

日本医科大学医学雑誌

第11巻 2015年6月 第3号

目次

INDEX

- 橘桜だより
日本医科大学千葉北総病院 院長就任のご挨拶 清野 精彦 133
- グラビア
先天性末節骨短縮症（キルナー変形）に対する仮骨延長術 片岡 達紀 他 134
- 綜 説
骨髄不全症候群におけるテロメア制御異常 山口 博樹 136
- 論 説
がん医療と緩和ケア（7）：終末期がん患者における輸液治療の現状とQOL指標 杉山 未緒 他 145
臨床現場における薬剤師の役割（1）：糖尿病治療における薬剤師の立場 菅谷 和也 他 151
- 基礎科学から医学・医療を見る
消化器系の進化と発生のメカニズム 岡 敦子 155
- 症例報告
自然気胸術後病理組織検査で偶然発見されたpTis肺癌の2症例 岡本 淳一 他 161
- JNMSのページ
Journal of Nippon Medical School Vol. 82, No. 1 Summary 167
- 集会記事
第25回学校法人日本医科大学外国人留学者研究会抄録 168
日本医科大学医学会特別講演会講演要旨 174

第 83 回日本医科大学医学会総会 一般演題募集について

時下、ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。

さて、第 83 回日本医科大学医学会総会を下記の要領により開催いたしますので、演題をご提出くださいますようお願い申し上げます。

記

日 時 平成 27 年 9 月 5 日 (土) 午前 9 時 00 分から

会 場 日本医科大学橘桜会館

講演会 1. 新任教授特別講演 2. 臨床教授特別講演 3. 一般演題発表 (ポスター・展示)
4. 奨学賞受賞記念講演 5. 同窓会医学研究助成金受賞記念講演
6. 丸山記念研究助成金受賞記念講演 7. 海外留学生講演

総 会 昼休み終了後、会務ならびに会計報告

一般演題の申し込みについて

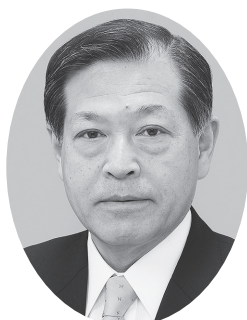
- (1) 発表内容は、原則として他の学会等で未発表のものに限ります。
- (2) 一般演題は、ポスター展示で筆頭発表者 1 名につき 1 題とします。なお、筆頭発表者は説明 (2 分) ・ 討論 (2 分) のため、当日 11:30~12:50 の間、展示場所にお立ち会いください。
- (3) 演題申し込み希望者は、ホームページ http://college.nms.ac.jp/individual/ma_nms/ より演題・抄録申込用紙 (Windows Word) をダウンロードし、目的・対象および方法・結果・考察の順に本文 600 字以内を入力後、7 月 13 日 (月) までに jnms@nms.ac.jp宛メールに添付してお申し込みください。
- (4) 演題の採否は、医学会役員会にご一任ください。採択演題の抄録原稿は、日本医科大学医学会雑誌 (第 11 巻第 4 号) に掲載いたします。
- (5) 筆頭発表者 (共同発表者も含む) が医学会に入会されていない場合には、演題申し込みと同時に、平成 27 年度会費 A 会員 5,000 円、B 会員 3,000 円を添えて、入会の手続きをしてください。
- (6) 一般演題の中から優秀なものに対して「優秀演題賞」を 3 題選出し、賞状ならびに副賞をもって表彰いたします。「優秀演題賞」に選出された演題は、Journal of Nippon Medical School に掲載いたしますので英文での抄録とポイントとなる図表を後日、提出してください。「優秀演題賞」に応募される方は、演題申込用紙の所定欄にチェックしてください。

平成 27 年 6 月

日本医科大学医学会

会 長 田 尻 孝

—橘桜だより—



日本医科大学千葉北総病院 院長就任のご挨拶

清野精彦

日本医科大学千葉北総病院 院長
内科学（循環器内科学）教授

この度、2015年1月27日付けで日本医科大学千葉北総病院院長を拝命いたしました。当院は1994年1月26日、日本医科大学5番目の付属病院として誕生し、昨年開院20周年を迎えた本学で最も若い新進気鋭の病院です。開院21周年を迎えたこの日に第5代院長を拝命し、身に余る重責と使命感に身も心も引き締まる思いです。当院の特色ある大学病院の使命遂行と、更なる地域医療の充実・発展のために職務に励む所存です。

当院は開院以来、「地域中核病院としての機能」を基盤に、本学がわが国で初めて設立したドクターヘリ事業を最大活用した「救命救急、急性期脳卒中、循環器救急などの高度急性期医療」を展開しております。今春達成した当院ドクターヘリ1万回出動というわが国随一の実績は、内外から高い評価を頂いております。さらに本年は、わが国の重要医療政策である「地域がん診療連携拠点病院」構想のもと、東千葉医療圏で唯一の「がん診療連携拠点病院」として選定されました。「質の高いがん診療の提供」、「地域がん診療の連携協力体制の確立」、「がん診療情報発信」、「がん患者さんに対する相談支援」に努めてまいります。

今後、2025年を見据えたわが国の新たな医療ビジョンの中で、当院は、「急性期」・「回復期」・「地域包括ケア」医療構築のために、病病連携、病診連携、病介護連携、病薬連携の充実などに取り組んでいきたいと思っております。また特筆すべき機能として、当院は「千葉県災害医療救護計画」において、県内唯一の「広域災害医療拠点」に選定されており、千葉県および成田国際空港の災害対策の重要な責務を担っております。

当院の理念は、「患者さんの立場に立った安全で良質な医療の実践と、人間性豊かな良き医療人の育成」を掲げております。わたくしは、医学教育と医療実践の現場で、“T/Each other：Teach Each other mind（互いに教え学び合う姿勢）”を説いております（平成18年度文科省特色ある教育支援プログラム選定）。この言葉は、全職員が職種や先輩・後輩を超えて互いに教え学び合う、患者さんやご家族と医師、看護師など医療スタッフが互いに教え学び合う、そして病院と社会が互いに教え学び合う、真摯な姿勢の重要性を論じております。

開院21周年、日本医科大学千葉北総病院は新たなステージを迎え、可能性にチャレンジしてまいります。本学関係各位のご指導とご支援を、心からお願い申し上げます。

（受付：2015年3月24日）



—グラビア—

先天性末節骨短縮症（キルナー変形）に対する仮骨延長術

片岡 達紀 澤泉 卓哉 高井 信朗

日本医科大学付属病院整形外科

Lengthening of the Distal Phalanges in Brachytelephalangy

Tatsunori Kataoka, Takuya Sawaizumi and Shinro Takai

Department of Orthopedics, Nippon Medical School



図 1

末節骨短縮症は先天的に存在する場合と外傷によって後天的に発生する場合がある。今回報告する先天性末節骨短縮症は機能的・整容的に問題となることが多いため手術を希望し受診することが多い。本症の治療として、従来の創外固定器を用いて仮骨延長術をおこなった場合、末節骨はほかの指節骨や中手骨と比較して小さく、手技的に不可能なため一期的な骨延長と骨移植を要することが多いとされている。しかし、一期的な骨延長と骨移植は皮膚などの軟部組織の延長が難しく、他部位からの採骨も必要であるため末節骨の骨延長を希望する患者に対して1999年より、Ilizarov mini external fixator (図1)を用いた仮骨延長術を施行し¹⁾、良好な成績を上げてきた。今回、本症に対して、Ilizarov mini external fixatorを用いて、良好な成績を得ることが出来たため、症例を提示し同法について紹介す

る。

症例は44歳、男性。生来、両小指の短縮があった。疼痛や機能障害はなかったが整容的な問題で当科を初診した。初診時、左小指は掌屈変形し、爪はカギ状変形を呈していた。レントゲン像では左小指末節骨は10mmと短縮し、掌屈変形していた(図2)。まずは左小指の仮骨延長術を施行した。末節骨を骨切りしIlizarov mini external fixatorを装着し1週間の待機期間の後に毎日0.67mmずつ仮骨延長を行った。術後4カ月現在、末節骨は16mmと十分な骨延長が得られた。なお、創外固定器入部感染や神経・循環障害、皮膚障害などの合併症は認めず、小指延長という目標を達成した(図3)。今後、右小指についても同法を用いて手術予定である。

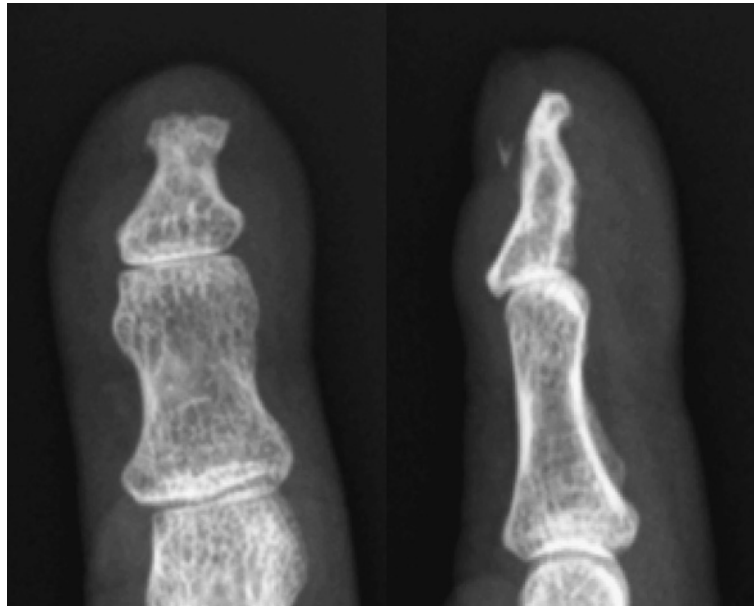


図 2

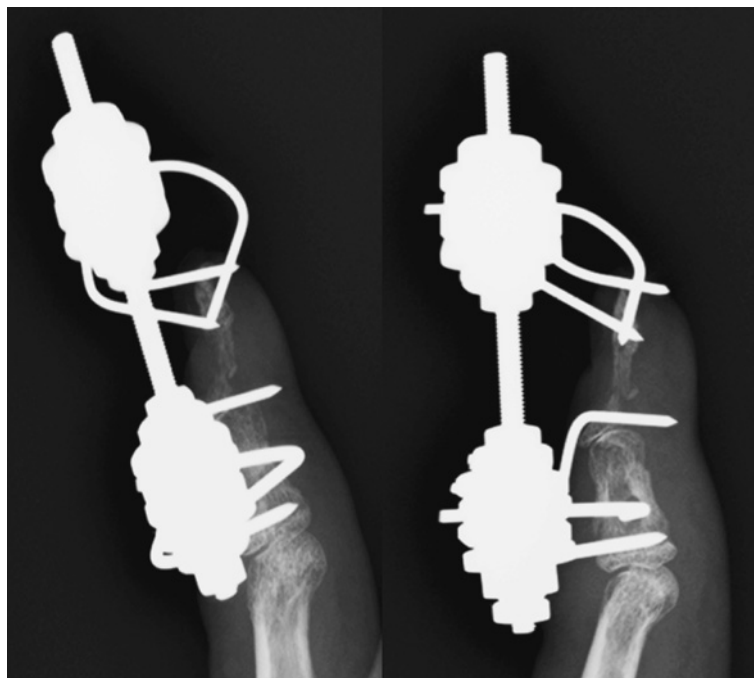


図 3

図 1 Irizarof mini external fixator

図 2 初診時 X 線像. 小指末節骨長は 10 mm である.

図 3 骨延長術後 4 カ月. 末節骨は 16 mm に延長されている.

文 献

1. Sawaizumi T, Ito H: Lengthening of the Amputation

Stumps of the Distal Phalanges Using the Modified Ilizarov Method. The Journal of Hand Surgery 2003; 28A: 316-322.

骨髄不全症候群におけるテロメア制御異常

山口 博樹

日本医科大学血液内科

Abnormality of Telomere Regulation in Bone Marrow Failure Syndrome

Hiroki Yamaguchi

Department of Hematology, Nippon Medical School

Abstract

Dyskeratosis congenita (DKC) is an inherited bone marrow failure syndrome characterized by reticulated skin pigmentation, nail dystrophy, and mucosal leukoplakia. Hoyeraal-Hreidarsson syndrome is considered to be a severe form of DKC. Unconventional forms of DKC (cryptic DKC [cDKC]), which develop slowly in adulthood without the physical anomalies characteristic of DKC, have been reported.

The genes responsible for them have been identified as a gene cluster forming a telomerase complex (*DKC1*, *TERC*, *TERT*, *NOP10*, and *NHP2*); *TINF2*, which forms a shelterin complex; *TCAB1*, which transports the telomerase complex to intranuclear Cajal bodies; and *RTEL1*, which has a function of the DNA helicase. DKC is thought to occur when a mutation in these genes causes shortening of the telomere, resulting in impaired proliferation in hemopoietic stem cells and other proliferative cells, leading to the symptoms described above.

The pathogenesis of DKC involves 3 important factors: 1) telomere-related gene abnormality leading to intracellular molecular biological mutation, 2) generational anticipation, and 3) aging. The mutations of *TERC* and *TERT* seen in cDKC produce a haploinsufficiency effect, but the extent of the weakening of telomerase activity is small, so that a certain level of generational anticipation and aging is thought to be required before the DKC phenotype develops.

Treatment for DKC and cDKC is either by administering anabolic steroid hormones or by allogeneic hemopoietic stem cell transplant. Anabolic steroid hormones are thought to be converted to estrogen in the cell and to enhance telomerase activity through the estrogen-binding region of the *TERT* promoter region. So far, this treatment has been reported to be effective in approximately two-thirds of cases of DKC, but the proportion of cases in which results can be achieved is unclear. Meanwhile, allogeneic hemopoietic stem cell transplantation (Allo-HSCT) is an effective treatment for serious bone marrow failure in DKC and HHS, but due to posttransplantation lung complications and other issues, the treatment outcomes have been regarded as disappointing. In the future, with the development of conditioning regimens and supportive therapy of Allo-HSCT, this could therefore be a potentially promising therapeutic approach.

(日本医科大学医学会雑誌 2015; 11: 136-144)

Key words: dyskeratosis congenita, Hoyeraal-Hreidarsson syndrome, shortening of the telomere, telomere-related gene mutation

はじめに

テロメアは染色体の末端部位に存在する繰り返し配列をもつ DNA (ヒトでは 5'-TTAGGG-3') とそこに局在するテロメラーゼ複合体や Shelterin 複合体などの種々のタンパク質から構成されている¹。テロメアはその構造からほかの要因で受けた DNA 切断末端と区別され、DNA の分解や修復から染色体を保護し、物理的および遺伝的な安定性を保つ働きをしている¹。

ヒトなどの動物組織から取り出した培養細胞は、複数回の分裂を繰り返すとテロメア長が短縮化し細胞分裂が停止する細胞老化という現症が認められる^{2,3}。これは細胞分裂の際に DNA 複製が行われるが、リーディング鎖は完全にコピーされるのに対して、ラグging 鎖は最終の岡崎フラグメントから約 200 bp 離れたところに複製のためのプライマーが合成されるため、3' 末端の一部はコピーが不完全となるためである^{1,4,5}。また仮に偶然 3' 末端にプライマーが合成されても、

複製後プライマーは DNA に変換されないためテロメアの短縮化は避けられない^{1,4,5}。しかし造血幹細胞や生殖細胞などでは、テロメラーゼによるテロメア長の伸長補正が行われるため常に細胞分裂が可能である¹。

このテロメア長の伸長補正の障害が⁶、Dyskeratosis congenita (DKC)、一部の再生不良性貧血や骨髄異形性症候群、特発性肺線維症の原因と同定され、そして猫鳴き症候群、急性骨髄性白血病、肝硬変などの病態への関与も示唆されている⁶⁻⁹。本稿では、DKC などの骨髄不全症候群とテロメア制御異常に関して概説する。

DKC におけるテロメア関連遺伝子異常

DKC は網状色素沈着、爪の萎縮、舌などの粘膜白斑症を伴う骨髄不全症 (Bone marrow failure : BMF) で 10 歳前後までに約 80% 以上の症例にこれらの特徴的身体所見が付随し BMF を発症する (図 1)⁷。そして上記以外にも精神発育遅滞、肺疾患、低身長、歯の



図 1 The characteristic physical anomaly of dyskeratosis congenita
The left upper section: mucosal leukoplakia; the right upper section: reticulated skin pigmentation; the lower section: nails dystrophy.

表1 Telomere-related gene mutation and disease

Gene (Protein)	Chromosome	Frequency	Mutation type	Disease
Telomerase				
<i>TERC</i>	3q21-28	5 ~ 10%	Heterozygous	AD-DKC, AA, ET, MDS, PNH, PF
<i>TERT</i> (TERT)	5p15.33	5%	Heterozygous	AD-DKC, AA, HHS, PF
			Biallelic	AR-DKC, HHS
<i>DKC1</i> (Dyskerin)	Xq28	30%	Hemizygous	X-linked DKC, HHS
<i>NHP2</i> (NHP2)	5q35.3	<1%	Biallelic	AR-DKC
<i>NOP10</i> (NOP10)	15q14-q15	<1%	Homozygous	AR-DKC
<i>TCAB1</i>	17p13.1	<1%	Biallelic	AR-DKC
Shelterin				
<i>TINF2</i> (TINF2)	14q11.2	10 ~ 15%	Heterozygous	AD-DKC, AA, HHS, RS
DNA helicase				
<i>RTEL1</i>	20q13.3	1 ~ 2%	Biallelic	AR-DKC, HHS

AD-DKC: autosomal dominant genotype DKC, AA: aplastic anemia, ET, essential thrombocythaemia, MDS: myelodysplastic syndrome, PNH: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PF: pulmonary fibrosis, HHS: Hoyeraal-Hreidarsson syndrome, X-linked DKC: X-linked recessive genotype DKC, AR-DKC: autosomal recessive genotype DKC, RS: Revesz syndrome

異常，食道狭窄，頭髪の喪失，白髪などの多彩な合併症が15~25%の症例に認められ，また8%の症例に皮膚，上咽頭，消化管の扁平上皮癌や腺癌などの悪性腫瘍や，骨髄異型性症候群，Hodgkin病，急性骨髄性白血病などの造血器腫瘍の発生が認められる⁷。

遺伝型はX連鎖劣性遺伝が約35%，常染色体優性遺伝が約15%，常染色体劣性遺伝が数%に認められるが，残りの約40%近くが型式不明である⁷。近年テロメラーゼ複合体を構成する遺伝子群である，*DKC1*, *telomerase RNA component* (*TERC*), *telomerase reverse transcriptase* (*TERT*), *NOP10*, *NHP2*, Shelterin複合体を構成する *TRF-interacting nuclear protein* (*TINF2*)，テロメラーゼ複合体を核内のCajalbodyに移行させる *TCAB1* がDKCの責任遺伝子として同定された(表1)⁶⁻¹⁰。また近年DNAヘリカーゼの一つである *Regulator of Telomere Elongation Helicase 1* (*RTEL1*) の変異が常染色体劣性遺伝のDKCやその重症型と考えられている Hoyeraal Hreidarsson syndrome (HHS) で発見された¹¹⁻¹³。DKCはこれらの遺伝子の変異によりテロメアが短縮化し，その結果造血幹細胞などの増殖能に障害が生じ上記の症候が形成されると考えられている⁷。

またDKCの発症年齢，随伴症状，造血障害の有無とテロメアの短縮化の程度には相関がみられ，後述のDKCの重症型と考えられているHHSはDKCと比較してテロメアの短縮が著しいと報告されている¹⁴。

HHSは男児の幼時期に骨髄不全症を発症する遺伝性疾患である。骨髄不全症以外には小頭症，小脳低形成，成長発達遅延，顔貌異常，B細胞とNK細胞数の

低下，細胞性免疫不全を合併し大多数の症例は10歳前後で死亡する¹⁵。遺伝型式の大多数はX連鎖劣性遺伝の男児とされてきたが，女児のHHSも報告されるようになった¹⁵。最近の報告ではHHSの1/3の症例は女児で，その遺伝型式は常染色体劣性遺伝とされている¹⁴。HHSは独立した疾患として考えられていたが，その後HHSに*DKC1*, *TERT*などのテロメア制御遺伝子変異が発見されDKCの重症型と考えられるようになった^{15,16}。

X連鎖劣性遺伝型のDKC

DKC1 遺伝子 (*DKC1*) は，染色体Xq28上にコードされ，X連鎖劣性遺伝型のDKCの原因遺伝子である。*DKC1*によって翻訳されるDyskerinは核内蛋白のsmall nucleolar RNAs (snoRNA) のひとつで，boxH/ACAドメインをもちほかのsnoRNAであるNOP10, NHP2, GAR1と複合体を形成しribosomal RNA (rRNA) のprocessingやpre rRNAの転写産物の翻訳後修飾(pseudouridylation)に関与していると考えられている¹⁷。またDyskerinを含むsnoRNA複合体は*TERC*のboxH/ACAドメインと結合しテロメラーゼ複合体のprocessingと安定化の役割を果たしている¹⁷。

X連鎖型のDKCはこの*DKC1*の変異によって引き起こされると考えられているが，その変異の大多数はpoint mutationでlarge deletionやスプライス変異はまれである。これは*DKC1*のknockoutマウスは胎性致死を起こすことから，Dyskerinは細胞の生存に必

修の蛋白であるためではないかと予想される¹⁸. *DKC1* の変異は exon 3, 4, 10, 11, 12 に集中しており, 中でも exon 11 の PUA pseudouridin 合成酵素モチーフ上には多くの変異が認められる. 特に *DKC1* 変異の約 30% に認められる A353V は, hot spot と考えられており, *TERC* と snoRNA の accumulation, テロメラーゼ活性, rRNA processing や pseudouridylation に障害を与えて DKC の病態への関与が示されている¹⁹. また TruB pseudouridin 合成酵素モチーフの存在する領域の変異である S121G や R158W が DKC の重症型と考えられている HHS の表現型を示すことは興味深い点である¹⁵. しかし DKC と HH 両者に認められる変異も存在し, 変異部位と DKC の重症度, HHS との関連には不明な点が多い^{14,15}. さらに *DKC1* の promoter 領域には 3 つの GC-rich cis-elements が存在し Sp1 と Sp3 により *DKC1* の発現が調節されている. その Sp1 binding site の変異である -141C/G が *DKC1* の発現量を低下させ DKC を発症させることが報告されており, DKC は Dyskerin の変異による質的な異常だけでなく, 量的な異常でも発症することが示唆されている²⁰.

DKC のモデルとしては *DKC1* の exon 12~15 の欠損または exon 15 のみ欠損する Dyskerin hypomorphic 変異マウスでの解析が行われている²¹. この *DKC1* の発現を著しく低下させたモデルマウスでは最初の第 2 世代目までに DKC の表現型が再現される. 興味深いことに, DKC の表現型が再現される第 2 世代目では, rRNA の processing や m*TERC* の発現とテロメラーゼ活性の低下は認められるが, テロメア長の短縮は認められず, 第 4 世代目になってようやくテロメア長の短縮化が認められる²¹. このことは DKC の病態の形成にリボゾームの機能障害が関与していることを示している.

常染色体優性遺伝型の DKC

TERC と *TERT* 遺伝子変異

常染色体優性遺伝型の DKC の原因遺伝子としてはテロメラーゼ複合体の *TERC* と *TERT* が同定されている. *TERC* は染色体 3q21-28 上にコードされ, 蛋白に翻訳されない 451 bp の RNA としてテロメア伸展における鋳型の役割をしている¹²². *TERC* は自身で 2 次構造を形成し, 5' 側の pseudoknot ドメインと CR4-CR5 ドメインは *TERT* と結合してテロメラーゼ活性に関与している¹²². 一方 3' 側の boxH/ACA ドメインは Dyskerin などの snoRNA 蛋白と結合し, CR7 ド

メインは small Cajalbody RNAs 蛋白 (scaRNAs) と CAB box を介して結合することでテロメラーゼ複合体の processing や stability に関与している¹²². scaRNAs 蛋白は核内の Cajalbody に存在し snoRNA と同様に rRNA に対しての pseudouridylation や methylation などの修飾する機能があると考えられている²³. 一方テロメラーゼ複合体において逆転写酵素の役割をもつ *TERT* は染色体 5p15 にコードされ *TERC* binding の機能がある N-terminus, 7 つの conserved motifs があり逆転写活性をもつ reverse transcriptase (RT) と telomerase multimerization の機能がある C-terminus の 3 つの region で構成されている¹²².

常染色体優性遺伝型の DKC の特徴は, X 連鎖劣性遺伝型の DKC と比較して症状や検査所見の異常が軽度である症例が多いということである⁶⁻⁸. これは後述の不全型 DKC では *DKC1* 変異は認められず, その大多数において *TERC* や *TERT* の変異が認められることから推測される⁶⁻⁹. *in vitro* の機能解析では, *TERC* の鋳型となる配列の変異は dominant negative 効果でテロメラーゼ活性を減弱させるが, その他の変異は haploinsufficiency 効果を示し, テロメラーゼ活性の減弱の程度は弱く, このことが常染色体優性遺伝型の DKC の症状や検査所見の異常が軽度である一つの理由として考えられている²⁴⁻²⁷. またモデルマウスでも同様の結果がえられていて, 上述の *DKC1* 低発現マウスが第 2 世代目までに DKC の表現型が再現されるのに対して, *TERC* や *TERT* の knockout マウスでは 1 世代ごとにテロメアの短縮が認められ, 世代が進むにつれて前者では精子形成の欠損, 造血細胞の増殖障害などを, 後者では消化管粘膜上皮のアポトーシスなどが認められるようになるが, DKC の表現型は示さない^{6,8,27}.

しかし一方で *TERT* の変異を有する HHS の表現型を示す症例が存在しており, これらの遺伝子変異の部位や両アレルの変異の存在などが DKC の表現型に関与している可能性がある²⁸. また *TERC* の変異が認められる DKC の家系においては世代が進むにつれて発症年齢が早まりテロメア長の短縮も顕著になってくる世代促進現象が認められる²⁹. このことは上述のマウスモデルでも同様の結果が得られており, DKC の表現型には世代の促進が重要な役割をしていると予想される^{21,27}. そして Fanconi 貧血などのほかの遺伝性骨髄不全症の発症年齢中央値が 10 歳以下なのに対して, DKC は 15 歳前後で, 半数近くの症例が成人で診断されていることから, 世代促進だけでなく加齢も

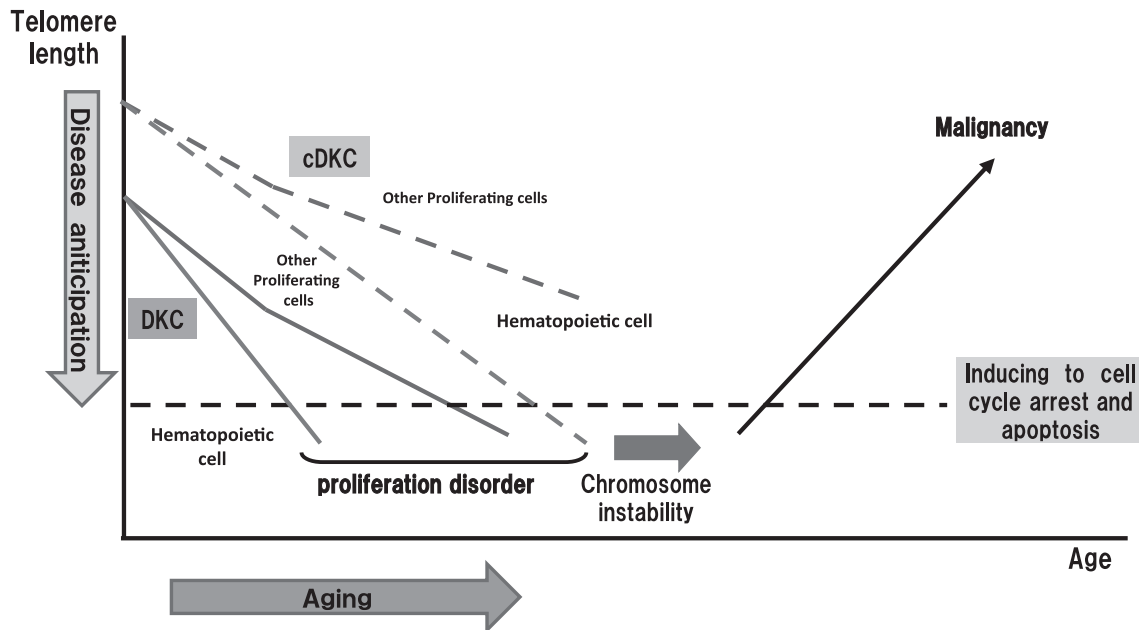


図2 The pathogenesis of dyskeratosis congenita (DKC) and cryptic dyskeratosis congenita (cDKC)

The pathogenesis of DKC involves three important factors: 1) telomere-related gene abnormality leading to intracellular molecular biological mutation, 2) generational anticipation, and 3) aging. The mutations of *TERC* and *TERT* seen in cDKC produce a haploinsufficiency effect, but the extent of the weakening of telomerase activity is small, so that a certain level of generational anticipation and aging is thought to be required before the DKC phenotype develops. These findings lead to the hypothesis that, where the impairment of telomere repair by the telomere-related genetic mutation is slight and generational anticipation and aging are absent, the shortening of telomere length in the hematopoietic organs, where there is abundant cell proliferation and division, progresses faster than in other tissues, resulting in cDKC without the characteristic physical findings of DKC.

DKCの表現型に重要な役割をしていると予想される(図2)³⁰.

TINF2 遺伝子変異

近年染色体14q11.2上に存在する *TINF2* の変異が常染色体優性遺伝型のDKCで同定された^{31,32}. *TINF2* は Shelterin 複合体を構成する TIN2 をコードしている³³. テロメアDNAの最末端部位は、DNAの3'末端が突出(オーバーハング)して一本鎖になっている。また哺乳類のテロメアはおり曲がってTループと呼ばれる構造をとり、このオーバーハングした一本鎖DNAは、その上流のテロメア二本鎖の中に入り込みDループを構成する³³. Shelterin 複合体はこの特異的な構造形成や保護などを行っているが、Shelterin 複合体は、二本鎖DNAと結合するTRF1とTRF2、一本鎖DNAに結合するPOT1、これらの蛋白を結合させ複合体を形成する役割をもつTIN2、RAP1、TPP1で構成されている³³.

TINF2 の変異はDKCの約10~15%に認められ、DKC1の次に多く認められる遺伝子変異である⁷.

TINF2 の変異の多くはヘテロの point mutation で、半数以上がTRF1との結合ドメインの中のコドン282 arginine の変異である。またその他の変異の大多数もコドン282近傍の変異であり、この領域が *TINF2* の機能として重要であることを示唆している。*TINF2* の変異の機能に関しては不明な点が多くあるが、*TINF2* の knock out マウスは胎性致死となることから、*TINF2* は細胞の生存に必修の蛋白であることが予想される³⁴。また *TINF2* の conservation region の変異は、TRF1との結合ができなくなることで Shelterin 複合体の機能が障害されるのではないかと予想されている³⁵。

常染色体劣性型のDKC

常染色体劣性遺伝型のDKCの頻度は少なく、全体の1~2%にしか認められない⁷。これまでに原因遺伝子としては上述の *TERT* や上述の snoRNA である *NOP10*, *NHP2* が同定されている(表1)^{7,17}。常染色体劣性遺伝型のDKCに認められた *TERT* の変異は、

RTドメインの中に位置するR811CとR901Wのホモ変異である²⁸。これらの変異の機能はhaploinsufficiency効果でテロメラーゼ活性を減弱させるが、ホモ変異であるためテロメラーゼ活性の減弱が強くDKCやHHSの表現型を示す。しかしこれらのTERT変異のDKC発症形式が常染色体劣性遺伝型かは不明瞭で、R811C症例のヘテロの変異を有する両親は軽度ではあるがDKCの表現型とも考えられる症候を有しており、世代促進が進んでいないためにDKCの表現型が出ていないだけかもしれない。

NOP10やNHP2は、DyskerinなどとsnoRNA複合体を形成し、TERCのboxH/ACAドメインと結合しテロメラーゼ複合体のprocessingと安定化の役割を果たしている^{14,23}。これまでにNOP10はホモ変異が、NHP2はホモ変異と複合両アレル変異が認められているが、これらの変異によってTERCの発現が減少し、テロメラーゼ活性が減弱することでDKCが発症すると考えられている^{36,37}。

近年既知の原因遺伝子に変異を認めないDKC 2症例において、テロメラーゼ複合体のホロ酵素であるTCAB1に両アレルの遺伝子変異が発見された(表1)¹⁰。TCAB1はTERCとCAB boxを介して結合し核内のCajalbodyに移行させ、DyskerinやほかのscaRNAsをCajalbodyに集積させることでテロメラーゼ複合体のprocessingをすすめる機能があると考えられている。このTCAB1のヘテロ変異を有する家族がDKCの表現型を示していないことや、*in vitro*での機能解析結果から、TCAB1は常染色体劣性型のDKCの原因遺伝子と考えられている¹⁰。

さらに2013年に既知の原因遺伝子に変異を認めないHHS症例に、DNAヘリカーゼ遺伝子群のひとつであるRTEL1の遺伝子変異が同定された(表1)¹¹⁻¹³。これらの報告ではRTEL1変異は常染色体劣性遺伝形式のHHSの原因遺伝子と考えられている。DNAヘリカーゼ遺伝子群はDNAの複製、修復、組換え、転写、翻訳、スプライシングなどの様々な過程でDNAの二重らせんをほぐす役割を有するが、この役割以外にテロメア短縮補正の役割がある。DNAヘリカーゼ遺伝子群の異常で発症する疾患として後述の早老症があるが、HHSにおいてRTEL1の遺伝子変異が同定されたことによって早老症とDKCやHHSはテロメア制御異常といった同一のメカニズムで発症する疾患群としてオーバーラップしている可能性がある。

不全型のDKC

成人になって特徴的身体所見を伴わず緩徐に発症する不全型のDKCの存在が明らかになった³⁸。不全型のDKCは、臨床的には再生不良性貧血や骨髓異形成症候群(MDS)などと診断されていることが多く^{39,40}、本邦においても再生不良性貧血や骨髓異形成症候群の不応性貧血などの骨髓不全症の2~5%に不全型のDKCが認められる⁴¹⁻⁴³。不全型のDKCの原因遺伝子としては、TERC、TERT、TINF2の報告があるが、上述のようにTERC、TERTの変異はhaploinsufficiency効果を示し、テロメラーゼ活性の減弱の程度は弱いいため、DKCの表現型となるには、世代促進や加齢が必要となることがある。こうした変異の場合は、世代の早い症例ではDKCの表現型が軽度で、不全型DKCとして診断されるのではないかと予想する(図2)。

これまで再生不良性貧血の約1/3の症例はテロメア長が短縮し、再生不良性貧血の重症度、免疫抑制療法への不応性との関連が示唆されていたが⁴⁴⁻⁴⁷、これらは不全型DKCの存在が明らかになる以前の検討で、再生不良性貧血とテロメア長の短縮化が再生不良性貧血の病態にどのように関与しているかは明らかではない。しかし不全型のDKCは、効果の得られない免疫抑制療法が行われたり、血縁間同種造血幹細胞移植の際に健常人と区別が困難な軽症の不全型DKC同胞がドナーと選ばれたりすることがあるため、臨床的に診断を明確にすることは大変重要である³⁸⁻⁴³。こうした不全型のDKCをスクリーニングするのに、骨髓不全症の診断時にテロメア長の測定をすることは有用であると考えられる。

早老症とテロメア

早老症はウェルナー症候群(WS, Werner Syndrome)やハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群(HGPS, Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome)に代表される加齢促進状態をもたらす遺伝性疾患である⁴⁷。臨床症状としては、若年時より皮膚の萎縮や骨粗しょう症などの通常に加齢現象が出現し、心血管障害や悪性腫瘍の発生が高率に認められる。

近年早老症の一つと考えられているロスモンド・トムソン症候群(RTS, Rothmund Thomson Syndrome)やpoikiloderma with neutropenia(PN)の原因遺伝子の一つであるC16orf57の変異が臨床的にDKCと診

断された症例で発見された⁴⁸。RTSやPNは、DKCと共通する特徴的所見を多く認めることから、これらの疾患がオーバーラップするような症例の存在が示唆されている。しかし *C16orf57* の変異を認めたDKC症例は、末梢血テロメア長の短縮が認められていない。このことは従来のテロメア長短縮化によって発症するDKCとは異なる発症機序のDKCの存在を示唆している。

またWSの原因遺伝子であるWS遺伝子や、HGPSの原因遺伝子であるLMNA遺伝子にはテロメア長を制御する機能がある。WSやHGPSでは皮膚や筋肉のテロメア長の短縮化を認めるが、血球系ではWS遺伝子やLMNA遺伝子の発現がないため、テロメア長の短縮化は認められない^{49,50}。このことは血液系、皮膚、毛根、筋肉などそれぞれ分化した細胞には特有のテロメア制御機構が存在することを示唆している。もしかしたら上述の不全型DKCは、血球系のテロメア制御にのみ関与する未知の機序の存在を示唆しているのかもしれない。

DKCの治療

現在のところDKCの根本的治療は開発されていない。DKCの主な死因は造血障害に伴う様々な合併症と晩期の悪性腫瘍によるものが大多数である^{7,15}。これまで前者に対しては造血幹細胞移植 (stem cell transplantation: SCT) が試みられてきたが、通常の骨髄破壊の前処置によるSCTは、移植後の肺線維症などの肺合併症、消化管狭窄、肝中心静脈閉塞症などの治療関連毒性が強く、長期生存例はまれであった⁵¹。DKCにおいてSCTの治療関連毒性が強い理由は、皮膚、消化管、肺胞上皮などの幹細胞のテロメア伸長補正の障害による増殖障害があるためと予想されている⁵¹。その後fludarabineをベースとした骨髄非破壊的前処置によるSCTでは、上述の治療関連毒性が軽減され長期の生存例も認められるようになった⁵¹⁻⁵³。しかし上述のようにDKCはHHSから不全型のDKCまでその表現型は様々で、どのような症例に対してどの時期にどのようにしてSCTを行うかといった臨床的な適応は明らかになっていない。またほかの後天的な骨髄不全症に対するSCTに比べてDKCに対してのSCTは、晩期の悪性腫瘍の合併がより高率となる可能性もあり今後の症例の蓄積が必要である。

DKCの骨髄不全症に対しての保存的治療として以前よりanabolic steroidやG-CSFなどの有効性が報告されてきた^{7,54,55}。特にanabolic steroidである

oxymetholone (0.5~5 mg/kg/day) の治療によって約2/3の症例で血液学的な何らかの有効性が認められたとされている。これまでanabolic steroidによるDKCの血液学的な改善の機序は不明であったが、近年 *TERT* の promoter 領域にエストロゲン結合領域が認められ、アンドロゲンやエストロゲンなどの性ホルモンがテロメラーゼ活性を亢進させることが示された⁵⁶。このことから成人以降で診断された不全型のDKCに対してもanabolic steroidなどによる治療は有効であると思われる。

おわりに

DKCは、X連鎖劣性遺伝型の古典的なDKCが発見され、その原因がテロメアの機能不全であることが明らかになり、その後テロメアの機能不全という観点より不全型のDKCの存在が明らかになってきた。しかし依然として確立した治療法はなくさらなる病態の解析による新たな治療法の確立が期待される。最近になり再プログラム化されたDKC由来のinduced pluripotent stem (iPS) 細胞において、OCT4やNANOGといった分化増殖万能性の維持に必修の転写因子が、*TERC*や*DKC1*の発現を亢進させ、DKC由来のテロメラーゼ複合体の機能障害を克服し、テロメアの再伸長が認められた⁵⁷。このことは、DKC由来のiPS細胞は、テロメア関連遺伝子変異によるテロメア伸長の機能障害があっても、テロメア伸長が回復することを示しており、将来の治療法の開発に発展するものと期待する。

文献

1. O'Sullivan RJ, Karlseder J: Telomeres: protecting chromosomes against genome instability. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11: 171-181.
2. Harley CB, Futcher AB, Greider CW: Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 1990; 345: 458-460.
3. Harley CB, Vaziri H, Counter CM, Allsopp RC: The telomere hypothesis of cellular aging. *Exp Gerontol* 1992; 27: 375-382.
4. Watson JD: Origin of concatemeric T7 DNA. *Nat New Biol* 1972; 239: 197-201.
5. Olovnikov AM: A theory of marginotomy: The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J Theor Biol* 1973; 41: 181-190.
6. Calado RT, Young NS: Telomere maintenance and human bone marrow failure. *Blood* 2008; 111: 4446-4455.
7. Walne AJ, Dokal I: Advances in the understanding of dyskeratosis congenita. *Br J Haematol* 2009; 145:

- 164-172.
8. Carroll KA, Ly H: Telomere dysfunction in human diseases: the long and short of it! *Int J Clin Exp Pathol* 2009; 2: 528-543.
 9. Calado RT, Young NS: Telomere diseases. *N Engl J Med* 2009; 361: 2353-2365.
 10. Zhong F, Savage SA, Shkreli M, et al.: Disruption of telomerase trafficking by TCAB1 mutation causes dyskeratosis congenita. *Genes Dev* 2011; 25: 11-16.
 11. Walne AJ, Vulliamy T, Kirwan M, Plagnol V, Dokal I: Constitutional mutations in RTEL1 cause severe dyskeratosis congenita. *Am J Hum Genet* 2013; 92: 448-453.
 12. Le Guen T, Jullien L, Touzot F, et al.: Human RTEL1 deficiency causes Hoyeraal-Hreidarsson syndrome with short telomeres and genome instability. *Hum Mol Genet* 2013; 22: 3239-3249.
 13. Ballew BJ, Yeager M, Jacobs K, et al.: Germline mutations of regulator of telomere elongation helicase 1, RTEL1, in Dyskeratosis congenita. *Hum Genet* 2013; 132: 473-480.
 14. Vulliamy TJ, Marrone A, Knight SW, et al.: Mutations in dyskeratosis congenita: their impact on telomere length and the diversity of clinical presentation. *Blood* 2006; 107: 2680-2685.
 15. Dokal I: Dyskeratosis congenita in all its forms. *Br J Haematol* 2000; 110: 768-779.
 16. Marrone A, Dokal I: Dyskeratosis congenita: molecular insights into telomerase function, ageing and cancer. *Expert Rev Mol Med* 2004; 6: 1-23.
 17. Filipowicz W, Pogacic V: Biogenesis of small nucleolar ribonucleoproteins. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14: 319-327.
 18. He J, Navarrete S, Jasinski M, et al.: Targeted disruption of Dkc1, the gene mutated in X-linked dyskeratosis congenita, causes embryonic lethality in mice. *Oncogene* 2002; 21: 7740-7744.
 19. Mochizuki Y, He J, Kulkarni S, et al.: Mouse dyskerin mutations affect accumulation of telomerase RNA and small nucleolar RNA, telomerase activity, and ribosomal RNA processing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 10756-10761.
 20. Salowsky R, Heiss NS, Benner A, et al.: Basal transcription activity of the dyskeratosis congenita gene is mediated by Sp1 and Sp3 and a patient mutation in a Sp1 binding site is associated with decreased promoter activity. *Gene* 2002; 293: 9-19.
 21. Ruggiero D, Grisendi S, Piazza F, et al.: Dyskeratosis congenita and cancer in mice deficient in ribosomal RNA modification. *Science* 2003; 299: 259-262.
 22. Cong YS, Wright WE, Shay JW: Human telomerase and its regulation. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002; 66: 407-425.
 23. Chen JL, Greider CW: Telomerase RNA structure and function: implications for dyskeratosis congenita. *Trends Biochem Sci* 2004; 29: 183-192.
 24. Xin ZT, Beauchamp AD, Calado RT, et al.: Functional characterization of natural telomerase mutations found in patients with hematologic disorders. *Blood* 2007; 109: 524-532.
 25. Marrone A, Stevens D, Vulliamy T, et al.: Heterozygous telomerase RNA mutations found in dyskeratosis congenita and aplastic anemia reduce telomerase activity via haploinsufficiency. *Blood* 2004; 104: 3936-3942.
 26. Ly H, Calado RT, Allard P, et al.: Functional characterization of telomerase RNA variants found in patients with hematologic disorders. *Blood* 2005; 105: 2332-2339.
 27. Cheong C, Hong KU, Lee HW: Mouse models for telomere and telomerase biology. *Exp Mol Med* 2003; 35: 141-153.
 28. Marrone A, Walne A, Tamary H, et al.: Telomerase reverse-transcriptase homozygous mutations in autosomal recessive dyskeratosis congenita and Hoyeraal-Hreidarsson syndrome. *Blood* 2007; 110: 4198-4205.
 29. Vulliamy T, Marrone A, Szydlo R, et al.: Disease anticipation is associated with progressive telomere shortening in families with dyskeratosis congenita due to mutations in TERC. *Nat Genet* 2004; 36: 447-449.
 30. Alter BP: Diagnosis, genetics, and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2007; 29-39.
 31. Savage SA, Giri N, Baerlocher GM, Orr N, Lansdorp PM, Alter BP: TINF2, a component of the shelterin telomere protection complex, is mutated in dyskeratosis congenita. *Am J Hum Genet* 2008; 82: 501-509.
 32. Walne AJ, Vulliamy T, Beswick R, Kirwan M, Dokal I: TINF2 mutations result in very short telomeres: analysis of a large cohort of patients with dyskeratosis congenita and related bone marrow failure syndromes. *Blood* 2008; 112: 3594-3600.
 33. de Lange T: Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 2005; 19: 2100-2110.
 34. Chiang YJ, Kim S-H, Tessarollo L, Campisi J, Hodes RJ: Telomere-Associated Protein TIN2 Is Essential for Early Embryonic Development through a Telomerase-Independent Pathway. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 6631-6634.
 35. Kim SH, Davalos AR, Heo SJ, et al.: Telomere dysfunction and cell survival: roles for distinct TIN2-containing complexes. *J Cell Biol* 2008; 181: 447-460.
 36. Walne AJ, Vulliamy T, Marrone A, et al.: Genetic heterogeneity in autosomal recessive dyskeratosis congenita with one subtype due to mutations in the telomerase-associated protein NOP10. *Hum Mol Genet* 2007; 16: 1619-1629.
 37. Vulliamy T, Beswick R, Kirwan M, et al.: Mutations in the telomerase component NHP2 cause the premature ageing syndrome dyskeratosis congenita. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 8073-8078.
 38. Fogarty PF, Yamaguchi H, Wiestner A, et al.: Late presentation of dyskeratosis congenita as apparently acquired aplastic anaemia due to mutations in telomerase RNA. *Lancet* 2003; 362: 1628-1630.
 39. Yamaguchi H, Baerlocher GM, Lansdorp PM, et al.: Mutations of the human telomerase RNA gene (TERC) in aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Blood* 2003; 102: 916-918.
 40. Yamaguchi H, Calado RT, Ly H, et al.: Mutations in TERT, the gene for telomerase reverse transcriptase, in aplastic anemia. *N Engl J Med* 2005; 352: 1413-1424.
 41. Liang J, Yagasaki H, Kamachi Y, et al.: Mutations in telomerase catalytic protein in Japanese children

- with aplastic anemia. *Haematologica* 2006; 91: 656-658.
42. Takeuchi J, Ly H, Yamaguchi H, et al.: Identification and functional characterization of novel telomerase variant alleles in Japanese patients with bone-marrow failure syndromes. *Blood Cells Mol Dis* 2008; 40: 185-191.
 43. Yamaguchi H, Inokuchi K, Takeuchi J, et al.: Identification of TINF2 gene mutations in adult Japanese patients with acquired bone marrow failure syndromes. *Br J Haematol* 2010; 150: 725-727.
 44. Ball SE, Gibson FM, Rizzo S, et al.: Progressive telomere shortening in aplastic anemia. *Blood* 1998; 91: 3582-3592.
 45. Brummendorf TH, Maciejewski JP, Mak J, et al.: Telomere length in leukocyte subpopulations of patients with aplastic anemia. *Blood* 2001; 97: 895-900.
 46. Lee JJ, Kook H, Chung IJ, et al.: Telomere length changes in patients with aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2001; 112: 1025-1030.
 47. Martin GM: tic modulation of senescent phenotypes in *Homo sapiens*. *Cell* 2005; 120: 523-532.
 48. Walne AJ, Vulliamy T, Beswick R, et al.: Mutations in C16orf57 and normal-length telomeres unify a subset of patients with dyskeratosis congenita, poikiloderma with neutropenia and Rothmund-Thomson syndrome. *Hum Mol Genet* 2010; 19: 4453-4461.
 49. Decker ML, Chavez E, Vulto I, et al.: Telomere length in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Mech Ageing Dev* 2009; 130: 377-383.
 50. Ishikawa N, Nakamura K, Izumiyama-Shimomura N, et al.: Accelerated in vivo epidermal telomere loss in Werner syndrome. *Aging* 2011; 3: 417-429.
 51. Ostronoff F, Ostronoff M, Calixto R, et al.: Fludarabine, cyclophosphamide, and antithymocyte globulin for a patient with dyskeratosis congenita and severe bone marrow failure. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13: 366-368.
 52. de la Fuente J, Dokal I: Dyskeratosis congenita: advances in the understanding of the telomerase defect and the role of stem cell transplantation. *Pediatr Transplant* 2007; 11: 584-594.
 53. Coman D, Herbert A, McGill J, Lockwood L, Hallahan A: Unrelated cord blood transplantation in a girl with Hoyeraal-Hreidarsson syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42: 293-294.
 54. Bayne S, Liu J-P: Hormones and growth factors regulate telomerase activity in ageing and cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2005; 240: 11-22.
 55. Erduran E, Hacisalihoglu S, Ozoran Y: Treatment of dyskeratosis congenita with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and erythropoietin. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25: 333-335.
 56. Calado RT, Yewdell WT, Wilkerson KL, et al.: Sex hormones, acting on the TERT gene, increase telomerase activity in human primary hematopoietic cells. *Blood* 2009; 114: 2236-2243.
 57. Agarwal S, Loh YH, McLoughlin EM, et al.: Telomere elongation in induced pluripotent stem cells from dyskeratosis congenita patients. *Nature* 2010; 464: 292-296.

(受付 : 2015 年 4 月 20 日)

(受理 : 2015 年 5 月 2 日)

—論 説—

がん医療と緩和ケア (7)

終末期がん患者における輸液治療の現状と QOL 指標

杉山 未緒 伊勢 雄也 片山 志郎

日本医科大学付属病院薬剤部

Recent Reports on Fluid Therapy for Terminally Ill Cancer Patients and Indicators of Quality of Life

Mio Sugiyama, Yuya Ise and Shirou Katayama

Department of Pharmaceutical Service, Nippon Medical School Hospital

Abstract

Terminal cancer patients gradually reduce their oral intake, which can lead to cachexia and metabolic abnormalities. According to Japanese Society of Palliative Medicine guidelines, patients should reduce their fluid intake from one month before projected death. The effectiveness of fluid therapy in these patients should be evaluated by assessing their quality of life (QOL), and not only on the basis of physical symptoms. However, no specific QOL indicators are set out in the guidelines. We have reviewed recent reports on fluid therapy in terminally ill cancer patient in an attempt to identify appropriate indicators of QOL in palliative medicine.

(日本医科大学医学会雑誌 2015; 11: 145-150)

Key words: terminally ill, cancer, fluid therapy, quality of life, guidelines

はじめに

がん患者は、終末期が近づくとつれて経口摂取量が減少する。その原因として、腸閉塞、腹水や胸水や浮腫などの水分貯留症状、代謝の変化、抗がん治療などが挙げられる。経口摂取ができない場合の脱水や電解質の補正、栄養補給の投与経路として、上記のような腹部症状がある場合は経管投与ができないため、経静脈投与を行うことが多い。

終末期輸液治療のガイドライン¹⁾(以下、ガイドライン)では、生命予後1カ月程度前から、輸液量を減量することを推奨している。各症状を有する場合の輸液量を生命予後別に推奨しており、腹水、胸水、浮腫

などの水分貯留症状が起こった場合では、減量することを強く推奨している。

近年、がん悪液質の病態が注目されており、終末期に必要なエネルギー量が大きく変わる時期があることがわかってきた。このことから、終末期の輸液制限の必要性が重要となってくる。

輸液治療は症状を見ながら調節するのが基本であるが、ガイドラインの効果の指標は、「生命の質・死の過程/死の質 (Quality of Life: QOL/dying, and death)」とされている。輸液を QOL で評価した研究はあるものの、具体的に何をを用いるべきかガイドラインには特に明記されていない。

そこで本稿では、最近の報告をもとに、QOL を重視した終末期輸液治療について解説する。

Correspondence to Mio Sugiyama, Department of Pharmaceutical Service, Nippon Medical School Hospital, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8603, Japan

E-mail: miosugi@nms.ac.jp

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

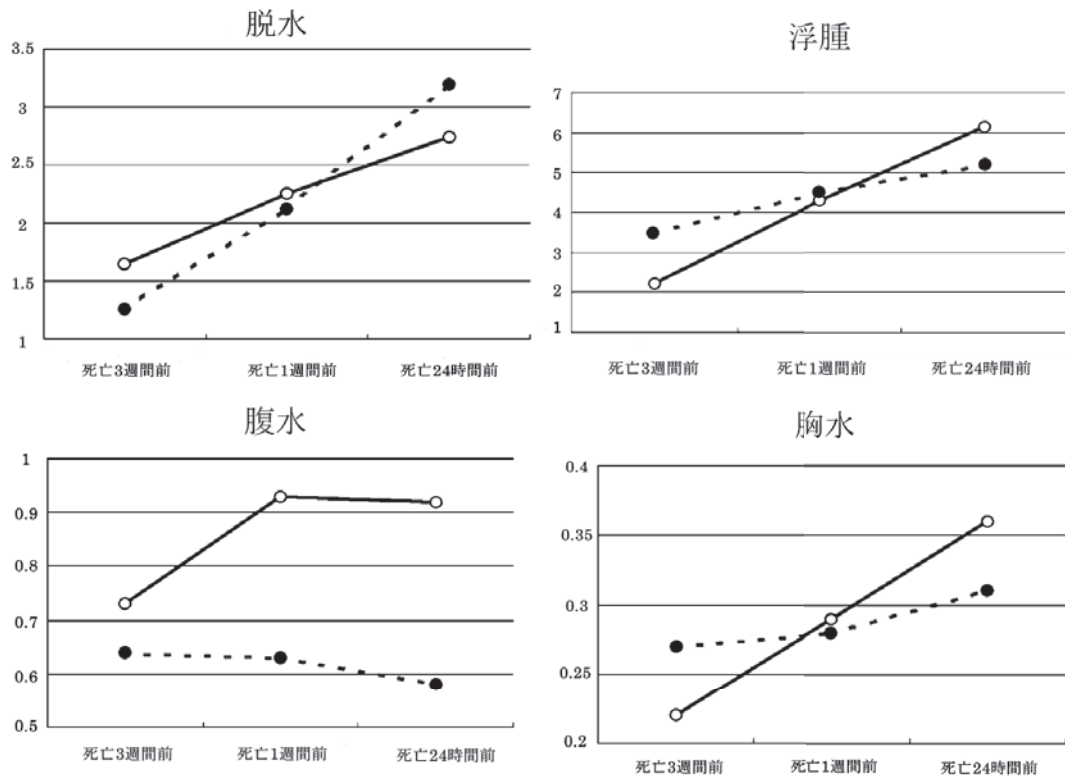


図1 輸液による脱水と水分貯留症状（浮腫，腹水，胸水）への影響。（文献2より一部改変）
白丸は輸液 1000 mL/日以上群（n = 59），黒丸は輸液少量投与群（n = 167）

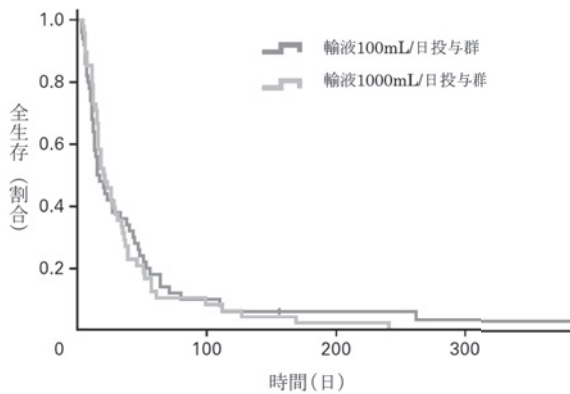


図2 輸液量別全生存率（文献6より一部改変）
生存期間中央値は，輸液 1000 mL/日群（金）で21日間（13～29日間）であった。輸液 100 mL/日群（青）では15日間（12～18日間）であった。ログランク検定（P値 = 0.83）

がん終末期輸液治療の報告

2014年の終末期輸液とQOLに関するコクランレビュー²では，エビデンスの高い研究は，RCTが3報，前向き比較試験は3報にとどまっている。終末期の輸液治療の研究が難しい理由として，脱水が出現，経口摂取が低下した頃には，すでに精神症状が発現しており，参加の同意をとることが困難であるためと云える²。

レビューの中で，輸液と症状の関係が認められた研究を示す。腹膜転移のあるがん患者の症状と輸液量との関係を示した死亡前3週間以上の前向き観察研究³⁴では，輸液 1,000 mL/日以上群と少量投与群の比較が行われた。結果として，脱水症状の悪化の割合が輸液少量投与群でより高く，浮腫，腹水などの水分貯留症状のスコアの悪化の割合は，輸液 1,000 mL/日以上群でより高かった（図1）。また，精神症状は2群間で差は認められなかった。また，脱水を伴った水分貯留³，つまり等張性脱水を生じている患者が多かった。この脱水は，口渇感がない分苦痛を感じることは少なく，終末期がん患者によく起こるとされている。しかし，この文献での脱水の評価は口腔粘膜，腋窩の湿気，目のくぼみ，検査値であった。終末期輸液治療の評価を行う際は，等張性脱水と口渇を引き起こす高張性脱水の区別をする必要があると考えられる。

次に，エビデンスは高いが，輸液と症状，QOLとの関係が認められなかった研究を示す。輸液と症状，QOLに関して評価を行った多施設 Randomized Controlled Trial (RCT)⁵では，生理食塩液 1,000 mL/日投与群と 100 mL/日投与群において比較を行ったが，4つの脱水症状，せん妄スコア，QOL，全生存期間（図2）のいずれの項目においても2群間の差は認

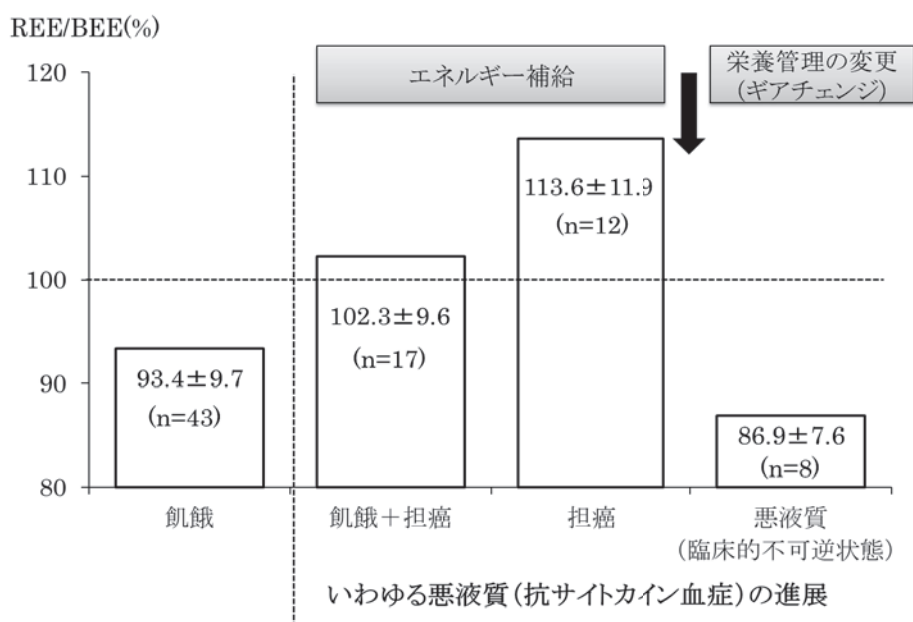


図3 エネルギー消費量と癌の進展 (文献9を引用)

められなかった。

ガイドラインにはエビデンスレベルの高い推奨項目は少なく、今後の更なる検証が求められる。

輸液療法とがん悪液質

終末期がん患者には、浮腫などの水分貯留症状や栄養不良が出現していることが多く、これらは悪液質が関わっていると考えられている。European Palliative Care Research Collaborative (EPCRC) のがん悪液質のガイドライン⁶では、がん悪液質とは、従来の栄養サポートで改善することは困難で、進行性の機能障害をもたらし、(脂肪組織の減少の有無に関わらず)著しい筋組織の減少を特徴とする複合的な代謝障害症候群である、としている。また、前悪液質、悪液質、不可逆的悪液質の三段階ステージの概念を定義し、前悪液質の段階から栄養サポートを行うことを推奨している。

悪液質の治療の一つとしてアミノ酸が注目されている。中でも分岐鎖アミノ酸は代謝効果に関与しており、体重減少の抑制、筋肉の機能改善および骨格筋重量の著しい増加を引き起こすことが期待されている⁷。また、早期の介入により、治療成功の機会が増えるとしている⁸。

がん患者に対するアミノ酸静脈栄養についてのレビュー⁹では、蛋白質が枯渇した患者には、通常の Total Parenteral Nutrition (TPN) よりも多い 1.8~2.0 g/kg/日の蛋白質、少なくとも 0.6 g/kg/日の分岐鎖アミノ

酸、少なくとも 1.25~1.7 g/kg/日の必須アミノ酸が投与されるべきと結論づけた。

ガイドラインでは、旧版のガイドライン¹⁰と比較し、アミノ酸の推奨用量の記載が加わっているが、その根拠に関する記載はない。終末期輸液治療に関するコクランレビュー²でのエビデンスの高い6つの研究では、投与された輸液の内容は食塩液、ブドウ糖、ブドウ糖加食塩液、ヒアルロン酸、特記なしであった。今後はアミノ酸の配合に配慮した輸液の研究が望まれる。

終末期がん患者であっても、前悪液質、悪液質の段階では基本的には一般の患者に対する栄養管理と同じである。しかし、不可逆的悪液質の段階では、代謝動態の変化が起こり、その結果必要エネルギー量が少なく(図3)、5~15 g/kg/日であるとしている¹¹。また、水分投与量もおよそ 20 mL/kg/日で良いとしている。不可逆的悪液質は栄養治療に反応しない段階であり、不快な症状を悪化させ、QOLを悪化させるため、生命予後の延長を目的とした輸液を行わないことが望まれる。

終末期がん患者の栄養評価のための QOL ツール

終末期になると多くの患者で苦痛症状が出現するため、症状だけでなく QOL の評価も必要となる。

ガイドラインでは、輸液治療の効果の指標を QOL としているが、具体的な QOL ツールに関しては記載がない。現在明確な指標はないが、緩和医療において

表1 緩和医療のQOL測定ツール

質問票	質問数	日本語版	日本人への信頼性と妥当性/評価者	評価	項目
EORTC QLQ-C30	30	あり	あり/患者本人	QOL	5つの機能的な領域（身体的、役割、認知的、心理的、社会的） 3つの症状スケール（倦怠感、疼痛、悪心嘔吐） 1つの症状（息切れ、食欲不振、睡眠障害、便秘、下痢）、病気の経済的影響 2つの全体的な項目（健康、総合的QoL）
MQOL	20	あり	あり/患者本人	QOL	5つの領域：身体的幸福、身体的症状、心理的、実存的とサポート 1つの項目：総合的QoL
STAS-J (J:日本語版)	9	あり	あり/医療者	代理評価型QOL	4つの領域：身体的症状（2項目）、患者の不安・病状認識（2項目）、家族の不安・病状認識（2項目）、コミュニケーション（3項目）

- ・ European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30 questionnaire (EORTC QLQ-30) [http://www.csp.or.jp/cspor/seminar/text/1/1crc_shimozuma_sub.pdf],
- ・ McGill Quality of Life Questionnaire (MQOL) [<http://plaza.umin.ac.jp/~pcpkg/mqol/mqol.pdf>],
- ・ Support Team Assessment Schedule (STAS-J) [<http://plaza.umin.ac.jp/stas/stas-j.pdf>]
- ・ STAS-J 症状版 [<http://plaza.umin.ac.jp/stas/stas-j-s.pdf>]

広く用いられている QOL ツールを用いて問題ないと考える。緩和医療における QOL 測定ツールを示す(表1)。

European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30 questionnaire¹² (EORTC QLQ-30) は、世界で最も頻用されているがん領域の QOL 質問票である。McGill Quality of Life Questionnaire¹³ (MQOL) は、身体面だけでなく、スピリチュアルな側面を含んだ数少ない QOL 評価ツールである。これらはいずれも患者本人が評価を行う。一方、Support Team Assessment Schedule¹⁴ (STAS) は代理評価尺度であり、医療従事者が評価することができる。日本語版の Japanese version STAS¹⁵ (STAS-J) には、症状を詳細に評価できる STAS-J 症状版がある。

上記3つの QOL ツールはいずれも本邦での信頼性、妥当性が証明されている。

がん終末期においては、症状が悪化し患者自身で評価することが難しいため、患者本人のみでなく、医療従事者、患者家族が同時に評価を行えることは非常に有用である。本来、QOL は患者本人が評価するものであるが、症状を詳細に評価でき、意思疎通が難しくなるような死亡直前まで評価を行うことができる STAS-J は終末期輸液治療の QOL ツールに適していると考えられる。

終末期輸液療法の現状と QOL 評価に関する 後ろ向き調査

後ろ向き調査や意思疎通できない患者にも用いることができる評価ツールとして、Palliative Performance Scale (PPS) と Palliative Prognostic Index (PPI) が挙げられる。PPS は 1996 年に Anderson らによって考案された緩和ケアにおける身体的状況測定ツールである¹⁶。測定項目は起居、活動と症状、Activities of Daily Living (ADL)、経口摂取、意識レベルの5項目で構成される。100% を最大値とし、悪化するにつれ 10% ずつ下がり、0% を最小値とする。PPI は、1999 年に森田らによって考案された終末期の予後予測のツールである¹⁷。PPS (起居、活動と症状、ADL、経口摂取、意識レベル) に加えて摂食割合や客観的状況 (浮腫、安静時呼吸困難、せん妄) に基づいて合計点数 (0~15) を算出し、点数が高いほど予後が悪いことを意味する。PPS と PPI は QOL に影響すると考えられる全身状態や症状などの評価項目が含まれている。

筆者らは、終末期がん患者を対象に、輸液治療の現状および PPS ならびに PPI の経時変化について調査を行った¹⁸。

輸液 1 日総投与量 >1,500 mL (H 群), 1,000 mL ~ 1,500 mL (M 群), <1,000 mL 群 (L 群) の 3 群で PPS, PPI の推移の比較を行ったところ、死亡 28 日目の H 群の PPS, PPI は L 群と比較して有意に悪化してい

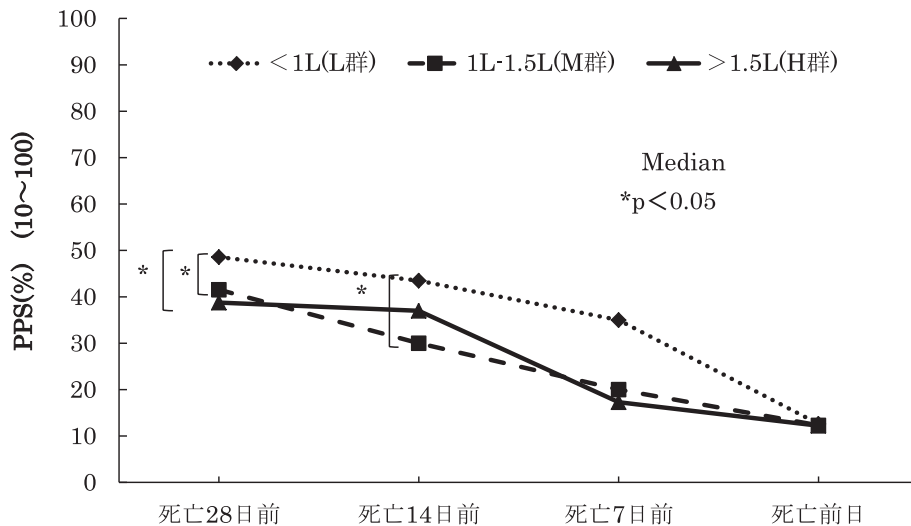


図4 (i) Palliative Performance Scale (PPS) の中央値 (%) の推移 (文献 18)

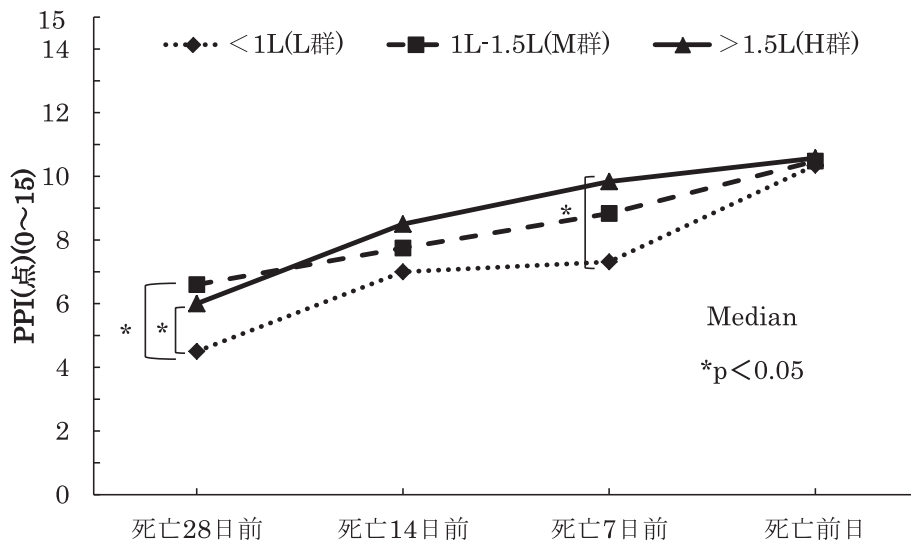


図4 (ii) Palliative Prognostic Index (PPI) の中央値の推移 (文献 18)

た (図 4i, 4ii). よって, PPS と PPI は死亡 1 カ月程度前では輸液量と関係することが分かった.

しかし, PPS は経口摂取量の減少が項目として含まれており, 全身状態が悪化するような症例であったため, 輸液が多く投与された可能性は否定できない. 一方, PPI は項目に浮腫, 安静時呼吸苦が含まれており, 輸液による副作用と考えることができる.

本来, PPS は全身状態, PPI は生命予後を評価するものであり, 直接 QOL には結びついていないとは言えない. しかし, 症状と QOL は関係があると考えられるため, QOL スコアと PPS, PPI が相関を示すものであると証明できれば, QOL の変動を示唆する簡易な評価ツールとして活用できると考える.

おわりに

終末期輸液治療のエビデンスは十分ではない. しかし, 悪液質による代謝の変化が解明されてきており, 輸液減量の時期や, 輸液内容の選択を行う助けになると考えられる. また, 輸液治療においては, 身体症状が少なからず QOL に影響を及ぼしていると思われるため, 症状と QOL が同時に評価できるツールが望ましいと考える.

依然として, 終末期において症状を悪化させるほどの不必要な輸液が投与されることがあり, 終末期の輸液療法が広く認知されていくことが望まれる.

文 献

1. 日本緩和医療学会：終末期がん患者の輸液治療に関するガイドライン(第2版). 金原出版, 2013. Online : [<http://www.jspm.ne.jp/guidelines/glhyd/2013/pdf/glhyd2013.pdf>]
2. Good P, Richard R, Syrmiss W, Jenkins-Marsh S, Stephens J: Medically assisted hydration for adult palliative care patients (Review). *The Cochrane Collaboration* 2014; 1-27.
3. Morita T, Hyodo I, Yoshimi T, et al.: Association between hydration volume and symptoms in terminally ill cancer patients with abdominal malignancies. *Ann Oncol* 2005; 16: 640-647.
4. Nakajima N, Hata Y, Kusumoto K: A Clinical Study on the Influence of Hydration Volume on the Signs of Terminally Ill Cancer Patients with Abdominal Malignancies. *J Palliat Med* 2013; 16: 185-189.
5. Bruera E, Hui D, Dalal S, et al.: Parenteral hydration in patients with advanced cancer: a multicenter, double-blind, placebo-controlled randomized trial. *J Clin Oncol* 2013; 21: 111-118.
6. Fearon K, Strasser F, Anker SD, et al.: Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *Lancet Oncol* 2011; 12: 489-495.
7. Mantovani G, Madeddu C: Cancer cachexia: medical management. *Support Care Cancer* 2010; 18: 1-9.
8. Chevalier S, Winter A: Do patients with advanced cancer have any potential for protein anabolism in response to amino acid therapy? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2014; 17: 213-218.
9. Bozzetti F, Bozzetti V: Is the intravenous supplementation of amino acid to cancer patients adequate? A critical appraisal of literature. *Clin Nutr* 2013; 32: 142-146.
10. 日本緩和医療学会：終末期癌患者に対する輸液治療のガイドライン(第1版). 日本緩和医療学会, online(2007) [<http://www.jspm.ne.jp/guidelines/glhyd/glhyd01.pdf>]
11. 伊藤彰博, 東口高志, 森 直治ほか：緩和医療における栄養療法. *静脈経腸栄養* 2013; 28: 603-608.
12. Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B, et al.: The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30; a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 365-376.
13. Cohen SR, Mount BM, Strobel MG, et al.: The McGill Quality of Life Questionnaire; a measure of quality of life appropriate for people with advanced disease. A preliminary study of validity and acceptability. *J Palliat Med* 1995; 9: 207-219.
14. Higginson I, McCarthy M: Validity of the support team assessment schedule; Do staffs' rating reflect those made by patients or their families? *J Palliat Med* 1993; 7: 219-228.
15. Miyashita M, Matoba K, Sasahara T: Reliability and Validity of Japanese version STAS (STAS-J). *Palliat Support Care* 1994; 2: 379-384.
16. Anderson F, Downing GM, Hill J, Casorso L, Lerch N: Palliative Performance Scale (PPS); a new tool. *J Palliat Care* 1996; 12: 5-11.
17. Morita T, Tsunoda J, Inoue S, Chihara S: The Palliative Prognostic Index: a scoring system for survival prediction of terminally ill cancer patients. *Support Care Cancer* 1999; 7: 128-133.
18. 杉山未緒, 和田紀子, 樋口比登実ほか：終末期がん患者における輸液治療の質的評価. *日本緩和医療薬学雑誌* 2014; 7: 29-35.

(受付：2015年1月8日)

(受理：2015年6月4日)

— 論 説 —

臨床現場における薬剤師の役割 (1)

糖尿病治療における薬剤師の立場

菅谷 和也 伊勢 雄也 片山 志郎

日本医科大学付属病院薬剤部

The Role of the Pharmacist in Clinical Settings (1)
The Position of the Pharmacist in Diabetes TreatmentKazuya Sugaya, Yuya Ise and Shirou Katayama
Department of Pharmaceutical Service, Nippon Medical School Hospital

Abstract

The role of the pharmacist in diabetes management has grown more prominent with the increased number of patients and diversification of related medical treatment. In addition to pharmacotherapy support, pharmacists also play an important role in self-management education for diabetes patients to ensure optimal quality of life.

In this article, we consider the role of the pharmacist in diabetes treatment.
(日本医科大学医学会雑誌 2015; 11: 151-154)

Key words: diabetes treatment, team approach, pharmacist

はじめに

国際糖尿病連合(International Diabetes Federation; IDF)の発表によると, 2014年現在の世界の糖尿病人口は3億8,670万人(有病率8.3%)であり, 日本の糖尿病人口(20~79歳)は721万人, 糖尿病を発症している可能性が高いが検査を受けて糖尿病と診断されていない人口は389万人とされ, 世界の糖尿病人口のランキングでは10位とされている¹.

糖尿病人口の増加に加え, 近年, 糖尿病治療における薬物療法に関しては2009年にインクレチン製剤{dipeptidyl peptidase-4(DPP-4)阻害薬, glucagon-like peptide-1(GLP-1)受容体作動薬}, 2014年にsodiumglucose co-transporter 2(SGLT2)阻害薬が登場しており, 多様化する薬物療法において薬剤師の

役割が増大している。

薬物療法のみではなく, 糖尿病療養指導士ガイドブック2014²の中でも, 薬剤師の専門的な役割である服薬指導のほかに, 療養指導項目として療養における自己管理の意義, 療養上の課題/問題把握, 療養指導の計画と立案, 療養指導の実践と評価が薬剤師の役割として挙げられており, 薬剤師の糖尿病療養指導の役割は服薬指導が重要であるが, 患者の心理と行動に配慮した療養指導およびセルフケア行動支援を行い, 患者をエンパワーメントすることが薬剤師にも求められる。

本稿では, 糖尿病チームでの薬剤師の役割および患者への薬剤師の関わり方について検討し, 糖尿病治療における薬剤師の役割について考察する。

表1 糖尿病教育入院における薬剤師の役割 文献3より一部改変

入院時	初回面談にて持参薬、服用歴、管理方法の確認 健康食品、サプリメントの服用の有無の確認 アレルギー歴、副作用歴の確認 入院時の問題点の確認
入院中	服薬指導 低血糖症状と対処方法、シックデイに関する指導 インスリン手技の説明と確認 副作用、効果の確認 処方内容の確認 コンプライアンスの確認 薬剤師の視点での問題リストの作成 医師、看護師、栄養士への情報提供 カンファレンスへの参加
退院時	退院時服薬指導 インスリンの保管方法や針の廃棄方法の説明 旅行時、トラブル時の対応などの説明と確認
その他	糖尿病教室への参加 糖尿病チームによる医療者向け勉強会への参加 糖尿病パンフレットの改訂

表2 当院の糖尿病教室における薬剤師の講義タイトルの例

糖尿病薬に関する内容	低血糖に注意する薬 インスリンの種類と使い方 新しい糖尿病の治療薬
合併症に関する内容	糖尿病腎症に使う薬 神経障害の薬 血液をサラサラにする薬ってどんなものがあるの？
その他	薬とタバコの関係 高齢者の服薬時の注意点 お薬手帳をみてみよう

の医療スタッフがカルテ上確認できるようにした上でカンファレンスや必要時情報提供する必要がある。当院ではカンファレンスを週1回開催しており、医師、看護師、栄養士、薬剤師間で問題点や入院の経過などの情報共有を行い、退院に向けての問題点の解決や治療計画を協議している。

さらに、糖尿病療養指導として薬剤師に求められているものは患者の心理と行動に配慮した療養指導およびセルフケア行動支援であり、継続自己管理の意識づけを行い、患者をエンパワーメントすることが重要視される。

最後に、退院時は退院時服薬指導にて薬剤の服用管理や飲み忘れ時の対応方法指導や、インスリンの保管方法や針の廃棄方法、旅行時やトラブル時の対応などの説明と確認を行う必要がある。

2) 糖尿病教室

当院では医師、看護師、栄養士、薬剤師による外来および入院患者向けの糖尿病教室を月1回開催しており、糖尿病について効果的に学ぶことができるように月ごとにテーマを決めている。薬剤師の講義内容として、患者が興味をもつような内容をこころがけ、糖尿病薬のみではなく、合併症に関連した薬剤や最新の治療や患者の希望に合った内容を取り入れる必要がある。当院では表2に示したとおり、糖尿病薬以外に合併症や生活に関わることをテーマにしている。

さらに、糖尿病週間の期間中は糖尿病の啓発的な活動を行っており、来院された患者もしくはご家族向けに、無料の血糖値測定や体重、腹囲測定を行い、糖尿病が疑われないか確認することができる。糖尿病が疑われる場合は医療機関への受診を勧めており、医師、看護師、栄養士、薬剤師への相談が可能になっている。

糖尿病チームでの薬剤師の役割

1) 糖尿病教育入院

当院では糖尿病教育入院において糖尿病パンフレットやビデオによる教育とともに、医師、看護師、栄養士、薬剤師による指導を連携して進めている。教育入院における入院から退院までの薬剤師の役割は表1に示した。

まず、入院時の初回面談による持参薬の服用状況や管理状況の把握と、健康食品、サプリメントの服用の有無、アレルギー歴・副作用歴の確認が必要とされる。この際、退院後の生活を見据えて、患者の生活習慣を考慮し問題点の有無を確認する必要がある。

次に、入院中は服薬指導が重要視され、服薬指導時は糖尿病薬の使用目的、薬品名、作用機序、作用時間、用法、用量、副作用、保管方法などを写真、イラスト、グラフなどを使用し視覚的な面からアプローチしていく。しかしながら、副作用の説明は服薬コンプライアンスの低下につながる可能性があるため、一方通行の指導にならないように留意する。その他、使用薬剤に応じて、低血糖症状と対処方法、シックデイに関する指導、インスリン手技の説明と確認などを行う。服薬指導の内容については薬剤管理指導記録を作成し、ほか

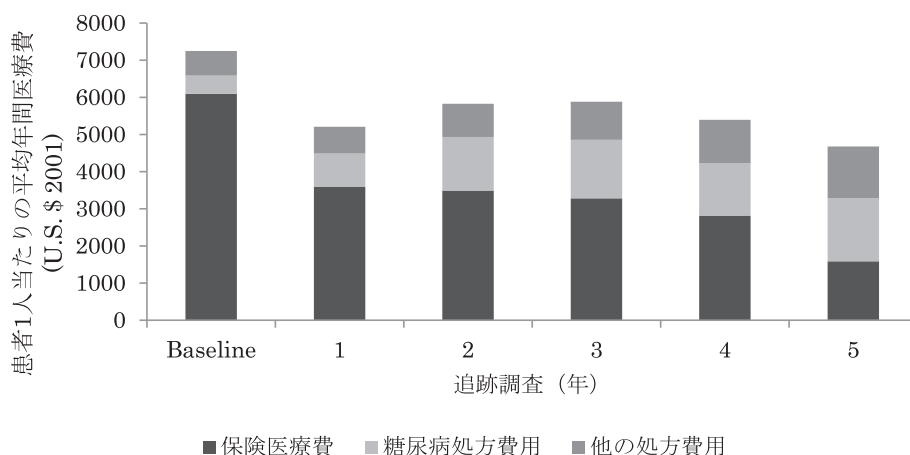


図1 アッシュビルプロジェクト開始後5年間の糖尿病患者1人当たりの医療費の推移
文献5より引用

外来患者への薬剤師の関わり

当院では外来患者への薬剤師による療養指導は外来診察室において行われてはいない。しかしながら、院内もしくは院外調剤薬局での服薬指導など、薬物療法を行っている患者において薬剤師は頻繁に接する職種の一つであるため、薬剤師の療養指導によって患者の糖尿病治療に貢献できると思われる。

現在、日本糖尿病療養指導士 (Certified Diabetes Educator of Japan ; CDEJ) のほか、地域糖尿病療養指導士 (Certified Diabetes Educator of Local ; CDEL) は糖尿病患者教育の正しい知識および技術の充実と向上を図り、地域医療に貢献することを目的として各地域の実情に即した体制のもとに認定され、地域の核となって活動している。例を挙げると、西東京エリアは糖尿病診療が活発な地域であり、1999年に西東京糖尿病療養指導士制度が開始されており、CDEJとCDELによる地域における医療連携により糖尿病療養指導の質の向上を目指している。

このような地域の薬剤師が介入した例としては、地域の調剤薬局ネットワークを用いた糖尿病療養指導によって、糖尿病医療レベルの向上に寄与でき得る可能性を示した報告がされている⁴。報告によると、調剤薬局においてフットケア、網膜症、腎症、食事療法、シックデイ、運動療法について療養指導を行い、独自のアンケート形式の自己評価点数と満足度の変化による指導効果の評価によって、フットケアの自己評価点数は知識ならびに実践ともに有意に改善し、網膜症、腎症、シックデイの項目では改善傾向が認められ、患者満足度は指導後に有意に上昇している。したがっ

て、外来患者の場合は調剤薬局でのCDELによる療養指導により、より良い糖尿病療養指導と糖尿病医療レベルの向上が可能であると考えられる。

一方、このような外来患者に対する薬剤師によるコーチングが糖尿病医療レベルの向上だけでなく、糖尿病患者の医療費抑制に寄与するとされた報告として、米国ノースカロライナ州のアッシュビル市で行われたアッシュビルプロジェクトが例として挙げられる⁵。アッシュビルプロジェクトは薬局の薬剤師が主治医と協力して患者の自己管理を支援するコーチ役を担い、治療効果の改善ならびに受診や入院にかかる総医療費の低減をもたらしたプロジェクトである。アッシュビルプロジェクト開始後の1人当たりの医療費の推移は図1に示した。開始後1年で糖尿病に関わる処方費用は増加しているが、入院や透析などの頻度の低下により総医療費の減少が認められており、結果として、薬剤師と糖尿病患者の定期的なコミュニケーションによって、重症化を予防することを示している。プロジェクトは現在も進行中であり、日本においても同様の結果が期待できる可能性がある。

また、日本において2012年より導入された糖尿病透析予防指導管理料は、糖尿病患者に対し、外来において医師と看護師又は保健師、管理栄養士等が連携して重点的な医学管理を行うことについて評価を行い、糖尿病患者の透析移行の予防を図ることが目的である。このような透析予防診療チームが共同して行う、早期の段階からの透析予防に関する取り組みに糖尿病を専門とした薬剤師も関わることによって、患者の良好な生活の質 (Quality of Life ; QOL) の保持に貢献できると考えられる。

おわりに

薬剤師の病棟業務ならびにチーム医療への介入が進み、糖尿病においても専門的な知識による指導が行われる必要があり、入院もしくは外来患者において薬剤師の積極的な介入によって糖尿病医療レベルの向上や医療費抑制が期待できる。

CDEJ ならびに CDEL を取得した糖尿病専門薬剤師が、薬剤師に求められる役割の中でも、服薬指導以外の療養指導、患者のセルフケア行動支援やエンパワメントにも積極的に関わることにより患者の良好な QOL の保持に貢献できることから、今後も糖尿病治療における薬剤師の積極的な介入が望まれる。

文 献

1. 国際糖尿病連合 (IDF) : 糖尿病アトラス第 6 版 2014 UPDATE.
2. 一般社団法人日本糖尿病療養指導士認定機構 : 糖尿病療養指導士ガイドブック 2014. pp 7-10, メディカルレビュー社.
3. 厚田幸一郎 : 糖尿病診療における薬剤師の役割 [新時代の糖尿病学 (4), 病因・診断・治療研究の進歩, 糖尿病のフォローアップシステム, チーム医療]. 日本臨床 2008; 66: 503-510.
4. 元尾佳正, 高木勇次, 福田俊一ほか : 地域の調剤薬局ネットワークを用いた糖尿病療養指導. 糖尿病 2012; 55: 322-327.
5. Cranor CW, Bunting BA, Christensen DB: The Asheville Project: long-term clinical and economic outcomes of a community pharmacy diabetes care program. JAPHA-WASHINGTON- 2003; 43: 173-184.

(受付 : 2015 年 4 月 3 日)

(受理 : 2015 年 5 月 21 日)

—基礎科学から医学・医療を見る—

消化器系の進化と発生のメカニズム

岡 敦子

日本医科大学基礎科学生物学

Molecular Mechanisms Underlying the Evolution and Development of the Digestive System

Atsuko Ishizuya-Oka

Department of Biology, Nippon Medical School

Abstract

The digestive system is essential for heterotrophic animals to acquire the energy needed for life. Although the digestive system has been diversified to adapt to the food environment during evolution, molecular mechanisms regulating the system's organogenesis appear to be highly conserved among vertebrate species. The embryonic gut, which originates from the endoderm, lateral plate mesoderm, and neural crest cells, is first subdivided into the foregut, midgut, and hindgut and is then differentiated into various digestive organs, including the pharynx, esophagus, stomach, and small and large intestines, along the anterior-posterior axis of the embryo. In addition, the liver, pancreas, pharyngeal pouches, and respiratory organs are formed by projections from the foregut. Previous studies have shown that the embryonic gut is regionalized by transcription factors, such as Sox2, Pdx1, Cdx and Hox, which provide positional information along the anterior-posterior axis. Then, organ-specific morphogenesis and cytodifferentiation proceed in each organ. Recently, signaling pathways, including sonic hedgehog (Shh), Wnt, and Notch, have been shown to play important roles in the organogenesis of the gut. Noteworthy, during metamorphosis in the amphibian intestine, thyroid hormones reactivate such pathways and cause pre-existing epithelial cells to dedifferentiate into adult stem cells that generate the absorptive epithelium undergoing cell renewal similar to that in the mammalian intestine. Considering that this amphibian intestinal remodeling during metamorphosis mimics the mammalian intestinal maturation around the time of birth, thyroid hormone-regulated signaling pathways essential for stem cell development are suggested to be evolutionarily conserved among terrestrial vertebrates. Furthermore, in the adult intestine, such pathways are also involved in the regulation of stem cells to maintain epithelial cell renewal. We here review recent progress in this field, focusing on intestinal stem cells, and propose that clarification of molecular mechanisms underlying the development of the digestive system is interesting from the standpoint of evolutionary biology and also provides important information for the regenerative and cancer therapies of human digestive organs.

(日本医科大学医学会雑誌 2015; 11: 155-160)

Key words: digestive organ, development, evolution, adult stem cell, signaling pathway

Correspondence to Atsuko Ishizuya-Oka, Department of Biology, Nippon Medical School, 1-7-1 Kyonan-cho, Musashino, Tokyo 180-0023, Japan

E-mail: a-oka@nms.ac.jp

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

はじめに

従属栄養生物である動物はすべて、生きていくために必要なエネルギーを外界から食物を通じて獲得しなければならない。この宿命のため、動物は消化吸収を行うための構造を環境に合わせて進化させ、ヒトでは複雑で大きな消化器系が発達している。それは内分泌器官でもあり、食物という異物から身を守るために重要な免疫器官でもある。消化器系の研究は分子から個体レベルまで多岐にわたり活発に行われているが、その発生学的研究は立ち遅れ、近年ようやく、器官形成のしくみの概要が明らかになりつつある。本稿では、1990年代以降、急激な変化を遂げている発生生物学の新しい概念も紹介しながら、消化器系の発生メカニズムについて概説する。さらに小腸に焦点をあて、発生で使われるシグナル分子が成体幹細胞の制御にも使われることを説明し、進化や疾患との関連についても考察したい。

1. 消化器系の発生¹⁾

消化器系の発生は、原腸形成後につくられる単純な1本の管から始まる。ヒトでは内胚葉は始め盤状であるが、折り畳みという現象に伴い、胚子の頭方および尾方が袋状となり前腸および後腸が形成される (Fig. 1)。中腸は始め卵黄囊と広く接しているが、やがてこ

こも管状化し原始腸管が完成する。この管は主に内胚葉とそれを囲む中胚葉から成り、ここに神経叢をつくる神経堤が入り込む。このたった1本の管から、咽頭から肛門管上部に至る消化器官と肝臓、膵臓が形成される。このほか、咽頭の一部が下方に落ち込んで甲状腺腺が、側方に落ち込んで咽頭嚢が形成される。咽頭嚢は元来、鰓弓間の鰓溝とつながって鰓をつくる構造であるが、鰓が不要となった陸上脊椎動物ではこれを口蓋扁桃、副甲状腺、胸腺等へと再利用 (リサイクル) する。同様に、食道近くの前腸が落ち込んでつくる呼吸器系は、浮き袋の再利用である。このように、多くの器官が原始腸管の決まった領域に形成される。連続した管でありながら、各器官の位置や境界はなぜ厳密に決まっているのであろうか。そのしくみが次第に明らかになってきている。

1.1 体軸に沿った位置情報を担う遺伝子

脊椎動物では器官形成が始まる時期の胚 (咽頭胚) の構造は酷似し、共通した形成メカニズムが存在すると考えられている。詳細は省くが、まず発生初期に3つの体軸が確立し、軸に沿った位置情報を担う遺伝子が発現して各器官の領域が決定され、その後、器官特異的な分化が進行するという流れである。消化器系では、体軸の中でも前後軸 (ヒトでは頭尾軸) が特に重要である。この軸に沿って前腸内胚葉では *Sry* 遺伝子群に属する *Sox2* が、中腸と後腸の内胚葉ではショウジョウバエの *caudal* に相同なホメオボックス遺伝子

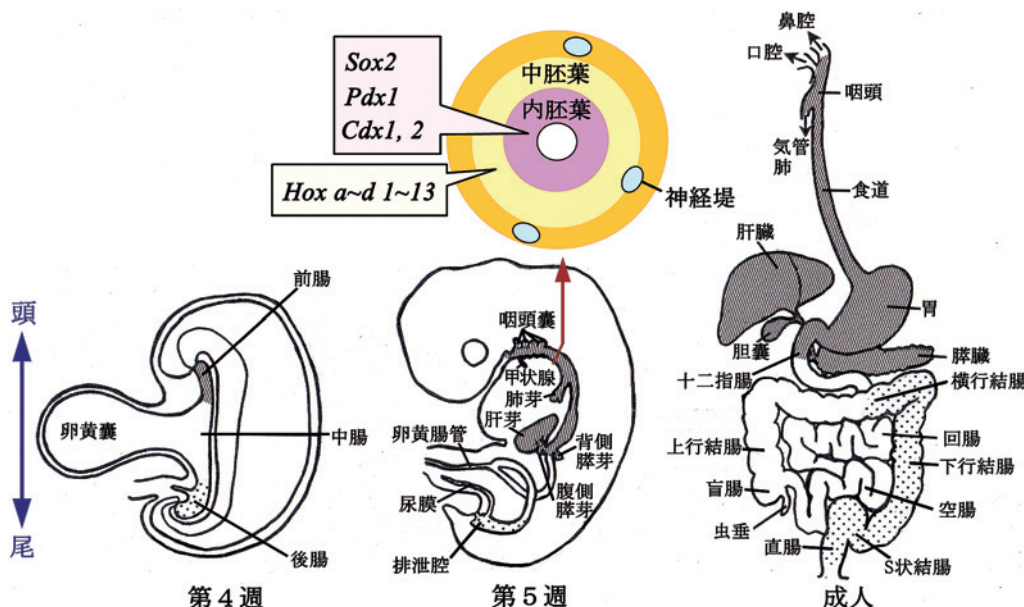


Fig. 1 ヒトの消化器系の発生と頭尾軸に沿った位置情報を担う遺伝子
 原腸形成後の胚子の折り畳みにより、前腸・中腸・後腸から成る原始腸管が形成される。腸管を構成する内胚葉と中胚葉では位置情報を担う遺伝子が発現し、各消化器官の領域が決定する。

Cdx1, 2 が発現する。後者は腸の運命決定に重要であるが、成体でも胃と腸の境界を維持するために働いており、胃上皮で *Cdx2* を異所的に発現させると腸上皮化生が誘発されることが報告されている。このほか、十二指腸部位では膵臓形成の鍵となるホメオボックス遺伝子 *Pdx1* が発現する。一方、中胚葉で主に発現する遺伝子が *Hox* である。*Hox* はゲノムの重複により4つの染色体上にクラスターとして存在し、各染色体上の3'側より順に1から13までの番号がつけられている。3'側に位置する遺伝子ほどより早期に、より頭方で発現することから、頭尾軸に沿った位置情報を担う遺伝子として有名である。各 *Hox* 遺伝子の発現境界は消化器官の領域境界と密接に関連し、例えば、大腸では主に9~13番の *Hox* が発現する。これら2つの胚葉で発現する遺伝子が協調的に働いて、器官の領域は決定される。

1.2 組織間相互作用に関わるシグナル分子

最終分化に至るまでの器官形成の過程では、内胚葉由来の上皮と中胚葉由来の間葉との相互作用が、重要な役割を果たしている²。これに関わるシグナル分子がようやく明らかになりつつあるが、現時点で上皮側のモルフォゲンとして注目されるのがソニックヘッジホッグ (Shh) である。Shh は腸管の形成直後から上皮のほぼ全域で発現し、その受容体の発現は間葉特異的である。Shh は細胞増殖を促進したり、骨形成蛋白質 *Bmp4* や *Hox* 等の発現を間葉で誘導したりする。分泌された *Bmp4* は上皮にも間葉にも作用し、幽門括約筋の分化を促進したり、Wnt 経路を介して細胞増殖を抑制したりする。Wnt には多くのリガンドがあり伝達経路も複数あるが、 β -カテニンの核移行を介する標準経路が最もよく解析されている。この経路は、消化器系では細胞増殖を促進するほか、*Cdx* の発現を高める働きもあり、前腸で *Cdx* が異所的に発現すると前腸は尾方化(腸へ分化)してしまう。また、この経路は前腸での呼吸器系と消化器系との分離にも関与し、経路が抑制されると食道上皮へ、活性化されると気管上皮へ分化することが報告されている。このほか、間葉の細胞外マトリックス (ECM) が上皮に様々な影響を与えることも知られている。

肝臓と膵臓は十二指腸から形成される。この部位の内胚葉は始めどちらにも分化しようが、近くの脊索などからのシグナルにより肝臓への分化は抑えられている。しかし、心臓が FGF を分泌するようになると、FGF は近くの横中隔が分泌する *Bmp* と協調的に働いてこの抑制を解除し、内胚葉は心臓に向かって突出し

肝芽を形成する。さらに肝芽は周囲の間葉から様々なシグナル (HGF など) を受けて成長し、かくして肝臓は必ず心臓の近くに形成される。これに対し、膵臓の形成には *Pdx1* の発現が必須である。脊索からのシグナルによりこの部位で Shh の発現が低下すると、*Pdx1* の発現が上昇し膵臓への分化が促進される。さらに、腸管に接近する大きな血管 (背側の大動脈、腹側の卵黄静脈) からのシグナルを受けて内胚葉は背腹で突出し、2つの膵芽が形成されると考えられている。*Pdx1* 発現細胞は外分泌細胞にも内分泌細胞にも分化しようが、その運命決定には複数の転写因子が関与し、それを側方抑制の担い手である Notch 経路が制御している。詳細は省くが、糖尿病との関連で研究は急速に進んでおり、転写因子の組み合わせの違いにより内分泌細胞はさらに複数のタイプへと分化していく。

2. 小腸上皮の幹細胞制御

ここからは成体内で最も速い細胞再生を行う小腸上皮に焦点をあて、発生で使われるシグナル分子が幹細胞の制御にも働くことを解説する。

2.1 幹細胞を制御するシグナル分子

成体の小腸では、吸収面積を増やすために絨毛が発達し、その周囲には数倍の数の陰窩 (クリプト) が存在する。上皮の大部分は吸収上皮細胞から成り、細胞間には杯細胞、内分泌細胞、パネート細胞といった分泌系の細胞が散在している。これらすべての細胞は幹細胞に由来するが、これまでに2種類の幹細胞が報告され、どちらも *Musashi1* (*Msi1*) 等の幹細胞マーカーを発現し多分化能であることが証明されている。1つは、陰窩底部に局在するパネート細胞群のすぐ上、マウスでは陰窩の底から数えて約4個目に位置する細胞である³。この細胞は長い細胞周期をもち、ポリコム複合体の成分である *Bmi1* を高発現する。もう1つは、パネート細胞に隣接し陰窩底部に散在する細胞であり、Wnt 標的遺伝子の1つ、G 蛋白質共役型受容体 *Lgr5* を発現する⁴。前者は幹細胞への脱分化能を保持した分泌系の前駆細胞 (幹細胞予備群) であることが最近提唱されているが、いずれにせよ両者は系譜的にかなり近く、陰窩の定位置に局在している。それでは、細胞再生を維持するために、幹細胞はどのように制御されているのだろうか。これには近くの微小環境 (ニッチ) が重要な役割を担っているが、その分子の実体がようやく明らかになりつつある。ニッチに関わ

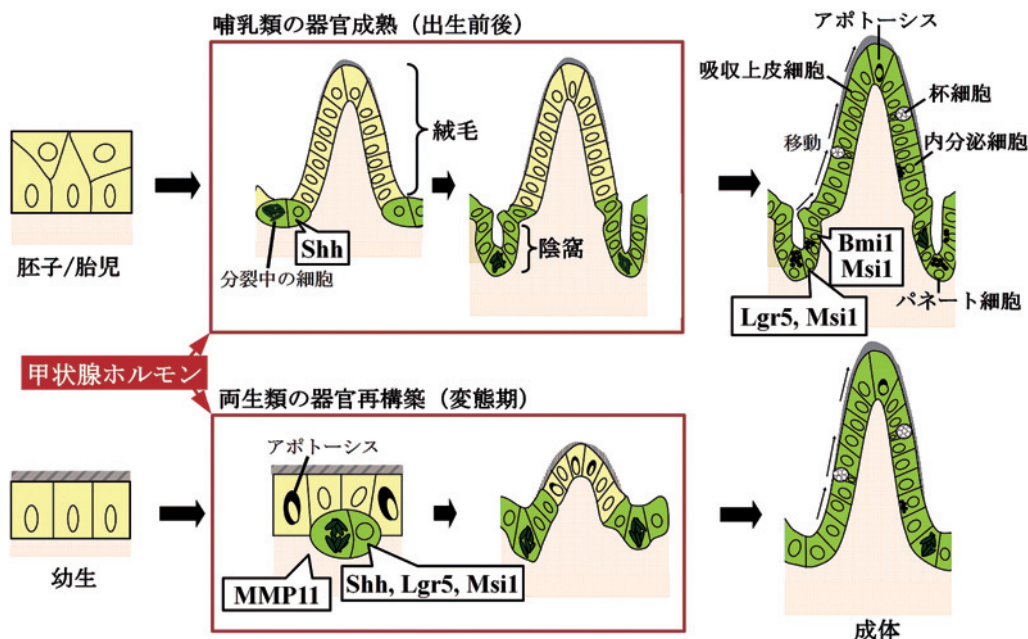


Fig. 2 小腸上皮幹細胞の出現と細胞再生系の確立

哺乳類では出生前後に、両生類では変態期に、血中の甲状腺ホルモンが上昇し、既存の上皮が幹細胞へと脱分化して成体上皮が形成される。成体上皮では幹細胞を元に生涯にわたって細胞再生が行われる（文献8より改変）。

るシグナル分子の1つはWntである。Wntは陰窩のパネート細胞や上皮直下の筋線維芽細胞から分泌され、近くの上皮や間葉に作用して細胞増殖を促進する。また、パネート細胞はNotchのリガンド(Delta)も発現し、隣接する幹細胞のNotch経路を活性化する。これにより幹細胞の未分化状態が維持され、細胞増殖が促進される。さらに分泌細胞へと運命決定した細胞もNotchのリガンドを発現し、隣接細胞のNotch経路を活性化する。この結果、転写因子Hes1の発現が高まり、分泌細胞への分化に必要なMath1の発現が抑制され、隣接細胞は吸収上皮細胞へと分化する。このほか、Shh, FGFなどの細胞増殖因子、ECMやそれを分解するマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)などが陰窩—絨毛軸に沿った発現パターンを示すことが報告され、その機能の解明が待たれている。

2.2 甲状腺ホルモンによる幹細胞制御：両生類変態をモデルとしたアプローチ

細胞再生の要となる幹細胞であるが、その発生学的起源やニッチがどのように形成されるのかは、依然として未知である。この幹細胞研究にユニークな実験モデルを提供しているのが、分子発生学で頻用されるアフリカツメガエルである。両生類では変態期に甲状腺ホルモン(TH)を引き金として全身的な変化が起こ

るが、なかでも消化管の再構築は劇的である。筆者らのこれまでの研究によれば、小腸では変態期にニッチが形成され、その作用を受け既存の幼生上皮の一部がLgr5やMsi1などを発現する幹細胞へと脱分化し⁵、哺乳類類似の成体上皮が形成される(Fig. 2)。したがってこの実験モデルでは、TH応答遺伝子としてニッチ形成因子を解明していくことが可能である。現在までのところ、ニッチ形成に関わる上皮側のシグナルとして最も注目されるのがShhである。ShhはTHに直接応答して幹細胞特異的に発現し、受容体の発現は間葉特異的であり、その細胞増殖を促進する。また、近くの線維芽細胞で誘導されるBmp4は、濃度に依存して幹細胞を維持したり、上皮の細胞分化を促進したりする⁶。一方、間葉側ではTHに直接応答してMMP11が発現する。この酵素は基底膜ECMを構成するラミニンの受容体を分解し、幼生上皮のアポトーシスや成体上皮の間葉への落ち込みを促進することが明らかになっており⁷、哺乳類でも同様の機能が予想されている。

WntやNotch経路に関わるTH応答遺伝子は解析途中であるが、現時点でわかってきたことは、消化管系の初期発生で使われるシグナル経路が、後胚発生でTHを引き金として再び活性化され幹細胞が出現する、ということである。興味深いことに、マウスでも血中のTHレベルが最大になる小腸成熟期に、絨毛間

に位置する既存の胎児上皮が幹細胞へと脱分化することが最近報告され、ヒトでも出生前後の小腸成熟期に TH レベルは最大となる。なぜ TH がこのような働きをもつのかは謎であるが、TH 依存性の幹細胞制御のメカニズムは、水(哺乳類は羊水)から陸への適応のために脊椎動物共通に保存されている可能性が高い⁸。実際、マウスの小腸成熟期にも TH により MMP11 や Shh などの発現が高まり、特に Shh は幹細胞が出現する絨毛間上皮で発現する。また、成体の陰窩上皮には TH 受容体が存在し、Wnt 経路に関わる β -カテニンは TH に直接応答して発現が高まることも報告され⁹、TH 依存性のメカニズムの少なくとも一部は、成体幹細胞の制御にも働いている。

3. 消化器系の疾患との関連

発生に関わる遺伝子の発現異常は、先天異常に直結している。詳細は省くが、ノックアウトマウスの解析などにより、先天異常の原因遺伝子は数多く報告されている。例えば、後腸で Cdx2 の発現を低下させれば大腸は頭方化(胃などへ分化)し、Shh の発現をノックアウトすれば消化器官の多くに異常が生じる。また、遺伝子発現を変化させる催奇形因子も多く報告され、レチノイン酸の過剰摂取による Hox の発現異常など、枚挙にいとまがない。

先天異常のほかに、哺乳類の子宮内での環境が出生後の器官に与える影響も、最近注目されている。例えば、栄養不足の環境で発生すると、膵臓の β 細胞の数が一生涯少なくなってしまう。この原因として環境によるエピジェネティックな変化が考えられ、動物実験では環境により DNA のメチル化が変化し、その変化が生後も続くことが報告されている。

さらに、発生で使われるシグナル経路は幹細胞制御にも使われ、その異常は成体での癌の発生にも関わっている。例えば、Wnt 経路を抑制する APC は、大腸腺腫症の原因遺伝子として有名な癌抑制遺伝子である。その機能が阻害されると β -カテニンが蓄積し、恒常的に経路が活性化されてしまう。また、Shh 経路を抑制する Shh の膜受容体パッチドも、癌抑制遺伝子として知られている。

4. 今後の展望と課題

今世紀の発生生物学は大きな変革の時期にあり、新しい概念が次々と提唱され、医学との関連もさらに強まりつつある。器官形成に関しては現在、「そこで使

われる遺伝子は限られ、特に脊椎動物ではその分子メカニズムは高度に保存されている」と考えられている。繰り返し使われる遺伝子はツールキット(工具箱)とよばれ、その多くはシグナル経路に関わる分子や転写因子などをコードする遺伝子である。限られた遺伝子がなぜ多様性を生み出すのかということ、同じ遺伝子でも使われる時期、場所、コンテキスト(それまでの細胞の歴史を反映したもの)などの違いにより、異なる結果が生じると考えられるからである。まさに大工さんの工具箱のイメージであるが、この大事な道具の使い方について、消化器系も含め、まだ断片的な情報しか得られていないのが現状である。38 億年余りに及ぶ生命の歴史や個体発生の中で、ヒトの細胞にはどのような遺伝的あるいはエピジェネティックな変化が刻まれているのであろうか。その解明は今後の大きな課題である。

おりしも進化生物学は今、第三幕を迎えていると言われている。第一幕はダーウィンの自然選択説、第二幕はそれに遺伝学が結びついた現代の総合説である。しかし、自然淘汰の対象となるのは表現型であり、遺伝子型との間には大きなギャップがある。発生生物学の進歩によりこの隙間を埋めようとするのが第三幕であり、遺伝子のどのような発現変化が表現型をいかに変えるのか、ようやく説明できる段階になったといえる。遺伝子発現に影響を与えるエピジェネティックな変化は、かつては世代ごとにリセットされるといわれていたが、最近では世代を越えて伝わる例も報告されている。地球上の生物が、環境からのエピジェネティックな変化を受けながら共通の祖先から進化したと考えると、ヒトの疾患にも新たな見方、アプローチが今後可能になるであろう。特に、動物誕生以来の長い歴史をもつ消化器系は、進化発生学的に大変興味深い器官系である。また、その上皮では発生で使われるシグナル経路が、生命維持のために一生涯幹細胞を制御し続けている。種々の消化器疾患の発生機序を真に理解するためにも、再生医療の基盤となる情報を提供するためにも、この経路の全貌解明は急務である。

謝辞：消化管発生の面白さを教えていただいた水野丈夫東大名誉教授、共同研究を進めていただいている Yun-Bo Shi 博士 (NIH)、長谷部孝准教授 (生物学) に深謝いたします。

文 献

1. 岡 敦子: 消化器系. 人体発生学. 遠山正彌ほか編. 2003; pp 183-207, 南山堂, 東京.
2. Yasugi S, Mizuno T: Molecular analysis of endoderm

- regionalization. *Dev Growth Differ* 2008; 50 (supple 1): S79-96.
3. Potten CS, Loeffler M: Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development* 1990; 110: 1001-1020.
 4. Clevers H: The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment. *Cell* 2013; 154: 274-284.
 5. Hasebe T, Buchholz DR, Shi YB, Ishizuya-Oka A: Epithelial-connective tissue interactions induced by thyroid hormone receptor are essential for adult stem cell development in the *Xenopus laevis* intestine. *Stem Cells* 2011; 29: 154-161.
 6. Ishizuya-Oka A, Hasebe T: Establishment of intestinal stem cell niche during amphibian metamorphosis. *Curr Top Dev Biol* 2013; 103: 305-327.
 7. Ishizuya-Oka A, Li Q, Amano T, et al: Requirement for matrix metalloproteinase stromelysin-3 in cell migration and apoptosis during tissue remodeling in *Xenopus laevis*. *J Cell Biol* 2000; 150: 1177-1188.
 8. Ishizuya-Oka A, Shi YB: Evolutionary insights into postembryonic development of adult intestinal stem cells. *Cell Biosci* 2011; 1: e37.
 9. Kress E, Samarut J, Plateroti M: Thyroid hormones and the control of cell proliferation or cell differentiation: paradox or duality? *Mol Cell Endocrinol* 2009; 313: 36-49.

(受付 : 2015 年 3 月 31 日)

(受理 : 2015 年 5 月 7 日)

—症例報告—

自然気胸術後病理組織検査で偶然発見された pTis 肺癌の 2 症例

岡本 淳一^{1,2} 北山 康彦³ 竹内 千枝²
許田 典男³ 窪倉 浩俊^{1,2} 白田 実男²

¹日本医科大学武蔵小杉病院呼吸器外科

²日本医科大学呼吸器外科

³日本医科大学武蔵小杉病院病理診断科

Two Cases of p-Tis Lung Cancer in Patients Diagnosed through Histological Study
after Spontaneous Pneumothorax Surgery

Junichi Okamoto^{1,2}, Yasuhiko Kitayama³, Chie Takeuchi²,
Norio Motoda³, Hirotohi Kubokura^{1,2} and Jitsuo Usuda²

¹Department of Thoracic Surgery, Nippon Medical School Musashi Kosugi Hospital

²Department of Thoracic Surgery, Nippon Medical School

³Department of Pathology, Nippon Medical School Musashi Kosugi Hospital

Abstract

Background: Spontaneous pneumothorax is a relatively rare complication of lung cancer. Herein, we report two cases of lung cancer *in situ* with spontaneous pneumothorax as the initial symptom.

Cases: Case 1: A 63-year-old male presented to our outpatient clinic with chest discomfort. He had a collapsed lung, and we inserted a chest drainage tube through the thoracic cavity to re-expand the lung. Computed tomography of the chest showed a large emphysematous bulla at the lung apex. Video-assisted thoracoscopic surgery was used to resect the bulla, and the final pathological diagnosis was an emphysematous bulla with adenocarcinoma *in situ*.

Case 2: A 45-year-old man presented to our outpatient clinic with pain in the left chest and dyspnea. To treat an almost completely collapsed lung, we inserted a chest drainage tube into the thoracic cavity. Air leakage continued for a few days, so we resected the bulla. The final pathological diagnosis was an emphysematous bulla with a squamous cell carcinoma *in situ*.

Conclusion: It is important to consider the possibility of lung cancer in patients with pneumothorax and emphysematous changes, especially in middle-aged or elderly patients.

(日本医科大学医学会雑誌 2015; 11: 161-166)

Key words: emphysematous bulla, carcinoma in situ, pneumothorax, operation

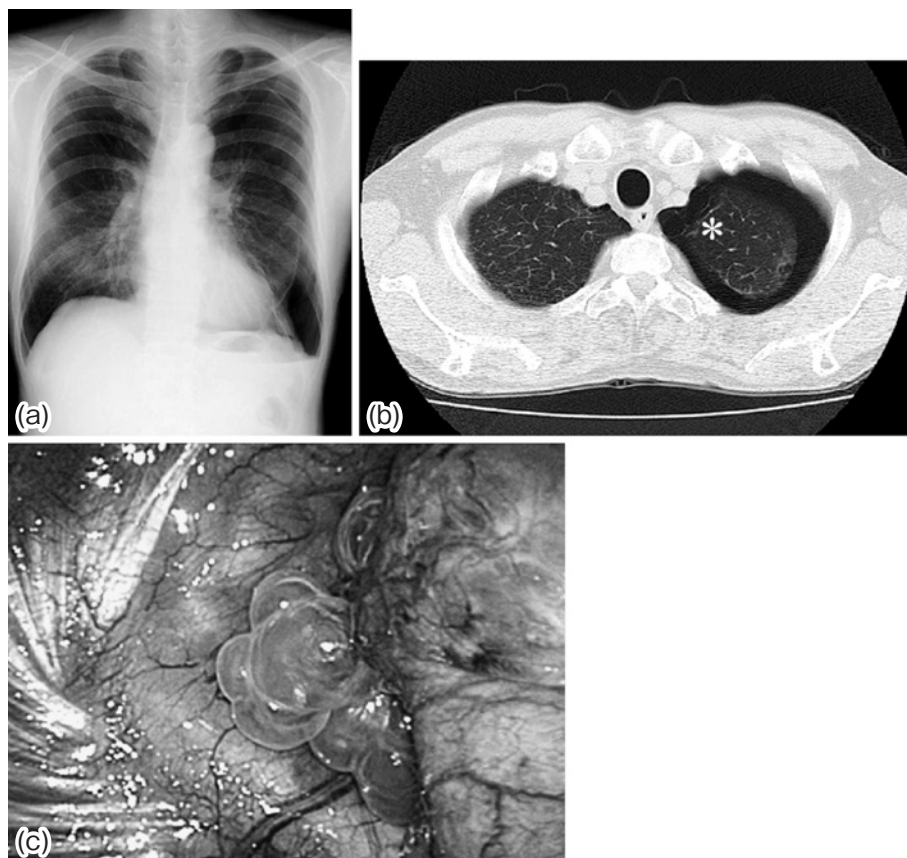


Fig. 1 Case 1. (a) Chest X-ray on admission shows left spontaneous pneumothorax. (b) Preoperative chest computed tomography for pneumothorax detection shows no evidence of carcinoma around the bullous region. Asterisk (*) indicates the bullous lesion at the apex of the lung. (c) The bullous lesion observed at the apex of the lung in Case 1 during surgery.

緒言

自然気胸を初発症状として肺癌が発見されるケースは比較的まれである¹。過去の報告例は自然気胸を契機に来院し、その際に行われた画像診断で嚢胞壁に近接する結節影や壁異常が確認されたものが多い¹⁻³。しかし、画像所見で異常が認められない肺癌症例はより少ないことが示唆される。

今回、われわれは自然気胸の手術時切除標本から偶然発見された、嚢胞壁に存在する pTis 肺癌を 2 症例経験した。本報告は、中高年の気胸において、画像上に変化が認められない場合でも癌が存在し得ることを警鐘するため報告する。

症例

症例 1：63 歳，男性。
主訴：左胸部違和感。

現病歴：胸部違和感を自覚したため来院した。胸部 X 線写真で左中等度気胸（虚脱率 32.2%）がみられ（Fig. 1a），持続胸腔ドレナージを行った。術前胸部 CT 検査（Fig. 1b）で肺尖部を中心に大きな気腫性嚢胞を認めた。再発であることから、手術を行う方針となった。

喫煙歴：20 本/日×45 年間

入院時身体所見：身長 169 cm，体重 63 kg，血圧 130/86 mmHg，心拍数 74/分，整，体温 36.3℃。呼吸音は左側が減弱していた。

入院時検査所見：血液生化学検査で特に異常を認めなかった。

治療経過：胸腔ドレナージ施行するも肺瘻が持続。2 回目の発症でもあり、手術適応と判断した。手術は腋窩小開胸にてアプローチし、左肺尖部ブラ切除術およびブラ縫縮術を施行した。左肺尖部は気腫性変化した部分の一部に肺嚢胞が認められた（Fig. 1c）。術後 1 日目にドレーンを抜去し、術後 2 日目に退院。患者本人にブラ壁に癌が存在していたことをインフォーム

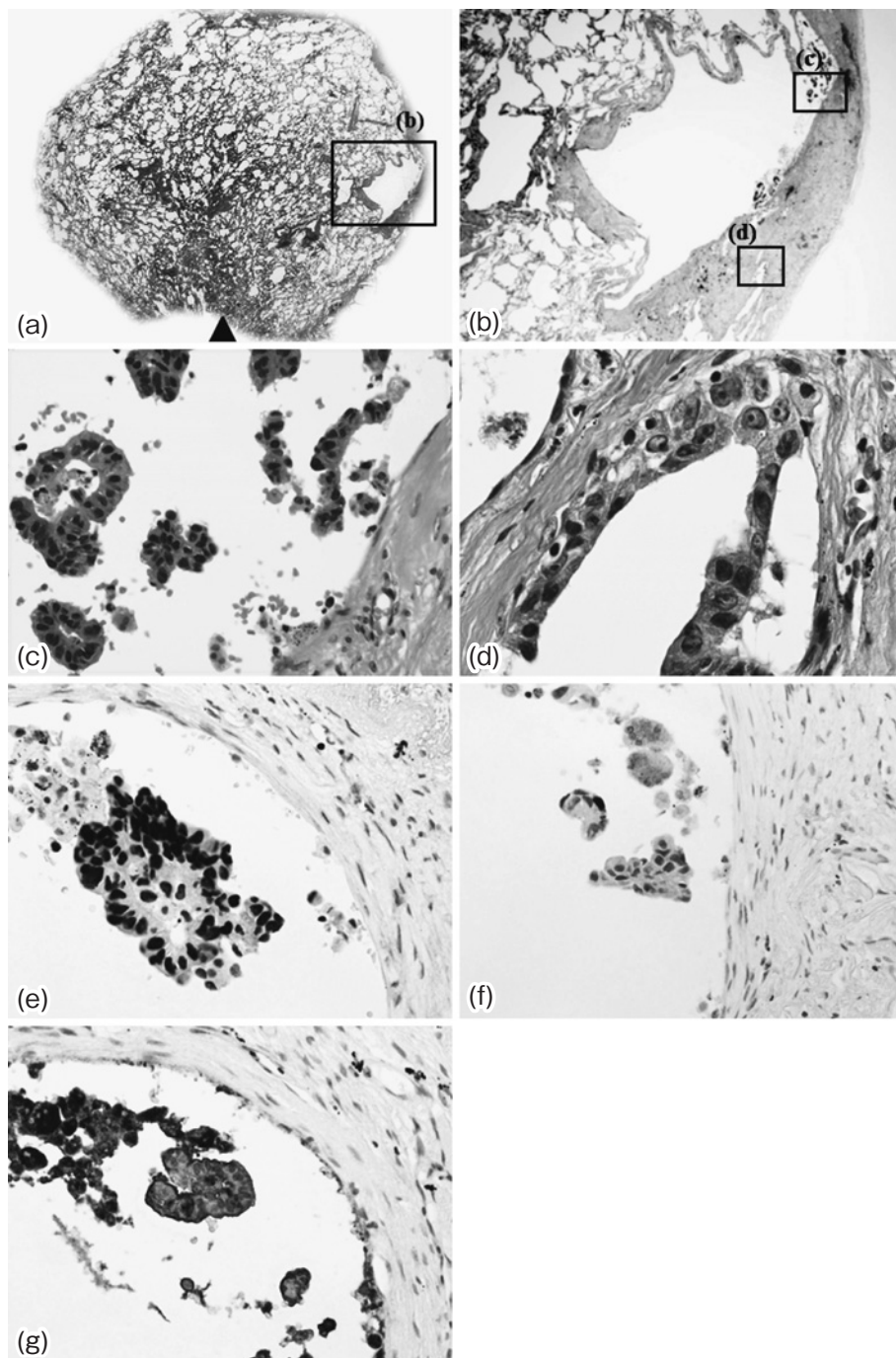


Fig. 2 Histological (hematoxylin and eosin staining) and immunohistochemical findings of the resected specimen of Case 1. (a) Microscopic observations revealed a bullous component in the lung at low magnification. Arrow head (▲) indicates the stapled cut end of the lung. (b), (c), and (d) are magnified images of the area surrounding the bullous lesion. A few atypical glandular cells line and replace the alveolar epithelium in parts of the cells. (e) Cells were positive for p53, as demonstrated by immunohistochemical staining. (f) The ratio of the Ki-1-positive cells increased in atypical epithelial cells. (g) Immunohistologically, most of the atypical cells were positive for carcinoembryonic antigen.

ド・コンセントした上で、追加切除と術後補助療法なしに経過観察しており、現在30カ月無再発生存中である。気胸の再発も認めていない。

病理組織診断：bullaの気腔内を裏打ちするように少量の異型上皮様細胞が存在した。一部に肺胞上皮を置換し、線維性結合組織内にも異型腺管が1個のみ存

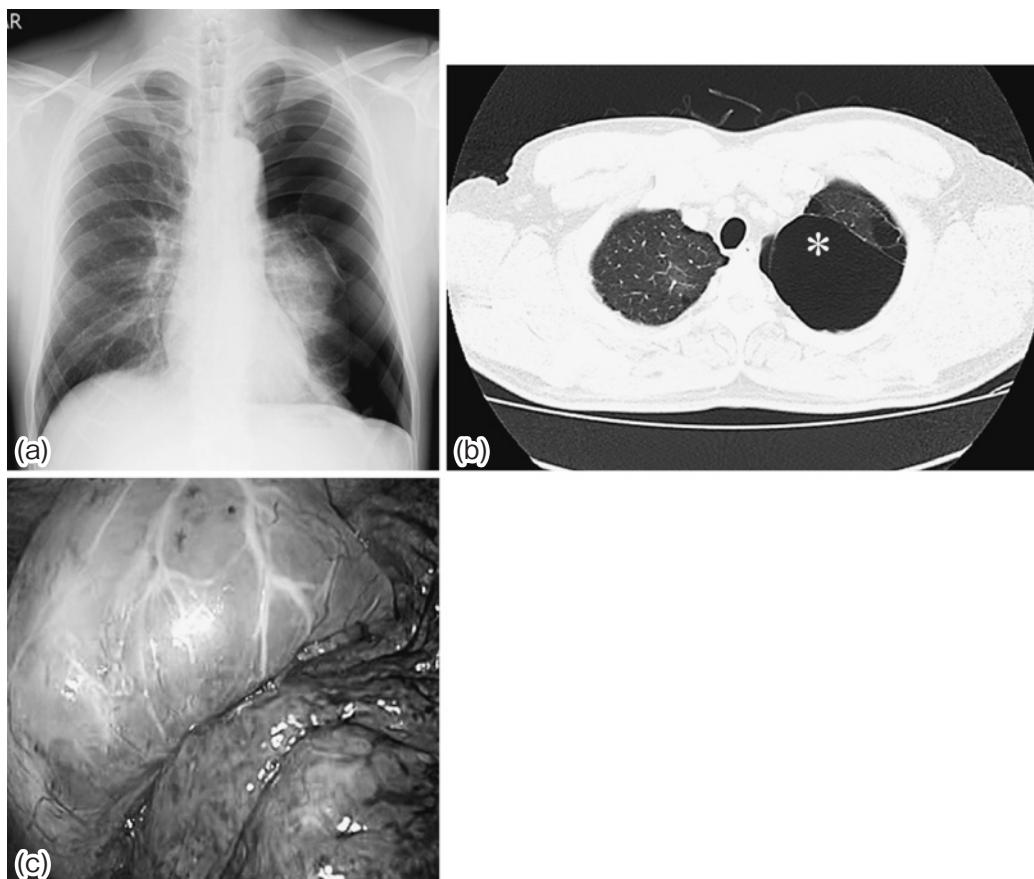


Fig. 3 Case 2. (a) Chest X-ray on admission shows left spontaneous pneumothorax. (b) Preoperative chest computed tomography for pneumothorax detection shows no evidence of carcinoma around the bullous region. Asterisk (*) indicates the bullous lesion at the apex of the lung. (c) The bullous lesion observed at the apex of the lung in Case 2 during surgery.

在していた。また、胸膜への露出は認めなかった(Fig. 2a~e)。明らかな浸潤性はなく、その他の部位には存在しなかった。これら、異型上皮様細胞につき p53 ではほぼすべての細胞に強陽性(Fig. 2f)で MIB-1 index (data not shown) も高く CEA も陽性(Fig. 2g)であった。以上より pTis 肺腺癌と診断された。切除断端も癌細胞は存在しなかった。

症例 2: 45 歳, 男性。

主訴: 左胸痛, 呼吸困難。

現病歴: 左胸痛と息苦しさを自覚し前医を受診し, 胸部 X 線写真で左気胸と診断(Fig. 3a)。高度気胸(虚脱率 64.6%)であったことから当院へ紹介, 緊急入院となった。

喫煙歴: 20 本/日 × 25 年間

入院時身体所見: 身長 172.6 cm, 体重 80.2 kg, 血圧 130/86 mmHg, 心拍数 74/分, 整, 体温 36.3°C。呼吸音は左側が著しく減弱していた。

入院時検査所見: 血液生化学検査で特に異常を認めなかった。

治療経過: 入院時より持続胸腔ドレナージを開始した。入院後に行った胸部 CT で肺尖部に集簇する気腫性肺嚢胞が多発しており, 特に肺尖部に著明に大きな嚢胞が存在していた。明らかな結節性病変は認めなかった(Fig. 3b)。数日間, 持続胸腔ドレナージを行ったが肺瘻が持続したため手術を行う方針となった。術中所見は, 腋窩小開胸を作成し胸腔鏡補助下で行った。ブラは肺尖部(S¹⁺²~S⁶)に集簇しており, 最も大きなものは大畑 II 型と判断した。また, 肺は全体的に気腫化しており, 胸膜の一部にはプラークが存在していた。自動縫合器で肺尖部の嚢胞を切除し, 残存した気腫性嚢胞を結紮した上で, PGA(ポリグルタル酸)シートで補強し終了した(Fig. 3c)。術後 1 日目に胸腔ドレーンを抜去し, 術後 3 日目に退院となった。患者本人にブラ壁に癌が存在していたことをインフォームド・コンセントした上で, 追加切除と術後補助療法なしに経過観察の方針とした。18 カ月無再発生存中。また, 気胸の再発も認めていない。

病理組織診断: 膠原線維と血管からなる bulla の壁

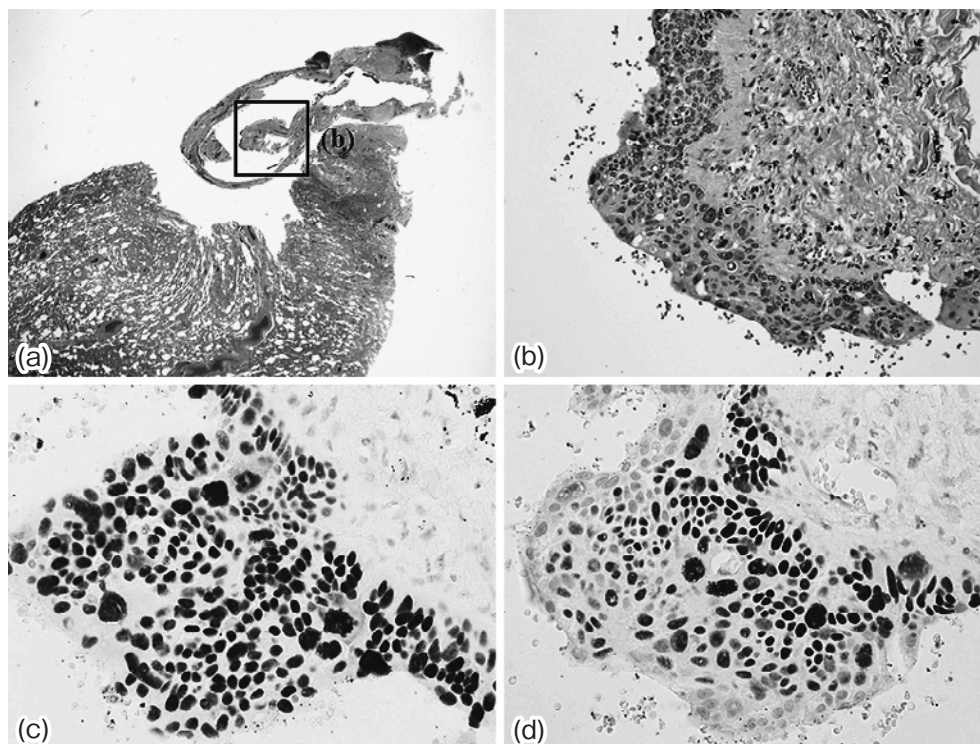


Fig. 4 Histological (hematoxylin and eosin stain) and immunohistochemical findings of the resected specimen of Case 2. (a) Microscopic observations revealed a bullous component in the lung at low magnification (b) A magnified image of the area surrounding the bullous lesion. (c) Staining of the epithelial cells shows swollen hyperchromatic nuclei with severe atypia and show loss of polarity. Many atypical cells were positive for (c) p63 and (d) p53, as determined by immunohistochemical staining.

内を置換するように、核が腫大し粗雑なクロマチンと明瞭な核小体を持つ核/細胞質 (N/C) 比の高い異型細胞が層を成して増生していた (Fig. 4a~b)。p53 がびまん性に強陽性 (Fig. 4c) p63 も陽性 (Fig. 4d) であり、以上から Squamous cell carcinoma in situ と診断された。切除断端に癌細胞は存在しなかった。

考 察

気胸を初発症状として発見される原発性肺癌はまれであり、肺癌全体の1%以下と報告されている¹。気胸合併肺癌は病理病期 I_A 期であったにもかかわらず、気胸発生から2年で亡くなった例も報告されている¹。また岡田らの検討では、気胸に肺癌が併発したケースは1,557例中4例で、割合は0.003%であった²。Steinhäuslinらは、気胸を初発症状としない例も含んでいるが、気胸合併肺癌症例の平均年齢は57.1歳で男性(90%)、扁平上皮癌(90%)が多く、1年生存率17%で平均生存期間5.2カ月と予後不良であると報告している³。また病理病期 I 期症例の比較では、肺嚢胞に合併した肺癌は、肺嚢胞非合併群の肺癌に対

して予後に有意差は見られないという報告⁴もある。幸い現時点では2症例ともに無再発生存中である。今後も厳重に経過観察が必要と考えられる。

われわれが経験した2症例は、気胸を原因として手術をした結果、偶然、病理で pTis 肺癌と判明した症例であった。気腫性肺嚢胞に肺癌が発生する因子としては喫煙との関連性や嚢胞壁の扁平上皮化或は嚢胞壁の癒痕の癌化などが指摘されている⁵。本症例も2症例ともに重喫煙者であった。また自然気胸が肺癌と関連する可能性を示唆する因子として年齢が関連しているとされ、40歳以上では重喫煙者、慢性気管支炎、気腫性肺嚢胞、ドレナージ後再膨張不良例であった。40歳以下では気胸再発を繰り返す症例が指摘されている³。癌化の機序は不明であるが、病理所見上で線維部分に存在していたことから嚢胞壁の癒痕からの癌化が示唆された。プラに肺癌が発生しやすい要因として①嚢胞内に吸入された癌原因物質が長くとどまること。②嚢胞壁の扁平上皮化生からの発癌。③嚢胞壁の癒痕からの発癌が考えられている⁶。気腫性肺嚢胞に肺癌が合併する頻度は非合併例の32倍であると Stoloffらは報告している⁷。また一般的に、肺癌に伴

Table Cases of lung cancer incidentally detected by post-operative pathological exam, following with spontaneous pneumothorax

Author	Year	Age	Sex	Tumor diameter	Histology	Pathological stage
Yokosuka et al ¹⁰	2006	42	M	8 mm	Pulmonary Choriocarcinoma	N/A
Omiya et al ¹¹	2012	79	M	7 mm	Adenocarcinoma	IA
Our case		63	M	CIS	Adenocarcinoma	0
		45	M	CIS	Squamous cell carcinoma	0

N/A: Not Available

CIS: Carcinoma in situ

う続発性気胸の原因は次のような場合と提唱されている⁸。①胸膜直下に発生した癌が、偶然併存したブラに浸潤して気胸となる場合。②肺門部に発生した癌によって気管支が閉塞し、check valveとなって肺の末梢が過膨張しブラが破裂するという場合。③他肺葉が癌によって無気肺となった影響で同側の肺葉が過膨張し気胸となる場合などである。その他にも上記理由で説明がつかない場合もあるが、必ず気胸と肺癌は同側の肺に存在することから、何らかの関連はあるといわれている¹。われわれが経験した2症例では、多発していたブラのうち癌の浸潤はごく一部にしか認められていなかった。これより本2症例は、ブラ壁にできた肺癌と、ブラの破綻による気胸が偶然に併発したと考えられた。

発生する組織型については、気腫性肺嚢胞に合併した肺癌の組織型は腺癌(54%)、大細胞癌(28%)、扁平上皮癌(15%)、腺扁平上皮癌(2%)であったと報告されているが⁹、渡辺ら⁹は、自然気胸を契機に発見された肺癌の組織型は腺癌(45%)、扁平上皮癌(33%)、大細胞癌(22%)であったと報告している。われわれが経験した症例は腺癌と扁平上皮癌であった。これまでの報告例と比較しても特異的ではなかったといえる。Tableは気胸術後に診断された肺癌の本邦報告例との比較である^{10,11}。本症例はcarcinoma in situ (CIS)の状態で見られておりよりまれな症例といえる。

結 語

中高年齢患者における気胸、とくに気腫性変化を伴った症例においては、肺癌の合併している可能性も考慮し、詳細な病理診断による検討が必要と考えられる。また、ブラの穿破による癌細胞の胸腔内播種の可

能性もあり、術後厳重な経過観察が必要である。

本論文の内容は第54回日本呼吸器学会学術講演会に発表した。

本論文の内容に関連する著者の利益相反は無い。

文 献

1. 塚本東明, 佐藤 徹, 山田敬子, 長沢正樹: 自然気胸を初発症状とした原発性肺癌症例の検討. 日胸疾会誌 1995; 33: 936-939.
2. 岡田大輔, 笹井 巧, 田中茂夫: 自然気胸を契機に発見された小型肺癌の2症例. 日呼外会誌 2002; 26: 26-30.
3. Steinhäuslin CA, Cuttat JF: Spontaneous Pneumothorax. A Complication of Lung Cancer? Chest 1985; 88: 709-713.
4. Hanaoka N, Tanaka F, Otake Y, et al: Primary lung carcinoma arising from emphysematous bullae. Lung Cancer 2002; 38: 185-191.
5. 小林正嗣, 大野貴司, 今村直人, 糸井和美, 寺町政美: 気腫性肺嚢胞壁に発生した肺尖部胸壁浸潤多形癌の一切除例. 日呼外会誌 2008; 23: 740-743.
6. 八田 健, 松原正秀, 坪田紀明ほか: 肺嚢胞内に発育した肺癌の一切除例. 肺癌 1987; 27: 189-193.
7. Stoloff IL, Kanofsky P, Magilner L: The risk of lung cancer in males with bullous disease of the lung. Arch Environ Health 1971; 22: 163-167.
8. Vencevičius V, Cicėnas S: Spontaneous pneumothorax as a first sign of pulmonary carcinoma. World J Surg Oncol 2009; 7: 57.
9. 渡辺健寛, 濱田利徳, 岡田 英, 広野達彦: 自然気胸を契機に発見された22歳女性肺癌の1例. 肺癌 2004; 44: 705-708.
10. 横須賀哲哉, 小林利子, 中野絵里子: 気胸で発症し、切除標本内に偶然発見された肺原発絨毛癌の1例. 肺癌 2006; 46: 211-214.
11. 大宮英泰, 高見康二, 栗山啓子, 真能正幸: 自然気胸手術標本で偶然発見された肺癌の1例. 日呼外会誌 2012; 26: 71-74.

(受付: 2014年12月26日)

(受理: 2015年2月7日)

—JNMS のページ—

Journal of Nippon Medical School に掲載した Original 論文の英文 Abstract を、著者自身が和文 Summary として簡潔にまとめたものです。

Journal of Nippon Medical School

Vol. 82, No. 1 (2015 年 2 月発行) 掲載

Glomerular Capillary and Endothelial Cell Injury is Associated with the Formation of Necrotizing and Crescentic Lesions in Crescentic Glomerulonephritis
(J Nippon Med Sch 2015; 82: 27-35)

半月体形成性糸球体腎炎の壊死性・半月体形成性病変の発症には糸球体係蹄内皮細胞傷害が関連している

藤田恵美子¹ 長濱清隆² 清水 章² 青木路子^{1,2}
肥後清一郎^{1,2} 安田文彦^{1,2} 三井亜希子¹ 福井めぐみ¹
金子朋広¹ 鶴岡秀一¹

¹日本医科大学腎臓内科学

²日本医科大学解析人体病理学

半月体形成性糸球体腎炎の病理所見は壊死性・半月体形成性病変に特徴づけられる。本論文の目的は、壊死性・半月体形成性糸球体病変の発症や進展に関わる糸球体毛細血

管傷害の特徴を明らかにすることである。

抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連血管炎 (n=45)、抗糸球体基底膜腎炎 (n=7)、ループス腎炎 (n=21)、紫斑病性腎炎 (n=45) の腎生検組織を用いて、光顕、電顕に加えて、CD34 の免疫染色により血管内皮細胞を同定し、壊死性・半月体形成性病変と糸球体内皮細胞傷害の関連について検討した。すべての疾患で、急性期の壊死性糸球体病変には CD34 陽性の糸球体係蹄内皮細胞の消失を伴っていた。CD34 陽性細胞の消失範囲の拡大とともに、糸球体にはフィブリンの析出や糸球体基底膜の断裂がみられ、周囲に細胞性半月体の形成を認めた。電顕所見では、フィブリンの析出とともに糸球体係蹄の破壊がみられた。壊死性・半月体形成性病変が慢性期へと移行すると、CD34 陽性糸球体係蹄の消失範囲が拡大し、糸球体硬化病変の進展がみられ、細胞性半月体も線維細胞性半月体から線維性半月体へと移行した。半月体を伴わずに残存する糸球体分葉も、慢性期になると糸球体虚脱傾向を認め、内皮細胞消失を伴い糸球体硬化の進展がみられた。

壊死性・半月体形成性糸球体病変は、異なる病態により発症する場合でも、その病変形成には内皮細胞傷害を伴う糸球体係蹄の消失が関連していた。その進展には、糸球体毛細血管の脱落の拡大による糸球体硬化の進展と線維性半月体への移行が認められた。壊死性・半月体形成性糸球体腎炎の発症、進展には、糸球体内皮細胞傷害が関連している。

—集会記事—

第25回学校法人日本医科大学
外国人留学者研究会抄録

日 時：2015年2月21日(土)午後1時00分～午後4時00分

会 場：日本医科大学基礎医学大学院棟地下1階第4・5実習室(千駄木校舎)

本学内分泌外科における臨床留学と帰国後の展望

Wilairat Prasert^{1,2}, 五十嵐健人¹, 岡村律子¹, 杉谷 巖¹¹日本医科大学内分泌外科学²Thammasat University・タイ

内視鏡を用いた甲状腺手術は急速に広まっている。タイでも腋窩アプローチに手術が行われているが、日本医科大学で開発された内視鏡補助下甲状腺手術(VANS法)は行われていない。タイでの乳癌患者の約50%は早期であるため、腋窩のセンチネルリンパ節生検が必要であり、腋窩アプローチの場合、術後にその部位での問題が生じる。したがって、VANS法は腋窩を操作することがなく、乳癌の手術の際にも影響が生ずることが少ないため、有用性が高いと考えられる。

今回私は、日本医科大学でVANS法を学ぶために留学しました。一年間ではありますが、タイでVANS法を普及させるために頑張りたいと思います。今回、私の日本での臨床経験とその経験を生かした将来展望を報告いたします。

Personal Experience of Clinical Training in Japan, Focusing on VANS Operation

Wilairat Prasert

In thyroid surgery, endoscopic techniques have been rapidly developed in the world, because of cosmetic benefit. Endoscopic thyroidectomy via axillary approach is the most popular technique, unfortunately the Video-assisted neck surgery (VANS) method have not been introduced in Thailand. The VANS method has some advantages compare to axillary approach. It has a most important advantage over the axillary approach such as avoidance of axillary scar which might be effect future sentinel lymph node biopsy (SLNB) for early breast cancer. In view of 50% of early breast cancer detection rate in Thailand, SLNB is the first choice and avoiding the scar in the axilla will be of an advantage.

The main purpose of my clinical training in Japan is to learn the VANS technique. I had a chance to assist and later to do the surgery under supervision after acquiring my certificate of permission in clinical training. One year-training is not enough to be a skillful surgeon, but I have got the concepts to implement VANS as an option of endoscopic thyroidectomy in Thailand.

食道癌患者における好中球/リンパ球比および血小板/リンパ球比の予後予測因子としての有用性—メタアナリシスによる検討—

Hariruk Yodying^{1,2}, 横室茂樹¹, 松田明久¹, 宮下正夫¹¹日本医科大学千葉北総病院外科²Srinakarinwirot University・タイ

【背景】近年、種々の癌において全身性の炎症性生体反応が癌の増殖、予後の悪化に関連することが報告されている。炎症および免疫学的指標の一つである好中球/リンパ球比(neutrophil/lymphocyte ratio: NLR)および血小板/リンパ球比(platelet/lymphocyte ratio: PLR)は、癌患者の予後因子であること、かつ簡便で安価であることからその有用性が報告されている。しかし、食道癌症例におけるその予後因子としての報告はcontroversialであり、今回メタアナリシスによる検討を行った。

【方法】医学データベースによる該当文献の網羅的検索の後、メタアナリシスを行った。評価項目として、全生存(overall survival: OS)、無病生存(disease-free survival: DFS)、および臨床病理学因子を検討した。メタアナリシスは、random-effect modelを用いhazard ratio (HR)または、odds ratio (OR)を算出した。

【結果】最終的に7つのretrospective study(全1,540症例)が抽出され、高NLR(7研究)および高PLR(4研究)は、食道癌治療切除後のOSにおける有意な予後予測因子であった(NLR: HR: 1.40, 95%CI: 1.08~1.81, P=0.01, PLR: HR: 1.59, 95%CI: 1.14~2.21, P=0.006)。しかし、DFS解析においてはNLR, PLRともに有意差を認めなかった。術前治療を行わず治療切除を施行した症例では、PLRのみがOSにおける有意な予後予測因子であった(HR: 1.85, 95%CI: 1.50~2.28, P<0.00001)。また、高NLR, 高PLRともに深達度およびリンパ節転移に有意に関連した。

【結論】簡便な炎症および免疫学的指標であるNLR, PLRは、食道癌患者の癌進行度に関与し、治療切除後の有用な予後予測因子となる。将来的にこれらの指標をもとにしたオーダーメイド癌治療の開発が望まれる。

Prognostic Significance of Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Platelet to Lymphocyte Ratio in Oncological Outcomes of Esophageal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis

Hariruk Yodying

BACKGROUND: Recently, there is increasing evidence that systemic inflammatory response has been associated

with poor prognosis in various types of cancers. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and platelet to lymphocyte ratio (PLR) are inflammation and immunological-based prognostic scores in cancer patients that are readily available and inexpensive which could be use in daily oncologic clinical practice. However the significance in esophageal cancer is controversial. The aim of this study is to evaluate the prognostic significance of these scores in Esophageal cancer using meta-analysis.

METHOD: Comprehensive electronic database searching was performed to yield studies which evaluated the prognostic implication of pretreatment NLR and PLR in esophageal cancer patients. The endpoints of this meta-analysis are overall survival (OS), disease free survival (DFS), and clinicopathological parameters. A meta-analysis was performed using random-effects models to calculate hazard ratio (HR) or odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (CI).

RESULT: Seven retrospective observational cohort studies, with a total of 1,540 patients (1,173 squamous cell carcinoma, 306 adenocarcinoma, and 61 other malignant cell types) were included. From all studies that included treatments with curative intent such as surgery, chemoradiation, and the combination (7 studies in NLR, 4 studies in PLR), both high NLR (HR: 1.40, 95%CI: 1.08~1.81, P=0.01) and high PLR (HR: 1.59, 95%CI: 1.14~2.21, P=0.006) significantly predicted poorer OS compared with low respective values. In DFS analyses, both NLR and PLR were not significant predictors. In a subgroup analysis of patients who underwent surgery without neoadjuvant treatment (3 studies in NLR, 3 studies in PLR), high PLR significantly predicted poorer OS (HR: 1.85, 95%CI: 1.50~2.28, P<0.00001) but not in high NLR compared with low respective values. Both high NLR and high PLR were significantly associated with deeper invasion (OR: 2.11, 95%CI: 1.23~3.60, P=0.007) (OR: 1.60, 95%CI: 1.19~2.14, P=0.002) and lymph node metastasis (OR: 2.14, 95%CI: 1.12~4.08, P=0.009) (OR: 1.67, 95%CI: 1.26~2.22, P=0.0004).

CONCLUSION: For curative esophageal cancer patients, elevated pretreatment PLR is associated with poorer survival. Eventually elevated NLR may not predict the survival, Both elevated PLR and NLR are associated with deeper invasion and lymph node metastasis. The simple and inexpensive inflammation and immunological-based values of NLR and PLR are associated with tumor progression and could be a predictor for poorer survival in patients with esophageal cancer. We can use both values in conjunction with clinicopathological parameters for making treatment decisions and predicting the treatment outcomes.

メカノバイオロジーを応用した脂肪組織再生

Yi Yuan^{1,2}, 小川 令¹, Feng Lu², 百束比古¹

¹日本医科大学大学院形成再建再生医学

²南方医科大学南方医院・中国

【目的】 Findlay らは 78.5 mL のポリカーボネイトチャンバーをブタの鼠径皮下に移植し、脂肪組織の再生を試みた。それぞれのチャンバーには血流で栄養される 5 mL の脂肪弁を挿入した。その結果、時間経過とともに脂肪組織は増大し、5 倍以上の体積となったと報告したため、われわれもウサギを用いて追試を行った。

【方法】 種々の形状のチャンバーをウサギの背中に移植し、脂肪組織再生を試みた。形成された脂肪組織は免疫染色で評価した。

【結果】 チャンバーの形どおりの脂肪組織が再生され、さらに新しい脂肪組織が、脂肪組織由来幹細胞から再生されている可能性が示された。

【考察】 脂肪組織は生体で種々の物理的刺激に晒されているが、チャンバーが挿入されたことで物理的刺激が減弱し、細胞骨格の張力が減弱し、RhoA シグナル伝達を介し、脂肪生成が促進されたと推測した。そこで *in vitro* において、脂肪組織由来幹細胞に静的な張力を加えたり、張力を減弱した上で、脂肪細胞へ分化誘導し、変化が生じるかを検討している。細胞骨格や脂肪分化を免疫染色や RT-PCR などで評価した結果、幹細胞に与えられた張力が弱いと細胞骨格が緩くなり、脂肪細胞への分化誘導が促進されることが示唆された。

Adipose Tissue Regeneration Based on Mechanobiology

Yi Yuan

【Purposes】 Findlay et al. subcutaneously implanted polycarbonate tissue-engineering chambers into the groins of pigs. Each chamber included a pedicled fat flap. This approach increased the volume of the fat flaps by more than 5-fold, thus we confirmed this result using rabbit.

【Methods】 Different shape chambers were used to get different shape fat tissue. Regenerated tissues were evaluated by immunohistochemistry.

【Results】 Various shape adipose tissues were regenerated and found that the new adipocytes may derived from stem cells.

【Discussions】 Physiologically, cells in adipose tissue are exposed to various mechanical forces. We hypothesized that the insertion of chamber and separation of fat flap from surrounding tissue changed the stretch loaded on cells, which resulted in the reduction of cytoskeletal tension promoted adipogenesis through RhoA signaling pathway. Thus, we are now doing *in vitro* study to prove this hypothesis. We have loaded static stretch or decreased the stretch on adipose-derived stem cells, and then induced to adipocytes. The cytoskeleton and adipogenesis were evaluated by immunofluorescent staining and RT-PCR. The results showed that the stress

fiber of cells was looser and adipogenic differentiation of stem cells were more accelerated when stretching force of ASCs decreased.

牛トロウイルスの HE 蛋白の生物学的活性に関する研究

Md. Taimur Islam^{1,2}, 田口文広¹

¹日本獣医生命科学大学獣医感染症学

²Bangabandhu Sheikh Mujibur Rahman

Agricultural University · バングラデシュ

牛の下痢原因ウイルスである牛トロウイルスは粒子上に赤血球凝集能とエステラーゼ活性がある HE 蛋白を持っているが、培養細胞継代株では HE 蛋白欠損粒子となる場合が多い。このことは、HE 蛋白は動物体内でのウイルス増殖に必要であるが、培養細胞では反って増殖抑制的に作用する可能性を示唆している。そこで HE 保有 Ni-2 株と HE 欠損 Ni-3 株の培養細胞内での増殖を比べると、HE 保有 Ni-2 株がより効率よく増殖した。この実験結果はわれわれの仮説と異なるが、培養細胞内での増殖には HE 蛋白以外のウイルス蛋白が関与している可能性がある。そこで、今回の実験では、牛から分離され継代歴の浅い Ni-3 株で HE を持つウイルス株と継代が進み HE を持たないウイルス株を樹立し、両者の培養細胞内での増殖を比べたところ、HE 欠損株が有為に高い増殖性を示し、HE 蛋白は培養細胞での増殖に抑制的に働くことを示している。今後は、HE 蛋白が培養細胞でのウイルス増殖を抑制するメカニズムや動物体内で果たす役割について検討したい。

Biological Characterization of Hemagglutinin-Esterase Protein (HE) of Bovine Torovirus

Md. Taimur Islam

Bovine torovirus causing diarrhea in calves contains hemagglutinin-esterase (HE) protein on the viral envelope, though HE is often missing on the virion after several times passage in cultured cells. This suggests that HE protein is not indispensable for the replication in cultured cells but probably is an obstacle for virus replication. If so, the virus without HE multiplies more efficiently in cultured cells than the virus with HE. To see whether this is the case or not, we compared the growth of the virus with HE (Ni-2) with the virus without HE (Ni-3) and obtained the result that Ni-2 grows more efficiently than Ni-3. This result is in contrast to our hypothesis, however, it might be possible that the differences other than HE between Ni-2 and Ni-3 may be involved in the growth difference. Then, we isolated Ni-3 with HE from the viruses with low passage level. Ni-3 with HE is less replicative than Ni-3 without HE in cultured cells. After that, we prepared cloned Ni-3 with HE and Ni-3 without HE protein and found that the growth rate of cloned Ni-3 without HE is higher than that of cloned Ni-3 with HE in cultured cells. This might suggest that HE has some unfavorable effect on the growth in cultured cells. Further studies are necessary

to clarify the role of HE in the viral growth in cultured cells. Also, it is important to see the role of HE in the infected animals.

最少容量法でガラス化凍結保存されたウシ卵核胞期卵の生存性

Yunitasari Amalia^{1,2}, 牛島 仁¹

¹日本獣医生命科学大学動物生殖学

²As-Syafiiyah Islamic University · インドネシア

ガラス化保存は細胞を氷点下で可逆的に保存する方法であるが、ガラス化ならびに加温時操作時に起こる物理的要因が保存後の生存性に影響を及ぼす。本ガラス化試験では最少容量法 [Kuwayama et al, 2002] を用いてウシ卵核胞期卵を保存するとともに、その後の成熟能を調べた。用いたガラス化法の要点は、重層の卵丘細胞に包まれた卵を実験に用いること、保存する際のガラス化液量を 0.1 μ L 以下にすること、ガラス化操作は室温で、加温操作は 38.5°C でそれぞれ 1 分行うことである。採取した卵胞卵を 3 区に分け、Group I を対照区、Group II をガラス化保存区、Group III をガラス化-加温の 5 回負荷を加えた区とした。対照区のガラス化-加温後の GV 卵はすべて生存しており、培養後の成熟率 (46/50) は、非ガラス化卵の成熟率 (47/50) と同等であった ($p > 0.05$)。また、ガラス化を 5 回繰り返した GV 卵の成熟率は同等 (27/30) で、その他の影響も認められなかった。

Survivability of Germinal Vesicle Bovine Oocytes Vitrified by Minimum Volume Cooling Method

Yunitasari Amalia

Vitrification is used to storage the cell in subzero temperature and activated anytime in the future. Physical factor has a big influence on vitrification during storage and on the warming. This vitrification experiments was conducted to examine the maturation rate of bovine oocytes at germinal vesicle stage using the minimum volume cooling (MVC) method [Kuwayama et al, 2002], which consisted in minimum volume 0.1 μ L, using oocytes surrounded cumulus cell layers, had a medium temperature of vitrification solution (VS) at 24°C and thawing solution (TS) at 38.5°C, time of exposure in VS and TS was just 1 minute. Oocytes were assigned to three groups. Group I was designed as the control (no treatment). Group II was examined using MVC method. Group III was repetition of MVC method for five times. The results indicated that the MVC method was suitable for immature bovine oocytes to reach maturation nearest the control group ($p > 0.05$). Moreover, five times repetition of vitrification and warming process using MVC method had achieved same rate (27/30) of maturation to one time process, thus no detrimental effect was observed.

定期的な運動は脳内セロトニン量に依存せず、うつ様行動を改善した

李 鎬成^{1,4}, 三上俊夫², 大野 誠³, 太田成男¹

¹日本医科大学大学院加齢科学系細胞生物学

²日本医科大学スポーツ科学

³日本体育大学健康科学・スポーツ医科学系

⁴日本体育大学大学院体育科学(修士)・韓国

【背景】脳内セロトニン(5-HT)量と海馬の神経新生はうつ病の発症・改善と関係があるとされている。また、運動は抗うつ作用を有する。そこで本研究では運動のもたらす抗うつ作用に脳内5-HT量と海馬の神経新生が関与するか否かを検討した。

【方法】7週齢のC57/BL6雄マウスを以下の5群に分け4週間飼育した。コントロール、トリプトファン(TRP)欠乏、TD+慢性ストレス(CUS)、TD+CUS+中強度運動、TD+CUS+高強度運動。C群以外はTRP欠乏食で飼育した。CUSは朝と夜にストレスを負荷した。さらに運動群には週3回の頻度で各強度の運動を行わせた。4週間後にうつ様行動の判定、記憶力、海馬でのTRP、5-HT、ノルアドレナリン量、および神経新生を測定した。

【結果】1. TRP欠乏とCUSによりうつ様行動が生じ、これは運動により改善した。2. TRP欠乏食により5-HT低下が生じ、この低下は運動により改善しなかった。しかし、継続的な運動を行わせた群では中および高強度運動ともにノルアドレナリンが増加した。3. CUSは海馬の神経新生を低下させ、この低下は運動により改善した。

【結論】中、高強度運動による抗うつ効果は、脳内5-HT量に依存せず海馬の神経新生の改善に関係することが示唆された。

Regular Moderate or Intense Exercise Prevents Depression-like Behavior without Change of Hippocampal Tryptophan Content in Chronically Tryptophan-deficient and Stressed Mice

Hosung Lee

Regular exercise has an antidepressant effect in human subjects. Studies using animals have suggested that the antidepressant effect of exercise is attributable to an increase of brain 5-hydroxytryptamine (5-HT); however, the precise mechanism underlying the antidepressant action via exercise is unclear. In contrast, the effect of 5-HT on antidepressant activity has not been clarified, in part because the therapeutic response to antidepressant drugs has a time lag in spite of the rapid increase of brain 5-HT upon administration of these drugs. This study was designed to investigate the contribution of brain 5-HT to the antidepressant effect of exercise. Mice were fed a tryptophan-deficient diet and stressed using chronic unpredictable stress (CUS) for 4 weeks with or without the performance of either moderate or intense exercise on a treadmill 3 days per week. The findings demonstrated that the onset of depression-like behavior is attributable not to chronic

reduction of 5-HT but to chronic stress. Regular exercise, whether moderate or intense, prevents depression-like behavior with an improvement of adult hippocampal cell proliferation and survival and without the recovery of 5-HT. Concomitantly, the mice that exercised showed increased hippocampal noradrenaline. Regular exercise prevents the impairment of not long-term memory but short-term memory in a 5-HT-reduced state. Together, these findings suggest that: (1) chronic reduction of brain 5-HT may not contribute to the onset of depression-like behavior; (2) regular exercise, whether moderate or intense, prevents the onset of chronic stress-induced depression-like behavior independent of brain 5-HT and dependent on brain adrenaline; and (3) regular exercise prevents chronic tryptophan reduction-induced impairment of not long-term but short-term memory.

GnRHニューロンにおけるスパインの形状および性成熟との相関に関する形態解析的研究

李 松子^{1,2}, 託見 健¹, 飯島典生¹, 小澤一史¹

¹日本医科大学解剖学・神経生物学

²吉林省延辺老教授協会病院・中国

これまでGnRHニューロンのスパインは発達に伴う可塑性を持つ可能性が示唆されてきた。本研究はGnRHニューロンのスパインの可塑性に着目し、思春期前後(3週齢と8週齢)ラットを用いてのGnRHニューロンの細胞体と樹状突起におけるスパインの数とサイズを解析した。スパインの数は、雄雌ともに3週齢より8週齢で有意に増加し、特に大きなヘッドを持つスパインの数が有意に増加した。さらに、スパインの変化と性成熟、性ホルモンとの関係性を明らかにするため、性成熟を障害する処置として知られる新生仔期高濃度エストロゲン(estradiol benzoate (EB))処置を受けたラットで同様の解析を行ったところ、EB群において細胞体と細胞体から50μm以内の樹状突起区間のスパイン数が、雌雄どちらでも対照群より有意に減少した。発達に伴いGnRHニューロンのスパインの総数、大きなヘッドを持つスパインの数が増加した一方、性成熟が障害されたラットではスパイン数が減少していたことから、スパインの変化は性成熟と連関するGnRHニューロンの機能形態変化に直接関与する可能性が示唆された。

Morphological Study on the Spines of GnRH Neurons Related to the Sexual Development and the Change of Sex Steroid

Songzi Li

It has been reported that GnRH neurons might exhibit spine plasticity through the postnatal development. In this study, we analyzed the number of spines of GnRH neuron to determine the changes in synaptic inputs through puberty, using 3 and 8 weeks of age GnRH-eGFP transgenic rats. We also measured the diameter of head of each spine. In both sexes, the numbers of spines were greater at the soma and proximal dendrite in adult

than juvenile. Classification of spines based on their head size revealed that the increases of the number of spines with large head at soma and the proximal dendrite. To further explore the relationship between the spines of GnRH neuron and puberty, we analyzed the adult rats neonatally exposed to high doses estradiol benzoate, in which puberty onset and reproductive functions is disrupted. Neonatal estrogenization resulted in decreases in the number of all types of spines, so that total number of spines, at soma and dendrites in both sexes. In summary, GnRH neurons become to receive more and larger excitatory inputs on the soma and the proximal dendrite through puberty, and the changes in the spines play pivotal roles in the normal pubertal development.

悪性神経膠腫に対する超音波力学療法の作用機序の検討

鞠 東輝^{1,2}, 山口文雄¹, 朝倉隆之¹, 樋口直司¹, 森田明夫¹

¹日本医科大学脳神経外科学

²哈尔滨医科大学附属第二病院脳神経外科・中国

悪性神経膠腫は成長速度が速いことに加え浸潤スピードが速いため発見時には局所よりより深部へ腫瘍細胞が広がっており摘出術、放射線治療、化学療法によっても5年生存率は8%にとどかない。本研究は腫瘍摘出術によっても摘出しきれない浸潤腫瘍細胞をターゲットとし、治療をおこなおうというものである。現在、術中蛍光診断で用いられているアミノレブリン酸は光照射により活性酸素を生成させ腫瘍死を惹起する性質を持ち、海外では光線力学療法として臨床応用されているが、光の深達度が最大でも1 cm程度であることから、正常脳組織深部へ浸潤した神経膠腫細胞を治療することは困難である。そこで、われわれは光に代わり超音波を用いることでより高い治療効果を得る試みをしている。超音波は組織深達度に優れ、診断領域ではすでに広く用いられている。これまで、悪性神経膠腫移植動物モデルでこの超音波力学療法の効果を確認しているが、その作用機序には不明な点が多い。そこで今回培養細胞を用い、各種条件下での腫瘍細胞に起こっている変化を成長因子、成長因子受容体、熱ショックタンパク、腫瘍幹細胞マーカーなどを用いて解析した。本研究ではこれらについて報告する。

Analysis of Mechanism of Sonodynamic Therapy for Malignant Glioma

Donghui Ju

Malignant gliomas are one of the most malignant tumors because of the fast-growing and fast-invasive nature resulting in less than 8% of 5-year survival. This study is aiming at the therapy for deep invaded tumor cells remaining after tumor resection. Aminolevulinic acid is now widely used in photodiagnosis for malignant gliomas and induces radical oxide by light irradiation. The depth of light penetration is 1 cm at most and does not reach to the deep-invaded tumor cells. Currently we have been investigating the use of ultrasound, instead of

light, for higher therapeutic effect. Ultrasound is known as the deep-penetrating nature and widely used in the diagnostics. We have validated its tumor killing effect in malignant glioma animal model. However its mechanism of therapeutic effect is not well known. In this study, we analyzed the intracellular changes of several factors; growth factors, growth factor receptors, heat shock proteins and tumor stem cell markers. The most up-to-date results will be reported in the research conference.

肺腺癌患者の予後マーカーとしての ABCB1 蛋白発現の意義

鄒 奮飛^{1,2}, 清家正博¹, 野呂林太郎¹,
韓 冰^{1,3}, 添野千恵¹, 武内 進¹,
宮永晃彦¹, 久保田馨¹, 弦間昭彦¹

¹日本医科大学呼吸器内科学

²江蘇省泰州市市民病院内科・中国

³哈尔滨医科大学呼吸器内科・中国

【目的】肺腺癌の幹細胞マーカーとして考えられている ABCB1, ALDH1A1, CD44 および薬剤耐性との関連が報告されている ERCC1, TS 蛋白発現と肺腺癌患者の臨床病理学的因子および予後との相関について検討する。

【方法】2001年から2009年に日本医科大学付属病院で手術を施行された132例の原発性肺腺癌患者を対象とした。ホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて、ABCB1, ALDH1A1, CD44, ERCC1, TSの蛋白発現を免疫染色法にて評価し、H-score解析を用いて発現量の定量を行った。PNA-RNA PCR clamp法にてEGFR遺伝子変異解析を行った。これらの蛋白発現とEGFR変異、臨床病理学的因子および予後との相関を検討した。

【結果】ABCB1 15%, ALDH1A1 35%, CD44 52%, ERCC1 28%, TS 50%に蛋白発現陽性を認めた。それぞれ発現と臨床病理学的因子について相関は認めなかった。I~III期において、ERCC1高発現、ABCB1高発現例は予後不良であった。I期において、ABCB1高発現、CD44低発現例は予後不良であった。EGFR陰性例においても、I期 ABCB1陽性患者は予後不良であった。以上の結果から、ABCB1蛋白発現はI期EGFR陰性肺腺癌患者の予後マーカーになりえると考えられる。

Prognostic Significance of ABCB1 Expression in Resected Lung Adenocarcinoma

Fenfei Zou

Aim: We aimed to determine the prognostic significance of ABCB1, ALDH1A1, CD44, ERCC1, TS in patients with completely resected lung adenocarcinoma (AC).

Methods: Immunohistochemistry was performed to evaluate expression of ABCB1, ALDH1A1, CD44, ERCC1 and TS in resected lung AC samples obtained from 132 patients who underwent a complete resection in Nippon Medical School Hospital between 2001 and 2009. Patients were categorized according to median H-score. EGFR

mutation statuses were evaluated by PNA-RNA PCR clamp analysis in these lung AC samples. Relationship between these protein expression and patient prognoses were evaluated.

Results: High ERCC1 and ABCB1 expressions were significantly associated with shorter overall survival (OS) in lung AC with stage I~III. High ABCB1 or low CD44 expressions were significantly associated with shorter OS in lung AC with stage 1. High ABCB1 expression

was also significantly associated with poor survival in EGFR wild lung AC with stage~I. These results suggest that ABCB1 expression can be potential prognostic markers in EGFR-wild type lung AC patients with stage I.

(外国人留学者研究会抄録監修：
学校法人日本医科大学国際交流センター)

—集会記事—

日本医科大学医学会特別講演会講演要旨

第 470 回特別講演会

日 時：平成 27 年 3 月 13 日（金）午後 4 時 00 分

会 場：橘桜会館橘桜ホール

担 当：感覚情報科学

Retinal Strategies for Deconstructing the Visual World**Steven H. DeVries**Professor, Department of Ophthalmology and Physiology
Northwestern University Feinberg School of Medicine, USA

視細胞でとらえられた視覚情報は電気信号に変換され、双極細胞を経て神経節細胞に送られる。網膜は外界の視覚情報から明暗、コントラスト、動きなどの様々な特徴を抽出して高次中枢に送っている。視細胞は明所で働く錐体と暗所で働く桿体の 2 種類であり、この 2 種類の視細胞の受け取る情報が網膜内で様々な処理を受けることで多様な視覚情報が抽出されている。視細胞が 2 種類であるのに対し、視細胞の情報を受け取る双極細胞は、それぞれが複数のサブタイプを含む ON 型と OFF 型に分かれており、現在合計で 10 種類程度のサブタイプが知られている。本研究では明所視能力の発達している地リスを用いて、明所視に関する錐体入力それぞれの OFF 型双極細胞サブタイプでどのように処理されているかについてダブルパッチ法やトリプルパッチ法を用いて検討した。その結果 OFF 型双極細胞には、持続性応答を示すサブタイプや一過性応答を示すサブタイプがあるなど、同じ錐体入力に対してサブタイプ特異的の応答パターンを示すものが存在することが明らかとなった。また各サブタイプにおける応答の発生に必要な入力の大きさについても、単一錐体からの入力で応答を生じるサブタイプがある一方、複数の錐体からの同期した入力が応答の形成に必要なサブタイプもあるという違いもあることが明らかとなった。この違いは双極細胞には、入力を直線的に加算する線形な素子として働くサブタイプと、入力をフィルターして非線形な加算をする素子として働くサブタイプが存在することを意味している。今回得られた結果は、視細胞から双極細胞への情報伝達は網膜における第一段目のシナプスであるが、視覚情報の様々な特徴抽出に必要な多様な処理が第一段目のシナプスにおいてすでに始まっていることを示唆するものである。

(文責：金田 誠)

第 471 回特別講演会

日 時：平成 27 年 3 月 24 日（火）午後 5 時 30 分

会 場：橘桜会館橘桜ホール

担 当：神経内科学

Acute Stroke Treatment and Mobile Stroke Unit of Cleveland Clinic**Ken Uchino, MD FAHA**Director, Vascular Neurology Fellowship
Research Director, Cerebrovascular Center, Cleveland Clinic
Associate Professor of Medicine (Neurology), Cleveland Clinic
Lerner College of Medicine of Case
Western Reserve University, USA

Cleveland Clinic は米国オハイオ州クリーブランド市を本拠地とする米国屈指の医療機関である。地域の脳卒中患者の半数を担い、脳梗塞は年間 500 例以上が入院する（関連病院も含む）。直接の救急搬送が 12%、自家用車での来院が 13% であり、75% は他院からの紹介が占める。例えば、rtPA 静注を他院で実施してから転送される drip and ship が 95 例、救急部門に搬送された患者での 19 例をはるかに凌ぐ（2013 年）。

この連携に重要な役割を担っているのが telemedicine である。周辺の医療機関に搬送された脳卒中患者について、診療医は Cleveland Clinic の脳卒中専門医に相談し、治療の助言を得る。専門医は telemedicine により、CT 画像・血液データを見るだけでなく、患者を問診・観察することもできる。血管内治療など特殊な治療が必要と判断された場合は、患者を Cleveland Clinic に転送するよう指示する。

Cleveland Clinic では、院内の体制改善により、救急搬送から治療開始までの時間（door to needle time, DNT）60 分以内の症例が増加した。さらに DNT を短縮するため始まったのが、Mobile Stroke Treatment Unit である。

Mobile Stroke Treatment Unit は、頭部専用 CT、血液検査機器を有する救急車と、看護師・放射線技師を含む 4 名が、救急要請とともに現場に向かうものである。医師は telemedicine で患者を観察、治療を指示する。現場で rtPA 静注を実施した後、近くの医療機関に搬送することができる。その結果、DNT は平均約 60 分から 30 分に短縮された。

東京都は消防庁を中心とした脳卒中の救急搬送システムが整っていて、rtPA 静注実施率は年々増加している。しかし、さらに DNT を短縮させるためには、telemedicine など新システムの導入も視野に入れるべきであろう。講演後の質疑応答も活発に行われ、大変有意義な講演であった。

(文責：三品雅洋)

日医大医学会誌論文投稿チェック表

種 目： 投稿日：平成 年 月 日

著者名： 所 属：

表 題：

- 1. 日本医科大学医学会会員で会費が納入されている。
- 2. 著者数は 10 名以内である。
- 3. 投稿論文は 4 部で、原稿枚数は規程どおりである。

種 目	文字数	英文抄録	図表写真の点数
グラビア	700 字以内	/	
カラーアトラス	1,000 字以内	/	
原 著	16,000 字以内	400 語以内	制限なし
綜説（論説）	16,000 字以内	400 語以内	12 点以内
臨床医のために	4,000 字以内	400 語以内	6 点以内
臨床および実験報告	3,200 字以内	400 語以内	6 点以内
症例報告	3,200 字以内	400 語以内	6 点以内
CPC・症例から学ぶ 基礎研究から学ぶ	6,400 字以内	400 語以内	原稿枚数に含む
話 題	2,200 字以内	/	/

- 4. 原稿（文献も含む）にページを記載している。
- 5. 体裁が次の順に構成されている。
 ①表題 ②Title・著者名・所属（英文） ③Abstract（英文） ④Key Words（英文） ⑤緒言
 ⑥研究材料および方法 ⑦結果（成績） ⑧考察 ⑨結論 ⑩文献 ⑪Figure Legend
- 6. Abstract はネイティブチェックを受けている。
- 7. Abstract は double space で 400 語以内である。
- 8. Key Words は英語 5 語以内である。また、選択に際し、医学用語辞典（南山堂）・Medical Subject Heading を参考にしている。
- 9. 文献の記載が正しくされている。（投稿規程記載見本参照）
- 10. 文献の引用が本文中順番に引用されている。
- 11. (1) 表・図は英文で作成されている。
 (2) 表・図および写真は各 1 枚ずつ（A4）にされている。
 (3) 表・図および写真の数は規定内である。
 (4) 図表を電子媒体で作成する場合は、300dpi 以上で作成されている。また、査読者用に JPG で作成されているものを付加する。
 (5) 本文中の表・図の挿入位置が明示され、順番に出ている。
 (6) 表・図は査読しやすい大きさである。
 (7) 写真は 4 部とも鮮明である。
- 12. 誓約書・著作権委譲書がある。
- 13. 投稿者は、印刷経費の実費を負担する。

連絡先 希望する連絡先

E-mail @

メモ：

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。

種目	原稿	英文抄録	図表写真の点数
原著	16,000字以内	400語以内	制限なし
綜説（論説）	16,000字以内	400語以内	12点以内
臨床医のために	4,000字以内	400語以内	6点以内
臨床および実験報告	3,200字以内	400語以内	6点以内
症例報告	3,200字以内	400語以内	6点以内
CPC・症例から学ぶ・基礎研究から学ぶ	6,400字以内*	400語以内	原稿枚数に含む
話題	2,200字以内	/	/

- *ただし、図・表・写真に関しては、400字に相当し、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2.5 cmずつ、左右を約3 cmずつあける。外国語の原語綴は行末で切れないようにする。
原稿の構成は、①表紙、②抄録、③Key words（英語）5語以内、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。

- 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箇所を明示する。
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、研究材料および方法、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、指定期限以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
日医大医会誌編集委員会
(平成22年9月2日)