

日本医科大学医学雑誌

第19巻 2023年8月 第3号

目次

INDEX

- 特集〔遺伝子治療 update : 日本医科大学の遺伝子治療研究〕
 - 巻頭言 三宅 弘一 198
 - 遺伝子治療の歴史 島田 隆 199
 - レンチウイルスベクターを使用した造血幹細胞の遺伝子治療 内田 直也 205
 - アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターの感染細胞へのゲノム組み込みについて 平井 幸彦 211
 - ヘルペスウイルスベクターを用いた遺伝子治療技術開発 宮川世志幸 218
 - 異染性白質ジストロフィー (MLD) に対する遺伝子治療 三宅 紀子 224
 - 低ホスファターゼ症モデルマウスにおける遺伝子治療—臨床応用に向けて— 松本 多絵 229
 - 癌の遺伝子治療 黒田 誠司 他 235
 - 眼科分野における遺伝子治療 五十嵐 勉 242
- 橘桜だより 小川 令 247
 - 学生支援からメタバースへ
- グラビア 志村 俊郎 他 248
 - 済生学舎時代の野口英世 252
 - 腎血栓性微血管症の病理像を認めステロイドが奏功したTAFRO症候群の1例
- 綜 説 櫻澤 信行 254
 - わが国における胃癌に対する低侵襲手術の現況
- 症例報告 林 暢彦 他 263
 - PETパラメトリックイメージングが診断の一助となった副腎のchronic expanding hematomaの1例
- 話 題 帆足 俊彦 269
 - 悪性黒色腫の薬物治療と問題点
- JNMSのページ 270
 - Journal of Nippon Medical School Vol. 88, No. 5 Summary 271
 - Journal of Nippon Medical School Vol. 88, No. 6 Summary 273
 - Journal of Nippon Medical School Vol. 89, No. 1 Summary
- 特集〔医療における AI の可能性〕第 32 回公開「シンポジウム」
 - 日本医科大学における AI 教育と AI を活用した生物物理研究 藤崎 弘士 279
 - 泌尿器 AI 研究の現状 赤塚 純 他 283
 - 画像診断 AI への期待 町田 幹 286
- 会 報 291

—特集〔遺伝子治療 update：日本医科大学の遺伝子治療研究（1）〕—



巻頭言

三宅 弘一

日本医科大学遺伝子治療学

「遺伝子治療」と聞くと皆さんはどんなイメージをお持ちでしょうか？ まだまだ研究開発途上の危険な治療法というイメージでしょうか？ 遺伝子治療は1990年に世界で初のADA（Adenosine deaminase）欠損症に対する遺伝子治療が行われて30年以上の月日が経ち、現在では再生医療等製品（遺伝子治療製品）として承認され、臨床の現場で使用される時代となってきている。遺伝子治療製品は治療用遺伝子を各種ウイルスベクターなどに組み込み、直接ヒト体内に投与する *in vivo* 遺伝子治療製品と、体内より細胞（造血幹細胞やリンパ球など）を取り出し、その細胞に治療用遺伝子を組み込み体内へ投与する *ex vivo* 遺伝子治療製品に分けられる。表1に日本で承認されている遺伝子治療製品を示す。 *in vivo* 遺伝子治療製品として2020年に承認されたAAVベクターによる脊髄性筋萎縮症を適応とした「ゾルゲンスマ」や *ex vivo* 遺伝子治療製品であるB細胞性白血病やリンパ腫を適応としたCAR-T療法で

ある「キムリア」などは耳にされた先生もいらっしゃると思うが、「ゾルゲンスマ」は価格がおよそ1億6700万円、「キムリア」はおよそ3,300万円であり、とてつもなく高額な治療法のイメージをお持ちの先生も多いのではないと思われる。

本学においても1991年より様々な遺伝子治療用のウイルスベクターの開発、遺伝病やがんをはじめとした各種疾患の遺伝子治療研究を行ってきており、現在薬事承認を目指して低ホスファターゼ症を適応とした新規の *in vivo* 遺伝子治療製品を開発中である。そこでこのたび「遺伝子治療 update：日本医科大学の遺伝子治療研究」と題して進化の著しい遺伝子治療分野における今までの歴史から最新の状況と、本学での遺伝子治療研究の進捗状況を踏まえ読者の皆様に遺伝子治療の現状、課題などにふれていただく特集を企画させていただいた。本特集にて読者の方々に「遺伝子治療」が少しでも馴染み深いものとなれば幸いである。

表1 日本で承認された遺伝子治療製品

<i>in vivo</i> 遺伝子治療製品						
製品名	販売企業	おもな適応	ベクター	導入遺伝子	投与方法	承認年
ルクスターナ	Spark Therapeutics/ Novartis	RPE65 変異レバー 先天性黒内障	AAV2	RPE65	網膜下	2023
デリタクト	第一三共	悪性神経膠腫	腫瘍溶解性 HSV1	LacZ	腫瘍内	2021
ゾルゲンスマ	Novartis	脊髄性筋萎縮症	AAV9	SMN1	静脈内	2020
コラテジェン	アンジェス	慢性動脈閉塞症	プラスミド	HGF	筋肉内	2019
<i>ex vivo</i> 遺伝子治療製品						
製品名	販売企業	おもな適応	製品の種類 (使用ベクター)	導入遺伝子	投与方法	承認年
カービクティ	Janssen	多発性骨髄腫	自己CAR-T細胞 (レンチウイルス)	BCMA-CAR	点滴静注	2022
アベクマ	Celgene	多発性骨髄腫	自己CAR-T細胞 (レンチウイルス)	BCMA-CAR	点滴静注	2022
ブレランジ	Juno Therapeutics/ セルジーン (国内)	大細胞型 B 細胞リンパ腫 濾胞性リンパ腫	自己CAR-T細胞 (レンチウイルス)	CD19-CAR	点滴静注	2021
イエスカルタ	Kite Pharma/ 第一三共 (国内)	大細胞型 B 細胞リンパ腫	自己CAR-T細胞 (レトロウイルス)	CD19-CAR	点滴静注	2021
キムリア	Novartis	B 細胞性白血病 B 細胞リンパ腫	自己CAR-T細胞 (レンチウイルス)	CD19-CAR	点滴静注	2019

出典（国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部ホームページ）

—特集 [遺伝子治療 update : 日本医科大学の遺伝子治療研究 (2)]—



遺伝子治療の歴史

島田 隆

日本医科大学名誉教授

History of Gene Therapy

Takashi Shimada

Emeritus Professor, Nippon Medical School

Abstract

Once a dream cure for genetic diseases, gene therapy came to be considered potentially realizable with the advent of recombinant DNA technology in the 1970s. In the 1980s, viral vectors were developed, and ethical issues regarding human gene manipulation began to be addressed. In 1990, the world's first gene therapy was launched in the United States. Since then, various gene therapies have been tried around the world, but have failed to show clear efficacy. In addition, safety problems, including a fatal accident and the development of leukemia, have occurred with gene therapy. Consequently, the once high expectations for gene therapy declined. Since the end of the 2000s, however, the efficacy of gene therapies for treatment of genetic diseases and cancer has been confirmed time and again, and expectations for gene therapy have been revived. At present, more than 20 gene therapy products have been approved, and gene therapies are now poised to become practical medicine.

(日本医科大学医学会雑誌 2023; 19: 199–204)

Key words: gene therapy, recombinant DNA technology, viral vector

はじめに

遺伝病の夢の治療法だった遺伝子治療は1970年代に組換えDNA技術が登場したことで現実的な治療法と考えられるようになった。1980年代にはウイルスベクターが開発され、ヒトの遺伝子操作に対する倫理的問題の議論も進み、1990年に世界最初の遺伝子治療が米国で開始された。その後、様々な遺伝子治療が世界中で試みられたが明らかな有効性を示すことができなかった。さらに、遺伝子治療による死亡事故や白血病発症などの安全性の問題が起きてしまい、遺伝子治療に対する期待は低下してしまった。しかし、2000年代

後半になり遺伝病や癌の遺伝子治療で次々に有効性が確認されるようになり、遺伝子治療は復活した。すでに20種類以上が医薬品として承認されていて、実用化の時代に入っている。遺伝子治療の紆余曲折の開発の歴史と課題を紹介する(表1)。

1. 遺伝子治療の方法論の確立 (1990年以前)

20世紀に入り遺伝子や遺伝病の存在が知られるようになり、遺伝子を使った治療の可能性が漠然と考えられるようになった。1900年代中頃には遺伝子がDNAであることが明らかになり、DNAを外から取り

表 1 遺伝子治療の歴史年表

年代	遺伝子治療	関連技術
1900		Mendel の遺伝法則再発見 遺伝病の発見 (Garrod) 遺伝子は DNA DNA の 2 重らせん構造 (Watson, Crick)
1970	治療目的のウイルス感染 遺伝子治療 (GT) の概念 (Friedmann)	組換え DNA 技術 (Cohen, Boyer) Asilomar 会議 組換え DNA 実験規制
1980	未承認 GT (Cline 事件) レトロウイルスベクター開発 (Mulligan) 遺伝子治療ガイドライン (NIH)	ES 細胞樹立 (Evans)
1990	世界最初 GT (ADA 欠損症) (Anderson) 日本最初 GT (ADA 欠損症) (崎山) 見直し勧告 (Orkin, Motulsky) 死亡事故 (OTC 欠損症) (Gelsinger 事件) 有効 (X-SCID) (Fisher)	ZFN 開発
2000	白血病発症 (X-SCID) 有効 (LCA, ALD)	iPS 細胞樹立 (山中)
2010	有効 (サラセミア, 血友病, MLD, 白血病) 承認 (Glybera) 有効 (SMA) 承認 (Kymriah, Luxturna, Zolgensma, Zynteglo)	TALEN 開発 CRISPR-Cas 開発 (Charpentier, Doudna) 世界最初 iPS 由来細胞治療 (AMD) (高橋)
2020	承認 (Limeldy, Skysona) PaVeGT (NIH) BGTC (NIH, FDA, 企業, 学会, 患者会) 承認 (Roctavian, Hemgenix, Upstaza)	

込ませると細菌や真核細胞の形質が変わることが確認された。1970 年には、遺伝病の治療を目的に野生型 DNA ウイルスを直接患者に投与する治療実験が行われた。この無謀な試みに危機感を抱いた Friedmann は、遺伝子治療の技術的、倫理的問題点を整理し、遺伝子治療の概念を確立した論文を発表した¹⁾。ここで、遺伝子治療の方法論として遺伝子を生体に直接投与する方法 (in vivo 遺伝子治療) と、体外で遺伝子を導入した細胞を移植する方法 (ex vivo 遺伝子治療) の可能性を提案している。

1970 年代に組換え DNA 技術が開発されて遺伝子の単離や組換えが可能になった。しかし、この技術の潜在的危険性が問題になり 1975 年には世界中の研究者を集めた Asilomar 会議が開かれ、組換え DNA の実験は米国国立衛生研究所 (NIH) による厳しい規制を受けることになった。

いまだ遺伝子治療は現実的な治療法とは考えられていなかった 1980 年にヒトへの遺伝子治療実験が秘密

裏に行われたことが発覚した。米国の Cline はサラセミア (グロビン遺伝子の異常による遺伝性貧血) の患者の骨髓細胞に正常なグロビン遺伝子を導入する治療実験をイスラエルとイタリアで行った。この遺伝子治療は技術的にも未完成で、NIH の組換え DNA 規制にも違反しており、倫理委員会の承認も受けずに行われたため社会的問題となった (Cline 事件)。この事件がきっかけで遺伝子治療が一般に知られるようになった。

1980 年代になると、米国では遺伝子治療の科学的、倫理的問題が盛んに議論されるようになり、「神の領域を侵す危険な科学」「フランケンシュタインの怪物」という当初の批判が次第に収まり、難病の治療法として期待されるようになった。遺伝子治療技術としての遺伝子導入法の研究も進み、それまでの物理化学的方法 (リン酸カルシウム法やエレクトロポレーションなど) に比べ、導入効率が格段に高いウイルスベクターによる遺伝子導入法が開発された。最初に実用化されたのはマウスの白血病ウイルスを改変したレトロウイルス

ベクターで、増殖能力は欠失しているが、高い効率で細胞に感染し、染色体に組み込まれるため長期間遺伝子が発現できる。ウイルスベクターが開発されたことで、遺伝子治療が可能になった。NIHの組換えDNA委員会(RAC)では遺伝子治療臨床研究のガイドライン(Points to consider)が作製され、臨床研究の審査体制も整備された。

2. 遺伝子治療の開始(1990年代)

1980年代後半にはRACで遺伝子治療の臨床プロトコルの有効性や安全性の議論が数年かけて行われた。その結果、1990年に先天性免疫不全症(ADA欠損症)のリンパ球を対象にしたex vivo遺伝子治療がNIHで開始された²。遺伝子治療が開始されたことは大きなニュースとなり、世界中で遺伝子治療研究が一斉に開始されることになった。ウイルスベクターとして、新たにin vivo遺伝子治療に使えるアデノウイルスベクターやアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターが開発された。対象疾患も遺伝病だけでなく、癌やエイズなど多くの疾患に拡大した。1995年には日本でも北海道大学でADA欠損症の遺伝子治療が行われた。

遺伝子治療の臨床試験の数は急激に増えたが、明らかな有効性は確認できなかった。遺伝子治療に対する期待は次第に低下し、「心配していたほど危険ではないが、劇的な効果も期待できない」という評価に変わっていった。巨額の研究費を出していたNIHからも、過剰な期待だけで臨床研究を進めるのではなく、基礎研究に立ち戻るべきであるという見直し勧告が出されている(Orkin Motulskyレポート)³。

3. 遺伝子治療による重大事故(2000年前後)

遺伝子治療に対する社会的関心が薄れていた1999年に米国で遺伝子治療による死亡事故が発生した。アデノウイルスベクターを使った肝臓の遺伝性疾患(OTC欠損症)の治療を受けていたGelsinger青年が全身性炎症反応症候群で死亡した。大量に投与されたアデノウイルス粒子に対する過剰な免疫反応が起きたと考えられた⁴。この医療事故は、その後の検証で、科学的な問題だけでなく、インフォームドコンセントが適切に行われていなかったことや研究者のCOIに問題があったことなどが発覚し、大きな社会的問題となった(Gelsinger事件)。この事件がきっかけになり臨床研究に対するインフォームドコンセントの徹底、IRBの機能強化、COIマネージメントの義務化が行われるようになった。

Gelsinger事件で、米国の遺伝子治療に対する批判が

起きていた1999年にフランスのFisherのグループから遺伝子治療の成功例が報告された。対象となったのは先天性免疫不全症(X-SCID)で、レトロウイルスベクターを使って造血幹細胞に原因遺伝子(IL2受容体遺伝子)を導入する造血幹細胞遺伝子治療で患者の免疫機能の改善が確認された⁵。1回の治療で遺伝病の治療に成功した最初の例となり「人類は遺伝病を克服した」と、世界中に大きく報道された。

ところが、3年後の2002年以降、治療を受けた患者が次々と白血病を発症したことが明らかになった⁶。大成功と考えられていた遺伝子治療で、最悪の有害事象が発生したため、世界中で大騒ぎとなった。原因究明に向けた検証が行われた結果、レトロウイルスベクターが癌遺伝子の近傍に挿入され、癌遺伝子を活性化したことが明らかになった。レトロウイルスベクターを使った遺伝子治療の危険性の一つだが可能性は低いと考えられていた「挿入変異による癌遺伝子の活性化」が実際に起きてしまったことが確認された⁷。

Gelsinger事件や白血病の発症が続いたことで、遺伝子治療は危険だという評価になり、遺伝子治療に対する期待は一気に後退してしまった。丁度、その頃にiPS細胞の発見があり若い研究者の多くが遺伝子治療から再生医療にテーマを変更したと言われている。研究費や研究者数も大幅に減少してしまい、遺伝子治療は低迷期に入ってしまった。

4. 遺伝子治療の復活(2010年前後)

遺伝子治療は世間からは注目されなくなっていたが研究は続けられていた。その成果が2000年代後半から報告されるようになった。

AAVベクターは安全なウイルスベクターとして研究が進められてきたが、AAVベクターを使った遺伝性網膜疾患(LCA)、血友病、脂質代謝異常症(LPL欠損症)などの臨床試験で次々と有効性が報告された⁸。最近では血液脳関門(BBB)を通過できるAAVベクターの静脈内投与による脊髄性筋萎縮症(SMA)の治療で劇的な治療効果が確認されている⁹。

レトロウイルスベクターによる白血病が問題になったが、同じレトロウイルス科に属するエイズウイルス(HIV)由来のレンチウイルスベクターでは癌化の可能性が低いことが明らかになり、レンチウイルスベクターを使った造血幹細胞遺伝子治療が行われるようになった。先天性免疫不全症(X-SCID, ADA欠損症, WASなど)、遺伝性神経変性疾患(ALD, MLD)、遺伝性貧血(サラセミア, 鎌状赤血球症)などで有効性が報告されている¹⁰。

表2 承認された遺伝病の遺伝子治療 (2023年4月)

対象疾患	投与方法	導入遺伝子	ベクター (製品名)	承認年度
LPL 欠損症	in vivo (IM)	LPL	AAV (Glybera)	2012 (EU)
ADA 欠損症	ex vivo (HSC)	ADA	RV (Strimvelis)	2016 (EU)
LCA	in vivo (SR)	RPE65	AAV (Luxturna)	2017 (US, EU)
SMA	in vivo (IV)	SMN1	AAV (Zolgensma)	2019 (US, EU, 日)
サラセミア	ex vivo (HSC)	β グロビン	LV (Zynteglo)	2019 (EU, US)
MLD	ex vivo (HSC)	ARSA	LV (Libmeldy)	2020 (EU)
ALD	ex vivo (HSC)	ABCD1	LV (Skysona)	2021 (EU)
AADC 欠損症	in vivo (IC)	AADC	AAV (Upstaza)	2022 (EU)
血友病 A	in vivo (IV)	F8	AAV (Roctavian)	2022 (EU)
血友病 B	in vivo (IV)	F9	AAV (Hemgenix)	2022 (US, EU)

LPL：リポ蛋白リパーゼ, ADA：アデノシンデアミナーゼ, LCA：Leber 先天性黒内障, SMA：脊髄性筋萎縮症, MLD：異染性白質ジストロフィー, ALD：副腎白質ジストロフィー, AADC：芳香族 L アミノ酸脱炭酸酵素, IM：筋肉内, HSC：造血幹細胞, SR：網膜下, IV：静脈内, IC：脳内, AAV：アデノ随伴ウイルス, RV：レトロウイルス, LV：レンチウイルス

癌は遺伝子治療の重要な対象疾患と考えられていて、養子免疫療法、自殺遺伝子治療、アンチセンス治療、癌ワクチン療法など、様々なアプローチが提案されてきた。遺伝子治療としては最も多くの臨床試験が試みられたが、有効性は確認できていなかった。最近になり癌抗原を認識できる T 細胞受容体 (TCR) や、抗体と TCR のキメラ分子 (CAR) をリンパ球で発現させる新しい養子免疫遺伝子治療で劇的な治療効果が報告されている¹¹。

新しい遺伝子治療技術として遺伝子修復法の開発も開始された。DNA に二本鎖切断 (DSB) を起こすと相同組換えの効率が高まり、異常遺伝子を正常遺伝で置き換える遺伝子修復が可能である。目標とする異常遺伝子の場所に DSB を起こす配列特異的人工ヌクレアーゼとして ZFN や TALEN が開発された。さらに、最近では細菌のもつ免疫機構である CRISPR/Cas を応用したゲノム編集法が開発されている。

5. 遺伝子治療の実用化 (2010 年代後半以降)

遺伝子治療の復活したことが広く知られるようになり、一斉に臨床試験が開始された。大手の製薬企業も参入するようになり、今や実用化の時代に入ったと言われている。これまでに 20 を超える遺伝子治療製品が医薬品として承認されている。

遺伝病を対象にした遺伝子治療製品を表 2 に示す。脊髄性筋萎縮症に対する Zolgensma は日本でも承認されていて、全世界では 1,400 人以上に投与されている。SMA 遺伝子治療が成功したことで、それまで躊躇されていた AAV ベクターの血中大量投与が行われるようになり、Duchenne 筋ジストロフィー (DMD)

の治療も複数開始された。その他、AAV 遺伝子治療は 200 件以上の治療が進行中である。

癌の遺伝子治療では CAR を発現するリンパ球を使った CAR-T 療法が大きな成果を挙げている。これまでにリンパ腫/白血病を対象に 5 種類 (Kymliah, Yescarta, Tecartus, Breyanzi, Carteyva)、多発性骨髄腫を対象に 2 種類 (Abecm, Carvykti) の CAR-T が承認されている。その他にも 600 件以上の CAR-T 関連の治療プロトコールが進行中である。

6. 遺伝子治療の課題

遺伝子治療の有効性が確認され実用化が進んだが、一方で新たな問題も明らかになってきた。安全性が高いと考えられていた AAV ベクターも、大量投与が行われるようになり、その免疫原性や発癌性が問題視されるようになってきている。AAV ベクターが肝臓に感染すると CTL による肝細胞破壊が起きる。また、抗体との反応や補体の活性化により血管傷害や肝障害が起きることが報告されている。過剰な免疫反応が原因と考えられる死亡事故も発生している。ヒトでは報告が無いが、マウスでは AAV ベクターの挿入変異による肝癌の発生が起きている¹²。挿入変異による発癌の可能性は低いと考えられていたレンチウイルスベクターを使った造血幹細胞遺伝子治療でも最近、骨髄異形成症候群 (MDS) の発症例が報告されている。これらのウイルスベクターによる副作用のメカニズムは不明な点も多く、安全性を向上させるための研究が進められている。

安全性の問題とは別に、遺伝子治療が超高額医療になっていることも大きな問題である。CAR-T 治療は

\$373,000 (日本では3,349万円), Zolgensmaは\$2.1 million (日本では1億6,700万円)と設定されている。開発費用が膨大で、患者数が限られる遺伝子治療の費用としてはやむを得ないと言われている。また、一生涯、繰り返し投与が必要な酵素補充療法と比較すれば1回で長期の治療効果が期待できる遺伝子治療は必ずしも高過ぎるとは言えないという意見もある。しかし、いずれにせよこの金額を払える患者は限られてしまい、日本のような保険制度では医療制度の破綻も心配される。米国では効果がなかった場合には支払いを減額する仕組みも検討されている。

これまでの研究で、遺伝子治療により多くの遺伝病の治療が可能であることは明らかである。しかし、今のような方法で開発していたのでは膨大な費用と時間がかかり、いつになっても患者に届けられない。この問題を解決するための新しいアプローチが提案されている。2020年からNIHで開始されたPaVeGT (Platform Vector Gene Therapies) プロジェクトでは、疾患ごとに治療法を開発するのではなく、同じ方法で治療できる複数の疾患に対して、搭載遺伝子を変えるだけで同じベクター、同じ投与方法で治療する計画として進めている。対象疾患が違っていても可能な範囲で前臨床試験の結果を共有して、できるだけ短時間に臨床試験に結び付けることを目的にしている¹³。さらに、2021年からは、製薬企業、学会、患者会も参加したBGTC (Bespoke Gene Therapy Consortium) もスタートしている。これは、最初から官民連携で開発を進めようという計画で、ベクターの製造技術や品質管理についてはマニュアルを作製することになっている。また、臨床開発に関しては早い段階からFDAが関与して、規制の簡略化も含め効率化を検討することになっている¹⁴。

おわりに

遺伝子が開始されてから30年以上が経過した。この間、様々な問題を克服しながら遺伝子治療研究は進歩を続け、この10年でやっと科学的評価が固まり、実用化の時代に入っている。このような世界の潮流に対し、日本での遺伝子治療研究は大きく遅れてしまっている。これまでに日本で開発された遺伝子治療製品はプラスミドのコラテジェンとヘルペスウイルスのデリタクトだけで、いずれも日本国内だけの条件期限付き承認である。現在、世界中で開発競争が行われている、遺伝子治療の主流であるウイルスベクターはいまだ開発されていない。日本の遺伝子治療研究が遅れた原因はいくつかあるが、欧米に比べ国からの支援が極端に

少なかったことが大きく影響している。日本でiPS細胞が開発されたこともあり、先端医療への支援は再生医療に偏っていた。そのため遺伝子治療の若手研究者が育たず、臨床用ウイルスベクターの製造施設も整備されていない状況が続いていた。遅ればせながら、この状況を打破すべく、令和5年度からこれまでの「再生医療実現拠点ネットワークプログラム」の後継事業として新たに遺伝子治療も加えた「再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム」が開始されることになった。これにより、in vivo 遺伝子治療も含めた遺伝子治療研究への大型支援や、ベクター製造基盤の整備が実現すると考えられている。日本でも遺伝子治療研究が進み、日本発の遺伝子治療製品が多くの難治性疾患の治療に貢献できるようになることを期待したい。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文献

1. Friedmann T, Roblin R: Gene therapy for human genetic disease? *Science* 1972; 175: 949-955.
2. Blaese RM, Culver KW, Miller AD, et al.: T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. *Science* 1995; 270: 475-480.
3. Orkin SH, Motulsky AG: REPORT AND RECOMMENDATIONS OF THE PANEL TO ASSESS THE NIH INVESTMENT IN RESEARCH ON GENE THERAPY. https://osp.od.nih.gov/wp-content/uploads/2014/11/Orkin_Motulsky_Report.pdf.
4. Wilson JM: Lessons learned from the gene therapy trial for ornithine transcarbamylase deficiency. *Mol Genet Metab* 2009; 96: 151-157.
5. Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint Basile G, et al.: Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 2000; 288: 669-672.
6. Hacein-Bey-Abina S, von Kalle C, Schmidt M, et al.: A serious adverse event after successful gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 2003; 348: 255-256.
7. Hacein-Bey-Abina S, Von Kalle C, Schmidt M, et al.: LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science* 2003; 302: 415-419.
8. Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA, et al.: Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 2008; 358: 2240-2248.
9. Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, et al.: Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med* 2017; 377: 1713-1722.
10. Cartier N, Hacein-Bey-Abina S, Bartholomae CC, et al.: Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy. *Science* 2009; 326: 818-823.
11. Kohn DB, Dotti G, Brentjens R, et al.: CARs on track in the clinic. *Mol Ther* 2011; 19: 432-438.

12. Hamilton BA, Wright JF: Challenges Posed by Immune Responses to AAV Vectors: Addressing Root Causes. *Front Immunol* 2021; 12: 675897.
13. Brooks PJ, Ottinger EA, Portero D, et al.: The Platform Vector Gene Therapies Project: Increasing the Efficiency of Adeno-Associated Virus Gene Therapy Clinical Trial Startup. *Hum Gene Ther* 2020; 31: 1034-1042.
14. NIH_NCATS: The Accelerating Medicines Partnership® Bespoke Gene Therapy Consortium (BGTC) 2021. <https://ncats.nih.gov/programs/BGTC>

(受付：2023年4月10日)

(受理：2023年7月3日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。

—特集 [遺伝子治療 update : 日本医科大学の遺伝子治療研究 (3)]—



レンチウイルスベクターを使用した造血幹細胞の遺伝子治療

内田 直也

米国国立衛生研究所心肺血液部門細胞分子治療分野

Hematopoietic Stem Cell-Targeted Gene Therapy Using Lentiviral Vectors

Naoya Uchida

Cellular and Molecular Therapeutics Branch (CMTB), National Heart, Lung, and
Blood Institute (NHLBI), National Institutes of Health (NIH)

Abstract

Gene therapy targeting hematopoietic stem cells (HSCs) is a promising treatment for a variety of genetic disorders, including immunodeficiency, hemoglobinopathies, congenital cytopenia, and metabolic diseases. HSCs can reconstitute peripheral blood throughout life due to their capacity for self-renewal and their hematopoietic multipotency. This makes it possible to cure genetic diseases for an entire lifetime by replacing or repairing pathogenic mutations/deletions in HSCs. Autologous HSC-targeted gene therapies entailing lentiviral gene addition as well as gene editing are currently under development. These can be widely applied to most patients, as there is no requirement for a suitable donor. Current gene addition/editing therapies are based on harvesting the patient's CD34⁺ HSCs, performing gene modification *ex vivo*, and then transplanting the modified HSCs back into the patient. The efficacy of *ex vivo* lentiviral HSC gene therapy has been proved in recent trials; however, the *ex vivo* process requires a GMP-level cell processing center and is expensive, which limits its global application. It is therefore crucial to develop *in vivo* HSC gene therapies, in which a therapeutic gene or gene editing tools can be delivered directly into bone marrow HSCs via systemic administration without *ex vivo* culture. This manuscript presents an overview of the current HSC-targeted gene therapies using lentiviral vectors.

(日本医科大学医学会雑誌 2023; 19: 205–210)

Key words: hematopoietic stem cell, lentiviral vector, gene therapy, gene editing

はじめに

遺伝子治療は体外法 (*ex vivo*) と体内法 (*in vivo*) に大別され、その主な対象疾患は先天性疾患と悪性腫瘍である (図 1)。先天性疾患に対する遺伝子治療として、レンチウイルスベクターを用いて骨髄造血幹細胞に遺伝子を付加する *ex vivo* 遺伝子治療が開発され、その有効性と安全性は臨床試験で証明されつつある。最

近、遺伝子編集技術が開発され、造血幹細胞の遺伝子異常を直接修復する *ex vivo* 遺伝子修復治療が研究開発されている。また、悪性腫瘍に対する *ex vivo* 遺伝子治療として、キメラ抗原受容体 T 細胞 (CAR-T 細胞) 治療における CAR 遺伝子付加にレンチウイルスベクターが使用されている。ここでは、レンチウイルスベクターを用いた造血幹細胞遺伝子付加治療、造血幹細胞

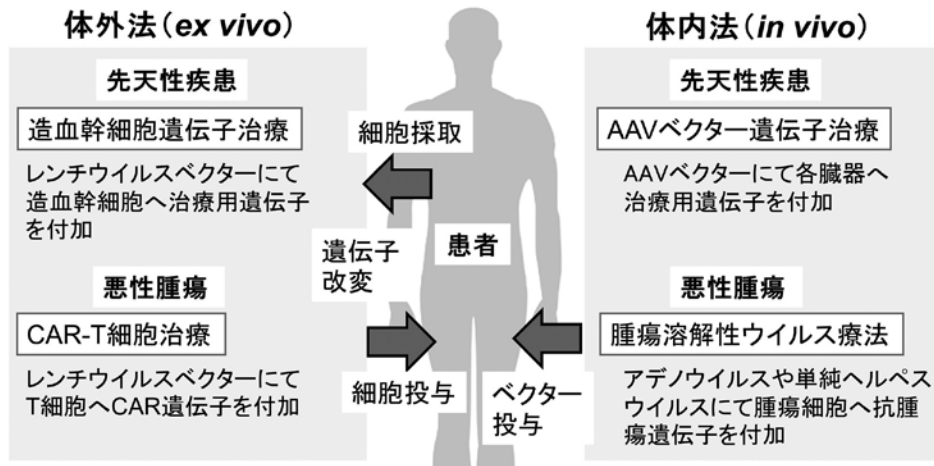


図1 体外法 (*ex vivo*) と体内法 (*in vivo*) 遺伝子治療
 遺伝子治療は体外培養の有無で *ex vivo* 法と *in vivo* 法に大別され、先天性疾患や悪性腫瘍が主な対象疾患である。AAV：アデノ随伴ウイルス、CAR：キメラ抗原受容体。

胞遺伝子編集治療についてまとめた。

1. レンチウイルスベクターによる治療用遺伝子の付加

造血幹細胞に遺伝子を付加して欠損タンパク質を置き換える *ex vivo* 遺伝子治療は、有効性が証明されつつあり、様々な先天性疾患の治療が可能となっている¹。造血幹細胞は骨髄に局在する細胞で、自己複製能と造血能を持ち、生涯を通じて血液を生産する。造血幹細胞は個体間で移植することが可能であり、造血器悪性腫瘍の治療として同種造血幹細胞移植が使用されているが、同様に先天性血液疾患の治療にも健全な造血幹細胞の移植が有効である。しかし、造血幹細胞の適合ドナーが限られていることや、前処置による臓器障害や移植片対宿主病などの合併症があることから、患者自身の造血幹細胞に欠損タンパク質（あるいは病的タンパク質）の正常遺伝子や治療用遺伝子を導入する造血幹細胞遺伝子治療が開発された。この治療法では、患者の骨髄から造血幹細胞を採取し、体外で培養しながらウイルスベクターで正常遺伝子または治療用遺伝子を付加し、患者自身に自家移植する。病気の根本原因である遺伝子異常を遺伝子付加によって修復するため、治療効果が強く、副作用が少ないのが特徴であり、1回の治療で生涯にわたって治療効果が期待できる。

先天性免疫不全症に対する造血幹細胞遺伝子付加治療が試験的に実施された当初は、レトロウイルス属のマウス白血病ウイルス (MLV) 由来のガンマレトロウイルスベクターが治療用遺伝子導入に使用された。ガンマレトロウイルスベクターは、ベクタープラスミド、*gag/pol* プラスミド、エンベローププラスミドを同時に

培養細胞に導入することで作製することができる。ベクタープラスミドは、染色体 DNA に組み込むためのレトロウイルス由来の配列に治療用遺伝子を挿入し、他の不要な配列を削除したものである。*gag/pol* プラスミドは、ウイルス粒子を構成するタンパク質 (*gag*) と遺伝子導入に用いる酵素 (*pol*) の2つの遺伝子を発現するものであり、各々の遺伝子から複数のタンパク質が翻訳される。エンベローププラスミドは、遺伝子導入の標的細胞を規定するエンベロープを発現しており、他種のウイルス由来エンベロープを使用して細胞標的性を変更することができる。ガンマレトロウイルスベクターは、標的細胞の染色体 DNA に組み込まれることで長期間の遺伝子発現を可能とし、長鎖末端反復配列 (LTR) 中のウイルスプロモーター・エンハンサーを用いて治療用遺伝子を発現させることができるが、ベクター配列の挿入変異により造血器悪性腫瘍を誘導してしまう²。もともと白血病ウイルスとして標的細胞の増殖を促進する性質があると推定されており、また、活性化されている遺伝子の転写開始点 (プロモーター近傍) 周辺へ頻繁にベクター配列が導入されるため、ウイルス由来のエンハンサーが挿入部位周辺のがん遺伝子を刺激して白血病を誘導すると考えられている³。さらに、遺伝子導入率が低く、治療効果が不十分であったため、安全性と導入効率を高めるためにレンチウイルスベクターが開発された。レンチウイルスベクターはヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) に由来し、ベクタープラスミド、*gag/pol* プラスミド、エンベローププラスミドに加え、遺伝子発現制御因子である *rev* (または *rev/tat*) プラスミドを使用し、ガンマレト

ロウイルスベクターでは困難だった静止細胞への遺伝子導入が可能である。同様に、標的細胞の染色体に取り込まれ、長期間の発現が可能であるが、免疫不全ウイルスであるため標的細胞の増殖を抑える性質があると推定され、活性化遺伝子の構造遺伝子配列にはほぼ均一にベクターが導入されるため、挿入部位周辺での遺伝子発現を刺激しづらいと考えられている。さらに、ウイルス由来のプロモーター・エンハンサーをLTRから削除し(自己不活性化)、代わりにヒト由来の組織特異的プロモーター・エンハンサーをベクター配列内に用いることで、造血器悪性腫瘍の発症リスクを最小限に抑えている⁴。

レンチウイルスベクターは、通常、各プラスミドを培養細胞に導入することで作製される。しかし、ベクター生産は一過性であり、大量生産には非効率的である。そこで、安定化ベクター産生細胞株が開発されている⁵。安定化ベクター産生細胞株は、ベクター産生に必要な遺伝子を培養細胞の染色体DNAに組み込むことで、継続的にベクターを産生できるようにしたもので、ベクター産生に必要な遺伝子は培養細胞の染色体DNAに組み込まれている。安定化ベクター産生細胞株は、前世代のガンマレトロウイルスベクターの産生に広く利用されていた。培養細胞にガンマレトロウイルスベクターを感染させるだけで、ベクターゲノムが再び発現するため、安定化ベクター産生細胞株の樹立が容易であった。しかし、新世代のレンチウイルスベクターでは、安全性を高めるためにウイルス由来のプロモーター・エンハンサーをLTRから除去(自己不活性化)しているため、安定化ベクター産生細胞株の樹立が困難になっている。現在では、遺伝子組換えや遺伝子編集により、ベクターゲノムを発現するカセットを染色体DNAへ挿入することで、レンチウイルスベクターの安定化ベクター産生細胞株の樹立が可能となっている。

近年、部位特異的DNA切断酵素の開発により、遺伝子編集治療研究は急速に進展している⁶。従来、遺伝子異常の修復は、遺伝子変異の近傍を含む正常なDNA配列(ドナーDNA)を核内に導入し、それと相同組換えを引き起こすことで行われていた。ベクター配列を標的細胞の染色体へ挿入する必要がないため、挿入変異による造血器悪性腫瘍のリスクは小さいが、相同組換えの効率が低いため、遺伝子修復の検出が困難であった。標的細胞の染色体DNAを切断し、細胞自身のDNA修復経路を刺激することで相同組換えの効率を上げることができるが、非特異的なDNA損傷による細胞障害や悪性腫瘍の発生が課題であった。しかし、

近年、CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)/CRISPR 関連遺伝子9 (Cas9) システムなどの部位特異的DNA切断酵素が開発され、非特異的DNA損傷を防ぐことが可能となり、遺伝子修復治療の開発におけるブレークスルーとなっている。

2. 造血幹細胞への遺伝子付加治療

自己不活性化レンチウイルスベクターを用いた *ex vivo* 造血幹細胞遺伝子治療は、先天性免疫不全症やヘモグロビン異常症などの血液疾患や先天性代謝異常症を対象に臨床試験が行われている。多くの患者で治療効果が確認されているが、前世代のガンマレトロウイルスベクターとは異なり、ベクターの挿入変異による白血病合併は報告されていない。先天性免疫不全症に関しては、X連鎖性慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝子治療が行われ、遺伝子導入率の高い7例中6例で活性化酸素産生が改善し、約86%の有効性が確認された⁷。また、アデノシンデアミナーゼ欠損症に対する造血幹細胞遺伝子治療では、50例中40例でリンパ球数が改善し、約80%の有効性が確認された⁸。代謝性疾患では、X連鎖性副腎白質ジストロフィーに対する造血幹細胞遺伝子治療により、17例中15例(88%)で神経症状が改善した⁹。

ヘモグロビン異常症の一つである鎌状赤血球貧血症は、最も頻度の高い単一遺伝子疾患のひとつであり、治療用ベクター設計の難しさと歴史的重要性から、遺伝子治療の最初の目標になっている。鎌状赤血球貧血症は、ベータグロビン遺伝子の異常により、病的ヘモグロビンが重合して針状となり鎌状となった赤血球が血管閉塞を起こし、貧血、疼痛、臓器障害、早期死亡を引き起こす疾患である。正常な造血幹細胞を移植すれば生涯にわたって治癒させることができるが、適格なドナーが見つかるのは10%程度である。そこで、レンチウイルスベクターを用いて、患者自身の造血幹細胞に正常あるいは治療用ベータグロビン遺伝子(*HBB*^{T87Q})を導入する遺伝子治療が開発された。鎌状赤血球貧血症に対する造血幹細胞遺伝子治療の最新治療プロトコルでは、25例全員に治療用ヘモグロビンの発現と疼痛発作の改善・消失が認められ、有効性が確認された^{10,11}。しかし、初期の治療プロトコルで遺伝子治療を受けた後、造血器悪性腫瘍(骨髄形成症候群、急性骨髄性白血病)の合併が2例で報告された^{12,13}。1例目ではレンチウイルスベクターが腫瘍細胞の染色体DNAに挿入されていなかった。一方、2例目ではVAMP4遺伝子(発がんとの関連は報告なし)にベクター配列が挿入されていたが、その遺伝子発現量

は変化していなかった。また、鎌状赤血球貧血症の自然史において白血病発症のリスクが高いことが知られており、頻度の高い染色体異常（7番モノソミー、19番短腕異常）やがん遺伝子変異（*RUNX1*、*PTPN11*）が両者の白血病細胞で検出された。さらに、同種造血幹細胞移植後に患者細胞由来の造血器悪性腫瘍を合併した鎌状赤血球貧血症患者2例において、移植前の検体から同一の遺伝子変異（*TP53*）を有するクローンが検出された。これらのデータから、レンチウイルスベクターの挿入変異に由来する悪性化ではなく、疾患関連遺伝子の変異クローンに由来する造血器悪性腫瘍であることが示唆された。鎌状赤血球貧血症に伴う造血亢進状態により徐々に遺伝子変異クローンが生成され、移植後に少数の変異クローンが選択的に残存し、最終的に白血病に進展したと推察された。

また、副腎白質ジストロフィーに対する造血幹細胞遺伝子治療を行った3例で、骨髄異形成症候群の発症が報告された。治療用ベクターはMLV由来のプロモーター・エンハンサーから*ABCD1*遺伝子を発現させるものであった。また、アカゲザルの造血幹細胞遺伝子治療モデルにおいて、LTRにMLVプロモーター・エンハンサーを含むレンチウイルスベクターを用いた場合、白血病様のクローン性増殖が誘導されることが報告されている。したがって、副腎白質ジストロフィーの遺伝子治療では、レンチウイルスベクターシステムそのものではなく、内部プロモーターであるMLVプロモーター・エンハンサーが挿入部位周囲のがん遺伝子を刺激し、造血器悪性腫瘍を誘導していたと推測されている。レンチウイルスベクターを用いた造血幹細胞遺伝子治療は、他の疾患に対するものも含めてすでに300例以上行われていると言われていたが、挿入変異以外の原因を含めても造血器悪性腫瘍の合併率は1%程度に減少しており、安全性は向上している。また、有効性は80%程度と高く、先天性血液・代謝疾患の根治治療として臨床応用が期待されている。

3. 造血幹細胞への遺伝子編集治療

近年、CRISPR/Cas9やZinc-finger nuclease (ZFN)などの遺伝子編集法が実用化され、ベクター配列を挿入せずに病因遺伝子変異を修正する遺伝子編集治療が開発された。部位特異的DNA切断酵素や正常な遺伝子配列を含むドナーDNAを電気穿孔法により細胞内に導入し、患者自身へ自家移植するのが一般的である⁶。しかし、遺伝子修復された造血幹細胞は、修復過程や電気穿孔法の毒性による長期非生存が問題になっている¹⁴。ZFNは遺伝子サイズが比較的小さいため、

毒性の低い非挿入型レンチウイルスベクターで送達するのが可能である¹⁵。また、標的細胞の染色体DNAを壊さずに遺伝子編集を行う塩基編集法も開発されている¹⁶。

造血幹細胞遺伝子編集治療は、鎌状赤血球貧血症をはじめとするヘモグロビン異常症に対する臨床試験がすでに進行中である。電気穿孔法によりCRISPR/Cas9遺伝子編集ツールを患者の造血幹細胞に導入し、*BCL11A*遺伝子の赤血球特異的エンハンサー配列を変異させることにより、胎児ヘモグロビンの発現を誘導できることが示されている¹⁷。1年以上にわたって症状の改善が認められており、新規治療法として期待されている。しかし、この遺伝子編集治療は、遺伝子配列の変異により治療効果を発揮しており、ドナーDNAとの相同組換えによる遺伝子修復は行っていない。さらに、非特異的な遺伝子配列を変異させるオフターゲット効果などの副作用が危惧されており、遺伝子修復治療の開発にはさらなる研究が必要である。

4. *In vivo* 造血幹細胞遺伝治療の開発

現在、造血幹細胞にウイルスベクターやナノ粒子などの遺伝子送達物質を直接静脈注射して治療する*in vivo*遺伝子治療が開発されている。この*in vivo*造血幹細胞遺伝子治療では、前処理による副作用や、造血幹細胞の体外培養の煩雑さやコストなど、多くの問題が回避される。さらに、*in vivo*造血幹細胞遺伝子治療は、*ex vivo*培養のための細胞調整センターを必要としないため、鎌状赤血球貧血症の頻度が高いアフリカ・サハラ以南の発展途上国でも遺伝子治療を実現できる。そのためには、CRISPR/Cas9などの遺伝子治療ツールを骨髄造血幹細胞に対して特異的に送達する必要があり、その研究開発が進んでいる。一方、課題としては、標的細胞へのデリバリーを高効率にすること、非標的細胞へのデリバリーを最小限にすること、免疫原性を低減することなどが挙げられる¹⁸。

遺伝子治療ツールを細胞内に導入する方法は、ウイルス導入法と非ウイルス導入法に分けられる。ウイルス導入法では、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクターなどが用いられ、遺伝子治療ツールがベクター粒子に封入される。一方、非ウイルス性導入法では、遺伝子治療ツールを物理的および化学的に送達する方法がある。物理的な方法としては、電気穿孔法やマイクロインジェクションがあるが、*ex vivo*で使用されることが多い。化学的手法では、脂質、ポリマー、金などのナノ粒子を用いる。これらは通常、エンドサイトーシスなどによっ

て細胞内に取り込まれ、全身的または局所的に送達することができる。近年のRNAワクチンにて、脂質ナノ粒子による核酸送達法が臨床応用されている。

レンチウイルスベクターは、約7~10 kbという比較的大きなゲノム容量を持ち、様々な遺伝性疾患の *ex vivo* 遺伝子付加治療に用いられている。レンチウイルスベクターは他のウイルスに比べて免疫原性が低いとされているが、挿入変異による発がんが依然として懸念されている。そこで、標的細胞の染色体DNAへの組み込みを防ぐために、非挿入型のレンチウイルスベクターが開発されている。非挿入型レンチウイルスベクターにより、CRISPR/Cas9やZFNなどの遺伝子編集ツールを送達することができるようになってきている^{15,19}。モデルマウスを用いた *in vivo* 遺伝子編集治療研究では、非挿入型レンチウイルスベクターによる *in vivo* 遺伝子編集治療の実現可能性が示唆されている²⁰。

また、ウイルス様粒子は、ウイルスの構造タンパク質に由来するナノ粒子であるが、ウイルスゲノムを持たないため自己複製ができない。レンチウイルスに由来するウイルス様粒子は、約8 kbまでの遺伝子を内包して送達することができ、また、標的を特定するエンベロープを持つ。レンチウイルス様粒子として、Cas9タンパク質を内包したり、Cas9と *gag* を融合させたりして、遺伝子編集ツールを送達するものが開発されている²¹。ウイルス様粒子は主にワクチンとして臨床応用されており、疱疹性間質性角膜炎に対する臨床試験が開始されている (ClinicalTrials.gov: NCT04560790)。

おわりに

造血幹細胞を用いた遺伝子細胞治療の有効性は証明されつつあり、先天性疾患の根治治療として臨床応用が期待されている。しかし、安全性の問題や治療費の高さなど、世界中で広く普及するためにはまだ課題が残っており、さらなる研究開発が望まれている。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文 献

1. Cavazzana M, Bushman FD, Miccio A, André-Schmutz I, Six E: Gene therapy targeting haematopoietic stem cells for inherited diseases: progress and challenges. *Nat Rev Drug Discov* 2019; 18: 447-462.
2. Howe SJ, Mansour MR, Schwarzwald K, et al: Insertional mutagenesis combined with acquired somatic mutations causes leukemogenesis following gene therapy of SCID-X1 patients. *J Clin Invest* 2008; 118: 3143-3150.
3. Wu X, Li Y, Crise B, Burgess SM: Transcription

- start regions in the human genome are favored targets for MLV integration. *Science* 2003; 300: 1749-1751.
4. Dull T, Zufferey R, Kelly M, et al: A third-generation lentivirus vector with a conditional packaging system. *J Virol* 1998; 72: 8463-8471.
5. Throm RE, Ouma AA, Zhou S, et al: Efficient construction of producer cell lines for a SIN lentiviral vector for SCID-X1 gene therapy by concatemeric array transfection. *Blood* 2009; 113: 5104-5110.
6. Dever DP, Bak RO, Reinisch A, et al: CRISPR/Cas9 β -globin gene targeting in human haematopoietic stem cells. *Nature* 2016; 539: 384-389.
7. Kohn DB, Booth C, Kang EM, et al: Lentiviral gene therapy for X-linked chronic granulomatous disease. *Nat Med* 2020; 26: 200-206.
8. Kohn DB, Booth C, Shaw KL, et al: Autologous Ex Vivo Lentiviral Gene Therapy for Adenosine Deaminase Deficiency. *N Engl J Med* 2021; 384: 2002-2013.
9. Eichler F, Duncan C, Musolino PL, et al: Hematopoietic Stem-Cell Gene Therapy for Cerebral Adrenoleukodystrophy. *N Engl J Med* 2017; 377: 1630-1638.
10. Kanter J, Walters MC, Krishnamurti L, et al: Biologic and Clinical Efficacy of LentiGlobin for Sickle Cell Disease. *N Engl J Med*. 2022; 386: 617-628.
11. Kanter J, Thompson AA, Pierciey FJ, Jr., et al: Lovo-cel gene therapy for sickle cell disease: Treatment process evolution and outcomes in the initial groups of the HGB-206 study. *Am J Hematol* 2023; 98: 11-12. Epub 2022.
12. Goyal S, Tisdale J, Schmidt M, et al: Acute Myeloid Leukemia Case after Gene Therapy for Sickle Cell Disease. *N Engl J Med* 2022; 386: 138-147.
13. Hsieh MM, Bonner M, Pierciey FJ, et al: Myelodysplastic syndrome unrelated to lentiviral vector in a patient treated with gene therapy for sickle cell disease. *Blood Adv* 2020; 4: 2058-2063.
14. Uchida N, Li L, Nassehi T, et al: Preclinical evaluation for engraftment of CD34 (+) cells gene-edited at the sickle cell disease locus in xenograft mouse and non-human primate models. *Cell Rep Med* 2021; 2: 100247.
15. Lombardo A, Genovese P, Beausejour CM, et al: Gene editing in human stem cells using zinc finger nucleases and integrase-defective lentiviral vector delivery. *Nat Biotechnol* 2007; 25: 1298-1306.
16. Newby GA, Yen JS, Woodard KJ, et al: Base editing of haematopoietic stem cells rescues sickle cell disease in mice. *Nature* 2021; 595: 295-302.
17. Frangoul H, Altshuler D, Cappellini MD, et al: CRISPR-Cas9 Gene Editing for Sickle Cell Disease and β -Thalassemia. *N Engl J Med* 2021; 384: 252-260.
18. Germino-Watnick P, Hinds M, Le A, Chu R, Liu X, Uchida N: Hematopoietic Stem Cell Gene-Addition/Editing Therapy in Sickle Cell Disease. *Cells* 2022; 11: 1843.
19. Uchida N, Drysdale CM, Nassehi T, et al: Cas9 protein delivery non-integrating lentiviral vectors for gene correction in sickle cell disease. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2021; 21: 121-132.
20. Blasco RB, Karaca E, Ambrogio C, et al: Simple and rapid *in vivo* generation of chromosomal

rearrangements using CRISPR/Cas9 technology. Cell Rep 2014; 9 (4): 1219–1227.

21. Mangeot PE, Risson V, Fusil F, et al.: Genome editing in primary cells and in vivo using viral-derived Nanoblades loaded with Cas9-sgRNA ribonucleoproteins. Nat Commun 2019; 10: 45.

(受付：2022年11月15日)

(受理：2023年7月3日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。

—特集 [遺伝子治療 update : 日本医科大学の遺伝子治療研究 (4)]—

アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターの
感染細胞へのゲノム組み込みについて

平井 幸彦

東京大学医科学研究所遺伝子・細胞治療センター分子遺伝学分野

Genome Integration of Adeno-associated Virus (AAV) Vectors into Infected Cells

Yukihiro Hirai

Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy,
The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

Abstract

The development of gene therapy products using adeno-associated virus (AAV) vectors is progressing, and the gene therapy market is rapidly expanding. AAV shows no pathogenicity in the human body, has extremely low cytotoxicity and, unlike lentiviral and retroviral vectors, rarely integrates into chromosomes. Consequently, risk associated with AAV was thought to be low. In recent years, however, adverse events such as hepatotoxicity have become apparent as cases accumulate among laboratory animals and in clinical trials. In this paper, we present an overview of the integration of AAV vectors into the genome of infected cells, which is thought to be the cause of adverse events.

(日本医科大学医学会雑誌 2023; 19: 211-217)

Key words: adeno-associated virus vector (rAAV), integration into genomic DNA, insertional mutagenesis, the risk of rAAV-mediated oncogenesis

はじめに

AAV ベクターは様々な分裂終了細胞で持続的な導入遺伝子発現を提供するため, *in vivo* 遺伝子導入に一般的に使用されます。遺伝子治療に AAV ベクターが広く使用されていますが, ほとんどの AAV ベクターゲノムである DNA は通常エピソードのまま存在しますが, 一部のウイルスゲノムは低頻度で感染細胞のゲノムに組み込まれ, その挿入変異誘発による新生児マウスの腫瘍形成につながることを示されています

(図)。現在のところ, 確認された遺伝毒性事象はこれまでに報告されていないため, ヒトにおける AAV ベクターを介した発癌のリスクは理論上のものです。しかし, 挿入突然変異誘発が少数のマウス研究で報告されており, 動物モデルにおける AAV ベクターの宿主ゲノムへの Integration の証拠と, 患者における挿入変異誘発のリスクの可能性などを検討する研究, 規制の必要性, および患者のケアに必要な情報を提供するために, この遺伝毒性を解明する必要があります。

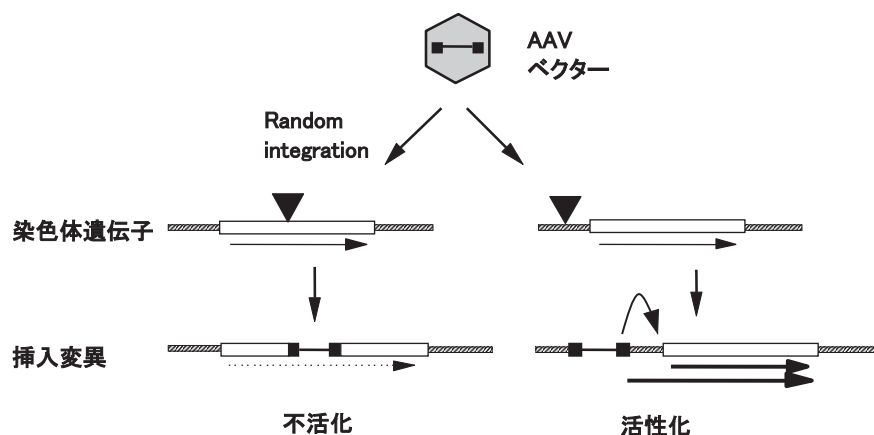


図 AAV ベクターの挿入変異による細胞毒性

臨床試験で認められた重篤な副作用として、Oncogenicity Risk, Hepatotoxicity, TMA (Thrombotic Microangiopathy), Neurotoxicity が取り上げられ議論されています^{1,2}。これら毒性のメカニズムについては色々仮説は提唱されているものの、まだ明確な結論は出ていません。米国食品医薬品局 (US Food and Drug Administration : FDA) において Cellular, Tissue, and Gene Therapies Advisory Committee (CTGTAC) Meeting が 2021 年に、開催され、AAV ベクターの安全性リスクに関して集中的な議論が行われましたが³、安全性評価における動物モデルの限界や、品質面の担保 (空のカプシド等を含む、種々の不純物による毒性評価) などで課題がまだ残されています。そこで、本稿では AAV ベクターの Integration 等に関する 2021 年 8 月 18 日、米国遺伝子細胞治療学会 (ASGCT) 仮想円卓会議 (AAV Integration Roundtable event) についての Denise E. Sabatino らの白書⁴をとおして、その現状の評価について報告します。

1. 動物モデルにおける AAV ベクター関連の host genome integration

AAV Integration の初期の研究 (1990~2000 年) は、*in vitro* モデル^{5,6} と *in vivo* モデル⁷ の両方で行われ、ゲノムの活発に転写された領域にほぼランダムな Integration が観察されました。肝部分切除マウスモデルを利用した研究では、AAV ゲノムの 10% 未満が組み込まれていると推定されました⁸。AAV ベクターと細胞 DNA とのジャンクション フラグメントのライブラリーの構築によって、AAV ベクターの Integration サイトは通常、アクティブな転写に関連する CpG アイランドおよび GC が豊富な領域の近くに見られること

が明らかになりました⁸⁻¹³。いくつかの AAV ベクター Integration 部位が種間で共通していること、および Integration がゲノムの ds DNA 切断に依存していることも示唆されています^{14,15}。

(I) 新生児マウスからの AAV ベクター遺伝毒性の証拠 (Rian 遺伝子座への挿入)

AAV ベクターと腫瘍形成との最初の関連は、Donsante らのムコ多糖症 VII 型 (MPSVII) マウスの研究でなされました¹⁶。MPSVII マウスの新生児期における 1 回の AAV ベクター治療は、長期的な導入遺伝子の発現、 β -Glucuronidase (GUSB) 活性、および表現型の補正をもたらしました^{17,18}。1 歳以上の投与 MPSVII マウスの多くは hepatocellular carcinoma (HCC) と血管肉腫を発症しました^{16,19}。さらに、同じ AAV2 ベクターを静脈内注射した新生 MPSVII の大規模なフォローアップ研究では、正常マウスと MPSVII マウスの両者の 30%~60% が生後約 13 カ月で HCC を発症し、腫瘍内の AAV ベクター Integration が検出されています。

腫瘍におけるこれらの AAV Integration の大部分は、Rian (核に刷り込まれて蓄積された RNA) 遺伝子座にあり、Rian 遺伝子座内およびその近位の遺伝子のアップレギュレーションを引き起こしました。Rian は、上皮から間葉への移行、Notch シグナル伝達経路の負の調節、および肝星細胞活性化の負の調節において役割を果たす長い非コード RNA です。Rian 遺伝子座の変異は、マウスで HCC を引き起こすことが示されています²⁰⁻²³。このマウス Rian に対してオーソログス (類似または同一の機能をもつ) であるヒトの長い非コード RNA MEG8 の発現増加は、HCC 患者の予後不良と関連しています²⁴。これらの観察結果から、Rian

への AAV ベクターの組み込みが遺伝子発現の調節不全を引き起こし、腫瘍形成に寄与するという最初の仮説が導き出されました。Rian に近接した潜在的な癌遺伝子 *Rhl1* および *Tax1bp1* は、Rian 以外の遺伝子への組み込みでもマウスで遺伝毒性を引き起こす可能性があることを示唆します²⁵。

新生児メチルマロン酸血症 (MMA)¹² マウスでの腫瘍および正常な肝臓組織の AAV Integration の検討では、これらの腫瘍の Rian 遺伝子座でクローン Integration が発見され、マイクロ RNA や *Rhl1* など、これらの Integration に近接する遺伝子の転写が増加し、Donsante の最初の発見が再現されました¹⁹。肝臓特異的遺伝子 *Alb* (アルブミン) および *Afp* (α -フェトプロテイン) への腫瘍形成とは関係のない Integration も特定されました。注目すべきことに、*Alb* 遺伝子座には、Rian を含むほかのどの遺伝子よりも多くの AAV ベクターが組み込まれていました。この高用量グループは、約 1×10^{14} vg/kg で投与されましたが、脊髄性筋萎縮症 (Spinal Muscular Atrophy : SMA) タイプ 1 を治療するためのヒトの全身 AAV ベクター投与に承認された用量に似ています。AAV ベクターの遺伝毒性は用量依存的であり、一部のエンハンサープロモーター (CAG またはサイロキシン結合グロブリン (TBG)) が遺伝毒性を引き起こしますが、ヒト α -1 アンチトリプシン (hAAT) エンハンサープロモーターでは Rian に組み込まれた場合でも遺伝毒性を引き起こしませんでした。これらの発見は、ベクターのデザインが毒性に関与し、毒性が低減されたベクターをデザインできることを示唆していました。

(2) 動物の年齢の役割

マウスでは、年齢が AAV ベクターを介した挿入変異誘発の発生に役割を果たすことを示しています。マウスでの発見は、分化および細胞周期に関与する遺伝子が活発に発現しているときに AAV ベクターで処理された組織または動物は、挿入変異誘発のリスクが高いことを示唆しました。残念ながら、マウスが AAV ベクター遺伝毒性の影響を受けにくくなる正確な年齢は不明です。

ラットにおける AAV 関連の腫瘍形成に関する限られた研究では、自己相補的 (sc) AAV と強力なユビキタス CMV プロモーターを使用して新生児ラットで腫瘍形成能の増加や DNA Integration の優先部位の証拠は見つけられず、AAV 投与後の肝臓腫瘍形成は新生児ラットにおいても存在しないと結論付けられました^{26,27}。さらに、イヌモデルは疾患の大型動物モデルと

して有効性と安全性を評価する機会を提供できますが、長期研究においても、血友病 A、血友病および糖原病 (GSD) タイプ Ia の犬を用いた最長 10 年間の長期追跡研究でも、AAV ベクター関連の腫瘍形成は報告されていません。

(3) 基礎にある肝疾患の影響

既存の肝疾患は AAV ベクター関連の遺伝毒性のリスクを高める可能性があります。慢性肝疾患の状況で AAV ベクター遺伝子治療にさらされた成体マウスは、高頻度で HCC を発症することも示されており¹⁵、したがって、炎症性肝疾患の有病率が高いことを考えると、ヒトでの追加研究の必要性を示しています。

(4) ヒト以外の霊長類における AAV ベクター

Integration と HCC リスクの評価

非ヒト霊長類 (NHP) 研究は、今日まで、遺伝毒性は報告されていませんが、発表されたほとんどすべての研究は短期の観察であるため、長期の遺伝毒性評価はできていません。いくつかの研究では、AAV ベクター投与後の Integration 分析が報告されています^{28,32}、組み込み部位のクラスタリングが示されましたが、遺伝子コード領域に対する優先性は検出されておらず^{29,33,34}。また妊娠後期の胎児または成獣への肝臓特異的発現を伴う持続的な臨床的レベルのヒト血液凝固第 IX 因子 (hFIX) は、臨床的な懸念は示しませんでした^{30,34,35}。

2. 臨床における挿入変異誘発のリスクの評価

AAV2-hFIX 投与の血友病 B の臨床研究および血友病 BscAAV8-LP1-hFIXco を投与した別の臨床研究における 6~15 年間および 8 年間の追跡調査においても、持続的な肝毒性または HCC 発症の証拠は報告されていません³⁶⁻⁴⁰。また、いくつかの異なる AAV 血清型ベクター (AAV1, 2, 5, 8, および 9) が臨床試験 (小児を含む) で現在使用されておりますが、いずれのタイプのがんも増加していません。遺伝子治療後に侵襲的な組織生検を行う必要があるため、AAV Integration の研究は非常に限られています。AAV1 ベクターの導入後のヒト筋生検の分析により、ベクターゲノム Integration が組織全体に不均一に分布していることが明らかになりました⁴¹。Integration 部位は、ミトコンドリア遺伝子および核ミトコンドリア DNA 領域内の主なホットスポットとともに宿主ゲノム全体に分布していました。

uniQure の 血 友 病 B の 治 療 薬 AMT-061

(etranacogene dezaparvovec : 第 IX 因子 Padua バリアントを発現する AAV5 ベクター) を投与した患者の一人に HCC の定期的な腹部超音波検査による予備診断で重篤な有害事象の可能性を見出し、臨床研究が保留にされました。しかし 25 年にわたる C 型肝炎ウイルス (HCV) および B 型肝炎ウイルス (HBV) の罹患病歴、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の証拠、喫煙歴、家族性癌の病歴、進行性癌の病歴および年齢を含む HCC に関連する複数の危険因子を有していたことに留意し^{42,43}、FDA は AMT-061 がこの患者の HCC に寄与した可能性は低いとして、研究の保留を 2021 年 4 月に解除しました^{42,44}。Integration はゲノム全体に分布しており、クローンの拡大や優先的な Integration はありませんでした。しかし、AAV 投与後の慢性肝障害のマウスモデルにおける HCC の発症¹⁵と血友病 B 患者における併存疾患との類似性を無視すべきではありません。

(1) HCC リスクとベクターデザインとの関係の評価

動物モデルにおける HCC のリスクは、① AAV ベクターの投与量および②導入遺伝子のエンハンサーおよびプロモーターエレメントの性質と相関することが示唆されています。データは、プロモーターとエンハンサー配列の Integration だけで腫瘍形成を促進できることを示しています²⁰。HCC を起こしやすい C3H/HeJ マウスを用いた研究では、AAV ベクター感染後の肝部分切除により、CMV-GFP 感染マウスでは HCC 発生率が減少しましたが、ニワトリの β -アクチン (CBA) プロモーターのみのヌルベクターの感染グループでは減少しませんでした。CBA ヌル感染肝切除マウス由来の腫瘍は、対応する CMV-GFP 感染群由来の腫瘍よりも有意に高いレベルのベクター DNA を含む可能性が高く、CMV プロモーターよりも CBA プロモーターによる腫瘍形成能力が強いことを示しました。CBA ヌルベクター挿入は、既知の癌原遺伝子または腫瘍抑制因子と関連しており、強力なリードスルー転写、エンハンサー効果、およびより強力なプロモーターによる腫瘍抑制因子の破壊を示唆しています。同様に CAG や TBG プロモーターなどの強力なプロモーターには、ゲノム Integration 後にリードスルーを駆動し、HCC の発生につながる近くの癌原遺伝子の発現を引き起こす可能性が高いと考えられています。さらに、*cap* 遺伝子と右の ITR の間に位置する領域の野生型 AAV2 ゲノム内に 46 ヌクレオチドの肝臓特異的エンハンサー/プロモーターエレメントが存在⁴⁵し、一部の AAV ベクターでも保存されているため、ベクターゲノムの組

み込み時に発現の調節不全に寄与する可能性があります。主に AAV2 はヒトに遍在しており、成人の約 80% が AAV2 に対する中和抗体を保有しています⁴⁶。HCC 腫瘍および正常な肝組織に Integration された AAV DNA が検出されていますが、多くの場合、AAV Integration イベントが腫瘍内のすべての細胞に存在するわけではありません^{47,48}。したがって、野生型 AAV と遺伝子治療用 AAV ベクターとの組込みの関連性は不明であり^{49,51}、腫瘍形成を含むいかなる疾患とも明確に関連することはないと思われます。

(2) 動物モデルの関連性

動物モデルは生物医学研究や医薬品開発で広く使用されていますが、動物モデルが人間の病気の予測因子として不十分であることは明らかです。完全に外挿可能な動物モデルはなく、人間ほど合理的に研究できる種は他にありません。

(3) Regulatory guidance (規制ガイダンス)

FDA と欧州医薬品局 (The European Medicines Agency : EMA) のガイダンス文書が AAV ベクターは非 Integration 的であると見なしているにもかかわらず、保健当局にとって挿入変異誘発による AAV ベクターの遺伝毒性と発がん性のリスクは、継続的な懸念事項です。例えば、2020 年 1 月に提出された FDA の長期フォローアップ ガイダンスでは、AAV ベクターには Integration する傾向がなく、有害事象のリスクが低いと述べられています。しかし、両機関は、2001 年と 2007 年の Donsante^{16,19} による研究論文について議論し、新生児として AAV で治療されたマウスにおける AAV ベクター DNA Integration に関連する HCC の誘導を説明し、この点を安全性評価で考慮すべきであることを示唆しています^{16,19}。

AAV ベクターの場合、FDA は、最大 5 年間の長期フォローアッププロトコルを実施することを推奨しています。この推奨は、Integration することが知られているベクター (例：レンチウイルスベクター) の場合の 15 年間の長期フォローアップ期間を推奨しているのと対照的です。それにもかかわらず、承認された AAV ベクターの製造業者は、最近の研究でより保守的なアプローチを取り入れています。例えば、Luxturna^{52,53} と Zolgensma^{54,55} はどちらも承認されていますが、15 年間の長期追跡調査期間が計画されています⁵⁶。これらの市販後データ、および進行中の臨床試験および長期前臨床試験から得られた追跡データにより、様々な AAV ベクターについての遺伝子治療の安

全性をさらに高めるための新しい知識が追加されていくと思われます。

おわりに

AAV ベクターによる遺伝子導入の成功は、最近承認された遺伝子治療製品 (Luxturna, Zolgensma, GlyberaSM) によって最もよく示されています。さらに、AAV ベクター ベースのベクターに関する豊富な前臨床および臨床研究により、その耐久性と臨床的安全性を確認する必要性が明確になっています。全体として、AAV Integration の頻度は低く、現在までに AAV ベクターに関連する癌の症例がヒトで報告されていないことを考えると、悪性腫瘍のリスクは理論的なものであると思われます。

血友病 B の臨床試験における被験者の HCC の最近の症例では、HCC と AAV の Integration との関連性は見出されませんでした。AAV の Integration と遺伝毒性のリスクに関する現在進行中の議論の重要性が高まっております。この分野は、リスクを最小限に抑え、患者が長期的に利益を得られるようにすることを目標に、データの透明性と共有の向上、根底にあるメカニズムの調査、および AAV 遺伝子治療の生物学的結果の理解を深めるための新しいツールとモデルの開発に取り組む必要があります。

最後に、私が所属しております東京大学医科学研究所・遺伝子細胞治療センター・分子遺伝医学分野では、AAV ベクター作製のための小・中規模アカデミア GMP 施設を準備中であります。これまで検討をしてまいりました上流過程および下流過程を用いて、より高品質で、より安価な毒性の低い AAV ベクターを作製し、臨床試験に用いたいと考えております。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文 献

- Weinmann, J, Grimm, D: Next-generation AAV vectors for clinical use: an ever-accelerating race. *Virus Genes* 2017; 53: 707-713.
- Berry GE, Asokan A: Cellular transduction mechanisms of adenoassociated viral vectors. *Curr Opin Virol* 2016; 21: 54-60. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2016.08.001>.
- Schmidt M, Govindasamy L, Afione S, Kaludov N, Agbandje-McKenna M, Chiorini JA: Molecular characterization of the heparin-dependent transduction domain on the capsid of a novel adeno-associated virus isolate, AAV (VR-942). *J Virol* 2008; 82: 8911-8916.
- Sabatino, DE., Bushman, FD, Chandler, RJ., Crystal, RG, Davidson, BL, Dolmetsch, R., Eggan, KC, Gao, G., Gil-Farina, I, Kay, MA., McCarty, DM, Montini, E., Ndu, A, Yuan, J., American Society of Gene and Cell Therapy (ASGCT) Working Group on AAV Integration Evaluating the state of the science for adeno-associated virus integration: An integrated perspective. *Mol Ther* 2022; 30: 2646-2663. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.06.004>
- Rutledge EA, Russell DW: Adeno-associated virus vector integration junctions. *J Virol* 1997; 71: 8429-8436.
- Yang CC, Xiao X, Zhu X, et al.: Cellular recombination pathways and viral terminal repeat hairpin structures are sufficient for adeno-associated virus integration in vivo and in vitro. *J Virol* 1997; 71: 9231-9247.
- Nakai H, Iwaki Y, Kay MA, Couto LB: Isolation of recombinant adeno-associated virus vector-cellular DNA junctions from mouse liver. *J Virol* 1999; 73: 5438-5447.
- Nakai H, Yant SR, Storm TA, Fuess S, Meuse L, Kay MA: Extrachromosomal recombinant adeno-associated virus vector genomes are primarily responsible for stable liver transduction in vivo. *J Virol* 2001; 75: 6969-6976.
- Nakai H, Montini E, Fuess S, Storm TA, Grompe M, Kay MA: AAV serotype 2 vectors preferentially integrate into active genes in mice. *Nat Genet* 2003; 34: 297-302.
- Nakai H, Wu X, Fuess S, et al.: Large-scale molecular characterization of adeno-associated virus vector integration in mouse liver. *J Virol* 2005; 79: 3606-3614.
- Miller DG, Trobridge GD, Petek LM, et al.: Large-scale analysis of adeno-associated virus vector integration sites in normal human cells. *J Virol* 2005; 79: 11434-11442.
- Chandler RJ, LaFave MC, Varshney GK, et al.: Vector design influences hepatic genotoxicity after adeno-associated virus gene therapy. *J Clin Invest* 2015; 125: 870-880.
- Li H, Malani N, Hamilton SR, et al.: Assessing the potential for AAV vector genotoxicity in a murine model. *Blood* 2011; 117: 3311-3319.
- Gil-Farina I, Fronza R, Kaepfel C, et al.: Recombinant AAV integration is not associated with hepatic genotoxicity in nonhuman primates and patients. *Mol Ther* 2016; 24: 1100-1105.
- Dalwadi DA, Torrens L, Abril-Fornaguera J, et al.: Liver injury increases the incidence of HCC following AAV gene therapy in mice. *Mol Ther* 2021; 29: 680-690.
- Donsante A, Vogler C, Muzyczka N, et al.: Observed incidence of tumorigenesis in long-term rodent studies of rAAV vectors. *Gene Ther* 2001; 8: 1343-1346.
- Daly TM, Ohlemiller KK, Roberts MS, Vogler CA, Sands MS: Prevention of systemic clinical disease in MPS VII mice following AAV-mediated neonatal gene transfer. *Gene Ther* 2001; 8: 1291-1298.
- Daly TM, Okuyama T, Vogler C, Haskins ME, Muzyczka N, Sands MS. Neonatal intramuscular injection with recombinant adeno-associated virus

- results in prolonged beta-glucuronidase expression in situ and correction of liver pathology in mucopolysaccharidosis type VII mice. *Hum Gene Ther* 1999; 10: 85–94.
19. Donsante A, Miller DG, Li Y, Vogler C, Brunt EM, Russell DW, Sands MS: AAV vector integration sites in mouse hepatocellular carcinoma. *Science* 2007; 317: 477. <https://doi.org/10.1126/science.1142658>.
 20. Wang PR, Xu M, Toffanin S, Li Y, Llovet JM, Russell DW: Induction of hepatocellular carcinoma by in vivo gene targeting. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 11264–11269.
 21. Dupuy AJ, Rogers LM, Kim J, et al.: A modified sleeping beauty transposon system that can be used to model a wide variety of human cancers in mice. *Cancer Res* 2009; 69: 8150–8156.
 22. Riordan JD, Keng VW, Tschida BR, et al.: Identification of rtt1, a retrotransposon-derived imprinted gene, as a novel driver of hepatocarcinogenesis. *PLoS Genet* 2013; 9: e1003441. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003441>.
 23. Ranzani M, Cesana D, Bartholomae CC, et al.: Lentiviral vector-based insertional mutagenesis identifies genes associated with liver cancer. *Nat Methods* 2013; 10: 155–161.
 24. Hu Y, Yan W, Jin Z, et al.: LncRNA MEG8 plays an oncogenic role in hepatocellular carcinoma progression through miR-367-3p/14-3-3z/TGFB1 axis. *Neoplasia* 2021; 68: 273.
 25. Zhong L, Malani N, Li M, et al.: Recombinant adeno-associated virus integration sites in murine liver after ornithine transcarbamylase gene correction. *Hum Gene Ther* 2013; 24: 520–525.
 26. Schmidt EV, Christoph G, Zeller R, Leder P: The cytomegalovirus enhancer: a pan-active control element in transgenic mice. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 4406–4411.
 27. Kay MA, Li Q, Liu TJ, Leland F, Toman C, Finegold M, Woo SLC: Hepatic gene therapy: persistent expression of human alpha 1-antitrypsin in mice after direct gene delivery in vivo. *Hum Gene Ther* 1992; 3: 641–647.
 28. Nowrouzi A, Penaud-Budloo M, Kaeppel C, et al.: Integration frequency and intermolecular recombination of rAAV vectors in non-human primate skeletal muscle and liver. *Mol Ther* 2012; 20: 1177–1186.
 29. Chandler RJ, Sands MS, Venditti CP: Recombinant adeno-associated viral integration and genotoxicity: insights from animal models. *Hum Gene Ther* 2017; 28: 314–322.
 30. Mattar CNZ, Gil-Farina I, Rosales C, et al.: In utero transfer of adeno-associated viral vectors produces long-term factor IX levels in a cynomolgus macaque model. *Mol Ther* 2017; 25: 1843–1853.
 31. Spronck L, de Haan M, Heijink L, Twisk J, Ferreira V, van Deventer S: Assessment of vector integration of AAV5-hFIX in mice and non-human primates indicates No association with tumorigenic risk [Abstract]. *Res Pract Thromb Haemost* 2020; 4.
 32. Sullivan L, Zahn M, Gil Farina I, et al.: Rare genomic integrations of AAV5-hFVIII-SQ occur without evidence of clonal activation or gene-specific targeting. *Mol Ther* 2021; 29: 425.
 33. Hüser, D., Gogol-Döring, A., Lutter, T., Weger, S., Winter, K., Hammer, E.M., Cathomen, T., Reinert, K., and Heilbronn, R. (2010). Integration preferences of wildtype AAV-2 for consensus rep-binding sites at numerous loci in the human genome. *PLoS Pathog* 6, e1000985. Gogol-Döring A, Lutter T, et al.: Integration preferences of wildtype AAV-2 for consensus rep-binding sites at numerous loci in the human genome. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1000985. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000985>.
 34. Mattar CN, Nathwani AC, Waddington SN, et al.: Stable human FIX intrauterine gene transfer of self-complementary adeno-associated viral vector 5 and 8 in macaques. *Mol Ther* 2011; 19: 1950–1960. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.107>.
 35. Nathwani AC, Rosales C, McIntosh J, et al.: Long-term safety and efficacy following systemic administration of a self-complementary AAV vector encoding human FIX pseudotyped with serotype 5 and 8 capsid proteins. *Mol Ther* 2011; 19: 876–885. <https://doi.org/10.1038/mt.2010.274>.
 36. George LA, Ragni MV, Rasko JEJ, et al.: Long-term follow-up of the first in human intravascular delivery of AAV for gene transfer: AAV2-hFIX16 for severe hemophilia B. *Mol Ther* 2020; 28: 2073–2082.
 37. Nathwani AC, Reiss U, Tuddenham E, et al.: Adeno-associated mediated gene transfer for hemophilia B: 8 year follow up and impact of removing “empty viral particles” on safety and efficacy of gene transfer. *Blood* 2018; 132: 491. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-09-118334>.
 38. Pasi KJ, Rangarajan S, Mitchell N, et al.: Multiyear follow-up of AAV5-hFVIII-SQ gene therapy for hemophilia A. *N Engl J Med* 2020; 382: 29–40. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1908490>.
 39. Rangarajan S, Walsh L, Lester W, et al.: AAV5-Factor VIII gene transfer in severe hemophilia A. *N Engl J Med* 2017; 377: 2519–2530. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1708483>.
 40. George LA, Monahan PE, Eyster ME, et al.: Multiyear factor VIII expression after AAV gene transfer for hemophilia A. *N Engl J Med* 2021; 385: 1961–1973.
 41. Kaeppel C, Beattie SG, Fronza R, et al.: A largely random AAV integration profile after LPLD gene therapy. *Nat Med* 2013; 19: 889–891. <https://doi.org/10.1038/nm.3230>.
 42. uniQure: uniQure announces FDA removes clinical hold on Hemophilia B gene therapy program [Press release]. 2021. <https://www.globenewswire.com/newsrelease/2021/04/26/2216691/0/en/uniQure-Announces-FDA-Removes-Clinical-Hold-on-Hemophilia-B-Gene-Therapy-Program.html>.
 43. Schmidt MR, Foster G, Coppens M, et al.: Liver safety case report from the phase 3 HOPE-B gene therapy trial in adults with hemophilia B [abstract]. *Res Pract Thromb Haemost* 2021; 5.
 44. uniQure: uniQure announces findings from reported case of Hepatocellular Carcinoma (HCC) in Hemophilia B gene therapy program [Press release]. 2021. <https://tools.eurolandir.com/tools/Pressreleases/GetPressRelease/?ID=3890956&lang=en-GB&companycode=nl-qure&v=>.
 45. Logan GJ, Dane AP, Hallwirth CV, et al.: Identification of liver-specific enhancer-promoter activity in the 3' untranslated region of the wildtype

- AAV2 genome. *Nat Genet* 2017; 49: 1267–1273.
46. Verdera HC, Kuranda K, Mingozzi F: AAV vector immunogenicity in humans: a long journey to successful gene transfer. *Mol Ther* 2020; 28: 723–746.
 47. Nault JC, Datta S, Imbeaud S, et al.: Recurrent AAV2-related insertional mutagenesis in human hepatocellular carcinomas. *Nat Gen* 2015; 47: 1187–1193. <https://doi.org/10.1038/ng.3389>.
 48. La Bella T, Imbeaud S, Peneau C, et al.: Adeno-associated virus in the liver: natural history and consequences in tumour development. *Gut* 2020; 69: 737–747. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318281>
 49. Berns KI, Byrne BJ, Flotte TR, et al.: Adeno-associated virus type 2 and hepatocellular carcinoma? *Hum Gen Ther* 2015; 26: 779–781. <https://doi.org/10.1089/hum.2015.29014.kib>
 50. Büning H, Schmidt M: Adeno-associated vector toxicity-to Be or not to Be? *Mol Ther* 2015; 23: 1673–1675. <https://doi.org/10.1038/mt.2015.182>.
 51. Russell DW, Grompe M: Adeno-associated virus finds its disease. *Nat Genet* 2015; 47: 1104–1105.
 52. EMA: New gene therapy for rare inherited disorder causing vision loss recommended for approval [Press release]. 2018. <https://www.ema.europa.eu/en/news/newgene-therapy-rare-inherited-disorder-causing-vision-loss-recommended-approval>.
 53. FDA: FDA approves novel gene therapy to treat patients with a rare form of inherited vision loss [Press release]. 2017. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-novel-gene-therapy-treat-patients-rare-form-inherited-vision-loss>.
 54. FDA: FDA approves innovative gene therapy to treat pediatric patients with spinal muscular atrophy, a rare disease and leading genetic cause of infant mortality [Press release]. 2019. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-innovative-gene-therapy-treat-pediatric-patients-spinal-muscularatrophy-rare-disease>.
 55. EMA: New gene therapy to treat spinal muscular atrophy [Press release]. 2020. https://www.ema.europa.eu/en/documents/press-release/new-gene-therapy-treatspinal-muscular-atrophy_en.pdf.
 56. FDA: Food and drug administration (FDA) cellular, tissue, and gene therapies advisory committee (CTGTAC) meeting #70 toxicity risks of adeno-associated virus (AAV) vectors for gene therapy (GT) [Briefing document]. 2021. <https://www.fda.gov/media/151599/download>.
 57. EMA: 2012. Glybera [Press release]. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/glybera>.

(受付：2023年6月26日)

(受理：2023年7月3日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。

—特集 [遺伝子治療 update : 日本医科大学の遺伝子治療研究 (5)]—

ヘルペスウイルスベクターを用いた
遺伝子治療技術開発

宮川世志幸

日本医科大学生化学・分子生物学 (分子遺伝学)

Development of Herpes Simplex Virus-based Vectors for Gene Therapy

Yoshitaka Miyagawa

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School

Abstract

In recent years, gene and cell therapies have become widely accepted as new therapeutic modalities, and a number of gene therapy drugs have been approved. Underlying this advance are innovations in gene delivery tools, especially viral vectors, which are no longer simply gene transfer tools in basic research. Since its initial inception, all aspects of gene therapy have been dramatically improved, including their safety, functionality, and production technology. On the other hand, with use of gene therapies clinically, new safety and efficacy concerns have emerged, and gene therapy is now entering a new phase. Both preclinical and clinical data have demonstrated that simple overexpression of a therapeutic gene at a disease site through transduction by a gene delivery vector is not sufficient to ensure safety and therapeutic efficacy. Maturation of this field will require more sophisticated gene delivery vector systems and highly regulated therapeutic gene expression systems to precisely introduce these genes into target cells and express them to the appropriate degree at the appropriate time. Herpes simplex virus (HSV)-based vectors are extremely safe and functional vector systems that have the potential to meet current challenges in gene and cell therapy. This makes HSV vectors promising gene delivery vehicles for gene therapy. This chapter will focus on the current trends in the development of HSV as a delivery vector for gene therapy.

(日本医科大学医学会雑誌 2023; 19: 218-223)

Key words: herpes simplex virus-based vectors, gene therapy, detoxification

はじめに

近年、遺伝子細胞治療が新しい治療モダリティとして広く受け入れられるようになり、数多くの遺伝子治療薬が承認されている。これも治療遺伝子を運ぶ遺伝

子導入技術、特にウイルスベクターの技術革新によるものであり、もはやウイルスベクターは基礎研究における単なる遺伝子導入ツールではなくなったことは間違いない。今日において、遺伝子治療は研究開始当初

とは比べ物にならない程、安全性、機能性、生産技術等すべての面において飛躍的な改善が見受けられる。一方、実臨床にて遺伝子細胞治療が使用されるようになるにつれて、新たな安全性や有効性の問題が浮上してきており、遺伝子治療は新たな局面を迎えている。これまでの前臨床・臨床データの蓄積により、遺伝子治療用ベクターを疾患部位に投与して、単に治療遺伝子を過剰発現させるだけでは安全性が担保されず、十分な治療効果は得られないことが徐々に明らかとなってきた。今後、安全性が担保された質の高い遺伝子治療を提供していくためには、的確に標的細胞のみに治療遺伝子を導入することが要求され、いかに厳密に発現時期や発現量をコントロールできるかが鍵となってくる。これらの課題を達成するためには、より洗練された遺伝子治療用ベクターシステムと緻密にコントロール可能な治療遺伝子発現系が必要となる。ヘルペスウイルス (HSV) ベクターは、このような現在の遺伝子治療における諸課題を克服する可能性を秘めた極めて安全性・機能性の高いベクターシステムであり、様々な疾患を対象とした遺伝子治療用担体として有望視されている。本稿では、HSV の遺伝子治療用デリバリーベクターとしての開発動向にフォーカスして概説する。腫瘍溶解性 HSV ベクターについては、複数の良い総説があるため、そちらをご参照いただきたい^{1,2}。

1. HSV ベクター開発

HSV ベクター研究の歴史は古く、1980 年代から HSV を遺伝子導入用ベクターとして利用しようとした試みが行われている。HSV をベクターとして利用する場合、様々な優れた点がある：1) 分裂/非分裂細胞の両方の様々な細胞種に対して高い感染能力を持つ。2) ウイルスゲノムが極めて大きいため (~150 kb)、巨大かつ複数の治療遺伝子を運搬可能である。3) HSV 感染後、ウイルスゲノムは染色体に組み込まれることなく核内に留まり、安定なエピソームとして存在する。したがって、遺伝子挿入変異の危険性がない。4) 神経細胞に対して潜伏感染できるため、長期間安定的に治療遺伝子供給が可能である。特筆すべきは、際立って高い遺伝子搭載能力であろう。現在、遺伝子治療用ベクターとして広く応用が進んでいるアデノ随伴ウイルスベクターやレンチウイルスベクターは、遺伝子搭載能力に乏しく (4~9 kb)、標的疾患は治療遺伝子のサイズにより限定されてしまう。また冒頭に喫緊の課題として述べた緻密な治療遺伝子の発現調節については、組織特異的・時期特異的な転写制御領域や翻訳調

節領域の搭載が必要不可欠となるが、このような発現制御配列は往々にして複雑かつサイズが大きいいため、既存のベクターでは搭載することができない。一方、HSV ベクターの遺伝子搭載能力の高さは数々の先行研究により実証されており^{3,4}、これらの課題を容易に克服可能である。加えて、近年 HSV ベクター標的化技術が開発され、狙った細胞・組織に対してのみ HSV ベクターを送達することが可能になりつつある⁵⁻⁷。このように HSV ベクターは、現在の遺伝子治療が抱える懸念を打ち砕くことができる非常に魅力的なベクターシステムである。これまで HSV をベクターとして利用する上での最重要課題は、その高い細胞毒性であった。HSV は神経細胞以外の多くの細胞において活発に複製し、毒性の高いウイルスタンパク質を高発現する。また神経細胞に対しては、潜伏感染を成立させるが、宿主が何らかの刺激を受けると再活性化し、再び複製を開始して、毒性タンパク質を発現する。そのため、野生型 HSV をそのままベクターとして利用するのは困難である。HSV ベクターの安全性向上のために、多くの研究者によって様々な HSV ゲノムの遺伝子改変が施されてきた。これらの努力の末、安全性の懸案事項は段階的に解決され、最新のベクターシステムは非常に安全性に優れたものになっている。次の項より、どのように HSV ベクター開発が為され、安全性が担保されていったかその経緯を辿る。

(1) 第一世代

HSV ベクター研究創成期においては、HSV ベクター化にあたり鍵となる細胞毒性に関わる遺伝子群の機能およびその遺伝子欠損変異の影響について精力的に研究が進められた。その結果、HSV ゲノム上に5つ存在する Immediate-early (IE) 遺伝子のひとつである転写因子 ICP4 遺伝子あるいは RNA プロセッシング関連因子 ICP27 遺伝子を欠損させることにより、HSV を複製欠損型に改変できることが示された (図 1)⁸。また同研究の最中で、培養細胞内での増殖に必須ではない、いわゆるアクセサリ遺伝子群も同定され、これらの遺伝子座が治療遺伝子挿入に有用であることも証明された。作製された IE 遺伝子変異体は複製欠損となるが、欠損させた IE 遺伝子を培養細胞からトランスに発現させることで増殖可能であることが示されたのも、HSV ベクター開発において極めて重要な一歩であったといえる。

(2) 第二世代

創成期の研究において、HSV を複製欠損型に改変で

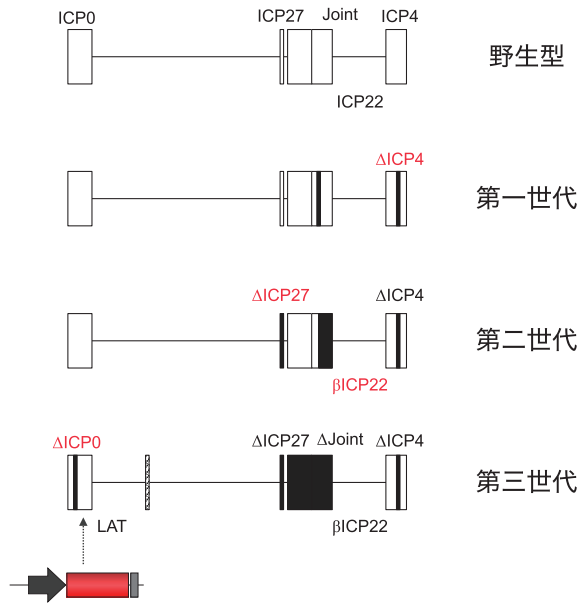


図1 HSV ベクターの構造

きることは証明されたが、IE 遺伝子の単独遺伝子欠損変異では、HSV 由来細胞毒性を除去することはできないことも判明した⁸。そこで、さらなる細胞毒性低減を目的として、様々な組み合わせで IE 遺伝子群を欠損させた HSV ベクターが開発され、その安全性・機能性の比較検討が行われた。Krisky らは、上記の第一世代 HSV ベクターにて欠損させた ICP4, ICP27 遺伝子に加えて、転写制御因子である IE 遺伝子 ICP22 遺伝子発現を欠損させたトリプル変異体の開発に成功した(図1)^{9,10}。このベクターは、HSV 由来細胞毒性が大幅に低減されているにもかかわらず、神経細胞に対して効率的に遺伝子導入可能であることが報告された。また同時期に、HSV ゲノムにある2つのセグメント U_L, U_S を連結する接合部 (Joint 領域) を欠損させることで、ベクターゲノムの安定性が増すばかりでなく、治療遺伝子を挿入するスペースを広く確保できることも明らかとされた¹¹。第二世代 HSV ベクターの開発がきっかけとなり、HSV ベクターの遺伝子治療応用が大きく躍進したと言っても過言ではない。実際、近年臨床研究に進んでいる遺伝子治療用 HSV ベクターは、第二世代の遺伝子改変が施されている HSV ベクターバックボーンを採用している。HSV ベクターの臨床研究の進捗状況については、後の項で詳しく解説する。

(3) 第三世代

ICP4, ICP27, ICP22 遺伝子発現が欠損した HSV ベクターは、末梢神経組織に対する遺伝子導入については高い安全性を示すものの、依然として脳組織やその

他の非神経組織においては強い細胞毒性を示す^{12,13}。これは、HSV ゲノム転写活性化に極めて重要な役割を果たす IE 遺伝子 ICP0 が残っていることに起因する。この残存する HSV 由来細胞毒性を完全に消去する解決策として、ICP0 遺伝子をゲノムより除去することが容易に想到されるが、これを達成するには2つの大きな障壁をクリアしなければならない。ひとつは HSV ゲノムの転写不活性問題である。HSV は細胞に感染した後、HSV 遺伝子発現を活性化させ、複製を開始するが、ICP0 タンパク質非存在下の場合、転写活性化は起こらず、HSV ゲノムの大部分が速やかにサイレンシングされる¹⁴。HSV ベクターに挿入される治療遺伝子発現系も同様の転写制御を受けるため、標的組織における効率的な治療遺伝子発現が困難になる。もうひとつはベクター生産の問題である。前述のように HSV IE 遺伝子変異体は欠損 IE 遺伝子をウイルス生産細胞からトランスに供給することで生産可能となるが、ICP0 は細胞毒性が非常に高く、わずかなリーク発現でもウイルス生産細胞の生存・増殖に影響するため、ICP0 遺伝子発現系を安定的に生産細胞ゲノムに維持することができない¹⁵。したがって、仮に ICP0 を含む多重 IE 遺伝子欠損 HSV ベクターを作製したとしても、効率的にベクター生産を行うことが非常に難しい。これらの課題が妨げとなり、HSV ベクターの医療応用範囲は長い間極めて限定的であった。われわれは、近年これら諸課題を克服する無毒化 HSV ベクターシステム JANI を開発した³。本ベクターシステムでは、HSV ゲノム上に存在する5つすべての IE 遺伝子発現を遺伝子改変によって欠損させることにより、HSV 由来細胞毒性の完全除去に成功している。上述のごとく、ICP0 遺伝子を除去すると HSV ゲノムのグローバルなゲノムサイレンシングが誘導されるが、本ベクターシステムでは、ICP0 タンパク質非存在下でも高い転写活性を保つ HSV ゲノム領域として、Latency associated transcript (LAT) 領域を同定し、これを治療遺伝子発現に利用することで本課題を解決した(図1)。興味深いことに、LAT 領域に挿入された治療遺伝子発現カセットは、ゲノムサイレンシングから強力に保護され、長期において治療遺伝子を供給できることが判明した。また、このような多重 IE 遺伝子欠損 HSV ベクターの生産に関する課題は、ICP0 タンパク質の機能を自然に補完することができるヒト骨肉腫細胞株 U2OS をベースとしてウイルス生産細胞を樹立することで解決された¹⁶。この場合、細胞毒性の高い ICP0 遺伝子発現系を細胞に導入する必要がないため、ウイルス生産細胞を問題なく維持することができる。これらの技術

が集約され、これまで困難を極めた無毒化 HSV ベクターの開発およびその効率的なベクター生産が達成された。開発された無毒化 HSV ベクターは、様々なヒト組織由来初代培養細胞に効率良く遺伝子導入することが可能であった³。またラット神経組織に対して、細胞を傷害することなく長期にわたり導入遺伝子を供給することが確認された^{12,13}。その後、第三世代 HSV ベクターをベースに、さらなる性能向上を目指した遺伝子改変を施されている^{13,17}。われわれは、第三世代 HSV ベクターの機能評価を行い、単回投与によって神経組織・非神経組織いずれにおいても、少なくとも6カ月以上持続して導入遺伝子が発現することを明らかにしている。以上の結果は、第三世代 HSV ベクターが既存 HSV ベクターより安全性・機能が顕著に向上していることを証明しており、HSV ベクターを用いた遺伝子治療の適用範囲についても大幅に拡大できることが期待される。

2. HSV ベクターを用いた遺伝子治療臨床研究

HSV ベクターを用いた臨床研究は、がん治療に対して非常に盛んに行われており、複数のベクターが臨床試験を経て、遺伝子治療薬として承認されている^{18,19}。一方、治療遺伝子デリバリーベクターとしても、HSV の特性を活かした様々な遺伝子治療用ベクターが開発されており、臨床研究も活発に行われている。以下に、標的疾患ごとにその開発状況を述べる。

(1) 疼痛

世界ではおよそ15億人が慢性的な疼痛に苦しんでいるとされており、今後、高齢化社会を迎え、がん生存率が上昇するに伴い、さらに疼痛患者は増加することが見込まれている。一方、疼痛患者の増加にも関わらず、有効な治療法は限られている。一般的に処方される非ステロイド性抗炎症薬やオピオイドアゴニストなどの鎮痛剤は、慢性疼痛に対して有効とは限らず、その長期使用は様々な有害作用や身体・精神依存のような中毒性の原因となるため、大きな問題となっている。遺伝子治療は、中枢神経・末梢神経系の特定の細胞集団を標的化することが可能であり、一回の投与で持続的な効果が期待できることから、既存の疼痛治療が解決できない課題を克服する画期的なアプローチとして、近年開発が進んでおり、その疼痛治療効果も数多く報告されている^{20,21}。HSV ベクターは、その高い神経親和性から有望な疼痛遺伝子治療用ベクターとしてこれまで開発が行われており、多くの前臨床研究からその安全性・有効性が確認されている²²⁻²⁵。疼痛遺伝

子治療用 HSV ベクターのひとつとして開発された NP2 は、IE 遺伝子 ICP4、ICP27、ICP22 遺伝子発現を欠損した第二世代の HSV ベクターであり、抗侵害受容活性が期待されるヒト Preproenkephalin (PENK) 遺伝子発現カセットが2コピー搭載されている。NP2 は皮内投与されると、逆行性軸索輸送により後根神経節 (DRG) に運ばれ潜伏感染を成立させ、DRG 神経内で PENK 遺伝子を発現する。発現された Proenkephalin から Met-および Leu-enkephalin が生じ、これらがオピオイド受容体に結合することで、侵害受容神経伝達を抑制すると考えられている。実際、NP2 は疼痛動物モデルにおいて、高い安全性と疼痛緩和効果が確認された^{26,27}。これらの前臨床研究結果に基づき、NP2 を用いた疼痛治療に対する臨床研究が計画された (NCT00804076)²⁸。第 I 相試験では、NP2 の安全性・治療効果を評価する目的として、10名の難治性癌性疼痛患者に対して NP2 の支配神経下皮内投与が行われた。その結果、いずれの dose においても重篤な有害事象は確認されず NP2 の高い安全性が示された。また低容量投与群 (10^7 pfu/cohort) においては顕著な疼痛治療効果は認められなかったものの、中・高容量投与群 ($10^8, 10^9$ pfu/cohort) においては有意に疼痛緩和効果が認められた。続いて、第 II 相試験は、NP2 のさらなる安全性・治療効果を評価する目的で実施された二重盲検試験であり、17名の癌性疼痛患者、16名のプラセボが集められ、NP2 が支配神経下皮内投与された。本試験においては NP2 投与由来の重篤な有害事象は確認されなかったため、HSV ベクターによる疼痛治療の高い忍容性が確認された。一方、プラセボ群と比較し、有意な疼痛治療効果が確認されなかった。その後、抗侵害受容活性の改善を目指して、Glutamic acid decarboxylase (GAD)、Endomorphin-2、Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) 等、様々な疼痛治療遺伝子を搭載した HSV ベクターが開発された²⁹⁻³²。これらのベクターは疼痛動物モデルを用いた試験において、高い有効性を示しているため、今後の臨床研究が待たれる。また神経細胞における安全性・機能が大幅に向上した第三世代 HSV ベクター使用による治療効果の改善も期待されている。

(2) 皮膚疾患

劣性ジストロフィー性表皮水疱症 (RDEB) は、皮膚や粘膜組織を侵す極めて重篤な遺伝性水疱症である。本疾患では、真皮と表皮を結合する VII 型コラーゲン形成を担う COL7A1 遺伝子変異により発症し、真皮と表皮の接着分子が十分に機能しないため、RDEB

患者の皮膚が非常に脆くなり、生涯軽い摩擦や外傷で激しい痛みを伴う水疱や皮膚潰瘍を繰り返す。現在、本疾患を根本的に完治させる治療法は存在せず、症状を軽減させるための対処療法のためのため、本疾患を分子レベルで治療する画期的な治療技術の開発が求められていた。HSVは皮膚や粘膜組織に効率的に感染することが知られているが、HSVベクターはその特性を忠実に保持している。したがって、皮膚疾患はHSVベクターの恰好の標的疾患であると言える。B-VEC (Vyjuvek; beremagene geperpavec) は、第二世代の複製欠損型 HSV ベクターをバックボーンとして用いており、COL7A1 遺伝子発現カセットを搭載した RDEB 遺伝子治療用 HSV ベクターとして開発された。前臨床試験において B-VEC は RDEB 疾患動物モデルや RDEB 患者由来皮膚細胞に対して、効率的に COL7A1 遺伝子を導入できることが示された。同ベクターを用いた第 I/II 相試験は、無作為化プラセボ対照試験として 9 人の RDEB 患者に対して実施され、B-VEC あるいはプラセボを 12 週間にわたり繰り返し局所的に投与することで安全性・治療効果の評価が行われた (NCT03536143)⁴。その結果、B-VEC 投与に起因する重篤な有害事象は認められず、皮膚組織における COL7 タンパク質の発現回復が認められ、高い創傷治療効果が確認された。第 III 相試験は、無作為化二重盲検プラセボ対照試験として安全性・治療効果が検証され、2022 年 1 月に完了している (NCT04491604)。同じく、難治性皮膚疾患である先天性魚鱗癬 (ARCI) の治療ベクターとして KB105 が開発されており、臨床試験が精力的に進められている³³。

おわりに

HSV を用いた遺伝子治療はベクター技術の革新に伴い、上記で紹介した神経疾患や皮膚疾患に留まらず、その応用範囲は広がりを見せている。ベクターの無毒化や発現系の改善により、以前は遺伝子導入が難しかった組織についても、標的化可能となりつつある。例えば、第三世代 HSV ベクターはヒト肝臓、筋肉、脂肪細胞にも遺伝子導入が可能であることが明らかとなっており³、今後、これらの組織で発症する疾患を対象とした遺伝子治療開発も期待される。また B-VEC を開発した Krystal Biotech 社は嚢胞性線維症を対象とした遺伝子治療用 HSV ベクター KB407 の開発も進めており³⁴、その第 I 相試験が 2022 年に開始している (NCT 05504837, NCT05095246)。その結果に注目が集まる。以上のように、HSV は、過去の研究者の並々ならぬ努力により、非常に性能の高い遺伝子治療用担

体へと変貌を遂げ、それを用いた遺伝子細胞治療は現実のものとなり、これまで医療介入が全く不可能であった難治性疾患を治療できる段階まで到達している。これらのベクターの大量製造技術が確立されれば、その普及はさらに加速化することが想定される。今後、早期に様々な疾患に対する HSV ベクター供給体制の整備が進み、多くの難治性疾患に苦しむ患者に質の高い遺伝子治療が行き届くことを切に願っている。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文 献

- Harrington K, Freeman DJ, Kelly B, Harper J, Soria, JC: Optimizing oncolytic virotherapy in cancer treatment. *Nat Rev Drug Discov* 2019; 18: 689-706.
- Uchida, H Hamada, H Nakano, K, et al: Oncolytic Herpes Simplex Virus Vectors Fully Retargeted to Tumor-Associated Antigens. *Curr Cancer Drug Targets* 2018; 18: 162-170.
- Miyagawa Y, Marino P, Verlengia G, et al: Herpes simplex viral-vector design for efficient transduction of nonneuronal cells without cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112: E1632-E1641.
- Gurevich I, Agarwal P, Zhang P, et al: In vivo topical gene therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa: a phase 1 and 2 trial. *Nat Med* 2022; 28: 780-788.
- Uchida H, Marzulli M, Nakano K, et al: Effective treatment of an orthotopic xenograft model of human glioblastoma using an EGFR-retargeted oncolytic herpes simplex virus. *Mol Ther* 2013; 21: 561-569.
- Uchida H, Chan J, Goins WF, et al: A double mutation in glycoprotein gB compensates for ineffective gD-dependent initiation of herpes simplex virus type 1 infection. *J Virol* 2010; 84: 12200-12209.
- Shibata T, Uchida H, Shiroyama T, et al: Development of an oncolytic HSV vector fully retargeted specifically to cellular EpCAM for virus entry and cell-to-cell spread. *Gene Ther* 2016; 23: 479-488.
- Marconi P, Krisky D, Oligino, T et al: Replication-defective herpes simplex virus vectors for gene transfer in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 11319-11320.
- Krisky DM, Marconi PC, Oligino TJ, et al: Development of herpes simplex virus replication-defective multigene vectors for combination gene therapy applications. *Gene Ther* 1998; 5: 1517-1530.
- Krisky DM, Wolfe D, Goins WF, et al: Deletion of multiple immediate-early genes from herpes simplex virus reduces cytotoxicity and permits long-term gene expression in neurons. *Gene Ther* 1998; 5: 1593-1603.
- Craft AM, Krisky DM, Wechuck JB, et al: Herpes simplex virus-mediated expression of Pax3 and MyoD in embryoid bodies results in lineage-Related alterations in gene expression profiles. *Stem Cells* 2008; 26: 3119-3129.
- Verlengia G, Miyagawa Y, Ingusci S, Cohen JB,

- Simonato M, Glorioso JC: Engineered HSV vector achieves safe long-term transgene expression in the central nervous system. *Sci Rep* 2017; 7: 1507.
13. Miyagawa Y, Verlengia G, Reinhart B, et al.: Deletion of the Virion Host Shut-off Gene Enhances Neuronal-Selective Transgene Expression from an HSV Vector Lacking Functional IE Genes. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2017; 6: 79–90.
 14. Harkness JM, Kader M, DeLuca NA: Transcription of the herpes simplex virus 1 genome during productive and quiescent infection of neuronal and nonneuronal cells. *J Virol* 2014; 88: 6847–6861.
 15. Samaniego LA, Wu N, DeLuca NA: The herpes simplex virus immediate-early protein ICP0 affects transcription from the viral genome and infected-cell survival in the absence of ICP4 and ICP27. *J Virol* 1997; 71: 4614–4625.
 16. Yao F, Schaffer PA: An activity specified by the osteosarcoma line U2OS can substitute functionally for ICP0, a major regulatory protein of herpes simplex virus type 1. *J Virol* 1995; 69: 6249–6258.
 17. Han F, Miyagawa Y, Verlengia G, et al.: Cellular Antisilencing Elements Support Transgene Expression from Herpes Simplex Virus Vectors in the Absence of Immediate Early Gene Expression. *J Virol* 2018; 92: e00536–18.
 18. Maruyama Y, Sakurai A, Noda, S et al.: Regulatory Issues: PMDA - Review of Sakigake Designation Products: Oncolytic Virus Therapy with Delytact Injection (Tesperaturev) for Malignant Glioma. *Oncologist*. Epub 2023 Mar 14.
 19. Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F, et al.: Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol* 2015; 33: 2780–2788.
 20. Ovsepian SV, Waxman SG: Gene therapy for chronic pain: emerging opportunities in target-rich peripheral nociceptors. *Nat Rev Neurosci* 2023; 24: 252–265. Epub 2023 Jan 19.
 21. Guedon JM, Wu S, Zheng X, et al.: Current gene therapy using viral vectors for chronic pain. *Mol Pain* 2015; 11: 27.
 22. Wilson SP, Yeomans DC, Bender MA, Lu Y, Goins WF, Glorioso JC: Antihyperalgesic effects of infection with a preproenkephalin-encoding herpes virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 3211–3216.
 23. Wang Y, Nowicki MO, Wang X, et al.: Comparative effectiveness of antinociceptive gene therapies in animal models of diabetic neuropathic pain. *Gene Ther* 2013; 20: 742–750.
 24. Goss JR, Mata M, Goins WF, Wu HH, Glorioso JC, Fink DJ: Antinociceptive effect of a genomic herpes simplex virus-based vector expressing human proenkephalin in rat dorsal root ganglion. *Gene Ther* 2001; 8: 551–556.
 25. Goss JR, Cascio M, Goins WF, et al.: HSV delivery of a ligand-regulated endogenous ion channel gene to sensory neurons results in pain control following channel activation. *Mol Ther* 2011; 19: 500–506.
 26. Hao S, Mata M, Goins W, Glorioso JC, Fink DJ: Transgene-mediated enkephalin release enhances the effect of morphine and evades tolerance to produce a sustained antiallodynic effect in neuropathic pain. *Pain* 2003; 102: 135–142.
 27. Goss JR, Harley CF, Mata M, et al.: Herpes vector-mediated expression of proenkephalin reduces bone cancer pain. *Ann Neurol* 2002; 52: 662–665.
 28. Fink DJ, Wechuck J, Mata M, et al.: Gene therapy for pain: results of a phase I clinical trial. *Ann Neurol* 2011; 70: 207–212.
 29. Wolfe D, Hao, S, Hu, J, et al.: Engineering an endomorphin-2 gene for use in neuropathic pain therapy. *Pain* 2007; 133: 29–38.
 30. Srinivasan R, Huang S, Chaudhry S, et al.: An HSV vector system for selection of ligand-gated ion channel modulators. *Nat Methods* 2007; 4: 733–739.
 31. Majim T, Funahashi Y, Takai S, et al.: Herpes Simplex Virus Vector-Mediated Gene Delivery of Poreless TRPV1 Channels Reduces Bladder Overactivity and Nociception in Rats. *Hum Gene Ther* 2015; 26: 734–742.
 32. Hao S, Mata M, Wolfe D, Huang S, Glorioso JC, Fink DJ: Gene transfer of glutamic acid decarboxylase reduces neuropathic pain. *Ann Neurol* 2005; 57: 914–918.
 33. Freedman JC, Parry TJ, Zhang P, et al.: Preclinical Evaluation of a Modified Herpes Simplex Virus Type 1 Vector Encoding Human TGM1 for the Treatment of Autosomal Recessive Congenital Ichthyosis. *J Invest Dermatol* 2021; 141: 874–882 e876.
 34. Parry T, Prosdocimo DA, Krishnan S: A new era of in vivo gene therapy: the applicability of a differentiated HSV-1 based vector platform for redosable medicines. *Cell & Gene Therapy Insights* 2022; 8: 641–651.

(受付：2023年3月31日)

(受理：2023年7月3日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。

—特集 [遺伝子治療 update : 日本医科大学の遺伝子治療研究 (6)]—

異染性白質ジストロフィー (MLD) に対する遺伝子治療



三宅 紀子

日本医科大学 生化学・分子生物学 (分子遺伝学)

Gene Therapy for Metachromatic Leukodystrophy; MLD

Noriko Miyake

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School

Abstract

Lysosomal storage diseases (LSDs) are a heterogeneous group of diseases caused by genetically determined defects in lysosomal enzymes. Specific molecular mechanisms and disease phenotypes depend on the type of storage material affected. Current treatments for LSDs include enzyme replacement therapy (ERT) and hematopoietic cell transplantation (HCT) from allogeneic healthy individuals. However, those approaches are applicable only to a limited number of LSDs and lack efficacy for some clinical conditions. Hematopoietic stem cell gene therapy (HSC-GT) incorporating lentiviral vectors has shown strong clinical efficacy when administered to patients with metachromatic leukodystrophy (MLD) and is now registered as a pharmaceutical product. More recently, HSC-GT has also shown promising results in patients with Hurler's syndrome. Here, we report on the treatment for MLD currently being used in clinical practice and the gene therapy for MLD being studied at Nippon Medical School.

(日本医科大学医学会雑誌 2023; 19: 224-228)

Key words: hematopoietic stem cell transplantation, blood-brain barrier, adeno-associated virus vector, neonatal gene therapy, intrathecal administration

はじめに

異染性白質ジストロフィー (metachromatic leukodystrophy; MLD) は、リソソーム酵素であるアリルスルファターゼ A (arylsulfatase A; ARSA) の欠損により発症する常染色体劣性遺伝の先天代謝異常症である。酵素の欠損が神経および内臓組織にスルファチドの蓄積をもたらし、中枢・末梢神経障害を呈する。中枢神経病変の遺伝子治療において問題となるのは、治療用遺伝子を運ぶベクターがいかに血液脳関門 (blood brain barrier; BBB) を通過させるかということである。われわれは BBB 通過可能で、中枢神

経細胞に高率に遺伝子導入が可能なアデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus; AAV) ベクターを用いた中枢神経病変の遺伝子治療法の開発を行っている。本稿では現在行われている MLD の治療と共に当教室で研究されている AAV ベクターを使用した中枢神経病変の遺伝子治療のアプローチを紹介する。

1. 異染性白質ジストロフィー

MLD は、ライソソーム蓄積症 (lysosomal storage diseases; LSDs) の一疾患で ARSA の欠損により、脳白質、中枢・末梢神経、腎臓、肝臓などにスルファチ

Correspondence to Noriko Miyake, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8602, Japan

E-mail: noriko@nms.ac.jp

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

ドが蓄積し、特にミエリン形成細胞である、中枢（オリゴデンドロサイト）および末梢（シュワン細胞）の障害により脱髄を引き起こし、中枢・末梢神経障害を呈する。発症頻度は4万～16万人に1人¹で、発症時期と臨床経過により、乳児型、若年型、成人型に分類される。乳児型は2歳までに発症し、筋緊張低下、深部腱反射消失、歩行障害を呈し全体の50～60%を占め、最も重症化しやすく予後不良である。若年型は4～6歳頃に発症し、視神経萎縮、知能障害、痙性麻痺などを呈し、成人型は10代後半以降に情緒障害、言語障害、痴呆、精神症状などで発症し、5～10年の経過で進行する。

2. MLD の治療法

MLD の治療で重要なのは、いかに中枢神経系の障害を治療するかということであり、それに当たり治療用タンパク（または遺伝子）をいかにBBBを通過させ、中枢神経障害を治療するかが鍵となっている。

(1) 酵素補充療法 (enzyme replacement therapy ; ERT)

酵素補充療法で第I/II相臨床試験が行われている。しかしながら静脈注射では酵素はBBBを越えないためこの臨床試験ではくも膜下腔内薬物送達デバイス（酵素を分泌するデバイス）を手術にて埋めこんで、recombinant human ARSA (rhARSA) を dose escalation study (10, 30, 100 mg) で髄腔内投与 (NCT01510028) が行われている²。結果としてrhARSA 関連の重篤な有害事象 (serious adverse events ; SAEs) は観察されていないが、患者の25%が髄腔内装置または薬物送達方法に関連するSAEsを経験。脳脊髄液 (cerebrospinal fluid ; CSF) のスルファチドおよびリゾスルファチドレベルは、治療後100 mgを投与した群で正常範囲内に低下した。低用量投与では時間の経過とともに運動機能の一般的な低下があったが、100 mgを投与された患者ではそれほど目立たない低下に向かう傾向であった。

(2) 遺伝子治療

1) 脳内直接投与

AAVの新しい血清型のうち、霊長類のAAVrh.10は、AAV1, AAV2, AAV5, AAV7, AAV8型よりも脳内注射部位から効率よく拡散する^{3,4}。ARSA発現AAVrh.10 (AAVrh.10-ARSA) ベクターを直接脳内に投与する方法で第I/II相臨床試験 (NCT01801709) が行われ、発症前または発症初期の4人の患者に対して

脳内の12カ所に 1×10^{12} or 4×10^{12} vector genomes (vg) を年齢に応じて投与された。治療前には検出されなかった髄液中のARSA活性は有意に（最後の評価で対照値の20～70%に達した）上がったものの、症状の初期段階の患者では症状が悪化し続け、無症候性の経過の患者では症状が発現したため、疾患の自然経過と有意な差を認めなかった。その結果、有効性の欠如により研究は終了した⁵。

2) 造血幹細胞移植 (HSC transplantation ; HSCT)

現在、MLDのGold standardと呼ばれているのが、イタリアのグループによって行われている、レンチウイルスを用いて造血幹細胞にARSAを大量に発現させ骨髄移植する方法である⁶。この試験で対象となった患者は29名で、16名が後期乳児型、13名が初期若年型で、発症前または発症初期の患者である。この治療法はMLDにおいて、中枢・末梢神経系疾患の進行を抑制・遅延させることが初めて証明された治療法である。しかしながら症状が出る前か、または初期症状の患者にしか行われていないこと、また症状が出る前にブスルファンによる骨髄破壊が行われ、これによるSAEsが出ていること、29人中4人の患者にARSA抗体ができたことなどの問題点がみられた。この治療法は大変有望ではあるが、病気を遅らせているのか、止めているのか詳細は不明である。2022年の4月にLibmedly[®]という商品名で医薬品（再生医療等製品）として販売されている。

(3) 現治療法の問題点と課題

以上述べてきた通り現状の治療法の問題点と課題として、ERTでは、rhARSA関連の重篤なSAEsは観察されていないが、患者の25%は、髄腔内装置または薬物送達法に関連するSAEsがみられた。また、MLDに対する髄腔内ERTは有望であるが、ARSAの半減期は4日であり、患者の生涯にわたって毎週または隔週でhARSAを投与する必要がある。遺伝子治療では直接脳内に投与する方法では治療効果がなく中止となっており、造血幹細胞遺伝子治療では発症前または発症初期の段階で治療する必要がある。この戦略は、以前に特定されたMLD患者の兄弟姉妹に限られているという問題点がある。

3. 日本医科大学（当教室）での

MLDの遺伝子治療研究

当教室ではMLDモデルマウスを用いた遺伝子治療研究を行ってきており、今までにレトロウイルスベクターを用いた骨髄移植、レンチウイルスベクターによ

表1 当教室におけるMLDの遺伝子治療研究

動物種	投与時期	ベクター	投与型路	論文発表
MLDモデルマウス	8W	Lenti	脳内(細胞治療)	Brain Res. 2006; 1094: 13-23.
	8W	AAV1	脳内(海馬)	Mol Ther. 2007; 15: 38-43
	8W	AAV1	髄腔内	J Gene Med. 2009; 11: 498-505.
	12W	Retro	骨髄移植	Mol Ther. 2010; 18: 1373-8.
	P1(新生児)	AAV9	静脈内	Gene Ther. 2014; 21: 427-33
	12W	AAV1	脳室内	Sci Rep. 2014; 4: 5506.
	18W	scAAV1	脳室内	Sci Rep. 2015; 5: 13104.
	6W, 12M	AAV9	髄腔内	Sci Rep. 2021; 11: 20513

る細胞治療や AAV ベクターによる静脈内、脳室内、髄腔内投与にて有効性を検討してきた。われわれが現在までに行ってきた MLD の遺伝子治療研究を表 1 にまとめた。

(1) *Ex vivo* 遺伝子治療

1) 造血幹細胞移植 (HSCT)

LSDs では HSCT が一般的に広く行われている。われわれは MLD モデルマウスを使用し、移植細胞に造血幹細胞を増殖させる機能を持つ HoxB4 (Homeobox B4) 遺伝子^{7,8}を導入することにより、移植率の向上、脳内への移植細胞の増加に成功しており、脳神経症状の改善も認めている⁹。また、HoxB4 を発現させることにより、脳内においてオリゴデンドロサイトへの分化も認めている。もちろん詳細な副作用の検討は必要であるが、骨髄移植を用いた脳神経障害の遺伝子治療に有用性が期待される。

(2) *In vivo* 遺伝子治療

1) 脳室内投与

ARSA 発現 1 型 AAV (AAV1-ARSA) ベクターを側脳室に投与すると、脳室表面の上皮細胞や脈絡叢に高率に遺伝子導入された¹⁰。これらの細胞はウイルスベクターに感受性があり、脳全体を循環する CSF に継続的に放出される治療タンパク質の貯蔵庫として機能する可能性があるため、いくつかの遺伝子治療研究で標的となっている^{11,12}。AAV1-ARSA ベクターを脳室内へ 1 回の投与で上皮細胞に導入遺伝子の発現が誘導され、1 年以上持続すること、ARSA の血漿中での長期発現 (>56 w)、CSF 中への分泌 (>12 w) が確認された。

2) 静脈内投与

i) 新生児期の全身投与

MLD の治療で重要なのは、いかに中枢神経系の障害を治療するかということであり、よって遺伝子治療

を行うにおいて問題となるのは、治療用遺伝子をいかに BBB を通過させるかということである。われわれは脳神経組織に親和性の高い 9 型 AAV (AAV9) ベクターを新生児期に投与することにより脳神経組織に広範囲に遺伝子導入が可能であることを報告しており (図 1)¹³、この研究成果を踏まえ、中枢神経症状を伴う新生児期 MLD モデルマウスの治療法¹⁴に成功している。

新生児期に投与することの利点として 1) BBB が未発達なため、治療用ベクター・蛋白が BBB を通過し、脳神経組織の治療が可能である。2) 少量のベクター量での治療が可能であり、コスト面、安全性において利点を持つ。3) 早期に治療することにより、病状の軽症時での治療が可能であり、病気の進展も防げ、より効果的な治療効果が期待できる。われわれは生後 1 日目の MLD モデルマウスに ARSA 発現 AAV9 型 (AAV9-ARSA) ベクター静脈注射し、脳全体にわたり遺伝子導入されていることを認め、また投与後 1 年半に渡り導入遺伝子が発現していることを確認した。このように AAV9 を用いた新生児期での全身投与は脳神経症状を伴う遺伝性疾患に有用であると考えられた。そのためには病気発生のリスクがある家族における早期発見が重要であり、新生児検診システムの導入に向けた法整備等も望まれる。

ii) 成体時期の全身投与

成体の神経症状の新規治療法の確立において、静脈注射は脳指向性の高い AAV9-ARSA ベクターを用いても効率が良くないために、self-complementary (sc) AAV9 型ベクター¹⁵を使用して成体 MLD モデルマウスに静脈内投与した。これにより成体マウスにおいても中枢神経組織で発現を認め、スルファチド蓄積の抑制を確認し、行動実験においても改善を認めた。

3) 髄腔内投与

MLD モデルマウスを用い、AAV1-ARSA ベクター¹⁶、または AAV9-ARSA ベクター¹⁷を髄腔内に注

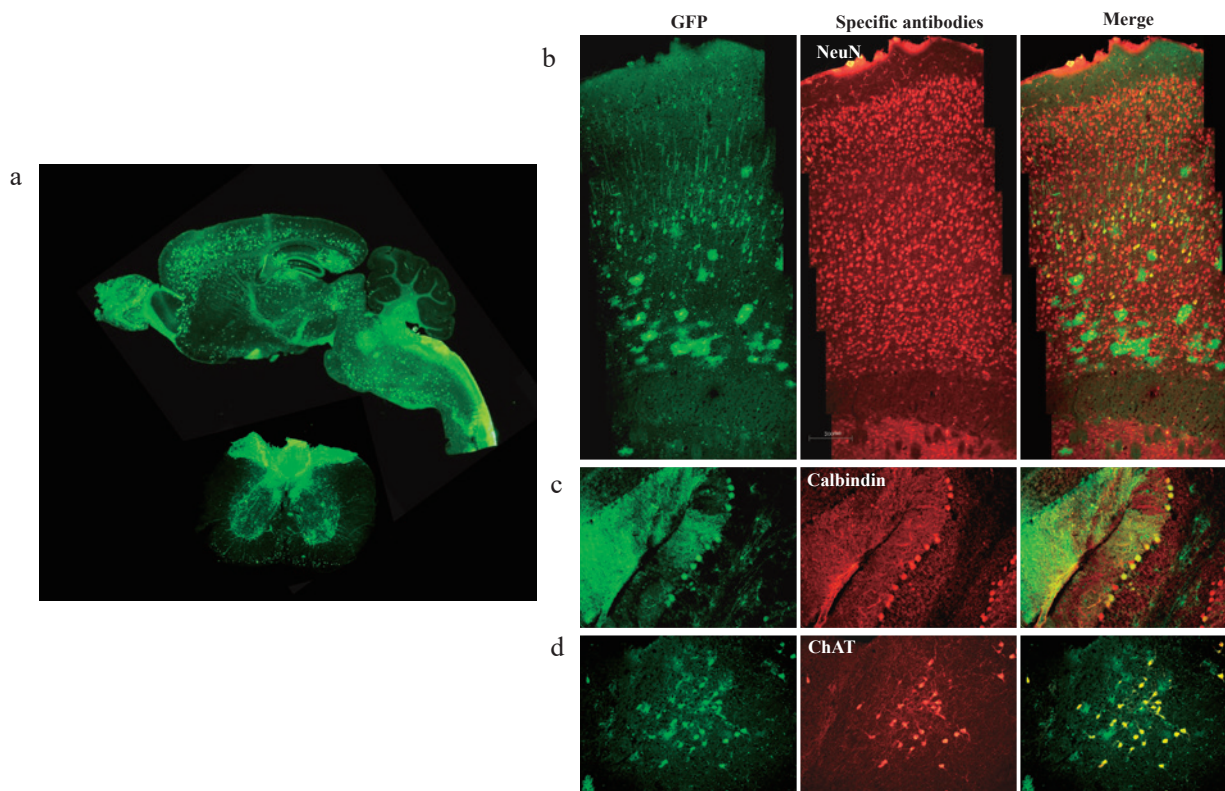


図1 GFP 発現 9 型 AAV ベクターの新生児期マウスへの静脈内投与
 新生児期のマウスへ GFP 発現 9 型 AAV ベクター (AAV9-GFP) を 1.5×10^{11} vg 静脈内注射し, 18 カ月後に免疫染色にて GFP の発現を検討した。
 a. 脳および脊髄での GFP 発現. b. 大脳皮質でニューロン, グリア細胞, c. プルキンエ細胞, d. 運動ニューロンに GFP の発現が認められた。
 NeuN (a neuron marker), Calbindin (a purkinje marker), ChAT (a motor neuron marker).

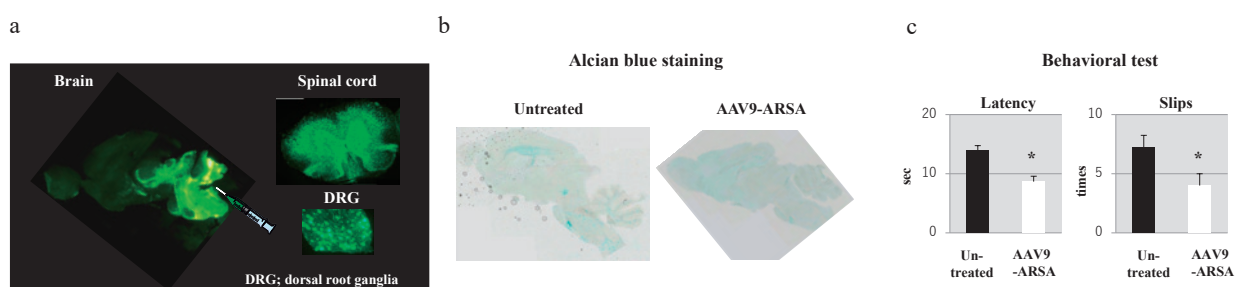


図2 成体 MLD モデルマウスへの 9 型 AAV ベクターの髄腔内投与後の遺伝子発現と治療効果
 a. AAV9-GFP (4.0×10^{11} vg) の髄腔内投与. 投与後 12 カ月, 小脳, 脳幹を中心に脊髄, DRG への高い発現効率を認めた。
 b. ARSA 発現 AAV9 の成体 MLD モデルマウスへの髄腔内投与. Alcian blue 染色による脳内でのスルファチド蓄積の抑制を確認。
 c. バランスビームテストによる行動実験で有意 (* $p < 0.05$) に改善を認めた。

入ることにより, 小脳, 脳幹を中心に脊髄, 後根神経節への高い発現効率を確認し, 脳内における広範囲な ARSA 活性を認めると共に蓄積産物であるスルファチドの減少を認めた (図 2). 髄腔内投与は脳内直接投与より非侵襲的であり, より実践的な方法であると考えられる。

おわりに

以上, MLD の現状の治療法および当教室にて行ってきた遺伝子治療研究を紹介した. ARSA 遺伝子を導入した骨髄細胞を移植することにより, MLD の脳神経症状の進行を抑えられたことは画期的なことであり, MLD のみならず脳神経症状を伴う疾患の遺伝子治療法として期待される一方で, 骨髄移植による ex

vivo 遺伝子治療では症状の発症前に限られているという制限がある⁶。よってすべての患者を治療するには AAV ベクターを用いた新生児遺伝子治療を含めた新しい MLD の遺伝子治療も開発されていくものと思われる。

今後、酵素を改変したり、より脳指向性の高いベクターを作製することで、少ない投与量で高い発現効率が得られるような安全なベクター開発が望まれている。

また、遺伝子組換え造血幹細胞の ICV 注入など、異なる送達方法を組み合わせたり、治療用 AAV ベクターの髄腔内投与に加え、脳室内投与の組み合わせなどにより中枢神経系への効果が改善され、より早く臨床効果が得られる可能性があり、より進行した病態の患者さんの治療も可能になるとと思われる。

この研究は日本医科大学動物実験委員会（承認番号：25-043, 26-064）および日本医科大学組換え DNA 実験安全委員会（承認番号：H22-3）が審査・承認したプロトコルに従って実施された。

本研究は JSPS 科研費 JP15K09604, JP18K07859 の助成を受けたものです。

文 献

- Gomez-Ospina N: in GeneReviews ((R)) (M. P. Adam et al., eds) 1993.
- I' Dali C, Sevin C, Krägeloh, et al.: Safety of intrathecal delivery of recombinant human arylsulfatase A in children with metachromatic leukodystrophy: Results from a phase 1/2 clinical trial. *Mol Genet Metab* 2020; 131: 235-244. doi: 10.1016/j.yimgme.2020.07.002.
- Rosenberg JB, Sondhi D, Rubin DG, et al.: Comparative efficacy and safety of multiple routes of direct CNS administration of adeno-associated virus gene transfer vector serotype rh.10 expressing the human arylsulfatase A cDNA to nonhuman primates. *Hum Gene Ther Clin Dev* 2014; 25: 164-177. doi: 10.1089/humc.2013.239.
- Piguet F, Sondhi D, Piraud M, et al.: Correction of brain oligodendrocytes by AAVrh.10 intracerebral gene therapy in metachromatic leukodystrophy mice. *Hum Gene Ther* 2012; 23: 903-914. doi: 10.1089/hum.2012.015.
- Sevin C, Roujeau T, Cartier N, et al.: Intracerebral gene therapy in children with metachromatic leukodystrophy. *Mol Genet Metab* 2018; 123: S129. doi: 10.1016/j.yimgme.2017.12.352.
- Fumagalli F, Calbi V, Natali Sora MG, et al.: Lentiviral haematopoietic stem-cell gene therapy for early-onset metachromatic leukodystrophy: long-term results from a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial and expanded access. *The Lancet* 2022; 399: 372-383. doi: 10.1016/s0140-6736 (21) 02017-1.
- Antonchuk J, Sauvageau G, Humphries RK: HOXB4-induced expansion of adult hematopoietic stem cells *ex vivo*. *Cell* 2002; 109: 39-45. doi: 10.1016/s0092-8674 (02) 00697-9.
- Miyake N, Burn AC, Magnusson M, Miyake K, Scadden DT, Karlsson S, HOXB4-induced self-renewal of hematopoietic stem cells is significantly enhanced by p21 deficiency. *Stem Cells* 2006; 24: 653-661. doi: 10.1634/stemcells.2005-0328.
- Miyake N, Miyake K, Karlsson S, Shimada T: Successful treatment of metachromatic leukodystrophy using bone marrow transplantation of HoxB4 overexpressing cells. *Mol Ther* 2010; 18: 1373-1378. doi: 10.1038/mt.2010.74.
- Yamazaki Y, Hirai Y, Miyake K, Shimada T: Targeted gene transfer into ependymal cells through intraventricular injection of AAV1 vector and long-term enzyme replacement via the CSF. *Sci Rep* 2014; 4: 5506. doi: 10.1038/srep05506.
- Herenu CB, Sonntag WE, Morel GR, Portiansky EL, Goya RG: The ependymal route for insulin-like growth factor-1 gene therapy in the brain. *Neuroscience* 2009; 163: 442-447. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.06.024.
- Liu G, Martins I, Wemmie JA, Chiorini JA, Davidson BL: Functional correction of CNS phenotypes in a lysosomal storage disease model using adeno-associated virus type 4 vectors. *J Neurosci* 2005; 25: 9321-9327. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2936-05.2005.
- Miyake N, Miyake K, Yamamoto M, Hirai Y, Shimada T: Global gene transfer into the CNS across the BBB after neonatal systemic delivery of single-stranded AAV vectors. *Brain Res* 2011; 1389: 19-26. doi: 10.1016/j.brainres.2011.03.014.
- Miyake N, Miyake K, Asakawa N, Yamamoto M, Shimada T: Long-term correction of biochemical and neurological abnormalities in MLD mice model by neonatal systemic injection of an AAV serotype 9 vector. *Gene Ther* 2014; 21: 427-433. doi: 10.1038/gt.2014.17.
- Gray SJ, Matagne V, Bachaboina L, Yadav S, Ojeda SR, Samulski RJ: Preclinical differences of intravascular AAV9 delivery to neurons and glia: a comparative study of adult mice and nonhuman primates. *Mol Ther* 2011; 19: 1058-1069. doi: 10.1038/mt.2011.72.
- Iwamoto N, Watanabe A, Yamamoto M, et al.: Global diffuse distribution in the brain and efficient gene delivery to the dorsal root ganglia by intrathecal injection of adeno-associated viral vector serotype 1. *J Gene Med* 2009; 11: 498-505. doi: 10.1002/jgm.1325.
- Miyake N, Miyake K, Sakai A, Yamamoto M, Suzuki H, Shimada T: Treatment of adult metachromatic leukodystrophy model mice using intrathecal administration of type 9 AAV vector encoding arylsulfatase A. *Sci Rep* 2021; 11: 20513. doi: 10.1038/s41598-021-99979-2.

(受付：2023年5月2日)

(受理：2023年7月3日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。

—特集 [遺伝子治療 update : 日本医科大学の遺伝子治療研究 (7)]—

低ホスファターゼ症モデルマウスにおける
遺伝子治療—臨床応用に向けて—

松本 多絵

日本医科大学多摩永山病院小児科

日本医科大学遺伝子治療学

Gene Therapy for Hypophosphatasia in *Alpl*^{-/-} mice (infantile HPP model)

—Toward Clinical Application

Tae Matsumoto

Department of Pediatrics, Nippon Medical School Tama Nagayama Hospital

Department of Gene Therapy, Nippon Medical School

Abstract

Hypophosphatasia (HPP) is an inherited bone disease resulting from a deficiency of tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNALP). It is fatal in its severe perinatal and infantile forms. Asfotase alfa (Strensiq[®]) is an approved enzyme replacement therapy for HPP. Its use requires injections 3-6 times per week for all of the patient's life. Therefore, although this treatment is effective, it is also burdensome. We investigated the efficacy and safety of a gene therapy drug (TNALP-D10-expressing type 8 adeno-associated virus vector: ARU-2801) administered intramuscularly to *Alpl*^{-/-} mice (infantile HPP model) and non-human primates with the aim of developing a less burdensome treatment. After administration of 3.0×10^{11} vg/body (n=4/7) or 1.0×10^{12} vg/body (n=5/7) ARU-2801, treated mice maintained high plasma ALP activity and exhibited body weight gain and bone maturity similar to wild-type mice throughout their survival period, which was up to 18 months. Biodistribution of ARU-2801 was detected only in the intramuscular region on the administration side. There were no tumors or ectopic calcification detected at autopsy or histopathological examination. After administration of 1.0×10^{13} vg/body ARU-2801 to juvenile macaque monkeys, durable high plasma ALP levels were sustained for up to 38 weeks with no biochemical abnormalities detected in the blood. Radiological and histopathological examinations also showed no abnormality. The clinical chemistry parameters for ARU-2801-treated mice and macaques indicated that plasma ALP activity is maintained with no toxicities at levels that are potentially clinically efficacious. Thus, ARU-2801, which can be administered as a single dose, has the potential to improve the quality of life of HPP patients by eliminating the need for indefinitely repeated injections.

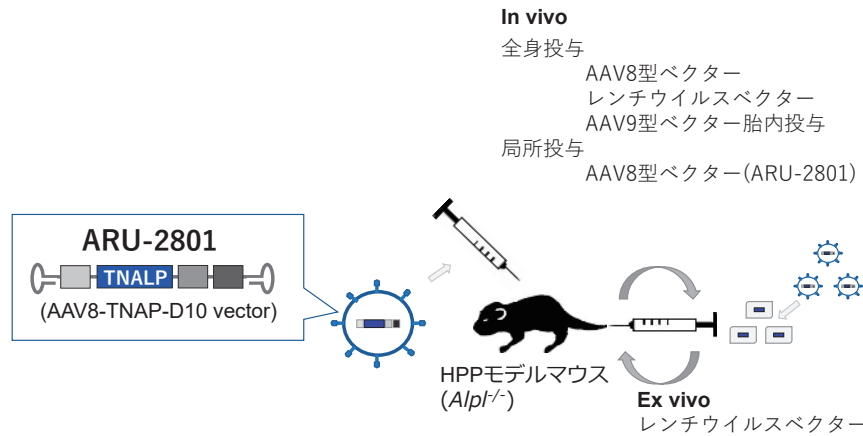
(日本医科大学医学会雑誌 2023; 19: 229-234)

Key words: hypophosphatasia, muscle injection, neonatal gene therapy, adeno-associated virus vector, tissue-nonspecific alkaline phosphatase

Correspondence to Tae Matsumoto, Department of Pediatrics, Department of Gene Therapy, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8602, Japan

E-mail : tae@nms.ac.jp

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



新生児期HPPモデル($Alpl^{-/-}$)マウスにTNALPを発現する遺伝子を導入した。経静脈的にAAV8型、レンチウイルス、局所にAAV8型、採取した骨髓細胞にレンチウイルスを用いて骨髓移植を行った。AAV9型では胎内投与を行った。

図1 HPPモデル ($Alpl^{-/-}$) マウスの遺伝子治療

はじめに

低ホスファターゼ症 (Hypophosphatasia : HPP) は、非特異的アルカリフォスファターゼ (Tissue nonspecific alkaline phosphatase : TNALP) をコードする *Alpl* 遺伝子の異常のために血清アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性が低下して起こる遺伝性の骨疾患である¹。現在は6つに病型分類されその症状は多岐にわたるが、中でも日本で最も多い周産期重症型は、全身骨の低石灰化・長管骨の変形・骨幹端不整等が顕著で、徐々に骨の石灰化が消失して呼吸不全などで致死的な経過をたどる。かつては対症療法しかなかったが、2015年に酵素補充療法ストレンジック®が認可された²。不足する酵素を補充する治療が可能となったことで、これまで考えられなかった治療効果を得ている。一方で、酵素補充療法は生涯にわたる週3~6回の注射が必要であり、患者、家族への負担の少ない根治療法が求められている。

われわれは、これまでHPPに対する遺伝子治療法の研究を続けてきた。TNALPを発現するレンチウイルスベクター³、アデノウイルス随伴ウイルス (Adeno-associated virus : AAV) ベクター⁴を作成し、*Alpl* 遺伝子をノックアウトしたHPPモデル ($Alpl^{-/-}$) マウス⁵への静脈内投与で治療を成功させた。さらに、AAVベクターの筋肉内投与⁶、AAVベクターの胎内投与⁷、レンチウイルスベクターにより遺伝子導入した造血幹細胞移植⁸のすべてで $Alpl^{-/-}$ マウスの延命、骨、歯牙形成の改善⁹、重篤な副作用のないことを確認した (図1)。その中でも最も簡便で安全な方法として、AAV8型ベクターの筋肉内投与を用いてTNALPを発現させる遺伝子治療薬品 (ARU-2801) の開発を行っており、

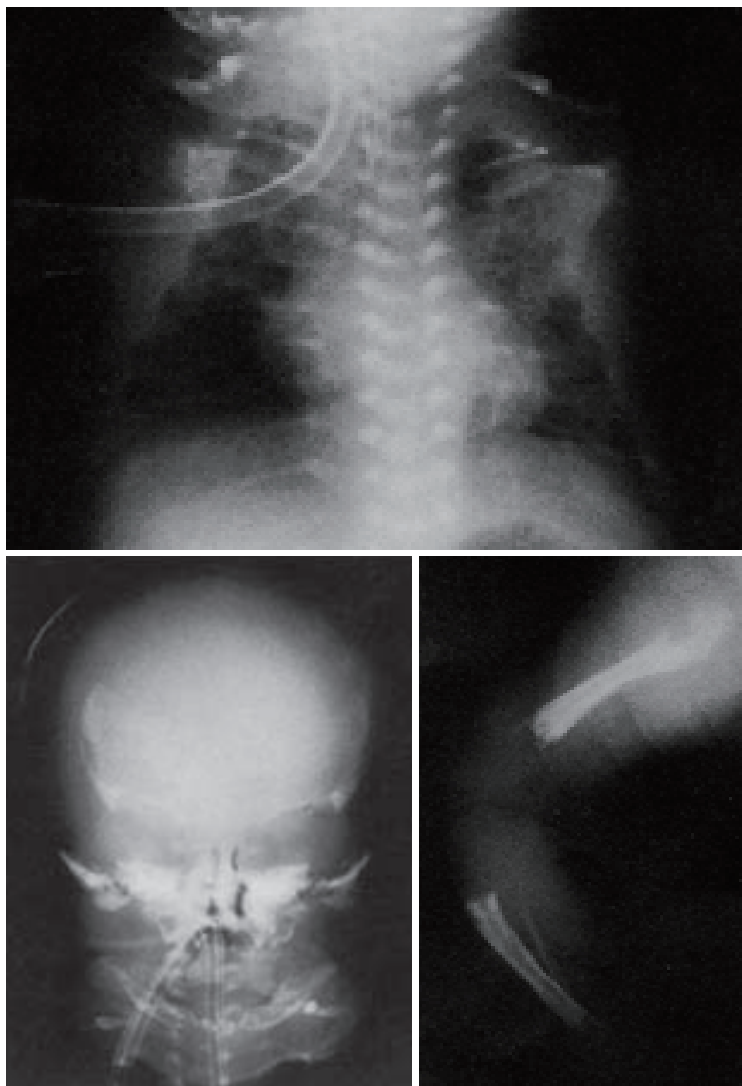
こちらについて紹介する。

1. 低ホスファターゼ症

(1) 原因と病態

非特異的アルカリフォスファターゼ (Tissue nonspecific alkaline phosphatase : TNALP) をコードする *Alp* 遺伝子に異常が起こると血清アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性が低下する。*Alpl* 遺伝子は第1染色体短腕の1p36.12に存在し、これまでに約400種類の異常が報告されているが、genotypeとphenotypeは必ずしも一致しないため、同じgenotypeを持つ兄弟間でも症状が異なることがある¹⁰。低ホスファターゼ症 (HPP) は、現在は発症時期と症状から周産期型、周産期良性型、乳児型、小児型、成人型、歯限局型の6つに病型分類され、その症状は多岐にわたる。また、歯限局型と考えられていた病型が経過とともに歯以外の症状を呈して、小児型、成人型と診断が変化していくこともある。周産期型、乳児型ではALP活性の極度の不足のため骨形成が脆弱となり、骨性胸郭形成が未熟となる。生下時からの呼吸補助を要し、致死的である (図2)^{2,11}。

骨の石灰化は、骨芽細胞が骨基質として細胞外に類骨を分泌するとそこにリン酸カルシウム的一种であるハイドロキシアパタイトが沈着することで起こる。ただし無機ピロリン酸 (PPi) がハイドロキシアパタイトに結合して石灰化を阻害するので、骨が石灰化するためにはPPiを分解する必要がある。ALPがPPiを分解することで無機リン酸 (Pi) が生成し、Piとカルシウムが結合してハイドロキシアパタイトとなりコラーゲンI型を主成分とする類骨に沈着して骨が形成され



上段:胸郭,
下段左:頭蓋骨, 下段右:下肢

図2 HPP 周産期型レントゲン写真

平山恒憲: 目で見える小児科 乳児型低ホスファターゼ症. 小児科 1993 ; 34 : 巻頭より転載

る。つまり ALP が欠乏すると骨形成が阻害される。

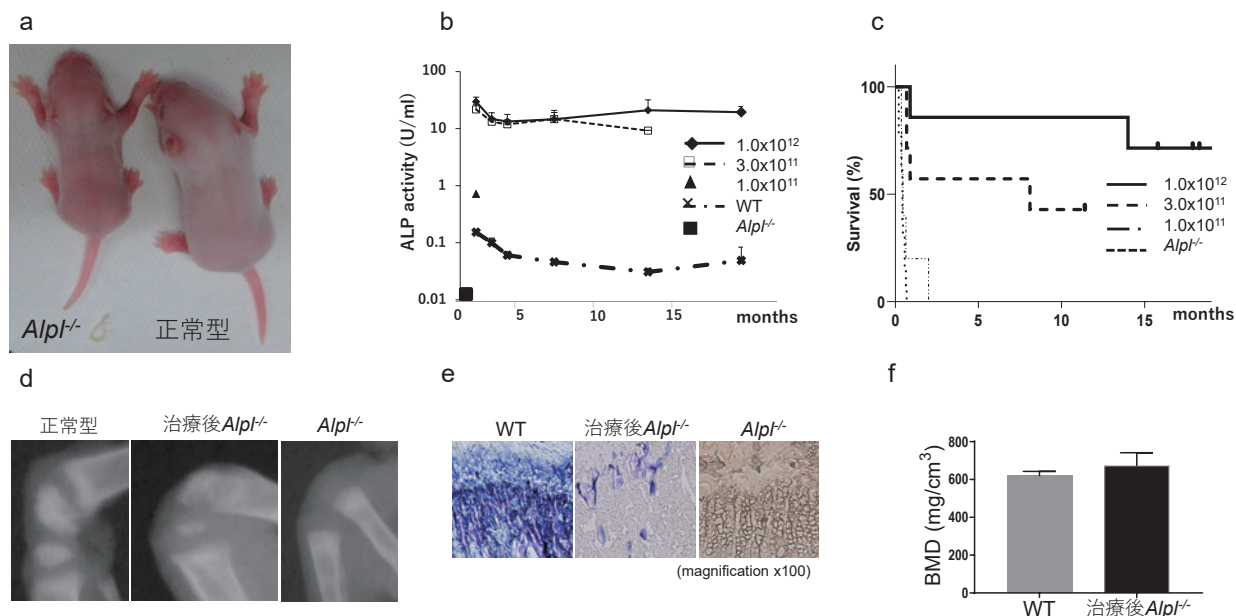
また、中枢神経では ALP が血液中のピリドキサル-5'-リン酸 (PLP) を分解してピリドキサル (ビタミン B6) にすることでビタミン B は脳血管関門を初めて通過可能となる。その後脳内で再度リン酸化を受けてピリドキサル-5'-リン酸となって GABA, ドーパミン, セロトニンなどの神経伝達物質の合成に関与する。このため、血中の ALP が極度に不足する重症型では、ビタミン B6 依存性けいれんを起こす。

HPP 周産期型、乳児型は主に常染色体潜性遺伝、成人型、歯限局型は主に常染色体顕性遺伝とされ、通常小児以降で発症する HPP は軽症と考えられる。しか

し、小児型、歯限局型では幼児期からの乳歯脱落で義歯を要し、歯が脆弱なため齲蝕が増悪しやすい。日常生活動作でも、下肢痛、歩行耐用能の低さなどを認める。また、成人型では易骨折や、骨折の治癒遷延などを来し、生命にはかかわらなくても QOL の低下を来す。

(2) これまでの治療

かつては対症療法しかなく、周産期型の高カルシウム血症に対して低カルシウムミルクの投与、ビタミン B6 依存性けいれんに対してビタミン B6 の投与、胸郭形成不全、肋骨骨折による呼吸不全に対しての呼吸器



a. 生後6日目の同腹マウス b, c. 新生児期にARU-2801を筋注した d. 生後10日に未治療と治療Alpl^{-/-}マウスのレントゲン写真を比較した e. 生後18カ月に骨のALP活性染色を行った f. 生後18カ月に骨密度を測定した. b, c, e, fは文献6より引用改変

図3 ARU-2801によりAlpl^{-/-}マウスの延命と骨形成を認めた

補助などを行うのみだった。乳歯脱落、齲歯、骨折にも対症療法を行うのみだった。しかし、2015年に酵素補充療法ストレンジック®が認可され、不足する酵素を補充する治療が可能となったことで、延命、運動機能の改善、難治だった骨折の治癒などの治療効果を得ている。特にこれまで致死的とされていた周産期重症型の患児が救命できるばかりか、これまで経口摂取など考えられなかった重症型で柔らかいものを経口摂取できるようになる、歩行可能になるなど、生活が広がっている。また、成人型では、一般的な骨折治療の固定では治癒しなかった骨折が酵素補充療法で治癒するようになったことも報告されている^{2,12}。一方で、週3~6回の皮下注射を自宅で、小児期には保護者が行うことの心理的、物理的な負担、局所の腫脹や発赤、疼痛などの反応など、まだ解決すべき問題が残る、根治療法が切望されている¹³。

2. 遺伝子治療

(1) ARU-2801の開発

まず、TNALPの石灰化能についてAAVベクターを用いてTNALPを発現させた場合の条件をin vitroで検討した。膜結合型タンパクであるヒトTNALPをそのまま発現させるTNALP-wild, 膜との結合部分を除去して可溶性タンパクとして体中で発現するTNALP-flag, 可溶性となったヒトTNALPの触媒ドメインに骨親和性を持つ10個のアスパラギン酸残基

を結合させたTNALP-D10の3種の石灰化能について細胞を用いて比較し、TNALP-D10が最も効率よく石灰化を起こすことを確認した⁴。そこでTNALP-D10を選択し、Alpl^{-/-}マウスの筋肉内投与において、全身投与に劣らずHPPの治療に有効であることを、局所投与であるためより安全であることを確認し、ARU-2801として筋肉への遺伝子導入を行う遺伝子治療薬としての臨床応用を目指すことにした。

(2) これまでのAAV治療

AAVはヒトにも動物にも広く見られるウイルスで、野生型AAVはヒトに対して非病原性であり、単独では複製されないことから安全性が高い。本来野生型であれば宿主の19番染色体に組み込まれるという特徴を持つが、ベクターとして改変されたAAVベクターはそれに必要なrep遺伝子を欠くため、ゲノムが核に移行した後ベクターは染色体外に長期的に安定して存在するという特徴を持つ。また、神経や筋肉のような非分裂細胞にも導入されること、AAVの血清型により組織向性が異なり特定の組織への導入を目指すことができるなどの特徴から遺伝子治療のベクターとして研究されてきた。生殖細胞への染色体の遺伝子組み込みリスクはヒト以外の霊長類への投与で組み込み頻度は10⁻⁴~10⁻⁵とされる。一方で、導入できる遺伝子のサイズが4.7 kb前後と小さいので導入できる遺伝子が限られるという欠点を持つ¹⁴。

このように利点の多い AAV ベクターではあるが、遺伝子治療の臨床応用が進むにつれて全身投与下での副作用の報告もみられる。血友病に対する AAV ベクターを使用した全身投与による治療では、凝固因子活性の上昇とともに肝機能が悪化し、低下とともに改善するが、その原因は今のところわかっていない。また、AAV のカプシドタンパクに対してインターフェロンガンマ (IFN γ) が検出されることが分かっており、臨床的にはステロイド、免疫抑制剤で IFN γ による症状を抑制して治療を継続している^{15,16}。

細胞障害性 T 細胞による肝機能異常は多数の報告があり、脊髄性筋萎縮症 (SMA) に対しては AAV9 型ベクターを全身投与した際、全投与例の 1/3 で肝障害が報告された。そして、X 連鎖性ミオチューブラーミオパシーでは高用量を投与した患者のうち 3 人が肝不全で死亡するという事例があった¹⁵。

血友病、SMA に対する治療は全身投与であるが、上記の副作用の事例を考えると、局所投与でベクターが局所にとどまれば肝臓への影響を避けることができ、より安全と考えられる。また、仮に AAV に対する反応を認めて体内から AAV ベクターを除去したいと考えた時、ベクターの存在する局所を外科的に切除することが可能である。つまり、全身投与と異なり可逆性のある投与方法と言える。

(3) ARU-2801 の有効性

ARU-2801 は、1 回の筋肉注射により骨親和性のある TNALP-D10 を長期に血清中に発現することで骨形成を促す。

まず、*Alpl* 遺伝子が欠損した HPP のモデルマウスを使用して ARU-2801 の有効性を確認した。*Alpl*^{-/-}マウスはヒトの乳児型 HPP のモデルであり、出生時には外見上異常なく他のマウスと変わらないが、出生数日後に骨化不全、成長障害が目立ち育成不良となる (図 3a)。特に介入しないと生後 7 日以内に VB6 依存性のけいれんを起こし、約 3 週間で死亡する⁵。この *Alpl*^{-/-}マウスに、生後 1~3 日の新生仔期に ARU-2801 を 1 回大腿四頭筋に筋肉注射し、生存期間、血清 ALP 活性、骨形成の改善、副作用の有無を 18 カ月にわたり検討した。1 \times 10¹¹ vectorgenom (vg)/body, 3 \times 10¹¹ vg/body, 1 \times 10¹² vg/body と投与量に傾斜をつけて投与したところ、1 \times 10¹² vg/body で治療した *Alpl*^{-/-}マウスでは、血中 ALP 活性は正常型に対して 100 倍程度の活性を長期に維持し、マウスの寿命が 2 年間程度であるのに対して観察期間である 18 カ月までの生存期間の延長を認めた (図 3b, c)。3 \times 10¹¹ vg/body の投

与でも 1 \times 10¹² vg/body より個体数は少ないものの寿命の延長を認めた。また、未治療の *Alpl*^{-/-}マウスには確認できない骨端核が、治療マウスでは生後 10 日で確認でき (図 3d)、長期に観察した治療マウスでは骨密度、体重も正常型と有意差なく成長し (図 3e)、病理学的にも骨での ALP 活性発現を認めた (図 3f)。同様に ARU-2801 の筋肉内投与で歯槽骨の骨化の改善も *Alpl*^{-/-}マウスの治療実験で示されており、歯根局型の治療に対しても有効と考えられた⁹。

霊長類ではモデル動物は存在しないため、健常カンクイザルを用いて霊長類に対する ARU-2801 の効果を検討した。ARU-2801 を 1 \times 10¹³ vg/body を 1 回外側広筋に筋肉内投与したところ、一過性に ALP 活性が上昇した後正常値に戻り、その後再上昇して、観察期間の 38 週間の間、正常値の約 2~3 倍の高値を維持した。一過性に抗 ALP 抗体が検出されたが、その低下とともに ALP 活性は再上昇した。以上より、霊長類でも血中 ALP 活性が長期に維持できることが示唆された。また、1 \times 10¹³ vg/body を外側広筋の 4 カ所に投与した別のカンクイザルでも同様の結果を得た。

(4) ARU-2801 の安全性

ARU-2801 投与により、体内では非生理的な高値の ALP 活性が長期にわたって維持されることになる。また、AAV ベクターの全身投与による遺伝子治療でこれまでに肝機能障害、血管障害などが報告されているため、臨床応用に向けて ARU-2801 の筋肉内投与での安全性を確認した。

Alpl^{-/-}マウス、カンクイザルに ARU-2801 を投与した後、血液検査で肝機能、腎機能、カルシウム、リン値の異常がないか、また画像、病理検査で異所性石灰化の有無、腫瘍形成の有無を検討した。生後 1~3 日の新生仔 *Alpl*^{-/-}マウスに ARU-2801 を 1 回大腿四頭筋に筋肉注射した後、観察期間中に肝機能、腎機能、カルシウム、リンの値に異常を認めなかった。また、外表観察、全身骨レントゲン写真でも異所性石灰化を認めず、剖検後の von Kossa 染色で大動脈を含めて臓器にも異所性石灰化を認めないことを確認した。腫瘍形成も認めなかった。さらに、投与した ARU-2801 が投与した局所以外に分布していないかを確認するため各臓器の定量 PCR を行ったところ、カンクイザルの ARU-2801 の 1 \times 10¹³ vg/body 1 回大腿筋肉内投与では各臓器からは定量 PCR で ARU-2801 は検出されなかった。ARU-2801 の 1 \times 10¹³ vg/body 4 回投与の個体でも、投与部位の皮膚と筋肉で ARU-2801 が検出され、肝からは微量に検出された。以上より、ARU-2801 の筋肉内

投与でも大量投与では筋肉から血中に漏れ出て、AAV8の親和性のある肝臓にも分布したと考えられた。定期的に採血を行ったが、肝機能、腎機能、カルシウム、リンの異常値を認めなかった。定期的なレントゲン写真、CT検査、また剖検時の von Kossa 染色を含む病理学的検査でも異所性石灰化、腫瘍発生を認めなかった。

以上より ARU-2801 の筋肉内への1回投与は安全であることが示唆された。

おわりに

これまでわれわれは、胎児期、新生児期の *Alpl*^{-/-}マウスに対して、ウイルスベクターを介した酵素補充療養を行ってきた。この方法は、持続的に酵素を体内で発現して、1回の治療で HPP モデルである *Alpl*^{-/-}マウスを治療可能であった。さらに、全身投与のみならず、局所投与でも治療可能であることが示されたことで、より安全性が担保された。また、霊長類でも持続的に血中 ALP 活性の高値を維持し、さらに治療量で副作用のないことを示せた。このことでヒトへの臨床応用の可能性がより高まったと考えており、今後とも治験に向けて引き続き研究を続けていく予定である。本治療は低ホスファターゼ症の延命効果のみならず、ADL、QOLの改善につながる有用な治療と考えており、早期に臨床応用できることを願っている。

この研究は日本医科大学動物実験委員会（承認番号：21-081, 2021-048）および日本医科大学組換え DNA 実験安全委員会（承認番号：H17-18, 2020-5）が審査・承認したプロトコルに従って実施された。

Conflict of Interest : Aruvant Sciences

文 献

- Mornet E: Hypophosphatasia. Orphanet J Rare Dis 2007; 2: 40.
- Asfotase Alfa (Strensiq). 2017
- Yamamoto S, Orimo H, Matsumoto T, et al.: Prolonged survival and phenotypic correction of *Akp2*^{-/-} hypophosphatasia mice by lentiviral gene therapy. J Bone Miner Res 2011; 26: 135-142.
- Matsumoto T, Miyake K, Yamamoto S, et al.: Rescue of severe infantile hypophosphatasia mice by AAV-mediated sustained expression of soluble alkaline phosphatase. Hum Gene Ther 2011; 22: 1355-1364.
- Narisawa S, Fröhlander N, Millán JL: Inactivation of two mouse alkaline phosphatase genes and establishment of a model of infantile hypophosphatasia. Dev Dyn 1997; 208: 432-446.
- Matsumoto T, Miyake K, Miyake N, et al.: Treatment with bone maturation and average lifespan of HPP model mice by AAV8-mediated neonatal gene therapy via single muscle injection. Mol Ther Methods Clin Dev 2021; 22: 330-337.
- Sugano H, Matsumoto T, Miyake K, et al.: Successful gene therapy in utero for lethal murine hypophosphatasia. Hum Gene Ther 2012; 23: 399-406.
- Iijima O, Miyake K, Watanabe A, et al.: Prevention of Lethal Murine Hypophosphatasia by Neonatal Ex Vivo Gene Therapy Using Lentivirally Transduced Bone Marrow Cells. Hum Gene Ther 2015; 26: 801-812.
- Kinoshita Y, Mohamed FF, Amadeu de Oliveira F, et al.: Gene Therapy Using Adeno-Associated Virus Serotype 8 Encoding TNAP-D (10) Improves the Skeletal and Dentoalveolar Phenotypes in *Alpl*^{-/-} Mice. J Bone Miner Res 2021; 36: 1835-1849.
- Hypophosphatasia https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=436&lng=EN.
- Millán JL, Whyte MP: Alkaline Phosphatase and Hypophosphatasia. Calcif Tissue Int 2016; 98: 398-416.
- Salles JP: Hypophosphatasia: Biological and Clinical Aspects, Avenues for Therapy. Clin Biochem Rev 2020; 41: 13-27.
- HPP HOPE. 2022. <https://www.hpphope.org/>.
- Balakrishnan B, Jayandharan GR: Basic biology of adeno-associated virus (AAV) vectors used in gene therapy. Curr Gene Ther 2014; 14: 86-100.
- Leebeek FWG, Miesbach W: Gene therapy for hemophilia: a review on clinical benefit, limitations, and remaining issues. Blood 2021; 138: 923-931.
- Lindsey AG: Systemic AAV: Clinical Findings of Hepatotoxicity. Cellular, Tissue, and Gene Therapies Advisory Committee September 2021; 2-3, 2021 Meeting Presentation <https://www.fda.gov/media/151964/download>.

(受付：2023年4月24日)

(受理：2023年7月3日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。

—特集 [遺伝子治療 update : 日本医科大学の遺伝子治療研究 (8)]—



癌の遺伝子治療

黒田 誠司 助川 誠

日本医科大学生化・分子生物学 (分子遺伝学)

Gene Therapy for Cancer

Seiji Kuroda, Makoto Sukegawa

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School

Abstract

A quarter of a century has passed since the expected realization of “Conquering cancer in the 21st century” due to advances in pharmaceuticals and medical technology. However, the effectiveness of treatments for malignant tumors, especially refractory cancers, remains inadequate and is difficult to achieve with conventional treatment methods alone. For example, there are high rates of metastasis and residual recurrence following surgical treatment, while chemotherapy and radiotherapy all too quickly lead to disease resistance, and their side effects significantly reduce patients’ quality of life. Under such circumstances, gene therapy products targeting cancer are some of the most highly desired therapies worldwide. The advantages of these innovative treatments are their clear mechanism of action and clinical efficacy based on molecular pathology. Several gene therapies have been approved for hematologic tumors and have shown dramatic therapeutic effects. On the other hand, the efficacy of gene therapies against solid tumors remains limited and improving their therapeutic efficacy remains a major challenge. In this review, we report the background and current status of gene therapy for cancer. In addition, oncolytic virus therapy and CAR-T cell therapy, which have the potential to be curative and are undergoing research and development, will be introduced in detail.

(日本医科大学医学会雑誌 2023; 19: 235–241)

Key words: cancer gene therapy, oncolytic virus therapy, CAR-T cell therapy

はじめに

遺伝子治療とは遺伝子導入ベクターなどを用いて治療用遺伝子を外から導入し欠損している遺伝子を補完する、あるいは遺伝子改変技術を用いて治療機能を搭載した細胞を投与し疾患の制御・根治を目指す次世代医療の最重要技術分野の一つである¹。遺伝子導入には

導入効率の高いウイルスベクターが主に利用され、様々な性質の異なるウイルスが治療の目的や標的細胞に応じて選択される。特に近年、圧倒的な治療効果を実証し製品化された事例が続々と登場したことから²⁵、本邦でも産官による研究開発投資が急拡大している。そして、悪性腫瘍に対しても遺伝子治療が手術・

Correspondence to Seiji Kuroda, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8602, Japan

E-mail: kuro1982@nms.ac.jp

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

化学療法・放射線治療に続く第4の柱となるべく開発が進んでいる。その代表としてまずCAR-T細胞療法が挙げられ、特に血液腫瘍に対してすでに目覚ましい成績を積み重ねている。また、がん細胞で選択的に増殖して細胞を破壊する性質を持つウイルスを利用した腫瘍溶解性ウイルス療法も、遺伝子治療用ベクターと同様の遺伝子組換えウイルスを用いることから遺伝子治療の一種とされ⁶、固形がんに対する根治療法を実現する可能性がある21世紀の医療技術として大きな注目を集めている。

1. 癌に対する遺伝子治療の歴史

癌に対する遺伝子治療の歴史は古く、特に腫瘍溶解性ウイルス療法 (oncolytic virotherapy) の発想は20世紀初めにまで遡る。1950年代にはすでに子宮頸癌に対し生ワクチン株 (狂犬病ワクチン) や野生型ウイルス (アデノウイルス) そのものを用いた治療が行われていた。しかし以降、化学療法が急速に進歩してきた一方で本治療法は単発的な報告が散見されるのみの時代が続いた。ただし、その間も分子生物学・遺伝子工学の発達・技術革新を背景にウイルス増殖・癌化・生体防御機構についての研究は進み、1989年に初めて悪性黒色腫患者へのTNF遺伝子導入腫瘍浸潤リンパ球の投与が行われたことを皮切りに、米国を中心にがん患者に対する遺伝子治療が本格的に開始された。本邦でも1998年には東京大学医科学研究所でGM-CSF遺伝子を用いた腎細胞がんの遺伝子治療臨床研究が行われた。今日、遺伝子治療の臨床研究の3分の2はがん患者を対象にした内容になっている。そしてoncolytic virotherapyについても1991年ヒトgliomaに対する腫瘍溶解性ウイルスの有効性が発表され、1997年以降アデノウイルス・麻疹ウイルス・水胞性口内炎ウイルス (VSV)・レオウイルス・単純ヘルペスウイルス (HSV)・センダイウイルスなど様々な野生型ウイルスをベースとする腫瘍溶解性ウイルスを用いた数多くの臨床研究が行われ、ついに薬事承認を得た製品が登場するまでになった。また、CAR-T細胞療法については1987年に本邦よりCARのコンセプトの土台となる研究成果⁷、そしてCAR自体は1993年にイスラエルのグループによりはじめて報告された⁸。1998年には第2世代CARがはじめて報告され⁹、その後開発が進み2010年代には次々と臨床的有効性が報告されるようになり、現在では数多くの承認薬が登場している¹⁰⁻¹⁶。

2. がん遺伝子治療の世界市場規模と今後の動向 新型コロナウイルス・ワクチンで新モダリティとし

ての遺伝子治療技術の革新性や有用性が広く認知されたこともあり、今後は遺伝子治療製品の開発競争が世界的にさらに激しさを増すと考えられる。例えば、世界の腫瘍溶解性ウイルス療法の市場規模は2022年に1億3,040万米ドルに達し、今後2023年から2028年の間に20.90%のCAGR (年平均成長率) を示し、2028年までに4億9,260万米ドルに達すると予想されている。また、世界のCAR-T細胞療法の市場規模は2022年に28億583万米ドルと推定され、2028年までに135億304万米ドルに、2022年から2028年の間にCAGRで29.94%の成長が予測されている。ただし、これらのがん遺伝子治療と同じ免疫療法の一つとして数えられる免疫チェックポイント阻害剤の世界市場規模は2021年に311億5,029万米ドルとなり、2029年には1,324億2,741万米ドルに達すると予測されることを考えると依然未開の領域であるのは間違いない¹⁷。

3. 難治性がんに対する治療の現状

全国がんセンター協議会の報告によると、本邦におけるがん全体 (全部位・全臨床病期) の5年生存率は68.4% (2009~2011年症例) と徐々に向上してきている一方、膵癌・胆道癌・悪性中皮腫・肺小細胞癌・卵巣癌などのいわゆる難治性がんの予後はいまだに不良と言わざるを得ない。例えば膵癌は、5年生存率が約9%と悪性腫瘍の中でも極めて予後不良な癌である。超高齢社会に突入した本邦では膵癌の罹患者数・死亡者数ともに急速に増加しており、厚生労働省人口動態統計によると2021年における死亡者数は悪性新生物による全死亡者数の10.1% (38,579人)、癌死亡者数順位において第4位であった。一方、標準治療として手術・化学療法・放射線治療が挙げられるが、なお根治の可能性のある治療法は外科手術による完全切除のみである。ただし、罹患者数と死亡者数がほぼ同数と満足の行く成績には程遠いのが現状であり、様々な治療法に抵抗性を示す膵癌などの難治性がんに対する新規治療法の早急な開発が現代医学における大きな課題の1つである。

4. 新たな治療法として遺伝子治療の開発

難治性がん克服に向けた新規治療法としてがん遺伝子治療の注目度は非常に高く、令和4年7月に開催された第28回日本遺伝子細胞治療学会 (JSGCT2022) でのoncologyセッションでもほとんどすべての演題が腫瘍溶解性ウイルス療法とCAR-T細胞療法で占められた。そこで、ここではそれら2種類の新規治療法について解説する。

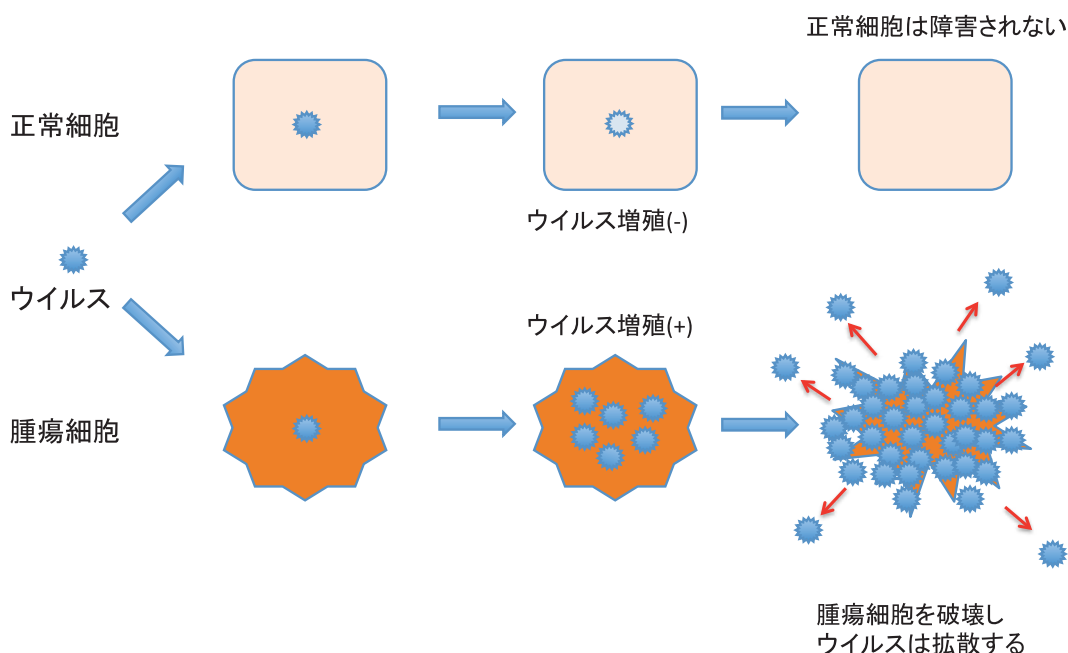


図1 oncolytic virus の仕組み 実験医学 Vol.38, No.2, 156-162 図1より改変

(1) 腫瘍溶解性ウイルス療法

腫瘍溶解性ウイルスとは天然または遺伝子操作されたウイルスで、正常組織に過度の損傷を与えることなく腫瘍組織内で選択的に増殖・拡散し腫瘍組織を破壊するウイルス¹⁸であり(図1)、それをを用いた腫瘍溶解性ウイルス療法はがんに対する in vivo 遺伝子治療(体内に遺伝子を直接導入する)に分類される。多くのがん細胞ではウイルス感染に対する防御機構が損なわれているため、ほとんどのウイルスは正常細胞よりもはるかに感染しやすい¹⁹。腫瘍溶解性ウイルスはがん細胞内に取り込まれると効率的に自己複製し、その過程で宿主となったがん細胞は溶解し破壊される。腫瘍溶解により新しいウイルスおよびがん抗原が放出されるとそれらのウイルスによる周囲のがん細胞の溶解に加え、腫瘍微小環境(TME)がリモデリングされケモカインやサイトカインの産生を刺激する炎症性カスケードを開始される。そして、それらに刺激を受けて活性化した細胞傷害性T細胞が腫瘍へ浸潤しがん細胞を破壊すると考えられている^{20,23}。本邦での腫瘍溶解性ウイルスの研究はわれわれの研究グループの他に東京大・名古屋大・信州大などがHSVベースに進めているが、岡山大や鹿児島大はアデノウイルス、防衛医大はセンダイウイルス、九州大はエンテロウイルスなど、各研究室が個々のウイルスの強みを活かした研究がなされている。

HSVを用いることのメリットを3つ紹介すると、1つ目に様々な治療遺伝子を組み込める搭載許容量の大

きさ、2つ目に強力な抗腫瘍活性である。HSVは150 kb以上の2本鎖DNAを有する大型のウイルスで10 kb以上の遺伝子の挿入が可能であり、またほぼすべての細胞種に感染でき腫瘍溶解効果が強いという特徴がある。そして3つ目に、腫瘍溶解性ウイルスは従来の抗がん剤と違って正常細胞には無毒のため副作用はほとんど認めないが、万一有害事象が発生してもHSVには抗ウイルス薬(Aciclovir)がすでに存在しているということで安全性が担保されていることである。

腫瘍溶解性HSVは現在、第三世代まで開発が進んでいる。具体的には第一世代:1カ所の遺伝子を変異させ腫瘍で選択的に増殖できるようにしたもの、第二世代:複数箇所の遺伝子を改変することでより安全性を高めたもの、第三世代:治療に必要な外来遺伝子を導入し抗腫瘍効果を高めたものとされる。2015年には悪性黒色腫に対し米国、続いて欧州で第二世代腫瘍溶解性HSVのImlygic(talimogene laherparepvec;略称:T-Vec)がFirst-in-Class医薬品として承認された²⁴。T-Vecはウイルスのがん細胞特異的な増殖による直接の抗腫瘍効果に加え、免疫賦活化作用のある顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)遺伝子を搭載することで抗腫瘍免疫が増強されている。そして本邦でもついに2021年、悪性神経膠腫に対し先駆け審査指定制度の指定を受けて開発された第三世代腫瘍溶解性HSVのデリタクト(teserpaturev;別名:G47Δ)が限定承認された²⁵。G47ΔはHSVの3つの遺伝子を改変させ、癌細胞でのウイルス増殖能と抗腫瘍

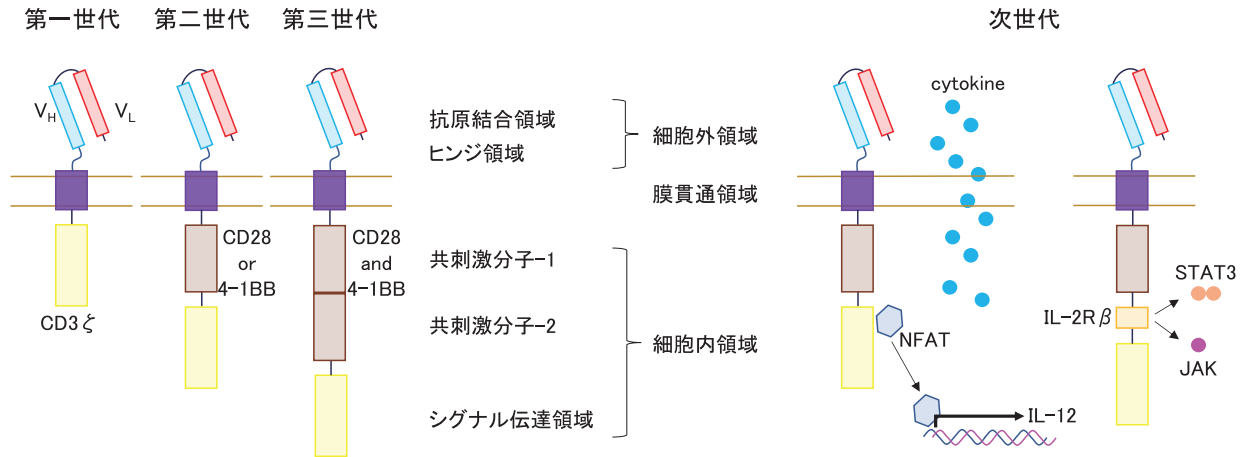


図2 CARの構成(第一世代～次世代)サイヤジェン株式会社資料より改変

免疫が増強されている。また G47Δ に免疫細胞誘導力の強い IL12 遺伝子を搭載し抗腫瘍免疫をさらに高めた T-hIL12 の第 I/II 相臨床試験も行われている。一方、名古屋大学で発見されタカラバイオ社が開発を進めてきた自然変異型の腫瘍溶解性 HSV である C-REV (Canerpaturev; 別名: TB-1401, 旧称: HF10) は、米国で 2009 年から第 I 相、2014 年から第 II 相臨床試験が、国内でも 2017 年から第 II 相臨床試験が実施された²⁶。その他にも、遺伝子改変技術を用いてがん細胞で免疫調節タンパク質が発現するよう武装化 (armed) した腫瘍溶解性ウイルスの開発や、中和抗体からの逃避方法の研究、他剤との併用も含む至適レジメンの検証など治療効果向上のためのオプションは膨大に存在し、研究テーマとしても大変魅力的である²⁷⁻³⁰。

(2) CAR-T 細胞療法

CAR-T 細胞とはがん患者から採取した T 細胞に、キメラ抗原受容体 CAR (Chimeric Antigen Receptor) を遺伝子導入したものである^{31,32}。そして体外での約 2 週間の培養期間を経てできた CAR-T 細胞をがん患者へ再投与することで、がん抗原を認識しこれを標的として攻撃・治療する CAR-T 細胞療法は ex vivo 遺伝子治療 (体外に取り出した細胞に遺伝子を導入して投与する) に分類される³³⁻³⁵。CAR は標的分子に特異的に結合する抗原結合ドメインとヒンジドメインからなる細胞外領域、CAR を細胞膜上に固定しリガンド認識シグナルを細胞内へ伝達する細胞膜貫通領域、T 細胞の活性化に直接寄与する共刺激ドメインとシグナル伝達ドメインからなる細胞内領域の 3 つの部分から構成されている。

CAR-T 細胞は現在、第五世代まで開発が進んでい

る。具体的には第一世代: 一本鎖抗体 scFv に CD3ζ を直接繋げて一つのタンパク質とし発現させた T 細胞、第二世代: 第一世代 CAR-T の scFv と CD3ζ の間に共刺激ドメイン (CD28 or 4-1BB) を繋げたもの、第三世代: 共刺激ドメイン 2 つ (CD28 and 4-1BB) を繋げたもの、そして次世代 (第四・五世代以降): 安全性を高めるために低分子化合物で CAR の活性調節を行う (switch CAR-T 細胞)³⁶、治療効果を強化するために IL-7 や CCL19 などを発現させる (prime CAR-T 細胞)³⁷、時間やコストの節約のために患者由来の T 細胞ではなくバンクから直接供給できる (ユニバーサル CAR-T)³⁸ などが挙げられる (図 2)。ちなみにこれまで薬事承認を受けた CAR-T 細胞製剤はすべて第二世代のものである。2023 年 3 月現在、本邦では次の 5 つの製品が白血病・悪性リンパ腫・多発性骨髄腫などの血液腫瘍に対し承認されている。キムリア (Tisagenlecleucel, 2019 年)・イエスカルタ (Axicabtagene ciloleucel, 2021 年)・ブレヤンジ (Lisocabtagene maraleucel, 2021 年) はいずれも B 細胞の表面抗原である CD19 を認識する scFv を含む CAR を自己 T 細胞に発現させたもので、CD19 を発現する B 細胞性腫瘍を特異的に認識して細胞障害活性を示す。キムリアの CAR は抗 CD19 抗体の scFv、共刺激分子 4-1BB、CD3ζ 鎖からなるが、イエスカルタでは共刺激分子として CD28、ブレヤンジではヒンジドメインとして IgG4 が用いられている。またキムリア・ブレヤンジは CAR の導入にレンチウイルスベクターが、イエスカルタはレトロウイルスベクターが用いられているが、現在 piggyBac トランスポゾンなどの非ウイルス遺伝子改変法を用いた CAR-T の開発研究も行われている。次に、CD19 以外の有効な標的抗原の

探索が進み、アベクマ (Idecabtagene vicleucel, 2022年) とカービクティ (Ciltacabtagene autoleucel, 2022年) は多発性骨髄腫患者の形質細胞や骨髄腫細胞にのみ発現している B 細胞成熟抗原 (BCMA) を標的としている。アベクマは従来 CAR の抗原結合ドメインと同様、重鎖および軽鎖からなる scFv を採用しているのに対し、カービクティは 2 種類のシングルドメイン抗体 [重鎖抗体の可変領域 (VHH) 1 および VHH2] で構成された BCMA 結合ドメインを有している。

また CAR-T 細胞療法に加え、腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する T 細胞受容体 (TCR) 遺伝子をウイルスベクターなどで T 細胞に導入した TCR-T 細胞を用いて、主に固形がんに対する研究開発も盛んに行われており³⁹⁻⁴²、今後はそれらを特徴に適した疾患ごとに使い分けられるようになると思われる。

(3) 課題と併用療法について

ここまで腫瘍溶解性ウイルス療法と CAR-T 細胞療法について述べてきたが、残念ながら現状においては単独での特に固形がんに対する治療効果はまだ限定的と言わざるを得ない。その要因として、難治性がんに見られる薬物送達の障壁となる密な線維形成性間質の存在、免疫抑制性 TME などがあげられる。ただし幸いなことに、これまで紹介してきた遺伝子治療は互換性に優れておりいくつか組み合わせること (combination therapy) でそれらを克服できると期待されている。例えば、われわれのグループでも研究を進めている内容だが、腫瘍溶解性ウイルスのキャリアとして間葉系幹細胞 (MSC) を用いることで転移先へも効率的に送達できるようにし抗腫瘍効果を向上させたり⁴³、腫瘍溶解性ウイルスの感染による TME のリモデリング (hot tumor) により CAR-T 細胞の浸潤・持続・機能の制限が改善することでより高い治療効果が発揮でき、現在実用化への準備が進められている⁴⁴。また、膀胱癌への MEKi+STAT3i 投与が TME をリモデリングし免疫チェックポイント阻害剤の抗腫瘍効果が改善され実際に臨床試験が開始されたが⁴⁵、腫瘍溶解性ウイルスも免疫チェックポイント阻害剤の治療効果を相乗的に増強する⁴⁶⁻⁴⁹ ことが前臨床研究で示されている。これらの併用療法と手術等の従来の標準治療を組み合わせることで患者の生命予後の延長につながると考えられる。

その他の課題として遺伝子治療の場合、治療コストがおおよそ 1,000 万円~2 億円と極めて高額な点が挙げられる。世界各国で医療費の高騰が問題視される中で、現状のままでは普遍的な医療として展開する可能性は

低い。医学的観点からの安全性や有効性に加えて、社会的側面からの経済性をクリアすることも非常に重要である。この経済的問題を解決すべく、われわれの研究室では以前より AAV や HSV ベクターの製造工程を効率化する研究を重ね、いくつかのベクターに関して至適プロトコルの作成にも成功している⁵⁰⁻⁵³。

おわりに

癌に対する遺伝子治療薬は分子病態に基づく明確な作用機序と臨床的效果から、世界的に革新的がん治療薬の最有力候補の一つとして期待されている。先述の通り、コスト面など依然として課題が山積みではあるが国も遺伝子治療の研究支援に力を入れており、今後は臨床研究や治験がより活発に行われると考えられる。それらの実用化に向けてわれわれもその一役を担うべくこれからも日々、研究開発に励む所存である。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文 献

1. 国立研究開発法人科学技術振興機構 研究開発戦略センター (CRDS) : 研究開発の俯瞰報告書 ライフサイエンス・臨床医学分野 2021; 220-229.
2. Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, et al: Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med* 2017; 377: 1713-1722.
3. Al-Zaidy SA, Kolb SJ, Lowes L, et al: AVXS-101 (Onasemnogene Apeparovect) for SMA1: Comparative Study with a Prospective Natural History Cohort. *J Neuromuscul Dis* 2019; 6: 307-317.
4. Von Drygalski A, Giermasz A, Castaman G, et al: Etranacogene dezaparovect (AMT-061 phase 2b): normal/near normal FIX activity and bleed cessation in hemophilia B. *Blood Adv* 2019; 3: 3241-3247.
5. Pipe SW, Leebeek FWG, Recht M, et al: Gene Therapy with Etranacogene Dezaparovect for Hemophilia B. *N Engl J Med* 2023; 388: 706-718.
6. 内田恵理子 : 日本における遺伝子治療の開発と規制の現状と課題. *Bull Natl Inst Health Sci* 2020; 138: 5-15.
7. Kuwana Y, Asakura Y, Utsunomiya N, et al: Expression of chimeric receptor composed of immunoglobulin-derived V regions and T-cell receptor-derived C regions. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 149: 960-968.
8. Eshhar Z, Waks T, Gross G, et al: Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 720-724.
9. Finney HM, Lawson AD, Bebbington CR, et al: Chimeric receptors providing both primary and costimulatory signaling in T cells from a single gene product. *J Immunol* 1998; 161: 2791-2797.

10. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al.: Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* 2018; 378: 439–448.
11. Porter DL, Levine BL, Kalos M, et al.: Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2011; 365: 725–733.
12. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, et al.: Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2013; 368: 1509–1518.
13. Maude SL, Frey N, Shaw PA, et al.: Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371: 1507–1517.
14. Kochenderfer JN, Wilson WH, Janik JE, et al.: Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood* 2010; 116: 4099–4102.
15. Brentjens RJ, Davila ML, Riviere I, et al.: CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med* 2013; 5: 177ra38.
16. 今井千速 : CAR-T細胞療法の歴史と展望. *The Japanese Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 2020; 57: 354–359.
17. Global Information, Inc: Global CAR T-Cell Therapy Market Insights, Forecast to 2028. *Oncolytic Virus Therapies Market by Virus Type. Global Immune Checkpoint Inhibitors Market-2022-2029.*
18. ICH considerations: *Oncolytic Viruses-Scientific guideline. EMEA/CHMP/ICH/607698/2008.*
19. Plataniias LC: Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signaling. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 375–386.
20. Babiker HM, Riaz IB, Husnain M, et al.: Oncolytic virotherapy including Rigvir and standard therapies in malignant melanoma. *Oncolytic Virother* 2017; 6: 11–18.
21. Kaufman HL, Kohlhapp FJ, Zloza A: Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2015; 14: 642–662.
22. Seymour LW, Fisher KD: Oncolytic viruses: finally delivering. *Br J Cancer* 2016; 114: 357–361.
23. Zhang B, Wang X, Cheng P: Remodeling of Tumor Immune Microenvironment by Oncolytic Viruses. *Front Oncol* 2021; 10: 561372.
24. Harrington KJ, Puzanov I, Hecht JR, et al.: Clinical development of talimogene laherparepvec (T-VEC): a modified herpes simplex virus type-1-derived oncolytic immunotherapy. *Expert Rev Anticancer Ther* 2015; 15: 1389–1403.
25. Todo T, Ito H, Ino Y, et al.: Intratumoral oncolytic herpes virus G47 Δ for residual or recurrent glioblastoma: a phase 2 trial. *Nat Med* 2022; 28: 1630–1639.
26. タカラバイオ株式会社 HP : 遺伝子医療 TOP 臨床開発状況. <https://www.takara-bio.co.jp/medi/dev.html>
27. Seymour LW, Fisher KD: Oncolytic viruses: finally delivering. *Br J Cancer* 2016; 114: 357–361.
28. Aurelian L: Oncolytic viruses as immunotherapy: progress and remaining challenges. *Onco Targets Ther* 2016; 9: 2627–2637.
29. Uusi-Kerttula H, Hulin-Curtis S, Davies J, et al.: Oncolytic adenovirus: strategies and insights for vector design and immuno-oncolytic applications. *Viruses* 2015; 7: 6009–6042.
30. Tysome JR, Lemoine NR, Wang Y: Update on oncolytic viral therapy-targeting angiogenesis. *Onco Targets Ther* 2013; 6: 1031–1040.
31. Eshhar Z, Waks T, Gross G, et al.: Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 720–724.
32. Kuwana Y, Asakura Y, Utsunomiya N, et al.: Expression of chimeric receptor composed of immunoglobulin-derived V regions and T-cell receptor-derived C regions. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 149: 960–968.
33. Porter DL, Levine BL, Kalos M, et al.: Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2011; 365: 725–733.
34. Porter DL, Kalos M, Zheng Z, et al.: Chimeric Antigen Receptor Therapy for B-cell Malignancies. *J Cancer* 2011; 2: 331–332.
35. Kalos M, Levine BL, Porter DL, et al.: T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med* 2011; 3: 95ra73.
36. Roberts ZJ, Better M, Bot A, et al.: Axicabtagene ciloleucel, a first-in-class CAR T cell therapy for aggressive NHL. *Leuk Lymphoma* 2018; 59: 1785–1796.
37. Adachi K, Kano Y, Nagai T, et al.: IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor. *Nat Biotechnol.* 2018; 36: 346–351.
38. Couzin-Frankel J: CANCER IMMUNOTHERAPY. Baby's leukemia recedes after novel cell therapy. *Science* 2015; 350: 731.
39. Crowther MD, Dolton G, Legut M, et al.: Genome-wide CRISPR-Cas9 screening reveals ubiquitous T cell cancer targeting via the monomorphic MHC class I-related protein MR1. *Nat Immunol* 2020; 21: 178–185.
40. Stadtmauer EA, Fraietta JA, Davis MM, et al.: “CRISPR-engineered T Cells in Patients With Refractory Cancer. *Science* 2020; 367: eaba7365.
41. Okamoto S, Mineno J, Ikeda H, et al. : Improved expression and reactivity of transduced tumor-specific TCRs in human lymphocytes by specific silencing of endogenous TCR. *Cancer Res* 2009; 69: 9003–9011.
42. 影山慎一 : 固形がんに対する TCR-T細胞療法. *実験医学 増刊 第38巻第2号. いま, 本格化する遺伝子治療 : 遺伝性疾患・がんと戦う新たな一手. 小澤敬也編. 羊土社 東京. 2020; 117–122.*
43. Mahasa KJ, de Pillis L, Ouifki R, et al.: Mesenchymal stem cells used as carrier cells of oncolytic adenovirus results in enhanced oncolytic virotherapy. *Sci Rep* 2020; 16: 10: 425.
44. Evgin L, Kottke T, Tonne J, et al.: Oncolytic virus-mediated expansion of dual-specific CAR T cells improves efficacy against solid tumors in mice. *Sci Transl Med* 2022; 14: eabn2231.
45. Datta J, Dai X, Bianchi A, et al.: Combined MEK and STAT3 Inhibition Uncovers Stromal Plasticity by Enriching for Cancer-Associated Fibroblasts With

- Mesenchymal Stem Cell-Like Features to Overcome Immunotherapy Resistance in Pancreatic Cancer. *Gastroenterology* 2022; 163: 1593–1612.
46. Dong H, Li M, Yang C, et al.: Combination therapy with oncolytic viruses and immune checkpoint inhibitors in head and neck squamous cell carcinomas: an approach of complementary advantages. *Cancer Cell Int* 2023; 23: 1.
 47. Zamarin D, Holmgaard RB, Subudhi SK, et al.: Localized oncolytic virotherapy overcomes systemic tumor resistance to immune checkpoint blockade immunotherapy. *Sci Transl Med.* 2014; 6: 226ra32.
 48. Chen CY, Wang PY, Hutzen B, et al.: Cooperation of oncolytic herpes virotherapy and PD-1 blockade in murine rhabdomyosarcoma models. *Sci Rep* 2017; 7: 2396.
 49. Chen CY, Hutzen B, Wedekind MF, et al.: Oncolytic virus and PD-1/PD-L1 blockade combination therapy. *Oncolytic Virother* 2018; 7: 65–77.
 50. Kuroda S, Miyagawa Y, Sato Y, et al.: Protocol Optimization for the Production of the Non-Cytotoxic JANI5 HSV Vector Deficient in Expression of Immediately Early Genes. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2020; 17: 612–621.
 51. Kuroda S, Miyagawa Y, Sukegawa M, et al.: Evaluation of parameters for efficient purification and long-term storage of herpes simplex virus-based vectors. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2022; 26: 132–143.
 52. Tomono T, Hirai Y, Okada H, et al.: Ultracentrifugation-free chromatography-mediated large-scale purification of recombinant adeno-associated virus serotype 1 (rAAV1). *Mol Ther Methods Clin Dev* 2016; 3: 15058.
 53. Tomono T, Hirai Y, Okada H, et al.: Highly Efficient Ultracentrifugation-free Chromatographic Purification of Recombinant AAV Serotype 9. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2018; 11: 180–190.

(受付：2023年3月23日)

(受理：2023年7月3日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことが出来る。

—特集 [遺伝子治療 update : 日本医科大学の遺伝子治療研究 (9)]—



眼科分野における遺伝子治療

五十嵐 勉

日本医科大学千葉北総病院眼科

日本医科大学生化学・分子生物学 (分子遺伝学)

Gene Therapy for Ophthalmic Diseases

Tsutomu Igarashi

Department of Ophthalmology, Nippon Medical School Chiba Hokusoh Hospital

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School

Abstract

In the field of ophthalmology, gene therapy has focused on hereditary retinal dystrophy, including retinitis pigmentosa. Hereditary retinal dystrophy is a group of intractable diseases for which there is currently no effective treatment, and expectations are focused on gene therapy and retinal regeneration therapy using iPS cells. In recent years, results of a number of clinical trials of gene therapies for hereditary retinal dystrophy have been reported from Europe and the United States. Since 2017, gene therapy drugs for Leber congenital amaurosis have been approved after being found to be safe and therapeutically efficacious. In this article, we will discuss the current state of gene therapy for retinitis pigmentosa and the use of adeno-associated virus (AAV) vectors in gene therapy.

(日本医科大学医学会雑誌 2023; 19: 242-246)

Key words: gene therapy, ophthalmology, retina, retinitis pigmentosa, hereditary retinal disease

はじめに

網膜色素変性 (RP) は遺伝子変異が原因で網膜の視細胞および色素上皮細胞が広範囲に変性する疾患である。多くは病初期に杆体の変性が現れる。杆体の変性が先行し、徐々に錐体の変性が生じる。そのため初期には、夜盲や視野狭窄を自覚し、その後、視力低下、羞明を自覚する。すべて両眼性であり、基本的には緩徐に進行し、中高年で高度な視力障害に至る。70種類以上の原因遺伝子が報告されており、わが国での有病

率は約 5,000 人に 1 人とされ、患者数は約 30,000 人と推定されている。RP はわが国における先天盲の第 1 位、中途失明原因で第 2 位である¹。一方、RP を含む遺伝性網膜疾患の発症頻度は約 1,000~4,000 人とされ²、わが国では 50,000 人と推定されている³。RP が代表的な疾患であるが、それ以外にオカルト黄斑ジストロフィー (OMD)、錐体杆体ジストロフィー (CORD)、先天性停止性夜盲症、スターガルト病、Leber 先天盲など様々な疾患が含まれる。各疾患の原因遺伝子の

Correspondence to Tsutomu Igarashi, Department of Ophthalmology, Nippon Medical School Chiba Hokusoh Hospital, 1715 Kamagari, Inzai, Chiba 270-1694, Japan

E-mail: tutomu@nms.ac.jp

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

表1 人網膜外植片に対する遺伝子導入効率

	AAV1	AAV2	AAV4	AAV5	AAV6	AAV8	AAV9
網膜外層	高	中	高	中	中	低	中

オーバーラッピングも認められ、300を超える原因遺伝子に対して、表現型・疾患メカニズムを理解するために今後も検討が必要である。

1. AAV ベクター

現在、AAV ベクターは、眼科疾患に対する遺伝子治療研究で最も使用されている。AAV ベクターについては、他稿で詳しく説明されているので、詳しくは省くが、神経細胞などの非分裂細胞にも遺伝子導入でき、神経組織である網膜に対して有用と考えられる。その AAV ベクターにはいくつかの技術的なイノベーションがあり、今後の研究を考える上で非常に重要なステップである。詳細に関しては、過去に本誌にてまとめているので、参考にして欲しい⁴。

(1) AAV vector serotypes

12種類のウイルス外殻(カプシド)が開発されて来た。ウイルスのカプシドの種類によって遺伝子導入効率は変わり、組織特異性は、遺伝子治療を考える上で重要である。欧米において Leber 先天盲に対し、世界初の眼科分野における遺伝子治療で用いられたのは、AAV2 ベクターである。2002年、AAV1-6が開発され、マウスの網膜下投与では、AAV5が最も高い遺伝子導入効率であると報告された⁵。その後2008年 AAV9までが開発され、AAV8や AAV9が高い遺伝子導入効率を持つと報告された⁶。われわれも AAV8が網膜下投与で高い遺伝子導入効率があると報告した⁷。しかしながら、マウスと人では、同じ網膜下投与でも特異性が代わると報告されてきている。人のサイトメガロウイルスのプロモーターを用いた AAV1~9までを、人の網膜外植片と共培養した結果では、AAV2よりも AAV1や AAV4の方が網膜外層への親和性が高いと報告された(表1)⁸。

(2) Self-complementary (sc) AAV Vector

一般的な AAV ベクターは、ゲノムが一本鎖 DNA (linear singlestranded DNA (ssDNA)) である。遺伝子発現のため、核内において二本鎖となる必要がある。有用な遺伝子発現量を確保するには、大量のベクターが必要となる。自己相補型 (scAAV) ベクターは挿入

できる遺伝子サイズは半減するが、標的細胞内でただちに二本鎖の状態になることから早期の遺伝子発現と高い遺伝子発現が可能となってきた⁹。網膜下投与で比較検討されたところ、scAAV ベクターは ssAAV ベクターより高い遺伝子発現を示すことが報告された¹⁰。

(3) チロシン変異 (tm)-scAAV ベクター

AAV のウイルス粒子はエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる。細胞内に入ると、ユビキチン-プロテアソームシステムによる経路とリソソームを介する経路で分解される。AAV2はエンドソームの酸性環境下においてウイルス外殻の構造変化をきたしユビキチン化され、AAV の核輸送が阻害され遺伝子導入効率が低下する¹¹。ユビキチン化には、上皮成長因子受容体プロテインチロシンキナーゼ (epidermal growth factor receptor protein tyrosine kinase ; EGFR-PTK) により AAV2外殻タンパクがリン酸化されて生じる¹²。EGFR-PTK のリン酸化の標的となっているのがチロシン残基であり、そのチロシン残基をフェニルアラニンに置換したチロシン変異 (tm)-scAAV ベクターはユビキチン化が阻害され核輸送が促進し、遺伝子導入効率を上昇されることに成功した¹³。これらの tm-scAAV ベクターは眼科分野においても、非常に高い遺伝子導入効率を示し、特に硝子体投与による遺伝子発現が格段に上昇した^{14,15}。われわれは血清型の異なる、タイプ2, 8, 9の GFP 発現 tm-scAAV ベクター (tm-scAAV-GFP) を作製し、マウス硝子体に投与し比較検討したところ tm-scAAV2 ベクターが非常に高い遺伝子導入効率を持つことが分かった(図1)。また網膜下投与した場合、主に視細胞と網膜色素上皮に遺伝子導入され、tm-scAAV8 ベクターと tm-scAAV9 ベクターが高い遺伝子導入することが分かった(図2)。この遺伝子導入効率が高いということは、実験的に治療効果に繋がることを示唆される。われわれは tm-scAAV2 ベクターで BDNF を発現 (tm-scAAV2-BDNF) させることにより、一過性高眼圧モデルと薬剤誘発網膜障害モデルにおいて非常に高い治療効果を得た^{16,17}。治療に必要なタンパク量をベクターに供給できるかは、ベクターの遺伝子発現能力に依存しているため、非常に重要な問題である。

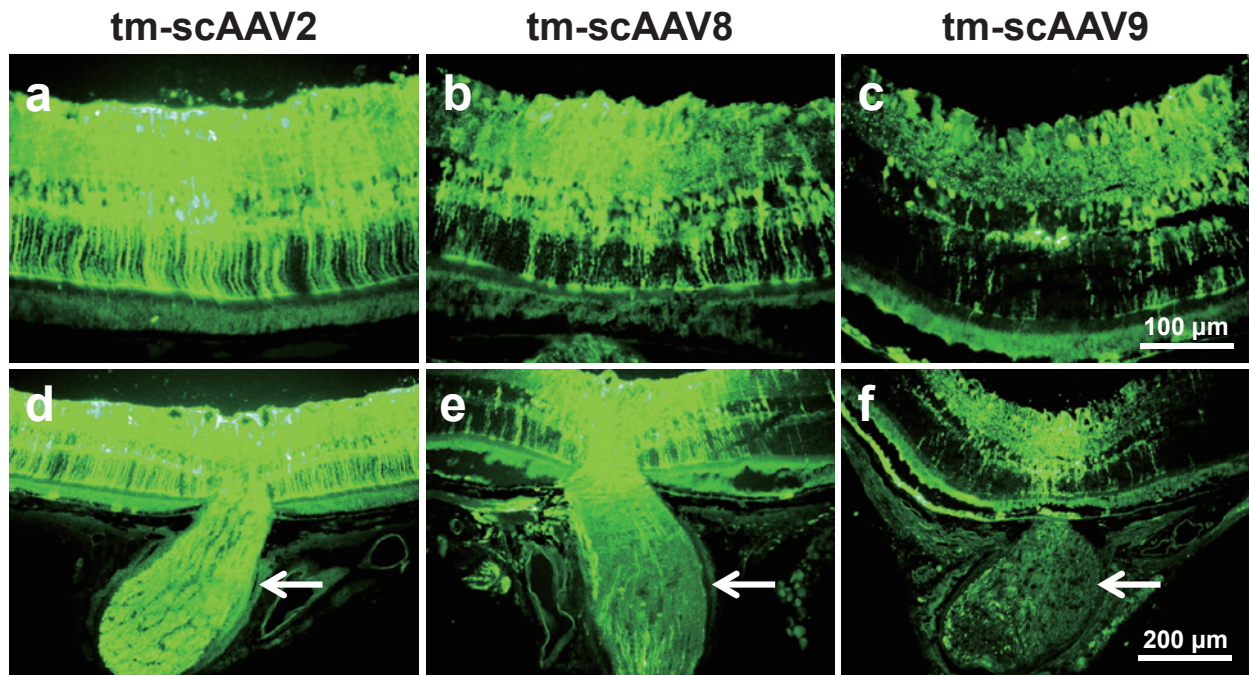


図1 硝子体投与におけるチロシン変異 (tm)-scAAV-GFP ベクターの遺伝子発現
tm-scAAV2, 8, 9 で比較したところ (a~c), タイプ2 で最も高い遺伝子発現を認めた. 視神経の遺伝子発現を比較したところ (d~e), タイプ2 で最も高い遺伝子発現を認めた. 視神経 (矢印) は網膜神経節細胞の神経線維であることから, 網膜神経節細胞に高い遺伝子導入がなされたことを意味する. (変異はチロシンをフェニルアラニンに置換; AAV2; Y730+500+444F (triple mutant), AAV8; Y733F, AAV9; Y731F) 文献4より転載

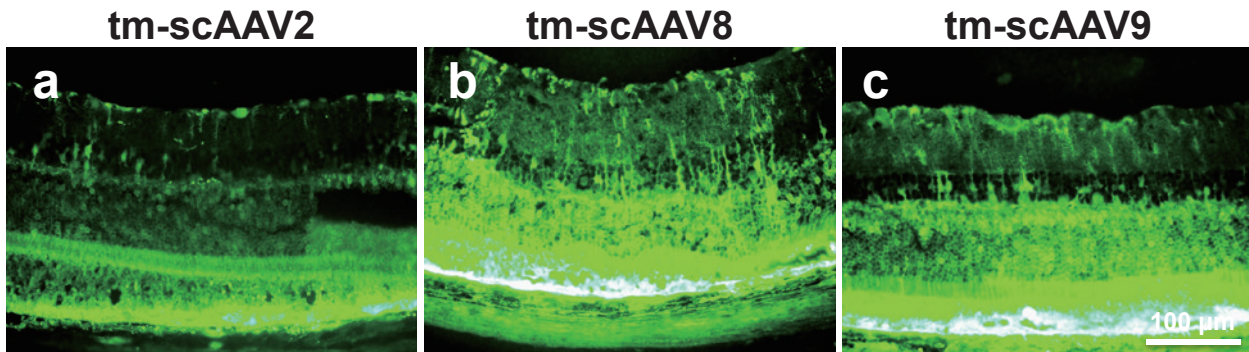


図2 網膜下投与におけるチロシン変異 (tm)-scAAV-GFP ベクターの遺伝子発現
tm-scAAV2, 8, 9 で比較したところ (a~c), タイプ8と9で高い遺伝子発現を認めた.

2. 欧米における眼科領域の遺伝子治療

欧米では, Leber 先天盲だけでなく, コロイデレミア, RP, レーバー遺伝性視神経症, 加齢黄斑変性, 全色盲, 網膜分離症などに対する臨床応用が進められている.

(1) Leber 先天盲 (LCA) に対する遺伝子治療

LCA は, 1869年 Leber によって報告された RP の類縁疾患で高度に視力が障害される. 15種類以上の原因遺伝子が同定されており, ほとんどが常染色体劣性

遺伝の形式をとる. そのなかの RPE65 (LCA2) 遺伝子異常を対象にした遺伝子治療研究が行われてきた. RPE65 は網膜色素上皮細胞に発現する, 視サイクルに重要なタンパクであり, 変異があると光に反応できず, 視細胞自体が死に至る. RPE65 の遺伝子を AAV ベクターに組み込み, イヌの LCA2 モデルの網膜下へ投与したところ, 著しい治療効果が得られ, かなりの回復がみられた¹⁸. 2007年より英国と米国ペンシルバニアのグループによってヒト LCA2 患者に対する遺伝子治療の臨床研究が開始された^{19,21}. 投与6カ月後, 網膜電図

など客観的な機能評価法で視機能の改善を示唆する所見は得られなかったが、網膜感度の上昇と暗所下での行動の著しい改善を認めた。その後、31名のLCA2患者を対象にしたPhase IIIが米国で行われ、投与から1年後に重篤な有害事象や視力改善の有意差はなかったが、暗所での行動、網膜感度、視野においてコントロールと有意差を認めたと報告された²²。その後、2017年に米国で、2018年にヨーロッパでAAV遺伝子治療薬(Luxturna[®])が認可された。一方、3年以上の長期成績でも重篤な合併症がなく安全性が確認されたが、網膜感度は6か月から12か月をピークにほとんどの症例で減少してしまうことも報告された²³。筆者らは、遺伝子治療臨床研究への成功の鍵として、強力で持続力のある治療法の必要性について述べられており、より良いAAVベクターの開発が重要視されている。そのため、RPE65遺伝子の発現量増大を目指し、AAV2/5をベースとしたベクターで現在I/II相臨床試験を行っている。今後、新たなAAVベクターを用いたより良い治療薬の登場が期待されている。

(2) コロイデレミアに対する遺伝子治療

コロイデレミアはREP-1遺伝子異常により生じる、伴性劣性遺伝の疾患である²⁴。基本的には男性に発症するが、女性の保因者にも眼底異常や夜盲が出現する。幼少期から夜盲を自覚することが多いが、視力は比較的后期まで保たれることが多い。2012年、オックスフォード大学のグループによってコロイデレミアのI/II相臨床試験がスタートした²⁵。その後、他グループで実施されたII相臨床試験では一部の患者で視力の改善がみられた。すなわち、治療効果を認められた^{26,27}。さらにBiogen社によりIII相臨床試験が行われたが、視力向上の割合が主要評価項目を達成することができず²⁸、今後の研究が期待される。

(3) 網膜色素変性に対する遺伝子治療

RPは70種類以上の原因遺伝子が報告されているが、病因遺伝子の種類が多く、遺伝形式により病気の進行が異なることが知られている。単一施設で患者データを集積するには限界がある。近年、日本網膜色素変性レジストリプロジェクト(Japan Retinitis Pigmentosa Registry Project: JRPRP)が構築され疾患データ蓄積が進んでいる。JRPRPに登録されている定型RP患者2,653名のうち遺伝子解析を実施されたのは1,338名であった。病因遺伝子が同定されたのは544名で、解決率は40.7%であった。病因遺伝子ごとの患者数はEYS遺伝子(189名)、USH2A遺伝子(49名)、

RHO遺伝子(35名)、RP1遺伝子(34名)、RPGR遺伝子(31名)であった²⁹。LCAやコロイデミアのように正常遺伝子を遺伝子導入する遺伝子補充療法の場合、AAVベクターに搭載できる遺伝子は4.7 kb程度であり、それよりも小さなサイズである必要がある。RPの場合、多くの遺伝子においてそれよりも長い遺伝子が多く、遺伝子補充療法が難しい。そのため、遺伝子編集や神経保護因子の活用が期待されている。

おわりに

眼科分野の遺伝子治療では、AAVによるRPE65遺伝子治療の成功の報告から10数年の間に、次々と新しい遺伝子治療臨床試験が開始されている。遺伝子治療は、共通基盤を確立すれば、搭載遺伝子を変えて他の疾患へ応用ができる。今後、網膜疾患に加えて、緑内障やぶどう膜炎などの領域でも応用され、治療開発が進むものと期待される。また、今回触れなかったがAAVベクターによる炎症の惹起も問題となっている³⁰。いまだ効果的な治療効果には至らぬ網膜への遺伝子治療であるが、遺伝子導入効率を上昇させつつ、炎症などの副作用を上手くコントロールするためのAAVベクターの開発や基礎研究が必要と考えられる。

Conflict of Interest: 開示すべき利益相反はなし。

文献

1. Koyanagi Y, Akiyama M, Nishiguchi KM, et al: Genetic characteristics of retinitis pigmentosa in 1204 Japanese patients. *J Med Genet* 2019; 56: 662-670.
2. Sohocki MM, Daiger SP, Bowne SJ, et al: Prevalence of mutations causing retinitis pigmentosa and other inherited retinopathies. *Hum Mutat* 2001; 17: 42-51.
3. 角田和繁: 網脈絡膜ジストロフィの遺伝学的病態解明および治療に向けた症例データバンクの構築. *日眼会誌* 2020; 124: 247-284.
4. 五十嵐勉, 三宅弘一, 小林舞香ほか: 眼科分野における遺伝子導入法の開発. *日本医大医会誌* 2017; 13: 88-96.
5. Yang GS, Schmidt M, Yan Z, et al: Virus-mediated transduction of murine retina with adeno-associated virus: effects of viral capsid and genome size. *J Virol* 2002; 76: 7651-7660.
6. Leberher C, Maguire A, Tang W, Bennett J, Wilson JM: Novel AAV serotypes for improved ocular gene transfer. *J Gene Med* 2008; 10: 375-382.
7. Igarashi T, Miyake K, Masuda I, Takahashi H, Shimada T: Adeno-associated vector (type 8)-mediated expression of soluble Flt-1 efficiently inhibits neovascularization in a murine choroidal neovascularization model. *Hum Gene Ther* 2010; 21: 631-637.
8. Wiley LA, Burnight ER, Kaalberg EE, et al: Assessment of Adeno-Associated Virus Serotype

- Tropism in Human Retinal Explants. *Hum Gene Ther* 2018; 29: 424–436.
9. McCarty DM: Self-complementary AAV vectors; advances and applications. *Mol Ther* 2008; 16: 1648–1656.
 10. Natkunarajah M, Trittibach P, McIntosh J, et al.: Assessment of ocular transduction using single-stranded and self-complementary recombinant adeno-associated virus serotype 2/8. *Gene Ther* 2008; 15: 463–467.
 11. Ding W, Zhang L, Yan Z, Engelhardt JF: Intracellular trafficking of adeno-associated viral vectors. *Gene Ther* 2005; 12: 873–880.
 12. Zhong L, Zhao W, Wu J, et al.: A dual role of EGFR protein tyrosine kinase signaling in ubiquitination of AAV2 capsids and viral second-strand DNA synthesis. *Mol Ther* 2007; 15: 1323–1330.
 13. Zhong L, Li B, Mah CS, et al.: Next generation of adeno-associated virus 2 vectors: point mutations in tyrosines lead to high-efficiency transduction at lower doses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 7827–7832.
 14. Petrs-Silva H, Dinculescu A, Li Q, et al.: Novel properties of tyrosine-mutant AAV2 vectors in the mouse retina. *Mol Ther* 2011; 19: 293–301.
 15. Petrs-Silva H, Dinculescu A, Li Q, et al.: High-efficiency transduction of the mouse retina by tyrosine-mutant AAV serotype vectors. *Mol Ther* 2009; 17: 463–471.
 16. Igarashi T, Miyake K, Kobayashi M, et al.: Tyrosine triple mutated AAV2-BDNF gene therapy in a rat model of transient IOP elevation. *Mol Vis* 2016; 22: 816–826.
 17. Shiozawa AL, Igarashi T, Kobayashi M, et al.: Tyrosine triple mutated AAV2-BDNF gene therapy in an inner retinal injury model induced by intravitreal injection of N-methyl-D-aspartate (NMDA). *Mol Vis* 2020; 26: 409–422.
 18. Acland GM, Aguirre GD, Ray J, et al.: Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness. *Nat Genet* 2001; 28: 92–95.
 19. Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS, et al.: Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 2008; 358: 2231–2239.
 20. Hauswirth WW, Aleman TS, Kaushal S, et al.: Treatment of leber congenital amaurosis due to RPE65 mutations by ocular subretinal injection of adeno-associated virus gene vector: short-term results of a phase I trial. *Hum Gene Ther* 2008; 19: 979–990.
 21. Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA, et al.: Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 2008; 358: 2240–2248.
 22. Russell S, Bennett J, Wellman JA, et al.: Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2017; 390: 849–860.
 23. Bainbridge JW, Mehat MS, Sundaram V, et al.: Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 2015; 372: 1887–1897.
 24. Seabra MC, Brown MS, Goldstein JL. Retinal degeneration in choroideremia: deficiency of rab geranylgeranyl transferase. *Science* 1993; 259: 377–381.
 25. Edwards TL, Jolly JK, Groppa M, et al.: Visual Acuity after Retinal Gene Therapy for Choroideremia. *N Engl J Med* 2016; 374: 1996–1998.
 26. Fischer MD, Ochakovski GA, Beier B, et al.: Efficacy and Safety of Retinal Gene Therapy Using Adeno-Associated Virus Vector for Patients With Choroideremia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Ophthalmol* 2019; 137: 1247–1254.
 27. Lam BL, Davis JL, Gregori NZ, et al.: Choroideremia Gene Therapy Phase 2 Clinical Trial: 24-Month Results. *Am J Ophthalmol* 2019; 197: 65–73.
 28. Lam BL, Davis JL, Gregori NZ: Choroideremia Gene Therapy. *Int Ophthalmol Clin* 2021; 61: 185–193.
 29. 池田康博：網膜色素変性の疾患レジストリ。 *臨眼* 2023; 77: 37–40.
 30. Bucher K, Rodríguez-Bocanegra E, Dauletbekov D, Fischer MD: Immune responses to retinal gene therapy using adeno-associated viral vectors—Implications for treatment success and safety. *Prog Retin Eye Res* 2021; 83: 100915.

(受付：2023年3月27日)

(受理：2023年7月3日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。



学生支援からメタバースへ

小川 令

学生部長

形成再建再生医学 大学院教授

2022年（令和4年）4月から学生部長を仰せつかっております。形成外科の小川と申します。本学学生の生活をサポートするために頑張っておりたいと思っております。

私は1999年（平成11年）に本学を卒業いたしました。学生時代はバドミントン部と軽音楽部に所属し、部活動から多くのことを学ぶことができました。当時の大学では、部活動をはじめとする課外活動が、上級生と下級生を繋ぐ大切な役割を担っており、学生生活の悩み相談などの機能も担っていた気がいたします。医師になってからも先輩・後輩の繋がりがずっと続いております。

しかし、昨今の学生を取り巻く環境は激変しています。世間ではインターネット特にSNSの台頭により、ネット上での人間関係が構築しやすくなった反面、デマの拡散や心ない誹謗中傷、個人情報流出など今までになかった問題が発生しはじめています。さらに2020年からのコロナ禍によって、本学では丸3年間、課外活動や食事会などが制限される時期を経験しました。その結果、医学部の学生にとっても、学生生活の悩みが解消しにくく、ストレスが蓄積し、精神的負担が増加していることが推察されます。学生のメンタルヘルス支援対策がより一層求められる状況になっているのではないのでしょうか。幸い2023年5月8日から新型コロナウイルス感染症は感染症法5類になりました。病院でのリスクは継続するものの、コロナ禍以前の環境が徐々に戻ることを願っています。

本学における学生支援として、学年担任やチューターによる学習支援、学生アドバイザー制度があります。さらに今年で28年目を迎えた学生相談室もあります。学生相談室には年に数百件の相談が寄せられています。学生部長としましては、学生相談室や学年担任、チューターやアドバイザーの先生方、課外活動の顧問・部長の先生方、また教務課の皆様と協力し、学生が安心して学業や課外活動を行えるよう支援体制を充実させていきたいと考えております。さらに、AIやテクノロジーを駆使した教育を目指す本学として、仮想現実空間・メタバースを利用した新しいコミュニケーションスタイルを確立すべく準備しているところです。本学独自の学生生活支援策を打ち出していきたくと考えております。今後とも何卒よろしくお願ひ申し上げます。

（受付：2023年5月13日）

—グラビア—

済生学舎時代の野口英世

志村 俊郎¹ 弦間 昭彦²¹ 独立行政法人東京労災病院第二臨床検査科² 日本医科大学

Hideyo Noguchi in the Saiseigakusha Era

Toshiro Shimura¹ and Akihiko Gemma²¹Department of the Second Clinical Laboratory Medicine, Japan Labour Health and Safety Organization Tokyo Rosai Hospital²President, Nippon Medical School

図1 済生学舎時代の野口英世
制作 彫刻家 後藤良二
日本医科大学同窓会館済生学舎ギャラリー所蔵

はじめに

野口英世の済生学舎時代の報告は、極めて少ないと言われています¹。済生学舎時代の野口英世の先行研究は、唐沢信安先生の「済生学舎時代の野口英世—細菌学への道程」を嚆矢としています²。本稿では、済生学舎時代の新しい「野口英世のレリーフ肖像」と済生学舎出身の野口英世にふさわしい野口の揮毫した書掛軸「済生」を本学に展示する機会を得たことから、これらの橘桜会館内日本医科大学済生学舎ギャラリーでの野口の新展示と野口にまつわる直筆書簡を（公財）野口英世記念会の許諾を得て供覧します。特に、済生学舎時代の野口英世の今まで未制作であったレリーフ肖像と、野口が錦を飾って一時帰国した1915（大正4）年の済生学舎関連の新たな事実を中心として本グラビアに報告します。

1. 野口の済生学舎時代のレリーフ肖像（図1）

図1の野口のレリーフ肖像では、これから済生学舎で医学を学ぶ希望に満ちた情熱的な輝きを持った野口の瞳を見

ていただきたいと思います。なお、本レリーフ肖像制作者の後藤良二先生は、2008年本学に新田正夫氏より寄贈された野口英世博士の胸像も制作しており、この胸像は、日本医科大学の前身の済生学舎創設者長谷川泰先生の胸像（3度の日展入選者である昭和35年本学卒業生市堰英之先生制作）とともに、同窓会館内の日本医科大学済生学舎ギャラリーのエントランスホールに並び置かれています。

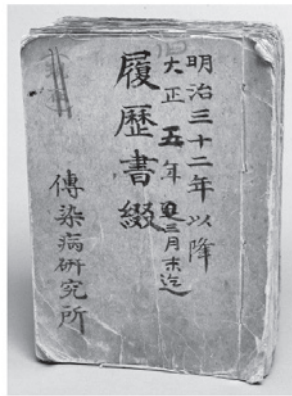
2. 野口英世の直筆履歴書（図2）

旧傳染病研究所の1899（明治32）年以降1916（大正5）年3月までの履歴綴の野口の直筆履歴書には、野口は、明治29年11月から明治30年8月まで、「済生学舎に医術を学ぶ」と記載されています。野口英世は、明治30年済生学舎を卒業しています。

3. 野口英世の直筆書簡（図3）

野口英世の済生学舎入学の事実は、野口より猪苗代高等学校の恩師小林栄先生宛ての明治30年4月19日付けの

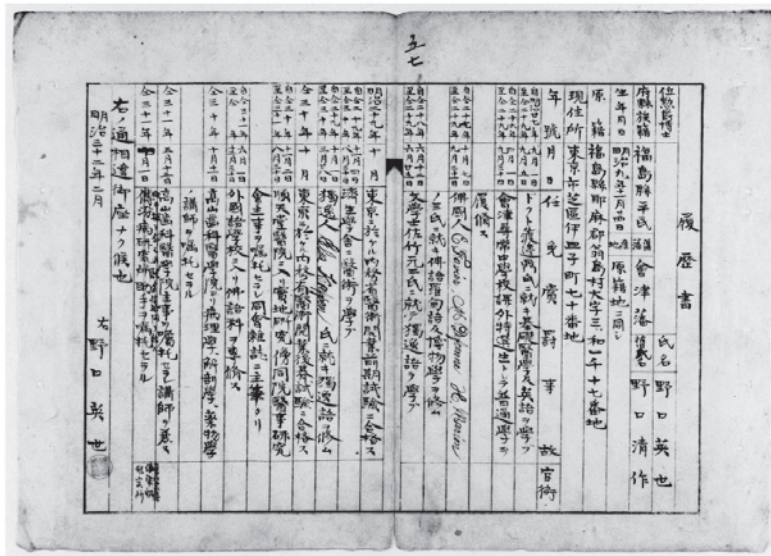
伝染病研究所・血清薬院 (明治)
011上



伝染病研究所履歴書綴
医科学研究所蔵

A

伝染病研究所・血清薬院 (明治)
012下



医科学研究所蔵の伝染病研究所履歴書綴にある野口英世の履歴書

B

図2 A 東京大学の附属機関、医科学研究所（旧伝染病研究所）の1899（明治32）年以降1916（大正5）年3月までの履歴綴 B 野口英世直筆履歴書
〔画像提供：東京大学医科学研究所〕

直筆書簡には「小生4月1日に済生学舎ニ入舎イマス」（野口手紙の原文）と書かれそこには、舎長長谷川泰は、越後の産で医学者にして有力なる代議士に御座候と泰の簡略歴にも触られています。この書簡は、野口英世書簡集IV（財団法人野口英世記念会平成18年5月21日発行）41頁に記載されています。

4. 野口英世の揮毫した書掛軸「済生」（図4）

野口英世の揮毫した書掛軸「済生」は、野口が1915（大正4）年9月に日本への一時帰国した際に、浄土真宗本願寺派のお寺「樹林山 西円寺」（福島県耶麻郡猪苗代町字新町4899）の檀家である野口の幼馴染で一家をあげて野口を支援していた八子弥寿平氏宛に、野口が友人としての情愛

を込めて寄贈したものであります。そこでの為書きには、「1915（大正4）年仲秋 予帰省之際 追想故八子大人（参考：八子弥寿平：当時の野口清作の猪苗代高等小学校同級生³⁾）之友誼 英世」とあります。現在の野口の書掛軸「済生」の所蔵先は、先にも述べた福島県耶麻郡猪苗代町「樹林山 西円寺」であります。なお、野口の揮毫した「済生」は、野口の卒業した明治期の私立医学校「済生学舎」の建学精神である「貧しくしてその上病気で苦しんでいる人々を救うのが、医師の最も大切な道である」との「済生救民」の「済生」であります。

5. 野口の一時期帰国そして野口のはがき（図5）

野口は、1915（大正4）年9月5日から同年11月4日ま

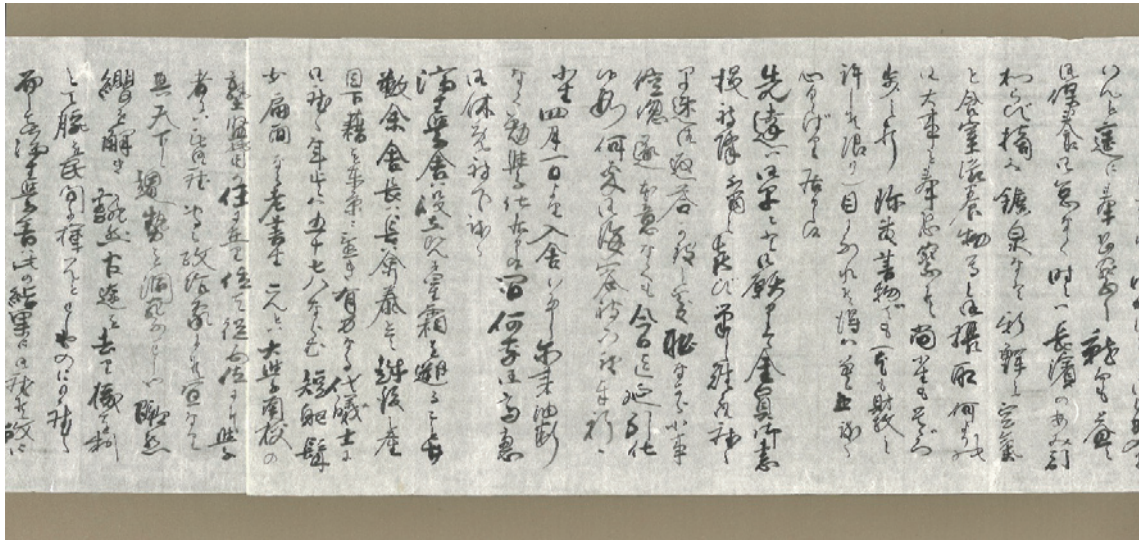


図3 明治30年4月19日付 小林栄宛野口清作直筆書簡（部分）
（（公財）野口英世記念会より使用許諾）

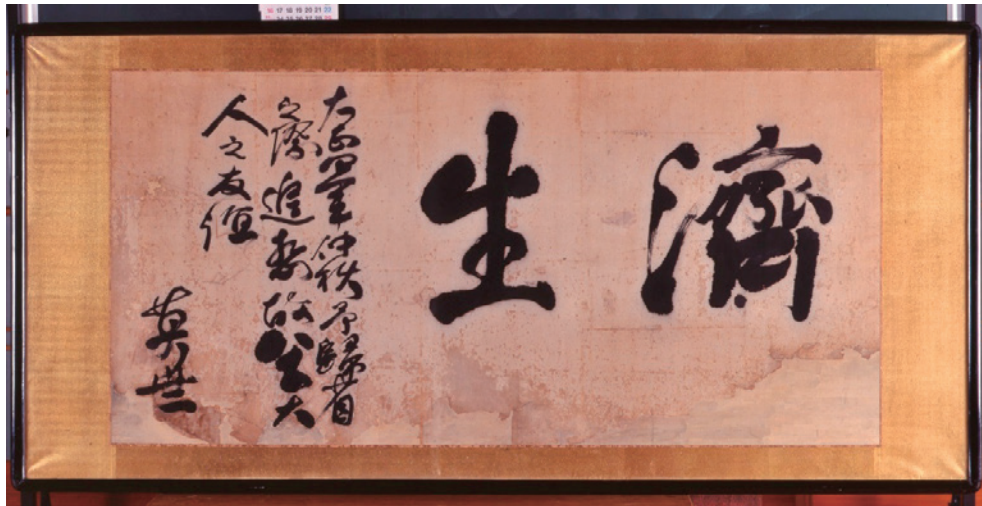


図4 大正4年9月5日野口の一時期帰国の際の野口英世揮毫の書掛軸「濟生」
（（公財）野口英世記念会より使用許諾）

で日本に一時帰国しております。野口は、研究題目スピロヘータバリータの研究に対して贈られております1915年度第5回帝国学士院恩賜賞の受賞、総理大臣大隈重信侯邸での大隈侯との面会と多忙を極めておりましたが、野口が卒業した済生学舎同窓会との歓迎会が2回開かれておりましたので記載します³。一回目の野口の歓迎会と講演会は、同年9月22日上野精養軒で開かれ、野口は「渡米前後の事情とアメリカ医学事情」と題して講演をしております。二回目の野口の歓迎会は、同年10月畑嘉聞（明治35年済生学舎卒業、大正7年野口英世の紹介で米国ロックフェラー研究所に留学、その後宇治山田市で開業）は、地方の済生学舎の同窓と相談し、宇治山田市の旅館五二会館（伊勢市史第4巻近代編2012.6発行⁴）で開かれました。この会では、野口は、済生学舎のことやアメリカ医学事情などに会話が弾んだと言われています⁵。

一時帰国後、野口は、1917（大正6）年5月24日に日本滞在中におこなった全国講演、親孝行などの疲労が蓄積し、

腸チフスにかかり米国ニューヨーク市マウントサイナイ病院に入院し、一時危篤状態に陥るも同年7月22日には軽快退院しております。その時の野口の病状は、本邦の新聞（東京朝日新聞大正6年5月30日に「世界的学者日本の誇 野口英世博士危篤」⁶）と報道されました。その野口の病気を気遣った済生学舎同窓の和仁真一（済生学舎明治31年卒業）は、野口に見舞い状を送っております。そこで野口は、病気軽快後の同年8月に米国より和仁の見舞い状として返礼絵葉書をよこしております。図5の新聞記事は、野口と和仁との親しさを表す米国から2通の近況報告の内一枚の絵葉書の存在であり、この野口病後の絵葉書は先にも述べた和仁の見舞い状に対しての野口から御礼状であります。またここには野口が和仁大兄宛に野口の予定を書き添えて渡した野口の名刺も発見されたことが掲載されています⁷。和仁真一の簡略歴から野口との関係性を触れます。和仁は、済生学舎卒業後、東京杏雲堂病院に勤務し、明治37年神奈川縣國府津町で開業しております。またその間に



図5 野口英世から和仁真一へ宛てられたはがきと名刺。読売新聞。2009年11月16日、朝刊、全国版（第48036号14版社会面36ページ）
 「2009年11月16日読売新聞提供縮刷版」

和仁は、明治34年6月から東京歯科医学院で歯科薬物学講師を務めております。また、野口も、同時期に東京歯科医学院で病理総論の講師であり⁸、そのころより、野口と和仁は、同時期の済生学舎卒業の親友で友人関係であったものと思われま。更に野口と和仁の親交は、野口が大正4年11月4日に一時帰国後の再渡米の際に佐渡丸船上の甲板で野口を囲む恩師らと一緒に記念写真にも納まっていることにも表れております。

おわりに

本稿では、野口英世が、日本医科大学前身の明治期の代表的私立医学校である済生学舎を卒業した証左を、若干の文献の検索とともに供覧しました。

謝辞：本稿の先行研究を先達としてお導きくださった日本医史学会功労会員故唐澤信安先生に衷心より感謝を捧げる次第であります。

野口英世の付図については公益財団法人野口英世記念会森田鉄平先生にご教示をいただき、貴重なオリジナル資料を基に作成し、掲載することができました。深くお礼申し上げます。

Conflict of Interest：開示すべき利益相反はなし。

文 献

1. 志村俊郎, 弦間昭彦：日本医科大学前身の済生学舎

一済生救民と長谷泰をめぐる人々。日医大医学会誌 2022; 18: 86-97.
 2. 唐沢信安：済生学舎時代の野口英世—細菌学への道程（野口英世—21世紀に生きる。（小暮葉満子, 田崎公司編）。2004; pp. 20-64, 日本経済評論社 東京。
 3. 小松山六郎：27 留学の夢 素顔の野口英世（福島民友新聞社編）。2005; pp. 237-239, 歴史春秋出版 福島。
 4. 伊勢市：伊勢市史。第4巻（近代編）。第二章第三節（伊勢市編）。2012.6. 発行
 5. 小松山六郎：医聖 野口英世を育てた人々（福島民友新聞社編）。2008; pp. 137-141, 165-169, 歴史春秋出版 福島。
 6. 明治大正昭和新聞研究会（代表発行者 平野清介）：新聞集成大正編年史 大正六年度版 上 p. 791, 1979年9月25日刊行 東京。
 7. 唐澤信安：未発表データ
 8. 森山徳長, 石川達也, 長谷川正康：東京歯科医学院講義録第一輯の書誌学。日本歯科医史学会会誌 1987; 14: 97-101.

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。

—グラビアー—

腎血栓性微小血管症の病理像を認めステロイドが奏功した TAFRO 症候群の 1 例

宮本 大資¹ 酒井 行直¹ 岩部 真人²¹日本医科大学付属病院腎臓内科²日本医科大学大学院医学研究科内分泌代謝・腎臓内科学

A Case of TAFRO Syndrome with Renal Thrombotic Microangiopathy

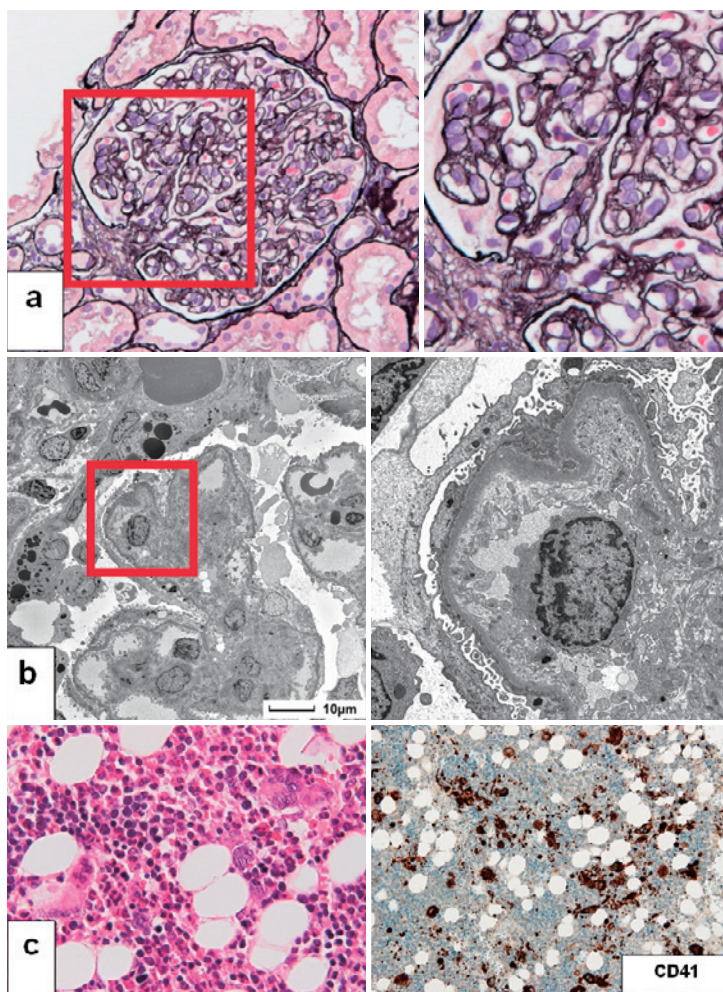
Daisuke Miyamoto¹, Yukinao Sakai¹ and Masato Iwabu²¹Department of Nephrology, Nippon Medical School Hospital²Department of Endocrinology, Metabolism and Nephrology, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School

図 1

症例は 29 歳男性。主訴は浮腫，呼吸苦であった。蛋白尿，胸水貯留を認め入院となった。抗生剤に反応しない炎症反応高値と発熱を認め，胸膜炎による胸水貯留，蛋白尿に加え，血小板減少，抗核抗体陽性から，特異的な自己抗

体や低補体を認めないものの全身性エリテマトーデス (SLE) に分類されると考えステロイド治療を開始した。ステロイド加療によって速やかに尿蛋白，胸水貯留，血小板減少は改善したため，腎生検を行ったところ，びまん性・

連絡先：宮本大資 〒113-8603 東京都文京区千駄木 1-1-5 日本医科大学付属病院腎臓内科

E-mail：dm-1010@nms.ac.jp

Journal Website (<http://www2.nms.ac.jp/jmanms/>)

全節性に糸球体係蹄の二重化, 内皮細胞の腫大, 毛細血管腔の狭小化を認め腎血栓性微血管症 (TMA) の所見であった (図 1a, b). 蛍光抗体法所見では免疫グロブリンや補体の有意な沈着を認めず, 電顕でも沈着物は認めなかった. これより SLE による免疫複合体が関与する病態は否定的で, 最終的に胸水貯留, 血小板減少, 炎症反応陽性, 骨髄巨核球増多 (図 1c), リンパ節腫大から, TAFRO 症候群の診断基準を満たした¹. TAFRO 症候群は比較的重篤な症状を呈し治療抵抗性とされるが, 本症例はステロイド治療で速やかな改善を認めた. TAFRO 症候群は新しい疾患概念であり, 報告例も限られている. 血小板減少を呈するため, 腎障害があっても, 腎生検を施行された報告は少なく, これまでの報告では, 内皮細胞障害 (腎 TMA)・MPGN like lesion を呈している症例が多く^{2,5}, 本症例も既報と類似した病理所見を認めた. 本症例では SLE の分類基準と TAFRO 症候群の診断基準を同時に満たすが, 腎病理所見からは TAFRO 症候群を呈していたものと考えられた.

図 1 (a) 光学顕微鏡像 (400 倍, PAM 染色): 糸球体基底膜の二重化を認め, 内皮細胞障害を呈している. (b) 電子顕微鏡像: 糸球体内皮細胞の腫大と係蹄の二重化を認め, 内皮細胞障害を呈している. (c) 骨髄所見: CD41 陽性細胞である巨核球の増加を呈している.

Conflict of Interest: 開示すべき利益相反はなし.

文 献

1. Masaki Y, Kawabata H, Takai K, et al: Proposed

diagnostic criteria, disease severity classification and treatment strategy for TAFRO syndrome, 2015 version. *Int J Hematol* 2016; 103: 686–692.

2. Iwasaki T, Mizusaki K, Masumoto M, et al: TAFRO syndrome with renal biopsy successfully treated with steroids and cyclosporine: a case report. *BMC Nephrol* 2022; 23: 262.
3. Mizuno H, Sawa N, Watanabe S, et al: The Clinical and Histopathological Feature of Renal Manifestation of TAFRO Syndrome. *Kidney Int Rep* 2020; 5: 1172–1179.
4. Tanaka M, Tsujimoto H, Yamamoto K, Shimoda S, Oka K, Takeoka H: Clinicopathological features of progressive renal involvement in TAFRO syndrome: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96: e8216.
5. Uemura T, Matsui M, Kokubu M, Samejima KI, Tsuruya K: Renal histological continuum of TAFRO syndrome: A case report and literature review. *Clin Nephrol* 2022; 97: 121–128.

日本医科大学医学会雑誌は, 本論文に対して, クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した. ライセンス採用後も, すべての論文の著作権については, 日本医科大学医学会が保持するものとする. ライセンスが付与された論文については, 非営利目的で, 元の論文のクレジットを表示することを条件に, すべての者が, ダウンロード, 二次使用, 複製, 再印刷, 頒布を行うことができる.

わが国における胃癌に対する低侵襲手術の現況

櫻澤 信行

日本医科大学付属病院消化器外科教室

Current Status of Minimally Invasive Surgery for Gastric Cancer in Japan

Nobuyuki Sakurazawa

Department of Digestive Surgery, Nippon Medical School

Abstract

Gastric cancer used to be the leading cause of cancer mortality in Japan, but the rate has been decreasing in recent years due to declining numbers of *Helicobacter pylori* infections. However, even now, it is still a major cancer in this country, ranking third in both the number of cases (2019) and number of deaths (2020). Treatment in the preoperative stages has improved thanks to the increased accuracy of preoperative examinations such as endoscopy and computed tomography, with treatment decisions based on prognosis in consideration of the stage of the disease, and the degree of invasiveness the patient will be able to tolerate. Endoscopic resection is indicated for mucosal cancer without lymph node metastasis (stage IA), while anticancer agents are used for stage IV patients with peritoneal dissemination and other cases where radical resection is impossible. Otherwise, surgery is the main treatment. In the past, open surgery dominated, but in recent years, minimally invasive laparoscopic surgery that creates smaller wounds has become widespread. Recently, robotic surgery with such functions as camera shake prevention has been developed, and this enables even more precise surgery. With reference to our own research, this article outlines the historical evolution of gastric cancer surgery and the current status of minimally invasive surgery.

(日本医科大学医学会雑誌 2023; 19: 254-262)

Key words: gastric cancer, minimally invasive surgery, laparoscopic gastrectomy, robotic gastrectom

I. はじめに

胃癌はかつて日本人の癌死亡率の第1位であったがピロリ菌感染率の減少により近年減少している。しかし現在でも胃癌の罹患数は2019年に12万6,009人(男性8万6,905人, 女性3万9,103人)と多い。また

死亡数は2020年に4万2,319人で(男性2万7,771人, 女性1万4,548人), がんの部位別死亡数でもいまだ3位であり(男性2位, 女性5位), いまだに多くの患者を悩ます主要な癌である¹。

胃癌治療は根治性と治療の患者への侵襲を考慮して病期(ステージ)に応じてリンパ節転移の無い粘膜癌(ステージIA)には内視鏡的粘膜切除(Endoscopic

Correspondence to Nobuyuki Sakurazawa, Department of Digestive Surgery, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8603, Japan

E-mail: nsakuraz@nms.ac.jp

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

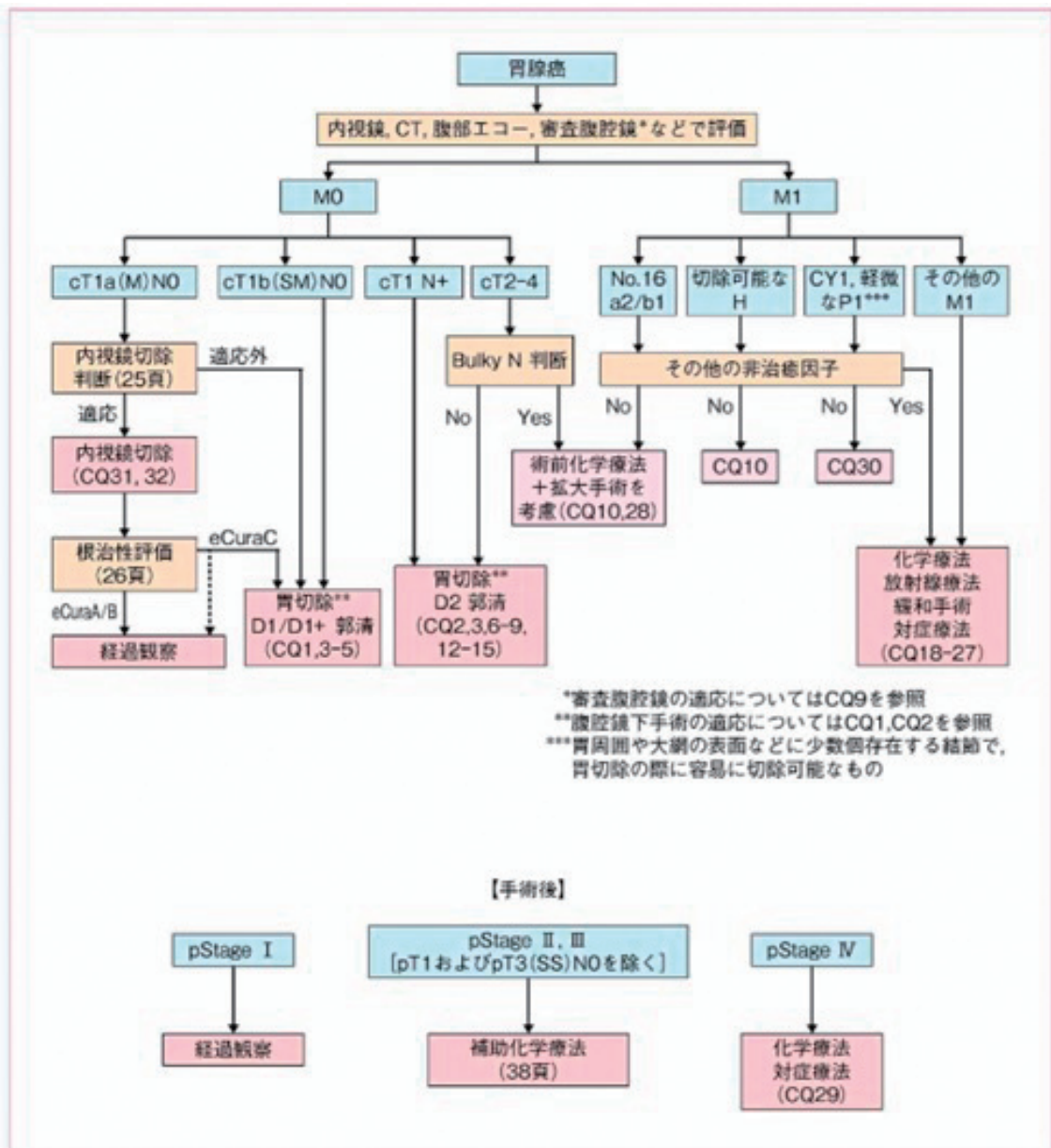


図1 臨床ステージ別の治療法選択のアルゴリズム（胃癌治療のガイドライン第6版の推奨される治療法選択のアルゴリズムの引用，図名改変）

Mucosal Resection：EMR）もしくは内視鏡的粘膜下層切開剝離術（Endoscopic Submucosal Dissection：ESD）が適応となり，腹膜播種などの根治切除が不可能なステージIVには抗癌剤などの薬物治療が行われる。それ以外は手術が治療の中心となっている。図1は2021年発刊の胃癌治療のガイドライン第6版の推奨される治療法選択のアルゴリズムの引用，改変である²。

手術はかつて開腹手術が主体であったが，近年創の小さい低侵襲な腹腔鏡手術が開発され，普及してきた。最近ではさらに精密な手技が可能なロボット支援手術が導入されてきている。本稿では胃癌における手

術の歴史的変遷と低侵襲手術の現況について私たちの研究も含めて概説する。

II. 胃癌手術の歴史的変遷

＜開腹手術から腹腔鏡手術へ＞

胃癌手術の歴史は1881年にビルロートが初めて胃癌手術を行ったのを始まりとし，その後，長らく開腹手術が一般的に行われてきた。しかし1985年にドイツのErich Müheによって腹腔鏡下で胆嚢摘出術が行われて以降，一般外科領域においても腹腔鏡手術が拡大していった³。1991年に北野らが世界で初めて腹腔

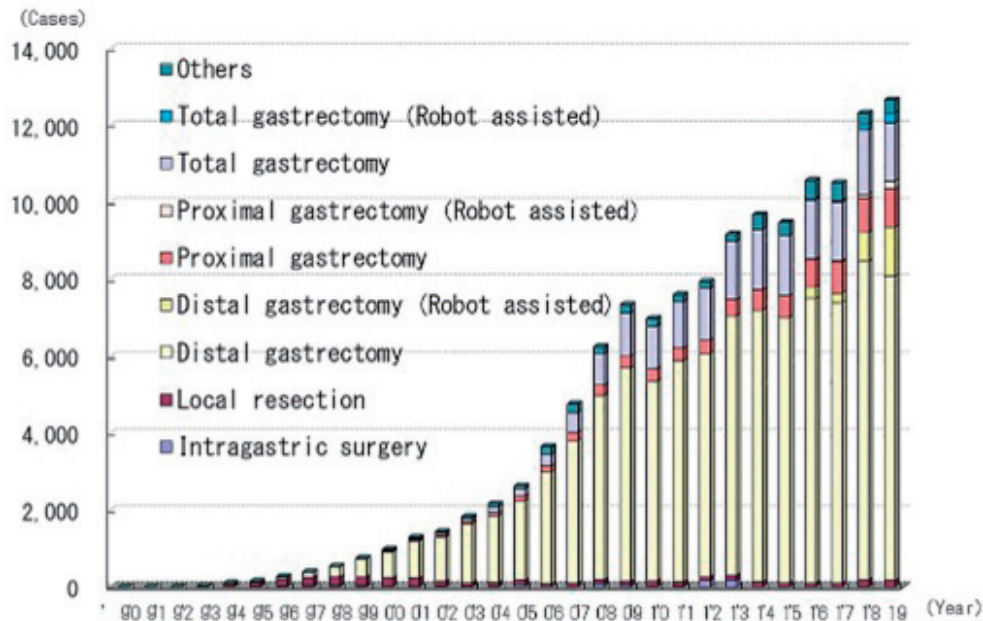


図2 わが国における年度別胃癌に対する腹腔鏡手術の件数 文献5から引用，改変。

鏡補助下幽門側胃切除術を行った以後，胃癌においても腹腔鏡手術が広く行われるようになった⁴。

内視鏡外科学会の第15回アンケート調査では全国584施設からの回答があり，2019年度では1万2千件を超える胃癌の腹腔鏡手術が施行されている⁵(図2)。

開腹手術に対する腹腔鏡の優位性を示すために臨床試験が行われてきた。胃癌手術では幽門側胃切除が胃全摘術と噴門側胃切除に対して平易であることからまず幽門側胃切除に関して比較試験が行われ⁶⁻¹⁵，その後胃全摘術と噴門側胃切除が行われた¹⁶⁻¹⁸。

III. 胃癌に対する腹腔鏡手術

1. 腹腔鏡手術の開腹手術に対する優位性(早期癌) <幽門側胃切除に関して>

Japanese Clinical Oncology GroupによるJCOG 0912が行われた¹⁴。これは臨床病期I期の胃癌に対する腹腔鏡下幽門側胃切除術(LADG)の開腹幽門側胃切除(ODG)に対する非劣性を検証するランダム化第III相比較試験である。対象はEMR/ESDの対象とならない臨床病期Stage IA/IB(T1N0, T1N1, T2(MP)N0:)の患者で，主要評価項目を無再発生存期間としてODGに対するLADGの非劣性を検証した。2010年3月から2013年11月までに33施設から921名をランダムに割り付けしODG群459名とLADG群462名の2群に分けた。5年無再発生存率はODG群94.0%(95%信頼区間:91.4~95.9%)，LADG

群95.1%(95%信頼区間:92.7~96.8%)であり，無再発生存期間におけるODGに対するLADGの非劣性が証明された(ハザード比0.84, 90%信頼区間:0.56~1.27, P=0.0075)。両群とも治療関連死は認められず，術後合併症は腸閉塞が最も多く，ODG群に11/455名(2%)，LADG群に5/457名(1%)に発症した。これにより臨床病期I期の胃癌において，ODGに対するLADGの非劣性が証明された。

一方，韓国では，Korean laparoscopic gastrointestinal surgical societyによるKLASS 01が行われた¹⁵。臨床病期I期の胃癌に対するLADGのODGに対する非劣性を検証するランダム化比較試験である。対象はEMR/ESDの対象とならない臨床病期Stage IA/IB(T1N0, T1N1, T2(MP)N0:)の患者で，主要評価項目を5年生存率(OS)として，ODGに対するLADGの非劣性を検証した。2006年1月から2010年8月までに13施設から1,416名をランダムに割り付けしODG群711名とLADG群705名の2群に分けた。最終的にODG群686名とLADG群673名にてintention-to-treat(ITT)解析が行われ，またODG群611名とLADG群644名にてper-protocol解析が行われた。5年生存率はODG群93.3%(95%信頼区間91.4~95.2%)，LDG群94.2%(95%信頼区間92.4~96.0%)と有意な差は認められなかった(P=0.64)。2群の5年OS率の差は0.9%で，片側検定97.5%の下限の差が-1.6%であり，事前に設定された-5%よりも大きいことから，非劣性は証明され

た。これにより臨床病期 I 期の胃癌において、ODG に対する LADG の腫瘍学的な安全性が証明された。

<胃全摘術と噴門側胃切除に関して>

Japanese Clinical Oncology Group による JCOG 1401 が行われた¹⁸。これは臨床病期 I 期の胃癌に対するリンパ節郭清を伴う腹腔鏡下胃全摘術 (LATG) および腹腔鏡下噴門側胃切除術 (LAPG) の安全性を検証する非ランダム化単アーム検証的試験である。対象は EMR/ESD の対象とならない臨床病期 IA/IB (T1N0, T1N1, T2N0) の胃上部癌患者で、主要評価項目は CTCAE v4.0 の Grade 2~4 の縫合不全発生割合で、期待値 3%、閾値 8%、有意水準は片側 $\alpha=0.025$ 、検出力 0.90 と設定し 245 名を登録予定症例数とした。2015 年 4 月から 2017 年 2 月までに 35 施設から 244 名が登録された (LATG が施行された患者は 195 名、LAPG は 49 名であった)。手術時間中央値は 309 分 (IQR: 265~353 分)、出血量中央値は 30 mL (IQR: 10~86 mL) であった。Grade 2~4 の食道空腸吻合部の縫合不全発生割合は 2.5% (6/244; 95% 信頼区間: 0.9~5.3%) であり、95% 信頼区間の上限が閾値の 8% を下回り LATG/LAPG の安全性が証明された (片側 $p=0.0002$)。

<腹腔鏡手術のガイドラインへの記載>

以上の臨床試験結果などから 2014 年に胃癌治療ガイドライン第 4 版において、「幽門側胃切除が適応となる臨床病期 I の症例で日常診療の選択肢となりうる」と記載されるようになったのをはじめに 2021 年の胃癌治療ガイドライン第 6 版では EMR/ESD の対象とならない臨床病期 I の胃癌患者に対する LADG, LATG, LAPG を標準治療の一つとして推奨するに至った²。

2. 腹腔鏡手術の開腹手術に対する優位性 (進行癌)

早期胃癌に続いて進行胃癌に対しても胃癌手術では幽門側胃切除が胃全摘術と噴門側胃切除に対して平易であることからまず幽門側胃切除に関して比較試験が行われ¹⁹⁻²⁷、その後には胃全摘術と噴門側胃切除が行われた²⁸⁻³⁰。

<幽門側胃切除に関して>

JLSSG0901 試験は、腹腔鏡下胃切除術研究会 (JLSSG) が、進行胃癌に対して D2 リンパ節郭清を伴う手術を行う場合の LADG と ODG の安全性と根治性を比較するために実施した無作為化フェーズ 2/3 試験である²⁵。主要評価項目は、フェーズ 2 部分では縫合不全と瘰液漏の発生割合、フェーズ 3 部分では 5 年無再発生存 (RFS) であった。試験には 37 施設か

ら 507 人が登録され、ODG または LADG に無作為に割り付けられた。試験の結果、主要評価項目である 5 年 RFS 率のハザード比は 0.9556 (90% 信頼区間: 0.7226~1.2637) で、非劣性の片側 $p=0.0317$ 、ハザード比の許容限界値である 1.31 を下回り非劣性が証明された。また全生存期間 (OS) についても同等の結果が得られた。この結果、LADG が局所進行胃癌の標準治療となりうる事が明らかとなった。

KLASS-02 試験は進行胃癌に対する大規模な第 III 相試験 (KLASS-02 試験) の長期成績について、LADG の ODG に対する非劣性試験である²⁴。主要評価項目は、D2 リンパ節郭清を伴う LADG の ODG に対する非劣性を 3 年無再発生存の観点から比較した。2011 年 11 月から 2015 年 4 月までに、合計 1,050 例の患者が、LADG (524 例) または ODG (526 例) に割り付けられた。最終的に 492 例が LADG を受け、482 例が ODG を受けた。主要エンドポイントは 3 年無再発生存率であり、非劣性のハザード比 (HR) の上限を 1.43 とした。LADG 群は、開腹手術群と比較して、早期の合併症 (15.7% vs. 23.4%, $P<0.0027$)、後期の合併症 (4.7% vs. 9.5%, $P<0.0038$)、特に腸閉塞 (2.0% vs. 4.4%, $P<0.0447$) が有意に低頻度であった。3 年間の無再発生存率は、LADG 群で 80.3% (95% CI 76.0~85.0%) であり、ODG 群の 81.3% (同 77.0~85.0%) と有意差がなかった (log-rank $P=0.726$)。局所進行胃癌症例に対する D2 リンパ節郭清を伴う LADG は、無再発生存期間の観点で ODG に匹敵することから局所進行胃癌に対する標準的な治療選択肢となりうる事が明らかとなった。

中国の Chinese Laparoscopic Gastric Surgery Study (CLASS) group による CLASS-01 は進行胃癌に対する LADG の ODG に対する非劣性を検証するランダム化比較試験である²⁶。対象は cT2-4a N0-3M0, D2 郭清を伴う幽門側胃切除術による治療切除可能な患者で、主要評価項目は 3 年間の無病生存 (DFS) とし、open distal gastrectomy (ODG) 群の 3 年 DFS を 72.2% と仮定し、10% の非劣性マージンを設定し、 $\alpha=0.025$ 、検出力 90% で必要症例は各群 422 例であり、脱落率 20% を考慮し登録予定症例数を各群 528 例とした。2012 年 9 月~2014 年 12 月に 1,056 例が登録され、ODG 群 528 例、LADG 群 528 例に割り付けられた。主要評価項目の 3 年 DFS は、OG 群で 77.8%、LG 群で 76.5% であり、97.5% 信頼区間の下限値 6.5% が設定した非劣性マージンである 10% を下回っていたため非劣性が証明された。これにより進行胃癌において LADG の ODG に対する非劣性が証

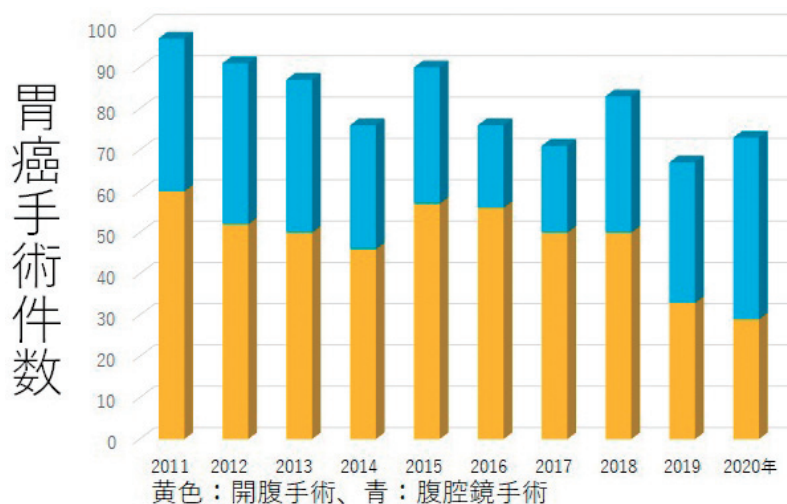


図3 日本医科大学付属病院における胃癌の手術件数



図4 日本医科大学付属病院における胃癌手術における腹腔鏡手術の割合

明された。

＜胃全摘術と噴門側胃切除に関して＞

進行胃癌に対するLTGは、いくつかの報告はあるが²⁸⁻³⁰、RCTとしては2018年に始まったKLASS-06試験において開腹手術と比較しており、今後の結果が待たれる。

3. 当教室における腹腔鏡手術

当教室においては、2001年から日本医科大学付属病院消化器外科で胃癌に対する腹腔鏡手術が始められた。その後、年々腹腔鏡手術の割合が増加している³¹。

4. 当教室での腹腔鏡手術における新しい処置具の開発

内視鏡外科手術は機器や処置具の開発により大きく発展してきた。

当教室で開発された内視鏡外科手術の処置具を紹介

する。

＜内視鏡外科手術用の先端吸引鉗子＞

内視鏡外科手術は創が小さく、術後の回復も早い低侵襲手術として普及しているが、処置具の出し入れは、その小さい創に装着したポート経由のみと制限がある。出血した際には、通常の鉗子と吸引管を入れ替えて処置を行うが、手技が煩雑で時間もかかることがあった。われわれは、この問題を解決するために通常の鉗子機能に吸引機能を付加した処置具である先端吸引鉗子を平田精機と共同開発した。その機構は鉗子の把持部分の支点部分の両脇を血液が通過する独自の構造にあり(特許登録番号 6472571, 6564989)。その後、ホープ電子株式会社より Dolphin 先端吸引鉗子として販売されている³²。腹腔鏡手術において通常の鉗子等と吸引管をポートから入れ替える従来の方法では出血してから吸引を開始するまでの時間をわれわれは計測し、平均時間が12.5秒であるのに対して、この先端

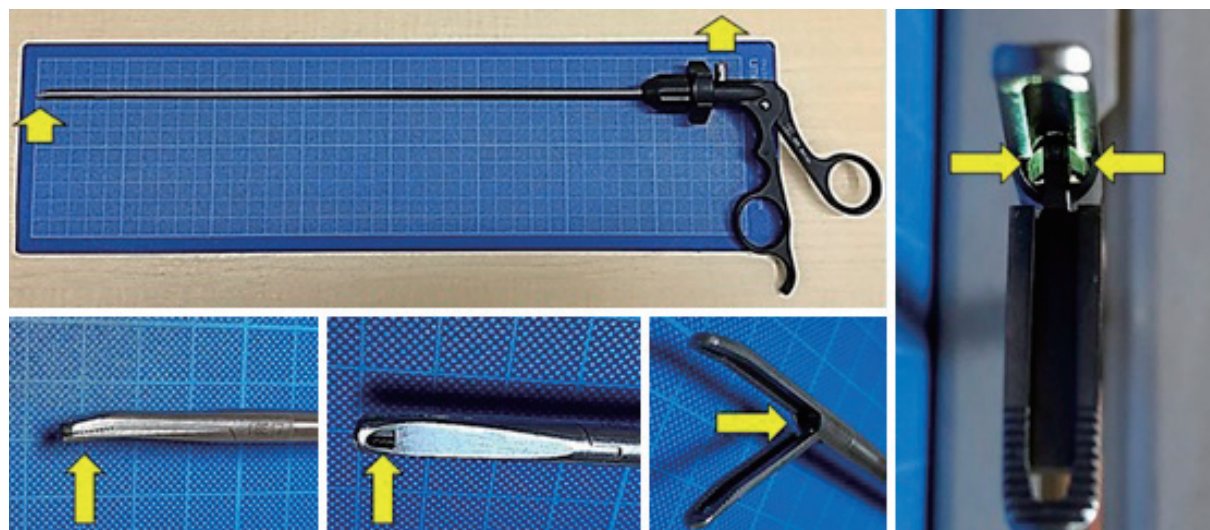


図5 先端吸引鉗子 (Dolphin 先端吸引鉗子) の実際の画像 文献32より引用, 改変.

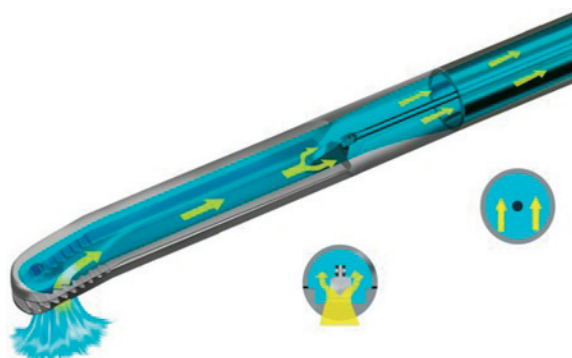


図6 先端吸引鉗子の透視図 文献32より引用, 改変.

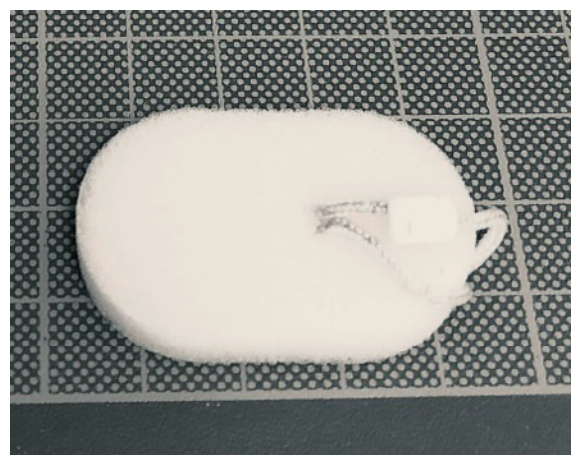


図7 内視鏡外科手術用スポンジ (セクレア)

吸引鉗子は吸引管に入れ替える必要が無いため, 出血してから吸引を開始するまでの時間は2.01秒と従来法に比べて10秒以上短縮することができた³².

＜内視鏡外科手術用のスポンジ＞

また腹腔鏡などの内視鏡外科手術での臓器の保護や圧排, 液体の吸収, スペースとしての機能を有し, 安全で簡便に使用できるポリウレタンを素材としたスポンジを当教室において, 中村らは, HOGY株式会社と共同開発し, 広く普及している³³.

IV. 胃癌におけるロボット支援手術

1. ロボット支援手術の開発の経緯

ロボット支援手術の歴史は, 遠隔操作で戦場の負傷者に対して遠隔手術を行うことが目的として開発され, 1997年に臨床応用が始まった³⁴.

2. ロボット支援下手術ダビンチの特徴

米 国 Intuitive Surgical 社 の daVinci[®]Surgical System はロボット支援下手術を初めて実用化したシステムであり, 現在でも世界一のシェアを占めている. その特徴は高解像度3Dハイビジョンシステムにより, 従来の内視鏡外科手術と比較し, 術者は立体的な映像を見ながら手術操作を直感的に行うことができる. また daVinci[®]Surgical System の「多関節鉗子」は, 人間の手関節以上の可動域があり, また, 手元の震えが鉗子に伝わらない手ぶれ防止機能等があり, 極めて精緻な手技を行うことができる³⁵.

3. 胃癌のロボット支援手術の導入

胃癌に対するロボット支援胃切除術は橋爪らが2002年に初めて報告した³⁶. それ以降多くの施設で導入されてきた.

4. 胃癌手術におけるロボット支援手術の優位性

ロボット支援下腹腔鏡胃切除術の安全性・有効性を検証するため、これまでに複数の前向き臨床試験が行われてきた³⁷⁻⁴¹。ステージIの胃癌に対する単施設第II相臨床試験では、主要評価項目をClavien-Dindo分類(CD) Grade II以上の腹腔内感染性合併症発生割合とし、期待値4%、閾値12%、片側信頼区間5%として



図8 ダビンチサージカルシステム Intuitive 社より許諾

120例を集積して行われた。合併症発生割合は4例(3.3%)であり、ロボット支援下腹腔鏡胃切除術の安全性が示された^{37,38}。先進医療Bとして施行された多施設共同第II相臨床試験では、ステージIIまでの胃癌患者を対象とし、主要評価項目をCD Grade III以上の全合併症発生率として、腹腔鏡下胃切除(ヒストリカル・コントロール)における発生率6.4%を3.2%以下に減少させる仮説が検証された。その結果330例が集積され、全合併症発生率は2.45%であり、本試験においてロボット支援下胃切除術は腹腔鏡下胃切除術に比べ重篤な合併症を減少させる可能性があることを示した³⁹。また長期予後に関しても従来の鏡視下手術と比べて5年生存率に差はなく、腫瘍学的な安全性も報告されている⁴⁰。更にロボット支援下胃切除術は、腹腔鏡下胃切除術に比べて有意に術後の入院期間を短縮した(12.0±5.6 vs. 13.0±12.3 days; P=0.038)ことも報告されている⁴¹。

5. 当教室におけるロボット支援下胃切除術の導入

当教室においても日本医科大学千葉北総病院にてロ

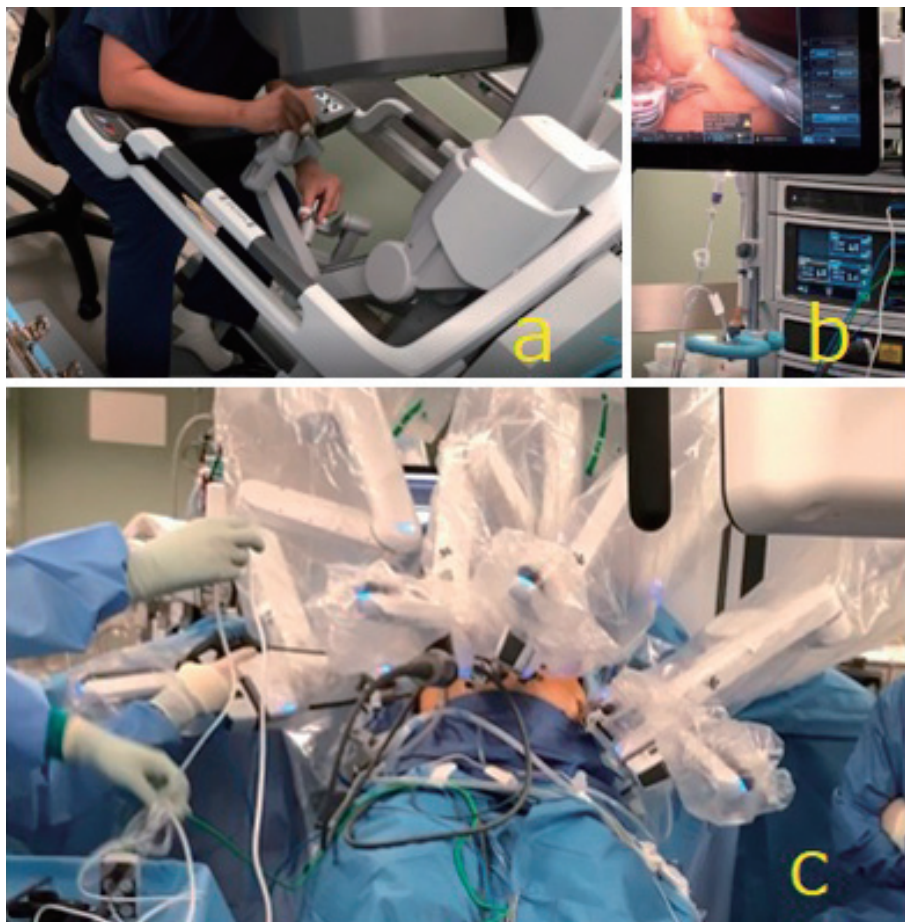


図9 日本医大千葉北総病院における胃癌に対するロボット支援下手術の様子 (a: サージャンコンソール b: ビジョンカート c: パーシェントカート)

ロボット支援下胃切除術が導入され、順調に症例を重ねている。

V. おわりに

わが国における胃癌に対する低侵襲手術の現況について概説した。

胃癌は今でもわが国において主要な癌である。手術は主たる治療法であり、より精密な術前診断と腹腔鏡手術やロボット支援下手術によるさらなる低侵襲化が今後の外科治療のメインテーマとなっている。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反なし。

文 献

1. がん情報サービス ホームページ. https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/summary.html
2. 胃癌治療ガイドライン 2021 年版. 日本胃癌学会 胃癌治療ガイドライン改訂委員会編. 2021; 金原出版 東京.
3. Mühe E: Die erste Ckolezystektomie durch das Laparoskop. *Langenb Arch Klin Chir* 1986; 369: 804.
4. Kitano S, Iso Y, Moriyama M, Sugimachi K: Laparoscopy-assisted Billroth I gastrectomy. *Surg Laparosc Endosc* 1994; 4: 146-148.
5. Shiroshita H, Inomata M, Akira S, et al: Current Status of Endoscopic Surgery in Japan: The 15th National Survey of Endoscopic Surgery by the Japan Society for Endoscopic Surgery First published: 26 December 2021.
6. Kitano S, Shiraishi N, Fujii K, et al: A randomized controlled trial comparing open vs laparoscopy-assisted distal gastrectomy for the treatment of early gastric cancer: an interim report. *Surgery* 2002; 131 (1 suppl): S306-S311.
7. Hayashi H, Ochiai T, Shimada H, et al: Prospective randomized study of open versus laparoscopy-assisted distal gastrectomy with extraperigastric lymph node dissection for early gastric cancer. *Surg Endosc* 2005; 19: 1172e1176.
8. Huscher CG, Mingoli A, Sgarzini G, et al: Laparoscopic versus open subtotal gastrectomy for distal gastric cancer: five-year results of a randomized prospective trial. *Ann Surg* 2005; 241: 232e237.
9. Lee JH, Han HS, Lee JH: A prospective randomized study comparing open vs laparoscopy-assisted distal gastrectomy in early gastric cancer: early results. *Surg Endosc* 2005; 19: 168e173.
10. Sakuramoto S, Yamashita K, Kikuchi S, et al: Laparoscopy versus open distal gastrectomy by expert surgeons for early gastric cancer in Japanese patients: short-term clinical outcomes of a randomized clinical trial. *Surg Endosc* 2013; 27: 1695e1705.
11. M-S Lee, J-H Lee, DJ Park, et al: Comparison of short- and long-term outcomes of laparoscopic-assisted total gastrectomy and open total gastrectomy in gastric cancer patients. *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques* 2013; 27: 2598-2605.
12. Takiguchi S, Fujiwara Y, Yamasaki M, et al: Laparoscopy-assisted distal gastrectomy versus open distal gastrectomy: a prospective randomized singleblind study. *World J Surg* 2013; 37: 2379e2386.
13. Yamashita K, Sakuramoto S, Kikuchi S, et al: Laparoscopic versus open distal gastrectomy for early gastric cancer in Japan: long-term clinical outcomes of a randomized clinical trial. *Surg Today* 2016; 46: 741e749.
14. Katai H, Mizusawa J, Katayama H, et al: Short-term surgical outcomes from a phase III study of laparoscopy-assisted versus open distal gastrectomy with nodal dissection for clinical stage IA/IB gastric cancer: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG 0912. *Gastric Cancer* 2017; 20: 699e708.
15. Kim HH, Han SU, Kim MC, et al: Effect of laparoscopic distal gastrectomy vs open distal gastrectomy on long-term survival among patients with Stage I gastric cancer: The KLASS-01 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol* 2019; 5: 506-513.
16. MG Kim, BS Kim, TH Kim, et al: The effects of laparoscopy assisted total gastrectomy on surgical outcomes in the treatment of gastric cancer. *Journal of the Korean Surgical Society* 2011; 80: 245-250.
17. JH Lee, B-H Nam, KW Ryu, et al: Comparison of outcomes after laparoscopy-assisted and open total gastrectomy for early gastric cancer. *British Journal of Surgery* 2015; 102: 1500-1505.
18. Katai H, Mizusawa J, Katayama H, et al: Single-arm confirmatory trial of laparoscopy-assisted total or proximal gastrectomy with nodal dissection for clinical stage I gastric cancer. *Japan Clinical Oncology Group study JCOG1401 Gastric Cancer* 2019 Sep; 22: 999-1008. doi: 10.1007/s10120-019-00929-9. Epub 2019 Feb 20.
19. Hu Y, Huang C, Sun Y, et al: Morbidity and mortality of laparoscopic versus open D2 distal gastrectomy for advanced gastric cancer: a randomized controlled trial. *J Clin Oncol* 2016; 34: 1350e1357.
20. Park YK, Yoon HM, Kim YW, et al: COACT group: Laparoscopy-assisted versus open D2 distal gastrectomy for advanced gastric cancer: results from a randomized phase II multicenter clinical trial (COACT 1001). *Ann Surg* 2018; 267: 638e645.
21. Shi Y, Xu X, Zhao Y, et al: Short-term surgical outcomes of a randomized controlled trial comparing laparoscopic versus open gastrectomy with D2 lymph node dissection for advanced gastric cancer. *Surg Endosc* 2018; 32: 2427e2433.
22. Shi Y, Xu X, Zhao Y, et al: Long-term oncologic outcomes of a randomized controlled trial comparing laparoscopic versus open gastrectomy with D2 lymph node dissection for advanced gastric cancer. *Surgery* 2019; 165: 1211e1216.
23. Wang Z, Xing J, Cai J, et al: Short-term surgical outcomes of laparoscopy assisted versus open D2 distal gastrectomy for locally advanced gastric cancer in North China: a multicenter randomized controlled trial. *Surg Endosc* 2019; 33: 33e45.
24. Hyung WJ, Yang HK, Park YK, et al: Long-Term Outcomes of Laparoscopic Distal Gastrectomy for

- Locally Advanced Gastric Cancer: The KLASS-02-RCT Randomized Clinical Trial. *J Clin Oncol* 2020 Oct 1; 38: 3304-3313. doi: 10.1200/JCO.20.01210. Epub 2020 Aug 20.
25. 衛藤 剛, 櫻本信一, 辻 敏克ほか: 新しい胃癌取り扱い規約: 新しい規約策定に向けた取り組み 進行胃癌に対する腹腔鏡下幽門側胃切除術の安全性と根治性に関する RCT (JLSSG0901) 主解析結果報告: 日本胃癌学会総会記事 94 回 Page 149 (2022.03).
 26. Huang C, Liu H, Hu Y, et al: Laparoscopic vs Open Distal Gastrectomy for Locally Advanced Gastric Cancer: Five-Year Outcomes From the CLASS-01 Randomized Clinical Trial. *JAMA Surg* 2022 Jan 1; 157: 9-17. doi: 10.1001/jamasurg.2021.5104
 27. Lee HJ, Hyung WJ, Yang HK, et al: Korean Laparoscopic Gastrointestinal Surgery Study (KLASS) Group. Short-term outcomes of a multicenter randomized controlled trial comparing laparoscopic distal gastrectomy with D2 lymphadenectomy to open distal gastrectomy for locally advanced gastric cancer (KLASS-02-RCT). *Ann Surg* 2019; 270: 983e991.
 28. Veen vd A, Brenkman HJF, Seesing MFJ, et al: Laparoscopic versus open gastrectomy for gastric cancer (LOGICA): a multicenter randomized clinical trial. *J Clin Oncol* 2021; 39: 978e989.
 29. T Bo, Y Peiwu, Q Feng, et al: Laparoscopy-assisted vs. open total gastrectomy for advanced gastric cancer: long-term outcomes and technical aspects of a case-control study. *Journal of Gastrointestinal Surgery* 2013; 17: 1202-1208.
 30. L Hong, Y Han, Y Jin, H Zhang, et al: The short-term outcome in esophagogastric junctional adenocarcinoma patients receiving total gastrectomy: laparoscopic versus open gastrectomy — a retrospective cohort study. *International Journal of Surgery* 2013; 11: 957-961.
 31. Teruo Kiyama I, Takashi Mizutani, Takeshi Okuda, et al: Laparoscopic surgery for gastric cancer: 5 years' experience. *J Nippon Med Sch* 2006 Aug; 73: 214-220. doi: 10.1272/jnms.73.214
 32. Nobuyuki Sakurazawa, Jun-Ichiro Harada, Fumihiko Ando, et al: Evaluation of the safety and efficacy of suction-tip forceps, a new tool for laparoscopic surgery, for gastric cancer. *Asian J Endosc Surg* 2021 Apr; 14: 232-240. doi: 10.1111/ases.12858. Epub 2020 Sep 10.
 33. 中村慶春: 手術器具・手術材料 私のこだわり 内視鏡外科手術用スポンジ (セクレア) / 多関節機能付き内視鏡外科手術用の持針器 (ARTISENTIAL ニードルホルダー). *臨床外科* 2022; 77: 463-465.
 34. 石田善敬, 宇山一朗, 金谷誠一郎: 【近未来の新たな手術 ロボット手術と NOTES】胃癌に対するロボット手術. *外科治療* (0433-2644) 2009; 101: 15-19.
 35. インテュイティブジャパン ダビンチロボット支援手術システム. <https://www.intuitive.com/ja-jp/>
 36. M Hashizume, M Shimada, M Tomikawa, et al: Early experiences of endoscopic procedures in general surgery assisted by a computer-enhanced surgical system. *Surg Endosc* 2002; 16: 1187-1191.
 37. Tokunaga M, Makuuchi R, Miki Y, et al: Late phase II study of robot-assisted gastrectomy with nodal dissection for clinical stage I gastric cancer. *Surg Endosc* 2016; 30: 3362-3367.
 38. Tokunaga M, Sugisawa N, Kondo J, et al: Early phase II study of robot-assisted distal gastrectomy with nodal dissection for clinical stage IA gastric cancer. *Gastric Cancer* 2014; 17: 542-547.
 39. Uyama I, Suda K, Nakauchi M, et al: Clinical advantages of robotic gastrectomy for clinical stage I/II gastric cancer: a multi-institutional prospective single-arm study. *Gastric Cancer* 2019; 22: 377-385.
 40. Obama K, Kim YM, Kang DR, et al: Long-term oncologic out of robotic gastrectomy for gastric cancer compared with laparoscopic gastrectomy. *Gastric Cancer* 2018; 21: 285-295.
 41. Isobe T, Murakami N, Minami T, et al: Robotic versus laparoscopic distal gastrectomy in patients with gastric cancer: a propensity score-matched analysis. *BMC Surg* 2021 Apr 21; 21: 203.

(受付: 2022年8月12日)

(受理: 2022年11月14日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的の場合、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。

—症例報告—

PET パラメトリックイメージングが診断の一助となった副腎の
chronic expanding hematoma の 1 例林 暢彦¹ 桐山 智成¹ 小林 理佳¹ 中込 哲平¹
楊 菜洋¹ 汲田伸一郎¹ 木村 剛² 近藤 幸尋²¹日本医科大学付属病院放射線科²日本医科大学付属病院泌尿器科A Case of Chronic Expanding Hematoma of the Adrenal Gland with Positron Emission Tomography
Parametric ImagingNobuhiko Hayashi¹, Tomonari Kiriyama¹, Rika Kobayashi¹, Teppei Nakagomi¹,
Nahiro Yan¹, Shin-ichiro Kumita¹, Go Kimura² and Yukihiro Kondo²¹Department of Radiology, Nippon Medical School Hospital²Department of Urology, Nippon Medical School Hospital

Abstract

Chronic expanding hematomas (CEH) are hematomas that continue to expand at least one month after onset. CEH often occur in the thoracic cavity or in the extremities secondary to trauma, surgery, anticoagulation therapy, or bleeding disorders. Few studies have reported CEH in retroperitoneal organs such as the adrenal glands and lesions without an apparent etiology. An 80-year-old woman was referred to our hospital for evaluation of a retroperitoneal tumor that was incidentally detected on ultrasonography. Computed tomography and magnetic resonance imaging showed a large left retroperitoneal mass (14 cm in diameter) with gradual peripheral enhancement and a suspected hemorrhagic component within the lesion. Parametric imaging using positron emission tomography (PET) showed mild accumulation of the tracer at the margins of the mass on the conventional standard uptake value images, relatively low accumulation on the slope images, and slightly higher accumulation on intercept images. Postoperative histopathological examination of the resected specimen revealed a mass that was encapsulated with fibrous tissue and primarily consisted of organized clots without evidence of tumor cells; the mass was diagnosed as an idiopathic CEH of the adrenal glands. The margins of the mass showed few inflammatory cell infiltrates consistent with the findings of parametric imaging, which appeared to accurately reflect the dynamics of fluorodeoxyglucose (FDG) in the body. PET parametric imaging can separately assess the metabolism and distribution of FDG in vivo and may be useful to determine the etiology and diagnosis of CEH.

(日本医科大学医学会雑誌 2023; 19: 263–268)

Key words: chronic expanding hematoma, parametric imaging, adrenal hemorrhage, adrenal tumor, positron emission tomography

Correspondence to Teppei Nakagomi, Department of Radiology, Nippon Medical School Hospital, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8603, Japan

E-mail: n-teppe@nms.ac.jp

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

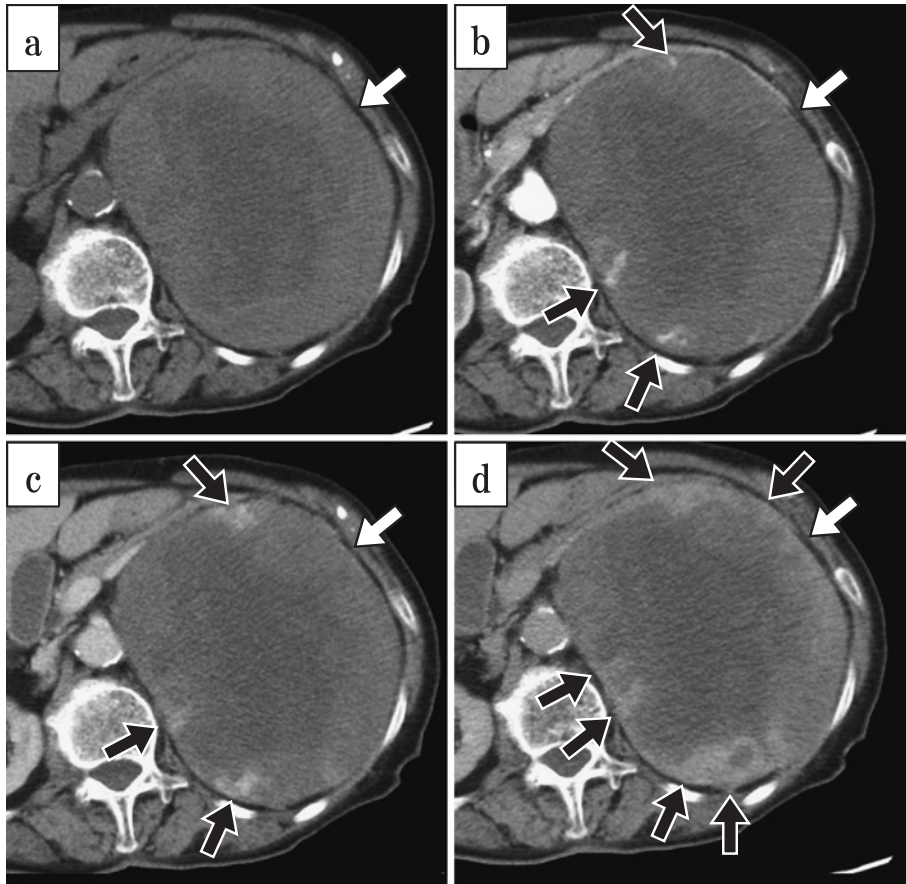


図1 造影CT：(a) 単純, (b) 早期相, (c) 門脈相, (d) 平衡相
左後腹膜腔内に辺縁平滑で境界明瞭な14 cm大の腫瘤を認めた(白矢印). 腫瘤中心部に造影効果はなかったが, 辺縁には早期相より造影効果を認め, 門脈相・平衡相にかけて遷延し増大した(黒矢印). リンパ節転移や遠隔転移を認めなかった.

緒言

Chronic expanding hematoma (CEH) は1カ月以上の経過で緩徐に増大する血腫と定義され, 全身のどの部位にも発生する. 外傷などの契機が不明の場合, 腫瘍との鑑別が問題になる. 今回副腎腫瘍が疑われ, 術後病理で特発性CEHと診断された症例において, PETパラメトリックイメージングを用いて評価した症例を経験した. パラメトリックイメージングがCEHの発症機序の解明や鑑別の一助となる可能性が示唆され, 若干の文献的考察を加えて報告する.

症例

患者：80歳代女性

主訴：貧血, 左背部痛

既往歴：高血圧, 脂質異常症, 左肺部分切除術後(原

疾患不明)

現病歴：近医で貧血(Hb 8.8 g/dL)の精査として施行された上部消化管内視鏡で胃後壁の壁外圧迫を疑う所見を認めた. 腹部超音波検査では, 左腎近傍に巨大腫瘍を認めたが, 由来臓器は不明であった. 当院消化器内科を受診し, 造影CTで左副腎腫瘍が疑われ, 泌尿器科に転科となった.

検査所見：血液生化学検査ではHb 8.4 g/dLと貧血を認めた. 腫瘍マーカー(CEA, CA19-9)は正常範囲内だった. また, ノルアドレナリンは606 pg/mLと軽度高値だったが, そのほかの内分泌学的検査(コルチゾール, ACTH, レニン活性, アルドステロン, アドレナリン, ドーパミン)はすべて正常範囲内だった.

画像所見：腹部CTでは, 左後腹膜に辺縁平滑, 境界明瞭な14 cm大の腫瘍を認め, 左副腎は分離できなかった. 造影CTでは腫瘍の辺縁部に早期相から平衡相に緩徐に広がる造影効果を認めた(図1). MRI

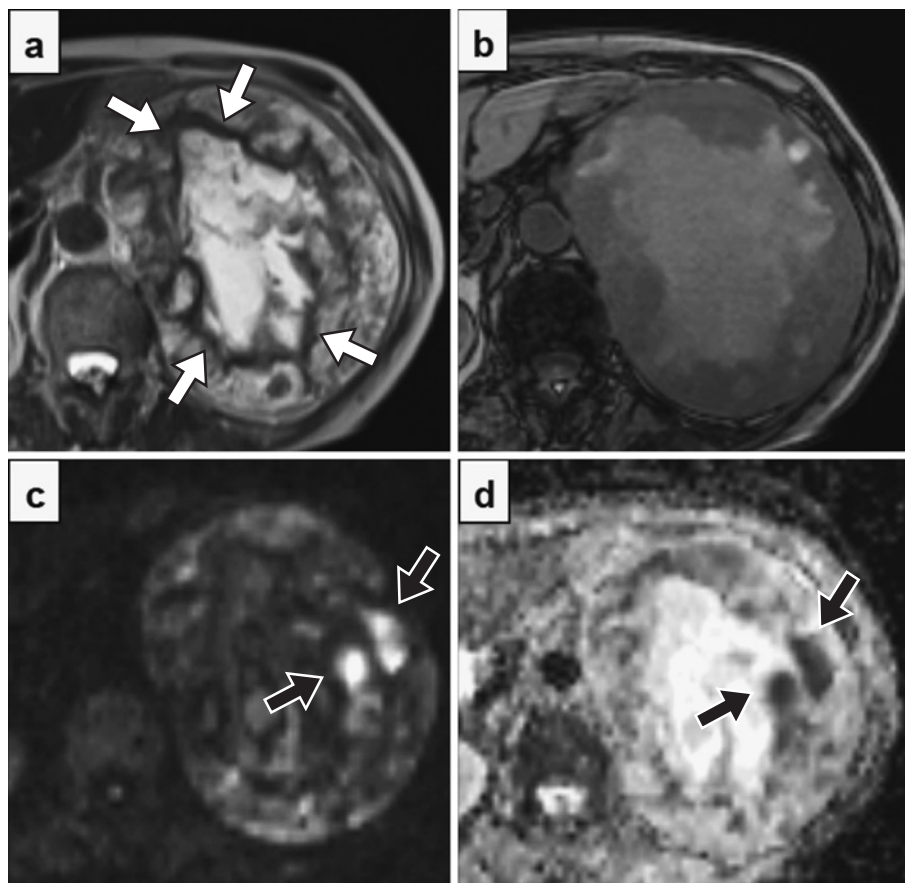


図2 単純MRI：(a) T2強調像, (b) T1強調像 (opposed), (c) DWI, (d) ADC map
 腫瘍は大きく2層の構造に分かれ, T2強調像では辺縁部は不均一な高信号を示し, 中心部は強い高信号を示した. この構造の境目には帯状の強い低信号を認めた (白矢印). T1強調像 (opposed) では信号低下はなく, 腫瘍内に脂肪成分が含まれないことが示された. DWIではモザイク状の高・低信号域が混在していた. DWIでの高信号域に一致してADC低下を認めた (黒矢印).

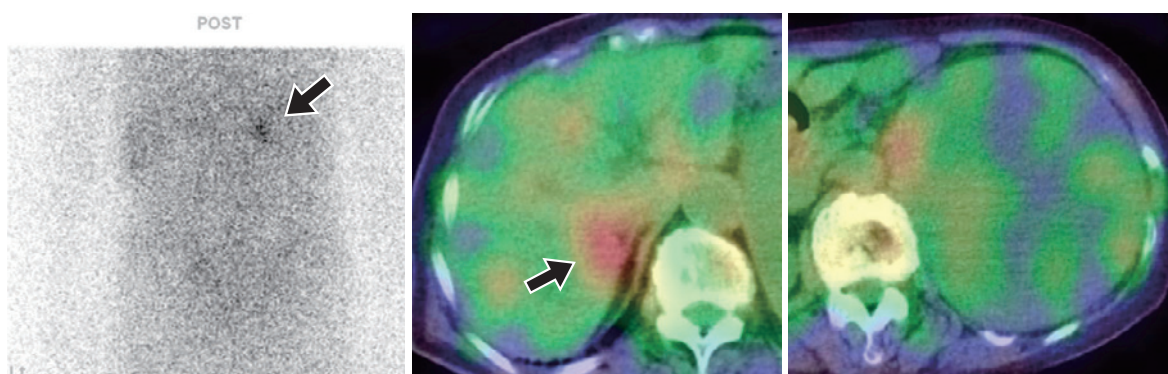


図3 ¹³¹I-アドステロールシンチ
 腫瘍に集積はなく, 対側の副腎集積も保たれていた (黒矢印).

では T2 強調画像で腫瘍の大部分は高信号を示し, 中心部と辺縁部の境界に帯状の強い低信号を認めた (図 2). ¹³¹I-アドステロールシンチでは, 腫瘍の内側辺縁に結節状の淡い集積を認めるのみで, 対側副腎の集積

は保たれていた (図 3).

FDG (fluorodeoxyglucose)-PET は, Siemens 社製 BIOGRAPH Vision 450 を用い, 体軸方向の撮像範囲 1,150 mm を 1 パス 4 mm/sec (4 分 48 秒) とし, 計

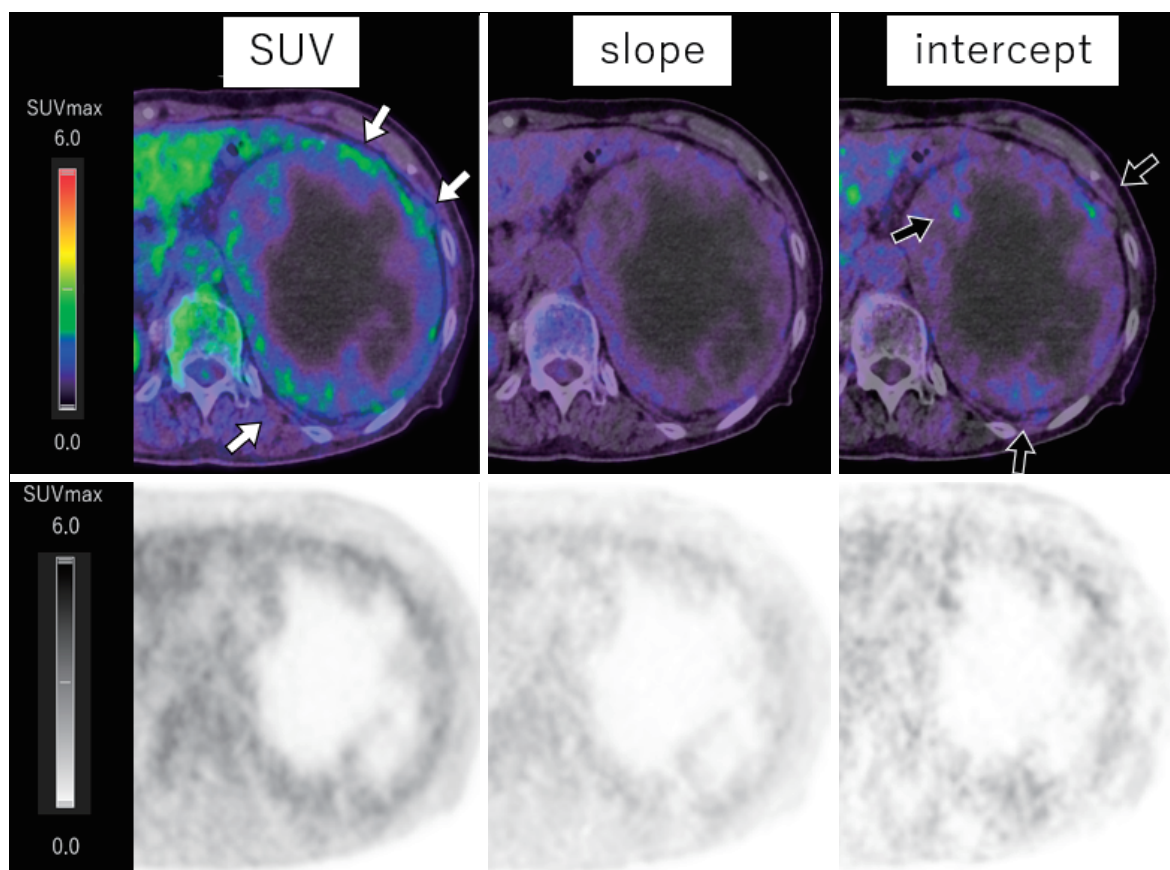


図4 parametric PET

腫瘍辺縁に SUV max 2.9 と軽度の集積を認めた (白矢印). slope 像ではほとんど集積はなく, intercept 像で辺縁に軽度の集積を認めた (黒矢印).

5パスを撮像した. パラメトリック解析を行い, 通常の SUV (standard uptake value) 画像のほかに, FDG の細胞内代謝速度を示す slope 画像, FDG の初期分布を反映する intercept 画像を得た. 軽度の集積 (SUV max 2.9) を認めた腫瘍の辺縁部は, slope 画像よりも intercept 画像で集積が高く (図4), 高いグルコース代謝を示す悪性細胞や炎症細胞浸潤に乏しいことが示唆された.

悪性腫瘍が否定できないため, 診断目的に待機的手術の方針となったが, 経過観察中に転倒したため救急搬送された. 貧血の進行 (Hb 5.7 g/dL) や, 腫瘍内部の出血成分の増大があり, 緊急で後腹膜腫瘍切除および左腎摘出術が施行された.

摘出標本所見: 腫瘍の大きさは 13×13×8 cm, 腎臓を含めた総重量は 1,049 g であった. 腫瘍は平滑な被膜を有し, 内部には中心部が器質化した血腫を認めた (図5).

病理所見: 腫瘍の大部分は線維性被膜を有す血腫であり, 被膜内には毛細血管が発達していた. 被膜の内側には菲薄化した副腎を認めた. 腫瘍内には腫瘍細胞

やマクロファージなどの炎症細胞浸潤は認めなかった (図6).

術後経過: 発症の物理的要因や出血素因はなく, 経過および病理所見から, 特発性 CEH と診断した. 術後, 左後腹膜膿瘍を発症し, 抗生剤投与および CT ガイド下持続的ドレナージ術を行ったが治療は難航した. 最終的に開腹による膿瘍摘除および洗浄・ドレナージを施行し, 第 128 病日に退院となったが, 以後 CEH および膿瘍の再発を認めていない.

考 察

CEH は Reid らにより提唱された疾患概念で, 1 カ月以上の経過で緩徐に増大する血腫とされている¹. 大部分は手術や外傷, 出血性素因を背景に生じ, 心血管の拍動や呼吸運動, 外傷の影響を受けやすい胸腔内や四肢軟部の報告が多い². PubMed で, “chronic expanding hematoma (s)” をキーワードに検索すると, 1970~2022 年に報告された 196 例のうち, 副腎を含む後腹膜発生は 11 例 (5.6%) と少なかった.

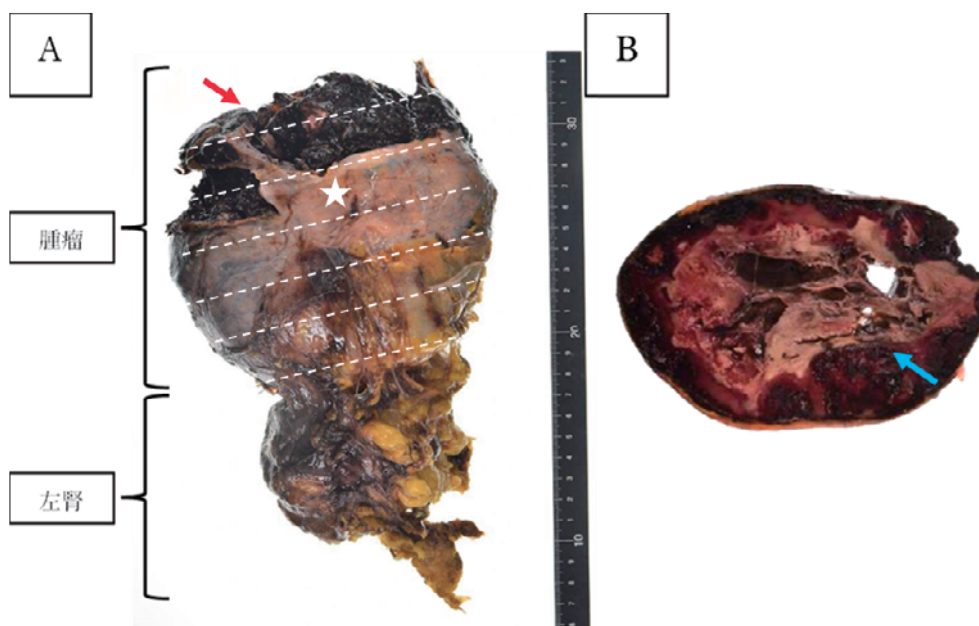


図5 摘出標本 A) 一塊となって摘出された腫瘍および左腎臓 B) ★での剖面
腫瘍表面に平滑な被膜があり，上極で破綻していた（赤矢印）（A）．腫瘍の大きさは13×13×8 cm，腎臓を含めた総重量は1,049 gであった．腫瘍内には血腫を認め，中心部では器質化していた（青矢印）（B）．

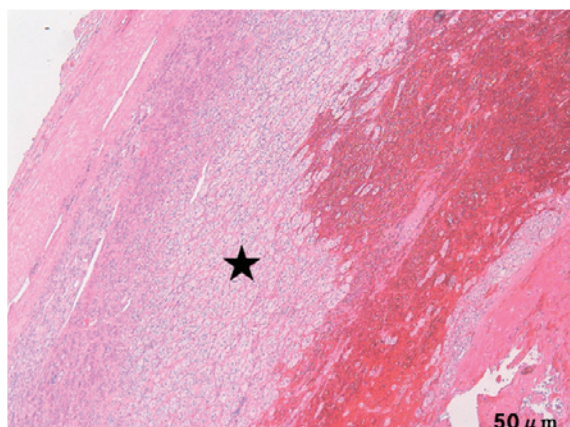


図6 組織学的所見（HE染色，40倍）
血腫は線維性被膜を有しており，被膜内には毛細血管が発達していた．被膜の内側には菲薄化した副腎（★）を認めた．腫瘍内には腫瘍細胞やマクロファージなどの炎症細胞浸潤は認めなかった．

本症例は明らかな外傷機転や出血性素因のない特発性の出血であり，腫瘍との鑑別に苦慮した．副腎に特発性出血が生じる機序として，副腎の解剖学的な因子の関与が指摘されている．副腎は3本の動脈により供血され，内部に多数の毛細血管が発達し，1本の静脈によって排血される vascular dam と呼ばれる構造を有する³．このため，仮説として静脈うっ滞やストレスによる副腎血流増加が特発性副腎出血の原因と推測

されている⁴．

CEH 形成のメカニズムとして，赤血球や白血球，ヘモグロビン，血小板，フィブリンの分解産物が周辺組織を刺激し，被膜の形成や毛細血管の発達を誘発するとともに，血管の透過性亢進や毛細血管からの出血を助長する．これにより血腫が増大すると考えられている⁵．

本症例では，造影CTの腫瘍辺縁の造影効果は被膜内に発達した毛細血管を反映していると考えられた．また，MRIのT2強調像で認めた帯状の強い低信号は，辺縁の比較的新しい血腫と中心部の古い血腫の境界に存在するヘモジデリンを反映していると思われる．PETでは外傷や手術など物理的要因が明らかな胸腔・骨盤内のCEHにおいて，辺縁部にSUV max 3.1～5.5の集積を認めたと報告があるほか⁶，下腿の外傷性CEHでは腫瘍辺縁のマクロファージの浸潤部に一致してSUV max 15.5と非常に高い集積の報告もあるが⁷，本症例はSUV max 2.9と既報の下限程度であった．

FDGはグルコースと同様に細胞膜のグルコーストランスポーターによって細胞内に取り込まれ，ヘキソキナーゼによりリン酸化される．FDG-6-リン酸は解糖系で代謝されず，細胞内に蓄積される．パラメトリックイメージングでは代謝されていないFDGの仮想的な初期分布である intercept 画像と，代謝（リン酸化）

速度を反映した slope 画像が得られる。本症例では病理像で辺縁部を含め血腫内に炎症細胞浸潤が乏しく、代謝された FDG より、被膜に発達した毛細血管から血腫内に拡散した代謝されていない FDG のほうが集積に寄与していたと推察される。上記のように外傷など物理的機序が明瞭で、炎症細胞浸潤に起因する集積の高い CEH が存在する一方で、本症例のように血腫内に炎症細胞浸潤が乏しい CEH の報告もあり、炎症細胞浸潤を伴わないような軽度の炎症の存在が形成過程として関与している可能性がある。本症例は CEH に対しパラメトリックイメージングを用いた初めての報告である。今後、パラメトリックイメージングが普及すれば、CEH における炎症細胞浸潤の程度を生体内で評価でき、CEH 形成のメカニズムの解明や鑑別診断に貢献できると思われる、さらなる症例の蓄積が望まれる。

結 語

今回われわれは、副腎の特発性 CEH に対し PET パラメトリックイメージングを用いて評価した症例を経験した。パラメトリックイメージングは CEH の成因解明や鑑別診断の一助となる可能性があり、今後さらなる症例の蓄積や検討が望まれる。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文 献

1. Reid JD, Kommareddi S, Lankerani M, Park MC:

Chronic expanding hematomas. A clinicopathologic entity. JAMA 1980; 244: 2441-2442.

2. 横井亮磨, 深田真宏, 藤林勢世, 遠藤真英, 村瀬勝俊, 吉田和弘: 副腎に発生した後腹膜 chronic expanding hematoma の 1 例. 日臨外会誌 2022; 83: 1164-1170.
3. Fowler AM, Burda JF, Kim SK: Adrenal artery embolization: anatomy, indications, and technical considerations. AJR Am J Roentgenol 2013; 201: 190-201.
4. Streeten DH, Phil D: Adrenal hemorrhage. Endocrinologist 1996; 6: 277-284.
5. Labadie EL, Glover D: Physiopathogenesis of subdural hematomas. Part 1: Histological and biochemical comparisons of subcutaneous hematoma in rats with subdural hematoma in man. J Neurosurg 1976; 45: 382-392.
6. Nishida Y, Kobayashi E, Kubota D, et al: Chronic expanding hematoma with a significantly high fluorodeoxyglucose uptake on ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography, mimicking a malignant soft tissue tumor: a case report. J Med Case Rep 2014; 8: 349.
7. Tokue H, Tokue A, Okauchi K, Tsushima Y: 2-[¹⁸F] fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) positron-emission tomography (PET) findings of chronic expanding intrapericardial hematoma: a potential interpretive pitfall that mimics a malignant tumor. J Cardiothorac Surg 2013; 8: 13.

(受付 : 2023 年 3 月 17 日)

(受理 : 2023 年 5 月 19 日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的の場合、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。

— 話 題 —

悪性黒色腫の薬物治療と問題点

日本医科大学皮膚科
帆足 俊彦

はじめに

悪性黒色腫は色素細胞由来の悪性腫瘍である。早期にリンパ行性や血行性に転移を来し、皮膚悪性腫瘍の中で最も悪性度の高い腫瘍の1つである。本邦では年間1,500～2,000人(10万人あたり1～2人)の発生数と推定されている。40～70代に好発し、発生部位は足底が最も多い。

治療

悪性黒色腫の治療の主体は手術療法であるが、再発、転移が生じてくると、薬物治療が主体となる。これまで悪性黒色腫には有効といえる薬剤がなかったが、2014年9月から徐々に新規薬剤が使用可能になり高い効果を上げている。それらは大きく2つに分けられる。免疫チェックポイント阻害薬と分子標的薬である。免疫チェックポイント阻害薬は抗PD-1抗体(nivolumab, pembrolizumab)と抗CTLA-4抗体(ipilimumab)である。いずれもT細胞の受容体に作用し、免疫の抑制を解除することにより抗腫瘍効果を発揮する。作用は間接的であり、効果発現まで3カ月程度かかる。また、従来の抗がん剤では見られなかった免疫関連副作用が出現してしまい、時に致死的になることもある。うまくいくと長期にわたる効果が期待できるが、効果が得られないケースもある。分子標的薬はBRAF変異のある症例に対して用いられる。現在BRAF阻害薬単独(vemurafenib), BRAF阻害薬+MEK阻害薬(dabrafenib+trametinib/encorafenib+binimetinib)が使用できる。いずれもMAPK経路の変異BRAFとその下流のMEKに対して抑制的に作用する。作用は直接的で、効果発現が非常に早い。効果のある症例の割合は免疫チェックポイント阻害薬よりも高く、副作用は少ない。しかしながら、薬剤耐性は必発であり、いずれ効かなくなってくる。

問題点

上記のように、悪性黒色腫に対して、非常に有効な薬剤が登場した。薬物療法を中心にせざるを得ない、進行期に対して非常に有用である。ここで、新たな問題が生じる。BRAF変異のない症例には、免疫チェックポイント阻害薬一択なのであるが、BRAF変異例については、分子標的薬が使用可能であり、候補に挙がる。免疫チェックポイント阻害薬は分子標的薬よりも効果発現までの時間が長く、著効する人の割合が低く、副作用もより多彩であるが、長期的な効果が期待できる。一方、分子標的薬は免疫チェックポイント阻害薬よりも効果発現までの時間が短く、著効

する人の割合が高く、副作用もより少ない。しかしながら、分子標的薬は、いずれ薬剤耐性を生じて効かなくなってしまう。特に、BRAF変異例については、分子標的薬を使うか、免疫チェックポイント阻害薬を使うか選択が悩ましい。どちらかを使って、効かない場合に、「他方」にスイッチすることになる。効かない場合というのは、腫瘍が進行してしまうということである。それなら、最初から「他方」にしておけばよかったのかもしれないという問題が生じる。2022年に欧米から、免疫チェックポイント阻害薬をまず使い、進行してきたら、分子標的薬に切り替える方が、その逆よりも有意差をもって全生存期間が長くなるというデータが出た¹⁾。分子標的薬を先に使い、進行してきたら、免疫チェックポイント阻害薬に変更するよりもよいということである。多数例解析だとそのような結果なのであるが、目の前の個々の症例ではどうなのだろうか? 実際、BRAF変異のある悪性黒色腫で、分子標的薬が著効したものの、薬剤耐性が生じて効かなくなり、免疫チェックポイント阻害薬に変更して5年以上完全寛解を保っている患者をわれわれは診ている。個々の患者について、どういう順序、どういう組み合わせで投与するのがベストなのか、まだ模索の段階である。

もう1つ重要な問題がある。分子標的薬、免疫チェックポイント阻害薬いずれも非常に高額である。全員例外なく、高額医療費申請をしている。それでも、最近、お金が厳しいから治療を中断したいと相談されることが増えた。特に50代から60代の男の患者からである。再雇用等の職場の事情で給料が下がった、借金がありギリギリの生活なのでもう限界である、転職先を探しているが、病院に頻回に行かなければいけない等、面接時にとっても言い出せない、など理由は様々である。せっかく良い薬剤が登場し、高い効果も得られていて、副作用も許容範囲内なのに、その患者の経済事情が継続を許してくれない場合もある。こちらも今後解決していかなければならない重要な問題である。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文献

1. Atkins MB, Lee SJ, Chmielowski B, et al: Combination Dabrafenib and Trametinib Versus Combination Nivolumab and Ipilimumab for Patients With Advanced BRAF-Mutant Melanoma: The DREAMseq Trial-ECOG-ACRIN EA6134. J Clin Oncol 2022. doi: 10.1200/JCO.22.01763.

(受付: 2022年12月14日)

(受理: 2022年12月19日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的の場合、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことが出来る。

—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. 88, No. 5 (2021 年 10 月発行) 掲載

Machine Learning for Prediction of Successful Extubation of Mechanical Ventilated Patients in an Intensive Care Unit: A Retrospective Observational Study

(J Nippon Med Sch 2021; 88: 408-417)

機械学習を用いた人工呼吸器離脱の成否予測

太田黒崇伸¹ 田中秀典² 五十嵐豊¹ 田上 隆¹
増野智彦¹ 横堀将司¹ 松本 尚¹ 大和田勇人²
横田裕行¹

¹日本医科大学救急医学教室

²東京理科大学理工学部経営工学科

背景：人工呼吸器離脱に際して様々なプロトコルが用いられてきたが、失敗率は 10~20% 程度と依然として高い。そこで機械学習を用いることで、より高精度の離脱予測の可能性を検討した。

方法：2015 年 1 月~2018 年 12 月において呼吸不全が原因で人工呼吸器管理を受けた患者を対象とした。年齢、性別、体型、気管挿管施行後から抜管時までの 1 分間ごとのバイタルサインおよび人工呼吸器の測定値、血液ガス所見、血液検査など 57 項目を特徴量としデータを収集した。教師あり学習を行うため、抜管成功例の抜管 3 時間前から抜管可能と想定し、気管挿管後 2 時間までと抜管失敗例の抜管前 3 時間からを抜管不能と想定しラベル付けした。また、抜管失敗は抜管後 72 時間以内の再挿管と定義した。機械学習には RandomForest (RF), XGBoost (XGB), LightGBM (GBM) の 3 つのモデルを用いて予測精度を評価した。また各モデルにおける特徴量の重要度を分析した。

結果：抜管失敗例 13 人を含む計 117 人を解析した。男性が 66% で年齢中央値は 73 歳であった。また人工呼吸器装着期間の中央値は 5 日で、在院日数の中央値は 16 日だった。AUC はそれぞれ RF 0.931, XGB 0.947, GBM 0.950 であった。重要度の上位 3 項目は以下の通りであった。RF：人工呼吸器装着期間、最高気道内圧、平均気道内圧。

XGB：人工呼吸器装着期間、CPK、平均血圧。GBM：人工呼吸器装着期間、年齢、PEEP。

結論：機械学習によって高精度で抜管の成否を予測できた。プロトコルにはない重要度の高い新たな特徴量が明らかになった。今後は抜管失敗例に対する精度の向上と臨床への応用が期待される。

Factors Influencing the Mental Health of International Students, as Observed in a Longitudinal Study on Former Japanese Government Scholarship Students

(J Nippon Med Sch 2021; 88: 475-484)

元日本国費留学生の縦断的調査から示唆される、留学生のメンタルヘルスを左右する要因

南 砂¹ 新倉涼子² 樫村正美³ 大久保善朗¹

¹日本医科大学大学院医学系研究科精神神経学教室

²千葉大学

³日本医科大学医療心理学教室

背景と目的：日本政府が「21 世紀初頭における外国人留学生 10 万人受け入れ計画」を打ち出した 1983 年以降、日本で学ぶ外国人留学生は増え続け、その数は現在 30 万人を超えつつある。異国での生活で精神・心理学的変化が起こることは内外で経験的に知られて久しいが、留学生に関する精神医学的研究は多くない。留学生のメンタルヘルスに関わる要因を探り今後の留学生支援の在り方に資するため、1980 年代に日本で学んだ元国費留学生に当時を回想してもらい留学の満足度、現在の主観的幸福度などを縦断的に調査した。

方法：1980 年代に日本で学んだ元国費留学生に質問紙によるウェブ調査を依頼し、完全回答が得られた 82 人(男性 50, 女性 32)を調査対象者とした。質問紙は日英両国語併記。年齢、国籍などの基本属性、日本語能力などの基本情報に関する項目、留学当時の学生生活に関する設問 20 項目、日本留学への満足度に関する設問 10 項目、現在の自身の幸福度に関して 7 件法で尋ねた設問 4 項目、および自由記述より成る。

結果：「留学当時の学生生活」と「留学に対する満足度」の関連を検討するためそれぞれの設問についてフィッシャーの正確確率検定を実施した結果、留学当時の学生生活の 7 項目が留学に対する満足度と有意な関連を示した。また、「留学当時の学生生活」と「現在の主観的幸福度」の

関連を検討するため、ウェルチの t 検定を実施した結果、留学当時の生活の3項目について、それぞれ当てはまらない群に比べ、当てはまる群で主観的幸福尺度得点が高かった。留学生の基本属性と留学に対する満足度の関係では「男性」が有意に高かったが、属性と現在の主観的幸福度の間には有意な関連はみられなかった。

考察と結論：留学中、異文化摩擦や困難に直面しても、それらを肯定的に受け止め柔軟に対応しようとした者は困難を克服して前進できたことが伺えた。認知行動療法として存在する論理療法とも合い通じ、留学生支援に資する所見といえる。日本人の友人と密な交流があった者ほど留学の満足度が高いという結果は、自由記述に多くみられた日本人学生との交流の難しさと表裏一体で、かねて指摘されてきた深刻な留学生問題だ。日本への期待と学びへの意欲がメンタルヘル스에影響し留学の満足に通じること、学生生活に関する回答と現在の主観的幸福度の間にも関連が認められることなども示唆に富む。結論として、状況認知の在り方とそれに伴う対処行動、といった個人の心理的要因がメンタルヘルスを規定することが明らかになったといえる。今後の留学生支援に資するところが少なくない。

Journal of Nippon Medical School

Vol. 88, No. 6 (2021年12月発行) 掲載

Development of an Outer Tube That Reduces Nasal Pain and Epistaxis during Transnasal Endoscopy

(J Nippon Med Sch 2021; 88: 516-523)

鼻痛と鼻出血を軽減する経鼻内視鏡用のオーバーチューブの開発

牧野浩司¹ 野村 聡¹ 寺本 忠² 田尻 孝³
吉田 寛³

¹日本医科大学多摩永山病院消化器外科

²町田胃腸病院

³日本医科大学付属病院消化器外科

背景・目的：近年、わが国では上部消化管内視鏡検査を経鼻で行うことが増えてきている。経鼻内視鏡は多くのメリットがあるが、鼻痛や鼻出血などの欠点もある。これら鼻痛・鼻出血を軽減するために、経鼻内視鏡用のオーバーチューブ；ネイザルスライダーを開発したので報告する。

方法：通常の前処置では、キシロカインゼリーを塗布したスティックを2回挿入してから内視鏡を挿入するが、挿入回数を減らすため、内筒付き外筒を挿入した後に内筒を抜き、外筒内に経鼻内視鏡を挿入できるチューブとした。また、内視鏡の挿入時に痛みを感じる鼻孔と鼻甲介が直接接触しないように、外筒の長さを設定した。以前にも経鼻内視鏡検査の経験があり、ネイザルスライダーの使用に同意した34例(平均年齢68.1歳、男性22例、女性12例)の患者を対象とした。検査終了後、以前の検査との比較で、鼻違和感、鼻痛についての質問および鼻出血の有無について確認をした。

結果：同意が得られた34例中、30例の患者にネイザルスライダーが挿入された。以前施行した経鼻内視鏡検査時より、それぞれ27例、28例の患者で鼻違和感、鼻痛が軽減したとの回答を得た。また鼻出血は1例も認めなかった。

結論：ネイザルスライダーは経鼻内視鏡検査時の鼻痛と鼻出血を軽減すると考えられ、多くの病院で使用されるようになっていく。

Effectiveness of the 2019-2020 Influenza Vaccine and the Effect of Prior Influenza Infection and Vaccination in Children during the First Influenza Season Overlapping with the COVID-19 Epidemic

(J Nippon Med Sch 2021; 88: 524-532)

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) とインフルエンザが同時に流行した最初のシーズン (2019~2020 シーズン) における小児のインフルエンザワクチンの有効性と前シーズンのインフルエンザ感染およびインフルエンザワクチン接種の影響

安藤総一郎

あんどうクリニック

目的: 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の流行にともない日本人の行動様式が変化していた 2019~2020 シーズンはインフルエンザと COVID-19 が同時に流行した最初のシーズンでもあった。このような社会的背景はインフルエンザワクチンの効果やインフルエンザの罹患に影響を与えるかもしれない。本研究の目的は COVID-19 が同時に流行した 2019~2020 シーズン (今シーズン) の小児におけるインフルエンザワクチンの有効性 (Vaccine Effectiveness: VE) と前シーズンのインフルエンザ罹患およびインフルエンザワクチン接種の今シーズンのインフルエンザ罹患への影響を検証することである。

方法: インフルエンザワクチンの VE は test-negative case-control (TNCC) study にて算出した。同様に前シーズンのインフルエンザワクチン接種およびインフルエンザ罹患の有無による今シーズンのインフルエンザ罹患のオッズ比も算出した。

結果: 386 例の小児全体において、共変量で調整した adjusted VE はインフルエンザ A/H1N1 で 45.5% (95% confidence interval (CI) : 2.0~69.7), インフルエンザ B で 66.7% (95% CI : 35.9~82.7) であった。0~6 歳児において adjusted VE はインフルエンザ A 全体: (A/H1N1 + A/H3N2) で 65.0% (95% CI : 22.2~84.3), インフルエンザ A/H1N1 で 64.8% (95% CI : 16.9~85.1), インフルエンザ B で 87.4% (95% CI : 50.5~96.8) であった。7~15 歳児において VE は認められなかった。0~6 歳児においてはインフルエンザワクチンの 1 回接種より 2 回接種のほうがインフルエンザ A 全体およびインフルエンザ A/H1N1 の発症率を低下させる傾向があった。小児全体および 7~15 歳児において、前シーズンにインフルエンザに罹

患した症例では共変量で調整したインフルエンザ B 罹患のオッズ比は有意に低かった (小児全体/オッズ比: 0.29; 95% CI: 0.11~0.78, 7~15 歳児/オッズ比: 0.34; 95% CI: 0.12~0.94)。前シーズンのインフルエンザワクチン接種の有無は今シーズンのインフルエンザ罹患のオッズ比に有意な影響を与えなかった。

結論: TNCC により算出したインフルエンザワクチンの有効性は COVID-19 の流行下でも確認できた。

Physical Compatibility of Nafamostat with Analgesics, Sedatives, and Muscle Relaxants for Treatment of Coronavirus Disease 2019

(J Nippon Med Sch 2021; 88: 533-539)

COVID-19 治療を想定したナファモスタットと鎮痛薬、鎮静薬および筋弛緩薬との物理的配合変化試験

近藤匡慶 長野慎彦 吉田茉莉子 吉田直樹

田杭直哉 吉田真人 菅谷量俊 高瀬久光

日本医科大学多摩永山病院薬剤部

背景: 重症の新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は鎮痛薬、鎮静薬および筋弛緩薬の持続投与を行うことがある。ナファモスタットは近年 COVID-19 の治療薬として報告されているが、これらの薬剤との配合変化に関する情報は存在しない。そこで、本研究は、ナファモスタットとこれらの薬剤との物理的配合変化試験を実施・評価した。

方法: ナファモスタットは対象薬剤 (フェンタニル、モルヒネ、ミダゾラム、デクスメドミジンおよびロクロニウム) を 1~3 剤配合し、合計 15 通りの配合変化試験を実施した。ナファモスタットは 5% ブドウ糖液で溶解し、最終濃度 10 mg/mL に調製した。対象薬剤は、臨床使用濃度になるように生理食塩液で希釈した。配合変化試験ごとに全薬剤の power of hydrogen (pH) を測定した。配合変化試験は、ナファモスタットと対象薬剤を同体積比 (1:1, 1:1:1, もしくは 1:1:1:1) で配合し、1 試験ごとに 4 回実施した。配合変化は、外観変化、濁度および pH を配合直後、配合 1 時間後および配合 3 時間後に評価を実施した。物理的配合変化は、ナファモスタット単剤と比較して沈殿、混濁、チンダル現象の出現や濁度値 0.5 nephelometric turbidity units (NTU) 以上の変動を配合変化と定義した。

結果: ナファモスタットの平均 pH は 3.13 ± 0.03 であった。「ナファモスタット、フェンタニル、デクスメドミ

ジン」の組合せが最も高い pH で 3.39 ± 0.01 (配合 3 時間後) であった。すべて薬剤は、ナファモスタットとの配合 3 時間まで平均濁度値 0.03 NTU 以下であり、配合可能と判断された。

結論：ナファモスタットと鎮痛薬、鎮静薬および筋弛緩薬との配合は安全に投与可能である。

Journal of Nippon Medical School

Vol. 89, No. 1 (2022 年 2 月発行) 掲載

Effects of Thrombophilia and Antithrombotic Therapy on Embryonic Chromosomal Aberration Rates in Patients with Recurrent Pregnancy Loss

(J Nippon Med Sch 2022; 89: 40-46)

不育症患者における抗血栓療法導入後の流産産絨毛・胎児組織染色体検査の解析

大内 望 竹下俊行 笠野小百合 横手遼子
米澤美令 倉品隆平 市川智子 川端伊久乃
桑原慶充

日本医科大学女性診療科・産科

背景：流産は全妊娠の 10~15% に起こり、習慣流産は挙児希望を有するカップルの約 1% に起こるとされている。流産の最も多い原因は、胎児の染色体異常であるが、習慣流産の原因としては、抗リン脂質抗体症候群や子宮奇形、甲状腺機能異常などが挙げられる。抗リン脂質抗体症候群などの血栓性素因が判明した場合、次回妊娠時はアスピリンやヘパリンによる抗血栓療法を施行し流産を予防する。今回われわれは、このように血栓性素因のある不育症患者に抗血栓療法を行えば、流産の総数が減り、相対的に胎児染色体異常による流産率が上昇すると考えた。そこで本研究では、流産をした不育症患者を抗血栓療法施行の有無に分け、絨毛染色体異常の割合にどう影響するかを検討した。

方法：当院において 2000 年 7 月 1 日から 2019 年 5 月 31 日の間に稽留流産と診断し、胎児絨毛染色体検査を施行した症例を後方視的に検討した。不育症患者を抗血栓療法の施行の有無に分け、胎児絨毛染色体異常の割合を解析した。

結果：不育症患者 190 症例が対象となった。検査時の平均年齢は、 37.4 ± 4.3 歳、既往流産回数の平均は 2.2 ± 1.1 回であった。全症例の絨毛染色体異常割合は 67.4% (128/190 症例) であった。絨毛染色体異常の割合は、不育症の原因、血栓性素因の有無、抗血栓療法の有無によって有意差を認めなかった。妊婦の年齢のみが絨毛染色体異常の割合と関連していた。

結論：不育症治療の有無にかかわらず、染色体異常による避けがたい流産は一定の確率で起こることがわかった。絨毛染色体正常核型の流産を経験した場合は、血栓性素因

の有無などを検査する意義があると考えられた。

Post-Traumatic Stress Disorder among Children Involved in Traffic Accidents and Their Parents in Japan

(J Nippon Med Sch 2022; 89: 47-55)

日本における交通事故に遭った子どもとその親の心的外傷後ストレス障害に関する研究

吉野美緒¹ 植田高弘¹ 高田治樹² 菅野 綾³
前田美穂^{1,4} 松本 尚⁵ 松井 豊⁶ 浅野 健³
伊藤保彦¹

¹日本医科大学付属病院小児科

²医療創生大学心理学部臨床心理学科

³日本医科大学千葉北総病院小児科

⁴日本歯科大学生命歯学部小児歯科学講座

⁵日本医科大学千葉北総病院救命救急センター

⁶筑波大学人間総合科学研究科

背景: 交通事故に遭った子どもとその親は、心的外傷後ストレス障害 (Post-traumatic stress disorder: 以下 PTSD) または関連する精神症状 (うつ, 不安症状) を呈することが知られている。これらの症状は、子どもの成長発達を阻害する可能性がある。本研究では、日本ではまだ明らかにされていない、交通事故に遭った子どもとその親の PTSD 発症率と、リスク要因を検討することを目的として、質問紙調査を実施した。

方法: 2010年1月~2015年10月の間に交通事故に遭い、日本医科大学千葉北総病院に救急搬送された子どもと親を対象とした。対象児の年齢は、受傷時3歳~18歳とした。2015年8月~12月の間に、郵送法による質問紙調査を実施した。PTSDのリスク評価として、PTSSC-15(15-item Post-traumatic Stress Symptoms for Children), IES-R-J (Japanese version of the Impact of Event Scale-Revised) を用いた (以下ストレススコアとする)。また、カルテから、ISS (Injury Severity Score) についての情報を得た。相関分析、分散分析、重回帰分析を実施した。

結果: 79人の子どもと104人の親から回答を得た。子どもの10.2%、親の22.1%が、PTSDハイリスク群に該当した。子どもと親のストレススコアには正の相関があり、事故時の子どもの年齢とは負の相関があった。子どもの事故を目撃した親、子どもが入院した親は、ストレススコアが有意に高かった。ISS、事故後の経過時間とストレススコアの間には、有意な相関はなかった。

結論: 交通事故に遭った子どもと親の心理的回復のためには、子どもだけでなく親にも同時に働きかけを行い、双方にケアを提供する必要がある。PTSDのリスク評価は有用であり、ISSにかかわらず行い、早期にケアを提供する体制を整えることが、重症化、慢性化を防ぐことにつながると考えられた。

Efficacy of Rikkunshito for Functional Heartburn: A Prospective Pilot Study

(J Nippon Med Sch 2022; 89: 56-65)

機能性胸やけに対する六君子湯の有効性：前向きパイロット研究

川見典之 星野慎太郎 星川吉正 田辺智英
肥田 舞 門馬絵理 竹之内菜菜 花田優理子
貝瀬 満 岩切勝彦

日本医科大学消化器内科学

目的: 治療抵抗性の非びらん性胃食道逆流症 (NERD) 患者に対する六君子湯の有効性が報告されているが、機能性消化管疾患の国際基準である Rome IV における NERD のサブグループ別の六君子湯の有効性は検討されていない。本研究の目的は、機能性胸やけ患者に対する六君子湯の有効性を調べることである。

方法: 消化不良症状のある機能性胸やけ患者10人を登録し六君子湯を8週間投与した。GERD症状に対してFSSG, QOLに対してQOLRAD-J, 不安・抑うつ症状に対してHADSを、投与前、投与4週後、8週後にそれぞれ評価した。また投与8週後にOTE (治療満足度) を評価した。

結果: 1人の患者は投与4週後に自主的に治療を中断した。トータルFSSGスコアは、治療前 (18.3±10.7) よりも治療8週後または中止時 (13.2±8.0) に有意に (P=0.039) 低下を認めた。QOLRAD-Jスコアは治療前と比較して治療8週後または中止時に上昇する (QOLが改善する) 傾向がみられたが、有意差は認めなかった。HADSスコアは治療前と比較して治療8週後または中止時に有意な低下 (不安・抑うつの改善) は認めなかったが、トータルFSSGスコア変化量とHADS不安スコア変化量の間には有意な正の相関が認められた (相関係数: 0.684, P=0.027)。

結論: 本研究は機能性胸やけ患者に対する六君子湯の有効性を検討した最初の研究であり、六君子湯は機能性胸やけ患者に対し有効である可能性が示唆された。

Use of Liquid Biopsy to Detect *PIK3CA* Mutation in Metastatic Breast Cancer

(J Nippon Med Sch 2022; 89: 66-71)

転移性乳癌患者におけるリキッドバイオプシーでの *PIK3CA* 変異の検出

中井麻木¹ 関谷健太¹ 佐藤あい¹ 范姜明志¹
 栗田智子¹ 武井寛幸¹ 山田岳史² 栗山 翔²
 高橋吾郎² 吉田 寛² 柳原恵子³ 大橋隆治⁴

¹日本医科大学付属病院乳腺科

²日本医科大学付属病院消化器外科

³日本医科大学多摩長山病院乳腺科

⁴日本医科大学付属病院病理診断科

背景: *PIK3CA* は腫瘍の進行と関連しており、乳癌ではその変異が比較的高い。本研究では簡便で、比較的侵襲が低く、遺伝子の変化をリアルタイムで知ることができるリキッドバイオプシー (LB) で転移性乳癌患者における *PIK3CA* 変異の検出を目的とした。

方法: 2020年4月から2020年9月までの、組織学的に確認された遠隔転移を伴う乳癌患者を対象とした。血漿 (ctDNA) およびエクソソーム (exoDNA) から循環 DNA を抽出した。Droplet digital PCR を用いて *PIK3CA* 変異 (エクソン 9 および 20) を解析した。

結果: 52名の患者のうち、16名が腫瘍組織または血液中に *PIK3CA* 変異を有しており、そのうちエクソン 9 変異 (E542K および E545K) が9名、エクソン 20 変異 (H1047L および H1047R) が8名であった。52名の患者のうち8名 (15%) で、ctDNA を用いた LB で *PIK3CA* 変異が検出され、そのうち5名 (9%) で ctDNA、6名 (11%) で exoDNA、そして3名 (6%) で ctDNA および exoDNA の両方で *PIK3CA* 変異が検出された。LB により *PIK3CA* 遺伝子変異が検出された8名の患者のうち、3名は原発腫瘍に *PIK3CA* 変異を認めなかった。

結論: *PIK3CA* 変異は、原発腫瘍に *PIK3CA* 変異がない患者においても LB を用いて検出することが可能であった。したがって、組織生検と LB を組み合わせた解析は、乳癌患者にとって臨床的に有用な情報を提供することが示唆された。

Risk Factors for Early Peritoneal Dialysis Discontinuation: Importance of Heart Failure

(J Nippon Med Sch 2022; 89: 72-80)

早期腹膜透析離脱におけるリスクファクター：心不全の重要性

寺田光佑 住祐一郎 平間章郎 柏木哲也
 酒井行直

日本医科大学腎臓内科

背景: 日本医科大学付属病院における腹膜透析 (PD) 患者は過去5年間で増加しているが、PD を離脱する患者数もまた増加している。本研究の目的は PD 継続期間と種々の臨床背景の関連を分析することで、PD 離脱におけるリスク因子を同定することである。

目的: 2015年4月から2020年3月までに当院にて PD を導入し定期通院していた87名の患者について後ろ向きに調査を行い、PD 継続期間と臨床項目における関連を調べた。また、心不全、腹膜炎、出口部感染による入院と PD 継続期間における関連についても調査した。

結果: PD 導入時における renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors (RASi) の使用 ($P=0.0218$)、左室駆出率 (LVEF) $>50\%$ ($P=0.0194$)、estimated glomerular filtration rate (eGFR) ≥ 6 (mL/min/1.73 m²) ($P=0.0013$) では、それぞれより長い PD 継続期間と有意に関連し、心不全入院をした群では有意に PD 継続期間が短かった。

結論: PD 導入時における RASi の使用、LVEF $>50\%$ 、eGFR ≥ 6 (mL/min/1.73 m²) および、限外濾過不良や心不全を予防するための良好な体液量コントロールは PD 患者において PD 継続期間を改善する可能性がある。

Surgical Outcomes of Coronal Shear Fracture of the Distal Humerus in Elderly Adults

(J Nippon Med Sch 2022; 89: 81-87)

高齢者における上腕骨遠位端の Coronal Shear Fracture の手術成績について

友利裕二 南野光彦 園木謙太郎 眞島任史
 日本医科大学整形外科

背景: 本研究では、高齢者上腕骨遠位端冠状剪断骨折 (Coronal Shear Fracture; CSF) に対して、観血的整復内固定術を行った症例の治療成績について調査した。

方法：2002年4月から2019年3月の17年間に、上腕骨遠位端のCSFを受傷した高齢者8例(76.3±5.1歳)をレトロスペクティブに調査した。調査項目は術後合併症、肘関節の可動域、肘の機能的スコアリング(Mayo Elbow Performance Score; MEPS)とした。

結果：平均追跡期間は23.6±13.9カ月であった。CSFは、埋没植込み型ヘッドレススクリューまたはキルシュナー鋼線、生体吸収性スクリュー、外側ロッキングプレートいずれか、または上記を併用して治療した。術後感染や肘関節不安定症は認めなかった。7例が骨折治癒を得たが、1例が偽関節となった。離断性骨軟骨炎を1例に認め、3例に関節面の段差(2mm以上)、2例には関節面の圧壊を認めた。上腕骨小頭と滑車の両方に重度の粉砕が見られた症例では、関節面全体の圧壊を認め、小頭・滑車の骨壊死を伴っていた。最終診察時の肘関節平均可動域は屈曲116.3±12.7°、伸展-28.8±14.1°であった。MEPSの平均値は78.8±10.2点で、評価はExcellent(n=1)、Good(n=3)、Fair(n=4)であった。

結論：高齢者における上腕骨遠位端CSF非粉砕例の観血的整復内固定術は、良好な術後成績が得られていた。しかし、関節面の粉砕例や、関節面後方の粉砕を伴った症例では治療が困難であった。

Molecular Targeted Therapy for Hormone Receptor-Positive, Human Epidermal Growth Factor 2-Negative Metastatic Breast Cancer in Clinical Practice

(J Nippon Med Sch 2022; 89: 88-94)

実臨床におけるホルモン受容体陽性、Her2陰性、進行再発乳癌に対する分子標的治療薬

中野聡子¹ 井廻良美¹ 壬生明美¹ 加藤俊介^{1,3}
山口茂夫^{1,4} 大塚正彦² 佐野雅隆⁵

¹川口市立医療センター乳腺外科

²川口市立医療センター外科

³順天堂大学医学部附属順天堂医院腫瘍内科

⁴慶應義塾大学外科

⁵千葉工業大学社会システム科学部経営情報科学科

はじめに：近年ホルモン受容体陽性、Her2陰性、進行再発乳癌に対する分子標的治療薬(以下MTT)により、ルミナルタイプの再発乳癌の治療戦略が大きく変化している。当院でpabociclib, abemaciclib, everolimusいずれかのMTTを使用した症例の治療歴、臨床経過、安全性に

ついてretrospectiveに検討した。

対象・方法：2014年4月から2020年5月までに、ルミナルタイプの進行再発乳癌に対して、3剤いずれかのMTTを使用した45例を対象とした。40例が3次以降(後期導入群)、5例が1次もしくは2次治療(早期導入群)であった。本研究の結果を既存の臨床試験結果と比較した。

結果：全患者の無増悪生存期間(PFS)中央値は5.3カ月(95%信頼区間[CI]2.8~8.4)であった。導入時期では、早期導入群(5.5カ月, 95%CI1.8~)と後期導入群(5.1カ月, 95%CI2.8~9.4)のPFSは同様であった。11例が1年以上同じMTTを継続し、治療継続中も15例あった。23例(51%)は、everolimusがサイクリン依存性キナーゼ(CDK)4/6阻害剤に先行して投与されていた。本研究のPFSのKaplan-Meier曲線をPALOMA-3と比較すると、本症例は開始早期に低下を認め、それ以降もPALOMA-3のホルモン単剤群と曲線が近似した。CDK4/6阻害剤で高頻度のgrade3以上の有害事象(AE)は好中球減少症であり、everolimusでは、ニューモシスチス肺炎、敗血症、口内炎などであった。

考察：本研究では早期導入群と後期導入群でPFSはほぼ同等であったが、Kaplan-Meier曲線はPALOMA-3のホルモン単剤症例に近似していた。mTOR阻害剤承認直後の症例も多く、後期導入群が多く、症例数も限られていたことがlimitationとして挙げられる。MTTの使用は、患者に最大限の利益をもたらせる使用を考慮すべきである。

Glucagon Response to Glucose Challenge in Patients with Idiopathic Postprandial Syndrome

(J Nippon Med Sch 2022; 89: 102-107)

Idiopathic postprandial syndromeを示す患者のブドウ糖負荷中のグルカゴン反応

小須田南 渡邊健太郎 小池将夫 盛川愛
齊藤一樹 河野玄太 石原寿光

日本大学医学部内科学系糖尿病代謝内科学分野

目的：Postprandial syndromeは食後の空腹、脱力、不安神経症状の特徴を示す。その病態はグルカゴン応答異常であることが示唆されているが、通常の測定方法は不正確なため、正確な分析を妨げている。最近、グルカゴン測定で信頼性が高いサンドウィッチELISA法が開発された。

方法：Idiopathic postprandial syndromeの14例の患者に負荷後4時間まで延長した75gブドウ糖負荷試験

(OGTT) を施行した。ブドウ糖とインスリンに加え、グルカゴンを測定した。

結果：患者の年齢とBMIの平均値はそれぞれ40歳と24.9であった。OGTTで1例が糖尿病型、2例が耐糖能障害型を示した。空腹時インスリンの平均値は7.6 μ U/mLであり、負荷後30分のインスリン値は73.7 μ U/mLであった。インスリンは負荷180分後まで上昇を示した。空腹時のグルカゴンの平均値は21.1 pg/mL、負荷後の最低値の平均は負荷60分後で6.9 pg/mLであり、3分の1の症例が負荷後に元のグルカゴンレベルに戻ったが、それ以外は負荷後180分までグルカゴン分泌は抑制されていた。われわれは、空腹時グルカゴン分泌が低くさらに分泌が抑制される、あるいは空腹時グルカゴン分泌は正常～高値で次に大きく減少される2つのグルカゴン分泌過程のタイプを見出した。

結論：これらのデータから、従来の研究結果と比べ、グルカゴン分泌がIdiopathic postprandial syndromeの患者で強く抑制されることが推測された。本研究データはIdiopathic postprandial syndromeの理解およびさらなる研究に貢献することが示唆された。

Relationship between Severity of Varus Osteoarthritis of the Knee and Contracture of Medial Structures

(J Nippon Med Sch 2022; 89: 108-113)

内反変形膝の重症度と内側構成体拘縮との関連について

飯澤典茂 大島康史 片岡達紀 渡部 寛
眞島任史 高井信朗
日本医科大学整形外科

背景：高度内反変形膝では内側構成体の拘縮が存在している可能性がある。しかし、変形性膝関節症の重症度と内側構成体の拘縮との関係についての報告はない。本研究の目的は、内側骨棘切除を行った際に期待通りの変形矯正が可能な内反変形角度（閾値角度）を明らかとすること、また、その角度前後で、矯正量にどの程度差があるかを検討することである。

方法：対象は人工膝関節置換術（TKA）を施行した変形性膝関節症患者27膝である。ナビゲーションシステムを用い、骨棘除去前後で、負荷なしおよび10N-mの外反トルク負荷下で、最大伸展時、30°屈曲時、60°屈曲時の各hip-knee-ankle角（HKA）を計測した。その後、切除し

た骨棘の幅を測定した。骨棘除去1mmあたりの平均矯正角度を算出し、ROC曲線を用いて閾値角度を算出した。HKA差である矯正量を、閾値角度より大きい変形と小さい変形とで比較した。

結果：平均骨棘幅は7.1 \pm 2.20mmだった。骨棘除去により平均3.1°の矯正が得られ、骨棘幅1mmあたり0.4°だった。閾値角度は9.5°であった。しかし、閾値角度より大きいグループと小さいグループを比較すると、各ステップおよび屈曲角度間のHKA差に有意差はみられなかった。

結論：内側骨棘除去による矯正が期待できる閾値角度は9.5°であった。しかし、変形角度の大小に関わらず矯正量に差がなかったことから、内側構成体の拘縮は変形の重症度と関連しないと考えられた。

Serum Interleukin-18 Provides a Clue to the Diagnosis of Adult-Onset Still's Disease: Findings from 6 Japanese Patients with Adult-Onset Still's Disease

(J Nippon Med Sch 2022; 89: 114-118)

成人スチル病における血清Interleukin-18値の有用性：日本人6症例の検討

荻田あづさ¹ 安齋眞一¹ 佐伯秀久²

¹日本医科大学武蔵小杉病院皮膚科

²日本医科大学付属病院皮膚科

背景：成人スチル病（AOSD）は、皮疹を伴う全身性自己炎症性疾患である。しかし、典型疹であるサーモンピンク疹はAOSDに特異的ではなく、皮膚科医はAOSDの診断に困難に直面することもある。本研究では、日本人AOSD患者6名を対象に、血清Interleukin（IL）-18値、IL-6、フェリチン、C反応性蛋白を検討した。

方法：血清IL-6、IL-18値は急性期と寛解期に評価した。血清IL-6値は、化学発光酵素免疫測定法（CLEIA；エスアールエル、東京、日本）を用いて分析した。血清IL-18濃度はELISAキット（株式会社医学生物学研究所、名古屋、日本）を用いて測定した。

結果：活動期AOSDでは、6例で血清フェリチン値とCRP値が上昇した。寛解期は、3例の血清フェリチン値は正常範囲をわずかに上回ったが、6例のCRP値はすべて正常化した。血清IL-18値は急性期5例で著増した。AOSD寛解期の5例では、血清IL-18値は正常範囲より高い値を維持した。血清IL-6値もAOSD活動期の5例で高値を示

し、寛解期には2例を除いて正常化した。

結論：急性期の血清IL-18高値はAOSD診断の手がかりとなる。CRPは、IL-6やIL-18に比べて疾患活動性をモニターするのに有用なバイオマーカーである。

日本医科大学における AI 教育と AI を活用した生物物理研究

藤崎 弘士

日本医科大学数理データサイエンス AI 教育センター&物理学

Artificial intelligence education and AI-based biophysics research at Nippon Medical School

Hiroshi Fujisaki^{1,2}¹Department of Physics, Nippon Medical School²Center of Mathematics, Data Science, and Artificial Intelligence Education, Nippon Medical School**Key words:** Artificial intelligence education, Data Science, AI-based biophysics, rare event, path sampling

1. はじめに

ChatGPT や Stable diffusion などの生成系 AI に代表されるように、人工知能 (AI) の進化は近年 (2023 年) ますます加速しており、研究においてはもちろんのこと、教育の現場においても AI を無視することはできなくなっている。2012 年の Hinton らの深層学習による画像認識の高精度化をきっかけとして第 3 次 AI ブームが起こり¹、その背景のもとで日本でも 2019 年に政府によって AI 戦略 2019 が策定された。そこでは『デジタル社会の「読み・書き・そろばん」である「数理・データサイエンス・AI」の基礎などの必要な力をすべての国民が育み、あらゆる分野で人材が活躍』²することが求められており、教育機関での大幅なカリキュラム改変が求められている。また 2016 年には内閣府によって Society5.0 という概念も打ち出されており、これは様々なビッグデータが AI でリアルタイムに解析される世界を想定している。医学医療の分野においては、これは国民や患者に付随する様々な健康医療データを AI を用いて解析するということが求められている。ちなみに令和 4 年度に改訂された医学教育コアカリキュラムにおいても、「情報・科

学技術を活かす能力」が医学者の資質として追加されている。

文科省は 2020 年からリテラシーレベルの数理・データサイエンス・AI 教育プログラム認定制度 (MDASH)³を開始しており、本学もこの制度の申請を 2022 年に行いすでに認可されている。そこでどのような経緯でこの申請に至ったか、またどのような内容の AI リテラシー教育を行っているか、ということについて次の節で述べる。また AI 教育を実施するに当たっては、教育者が AI 研究を行っていることも重要な要素だと考えられるので、筆者の所属する物理学教室での AI 研究についても第 3 節で述べる。

2. 日本医科大学における AI リテラシー教育

2.1 AI リテラシー教育を行うに至った経緯

本学の弦間昭彦学長は 2017 年に京都大学の西田豊明氏との対談で「私は 2015 年に日本医科大学の学長に就任しました。そのときに、これからの医学教育に何が必要となるかを考えましたところ、人工知能、仮想現実、ロボット・テクノロジーの 3 分野がこれからの医療、医学には必須なものであるだろうし、日本医科大学としても力を入れて行かなければならないとの結論に達しました。」「医学教育は生命科学が中心でし

Correspondence to Hiroshi Fujisaki, Department of Physics, Nippon Medical School, Center of Mathematics, Data Science, and Artificial Intelligence Education, Nippon Medical School, 1-7-1 Kyonanchō, Musashino, Tokyo 180-0023, Japan

E-mail: fujisaki@nms.ac.jp

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

たが、これからは人工知能をはじめとした情報科学の比重が高くなりますから、そこに精通した医師の養成は避けて通れません。今後の医療、医学に欠かせない臨床研究統計、バイオインフォマティクス、臨床応用ロボットの研究を東京理科大学や早稲田大学などと連携して進めています。必要とあれば、これらの大学の研究室に学生が行って、研究する体制を整えました。電子黒板を46台入れ、Small group learningに活用して電子情報を蓄積したり、救急などの医療情報サーバを整備して人工知能につなげる予定です。病理診断やレントゲン画像などを人工知能を使った読影について企業と共同で研究をする体制を築いています。」と述べており⁴、その後、本学においてはロボット手術、VRを用いた救急医療や教育、またアンドロイドを用いた診断に関する教育体制などが整えられてきた。またAIを用いた研究も泌尿器科、放射線科、病理学科、形成外科、救命救急科などで始まり、シミュレーション教育にどのようにAIを活用するかという議論も始まった⁵。

そのような状況において、2023年度からの新カリキュラム発足に向けて、本学の授業内容を刷新する必要性が生じ、弦間学長からの要請も受けて、物理学教室と数学教室が主体となって、1年次のカリキュラムにAI教育を取り入れることになった。数学教室においては、すでに統計学やコンピュータリテラシーなどAIに関わることを一部教えており、物理学教室においてもpythonのプログラミング授業を行っていたので、これらを統合し、またAIリテラシー教育の部分も加えることとした。2021年4月に物理学教室、数学教室のメンバーですり合わせを行って、大体の授業内容やコマ数などを決め、学内でもワーキンググループを立ち上げて審議を行った。リテラシー部分の授業の名称は「人工知能概論」とし、この授業を統括する機関として、数理データサイエンスAI教育センター（日本医科大学、英語名 Center of Mathematics, Data Science, and Artificial Intelligence Education）を設立することとなった（2021年9月28日に理事会で承認され、9月29日に発足）。また医学部におけるAI教育ということを鑑みて、臨床医によるAI研究に関する講義を含ませることを必須とすることにした。

2021年10月から人工知能概論の授業をスタートさせ、12コマ分の授業を行った（内容に関しては2023年度のを以下に記してある）。また、AIカリキュラム評価委員会も立ち上げて、授業内容の精査や改善などを行ったのち、2022年5月に文科省の数理・データサイエンス・AI教育プログラム認定制度に申請を

行った。その結果、本学の教育が2022年8月にリテラシーレベルのプログラムとして認定された。

2.2 身につけることのできる能力と授業内容

文科省の数理・データサイエンス・AI教育プログラム認定制度に関する資料³を参考に、以下の16項目を身につけることのできる能力として定めた。医学や医療とAIとの関連も含まれるが、一般的な大学生が身につけるリテラシーの内容としては順当なものである。

1	データ思考がなぜ重要なのかを説明できる。
2	Society5.0という言葉について説明ができる。
3	AIの歴史（第1次、第2次、第3次）について説明ができる。
4	カーツワイルのシンギュラリティについて説明ができる。
5	データにはどのような種類があるか、1次、2次データとは何か説明できる。
6	データを用いたシミュレーションについて説明ができる。
7	データを表示（可視化）するやり方がいろいろあることを説明できる。
8	回帰について説明ができる。
9	相関と因果の違いについて説明ができる。
10	画像処理や音声処理の仕組みについて説明ができる。
11	ビッグデータについて説明ができる。
12	データサイエンスのサイクルについて説明ができる。
13	データAIの利活用領域について具体例を挙げて説明ができる。
14	データAIの最新動向について説明ができる。
15	人工知能と医療・医学との関係について説明ができる。
16	人工知能に関する総合的な議論、発表ができる。

また授業内容としては2023年度の概要は以下になる。

1	ガイダンス (人工知能とは, 機械学習, データ思考, Society5.0 など)
2	AI の最近の話題 (自動運転, AI 倫理, 生成 AI, ChatGPT の使い方など)
3	データとは何か (情報量の概念, POS データ, オープンデータ, ビッグデータ, 各種データベースなど)
4	AI と救急医療 (コロナ患者の入院判断, 人工呼吸器離脱予測)
5	機械学習とは何か (教師あり学習の手順, 深層学習とは)
6	画像診断における AI 活用 (CT, MRI 画像の処理, AI 器具の管理)
7	データ AI の利活用 (企業における例, 研究における例)
8	医療における様々な AI 化 (ロボット医療, 説明可能な AI, マルチモーダルな AI)
9	Python 入門① (繰り返し文, 条件文, 数値積分, ニュートン法)
10	Python 入門② (配列とは何か, 配列の計算, 線形代数の基礎)
11	Python 入門③ (Pandas を使った統計処理, グラフ化, フーリエ解析)
12	Python によるシミュレーション (ニュートン方程式や SIR 方程式を解く)
13	Python による機械学習 (パーセプトロン, ロジスティック回帰, 決定木)
14	Python による文字処理 (形態素解析, Wordcloud, RSA 暗号, バイオインフォマティクス)
15	Python による深層学習 (畳み込みニューラルネットワークを用いた医療画像の認識)
16	理解度を確かめるためのミニテスト

本学における AI リテラシー教育の特色としては, 前に述べたように臨床医による AI に関する講義が含まれているということであり, 上の 4, 6, 8 がそれに当たる。2023 年度に関しては, それぞれ救命救急科の五十嵐豊講師, 放射線科の町田幹講師, 泌尿器科の赤塚純講師が担当しており, やや専門性は高いが, アーリーエクスポージャーの意味合いもあり, 学生は興味をもって聞いているようである。

それ以外の内容としては, まず ChatGPT のような AI の最新の状況 (2023 年現在) から話を始めて, データとは何か, 機械学習とは何か, どのように社会で用いられているのか, ということに関して一般的な講義を行う。次にプログラミング言語 python についての入門を行ってから, 実際の数値データや画像データを使って, AI やデータサイエンスの利用法に関して手を動かして学ばせる。今年度は数学教室の貝塚公一講師による医療画像を分類させる講義と演習も行った。学生に提出させるレポートに関しては 4 名の

teaching assistant (他大学の修士や博士の学生であり, 物理学科や情報学科に所属する) が評価を行ってフィードバックする。また授業の最後に google form を用いた確認テストも行った。

進んだことを学びたい学生は本学の特色である GPA 上位者プログラムや 3 年生時の研究配属というプログラムで AI についてさらに学ぶことも可能である。また 2 年次においては統計学や SPSS のような統計ソフトの使い方を学ばせている (これは医学部としては標準的なことであろう)。学部でのリテラシー教育と直接の関係はないが, 本学の大学院でも AI について学ぶコースが設けられている。

筆者は以前に様々な学会 (人工知能学会, 日本物理学会, 分子シミュレーション学会) の機関誌における人工知能特集の編集に携わった⁶⁻⁸。そのことを踏まえて, 医科大学ではどのような人工知能教育が相応しいのかということを論じたこともあり⁹, 上記のような人工知能教育を行うには時宜にかなっていたと言える。また教育の半分は python のプログラミングに関係するが, 現在では物理学者の大半が研究を遂行する上でプログラミングを行うのが常であり, その経験を教育に転用するのも容易であった。

3. 物理学教室における AI を用いた研究

筆者はボストン大学に留学していた頃からタンパク質などの生体分子のシミュレーションを主な研究対象としているが, 特にタンパク質の構造変化に興味をもっており, それをどのようにシミュレートするかということに近年は注力している。タンパク質はいくつかの準安定状態をもっており, リガンド結合などによって外部から刺激を受けたときは, そのいくつかの状態間の遷移を行う。ただし, 状態間には高い自由エネルギーの山が聳え立っており, その山を越えて遷移することは非常にまれな, 時間のかかる現象となる (一般にレアイベント (rare event) と呼称される¹⁰)。タンパク質をシミュレートするためには, 分子動力学という手法が有用であるが, これは原子レベルのニュートン方程式を数値的に解く手法である。現在はコンピュータやアルゴリズムも十分に発達しているので, 膜タンパク質やコロナウイルスのような「巨大な」分子系を扱うことも可能である。しかし, タンパク質の構造変化のようなレアイベントに関しては, たとえ長時間計算したとしてもレアイベントを効率的にとらえることが難しいことが分かっている (そのような遷移を何回も効率的に得るのが難しい)。そこで筆者も含めて関係する研究者はその効率化のための手法を開発

してきており、それらは一般的に遷移パスサンプリング (transition path sampling) と呼ばれる¹¹。

現在では多くのパスサンプリング手法が提唱されており、筆者は Zuckerman らのグループがよく用いている重み付きアンサンブル (weighted ensemble) 法¹² を人工タンパク質^{13,14} や PIN1 酵素¹⁵ の構造変化に適用した。その結果、構造変化の速度論はある程度分かったが、動的な反応経路がどのような性質をもっているかということは複雑すぎてよく分からないという状況に遭遇した。これは次元縮約 (dimensional reduction, 低次元化) された反応経路を調べるということであり、現在では人工知能や機械学習の手法がよく用いられる¹⁶。われわれも多様体学習 (manifold learning) の一種である拡散マップ (diffusion map) を用いて小さいタンパク質の重要な自由度はある残基の 2 面角であることまでは突き止めたが¹³、これを大きなタンパク質にも適用可能なのか、もっと一般的な機械学習の手法を用いるべきなのかは今後の課題である。

また本学の小川令教授 (形成外科) のグループとメカノバイオロジー (mechanobiology) に関連して、血管新生 (angiogenesis) などの細胞ダイナミクスの数理的なモデル化¹⁷ と、細胞ダイナミクスをどのように物理的もしくは生物学的に解釈するかという研究を共同で行っている。細胞ダイナミクスがあまりにも複雑なために、ここでも次元縮約の考えが有効となる。現在では細胞動画のデータが実験的にも豊富に得られているので、それを畳み込みニューラルネットワーク (convolutional neural network) で低次元化し、その結果にさらに拡散マップを適用して数次元の自由度を抜き出すという試みを行った。その際に、細胞がただ乱雑に運動する場合と血管生成のような有機的な振る舞いをする場合とでは、低次元のダイナミクスが異なることが分かった。しかし、低次元化してしまうと、その自由度が物理的、生物学的にどういう意味をもつのが容易には分からなくなってしまうので、これを元の画像に戻すための画像生成のテクニックを併用する必要がある。今は変分オートエンコーダー (variational autoencoder) のような画像生成に関する人工知能の手法がどのように細胞の動画を再構築できるのかということに関する研究を進めている。以上の研究の内容は人工知能概論の授業でも一部学生に伝えている。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文 献

1. 松尾 豊：人工知能は人間を超えるかディープラーニングの先にあるもの。KADOKAWA 2015.
2. 内閣府政策統括官「AI 戦略 2019」の概要と取組状況。 <https://www5.cao.go.jp/keizai-shimon/kaigi/special/reform/wg7/20191101/shiryoul.pdf>
3. 新原俊樹：数理・データサイエンス・AI 教育プログラムの実状 2021 年度リテラシーレベル認定 78 校の事例から。日本教育工学会論文誌 <https://doi.org/10.15077/jjet.46095>
4. 日本医療学会：医のこころ：人工知能時代の医学教育と日本医科大学の選択。 https://www.jhcs.or.jp/no_category/index.html?cid=28
5. 藤倉輝道, 内藤知佐子, 羽場政法, 高橋優三：人工知能 (AI) をいかにしてシミュレーション医療者教育に活かすか? 日本シミュレーション医療教育学会誌 2021; 9: 89-92. <https://doi.org/10.50950/jasehp.2021-09-14>
6. 小林亮太, 岡本 洋, 山川 宏：特集「物理学と AI」にあたって。人工知能 2018; 33: 391.
7. シリーズ人工知能と物理学, シリーズ開始にあたって。日本物理学会誌 2019; 74: 4.
8. 藤崎弘士, 齋藤大明：特集「機械学習と分子シミュレーション」にあたって。アンサンブル 2019; 21: 6.
9. 藤崎弘士：医科大学における人工知能教育について。日本医科大学基礎科学紀要 2019; 48: 21.
10. 藤崎弘士：生体分子におけるレアイベントの探求。生物物理 2017; 57: 40-41.
11. 藤崎弘士：生体分子におけるパスサーチおよびパスサンプリングについて。日本医科大学基礎科学紀要 2011; 40: 83-98.
12. Zuckerman Daniel M：生体分子の統計力学入門—タンパク質の動きを理解するために—。藤崎弘士, 藤崎百合訳。2014; 共立出版。
13. Fujisaki H, Moritsugu K, Mitsutake A, Suetani H: J Chem Phys 2018; 149: 134112.
14. Fujisaki H, Suetani H, Maragliano L, Mitsutake A: Life 2022; 12: 1188.
15. Moritsugu K, Yamamoto N, Yonezawa Y, Tate S, Fujisaki H, Chem J: Theory Comput 2021; 17: 2522-2529.
16. Mehdi S, Smith Z, Herron L, Zou Z, Tiwary P: arxiv-vanity.com/papers/2306.09111/
17. Odagiri K, Fujisaki H, Takada H, Ogawa R: Biophys. Physicobio 2023; 20: e200023.

(受付：2023 年 7 月 21 日)

(受理：2023 年 8 月 8 日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的の場合、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。

泌尿器 AI 研究の現状

赤塚 純 近藤 幸尋

日本医科大学付属病院泌尿器科

The Current Status of Artificial Intelligence Research in Our Team

Jun Akatsuka and Yukihiro Kondo

Department of Urology, Nippon Medical School

Key words: urology, deep learning, AI, precision medicine

1. 概 略

泌尿器科学は、腎・尿路・副腎・後腹膜・男性生殖器などを対象とした外科学の一領域である。日本医科大学泌尿器科では各分野に対応し、それぞれの臓器における良性から悪性疾患、また機能異常を含めた研究チームが臨床および基礎研究を実践している。その中でも、特に力を入れている分野が医療 AI (Artificial Intelligence) 研究である (Fig. 1)。現在までに日本医科大学泌尿器科では、泌尿器悪性腫瘍を対象として「Doctors-friendly な AI 技術」を用いた研究を進めてきた。「AI のブラックボックス問題解明」への挑戦を通して、AI の解析結果のみならず、AI の判断根拠を医師や患者にわかりやすく届け、医療 AI 研究の発展につながることを目標とした取り組みを進めている。

2. 人工知能 (AI : Artificial Intelligence) について

AI は「人間の知能を模倣するシステムや技術の総称」であり、そのレベルは多岐にわたる。例えば、人間のような自意識を持ち、全般的な認知能力を持つものから、特定のタスクだけを処理する人間の知性の一部を模倣するものまで様々である。これまでに AI 技術を支える「ディープラーニング」は統計的な学習理論やコンピュータの性能向上により発展を遂げてきた。これらディープラーニングを中心とした医療 AI

研究は、主要な研究分野の一つになってきた。

3. 医療 AI 応用

医療 AI とは、機械学習、深層学習、自然言語処理などの AI 技術を医療分野に応用して、医療に関連した様々なタスクを遂行するものである。AI は膨大な医療データを迅速かつ精緻に解析できることから、複雑な疾患のメカニズムを解明することが期待されている。これまでに医療分野における画像解析・分子創薬・オミクス解析など医療 AI 研究は、世界的に進められてきた。さらには AI のデータ解析能力を応用することで、患者の遺伝子プロファイルや疾患特性を考慮して、個別の治療法を提案することや未知なる医学的な知見を発見することが期待されている。現在では、治療の個別化など患者の健康に直結する新たな AI 医療応用が求められており、将来的に医療の質を向上させるような新たな医療 AI 応用の展望が待たれる。

4. 当科における研究

AI 研究や医療応用が進む中、「AI のブラックボックス化」は大きな課題であり、AI の判断根拠を人間が理解すること (説明可能性) への重要性が問われるようになった。われわれの研究チームは、三次元再構築した病理画像データと前立腺 MRI に対して説明可

Correspondence to Jun Akatsuka, Department of Urology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8602, Japan

E-mail: s00-001@nms.ac.jp

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

能な深層学習アルゴリズムを適用し、AIと医師の視点の違いに迫った¹。これら取り組みは、MRIに対するAIの説明可能性に対して、はじめて定量的・医学的評価を行ったものである。AIと医師の視点の違いを認識することは、AI医療応用に向けた重要なプロセスになるだろう。さらには医師の診断情報が付いていない病理画像（1枚あたり100億画素以上）から、前立腺がん再発の予測精度を上げる新たな特徴を提示するアルゴリズムを報告した²³。研究手法は、複数の教師なし深層学習と非階層型クラスタリングを、全包埋・全割した前立腺の病理画像に対して適用したものである。本研究結果は、AIの解析結果と解析根拠を人間が理解することにより、既存の基準を超えた新たな医学知識の獲得につながる可能性を示した。

前立腺がんは病理学的な悪性度によりがんの進行が大きく異なる。そのため、早い段階で非侵襲的に前立腺がんの悪性度を精度高く判別しスクリーニングする技術が求められてきた。前立腺がんの診療では、簡便かつ安全であることから、超音波検査が広く用いられ

てきた。超音波検査は簡便性やリアルタイム性に優れている。一方で、画像自体の質や観察者内および観察者間変動（intra- and inter-observer variability）などの問題を有しており、客観性の高い判断を可能にする技術融合が求められている。深層学習を中心としたAI応用は適用分野を広げ、複数のデータを結合することで、実用化に向けた発展が期待されてきた。マルチモーダル解析の精度向上はこれからのAI研究の重要な課題の一つである。われわれは、前立腺がん疑いの患者を対象として深層学習を組み合わせた解析を行い、高悪性度前立腺がんの判別精度を評価した。自動抽出された超音波画像を用いて、高悪性度がんの判別を行ったところ、超音波画像と臨床データを統合したマルチモーダル解析を行うことで、判別精度をさらに上げることができた⁴⁵。これは臨床的なデータを用いて解析した場合と比べ、有意に高い結果を示していた。マルチモーダルAI解析は、高悪性度前立腺がんの早期発見を通して患者さんの負担を軽減するとともに、超音波画像の新たな可能性を開拓し、医療のさらなる発展に貢献すると期待される。今後、信頼して使用できる医療AIの実用に向けて、さらに研究を進めていきたい。



Fig. 1 日本医科大泌尿器科が推進する医療

5. 今後の展開と研究連携について

諸外国では医療分野におけるAI開発や応用が急速に進んでおり、わが国でもアカデミアと企業が一丸となり取り組むことが必要である。日本医科大学泌尿器科では、日本電気株式会社(NEC)、理化学研究所(理研)、複数の大学病院と共同で、医療分野における電

電子カルテとAI技術を融合し医療ビッグデータを多角的に解析



医療分野におけるAI技術と電子カルテの融合研究を実践する。
 統合的かつ多角的な視点から医療データを解析する新たな取り組みの展開を目指す。
 従来の医療AIシステムでは、単独の検査に対するAI解析が中心であり、
 本プロジェクトでは、複数の検査を同時に解析するマルチモーダルAI技術の発展を目指す。

Fig. 2 研究連携について

子カルテと AI 技術の融合研究を進めている⁶。現在では、医療が高度に専門化する中、医療ビッグデータを多角的に解析する技術が求められている。従来の医療 AI システムは単独の検査データを対象としており、複数の検査データを利用して統合的に判断できないことが課題とされている。われわれはこれまでの研究成果をもとに、NEC 社が有する各種医療データを統合するプラットフォーム技術や、理研が開発した広範囲画像解析や特徴選択技術などを活用したマルチモーダル AI を用いて、日本医科大学をはじめとする複数の大学病院が有する医療データを組み合わせ、各種医療データを多角的に解析する医療 AI システムの実用化を目指している (Fig. 2)。これら医療 AI システムにより、治療計画の最適化や疾患の早期発見やデータの安全な運用が可能となり、治療期間の短縮による医療費の削減や、医療従事者の業務効率化が期待される。

6. 今後について

多様な医療ビッグデータを分析・活用するためには、データサイエンスや AI の知識は欠かすことができなくなってきた。医療分野では多様な医療データを活用すべく、新たな AI 技術の開発と利活用に対する期待は高く、次世代の人材育成をすすめることが重要な課題になっている。最適かつ安全な医療を提供していくためには、保健医療分野において AI 技術の開発や推進ができる人材を育成していく必要があり、AI 医療応用の時代に向けて患者や医療従事者の目線など多方面から議論することが大切である。日本医科大学泌尿器科では、今後も継続的に AI 技術を用いた企業

連携や人材教育を行いながら、泌尿器科学の病態解明や医学の発展に貢献するような取り組みを進めていきたい。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文 献

1. Akatsuka J, Yamamoto Y, Sekine T, et al: Illuminating Clues of Cancer Buried in Prostate MR Image: Deep Learning and Expert Approaches. *Biomolecules* 2019; 9: 673.
2. Yamamoto Y, Tsuzuki T, Akatsuka J, et al: Automated acquisition of explainable knowledge from unannotated histopathology images. *Nat Commun* 2019; 10: 5642.
3. 日本医科大学 : Topics. https://www.nms.ac.jp/college/topics/_11587.html
4. Akatsuka J, Numata Y, Morikawa H, et al: A datadriven ultrasound approach discriminates pathological high grade prostate cancer. *Sci Rep* 2022; 12: 860. 14.
5. 日本医科大学 : Topics. https://www.nms.ac.jp/college/topics/_13938.html
6. 日本医科大学 : Topics. https://www.nms.ac.jp/college/topics/_19084.html

(受付 : 2023 年 7 月 25 日)

(受理 : 2023 年 8 月 8 日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的の場合、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことが出来る。

画像診断 AI への期待

町田 幹

日本医科大学放射線医学

Expectations for AI in Diagnostic Imaging

Tadashi Machida

Department of Radiology, Nippon Medical School

Key words: deep learning, diagnostic imaging, Pharmaceutical Affairs Law, health care fee

はじめに

AI は Artificial Intelligence : 人工知能の略称であり, 近年, 巷には「AI 搭載」家電などが溢れ, 画像や言語の生成系 AI がインターネットやマスコミを賑わせている. 問題点の指摘はあるが「AI であれば何でもできるだろう」類の誤解も生じている. 医療の分野においても多方面にわたり AI 技術を用いた研究や AI 技術の導入が始まっているが, AI 技術の研究・運用にあたり AI について正しい知識を持ち合わせた上で臨むべきである.

本稿では, 本邦における画像診断の現状, Deep Learning (DL) の特徴と, AI 技術の研究・運用・管理について既述する.

本邦における画像診断の現状

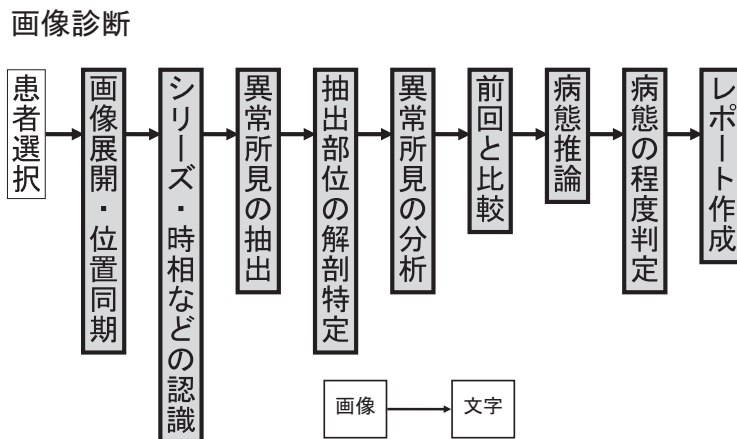
医学分野の知識の doubling time は 1950 年代では 50 年, 1980 年代では 7 年, 2010 年では 3.5 年, 2020 年には 73 日と報告されている¹. 2023 年の現在はさらに短縮されていることが予想される. 画像診断の分野においても撮影・診断機器の進歩とともに, 情報量が増加の一途をたどっている. 例えば, CT の分野では, Single Detector CT から Multiple Detector CT へ, 検出器も 2 列から 4 列/16 列/64 列へ, さらに 256 列や 320 列など Area Detector CT へと変化している.

一方で Dual Energy CT や Photon Counting CT へも発展している. 撮影機器の発達とともに, 検査数の増加, 1 回の検査の中での複数部位撮影や多時相撮影が日常化, さらに, 基本画像スライス厚も, かつては 10 mm スライス厚だったものが現在は 5 mm スライス厚, そして, 1 mm スライス厚への移行も検討され, すでに薄いスライス厚の画像がルーチン化しており検査数も増えている. さらに, 臨床診療科からの 2 次元再構成, 3 次元再構成画像の作成希望も日常化し, 発生画像枚数が著しく増加している. もちろん診療放射線技師の業務の増加も著しい.

さて, 本邦における放射線科医数はどうかであろうか. 2008 年の報告では, CT/MRI 機器 1 台あたりの放射線科医数は 26 カ国平均 3.3 人であるが, その中で日本は極端に少なく, 0.3 人である². そして, 2015 年の報告では, 日本の放射線科専門医数はその時点での専門医数の 2.09 倍必要であり, その人数で画像の解釈に専念できれば, 1 日 37.9 件 (CT26.5 件, MR11.4 件) を常勤の放射線科医 1 人でこなすことができる³. 現在の日本医科大学付属病院放射線科においては年間検査数 CT 約 42,000 件, MRI 約 14,000 件と多くの検査を実施しているが, 放射線科医が少人数でありながらも骨身を削る努力をして画像診断を実施している結果, 画像診断管理加算 3 の算定を死守できている.

このように, 情報量は増加の一途を辿る中, 専門医制度のシーリングの問題もあり放射線科医の増加は見込めない現状がある. 放射線科医が可能な限り画像診

Correspondence to Tadashi Machida, Department of Radiology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8602, Japan
E-mail: zeke@nms.ac.jp
Journal Website (<https://www.nms.ac.jp/sh/jmanms/>)



医用画像診断支援システム



Fig. 1 放射線科医師による画像診断ワークフロー

ワークフローのほぼすべての各ステップがAI技術の支援の対象となりうる。フローの前半部分は画像中心のCADeに相当し、後半部分は文字中心のCADxに相当する。

断にだけ注力するために、多方面からの支援が強く望まれ、AI技術支援にも期待が大きい。幸い、画像診断のワークフローは撮影機器・読影業務ともにコンピュータ機器を使用する点においてDLとの親和性は高い。ワークフローの中で様々なステップにおけるAI研究やAI技術の機器実装も進んできている。

断システムの概念では、病変の検出としてのCADe (Computer-Aided Detection) に一致する。また、後半部分は主に対象が「文字」であり、画像診断としてのCADx (Computer-Aided Diagnosis) に一致する。そして、これらはそれぞれDLの研究・実用化の対象となる。

画像診断のワークフロー

画像診断のワークフローは (1) オーダー医師による画像検査依頼、(2) 診療放射線技師、看護師、放射線科医による画像検査実施、(3) 放射線科医師による画像診断、(4) オーダー医師による診断の流れである。

検査室における検査実施においては、ポジショニングや撮影実施の際にAI技術を導入し得る。ポジショニングでは、天井に設置されたAIカメラで患者の体型を検知、適切な撮影部位に寝台を誘導、適切な撮影プロトコルを提示するAI技術システムが各企業で導入されている。撮影実施においてはAI技術導入による画像の高画質化が研究・実用化されており、低被ばく化にも貢献しているほか、2次元3次元画像再構成においても、AI技術による作成補助が進んでいる。

放射線科医師による画像診断では、各ステップがAI技術による支援の対象となり、研究や実用化も一部で進んでいる (Fig. 1)。画像診断ステップの前半部分は主に対象が「画像」であり、従来の医用画像診

Deep Learning (DL)

人工知能の一部として機械学習 (Machine Learning) が、その一部としてニューラルネットワーク (Neural Network) が、その一部として多層 Neural Network を使用した深層学習 (DL) がある。現在は、AI第3次ブームの真っ只中でありDLが主となるが、AIとDLは決して同義語ではない。

DLは、①元データ (入力データ) を教師データ (出力データ) になるように Deep Neural Network を介して学習させ (学習モデル)、② 学習モデルを用いて、入力データとして実データを用い、出力データとして教師データと同じ結果が出ることを期待する仕組みである (Fig. 2)。画像系が得意/文字系が得意など、様々な種類の Neural Network が開発運用されている。

DLにはいくつかの特徴があり、個々に注意すべきである。以下、特徴を◆で示す。

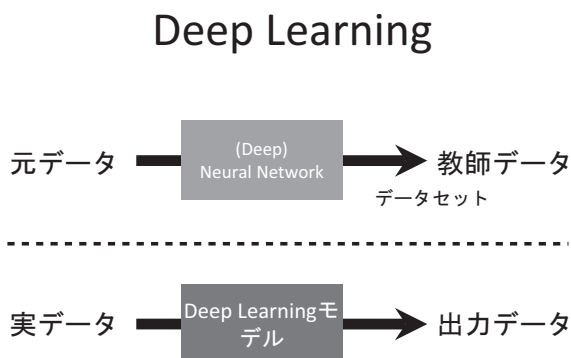


Fig. 2 Deep Learning の概要

入力データである元データを出力データである教師データになるように Deep Neural Network を介して学習させ、その学習モデルを用いて、入力データとして実データを用い、出力データとして教師データと同じ結果が出ることを期待する仕組みである。

DL 研究開発・運用

◆学習プロセスは「ブラックボックス」であり学習プロセスの検証が困難

DL における学習プロセスは「ブラックボックス」であり、学習プロセスの検証が困難であるため、研究テーマとしての目的や目標はシンプルであることが望ましい。最近の一部追跡可能な Neural Network も開発されてもいるが、研究目的に適した Neural Network の使用を検討すべきである。

◆「悪意」「偏り」のない「適切な」「相当数の（数千～数万）」の「ラベル化」した、元データと教師データの、対の「データセット」が必要

対となるデータセットについても問題点が多い。まず、大量のデータセットが必要であり、画像では数千から数万枚が必要と言われている。意図しない偏りが生じる可能性があり、データセットの収集には十分注意が必要である。また、研究目的により収集できるデータセットの数が不十分な場合もあり、その際は自己でデータセットを作成するタイプの Neural Network の使用を検討をせざるを得ない。

医用 AI 技術の研究の場合、扱うデータは個人情報である。データの取り扱いには十分注意が必要で、画像であれば「匿名化」が基本となるが、匿名化しても画像から作成される 3 次元画像などで個人を特定する危険もあり、施設外にデータを持ち出さないことが基本となる。しかし、上記のように、単独の施設では必要なデータセット数を得ることが困難な場合もあ

る。その回避方法の一つとして、Federated Learning (AI 連合学習) という方法がある。従来の DL 研究は、複数の施設のデータを基幹施設に集め、基幹施設で DL 学習を行う方法であるが、Federated Learning では、施設間での個人データのやり取りをせず、個々の施設でその施設のデータを用いて学習を行い、学習したパラメータなどの学習モデルのみ基幹施設や次施設に提供し、学習機能を深める方法である。この方法であればデータを施設外に持ち出す必要がなく、また Federated Learning でも従来と同等の学習効果がある報告もあり、今後この方法が主流となっていくであろう。

教師データには、研究目的として「元」データに対する「教師」データであることを示す必要があり、これを「ラベリング」という。「ラベリング」の内容を理解しているのはその研究者である医師であるが、その情報は守秘義務のある個人情報のため、「ラベリング」は当該医師が行わざるを得ない。しかし、多忙な業務の中、医師がラベリング作業を行うのはかなり困難と言える。最近では自動ラベリング機能の付いた Neural Network も開発されており、必要に応じてそのような Neural Network の使用を検討すべきである。

◆学習モデルを実データに用いる場合はデータセットの元データと同じ条件のデータ以外は使用できない

研究が一段落し、実データに適応する場合も注意が必要である。すなわち、データセットの元データと同じ条件の実データしか適応できない。CT における肺結節検出プログラムを例に説明する。肺結節検出プログラムの添付文書には、DL 学習方法の記載があり、その上でこの学習方法と同じ条件、①成人②5 mm スライス厚③非造影④肺野条件の画像再構成関数⑤肺野が撮影範囲、の画像のみが対象となる。さらに、結節サイズもタイプによるが 3 mm 以上を検出、との記載もある。したがって、肺転移の検索では「造影」CT が主流であるが造影 CT 画像は対象外、かつ 3 mm 未満の微小結節は検出対象外となる。このように、AI 技術を使用する場合はその AI 技術がどのようなものに適応できるのか十分に理解して使用しなくてはならない。

◆学習モデルの結果は 100% の正確さはない

さらに注意すべきことは、AI 技術がもたらす結果は 100% の正確さはない、ということだ。先の添付文書に戻ると、使用上の注意事項として、この AI 技

術を使用してもすべての結節を抽出できるわけではなく、逆に他の構造を結節として抽出してしまうかもしれない、の趣旨が記載されている。コンピュータを使用したものは、計算機のように100%完璧な結果が出ると思い込みがちだが、AI技術においては、必ず人間が再確認する必要がある。

◆研究と実用の違い

AI技術研究においては、ブラックボックス問題を背景に可能な限りシンプルな目標で研究することが推奨される一方で、実用化においては、AI技術はワークフローのごく1段階に組み込まれることになり、(1)事前にAI技術を適応させるもの、適応させないものを区別する、(2)AI技術の適応後に人間が確認する、(3)AI技術を適応させたもの、適応させなかったものの結果を統合する、と業務負担が増えることがあることにも注意が必要である。なお、先の肺結節検出プログラムは、本来肺結節検出→肺結節正常分析→所見文書作成の一連のソフトウェア群の一部であり、単独使用は想定されていない。すなわち、AI技術は、一連のシステムの一部で使用することや、各種のAI技術の連携・統合するAI技術の開発など(AIオーケストレーション)することで業務支援につながることになる。

AI技術の管理

AI技術は「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」による承認や認証が必要である⁴。この法律は「医薬品医療機器等法」「薬機法」とも略され、2014年に薬事法から改正され、医薬品などの製造や販売等に関するルールを定め、保健衛生の向上を図ることを目的としている。したがって、従来の薬剤認可同様、設計開発→非臨床試験→臨床試験→申請→承認の流れとなり、承認・認証の後には、医薬品同様、添付文書のもとに実運用される。また、販売後の調査、さらにシステムのアップデートに際しても新たに申請、承認が必要となる。

すなわち、AI技術も他の医療機器同様、適切に使用しているかどうか、管理が必要である。放射線画像診断補助ソフトウェアに関して日本医学放射線学会では、「人工知能技術を活用した放射線画像診断補助ソフトウェアの臨床使用に関する管理指針」を作成⁵し、人工知能技術を活用した放射線画像診断補助ソフトウェアの臨床使用に関する管理指針に基づいた安全管理・運用管理を行う、画像人工知能安全精度管理につ

いて施設認証を行っている。各施設は安全・精度管理責任者を配置し⁶、(1)臨床使用されている院内の画像診断補助ソフトウェアの把握、(2)画像診断補助ソフトウェアの添付文書の内容の確認と院内での周知、(3)臨床使用を行う範囲の明確化とその周知、(4)臨床使用を行う者に対する安全利用の確認と指導、(5)臨床使用の実態把握および問題点の抽出と改善、(6)定期的な学会への報告を行うことになった。そして、厚労省としても、安全・精度管理責任者がAI技術を用いた多種多様な画像診断支援ソフトを適切に管理することで、その能力を最大限に発揮させることを目的として、2022年度の診療報酬改定において、一定の基準を満たした特定機能病院が算定する「画像診断管理加算3」の算定要件として、AI技術を用いた画像診断支援を行う機器の管理を義務付け、「加算3」の点数を、300点から340点に引き上げた⁷。現在、日本医科大学付属病院は特定機能病院として、安全・精度管理責任者をおき、危機管理を行い「画像診断管理加算3」を取得している。

このような管理体制の動きは放射線画像診断補助ソフトウェア領域のみならず、医療全体に広がっていくものと考えられる。

AI技術研究のチーム体制

医用AI技術研究は医師単独でできるものではない。もちろん医学的な知識としての専門家、専門医が必要なのは言うまでもないが、撮影の専門家である診療放射線技師、DLそのものの運用にあたるデータサイエンティスト、情報セキュリティの専門家、法律や倫理の専門家など、多分野に渡る専門家集団で実施することが望ましい。

おわりに

AI技術は、その長所、短所を十分に理解した上で、研究、運用を行うべきである。放射線科領域では各運用フローの中でAI技術を適用できる余地があり、今後の発展が期待される。一方で、適切な管理も必要であり、厚労省としても管理推進の一環として診療報酬改定でも算定を盛り込み始めている。AI技術研究実用化には様々なステップ、専門領域が必要であり、チームとなって今後取り組んでいき、よりよい医療に結びつけたい。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文 献

1. Densen P: Challenges and opportunities facing medical education. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2011; 122: 48-58.
2. Nakajima Y, Yamada K, Imamura K, Kobayashi K: Radiologist supply and workload: international comparison—Working Group of Japanese College of Radiology—. *Radiat Med* 2008; 26: 455-465.
3. Nisie A, Kakihara D, Nojo T, et al.: Current radiologist workload and the shortages in Japan: how many full-time radiologists are required? *Jpn J Radiol* 2015; 33: 266-272.
4. 厚生労働省医薬・生活衛生局：AI技術を利用した医療機器の医薬品医療機器法上の取扱にかかるとの対応について。 <https://www.mhlw.go.jp/content/10601000/000361102.pdf>
5. 日本医学放射線学会：人工知能技術を活用した放射線画像診断補助ソフトウェアの臨床使用に関する管理指針。 <http://www.radiology.jp/content/files/20220107.pdf>
6. 日本医学放射線学会：2022-2023年度画像診断管理認証施設一覧。 http://www.radiology.jp/member_info/ninsyoushisetsu2022_2023.html
7. 日本放射線科専門医会・医会：令和4年放射線関連改定ポイント。 https://jcr.or.jp/site/wp-content/uploads/2022/07/20220704_1-1.pdf

(受付：2023年6月30日)

(受理：2023年7月11日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示4.0国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的の場合、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。

— 会 報 —

定例（1月）医学会役員会議事録

日 時：令和5年1月27日（金）午後4時～午後4時40分

場 所：演習室3（大学院棟 地下2階）

出席者：弦間会長

森田副会長

岩切、小川、柿沼、清家、杉谷、石井、吉田 各理事

厚川、西山、土肥、根本、佐々木、松田、中江 各会務幹事

大島、桑名、永山、松谷、廣瀬、長田、岡島、

吉田 各施設幹事

委任出席者：安武副会長

近藤、木村、横堀 各理事

福原、中村 各監事

肥後、吉川、藤崎、足立、松本、橋口 各施設幹事

陪席者：丹羽税理士（丹羽会計事務所）

事務局：小久保、下原、相山

議事に先立ち、会長から議事録署名人として、柿沼学術担当理事および石井会計担当理事の指名があった。また、陪席者について諮られ、承認された。

I. 確認事項

1. 定例（10月）医学会役員会議事録の確認

弦間会長から、標記役員会議事録（令和4年10月28日開催）について内容の説明があり、承認された。

2. 医学会理事会（持回り審議）記録の確認

弦間会長から、優秀論文賞に関する標記持回り理事会記録（審議日令和5年1月20日）について説明があり、承認された。

3. 医学会役員会（持回り審議）記録の確認

弦間会長から、定年退職教授記念講演会における祝賀会に関する標記持回り役員会記録（審議日令和4年12月26日）について説明があり、承認された。

II. 報告事項

1. 庶務関連報告（岩切庶務担当理事）

(1) 会員数について

	A 会員	B 会員	名誉会員	学生会員	賛助会員	合計
令和5年 1月24日現在	1,914名	134名	78名	16名	3社	2,145名
令和4年 1月24日現在	1,807名	140名	75名	8名	3社	2,033名

(2) 令和4年度における年会費滞納者について

令和5年1月24日現在の年会費滞納者は436名（前年度同時期381名）である。年会費未納者に対し2月上旬に振込用紙を発送予定である。

(3) 医学会年会費3年分滞納者について

年会費滞納者の内、3年分（令和2年度分～令和4年度分）滞納者は、令和5年1月24日現在、A会員62名、B会員3名である。

(4) 第31回公開「シンポジウム」への医師会助成金について

令和4年6月18日（土）に開催した第31回公開「シンポジウム」について、共催の日本医科大学医師会に助成金を申請し、令和4年10月20日（木）に経費の約6分の1（8万円）の助成金を受

領した。

(5) 令和4年度定年退職教授記念講演会・記念祝賀会について

先の持回り役員会（令和4年12月26日審議）の報告のとおり、新型コロナウイルス感染拡大防止対策のため、飲食を伴う祝賀会は行わず、講演終了後に祝賀行事（祝辞、記念品贈呈および謝辞、花束贈呈）のみ行うこととした。

2. 学術関連報告（小川学術担当理事）

(1) 令和4年度定年退職教授記念講演会冊子の作成について

標記について、対象教授6名（崎村教授、吾妻教授、久保田教授、中井教授、高橋大学院教授、森田大学院教授）の当日配布用の記念冊子（略歴、講演要旨、業績等）を現在、作成中である。

3. 会計関連報告（石井会計担当理事）

(1) 令和4年度年会費について

令和5年1月24日現在の会費納入額は8,649,000円・1,608名（前年令和4年1月24日現在の会費納入額は8,042,220円・1,565名）である。

4. 編集関連報告（吉田編集担当理事）

(1) 令和4年度優秀論文賞受賞者について

今回の役員会「確認事項2. 医学会理事会（持回り審議）」の報告通り、令和4年12月8日（木）にWebにて行った優秀論文賞選考委員会による厳正かつ慎重な選考の後、医学会理事会を経て、被引用数の高かった順でOriginal論文1件に授与することとした。

(2) JNMSの2022年インパクトファクターについて

2022年（2023年6月公開予定）のJournal of Nippon Medical School（以下、JNMS）のインパクトファクター（IF）について、本年1月5日時点の事務局による試算は、0.893（＝125/140）（前年同時期：1.009）である。2022年から掲載論文数が増加し、140（＝2020年掲載分：56篇＋2021年掲載分：84篇）となったため、IFを維持・向上させるためには、さらに多くの引用が必要となる。役員の方先生方においても論文を執筆の際は、JNMSの論文からの積極的な引用の協力要請があった。

(3) JNMSへのReview執筆依頼状況について

引用数を増やす方策の一環として、引き続きJNMSへのReview執筆依頼をしている。2020年8月から本日1月27日（金）までに50名に執筆依頼し、うち19名が掲載済、5名がアクセプト済、4名が投稿受付済で査読中である。

(4) JNMSに掲載した論文の本学所属著者による引用数について

2020年・2021年にJNMSに掲載した論文を本学所属著者が2022年に引用した数は合計19件（2023年1月20日時点）、全体被引用数125件の内、約15.2%である。

(5) JNMSの外部査読者に対する謝礼について

現在、学内において対象論文の専門領域の査読者を選定することが困難な場合、学外者へ依頼し、謝礼に図書カードを進呈している。近年、海外の研究者への依頼も増えているが、海外の査読者には図書カードを贈呈できないこともあり、謝

札について見直すこととした。審議の結果、2022年度分から、学外者への謝礼贈呈を取りやめ、今後はさらに海外の研究者への査読依頼も増やしていくこととした。

- (6) 日医大医会誌における特集・シリーズ企画について

日本医科大学医学会雑誌（以下、日医大医会誌）第17巻第4号（令和3年10月号）から掲載を開始したゲストエディター立案による特集・シリーズ企画について、これまでに5回掲載した。なお今後、第19巻第4号（令和5年12月号）までの掲載予定が決まっている。

- (7) 編集状況について（令和5年1月13日時点）

JNMSは第89巻第1号（2022年2月発行）から第91巻第6号（2024年12月発行予定）まで、日医大医会誌は第18巻第1号（令和4年2月発行）から第19巻第2号（令和5年4月発行予定）までの発行および編集状況について報告した。

- (8) 機関誌への広告掲載実績および掲載予定について（令和5年1月24日時点）

標記の広告掲載について、日医大医会誌第18巻第2号（令和4年4月発行）から第20巻第1号（令和6年2月発行予定）までの掲載状況を報告した。

III. 審議事項

1. 医学会会員における退会の取り扱いについて

岩切庶務担当理事から、標記について令和5年1月20日（金）までの退会届提出者合計22名について説明があり、審議の結果、退会が承認された。

また、前回10月の役員会にて、退会を希望していた現在本学に所属中の1名については、大学院教授から会員継続を働きかけ、会員継続となった。

2. 令和4年度定年退職教授記念講演会について

岩切庶務担当理事から、令和5年3月4日（土）に東京ガーデンパレスにて開催予定の標記講演会について、各教授の演題および座長が決まったことが報告された。飲食を伴う祝賀会は行わず、祝賀行事のみ行うことによる次第案について諮られ、審議の結果、提案通り承認された。

3. 令和5年度日本医科大学医学会第32回公開「シンポジウム」について

小川学術担当理事から、令和5年6月3日（土）に開催の標記の第32回公開「シンポジウム」について、前回10月の定例役員会にて、主題は「医療におけるAIの可能性」に決まり、現在、学術担当理事で、講演候補者を検討中である。資料に基づき「レクチャー的なもの」を2演題、「臨床系のもの」を3演題との企画案の説明があった。提案にそって学術担当理事以外からも演者候補者の推薦があり、今後、学術担当理事により企画案を決めていくことが承認された。

4. 令和5年度第91回医学会総会・学術集会「特別講演」について

小川学術担当理事から、標記医学会総会・学術集会の「特別講演」について、前回10月の定例役員会にて、例年にならって連携協定校から早稲田大学の先生に依頼することとしているが、まだ決定していない旨の説明があった。

学術担当理事により、前審議事項の第32回公開「シ

ンポジウム」の講演のテーマともからめて、候補者の選択をしていくことが承認された。

5. JNMSのDOAJへの収載申請に向けた投稿規程改訂に伴う医学会入会条件について

吉田編集担当理事から、編集委員会において、JNMSをDOAJ (Directory of Open Access Journals) に登録することとなり、申請に合わせた投稿規程に作り替えることとしたとの報告があった。その一環として、JNMSへの投稿における医学会入会方法について再検討し、役員会に諮ることとなったとの説明があった。

役員会にて審議の結果、投稿規程以外の規程（医学会会則および細則ほか）の見直しも含め、編集担当理事と庶務担当理事を中心に変更事項を検討することが承認された。

6. 日医大医会誌（和文誌）に掲載した論文の機関リポジトリへの登録について

吉田編集担当理事から、令和4年4月の役員会において、英文誌JNMSに掲載された論文のうち、日本医科大学関係者のものについて、医学会が代行で機関リポジトリへの登録をすることとなり、早速登録を始めているとの報告があった。

JNMSに続き、日医大医会誌についても同様に医学会事務局が代行で行うことについて諮った。審議の結果、JNMSと同様に日医大医会誌もCCライセンスが付与された令和2年4月号以降の論文について、医学会事務局が代行で機関リポジトリへ登録することが承認された。

IV. その他

1. 弦間会長から、本年度末にて定年退職される森田副会長に感謝の言葉が述べられた。続いて森田副会長から挨拶があった。

2. 次回医学会役員会は、令和5年4月14日（金）に開催予定とした。

以上

議事録署名 柿 沼 由 彦 ㊟

議事録署名 石 井 庸 介 ㊟

定例（4月）医学会役員会議事録

日 時：令和5年4月14日（金）午後4時～午後4時28分
場 所：演習室3（大学院棟 地下2階）

出席者：弦間会長

安武副会長

岩切、木村、柿沼、清家、杉谷、吉田、横堀 各理事

中村監事

西山、土肥、根本、佐々木、松田 各会務幹事
大島、吉川、永山、松谷、橋口、内藤 各施設幹事

委任出席者：桑名副会長

近藤、小川、石井 各理事

福原監事

厚川, 中江 各会務幹事

肥後, 藤崎, 松延, 坂本, 廣瀬, 長田, 岡島,
松本 各施設幹事

陪席者: 丹羽税理士 (丹羽会計事務所)

事務局: 枝, 小久保, 相山, 中井

議事に先立ち, 岩切庶務担当理事から, 令和5年度からの役員の変更について説明があり, 今回初出席者の自己紹介が行われた。

弦間会長から議事録署名人として, 清家学術担当理事および吉田編集担当理事の指名があった。また, 陪席者について諮られ, 承認された。

I. 確認事項

1. 定例 (1月) 医学会役員会議事録の確認

弦間会長から, 標記役員会議事録 (令和5年1月27日開催) について内容の説明があり, 承認された。

II. 報告事項

1. 庶務関連報告 (木村庶務担当理事)

(1) 会員数について

	A 会員	B 会員	名誉会員	学生会員	賛助会員	合計
令和5年 3月31日現在	1,910名	134名	76名	11名	4社	2,135名
令和4年 3月31日現在	1,822名	140名	73名	8名	3社	2,046名

(2) 令和4年度における年会費滞納者について

令和5年3月31日現在の年会費滞納者は371名 (3年間滞納者63名含む) である。会費滞納者に対しては, 令和5年度の会費と合わせて請求する予定である。

(3) 3年間年会費滞納者について

標記について, 令和5年3月31日現在の3年分 (令和2年度~令和4年度) 会費滞納者は63名である。

(4) 令和5年度年会費の集金について

例年同様に4月に預金口座自動振替, 日本医科大学の教職員については, 6月に給与天引き, その後, 未入金の場合については, 振込用紙を郵送する予定である。

(5) 令和4年度定年退職教授記念講演会について

本年3月末日で定年退職された教授6名の記念講演会を3月4日 (土), 東京ガーデンパレスにて開催した。なお, 今回も昨年度と同様に新型コロナウイルス感染拡大防止対策のため, 例年実施していた飲食を伴う記念祝賀会を行わず, 講演会の一環として, 全講演終了後に祝賀行事 (祝辞, 記念品の贈呈および謝辞, 花束贈呈) のみ実施した。

当日の講演はオンデマンド化し, 定年退職教授にはその映像のDVDを記念品として贈呈する予定である。

2. 学術関連報告 (清家学術担当理事)

(1) 令和5年度医学会奨学賞募集について

標記について, 日本医科大学医学会雑誌 (以下, 日医大医会誌) 第19巻第1号 (2月号) および医学会ホームページに募集要項等を掲載し, 令和5年度奨学賞の候補者を公募中である。締め切り日は, 5月15日 (月) である。

3. 会計関連報告 (代行: 横堀編集担当理事)

(1) 令和4年度医学会年会費について

令和5年3月31日現在の年会費納入額は9,222,220円 (令和4年度会費収入予算額9,000,000円) である。

4. 編集関連報告 (吉田編集担当理事)

(1) JNMS/日医大医会誌編集委員会について

去る令和5年3月31日 (金)~4月7日 (金) にメール審議にて, JNMS/日医大医会誌編集委員会を行った。

(2) JNMSへのReview執筆依頼について

被引用数を増やす方策の一環として, 引き続きJournal of Nippon Medical School (以下, JNMS) へのReview執筆依頼をしている。本日4月14日 (金) までに52名に依頼し, うち22名が掲載済, 5名がアクセプト済, 4名が投稿受付済で査読中である。

なお, 今年度の新任教授にもReviewの執筆依頼を行う予定である。

(3) 日医大医会誌における特集・シリーズ企画について

日医大医会誌第17巻第4号 (令和3年10月号) から新規に掲載を始めたゲストエディター立案の特集・シリーズ企画に関して, これまでの6回の掲載状況と今後の企画案について報告があった。

(4) JNMSおよび日医大医会誌の編集状況について (令和5年4月14日時点)

JNMSは第88巻第1号 (2021年2月発行) から第90巻第6号 (2023年12月発行予定) まで, 日医大医会誌は第17巻第1号 (令和3年2月発行) から第18巻第3号 (令和4年8月発行予定) までの発行状況および編集状況について報告があった。

(5) 機関誌への広告掲載について

標記の広告掲載について, 令和5年4月14日時点での日医大医会誌第18巻第2号 (令和4年4月発行) から第20巻第1号 (令和6年2月発行予定) までの掲載状況および掲載予定について報告があった。

III. 審議事項

1. 医学会会員における退会の取り扱いについて

木村庶務担当理事から, 標記について, 令和5年3月31日 (金) までの退会届提出者および逝去者 (合計33名) の説明があり, 審議の結果, 退会が承認された。

2. 令和5年度医学会第32回公開「シンポジウム」について

清家学術担当理事から, 標記シンポジウムについて, 前回までの役員会で承認されたように「医療におけるAIの可能性」を主題として6月3日 (土) に開催を予定し, 企画を検討していることが報告された。講演は5題として, 学内からの演者4名, 学外からの演者1名に講演を依頼し, 講演時間は30分ずつ, レクチャー的なものと臨床での現況等とする企画案 (個々の演題名等については演者と調整中) 等が諮られた。

審議の結果, 企画案通り進めることが承認された。

なお、共催に『多様な新ニーズに対応する「がん専門医療人材（がんプロフェッショナル）養成プラン』（通称：がんプロ）関連を入れることについても諮られ、承認された。

3. 令和5年度第91回医学会総会・学術集会について
清家学術担当理事から、標記の医学会総会・学術集会について、令和4年10月の役員会にて承認されたように、9月2日（土）午前9時（予定）から、昨年同様に、教育棟2階講堂および医学会ホームページによる開催とすることが確認された。
それに基づき下記の報告および提案事項が諮られ、審議の結果、承認された。
 - (1) 「一般演題」の募集要項について
昨年度同様の募集要項（案）に今回の役員会での承認事項等を盛り込んで、今年度用の募集要項を作成することとした。
 - (2) 「一般演題」の発表方法について
基本的には、昨年同様に医学会ホームページ上によるWeb展示とし、PDF化したPowerPointでの発表またはmp4による動画での発表を選択できるようにすることとした。
また、「一般演題」から20～30演題を選び、当日会場でのポスター発表を検討することとした。演題の選択に関しては、学術担当理事を中心に進めることとした。
 - (3) 「一般演題」の申し込み用紙について
昨年同様の「一般演題」の申込用紙について諮り、企画案通りとした。
なお、「優秀演題賞」についても同申込用紙にて応募の有無を明示することとし、応募演題の中から学術担当理事を中心に受賞者を選択することとした。
 - (4) 「特別講演」の演者について
本年6月の公開「シンポジウム」に引き続き、AI関連をテーマに早稲田大学データ科学センター所長に講演を依頼することとした。

IV. その他

1. 令和5年度医学会年間予定について
岩切庶務担当理事から、令和5年度の役員会開催日や主催行事の日程等について、説明があった。なお、今年度末には2年に一度の医学会理事選挙があるため、実施に向けて役員への協力要請があった。
2. 次回医学会役員会は、令和5年7月14日（金）に開催予定である。

以上

議事録署名 清 家 正 博 ㊞

議事録署名 吉 田 寛 ㊞

日医大医会誌論文投稿チェック表

種目： 投稿日： 年 月 日
著者名： 所属：
表題：

- 1. 日本医科大学医学会会員（共著者含む）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、個人情報保護法に準拠している。
- 4. 投稿論文が人間または動物を被験者として研究を記述している場合は、倫理審査委員会の承認を得ている証明および研究対象者からインフォームドコンセントが得られている。
- 5. 投稿論文は、下記の規定どおりである。

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	文字数に含む
話題	2,200字以内		

- 6. 原稿（文献も含む）にページを記載している。
- 7. 体裁が次の順に構成されている。
①表題 ②Title・著者名・所属（和文・英文） ③Abstract（英文） ④Key Words（英語） 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
- 8. Abstractはネイティブチェックを受けている。
- 9. Abstractはdouble spaceで400語以内である。
- 10. 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。
- 11. 文献の記載が正しくされている。（投稿規程記載見本参照）
- 12. 文献の引用が本文中順番に引用されている。
- 13. (1) 表・図は英文（推奨）で作成されている。
(2) 表・図および写真は各1枚ずつにされている。
(3) 表・図および写真の数は規定内である。
(4) 表・図を電子媒体で作成する場合は、300dpi以上で作成されている。
(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) 写真は鮮明である。
- 14. 誓約書・著作権委譲書がある。
- 15. 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

(更新日：令和2年4月15日)

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、下記の論文に使用されている表・図等は、未公開のものです。

採用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。また、下記のオープン・アクセス・ポリシーに同意いたします。

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。

【オープン・アクセス・ポリシー】

日本医科大学医学会雑誌は、第16巻第2号（令和2年4月）以降に掲載するすべての論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示4.0国際（CC BY NC ND）ライセンス（<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>）を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的の場合、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。営利使用または改変を行う場合は、編集主幹による利用許諾を要する。また、第16巻第2号（令和2年4月）以前に掲載された論文についても同様に利用許諾を要する。

論文名

署名

氏名

日付

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（全共著者を含む）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. 日本医科大学医学会雑誌、第16巻第2号（令和2年4月）以降に掲載するすべての論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示4.0国際（CC BY NC ND）ライセンス（<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>）を採用した。すべての論文の著作権については、論文が採用された場合、日本医科大学医学会に委譲されるが、ライセンス採用後も日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的の場合、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。営利使用または改変を行う場合は、編集主幹による利用許諾を要する。また、第16巻第2号（令和2年4月）以前に掲載された論文についても同様に利用許諾を要する。
4. 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」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。
5. 投稿時点で施行されている個人情報保護法を遵守したものであること。
 なお、臨床研究を投稿する場合は、研究対象者を特定できる文面・写真を掲載しないことおよび人権を損なうことのないように配慮し、研究対象者からインフォームドコンセントが得られていること。
 また、動物実験の場合は、動物の維持・管理や実験操作に伴う疼痛の緩和に配慮したことを明記すること。
6. 法的あるいは倫理的に審査が必要とされている研究については、倫理審査委員会の承認を得ていることを証明する書類を提出または承認番号を明記する。
7. 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、(6) CPC・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	文字数に含む
話題	2,200字以内	—	—

*ただし、図・表・写真に関しては、1点400字に相当。

8. 論文の投稿は、電子投稿システム「ScholarOne Manuscripts」で行う。
 投稿ウェブサイト：
<https://mc.manuscriptcentral.com/manms>
 *事前にアカウント登録が必要。
9. 所定の「論文投稿チェック表」・「誓約書・著作権委譲書」・「利益相反（COI）自己申告書」（全共著者を含む）を添付する。
 なお、論文内に利益相反の状態（利益相反が無い場合もその旨）を明記する。
10. ネイティブではない著者が執筆した英文抄録については、事前にネイティブの者の校正を受けること。
11. 原稿の構成は、(1) 表紙、(2) 抄録、(3) Keywords（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。
12. 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、e-mail address）。以上を全て和文と英文で提出する。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“NLM Catalog: Journals referenced in the NCBI Databases”による。
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>
 i. 雑誌の記載例
 松谷 毅、藤田逸郎、金沢義一ほか：残胃癌に対する腹腔鏡補助下残胃全摘術。
 日医大医会誌 2014；10：178-181。
 Yokota H: Cerebral endothelial damage after severe head injury. J Nippon Med Sch. 2007; 74: 332-337.
 ii. 単行書の記載例
 横田裕行：救急医療における終末期医療。第10巻救急医療（シリーズ生命倫理学）。有賀 誠，手嶋

豊編. 2012; pp 79-100, 丸善出版 東京.
Ogawa R: Diagnosis, Assessment, and Classification of Scar Contractures. In Color Atlas of Burn Reconstructive Surgery (Hyakusoku H, Orgill DP, Téot L, Pribaz JJ, Ogawa R, eds), 2010; pp 44-60, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin.

iii. オンラインジャーナルの記載例

Yoshida H, Tani N, Yoshioka M, et al.: The current status of laparoscopic hepatectomy. J Nippon Med Sch. 2019 Aug 15; 86: 201-206 https://doi.org/10.1272/jnms.JNMS.2019_86-411

iv. Web サイトの記載例

National Comprehensive Cancer Network: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Non-Small Cell Lung Cancer Ver. 2; 2018. https://www2.tri-kobe.org/nccn/guideline/lung/english/non_small.pdf

v. データベースの記載例

U.S National Institutes of Health. SEER Summary Staging Manual-2000. <http://seer.cancer.gov/tools/ssm/> Accessed Jan 26 2015.

(3) 図・表, 写真:

表題, 説明を含め英文 (推奨) 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, 図には図題を付ける. 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図・表・写真の下に簡単に記載することが望ましい.

(4) 見出し符号:

見出し符号を付ける場合は 1, (1), 1), i, (i),

i) を基本順位とする. ただし, 緒言, 結論には見出し符号は付けない.

(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.

13. 論文の採否は, 編集委員会が決定する.

14. 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)

15. 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.

16. 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.

17. 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.

18. 投稿に関する問い合わせ・連絡先

〒113-8602 東京都文京区千駄木 1 丁目 1 番 5 号

日本医科大学医学会事務局内

日医大医会誌編集委員会

電話: 03-3822-2131 (内線 5111)

FAX: 03-5814-6765

E-mail: jmanms@nms.ac.jp

(令和 2 年 10 月 15 日)