回内 60°位 0.10 N, 回外 60°位 0.84 N であり (第 11 図 A), 筋負荷時には中間位 4.83 MPa, 回内 60°位 0.90 MPa, 回外 60°位 8.16 MPa であった (第 12 図 A). 尺骨を短縮すると DRUJ force は筋無負荷時, 筋負荷時ともにすべての肢位で増加傾向にあったが, 増加が統計学的に有意であったのは筋無負荷時での中間位のみであった ( $p < 0.001$ ).



第 9 図 TFCC が正常な 7 肢 (A), 橈尺靭帯を部分切離した 7 肢 (B), 橈尺靭帯を全切離した 7 肢 (C) の中間位, 回内 60°位, 回外 60°位での筋無負荷時における尺骨短縮前後の DRUJ の最大圧の変化. X 軸は尺骨短縮量 (□: 0-mm; ▨: 1-mm; ▩: 2-mm; ▪: 3-mm; ▧: 4-mm; ▦: 5-mm; ▥: 6-mm). Y 軸は DRUJ の最大圧を表す. \*Tukey 法による *post hoc* test で尺骨短縮前の値と比較して有意差あり ( $p < .05$ ). \*\*Tukey 法による *post hoc* test で尺骨短縮前の値と比較して有意差あり ( $p < .01$ ). (Nishiwaki M et al: J Hand Surg 33A: 198-205, 2008 の Figure 3 を許可を得て転載)

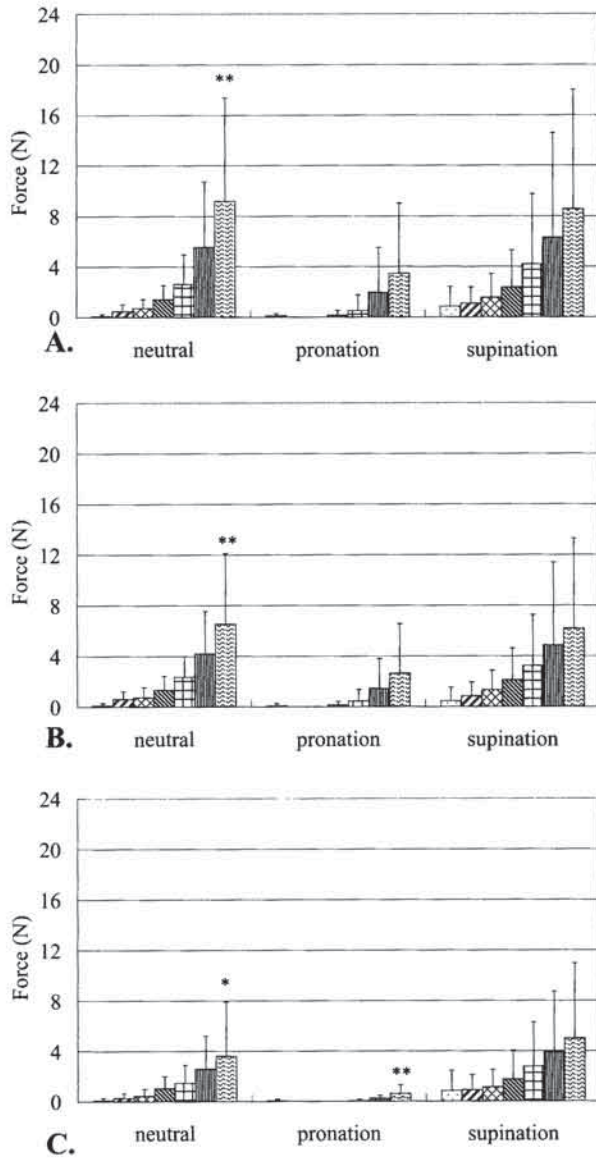


第 10 図 TFCC が正常な 7 肢 (A), 橈尺靭帯を部分切離した 7 肢 (B), 橈尺靭帯を全切離した 7 肢 (C) の中間位, 回内 60°位, 回外 60°位での筋負荷時における尺骨短縮前後の DRUJ の最大圧の変化. X 軸は尺骨短縮量 (□: 0-mm; ▨: 1-mm; ▩: 2-mm; ▪: 3-mm; ▧: 4-mm; ▦: 5-mm; ▥: 6-mm). Y 軸は DRUJ の最大圧を表す. \*Tukey 法による *post hoc* test で尺骨短縮前の値と比較して有意差あり ( $p < .05$ ). \*\*Tukey 法による *post hoc* test で尺骨短縮前の値と比較して有意差あり ( $p < .01$ ). (Nishiwaki M et al: J Hand Surg 33A: 198-205, 2008 の Figure 4 を許可を得て転載)



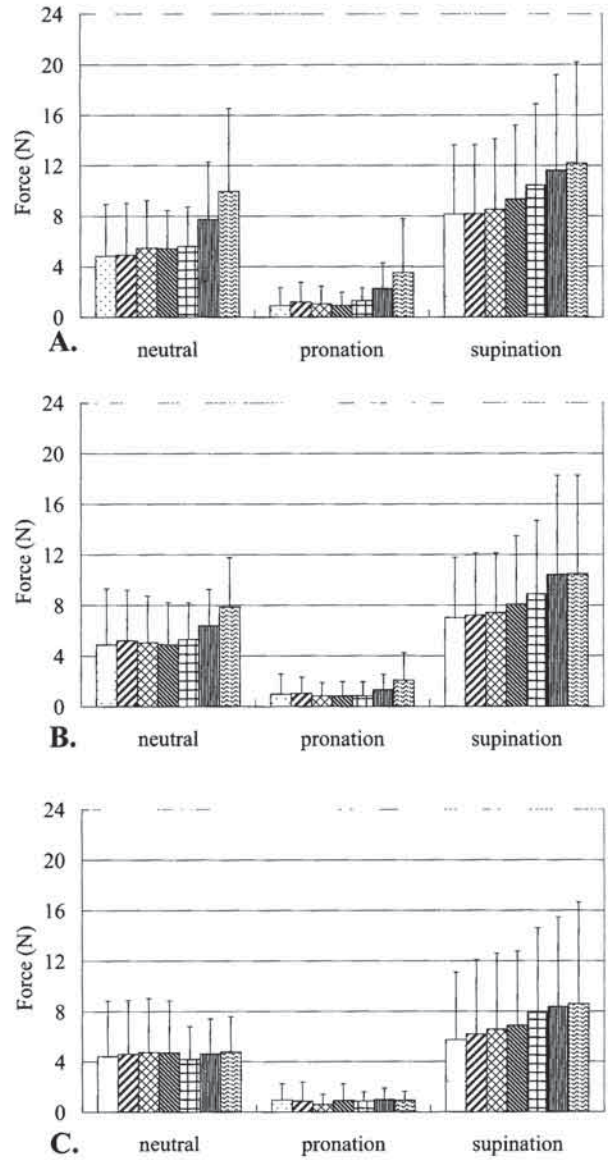
尺骨6mm短縮後のDRUJ forceの平均値は、筋無負荷時には中間位9.17N、回内60°位3.47N、回外60°位8.56Nであり、筋負荷時には中間位9.96N、回内60°位3.51N、回外60°位12.17Nであった。

橈尺靭帯部分切離または全切離後に尺骨を短縮すると、DRUJ forceの増加は見られるものの、TFCCが正常な場合より増加率は小さく、最大圧と同様の傾向であった



第11図 TFCCが正常な7肢(A)、橈尺靭帯を部分切離した7肢(B)、橈尺靭帯を全切離した7肢(C)の中間位、回内60°位、回外60°位での筋無負荷時における尺骨短縮前後のDRUJ間を伝達する力の総和の変化。X軸は尺骨短縮量(0-mm; 1-mm; 2-mm; 3-mm; 4-mm; 5-mm; 6-mm)、Y軸はDRUJ間を伝達する力の総和を表す。  
\*Tukey法によるpost hoc testで尺骨短縮前の値と比較して有意差あり(p<.05)。\*\*Tukey法によるpost hoc testで尺骨短縮前の値と比較して有意差あり(p<.01)。(Nishiwaki M et al: J Hand Surg 33A: 198-205, 2008のFigure 5を許可を得て転載)

(第11図BC, 第12図BC)。橈尺靭帯全切離後に尺骨を6mm短縮した際のDRUJ forceの平均値は、筋無負荷時には中間位3.61N、回内60°位0.60N、回外60°位5.00Nであり(第11図C)、筋負荷時には中間位4.79N、回内60°位0.91N、回外60°位8.60Nであった(第12図C)。



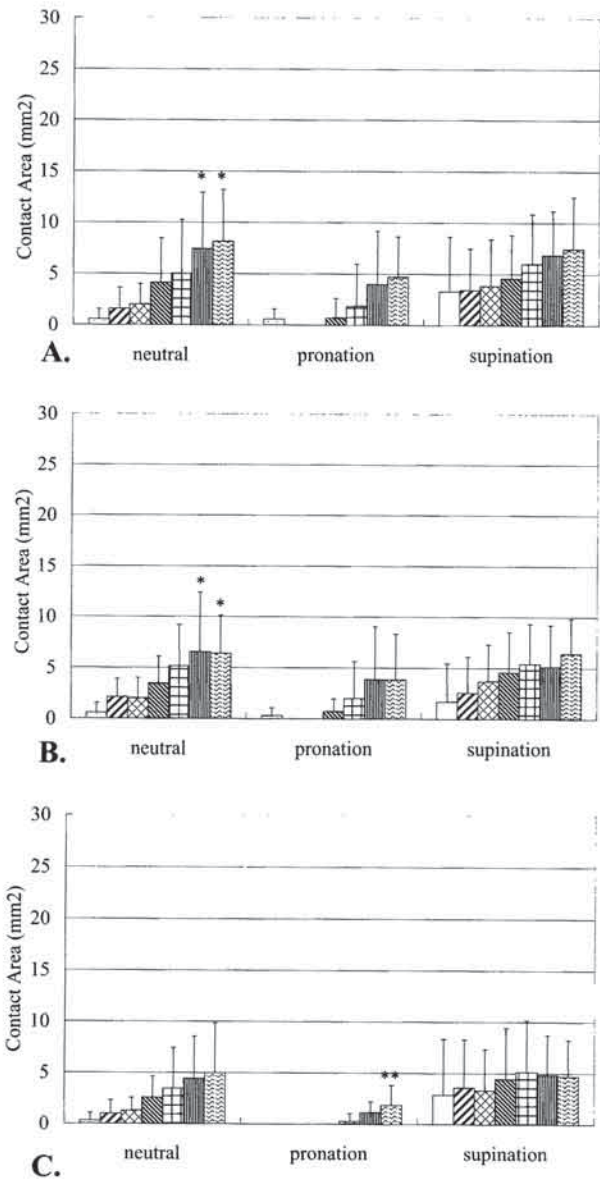
第12図 TFCCが正常な7肢(A)、橈尺靭帯を部分切離した7肢(B)、橈尺靭帯を全切離した7肢(C)の中間位、回内60°位、回外60°位での筋負荷時における尺骨短縮前後のDRUJ間を伝達する力の総和の変化。X軸は尺骨短縮量(0-mm; 1-mm; 2-mm; 3-mm; 4-mm; 5-mm; 6-mm)、Y軸はDRUJ間を伝達する力の総和を表す。  
\*Tukey法によるpost hoc testで尺骨短縮前の値と比較して有意差あり(p<.05)。\*\*Tukey法によるpost hoc testで尺骨短縮前の値と比較して有意差あり(p<.01)。(Nishiwaki M et al: J Hand Surg 33A: 198-205, 2008のFigure 6を許可を得て転載)



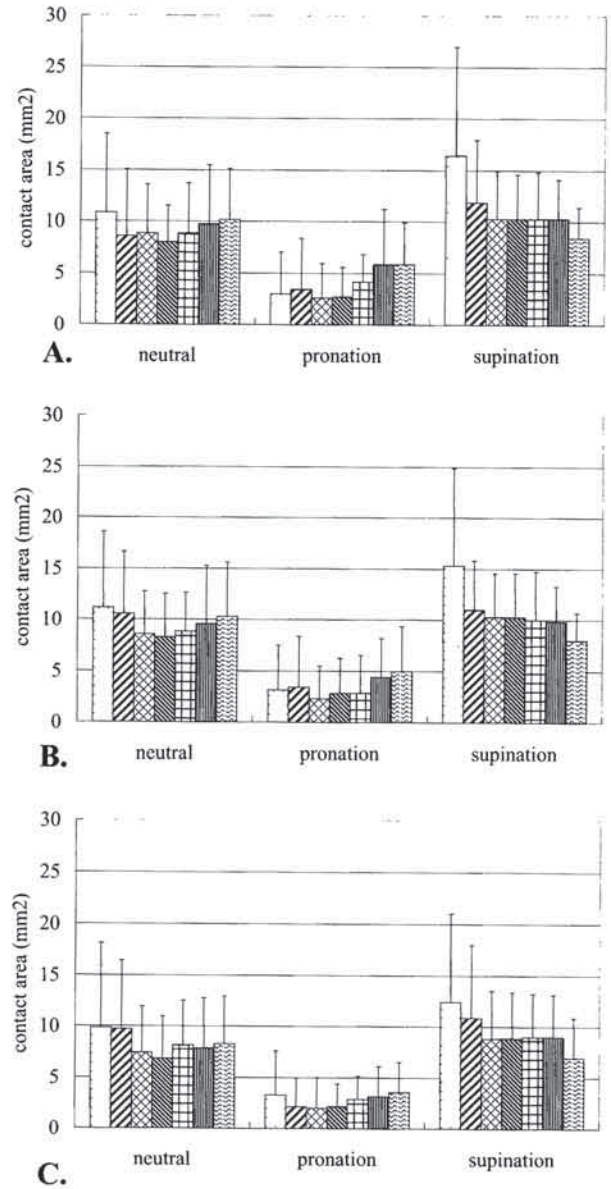
### 3) DRUJ 接触面積

TFCCが正常な状態では、筋無負荷時には尺骨を短縮する前のDRUJの接触面積は極めて小さく、筋負荷により増加した。尺骨短縮前のDRUJの接触面積の7肢の平均値は、筋無負荷時には中間位 0.57 mm<sup>2</sup>、回内 60°位 0.57 mm<sup>2</sup>、回外 60°位 3.29 mm<sup>2</sup> であり（第13図A）、筋負荷時には中間位 10.86 mm<sup>2</sup>、回内 60°位

3.00 mm<sup>2</sup>、回外 60°位 16.43 mm<sup>2</sup>であった（第14図A）、筋無負荷時のDRUJの接触面積は、尺骨を短縮すると中間位（ $p < 0.004$ ）および回内 60°位（ $p = 0.02$ ）では有意に増加し、回外 60°位では統計学的に有意差はないものの増加傾向にあった（ $p = 0.48$ ）。一方、筋に負荷を加えた状態では、接触面積は尺骨の短縮に伴い回外 60°位では減少傾向となり、中間位、回内 60°位では一



第13図 TFCCが正常な7肢(A)、橈尺靭帯を部分切離した7肢(B)、橈尺靭帯を全切離した7肢(C)の中間位、回内60°位、回外60°位での筋無負荷時における尺骨短縮前後のDRUJの接触面積の変化。X軸は尺骨短縮量 (□: 0-mm; ▨: 1-mm; ▩: 2-mm; ▧: 3-mm; ▦: 4-mm; ▥: 5-mm; ▤: 6-mm), Y軸はDRUJの接触面積を表す。\*Tukey法による *post hoc* test で尺骨短縮前の値と比較して有意差あり ( $p < .05$ ). \*\*Tukey法による *post hoc* test で尺骨短縮前の値と比較して有意差あり ( $p < .01$ ). (Nishiwaki M et al: J Hand Surg 33A: 198-205, 2008のFigure 7を許可を得て転載)



第14図 TFCCが正常な7肢(A)、橈尺靭帯を部分切離した7肢(B)、橈尺靭帯を全切離した7肢(C)の中間位、回内60°位、回外60°位での筋負荷時における尺骨短縮前後のDRUJの接触面積の変化。X軸は尺骨短縮量 (□: 0-mm; ▨: 1-mm; ▩: 2-mm; ▧: 3-mm; ▦: 4-mm; ▥: 5-mm; ▤: 6-mm), Y軸はDRUJの接触面積を表す。\*Tukey法による *post hoc* test で尺骨短縮前の値と比較して有意差あり ( $p < .05$ ). \*\*Tukey法による *post hoc* test で尺骨短縮前の値と比較して有意差あり ( $p < .01$ ). (Nishiwaki M et al: J Hand Surg 33A: 198-205, 2008のFigure 8を許可を得て転載)



定の傾向を示さず、統計学的にはいずれの肢位でも有意な変化はなかった ( $p > 0.05$ )。尺骨を6 mm 短縮した後の DRUJ の接触面積の平均値は、筋無負荷時は中間位 8.14 mm<sup>2</sup>、回内 60°位 4.71 mm<sup>2</sup>、回外 60°位 7.43 mm<sup>2</sup> であり、筋負荷時は、中間位 10.14 mm<sup>2</sup>、回内 60°位 5.86 mm<sup>2</sup>、回外 60°位 8.43 mm<sup>2</sup> であった。

橈尺靭帯部分切離または全切離後の尺骨短縮に伴う DRUJ の接触面積の変化は TFCC 正常時より小さかった (第 13 図 BC, 第 14 図 BC)。橈尺靭帯全切離後に尺骨を 6 mm 短縮した際の DRUJ の接触面積の平均値は、筋無負荷時は中間位 5.00 mm<sup>2</sup>、回内 60°位 1.86 mm<sup>2</sup>、回外 60°位 4.71 mm<sup>2</sup> であり (第 13 図 C)、筋負荷時は中間位 8.29 mm<sup>2</sup>、回内 60°位 3.57 mm<sup>2</sup>、回外 60°位 7.00 mm<sup>2</sup> であった (第 14 図 C)。

#### 4) DRUJ 接触部位

尺骨短縮前の DRUJ の接触部位は、TFCC が正常な状態では筋無負荷時、筋負荷時ともに橈骨尺骨切痕の近位端より遠位に離れた位置であった。DRUJ の中で最も高い圧を示した部位は、筋無負荷時には橈骨尺骨切痕の近位端より平均で中間位では 3.3 mm、回内 60°位では 4.6 mm、回外 60°位では 1.8 mm 遠位であり、筋負荷時には中間位では 4.1 mm、回内 60°位では 3.5 mm、回外 60°位では 2.2 mm 遠位であった。筋無負荷時、筋負荷時ともに尺骨を短縮すると DRUJ の接触部位は近位に移動した。筋無負荷時にはすべての肢位で 1 mm 以上の短縮により、また筋負荷時には中間位および回内 60°位では 2 mm 以上、回外 60°位では 4 mm 以上の短縮により、DRUJ の中で最も高い圧を示した部位は橈骨尺骨切痕の近位端から 1 mm 以内の位置となった。橈尺靭帯を部分切離および全切離しても DRUJ の接触部位に大きな変化はなかった。

## 考 察

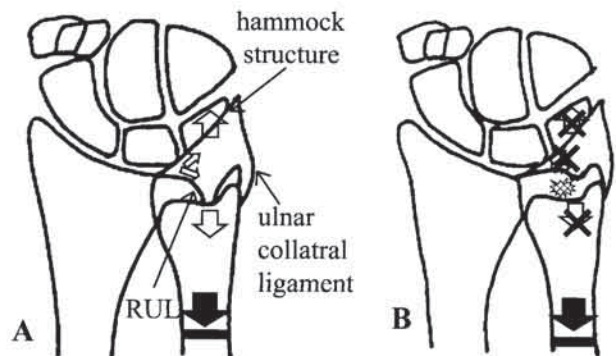
### 1. 尺骨短縮前後の DRUJ 安定性変化

研究 1 の結果から、橈骨を尺骨に対して背側および掌側に変位させた際の DRUJ stiffness は、TFCC が正常な状態では中間位、回内 60°位、回外 60°位ともに尺骨を短縮すると有意に増加することが判明した。橈尺靭帯部分切離後も尺骨短縮に伴って DRUJ stiffness は増加し、回外 60°位で橈骨を背側に変位させた場合および回内 60°位で橈骨を掌側に変位させた場合を除き、尺骨を 3 ~ 6 mm 短縮することにより TFCC が正常な状態と同等程度にまで回復した。しかし、橈尺靭帯を全切離した後は尺骨を 6 mm 短縮してもすべての回旋肢位で

DRUJ stiffness は正常と同等にはならなかった。つまり、尺骨の短縮には DRUJ の安定化作用があり、短縮量が多いほど安定化作用は大きい、その作用が生じるためには橈尺靭帯がその起始部である尺骨小窩に少なくとも部分的に付着している必要がある。一方、橈尺靭帯が完全に尺骨小窩から剥離してしまった場合には、尺骨短縮による DRUJ の安定化作用は不十分である。

これらの結果は教室 Nakamura<sup>3, 27, 28)</sup>によって示された TFCC の 3 次元的な機能解剖所見により説明できる。すなわち、橈尺靭帯が一部でも尺骨小窩に付着している場合には、尺骨を短縮すると遠位の hammock 構造が引き下げられるため、TFCC は長軸方向および橈尺方向に緊張し、UCJ および DRUJ が安定化する (第 15 図 A)。しかし、橈尺靭帯が完全に尺骨小窩から剥離している場合には、尺骨を短縮しても hammock 構造は引き下げられないため、DRUJ の安定化は不十分となる (第 15 図 B)。

しかし、橈尺靭帯が部分的に尺骨小窩に付着している場合でも、一部の肢位では DRUJ の安定化作用は不十分であった。橈尺靭帯が部分的に尺骨小窩に付着している状態で回外 60°位で橈骨を尺骨に対して背側に変位させた場合と回内 60°位で橈骨を掌側に変位させた場合の DRUJ の stiffness は、尺骨を 6 mm 短縮しても TFCC が正常な状態と同等にはならなかった。したがって、回外位で橈骨が尺骨に対して背側方向 (尺骨が橈骨に対し掌側方向) あるいは回内位で橈骨が掌側方向 (尺骨が背側方向) への重度の DRUJ 不安定性を有する症例では、橈尺靭帯が部分的に尺骨小窩に付着していても尺骨短縮術を適応できないことが判明した。



第 15 図 尺骨を短縮すると、橈尺靭帯がすべてあるいは部分的に尺骨小窩に付着している場合には hammock 構造が引き下げられて TFCC が緊張し、DRUJ は安定化する (A)。橈尺靭帯が完全に尺骨小窩から剥離している場合は、尺骨を短縮しても hammock 構造は引き下げられず TFCC は緊張しないため、DRUJ の安定化は不十分である (B)。 (Nishiwaki M et al: J Hand Surg 30A : 719-726, 2005 の Figure 9 を許可を得て転載)



DRUJ の安定性を評価する多くの研究では、橈尺靭帯は橈骨への付着部で切離されていたが<sup>4, 6)</sup>、われわれは本研究で橈尺靭帯の切離を尺骨小窩への付着部で行った。臨床例では、三角線維軟骨が橈骨付着部で断裂することはあっても橈尺靭帯が橈骨付着部で断裂することはまれであり、重度の DRUJ 不安定性を有する患者の多くは橈尺靭帯が尺骨付着部で断裂している<sup>8, 9, 35)</sup>。したがって本研究のごとく 橈尺靭帯を尺側で切離する方が臨床に近いモデルである。橈尺靭帯を尺側で切離するモデルを Haugstvedt ら<sup>9)</sup>も用いているが、正常な解剖学的構造を保ったまま橈尺靭帯を直視下に観察することは不可能なため、正確に切離することは極めて困難である。本研究では、尺骨を回転させることにより橈尺靭帯を直視下に観察できたため、尺骨付着部で正確に切離することが可能であった。

また、尺側手根伸筋腱の腱鞘床が TFCC 損傷で断裂することは Galeazzi 骨折以外ではまれなため、本研究では、橈尺靭帯全切離後も尺側手根伸筋腱鞘床は温存した。

## 2. 尺骨短縮前後の DRUJ 圧変化

研究 2 の結果から、TFCC が正常な状態では、筋無負荷時、負荷時ともに尺骨を短縮すると DRUJ の最大圧は中間位、回内 60°位、回外 60°位のいずれの肢位でも増加することが判明した。これらの結果は、橈骨を延長すると DRUJ の最大圧が増加することを報告した Miura ら<sup>36)</sup>の結果と一致した。また、橈尺靭帯を尺骨小窩起始部で部分切離した状態では、尺骨の短縮に伴う DRUJ の最大圧の変化は TFCC が正常な場合よりも小さく、橈尺靭帯を全切離するとさらに小さいことが判明した。

DRUJ force の尺骨短縮に伴う変化は、最大圧の変化とほぼ同様であった。TFCC が正常な状態では尺骨を短縮すると DRUJ force は大きく増加し、橈尺靭帯を切離すると尺骨の短縮に伴う DRUJ force の変化は小さくなった。これらの結果も、研究 1 と同様に教室の Nakamura ら<sup>3)</sup>が示した 3 次元的機能解剖所見により説明できる。つまり、橈尺靭帯が部分的にでも尺骨小窩に付着している場合には、尺骨を短縮すると hammock 構造が引き下げられて TFCC が緊張するため、DRUJ が安定するだけでなく、DRUJ force は増加し、それに伴い DRUJ の最大圧も増加する。しかし、橈尺靭帯が完全に断裂している場合は、尺骨を短縮しても hammock 構造は引き下げられず TFCC の緊張は大きく変化しないため、DRUJ force および最大圧の変化は小さ

い。

一方、DRUJ の接触面積は尺骨を短縮することにより筋無負荷時には増大し、筋負荷時には有意な変化はなかった。これらの結果は尺骨短縮術が DRUJ の適合性を悪化させ、接触面積を減少させることを示した Deshmukh ら<sup>30)</sup>の結果と異なる。しかし、彼らの研究は手関節離断を行った屍体を冠状断した後、尺骨を短縮させた際の冠状断における DRUJ の適合性から接触面積を推測したものであり、生体で尺骨短縮術を行った際に DRUJ に生じる状況は生体工学的な手法を用いた本研究に近いと考えられる。本研究の結果では、筋無負荷時には DRUJ force が尺骨短縮前は極めて小さいため、尺骨頭と橈骨尺骨切痕の接触もわずかであったが、尺骨を短縮すると DRUJ force が増大し、尺骨頭が橈骨尺骨切痕に強く押し付けられるため、関節適合性の変化にかかわらず接触面積が増大したと考えられた。一方、筋負荷時には尺骨を短縮する前にすでに DRUJ force が大きく、尺骨頭が橈骨尺骨切痕に押し付けられているため、尺骨短縮に伴う接触面積の変化は主に関節適合性の変化により生じたと考えられた。

尺骨短縮術の長期成績の臨床報告によると、尺骨短縮後 2～6 年で 28～38% の患者に単純 X 線像で DRUJ に変化を認めている<sup>25, 26, 28)</sup>。Köppel ら<sup>26)</sup>は、これらの患者は無症状であることより、尺骨短縮術後にみられる単純 X 線像での変化はリモデリングであり、変形性関節症には移行しないと推定している。しかし、本研究から尺骨を短縮すると DRUJ の接触部位が変化するだけでなく、DRUJ の近位端における最大圧が大きく増加することが判明した。関節軟骨に大きな圧を与えると軟骨に損傷が生じることが示唆されており<sup>37, 38)</sup>、Weighman ら<sup>37)</sup>によると人間の大腿骨頭に 2 MPa の圧を 90,000 周期与えると軟骨表面に亀裂が生じた。これらの結果を考慮すると、尺骨の短縮量が多すぎると最大圧の増加により DRUJ の関節症変化が十分に生じ得ると考えられる。

筋無負荷時の DRUJ force は、尺骨短縮前には極めて小さく、尺骨短縮後は大きいことも判明した。Shaaban ら<sup>39)</sup>の報告でも筋無負荷時の DRUJ force は極めて小さい。つまり、通常は筋肉を収縮させていなければ DRUJ の軟骨はほとんど負荷を受けないが、尺骨短縮後には筋肉を収縮させていない状態であっても大きな負荷を受け続けることになる。継続的な関節軟骨への負荷も関節症変化を引き起こす重要な要因となることが予想される。

DRUJ の形状も尺骨短縮後の DRUJ の圧変化に大きく影響を与えると思われる。Deshmukh ら<sup>30)</sup>は、橈骨尺骨切痕の深さと傾きが尺骨短縮後の DRUJ の適合性、



接触面積、橈尺間距離に影響すると報告している。Tolat ら<sup>21)</sup>は橈骨尺骨切痕の傾きが遠位橈側から近位尺側に向かう患者 (negative angle) に対して尺骨短縮術を行うと DRUJ の適合性が障害されると推測している。Sagerman ら<sup>34)</sup>もこの意見に同意し、さらに橈骨尺骨切痕と尺骨頭の傾きに大きな差がある患者も同様の問題が生じることを追加している。研究2では、橈骨尺骨切痕の傾きは positive angle が4例、negative angle が1例、neutral angle が2例であったが、肢体数が少なかったため、DRUJ の形状が DRUJ の最大圧、DRUJ force、DRUJ の接触面積に与える影響を統計的に解析することはできなかった。この点に関してはさらなる検討を要する。

本研究で用いた屍体標本の ulnar variance の分布には偏りがあり、研究2で用いた7肢中5肢が ulnar plus variance であった<sup>13-15, 34)</sup>。一般に尺骨が長いほど橈骨尺骨切痕の傾きは遠位に開いた形状となるため、研究2で用いた標本の橈骨尺骨切痕の傾きの平均は4°と、一般的な平均値より小さかった<sup>15, 34)</sup>。研究1で用いた標本も6肢すべてが ulnar plus variance であり、研究1, 2ともにこれらの分布の偏りが結果に影響を及ぼす可能性はあるが、尺骨短縮術は通常 ulnar plus variance の患者に適応され、minus variance の患者にはほとんど適応されない。したがって、本研究で用いた屍体標本の ulnar variance や橈骨尺骨切痕の傾きは一般人の分布とは異なるものの尺骨短縮術を受ける患者の分布に近く、本研究のモデルとしては適切と考えられる。

また、研究2では圧センサーを挿入するために DRUJ の関節包は切離し、前腕骨間膜の遠位膜様部は切除した。これらの組織は DRUJ の安定性に寄与しているため、これらの操作により DRUJ の圧分布が変化する可能性がある<sup>10, 12)</sup>。しかし、本研究では DRUJ の安定性に最も重要な橈尺靭帯を温存することで、圧センサー挿入による圧分布への影響を最小限にした。また、臨床例で尺骨短縮術が適応されることが多い TFCC 損傷 (橈尺靭帯損傷) での圧変化の検討も可能であった。

### 3. 尺骨短縮術の至適短縮量について

尺骨短縮術での至適短縮量は個々の症例により異なる。Palmer ら<sup>2)</sup>は新鮮屍体を用いた生体工学的研究で、2.5 mm の尺骨短縮により、UCJ の圧は平均 18% から 4% に減少したと報告している。したがって UCJ の除圧目的の場合には一般に 2.5 mm の短縮で十分と考えられる。一方、DRUJ の安定化作用は、橈尺靭帯が部分的に尺骨小窩に付着していれば、尺骨短縮量が多いほど大きいこ

とが研究1で判明した。しかし、尺骨の短縮により TFCC が緊張し、DRUJ の圧の増加を招くことが研究2で示された。したがって、尺骨短縮術を DRUJ の安定化目的で用いる場合には、DRUJ の圧の増加による関節症変化を防ぐために、尺骨の短縮量は安定性を得るのに最小限の量とするべきである。DRUJ の最大圧は、尺骨を 4 mm 以上短縮した場合には筋無負荷時にも尺骨短縮前の筋負荷時と同等以上の値になったため、尺骨の短縮量は一般には 3 mm 程度に留めることが望ましい。また、短縮量を決定する際には DRUJ の形状や ulnar variance も考慮すべきである。Loh ら<sup>18)</sup>は ulnar plus variance の患者に対しては neutral variance まで矯正することを勧めており、ulnar minus variance の患者に対しては 2.5 mm 以上の短縮は行うべきでないと報告している。橈骨尺骨切痕の傾きが遠位橈側から近位尺側に向かう場合 (negative angle) には尺骨を短縮すると DRUJ の適合性が障害される可能性が高いため、短縮量はより少なく設定すべきである。一方、二次性に生じた ulnar plus variance の患者に対しては、一次性の ulnar plus variance の患者に対する短縮量よりも多くの短縮量が許容されるであろう。

## 総 括

1. 尺骨短縮術による DRUJ 安定化の機序を解明し、その適応と臨床上の限界および至適な尺骨短縮量を明らかにするために、新鮮屍体上肢を用いて TFCC が正常な状態および様々な損傷状態で尺骨短縮前後の DRUJ の安定性および圧の変化を生体工学的手法で解析し、以下の結論を得た。
2. 橈尺靭帯が全部あるいは部分的にでも尺骨小窩に付着している場合には、尺骨を短縮することにより DRUJ を安定化することができるが、完全に尺骨小窩から橈尺靭帯が剥離している場合には尺骨の短縮を行っても DRUJ の安定化は十分には得られない。
3. TFCC が正常な状態では、筋負荷時、無負荷時ともに尺骨を短縮すると DRUJ の最大圧が増加した。橈尺靭帯を切離すると、尺骨短縮に伴う DRUJ の最大圧の変化が小さくなった。
4. 尺骨の短縮量は DRUJ の圧増加を防ぎ、かつ、DRUJ の安定性を得ることができる必要最小限の量とするべきである。



## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました慶應義塾大学医学部整形外科学教室戸山芳昭教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究を直接御指導いただきました慶應義塾大学医学部整形外科学教室中村俊康講師に深謝いたします。さらに多大なるご助言、ご指導いただきました慶應義塾大学医学部整形外科名倉武雄特別研究教員講師をはじめとする慶應義塾大学医学部生体医工学研究室の諸先生方に感謝いたします。

本研究の一部は、第47回日本手の外科学会学術集会(2004, 大阪), 59th Annual Meeting of the American Society for Surgery of the Hand (2004, New York), 第49回日本手の外科学会学術集会(2006, 浜松), 61st Annual Meeting of the American Society for Surgery of the Hand (2006, Washington DC), 第21回日本整形外科基礎学会(2006, 長崎), 10th Triennial Congress of the International Federation of Societies for Surgery of the Hand (2007, Sydney)において報告した。

本論文は、Nishiwaki M, Nakamura T, Nakao Y, Nagura T, Toyama Y : Ulnar shortening effect on distal radioulnar joint stability : a biomechanical study. *J Hand Surg* 30A : 719-726, 2005 の一部, Nishiwaki M, Nakamura T, Nagura T, Toyama Y, Ikegami H : Ulnar-shortening effect on distal radioulnar joint pressure : a biomechanical study. *J Hand Surg* 33A : 198-205, 2008 の一部を含む。

## 文 献

- 1) Palmer AK, Werner FW : The triangular fibrocartilage complex of the wrist-anatomy and function. *J Hand Surg* 6A : 153-162, 1981
- 2) Palmer AK, Werner FW : Biomechanics of the distal radioulnar joint. *Clin Orthop* 187 : 26-35, 1984
- 3) Nakamura T, Yabe Y, Horiuchi Y : Functional anatomy of the triangular fibrocartilage complex. *J Hand Surg* 21B : 581-586, 1996
- 4) Kihara H, Short WH, Werner FW, Fortino MD, Palmer AK : The stabilizing mechanism of the distal radioulnar joint during pronation and supination. *J Hand Surg* 20A : 930-936, 1995
- 5) Tolat AR, Stanley JK, Trail IA : A cadaveric study of the anatomy and stability of the distal radioulnar joint in the coronal and transverse planes. *J Hand Surg* 21B : 587-594, 1996

- 6) Stuart PR, Berger RA, Linscheid RL, An KN : The dorsopalmar stability of the distal radioulnar joint. *J Hand Surg* 25A : 689-699, 2000
- 7) Ward LD, Ambrose CG, Masson MV, Levaro F : The role of the distal radioulnar ligaments, interosseous membrane, and joint capsule in distal radioulnar joint stability. *J Hand Surg* 25A : 341-351, 2000
- 8) Adams BD, Berger RA : An anatomic reconstruction of the distal radioulnar ligaments for posttraumatic distal radioulnar joint instability. *J Hand Surg* 27A : 243-251, 2002
- 9) Haugstvedt JR, Berger RA, Berglund LJ, Neale PG, Sabick MB : An analysis of the constraint properties of the distal radioulnar ligament attachments to the ulna. *J Hand Surg* 27A : 61-67, 2002
- 10) Watanabe H, Berger RA, An KN, Berglund LJ, Zobitz ME : Stability of the distal radioulnar joint contributed by the joint capsule. *J Hand Surg* 29A : 1114-1120, 2004
- 11) Teoh LC, Yam AKT : Anatomic reconstruction of the distal radioulnar ligaments : long-term results. *J Hand Surg* 30B : 185-193, 2005
- 12) Watanabe H, Berger RA, Berglund LJ, Zobitz ME, An KN : Contribution of the interosseous membrane to distal radioulnar joint constraint. *J Hand Surg* 30A : 1164-1171, 2005
- 13) Nakamura R, Tanaka Y, Imaeda T, Miura T : The influence of age and sex on ulnar variance. *J Hand Surg* 16B : 84-88, 1991
- 14) Schuind FA, Linscheid RL, An KN, Chao EY : A normal data base of posteroanterior roentgenographic measurements of the wrist. *J Bone Joint Surg* 74A : 1418-1429, 1992
- 15) Garcia-Elias M, Pitagoras T, Gilabert-Senar A : Relationship between joint laxity and radio-ulno-carpal joint morphology. *J Hand Surg* 28B : 158-162, 2003
- 16) Friedman SL, Palmer AK : The ulnar impaction syndrome. *Hand Clin* 7 : 295-310, 1991
- 17) Chun S, Palmer AK : The ulnar impaction syndrome : follow-up of ulnar shortening osteotomy. *J Hand Surg* 18A : 46-53, 1993
- 18) Loh YC, Van Den Abbeele K, Stanley JK, Trail IA : The results of ulnar shortening for ulnar impaction syndrome. *J Hand Surg* 24B : 316-320, 1999
- 19) Tomaino MM : Ulnar impaction syndrome in the ulnar negative and neutral wrist. *J Hand Surg* 23B : 754-757, 1998
- 20) Tatebe M, Nakamura R, Horii E, Nakao E : Results of ulnar shortening osteotomy for ulnocarpal impaction syndrome in wrists with neutral or negative ulnar variance. *J Hand Surg* 30B : 129-132, 2005
- 21) Tolat AR, Sanderson PL, De Smet L, Stanley JK : The gymnast's wrist : acquired positive ulnar variance following chronic epiphyseal injury. *J Hand Surg* 17B : 678-681, 1992
- 22) Milch H : Cuff resection of the ulna for malunited



- Colles' fracture. *J Bone Joint Surg* 39A : 311-313, 1941
- 23) Darrow JC Jr, Linscheid RL, Dobyns JH, Mann JM 3rd, Wood MB, Beckenbaugh RD : Distal ulnar recession for disorders of the distal radioulnar joint. *J Hand Surg* 10A : 482-491, 1985
- 24) Boulas HJ, Milek MA : Ulnar shortening for tears of the triangular fibrocartilaginous complex. *J Hand Surg* 15A : 415-420, 1990
- 25) Minami A, Kato H : Ulnar shortening for triangular fibrocartilage complex tears associated with ulnar positive variance. *J Hand Surg* 23A : 904-908, 1998
- 26) Köppel M, Hargreaves IC, Herbert TJ : Ulnar shortening osteotomy for ulnar carpal instability and ulnar carpal impaction. *J Hand Surg* 22B : 451-456, 1997
- 27) Nakamura T, Yabe Y, Horiuchi Y, Kikuchi Y, Makita A : Ulnar shortening procedure for the ulnocarpal and distal radioulnar joint disorders. *J Jpn Soc Surg Hand* 15 : 119-126, 1998
- 28) Nakamura T, Takayama S, Kikuchi Y, Osada N, Ono H : Long-term results of the ulnar shortening procedure for triangular fibrocartilage complex tear. *J Jpn Soc Surg Hand* 19 : 219-224, 2002
- 29) Inoue G, Tamura Y : Treatment of chronic dislocation or subluxation of the distal radioulnar joint. *J Jpn Orthop Assoc* 67 : 399-407, 1993
- 30) Deshmukh SC, Shanahan D, Coulthard D : Distal radioulnar joint incongruity after shortening of the ulna. *J Hand Surg* 25B : 434-438, 2000
- 31) Scheker LR, Severo A : Ulnar shortening for the treatment of early post-traumatic osteoarthritis at the distal radioulnar joint. *J Hand Surg* 26B : 41-44, 2001
- 32) Nishiwaki M, Nakamura T, Nakao Y, Nagura T, Toyama Y : Ulnar shortening effect on distal radioulnar joint stability : a biomechanical study. *J Hand Surg* 30A : 719-726, 2005
- 33) Nishiwaki M, Nakamura T, Nagura T, Toyama Y, Ikegami H : Ulnar-shortening effect on distal radioulnar joint pressure : a biomechanical study. *J Hand Surg* 33A : 198-205, 2008
- 34) Sagerman SD, Zogby RG, Palmer AK, Werner FW, Fortino MD : Relative articular inclination of the distal radioulnar joint : a radiographic study. *J Hand Surg* 20A : 597-601, 1995
- 35) Morisawa Y, Nakamura T, Tazaki K : Dorsoradial avulsion of the triangular fibrocartilage complex with an avulsion fracture of the sigmoid notch of the radius. *J Hand Surg* 32E : 705-708, 2007
- 36) Miura T, Firoozbakhsh K, Cheema T, Moneim MS, Edmunds M, Meltzer S : Dynamic effects of joint-leveling procedure on pressure at the distal radioulnar joint. *J Hand Surg* 30A : 711-718, 2005
- 37) Weightman BO, Freeman MA, Swanson SA : Fatigue of articular cartilage. *Nature* 244 : 303-304, 1973
- 38) Zimmerman NB, Smith DG, Pottenger LA, Cooperman DR : Mechanical disruption of human patellar cartilage by repetitive loading in vitro. *Clin Orthop* 229 : 302-307, 1988
- 39) Shaaban H, Giakas G, Bolton M, Williams R, Scheker LR, Lees VC : The distal radioulnar joint as a load-bearing mechanism-a biomechanical study. *J Hand Surg* 29A : 85-95, 2004



学位論文

Calcium pentosan polysulfate による TIMP-3 産生亢進と  
ADAMTS4 アグリカナーゼ活性阻害作用

慶應義塾大学医学部病理学教室

(指導：岡田保典教授)

たき さわ まさ ゆき  
滝沢 雅之

Key Words : CaPPS, rheumatoid arthritis, osteoarthritis, TIMP-3, ADAMTS4

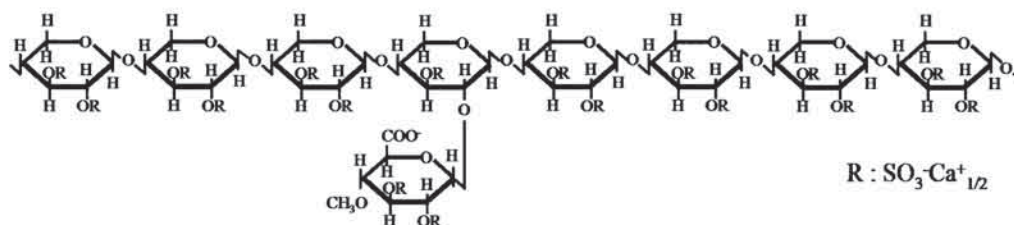
緒言

関節リウマチ (RA) は日本人の約 0.5% が罹患する比較的頻度の高い関節疾患で、慢性増殖性滑膜炎により進行性に関節軟骨・骨が破壊される難治性疾患である<sup>1)</sup>。一方、変形性関節症 (OA) は主として機械的ストレスが引き金となって関節軟骨が破壊される極めて頻度の高い関節疾患で、本邦では約 700 万人が罹患しているとされる<sup>2)</sup>。RA の治療は非ステロイド性消炎鎮痛薬 (non-steroidal anti-inflammatory drugs ; NSAIDs)、ステロイド薬、抗リウマチ薬 (disease-modifying anti-rheumatic drugs ; DMARDs) が主体であるが、最近、キメラ型抗 TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ) 抗体や可溶性 TNF- $\alpha$  受容体タンパクなどの生物学的製剤による治療が導入され、大きな進歩が報告されている<sup>3)</sup>。OA の治療は初期から中期にかけては抗炎症薬などの服用やヒアルロン酸の関節内注入が行われている。RA と OA においては、これらの薬物療法の関節軟骨破壊抑制効果は十分ではなく、病態の進行につれて人工関節置換を施すことが多く、薬剤貢献度の比較的低い疾患とされている<sup>2)</sup>。RA と OA の発症機序は異なるものの、関節軟骨破壊プロセスには共通性があり、関節軟骨は表層でのプロテオグリカンの消失に始まり、コラーゲン線維の分解によりフィブリレーション (軟骨表面の粗造化) やラッセレーション (裂隙形成) が生じる。これらの関節軟骨の病変は、軟骨細胞外マトリックス (ECM) の分解によるもので、matrix metalloproteinase (MMP) ファミリーと ADAMTS (a disintegrin and metallopro-

teinase with thrombospondin motifs) ファミリーが担っている。ADAMTS ファミリーには 19 種類の分子が報告されているが、それらのうちでも ADAMTS1, 4, 5, 8, 9, 15 がアグリカン分解活性 (アグリカナーゼ活性) を有することが知られている<sup>4)</sup>。RA や OA の関節軟骨破壊を抑制する方法として、これら酵素の活性を阻害することが有効と考えられるが、現在まで酵素阻害剤は実用化されるに至っていない。

Calcium pentosan polysulfate (CaPPS) はブナの樹皮より抽出されたヘミセルロースを硫酸化した化合物 (分子量 4000~6000 Da) であり (第 1 図)、動物の OA 治療薬としてオーストラリアやニュージーランドなどで実用化されている。CaPPS はラットにおけるアジュバント関節炎や空気嚢モデルで抗炎症作用を示し<sup>5,6)</sup>、ウサギにおけるヒアルロン酸ポリリジン関節炎モデルではプロテオグリカン合成促進により、プロテオグリカン総量が維持されることが示されている<sup>7)</sup>。また、PPS のナトリウム塩である NaPPS はイヌの十字靭帯切除 OA モデルにおいて、膝関節軟骨における活性型 MMP 量を減少させるとともに、MMP インヒビターである TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinases) 量を増加させると報告されている<sup>8)</sup>。CaPPS を経口投与した際には、MMP の活性抑制により、軟骨保護作用を発揮することが示唆されており<sup>9)</sup>、好中球エラスターゼやカテプシン B の活性を直接阻害することや<sup>5)</sup>、アグリカン分解活性の阻害が *in vitro* の実験で示されている<sup>10)</sup>。しかし、CaPPS による MMP, TIMP およびアグリカナーゼと呼ばれる ADAMTS 分子の産生や活性調節に関する研究はこれまでなく、動物実験で観察された CaPPS によ





第1図 Calcium pentosan polysulfate (CaPPS) の構造

CaPPSはペントースの繰り返し構造を持つ分子量4000~6000 Daの硫酸化多糖である。同様の硫酸化多糖化合物ではヘパリンやグリコサミノグリカンが知られているが、CaPPSはヘパリンと比べて抗凝血作用は弱い。

る関節軟骨保護作用の機序についても不明である。そこで、本研究ではRA滑膜線維芽細胞とOA関節軟骨細胞を用いて、これら細胞に対するCaPPSのMMPやADAMTSの活性調節に及ぼす影響について検討した。

## 実験材料と方法

### 1. RA滑膜に対するCaPPSの作用解析

#### 1) RA滑膜線維芽細胞の培養

アメリカリウマチ学会の基準<sup>11)</sup>に従って診断されたRA患者14名より膝関節置換術時に滑膜組織の提供を受けた。RA膝滑膜組織を細切後、0.5%バクテリア由来コラゲナーゼI(ワシントンバイオケミカル)と0.02%トリプシン(インビトロジェン)でそれぞれ1時間と30分間、37°Cでインキュベートした。得られた細胞を10%牛胎児血清(FBS)を加えたmodified Eagle's medium(MEM)で懸濁し、60 mm培養皿あたり1×10<sup>6</sup>細胞の割合で播種し、培養開始より2継代目までの細胞を実験に使用した。これらのRA滑膜組織の実験への使用にあたっては、患者本人よりインフォームドコンセントを得て行った。

#### 2) 培養RA滑膜細胞におけるMMPおよびTIMPのサンドイッチイムノアッセイ法

培養RA滑膜線維芽細胞がコンフルエントに達した後、CaPPS(0, 0.1, 1, 10 μg/ml, アルスロファーマ), interleukin-1α(IL-1α; 100 units/ml, 大日本住友製薬)および0.2%ラクトアルブミン水解物(インビトロジェン)を含む無血清MEM培地中で5日間培養した。回収した培養液中のMMP-1, -2, -3, -7, -8, -9, -13およびTIMP-1, -2の濃度をサンドイッチイムノアッセイ(EIA)法にて測定した<sup>12)</sup>。

#### 3) イムノブロット法

回収した培養液(1 ml)に3.3%トリクロロ酢酸を加

え、遠心後の沈殿物をドデシル硫酸ナトリウム(SDS)還元バッファーにて溶解させて濃縮した。また、細胞はSDSを含む電気泳動還元バッファーにて回収し、超音波処理で溶解させた。濃縮培養液と細胞溶解液を還元条件下で、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、分離されたタンパクをポリビニリデンジフルオリド(PVDF)膜に転写した。PVDF膜を3%牛血清アルブミン(BSA)でブロッキング後、MMP-1(41-1E5), MMP-3(55-2A4), TIMP-1(147-6D11), TIMP-2(67-4H11), TIMP-3(136-13H4), TIMP-4(187-7D11)に対するモノクローナル抗体(第一ファインケミカル)で12時間インキュベーションし、アビチン・ビオチン-ペルオキシダーゼ法(ABC法)にて各タンパクを検出した。各TIMPのイムノブロットではリコンビナントTIMP-1, -2, -3, -4(第一ファインケミカル)を陽性対照とした。

#### 4) TIMP-3の脱グリコシル反応

培養RA滑膜線維芽細胞をIL-1α(100 units/ml)とCaPPS(10 μg/ml)存在下で5日間培養した培養液(1 ml)を0.5% SDSおよび1%2-メルカプトエタノールを加えて25°Cで1時間反応し、0.5% Nonident P40(シグマ・アルドリッチ)を含むナトリウムリン酸緩衝液(pH 7.2)中でN-グリコシダーゼF(1 unit; ロシュ・ダイアグノスティクス)で25°Cで24時間消化した。次いで、サンプルを電気泳動し、抗TIMP-3抗体を用いて上記の方法でイムノブロット法を行った。

#### 5) ノーザンブロット法

培養RA滑膜線維芽細胞にIL-1α(100 units/ml)とCaPPS(0, 0.1, 1, 10 μg/ml)を添加して24時間培養し、RNAをグアニジン酸-チオシアネートフェノールクロロホルム法にて精製した。得られたRNAサンプルを2.2 Mホルムアルデヒドを含む1.2%アガロースゲルにて電気泳動し、Hybond N膜に転写した後、



<sup>32</sup>P 標識した TIMP-3 および glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) の cDNA プロブを用いてハイブリダイズさせた。膜を洗浄・乾燥後、バイオイメージアナライザー BAS2000 (富士フィルム) にてスキャンし、GAPDH とのシグナル比を算出した。

## 6) パルスチェイス実験

サブコンフルエントに達した培養 RA 滑膜線維芽細胞をメチオニン不含の無血清培地中で 1 時間培養後、CaPPS (10 μg/ml), IL-1α (100 units/ml) および <sup>35</sup>S-メチオニン (10 μCi/ml) を添加した無血清培地中で 6 時間培養した。続いて 1 mM メチオニンを含む無血清培地に交換し、0, 1, 3, 6, 12, 24 時間後に培養液と細胞を回収した。細胞画分の回収には、1% Nonident P40, 0.15 M NaCl, 1 mM EDTA およびアプロチニン (10 μg/ml) を含む 10 mM Tris-HCl (pH 7.8) 中に細胞を懸濁し、ソニケーションにより細胞を破碎した。抗 TIMP-3 抗体を結合させた Sepharose 4B による免疫沈降後、サンプルを電気泳動し、乾燥したゲルをバイオイメージアナライザー BAS2000 にてスキャンした。

## 7) In situ ハイブリダイゼーション解析

TIMP-3 cDNA (Suneel S. Apte 教授, 米国, クリーブランドクリニックより供与) を用いて、T3 および T7RNA ポリメラーゼによりジゴキシゲニン標識したセンスおよびアンチセンス単鎖 RNA プロブを作製した。RA 滑膜組織 (5 × 5 × 2 mm) は 4% のパラフォルムアルデヒドにて固定後、パラフィン包埋した。パラフィン切片をプロテアーゼ K (5 μg/ml; シグマ・アルドリッチ) と 0.25% 無水酢酸含有 0.1 M トリエタノールアミンで処理後、標識したセンスおよびアンチセンスプロブにて 50°C で 12 時間、ハイブリダイズした。反応後、切片をヘマトキシリンにて染色した。

## 8) TIMP-3 の免疫組織化学

培養 RA 滑膜線維芽細胞をチャンバースライド (ヌンク) 上に播種し、CaPPS (10 μg/ml), IL-1α (100 units/ml) および 0.2% ラクトアルブミン水解物を含む無血清培地中で 24 時間、37°C で培養した。また、RA 滑膜組織 (5 × 5 × 2 mm) も CaPPS (10 μg/ml), IL-1α (100 units/ml) を含む無血清培地中で 24 時間器官培養した。これらの滑膜細胞と滑膜組織を培養終了 3 時間前よりモネンシン (1 μM; シグマ・アルドリッチ) を添加して培養し<sup>13)</sup>、過ヨウ素酸・リジン・パラホ

ルムアルデヒド固定液中で 24 時間、4°C で固定した。パラフィン切片につき、抗 TIMP-3 モノクローナル抗体 (136-13H4, 20 μg/ml) を用いて ABC 法にて免疫染色し、ヘマトキシリンで対比染色を行った。

## 2. ADAMTS4 に対する CaPPS の作用解析

### 1) OA 関節軟骨細胞の培養

アメリカリウマチ学会の OA 診断基準<sup>14)</sup> に基づいて診断された OA 患者より人工関節置換術時に膝関節組織を採取し、インフォームドコンセントを得た上で実験材料として用いた。残存する非骨棘部の関節軟骨をメスで細切し、Dullbecco's modified Eagle's medium/Ham's F-12 (D-MEM/F-12, インビトロジェン) 培地中の 0.4% プロナーゼ (メルク) によって 37°C, 1 時間消化し、得られた沈殿画分を同培養液で溶解した 0.4% コラゲナーゼ (ワシントンバイオケミカル) にてさらに 37°C, 3 時間インキュベートし、関節軟骨細胞を得た。これらの軟骨細胞を 1 × 10<sup>4</sup> cells/cm<sup>2</sup> の細胞密度で播種し、アスコルビン酸 25 μg/ml と 10% FBS (ティッシュ・カルチャーバイオロジカル) を含む D-MEM/F-12 で培養し、1 ~ 2 継代時の細胞を実験に供した。

### 2) OA 軟骨細胞と軟骨組織のアグリカナーゼ活性に対する CaPPS の作用

OA 関節軟骨細胞を IL-1α (1 ng/ml), CaPPS (0, 0.1, 1, 10 μg/ml) およびブタ由来精製アグリカン (100 μg/ml) を無血清培地中に添加して 5 日間培養した。培養液を回収後濃縮し、コンドロイチナーゼ ABC (0.025 units/ml) およびケラタナーゼ (0.01 units/ml) で 4 時間処理により糖鎖を除去し、電気泳動後アグリカナーゼ切断部位 (NITEGE<sup>392</sup>) を特異的に認識するネオエピトープ抗体 (2 μg/ml) を用いて ABC 法によるイムノプロット法を行うことでアグリカナーゼ活性を検出した<sup>15)</sup>。OA 関節軟骨組織については、軟骨組織を 5 × 5 × 2 mm のスライスにし、これらを 4 個ずつ 24 穴プレートに入れ、CaPPS (0, 0.1, 1, 10 μg/ml) と IL-1α (1 ng/ml) を含む 500 μl の培地中で 5 日間培養した。培養終了後、凍結・破碎し、4 M グアニジン塩酸, 10 mM EDTA, 1 M アミノカプロン酸, 50 mM 酢酸バッファー (pH 6.8) でプロテオグリカンを抽出した。酵素処理にて糖鎖を除去後、上記のネオエピトープ抗体を用いてイムノプロットを行った。



### 3) ADAMTS1, 4, 5, 8, 9, 15 の mRNA 発現に対する CaPPS の作用

OA 関節軟骨細胞を IL-1 $\alpha$  (1 ng/ml) と CaPPS (0, 0.1, 1, 10  $\mu$ g/ml) 存在下で 18 時間培養し, RNA を回収後, 逆転写酵素を用いて cDNA を作製した. 得られた cDNA を鋳型として, ADAMTS1, 4, 5, 8, 9, 15 および対照の GAPDH に対するプライマーを用いて RT-PCR を行い, アガロースゲルにて電気泳動した.

### 4) ADAMTS4 タンパク産生に対する CaPPS のイムノブロット法による解析

OA 関節軟骨細胞を IL-1 $\alpha$  (1 ng/ml) と CaPPS (0, 0.1, 1, 10  $\mu$ g/ml) を添加し, 5 日間培養した. 培養液を電気泳動し, 抗ヒト ADAMTS4 モノクローナル抗体 (250-4F7) を用いてイムノブロットを行った<sup>16)</sup>.

### 5) ADAMTS4 アグリカナゼ活性に対する CaPPS の阻害作用

全長の ADAMTS4, C 末端側スパーサー (Sp) ドメイン (Arg<sup>693</sup>-Lys<sup>837</sup>) を欠損した  $\Delta$ Sp, C 末端側 Sp およびシステインリッチ (CR) ドメイン (Pro<sup>603</sup>-Lys<sup>837</sup>) を欠損した  $\Delta$ CR/Sp, C 末端側 Sp, CR およびトロンボスポンジン (TS) ドメイン (Gly<sup>521</sup>-Lys<sup>837</sup>) を欠損した  $\Delta$ TS/CR/Sp の FLAG タグを付けた各リコンビナントタンパクを TNCB バッファー (Tris-HCl pH 7.5/0.15 M NaCl/10 mM CaCl<sub>2</sub>/0.05% Brij 35/0.02% NaN<sub>3</sub>) で平衡化した抗 FLAG イムノアフィニティークラムで精製した<sup>15)</sup>. アグリカンはブタ鼻中隔軟骨より 4 M グアニジン塩酸で抽出し, セシウム密度勾配法により精製した<sup>17)</sup>. 全長の ADAMTS4,  $\Delta$ Sp,  $\Delta$ CR/Sp および  $\Delta$ TS/CR/Sp (各 10 nM), CaPPS (0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100  $\mu$ g/ml) または TIMP-3 (100 nM) 存在下でアグリカン (2 mg/ml) と 37°C で 16 時間インキュベートした. 反応産物の糖鎖をコンドロイチナーゼ ABC (0.025 units/ml) とケラタナーゼ (0.01 units/ml) で除去後, 電気泳動し, アグリカナゼ活性で切断されたアグリカンネオエピトープ NITEGE<sup>392</sup> と SELE<sup>1564</sup> を特異的に認識するネオエピトープ抗体 (Amanda J. Fosang 教授, オーストラリア, メルボルン大学より供与<sup>15, 18)</sup>) を用いて ABC 法によるイムノブロットを行った. また, イムノブロットで検出されたバンドを Scion Image (サイオン) により定量化し, 酵素活性を 50% 阻害する濃度 (IC<sub>50</sub> 値) を Origin 7.0J (オリジンラボ) により算定した.

### 6) 固相化 CaPPS に対する <sup>125</sup>I-ADAMTS4 の結合実験

ADAMTS4 の CaPPS への結合部位を調べるために, プレート上に固相化した CaPPS に <sup>125</sup>I で標識した ADAMTS4,  $\Delta$ Sp,  $\Delta$ CR/Sp,  $\Delta$ TS/CR/Sp または BSA をインキュベートすることで実施した. CaPPS をビオチン化し, ストレプトアビジンをコートした 96 穴マイクロプレートに結合させ, TNCB バッファーで洗浄した後に, ブロックエース (大日本住友製薬) でブロックした. ADAMTS4 の TS ドメイン中のヘパリン結合部位 GGWGGPWGPWG<sup>531</sup>, CR ドメインのグリコサミノグリカン結合部位 GSKKKFDKCM<sup>676</sup>, CR および Sp ドメインの SFRKFRYG<sup>696</sup>, Sp ドメインの LRRRPWAGRK<sup>837</sup>, 陰性対照として RASCETP をそれぞれ 0.25, 0.5, 1, 3 mg/ml の濃度で CaPPS コートしたプレート内へ添加し, 23°C で 1 時間インキュベートした. さらに, <sup>125</sup>I-ADAMTS4 あるいは <sup>125</sup>I-BSA (2  $\times$  10<sup>5</sup> cpm/well) を添加後, 4°C で 24 時間インキュベートし, 結合した放射活性を  $\gamma$  カウンターにて測定し, 全添加量に対する結合を算定した.

### 統計解析

RA 滑膜に対する CaPPS の作用解析では対照群と IL-1 $\alpha$  添加群間において Student または Aspin-Welch の t 検定を, IL-1 $\alpha$  非添加・添加群と CaPPS 処置群間では Dunnett の多重比較検定を実施した. OA 軟骨に対する CaPPS の作用解析では <sup>125</sup>I-ADAMTS4 添加群と合成ペプチド添加群間では Dunnett の多重比較検定を実施した. いずれの検定においても, P 値が 0.05 未満を有意差ありとした.

## 実験結果

### 1. RA 滑膜に対する CaPPS の作用解析

#### 1) 培養 RA 滑膜線維芽細胞における CaPPS の MMP および TIMP 産生への影響

IL-1 $\alpha$  非存在・存在下における RA 滑膜線維芽細胞による 7 種類の MMP (MMP-1, -2, -3, -7, -8, -9, -13) の産生レベルを EIA で測定した. 第 1 表に示すように, IL-1 $\alpha$  非存在下では MMP-1, MMP-2, MMP-9 のみが検出可能であり, いずれも CaPPS 添加により増加する傾向が見られたが, CaPPS 非添加群と比べて有意差は認められなかった. 一方, MMP-3 と MMP-13 は, IL-1 $\alpha$  非存在下では発現が認められなかったが, IL-1 $\alpha$  の添加によって産生が誘導された. また, MMP-1 と MMP-2 は, IL-1 $\alpha$  の添加によってそれぞれ 19.3 と



第1表 培養RA滑膜線維芽細胞におけるCaPPSのMMPおよびTIMP産生への影響

	MMP-1	MMP-2	MMP-3	MMP-7	MMP-8	MMP-9	MMP-13	TIMP-1	TIMP-2
IL-1(-)									
None	1.61±1.48	2.07±0.90	N.D.	N.D.	N.D.	0.063±0.015	N.D.	2.18±0.94	0.20±0.05
CaPPS 0.1 µg/ml	2.06±1.90	2.49±0.99	N.D.	N.D.	N.D.	0.056±0.011	N.D.	3.01±1.33	0.30±0.05
CaPPS 1 µg/ml	2.54±1.96	2.76±1.04	N.D.	N.D.	N.D.	0.080±0.018	N.D.	3.88±1.53	0.33±0.04
CaPPS 10 µg/ml	1.95±1.42	3.14±1.25	N.D.	N.D.	N.D.	0.118±0.035	N.D.	4.17±1.40	0.34±0.05
IL-1(+)									
None	31.09±9.59*	8.40±2.41*	180.20±56.29	N.D.	N.D.	0.118±0.035	0.096±0.055	6.02±0.88	0.05±0.01
CaPPS 0.1 µg/ml	33.27±10.33	8.52±2.46	194.66±57.80	N.D.	N.D.	0.129±0.048	0.113±0.061	6.39±0.56	0.05±0.01
CaPPS 1 µg/ml	47.17±17.16	8.22±2.54	230.40±55.38	N.D.	N.D.	0.111±0.035	0.171±0.093	6.65±0.63	0.06±0.01
CaPPS 10 µg/ml	46.42±10.78	10.55±3.26	256.31±64.64	N.D.	N.D.	0.161±0.044	0.184±0.094	7.25±1.57	0.06±0.01

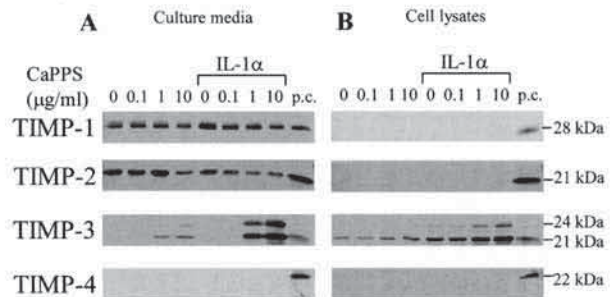
培養RA滑膜線維芽細胞をCaPPS (0, 0.1, 1, 10 µg/ml)、IL-1α (100 units/ml) および0.2%ラクトアルブミン水解物を含む無血清MEM培地中で5日間培養した。回収した培養液中のMMP-1、-2、-3、-7、-8、-9、-13およびTIMP-1、-2の濃度をサンドイッチ免疫アッセイ (EIA) 法にて測定した (n=6)。測定値 (nM) は平均値±標準誤差で表した。N.D.、検出できず。\*P<0.05。(Takizawa M et al: Arthritis Rheum 43:812-820, 2000のTable 1を許可を得て転載。)

4.1倍有意に上昇した。MMP-1とMMP-3の産生はCaPPSの濃度依存的に増加する傾向がみられたが、有意差は認められなかった。免疫ブロット法による検討でも、MMP-1とMMP-3の産生亢進は認められなかった。

IL-1αの添加によって培養液中におけるTIMP-1濃度は2.8倍増加したが、TIMP-2濃度は逆に3.3倍減少した(第1表)。一方、CaPPSによるTIMP-1とTIMP-2の産生変化はIL-1α非存在・存在下のいずれにおいても認められなかった。免疫ブロット法では、TIMP-1とTIMP-2はそれぞれ28 kDaと21 kDaのバンドとして培養液中に検出され、EIAのデータを支持する所見であった(第2図A)。TIMP-4は培養液と細胞画分のいずれにも検出されなかったが、TIMP-3は培養液と細胞画分においてIL-1α非存在・存在下のいずれにおいてもCaPPSにより濃度依存的に増加し、IL-1α存在下ではより多く産生されていた(第2図A, B)。TIMP-3は21 kDaおよび24 kDaのバンドとして検出され、サンプルをN-グリコシダーゼFで消化すると、21 kDaのバンドのみとなることから、24 kDaのバンドは糖鎖が結合したTIMP-3であると考えられた(第3図)。

## 2) 培養RA滑膜線維芽細胞におけるTIMP-3のmRNA発現

ノーザンブロット解析では、TIMP-3 mRNAは5.0, 2.6, 2.4 kbの3つのバンドとして観察され、IL-1α刺



第2図 培養RA滑膜線維芽細胞におけるCaPPSのTIMP産生への影響

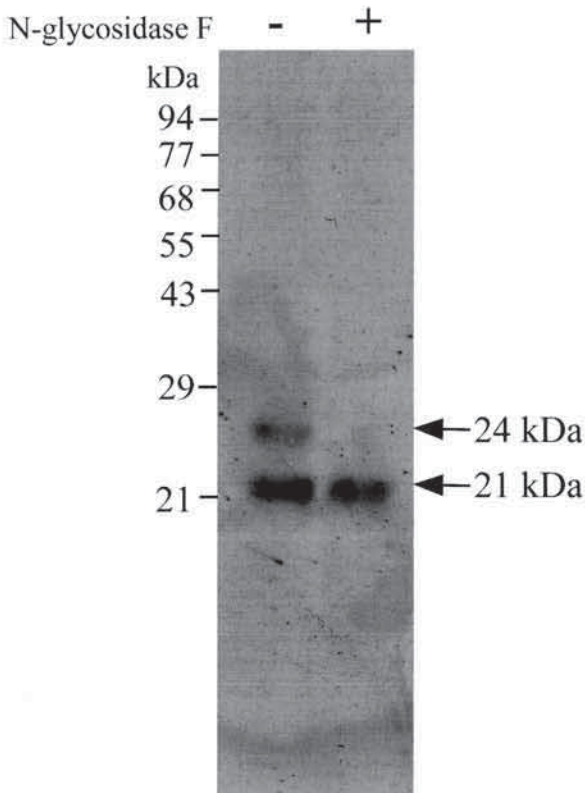
IL-1α (100 units/ml) で非刺激あるいは刺激したRA滑膜線維芽細胞をCaPPS (0, 0.1, 1, 10 µg/ml) 存在下で5日間培養し、回収した培養液(A)と細胞溶解液(B)を電気泳動後、免疫ブロット法でTIMP-1, -2, -3, -4を検出した。対照(P.C.)として、精製したリコンビナントTIMP-1, -2, -3, -4をサンプルとして用いた。(Takizawa M et al: Arthritis Rheum 43: 812-820, 2000の第1図を許可を得て転載。)

激により発現が亢進し、5.0 kbのバンドにおいてはIL-1α刺激により3.4倍の増加を示した。しかし、CaPPSはIL-1α非存在・存在下のいずれにおいてもmRNA発現レベルに変化は認められなかった(第4図A, B)。

## 3) 培養RA滑膜線維芽細胞におけるパルスチェイス実験

<sup>35</sup>Sメチオニンで合成タンパクをラベルし、経時的なTIMP-3の変化を検討した。その結果、TIMP-3はIL-1α刺激下においてCaPPS (10 µg/ml) を添加するこ





第3図 N-グリコシダーゼFによるTIMP-3の脱グリコシル反応  
培養 RA 滑膜線維芽細胞を IL-1 $\alpha$  (100 units/ml) と CaPPS (10  $\mu$ g/ml) 存在下で5日間培養した培養液を0.5% SDS および1% 2-メルカプトエタノールを加えて25°Cで1時間反応後、N-グリコシダーゼF (1 unit) にて25°Cで24時間消化した。サンプルを電気泳動し、抗TIMP-3抗体を用いたイムノブロット法でTIMP-3を検出した。(Takizawa M et al: Arthritis Rheum 43: 812-820, 2000の第2図を許可を得て転載。)

とで約3.2倍増加することが細胞画分中で示された(第5図)。一方、培養液中にはCaPPS非添加状態でTIMP-3のバンドは検出できなかったが、6時間以降にCaPPS添加によりTIMP-3のバンドが検出された。

#### 4) RA 滑膜組織におけるTIMP-3のin situハイブリダイゼーション

滑膜組織は表層被覆細胞層と表層細胞下層から構成され、RAでは表層被覆細胞の過形成と下層の炎症細胞浸潤が特徴的な病理所見である。第6図Aに示すように、アンチセンスTIMP-3プローブを用いたin situハイブリダイゼーションでは、主として表層の被覆細胞が標識された。一方、センスTIMP-3プローブではバックグラウンドのみであった(第6図B)。

#### 5) 培養 RA 滑膜線維芽細胞および RA 滑膜組織におけるTIMP-3の免疫組織化学的局在

IL-1 $\alpha$  刺激した培養 RA 滑膜線維芽細胞を抗TIMP-3抗体を用いて免疫染色すると、その陽性率は12.1 $\pm$ 1.7% (平均値 $\pm$ 標準誤差; n=4) となり、比較的弱い染色が認められた(第6図D)。一方、IL-1 $\alpha$  とCaPPSの両方で刺激すると、その陽性率は35.9 $\pm$ 4.3% (n=4) となり、染色性も増強した(第6図C)。

RA 滑膜組織においては、TIMP-3は主として表層被覆細胞で陽性であり、IL-1 $\alpha$  単独刺激の表層被覆細胞における陽性率は17.1 $\pm$ 2.2% (n=5) であるのに対し、IL-1 $\alpha$  とCaPPSの両方で刺激した陽性率は70.9 $\pm$ 5.0% (n=5) となり、陽性率および染色強度ともに増加した(第6図E, F)。

## 2. ADAMTS4に対するCaPPSの作用解析

### 1) 培養 OA 軟骨細胞と軟骨組織アグリカナラーゼに対するCaPPSによる阻害作用

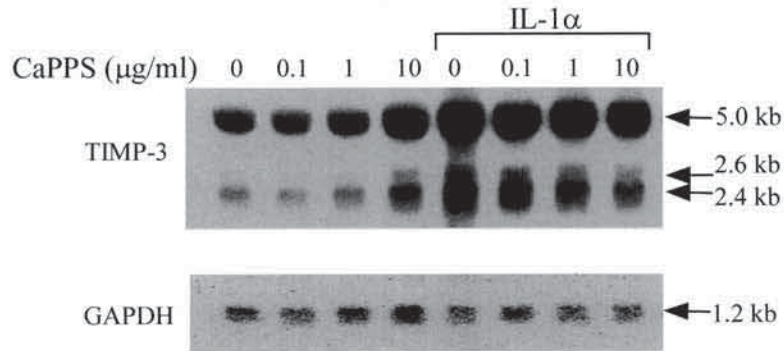
OA 軟骨細胞の培養液中にはアグリカンネオエピトープ NITEGE<sup>392</sup> 認識抗体陽性のアグリカン断片がわずかに検出され、アグリカナラーゼ活性が認められた。本活性はIL-1 $\alpha$ の添加により増強したが、CaPPSを同時に添加すると濃度依存的に減少した(第7図A)。同様に、OA 軟骨組織スライスにIL-1 $\alpha$  とCaPPS存在下で培養し、軟骨組織中に形成されたアグリカン断片を検出すると、CaPPSは濃度依存的に阻害作用を示した(第7図B)。

### 2) ADAMTS1, 4, 5, 8, 9, 15 発現に対するCaPPSの影響

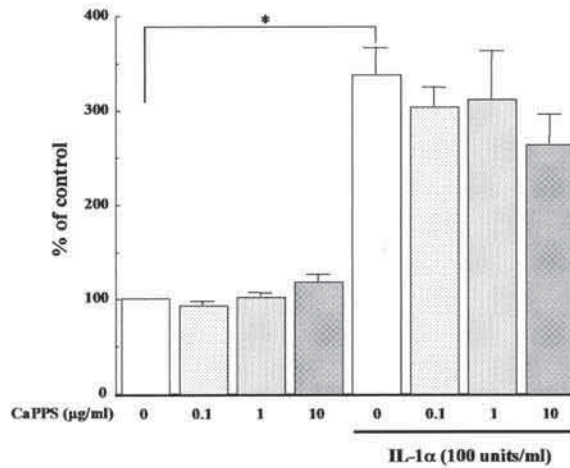
培養 OA 軟骨細胞では無刺激下においてADAMTS1, 4, 5, 9, 15の発現が検出された(第8図A)。IL-1 $\alpha$ の添加により、ADAMTS4 mRNAの発現は明らかに上昇したが、ADAMTS1, 5, 9 mRNA発現に変化はなく、ADAMTS15はIL-1 $\alpha$ 存在下で低下した(第8図A)。また、ADAMTS8の発現はIL-1 $\alpha$ 非存在・存在下のいずれにおいても検出されなかった。IL-1 $\alpha$ 存在下においてCaPPS (0, 0.1, 1, 10  $\mu$ g/ml)を添加してもADAMTS1, 4, 5, 9, 15のmRNA発現には変化は認められなかった。mRNA発現の所見と一致して、IL-1 $\alpha$ で誘導されたOA軟骨細胞由来のADAMTS4タンパク産生レベルはCaPPS添加によって変化を受けなかった(第8図B)。



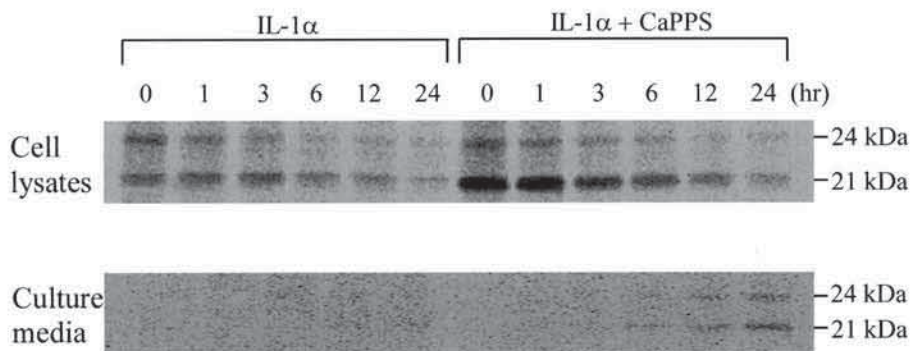
**A**



**B**

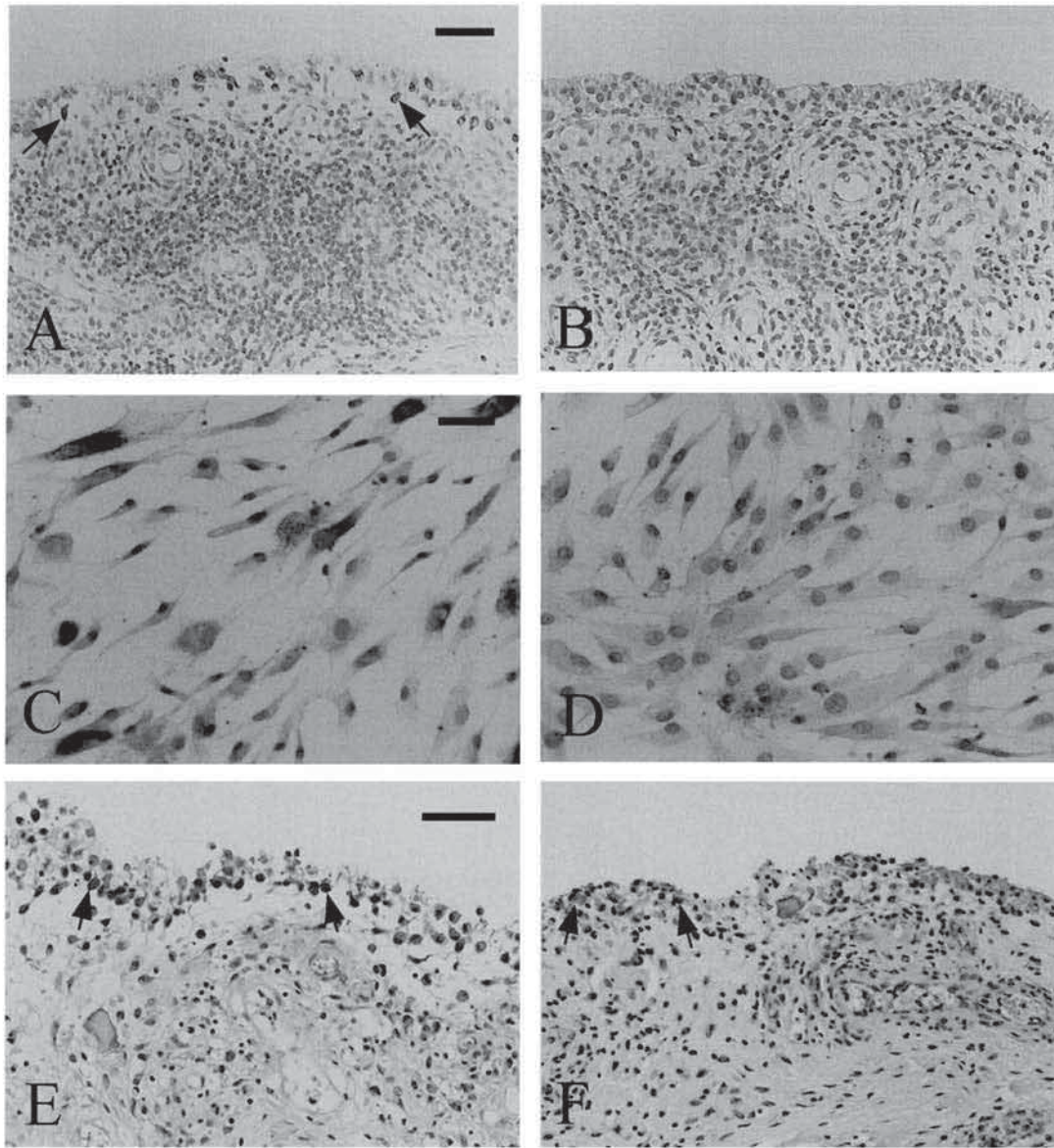


**第4図** 培養 RA 滑膜線維芽細胞における CaPPS の TIMP-3 mRNA 発現への影響  
 IL-1α (100 units/ml) で非刺激あるいは刺激した培養 RA 滑膜線維芽細胞を CaPPS (0, 0.1, 1, 10 μg/ml) 存在下で 24 時間培養し、RNA を回収した。得られた RNA サンプルを電気泳動し、Hybond N 膜に転写した後、<sup>32</sup>P 標識した TIMP-3 および GAPDH の cDNA プローブを用いてハイブリダイズさせた。膜を乾燥後、バイオイメージアナライザー BAS 2000 にてスキャンし、GAPDH とのシグナル比を算出した。A は代表的なスキャン像を示し、B は実施した 5 回の平均値 ± 標準誤差を示す。\* ; P < 0.05. (Takizawa M et al : Arthritis Rheum 43 : 812-820, 2000 の第 3 図を許可を得て転載.)



**第5図** 培養 RA 滑膜線維芽細胞における TIMP-3 パルスチェイス実験  
 培養 RA 滑膜線維芽細胞を IL-1α (100 units/ml) と <sup>35</sup>S-メチオニン (10 μCi/ml) 含有無血清培地中で CaPPS (10 μg/ml) 非存在・存在で 6 時間培養し、メチオニンを含む無血清培地に交換 0, 1, 3, 6, 12, 24 時間後に培養液と細胞を回収した。サンプルを抗 TIMP-3 抗体により免疫沈降し、電気泳動後のゲルをバイオイメージアナライザー BAS2000 にてスキャンした。(Takizawa M et al : Arthritis Rheum 43 : 812-820, 2000 の第 4 図を許可を得て転載.)





第6図 RA滑膜組織におけるTIMP-3 mRNA発現とCaPPSによるTIMP-3タンパク産生への影響

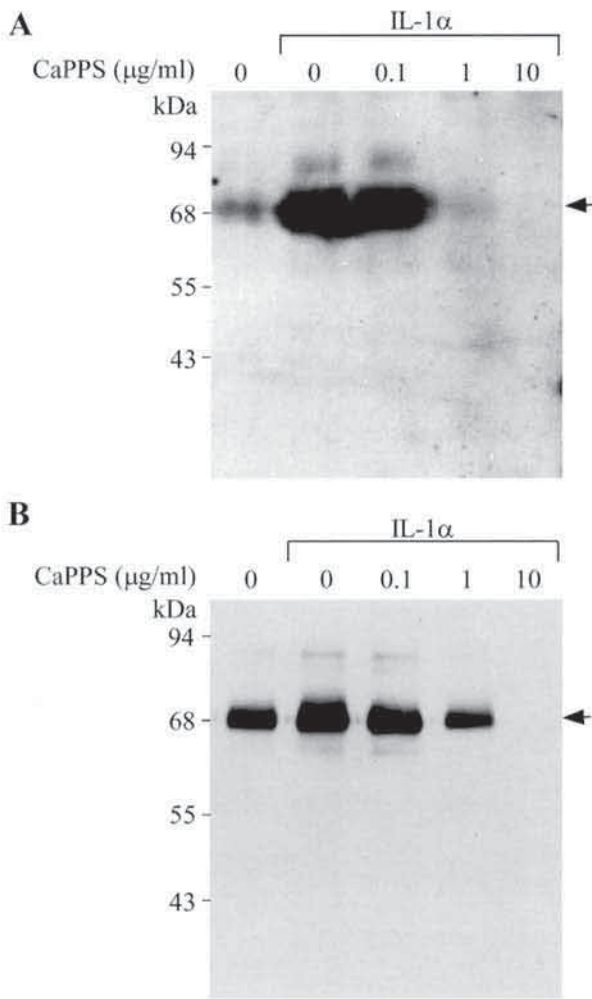
A, B) ジコキシゲン標識したアンチセンス (A) およびセンス (B) 単鎖 RNA プローブを用いて, RA 滑膜組織における TIMP-3 mRNA 発現を in situ ハイブリダイゼーション法にて検討した. 矢印は反応陽性滑膜表層細胞を示す. ヘマトキシリン対比染色. スケールバー, 50  $\mu\text{m}$ . C, D) RA 滑膜線維芽細胞をチャンバースライド上で培養し, CaPPS (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) と IL-1 $\alpha$  (100 units/ml) (C) あるいは IL-1 $\alpha$  のみ (D) を含む無血清培地中で 24 時間, 37 $^{\circ}\text{C}$  で培養した. 培養終了 3 時間前より 1  $\mu\text{M}$  モネンシンを添加して培養後, 固定し, 抗 TIMP-3 モノクローナル抗体を用いて ABC 法にて免疫染色した. ヘマトキシリン対比染色. スケールバー, 25  $\mu\text{m}$ . E, F) RA 滑膜組織を CaPPS (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) と IL-1 $\alpha$  (100 units/ml) (E) あるいは IL-1 $\alpha$  のみ (F) を添加した無血清培地中で 24 時間器官培養した. モネンシン処理後固定し, 抗 TIMP-3 モノクローナル抗体を用いて ABC 法にて免疫染色した. ヘマトキシリン対比染色. 矢印は陽性滑膜表層細胞を示す. スケールバー, 50  $\mu\text{m}$ . (Takizawa M et al : Arthritis Rheum 43 : 812-820, 2000 の第 5 図を許可を得て転載.)

### 3) ADAMTS4 のアグリカナーゼ活性に対する CaPPS の直接的阻害作用

リコンビナント ADAMTS4 と  $\Delta\text{Sp}$  はアグリカナーゼ活性を有し, その活性は CaPPS により濃度依存的に阻害された (第 9 図 A). デンシトメーターを用いた定量的解析では ADAMTS4 と  $\Delta\text{Sp}$  の IC<sub>50</sub> 値はそれぞれ

0.2 と 2.4  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった (第 9 図 B). アグリカナーゼによるアグリカンコンドロイチン硫酸部での切断部位 (SELE<sup>1564</sup>) を認識するネオエピトープ抗体を用いてイムノプロットすると, CaPPS は ADAMTS4 の同部位に対するアグリカナーゼ活性を阻害することが示された (第 9 図 C).

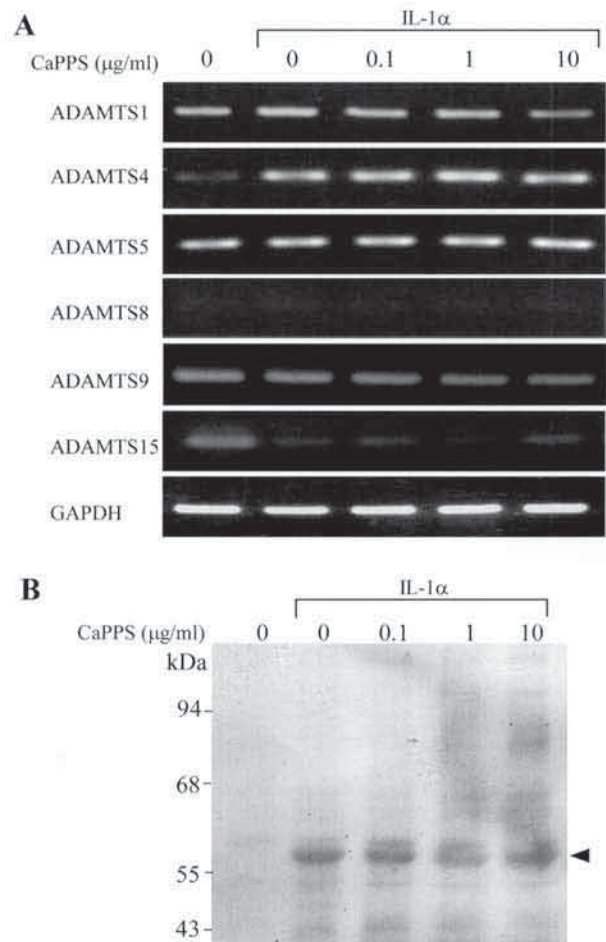




第7図 培養OA関節軟骨細胞と関節軟骨組織のアグリカナラーゼ活性に対するCaPPSの作用  
 (A) 培養OA軟骨細胞をIL-1 $\alpha$  (1 ng/ml), CaPPS (0, 0.1, 1, 10  $\mu$ g/ml) およびブタ由来精製アグリカン (100  $\mu$ g/ml) を無血清培地中に添加して5日間培養した。培養液を回収し、電気泳動後アグリカンネオエピトープ (NITEGE<sup>300</sup>) 抗体を用いてイムノブロット法によりアグリカナラーゼ活性を検出した。(B) OA関節軟骨組織 (5 × 5 × 2 mm) をIL-1 $\alpha$  (1 ng/ml) とCaPPS (0, 0.1, 1, 10  $\mu$ g/ml) を含む培地中で5日間培養した。培養終了後、プロテオグリカン抽出し、上記のネオエピトープ抗体を用いてイムノブロット法を行った。矢印はNITEGE<sup>300</sup>部分で切断されたアグリカン断片を示す。(Takizawa M et al: FEBS lett 582: 2945-2949, 2008の第1図を許可を得て転載。)

#### 4) CaPPSのADAMTS4結合部位の検討

<sup>125</sup>I-ADAMTS4, <sup>125</sup>I- $\Delta$ Sp, <sup>125</sup>I- $\Delta$ CR/Sp および <sup>125</sup>I- $\Delta$ TS/CR/Sp の固相化CaPPSに対する結合は<sup>125</sup>I-ADAMTS4と<sup>125</sup>I- $\Delta$ Spにおいてのみ認められた。そこで、ADAMTS4のTSドメイン(ヘパリン結合部位)、CRドメイン(グリコサミノグリカン結合部位)、CRからSpドメインおよびSpドメイン(グリコサミノグリカン結合部位)に相当する部位に対する合成ペプチドを用いて<sup>125</sup>I-ADAMTS4のCaPPSに対する結合阻害の有



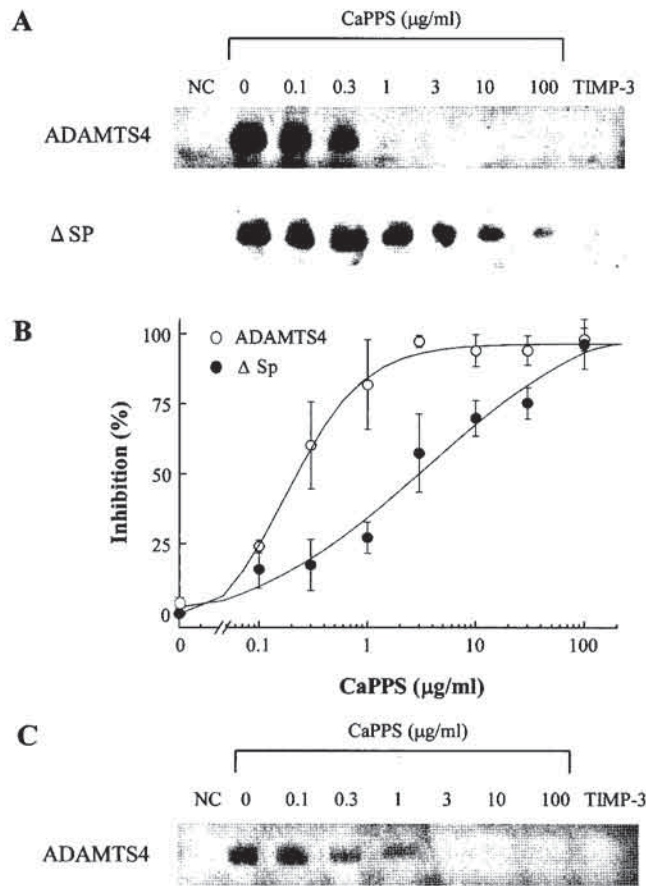
第8図 培養OA関節軟骨細胞におけるADAMTS1, 4, 5, 8, 9, 15 mRNA発現とADAMTS4タンパク産生に対するCaPPSの作用  
 (A) 培養OA軟骨細胞をIL-1 $\alpha$  (1 ng/ml) とCaPPS (0, 0.1, 1, 10  $\mu$ g/ml) 存在下で18時間培養し、RNAを回収後、逆転写酵素を用いてcDNAを作製した。得られたcDNAを鋳型として、ADAMTS1, 4, 5, 8, 9, 15および対照のGAPDHに対するプライマーを用いてRT-PCRを行い、アガロースゲルにて電気泳動した。(B) 培養OA軟骨細胞をIL-1 $\alpha$  (1 ng/ml) とCaPPS (0, 0.1, 1, 10  $\mu$ g/ml) 存在下で5日間培養し、培養液中のADAMTS4を抗ヒトADAMTS4モノクローナル抗体を用いてイムノブロット法で解析した。矢頭は58 kDaのADAMTS4を示す。(Takizawa M et al: FEBS lett 582: 2945-2949, 2008の第2図を許可を得て転載。)

無を検討した。その結果、ヘパリン結合部位のGGWGGPWGPWGD<sup>531</sup>とグリコサミノグリカン結合部位のGSKKKFDKCM<sup>676</sup>およびLRRRPWAGRK<sup>837</sup>により、ADAMTS4のCaPPSへの結合が阻害された(第10図)。

## 考 察

本研究では、培養RA滑膜線維芽細胞のIL-1 $\alpha$ 非存





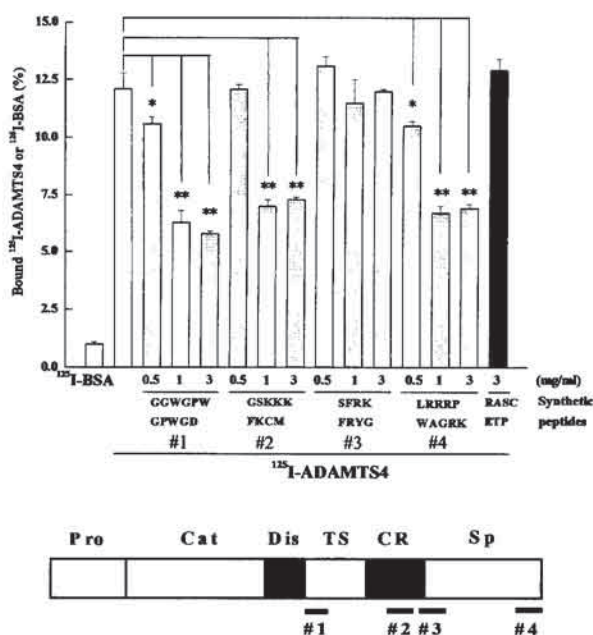
**第9図 ADAMTS4 アグリカナーゼ活性に対する CaPPS の阻害作用**  
 (A) 全長の ADAMTS4 と ΔSp (各 10 nM) を CaPPS (0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 μg/ml) あるいは TIMP-3 (100 nM) 存在下でアグリカン (2 mg/ml) と 37°C で 16 時間インキュベートした。反応産物の糖鎖を除去し、電気泳動後、アグリカンネオエピトープ NITEGE<sup>392</sup> (A) と SELE<sup>164</sup> (C) を特異的に認識するネオエピトープ抗体を用いてアグリカナーゼ活性をイムノブロット法で検出した。(B) 抗ネオエピトープ NITEGE<sup>392</sup> 抗体を用いたイムノブロット法で検出されたバンドを定量化し、酵素活性を 50% 阻害する濃度 (IC<sub>50</sub> 値) を算定した。(Takizawa M et al: FEBS lett 582: 2945-2949, 2008 の第 3 図を許可を得て転載。)

在・存在下において CaPPS は TIMP-3 産生を亢進させることを示した。一方, CaPPS はいずれの条件下においても TIMP-1 や TIMP-2 産生に対して影響せず, TIMP-4 は検出されなかった。さらに, CaPPS は 0 ~ 10 μg/ml の範囲で, MMP-1 と MMP-3 産生を濃度依存的に増加させる傾向をみせたが有意差は認められず, MMP-2, -7, -8, -9, -13 産生に対してはほとんど影響しなかった。これらの結果より CaPPS は培養 RA 滑膜線維芽細胞に対して, TIMP-3 の産生を選択的に亢進すると考えられた。

一般的に MMP や TIMP の産生はサイトカインや増殖因子によって転写レベルで調節されている<sup>1)</sup>。そこで, CaPPS による TIMP-3 の遺伝子発現変化を調べる目的

でノーザンブロット解析を行ったが, TIMP-3 mRNA 発現は IL-1α で増強されたが, CaPPS では変化を受けなかった。パルスチェイス実験データから CaPPS による TIMP-3 産生亢進の増大は合成された TIMP-3 の安定性向上や細胞からの放出促進によるものではなく, TIMP-3 産生を転写以降の翻訳の段階で亢進させる可能性が示された。Transforming growth factor-β (TGF-β), platelet-derived growth factor (PDGF), epidermal growth factor (EGF), IL-1β はいずれも TIMP-3 の遺伝子発現を増加させることが知られている<sup>19, 20, 21)</sup>。しかし, Fabunmi ら<sup>19)</sup>は TIMP-3 mRNA の上昇がみられてもタンパクの上昇が少ない例を報告しており, 今回の IL-1α 単独刺激時に TIMP-3 タンパク産生亢進が





第10図 CaPPSのADAMTS4結合部位の検討

ビオチン化CaPPSを固相化したプレート上にADAMTS4のTS(#1), CR(#2), CRとSp(#3), Spドメイン(#4)に相当する部位(下図)に対応した合成ペプチドおよび陰性対照ペプチドRASCETP(0.25, 0.5, 1, 3 mg/ml)を添加し、23°Cで1時間インキュベートした。次いで、 $^{125}\text{I}$ -ADAMTS4あるいは $^{125}\text{I}$ -BSA(2 × 10<sup>5</sup> cpm/well)を添加し、4°Cで24時間インキュベートした。結合した放射活性をγカウンタにて測定し、全添加量に対する結合率を算定した。カラム土バー、平均値±標準誤差。\* : P<0.05, \*\* : P<0.01。(Takizawa M et al : FEBS lett 582 : 2945-2949, 2008の第4図を許可を得て転載。)

mRNAと比べて少なかったことも同様の現象と考えられた。TIMP-3の転写後の調節機構に関する情報は限られていたが、ごく最近、Troebergら<sup>22)</sup>はヒト軟骨肉腫細胞株であるHTB94を用いてTIMP-3の動態を検討し、細胞外にTIMP-3が蓄積する機構として、培養液中に放出されたTIMP-3がLRP(low-density lipoprotein receptor-related protein)を介して細胞内へ取り込まれ、CaPPSがこのトランスポート作用を抑制することを示している。つまり、TIMP-3タンパクは細胞外の分泌のみならず、細胞内への取り込みにより調節されており、CaPPSはOA関節軟骨細胞に作用してTIMP-3タンパクの細胞内への取り込みを阻害することで細胞外への分泌量を増加させると報告している。軟骨肉腫細胞株でのこのような現象がRA滑膜線維芽細胞でも存在するかについては、今後の詳細な研究が必要と考えられる。

本研究ではTIMP-3がRA滑膜表層被覆細胞で発現することをin situハイブリダイゼーション法と免疫組織化学によって初めて明らかとなった。さらに、RA滑膜線維芽細胞のみならず、CaPPSは器官培養したRA滑膜表層被覆細胞に作用して、細胞内でのTIMP-3タ

ンパクを増加させることから、CaPPSはin vitroだけでなくヒトRA滑膜組織に対しても同様の効果を発揮するものと推定された。RA滑膜組織ではMMP-1<sup>23)</sup>, MMP-3<sup>13)</sup>, MMP-8<sup>24)</sup>, MMP-9<sup>25)</sup>, MMP-13<sup>26)</sup>などの多くのMMPの産生亢進が知られており、これらMMPは滑液中へ分泌されて関節軟骨ECMの分解に関わりと推定されている<sup>1)</sup>。MMP-2前駆体は滑膜の表層被覆細胞層でMT1-MMPによって活性化され、近傍の軟骨表面との接触によって基質の分解が起こる可能性が示唆されている<sup>27)</sup>。分泌型MMPの活性はTIMP-1, TIMP-2, TIMP-3のいずれにおいても阻害されるが、MT1-MMPの活性はTIMP-1では阻害されず、TIMP-2とTIMP-3で阻害される<sup>28, 29)</sup>。したがってCaPPSによるRA滑膜表層被覆細胞によるTIMP-3の産生亢進は分泌型MMPのみならず、MT1-MMPの活性抑制という点でも効果的と推定される。また、CaPPSはRA滑膜線維芽細胞だけでなくOA軟骨細胞でもTIMP-3の産生を亢進することから<sup>22)</sup>、CaPPSは軟骨細胞由来MMPの活性抑制を介して軟骨ECM分解抑制に関わる可能性があり、滑膜細胞と軟骨細胞の両者への作用で強力な軟骨破壊抑制作用が期待される。

TIMP-3はTIMP-1, TIMP-2, TIMP-4とは異なり、TNF-αを産生するTNF-α converting enzyme(TACE)を阻害することが明らかとなっている<sup>30)</sup>。TNF-αはRAの主に滑膜表層被覆細胞より産生され、軟骨や滑膜における病態の進行を助長する炎症性サイトカインであり、最近ではTNF-αのシグナルを阻害するため、TNF-αに対する中和抗体や可溶性TNF-α受容体タンパクがRA治療薬として臨床で多く用いられている<sup>3)</sup>。CaPPSはラットの空気嚢モデルにおいてTNF-αの産生を抑制することが示されており<sup>6)</sup>、CaPPSによってRA滑膜表層細胞におけるTIMP-3の産生増加は、TACEの活性抑制を介して働くことが予想され、この点でも軟骨保護作用が期待される。

TIMP-3はbasic fibroblast growth factor(b-FGF)やvascular endothelial growth factor(VEGF)による内皮細胞の増殖を抑制することが報告されている<sup>31)</sup>。RAでは滑膜組織における血管新生は特徴的な所見であり、この原因としてb-FGFやVEGFなどの成長因子の関与が推定されている。関節炎動物モデルにおけるCaPPSの軟骨破壊抑制効果は、CaPPSによって増加したTIMP-3の血管新生抑制を介する抗炎症作用に基づく可能性も考えられる。一方、TIMP-3はラット血管平滑筋細胞やヒト黒色腫細胞でアポトーシスを誘導することが知られている<sup>32, 33)</sup>。したがって、NaPPSやCaPPS



が増殖した滑膜細胞に対してアポトーシスを誘導する可能性も考えられるが、現在までのところ本研究を含めてそれらを証明した報告はなく、今後の研究が必要と考えられる。

本研究で得られたもう一つの重要なデータは、CaPPSがADAMTS4のアグリカナーゼ活性を抑制することである。アグリカナーゼ活性を有するとされるADAMTS1, 4, 5, 8, 9, 15のOA関節軟骨細胞でのmRNA発現にCaPPSは全く影響しないことから、OA関節軟骨細胞や軟骨組織でみられたアグリカナーゼの活性阻害は主としてADAMTS4活性の直接的阻害に基づくと考えられた。ヒトOA関節軟骨におけるアグリカナーゼ活性を有するADAMTS分子種の発現を調べた研究では、ADAMTS4とADAMTS5が主として発現しており、ADAMTS4の発現と関節軟骨破壊の程度が相関することが報告されている<sup>16)</sup>。CaPPSはADAMTS4のみならずADAMTS5のアグリカナーゼ活性も抑制することから<sup>22)</sup>、我々の実験で得られたCaPPSによる軟骨細胞や軟骨組織でのアグリカナーゼ活性の完全な阻害は、ADAMTS4とADAMTS5の直接的な酵素活性阻害によると推定される。

ADAMTS4の組織内インヒビターとしてTIMP-3が知られている<sup>34, 35)</sup>。TIMP-3はADAMTS4の活性中心への結合により活性阻害するとされるが、ADAMTS4活性阻害には活性中心以外のTS, CR, Spドメインも活性調節に関わることが知られている。例えば、アグリカンの糖鎖がTIMP-3によるADAMTS4の活性阻害を強めること<sup>36)</sup>、フィブロネクチンはADAMTS4のSpドメインに結合することでADAMTS4の活性を抑制することが明らかとなっている<sup>15)</sup>。今回の結果は、CaPPSがADAMTS4のTS, CR, Spドメインに直接結合することでADAMTS4のアグリカンへの接近を阻止するために活性抑制に至ると考えられた。CaPPSはヘパリン様構造をとることから、ヘパリンもADAMTS4に対して阻害作用を有すると考えられ、実際、Spドメインへの結合によりヘパリンは全長ADAMTS4のアグリカナーゼ活性を抑制することが最近報告された<sup>37)</sup>。しかし、ADAMTS4の活性に対するIC<sub>50</sub>値はヘパリンが4.5 μg/mlであるのに対してCaPPSは0.2 μg/mlと約23倍小さく、CaPPSはADAMTS4とΔSpの両方を阻害したことから、TS, CR, Spドメインに対する結合がCaPPSのより強力なADAMTS4活性阻害の理由と考えられる。軟骨や滑膜組織においてADAMTS4はMMPによってC末端側が切断されたΔSpの形で存在することから<sup>16, 38)</sup>、これら組織中ではフィブロネクチン

やヘパリンによるADAMTS4の活性阻害は困難であるのに対し、CaPPSは阻害可能と考えられる。また、CaPPSをヒトに2~3 mg/kgの投与量で筋肉内注射すると、4時間でCaPPSの血中濃度は4~5 μg/mlとなる<sup>5)</sup>。また、ウマではCaPPS 2 mg/kgの筋肉内注射により滑液中で1~2 μg/mlのCaPPS濃度が維持されることから<sup>39)</sup>、ADAMTS4活性を抑えるのに十分な濃度を関節内で維持できると推定される。

最近、我々は高分子ヒアルロン酸がIL-1αで誘導されたADAMTS4の発現を抑制することを見出した<sup>40)</sup>。高分子ヒアルロン酸は関節痛などのOAの臨床症状の改善薬 (symptom-modifying drug) として多用されているが、このデータは高分子ヒアルロン酸がADAMTS4の発現抑制を介して、軟骨破壊抑制に働く可能性を示唆しており、OA初の疾患修飾薬 (disease-modifying drug) として作用する可能性があると考えられる。また、CaPPSはRA滑膜線維芽細胞やOA関節軟骨細胞でTIMP-3の産生亢進とADAMTS4活性の直接的阻害作用を有しており、RAやOAの関節局所において二重の機序でアグリカナーゼ活性を強力に抑制し、OA疾患修飾薬となることが期待される。CaPPSやそのナトリウム塩であるNaPPSはOA患者にて二重盲検試験を実施し、一部でその治療効果が確認されている<sup>41, 42)</sup>。今後はより大規模の臨床試験を実施し、長期間投与した際の有用性について確認していく必要があると考えられる。

## 総 括

本研究ではRA滑膜線維芽細胞とOA関節軟骨細胞を用いて、これら細胞に対するCaPPSの作用について検討し、以下の結果を得た。

1. 培養RA滑膜線維芽細胞において、CaPPSはIL-1α非存在・存在下でMMP-1, -2, -3, -8, -9, -13およびTIMP-1, -2の産生には影響しなかった。
2. 培養RA滑膜線維芽細胞において、CaPPSはIL-1α非存在・存在下のいずれにおいても、細胞外および細胞内のTIMP-3量を増加させた。その作用はmRNA発現の上昇によるものではなく、転写後の調節による可能性が示された。
3. TIMP-3はRA滑膜表層細胞によって産生されており、CaPPSは滑膜表層細胞によるTIMP-3産生の亢進作用を器官培養実験で証明した。
4. CaPPSは培養OA関節軟骨細胞と関節軟骨組織におけるアグリカナーゼ活性を濃度依存的に抑制した



が、アグリカナーゼ活性を有するADAMTS1, 4, 5, 8, 9, 15のmRNA発現やADAMTS4タンパク産生には影響を与えなかった。

5. CaPPSは精製した全長ADAMTS4とSpドメインを欠損した変異型のADAMTS4 ( $\Delta$ Sp)のアグリカナーゼ活性を直接的に阻害した。
6. ADAMTS4のC末端側にあるヘパリン結合部位やグリコサミノグリカン結合部位に対する合成ペプチドでCaPPSのADAMTS4への結合が阻害されることから、CaPPSはADAMTS4の活性部位以外へ結合することで活性を阻害すると考えられた。
7. CaPPSは滑膜細胞におけるTIMP-3産生亢進とADAMTS4の直接的な活性阻害という2つの作用を明らかにした。TIMP-3はMMPとADAMTSの強力なインヒビターであることから、CaPPSはこれらのメタロプロテアーゼを二重の機序で抑制することで、関節軟骨に対する保護作用を発揮することが期待される。

本論文はTakizawa M, Ohuchi E, Yamanaka H, Nakamura H, Ikeda E, Ghosh P, Okada Y: Production of tissue inhibitor of metalloproteinases 3 is selectively enhanced by calcium pentosan polysulfate in human rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum* 43: 812-820, 2000 および Takizawa M, Yatabe T, Okada A, Chijiwa M, Mochizuki S, Ghosh P, Okada Y: Calcium pentosan polysulfate directly inhibits enzymatic activity of ADAMTS4 (aggrecanase-1) in osteoarthritic chondrocytes. *FEBS Lett* 582: 2945-2949, 2008 の内容を含む。

本稿を終えるにあたり、御指導、御校閲いただきました慶應義塾大学医学部病理学教室岡田保典教授に深甚なる謝意を表します。また、研究を進めるにあたり、多くの助言をいただきました同病理学教室員の諸先生方に感謝いたします。

本論文の要旨は第45回 Orthopedic Research Society (米国アナハイム, 1999年) および第39回日本結合組織学会学術大会・第54回マトリックス研究会大会合同学術集会 (東京, 2007年) において発表した。

## 文 献

- 1) Okada Y: Proteinases and matrix degradation. *Kelley's textbook of rheumatology 8th edition.* (Ed) Harris Jr. ED, Budd RC, Genovese MC, Firestein GS, Sargent JS. Elsevier Saunders, Philadelphia, in press
- 2) Wieland HA, Michaelis M, Kirschbaum BJ, Rudolph KA: Osteoarthritis - an untreatable disease? *Nat Rev Drug Discov* 4: 331-344, 2005
- 3) Smolen JS, Steiner G: Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Drug Discov* 2: 473-488, 2003
- 4) Porter S, Clark IM, Kevorkian L, Edwards DR: The ADAMTS metalloproteinases. *Biochem J* 386: 15-27, 2005
- 5) Ghosh P: The pathobiology of osteoarthritis and the rationale for the use of pentosan polysulfate for its treatment. *Semin Arthritis Rheum* 28: 211-267, 1999
- 6) Bansal M, Smith M, Numata Y, Ghosh P: The effects of calcium pentosan polysulfate on inflammatory mediators in the rat air-pouch model of inflammation. *Curr Ther Res* 54: 714-730, 1993
- 7) Smith MM, Ghosh P, Numata Y, Bansal MK: The effects of orally administered calcium pentosan polysulfate on inflammation and cartilage degradation produced in rabbit joints by intraarticular injection of a hyaluronate-polylysine complex. *Arthritis Rheum* 37: 125-136, 1994
- 8) Rogachefsky RA, Dean DD, Howell DS, Altman RD: Treatment of canine osteoarthritis with insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and sodium pentosan polysulfate. *Osteoarthritis Cartilage* 1: 105-114, 1993
- 9) Altman R: Calcium pentosan in canine model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 7: Suppl A: 72, 1999
- 10) Munteanu SE, Ilic MZ, Handley CJ: Calcium pentosan polysulfate inhibits the catabolism of aggrecan in articular cartilage explant cultures. *Arthritis Rheum* 43: 2211-2218, 2000
- 11) Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, Healey LA, Kaplan SR, Liang MH, Luthra HS, et al.: The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 31: 315-324, 1988
- 12) Nakamura H, Ueno H, Yamashita K, Shimada T, Yamamoto E, Noguchi M, Fujimoto N, Sato H, Seiki M, Okada Y: Enhanced production and activation of progelatinase A mediated by membrane-type 1 matrix metalloproteinase in human papillary thyroid carcinomas. *Cancer Res* 59: 467-473, 1999
- 13) Okada Y, Takeuchi N, Tomita K, Nakanishi I, Nagase H: Immunolocalization of matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) in rheumatoid synovioblasts (B cells)



- : correlation with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 48 : 645-653, 1989
- 14) Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K, Christy W, Cooke TD, Greenwald R, Hochberg M, et al. : Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. *Arthritis Rheum* 29 : 1039-1049, 1986
  - 15) Hashimoto G, Shimoda M, Okada Y : ADAMTS4 (aggrecanase-1) interaction with the C-terminal domain of fibronectin inhibits proteolysis of aggrecan. *J Biol Chem* 279 : 32483-32491, 2004
  - 16) Naito S, Shiomi T, Okada A, Kimura T, Chijiwa M, Fujita Y, Yatabe T, Komiya K, Enomoto H, Fujikawa K, Okada Y : Expression of ADAMTS4 (aggrecanase-1) in human osteoarthritic cartilage. *Pathol Int* 57 : 703-711, 2007
  - 17) Sugimoto K, Takahashi M, Yamamoto Y, Shimada K, Tanzawa K : Identification of aggrecanase activity in medium of cartilage culture. *J Biochem* 126 : 449-455, 1999
  - 18) East CJ, Stanton H, Golub SB, Rogerson FM, Fosang AJ : ADAMTS-5 deficiency does not block aggrecanolysis at preferred cleavage sites in the chondroitin sulfate-rich region of aggrecan. *J Biol Chem* 282 : 8632-8640, 2007
  - 19) Fabunmi RP, Baker AH, Murray EJ, Booth RF, Newby AC : Divergent regulation by growth factors and cytokines of 95 kDa and 72 kDa gelatinases and tissue inhibitors or metalloproteinases-1, -2, and -3 in rabbit aortic smooth muscle cells. *Biochem J* 315 : 335-342, 1996
  - 20) Gatsios P, Haubeck HD, Van de Leur E, Frisch W, Apte SS, Greiling H, Heinrich PC, Graeve L : Oncostatin M differentially regulates tissue inhibitors of metalloproteinases TIMP-1 and TIMP-3 gene expression in human synovial lining cells. *Eur J Biochem* 241 : 56-63, 1996
  - 21) Leco KJ, Khokha R, Pavloff N, Hawkes SP, Edwards DR : Tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3) is an extracellular matrix-associated protein with a distinctive pattern of expression in mouse cells and tissues. *J Biol Chem* 269 : 9352-9360, 1994
  - 22) Troeberg L, Fushimi K, Khokha R, Emonard H, Ghosh P, Nagase H : Calcium pentosan polysulfate is a multifaceted exosite inhibitor of aggrecanases. *FASEB J* 22 : 3515-3524, 2008
  - 23) Okada Y, Gonoji Y, Nakanishi I, Nagase H, Hayakawa T : Immunohistochemical demonstration of collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) in synovial lining cells of rheumatoid synovium. *Virchows Arch B Cell Pathol* 59 : 305-312, 1990
  - 24) Hanemaaijer R, Sorsa T, Konttinen YT, Ding Y, Sutinen M, Visser H, van Hinsbergh VW, Helaakoski T, Kainulainen T, Ronka H, Tschesche H, Salo T : Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells. Regulation by tumor necrosis factor-alpha and doxycycline. *J Biol Chem* 272 : 31504-31509, 1997
  - 25) Ahrens D, Koch AE, Pope RM, Stein-Picarella M, Niedbala MJ : Expression of matrix metalloproteinase 9 (96-kd gelatinase B) in human rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 39 : 1576-1587, 1996
  - 26) Lindy O, Konttinen YT, Sorsa T, Ding Y, Santavirta S, Ceponis A, López-Otin C : Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3) in human rheumatoid synovium. *Arthritis Rheum* 40 : 1391-1399, 1997
  - 27) Yamanaka H, Makino K, Takizawa M, Nakamura H, Fujimoto N, Moriya H, Nemori R, Sato H, Seiki M, Okada Y : Expression and tissue localization of membrane-types 1, 2, and 3 matrix metalloproteinases in rheumatoid synovium. *Lab Invest* 80 : 677-687, 2000
  - 28) Will H, Atkinson SJ, Butler GS, Smith B, Murphy G : The soluble catalytic domain of membrane type 1 matrix metalloproteinase cleaves the propeptide of progelatinase A and initiates autoproteolytic activation. Regulation by TIMP-2 and TIMP-3. *J Biol Chem* 271 : 17119-17123, 1996
  - 29) Shimada T, Nakamura H, Ohuchi E, Fujii Y, Murakami Y, Sato H, Seiki M, Okada Y : Characterization of a truncated recombinant form of human membrane type 3 matrix metalloproteinase. *Eur J Biochem* 262 : 907-914, 1999
  - 30) Amour A, Slocombe PM, Webster A, Butler M, Knight CG, Smith BJ, Stephens PE, Shelley C, Hutton M, Knäuper V, Docherty AJ, Murphy G : TNF-alpha converting enzyme (TACE) is inhibited by TIMP-3. *FEBS Lett* 435 : 39-44, 1998
  - 31) Anand-Apte B, Pepper MS, Voest E, Montesano R, Olsen B, Murphy G, Apte SS, Zetter B : Inhibition of angiogenesis by tissue inhibitor of metalloproteinase-3. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : 817-823, 1997
  - 32) Baker AH, Zaltsman AB, George SJ, Newby AC : Divergent effects of tissue inhibitor of metalloproteinase-1, -2, or -3 overexpression on rat vascular smooth muscle cell invasion, proliferation, and death in vitro. TIMP-3 promotes apoptosis. *J Clin Invest* 101 : 1478-1487, 1998
  - 33) Ahonen M, Baker AH, Kahari VM : Adenovirus-mediated gene delivery of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 inhibits invasion and induces apoptosis in melanoma cells. *Cancer Res* 58 : 2310-2315, 1998
  - 34) Hashimoto G, Aoki T, Nakamura H, Tanzawa K, Okada Y : Inhibition of ADAMTS4 (aggrecanase-1) by tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1, 2, 3 and 4). *FEBS Lett* 494 : 192-195, 2001



- 35) Kashiwagi M, Tortorella M, Nagase H, Brew K : TIMP-3 is a potent inhibitor of aggrecanase 1 (ADAM-TS4) and aggrecanase 2 (ADAM-TS 5). *J Biol Chem* 276 : 12501-12504, 2001
- 36) Wayne GJ, Deng SJ, Amour A, Borman S, Matico R, Carter HL, Murphy G : TIMP-3 inhibition of ADAMTS-4 (Aggrecanase-1) is modulated by interactions between aggrecan and the C-terminal domain of ADAMTS-4. *J Biol Chem* 282 : 20991-20998, 2007
- 37) Fushimi K, Troeberg L, Nakamura H, Lim NH, Nagase H : Functional differences of the catalytic and non-catalytic domains in human ADAMTS-4 and ADAMTS-5 in aggrecanolytic activity. *J Biol Chem* 283 : 6706-6716, 2008
- 38) Gao G, Plaas A, Thompson VP, Jin S, Zuo F, Sandy JD : ADAMTS4 (aggrecanase-1) activation on the cell surface involves C-terminal cleavage by glycosylphosphatidyl inositol-anchored membrane type 4-matrix metalloproteinase and binding of the activated proteinase to chondroitin sulfate and heparan sulfate on syndecan-1. *J Biol Chem* 279 : 10042-10051, 2004
- 39) Fuller CJ, Ghosh P, Barr AR : Plasma and synovial fluid concentrations of calcium pentosan polysulphate achieved in the horse following intramuscular injection. *Equine Vet J* 34 : 61-64, 2002
- 40) Yatabe T, Mochizuki S, Takizawa M, Chijiwa M, Okada A, Kimura T, Fujita Y, Matsumoto H, Toyama Y, Okada Y : Hyaluronan inhibits expression of ADAMTS4 (aggrecanase-1) in human osteoarthritic chondrocytes. *Ann Rheum Dis*, in press
- 41) Edelman J, March L, Ghosh P : A double-blind placebo-controlled clinical study of a pleiotropic osteoarthritis drug (pentosan polysulfate, Cartrophen) in 105 patients with osteoarthritis (OA) of the knee and hip joints. *Osteoarthritis Cartilage* 2 : 23, 1994
- 42) Ghosh P, Edelman J, March L, Smith M : Effects of pentosan polysulfate in osteoarthritis of the knee : a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Curr Ther Res* 66 : 552-571, 2005



学位論文

日本人小児の肥満 —診断・頻度・国際比較—

慶應義塾大学医学部小児科学教室・慶應義塾大学保健管理センター

(指導：高橋孝雄教授)

いのくちみかこ  
井ノ口美香子

Key Words : childhood obesity, body mass index, waist circumference, national references

緒言

肥満は、年齢、性、人種を問わず、全世界的問題である。わが国も例外でない。客観的根拠に基づく肥満の診断が臨床的、疫学的に、国内外において一層重要な意義をもつ所以である。現在、全身性肥満の指標として body mass index (=体重/身長<sup>2</sup> kg/m<sup>2</sup>, 以下 BMI) が、中心性肥満 (過剰な腹部の脂肪蓄積、内臓脂肪蓄積と腹部皮下脂肪蓄積の2つの要因がある) の指標として腹囲が、国際的に頻用されている。前者は体脂肪量と<sup>1-4)</sup>、後者は内臓脂肪量と<sup>5-8)</sup>高い相関性を示す。

わが国において、これらの指標の臨床的・疫学的実用化をはかるためには、日本人基準集団における BMI・腹囲の基準値を設定する必要がある。また肥満の診断には、これらの基準値に基づく肥満と非肥満のカットオフ値を設定する必要がある。しかし、わが国において、これら関連データの整備は、欧米諸国に比べ、成人、小児を問わず、著しく立ち遅れている。

日本人小児の肥満診断には、肥満度が広く用いられてきた。肥満度は、(実測体重-標準体重)/標準体重×100 (%) で定義される。しかし、肥満度算出の根拠となる標準体重は、未確立である。現在、厚生労働省方式、学校保健会方式、文部科学省方式の3つの標準体重が使用され (付記1参照)、同一児の肥満度が3つの方式のいずれを採用するかにより異なる。この事実は、小児保健、学校保健関係者により、十分に認識されていない。一方、BMIによる小児の肥満診断は、わが国を除くすべての先進諸国において、標準的手法として採用されている。わが国においては、2006年、著者らがはじめて日本人小児 BMI 基準値を設定し、肥満度から BMI への転換をはかった<sup>9)</sup>。

小児の肥満の BMI カットオフ値設定は残された最も重要な課題である。2000年、米国の Center for Disease Control and Prevention (以下、CDC)<sup>10)</sup>、および International Obesity Task Force (以下、IOTF)<sup>11)</sup> により提唱されたカットオフ値は国際的に広く用いられ、小児肥満の国際比較を促進した。しかし、著者らの preliminary study によれば、米国 CDC 方式、および IOTF 方式による BMI カットオフ値は、いずれも日本人小児集団に適合しない。著者は、現在、日本人小児に最適なカットオフ値の設定について検討中である。

以下、1. BMI、腹囲による肥満診断、2. 日本人小児の基準値 (BMI・腹囲)、3. 日本人小児のカットオフ値 (BMI・腹囲)、4. 日本人小児の肥満頻度について言及し、日本人小児の肥満診断の国際化を目指す。

1. BMI、腹囲による肥満診断

成人、小児それぞれにおいて、年齢、性、人種、変動トレンドが BMI および腹囲の基準値やカットオフ値に与える影響を考慮する必要がある。しかし、様々な問題が未解決のまま、BMI、腹囲による肥満診断が臨床に供されている。以下、成人、小児における BMI、腹囲による肥満診断の問題点に言及する。

1) BMI

a) 成人

成人における肥満診断は、現在、身長により標準化された体重を用いる方法が主流である。身長により標準化された体重 (体重/身長<sup>p</sup>, 体重/身長<sup>2</sup>, 体重/身長<sup>3</sup>, 身長/体重<sup>0.3</sup>) のうち、体重/身長<sup>p</sup>は集団特性により変動する身長の影響を最小にする p 値に



準拠する指標である。しかし、煩雑なため、臨床には適さない。体重/身長<sup>2</sup>は体重/身長<sup>3</sup>と共に身長の影響の少ない指標で、体脂肪量(皮下脂肪厚、体密度法による%脂肪)との密接な相関性を有する<sup>1-4, 12-14)</sup>。それゆえ、体重/身長<sup>2</sup>は、BMI (body mass index) と命名され<sup>1)</sup>、肥満診断の指標として臨床に供されることとなった。

BMIによる肥満診断が定石となる以前には、1. %標準体重(年齢、性、身長別平均体重を「標準体重」とする)や、2. メトロポリタン生命保険会社の性、身長別体重表(死亡率が最低となる体重幅を「望ましい体重」とする)<sup>15)</sup> が利用された。後者は、健康リスクに準拠する肥満診断という画期的な考え方に基づいているが、基礎となる標本サンプリング、身体計測法、望ましい体重幅の設定法のいずれについても、説明性に欠ける<sup>13)</sup>。

1970年代後半、BMIとメトロポリタン方式との統合が図られた。すなわち、1. 同社の「望ましい体重」表に示された、身長別の体重幅から体重の最大値と最小値について、BMIを算出する、2. 算出したBMI最大値を肥満のカットオフ値(BMI 25 kg/m<sup>2</sup>に相当)、BMI最小値をやせのカットオフ値(BMI 20 kg/m<sup>2</sup>に相当)とする。その結果、健康リスクに準拠するBMIのカットオフ値の概念が確立した<sup>4)</sup>。

小児、成人を包括する年齢、性、人種別のBMI基準値は、1982年、Cronk, Rocheによる6-50歳米国人白人、黒人14,000人を対象とする横断的調査成績を嚆矢とする<sup>16)</sup>。以後、0-87歳フランス人<sup>17)</sup>、0-45歳デンマーク人<sup>18)</sup>のBMI基準値が報告されている。上述のすべての成績は、BMIが成人後も加齢とともに増加し続けること、したがって成人という括りで単一のBMI基準値を設定することが不適切であることを明らかにした。成人の年齢別BMI基準値の必要性は、BMIと死亡率との相関性が年齢により異なることから裏付けられた<sup>19)</sup>。しかし、基準値作成の基礎となる基準集団(reference population)の設定が困難であるため、成人の年齢別BMI基準値は、実用化に至らなかった。成人の肥満評価に個人のBMIの経時変化(tracking)という視点が欠如する理由でもある。

BMIによる成人肥満の国際的統一カットオフ値は、国際保健機構(World Health Organization, 以下、WHO)により設定された。BMIとメトロポリタン方式との統合に基づき、BMI 25 kg/m<sup>2</sup>以上30 kg/m<sup>2</sup>未満を「前肥満(preobese)」, 30 kg/m<sup>2</sup>以上を「肥満(obese)」とされた<sup>20)</sup>。このBMIカットオフ値は、米国を中心に国際的に普及しつつある<sup>21)</sup>。しかし、あらゆる成人年齢、性、人種への適用性は十分に検討されてい

ない。わが国では日本肥満学会がBMI 25 kg/m<sup>2</sup>を成人の「肥満(obese)」診断のBMIカットオフ値としている<sup>22)</sup>。吉池らの30-79歳男女15万人を対象とするコホルト研究により、BMI 24-25.9 kg/m<sup>2</sup>群(中央値25 kg/m<sup>2</sup>)では、BMI 20-23.9 kg/m<sup>2</sup>群(中央値22 kg/m<sup>2</sup>)に比して、生活習慣病の出現頻度が有意に増加することが示されたことによる<sup>23)</sup>。

以上、成人における肥満診断において、BMIを用いる方式が確立し、WHOが設定したBMIカットオフ値に従う方式が、国際的に次第に普及しつつある。しかし、年齢、性、人種別のBMI基準値やBMIカットオフ値は、十分に検討されていない。特に、日本人と白人の同一BMI値が異なる体脂肪量を表現する可能性は、検討されなければならない。

## b) 小児

BMIによる小児の肥満診断は、成人に約20年遅れて臨床に導入された<sup>24, 25)</sup>。1979年、Coleが栄養状態の異なる5カ国0-22歳4,631人のデータを分析し、肥満の指標として体重/身長<sup>2</sup>が小児に適用可能であることを統計学的に明らかにしたことによる<sup>26)</sup>。

現在、小児の年齢、性、国別BMI基準値は、米国、フランス、英国、オランダの4カ国を含め、多数報告されている(第1表)。これら4カ国の基準値は、適切な調査年の設定、多数の標本数を有する全国データ、基準値作成法の国際的標準手法であるLMS法(付記2参照)により得られたものであり、国際的評価が確立している<sup>10, 17, 24, 27)</sup>。わが国では著者らが2006年、1978-1981年収集の各年齢、性別700人以上の標本数を有する全国データを基に、LMS法により、はじめて日本人小児(2-18歳)のBMI基準値を設定した<sup>9)</sup>。

小児におけるBMIカットオフ値の設定は、成人に比して難しい。その理由は、小児肥満においては、肥満による短期的な健康リスクが低いこと、肥満による長期的な健康リスクの把握が困難なことによる<sup>28)</sup>。

現在、各国固有の小児のBMIカットオフ値が設定されているのは米国、英国、フランスに限られる。米国(CDC)では、小児肥満の健康リスク、および小児肥満の成人肥満への移行リスクとの相関から、BMI 85パーセンタイル値以上95パーセンタイル値未満を「過体重のリスク(risk for overweight)」, 95パーセンタイル値以上を「過体重(overweight)」, と定義している<sup>10, 29, 30)</sup>。これらのBMIカットオフ値は、本来、米国固有のカットオフ値であるが、国際的に広く用いられる。英国ではReillyらが、インピーダンス法による体脂肪



第1表 既報のBMI基準値

国名	報告年	データ収集年	年齢(歳)	データ数	データ収集法	基準値作成法	表記法
フランス <sup>38, 17)</sup>	1982 1991	1953生 1953-1985	0-16 0-87	494 40,538 (?)	縦断的 横断的(一部縦断的)	詳細不明 LMS法	パーセンタイル値 パーセンタイル値・SD値
米国 <sup>16, 39, 40, 10, 41)</sup>	1982 1991 1991 2000	1971-1974 1971-1974 1971-1974 1963-1994	6-50 1-19 6-74 2-20	14,118 5,679 20,839 詳細不明	横断的 横断的 横断的 横断的	フリーエ変換 二次方程式モデル LOWESS法 LMS法	パーセンタイル値 パーセンタイル値 パーセンタイル値 パーセンタイル値
英国 <sup>24, 42, 43)</sup>	1995 1995	1978-1990 1989-1991	0-23 3-16	30,535 34,533	横断的 横断的	LMS法 LMS法	パーセンタイル値 パーセンタイル値
スウェーデン <sup>44, 45, 46)</sup>	1995 2000, 2001	1955・1967生 1973-1975生	男性6-19, 女性6-16 0-18	3,633 3,650	縦断的 縦断的	LMS法 Box-Cox法	パーセンタイル値 パーセンタイル値・SD値
イタリア <sup>47, 48)</sup>	1997 2002	1986-1987 1994-2000	3-19 6-20	41,869 54,795	横断的 横断的	LMS法 LMS法	パーセンタイル値・SD値 パーセンタイル値
ドイツ <sup>49)</sup>	1998	1989-1990	6-19	2,554	横断的	LMS法	パーセンタイル値
中国 <sup>50, 51)</sup>	1998 2004	1993 2000	0-18 7-18	23,965 >244,200	横断的 横断的	LMS法 スプライン平滑化法	パーセンタイル値 パーセンタイル値
イラン <sup>52)</sup>	1999	1990-1992	2-18	3,301	横断的	修正Healy法	パーセンタイル値
オランダ <sup>27, 53)</sup>	1999 2000	1979-1980 1996-1997	0-20 0-21	42,000 14,500	横断的 横断的	LMS法 LMS法	パーセンタイル値 SD値
ニュージーランド <sup>54)</sup>	2000	1972-1973生	3-21	1,037	縦断的	LMS法	パーセンタイル値・SD値
デンマーク <sup>18)</sup>	2001	1965-1994	0-45	35,105	横断的	LMS法	パーセンタイル値
メキシコ <sup>55)</sup>	2002	1992-1993	6-12	649	横断的	詳細不明	SD値
日本 <sup>9, 56)</sup> (本研究)	2006, 2007	1978-1981	1.5-18.5	27,793	横断的	LMS法	パーセンタイル値・SD値



率を gold standard として、利用目的に応じた BMI カットオフ値の設定を提案した。研究および疫学的目的では、BMI 85 パーセントイル値以上を「過体重 (overweight)」, 95 パーセントイル値以上を「肥満 (obesity)」と定義、臨床的目的では、BMI 91 パーセントイル値以上を「過体重 (overweight)」, 98 パーセントイル値以上を「肥満 (obesity)」と定義する<sup>31-33)</sup>。フランスでは 97 パーセントイル値以上を「肥満を含む過体重 (overweight including obesity)」と定義しているが、その根拠は明確にされていない<sup>17, 34)</sup>。

2000 年、IOTF は、WHO による成人の「前肥満 (preobese)」, 「肥満 (obese)」の BMI カットオフ値に対応させた、小児における BMI の国際的統一カットオフ値の設定を試みた。6 カ国 (ブラジル、英国、香港、オランダ、シンガポール、米国) のデータから合成された BMI 基準値を用い、18 歳時の BMI 25、および 30 kg/m<sup>2</sup> に相当するパーセントイル値を決定した。これらのパーセントイル値により「過体重 (overweight: 18 歳時の BMI 25-30 kg/m<sup>2</sup> に相当)」, および「肥満 (obesity: 18 歳時の BMI 30 kg/m<sup>2</sup> 以上に相当)」を定義した<sup>11, 35-37)</sup>。この IOTF 方式による BMI カットオフ値は国際比較の目的で広く使用されているが、肥満診断の感度が低いため、国際的統一カットオフ値としては認められなかった<sup>32)</sup>。

小児を対象とする IOTF 方式と CDC 方式の用語法は異なる。IOTF 方式による「過体重 (overweight)」は CDC 方式による「過体重のリスク (risk for overweight)」, IOTF 方式による「肥満 (obesity)」は CDC 方式による「過体重 (overweight)」に相当する (付記 3 参照)。

以上、小児における BMI による肥満診断は、各国固有の基準値の設定により急速に普及した。今後の最も重要な課題は、人種差を考慮した将来の肥満リスクに基づく各国固有の BMI カットオフ値の設定である。

## 2) 腹囲

### a) 成人

腹囲は主として中心性肥満の指標、ときに全身性肥満の指標として利用される。1982-1984 年、Kissebach らは、中心性肥満の指標として腹囲/腰囲比 (ウエスト/ヒップ比) に着目し、腹囲/腰囲比が脂質代謝異常やインスリン抵抗性と相関することを報告<sup>57-59)</sup>。1985 年、Ashwell らは、腹囲/腰囲比と CT による推測内臓脂肪量との相関を明らかにした<sup>60)</sup>。一方、1988 年、Seidell らは、腹囲自体が腹囲/腰囲比に比して、CT による推

測内臓脂肪量とより高い相関性を示すことを報告した<sup>61)</sup>。1994 年以降、Pouliot らは、腹囲自体が腹囲/腰囲比に比して、体密度法による体脂肪量、CT による推測内臓脂肪量、および心血管疾患リスク (高トリグリセライド血症、低 HDL コレステロール血症、高血糖、高インスリン血症) とより高い相関性を示すことを報告した<sup>61-63)</sup>。これらの成績により腹囲は、中心性肥満のもたらす健康リスクの臨床指標として広く用いられることとなった。

腹囲基準値は、米国、スウェーデンから報告されている。Flegal は、米国の 1988-1994 年調査データ (20-80 歳以上) から、厳密に定義された健康者および非健康者の年齢群別、性別腹囲基準値 (パーセントイル値) を報告した<sup>64)</sup>。Okosun らは、米国の 1960-2000 年調査データ (20-79 歳) から、Lilja らは、北スウェーデンの 1986-2004 年調査データ (25-74 歳) から、調査年別、年齢群別、性別腹囲基準値 (平均値、SD 値) を報告した<sup>65, 66)</sup>。これらの成績は、腹囲基準値が基準集団 (reference population) の設定方法 (対象の選定、調査年、年齢) により大きく異なること、したがって成人という括りで単一の腹囲基準値を設定することが不適切であることを明らかにした。

腹囲カットオフ値は、①全身性肥満の診断、②中心性肥満 (内臓肥満) の診断、③疾患リスクの予測に供される。成人においては、1990 年代から、それぞれを目的とした腹囲カットオフ値の報告が相次いだ。

全身性肥満の診断を目的として、1995 年、Lean らは、2 段階の腹囲カットオフ値を設定した (男性 94 cm、および 102 cm、女性 80 cm、および 88 cm)。これら 2 段階の腹囲カットオフ値は、25-74 歳英国人の BMI 25 kg/m<sup>2</sup>、および 30 kg/m<sup>2</sup> に対応する<sup>67)</sup>。

中心性肥満 (内臓肥満) の診断を目的として、1996 年、Lemieux らは、18-67 歳カナダ人を対象として腹囲カットオフ値 (40 歳以上 90 cm、40 歳未満 100 cm) を設定した。これらの腹囲カットオフ値は、2つの年齢群別に、内臓脂肪量 130 cm<sup>2</sup> に対応する腹囲として設定された<sup>68)</sup>。内臓脂肪量 130 cm<sup>2</sup> 以上では糖および脂質代謝異常が増加することに基づく<sup>69)</sup>。

中心性肥満 (内臓肥満) の診断、および疾患リスクの予測を目的として、1994 年、Pouliot は、腹囲カットオフ値 (男女とも 100 cm) を設定した。この腹囲カットオフ値は、前述のように、カナダ人成人ボランティア (男性 81 人、女性 70 人) において、腹囲が内臓脂肪量および糖、脂質代謝異常に強く相関することに基づく<sup>61)</sup>。

1998 年、WHO は、メタボリックシンドロームの診



断基準を提唱し、腹囲/腰囲比のカットオフ値を設定した<sup>70)</sup>。爾来、メタボリックシンドロームの診断基準の1つとして、多数の腹囲カットオフ値が報告されている。European Group for the Study of Insulin Resistance：男性 94 cm，女性 80 cm<sup>67, 71)</sup>，National Cholesterol Education Program -Third Adult Treatment Panel：男性 102 cm，女性 88 cm<sup>67, 72)</sup>，International Diabetes Federation（以下，IDF）：男性 94 cm，女性 80 cm（ヨーロッパ・アフリカ・東地中海・中東），男性 90 cm，女性 80 cm（南アジア・中国・中南米）<sup>67, 73, 74)</sup>。IDF は、日本人の腹囲カットオフ値として、日本肥満学会による男性 85 cm，女性 90 cm を採用している<sup>73-75)</sup>。日本人の腹囲カットオフ値は、内臓脂肪量 100 cm<sup>2</sup> に対応する腹囲として設定された。日本人では内臓脂肪量 100 cm<sup>2</sup> 以上で肥満に伴う健康障害（耐糖能異常，高血圧，高脂血症，高尿酸血症，心疾患）の合併数が増加することに基づく<sup>22, 75)</sup>。

以上，腹囲カットオフ値は国際的に不統一である。2007 年，Flegal は米国人成人ボランティア（男性 7,403 人，女性 8,051 人）を 1. 主観的健康度，2. 既往歴，3. 血圧，4. 糖・脂質代謝臨床検査データにより，5 段階の健康水準に分類し，健康水準と腹囲との関係を検討した。すなわち健康者（健康水準 4 以上）と非健康者（健康水準 3 以下）の腹囲分布の重複が大きいことをはじめ報告した。このことは腹囲により疾患リスクを予測することが困難であることを示唆した<sup>64)</sup>。従来報告された腹囲カットオフ値の意味，疾患リスクの予測性を見直す必要がある。

腹囲の計測位置の不統一は，国際的に軽視されてきた重要な問題である。計測位置の選定は各国，各研究者により異なるが，WHO は腹囲の計測位置（高さ）を，肋骨下端と腸骨稜上端の midpoint の高さ<sup>20)</sup>に設定し，英国，スウェーデンの研究者をはじめ，比較的多く利用されている<sup>66, 67)</sup>。しかし，米国では右腸骨稜上端の高さ<sup>21)</sup>，カナダでは臍の最も細い位置の高さ<sup>68)</sup>，わが国では臍の高さ<sup>22, 75)</sup>を基準とすることが一般的である。この計測位置の不統一は国際比較を困難にしている。

以上，成人における腹囲による肥満診断は，基準値，カットオフ値，計測位置，それぞれについて多くの問題点を有している。特に健康者と非健康者の腹囲分布は大きく重複するため，どのようなカットオフ値を設定しても，単独では肥満診断の精度を高めることは期待できない。また計測位置の不統一という根本的問題の早急な解決は，今後の最も重要な課題である。

## b) 小児

小児における腹囲による肥満診断は，1999-2000 年，Freedman ら，Tayler らがそれぞれ，腹囲と種々の疾患リスク，および腹囲と体幹脂肪量（二重 X 線法による）との密接な相関性を，小児を対象に明らかにしたことにより発展した。また，これらの成績は，成人の場合と同様，腹囲自体が腹囲/腰囲比に比して，肥満による健康リスクの臨床指標として優れていることを示唆した<sup>76, 77)</sup>。

小児の年齢別性別腹囲基準値は，イタリア<sup>78)</sup>，スペイン<sup>79)</sup>，英国<sup>80)</sup>，オランダ<sup>81)</sup>，中国（香港）<sup>82)</sup> を含め，多数報告されている（第 2 表）。これらの小児腹囲基準値のうち，英国，オランダの基準値は，適切な調査年の設定，多数の標本数を有する全国データ，基準値作成法の国際的標準手法である LMS 法（付記 2 参照）により得られた基準値である<sup>80, 81)</sup>。わが国では 2007 年，著者らが 1992-1994 年収集の各年齢，性別それぞれ約 100 例以上の標本数を有する全国データを基に，LMS 法により，はじめて日本人小児（6-18 歳）の腹囲基準値を設定した<sup>83)</sup>。

小児の腹囲カットオフ値は，オランダ<sup>81)</sup>，スペイン<sup>84)</sup>，ニュージーランド<sup>77)</sup>，イタリア<sup>85)</sup>，中国（香港）<sup>82)</sup> から報告されている。成人の場合と同様，①全身性肥満の診断，②中心性肥満（内臓肥満）の診断，③疾患リスクの予測に供される。

オランダ，スペインの腹囲カットオフ値は全身性肥満の診断を目的とする。オランダの腹囲カットオフ値（男女とも 1.3 SD 値，2.3 SD 値）は IOTF 方式による「過体重（overweight）」、「肥満（obesity）」の BMI カットオフ値との相関<sup>81)</sup>，スペインの腹囲カットオフ値（男性のみ，70 パーセンタイル値）は体密度法による体脂肪率（85 パーセンタイル値）との相関<sup>84)</sup>に基づく。

ニュージーランドの腹囲カットオフ値（80 パーセンタイル値）は中心性肥満（内臓肥満）の診断を目的とする。二重 X 線法による体幹脂肪量（z スコア = 1）との相関に基づく<sup>77)</sup>。

イタリアの腹囲カットオフ値（90 パーセンタイル値）は，中心性肥満（内臓肥満）の診断，および心血管疾患リスクの予測を目的とする。ニュージーランドの Tayler らによる腹囲カットオフ値<sup>77)</sup>との近似，および心血管疾患リスク（高血圧，高 LDL コレステロール血症，低 HDL コレステロール血症）との相関に基づく<sup>85)</sup>。中国（香港）の腹囲カットオフ値（85 パーセンタイル値）は心血管疾患リスク（高血圧，高 LDL コレステロール血症，高トリグリセライド血症，低 HDL コレステロ-



第2表 既報の腹囲基準値 (Inokuchi M et al : Eur J Pediatr 166 : 655-661, 2007 の Table 5 を許可を得て転載, 改変)

国名	報告年	データ収集年	年齢 (歳)	対象数	データ収集法	基準値作成法	表記法	腹囲の計測位置
イタリア <sup>78)</sup>	1996	詳細不明	6-14	2,858	横断的	詳細不明	パーセンタイル値	臍の高さ
スペイン <sup>79)</sup>	1999	詳細不明	6.0-14.9	1,360	横断的	詳細不明	パーセンタイル値・SD 値	肋骨最下端と腸骨稜の間の中心の高さで ほぼ臍の高さ (=ウエスト囲)
英国 <sup>80)</sup>	2001	1988	5.0-16.9	8,355	横断的	LMS 法	パーセンタイル値・SD 値	第10肋骨と腸骨稜の間の中心の高さ (自然なウエストの位置) (=ウエスト囲)
キプロス <sup>87)</sup>	2001	1999-2000	6-17	2,472	横断的	詳細不明	パーセンタイル値	臍の高さ
カナダ <sup>88)</sup>	2004	1981	10.5-18.5	3,064	横断的	LMS 法	パーセンタイル値・SD 値	見た目で細くなっているウエストの高さ (=ウエスト囲)
米国 <sup>89)</sup>	2004	1988-1994	2-18	9,713	横断的	回帰直線法	パーセンタイル値	右腸骨の外側縁最上部直上の高さ (=腸骨稜囲)
オランダ <sup>81)</sup>	2005	1996-1997	0-21	14,500	横断的	LMS 法	SD 値	肋骨最下端と腸骨稜最上部の間の中心の 高さ (=ウエスト囲)
メキシコ <sup>90)</sup>	2005	詳細不明	6-10	833	横断的	詳細不明	パーセンタイル値	肋骨下部と腸骨稜最上部の間で最も腹部が 前に膨隆している位置の高さ
中国 (香港) <sup>82)</sup>	2007	2002-2004	6.0-13.0	2,593	横断的	LMS 法	パーセンタイル値・SD 値	肋骨最下端と腸骨稜最上部の間の中心の 高さ (=ウエスト囲)
日本 <sup>83)</sup> (本研究)	2007	1992-1994	6.0-18.0	10,614	横断的	LMS 法	パーセンタイル値	胸の最も細い位置の高さ (=ウエスト囲) 腸骨稜の高さ (=腸骨稜囲)



ル血症、高血糖、高インスリン血症）との相関に基づく<sup>82)</sup>。なお、IDFによる小児メタボリックシンドローム暫定診断基準の腹囲カットオフ値（各国別腹囲基準値の90パーセントイル値）は、上記イタリアの報告<sup>85)</sup>に倣っている<sup>86)</sup>。

しかし、これらの腹囲カットオフ値のうち、腹囲基準値（reference value）に基づくカットオフ値は、オランダと中国（香港）の報告に限られる<sup>81, 82)</sup>。また、小児において健常対象を明確に定義した腹囲分布の検討はない。健常対象を定義した腹囲基準値の作成、およびそれに基づくカットオフ値の検討も試みられていない。

小児においても腹囲の計測位置の不統一は重要な問題である。腹囲基準値およびカットオフ値は、各国から様々な計測位置（高さ）を基準に報告され、国際比較を困難にしている（第2表）。

以上、小児における腹囲による肥満診断は、成人同様、基準値、カットオフ値、計測位置、それぞれについて多くの問題点を有している。腹囲のカットオフ値の概念の明確化、および計測位置の統一が、今後の最も重要な課題である。

## 2. 日本人小児の基準値

著者らは、日本人小児のBMI・腹囲の基準値を設定した。本基準値は、1. 肥満が現在よりも低水準の標本集団を利用したこと、2. 全国データ（nationally representative data）を使用したこと、3. 基準値作成法の国際的標準手法であるLMS法を使用したことにより、国際的標準を満たすものである<sup>91)</sup>。以下、BMI・腹囲の基準値設定の過程と成績について述べる。

### 1) BMI

#### a) 基準集団データ

BMI基準値作成用の基準集団データとして、「1978-1981年データ」<sup>92)</sup>を用いた。「1978-1981年データ」は、同年、通商産業省（現在の経済産業省）、および日本規格協会により既製の採寸を目的として調査され、現在入手可能な小児のBMI算出に必要な身長、および体重の個人別データとして、最も古い年代に収集された。日本全国の13都道府県（北海道、岩手、福島、新潟、石川、東京、静岡、愛知、京都、大阪、広島、高知、鹿児島）の各居住者ボランティアに対し、身長、体重を含む33-35箇所の身体部分の計測が行われた。これらのデータは、日本人小児（1.5-18.5歳）、男性14,019例、女性13,788例の身長および体重計測値の個人別データ

を含む。

基準集団データ（身長・体重）から算出されたBMIの分布は、男女とも各年齢群において正の偏りを示した（第1図）。しかし、そのBMI分布の偏りは、3つの全国代表データ（nationally representative data：「1978-1981年データ」、「1992-1994年データ」（後述）、「2001年データ」（後述））の中で最も小さい（第2図）。

#### b) 基準値作成法

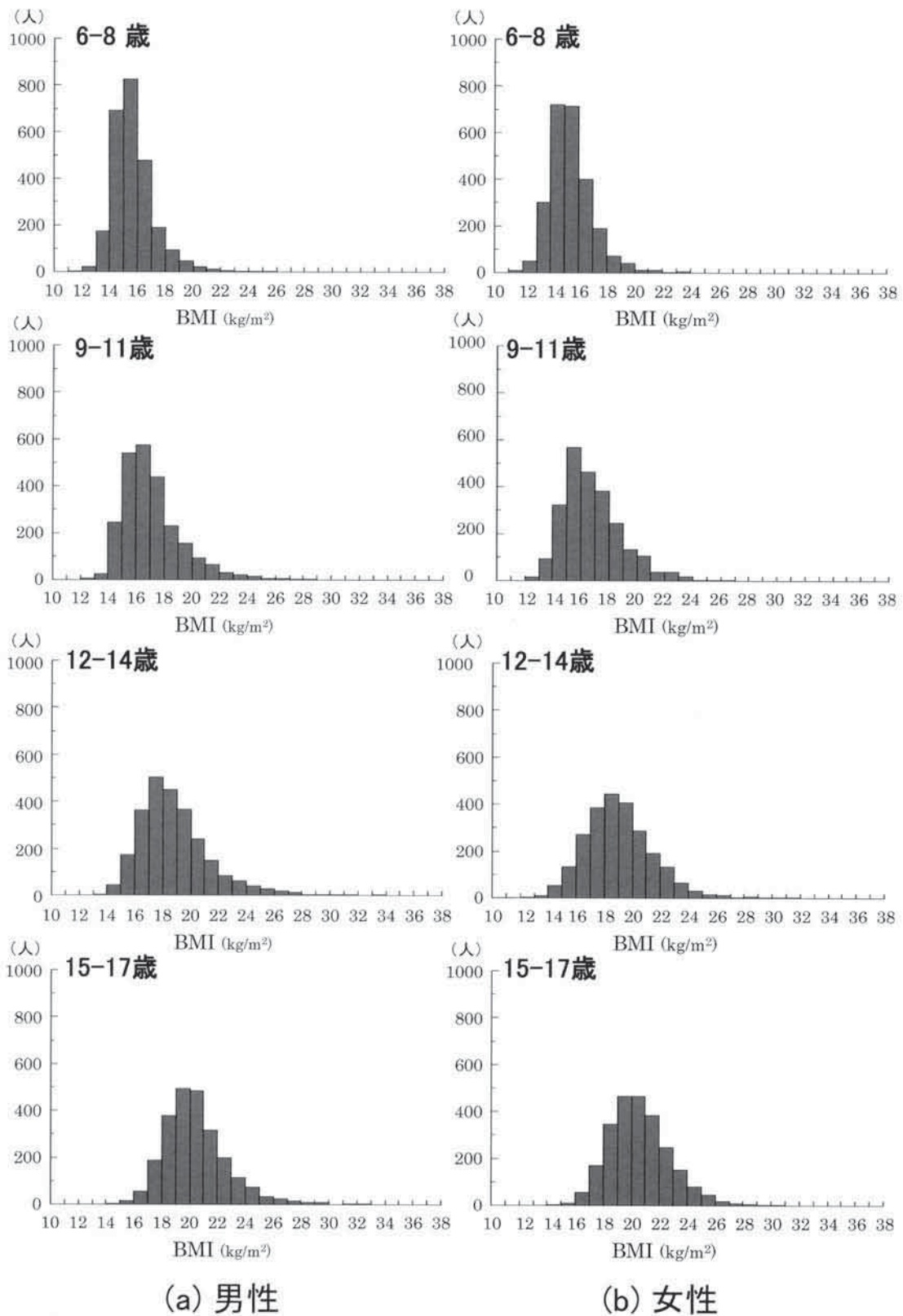
全対象者の性、年齢、身長計測値、体重計測値（年齢は6.5歳未満：0.01歳単位、6.5歳以上：0.1歳単位、身長計測値は2歳未満：臥位、2歳以上：立位、0.1cm単位、体重計測値は0.1kg単位で記載）をMicrosoft Excelに読み込み、BMI（=体重/身長<sup>2</sup> kg/m<sup>2</sup>）を計算した。データを性別で分類後、それぞれ外れ値（M±5SDの枠外のデータ）（男性7例、女性7例）を除外し<sup>93)</sup>、最終的に男性14,012例、女性13,781例（1.5-18.5歳）のBMI値を用いた（第3表）。男女各例の年齢および対応するBMI値を、ColeによるLMS法（付記2参照）により、性別年齢別のパーセントイル値、SD値に変換した。変換にはPCソフトImsChartMaker Pro version 2.0<sup>93)</sup>を用いた。

#### c) 基準値

本研究の成績である日本人1.5-18.5歳におけるBMIのL、M、S値、およびパーセントイル値、SD値を示す（第4表、第3図、第4図）。

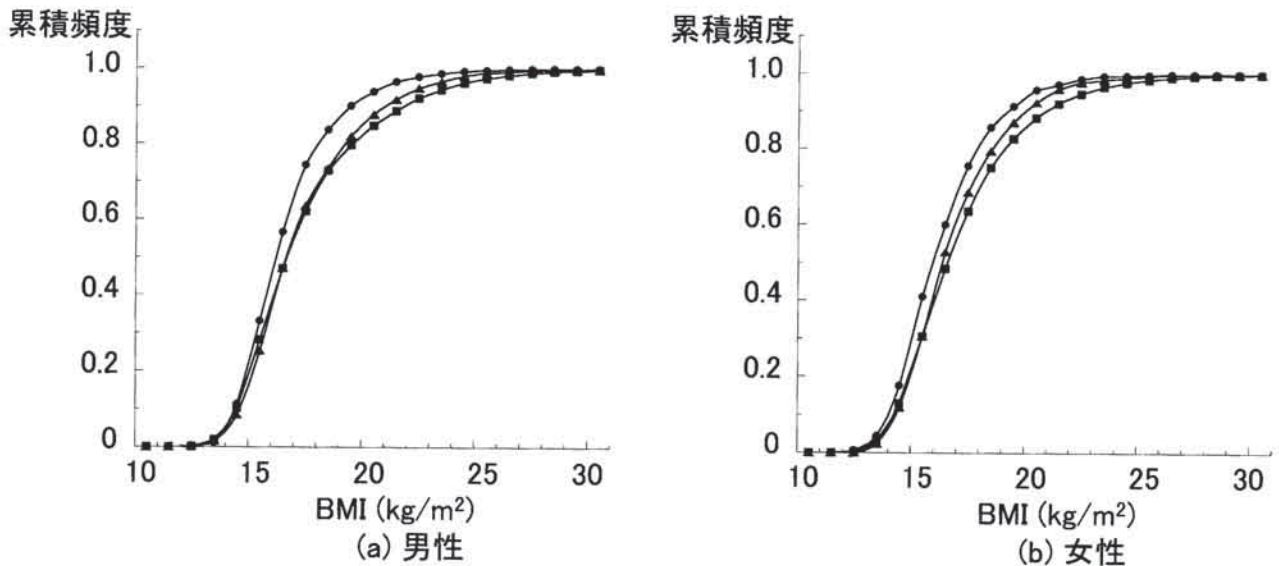
- (1) BMIは、男女とも、高パーセントイル値、あるいは高SD値（例：97パーセントイル値、+2.5SD値）において、大きな広がりを示す。この傾向は、男性においてより明らかであり、本基準集団の男性の肥満頻度および肥満程度が、女性に比して高いことを示唆する。
- (2) BMIは、adiposity rebound（BMIが一旦低下し、再度上昇する現象）を示す。adiposity reboundは、高パーセントイル値、あるいは高SD値（例：97パーセントイル値、+2.5SD値）ほど、低年齢（男性4-5歳、女性5歳）、逆に、低パーセントイル値、あるいは低SD値（例：3パーセントイル値、-2.5SD値）ほど、高年齢（男性6-7歳、女性7-8歳）である。本基準集団日本人のadiposity reboundは、男性において女性に比して低年齢で出現する可能性を示唆する。





第1図 BMI基準値作成用基準集団データ (「1978-1981年データ」) のBMI分布  
 (a) 男性 (b) 女性  
 (Inokuchi M et al : Ann Hum Biol 33 : 444-453, 2006 の Figure 1 を許可を得て転載, 改変)





第2図 「1978-1981年データ」(●)、「1992-1994年データ」(▲)、「2001年データ」(■)のBMI累積頻度(9-11歳)  
(a) 男性 (b) 女性

第3表 BMI基準値作成用基準集団データ(「1978-1981年データ」<sup>92)</sup>)の対象数(Inokuchi M et al: Ann Hum Biol 33: 444-453, 2006のTable I, Inokuchi M et al: Acta Paediatr 96: 1674-1676, 2007のTable S1を許可を得て転載, 改変)

年齢(歳)	男性	女性
1.5- 2.0	234	221
2.0- 3.0	867	840
3.0- 4.0	1,018	950
4.0- 5.0	743	738
5.0- 6.0	803	772
6.0- 7.0	900	880
7.0- 8.0	867	854
8.0- 9.0	808	802
9.0-10.0	840	839
10.0-11.0	821	807
11.0-12.0	797	792
12.0-13.0	904	886
13.0-14.0	794	767
14.0-15.0	855	812
15.0-16.0	776	819
16.0-17.0	832	846
17.0-18.0	824	807
18.0-18.5	329	349
計	14,012	13,781

## 2) 腹囲

### a) 基準集団データ

腹囲基準値作成用の基準集団データとして、「1992-1994年データ」<sup>94)</sup>を用いた。「1992-1994年データ」は、同年、通商産業省(現在の経済産業省)、および日本人間生活工学センターにより衣料品などの生活製品の設計資料収集を目的として調査され、現在入手可能な小児の腹囲個人別データとして、最も古い年代に収集された(腹囲データは「1978-1981データ」にも含まれるが、現在その個人別データは破棄されて使用不可能である)。日本全国の45都道府県(島根、徳島を除く47都道府県)の各居住者ボランティアに対し、身長、体重、腹囲を含む178箇所の身体部分の計測が行われた。これらのデータは日本人小児(6.0-18.0歳)、男性5,851例、女性4,763例の腹囲の個人別データを含む(小児の腹囲個人別データは28都道府県から収集されたものである)(第5表)。腹囲は、胸の最も細い位置の高さの周囲径(以下、ウエスト囲)、および腸骨稜の高さの周囲径(以下、腸骨稜囲)の2箇所を計測点とした。

基準集団データの腹囲(ウエスト囲・腸骨稜囲)の分布は、男女とも各年齢群において正の偏りを示す(ウエスト囲のデータのみ提示)(第5図)。腹囲の個別データは、3つの全国代表データ(「1978-1981年データ」, 「1992-1994年データ」, 「2001年データ」(後述))の中で「1992-1994年データ」に限られる。したがって他の2つの全国代表データとの腹囲分布の比較は不可能である。



第4表(a) BMIのL, M, S値, およびパーセンタイル値, SD値 (1.5-18.5歳, 男性)  
 (Inokuchi M et al : Ann Hum Biol 33 : 444-453, 2006のTable II, Inokuchi M et al : Acta Paediatr 96 : 1674-1676, 2007のTable S2, Table S3を許可を得て転載, 改変)

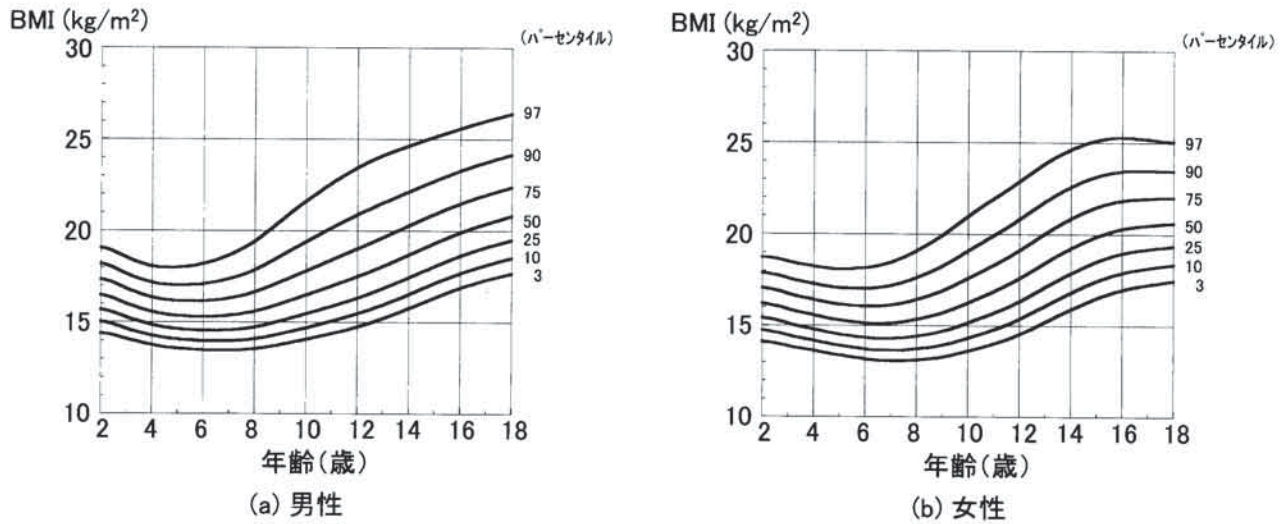
年齢 (歳)	L	M	S	BMI (パーセンタイル)												BMI (SD)				
				3	5	10	25	50	75	85	90	95	97	-2.5	-2.0	-1.0	平均	+1.0	+2.0	+2.5
1.5	-0.29	16.57	0.075	14.4	14.7	15.1	15.8	16.6	17.4	17.9	18.3	18.8	19.1	13.8	14.3	15.4	16.6	17.9	19.3	20.1
2.0	-0.55	16.49	0.075	14.4	14.6	15.0	15.7	16.5	17.3	17.8	18.2	18.7	19.1	13.8	14.3	15.3	16.5	17.8	19.3	20.1
2.5	-0.78	16.29	0.074	14.3	14.5	14.9	15.5	16.3	17.1	17.6	18.0	18.5	18.9	13.7	14.2	15.2	16.3	17.6	19.1	19.9
3.0	-0.99	16.01	0.072	14.1	14.3	14.6	15.3	16.0	16.8	17.3	17.6	18.2	18.5	13.6	14.0	14.9	16.0	17.3	18.7	19.5
3.5	-1.20	15.77	0.072	13.9	14.1	14.5	15.0	15.8	16.6	17.0	17.4	17.9	18.3	13.4	13.8	14.7	15.8	17.0	18.4	19.3
4.0	-1.41	15.57	0.072	13.8	14.0	14.3	14.9	15.6	16.4	16.8	17.2	17.7	18.1	13.3	13.7	14.5	15.6	16.8	18.3	19.1
4.5	-1.61	15.43	0.072	13.6	13.8	14.2	14.7	15.4	16.2	16.7	17.1	17.6	18.0	13.2	13.5	14.4	15.4	16.7	18.2	19.1
5.0	-1.81	15.35	0.074	13.6	13.8	14.1	14.6	15.4	16.2	16.7	17.0	17.6	18.0	13.1	13.5	14.3	15.4	16.6	18.2	19.2
5.5	-1.99	15.31	0.075	13.5	13.7	14.0	14.6	15.3	16.1	16.7	17.0	17.6	18.1	13.1	13.4	14.3	15.3	16.6	18.3	19.4
6.0	-2.14	15.30	0.077	13.5	13.7	14.0	14.6	15.3	16.2	16.7	17.1	17.7	18.2	13.0	13.4	14.2	15.3	16.6	18.5	19.6
6.5	-2.27	15.32	0.080	13.5	13.7	14.0	14.6	15.3	16.2	16.8	17.2	17.9	18.4	13.0	13.4	14.2	15.3	16.7	18.7	20.0
7.0	-2.38	15.37	0.083	13.5	13.7	14.0	14.6	15.4	16.3	16.9	17.4	18.1	18.7	13.0	13.4	14.3	15.4	16.9	19.0	20.4
7.5	-2.45	15.46	0.086	13.5	13.7	14.0	14.6	15.5	16.5	17.1	17.6	18.4	19.0	13.0	13.4	14.3	15.5	17.0	19.4	21.0
8.0	-2.51	15.60	0.090	13.6	13.8	14.1	14.7	15.6	16.7	17.3	17.9	18.8	19.4	13.1	13.5	14.4	15.6	17.3	19.8	21.7
8.5	-2.55	15.79	0.094	13.7	13.9	14.2	14.9	15.8	16.9	17.7	18.2	19.2	20.0	13.1	13.5	14.5	15.8	17.6	20.4	22.6
9.0	-2.56	16.02	0.097	13.8	14.0	14.4	15.1	16.0	17.2	18.0	18.6	19.7	20.5	13.3	13.7	14.7	16.0	17.9	21.0	23.5
9.5	-2.56	16.26	0.101	13.9	14.2	14.5	15.3	16.3	17.5	18.4	19.0	20.2	21.1	13.4	13.8	14.9	16.3	18.3	21.6	24.4
10.0	-2.54	16.50	0.104	14.1	14.3	14.7	15.5	16.5	17.8	18.7	19.4	20.6	21.6	13.5	14.0	15.0	16.5	18.6	22.2	25.2
10.5	-2.51	16.75	0.107	14.2	14.5	14.9	15.7	16.7	18.1	19.1	19.8	21.1	22.1	13.7	14.1	15.2	16.7	19.0	22.7	26.0
11.0	-2.47	17.00	0.109	14.4	14.7	15.1	15.9	17.0	18.4	19.4	20.2	21.5	22.6	13.8	14.3	15.4	17.0	19.3	23.2	26.7
11.5	-2.42	17.25	0.111	14.6	14.8	15.3	16.1	17.3	18.7	19.7	20.5	21.9	23.1	14.0	14.4	15.6	17.3	19.6	23.7	27.3
12.0	-2.38	17.51	0.112	14.8	15.0	15.5	16.3	17.5	19.0	20.1	20.9	22.3	23.5	14.1	14.6	15.9	17.5	19.9	24.1	27.8
12.5	-2.33	17.79	0.112	15.0	15.3	15.7	16.6	17.8	19.3	20.4	21.2	22.7	23.8	14.3	14.8	16.1	17.8	20.3	24.5	28.1
13.0	-2.28	18.09	0.112	15.2	15.5	16.0	16.9	18.1	19.7	20.7	21.5	23.0	24.1	14.6	15.1	16.4	18.1	20.6	24.8	28.3
13.5	-2.24	18.39	0.111	15.5	15.8	16.3	17.2	18.4	20.0	21.0	21.8	23.3	24.4	14.8	15.4	16.7	18.4	20.9	25.0	28.4
14.0	-2.20	18.71	0.110	15.8	16.1	16.5	17.5	18.7	20.3	21.3	22.1	23.6	24.7	15.1	15.6	17.0	18.7	21.2	25.3	28.5
14.5	-2.16	19.02	0.108	16.1	16.4	16.8	17.8	19.0	20.6	21.6	22.4	23.8	24.9	15.4	15.9	17.3	19.0	21.5	25.5	28.6
15.0	-2.12	19.34	0.107	16.4	16.7	17.1	18.1	19.3	20.9	21.9	22.7	24.1	25.1	15.6	16.2	17.6	19.3	21.8	25.7	28.7
15.5	-2.09	19.64	0.106	16.6	16.9	17.4	18.4	19.6	21.2	22.2	23.0	24.4	25.4	15.9	16.5	17.9	19.6	22.1	25.9	28.8
16.0	-2.05	19.92	0.104	16.9	17.2	17.7	18.6	19.9	21.5	22.5	23.3	24.6	25.6	16.2	16.7	18.1	19.9	22.4	26.2	28.9
16.5	-2.02	20.17	0.103	17.1	17.4	17.9	18.9	20.2	21.7	22.8	23.5	24.8	25.8	16.4	17.0	18.4	20.2	22.6	26.4	29.1
17.0	-1.99	20.40	0.103	17.3	17.6	18.1	19.1	20.4	22.0	23.0	23.8	25.1	26.0	16.6	17.2	18.6	20.4	22.9	26.6	29.2
17.5	-1.97	20.61	0.102	17.5	17.8	18.3	19.3	20.6	22.2	23.2	24.0	25.3	26.2	16.8	17.4	18.8	20.6	23.1	26.7	29.3
18.0	-1.94	20.82	0.101	17.7	18.0	18.5	19.5	20.8	22.4	23.4	24.2	25.5	26.4	16.9	17.5	19.0	20.8	23.3	26.9	29.5
18.5	-1.91	21.02	0.101	17.9	18.2	18.7	19.7	21.0	22.6	23.6	24.4	25.6	26.6	17.1	17.7	19.2	21.0	23.5	27.1	29.6



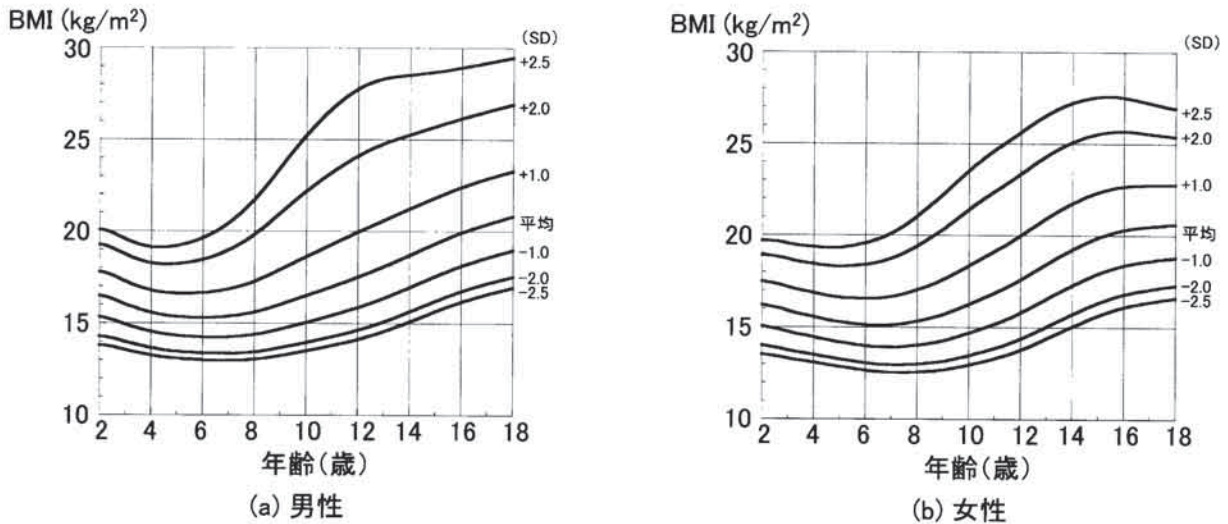
第4表(b) BMIのL, M, S値, およびパーセンタイル値, SD値 (1.5-18.5歳, 女性)  
 (Inokuchi M et al : Ann Hum Biol 33 : 444-453, 2006のTable II, Inokuchi M et al : Acta Paediatr 96 : 1674-1676, 2007のTable S2, Table S3を許可を得て転載, 改変)

年齢 (歳)	BMI (パーセンタイル)											BMI (SD)								
	L	M	S	3	5	10	25	50	75	85	90	95	97	-2.5	-2.0	-1.0	平均	+1.0	+2.0	+2.5
1.5	-0.17	16.39	0.073	14.3	14.6	14.9	15.6	16.4	17.2	17.7	18.0	18.5	18.8	13.7	14.2	15.2	16.4	17.6	19.0	19.7
2.0	-0.40	16.20	0.075	14.1	14.4	14.7	15.4	16.2	17.1	17.5	17.9	18.4	18.7	13.5	14.0	15.1	16.2	17.5	18.9	19.7
2.5	-0.62	16.07	0.076	14.0	14.3	14.6	15.3	16.1	16.9	17.4	17.8	18.3	18.7	13.4	13.9	14.9	16.1	17.4	18.8	19.7
3.0	-0.83	15.88	0.076	13.9	14.1	14.5	15.1	15.9	16.7	17.2	17.6	18.1	18.5	13.3	13.8	14.8	15.9	17.2	18.7	19.5
3.5	-1.04	15.70	0.076	13.7	14.0	14.3	14.9	15.7	16.6	17.1	17.4	18.0	18.3	13.2	13.6	14.6	15.7	17.0	18.5	19.4
4.0	-1.24	15.56	0.077	13.6	13.8	14.2	14.8	15.6	16.4	16.9	17.3	17.8	18.2	13.1	13.5	14.5	15.6	16.9	18.4	19.4
4.5	-1.40	15.41	0.078	13.5	13.7	14.0	14.6	15.4	16.3	16.8	17.1	17.7	18.1	13.0	13.4	14.3	15.4	16.7	18.4	19.3
5.0	-1.54	15.28	0.079	13.4	13.6	13.9	14.5	15.3	16.2	16.7	17.1	17.7	18.1	12.9	13.3	14.2	15.3	16.6	18.3	19.3
5.5	-1.65	15.20	0.081	13.3	13.5	13.8	14.4	15.2	16.1	16.6	17.0	17.7	18.1	12.8	13.2	14.1	15.2	16.6	18.3	19.4
6.0	-1.73	15.13	0.083	13.2	13.4	13.7	14.3	15.1	16.0	16.6	17.0	17.7	18.2	12.7	13.1	14.0	15.1	16.6	18.4	19.6
6.5	-1.79	15.10	0.086	13.1	13.3	13.7	14.3	15.1	16.1	16.6	17.1	17.8	18.3	12.6	13.0	13.9	15.1	16.6	18.5	19.8
7.0	-1.83	15.13	0.089	13.1	13.3	13.6	14.3	15.1	16.1	16.7	17.2	17.9	18.5	12.6	13.0	13.9	15.1	16.7	18.7	20.1
7.5	-1.85	15.21	0.092	13.1	13.3	13.7	14.3	15.2	16.2	16.9	17.4	18.2	18.7	12.6	13.0	14.0	15.2	16.8	19.0	20.5
8.0	-1.85	15.33	0.096	13.1	13.4	13.7	14.4	15.3	16.4	17.1	17.6	18.5	19.1	12.6	13.0	14.0	15.3	17.0	19.4	21.0
8.5	-1.84	15.49	0.100	13.2	13.4	13.8	14.5	15.5	16.6	17.4	17.9	18.8	19.5	12.6	13.1	14.1	15.5	17.3	19.9	21.6
9.0	-1.80	15.69	0.103	13.3	13.5	13.9	14.7	15.7	16.9	17.7	18.3	19.2	19.9	12.7	13.2	14.3	15.7	17.6	20.3	22.2
9.5	-1.76	15.96	0.107	13.4	13.7	14.1	14.9	16.0	17.2	18.0	18.7	19.7	20.4	12.8	13.3	14.5	16.0	18.0	20.9	22.9
10.0	-1.70	16.25	0.110	13.6	13.9	14.3	15.2	16.3	17.6	18.4	19.1	20.2	21.0	13.0	13.5	14.7	16.3	18.4	21.4	23.5
10.5	-1.63	16.56	0.112	13.8	14.1	14.6	15.4	16.6	18.0	18.8	19.5	20.6	21.5	13.1	13.7	14.9	16.6	18.8	21.9	24.1
11.0	-1.56	16.88	0.114	14.0	14.3	14.8	15.7	16.9	18.3	19.2	19.9	21.1	21.9	13.3	13.9	15.2	16.9	19.1	22.4	24.6
11.5	-1.49	17.21	0.116	14.3	14.6	15.1	16.0	17.2	18.7	19.6	20.4	21.5	22.4	13.5	14.1	15.5	17.2	19.5	22.9	25.1
12.0	-1.41	17.60	0.117	14.5	14.8	15.4	16.3	17.6	19.1	20.1	20.8	22.0	22.9	13.8	14.4	15.8	17.6	20.0	23.4	25.6
12.5	-1.34	18.02	0.117	14.9	15.2	15.7	16.7	18.0	19.6	20.6	21.3	22.5	23.4	14.1	14.7	16.2	18.0	20.5	23.9	26.1
13.0	-1.28	18.45	0.117	15.2	15.5	16.1	17.1	18.4	20.0	21.0	21.8	23.0	23.9	14.4	15.0	16.6	18.4	20.9	24.3	26.6
13.5	-1.23	18.86	0.115	15.6	15.9	16.5	17.5	18.9	20.5	21.5	22.2	23.4	24.3	14.7	15.4	16.9	18.9	21.4	24.7	26.9
14.0	-1.18	19.24	0.114	15.9	16.2	16.8	17.9	19.2	20.9	21.9	22.6	23.8	24.6	15.1	15.7	17.3	19.2	21.7	25.1	27.2
14.5	-1.14	19.59	0.112	16.2	16.6	17.2	18.2	19.6	21.2	22.2	22.9	24.1	24.9	15.4	16.0	17.6	19.6	22.1	25.4	27.4
15.0	-1.10	19.89	0.110	16.5	16.9	17.5	18.5	19.9	21.5	22.5	23.2	24.3	25.1	15.7	16.3	17.9	19.9	22.4	25.6	27.5
15.5	-1.06	20.13	0.107	16.8	17.1	17.7	18.8	20.1	21.7	22.7	23.3	24.5	25.2	15.9	16.6	18.2	20.1	22.6	25.7	27.6
16.0	-1.02	20.30	0.105	17.0	17.3	17.9	19.0	20.3	21.8	22.8	23.4	24.5	25.3	16.1	16.8	18.4	20.3	22.7	25.7	27.5
16.5	-0.99	20.42	0.102	17.1	17.5	18.1	19.1	20.4	21.9	22.8	23.5	24.5	25.3	16.3	17.0	18.5	20.4	22.7	25.6	27.4
17.0	-0.95	20.50	0.100	17.3	17.6	18.2	19.2	20.5	22.0	22.8	23.5	24.5	25.2	16.4	17.1	18.6	20.5	22.8	25.6	27.2
17.5	-0.92	20.56	0.097	17.4	17.7	18.3	19.3	20.6	22.0	22.9	23.5	24.4	25.1	16.5	17.2	18.7	20.6	22.8	25.5	27.1
18.0	-0.89	20.61	0.095	17.5	17.8	18.4	19.4	20.6	22.0	22.8	23.4	24.4	25.0	16.6	17.3	18.8	20.6	22.8	25.4	26.9
18.5	-0.86	20.66	0.093	17.6	17.9	18.4	19.4	20.7	22.0	22.8	23.4	24.3	25.0	16.7	17.4	18.9	20.7	22.8	25.3	26.8





第3図 BMIのパーセンタイル値 (a) 2-18歳 男性 (b) 2-18歳 女性  
 (Inokuchi M et al : Ann Hum Biol 33 : 444-453, 2006 の Figure 2, Figure 3 を許可を得て転載, 改変)



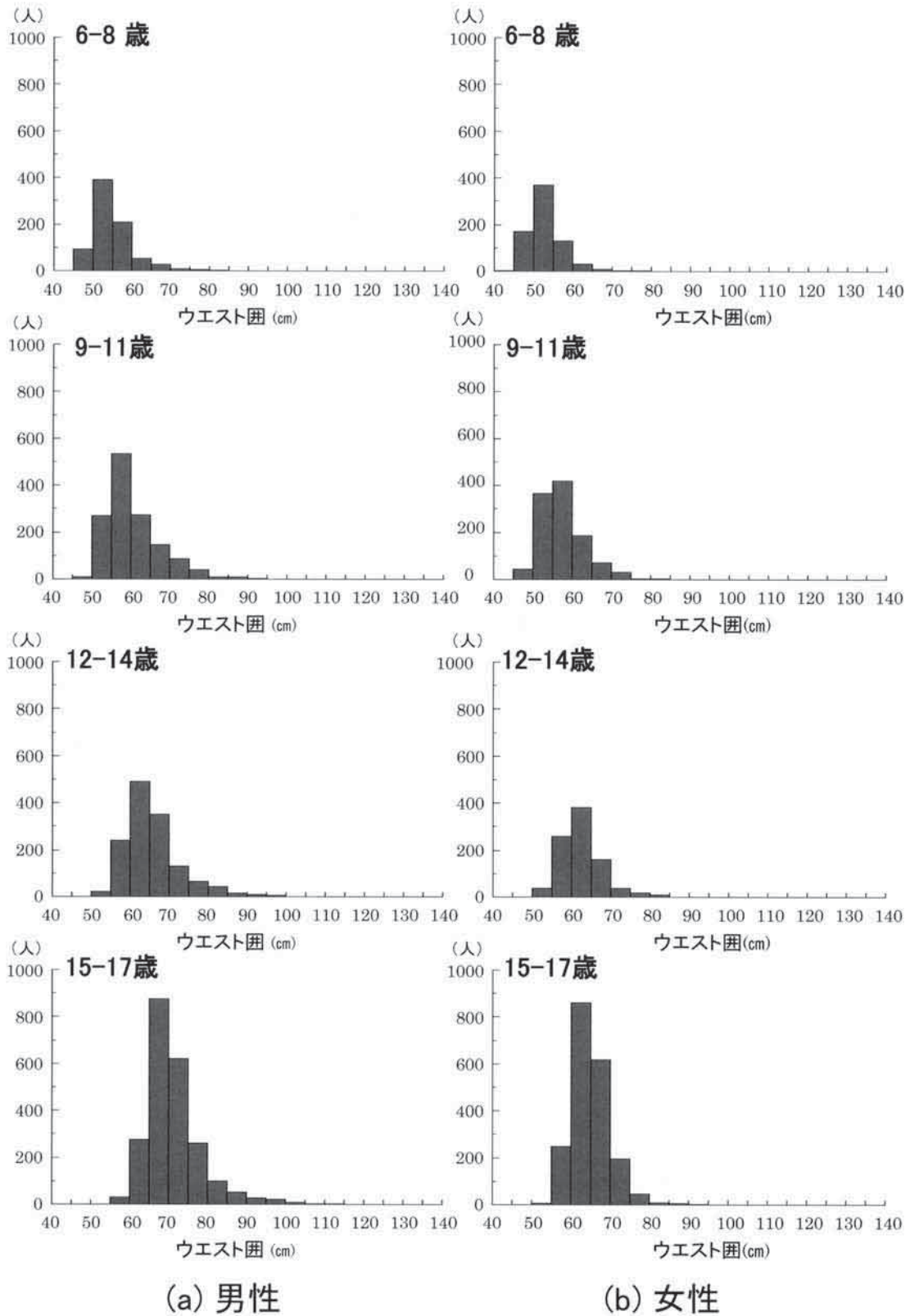
第4図 BMIのSD値 (a) 2-18歳 男性 (b) 2-18歳 女性  
 (Inokuchi M et al : Acta Paediatr 96 : 1674-1676, 2007 の Figure 1, Figure 2 を許可を得て転載, 改変)

b) 基準値作成法

全対象者の性, 年齢, 腹囲 (ウエスト囲・腸骨稜囲) 計測値 (年齢は 0.001 歳単位, 腹囲計測値は 0.1 cm 単位で記載) を Microsoft Excel に読み込んだ。データを性別で分類後, それぞれ欠損値 (男性ウエスト囲 12 例, 男性腸骨稜囲 8 例, 女性ウエスト囲 8 例, 女性腸骨稜囲 12 例), および外れ値 ( $M \pm 5SD$  の枠外のデータ) (男性ウエスト囲, 男性腸骨稜囲, 女性ウエスト囲, 女性腸骨稜囲, すべて各 1 例) を除外し<sup>93)</sup>, 最終的に男性

ウエスト囲 5,838 例, 腹囲 5,842 例, 女性ウエスト囲 4,754 例, 腹囲 4,750 例 (6.0-18.0 歳) の腹囲計測値を用いた。男女各例の年齢および対応する腹囲計測値を, Cole による LMS 法 (付記 2 参照) により, 性別年齢別のパーセンタイル値, SD 値に変換した。変換には PC ソフト lmsChartMaker Pro version 2.0<sup>93)</sup>を用いた。





第5図 腹囲基準値作成用基準集団データ（「1992-1994年データ」）のウエスト囲分布 (a) 男性 (b) 女性



第5表 腹囲基準値作成用基準集団データ (「1992-1994年データ」<sup>94)</sup>) の対象数 (Inokuchi M et al: Eur J Pediatr 166: 655-661, 2007 の Table 1 を許可を得て転載, 改変)

年齢 (歳)	男性	女性
6.0- 7.0	98	119
7.0- 8.0	311	282
8.0- 9.0	383	323
9.0-10.0	470	401
10.0-11.0	475	386
11.0-12.0	439	340
12.0-13.0	459	308
13.0-14.0	570	318
14.0-15.0	358	281
15.0-16.0	608	489
16.0-17.0	965	871
17.0-18.0	715	645
計	5,851	4,763

c) 基準値

本研究の成績である日本人6-18歳における腹囲 (ウエスト囲・腸骨稜囲) の L, M, S 値, およびパーセンタイル値, SD 値を示す (第6表, 第7表, 第6図, 第7図)。

- (1) 腹囲 (ウエスト囲・腸骨稜囲) は, 男女とも, 高パーセンタイル値, あるいは高 SD 値 (例: 97 パーセンタイル値, +2.5 SD 値) において, 大きな広がりを示す。この傾向は, 男性においてより明らかであり, BMI と同様, 本基準集団の男性の肥満頻度および肥満程度が, 女性に比して高いことを示唆する。
- (2) 腹囲 (ウエスト囲・腸骨稜囲) は, 男女とも計測位置により異なる。腸骨稜囲はウエスト囲に比して明らかに大きく, その差は有意に女性の方が大きい。またウエスト囲の性差は存在するが, 腸骨稜囲の性差は有意でない。ウエスト囲は骨盤の大きさの影響を受けにくく, 腸骨稜囲に比して肥満診断に適する指標であることを示唆する。
- (3) 腹囲 (ウエスト囲・腸骨稜囲) は, 男女ともすべての年齢において BMI と密接な正の相関を示す (12歳男女のデータのみ提示)。またウエスト囲は腸骨稜囲に比して BMI とより強い相関を示す (第8表)。この所見は, ウエスト囲が腸骨稜囲に比して肥満診断に適する指標であることを示唆する。

3. 日本人小児のカットオフ値

日本人小児の BMI・腹囲カットオフ値は設定されていない。BMI については, 国際的に①各国別基準値によるカットオフ値, ②CDC 方式によるカットオフ値, ③IOTF 方式によるカットオフ値の3方式が利用されている。腹囲については, 現在国際的に広く利用されるカットオフ値は存在しない。以下, 著者が考える日本人小児における BMI・腹囲カットオフ値設定の基本構想について述べる。

1) BMI

著者が現在検討中の BMI カットオフ値は, もっぱら小児科の診療や学校保健現場における肥満のスクリーニングなど, 臨床応用を目的とするカットオフ値である。主に人体計測学的手法 (auxological assessment) を用いたカットオフ値設定を目指す。

BMI カットオフ値は肥満診断のスクリーニングに供するものであり, 肥満診断を確定するものではない。相互に矛盾する感度および特異度を調整するため, 中等度の感度 (moderate sensitivity) と高い特異度 (high specificity) を有するカットオフ値を模索する。具体的には ROC 曲線 (receiver operating characteristic curve) 上の変曲点から最適の感度, 特異度を求め, BMI による肥満診断の適中率 (陽性適中率: positive predictive value, および陰性適中率: negative predictive value) を検討する。

以上の手法の実現には, (1)一般小児集団における肥満頻度と BMI の分布, (2)肥満, 非肥満の判定不能例の頻度, (3)BMI の縦断的データによる肥満診断, (4)副次的診断指標による肥満診断, の検討が必要である。

(1) 一般小児集団における肥満頻度と BMI の分布

一般小児集団の縦断的計測データを用い, 肥満頻度および BMI のパーセンタイル値の分布を検討する。肥満頻度は診断適中率の評価に, BMI のパーセンタイル値の分布は肥満, 非肥満の判定不能例の推測に, 必要である。

(2) 肥満, 非肥満の判定不能例の頻度

複数の小児集団の横断的 BMI データを用い, 肥満, 非肥満の判定不能例の頻度を推測する。判定不能例の頻度を最小限にするため, 判定不能例を対象に(3)BMI の縦断的データによる肥満診断, および(4)副次的診断指標による肥満診断を行う。判定不能例は原則として非肥満と診断する。



第6表 (a) ウエスト囲のL, M, S値, およびパーセンタイル値, SD値 (6.0-18.0歳, 男性)  
(Inokuchi M et al : Eur J Pediatr 166 : 655-661, 2007 のTable 2を許可を得て転載, 改変)

年齢 (歳)	ウエスト囲 (パーセンタイル)															ウエスト囲 (SD)				
	L	M	S	3	5	10	25	50	75	85	90	95	97	-2.5	-2.0	-1.0	平均	+1.0	+2.0	+2.5
6.0	-3.98	50.57	0.063	45.9	46.3	47.1	48.6	50.6	53.0	54.6	55.8	57.9	59.5	44.7	45.6	47.8	50.6	54.4	60.3	65.0
6.5	-3.94	51.45	0.067	46.5	47.0	47.8	49.4	51.5	54.1	55.8	57.1	59.4	61.1	45.3	46.2	48.5	51.5	55.6	62.1	67.4
7.0	-3.89	52.34	0.070	47.1	47.6	48.5	50.1	52.3	55.1	57.0	58.4	60.9	62.9	45.8	46.8	49.2	52.3	56.8	64.0	70.1
7.5	-3.85	53.25	0.073	47.7	48.2	49.1	50.9	53.2	56.2	58.2	59.8	62.6	64.8	46.4	47.4	49.9	53.2	58.0	66.1	73.1
8.0	-3.81	54.18	0.077	48.3	48.9	49.8	51.7	54.2	57.4	59.6	61.3	64.4	66.8	46.9	48.0	50.6	54.2	59.3	68.3	76.5
8.5	-3.76	55.13	0.080	48.9	49.5	50.5	52.5	55.1	58.6	60.9	62.8	66.2	68.9	47.5	48.6	51.4	55.1	60.7	70.6	80.2
9.0	-3.72	56.10	0.084	49.6	50.2	51.3	53.3	56.1	59.8	62.3	64.4	68.1	71.1	48.0	49.2	52.2	56.1	62.0	73.0	84.2
9.5	-3.68	57.09	0.087	50.2	50.9	52.0	54.1	57.1	61.0	63.7	65.9	69.9	73.3	48.7	49.9	52.9	57.1	63.4	75.3	88.3
10.0	-3.63	58.05	0.089	50.9	51.6	52.7	55.0	58.1	62.1	65.0	67.3	71.7	75.3	49.3	50.6	53.7	58.1	64.7	77.5	92.1
10.5	-3.59	58.97	0.091	51.6	52.3	53.5	55.8	59.0	63.2	66.2	68.7	73.2	77.1	49.9	51.2	54.5	59.0	65.9	79.4	95.2
11.0	-3.55	59.86	0.093	52.3	53.0	54.2	56.6	59.9	64.2	67.3	69.8	74.5	78.5	50.5	51.9	55.3	59.9	67.0	80.9	97.3
11.5	-3.50	60.73	0.093	53.0	53.7	55.0	57.4	60.7	65.2	68.3	70.9	75.6	79.6	51.2	52.6	56.0	60.7	68.0	82.1	98.3
12.0	-3.46	61.62	0.093	53.8	54.5	55.8	58.2	61.6	66.1	69.3	71.8	76.6	80.5	52.0	53.4	56.9	61.6	68.9	82.9	98.6
12.5	-3.43	62.54	0.092	54.6	55.4	56.6	59.1	62.5	67.1	70.2	72.7	77.4	81.3	52.8	54.2	57.7	62.5	69.9	83.7	98.4
13.0	-3.40	63.52	0.091	55.5	56.3	57.6	60.1	63.5	68.0	71.2	73.7	78.3	82.0	53.7	55.1	58.7	63.5	70.8	84.3	98.2
13.5	-3.38	64.53	0.089	56.5	57.3	58.6	61.1	64.5	69.0	72.1	74.6	79.1	82.7	54.6	56.1	59.7	64.5	71.8	84.9	97.9
14.0	-3.36	65.55	0.088	57.5	58.3	59.6	62.1	65.5	70.0	73.1	75.5	79.9	83.4	55.6	57.1	60.7	65.5	72.7	85.5	97.7
14.5	-3.36	66.54	0.086	58.5	59.2	60.6	63.1	66.5	71.0	74.0	76.4	80.7	84.1	56.6	58.1	61.7	66.5	73.7	86.1	97.7
15.0	-3.35	67.48	0.085	59.4	60.2	61.5	64.0	67.5	71.9	74.9	77.3	81.5	84.8	57.5	59.0	62.6	67.5	74.6	86.7	97.8
15.5	-3.35	68.32	0.084	60.2	61.0	62.3	64.9	68.3	72.7	75.7	78.0	82.2	85.5	58.3	59.8	63.5	68.3	75.4	87.4	98.0
16.0	-3.35	69.06	0.083	60.9	61.7	63.1	65.6	69.1	73.5	76.4	78.8	82.9	86.2	59.0	60.5	64.2	69.1	76.1	88.0	98.5
16.5	-3.35	69.74	0.083	61.5	62.4	63.7	66.3	69.7	74.2	77.1	79.5	83.6	86.9	59.6	61.2	64.8	69.7	76.8	88.7	99.1
17.0	-3.36	70.39	0.082	62.1	62.9	64.3	66.9	70.4	74.8	77.8	80.2	84.3	87.6	60.2	61.7	65.4	70.4	77.5	89.5	99.9
17.5	-3.36	71.01	0.082	62.7	63.5	64.9	67.5	71.0	75.5	78.5	80.9	85.1	88.4	60.7	62.3	66.0	71.0	78.2	90.3	100.8
18.0	-3.36	71.62	0.083	63.2	64.0	65.4	68.1	71.6	76.2	79.2	81.6	85.8	89.2	61.2	62.8	66.6	71.6	78.9	91.1	101.8



第6表 (b) ウエスト囲のL, M, S値, およびパーセンタイル値, SD値 (6.0-18.0歳, 女性)  
(Inokuchi M et al : Eur J Pediatr 166 : 655-661, 2007の Table 2 を許可を得て転載, 改変)

年齢 (歳)	ウエスト囲 (パーセンタイル)											ウエスト囲 (SD)								
	L	M	S	3	5	10	25	50	75	85	90	95	97	-2.5	-2.0	-1.0	平均	+1.0	+2.0	+2.5
6.0	-3.24	50.38	0.070	45.2	45.7	46.6	48.2	50.4	53.0	54.7	56.0	58.2	59.8	43.9	44.9	47.3	50.4	54.5	60.7	65.1
6.5	-3.27	50.72	0.070	45.5	46.0	46.9	48.5	50.7	53.4	55.1	56.4	58.6	60.3	44.2	45.2	47.6	50.7	54.9	61.2	65.9
7.0	-3.32	51.15	0.071	45.8	46.4	47.3	48.9	51.2	53.9	55.6	57.0	59.2	60.9	44.5	45.6	48.0	51.2	55.4	61.9	66.7
7.5	-3.37	51.76	0.071	46.3	46.9	47.8	49.5	51.8	54.6	56.4	57.7	60.1	61.9	45.0	46.1	48.6	51.8	56.2	62.9	68.0
8.0	-3.43	52.45	0.072	46.9	47.5	48.4	50.1	52.4	55.3	57.2	58.6	61.0	62.9	45.6	46.7	49.2	52.4	57.0	63.9	69.3
8.5	-3.48	53.12	0.073	47.5	48.1	49.0	50.8	53.1	56.0	58.0	59.4	62.0	63.9	46.2	47.2	49.8	53.1	57.8	65.0	70.8
9.0	-3.52	53.81	0.073	48.1	48.7	49.6	51.4	53.8	56.8	58.8	60.3	62.9	65.0	46.7	47.8	50.4	53.8	58.6	66.1	72.2
9.5	-3.54	54.53	0.074	48.7	49.3	50.3	52.1	54.5	57.6	59.6	61.2	63.9	66.0	47.3	48.4	51.1	54.5	59.4	67.2	73.6
10.0	-3.52	55.42	0.074	49.5	50.1	51.0	52.9	55.4	58.6	60.6	62.2	65.0	67.2	48.0	49.2	51.9	55.4	60.4	68.4	75.0
10.5	-3.45	56.56	0.075	50.4	51.0	52.1	54.0	56.6	59.8	61.9	63.5	66.4	68.6	49.0	50.1	52.9	56.6	61.7	69.8	76.4
11.0	-3.34	57.73	0.075	51.4	52.1	53.1	55.1	57.7	61.0	63.2	64.8	67.7	69.8	49.9	51.1	54.0	57.7	62.9	71.1	77.5
11.5	-3.23	58.71	0.075	52.3	52.9	54.0	56.0	58.7	62.0	64.2	65.8	68.7	70.8	50.7	52.0	54.9	58.7	64.0	72.0	78.2
12.0	-3.14	59.48	0.074	53.0	53.6	54.7	56.8	59.5	62.8	65.0	66.6	69.4	71.5	51.4	52.7	55.6	59.5	64.7	72.7	78.6
12.5	-3.08	60.18	0.074	53.6	54.3	55.4	57.5	60.2	63.5	65.7	67.3	70.1	72.1	52.0	53.3	56.3	60.2	65.4	73.3	79.1
13.0	-3.05	60.92	0.073	54.3	55.0	56.1	58.2	60.9	64.3	66.4	68.0	70.8	72.8	52.7	54.0	57.0	60.9	66.2	73.9	79.6
13.5	-3.04	61.66	0.072	55.0	55.7	56.8	58.9	61.7	65.0	67.1	68.8	71.5	73.5	53.4	54.7	57.8	61.7	66.9	74.6	80.2
14.0	-3.03	62.30	0.072	55.6	56.3	57.4	59.5	62.3	65.6	67.8	69.4	72.1	74.1	54.0	55.3	58.4	62.3	67.5	75.2	80.7
14.5	-3.02	62.85	0.071	56.2	56.9	58.0	60.1	62.9	66.2	68.3	69.9	72.6	74.6	54.5	55.8	58.9	62.9	68.1	75.7	81.1
15.0	-3.01	63.31	0.071	56.6	57.3	58.4	60.6	63.3	66.6	68.8	70.4	73.0	75.0	55.0	56.3	59.4	63.3	68.5	76.1	81.4
15.5	-3.01	63.68	0.070	57.0	57.7	58.8	60.9	63.7	67.0	69.1	70.7	73.4	75.3	55.3	56.6	59.8	63.7	68.9	76.4	81.7
16.0	-3.00	63.98	0.070	57.3	58.0	59.1	61.2	64.0	67.3	69.4	71.0	73.7	75.6	55.6	56.9	60.1	64.0	69.2	76.7	81.9
16.5	-3.00	64.25	0.069	57.5	58.2	59.4	61.5	64.3	67.6	69.7	71.3	73.9	75.8	55.9	57.2	60.3	64.3	69.5	76.9	82.1
17.0	-2.99	64.50	0.069	57.8	58.5	59.6	61.7	64.5	67.8	69.9	71.5	74.1	76.1	56.1	57.4	60.6	64.5	69.7	77.1	82.3
17.5	-2.99	64.74	0.069	58.0	58.7	59.9	62.0	64.7	68.1	70.2	71.7	74.4	76.3	56.3	57.7	60.8	64.7	69.9	77.3	82.5
18.0	-2.98	64.99	0.069	58.3	59.0	60.1	62.2	65.0	68.3	70.4	72.0	74.6	76.5	56.6	57.9	61.1	65.0	70.2	77.5	82.7

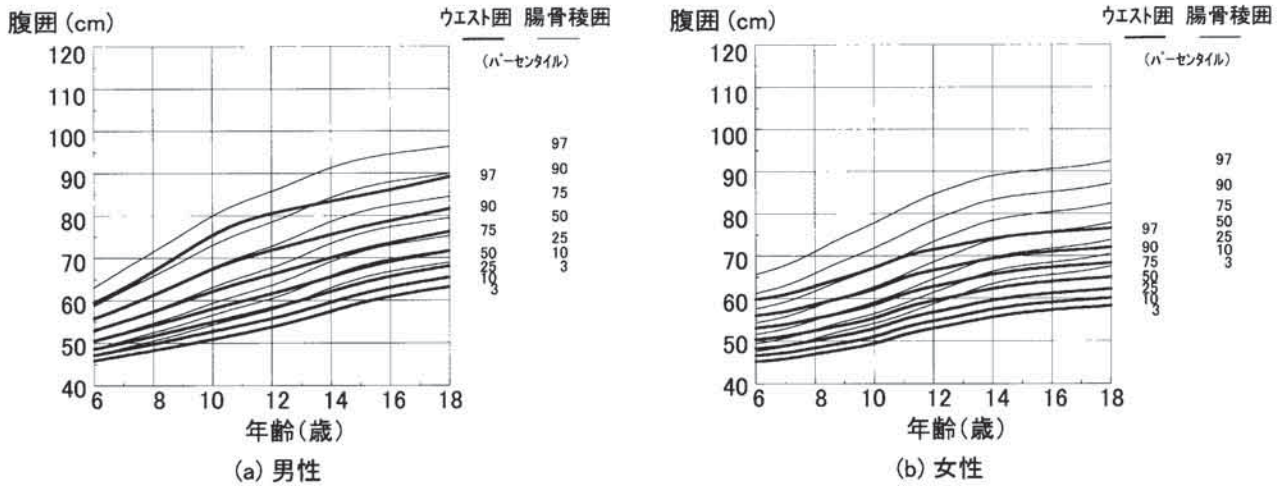
第7表 (a) 腸骨綫囲のL, M, S値, およびパーセンタイル値, SD値 (6.0-18.0歳, 男性)  
(Inokuchi M et al : Eur J Pediatr 166 : 655-661, 2007 の Table 3 を許可を得て転載, 改変)

年齢 (歳)	L	M	S	腸骨綫囲 (パーセンタイル)													腸骨綫囲 (SD)				
				3	5	10	25	50	75	85	90	95	97	-2.5	-2.0	-1.0	平均	+1.0	+2.0	+2.5	
6.0	-3.33	52.59	0.072	47.0	47.6	48.5	50.3	52.6	55.5	57.3	58.7	61.2	63.0	45.7	46.7	49.3	52.6	57.1	64.0	69.3	
6.5	-3.21	53.90	0.075	48.0	48.6	49.6	51.4	53.9	57.0	59.0	60.5	63.1	65.1	46.5	47.7	50.4	53.9	58.8	66.2	72.0	
7.0	-3.09	55.20	0.079	48.9	49.5	50.6	52.6	55.2	58.5	60.6	62.3	65.1	67.3	47.3	48.6	51.4	55.2	60.4	68.5	74.7	
7.5	-2.98	56.44	0.082	49.7	50.4	51.5	53.6	56.4	60.0	62.2	64.0	67.0	69.3	48.1	49.4	52.5	56.4	62.0	70.6	77.4	
8.0	-2.86	57.67	0.085	50.6	51.3	52.5	54.7	57.7	61.4	63.8	65.7	68.9	71.4	48.8	50.2	53.4	57.7	63.6	72.8	80.0	
8.5	-2.75	58.91	0.088	51.4	52.1	53.4	55.8	58.9	62.9	65.4	67.4	70.9	73.5	49.6	51.0	54.4	58.9	65.2	75.0	82.6	
9.0	-2.63	60.25	0.091	52.3	53.1	54.4	56.9	60.2	64.4	67.2	69.3	72.9	75.7	50.4	51.9	55.5	60.2	66.9	77.2	85.3	
9.5	-2.52	61.66	0.094	53.3	54.1	55.5	58.1	61.7	66.1	68.9	71.1	75.0	77.9	51.3	52.9	56.7	61.7	68.6	79.5	87.9	
10.0	-2.42	63.05	0.096	54.3	55.2	56.6	59.4	63.1	67.7	70.7	73.0	76.9	79.9	52.2	53.9	57.8	63.1	70.3	81.6	90.3	
10.5	-2.33	64.31	0.098	55.2	56.1	57.6	60.5	64.3	69.1	72.2	74.6	78.6	81.7	53.0	54.7	58.9	64.3	71.8	83.4	92.2	
11.0	-2.25	65.46	0.099	56.1	57.0	58.6	61.5	65.5	70.3	73.5	76.0	80.1	83.2	53.8	55.6	59.9	65.5	73.2	84.9	93.8	
11.5	-2.17	66.56	0.099	56.9	57.9	59.5	62.5	66.6	71.6	74.8	77.2	81.4	84.5	54.6	56.4	60.8	66.6	74.4	86.3	95.0	
12.0	-2.11	67.68	0.099	57.8	58.8	60.5	63.6	67.7	72.7	76.0	78.5	82.7	85.8	55.4	57.3	61.8	67.7	75.6	87.5	96.1	
12.5	-2.05	68.94	0.099	58.9	59.9	61.6	64.8	68.9	74.1	77.3	79.8	84.0	87.1	56.5	58.4	63.0	68.9	77.0	88.8	97.3	
13.0	-2.00	70.42	0.098	60.2	61.2	63.0	66.2	70.4	75.6	78.9	81.4	85.5	88.6	57.7	59.7	64.4	70.4	78.5	90.3	98.5	
13.5	-1.96	71.95	0.096	61.6	62.7	64.4	67.7	72.0	77.1	80.4	82.9	87.0	90.0	59.1	61.1	65.9	72.0	80.1	91.7	99.7	
14.0	-1.93	73.40	0.095	63.0	64.0	65.8	69.1	73.4	78.6	81.8	84.3	88.4	91.3	60.4	62.4	67.3	73.4	81.5	93.0	100.8	
14.5	-1.90	74.64	0.093	64.2	65.2	67.0	70.3	74.6	79.8	83.1	85.5	89.5	92.4	61.5	63.6	68.5	74.6	82.7	94.0	101.6	
15.0	-1.88	75.71	0.092	65.2	66.3	68.1	71.4	75.7	80.9	84.1	86.5	90.4	93.3	62.5	64.7	69.6	75.7	83.7	94.8	102.2	
15.5	-1.86	76.60	0.091	66.1	67.2	69.0	72.3	76.6	81.7	84.9	87.3	91.2	94.0	63.4	65.5	70.5	76.6	84.6	95.5	102.8	
16.0	-1.85	77.31	0.090	66.8	67.9	69.7	73.0	77.3	82.4	85.6	87.9	91.8	94.6	64.1	66.2	71.2	77.3	85.3	96.1	103.2	
16.5	-1.84	77.87	0.089	67.3	68.4	70.2	73.6	77.9	83.0	86.1	88.5	92.3	95.0	64.7	66.8	71.7	77.9	85.8	96.5	103.5	
17.0	-1.83	78.40	0.088	67.9	69.0	70.8	74.1	78.4	83.5	86.6	88.9	92.7	95.5	65.2	67.3	72.3	78.4	86.3	96.9	103.8	
17.5	-1.82	78.94	0.087	68.4	69.5	71.3	74.7	78.9	84.0	87.1	89.4	93.2	95.9	65.7	67.9	72.8	78.9	86.8	97.3	104.2	
18.0	-1.81	79.47	0.086	68.9	70.0	71.8	75.2	79.5	84.5	87.6	89.9	93.7	96.3	66.2	68.4	73.3	79.5	87.3	97.8	104.5	

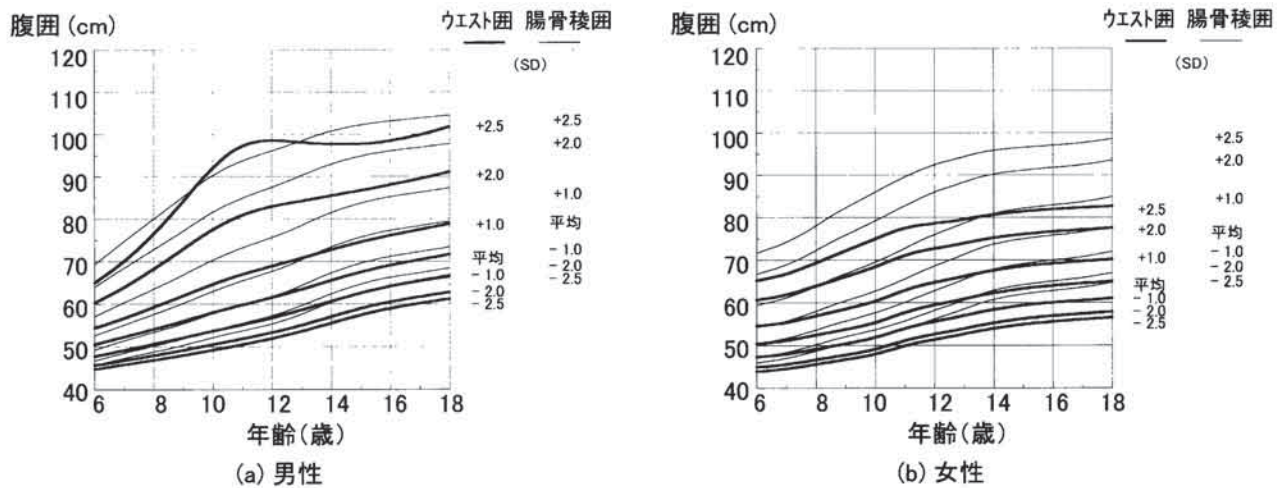


第7表 (b) 腸骨綾団のL, M, S値, およびパーセンタイル値, SD値 (6.0-18.0歳, 女性)  
(Inokuchi M et al : Eur J Pediatr 166 : 655-661, 2007 の Table 3 を許可を得て転載, 改変)

年齢 (歳)	腸骨綾団 (パーセンタイル)											腸骨綾団 (SD)								
	L	M	S	3	5	10	25	50	75	85	90	95	97	-2.5	-2.0	-1.0	平均	+1.0	+2.0	+2.5
6.0	-2.34	54.27	0.082	47.6	48.3	49.4	51.5	54.3	57.6	59.6	61.2	63.8	65.6	45.9	47.3	50.4	54.3	59.4	66.7	71.6
6.5	-2.34	54.95	0.083	48.1	48.8	50.0	52.1	54.9	58.3	60.4	62.0	64.7	66.6	46.4	47.8	51.0	54.9	60.2	67.7	72.8
7.0	-2.33	55.75	0.084	48.8	49.5	50.7	52.9	55.7	59.2	61.4	63.1	65.8	67.8	47.0	48.4	51.6	55.7	61.2	68.9	74.2
7.5	-2.32	56.80	0.085	49.6	50.3	51.6	53.8	56.8	60.4	62.7	64.4	67.2	69.3	47.8	49.2	52.6	56.8	62.4	70.4	76.0
8.0	-2.30	58.01	0.086	50.6	51.3	52.6	54.9	58.0	61.7	64.1	65.9	68.9	71.0	48.7	50.2	53.6	58.0	63.9	72.2	78.1
8.5	-2.28	59.30	0.088	51.6	52.4	53.7	56.1	59.3	63.2	65.6	67.5	70.6	72.9	49.7	51.2	54.7	59.3	65.4	74.1	80.3
9.0	-2.24	60.46	0.089	52.4	53.3	54.6	57.2	60.5	64.5	67.1	69.0	72.2	74.6	50.5	52.1	55.7	60.5	66.8	75.9	82.3
9.5	-2.19	61.57	0.091	53.3	54.1	55.5	58.1	61.6	65.7	68.4	70.4	73.7	76.2	51.2	52.9	56.7	61.6	68.1	77.5	84.2
10.0	-2.11	62.77	0.092	54.1	55.0	56.5	59.2	62.8	67.1	69.8	71.9	75.3	77.9	52.0	53.7	57.7	62.8	69.5	79.2	86.0
10.5	-2.00	64.09	0.093	55.1	56.0	57.6	60.4	64.1	68.6	71.4	73.5	77.0	79.6	52.9	54.7	58.8	64.1	71.1	81.0	87.8
11.0	-1.89	65.54	0.094	56.2	57.2	58.8	61.7	65.5	70.1	73.0	75.2	78.8	81.3	53.9	55.8	60.1	65.5	72.7	82.8	89.5
11.5	-1.76	67.12	0.095	57.5	58.5	60.1	63.2	67.1	71.8	74.8	76.9	80.5	83.1	55.1	57.0	61.5	67.1	74.4	84.5	91.2
12.0	-1.65	68.60	0.094	58.7	59.8	61.4	64.6	68.6	73.4	76.3	78.5	82.1	84.6	56.2	58.2	62.8	68.6	76.0	86.0	92.5
12.5	-1.56	69.94	0.093	59.9	61.0	62.7	65.9	69.9	74.7	77.7	79.8	83.3	85.8	57.3	59.4	64.1	69.9	77.4	87.2	93.4
13.0	-1.49	71.30	0.092	61.2	62.2	64.0	67.2	71.3	76.1	79.0	81.1	84.6	87.0	58.5	60.6	65.4	71.3	78.7	88.3	94.4
13.5	-1.42	72.63	0.090	62.4	63.5	65.3	68.5	72.6	77.4	80.3	82.4	85.8	88.1	59.8	61.9	66.7	72.6	80.0	89.4	95.2
14.0	-1.38	73.69	0.088	63.5	64.6	66.3	69.6	73.7	78.4	81.3	83.3	86.6	89.0	60.8	62.9	67.8	73.7	81.0	90.2	95.9
14.5	-1.34	74.43	0.087	64.2	65.3	67.1	70.3	74.4	79.1	81.9	84.0	87.3	89.5	61.5	63.7	68.6	74.4	81.6	90.7	96.3
15.0	-1.32	74.97	0.086	64.7	65.8	67.6	70.9	75.0	79.6	82.4	84.5	87.7	89.9	62.0	64.2	69.1	75.0	82.1	91.1	96.6
15.5	-1.30	75.41	0.085	65.2	66.3	68.1	71.3	75.4	80.1	82.8	84.9	88.1	90.3	62.5	64.6	69.6	75.4	82.6	91.5	96.8
16.0	-1.28	75.80	0.085	65.6	66.7	68.5	71.7	75.8	80.4	83.2	85.2	88.4	90.6	62.8	65.0	69.9	75.8	82.9	91.8	97.1
16.5	-1.26	76.17	0.084	65.9	67.0	68.8	72.1	76.2	80.8	83.6	85.6	88.7	90.9	63.2	65.4	70.3	76.2	83.3	92.1	97.3
17.0	-1.24	76.62	0.084	66.4	67.5	69.3	72.5	76.6	81.2	84.0	86.0	89.1	91.3	63.6	65.8	70.7	76.6	83.7	92.4	97.6
17.5	-1.22	77.18	0.083	66.9	68.0	69.8	73.1	77.2	81.8	84.5	86.5	89.6	91.8	64.1	66.3	71.3	77.2	84.2	92.9	98.1
18.0	-1.19	77.83	0.082	67.5	68.6	70.5	73.7	77.8	82.4	85.2	87.1	90.2	92.4	64.7	66.9	71.9	77.8	84.9	93.5	98.6



第6図 腹囲（ウエスト囲・腸骨稜囲）のパーセンタイル値 (a) 6-18歳 男性 (b) 6-18歳 女性 (Inokuchi M et al : Eur J Pediatr 166 : 655-661, 2007 の Fig. 1 を許可を得て転載, 改変)



第7図 腹囲（ウエスト囲・腸骨稜囲）のSD値 (a) 6-18歳 男性 (b) 6-18歳 女性

第8表 腹囲（ウエスト囲・腸骨稜囲）とBMIとの相関（12歳男女） (Inokuchi M et al : Eur J Pediatr 166 : 655-661, 2007 の Table 4 を許可を得て転載, 改変)

	相関係数 (95% CI)	
	男性	女性
ウエスト囲	0.93 (0.92-0.94)	0.90 (0.87-0.92)
腸骨稜囲	0.87 (0.84-0.89)	0.80 (0.75-0.83)

(3) BMIの縦断的データによる肥満診断

小児のBMIは基準値曲線に沿う成長を示すと仮定する。BMIが短期間に基準値曲線を上方に横切る、いわゆる上方シフト例は肥満と診断する。

(4) 副次的診断指標による肥満診断

1. 腹囲計測値, 2. 臨床検査データの異常, 3. 社会的不適応, 行動異常の有無, による肥満の副次的診断の有用性, 意義を検討する。副次的診断の主たる対象は肥満, 非肥満の判定困難例の小児である。

BMIカットオフ値は、「肥満のリスク」および「肥満」の2段階とする。その理由は、1. 「肥満」のカットオ



フ値により、非肥満児と誤診される肥満児を「肥満のリスク」のカットオフ値により拾い上げること、2. 国際的なBMIカットオフ値 (CDC方式, IOTF方式) との互換性を確保すること、である。著者の用いる「肥満のリスク」はCDC方式による「過体重のリスク」、IOTF方式による「過体重」に、著者の用いる「肥満」はCDC方式による「過体重」、IOTF方式による「肥満」に、相当する (付記3参照)。

## 2) 腹囲

腹囲計測値は、BMIカットオフ値設定に際し重要な副次的診断指標になる。しかし、著者らが腹囲基準値を作成した基準集団データ (「1992-1994年データ」)<sup>94)</sup> は、BMI基準値を作成した基準集団データ (「1978-1981年データ」)<sup>92)</sup> に比して約10年後のものであり、この間、肥満頻度は有意に増加した。したがって、1978-1981年の肥満頻度に近似する集団を想定し、その修正腹囲基準値 (1978-1981年) に基づくカットオフ値を設定する必要がある。

## 4. 日本人小児の肥満頻度

日本人小児の肥満頻度算出の過程と成績について述べる。本研究では、国際的に用いられる3種類のBMIカットオフ値により肥満頻度を算出し、比較した。またBMIと肥満度による肥満診断の差異を、文部科学省方式による肥満頻度の報告との対比から検討した。さらに日本人小児の肥満頻度と外国人小児の肥満頻度とを比較した。

### 1) 日本人小児の肥満頻度

#### a) 標本集団データ

日本人小児の肥満頻度算出用の標本集団データとして、「2001年データ」<sup>95)</sup> を用いた。「2001年データ」は、同年、文部科学省により学校保健統計調査の一部として収集された。日本全国 (47都道府県) の幼稚園1,645園、小学校2,820校、中学校1,880校、高等学校2,820校の園児、児童、生徒に対し行われた園あるいは学校の健診時計測値 (身長、体重、座高) を収集されている (各年齢全人口に対する抽出率は、幼稚園児、小学生、中学生、高校生でそれぞれ異なる)。本研究で肥満頻度算出に使用した日本人小児 (5.0-18.0歳) の男性334,939例、女性335,204例の身長、体重の個人別データを含む (第9表)。

標本集団データ (身長・体重) から算出されたBMI

第9表 肥満頻度算出用標本集団データ (「2001年データ」<sup>95)</sup>) の対象数 (Inokuchi M et al: Ann Hum Biol 36: 139-145, 2009のTable I, Table IIを許可を得て転載, 改変)

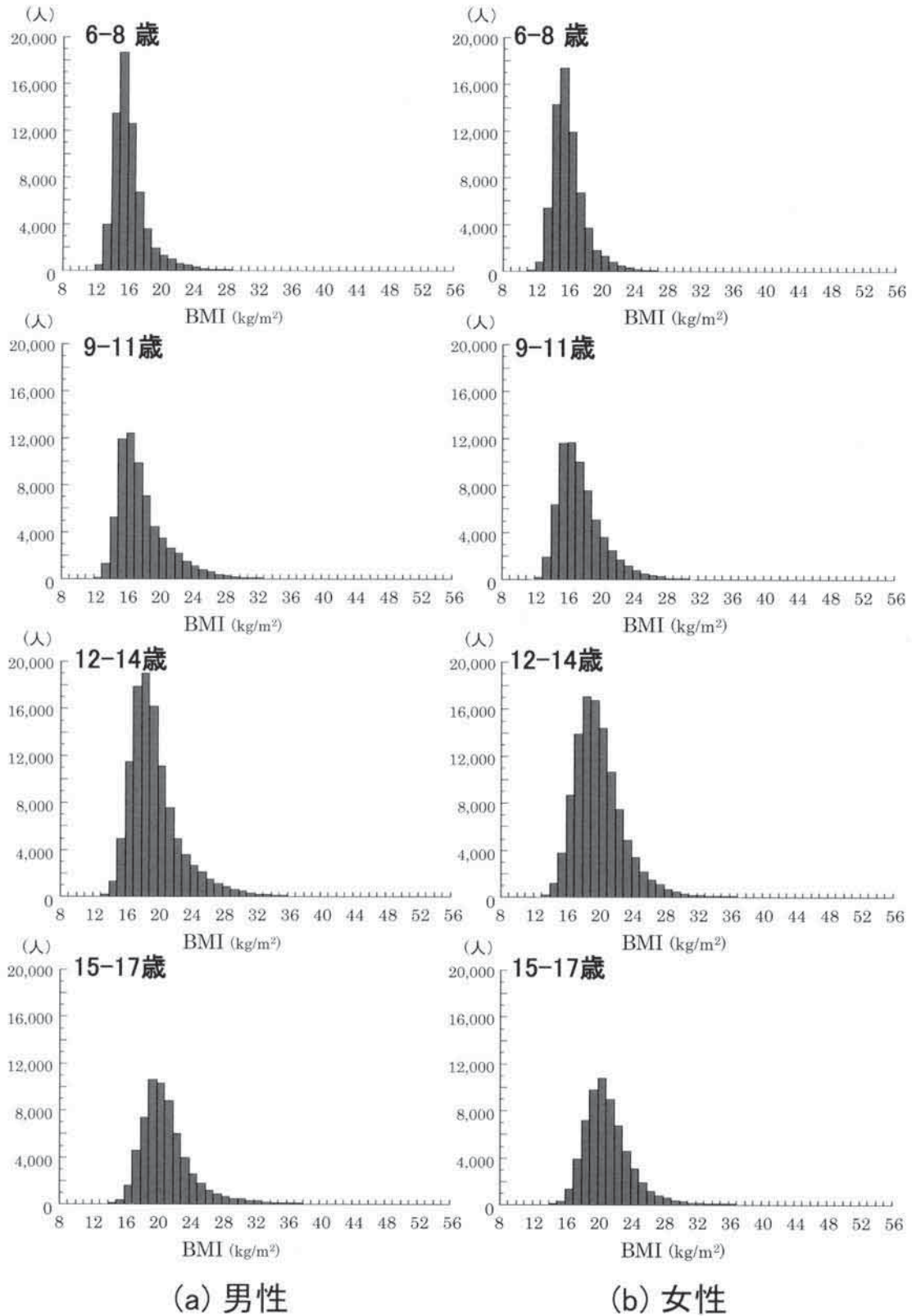
年齢 (歳)	男性	女性
5.0- 6.0	31,313	31,090
6.0- 7.0	21,869	21,777
7.0- 8.0	21,894	21,905
8.0- 9.0	21,920	21,969
9.0-10.0	21,971	21,967
10.0-11.0	21,978	21,950
11.0-12.0	22,002	22,024
12.0-13.0	36,229	36,506
13.0-14.0	36,277	36,526
14.0-15.0	36,375	36,538
15.0-16.0	21,017	20,979
16.0-17.0	21,077	20,988
17.0-18.0	21,017	20,985
計	334,939	335,204

の分布は、男女とも各年齢群において正の偏りを示した (第8図)。この「2001年データ」のBMI分布の偏りは、3つの全国代表データ (「1978-1981年データ」、 「1992-1994年データ」、 「2001年データ」) の中で最も大きい (第2図)。

#### b) 肥満頻度算出法

全対象者の性、年齢、身長計測値、体重計測値 (年齢は5.5歳、6.5歳…の1歳ごとの分類、身長計測値は立位、1cm単位、体重計測値は1kg単位で記載) をMicrosoft Excelに読み込み、BMI (= 体重/身長<sup>2</sup> kg/m<sup>2</sup>) を計算した。以下の3つのBMIカットオフ値により、日本人小児の肥満頻度を算出した。

- ① 日本人の暫定的BMIカットオフ値：著者らが作成した日本人BMI基準値<sup>9)</sup> 95パーセンタイル値以上を「肥満」と定義
- ② CDC方式によるBMIカットオフ値：CDCによるBMI基準値85パーセンタイル値以上、95パーセンタイル値未満を「過体重のリスク」、95パーセンタイル値以上を「過体重」と定義<sup>10)</sup>
- ③ IOTF方式によるBMIカットオフ値：IOTFによるBMI基準値の18歳時のBMI 25 kg/m<sup>2</sup>に相当するパーセンタイル値以上、BMI 30 kg/m<sup>2</sup>に相当するパーセンタイル値未満を「過体重」、18歳時のBMI 30 kg/m<sup>2</sup>に相当するパーセンタイル値以上を「肥満」と定義<sup>11)</sup>



第8図 肥満頻度算出用標本集団データ（「2001年データ」）のBMI分布 (a) 男性 (b) 女性



c) 肥満頻度

本研究の成績である、2001年における日本人小児の肥満頻度(5-18歳, 男女)を示す(第10表)。

- (1) 日本人の暫定的BMIカットオフ値による日本人小児の肥満頻度は、男性7.6-15.1%, 女性7.8-13.8%であった。この所見は、2001年の日本人小児の肥満頻度が1978-1981年に比して男性1.5-3.0倍、女性1.6-2.8倍に増加していることを示す(第11表)。
- (2) 日本人小児の肥満頻度は、用いるBMIカットオフ値により異なる。日本人小児の肥満頻度は、CDC方式による「過体重」頻度、およびIOTF方式による「肥満」頻度で評価した場合、日本人の暫定的BMIカットオフ値による「肥満」頻度で評価した場合に比して、過小評価される。この所見は、CDC方式、あるいはIOTF方式による国際的なBMIカットオフ値の臨床適用が、日本人小児には不相当であることを示す。
- (3) 日本人の暫定的BMIカットオフ値を用いた「肥満」頻度と、IOTF方式によるBMIカットオフ値を用いた「過体重」頻度は近似する。また両方式による肥満頻度の男女差は近似する。この所見は、両方式のカットオフ値のBMIパターンの相似性を示唆する。

2) BMIと肥満度による肥満診断の差異

BMIと肥満度の両指標による、肥満頻度、および肥満頻度増加率の差異を、1978-1981年、2001年の日本人小児の全国調査成績により比較検討した<sup>92, 95, 96)</sup>(第11表)。日本人小児の肥満頻度、および肥満頻度増加率は、評価に用いる指標(BMI・肥満度)により大きく異なる。すなわち、文部科学省の肥満度による評価は、肥満頻度、および肥満頻度増加率を過小評価する(主として、調査年度別標準体重の増加による。付記1(3)参照)。特にBMIと肥満度による評価の差異は、男女とも低年齢で大きい。文部科学省の肥満度による評価が、特に低年齢の肥満頻度、および肥満頻度増加率の過小評価を招く可能性を示唆する。

上記、2001年における日本人小児の肥満頻度を算出する際に用いた、日本人の暫定的BMIカットオフ値と文部科学省による肥満度カットオフ値との相互関係について、性、年齢(6, 10, 14歳)、および身長別に検討した(第9図)。BMIと肥満度を同じ座標軸で比較するために、文部科学省による肥満度をBMIに変換した。すなわち、文部科学省の2001年度、性別、年齢別の「身長別平均体重」<sup>95)</sup>を用い、身長別に肥満度(0%, +20%)に相当する体重からBMIを算出した。日本人小児BMI基準値の身長別の50パーセンタイル値、お

よび95パーセンタイル値(日本人の暫定的BMIカットオフ値)と、上記の肥満度0%, および+20%(文部科学省による肥満度カットオフ値)から算出した2つのBMI推測値とを、比較した。日本人小児BMI基準値と、肥満度から算出したBMI推測値との差は、性、年齢、身長により多様であるが、低年齢および高身長例において目立つ。このことが、文部科学省の肥満度による肥満診断が特に低年齢および高身長例において過小評価を招く所以である。

3) 肥満頻度の国際比較

2000年以降のデータを標本集団とした外国人小児の肥満頻度と、著者らが算出した「2001年データ」を標本集団とした日本人小児の肥満頻度とを比較した。対象とした外国人データは、肥満診断のためのBMIカットオフ値(各国別、CDC方式<sup>10)</sup>、IOTF方式<sup>11)</sup>によるカットオフ値)が明確な報告である。各国小児の肥満頻度の報告は、データ収集年だけでなく、対象年齢、対象数、カットオフ値において多様である(第12表)。すなわち、これらの成績から小児の肥満頻度の国際比較を行うことは極めて困難である。

IOTF方式によるBMIカットオフ値<sup>11)</sup>は、国際比較を目的として広く利用される。著者らはIOTF方式によるBMIカットオフ値を用い、外国人(米国人、英国人、フランス人、スウェーデン人、中国(北京)人)小児の肥満頻度と、年齢を一致させた日本人小児の肥満頻度(各対象年齢の肥満頻度の平均値)とを比較した(第13表)。IOTF方式によるBMIカットオフ値を用いた日本人の「肥満」頻度は、①米国人に比して、男女とも明らかに低い、②英国人に比して、男性でほぼ同程度、女性で低い、③フランス人に比して、男女ともほぼ同程度、④スウェーデン人に比して、男性で高く、女性で低い、⑤中国(北京)人に比して、男性で低く、女性でほぼ同程度、である。これらの所見は、日本人小児の肥満頻度が、米国人小児を除く外国人小児の肥満頻度に比して必ずしも低くない可能性を示唆する。アジア人小児(日本人および中国人)の肥満頻度の性差が白人小児の肥満頻度の性差と異なる原因を明らかにすることは、今後の課題である。



第10表 (a) 2001年における日本人小児の肥満頻度 (5-18歳, 男性)  
(Inokuchi M et al : Ann Hum Biol 36 : 139-145, 2009 の Table I, Table II を許可を得て転載, 改変)

年齢 (歳)	日本人の暫定方式				平均
	CDC方式 <sup>(a)</sup>		IOTF方式 <sup>(b)</sup>		
	「肥満」 ( $\geq$ 基準値 <sup>(a)</sup> の95パーセンタイル) % (95%CI)	「過体重のリスク」 (85-95パーセンタイル) % (95%CI)	「過体重」 ( $\geq$ 基準値の95パーセンタイル) % (95%CI)	「肥満」 (18歳時BMI $30 \text{ kg/m}^2$ の基準値) % (95%CI)	
5.0-6.0	7.6 ( 7.3- 7.8)	8.9 ( 8.6- 9.2)	5.3 (5.0-5.5)	6.2 ( 6.0- 6.5)	2.4 (2.2-2.6)
6.0-7.0	10.6 (10.1-11.0)	9.4 ( 9.0- 9.7)	7.1 (6.7-7.4)	8.9 ( 8.6- 9.3)	3.4 (3.2-3.7)
7.0-8.0	11.1 (10.7-11.6)	10.5 (10.1-10.9)	6.3 (6.0-6.6)	8.4 ( 8.1- 8.8)	3.7 (3.5-4.0)
8.0-9.0	13.6 (13.2-14.1)	10.9 (10.5-11.3)	8.3 (8.0-8.7)	11.0 (10.6-11.4)	4.4 (4.2-4.7)
9.0-10.0	14.5 (14.0-15.0)	11.6 (11.2-12.0)	9.2 (8.8-9.6)	13.5 (13.0-13.9)	4.9 (4.6-5.2)
10.0-11.0	15.1 (14.6-15.6)	13.4 (12.9-13.8)	9.3 (8.9-9.6)	15.4 (14.9-15.8)	4.6 (4.3-4.8)
11.0-12.0	14.7 (14.2-15.2)	12.7 (12.2-13.1)	8.3 (7.9-8.7)	15.1 (14.6-15.6)	4.3 (4.0-4.6)
12.0-13.0	13.9 (13.5-14.2)	12.5 (12.1-12.8)	7.7 (7.4-7.9)	14.5 (14.1-14.8)	4.4 (4.2-4.6)
13.0-14.0	11.3 (11.0-11.6)	10.0 ( 9.7-10.3)	5.7 (5.4-5.9)	11.7 (11.4-12.0)	3.5 (3.3-3.7)
14.0-15.0	11.1 (10.7-11.4)	8.8 ( 8.6- 9.1)	5.3 (5.0-5.5)	10.7 (10.4-11.1)	3.4 (3.2-3.6)
15.0-16.0	14.2 (13.7-14.6)	10.2 ( 9.8-10.7)	6.5 (6.1-6.8)	13.3 (12.9-13.8)	4.4 (4.1-4.6)
16.0-17.0	11.4 (11.0-11.8)	7.6 ( 7.3- 8.0)	4.9 (4.6-5.2)	10.4 (10.0-10.8)	3.6 (3.4-3.9)
17.0-18.0	9.8 ( 9.4-10.2)	6.1 ( 5.8- 6.5)	3.7 (3.4-3.9)	9.1 ( 8.7- 9.5)	2.8 (2.6-3.1)
平均	12.2	10.2	6.7	11.4	3.8

第10表 (b) 2001年における日本人小児の肥満頻度 (5-18歳, 女性)  
(Inokuchi M et al : Ann Hum Biol 36 : 139-145, 2009 の Table I, Table II を許可を得て転載, 改変)

年齢 (歳)	日本人の暫定方式				平均
	CDC方式 <sup>(a)</sup>		IOTF方式 <sup>(b)</sup>		
	「肥満」 ( $\geq$ 基準値 <sup>(a)</sup> の95パーセンタイル) % (95%CI)	「過体重のリスク」 (85-95パーセンタイル) % (95%CI)	「過体重」 ( $\geq$ 基準値の95パーセンタイル) % (95%CI)	「肥満」 (18歳時BMI $30 \text{ kg/m}^2$ の基準値) % (95%CI)	
5.0-6.0	7.8 ( 7.5- 8.1)	10.7 (10.3-11.0)	4.2 (4.0-4.5)	9.0 ( 8.7- 9.3)	2.4 (2.2-2.6)
6.0-7.0	11.1 (10.7-11.5)	10.1 ( 9.7-10.5)	4.7 (4.4-5.0)	10.3 ( 9.9-10.7)	3.1 (2.9-3.4)
7.0-8.0	11.2 (10.8-11.6)	8.5 ( 8.2- 8.9)	4.5 (4.2-4.7)	9.9 ( 9.5-10.2)	2.8 (2.6-3.0)
8.0-9.0	13.6 (13.2-14.1)	9.1 ( 8.7- 9.5)	4.9 (4.6-5.2)	10.8 (10.4-11.3)	3.1 (2.9-3.4)
9.0-10.0	13.7 (13.3-14.2)	10.4 (10.0-10.8)	4.7 (4.4-5.0)	12.3 (11.9-12.8)	2.8 (2.6-3.0)
10.0-11.0	12.8 (12.3-13.2)	9.9 ( 9.5-10.3)	4.0 (3.8-4.3)	12.2 (11.8-12.6)	2.3 (2.1-2.5)
11.0-12.0	13.4 (13.0-13.9)	10.2 ( 9.8-10.6)	4.2 (3.9-4.4)	12.8 (12.3-13.2)	2.4 (2.2-2.6)
12.0-13.0	13.8 (13.4-14.1)	11.8 (11.5-12.2)	4.2 (4.0-4.4)	13.7 (13.3-14.0)	2.4 (2.2-2.5)
13.0-14.0	11.8 (11.5-12.1)	11.0 (10.6-11.3)	3.4 (3.2-3.6)	11.7 (11.4-12.0)	2.1 (1.9-2.2)
14.0-15.0	11.1 (10.7-11.4)	10.1 ( 9.8-10.4)	3.0 (2.8-3.1)	11.1 (10.8-11.4)	1.9 (1.8-2.1)
15.0-16.0	12.0 (11.6-12.4)	9.8 ( 9.4-10.2)	2.9 (2.7-3.1)	10.8 (10.4-11.2)	2.3 (2.1-2.5)
16.0-17.0	12.3 (11.8-12.7)	8.0 ( 7.6- 8.4)	2.6 (2.4-2.8)	10.0 ( 9.6-10.4)	2.3 (2.1-2.5)
17.0-18.0	11.8 (11.3-12.2)	6.1 ( 5.8- 6.4)	1.6 (1.5-1.8)	8.2 ( 7.8- 8.6)	1.7 (1.5-1.9)
平均	12.0	9.7	3.8	11.0	2.4

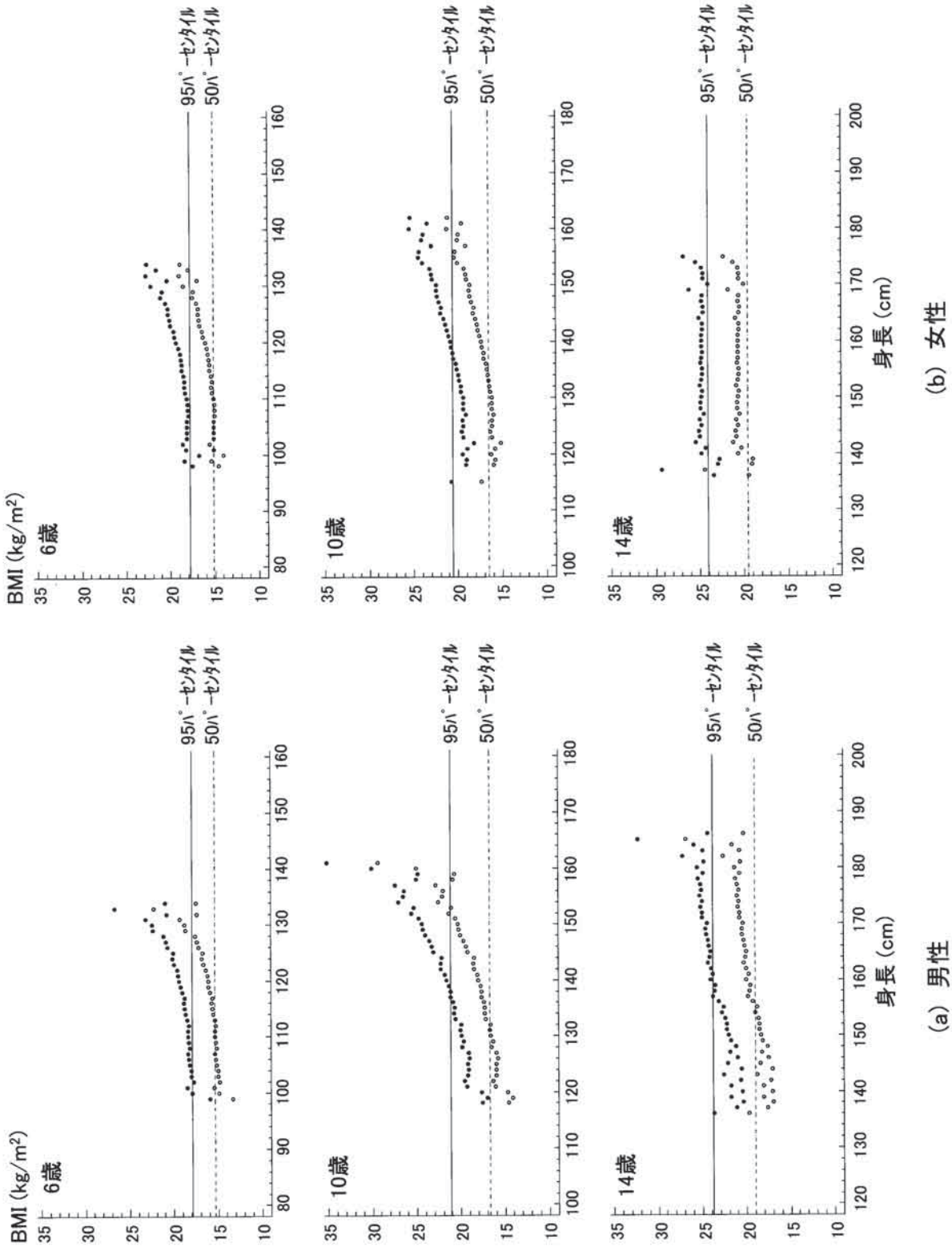


第11表 (a) BMIと肥満度による2001年度日本人小児の肥満頻度および肥満頻度増加率(5-18歳, 男性)  
(Inokuchi M et al : Ann Hum Biol 36 : 139-145, 2009のTable Iを許可を得て転載, 改変)

年齢 (歳)	BMI基準値 (≥95パーセンタイル) を用いた肥満頻度 (本研究)		肥満度 (≥+20%) を用いた肥満頻度 (文部科学省データ)	
	1978-1981 (%)	2001 (%)	1978-1981 平均 (%) <sup>95, 96)</sup>	2001 (%) <sup>95, 96)</sup>
5.0- 6.0	5.0	7.6	—	—
6.0- 7.0	5.0	10.6	2.6	4.7
7.0- 8.0	5.0	11.1	3.3	5.7
8.0- 9.0	5.0	13.6	4.6	7.9
9.0-10.0	5.0	14.5	5.8	10.0
10.0-11.0	5.0	15.1	7.0	10.8
11.0-12.0	5.0	14.7	7.4	11.8
12.0-13.0	5.0	13.9	7.1	11.9
13.0-14.0	5.0	11.3	6.5	10.4
14.0-15.0	5.0	11.1	6.0	9.6
15.0-16.0	5.0	14.2	—	—
16.0-17.0	5.0	11.4	—	—
17.0-18.0	5.0	9.8	—	—
6.0-15.0 歳平均	5.0	12.9	5.6	9.2
				増加率 (倍)
				1.5
				2.1
				2.2
				2.7
				2.9
				3.0
				2.9
				2.8
				2.3
				2.2
				2.8
				2.3
				2.0
				2.6

第11表 (b) BMIと肥満度による2001年度日本人小児の肥満頻度および肥満頻度増加率(5-18歳, 女性)  
(Inokuchi M et al : Ann Hum Biol 36 : 139-145, 2009のTable Iを許可を得て転載, 改変)

年齢 (歳)	BMI基準値 (≥95パーセンタイル) を用いた肥満頻度 (本研究)		肥満度 (≥+20%) を用いた肥満頻度 (文部科学省データ)	
	1978-1981 (%)	2001 (%)	1978-1981 平均 (%) <sup>95, 96)</sup>	2001 (%) <sup>95, 96)</sup>
5.0- 6.0	5.0	7.8	—	—
6.0- 7.0	5.0	11.1	2.8	4.8
7.0- 8.0	5.0	11.2	3.3	5.2
8.0- 9.0	5.0	13.6	4.7	7.7
9.0-10.0	5.0	13.7	5.6	8.6
10.0-11.0	5.0	12.8	6.2	9.1
11.0-12.0	5.0	13.4	6.8	9.4
12.0-13.0	5.0	13.8	7.1	10.2
13.0-14.0	5.0	11.8	6.4	9.1
14.0-15.0	5.0	11.1	5.6	8.1
15.0-16.0	5.0	12.0	—	—
16.0-17.0	5.0	12.3	—	—
17.0-18.0	5.0	11.8	—	—
6.0-15.0 歳平均	5.0	12.5	5.4	8.0
				増加率 (倍)
				1.6
				2.2
				2.2
				2.7
				2.7
				2.6
				2.7
				2.8
				2.4
				2.2
				2.4
				2.5
				2.4
				2.5



第9図 BMIへ変換された肥満度(0%:○, +20%:●)とBMI(50パーセンタイル値(---), 95パーセンタイル値(- - -), 95パーセンタイル値(—))との比較(a) 6, 10, 14歳 男性(b) 6, 10, 14歳 女性  
(Inokuchi M et al: Ann Hum Biol 36: 139-145, 2009のFigure 1を許可を得て転載, 改変)



第12表 2000年以降のデータを標本集団とした外国人小児の肥満・頻度と、著者が算出した「2001年データ」を標本集団とした日本人小児の肥満・頻度との比較

国名	データ収集年	年齢(歳)	対象数	カットオフ値**	肥満・頻度(%)	
					男性	女性
米国 <sup>(97, 98)</sup>	2003-2004	2-19 6-17	3,958 2,613	CDC IOTF	18.2 13.1	16.0 13.6
英国 <sup>(99)</sup>	2002-2003	5-10	3,492	英国 IOTF	6.0 4.6	6.6 6.8
フランス <sup>(34)</sup>	2000	7-9	1,582	フランス CDC IOTF	14.9 7.5 3.9	17.8 5.2 3.6
スウェーデン <sup>(100)</sup>	2001	6-13	1,115	IOTF	2.8	6.9
アイルランド <sup>(101)</sup>	2002	4-16	17,499	IOTF	6	7
メキシコ <sup>(102)</sup>	2000	10-17	16,809	CDC IOTF	11.6 7.7	9.5 6.9
チリ <sup>(103)</sup>	2000	6	199,444	CDC IOTF	14.7 7.2	15.8 7.5
中国(北京) <sup>(104)</sup>	2004	2-18	21,198	中国 CDC IOTF	12.4 (7-18歳) 12.9 8.0	7.1 (7-18歳) 5.1 3.2
韓国 <sup>(105)</sup>	2001	10-18	860	CDC	11.6	10.9
台湾 <sup>(106)</sup>	2001-2002	6-13	2,405	台湾	14.7	9.1
日本 <sup>(107)</sup> (本研究)	2001	5-18	670,143	日本 CDC IOTF	12.2 6.7 3.8	12.0 3.8 2.4

\* 明らかな肥満(狭義肥満)を意味する。

\*\*各カットオフ値の定義は以下の通りである。CDC: CDCによるBMI基準値の95パーセンタイル値以上(CDC方式による「過体重」)<sup>(10)</sup>、IOTF: IOTFによるBMI基準値の18歳時のBMIが30 kg/m<sup>2</sup>に相当するパーセンタイル値以上(IOTF方式による「肥満」)<sup>(11)</sup>、英国: 英国人小児BMI基準値<sup>(34, 100)</sup>の19.5歳時のBMIが30 kg/m<sup>2</sup>に相当するパーセンタイル値以上<sup>(109)</sup>、フランス: フランス人小児BMI基準値<sup>(17)</sup>の97パーセンタイル値以上、中国: 中国 Working Group on Obesity for Children (WGOC)による肥満のBMIカットオフ値以上<sup>(81)</sup>、台湾: 台湾人小児BMI基準値の95パーセンタイル値以上<sup>(101)</sup>、日本: 日本人小児BMI基準値<sup>(7)</sup>の95パーセンタイル値以上(日本人の暫定方式による「肥満」)

第13表 IOTF方式による「肥満」のBMIカットオフ値を用いた、外国人小児の肥満頻度と、年齢を一致させた日本人小児の肥満頻度との比較

国名	データ収集年	年齢区分 (歳)	外国人小児の IOTF 方式 <sup>111)</sup> による 「肥満」頻度 (%)		日本人小児 (2001) の IOTF 方式 <sup>111)</sup> による 「肥満」頻度 (%) (各対象年齢を一致させ た「肥満」頻度の平均値)	
			男性	女性	男性	女性
米国 <sup>98)</sup>	2003-2004	6-17	13.1	13.6	4.0	2.4
		6-11	10.7	14.0	4.2	2.8
		12-17	15.4	13.3	3.7	2.1
英国 <sup>99)</sup>	2002-2003	5-10	4.6	6.8	3.9	2.8
		5-7	4.1	6.6	3.2	2.8
		8-10	5.2	7.1	4.6	2.7
フランス <sup>34)</sup>	2000	7-9	3.9	3.6	4.3	2.9
スウェーデン <sup>100)</sup>	2001	6-13	2.8	6.9	4.2	2.6
中国 (北京) <sup>104)</sup>	2004	2-18	8.0	3.2	—	—
		2-5	3.9	3.1	—	—
		6-9	8.9	3.7	4.1	3.0
		10-12	10.3	4.0	4.4	2.4
		13-15	7.8	2.8	3.8	2.1
		16-18	5.2	2.3	—	—

## 総 括

本研究の最終目標は、国際標準に基づく日本人小児肥満の診断システムを確立することである。その最大の課題は、日本人小児固有の BMI、および腹囲のカットオフ値を設定することである。肥満児と非肥満児の BMI、腹囲値は相当程度重複することから、ROC 曲線を用い、中等度の感度と高い特異度を持つ人体計測学的カットオフ値 (auxological cut-off) を見出すことが現実的な方策である。また、日本人小児の BMI が同じレベルの白人小児の BMI に比してより多い体脂肪量を反映するかどうかを明らかにする必要がある。いいかえれば、日本人小児固有の BMI、腹囲のカットオフ値の設定、およびその国際的互換性の確保は、日本人小児の肥満診断システムの核心である。

## 付 記

### 1. 現在、日本で用いられる小児の標準体重 (肥満度) による評価法

現在、日本では、小児に対して、厚生労働省方式、学校保健会方式、文部科学省方式の3つの標準体重 (肥満度) による評価が無秩序に行われている。学校保健会や

文部科学省は、標準体重を調査年毎に更新し、標準体重の増加により日本人小児の肥満の過小評価を招いている。以下に各方式の成り立ちと現状を示す。

#### (1) 厚生労働省方式

現在、厚生労働省による国民栄養調査の「小児の栄養状態評価」における肥満度算出に利用される方式である<sup>111)</sup>。1967年、日本人小児の標準体重表としてはじめて報告された日比による「身長別標準体重および肥満度計算図表」に基づく<sup>112, 113)</sup>。本図表は、2004年の改訂までの「学校医の手引き (東京都医師会編集)」にも提示された<sup>114)</sup>。2000年、吉池により本図表の標準体重を性別の身長から算出できる多項式が報告されたことにより、利用法がより簡便となり<sup>115)</sup>、厚生労働省方式として採用されることになった。

#### (2) 学校保健会方式

現在、日本学校保健会による「児童生徒の健康診断マニュアル」に「身長別標準体重を求める係数と計算式」として掲載されている方式である<sup>116)</sup>。1980年、村田らのグループは、文部科学省収集による1975年度データを基に作成した「性別年齢別身長別体重」を報告した<sup>117)</sup>。1923-1925年、Baldwin, Woodにより報告さ



れた, 小児の標準体重表の原型, 米国人学童期男女の身長別年齢別標準体重 (「Baldwin-Wood weight-height-age tables」)<sup>118-120)</sup> に倣ったものと考えられる. 村田らによる標準体重 (身長と性別年齢別の係数から標準体重を算出できる回帰直線式: 「身長別標準体重を求める係数と計算式」) は, 以後, 文部科学省収集による 1977 年度, 1990 年度, 2000 年度データを基に次々と更新され, 現在では, 2000 年度データによる標準体重が, 学校保健会方式として採用されている<sup>116, 121, 122)</sup>. なお 2004 年の改訂以降の「学校医のてびき (日本医師会編集)」にも提示されている<sup>123)</sup>.

### (3) 文部科学省方式

現在, 文部科学省による, 学校保健統計調査の「肥満傾向児の頻度」算出のために利用される方式である. 1977 年, 文部科学省は, 標準体重を「調査年度別の性別年齢別身長別平均体重」と定義した. 以降, 「肥満傾向児」を「標準体重の 120% 以上 (肥満度 +20% 以上に該当)」と定義し, 「肥満傾向児の頻度」を現在まで毎年報告している. しかし, 標準体重を調査年度で毎年更新するため, 「肥満傾向児の頻度」は, 近年の肥満児増加に伴う標準体重の増加により, 年々過小評価されつづけている (2006 年度については, 上記, 村田らの 2000 年度データによる標準体重<sup>116)</sup> を用いた「肥満傾向児の頻度」が併記されている)<sup>96)</sup>.

## 2. LMS 法<sup>42, 93, 108, 124, 125)</sup>

LMS 法は, 1990 年代初頭から後半にかけて, Cole により確立された, 身体計測値 (身長, 体重, 腹囲など), および身体指標 (BMI など) の基準値作成に有用な統計学的手法である. 現在では基準値作成法の国際的標準手法となっている (第 1 表, 第 2 表). 体重, 腹囲, BMI などの正規分布しない身体計測値あるいは身体指標の性別年齢別パーセンタイル値, および SD 値を算出できる. 集団データから, 性別年齢別に算出される L 値 (正規分布化するための Box-Cox 変換指数), M 値 (中央値), S 値 (変動係数) を基に, それぞれ算出する. 各 SD 値 (Ci) は, 公式「 $C_i = M(1 + LSZ_i)^{1/L}$ 」に, 各 L, M, S 値, および求めたい「Zi (SD スコア)」を代入することにより算出できる. 各パーセンタイル値 (Ci) は, 同公式に各 L, M, S 値, および求めたいパーセンタイルと正規分布表上で対応する「Zi (SD スコア)」(例: 3 パーセンタイル → -1.881 SD, 50 パーセンタイル → 0 SD, 90 パーセンタイル → 1.282 SD など) を代入することにより算出できる.

## 3. 小児肥満の用語法

小児肥満を意味する用語として, CDC は「過体重のリスク」と「過体重」を<sup>10)</sup>, IOTF は「過体重」と「肥満」を<sup>11)</sup> 用いる. このため, CDC の「過体重のリスク」は「過体重」に比して, IOTF の「過体重」は「肥満」に比して, 比較的軽度の肥満を意味する用語と誤解される. しかし, CDC の「過体重のリスク」, IOTF の「過体重」はいずれも比較的軽度の肥満を意味する用語ではなく, BMI による肥満診断の不確実さを反映する用語である. Dietz, Bellizzi らは, CDC 方式について, 「過体重のリスク」を医学的評価を要する状態, 「過体重」を治療的介入を要する状態と規定<sup>36, 37)</sup>, Himes, Barlow らは, IOTF 方式について, 同様に, 「過体重」を医学的評価を要する状態, 「肥満」を治療的介入を要する状態と規定<sup>29, 30)</sup>している.

BMI は肥満診断の指標であり, 過体重診断の指標ではない. 著者は, 用語の混乱を避けるため, BMI による肥満診断において, 「肥満のリスク」と「肥満」という一対の用語を用いることを提案する.

## 謝 辞

本稿を終えるにあたり, 御指導御校閲をいただきました慶應義塾大学医学部小児科学教室高橋孝雄教授に深甚なる謝意を表します. 本研究に際し, 直接, 御指導御校閲をいただきました慶應義塾大学医学部小児科学教室松尾宣武名誉教授, 慶應義塾大学医学部小児科学教室長谷川奉延准教授に深謝いたします.

本論文は, Inokuchi M, Hasegawa T, Anzo M, Matsuo N: Standardized centile curves of body mass index for Japanese children and adolescents based on the 1978-1981 national survey data. *Ann Hum Biol* 33: 444-453, 2006 の一部, Inokuchi M, Matsuo N, Anzo M, Hasegawa T: Body mass index reference values (mean and SD) for Japanese children. *Acta Paediatr* 96: 1674-1676, 2007 の一部, Inokuchi M, Matsuo N, Anzo M, Takayama JI, Hasegawa T: Age-dependent percentile for waist circumference for Japanese children based on the 1992-1994 cross-sectional national survey data. *Eur J Pediatr* 166: 655-661, 2007 の一部, および Inokuchi M, Matsuo N, Takayama JI, Hasegawa T: Official Japanese reports significantly underestimate prevalence of overweight in school children: Inappropriate definition of standard weight and calcu-



lation of excess weight. *Ann Hum Biol* 36 : 139-145, 2009 の一部を含む。

本研究の一部は、平成 16, 17 年度文部科学省科学研究費によった。

## 文 献

- 1) Keys A, Fidanza F, Karvonen MJ, Kimura N, Taylor HL : Indices of relative weight and obesity. *J Chron Dis* 25 : 329-343, 1972
- 2) Womersley J, Durnin JVGA : A comparison of the skinfold method with extent of 'overweight' and various weight-height relationships in the assessment of obesity. *Br J Nutr* 38 : 271-284, 1977
- 3) Norgan NG, Ferro-Luzzi A : Weight-height indices as estimators of fatness in men. *Hum Nutr : Clin Nutr* 36 : 363-372, 1982
- 4) Garrow JS : Indices of adiposity. *Nutr Abstr Rev Clin Nutr-Series A* 53 : 697-708, 1983
- 5) Borkan GA, Hulth DE, Gerzof SG, Burrows BA, Robbins AH : Relationships between computed tomography tissue areas, thicknesses and total body composition. *Ann Hum Biol* 1983 : 10 : 537-546, 1983
- 6) Seidell JC, Oosterlee A, Deurenberg P, Hautvast JGAJ, Ruijs JHJ : Abdominal fat depots measured with computed tomography : effects of degree of obesity, sex, and age. *Eur J Clin Nutr* 42 : 805-815, 1988
- 7) Ferland M, Després JP, Tremblay A, Pinault S, Nadeau A, Moorjani S, Lupien PJ, Thériault G, Bouchard C : Assessment of adipose tissue distribution by computed axial tomography in obese women : association with body density and anthropometric measurements. *Br J Nutr* 61 : 139-148, 1989
- 8) Després JP, Prud'homme D, Pouliot MC, Tremblay A, Bouchard C : Estimation of deep abdominal adipose-tissue accumulation from simple anthropometric measurements in men. *Am J Clin Nutr* 54 : 471-477, 1991
- 9) Inokuchi M, Hasegawa T, Anzo M, Matsuo N : Standardized centile curves of body mass index for Japanese children and adolescents based on the 1978-1981 national survey data. *Ann Hum Biol* 33 : 444-453, 2006
- 10) Kuczmarski RJ, Ogden CL, Grummer-Strawn LM, Flegal KM, Guo SS, Wei R, Mei Z, Curtin LR, Roche AF, Johnson CL : CDC growth charts : United States. *Adv Data* 314 : 1-28, 2000
- 11) Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH : Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide : international survey. *BMJ* 320 : 1240-1243, 2000
- 12) Benn RT : Some mathematical properties of weight-for-height indices used as measures of adiposity. *Brit J Prev Soc Med* 25 : 42-50, 1971
- 13) Keys A : Overweight and the risk of heart attack and sudden death. *Obesity in Perspective*. (Ed) Bray GA, DHEW Publ No (NIH) 75-708, Maryland, p. 215-223, 1973
- 14) Lee J, Kolonel LN, Hinds MW : The use of an inappropriate weight-height derived index of obesity can produce misleading results. *Int J Obes* 6 : 233-239, 1982
- 15) Metropolitan Life Insur Co : New weight standards for men and women. *Stat Bull* 40 : 1-4, 1959
- 16) Cronk CE, Roche AF : Race- and sex-specific reference data for triceps and subscapular skinfolds and weight/stature<sup>2</sup>. *Am J Clin Nutr* 35 : 347-354, 1982
- 17) Rolland-Cachera MF, Cole TJ, Sempé M, Tichet J, Rossignol C, Charraud A : Body mass index variations : centiles from birth to 87 years. *Eur J Clin Nutr* 45 : 13-21, 1991
- 18) Nysom K, Mølgaard C, Hutchings B, Michaelsen KF : Body mass index of 0 to 45-y-old Danes : reference values and comparison with published European reference values. *Int J Obes* 25 : 177-184, 2001
- 19) Andres R, Elahi D, Tobin JD, Muller DC, Brant L : Impact of age on weight goals. *Ann Intern Med* 103 : 1030-1033, 1985
- 20) World Health Organization : Defining the Problem. *Obesity : Preventing and Managing the Global Epidemic*. World Health Organization, Geneva, p. 6-15, 2000
- 21) National Institutes of Health : Treatment Guidelines. *The Practical Guide. Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults*. National Institutes of Health, Maryland, p. 7-24, 2000
- 22) 松沢祐次, 井上修二, 池田義雄, 坂田利家, 斎藤康, 佐藤祐造, 白井厚治, 大野誠, 宮崎滋, 徳永勝人, 深川光司, 山之内国男, 中村正 : 新しい肥満の判定と肥満症の診断基準. *肥満研究* 6 : 18-28, 2000
- 23) 吉池信男, 西信雄, 松島松翠, 伊藤千賀子, 池田義雄, 櫻原英俊, 吉永英世, 小倉浩, 小峰慎吾, 佐藤祐造, 佐藤則之, 佐々木陽, 藤岡滋典, 奥淳治, 雨宮禎子, 坂田利家, 井上修二 : Body Mass Index に基づく肥満の程度と糖尿病, 高血圧, 高脂血症の危険因子との関連—多施設共同研究による疫学的検討—. *肥満研究* 6 : 4-17, 2000
- 24) Cole TJ, Freeman JV, Preece MA : Body mass index reference curves for the UK, 1990. *Arch Dis Child* 73 : 25-9, 1995
- 25) Hall DMB, Cole TJ : What use is the BMI? *Arch Dis Child* 91 : 283-296, 2006
- 26) Cole TJ : A method for assessing age-standardized weight-for-height in children seen cross-sectionally. *Ann Hum Biol* 6 : 249-268, 1979
- 27) Cole TJ, Roede MJ : Centiles of body mass index for Dutch children aged 0-20 years in 1980—a baseline to assess recent trends in obesity. *Ann Hum Biol* 26 :



- 303-308, 1999
- 28) Must A, Anderson SE : Childhood obesity : definition, classification and assessment. *Clinical Obesity in Adults and Children*. (Ed) Kopelman PG, Caterson ID, Dietz WH, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, p. 215-230, 2005
  - 29) Himes JH, Dietz WH : Guidelines for overweight in adolescent preventive services : recommendations from an expert committee. *Am J Clin Nutr* 59 : 307-316, 1994
  - 30) Barlow SE, Dietz WH : Obesity evaluation and treatment : Expert committee recommendations. The Maternal and Child Health Bureau, Health Resources and Services Administration and the Department of Health and Human Services. *Pediatrics* 102 : E29, 1998
  - 31) Reilly JJ, Dorosty AR, Emmett PM : Prevalence of overweight and obesity in British children : cohort study. *BMJ* 319, 1039, 1999
  - 32) Reilly JJ, Dorosty AR, Emmett PM ; Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood Study Team : Identification of the obese child : adequacy of the body mass index for clinical practice and epidemiology. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24, 1623-1627, 2000
  - 33) Reilly JJ, Wilson D : Childhood obesity. *BMJ* 333 : 1207-1210, 2006
  - 34) Rolland-Cachera MF, Castetbon K, Arnault N, Bellisle F, Romano MC, Lehingue Y, Frelut ML, Hercberg S : Body mass index in 7-9-y-old French children : frequency of obesity, overweight and thinness. *Int J Obes* 26 : 1610-1616, 2002
  - 35) Cole TJ : Assessment of growth. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 16 : 383-398, 2002
  - 36) Dietz WH, Robinson TN : Use of the body mass index (BMI) as a measure of overweight in children and adolescents. *J Pediatr* 132 : 191-193, 1998
  - 37) Bellizzi MC, Dietz WH : Workshop on childhood obesity : summary of the discussion. *Am J Clin Nutr* 70 : 173S-175S, 1999
  - 38) Rolland-Cachera MF, Sempé M, Guillaud-Bataille M, Patois E, Péquignot-Guggenbuhl F, Fautrad V : Adiposity indices in children. *Am J Clin Nutr* 36 : 178-184, 1982
  - 39) Hammer LD, Kraemer HC, Wilson DM, Ritter PL, Dornbusch SM : Standardized percentile curves of body-mass index for children and adolescents. *Am J Dis Child* 145 : 259-263, 1991
  - 40) Must A, Dallal GE, Dietz WH : Reference data for obesity : 85th and 95th percentiles of body mass index (wt/ht<sup>2</sup>) and triceps skinfold thickness. *Am J Clin Nutr* 53 : 839-846, 1991
  - 41) Ogden CL, Kuczmarski RJ, Flegal KM, Mei Z, Guo S, Wei R, Grummer-Strawn LM, Curtin LR, Roche AF, Johnson CL : Centers for Disease Control and Prevention 2000 growth charts for the United States : improvements to the 1977 National Center for Health Statistics version. *Pediatrics* 109 : 45-60, 2002
  - 42) Cole TJ, Pan H : lmsGrowth program version 2.12. Medical Research Council, UK. December 2005 (accessed 9 December 2005). Available online from : <http://homepage.mac.com/tjcole/FileSharing1.html>, 2005
  - 43) White EM, Wilson AC, Greene SA, McCowan C, Thomas GE, Cairns AY, Ricketts IW : Body mass index centile charts to assess fatness of British children. *Arch Dis Child* 72 : 38-41, 1995
  - 44) Lindgren G, Strandell A, Cole T, Healy M, Tanner J : Swedish population reference standards for height, weight and body mass index attained at 6 to 16 years (girls) or 19 years (boys). *Acta Paediatr* 84 : 1019-1028, 1995
  - 45) He Q, Albertsson-Wikland K, Karlberg J : Population-based body mass index reference values from Göteborg, Sweden : birth to 18 years of age. *Acta Paediatr* 89 : 582-592, 2000
  - 46) Karlberg J, Luo ZC, Albertsson-Wikland K : Body mass index reference values (mean and SD) for Swedish children. *Acta Paediatr* 90 : 1427-1434, 2001
  - 47) Luciano A, Bressan F, Zoppi G : Body mass index reference curves for children aged 3-19 years from Verona, Italy. *Eur J Clin Nutr* 51 : 6-10, 1997
  - 48) Cacciari E, Milani S, Balsamo A, Dammacco F, Luca FD, Chiarelli F, Pasquino AM, Tonini G, Vanelli M : Italian cross-sectional growth charts for height, weight and BMI (6-20y). *Eur J Clin Nutr* 56 : 171-180, 2002
  - 49) Schaefer F, Georgi M, Wühl E, Schäfer K : Body mass index and percentage fat mass in healthy German schoolchildren and adolescents. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22 : 461-469, 1998
  - 50) Leung SSF, Cole TJ, Tse LY, Lau JTF : Body mass index reference curves for Chinese children. *Ann Hum Biol* 25 : 169-174, 1998
  - 51) Group of China Obesity Task Force : Body mass index reference norm for screening overweight and obesity in Chinese children and adolescents. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 25, 97-102, 2004
  - 52) Hosseini M, Carpenter RG, Mohammad K : Body mass index reference curves for Iran. *Ann Hum Biol* 26 : 527-535, 1999
  - 53) Fredriks AM, van Buuren S, Wit JM, Verloove-Vanhorick SP : Body index measurements in 1996-7 compared with 1980. *Arch Dis Child* 82 : 107-112, 2000
  - 54) Williams S : Body Mass Index reference curves derived from a New Zealand birth cohort. *N Z Med J* 28 : 308-311, 2000
  - 55) Reyes MEP, Barahona EEC, Cahuich MB, Barragán A,



- Malina RM : Growth status of children 6-12 years from two different geographic region of Mexico. *Ann Hum Biol* 29 : 11-25, 2002
- 56) Inokuchi M, Matsuo N, Anzo M, Hasegawa T : Body mass index reference values (mean and SD) for Japanese children. *Acta Paediatr* 96 : 1674-1676, 2007
- 57) Kissebah AH, Vydellingum N, Murray R, Evans DJ, Hartz AJ, Kalkhoff RK, Adams PW : Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 54 : 254-260, 1982
- 58) Kalkhoff RK, Hartz AH, Rupley D, Kissebah AH, Kelber S : Relationship of body fat distribution to blood pressure, carbohydrate tolerance, and plasma lipids in healthy obese women. *J Lab Clin Med* 102 : 621-627, 1983
- 59) Evans DJ, Hoffman RG, Kalkhoff RK, Kissebah AH : Relationship of body fat topography to insulin sensitivity and metabolic profiles in premenopausal women. *Metabolism* 33 : 68-75, 1984
- 60) Ashwell M, Cole TJ, Dixon AK : Obesity : new insight into the anthropometric classification of fat distribution shown by computed tomography. *BMJ* 290 : 1692-1694, 1985
- 61) Pouliot MC, Després JP, Lemieux S, Moorjani S, Bouchard C, Tremblay A, Nadeau A, Lupien PJ : Waist circumference and abdominal sagittal diameter : Best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol* 73 : 460-468, 1994
- 62) Han TS, van Leer EM, Seidell JC, Lean MEJ : Waist circumference action levels in the identification of cardiovascular risk factors : prevalence study in a random sample. *BMJ* 311 : 1401-1405, 1995
- 63) Lean MEJ, Han TS, Seidell JC : Impairment of health and quality of life in people with large waist circumference. *Lancet* 351 : 853-856, 1998
- 64) Flegal KM : Waist circumference of healthy men and women in the United States. *Int J Obes* 31 : 1134-1139, 2007
- 65) Okosun IS, Chandra KMD, Boev A, Boltri JM, Choi ST, Parish DC, Dever GEA : Abdominal adiposity in U.S. adults : prevalence and trends, 1960-2000. *Prev Med* 39, 197-206, 2004
- 66) Lilja M, Eliasson M, Stegmayr B, Olsson T, Söderberg S : Trends in obesity and its distribution : data from the Northern Sweden MONICA Survey, 1986-2004. *Obesity* 16 : 1120-1128, 2008
- 67) Lean MEJ, Han TS, Morrison CE : Waist circumference as a measure for indicating need for weight management. *BMJ* 311 : 158-161, 1995
- 68) Lemieux S, Prud'homme D, Bouchard C, Tremblay A, Després JP : A single threshold value of waist girth identifies normal-weight and overweight subjects with excess visceral adipose tissue. *Am J Clin Nutr* 64 : 685-693, 1996
- 69) Després JP, Lamarche B : Effects of diet and physical activity on adiposity and body fat distribution : Implications for the prevention of cardiovascular disease. *Nutr Res Rev* 6 : 137-159, 1993
- 70) Alberti KG, Zimmet PZ : Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1 : diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 15 : 539-553, 1998
- 71) Balkau B, Charles MA : Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 16 : 442-443, 1999
- 72) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults : Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 285 : 2486-2497, 2001
- 73) Alberti KG, Zimmet P, Shaw J ; IDF Epidemiology Task Force Consensus Group : The metabolic syndrome -a new worldwide definition. *Lancet* 366 : 1059-1062, 2005
- 74) Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J : Metabolic syndrome -a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 23 : 469-480, 2006
- 75) Examination Committee of Criteria for 'Obesity Disease' in Japan ; Japan Society for the Study of Obesity : New Criteria for 'Obesity Disease' in Japan. *Circ J* 66 : 987-992, 2002
- 76) Freedman DS, Serdula MK, Srinivasan SR, Berenson GS : Relation of circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents : the Bogalusa Heart Study. *Am J Clin Nutr* 69 : 308-317, 1999
- 77) Taylor RW, Jones IE, Williams SM, Goulding A : Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3-19y. *Am J Clin Nutr* 72 : 490-495, 2000
- 78) Zannolli R, Morgese G : Waist percentiles : a simple test for atherogenic disease? *Acta Paediatr* 85 : 1368-1369, 1996
- 79) Moreno LA, Fleta J, Mur L, Rodríguez G, Sarría A, Bueno M : Waist circumference values in Spanish children -Gender related differences. *Eur J Clin Nutr* 53 : 429-433, 1999
- 80) McCarthy HD, Jarrett KV, Crawley HF : The development of waist circumference percentiles in British children aged 5.0-16.9y. *Eur J Clin Nutr* 55 : 902-907, 2001
- 81) Fredriks AM, van Buuren S, Fekkes M, Verloove-



- Vanhorick SP, Wit JM : Are age references for waist circumference, hip circumference and waist-hip ratio in Dutch children useful in clinical practice? *Eur J Pediatr* 164 : 216-222, 2005
- 82) Sung RYT, Yu CCW, Choi KC, McManus A, Li AMC, Xu SLY, Cahn D, Lo AFC, Chan JCN, Fok TF : Waist circumference and body mass index in Chinese children : cutoff values for predicting cardiovascular risk factors. *Int J Obes* 31 : 550-558, 2007
- 83) Inokuchi M, Matsuo N, Anzo M, Takayama JI, Hasegawa T : Age-dependent percentile for waist circumference for Japanese children based on the 1992-1994 cross-sectional national survey data. *Eur J Pediatr* 166 : 655-661, 2007
- 84) Sarría A, Moreno LA, García-Llop LA, Fleta J, Morellón MP, Bueno M : Body mass index, triceps skinfold and waist circumference in screening for adiposity in male children and adolescents. *Acta Paediatr* 90 : 387-392, 2001
- 85) Maffeis C, Pietrobelli A, Grezzani A, Provera S, Tatò L : Waist circumference and cardiovascular risk factors in prepubertal children. *Obes Res* 9 : 179-187, 2001
- 86) Zimmet P, Alberti G, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, Wong G, Bennett P, Shaw J, Caprio S ; International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention of Diabetes : The metabolic syndrome in children and adolescents. *Lancet* 369 : 2059-2061, 2007
- 87) Savva SC, Kourides Y, Tornaritis M, Epiphaniou-Savva M, Tafouna P, Kafatos A : Reference growth curves for Cypriot children 6 to 17 years of age. *Obes Res* 9 : 754-762, 2001
- 88) Katzmarzyk PT : Waist circumference percentiles for Canadian youth 11-18y of age. *Eur J Clin Nutr* 58 : 1011-1015, 2004
- 89) Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB : Waist circumference percentiles in nationally representative sample of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *J Pediatr* 145 : 439-444, 2004
- 90) Gómez-Díaz RA, Martínez-Hernández AJ, Aguilar-Salinas CA, Violante R, López-Alarcón M, Jiménez-Villarruel M, Wachter-Rodarte N, Solórzano-Santos F : Percentile distribution of the waist circumference among Mexican pre-adolescents of a primary school in Mexico City. *Diabetes Obes Metab* 7 : 716-721, 2005
- 91) Cole TJ : The international growth standard for pre-adolescent and adolescent children : statistical considerations. *Food Nutr Bull* 27 : S237-243, 2006
- 92) 日本規格協会 : 日本人の体格調査報告書. 日本規格協会, 1984
- 93) Cole TJ, Pan H : ImsChartMaker Pro version 2.0. Medical Research Council, UK. September 2005 (accessed 9 December 2005). Available online from : <http://homepage.mac.com/tjcole/FileSharing1.html>, 2005
- 94) 人間生活工学研究センター : 日本人の人体計測データ. 人間生活工学研究センター, 1997
- 95) 文部科学省 : 平成13年度学校保健統計調査報告書. 文部科学省, 2002
- 96) 文部科学省 : 年齢別肥満傾向児の出現率の推移 (昭和52年度~平成18年度). 平成18年度学校保健統計調査報告書. 文部科学省, p158-160, 2007
- 97) Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM : Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA* 295 : 1549-1555, 2006
- 98) Lobstein T, Jackson-Leach R : Child overweight and obesity in the USA : Prevalence rates according to IOTF definitions. *Int J Pediatr Obes* 2 : 62-64, 2007
- 99) Stamatakis E, Primatesta P, Chinn S, Rona R, Falaschetti E : Overweight and obesity trends from 1974 to 2003 in English children : what is the role of socioeconomic factors? *Arch Dis Child* 90 : 999-1004, 2005
- 100) Petersen S, Brulin C, Bergström E : Increasing prevalence of overweight in young schoolchildren in Umeå, Sweden, from 1986 to 2001. *Acta Paediatr* 92 : 848-853, 2003
- 101) Whelton H, Harrington J, Crowley E, Kelleher V, Cronin M, Perry IJ : Prevalence of overweight and obesity on the island of Ireland : results from the North South Survey of Children's Height, Weight and Body Mass Index, 2002. *BMC Public Health* 7 : 187, 2007
- 102) del Río-Navarro BE, Valázquez-Monroy O, Sánchez-Castillo CP, Lara-Esqueda A, Berber A, Violante GFR, Tapia-Conyer R, James WP ; Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000 Working Group, National Health Survey 2000 : The high prevalence of overweight and obesity in Mexican Children. *Obes Res* 12 : 215-223, 2004
- 103) Kain J, Uauy R, Vio F, Albala C : Trends in overweight and obesity prevalence in Chilean children : comparison of three definitions. *Eur J Clin Nutr* 56 : 200-204, 2002
- 104) Mi J, Cheng H, Hou DQ, Duan JL, Teng HH, Wang YF : Prevalence of overweight and obesity among children and adolescents in Beijing in 2004. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 27 : 469-474, 2006
- 105) Kim HM, Park J, Kim HS, Kim DH, Park SH : Obesity and cardiovascular risk factors in Korean children and adolescents aged 10-18 years from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey, 1998 and 2001. *Am J Epidemiol* 164 : 787-793, 2006
- 106) Chu NF, Pan WH : Prevalence of obesity and its comorbidities among schoolchildren in Taiwan. *Asia Pac J Clin Nutr* 16 : 601-607, 2007

- 107) Inokuchi M, Matsuo N, Takayama JI, Hasegawa T : Official Japanese reports significantly underestimate prevalence of overweight in school children : Inappropriate definition of standard weight and calculation of excess weight. *Ann Hum Biol* 36 : 139-145, 2009
- 108) Cole TJ, Freeman JV, Preece MA : British 1990 growth reference centiles for weight, height, body mass index and head circumference fitted by maximum penalized likelihood. *Stat Med* 17 : 407-429, 1998
- 109) Chinn S, Rona RJ : Re : international definitions of overweight and obesity for children : a lasting solution? *Ann Hum Biol* 31 : 695-696, 2004
- 110) Department of Health, Executive Yuan, Taiwan, ROC. URL : <http://www.doh.gov.tw>
- 111) 厚生労働省：肥満の判定。平成 16 年国民健康栄養調査報告（健康栄養情報研究会編集）。第一出版，p. 17, 2006
- 112) 日比逸郎：肥満の有無とその程度の判定基準。小児肥満症とその臨床（日比逸郎著）。金原出版，p. 8-20, 1967
- 113) 日比逸郎：肥満症。現代小児科学大系 第 4 巻 栄養障害と代謝障害。中山書店 p. 330-343, 1968
- 114) 東京都医師会：肥満児検診。学校医の手引き（東京都医師会編集）。p. 75-78, 1996
- 115) 吉池信男：学童，生徒における肥満者頻度の経年変化—健康日本 21 の数値目標と各種指標—。栄養学雑誌 58 : 177-180, 2000
- 116) 日本学校保健会：栄養状態。児童生徒の健康診断マニュアル（改訂版）（文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課監修）。日本学校保健会，p. 38-42, 2006
- 117) 山崎公恵：小児（6～15歳）の身体的成長評価についての研究 第 1 編 年齢別身長別体重について。日本小児科学会雑誌 84 : 889-896, 1980
- 118) Baldwin BT, Wood TD : Weight-Height-Age Tables. *Mother and Child*, July 23 : supplement, American Child Health Association, New York, 1923
- 119) Baldwin BT : The use and abuse of weight-height-age tables as indexes of health and nutrition. *J Am Med Assoc* 82 : 1-4, 1924
- 120) Baldwin BT : Weight-height-age standards in metric units for American-born children. *Am J Phys Anthropol* 8 : 1-10, 1925
- 121) 村田光範：肥満とやせ。新小児医学大系 第 18 巻 小児栄養障害。中山書店 p. 87-126, 1984
- 122) 山崎公恵，松岡尚史，川野辺重之，藤田幸子，村田光範：1990 年版性別年齢別身長別体重の検討。日本小児科学会雑誌 98 : 96-102, 1994
- 123) 村田光範：栄養状態。学校医の手引き（日本医師会編集）。日本医師会，p. 38-40, 2004
- 124) Cole TJ : The LMS method for constructing normalized growth standards. *Eur J Clin Nutr* 44 : 45-60, 1990
- 125) Cole TJ, Green PJ : Smoothing reference centile curves : the LMS method and penalized likelihood. *Stat Med* 11 : 1305-1319, 1992



学位論文

頭頸部扁平上皮癌における *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅は  
化学療法, 放射線化学療法への抵抗性の指標となる

慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科学教室

(指導: 小川郁教授)

いし ぐろりゅういちろう  
石黒隆一郎

Key Words : cyclin D1, head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC), fluorescence *in situ* hybridization (FISH), neoadjuvant chemotherapy (NAC), homogeneously staining region (HSR)

頭頸部扁平上皮癌は, 先進国における統計では, 癌全体の約5%の発生率を占め, 全世界で毎年新たに50万人の患者が発生していると報告されている<sup>1)</sup>. その発生要因は, 患者の喫煙や飲酒などの生活習慣と明確に関連しているため, 治療法の追求のみではなく, リスクファクターの回避を目標とした予防医学による啓蒙も重要である. 最近20年間で手術的治療の技術, 放射線療法, 化学療法の進歩は, 臓器温存適応の拡大や quality of life (QOL) の改善などに寄与してきたが, 頭頸部扁平上皮癌の生存率は向上していない<sup>2)</sup>. その一方で, 遺伝子の異常と発癌の関連についての研究は進歩し, 細胞生物学的, 分子生物学的な手法を用いた解析は, 癌遺伝子, 癌抑制遺伝子のような遺伝子の異常が, 発癌の様々な段階で細胞の形質変化に影響をおよぼすことを明らかにした. 腫瘍の発生, 浸潤, 転移と関連する癌遺伝子の異常増幅は, 悪性腫瘍における予後因子となることがあり, たとえば *c-erbB-2* の異常増幅は, 乳癌や卵巣癌の患者の予後の悪さと直接関連するため, その治療方針の決定に有用であることが報告されている<sup>3,4)</sup>.

頭頸部扁平上皮癌において, ヒト遺伝子 11q13 の異常増幅が高い確率で認められることは1996年に報告された<sup>5)</sup>. 11q13 の異常増幅は, 頭頸部扁平上皮癌患者の40-50%に認められることが明らかになり<sup>6-8)</sup>, 同時に, 11q13 領域には癌遺伝子としての性質を持つ *hst-1*, *int-2*, *ems-1* そして *CCND1* (*cyclin D1* 遺伝子) がコードされていることが明らかになった. これらの癌遺伝子の中で, *cyclin D1* 遺伝子は特に重要な役割を果たし, その異常増幅は癌細胞の悪性度と深い関連があると考え

られている. *cyclin D1* 蛋白は, cyclin-dependent kinase (CDK) 4 および 6 と複合体を形成し, 癌抑制遺伝子の1つである RB 遺伝子がコードする RB 蛋白をリン酸化し, 不活性化する. この RB 蛋白の不活性化により, 細胞周期の G1 期の抑制が解除され, G1 期から S 期への移行が促進される. 細胞周期において, G1 期と S 期の境界は restriction point とよばれ, 細胞がアポトーシスや減数分裂などへ進むシグナルを受けとる際, それらの状態への分岐点もこの G1 期と S 期の境界に存在しているとされている. 癌細胞は分裂停止のシグナルを無視して増殖する細胞であるため, *cyclin D1* 蛋白を始め, 多くの癌遺伝子産物はこの restriction point を強制的に通過させる働きを持っていると考えられている.

また, *cyclin D1* 蛋白が過剰発現している癌細胞では G2 期から M 期への移行も促進すると考えられ, 増殖する過程で他の遺伝子異常を誘発する原因となる<sup>9)</sup>. さらに, たとえば前立腺癌細胞株においては上皮性成長因子 (EGF) のような他因子により *cyclin D1* 蛋白の発現が上昇することが報告されている<sup>10)</sup>. *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅が, 明らかに頭頸部扁平上皮癌細胞の腫瘍増殖能と関連するという報告や, *cyclin D1* 蛋白を免疫組織化学染色で評価し, その過剰発現を認める患者は予後が有意に低下するという報告もあり<sup>6,11)</sup>, これらは *cyclin D1* が生体内における発癌や, 癌の進行, 悪性度に重要な役割を果たしていることを示唆している.

腫瘍細胞に発生する遺伝子異常の1つである遺伝子増幅が, ある量を超えると, 分裂細胞の染色体分析により, HSR (homogeneously staining region) や dmin



(extrachromosomally as double minute chromosomes) という2種類の染色体異常として検出される事が多い。しかし、このような遺伝子異常の形態を定性的に把握することは、免疫組織化学染色などの従来の手法では困難であることから、頭頸部癌において *cyclin D1* の増幅とその臨床的意義について検討した報告はない。本研究において著者は、無治療の頭頸部扁平上皮癌患者の原発部から採取した細胞の間期核に対し、fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法を施行し *cyclin D1* の増幅について解析した。FISH 法は、従来の手法よりも簡便かつ迅速に、頭頸部癌のわずかなサンプルからも蛍光シグナルの輝点として、HSR を含めた遺伝子増幅の異常を定性的にとらえることが可能である。そして、*cyclin D1* 遺伝子の増幅や *cyclin D1* 蛋白の過剰発現と、患者の臨床病理学的因子や化学療法の奏効度との関連性についても検討した。さらに、HSR の予後因子としての有用性も併せて検討した。また、頭頸部扁平上皮癌細胞株 HSC-2 における *cyclin D1* 蛋白の発現に、EGF が与える影響について検討した。

## 対象と方法

### 1. 対象患者

本研究では、1999年から2002年までに慶應義塾大学耳鼻咽喉科にて初回治療を行った単発性の頭頸部扁平上皮癌患者58例(男性49例、女性9例;平均年齢63.9歳、48-80歳)について検討した。これらの症例に対する治療は全て根治を目的として行われた。原発部位の内訳は、舌・口腔底癌23例、中咽頭癌14例、下咽頭癌21例である。平均観察期間は14.2ヶ月(1.5-45.0ヶ月)である。臨床病期分類は、1997年のUICC分類に基づいて行った。ステージの確定にはCT、MRIやガリウムシンチグラムなどの画像診断を用いた。診断は治療開始前に局所麻酔での生検や、全身麻酔下での顕微鏡下喉頭微細手術の際に得られた検体により行った。同時に、本研究ではfine needle aspiration biopsy (FNA biopsy) を原発部に直接、あるいは生検検体に針を刺入して施行し、細胞のサンプルを得た。

### 2. 治療

58例のうち32例(Stage II-Stage IV) に対してシスプラチン、5-fluorouracil (5-FU) による neoadjuvant chemotherapy (NAC) を初回治療として施行した。32例のうち28例(88%)はT3、T4の進行癌であり、29例(91%)に頸部リンパ節転移を認めた。原発部位

第1表 頭頸部扁平上皮癌症例の内訳

Treatment	Primary Site of Carcinoma		
	Oral cavity	Oropharynx	Hypopharynx
NAC	14	7	11
Radiation	4	7	10
Operation	5	0	0

(Ishiguro R et al : Anticancer Res. 5213-5220, 2003 の Table 1 を改変、許可を得て転載。)

の内訳を第1表に示した。初回治療としてNACを施行した症例は、舌・口腔底癌14例、中咽頭癌7例、下咽頭癌11例であった。初回治療としてNACを選択した下咽頭癌11例は、引き続き化学放射線療法を施行した。初回治療としてNAC以外の選択をした26例のうち、21例は初回治療として放射線療法を施行した。5例は手術を施行した。

NACは、シスプラチン点滴 70 mg/m<sup>2</sup> (day1)、5-FU 持続点滴 700 mg/m<sup>2</sup> (day1-5) の2剤を用いて3-4週間の間隔をおき、2コース施行した。

放射線療法は、6MV linac (linear accelerator) を使用し、2.0 Gy/day、総線量60 Gyで21例に施行した。そのうち5例は放射線単独照射で、下咽頭癌全10例を含む16例は初回治療として化学療法を同時併用した。化学療法の内容はシスプラチン15 mg/m<sup>2</sup> (day1-4)、5-FU 700 mg/m<sup>2</sup> (day1-4) を投与した症例が5例、ドセタキセル(10 mg/m<sup>2</sup>/week) を投与した症例が11例であった。

### 3. 治療効果の判定

頭頸部癌取扱い規約(2001年11月、改訂第3版)の「治療効果判定基準」に則り、治療効果を判定した。奏効度の基準は第2表に示した通りである。

### 4. FISH に用いる細胞検体の処置

FISH に使用する全ての腫瘍細胞は、初回治療の開始前に、原発部位からFNA biopsy によって採取した。腫瘍組織から細胞を単離させて浮遊液を作成し、FISH を行ったが、その手順は以下の通りである。まず、10 ml 注射器に装着した21 G または23 G 注射針(検体の大きさにあわせ、適宜針のサイズを選択した)を、摘出した腫瘍検体に刺入した。陰圧をかけ腫瘍細胞を吸引し、ピペット内で75 mM KCl 低張液500 μl と腫瘍細胞を5分間混和し、細胞核浮遊低張液を作成した。FISH 検体を採取する際には同時に細胞診も行い、腫瘍細胞以外のcontamination が多いものはFNA を再施行した。



第2表 治療奏効度の基準

著効 complete response (CR)	全ての病変が消失し、新病変の出現がない状態が4週間以上持続。
有効 partial response (PR)	2方向測定可能病変の縮小率が50%以上、1方向測定可能病変の縮小率が30%以上。または評価可能病変の改善が50%以上で、新病変の出現しない状態が4週間以上持続。
不変 no change (NC)	2方向測定可能病変の縮小率50%未満、1方向測定可能病変の縮小率が30%未満。または評価可能病変の改善が50%未満でそれぞれの病変が25%未満の増大または増悪にとどまり新病変が出現しない状態が4週間以上持続。
進行 progressive disease (PD)	測定可能病変が25%以上の増大または評価可能病変の25%以上の増悪、または新病変が出現。

直後に、細胞核浮遊低張液にカルノア液（メタノール：酢酸 [v/v]=3:1）500  $\mu$ l を加え、3000 rpm, 10 分間遠心した。上清を除去し、細胞沈渣にカルノア液を加え、再び細胞を攪拌した後、細胞浮遊液をスライドグラスに滴下し 37°C で 12 時間乾燥させた後、65-70°C で 24 時間インキュベートした。容器に 75°C の 70%ホルムアミド/2XSCC を満たし、標本スライドグラスを浸けて pH 7.0 で 2 分間熱変性させた。次に、冷却した 70%エタノール、100%エタノールの順にスライドグラスを浸けて急冷し、脱水した。本研究では、*cyclin D1* のプローブとして SO LSI *cyclin D1* DNA probe (Vysis 社, Downers Grove, IL, USA) を用い、75°C で 5 分間変性させた。プローブは 73°C で 5 分間変性させ、変性後の標本スライドグラスに滴下し、42°C に調整した密閉湿箱で 18 時間ハイブリダイズした。最後に、46°C の 50%ホルムアミド/2X SCC で 20 分間、2X SCC で 5 分間洗浄し、4,6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI) で対比染色を行った。*cyclin D1* 遺伝子は spectrum orange で標識されており、BX 60 型蛍光顕微鏡 (Olympus 社, Tokyo, Japan) により観察した。

### 5. 間期核 FISH によるシグナルカウント法

各症例につき 100 個の間期核で *cyclin D1* 遺伝子を標識したシグナル数を計測した。核同士が重なり、あるいは接触して境界が不明瞭な核は対象から除外し、物理的に損傷していない核のみを対象とした。シグナルカウントの判定が困難である場合は、同一の検体で作成した別標本を使用した。また、症例の臨床的背景を認知しない 2 名の観察者によりカウントを行い、その平均値を結果として用いた。本研究では、コントロールとして正常口腔粘膜の扁平上皮組織について FISH を施行した。その結果、間期核内に正常な 2 個のシグナルが観察される割合は 94% (標準偏差 [SD]=1.9%) であった。±2 SD に基づき、*cyclin D1* 遺伝子のシグナル異常の定義

を以下のように定めた。a) 100 個の間期核のうち 20% 以上の細胞が、3 個以上のシグナルを示した際、*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅陽性とした。b) *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅陽性症例のうち、シグナルが明るく、無数の細かなクラスター状の輝点を示した症例を HSR 陽性とした。

### 6. 免疫組織化学染色

対象は、FISH を施行した 58 例のうち治療開始前に当院にて原発部から生検を行い、10%のホルマリン固定パラフィン包埋切片を得ることができた 48 例である。10 例は治療開始前の標本を確保できなかったため、対象から除外した。パラフィン包埋切片は約 5  $\mu$ m の厚さに薄切し、免疫組織染色を施行した。脱パラフィンした標本を、30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1.5 ml+PBS 150 ml によってペルオキシダーゼ活性を瞬滅した後、pH 6.0 クエン酸バッファー（ヤマトロン社製）を添加してマイクロウェーブ加熱処理（500 w, 12 分）による抗原賦活法を行った。その後、アビジン-ビオチン (ABC) 法にて免疫組織学的検討を行った。すなわち、一次抗体に対する非特異的反応をブロッキング（37°C, 20 分間）した後、抗 *cyclin D1* ウサギポリクローナル抗体 (Santa Cruz Biotechnology 社, Santa Cruz, CA, USA) を用いて一次抗体反応を行った。二次抗体反応には Dako LSAB2 Kit のビオチン化 2 次抗体 (Dako 社, Carpinteria, CA, USA) を用い、さらに 0.25%ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン複合体にて反応させ、ジアミノベンジジン溶液 (Sigma, St. Louis, MO, USA) にて発色後、Meyer のヘマトキシリン液で核染色し、封入検鏡した。陰性コントロールとして、一次抗体を付加させなかった標本を用いた。染色レベルの評価は、症例の臨床背景を認知しない病理医により、癌病巣で染色された細胞の割合で 3 段階に判定した。すなわち、癌病巣全体のうち染色された癌細胞の割合が 50%以上を強陽性 (++)、5-50%を陽性 (+)、5%未満を陰性 (-)

と判定した。

### 7. 細胞培養と免疫細胞化学染色

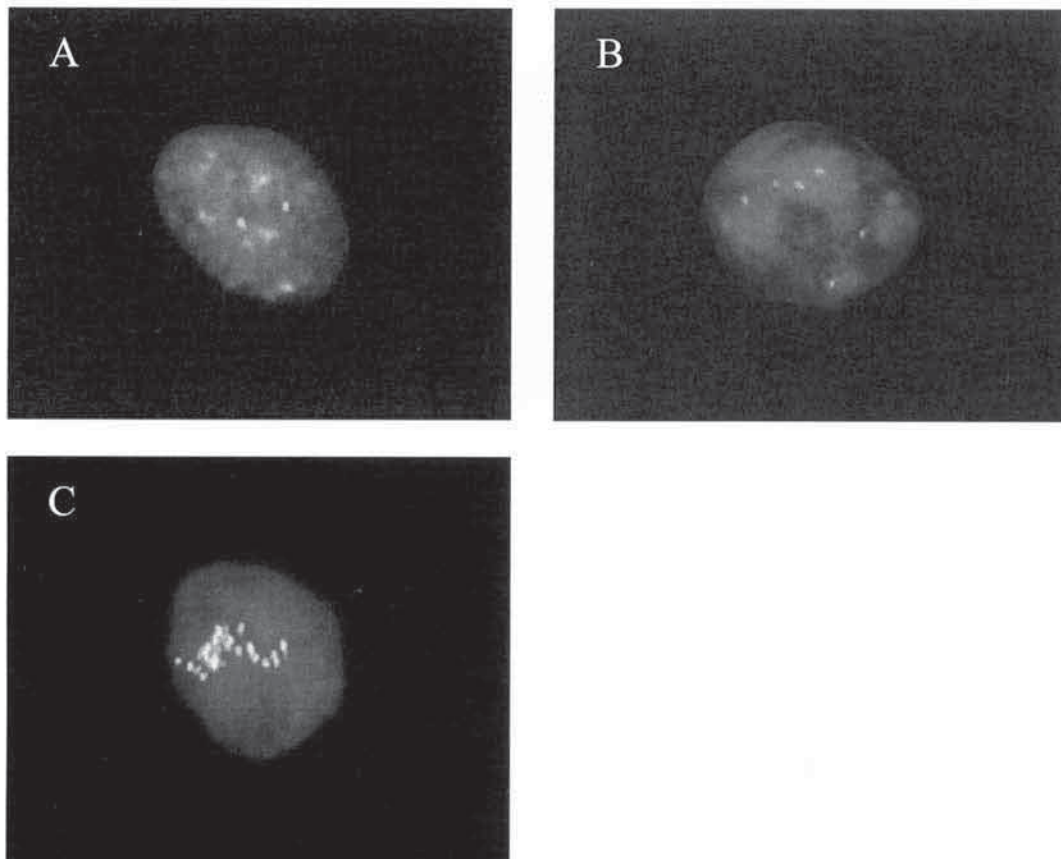
ヒト頭頸部扁平上皮癌ヒト頭頸部扁平上皮がん細胞株 HSC-2 は JCRB (Japanese Collection of Research Bioresources) より譲渡された。この細胞株は、口腔底癌の頸部リンパ節転移巣から確立されたものである。標準培養液は 100 IU/ml ペニシリン、100 µg/ml ストレプトマイシン、250 ng/ml アンホテリシン B を含む Eagle's minimal essential medium (MEM) に 10% FBS を混合して作成した。細胞は 37 度、5%CO<sub>2</sub> の条件下で培養したものを使用した。

HSC-2 細胞は  $2 \times 10^5$  個/ml に調整して 24 時間培養した後、EGF (湧永社, Tokyo, Japan) を添加した。EGF の最終濃度は 1 ng/ml から 10 µg/ml まで数段階に調整し、再び 24 時間培養した。1%ホルマリンにて

10 分間固定後、ABC 法にて免疫細胞化学染色を行った。EGF 受容体 (EGFR) に対する一次抗体として抗ヒト EGFR 抗体 (Novocastra Laboratories 社, Newcastle upon Tyne, UK) を用いた。cyclin D1 については免疫組織化学染色と同様の試薬を用いた。

### 8. 統計学的検討

*cyclin D1* 遺伝子、蛋白の発現と臨床病理学的因子との相関は、Kruskal-Wallis test, Chi-square test, Fisher's exact test で評価した。*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅と cyclin D1 蛋白の発現レベルの相関については Mann-Whitney's U test と Chi-square test で、*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅と NAC の奏効度は Fisher's exact test をそれぞれ使用し、検討した。ノンパラメトリック生存分については Kaplan-Meier 法を使用し、2 群間の有意差検定は log rank test で検討した。いずれ



第1図 間期核内 *cyclin D1* 遺伝子をターゲットとした single-color FISH. *cyclin D1* 遺伝子はオレンジ色の蛍光シグナルにより検出された ( $\times 600$ ). A: 正常ヒト口腔扁平上皮細胞。核内に一対のシグナルとして、*cyclin D1* 遺伝子が認められる。B: *cyclin D1* 遺伝子の増幅例。核内に3個以上のシグナルが存在する。C: 核内に、非常に輝度の強いクラスター状のシグナルが存在する。増幅した *cyclin D1* 遺伝子のシグナルが、ある領域をもって斑紋上に検出されており、HSR (homogeneously staining region) と考えられる。(Ishiguro R et al: Anticancer Res, 5213-5220, 2003 の Figure 1 を改変、許可を得て転載)



も危険率  $p < 0.05$  のとき統計学的に有意差ありと判定した。

## 結 果

### 1. *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅と臨床病理学的パラメータ

58 例中 31 例 (53%) において *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅が認められた (図 1B, 1C)。 *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅と臨床的パラメータとの関連は第 3 表に示した通りであるが、 *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅と、頭頸部扁平上皮癌患者の年齢、性別、T 分類、N 分類、および組織分化度との相関は認められなかった。しかし、 *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅は頭頸部扁平上皮癌の原発部によってその発生頻度が異なり、下咽頭癌で *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅の頻度が最も高かった ( $p = 0.0068$ )。

第 3 表 *cyclin D1* 遺伝子の増幅と臨床病理学的因子との相関

CCND1 amplification	positive	negative	p value
Age (yrs)			
Average	64.9	62.8	
<60	12	11	NS*
≥60	19	16	
Gender			
Male	27	22	NS*
Female	4	5	
Primarysite			
Oralcavity	12	11	
Oropharynx	3	11	0.0068**
Hypopharynx	16	5	
Tcategory			
T1	2	0	
T2	8	12	NS***
T3	12	11	
T4	9	4	
Ncategory			
N0	5	3	
N1	6	3	NS***
N2	19	19	
N3	1	2	
Histological differentiation			
Grade1	13	11	
Grade2	11	11	NS***
Grade3	7	5	

NS : not significant

\* : Fisher's exact test

\*\* : Kruskal-Wallis rank test

\*\*\* : chi-square test

(Ishiguro R et al : Anticancer Res. 5213-5220, 2003 の Table 2 を改変, 許可を得て転載.)

### 2. *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅と NAC の奏効度

本研究では、32 例の頭頸部扁平上皮癌に対しシスプラチンと 5-FU による NAC を施行した。原発部の内訳は、舌・口腔底癌 14 例、中咽頭癌 7 例、下咽頭癌 11 例であった。その効果判定は 19 例が PR、13 例が NC であり、CR、PD を呈した例はなかった。PR 群 19 例のステージ分類は、Stage II が 1 例、Stage III が 3 例、Stage IV が 15 例であり、一方 NC 群 13 例は、Stage II、Stage III、Stage IV がそれぞれ 1 例、2 例、10 例であった (第 4 表)。PR 群と NC 群の 2 群間で、その原発部、ステージ分類、年齢、組織学的分化度の各々の因子の偏りについて比較検定したが、有意差は認めなかった。しかしながら、 *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅を認めない 19 例のうち 15 例 (79%) において NAC の効果が PR を示したのに対し、異常増幅を認めた症例 13 例で PR を示したのは 4 例 (31%) のみであった (第 5 表)。したがって、NAC の奏効率と *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅との関連が示唆された ( $p = 0.011$ )。一方、免疫組織化学染色の結果により、強陽性群とそれ以外の群での NAC 奏効率を比較したが、有意差は認めなかった。

### 3. *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅と *cyclin D1* 蛋白の過剰発現

免疫組織化学染色により、癌細胞の核内に存在する

第 4 表 neoadjuvant chemotherapy (NAC) による治療を受けた頭頸部扁平上皮癌 32 例の臨床病期分類

	responder group	non-responder group
Staging (UICC)		
Stage II	1	1
Stage III	3	2
Stage IV	15	10
Total	19	13

(Ishiguro R et al : Anticancer Res. 5213-5220, 2003 の Table 2 を改変, 許可を得て転載.)

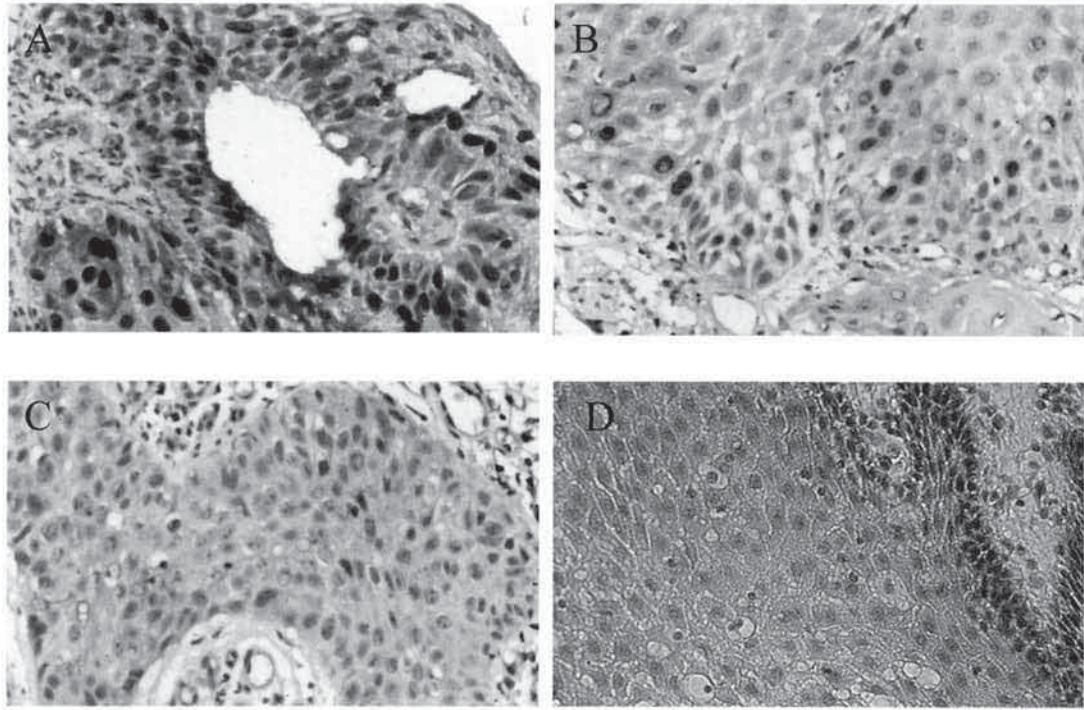
第 5 表 *cyclin D1* 遺伝子の増幅と、シスプラチン、5-FU による NAC の効果との相関

Response to chemotherapy	CCND1 amplification	
	positive (n=13)	negative (n=19)
responder group	4	15
non-responder group	9	4
response rate	31%	79%

$p = 0.011$  (Fisher's exact test).

(Ishiguro R et al : Anticancer Res. 5213-5220, 2003 の Table 4 を改変, 許可を得て転載.)





第2図 cyclinD1 蛋白に対する免疫組織化学染色 (×100)。A：強陽性の1例。病巣内の50%以上の癌細胞が陽性である。B：陽性の1例。5-50%の癌細胞が陽性である。C：陰性の1例。0-5%の癌細胞が陽性である。D：正常扁平上皮。(Ishiguro R et al : Anticancer Res. 5213-5220, 2003 の Figure 2 を改変, 許可を得て転載。)

cyclin D1 蛋白が染色された (第2図)。しかし、癌病巣の部位により染色核の濃度、形状は異なっており、また染色された細胞核の分布は均一ではなかった。すなわち、分裂能の高い癌細胞の核は、周囲の正常扁平上皮組織の核と比較し、強く染色される事が確認されたが、同一の癌病巣内で詳細に検討すると、その核染色の度合いに差が認められたため、病理医による染色レベルの評価を行った。第6表に、FISHで検出された *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅の有無と、cyclin D1 蛋白の発現との関連を示した。免疫組織化学染色を施行した48例のうち18例 (37.5%) が強陽性 (++)、12例 (25.0%) が陽性

(+)、18例 (37.5%) が陰性 (-) であった。*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅を示す27例では、強陽性が17例、陽性が5例を占め、*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅を示さない21例では13例が陰性であった。この結果から、*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅を示す症例は、cyclin D1 蛋白も過剰に発現する傾向があると考えられた ( $p = 0.003$ )。

#### 4. 頭頸部扁平上皮癌細胞における HSR

HSRは、間期核 FISH においては明るく、細かなクラスター状の蛍光シグナルとして検出される (第1図C)。本研究では14例が HSR を示したが、そのうち13例 (93.0%) が免疫組織化学染色にて強陽性を示した。したがって、HSR を呈する腫瘍細胞は cyclin D1 蛋白を過剰発現する傾向が特に強いことが示唆された ( $p < 0.0001$ , 第7表)。HSR は下咽頭癌9例、中咽頭癌1例、舌・口腔底癌4例で認められ、他の原発部と比較して下咽頭癌で有意に高率に発現する傾向があった ( $p = 0.033$ , 第8表)。下咽頭癌症例21例を、HSR を発現した群 (9例) と発現しない群 (12例) に分類して予後と比較した。ステージ分類は2群間に有意差を認めなかったが、HSR 発現群では生存率が有意に低かった ( $p <$

第6表 *cyclin D1* 遺伝子の増幅と、cyclin D1 蛋白の発現との相関

CCND1 amplification	Cyclin D1 overexpression in IHC			Total
	(-)	(+)	(++)	
Positive	5	5	17	27
Negative	13	7	1	21
Total	18	12	18	48

IHC : immunohistochemistry staining  
 $p = 0.003$  (Mann-Whitney's U test).  
 (Ishiguro R et al : Anticancer Res. 5213-5220, 2003 の Table 5 を改変, 許可を得て転載)



第7表 *cyclin D1* 蛋白の過剰発現と *cyclin D1* 遺伝子の増幅形態との相関

<i>CCND1</i> amplification with HSR	Cyclin D1 overexpression in IHC			
	(-)	(+)	(++)	Total
Positive	0	1	13	14
Negative	18	11	5	34
Total	18	12	18	48

IHC : immunohistochemistry staining  
 HSR : homogeneously staining region  
 $p < 0.0001$  (Mann-Whitney's U test).  
 (Ishiguro R et al : Anticancer Res. 5213-5220, 2003 の Table 6 を改変, 許可を得て転載)

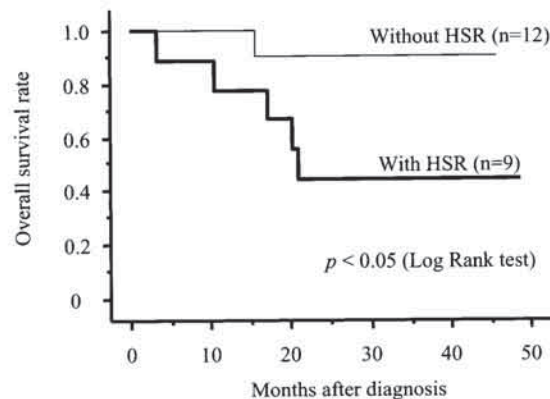
0.05, 第3図)。また, HSR を発現しない群のうち 10 例 (83%) では救済手術により喉頭を温存可能であったが, HSR 発現群では 2 例 (22%) の温存率であった。

### 5. 頭頸部扁平上皮癌細胞株における *cyclin D1* 蛋白に対する EGF の影響

頭頸部扁平上皮癌において, *cyclin D1* 蛋白の過剰発現に影響をあたえる因子の存在を確認するため, 頭頸部扁平上皮癌細胞 HSC-2 に対して, EGF を添加, 培養し免疫染色を施行した。まず HSC-2 において EGFR が発現していることを確認した (第4図A)。その結果, 細胞膜 (細胞質) にびまん性の染色を認め, EGFR の発現を確認した。HSC-2 は EGF を添加しない培地での培養では, ほとんど *cyclin D1* 蛋白を発現していなかった (第4図B)。しかし, 添加培地での培養を経た細胞は, 1 ng/ml から 10 µg/ml まですべての EGF の濃度段階において *cyclin D1* 蛋白の過剰発現を認めた。 (第4図C)。一方, EGF 添加培地で培養後の HSC-2 に対し FISH を施行したが, 遺伝子の増幅は認められなかった。

## 考 察

頭頸部扁平上皮癌において, *cyclin D1* の果たす役割



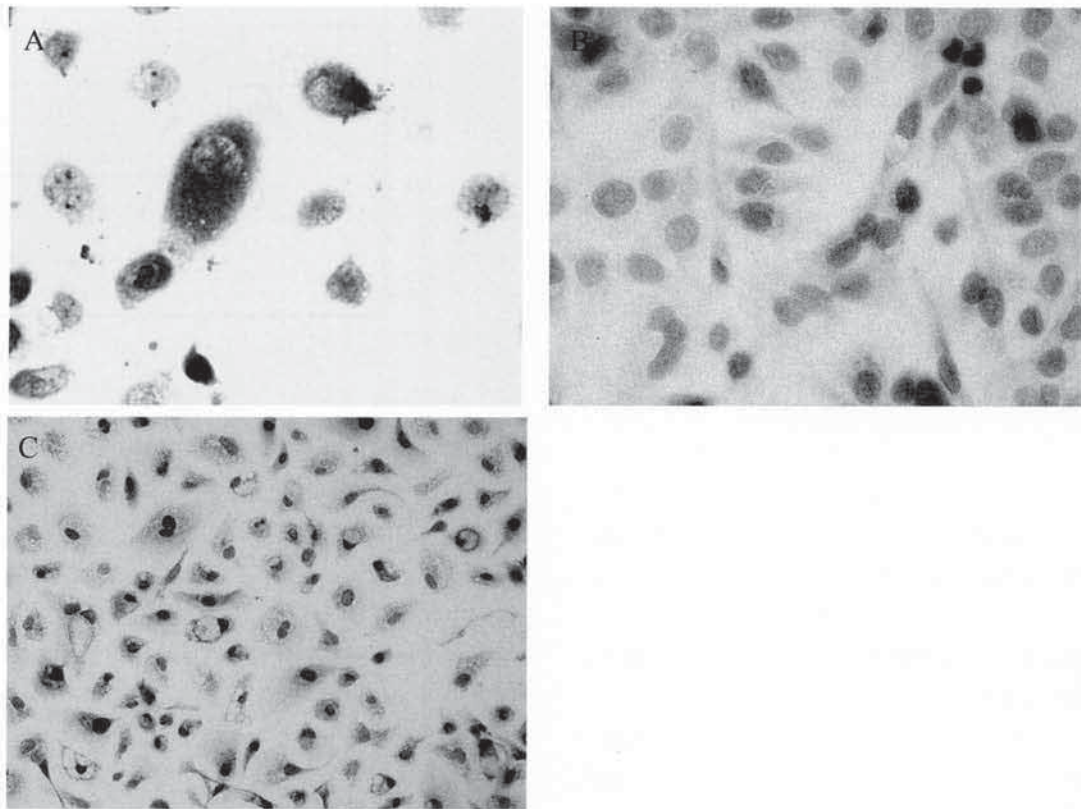
第3図 Kaplan-Meier 法による, 下咽頭癌 21 例の生存曲線。*cyclin D1* 遺伝子の増幅が HSR を示す群と, 示さない群とに分類し検討した。2 群間の生存率に統計学的有意差を認めた ( $p < 0.05$ , Log Rank test). (Ishiguro R et al : Anticancer Res. 5213-5220, 2003 の Figure 3 を改変, 許可を得て転載.)

が重要であり, その異常が予後を悪化させる因子の一つであるとする研究は多く報告されている。*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅は, たとえば局所浸潤, リンパ節転移発生率, ステージ分類による進行度, 再発率, 分化度, そして手術における切除断端の陽性率と関連が認められると報告されている<sup>12, 14</sup>。頭頸部扁平上皮癌における予後因子としての *cyclin D1* の重要性を確認するため, 本研究では, *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅と, *cyclin D1* 蛋白の過剰発現を FISH, 免疫組織化学染色を用いて検出した。近年, *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅や蛋白の過剰発現を検出するために, Southern blotting, PCR 法, 免疫組織化学染色などを用いた報告が多い<sup>8, 14, 15</sup>。本研究では, 治療前に FNA biopsy を用いて採取した検体により FISH を施行し, *cyclin D1* 遺伝子の異常を検出することを試みた。Southern blotting は検出に必要な高純度の精製 DNA を採集するため比較的多くの検体が必要とするが, 原発部が小さい頭頸部癌症例では十分なサンプルが得ることができない。PCR 法では壊死組織や, 正常細胞の混入が大きな問題となる。免疫組織化学

第8表 *cyclin D1* 遺伝子の増幅形態と原発部位との相関

<i>CCND1</i> amplification with HSR	Primary site of HNSCC			
	Oral cavity	Oropharynx	Hypopharynx	Total
Positive	4	1	9	14
Negative	19	13	12	44
Total	23	14	21	58

IHC : immunohistochemistry staining  
 $p = 0.003$  (chi-square test).  
 (Ishiguro R et al : Anticancer Res. 5213-5220, 2003 の Table 7 を改変, 許可を得て転載)



第4図 頭頸部扁平上皮癌細胞株 HSC-2 における EGFR, cyclin D1 蛋白に対する免疫組織化学染色 (A, B: ×100, C: ×200). A: HSC-2 の細胞膜にびまん性の染色を認め, EGFR の発現を確認した. B: EGF を添加しない培地で培養された HSC-2 細胞株, cyclin D1 蛋白の発現はほとんど認められなかった. C: 1 ng/ml に EGF を調整した培地で 24 時間培養した HSC-2 細胞株, 核が濃染され, cyclin D1 蛋白の過剰発現を示した.

染色は、抗原の存在、局在を確認することが可能であるが、遺伝子レベルでの異常は検出することができない<sup>12)</sup>。FISH は遺伝子の point mutation を検出することは不可能であり、定量化が困難であるという欠点を持つが、微量検体においても遺伝子の異常増幅、欠失、再配置などを同定することが可能である。早期の下咽頭癌や喉頭癌では、全身麻酔下においても、生検ではごく少量の腫瘍細胞しか得られないことが通常であるが、FNA biopsy では、装着する針のサイズを適宜変更することで、微量検体からも FISH を施行するために十分な量の間期核細胞を採取することが可能であった。したがって、FNA biopsy を用いて FISH を施行することは、治療前に施行可能であり、情報量が多く、かつ患者の苦痛が少ない非侵襲的検査として有用であると考えられる。

本研究において、FISH にて *cyclin D1* 遺伝子の増幅が陽性であったにも関わらず、蛋白を発現しなかった症例が 5 例存在した。その理由について以下のように考察する。本研究では、シングルカラー FISH により *cyclin D1* 遺伝子のみをターゲットに遺伝子の異常増幅を検出

した。したがって、*cyclin D1* 遺伝子のみが異常増幅している状態であるのか、あるいは 11 番染色体自体が増加しているポリソミーの状態であるかという判別が困難であった。これはシングルカラー FISH の限界である。一方、ダブルカラー FISH は染色体のセントロメアを *cyclin D1* 遺伝子と同時に検出し、*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅と 11 番染色体コピー数の増加とを判別することが可能である。11 番染色体のポリソミーにおいても *cyclin D1* 蛋白は過剰発現しているという報告も存在するが<sup>13)</sup>、現在のところ明確な結論は出ていない。しかし、その染色体の量的な増加の意義が明らかではないポリソミーは、その病的意義についても不明な点が多い。さらに、ポリソミーと遺伝子の異常増幅はその発生する機構が全く異なり、遺伝子の増幅の方がはるかに複雑な事象であると考えられるため、HSR とポリソミーを遺伝子増幅群として同一のカテゴリーに含めて検討することは適切でない可能性がある。

また、本研究では、*cyclin D1* 遺伝子が増幅していないにもかかわらず、*cyclin D1* 蛋白が過剰発現している



例が8例認められた。cyclin D1 の発現は他の多くの因子によって影響を受け、たとえば p53, p21, p16, EGF などが過剰発現を誘導することが報告されている<sup>16, 17</sup>。p16 は、癌抑制遺伝子の一つとして知られており、その遺伝子の欠失と *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅が相互に影響をおよぼし、扁平上皮癌の予後を悪化させる<sup>18</sup>。近年 Wiech らは、胃癌細胞株に Epstein-Barr virus 由来の癌遺伝子である *BARF1* を導入したところ、cyclin D1 蛋白の過剰発現が確認されたが、*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅は認められなかったと報告した<sup>19</sup>。また、前立腺癌細胞において EGF を添加し培養したところ、同様に *cyclin D1* 遺伝子の増幅を認めることなく、cyclin D1 蛋白が過剰発現したという報告<sup>10</sup>もある。本研究では、頭頸部扁平上皮癌細胞株 HSC-2 において、cyclin D1 の発現に対する EGF の影響について検討した。その結果、EGFR を発現している HSC-2 は、EGF の添加培地で培養することにより、*cyclin D1* 遺伝子の増幅を経ることなくその蛋白が過剰発現することが確認された。この結果から、頭頸部扁平上皮癌細胞においても、cyclin D1 蛋白の過剰発現は *cyclin D1* 遺伝子の増幅以外の要因により影響を受ける可能性があることが示唆された。化学療法奏功度と cyclin D1 蛋白発現の有無についての検討において、cyclin D1 蛋白強陽性群は非強陽性群に対して、化学療法の効果に有意差が認められなかったという結果にも、EGF のような因子は影響している可能性があり、さらなる検討が必要であると考えられた。

シスプラチンは、頭頸部扁平上皮癌の化学療法において、重要な key drug である。シスプラチンは、DNA の構成塩基であるグアニン、アデニンの N-7 位に結合する。そして、2つの塩素原子部位で DNA と強固に結合し、DNA 鎖内には架橋が形成される。こうして DNA 複製を阻害することで、DNA 合成期である S 期の遅延を引き起こすのみならず、結果的に DNA に損傷を与えることから、S 期から G2 期、また G1 期から S 期への移行をも抑制するとされる<sup>20</sup>。Bruce らの分類<sup>21</sup>では、シスプラチンは細胞の増殖相および非増殖相に同等の効果を示す cell cycle non-specific agent に属しており、癌細胞の細胞周期全体を遅延化し、その細胞毒性によって損傷した DNA の修復により多くの時間を費やさせる作用を持っている<sup>22, 23</sup>。5-FU は代謝拮抗薬として DNA に取り込まれるため、DNA 合成を阻害する作用を持ち、腫瘍細胞の分裂を抑制し、また細胞周期を G2 期に停止させる働きがあることが知られている<sup>20</sup>。したがって、シスプラチンと 5-FU の併用は、単剤によ

る治療よりも抗腫瘍効果が高いとされ、長く頭頸部扁平上皮癌治療に使用されてきた。現在のところ cyclin D1 がシスプラチン、5-FU の効果を減弱させる機構については完全に明らかになってはいないが、DNA の複製を阻害し、細胞周期を遅延させる化学療法の作用に対し、cyclin D1 は分裂停止のシグナルを無視して G1 期と S 期の境界である restriction point を強引に通過させる作用、また S 期から G2 期への移行を促す作用をもつと報告されており<sup>24</sup>、その遺伝子の増幅が化学療法の効果への抵抗性の指標として有用である可能性があると考えられる。近年、NAC が生存率の向上に寄与しないとの報告がなされている<sup>25</sup>。すなわち頭頸部扁平上皮癌の NAC に対する反応は、症例ごとに異なっており、進行した頭頸部扁平上皮癌症例で NAC の効果が認められない場合は根治的治療の遅れにつながり、予後を悪化させるというものである。確かに、NAC が奏効しない症例は、薬剤による副作用のために、根治的手術が可能となるまで数週間の待機を必要とする可能性もあるが、化学療法の効果を予測することができれば、根治的手術や放射線療法などの選択をより早くと確に行うことができると考えられる。本研究では、*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅の有無と頭頸部扁平上皮癌症例におけるシスプラチンと 5-FU を用いた NAC の効果との関連が示唆され、この結果は、*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅が予後の予測因子として腫瘍の悪性を反映する可能性があるとする報告<sup>7, 14, 15, 26, 27</sup>と矛盾しない。また、ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞株や膵臓癌細胞株に antisense *cyclin D1* を導入したところシスプラチン、および 5-FU の細胞毒性への感受性が上昇したとする報告があり<sup>24, 28</sup>、cyclin D1 が化学療法の効果に対して何らかの影響を与えることが強く示唆される。文献的には、cyclin D1 蛋白過剰発現群でシスプラチンと 5-FU による化学療法が奏効したという報告<sup>20</sup>があるものの、cyclin D1 蛋白の過剰発現および遺伝子の増幅が頭頸部扁平上皮癌の予後不良因子であるとする報告が多く<sup>6, 29, 30</sup>、今後さらに検討が進められるものと思われる。

頭頸部領域において、下咽頭癌はもっとも悪性度が高く、予後不良な悪性腫瘍の一つとして知られている<sup>31</sup>。下咽頭癌の治療方針として根治的手術の有用性は明らかであるが、著者は初回治療として NAC あるいは化学放射線療法を施行後に臓器温存による QOL の改善を目的とした救済手術を施行している。手術に際しては高い生存率と局所制御を目標とすることは当然であるが、QOL の観点からは特に喉頭機能温存が重要である。放射線療法は、臓器温存による QOL の維持に優れるが、



癌の制御が困難となった場合、予後は非常に悪化する。今回の検討では、*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅は下咽頭癌に有意に多く、中でも HSR を示す症例が多かった。そして、初回治療として化学放射線療法の適応となった場合、HSR を示した群は、HSR を示さなかった群と比べて有意に生存率が低く、さらに喉頭温存率も低い傾向にあった。現在、*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅のパターンと、腫瘍悪性度との関連は報告されていない。しかし、HSR を示す症例は *cyclin D1* 蛋白の過剰発現の誘因となり、化学療法や放射線療法に対して抵抗性を持つ可能性がある。また、DNA の複製や DNA の障害を検査するチェックポイントが、*cyclin D1* 蛋白により G1 期から S 期への移行が促進されることで十分に機能せず、遺伝子の誤ったコピーを作り続けることで、いわゆる genomic instability (遺伝的不安定性) を招く。HSR を呈する下咽頭癌においては細胞周期チェックポイント機能の破綻が著しく、下咽頭癌細胞の異常増殖の大きな要因の一つとなりうる。したがって、genomic instability の指標としての HSR の有用性についても今後検討されるべきと考える。患者の状態によって、最良の治療を選択するいわゆるオーダーメイド治療を厳密に施行することは困難であるが、本研究の結果から、FISH によって検出される *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅が、臓器温存を目指す NAC や化学放射線療法などを施行する際の予後予測因子となりうることを示唆され、特に HSR を伴う *cyclin D1* の異常増幅を示す症例では、より強力な治療法を選択する必要があると考えられた。

## 総 括

1. 頭頸部扁平上皮癌 58 例中 31 例 (53%) において *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅が認められた。*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅の頻度は下咽頭癌で最も高かった。
2. 32 例の頭頸部扁平上皮癌に対しシスプラチンと 5-FU による NAC を施行した。*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅を認めない 19 例のうち 15 例 (79%) において NAC の効果が PR を示したのに対し、異常増幅を認めた症例 13 例で PR を示したのは 4 例 (31%) のみであり、NAC の奏効率と *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅との関連が示唆された。
3. *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅を示す 27 例は免疫組織化学染色で、強陽性は 17 例、陽性は 5 例を占め、*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅を示さない 25 例は 13 例が陰性であった。*cyclin D1* 遺伝子の異常増幅を示す症例は、*cyclin D1* 蛋白も過剰に発現する傾向が示唆

された。

4. 14 例が *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅の一形態である HSR を示したが、13 例 (93.0%) が免疫組織化学染色にて強陽性を示し、HSR を呈する腫瘍細胞は *cyclin D1* 蛋白を過剰発現する傾向が特に強いことが示唆された。HSR は下咽頭癌 9 例、中咽頭癌 1 例、舌・口腔底癌 4 例で認められ、下咽頭癌において有意に高率に発現する傾向があった。下咽頭癌症例 21 例を、HSR を発現した群 (9 例) と発現しない群 (12 例) に分類し化学放射線療法を施行した場合、HSR 発現群は有意に生存率が悪化した。HSR を発現しない群のうち 10 例 (83%) は、救済手術により喉頭を温存可能であったが、HSR 発現群では 2 例、22% の温存率であった。

以上より、頭頸部扁平上皮癌において、FISH により *cyclin D1* 遺伝子の異常増幅が検出可能であり、NAC や放射線化学療法の効果を予測するマーカーとしての有用性が示唆された。

## 謝 辞

稿を終えるに当たり、御指導を賜りました慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科学教室小川郁教授に深甚なる謝意を表します。本研究に対して直接御指導いただきました藤井正人客員准教授 (現独立行政法人国立病院機構東京医療センター臨床研究センター部長) に感謝いたします。また、御指導、御助言をいただきました病理学教室亀山香織講師に厚く感謝いたします。さらに、本研究にご協力いただきました耳鼻咽喉科学教室諸兄に心より御礼申し上げます。

本研究の要旨は第 60 回日本癌学会 (2001 年 横浜)、第 38 回日本癌治療学会 (2000 年 仙台)、第 25 回、第 28 回日本頭頸部腫瘍学会 (現日本頭頸部癌学会、2001 年 札幌、2004 年 福岡) において発表した。

また、本研究の一部は文部科学省科学研究費奨励研究 A (平成 13 年度 No. 13770982) により行われた。

本論文は Ishiguro R, Fujii M, Yamashita T, Tashiro M, Tomita T, Ogawa K, Kameyama K: *CCND1* amplification predicts sensitivity to chemotherapy and chemoradiotherapy in head and neck squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 23: 5213-5220, 2003 の一部を含む



## 文 献

- 1) Vokes EE, Weichselbaum RR, Lippman SM, Hong WK : Head and neck cancer. *N Engl J Med* 328 : 184-194, 1993.
- 2) Boring CC, Squires TS, Tong T : Cancer statistics 1993. *CA Cancer J Clin* 44 : 7-26, 1993.
- 3) Berchuck A, Kamel A, Whitaker R, Kerns B, Olt G, Kinney R, Soper JT, Dodge R, Clerke Pearson DL, Marks P : Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 50 : 4087-4091, 1990.
- 4) Nagai MA, Pacheco MM, Oshima CT, Brentani MM : c-erbB-2 DNA amplification and mRNA expression in human primary breast tumors and its relationship to other prognostic factors. *Cancer Biother* 8 : 29-35, 1993.
- 5) Hall M, Peters G : Genetic alterations of cyclins, cyclin-dependent kinases and cdk inhibitors in human cancer. *Adv Cancer Res* 68 : 67-108, 1996.
- 6) Michalides RJ, van Veelen NM, Kristel PM, Hart AA, Loftus BM, Hilgers FJ, et al : Overexpression of cyclin D1 indicates a poor prognosis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 123 : 497-502, 1997.
- 7) Meredith SD, Levine PA, Burns JA, Gaffey MJ, Boyd JC, Weiss LM, Erickson NL, Williams ME : Chromosome 11q13 amplification in head and neck squamous carcinoma : association with poor prognosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 121 : 709-794, 1995.
- 8) Wang MB, Alavi S, Engstrom M, Lee J, Namazie A, Moatamed F, Srivatsan ES : Detection of chromosome 11q13 amplification in head and neck cancer using fluorescence in situ hybridization. *Anticancer Res* 19 : 925-931, 1999.
- 9) Skapek SX, Rhee J, Spices DB, Lassar AB : Inhibition of myogenic differentiation in proliferating myoblasts by cyclin D1-dependent kinase. *Science* 267 : 1022-1024, 1995.
- 10) Perry JE, Grossmann ME, Tindall DJ : Epidermal growth factor induces cyclin D1 in a human prostate cancer cell line. *Prostate* 35 : 117-124, 1998.
- 11) Callender T, el-Naggar AK, Lee MS, Frankenthaler R, Luna MA, Batsakis JG : PRAD-1 (CCND1)/cyclin D1 oncogene amplification in primary head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer* 74 : 152-158, 1994.
- 12) Fujii M, Ishiguro R, Yamashita T, Tashiro M : Cyclin D1 amplification correlates with early recurrence of squamous cell carcinoma of the tongue. *Cancer Lett* 172 : 187-192, 2001.
- 13) Miyamoto R, Uzawa N, Nagaoka S, Nakakuki K, Hirata Y, Amagasa T : Potential marker of oral squamous cell carcinoma aggressiveness detected by fluorescence in situ hybridization in fine-needle aspiration biopsies. *Cancer* 95 : 2152-2159, 2002.
- 14) Kyomoto R, Kumazawa H, Toda Y, Sakaida N, Okamura A, Iwanaga M, Shintaku M, Yamashita T, Hiai H, Fukumoto M : Cyclin-D1-gene amplification is a more potent prognostic factor than its protein over-expression in human head-and-neck squamous-cell carcinoma. *Int J Cancer* 74 : 576-581, 1997.
- 15) Akervall JA, Michalides RJ, Mineta H, Balm A, Borg A, Dictor MR : Amplification of cyclin D1 in squamous cell carcinoma of the head and neck and the prognostic value of chromosomal abnormalities and cyclin D1 overexpression. *Cancer* 79 : 380-389, 1997.
- 16) Kanda Y, Nishiyama Y, Shimada Y, Imamura M, Nomura H, Hiai H, Fukumoto M : Analysis of gene amplification and overexpression in human esophageal-carcinoma cell lines. *Int J Cancer* 58 : 291-297, 1994.
- 17) Zhou P, Jiang W, Weghorst CM, Weinstein IB : Overexpression of cyclin D1 enhances gene amplification. *Cancer Res* 56 : 36-39, 1996.
- 18) Uzawa N, Sonoda I, Myo K, Takahashi K, Miyamoto R, Amagasa T : Fluorescence in situ hybridization for detecting genomic alterations of cyclin D1 and p16 in oral squamous cell carcinomas. *Cancer* 15 : 2230-2239, 2007.
- 19) Wiech T, Nikolopoulos E, Lassman S, Heidt T, Schopflin A, Sarbia M, Werner M, Shimizu Y, Sakka E, Ooka T, Zur Hausen A : Cyclin D1 expression is induced by viral BARF1 and is overexpressed in EBV-associated gastric cancer. *Virchows Arch* 452 : 621-627, 2008.
- 20) Akervall JA, Brun E, Dictor M, Wennerberg J : Cyclin D1 overexpression versus response to induction chemotherapy in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Acta Oncol* 40 : 505-511, 2001.
- 21) Bruce WR, Meeker BE, Valeriote FA : Comparison of the sensitivity of normal hematopoietic and transplanted lymphoma colony-forming cell to chemotherapeutic agents administered in vivo. *J Nat Cancer Inst* 37 : 233-245, 1966.
- 22) Fujimura F : Effect of cisplatin and pepleomycin on cell cycle in oral cancer. *J Fukuoka Dent Coll* 20 : 211-229, 1993.
- 23) Warenus HM, Seabra LA, Maw P : Sensitivity to cis-diamminedichloroplatinum in human cancer cells is related to expression of cyclin D1 but not c-raf-1 protein. *Int J Cancer* 67 : 224-231, 1996.
- 24) Wang MB, Yip HT, Srivatsan ES : Antisense cyclin D1 enhances sensitivity of head and neck cancer cells to cisplatin. *Laryngoscope* 111 : 982-988, 2001.
- 25) Haas J, Toohill R, Haas C : The effect of delaying standard treatment for induction chemotherapy in advanced head and neck cancer. *Am J Clin Oncol* 10 : 116, 1987.

- 26) Bellacosa A, Almadori G, Cavallo S, Cadoni G, Galli J, Ferrandina G, Scambia G, Neri G : Cyclin D1 gene amplification in human laryngeal squamous cell carcinomas : prognostic significance and clinical implications. *Clin Cancer Res* 2 : 175-180, 1996.
- 27) Jares P, Fernandez PL, Campo E, Nadal A, Bosch F, Aiza G, Nayach I, Traserra J, Cardesa A : PRAD-1/cyclin D1 gene amplification correlates with messenger RNA overexpression and tumor progression in human laryngeal carcinomas. *Cancer Res* 54 : 4813-4817, 1994.
- 28) Kornmann M, Danenberg K, Arber N, Beger H, Danenberg P, Korc M : Inhibition of cyclin D1 expression in human pancreatic cancer cells is associated with increased chemosensitivity and decreased expression of multiple chemoresistance genes. *Cancer Res* 59 : 3505-3511, 1999.
- 29) Kuo MY, Lin CY, Hahn LJ, Cheng SJ, Chiang CP : Expression of cyclin D1 is correlated with poor prognosis in patients with areca quid chewing-related oral squamous cell carcinomas in Taiwan. *J Oral Pathol Med* 28 : 165-169, 1999.
- 30) Michalides R, van Veelen N, Hart A, Loftus B, Wientjens E, Balm A : Overexpression of cyclin D1 correlates with recurrence in a group of forty-seven operable squamous cell carcinomas of the head and neck. *Cancer Res* 55 : 975-978, 1995.
- 31) Ho CM, Lam KH, Wei WI, Yuen PW, Lam LK : Squamous cell carcinoma of the hypopharynx-analysis of treatment results. *Head Neck* 15 : 405-412, 1993.



学位論文

小児，青年期における白衣高血圧と仮面高血圧の検討

慶應義塾大学医学部小児科学教室

(指導：高橋孝雄教授)

まつ おか せい じ  
松岡 誠治

Key Words : white coat hypertension, masked hypertension, white coat effect, ambulatory blood pressure monitoring, reverse white coat hypertension

高血圧は動脈硬化の主要な危険因子であり，脳心血管疾患イベント発症率，死亡率と深くかかわっている。高血圧の診断と治療の指標として従来外来診察時に測定される血圧すなわち随時血圧が使用されてきた。しかし近年，携帯型自動血圧測定装置が開発され，24時間自由行動下血圧測定（ambulatory blood pressure monitoring, 以下 ABPM）が可能となった。成人においては自由行動下血圧が診療に使用されるようになってきている。ABPMの利点として1日に数十回血圧を測定することにより推計学的信頼性が高くなること，血圧の日内変動を評価できることがあげられる。また ABPMにより随時血圧と自由行動下血圧とに差が見られる場合すなわち白衣効果，白衣高血圧および仮面高血圧と呼ばれる状態の存在が明らかになった。医療環境における血圧測定時の血圧上昇を白衣効果という<sup>1)</sup>。また医療環境で高血圧であるが非医療環境では正常血圧である状態を白衣高血圧という<sup>1)</sup>。一般に白衣高血圧は持続性高血圧に比し脳心血管合併症のリスクが低いことが示唆されている<sup>2)</sup>。一方，最近注目を浴びているのが白衣高血圧と逆の状態，仮面高血圧である。逆白衣高血圧，白衣正常血圧などとも呼ばれていたが，白衣高血圧と対照的に従来ほとんど研究されていなかった。しかし2003年に仮面高血圧の脳心血管合併症発症のリスクが高いことが報告され，一躍注目を集めている<sup>3)</sup>。

ABPMは小児においても1991年頃より試用され，信頼性をもって測定できることが複数の研究者により報告されている<sup>4,5)</sup>。この頃から白衣効果が小児においても存在することが示唆されていた。すなわち自由行動下血圧より随時血圧が高い状態が存在する事実が報告されている<sup>6,7)</sup>。しかし小児における白衣高血圧の診断は自

由行動下血圧の基準値が確立するまでは不可能であった。1994年以降，小児における自由行動下血圧の基準値が報告されてきた<sup>5,8)</sup>。著者らはLurbeらの報告した基準値に基づき，小児における白衣高血圧症例を初めて診断し，報告した<sup>9)</sup>。小児における白衣効果および白衣高血圧の頻度，年齢差，性差，原疾患を知ることは日常診療上有用である。小児，特に思春期前の小児の高血圧では二次性高血圧が多いため，原疾患診断のための二次，三次検査が必要なことが多い。白衣高血圧と診断されれば侵襲の多い検査を行わずにすむ可能性も考えられる。また小児，青年期の白衣高血圧の脳心血管合併症のリスクが成人と同様に低いのか，また成長に伴い持続性高血圧に移行するのかを明らかにする必要がある。一方，小児において仮面高血圧が存在するか否かは不明である。仮面高血圧の合併症発症のリスクが高いのであれば早期診断，介入が必要である。すなわち若年者に仮面高血圧が存在するか否かを調査し，もし存在するのであればその臨床的特徴を明らかにすることが重要である。

本研究は小児，青年期における1)白衣効果，白衣高血圧の頻度，特徴，2)仮面高血圧の頻度，特徴を検討した。

対象と方法

対象は慶應義塾大学病院小児科，東京都立清瀬小児病院腎内科，独立行政法人国立病院東京医療センター小児科の外来および入院患者206名（男性107名，女性99名，年齢6-25歳，平均±標準偏差13.4±4.7歳）である。正常血圧者136名の内訳は健常者，急性疾患回復期，腎疾患（腎炎，ネフローゼ，血尿），内分泌疾患



(糖尿病初期, 単純性肥満), 心疾患 (大動脈縮窄, フェロー四徴) 患者である。高血圧者 70 名のうち高血圧の原因となりうる基礎疾患のある者は 35 名で, 内訳は腎疾患 25 名 (腎炎, ネフローゼ, 腎動脈狭窄, 低形成腎, 嚢胞性疾患, 糖尿病性腎症), 心血管疾患 7 名 (大動脈縮窄, 大動脈離断, 大動脈弁閉鎖不全, William 症候群), 内分泌疾患 3 名 (グルココルチコイド抑制性アルドステロン症, 褐色細胞腫, 外因性ステロイド投与) であった。高血圧の原因となりうる基礎疾患のない高血圧者は本態性高血圧と診断した。降圧薬を服用している患者はいなかった。患者本人または保護者に同意を得た上で ABPM を行った。ABPM は入院患者 106 名, 外来患者 100 名 (うち登校日 25 名, 休日 75 名) で行った。

随時血圧は水銀血圧計を用いた聴診法で医師が測定した。異なる機会に 3 回以上測定した値を平均した。収縮期血圧または拡張期血圧のどちらかが Second Task Force の年齢別, 性別の 95 パーセンタイル値以上である場合を高血圧と判定した<sup>10)</sup>。ただし 19 歳以上では, 収縮期血圧 140 mmHg 以上または拡張期血圧 90 mmHg 以上を高血圧と判定した。

ABPM には, 携帯型自動血圧計 TM-2421 (A&D 社製) を用いた。この携帯型自動血圧計はコトコフ音法とオッシロメトリック法を併用しており, その信頼性は過去に確認されている<sup>11)</sup>。予備的検討ではコトコフ音法測定値とオッシロメトリック法測定値の相関は 1:1 であった。本研究ではコトコフ音法測定値にオッシロメトリック法測定値を補填した結果を使用した。8-20 時は 30 分毎, 20-8 時は 60 分毎に測定した。すべての対象において測定成功率は 90% 以上であった。24 時間の平均値および被験者の行動記録表を用い, 昼間の自由行動下平均血圧 (昼間平均血圧) と血圧夜/昼比を算出した。随時血圧から昼間平均血圧を引いた値を白衣効果と定義した。自由行動下平均血圧の判定は以下のように行った。すなわち 15 歳以下では昼間平均血圧の収縮期血圧または拡張期血圧のどちらかが Soergel らの報告値の年齢別, 性別の 95 パーセンタイル値以上を高血圧とした<sup>8)</sup>。16 歳以上では収縮期血圧 135 mmHg 以上または拡張期血圧 85 mmHg 以上を高血圧と判定した。随時血圧が高血圧で昼間平均血圧が正常と判定された者を白衣高血圧と定義した。また随時血圧が正常血圧で昼間平均血圧が高血圧と判定された者を仮面高血圧と定義した。

## 統計処理

本文中の数値および図表中の表示は, 平均値 (標準偏

差) で記載した。独立した群の比較は t-検定, Fisher の直接確率法を用いた。2 変量間の相関はピアソンの積率相関係数を用いて検討し, 危険率 5% 以下の場合を統計学的に有意とした。

## 結果

対象者のデータを第 1 表に示す。年齢別 (6-15 歳, 16-25 歳), 性別に分類した正常血圧群と高血圧群間で, 年齢, 身長, 統計学的有意差はなかった。6-15 歳の高血圧群の体重は男女ともに正常血圧群に比し有意に高値であった<sup>12)</sup>。

### 1. 白衣効果, 白衣高血圧

白衣効果 (随時血圧-昼間平均血圧) と随時血圧との関係を対象 206 名において検討した。収縮期血圧, 拡張期血圧ともに, 随時血圧と白衣効果に有意な相関が認められた (第 1 図)。これは随時血圧が高いほど白衣効果が多く, またその程度が大きくなることを示唆する。年齢, 性別で補正した重回帰分析によっても白衣効果は随時血圧と有意に関連する ( $p < 0.0001$ ) ことが示された。次に 10 mmHg 以上の白衣効果の頻度を血圧群別に検討した (第 2 表)。随意時血圧高血圧患者では 50% (70 名中 35 名) であり, 正常血圧者 (25%, 136 名中 34 名) に比し有意に多い結果であった ( $p < 0.0001$ )。10 mmHg 以上の白衣効果を年齢別に比較すると, 正常血圧者では低年齢群 (6-15 歳, 19%) に比し高年齢群 (16-25 歳, 42%) で有意に多くみられたが ( $p < 0.01$ ), 高血圧者では両群に差を認めなかった (50% vs. 50%)。

次に白衣高血圧の頻度を検討した。随時血圧で高血圧と判定された 70 名中 47% (33 名) が白衣高血圧であった (第 3 表)。70 名 (男性 48 名, 女性 22 名, 6-24 歳,  $14.0 \pm 4.7$  歳) 中 35 名は高血圧の原因となり得る疾患を有さず (本態性高血圧), 35 名は有していた (二次性高血圧, 腎疾患 25 名, 心疾患 7 名, 内分泌疾患 3 名)。白衣高血圧の頻度は本態性高血圧患者では 57% (35 名中 20 名) と, 二次性高血圧患者の 37% (35 名中 13 名) に比し高い傾向がみられたが, 統計学的有意差はなかった。年齢別, 性別各群間で比較しても本態性高血圧患者と二次性高血圧患者間に白衣高血圧の有意な頻度差はなかったが, 二次性高血圧群の女性に男性に比較し多い傾向がみられた (6-15 歳, 60% vs. 38%; 16-25 歳, 40% vs. 22%)。収縮期血圧のみの高血圧 (孤立性収縮期高血圧) を呈した者 42 名中の白衣高血圧の頻度は 50% (21 名) であった。拡張期血圧のみ高血圧である患



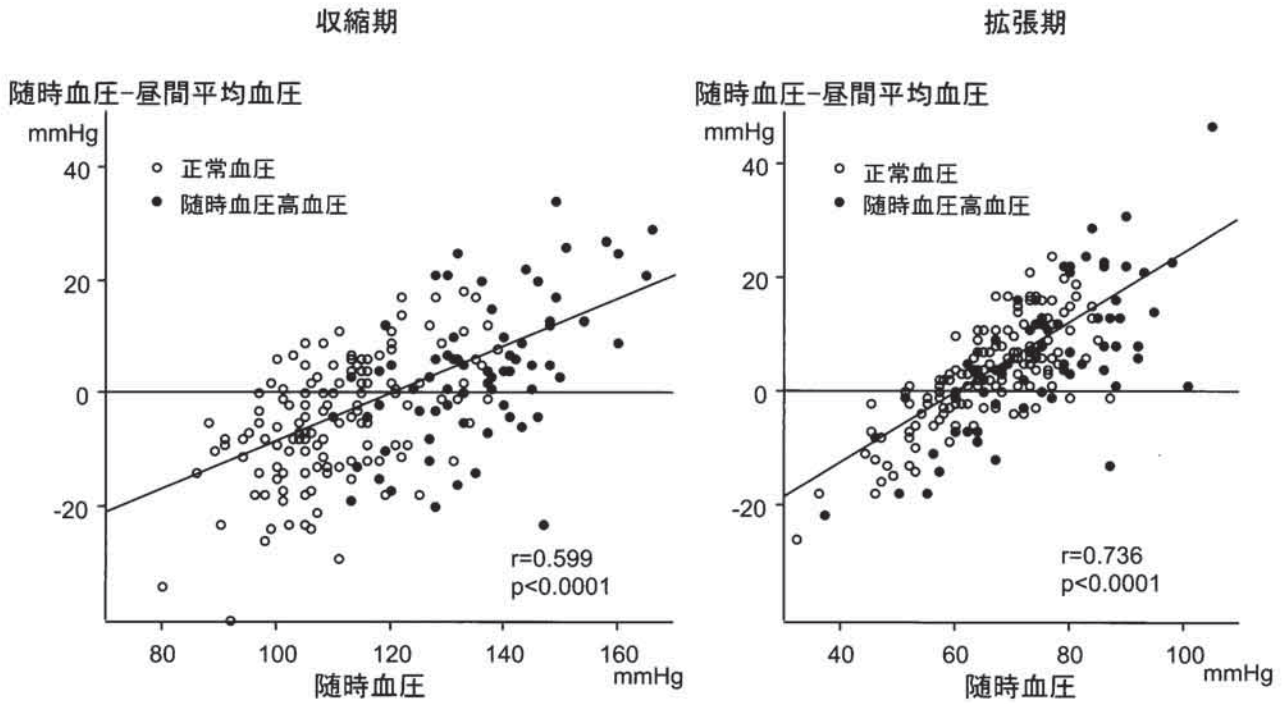
第1表 対象の原疾患、年齢、性、身長、体重、血圧

	正常血圧						高血圧					
	6-15歳		16-25歳		6-15歳		16-25歳		6-15歳		16-25歳	
	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性
n	46	57	13	20	37	13	13	37	13	11	9	
原疾患	該当せず	該当せず	該当せず	該当せず	該当せず	該当せず	該当せず	該当せず	該当せず	該当せず	該当せず	
腎					10	3	8	10	3	8	4	
内分泌					2	0	0	2	0	0	1	
心					4	2	1	4	2	1	0	
なし(本態性)					21	8	2	21	8	2	4	
年齢(歳)	10.6 (2.6)	11.1 (2.6)	20.5 (2.8)	19.8 (2.0)	11.8 (2.7)	11.1 (3.6)	19.6 (2.2)	11.8 (2.7)	11.1 (3.6)	19.6 (2.2)	20.4 (2.6)	
身長(cm)	144.6 (17.0)	141.7 (15.0)	171.8 (6.7)	159.2 (6.3)	150.0 (17.2)	141.5 (23.2)	170.5 (5.7)	150.0 (17.2)	141.5 (23.2)	170.5 (5.7)	157.8 (5.1)	
体重(kg)	39.1 (15.0)	36.1 (11.1)	63.9 (8.8)	53.9 (6.4)	46.9*(18.3)	46.5*(28.2)	61.2 (7.1)	46.9*(18.3)	46.5*(28.2)	61.2 (7.1)	49.2 (5.7)	
随時血圧(mmHg)												
収縮期	109.7 (8.6)	104.6 (9.9)	131.8 (6.4)	113.2 (11.4)	135.8*(13.0)	124.5*(8.9)	140.7*(7.3)	135.8*(13.0)	124.5*(8.9)	140.7*(7.3)	135.3*(12.4)	
拡張期	65.0 (9.4)	61.6 (10.0)	74.0 (7.8)	72.4 (9.5)	72.0*(12.8)	76.5*(14.9)	73.0 (9.2)	72.0*(12.8)	76.5*(14.9)	73.0 (9.2)	88.4*(10.8)	
24時間平均血圧(mmHg)												
収縮期	113.1 (10.1)	107.1 (8.3)	126.7 (9.2)	111.7 (9.7)	128.5*(12.2)	123.3*(10.7)	134.2*(8.1)	128.5*(12.2)	123.3*(10.7)	134.2*(8.1)	127.2*(13.1)	
拡張期	61.8 (5.7)	58.3 (5.4)	64.1 (7.2)	65.9 (8.2)	64.7 (9.9)	66.9*(7.8)	68.0 (7.8)	64.7 (9.9)	66.9*(7.8)	68.0 (7.8)	75.7*(13.5)	
昼間平均血圧(mmHg)												
収縮期	116.0 (10.1)	110.5 (9.6)	129.6 (10.4)	114.3 (10.1)	132.2*(10.6)	125.6*(10.6)	137.5*(6.6)	132.2*(10.6)	125.6*(10.6)	137.5*(6.6)	129.1*(13.2)	
拡張期	62.8 (5.1)	59.6 (6.0)	65.0 (8.3)	66.9 (8.1)	66.6*(9.5)	67.2*(8.3)	70.3 (8.0)	66.6*(9.5)	67.2*(8.3)	70.3 (8.0)	75.3*(12.5)	

年齢、身長、体重、血圧の数字は平均値を、( )内の数字は標準偏差を表す

\*P<0.05、同性、同年齢の正常血圧者と比較して

(Matsuoka et al: Pediatr Nephrol 17: 950-953, 2002のTable 1を、許可を得て転載)



第1図 随時血圧-昼間平均血圧と随時血圧の相関  
 収縮期血圧、拡張期血圧ともに随時血圧-昼間平均血圧と随時血圧は相関を示した。  
 (Matsuoka et al : Pediatr Nephrol 17 : 950-953, 2002 の Fig. 1 を、許可を得て転載)

第2表 10 mmHg 以上の白衣効果の頻度

	正常血圧	随時血圧高血圧
総数	25% (34/136)	50%*(35/70)
6-15 歳	19% (20/103)	50%*(24/48)
16-25 歳	42%** (14/ 33)	50% (11/22)

白衣効果は随時血圧-昼間平均血圧と定義する  
 ( ), 人数

\*P<0.0001, 正常血圧と比較して

\*\*P<0.01, 6-15 歳と比較して

(Matsuoka et al : Pediatr Nephrol 17 : 950-953, 2002 の Table 2 を、許可を得て転載)

第3表 白衣高血圧の原因別、年齢別、性別頻度

白衣高血圧 47% (33/70)							
本態性 57% (20/35)				二次性 37% (13/35)			
6-15 歳		16-25 歳		6-15 歳		16-25 歳	
男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性
62%	50%	50%	50%	38%	60%	22%	40%
(13/21)	(4/8)	(1/2)	(2/4)	(6/16)	(3/5)	(2/9)	(2/5)

( ), 人数

(Matsuoka et al : Pediatr Nephrol 17 : 950-953, 2002 の Table 3 を、許可を得て転載)

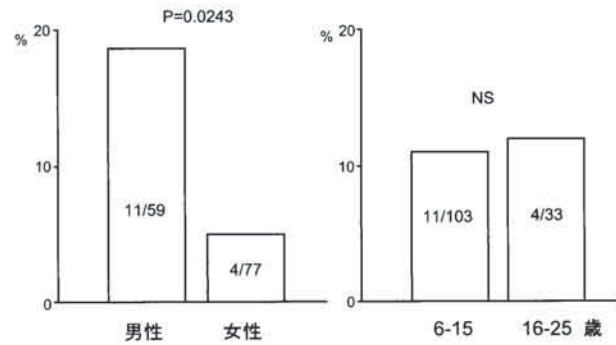


者の白衣高血圧の頻度は60%（10名中6名），収縮期圧，拡張期圧とも高血圧である患者の頻度は33%（18名中6名）であり，3群間の白衣高血圧の頻度差はなかった。

白衣高血圧患者11名（男性8名，女性3名，年齢6-20歳，中央値15歳，本態性6名，二次性5名）を治療せずに経過観察し，平均2.8年後に再評価した，8名（本態性4名，二次性4名）が正常血圧，1名（本態性）が白衣高血圧，2名（本態性，二次性各1名）が持続性高血圧であった。追跡期間中に高血圧性眼底変化，ミクロアルブミン尿，心エコー上心室壁肥大を呈した者はいなかった。

## 2. 仮面高血圧<sup>13)</sup>

正常血圧136名中仮面高血圧は15名（11%）であった。健康者15名中1名が仮面高血圧であった（7%）。残り14名の仮面高血圧者の内訳は，糖尿病性腎症3名（全3名中），肥満児2名（全6名中），起立性調節障害2名（全10名中），ネフローゼ症候群（ステロイド剤投与中）1名（ネフローゼ症候群全2名中），喘息1名（全10名中），大動脈縮窄術後1名（全1名），ファロー四徴1名（全1名），メニンギスマスの回復期1名（全1名）であった（第4表）。性別を比較すると，男性11名（19%），女性4名（5%）と男性に有意に多かった（第2図）。年齢群別の比較では，6-15歳103名中11



第2図 仮面高血圧の性別，年齢別頻度

仮面高血圧は男性に有意に多かったが年齢差は認めなかった。カラム内の数字は人数を表す。NS，有意差なし。

(Matsuoka et al : *Pediatr Nephrol* 19 : 651-654, 2004 の Fig. 1 を，許可を得て転載)

名（11%），16-25歳33名中4名（12%）と差はみられなかった（第2図）。

仮面高血圧群と正常血圧群間で，年齢，身長，随時血圧，血圧夜/昼比に差は認められなかった（第5表）。仮面高血圧群の体重が多い傾向があったが，統計学的有意差には至らなかった。仮面高血圧15名の血圧夜/昼比は，収縮期 $0.93 \pm 0.06$ ，拡張期 $0.93 \pm 0.09$ であり，正常血圧121名の収縮期 $0.92 \pm 0.07$ ，拡張期 $0.92 \pm 0.08$ と比較し差がなかった。

ABPMによる高血圧の判定を24時間平均血圧で行

第4表 仮面高血圧15人の原疾患，年齢，性，血圧，血圧昼/夜比

	年齢 (歳)	性別	随時血圧 (mmHg)	昼間平均血圧 (mmHg)	血圧夜/昼比
糖尿病性腎症					
1	13	男性	113/53	124/70	0.93/0.88
2	19	女性	136/87	131/86	1.00/0.93
3	25	男性	125/72	136/72	0.79/0.75
肥満					
1	11	男性	119/75	140/69	1.06/0.99
2	15	男性	122/78	132/71	0.96/1.03
起立性調節障害					
1	12	男性	121/70	124/70	0.87/0.82
2	13	男性	123/77	130/61	0.97/1.03
ネフローゼ症候群	6	男性	106/71	126/54	0.89/0.88
てんかん	24	男性	134/78	136/70	0.98/0.97
喘息	8	男性	105/60	124/67	0.91/1.00
健常	9	女性	113/73	120/65	0.86/0.93
神経性食欲不振症	13	女性	118/76	127/70	0.92/0.85
大動脈縮窄術後	10	女性	105/62	121/62	0.94/1.03
ファロー四徴	17	男性	131/81	142/62	0.97/0.97
メニンギスマス	6	男性	107/71	125/65	0.94/1.00

(Matsuoka et al : *Pediatr Nephrol* 19 : 651-654, 2004 の Table 3 を，許可を得て転載)

第5表 仮面高血圧者の年齢, 性, 体重, 身長, 随時血圧, 血圧夜/昼比

	6-15歳				16-25歳			
	男性		女性		男性		女性	
	正常	仮面	正常	仮面	正常	仮面	正常	仮面
n	38	8	54	3	10	3	19	1
年齢(歳)	10.6 (2.6)	10.5 (3.4)	11.2 (2.7)	10.7 (2.1)	20.1 (2.2)	22.0 (4.4)	19.8 (2.1)	19
身長(cm)	144.1 (15.2)	147.4 (26.6)	141.6 (15.0)	146.0 (19.7)	172.0 (4.3)	171.4 (13.3)	159.3 (6.5)	158.7
体重(kg)	38.0 (12.8)	44.8 (24.9)	36.0 (11.2)	40.7 (9.2)	63.1 (8.9)	66.4 (9.8)	53.1 (5.4)	69.0
随時血圧(mmHg)								
収縮期	108.7 (8.6)	114.5 (7.7)	104.2 (10.0)	112.0 (6.6)	132.3 (6.9)	130.0 (4.6)	111.9 (10.3)	136
拡張期	64.1 (9.5)	69.4 (8.7)	61.1 (10.0)	70.3 (7.4)	73.1 (8.5)	77.0 (4.6)	71.6 (9.0)	87
血圧 夜/昼比								
収縮期	0.91 (0.07)	0.94 (0.06)	0.92 (0.08)	0.91 (0.04)	0.93 (0.07)	0.90 (0.10)	0.93 (0.06)	1.00
拡張期	0.92 (0.07)	0.94 (0.08)	0.93 (0.08)	0.94 (0.09)	0.92 (0.11)	0.85 (0.11)	0.92 (0.06)	0.93

仮面, 仮面高血圧

正常, 正常血圧

年齢, 身長, 体重, 血圧の数字は平均値を, ( ) 内の数字は標準偏差を表す

(Matsuoka et al : Pediatr Nephrol 19 : 651-654, 2004 の Table 2 を, 許可を得て転載)

うと, 仮面高血圧 17 名, 正常血圧 119 名となった。この場合の仮面高血圧の血圧夜/昼比は, 収縮期  $0.92 \pm 0.07$ , 拡張期  $0.93 \pm 0.08$  であり, 正常血圧と比較し差がなかった。また随時血圧正常 136 名中夜間平均血圧高血圧は 29 名おり, 腎疾患 7 名 (全 26 名中), 起立性調節障害 4 名 (全 10 名中), 心疾患 3 名 (全 4 名中), 神経性食思不振症 2 名 (全 16 名中) であった。糖尿病性腎症の全 3 名中 2 名が夜間高血圧であった。

## 考 察

小児においても白衣効果が存在する可能性は以前から示唆されていた。すなわち Hornsby らは随時血圧正常児の随時血圧と 24 時間平均血圧の差は平均 3 mmHg であるのに対し, 随時血圧高血圧児の中に平均 10 mmHg の差を示す, すなわち白衣効果を示すサブグループが存在することを報告している<sup>6)</sup>。また Nishibata らは高校生を対象とした研究において正常血圧者においても高血圧者においても随時血圧が昼間血圧平均値より高い傾向があることを報告している<sup>7)</sup>。これらの論文が出版された時点では小児における 24 時間平均血圧, 昼間平均血圧の標準値が報告されておらず, 白衣効果の存在

は示されたものの白衣高血圧の診断は不可能であった。著者らは 1999 年に初めて小児における白衣高血圧症例 2 例を報告したが<sup>9)</sup>, 今回の研究により小児における白衣高血圧の存在がより大きな規模で示された。

本研究はまず随時血圧-昼間平均血圧を白衣効果と定義し, 随時血圧と白衣効果が相関することを明らかにした (第 1 図)。これは随時血圧が高いほど白衣効果の頻度および程度が大きくなることを示唆する。正常血圧者, 特に低年齢児において白衣効果が陰性となること, すなわち随時血圧より平均血圧が高いことは過去に報告されている<sup>5)</sup>。これは低年齢児の身体活動度が高いこと, もしくは血圧の絶対値が低いことに由来すると推測されていた<sup>5)</sup>。本研究は 10 mmHg 以上の白衣効果の頻度は正常血圧群においては低年齢群 (6-15 歳) より高年齢群 (16-25 歳) に多いが, 高血圧群では年齢による差はないことを明らかにした (第 2 表)。この結果は, 白衣効果は年齢や身体活動度によるというより血圧の絶対値が高いことに由来することを示唆する。成人における白衣高血圧の頻度は報告により 11% から 57% とばらつきがあるが<sup>14-16)</sup>, その理由の一つとして診断基準の違いがあげられる。白衣高血圧の定義の自由行動下血圧に 24 時間平均血圧を用いる場合と, 昼間平均血圧を用いる場合



があるが，本研究は後者を用いた．その理由は<sup>1)</sup>白衣効果の機序として想定されている交感神経系の亢進が夜間には起こりにくいと思われること<sup>2)</sup>，夜間には約10%血圧が下降するが（夜間血圧低下）これと白衣効果との関連が明らかでないこと，である．この定義を用いた小児高血圧患者の白衣高血圧の頻度は47%であり，成人において報告されている範囲内の値であった．本研究遂行中に Sorof らは小児における白衣高血圧の頻度を45%と報告した<sup>17)</sup>．彼らは高血圧外来に紹介された患者を対象とし，白衣高血圧の定義に24時間平均血圧を用いている．一方，Bald らは編集者への私信において本態性高血圧患者における白衣高血圧の頻度を60%と報告している<sup>18)</sup>．彼らが白衣高血圧の定義に24時間平均血圧と昼間平均血圧のどちらを用いたのかは記載されていない．本研究における全高血圧患者および本態性高血圧患者における白衣高血圧の頻度と Sorof, Bald の頻度はほぼ等しい．

本研究のもうひとつの重要な成果は二次性高血圧にも白衣高血圧が存在することを明らかにした点である．成人における白衣高血圧の研究はほとんどが一般住民および本態性高血圧患者を対象としており，二次性高血圧患者における研究は存在しない．インスリン非依存性糖尿病患者を対象にした成人の研究では腎症を有する患者の白衣高血圧の頻度は腎症を有さない患者ないし本態性高血圧患者に比し少なかった<sup>19)</sup>．本研究における二次性高血圧患者の白衣高血圧頻度は37%と本態性高血圧患者の57%に比し少なかったが，統計学的有意差はなかった．この結果から，白衣高血圧と診断された場合にも少なくとも最低限の高血圧の原因精査が必要であることが示唆される．

白衣高血圧は成人では年長者と女性に多いと報告されている<sup>20, 21)</sup>．本研究では，本態性高血圧群においても二次性高血圧群においても年齢や性別による白衣高血圧の頻度差は認められなかった．しかし二次性高血圧群の女性においては白衣高血圧が多い傾向が認められた．また成人における研究では孤立性収縮期高血圧に白衣高血圧の頻度が高いという報告がある<sup>22)</sup>．本研究における孤立性収縮期高血圧患者の白衣高血圧の頻度は50%であった．これは拡張期のみ高血圧である患者（60%）や収縮期・拡張期ともに高血圧である患者における白衣高血圧の頻度（33%）と比較して有意差がなく，成人と異なる結果であった．本研究の各群における症例数は少ないため，症例数の増加により有意差が生じる可能性は否定できない．

成人においては白衣高血圧は比較的前後良好な状態と

考えられている．疫学的に，心肥大，頸動脈肥厚，ミクロアルブミン尿症，脳心血管系疾患などの標的臓器障害は白衣高血圧では持続的高血圧と比較し少ないと報告されている<sup>23, 25)</sup>．しかし標的臓器障害をもつ白衣高血圧者は個々には存在する．Verdecchia らは，心血管疾患合併症のハイリスク者を同定するために白衣高血圧の定義をもっと厳しくする，すなわち自由行動下血圧の正常上限値を下げるべきであると主張している<sup>26)</sup>．小児における長期追跡データが存在しない現時点においては，白衣高血圧者には臓器障害の定期的検査が必要と考えられる．本研究における少数の白衣高血圧患者の限られた期間の追跡では眼底，尿ミクロアルブミン，心筋壁厚の変化は認められなかった．小児期の臓器障害の適切な指標の模索も必要であり，白衣高血圧小児の長期予後は将来の検討課題である．また Bidlingmeyer らの成人における報告によると，白衣高血圧患者の75%が5-6年後に持続的高血圧を発症している<sup>27)</sup>．すなわち白衣高血圧が持続性高血圧の前段階である可能性が示唆される．これは小児，青年期患者診療においては特に重要な意味を持つ．本研究においても白衣高血圧患者11名のうち2名が持続的高血圧へ移行していた．

本研究はまた小児にも仮面高血圧が存在することを初めて明らかにした．その頻度は11%であった．対象の多くは基礎疾患を有しており，健康小児における頻度は異なる可能性がある．本研究の健康者15名中仮面高血圧は1名で，これを外挿すると健康小児における仮面高血圧の頻度は7%となる．成人の仮面高血圧の頻度は9%から23%と幅広い値が報告されている<sup>28-32)</sup>．報告値のばらつきは対象（一般住民または外来高血圧患者）および仮面高血圧の定義の差（自由行動下血圧に昼間平均血圧を用いるか24時間平均血圧を用いるか）によると考えられる．ばらつきの少ない一般人口を対象とした研究における仮面高血圧の頻度は9-14%である<sup>26, 27, 30)</sup>．本研究終了後に Lurbe らは健康診断のため受診した小児（6-18歳）における仮面高血圧の頻度を7.6%と報告している<sup>33)</sup>．さらに最近，Stabouli らは高血圧外来に紹介され二次性高血圧が否定された小児における仮面高血圧の頻度を9.4%と報告した<sup>34)</sup>．どちらも本研究の結果と一致する値である．

成人においては，仮面高血圧は男性，高齢者，肥満者，喫煙者，飲酒者，高血圧治療歴を有する者に多いと報告されている<sup>30, 31, 35)</sup>．小児においても男児に有意に多いことが本研究により示された．この理由として，高血圧が男性に多い事実が仮面高血圧においても反映されていると考えられる<sup>36)</sup>．一方，Lurbe らおよび Stabouli らの



小児における検討では仮面高血圧の男女差は認められていない<sup>33, 34)</sup>。この理由として対象の差が考えられる。すなわち本研究の仮面高血圧者は主に原疾患を有する小児でありLurbe, Stabouliらは有さない小児を対象としている。また人種差が関与する可能性も考えられる。本研究においても成人と同様に仮面高血圧患者の体重は正常血圧者に比し多い傾向を認めた。Lurbeらも同様の報告をしている<sup>33)</sup>。対象数を増やせば統計学的有意差が得られると考えられる。小児肥満が成人における脳心血管疾患の危険因子であることが明らかになっており<sup>37)</sup>、これらの疾患の家族歴のある肥満児には24時間血圧測定が望ましいと考えられる。

仮面高血圧の重要性は正常血圧者に比し臓器障害のリスクが高いことにある。すなわちLiuら, Segalらは仮面高血圧者における左室肥大, 頸動脈動脈硬化は高血圧者と同程度であると報告している<sup>31, 38)</sup>。血圧の日内変動は、標的臓器障害のある患者では減少または消失することが知られている<sup>23)</sup>。仮面高血圧に脳心血管合併症が多いことから、仮面高血圧患者では血圧日内変動が減少している可能性がある。また仮面高血圧の一因として早朝高血圧が想定されている<sup>39)</sup>。本研究は日内変動の指標として血圧夜/昼比を用い検討したが、仮面高血圧患者と正常血圧者間に血圧夜/昼比の差は認められなかった。

本研究の仮面高血圧患者に血圧夜/昼比の上昇は認められなかったが、糖尿病性腎症, 起立性調節障害, 神経性食思不振症, ステロイド剤投与中のネフローゼ症候群など血圧日内変動が減少する疾患が多くみられた<sup>40-42)</sup>。特に糖尿病性腎症患者3名全員が仮面高血圧と判定されたことは注目すべきである。糖尿病は標的臓器障害のリスクを高めるので、糖尿病性腎症患者には大規模に仮面高血圧の調査をすることが必要と考えられる。

本研究の特徴は正常血圧者も高血圧者も heterogeneousな集団であるということである。すなわち健常者も若干含まれるものの主に異なる原疾患からなる患者を対象としている。日常の診療では雑多な疾患の集団が対象であるから、これら患者群における白衣効果, 白衣高血圧, 仮面高血圧の頻度, 特徴を知ることが臨床的に有用と考えられる。同様な集団を対象としたSorofらは、学校検診で発見された小児高血圧患者と一次診療で発見され紹介された小児高血圧患者を比較し、統計学的有意差がないことを報告し、患者を対象とした研究の妥当性を主張している<sup>43)</sup>。一方、正常血圧対照群として健常者が望ましいとは必ずしも言えない。腎疾患, 内分泌疾患では血圧の高低にかかわらず血圧日内変動が異常を呈することがある。したがって本研究のように高血圧の原因

が heterogeneous である場合は対照群も健常者よりこれらの患者の方がより適していると考えられる。

## 総 括

小児科の外来および入院患者を対象に、小児、青年期における1) 白衣効果, 白衣高血圧の頻度, 特徴, 2) 仮面高血圧の頻度, 特徴を検討し以下の結果を得た。

1. 白衣効果(随時血圧-昼間平均血圧)と随時血圧には相関がみられた。
2. 10 mmHg以上の白衣効果は正常血圧者に比し高血圧者に多くみられた(50% vs 25%)。
3. 小児, 青年期における白衣高血圧の頻度は47%であった。
4. 白衣高血圧の年齢, 性別, 高血圧の原因(本態性または二次性)による頻度差はなかった。
5. 小児, 青年期における仮面高血圧の頻度は11%であった。
6. 仮面高血圧の頻度は男性に有意に多く, 年齢差はなかった。
7. 仮面高血圧は糖尿病性腎症, 肥満, 起立性低血圧など血圧日内変動の減少をきたす疾患に多くみられた。

稿を終えるにあたり、本研究に際しご指導ご校閲を賜りました慶應義塾大学医学部小児科学教室高橋孝雄教授に深甚なる謝意を表します。また直接御指導, 御鞭撻をいただきました慶應義塾大学医学部小児科学教室栗津緑講師に深謝致します。さらに本研究に多大なご協力をいただきました東京都清瀬小児病院腎内科本田雅敬先生(現同院副院長), 川村研先生(現聖隷佐倉市民病院小児科)に厚く感謝いたします。

本論文は Matsuoka S, Kawamura K, Honda M, Awazu M: White coat effect and white coat hypertension in pediatric patients. *Pediatr Nephrol* 17: 950-953, 2002 の一部および Matsuoka S, Awazu M: Masked hypertension in children and young adults. *Pediatr Nephrol* 19: 651-654, 2004 の一部を含む。

## 文 献

- 1) Pickering TG: White coat hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 5: 192-198, 1996
- 2) Verdecchia P: Prognostic value of ambulatory blood pressure: current evidence and clinical implications. *Hypertension* 35: 844-851, 2000
- 3) Bjorklund K, Lind L, Zethelius B, Andren B, Lithell



- H : Isolated ambulatory hypertension predicts cardiovascular morbidity in elderly men. *Circulation* 107 : 1297-1302, 2003
- 4) Portman RJ, Yetman RJ, West MS : Efficacy of 24-hour ambulatory blood pressure monitoring in children. *Pediatr* 118 : 842-849, 1991
  - 5) Lurbe E, Redon J, Liao Y, Tacons J, Cooper RS, Alvarez V : Ambulatory blood pressure monitoring in normotensive children. *J Hypertens* 12 : 1417-1423, 1994
  - 6) Hornsby JL, Mongan PF, Taylor AT, Treiber FA : 'White coat' hypertension in children. *J Fam Pract* 3 : 617-623, 1991
  - 7) Nishibata K, Nagashima M, Tsuji A, Hasegawa S, Nagai N, Goto M, Hayashi H : Comparison of casual blood pressure and twenty-four-hour ambulatory blood pressure in high school students. *J Pediatr* 7 : 34-39, 1995
  - 8) Soergel M, Kirschstein M, Busch C, Danne T, Gellermann J, Holl R, Krull F, Reichert H, Reusz GS, Rascher W : Oscillometric twenty-four-hour ambulatory blood pressure values in healthy children and adolescents: a multicenter trial including 1141 subjects. *J Pediatr* 130 : 178-184, 1997
  - 9) Yamaguchi Y, Awazu M, Matsuoka S, Maeda J, Tokumura M, Kojima Y, Matsuo N : White coat hypertension in two adolescents. *Pediatr Nephrol* 13 : 60-62, 1999
  - 10) Report of the Second Task Force on Blood Pressure Control in Children-1987 : Task Force on Blood Pressure Control in Children. National Heart, Lung, and Blood Institute, Bethesda, Maryland. *Pediatrics* 79 : 1-25, 1987
  - 11) Imai Y, Sasaki S, Minami N, Munakata M, Hashimoto J, Sakuma H, Sakuma M, Watanabe N, Imai K, Sekino H, Abe K : The accuracy and performance of the A&D TM 2421, a new ambulatory blood pressure monitoring device based on the cuff-oscillometric method and the Korotkoff sound technique. *Am J Hypertens* 5 : 719-726, 1992
  - 12) Matsuoka S, Kawamura K, Honda M, Awazu M : White coat effect and white coat hypertension in pediatric patients. *Pediatr Nephrol* 17 : 950-953, 2002
  - 13) Matsuoka S, Awazu M : Masked hypertension in children and young adults. *Pediatr Nephrol* 19 : 651-654, 2004
  - 14) Pickering TG, James GD, Boddie C, Harshfield GA, Blank S, Laragh JH : How common is white coat hypertension? *JAMA* 259 : 225-228, 1988
  - 15) Owens P, Lyons S, O'Brien E : Ambulatory blood pressure in the hypertensive population: patterns and prevalence of hypertensive subforms. *J Hypertens* 16 : 1735-1743, 1998
  - 16) Aihara A, Imai Y, Sekino M, Kato J, Ito S, Ohkubo T, Tsuji I, Satoh H, Hisamichi S, Nagai K : Discrepancy between screening blood pressure and ambulatory blood pressure: a community-based study in Ohasama. *Hypertens Res* 21 : 127-136, 1998
  - 17) Sorof JM, Portman RJ : White coat hypertension in children with elevated casual blood pressure. *J Pediatr* 137 : 493-497, 2000
  - 18) Bald M, Buscher R, Eilmes KJ, Hoyer PF : Ambulatory blood pressure monitoring for evaluation of hypertension in children. *Pediatr Nephrol* 13 : 996-997, 1999
  - 19) Nielsen FS, Gaede P, Vedel P, Pedersen O, Parving HH : White coat hypertension in NIDDM patients with and without incipient and overt diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 20 : 859-863, 1997
  - 20) Pickering TG, Coats A, Mallion JM, Mancia G, Verdecchia P : Blood Pressure Monitoring. Task force V : White-coat hypertension. *Blood Press Monit* 4 : 333-341, 1999
  - 21) Myers MG, Reeves RA : White coat effect in treated hypertensive patients : sex differences. *J Hum Hypertens* 9 : 729-733, 1995
  - 22) Inden Y, Tsuda M, Hayashi H, Takezawa H, Iino S, Kondo T, Yoshida Y, Akahoshi M, Terasawa M, Itoh T, Saito H, Hirai M : Relationship between Joint National Committee-VI classification of hypertension and ambulatory blood pressure in patients with hypertension diagnosed by casual blood pressure. *Clin Cardiol* 21 : 801-806, 1998
  - 23) Verdecchia P, Porcellati C, Schillaci G, Borgioni C, Ciucci A, Battistelli M, Guerrieri M, Gatteschi C, Zampi I, Santucci A, Santucci C, Reboldi G : Ambulatory blood pressure. An independent predictor of prognosis in essential hypertension. *Hypertension* 24 : 793-801, 1994
  - 24) Khattar RS, Swales JD, Banfield A, Dore C, Senior R, Lahiri A : Prediction of coronary and cerebrovascular morbidity and mortality by direct continuous ambulatory blood pressure monitoring in essential hypertension. *Circulation* 100 : 1071-1076, 1999
  - 25) Hoegholm A, Bang LE, Kristensen KS, Nielsen JW, Holm J : Microalbuminuria in 411 untreated individuals with established hypertension, whitecoat hypertension, and normotension. *Hypertension* 24 : 101-105, 1994
  - 26) Verdecchia P : White-coat hypertension in adults and children. *Blood Press Monit* 4 : 175-179, 1999
  - 27) Bidlingmeyer I, Burnier M, Bidlingmeyer M, Waeber B, Brunner HR : Isolated office hypertension: a prehypertensive state? *J Hypertens* 14 : 327-332, 1996
  - 28) Sega R, Trocino G, Lanzarotti A, Carugo S, Cesana G, Schiavina R, Valagussa F, Bombelli M, Giannattasio C, Zanchetti A, Mancia G : Alterations of cardiac structure in patients with isolated office, ambulatory, or home hypertension: Data from the general population (Pressione Arteriose Monitorate E Loro



- Associazioni [PAMELA] Study). *Circulation* 104 : 1385-1392, 2001
- 29) Imai Y, Tsuji I, Nagai K, Sakuma M, Ohkubo T, Watanabe N, Ito O, Satoh H, Hisamichi S, Abe K : Ambulatory blood pressure monitoring in evaluating the prevalence of hypertension in adults in Ohasama, a rural Japanese community. *Hypertens Res* 19 : 207-19212, 1996
- 30) Selenta C, Hogan BE, Linden W : How often do office blood pressure measurements fail to identify true hypertension? An exploration of white-coat normotension. *Arch Fam Med* 9 : 533-540, 2000
- 31) Liu JE, Roman MJ, Pini R, Schwartz JE, Pickering TG, Devereux RB : Cardiac and arterial target organ damage in adults with elevated ambulatory and normal office blood pressure. *Ann Intern Med* 131 : 564-572, 1999
- 32) Bjorklund K, Lind L, Zethelius B, Andren B, Lithell H : Isolated ambulatory hypertension predicts cardiovascular morbidity in elderly men. *Circulation* 107 : 1297-302, 2003
- 33) Lurbe E, Torro I, Alvarez V, Nawrot T, Paya R, Redon J, Staessen JA : Prevalence, persistence, and clinical significance of masked hypertension in youth. *Hypertension* 45 : 493-498, 2005
- 34) Stabouli S, Kotsis V, Toumanidis S, Papamichael C, Constantopoulos A, Zakopoulos N : White-coat and masked hypertension in children: association with target-organ damage. *Pediatr Nephrol* 20 : 1151-1155, 2005
- 35) Wing LM, Brown MA, Beilin LJ, Ryan P, Reid CM; ANBP2 Management Committee and Investigators : Second Australian National Blood Pressure Study. 'Reverse white-coat hypertension' in older hypertensives. *J Hypertens* 20 : 639-644, 2002
- 36) Burt VL, Whelton P, Roccella EJ, Brown C, Cutler JA, Higgins M, Horan MJ, Labarthe D : Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991. *Hypertension* 25 : 305-313, 1995
- 37) Bao W, Srinivasan SR, Valdez R, Greenlund KJ, Wattigney WA, Berenson GS : Longitudinal changes in cardiovascular risk from childhood to young adulthood in offspring of parents with coronary artery disease: the Bogalusa Heart Study. *JAMA* 278 : 1749-1754, 1997
- 38) Sega R, Trocino G, Lanzarotti A, Carugo S, Cesana G, Schiavina R, Valagussa F, Bombelli M, Giannattasio C, Zanchetti A, Mancia G : Alterations of cardiac structure in patients with isolated office, ambulatory, or home hypertension: Data from the general population (Pressione Arteriose Monitorate E Loro Associazioni [PAMELA] Study). *Circulation* 104 : 1385-1392, 2001
- 39) Chonan K, Hashimoto J, Ohkubo T, Tsuji I, Nagai K, Kikuya M, Hozawa A, Matsubara M, Suzuki M, Fujiwara T, Araki T, Satoh H, Hisamichi S, Imai Y : Insufficient duration of action of antihypertensive drugs mediates high blood pressure in the morning in hypertensive population: the Ohasama study. *Clin Exp Hypertens* 24 : 261-275, 2002
- 40) Awazu M, Matsuoka S, Kamimaki T, Watanabe H, Matsuo N : Absent circadian variation of blood pressure in patients with anorexia nervosa. *J Pediatr* 136 : 524-527, 2000
- 41) Hansen KW, Mau Pedersen M, Marshall SM, Christiansen JS, Mogensen CE : Circadian variation of blood pressure in patients with diabetic nephropathy. *Diabetologia* 35 : 1074-1079, 1992
- 42) Imai Y, Abe K, Munakata M, Sakuma H, Hashimoto J, Imai K, Sekino H, Yoshinaga K : Circadian blood pressure variations under different pathophysiological conditions. *J Hypertens Suppl* 8 : S125-132, 1990
- 43) Sorof JM, Turner J, Franco K, Portman RJ : Characteristics of hypertensive children identified by primary care referral compared with school-based screening. *J Pediatr* 144 : 485-489, 2004



学位論文

突発性難聴におけるストレス反応に関する検討

慶應義塾大学耳鼻咽喉科教室

(指導：小川 郁教授)

伊藤 まり

Key Words : sudden deafness, stress, neuropeptide Y, cochlear blood flow, Free Radical Analytical System 4

【緒 言】

突発性難聴は突然発症する高度の感音性難聴であり、明らかな原因が存在しない、または不確実なものをいう。現在有力視されている病態は内耳ウィルス感染と蝸牛血流障害であるが、複数の病態が混在している可能性も考えられている。もし突発性難聴が蝸牛血流障害のような循環障害を病態とするのであれば突発性難聴も心筋梗塞や脳梗塞などと同様にストレスや生活習慣と関連し、睡眠不足や疲労、精神的ストレスが発症リスクを高めている可能性がある<sup>1)</sup>。最近のコホート研究でも突発性難聴罹患が脳卒中発症の危険因子であることが報告されている<sup>2)</sup>。Neuserら<sup>3)</sup>、Schmittら<sup>4)</sup>は突発性難聴患者では発症時点まで持続するストレスフルイベントが多かったことを報告しており、阿部ら<sup>5)</sup>は低音障害型急性感音難聴の誘因として精神的ストレスが多かったことを報告しているように、ストレスやそれに伴う心身機能の低下が突発性難聴の発症と直接的あるいは間接的に関連している可能性がある。

蝸牛は脳底動脈の枝である前下小脳動脈(AICA)から分枝した迷路動脈、総蝸牛動脈、さらにその分枝である固有蝸牛動脈、前庭蝸牛動脈の蝸牛枝により血流を受ける<sup>6)</sup>。またこれら蝸牛に分布する血管は終末動脈であり、梗塞、塞栓、血管攣縮、動脈硬化、血管炎などで蝸牛血流(以下CBF)が遮断されると急激に内耳機能が障害され難聴が生じる<sup>7)</sup>。また蝸牛は蝸牛動脈の血管周囲や蝸牛に交感神経が分布しておりストレスによる交感神経の緊張により蝸牛血管の収縮が惹起され蝸牛機能障害を起こしやすい可能性が考えられる。以上より内耳は解剖学的にもストレス下で血流低下を来し内耳機能障

害を生じやすい構造であると考えられる。Cannonのストレス説ではストレス反応として交感神経が緊張し、交感神経終末からノルアドレナリン(以下NA)が放出され $\alpha$ 受容体を介した末梢血管の収縮が生じることが挙げられており<sup>8,9)</sup>、ストレスが大脳皮質(辺縁系)に認識されると視床下部、自律神経終末を経て交感神経終末よりノルアドレナリン以下NAが放出され蝸牛血管収縮に至る可能性が考えられる。蝸牛血管においても $\alpha$ 受容体を介した血管の収縮が起こるために、急性感音難聴を発症することが可能性が考えられる<sup>10,11)</sup>。一方、ストレス時に交感神経終末よりNAと共に放出される神経伝達物質として、ニューロペプチドY(以下NPY)が知られている<sup>12)</sup>。NPYは36のアミノ酸残基のペプチドで脳、副腎髄質および交感神経系に広範かつ豊富に存在し、多様な生理機能への関与が報告されている。NPYの主な生理作用として摂食促進作用、抗不安作用および交感神経を介した血圧調節機構が挙げられ、ストレスによる交感神経刺激で交感神経終末からの放出は増加する<sup>13,14)</sup>。現在判明している各受容体の作用として、Y5受容体は摂食行動調節作用<sup>15)</sup>、Y2受容体は血圧低下作用、心筋収縮抑制作用、冠血流低下作用に関与しているとされている<sup>16)</sup>。Y1受容体は抗不安作用を有し、ラットの寒冷ストレスでは血中NPY濃度が上昇し<sup>15)</sup>、NPYをラット脳室内に投与すると拘束ストレスによりもたらされる胃酸分泌の抑制や胃粘膜病変の減少が認められる<sup>17)</sup>。またY1受容体には血管収縮作用があり、NAによる血管収縮を遷延化する作用も有する。ストレス下ではNPYはNAと同時に放出されるが、NAによる血管収縮が急峻かつ短時間で回復期の血管拡張も急激であるのに対し、NPYはY1受容体を介した緩徐な血



管収縮の遷延化を引き起こす<sup>18)</sup>。

蝸牛における NPY 受容体の分布については明らかにされていないものの、骨ラセン板、蝸牛軸、蝸牛神経束<sup>19)</sup>、ラセン蝸牛軸動脈<sup>20, 21)</sup>、前下小脳動脈、前前庭動脈<sup>19)</sup>の血管周囲交感神経に NPY 受容体が存在する報告があり、蝸牛においてはストレス反応により放出された NPY がラセン蝸牛軸動脈に作用し CBF 減少を増強する可能性が考えられる。

近年、フリーラジカルと様々な疾患や老化との関連性が報告されている<sup>22)</sup>。内耳障害においてもその病態には共通した障害機構が存在し、一酸化窒素 (NO) や活性酸素 (ROS) をはじめとするフリーラジカルが関与しており<sup>23, 24)</sup>、感染、耳毒性薬剤、騒音などの内耳障害性の刺激によりコルチ器有毛細胞や血管条でフリーラジカルが発生することが報告されている<sup>25-26)</sup>。内耳障害に対する治療薬としては Koppe<sup>29)</sup>らが述べているように NO・ROS 消去薬を含む抗酸化薬、熱ショックプロテイン、エダラボン、グルタミン酸受容体アンタゴニスト、カルシウム拮抗薬などが挙げられるが、その詳細、特に治療効果、投与経路による効果などについては不明な点が多い。

フリーラジカルそのものは短い寿命と高い反応性のために生体内の状態を測定するのは極めて困難であるが、最近 Free Radical Analytical System 4 (Wismerll) (以下 FRAS4) による d-ROMs テスト (diacron-Reactive Oxygen Metabolites) を用いて酸化ストレス度を簡便定量的に測定できるようになった<sup>30)</sup>。このテストは生体内のフリーラジカルを直接計測するのではなく、それらにより生じた血中の種々のヒドロペルオキシド濃度を呈色反応で計測し生体内のフリーラジカルの状態を総合的に評価するものである。フリーラジカルの関与する疾患として呼吸器では慢性閉塞性肺疾患、気管支喘息、循環器では心筋梗塞、高血圧、代謝疾患では糖尿病、高脂血症などが挙げられる。Komatsu らは慢性閉塞性肺疾患症例の重症例では d-ROMs テストによる酸化ストレス度が高値であり、治療後に酸化ストレス度が減少したと報告している<sup>31)</sup>。動物実験ではマウスに熱ストレスの負荷を加えたところ、d-ROMs テストでフリーラジカルが上昇した<sup>32)</sup>。しかし、現在までのところ、突発性難聴患者におけるフリーラジカルを定量的に測定した報告はない。

今回我々は突発性難聴発症の病態では心身のストレスが高度である可能性について評価するため以下の統計と基礎実験を施行した。

1) 統計として発症2週間以内の突発性難聴患者と耳鳴

を主訴に来院した慢性感音難聴患者に対して FRAS4 (d-ROMs) を用いて測定したヒドロペルオキシドをフリーラジカルの指標とし、酸化ストレス度と表記して比較検討した。

2) 基礎実験として蝸牛においてはストレス反応により放出された NA, NPY が CBF にどのような影響を与えるか調べるためにモルモットを用いて NA 単独 NPY 単独投与群, NA, NPY 同時投与群を比較検討し、CBF に対する影響を評価し、ストレスとの関連も含めた突発性難聴の発症時の病態について臨床的および基礎的に検討した。

## 【方 法】

### (1) 突発性難聴とフリーラジカル

2006年4月より2007年3月までの1年間に当院を受診した突発性難聴13例(男性4例,女性9例)を対象とした(突発性難聴群)。また、発症から2ヶ月以上経過した慢性耳鳴または難聴21例(男性16例,女性5例)を対照とした(慢性耳鳴群)。突発性難聴群の平均年齢は54.2(±11.2)歳で、対照群は68.0(±10.5)歳であった。突発性難聴群13例の合併症は高血圧3例、糖尿病3例、高血圧と喘息を合併した1例であった。慢性耳鳴群の合併症は高血圧6例、喘息3例、高血圧、高脂血症と糖尿病を合併した症例2例、高脂血症1例、高尿酸血症1例、甲状腺疾患1例であった。他院で既に副腎皮質ステロイドによる治療を受けた症例、発症より1ヶ月以上経過した症例、突発性難聴の既往のある症例は今回の検討から除外した。また慢性耳鳴群に対して耳鳴順療法(Tinnitus Retraining Therapy)(以下TRT)を施行し、治療前後のd-ROMsテストを測定し得た11例(男性10例,女性1例)(以下TRT群)につき比較検討した。耳鳴の自覚的苦痛度および生活障害度の評価としてTHI(Tinnitus Handicap Inventory)(以下THI)を用いた。検査方法は当院初診時に指先に針(Needle BD Genie Lancet 日本ベクトンディッキンソン社)を刺し、キャピラリー(キャピラリー:採血用毛細管ストロー H&D社)で20μlの全血を採血後、酢酸緩衝液入りエッペン(DIACRON社)に混合する。さらにドライクロモゲン入りキューベット(DIACRON社)に入れFRAS4にて分光度を測定しd-ROMsデータとした。突発性難聴の治療は点滴治療の場合ではリン酸デキサメタゾン16mgより1週間の漸減治療とし、内服の場合ではプレドニゾン30mgより12日間の漸減治療を行った。また副腎皮質ステロイドに加えビタミ



ンB12剤，ATP製剤を点滴または内服で投与した．治療開始後3～4週後に再び指先からキャピラリーで20  $\mu$ lの全血を採血し，治療後のデータとした．副腎皮質ステロイドの半減期は8～54時間であり副腎皮質ステロイド終了後4～5日で副腎皮質ステロイドの影響はなくなるとされているが本検討では副腎皮質ステロイド終了後1～3週間後に採血しており治療後のデータは副腎皮質ステロイドの影響を受けていないと考えられた．なお，ビタミンB12剤，ATP製剤の影響も考慮する必要はあるが，それぞれの薬理作用からこれらの薬剤の抗酸化作用は少ないと考えた．FRAS4：d-ROMsテストの測定原理は血中のヒドロペルオキシド濃度をクロモゲン呈色反応で定量的に計測することによって生体内のフリーラジカル量の指標とするもので，d-ROMsテストの単位はU. CARR（ユニット・カール）とされる．欧州における約7000人のサンプリングの結果から測定数値が300 U. CARR以下を正常，それ以上は酸化ストレス度が高い状態を示すとされている<sup>39)</sup>．評価法として突発性難聴群では初診時と治療開始後3～4週後のd-ROMs，平均聴力を測定して治療前治療後のデータとした．TRT群では初診時と治療後のd-ROMs，THIを測定して治療前治療後のデータとして比較検討した．また突発性難聴群のd-ROMs，平均聴力を治療前後で比較検討し，初診時聴力レベルと酸化ストレス度および聴力レベルの改善度と酸化ストレス度の変化に相関があるか検討した．

検定は，突発性難聴群と慢性耳鳴群の初診時酸化ストレス度の比較にはt testを，治療前後の酸化ストレス度，THI，平均聴力の比較，初診時聴力レベルと酸化スト

レス度および聴力レベルの改善度と酸化ストレス度の変化との相関にはpaired t testを用いた．

なお今回の酸化ストレス度測定による統計は日本鋼管病院倫理委員会においても承認され，測定に際し患者からは全例文書で同意を得た．

## (2) NPYの内耳循環に対する影響

### 1. 実験動物

実験にはプライエル反射陽性のハートレー系有色モット（体重250～600g）74匹を用いた．実験動物は慶應義塾大学実験動物センター内で飼育し，実験は慶應義塾大学医学部動物実験ガイドラインに従って行った．

### 2. 実験方法

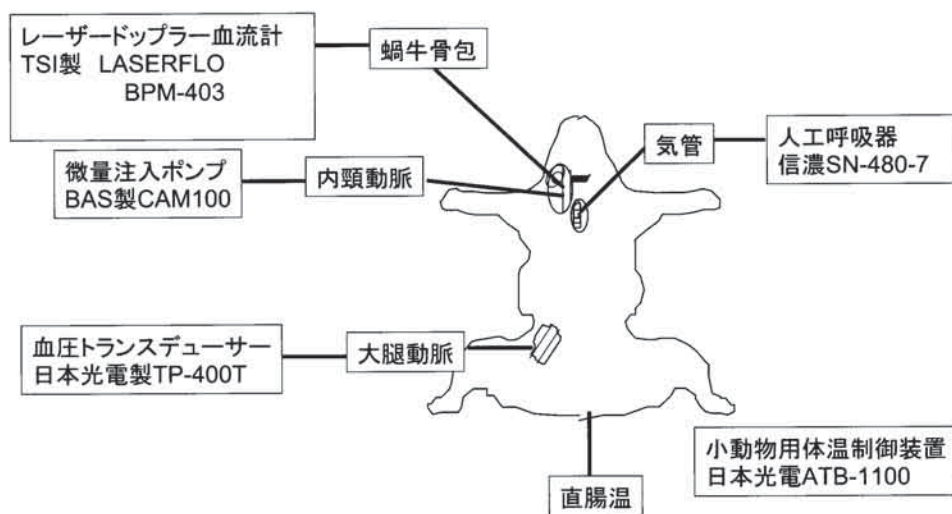
#### 2-1. 麻酔と呼吸管理

ペントバルビタール（30～40 mg/kg）腹腔内投与で麻酔し，気管切開し人工呼吸器（信濃SN-480-7）を用いて調節呼吸下（一回換気量は0.8 ml/100 g，換気数は80/min）においた後，臭化パンクロニウム（3 mg/kg）で不動化した．また，小動物用体温制御装置（日本光電ATB-1100）を用いて測定中の直腸温を38±1.0℃に維持した．

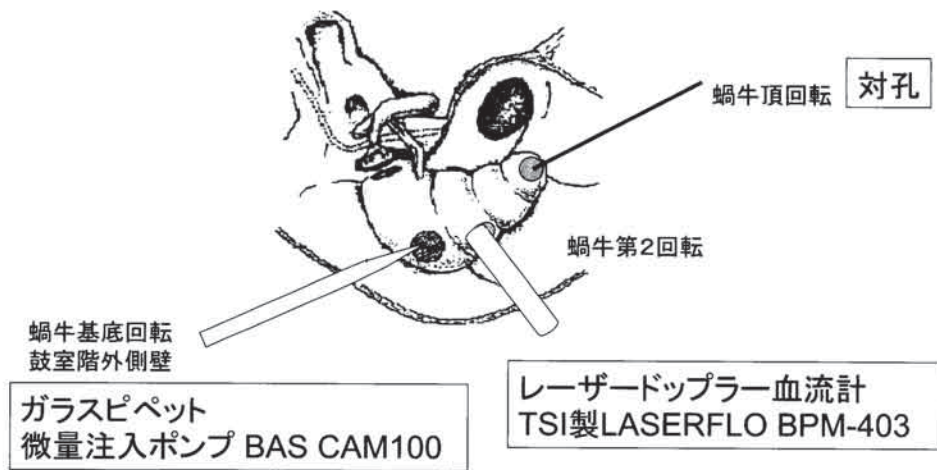
#### 2-2. 大腿動脈圧（BP）と蝸牛血流（CBF）の測定（第1図）

大腿動脈にテフロンチューブを挿入し，血圧トランスジューサー（日本光電製TP-400T）を接続して，大腿動脈圧を測定しBPの指標とした．

CBFの測定に用いたレーザードップラー血流計は近赤外線（780 nm）低出力半導体レーザーによるレーザー



第1図 実験のブロックダイアグラム



第2図 局所投与の実験モデル  
蝸牛基底回転鼓室階外側壁にガラス管を挿入し、微量注入ポンプを用いて薬剤を外リンパ灌流にて投与した。

ドップラー (LD) 血流計 (TSI 製 LASERFLO BPM-403) であり、プローブは先端径 0.8 mm のものを使用した。なお、血流測定の前平均加算時間は 5 秒とした<sup>34, 35)</sup>。Ventral approach で中耳骨胞を開放後、テフロンチューブ挿入側の蝸牛外側壁を露出し、骨壁の粘膜を除去してから、蝸牛基底回転にレーザードップラー血流計のプローブを固定し CBF を測定した (第2図)。

### 3. 薬剤投与経路

#### 3-1. 全身投与

薬剤の全身投与は左右いずれかの内頸動脈に挿入したテフロンチューブより行った。カテーテルを頭側から尾側に挿入し直接内耳血流に影響を与えないようにした。

#### 3-2. 局所投与

局所投与の方法としては、NPY (porcine) nova biochem 社) は分子量 (4256 g/mol) が大きい正円窓膜を通過しないと考え、外リンパ灌流により投与した<sup>36)</sup>。蝸牛基底回転鼓室階外側壁に 40 μm の小孔を作成し、外リンパ内にガラス管を挿入した後、頂回転外側壁に内耳圧上昇を防ぐため対孔を開け、微量注入ポンプ (BAS 製 CAM100) を用いて 3.3 μl/min の速度で 5 分間外リンパ灌流を行った。

#### 3-3. 実験 1

CBF, BP を変化させる NA, NPY のおおよその投与量を測定するため、濃度を指数的に変えた NA, NPY の各溶液を内頸動脈より持続投与し、CBF, BP の変化を測定した。NA の総投与量はそれぞれ 0.1 μg/kg (n=4), 1 μg/kg (n=6), 10 μg/kg (n=3) とし<sup>37)</sup>、それぞれの溶液を総量 3 ml となるように生理食塩水で希釈

し、同側内頸動脈より 0.6 ml/min の速度で 5 分間持続注入した。NPY の総投与量は 0.05 μg/kg (n=3), 0.5 μg/kg (n=3), 5 μg/kg (n=4) とし<sup>38)</sup>、同様に希釈し、同様の速度で投与した。対照群 (n=9) としては生理食塩水 3 ml を、同様の速度で投与した。NA および NPY の持続投与では濃度依存性に CBF の増加と BP の上昇が認められ、以下の実験での投与量を NA が 50 μg/kg, NPY が 25 μg/kg とした。動物を NA 単独投与群 (n=10, 以下、全身 NA 群), NPY 単独投与群 (n=9, 以下全身 NPY 群), NA・NPY 同時投与群 (n=8, 以下全身 NA+NPY 群) の 3 群で CBF と BP を測定した。

#### 3-4. 実験 2

NA, NPY を単独、または同時に蝸牛に局所投与した際の CBF と BP を測定した。NA 単独投与群 (n=7, 以下局所 NA 群), NPY 単独投与群 (n=9, 以下局所 NPY 群), NA・NPY 同時投与群 (n=8, 以下局所 NA+NPY 群) の 3 群に分け、それぞれ、NA 10 μg/kg, NPY 50 μg/kg, NA 10 μg/kg および NPY 50 μg/kg の混合溶液を生理食塩水で総量 16.5 μl に希釈し、既述の方法で、3.3 μl/min の速度で 5 分間かけて外リンパ灌流を行った。

### 4. 血圧、蝸牛血流量の測定間隔と評価

薬剤投与開始後、10 秒毎に BP と CBF を測定した。CBF は、蝸牛骨包を通して測定しているため、骨の厚さや、骨壁に対する角度などに影響される可能性があり、絶対量は測定できない。そこで血流の変化を見ることを主眼とし、薬剤投与前の初期値に対する相対量として表



示した。得られたデータは平均±標準誤差で示し、統計学的解析にはANOVA検定を用いた。Post hoc (Fisher's PLSD, Sheffe's, Bonfferoni) にても検定施行した。

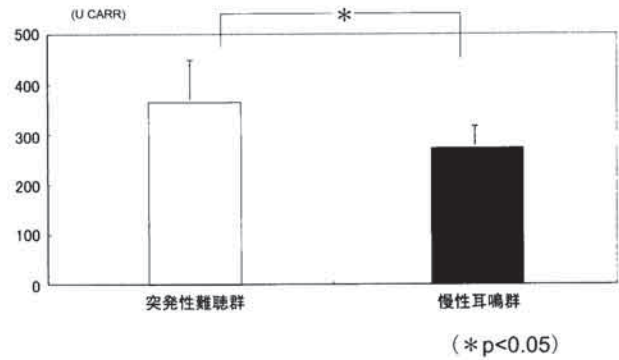
【結 果】

(1) 突発性難聴とフリーラジカル

突発性難聴群 13 例と慢性耳鳴群 21 例とで比較検討した。全血を用いた d-ROMs テストの結果に影響を与える可能性のあるヘマトクリット値は、突発性難聴群 41.1 (±3.1) %、慢性耳鳴群 44.2 (±2.1) % と両群間に有意差はなかった。

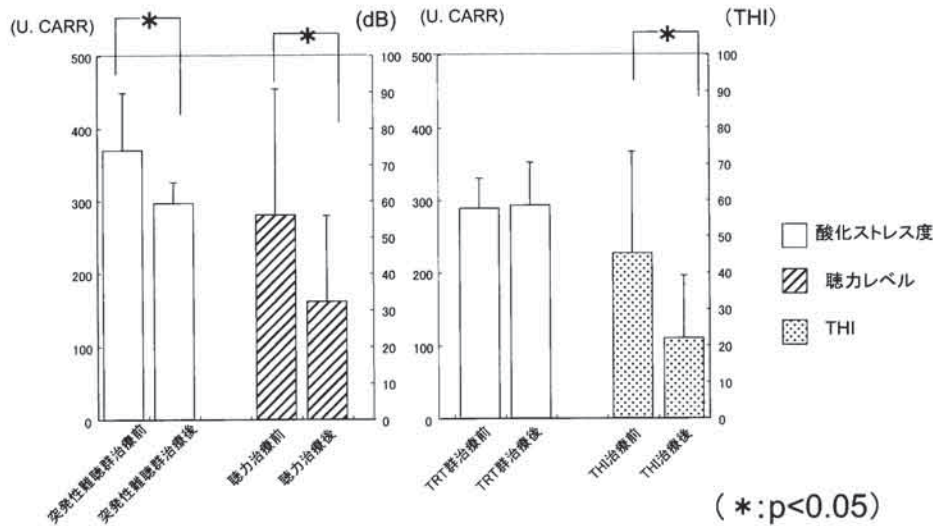
初診時酸化ストレス度は突発性難聴群 372.6 (±78.0) U. CARR、慢性耳鳴群 295.9 (±58.3) U. CARR と突発性難聴群が有意に高値を示した (p<0.05) (第 3 図)<sup>40)</sup>。

突発性難聴群の治療前後のデータを比較した所、酸化ストレス度は治療前 372.6 (±78.0) U. CARR に対して治療後 299.6 (±93.7) U. CARR と治療後に有意な減少が認められた (p<0.05)。平均聴力レベル (4 分法) は治療前 56.1 (±34.7) dB、治療後 32.2 (±28.6) dB であり有意な改善が認められた (p<0.05) (第 4 図)。



第 3 図 突発性難聴群と慢性耳鳴群の初診時酸化ストレス度の比較  
初診時 d-ROMs test による酸化ストレス度は突発性難聴群 372.6 (±78.0) U. CARR、慢性耳鳴群 295.9 (±58.3) U. CARR であり突発性難聴群の方が慢性耳鳴群と比較して有意に高値を示した (p<0.05)。2 群間の比較には t test を用いた。

また TRT 群 11 例では平均年齢 59.4 (±10.7)、酸化ストレス度は治療前 288.1 (±41.2) U. CARR 治療後 292.1 (±59.4) U. CARR であり治療前後で有意な変化は認められなかった。THI は治療前 45.1 (±28.1) 治療後 21.8 (±17.2) と有意な改善を認めた。平均聴力 (4 分法) は患側 23.2 (±10.7) dB、健側 20.4 (±9.6) dB であった。尚、治療後の聴力は今回測定していない (第 4 図)。



第 4 図：突発性難聴群と TRT 群における治療前後の酸化ストレス度の比較  
図の左側は突発性難聴群、右側は TRT 群を表す。初診時 d-ROMs test による酸化ストレス度は突発性難聴群 372.6 (±78.0) U. CARR、対照群 295.9 (±58.3) U. CARR であり突発性難聴群が有意に高値を示した (p<0.05)。また、突発性難聴群の治療前後の酸化ストレス度は治療前 372.6 (±78.0) U. CARR、治療後 299.6 (±93.7) U. CARR と有意な減少が認められた (p<0.05)。聴力は平均年齢 4 分法で治療前 56.1 (±34.7) dB、治療後 32.2 (±28.6) dB と有意な改善が認められた (p<0.05)。TRT 群では酸化ストレス度は治療前 288.1 (±41.2) U. CARR、治療後 292.1 (±59.4) U. CARR であり治療前後で有意な変化は認められなかった。耳鳴の自覚的苦痛度 THI (Tinnits Handicap Inventory) は治療前 45.1 (±28.1) 治療後 21.8 (±17.2) で有意な改善が認められた (p<0.05)。2 群間の比較には paired t test を用いた。(伊藤まり, 他: 耳鼻臨床, 101: 10; 743-748, 2008 図 2 を許可を得て転載)

突発性難聴群 13 例の個々の症例の治療前、治療後の酸化ストレス度を比較した所、治療後では治療前と比較して酸化ストレス度の有意な減少がみられた ( $p < 0.05$ ) (第5図)。

また突発性難聴群 13 例の個々の症例の治療前治療後の平均聴力を比較した所、治療後では治療前と比較して平均聴力の有意な減少がみられた ( $p < 0.05$ ) (第6図)。

一方、初診時聴力レベルと酸化ストレス度および聴力レベルの改善度と酸化ストレス度の変化には、有意な関係は認められなかった。

(2) NPY の内耳循環に対する影響

実験-1

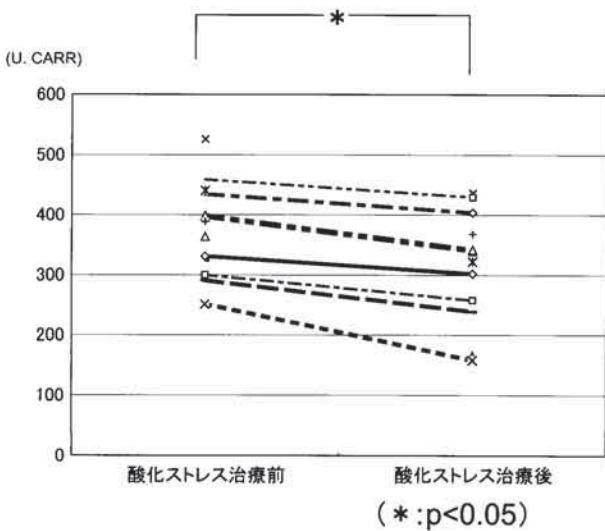
全身 NA 群, 全身 NPY 群, 全身 NA+NPY 群のいずれの群でも投与直後より CBF, BP ともに急激な上昇が見られたのち, 減少に転じ, 約 4~6 分で初期値まで回復した。CBF と BP の変化率を比較すると BP の上昇に伴って CBF の増加も見られた (第6図)。各群の CBF を比較すると同時投与ではゆっくり増加し, ピークに達する時間及び基線に戻る時間は全身 NA+NPY 群が全身 NA 群に比べて遅れていたが, CBF の最大値 (以下 CBFmax) には有意差は認めなかった (第1表)<sup>41)</sup>。CBF が増大のピークに達する時間を最大値到達時間 (以下 T1max), 基線まで再び戻るまでの時間を最小値到達時

間 (以下 T1min) として解析すると, T1max は全身 NA+NPY 群において他の 2 群より延長し, T1min は全身 NA+NPY 群において全身 NA 群に比べて延長していた (第1表)。

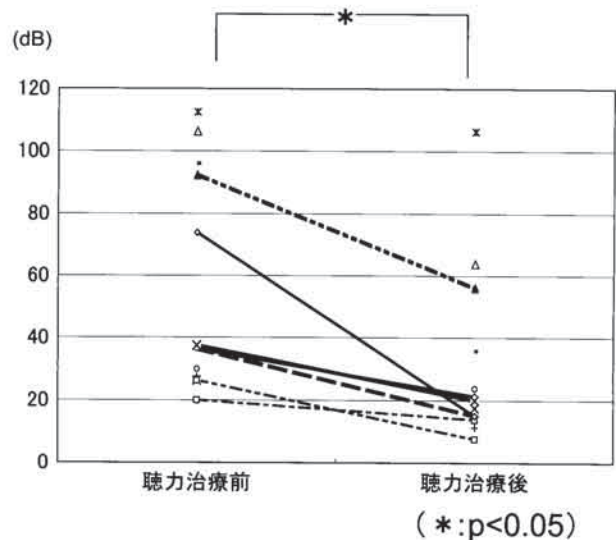
実験-2

局所・NA 単独群, 局所・NPY 単独群, 局所・NA+NPY 群のいずれにおいても外リンパ局所投与開始後より減少し, 最小値に達した後に初期値まで増加する傾向が認められた (第7図)。一方, BP には明らかな変化は認められなかった。薬剤を投与してから, CBF が最小値に達するまでの時間を T2min として比較検討したところ, T2min は局所・NA+NPY 群において局所・NA 群より有意に長かった (第2表)。

局所・NA+NPY 群での CBF は, 5 分間の投与終了後も減少し, CBF の最小値 (以下 CBF min) は, 局所・NA+NPY 群が他の 2 群より有意に低下した ( $p < 0.05$ ) (第2表)。一方, 測定終了時の測定開始 20 分後の CBF (以下 CBF 20) は, 局所・NA+NPY 群では  $0.83 \pm 0.11$  と測定時間内に初期値にまで回復しなかった。局所・NA 群で  $1.04 \pm 0.14$ , 局所・NPY 群で  $1.00 \pm 0.02$  であり, 局所・NA+NPY 群の  $0.83 \pm 0.11$  と比べて有意差を認めた ( $p < 0.05$ ) (第2表)。



第5図 突発性難聴群における治療前後の酸化ストレス度の比較  
突発性難聴症例 13 例の個々の症例の酸化ストレス度の治療前治療後のグラフを示した。治療後では治療前と比較して酸化ストレス度の有意な減少が見られた ( $p < 0.05$ )。2 群間の比較には paired t test を用いた。  
(伊藤まり, 他: 耳鼻臨床, 101: 10; 743-748, 2008 図3を許可を得て転載)



第6図 突発性難聴群における治療前後の平均聴力の比較  
突発性難聴症例 13 例の個々の症例の平均聴力の治療前治療後のグラフを示した。治療後では治療前と比較して平均聴力の有意な減少が見られた ( $p < 0.05$ )。2 群間の比較には paired t test を用いた。  
(伊藤まり, 他: 耳鼻臨床, 101: 10; 743-748, 2008 図4を許可を得て転載)

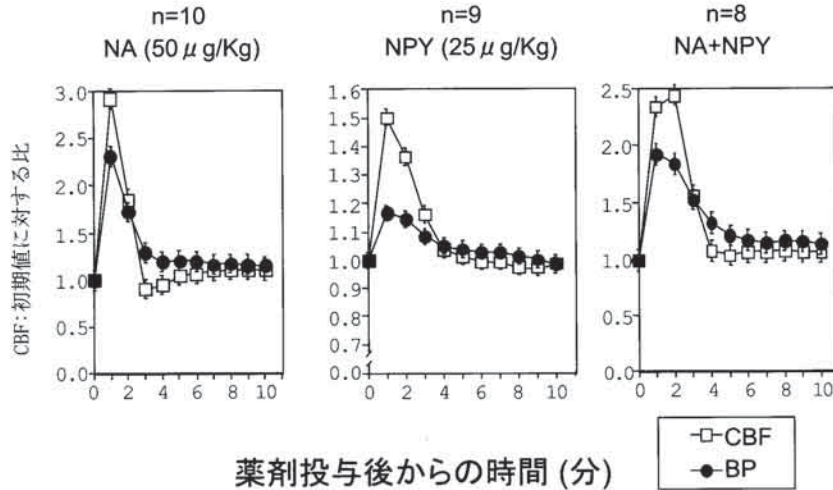


第1表 全身・NA群, 全身・NPY群, 全身・NA+NPY群におけるCBFの最大値に達する時間(T1max), CBFの最小値に達する時間(T1min)およびCBFの最大値(CBFmax)の比較

	T1max (分)	T1min (分)	CBFmax
NA	1.23±0.20	2.71±0.57	3.32±1.07
NPY	1.67±0.42	(5.07±1.60)	1.53±0.15
NA+NPY	2.05±0.71	4.38±1.96	2.65±1.19

(\* : p<0.05)

数値は平均値±標準誤差で表す (\* : p<0.05). 3群間の比較にはANOVA検定を用いた. T1maxは全身・NA+NPY群が他の2群より有意に遅れた. T1minは全身・NA+NPY群で全身・NA群に比べて有意に遅れた. CBFmaxには有意差は認めなかった.



第7図 全身・NA群, 全身・NPY群, 全身・NA+NPY群におけるCBFとBPの変化  
NA (n=10), NPY (n=9), NA+NPY (n=8), コントロールとして生食 (n=10) を投与した. 全身・NA単独群, 全身・NPY単独群, 全身・NA+NPY群のいずれの群でも投与直後よりCBF, BPともに急激な上昇が見られたのち, 減少し, 約4分~6分で初期値まで回復した. 群間の比較にはANOVA検定を用いた.  
(Itou M et al : Acta Otolaryngol 121 : 573-578, 2001 の Fig. 3 より許可を得て転載)

【考 察】

突発性難聴の原因についてはウィルス感染説, 内耳循環障害説, 自己免疫説, 内リンパ水腫説などが唱えられているが<sup>39)</sup>, 前庭器の病的変化について一酸化窒素(NO)や活性酸素(ROS)などのフリーラジカルが関わっていることが既に報告されている<sup>25, 26)</sup>. 動物実験ではShimogoriらはAMPA(alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazole-4-propionic acid)を用いて内耳障害を起こした後, 抗酸化薬であるエダラボンを投与した結果, 聴力障害の発現を抑制したと述べている<sup>26)</sup>. その他, 音響外傷後の実験動物にエダラボンなどの抗酸化薬を投与した結果, 内耳機能の改善が見られた実験<sup>42-44)</sup>や難聴モデルモルモットにビタミンC剤, ビタミンE剤を投与した所, 上昇したABRの閾値の低下が認められ

た実験<sup>43)</sup>などが報告されている. 感染, 耳毒性薬剤や騒音などの内耳障害性刺激によりコルチ器有毛細胞や血管条でフリーラジカルが発生することが報告されており<sup>23-25)</sup>, 抗酸化薬が内耳でのフリーラジカルの産生を制御したことが聴力の回復につながったと考察される<sup>44, 45)</sup>. 工田らはメニエール病患者に抗酸化薬を投与し, 低音域と高音域で聴力改善が認められたと報告している<sup>46)</sup>. 臨床例でフリーラジカルを消去するにはビタミンC剤, ビタミンE剤, ユビキノン等<sup>47, 48)</sup>の抗酸化力のある物質の投与が効果的である. 突発性難聴の治療薬としては副腎皮質ステロイド<sup>49)</sup>やプロスタグランジン<sup>50)</sup>が挙げられるが, Joachins<sup>51)</sup>らは副腎皮質ステロイドを共通薬剤としてビタミンE剤の投与を行った所, 改善率が高くなったと報告している.

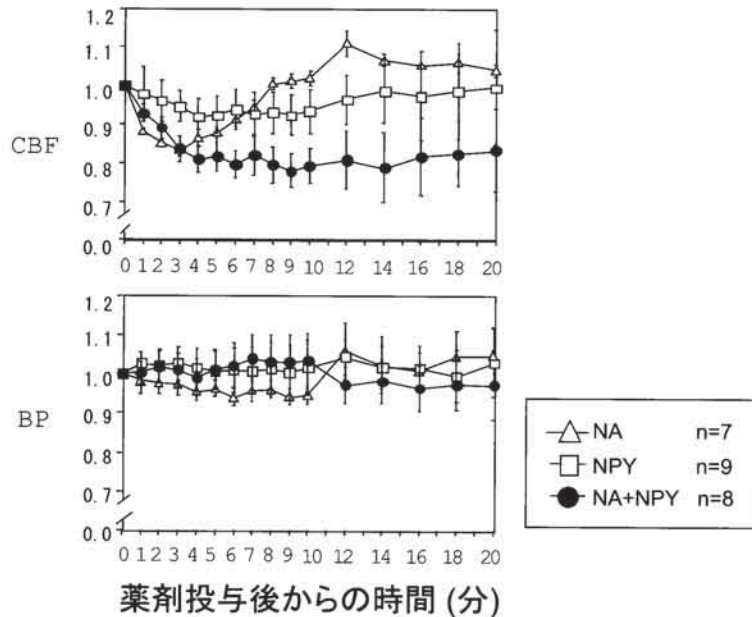
今回の検討では突発性難聴発症時の酸化ストレス度が

第2表 局所・NA群, 局所・NPY群, 局所・NA+NPY群におけるCBFの最小値に達する時間 (T2min) およびCBFの最小値 (CBFmin) とCBF測定終了時である20分値 (CBF 20) との比較

	T2min (分)		CBFmin		CBF 20	
NA	3.3±0.74	}	0.83±0.02	}	1.04±0.14	
NPY	6.5±0.87		*		0.92±0.05	1.00±0.02
NA+NPY	7.6±1.73		*		0.78±0.04	0.83±0.11

(\* : p<0.05)

数値は平均値±標準誤差で表す (\* : p<0.05)。3群間の比較にはANOVA検定を用いた。T2minは局所・NA+NPY群で局所・NA群より有意に遅れた。CBFmin局所・NA+NPY群でのCBFは5分間の投与終了後も減少し、CBFminは、局所・NA+NPY群が他の2群より有意に減少した。一方、CBF 20は局所・NA+NPY群では初期値まで回復せず、局所・NA群, 局所・NPY群と有意差を認めた。



第8図 局所・NA群, 局所・NPY群, 局所・NA+NPY群におけるCBFとBPの比較

NA (n=7), NPY (n=9), NA+NPY (n=8), コントロールとして生食 (n=6) を投与した。局所・NA単独群, 局所・NPY単独群, 局所・NA+NPY群のいずれにおいても外リンパ局所投与開始後より減少し、最小値に達した後に初期値まで増加する傾向が認められた。一方、BPには明らかな変化は認められなかった。(Itou M et al : Acta Otolaryngol 121 : 573-578, 2001 の Fig. 5 より許可を得て転載)

372.6 U. CARR と対照群と比較して有意に高値を示した。突発性難聴群では治療後に酸化ストレス度の有意な減少と聴力の有意な改善を認めたことより、突発性難聴の発症と治癒にフリーラジカルが何らかの関与をしていると考えられたが、d-ROMs test は全身の酸化ストレス度の評価であり、突発性難聴における内耳でのフリーラジカルの発生の有無については言及できない。神崎ら<sup>52)</sup>が突発性難聴患者において血清NK細胞活性の低下傾向が認められたと報告していることから、身体的、精神的ストレスが高い状態では酸化ストレス度の増加が認められ、突発性難聴を発症しやすい可能性が考えられ

た。今回、突発性難聴群では程度の差はあるものの全例で聴力の改善が見られたが、今後は症例を重ねて聴力不変例も加えた検討が必要である。

TRT群では治療前後でTHIは改善したが酸化ストレス度に有意な変化が認められなかったことより、耳鳴苦痛度が改善しても全身のフリーラジカルの変動は来さなかったと考えられ、慢性の耳鳴ではフリーラジカルの関与は少ないと考察された。今回急性難聴群の対象は程度の差はあるものの全例聴力の改善が見られたが、今後は症例を重ねて聴力不変例を検討する必要がある。一方急性感音難聴の発症時の酸化ストレス度が高値を示したこ



とより内耳疾患の発症時にフリーラジカルが発生している可能性や元々酸化ストレス度の高い状態に内耳疾患が起りやすいと推測された。

以上、突発性難聴発症時において心身のストレスが高い状態である可能性が考えられるが、ストレス関連ペプチド NPY の CBF に対する作用を初めとする高ストレス状態での内耳循環動態はいまだ明らかではない。今回の実験 1 の結果から全身投与において高濃度 NA 持続投与群では投与直後より CBF の増加傾向が認められたが、これは BP 上昇に伴う変化と推定された。Sugara<sup>53)</sup>は NA 投与後血圧が上昇し、2 次的に血管が拡張したため CBF が上昇したと報告し、本実験においても NA の全身投与にて CBF の増加が認められたが BP の上昇による 2 次的な CBF の増加と考えられた。同様に NPY 持続投与群では CBF、BP 共に濃度依存性に増加傾向が見られた。Edvinsson<sup>54)</sup>は脳底動脈に NPY を投与した実験では脳皮質表面の細動脈で濃度依存性に血管収縮効果が上昇したと報告している。高濃度 NPY 持続投与においても、NA と同様に血管収縮による BP 上昇が生じ、結果として 2 次的な CBF の増加を生じたと考えられた。

NPY Y1 受容体の血管収縮作用については(1) NPY の直接作用と(2) NA による血管収縮を増強する間接作用がある。これまでの報告によれば Yang XP<sup>55)</sup>はイヌの摘出脾動脈を用いた実験で、NPY は単独では NPY の Y1 受容体を介した弱い血管収縮反応を示すが、NA 存在下では NPY の Y1 受容体と NA の  $\alpha 1B$  受容体が共役することによってホスホリパーゼ C 経路を活性化し、カルシウムイオンの動員を促し、血管平滑筋の収縮を増強すると報告している。NA による血管収縮は急激で収縮時間も短く回復する際の血管拡張も急峻であるのに対して NPY は NA の血管収縮後、収縮を持続する作用があると考えられる。

本研究において、全身・NA 単独群では CBF は立ち上がり早く急激に増大し短時間で減少しているのに対し、全身・NA+NPY 群では増加減少は緩序であり CBF の T1max は全身・NA 単独群、全身・NPY 単独群に比べて遅く、NA の蝸牛における血管収縮を NPY が持続延長したと解釈された。また、全身・NA+NPY 群では T1max、T1min が延長し、収縮が遷延化したものの CBF の上昇には有意の差は認めなかった。これは血圧上昇の影響を受け Y2 レセプターを介した血圧低下作用が作動した可能性が考えられた。

局所投与における CBF は局所・NA+NPY 群では局所・NA 群、局所・NPY 群に比べてより減少し、また

CBF の最小値に達する時間 T2min は局所・NA+NPY 群では局所・NA 群に比べて遅く、血管収縮時間が延長したと考えられた。蝸牛中の NPY 受容体の分布はいまだ明確ではないが、NPY 含有神経線維がラセン蝸牛軸動脈およびその枝に分布するという報告があり<sup>20, 21)</sup>、外リンパ腔に投与された NPY が蝸牛軸に達し、ラセン蝸牛軸動脈およびその周囲の血管に直接作用して CBF を低下させたと考察した。したがって、NPY は NA 下で内耳血管の NPY 受容体を介して持続性の血管収縮物質として働くと推測された。また、CBF の障害時間が長いほど内耳障害が発生しやすいという事実からは<sup>56)</sup>、ストレス時には NPY の血管収縮持続作用による蝸牛血流障害の遷延化が引き起こされ、突発性難聴を始めとする急性感音難聴の病態に至る関与している可能性があると考えられる<sup>57)</sup>。

本研究ではストレスとの関連も含めた突発性難聴の発症時の病態を臨床的および実験的に検討した。その結果、突発性難聴の発症時にはフリーラジカルが高い状態であると考えられ、実験的にはストレス反応下で NPY により CBF が持続的に低下させている病態が示唆された。

## 【総括】

1. 突発性難聴の発症時の病態ストレスとの関連についてヒトを対象とした臨床統計およびモルモットを対象とした蝸牛血流実験を施行し検討した。
2. ヒトを対象とした統計では、突発性難聴の発症時には酸化ストレス度が高く治療前後に酸化ストレス度の有意な減少を認めたことより突発性難聴発症に高ストレス状態が何らかの関与をしていると考えられ、突発性難聴発症時には心身のストレスが高い状態であると推測された。
3. モルモットを対象とした蝸牛血流実験では CBF に対する NPY の作用について実験的に検討した。実験から NANPY の相互作用により CBF 低下作用を持続遷延化すると考えられ、ストレス下で NPY は蝸牛血管収縮作用を持続遷延化すると考えられた。突発性難聴発症時に蝸牛においてはストレス反応で放出された NPY による CBF 減少作用が発現し、突発性難聴発症の誘因になり得ると示唆された。
4. 以上の結果により突発性難聴発症時には心身のストレスが高くこれによってフリーラジカル量が高値を示し、またストレス反応で放出された NPY による CBF 減少が発症の誘因になっていると考えられ、突発性難聴発症時にストレスが関与している可能性が考えられた。



稿を終えるにあたりご指導ご校閲を賜りました慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科教室小川郁教授に深甚なる謝意を表します。酸化ストレス度測定に関連する研究を御指導下さった日本鋼管病院耳鼻咽喉科相馬啓子部長に深甚なる謝意を表します。また本論文に有益な御助言を下さいました慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科教室井上泰宏准教授、斎藤秀行講師、東京電力病院耳鼻咽喉科佐藤美奈子科長に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Nakamura M, Aoki N, Nakashima T, Hoshino T, Yokoyama T, Morioka S, Kawamura T, Tanaka H, Hashimoto T, Ohno Y, Whitlock G : Smoking, alcohol, sleep and risk of idiopathic sudden deafness : a case-control study using pooled controls. *J Epidemiol* 11 : 81-86, 2001
- 2) Lin HC, Chao PZ, Lee HC : Sudden sensorineural hearing loss increases the risk of stroke. A 5-year follow-up study. *Stroke* 2008, Jun 26 [Epub ahead of print]
- 3) Neuser J, Knoop T : Sudden idiopathic hearing loss. Psychopathology and antecedent stressful life-events. *Br J Med Psychol* 59 : 245-251, 1986
- 4) Schmitt C, Patek M, Kroner-Herwig B : Stress and the onset of sudden hearing loss and tinnitus. *Int Tinnitus J* 6 : 41-49, 2000
- 5) 阿部 隆, 立木 孝 : 低音域の急性感音難聴と低音障害型突発難聴. *Audiology Japan*, 45 : 167-175, 2002
- 6) 野村恭也 : 内耳血管. 新耳科学アトラス形態と計測値 (平野皓正編集). シュプリンガー・フェアラーク社, p. 207-220, 1992
- 7) 田淵経司 : 内耳虚血再還流の病態解析. 耳鼻展, 50 : 208-213, 2007
- 8) Cannon WB : Stress and strains of homeostasis. *Am J Med Sci* 189 : 1-14, 1935
- 9) Martin DS, Appelt C : Acute stress increases venomotor tone in conscious rats. *Am Physiol Soc : H* 1375-1383, 1996
- 10) Wangemann P, Wonneberger K : Neurogenic regulation of cochlear blood flow occurs along basilar artery, the anterior inferior cerebellar artery and at the points of the spiral modiolar artery. *Hear Res* 209 : 91-96, 2005
- 11) Miller JM, Dengerink H : Control of inner ear blood flow. *Am J Otolaryngol* 9 : 302-316, 1988
- 12) Kuo L, Abe K, Zukowska Z : Stress, NPY and vascular remodeling : Implication for stress-related diseases. *Peptides* 28 : 435-440, 2007
- 13) Cui H, Sakamoto H, Higashi S, Kawata M : Effect of single-prolonged stress on neurons and their afferent inputs in the amygdala. *Neuroscience* 152 : 703-712, 2008
- 14) Kask A, Bago L, Harro J : NPY Y1 receptors in the dorsal periaqueductal gray matter regulate anxiety in the social interaction test. *Neuroreport* 9 : 2713-2716, 1998
- 15) 森 保道 : 血管作動性物質の分子生物学 ニューロペプチド Y. *日本臨床*, 増刊号 : 85-89, 2000
- 16) 芝崎 保, 若林一二 : 神経ペプチド Y (NPY). 情動とホルモン (伊藤眞次編集). 中山書店, p. 201-222, 1997
- 17) Humphreys GA, Davin JS, Veale WL : Injection of neuropeptide Y into the paraventricular nucleus of the hypothalamus inhibits gastric secretion in the rat. *Brain Res* 456 : 241-248, 1988
- 18) 芝崎 保 : ストレス反応における神経ペプチドとノルアドレナリンの関与様式. *日内泌誌*, 71 : 241, 1995
- 19) Ylikoski J, Pirvolan U, Happola O, Panula P, Virtanen I : Immunohistochemical demonstration of neuroactive substances in the inner ear of rat and guinea pig. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 107 : 417-423, 1989
- 20) Carlisle L, Aberdeen J, Forge A, Burstock G : Neural basis of cochlear blood flow : Peptidergic and adrenergic innervation of the spiral modiolar artery of the guinea pig. *Hear Res* 43 : 107-114, 1990
- 21) Lyon JM, Payman RN : Comparison of the vascular innervation of the rat cochlea and vestibular system. *Hear Res* 141 : 189-198, 2000
- 22) 吉川敏一 : 炎症と酸化ストレス. *日内会誌*, 95 : 1870-1875, 2006
- 23) Neri S, Signorelli S, Pulvirenti D, Mauceri B, Cilio D, Bordonaro F, Abate G, Interlandi D, Misseri M, Ignaccolo L, Savastano M, Assolina R, Grillo C, Messina A, Serra A, Tsami A : Oxidative stress nitric oxide, endothelial dysfunction and stress. *Free Radic Res* 40 : 615-618, 2006
- 24) Yamane H, Takayama M, Sunami K, Iguchi H, Kanazawa A, Tokuhara Y, Nishiura H, Nishimura K, Tao SD : Nitric oxide induces apoptosis of the hair cells of cochlea. *Acta Otolaryngol Suppl* 554 : 6-11, 2004
- 25) Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, Hu BH : The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear* 27 : 1-19, 2006
- 26) Shimogori H, Takemoto T, Mikuriya T, Yamashita H : Edaravone protects the vestibular periphery from free radical-induced toxicity in response to perilymphatic application of (+/-) alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazole-4-propionic acid. *Eur J Pharmacol* 554 : 223-228, 2007
- 27) Takemoto T, Sugahara K, Okuda T : The clinical free radical scavenger, edaravone, protects cochlear hair cells from acoustic trauma. *Eur J Pharmacol* 487 : 113-116, 2004
- 28) Tanaka K, Takemoto T, Sugahara K, Okuda T, Mikuriya T, Takeno K, Hashimoto M, Shimogori H, Yamashita H : Post-exposure administration of edaravone attenuates noise-induced hearing loss. *Eur J Pharmacol* 522 : 116-121, 2005
- 29) Koppe RD, Coleman JK, Liu J : Candidate's thesis ;



- enhancing intrinsic cochlear stress defenses to reduce noise-induced hearing loss. *Laryngoscope* 112 : 1515-1532, 2002
- 30) 相馬啓子：フリーラジカルと抗酸化. *Equilibrium Res*, 65 : 252-253, 2006
- 31) Komatsu F, Kudoh H, Kagawa Y : Evaluation of oxidative stress and effectiveness of low-dose glucocorticoid therapy on exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 62 : 459-464, 2007
- 32) Haffor AS, Al-Johany AM : Effect of heat stress, hypoxia and hypoxia-hyperoxia on free radical production in mice musculus. *J Med Sci* 5 : 89-94, 2005
- 33) Cornelli U, Cornelli M, Terranova R : Free-radical and vascular disease. *The International Union of Angiology's Bulletin* 15 : 7-10, 1999
- 34) Chung RS, Bruch D, Dearlove J : Endoscopic measurement of gastric mucosal blood flow by laser Doppler velocimetry : Effect of chronic esophageal variceal sclerosis. *Am Surg* 54 : 116-120, 1988
- 35) Talman WT, Nitschke-Dragon DM, Heistad DD, Ohta H : Cerebrovascular effects produced by electrical stimulation of fastigial nucleus. *Am J Physiol* 261 : H707-713, 1991
- 36) Ohlsen KA, Baldwin DL, Nuttall AL, Miller JM : Influence of topically applied adrenergic agents on cochlear blood flow. *Circulation Res* 69 : 509-518, 1991
- 37) Dengerink HA, Wright JW : Circulation of the inner ear : III. *The Physiology of Cochlear Blood Flow : Implications for treatment Physiology of the Ear*, (Ed by AF Jahn and J Santos-Sacchi), Raven Press, New York, pp. 590-606, 1988
- 38) Allen JM, Schon F, Todd V, Yeats JC, Crockard HA, Bloam SR : Presence of neuropeptide Y in human circle of wills and its possible role in cerebral vasospasm. *Lancet* 8 : 550-552, 1984
- 39) Nakashima T, Nagasawa S, Sone M, Tomonaga M, Hayashi H, Yamamoto H, Liu X, Nuttall AL : Disorders of cochlear blood flow. *Brain Res Brain Res Rev* 43 : 17-28, 2003
- 40) 伊藤まり, 相馬啓子, 安藤麗子 : 急性感音難聴症例における酸化ストレス度の検討. *耳鼻臨床*, 101 : 10 : 743-748, 2008
- 41) Itou M, Ogawa K, Inoue Y, Sato M, Kanzaki J : Effects of neuropeptide Y on cochlear blood flow in guinea pigs. *Acta Otolaryngol* 121 : 573-578, 2001
- 42) Minami SB, Yamashita D, Ogawa K, Schacht J, Miller JM : Creatine and tempol attenuate noise-induced hearing loss. *Brain Res* 1148 : 83-89, 2007
- 43) Duan M, Qiu J, Laurell G, Olofsson A, Counter SA, Borg E : Dose and time-dependent protection of the antioxidant N-L-acetylcysteine against impulse noise trauma. *Hear Res* 192 : 1-9, 2004
- 44) Yamasoba T, Pourbakht A, Sakamoto T, Suzuki M : Ebselen prevent noise-induced excitotoxicity and temporary threshold shift. *Neurosci Lett* 380 : 234-238, 2005
- 45) Maruyama J, Yamagata T, Ulfendahl M, Bredberg G, Altschuler RA, Miller JM : Effects of antioxidants on auditory nerve function and survival in deafened guinea pigs. *Neurobiol Dis* 25 : 309-318, 2007
- 46) 工田昌矢 : 抗酸化剤によるメニエール病の病態と治療に関する研究. 厚生省特定疾患調査研究班平成 17 年度研究業績報告書 : 78-81, 2007
- 47) 広瀬敬信, 菅原一馬, 御厨剛史 : コエンザイム Q10 の音響保護効果のメカニズム. *Otol Jpn*, 17 : 267, 2007
- 48) 相馬啓子, 大築淳一, 吉田昭男, 佐藤彰芳 : ミトコンドリア遺伝子異常による糖尿病と聴力. *Audiology Japan*, 38 : 603-604, 1995
- 49) Haynes DS, O'Malley M, Cohen S, Watford K, Labadie RF : Intratympanic dexamethasone for sudden sensorineural hearing loss after failure of systemic therapy. *Laryngoscope*, 117 : 3-15, 2007
- 50) 小川 郁 : 突発性難聴の治療法. *耳喉頭頸*, 78 : 205-211, 2006
- 51) Joachins HZ, Segal J, Golz A, Netzer A, Goldenberg D : Antioxidants in treatment of idiopathic sudden hearing loss. *Otol Neurotol* 24 : 572-575, 2003
- 52) 神崎 晶, 増田正次, 佐藤美奈子, 齊藤秀行, 水足邦雄, 鈴木隆史, 大石直樹, 若林健一郎, 井上泰宏, 小川 郁 : 突発性難聴患者の末梢血におけるバイオマーカーの検討. *Audiology Japan*, 50 : 419-420, 2007
- 53) Suga F, Snow J : Adrenergic control of cochlear blood flow. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 78 : 358-374, 1969
- 54) Edvinsson L : Functional role of perivascular peptides in the control of cerebral circulation. *TINS* : 126-131, 1985
- 55) Yang XP, Chiba S : Interaction between neuropeptide Y1 receptors and 1B-adrenoceptors in the neurovascular junction of canine splenic arteries. *Eur J Pharmacol* 466 : 311-315, 2003
- 56) Ogawa K, Kanzaki J, Ogawa S, Tsuchihashi N, Inoue Y, Sato M, Ikeda S : Electrocochleography during experimental cochlear ischemia of the guinea pig. *Acta Otolaryngol* 116 : 253-256, 1996
- 57) Lamm K, Arnold W : Noise-induced cochlear hypoxia is intensity dependent, correlates with hearing loss and precedes reduction of cochlear blood flow. *Audiol Neurotol* 1 : 148-160, 1996