

日本医科大学医学雑誌

第6巻 2010年2月 第1号

目次

INDEX

● 橘桜だより 医学教育の変革と転換期の中で	内藤 善哉	1
● グラビア マイクロRNAの細胞外放出の鍵を握る小胞：エクソゾーム	石橋 宰 他	2
● シリーズ カラーアトラス 6. High Resolution Manometryによる食道運動の評価： 健常者と逆流性食道炎患者の食道運動（1）	岩切 勝彦 他	4
● 綜 説 消化性潰瘍の現状	三宅 一昌 他	7
● 臨床および実験報告 医師の立ち会わない院内助産における胎児心拍数モニタリング	三宅 秀彦 他	13
● 臨床医のために 慢性腎臓病合併例の高血压治療	内海 甲一 他	17
● 基礎研究から学ぶ 2. 組織細胞化学シリーズ（若手研究者へのヒント）： 非放射性同位元素標識プローブを用いたin situ hybridization法（4）	三嶋 拓也 他	23
● 症例から学ぶ 完全房室ブロックにて発症し、胃生検により確定診断に至った心サルコイドーシスの1例 包括的てんかん診療における薬剤師業務の展開	淀川 顕司 他 浦 裕之 他	30 34
● 話 題 自己免疫疾患と自己炎症疾患	伊藤 保彦	40
● JNMSのページ Journal of Nippon Medical School Vol. 76, No. 6 Summary		41
Journal of Nippon Medical School Vol. 77, No. 1 Summary		42
● 集会記事 日本医科大学医学会第19回公開「シンポジウム」		43
日本医科大学医学会特別講演会講演要旨		46
2008年度第4学年臨床配属成果発表会		48

平成 22 年度日本医科大学医学会奨学賞候補者募集

平成 22 年 2 月 15 日

会員各位

日本医科大学医学会
会長 田尻 孝

下記により日本医科大学医学会奨学賞候補者を公募します。

1. 応募規定

- (1) 医学の進歩に寄与する独創的研究を最近数年間に発表し、将来の発展を期待しうる研究を対象とします。したがって、選考の対象となる研究は、応募者自身が計画し、遂行した研究に限ります。
- (2) 応募者（グループで応募する場合には研究代表者）は、応募締切日現在、原則として本会会員歴 3 年以上、満 45 歳以下とし、個人またはグループ¹⁾とします。
- (3) 授賞件数は 2 件以内とします。

2. 申込方法

応募者は、本学の基礎科学・基礎医学・臨床医学および付置施設の専任の教授（臨床教授・診療教授を含む）からの推薦書を添え、所定の申請用紙²⁾に記入のうえ、お申し込み下さい。なお、申請書、推薦書、履歴書³⁾、主要論文⁴⁾（3 篇以内）を本書 1 部（押印必要）と電子データ（PDF）を併せてご送付下さい。

3. 締切期日：平成 22 年 5 月 14 日

4. 申込先：〒113-8602 東京都文京区千駄木 1 丁目 1 番 5 号

日本医科大学医学会事務局（日本医科大学事務局学事部大学院課内*）

5. 賞の選考は、本医学会内に選考委員会を設けて行います。

- (1) 一次選考は、書類により審査し、5 名以内を選考する。
- (2) 二次選考は、6 月下旬に一次選考を通過した応募者が 10 分程度のプレゼンテーションを行い、その後選考委員会において選考する。

6. 授賞内定期日：平成 22 年 7 月下旬の予定

7. 授賞式は、第 78 回日本医科大学医学会総会において行います。受賞者には、賞状、副賞および記念品が贈られます。また、当日、受賞研究内容を講演していただきます。

8. 平成 22 年度に同様の内容での学内の他の賞へ応募されている方はご遠慮下さい。

9. 奨学賞を受賞された場合は、Journal of Nippon Medical School に掲載いたします医学会総会での記念講演の英文抄録とポイントとなる図表を後日提出して下さい。

¹⁾1 名が研究代表者となり、数名（8 名以内）を研究協力者（原則として満 45 歳以下）とする場合です。

²⁾用紙は本会ホームページから出力下さい。（http://college.nms.ac.jp/individual/ma_nms/）

³⁾研究協力者も提出して下さい。

⁴⁾最近の数年間に発表した研究課題に関する論文。

*持参の場合は日本医科大学大学院棟 2 階医学会事務局（大学院課内）(2B03) へお越し下さい。

お問い合わせ先：医学会事務局 五箇（直通電話：03-5814-6183 内線：5314 番

Fax：03-3822-3759 E-mail：manms@nms.ac.jp)



医学教育の変革と転換期の中で

内藤善哉

日本医科大学教育委員会 委員長
大学院医学研究科/医学部 教授（統御機構病理学）

現在、医学部を取り巻く情勢は、様々な面で大きな転換期にある。医師不足に対する緊近の対策、医師研修医制度の見直し議論、初期研修病院マッチング制度への対応、医師国家試験の内容の変容そして種々医療費や医療関係財源に関する議論など、卒前教育および卒後教育に大きく関連する重要事項が複雑に絡み合い、ある意味五里霧中の状況ともいえる。

さらに政権が変わるなか、それに伴う医療政策の変革により、わが日本医科大学はどのような波や風を受けるのだろうか？それとも上手く波や風を利用し、将来の飛躍の礎とできるのだろうか？しかしながら、大波が来ようが、台風が来ようが、われわれは開学130年の歴史と伝統に培われた気概と実績に誇りを持ち、かつ十分に大波や台風の本質を吟味しつつ、的確に、そして迅速に対応する必要が有る事は言を待たない。本学の教育においても事情は同様であり、将来を見据えた確固たる改革が望まれる。

しかし、改革の断行には痛みを伴い、非常な労力も要する。誤った改革を選択した場合、最もその影響を受けるのは、学生であり、また、日本医科大学自体である。誤った教育は、学生の質、卒業生の医師の質の低下をもたらし、本学の存亡に係わる事態となる事は言うまでもない。日本医科大学にとって本当に必要な教育カリキュラムをしっかりと吟味し、それぞれのカリキュラムが有機的に連携しつつ、かつ6年間を通じ一貫性を持った到達目標や卒業後も考慮した内容が盛り込まれた、より良い教育カリキュラムを構築することが責務と考える。医学を学ぶため希望に燃えて入学してきた優秀な学生を、種々の教育によってさらに向上させ、「患者さんの事を思い遣る想像力」、「疾患を解明し最適な治療を提供しようとする研究心」、「疾患の本質を深く理解した上での応用力」を有する医師として世に送り出せるよう、われわれ教職員が一丸となって取り組んでゆきたい。

そして、学生には、まず新丸子で充実した学生生活を送っていただき、千駄木界限においては、下町情緒や根津神社の木々に四季の移ろいを身近に感じることができる優れた環境のなか、最新の教育・実習施設が整備された教育棟や基礎医学大学院棟を活用し大いに学んでいただきたい。さらに各付属病院では、最先端の医療を提供する臨床各科で企画された実践的な実習に取り組み、愛と研究心のある優れた医師・医学者をめざして研鑽されることを期待している。

（受付：2009年10月21日）



—グラビアー—

マイクロ RNA の細胞外放出の鍵を握る小胞：エクソゾーム

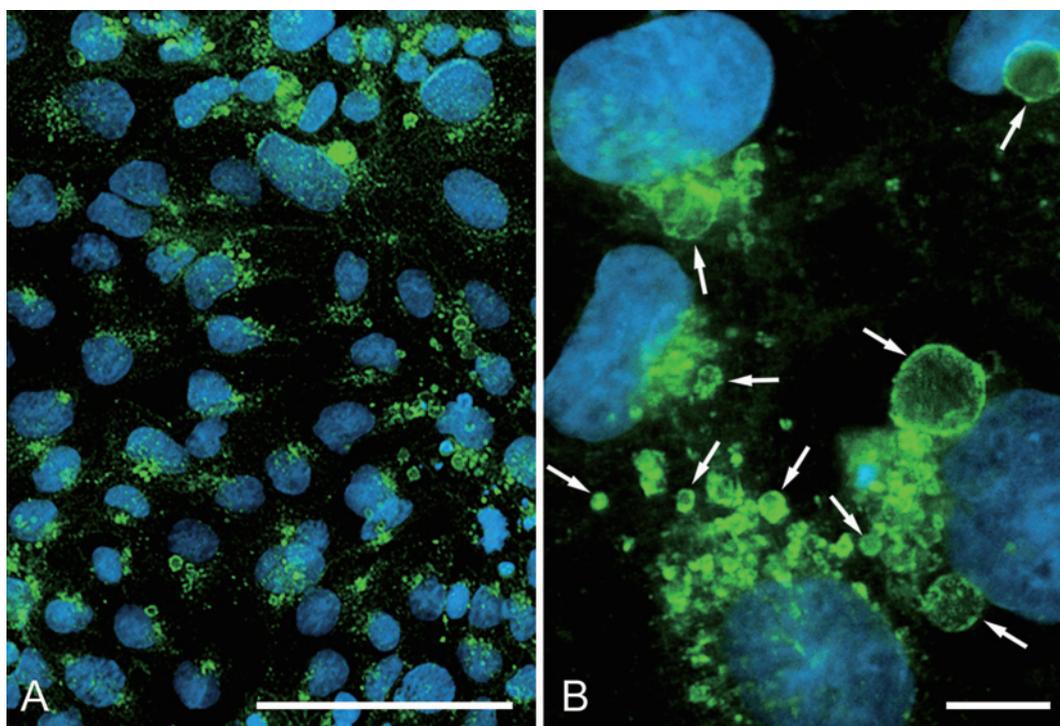
石橋 宰¹ 竹下 俊行² 瀧澤 俊広¹¹日本医科大学大学院医学研究科分子解剖学²日本医科大学大学院医学研究科女性生殖発達病態学A Tiny Vesicle Called Exosome Is a Key Cellular Compartment
for MicroRNA Secretion from CellsOsamu Ishibashi¹, Toshiyuki Takeshita² and Toshihiro Takizawa¹¹Department of Molecular Medicine and Anatomy, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School²Division of Reproductive Medicine, Perinatology and Gynecologic Oncology, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School

図 1

エクソゾーム (exosome) は、細胞から分泌される小胞である。エクソゾームは、細胞内の多胞体 (multivesicular body) に由来し、多胞体が細胞膜と融合することにより内部の小胞 (エクソゾーム) が細胞外に放出される。マイクロ RNA は約 22 塩基から成る 1 本鎖の非コード RNA であり、転写後の遺伝子発現調節に関与する機能性 RNA と

して注目を集めている。ヒト胎盤では、絨毛栄養膜で胎盤特異的マイクロ RNA が産生され、エクソゾームを介して母体血液中に放出される¹。胎盤栄養膜のモデルである細胞株 BeWo において、CD63 を指標としてエクソゾームおよび多胞体を可視化した。

図 1 BeWo 細胞における CD63 の免疫細胞化学。

BeWo 細胞をパラフォルムアルデヒドで固定後、一次抗体に抗 CD63 抗体、二次抗体に Alexa Fluor 488 標識抗体、DAPI による核染色 (青) を同時に行い、オリンパス社製

蛍光顕微鏡 BX60 で撮影した。A: BeWo 細胞の低倍像。B: 高倍像。細胞内に CD63 (内因性 CD63; 緑) の局在を示す大小の小胞状の蛍光シグナルが観察される (矢印)。スケールバー A: 100 μm, B: 10 μm。

連絡先: 瀧澤俊広 〒113-8602 東京都文京区千駄木 1-1-5 日本医科大学解剖学講座 (分子解剖学)

E-mail: t-takizawa@nms.ac.jp

Journal Website (<http://www.nms.ac.jp/jmanms/>)

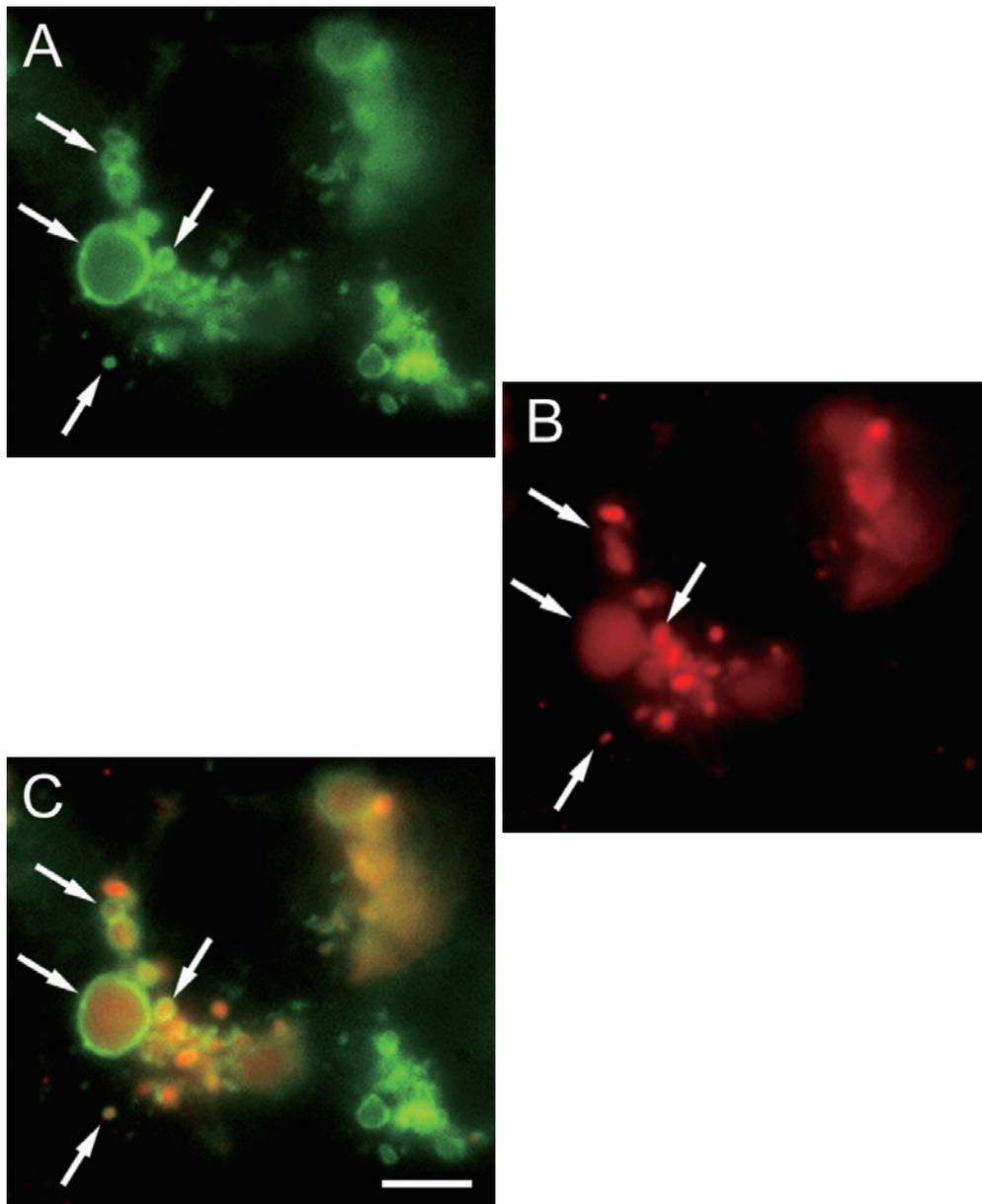


図2

図2 EGFP-CD63 発現 BeWo 細胞を用いたバイオイメー
ジング解析.

多胞体のマーカーである CD63 に enhanced green
fluorescent protein (EGFP) を結合した EGFP-CD63 発
現 BeWo 細胞を作製¹², Alexa Fluor 594 標識したマイク
ロ RNA (MIRLET7B; 赤) を導入し, オリンパス社製蛍
光顕微鏡 IX71-TIRFM-SP で撮影した. A: EGFP-CD63

の発現を示す蛍光像(緑). 図1の内因性 CD63 と同様に,
小胞状の蛍光シグナルが観察される. B: 細胞内に取り込
まれたマイクロ RNA の局在を示す蛍光像 (赤). C: A と
B の合成像. EGFP-CD63 陽性の小胞様構造 (緑) に取り
込まれた MIRLET7B (赤) が観察される (矢印). スケール
バー 10 μ m.

文 献

1. Luo S-S, Ishibashi O, Ishikawa G, Ishikawa T, Katayama A, Mishima T, Takizawa T, Shigihara T, Goto T, Izumi A, Ohkuchi A, Matsubara S, Takeshita T, Takizawa T: Human villous

trophoblasts express and secrete placenta-specific
microRNAs into maternal circulation via exosomes.
Biol Reprod 2009; 81: 717-729.

2. Amano T, Furuno T, Hirashima N, Ohyama N, Nakanishi M: Dynamics of intracellular granules with CD63-GFP in rat basophilic leukemia cells. J Biochem 2001; 129: 739-744.

6. High Resolution Manometry による食道運動の評価

健常者と逆流性食道炎患者の食道運動 (I)

岩切 勝彦 田中由理子

日本医科大学大学院医学研究科病態制御腫瘍内科学

6. The Evaluation of Esophageal Motility Using High Resolution Manometry

Esophageal Motility in Healthy Subjects and Patients with Reflux Esophagitis (I)

Katsuhiko Iwakiri and Yuriko Tanaka

Department of Pathophysiological Management/Medical Oncology, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School

下部食道括約筋 (lower esophageal sphincter: LES) は食道下端に存在する約 3 cm の括約筋であり、その重要な機能は収縮と弛緩である。LES は嚥下による食道の短縮や呼吸運動による上下動のため、通常使用される微小な圧センサーでは LES 弛緩をとらえることはできない。LES 弛緩を評価するためには、シリコンラバーからなる 6 cm の受圧面を有するスリーブセンサーが必要であるが、スリーブセンサーでの測定・解析には熟練を要することから、LES 弛緩の詳細な評価は一部施設に限られるのが現状である。ほかの方法において LES 弛緩を評価するためには、1 cm 間隔の圧センサーが少なくとも 7 個以上有するカテーテルを必要とする。LES を 1 cm 間隔の圧センサーの中央に設置することにより、嚥下運動、呼吸運動により LES が上下動しても少なくとも 1 カ所の圧センサーが LES と接触しているため、LES 弛緩をとらえることができる。食道運動機能検査では LES 弛緩・収縮に加え食道体部運動も評価する必要があるが、食道下部から咽頭は 3 cm 以下の間隔の圧センサーにて測定することが推奨されることから、このシステムによる食道運動機能の評価には少なくとも 16 個の圧センサーを有するカテーテルが必要となる。現在では胃近位部から咽頭までを 1 cm 間隔の 36 個の圧センサーにて詳細に測定する方法もある。これらの多チャンネル圧センサーによる詳細な食道運動機能の評価方法は high resolution manometry (HRM) と呼ばれている。HRM では多数の圧チャンネルを有することから、チャンネルごとに波形を解析するのは困難であり、圧データをカラープロットに変換し 3D 画像として表示し解析している。従来のスリーブ法による解析に比べ解析が容易となっている。

健常者の水嚥下に伴う一次蠕動波

健常者の水嚥下 (5 mL) 後の HRM による食道内圧所見を図 1 に示す。大気圧をゼロ点とし、胃内圧を基準に表示している。図右に示すカラーバーは圧を示し、白がゼロ、青は陰圧を示し濃くなるに従い陰圧が増している。逆に緑、黄、赤、黒になるに従い陽圧の程度は増加する。水嚥下後、食道上部より一次蠕動波が出現、また同時に LES の弛緩が始まる。蠕動波が LES に伝播し LES の弛緩が終了する。通常嚥下後の LES 弛緩時間は 5~8 秒である。

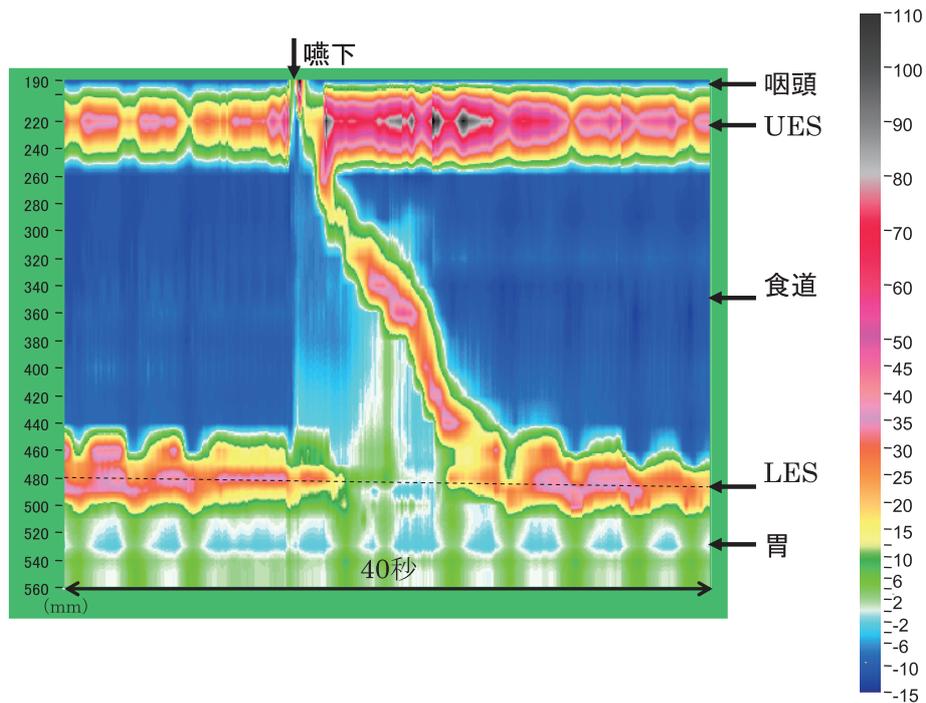


図1 健常者の水嚥下後の一次蠕動波.

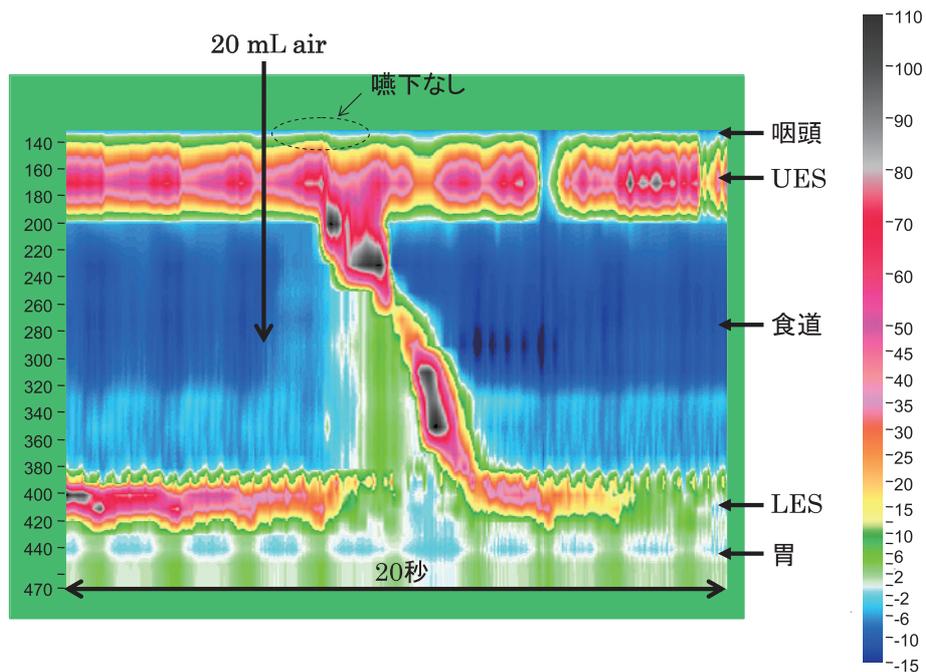


図2 健常者における空気 20 mL 注入後に出現した二次蠕動波.

健常者の空気注入に伴う二次蠕動波

蠕動波には嚥下後に出現する一次蠕動波と、嚥下とは関係なく胃から食道内への液体逆流や空気の逆流により食道が伸展され出現する二次蠕動波がある。図2は食道中部に空気 20 mL を注入した後に出現した二次蠕動波である。咽頭部位に図1にみられるような嚥下のサインはみられないが、空気注入直後に蠕動波が出現している。この二次蠕動波は、逆流液の胃への排出、また食物摂取後に不完全な一次蠕動波により食道内に留まった食物を胃へ排出するのに重要である。逆流性食道炎患者では逆流後も二次蠕動波の出現率が低下している。

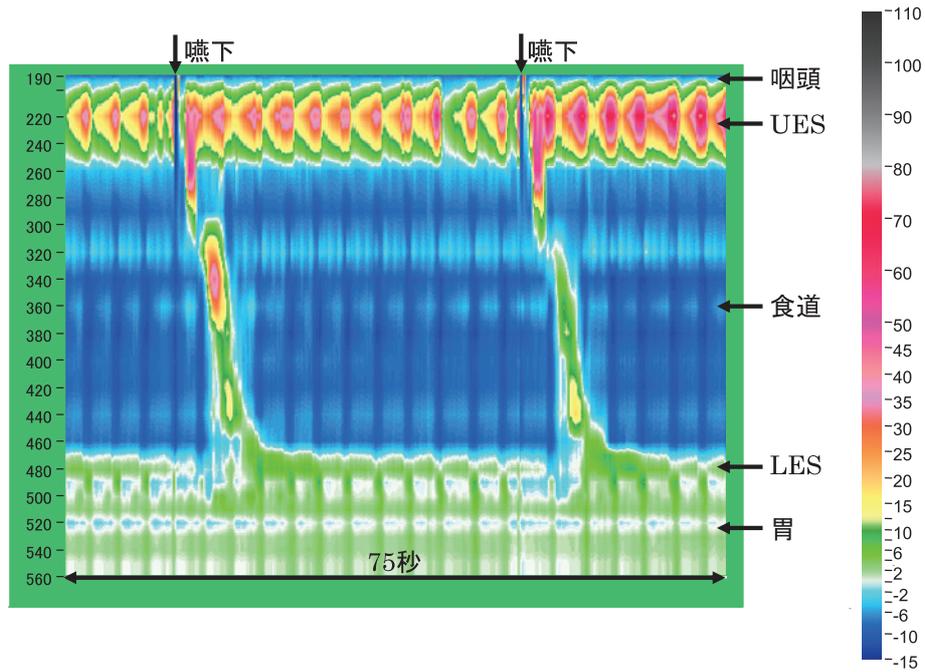


図3 重症逆流性食道炎患者の水嚥下後の一次蠕動波.

逆流性食道炎患者の一次蠕動波

中等度から重症の逆流性食道炎では、嚥下後の一次蠕動波高が低下し胃酸逆流時の胃酸排出遅延の原因となる。

図3には Los Angeles 分類, grade C の重症逆流性食道炎を有する患者の水嚥下後の食道内圧所見を示す。嚥下後に上部から下部食道に伝播する蠕動波がみられるが、中部から下部食道の波高は 30 mmHg 未満と低圧であり、有効な一次蠕動波とはいえない。食事内容、逆流液を排出するためには 30 mmHg 以上の圧を有する蠕動波が必要とされている。また、LES 圧も約 5 mmHg 未満と低値である。

— 綜 説 —

消化性潰瘍の現状

三宅 一昌 楠 正典 進藤 智隆 植木 信江
河越 哲郎 二神 生爾 津久井 拓 坂本 長逸

日本医科大学大学院医学研究科病態制御腫瘍内科学

Current Status of Gastroduodenal Ulcers

Kazumasa Miyake, Masafumi Kusunoki, Tomotaka Shindo, Nobue Ueki,

Tetsuro Kawagoe, Seiji Futagami, Taku Tsukui and Choitsu Sakamoto

Department of Pathophysiological Management/Medical Oncology, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School

Abstract

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and *Helicobacter pylori* infection are the two major causes of peptic ulcers. At present, *H. pylori* eradication is widely recommended as the most effective treatment for preventing the recurrence of peptic ulcer. In Japan, the first-line regimen for *H. pylori* eradication, which consists of a proton pump inhibitors (PPI), amoxicillin, and clarithromycin (CAM), was approved in December 2000. However, the number of CAM-resistant strains causing eradication failure by triple therapy including CAM has been increasing. Previous studies have demonstrated that both misoprostol and PPIs are effective for preventing and curing NSAID-associated mucosal injuries. Proton-pump inhibitors have been reported to be better tolerated than misoprostol. In addition, histamine-H2 receptor antagonists (H2RA), when administered at high doses, have preventive effects. However, Japanese patients are expected that not high-dose but even standard-dose H2RAs are effective, because Japanese originally intend to be lower acidity than Westerners, and have often severe corpus atrophy. For users of NSAIDs, *H. pylori* infection may additively or synergistically increase the risk of peptic ulcers or serious ulcer complications. *H. pylori* eradication has been shown to substantially decrease the recurrence rate of peptic ulcers in new NSAID users, but the efficacy in patients with chronic NSAID ulcers is controversial.

(日本医科大学医学会雑誌 2010; 6: 7-12)

Key words: peptic ulcers, *Helicobacter pylori*, nonsteroidal anti-inflammatory drugs

はじめに

胃・十二指腸潰瘍は、1910年のSchwartzの言葉“*No acid, No ulcer*”に象徴されるように、胃液中の酸、ペプシンによる消化作用によって形成されるといふ観点から、消化性潰瘍 (Peptic ulcer) と総称され

てきた。

1983年WallenとMarshallにより発見・報告された、胃内に持続感染する*Helicobacter Pylori* (*H. pylori*) 菌は、バランスの不均衡をもたらす新たな要因として注目され、消化性潰瘍をはじめとする胃病態の解釈に大きな変革をもたらした。現在では、*H. pylori* 感染、非ステロイド性抗炎症薬 (Non-steroidal anti-

Correspondence to Kazumasa Miyake, MD, PhD, Department of Internal Medicine Division of Gastroenterology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8603, Japan

E-mail: km366@nms.ac.jp

Journal Website (<http://www.nms.ac.jp/jmanms/>)

inflammatory drugs ; NSAID) およびストレスによる粘膜防御機構の破綻が、潰瘍発症の主因と考えられている。

このような潰瘍に関する認識の変革にも関わらず、プロトンポンプ阻害薬 (PPI) をはじめとする強力な酸分泌抑制が潰瘍治癒を促進し、かつ高い潰瘍予防効果を発揮する事実のさらなる蓄積は、潰瘍病態における胃酸の重要性を再認識させる¹²。

本稿では消化性潰瘍の現状について、潰瘍の2大要因である、*H. pylori* 感染とNSAIDを中心に概説する。

胃粘膜傷害機序と消化性潰瘍の成因

1. 粘膜防御機構とは

胃粘膜には胃酸だけでなく、ペプシン、十二指腸逆流液(胆汁・膵液)などの内的傷害因子に加え、食塩、アルコール、薬剤など外的傷害因子がある。この傷害因子に対し胃粘膜の恒常性を維持するため粘膜防御因子が存在する³⁴。粘膜防御因子は、前上皮(粘液・重炭酸分泌)、上皮(細胞構築・細胞回転)および上皮下(血流・微小循環)の3段階で構築され、粘膜防御機構と呼ばれている。これらはさまざまなサイトカイン、ホルモン、一酸化窒素、増殖因子など多くの生理活性物質により制御・調節される。

胃粘膜防御機構における様々な生理活性物質の中でもプロスタグランジン (PG) はきわめて重要な働きを有する。そのPG産生における律速酵素であるシクロオキシゲナーゼ (COX) には2種類のアイソザイムが存在し、それぞれ異なった役割や局在を示すことが近年明らかにされてきた。胃粘膜においてCOX-1は恒常的に発現し、Cytoprotectionの主体をなすと考えられている⁵。一方、COX-2は様々な刺激や傷害により炎症部位局所に誘導される。図1に示すように、アスピリンやインドメタシンをはじめとするNSAIDは、おもにCOX-1阻害を介して、胃粘膜内の内因性PGの欠乏、重炭酸分泌低下、粘膜血流の低下などを招き、粘膜傷害を惹起すると解釈されてきた。

COX-1 遺伝子ノックアウトマウス (COX-1KO マウス) は、消化管粘膜の恒常性維持におけるCOX-1の重要性を検証することを目的の一つとした動物モデルである。しかしながら、予想に反し、COX-1KO マウスにおいて胃粘膜傷害が惹起されなかった。興味あることに、選択的COX-1阻害薬 (SC-560) 単独では粘膜傷害をきたさず、選択的COX-1阻害薬と選択的COX-2阻害薬を同時に投与した場合のみ粘膜傷害をきたす⁶。これらの結果は、COX-1だけでなくCOX-2もまた胃粘膜の恒常性維持に重要な役割を果たすことを示唆している。実際、選択的COX-2阻害薬は、低用量アスピリン (COX-1選択性が高い) による消化

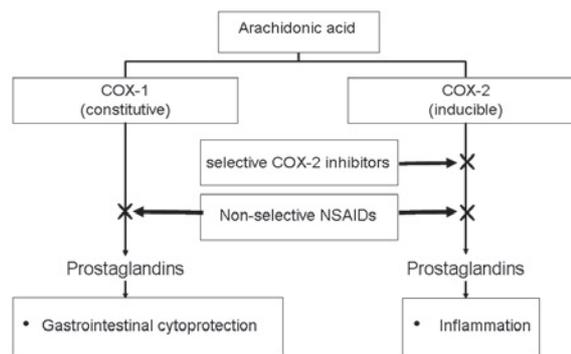


図1 COX アイソザイム (COX-1, COX-2) と NSAID の作用機序

性潰瘍のリスクを高めることが示されている⁷。

当施設では、人および実験動物において、潰瘍底やその辺縁では、線維芽細胞や炎症性細胞を中心にCOX-2が高発現していることを示した⁸。そして、これらの細胞では、線維芽細胞増殖因子 (bFGF) や血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) を介してCOX-2が、血管新生と潰瘍修復に重要な役割を果たすことを報告した^{9,10}。さらに、動物実験モデルを用いて、酸性化エタノール (60% ethanol in 0.15M HCl) 0.15 mL を経口投与して発現させたCOX-2蛋白は、粘膜の修復過程に重要な役割を果たしているばかりでなく、COX-1同様、粘膜保護作用の役割を担うことを示した¹¹。

つまり、選択的COX-2阻害剤は、炎症病態において主体をなすPGE2ばかりでなく、PGIやPGJなどほかのPG類の産生を抑制することにより潰瘍治癒の遷延や増悪をもたらす可能性がある。in vitroの検討においてPGE2を選択的に抑制するPGE2合成酵素阻害剤が選択的COX-2阻害剤に比べ、さらに消化管傷害が少なく、安全性の高い抗炎症効果を発揮しうる可能性があり、今後の展開が期待されている^{12,13}。

2. *H. pylori* 感染

H. pylori 菌はいったん胃粘膜に感染が成立すると基本的に持続感染し、粘膜内への炎症性細胞浸潤とともに、上皮、間質系細胞および血管内皮細胞から様々な炎症性サイトカインが産生させる。インターロイキン (IL)-8もその一つで、強い好中球遊走因子である。われわれは、*H. pylori* 感染におけるIL-8やVEGFの役割およびその重要性について、*H. pylori* 培養液および胃癌細胞株MKN28を用いた基礎的検討やヒト胃生検組織を用いた臨床的検討を通して示している^{14,15}。

さらに、*H. pylori* 感染胃炎の粘膜上皮や周囲の間質系細胞にCOX-2が発現していることを示した¹⁶。この誘導型COX-2は、*H. pylori*菌の持続感染にともなう慢性胃炎に寄与している。しかしながら、*H. pylori* 胃炎におけるCOX-2発現がNSAIDs潰瘍発症¹⁷、およ

び *H. pylori* 除菌後の胃粘膜傷害に与える影響¹⁸に関するわれわれの検討は、COX-2が慢性炎症の成立だけでなく粘膜の恒常性維持や粘膜防御としての役割を担っていることを示している。

数多くの精力的な研究により *H. pylori* 感染は、胃粘膜の炎症を引き起こすだけでなく、様々な胃内外の疾患と関連していることが明らかとなってきた^{19,20}。とくに、*H. pylori* 菌の除菌療法による消化性潰瘍の再発予防効果は臨床的に価値が高く、*H. pylori* 菌が及ぼす潰瘍発症への関わりが明確化された²¹。本邦でも、2000年PPI+アモキシシリン (AMPC) +クラリスロマイシン (CAM) による除菌療法が保険適用された。しかしながら、耳鼻科、呼吸器科および小児科領域におけるCAMの使用頻度の増加とともにCAM耐性菌が増えたため、メトロニダゾール (MNZ) を用いた2次除菌レジメンの必要性が生じた。当施設ではMNZを用いた2次除菌におけるCAMの付加的な効果を検証するために、日本で保険適用された3剤の2次除菌レジメンであるPPI+AMPC+MNZと、これにCAMを加えた4剤レジメンによる除菌率と安全性を比較検討した。CAMを加えた4剤による2次除菌は、3剤のレジメンと比べ、より高い除菌率と同等の安全性を維持することを示した²²。取りこぼしなく高い除菌率を得たい2次除菌において、新たなレジメンを用いた除菌率のさらなる向上が期待される。

NSAID 起因性潰瘍

1. NSAID 起因性潰瘍の実態

消化性潰瘍の典型像は、AGMLと異なり、より境界明瞭な深掘れ類円形潰瘍を呈し、再発を繰り返す特徴を有する。一般的に、消化性潰瘍はこのような性格から、時に合併症（出血、穿孔および狭窄）をきたし重篤化する。とくに出血は頻度が高く、臨床的重要である²³。

NSAIDは、解熱・鎮痛薬としてだけでなく、心血管系疾患に対する低用量アスピリンを用いた抗血小板療法など幅広く使用されている。米国では、NSAID服用者のうち、年間10~20万人が上部消化管出血を起こし、そのうちの1~2万人が死亡するという深刻な状況下にある。本邦でも近年の高齢化によりNSAIDおよび低用量アスピリンの使用頻度が増加しており、今後、より大きな社会問題に発展する可能性がある²⁴。

関節リウマチ (RA) や変形性関節症 (OA) を代表とする慢性炎症性疾患では長期継続投与を必要とするため、しばしばNSAIDsによる消化管傷害の実態調査の対象となる。このような調査・研究を通してNSAID潰瘍の危険因子 NSAID潰瘍のリスク因子 (表

表1 NSAIDs 起因性消化性潰瘍合併症の危険因子 (OR = オッズ比)

・消化性潰瘍合併症の既往	(OR 13.5)
・NSAIDの重複使用	(OR 9)
・高用量のNSAIDs服用	(OR 7)
・抗凝固薬の併用	(OR 6.4)
・消化性潰瘍の既往	(OR 6.1)
・高齢 (65歳以上)	(OR 5.6)
・ <i>H. pylori</i> 感染	(OR 3.5)
・副腎皮質ステロイドの併用	(OR 2.2)

1) や予防治療の必要性が啓蒙されてきた²⁵。

NSAID起因性上部消化管病変は、無症候性のびらん・潰瘍から重篤な潰瘍合併症（出血や穿孔）を伴う消化性潰瘍まで多彩である。本邦で行われた大規模な調査は少ないが、1991年に日本リウマチ財団において行われた3カ月以上の長期NSAID服用する関節炎患者1,008人を対象とした疫学調査では、上部消化管病変が62.2%にみられ、そのうち胃潰瘍および十二指腸潰瘍はそれぞれ、15.5%、1.9%であった²⁶。当施設において、2003年2月から2006年6月までに、リウマチ科3カ月以上外来通院する長期NSAID使用関節リウマチ患者を対象として内視鏡的に調査したところ、消化性潰瘍の有病率は21.9% (196人中43人、胃潰瘍36人、十二指腸潰瘍6人、胃十二指腸潰瘍1人)であった²⁷。本調査における消化性潰瘍の有病率が、日本リウマチ財団において行われた疫学調査と比べやや高い。前述したように、加齢がNSAID潰瘍のリスク因子である。NSAID起因性の上部消化管出血のリスク因子に関するメタ解析では、25歳から49歳までのNSAID潰瘍リスクを1としたとき、年齢階層が高くなるほど相対リスクは上昇し、80歳以上では9.2%に達することが示されている²⁸。本施設における対象者の平均年齢61.0歳が日本リウマチ財団の対象者の56.9歳を上回ることが要因の一つと思われる。

ビスフォスフォネート (BP) は、直接的な粘膜傷害作用を有する薬剤であることは古くから知られている²⁹。NSAID起因性潰瘍に対するBPの影響については結論が得られていないが、Grahamらは26人の健康人に対してcross over試験を行い、アレンドロネートとナプロキセンそれぞれ単独投与での潰瘍発症者が2人 (8%)、3人 (12%)であったのに対し、両薬剤を併用すると潰瘍発症が10人 (38%)と有意に増加することを示している³⁰。われわれが行った長期NSAIDを服用するRA患者を対象とした後ろ向きコホート研究でも、BP併用例における内視鏡的潰瘍の発症率は、NSAID単独服用例と比べ高率であった (17%vs 31%)³¹。

2. 予防的治療

(1) NSAID の改良 (Drug delivery system)

従来用いていた NSAID による粘膜傷害を軽減する目的で NSAID の改良が試みられてきた。腸溶剤、坐薬や経皮吸収型など吸収経路を変えた薬剤や局所活性型のプロドラッグは、NSAID による直接的な胃粘膜傷害を回避することを目的に開発された。

近年、胃粘膜傷害の軽減を目的として、選択的 COX-2 阻害剤が開発された。欧米の関節リウマチ患者を対象としたランダム化比較試験により、選択的 COX-2 阻害剤は従来の NSAID に比べ、胃潰瘍の発症率が低く、かつ同等の抗炎症作用を発揮しうることが示され、従来の NSAID に代わり中心的役割を果たすと期待されている³²⁻³⁵。

その一方で、選択的 COX-2 阻害薬 (ロフェコキシブ) の中長期的使用が、心血管系イベント (CV) の発症リスクを高めることが示されたため、ロフェコキシブは市場から撤退し、選択的 COX-2 阻害薬の使用に制限が加えられた。さらに、2006 年米国食品医薬品局 (FDA) は、メタ解析結果から COX-2 阻害薬および NSAID の心血管系イベント (CV) リスクに関して、選択的 COX-2 阻害薬、その他ほとんどすべての従来の NSAID に重大な CV 事象を増加させる可能性があるとの見解を示した。(http://www.fda.gov/cder/drug/infopage/COX2/default.htm)³⁶。今後、本邦でも各 NSAID による消化性潰瘍や心血管系のリスクを独自に調査した上で、個々の症例における消化性潰瘍や心血管系のリスクを考慮した指針づくりが望まれる。

(2) 抗潰瘍薬の併用

NSAID 潰瘍に対する予防的治療の必要性に関しては、前述した NSAID 潰瘍のリスク因子 (表 1) を考慮すべきである³⁷。“胃潰瘍の診療ガイドライン”では、これまでの欧米を中心としたエビデンスから、PG 製剤、PPI および高用量 H2 受容体拮抗薬が、NSAID 潰瘍の予防に有効な薬剤と位置づけている。

PG 製剤は、RA や OA など NSAID 長期継続服用者を対象とした多数のランダム化比較試験およびメタ解析により、消化性潰瘍の発症率および出血率を有意に抑えることが示されている。しかしながら、PG 製剤は腸管運動亢進による下痢や子宮収縮をきたすため、その使用に制限がある。少なくとも投与開始時は、副作用の発現に注意し、低用量から開始することが望まれる^{38,39}。

酸分泌を強力に抑える PPI は、PG 製剤と比べ下痢などの副作用が少なく、安全性・忍容性が高い上、NSAID 潰瘍に対する高い予防効果が示されている⁴⁰。一方、H2 拮抗薬は、*H. pylori* 感染に関連した消化性潰瘍に対し優れた予防効果を示すが、NSAID 潰瘍

に対しては、高用量のみ予防効果が示されている。常用量での予防効果は証明されていないが、日本人は欧米に比べ胃酸分泌量が多いため、*H. pylori* 感染による萎縮性胃炎が多いので、常用量でも予防効果を発揮する可能性がある。

実際、当院における長期 NSAID 服用中の関節リウマチ患者を対象とした実態調査においても、H2 拮抗薬 (常用量) 群または PPI/PG 群における内視鏡的消化性潰瘍の有病率は、コントロール群と比べ有意に低く ($p < 0.05$)、常用量の H2 拮抗薬が潰瘍予防効果を発揮しうると考えられた⁴¹。

(3) *H. pylori* 除菌

Huang らは、2002 年 case-control study のメタ解析を用いて、*H. pylori* 感染、NSAID 両者が潰瘍発症およびその合併症 (主に出血) に対し、それぞれ独立した危険因子であることを示した⁴²。NSAID 起因性出血性潰瘍に関する、当施設を含む多施設共同ケース・コントロール研究でも、両者は相加的に潰瘍合併症 (主に出血) のリスクを高めることが報告されている⁴³。つまり、*H. pylori* 感染と NSAID それぞれが消化性潰瘍および潰瘍出血の独立した危険因子であるとともに、*H. pylori* 感染は NSAID 潰瘍および潰瘍出血を助長させると考えられる。

NSAIDs による潰瘍発症率は、リスクの高い症例が含まれる新規投与例が、長期投与例に比べ、より高い。したがって、NSAID 潰瘍の予防を目的とした、*H. pylori* 除菌の意義は、NSAID 新規投与例と長期継続投与例は区別して議論する必要がある⁴⁴。

つまり、潰瘍リスクの高い新規投与例では、除菌が NSAID 潰瘍予防効果を発揮することが無作為比較試験によって示されているが^{45,46}、長期投与例では、除菌による潰瘍予防効果は認められていない。一方、同じ NSAID でも低用量アスピリンは、長期使用例でも従来型 NSAIDs と異なり、除菌による潰瘍予防効果が示されている⁴⁷。さらに、この効果は除菌後の PPI 投与により有意に抑制される⁴⁸。つまり、低用量アスピリンの長期使用例では、除菌が一定の効果を発揮するが、高リスク群では PPI を併用することが望まれる⁴⁹。

近年、個々の症例における NSAID 潰瘍発症のリスクに合わせた、より繊細な治療戦略が求められ、エビデンスに基づく個別治療の必要性が提唱されている⁵⁰。

おわりに

H. pylori 菌の発見と PPI の登場という大きな変革をもたらす時期に当教室が歩んだ消化性潰瘍病態の解明と治療の工夫について、*H. pylori* 感染と NSAID を中心に述べた。

今後は、さらに増加すると予想される NSAID とく

にアスピリン起因性消化管傷害に関する疫学的調査と予防・対策について検討したい。

謝辞：稿を終えるにあたり，消化性潰瘍の診療・研究に携わりご協力いただいている日本医科大学血液・消化器・内分泌代謝内科教室員一同，消化器外科，リウマチ科，病理部および看護師一同に深謝いたします。

文 献

1. 三宅一昌, 坂本長逸: 上部消化管疾患の新たな治療戦略—*H. pylori*関連疾患の新しい治療戦略—NSAIDs潰瘍の治療. *Progress in medicine* 1999; 19: 2060–2064.
2. 三宅一昌, 楠 正典, 進藤智隆, 平塚哲郎, 二神生爾, 藤森俊二, 坂本長逸: NSAID 起因性消化管病変の治療と予防. *胃と腸* 2007; 42: 1751–1758.
3. 三宅一昌, 坂本長逸: 消化器病セミナー 95—胃粘膜防御機構. 2004; pp 59–70, へるす出版社 東京.
4. Miyake K, Kusunoki M, Shindo T, Ueki N, Kawagoe T, Gudis K, Tatsuguchi A, Futagami S, Tsukui T, Sakamoto C: Duodenogastric reflux induced by endoscopic submucosal dissection: importance of the resection area. *Endoscopy* 2009; in press.
5. 三宅一昌, 坂本長逸: 胃粘膜とプロスタグランディン. *Medicina* 2000; 37: 485–487.
6. Wallace JL, McKnight W, Reuter BK, Vergnolle N: NSAID-induced gastric damage in rats: Requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology* 2000; 116: 706–714.
7. Garcia Rodriguez LA, Barreales Tolosa L: Risk of upper gastrointestinal complications among users of traditional NSAIDs and COXIBs in the general population. *Gastroenterology* 2007; 132: 498–506.
8. Tatsuguchi A, Sakamoto C, Wada K, Akamatsu T, Tsukui T, Miyake K, Futagami S, Kishida T, Fukuda Y, Yamanaka N, Kobayashi M: Localisation of cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2 in *Helicobacter pylori* related gastritis and gastric ulcer tissues in humans. *Gut* 2000; 46: 782–789.
9. Miura S, Tatsuguchi A, Wada K, Takeyama H, Shinji Y, Hiratsuka T, Futagami S, Miyake K, Gudis K, Mizokami Y, Matsuoka T, Sakamoto C: Cyclooxygenase-2-regulated vascular endothelial growth factor release in gastric fibroblasts. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G444–451.
10. Sanchez-Fidalgo S, Martin-Lacave I, Illanes M, Motilva V: Angiogenesis, cell proliferation and apoptosis in gastric ulcer healing. Effect of a selective cox-2 inhibitor. *Eur J Pharmacol* 2004; 505: 187–194.
11. Miyake K, Tsukui T, Wada K, Tatsuguchi A, Futagami S, Hiratsuka T, Shinoki K, Iizumi T, Akamatsu T, Sakamoto C, Kobayashi M: Irritant-induced cyclooxygenase-2 is involved in the defence mechanism of the gastric mucosa in mice. *J Gastroenterol* 2002; 37: 164–171.
12. Shinji Y, Tsukui T, Tatsuguchi A, Shinoki K, Kusunoki M, Suzuki K, Hiratsuka T, Wada K, Futagami S, Miyake K, Gudis K, Sakamoto C: Induced microsomal prostaglandin E synthase-1 is involved in cyclooxygenase-2-dependent PGE2 production in gastric fibroblasts. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G308–315.
13. Gudis K, Tatsuguchi A, Wada K, Futagami S, Nagata K, Hiratsuka T, Shinji Y, Miyake K, Tsukui T, Fukuda Y, Sakamoto C: Microsomal prostaglandin E synthase (mPGES)-1, mPGES-2 and cytosolic PGES expression in human gastritis and gastric ulcer tissue. *Lab Invest* 2005; 85: 225–236.
14. Miyake K, Tsukui T, Shinji Y, Suzuki K, Shinoki K, Hiratsuka T, Sugiura T, Nishigaki H, Futagami S, Wada K, Iwakiri K, Sakamoto C: Teprenone, but not H2-receptor blocker or sucralfate, suppresses corpus *helicobacter pylori* colonization and gastritis in humans: teprenone inhibition of *H. pylori*-induced IL-8 in MKN28 gastric epithelial cell lines. *Helicobacter* 2004; 9: 130–137.
15. 三宅一昌, 辰口篤志, 植木信江, 鈴木健司, 進士陽子, 楠 正典, 飯泉 匡, 平塚哲郎, 西垣 均, 二神生爾, 和田 謙, 津久井拓, 坂本長逸: *H. Pylori* 感染胃粘膜上皮におけるIL-8およびVEGF産生に与えるteprenoneの影響. *Progress in medicine* 2005; 25: 692–696.
16. Tatsuguchi A, Sakamoto C, Wada K, Akamatsu T, Tsukui T, Miyake K, Futagami S, Kishida T, Fukuda Y, Yamanaka N, Kobayashi M: Localization of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in *Helicobacter pylori*-related gastritis and gastric ulcer tissues in humans. *Gut* 2000; 46: 782–789.
17. Futagami S, Hiratsuka T, Wada K, Tatsuguchi A, Tsukui T, Miyake K, Akamatsu T, Hosone M, Sakamoto C, Kobayashi M: Inhibition of *Helicobacter pylori*-induced cyclo-oxygenase-2 aggravates NSAID-caused gastric damage in Mongolian gerbils. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 847–855.
18. Miyake K, Tsukui T, Futagami S, Tatsuguchi A, Shinoki K, Hiratsuka T, Iizumi T, Nagata K, Shinji Y, Wada K, Yamada N, Kobayashi M, Sakamoto C: Effect of acid suppression therapy on development of gastric erosions after cure of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1–7.
19. 三宅一昌, 坂本長逸: 症例から学ぶ胃の病理—消化性潰瘍総論と特殊胃潰瘍. *Modern physician* 2001; 21: 1461–1465.
20. 三宅一昌, 坂本長逸: *H. pylori*除菌後の胃, 十二指腸粘膜障害におけるH2-blockerの効果. *消化器科* 2002; 35: 76–83.
21. 三宅一昌, 坂本長逸: 除菌療法後の萎縮性胃炎の改善はあるか, その判定の問題点. *Modern Physician* 2003; 23: 901–904.
22. Ueki N, Miyake K, Kusunoki M, Shindo T, Kawagoe T, Futagami S, Tsukui T, Inagaki H, Sakamoto C: Impact of quadruple regimen of clarithromycin added to metronidazole-containing triple therapy against *Helicobacter pylori* infection following clarithromycin-containing triple-therapy failure. *Helicobacter* 2009; 14: 91–99.
23. 三宅一昌, 坂本長逸: Annual Review 消化器 2006—消化性潰瘍. 2006; pp 226–228, 中外医学社 東京.
24. 三宅一昌, 坂本長逸: 長期NSAIDs使用関節リウマチ患者における消化性潰瘍の実態調査と予防法の検討. *消化器科* 2007; 45: 265–269.
25. 楠 正典, 三宅一昌, 坂本長逸: 消化性潰瘍. *リウマチ科* 2008; 39: 99–103.
26. 塩川優一, 延永 正, 斎藤輝信, 浅木 茂, 小川暢也: 非ステロイド性抗炎症剤による上部消化管傷害に関する疫学調査. *リウマチ* 1991; 31: 96–111.
27. Miyake K, Ueki N, Suzuki K, Shinji Y, Kusunoki M, Hiratsuka T, Nishigaki H, Tatsuguchi A, Futagami S, Wada K, Tsukui T, Nakajima A, Yoshino S, Sakamoto C: Preventive therapy for non-steroidal anti-inflammatory drug-induced ulcers in Japanese patients with rheumatoid arthritis: the current situation and a prospective controlled-study of the preventive effects of lansoprazole or famotidine. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 67–72.
28. Hernandez-Diaz S: Association between nonsteroidal anti-inflammatory drugs and upper gastrointestinal tract bleeding/perforation: an overview of

- epidemiologic studies published in the 1990s. Arch Intern Med 2000; 160: 2093-2099.
29. Sener G: Protective effect of melatonin and omeprazole against alendronate-induced gastric damage. Dig Dis Sci 2005; 50: 1506-1512.
 30. Graham DY: Alendronate and naproxen are synergistic for development of gastric ulcers. Arch Intern Med 2001; 161: 107-110.
 31. Miyake K, Kusunoki M, Ueki N, Shinji Y, Kawagoe T, Futagami S, Tsukui T, Nakajima A, Sakamoto C: Bisphosphonate increases risk of gastroduodenal ulcer in rheumatoid arthritis patients on long-term non-steroidal anti-inflammatory drug therapy. J Gastroenterol 2009; 44: 113-120.
 32. Laine L, Harper S, Simon T, Bath R, Johanson J, Schwartz H, Stern S, Quan H, Bolognese J: A randomized trial comparing the effect of rofecoxib, a cyclooxygenase 2-specific inhibitor, with that of ibuprofen on the gastroduodenal mucosa of patients with osteoarthritis. Rofecoxib Osteoarthritis Endoscopy Study Group. Gastroenterology 1999; 117: 776-783.
 33. Emery P, Zeidler H, Kvien TK, Guslandi M, Naudin R, Stead H, Verburg KM, Isakson PC, Hubbard RC, Geis GS: Celecoxib versus diclofenac in long-term management of rheumatoid arthritis: randomised double-blind comparison. Lancet 1999; 354: 2106-2111.
 34. Goldstein JL, Correa P, Zhao WW, Burr AM, Hubbard RC, Verburg KM, Geis GS: Reduced incidence of gastroduodenal ulcers with celecoxib, a novel cyclooxygenase-2 inhibitor, compared to naproxen in patients with arthritis. Am J Gastroenterol 2001; 96: 1019-1027.
 35. 三宅一昌, 坂本長逸: NSAID 潰瘍予防に関する最近の動向—選択的 COX-2 阻害剤の有効性と除菌療法. 医学のあゆみ 2004; 210: 475-479.
 36. Kearney PM, Baigent C, Godwin J, Halls H, Emberson JR, Patrono C: Do selective cyclooxygenase-2 inhibitors and traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs increase the risk of atherothrombosis? Meta-analysis of randomised trials. BMJ 2006; 332: 1302-1308.
 37. 三宅一昌, 坂本長逸: 上部消化管障害—RA 患者における NSAID 潰瘍の危険因子について. 骨・関節・靭帯 2007; 20: 1033-1038.
 38. Raskin JB, White RH, Jackson JE, Weaver AL, Tindall EA, Lies RB, Stanton DS: Misoprostol dosage in the prevention of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric and duodenal ulcers: a comparison of three regimens. Ann Intern Med 1995; 123: 344-350.
 39. Graham DY, Agrawal NM, Roth SH: Prevention of NSAID-induced gastric ulcer with misoprostol: multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet 1988; 2: 1277-1280.
 40. Goldstein JL, Huang B, Amer F, Christopoulos NG: Ulcer recurrence in high-risk patients receiving nonsteroidal anti-inflammatory drugs plus low-dose aspirin: results of a post HOC subanalysis. Clin Ther 2004; 26: 1637-1643.
 41. 三宅一昌, 坂本長逸: *H. pylori* 時代の消化性潰瘍学—NSAIDs 粘膜傷害の予防. 日本臨床 2002; 60: 577-582.
 42. Huang JQ, Sridhar S, Hunt RH: Role of *Helicobacter pylori* infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis. Lancet 2002; 359: 14-22.
 43. Sakamoto C, Sugano K, Ota S, Sakaki N, Takahashi S, Yoshida Y, Tsukui T, Osawa H, Sakurai Y, Yoshino J, Mizokami Y, Mine T, Arakawa T, Kuwayama H, Saigenji K, Yakabi K, Chiba T, Shimosegawa T, Sheehan JE, Perez-Gutthann S, Yamaguchi T, Kaufman DW, Sato T, Kubota K, Terano A: Case-control study on the association of upper gastrointestinal bleeding and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in Japan. Eur J Clin Pharmacol 2006; 62: 765-772.
 44. Leandro G, Pilotto A, Franceschi M, Bertin T, Lichino E, Di Mario F: Prevention of acute NSAID-related gastroduodenal damage: a meta-analysis of controlled clinical trials. Dig Dis Sci 2001; 46: 1924-1936.
 45. Chan FK, Sung JJ, Chung SC, To KF, Yung MY, Leung VK, Lee YT, Chan CS, Li EK, Woo J: Randomised trial of eradication of *Helicobacter pylori* before non-steroidal anti-inflammatory drug therapy to prevent peptic ulcers. Lancet 1997; 350: 975-979.
 46. Chan FK, To KF, Wu JC, Yung MY, Leung WK, Kwok T, Hui Y, Chan HL, Chan CS, Hui E, Woo J, Sung JJ: Eradication of *Helicobacter pylori* and risk of peptic ulcers in patients starting long-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs: a randomised trial. Lancet 2002; 359: 9-13.
 47. Chan FK, Chung SC, Suen BY, Lee YT, Leung WK, Leung VK, Wu JC, Lau JY, Hui Y, Lai MS, Chan HL, Sung JJ: Preventing recurrent upper gastrointestinal bleeding in patients with *Helicobacter pylori* infection who are taking low-dose aspirin or naproxen. N Engl J Med 2001; 344: 967-973.
 48. Lai KC, Lam SK, Cu KM, Wong BC, Hui WM, Hu WH, Lau GK, Wong WM, Yuen MF, Chan AO, Lai CL, Wong J: Lansoprazole for the prevention of recurrences of ulcer complications from long-term low-dose aspirin use. N Engl J Med 2002; 346: 2033-2038.
 49. 三宅一昌, 坂本長逸: 消化器内科学 低用量アスピリンは潰瘍予防が必要か. 医学のあゆみ 2008; 227: 214-215.
 50. 三宅一昌, 坂本長逸: *Helicobacter pylori* 感染と NSAIDs—除菌の是非のその後 最新の知見—NSAIDs 潰瘍における *Helicobacter pylori* 除菌の意義—国内外のコンセンサスをもとに. Helicobacter Res 2006; 10: 251-258.

(受付: 2009年8月28日)

(受理: 2009年9月11日)

—臨床および実験報告—

医師の立ち会わない院内助産における胎児心拍数モニタリング

三宅 秀彦^{1,2} 五十嵐美和^{1,2} 里見 操緒^{1,2} 鈴木 俊治²¹日本医科大学大学院医学研究科女性生殖発達病態学²葛飾赤十字産院産婦人科, 東京

Fetal Heart Rate Monitoring in Midwifery Maternity Care during Labor

Hidehiko Miyake^{1,2}, Miwa Igarashi^{1,2}, Misao Satomi^{1,2} and Shunji Suzuki²¹Division of Reproductive Medicine, Perinatology and Gynecologic Oncology, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School²Department of Obstetrics and Gynecology, Japanese Red Cross Katsushika Maternity Hospital, Tokyo**Abstract**

Midwifery care for “low-risk” pregnant women during labor is associated with high maternal satisfaction. However, low-risk pregnant women are sometimes referred from midwives to obstetricians due to a shift to the “high-risk” status. Recently, cardiotocogram (CTG) is used for standard delivery care in several Japanese maternity care units. Therefore, we retrospectively examined the influence of CTG management on perinatal outcomes among low-risk pregnant women who preferred maternity care from a midwife during labor.

During the study period, from April to September 2008, 247 pregnant women chose midwifery maternity care during labor at Katsushika Red Cross maternity hospital. Of the 247 cases, 113 (45.8%) were referred from midwives to obstetricians. CTG abnormality was the main reason for referral and accounted for approximately 30% of referrals; weak labor pain was also a main reason for referral. Variable deceleration was observed in more than half of the women referred with CTG abnormality. Among the referred cases with CTG abnormality, the rate of spontaneous delivery was lower and the rate of cesarean section was higher than in referred cases without CTG abnormality. Umbilical arterial pH of cases with CTG abnormality was significantly lower than the low-risk group.

Abnormal CTG findings considerably influenced referrals from midwives to obstetricians. Because of the low umbilical arterial pH in the group with CTG abnormality, our decision for operative delivery might have been correct. We conclude that evaluation and improvement of CTG management is needed in order to achieve high maternal satisfaction and safety in perinatal care.

(日本医科大学医学会雑誌 2010; 6: 13-16)

Key words: maternity care, cardiotocogram, obstetric care

緒言

現在、分娩を取り扱う産婦人科医師の減少が社会問題化し、この対応策として、分娩の専門職である助産師の活躍が期待されている。当院は、年間約 2,000 出生を取り扱う東京都の地域周産期母子医療センターであり、「院内助産院」という言葉は使用していないものの、いわゆる正常に経過するローリスク妊娠・分娩に対しては助産師がその中心となり、産婦からの自然な分娩のニーズに応えるよう、2007 年 10 月より医師の立ち会わない周産期ケアをおこなっている。

このような助産師によるローリスク分娩ケアは、産婦の満足度向上のために重要な意味を持つ¹⁾。その一方、妊娠中には全く問題のなかったローリスク妊産婦でも、一部はハイリスクに移行することが知られており¹⁻³⁾、周産期管理の安全性についても配慮が必要である。今日の周産期管理においては、分娩時の胎児機能評価として胎児心拍数図 (CTG) が標準的に用いられているが、その検査の妥当性についてはいまだ検討が必要な状況と考えられている⁴⁾。今回、当院におけるローリスク分娩例のうち「医師の立ち会わない分娩」を希望した産婦の転帰について調査し、CTG 管理による母児の予後への影響について検討をおこなった。

対象および方法

対象は、平成 20 年 4 月～9 月の 6 カ月間において、葛飾赤十字産院で取り扱った妊娠 22 週以降の分娩 1,046 例 (うち双胎 54 例) のうち、「医師の立ち会わない分娩」を希望した産婦 247 例である。この「医師の立ち会わない分娩」を希望した症例のうち、分娩経過中の異常によりハイリスク移行した症例について、CTG 異常の有無で分類し、母児の予後について後方視的に検討した。なお、当院におけるハイリスク移行とする CTG 異常所見の基準は、徐脈、頻脈、高度変動一過性徐脈、遅発一過性徐脈もしくは助産師が異常と判断したものとしている。

統計学的検討には JMP for Mac 7.0.2 (SAS, 2007) を使用し、分類データはカイ 2 乗検定もしくは Fisher の正確検定、連続データは Student's *t*-test 検定で解析をおこなった。統計学的有意水準は $p < 0.05$ とした。

なお、この研究は院内の倫理委員会の許諾を得ている。

結果

症例の概要を **Table 1** に示す。医師の立ち会いを希望しないローリスク産婦 247 例のうち、113 例 (45.8%) がハイリスク移行となった。ハイリスク移行群では、初産婦が多く、臍帯動脈血 pH が低値を示していた。しかし、母体出血量や出生児体重、1 分後および 5 分後のアプガースコアは、2 群間で有意差を認めなかった。

重複例も含めハイリスク移行の主な理由としては、CTG 異常 36 例 (31.9%)、微弱陣痛 35 例 (31.0%)、羊水混濁 14 例 (12.4%)、破水後遷延 13 例 (11.5%)、そして血圧上昇 7 例 (6.2%) であった。

ハイリスク移行の原因となった CTG 異常の心拍数パターンについて検討すると、変動一過性徐脈が 21 例 (58.3%) と半数以上を占めており、続けて持続一過性徐脈が 9 例 (25.0%)、遅発一過性徐脈は 5 例 (13.9%) であった。残りの 1 例 (2.8%) は、non-reactive pattern によりハイリスク移行となった。

ハイリスク移行した群を CTG 異常の有無で分類し、母子の予後について比較したところ、**Table 2** に示すように、分娩様式についてのみ 2 群間で有意差を認めた。CTG 異常のない群では、自然分娩の割合が高く (77 例中 64 例 : 83.1%) で、帝王切開率が低い (1 例 : 1.3%) のに対して、CTG 異常群では自然分娩率が低く (36 例中 22 例 : 61.1%)、帝王切開率が高かった (5 例 : 13.9%)。臍帯動脈血 pH については、CTG 異常群でやや低い傾向を示した。このハイリスク移行群内での差は有意でなかったが、ローリスク群と比較すると CTG 異常群の臍帯動脈血 pH は統計学的に有意に低値であった (CTG 異常のあるハイリスク移行群, 7.229 ± 0.013 : 非ハイリスク移行群, 7.277 ± 0.072)。

考察

今回の検討で「医師の立ち会わない分娩」を希望された妊産婦の中で、医師の介入を必要とした症例では臍帯動脈血 pH が助産師のみの分娩症例に比べて低値を示していたが、母子ともに明らかな予後不良症例は認められなかった。帝王切開率についても、助産師のみの分娩を希望された全例でみると 2.4% (247 例中 6 例) という割合であり、今回の医療介入の判断については比較的適正であったと思われる。

このローリスクからハイリスクへの移行について、

Table 1 Perinatal outcomes of “low-risk” pregnant women who hoped for midwifery maternity care during labor

	midwifery care (n=134)	Referred to doctor (n=113)	Total (n=247)
Maternal age (years)	32.4 ± 4.5	32.5 ± 4.5	32.5 ± 4.5
Primiparous	45 (33.6%)	84 (74.3%)*	129 (52.2%)
Gestational age at delivery (weeks)	39.68 ± 0.91	39.91 ± 0.99	38.78 ± 0.96
Postpartum hemorrhage (mL)	415.5 ± 302.2	431.9 ± 269.3	423.0 ± 287.1
Birth weight (g)	3,050.0 ± 314.6	3,004.7 ± 297.8	3,029.3 ± 307.2
Apgar score (1 minutes) <7	0 (0%)	2 (1.8%)	2 (0.8%)
Apgar score (5 minutes) <7	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Umbilical arterial blood pH	7.277 ± 0.072	7.240 ± 0.076**	7.260 ± 0.076

Values are presented as mean ± standard deviations or number (percentage)

*p<0.05: analysed by chi square test, **p<0.05: analysed by Student's *t*-test.

Table 2 Influence of abnormal cardiotocogram findings on perinatal outcome in referred “low-risk” pregnant women

	Abnormal CTG (n=36)	normal CTG (n=77)
Maternal age (years)	32.3 ± 4.0	32.2 ± 4.7
Primiparous	22 (61.1%)	62 (80.5%)
Gestational age at delivery (weeks)	40.01 ± 0.97	39.69 ± 1.02
Delivery mode		
Normal delivery	22 (61.1%)*	64 (83.1%)
Assisted (vacuum/forceps) delivery	9 (25.0%)	12 (15.6%)
Cesarean section	5 (13.9%)**	1 (1.3%)
Postpartum hemorrhage (mL)	363.8 ± 163.6	463.8 ± 302.2
Birth weight (g)	2,928.3 ± 320.3	3,040.4 ± 281.8
Apgar score (1 minutes) <7	0 (0%)	2 (2.6%)
Apgar score (5 minutes) <7	0 (0%)	0 (0%)
Umbilical arterial blood pH	7.229 ± 0.013	7.245 ± 0.009

Values are presented as mean ± standard deviations or number (percentage)

*p<0.05: analysed by chi square test, **p<0.05: analysed by Fisher's exact test.

CTG means cardiotocogram.

微弱陣痛とともに大きく影響していたのがCTG異常であった。当院ではローリスク分娩に対してCTGをルーチンに使用している。一般的に、分娩監視装置による判定は偽陽性が高く、胎児の状態が良好である場合の正診率は高いが、いわゆる胎児機能不全であっても必ずしも児の状態は不良ではないと考えられている^{5,6}。よって、いくつかのガイドラインでは、ローリスク産婦に対するCTG装着は母子の予後改善の十分なエビデンスがないとしており、このことから胎児の間歇的心音聴取を標準的な評価法として推奨できるとの意見がある⁶。これに対して、ローリスク妊婦においてもCTGによる入院時評価を重要と考える意見もある⁵。鯨島らは、全くハイリスク因子のないローリスク産婦であっても0.5%の頻度で入院時から異常心拍数パターンを示し、その異常パターンを示した症例

のうち、8%が周産期死亡、25%が脳性麻痺の結果に至ったと報告している³。本検討は入院時から分娩に至るすべての時期での評価であるため単純な比較はできないが、CTG異常を理由としてハイリスク管理に移行した場合での臍帯動脈血pHがCTG異常のない群やローリスク群に比べ低くなっており、胎児への低酸素血症の頻度が高いことが示唆された。よって、すなわち手術分娩、特に帝王切開の施行はある程度許容されるものであり、CTGによる評価は意味があると考えられた。しかし、ローリスク妊婦における自然分娩へのニーズを考えると、妊婦、家族、そして医療者自身が、児の安全性と妊婦の希望の間で板挟みにならないよう慎重な対応が要求されると考える。

2009年7月に日本産科婦人科学会周産期委員会は、CTG所見について、基線細変動を判読の重要項

目とし、基線と一過性徐脈に重症度をつけ、この細分類ごとに警戒レベルを設定し、その対応を決定する指針を提案した⁴。このCTGを用いた分娩管理指針では、各分娩取り扱い施設の診療環境、症例の背景因子を考慮して方針決定ができるようになっている⁴。今後、当院においても、医師立ち会いの基準については細変動分類を加えるなどの更新作業が必要となるが、快適性と安全性をともに考慮した、妊産婦のより高い満足感を得られるような妊産婦ケアを構築したい。

結 論

当院の「医師の立ち会わない分娩」が可能と考えられた産婦であっても、約半数はハイリスクに移行となっていた。CTG異常所見はハイリスク移行に大きく影響しており、CTG所見によるハイリスク移行症例では児の臍帯動脈血pHが低かったことより、手術分娩の施行は比較的妥当であると考えられた。今後、妊産婦の快適性を妨げずに安全なケアを提供できるよう、CTGの管理方針を評価・改善をしていくことが

重要であると考えられた。

文 献

1. Suzuki S, Satomi M, Miyake H: Referrals during labor in midwife care. *J Nippon Med Sch* 2009; 76: 226-228.
2. 高屋 茜, 菊池美美, 印出佑介, 五十嵐美和, 三浦直美, 中川道子, 三宅秀彦, 鈴木俊治: 当院での「医師が立ち会わない院内助産」の試み. *日本産科婦人科学会東京地方部会誌* 2008; 57: 377-379.
3. Sameshima H, Ikenoue T, Ikeda T, Kamitomo M, Ibara S: Unselected low-risk pregnancies and the effect of continuous intrapartum fetal heart rate monitoring on umbilical blood gases and cerebral palsy. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190: 118-123.
4. 岡井 崇: 胎児機能不全の取り扱い指針—周産期委員会からの提案—. *日産婦誌* 2009; 61: 1297-1302.
5. 鮫島 浩: 臨床必携 分娩監視CTGの読み方 その時どうする 胎児心拍数モニタリング施行基準と実施上の注意点. *周産期医学* 2007; 37: 317-320.
6. 八重ゆかり, 堀内成子: エビデンスに基づいたガイドラインの評価 低リスク妊娠における適切な分娩時胎児モニタリング. *聖路加看護学会誌* 2002; 6: 34-43.

(受付: 2009年8月7日)

(受理: 2009年8月31日)

—臨床医のために—

慢性腎臓病合併例の高血圧治療

内海 甲一 平間 章郎 上田 佳恵 三井亜希子
金子 朋広 飯野 靖彦 片山 泰朗

日本医科大学大学院医学研究科神経・腎臓・膠原病リウマチ学

Management of Hypertension in Patients with Chronic Kidney Disease

Kouichi Utsumi, Akio Hirama, Kae Ueda, Akiko Mii,
Tomohiro Kaneko, Yasuhiko Iino and Yasuo Katayama

Department of Neurological, Nephrological, and Rheumatological Science, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School

Abstract

Chronic kidney disease (CKD) is defined by two criteria. One criterion is abnormal renal function or morphology, especially proteinuria. A second criterion is an estimated glomerular filtration rate (eGFR) less than 60 mL/min/1.73 m² calculated with the serum creatinine concentration. CKD is classified on the basis of eGFR from stage 1 to stage 5. CKD is a common cause of cardiovascular disease (CVD). CVD is a major cause of morbidity and mortality in patients with CKD. Management of hypertension in patients with CKD aims to prevent CVD and provide renoprotection. First-line agents for controlling blood pressure are inhibitors of the renin-angiotensin system: angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers. These agents are superior to other classes of antihypertensive agents in reducing the amount of urinary protein and in preserving renal function. In CKD, the target blood pressure is less than 130/80 mmHg, and 125/75 mmHg, if the amount of urinary protein is more than 1 g/day. To achieve the target blood pressure, other classes of antihypertensive agents, such as diuretics and calcium channel blockers, should also be administered.

(日本医科大学医学会雑誌 2010; 6: 17-22)

Key words: chronic kidney disease, cardiovascular disease, renin-angiotensin system, angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor blockers

CKD の定義

慢性腎臓病 (CKD: chronic kidney disease) という概念が近年提唱されている。これは、慢性的に腎臓に障害を起こす疾患すべてを主に蛋白尿と腎機能より

CKDとして定義したものである。2002年にアメリカのK/DOQI (アメリカ腎臓財団)のガイドラインとして発表された¹⁾。CKDは表1で定義される。その一つは構造的な異常 (尿異常, 画像異常, 病理的な組織異常) であり, そのなかで微量アルブミン尿を含めた尿蛋白の有無が特に重要であると考えられている。も

Correspondence to Kouichi Utsumi, Department of Neurological, Nephrological, and Rheumatological Science, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8603, Japan

E-mail: utsumi@nms.ac.jp

Journal Website (<http://www.nms.ac.jp/jmanms/>)

表1 CKD の定義

①尿異常, 画像診断, 血液, 病理で腎障害の存在が明らか —特に蛋白尿の存在が重要—
② GFR < 60 mL/min/1.73 m ²
①, ②のいずれか, または両方が3か月以上持続する
文献2より引用

表2 CKD のステージ分類

病期 ステージ	重症度の説明	進行度による分類 GFR mL/min/1.73 m ²
	ハイリスク群	≥ 90 (CKD のリスクファクターを有する状態で)
1	腎障害は存在するが, GFR は正常または亢進	≥ 90
2	腎障害が存在し, GFR 軽度低下	60 ~ 89
3	GFR 中等度低下	30 ~ 59
4	GFR 高度低下	15 ~ 29
5	腎不全	< 15

透析患者 (血液透析, 腹膜透析) の場合には D, 移植患者の場合には T をつける。
文献2より引用

う一つは eGFR (推算糸球体濾過量) が < 60 mL/min/1.73 m² である。具体例を挙げると, I) 微量アルブミン尿を含む蛋白尿や血尿などの尿異常 II) 片腎や多発性嚢胞腎などの画像異常 III) 病理所見 IV) 腎機能の低下などの血液異常などである。日常臨床では, 蛋白尿と < 60 mL/min/1.73 m² で CKD の診断をする。

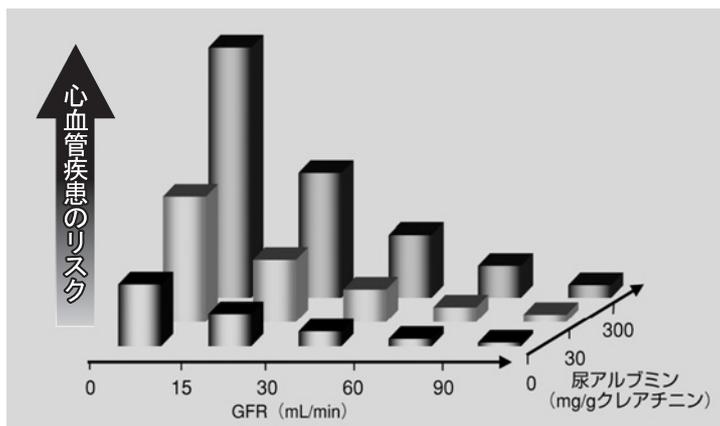
CKD の分類

CKD の病期分類には, 腎機能の評価指標である eGFR を用いる。病期ステージは 1 から 5 までの 5 つのステージに分類されている (表 2)。シンプルに病期がイメージできるように, ステージが eGFR の 15 および 30 の倍数で区切られている。すなわち, ステージ 1 では eGFR が 90 以上, 2 から 5 までは eGFR の 90, 60, 30, 15 < mL/min/1.73 m² である。ステージ 5 で血液透析や腹膜透析を受けている場合は D (dialysis) をつけ, 移植患者である場合はそのステージに T (transplantation) をつける。CKD は透析患者も移植患者も含めた概念である。CKD 発症のリスクファクターとして, 高齢 (加齢), CKD の家族歴, 過去の検診における尿異常や腎機能異常および腎形態異常, 脂質異常症, 高尿酸血症, NSAIDs のどの常用

薬, 急性腎不全の既往, 高血圧, 耐糖能異常や糖尿病, 肥満およびメタボリックシンドローム, 膠原病, 感染症, 尿路結石などがある。これら CKD ハイリスク群では, CKD 発症前より高血圧, 糖尿病などの治療や生活習慣の改善を行い, CKD の発症予防に努めることが重要である。

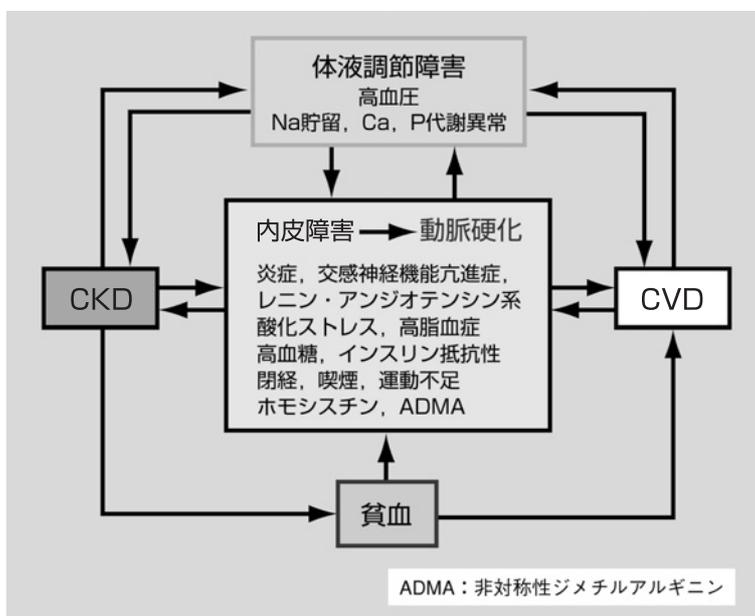
CKD と CVD

CKD は腎不全への進行のリスクファクターであるばかりでなく, 心血管疾患 (CVD: cardiovascular disease) のリスクファクターであることが, わが国や欧米の研究で示されている^{3,5}。腎機能が低下すると CVD 発症のリスクが高まるが, 蛋白尿を伴うとその危険は増加する (図 1)⁴。糖尿病や高血圧などの生活習慣病のない一般住民においても軽度の GFR の低下やアルブミン尿をはじめとする軽度の蛋白尿などの CKD の存在が CVD の危険因子であることが明らかにされている⁴。CKD の患者では, 末期腎不全 (ESKD) のため透析導入されるよりも, 経過中に CVD により死亡するリスクのほうが高いと考えられている⁶。すなわち, CKD 患者においては, CVD 合併につねに留意する必要がある。また, CVD 患者の腎機能は低下していることが報告されている⁷。図 2 に CKD と CVD



文献5より引用

図1 腎機能障害と心血管疾患の関係



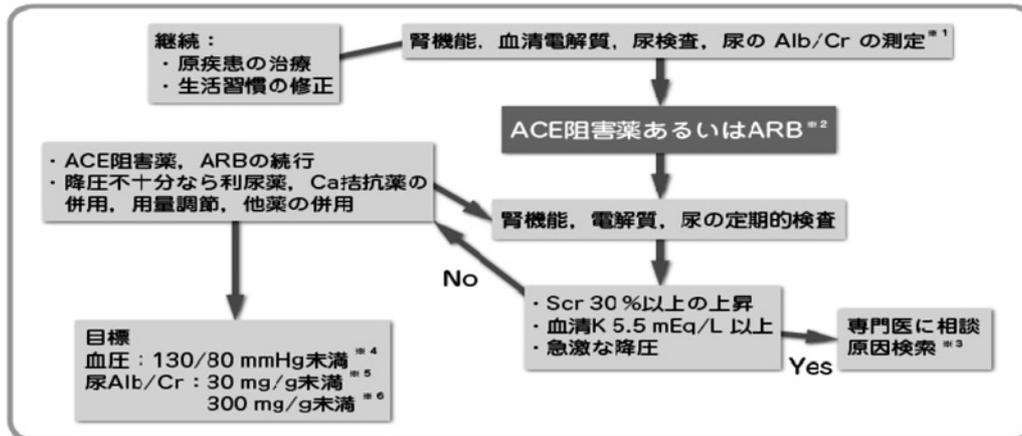
文献2より引用

図2 心腎連関

に共通する危険因子を示す。主に体液調節障害と内皮障害をもたらす因子に分類されている。どちらも、動脈硬化を促進することと、細胞外液過剰による心血管への負荷につながるものである。CKDに合併する腎性貧血は、CVDの独立したリスクファクターとなる。CKDに対し介入可能な危険因子の治療を行うことは、CKDの進展を阻止することだけでなく、その治療によってCVD抑制効果が期待できると考えられる。特に血圧管理、血糖管理がCVDの予防に重要であると考えられる。

CKDと高血圧症

前項でも記述したとおりCKDはCVDのリスクファクターとして重要である³⁻⁵。CKD患者では高率に高血圧を合併し、高血圧はGFRの低下や蛋白尿の存在などとともCKD進行の強力なリスクファクターである⁸⁹。また、高血圧はCVD発症進展の強力なリスクファクターでもある。CKDではCKD進行の抑制とCVD発症進展抑制のために、血圧の管理が重要である。CKD合併高血圧では、正常な糸球体数



血清クレアチニンが 2 mg/dL を超える CKD 患者に使い始める場合は特に注意する
 ※1 尿アルブミンの測定は保険診療上、「糖尿病性腎症疑い」でのみ認可されている。非糖尿病性腎疾患では尿蛋白を測定する
 ※2 血清クレアチニン値 (Scr) 2 mg/dL 以上では少量より投与開始
 ※3 原因：腎動脈狭窄、NSAIDs、心不全、脱水、尿路異常など
 ※4 尿蛋白 1 g/日以上では 125/75 mmHg 未満。 ※5 糖尿病性腎症。 ※6 非糖尿病性腎疾患尿 Alb/Cr：30 mg/g 未満は正常、300 mg/g (尿蛋白では 0.5 g/g) 以上は顕性蛋白尿に相当する

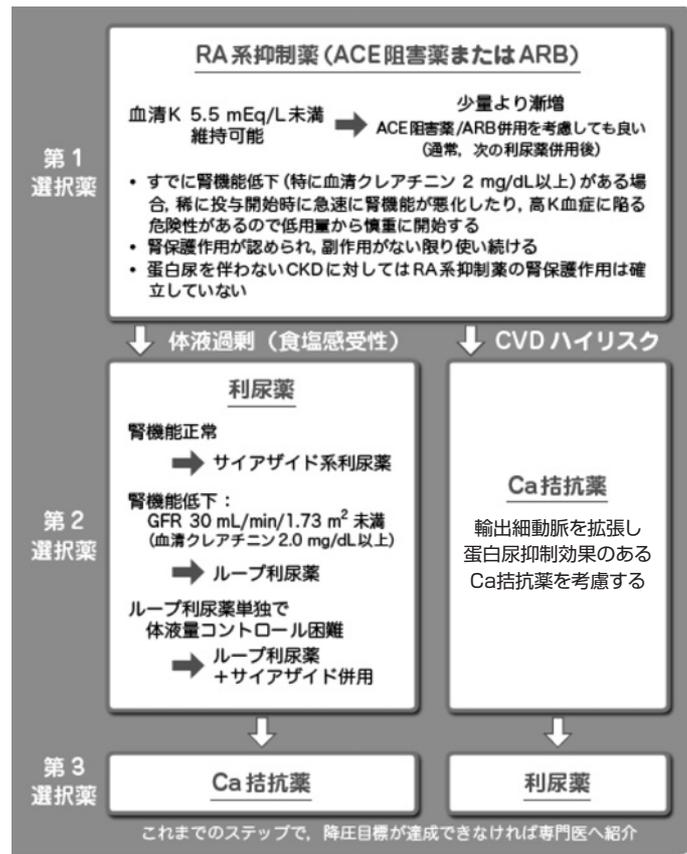
文献17より引用

図3 CKD を合併する高血圧の治療計画

が疾患の進行とともに減少し、全体の糸球体濾過量を維持するために、残存する正常な糸球体の濾過量は増加する。これが糸球体過剰濾過の状態である。糸球体の過剰濾過を維持するためには、糸球体内圧を高く維持する必要がある。これが糸球体高血圧である。糸球体高血圧を維持するために、輸入細動脈は拡張し、輸出細動脈は収縮している。それにより、糸球体内圧は自動調節能を失い、全身血圧依存性となる。糸球体内圧の上昇は糸球体内の細胞外基質(メサンギウム基質)の増加、硬化病変への進展を引き起こし、残存する正常糸球体に対する障害をもたらす、さらに腎機能を悪化させるという悪循環が作られる。一般に腎機能障害時の高血圧は、Na 排泄障害による体液量依存性高血圧症であり、その結果として食塩感受性であり、non-dipper 型高血圧症となる。通常夜間の血圧は昼間より低いが、その低下量が 10% 未満であるものを non-dipper 型高血圧症と呼び¹⁰、CVD のリスクファクターであることが報告されている¹¹。non-dipper 型高血圧症は腎機能障害を進展させることが知られている¹²。また、血圧が高いほど末期腎不全に至る率が高いことが示されており^{13,14}、MDRD では、厳格な血圧コントロールが腎機能低下の進行を抑制することを明らかにした¹⁵。また、収縮期血圧が 110~119 mmHg の患者に比し、130 mmHg 以上の患者では腎障害の進行に対する相対危険度が上昇し、特に尿蛋白排泄量が 1 日 1 g 以上の場合に顕著であった¹⁶。

CKD と降圧療法

CKD における降圧の意義は、CKD 進展の抑制と CVD 発症進展の抑制にある。降圧療法の原則を示す(図3)。1) 目標血圧は 130/80 mmHg 未満であり、蛋白尿が 1 g/day 以上の場合には、さらに低い 125/75 mmHg 未満を降圧目標とする。2) 降圧療法は家庭血圧を重視し、緩徐に行う。夜間高血圧 (non-dipper) や早朝高血圧は、CKD を悪化させるため、その診断には家庭血圧が重要である。朝起床後 1 時間以内で排尿後朝食前および就寝前の家庭血圧を測定する。降圧は 2~3 カ月かけて経過を観察しながら、緩徐に降圧目標値を達成するようにする。3) 原則として、降圧薬はレニンアンジオテンシン系 (RAS) 阻害薬である ACE 阻害薬か ARB を使用する。RAS 阻害薬は降圧効果だけでなく、糸球体内圧の低下作用とそれに引き続く尿蛋白減少効果、糸球体硬化病変の進展抑制など腎保護作用を有している。降圧目標が達成できないときには第 2 選択薬として利尿薬か Ca 拮抗薬の併用を考慮する(図4)。降圧目標に達するためには多くの場合、多剤併用療法が必要である。β 遮断薬、α 遮断薬、中枢性交感神経遮断薬などは CKD におけるエビデンスはないが、これら降圧薬も降圧による CKD 進行抑制効果は期待できる。4) 生活習慣の改善、特に減塩が重要であり、1 日食塩摂取量を 6 g/day 未満



文献17より引用

図4 血圧治療の進め方

とする。減塩によりACE阻害薬やARBの降圧効果が増強される。塩分制限が困難なときは、少量のサイアザイド系利尿薬 (CKDステージ1~3) やループ利尿薬 (CKDステージ3~5) を併用することにより、塩分排泄をする。高齢者では過度の塩分制限により食欲低下がみられ、脱水による腎機能の悪化が認められることがあり、注意が必要である。5) CKD患者にACE阻害薬やARBを投与すると、血清クレアチニン値が上昇することがあり、特に腎機能が中等度以上に低下したCKDでは低用量から慎重に開始する。血清クレアチニン値が前値の30%までの上昇か1 mg/dLまでの上昇なら、投与を継続する。前値の30%以上の上昇か1 mg/dL以上の上昇がみられる場合は、薬剤を減量あるいは中止し、腎臓専門医にコンサルトする。血清Kが5.5 mEq/L以上になる場合も同様である。血清クレアチニン値の過度な上昇の原因を表3に示す。このようなときは、ACE阻害薬やARBの投与を控えたほうが無難である。自験例を図5に示す。本態性高血圧の53歳女性。数年前より高血圧症を指摘されていたが放置していた。初診時血圧162/102 mmHg、蛋白尿0.8 g/gCrを認めた。カンデサル

表3 血清クレアチニン値の過度な上昇の原因

- 1) 腎動脈狭窄 (特に両側性)
- 2) 非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) やシクロスポリン投与
- 3) 心不全
- 4) 脱水 (特に高齢者では夏場や下痢、食思不振時)
- 5) 尿路異常 (特に水腎症) など

文献2より引用

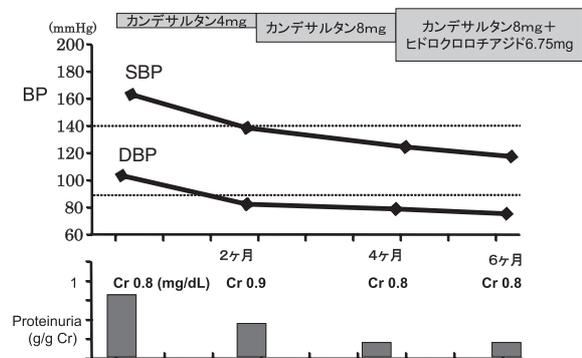


図5 降圧薬の血圧への効果

タン 4 mg を開始した。2 カ月後、血圧 140/86 mmHg であったため、カンデサルタンを 8 mg へ増量した。2 カ月後、血圧 136/84 mmHg であったため、ヒドロクロロチアジド 6.75 mg を加えたところ、さらに 2 カ月後、血圧 120/76 mmHg と良好な値を示した。初診時 0.8 g/gCr みられた尿蛋白は、カンデサルタン投与後減少が認められ、6 カ月後には 0.2 mg/gCr であった。経過中血清クレアチニン値には変動はみられなかった。

CKD の高血圧は CVD の最大のリスクファクターであり、その生命予後や生活の質に大きく影響する。CKD における降圧療法の目標は、CVD の合併を予防し、生命予後や生活の質を改善することにあると考えられる。

文 献

- National Kidney Foundation: K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: S1-S266.
- 日本腎臓学会: CKD 診療ガイド. 2009; 東京医学社 東京.
- Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY: Chronic kidney disease and the risk of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004; 351: 1296-1305.
- Nakayama M, Metoki H, Terawaki H, Ohkubo T, Kikuya M, Sato T, Nakayama K, Asayama K, Inoue R, Hashimoto J, Totsune K, Hoshi H, Ito S, Imai Y: Kidney dysfunction as a risk factor for first symptomatic stroke events in a general Japanese population—the Ohasama study. *Nephrol Dial transplant* 2007; 22: 1910-1915.
- National Kidney Foundation: K/DOQI Clinical practice guideline on hypertension and antihypertensive agents in chronic kidney disease. *Am J kidney Dis* 2004; 43: S1-S290.
- Keith DS, Nichols GA, Gullion CM, Brown JB, Smith DH: Longitudinal follow-up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization. *Arch intern Med* 2004; 164: 659-663.
- Anavekar NS, McMurray JJ, Velazquez EJ, Solomon SD, Kober L, Rouleau JL, White HD, Nordlander R, Maggioni A, Dickstein K, Zelenkofske S, Leimberger JD, Califf RM, Pfeffer MA: Relation between renal dysfunction and cardiovascular outcomes after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2004; 351: 1285-1295.
- Yamagata K, Ishida K, Sairenchi T, Takahashi H, Ohba S, Shiigai T, Narita M, Koyama A: Risk factor for chronic kidney disease in a community-based population: a 10-year follow-up study. *Kidney Int* 2007; 71: 159-166.
- Bakris GL, Williams M, Dworkin L, Elliott WJ, Epstein M, Toto R, Tuttle K, Douglas J, Hsueh W, Sowers J: Preserving renal function in adult with hypertension and diabetes: a consensus approach. National kidney Foundation Hypertension and Diabetes Executive Committees Working Group. *Am J Kidney Dis* 2000; 36: 646-661.
- O'Brien E, Sheridan J, O'Malley K: Dippers and non-dippers. *Lancet* 1988; 2: 397.
- Metoki H, Ohkubo T, Kikuya M, Asayama K, Obara T, Hashimoto J, Totsune K, Hoshi H, Satoh H, Imai Y: Prognostic significance for stroke of a morning presser surge and a nocturnal blood pressure decline: the Ohasama study. *Hypertension* 2006; 47: 149-154.
- Timio M, Vananzi S, Lolli S, Lippi G, Verdura C, Monarca C, Guerrini E: "Non-dipper" hypertensive patients and progressive renal insufficiency: a 3-year longitudinal study. *Clin Nephrol* 1995; 43: 382-387.
- Klag MJ, Whelton PK, Randall BL, Neaton JD, Brancati FL, Ford CE, Shulman NB, Stamler J: Blood pressure and end-stage renal disease in men. *N Engl J med* 1996; 334: 13-18.
- Tozawa M, Iseki K, Iseki C, Kinjo K, Ikemiya Y, Takishita S: Blood pressure predicts risk of developing end-stage renal disease in men and women. *Hypertension* 2003; 41: 1341-1345.
- Peterson JC, Adler S, Burkart JM, Greene T, Hebert LA, Hunsicker LG, King AJ, Klahr S, Massry SG, Seifter JL: Blood pressure control, proteinuria, and the progressive of renal disease. The Modification of Diet in Renal Disease Study. *Ann Intern Med* 1995; 123: 754-762.
- Jafar TH, Stark PC, Schmid CH, Landa M, Maschio G, de Jong PE, de Zeeuw D, Shahinfar S, Toto R, Levey AS; AIPRD Study Group: Progression of chronic kidney disease: the role of blood pressure control, proteinuria, and angiotensin-converting enzyme inhibition: a patient-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2003; 139: 244-252.
- 日本腎臓学会・日本高血圧学会: CKD (慢性腎臓病) 診療ガイド高血圧編. 2008; 東京医学社 東京.

(受付: 2009年6月24日)

(受理: 2009年8月7日)

—基礎研究から学ぶ—

2. 組織細胞化学シリーズ (若手研究者へのヒント)

非放射性同位元素標識プローブを用いた in situ hybridization 法 (4)

三嶋 拓也¹ 羅 善順² 竹下 俊行³ 瀧澤 俊広¹¹日本医科大学大学院医学研究科分子解剖学²ハルビン医科大学附属第一病院・循環器内科学, 中国³日本医科大学大学院医学研究科女性生殖発達病態学

2. Histochemistry Series

In Situ Hybridization Using Non-radioisotope labeled RNA Probes (4)

Takuya Mishima¹, Shan-shun Luo², Toshiyuki Takeshita³ and Toshihiro Takizawa¹¹Department of Molecular Medicine and Anatomy, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School²Department of Cardiology, First Clinical College of Harbin Medical University, China³Division of Reproductive Medicine, Perinatology and Gynecologic Oncology, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School

Abstract

In situ hybridization is a powerful method directed toward obtaining spatial and temporal information concerning the expression and distribution of RNA molecules (e.g., messenger RNA and microRNA) in vivo. In this technical note, we describe procedures for in situ hybridization with non-radioisotope labeled RNA probes, especially a digoxigenin-labeled RNA probe.

(日本医科大学医学会雑誌 2010; 6: 23-29)

Key words: in situ hybridization, digoxigenin, RNA

はじめに

生体内の生体分子の局在解析には免疫組織化学が有効ですが、必ずしも、生体分子が局在している細胞が産生細胞とは限りません(例:ホルモン)。生体分子を発現している細胞・組織・臓器を確認するためには messenger RNA (mRNA) の発現の検討が要求されます。In situ hybridization (ISH) 法は、組織・臓器での遺伝子発現を可視化する組織化学法です。そのため、組織切片を用いる方法と、胚などを用いた方法(ホールマウント ISH 法)の2種類が存在します。

今回、筆者らの経験を元に、検出プローブは最も感度がよいと考えられる RNA プローブを用い、標識には非放射性同位元素標識 [ジゴキシゲニン (digoxigenin, DIG) 標識] を用いた方法を、組織切片の作製から可視化までの技術について、“若手研究者へのヒント”としてその基本技術について解説します。最後に、最近注目を集めている低分子 RNA である microRNA の ISH 検出法について触れます。

Correspondence to Toshihiro Takizawa, Department of Molecular Medicine and Anatomy, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8602, Japan

E-mail: t-takizawa@nms.ac.jp

Journal Website (<http://www.nms.ac.jp/jmanms/>)

データベースの活用：検出しようとする 遺伝子のシグナルを予測してみる

(1) National Center for Biotechnology Information サイト中の UniGene データベース (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/unigene>) にて、検出しようとする遺伝子を検索します。

(2) 各臓器における遺伝子発現頻度を示す一覧 (EST Profile) より、対象とする臓器での発現、ポジティブコントロールとする臓器、テンプレート作製時の RT-PCR に使用する total RNA などを含めて検討します。

(3) 対象臓器でのクローニング頻度 (クローニング個数/総クローニング個数) が検出の目安になります。ただし、少ないクローニング頻度であっても、特定の細胞に発現が限局している場合には ISH で検出の可能性がります。

プローブの作製

(1) プローブの種類：mRNA に対する ISH で使用する代表的な検出プローブとしては、DNA, RNA, locked nucleic acid (LNA) があります。RNA との結合力は、LNA>RNA>DNA の順となります。mRNA をターゲットとした場合は、cRNA プローブを用いた研究が圧倒的に多く、microRNA を始めとした small RNA をターゲットとした場合は、LNA が第一選択となります。LNA は、リボ核酸の 2'位の酸素原子と 4'位の炭素原子がメチレンを介して架橋した 2つの環状構造をもつ人工核酸で、LNA を含むオリゴヌクレオチドは相補的な DNA や RNA に高い結合親和性を示します。

(2) プローブの選択：検出プローブの可視化に使用する非放射性物質 (non-R1) 標識物質として horseradish peroxidase (HRP) などの酵素組織化学的方法、Alexa などの蛍光色素、biotin, DIG や T-T dimer などの免疫組織化学的方法が知られています。DIG (抗原) をプローブに標識し、抗 DIG 抗体を用いてその抗体に標識した酵素 (アルカリ性フォスファターゼ, HRP など) の反応 (発色) でその局在を可視化します。DIG はジキタリス植物よりのみ得られる物質で、熱などに強い抵抗性を示し (融点は 222°C)、ハイブリダイゼーション反応に利用されています (Roche Applied Science DIG 説明書集; <http://www.roche-applied-science.com/DIG>)。放射性物質

(R1) 標識物質として放射性同位元素 (R1; 35S, 32P-UTP など) の選択肢があります。Non-R1 標識は、R1 標識と比較して、解像力が優れています。また、半減期がないため、安定して長期間の利用が可能です。

(3) プローブの配列決定：検出したい遺伝子の mRNA 配列の reference sequence (RefSeq) を NCBI データベース上から取得し、タンパク質非翻訳領域 (5',3'-untranslated region, 5',3'-UTR), タンパク質翻訳領域、ならびにエキソン-エキソン接合部を把握します。複数の転写物変異体 (transcript variant) が存在する場合は、対象とする臓器、細胞に優位に発現している変異体を RT-PCR 法で把握しておきます。プローブ選択の位置としては、5',3'-UTR であれば特異配列が得られる可能性が高いと考えられます。翻訳領域に設定する場合、蛋白質への転写という意味での確度が高くなる一方で、類似配列をもつほかの遺伝子が存在する可能性も高くなります。また、エキソン-エキソン接合部をまたぐ配列設定の方が良いという考えもありますが、中に単一エクソンのみで構成される mRNA もあります。いずれの箇所から選択した場合も、NCBI/BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) でターゲット以外の遺伝子で類似配列を有しているものがないかどうかを確認する事が重要です。また、どの程度の一致率をもって相似とするかに関して筆者らは、7割以下の類似を許容範囲と考えています。ただし、例えば、全体として7割の一致率を持つ500塩基 (nt) のプローブに100 nt以上の100%一致を含んで全体として7割になっている場合は、プローブの特異性に問題があり、除外するようにしています。また、プローブ長の設定は、研究者によって様々です。例えば、配列特異性と、組織浸透性の観点から200~300 nt、シグナル強度とのバランスから400~800 nt、上記のデザインの箇所に触れた観点から、全翻訳領域(150~3,000 ntを超えるもの)まで報告があります。

(4) RNA 転写用テンプレートの作製：ターゲット遺伝子が発現している臓器、培養細胞などより RT-PCR にてデザインプローブ箇所を DNA 合成酵素 (DNA polymerase) で増幅し、汎用プラスミドベクター (pBlueScript, pcDNA3 など) あるいは、TA クローニング用ベクター (pGEM, TOPO など) へ挿入、クローニングを行った上で、制限酵素処理 (リニアライズ)、RNA 合成酵素 (RNA polymerase) 反応にて、プローブを作製します。高増幅が特徴である Taq 好熱菌 *Thermus aquaticus* 由来系 DNA polymerase では、経験上 0.5~1% 程度の確率で RefSeq, ならびに Single Nucleotide Polymorphism

(SNP) データベースとも一致しない誤増幅, あるいは未登録 SNP と思われる配列が認められます. 正確性が特徴である非 Taq 系 DNA polymerase (*Pyrococcus* sp. KOD1 由来など) では, Ref Seq との非常に良い一致を見ますが, プライマーのアニーリング特異度が低いことによると思われるエクストラバンド, あるいはスミアな電気泳動結果となることも少なくありません. しかし, プラスミドクローンができれば, 実験遂行上は問題ありません. また, これらの非 Taq 系 DNA polymerase では, TA クローニングができないことに注意してください. クローニングの方法に関しては割愛します.

(5) RNA polymerase の選択: 多くの汎用ベクターには, マルチクローニングサイト (MCS) を挟んで, T7, T3, Sp6 の3つのうちのいずれかの RNA polymerase 結合配列が含まれます. 筆者らは T7 RNA polymerase をアンチセンス用のプローブ作製に用いています. 筆者らの使用経験では, Sp6 は転写, あるいは DIG ラベリング効率が落ちます (42°C での反応を勧めるプロトコールもありますが, いずれにしても, T3, T7 と比較すると最低3倍以上は効率が落ちます). また, T3 を使用の際, バックグラウンドが高くなる場合もあり, 注意が必要です.

(6) プローブの標識: 作製したプラスミドを用いて, 1) 制限酵素処理 (リニアライズ), 2) 精製, 3) DIG ラベリング反応, 4) 精製を行います. プラスミドは環状の DNA であり, 挿入した PCR 配列に近い場所に位置する制限酵素でワンカットしたのち, 反対側に位置する RNA polymerase と DIG-ウリジン-5'-三リン酸 (DIG-UTP) を含んだリボヌクレオシド三リン酸 (NTP) を用いて, 必要な配列の RNA を合成します. このリニアライズがないと非常に長い RNA が合成されることとなります. 精製に入る前に, 完全離断していることを電気泳動にて確認することが大切です. DIG ラベリング反応は DIG RNA labeling Kit (Roche 社) を使用しています.

(7) DIG 標識効率の確認: 1) ニトロセルロースメンブレンやナイロンメンブレンに 100 倍, 1,000 倍, 10,000 倍に希釈した RNA プローブと標識されたコントロール用 RNA の希釈系列を 1 μ L 滴下, 2) ベーキングや UV クロスリンクにより, 滴下したプローブを固定, 3) ブロッキングの後, 抗体反応, 4) nitro-blue tetrazolium chloride / 5-Bromo-4-Chloro-3'-Indolylphosphatase *p*-Toluidine salt (NBT/BCIP) 発色 (室温, 一晩 [約 12 時間]) を行います. 可視化に, より検出感度の高い化学発光を用い, 短時間で確認す

ることができますが, ISH で実際に使用する発色系列 (anti-DIG 抗体, 検出バッファー, NBT/BCIP) がきちんと機能するかを確認する意味でも, それらを用います. NBT/BCIP 発色においても, 一晩の反応で 0.1 pg までの検出は安定的に可能ですし, 現実的に作製したプローブが 10 ng/ μ L 以上 (1,000 倍希釈で 10 pg) で検出されない場合, プローブの再検討が必要です.

固定とパラフィン切片の作製

4% パラフォルムアルデヒド (PFA) で室温, 一晩固定した後, 通常の脱水およびパラフィン包埋を行います. 4%PFA は, 使用当日に作製します (古い固定液は固定効果が失活します)¹. 50 mL の 4%PFA-PBS の作製法は, 2 g の PFA 粉末をビーカーに直接計り取り, 50 mL の PBS を加え, 70°C のウォーターバス (恒温水槽) 中で攪拌しながら溶解します. 通常は, 10 分程度で, クリアに溶解可能です. 溶解後, 室温まで冷まし使用します. 作製中, 70°C 以上に温度を上げると, PFA が失活し固定効果が失われます. また, 長時間の 70°C での放置も望ましくありません. PBS で固定液を作製する場合 (PFA を溶解させる場合), 水酸化ナトリウムの添加は必要ありません. 固定時間は一晩行います. 免疫染色用の固定時間としては過固定となります (筆者らは室温, 2 時間固定を標準固定としています), 組織切片内 RNA の保持, さらには ISH の実手技上で必須の工程である proteinase K 処理の際, 固定が弱いと, 組織切片が過度に破壊されたり, スライドガラスより剥がれ失うことを避けるためには, ある程度十分な固定を行うことが大切です. 固定に際して, 大きな組織・臓器の場合は, 固定液にジャブ漬けすることなく, カミソリ刃でスライスして (2~3 mm の厚さ) 浸漬固定, または, 灌流固定した後, スライスして浸漬固定の追加を行い, 均一に固定することが大切です¹.

パラフィン切片作製のマイクロームは, RNase に汚染されていないように気をつけます. 刃はできればデイスポのものを用い, あらかじめ滅菌しておくといいです. 薄切道具類 (ピンセット, 筆, ガラス類) は専用にします. また, 切片をスライドに取る容器は乾熱滅菌をしたものを用い, 水は蒸留水を使います. 5~10 μ m 厚の切片を作製します. 貼り付けた切片の乾燥が不十分の場合, 操作途中でスライドガラスから剥がれてしまう場合があります. 特に ISH の場合には, ハイブリダイズしたりする熱処理の過程や組織切片を高温で洗浄したりする過程がありますので, スライドコー

ティング剤には留意する必要があります。筆者らは、切片を回収するスライドに MAS コートスライド (アミノシランよりも強力な接着性があり、熱処理、アルカリ処理への耐性に優れています) を使用しています。

ISH プロトコール 1 : mRNA の検出

(1) 前処置

- 1) Phosphate buffered saline (PBS) 洗淨
5分×3回
- 2) Proteinase K (10 µg/mL) 処理
15分×1回, 37°C
- 3) PBS 洗淨
5分×3回
- 4) 4% PFA-PBS 再固定
5分×1回
- 5) PBS 洗淨
5分×3回
- 6) アセチル化処理
10分×1回
- 7) PBS 洗淨
5分×3回

(2) ハイブリダイゼーション

- 1) プレハイブリダイゼーション
1時間, 60°C
- 2) ハイブリダイゼーション
一晩, 60°C

(3) 洗淨

- 1) 4× standard saline citrate (SSC)
5分×4回, 60°C
- 2) リボスクレアーゼ A (RNase A, 20 µg/mL) 処理
30分×1回, 37°C
- 3) 1×SSC
5分×3回, 60°C
- 4) 0.5×SSC
15分×2回, 60°C
- 5) 0.5×SSC
5分×1回, 60°C

(4) DIG 検出反応 (発現の可視化)

- 1) PBS 洗淨
5分×3回
- 2) ブロッキング
30分×1回
- 3) アルカリ性フォスファターゼ標識抗 DIG Fab 抗体 (Roche 社) : 100 mU/mL の抗体濃度で反応
30分, 37°C または 1時間, 室温
- 4) PBST (PBS+0.2% Tween20) 洗淨
5分×3回
- 5) 基質を除いた発色液で洗淨
10分×1回
- 6) NBT/BCIP 反応 : 暗所で数時間から一晩, 室温で反応させます。途中で検鏡しながら発色具合を確認します。

i. Roche 社 BM Purple (NBT/BCIP ready-to-use solution) 反応液を使用します。スライドあたり 200~300 µL 滴下します。反応産物は、青紫色の沈殿物と

なります。

ii. i の代わりに Roche 社 DIG Nucleic Acid Detection Kit を使用することもあります。キット中の NBT/BCIP ストック液を発色液で 50 倍希釈し、スライドあたり 200~300 µL 滴下します。反応産物は、茶褐色の沈殿物となります。

注 : 内因性アルカリ性フォスファターゼの抑制が必要な際は、反応液に levamisole (1 mM) を添加して使用します。

7) マウント : ゲルマウント剤で封入し、カバーガラスで封入し、マニキュアなどで縁をシールします。NBT/BCIP の反応産物は、キシレンを含む封入剤で封入すると発色沈殿が結晶化するため水系封入剤を使用します。

プロトコールのポイント

(1) 試薬は RNase free 試薬を使用しますが、diethyl pyrocarbonate (DEPC) 処理水を用いて溶解はしていません。

(2) Proteinase K 処理 (100 mM Tris-HCl, 50 mM EDTA, pH 8.0) : 細胞内の核酸を取り囲む蛋白質を消化して、プローブの到達を容易にする目的で行います。1~30 µg/mL, 1~30 分, 室温または 37°C で行います。予備実験として、proteinase K の濃度、または反応時間をふり、形態を保持しながら、発現シグナルが十分得られる条件を検討します。

(3) 塩酸処理 : 小腸組織を対象とした際は、内因性 (組織中に存在する) アルカリ性フォスファターゼ活性を抑制するために、アセチル化処理の前に、塩酸処理 (0.2N HCl) を行います²⁾。

(4) アセチル化処理 : 0.1 M triethanolamine (TEA)-0.25% acetic anhydride 混合液中にスライドガラスを浸し、プローブと組織切片中の有機化合物の電気的結合の抑制 (非特異的反応抑制) を行います。

(5) プレハイブリダイゼーション : 切片をハイブリダイゼーション溶液に馴染ませる目的で行われます。

(6) ハイブリダイゼーション : 組成は以下のごとくです。

ストック液の組成 (-20°C 保存)	最終濃度
脱イオン化ホルムアミド	25 mL 50%
50% 硫酸デキストラン	10 mL 10%
50×Denhardt 液	1 mL 1×
20×SSC (pH 7.0)	10 mL 4×
蒸留水	1.5 mL
合計	47.5 mL

ハイブリダイゼーション液の組成	最終濃度
上記ストック液	95 μ L
酵母 RNA ストック液 (10 mg/mL)	5 μ L 500 μ g/mL
10~30 ng/ μ L プローブ原液	1 μ L 100~300 ng/mL
合計	101 μ L/スライド

プローブは、100~300 ng/mL 程度の濃度で使用しています。1,000 nt の RNA プローブを、100 ng/mL の濃度で、100 μ L のハイブリダイゼーション液に溶解させたものとします。分子量は約 20 万。100 μ L 中には約 3.0×10^{10} の分子が存在することになります。分子一個が占める溶液の体積は約 $1.5 \mu\text{m}^3$ となります。一本鎖 RNA の塩基間の距離を 0.34 nm としますと、1,000 nt の RNA は、長さが 0.34 μm となります。直径は 2 nm となります。人に例えると、身長 170 cm の人が、 7.5 m^3 の空間を占拠して、網を張るイメージに例えることができます。10 歩ほど歩けば、隣り合う人に接触できる距離です。

RNA に高次構造をとらせないように、脱イオン化したホルムアミドを使用することが大切です。古くなりイオン化したホルムアミドは黄色みを帯びます。Dextran Sulfate は、Chemicon 社の 50% 溶液 (平均分子量 >500,000) を使用しています。これは、ハイブリダイゼーションの反応速度を早めます。非特異的結合の抑制のために Denhardt 液、酵母 RNA (transfer RNA) を加えます。硫酸デキストランは非常に粘稠性が高いため、65°C の恒温水槽で温めてから分注します。スライドグラスに、ハイブリダイゼーション液をかけた後は、カバーガラスをかけて、そのカバーガラス周囲を DPX マウント溶液 (BioChemika 社) でシールします。シールすることにより、湿箱が不要になります。カバーにパラフィルムを使用される場合は、湿箱が必要で、また、パラフィルムの耐熱性は 60°C ですので、ハイブリダイゼーションさせる温度がそれに限定されます。

(7) ハイブリダイゼーションの温度: RNA プローブを用いた場合の melting 温度 (T_m) は以下の式から算出されます³。ISH の至適温度は、それよりも 16~32°C 低いところが適当であるとされています⁴。

$$T_m = 79.8 + 18.5 \log (\text{molarity of monovalent cations}) + 0.58 (\%GC) + 0.0012 (\%GC)^2 - 820 / (\text{length of probe}) - 0.35 (\%formamide)$$

(8) RNase 処理: バックグラウンドと真の陽性シグナルの見極めが重要になります。

(9) ハイブリダイゼーション後の洗浄: この過程

で、組織に非特異的結合しているプローブを分解し、発色時のバックグラウンドを抑えるために、RNase A を使用しています。RNase A 処理を行う場合、まずはハイブリダイゼーション液に使用した濃度の SSC 洗浄液、あるいは、それよりもやや濃度の低い SSC 洗浄液にて切片からハイブリダイゼーション液を取り除きます。RNase A 処理を行ったものでは、SSC 洗浄液にホルムアミドを加えないで行っていません。RNase A を用いない場合は、なるべく高温でハイブリダイゼーションを行い、SSC 洗浄を強め (低いイオン強度) に、かつ長めに行います。一般に、ハイブリダイゼーション温度と SSC 洗浄温度は同一温度で行います。

(10) DIG 検出反応: NBT/BCIP 反応は、BM Purple (Roche 社)、または DIG Nucleic Acid Detection Kit (Roche 社) を用いています。抗体反応後の洗浄には PBST を使用しています。PBST を使用すると、発色液の切片への乗りがよくなります。

MicroRNA の検出

MicroRNA は、約 22 塩基の非コード RNA であり新しい転写後遺伝子発現調節経路として注目を集めています。最近、われわれは、ヒト胎盤に発現している microRNA に興味を持ち、ヒト胎盤の small RNA ライブラリー解析から胎盤特異的 microRNA の同定とその発現解析を進めています⁵。胎盤絨毛組織は、中心部が中胚葉由来の間質である結合組織、間質細胞、胎児血管より成る芯と、それを覆う栄養膜由来の上皮層 (基底膜を介して芯と接する栄養膜細胞層と最表面で母体血に直接接する栄養膜合体層) より構成されています⁶。どの細胞にどの microRNA が発現しているか、LNA プローブを用いて、絨毛組織をホルムマウント法の *in situ* hybridization にて解析しました (プロトコルは下記参照)^{5,7}。

図 1 は、倫理委員会の承認を得て妊婦さんより採取した満期産胎盤における microRNA, MIR122A の発現を、ISH で解析した画像です。4',6-Diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride (DAPI) の蛍光核染色と組み合わせるため、NBT/BCIP を赤の擬似カラーで表示してあります。MIR122A の局在を示すシグナル (矢印) は、絨毛栄養膜だけでなく、絨毛内の間質細胞にも陽性に観察されます。ISH による先端の形態学的解析により microRNA を発現している細胞を同定することは、さらに microRNA の機能解析を進めるうえにおいて、非常に有用な解析アプローチ法であ

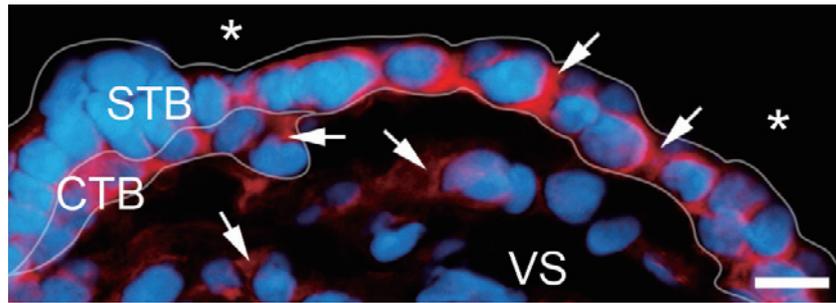


図1 In situ hybridization法によるヒト満期産胎盤におけるmicroRNA, *MIR122A* の発現解析. DAPI 蛍光核染色 (青) と組み合わせるため, *MIR122A* の局在を示す NBT/BCIP 反応産物を赤の擬似カラーで示してあります. 絨毛栄養膜の栄養膜合体層 (STB) とラングハンス細胞層 (CTB) の輪郭は白線で示してあります. * は絨毛間腔. *MIR122A* の局在を示すシグナル (赤) は, 絨毛栄養膜 (STB, CTB) だけでなく, 絨毛内の間質 (VS) の細胞にも陽性に観察されます (矢印). スケールバー 10 μm .

ると考えられます.

ISH プロトコール 2: ホールマウント法を用いた microRNA の検出

(1) 固定と前処置 (反応は 2 mL マイクロチューブで行います)

- 1) 4% PFA-PBS 固定 一晩, 4°C
- 2) メタノール脱水: 脱水後, -20°C で保存可能です.
25% 特級メタノール (MeOH) in PBST (PBS+0.1% Tween20) 30分×1回, 室温
- 50% MeOH in PBST 30分×1回, 室温
- 75% MeOH in PBST 30分×1回, 室温
- 100% MeOH 30分×1回, 室温
- 3) 水和処理
75% MeOH in PBST 5分×1回, 室温
- 50% MeOH in PBST 5分×1回, 室温
- 25% MeOH in PBST 5分×1回, 室温
- 100% PBST 5分×4回, 室温
- 4) Proteinase K (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 処理 45分×1回, 37°C
- 5) 4% PFA-PBS 再固定 20分×1回
- 6) PBST 洗浄 5分×3回
- 7) 蒸留水洗浄 5分×1回
- 8) アセチル化処理 10分×1回
- 9) 蒸留水洗浄 5分×1回
- 10) PBST 洗浄 5分×5回

(2) ハイブリダイゼーション

- 1) プレハイブリダイゼーション 2時間, 55°C

予測される LAN プローブの T_m 値より 20~25°C 低い温度でハイブリダイゼーションを行います.

ハイブリダイゼーション液 (HB) は H7782 (シグマ社) を使用しています.

- 2) ハイブリダイゼーション 一晩, 55°C
DIG-labeled LNA probe (エキシコン社) の濃度: 10 nM

(3) 洗浄

- 1) HB による洗浄 15分×1回, 55°C
- 2) 75% HB/25% 2×SSCT (SSC+0.1% Tween-20) 15分×1回, 55°C
- 3) 50% HB/50% 2×SSCT 15分×1回, 55°C
- 4) 25% HB/75% 2×SSCT 15分×1回, 55°C
- 5) 2×SSCT 15分×1回, 55°C
- 6) 0.2×SSCT 15分×2回, 55°C
- 7) 75% 0.2×SSCT/25% PBST 10分×1回, 室温
- 8) 50% 0.2×SSCT/50% PBST 10分×1回, 室温
- 9) 25% 0.2×SSCT/75% PBST 10分×1回, 室温
- 10) PBST 10分×1回, 室温

(4) DIG 検出反応 (発現の可視化)

- 1) ブロッキング 60分×1回, 室温
- 2) アルカリ性フォスファターゼ
標識抗 DIG Fab 抗体 (Roche 社):
75 mU/mL の抗体濃度で反応 一晩, 4°C
- 3) TBSTL (TBS+0.1% Tween20+2 mM levamisole)
洗浄 60分×6回, 室温
- 4) TBST 洗浄 2日間, 4°C
- 5) 基質を除いた発色液で洗浄 5分×3回

発色液の組成：100 mM Tris-HCl, 50 mM MgCl₂,
100 mM NaCl, 0.1% Tween-20, pH9.5

6) NBT/BCIP 反応：暗所で数時間から一晩，室温：途中，肉眼で発色具合を確認

7) 1 mM EDTA を含んだ PBST で

反応の停止 5分×2回

8) クリオスタット包埋とクリオスタット切片 (5 μm 厚) の作製

i. 5% 蔗糖-PBS 10分

ii. 10% 蔗糖-PBS 10分

iii. 15% 蔗糖-PBS 10分

iv. 20% 蔗糖-PBS 10分

v. OCT コンパウンド包埋と液体窒素凍結

vi. クリオスタット切片作製

9) PBS 洗浄 5分×3回

10) DAPI 染色 (核染色) 10分×1回

11) PBS 洗浄 5分×3回

12) 蒸留水洗浄 5分×2回

13) 封入：Pristine Mount (ファルマ社) を滴下し，加熱せず，カバーガラスをかけます。

注：ハイブリダイゼーションや洗浄は，振盪させながら行います。

あとがき

ISH 法に関しては，多くの総説，成書が出版されており，併わせて御参照いただきたい⁷⁻¹³。筆者らの経験に基づく，総説，成書の方法に記載されていない，行間にあるミソ，“技術ポイント”について触れました。若手研究者の皆様のお役にたてれば幸いです。

謝辞：研究遂行に協力をいただいた日本医科大学大学院医学研究科分子解剖学，女性生殖発達病態学の教員・技術員の方々に深謝いたします。また，本研究の一部は，文部科学省科学研究費補助金，私立大学戦略的研究基盤形成支援事業の補助を受けた。

文 献

1. 瀧澤俊広：基礎研究から学ぶ 2. 組織細胞化学シリーズ (若手研究者へのヒント) 光学免疫組織化学の基礎：固定と凍結切片を用いた蛍光免疫組織化学 (1). 日医大医会誌 2009; 5: 136-140.
2. Kiyama H, Emson PC: An in situ hybridization histochemistry method for the use of alkaline phosphatase-labeled oligonucleotide probes in small intestine. J Histochem Cytochem 1991; 39: 1377-1384.
3. Brown C: In situ hybridization with riboprobes: an overview for veterinary pathologists. Veterinary Pathology 1998; 35: 159-167.
4. 小路武彦：分子組織細胞化学の最近の進歩. 解剖学雑誌 1999; 74: 399-409.
5. Luo S-S, Ishibashi O, Ishikawa G, Ishikawa T, Katayama A, Mishima T, Takizawa T, Shigihara T, Goto T, Izumi A, Ohkuchi A, Matsubara S, Takeshita T, Takizawa T: Human villous trophoblasts express and secrete placenta-specific microRNAs into maternal circulation via exosomes. Biol Reprod 2009; 81: 717-729.
6. 瀧澤俊広, 石川 源, 竹下俊行, 松原茂樹：胎盤の構造と機能 (マクロ, ミクロの形態と関連機能). 臨床検査 2007; 51: 1643-1649.
7. Kloosterman WP, Wienholds E, Bruijn ED, Kauppinen S, Plasterk RH: In situ detection of miRNAs in animal embryos using LNA-modified oligonucleotide probes. Nat Methods 2006; 3: 27-29.
8. 小路武彦：In situ hybridization 技法. 1998; pp 1-220, 学際企画 東京.
9. 石渡俊行, 西海けい子, 川原清子, 浅野伍朗：組織標本上での messenger RNA 発現細胞検出 Digoxigenin labeled probe を用いた in situ hybridization (ISH) 法の技術と留意点. J Nippon Med Sch 2000; 67: 38-41.
10. 菱川善隆, 小路武彦：In situ ハイブリダイゼーションの基礎と応用. 組織細胞化学 (日本組織細胞化学会編), 2008; pp 35-49, 学際企画 東京.
11. 金井正美, 川上速人, 原健士朗, 金井克晃：ホルマウント in situ ハイブリダイゼーション法. 組織細胞化学 (日本組織細胞化学会編), 2008; pp 51-58, 学際企画 東京.
12. 鶴尾吉宏, 上山敬司, 伊藤隆雄：In situ ハイブリダイゼーションの基礎と応用. 組織細胞化学 (日本組織細胞化学会編), 2009; pp 53-68, 学際企画 東京.
13. 大内淑代, 野地澄晴：ホルマウント in situ ハイブリダイゼーション法. 組織細胞化学 (日本組織細胞化学会編), 2009; pp 69-81, 学際企画 東京.

(受付：2010年1月5日)

(受理：2010年1月14日)

—症例から学ぶ—

完全房室ブロックにて発症し、胃生検により確定診断に至った 心サルコイドーシスの1例

淀川 顕司¹ 山本 真功¹ 清野 精彦¹ 大秋 美治² 水野 杏一³

¹日本医科大学千葉北総病院循環器センター

²日本医科大学千葉北総病院病理部

³日本医科大学大学院医学研究科器官機能病態内科学

A Case of Cardiac Sarcoidosis with Complete Atrioventricular Block Revealed by Gastric Biopsy

Kenji Yodogawa¹, Masanori Yamamoto¹, Yoshihiko Seino¹,

Yoshiharu Ohaki² and Kyoichi Mizuno³

¹Cardiovascular Center, Nippon Medical School Chiba Hokusoh Hospital

²Division of Surgical Pathology, Nippon Medical School Chiba Hokusoh Hospital

³Division of Cardiology, Hepatology, Geriatrics, and Integrated Medicine, Department of Internal Medicine,

Graduate School of Medicine, Nippon Medical School

Abstract

A 67-year old woman was emergently admitted because of fainting spells. Electrocardiography showed complete atrioventricular block, and echocardiography demonstrated reduced left ventricular systolic function. Decreased uptake was observed in multiple areas on thallium myocardial scintigraphy; however, coronary angiography showed no significant stenosis. Diffuse left ventricular hypokinesis and complete AV block strongly suggested cardiac sarcoidosis or amyloidosis, but a definitive diagnosis could not be established because histological evidence was lacking. Giant multinucleated cells were incidentally detected on gastric biopsy, and the diagnosis of sarcoidosis was made.

(日本医科大学医学会雑誌 2010; 6: 30-33)

Key words: cardiac sarcoidosis, complete atrioventricular block, gastric biopsy

症 例

症例：67歳，女性

主訴：めまい

既往歴：50歳 乳房切除術（右乳癌）

65歳 乳房切除術（左乳癌）

家族歴：特記事項なし。

嗜好歴：特記事項なし。

現病歴：平成19年11月25日めまいを主訴に近医

受診，心拍数40/分の完全房室ブロックを認めたため
当院紹介。

入院時現症：身長150cm，体重40kg，意識清明，
血圧110/70mmHg，脈拍40/分整，呼吸数20/分，
体温36.9℃，眼瞼結膜貧血なし，眼球結膜黄疸なし，
表在リンパ節触知せず，呼吸音清，心尖部に収縮期雑
音（Levine 2/6度），腹部平坦・軟，肝脾触知せず，
下腿浮腫なし，神経学的異常所見を認めず。

入院時検査所見（表1）：BNPの著明高値を認めた
以外は特記すべき異常所見を認めず。

Correspondence to Kenji Yodogawa, Cardiovascular Center, Nippon Medical School Chiba Hokusoh Hospital, 1715
Kamagari, Inba-mura, Inba-gun, Chiba 270-1694, Japan

E-mail: yodo@nms.ac.jp

Journal Website (<http://www.nms.ac.jp/jmanms/>)

表1 血液検査所見

WBC	4,070 / μ L	TC	210 mg/dL
(Neu 81.0% Lym 7.0% Mono 9.0% Eos 3.0%)		TG	144 mg/dL
RBC	408×10^4 / μ L	HDL-C	49 mg/dL
Hb	12.5 g/dL	UA	6.8 mg/dL
Ht	38.3 %	BS	92 mg/dL
PLT	13.0×10^4 / μ L	GOT	128 /IU/L
TP	4.8 g/dL	GPT	144 /IU/L
Alb	3.1 g/dL	LDH	257 IU/L
BUN	28.4 mg/dL	CK	83 IU/L
Cr	0.91 mg/dL	Troponin T	< 0.01 ng/mL
Na	140 mEq/L	BNP	1,182.7 pg/mL
K	5.0 mEq/L	ACE	11.3 U/L
Cl	107 mEq/L	CRP	0.32 mg/dL
Ca	8.3 mg/dL		

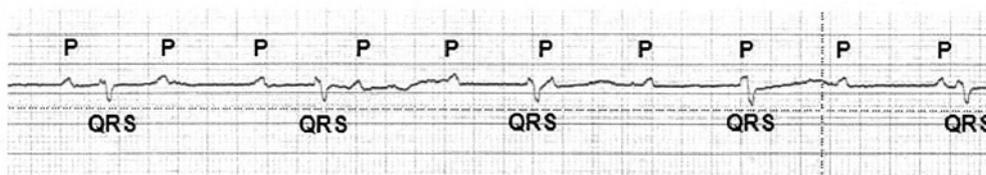


図1-a 入院時心電図(II誘導)
心拍数40の完全房室ブロックを認めた。

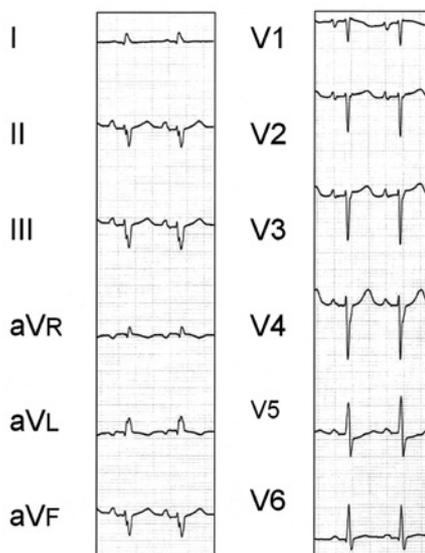


図1-b 心電図12誘導
入院4病日に洞調律へ復帰した。



図2 胸部単純X線写真
心胸郭比54.7%と軽度の心拡大を認めた。肺うっ血は認めず。

心電図(図1-a)：心拍数40/分の完全房室ブロックを認める。

胸部単純X線写真(図2)：心胸郭比54.7%
肺うっ血認めず。

胸部CT：明らかなリンパ節腫脹認めず。

腹部CT：特記すべき異常所見なし。

ガリウムシンチグラフィ：異常集積なし。

入院後経過

4日後自然に洞調律へ復帰した(図1-b)が、心エコー上左室前壁中隔～側壁に壁運動異常を認め左室駆出率は35%と低下していた(図3)。冠動脈造影では有意狭窄を認めなかったもののタリウム心筋シンチグラムで冠動脈支配に一致しない欠損像を認め(図4)、原因として心サルコイドーシスやアミロイドーシスが疑われたが他臓器病変なく、確定診断には至らなかつ

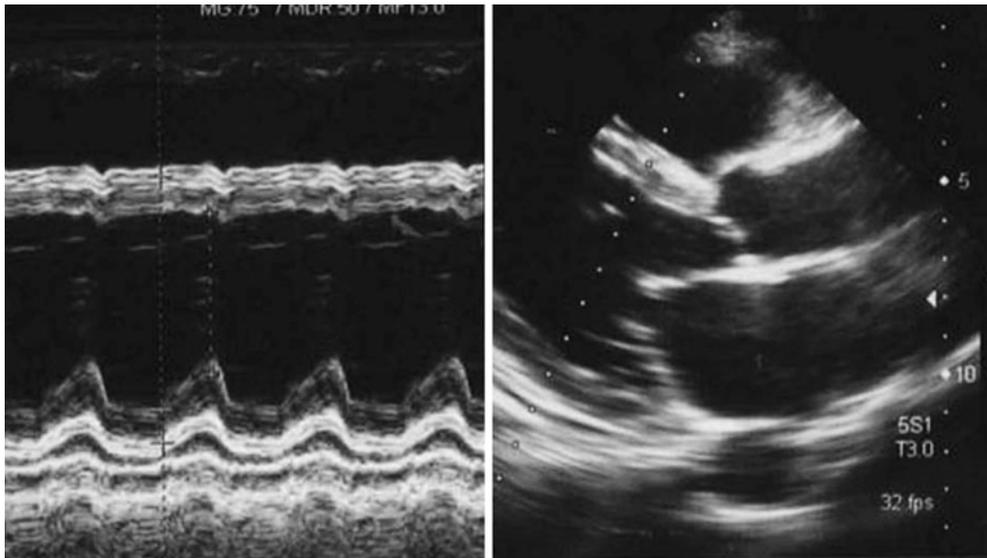


図3 心臓超音波検査

左室前壁中隔～側壁に壁運動異常を認めEFは35%と低下していた。少量の心嚢液を認め、中等度の僧帽弁閉鎖不全症を認めた。

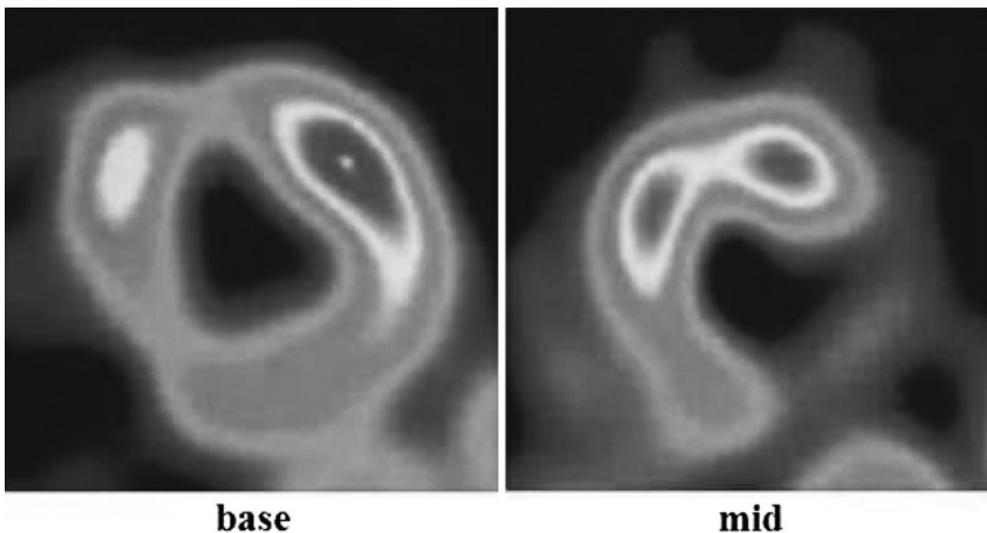


図4 タリウム心筋シンチグラフィー
冠動脈支配に一致しない多発欠損像を認めた。

た。これらの全身性疾患鑑別のため胃生検を施行したところ Langhance type の giant cell を伴う肉芽腫を認めサルコイドーシスの診断を得た (図5)。

その後房室ブロックに対しペースメーカー植え込み術を施行し、ステロイド治療を開始した。

考 察

サルコイドーシスは本来予後良好な疾患であるが、ひとたび心合併症を引き起こすと予後不良に転じる¹。ゆえに心サルコイドーシスの早期診断・治療は

重要な課題であるが、実際臨床において心病変の診断は困難であることが多く、剖検などで初めて心サルコイドーシスと診断されることも少なくない。その原因として心内膜心筋生検による組織診断率が約20%と低く、きわめて低いことが挙げられる²。心臓サルコイドーシスの診断は「心臓サルコイドーシス診断の手引き」にしたがって行われるが、従来用いられてきた手引きはいずれかの臓器で病理組織学的にサルコイド肉芽腫が証明されることが必須であったため、臨床的に本症が強く疑われても組織所見が得られないため診断できない場合があった。そのため、2006年に日本サルコ

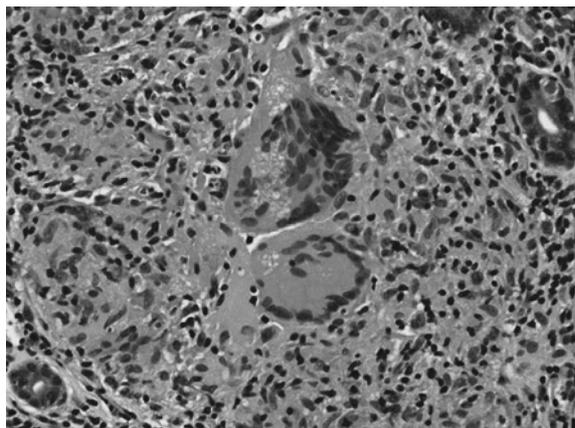


図5 胃生検組織像 (HE 染色, ×200)
Langhans type の giant cell を伴う肉芽腫を認めた。

イドーシス/肉芽腫性疾患学会と日本心臓病学会との合同委員会により改訂が行われた³。この診断基準によれば組織診断がなくても心サルコイドーシスを診断できるようになったため、診断率が上昇し、より早期に治療にふみきれるようになった。すなわち心サルコイドーシスの診断に PET や造影 MRI の有用性が報告されており、これらが診断基準に盛り込まれている。しかしながら新しい診断基準を用いても、心病変のみで他臓器病変が見当たらない場合その診断は困難である。本症例も新しい診断基準を用いてもサルコイドーシスの診断は得られず、胃の生検組織にて初めて診断した。組織診におけるサルコイドーシスの証明は依然として重要な診断根拠であり、心サルコイドーシスを疑ったら積極的に肺病変やほかの臓器病変を検索すべきである。

完全房室ブロックは本症における主要徴候のひとつであり、原因不明の房室ブロックと診断された症例において、経過とともに心機能低下や心室性不整脈などが明らかとなり、後に心サルコイドーシスと診断されることも珍しくない。Yoshida らは房室ブロックのため人工ペースメーカー植え込み術を施行した連続 100 例を後ろ向きに検討し、追跡可能であった 89 例のうち 10 例 (11.2%) が心臓サルコイドーシスであったことを報告した⁴。本症は中高年女性に好発することが知られており、原因不明の中高年女性の完全房室ブロックをみたらまず本症を疑うことが重要である。

日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会のサルコイドーシス治療ガイドライン策定委員会・治療ガイドライン策定専門部会；循環器部会で作成された心臓サ

ルコイドーシスの治療ガイドライン⁵によれば、心臓サルコイドーシスと診断され、不整脈や心機能異常を認める場合にはステロイド治療を開始すべきであるとされている。ステロイドには炎症性芽腫性を抑制する効果があり、同剤を早期から開始することにより予後は改善し、心機能低下をも防げることが報告されている。本症例もサルコイドーシスの診断が得られたため、早期にステロイド治療にふみきることができた。

胃サルコイドーシスの報告は少数であり、その多くは肺病変との合併例である。今回のように肺病変なく心病変のみとの合併はきわめてまれであると思われる。肺病変を伴わない心サルコイドーシスは診断に苦慮することが多く、積極的に他臓器病変についても検索することが重要である。しかしながら心病変単独の場合サルコイドーシスの診断はきわめて困難であり、心サルコイドーシスに特異的な診断検査法の確立が期待される。

診断のポイント：中高年女性の完全房室ブロックをみたら必ずサルコイドーシスを疑う。肺病変を伴わない心サルコイドーシスは診断に苦慮することが多く、積極的に他臓器病変についても検索することが重要である。

文 献

1. Sekiguchi M, Yazaki Y, Isobe M, Hiroe M: Cardiac sarcoidosis: Diagnostic, prognostic, and therapeutic considerations. *Cardiovasc Drugs Ther* 1996; 10: 495-510.
2. Uemura A, Morimoto S, Hiramitsu S, Kato Y, Ito T, Hishida H: Histopathologic diagnostic rate of cardiac sarcoidosis: evaluation of endomyocardial biopsies. *Am Heart J* 1999; 138: 299-302.
3. 森本紳一郎, 植村晃久, 平光伸也: 心臓サルコイドーシス診断の手引きの改訂. *呼と循* 2006; 54: 955-961.
4. Yoshida Y, Morimoto S, Hiramitsu S, Tsuboi N, Hirayama H, Itoh T: Incidence of cardiac sarcoidosis in Japanese patients with high-degree atrioventricular block. *Am Heart J* 1997; 134: 382-386.
5. 日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会, 日本呼吸器学会, 日本心臓病学会, 日本眼科学会, 厚生省科学研究—特定疾患対策事業—びまん性肺疾患研究班編集: サルコイドーシス治療に関する見解—2003. *日呼吸会誌* 2005; 41: 150-159.

(受付: 2009年8月20日)

(受理: 2009年12月3日)

—症例から学ぶ—

包括的てんかん診療における薬剤師業務の展開

浦 裕之^{1,4} 太組 一朗² 藤野 修³ 福田 恵子⁴ 小林 士郎⁵
 吉田 大蔵² 高橋 弘² 寺本 明⁶ 渡辺 雅子⁷ 定本 清美¹

¹東邦大学薬学部臨床病態学研究室²日本医科大学武蔵小杉病院脳神経外科³日本医科大学千葉北総病院小児科⁴日本医科大学千葉北総病院薬剤部⁵日本医科大学千葉北総病院脳神経外科⁶日本医科大学付属病院脳神経外科⁷国立精神・神経センター武蔵病院精神神経科

The Role of Pharmaceutical Care in Intractable Epilepsy

Hiroyuki Ura^{1,4}, Ichiro Takumi², Osamu Fujino³, Keiko Fukuda⁴,
 Shiro Kobayashi⁵, Daizo Yoshida², Hiroshi Takahashi², Akira Teramoto⁶,
 Masako Watanabe⁷ and Kiyomi Sadamoto¹

¹Department of Clinical Pathophysiology, Toho University School of Pharmaceutical Sciences²Department of Neurosurgery, Nippon Medical School Musashi Kosugi Hospital³Department of Pediatrics, Nippon Medical School Chiba Hokuso Hospital⁴Department of Pharmacy, Nippon Medical School Chiba Hokuso Hospital⁵Department of Neurosurgery, Nippon Medical School Chiba Hokuso Hospital⁶Department of Neurosurgery, Nippon Medical School⁷Department of Psychiatry, National Center of Neurology and Psychiatry

Abstract

Intractable epilepsy can be divided into the following categories: epilepsy refractory to optimal treatment and epilepsy considered refractory but actually inadequately treated. It is important to assess the individual factors that contribute to making epilepsy refractory, because these factors differ between patients. We report on representative pharmaceutical care, in which a pharmacist assists an epileptologist at an outpatient clinic, to demonstrate the importance of pharmaceutical care in epilepsy treatment. The patient, a 29-year-old woman with a history of forceps delivery, first had a generalized tonic-clonic seizure (GTCS) at the age of 26 years. Several months before this first GTCS, she had had frequent sensory seizures characterized by numbness of the left arm. Magnetic resonance imaging revealed mild atrophy and broad degenerative changes in the white matter. Symptomatic localization-related epilepsy was diagnosed, but we had difficulty administering carbamazepine, zonisamide or valproate because they were poorly tolerated. We started treatment with phenytoin. The GTCSs were not controlled at a serum phenytoin level of 20 µg/mL but were controlled at serum levels of

Correspondence to Ichiro Takumi, Department of Neurosurgery, Nippon Medical School Musashi Kosugi Hospital, 1-396 Kosugi-cho, Nakahara-ku, Kawasaki, Kanagawa 211-8533, Japan

E-mail: takumi@nms.ac.jp

Journal Website (<http://www.nms.ac.jp/jmanms/>)

25 to 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (275 mg/day). However, the patient continued to have sensory seizures twice a month. As a result of consultation between the physician and a pharmacist, gabapentin was also prescribed. Although severe drowsiness developed in the first week after gabapentin was started, the patient could continue treatment by self-tapering the gabapentin dose as the pharmacist had instructed. This pharmaceutical care approach has greatly reduced the frequency of sensory seizures. Thus, it is critically important for pharmacists to administer pharmaceutical care in epilepsy treatment, particularly considering that drug administration is a core element of epilepsy treatment.

(日本医科大学医学会雑誌 2010; 6: 34-39)

Key words: antiepileptic drug, pharmaceutical care, tolerability, intractable epilepsy

緒言

難治てんかんとは、広義には薬物治療によりてんかん発作が十分に抑制されないてんかんのことである。さらに、難治てんかんはその成因により、適切な診断と適切な薬剤選択に基づく薬物治療によってもてんかん発作が抑制されない「真の難治てんかん（薬剤抵抗性てんかん）」と不適切な治療で発作が持続する「見かけの難治てんかん」に大別できる¹。難治てんかんの治療にあたっては、患者ごとに異なる難治化因子を適切に評価し、それらを治療戦略に反映させることがきわめて重要である¹。

1990年代に薬剤師の行動規範のひとつとして薬学的ケア(PC; pharmaceutical care)という概念が提唱された^{2,3}。米国医療薬剤師会(ASHP; American Society of Hospital Pharmacists)では、「PCとは、患者の生活の質(QOL; quality of life)を改善するという成果が目的であり、そのために薬物療法に関する医療を薬剤師が責任をもって直接配慮し、提供することである」と定義されている⁴。見かけの難治てんかんでは、発作型に合わない薬剤選択や投与量不足といった医原性のものが決して少なくない部分を占める¹が、副作用発現などによるQOL低下が誘因となる服薬アドヒアランスの低下も見かけの難治てんかんにおける重要な難治化因子となりうる。そのため、てんかん診療において薬剤師がPCを実践しQOL改善を目的として薬物治療に参画することはきわめて重要である。

今回われわれは、外来てんかん診療で実践している薬学的ケア(PC)の代表的症例を供覧しながら、てんかん患者に対するPCの有用性について検証する。

症例

患者は29歳女性。鉗子分娩にて出生。これまで神経症状はなく、精神発達遅滞もない。短大を卒業し、現在は介護職に就職している。おじが精神遅滞を伴うてんかんである。

現病歴：X年11月、26歳時初発の全身性强直間代発作(GTCS; generalized tonic-clonic seizure)を起し、他院に救急搬送された。GTCSの数カ月前より一過性の左上肢しびれやそれに引き続く間代けいれんを主徴とする頻回の部分発作が認められ、症候性てんかんの診断でバルプロ酸開始後当院へ紹介された。頭部MRI(**Fig. 1**)にて右大脳半球の軽度萎縮および白質を主体としていると思われる広範な高信号領域を認めた。当院での脳波に明らかでないてんかん性異常は見られなかったが、症状および神経放射線学的所見から症候性局在関連てんかんと診断した。バルプロ酸(VPA; valproate)開始後は大発作はなく感覚発作も減少したが悪心・嘔気のため、カルバマゼピン(CBZ; carbamazepine)は開始直後に皮疹が出現し、ゾニサミド(ZNS; zonisamide)は開始後ふらつきのためいずれも継続使用困難であった。このためX+2年10月よりフェニトイン(PHT; phenytoin)を開始した。PHT血中濃度20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 前後では月5~6回の頻度で感覚発作が見られたため発作抑制不十分であると判断し、25~30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (275 mg/day)にて経過観察していた(**Fig. 1**)。しかし、感覚発作は引き続き月2回程度見られた。PHT導入後の感覚発作はいずれもGTCSに移行することはなかったが、コントロール不良時に見られたGTCS前兆としての発作とはほぼ同じものであった。妊娠可能年齢女性であることも考慮しながら医師・薬剤師でAdd-on療法開始について協議した。クロバザム(CLB; clobazam)、フェノバルビ

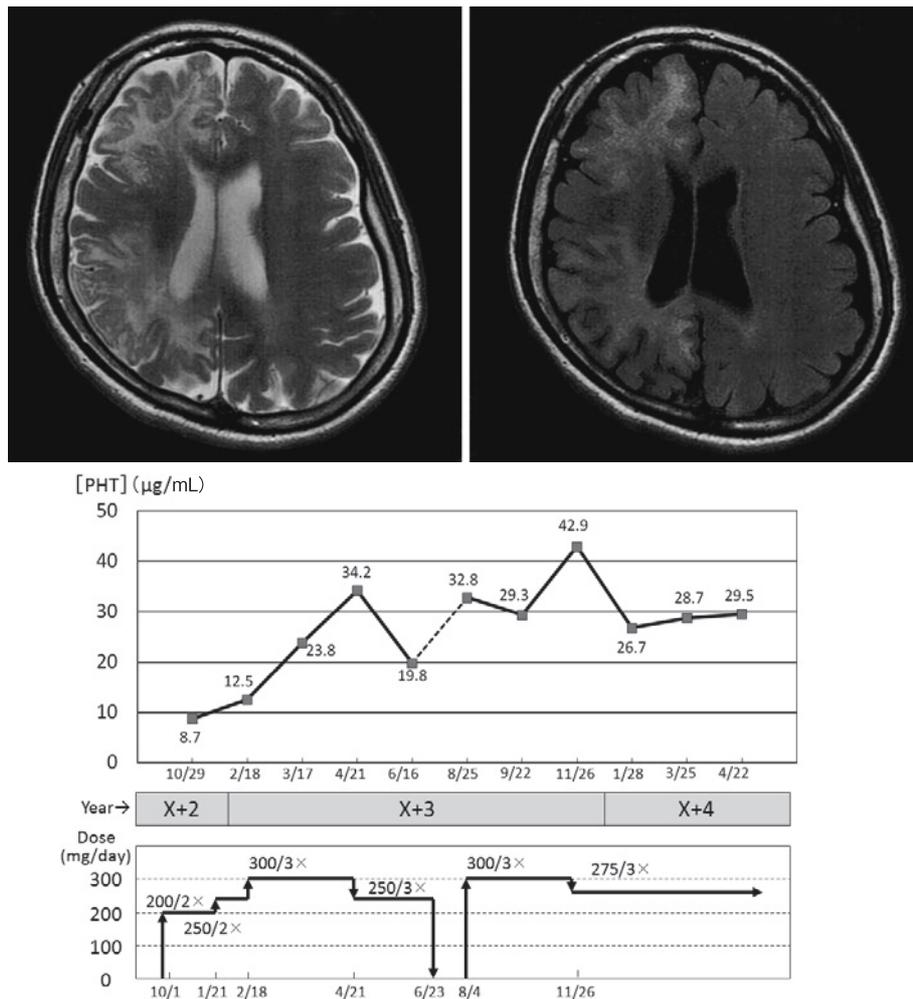


Fig. 1 Clinical illustration is shown in the figure 1. The axial MRI scan shows mild atrophy of cerebral cortex as well as the broad degenerative change in the white matter in the right fronto-temporo-occipital lobe. Slight asymmetric shape and volume of both the skull and the brain is also noted. (Upper left; T2 weighted image, upper right flair image). Chronological change of the serum PHT level and the process of PHT dosage adjustment are shown in the lower panel.

タール (PB; phenobarbital), ガバペンチン (GBP; gabapentin), トピラマート (TPM; topiramate), ラモトリギン (LTG; lamotrigine) といった候補薬を検討した結果, GBPを追加した. 眠気やふらつきの強いときには1,800 mg/dayから1,200 mg/day, それでも改善しない場合には1,200 mg/dayから600 mg/dayまでGBPを減量するように服薬指導していたところ, GBP追加後1週間で強い眠気が発現したが600 mg/dayまでGBPを漸減し, 治療継続することが可能となった. 感覚発作は3カ月に1回と大幅に減少した.

解説

1. てんかん薬物治療の原則

てんかん薬物治療の原則はてんかん症候群の発作型分類⁵に応じた薬剤選択であり, 有効性および忍容性(薬物の有害作用が患者にとってどれだけ耐え得るかの程度を示したもの)などを考慮しながら患者のQOL改善に最も適したAEDを選択することが重要である⁶⁷. 本症例では偽発作との鑑別に有用であるとされる発作時脳波ビデオモニタリング検査⁸⁹を行ったものではないが, 発作は一過性の感覚症状や時には同側の運動症状移行することなどから発作の多くは単純部分発作と考えられること, 前頭葉から頭頂葉に病変が及んでいること, などから部分てんかんと診断した. 日

本てんかん学会ガイドライン⁶における部分てんかんに対する推奨薬であるCBZ, ZNS, PHT, VPAを順次治療に用いたが, PHTを除く3剤ではそれぞれ忍容性が得られなかった。海外の主要ガイドライン¹⁰⁻¹³では新規抗てんかん薬のうちGBP, TPM, LTGが部分てんかんに対する第一選択薬として推奨されているが, 本邦では上記薬剤については単剤治療による保険適応が承認されていない。以上の理由によりPHT単剤治療を開始するに至った。

2. 有効血中濃度の考え方・妊娠可能年齢の女性に対する治療

PHTには有効血中濃度(10~20 µg/mL)が示されており, 通常はPHT有効血中濃度域内での治療が望ましい。ただし, 有効血中濃度は画一的なものではなく, 患者によっては有効血中濃度を超えた濃度ではじめて効果が現れることがある⁶。そのため, 臨床的な最大耐用量を見きわめることは, 本症例のように使用できるAEDに限られる場合には特に重要である^{6,7,10,11,14-16}。本症例では, PHT血中濃度30 µg/mLを超えると日常生活に支障がでるほどの眠気が発現するため, 血中濃度のコントロール目標を25~30 µg/mLに設定した。PHTは非線形薬物¹⁷であるため, 服薬アドヒアランスが比較的良好である2点のデータに基づき, PHT投与量と血中濃度の関係をMichaelis-Menten式¹⁸を用いて予測した¹⁹。その結果, 維持量を275 mg/dayに設定すると定常状態血中濃度(Css; steady state concentration)がコントロール目標に達する(予測値: 28.03 µg/mL)ということが理論的に求められた。

AEDは催奇形性およびその他の重篤な副作用発現リスクを有するため, 可能な限り使用薬剤数および投与量を少なくすることが重要である^{20,21}。本症例のように妊娠可能年齢にある女性に対しては, 葉酸補充の事前指導により催奇形性リスクを軽減させる配慮も大切である²⁰。

3. 軸薬と add-on 薬

本症例ではPHTを最大耐用量まで使用しても感覚発作の完全消失には至らなかったため, PHTを軸薬としたadd-on療法の開始が提案された。海外のエキスパートコンセンサス²²では部分てんかんにおけるPHTを軸薬とした時のadd-on薬としてLTG, TPM, GBP, PB, CLBなどが挙げられている。PB²³やCLB²⁴はPHTの血中濃度に影響を与えるため, 経験的にPHTの投与量を増減することが余儀なくされる。し

かし, 有効性や忍容性で比較して選択順位が同等なadd-on薬が複数存在する場合, CLB以降に本邦で使用可能となった薬物相互作用の少ない新規抗てんかん薬^{25,26}(GBP, TPG, LTG)を薬物相互作用が問題となる候補薬(PBやCLB)に先行して選択すれば, PHTの用量変更を最小限に抑えることができる。難治てんかん治療では, 選択薬剤が無効となった場合も想定した計画的な薬剤選択が重要である。また, PBやCLBは耐性もよく知られている^{27,28}。このような理由によりPBやCLBといったAEDは, PHT血中濃度がクリティカルである本症例では, PHTに対するadd-on第一選択薬としては望ましくないと考えた。GBP, TPM, LTGはいずれも薬物相互作用がほとんど知られておらず, 併用薬として使用しやすいAEDであるが, それぞれ有効性および忍容性が異なる²⁹。本症例では, 低薬剤忍容性により治療に難渋しており「見かけの難治てんかん」という性格を兼ね備えていることから, TPMのような低忍容性薬剤の選択順位は低く設定すべきである。また, TPMは薬物相互作用がほとんど知られていないがPHTに対するadd-onによりPHT血中濃度が上昇する可能性が示唆されている³⁰ため, TPM導入時にはPHTの血中濃度測定がより重要となる。また, GBPとLTGはいずれも忍容性が得られやすい薬剤であり, 今回はGBPを追加薬剤として選択した。GBPはdose titrationに要する時間が短く¹⁶, すぐに効果判定できるという利点がある。

4. てんかん診療における薬剤師の役割

てんかん診療では薬物療法が大きな役割を占めるため, 医師と薬剤師が連携して薬物療法を提供することが理想的である。本症例において薬剤師は, PHTの血中濃度モニタリング, PHTの投与設計, 服薬アドヒアランスの確認, add-on薬の検討, 副作用発現時の対応を含めた服薬指導という形で薬学的管理を実施した。また薬剤師は, 使用されているAEDの種類や投与量が妥当であるか常に検討することが必要である。特に多剤併用療法では, 投薬内容の変更に伴う臨床所見の変化から各AEDの有効性および忍容性を評価し, 必要に応じて投与量や併用薬剤数の増減を医師に提案することで, 患者のQOL向上に貢献すべきである。薬剤抵抗性てんかんでは, 通常のとてんかん治療に比して投薬内容の変更が必然的に多くなり, 治療に対する不信感から服薬アドヒアランスが低下する患者も存在する。このような症例では, 治療変更の必然性を薬剤師によるセカンドオピニオンとして説明することで治療に対する不信感を和らげ, 服薬アドヒアラン

スの低下を防ぐことも重要である。これまでに述べた薬学的管理は適切な薬物療法を実施するためにはいずれも必要不可欠なものであるが、そのほとんどを医師が実施しているというのが現状であり、医師は薬学的管理に多大なる時間をとられることが余儀なくされてきた。また、成人難治てんかんとどの基本診療科が担当するかということは、本邦特有の問題である^{31,32}。本邦ではてんかん専門薬剤師制度はないが、妊娠女性や授乳婦に対する専門薬剤師制度が存在し、専門性の一端を担っている。てんかん薬物療法は専門性の高い薬学的知識を要するため、今後てんかん専門薬剤師制度の設立に関して検討していくことが必要であると考える。本症例では、薬学的管理を薬剤師が分担することで、医師は問診や画像診断により多くの時間を費やすことが可能となった。また、医師・薬剤師という異なる職種間で患者情報を共有し、多角的に薬物療法を検討することは非常に有用であった。

診療のポイント：てんかん診療では、発作抑制効果のみならず QOL 改善を考慮した AED 選択が重要である。薬物治療はてんかん診療におけるひとつの中核となるため、薬剤師にはてんかん診療をサポートする責務がある。

本稿の要旨の一部は、第3回日本てんかん学会関東地方会（平成21年6月20日、於 東京）にて発表した。

文 献

- Aicardi J: Clinical approach to the management of intractable epilepsy. *Dev Med Child Neurol* 1988; 30: 429-440.
- Hepler CD: Pharmaceutical care. *Pharm World Sci* 1996; 18: 233-235.
- Hepler CD, Strand LM: Opportunities and responsibilities in pharmaceutical care. *Am J Hosp Pharm* 1990; 47: 533-543.
- American Society of Hospital Pharmacists: ASHP Statement on pharmaceutical care. *Am J Hosp Pharm* 1993; 50: 1720-1723.
- Commission on Classification and Terminology of the ILAE: Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 1989; 30: 389-399.
- 日本てんかん学会ガイドライン作成委員会、井上有史：成人てんかんにおける薬物治療ガイドライン。てんかん研究 2005; 23: 249-253.
- 日本神経学会てんかん治療ガイドライン作成小委員会：てんかん治療ガイドライン。2002.
- 太組一朗、小泉慎也、小林士郎、藤野 修：てんかん診療における長時間デジタル脳波ビデオモニタリングシステムの導入。日医大医学会誌 2008; 4: 50-51.
- 太組一朗：068. 発作の観察とビデオ脳波モニタリングの注意点は？ てんかん診療のクリニカルケース
- チョン 194. (松浦雅人、原 恵子編)。2009; pp 100-104. 診断と治療社 東京.
- The National Institute for Clinical Excellence (NICE): Diagnosis and management of the epilepsies in adults and children in primary and secondary care. 2004.
- Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN): Diagnosis and Management of Epilepsy in Adults. 2003.
- French JA, Kanner A, Gronseth G: Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs I: Treatment of new onset epilepsy: Report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee and Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Epilepsy Society-Reply. *Neurology* 2005; 64: 172-172.
- Glaser T, Ben-Menachem E, Bourgeois B, Cnaan A, Chadwick D, Guerreiro C, Kalviainen R, Mattson R, Perucca E, Tomson T: ILAE treatment guidelines: evidence-based analysis of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. *Epilepsia* 2006; 47: 1094-1120.
- Livingston JH: Management of intractable epilepsy. *Arch Dis Child* 1991; 66: 1454-1456.
- Hermanns G, Noachtar S, Tuxhorn I, Holthausen H, Ebner A, Wolf P: Systematic testing of medical intractability for carbamazepine, phenytoin, and phenobarbital or primidone in monotherapy for patients considered for epilepsy surgery. *Epilepsia* 1996; 37: 675-679.
- Panayiotopoulos CP: A Clinical Guide to Epileptic Syndromes and their Treatment. 2nd Edition, 2007; pp 164, Springer, London.
- Jusko WJ, Koup JR, Alván G: Nonlinear assessment of phenytoin bioavailability. *J Pharmacokinet Biopharm* 1976; 4: 327-336.
- Sawchuk RJ, Rector TS: Steady-state plasma concentrations as a function of the absorption rate and dosing interval for drugs exhibiting concentration-dependent clearance: consequences for phenytoin therapy. *J Pharmacokinet Biopharm* 1979; 7: 543-555.
- Grasela TH, Sheiner LB, Rambeck B, Boenigk HE, Dunlop A, Mullen PW, Wadsworth J, Richens A, Ishizaki T, Chiba K: Steady-state pharmacokinetics of phenytoin from routinely collected patient data. *Clin Pharmacokinet* 1984; 8: 355-364.
- 管るみ子、兼子 直、田中正樹、和田一丸、日本てんかん学会ガイドライン作成委員会：てんかんをもつ妊娠可能年齢の女性に対する治療ガイドライン。てんかん研究 2007; 25: 27-31.
- Aguglia U, Barboni G, Battino D, Cavazzuti GB, Citernes A, Corosu R, Guzzetta FM, Iannetti P, Mamoli D, Patella A, Pavone L, Perucca E, Primiero F, Pruna D, Savasta S, Specchio LM, Verrotti A: Italian consensus conference on epilepsy and pregnancy, labor and puerperium. *Epilepsia* 2009; 50 Suppl 1: 7-23.
- Karceski S, Morrell MJ, Carpenter D: Treatment of epilepsy in adults: expert opinion, 2005. *Epilepsy Behav* 2005; 7 Suppl 1: S1-S64; quiz S65-67.
- Bazil CW, Pedley TA: Clinical pharmacology of antiepileptic drugs. *Clin Neuropharmacol* 2003; 26:

- 38-52.
24. Zifkin B, Sherwin A, Andermann F: Phenytoin toxicity due to interaction with clobazam. *Neurology* 1991; 41: 313-314.
 25. Patsalos PN: Properties of antiepileptic drugs in the treatment of idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsia* 2005; 46 Suppl 9: 140-148.
 26. Walker MC, Patsalos PN: Clinical pharmacokinetics of new antiepileptic drugs. *Pharmacol Ther* 1995; 67: 351-384.
 27. Boisse NR, Okamoto M: Physical dependence to barbital compared to pentobarbital. II. Tolerance characteristics. *J Pharmacol Exp Ther* 1978; 204: 507-513.
 28. Robertson MM: Current status of the 1,4- and 1,5-benzodiazepines in the treatment of epilepsy: the place of clobazam. *Epilepsia* 1986; 27 Suppl 1: S27-S 41.
 29. Hovinga CA: Levetiracetam: a novel antiepileptic drug. *Pharmacotherapy* 2001; 21: 1375-1388.
 30. Sachdeo RC, Sachdeo SK, Levy RH, Streeter AJ, Bishop FE, Kunze KL, Mather GG, Roskos LK, Shen DD, Thummel KE, Trager WF, Curtin CR, Dose DR, Gisclon LG, Bialer M: Topiramate and phenytoin pharmacokinetics during repetitive monotherapy and combination therapy to epileptic patients. *Epilepsia* 2002; 43: 691-696.
 31. 大槻泰介: 日本におけるてんかん外科の現状. *Epilepsy: てんかんの総合学術誌* 2007; 1: 23-26.
 32. 山内俊雄: 日本におけるてんかん学・てんかん医療はどうあるべきか. *てんかん研究* 2009; 26: 393-402.

(受付: 2009年10月8日)

(受理: 2009年11月13日)

— 話 題 —

自己免疫疾患と自己炎症疾患

日本医科大学大学院医学研究科小児医学

伊藤 保彦

膠原病など難治性の慢性炎症性疾患の病態を理解する上で、自己免疫という概念が大きく貢献してきたことはいうまでもない。数多くの自己抗体やそれに対応する抗原が発見・同定され、膠原病以外にも多くの原因不明の難治性疾患が自己免疫疾患として理解されるようになった。それに伴いステロイド製剤や免疫抑制剤の導入など、治療法も進歩してきた。ところが、研究が進むに従い、例えばベーチェット病、クローン病などのような自己免疫疾患と考えられている病態の中で、いくら調べても自己抗体が認められない（あるいは認められたとしても、それが病気の本態とは考えられない）ものについて、本当に自己免疫疾患なのかという疑問が生じてきた。

歴史的にみると、近代医学の草創期、すべての炎症性疾患が感染症として理解されうのかのように信じられた時期があった。1942年に感染症では説明のつかない慢性炎症病態について、P. Klemperer が膠原病という概念を提唱し、自己免疫への発想の転換を図った。さらに現在、自己免疫では説明のつかない病態に対して、自己炎症疾患という概念が提唱された。

きっかけは、1882年、周期的な発熱を繰り返すアイルランドの1家系の発見にさかのぼる。当初familial Hibernian feverあるいはアイルランド熱と呼ばれ、ほとんど注目されなかったこの疾患は、1999年になってTNFレセプターをコードする*TNFRSF1A* 遺伝子の異常によることが判明した。その2年前には、家族性地中海熱というやはり限られた民族に見られる周期的発熱疾患がpyrin（パイリンと読む）蛋白の異常であることが明らかにされていた。どちらも炎症のpathwayの分子の異常により抑制のきかない炎症状態が惹起されることがわかったのである。これらは当初ごく特殊な病態で症例数もきわめて少ないと考えられていた。ところが、その他の原因不明の慢性炎症性疾患からも、炎症にかかわる種々の分子の遺伝子異常が発見された。そこで、これらの疾患群を「自分で勝手に炎症のスイッチが入ってしまう疾患」という意味で、自己炎症疾患と呼ぶようになったのである。現在、家族性地中海熱、Cryopyrin 関連周期熱症候群（CAPS）（CINCA 症候群/Muckle-Wells 症候群/家族性寒冷蕁麻疹）、TNF受容体関連周期熱症候群（TRAPS）、Mevalonate kinase 関連周期熱症候群（MAPS）（別名高IgD症候群）、アフタ性口内炎・咽頭炎・リンパ節炎をともなう周期熱（PFAPA）、Blau 症候群（別名若年性サルコイドーシス）などがこれに含まれる。しかし、この疾患概念がもたらした衝撃は、これらのまれな疾患群の名称という意味にとど

まらなかった。

自己炎症疾患の病態論的特徴は、以下の4点に要約される。

(1) 臨床的には、多くの場合周期的発熱、蕁麻疹様発疹、リウマチ様症状を主症状とするため、膠原病・血管炎症候群との鑑別が重要となる。

(2) 抗原認識と応答という獲得免疫系の免疫機構は介在せず、直接炎症のスイッチが入ってしまう。したがって自己抗体も抗原特異的 T 細胞も検出されない。

(3) 近年研究が急速に進んでいる自然免疫系に、病原微生物由来の分子パターンを識別する役割を果たすパターン認識レセプター分子があるが、その一種であるNODファミリーおよびその関連分子に異常がある場合が多く、病態の本体は自然免疫系の異常と考えられる。

(4) 病態は自然免疫系の異常に起因する炎症性サイトカイン産生調節異常から説明できる。これまでの臨床免疫学の根幹を成す概念“アレルギーの4型”のどれにも当てはまらない。

このような自己炎症疾患の概念が明らかになるにつれ、膠原病の臨床および研究の現場において2つの大きな衝撃が生じている。ひとつは“自己炎症疾患恐怖症”ともいえる臨床診断における混乱である。疾患特異的自己抗体が検出されず、臨床的特徴と除外診断だけが頼りであるような病態（例えば全身型若年性関節リウマチや川崎病、不明熱、不明発疹など）の診断に際し、自己炎症疾患を見落としていないかという恐怖が付きまとうようになった。ステロイド投与や大量ガンマグロブリン療法に踏み切るにあたり、このことがふと頭をよぎるのである。もう一つの衝撃は、これまで自己免疫疾患と考えられてきた多くの疾患で、その病態は本当に自己抗体によるものなのか再考が必要となってきたことである。確かに例えばシェーグレン症候群における唾液腺破壊に抗Ro/SSA抗体が直接関与しているという証拠はなく、皮膚筋炎において抗Jo-1抗体が筋炎を惹起させているという証拠もない。自己免疫疾患と考えられている病態も、その本体は自然免疫系の異常であって、獲得免疫系の異常すなわち自己抗体産生はその副産物にすぎないのではないかという議論も盛んになっている。ましてや自己抗体が見つからない多くの疾患は、本当は自己炎症疾患なのかかもしれないと疑われている。実は若年性関節リウマチ（特に全身型、少関節型）もその可能性が高いと考えられている疾患のひとつである。前出のクローン病、ベーチェット病などはほとんど確定視されている。

このように、自己炎症疾患は当初は極めて珍しいごく小さな疾患概念と考えられていたが、今や膠原病学ひいては臨床免疫学全体を震撼させる存在となっている。慢性炎症性疾患の医学は感染症から自己免疫へという転換点から60年を経て、今、自己免疫から自己炎症へ、そして獲得免疫から自然免疫へという新たな転換点に差し掛かっているといえる。

(受付：2009年7月28日)

(受理：2009年10月21日)

—JNMS のページ—

Journal of Nippon Medical School

Vol. 76, No. 6 (2009年12月発行)

Summary

Journal of Nippon Medical Schoolに掲載しましたOriginal論文の英文「Abstract」を日本医科大学医学会雑誌に和文「Summary」として著者自身が簡潔にまとめたものです。

Detection of Arrhythmogenic Substrates in Prior Myocardial Infarction Patients with Complete Right Bundle Branch Block QRS Using Wavelet-Transformed ECG

(J Nippon Med Sch 2009; 76: 291-299)

完全右脚ブロックをともなう心筋梗塞発症後の患者におけるウェーブレット変換心電図を用いた不整脈基質の検出

村田広茂 小原俊彦 小林義典 宮内靖史
加藤貴雄 水野杏一

日本医科大学大学院医学研究科器官機能病態内科学

目的: 完全右脚ブロックをともなう心筋梗塞後の患者において致死的不整脈の発生を非侵襲的に予知することは重要であるが、従来の方法では困難である。そこで、時間分解能の高いウェーブレット変換心電図の有用性を検討した。

方法: 対象は、完全右脚ブロック22例で、心筋梗塞後に心室頻拍を認めた5例(VT群)と心室頻拍のない7例(Non-VT群)、対照群10例である。高分解能心電図(サンプリング10kHz)を記録し8つの誘導(I, aVF, V1からV6)の任意のQRS波形(300ms)を抽出しガボール関数でウェーブレット変換した。各周波数帯(40~200Hz)のパワー値のピークを計測し、同じ時相の40Hzのパワー値に対する比率(P60/40, P80/40, P120/40, P150/40, P200/40)を計算した。P120/40, P150/40, P200/40が50%以上を異常高周波数成分(AHFC)と定義し、AHFCを認めた誘導の数(NL-AHFC)を比較した。

結果: P120/40, P150/40, P200/40は対照群に比べ有意にNon-VT群で高値であった。(P<0.001, P<0.001, P<0.001)また、“すべての誘導でP150/40<50%”を正常とすると、健常者を除外するのに有用であった。VT群のNL-AHFC(P120/40)とNL-AHFC(P150/40)は、Non-VT群に比べて有意に高値を示した。(3.0±1.2 vs. 1.0±

1.0, P=0.01; 3.2±0.4 vs. 1.4±0.8, P=0.001) “NL-AHFC(150/40)≥3”を陽性とする、心室頻拍検出における感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率は100, 86, 83, 100%であった。

結論: 少数例の検討ではあるが、本研究によって、ウェーブレット変換心電図が完全右脚ブロックをともなう心筋梗塞後患者における、心室頻拍の予測に有用である可能性が示された。

Clinical Features of Antinuclear Antibody-positive Patients with Atopic Dermatitis

(J Nippon Med Sch 2009; 76: 300-307)

抗核抗体陽性アトピー性皮膚炎患者の臨床的特徴についての検討

東 直行^{1,2} 新見やよい¹ 青木見佳子¹ 川名誠司¹

¹日本医科大学大学院医学研究科皮膚粘膜病態学²日本医科大学多摩永山病院皮膚科

目的: アトピー性皮膚炎(AD)患者の内、抗核抗体(ANA)陽性群(+)と陰性群(-)について、臨床的特徴を比較検討。

方法: 対象はAD100例で、皮膚重症度をスコア化し、日光過敏の既往の問診を実施。WBC, WBC分画, 血小板数, 総IgE値, LDH値, 特異的IgE値, ANAを測定。ANA(+)群では、抗ds-DNA Ab, 抗SS-A Ab, 抗SS-B Ab, 補体の測定も実施。

結果: 1) AD患者の19%にANA(+) (40~640倍)を認め、健常人のANA陽性率6.8% (1,004例中68例)に比し有意に高率(p=0.0001, オッズ比2.8)。2) ANA(+) ADで、抗ds-DNA Abなどほかの自己抗体が陽性になった症例なし。3) ANA(+)の男性ADでは、日光過敏と関連あり(p=0.0346)。4) ANA(+) ADは、ANA(-) ADと比し、スギ特異的IgE値が有意に高値(p=0.0232)。5) ANA(+) ADは、重症度と末梢好塩基球数(r=0.513, p=0.0344), 重症度とLDH値(r=0.741, p=0.0056)が有意に正の相関あり。ADでは、一般的に重症度と末梢好酸球数が正の相関を示すが、ANA(+) ADではなし。

結論: ANA(+) ADは、ADの中で1つの亜集団を形成していることが示唆された。

—JNMS のページ—

Journal of Nippon Medical School

Vol. 77, No. 1 (2010年2月発行)

Summary

Journal of Nippon Medical Schoolに掲載しました
Original論文の英文「Abstract」を日本医科大学医学会雑誌に和文「Summary」として著者自身が簡潔にまとめた
ものです。

A New Look at Criteria for Damage Control Surgery

(J Nippon Med Sch 2010; 77: 13-20)

ダメージコントロール手術の新しい適応基準

松本 尚 益子邦洋 阪本雄一郎 朽方規喜
原 義明 横田裕行

日本医科大学大学院医学研究科侵襲生体管理学

目的: ダメージコントロール手術 (Damage control surgery : DCS) の必要性を迅速に決断するための簡便で、実用的な基準を確立する。

方法: 循環動態が不安定な重症の腹部、もしくは骨盤外傷に対して DCS が行われた 34 例を対象に、患者背景、臨床経過、血液検査所見、転帰を後方視的に検討した。

結果: 全体の生存率は 55.9% であり (生存群 : n=19 ; 非生存群 : n=15)、予測生存率 0.5671 と同等の結果であった。手術開始時の収縮期血圧 (Systolic blood pressure : SBP) は非生存群の全例で 90 mmHg 未満であり、平均 SBP は生存群と比較して有意に低かった (69.6 ± 14.8 vs 93.2 ± 22.9 mmHg, $p=0.006$)。Base Excess は 2 例を除き、非生存群が生存群よりも有意に低値であった (-11.5 ± 5.3 vs -5.5 ± 4.9 mmHg, $p=0.008$)。深部体温は非生存群のすべてで 35.5°C 未満であった。手術開始時の $\text{SBP} < 90$ mmHg, $\text{base excess} < -7.5$ mmol/L, 深部体温 $< 35.5^\circ\text{C}$ の 3 つの指標すべてが揃った症例の DCS 成功率 (28.6%) は、それ以外の症例 (75.0%) よりも有意に低値であった ($p = -0.014$)。

結論: 今回の結果から、3 つの指標のうち 1 つないし 2 つを満たした段階で DCS を決断すべきと考えられた。この基準は DCS の適応を広くするものであるが、重症の体幹部外傷の救命を第一に考えれば、“オーバーリアージ”は容認されるものと考えられる。

One-Year Evaluation of Combined Treatment with an Intranasal Corticosteroid and Montelukast for Chronic Rhinosinusitis Associated with Asthma

(J Nippon Med Sch 2010; 77: 21-28)

気管支喘息を合併する慢性副鼻腔炎に対するステロイド点鼻とモンテルカスト併用治療の一年間の効果

野中 学^{1,2} 酒主敦子¹ 草間 薫^{1,2} 荻原 望^{1,2}
八木聰明¹

¹日本医科大学大学院医学研究科頭頸部・感覚器科学²日本医科大学多摩永山病院耳鼻咽喉科

成人型気管支喘息を合併する慢性副鼻腔炎に対するステロイド点鼻のみの治療効果は十分ではない。今回われわれは、成人発症の気管支喘息を合併する慢性副鼻腔炎に対するステロイド点鼻と抗ロイコトリエン薬の併用治療による一年間の効果を検討した。20 人の成人型気管支喘息を合併する慢性副鼻腔炎患者にプロピオン酸フルチカゾン (200 $\mu\text{g}/\text{day}$) 点鼻とモンテルカスト (10 mg/mL) を一年間投与し、投与前後に鼻茸の大きさ、CT、血中好酸球比率を調べ、その改善から併用治療の効果を検討した。

鼻茸の大きさ、CT 陰影、血中好酸球比率、いずれの指標においても、治療前と比較して、治療開始 6 カ月、12 カ月の時点で有意に改善がみられた。また治療開始 6 カ月と 12 カ月の時点で治療前と比較し改善率を求めると、血中好酸球比率の改善率は CT 陰影の改善率と有意に相関した。

成人発症の気管支喘息を合併する慢性副鼻腔炎に対するステロイド点鼻とモンテルカストの併用治療は、少なくとも一年間は有効であると考えられた。

—集会記事—

日本医科大学医学会第 19 回公開「シンポジウム」

平成 21 年 6 月 13 日 (土) 15 時～17 時 45 分 於 日本医科大学橘桜会館橘桜ホール

主題「増加する動脈硬化性疾患の予防と対策」

1. 動脈硬化, 血栓性疾患 (アテローム血栓症) の発症メカニズム

後藤 信哉

東海大学医学部内科学系 (循環器内科領域)

臓器別の専門医学教育, 臓器別の専門医療の供給体制は著しく整備されている。このような視点から, 心筋梗塞は心臓という, 脳梗塞は脳という臓器の疾患と理解される。一方, 疾病の発症に関与するリスク因子, 疾病の発症メカニズムの見地に立つと, 心臓, 脳などの重要臓器を灌流する血管の動脈硬化性変化, 動脈硬化巣破綻部位における血栓形成など心筋梗塞, 脳梗塞には共通点が多い。血管の加齢性変化である動脈硬化は現時点では不可避の現象であ

る。幸いにして動脈硬化は無症候の場合が多い。動脈硬化巣が破綻して血栓性変化が起こると心筋梗塞, 脳梗塞などの急性期病態を発症する。動脈硬化予防以上に血栓予防の重要性が強調されるゆえんである。動脈硬化, 血栓ともに血小板, 白血球などの血球細胞が重要な役割を演じる。主に血球細胞の役割に焦点をおいて動脈硬化, 血栓性疾患に関する最近の知見をまとめたい。

2. スタチンの動脈硬化予防とその機序

北川 一夫

大阪大学大学院医学系研究科神経内科学

わが国の死因の第 2, 3 位を占める虚血性心疾患, 脳卒中はともに心血管病であるが, 脂質異常症の危険因子としての関与は異なっている。血清脂質値と心筋梗塞死亡リスクの間には年代を問わず正の相関がみられ, HMG-CoA 還元酵素阻害薬 (スタチン) は, 心筋梗塞の発症, 再発予防にきわめて有用である。一方, 脳卒中と血清脂質値の間には明白な関連がみられなかった。しかし心筋梗塞の初発, 再発予防を目的とした多くの臨床試験においてスタチン投与群で脳卒中, とくに脳梗塞の発症予防が観察された。脳卒中再発予防を目的とした SPARCL 研究でもスタチン投与が脳卒中なかでも脳梗塞の再発予防に有効であった。臨床疫学的には, 血清脂質値と脳卒中発症の間には明白な関連がみられないが, スタチンによる介入試験で血清脂質値の低下程度と脳卒中発症抑制効果の間に関連がみられることを Amarenco は Paradox of Cholesterol and Stroke と呼んでいる。

スタチンの心血管イベント抑制効果, 抗動脈硬化作用にはその強力な脂質低下作用が重要であることは言うまでもないが, 近年アテローム血栓症と炎症, 酸化ストレス, 内皮機能障害の関連が明らかにされるにつれて, スタチンにはこれら動脈硬化促進機序への保護効果があることが明らかとなり, pleiotropic 作用と総称されている。スタチンはコレステロール以外に中間代謝産物であるファルネシルピ

ロリン酸, ゲラニルゲラニルピロリン酸などのイソプレノイドの産生を抑制し, Ras, Rho, Rab, Rap などの small GTP 結合蛋白の脂質修飾を抑制することがその主な機序と考えられている。スタチンには内皮機能改善, 抗酸化, 抗炎症, プラーク安定化, 抗血栓作用, 血管内皮前駆細胞誘導, 免疫調節などの効果も報告されており, 脳神経系では脳梗塞以外に認知症, 多発性硬化症への応用も模索されている。

近年, 動脈硬化のサロゲートマーカーとして頸動脈超音波検査による非侵襲的観察が普及しつつある。頸動脈内膜中膜複合体 (IMT) は将来の心筋梗塞や脳卒中の独立した予測因子であることが明らかにされ, われわれも外来通院中の心血管イベントハイリスク患者を対象とした OSACA2 研究で, IMT が追跡期間中の心血管イベントの独立した予測因子であることを報告した (Cerebrovasc Dis 2007)。さらにスタチンの頸動脈プラークの退縮効果, 安定化作用を観察している。アテロームプラークの発症, 進展, 脆弱性に炎症機序が密接に関連し, 血液中でも高感度 CRP などの炎症マーカーがその指標になることが報告されている。スタチンの抗炎症作用は血液中の高感度 CRP 濃度低下作用として評価することが可能である。血清脂質値がほぼ正常範囲で高感度 CRP が軽度上昇した患者を対象とした JUPITER 試験では, スタチンが血清 LDL と

もに高感度CRP濃度を低下させ、心筋梗塞、脳卒中の発症を抑制していた。血清脂質レベルが正常でもアテロームプラークが進展した例、高感度CRP濃度が上昇している

例ではスタチンの積極的な使用により心血管イベントが抑制される可能性を示している。

3. 虚血性心疾患の予防と治療

水野 杏一

日本医科大学内科学（循環器・肝臓・老年・総合病態部門）

動脈硬化により発生する虚血性疾患の予防は通常冠危険因子といわれている脂質異常症、高血圧、糖尿病、肥満の是正および禁煙などが重要である。注目すべきはわが国で脂質異常症、肥満、耐糖能異常が増えており由々しき問題である。虚血性心疾患の予防と治療、冠危険因子を是正することにより、虚血性心疾患が抑制されることが欧米で確認されているが、わが国での検討についてほとんどなされていなかった。しかし、最近わが国でも、高脂血症、高血圧などの患者にスタチンやARBを使用することにより、一次および二次予防が可能であることが相次いで報告された。虚血性心疾患の予防のためには冠危険因子の除去が重要であることが確認され、特にMEGA Studyでは虚血性心疾患の罹患の少ない助成にもスタチンの効果を認めており、一次予防の重要性を示している。高血圧を含む虚血性心疾患の一次予防には二次予防の4倍もの効果があるといわれている。一方、二次予防も重要で、ARBやEPAを使用した二次予防効果がわが国で報告された。

一方、不幸にも虚血性心疾患になった方の治療も最近著しく発展している。例えば、急性心筋梗塞で入院した方の院内死亡率が20年前は20%にも及んでいたが、血栓溶解療法の薬物とともにカテーテルを使用した再灌流療法により院内死亡率は5%以下まで低下した。冠動脈狭窄部をバルーンで広げる風船療法は虚血性心疾患治療に一大革命で

あった。

冠動脈狭窄を解除することにより、虚血性心疾患の症状である狭心症は消失し、QOLの改善を得ることができた。しかし、一度広がった冠動脈が元の狭窄にもどってしまう再狭窄はカテーテル治療[Percutaneous Coronary Intervention (PCI)]のアキレス腱といわれている。バルーンの代わりに、一度広げた冠動脈内腔を冠動脈内側より支持するステンレスのステントを使用しても、約30%が再び狭窄を起こしてしまう（再狭窄）。しかし、最近では、ステントにポリマーをコーティングし、免疫抑制剤や抗癌剤を付着させた薬剤溶出性ステントが臨床で使用できるようになり、再狭窄は10%以下になった。従来、PCIと冠動脈バイパス術との比較が行われ、死亡や心筋梗塞などの再治療法は同等だが、再狭窄がPCIに多いため、再治療がPCIに多いといわれている。だが、薬剤溶出性ステントの出現により、再治療も同等であるとの報告も出てきた。

虚血性心疾患に対し、血管、心筋再生療法も近年臨床応用されるようになった。現在、多くの治療は骨髄幹細胞を使用しているが、将来はES細胞やIPs細胞が使用できる日がくるかもしれない。これらを使えば、重症狭心症の虚血改善のみならず、一度壊死した心筋細胞も再生可能となると思われる。

4. 脳梗塞の予防と治療

桂 研一郎

日本医科大学内科学（神経・腎臓・膠原病リウマチ部門）

脳卒中は癌、心臓病に次いで死因の第3位を占めるが、介助を要する自立不能の患者数では圧倒的に首位の座を占めている。脳卒中のうち、脳出血は降圧治療の進歩とともに減少してきたが、脳梗塞患者数は増加してきている。

全国実態調査によれば、アテローム血栓症のうち、脳梗塞患者は150~180万人、心筋梗塞患者は70~80万人いると推計されており、脳梗塞患者は心筋梗塞患者の2倍以上存在しているのが日本の特徴である。

このような背景を踏まえ、高齢者に多い脳梗塞の予防と治療の現状を概説する。

1. 脳卒中の一次予防

(1) 高血圧

高血圧患者への介入試験のメタアナリシスによれば、降圧療法はきわめて有効であることが明らかとなり、血圧下降度が大きいほど脳卒中の発症リスク低下度も大きいことが示されている。脳卒中治療ガイドラインではグレードAのもっとも強いレベルで降圧療法が推奨されている。高齢者の降圧目標は140/90 mmHg未満とされ、若年・中年者ではさらに厳しい130/85 mmHg未満が降圧目標として推奨されている。

(2) 糖尿病

糖尿病患者の脳卒中予防には血糖のコントロールはもちろんであるが、同時に血圧のコントロールが重要であることが強調された。糖尿病患者では130/80 mmHg未満の厳し

い降圧目標が推奨されている。

(3) 高脂血症

これまでに行われたスタチンの大規模臨床試験のメタアナリシスによれば、25～30%の有意なスタチンによる脳卒中予防効果が認められているが、非スタチン系薬剤の効果は証明されていない。

(4) 心房細動

高齢になるほど心房細動の罹患率が上昇し心原性脳塞栓症のリスクが増大することが明らかとなってきた。危険因子のいずれかを有する心房細動患者ではワルファリンが推奨され、危険因子がないワルファリンが禁忌の心房細動患者にのみアスピリンが推奨されている。

(5) 喫煙

禁煙は脳卒中と心筋梗塞のリスクを半分に減らす効果があり、この効果はほかの危険因子に対する、どのような薬剤の効果より大きいことが報告されている。

2. 脳卒中急性期の治療

日本でも2005年10月にtPA（アルテプラゼ）が発症後3時間以内の脳梗塞に適用承認され、超急性期の血栓溶解療法が可能となった。しかしながら、現状では脳梗塞患者の2～3%ほどしかtPA治療の恩恵を受けられておらず、依然として、抗血小板療法、抗血栓療法、抗脳浮腫療法、脳保護療法などのこれまでの急性期治療の重要性はかわっていない。

3. 脳梗塞の再発予防

脳梗塞の再発予防対策は危険因子の管理と抗血栓療法からなる。危険因子の管理は基本的には一次予防と同様であり、高血圧、糖尿病、高脂血症、喫煙などに対して食事療法、運動療法、禁煙、薬物療法を行うことになるが、一次予防より厳格な管理が必要となる。抗血栓療法に関しては、非心原性脳機塞には抗血小板療法、心原性脳塞栓症には抗凝固療法が行われている。

5. 慢性腎臓病（CKD）の予防と治療

金子 朋広

日本医科大学内科学（神経・腎臓・膠原病リウマチ部門）

CKDの概念は短期間のうちにわが国をはじめ世界に広まりました。その背景として、1) 透析や移植を必要とする末期慢性腎不全患者数が世界的に増加傾向を示し、医療経済上の大きな負担であること、2) 透析患者の生命予後はきわめて悪く、非透析者の半分程度しかないこと、3) CKDが末期腎不全への進行リスクであるばかりでなく、心血管イベントの発症リスクが増大すること、4) CKDの頻度が予想以上に高く、今後も増加が予想されること、などの認識が高まったことが挙げられます。CKD患者では腎死よりも心血管死のリスクのほうが高いことや微量アルブミンレベルでの尿蛋白でも心血管イベントの危険因子になることも明らかにされており、CKDの予防、早期発見、治療が重要視されることは当然の結果といえます。

CKDの予防はそのリスクファクターである1) 高血圧、2) 糖尿病、3) メタボリック症候群、4) 肥満、5) 脂質代謝異常、6) 喫煙、7) 高食塩摂取、8) 腎毒性の薬剤、9) 尿路結石、10) 尿路感染、などをしっかりとチェックし、生活習慣の改善を図ることです。早期発見のためには検尿が重要で、欧米ではアルブミン尿の定量測定が推奨されています。わが国では尿中アルブミン定量は糖尿病性腎症のみで保険適用となっているため、試験紙法、尿中Cre濃度測定による尿蛋白濃度（g/gCre）を組み合わせる必要があります。また、血中Cre濃度を測定し、年齢と性別から推定糸球体濾過量（eGFR）を算出します。

CKDの治療においては原疾患の同定が必要です。血尿

のみの存在は泌尿器科的疾患の検索が必要ですが、沈渣での赤血球円柱の存在などは早期の糸球体腎炎（特にIgA腎症）の疑いもあり、腎生検を検討する必要があります。慢性糸球体性腎炎や血管炎、自己免疫性疾患などではステロイド薬や免疫抑制薬、特にIgA腎症では両側口蓋扁桃摘出術の適応も検討します。

動脈硬化性のCKDに対しては生活習慣の改善に加えて、1) 血圧管理、2) 脂質管理、3) 貧血管理、4) 血糖値管理、などが重要となります。特に高血圧はCKD患者で高率に合併すると同時に、高血圧自体がCVD発症・進展の強力な危険因子でもあります。このような悪循環を断ち切るためにも、CKDの診療における高血圧管理はより早期に、また強力に行う必要があります。CKDにおける降圧の目標は1) 130/80（蛋白尿1g以上では125/75）を目標、2) 蛋白尿の抑制、3) レニン・アンジオテンシン系の抑制にあります。このたび日本高血圧学会高血圧治療ガイドラインが改訂されましたが、CKDのすべてのステージにおいて、原則としてARBまたはACE阻害薬が第一選択薬とされています。これはRAS阻害薬による腎保護効果を期待してのものと、前述の心血管イベントの抑制効果を期待してのものです。腎障害が進行したケースでは特にその効果が顕著になると報告されており、少量から慎重に開始する必要があります。ただし、両側腎動脈狭窄例や、脱水時などは急速なGFR低下をきたすため使用は控えるべきです。

—集会記事—

日本医科大学医学会特別講演会講演要旨

第 446 回特別講演会

日 時：平成 21 年 9 月 14 日（月）午後 6 時 30 分

会 場：大学院棟第 3 演習室

担 当：病理学（統御機構・腫瘍学）

Immunohistochemistry in bone marrow trephine biopsy pathology: A practical approach**Pongsak Wannakrairot**

Chairman of Department of Pathology,

Faculty of Medicine, Chulalongkorn University,

Bangkok, Thailand

Immunohistochemical study can provide valuable information adding on morphological data. First of all, the specimen should be carefully prepared to get excellent morphology and antigen preservation. With H&E stain, all cellular elements in the marrow are assessed and the lineages of all cells should be determined. The first panel of antibodies aims to determine whether they are lymphoid or non-lymphoid cells. These antibodies can be CD3 (for T-cell), CD20 (for B-cell), myeloperoxidase (for myeloid cell), and glycophorin C (for erythroid cell). The next panels depend on the lineages of the cells detected. The myeloid series blasts can be detected by using CD34 or HLA-DR. Many antibodies are applied for more specific lymphoid differentiation, for example, Tdt for blasts, CD79a, CD10, CD5, cyclin-D1 and bcl2 for B cell lineage neoplasm, CD30, ALK and CD15 for anaplastic lymphoma and Reed-Sternberg cells. For plasma cells, CD138 and light chains are used to confirm plasma cell neoplasm. For histiocytes, CD68 (PG-M1) is applied. In addition, antibodies for metastasis are employed, for example, pan-keratin (AE1/AE3) and other specific antibodies for confirmation of carcinoma. Finally, a careful morphological assessment with short list of differential diagnosis is essential for logical approach.

(文責：内藤善哉)

第 447 回特別講演会

日 時：平成 21 年 10 月 5 日（月）午後 5 時

会 場：橘桜会館橘桜ホール

担 当：形成外科学

芸術（アート）としての乳房再建を求めて

David G. Pennington

Former Head and Professor,

Department of Plastic & Reconstructive Surgery,

Royal Prince Alfred Hospital, Australia

乳房再建は乳癌患者にとってただ形状を再現するだけでは、満足のかない手術である。さらに、遺された乳房の形や大きさも様々であり、それらに対応して最も有用な再建材料を使う必要がある。材料の多くは遊離 TRAM（横型腹直筋皮弁）であるが、筋体をほとんど温存した muscle sparing flap や、筋体をすべて温存できる遊離 DIEP（腹直筋穿通枝）皮弁を用いることで、術後の腹部の膨隆やヘルニアを防ぐことができる。また、症例や摘出術に応じて遊離 SICA（浅腸骨回旋動脈）皮弁や、i-GAP（下殿動脈穿通枝）皮弁も利用できる。

私はこれまでに 1,000 例に及ぶ乳房再建を施行してきたが、とくに大きな乳房を再建する場合や、下腹部正中に瘢痕がある患者においての、皮弁内での血管吻合（internal supercharging）を開発し（1993）、良好な結果を得てきた。この方法は現在では日本を含む全世界に普及し、乳癌患者の福音となっている。

組織を移植するという基本的なことは当然であり、さらに遺された正常な乳房にいかにして対称的な再建を行うかという目標に限りなく近づくように、1 例 1 例を大切に創意工夫してゆくことが、形成外科医の義務でありそれがまさしくアートであると思う。確かに白人と東洋人では縫い傷（縫合瘢痕）の性状も異なり、参考にならない部分もあるかと思うが、東洋人にはそれなりの方法があると思う。アートの心を持って臨めば問題は解決するものと信じる。

(翻訳：百束比古)

第 448 回特別講演会

日 時：平成 21 年 10 月 19 日（月）午後 5 時

会 場：大学院棟第 1 演習室

担 当：生化学・分子生物学（分子遺伝学・栄養学）

1. The Development of Animal Models and Gene Therapy for Gaucher Disease**2. Development of a Novel Mouse Model for Diamond Blackfan Anemia****Stefan Karlsson**

Professor,

Molecular Medicine and Gene Therapy,

Lund Strategic Center for Stem Cell Biology and Cell Therapy,

Lund University, Sweden

1. Gaucher disease (GD) is an autosomal recessive lysosomal storage disorder caused by mutations in the GBA gene. Previous mouse models with GCase deficiency have either been lethal in the perinatal period or viable without displaying clinical features of GD. We have generated viable mice with characteristic clinical symptoms of type 1 GD, by conditionally deleting GCase exons 9~11 upon induction postnatally. Gene therapy through retroviral transduction of BM from GD mice prevented development of disease as well as corrected an already established GD phenotype. The findings demonstrate for the first time the feasibility of gene therapy for type 1 GD *in vivo*.

2. Diamond-Blackfan anemia (DBA) is a congenital erythroid aplasia associated with physical malformations. Ribosomal protein S19 (RPS19) is the most common with mutations detected in 25% of the patients. We designed miR-30 miRNA-styled shRNAs against RPS19 and introduced them into mouse ES-cells under the control of a doxycycline-responsive promoter. These mice are able to compensate the number of erythrocytes upon doxycycline treatment, FACS analysis showed a specific defect at the CFU-E/Proerythroblast transition. These mice will serve as a good model for DBA, both to determine the molecular mechanisms and to test therapies for DBA.

(文責：三宅弘一)

第 449 回特別講演会

日 時：平成 21 年 11 月 19 日（木）午後 7 時 30 分

会 場：橘桜会館橘桜ホール

担 当：付属病院集中治療室

Biomarkers for Acute Cardiac Care**Alan Stewart Maisel**

Professor of Medicine,

University of California San Diego, USA

平成 21 年 11 月 19 日(木), 冷たい小雨が降りしきる中, 循環器疾患バイオマーカーの大家である米国サンディエゴのアラン・マイセル教授の講演会が橘桜会館で開催された。講演は, 「Biomarkers for Acute Cardiac Care」と題して行われた。まず, 自分の娘に“バイオマーカーって何?”と問うビデオから始まった。町の中で若者にも問いかけ, 院内でも蘇生中(演技)のスタッフにも問いかけるも, まともな回答は得られず。そのあと本題に入り, 循環器系におけるバイオマーカーの進歩とこれから腎臓領域でも様々なバイオマーカーが必要であることを強調し, NGAL (Neutrophilgelatinase-associated lipocalin), KIM-1 (Kidney injury molecule-1)などをあげた。話の中心は, 最も専門である B 型ナトリウムペプチド (BNP) についてであり, 心不全領域でのこのマーカーの意義を深めたのは彼である。バイオマーカーは, その測定目的, 時期, 役割を明確にし, 測定意義をはっきりしようというコンセプトが根本にある。BNP 迅速測定をほかの腎臓マーカーとうまく組み合わせることで, より臨床的に意義のある救急循環器医療を実現できることから, どのような迅速キットを作成するかが今後の課題である。

講演後も多くの質問に丁寧に回答していただき, 本当に有意義な講演会であった。参加いただいた先生方および日本医科大学医学会田尻孝会長をはじめ大学関係者に心より御礼申し上げます。

(文責：佐藤直樹)

—集会記事—

2008年度第4学年臨床配属成果発表会

日時：2009年9月16日（水）16時40分 於 日本医科大学教育棟2階 講義室2

【第一群】遺伝子研究

座長：山口博樹（内科学（血液・
消化器・内分泌代謝部門））演題1) FD患者における¹³C-acetate呼気試験法の
有用性およびGNβ-3遺伝子多型の検討

演 者：中澤 祥子・藤本 真弓

指導教員：二神 生爾

内科学（血液・消化器・内分泌代謝部門）

背景・目的：われわれはRome-III分類に基づいたFD患者およびnon-erosive reflux disease (NERD)患者を対象に、¹³C-acetate呼気試験を用いて、胃排出能、血清グレリン値(アシル化グレリン, デスアシル化グレリン)、背景胃粘膜を比較検討し報告してきた(Digestion, 2009, 79, 65-72)。この結果からPDSやNERD患者では胃排出能遅延を伴う患者が30~40%前後の割合で存在することがわかった。最近、アセチルコリンレセプターやドーパミンの受容体などG蛋白のβサブユニットを構成しているGNβ-3の遺伝子多型がFD患者において報告されている。そこでわれわれは、FD患者の一部においてGNβ-3の遺伝子多型と胃排出能の比較検討を行ったので、併せて報告する。

方法：Rome-III基準に従い上腹部の愁訴のある患者に対し、腹部US・内視鏡・便潜血検査などにより器質的疾患を除外したFD患者58名(EPS 17名, PDS 41名)を対象とした。症状は悪心・上腹部腹満感・空腹感・胃部不快感・上腹部痛・胸焼け6つの腹部症状を強さ・頻度・持続時間によりスコア化(0~30)した。胃運動能の評価には¹³C-acetate呼気試験法を用いた。

結果：胃排出能を測定したFD患者58名のうち、GNβ-3に対するSNPの内訳はT/Tは13名, C/Tが36名, C/Cが8名であった。ついでPDS患者ではT/Tは10名, C/Tが23名, C/Cが8名であった。PDS群の胃排出延長群ではC/C型が多い傾向にあった(p=0.07)。

結論：胃排出能の評価とGNβ-3の遺伝子多型の測定はFD患者、とくにPDS患者の病態解明や治療戦略に有用だと考えられた。

演題2) 急性骨髄性白血病における予後因子としての
CEBPA遺伝子変異The CEBPA gene mutations as a
prognostic factor in acute myeloid
leukemia

演 者：眞鍋恵理子・黒沢さらら

指導教員：山口 博樹・寺田 和樹・上田太一郎

三田村佳勇・小坂 文子・檀 和夫

猪口 孝一

内科学（血液・消化器・内分泌代謝部門）

目的：急性骨髄性白血病(AML)については様々な予後因子が解析されており、白血球数や染色体異常以外に、近年遺伝子による層別化が注目されている。今回われわれは予後良好因子と報告されているCCAAT/enhancer binding protein α gene (CEBPA)に着目し、自験例AMLにおいてCEBPA変異の予後因子としての意義を検討した。

方法：対象は1986年から2008年までに当施設またはその関連施設におけるAML 168例を後方視的に解析した。CEBPA変異とNPM1変異はdirect sequence法にて変異の有無を検索し、subcloning法にて変異を確定した。FLT3/ITDはPCR法にて変異を判別した。

結果：CEBPA変異は19例(11.3%)に認められた。この19例中染色体予後中間群は17症例(89.5%)で、そのうち正常核型は9症例(47.4%)であった。FAB分類ではM1, M2が18症例(94.7%)と大多数を占めた。CEBPA変異はinsertionやdeletionが多く(92.6%)、nucleotide position 63Cでの変異が5例(26.3%)と高頻度に認められた。また8症例(42.1%)ではCEBPAに2カ所の変異を認めた。CEBPA変異を認めた19症例中13症例(68.4%)はCEBPA単独の変異であった。CEBPA変異(+)AML 19例の5年全生存率(OS)、5年無再発生存率(RFS)はともにCEBPA wild AMLに対して、予後良好の傾向が認められた(5年OS 42.4% vs 20.6%, p=0.09, 5年RFS 37.5% vs 15.2%, p=0.14)。60歳以下で染色体予後中間群のみで解析すると、CEBPA変異のみを有する症例群(10例)とNPM1変異を有しFLT3/ITDを有しない症例群(13例)は、その他の症例群(FLT3/ITD例などを含む)(50例)に対して、5年生存率におい

て、有意に予後良好であった (42.9% vs 53.3% vs 11.5%, $p=0.03$).

考察：60歳以下で染色体予後中間群のAMLにおいて、CEBPA変異は予後良好因子である。予後中間群AMLの造血幹細胞移植の適応などを決定する際に、CEBPA変異の検索は有用である。

【第二群】画像研究

座長：館野 周 (精神医学)

演題3) 胸部単純X線写真における臓器境界線のMDCTによる解析と理解

演 者：徳田 梓

指導教員：町田 幹

放射線医学

目的：胸部単純X線写真における解剖構造の境界線の成因を三次元的に理解することは容易でない。これらの境界線を構成する臓器についての立体的位置関係をより理解しやすくするため、MDCTのvolume dataを用いて解析、検討した。

方法：64列MDCT (LightSpeed VCT) で正常例の胸部造影CTのvolume dataを用い、1.25 mmの水平断から、5 mm厚の冠状断像・矢状断像を作成し、連続した画像データをPhotoshop CS3 Extendedにより画像解析した。軟部組織と肺野との間でCT値が著しく変化する点を境界部とし、自動選択ツールを用いて境界線を作成した。

正面像として冠状断像から両側心辺縁・上大静脈右縁・傍食道線・下大静脈右縁・傍大動脈線・傍動脈線・傍脊椎線・前接合線・後接合線・気管支および肺動脈を、側面像として矢状断像から心辺縁・大動脈縁・下大静脈後縁・肺動脈縁・横隔膜・気管支を抽出した。この抽出データを臓器ごとに色分けして表示し、正面像は冠状断RaySum画像、側面像は矢状断RaySum画像と重ね合わせ、DICOM画像として再保存した。複数シリーズを同時に表示できるDICOM viewerを用い、作成した合成RaySum画像、横断像・冠状断像・矢状断像を同時に表示し、リファレンスライン表示による位置観察を行った。また、作成画像を立位・臥位胸部単純X線写真と比較した。

結果・考察：CT画像から抽出した臓器境界線を横断像・冠状断像・矢状断像と対比することで、縦隔肺境界線の構成臓器および三次元的位置関係の把握が容易となった。また、この臓器境界線は胸部単純撮影に

おける縦隔肺境界線と相似していた。この理解を元に、心疾患を始めとする縦隔疾患のある患者においても同様の手順で学習することで、胸部単純X線写真の構成臓器理解がより深まると考えられた。

演題4) 脳機能画像によるこころの科学

演 者：藤澤 洋輔・野守美千子・神山 貴弘

指導教員：館野 周・八幡 憲明・大久保善朗

精神医学

目的：気分障害患者の一部に「全か無か思考」「過度の一般化」など「非機能的思考」と呼ばれる特徴的な思考形態が認められる。非機能的思考の下では状況への適応が難しく、疾患の治療過程や予後（再発可能性）にも影響を及ぼしている。一方、非機能的思考などに働きかけをする認知行動療法と呼ばれる精神療法によりうつ病が改善とともに、患者はより適応的な思考をすることが知られているが、この機序については未解明な部分が多い。そこで今回、われわれは機能的磁気共鳴撮像法 (functional magnetic resonance imaging, 以下fMRI) を用いて、被験者が機能的もしくは非機能的な行動選択を行う時の脳活動において、その異同の検討を行った。

方法：32人の健常男女が研究に参加した (平均年齢：25.1±4.4)。被験者には、Dysfunctional Attitude Scale (DAS) スケールに基づいて作成された非機能的な行動選択あるいは機能的な行動選択が記された短文が視覚呈示され、これらの文を一方では「自分」にあてはまるかどうかを (S: Self 条件)、他方では呈示された文章に当てはまる「他人」が存在するかどうかを (O: Other 条件) に対する同意・不同意の判断を行わせた。この2つの条件 (S条件とO条件) をランダムなタイミングで呈示し、被験者がそれぞれについて評価を行う間の脳活動をfMRIによって記録した。MRI装置はPhilips社製Achieva (1.5T)、fMRIデータの解析にはStatistical Parametric Mapping 5ソフトウェアを使用した。

結果：安静時と比較して、O条件では、前頭皮質、基底核そして視覚野において著明な脳活動の亢進がみられた。これに加えS条件では、内側前頭前皮質と前部帯状回において更なる脳活動の増加がみられた。その増加の程度は、平均的なDASスケールの被験者では、非機能的な判断を行わせたときの方が高かったが、DASスケールが高い被験者 (=非機能的思考が目立つ) では非機能的・機能的、いずれの判断を行っ

た時も同程度であった。

結論：思考の内容が機能的であるか非機能的であるかによって脳活動パターンが異なり、なおかつそれが DAS スケールで示される個人の思考形式の違いと関

連することが示された。今後、本研究を発展させることで、気分障害患者における治療方法の選択の一助としたり（認知行動療法を併用するか否かなど）、回復程度を定量的に評価できる可能性が示唆された。

あとがき

第2回臨床配属成果発表会を終えて

桂 研一郎

臨床配属運営副委員長

臨床配属は、第4学年の学生を中心に第5学年の秋までの約1年半の期間にわたり、臨床の指導教官とともに臨床研究をおこなう日本医科大学独自の医学教育プログラムです。講義などでは学ぶことができない未知で答えのない課題を、自分自身で解決する能力、そして、日本医科大学の教育理念にもある「研究心」を育成することを目的におこなわれており、他学にはない特色の一つになっています。今年で成果発表会も2回目になりますが、昨年同様に高度な研究を行っているものが多く、学生のポテンシャルには驚かされます。臨床配属は基礎配属とは異なり、カリキュラムの中に入っておらず、従って授業時間内におこなう形をとっておりません。指導教官が臨床で多忙であることもあり、平日の夕方から夜、土曜、日曜、夏休みなどを使って研究がおこなわれます。2008年度の成果発表会は、8名の学生により4課題の発表が行われました。どの研究も臨床的意義の大きな内容で、プレゼンテーションも素晴らしく、昨年度よりも、さらに洗練されてきていると感じました。参加したすべての学生には修了証が授与され、「脳機能画像によるこころの科学」を発表した藤澤洋輔君、野守美千子さん、神山貴弘君に優秀賞が授与されました。臨床配属は2007年度より開始された全く新しい試みで、教員側も学生側も、手探りの状態でスタートして3年が過ぎようとしておりますが、毎年8~17人の学生が自主的に参加を希望してきており、徐々に軌道に乗ってきているのを実感します。臨床配属を通して研究心をもった若い医師・医学者が増えれば大学の発展にもつながるものと大いに期待しています。

— 会 報 —

定例（4月）日本医科大学医学会役員会議事録

日時 平成21年4月17日（金）午後4時～5時15分
 場所 橘桜会館（1階）第1会議室
 出席者 田尻会長、伊藤、寺本両副会長、水野、竹下、片山、清水、弦間、加藤、内田各理事、内藤監事、平井、稲垣、福岡、池園、高橋（弘）、松久、野中各施設幹事、安武、新谷、桂、平山各会務幹事
 以上22名
 委任出席者 高橋（秀）理事、古川監事、武田、宗像、清野、小林（士）、ガジザデ、大澤各施設幹事
 新田、臼杵両会務幹事 以上10名
 欠席者 三上施設幹事、黒瀬会務幹事 以上2名
 事務局 大学院課（八木、金子、五箇） 以上3名

議事に先立ち、田尻会長より安武正弘庶務担当会務幹事に委嘱状が交付された。

引き続き、会長から、定例（4月）医学会役員会の議事録署名人名として、平井・稲垣両施設幹事が指名された。

確認事項

1. 前回（1月）の医学会役員会議事録確認

田尻会長から、前回定例医学会役員会（平成21年1月23日開催）の議事録内容について報告され、了承された。

片山学術担当理事より1) 本会シンポジウムの東京都医師会後援については、後援していない、2) シンポジウム案内については、配布資料の参考2に添付した旨、報告された。なお、2) 送付先に追加した方が良い研究所などがあつたら、事務局に連絡して欲しい旨、要請された。

また、田尻会長から、議事録の一部の表現がわかりにくかったので、今後、議事録署名人名は、その点も考慮し確認して欲しい旨、要望があつた。

報告事項

1. 前回（1月）定例医学会役員会開催後の報告事項確認

水野庶務担当理事、片山学術担当理事、加藤編集担当理事より前回（平成21年1月23日開催）の定例医学会役員会開催以降の内容について、それぞれ報告された。

また、事務局より、配布資料参考1の公開「シンポジウム」ポスターに大学院との共催の旨入れる必要があるか確認され、寺本研究科長より土曜日開催なので5時前の講演会であっても単位認定の対象となることから「共催 日本医科大学大学院」を追加して欲しい旨、要請され、了承された。

審議事項

1. 第77回総会一般演題募集要項（運営）について

片山学術担当理事より、9月5日（土）に開催の第77回医学会総会の一般演題募集要項（案）について配布資料に基づき説明がなされた。本年度より臨床教授が就任されており、診療教授特別講演と同様に総会での講演を依頼することになり、臨床教授特別講演を追加のうえ、募集要項を作成することになった。

また、例年各教室に対して行っている海外留学生調査を本年度も行うことでも了承された。

2. 医学会会員獲得について

水野庶務担当理事より、配布資料に基づき医学会会員獲得（案）について説明された。検討の結果、会員の種別については、1) 一般会員と準会員という言い方は差別的に受けとめられるので、一般会員はA会員とし、コメディカルはB会員とする。2) B会員でも欧文誌を希望する場合は、A会員になることができるということになった。なお、会則の変更は行わず細則のみ変更することでも了承された。

会員勧誘については、案のとおり了承された。また、助教採用時の書類の中に、本会入会申込書を入れて渡してもらえよう、依頼することとした。

以上の結果を踏まえ、7月の医学会役員会に最終案を出し、9月の総会にて報告し、決定することになった。

3. その他

1) 国立国会図書館デジタルアーカイブ（PORTA）へのコンテンツ提供許諾について

加藤編集担当理事より、配布資料に基づき科学技術振興機構から標記の件について要請があつた旨、説明された。検討の結果、本会機関誌のJournal of Nippon Medical Schoolと日本医科大学医学会雑誌の2誌についてのコンテンツを、科学技術振興機構を通じて国立国会図書館デジタルアーカイブ（PORTA）へコンテンツを提供することが、了承された。

2) その他

次回の役員会は、平成21年7月17日（金）午後4時より橘桜会館（1階）第一会議室にて開催することになった。

以上

議事録署名人 平井 幸彦

議事録署名人 稲垣 弘文

定例（7月）日本医科大学医学会役員会議事録

日時 平成21年7月17日（金）午後4時～5時30分
 場所 橋桜会館（1階）第一会議室
 出席者 田尻会長，伊藤副会長，水野，高橋（秀），片山，
 清水，弦間，加藤各理事，内藤監事，平井，稲垣，
 池園，宗像，高橋（弘），野中，ガジザデ各施設
 幹事，安武，黒瀬，新谷，桂各会務幹事
 以上20名
 委任出席者 寺本副会長，内田理事，古川監事，武田，福岡，
 清野，小林各会務幹事 以上7名
 欠席者 竹下理事，三上，松久，大澤各施設幹事，白杵，
 平山，新田各会務幹事 以上7名
 事務局 大学院課（八木，金子，五箇） 以上3名

確認事項

1. 前回（7月）の医学会役員会議事録確認
 田尻会長より事前に配布している議事録について
 確認がなされ，了承された。

報告事項

1. 前回（4月）定例医学会役員会開催後の報告事項確認
 水野庶務担当理事，高橋学術担当理事，加藤編集
 担当理事より前回（平成21年4月17日開催）の定
 例医学会役員会開催以降の内容について，それぞれ
 報告された。

審議事項

1. 第77回医学会総会次第・業務報告（案）について
 水野庶務担当理事から第77回医学会総会について
 資料により説明され，検討した結果，総会次第（案）
 のとおり実施することです承された。
 引き続き，総会での担当者を検討した結果，第76
 回総会でやっていない人に依頼することになり，本
 委員会を欠席されておられる先生には，事務局にて
 確認することになった。
 また，業務報告の内容について検討した結果，1)
 シンポジウムプログラムは，簡潔にまとめ掲載する，
 2) 奨学賞の研究課題名が違っているので訂正する，
 3) 優秀論文賞は受賞順位にて記載する，ただし，同

窓会医学研究助成金受賞記念講演は応募順で，丸山
 記念は受賞順になっているが，現状のまま記載で良
 いこととする事になった。以上，3点を修正する
 ことです承された。

2. 平成20年度医学会収支決算報告について
 弦間会計担当理事から平成20年度医学会収支決算
 について資料により説明され，監査報告が内藤監事
 よりされ，検討の結果，総会に提出することです承
 された。
3. 平成22年度医学会予算（案）について
 弦間会計担当理事から平成22年度医学会予算（案）
 について資料により説明され，慎重に検討した結果，
 JNMS編集委員会から申請があったPhotogravure
 Collection サイト作成を含めた予算案を，総会に提
 出することです承された。
4. 医学会費に関する会則・細則の変更について
 水野庶務担当理事より配布資料により説明され，
 検討の結果，A会員の区分について結論にいたら
 ず，継続審議することになった。
5. 医学会特別講演について
 高橋学術担当理事より配布資料により特別講演が
 減少している旨報告があり，検討した結果，今後1
 年間様子を見て，減少傾向であれば日本人演者の講
 演を特別講演とするかどうか取り扱いを検討するこ
 とになった。
6. その他
 - 1) 田尻会長より定例7月役員会議事録署名人とし
 て，池園・宗像両施設幹事が指名された。
 - 2) 次回の役員会は，平成21年10月16日（金）を予
 定していたが，学会等が重なるため，後日決定し，
 改めて連絡することになった。

以上

議事録署名人 宗 像 一 雄

議事録署名人 池 園 哲 郎

誓約書・著作権委譲書

日本医科大学医学会雑誌に投稿した下記の論文は他誌に未発表であり、また投稿中でもありません。また、採択された場合にはこの論文の著作権を日本医科大学医学会に委譲することに同意いたします。なお、本論文の内容に関しては、著者（ら）が一切の責任を負います。

論文名

氏名（自署）

日付

No. 1

No. 2

No. 3

No. 4

No. 5

No. 6

No. 7

No. 8

No. 9

No. 10

注：著者は必ず全員署名して下さい。

日本医科大学医学会雑誌（和文誌）論文投稿規程

1. 日本医科大学医学会雑誌（和文誌）は基礎、臨床分野における医学上の業績を紹介することを目的とし、他誌に未投稿のものでなければならない。
2. 本誌への投稿者は原則的に日本医科大学医学会会員に限る。ただし、依頼原稿についてはこの限りではない。
3. 投稿論文の研究は「ヘルシンキ宣言、実験動物の飼養および保管等に関する基準（「日本医科大学動物実験規程」日医大医学会誌2008;4:161-166参照）、あるいは各専門分野で定められた実験指針および基準等を遵守して行われたものであること。
また、平成17年4月1日に施行された個人情報保護法を遵守したものであること。
4. 本誌には次のものを掲載する。
①原著、②綜説（論説）、③臨床医のために、④臨床および実験報告、⑤症例報告、⑥CPC・症例から学ぶ・基礎研究から学ぶ、⑦話題、⑧その他編集委員会が認めたもの。

投稿要領	投稿要領	原稿	英文抄録	図表写真の点数
原著	40枚以内	400語以内 (和訳添付)	制限なし	
綜説 (論説)	40枚以内	400語以内	12点以内	
臨床医のために	10枚以内	400語以内	6点以内	
臨床および 実験報告	8枚以内	400語以内	6点以内	
症例報告	8枚以内	400語以内	6点以内	
CPC・症例 から学ぶ・ 基礎研究 から学ぶ	16枚以内*	400語以内		
話題	6枚以内			

- *ただし、図・表・写真に関しては、400字に相当する。
(図・表・写真は原則として原稿用紙一枚と数える)。
5. 投稿は原稿および図・表・写真ともにオリジナルに加え各3部が必要である。
 6. 所定の論文投稿チェック表・誓約書・著作権委譲書を添付する。
 7. 文章は現代かなづかいに従い、A4判の白紙に横書き（20字×20行の400字）で、上下を約2.5cmずつ、左右を約3cmずつあける。外国語の原語綴は行末で切れないようにする。
原稿の構成は、①表紙、②抄録、③Key words（英語）5個以内、④本文（緒言、研究材料および方法、結果（成績）、考察、結論、文献）、⑤図・表・写真とその説明、⑥その他とする。
 8. 原稿の内容は、
1) 表紙：表題、所属名、著者名、連絡先（所属機関、勤務先または自宅の住所、電話番号、Fax番号、またはe-mail address）。表題には略語を使用しない。著者は原則として10名以内とする。

- ただし、症例報告は6名以内とする。
- 2) 文献：本論文の内容に直接関係のあるものにとどめ、本文引用順に、文献番号を1. 2. 3. …とつける。文献には著者名（6名以下は全員、7名以上は3名を記載し、4名からはほか、英文はet al.で記載する。）と論文の表題を入れ、以下のように記載する。なお、雑誌の省略名は和文の場合は医学中央雑誌・収載誌目録、欧文誌ではIndex Medicusによる。
 - i. 雑誌の記載例
田尻 孝, 恩田昌彦, 秋丸琥甫ほか：成人に対する生体肝移植. J Nippon Med Sch 2002; 69(1): 83.
Katoh T, Saitoh H, Ohno N et al: Drug Interaction Between Mosapride and Erythromycin Without Electrocardiographic Changes. Japanese Heart Journal 44 (2003), 225-234.
 - ii. 単行書の記載例
荒木 勤：最新産科学—正常編。改訂第21版, 2002; pp 225-232, 文光堂 東京。
Mohr JP, Gautier JC: Internal carotid artery disease. In Stroke: Pathophysiology, Diagnosis, and Management (Mohr JP, Choi DW, Grotta JC, Weir B, Wolf PA, eds), 2004; pp 75-100, Churchill Livingstone, Edinburgh.
 - 3) 図・表、写真：
表題、説明を含め英文で作製する。表はTable 1（表1）、Table 2（表2）…、図はFig. 1（図1）、Fig. 2（図2）…とし本文の欄外に挿入個所を明示する。
表の上には必ず表題、図には図題をつける。また、本文を併読しなくともそれだけでわかるよう実験条件を表の下に簡単に記載することが望ましい。
 - 4) 見出し符号：
1, (1), 1), i, (i), i) を基本順位とする。ただし、緒言、研究対象および方法、結果（成績）、考察、結論など論文項目の各項目には見出し符号は必要でない。
 - 5) 原則として国際単位系（SI）を用いる。記号のあとにはピリオドを用いない。数字は算用数字を用いる。
 9. 原稿採択後は、受理が決定した最終稿を入力した電子データを印字原稿と共に提出する。
 10. 論文の採否は、編集委員会が決定する。
 11. 投稿前に英文校閲を希望する場合は、事務局にご連絡下さい。（有料）
 12. 投稿原稿は原則として返却しない。
 13. 著者校正は原則として初校のみとし、指定期限内に返却するものとする。校正は脱字、誤植のみとし、原文の変更、削除、挿入は認めない。
 14. 投稿原稿は原則として、その印刷に要する実費の全額を著者が負担する。
 15. 別刷を必要とする場合は、所要部数を原稿の表紙に明記する。別刷の費用は著者負担とする。ただし、依頼原稿は別刷50部を無料贈呈する。
 16. 投稿論文の提出先
〒113-8602 東京都文京区千駄木1丁目1番5号
日本医科大学事務局学事部大学院課内
日医大医学会編集委員会
(平成21年10月9日)