

宮城県立がんセンター年報

第 2 号

(平成 6 年度)

宮城県立がんセンター



序

宮城県立がんセンター年報第2号ができあがりましたので、お届けいたします。

前報でも触れたことでありますが、宮城県立がんセンターはこれまでの宮城県立成人病センターが、本県におけるがん制圧拠点施設の必要性から全面的に改組・改築されて、平成5年4月から新しく発足いたしました。

当センターはがんセンターとしての機能が充分に発揮できるように、総務局、病院、研究所が緊密な連携を取り合いながら運営を進めております。病院における診療科には内科（循環器科を含む）、呼吸器科（外科を含む）、放射線科、外科（消化器外科等）、脳神経外科、耳鼻咽喉科、泌尿器科、婦人科、眼科、整形外科、麻酔科があり、研究所には免疫学部門、病理学部門、薬物療法学部門、生化学部門が開設されて臨床応用を指向した基礎的研究が展開されていますが、近く疫学部門、人文科学部門の開設も予定されております。

当センターでは情報収集の効率化などセンターの機能強化を図るため、トータルオーダリングシステムが導入されています。開設初年度は不慣れなため大変な苦勞がありましたが、一年間の経験で運用も円滑になり、医療体制も少しずつ整備されて、未だいろいろと課題を抱えながらもがんセンターとしての基盤が固まりつつあります。

医療の実を高めるために基本的に重要なことは、進歩しつつある医の科学と医の倫理をどのように調和させるかにあると考えます。この基本に基づき未だ発展途上にあるセンターを一步一步前進させ、がん患者の負託に応えるよう職員一同努力しているところであります。今後とも一層のご指導、ご鞭撻の程をお願い申し上げます。

本年報は平成6年4月1日から同7年3月31日までの資料をまとめたものでありますが、ご高覧の上、ご批判いただきますれば幸いに存じます。

平成7年9月

宮城県立がんセンター

総 長 涌 井 昭

目 次

序

総 括 編

第1章	がんセンターの概況	1
1.	現 況	1
2.	病院の沿革	2
3.	施設・設備	4
(1)	土地・建物	4
(2)	主要備品	6
4.	組織・機構	9
5.	職種別・組織別職員数	10
6.	経理状況	11
第2章	がんセンター内活動状況	12
1.	会議及び各種委員会	12
2.	各種委員会報告	13
第3章	研究所の活動状況	25
1.	研究所会議	25
2.	動物実験施設	25
3.	R I 研究施設	25
4.	がんセンターセミナー	26

統 計 編

第1章	医療統計	27
1.	内視鏡検査件数	27
2.	部位別手術件数	28
3.	検査延件数	29
4.	画像診断・放射線治療件数	30
5.	患者食数と材料費	31
6.	栄養指導状況	31
7.	血液使用状況	31
8.	医薬品購入状況	32
9.	処方箋統計	33

第2章	患者統計	35
1.	登録患者の市町村別分布状況	35
2.	登録患者数の状況	37
(1)	患者数	37
(2)	外来患者数	37
(3)	入院患者数	37
3.	登録患者の主要病類・性・住所地別状況	38
4.	登録患者の主要病類・性・年齢別状況	39
5.	新患患者悪性新生物数	40
6.	癌登録患者部位別・男女別総数	42
7.	がん患者追跡調査年次別実測生存率表（全がん）	44

研究編

第1章	学会発表	45
第2章	論文発表	52
第3章	著書	57
第4章	講演	58
第5章	論文別刷集	60

職員名簿	295
------	-----

總 括 編

第1章 がんセンターの概況

1. 現況

(平成7年3月31日現在)

項 目	内 容
名 称	宮城県立がんセンター
所 在 地	宮城県名取市愛島塩手字野田山47-1 (〒981-12) (TEL 022-384-3151 FAX 022-381-1168)
開 設 者	宮城県知事 浅野 史郎
管 理 者	総 長 涌 井 昭
開 設 年 月 日	昭和42年4月1日
病 床 数	358床 (一般病床344床)
特 色	本県におけるがんの制圧拠点として、がんに関する専門的かつ高度な診療機能を確保するとともに、臨床研究を中心とする研究所を併設し、研究機能の充実を図る。
診 療 科 名	内科、呼吸器科、外科、整形外科、脳神経外科、泌尿器科、婦人科、眼科、耳鼻咽喉科、放射線科、麻酔科
指 定 医 療	健康保険法による保険医療機関 (42. 4. 1)、国民健康保険法による療養取扱機関 (42. 4. 1)、生活保護法による医療機関 (42. 4. 1)、結核予防法による医療機関 (42. 8. 1)
診 療 点 数 表	甲表採用
入 院 サ ー ビ ス	新看護 (2.5 : 1)、寝具 (病衣貸与)、入院時食事療養 (I)
臨 床 実 習 指 定	宮城県高等看護学校、宮城県立名取病院附属准看護学校、宮城県総合衛生学院
環 境	名取駅の西方約2 km、小高い丘の上に位置し、周囲は田園と緑に囲まれた自然環境に恵まれたところである。
診 療 圏	県内一円 (仙台市14.6%、県南地区70.5%、県北地区5.9%、県外9.0%)
施 設 の 状 況	敷地の面積 69,289.72㎡ 建物延面積 29,413.87㎡
医 療 機 器	コンピューター断層撮影装置 (CT)、リニアック、ガンマカメラ、MRI、術中ICU用超音波診断装置、ジャイロ式X線テレビ、超音波診断装置、放射線画像処理装置、自動血球計数器、血液像自動分類装置外
職 員 数	職員 289人 非常勤 3人
交 通 機 関	① JR東日本…東北本線名取駅下車、仙台市営バス (名取駅前、名取市農協前、大手町の各停留所を利用) またはタクシーを利用 ② 仙台市営バス利用…名取駅前から「がんセンター」行を利用 (所要時間約10分) ③ 高速道路…仙台南インターより県道仙台岩沼線を経て約20分

2. 病院の沿革

年 月 日	事 項
昭和 35.12. 3	宮城県経済長期計画に成人病対策の一環として成人病センターの建設が計画された。
36. 8. 1	県経済振興審議会に成人病センターの建設を諮問
38. 5.18	成人病センター建設促進世話人、同専門調査員を委嘱
39. 6.23	県経済振興審議会より「成人病センター設立基本構想」答申
39. 7.13	成人病センター敷地を名取市野田山地内に内定、買収を宮城県開発公社に依頼し取得
40. 3.17	建設敷地造成工事完了
40. 4.12	成人病センター建設設計完了
40. 7.24	成人病センター起工式、着工
41.11. 1	成人病センター準備事務局設置（昭和41年宮城県告示第264号）
41.12. 1	病院建設竣工
42. 4. 1	宮城県立成人病センター開設（昭和41年宮城県条例第38号） 診療科 内科、外科、婦人科、放射線科、眼科、耳鼻咽喉科 病床数 50床 初代院長 医学博士 黒川 利雄 就任
〃	保険医療機関の指定
〃	国民健康保険療養取扱機関の指定
〃	生活保護法による医療機関の指定（宮城県指令第8420号）
〃	診療報酬点数表 甲表採用
42. 4. 5	診療業務開始
42. 6. 1	基準看護 1 類、基準給食、基準寝具実施承認（宮城県指令第9960号）
42. 6.16	第 2 代院長 医学博士 武藤 完雄 就任
42. 8. 1	結核予防法による医療機関の指定（宮城県指令第13281号）
43. 4. 1	看護婦宿舎、医師住宅新築
44. 6.30	東病棟新築（50棟）
44.10. 1	病床変更（50床→100床）
45. 3.25	放射線特殊診療棟新築
45. 9. 7	西病棟（100床）、管理棟新築
〃	看護婦宿舎新築（北棟）
45.10. 1	病床変更（100床→200床）
47. 6. 1	基準看護変更承認（1 類看護→特類看護）（宮城県指令第2502号）
47. 6.21	第 3 代院長 宮城県衛生部長事務取扱 茂庭 秀高 就任
47. 8.16	第 4 代院長 医学博士 二階堂 昇 就任
48. 1. 1	診療科 循環器科、呼吸器科増設

年 月 日	事 項
49.10. 1	基準看護変更承認（特類看護→特 2 類看護）（宮城県指令第9708号）
55. 3.30	新リニアック棟新設
56. 4. 1	第 5 代院長 医学博士 庄司 忠實 就任
56. 8. 1	病室の内、特別室使用料廃止
56. 9. 1	重症者の看護及び重症者の収容の基準実施承認（ 9 床）（宮城県指令第4337号）
56.12.10	カルテ保管棟新設
57. 3. 1	重症者の看護及び重症者の収容の基準実施追加承認（ 5 床）（宮城県指令第12630号）
58. 3.15	コンピューターの断層撮影棟新設
62.10. 5	成人病センター整備懇談会設置
62.12. 7	成人病センター整備懇談会より知事に対し、「宮城県立成人病センターの整備に関する意見」具申
63. 5.30	成人病センター整備専門委員会設置
63.12. 1	成人病センター整備専門委員会より知事に対し「がんセンターの整備に関する意見」具申
平成 元. ～	県立がんセンター（仮称）整備事業、実施計画、造成設計、造成工事を施工
2.12.	県立がんセンター（仮称）建設工事着工
4.12.25	県立がんセンター（仮称）建設工事竣工
5. 4. 1	県立がんセンターと名称変更し、研究所を新設。総長 涌井 昭 就任 診療科 循環器科を内科に吸収、整形外科、脳神経外科、泌尿器科、麻酔科を増設
5. 4.30	新センターに移転（200床→308床）
5. 5.10	外来診療業務開始

3. 施設・設備

(1) 土地・建物

敷地面積 69,289.72㎡
建築延面積 29,413.87㎡

(単位：㎡)

区 分	面 積	区 分	面 積
地 下 1 階	2,921.69	3 階	2,387.42
調 理 部 門	550.36	東 病 棟 部 門	1,042.91
物 品 管 理 部 門	439.82	共 用	301.60
薬 剤 部 門	142.39	西 病 棟 部 門	1,042.91
解 剖 部 門	198.60	4 階	2,387.42
管 理 部 門	758.78	東 病 棟 部 門	1,042.91
共 用	831.74	共 用	301.60
1 階	6,159.12	西 病 棟 部 門	1,042.91
管 理 部 門	727.56	5 階	2,387.42
医 事 部 門	363.48	東 病 棟 部 門	1,042.91
薬 剤 部 門	358.69	共 用	301.60
放 射 線 診 断 部 門	1,483.02	西 病 棟 部 門	1,042.91
生 理 検 査 部 門	162.77	6 階	1,661.99
臨 床 検 査 部 門	72.78	病 棟 部 門	1,661.99
内 視 鏡 部 門	239.94	7 階	743.53
看 護 部 門	31.12	管 理 部 門	743.53
共 用	1,683.56	塔 屋	183.18
外 来 診 療 部 門	1,036.20	管 理 部 門	183.18
2 階	4,654.21		
事 務 局 部 門	526.81		
医 局 部 門	462.81		
看 護 部 門	103.06		
臨 床 検 査 部 門	646.17		
手 術 部 門	1,091.48		
R I 病 棟 部 門	118.26		
H C U 部 門	269.38		
共 用	1,436.24	小 計	23,485.98

(単位： m^2)

区 分	面 積	区 分	面 積
研究棟地下 2 階	1,162.40	そ の 他	499.04
管 理 部 門	1,162.40		
研究棟地下 1 階	1,555.21		
放 射 線 治 療 部 門	707.71		
核 医 学 部 門	176.38		
研 究 所			
R I 研 究 部 門	311.19		
共 用	359.93		
研 究 棟 1 階	1,123.61		
管 理 部 門	409.20		
人 文 科 学 研 究 部 門	63.42	合 計	29,413.87
疫 学 研 究 部 門	351.29		
共 用	299.70		
研 究 棟 2 階	1,123.61		
病 理 学 研 究 部 門	360.71		
生 化 学 研 究 部 門	387.98		
免 疫 学 研 究 部 門	95.04		
共 用	279.88		
研 究 棟 3 階	90.29		
管 理 部 門	90.29		
動 物 実 験 棟	373.73		
動 物 実 験 部 門	373.73		
小 計	5,428.85		

(2) 主要備品（取得価格1,000万円以上）

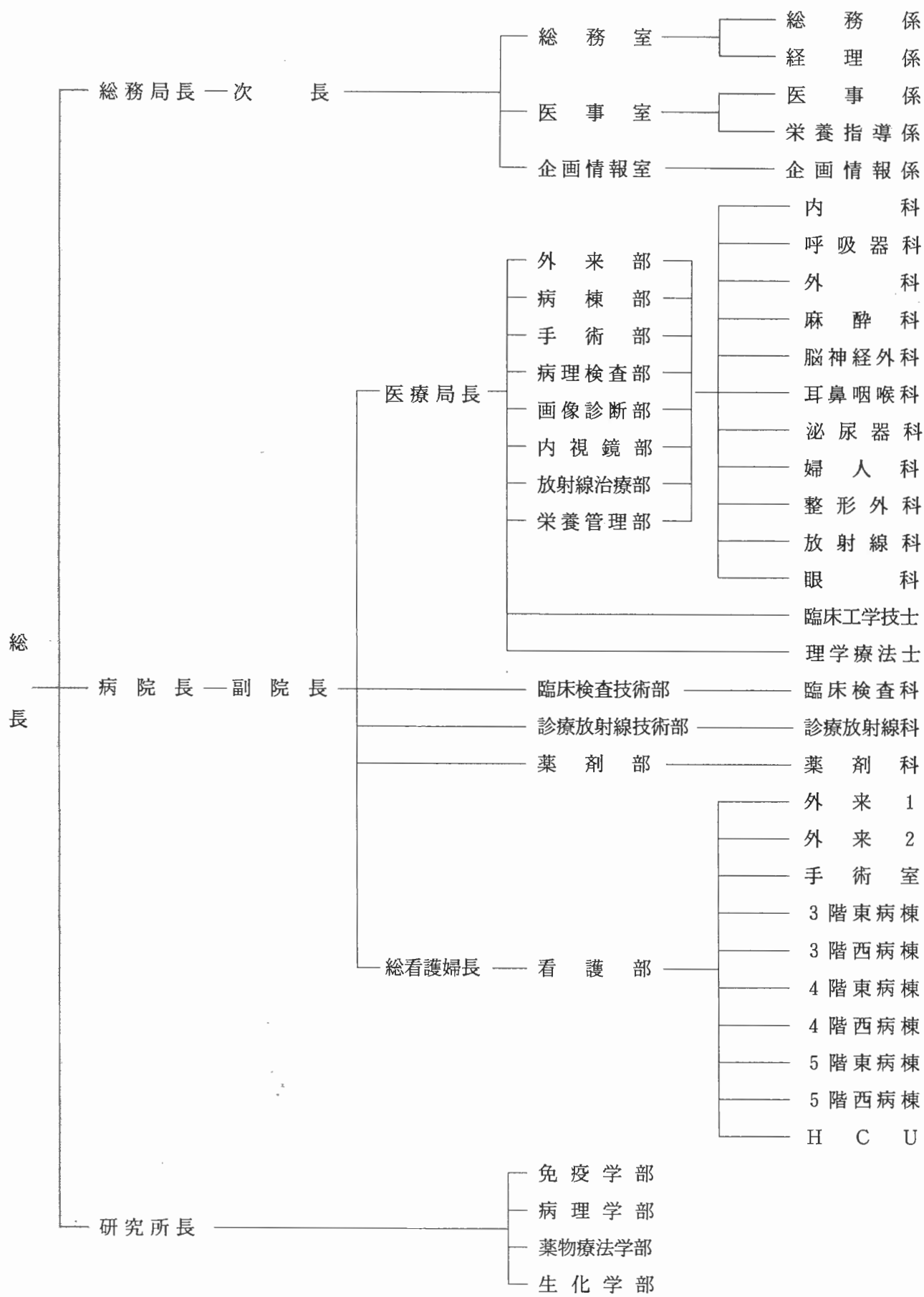
区 分	構 造	取得年月日	数量	メーカー	部 署
コンピューター断層撮影装置	SOMATOM DR-3	58. 3. 31	1	シーメンス社	診療放射線部
近 接 型 X 線 テ レ ビ	GCS	59. 1. 31	1	東 芝	診療放射線部
島 津 胸 部 X 線 装 置	SHD 150G	59. 3. 21	1	島 津	診療放射線部
消化管検査用X線テレビ装置	ZS30	60. 3. 15	1	島 津	診療放射線部
腹 部 超 音 波 診 断 装 置	SSA-90A	60. 3. 15	1	東 芝	診療放射線部
患 者 監 視 装 置	MG143	60. 3. 15	1	フクダ電子	病 棟
腹 部 血 管 撮 影 装 置	KXO-2050	61. 3. 31	1	東 芝	診療放射線部
ジャイロ式万能X線テレビ装置	UG	61. 3. 31	1	東 芝	診療放射線部
血流イメージング超音波診断装置	SSH-65A	61. 3. 31	1	東 芝	臨床検査部
放 射 線 画 像 処 理 装 置	CR-201	62. 3. 31	1	東 芝	診療放射線部
総合呼吸機能解析システム	65	62. 3. 31	1	チェスタック	臨床検査部
自 動 血 球 計 数 器	S-PN	62. 3. 31	1	コールター	臨床検査部
日立血液像自動分類装置	8200型	63. 3. 25	1	日 立	臨床検査部
ガンマーカメラシステム	ZLCDIG TRAC型	1. 3. 7	1		診療放射線部
全自動免疫血清検査装置	COBASU MIRA型	1. 3. 8	1		臨床検査部
自 動 錠 剤 分 包 機	ATC型	1. 3. 10	1		薬 剤 部
医療用NDヤグレーザー	メデイラス 2型	1. 3. 17	1		内 視 鏡
自 動 化 学 分 析 装 置	JCA-RX 20S型	1. 3. 31	1		臨床検査部
超音波内視鏡診断システム	EU-M3	2. 2. 6	1		内 視 鏡
超 音 波 診 断 装 置	SSA-270A	2. 2. 28	1		外 来
内視鏡ビデオ情報システム	SDF-3D	2. 3. 19	1		内 視 鏡
微生物分類同定装置	バイテックジュニア	2. 3. 23	1		臨床検査部
レ ー ザ ー プ リ ン タ ー	コダック	2. 3. 24	1		診療放射線部
医用画像ファイリングシステム	東芝	2. 3. 24	1	東 芝	診療放射線部
臨 床 検 査 シ ス テ ム	K-670	2. 3. 24	1		臨床検査部
超音波内視鏡システム	EU-M3	3. 2. 28	1	オリンパス	内 視 鏡
外軌道X線診断撮影装置	HLZ-110	3. 3. 25	1	島津メディカル	診療放射線部
画像ファイリングシステム	SDF-3D	3. 3. 25	1	オリンパス	内 視 鏡
消化管用X線テレビ装置	MEDEX 250シリーズ	3. 3. 25	1	日立メディカル	診療放射線部
人 工 呼 吸 器	サーボベンチレーター900	4. 3. 16	1	シーメンス社	MEセンター
酸化エチレンガス滅菌器	5XL-10J	5. 3. 10	1	スリーエム	中央材料室
高 圧 蒸 気 滅 菌 装 置	Σ IIR-GO9W	5. 3. 10	2	サクラ精機	中央材料室
高 圧 蒸 気 滅 菌 装 置	FLC-S12 S30	5. 3. 10	1	サクラ精機	研 究 所
高 圧 蒸 気 滅 菌 装 置	FLC-M09W P3T	5. 3. 10	1	サクラ精機	研 究 所

区 分	構 造	取得年月日	数量	メーカー	部 署
腔 内 治 療 装 置	ラルストロン 20B	5. 3. 10	1	島 津	診療放射線部
腔内治療位置決定装置	CH50	5. 3. 10	1	島 津	診療放射線部
C T シ ュ ミ レ ー タ ー	GS20X SAT-20	5. 3. 10	1	島 津	診療放射線部
放 射 線 治 療 計 画 装 置	M2000	5. 3. 10	1	兼 松	診療放射線部
泌 尿 器 X 線 T V 装 置	DHF-A-155H	5. 3. 10	1	日立メディコ	診療放射線部
リ ニ ア ッ ク	ML-20MDX型	5. 3. 10	1	三 菱 電 機	診療放射線部
C T	ゾマトムPLUS	5. 3. 10	1	シーメンス社	診療放射線部
M R I	MRT-200FX/3	5. 3. 10	1	東 芝	診療放射線部
骨 部 撮 影 装 置	DC-50F	5. 3. 10	1	東 芝	診療放射線部
尿 検 査 分 類 装 置	UA-1000	5. 3. 10	1		臨床検査部
手 術 用 手 洗 装 置	TU-2AP 3AP	5. 3. 10	4		手術室
洗 浄 滅 菌 装 置	ΣⅡWV-H06	5. 3. 10	2		手術室
X線フィルム自動現像機	SRX-503	5. 3. 10	3		診療放射線部
自 動 化 学 分 析 装 置	TBA-30FR	5. 3. 10	1	東 芝	臨床検査部
血 清 分 注 装 置	PREP-A1	5. 3. 10	1		臨床検査部
薬 袋 印 字 シ ス テ ム	KC-2000P	5. 3. 10	1		薬剤部
画像解析システム一式	TRI	5. 3. 25	1	ケイエスオリンパス	病理検査室
透 過 型 電 子 顕 微 鏡	JEM-1200EX2	5. 3. 25	1		病理検査室
走 査 型 電 子 顕 微 鏡	JSM-5400LV	5. 3. 25	1		病理検査室
電子顕微鏡資料作成装置	ULTRACUT-S	5. 3. 25	1		病理検査室
細胞自動解析装置	FACS CAN	5. 3. 25	1		研究所
プロテインシーケンサー	476A	5. 3. 18	1		研究所
自動細胞解析分取装置	コールターエピックスリット	5. 3. 25	1		研究所
画 像 処 理 装 置	FCR-7000 FCR-7501	5. 3. 25	3		診療放射線部
染色体画像解析装置	サイトスキャンRK-1	5. 3. 25	1		研究所
D N A シ ー ケ ン サ ー	ファルマシアALF 373A-18	5. 3. 24	1		研究所
バイオイメージアナライザー	BAS-2000	5. 3. 25	1		研究所
多 機 能 超 遠 心 器	XL-70	5. 3. 25	2		研究所
カ テ ー テ ル 検 査 装 置	レーカー	5. 3. 25	1	シーメンス社	診療放射線部
超 音 波 洗 浄 シ ス テ ム	MU-1100	5. 3. 25	2		手術室・中央材料室
全自動免疫血清検査装置	ボセイドンⅡ	5. 3. 25	1	ア ロ カ	臨床検査部
ベ ー タ カ ウ ン タ ー	ファルマシア1450	5. 3. 25	1		研究所
デ ジ タ ル 血 管 撮 影 装 置	DEP-2000A	5. 3. 30	1		診療放射線部
二 方 向 X 線 テ レ ビ 装 置	DCW-15A	5. 3. 30	1		診療放射線部
超音波装置用ハードコピー	LI-10A	5. 3. 30	1	コ ニ カ	診療放射線部

区 分	構 造	取得年月日	数量	メーカー	部 署
移動型 X 線 テレビ 装置	ジレモビール2000	5. 3. 30	1		手 術 室
超 音 波 診 断 装 置	SSD-2000 SSA-260A	5. 3. 30	1		外 来 1
純 水 製 造 装 置	MF-4000CN	5. 3. 30	1		中央材料室
全 自 動 洗 浄 乾 燥 器	WDLS-76CS	5. 3. 30	1		中央材料室
液体シンチレーションカウンター	パッカード1900-TR	5. 3. 30	1		研 究 所
定 位 脳 手 術 装 置	モデルG MR対応型	5. 3. 30	1		診療放射線部
放 射 線 手 術 装 置	KMM-1000A	5. 3. 30	1		診療放射線部
手 術 用 顕 微 鏡 等	WILD-M690	5. 3. 30	2		手術室(脳外科)
コ ン タ ク ト レ ー ザ ー	SLTジャパン	5. 3. 30	1		手 術 室
循環器用超音波診断装置	YHP77035A	5. 3. 30	1		臨床検査部
病 棟 血 圧 モ ニ タ ー	BX-2 セントラル2	5. 3. 30	42		病 棟
病 棟 心 電 図 モ ニ タ ー	ダイナスコープ3400	5. 3. 30	34		病 棟
患 者 監 視 モ ニ タ ー	YHP	5. 3. 30	26		HCU/手術室/病棟
麻 酔 器	PH-5F2	5. 3. 30	12		手 術 室
全自動血液ガス電解質	スタットプロファイル5	5. 3. 30	2		手 術 室
人 工 呼 吸 器	EVT-1000	5. 3. 30	5		MEセンター
総合情報システム一式		5. 3. 31	1	N E C	企画情報室
カルテ管理システム一式		5. 3. 31	1	N E C	企画情報室
物品管理システム一式		5. 3. 31	1	N E C	企画情報室
マ イ コ ン 心 電 計	FCP-4301	6. 1. 26	3	フクダ電子	病 棟
内視鏡検査ビデオシステム	MD-194	6. 3. 25	2	オリンパス光学	内 視 鏡
超 音 波 診 断 装 置	SSA-260A	6. 3. 25	1	東芝メディカル	画 像 診 断
自 動 血 球 計 算 器	STKS	6. 3. 25	1	コールター	臨床検査部
自 動 錠 剤 分 包 機	ATC-240	6. 3. 25	1	産洋電気特	薬 剤 部
共焦点レーザースキャン顕微鏡	LSM310	6. 3. 23	1	カールツァイス	研究所(病理)
ジャイロ式 X 線 T V 装置	DT-UG-4	6. 3. 25	1	東芝メディカル	画 像 診 断
術中 I C U 用超音波診断	HPSONOS1500	6. 3. 25	1	横河ヒューレット パッカード	手 術 室
画 像 表 示 端 末 装 置	PACS-DIT	6. 3. 25	1	N E C	画 像 診 断
6 M e v リニアック	ML-6M	7. 3. 27	1	三菱電機	診療放射線部
ホルダー心電図解析装置	DMW-9000	7. 3. 27	1	フクダ電子	臨床検査部
画 像 読 取 装 置	FCR-9501ES	7. 3. 27	1	富士写真 フィルム	診療放射線部

4. 組織・機構

(平成7年3月31日現在)



5. 職種別・組織別職員数

(平成7年3月31日現在)

組 織 職 種	総 務 局				病 院														研 究 所				合															
	総 務 室	医 事 室	企 画 室	小 計	医 療 局										診 察 薬 看 護 部				免 疫 学	病 理 学	薬 物 療 法 学	生 化 学		小 計														
					内 科	呼 吸 器	外 科	整 形 外 科	脳 神 經 外 科	泌 尿 器 科	婦 人 科	耳 鼻 咽 喉 科	放 射 線 科	麻 酔 科	そ の 他	小 計	臨 床 検 査 技 術 部	診 療 放 射 線 技 術 部							薬 劑 部	看 護 部												
																										総 務 課	主 任 看 護 婦 長	外 来	外 来	手 術	3 階 東 病 棟	3 階 西 病 棟	4 階 東 病 棟	4 階 西 病 棟	5 階 東 病 棟	5 階 西 病 棟	H C	小 計
事 務 吏 員	10	3	3	16																																		16
技 術 吏 員	医 師				13	5	8	2	2	2	2	2	5	3	44																							50
	看護婦	正																1	2	10	5	12	19	19	17	18	18	17	15	153						153		
		准																		3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	22						22		
		計																	1	2	13	8	14	21	21	19	20	20	19	17	175						175	
	臨床検査技師															16																						19
放射線技師																12																					12	
薬 剤 師																	7																				7	
栄 養 士		2		2																																	2	
臨床工学技士															1	1																					1	
理学療法士															1	1																					1	
小 計	10	5	3	18	13	5	8	2	2	2	2	2	5	3	2	46	16	12	7	1	2	13	8	14	21	21	19	20	20	19	17	175	2	2	3	2	9	283
労 務 職 員	(運 転)	(庁 務)														(検 査 補 助)											(看 護 補 助)		(看 護 補 助)								6	
合 計	11	7	3	21	13	5	8	2	2	2	2	2	5	3	2	46	17	12	7	1	2	13	8	14	21	21	20	20	20	17	177	2	2	3	2	9	289	
非 常 勤		1	1	2	1											1																					3	
摘 要	局長・次長を含む				総長・副院長・医療局長を含む														院長を含む																			

6. 経理状況

(1) 損益計算書（平成6年4月1日～7年3月31日）

（単位：円）

科 目	金 額	科 目	金 額
医 業 費 用	6,171,193,687	医 業 収 益	3,758,690,973
給 与 費	2,450,495,048	入 院 収 益	2,757,368,890
材 料 費	1,425,630,662	外 来 収 益	957,473,284
経 費	1,033,785,127	そ の 他 医 業 収 益	43,848,799
減 価 償 却 費	1,197,620,515		
資 産 減 耗 費	2,271,091	医 業 外 収 益	1,933,848,874
研 究 研 修 費	61,391,244	受 取 利 息 配 当	28,105,922
医 業 外 費 用	776,278,665	補 助 金	2,220,000
利 息 企 業 費	694,804,147	負 担 金 交 付 金	1,870,000,000
そ の 他 医 業 外 費 用	81,474,518	そ の 他 医 業 外 収 益	33,522,952
特 別 損 失	971,160		
特 別 損 失	971,160	特 別 収 益	0
当 年 度 純 利 益	△1,255,903,665		
合 計	6,948,443,512	合 計	5,692,539,847

(2) 貸借対照表（平成7年3月31日）

科 目	金 額	科 目	金 額
(資産の部)		(負債の部)	
固 定 資 産	19,410,848,762	固 定 負 債	550,000,000
有 形 固 定 資 産	19,410,597,262	企 業 債	0
土 地	344,566,607	他 会 計 借 入 金	550,000,000
建 物	13,814,276,839	流 動 負 債	948,628,331
構 築 物	587,905,663	未 払 金	925,075,899
器 械 備 品	4,663,686,953	未 払 費 用	0
車 両	161,200	そ の 他 の 流 動 負 債	23,552,432
放 射 性 同 位 元 素	0	(資本の部)	
		資 本 金	16,407,856,243
建 設 仮 勘 定	0	自 己 資 本 金	601,760,021
無 形 固 定 資 産	251,500	借 入 資 本 金	15,806,096,222
電 話 加 入 権	251,500	剰 余 金	3,975,659,351
流 動 資 産	2,471,295,163	資 本 剰 余 金	7,758,448,000
現 金 預 金	200,000	国 庫 補 助 金	134,639,000
未 収 金	630,431,130	県 費 補 助 金	762,532,000
貯 蔵 品	43,854,721	県 費 負 担 金	6,860,141,000
前 払 金	500,600	受 贈 財 産 評 価 額	1,136,000
そ の 他 の 流 動 資 産	1,796,308,712	利 益 剰 余 金	△3,782,788,649
資 産 合 計	21,882,143,925	負 債 ・ 資 本 合 計	21,882,143,925

第2章 がんセンター内活動状況

1. 会議及び各種委員会

会議及び委員会	構成委員	備考
管理運営会議	8名	毎月定例1回、必要に応じ臨時開催
運営調整会議	26名	〃
電算システム管理委員会	11名	必要に応じて開催
医学資料管理・癌登録委員会	15名	〃
編集委員会	11名	〃
外来・病棟委員会	25名	〃
手術委員会	11名	〃
画像診断委員会	8名	〃
診療報酬委員会	7名	隔月開催
委託業務委員会	10名	必要に応じて開催
医療機器・診療材料整備委員会	14名	〃
薬事委員会	13名	隔月開催
栄養委員会	14名	〃
感染対策委員会	11名	〃
防災対策委員会	21名	必要に応じて開催
治験審査委員会	9名	毎月定例1回開催
交通安全対策委員会	8名	必要に応じて開催
医療事故防止委員会	8名	〃
放射線安全管理委員会	10名	年2回開催
安全衛生委員会	5名	〃
医学倫理委員会	6名	必要に応じて開催
医療ガス安全対策委員会	14名	〃
組織換えDNA実験安全委員会	6名	毎月定例1回開催
医療廃棄物委員会	6名	必要に応じて開催

2. 各種委員会報告

◎ 電算システム管理委員会

平成6年5月11日に第1回委員会を開催して、委員会の下に作業部会をおき、即決権を与えて、作業能率を上げることに決定した。

N E Cより平成5年度の作業進捗状況の説明について説明を受け、システム連絡票による要望364項目中約300項目に対処した（新設と改善、仕様説明、運用対処）。

平成6年度では、電算システムのメンテナンス要員2名が電算システムの維持管理、職員電算講習会等を受け持つ事となった。平成6年度のシステム連絡票による要望は125項目におよび別紙のごとく、83項目を処置したが、40項目（343工日数）は未処置として残された。一部採用されなかった項目があった。

また、Ⅱ期工事として残っていた病理オーダ、注射オーダ、放射線治療オーダ、医事会計オーダ等についての作業を続行した。

今後、国立がんセンターネットワークシステムとの連結が期待されており、その作業が現在進められようとしており、1病院システムより多病院システムに変貌することとなろう。

（電算システム委員会 委員長 中 野 昇）

平成6年度 システム連絡票対応状況一覧（全件）

S№	分 類	区分	提出元	提出日	内 容	優先度	回答日	実現性	見積 工数	実績 (日)	採否	処置日
80365	検査オーダー	仕変	検 査 部	94/04/08	治験用ラベルの発行		94/08/25	○	5.0	0.0		
80366	注射オーダー	仕変	医 事 室	94/04/11	注射オーダーの項目設定関連についての質問事項		94/04/13		0.0	0.0		94/04/13
80367	画像オーダー	障害	画像診断	94/04/13	画像患者一覧の病棟不正表示について				0.0	0.0		
80368	生理オーダー	障害	検 査 部	94/04/25	生理検査依頼表の表示について		94/08/28		0.0	0.0		
80369	画像オーダー	他	画像診断	94/04/22	オーダーリング（画像オーダー）の科セット新設依頼		94/04/28	○	4.5	4.0	○	94/04/28
80370	手術オーダー	仕変	手 術 部	94/04/27	手術調整入力における看護婦選択画面の変更		94/04/27	×	1.5	1.0	×	94/05/08
80371	看護支援	仕変	看 護 部	94/04/20	労働基準法37条1項の改正に伴う変更		94/04/28	○	10.0	9.5	○	94/04/28
80372	食事オーダー	仕変	医 事	94/04/18	食事オーダー設定値の変更		94/04/18	○	3.0	8.0	○	94/04/16
80373	入院管理 オーダー	仕変	医 事	94/04/18	入院予定患者照会画面からの一覧表出力指示を医事室で		94/04/18	○	5.0	4.0	○	94/04/16
80374	オーダー共通	仕変	婦 人 科	94/04/18	婦人科診療室4の端末部署コードを「婦人科1」に設定		94/04/18	○	2.0	1.5	○	94/04/16
80375	栄養管理	仕変	栄 養	94/04/08	検査の献立変更		94/04/08	○	3.0	2.0	○	94/04/08
80376	処方オーダー	新規	薬 剤 部	94/04/01	入院処方オーダー情報の薬袋書記機への送信		94/05/20	○	8.0	5.0	○	94/05/20
80377	処方オーダー	仕変	薬 剤 部	94/04/01	処方オーダーで外来処方箋発行時は分包機にも送信する		94/05/20	○	7.0	8.0	○	94/05/20
80378	処方オーダー	仕変	薬 剤 部	94/04/01	処方箋一括出力画面で分包機一括送信を可能とする		94/05/20	○	8.0	8.0	○	94/05/20
80379	処方オーダー	仕変	薬 剤 部	94/04/01	処方内容照会画面で一包化区分／薬剤単位の非一包化		94/05/20	○	8.0	8.0	○	94/05/20
80380	処方オーダー	仕変	薬 剤 部	94/04/01	退院処方箋は投与開始日が当日／翌日分のみ即発行		94/05/20	○	4.0	4.0	○	94/05/20
80381	処方オーダー	仕変	薬 剤 部	94/04/01	処方内容照会よりオーダー単位に分包機送信を可能にする		94/05/20	○	8.0	8.0	○	94/05/20
80382	処方オーダー	仕変	薬 剤 部	94/04/01	祝祭日と、平日の時間外入力時警告メッセージを表示		94/05/20	○	8.0	7.0	○	94/05/20
80383	データベース	仕変	医 局	94/04/01	医事で登録した全科病名を各科病名に変更可能とする		94/08/01	○	40.0	40.0	○	94/08/01
80384	データベース	仕変	医 局	94/04/01	がん登録基準情報登録画面に合併疾患対応、病理組織型		94/08/01	○	30.0	0.0	○	
80385	データベース	仕変	医 局	94/04/01	転科・退院サマリに術式名、感染症に検査未実施の表示		94/08/01	○	20.0	0.0	○	94/08/01
80386	データベース	仕変	医 局	94/04/01	外来患者がん登録チェックリストに病名期間の対象診療科を出		94/08/01	○	9.0	0.0	○	
80387	検査オーダー	仕変	医 局	94/04/01	一般細菌（MRSA検査用）を科セットでオーダー可能と		94/07/20	○	5.0	5.0	○	94/07/20
80388	食事オーダー	新規	栄 養	94/04/01	入院管理、食事のオーダー時、栄養にジャーナル出力する		94/04/20	○	20.0	0.0		
80389	入院管理 オーダー	仕変	医 事	94/04/01	入院患者予定照会で病棟毎切り替えを可能とする			○	8.0	0.0		
80390	医 事	障害	医 事	94/04/01	オーダーの二重取り込みについて		94/04/08	○	0.0	0.0	○	94/04/08
80391	オーダー共通	仕変	外 科	94/05/11	オーダーリング入外の切り替えについて		94/05/13	×	0.0	0.0	×	—
80392	医 事	障害	医 事	94/05/17	入院診療算定内訳の全科合計について		94/08/29	○	0.0	0.0	○	94/08/29
80393	医 事	仕変	医 事	94/08/17	入院患者日報・月報平均患者数の値について		94/08/29	○	0.0	2.0	○	94/08/29
80394	栄養管理	障害	栄 養	94/05/20	食事箋の出力について				0.0	0.0		
80395	処方オーダー	仕変	薬 剤 部	94/05/27	院外処方箋の一包化		94/08/17	○	20.0	0.0		
80396	手術・中材	仕変	手 術 部	94/05/31	手術室日報について		94/08/01	○	20.0	0.0		
80397	オーダー共通	他	看 護 部	94/08/03	4階東病棟の端末移動について		94/07/01	○	0.5	0.5	○	94/07/01

SNo	分類	区分	提出元	提出日	内 容	優先度	回答日	実現性	見積 工数	実績 (日)	採否	処置日
80398	病理システム	仕変	病理部	94/05/30	病理システム・検索後の台帳出力		94/11/20	○	1.0	1.0	○	94/11/30
80399	画像・核医学	他	画像診断	94/08/08	マスタ変更依頼		94/07/10	○	3.0	3.0		94/07/10
80400	検査オーダ	他	医 局	94/08/13	マスタ変更依頼		94/06/15	○	0.0	0.3	○	94/08/15
80401	検査オーダ	他	医 局	94/08/15	検査予約の重複について		94/06/15	×	0.0	0.0	×	——
80402	そ の 他	新規	管理課	94/08/24	新旧比較表システムの新規リリース		94/06/21	○	14.0	15.0	○	94/06/21
80403	そ の 他	新規	管理課	94/08/24	新旧比較表の科毎の出力を可能とする		94/08/25	○	4.0	5.0	○	94/06/25
80404	処方オーダ	仕変	薬剤部	94/05/18	外来処方箋に印字される発行日を投与開始日に変更		94/06/18	○	0.0	0.5	○	94/05/18
80405	処方オーダ	仕変	薬剤部	94/05/18	修正依頼中の入院処方箋は一括出力対象としない		94/05/18	○	0.0	0.5	○	94/05/18
80406	処方オーダ	仕変	薬剤部	94/05/18	投与開始日が当日の処方オーダに対する締切時間の変更		94/05/18	○	0.0	1.0	○	94/05/18
80407	処方オーダ	仕変	薬剤部	94/08/15	薬袋書記機とのインターフェイス在院病棟不明時の対応		94/05/19	○	0.0	0.5	○	94/05/19
80408	データベース	新規	総務局	94/07/06	病歴統計資料の作成について		94/07/07	○	20.0	15.0	○	94/07/20
80409	処方オーダ	障害	薬剤部	94/07/07	薬剤基本から削除済みの薬品が検索できてしまう		94/07/07	○	0.0	0.0	○	94/07/07
80410	データベース	他	総務局	94/07/07	患者固有情報登録 感染症の更新について		94/08/01	×	0.0	0.0	×	94/08/01
80411	画像オーダ	障害	画像診断	94/07/07	画像レポートシステムにおける不正患者について		94/10/01		0.0	0.0		94/10/01
80412	データベース	他	医事課	94/07/07	保険病名登録について		94/07/14		0.0	0.0		
80413	画像・核医学	他	画像診断	94/07/15	薬剤の追加		94/07/15	○	0.0	0.0	○	94/07/15
80414	医 事	障害	医事課	94/07/15	オーダ取り込みについて		94/07/15	○	0.0	0.0	○	94/07/15
80415	看護支援	仕変	X I C 東 京	94/05/23	患者ケアシステム・仕様変更について		94/05/23	○	36.0	36.0	○	94/05/23
80416	看護支援	仕変	X I C 東 京	94/05/23	看護システム（帳表）・仕様変更について		94/05/23	○	35.0	35.0	○	94/06/23
80417	放射線オーダ	仕変	放射線科	94/08/03	小線源治療照射法画面追加		94/09/01	○	15.0	0.0		
80418	データベース	障害	検査部	94/08/10	患者固有情報の結果消滅		94/10/01		0.0	0.0		94/10/01
80419	データベース	障害	総務局	94/08/22	癌登録について		94/10/01		0.0	0.0		94/10/01
80420	データベース	障害	総務局	94/08/23	癌登録基準情報登録について		94/10/01		0.0	0.0		94/10/01
80421	手術オーダ	新規	外科医局	94/08/23	手術申し込み 術式大分類でのワープロ入力について		94/08/23	○	20.0	20.0	○	94/08/23
80422	データベース	仕変	岡部 Dr	94/09/09	個人別データベース入力時間帯について		94/09/09		0.0	0.0	○	
80423	放射線オーダ	新規	放射線科	94/09/14	部位追加入力機能について				0.0	0.0		
80425	放射線オーダ	仕変	放射線科	94/09/14	RAIS申込み時の出力帳票について				0.0	0.0		
80426	放射線オーダ	仕変	放射線科	94/09/14	患者一覧・ラベル発行画面について		95/01/10	○	5.0	5.0	○	95/01/10
80427	処方オーダ	仕変	薬剤部	94/11/09	処方オーダの長期投与を警告扱いとする		94/11/14	○	1.5	1.5	○	94/11/28
80428	看護支援	障害	看護部	94/11/09	看護勤務希望表が出力出来ない		94/11/11		0.0	0.0		94/11/11
80429	看護支援	障害	看護部	94/11/17	看護システムに関する障害		94/11/15		0.0	0.0		
80429	看護支援	要望	医 事	94/11/15	入院カルテ総括に対する病理・注射オーダ対応		94/11/15		0.0	0.0		
80430	検査オーダ	要望	検査部	94/11/21	検体検査オーダ日内変動項目の内容変更		94/11/21	○	2.5	2.5	○	94/12/01
80431	医 事	要望	看護部	94/11/21	予約券に予約検査名称を印字して欲しい		94/11/21		10.0	0.0	○	

SNo	分 類	区分	提出元	提出日	内 容	優先度	回答日	実現性	見積 工技	実績 (日)	採否	処置日
80432	医 療 オ ー ダ	仕変	小 田 和 D R	94/10/18	画像オーダ画面変更		94/10/18	○	3.0	3.0		94/10/18
80433	デ ー タ ベ ー ス	新規	総 務 局	94/09/15	新患の基本情報抽出について		94/10/15	○	25.0	25.0		94/10/13
80434	看護支援	他	看護部	94/10/10	病棟日誌休日休者の氏名印字誤り		94/10/10		0.0	0.0		94/10/10
80435	栄養管理	障害	栄 養	94/12/08	食事箋情報一覧表の出力不正		94/12/08	○	0.0	3.0		95/01/31
80436	医 事	他	医 事	94/12/28	特定薬剤治療管理料について		94/12/28		0.0	0.0		95/12/28
80437	病 理 シ ス テ ム	新規	病 理 部	95/01/11	病理システム統計に関する要望		95/01/11	○	40.0	0.0		
80438	注射オーダ	他	医 事	95/01/24	注射オーダの医事側での不具合及び要望		95/01/27		0.0	0.0		95/01/27
80439	処方オーダ	仕変	薬 剤 部	95/01/30	院外処方箋への患者 I D 表示		95/01/25		1.0	1.0		95/02/08
80440	P A C S	障害	画像診断	94/01/23	画像診断 D I T の送信エラーについて		95/01/25		0.5	0.5		95/01/25
80441	栄養管理	障害	栄 養	94/12/26	食事箋について		94/12/26		0.0	4.0		94/12/28
80442	看護支援	障害	看護部	95/01/06	看護職員免許一覧表の印字不正		95/01/09		0.0	2.0	○	95/01/08
80443	栄養管理	障害	栄 養	95/01/06	食数日計表出力時の A B O R T		95/01/08		0.0	1.0		95/01/09
80444	処方オーダ	障害	薬 剤 部	94/12/01	D I 参照機能障害対応		94/12/03		0.0	3.0		95/12/03
80445	検査オーダ	他	検 査 部	94/12/10	日内変動検査の変更に伴う採取実施患者 一覧表の修正		94/12/10	○	2.0	2.0		94/12/15
80446	医 事	新規	医 事 課	95/01/10	外字の新規作成		95/01/13	○	1.0	1.0		95/01/13
80447	検査オーダ	他	検 査 部	94/12/25	H C V 抗体の内容変更		94/12/25	○	1.5	1.5		94/12/30
80448	注射オーダ	他	T N E S	94/12/01	注射オーダ機能仕様書の作成		94/12/06		5.0	5.0		94/12/08
80449	共 通	新規	岡 部 Dr	94/11/20	オーダDBの出力イメージセーブプログラムの作成		94/12/15		30.0	0.0		
80450	放 射 線 オ ー ダ	仕変	放射線部	95/01/10	放射線治療オーダ要望事項		95/01/15		3.0	1.5		95/01/15
80451	画像オーダ	他	小 田 和 D R	95/01/10	画像オーダマスタ変更		95/01/13		1.0	2.0		95/01/13
80452	病理オーダ	障害	病 理 部	94/12/18	病理オーダ障害対応		94/12/20		0.0	2.0		94/12/20
80453	共 通	他	医 局	94/12/20	オーダリング隔易マニュアル作成		95/01/30		10.0	0.0		
80454	生 理 ・ 内 視 鏡	仕変	内 視 鏡	94/12/01	内視鏡統計 仕様変更		95/02/01		30.0	0.0		
80455	放 射 線 オ ー ダ	仕変	画像診断	94/12/01	放射線治療オーダを画像統計に反映させる		95/02/01		20.0	20.0		95/02/01
80456	病理オーダ	他	T N E S	95/01/09	病理オーダ機能仕様書の作成		95/01/09		5.0	0.0		
80457	医 事	他	医 事 課	95/02/03	日報出力時刻の変更について		95/04/04		0.0	0.0		95/03/20
80458	医 事	新規	医 事 課	95/02/09	外字作成依頼		95/02/09		0.5	0.5		95/02/12
80459	検査オーダ	仕変	検 査 部	95/02/17	患者固有情報の H C V 抗体について				0.0	0.0		
80460	病理オーダ	障害	病 理 部	95/01/10	病理プリンタハードコピー不正の件		95/02/21		0.0	0.5		95/02/21
80461	医 事	障害	医 事 課	95/01/10	日報（未収金一覧）の不正				0.0	0.0		
80462	予約オーダ	障害	鶴 飼 Dr	95/01/10	診療予約オーダで長期予約時に A B O R T する		95/02/10		0.0	0.0		95/02/10
80463	医 事	障害	医 事 課	95/01/13	外来患者数月報の不正				0.0	0.0		
80464	栄養管理	障害	栄 養 部	95/02/01	栄養出納表の不正				0.0	0.0		
80465	看護支援	障害	看護部	95/02/01	看護・勤務管理入力データ消失の件				0.0	0.0		

SNo	分 類	区分	提出元	提出日	内 容	優先度	回答日	実現性	見積 工技	実績 (日)	採否	処置日
80466	画像オーダー	障害	画像診断	95/02/01	画像オーダー患者受付不正の件				0.0	0.0		
80467	看護支援	障害	看護部	95/02/02	患者ケア サマリの血漿型不正について		95/02/02		0.0	0.0		95/02/10
80468	看護支援	仕変	看護部	95/02/08	患者ケア 帳票出力について		95/02/08	○	7.0	0.0		
80469	手術オーダー	他	手術部	95/02/08	中材部門で手術予定照会を見れるように して欲しい		95/02/08	○	0.0	0.0	×	95/02/27
80470	看護支援	障害	看護部	95/02/08	勤務報告書出力時のアボート		95/02/08		0.0	0.0		95/04/01
80471	処方オーダー	仕変	薬剤部	95/02/08	薬歴の保存期間について		95/02/08	○	0.0	0.0	○	95/02/27
80472	検査オーダー	障害	検査部	95/02/10	検査オーダーの到着確認不正の件		95/02/10		0.0	0.0		95/02/10
80473	医 事	障害	医事課	95/02/10	フィルム点数不正の件（レセプト）		95/02/10		0.0	0.0		
80474	医 事	障害	医事課	95/02/10	レセプト老人請求不可の検査を請求して いる件		95/02/14	○	0.0	0.5	○	95/02/14
80475	予約オーダー	障害	看護部	95/02/12	外泊理由を入れないと不正になる件		95/02/20		0.0	0.0		95/02/20
80476	画像オーダー	仕変	画像診断	95/02/13	画像オーダーに表示させる名称について		95/02/13	○	3.0	1.0		95/04/04
80477	画像オーダー	障害	画像診断	95/02/17	画像オーダー一覧票のABORT				0.0	0.0		
80578	入院管理	障害	看護部	95/02/15	オーダーリング業務メニュー患者一覧表示 不正について				0.0	0.0		
80479	予約オーダー	他	医事課	95/02/15	予約カルテ出しABORT		95/02/20	○	0.5	0.5	○	95/02/20
80480	医 事	仕変	医事課	95/03/01	外来基本カードのフォーマット変更		95/03/02	○	5.0	0.0	○	95/03/20
80481	検 査 システム	他	検査部	95/03/07	一般細菌検査の追加薬剤について				0.0	0.0		
80482	画像オーダー	他	画像診断	95/03/08	画像オーダーコメント画面へのコメント追 加		95/03/09		0.5	0.5		95/03/09
80483	予約オーダー	他	内科外来	95/03/09	貸シンチが予約券に出ない		95/03/09		0.0	0.0		95/03/09
80484	共 通	新規	医事課	95/03/14	人間ドック結果報告のシステム化につい て				0.0	0.0		
80485	画像オーダー	仕変	画像診断	95/03/14	画像患者一覧の部署表示について				0.0	0.0		
80486	画 像 レポート	他	画像診断	95/03/10	画像レポートシステムの帳票の行間変更 について				10.0	0.0		
80487	処方オーダー	他	外科外来	95/04/04	処方オーダーの開始時間区分について				3.0	0.0		
80488	医 事	障害	医事課	95/03/20	検査オーダーで取り込めない患者がいる				0.0	0.0		
80489	医 事	障害	医事課	95/03/20	算定状況照会二重表示の件				0.0	0.0		

◎ 医学資料管理・癌登録委員会

平成6年度は、本委員会は全体会議を1回開催しただけであるが、狭い範囲の問題に関しては、関係部署との話し合いで処理した。

1. カルテ用紙内容の変更について

カルテに挿入する用紙のうち、下記の用紙について、より使い易くすることを目的とし内容の一部を変更することに決定した。

- 1) 医師指示・実施表
- 2) 入院申込み伝票
- 3) ご依頼（ご返事）
- 4) 入院総括
- 5) 院内紹介状

2. カルテ用紙の綴込み順について

カルテに挿入する用紙の種類がかなり多いため、目的の用紙をカルテの中からみつけることが難かしいことがある。見易いカルテにする目的で院内統一したカルテ用紙の綴込み順の原則を定めた。

3. 旧カルテの一部抜き取りについて

外来カルテの厚さが2cmを越すと、シングルピッカーに入らなくなり、保管・検索上問題となるため、当面・厚さの原因となっている成人病センターの旧カルテの抜き取りを行うことになり、担当医に協力を依頼することとなった。近い将来、新カルテも2cmを越すことになり、その対策が必要となる。またカルテ庫の広さには限りがあり数年後には満配になることが予想され、その対策も必要と考えられる。

4. 癌登録について

院内癌登録は殆んど漏れのないように行われており、各関係者の協力により、項目の記載・入力もほぼ行われている。ただし記入項目に解り難しい個所もみられるため、癌登録の手順および記入法の説明について関係者に配布した。

登録の漏れを防ぐには、コンピュータへの病名登録が必須であり、現在はカルテの病名欄に記載されている病名を医事課で入力している。病名の記載がないと登録から漏れてしまうことになる。また、悪性腫瘍（疑）の症例で悪性腫瘍が否定された場合は、転帰に「中止」と記入するよう担当医にお願いしたい。

（松 田 堯）

◎ 編集委員会

1. 平成6年度第一回編集委員会を平成6年5月30日に開催し、平成5年度がんセンター年報の発行について協議した。

海老名委員より、研究所として文部省科学研究費の申請資格施設として認定されるために、文部省に昨年度の業績報告を早急に提出する必要があるとの説明があり、本がんセンターが全国的に認知されるためにも全員一致で協力体制をとることが了承された。

5年度の年報作製予算がすでに決定していることから、事務局より補正予算としておよそ50万円の追加申請をすること。認められない時には業績集を年報の第2部として発行する努力をする旨の提案があっ

た。

これにともない、来年度予算要求の資料として9月までに年報発行費としての見積りを作製すること。その際、来年度年報は臨床、研究の業績集を盛り込んだ形（論文別刷りを綴じ込む、掲載論文の査読は研究所、海老名先生、宮城先生に依頼）のとすることが了承され、見積り書類の作製は委員長、副委員長に一任された。

業績集の発行については6月中に業績リストの提出を委員長より関係者に依頼し、協力を要請することとした。

2. 平成6年度第二回編集委員会を平成6年7月29日に開催し、年報の形態及び発行の進捗状態について協議した。

1) 平成5年度中の発表論文の総ページ数はおよそ160P.となる。これに従来の総括編その他を約40P.とし、総ページ数は200P.となる見込みである。

これを1冊の年報とすると、予算見積りとしては50万円前後になると思われる。以後の作業：県登録の3業者に見本見積りを提出させ、競争入札とする。

2) 年報形態について

(1) 従来の年報形態を以下のように改編する。

表紙・センター写真（病院管理課に原版依頼）・序文（涌井総長に委員長より依頼）・目次・総括編・統計編・研究編・職員録の順とする。

(2) 総括編の章分けは以下のようにする。

第1章 センターの概況……委員長から松木室長に依頼

第2章 病院内活動状況……委員長から松木室長に依頼

このうち各種委員会報告については委員会、委員長のリストを吉岡さんが作成し、これをもとに委員長から各委員長に依頼する。

第3章 研究所報告……海老名先生に依頼

免疫部門 生化学部門 薬物治療部門 動物実験施設部門

R I 研究施設部門

以上の委員会決定に基づき、平成5年度年報は『宮城県立がんセンター年報 第1号（平成5年度）』として平成6年10月に刊行した。

（桑 原 正 明）

◎ 外来病棟委員会

平成5年度迄の外来委員会、病棟委員会が合併して、外来病棟委員会となり診療に関する病棟全体の事項を検討する委員会となりました。

平成6年度の最大の検討項目は航空機事故を年頭に入れた『宮城県立がんセンター病院災害医療救護業務実施要項』で、拡大外来病棟委員会にて作成した。

作成開始時、全国80数カ所の空港を持つ主要病院に「マニュアル」の提供を求めて、それを参考にして、数回の院内検討会を経て下記の大要のマニュアルを作成した。

この要項は非常災害時の迅速かつ適切なる遂行を期し、まず罹災傷者の救護を図る事を目的とする。救

護業務とは天災、地変（地震）、大交通事故（航空機事故、列車事故）その他の非常罹災害時における罹災傷病者に対する業務とし、救護業務の範囲は災害救護法の発動に基づく救護業務、および救護本部長（院長）の判断に基づいて行う救護業務とする。以上を実施するため、災害医療救護対策委員会を作り、救護業務機構とその役割を決定した。さらに、宮城県保健福祉部医療整備課主催の災害時医療救護対策連絡調整会議にも参加して、全体の中での本センターの役割についても検討した。

また、平成7年度に予定されている6階病棟開所にもともなう各診療科別割り当てベットおよび各病棟別の診療科組合せについての意見を取り纏めて、管理運営会議へ具申した。

（外来病棟委員会 委員長 中 野 昇）

◎ 診療報酬委員会

宮城県立がんセンターは保険診療が基本であり、従って、保険診療基準に従って診療報酬を請求する事になります。

平成5年度の査定状況は当センターの査定率0.47%（普通の病院では0.2～0.3%）で、0.5%以上になると、厚生省の監査の可能性が出てくる。

基本として、社保は国保に比較して、査定が厳しく、高額レセプト、投与期間等を中心に査定し、再審査不服申し立てにての復活はきびしいので、高レセプト（10万点）病状説明を書くことに協力して貰い、投与期間の不適用、適用外例を少なくし、500点以上の査定、点数がひくくても数の多い査定等をするように再審査不服申し立てをすることとした。

「医師のための保険診療常識集」を参考してもらい、各医師へ毎月の増減連絡書を各科別になるように努力し、出来るだけ、査定を少なくなるように努力してもらった。

また、今後保険診療請求減点の頻度の高い項目より、医局会議で保険上の問題を医事室より説明してもらうことにする予定とした。

さらに、各査定項目に検討した。

（診療報酬委員会 委員長 中 野 昇）

◎ 委託業務委員会

がんセンターの業務を効率的に運用するため、各種業務の委託契約を行っているが、平成7年度の委託業務内容の検討のため2回開催した。

1. 平成7年2月20日開催

本庁契約執行分に係る清掃業務、患者給食業務等8業務について検討した。

- ① 物品管理業務については、バーコード方式による物品管理について検討したが、翌年度予算要求時まで再検討することとした。

2. 平成7年3月3日開催

センター契約執行分に係る設備保守業務等38業務、機器装置保守業務53業務について検討した。

（松 木 親 夫）

◎ 医療機器・診療材料整備委員会

各部署責任者と数次にわたり個別にヒアリングを行った。機種選定に際しては緊急必要性の他に、中長期的整備にも配慮した。無菌室関連機器は次年度以降検討とした。必須と決定したものにつき機器選定資料の作成、選定委員会の議を経て発注処理を執行した。

(武 田 鐵太郎)

◎ 薬事委員会

1. 平成6年度薬事委員会 2回(6月、12月)

2. 委員

委員長 武田鐵太郎副委員長

他、医師7名、看護婦1名、総務1名、医事1名、薬剤師2名

3. 主な協議事項

・申請医薬品の臨時購入状況

内服薬の29品目、注射薬37品目、外用剤19品目

・注射オーダーのJM代行人力に伴う麻薬処方箋にかかわる変更事項について検討。

麻薬処方箋の一部変更

運用に際し、医師、看護婦、薬剤師に関する事項を取り決めた。

・内服薬のオーダーの一包化へ反映

・文書にて連絡(各部署)

阪神大震災により供給が停止される。(約5カ月)

医薬品(3品目、ビオフェルミン製薬)、品簿になっている薬剤。

4. 院外処方箋について

・院外処方箋発行に伴い応需薬局より、患者状況報告書を毎回提出してもらい、これをカルテに挿入し医師に情報提供。(院外処方箋に患者の診察券番号・I D -を出力可能にした)

・応需保険調剤薬局の薬剤師他、仙南薬剤師会、岩沼薬剤師会、県病薬県南ブロックの薬剤師の為に研修会を年に10回位実施。

センター大会議室。講師をセンター医師に依頼。他に薬剤師、メーカーMR

・処方箋応需状況を毎月報告しているが、枚数は1日平均14枚位。応需薬局は38カ所(一応面分業を行っている)

5. 医薬品の薬効別使用状況は別記。

(莊 司 良 子)

◎ 栄養委員会

入院食(治療食)と患者嗜好のズレにいかに対処するかが常に討議の中心であった。汁物の要望が高いので三食汁付という慣行は継続することにした。濃い味の希望に対し、部分的に味付けを濃くすることも検討したが、目にみえる効果は期待薄である。根本的には、栄養指導による食生活の意識改善が肝要だが、栄養士2名の現体制ではマンパワー不足である。

行事食は好評であり、今後共充実をこころがけていく。

(武 田 鐵太郎)

◎ 院内感染対策委員会

院内感染月報は前年度よりの2ヶ月毎に発行していて、その内容はMRSA、B型肝炎、C型肝炎、緑膿菌、結核菌、梅毒等の病棟別感染症発生状況をさらに、細菌検出状況（各診療科別、各病棟別、各材料別等）と検出細菌の耐性状況を院内関係部所に配布して、診療に役立っている。

また、外来MRSA患者の対応について、外来MRSA患者にMRSA感染症についてよく説明して、外来診療全体の流れを決定した。

平成6年度の職員HBワクチン接種状況は1. 職員通知（H6.7.22） 2. ワクチン実施日（H6.8.4～12の4日間） 3. 対象条件を有しさらに希望する職員74名（平成5年10月検査で対象となった職員、平成6年4月転勤および新規採用者の希望者）で第2回（H6.10月）、第3回（H7.3月）ワクチン実施して、H7.6月HB抗体価測定した。

院内感染防止対策の手引き（院内感染症防止マニュアル）は1993年度のHIV感染症、B型およびC型肝炎等の改正等を中心に検討して、より使い易く、現実に即した形に改訂した。

さらに、H6.12月よりHIV感染症の院内マニュアルを作成すべく、各部所で検討中である。

（院内感染対策委員会 委員長 中野 昇）

◎ 防災対策委員会

災害発生時における患者と職員の安全確保と迅速な避難を行うための訓練を2回実施した。「地震防災訓練を平成6年7月5日に、また、名取市消防署の指導による防火管理体制指導マニュアル訓練を平成7年1月25日に、それぞれ一部患者や警備等の業務委託企業の職員も含む全部門参加のもとに実地訓練を行った。当委員は、その準備と評価反省を目的に4回開催し、訓練の実効をあげるため万全を期した。

（佐々木 勝 典）

◎ 治験審査委員会

委託研究申込61件を審査し、全件承認した。委託研究申込は年々増加の傾向にあるが、その受入れには慎重な検討が必要である。

（武 田 鐵太郎）

◎ 交通安全対策委員会

職員の自動車等安全運転の励行について、機会あるごとに注意を喚起し、事故防止に努めてきたが、公務内外を問わず自動車を使用する機会がますます多くなり、職員に係わる交通事故が必ずしも減少していない状況である。

職員の安全運転の励行と交通事故防止の徹底を図るため、岩沼警察署の協力を得て安全運転講習会を平成7年1月23日に開催し、36名が参加した。

（松 木 親 夫）

◎ 組換えDNA実験安全委員会

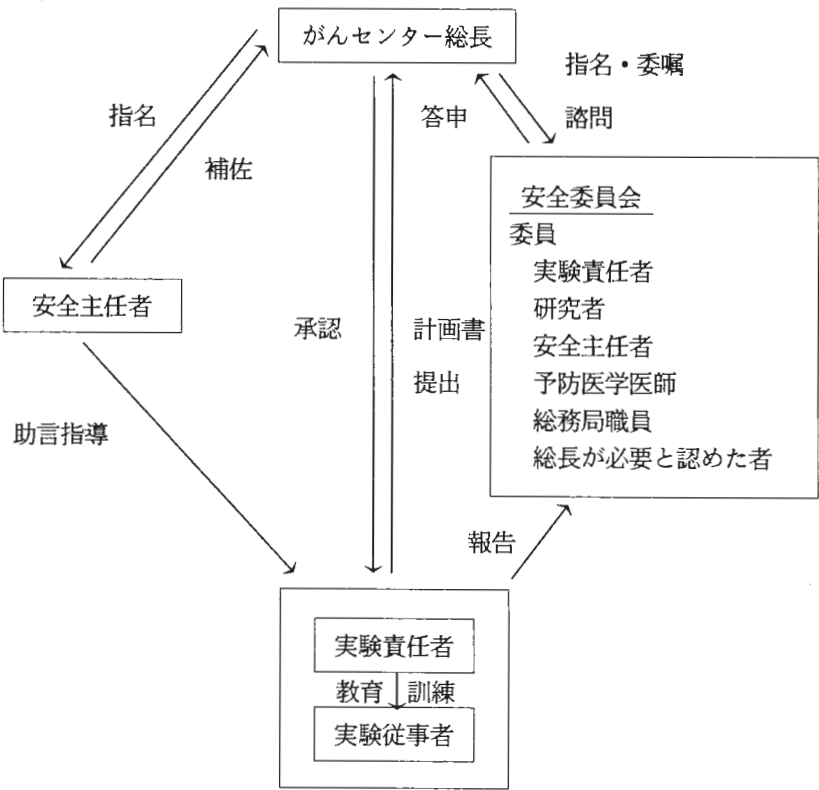
組換えDNA実験技術は、医学、生物学、生化学等の研究分野において、この15年来、広く普及し、急速な発展をみせている画期的な研究手法である。内閣総理大臣が定める指針によれば、「組換えDNA分子」

とは、「ある生細胞内で複製可能なDNA（ベクター）と異種のDNAを酵素等を用いて試験管内で結合させることによって作成したDNA」ということになっている。1972年、初の組換えDNA分子が米国のスタンフォード大で作成されたが、その後、組換えDNA実験が危険性を持った特殊の生物を生み出す可能性についての論議が活発となった。一時停止の傾向もあったが、安全指針の必要性が呼びかけられ、現在では実験施針の基に、世界中で実験が行われている。

当センターにおいても、組換えDNA実験の安全確保を目的として、平成5年9月21日付けで、「組換えDNA実験安全管理規程」が定められ、最高責任者である総長の基に、組換えDNA実験安全委員会が設置された。現在まで、3回の委員会が開かれ、2件の組換えDNA実験実施申請が承認を受けた。実験は、研究所の二階あるいは地下一階の組換えDNA実験室において行うことが義務づけられている。癌制圧のための研究の有力手段のひとつとして、規程を遵守しつつ、この技術を積極的に利用していきたいものである。

（宮 城 妙 子）

宮城県立がんセンター組換えDNA実験組織図



◎ 医療廃棄物委員会報告

平成5年度までの院内感染対策委員会より分離独立した委員会となり、委員会の目的は「産業廃棄物の処理および清掃に関する法律」および「感染性廃棄物処理マニュアル」に基づき、宮城県立がんセンターにおける医療廃棄物の管理および処理に関する事項を定め、感染性廃棄物による事故の発生を防止し、あわせて公共の生活環境の保全および公衆衛生の向上を図ることを目的とする。

この目的を図るため、約1年かけて「宮城県立がんセンター医療廃棄物管理規定」を策定して、今後、毎年必要に応じて改訂していくこととした。

さらに、日本オイラービルサービスKKに「平成6年度清掃等業務委託仕様書」を提出してもらい、医療廃棄物関係部分について検討した。

今後の大きな問題は

1. 宮城県立がんセンター全体の処理すべき医療廃棄物量の増大が大きく、現在の焼却設備では処理出来なくなりつつある事で、今後すみやかに設備の拡張が必要となること。
2. 現在の焼却炉の場所が不適當で、煙～臭い等が病室、給食部門、託児所等に流れていき、将来配置転換を考えることが必要であること。
3. 医療廃棄物処理時の業者（従業員等）の適正な監督指導等が必要等

今後予算上の配慮をうけて、順次分別処法の改善を図っていかねばならないと考えられる。

（医療廃棄物委員会 委員長 中 野 昇）

第3章 研究所の活動状況

研究所の活動は研究編にまとめてあるように学会発表、論文発表が中心である。それ以外の一般活動状況について報告する。

1. 研究所部長会議（委員長 海老名 卓三郎）

研究所の管理・運営に関する全ての問題に関しては、研究所会議に代行して研究所部長会議が討議を行い意志決定を行った。

出席者は海老名卓三郎、立野紘雄、氏家重紀、宮城妙子、涌井昭（総長兼所長）の5名で、おおむね2週毎の火曜日の午後3時30分から、全員が出席出来るよう日程を調整し、平成6年度は以下の日に開催した。

平成6年4月5・26日、5月17・31日、6月14・28日、7月19日、9月5・27日、10月25日、11月22日、12月13日、平成7年1月24日、2月14日、3月14日。（海老名 卓三郎）

2. 動物実験施設

今年度動物実験施設において使われた動物は、マウス1,000匹、ラット70匹、ハムスター35匹、ウサギ5羽に上った。動物実験取扱者講習を受講した実験者に施設入口の磁気カードを交付し、施設が利用出来るようになっている。現在研究所並びに医療局合わせて22名に磁気カードを交付している。動物の日常飼育管理は委託業者の2名の方に委託してある。

平成7年3月16日(休)午後4時30分から、動物実験施設玄関前において、平成6年度実験動物慰霊祭を行った。涌井昭総長、浅川洋病院長、門沢勝三総務局長をはじめ31名が出席、癌研究のため、その尊い命を捧げてくれた動物の霊に黙祷し、慰霊の言葉を捧げ、献花して冥福を祈った。（海老名 卓三郎）

3. RI研究施設活動報告

RI研究施設が設置され、利用可能となって二年が経過した。平成6年度も、癌制圧をめざした研究手段のひとつとして、RI施設が連日利用された。

6年度には、施設および人事面でふたつの変化があった。ひとつは、開設以来、閉鎖状態であったRI組換えDNA実験室の配水設備が改善され、科学技術庁の承認を受けて、6月以降利用できるようになったことであり、もうひとつは、10月にRI取扱主任者の交代があったことである。前半期には石川潔薬剤課長がRI管理業務の指導に当たっておられたが、その後任として小野敦放射線技師が後半期を担当された。昨年同様、管理業務の補助を千代田保安に委託し、週二回の割合で管理補助をいただいた。

RI施設利用申請者は、19名（研究所13名、医局5名、臨床検査室1名）であったが、放射線障害予防規定に基づいて、RI講習会および健康診断が5月に実施され、全員承認、個人利用カードの交付を受けた。年間を通じて約4名の研究員が常時施設を利用、 ^{32}P 、 ^{51}Cr 、 ^3H 、 ^{14}C などの核種がトレーサー実験に使用された。規定に従って利用する限り、時間や時刻の制限がなく、これは本施設の大きな利点である。

（宮 城 妙 子）

4. がんセンターセミナー

がんセンター大会議室において午後5時30分から午後6時30分まで以下の演者、演題でがんセンターセミナーを開催した。

第10回 平成6年5月24日(火)

演者：佐 竹 正 延 教授(東北大・加齢研・免疫遺伝子)

演題：細胞分化・癌化と転写因子

第11回 平成6年6月22日(水)

演者：大 内 清 昭 博士(がんセンター・外科)

演題：胆道癌の病態と集学的治療法

第12回 平成6年7月6日(水)

演者：垣 添 忠 生 博士(国立がんセンター・病院長)

演題：CureとCare ―癌診療の現状―

第13回 平成6年9月21日(水)

演者：斎 藤 元 男 博士(中外製薬・学術部長)

演題：BRMによる免疫療法

第14回 平成6年10月11日(火)

演者：武 田 鐵太郎 博士(がんセンター・副院長)

演題：腺癌と境界病変

第15回 平成6年11月24日(木)

演者：高 橋 徹 教授(東北大・加齢研・病態臓器構築)

演題：腺癌の境界病変に関する二三の問題

第16回 平成7年1月18日(水)

演者：山 室 誠 博士(がんセンター・麻酔科)

演題：癌性疼痛の治療

第17回 平成7年2月7日(火)

演者：菊 池 九二三 教授(北大・免疫研・生化学)

演題：プロテインホスファターゼの癌性変異

第18回 平成7年3月31日(金)

演者：箱 守 仙一郎 教授(米国・ワシントン大学)

演題：ガンの悪性度を決定する糖鎖異常について

(海老名 卓三郎)

統計編

第1章 医療統計 (平6.4.1～7.3.31)

1. 内視鏡検査件数

種 別	件 数	種 別	件 数
食道・胃・十二指腸ファイバースコープ	(1,344) 4,026	緊急内視鏡上部	1
大腸ファイバースコープ	(648) 1,347	緊急内視鏡下部	3
気管支ファイバースコープ	(101) 187	止血術上部	9
E R C P	32	止血術下部	13
小腸ファイバースコープ	(1) 1	O K 432 局注上部	9
超音波上部	43	点墨上部	21
超音波下部	39	点墨下部	2
拡張術上部	8	クリッピング上部	9
ポリペクトミー上部	89	クリッピング下部	15
ポリペクトミー下部	201	インジゴ散布上部	44
レーザー上部	52	ルゴール散布	34
食道静脈瘤硬化療法	4	計	(2,094) 6,189

() 書きは生検数で内数

2. 部位別手術件数

部位別		月別	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	計	備 考
中 神 枢 経 系	脳・骨髄		3	4	4	2	4	2	2	4	4	5	3	7	44	
	その他															
頭 頸 部	喉頭		3	2	2	2	3	3	2		1	3	2	2	25	
	咽頭			1	1	2	1	1			1	1	2	3	13	
	口腔			4	1	2	1	1	3	1	1	1	1	3	19	
	鼻・副鼻腔		1				1		1	5		1	2	2	13	
	甲状腺						1	1			2			2	6	
	唾液腺			1		1	1	1		1	1				6	
	顔面・頸部		3	1	2	3	1	3		3	2		3	1	22	
	その他		3	1	2	1	1	4		1		2		1	16	
乳 腺	乳房（切除）		4	6	10	6	6	4		7	3	6	2	8	62	
	その他			3	1	1		1				1			7	
呼 吸 器 系	肺		4	7	6	2	2	6	9	4	6	10	9	9	74	
	縦隔			1	2		1	1	1		1				7	
	胸壁				1										1	
	その他		1		1		1								3	
消 化 器 系	食道			1	1	1			1					1	5	
	胃		12	14	10	13	10	12	10	7	10	10	10	17	135	
	小・大・直腸		5	2	8	12	13	12	6	5	6	7	8	8	92	
	肝・胆道・膵		7	7	12	3	1	4	9	8	2	8	6	4	71	
消 化 器	腹壁			1	1	1		1	1	1					6	
	その他			1									1		2	
泌 尿 生 殖 器 系	副腎		1						1						2	
	腎		1	2	1		1	2	1	4	2		3	4	21	
	尿管			1		1	1	1			1	1	2	2	10	
	膀胱		2	3	3		2	1	1	3	3	1	4	2	25	
	前立腺		2	1	3	1	1	1		3	2	1	1	4	20	
	尿道・陰茎												1		1	
	睾丸			1		1	1								3	
	子宮		3	4	8	8	6	5	6	4	7	7	8	8	74	
	子宮付属器			1	1			2	2	1	3	4	6	2	22	
	その他		2		4	1	1		5	3	1	2	1		20	
運 動 器 系	脊椎		2		3	4		1		2	2	1	2	3	20	
	四肢		3	2	3	2	4	7	5	5	5	4	4	2	46	
	体幹		3	1	3	1	2		2		1	3	3	4	23	
皮 膚																
リ ン パ ・ 造 血 器																
そ の 他																
計			65	73	94	71	67	77	68	72	67	79	84	99	916	

※ 臓器が重複する場合には、それぞれの臓器に分けて記載。

※ （ ）内は切除、再建例。

※ その他は、試験切除を含む。

3. 検査延件数

部門 \ 月別	4 月	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月	1 月	2 月	3 月	合 計
一 般 検 査	15,816	16,311	18,282	17,808	17,097	17,294	16,933	17,379	15,876	16,921	16,552	18,251	204,520
生化学検査	39,111	41,687	44,678	43,541	44,922	44,142	44,179	43,805	41,207	42,396	42,777	46,473	518,918
血 液 検 査	18,941	19,906	21,435	21,033	20,877	20,933	21,060	20,715	19,234	19,637	19,925	21,967	245,663
血 清 検 査	2,369	2,516	2,773	2,815	2,755	2,785	2,643	2,874	2,635	2,773	2,816	2,861	32,617
輸 血 検 査	2,298	3,823	3,505	3,838	3,398	3,454	4,267	3,949	5,005	3,822	4,161	5,523	47,043
細 菌 検 査	2,322	2,176	2,535	2,690	3,417	3,013	2,609	1,923	1,448	2,321	2,114	2,398	28,966
生 理 検 査	1,163	1,151	1,300	1,213	1,100	1,228	1,152	1,192	1,058	1,244	1,184	1,397	14,382
病 理 検 査	1,074	1,557	1,421	1,268	1,132	1,227	1,345	1,346	1,511	1,132	1,374	1,483	15,870
細胞診検査	902	921	1,093	995	915	1,072	1,004	986	1,032	897	980	1,154	11,951
合 計	83,996	90,050	97,022	95,201	95,613	95,148	95,192	94,169	89,006	91,143	91,883	101,507	1,119,930
解 剖	0	1	0	0	1	0	1	1	2	0	0	2	8
受 託 検 査	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
委 託 検 査	1,208	993	1,211	1,198	1,202	1,301	1,309	1,472	1,355	1,233	1,387	1,449	15,318
職員HBS－AG	0	0	38	0	4	0	0	0	0	0	0	0	42
職員HBS－AB	0	0	38	0	4	0	0	0	0	0	0	0	42
院内細菌検査	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

4. 画像診断、放射線治療件数

区分 月別	画 像 診 断 部 門								放射線治療部門		計
	単 純		造 影		特 殊				リ ニ アック	治療 計画 等	
	一 般	断 層	消化管	造影等	C T	M R I	超音波	核 医			
6年4月	1,376	45	162	74	248	96	345	73	564	30	3,013
5月	1,520	42	149	91	243	98	357	62	456	37	3,055
6月	1,541	42	195	105	293	125	273	107	673	18	3,372
7月	1,502	39	176	67	285	111	186	84	314	23	2,787
8月	1,504	48	144	72	264	92	194	76	724	46	3,164
9月	1,542	44	161	69	256	123	204	91	767	40	3,297
10月	1,510	59	176	78	282	112	191	94	579	35	3,116
11月	1,686	52	179	86	296	111	182	87	597	34	3,310
12月	1,500	42	180	73	279	106	214	74	548	76	3,092
7年1月	1,439	36	169	90	290	104	216	67	572	79	3,062
2月	1,424	28	164	92	285	118	211	77	606	83	3,088
3月	1,766	22	215	132	301	130	256	102	654	54	3,632
計	18,310	499	2,070	1,029	3,322	1,326	2,829	994	7,054	555	37,988

5. 患者食数と材料費

区分 月別		患 者 食 数		検 食 等	給 食 数 合 計	給 食 材 料 費			
		普 通 食	特 別 食			購 入 費	1 食 当 り	1 人 1 日 当 り	
			加 算						そ の 他
6 年 4 月		9,965 食	4,239 食	4,412 食	360 食	18,976 食	5,565 千円	294 円	880 円
5 月		10,307	4,241	3,708	372	18,628	4,940	266	796
6 月		11,953	4,156	3,839	360	20,308	5,062	250	748
7 月		12,008	3,680	4,184	372	20,244	5,125	254	760
8 月		11,291	3,563	4,073	372	19,299	4,826	250	750
9 月		11,577	3,520	3,734	360	19,191	5,210	272	815
10月		10,837	3,644	4,015	372	18,868	5,017	266	798
11月		12,243	3,281	4,160	360	20,044	4,993	250	748
12月		11,615	3,298	4,432	372	19,717	5,025	255	765
7 年 1 月		12,517	2,855	3,764	372	19,508	5,154	265	793
2 月		11,844	3,599	4,321	336	20,100	4,787	239	715
3 月		12,717	4,111	4,320	372	21,520	5,214	243	727
計		138,874	44,187	48,962	4,380	236,403	60,917	258	773
年度別	5	107,427	46,872	43,414	4,290	202,003	53,466	265	794
	4	62,966	61,318	41,025	3,117	168,426	41,450	246	630

6. 栄養指導状況

病態別 年度	個 人 指 導														集 団 指 導				総 計	
	外 来							入院時・入院中・退院時							合 計	入院時・入院中・退院時				
	糖 尿 病	高 血 圧 症	高 脂 血 症	肝 臓 病	心 臓 病	腎 術 後 食	小 計	糖 尿 病	高 血 圧 症	心 臓 病	腎 臓 病	そ の 他	小 計	糖 尿 病 昼 食 会		糖 尿 病 教 室	病 棟 訪 問 指 導	合 計		
6	685	31	10	4	8	3	741	94	5	3	1	6	109	850	78	0	22	100	950	

7. 血液使用状況

単位（1単位 200ml）

項 目	4 月	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月	1 月	2 月	3 月	合 計
生 血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
自 己 血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	8
保 存 血	4	0	2	0	5	10	0	4	6	6	0	4	41
新 鮮 血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
濃厚赤血球	217	412	362	365	268	306	374	379	488	368	403	584	4,526
洗浄赤血球	46	32	34	46	74	43	68	25	65	21	32	50	536
凍結人血漿	180	320	390	210	300	210	485	271	300	204	335	350	3,555
濃厚血小板	150	170	153	180	110	215	570	400	315	395	697	795	4,150
合 計	597	934	941	801	757	784	1,497	1,079	1,174	994	1,475	1,783	12,816

8. 医薬品購入状況（薬効別）

（単位：購入額：千円、構成比：％）

上段：平成6年度（平成6年4月～平成7年3月）、下段：平成5年度（平成5年4月～平成6年3月）

科目別 薬効分類	内 用 薬		外 用 薬		注 射 薬		合 計	
	購 入 額	構 成 比	購 入 額	構 成 比	購 入 額	構 成 比	購 入 額	構 成 比
中 枢 神 経 系 用 薬	10,690 8,082	3.20 3.55	8,458 4,212	12.04 9.61	2,937 1,308	0.59 0.46	22,085 13,602	2.45 2.46
末 梢 神 経 系 用 薬	2,565 1,752	0.77 0.77	533 343	0.76 0.78	4,933 2,611	0.99 0.93	8,031 4,706	0.89 0.85
感 覚 器 官 用 薬	173 87	0.05 0.04	1,374 675	1.96 1.54	0 0	0.00 0.00	1,547 762	0.17 0.14
循 環 器 官 用 薬	77,239 58,420	23.11 25.63	9,479 7,104	13.49 16.22	20,525 10,647	4.12 3.76	107,243 76,171	11.88 13.77
呼 吸 器 官 用 薬	4,660 3,767	1.39 1.65	3,541 2,201	5.04 5.02	669 200	0.13 0.07	8,870 6,168	0.98 1.11
消 化 器 官 用 薬	53,319 34,332	15.95 15.06	1,289 854	1.83 1.95	22,202 6,581	4.45 2.34	76,810 41,767	8.51 7.55
ホルモン剤（抗ホ剤を含む）	6,244 5,277	1.87 2.31	191 88	0.27 0.20	33,140 17,340	6.65 6.16	39,575 22,705	4.38 4.10
泌尿生殖器官及び肛門用薬	3,776 2,181	1.13 0.96	1,332 594	1.90 1.36	2 0	0.00 0.00	5,110 2,775	0.57 0.50
外 皮 用 薬	0 0	0.00 0.00	16,803 9,855	23.92 22.50	0 0	0.00 0.00	16,803 9,855	1.86 1.78
そ の 他 の 個 々 の 器 官 系 の 用 医 薬 品	55 0	0.02 0.00	0 0	0.00 0.00	2 0	0.00 0.00	57 0	0.01 0.00
ビ タ ミ ン 剤	2,032 1,746	0.61 0.77	0 0	0.00 0.00	2,804 1,772	0.56 0.63	4,836 3,518	0.54 0.64
滋 養 強 壮 薬	7,039 6,469	2.11 2.84	0 0	0.00 0.00	42,167 19,355	8.46 6.88	49,206 25,824	5.45 4.67
血 液 ・ 体 液 用 薬	8,021 3,626	2.40 1.59	2,600 1,806	3.70 4.12	59,617 32,402	11.96 11.51	70,238 37,834	7.78 6.84
人 工 灌 流 用 剤	0 0	0.00 0.00	0 0	0.00 0.00	0 16	0.00 0.01	0 16	0.00 0.00
そ の 他 の 代 謝 性 医 薬 品	15,697 8,678	4.70 3.81	790 68	1.12 0.16	27,441 13,401	5.51 4.76	43,928 22,147	4.87 4.00
腫 瘍 用 薬	107,690 70,628	32.22 30.98	183 200	0.26 0.46	51,087 26,022	10.25 9.24	158,960 96,850	17.61 17.50
ア レ ル ギ ー 用 薬	3,477 1,852	1.04 0.81	0 0	0.00 0.00	9 15	0.00 0.01	3,486 1,867	0.39 0.34
漢 方 製 剤	9,264 7,342	2.77 3.22	0 0	0.00 0.00	0 0	0.00 0.00	9,264 7,342	1.03 1.33
抗 生 物 質 製 剤	5,143 3,080	1.54 1.35	0 0	0.00 0.00	65,362 30,109	13.11 10.70	70,505 33,189	7.81 6.00
化 学 療 法 剤	6,330 3,676	1.89 1.61	243 70	0.35 0.16	5,144 3,172	1.03 1.13	11,717 6,918	1.30 1.25
生 物 学 的 製 剤	0 0	0.00 0.00	0 0	0.00 0.00	86,873 86,334	17.43 30.67	86,873 86,334	9.62 15.60
寄 生 動 物 用 薬	62 0	0.02 0.00	0 0	0.00 0.00	0 0	0.00 0.00	62 0	0.01 0.00
調 剤 用 薬	64 3	0.02 0.00	2,095 1,156	2.98 2.64	1,164 641	0.23 0.23	3,323 1,800	0.37 0.33
診 断 用 薬	2,641 1,508	0.79 0.66	6 6	0.01 0.01	67,381 27,653	13.52 9.82	70,028 29,167	7.76 5.27
その他治療を目的としない医薬品	1,313 919	0.39 0.40	13,585 9,525	19.34 21.74	0 0	0.00 0.00	14,898 10,444	1.65 1.89
アルカロイド系製剤（天然麻薬）	6,706 4,552	2.01 2.00	833 546	1.19 1.25	4,425 1,768	0.89 0.63	11,964 6,866	1.33 1.24
合 成 麻 薬	0 0	0.00 0.00	0 0	0.00 0.00	526 158	0.11 0.06	526 158	0.06 0.03
そ の 他	0 0	0.00 0.00	6,915 4,504	9.84 10.28	0 0	0.00 0.00	6,915 4,504	0.77 0.81
合 計	334,200 227,977	100.00 100.00	70,250 43,807	100.00 100.00	498,410 281,505	100.00 100.00	902,860 553,289	100.00 100.00

（注） 1. この表には、保存血関係は除外している。

2. 平成5年度から管理システム変更に伴い、薬効分類の見直しを実施した。

9. 処方箋統計

月 別 処方箋		平 成 6 年									平 成 7 年			当年度 計	平 成 5 年度	増 減
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
枚 数 (枚)	入院	1,915	1,915	2,325	2,165	2,046	1,940	1,833	1,992	2,131	2,007	2,238	2,373	24,880	19,408	5,472
	外来	3,279	3,055	3,239	3,267	3,358	3,286	3,281	3,316	3,470	3,304	3,425	3,980	40,260	34,910	5,350
	計	5,194	4,970	5,564	5,432	5,404	5,226	5,114	5,308	5,601	5,311	5,663	6,353	65,140	54,318	10,822
剤 数 (剤)	入院	4,031	3,890	4,810	4,546	4,079	3,989	3,715	4,214	4,472	4,080	4,473	4,815	51,114	42,098	9,016
	外来	9,496	8,848	9,403	9,544	9,593	9,614	9,638	9,814	10,156	9,778	10,155	11,944	117,983	100,675	17,308
	計	13,527	12,738	14,213	14,090	13,672	13,603	13,353	14,028	14,628	13,858	14,628	16,759	169,097	142,773	26,324
延剤数 (日)	入院	31,835	30,015	36,306	35,346	32,813	31,489	29,764	32,559	35,881	32,182	34,385	38,356	400,931	316,661	84,270
	外来	162,834	152,252	159,389	163,203	168,723	169,127	169,234	168,884	177,815	166,265	168,818	203,113	2,029,657	1,735,575	294,082
	計	194,669	182,267	195,695	198,549	201,536	200,616	198,998	201,443	213,696	198,447	203,203	241,469	2,430,588	2,052,236	378,352
院外処方箋枚数		222	216	243	285	243	271	288	287	268	241	249	295	3,108	2,273	835

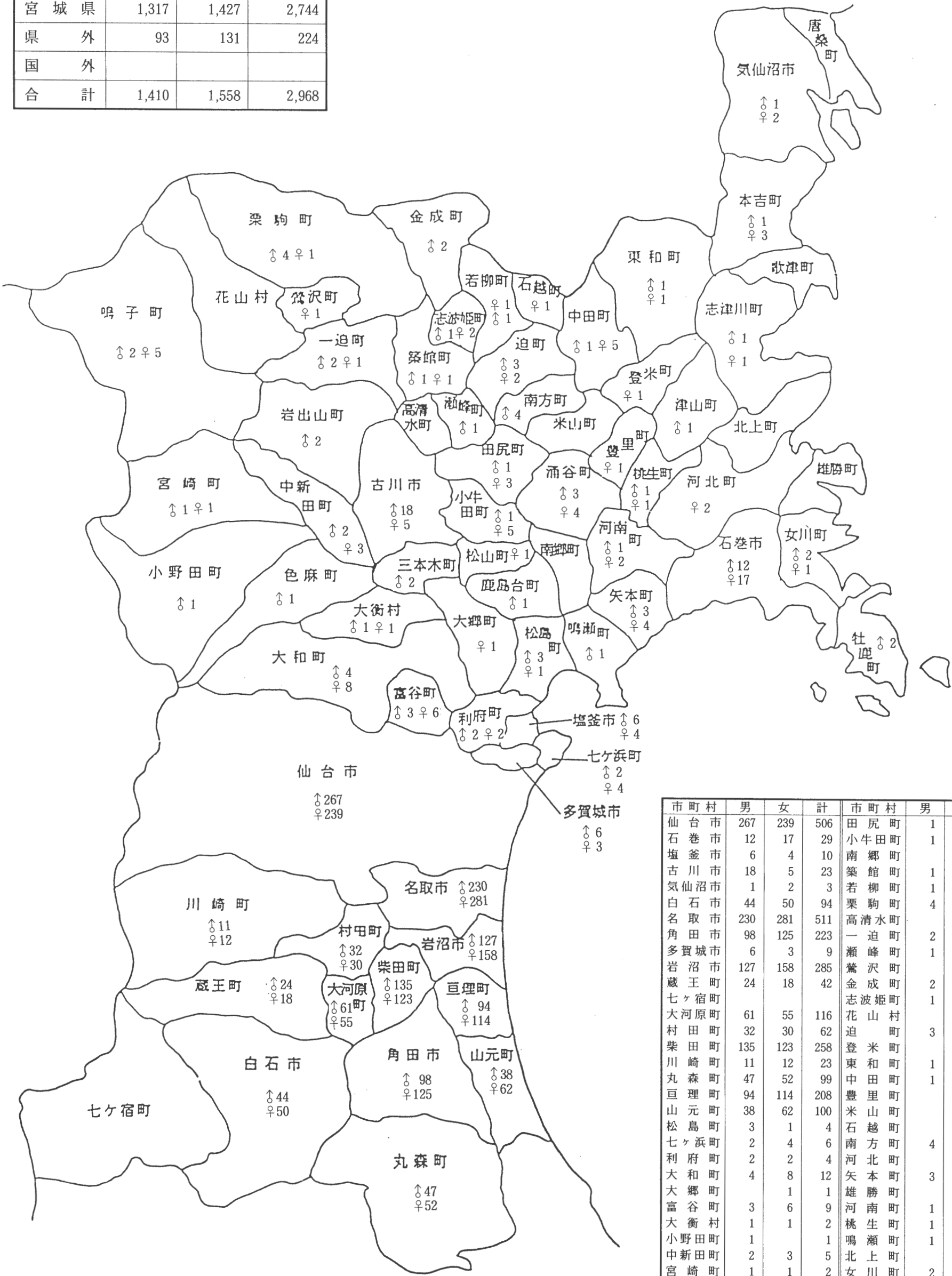
処方箋統計 追報

月 別 処方箋		平 成 5 年										平 成 6 年			当年度 計	平 成 4 年度	増 減
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3				
枚 数 (枚)	入院	1,209	608	1,191	1,498	1,672	1,731	1,782	1,874	2,022	1,836	1,844	2,141	19,408	16,337	3,071	
	外来	3,823	2,149	2,832	2,869	2,748	2,869	2,912	2,915	2,938	2,821	2,781	3,253	34,910	43,397	-8,487	
	計	5,032	2,757	4,023	4,367	4,420	4,600	4,694	4,789	4,960	4,657	4,625	5,394	54,318	59,734	-5,416	
剤 数 (剤)	入院	2,931	1,442	2,609	3,184	3,537	3,710	3,865	3,923	4,543	3,868	3,875	4,611	42,098	47,076	-4,978	
	外来	12,096	6,004	7,919	8,113	7,691	7,962	8,209	8,333	8,592	8,186	8,121	9,449	100,675	126,111	-25,436	
	計	15,027	7,446	10,528	11,297	11,228	11,672	12,074	12,256	13,135	12,054	11,996	14,060	142,773	173,187	-30,414	
延剤数 (日)	入院	19,556	10,390	18,780	23,485	26,099	27,555	30,253	30,865	35,175	29,377	30,023	35,103	316,661	241,023	75,638	
	外来	200,611	101,551	135,577	140,825	137,085	139,568	143,567	143,713	149,546	141,677	139,722	162,133	1,735,575	2,003,456	-267,881	
	計	220,167	111,941	154,357	164,310	163,184	167,123	173,820	174,578	184,721	171,054	169,745	197,236	2,052,236	2,244,479	-192,243	
院外処方箋枚数			100	175	185	177	215	225	241	262	224	216	253	2,273		2,273	

第2章 患者統計 (平6.4.1~7.3.31)

1. 登録患者の市町村別分布状況

区分	男	女	計
宮城県	1,317	1,427	2,744
県外	93	131	224
国外			
合計	1,410	1,558	2,968



市町村	男	女	計	市町村	男	女	計
仙台市	267	239	506	田尻町	1	3	4
石巻市	12	17	29	小牛田町	1	5	6
塩釜市	6	4	10	南郷町			
古川市	18	5	23	築館町	1	1	2
気仙沼市	1	2	3	若柳町	1	1	2
白石市	44	50	94	栗駒町	4	1	5
名取市	230	281	511	高清水町			
角田市	98	125	223	一迫町	2	1	3
多賀城市	6	3	9	瀬峰町	1		1
岩沼市	127	158	285	鷺沢町		1	1
蔵王町	24	18	42	金成町	2		2
七ヶ宿町				志波姫村	1	2	3
大河原町	61	55	116	花山村			
村田町	32	30	62	迫町	3	2	5
柴田町	135	123	258	登米町		1	1
川崎町	11	12	23	東和町	1	1	2
丸森町	47	52	99	中田町	1	5	6
巨理町	94	114	208	豊里町		1	1
山元町	38	62	100	米山町			
松島町	3	1	4	石越町		1	1
七ヶ浜町	2	4	6	南方町	4		4
利府町	2	2	4	河北町		2	2
大和町	4	8	12	矢本町	3	4	7
大郷町		1	1	雄勝町			
富谷町	3	6	9	河内町	1	2	3
大衡村	1	1	2	桃生町	1	1	2
小野田町	1		1	鳴瀬町	1		1
中新田町	2	3	5	北上町			
宮崎町	1	1	2	女川町	2	1	3
色麻町	1		1	牡鹿町	2		2
松山町		1	1	志津川町	1	1	2
三本木町	2		2	津山町	1		1
鹿島台町	1		1	本吉町	1	3	4
岩出山町	2		2				
鳴子町	2	5	7				
涌谷町	3	4	7				

2. 登録患者数の状況

(1) 患 者 数 (単位：人)

診療日数		外 来 患 者				入 院 患 者						外来入院	1日平均
外来	入院	新患	再来(含 再来初診)	計(A)	1日平均 患 者 数	入院	退院	延患者数 (B)	1日平均 患 者 数	平均在院 日 数	病 床 利用率	患者合計 (A)+(B)	入院外来 患 者 数
245	365	2,968	58,428	61,396	250.6	2,089	(233) 2,056	97,655	268	47.1	86.9	159,051	518

(注) () 書は死亡退院で内書

(2) 外来患者数 (単位：人)

区 分		年 度		6 年									7 年		
		月 別													
		5 年度	6 年度												
		総 数	総 数	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
初診患者	新規登録患者	3,055	2,968	229	245	254	280	227	256	254	265	251	220	231	256
	再来初診患者	3,844	3,517	237	278	354	323	263	279	320	307	262	245	321	328
再 来 患 者		54,142	54,911	4,257	4,105	4,482	4,595	4,728	4,534	4,655	4,681	4,794	4,454	4,471	5,155
(外 来 患 者 延 数)		60,437	61,396	4,723	4,628	5,090	5,198	5,218	5,069	5,229	5,253	5,307	4,919	5,023	5,739
1 日 平 均 患 者 数		251	251	236	244	231	248	227	253	261	263	279	259	251	261

(3) 入院患者数 (単位：人)

区 分	年 度		6 年	5	6	7	8	9	10	11	12	7 年	2	3
	月 別	5 年度												
	総 数	総 数	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
入 院 患 者	1,583	2,089	139	172	186	183	169	189	154	188	156	185	169	199
退 院 患 者	1,493	2,056	166	138	184	176	164	188	169	159	209	131	175	197
(同 上 中 死 亡)	169	233	15	20	14	18	27	20	20	24	24	13	12	26
入 院 患 者 延 数	77,973	97,655	7,785	7,899	8,151	8,274	8,153	7,900	7,997	8,220	8,367	8,210	7,972	8,727
1 日 平 均 患 者 数	214	268	260	255	272	267	263	263	258	274	270	265	285	282
病 床 利 用 率 (%)	71.2	86.9	84.3	82.7	88.2	86.7	85.4	85.5	83.8	89.0	87.6	86.0	92.4	91.4
平 均 在 院 日 数 (日)	50.7	47.1	50.0	51.0	44.1	46.1	49.0	41.9	49.5	47.4	45.8	52.0	46.3	44.1

3. 登録患者の主要病類・性・住所地別状況

(単位：人)

主要病類 住所地 性			合計	I	Ⅱ ₁	Ⅱ ₂	Ⅲ ₁	Ⅲ ₂	Ⅳ	V	Ⅵ	Ⅶ	Ⅷ	Ⅸ	X	XI	XII	XⅢ	XⅣ	XⅤ	XⅥ	XⅦ
県内	仙台市	男	267	6	78	37	4	10			3	10	22	63	9		1	10	2		8	4
		女	239	2	48	36	7	4	2		4	9	20	48	37		2	9			8	3
		計	506	8	126	73	11	14	2	0	7	19	42	111	46	0	3	19	2	0	16	7
	仙台市以外	男	1,050	49	248	162	16	27	9	2	15	53	105	220	50		4	25	5		56	4
		女	1,188	44	220	204	22	29	19	3	17	50	81	209	170	1	8	44	4		55	8
		計	2,238	93	468	366	38	56	28	5	32	103	186	429	220	1	12	69	9	0	111	12
合 計		2,744	101	594	439	49	70	30	5	39	122	228	540	266	1	15	88	11	0	127	19	
県外	男	93	3	37	15						1	2	8	21				1			5	
	女	131	4	25	33	3		1			1	10	7	17	21	1	1	2	1		3	1
	計	224	7	62	48	3	0	1	0	2	12	15	38	21	1	1	3	1	0	8	1	
総計	男	1,410	58	363	214	20	37	9	2	19	65	135	304	59	0	5	36	7	0	69	8	
	女	1,558	50	293	273	32	33	22	3	22	69	108	274	228	2	11	55	5	0	66	12	
	計	2,968	108	656	487	52	70	31	5	41	134	243	578	287	2	16	91	12	0	135	20	

(注) 3及び4表中「主要病類」の分類は次のとおりである。

- | | |
|---------------------------------|-----------------------|
| I . 伝染病および寄生虫病 | Ⅸ . 消化器系の疾患 |
| Ⅱ ₁ . 悪性新生物 | X . 泌尿器系の疾患 |
| Ⅱ ₂ . 良性および物質不詳の新生物 | XI . 妊娠・分娩および産褥の合併症 |
| Ⅲ ₁ . 内分泌・栄養および代謝の疾患 | XII . 皮膚および皮下組織の疾患 |
| Ⅲ ₂ . 糖 尿 病 | XIII . 筋骨格系および結合組織の疾患 |
| Ⅳ . 血液および造血器の疾患 | XIV . 先 天 異 常 |
| V . 精 神 障 害 | XV . 周産器疾病および死亡の主要原因 |
| Ⅵ . 神経系および感覚器の疾患 | XVI . 症状および診断不明確の状態 |
| Ⅶ . 循環器系の疾患 | XVII . 不慮の事故・中毒および暴力 |
| Ⅷ . 呼吸器系の疾患 | |

4. 登録患者の主要病類・性・年齢別状況

(単位：人)

性	主要病類 年齢	合計	I	Ⅱ ₁	Ⅱ ₂	Ⅲ ₁	Ⅲ ₂	Ⅳ	V	Ⅵ	Ⅶ	Ⅷ	Ⅸ	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII
男	10才未満	11			3					1		1	1				2			2	1
	10～19才	45	3		10	2		2		1	1	5	8	1			3			7	2
	20～29才	97	7	3	10	1	1			2	6	14	28	7		2	5			8	3
	30～39才	165	9	8	23	5	4	1	2	1	7	18	63	5			6	2		10	1
	40～49才	279	12	32	50	6	6	1		3	19	28	82	12			9			18	1
	50～59才	261	10	63	45	2	19	1			13	17	68	7		2	4	2		8	
	60～69才	295	7	132	41	1	4	3		4	10	28	35	16		1	4	2		7	
	70才以上	257	10	125	32	3	3	1		7	9	24	19	11			3	1		9	
	計	1,410	58	363	214	20	37	9	2	19	65	135	304	59	0	5	36	7	0	69	8
女	10才未満	6			1					2		2					1				
	10～19才	59	3	2	9	1	2	2		4	6	4	12	3		1	4	1		5	
	20～29才	188	5	10	27	2	3	5		6	11	20	40	38	1	1	6	1		10	2
	30～39才	204	3	21	29	7	2	5			10	12	38	55		4	6			11	1
	40～49才	357	6	63	80	11	5	5	3	1	6	19	51	70	1	5	11	1		18	1
	50～59才	279	17	49	47	4	8	2		3	14	16	54	36			10	1		14	4
	60～69才	262	11	67	54	4	7	1		3	14	16	51	18			10			4	2
	70才以上	203	5	81	26	3	6	2		3	8	19	28	8			7	1		4	2
	計	1,558	50	293	273	32	33	22	3	22	69	108	274	228	2	11	55	5	0	66	12
合 計	10才未満	17	0	0	4	0	0	0	0	3	0	3	1	0	0	0	3	0	0	2	1
	10～19才	104	6	2	19	3	2	4	0	5	7	9	20	4	0	1	7	1	0	12	2
	20～29才	285	12	13	37	3	4	5	0	8	17	34	68	45	1	3	11	1	0	18	5
	30～39才	369	12	29	52	12	6	6	2	1	17	30	101	60	0	4	12	2	0	21	2
	40～49才	636	18	95	130	17	11	6	3	4	25	47	133	82	1	5	20	1	0	36	2
	50～59才	540	27	112	92	6	27	3	0	3	27	33	122	43	0	2	14	3	0	22	4
	60～69才	557	18	199	95	5	11	4	0	7	24	44	86	34	0	1	14	2	0	11	2
	70才以上	460	15	206	58	6	9	3	0	10	17	43	47	19	0	0	10	2	0	13	2
	総 計	2,968	108	656	487	52	70	31	5	41	134	243	578	287	2	16	91	12	0	135	20

5. 新患者悪性新生物数 平成6年度

病 名	件 数		
	男 性	女 性	合 計
140 口唇の悪性新生物		2	2
141 舌の悪性新生物	7	5	12
142 大唾液腺の悪性新生物	3	2	5
144 口腔床の悪性新生物	1		1
145 その他の部位及び部位不明の口腔の悪性新生物	3		3
146 中咽頭の悪性新生物	4		4
147 鼻＜上＞咽頭の悪性新生物	1	2	3
148 下咽頭の悪性新生物	6	1	7
149 その他及び部位不明確の口唇、口腔及び咽頭の悪性新生物	2		2
150 食道の悪性新生物	16	5	21
151 胃の悪性新生物	88	42	130
152 小腸の悪性新生物、十二指腸を含む	1	1	2
153 結腸の悪性新生物	24	16	40
154 直腸、直腸S状結腸移行部及び肛門の悪性新生物	15	9	24
155 肝及び肝内胆管の悪性新生物	14	3	17
156 胆のう＜嚢＞及び肝外胆管の悪性新生物	3	4	7
157 膵の悪性新生物	11	4	15
158 後腹膜及び腹膜の悪性新生物		1	1
159 その他及び部位不明確の消化器及び腹膜の悪性新生物		1	1
160 鼻腔、中耳及び副鼻腔の悪性新生物	8	3	11
161 喉頭の悪性新生物	15	1	16
162 気管、気管支及び肺の悪性新生物	63	26	89
164 胸腺、心及び縦隔の悪性新生物	1	1	2
170 骨及び関節軟骨の悪性新生物	1	1	2
171 結合組織及びその他の軟部組織の悪性新生物	3		3
172 皮膚の悪性黒色腫	1	1	2
173 皮膚のその他の悪性新生物	1	1	2
174 女性乳房の悪性新生物		55	55

病 名	件 数		
	男 性	女 性	合 計
179 子宮の悪性新生物、部位不明		9	9
180 子宮頸の悪性新生物		25	25
181 胎盤の悪性新生物		1	1
182 子宮体の悪性新生物		5	5
183 卵巣及びその他の子宮付属器の悪性新生物		12	12
185 前立腺の悪性新生物	17		17
186 睪丸＜精巣＞の悪性新生物	3		3
188 膀胱の悪性新生物	12	4	16
189 腎並びにその他及び部位不明の泌尿器の悪性新生物	15	6	21
191 脳の悪性新生物	1	2	3
193 甲状腺の悪性新生物		6	6
195 その他の部位及び不明確な部位の悪性新生物	2	5	7
196 リンパ節の続発性及び詳細不明の悪性新生物	1		1
197 呼吸系及び消化系の続発性悪性新生物	1	1	2
198 その他の明示された部位の続発性悪性新生物	7	5	12
201 ホジキン＜HODGKIN＞病	1		1
202 リンパ（球）様及び組織球組織のその他の悪性新生物	8	8	16
203 多発性骨髄腫及び免疫増殖性新生物	3	1	4
233 乳房及び泌尿生殖系の上皮内癌		16	16
合 計	363	293	656

6. 癌登録患者部位別・男女別総数

平成7年8月1日現在

病 名	件 数		
	男 性	女 性	合 計
140 口唇の悪性新生物	10	5	15
141 舌の悪性新生物	13	8	21
142 大唾液腺の悪性新生物	8	2	10
143 歯肉の悪性新生物	1	2	3
144 口腔床の悪性新生物	4		4
145 その他の部位及び部位不明の口腔の悪性新生物	5		5
146 中咽頭の悪性新生物	6	1	7
147 鼻<上>咽頭の悪性新生物	7	2	9
148 下咽頭の悪性新生物	14	1	15
149 その他及び部位不明確の口唇、口腔及び咽頭の悪性新生物	9	1	10
150 食道の悪性新生物	316	73	389
151 胃の悪性新生物	1,466	641	2,107
152 小腸の悪性新生物、十二指腸を含む	15	6	21
153 結腸の悪性新生物	275	200	475
154 直腸、直腸S状結腸移行部及び肛門の悪性新生物	228	150	378
155 肝及び肝内胆管の悪性新生物	170	65	235
156 胆のう<嚢>及び肝外胆管の悪性新生物	71	76	147
157 膵の悪性新生物	122	73	195
158 後腹膜及び腹膜の悪性新生物	3	7	10
160 鼻腔、中耳及び副鼻腔の悪性新生物	13	7	20
161 喉頭の悪性新生物	46	5	51
162 気管、気管支及び肺の悪性新生物	628	219	847
163 胸膜の悪性新生物	1	1	2
164 胸腺、心及び縦隔の悪性新生物	7	7	14
170 骨及び関節軟骨の悪性新生物	7	2	9
171 結合組織及びその他の軟部組織の悪性新生物	8	5	13
172 皮膚の悪性黒色腫	4	3	7
173 皮膚のその他の悪性新生物	5	3	8

病 名	件 数		
	男 性	女 性	合 計
174 女性乳房の悪性新生物		628	628
175 男性乳房の悪性新生物	2		2
179 子宮の悪性新生物、部位不明		17	17
180 子宮頸の悪性新生物		255	255
182 子宮体の悪性新生物		43	43
183 卵巣及びその他の子宮付属器の悪性新生物		48	48
184 その他及び部位不明の女性生殖器の悪性新生物		11	11
185 前立腺の悪性新生物	56		56
186 睪丸＜精巣＞の悪性新生物	3		3
187 陰茎及びその他の男性生殖器の悪性新生物	9		9
188 膀胱の悪性新生物	36	11	47
189 腎並びにその他及び部位不明の泌尿器の悪性新生物	43	17	60
191 脳の悪性新生物	16	17	33
192 その他の部位及び部位不明の神経系の悪性新生物	1		1
193 甲状腺の悪性新生物	14	28	42
194 その他の内分泌腺及び関連組織の悪性新生物		2	2
195 その他の部位の及び不明確な部位の悪性新生物	18	10	28
199 部位の明示されない悪性新生物	2	2	4
200 リンパ肉腫及び細網肉腫	27	20	47
201 ホジキン＜HODGKIN＞病	2	4	6
202 リンパ（球）様及び組織球組織のその他の悪性新生物	21	16	37
203 多発性骨髄腫及び免疫増殖性新生物	13	12	25
204 リンパ性白血病	3	3	6
205 骨髄性白血病	42	43	85
206 単球性白血病	1		1
233 乳房及び泌尿生殖系の上皮内癌		18	18
合 計	3,771	2,770	6,541

7. がん患者追跡調査年次別実測生存率表（全がん）

平成7年8月1日現在

登 録 年		57	58	59	60	61	62	63	元年	2	3	4	5
登 録 数		379	394	416	470	397	411	410	451	474	454	498	417
1 年生存	生存数	221	213	251	285	230	253	247	283	307	298	339	287
	%	58.3	54.1	60.3	60.6	57.9	61.6	60.2	62.7	64.8	65.6	68.1	68.8
2 年生存	生存数	191	188	209	236	205	219	219	246	262	267	291	
	%	50.4	47.7	50.2	50.2	51.6	53.3	53.4	54.5	55.3	58.8	58.4	
3 年生存	生存数	178	165	195	226	192	205	201	229	240	248		
	%	47.0	41.9	46.9	48.1	48.4	49.9	49.0	50.8	50.6	54.6		
4 年生存	生存数	168	154	179	208	180	196	191	213	220			
	%	44.3	39.1	43.0	44.3	45.3	47.7	46.6	47.2	46.4			
5 年生存	生存数	160	146	167	202	166	184	184	204				
	%	42.2	37.1	40.1	43.0	41.8	44.8	44.9	45.2				
6 年生存	生存数	150	141	163	192	162	178	174					
	%	39.6	35.8	39.2	40.9	40.8	43.3	42.4					
7 年生存	生存数	142	135	159	188	156	172						
	%	37.5	34.3	38.2	40.0	39.3	41.8						
8 年生存	生存数	140	124	152	177	151							
	%	36.9	31.5	36.5	37.7	38.0							
9 年生存	生存数	137	120	145	168								
	%	36.1	30.5	34.9	35.7								
10 年生存	生存数	132	117	143									
	%	34.8	29.7	34.4									

研究編

第1章 学会発表

平成6年度(平成6年4月～7年3月)

a. 国際学会発表

◦ 研究所・免疫学部門

- 1) Ebina, T., Fujimiya, Y., Katakura, R., Suzuki, Y., Murata, K. : Killing of freshly isolated autologous tumor cells by TCR $\gamma \delta$ double negative (DN), lymphocytes from patients with glioma. 16th International Cancer Congress. New Delhi, India, 1994. 10.

◦ 研究所・薬物療法学部門

- 1) S. Ujiie, H. Kikuchi, A. Wakui and T. Saito : Requirement of zinc for tumor cell proliferation. 16th International Cancer Congress. New Delhi, India, 1994. 10.

◦ 研究所・生化学部門

- 1) Miyagi T. : Structure and expression of rat cytosolic sialidase gene. Sialidase Workshop. Rigi Kaltbad, Switzerland, 1994. 4.

◦ 医療局・呼吸器科

- 1) S. Koinumaru, et al. : Schedule of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) in dose intensive chemotherapy with cisplatin, etoposide, mitomycin in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). 7th World Conference on Lung cancer. 1994. 6.
- 2) S. Iwabuchi, K. Koike, et al. : VIP causes EDRF-dependent pulmonary vasodilation in isolated rat lung. The American Thoracic Society. 1994. 5.
- 3) S. Ono, K. Koike, et al. : Leukotrien C₄ contributes to right ventricular hypertrophy induced by monocrotaline in rats. The American Thoracic Society. 1994. 5.
- 4) T. Tanita, K. Koike, et al. : White blood cells are involved in the hypoxia-induced pulmonary edema. The American Thoracic Society. 1994. 5.
- 5) T. Tanita, K. Koike, et al. : Increase in the pulmonary vascular permeability caused by mechanically activated white blood cell is mediated by arachidonate metabolites. 2nd International Congress of Pathophysiology. 1994. 11.
- 6) S. Ueda, K. Koike, et al. : Hypoxia increases pulmonary vascular permeability in isolated rat lung. 2nd International Congress of Pathophysiology. 1994. 11.

◦ 医療局・外科

- 1) Kiyooki Ouchi, et al. : Hepatic resection for colorectal metastasis and significance of preoperative CT arterial portography. 第4回国際消化器外科学会東アジア会議、1995. 2.
- 2) Fujiya, T. et al. : Cancer of the remnant stomach initially treated for benign or malignant gastric lesion. 第4回国際消化器外科学会東アジア会議、1995. 2.
- 3) Fujiya, T. et al. : Cancer of the remnant stomach. 第1回国際胃癌学会、1995. 3.

◦ 医療局・脳神経外科

- 1) Ebina T., Fujimiya Y., Katakura R., Suzuki Y., Murata K.: Killing of freshly isolated autologous tumor cells by TCR $\gamma \delta$ double negative (DN) lymphocytes from patients with glioma. XVI International Cancer Congress (New Delhi). 1994. 10.

◦ 医療局・耳鼻咽喉科

- 1) Yokoyama, Z., Shiga, K., Suzuki, M., Takasaka, T.: Low incidence of loss of heterozygosity at the retinoblastoma locus in head and neck cancer. Korea-Japan Joint Meeting of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery. 1994. 4.

◦ 医療局・泌尿器科

- 1) Kuwahara, M., Tochigi, T., Murata, K., Ebina, T., Tatenno, H., Takahashi, T.: Inhibition of lung metastasis by an antiangiogenic agent (TNP-470) in mice using transplantable renal cell carcinoma (RENCA). 23rd. Int. Urology Congress. Sept. 18-22, 1994. (Sydney, Australia).

b. 国内学会発表

◦ 研究所・免疫学部門

- 1) 海老名卓三郎、村田和子：担子菌製剤P S K腫瘍内投与による抗腫瘍効果：癌細胞浸潤阻害、第16回癌局所療法研究会、宇奈月、1994. 6.
- 2) 海老名卓三郎：セファランチンの抗腫瘍効果（B R M）、第20回アルカロイド研究会、東京、1994. 6.
- 3) 海老名卓三郎、村田和子：I L - 1 β による抗腫瘍活性機序：血清I A Pの誘導、第59回インターフェロン・サイトカイン研究会、京都、1994. 7.
- 4) 村田和子、海老名卓三郎：細菌製剤並びに担子菌製剤による抗腫瘍効果：癌細胞浸潤阻害、第48回日本細菌学会東北支部総会、仙台、1994. 8.
- 5) 海老名卓三郎：B R Mの腫瘍内投与における腫瘍免疫増強機構、第32回日本癌治療学会総会、岡山、1994. 10.
- 6) 海老名卓三郎、村田和子、鈴木洋一、片倉隆一：脳腫瘍患者末梢血由来 $\gamma \delta$ T細胞の自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果、第53回日本癌学会総会、名古屋、1994. 10.
- 7) 村田和子、海老名卓三郎：B R Mによる癌細胞浸潤阻害、第53回日本癌学会総会、名古屋、1994. 10.
- 8) 海老名卓三郎：ヒトロタウイルス下痢症予防効果を持つ免疫牛常乳の大量生産、第42回日本ウイルス学会総会、東京、1994. 10.
- 9) 海老名卓三郎、村田和子：固相化C D 3抗体による $\gamma \delta$ T細胞の誘導と自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果、第24回日本免疫学会総会、京都、1994. 11.
- 10) 海老名卓三郎、村田和子：担子菌製剤P S Kの抗腫瘍効果：分子量分画による差異とG - C S Fとの併用効果、第7回日本B R M学会学術集会総会、徳島、1994. 12.

- 11) 海老名卓三郎、村田和子：細菌製剤並びに担子菌製剤による抗腫瘍免疫増強機構（第4報）癌細胞浸潤阻害、第68回日本細菌学会総会、京都、1995. 3.

◦ 研究所・薬物療法学部門

- 1) 伊藤友美、氏家重紀、菊池寛昭、涌井 昭：腫瘍組織内Zn分布について、日本微量元素学会、1994. 6.
- 2) 氏家重紀、菊池寛昭、涌井 昭：腫瘍細胞内Zn濃度について、日本癌学会、1994. 10.

◦ 研究所・生化学部門

- 1) 佐藤 馨、和田 正、秦 敬子、宮城妙子：ラット細胞質性シアリダーゼ遺伝子の構造解析、日本生化学会東北地方会、秋田、1994. 5.
- 2) 宮城妙子：ラット細胞質シアリダーゼ遺伝子の骨格筋特異的発現機構、シンポジウム・糖鎖は語る－構造、機能、そして遺伝子－、千葉、1994. 6.
- 3) 宮城妙子、佐藤 馨、秦 敬子、和田 正：遺伝子導入による細胞質性シアリダーゼの機能解析、第16回糖質シンポジウム、鹿児島、1994. 8.
- 4) 佐藤 馨、和田 正、安井 明、宮城妙子：ラット細胞質シアリダーゼ遺伝子の構造と発現機構の解析、日本生化学会、大阪、1994. 9.
- 5) 秦 敬子、和田 正、長谷川明、宮城妙子：ウシ脳ガングリオシド・シアリダーゼの精製と性状解析、日本生化学会、大阪、1994. 9.
- 6) 宮城妙子、佐藤 馨、安井 明、涌井 昭：シアリダーゼ遺伝子を導入したラット 3 Y 1 細胞の性状解析、第53回日本癌学会総会、名古屋、1994. 10.
- 7) 秦 敬子、和田 正、涌井 昭、宮城妙子：ガングリオシド・シアリダーゼと細胞増殖、第53回日本癌学会総会、名古屋、1994. 10.

◦ 医療局

- 1) 武田鉄太郎：会長講演、腺癌細胞とその周辺－消化器、第33回日本臨床細胞学会秋期大会、仙台、1994. 11.

◦ 医療局・内科

- 1) 大方俊樹、中野 昇、本島 正、高橋 功：胃粘膜ヘキサミン値と各種胃病変に関する検討、'95セルベックス研究会、1995. 3.
- 2) 大方俊樹、他：胃悪性リンパ腫の1例、第9回仙台消化器内視鏡懇話会、1995. 2.
- 3) 小野寺博義、鶴飼克明：シンポジウム「肝癌集検における諸問題」肝癌集検における腫瘍マーカーの役割、第33回日本消化器集団検診学会総会、1994. 5.
- 4) 小野寺博義、千田信之：ワークショップ「超音波消化器集検における実施上の問題点とその対策」超音波集検におけるビデオを用いたダブルチェックに関する検討、第33回日本消化器集団検診学会総会、1994. 5.
- 5) 小野寺博義、深尾 彰：シンポジウム「超音波集検の精度管理について」超音波集検の精度管理、第3回超音波集検研究会、1994. 5.
- 6) 小野寺博義：厚生省がん研究助成金報告書、C型肝炎多発地区における肝細胞がん1.5次予防の可能性

性、1994.

- 7) 桑島一郎、萱場佳郎、本島 正、鶴飼克明、大方俊樹、小野寺博義、鈴木 裕、中野 昇、武田鉄太郎：名取市における大腸がん集検（第4報）、第32回日本消化器集団検診学会東北支部例会、1994. 6.
- 8) 鶴飼克明、その他：UFTが効果を示した進行肝細胞癌の3例、第15回日本消化器病学会東北支部例会、1995. 2.
- 9) 鶴飼克明、その他：腹部超音波検査で発見された肝内門脈－肝静脈瘻の一例、第15回日本消化器病学会東北支部例会、1995. 2.
- 10) 鶴飼克明、その他： ^{99m}Tc -GSAを用いた肝予備能評価、第12回動態核医学研究会、1994. 7.
- 11) 鶴飼克明、その他：限局性肝壊死の2症例、第64回日本超音波医学会、1994. 11.
- 12) 鶴飼克明、その他：C型肝炎多発地区でのHCV genotypeの測定－地区に於ける分布の多様性、第80回日本消化器病学会総会、1994. 4.

。医療局・呼吸器科

- 1) 小犬丸貞裕、松田 堯、その他：非小細胞肺癌に対するCDDP 5日間分割投与とUFT併用の第一相臨床試験成績、肺癌学会、1994. 11.
- 2) 岩渕 悟、小池加保児、他8名：ラット摘出灌流肺におけるVIPの肺血管拡張作用とEDRFの関与、第34回日本胸部疾患学会総会、1994. 4.
- 3) 小野貞文、小池加保児、他9名：モノクロタリンによる右心肥大へのONO1078の効果、第34回日本胸部疾患学会総会、1994. 4.
- 4) 星川 康、小池加保児、他8名：慢性低酸素曝露による右心室肥大に対するN-アセチルシステインの効果、第34回日本胸部疾患学会総会、1994. 4.
- 5) 植田信策、小池加保児、他9名：好中球存在下での低酸素性肺血管障害に関する研究、第34回日本胸部疾患学会総会、1994. 4.
- 6) 芦野有悟、小池加保児、他9名：臓側胸膜が胸水代謝に及ぼす影響－臓側胸膜透過係数測定からの検討、第34回日本胸部疾患学会総会、1994. 4.
- 7) 岩渕 悟、小池加保児、他3名：ラット摘出灌流肺におけるVasoactive Intestinal Peptideの肺循環に及ぼす影響、第21回東北呼吸談話会、1994. 6.
- 8) 植田信策、小池加保児、他8名：好中球存在下での低酸素性肺血管障害に関する研究、第21回東北呼吸談話会、1994. 6.
- 9) 芦野有悟、小池加保児、他7名：開胸術後の胸水産生機序の検討－胸膜中皮の役割、第47回日本胸部外科学会総会、1994. 10.
- 10) 植田信策、小池加保児、他10名：低酸素性肺障害における好中球の関与、第10回Critical care Medicine懇話会、1995. 2.

。医療局・外科

- 1) 菅原 暢、他：乳癌組織型分布の変化、第2回日本乳癌学会、1994. 9.
- 2) 菅原 暢、他：進行再発乳癌に対するlow-dose CAF療法、第1回東北乳腺疾患研究会、1995. 3.
- 3) 藤谷恒明、他：AFP産生胃癌の一例、第149回日本消化器病学会東北支部例会、1994. 6.
- 4) 藤谷恒明、他：高齢者（80歳以上）胃癌手術例の検討、第151回日本消化器病学会東北支部例会、

1995. 2.

- 5) 藤谷恒明、他：高齢者の消化器癌手術（80歳以上胃癌・大腸癌手術例の比較）、第45回日本消化器外科学会総会、1995. 2.
- 6) 藤谷恒明、他：残胃の癌の検討、第64回胃癌研究会、1995. 3.
- 7) 三国潤一、大内清昭、大越崇彦、神山泰彦、藤谷恒明、小野日出磨、菅原 暢、高橋通宏：胆管癌との鑑別が困難であった良性胆管狭窄の一例、第7回東北膵・胆道癌研究会、1994. 10.
- 8) 三国潤一、富永 剛、藤谷恒明、小野日出磨、菅原 暢、大内清昭、高橋通宏：膵転移を来した鼻腔癌の一例、第150回日本消化器病学会東北支部例会、1994. 9.

○医療局・整形外科

- 1) 村上 享、田子悟史：転移性脊椎腫瘍の手術療法、東北大学整形外科談話会（第327回）、1994. 9.

○医療局・脳神経外科

- 1) 片倉隆一、鈴木洋一、立野紘雄、吉本高志：小児膠芽腫と思われた一例、第12回日本脳腫瘍病理研究会、福井、1994. 4.
- 2) 鈴木洋一、片倉隆一、立野紘雄、吉本高志：著名なリンパ球浸潤を認めたLow grade astrocytomaと思われた一例、福井、1994. 4.
- 3) 片倉隆一：悪性グリオーマに対する小柴胡湯の治療効果、北日本脳神経外科連合会、金沢、1994. 6.
- 4) 鈴木洋一、片倉隆一、吉本高志、宮城妙子：Neurofibromatosis type2 (NF2) 遺伝子の5'上流域でのalternative splicingとNF2患者における同部位での変異、第53回日本癌学会総会、名古屋、1994. 10.
- 5) 海老名卓三郎、村田和子、鈴木洋一、片倉隆一：脳腫瘍患者末梢血由来 $\gamma \delta$ T細胞の自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果、名古屋、1994. 10.
- 6) 鈴木洋一、片倉隆一、吉本高志、宮城妙子：Neurofibromatosis type2 (NF2) 遺伝子の5'上流域でのalternative splicingとNF2患者における同部位での変異、第53回日本脳神経外科学会総会、徳島、1994. 10.
- 7) 片倉隆一、鈴木洋一、吉本高志：グリオーマ移植ラットに対する小柴胡湯の治療効果、第53回日本脳神経外科学会総会、徳島、1994. 10.
- 8) 鈴木洋一、片倉隆一、吉本高志、藤宮芳章、海老名卓三郎：悪性グリオーマ患者由来 $\gamma \delta$ T細胞の培養条件と自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果、第53回日本脳神経外科学会総会、徳島、1994. 10.
- 9) 鈴木洋一、片倉隆一、吉本高志、宮城妙子：Neurofibromatosis type2 (NF2) 遺伝子の5'上流域でのalternative splicingとNF2患者における同部位での変異、第3回日本脳腫瘍カンファレンス、那須、1994. 11.
- 10) 片倉隆一：悪性グリオーマに対する小柴胡湯の治療効果、東北大漢方研究会、仙台、1994. 11.

○医療局・耳鼻咽喉科

- 1) 西條 茂、横山純吉、片倉隆一、立野紘雄：Malignant Triton Tumorの一例、日本頭頸部腫瘍学会、1994. 6.
- 2) 横山純吉、他：頭頸部癌による腫瘍抑制遺伝子R 6の変異（1）、日本頭頸部腫瘍学会、1994. 6.
- 3) 横山純吉、西條 茂：核酸増幅法により迅速診断しえた頸部結核性リンパ節炎、日本耳鼻咽喉科宮城地方会、1994. 9.

- 4) 横山純吉、他：頭頸部癌における腫瘍抑制遺伝子R6の変異(2)、日本癌学会総会、1994. 10.
- 5) 横山純吉、西條 茂：上頸癌術後MRSA腸炎の一例、日本耳鼻咽喉科宮城地方会、1994. 12.

○医療局・婦人科

- 1) 田勢 亨：ワークショップ(Ⅲ)「子宮体部腫瘍の細胞診」子宮体癌初期病変および異型増殖症の細胞像、第35回日本臨床細胞学会総会、1994. 6.

○医療局・泌尿器科

- 1) 桑原正明、庵谷尚正、田口勝行、斎藤敏典：ESWLにおける衝撃波焦点位置と組織損傷の関連性について、第82回日本泌尿器科学会、福岡、1994. 4.
- 2) 庵谷尚正、白井修一、折笠精一、相田 聡、藤本克彦、桑原正明：集束強力超音波による局所加熱－正常及び癌組織の実験的検討－、第82回日本泌尿器科学会、福岡、1994. 4.
- 3) 栃木達夫、桑原正明、山口正人：陰茎癌鼠径部転移の広範摘出に有茎腹直筋皮弁を用いた一例、第210回泌尿器科東北地方会、福島、1994. 5.
- 4) 栃木達夫、桑原正明、長谷とみよ、近野寿美枝、今井克忠：癌化学療法時の白血球粒度分布について、第211回泌尿器科東北地方会、仙台、1994. 9.
- 5) 桑原正明、栃木達夫、海老名卓三郎、村田和子、立野紘雄：血管新生抑制剤TNF470による転移と腫瘍発育抑制効果－BALB/Cマウスの自然発生(RENCA)腎癌Meth-A腫瘍における検討、第53回日本癌学会総会、名古屋、1994. 10.
- 6) 星 宣次、折笠精一、鈴木謙一、吉川和行、斎藤誠一、大山 力、佐藤 信、川村貞文、桑原正明、能勢真人：水中衝撃波によるヒト前立腺側腹筋層内転移治療の一例、第53回日本癌学会総会、名古屋、1994. 10.
- 7) 白井修一、庵谷尚正、田口勝行、斎藤敏典、稲葉康雄、折笠精一、相田 聡、藤本克彦、桑原正明：集束強力超音波による生体組織の局所加熱、第59回日本泌尿器科学会東部総会、宇都宮、1994. 11.
- 8) 栃木達夫、桑原正明、大山 力、今井克忠：尿路悪性腫瘍患者における凝固系の検討、第59回日本泌尿器科学会東部総会、宇都宮、1994. 11.
- 9) 庵谷尚正、白井修一、田口勝行、折笠精一、相田 聡、藤本克彦、桑原正明：集束超音波による局所加熱－正常および癌組織の実験的検討、第33回日本ME学会、高松、1994. 5.

○臨床検査技術部

- 1) 小室邦子、武田鉄太郎、小野寺博義、大沼真喜子、村田孝次、植木美幸、松田 堯、斎藤博之、中村克宏、立野紘雄、佐藤郁郎：癌のリンパ節転移を目的とした術中迅速細胞診とその意義、第35回日本臨床細胞学会総会、1994. 6.
- 2) 小室邦子、武田鉄太郎、小野寺博義、大沼真喜子、村田孝次、植木美幸、阿部美和、田勢 亨、松田 堯、佐藤郁郎、立野紘雄：リンパ節と術中迅速細胞診、第31回日本臨床細胞学会東北支部連合会、1994. 7.
- 3) 小室邦子、佐藤郁郎、武田鉄太郎、小野寺博義、大沼真喜子、村田孝次、桑原正明、田勢 亨、松田 堯、立野紘雄：膀胱病変の診断における圧搾細胞診の有用性について、第33回日本臨床細胞学会秋期大会、1994. 11.
- 4) 村田孝次、田勢 亨、小室邦子、大沼真喜子、植木美幸、阿部美和、小野寺博義、武田鉄太郎、佐藤郁郎、立野紘雄：子宮頸部の小細胞型神経内分泌癌の一例、第33回日本臨床細胞学会秋期大会、

1994. 11.

- 5) 阿部美和、佐藤郁郎、武田鉄太郎、小室邦子、大沼真喜子、村田孝次、植木美幸、小野寺博義、松田 堯、田勢 亨、地子久美子、立野紘雄：髄膜腫の二例、第9回日本臨床細胞学会宮城県支部学術集会、1995. 2.

◦診療放射線技術部

- 1) 小山 洋、千葉俊雄、熊谷祐子、早川博文：宮城県立がんセンターにおけるH I S / R I S / P A C S (第2報) - オーダリングを中心に -、日本放射線技師会総合学術大会、1994. 11.
- 2) 千葉俊雄、小山洋、熊谷祐子、本田悦雄、今野千香子、早川博文：宮城県立がんセンターにおけるH I S / R I S / P A C S (第3報) - P A C Sを中心に -、日本放射線技師会総合学術大会、1994. 11.
- 3) 小山 洋、千葉俊雄、早川博文、日向野修一：Fast F E法における肝ダイナミックM R I、日本放射線技師会総合学術大会、1994. 11.
- 4) 早川博文、金子美和子、熊谷祐子、今野千香子、本田悦雄：宮城県における放射線機器の現状調査(圏域別、台数別)について、日本放射線技師会総合学術大会、1994. 11.
- 5) 千葉俊雄、早川博文：患者さん・術者にやさしい放射線技術部をめざして(第1報) - 施設環境・機器を中心に -、宮城県技師会総合学術大会、1994. 10.
- 6) 渡辺ヒサ子、千葉俊雄、熊谷祐子、小山 洋、早川博文、中嶋美佳：スパイラルC TによるC T A P、宮城県技師会総合学術大会、1994. 10.
- 7) 小山 洋、千葉俊雄、早川博文、松本 恒：肺癌における脳転移のM R 検査の検討、宮城県技師会総合学術大会、1994. 10.
- 8) 本田悦雄、早川博文、今野千香子、千葉俊雄、金子美和子、熊谷祐子：宮城県における放射線機器の現状調査(圏域別、台数別)について、宮城県技師会総合学術大会、1994. 10.
- 9) 島倉満男、渡辺信二、荒ふみ子、千葉俊雄、早川博文、鶴飼克明、松本 恒： ^{99m}Tc -G S A (第1報)(血清総コレステロール、血清トリグリセリド、コリンエステラーゼとの関係)、宮城県技師会総合学術大会、1994. 10.
- 10) 島倉満男、渡辺信二、荒ふみ子、千葉俊雄、早川博文、鶴飼克明、松本 恒： ^{99m}Tc -G S A (第2報)(P T、% P T、I C G R₁₅との関係)、宮城県技師会総合学術大会、1994. 10.
- 11) 渡辺信二、島倉満男、荒ふみ子、千葉俊雄、早川博文、鶴飼克明、松本 恒： ^{99m}Tc -G S A (第3報)(ビリルビン、A S T、A L Tとの関係)、宮城県技師会総合学術大会、1994. 10.

◦看護部

- 1) 阿部京子、大友美佐子、布田基子、及川恵子、曾我ふく子、星真紀子、兼平礼子：悪臭を伴う瘻孔ケアに対するパウチング法の効果、第11回宮城ストーマケア研究会、1994. 11.
- 2) 伊藤孝子、鈴木ミツ子、鈴木やす子、星和佳子、本島 正、大方俊樹、武田鉄太郎：上部内視鏡検査前オリエンテーションの再考 - ビデオ放映に関して -、第33回日本消化器内視鏡技師研究会、1994. 10.
- 3) 大場政子：がん患者へのターミナルケアを通してQ O Lを考える - 自力体位変換を促した結果からの考察 -、県立三病院看護業務検討部会合同研修会、1995. 1.

第2章 論文発表

a. 英文誌

◦ 研究所・生化学部門

- 1) Miyagi T., Sato K., Hata K., and Taniguchi S. : Metastatic potential of transformed rat 3Y1 cell lines is inversely correlated with lysosomal-type sialidase activity. FEBS Lett. 349, 255–259, 1994.
- 2) Sato K. and Miyagi T. : Genomic organization and the 5'-upstream sequence of the rat cytosolic sialidase gene. Glycobiology, 5, 1–6, 1995.

◦ 医療局

- 1) Tada, M., Iwata, R., Wakui, A. et al. : An efficient synthesis of N^ω- [¹⁸F] fluoroacetyl-serotonin ((N^ω- [¹⁸F] fluoroacetyl-5-hydro-tryptamine). J. Lab. Comp. Radiopharm. 34 : 742–746, 1994.

◦ 医療局・内科

- 1) Hiroyoshi Onodera, Katsuaki Ukai, Noboru Nakano, Tetsutaro Takeda, et. al. : Outcomes of 116 patients with hepatocellular carcinoma. Cancer Chemother Pharmacol. 33 (suppl) : S103~S108, 1994.

◦ 医療局・整形外科

- 1) Kokubun S., Sakurai M., Ishii Y., Murakami T. : Single-level reduction and stabilization of severe spondylolisthesis through a posterior approach. J. Orthop. Surg. 2 : 91–94, 1994.

◦ 医療局・脳神経外科

- 1) Takahashi K., Suzuki H., Kayama T., Suzuki Y., Yoshimoto T., Sasano H., Sibahara. : Multiple transcripts of neurofibromatosis type 1 gene in the human brain and brain tumor. Clinical Neuroscience 87 : 481–485, 1994.
- 2) Motonobu Kameyama, Kiichi Ishiwata, Yuji Tsurumi, Jun Itoh, Kiyotaka Sato, Ryuichi Katakura, Takashi Yoshimoto, Jun Hatazawa, Masatoshi Ito and Tatsuo Ido : Clinical application of ¹⁸F-FUdR in glioma patients – PET study of nucleic acid metabolism. Journal of Neuro-Oncology 23 : 53–61, 1995.

◦ 医療局・婦人科

- 1) Kumiko Jiko, Hitoshi Tsuda, Shinji Sato, Setsuo Hirohashi : Pathogenetic significance of p53, and C-Ki-ras gene mutations and human papillomavirus and integration in adenocarcinoma of the uterine cervix and uterine isthmus. International Journal of Cancer. 59, 601–606, 1994.

◦ 医療局・放射線

- 1) Shoki Takahashi, Ko Matsumoto, et al. Extent and location of cerebral infarcts on multiplanar MR images : correlation with distribution of perforating arteries on cerebral angiograms and on cadaveric microangiograms. *AJR* **163** : 1215-1222, 1994.
- 2) Shuichi Higano, Ko Matsumoto, et al. Germinoma originating in the basal ganglia and thalamus : MR and CT evaluation. *AJNR* **15** : 1435-1441, 1994.

b. 邦 文 誌

◦ 研究所・免疫学部門

- 1) 海老名卓三郎、村田和子：担子菌製剤 P S K 腫瘍内投与による抗腫瘍効果、癌細胞浸潤阻害、癌と化学療法、**21** (13)、2241-2243、1994.
- 2) 海老名卓三郎、村田和子：免疫賦活剤 P S K の抗腫瘍効果 (6) - 分子量分画による差異と G - C S F との併用効果、*Biotherapy*. **8** (6)、863-868、1994.
- 3) 海老名卓三郎、小鎌直子、村田和子：乳酸桿菌 (*Lactobacillus bulgaricus* 878 R) の抗腫瘍効果、*Biotherapy*, **9** (1)、65-70、1995.
- 4) 海老名卓三郎：セファランチンの抗腫瘍効果 (B R M)、アルカロイド研究会報告集、**20**、50-54、1994.
- 5) 打和秀世、平野 真、小野靖子、村上梅司、太田 実、海老名卓三郎：抗ヒト毛髪ケラチン抗体の作製とその特性 (第1報) 免抗体の利用、*日本皮膚科学会雑誌*、**104** (7)、855-860、1994.
- 6) 海老名卓三郎、太田 実、打和秀世、村上梅司：抗毛髪ケラチン抗体の作製とその特性、牛初乳ならびに常乳の利用、*日本畜産学会報*、**65** (6)、580-590、1994.
- 7) 海老名卓三郎：自己腫瘍細胞を殺す $\gamma \delta$ T 細胞を使った新養子免疫療法、*メディカル・アカデミー・ニュース*、**567**、8-9、1994.

◦ 研究所・病理学部門

- 1) 西條 茂、横山純吉、立野紘雄、片倉隆一：Malignant Triton tumor の一例、*頭頸部腫瘍*、**21** : 256-260

◦ 研究所・薬物療法学部門

- 1) 氏家重紀、伊藤友美、菊池寛昭、涌井 昭：腫瘍組織内 Zn 分布について、*Biomed Res Trace Elements*、**5** (3)、981 (193)~82 (194)、1994.

◦ 研究所・生化学部門

- 1) 宮城妙子：シアリダーゼの構造解析に関する最近の展開、*Glyco news* **2**、14-22、1994.
- 2) 宮城妙子、秦 敬子、和田 正：ガングリオシドを水解するシアリダーゼの性状と機能の解析、*脂質生化学研究*、**36**、259-262、1994.

◦ 医療局

- 1) 涌井 昭：アルキル化剤・特にニトロソウレア、*臨床成人病*、**24** : 1869-1875、1994.
- 2) 涌井 昭：アンギオテンシン II (ヒト型)、*現代医療*、**26** : 2391-2396、1994.

- 3) 高橋 弘、及川博介、涌井 昭、他：ポジトロンCTによる脾疾患診断の研究（科研費研究課題の成果）、Innervision、9：55－56、1994.
- 4) 涌井 昭：スキルス胃癌の化学療法、癌と化学療法、21：2398－2406、1994.
- 5) 浅川 洋：病院経営における放射線科～管理者の立場から～、日本病院会雑誌、41：1029－1039、1994.
- 6) 浅川 洋、松田 堯：地域医療計画から見た地域がん診療施設の整備拡充に関する研究、宮城県における肺癌の実態と診療体系確立に関する研究、厚生省がん研究助成金による班報告、1994.
- 7) 浅川 洋、早川博文：宮城県における高額医療機器の設置状況、二次医療圏別調査、厚生省がん研究助成金による班報告、1994.

○医療局・内科

- 1) 浅木 茂、豊田隆謙、大方俊樹、他：プロトンポンプ阻害剤オメプラール®の消化性潰瘍に対する有用性の検討、新薬と臨床、43（8）、256～278、1994.
- 2) 小野寺博義、鶴飼克明、池田 卓：超音波地域集検発見肝細胞癌の予後と肝細胞癌の1.5次予防を目的とした老人保健法の基本健康診査に対する二次検診、日消集検誌、32（4）：96－101、1994.
- 3) 小野寺博義、鶴飼克明、池田 卓：肝細胞癌の拾い上げ過程における腫瘍マーカーの役割、日消集検誌、33（1）：64－68、1995.
- 4) 小野寺博義、他4名：肝胆脾超音波地域集検における偽陰性例と一次スクリーニングの精度、日消集検誌、33（2）：169－173、1995.

○医療局・呼吸器科

- 1) 松田 堯、他：S Y5555のin vitro抗菌力と呼吸器感染症に対する臨床的検討、日本化学療法学会雑誌、4：292－297、1994.
- 2) 松田 堯、他：細菌性肺炎に対するS Y5555とcefotiam hexetilの薬効比較試験成績、CHEMOTHERAPY、42：616－638、1994.
- 3) 小野貞文、小池加保児、他8名：ヒト摘出肺動脈に対するホスホジエステラーゼ阻害薬（アムリノン）の効果、日本胸部疾患学会雑誌、32：650－654、1994.
- 4) 小野貞文、小池加保児、他8名：長期低酸素暴露による肺高血圧招来における血小板活性化因子の関与、炎症、14：379－384、1994.
- 5) 佐久間勉、小池加保児、他7名：肺切除後の肺高血圧症に対するphosphodiesterase Ⅲ阻害薬（アムリノン）の治療経験、日本胸部臨床、53：819－923、1994.
- 6) 谷田達男、小池加保児、他5名：摘出ラット肺における低酸素負荷による肺血管透過性亢進、日本臨床生理学会誌、24：327－332、1994.
- 7) 芦野有悟、小池加保児、他3名：イヌ臓側胸膜と壁側胸膜のhydraulic conductivity、日本臨床生理学会雑誌、24：165－169、1994.
- 8) 小池加保児：縦隔腫瘍、臨床医、20増刊号：227－230、1994.
- 9) 岩淵 悟、小池加保児、他1名：左肺動脈異常分岐（A⁵⁺⁸）の一例、日本呼吸器外科学会誌、9：39－43、1995.

- 10) 小野貞文、小池加保児、他3名：血小板活性化因子(PAF)拮抗薬、WEB 2086経口投与のPAF拮抗効果—慢性投与法の確立—、日本臨床生理学会雑誌、**24**：55—61、1994.
 - 11) 張祿民、小池加保児、他3名：向日葵の種子による気管支内異物性結石の一例、加齢医学研究所雑誌、**45**：93—96、1994.
 - 12) 谷田達男、小池加保児、他2名：シエアストレスによる白血球の接着能亢進と透過性亢進—再伸展性肺水腫のラット摘出肺モデルでの検討—、炎症、**14**：293—296、1994.
- 医療局・外科
- 1) 大内清昭：エンドトキシンによる肝障害発生機序の解明、病態生理、**13**：399—401、1994.
 - 2) 菅原 暢、大内清昭、高橋通宏、小野日出麿、神山泰彦、藤谷恒明、三国潤一、大越崇彦：乳癌組織型分布の変化、乳癌の臨床、**10**：132—133、1995.
- 医療局・整形外科
- 1) 宇野 淳、石井祐信、村上 享、他：胸椎椎体に発生したosteoblastomaの一例、東北整形災害外科紀要、**36**：282—284、1994.
- 医療局・麻酔科
- 1) 山室 誠：終末期医療の勲章（巻頭言）、ペインクリニック、**15**：647、1994.
 - 2) 山室 誠：ペインクリニック20年における若い経験、麻酔と蘇生、**30**：247—251、1994.
- 医療局・脳神経外科
- 1) 片倉隆一：脳外科領域における漢方薬の役割、漢方医学、**18**：1—10、1994.
- 医療局・耳鼻咽喉科
- 1) 西條 茂、横山純吉、片倉隆一、立野紘雄、Malignant Triton Tumorの一例、頭頸部腫瘍、**21** (1) 256—260、1995.
- 医療局・婦人科
- 1) 田勢 亨：子宮頸部腺癌、名取岩沼医師会報、**46**：2—4、1995.
- 医療局・泌尿器科
- 1) 桑原正明：尿路結石症の病態、薬局、**45**：449—451、1994.
 - 2) 赤井裕輝、鈴木 進、平井 敏、桑原正明、蓮田精之、内啓一郎、斉藤和子、豊田隆謙：腎細胞癌に対するインターフェロン α 療法中に発症したインスリン自己免疫症候群の一例、Diabetes J、**22**：17—20、1994.
 - 3) 斎藤敏典、折笠精一、星 宣次、鈴木謙一、庵谷尚正、田口勝行、白井修一、稲葉康雄、桑原正明：VX2移植膀胱癌への水中衝撃波の影響—透過型電子顕微鏡による観察—、日泌尿会誌、**85**：1558—1562、1994.
 - 4) 斎藤敏典、折笠精一、庵谷尚正、田口勝行、白井修一、稲葉康雄、桑原正明：新しい体外衝撃波砕石装置Yachiyoda SZ-5000の臨床経験、西日泌尿、**56**：1168—1172、1994.
 - 5) 庵谷尚正、白井修一、田口勝行、折笠精一、相田 聡、藤本克彦：集束強力超音波による局所加熱—正常及び癌組織の実験的検討、医用電子と生体工学、**32**：223、1994.

◦医療局・放射線科

- 1) 松本 恒、高橋昭喜、栗原紀子：脊髄・脊椎の先天奇形、画像診断、14：527－538、1994.
- 2) 三井英明、松本 恒、他：非ケトーシス型高グリシン血症の頭部MR imaging－新生児期発症の二例、日医放誌、54：1047－1048、1994.

◦臨床検査技術部

- 1) 小室邦子、小野寺博義、武田鉄太郎、大沼真喜子、村田孝次、松田 堯、中村克宏、立野紘雄、佐藤郁郎、山田章吾：銀染色の中皮細胞同定への応用、日本臨床細胞学会雑誌、33：645－649、1994.
- 2) 小室邦子、佐藤郁郎、武田鉄太郎、小野寺博義、大沼真喜子、村田孝次、植木美幸、阿部美和、桑原正明、立野紘雄：膀胱癌診断における圧挫細胞診の有用性について、日本臨床細胞学会雑誌、33：1026－1032、1994.
- 3) 大沼真喜子、佐藤郁郎、武田鉄太郎、小室邦子、村田孝次、植木美幸、阿部美和、立野紘雄：腎癌と併存した腎好酸性細胞腫の一例、日本臨床細胞学会雑誌、33：1129－1134、1994.

◦診療放射線技術部

- 1) 千葉俊雄、早川博文：宮城県立がんセンターにおける画像情報管理システムの活用の現況、映像情報、26（10）、564－565、1994.
- 2) 島倉満男、渡辺信二、荒ふみ子、千葉俊雄、早川博文、鶴飼克明、松本 恒：慢性肝疾患における ^{99m}Tc -GSAの有用性、日本放射線技師会雑誌、41、1568－1571、1994.

第3章 著 書

◦ 研究所・病理学部門

- 1) 立野紘雄：腫瘍組織論「エッセンシャル病理学」(大西義久・他編)、医歯薬出版、第4版、173-194、1994.

◦ 研究所・薬物療法学部門

- 1) S. Ujiie, H. Kikuchi, A. Wakui and T. Saito : Proceedings of the International Cancer congress. (Requirement of Zinc for tumor cell proliferation), Monduzzi Editore, 679-684, 1994.

◦ 研究所・生化学部門

- 1) 宮城妙子：動物シアリダーゼ、ガングリオシド研究法Ⅱ(鈴木康夫、安藤進編)学会出版センター、東京、28-39、1995.

◦ 医療局

- 1) 涌井 昭：レバミゾールと5-FUの併用Biomodulation—癌薬物療法の新たな展開—(太田和雄 監、塚越 茂・他編)、先端医学社、東京、P180-189、1994.

◦ 医療局・内科

- 1) 小野寺博義：日本超音波医学会編、超音波診断、6. 腹部領域の超音波診断 2. 肝 2. 占拠性疾患 D. 良性腫瘍および類似疾患、医学書院、東京、第2版、pp525-528、1994.

◦ 医療局・呼吸器科

- 1) 小池加保児：図説病態内科講座呼吸器-1(上大静脈症候群)、メジカルビュー、46-49、1994.
- 2) 小池加保児：呼吸療法セミナー(術前・術後の評価と呼吸管理)、正文社、333-341、1994.

◦ 医療局・外科

- 1) 大内清昭：消化器外科マニュアル、黄疸、日本臨床社、24-29、1994.

◦ 医療局・麻酔科

- 1) 山室 誠：がん患者の痛みの治療、中外医学社、160、1994.

◦ 医療局・脳神経外科

- 1) 片倉隆一：脳腫瘍の薬物療法、ハンドブック神経疾患、メディカ出版、1995.

第4章 講演（特別・招請・依頼）

◦ 研究所・免疫学部門

- 1) 海老名卓三郎：癌の免疫療法、家庭医学放送、東北放送、1994. 9.

◦ 研究所・生化学部門

- 1) 宮城妙子、秦 敬子、和田 正：ガングリオシドを水解するシアリダーゼの性状と機能の解析、日本脂質生化学研究会、札幌、1994. 6.
- 2) 宮城妙子、佐藤 馨、秦 敬子、和田 正：シアリダーゼの構造、機能、および発現制御、日本薬学会115年会生物化学部会シンポジウム、仙台、1995. 3.

◦ 医療局

- 1) 涌井 昭：癌治療における支持療法、日本医師会生涯教育講座（青森県医師会）、青森市、1994. 5.
- 2) 涌井 昭：がん死を防ぐために、青森経済同友会第1回例会「公開講演会」、八戸、1994. 6.
- 3) 涌井 昭：癌治療の現況と展望－CureとCare、日本医師会生涯教育講座（北海道医師会）、札幌市、1994. 7.
- 4) 武田鉄太郎：乳腺の細胞診、宮城県細胞検査士養成講習会（依頼）、仙台、1994. 10.
- 5) 武田鉄太郎：甲状腺の細胞診、養成講習会（依頼）、仙台、1994. 10.
- 6) 武田鉄太郎：がんの診断と予知－細胞診の役割－（乳がん）、第33回日本臨床細胞学会秋期大会（依頼）、仙台、1994. 11.

◦ 医療局・内科

- 1) 鈴木 裕：職業別食事摂取の特徴・指導、南東北D I T N糖尿病教育担当者セミナー、仙台国際センター、1994. 9.
- 2) 小野寺博義：肝・胆・膵のスクリーニング、いわき市医師会生涯教育、いわき市医師会館、1995. 3.
- 3) 鶴飼克明：C型肝炎の最新の知見、角田市医師会学術講演会、角田市、1994. 10.
- 4) 鶴飼克明：肝硬変症の薬物療法、仙南地方薬剤師会連絡協議会研修会、名取市、1995. 11.

◦ 医療局・呼吸器科

- 1) 小池加保児：ARDSの基礎と臨床、大阪胸部医師会、大阪市、1994. 7.
- 2) 小池加保児：術前・術後の評価と呼吸管理、呼吸療法セミナー、長崎市、1994. 9.

◦ 医療局・整形外科

- 1) 村上 享：骨軟部腫瘍治療の現状と今後、岩沼医談会整形部会、1995. 3.

◦ 医療局・麻酔科

- 1) 山室 誠：ターミナルケア（精神的ケアについて）、宮城県看護協会、1994. 5.
- 2) 山室 誠：難治性疼痛の治療、仙台神経懇話会、1994. 6.
- 3) 山室 誠：疼性疼痛の治療（薬物を中心に）、白石医師会分科会、1994. 11.
- 4) 山室 誠：がん患者の痛みの治療、福島市勤務医会、1994. 10.

◦医療局・婦人科

- 1) 田勢 亨：子宮頸部のH P V感染細胞について、第14回日本臨床細胞学会山形県支部総会（特別講演）、1994. 6.
- 2) 田勢 亨：婦人科進行癌の治療、第426回日本産婦人科学会宮城県地方部会集談会（特別講演）、1994. 12.
- 3) 田勢 亨：婦人科疾患についてー最近のトピックスー、宮城県看護協会白石支部研修会（依頼講演）、1995. 3.

◦看護部

- 1) 鈴木ミツ子：内視鏡・器具洗浄消毒（依頼講演）、大腸前処置研究会第12回、幕張メッセ、1994. 10.
- 2) 鈴木やす子：当院における内視鏡及び関連器具の洗浄・消毒方法（依頼講演）、宮城県滅菌技法研究会、仙台市福祉プラザ、1994. 12.
- 3) 阿部京子：シンポジウム「在宅医療について」、末期医療に関する講習会、1995. 2.

第5章 論文別刷集

Metastatic potential of transformed rat 3Y1 cell lines is inversely correlated with lysosomal-type sialidase activity

Taeko Miyagi^a, Kaoru Sato^a, Keiko Hata^a, Shun'ichiro Taniguchi^b

^aDivision of Biochemistry, Research Institute, Miyagi Cancer Center, Medeshima-shiode, Natori, Miyagi 981-12, Japan

^bDepartment of Experimental Cell Research, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan

Received 10 May 1994; revised version received 19 June 1994

Abstract

We have investigated sialidase activities in transformed rat 3Y1 cells of different metastatic potential. Only lysosome-type sialidase was apparent in the particulate fractions of 3Y1 cells and their transformants. As compared with control 3Y1 cells, *src*-transformed cells exhibited decreased sialidase activity, and *v-fos* transfer to these latter induced even more severe decrease in the sialidase activity with acquisition of high lung metastatic ability. Various lysosomal enzymes other than sialidase were hardly affected by the transformation. Sialic acid transfer to *N*-linked glycoproteins was slightly elevated in the transformants, but not in parallel with their metastatic potential.

Key words: Sialidase; Metastasis; Oncogenic transformation; Lysosome; Rat 3Y1 cell

1. Introduction

Cell surface carbohydrates are known to undergo various alterations during neoplasia. The changes generally involve glycoproteins expressed on tumor cell surface with increased branching of complex-type *N*-glycans, increased polyactosaminoglycan chains and increased sialylation [1–5], which are correlated not only with tumorigenicity but also with elevated metastatic potential [6,7]. In particular, the alterations in sialylation have been proposed to be intimately associated with invasiveness and metastatic ability [4,6,8,9]. To elucidate how such aberrant sialylation occurs in cancer cells, we have been studying sialidase and sialyltransferase in rat hepatoma [10–12] and other tumor models [13]. We are now focusing on the enzyme studies in relation to invasiveness and metastasis.

Our previous studies on rat sialidases demonstrated four enzyme types differing in subcellular distribution and in catalytic and immunological properties. Located in the lysosomal matrix [14], cytosol [15] lysosomal membrane and plasma membrane [16], they are altered quantitatively in hepatocarcinogenesis [10] and in phorbol ester-induced malignant transformation of mouse epidermal JB6 cells [13]. We also found that Gal β 1–4GlcNAc 2–6 sialyltransferase activity was selectively increased in hepatomas [11,12]. Based on these results, we have determined the activity levels of sialidase and

sialyltransferase of transformed rat fibroblast 3Y1 cell lines of different metastatic potential. The transformed cells were found to demonstrate much more prominent alteration of sialidase than sialyltransferase activities.

2. Materials and methods

2.1. Materials

4MU-NeuAc was purchased from Nakarai (Kyoto, Japan). GM3 labeled in the NeuAc moiety was synthesized enzymatically from lactosylceramide and CMP-NeuAc as described previously [17]. CMP-[¹⁴C]NeuAc was obtained from New England Nuclear (Boston, MA) and diluted with cold CMP-NeuAc from Sigma (St. Louis, MO) to give a final specific activity of 2.5 Ci/mol. The sources of gangliosides and glycoproteins used as substrates for sialidase and sialyltransferase assays were described elsewhere [11,15].

2.2. Cells

Cells were routinely cultivated in Dulbecco's modified Eagle's medium containing 10% fetal bovine serum in 10% CO₂ and 90% air. SR-3Y1-2 is tumorigenic but low metastatic cell line established by infection of a normal rat fibroblast cell line, 3Y1-B clone 1–6 with the Schmidt-Ruppin D strain Rous sarcoma virus [18]. The *fos*-SR-3Y1-202, 203 and 205 are highly metastatic cell lines established by transfer of pFBJ-2 plasmid containing proviral *v-fos* DNA and pSV2-neo into SR-3Y1-2 [19]. *v-fos* transfer enhances lung metastasis in relation to an increase in invasiveness [20]. Cells harvested prior to confluency were rinsed in culture flasks with phosphate-buffered saline, scraped out with a rubber policeman, and collected at 600 × *g* for 5 min. The packed cells were washed with phosphate-buffered saline and sonicated on ice in 9 vols. of ice-cold 0.25 M sucrose containing 1 mM EDTA 2 times each for 15 min at the maximum speed. The mixture was then centrifuged at 600 × *g* for 10 min and the supernatant at 105,000 × *g* for 60 min at 4°C. The resultant supernatant was used as the cytosolic fraction, and the pellet suspended in 9 vols. of the sucrose solution was used as the particulate fraction. The fractions were either used immediately for the assays or kept frozen at –70°C. Protein was determined by the method of Bradford [21].

2.3. Determination of sialic acid

Cells (1 × 10⁶) were incubated with 0.02 units of *Arthrobacter ureafaciens* sialidase in 1 ml of 0.01 M sodium phosphate buffer (pH 6.5)

*Corresponding author. Fax: (81) (22) 381-1195.

Abbreviations: NeuAc, *N*-acetylneuraminic acid; 4MU-NeuAc, 4-methylumbelliferyl- α -D-*N*-acetyl-neuraminic acid; Lac-cer, lactosylceramide.

containing 0.15 M NaCl at 37°C for 1–2 h. After centrifugation, the supernatant was assayed for sialic acid by the thiobarbituric acid method of Aminoff [22]. Viability remained over 90%. For total sialic acid determination, cells were treated in 0.05 M H₂SO₄ for 60 min at 80°C and centrifuged. The resulting supernatant was assayed for sialic acid as above.

2.4. Sialidase assay

4MU-NeuAc and [¹⁴C]-labeled GM3 were routinely used as substrate, since 4MU-NeuAc was previously found to be an appropriate substrate for intralysosomal and cytosolic sialidases and GM3 for membrane-associated sialidases. The assays were performed under the optimal conditions as follows. When 4MU-NeuAc was the substrate, the assay mixture contained 60 nmol of the substrate, 5 μmol of sodium acetate buffer (pH 4.7), 100 μg of bovine serum albumin and particulate fractions (20–60 μg protein) in a final volume of 0.1 ml. For the assay of cytosolic sialidase, sodium acetate buffer was replaced by sodium cacodylate buffer (pH 6.0). The incubation was conducted at 37°C for 1–2 h and terminated by the addition of 0.25 M glycine-NaOH (pH 10.4). 4-Methyl-umbelliferone released was determined fluorometrically as described previously [15]. With [¹⁴C]GM3 as substrate the assay mixture was composed of 10 nmol of the substrate, 5 μmol of sodium acetate (pH 4.7), 100 μg of bovine serum albumin, 50 μg of sodium deoxycholate and enzyme in 0.1 ml. After incubation at 37°C for 60 min, the radioactivity in the trichloroacetic acid-soluble fraction was determined [17]. When other substrates were employed, sialic acid released was determined after AG1X-2 column chromatography.

2.5. Sialyltransferase assay

Sialyltransferase activities were determined under the optimal conditions described below. When asialo- (AS-) glycoproteins were acceptors, the assay mixture contained 0.04 μmol of CMP-[¹⁴C]NeuAc, 50–100 μmol (expressed in terms of acceptor site) of acceptor, 5 μmol of sodium cacodylate (pH 6.3), 100 μg of Triton X-100 and enzyme (20–60 μg) in 0.1 ml. After incubation at 37°C for 1–2 h, protein-bound radioactivity was determined as described previously [11]. With glycolipid as acceptor, the assay mixture was the same as for glycoprotein acceptors except 20–50 μmol of acceptor was used. The reaction product was measured by counting the radioactivity incorporated into the corresponding area co-migrating with a standard in a thin layer plate [12].

2.6. Other assays

β-Galactosidase, β-N-acetylglucosaminidase and α-fucosidase were assayed with the respective 4MU-glucosides as described [17]. Assays of acid phosphatase and cathepsin D were also conducted as described previously [14].

3. Results

Table 1 shows that total sialic acid and sialidase-releasable sialic acid contents were increased by transformation with *v-src* and *v-fos*. A transformed rat fibroblast clone (SR-3Y1-2), induced by infection with Rous sar-

Table 1
Sialic acid contents of 3Y1 cells and their transformants

Cell lines	Total sialic acid (μg/mg protein)	Sialidase-accessible sialic acid (μg/mg protein)
3Y1	13.41 ± 1.50	3.42 ± 0.22
SR-3Y1-2	24.32 ± 2.31*	6.25 ± 0.16**
fos-SR-3Y1-202	24.31 ± 3.33*	6.28 ± 0.45**
fos-SR-3Y1-203	26.20 ± 2.15*	5.67 ± 0.12**

Values are means ± S.D. of three batches of cells.

Significant difference from 3Y1: **P* < 0.01; ***P* < 0.001.

Table 2

Sialidase activities of 3Y1 cells and their transformants

Cell lines	Substrate	
	4MU-NeuAc (mmol/h/μg protein)	[¹⁴ C]-GM3 (mmol/h/μg protein)
3Y1	92.5 ± 12.5	0.21 ± 0.05
SR-3Y1-2	31.2 ± 2.4*	N.D.
fos-SR-3Y1-202	11.4 ± 3.6****	0.16 ± 0.10
fos-SR-3Y1-203	10.5 ± 6.1****	N.D.
fos-SR-3Y1-205	18.7 ± 2.7****	N.D.

Values are means ± S.D. of four different batches of cells. Significant difference from 3Y1 (**P* < 0.025; ***P* < 0.01) and from SR-3Y1-2 (*****P* < 0.01); N.D. = not detected.

coma virus, possessed twice the amount in the control rat fibroblast cell line (3Y1 clone). However, augmentation of spontaneous lung metastasis by *v-fos* transfer into SR-3Y1-2 did not further increase the sialic acid contents as evidenced by the results for fos-SR-3Y1-202 and -203. When the 3Y1 cells and their transformants were assayed for sialidase activity using 4MU-NeuAc or GM3 as substrates, they exhibited sialidase activity toward 4MU-NeuAc but little toward GM3 at pH 4.7 in the particulate fractions. The cytosolic fraction could not hydrolyze any of these substrates at either pH 4.7 or 6.0. Sialidase in the particulate fractions hydrolyzed sialyllactose and fetuin glycopeptides as well as 4MU-NeuAc at pH 4.7; the relative rates of hydrolysis were 45%, 40% and 100%, respectively. Glycoproteins were hardly hydrolyzed and gangliosides practically failed as substrates even in the presence of detergents such as Triton X-100 or sodium cholate. When the cell homogenates were fractionated according to de Duve et al. [23] and the resulting fractions were assayed with 4-MU-NeuAc as substrate, more than 60% of this acidic sialidase activity was found in the lysosomal/mitochondrial fraction, in which as much activity of acid phosphatase, a marker enzyme for lysosomes, was present. These results indicate that 3Y1 cells and their transformants possess only a lysosomal matrix-type sialidase, which was previously characterized as one of the four types of rat liver sialidase able to hydrolyze only low molecular weight substrates. As compared with the sialidase activity of control 3Y1 cells, the activity levels were markedly reduced in the transformants (Table 2). This was more pronounced in highly metastatic cells, fos-SR-3Y1, than in those with low metastatic potential, SR-3Y1-2. To determine if the low levels of sialidase activity in the transformants were due to the presence of any inhibitor, the particulate fractions of transformed cells were added to that of control 3Y1 cells, and the combined fractions measured for sialidase activity. The combined fractions showed essentially equivalent values to the sums of the two data obtained individ-

Table 3

Low levels of sialidase activity in transformants are not due to the presence of an inhibitor

Particulate fraction	Sialidase activity (nmol/h)
3Y1	7.4
SR-3Y1-2 (2)	1.7
fos-SR-3Y1-202 (3)	0.93
(1) + (2)	8.4
(1) + (3)	7.8

Sialidase activity was assayed at pH 4.7 in the particulate fraction(s) of 3Y1 cells and/or their transformants. Values are means of two experiments.

ually as shown in Table 3, indicating that a special inhibitor may not be involved in decrease of sialidase activity in the transformants. As the sialidases of the 3Y1 cells and their transformants were suggested to be of lysosome-type, we examined whether several lysosomal enzymes other than sialidase might also be altered by the oncogenic transformation (Table 4). Unlike the sialidase, the activities of four glycosidases and cathepsin D were hardly affected. Although decrease in some of the enzyme activities in *v-fos* transferred cells was appreciable, in all cases it occurred to a much lesser extent than for sialidase. We also compared the activity levels of sialyltransferases between control 3Y1 cells and their transformants using glycoprotein and glycolipid acceptors as shown in Fig. 1. The activity toward asialo-orosomucoid was somewhat increased in the transformants while little changes were observed in the activities with two asialo-submaxillary mucins and asialo-transferrin as acceptors. The sialyltransferases responsible for ganglioside formation were rather reduced in activity by the transformation.

4. Discussion

The present study revealed that oncogenic transformation of rat 3Y1 cells causes alterations of sialidase and sialyltransferase activities accompanied by an increase of sialic acid contents. The most striking findings were that transformed cells demonstrate severely reduced lysosome-type sialidase activity and that acquisition of highly metastatic potential with *v-fos* transfer was associated with further remarkable decrease in sialidase activity. Interestingly, this seems to be specific to sialidase among lysosomal enzymes. Total sialic acid as well as surface sialic acid contents were higher in the transformed cells than in control cells, but did not correlate with metastatic potential. This may imply that only the sialic acids of particular sialoglycoconjugates are involved in metastasis. The transformed cells exhibited to

some degree increased sialyltransfer to asialo-orosomucoid containing tri- and tetra-antennary complex-type chains. On the other hand, sialyltransfer to glycolipid acceptor was rather decreased. These data suggest that increase in sialic acid bound to *N*-linked glycoprotein would occur with a concomitant decrease in that bound to glycolipid. Such a tendency was also shown previously for phorbol ester-induced transformants of JB6 mouse epidermal cells, characterized decreased lysosomal sialidase activity and increased sialyltransfer to *N*-linked glycoproteins [13].

High metastatic potential of fos-SR-3Y1 cells was earlier described to be closely related to high invasiveness, in association with augmentation of cell motility [20]. Consequently, their metabolic shift to an increased sialic acid density, at least of some sialoglycoproteins responsible, may bring about the enhanced metastasis, especially invasiveness. This is also consistent with other work demonstrating good correlations between sialic acid contents and invasiveness [4,6,8,9]. We have further found that BL6 cells, a high invasive variant of B16 melanoma cells, have higher levels of sialyltransferase activity than cells of low invasiveness, although in that case sialidase activity was hardly affected (unpublished data).

src gene products most likely act at a post-translational level such as phosphorylation, whereas *fos* gene products are involved in many cellular events due to their trans-acting transcription function [24]. It is at present far from understood how expression of *src* and *fos* genes is related to alterations in sialidase and sialyltransferase and how these oncogenes modify sialidase activity selectively among various lysosomal enzymes. Investigations of whether transfection of a recently cloned rat sialidase gene [25] into fos-SR-3Y1 cell might reduce their metastatic potential are now under way.

Table 4

Glycosidase and cathepsin D activities of 3Y1 cells and their transformants

	3Y1	SR-3Y1-2	fos-SR-3Y1-202
		(nmol/h/mg protein)	
Sialidase	84.4	29.1	12.6
		(nmol/min/mg protein)	
β -Galactosidase	15.1	18.6	11.4
β - <i>N</i> -Acetylglucosaminidase	24.9	28.3	22.5
Fucosidase	10.9	9.7	8.3
Acid phosphatase	149.6	138.8	120.4
		(μ g/min/mg protein)	
Cathepsin	25.7	26.7	19.5

Values are means of two experiments.

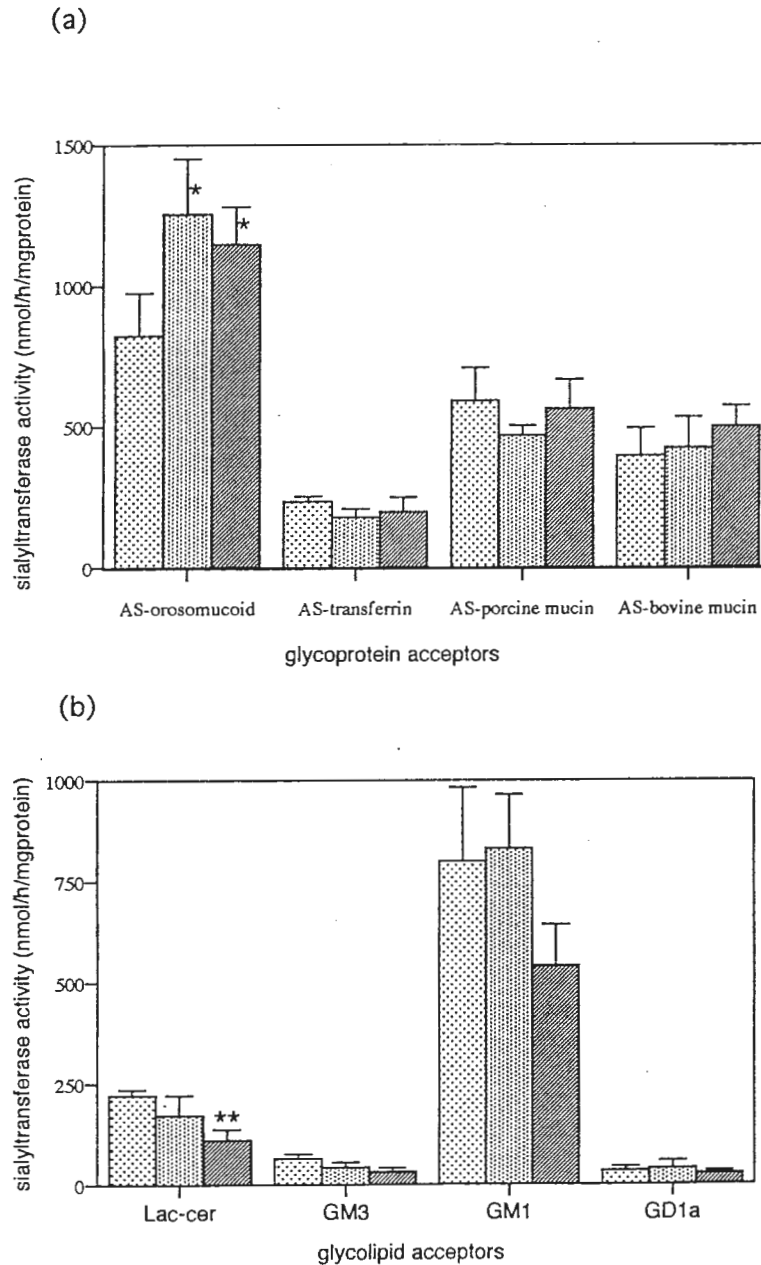


Fig. 1. Sialyltransferase activities toward glycoprotein (a) and glycolipid (b) acceptors in 3Y1 cells and their transformants. Asialo-(AS-) orosomucoid, -transferrin, -bovine submaxillary mucin were prepared by mild acid hydrolysis (0.1 N H_2SO_4 at $80^\circ C$ for 1 h) and AS-porcine submaxillary mucin by treating with 1 N H_2SO_4 at $70^\circ C$ for 3 h to remove sialic acid and fucose. Activities are means $\pm$ S.D. of three batches of cells. Significant difference from 3Y1 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$). $\square$ = 3Y1; $\square$ = SR-3Y1-2; $\blacksquare$ = fos-SR-3Y1.

References

- [1] Warren, L., Buck, C.A. and Tuszynski, G.P. (1978) *Biochim. Biophys. Acta* 516, 97–127.
- [2] Yamashita, K., Ohkura, T., Tachibana, Y., Takasaki, S. and Kobata, A. (1984) *J. Biol. Chem.* 259, 10834–10840.
- [3] Pierce, M. and Arango, J. (1986) *J. Biol. Chem.* 261, 10772–10777.
- [4] Bolscher, J.G.M., Van der Bijl, M.M.W., Neeffjes, J.J., Hall, A., Smets, L.A. and Ploegh, H.L. (1988) *EMBO J.* 7, 3361–3369.
- [5] Santer, U.V., DeSantis, R., Hard, K.J., Van Kuik, J.A., Vliegenhart, J.F.G., Won, B. and Glick, M.C. (1989) *Eur. J. Biochem.* 181, 249–260.
- [6] Collard, J.G., Schijven, J.F., Bikker, A., La Riviere, G., Bolscher, J.G.M. and Roos, E. (1986) *Cancer Res.* 46, 3521–3527.
- [7] Dennis, J.W., Laferte, S., Waghone, C., Breitman, M.L. and Kerbel, R. (1987) *Science* 236, 582–585.
- [8] Yogeewaran, G. and Salk, P. (1981) *Science* 212, 1514–1516.

- [9] Fogel, M., Altevogt, P. and Schirmacher, V. (1983) *J. Exp. Med.* 157, 371–376.
- [10] Miyagi, T., Konno, K., Sagawa, J. and Tsuiki, S. (1990) *Jpn. J. Cancer Res.* 81, 915–919.
- [11] Miyagi, T. and Tsuiki, S. (1982) *Eur. J. Biochem.* 126, 253–261.
- [12] Miyagi, T., Koseki, M. and Tsuiki, S. (1988) *Jpn. J. Cancer Res.* 79, 742–749.
- [13] Miyagi, T., Sagawa, J., Kuroki, T., Matsuya, Y. and Tsuiki, S. (1990) *Jpn. J. Cancer Res.* 81, 1286–1292.
- [14] Miyagi, T. and Tsuiki, S. (1984) *Eur. J. Biochem.* 141, 75–81.
- [15] Miyagi, T. and Tsuiki, S. (1985) *J. Biol. Chem.* 260, 6710–6716.
- [16] Miyagi, T., Sagawa, J., Konno, K., Handa, S. and Tsuiki, S. (1990) *J. Biochem.* 107, 787–793.
- [17] Miyagi, T. and Tsuiki, S. (1986) *FEBS Lett.* 206, 223–228.
- [18] Zaitzu, H., Tanaka, H., Mitsudomi, T., Matsuzaki, A., Ohtsu, M. and Kimura, G. (1988) *Biomed. Res.* 9, 181–197.
- [19] Taniguchi, S., Kawano, T., Mitsudomi, T., Kimura, G. and Baba, T. (1986) *Jpn. J. Cancer Res.* 77, 1193–1197.
- [20] Taniguchi, S., Tatsuka, M., Nakamura, K., Inoue, M., Sadano H., Okazaki, H., Iwamoto, H. and Baba, T. (1989) *Cancer Res.* 49, 6738–6744.
- [21] Bradford, M.M. (1976) *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- [22] Aminoff, D. (1961) *Biochem. J.* 81, 384–392.
- [23] de Duve, C., Pressman, B.C., Gianetto, R., Wattiaux, R. and Appelmans, F. (1955) *Biochem. J.* 60, 604–617.
- [24] Verma, I.M. and Sassone-Corci, P. (1987) *Cell* 51, 513–514.
- [25] Miyagi, T., Konno, K., Emori, Y., Kawasaki, H., Suzuki, K., Yasui, A. and Tsuiki, S. (1993) *J. Biol. Chem.* 268, 26435–26440.

Genomic organization and the 5'-upstream sequence of the rat cytosolic sialidase gene

Kaoru Sato and Taeko Miyagi¹

Division of Biochemistry, Research Institute, Miyagi Cancer Center, 47-1 Nodayama, Medeshima-shiode, Natori, Miyagi 981-12, Japan

¹To whom correspondence should be addressed

We have previously cloned a cDNA of a rat cytosolic sialidase which is strongly expressed in skeletal muscle. Both the highest enzyme activity, as well as the highest mRNA level, are present in this tissue. To understand the basis of the expression of this sialidase, we have cloned and sequenced the rat gene and its 5'-upstream region from a rat genomic library. The gene encoding the 1.8 kb skeletal muscle mRNA was found to span 3.4 kb of genomic DNA, and to consist of two introns and three exons. Exon 1 contains the 5' non-coding region, and exons 2 and 3 encode the regions containing the AUG initiation codon and two Asp-boxes, respectively. In the 5'-upstream sequence, there are a TATA box and two E-box pairs known as consensus binding sites for muscle-specific transcription factors. Analysis of the expression of transfected sialidase enhancer/promotor expression plasmid demonstrated the sialidase enhancer/promotor to be active in rat L6 myogenic cells shown to express this gene, but inactive in rat 3Y1 fibroblasts shown not to express the enzyme. The transcription activity was increased 3-fold after induction of myoblast differentiation by serum depletion. These observations give an account of constitutive expression of the sialidase gene in skeletal muscle.

Key words: genomic sequence/L6 myoblast/sialidase

Introduction

Sialidase (EC 3.2.1.18), a glycosidase catalysing the removal of sialic acids from glycoproteins and glycolipids, which is an initial step in the degradation of these glycoconjugates, has been implicated in many important biological processes (Schauer, 1985; Pilatte *et al.*, 1993). Clarification of the enzymatic and physical natures of sialidases of microorganism origin has suggested possible roles in nutrition and pathogenesis (Corfield, 1992). Structural and functional aspects of mammalian sialidases, however, have remained unclear, probably as a result of the difficulty in making research progress on a molecular basis due to their instability and low activity.

In an attempt to isolate, purify and characterize rat sialidase, we presented evidence of four enzyme types, differing in subcellular location and in catalytic and immunological properties. They are intralysosomal (Miyagi and Tsuiki, 1984), cytosolic (Miyagi and Tsuiki, 1985) and membrane-associated sialidases I and II (Miyagi *et al.*, 1990). Their substrate specificities differ markedly, and immunological precipitation studies have revealed that each sialidase is specially precipitated only by its

respective antibody. These findings indicate that these are distinct proteins and thus may be distinct gene products which each play a unique role, depending on the specific subcellular location and catalytic property. Of the four types of rat sialidase, we were able to purify extensively the cytosolic sialidase (Miyagi and Tsuiki, 1985). Unlike other types of sialidase having an acidic optimal pH, it was found that the sialidase could desialylate native glycoproteins and gangliosides at neutral pH. In addition, a tissue distribution study of the sialidase revealed the highest activity in skeletal muscle, with other tissues having very low activities (Dairaku *et al.*, 1986). Taking advantage of the homogeneously purified enzyme, we have previously cloned a cDNA encoding the cytosolic sialidase (Miyagi *et al.*, 1993). To obtain clues to answering questions on what mechanism leads to high expression of this gene in skeletal muscle and what role it plays in this tissue, we have cloned and analysed the rat cytosolic sialidase gene. In the present paper, we document findings for the organization of the gene and describe a preliminary analysis of the enhancer/promotor region. To our knowledge, this is the first example of such an investigation of mammalian sialidase genomic DNA.

Results and discussion

Expression of cytosolic sialidase in rat tissues

To measure mRNA levels of cytosolic sialidase in rat tissues, poly(A)⁺ RNA from several rat tissues was analysed on Northern blots. Figure 1 shows the results when a 1.3 kb cDNA fragment containing all the coding region was used as the probe (S1 in Materials and methods). The probe detected an mRNA of ~1.8 kb, as previously reported (Miyagi *et al.*, 1993). The highest mRNA level was found in skeletal muscle with much lower levels present in brain and liver. The levels correlated with the enzyme activity in these rat tissues observed earlier (Dairaku *et al.*, 1986) using 4-methylumbelliferyl-*N*-acetylneuraminic acid as a substrate at pH 5.8. The data thus suggest that regulation of the enzyme levels is achieved through transcriptional control and/or alterations in the stability of the cytosolic sialidase mRNA.

Analysis of a genomic clone

A rat genomic EMBL-3 library was screened with the cytosolic sialidase cDNA S1 probe containing the entire open reading frame. Four independent clones isolated from 1.5×10^6 recombinants were restriction mapped and found to overlap as shown in Figure 2. By restriction mapping and Southern hybridization, two clones (C1 and C3 in Figure 2a) were found to contain the complete rat gene covering all the exons corresponding to the 1.8 kb cytosolic sialidase cDNA. The subclones F1 and F3 (Figure 2b) generated from clone C1, respectively, hybridized with the S2 probe covering the 5' non-coding region and with

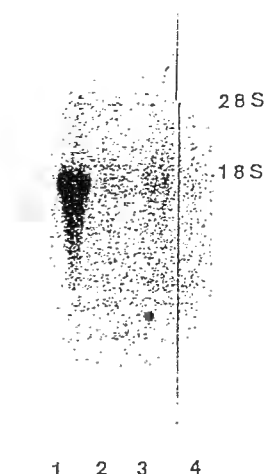


Fig. 1. Northern blot analysis of poly(A)⁺ RNA from rat tissues. Poly(A)⁺ RNA (5 µg) from skeletal muscle (lane 1), liver (2), brain (3) and spleen (4) was subjected to Northern hybridization as described in Materials and methods.

the S3 probe containing the 3' non-coding region of the cDNA. The 3'-region downstream of F3 did not hybridize with any of the probes. F1, F2 and F3 were then sequenced and compared with the cDNA sequence. The results revealed that the cytosolic sialidase gene is organized into three exons spanning a region of 3.4 kb, as shown in the upper panel of Figure 2. The

sizes of the exons are 178, 212 and 1270 bp, and the sizes of the introns are 157 and ~1600 bp. Sequence analysis of the donor and acceptor sites at the exon-intron boundaries showed the presence of typical consensus sites for eukaryotic genes (Shapiro and Senapathy, 1987), as summarized in Table I.

As we previously reported (Miyagi *et al.*, 1993), this rat cytosolic sialidase contains sequences with partial similarity to those of microbial sialidase, in spite of little similarity between them in terms of overall primary structure. They include three amino acid residues beginning at Arg-21 (-Arg-Ile-Pro-) near the amino terminal, and the Asp-box (-Ser-X-Asp-X-Gly-X-Thr-Try-) which is now known as a sialidase consensus sequence (Roggentin *et al.*, 1989). Here we found that intron 2 interrupts the gene between these two sequences. It is of interest in this context that site mutagenesis in the former has been observed to affect the sialidase activity heavily, whereas that in the Asp-box exerts little influence on the activity (Roggentin *et al.*, 1992).

Identification of the transcriptional start site

The transcription initiation site was determined by primer extension and RNase protection assays. For the primer extension analysis, we used a 30 nucleotide primer with a sequence complementary to cytosolic sialidase mRNA. As shown in Figure 3a, the autoradiograph of the resolving gel revealed a major band of 113 nucleotides. Experiments with spleen RNA lacking the transcript (Figure 1) and with yeast tRNA exhibited no band. As confirmation of the transcriptional start site, an RNase protection assay using different amounts of total RNA and RNases was carried out as shown in Figure 3b.

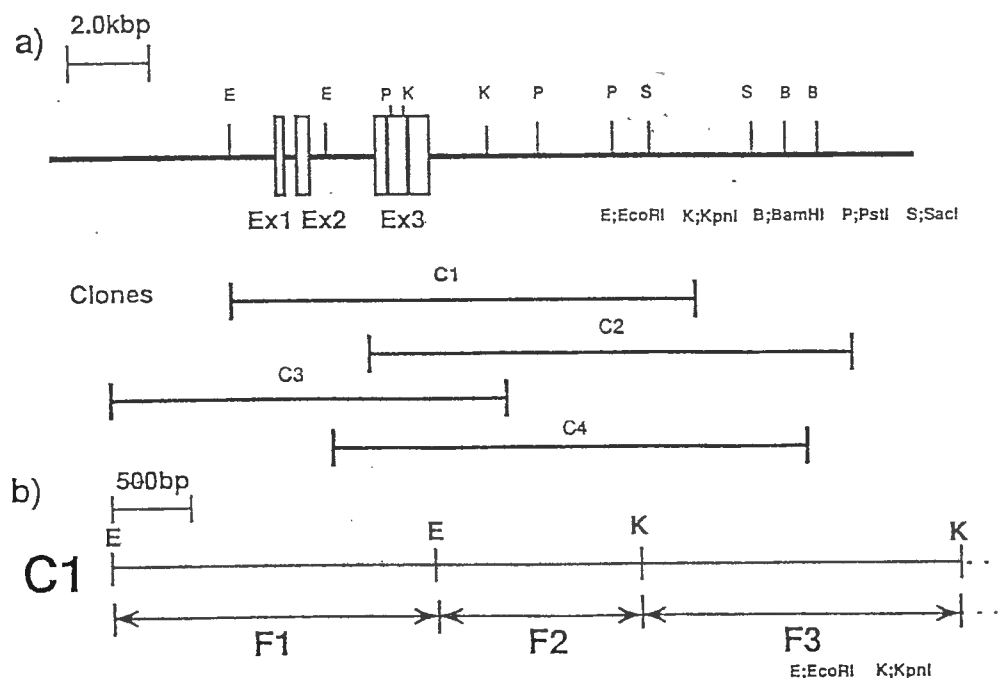


Fig. 2. Genomic organization of the cytosolic sialidase gene. (a) The restriction enzyme map is shown with *EcoRI* (E), *KpnI* (K), *BamHI* (B), *PstI* (P) and *SacI* (S) sites, and exons are designated Ex1, Ex2 and Ex3. Two vertical lines in Ex3 indicate the positions of Asp-boxes. The four positive genomic clones isolated are shown below. (b) A positive clone (C1) covering the entire gene was digested with *EcoRI* and *KpnI*, and the subclones (F1, F2 and F3) were further characterized and sequenced.

Table I. Introns in the rat cytosolic sialidase gene

Intron number	Intron length (bp)	Splice junction sequence	
		Donor	Acceptor
1	160	CGAACG <u>gtatct</u>	gccag ATCTCA
2	~1600	GTCAG <u>gtaagg</u>	attcag TGGCAA

Capital letters represent exon sequences and underlines represent agreement with the consensus sequence.

A gel-purified antisense riboprobe (412 bp) was hybridized with RNA from rat skeletal muscle or yeast tRNA, and then digested with RNases A and T1. An estimated 113 nucleotide long fragment was protected specifically with rat skeletal muscle RNA, while yeast tRNA did not protect the probe. The amount of the protected fragments increased in proportion to the amount of RNA applied, and decreased with an increase

in RNases. These results are consistent with the polymerase chain reaction data on 5'-end amplification of rat skeletal muscle mRNA which we previously observed (Miyagi *et al.*, 1993). The transcription start site was thus estimated to be located 113 bp upstream of the ATG start codon.

Characterization of the 5'-upstream sequence of the cytosolic sialidase gene

The 5'-upstream DNA sequence was determined by sequencing the F1 fragment of the C1 genomic clone shown in Figure 4. This contained the first exon of the non-coding region and the second exon beginning with an acceptor splice signal immediately followed by the ATG codon. Analysis of the sequence of the promoter region revealed the classical TATA box (McKnight and Kingsbury, 1982) between positions -25 and -33 bp of the transcriptional start site. The so-called CAATT box, which is often found at -88 bp, was absent. Neither a

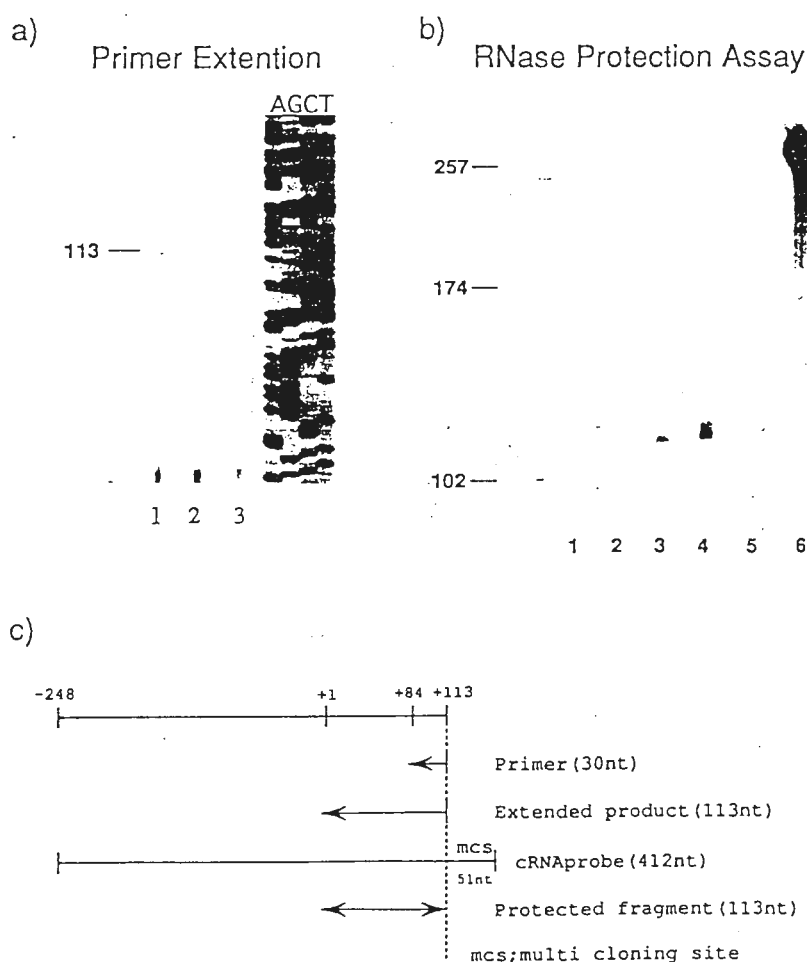


Fig. 3. Primer extension and RNase protection assays of cytosolic sialidase mRNA. (a) Poly(A)⁺ RNA from skeletal muscle (5 µg), spleen (5 µg) or yeast tRNA (20 µg) was subjected to primer extension (lanes 1, 2 and 3, respectively) as described in the Materials and methods. (b) Total skeletal muscle RNA 10 µg (lanes 1 and 2), 30 µg (lanes 3 and 4) or yeast tRNA 20 µg (lanes 5 and 6) was mixed with riboprobe for hybridization, and the hybridized mixture was digested with RNase A and RNase T1 at concentrations of 6 µg/ml and 100 U/ml (lanes 1 and 3), 2 µg/ml and 33 U/ml (lanes 2, 4 and 5) or with no addition of RNase (lane 6). (c) The primers used in the primer extension experiment and the extended product are shown in the upper panel. The riboprobe used and the fragment protected in the RNase protection assays are shown in the lower panel.

-1077 CCAACACTCT TCCTGCCTCA GCTTCTCACA TGCCGAACCG CAGCCATGAG CCACCAACAC
 -1017 TTCAAGTCTC CATTTTAAAG CAAAGACTTA TCCCCACTTT TTTTAAAGAA CATTCTTTT
 -957 TTAGTGTGCA TCGCCCCCTC TAAATTTTAT TCTGCTGAT TGTCCCAATA ACATTTCATCA
 -897 GACTTGAACA ATAGGATGGT TGACTACACC TCTCAAAACC GGTAAAAACA AGTTTAAAT
 -837 GATCATAAT TACACGGTAG AAGAGTGTAG GAAAGCCCGT CTCCTGCTTG CTGACTCCGC
 -777 ACTTTTCATT TCTTCTCCCT GGGGTTAAGA CATGGGGAAG AGTTCATAGG AAGTTATGGC
 -717 CTCCCTTGCG AGGGTTTAAAT GGAGTTTCTT GAAGTCATTA CTCTAGCAG GATAGAAGGC
 -657 GGCCAGTTCG ACAGAGAGGA GGGTAGTGGG GTGGTGGGGT TTCTGAGAAT CTTAGAGTTA
 -597 CCTCAACATA TCCTGAGGGT CTCACCTTCA GGCAGAATGT GGGGGTCCAT CTGTCTTTAT
 -537 GTTCTGGGTA GATAGGTCAT CAAATAAAGC TTGTGTGAG GATAACCTTG GCAAGTGGT
 -477 CTCTCAGCCA AGGGTGGTTA CTCTGGCTTA AGAAGTTAGC TCTGGGGTT GGGAGTTAG
 -417 CTCAGTGGTA GAGTGGCTTG CCTAGGAAGC GCAAGGCCCT GGGTTTGGTC CCCAGCTCCG
 -357 AAAAAAGAA CCAAAAAAA AAAAAATAA AAAGAAGTTA GCTCTGTCAA CTCCTTTGTC
 -297 ACCGCACTCG GCAAGTTATC CCCTGCTTC CTGTCTTT TCTGCAAGTA CTTACATCGT
 -237 TGTTCACTTT CTCACATCTT GAGCTCTCCC TCCCCGCCA GTCCATTAG TAGGCAGAGC
 -177 CTATCCCTCC AGATGCACAA CCACCCCTA CTGCTCAG GGTGGCACCC ACACAGTTAG
 -117 GGAAGCTGGT TTACCAAGCT CAGGCAGCTG AGGGGAATGG AGGTATTTTC TTCTCTTTG
 -57 GAACAGCTTT CTAGGGTCTT GGAGTTATTA AAAGGCTCCC ACGTGTCATT CCCTGACAGT
 4 GGGAGAGCTG CAGAGAGCCA CTTAGCAAGC TCCTCTATGC TCCTCAGGGT TAGCAGCTGA
 64 AGGTTGTCAC ACATCTGTTG TGAGGGGAAC TGGTTATGCC AGGAATCTAT ACAAAACCCA
 124 CTTTTCGAT TCTTGGGTAG AAGACTGCCA GGAGCTTACA GCAGCCTGG CGAAGCGTAT
 184 CTGGGATAT GGAAGGACA CAGAACCCTT TCAAGGCCA GGCTACCCAG ACAGGACTCA
 244 GTTGGCAGT CAGATGAGT CCACCTGTAT TGGATGACT TGGCCCTGT CACAGGTATG
 304 ACAGCAGATG ATGTGCTTC TCTTCTGCC CAGATCTCAG GCCATGGAG ACTGCCCCG
 H E T C P V
 364 TCCTCCAGAA AGAGACGCTG TTCCACACAG BAATCTATGC TTACAGAATC CCTGCTCTGC
 L Q K E T L F H T E V Y A Y R I P A L L
 424 TCTACCTGAA GAAGCAGAAG ACCCTGCTGG CCTTTGCGAA AAAGCGAGCC AGCAGGACGG
 Y L K K Q K T L L A F A E K R A S R T D
 484 ATGAGCATGC TGAGTTGATT GTCTGCGAA GAGGAGCTTA CAATGGAGCC ACCAACCATG
 E H A E L I V L R R G S Y N G A T N H V
 544 TCAGGTAAG GCATGGGCT TACCTGGGT GGCTCGACAC ACACCATGT GGTCTGGGT
 K
 604 GCGGTGAACC AGCGTAAAT CTCACCGAAC TCAGGGGCAA GGCTATCCCT TGGTAAATAA
 664 GATGTAGGTA GGATCTAGGG AACTTAGGAG AGATCTAGAA ACCCATCCAG GGACAGGGTG
 724 ACAAACAGGC TCTGTATACC AACCCAGATC TCTTGGGTTA ACCAGCAGCA AGTCTTGTG
 784 GCTGATCATG TGCTTCATCA CTGACTGAC TGAGTTTCTT GGCATCCTTG

Fig. 4. Nucleotide sequence of the 5'-end of the rat cytosolic sialidase gene. The transcription initiation site is assigned to portion +1. The TATA box sequence and ATG initiation codon are shaded. Exon 1 (1-179), exon 2 (337-548) and E-box sequences are underlined, and a rat dispersed repetitive element is underlined with a double line.

typical GC box nor an AP1 site were observed. At positions -486, -550, -949 and -1051 in the upstream region, there are four E-box sequences (-CAXXTG-) (Murre *et al.*, 1989), which are known to be core sequences of the consensus binding site for nuclear factors: they are involved in the developmental and tissue-specific regulation of muscle gene transcription, and are found in the helix-loop-helix family of DNA-binding proteins including MyoD (Davis *et al.*, 1988), myogenin (Wright *et al.*, 1989) and myf5 (Braun *et al.*, 1989). E-boxes have been observed to function as enhancers for the several muscle-specific genes, such as those encoding the muscle creatine kinase (Buskin and Hauschka, 1989), the myosin light chain (Periasamy *et al.*, 1985) and the acetylcholine receptor (Piette *et al.*, 1990). The enhancers of these genes contain at least a pair of E-box sequences closely located to each other at a distance of 10-20 bp. The most upstream E-box in the sialidase gene, on the other hand, was found to be 102 bp apart from the next one and the distance between the downstream two E-boxes was determined as 64 bp. Despite the separate locations of the E-boxes in the sialidase gene, they might still be functional in this regard, since there is an example of an E-box at a distance

of 53 bp from the adjacent one retaining enhancer activity in the myosin light chain gene (Periasamy *et al.*, 1985). Deletion and mutational analysis of the region remain to be performed to assess this possibility. Other consensus binding sites for muscle-specific factors, such as MCAT-box (Mar and Ordahl, 1990) and MEF-2 binding site (Buskin and Hauschka, 1989), were not found. Characterization of the 5'-upstream sequence revealed that the gene is not of the housekeeping type, but is expressed in a tissue-specific fashion.

In addition, when the sequence extending 1077 bp upstream from the transcription start site was compared with other sequences in the GenBank nucleotide data base (release 84), the region from -330 to -434 was found to have high similarity to the rat dispersed repetitive element existing in an intron of the rat growth hormone gene (Barta *et al.*, 1981) and the rat α -tubulin pseudogene (Lemischka and Sharp, 1982). Although the biological significance is not known, it has been reported that this sequence has several features common among dispersed repetitive elements, in particular the Alu-like elements of human, mouse and Chinese hamster DNAs (Barta *et al.*, 1981).

Cellular expression directed by the 5'-flanking region of the rat cytosolic gene

To improve our understanding of the molecular mechanisms of sialidase expression, a 1.4 kb fragment (-1068 to 343) of the 5'-flanking sequence containing all four E-boxes was subcloned into a luciferase pGL2-basic vector and tested for the ability to drive transcription of the reporter gene in transient transfection experiments. The region was ligated upstream of the luciferase gene in a vector lacking an enhancer/promotor (designated as pGL2-1.4kb). Rat fibroblast 3Y1 cells and myoblast L6 cells were chosen for the transfection experiments, since the former were found to express neither the sialidase activity nor the mRNA (data not shown), while the latter are thought to express this gene due to its skeletal muscle origin (Yaffe, 1968). For the control experiment, the pGL2-basic vector alone and the pGL2-control vector containing the SV-40 enhancer and promoter were also transiently transfected into the cell lines. The luciferase activity of transfected cells was corrected for transfection efficiency by the β -galactosidase activity assays, and presented as the relative activity of pGL2-1.4kb to pGL-control. The results shown in Figure 5 demonstrate that the 1.4 kb region is able to drive the transcription of the luciferase reporter gene in L6 cells, but is almost inactive in 3Y1 cells. The myoblast L6 cells exhibited ~7-fold higher activity than the 3Y1 cells and, intriguingly, a 3-fold increase after induction of myotube formation by stimulation with serum depletion. In fact, untransfected L6 cells gave the same size of cytosolic sialidase as skeletal muscle in Northern blot analysis when the cells displayed myotube formation (data not shown). Together with the presence of E-box sequences, these results provide evidence that the 5'-flanking enhancer/promotor sequence exhibits transcriptional activity in L6 cells, although it is relatively low compared with that of the SV-40 enhancer/promotor, implying the basis for high expression of the cytosolic sialidase mRNA in skeletal muscle.

The biological function of this enzyme has not been clarified so far and the fact that its sialoglycoconjugate substrates are thought to localize to the cell surface or luminal compartment might suggest redundancy for a cytosolic sialidase. However,

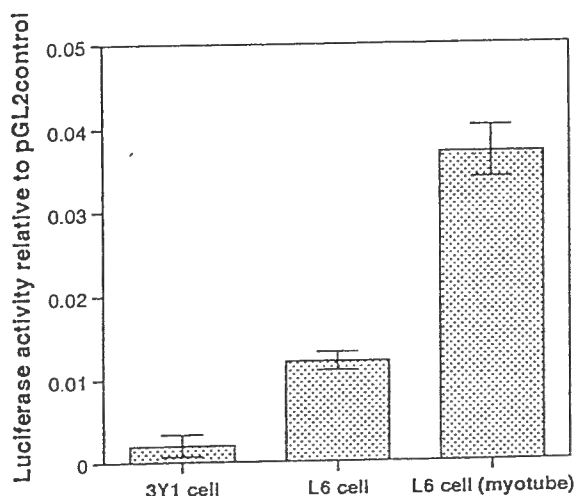


Fig. 5. Activity of the 5'-flanking enhancer/promoter expression plasmid transiently transfected in 3Y1 and L6 cells. The luciferase activities were corrected for transfection efficiency and the results are shown as the relative activity of pGL2-1.4kb construct to pGL2-control RSV-driven luciferase plasmid. The values are means $\pm$ SD of four independent experiments. L6 (myotube) represents the differentiated L6 cells that were induced to form myotube by transfer to differentiation medium as described in Materials and methods.

recent observations offering convincing evidence of the presence of cytosolic and nucleoplasmic glycoconjugates (Hart *et al.*, 1989) indicate that cytosolic sialidase can indeed play a role in desialylation in the cytosol of the cell. Our present findings suggest the possible involvement of this enzyme in the events of myogenic differentiation in the cytosol of muscle cells by releasing sialic acid at neutral pH from functional glycoproteins and glycolipids. They are in good agreement with several reports, including recent studies (Trudel and Holland, 1992; Cambron and Leskawa, 1994) indicating a critical role for glycosylation in the control of myoblast differentiation. The question of whether cytosolic sialidase gene expression is important for skeletal muscle development remains to be answered.

Materials and methods

Screening of cytosolic sialidase genomic clones from a rat liver library

A Sprague-Dawley rat liver genomic library in EMBL3 was purchased from Clontech. This library contains 8–20 kb fragments of the male rat genomic DNA partially digested with *Sau3A*I. The total primary plaque-forming units (p.f.u.) of this library are 2.3×10^6 and the final amplified titre is 1.65×10^9 p.f.u./ml. The 1.3 kb cDNA insert containing the entire open reading frame was excised from pGEX2T-SD sialidase cDNA construct (Miyagi *et al.*, 1993) with *Bam*HI and *Eco*RI, radiolabelled with [α - 32 P]dCTP using a random primer DNA labelling kit (Takara, Japan) and used as a probe (S1) for screening. The library was screened by the hybridization method using Hybond N⁺ membranes (Amersham) as recommended by the supplier. Briefly, membranes with lifted plaques were pre-hybridized in $5 \times$ SSPE, $5 \times$ Denhardt's solution, 0.1% SDS and 0.1 mg/ml salmon sperm DNA for 3 h at 65°C, and hybridized in the same solution plus radiolabelled cDNA probe for 16 h at 65°C, followed by washing with $2 \times$ SSC, 0.1% SDS at the same temperature. Positive genomic clones were re-screened, plaque purified three times, and restriction subclones were inserted into pBluescript II vector (Stratagene).

Sequencing

A positive clone C1 was digested with *Eco*RI and *Kpn*I. Each fragment obtained (F1, F2 and F3) was subcloned into pBluescript II. For characterization, Southern hybridization was carried out using S2 and S3 probes: S2 represents

the cDNA region corresponding to the 5' untranslated region (180 bp) and S3 corresponds to a 300 bp fragment containing the 3' non-coding region. Deletion clones of these genomic clones were generated using a kilo-sequence deletion kit (Takara, Japan) and sequenced using Sequenase Version 2.0 (US Biochemical Corp.) by the dideoxy chain termination method (Sanger *et al.*, 1977).

Northern blot analysis

Total RNA was prepared from rat tissues by the acid guanidium-phenol-chloroform extraction procedure (Chomczynski and Sacchi, 1987) and poly(A)⁺ RNA was purified by oligo(dT)-cellulose column chromatography. The poly(A)⁺ RNA (5 μ g) was denatured at 65°C in a solution of 50% (v/v) formamide, 6% (v/v) formaldehyde and 20 mM MOPS (pH 7.0), electrophoresed in a 1% agarose gel containing 6% (v/v) formaldehyde, and transferred to a Hybond N⁺ membrane. The membrane was hybridized with labelled cDNA S1 probe at 42°C in a solution containing $5 \times$ SSPE, $5 \times$ Denhardt's, 0.5% SDS, 50% (v/v) formamide and 50 μ g/ml salmon sperm DNA. The membrane was washed in $2 \times$ SSC, 0.1% SDS and finally in $0.2 \times$ SSC, 0.1% SDS at 42°C.

Primer extension

A synthetic oligonucleotide primer (30 nucleotides) complementary to the cytosolic sialidase mRNA (positions 84–113 in Figure 4) was labelled at its 5'-end with [γ - 32 P]ATP (Amersham). This labelled primer (5×10^4 c.p.m.) was hybridized to skeletal muscle or spleen poly(A)⁺ RNA in a 30 μ l of solution of 40 mM PIPES (pH 6.4), 1 mM EDTA, 0.4 M NaCl and 80% (v/v) formamide at 30°C for 12 h. The resulting reaction mixture was ethanol precipitated and dissolved in 20 μ l of the buffer containing 50 mM Tris-HCl (pH 7.6), 75 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 1 mM dithiothreitol (DTT) and 1 mM each of dNTPs. Two hundred units (1 μ l) of reverse transcriptase (Superscript II, Gibco BRL) were added and incubation performed at 42°C for 1 h. After addition of RNase (1 μ l, 5 ng; Takara, Japan), the reaction mixture was further incubated for 30 min at 37°C and then electrophoresed on a denaturing 6% polyacrylamide gel.

RNase protection assay

An RNase protection assay was conducted using a Guardian RNase Protection assay kit (Clontech) according to the procedure recommended by the supplier. Briefly, a genomic DNA (–477 to 113 in Figure 4) was generated by polymerase chain reaction with a subclone F1 (Figure 2a) as template, subcloned to the pBluescript II (ks+) vector and digested with *Sca*I (position –248). The polymerase chain reaction was carried out as described previously (Miyagi *et al.*, 1993). 32 P-labelled antisense riboprobe (412 bp) was prepared by T7 RNA polymerase transcription and subjected to 6% urea gel purification. The riboprobe (1×10^5 c.p.m.) was mixed with 10 or 30 μ g of total muscle RNA and hybridized at 42°C for 16 h in a buffer containing 40 mM PIPES (pH 6.4), 0.4 M NaCl, 2 mM EDTA and 80% formamide. RNase A digestion was then conducted at 37°C for 30 min under two conditions: 6 μ g/ml RNase A plus 100 U/ml RNase T1 and 2 μ g/ml RNase A plus 33 U/ml RNase T1. The protected fragment was analysed on a 6% denaturing polyacrylamide gel.

Cell culture and transfections

Rat fibroblast 3Y1 cells were kindly provided by Dr S. Taniguchi, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University. Rat myoblast L6 cells were from the Japanese Cancer Research Resources Bank. These cell lines were maintained in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) in 5% CO₂. When the myoblast L6 cells were transferred to differentiation medium, DMEM containing 1% FBS plus 5 μ g/ml bovine insulin (Wako, Japan), the cells differentiated into myocytes exhibiting myotube formation as reported elsewhere (Wright *et al.*, 1989).

The plasmid for transfection was constructed using a luciferase vector pGL2 (Promega). The 1.4 kb fragment (–1068 to 340) was amplified by polymerase chain reaction using oligonucleotide primers with *Kpn*I and *Bgl*II sites, respectively, and ligated to a pGL2-basic vector lacking an enhancer/promoter. This construct was subsequently sequenced at the insert junctions to confirm the structure. The pGL2-basic vector alone and a pGL2-control vector containing the SV-40 enhancer/promoter were used for control experiments. As an internal control to normalize for transfection efficiency, pSV- β galactosidase (Promega) was co-transfected with the luciferase plasmid above.

3Y1 cells were plated 24–48 h prior to transfection onto 60 mm dishes at a density of 3×10^5 cells/dish. Cells at ~60% confluency were transfected with the constructs using lipofectamine (Gibco BRL) as recommended by the manufacturers. Briefly, 3 ml of Opti-MEMI (Gibco BRL) containing 6 μ g of the pGL2 construct, 2 μ g of pSV- β galactosidase and 30 μ l of lipofectamine were added to cells previously washed with Opti-MEMI, and incubated for 5 h at 37°C, 5% CO₂. 3 ml of DMEM with 20% FBS were then added and the

incubation continued for 18 h. Following transfer to DMEM with 10% FBS, the cells were incubated for a further 24 h and then harvested. The experiments for differentiated L6 cells were carried out as described for 3Y1 cells and L6 myoblasts, except that the medium conditions were as follows: the cells were cultured in differentiation medium for 3–4 days prior to transfection. After 5 h of transfection, DMEM with 2% FBS plus 10 µg/ml insulin was added instead of DMEM with 20% FBS. Cells were then incubated for 18 h and transferred to the differentiation medium for a further 24 h incubation.

Transfected cells were washed with phosphate-buffered saline and cell lysates were assayed for luciferase activity using Luciferase Assay Reagents (Promega) and a luminometer (Lumat LB9501, Berthold). The activity was determined in triplicate, averaged, and then normalized to the β-galactosidase activity to correct for transfection efficiency. β-Galactosidase activity was measured with 4-methylumbelliferyl-galactoside as described previously (Miyagi *et al.*, 1994).

Acknowledgements

We would like to thank Dr Akira Yasui for helpful discussions. This work was supported in part by a grant from Yamada Science, and by a Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas no. 05274103 from the Ministry of Education, Science and Culture, Japan.

Abbreviations

DMEM, Dulbecco's modified Eagle's medium; DTT, dithiothreitol; FBS, fetal bovine serum.

References

- Barta, A., Richards, R.I., Baxter, J.D. and Shine, J. (1981) Primary structure and evolution of rat growth hormone gene. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **78**, 4867–4871.
- Braun, T., Winter, B., Bober, E. and Arnold, H.H. (1990) Transcriptional activation domain of the muscle-specific gene-regulatory protein myf 5. *Nature*, **346**, 663–665.
- Buskin, J.N. and Hauschka, S.D. (1989) Identification of a myocyte nuclear factor that binds to the muscle-specific enhancer of the mouse muscle creatine kinase gene. *Mol. Cell. Biol.*, **9**, 2627–2640.
- Cambron, L.D. and Leskawa, K.C. (1994) Glycosphingolipids during skeletal muscle cell differentiation: comparison of normal and fusion-defective myoblasts. *Mol. Cell. Biochem.*, **130**, 173–185.
- Chomczynski, P. and Sacchi, N. (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.*, **162**, 156–159.
- Corfield, T. (1992) Bacterial sialidases—roles in pathogenicity and nutrition. *Glycobiology*, **2**, 509–521.
- Dairaku, K., Miyagi, T., Wakui, A. and Tsui, S. (1986) Cytosolic sialidases of rat tissues with special reference to skeletal muscle enzyme. *Biochem. Int.*, **13**, 741–748.
- Davis, R.L., Weintraub, H. and Lassar, A.B. (1987) Expression of a single transcribed cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell*, **51**, 987–1000.
- Gossett, L.A., Kelvin, D.J., Sternberg, E.A. and Olson, E.N. (1989) A new myocyte specific enhancer-binding factor that recognizes a conserved element associated with multiple muscle-specific gene. *Mol. Cell. Biol.*, **9**, 5022–5033.
- Hart, G.W., Haltiwanger, R.S., Holt, G.D. and Kelly, W.G. (1989) Glycosylation in the nucleus and cytoplasm. *Annu. Rev. Biochem.*, **58**, 841–874.
- Lemischka, I. and Sharp, P.A. (1982) The sequences of an expressed rat α-tubulin gene and a pseudogene with an inserted repetitive element. *Nature*, **300**, 330–335.
- Mar, J.H. and Ordahl, C.P. (1990) M-CAT binding factor, a novel trans-acting factor governing muscle-specific transcription. *Mol. Cell. Biol.*, **10**, 4271–4283.
- McKnight, S.L. and Kingsbury, R. (1982) Transcriptional control signals of a eukaryotic protein-coding gene. *Science*, **217**, 316–324.
- Miyagi, T. and Tsui, S. (1984) Rat-liver lysosomal sialidase. Solubilization, substrate specificity and comparison with the cytosolic sialidase. *Eur. J. Biochem.*, **141**, 75–81.
- Miyagi, T. and Tsui, S. (1985) Purification and characterization of cytosolic sialidase from rat liver. *J. Biol. Chem.*, **260**, 6710–6716.
- Miyagi, T., Sagawa, J., Konno, K. and Tsui, S. (1990) Biochemical and immunological studies on two distinct ganglioside-hydrolyzing sialidases from the particulate fraction of rat brain. *J. Biochem.*, **107**, 787–793.

- Miyagi, T., Konno, K., Emori, Y., Kawasaki, H., Suzuki, K., Yasui, A. and Tsui, S. (1993) Molecular cloning and expression of cDNA encoding rat skeletal muscle cytosolic sialidase. *J. Biol. Chem.*, **268**, 26435–26440.
- Miyagi, T., Sato, K., Hata, K. and Taniguchi, S. (1994) Metastatic potential of transformed rat 3Y1 cell lines is inversely correlated with lysosomal-type sialidase activity. *FEBS Lett.*, **349**, 255–259.
- Murre, C., McCaw, P.S. and Baltimore, D. (1989) A new DNA binding and dimerization motif in immunoglobulin enhancer binding, daughterless, MyoD, and myc proteins. *Cell*, **56**, 777–783.
- Periasamy, M., Wydro, R.M., Strehler-Page, M.-A., Strehler, E.E. and Nadai-Ginard, B. (1985) Characterization of cDNA and genomic sequences corresponding to an embryonic myosin heavy chain. *J. Biol. Chem.*, **260**, 15856–15862.
- Piette, J., Bessereau, J.-L., Huchet, M. and Changeux, J.-P. (1990) Two adjacent MyoD-binding sites regulate expression of the acetylcholine receptor α-subunit gene. *Nature*, **345**, 353–355.
- Platte, Y., Bignon, J. and Lambre, C.R. (1993) Sialic acids as important molecules in the regulation of the immune system: pathophysiological implications of sialidases in immunity. *Glycobiology*, **3**, 201–217.
- Roggentin, P., Rothe, B., Kaper, J.B., Galen, J., Lawrisuk, L., Vimier, E.R. and Schauer, R. (1989) Conserved sequences in bacterial and viral sialidases. *Glycoconjugate J.*, **6**, 349–353.
- Roggentin, P., Kleineidam, R.G., Schauer, R. and Roggentin, P. (1992) Effect of site-specific mutations on the enzymatic properties of a sialidase from *Clostridium perfringens*. *Glycoconjugate J.*, **9**, 235–240.
- Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson, A.R. (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **74**, 5463–5467.
- Schauer, R. (1985) Sialic acids and their role as biological masks. *Trends Biochem. Sci.*, **10**, 357–360.
- Shapiro, M.B. and Senapathy, P. (1987) RNA splice junctions of different classes of eukaryotes: sequence statistics and functional implications in gene expression. *Nucleic Acids Res.*, **15**, 7155–7174.
- Trudel, G.C. and Holland, P.C. (1992) Inhibitors of glycoprotein processing act at an early stage of myogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **184**, 125–130.
- Wright, W.E., Sassoon, D.A. and Lin, V.K. (1989) Myogenin, a factor regulating myogenesis, has a domain homologous to MyoD. *Cell*, **56**, 607–617.
- Yaffe, D. (1968) Retention of differentiation potentialities during prolonged cultivation of myogenic cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **61**, 477–483.

Received on February 21, 1995; revised on April 10, 1995; accepted on April 10, 1995

Outcomes of 116 patients with hepatocellular carcinoma

Hiroyoshi Onodera, Katsuaki Ukai, Noboru Nakano, Tetsutaro Takeda, Hiroshi Suzuki, Toshiki Okata, Tadashi Motojima, Ichiro Kuwashima, Shigenori Ujiie, Tadami Shoji

Department of Internal Medicine, Miyagi Cancer Center Hospital, Miyagi, Japan

Abstract. We studied the outcomes of 116 patients with hepatocellular carcinoma (HCC) diagnosed in our hospital between January 1980 and August 1992. The patients were divided into groups according to the principal treatment procedure. The 3-year survival rates in the patients treated by percutaneous ultrasonically guided ethanol injection (PEI), operation (hepatic resection), and transcatheter hepatic arterial embolization (TAE) were 90.9%, 53.6%, and 29.0%, respectively. None of the patients treated by one-shot injection of an anticancer agent into the hepatic artery and chemotherapy survived for more than 2 years. The outcomes of the patients treated by PEI and hepatic resection were significantly better than those of the patients treated by the other procedures. There was no significant difference when the patients were stratified according to the year of detection. The 3-year survival rate was 57.3% for 19 patients in whom HCCs were detected during clinical follow-up for chronic liver disease and 17.3% for the other 97 patients. We concluded that hepatic resection in patients with good liver function and PEI for early HCC yielded significantly better survival rates than the other procedures. Moreover, for early detection and treatment of HCC, we recommend clinical follow-up of patients with chronic liver disease.

hepatic resection due to cirrhosis in the noncancerous portion of the liver. However, cirrhosis has been confirmed in 82.1% of autopsied cases [10]. On the other hand, transcatheter hepatic arterial embolization (TAE) [2, 5, 24], ultrasonically guided percutaneous ethanol injection (PEI) [4, 12, 20, 21], and hepatic arterial infusion of Lipiodol through a catheter (LpI) [14, 15, 22, 26] now play important roles in the treatment of unresectable HCC. In this study, we retrospectively analyzed the outcomes of HCC cases to evaluate various treatment procedures.

Patients and methods

Between January 1980 and August 1992, 116 patients were confirmed to have HCC in our hospital. The age of the patients ranged from 34 to 80 years (mean, 63.7 years). The male-to-female ratio was 2.52 (Table 1).

For the treatment of HCC, we employed PEI, operation (hepatic resection), TAE, LpI, one-shot injection of an anticancer agent (mitomycin C, Adriamycin, or epirubicin) into the hepatic artery via a catheter, and chemotherapy (injection of an anticancer agent into a peripheral vein or oral administration of fluorouracil, tegafur, or an anti-cancer agent preparation containing tegafur and uracil at a molar ratio of 1:4).

For the LpI treatment, a catheter was inserted into the tumor-feeding artery to allow administration of an anticancer agent (10–50 mg of mitomycin C, Adriamycin, or epirubicin) mixed with

Introduction

Recent advances in real-time ultrasonography have contributed to the early detection of hepatocellular carcinoma (HCC) [8, 19], but many advanced cases continue to be detected. Only 18.1% of HCC cases in Japan undergo he-

Work presented at the Third International Symposium on Treatment of Liver Cancer, Seoul, Korea, 12–13 February 1993

Correspondence to: Hiroyoshi Onodera, Department of Internal Medicine, Miyagi Cancer Center Hospital, 47-1 Nodayama, Medeshima-Shiote, Natori, Miyagi Prefecture, 981-12, Japan

Table 1. Age and sex distribution of 116 patients with hepatocellular carcinoma

Age (years)	Sex	
	Male	Female
30–39	1	0
40–49	6	0
50–59	23	5
60–69	30	19
70–79	21	9
80–89	2	0
Total	83	33

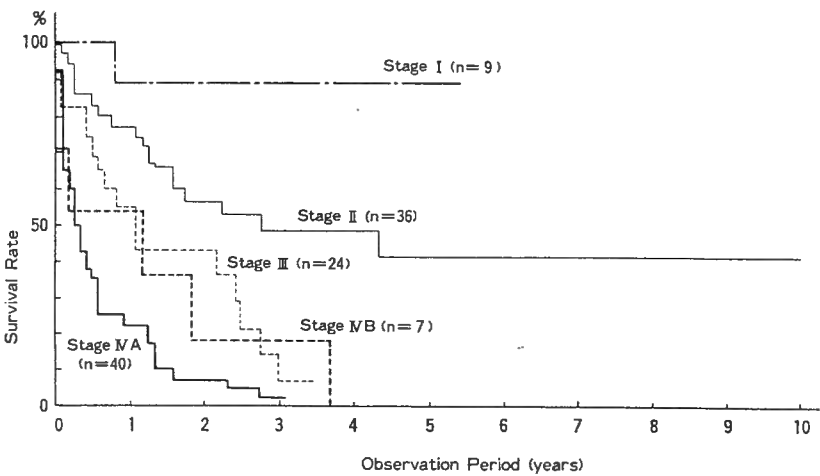


Fig. 1. Cumulative survival rates (Kaplan-Meier method) obtained in patients with HCC according to disease stage as proposed by the Liver Cancer Study Group of Japan [11]. Significant differences are observed as follows: stage I vs III, $P < 0.01$; stage I vs IV-A, $P < 0.002$; stage I vs IV-B, $P < 0.05$; stage II vs III, $P < 0.05$; stage II vs IV-A, $P < 0.002$; and stage II vs IV-B, $P < 0.05$

Table 2. Characteristics of patients and treatment procedures

	Principal treatment procedure							
	PEI ^a	Operation	TAE ^b	LpI ^c	One-shot ^d	Chemotherapy ^e	Unknown	None
Number	11	16	29	9	12	18	2	19
M:F	7:4	11:5	17:12	8:1	9:3	15:3	1:1	15:4
Age (years)								
Mean	66.0	60.6	62.7	63.9	60.7	65.6	—	66.3
Range	52–75	43–73	47–76	53–75	34–77	46–80	61–72	45–78
Combined procedure (numbers of cases are indicated):								
None	11	10	21	5	12	18	2	—
PEI	0	1 ^f	3	4	0	0	0	—
Operation	0	—	1	0	0	0	0	—
TAE	0	5	—	0	0	0	0	—
LpI	0	1	4	—	0	0	0	—

^a PEI: ultrasonically guided percutaneous ethanol injection

^b TAE: transcatheter hepatic arterial embolization

^c LpI: intra-arterial infusion of Lipiodol into the hepatic artery via a catheter

^d One-shot: one-shot injection of anticancer agents into the hepatic artery via a catheter

^e Chemotherapy: oral administration of anticancer agents or injection of anticancer agents into a peripheral vein

^f One case underwent operation, TAE, and PEI

3–20 ml of iodized oil (Lipiodol Ultra Fluide, an ethylester of poppyseed oil fatty acid) through the catheter. For the TAE cases, infusion of the anticancer agent mixture was followed by injection of gelatin sponge cubes into the feeding artery.

We employed the clinical staging criteria presented in the General Rules for the Clinical and Pathological Study of Primary Liver Cancer as established by the Liver Cancer Study Group of Japan [11]. The stages were as follows: stage I – T₁, N₀, M₀; stage II – T₂, N₀, M₀; stage III – T₃, N₀ M₀ or T_{1–3}, N₁, M₀; stage IV-A – T₄, N_{0–1}, M₀; and stage IV-B – T_{1–4}, N_{0–1}, M₁.

The χ^2 -test was used for the statistical analyses. The survival rates were calculated according to the Kaplan-Meier method and compared by the generalized Wilcoxon test. Statistical significance was defined as a P value of less than 0.05.

Results

Figure 1 shows the survival rates of the patients in each clinical stage. The 3-year survival rates of the patients in stages I, II, III, IV-A, and IV-B were 88.9%, 48.0%, 7.2%, 2.5%, and 17.9%, respectively. Although there was no

statistically significant difference between the outcome of patients in stage I and those in stage II, the outcomes of the patients in stages I and II were significantly better than those of the patients in the other stages (I vs III, $P < 0.01$; I vs IV-A, $P < 0.002$; I vs IV-B, $P < 0.05$; II vs III, $P < 0.05$; II vs IV-A, $P < 0.002$; and II vs IV-B, $P < 0.05$).

Table 2 presents the treatment procedures and characteristics of the patients. The principal treatment procedures were PEI, operation, TAE, LpI, one-shot, and chemotherapy, which were performed in 11, 16, 29, 9, 12, and 18 cases, respectively. In 19 cases the HCC was left untreated. The treatment procedure was unknown in 2 cases. Figure 2 shows the stages of the patients. The percentage of stage I plus stage II was 91% for the patients treated by PEI and 88% for the surgically treated patients, whereas this rate was below 41% for the patients treated by the other procedures ($P < 0.005$).

The survival rates for the principal procedures are shown in Fig. 3. The 3-year survival rates of the patients treated by PEI, operation, and TAE were 90.9%, 53.6%,

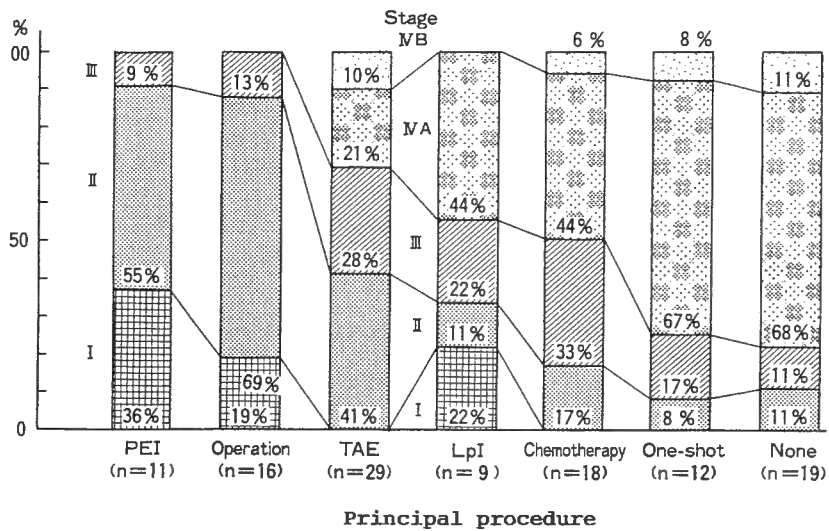


Fig. 2. Stages of the patients according to the principal treatment procedure

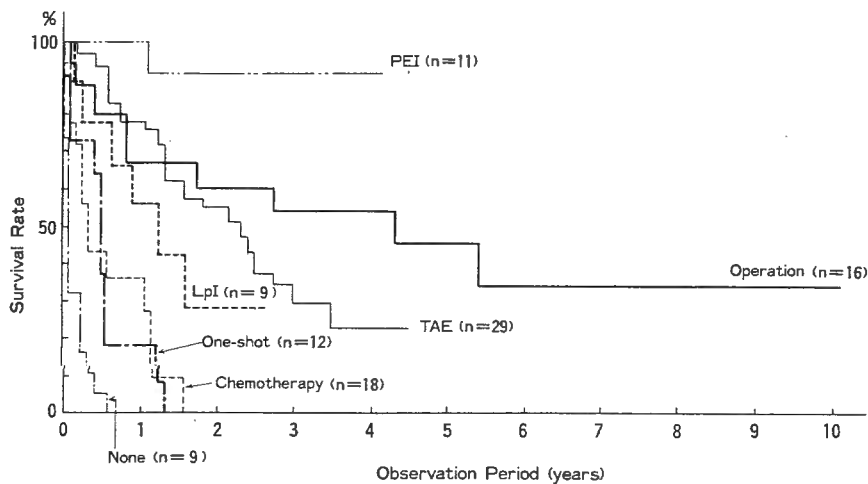


Fig. 3. Cumulative survival rates (Kaplan-Meier method) obtained in patients with HCC according to the principal treatment procedure. The outcome of the patients treated by PEI was significantly better than that of those treated by TAE, LpI, one-shot i.a. injection, or chemotherapy ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.005$, and $P < 0.005$, respectively). The outcome of the operated patients was significantly better than that of the patients treated by one-shot i.a. injection or chemotherapy ($P < 0.01$ and $P < 0.01$, respectively)

Table 3. Principal treatment procedures according to the year of detection

Principal treatment procedure	Year of detection						
	1980–1984	1985–1986	1987	1988	1989	1990	1991–1992
PEI	0	0	0	2	2	3	4
Operation	5	0	6	1	3	2	1
TAE	0	4	5	8	5	6	1
LpI	0	1	0	1	0	5	2
One-shot	3	3	2	0	0	0	2
Chemotherapy	3	2	3	1	3	2	4
Unknown	1	0	0	0	0	0	1
None	1	5	3	0	3	4	3
Totals	13	15	19	13	16	22	18

Numbers of cases are indicated

and 29.0%, respectively. None of the patients treated by either one-shot intra-arterial injection or chemotherapy survived for more than 2 years. The outcome of the patients treated by PEI was significantly better than that of the patients treated by TAE, LpI, one-shot intra-arterial injection, or chemotherapy ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.005$, and $P < 0.005$, respectively). The outcome of the operated pa-

tients was significantly better than that of the patients treated by one-shot intra-arterial injection or chemotherapy ($P < 0.01$ and $P < 0.01$, respectively). There was no significant difference in outcome between the patients treated by PEI and those treated by operation.

The 116 patients were divided into 7 groups according to the year when the HCC was detected. HCC was first

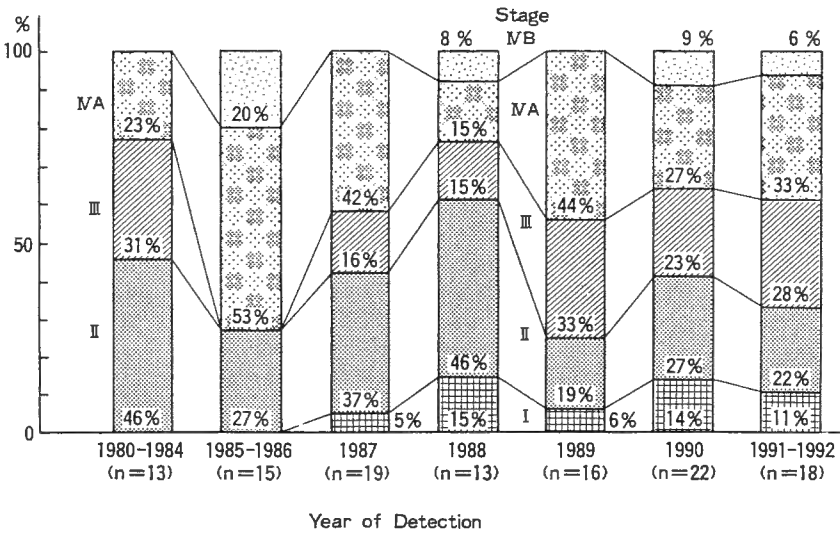


Fig. 4. Stages of the patients according to the year of detection

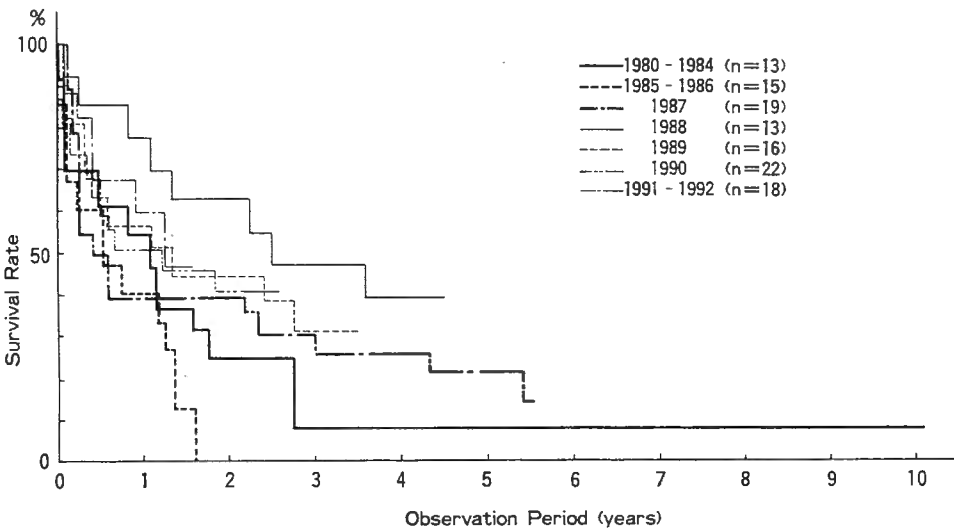


Fig. 5. Cumulative survival rates (Kaplan-Meier method) obtained in patients with HCC according to the year of detection. There was no statistically significant difference among the outcomes of the seven groups except for 1985–1986 vs 1988 ($P < 0.005$)

detected in 13 patients between 1980 and 1984, in 15 patients in 1985 and 1986, in 19 patients in 1987, in 13 patients in 1988, in 16 patients in 1989, in 22 patients in 1990, and in 18 patients in 1991 and 1992. Table 3 compiles the principal treatment procedures performed in the seven groups. Figure 4 shows the data on the stages of the patients. Although HCC cases in stage I represented 5%–15% of the HCC cases detected every year since 1987, cases in stages IV-A and IV-B accounted for 23%–44% of the detected cases. There was no statistically significant difference among the rates of the clinical stages in the seven groups. Figure 5 presents the data on survival rates in those groups. There was no statistically significant difference among the outcomes of the seven groups except for 1985–1986 vs 1988 ($P < 0.005$).

In 19 of the 116 patients, the HCC was detected during clinical follow-up in the outpatient clinic for chronic liver diseases. Clinical follow-up was performed for patients

with liver cirrhosis or chronic hepatitis using ultrasonography and the measurement of tumor markers (alpha-fetoprotein and/or PIVKA-II). The mean interval between ultrasonographic examinations in these patients was 5.4 ± 3.3 months. Figure 6 compiles the data on the stages of the patients: 19 cases of HCC detected during clinical follow-up in the outpatient clinic and 97 cases detected elsewhere. The percentages of patients in stages I and II were 32% and 47%, respectively, in the 19 follow-up patients, whereas these rates were 3% and 27%, respectively, in the other 97 patients ($P < 0.005$). For the 19 patients with HCCs detected during clinical follow-up, the 1-, 2-, 3-, 4-, and 5-year survival rates were 89.5%, 73.7%, 57.3%, 57.3%, and 57.3%, respectively. For the other 97 patients, the 1-, 2-, 3-, 4-, and 5-year survival rates were 45.8%, 28.7%, 17.3%, 15.1%, and 13.0%, respectively. There was a significant difference ($P < 0.001$) between the outcomes of these two groups (Fig. 7).

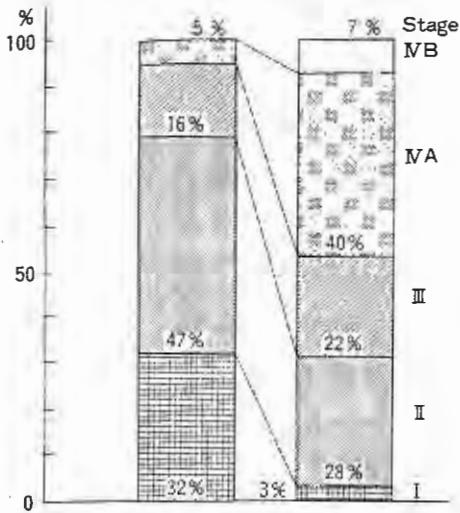


Fig. 6. Stages of the patients with HCC detected in an outpatient clinic for chronic liver diseases. Left column: Detected in outpatient clinic for chronic liver diseases ($n = 19$); right column: Others ($n = 97$)

Discussion

Hepatitis B virus [1, 9, 10, 13] and hepatitis C virus [6, 18, 23, 25] have been recognized to have close relationships with HCC in Japan. HBsAg, HBsAb, and HBcAb were positive in 26.0%, 26.9%, and 69.1% of Japanese HCC patients, respectively [10]. Hepatitis C virus was positive in 46%–94% of HCC cases [6, 18, 23, 25]. Cirrhosis and fibrosis were observed as accompanying changes in the noncancerous portion of the liver at autopsy in 73.8% and 7.9% of HCC cases, respectively. Only 10.1% of HCC cases did not show accompanying changes. According to the Liver Cancer Study Group of Japan [10], the rate of hepatic resection was only 18.1%, mainly because the accompanying liver cirrhosis was often too far advanced to permit surgery. On the other hand, PEI [4, 12, 20], TAE [2, 5, 24], and LpI [14, 15, 22, 26] have been widely accepted as treatment procedures for unresectable HCC.

Ebara et al. [3] reported that the 3-year survival rate of patients with untreated HCCs measuring less than 3 cm in diameter was 12.8%. The 3-year survival rates of the stage I and II patients in our earlier study were high in comparison with the data reported by Ebara et al. [3]. Treatment of HCC in the early stage (especially in stages I and II) is expected to improve the prognosis.

The resectable rate in our hospital was also low (13.8%) due to many cases of severe liver dysfunction caused by liver cirrhosis. Accordingly, we performed PEI, TAE, and LpI in 42.2% of the unresectable cases. In our study, the patients treated by PEI or operation had better outcomes than those treated by other procedures. We surmise that this reflects the high rates of patients with stage I or II disease in this study.

Although the development of ultrasonography has contributed greatly to increasing the number of patients diagnosed in the early stage, advanced cases continue to be detected. There was no statistically significant difference among the rates of the various clinical stages when the patients were stratified according to the year of detection, and this is considered to be the reason why there was no significant difference among the outcomes of the seven groups that were divided according to the year of detection. In contrast, the rate of patients in stage IV-A and IV-B was largest (73%) in 1985–1986 and smallest (23%) in 1988, and this observation is considered to be responsible for the significant difference in outcome noted between patients with HCCs detected in 1985–1986 and those detected in 1988.

One method for improving early detection is mass survey. An ultrasonic mass survey was conducted by the Miyagi Cancer Society to detect hepatic, biliary tract, and pancreatic cancers. In all, 16 cases of HCC were detected among 7,022 examinees: 1 case (6%) in stage I, 10 cases (63%) in stage II, 2 cases (13%) in stage III, and 3 cases (19%) in stage IV-A. The 1-, 2-, 3-, and 4-year survival rates were 83.3%, 72.9%, 60.8%, and 48.6%, respectively [16, 17]. Mass survey by ultrasonography is one method for detecting HCC in the early stage.

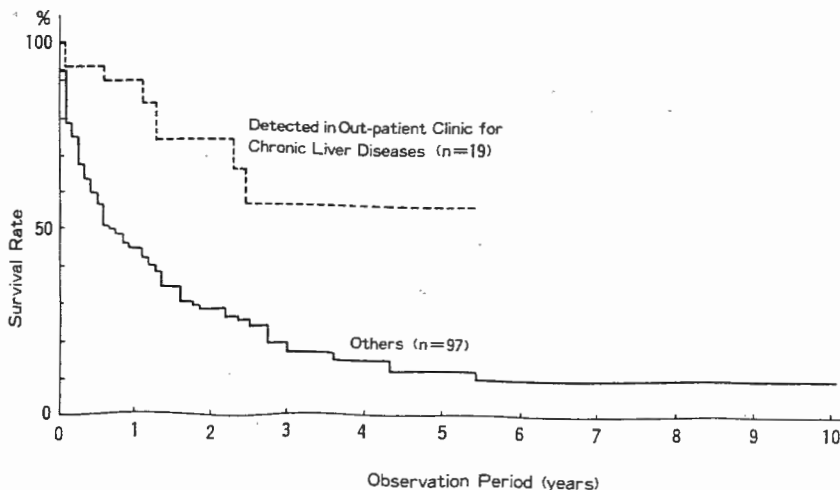


Fig. 7. Cumulative survival rates (Kaplan-Meier method) obtained in patients with HCC detected in an outpatient clinic for chronic liver diseases and others. There was a significant difference ($P < 0.001$) between the outcomes of these two groups

Another method for early detection is clinical follow-up of cases of chronic liver disease [7, 8, 19]. In Japan, patients with chronic liver disease are considered to be at high risk of developing HCC [3]. In our outpatient clinic for chronic liver diseases, ultrasonography is performed at 3- to 4-month intervals for liver cirrhosis patients and at 6- to 7-month intervals for chronic hepatitis patients, and tumor markers are measured at 1- to 3-month intervals. In all, 32% of the HCC cases detected during this clinical follow-up were in stage I. This rate is superior to that obtained in the mass survey described above.

On the basis of our findings, we conclude that PEI for early HCC and hepatic resection in patients with good liver function result in a significantly better chance for survival than to other procedures. Furthermore, for early detection, we strongly recommend strict clinical follow-up of patients with known chronic liver disease.

References

1. Akagi G, Furuya K, Otsuka H (1982) Hepatitis B antigen in the liver in hepatocellular carcinoma in Shikoku, Japan. *Cancer* 49: 678
2. Chuang VC, Wallace S (1981) Hepatic artery embolization in the treatment of hepatic neoplasms. *Radiology* 140: 51
3. Ebara M, Ohto M, Shinagawa T, Sugiura N, Kimura K, Matsutani S, Morita M, Saisho H, Tsuchiya Y, Okuda K (1986) Natural history of minute hepatocellular carcinoma smaller than three centimeters complicating cirrhosis. *Gastroenterology* 90: 289
4. Fujimoto T, Majima Y, Tanaka M (1986) Investigation of percutaneous ultrasonographically guided ethanol injection therapy (PEIT) for treatment of small hepatocellular carcinoma. *Acta Hepatol Jpn* 27: 1559
5. Goldstein HM, Wallace S, Anderson JH, Bree RL, Gianturco C (1976) Transcatheter occlusion of abdominal tumors. *Radiology* 120: 539
6. Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E (1990) Interrelationship of blood transfusion, non-A non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma, analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology* 12: 671
7. Kubo Y, Okuda K, Musha H, Nakashima T (1978) Detection of hepatocellular carcinoma during a clinical follow-up of chronic liver diseases. *Gastroenterology* 74: 578
8. Liaw YF, Tai DI, Chu CM, Lin DY, Sheen IS, Chen TJ, Pao CC (1986) Early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 90: 263
9. Liver Cancer Study Group of Japan (1984) Primary liver cancer in Japan. *Cancer* 54: 1747
10. Liver Cancer Study Group of Japan (1990) Primary liver cancer in Japan. *Ann Surg* 211: 277
11. Liver Cancer Study Group of Japan (1992) The general rules for the clinical and pathological study of primary liver cancer. Kanehara & Co., Tokyo
12. Livraghi T, Festi D, Monti F, Salmi A, Vettori C (1986) US-guided percutaneous alcohol injection of small hepatic and abdominal tumors. *Radiology* 161: 309
13. Obata H, Hayashi N, Motoike Y (1980) A prospective study on the development of hepatocellular carcinoma from liver cirrhosis with persistent hepatitis B virus infection. *Int J Cancer* 25: 741
14. Ohishi H, Uchida H, Yoshimura H, Ohue S, Ueda J, Katsuragi M, Matsuo N, Hosogi Y (1985) Hepatocellular carcinoma detected by iodized oil. *Radiology* 154: 25
15. Onodera H, Oikawa M, Abe M, Chida N, Kimura S, Goto Y (1986) Intraarterial injection of large amount of iodized oil (Lipiodol) for the treatment of unresectable hepatoma. *Jpn J Clin Radiol* 31: 269
16. Onodera H, Chida N, Kimura S, Goto Y, Sugawara N (1988) Malignant neoplasms detected in the mass survey for hepatic, biliary tract and pancreatic diseases. *Jpn J Med Ultrasonics* 15: 45
17. Onodera H, Kanazawa Y, Takeda T, Sugawara N, Fukao A, Chida N (1989) Ultrasonic mass survey for hepatic, biliary tract and pancreatic diseases. *Jpn J Gastroenterol Mass Survey* 85: 40
18. Saito I, Miyamura T, Ohbayashi A, Harada H, Katayama T, Kikuchi S, Watanabe Y, Koi S, Onji M, Ohta Y, Choo QL, Houghton M, Kuo G (1990) Hepatitis C virus infection is associated with the development of hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 6547
19. Sheu JC, Sung JL, Chen DS, Lai MY, Wang TH, Yu JY, Yang PM, Chuang CN, Yang PC, Lee CS, Hsu HC, How SW (1985) Early detection of hepatocellular carcinoma by real-time ultrasonography. *Cancer* 56: 660
20. Shiina S, Yasuda H, Muto H, Tazawa K, Unuma T, Ibukuro K, Inoue Y, Takanashi R (1987) Percutaneous ethanol injection in the treatment of liver neoplasms. *AJR* 149: 949
21. Shinagawa T, Ukaji H, Iino Y (1985) Intratumoral injection of absolute ethanol under ultrasound imaging for treatment of small hepatocellular carcinoma. *Acta Hepatol Jpn* 26: 99
22. Takayasu K, Shima Y, Muramatsu Y, Moriyama N, Yamada T, Makuuchi M, Hasegawa H, Hirohashi S (1987) Hepatocellular carcinoma: treatment with intraarterial iodized oil with and without chemotherapeutic agents. *Radiology* 162: 345
23. Takeda S, Shibata M, Morishima T, Harada A, Nakao A, Takagi H, Nagai Y (1992) Hepatitis C virus infection in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 70: 2255
24. Yamada R, Sato M, Kawabata M, Nakatsuka H, Nakamura K, Takashima S (1983) Hepatic artery embolization in 120 patients with unresectable hepatoma. *Radiology* 148: 397
25. Yano M, Yatsuhashi H, Inoue O, Koga M (1991) Epidemiology of hepatitis C virus in Japan: role in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol [Suppl 1]* I: 31
26. Yumoto Y, Jinno K, Tokuyama K, Araki Y, Ishimitsu T, Maeda H, Konno T, Iwamoto S, Ohnishi K, Okada K (1985) Hepatocellular carcinoma detected by iodized oil. *Radiology* 154: 19

PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF *p53* AND *c-Ki-ras* GENE MUTATIONS AND HUMAN PAPILLOMAVIRUS DNA INTEGRATION IN ADENOCARCINOMA OF THE UTERINE CERVIX AND UTERINE ISTHMUS

Kumiko JIKO^{1,2}, Hitoshi TSUDA¹, Shinji SATO² and Setsuo HIROHASHI^{1,3}

¹Pathology Division, National Cancer Center Research Institute, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104; and ²Department of Obstetrics and Gynecology, Tohoku University School of Medicine, 1-1 Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai 980, Japan.

The pathogenetic significance of *p53* and *c-Ki-ras* gene mutations and genomic integration of human papillomavirus (HPV) DNA was examined in surgically resected specimens of adenocarcinomas of the uterine cervix and isthmus using polymerase chain reaction (PCR), single-strand-conformation polymorphism and Southern blotting analysis. Among 25 cervical adenocarcinomas, *p53* gene mutations between exons 5 and 8 were detected in 32%, and the incidence of these mutations was higher in cases at advanced clinical stages and with high grades of nuclear and structural atypia both in endocervical and in endometrioid types. HPV DNA type 16 or 18 in cervical adenocarcinomas was detected in 35% of cases by PCR and in 29% by Southern blotting, and, in contrast to the *p53* mutations, the majority of cases with the HPV DNA were at a relatively early clinical stage with low-grade histological atypia. *c-Ki-ras* gene mutation was detected in only 4% of cervical adenocarcinomas. Among 8 isthmus adenocarcinomas, the incidence of *p53* and *c-Ki-ras* gene mutations, and the presence and integration of HPV DNA type 16 or 18 were 38%, 50%, 57% and 25% respectively. The pattern of *p53* mutations differed between isthmus and cervical adenocarcinomas: all of the mutations in the former were one-base substitutions of the transition type, whereas in the latter nearly half of the mutations were of the transversion type. Among cervical adenocarcinomas, *p53* mutations between exons 5 and 8 were indicated as being mostly involved in the pathogenesis and development of biologically aggressive tumors, whereas HPV type 16 or 18 infection appeared to be involved in less aggressive cases. In isthmus adenocarcinoma, *c-Ki-ras* gene mutation, apart from *p53* mutation and HPV-type-16 or -18 infection, appeared to be involved frequently in cancer development.

© 1994 Wiley-Liss, Inc.

Although the incidence of adenocarcinoma of the uterine cervix is reported to be low (10 to 30%), cervical carcinoma of this type is a clinically important disease entity because of its poorer prognosis and lower sensitivity to radiotherapy and chemotherapy in comparison with squamous-cell carcinoma (Hopkins and Morley *et al.*, 1991; Tinga *et al.*, 1992). Histologically, the 2 most common sub-types of cervical adenocarcinoma are the endocervical and endometrioid forms, but the degree of histological atypia of the cancer cells varies among cases of both sub-types. The molecular mechanism responsible for the genesis and development of cervical adenocarcinoma is still unclear; but infection with human papillomavirus (HPV), inactivation of tumor-suppressor genes and activation of oncogenes are potentially involved. Positivity for HPV types 16 and 18 DNA is reported to be 15 to 90% in cervical adenocarcinoma (Lorincz *et al.*, 1987; Tase *et al.*, 1988; Wilczynski *et al.*, 1988; Hørding *et al.*, 1992). Mutation of the *p53* tumor-suppressor gene has been shown to be frequent in human cancers of various types (Nigro *et al.*, 1989), whereas it is infrequent in uterine cervical cancer (Crook *et al.*, 1992; Tsuda and Hirohashi, 1992). In the development of cervical cancers, instead of *p53* gene mutation, the E6 oncoprotein encoded by HPV DNA may act to cause degradation of *p53* protein, resulting in derangement of its function (Scheffner *et al.*, 1990). However, previous studies have focused mainly on squamous-cell carcinoma. In adenocarcinoma of the uterine cervix, previous data have suggested that *p53* mutation is infrequent (Crook *et al.*, 1992), although the number of cases

examined has been limited. In order to clarify further the pathogenetic significance of *p53* gene mutation in cervical adenocarcinoma, a larger number of cases should be examined. On the other hand, the incidence of *c-Ki-ras* gene mutation is known to be low, and this mutation does not appear to be critically involved in the development of cervical adenocarcinoma (Koulos *et al.*, 1993).

Adenocarcinomas occurring at the uterine isthmus usually show endophytic growth and are mostly of the endometrioid histological type. We have suggested that HPV infection was involved in the development both of isthmus adenocarcinoma and of cervical cancer (Tsuda and Hirohashi, 1992). Because endometrial adenocarcinoma carries the *c-Ki-ras* mutation at relatively high incidence (Enomoto *et al.*, 1990, 1991), the histological similarity between endometrial and isthmus carcinoma suggests relatively frequent involvement of mutation of the *c-Ki-ras* gene in the development of the latter.

In the present study, in order to reveal the genetic mechanism of development of cervical adenocarcinoma, we examined the incidence and clinicopathological association of the positivity and genomic integration of HPV DNA, mutations of the *p53* gene and *ras* genes in surgically resected cases of cervical adenocarcinoma. In addition, the incidence and pattern of these genetic events were compared among adenocarcinomas of the cervix and of the isthmus, to reveal differences in the molecular mechanism of pathogenesis between them.

MATERIAL AND METHODS

Cases and histological observation

From patients who underwent surgical treatment for adenocarcinoma of the uterus at the National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan, between 1987 and 1992, we were able to obtain 33 fresh paired samples of cancer and non-cancerous tissue: 25 adenocarcinomas of the uterine cervix and 8 adenocarcinomas of the uterine isthmus. The 8 cases of isthmus adenocarcinoma were defined as such because the tumor center was located on the isthmus and the extent of primary cancer spread was relatively limited around the isthmus. Staging for the cervical adenocarcinomas was according to the system for cervical cancer, whereas that for the isthmus adenocarcinomas was according to the system for cancer of the uterine corpus (systems of the International Federation of Gynecology and Obstetrics; Creasman, 1989).

Histological sub-type, and degrees of structural and nuclear atypia were determined by the criteria of Kurman *et al.* (1992). Clinical and pathological profiles of the 33 cases examined are presented in Tables I and II.

In 9 of 25 cervical adenocarcinomas (cases AC-1, 9–16) and 3 of 8 isthmus adenocarcinomas (cases AI-1, 2 and 4), mutation of the *p53* gene and integration of HPV 16 and 18

³To whom correspondence and reprint requests should be addressed.

Received: May 24, 1994 and in revised form August 8, 1994.

TABLE I—CLINICAL AND PATHOLOGICAL PROFILES AND GENE ALTERATIONS IN ADENOCARCINOMAS OF THE CERVIX

Case number	Patient age	Histology/ Nuclear atypia/ Structural atypia ¹	Stage	LN meta	p53 mutation		HPV type ² (integration/ PCR)	c-Ki-ras mutation	
					codon (exon)	base change (amino acid)		codon (exon)	base change (amino acid)
AC-1	51	EC/3/md	IV	+	161(5)	GCC → GAC (Ala → Asp)	-/-	—	
AC-2	41	EC/2/wd	II	+	163(5)	TAC → TGC (Tyr → Cys)	-/-	—	
AC-3	65	EC/2/pd	II	+	219(6)	CCC → CC deletion	-/-	—	
AC-4	66	EC/2/md	IV	+	151(5)	CCC → TCC (Pro → Ser)	-/-	—	
AC-5	40	EC/2/md	III	+	280(8)	AGA → ACA (Arg → Thr)	-/-	—	
AC-6	73	EM/3/pd	IV	+	241(7)	TCC → TAC (Ser → Tyr)	-/-	—	
					285(8)	GAG → AAG (Glu → Lys)			
AC-7	52	EC/2/md	IV	+	282(8)	CGG → TGG (Arg → Trp)	-/NE	—	
AC-8	69	EM/3/pd	III	-	241(7)	TCC → TAC (Ser → Tyr)	-/+	—	
AC-9	58	EM/2/md	II	+	—	—	16/16	12(1)	GGT→GAT (Gly→Asp)
AC-10	30	EM/2/wd	I	-	—	—	16,18/16,18	—	
AC-11	51	EC/3/wd	I	-	—	—	-/-	—	
AC-12	45	EC/2/md	I	+	—	—	-/18	—	
AC-13	38	EM/1/wd	I	-	—	—	-/-	—	
AC-14	61	EM/1/wd	I	-	—	—	18/18	—	
AC-15	49	EC/2/wd	II	+	—	—	-/-	—	
AC-16	43	EC/1/wd	I	-	—	—	18/18	—	
AC-17	74	EM/2/md	I	+	—	—	NE/-	—	
AC-18	43	EC/1/md	I	-	—	—	-/-	—	
AC-19	61	EC/3/pd	II	+	—	—	-/58	—	
AC-20	47	EM/1/wd	I	-	—	—	16,18/16,18	—	
AC-21	64	EC/3/pd	I	-	—	—	18/18	—	
AC-22	62	EM/3/pd	II	-	—	—	-/-	—	
AC-23	29	EM/1/wd	I	-	—	—	16,18/16,18	—	
AC-24	48	EC/1/wd	I	+	—	—	-/+	—	
AC-25	52	EM/2/md	II	+	—	—	-/NE	—	

EC, endocervical type; EM, endometrioid type; LN meta, lymph-node metastasis; NE, not examined.—¹wd, well-differentiated; md, moderately differentiated; pd, poorly differentiated.—²+, band detected but type unidentified.

were already examined (Tsuda and Hirohashi, 1992). Cases AC-1, AI-1 and AI-2 revealed p53 mutation (Tables I, II).

DNA isolation and PCR-SSCP direct-sequencing analysis

High-molecular-weight DNA was prepared by digestion with proteinase K (Sigma, St. Louis, MO) and phenol/chloroform extraction from the 33 paired samples of tumor and non-tumorous myometrial tissue (Sambrook *et al.*, 1989). To screen for mutations of p53 between exons 4 and 9, and of the c-Ki-ras and N-ras genes in exons 1 and 2, we performed PCR (polymerase-chain-reaction)-SSCP(single-strand conformation polymorphism) analysis, as described by Orita *et al.* (1989). Genomic DNA (100 ng) was amplified by PCR using specific pairs of primers synthesized by an Applied Biosystems 380A Synthesizer (Applied Biosystems, Foster, CA). Primers used for PCR were: P4L, TTTTCACCCATCTACAGTCC and P4R, CTCAGGGCAACTGACCGTGC for exon 4; P5L, TTCCTCTTCCTGCAGTACTCC and P5R, GCCCAGCT-GCTCACCATCG for exon 5; P6L, CGATGGTGAGCAGC-TGGGGC and P6R, AGTTGCAAACAGACCTCA for exon 6; P7L, TCCTAGGTTGGCTCT and P7R, AAGTGGCTCCT-GACCTGGA for exon 7; P8L, CCTATCCTGAGTAGTGG-TAA and P8R, CCTGCTTGCTTACCTCGCT for exon 8; and P9L, TTGCCTCTTTCCTAGCA and P9R, CCCAAGACT-TAGTACCTG for exon 9 of the p53 gene; K1L, GGCCTGCT-GAAAATGACTGA and K1R, GTCCTGCACAGTAAT-ATGC for exon 1; and K2L, TTCCTACAGGAAGCAAGTAG

and K2R, CACAAAGAAAGCCCTCCCCA for exon 2 of the c-Ki-ras gene; N1L, GACTGAGTACAAACTGGTGG and N1R, GGGCCTCACCTCTATGGTG for exon 1; and N2L, GGTGAAACCTGTTTGTGGA and N2R, ATACACAG-AGGAAGCCTTCG for exon 2 of the N-ras gene; and L1L, CGTAAACGTTTCCCTATTTTTT and L1R, TACCCT-AAATACTCTGTATTG for conserved region in the L1 open reading frame of HPV DNA. The DNA fragment bands showing mobility shifts by SSCP analysis were eluted from the gel and amplified again by symmetric PCR using phosphorylated primers (Higuchi and Ochman, 1989). The PCR products were treated with λ-exonuclease (GIBCO BRL, Grand Island, NY) to obtain single-strand DNA, and subjected to sequencing by the dideoxy-termination method (Sanger *et al.*, 1977) using a Sequenase Kit Version 2.0 (USB, Cleveland, OH).

Detection of HPV DNA by Southern-blot analysis and PCR

To examine genomic integration of HPV DNA in tumor cells, 10 μg of DNA was digested with BamHI (Takara, Kyoto, Japan), fractionated by electrophoresis in 0.8% agarose gel, transferred to a nitrocellulose filter, hybridized with [α-³²P]dCTP-labeled DNA probes, washed and autoradio-graphed as described by Sambrook *et al.* (1989). The DNA probes used were fragments homologous with HPV 16 DNA (7.9-kb EcoRI fragment) (Durst *et al.*, 1983) and HPV-18

TABLE II - CLINICAL AND PATHOLOGICAL PROFILES AND GENE ALTERATIONS IN ADENOCARCINOMAS OF THE UTERINE ISTHMUS

Case number	Patient age	Histology/ Nuclear atypia/ Structural atypia ¹	Stage	LN meta	p53 mutation		HPV type (integration/PCR)	c-Ki-ras mutation	
					codon (exon)	base change (amino acid)		codon (exon)	base change (amino acid)
AI-1	39	EM/2/md	III	-	234(7)	TAC → TGC (Tyr → Cys)	-/-	12(1) 62(2)	GGT → GAT (Gly → Asp) GAG → GAT (Glu → Asp)
AI-2	68	EM/2/pd	II	-	241(7)	TCC → TTC (Ser → Phe)	-/18		
AI-3	53	clear/3/pd	II	-	93(4) 202(6)	CTG → TTG (Leu → Leu) CGT → TGT (Arg → Cys)	-/-	12(1)	GGT → TGT (Gly → Cys)
AI-4	39	EM/2/wd	III	+		—	16,18/16,18	12(1)	GGT → TGT (Gly → Cys)
AI-5	56	EM/2/wd	III	+		—	16/16	12(1)	GGT → GAT (Gly → Asp)
AI-6	50	EM/1/md	II	-		—	-/-		—
AI-7	66	EM/1/wd	II	-		—	-/NE		—
AI-8	52	EM/2/wd	II	-		—	-/16,18		—

EC, endocervical type; EM, endometrioid type; LN meta, lymph-node metastasis; NE, not examined.—¹See footnote 1, Table I.

DNA (7.9-kb BamHI fragment) (Boshart *et al.*, 1984). By BamHI digestion alone, we could detect at least one bands which differed in size from those of free entire HPV DNA. Therefore, we judged the bands not as free episomal DNA but as the integrated one.

In parallel, the presence of HPV DNA was examined in the genomic DNA of each tumor by the PCR method using a set of primers encompassing a conserved region in the L1 open reading frame (Yoshikawa *et al.*, 1991), which can detect 7 HPV DNA types (types 6b, 11, 16, 18, 33, 52b, and 58). The DNA fragments amplified by PCR were electrophoresed in 3% agarose, stained with ethidium bromide and visualized by ultraviolet irradiation.

RESULTS

p53 mutations in adenocarcinomas of the uterine cervix and isthmus

Among 25 adenocarcinomas of the uterine cervix, p53 mutations were detected in 8 (32%) between exons 5 and 8. One case (AC-6) carried 2 point mutations. Out of 9 point mutations, 8 were one-base substitutions of the mis-sense type and 1 was a one-base deletion (Table I). Of the 8 mis-sense point mutations, 4 were of the transversion type: G:C to T:A in 3, and G:C to C:G in 1; the other 4 were of the transition type: G:C to A:T in 3 and A:T to G:C in 1. No mutations occurred at CpG sites. Figure 1 shows 4 of the cases with p53 mutations.

In adenocarcinomas of the uterine cervix, p53 mutations were detected mostly in cases at the advanced stage (Table III); the incidence of the mutations was 100% (6/6) at stages III/IV, whereas it was 11% (2/19) at stages I/II, and 50% (7/14) in those with lymph-node metastases, only 9% (1/11) in those without metastases. The histological grade of atypia of cancer cells was also associated with p53-mutation: the mutation was detected in 6 (43%) out of 14 endocervical-type and 2 (11%) out of 11 endometrioid-type cancers. Despite the difference in histological type, the mutation was more frequent in cases of moderate- to high-grade structural atypia (7/15, 47%) and moderate- to high-grade nuclear atypia (8/18, 44%) than in those of low-grade structural atypia (1/10, 10%) and low-grade nuclear atypia (0/7). Even among cases of the endocervical type, p53 mutation was detected in only 1 out of 5 with low structural atypia, and in none of three with low nuclear atypia. One case of the endocervical type with the lowest grade of atypia (AC-24), i.e., diagnosed as "adenoma malignum", did not reveal the mutation.

Among adenocarcinomas of the uterine isthmus, mutation of the p53 gene was detected in 3 (38%), between exons 4 and 7 (Table II). Histologically, 7 cases of isthmus adenocarcinoma were of the endometrioid type, 2 of which revealed p53 mutation, while the other (case AI-3), a clear-cell adenocarcinoma, carried 2 mutations. All 4 mutations detected were one-base substitutions of the transition type, G:C to A:T in 3 and A:T to G:C in one. No mutation of the transversion type was seen. Although there was no apparent association between mutation and stage or lymph-node metastasis, all 3 isthmus adenocarcinomas with p53 mutations revealed moderate- to high-grade nuclear and structural atypia (Table II).

ras gene mutations in adenocarcinomas of the uterine cervix and isthmus

In cervical adenocarcinoma, mutation of c-Ki-ras was detected in only one case (AC-9) (4%) of the endometrioid sub-type at stage II. Among isthmus adenocarcinomas, c-Ki-ras mutation was detected in 4 (50%) (Fig. 2). One case (AI-1) revealed 2 mutations, at codons 12 and 62. Taking cervical and isthmus adenocarcinomas together, the c-Ki-ras mutation was detected only in the endometrioid and the clear-cell types. No mutation was detected in the endocervical type. In 2 cases of isthmus adenocarcinoma (AI-1 and AI-3), both the p53 and the c-Ki-ras genes were found to be mutated (Fig. 2). The c-Ki-ras mutation did not tend to associate with clinical and pathological parameters except for histological sub-type. No mutation of N-ras in exon 1 or 2 was detected in the cases examined.

Presence of HPV genome in adenocarcinomas of the uterine cervix and isthmus

Genomic integration of HPV type 16 or 18 DNA was detected in 7 out of 24 (29%) adenocarcinomas of the uterine cervix by Southern-blot analysis. None of the 7 cases with HPV integration carried p53 mutations, whereas 7 (41%) out of 17 cases without HPV integration carried the mutation. The type of HPV DNA was 16 in 1 case, 18 in 3, and undetermined in 3 in which identical signal bands were detected by hybridization both with 16 and with 18 DNA. All cases showing HPV DNA integration were at stage I or II. Furthermore, contrary to p53 mutation, 5 cases showing integration were of the endometrioid type and, histologically, half or more of the cases with

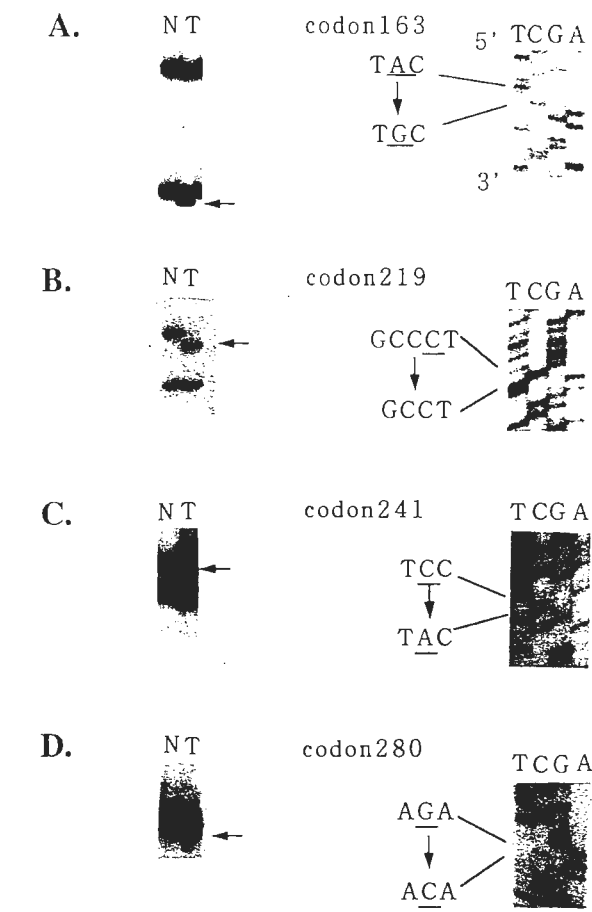


FIGURE 1 – Mutations of the *p53* gene in cervical adenocarcinomas: (a) case AC-2; (b) case AC-3; (c) case AC-6; (d) case AC-5. Left, PCR-SSCP; N, non-tumorous DNA; T, tumor DNA. Right, direct sequencing; T, thymine; C, cytosine; G, guanine; A, adenine. Clinicopathological profiles and amino-acid substitution of *p53* protein are shown in Tables I and II.

integration had low-grade structural and nuclear atypia (Tables I, III).

In several cases, the band of HPV DNA was detected near the size of the full sequence of HPV type 16 or 18. However, at the same time, these cases carried the other band(s) which was discretely larger or smaller in size than that suggesting the presence of episomal viral DNA with almost the same intensity. Therefore, the bands in these cases were judged to have been derived from integrated HPV DNA. There were no cases which showed only a single band suggesting the presence of free viral DNA without the integration.

By PCR analysis, HPV DNA was detected in 11 cases (48%), and HPV DNA type 16 or 18 was detected in 8 (35%) out of 23 cervical adenocarcinomas. The HPV DNA was detected by PCR in only 1 (13%) out of 8 *p53*-mutation-positive cases, whereas it was detected in 9 (60%) out of 15 cases without *p53* mutation. The cases in which the HPV genome was detected by PCR revealed the same tendency to associate with clinical and pathological parameters as the cases shown to have integration of HPV DNA. Among isthmus adenocarcinomas, genomic integration of HPV DNA type 16 or 18 by Southern blotting and presence of the HPV DNA by PCR were detected in 2 (25%) and 4 (50%) cases respectively.

DISCUSSION

In the present study, we showed that the incidence of mutations of the *p53* gene between exons 5 and 8 in cervical adenocarcinomas is much higher than that in cervical squamous-cell carcinomas, which has been reported to be $\leq 13\%$ (Crook *et al.*, 1992; Tsuda and Hirohashi, 1992), and is almost the same as those for adenocarcinomas occurring in other organs, such as the lung, breast, stomach and colorectum (Nigro *et al.*, 1989). As shown for urinary bladder, liver, and lung cancers (Fujimoto *et al.*, 1992; Oda *et al.*, 1992; Horio *et al.*, 1993), *p53* gene mutations between exons 5 and 8 were thought to be associated with aggressive biological behavior of cancer cells, since the mutations were detected mostly in cervical adenocarcinomas at an advanced clinical stage, with metastasis and/or higher structural and nuclear atypia of cancer cells, irrespective of differences in histological sub-type. Case AC-24, an

TABLE III – INCIDENCE OF *p53* AND *c-Ki-ras* MUTATIONS AND POSITIVITY AND INTEGRATION OF HPV DNA IN ADENOCARCINOMAS OF THE UTERINE CERVIX, AND THEIR ASSOCIATION WITH CLINICOPATHOLOGICAL PARAMETERS

Clinicopathological parameters	Total	Number of cases (%)			
		<i>p53</i> mutation	<i>c-Ki-ras</i> mutation	HPV ¹	
				Southern blot	PCR
Clinical stage					
I	12	0 (0)	0 (0)	6 (55)	8 (67)
II	7	2 (29)	1 (14)	1 (14)	2 (33)
III	2	2 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (50)
IV	4	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Lymph-node metastasis					
Negative	11	1 (9)	0 (0)	6 (55)	7 (64)
Positive	14	7 (50)	1 (7)	1 (8)	4 (33)
Structural atypia ⁴					
wd	10	1 (10)	0 (0)	5 (50)	6 (60)
md	9	4 (44)	1 (11)	1 (13)	2 (29)
pd	6	3 (50)	0 (0)	1 (17)	3 (50)
Nuclear atypia					
I	7	0 (0)	0 (0)	4 (57)	5 (71)
II	11	5 (45)	1 (9)	2 (20)	3 (33)
III	7	3 (43)	0 (0)	1 (14)	3 (43)
Histological type					
Endocervical	14	6 (43)	0 (0)	2 (14)	5 (38)
Endometrioid	11	2 (18)	1 (9)	5 (50)	5 (50)
Total	25	8 (32)	1 (4)	7 (29)	11 (48)

¹Southern blot and PCR were performed in 24 and 23 cases respectively. ² $p < 0.001$ by Fisher's exact test. ³ $p < 0.05$ by Fisher's exact test. ⁴See footnote ¹, Table I.

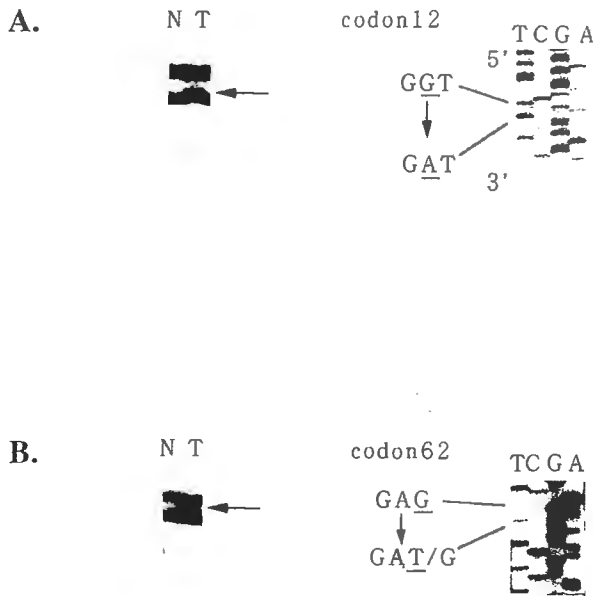


FIGURE 2 – Two mutations of the c-Ki-ras gene detected in a case of isthmus adenocarcinoma (case AI-1). Left, PCR-SSCP; N, non-tumorous DNA; T, tumor DNA. Right, direct sequencing; T, thymine; C, cytosine; G, guanine; A, adenine. (a) Mutation at codon 12; (b) point mutation at codon 62. Type of amino-acid substitution is shown in Table II.

extremely well-differentiated endocervical adenocarcinoma ("adenoma malignum"), but with metastasis, did not reveal the mutation. Therefore, mutation of *p53* might be associated directly with the grade of cancer-cell atypia rather than with the extent of tumor spread.

Crook *et al.* (1992) showed that there was an inverse association between HPV infection and *p53* mutation in cervical cancers. Such an association was confirmed, not only in squamous-cell carcinoma but also in adenocarcinoma of the uterine cervix. In the present study, HPV infection and/or HPV-DNA-type-16 or -18 integration was detected in less than half of all cervical adenocarcinomas. HPV DNA type 16 or 18 was detected more frequently in cases at earlier clinical stages, and with lower structural and nuclear atypia.

From our results, at least 2 different molecular mechanisms appear to exist in the pathogenesis of cervical adenocarcinoma. The *p53*-mutation-associated pathway would be involved in the development of the aggressive sub-group of cervical adenocarcinomas, including cases with poorer differentiation and rapid proliferative activity. Riou *et al.* (1990) have reported that absence of HPV DNA is an indicator of poor differentiation of cervical cancers. Among cervical adenocarcinomas, *p53* mutations between exons 5 and 8 and the absence of HPV DNA type 16 or 18 were also suggested to be indicators of poorer patient prognosis. The other pathway was considered to be mediated by HPV, mainly integration of HPV DNA type 16 or 18, and also potentially by degradation of *p53*

protein by E6 protein, through which less aggressive cervical adenocarcinomas are considered to occur. In addition, as shown for some ovarian cancers, accumulation of wild-type *p53* protein can occur through abnormal regulation of gene expression.

An exogenous pathogenetic mechanism is suggested in cervical cancers, *e.g.*, infection with HPV or herpes simplex virus. It has been shown that specific patterns of *p53* mutation in cancers such as those of the esophagus and lung occur in association with exposure to exogenous pathogens, *e.g.*, tobacco smoke, and hepatocellular carcinoma, usually associated with persistent hepatitis-B-virus and/or hepatitis-C-virus infection and/or aflatoxin-B1 intake (Hollstein *et al.*, 1991). In these cancers, the type of *p53* mutation is frequently a base substitution of transversion, especially substitution of G:C with T:A (Hollstein *et al.*, 1991). In adenocarcinoma of the uterine cervix, nearly half of all *p53* mutations were of the transversion type. Therefore, whether or not their pathogenesis is associated with HPV infection, exogenous factors, such as persistent irritation of the cervical glandular cells by chronic cervicitis, are highly likely to be involved.

Koulos *et al.* (1993) reported that mutation of the c-Ki-ras gene occurred in 12.5% of all invasive cervical adenocarcinomas of the endocervical type. Our examination using PCR-SSCP detected the c-Ki-ras mutation in only one case of cervical adenocarcinoma of the endometrioid type. *ras* gene activation was therefore confirmed to be an infrequent event in cervical adenocarcinoma.

Histologically, all except one of the cases of adenocarcinoma of the uterine isthmus were of the endometrioid type. In isthmus adenocarcinoma, the incidence of c-Ki-ras gene mutation appeared to be as high as, or much higher than, that in endometrial adenocarcinoma (Enomoto *et al.*, 1990, 1991). In addition, the *p53* mutation pattern in isthmus adenocarcinoma was always point mutation of the transitional type, which is also the same as in endometrial adenocarcinoma (Tsuda and Hirohashi, 1992). On the other hand, the incidence of integration and the presence of HPV DNA type 16 or 18 in isthmus adenocarcinoma was also as high as that in cervical adenocarcinoma. The pathogenetic mechanisms of isthmus adenocarcinoma thus appear to resemble those of cervical adenocarcinoma in relation to HPV infection and those of endometrial adenocarcinoma with regard to the pattern of *p53* mutation and the incidence of c-Ki-ras mutation. We have shown that mutations of the *p53* gene are frequently involved in the development of adenocarcinomas of the uterine cervix and the isthmus.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Drs. T. Sonoda, K. Ohmi, R. Tsunematsu, K. Tanemura, T. Yamada and M. Yajima, National Cancer Center Hospital, for providing the surgically resected tissue specimens. DNA probes were provided by Dr. H. zur Hausen (Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg, Germany). This study was supported in part by grants-in-aid for Cancer Research and the Comprehensive 10-Year Strategy for Cancer Control from the Ministry of Health and Welfare, and from the Foundation for Promotion of Cancer Research, Japan.

REFERENCES

- BOSHART, M., GISSMANN, L., IKENBERG, H., KLEINHEIZ, A., SCHEURLEN, W. and ZUR HAUSEN, H., A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital-cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *EMBO J.*, **3**, 1151–1157 (1984).
- CREASMAN, W. T., Announcement, FIGO stages: 1988 revisions. *Gynecol. Oncol.*, **35**, 125–127 (1989).
- CROOK, T., WREDE, D., TIDY, J.A., MASON, W.P., EVANS, D.J. and VOUSDEN, K.H., Clonal *p53* mutation in primary cervical cancer: association with human-papillomavirus-negative tumors. *Lancet*, **339**, 1070–1073 (1992).
- DURST, M., GISSMANN, L., IKENBERG, H. and ZUR HAUSEN, H., A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, **80**, 3812–3815 (1983).
- ENOMOTO, T., INOUE, M., PERANTONI, A.O., BUZARD, G.S., MIKI, H., TANIZAWA, O. and RICE, J.M., K-ras activation in pre-malignant and

- malignant epithelial lesions of the human uterus. *Cancer Res.*, **51**, 5308-5314 (1991).
- ENOMOTO, T., INOUE, M., PERANTONI, A. O., TERAKAWA, N., TANIZAWA, O. and RICE, J.M., *K-ras* activation in neoplasms of the human female reproductive tract. *Cancer Res.*, **50**, 6139-6145 (1990).
- FUJIMOTO, K., YAMADA, Y., OKAJIMA, E., KAKIZOE, T., SASAKI, H., SUGIMURA, T. and TERADA, M., Frequent association of *p53* gene mutation in invasive bladder cancer. *Cancer Res.*, **52**, 1393-1398 (1992).
- HIGUCHI, R. G. and OCHMAN, H., Production of single-stranded DNA templates by exonuclease digestion following the polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Res.*, **17**, 5865 (1989).
- HOLLSTEIN, M., SIDRANSKY, D., VOGELSTEIN, B. and HARRIS, C.C., *p53* mutations in human cancers. *Science (Wash.)*, **253**, 49-53 (1991).
- HOPKINS, M.P. and MORLEY, G. W., A comparison of adenocarcinoma and squamous-cell carcinoma of the cervix. *Obstet. Gynecol.*, **77**, 912-917 (1991).
- HØRDLING, U., TEGLBJAERG, C.S., VISFELDT, J. and BOCK, J.E., Human papillomavirus types 16 and 18 in adenocarcinoma of the uterine cervix. *Gynecol. Oncol.*, **46**, 313-316 (1992).
- HORIO, Y., TAKAHASHI, T., KUROISHI, T., HIBI, K., SUYAMA, M., NIIMI, T., SHIMOKATA, K., YAMAKAWA, K., NAKAMURA, Y., UEDA, R. and TAKAHASHI, T., Prognostic significance of *p53* mutations and 3p deletions in primary resected non-small-cell lung cancer. *Cancer Res.*, **53**, 1-4 (1993).
- KOULOS, J.P., WRIGHT, T.C., MITCHELL, M.F., SILVA, E., ATKINSON, E.N. and RICHART, R.M., Relationships between c-Ki-ras mutations, HPV types, and prognostic indicators in invasive endocervical adenocarcinomas. *Gynecol. Oncol.*, **48**, 364-369 (1993).
- KURMAN, R.J., NORRIS, H.J. and WILKINSON, E.J., *Tumors of the cervix, vagina and vulva*, Atlas of Tumor Pathology. Third series, Fascicle 4, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC (1992).
- LORINCZ, A.T., TEMPLE, G.F., KURMAN, R.J., JENSON, A.B. and LANCASTER, W.D., Oncogenic association of specific human papillomavirus types with cervical neoplasia. *J. nat. Cancer Inst.*, **79**, 671-677 (1987).
- NIGRO, J., BAKER, S.J., PREISINGER, A.C., JESSUP, J.M., HOSTTETER, R., CLEARY, K., BIGNER, S.H., DAVIDSON, N., BAYLIN, S., DEVILEE, P., GLOVER, T., COLLINS, F., WESTON, A., MODALI, R., HARRIS, C. and VOGELSTEIN, B., Mutations in the *p53* gene occur in diverse human tumour types. *Nature (Lond.)*, **342**, 705-708 (1989).
- ODA, T., TSUDA, H., SCARPA, A., SAKAMOTO, M. and HIROHASHI, S., *p53* mutation spectrum in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.*, **52**, 6358-6364 (1992).
- ORITA, M., SUZUKI, Y., SEKIYA, T. and HAYASHI, K., Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. *Genomics*, **5**, 874-879 (1989).
- RIOU, G., FAVRE, M., JEANNEL, D., BOURHIS, J., LE DOUSSAL, V. and ORTH, G., Association between poor prognosis in early-stage invasive cervical carcinomas and non-detection of HPV DNA. *Lancet*, **335**, 1171-1174 (1990).
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E.F. and MANIATIS, T., Molecular cloning. A laboratory manual, 2nd. ed. pp. 9.14-9.17, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1989).
- SANGER, F., NICKLEN, S. and COULSON, A.R., DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, **74**, 5463-5467 (1977).
- SCHEFFNER, M., WERNES, B.A., HUIBREGTSE, J.M., LEVINE, A.J. and HOWLEY, P.M., The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degeneration of *p53*. *Cell*, **63**, 1129-1136 (1990).
- TASE, T., OKAGAKI, T., CLARK, B.A., MANIAS, D.A., OSTROW, R.S., TWIGGS, L.B. and FARAS, A.J., Human papillomavirus types and localization in adenocarcinoma and adenosquamous carcinoma of the uterine cervix: a study by *in situ* DNA hybridization. *Cancer Res.*, **48**, 993-998 (1988).
- TINGA, D.J., BOUMA, J. and AALDERS, J.G., Patients with squamous-cell versus adeno(squamous) carcinoma of the cervix; what factors determine the prognosis. *Int. J. gynecol. Cancer*, **2**, 83-91 (1992).
- TSUDA, H. and HIROHASHI, S., Frequent occurrence of *p53* gene mutations in uterine cancers at advanced clinical stage and with aggressive histological phenotypes. *Jap. J. Cancer Res.*, **83**, 1184-1191 (1992).
- WILCZYNSKI, S.P., BERGEN, S., WALKER, J., LIAO, S.-Y. and PEARLMAN, L.F., Human papillomaviruses and cervical cancer: analysis of histopathologic features associated with different viral types. *Hum. Pathol.*, **19**, 697-704 (1988).
- YOSHIKAWA, H., KAWANA, T., KITAGAWA, K., MIZUNO, M., YOSHIKURA, H., and IWAMOTO, A., Detection and typing of multiple genital human papillomaviruses by DNA amplification with consensus primers. *Jap. J. Cancer Res.*, **82**, 524-531 (1991).

Pictorial Essay

Extent and Location of Cerebral Infarcts on Multiplanar MR Images: Correlation with Distribution of Perforating Arteries on Cerebral Angiograms and on Cadaveric Microangiograms

Shoki Takahashi,¹ Mikio Suzuki,² Ko Matsumoto,¹ Kiyoshi Ishii,¹ Shuichi Higano,¹ Hitoshi Fukasawa,³ and Kiyohiko Sakamoto¹

The basal gray matter in the cerebrum is supplied by different anatomical groups of perforating arteries, including striate, thalamic, and choroidal arteries. In this pictorial essay we illustrate multiplanar MR imaging of infarctions in those regions and correlate their appearances with cerebral angiographic findings of the same patients when available. We also correlate the extent and location of infarctions on multiplanar MR images with the anatomical distributions of perforating arteries seen on microangiograms of unrelated cadavers. Information conveyed from this correlation will increase understanding of patterns of basal cerebral infarction shown on cross-sectional imaging.

Technique

Patients with discrete infarctions in the basal gray matter who had at least two-plane MR images of the brain were selected from more than 9209 patients who had MR examinations of the brain between September 1988 and December 1992. Cerebral infarcts not smaller than 1 cm in maximal diameter were included; 77 infarcts from 71 patients met these criteria. Axial images were obtained from all patients and were used to determine the precise locations of individual infarcts. MR images were obtained with 1.5-T (Magnetom H15, Siemens) and 0.5-T (Resona, Yokogawa) MR imaging units in 23 and 48 patients, respectively. In general, pulse sequences were T1-, proton-density, or T2-weighted.

We assessed the precise location and extent of each infarct as depicted on coronal and sagittal MR images to establish whether these findings would correspond to the distribution of the vessels in the coronal and sagittal planes, as determined from multiplanar microangiograms of unrelated cadavers [3, 4]. We obtained microangiograms by slowly perfusing 62 brains during autopsy with a 10% dilute solution of barium sulfate (Micropaque, Nihon Shoji, Osaka, Japan), usually through a vertebral artery, whereas the other vertebral artery and the two carotid arteries were tied off. After sufficient fixation in a 10% saline formaldehyde solution (Formol), we sectioned the brains horizontally, coronally, or sagittally (usually into sections 1 cm thick) and radiographed them.

We also correlated the extent of the infarct on the MR images with the findings on cerebral angiograms obtained in the acute or subacute stage in 46 of the 71 patients, with special attention given to the relation between the site of obstruction and the origin of the perforating arteries.

Imaging Findings

Among various anatomical groups of perforating arteries, the striate arterial group consists of the medial striate arteries, which arise from the horizontal portion of the anterior cerebral artery and the recurrent artery of Heubner, and the lateral stri-

Received March 14, 1994; accepted after revision June 20, 1994.

¹Department of Radiology, Tohoku University School of Medicine, 1-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai, 980, Japan. Address correspondence to S. Takahashi.

²Division of Neurosurgery, Higashi Neurosurgical Hospital, Sendai, Japan.

³Division of Pathology, Research Institute of Brain and Blood Vessels, Akita, Japan.

AJR 1994;163:1215-1222 0361-803X/94/1635-1215 © American Roentgen Ray Society

ate arteries, which arise from the middle cerebral artery. The thalamic arterial group from the posterior circulation and perforators of the anterior choroidal artery also supply the basal gray matter (Figs. 1 and 2) [1–4]. The precise location and extent of infarcts seen on coronal and sagittal MR images conformed well to the distribution of each group of arteries, as determined from coronal and sagittal microangiograms.

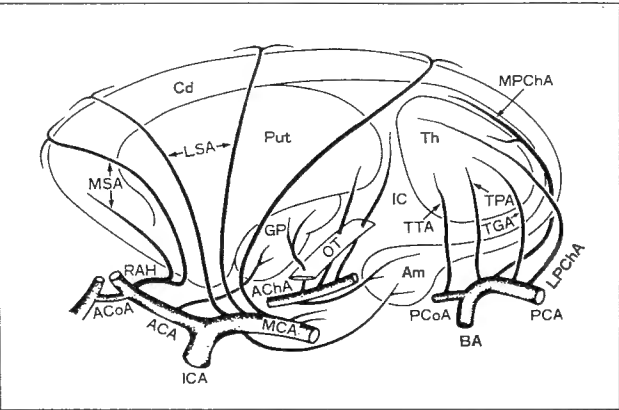


Fig. 1.—Diagram shows various basal perforating arteries in relation to structures of basal gray matter (adapted from Aitken [2]). ACA = anterior cerebral artery, AChA = anterior choroidal artery, ACoA = anterior communicating artery, Am = amygdala, BA = basilar artery, Cd = caudate nucleus, GP = globus pallidus, IC = internal capsule, ICA = internal carotid artery, LPChA = lateral posterior choroidal artery, LSA = lateral striate arteries from middle cerebral artery, MCA = middle cerebral artery, MPChA = medial posterior choroidal artery, MSA = medial striate arteries, OT = optic tract, PCoA = posterior communicating artery, PCA = posterior cerebral artery, Put = putamen, RAH = recurrent artery of Heubner, TGA = thalamogeniculate arteries, Th = thalamus, TPA = thalamoperforate arteries, TTA = thalamotuberal arteries.

Medial Striate Arteries

The region of the medial striate arteries was affected in nine patients, whose clinical features varied from almost asymptomatic and apathetic to mild contralateral hemiparesis. The infarct in this region was just posterolateral to the most inferior portion of the frontal horn of the lateral ventricle (Fig. 3). On coronal sections anterior to the foramina of Monro, corresponding to the distribution of the medial striate arteries (as seen on the microangiograms, Fig. 4), the lesion was seen to involve the region inferolateral to the anterior horn of the lateral ventricle. On sagittal sections, the lesion typically appeared to be somewhat elongated anteroposteriorly in the anteroinferior part of the basal ganglia extending toward the frontal horn.

Lateral Striate Arteries

The region of the lateral striate arteries was affected in 21 patients. The infarcts were arbitrarily subdivided into those located in the anterior part (five), the central part (six), the posterior part (three), and an extensive region (seven) of the supply area of the lateral striate arteries. The patients with an extensive lesion developed a contralateral hemiparesis and hemisensory disturbance with occasional dysarthria or motor aphasia. An extensive infarct in this region was found in a large part of the corpus striatum and the interposed portion of the internal capsule (Fig. 5). On sagittal microangiograms and lateral views of conventional angiograms, the lateral striate arteries assume the appearance of a fan with its pivot on the anterior perforated substance. Accordingly, extensive infarcts in this region appeared as a fully opened fan on sagittal images. On the other hand, infarcts in the area of the medial branches of the lateral striate arteries were distributed superi-

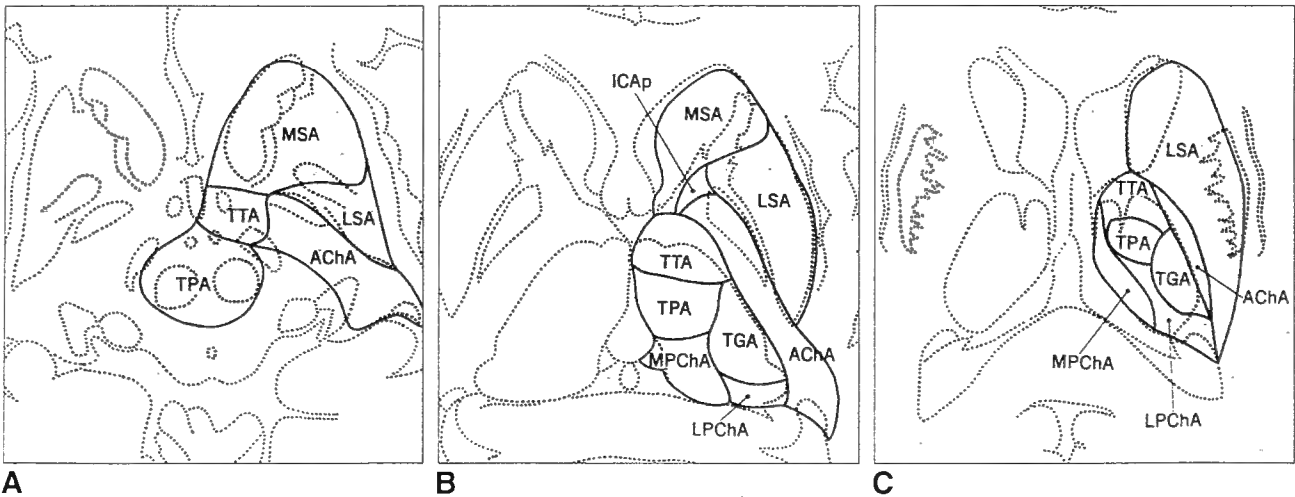


Fig. 2.—A–C, Distribution of basal perforating arteries on contiguous axial sections of brain parallel to orbitomeatal line, passing through junction of midbrain and diencephalon (A), midthalamus (B), and dorsal portion of thalamus (C) (adapted from Takahashi et al. [3, 4]). AChA = anterior choroidal artery, ICAp = perforators from most distal portion of internal carotid artery, LPChA = lateral posterior choroidal artery, LSA = lateral striate arteries from middle cerebral artery, MPChA = medial posterior choroidal artery, MSA = medial striate arteries, TGA = thalamogeniculate arteries, TPA = thalamoperforate arteries, TTA = thalamotuberal arteries.



Fig. 3.—Infarct in area of distribution of medial striate arteries. This 48-year-old man had a sudden onset of vertigo and nausea with no definite evidence of motor disturbance.

A and B, Axial (A) and coronal (B) T2-weighted MR images show a hyperintense lesion (arrow) in anteroinferior part of left basal ganglia.

C, Sagittal T1-weighted image shows lesion that is hypointense and somewhat elongated anteroposteriorly, posterior to frontal horn (arrows).

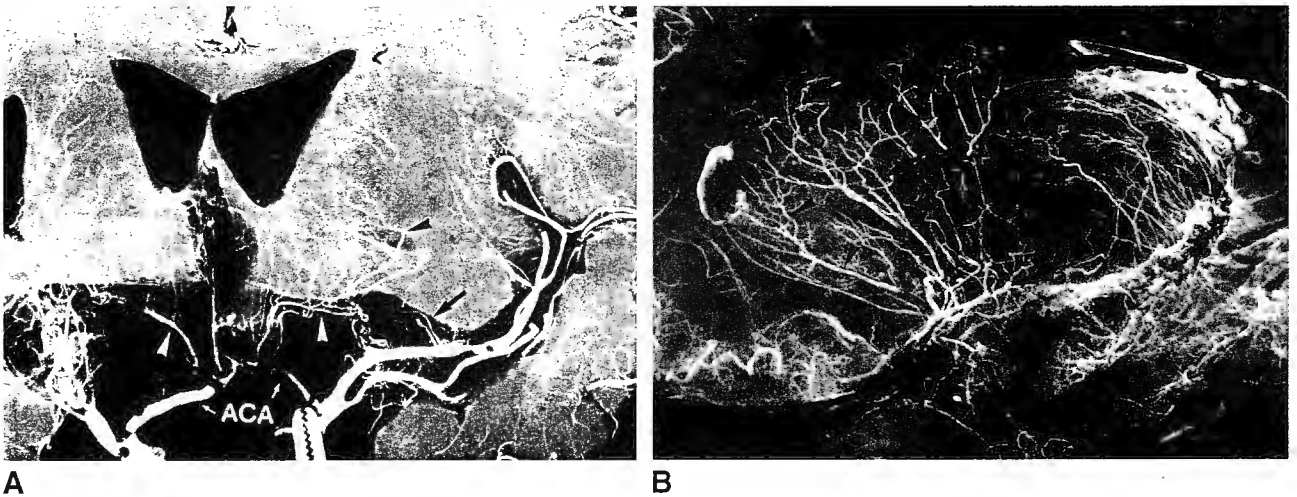


Fig. 4.—Microangiograms show medial and lateral striate arteries (reprinted with permission from Takahashi et al. [3]).

A, Coronal microangiogram traversing anterior to foramen of Monro shows distributions of medial striate arteries (black arrowhead) arising from recurrent artery of Heubner (white arrowheads). Lateral striate arteries (arrow) arising from horizontal segment of middle cerebral artery are partially visualized. ACA = horizontal portion of anterior cerebral artery.

B, Sagittal microangiogram through paramedian (2 cm thick and centered 2 cm from midline) portion of basal ganglia shows that medial striate artery from recurrent artery of Heubner (arrowheads) is distributed in anteroinferior portion of basal ganglia. Also note anteromedial lateral striate arteries (arrow).

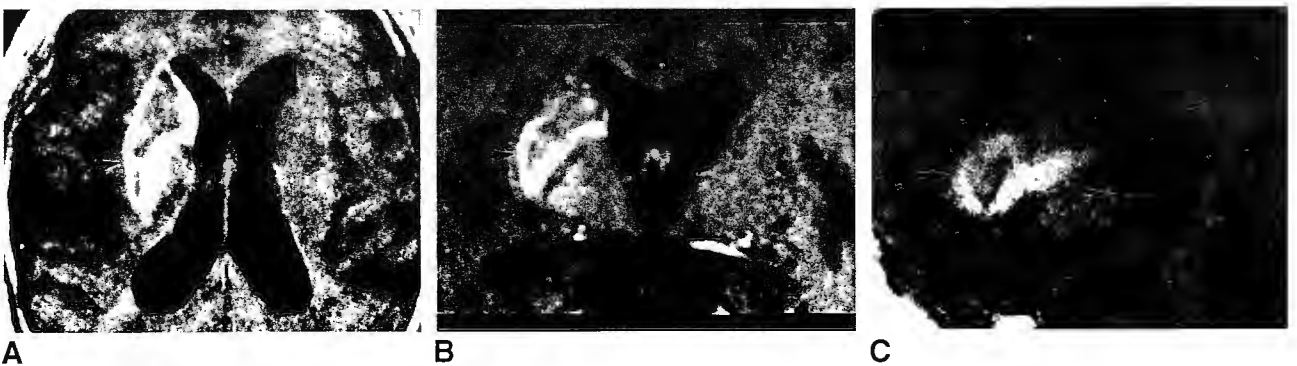


Fig. 5.—Extensive infarct in area of distribution of lateral striate arteries. This 65-year-old man had disturbance of consciousness, dysarthria, inability to recall his age or home address, and flaccid hemiparesis and hemihypalgesia on left side.

A—C, Multiplanar contrast-enhanced T1-weighted MR images obtained about 1 month after ictus show an infarct with marginal enhancement in distribution of lateral striate arteries (arrows). Cerebral angiograms revealed occlusion of right middle cerebral artery at its origin, the other cortical branches of which were well opacified in a retrograde fashion from anterior and posterior cerebral arteries on same side (not shown). An area supplied by lateral striate arteries, which normally branches from proximal occluded stem of middle cerebral artery, was presumed to be exposed to most severe ischemia.

only and anteriorly, involving the anterior superior segment of the corpus striatum and the superior segment of the anterior limb of the internal capsule. Those in the lateral branches were distributed superiorly and posteriorly, affecting the posterior superior segment of the corpus striatum and the superior segment of the posterior limb of the internal capsule. On coronal images, the lesion widened superomedially from the anterior perforated substance toward the lateral wall of the frontal horn and the body of the lateral ventricle. The lesions located in the anterior and posterior parts appeared in an almost identical shape to each other on the anterior and posterior coronal sections, respectively.

Anterior Choroidal Artery

An infarct in the region of the anterior choroidal artery was found in eight patients with a complete or incomplete form of

anterior choroidal artery syndrome, including contralateral hemiparesis, hemihypesthesia, or homonymous hemianopsia. Although varying in size in different cases, all lesions were located within an arcuate zone between the striatum anterolaterally and the thalamus posteromedially on axial images. On sagittal sections, they were distributed between the corpus striatum anteriorly and the thalamus posteriorly (Fig. 6). On coronal sections, they were located above the temporal horn, involving the globus pallidus and the inferior part of the posterior limb of the internal capsule, corresponding to the distribution of the anterior choroidal artery, as seen on the microangiograms (Fig. 7).

Thalamotuberal Arteries

Infarcts in the area supplied by the thalamotuberal arteries were found in six patients and were located in the posterior

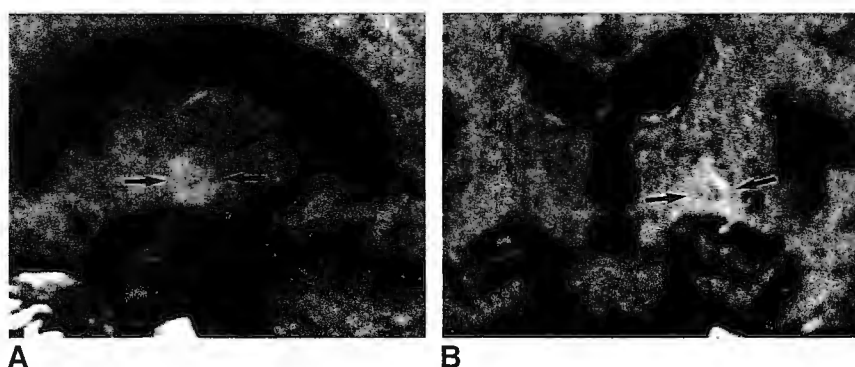


Fig. 6.—Infarct in area of distribution of anterior choroidal artery. This 68-year-old woman had dizziness, right hemiparesis, dysarthria, and right hemihypesthesia. A and B, Sagittal (A) and coronal (B) contrast-enhanced T1-weighted MR images obtained 17 days after ictus show an infarct mainly involving posterior limb of left internal capsule and a part of left globus pallidus (arrows). Left carotid angiogram showed nonopacification of anterior choroidal artery, and vertebral angiograms revealed no collateral circulation to anterior choroidal artery (not shown).

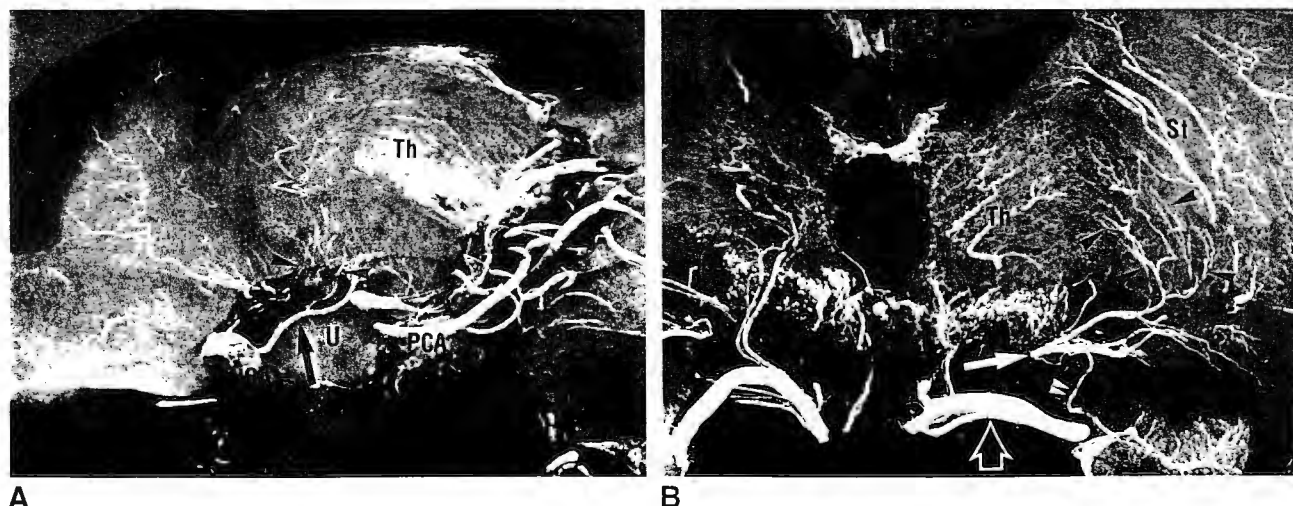


Fig. 7.—Microangiograms of anterior choroidal artery.

A, Sagittal microangiogram of a cadaveric brain 1.5 cm lateral to midline shows that proximal cisternal part of anterior choroidal artery (arrow), arising from internal carotid artery (ICA), gives off several fine superior perforating branches (arrowheads). PCA = posterior cerebral artery, Th = thalamus, U = uncus.

B, Coronal microangiogram through interpeduncular fossa shows transitional portion of cisternal and plexal parts of anterior choroidal artery (white arrow). Most distal part of cisternal segment of this artery is divided into several perforating arteries (black arrowheads), which run upward to penetrate globus pallidus and inferior portion of posterior limb of internal capsule, apparently terminating in most lateral edge of thalamus (Th). Uncal branch (white arrowheads) runs downward along medial margin of uncus into hippocampal sulcus to be distributed in anterior part of hippocampus and subiculum. Blood supply to roof of temporal horn (sublenticular portion) also is seen (small arrows). Most proximal part of posterior cerebral artery is shown (open arrow). More laterally, lateral striate arteries supply striatum (St), including putamen and caudate nucleus along inferolateral wall of lateral ventricular body and upper part of internal capsule.

part of the hypothalamus and the anterior pole of the thalamus, and possibly in a part of the most anterior segment of the posterior limb of the internal capsule (Fig. 8). Such distri-

bution was well demonstrated on both coronal and sagittal images, corresponding to the distribution of the thalamotuberal arteries on the microangiograms (Fig. 9).

Fig. 8.—Infarct in area of distribution of thalamotuberal arteries. This 81-year-old man had right hemiparesis that affected right side of face but was more predominant in upper than in lower extremities. A right hemihypesthesia also was present.

A–C, Axial T2-weighted (**A**) MR image and coronal (**B**) and sagittal (**C**) T1-weighted MR images show an infarct in region of left side of hypothalamus and anterior part of thalamus, possibly extending to anterior part of posterior limb of internal capsule (*arrows*).

D, Lateral view of a left carotid angiogram shows abrupt occlusion of left posterior communicating artery (*arrowhead*). Vertebral angiography did not fill both posterior communicating arteries. These angiographic findings suggest ischemia in supply area of perforators from left posterior communicating artery (i.e., thalamotuberal arteries).

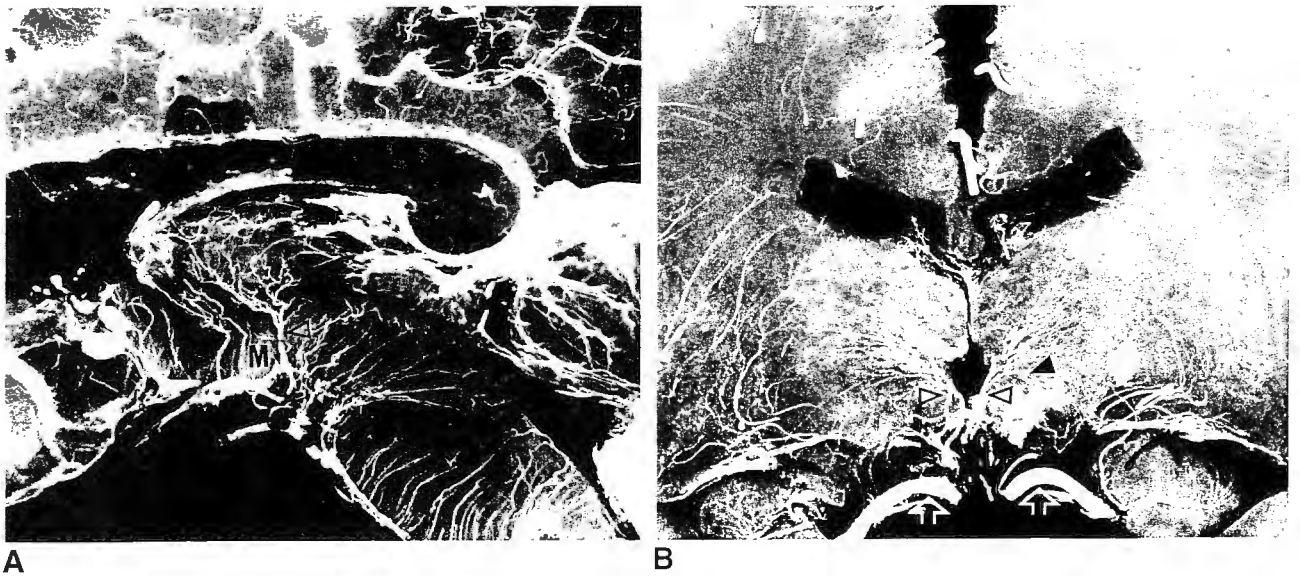
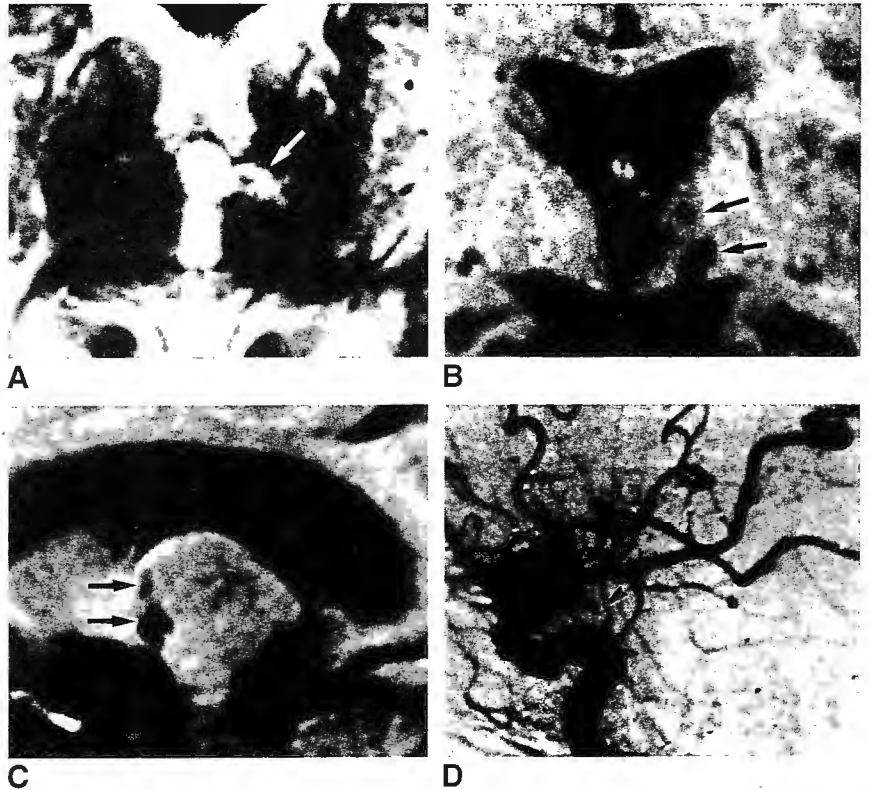


Fig. 9.—Microangiograms show thalamotuberal and thalamoperforate arteries (reprinted with permission from Takahashi et al. [4]).

A, Sagittal microangiogram traversing center of paramedian portion of thalamus (0.5 cm lateral to midline) shows thalamotuberal arteries (*solid arrowhead*) ascending in hypothalamus anterior to mammillary body (M) and extending toward anterior portion of thalamus. Thalamoperforate arteries (*open arrowhead*) traverse posterior perforated substance just posterior to mammillary body and are distributed within central and anterior portions of thalamus.

B, Coronal microangiogram through most proximal part of posterior cerebral artery shows that thalamoperforate arteries (*open arrowheads*) traverse midbrain to lie close to floor and inferior portion of lateral wall of third ventricle posteriorly, then diverge superolaterally into thalamus after arising from interpeduncular segment of posterior cerebral artery (*arrows*). *Black arrowhead* = thalamotuberal arteries. Dorsally, other vessels arising from choroidal arteries are seen.

Thalamoperforate Arteries

Infarcts in the area supplied by the thalamoperforate arteries were noted in 14 patients and were located in the median and paramedian zones of the midbrain and the medial portion of the thalamus, adjacent to the lateral wall of the third ventricle on the axial sections (Fig. 10). Correspondence of the extent of the infarct to the distribution of the thalamoperforate arteries was particularly apparent on coronal sections (Fig. 9). The lesions were located in the center of the thalamus on the paramedian sagittal images. Bilateral lesions were frequently observed in the thalami, paramedian zone, or both of the midbrain in seven of 14 cases. This may be explained by variations in the mode of origin of the thalamoperforate arteries from the posterior cerebral artery, that is, both ipsilateral and contralateral thalamoperforate arteries

can arise from the interpeduncular segment of the one posterior cerebral artery and thus supply both paramedian territories [4]. Alternatively, a single embolus lodged in the tip of the basilar artery might have spanned the short interpeduncular segments of both posterior cerebral arteries, causing bilateral obstruction at the origin of the thalamoperforate arteries [4]. Patients who have infarction in the thalamoperforate arteries frequently experience disorientation with or without a disturbance in consciousness and occasionally have midbrain symptoms, including Weber's syndrome.

Thalamogeniculate Arteries

Infarcts in the thalamogeniculate arteries were recognized in 13 patients and were located in the lateral portion of the



Fig. 10.—Infarct in area of distribution of thalamoperforate arteries. This 57-year-old woman suddenly became disoriented about locations and time. She wanted to eat many times a day, wished to go to her office at midnight, forgot age, and made errors in performing easy calculations. Her motor and sensory functions were preserved.

A–C, Axial (A), coronal (B), and sagittal (C) contrast-enhanced T1-weighted MR images obtained 15 days after onset of ictus show enhanced lesions in medial part of both thalami (arrows). Note that extent of lesions corresponds well to distribution of thalamoperforate arteries, particularly on coronal image (B), extending superolaterally into thalami. Although severely sclerotic with multiple stenotic segments in basilar and posterior cerebral arteries, definite obstruction at site of origin of thalamoperforate arteries was not present.

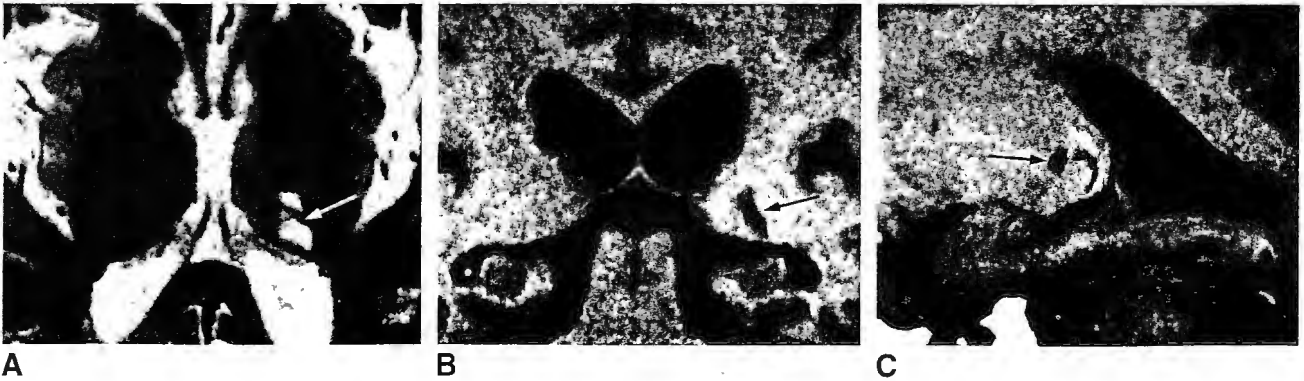


Fig. 11.—Infarct in area of distribution of thalamogeniculate arteries. This 75-year-old man suddenly had right hemiparesis, right hypesthesia, and dysarthria. Hemiparesis resolved, but numbness on right half of body persisted.

A–C, Axial T2-weighted (A) and coronal (B) and sagittal (C) T1-weighted MR images reveal an infarct in posterolateral part of thalamus (arrows). Lesion was thought to be located in area of distribution of thalamogeniculate arteries, although there was no definite evidence of an obstructive process in left posterior cerebral artery on vertebral angiography.

thalamus on axial images (Fig. 11). This distribution pattern also was observed on both coronal and sagittal images, corresponding to the distribution of the thalamogeniculate arteries seen on the microangiograms (Fig. 12). Patients with a lesion in this region invariably had a contralateral sensory disturbance (typically Dejerine-Roussy syndrome), including chirooral syndrome when the lesion was confined to the inferomedial part of this region.

Choroidal Arteries

There were infarcts in the medial posterior choroidal artery in two patients and in the region supplied by the lateral posterior choroidal artery in four patients. Generally, lesions affecting the areas supplied by these arteries were infrequent, perhaps because of numerous anastomoses with other vessels and with each other. On multiplanar MR images, infarcts in the area supplied by the medial posterior choroidal artery were distributed in the posteromedial and dorsomedial portions of the thalamus, possibly including the habenula, the medial portion of the centromedian nucleus, and the paramedian nuclei (Fig. 13A), whereas infarcts in the area supplied by the lateral posterior choroidal artery were distributed in the most lateral region of the posterior part of the thalamus (pulvinar) and also in the dorsolateral portion of the thalamus (Fig. 13B).

From cerebral angiograms obtained from 46 patients with 52 infarcted lesions, angiographic findings (i.e., the relation between the site of an obstructive change and the origin of the corresponding group of perforating arteries) were judged to be consistent with the extent of 24 infarcts visualized on MR images (the parent stem of the artery was occluded or stenosed at or just proximal to the origin of the perforating arteries with good development of retrograde filling of the cortical arteries) (Fig. 8). There were discrepancies between the angiographic findings and the extent of involvement seen on MR images in 28 infarcts. These discrepancies might have resulted from the obstruction of the perforating arteries (i.e., they were not detectable) or from a previous occlusion that recanalized spontaneously before the angiogram was obtained.

In conclusion, there may be a reciprocal relationship between the sizes of infarcts and areas supplied by various groups of arteries, depending on the degree of development of individual groups of arteries. However, a general knowledge of the relationship between vessels and deep structures of the brain as seen on axial, coronal, and sagittal sections will be helpful in interpreting MR findings and in conducting a detailed neurological evaluation in a patient with an infarction in the deep gray matter of the cerebrum. This knowledge also should help in interpreting MR findings of patients with intracerebral hemorrhage, arteriovenous malformation, Moyamoya disease, and tumors of the basal gray matter of the cerebrum.

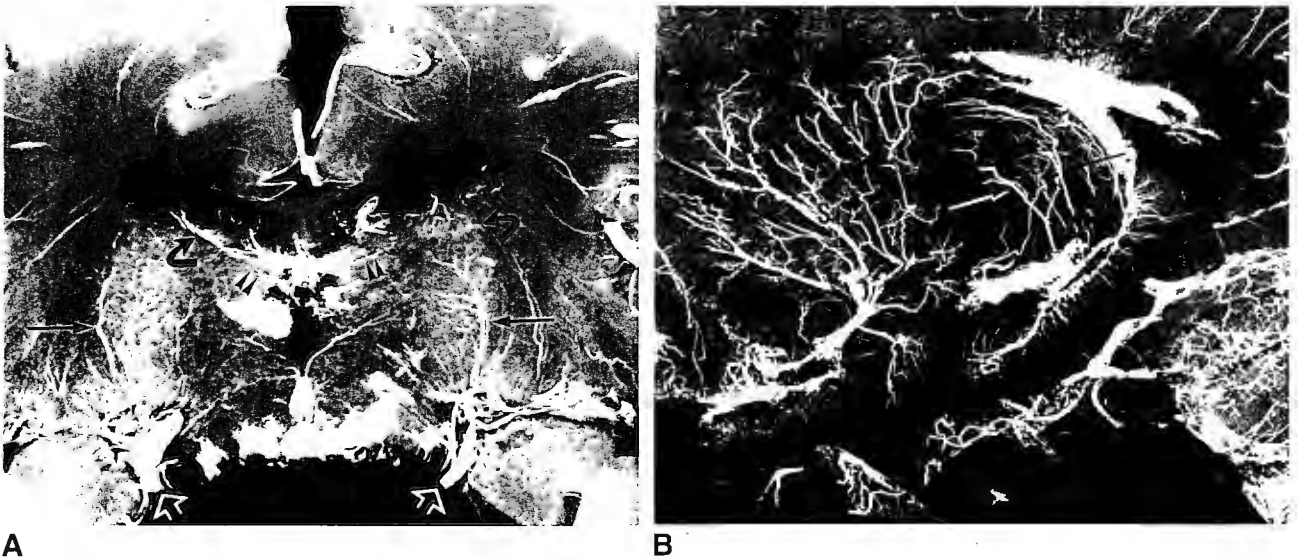


Fig. 12.—Microangiograms show thalamogeniculate and choroidal arteries (reprinted with permission from Takahashi et al. [4]).

A, Coronal microangiogram through circummesencephalic segment of posterior cerebral artery shows thalamogeniculate arteries (arrows) originating from ambient segment of posterior cerebral artery (open arrows), entering brain in and between medial and lateral geniculate bodies and then ascending with a slight lateral convexity. A large capillary blush made by thalamogeniculate arteries is seen in lateral portion of thalamus, whereas medial and lateral narrow blushes are dorsally caused by medial (double arrowheads) and lateral (curved arrows) posterior choroidal arteries, respectively.

B, Sagittal microangiogram traversing lateral portion of thalamus (2.5 cm lateral to midline) shows thalamogeniculate arteries (arrows) arising from ambient segment of posterior cerebral artery and coursing superoanteriorly to supply lateral region of thalamus. St = lateral striate arteries distributed in corpus striatum.

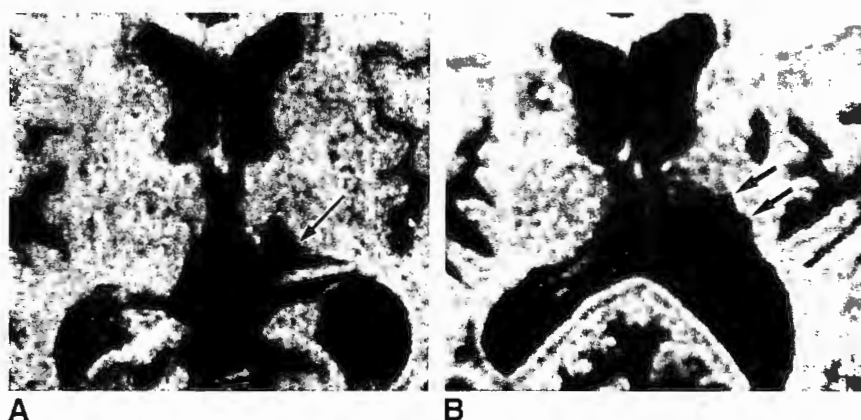


Fig. 13.—Infarcts in areas of distribution of medial and lateral posterior choroidal arteries.

A, Axial T1-weighted MR image of a 59-year-old woman who had paresthesia of right fingers, right hemiparesis, left Horner's syndrome, and a memory disturbance shows a lesion in posterior superomedial aspect of left thalamus, probably involving centromedian, dorsal medial, and paraventricular nuclei of thalamus (*arrow*). Patient might have had thalamic dementia. Although posterior cerebral arteries were sclerotic, they had no definite evidence of an obstructive process as depicted on a vertebral angiogram.

B, Axial T1-weighted MR image of a 73-year-old woman with bilateral tinnitus and frequent vertigo reveals an old infarct in dorsolateral aspect of left side of thalamus, which was interpreted as an infarct involving supply area of lateral posterior choroidal artery (*arrows*). Cerebral angiography revealed an occlusion of bilateral extracranial vertebral arteries, in addition to multisegmental irregular stenoses of both posterior cerebral arteries that were seen on carotid angiograms.

REFERENCES

1. Beevor CE. On the distribution of the different arteries supplying the human brain. *Philos Trans R Soc London [Biol]* 1909;200:1-55
2. Aitken HF. Diagram of the arterial circulation of the basal ganglia. *New Engl J Med* 1928;199:1084
3. Takahashi S, Goto G, Fukasawa H, et al. Computed tomography of cerebral infarction along the distribution of the basal perforating arteries: Part 1. Striate arterial group. *Radiology* 1985;155:107-118
4. Takahashi S, Goto G, Fukasawa H, et al. Computed tomography of cerebral infarction along the distribution of the basal perforating arteries: part 2. Thalamic arterial group. *Radiology* 1985;155:119-130

Germinoma Originating in the Basal Ganglia and Thalamus: MR and CT Evaluation

Shuichi Higano, Shoki Takahashi, Kiyoshi Ishii, Ko Matsumoto, Hidetoshi Ikeda, and Kiyohiko Sakamoto

PURPOSE: To describe MR and CT features of germinoma originating in the basal ganglia and thalamus and to discuss the roles of each modality for its diagnosis. **METHODS:** MR and CT studies of six cases of germinomas, five of which were histologically proved, were retrospectively reviewed. T1-weighted, T2-weighted, and contrast-enhanced T1-weighted conventional spin-echo images, and unenhanced and contrast-enhanced CT images were evaluated. **RESULTS:** Typically, the tumor consisted of an irregular solid area with contrast enhancement and various-size cysts. Cystic components were found in five cases and calcification in four. Intratumoral hemorrhage was noted in one. Ipsilateral cerebral hemiatrophy and brain stem hemiatrophy were noted in three cases each. MR was superior to CT in evaluating precise tumor extension, cystic components, and intratumoral hemorrhage, although in one case, extension of the tumor was better defined on CT in its early stage. Calcification was difficult to identify by MR alone. The solid components of the tumors generally showed slightly high density on CT, which seemed to be characteristic compared with nonspecific intensity pattern on MR. **CONCLUSION:** The combination of CT and MR findings allows early detection and appropriate diagnosis of the mass in the basal ganglia and/or thalamus.

Index terms: Germinoma; Thalamus; Basal ganglia, neoplasms; Brain neoplasms, computed tomography; Brain neoplasms, magnetic resonance; Brain neoplasms, in infants and children

AJNR Am J Neuroradiol 15:1435-1441, Sep 1994

The preferential location of intracranial germ-cell tumors is in the midline, such as the pineal and suprasellar regions (1). However, there have been several reports about germinal neoplasms originating in the basal ganglia and/or thalamus, especially in Japanese patients (2-13). Because a germinoma is generally radiosensitive and potentially curable, its early detection and the differentiation from glial tumors are desirable. In addition to reports of computed tomography (CT) of germ-cell tumors in the basal ganglia and thalamus, their magnetic resonance (MR) findings have been recently but only sporadically described (2, 3, 5, 6, 9). We describe CT and MR findings in six

cases of germinoma in this special location and discuss its features and the roles of MR and CT in its detection and diagnosis.

Subjects and Methods

MR and CT findings of six patients with germinoma of the basal ganglia and/or thalamus were retrospectively reviewed. The patients were all boys, ranging in age from 8 to 16 years (mean, 11.3 years). The pathologic diagnosis was made by CT-guided stereotaxic needle biopsy in all patients but one, who underwent total removal of the tumor. In five of six cases, typical two-cell-pattern germinoma (composed of two cell types, large polygonal cells and lymphocytes) was histologically confirmed. In the other case, the specimen included only gliosis, probably because of inappropriate biopsy; we finally diagnosed this tumor as of germ-cell origin because of its high sensitivity to radiotherapy, high serum content of α -fetoprotein, and its characteristic CT image features. Five patients developed slowly progressive hemipareses; the remaining one presented with precocious puberty without any other neurologic symptoms. The latter patient proved to have an increased value of serum human chorionic gonadotropin. In two other cases, the level of serum α -fetoprotein or human chorionic gonadotropin was increased.

Received May 26, 1993; accepted for publication December 2.

From the Departments of Radiology (S.H., S.T., K.I., K.M., K.S.) and Neurosurgery (H.I.), Tohoku University School of Medicine, Japan.

Address reprint requests to Shuichi Higano, MD, Department of Radiology, Tohoku University School of Medicine, 1-1 Seiryomachi Aobaku Sendai, Tohoku 980, Japan.

AJNR 15:1435-1441, Sep 1994 0195-6108/94/1508-1435

© American Society of Neuroradiology

Basal ganglia and thalamus germinomas: CT and MR features

Case	Tumor Extension	Cystic and Necrotic Components	Calcification	Contrast Enhancement	Tumor Margin	Perifocal Hyperintensity Area (T2-Weighted)	Hemiatrophy	
							Cerebrum	Brain Stem
1	Right LN	+ (Xanthochromic)	+	+	Sharp	+	-	-
2	Left LN-CH	+ (Hemorrhage)	±	+	Sharp	±	-	+
3	Right LN-IC	+	+	+	Irregular	+	+	+
4	Right LN-IC	-	→+ ^a	→+ ^a	Irregular	-	±→+ ^b	±→+ ^b
5	Left LN-IC-TH	+ (Necrotic)	+	+	Irregular	+	+	+
6	Right LN-IC-TH-MB-IV	+ (Xanthochromic)	-	+	Irregular	++	-	-

Note.—Contents in cystic and necrotic regions revealed by surgery are in parentheses. LN indicates lentiform nucleus; CH, caudate head; IC, internal capsule; TH, thalamus; MB, midbrain; and IV, intraventricular.

^a Appeared later on follow-up study.

^b Remarkable on follow-up study.

MR was performed on a 1.5-T system in all six patients. Using multisection conventional spin-echo sequences, we obtained T1-weighted images (500–550/15–20/2 [repetition time/echo time/excitations]), T2-weighted images (2500/90/1) and T1-weighted images with intravenous injection of gadopentetate demeglumine (0.1 mmol/kg of body weight). We used a field of view of 19 to 25 cm and a matrix of 256 × 256. We obtained images in the axial plane with 5- to 8-mm section thickness and 1- to 2-mm intersection gap for all patients, with additional contrast-enhanced T1-weighted images in coronal planes in three cases. CT study was also performed in all patients with and without intravenous contrast material (2 ml/kg of 300 mg of iodine/ml) with 8-mm section thickness and no intersection gap. CT density and MR intensity of the lesions were evaluated by comparing the lesions with normal gray matter.

Results

The neuroradiologic features obtained from CT and MR studies are summarized in the Table.

MR and CT images of four representative cases are shown in Figure 1–4. The tumors generally consisted of solid areas and various sizes of cystic components. The solid components tended to appear characteristically slightly hyperdense on precontrast CT, whereas they showed isointensity to slight hypointensity on T1-weighted images and isointensity to hyperintensity on T2-weighted images. All the tumors but one demonstrated contrast enhancement; in one case (case 4), the tumor was not enhanced initially on both CT and MR but subsequently enhanced 1½ years later (Fig 2). Although the tumor extension was generally evaluated better on MR than on CT, the tumor in case 4 demonstrated as a more extensive high-density area without contrast enhancement on initial CT; on MR, the lesion appeared only as a less-extensive

area of hyperintensity on T2-weighted images and was hardly detectable on T1-weighted images (Fig 2).

Cystic or necrotic components were noted in five patients. In three (cases 1, 2, and 6), the tumors had relatively large cysts that were proved by surgical intervention. In two of them, the cysts showed marked hyperintensity on T2-weighted images and hypointensity on T1-weighted images and demonstrated no contrast enhancement except in their capsules. In the other one (case 2), the cysts showed two kinds of different intensity and density patterns, indicating different phases of intracystic hemorrhage, which was confirmed by stereotaxic surgery (Fig 3).

The tumors invariably involved the lentiform nuclei with frequent extensions to the internal capsules. In one case (case 6), the tumor was huge and extended to the thalamus, midbrain, and even into the third and lateral ventricles (Fig 4).

Intratumoral calcification, presenting as nodular or spotty hyperdensity on CT, was obvious in four cases. In one of them, calcification appeared later on follow-up study (Fig 2). Parts of calcified foci appeared hyperintense on T1-weighted images in three cases.

In three patients, dilatation of cortical sulci, especially the Sylvian fissures, of the cerebral hemispheres was noted on the sides of the tumors, suggesting ipsilateral hemicerebral atrophy (Fig 1). In three cases, the ipsilateral cerebral peduncles were shrunken compared with those of the contralateral sides. In case 4, the hemiatrophy of both brain stem and cerebral hemisphere progressed remarkably during a period of 1½ years (Fig 2).

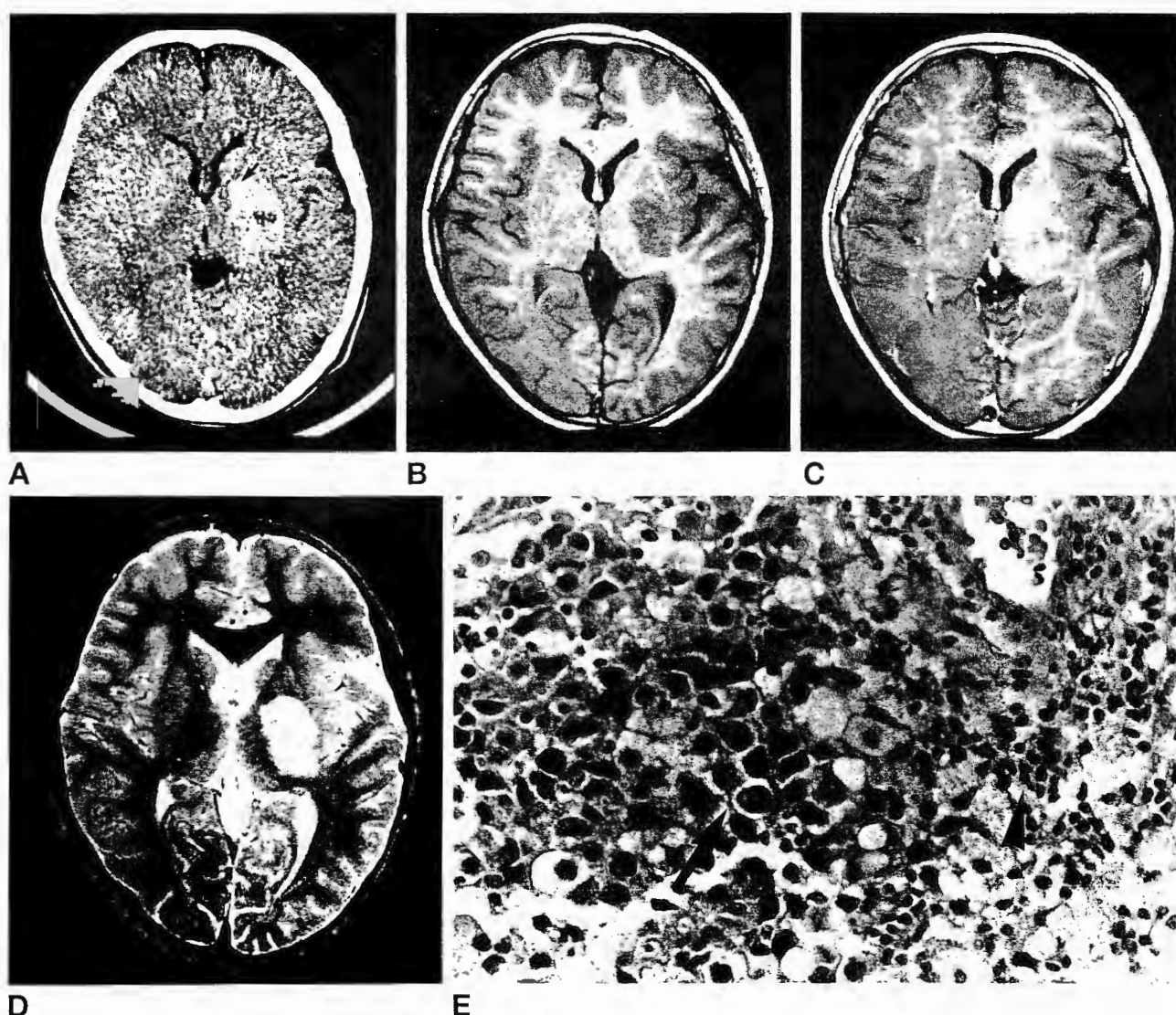


Fig 1. Case 5.

A, Precontrast CT shows an ill-defined, slightly hyperdense area with a small low-density component in the left basal ganglia. Note a nodular calcification in the tumor (arrow).

B, T1-weighted, C, contrast-enhanced T1-weighted, and D, T2-weighted images. The tumor is delineated as an area of slightly low intensity with irregular enhancement on the T1-weighted image and a heterogeneously hyperintense area on the T2-weighted image. The MR evaluates the tumor extension and cystic and necrotic components, whereas CT is superior in detecting calcification. Note mild dilatation of the Sylvian fissure and cortical sulci in the left cerebral hemisphere.

E, Photomicrogram. The tumor is composed of two different types of cells: large spheroidal or polygonal cells (arrow) and lymphocytes (arrowhead).

Discussion

According to previous CT studies of germinoma in the basal ganglia and thalamus (4–8, 10, 12, 14), the tumor was usually composed of a solid area with irregular margins and various sizes of cystic components. Calcification was frequently associated. Our study revealed features similar to those findings. The MR intensity

of the solid areas, which often demonstrated contrast enhancement, was fairly nonspecific; that is, isointense to low on T1-weighted images and isointense to high on T2-weighted images. On the other hand, they showed characteristic hyperdensity on precontrast CT. In the previous CT reports, a similar tendency of high density of the tumor was described (12). Soejima et al

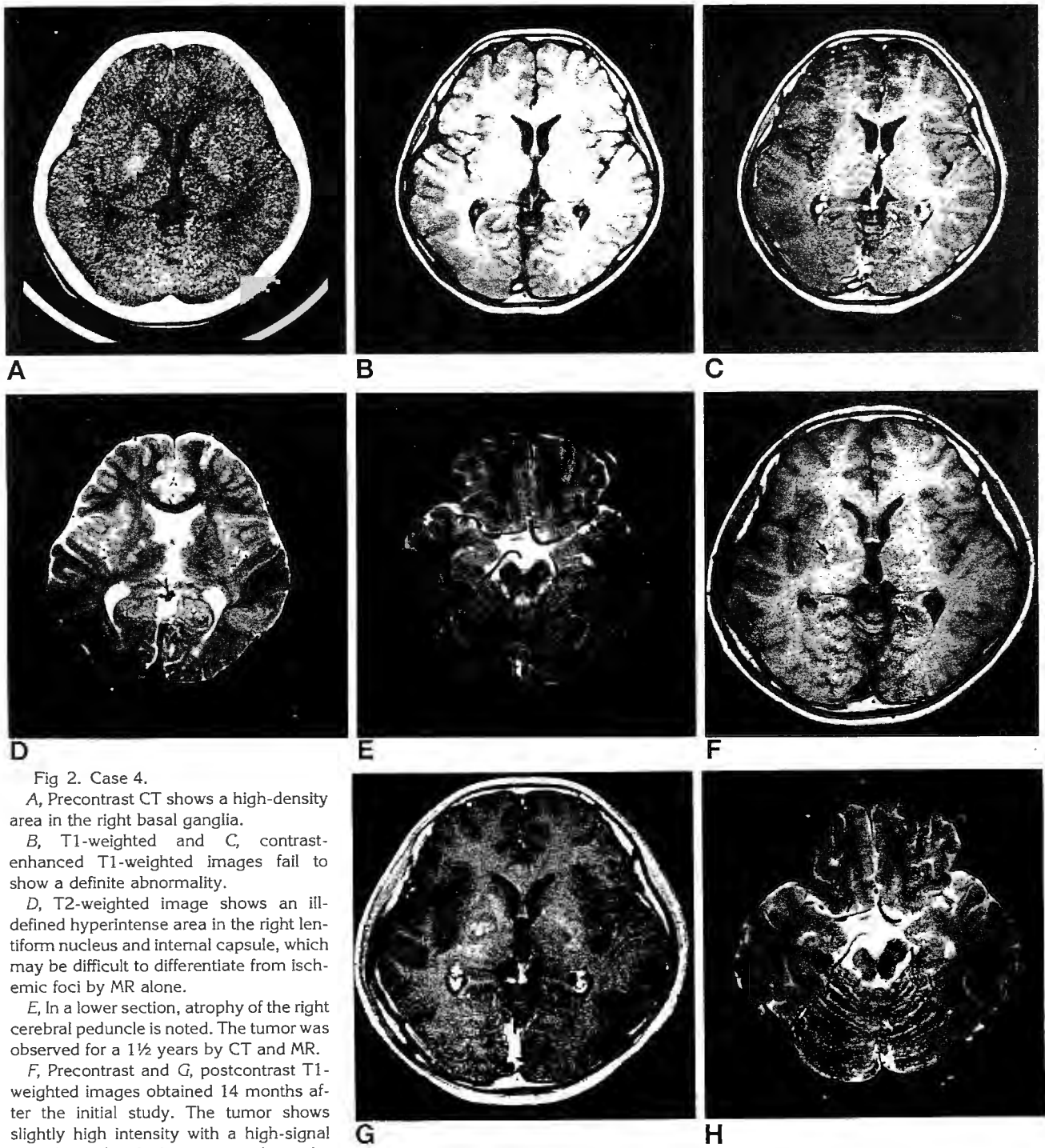


Fig 2. Case 4.

A, Precontrast CT shows a high-density area in the right basal ganglia.

B, T1-weighted and C, contrast-enhanced T1-weighted images fail to show a definite abnormality.

D, T2-weighted image shows an ill-defined hyperintense area in the right lentiform nucleus and internal capsule, which may be difficult to differentiate from ischemic foci by MR alone.

E, In a lower section, atrophy of the right cerebral peduncle is noted. The tumor was observed for a 1½ years by CT and MR.

F, Precontrast and G, postcontrast T1-weighted images obtained 14 months after the initial study. The tumor shows slightly high intensity with a high-signal spot (*arrow*), which corresponds to the calcification on CT and demonstrates irregular enhancement.

H, The same section as E revealed progressive hemiatrophy of the brain stem.

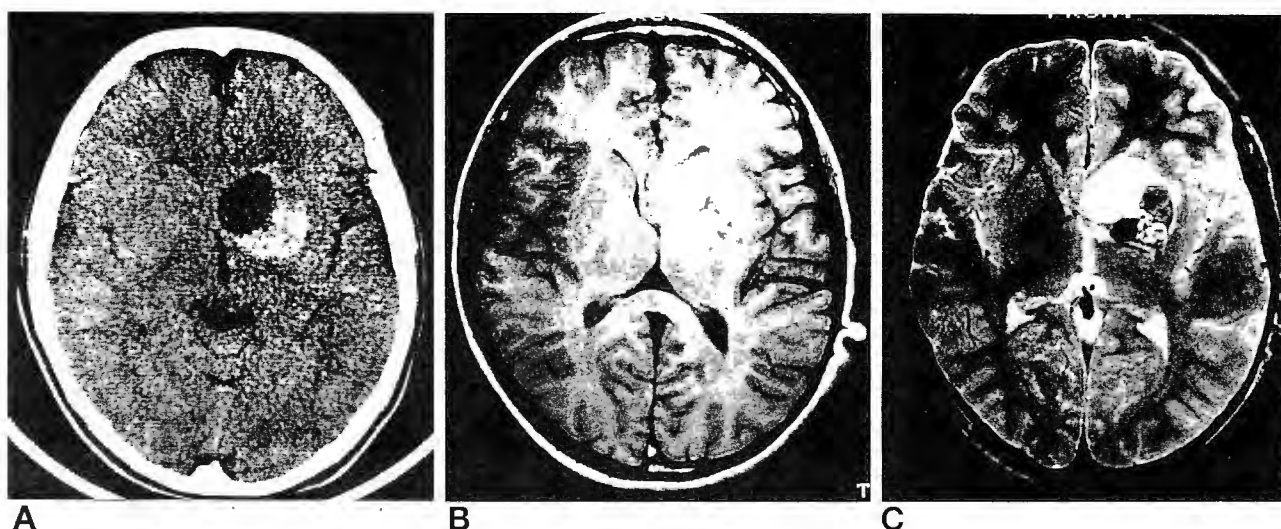


Fig 3. Case 2.

A, Precontrast CT shows a high-density mass with a well-defined low-density cyst in the left basal ganglia.

B, T1-weighted image.

C, T2-weighted image. The hypodense area on CT is depicted as high-signal areas on both T1- and T2-weighted images and the hyperdense component on CT as multiloculated areas with a fluid-fluid level of high and markedly low intensity on the T2-weighted image, which suggests acute to subacute hematoma. On stereotaxic drainage, intracystic hemorrhage was confirmed.

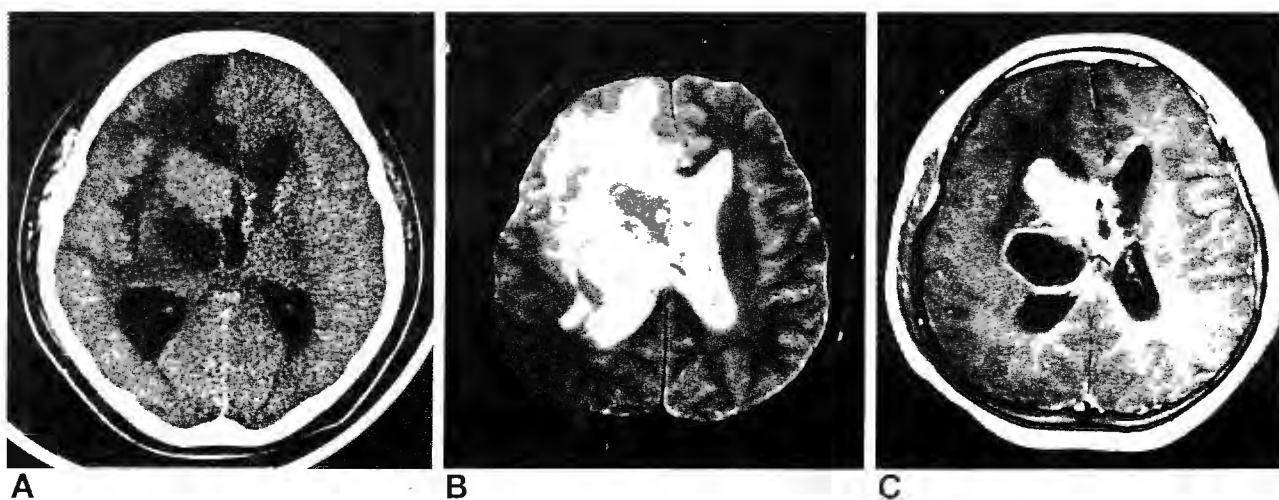


Fig 4. Case 6.

A, Precontrast CT, B, T2-weighted image, and C, contrast-enhanced T1-weighted image show a large tumor in the right basal ganglia and thalamus with intraventricular extension. The tumor shows slightly high density on CT. Various size of cysts are associated. A marked perifocal hyperintensity area is noted on the T2-weighted image.

pointed out that this high density on precontrast CT should be one of the diagnostic features differentiating it from most glial tumors, which also may have calcification and cystic areas. In one of our cases, MR showed the characteristic intensity pattern of acute to subacute hemorrhage, which was verified by surgery. Anno et al (3) also reported a case of basal ganglionic germinoma with old hemorrhage with a sur-

rounding hypointense rim on T2-weighted images. As is often the case in most types of tumors, MR was superior to CT in evaluating precise extension of the tumor, cystic components, and intratumoral hemorrhage, but associated calcification recognized on CT was difficult to identify on MR.

Several investigators have noted ipsilateral hemispheric atrophy in cases with germinoma

of the basal ganglia and thalamus (4, 6, 12, 15–17). Although this hemiatrophy was thought to be a characteristic of germinoma, this feature is now regarded as a result of the tumor involvement of fiber tracks by any kind of tumor (16). In addition to hemicerebral atrophy, we found hemiatrophy of the brain stem on MR in three cases. This hemiatrophy was better delineated on MR because of the lack of artifacts from petrous bones. Such hemiatrophic features tended to be more remarkable in the cases in which the tumors had irregular margins extending to the dense white matter bundles of the internal capsules. In one case (case 4), progression of the hemiatrophy of the brain stem and cerebral hemisphere was observed with enlargement of the tumor involving the internal capsule. To the contrary, there was no definite atrophic change in our case 1, with a relatively well-circumscribed tumor restricted to the basal ganglia. These findings support the belief that hemiatrophy is secondary to tumoral involvement of internal capsule.

Despite the high radiosensitivity and potential curability of germinoma in this region, an advanced stage of the tumor with considerable degree of hemiatrophy results in a clinically poor prognosis (7). Therefore, early diagnosis and treatment are necessary for a better outcome. In the early stage of this disease, abnormality may not be detectable on CT despite the neurologic deficits (4, 12). With progression of symptoms, CT reveals a small high-density area with subtle mass effect, followed by further enlargement of an inhomogeneous density mass and formation of cystic components. We found no report about early detectability of this tumor on MR, but we report a small tumor (case 4) that was not clearly demonstrated on the initial MR in comparison with CT. We believe the combination of CT and MR would enable earlier detection of this lesion.

The CT and MR findings of germinoma in the pineal and suprasellar regions have been well documented (1, 18–24). Germinomas in these familiar locations calcify or contain cystic components less often than those in the basal ganglia. Calcification seen in cases with pineal region germinoma is now believed to be limited to the normal pineal gland possibly engulfed by the tumor, although abnormal intratumoral calcification is more frequently associated with other pineal region tumors such as teratomatous tumors, embryonal cell carcinoma, and tu-

mors of pineal cell origin (19, 23, 24). The reason for such neuroradiologic differences between germinomas in different locations is uncertain. Soejima et al (12) proposed that the anatomic difference might influence the mode of tumor growth; that is, germinomas of the basal ganglia and thalamus are intraaxial tumors, whereas those in the pineal and suprasellar regions are extraaxial. Extraaxial germinomas in the suprasellar and pineal regions are usually well circumscribed but occasionally may infiltrate into the adjacent brain such as the thalamus (pineal), hypothalamus, or optic chiasm (suprasellar), causing perifocal edema, and may spread through subarachnoid spaces (1, 18, 22). The tendency for infiltrative extension was also and frequently found in intraaxial germinoma of the basal ganglia and thalamus, in which they presented with irregular margins and perifocal hyperintensity.

In addition to the neuroradiologic features, some demographic information is helpful in the differential diagnosis. First, there is a high incidence of intracranial germinomas in Japan (18), with germinomas of the basal ganglia and thalamus accounting for 5% to 10% of all intracranial germinomas (4, 7, 25). Second, germ-cell tumors of the basal ganglia and thalamus show a striking male predominance and were found only in children or young adults. We could find in the literature only two female subjects with germ-cell tumors in the basal ganglia (13, 14).

Because the radiosensitivity of mixed-type germ-cell tumors (eg, components of teratomatous tumors, embryonal cell carcinoma, choriocarcinoma, and yolk-sac tumors) is less than pure germinoma, differentiation among them is important for appropriate therapy. There should be no essential difference in CT findings between pure germinoma and the other kind of germ-cell tumors in the basal ganglionic region. The laboratory examinations of tumor markers are, however, useful for this purpose. Generally speaking, the choriocarcinoma releases human chorionic gonadotropin, yolk-sac tumor α -fetoprotein, and embryonal cell carcinoma releases both human chorionic gonadotropin and α -fetoprotein, whereas pure germinoma is known to produce neither α -fetoprotein nor human chorionic gonadotropin (7, 26). This means that there should be some germ-cell components other than pure germinoma mixed in cases with increased tumor markers even if the biopsy

specimens reveal two-cell-pattern histology typical of pure germinoma. In our three cases with elevated values of tumor markers, however, there has been no recurrence of tumors for 1½ to 4 years after radiation therapy.

In summary, germ-cell tumors can involve the basal ganglia and/or the thalamus especially in young male patients. Unlike typical germinomas in pineal or suprasellar regions, they showed a high tendency to cystic formation, calcification, and progressive infiltration into the internal capsule, which in turn may cause progressive cerebral hemiatrophy. Although the MR intensity is not specific to this type of tumor, MR can demonstrate precise extension, associated cysts, and intratumoral hemorrhage. CT disclosed a slightly hyperdense mass in the basal ganglia and the thalamus, which seemed to be characteristic and would be helpful for the differential diagnosis. Consideration of the patient's age and sex and combination of MR and CT studies are important for its early detection and differential diagnosis from other kinds of masses in the basal ganglia and/or the thalamus. When typical findings are present, one can avoid biopsy and proceed with radiotherapy.

References

1. Kucharczyk W, Montanera WJ. The sella and parasellar region. In: Atlas SW, ed. *Magnetic Resonance Imaging of the Brain and Spine*. New York: Raven Press, 1991:625-667
2. Aguzzi A, Hedinger CF, Kleihues P, Yasargil MG. Intracranial mixed germ cell tumor with syncytiotrophoblastic giant cells and precocious puberty. *Acta Neuropathol (Berl)* 1988;75:427-431
3. Anno Y, Hori T, Watanabe T, et al. Germinoma originating in the basal ganglia. Report of a case showing unusual appearance on MRI. *Neuroradiology* 1990;32:529-530
4. Kobayashi T, Kageyama N, Kida Y, Yoshida J, Shibuya N, Okamura K. Unilateral germinoma involving the basal ganglia and thalamus. *J Neurosurg* 1981;55:55-62
5. Kobayashi T, Yoshida J, Kida Y. Bilateral germ cell tumors involving the basal ganglia and thalamus. *Neurosurgery* 1989;24:579-583
6. Komatsu Y, Narushima K, Kobayashi E, et al. CT and MR of germinoma in the basal ganglia. *AJNR Am J Neuroradiol* 1989;10:S9-S11
7. Mabuchi S, Abe H, Nakagawa Y, Aida T, Tashiro K, Tsuru M. Germinoma originating in the basal ganglia: report of 2 cases. *Neurol Surg (Tokyo)* 1982;10:977-982
8. Masuzawa T, Shimabukuro H, Nakahara N, Iwasa H, Sato F. Germ cell tumors (germinoma and yolk sac tumor) in unusual sited in the brain. *Clin Neuropathol* 1986;5:190-202
9. Matsumoto K, Onoda K, Tsuno K, et al. Basal ganglia germinoma treated with interstitial brachytherapy: case report. *No Shinkei Geka* 1991;19:985-989
10. Nonaka T, Shimabukuro H, Oguro K, Sato F, Masuzawa T. Germ cell tumors originating in the basal ganglia and thalamus. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 1987;27:1098-1103
11. Ono N, Inoue HK, Naganuma H, Misumi S, Tamura M. Germ cell tumor in the basal ganglia: immunohistochemical demonstration of α -fetoprotein, human chorionic gonadotropin, and carcinoembryonic antigen. *Surg Neurol* 1986;25:495-500
12. Soejima T, Takeshita I, Yamamoto H, Tsukamoto Y, Fukui M, Matsuoka S. Computed tomography of germinoma in basal ganglia and thalamus. *Neuroradiology* 1987;29:366-370
13. Tamaki N, Lin T, Shirataki K, et al. Germ cell tumors of the thalamus and the basal ganglia. *Childs Nerv Syst* 1990;6:3-7
14. Ono N, Inoue HK, Naganuma H, Kunimine H, Zama A, Tamura M. Diagnosis of germinal neoplasm in the thalamus and basal ganglia. *Surg Neurol* 1986;26:24-28
15. Kwak RC, Satoh S, Suzuki J. Ipsilateral cerebral atrophy with thalamic tumor of childhood. *J Neurosurg* 1978;48:443-449
16. Mutoh K, Okuno T, Ito M, et al. Ipsilateral atrophy in children with hemispheric cerebral tumors: CT findings. *J Comput Assist Tomogr* 1988;12:740-743
17. Nakagawa Y, Hamajima I, Iwasaki Y, Yada K, Kunita H. Ipsilateral cerebral atrophy caused by ectopic pinealoma: report of a case. *No To Shinkei* 1973;25:69-75
18. Atlas SW. Intraaxial brain tumors. In: Atlas SW, ed. *Magnetic Resonance Imaging of the Brain and Spine*. New York: Raven Press, 1991:625-667
19. Chang T, Teng MMH, Guo W-Y, Shen W-C. CT of pineal tumors and intracranial germ-cell tumors. *AJNR Am J Neuroradiol* 1989;10:1039-1044
20. Futrell NN, Osborn AG, Cleson BD. Pineal region tumors: computed tomographic-pathologic spectrum. *AJNR Am J Neuroradiol* 1981;2:415-420
21. Kilgore DP, Strother CM, Strashak RJ, Haughton VM. Pineal germinoma. *Radiology* 1986;158:435-438
22. Latchaw RE, Johnson DW, Kanal E. Primary intracranial tumors: tumors of congenital, pineal, and vascular origin and the phakomatoses. In: Latchaw RE, ed. *MR and CT Imaging of the Head, Neck, and Spine*. 2nd ed. St. Louis: Mosby-Year Book, 1991:561-595
23. Chang CGS, Kageyama N, Kobayashi T, Yoshida J, Negoro M. Pineal tumors: clinical diagnosis, with special emphasis on the significance of pineal calcification. *Neurosurgery* 1981;8:656-668
24. Zimmerman RA, Bilaniuk LT, Wood JH, Bruce DA, Schut L. Computed tomography of pineal, parapineal, and histologically related tumors. *Radiology* 1980;137:669-677
25. Saitoh M, Tamaki N, Kokunai T, Matsumoto S. Clinicobiological behavior of germ-cell tumors. *Childs Nerv Syst* 1991;7:246-250
26. Kurisaki M, Moruyasu N, Kitajima K. Immunohistochemical studies of brain tumors associated with precocious puberty: a preliminary report of correlation between tumor secreting hormone and Leydig cells in precocious puberty. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 1979;19:675-682

<特集> 癌局所療法研究会

担子菌製剤 PSK 腫瘍内投与による
抗腫瘍効果：癌細胞浸潤阻害

海老名卓三郎 村田 和子*

要旨 各種 BRM を原発腫瘍内に投与すると原発腫瘍のみならず、遠隔転移腫瘍まで治癒させるもののあることを、われわれが考案したマウス“二重移植腫瘍系”で明らかにしてきた。今回は担子菌製剤 PSK の転移抑制機序の一つとして腫瘍細胞の浸潤抑制活性について調べた。*in vitro* 浸潤能は Becton-Dickinson 社製 invasion chamber を使って測定した。PSK 100 $\mu\text{g/ml}$ を RL- δ 1 細胞に処理したところ、PSK 無添加群に比して浸潤細胞数は半分に減少した。次に PSK の濃度依存性について調べたところ、PSK の 25, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$ 処理で濃度依存性の浸潤阻止活性がみられた。すなわち、PSK には *in vitro* 浸潤阻害能があることが確かめられた。PSK が基底膜成分である laminin, collagen などを消化する酵素活性を阻害し、*in vivo* における転移抑制にも関与していることが示唆された。

〔癌と化学療法 21(13) : 2241-2243, 1994〕

はじめに

各種 BRM を原発腫瘍内に投与すると原発腫瘍のみならず、遠隔転移腫瘍まで治癒させるもののあることを、われわれが考案したマウス“二重移植腫瘍系”で明らかにしてきた¹⁻⁶⁾。そこで今回は担子菌製剤 PSK の転移抑制機序の一つとして腫瘍細胞の浸潤抑制活性について調べた。すなわち癌転移の機構として Table 1 に示すように、1) 癌細胞の腫瘍局所からの遊離、2) 間質への浸潤・基底膜の破壊（血管内侵入）、3) 標的臓器の血管内皮細胞への選択的接着、4) 基底膜への接着・破壊（血管外脱出）、5) 転移巣の形成が考えられるが、このうち 2), 4) に関与した浸潤能について検討を加えた。

I. 材料と方法

1. マウスと腫瘍

日本エスエルシー（株）から購入した7週齢雄

BALB/c マウスを使用した。腫瘍は BALB/c マウスと同系の Meth-A 線維芽肉腫細胞を使用した。

2. 薬 剤

蛋白質結合・ β -D-グルカンを主成分とする多糖体である担子菌製剤 PSK を呉羽化学工業（株）より恵与を受けた。

3. 浸潤能測定

血管内皮細胞の下側に存在する細胞外基質である基底膜のモデルとしてマトリゲル（Becton-Dickinson 社製, Fig. 1）を使い、細胞としてマウス浸潤性癌細胞である RL- δ 1 細胞を使った。担子菌製剤 PSK の各濃度を RL- δ 1 細胞に 37 °C 3 時間処理した時に基底膜で覆われたポアサイズ 8 μm のフィルターを浸潤してきた細胞数を算定し、浸潤能とした。

II. 実験結果

PSK 100 $\mu\text{g/ml}$ を RL- δ 1 細胞に処理したところ、Fig. 2 に示すように、PSK 無添加群に比

* 宮城県立がんセンター研究所・免疫学部門

Table 1 Metastasis

1. Escape from the primary tumor
2. Invade the tissue, entering the blood stream (intravasation)
3. Arrest in small vessels at distant sites
4. Invade through the vessel wall (extravasation)
5. Grow into new metastatic lesions

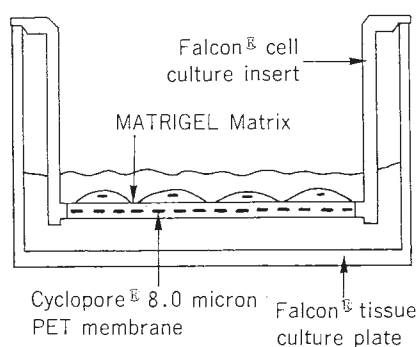


Fig. 1

して浸潤細胞数は半分に減少した。次に PSK の濃度依存性について調べたところ、Fig. 3 に示すように PSK の 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 処理で濃度依存性の浸潤阻止活性がみられた。すなわち、PSK には *in vitro* 浸潤阻害能があることが確かめられた。

III. 考 察

従来 *in vitro* での浸潤能を確かめる方法は複雑であった。近年、血管内皮細胞のすぐ外側にある基底膜が extracellular matrix といわれる laminin, collagen, fibronectin, heparan sulfate proteoglycan などからできていることがわかり、これらは VLA をはじめとする β_1 -integrin と結合する能力があることが知られるようになった。今回 Becton-Dickinson 社が作製したマトリゲルは、基底膜蛋白を豊富に含むマウス腫瘍 (EHS sarcoma) の結合組織由来の再構成基底膜で、このマトリゲルを 8 μm の孔径をもったフィルターに均一・無菌的にコートした invasion chamber を作り、マトリゲルを通過した腫瘍細胞を容易に算定することにより *in vitro* での浸潤能を調べることができるようになった。

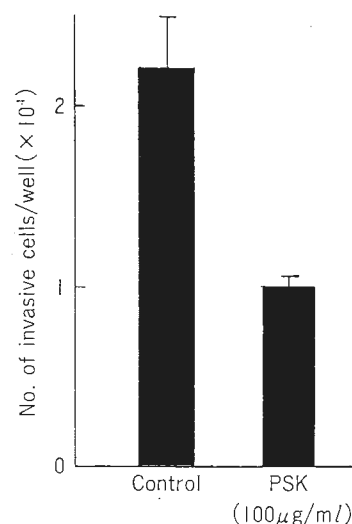


Fig. 2 Inhibitory action of PSK on tumor cell invasion

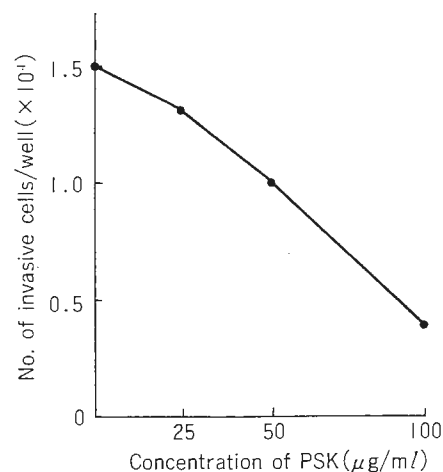


Fig. 3 Inhibitory action of PSK on tumor cell invasion (dose response)

今回の実験で *in vitro* における PSK の浸潤阻害は *in vivo* における PSK の転移抑制にも関与していることが示唆された。すなわち、*in vivo* において転移能がまったくない Meth-A 腫瘍は *in vitro* においてまったく浸潤能がないことが確かめられ、RL- ϕ 1 腫瘍は転移能、浸潤能がともにあることが明らかであるからである。すなわち転移性癌細胞が基底膜成分である laminin, collagen, fibronectin, heparan sulfate proteoglycan などを消化する酵素活性をもっているのに対し、PSK がそれらの酵素活性を抑制していることが考えられる。今後さらにその詳細な阻害機構に

ついて検討を加えたい。

文 献

- 1) Ebina, T., Kohya, H. and Ishikawa, K.: Antitumor effect of PSK: Role of regional lymph nodes and enhancement of concomitant and sine-comitant immunity in the mouse. *Jpn. J. Cancer Res.* 80: 158-166, 1989.
- 2) Ebina, T. and Murata, K.: Antitumor effect of PSK at a distant site: Induction of interleukin-8-like factor and macrophage chemotactic factor in murine tumor. *Jpn. J. Cancer Res.* 81: 1307-1313, 1990.
- 3) Ebina, T. and Murata, K.: Antitumor effector mechanism of interleukin-1 β at a distant site in the double grafted tumor system. *Jpn. J. Cancer Res.* 82: 1292-1298, 1991.
- 4) Ebina, T. and Murata, K.: Antitumor effect of PSK at a distant site: Tumor-specific immunity and combination with other chemotherapeutic agents. *Jpn. J. Cancer Res.* 83: 775-782, 1992.
- 5) Ishikawa, K., Majima, T. and Ebina, T.: Antitumor effect of a *Coriolus* preparation, PSK: Induction of macrophage chemotactic factor (MCF) in spleens of tumor bearing mice. *BIO-THERAPY* 5: 251-258, 1992.
- 6) Ebina, T., Murata, K. and Tamura, K.: Antitumor effect of intratumoral administration of biological response modifiers: Induction of immunosuppressive acidic protein, a type of α_1 -acid glycoprotein, in mice. *Jpn. J. Cancer Res.* 85: 93-100, 1994.

Summary

[*Jpn J Cancer Chemother* 21(13): 2241-2243, September, 1994]

ANTITUMOR EFFECT OF INTRATUMORAL ADMINISTRATION OF A *CORIOLUS* PREPARATION, PSK: INHIBITION OF TUMOR INVASION *IN VITRO*

Takusaburo Ebina and Kazuko Murata

Division of Immunology, Research Institute, Miyagi Cancer Center

The antitumor effects of biological response modifiers (BRM) in an experimental mouse model, the "double grafted tumor system," were analysed. Intratumoral administration of PSK (polysaccharide Kureha), a *Coriolus* preparation into primary tumor induced a cure of not only the primary solid tumor but also the metastatic, distant tumor. The effect of PSK on *in vitro* invasion by murine RL δ -1 leukemia cells was studied using Biocoat Matrigel Invasion Chamber (Becton Dickinson Labware). We determined the ability of tumor cells to penetrate matrigel-coated filters in the presence or absence of PSK. PSK (100 μ g/ml) reduced to half the number of invasive tumor cells for 3 hr incubation. PSK inhibited tumor cell invasion of matrigel-coated filters in a dose-dependent manner. Matrigel includes laminin, collagen, fibronectin and heparan sulfate proteoglycan. It is possible, therefore, that PSK may inhibit enzymes which digest the components of basement membranes, extra cellular matrices (ECM). This phenomenon suggests that PSK also inhibits metastatic activity of tumor cells *in vivo*.

Key words: Biological response modifier (BRM), Intratumoral administration, Invasion

原 著 ORIGINALS

免疫賦活剤 PSK の抗腫瘍効果 (6)
—分子量分画による差異と G-CSF との併用効果—

海老名卓三郎 村田 和子*

要旨 免疫賦活剤 PSK の抗腫瘍効果についてわれわれが考案した“二重移植腫瘍系”で解析した。まず PSK を限外濾過法により分子量で M1 (20 万以上), M2 (10~20 万), M3 (5~10 万), M4 (5 万以下) に 4 分画し, 抗腫瘍効果が主にどの分画にあるか検討した。その結果 M4 分画を Meth-A 腫瘍内に投与したマウスは完全治癒し, 再接種実験でも完全に腫瘍の生着を拒絶した。次に M4 分画を投与したマウスの脾臓細胞を別の担癌マウスの腫瘍内に投与する養子免疫療法でも, 腫瘍の増殖を抑制した。さらにその脾臓細胞の培養上清中の単球走化活性 (MCF) も分子量の最も小さい M4 分画が最も高い活性を示した。すなわち, PSK 分子量分画中 M4 分画が抗腫瘍効果に最も関係していることが示唆された。次に G-CSF との併用効果について検討したところ, PSK 腫瘍内投与の皮下前投与, 同時投与, 後投与したが, いずれも PSK の抗腫瘍効果を抑制し, G-CSF との併用については十分な検討が必要であることを示唆した。

[Biotherapy 8 (6): 863-868, 1994]

緒 言

前報¹⁻⁵⁾ でわれわれは, 免疫賦活剤である担子菌製剤 PSK を原発腫瘍内に投与すると遠隔地の腫瘍 (転移巣) も治癒させることを, われわれが考案した“二重移植腫瘍系”で明らかにした。すなわち, BALB/c マウスの右側腹および左側腹にそれぞれ 1×10^6 , 2×10^5 個の同系 Meth-A 腫瘍細胞を皮内移植し (0 日目), 3 日目より右側腫瘍内に PSK を 5 mg ずつ 3 日間投与すると, 右側腫瘍のみならず, 遠隔左側腫瘍まで退縮・治癒がみられる。本作用機序に関して局所リンパ節細胞, 脾臓リンパ球細胞, 腫瘍内浸潤リンパ球などが重要な役割を果たしていることを明らかにし

てきた⁶⁾。さらに PSK を腫瘍内に投与すると, 抗腫瘍サイトカインネットワークが働き IL-8 様因子 (好中球走化因子) がまず誘導され, 好中球が浸潤し, 次に MCAF (単球走化活性因子) の誘導により, 細胞障害活性をもったマクロファージが浸潤し, 右側原発腫瘍の退縮に働く。次にこのマクロファージが腫瘍細胞との反応により IL-1 を産生し, Lyt-1, L3T4 陽性 T 細胞が局所リンパ節ならびに脾臓中に増加してくる。この L3T4 陽性細胞が左側遠隔腫瘍に達すると腫瘍細胞を認識し, MCAF を産生し, 左側腫瘍にも細胞障害活性をもったマクロファージが浸潤し, 遠隔腫瘍の増殖も抑制させることがわかった⁷⁻⁹⁾。そこで本報では, PSK を分子量により 4 分画し, どの分画に主に抗腫瘍活性が存在するか検討した。次に, 最近癌化学療法時などの好中球減少症に効果をあげている新サイトカイン G-CSF と PSK との併用効果についても検討したので報告する。

* 宮城県立がんセンター研究所・免疫学部門

文献請求先: 〒981-12 名取市愛島塩手字野田山 47-1
宮城県立がんセンター研究所免疫学部門
(TEL 022-384-3151)

海老名 卓三郎

Table 1 Antitumor effect of PSK M1 or M4 fraction and resistance to the reinoculated tumor

Treatment	First inoculation (10 ⁶)		Treatment	Second inoculation (10 ⁶)	
	Tumor free/ tested	Tumor weight (g±SD)		Tumor free/ tested	Tumor weight (g±SD)
Control	0/7	3.78±1.22	Control	0/7	4.42±1.04
PSK M1	8/10**	0.20±0.47**	None	6/8*	0.95±1.79**
PSK M4	9/10**	0.12±0.38**	None	9/9**	0

Significant difference from the control: * p<0.05, ** p<0.01

I. 材料と方法

1. マウスと腫瘍

(株) 船橋農場より購入した7週齢 BALB/c 雄マウスを使用した。腫瘍は BALB/c マウスと同一の Meth-A 線維芽肉腫細胞を皮下に接種し、固形腫瘍として使用した。

2. 薬 剤

蛋白質結合・β-D-グルカンを主成分とする多糖体である担子菌製剤 PSK を呉羽化学工業(株)より恵与を受けた。さらに PSK を限外濾過法により分子量で M1 (20万以上), M2 (10~20万), M3 (5~10万), M4 (5万以下) に4分画し、使用した。レコンビナントヒト G-CSF はキリンビール(株)ならびに中外製薬(株)より恵与を受けた。

3. 二重移植腫瘍系

BALB/c マウスの右側腹皮内に 10⁶ 個, 左側腹皮内に 2×10⁵ 個の Meth-A 細胞を同時に移植し, 右側の大きな腫瘍(原発巣)が指で触れるようになる3日目より腫瘍内に薬剤を3日間投与することにより治療し, 治療していない左側の遠隔腫瘍(転移巣)の退縮を観察する系。

4. 抗腫瘍効果の評価

腫瘍接種後経日的に腫瘍径を測定し, $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ (mm) で腫瘍の大きさを表し, 21日目の腫瘍重量(g)とともに判定した。治癒率の比較には χ^2 検定を, 腫瘍の大きさならびに腫瘍重量の比較には t 検定を行った。

II. 実験結果

1. PSK 分画による抗腫瘍効果

PSK を分子量により4分画したもののうち,

分子量20万以上の M1 と分子量5万以下の M4 を使い, それぞれ5mg ずつ3回腫瘍内投与し, 21日目に治癒したものに再接種の実験を行ったところ, Table 1 に示すように M4 投与群では9匹全匹, M1 投与群では8匹中6匹で腫瘍の生着拒絶を示した。すなわち, PSK 分画の腫瘍内投与により局所免疫反応が起こり全身的な腫瘍免疫が成立し, 同腫瘍に対し拒絶反応が起こったことが示唆された。

2. Adoptive Transfer による解析

PSK-M1 分画と M4 分画の腫瘍内投与による再接種腫瘍を排除する機構を解析するため, PSK-M1 分画ならびに M4 分画を投与により治癒したマウスの脾細胞を採取し, 2×10⁷ 細胞を3日目の Meth-A 腫瘍内に suppressor T細胞の機能を抑制する cyclophosphamide (CY) を2mg/マウス 静脈内注射して1時間後移入する adoptive transfer の実験を行った。その結果 Table 2 に示すように, 治癒マウスの脾細胞を移入したところ M1 ならびに M4 分画とも腫瘍増殖抑制作用がみられた。

3. 脾細胞培養上清での MCF 産生

PSK 4 分画を腫瘍内投与した時の抗腫瘍効果は Table 3 に示すように分子量が小さいほど強かった。そこで PSK 各分画を腫瘍内投与した担癌10日目の脾臓細胞を採取し, Con A または Meth-A 細胞を添加し, 48時間培養上清の MCF 活性を比較した。その結果, Fig. 1 に示すように分子量が最も小さい M4 分画が最も高い MCF 活性を示した。

4. G-CSF の“二重移植腫瘍系”での効果

“二重移植腫瘍系”での種々のサイトカイン単独での抗腫瘍効果を調べたところ, Table 4 の

Table 2 Intratumoral adoptive transfer of PSK M1 or M4 fraction treated spleen cells

Group	Tumor free/ tested	Tumor diameter (mm±SD)	Tumor weight (g±SD)
Control	0/4	27.9±1.03	7.1±1.1
CY control	0/7	21.7±1.33	3.4±0.7
CY+M1 cell	1/8	12.8±6.48	1.4±1.0**
CY+M4 cell	1/8	9.8±6.07	0.8±0.7**

Significant difference from the CY control. ** p<0.01

Table 3 Antitumor effect of PSK fractions

Treatment	Tumor free/ tested	Tumor diameter (mm±SD)	Tumor weight (g±SD)
None	0/10	20.97±4.15	3.47±1.37
PSK	7/10	8.33±3.12	0.53±0.52
PSK fraction M1	1/10	10.92±3.52	1.02±0.56
M2	5/10	5.30±5.25	0.31±0.55
M3	8/10	0.75±1.77	0.20±0.12
M4	10/10	0	0

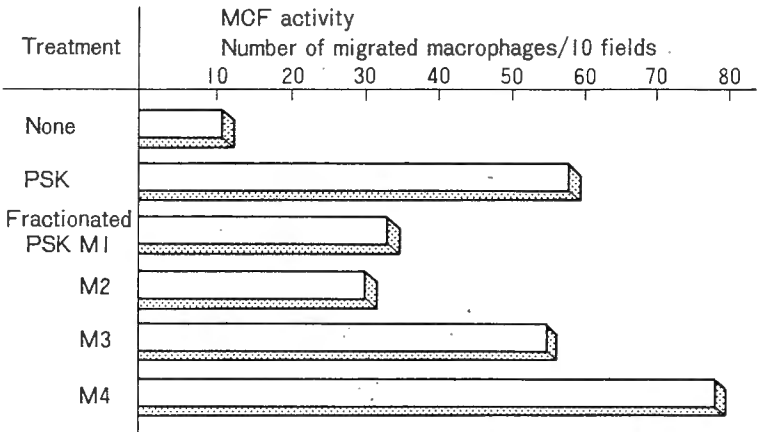


Fig. 1 MCF induction of PSK fractions

ような結果を得た。そこで G-CSF に関しても
キリンビール (株) と中外製薬 (株) から恵与を
受けて抗腫瘍効果を検討した。その結果、両 G-
CSF とも 0.2, 1, 5 μ g のそれぞれ 3 回腫瘍内投
与しても抗腫瘍効果は得られなかった。

5. PSK と G-CSF の併用効果

次に PSK による “二重移植腫瘍系” でのより
強力な抗腫瘍効果を得るため、他薬剤との併用効
果を検討した。その結果、前報⁸⁾で示すように、
アルキル化剤である ACNU や CY を PSK 投
与 1 ~ 24 時間前静注を行うと PSK による抗腫

Table 4 Characterization of various BRMs in the “Double grafted tumor system”

Cytokines	Dose	Double tumor	
		Right	Left
IL-1	0.2 μ g $\times$ 3	++	++
IFN	10 ⁵ U $\times$ 8	++	++
TNF	3 $\times$ 10 ³ U $\times$ 3	++	—
IL-2	10 ⁴ U $\times$ 10	—	—
IL-6	5 μ g $\times$ 3	—	—

++, tumor rejection ; —, no effect

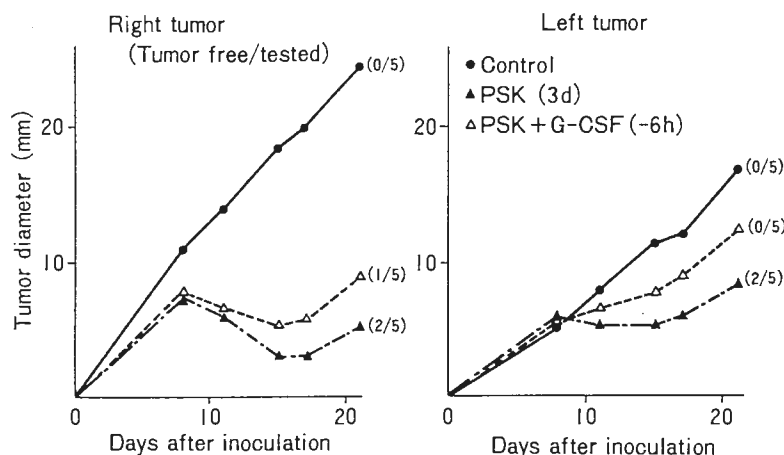


Fig. 2 Suppressive effect of concurrent G-CSF administration on antitumor effect of PSK

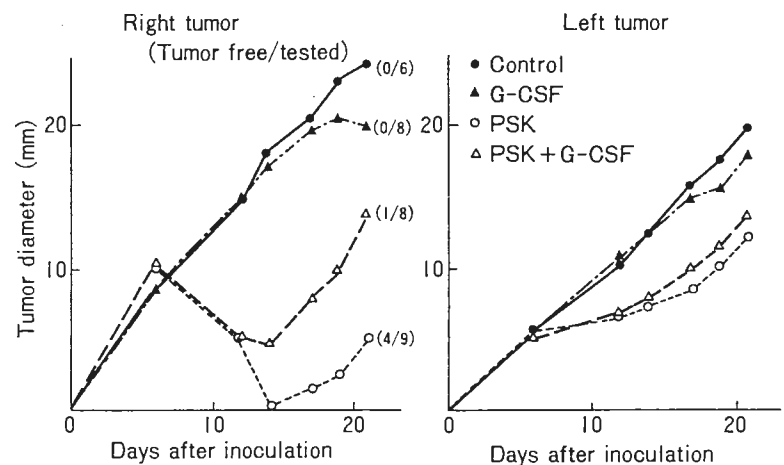


Fig. 3 Suppressive effect of previous G-CSF administration on antitumor effect of PSK

瘍効果が抑制されること、一方、代謝拮抗剤である 5-FU の 24 時間前静注では抗腫瘍効果の相乗作用が見いだされることがわかったので、サイトカインである G-CSF との併用効果を投与時間を変えて詳細に検討した。まず G-CSF 5 μ g を PSK 投与 6 時間前に皮下注したところ (同時投与), Fig. 2 に示すように PSK による抗腫瘍効果が抑制された。次に G-CSF を 5 μ g ずつ担癌 1 日目より 5 日間皮下注し, PSK を担癌 3 日目より 3 日間腫瘍内投与したところ (前投与), Fig. 3 のようにやはり PSK の抗腫瘍効果に対して抑制作用を示した。さらに Fig. 4 に示すように, G-CSF を PSK 投与後に皮下注したところ (後投与), 同じく PSK 単独投与が最も抗腫瘍効果を示した。

考 察

PSK はカワラタケの菌糸体より抽出した蛋白質を約 30 % 含む β -D-グルカン を主成分とする平均分子量約 10 万の蛋白結合性多糖体である。今回はさらに細かく, PSK を限外濾過法により分子量により M1 (20 万以上), M2 (10~20 万), M3 (5~10 万), M4 (5 万以下) に 4 分画し, 抗腫瘍活性が主にどの分画にあるか検討した。その結果, 腫瘍内投与法により Table 3 に示すように, 分子量の小さい M4 分画に最も抗腫瘍効果があり, さらにその活性は脾臓細胞の MCF 産生と比例していた (Fig. 1)。さらに再移植の実験でも M4 のほうに抗腫瘍免疫がより強く誘導されていた (Table 1)。また脾臓細胞の adoptive

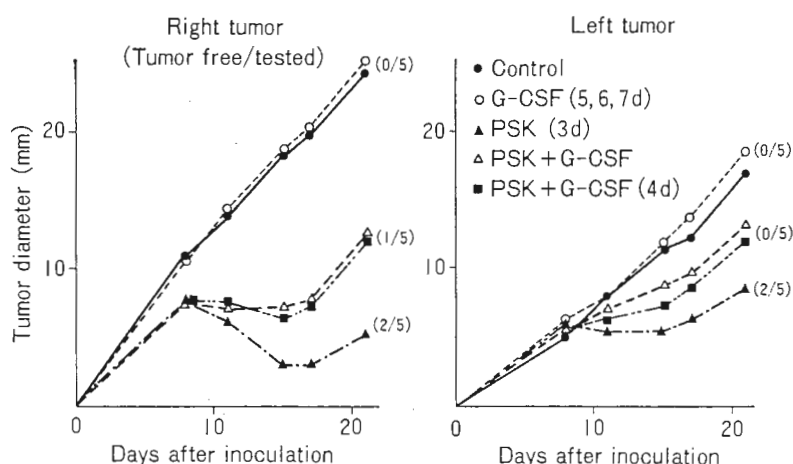


Fig. 4 Suppressive effect of G-CSF after-administration on antitumor effect of PSK

transfer 実験ではやや M4 分画のほうに強い活性がみられた (Table 2)。以上、腫瘍内投与により抗腫瘍効果には PSK の低分子分画 (M4) が最も関与していることが示唆された。

G-CSF は分子量約 19,000 の糖蛋白で、骨髓中における好中球系細胞の分化・増殖、骨髓から末梢血へ、さらに組織への好中球の遊出や成熟好中球のすべての機能を亢進させるように働くことが明らかになっている¹⁰⁾。最近、遺伝子工学によりレコンビナントヒト G-CSF がキリンビール (株) により大腸菌から (市販名グラン), 中外製薬 (株) により CHO 細胞から (市販名ノイトロジン) 大量生産されるようになり臨床的に使用可能となっている。今回われわれの実験でも、両者間にその抗腫瘍性、PSK との併用効果で差は見いだされず、*in vitro* 作用、*in vivo* 作用、体内代謝、臨床的有用性に両者の間に差がないという従来の結果を追試したことになる。G-CSF の臨床での有用性に鑑み、他薬剤との併用効果を検討すべく、担癌マウスにおける PSK 腫瘍内投与との併用実験を試みた。その結果、期待に反して PSK との G-CSF の皮下注による同時投与 (Fig. 2), 前投与 (Fig. 3), 後投与 (Fig. 4) のいずれにおいても PSK の抗腫瘍効果を抑制することが判明した。この結果は、PSK と G-CSF の併用には十分な検討が必要であることを示唆したものと考える。

本研究の一部は (財) 仙台微生物研究所の研究助成金により行った。

文 献

- 1) 海老名卓三郎, 神谷英彦, 井上英男・他: PSK の抗腫瘍効果 (1). IFN 誘起能と腫瘍内投与療法. 癌と化学療法 14: 1841-1846, 1987.
- 2) 海老名卓三郎, 神谷英彦: PSK の抗腫瘍効果 (2). "double grafted tumor system" による転移抑制機序解析. 癌と化学療法 14: 1847-1853, 1987.
- 3) 海老名卓三郎, 石川慶子, 神谷英彦・他: 免疫賦活剤 PSK の抗腫瘍効果 (3). 局所リンパ節と腫瘍内浸潤リンパ球の役割. BIOTHERAPY 2: 1100-1106, 1988.
- 4) 海老名卓三郎, 石川慶子: 免疫賦活剤 PSK の抗腫瘍効果 (4). 随伴免疫と切除免疫の増強. BIOTHERAPY 3: 557-563, 1989.
- 5) 海老名卓三郎, 村田和子: PSK の二重移植腫瘍系における抗腫瘍効果 (5). 手術療法と IL-8, MC-AF の産生. BIOTHERAPY 4: 915-922, 1990.
- 6) Ebina, T., Kohya, H. and Ishikawa, K.: Antitumor effect of PSK: Role of regional lymph nodes and enhancement of concomitant and sincomitant immunity in the mouse. Jpn. J. Cancer Res. 80: 158-166, 1989.
- 7) Ebina, T. and Murata, K.: Antitumor effect of PSK at a distant site: Inductions of interleukin-8-like factor and macrophage chemotactic factor in murine tumor. Jpn. J. Cancer Res. 81: 1307-1313, 1990.
- 8) Ebina, T. and Murata, K.: Antitumor effect of PSK at a distant site: Tumor-specific immunity and combination with other chemotherapeutic agents. Jpn. J. Cancer Res. 83: 775-782, 1992.
- 9) Ishikawa, K., Majima, T. and Ebina, T.: Antitumor effect of a Coliolus preparation, PSK: Induction of macrophage chemotactic factor (MCF) in spleens of tumor bearing mice. BIOTHERAPY 5: 251-258, 1992.
- 10) 高久史磨・編: 顆粒状コロニー刺激因子-G-CSF の基礎と臨床. 医薬ジャーナル社, 東京, 1990.

Summary

[**Biotherapy** 8 (6) : 863-868, June, 1994]

ANTITUMOR EFFECT OF AN IMMUNOPOTENTIATOR, PSK (6)—DIFFERENCES OF ANTITUMOR EFFECT OF PSK 4 FRACTIONS AND COMBINATION WITH GRANULOCYTE-COLONY STIMULATING FACTOR (G-CSF)

Takusaburo Ebina and Kazuko Murata

*Division of Immunology, Research Institute,
Miyagi Cancer Center*

The effect of intratumoral administration of PSK (Polysaccharide Kureha), a *Coriolus* preparation, in Meth-A solid tumor was analyzed in BALB/c mice. PSK was fractionated by ultrafiltration into 4 fractions; M1 fraction (molecular weight, >200,000), M2 fraction (M.W., 200,000~100,000), M3 fraction (M.W., 100,000~50,000) and M4 fraction (M.W., <50,000). Intratumoral administration of PSK-M4 fraction strongly inhibited the growth of Meth-A solid tumor in male BALB/c mice and led to a complete regression of tumors and resistance to reinoculated tumor. Immunized spleen cells were taken

from mice which had been cured with the intratumoral administration of PSK-M4 fraction. Adoptive transfer of PSK-M4 fraction immunized spleen cells caused the growth inhibition of Meth-A tumors. Spleen cells prepared from PSK fraction-treated tumor bearing mice were examined for induction of macrophage chemotactic factor (MCF). Spleen cells from M4 fraction-treated mice produced the highest MCF after 48 hrs of cultivation in the presence of Meth-A cells or Concanavalin A among PSK-4 fractions. The antitumor effect of PSK was suppressed by previous, concurrent and post-subcutaneous administration of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor (rh G-CSF).

Key words : Biological response modifier, Molecular fraction, G-CSF, Intratumoral administration, Adoptive transfer

Address request for reprints to : Dr. Takusaburo Ebina, Division of Immunology, Research Institute, Miyagi Cancer Center, 47-1 Nodayama, Medeshima-shiode, Natori 981-12, Japan

(Received January 10, 1994/Accepted January 26, 1994)

原 著 ORIGINALS

乳酸桿菌 (*Lactobacillus bulgaricus*
878 R) の抗腫瘍効果

海老名卓三郎 小鎌 直子 村田 和子*

要旨 乳酸桿菌 (*Lactobacillus bulgaricus* 878 R, 5×10^9 /ml, 明治乳業 (株) より恵与) の抗腫瘍効果について“二重移植腫瘍系”で解析した。BALB/c マウスに同系の Meth-A 腫瘍細胞を右側腹皮内に 10^6 個、左側腹皮内に 2×10^5 個接種し、3日目から3日間 *L. bulgaricus* 878 R 懸濁液を 0.5 mg ずつ右側腫瘍内に投与し、投与していない左側腫瘍も 21 日間観察する系である。その結果 *L. bulgaricus* は右側腫瘍を治癒させ、左側腫瘍の増殖も抑制した。さらにこの抗腫瘍効果は *L. bulgaricus* 878 R を 2% 含む飼料を自由に摂食させると増強された。その作用機作を検討するため、まず *L. bulgaricus* 878 R を投与したマウスの脾臓リンパ球を 2×10^7 個腫瘍内に投与すると著明な抗腫瘍効果が得られた。次に乳酸桿菌を投与した右側腫瘍の培養上清の好中球走化活性を調べたところ有意に上昇していた。また活性化マクロファージと好中球が産生する免疫抑制酸性蛋白 (IAP) も *L. bulgaricus* 878 R をマウス皮内に 0.05 mg 投与すると血清中に一過性に上昇することがわかった。以上の結果から、*L. bulgaricus* 878 R を腫瘍内に投与することによりまず好中球が、引き続きマクロファージが浸潤して原発腫瘍の退縮に働き、次いで脾臓中に細胞障害活性をもったリンパ球が増加してきて、これが遠隔腫瘍の増殖抑制にも働くことが示唆された。

[Biotherapy 9 (1): 65-70, 1995]

はじめに

乳酸桿菌 (*Lactobacillus*) は一般に非病原性で、ヒトや動物の腸管内をはじめ自然界に広く分布し、また古くから酪農製品、発酵食品などに利用されており、われわれにとって身近な細菌の一種である。これまで *L. casei* に関しては種々の実験腫瘍に対して高い抗腫瘍効果や感染防御効果を示し、BRM として生体内の種々の免疫反応を賦活化すると考えられている^{1,2)}。一方、乳酸菌菌体製剤の経口投与による抗腫瘍効果に関しても

*L. casei*³⁾ や *Streptococcus* (連鎖球菌)⁴⁾ の製剤などで報告されている。

一方、われわれは各種 BRM を原発腫瘍内に投与すると原発腫瘍のみならず、遠隔転移腫瘍まで治癒させるもののあることを、われわれが考案したマウス“二重移植腫瘍系”で明らかにしてきた⁵⁻¹⁰⁾。今回、特に *L. bulgaricus* 878 R が腫瘍内局所投与と経口投与 (飼料による) により著明な抗腫瘍効果を示すことがわかったので報告する。

I. 材料と方法

1. マウスと腫瘍

(株) 船橋農場より購入した 7 週齢 BALB/c 雄マウスを使用した。腫瘍は BALB/c マウスと同系の Meth-A 線維芽肉腫細胞を皮下に接種し、固形腫瘍として使用した。

* 宮城県立がんセンター研究所・免疫学部門

文献請求先: 〒981-12 名取市愛島塩手字野田山 47-1
宮城県立がんセンター研究所免疫学部門
(TEL 022-384-3151)

海老名 卓三郎

2. 菌 体

4種類の乳酸桿菌ならびに連鎖球菌を EG 寒天培地より寒天および馬血液を除いた液体培地に接種し、37°C、24時間培養した。培養後、集菌、洗浄（生理食塩水）し、菌体懸濁液 $5 \times 10^9/\text{ml}$ (pH 7.0 滅菌リン酸緩衝液) に調製した。供試菌は明治乳業（株）栄養科学研究所より恵与を受けた。以下の菌株を使用した。*Lactobacillus bulgaricus* 878 R, *L. bulgaricus* 2038, *L. helveticus* 806, *Streptococcus thermophilus* 1131。一方、経口投与用飼料として船橋農場（株）のマウス用基礎飼料として F2 を使い、各菌体をペレタイザーで2%含まれるように成形して飼料として作製した。

3. 二重移植腫瘍系

BALB/c マウスの右側腹皮内に 10^6 個、左側腹皮内に 2×10^5 個の Meth-A 細胞を同時に移植し、右側の大きな腫瘍（原発巣と想定）が指で触れるようになる3日目より腫瘍内に薬剤を3日間投与することにより治療し、治療していない左側の遠隔腫瘍（転移巣と想定）の退縮を観察する系。

4. 抗腫瘍効果の評価

腫瘍接種後経日的に腫瘍径を測定し、 $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ (mm) で腫瘍の大きさを表し、21日目の腫瘍重量 (g) とともに判定した。治癒率の比較には χ^2 検定を、腫瘍の大きさならびに腫瘍重量の比較には t 検定を行った。

5. Adoptive Transfer 実験

担癌14日目のマウスの脾細胞を採取し、 2×10^7 細胞を3日目の Meth-A 腫瘍内に suppressor T 細胞の機能を抑制する cyclophosphamide (CY) を 2 mg/マウス 静脈内注射して1時間後移入する adoptive transfer の実験を行った。

6. 腫瘍組織中の走化活性(NCF, MCF)の測定

走化活性は、最近市販されたケモタキセル（クラボウ）により24穴マイクロプレートを使って測定した。NCF（好中球走化因子）活性には標的細胞として3% proteose peptone 1 ml を14時間前に腹腔内接種したマウスの腹腔滲出細胞 (PEC) 中の好中球を使用した。MCF（マクロファージ走化因子）活性には標的細胞として3% thioglycolate 1 ml を3日前に腹腔内接種したマ

ウスの PEC 中のマクロファージを使用した。方法は24穴マイクロプレートの外筒に左右の腫瘍組織の培養上清を 500 μl 入れ、内筒に 2×10^5 個の PEC を 200 μl 入れ、CO₂ 培養器で90分～3時間培養した後、内筒の底にある5 μm のフィルターを介して走化してきた好中球ならびにマクロファージ数を May-Giemsa 染色により400～1,000倍油浸顕微鏡で算定した。

7. 血清 IAP (Immunosuppressive Acidic Protein) 値測定

BALB/c マウスに *L. bulgaricus* 878 R を皮内注射した時の血清 IAP 値を single radial immunodiffusion (SRID) 法を用い、測定した。

II. 実験結果

1. 腫瘍内投与による“二重移植腫瘍系”における抗腫瘍効果

4種の乳酸菌菌体をそれぞれ菌懸濁液の0.5 mg ずつ腫瘍移植後3日目から3, 4, 5日目の3回右側腫瘍に投与したところ、Table 1 に示すように右側腫瘍ではほとんどが治癒し、著明な抗腫瘍効果が認められた。一方、左側腫瘍では *L. helveticus* 806 と *L. bulgaricus* 878 R に腫瘍の増殖抑制が観察された。すなわち、両乳酸桿菌には免疫賦活作用があることが示唆された。

2. 乳酸菌の食餌による影響

1. で述べた“二重移植腫瘍系”にさらにそれぞれの菌体をマウス用飼料 F2 に2%ずつ配合した飼料を ad lib に与えて、その抗腫瘍効果を比較した。その結果、Table 2 に示すように Table 1 に比して *L. bulgaricus* 878 R だけに左右腫瘍に対し抗腫瘍効果の増強効果が認められた。以上の結果から、*L. bulgaricus* 878 R が腫瘍内投与による右側腫瘍の治癒ならびに左側腫瘍の増殖抑制と経口投与（飼料による）による抗腫瘍効果の増強作用が認められ、最も興味深い乳酸桿菌と考え、以後 *L. bulgaricus* 878 R の実験を行った。

3. 抗腫瘍効果の Dose Response

“二重移植腫瘍系”において *L. bulgaricus* 878 R の dose response を調べたところ、Table 3 に示すように0.5 mg 3回投与が最も効果があ

Table 1 Antitumor effect of lactic acid bacteria in the double grafted tumor system

Sample	Right tumor			Left tumor		
	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm±SD)	Tumor weight (g±SD)	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm±SD)	Tumor weight (g±SD)
Control	0/6	27.3±1.4	6.3±0.4	0/6	19.1±2.0	3.4±0.3
<i>L. helveticus</i> 806	6/6	0**	0**	0/6	15.6±2.4*	1.6±0.5**
<i>L. bulgaricus</i> 878R	4/6	3.2±4.9**	0.2±0.3**	0/6	14.8±3.5*	1.5±1.0**
<i>L. bulgaricus</i> 2038	6/6	0**	0**	1/6	14.1±9.3	2.0±1.6
<i>Str. thermophilus</i> 1131	4/6	3.0±5.4**	0.2±0.5**	0/6	19.6±8.8	3.3±2.1

Significant difference from the control : **p<0.01, *p<0.05

Table 2 Effect of feed of lactic acid bacteria preparation on antitumor action

Sample	Right tumor			Left tumor		
	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm±SD)	Tumor weight (g±SD)	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm±SD)	Tumor weight (g±SD)
Control	0/6	27.3±1.4	6.3±0.4	0/6	19.1±2.0	3.4±0.3
<i>L. helveticus</i> 806 it +feed	5/6	2.3±5.5**	0.2±0.5**	0/6	17.5±4.8	2.3±1.4
<i>L. bulgaricus</i> 878R it +feed	6/6	0**	0**	1/6	15.0±7.8	1.8±1.1*
<i>L. bulgaricus</i> 2038 it +feed	6/6	0**	0**	0/6	17.5±4.6	2.4±1.4
<i>Str. thermophilus</i> 1131 it +feed	5/6	1.1±2.6**	0.1±0.2**	0/6	18.9±7.3	3.3±1.9

Significant difference from the control : **p<0.01, *p<0.05

Table 3 Dose response of *L. bulgaricus* 878R on antitumor effect

Dose	Right tumor			Left tumor		
	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm±SD)	Tumor weight (g±SD)	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm±SD)	Tumor weight (g±SD)
0	0/6	25.1±2.3	4.0±0.4	0/6	17.6±1.0	2.8±0.2
0.05mg×3	6/7	1.0±2.6**	0.1±0.1**	1/7	9.8±6.9*	0.9±1.0**
0.5mg×3	7/7	0**	0**	2/7	8.7±6.5*	0.7±0.6**
5mg×3	7/7	0**	0**	1/7	11.1±8.0	1.1±1.1*

Significant difference from the control : **p<0.01, *p<0.05

り、0.05 mg 3回投与でも左右腫瘍の著明な抗腫瘍効果が認められた。以上の結果は、今まで調べた BRM 中最も効果のある担子菌製剤 PSK に比しても濃度が100分の1でも効果があることから、有望な抗腫瘍剤であることが示唆されたので、次にその作用機作について解明を加えた。

4. Adoptive Transfer による解析

“二重移植腫瘍系”において *L. bulgaricus* 878 R 0.05 mg の3回右側腫瘍内投与により、左側腫瘍まで治癒する機序を解析するため、*L. bulgaricus* 免疫脾細胞を採取し、その 2×10^7 個を別のマウスの腫瘍内に投与する adoptive transfer の実験を行ったところ、Table 4, Fig. 1 に示すように

Table 4 Intratumoral adoptive transfer of *L. bulgaricus*-immunized spleen cells

Group	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm±SD)	Tumor weight (g±SD)
Control	0/6	9.5±3.2	0.5±0.5
Control spleen	1/6	7.9±3.7	0.5±0.2
<i>L. bulgaricus</i> 878R spleen	5/6*	1.1±2.4**	0.1±0.0**

Significant difference from the control : **p<0.01, *p<0.05

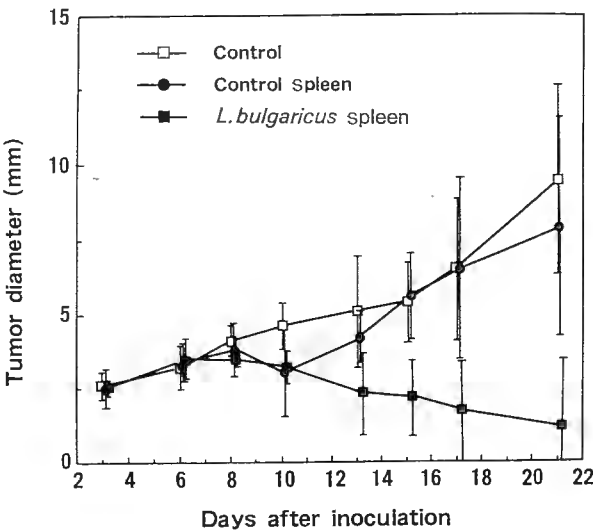


Fig. 1 Antitumor effect of *L. bulgaricus*-immunized spleen cells

6 匹中 5 匹で完全治癒がみられた。

正常マウスの脾臓細胞には抗腫瘍効果がないことから *L. bulgaricus* 投与により脾臓細胞中に Meth-A 腫瘍を殺す能力をもったリンパ球を増加させていることがわかった。

5. *L. bulgaricus* 投与による腫瘍組織内での NCF (好中球走化因子) と MCF (マクロファージ走化因子) の産生

L. bulgaricus 投与により二重移植腫瘍系の左右腫瘍内においてどのようなことが起こっているか調べるため、*L. bulgaricus* 投与後 1 日目の腫瘍組織を採取し、10%胎児牛血清加 RPMI 培地で 24 時間培養し、その培養上清の NCF ならびに MCF 活性を測定した。その結果、Table 5 に示すごとく *L. bulgaricus* の右側腫瘍内投与により、右側腫瘍内に NCF 活性が有意に増加しており、NCF 産生が以下の免疫カスケード反応の引き金になっていることが示唆された。

6. *L. bulgaricus* 投与による血清 IAP の誘導

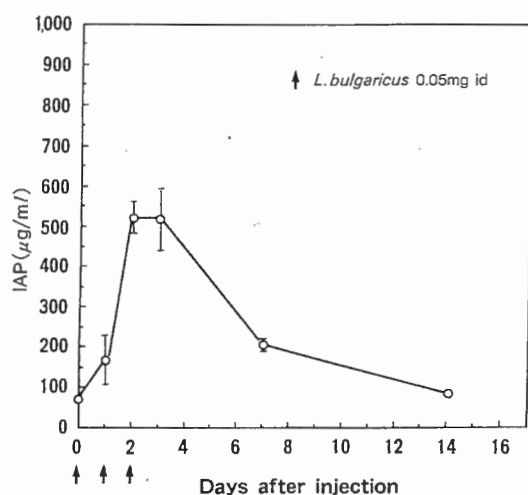
5. で述べたように、*L. bulgaricus* 投与により NCF が誘導されることにより、腫瘍内に好中球が浸潤し、抗腫瘍効果が誘起されることが示唆されたので、活性化好中球ならびにマクロファージが産生することが知られている免疫抑制蛋白 IAP の産生に関して検討した。*L. bulgaricus* 0.05 mg ずつ 3 日間皮下投与した時の血清 IAP 値を調べた結果、Fig. 2 に示すように一過性の IAP 値の増加が認められた。

考 察

今までわれわれの“二重移植腫瘍系”を使って各種 BRM について、その抗腫瘍効果を調べたところ、担子菌製剤で蛋白結合多糖体である PSK、植物性製剤セファランチン、サイトカイン IL-1 は原発腫瘍のみならず、遠隔転移腫瘍も治癒させた。溶連菌製剤 OK-432、結核菌製剤 BCG は原発腫瘍を治癒させ、遠隔腫瘍は増殖抑制がみられた。TNF は原発腫瘍だけを治癒させた。多糖体 lentinan、サイトカイン IL-2、IL-6、M-CSF、G-CSF、GM-CSF はいずれも左右腫瘍ともにまったく抗腫瘍効果は認められなかった^{8,9)}。今回乳酸桿菌 *Lactobacillus bulgaricus* 878 R の抗腫瘍効果を調べたところ、Table 1, 3 のごとく、細菌製剤である BCG や OK-432 と同じ結果を示した。さらに NCF、MCF の誘導能を調べたところ、Table 5 に示したごとく右側腫瘍で NCF 活性の誘導がみられたが、この結果は BCG とまったく同じ結果であった⁹⁾。さらに好中球とマクロファージが活性化した指標としての血清 IAP の誘導も Fig. 2 に示すように認められ、これも BCG や OK-432 と同じ挙動

Table 5 Neutrophil and macrophage chemotactic factors produced from *L. bulgaricus* 878R-treated tumor tissue

Culture supernatant	NCF activity No. of migrated neutrophil /a visual field ($\times 1,000$)	MCF activity No. of migrated macrophage /a visual field ($\times 1,000$)
Medium control (RPMI-1640, 10% FCS)	9.5 $\pm$ 3.2	0.5 $\pm$ 0.5
Meth-A tumor	1.6 $\pm$ 1.6	3.6 $\pm$ 1.5
<i>L. bul.</i> -treated Meth-A right tumor	5.3 $\pm$ 3.9*	4.2 $\pm$ 1.6
<i>L. bul.</i> -treated Meth-A left tumor	2.5 $\pm$ 2.4	3.0 $\pm$ 1.6

Significant difference from the Meth-A tumor : * $p < 0.05$ Fig. 2 Production of serum IAP after intradermal injection of *L. bulgaricus* 878R

である。以上の結果をまとめると、乳酸桿菌 *Lactobacillus bulgaricus* 878R を原発腫瘍内に投与すると、NCF が誘導され好中球が浸潤し、さらに好中球、マクロファージが活性化して IAP が誘導され、活性化好中球とマクロファージにより右側原発腫瘍が退縮に働く。次に活性化マクロファージと腫瘍細胞との反応により IL-1 が産生され、脾臓中に抗腫瘍作用をもったリンパ球が誘導される (Table 4, Fig. 1)。このリンパ球が血流を介して左側遠隔腫瘍に達すると腫瘍細胞を認識し、遠隔腫瘍の増殖を抑制するものと考えられる。

さらに興味深いことは、*L. bulgaricus* 878R 腫瘍内投与に飼料による経口投与を加えることはより抗腫瘍効果が増強されること (Table 2)、このことは担子菌製剤 PSK の腫瘍内投与に PSK の経口投与を併用すると切除免疫を増強す

ること⁵⁾や、手術前に腫瘍内投与し、手術後経口投与しておく、再接種腫瘍の増殖を有意に抑制すること¹⁰⁾と符合する。すなわち、*L. bulgaricus* 878R を一度腫瘍内に投与しておく、マクロファージ・リンパ球系が記憶しており、経口投与により腸管内のマクロファージに *L. bulgaricus* が取り込まれることによりマクロファージの認識記憶機構が働き、活性化し、抗腫瘍効果の増強に働くものと思われる。すなわち、*L. bulgaricus* 878R は宿主の免疫増強作用をもった抗腫瘍薬剤となることを示したもので、今後さらにその作用機作の詳細な解明が期待される。

本研究の一部は (財) 仙台微生物研究所の研究助成金により行った。

文 献

- 1) 横倉輝男: 乳酸桿菌 LC 9018 の抗腫瘍効果とその作用機作. 薬理と治療 17: 1875-1897, 1989.
- 2) 横倉輝男, 加藤幾雄, 松崎 健・他: 乳酸桿菌 LC 9018 の抗腫瘍効果—投与経路の検討—. 癌と化学療法 11: 2427-2433, 1984.
- 3) 加藤幾雄, 遠藤賀寿子, 横倉輝男: 乳酸桿菌の経口投与による抗腫瘍効果. BIOTHERAPY 6: 1121-1126, 1992.
- 4) Nio, Y., Shiraishi, T., Tsuchitani, T. et al.: Antitumor activity of orally administered streptococcal preparation, OK-432 on murine solid tumors and its absorption from the gut. In vivo 3: 307-314, 1989.
- 5) Ebina, T., Kohya, H. and Ishikawa, K.: Antitumor effect of PSK: Role of regional lymph nodes and enhancement of concomitant and sincomitant immunity in the mouse. Jpn. J. Cancer Res. 80: 158-166, 1989.
- 6) Ebina, T. and Murata, K.: Antitumor effect of PSK at a distant site: Inductions of interleu-

- kin-8-like factor and macrophage chemotactic factor in murine tumor. *Jpn. J. Cancer Res.* 81 : 1307-1313, 1990.
- 7) Ebina, T. and Murata, K.: Antitumor effect of PSK at a distant site: Tumor-specific immunity and combination with other chemotherapeutic agents. *Jpn. J. Cancer Res.* 83 : 775-782, 1992.
 - 8) Ebina, T., Murata, K. and Tamura, K.: Antitumor effect of intratumoral administration of biological response modifiers: Induction of immunosuppressive acidic protein, a type of α_1 -acid glycoprotein, in mice. *Jpn. J. Cancer Res.* 85 : 93-100, 1994.
 - 9) 海老名卓三郎, 村田和子: BRM による腫瘍免疫増強機構. *BIOTherapy* 5 : 1951-1959, 1991.
 - 10) 海老名卓三郎, 村田和子: PSK の二重移植腫瘍系における抗腫瘍効果 (5) 手術療法との比較と IL-8, MCAF の産生. *BIOTherapy* 4 : 915-922, 1990.

Summary

[*Biotherapy* 9 (1) : 65-70, January, 1995]

ANTITUMOR EFFECT OF *Lactobacillus bulgaricus* 878 R

Takusaburo Ebina, Naoko Ogama and Kazuko Murata

Division of Immunology, Research Institute, Miyagi Cancer Center

The antitumor effect of *Lactobacillus bulgaricus* 878 R (5×10^9 /ml, Meiji Milk Products Co., Ltd), at a distant site was examined in the double grafted tumor system, in which mice received simultaneous intradermal inoculations of Meth-A in both right (10^6 cells) and left (2×10^5 cells) flanks and were then injected with 0.5 mg of *L. bulgaricus* 878 R preparation in the right tumor on days 3, 4 and 5. *L. bulgaricus* cured the right tumor and inhibited growth

of the left, non-treated tumor. Antitumor effect of an intratumoral administration of *L. bulgaricus* 878 R was enhanced by an oral *ad lib* administration of the feed including 2% *L. bulgaricus* preparation. Immunized spleen cells were taken from mice which had been cured by the intratumoral administration of 0.05 mg of *L. bulgaricus*. One hour after intravenous injection of cyclophosphamide, immunized spleen cells (2×10^7 cells/mouse) were injected into the Meth-A tumor. Adoptive transfer of *L. bulgaricus*-immunized spleen cells caused the complete regression of Meth-A tumors. Isolated tumor cells obtained from the right tumor treated with *L. bulgaricus* and the left side tumor on day 6 were cultured for 24 h. The culture supernatants were harvested and tested for the presence of chemotactic activity for neutrophil or macrophage. Significant neutrophil chemotactic factor (NCF) activity was detected in the culture media from *L. bulgaricus*-treated right tumor tissue. Immunosuppressive acidic protein (IAP) was produced by activated macrophages and neutrophils. IAP in serum of *L. bulgaricus*-treated mice was measured as a marker protein of activated macrophages and neutrophils. IAP in serum was increased transiently soon after intradermal injection of 0.05 mg of *L. bulgaricus*. These results suggest that intratumoral administration of *L. bulgaricus* 878 R first induces neutrophils, then macrophages in the right tumor, followed by cytotoxic lymphocytes in the spleen, thus bringing about the regression of distant tumors.

Key words: Intratumoral administration, Adoptive transfer, Neutrophil chemotactic factor, *Lactobacillus*, Immunosuppressive acidic protein

Address request for reprints to: Dr. Takusaburo Ebina, Division of Immunology, Research Institute, Miyagi Cancer Center, 47-1 Nodayama, Medeshima-shiode, Natori, Miyagi 981-12, Japan

(Received August 24, 1994/Accepted October 19, 1994)

II 癌治療とセファランチン；その基礎と臨床

テーマII. 抗腫瘍効果 (BRM)

1) セファランチンの抗腫瘍効果 (BRM)

宮城県立がんセンター研究所免疫学部門
海老名卓三郎

I. セファランチンの“二重移植腫瘍系”での抗腫瘍効果

われわれはBRMの抗腫瘍効果を検討するため図1.に示すような“二重移植腫瘍系”(double grafted tumor system)を考案した。すなわちBALB/cマウスに同系の腫瘍であるMeth-A線維芽肉腫を右側腹皮内に 1×10^6 個、左側腹皮内に 2×10^5 個接種し、3日目に大きくくなった右側腫瘍内にBRMを投与し、特に治療していない左側腫瘍に注目して21日間に

観察する系である。対照の系として右側腫瘍に投与した薬剤が血流を介して左側腫瘍に達し、直接作用で腫瘍の増殖を抑制する可能性があるので、Single tumor systemとして左側腹皮内にだけ 2×10^5 個の腫瘍を接種し、3日目に右側皮下に薬剤を投与する系である。この系で植物性アルカロイド製剤であるセファランチン (CR) を 0.5mg ずつ腫瘍接種3、4、5日と投与したところ、二重移植腫瘍系で、表1.に示すように右側腫瘍で8匹中3匹で腫瘍の消失がみられ、左側でも8匹中2匹で腫瘍の消失がみられた。一方Single tumor systemでは腫瘍の消失はみられなかった。すなわち腫瘍内投与療法により、遠隔地の腫瘍の増殖が抑制されることを見出した。

II. セファランチンの抗腫瘍効果の作用機作

次にその作用機作を解明したところ前報で示したようにCRを右側腫瘍に投与するとIL-8 (好中球走化因子)が誘導され好中球が浸潤し、その好中球がMCAF (単球走化活性因子)を誘導し活性化Mφが浸潤し、このMφが右側腫瘍を殺すようになる。このMφがIL-1を産

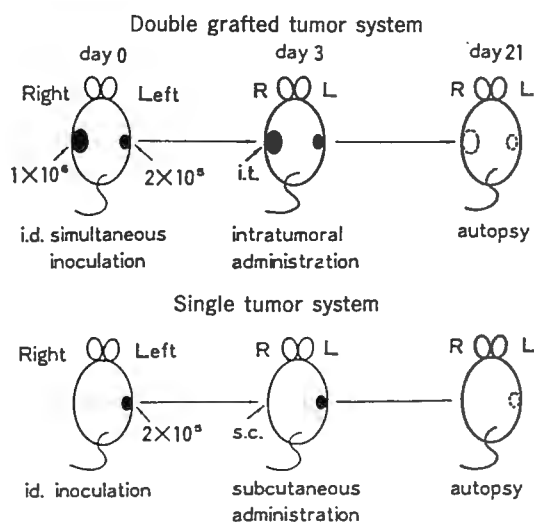


図1

表 1. Anti-Meth-A Effect of Cepharanthin in the Double Grafted Tumor System

Group	Right tumor (1×10^6 cells)		Left tumor (2×10^5 cells)	
	Tumor-free /tested	Tumor weight (g $\pm$ S.D.)	Tumor-free /tested	Tumor weight (g $\pm$ S.D.)
Double-tumor				
Control	0/8	5.3 $\pm$ 1.34	0/8	3.1 $\pm$ 0.50
Cepharanthin 0.5mg $\times$ 3 d 3, 4, 5	3/8	1.2 $\pm$ 0.60	2/8	2.5 $\pm$ 0.88
Single-tumor				
Control	—	—	0/8	4.2 $\pm$ 0.82
Cepharanthin 0.5mg $\times$ 3 d 3, 4, 5	—	—	0/8	2.5 $\pm$ 1.19

SD: standard deviation.

生し局所リンパ節並びに脾臓細胞にLyt-1陽性、L3T4陽性ヘルパーT細胞が増加してくる。このT細胞が血流を介して左側腫瘍に達するとMCAFを誘導し、活性化M ϕ が浸潤し左側腫瘍を殺すようになる。

III. CRによる血清IAPの誘導

今回は活性化マクロファージ並びに好中球が産生する免疫抑制酸性蛋白(IAP)の誘導能について検討した。IAPは癌や炎症などの急性期に増加する α_1 -acid glycoprotein (α_1 -AG)の一成分であり、マイトジェン反応の抑制、natural killer (NK) 細胞活性の抑制、腫瘍の生着や増殖の促進作用、抑制性マクロファージ(M ϕ)の誘導などの作用を有する免疫抑制蛋白質として知られている。

CRを投与したBALB/cマウスの血清IAPを、single radial immunodiffusion (SRID)法を用い測定した。0.5mgのCRを3回皮内投与した非担癌マウスのIAP値を測定したところ血清中に800 μ g/mlのIAP増加がみられた(図2)。起炎剤カラゲナン投与でも650 μ g/mlのIAP産生がみられた。一方腫瘍内投与で抗腫瘍効果のないレンチナン投与では全くIAPの上昇がみられなかった。すなわちIAP値の一時増

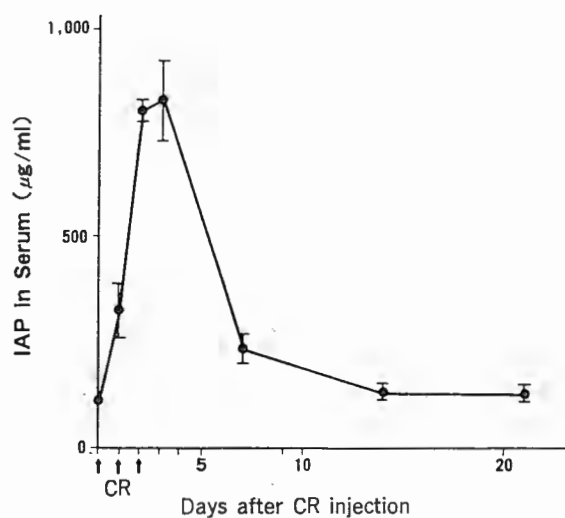


図 2.

加というM ϕ 、好中球の活性化によりCRが炎症反応をおこすことが、抗腫瘍効果につながるということがわかった。今後CR投与による炎症性IAPと担癌後期に出現する腫瘍性IAPの物性の違いについてCon Aを使ったcrossed affino immuno-electrophoresis (CAIE)により解析したい。

すなわち、IAPの糖鎖部分が正常から炎症性に変わる時、炎症性から腫瘍性に変わる時にそれぞれ変化し、生体に微妙な影響を与えていることが示唆された。

今迄にIAP値が580 μ g/ml以下の人は同じBRMである担子菌製剤PSK投与による癌の生存率がいいことがわかっているため今後炎症性IAPと腫瘍性IAPを前もって分けて測定する

ことが出来ればより詳細に responder と non-responder を前もって知ることが出来るものと期待される。更に CR の皮内注により血清 IAP の増加する人は CR の腫瘍内投与に反応し抗腫瘍効果が期待されるので、炎症性 IAP の産生は抗腫瘍のマーカーに使われる可能性が出てきた。

IV. CR と PSK の併用効果

次に同じ BRM である担子菌製剤 PSK との併

用効果について検討を加えた。PSK 5 mg 投与群と CR 0.5 mg 投与群と併用群で比較した。その結果右側腫瘍においては図 3. に示すように著明な併用効果が認められた。一方左側腫瘍においては図 4. に示すように併用効果は認められなかった。

V. CR 構成アルカロイド混合物の抗腫瘍効果

CR は植物性アルカロイドで、タマサキツヅラフジ (*Stephania cepharantha* Hayata)

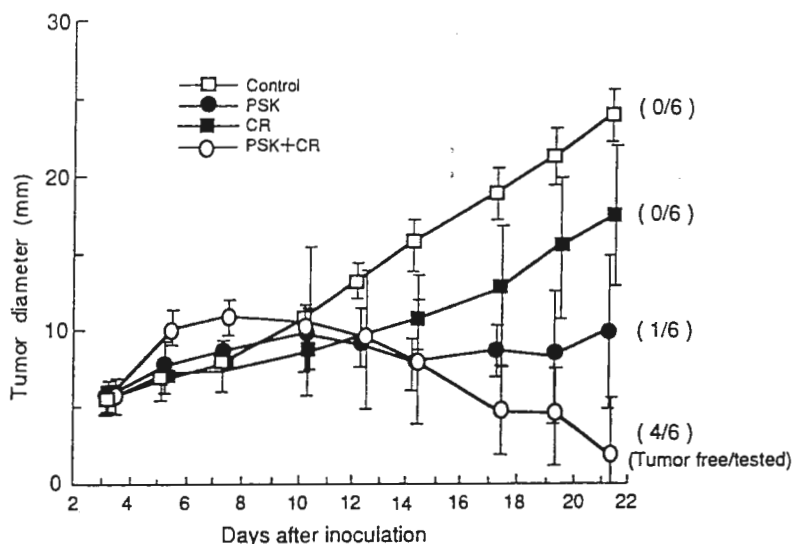


図 3. Antitumor Effect by Combining PSK with CR in the Double Grafted Tumor System (Right Tumor)

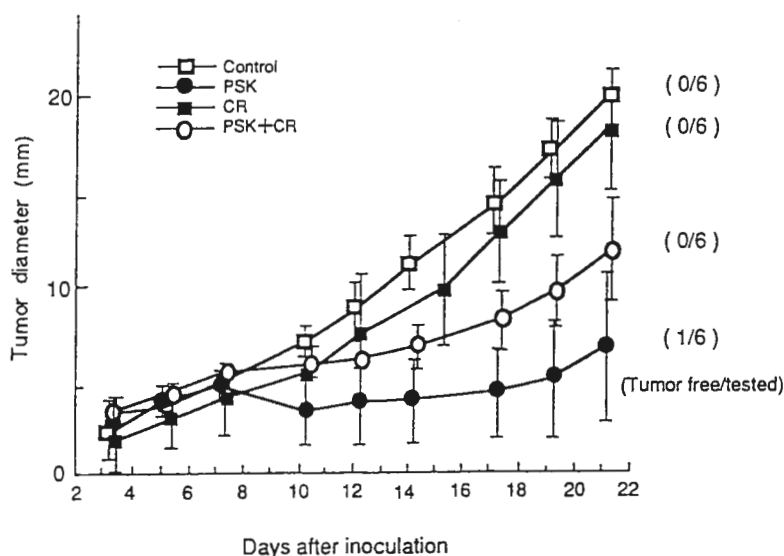


図 4. Antitumor Effect by Combining PSK with CR in the Double Grafted Tumor System (Left Tumor)

の根茎から抽出された図5.に示すような6種類のbiscoclaurine alkaloidから構成されている製剤である。そこでCRの構成アルカロイドであるCepharanthine, Isotetrandrine, Cycleanine, Cepharanoline, Homoaromoline, Berbamineをそれぞれの0.5mgずつを3回右側腫瘍内に投与したところ前報で示すように右側腫瘍では抗腫瘍効果が見出されるが、左側腫瘍では抗腫瘍効果は見出されなかった。そこで6アルカロイド精製品の混合物を作成し、“二重移植腫瘍系”で抗腫瘍効果を調べたと

ころ、図6.表2.に示すように右側腫瘍は著明な抗腫瘍効果を認め、左側腫瘍も弱いながら抗腫瘍効果が見出された。以上の結果からCRを精製して6個のアルカロイドに分画してしまうと右側腫瘍に対する抗腫瘍効果はあるが、左側腫瘍に対しては抗腫瘍効果は見出されなくなる。すなわちCRのような混合物の方がアルカロイド間の結合により立体構造を保ち抗腫瘍免疫を誘導するが、精製してしまうと抗腫瘍免疫を誘導しなくなる可能性が示唆された。

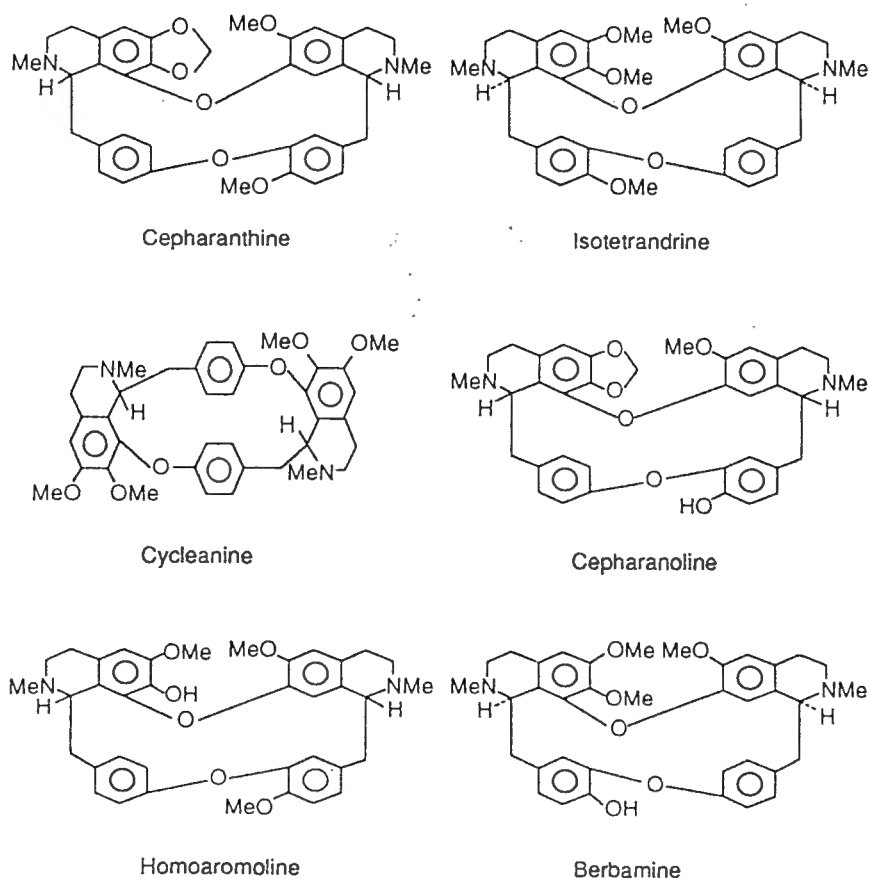


図5. Structures of Six Bisbenzylisoquinoline Alkaloids in Cepharanthin™

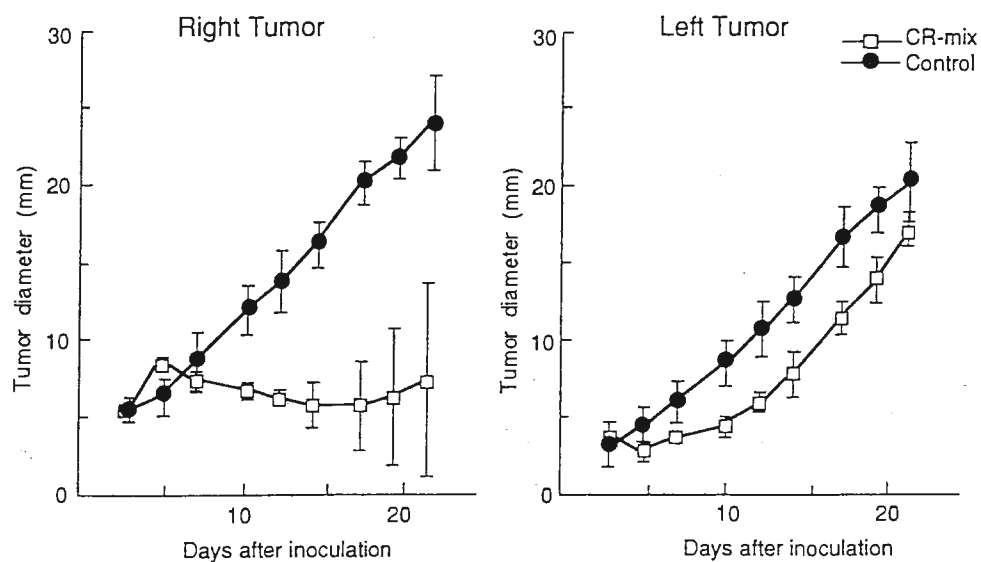


図 6. Antitumor Effect of Cepharanthin-mix in the Double Grafted Tumor System

表 2. Antitumor Effect of Cepharanthin-mix in the Double Grafted Tumor System

	Right tumor			Left tumor		
	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm±S.D.)	Tumor weight (g±S.D.)	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm±S.D.)	Tumor weight (g±S.D.)
Control	0/7	24.7±3.1	3.7±0.9	0/7	20.5±2.6	2.7±0.8
Cepharanthin-mix	2/6	7.5±6.4 **	0.4±0.5 **	0/6	17.2±1.3 *	2.0±0.5

Significant difference from the control ; $p < 0.01$, ** $p < 0.05$ *

参考文献

- 1) 海老名卓三郎、石川慶子、村田和子：植物性アルカロイド製剤セファランチンの二重移植腫瘍系における抗腫瘍効果。癌と化学療法17(6) 1165-1171 (1990)。
- 2) 海老名卓三郎、村田和子：PSKの二重移植腫瘍系における抗腫瘍効果(5) 手術療法との比較とIL-8, MCAFの産生。BIOTHERAPY 4(4) 915-922 (1990)。
- 3) 海老名卓三郎、村田和子：植物性アルカロイド
- 4) Takusaburo EBINA, Kazuko MURATA and Keiji TAMURA: Antitumor Effect of Intratumoral Administration of Biological Response Modifiers: Induction of Immunosuppressive Acidic Protein, a Type of α_1 -Acid Glycoprotein, in Mice. Jpn. J. Cancer Res. 85, 93-100 (1994)。

抗ヒト毛髪ケラチン抗体の作製とその特性

（第1報）兎抗体の利用

打和 秀世¹⁾ 平野 真¹⁾ 小野 靖子¹⁾
村上 梅司¹⁾ 太田 実²⁾ 海老名卓三郎³⁾

要 旨

傷んだ毛髪に特異的に結合し、保護する物質として、ヒト毛髪ケラチン蛋白で免疫した兎抗体を利用することが出来た。ヒト正常毛髪から分子量40～70KDのケラチンを精製し、その2mgを完全アジュバントと共に兎の皮下に3回免疫した後、最後に耳静脈より追加免疫し、1週間後採血し、抗体を得た。抗体価がELISA法で免疫前 10^3 以下であったものが 5.5×10^5 に上昇していた。この抗体は毛髪ケラチンと結合し、表皮ケラチンには結合しない特異性を示した。又、この抗体はヒト正常毛髪に結合するが、特に次亜塩素酸ナトリウム処理やブラッシング処理した損傷毛髪に多く結合することがわかった。兎抗ヒト毛髪ケラチン抗体で処理した毛髪は非免疫抗体やPBSで処理した毛髪に比べ有意に破断強度が強くなっており、この抗体の毛髪保護作用を示した。

緒 言

一般に毛髪は、洗髪、ブラッシング、ドライヤーによる熱、パーマやヘアカラー等による美容処理を繰り返して施術することにより、損傷劣化し、毛髪表面及び内部の構造が破壊される。その結果、乾燥してぱさついたり、強度低下を引き起こしたり、枝毛や切れ毛を生じたりする。これに伴い、毛髪の構成成分である蛋白質がシャンプー、パーマ、ヘアカラー等の処理により溶出し、毛髪から少しずつ消失してゆく。蛋白質の溶出によって、毛髪はやせ衰えてますます損傷が進行する。毛髪は一度損傷すると自分の力で元に戻ることは不可能であり、このことから、美しく健康な毛髪を保持する為には、損傷を防ぐとともに、損傷した場合

には毛髪を修復することが必要である。

従来この目的のために、シャンプー、リンスやトリートメント剤等の毛髪化粧料には、毛髪の保護成分として天然物由来の各種蛋白質加水分解物やそれらの誘導体が用いられている。しかし、これらの物質は毛髪への吸着力は極めて小さく、特に水溶性であるために簡単に水で洗い流されてしまう等欠点を有し、十分な効果が得られていなかった。

毛髪に対する抗体を用いて、毛髪損傷の予防及び修復する方法が考えられる。人毛髪の成分蛋白質の1つであるケラチンに対する抗体がウサギ、マウス、モルモットあるいは脾臓細胞培養液で作成されていることが知られている^{1)~3)}。しかしマウスあるいはモルモット由来の抗体は表皮由来のサイトケラチンとも反応して、組織学的に表皮由来細胞組織を染めることが示されている。これにより、できた抗体がかならずしも毛髪特異的でなく、頭皮にも反応することが予想される。更に組織学的検討において、毛包部および毛根部といった角質化が不完全な柔らかい組織での抗体の結合性が論じられているが、完全に角質化した毛幹部への抗体の結合性については明らかではなかった。モノクローナル抗体を使った研究で、田沢²⁾およびFrench⁴⁾はむしろ角質化した部位には抗体が結合しないと論じている。

今回我々はヒト毛髪からケラチンを精製し、ウサギに免疫することにより、ヒト毛髪ケラチンに特異的に結合する抗体を作成した。これを使って毛髪に対する効果を調べたので報告する。

材料と方法

1. ケラチン画分の調製

Chao⁵⁾およびBaden⁶⁾の変法にて行った。すなわち、30歳男性の正常毛髪500mgを2%ポリオキシエチレンラウリル硫酸ナトリウム(3E.O.)にて洗浄後、6M尿素、0.2M2-メルカプトエタノール含有0.2Mトリス塩酸緩衝液(pH 9.2) 125mlに加え、50℃チッ素気流下1時間攪拌し、これをテフロンホモゲナイザー

1) 鐘紡株式会社生化学研究所

2) 東北大学農学部附属農場

3) 宮城県立がんセンター研究所

平成5年1月29日受付，平成6年1月19日掲載決定

別刷請求先：(〒250) 小田原市寿町5丁目3-28 鐘

紡株式会社生化学研究所 村上 梅司

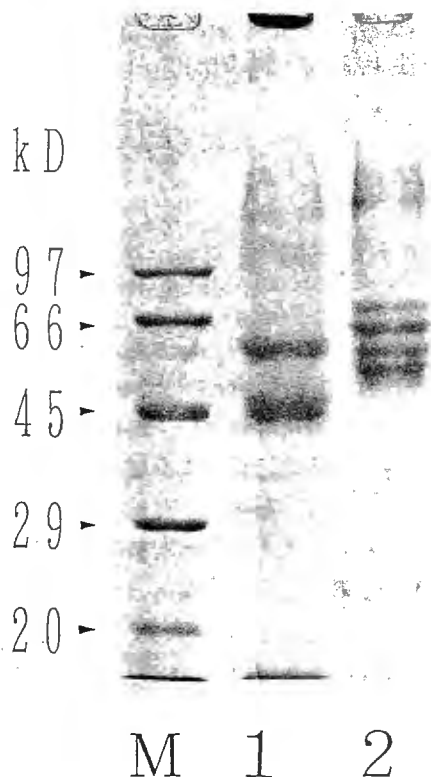


図1 精製毛髪ケラチンの SDS-PAGE 像
M；分子量マーカー，1；毛髪抽出上清，2；カルボキシメチレーションにより可溶化したケラチン画分

を用いてすりつぶした。更にこの抽出操作を繰り返す、遠心後この抽出上清に15gのモノヨード酢酸を添加し、室温、遮光下で攪拌し1.5時間反応させた。これを水透析し、最終濃度0.2M KCl 含有0.1M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 4.2) になる様に添加し、等電点沈殿する画分を集めた。この操作を繰り返す、図1に示す分子量40～70KDのケラチン画分を140mg 得た。

2. 免疫方法

抗原液を蛋白質濃度2mg/ml に調整し、その溶液と完全フロイントアジュバント (FCA) を1：1の容量割合で混合して油中水型 (W/O) のエマルジョンとした。得られたエマルジョンを各群3匹のウサギの背中数個所に1匹当たり2ml 皮下投与し、2週間後および4週間後更に同量を皮下投与した。7週間目に更に同量の抗原液を耳静脈より静かにゆっくり30分間の時間をかけて投与した。最終投与1週間経過後 (8週目) 試験動物から採血し、遠心分離後、血清を採取した。

3. 抗体価測定

酵素免疫測定法 (ELISA) を用いて測定した。96穴プレートに毛髪ケラチンを3.9ng/well コートし、2次抗体としてペルオキシダーゼ標識抗ウサギ IgG 抗体

を用いた間接抗体法にて行った。

4. 抗体の調製

10ml 抗血清に10ml の PBS (Phosphate-buffered saline, NaCl 8g/l, KCl 0.2g/l/Na₂HPO₄·12H₂O 2.9 g/l, KH₂PO₄ 0.2g/l (pH 7.2)) を加え、これに飽和硫酸アンモニウム溶液 (pH 7.0) 13.5ml を攪拌しながら徐々に添加し、氷冷下1時間攪拌放置した。遠心分離 (10,000×g, 30分) 後沈澱物を集め、10ml PBS にて溶解し、上記硫酸塩析分画を繰り返した。得られた沈澱物を10ml PBS にて溶解後、30ml の水をゆっくり加え遠心分離 (20,000×g, 20分) 後上清を0.2μm フィルターにて濾過した。これを10l の水に対して4℃下透析を行い、遠心分離 (10,000×g, 20分) 後、抗体画分としての上清を得た。これを凍結乾燥し使用まで4℃で保存した。

5. ケラチンと抗体との結合実験

毛髪由来のケラチンと皮膚由来のケラチンに対する抗体の反応性をウエスタン・ブロッティング法を用いて試験した。毛髪由来のケラチンと、皮膚由来のケラチン (シグマ社製, K0253) 各々90ng を SDS-10% ポリアクリルアミドゲル電気泳動法にて展開し、これを Towbin ら⁹⁾の方法に従って蛋白質をニトロセルロース膜 (ATTO 社製) に転写した。1次抗体として抗血清を生理トリス塩酸緩衝液 (pH 7.6) を用いて30,000倍希釈したものを用いた。検出はブロッティング検出キット (アマシャム社製 RPN23 ビオチン化抗ウサギ IgG 抗体とストレプトアビジンアルカリホスファターゼ複合体を用いた検出キット) を用いた。なお、対照として示した CBB 色素染色の場合の泳動展開蛋白質量は各々4.5μg とした。

6. 毛髪処理

正常毛髪は2%ポリオキシエチレンラウリル硫酸ナトリウム (3E.O.) にて洗浄、風乾し試験に供した。毛髪の損傷は次の様に行った。

次亜塩素酸処理毛髪：正常毛髪を500ppm の次亜塩素酸ナトリウム水溶液 (pH 7.0) に2回1時間浸漬し、その後充分水洗し、風乾後試験に供した。

ブラッシング処理毛髪：正常毛髪をタワシにて500回ブラッシング後、充分水洗し、風乾後試験に供した。

7. 毛髪結合抗体量の測定方法

30mg の毛髪を0.05% Tween-20 含有 PBS (PBS-T) に溶解させた抗体溶液2ml 中に入れ、室温下30分間おだやかに回転攪拌させる。毛髪を取り出し、20ml PBS-T にて洗う操作を5回繰り返す。更に2ml PBS-T 中で

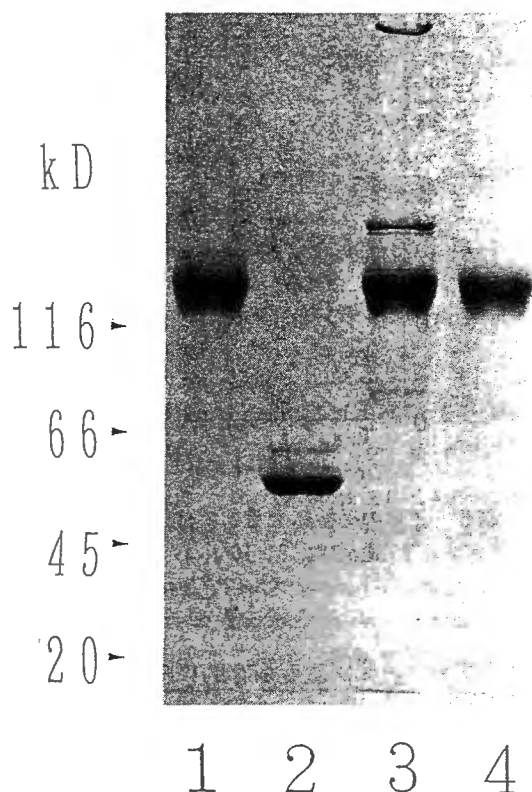


図2 精製抗体のSDS-PAGE像

1: 兎IgG(市販品), 2: 免疫兎血清, 3: 血清の硫酸塩析画分, 4: 最終水透析上清

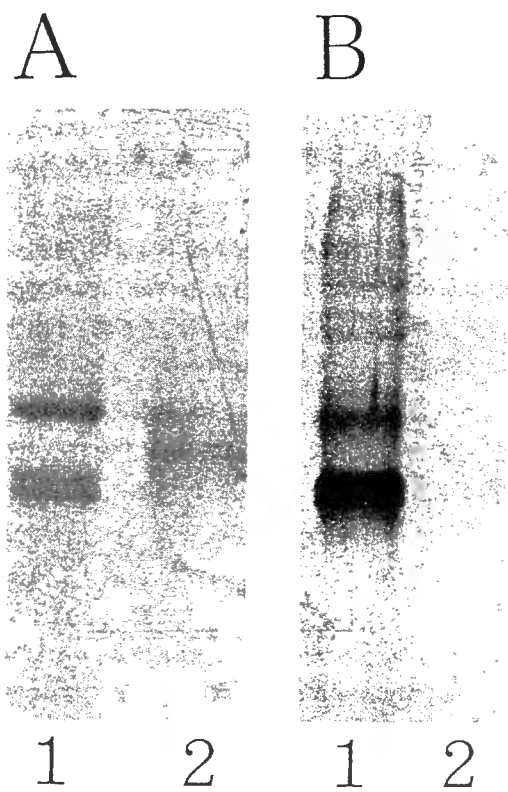


図3 ウェスタン・ブロッティングによる免疫抗体の交叉性検定

A; CBB 染色, B; 免疫抗体染色, 1; 毛髪ケラチン, 2; 表皮ケラチン

15分間, 続いて0.5M NaCl 添加 PBS-T 中で15分間おだやかに回転撹拌させ, 非特異的吸着の蛋白質を洗う。

この毛髪を2ml の50%エチレングリコール, 0.05% Tween (pH 11) 溶液に入れ, 室温下30分間おだやかに回転撹拌させ, 特異的に結合した抗体を毛髪から溶出させる。この溶出液中の抗体量(ウサギIgG量)をELISAにて測定することによって求めた。

8. IgG量測定

ELISAを用いて測定した。96穴プレートに抗ウサギIgG F(ab')₂抗体をコートし, 2次抗体としてペルオキシダーゼ標識抗ウサギIgG Fc抗体を用いた間接抗体法にて行った。

9. 毛髪の破断強度測定

女性の未処理毛髪1gを束ねてサンプルとし, PBSにて0.1%に溶解させた抗体溶液15mlに30℃で1時間浸漬した。流水中で30分間洗浄した後, 45℃で風乾した。毛束より50本の毛を無作為に取り出し, ヘアテスター(L.B. Chemical社製)を用いて破断強度を測定した。対照として免疫していないウサギより精製した抗体溶液を用い, PBSに浸漬したものに対する統計的

比較(t-検定)を行った。

実験結果

1. 毛髪ケラチン免疫ウサギ血清からの抗体精製

家ウサギ3匹にヒト毛髪ケラチンを免疫し, 8週間後血清に関しELISA法にてその抗体価を測定したところ, 免疫前 10^3 以下であったものが平均 5.5×10^5 に上昇した。

次にその抗体を材料と方法で記した方法に従い精製し, SDS-PAGEで解析したところ図2の4に示す単一バンドの抗ヒト毛髪ケラチン抗体を得た。

2. 毛髪ケラチンと抗体との結合

抗ヒト毛髪ケラチン抗体が毛髪ケラチンと特異的に結合するかについて, 表皮ケラチンを対照にウェスタン・ブロッティング法を用いて分析した。図3に示すようにCBB色素染色で毛髪ケラチンと表皮ケラチンが染まっている条件下で, 抗ヒト毛髪ケラチン抗体染色をすると毛髪ケラチンだけが染まり, 表皮ケラチンは染まらなかった。

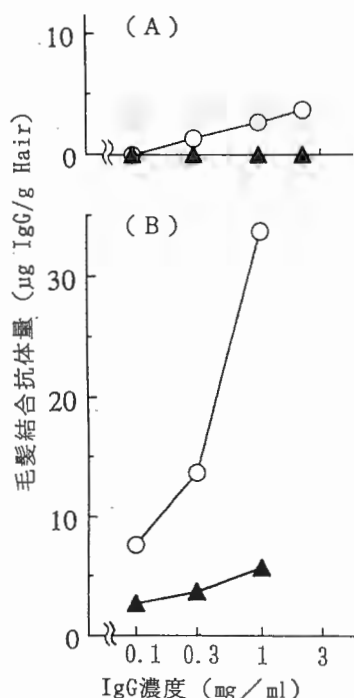


図4 正常毛髪と傷んだ毛髪への抗体の結合量
A: 正常毛髪, B: 次亜塩素酸処理毛髪, ○: 抗毛髪ケラチン抗体, ▲: 非免疫抗体

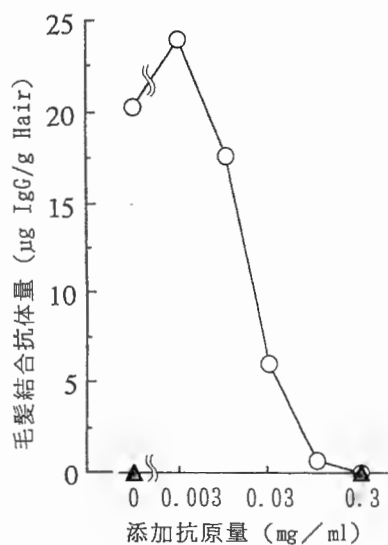


図6 毛髪結合抗体の吸収実験
○: 抗毛髪ケラチン抗体, ▲: 非免疫抗体

3. 毛髪結合抗体の特性

抗ヒト毛髪ケラチン抗体あるいは非免疫抗体を0.1~2.3mg/mlに調製し、未処理毛あるいは次亜塩素酸ナトリウム処理した毛髪に対する抗体の結合量を測定した。

その結果、図4に示すように特に次亜塩素酸処理毛

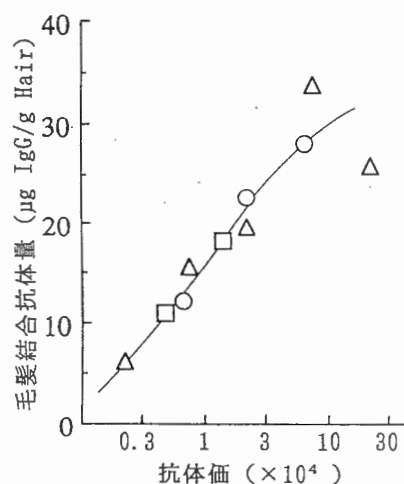


図5 抗体の毛髪結合量と抗体価との関係
○: サンプルI (比活性 2.2×10^5), △: サンプルII (比活性 7.7×10^4), □: サンプルIII (比活性 4.6×10^4)

髪に抗ケラチン抗体が濃度依存的に結合することが分かった。

次に比活性の異なる3ロットの抗ヒト毛髪ケラチン抗体 (サンプルIの比活性: 2.2×10^5 , サンプルII: 7.7×10^4 , サンプルIII: 4.6×10^4) を各種濃度に調製し、ブラッシング処理した毛髪に対する抗体の結合量を測定した。その結果、図5に示すように抗体価に依存して毛髪に結合していることが分かった。

次に抗ヒト毛髪ケラチン抗体 (最終濃度1mg/ml) にヒト毛髪ケラチン (最終濃度0~0.3mg/ml) を添加し、室温下1時間反応させた。生じた沈澱物は遠心で除去し、上清にブラッシング処理した毛髪を入れ、毛髪結合抗体量を測定する吸収実験を行った。

その結果、図6に示すように抗ヒト毛髪ケラチン抗体の毛髪への結合量が、添加したヒト毛髪ケラチンの濃度に依存して減少した。

4. 毛髪の破断強度への影響

抗ヒト毛髪ケラチン抗体および非免疫抗体で処理した毛髪の強度を単位面積当たりの破断強度で比較した。表1に示すように有意に抗ヒト毛髪ケラチン抗体で処理した毛髪の破断強度が向上していた。

考 按

ケラチンは、皮膚、毛、爪、鱗、羽毛などに存在する構造タンパク質で、現在の定義ではケラチン型中間径フィラメントの構成タンパク質になる。各種ケラチンに対する抗体が作製され、細胞分化の研究や腫瘍診断などに応用されている^{7)~9)}。今回我々は抗ヒト毛髪ケラチン抗体を作製し、毛髪の損傷予防・修復への応

表1 抗体処理毛髪の破断強度

処 理	単位面積当たりの 破断強度 (g/mm ²)
抗ケラチン抗体	1.74±0.44*
非特異的抗体	1.43±0.38
PBS	1.56±0.42

(mean±SD) *p<0.05

用を試みた。

抗ヒト毛髪ケラチン抗体の毛髪と皮膚に対する反応性について、Baden ら¹⁾は二重ゲル拡散法を使った実験で兎血清由来の抗ヒト毛髪ケラチン抗体が毛髪ケラチンと結合し、皮膚ケラチンと結合しないことを報告している。同様の結果が、竹部ら¹⁰⁾のオクタロニー法を使った研究で報告されている。

Cotton ら¹¹⁾は兎血清由来の抗ヒト毛髪ケラチン抗体は毛包組織に反応するが表皮組織には反応しない傾向があることを組織免疫学的に示した。これと相反して、毛器官と他の上皮が交差反応を示すという報告がある¹²⁾がポリクロナール抗体を使った研究の多くは交差反応を示していない¹⁰⁾¹³⁾¹⁴⁾。モノクローナル抗体を使った伊藤らの系統だった組織免疫学的研究によって、毛器官には反応するが他の上皮に反応しない抗ヒト毛髪ケラチン抗体^{15)~17)}、および毛器官と他の上皮の両方に反応する抗ヒト毛髪ケラチン抗体²⁾¹⁵⁾が確かめられている。おそらく、血清由来のポリクロナール抗体に含まれる各種特異抗体の量比の違いによって組織免疫学的感度がモノクロナール抗体に比べ、低くなっているためと思われる。

いずれにしても、これらの結果は抗ヒト毛髪ケラチン抗体が毛器官に反応することを示しているが、角化した毛の外表面に結合する事を必ずしも意味してはいない。

今回我々は精製したヒト毛髪ケラチン (図1) をウサギに免疫し、10⁵の抗体価を得、これから抗ヒト毛髪ケラチン抗体 (図2) を精製した。これはBaden らの

文

結果¹⁾と同様に表皮ケラチンと交叉せず、毛髪ケラチンと結合した (図3)。そして、図4に示されるように、この抗ヒト毛髪ケラチン抗体は角化した毛髪に結合することがわかった。毛髪への結合量は容量依存性を示し、損傷毛髪に対してはより多い量の抗体が結合した。一方、ヒト毛髪ケラチンで免疫していない血清から得た非免疫抗体は、ほとんど毛髪に結合しなかった。また、毛髪への抗体の結合様式は、結合量が抗体価に比例して増し (図5)、かつ抗体の吸収実験の結果 (図6) を考え合わせると、抗原抗体反応を介して起こっていることが明らかになった。

田沢²⁾が作成した毛髪線維タンパク質に対する単クローン抗体は、角化過程が進行した表皮および毛皮質細胞に結合して、角化が完成した表皮および毛皮質細胞にはあまり結合していない。田沢の抗原調製法から判断する限り、我々の抗ヒト毛髪ケラチン抗体中に田沢のモノクローナル抗体が含まれると考えられるが、その割合が低いため、表皮への結合が観察されなかったものと考えている。

抗ヒト毛髪ケラチン抗体が結合すると毛髪の物性がどの様になるのかを調べた。この抗体が結合する事に依って毛髪は破断強度を増した (表1)。このことからすぐには抗ヒト毛髪ケラチン抗体が毛髪保護剤として応用できるとは言えないが、毛髪ケラチンに結合し、皮膚ケラチンには結合しない選択性を持ち、健常毛髪よりも損傷毛髪により一層多く結合し、しかも毛髪自体の強度を向上させることから、毛髪保護剤として期待できる素材であることには違いない。

また、他の応用として、抗原をヒト毛髪ケラチンから別の毛髪成分に換えることによって異なる機能を毛髪に付与できる可能性がある。さらに、図4に示した様に毛髪表面の違いを識別しうる可能性があることから、各種毛髪成分に対する抗体を組み合わせることにより、毛髪診断も可能と考えている。

今後これらのことを詳細に究明すると共に大量に抗体を得る方法の開発を進めていきたい。

献

- 1) Baden HP, McGilvary N, Lee LD, Baden L, Kubilus J: Comparision of stratum corneum and hair fibrous proteins, *J Invest Dermatol*, 75: 311-315, 1980.
- 2) 田沢敏男: 抗毛ケラチン単クローン抗体 (HKN-2) による正常ヒト皮膚の免疫組織学的研究, 日皮会誌, 95: 157-165, 1985.
- 3) Heid HW, Werner E, Franke WW: The com-

- plement of native α -keratin polypeptides of hair-forming cells: A subset of eight polypeptides that differ from epithelial cytokeratins, *Differentiation*, 32: 101-119, 1986.
- 4) French PW, Hewish DR: Localization of low-sulfur keratin proteins in the wool follicle using monoclonal antibodies, *J Cell Biol*, 102: 1412-1418, 1986.

- 5) Chao J, Newsom AE, Wainwright IM, Mathews RA: Comparison of the effects of some reactive chemicals on the proteins of whole hair, cuticle and cortex, *J Soc Cosmet Chem*, 30: 401-413, 1979.
- 6) Towbin H, Staehelin T, Gordon J: Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications, *Proc Natl Acad Sci USA*, 76: 4350-4354, 1979.
- 7) Moll R, Franke WW, Schiller DL: The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells, *Cell*, 31: 11-24, 1982.
- 8) 北島康雄: 中間径フィラメントの基礎と腫瘍診断, 臨皮, 43: 217-225, 1989.
- 9) Ito M: The morphology and cell biology of the hair apparatus, *Acta Medica et Biologica*, 38: 51-67, 1990.
- 10) 竹部正志: Hair fibrous protein (HFP) の免疫組織学的検討, 日大歯学, 60: 176-184, 1986.
- 11) Cotton DWK, Kirkham N, Young BJ: Immunoperoxidase anti-keratin staining of epidermal and pilar cysts, *Br J Dermatol*, 111: 63-68, 1984.
- 12) Weber K, Osborn M: Antibodies against merokeratin from sheep wool decorate cytokeratin filaments in non-keratinizing epithelial cells, *Eur J Cell Biol*, 23: 110-114, 1980.
- 13) Heid HW, Moll I, Franke WW: Patterns of expression of trichocytic and epithelial cytokeratins in mammalian tissues, *Differentiation*, 37: 137-157, 1988.
- 14) Bertolino AP, Checkla DM, Heitner S, Freedberg IM, Yu D: Differential expression of type I hair keratins, *J Invest Dermatol*, 94: 297-303, 1990.
- 15) Ito M, Tazawa T, Ito K, Shimizu N, Katuumi K, Sato Y: Immunological characteristics and histological distribution of human hair fibrous proteins studied with anti-hair keratin monoclonal antibodies HKN-2, HKN-4, and HKN-6, *J Histochem Cytochem*, 34: 269-275, 1986.
- 16) 田沢敏男, 伊藤雅章, 清水直也, 伊藤 薫, 佐藤良夫: 抗ケラチン単クローン抗体(HKN-5, HKN-6, HKN-7 および HKN-8) による正常ヒト成長期毛組織の免疫組織化学的研究, 日皮会誌, 195: 1153-1157, 1985.
- 17) Ito M, Tazawa T, Shimizu N, Ito K, Katuumi K, Sato Y, Hashimoto K: Cell differentiation in human anagen hair and hair follicles studied with anti-hair keratin monoclonal antibodies, *J Invest Dermatol*, 86: 563-569, 1986.

Production of Anti-Hair Keratin Antibody and Its Biological Activity (1st Report) —A Utilization of Rabbit Antibody—

Hideyo Uchiwa¹⁾, Makoto Hirano¹⁾, Yasuko Ono¹⁾, Umeji Murakami¹⁾,
Minoru Ohta²⁾ and Takusaburo Ebina³⁾

¹⁾Biochemical Institute, Kanebo-Co. Ltd.

²⁾Kawatabi Farm, Faculty of Agriculture, Tohoku University

³⁾Division of Immunology, Research Institute Miyagi Cancer Center

(Received January 29, 1993; accepted for publication January 19, 1994)

Rabbits were immunized subcutaneously with 2 mg of the purified human hair keratin with complete Freund's adjuvant 3 times at 2-week intervals and boosted intravenously 1 week before blood collection. Rabbit serum containing antibody to human hair keratin with 5.5×10^5 ELISA titer was obtained. The rabbit antibody bound specifically to hair keratin, not to epidermal keratin. It bound especially to sodium hypochlorite-treated or brush-damaged hair. Normal hair treated with the rabbit antibody was significantly more resistant than that treated with non-immunized antibody to a breaking test. These results suggest that the rabbit antibody is useful as a protective agent for damaged hair.

(*Jpn J Dermatol* 104: 855-860, 1994)

Key words: anti-hair keratin, rabbit antibody, damaged hair

抗毛髪ケラチン抗体の作製とその特性： 牛初乳ならびに常乳の利用

海老名卓三郎・太田 実*・打和秀世**・村上梅司**

宮城県立がんセンター研究所，名取市 981-12

* 東北大学農学部附属農場，宮城県鳴子町 989-67

** 鐘紡(株)生化学研究所，小田原市 250

(1993. 7. 5 受付)

要 約 皮膚ケラチンとは反応せず，毛髪に特異的に結合し，毛髪の破断強度を上げる抗毛髪ケラチン抗体を含む初乳ならびに常乳を免疫牛に産生させた。人毛髪ケラチン 50 mg を出産 60 日前のホルスタイン牛に筋肉内に注射し，(2~3) 週間後に同抗原を乳房内または乳房リンパ節附近に投与すると，血中抗体価ならびに初乳中の毛髪ケラチンに対する抗体価は 10^5 に上昇した。この時，免疫牛一頭の初乳中に (1~1.5) kg の IgG を産生することが出来た。さらにこれらの免疫牛に分娩 2~3 カ月後ケラチンを 50 mg ずつ筋肉注射し，4 週おきに同抗原を筋肉内注射又は腹腔内注射を 3 回行なったところ，常乳中に初乳と同等の比活性を持った抗体が出来ることを見出した。常乳では 300 日間搾乳することができ，全体では (4~5) kg の IgG を得ることが出来る。これより，初乳に加えて常乳を抗体生産に利用することが可能となった。

日畜会報，65 (6) : 580-590, 1994

われわれは先の報告¹⁶⁾で，毛髪ケラチンに対する抗体が皮膚ケラチンに結合せず，毛髪に抗原・抗体反応で結合すること，そしてこの結合によって毛髪損傷の改善が期待できることを報告した。しかしながら使用した抗体はウサギ血清由来であり，これから得られる抗体の量は少なく，抗体の生産コストが高くつくため，毛髪分野への実用化は困難であった。

抗体の大量生産方法については，牛初乳⁵⁻⁷⁾，牛常乳，および鶏卵黄⁸⁾を利用する方法が考えられる。中でも EBINA らが報告している牛初乳由来抗体を利用したロタウイルス下痢症の予防，ならびに治療法の発見^{5,7,9)}と実用的応用¹⁰⁾はその可能性を示している。

従来牛の初乳は常乳と成分が異なるため，子牛に与えた残りは利用されず捨てられていた。ところが初乳中には IgG, IgA, IgM が常乳に比して数 10 倍から 100 倍以上多く含まれ，特に IgA は蛋白分解酵素に抵抗性で，ウイルスに対する中和抗体価の比活性も高いことが分かった^{5,6)}。そこで今まで捨てられていた初乳を利用すべく，われわれは妊娠 8 カ月のホルスタイン乳牛に麻疹ウイルス⁶⁾やヒトロタウイルス^{7,10)}を免疫し，この初乳の抗ウ

イルス活性を証明してきた。これらのことは，牛初乳を抗体大量生産に利用することの価値が高いことを示している。

本報では，抗毛髪抗体の大量生産法として牛初乳ならびに常乳の利用に注目し，詳細な免疫条件および得られた抗体の毛髪に及ぼす効果を検討した。その結果，牛初乳ならびに常乳から得られた抗体は，ウサギ血清由来抗体¹⁶⁾と同様の損傷毛髪の強度低下を修復する特性を持ち，且つ大量に生産できることを見出したので報告する。

材料および方法

1. 抗原

抗原の調製は，BADEN ら¹⁾の方法に準じて行なった。日本人毛髪 20 g を 5 l 8 M 尿素および 0.2 M β -メルカプトエタノールを含む 0.2 M トリス塩酸緩衝液 (pH 9.2) で，窒素気流下 50°C，1 時間抽出後に摩砕した。遠心後上清を集め，遮光下で 400 g のモノヨード酢酸 (pH 8.0) を加え，1.5 時間室温で穏やかに攪拌した。反応は β -メルカプトエタノールを添加して停止した。水で透析後，

1/4 容量の 1 M KCl を含む 0.5 M 酢酸緩衝液 (pH 4.1) を添加し、等電点沈澱する区分を集めた。これを生理食塩水に溶解後、0.2 μ m 孔の膜を用いて濾過し、限外濾過濃縮して抗原溶液 200 ml (20 mg/ml) を得た。

2. 免疫方法

常法に従い、2 本の注射筒を用いて抗原溶液と完全フロイントアジュバント (FCA) または不完全フロイントアジュバント (FIA) (以上 Difco laboratories 社, ミシガン) を混和し、油中水 (W/O) 型の乳化物とした。投与抗原量は、牛 1 頭当たり皮下注射の場合 (10~200) mg/回、筋肉内注射の場合 (10~50) mg/回、乳腺内、リンパ節内、腹腔内接種の場合 50 mg/回とした。

3. 乳牛

妊娠ホルスタイン牛 17 頭、年齢は (3~7) 年、体重 (530~690) kg を用いた。このうち牛 No. 605, 624, 575, 598 は 2 年にわたり免疫した。牛 No. 500 は分娩後 3 日目にリンパ節内に追加免疫した。

供試牛は、毎月 1 回体重を測定し、健康状態を観察した。また、分娩後は毎月搾乳量を計量した。

4. 抗体価測定

血清中及び乳中の抗体価の測定には、酵素免疫測定法 (Enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA) を用いた。ELISA は、96 穴プレートの各穴に 3.9 ng/ml の抗原を 0.1 ml 吸着反応させ、2 次抗体としてペルオキシダーゼ標識抗牛 IgG 抗体 (E.Y. Laboratories 社, カリフォルニア) を用いた間接抗体法で行ない、抗体価を測定した。比活性は単位抗体濃度当りの抗体価として算出した。

比活性 = [抗体価 (Titer)/IgG 濃度] (l/g)

5. 免疫グロブリン量測定

血清中および乳中の免疫グロブリン量 (IgM, IgA, IgG, IgG₁, IgG₂) の測定は、一元放射状免疫拡散法 (Single radial immunodiffusion; SRID) を用い、SRID キット (Binding Site 社, バーミンガム) を使用した。

6. 脱脂操作

搾乳した初乳は日量約 4 l を子牛に与え、残りを 20 l のポリ容器に入れ -20°C または 4°C に長くとも 3 日保存しておいた。脱脂操作は、クリームセパレーターを用い、個体別に分画操作を行なった。

7. 抗体の精製

脱脂乳に 0.1 N 塩酸を添加して pH 4.5 にシカゼインを沈澱除去した。得られた上清を中和した後、33% 飽和になるように硫酸アンモニウムを加え、抗体を塩析させた。遠心分離して得た抗体は生理食塩水に溶解し、この

硫酸塩析をさらにもう一度行なった。10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) にて透析し、蛋白質として約 60 g 相当量を同緩衝液にて平衡化した Diethylaminoethyl (DEAE) セルロースカラム (直径 7.2 cm × 50 cm, 流速 20 ml/min, 4°C) に供した。同緩衝液で非吸着画分を溶出した。50 mM 塩化ナトリウム含有同緩衝液で溶出する画分を集めた。Sodium Dodecylsulfate (SDS) 電気泳動、およびゲル濾過分析法で調べた抗体の純度は 90% 以上であった。

さらにこの画分を抗原として用いた毛髪ケラチンを結合させた担体 (アフィゲル 15) を使ったアフィニティークロマトグラフィーに供した。毛髪ケラチンとアフィゲル 15 の結合は、3- (N-Morpholino) propanesulfonic acid (MOPS) 緩衝液 (pH 7.5) 中、ゲル 1 ml 当たり 8 mg の毛髪ケラチンを加え、4°C で一昼夜反応させた。エタノールアミン HCl (pH 8.0) で未反応活性基のブロッキングを行なった。このゲルを PBS (Phosphate-buffered saline, NaCl 8.0 g/l, KCl 0.2 g/l, Na₂HPO₄ · 12 H₂O 2.9 g/l, KH₂PO₄ 0.2 g/l (pH 7.2)) で洗浄、平衡化し、アフィニティークロマトグラフィー (直径 1 cm × 20 cm, 流速 20 ml/h, 4°C) を行った。DEAE 精製抗体 7 g 相当量をカラムに供し、非吸着画分を除いた後、0.2 M グリシン-塩酸緩衝液 (pH 2.5) で溶出した。抗体価の収率は 100% で定量的に回収されており、比活性は 100 倍に上がり特異的な抗体のみからなる抗毛髪ケラチン抗体を得た。

対照抗体は、非免疫牛初乳を用いて同様の方法で DEAE セルロースカラムイオン交換クロマトグラフィーを行ない、その吸着画分から得た標品をもってした。

8. 毛髪結合試験

男性 (26 才) の正常毛髪の凍結切片 (6 μ m) をゼラチンを塗布した無蛍光スライドガラスにパラホルムアルデヒド固定した。アフィニティークロマトグラフィーで精製した抗毛髪ケラチン抗体あるいは対照抗体を、10% ウサギ血清含有 PBS で 0.5 mg/ml に稀釈し、室温で 30 分間反応させた。PBS で洗浄後、2 次抗体としてのローダミン標識ウサギ抗牛イムノグロブリン抗体を室温で 30 分間反応させた。PBS グリセリンで封入し、OLYMPUS 落射型蛍光顕微鏡で観察した。

9. 皮膚ケラチンの反応性試験

毛髪由来のケラチンと皮膚由来のケラチン (シグマ社, ミズーリー, K 0253) 各々 50 ng を、SDS-10% ポリアクリルアミドゲル電気泳動法にて展開し、これを TOWBIN ら¹⁴⁾ の方法に従って蛋白質をニトロセルロース

膜（ミリポア・リミテッド社製）に転写し、1.7 μ g/ml の DEAE セルロースイオン交換クロマトグラフィーで調製した抗毛髪ケラチン抗体を使い、ウェスタン・ブロッティングを行なった。なお、Coomassie Brilliant Blue (CBC) 染色を対照とした。

10. 毛髪の破断強度測定

ブラッシングで1万回処理した女性の毛髪1gを束ねて毛髪サンプルとした。DEAE セルロースイオン交換ク

ロマトグラフィーで調製した毛髪ケラチン抗体をPBSで0.01%, 0.1%, 1% に溶解させ、この溶液10 ml に30℃で1時間毛髪サンプルを浸漬した。流水中で10分間洗浄した後、45℃で風乾した。毛束より70~80 μ mの太さの毛髪50本を無作為に取り出し、ヘアテスター（L. B. ケミカル社製、東京）を用いて破断強度を測定した。対照抗体として免疫していない牛初乳より精製した抗体溶液を用い、PBSに浸漬したものに対する統計的比較

Table 1. Hair keratin immunization groups

Group No.	Cow No.	Inoculum size	Route of inoculation	Time of inoculation
1	493	1st dose : 10 mg+FCA	sc	8 weeks before parturition
		2nd~6th : 10 mg+FIA	sc	10 days intervals
	614	1st dose : 10 mg+FCA	sc	8 weeks before parturition
		2nd~4th : 10 mg+FIA	sc	10 days intervals
		5th~6th : 10 mg+FIA	im	10 days intervals
	525	1st dose : 50 mg+FCA	sc	8 weeks before parturition
		2nd~6th : 50 mg+FIA	sc	10 days intervals
	605	1st dose : 50 mg+FCA	sc	8 weeks before parturition
		2nd~4th : 50 mg+FIA	sc	10 days intervals
		5th~6th : 50 mg+FIA	im	10 days intervals
2	527, 617	1st~3rd : 200 mg+FCA	sc	10 days intervals from 40 days before parturition
3	500	1st dose : 50 mg+FCA	im	8 weeks before parturition
		2nd dose : 50 mg+FIA	IMm	2 weeks after 1st inoculation
	612	1st dose : 50 mg+FCA	im	8 weeks before parturition
		2nd dose : 50 mg+FIA	IMm	2 weeks after 1st inoculation
		3rd dose : 50 mg+FIA	im	10 days before parturition
4	464, 583	1st dose : 50 mg+FCA	im	8 weeks before parturition
		2nd dose : 50 mg+FIA	IMm	2 weeks after 1st inoculation
		3rd dose : 50 mg+FIA	IMm	4 weeks after 1st inoculation
5	575, 598	1st dose : 50 mg+FCA	im	8 weeks before parturition
		2nd dose : 50 mg+FIA	ILn	3 weeks after 1st inoculation
6	605	immunize : 50 mg		1 year before (see group 1)
		bst : 50 mg+FIA	IMm	8 weeks and 4 weeks before parturition
7	500	immunize : 50 mg		(see group 3)
		bst : 50 mg+FIA	ILn	3 days after parturition
8	575, 598	bst : 50 mg+FIA	im	1 month intervals, 4 times
	605, 624	bst : 50 mg+FIA	ip	1 month intervals, 4 times
	585, 608	1st dose : 50 mg+FCA	im	
		bst : 50 mg+FIA	im	1 month intervals, 3 times
	620, 625	1st dose : 50 mg+FCA	im	
		bst : 50 mg+FIA	ip	1 month intervals, 3 times

sc=subcutaneously im=intramuscularly IMm=intramammarily ILn=into mammary lymph node region ip=intraperitoneally

牛乳由来毛髪抗体の作製と特性

(*t*-検定)を行った。

結 果

1. 免疫方法の検討

(1) 牛初乳の利用

試験に供した牛および免疫方法を表 1 にまとめた。実験 1 では妊娠 8 カ月のホルスタイン牛 4 頭を使い、10 または 50 mg の毛髪ケラチンを 10 日間間隔で 6 回皮下および筋肉内注射した。初回のみ FCA を使い、以降は FIA を使用したが、初乳中に抗体価 10^4 以上の高い抗体を得ることができなかった。次に実験 2 では妊娠 8 カ月の牛 2 頭を使い投与抗原量を 200 mg に増加し、すべて

FCA を用いて 10 日間隔で 3 回皮下投与した。しかし血中の抗体価もそれ程上昇せず、初乳の抗体価も高くなかった。

そこで実験 3 では TZIPORI ら¹⁵⁾の方法に準じて、出産予定日の 60 日前に FCA と共に抗原 50 mg を筋肉内注射した後、2 週間目に FIA と共に乳房内に注射し免疫した(牛 No. 500)。1 頭はさらに出産予定日の 10 日前筋肉内注射で追加免疫した(牛 No. 612)。投与抗原量はいずれも 50 mg とした。その結果、表 2 に示すように血中の抗体価が 1 頭は 10^5 を越え、他の 1 頭も 4.7×10^4 まで上昇した。ただし、初回免疫から 6 週目の血中抗体価が極大値(牛 No. 500 : 2.0×10^5 , 牛 No. 612 : 9.9×10^4)を示

Table 2. Hair keratin antibody titers and contents of immunoglobulins in colostrum and serum of cows immunized into a mammary gland

Cow No.	Sample		Volume (kg)	Protein (g/l)	Immunoglobulin (g/l)			Titer	Specific activity Titer/IgG (l/g)
					IgM	IgA	IgG		
500	serum	pre-immu.						4.2×10^3	
		calving			2.61	0.19	38.0	1.9×10^5	5,000
	colostrum	calving	10.4	148	3.39	0.89	85.8	1.7×10^6	20,000
		2nd day	7.3	85.4	1.87	0.46	31.1	7.5×10^5	24,000
		3rd day	7.8	55.8	0.64	0.20	14.7	2.1×10^5	14,000
612	serum	pre-immu.						6.6×10^3	
		calving			3.02	0.06	20.6	4.7×10^4	2,300
	colostrum	calving	3.6	135	3.56	1.00	83.4	4.0×10^5	4,800
		2nd day	7.5	62.8	1.36	0.29	19.8	9.7×10^4	4,900
		3rd day	13.6	44.9	0.36	0.09	5.6	3.7×10^4	6,600

Table 3. Hair keratin antibody titers and contents of immunoglobulins in colostrum and serum of cows immunized into a mammary lymph node

Cow No.	Sample		Volume (kg)	Protein (g/l)	Immunoglobulin (g/l)			Titer	Specific activity Titer/IgG (l/g)
					IgM	IgA	IgG		
575	serum	pre-immu.						6.4×10^3	200
		calving						2.1×10^5	10,600
	colostrum	calving	6.0	174	5.85	0.11	104	1.6×10^6	15,400
		2nd day	7.7	59.4	1.56	ND	19.6	3.0×10^5	15,300
		3rd day	3.1	40.8	0.54	ND	7.9	1.1×10^5	13,900
598	serum	pre-immu.						1.5×10^3	50
		calving						3.4×10^4	1,900
	colostrum	calving	13.9	180	4.92	0.96	87.2	5.4×10^5	6,200
		2nd day	12.5	60.5	0.86	0.12	15.0	5.3×10^4	3,500
		3rd day	14.7	37.6	0.28	ND	4.2	1.2×10^4	2,900

ND : not detectable

したものの、7週目以降出産時（牛 No. 500 : 9週目, 牛 No. 612 : 8.5週目）まで穏やかな低下傾向がみられ、追加免疫の時期が至適でなかったことを示していた。得られた初乳中の抗体価も血中抗体価に相応した値が得られた。なお初乳から得られる IgG 量は、1頭より (1~1.5) kg が見込まれた。またこれまで3回の実験でいずれも血中より初乳中の比活性が数倍高く、抗体の乳中への選択的な移行が観察された。

さらに実験4では乳房内追加免疫による牛 No. 500 の効果の再現性を確認すると共に、回数を2度（乳房内投与は2週間後および4週間後）行なうことによるさらなる効果をみた。その結果、2頭とも血中の抗体価がいずれも 10^5 を越えブースト効果を認め、初乳中抗体の抗体価も血中の抗体価と相応して上昇し、比活性は1頭が (17,600~4,800)、他の1頭が (5,500~2,600) と牛 No. 500 と同様の結果を得、乳房内投与の効果を確認した。ただし回数を2度行なうことによる顕著な効果は見られなかった。

そこで実験5では乳房リンパ節への追加免疫の効果を調べた（表3）。出産予定日の60日前に FCA と共に 50 mg の抗原を筋肉注射し、3週間後に FIA と共にリンパ節付近に同量投与した。血中の抗体価からブースト効果を認め、1頭は 10^5 を越え、初乳中抗体の比活性も血中の抗体価と相応して1頭が (15,000~13,000)、他の1頭が (6,200~2,900) と乳房内投与と同様の結果を得（表3）、乳房リンパ節付近への効果を確認した。

いずれの免疫方法でも出産時での血中抗体価の減少が認められたので、出産前後での血中 IgG₁ および IgG₂ 濃度を測定した。結果を図1に示した。IgG₁ 濃度は出産数週間前より急激な低下を認め、出産時には半分以下になっていた。一方 IgG₂ 濃度は出産に関係なく一定値を示した。このことより、出産時の血中抗体価の減少の一因として、IgG₁ の初乳への移行が示唆された。

次に実験6では免疫経験牛への再免疫を試みた。1年前に免疫した No. 605 牛（皮下および筋肉内注射）に出産2カ月前および1カ月前に抗原を乳房内に注入した。この結果、少なくとも1年前に1度免疫した牛はこの毛髪蛋白質に対する抗体生産能を保持しており、1年後の追加免疫により急激な抗体価の上昇を認め初乳中抗体の比活性は (8,100~5,700) であった。ただし、この場合2回目のブースト効果は認められなかった。

(2) 牛常乳の利用

次に実験7では牛 No. 500 を使って、分娩後3日目に FIA と共にリンパ節内に 50 mg 毛髪ケラチンを追加免疫し常乳利用の可否を検討した。その結果図2に示すよ

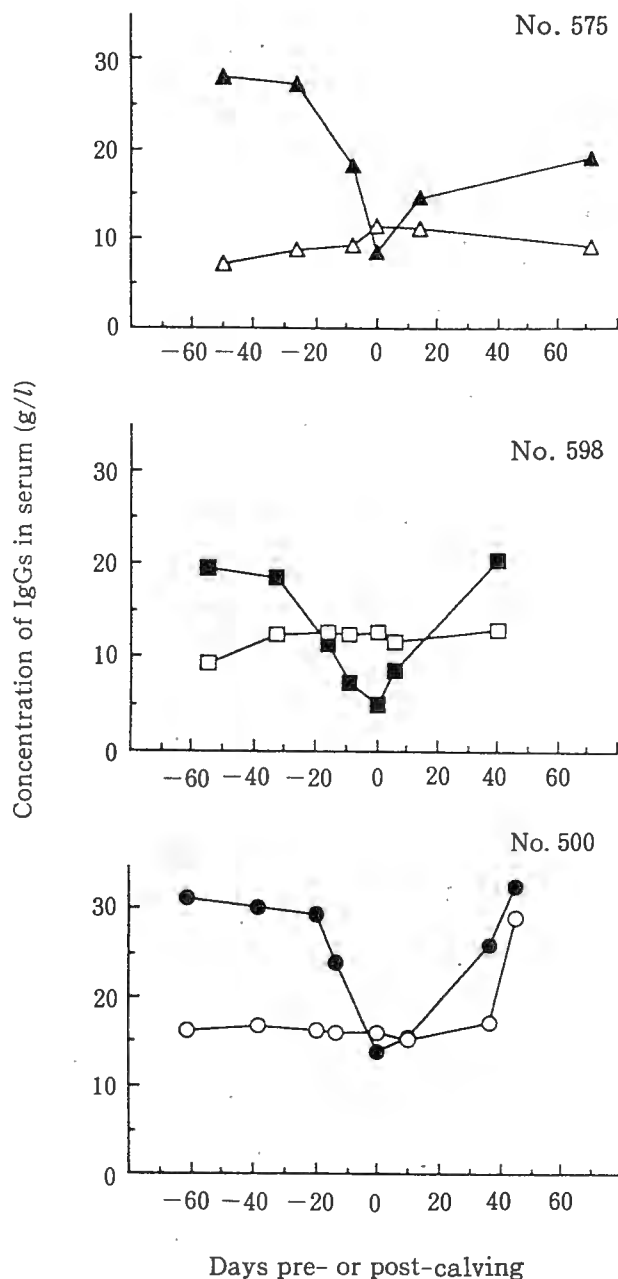


Fig. 1. Changes in the concentrations of IgG₁ and IgG₂ in serum associated with calving. Cow No. 598 (■ : IgG₁, □ : IgG₂), No. 575 (▲ : IgG₁, △ : IgG₂), No. 500 (● : IgG₁, ○ : IgG₂)

うに常乳中にも初乳と同様の高い比活性を持った抗毛髪ケラチン抗体を得ることが出来た。すなわち追加免疫することにより初乳だけでなく常乳でも抗体を生産することが出来ることが分かった。

そこで前年に免疫してある感作牛と、免疫していない非感作牛を使い毛髪ケラチンを 50 mg ずつ、分娩後 (2~3) カ月にほぼ4週おきに筋肉内 (im)、ならびに腹腔内 (ip) に4回免疫したところ、図3 (A) に示すように感作牛では最初から高い抗体価を得ることが分った。一

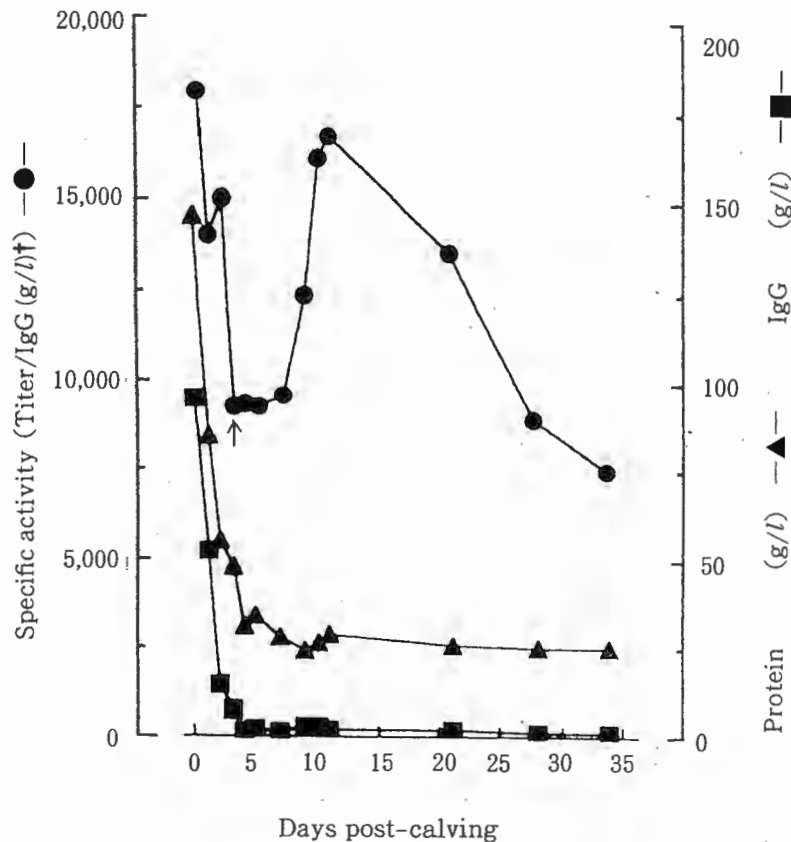


Fig. 2 Hair keratin antibody titers of IgG in the milk from the cow immunized after calving.

↑ : booster injected into a mammary lymph node region

方非感作牛では図3(B)に示すように、3回免疫後から抗体価が上昇することが分かった。常乳は1泌乳期に約6,500 kg生産されるので、常乳にはIgGが(4~5) kg含まれることになる。

(3) 牛に与える免疫の副作用

免疫をした牛の体重の推移、分娩の状況、子牛の健康状況及び泌乳量等について異常は認められず、筋肉内または皮下注射の後、局所に軽度の腫脹が見られること以外には臨床的に異常は認められず、初乳ならびに常乳を得ることが出来た。

2. 蛍光抗体法による抗体と毛髪との結合

図4に結果を示すとおり、対照抗体は毛髪とは反応せず、抗毛髪ケラチン抗体で反応させた標本のみ毛髪全域にわたり蛍光発色が観察され、免疫抗体が毛髪のしかも角質化した毛髪(毛幹部)に結合することを認めた。

3. 抗体の毛髪ケラチンとの結合

牛抗毛髪ケラチン抗体が毛髪に特異的であるかどうかを、毛髪由来のケラチンと皮膚由来のケラチンに対する抗体の反応性をウェスタン・ブロッティング法を用いて検査した(図5)。これにより、牛初乳から得られた抗毛

髪ケラチン抗体は皮膚ケラチンと反応せず、毛髪由来のケラチンと特異的に反応していることが観察された。

4. 抗毛髪ケラチン抗体処理毛髪の物性

毛髪ケラチン免疫牛から得た粗抗毛髪ケラチン抗体と対照抗体で処理した、人毛髪の破断強度を比較した。図6に示すように、免疫牛の初乳から得た抗体はブラッシングの損傷により低下した毛髪の強度を向上させた。これに対し、非免疫牛の初乳から得た抗体は、毛髪の強度に影響を与えなかった。

考 察

妊娠牛に免疫して効率良い抗毛髪ケラチン抗体を産生させるためには、初回免疫からある程度(4週間後)の間隔を開けた1度から2度の追加免疫が適していた。牛の免疫間隔については、本研究で使った毛髪ケラチンの様な蛋白質に関する知見に乏しく、主としてウイルス及び細菌についての研究に限られている。ウイルス及び細菌については、抗原とアジュバンドの組合せに応じて、免疫間隔が1週間^{3,13)}から8週間¹⁵⁾で行われている。しかし、同じ抗原についても研究者によって免疫間隔が異

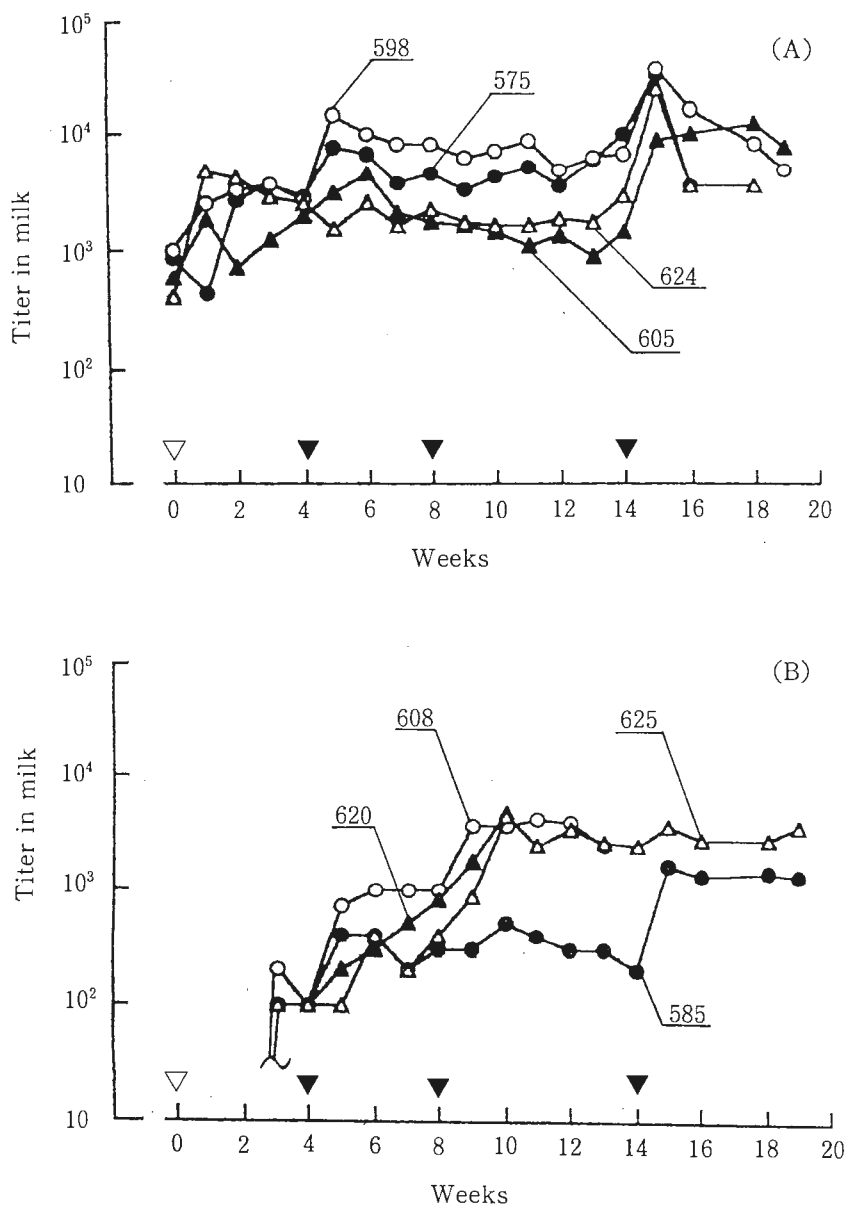


Fig. 3. Hair keratin antibody titers in milk.

(A) cows previously injected with the same antigen. ○ : Cow No. 598 (intramuscularly: im), ● : No. 575 (im), △ : No. 624 (intraperitoneally: ip), ▲ : No. 605 (ip), (B) non-immunized cows. ○ : No. 608 (im), ● : No. 585 (im), △ : No. 625 (ip), ▲ : No. 620 (ip),

▽ : the time of immunization with keratin emulsified in FCA

▼ : the time of immunization with keratin emulsified in FIA

なり、一定の規則性はみられない。

さらに牛初乳に抗毛髪ケラチン抗体を効率よく産生させるためには、その追加免疫部位は乳房内あるいは乳房リンパ節への投与が適していた(表2, 3)。この原因は未だ確認できないが、今のところ局所免疫が同時に起こり、効率よく抗体が産生されたと推定している。

乳房内投与は大腸菌¹²⁾等で試みられている。これは、出産の(4~5)週間前の牛に14種の大腸菌を乳房内に投

与し、この牛から得られた初乳が大腸菌が原因の下痢に効果があることを臨床的に確かめているが、本研究と比較しうる抗体価についての知見はない。毛髪ケラチンが大腸菌の様な感染力を持たず乳房内での抗原刺激が低いと思われることから、今後説明がまたれる興味ある結果である。また免疫経験のある牛への追加免疫時期は、出産1カ月前でよいと思われた。

次にさらに大量の抗体を得るため常乳の利用の可否を

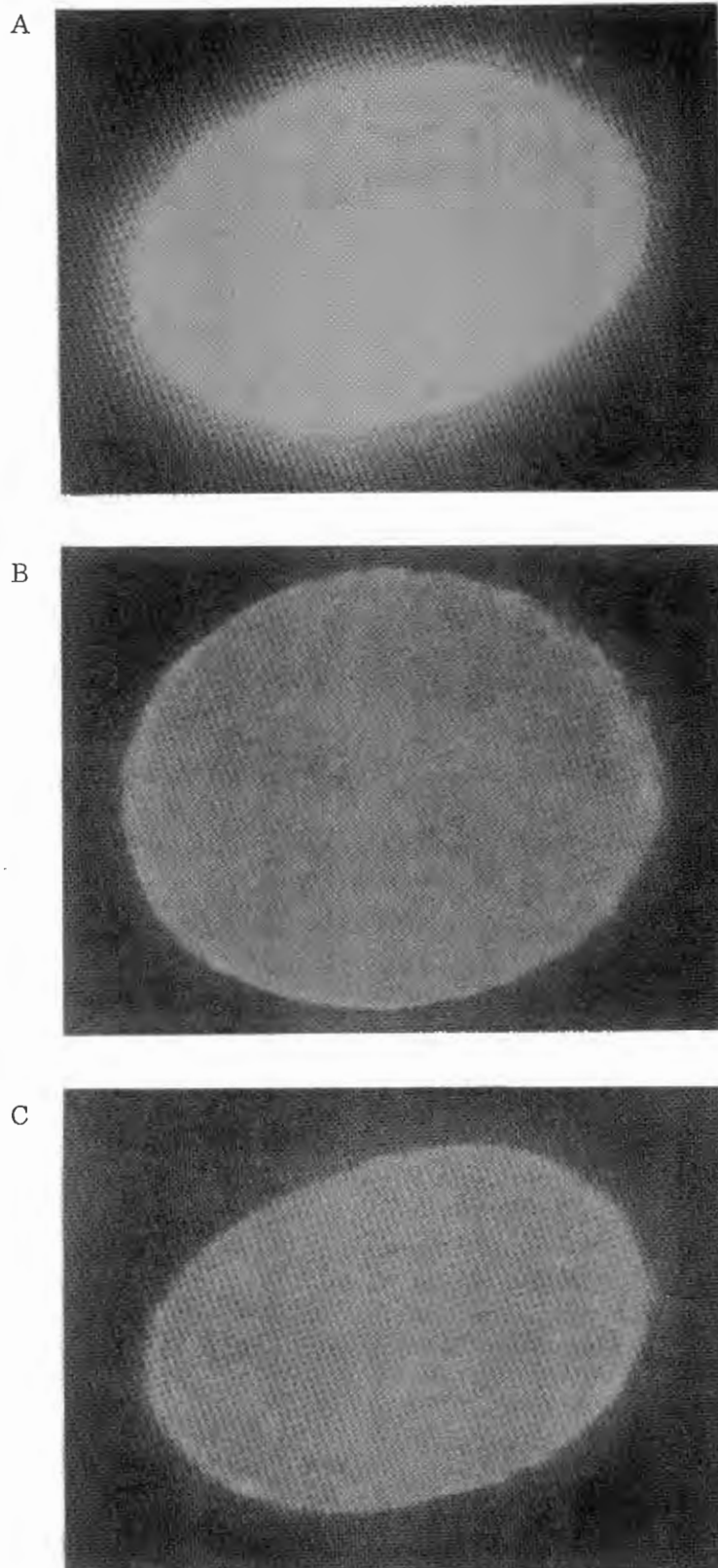


Fig. 4. Indirect immunofluorescence of cryotome sections of human hair with hair keratin antibody.
A : hair keratin antibody, B : non-specific antibody, C : control (PBS)

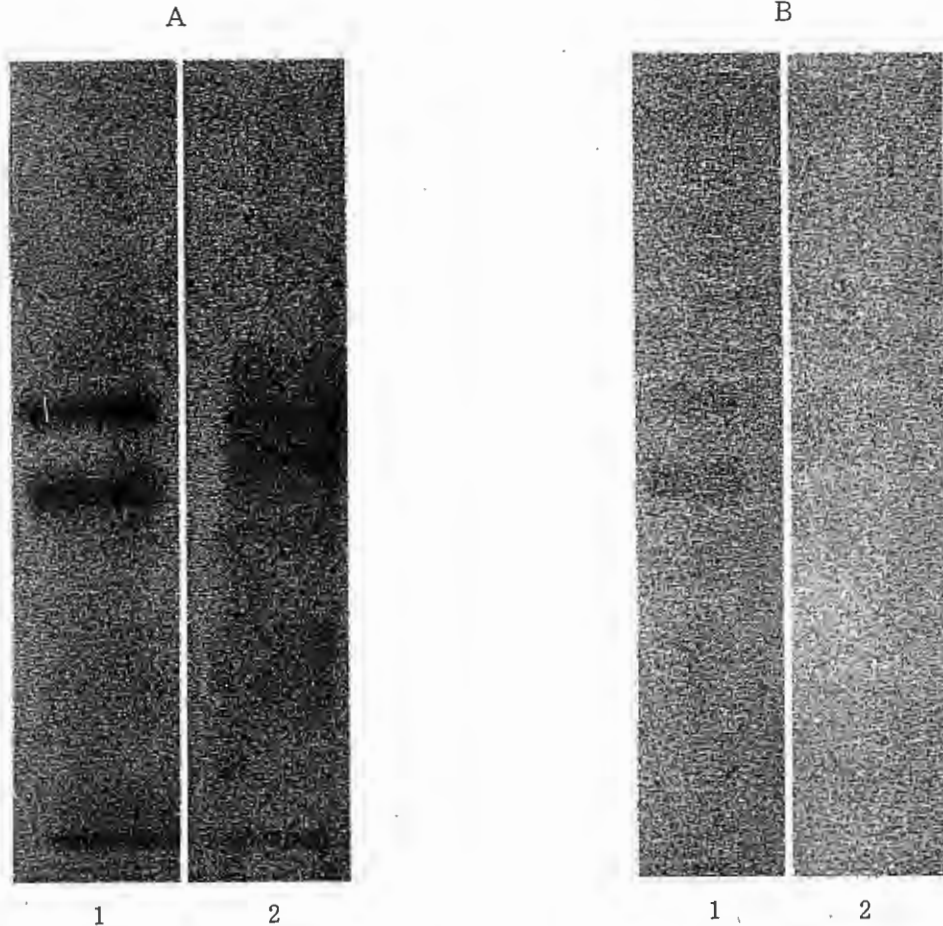


Fig. 5. Immunoblot analysis of human hair and epidermal keratins.
A: Coomassie Brilliant Blue, B: hair keratin antibody, 1: human hair keratins, 2: human epidermal keratins

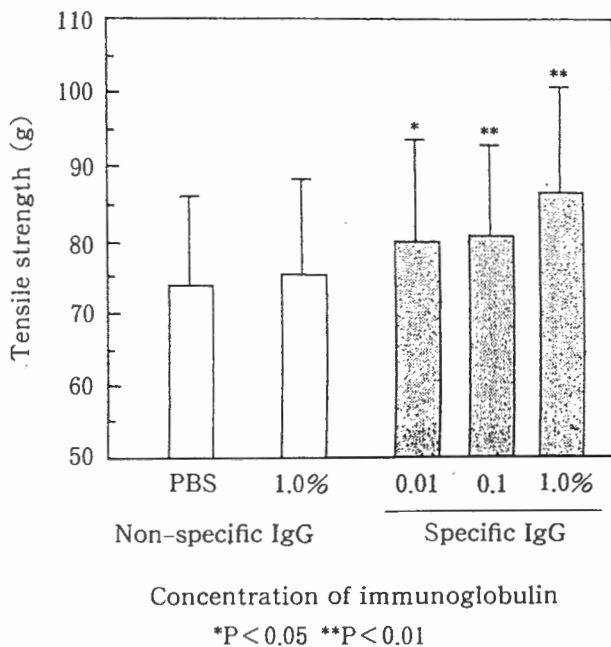


Fig. 6. Effect of hair keratin antibody on tensile strength.
Values are means $\pm$ SE.

検討した。抗体の大量調製は、常乳中の IgG 濃度が初乳の (1/50~1/100) である⁴⁾ことから、出発物として常乳はほとんど使われていない²⁾。従って、本研究では常乳中の抗体の比活性 (抗体価/IgG) を上げる方法を探索した。その結果、1年目に出産前に免疫してある感作牛に関しては、分娩 (2~3) 月後ほぼ1カ月毎に筋肉内又は腹腔内に追加免疫することにより、常に高い値の抗体価を持った常乳を得ることが出来ることがわかった (図3 A)。ただし非感作牛ではなかなか高い値の抗体価を得ることが出来なかった (図3 B)。すなわち1年目では初乳を利用し、2年目からは追加免疫することにより、常乳も利用できることが分った。

得られた牛免疫抗体は蛍光抗体法により人毛髪に結合し (図4)、ウェスタン・ブロッティング法で人皮膚ケラチンには結合せず、人毛髪ケラチンとだけ特異的に結合した (図5)。ケラチンに関する知見から、ケラチンの3次構造は種間を問わず中央部に α -ヘリックスを持ち、両端に非ヘリックス部を持つ点で極めて類似している。ただし非ヘリックス部に皮膚と毛髪で差異があり、前者

はグリシンとセリンを多く含み、後者はシステインとプロリンを多く含むことが知られている¹¹⁾。従って共通部である中央部 α -ヘリックス部に対する抗体ができれば皮膚と毛髪を区別できないし、非ヘリックス部の異なる部位に対する抗体ができれば区別できると考えられる。実験結果から牛抗体は非ヘリックス部位を認識しているのではないかと考えている。今後、毛髪ケラチン標品の構造化学的知見と、抗毛髪ケラチン抗体の認識部位の解明が望まれる。さらにこの抗体はブラッシングの損傷によって低下した人毛髪の強度を向上させた(図6)。

本実験により、皮膚ケラチンに結合せず、毛髪に特異的に結合し、損傷で弱くなった毛髪の物性を回復する特性を持った抗毛髪ケラチン抗体の大量生産方法が見出された。

文 献

- 1) BADEN, H.P., N. MCGILVARY, L.D. LEE, L. BADEN and J. KUBILUS, Comparison of stratum corneum and hair fibrous proteins. *J. Invest. Dermatol.*, **75** : 311-315. 1980.
- 2) BEDK, L.D., US patent, No. 4. 284. 623. 1981.
- 3) BRÜSSO, W.H., H. HILPERT, I. WALTHER, J. SIDDI, C. MIETENS, and P. BACHMANN, Bovine milk immunoglobulins for passive immunity to infantile rotavirus gastroenteritis. *J. Clin. Microbiol.*, **25** : 982-986. 1987.
- 4) BUTLER, J.E. Synthesis and distribution of immunoglobulins. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, **163** : 795-798. 1973.
- 5) EBINA, T., A. SATO, K. UMEZU, N. ISHIDA, S. OHYAMA, A. OHIZUMI, K. AIKAWA, S. KATAGIRI, N. KATSUSHIMA, A. IMAI, S. KITAOKA, H. SUZUKI and T. KONNO, Prevention of rotavirus infection by cow colostrum containing antibody against human rotavirus. *Lancet*, **2** : 1029-1030. 1983.
- 6) EBINA, T., A. SATO, K. UMEZU, H. ASO, N. ISHIDA, H. SEKI, T. TSUKAMOTO, S. TAKASE, S. HOSHI and M. OHTA, Treatment of multiple sclerosis with anti-measles cow colostrum. *Med. Microbiol. Immunol.*, **173** : 87-93. 1984.
- 7) EBINA, T., A. SATO, K. UMEZU, N. ISHIDA, S. OHYAMA, A. OHIZUMI, K. AIKAWA, S. KATAGIRI, N. KATSUSHIMA, A. IMAI, S. KITAOKA, H. SUZUKI and T. KONNO, Prevention of rotavirus infection by oral administration of cow colostrum containing antihuman-rotavirus antibody. *Med. Microbiol. Immunol.*, **174** : 177-185. 1985.
- 8) EBINA, T., K. TSUKADA, K. UMEZU, M. NOSE, K. TSUDA, H. HATTA, M. KIM and T. YAMAMOTO, Gastroenteritis in suckling mice caused by human rotavirus can be prevented with egg yolk immunoglobulin (IgY) and treated with a protein-bound polysaccharide preparation (PSK). *Microbiol. Immunol.*, **34** : 617-629. 1990.
- 9) EBINA, T. and K. TSUKADA, Protease inhibitors prevent the development of human rotavirus-induced diarrhea in suckling mice. *Microbiol. Immunol.*, **35** : 583-588. 1991.
- 10) EBINA, T., M. OHTA, Y. KANAMARU, Y.Y. OSUMI and K. BABA, Passive immunizations of suckling mice and infants with bovine colostrum containing antibodies to human rotavirus. *J. Med. Virol.*, **38** : 117-123. 1992.
- 11) 北島康雄, ケラチンの生化学, 生化学, **60** : 546-551. 1988.
- 12) MIETENS, C. and H. KEINHORST, Treatment of infantile *E. coli* gastroenteritis with specific bovine anti-*E. coli* milk immunoglobulins. *Eur. J. Pediatr.*, **132** : 239-252. 1979.
- 13) TACKET, C.O., G. LOSONSKY, H. LINK, Y. HOANG, P. GUESRY and H. HILPERT, Protection by milk immunoglobulin concentrate against oral challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli*. *N. Engl. J. Med.*, **318** : 1240-1243. 1988.
- 14) TOWBIN, H., T. STAHELIN and J. GORDON, Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **76** : 4350-4354. 1979.
- 15) TZIPORI, S., D. ROBERTON and C. CHAPMAN, Remission of diarrhoea due to cryptosporidiosis in an immunodeficient child treated with hyperimmune bovine colostrum. *Br. Med. J.*, **293** : 1276-1277. 1986.
- 16) 打和秀世・平野 真・小野靖子・村上梅司・太田実・海老名卓三郎, 抗毛髪ケラチン抗体の作成とその特性(第1報), 兎抗体の利用, 日本皮膚科学会雑誌, 印刷中, 1994.

Production of Anti-Hair Keratin Antibody and Its Characteristics : Utilization of Cow Colostrum and Milk

Takusaburo EBINA, Minoru OHTA*, Hideyo UCHIWA**
and Umeji MURAKAMI**

Research Institute Miyagi Cancer Center, Natori-shi 981-12

* Experimental Farm, Faculty of Agriculture, Tohoku University,
Narugo-machi, Miyagi-ken 989-67

** Kanebo Co. Ltd., Odawara-shi 250

Eight-month pregnant Holstein cows were intramuscularly immunized with a reduced carboxymethylated human hair keratin preparation via a complete Freund's adjuvant, which was boosted into a mammary gland or a lymph node of the breast after 2-3 weeks. The cow colostrum, containing a high-titered anti-human hair keratin antibody, was obtained. Two months after delivery, the immunized cows were injected intramuscularly and boosted intramuscularly or intraperitoneally with keratin protein 3 times at 4-week intervals, resulting in the production of cow's milk containing a high-titered antibody to human hair keratin. This signifies the possibility of mass-producing the anti-human hair keratin antibody. This antibody is bound specifically to human hair keratin, not to epidermal keratin, and could improve the tensile strength of brushed human hair.

Anim. Sci. Technol. (Jpn.) 65 (6) : 580-590, 1994

Key words : Mass-production of antibodies, Cow colostrum, Hair keratin, Cow's milk

自己腫瘍細胞を殺す $\gamma\delta$ T細胞を使った新養子免疫療法

進む基礎的研究と臨床応用

海老名 卓三郎 (宮城県立がんセンター研究免疫学部長)

はじめに
 $\gamma\delta$ T細胞とは

臨床の癌養子免疫療法では、いかに自己の癌細胞をリンパ球が殺すことができるかが課題となる。一方、組織適合抗原(MHC)に拘束されない新たなT細胞の存在が知られるようになり、これを $\gamma\delta$ T細胞と呼んでいる。すなわち、T細胞の表面にあって抗原認識を担っているT細胞レセプター (TCR) には、従来のヘルパー-T細胞とキラー-T細胞が持つ $\alpha\beta$ 鎖と、それとは異なる $\gamma\delta$ 鎖を持つものがああり、前者を $\alpha\beta$ T細胞、後者を $\gamma\delta$ T細胞と総称し、 $\gamma\delta$ T細胞はMHCに拘束されない(図1)。

$\alpha\beta$ または $\gamma\delta$ 二量体は、T細胞表面でCD3と呼ばれる蛋白質複合体と非共有結合で会合し、TCR複合体を形成していることが知られている。従来のキラー

T細胞と異なるTCRを持っている $\gamma\delta$ T細胞は、皮膚や腸管上皮に存在している $\gamma\delta$ T細胞を隔離させることにより、 $\gamma\delta$ T細胞を多く含むT細胞が、自己癌細胞を殺すことができ、従来の $\alpha\beta$ キラー-T細胞は、自己癌細胞を殺さないことを見出したので報告する。

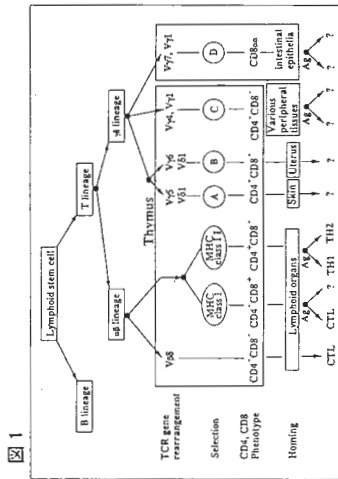


図1

方法と材料

固相化CD3抗体による培養

標的細胞 (target) として、神経胚芽腫培養細胞2例 (NT, 36歳女; K1, 12歳男)、星状膠細胞腫培養細胞1例 (T, 11歳女) など各患者の新鮮末梢血から分離した白血球、さらにNK細胞に感受性のあるK-562細胞を対照として使用した。Effector 細胞として、同

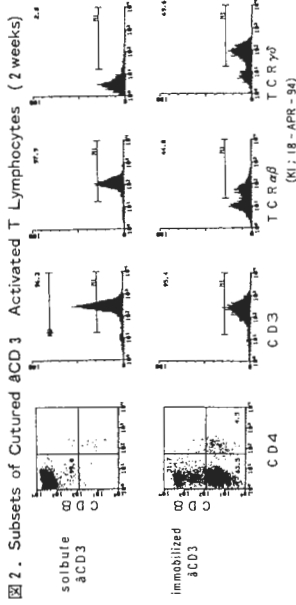


図2

体を100g/mlを加えて培養する(液相の2条件で比較検討した)。リンパ球表面マーカーは、5×10⁵のリンパ球に以下に

4℃20分の反応の後、Becton-Dickinson 社製FACSscanにて解析した。使用した抗体は次の通り: 抗CD3: anti-TCR- α , SK-7; 抗TCR $\alpha\beta$: anti-TCR- α , WT-31; 抗TCR $\gamma\delta$: anti-TCR- γ / δ -1, 11F2; 抗CD4: anti-Leu-3a, SK-3; 抗CD8: anti-Leu-2a, SK-1; 抗CD16: anti-Leu-11c, B73.1; 抗CD14: anti-Leu-M3, M ϕ -P9 (D1E Becton-Dickinson 社製); 抗CD19: anti-HD37, 708 (Dako 社製)。

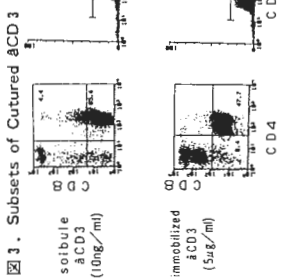


図3

結果ならびに考察
 $\gamma\delta$ T細胞が自己癌細胞を殺す

まずT細胞で、IL-2 (700単位/ml)に抗CD3抗体を100g/ml加えて液相で培養したところ、 $\gamma\delta$ 細胞が20%あったものが、1ヵ月後1.8%に減少し、apoptosisを起こしている可能性が示唆された。

次に、NT例でIL-2を700U/ml処理したリンパ球は、 $\gamma\delta$ T細胞が4.9%

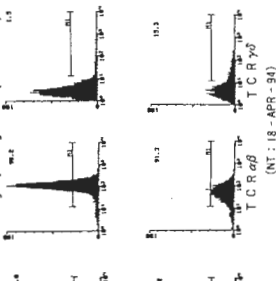


図4. Cytolytic Activity of KI Effectors

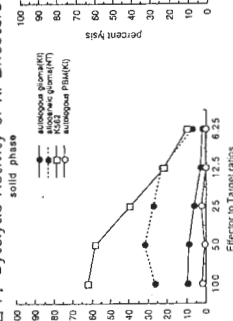


図5. Cytolytic Activity of NT Effectors

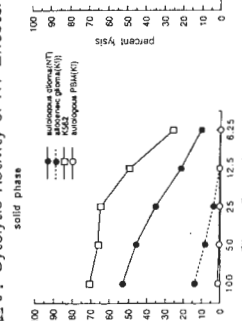


図6

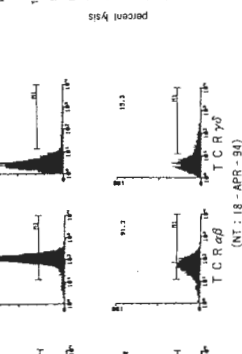


図7

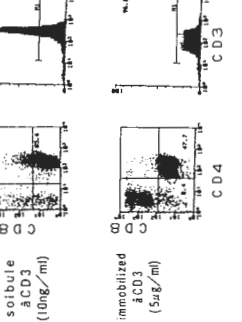


図8

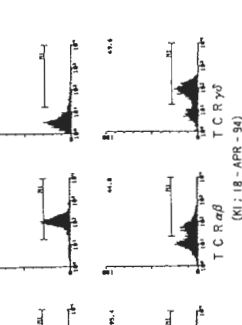


図9

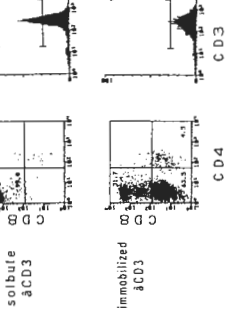


図10



図11



図12

図13

図14

図15

図16

図17

図18

図19

図20

図21

図22

図23

図24

図25

図26

図27

図28

図29

図30

図31

図32

図33

図34

図35

図36

図37

図38

図39

図40

図41

図42

図43

図44

図45

図46

図47

図48

図49

図50

図51

図52

図53

図54

図55

図56

図57

図58

図59

図60

図61

図62

図63

図64

腫瘍組織内Zn分布について

氏家重紀、伊藤友美、菊池寛昭、涌井 昭

宮城県立がんセンター薬物療法部

はじめに

Znは腫瘍細胞の増殖に必須の元素といわれており、担癌動物を低亜鉛餌で飼育すると腫瘍の増殖は著明に抑制される。一方、腫瘍組織のZn含量についてみると、報告者によりかなりまちまちで、臓器によっても異なるが正常組織のそれより低値であるとする報告がむしろ多い。我々の測定でもヒト胃癌、大腸癌の組織でZn含量は正常組織のそれより有意に低値であった。ここで、腫瘍組織のZn含量が報告者によりまちまちなのは何故か、また、腫瘍細胞は、殆ど増殖しない正常組織より低いZn濃度のもとで増殖することが可能なのか、等の疑問が生じるが、その原因として腫瘍組織内Zn濃度が不均一であることが推測されたので、固体検体用原子吸光度計（島津SM-30）を用いて腫瘍内のいろいろの部位から切り出した組織の小片をサンプルとして腫瘍内のZn分布について検討し疑問解明の一助とした。

材料と方法

<材料>

- 1) ヒト胃癌、大腸癌の手術摘出標本
- 2) 正常および吉田肉腫皮下移植雄性呑竜ラット (100~200g)
- 3) $^{65}\text{ZnCl}_2$ (Carrier free 416mCi/mg New England Nuclear Corp.)

<方法>

- 1) ヒト手術摘出標本は凍結乾燥後、原子吸光度計（島津SM-30）でZn値を測定した。
- 2) ラットの臓器および腫瘍も同様に凍結乾燥後、原子吸光度計でZn値を測定した。
- 3) 腫瘍の ^{65}Zn の取り込みは吉田肉腫皮下移植4、5、6、7日目のラットの腫瘍を用い、腫瘍摘出後 γ -カウンターで測定した。 ^{65}Zn は腫瘍摘出の24時間前に夫々2.5 μCi 腹腔内(ip)投与した。

結 果

- 1) ヒト癌手術摘出標本のZn分布
症例1 胃癌、Borr II (組織型sig~por、深達度Pm)

胃正常部位のZn含量は、粘膜層；79.13 $\mu\text{g/g dry weight}$ （以下単位省略）、粘膜下層；21.57、筋層；120.74であった。腫瘍部は、その中心部を胃壁に垂直な軸に沿って9個、腫瘍の中心部から側縁に向かってほぼ水平に11個、更に正常粘膜下層から2個、各々約1mgの切片を連続的に切り出してZn含量を測定した。最表層の標本1個はKraterの表面で付着物による汚染のためかやや高値で59.13であったが、腫瘍組織は大体30以下のZn値を示した。また、水平に標本を採取した場合も中心部は30以下であるが、腫瘍の辺縁に近い部分では45~47と比較的高値を示した。これは辺縁部の栄養状態の良さと関係があるものと推測された。

症例2 直腸癌（組織型mod、深達度S₂）

正常部位は粘膜層が105.53、粘膜下層が37.72であった。腫瘍部のZn値は大部分50~70台の値であったが、壁に水平の断面からの標本では症例1と同様、腫瘍の側縁では110~127と高いZn値が観察された。この様にヒトの胃癌、直腸癌では腫瘍の中心部より辺縁部で比較的高いZn値を示す場合があり、その値は発生母地である夫々の粘膜層のZn値に比し低い場合も高い場合もあるが、腫瘍血管の発達している辺縁部の栄養条件の良さが関連している可能性が考えられ、この部分で細胞増殖がより活発であることも推測された。

2) ラット皮下移植吉田肉腫のZn含量

正常ラット臓器のZn含量は、肝；71.04、腎；67.60、脾；73.01、胸腺；73.58、心；62.06、そして睾丸は154.02と高値を示した。これに対しラットに皮下移植した吉田肉腫のZn含量は、腫瘍の直径沿いに連続的に切り出した組織片で測定すると、移植後日数が進むにつれて腫瘍内Zn分布の不均一さが目立つ様になり、腫瘍の中心部が比較的低値を示す傾向が見られた。腫瘍のZn含量の平均値は64.2~74.9で経日的に大きい変化も示さず、 ^{65}Zn の取り込みの実験で ^{65}Zn の取り込みの活発な移植初期にZn含量が高値を示す傾向も認められなかった。

3) 吉田肉腫の ^{65}Zn の取り込み

ラットに皮下移植した吉田肉腫の ^{65}Zn の取り込みは、移植後4日目； $8000 \pm 1338 \text{cpm/g}$ 、5日目； $6320 \pm 1506 \text{cpm/g}$ 、6日目； $2271 \pm 1128 \text{cpm/g}$ 、7日目； $2136 \pm 724 \text{cpm/g}$ で、移植後4日目、5日目で ^{65}Zn の取り込みは多いが、以後は低下した。

考察とまとめ

固形腫瘍のZnを測定する場合、組織を灰化後、原子吸光法で定量するのが一般的であるが、この場合比較的多量の組織片が必要となるためZnが腫瘍組織内に不均一に分布している場合はその平均値が測定値として得られることになる。これに対し固体検体用原子吸光光度計（島津SM-30）は、わずか1mgの検体でZnが測定できるため、腫瘍組織内のZn分布を細部に亘って検索できる。今回はこの方法を用いて腫瘍組織内のZn分布を検討し次の結論を得た。

- 1) 腫瘍組織内のZn濃度は不均一であることが多く、測定に供するサンプルの採取部位により、その値は大きく異なる。
- 2) 腫瘍組織内の大部分が低いZn値を示す腫瘍でも、その表層部に比較的高いZn値を示す部分がある場

合が多い。この部分で腫瘍細胞の増殖が活発であるとするれば、灰化法による測定でZn値が低いと判断された腫瘍でも、実はその増殖は高いZn値のもとで進行していることになり、当初の、腫瘍細胞は低いZn濃度のもとで増殖することができるのか、という疑問に対する解答は得られることになる。腫瘍内のZn値と細胞増殖の関連の証明は今後の課題である。

3) 腫瘍内のZn分布が不均一であることから、吉田肉腫の ^{65}Zn の取り込みの実験で“ ^{65}Zn の取り込みは移植初期では活発であるが末期になると低下するにもかかわらず、この全期間を通じて腫瘍のZn含量は大きくは変化しない”という結果は次のように解釈される。即ち、Znを活発に取り込みZn代謝に参与している細胞は腫瘍の中の極限られた部分の細胞で、移植初期は腫瘍全体の中でこの活発なZn代謝を示す細胞の割合は比較的大きいが、腫瘍が増大するにつれてこの細胞は相対的に減少する結果になり末期には ^{65}Zn のcpm/gの値は低下する。しかしこの活発にZn代謝に参与している細胞の腫瘍内での割合は小さいため、腫瘍のZn含量は大きく変化しない。

ZINC DISTRIBUTION IN MALIGNANT TUMORS

S. Ujiie, Y. Itoh, H. Kikuchi, and A. Wakui
Miyagi Cancer Center Institute

Zn is essential for the tumor cell proliferation. However, the mean tumor Zn content is often lower than normal tissue. Is Zn essential for tumor cell proliferation at all?

Tumor Zn has been measured by ashing-method that requires large quantity of tumor tissue for measurement. Therefore, it was unavoidable in the conventional method by ashing, Zn content of tumor tissue that has uneven Zn distribution is determined as the mean value of tumor.

But, in measurement of Zn by atomic-absorption spectrometer for solid sample (Shimazu SM-30), Zn content of tumor tissue is determined with only 1mg sample, so Zn distribution in tumor is investigated clearly in detail.

In the measurement of Zn by this method, relative high Zn value area was found out in the marginal part of tumor of the low mean Zn content tumor. If in this high Zn marginal area, tumor cells were actively proliferous, low mean Zn content of tumor should be compatible with Zn requirement of tumor cells for proliferation.

シアリダーゼの構造解析に関する最近の展開

宮城県立がんセンター・研究所 生化学部門 宮 城 妙 子

はじめに

シアリダーゼは“受容体破壊酵素”として最初にウイルスに発見されて以来、細菌や原虫などの微生物や動物の各種組織に見いだされてきた。ウイルスシアリダーゼは表面膜抗原の主成分のひとつとして、また細菌シアリダーゼは培養濾液から、それぞれ高純度精製標品が得られており、そのいくつかが一次構造だけでなく三次構造も解析されている。動物シアリダーゼについては昨年、ラット骨格筋の細胞質性シアリダーゼの一次構造がcDNAクローニングにより明らかになった。反応の特異性や生化学的性質に関するこれまでの調査結果から、シアリダーゼの分子多様性が知られてきたが、それは近年示されてきたシアリダーゼ間の一次構造上の多様性を反映しているようにも考えられた。一方、X線解析による高次構造解析の最近の進展によって、シアリダーゼが高次構造上では高い相同性を有することが証明され、活性部位のアミノ酸の相同性もしだいに明らかになってきた。本稿ではこれらの点に関する最近の知見を紹介しつつ、種を越えたシアリダーゼ分子の共通性に焦点を絞り、考察したい。

1. シアリダーゼの一次構造

ウイルスや細菌、原虫のシアリダーゼの一次構造が、ペプチドシーケンシング、あるいは遺伝子クローニングにより明らかになっている。同種属間でも必ずしも一次構造全体の相同性はそれほど高くはなく、Hoyerらの調査によると、細菌シアリダーゼ間の一次構造の相同性は高々35%程度であるという⁽¹⁾。ウイルス—細菌間、細菌—動物間においては、一次構造全体に対する有意の相同性は認められない。ラット骨格筋細胞質シアリダーゼについて微生物シアリダーゼと比較したとき、領域を限局した解析でも相同性は19%以下であった⁽²⁾。

しかしながら、詳細な比較検索により、シアリダーゼ間にいくつかの共通配列が見いだされた。代表的な例がRoggentinら⁽³⁾によるAsp-box(Ser-X-Asp-X-Gly-X-Thr-Try)配

列である。彼らは4種の細菌シアリダーゼ(*Clostridium sordellii* G12, *Clostridium perfringens* A99, *Salmonella typhimurium* LT2, *Vibrio cholerae* 395)および2種のインフルエンザA型ウイルスシアリダーゼ(H7N1, H13N9)のアミノ酸配列を比較したところ、Asp-boxが繰り返し保存されていることに気づいた。この配列はその後、細菌シアリダーゼに4~5個、インフルエンザA型ウイルス酵素に1個(不完全型)、トリパノソーマ酵素に2~4個、ラット酵素にも2個存在することがわかった。2つのAsp-box間の距離は保存されていることが多く、とくに2番目と3番目間は60~70アミノ酸残基で、これまでに一次構造が明らかになったほとんどすべてのシアリダーゼにあてはまる。微生物シアリダーゼでは複数のAsp-boxのうち、少なくともひとつの配列の2番目のアミノ酸がリジンであるが、ラット酵素ではスレオニンあるいはロイシンであった。

Asp-boxのほかにも共通配列がある。図1に示すように、N末端に近い部位の(Phe)-Arg-Ile-Pro配列(ラット酵素ではArg-21で始まる3アミノ酸)と2つのAsp-box間に位置する(Val)-Gly-X-Gly(ラット酵素ではGly-162で終わる4アミノ酸)である。この両配列間の距離もほぼ保存されている。これらの共通配列の意義について、最近、Roggentinら⁽⁴⁾が*C. perfringens*酵素に部位特異的変異を施し、シアリダーゼ活性発現への影響を調査した。Asp-box IのAsp-75をAsnやGluに、あるいはTry-80をPheに置換したり、

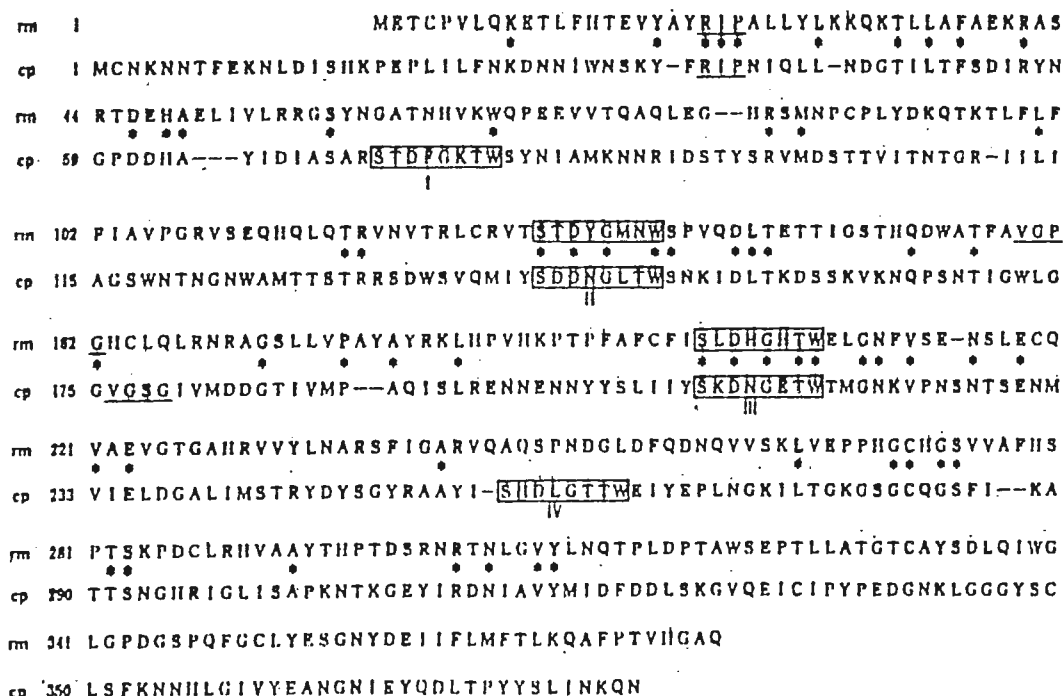


図1 ラットシアリダーゼと細菌シアリダーゼのアミノ酸配列の比較

rm: ラット細胞質シアリダーゼ, cp: *Clostridium perfringens* シアリダーゼ

□ は Asp-block, * は同一アミノ酸を示し, 下線部分は類似配列を示す。

Asp-box IIのAsp-143をLysに、Try-149をAlaに変異させたところ、Vmaxは減少したが、Kmにはほとんど変化がみられなかった。むしろこの配列の上流に位置する(Phe)-Arg-Ile-ProのArg-37をLysに置換したとき、著しいKmの上昇およびVmaxの低下が起った。さらに、もっと大きな変化がTyr-347をPheに換えたときに認められ、その活性は対象の0.001%であったという⁽⁵⁾。以上の事実は、Asp-boxは活性発現に直接的には関与していないらしいこと、N末端に近いArg-37やC末側のTyr-347が活性部位に位置している可能性が高いことなどを示唆している。これらの結果は、後述する高次構造解析によって、より明確なものとなった。Asp-boxの役割についてはいまだはっきりせず、酵素を安定化する機能を有するという説や、分泌に関与する配列であるなど、さまざまな憶測がなされている。実際、Asp-boxを欠いているインフルエンザB型ウイルス、センダイウイルス、ニューカッスル病ウイルスにもシアリダーゼ活性が認められ、ある種のトリパノソーマの85kDa表層抗原のようにこの配列を有するにもかかわらずシアリダーゼ活性が検出できない例もある。

また、ごく最近、ラット細胞質シアリダーゼと類似する生化学的性状を有する可溶型シアリダーゼが、CHO細胞培養液から均一にまで精製された⁽⁶⁾。この標品のペプチドシーケンスの結果が17アミノ酸残基のみ報告されているが、ラット酵素の中にそのアミノ酸17残基中15残基が同一である配列が見いだされた。そして両者の一次構造の相同性は凡そ85%であるという⁽⁷⁾。この高い相同性が近縁の動物であることによるのか、哺乳動物シアリダーゼのひとつの特徴であるのか、現在のところ不明である。同属の細菌間でも相同性がそれほど高くない例が存在するとき、両動物酵素の示す高い相同性は何を意味しているのか興味深い。

2. シアリダーゼの高次構造

以上のようにシアリダーゼは、ラットとCHO酵素の例を除くと、一次構造上の相同性が20~30%と高くない。しかしながら、高次構造にはかなりの共通性があるようである。インフルエンザウイルスシアリダーゼは、結晶化された標品のX線解析によって、活性部位が β シート構造をとることが知られた。パラミクソウイルス酵素の活性部位と比べたとき、アミノ酸配列の相同性はほとんどないが、 β シートループ構造が両者のほぼ等位置に等数だけ存在することがわかった⁽⁸⁾。細菌シアリダーゼも例外ではなく、Warnerら⁽⁹⁾による*Salmonella typhimarium* LT2酵素のアフィニティラベリングの結果がその証拠として示された。すなわち、シアリダーゼ活性競合阻害剤2-デオキシ-2,3-デヒドロ-N-アセ

チルノイラミン酸(NeuAc2en)の誘導体によるラベリングで得られたペプチド断片が、インフルエンザA型ウイルスやセンダイ-HNウイルスシアリダーゼの活性部位と同様に β シートループ構造をとっているというものである。ラット細胞質シアリダーゼも β シート構造を多く含むことが推定される。アミノ酸配列から β シート構造傾向を予想すると、インフルエンザA型ウイルスの活性部位の構造と類似する β シート構造が2ヵ所(アミノ酸残基3-77および207-278)存在するようである。いずれかが活性部位を含む可能性がある。また、ラット酵素は9つのシステインを有するが、高含量システインはウイルスシアリダーゼのもうひとつの特徴であって、複数のジスルフィド結合が活性領域の立体構造の保持に重要な役割を果たすと考えられている。

ごく最近、Taylorのグループ⁽¹⁰⁾によって*Salmonella typhimurium* LT2シアリダーゼが結晶化され、三次構造が明らかになった。インフルエンザウイルス酵素と比較した結果、折りたたみ構造や活性部位アミノ酸残基の立体配置が驚くほど似ていることがわかった。インフルエンザウイルスシアリダーゼ分子は、約470アミノ酸残基から成る等価なサブユニット4個で構成されるホモ4量体であるが、プロナーゼ処理によって遊離する4量体頭部がColmanら^(11,12)によってすでに結晶化され、三次構造が決定されている。4量体中の各々のサブユニットは、類似する β シートモチーフを持つ6つの単位がドメイン構造を形成している。サルモネラ酵素は単量体であって、ウイルス酵素のサブユニットとそのサイズはほぼ等しいが、一次構造の相同性は15%と低い。サルモネラ酵素の結晶構造もまた、ウイルス酵素と同様2つの α -ヘリックス部位を含む β シート構造で構成されている。折りたたみ構造のトポロジーはインフルエンザ酵素と同一であり、4本の β -ストランドからなる逆平行 β シート6個から成っている。これまでにアミノ酸配列が決定されているインフルエンザAおよびB型のすべてのシアリダーゼにおいて、ジスルフィド結合が8個存在し、これらがシート構造を支えていると考えられているが、サルモネラ酵素にはひとつのジスルフィド結合だけで、ウイルス酵素が Ca^{++} により活性上昇するのに対し、 Ca^{++} の結合は認められない。ウイルス酵素でははっきりしないAsp-box配列が、この細菌酵素には4個存在するが、これらは、活性部位から離れて、表外側に互いに等しい間隔で認められた。したがって、Asp-boxは活性には直接関与せず、蛋白高次構造の保持、あるいは分泌などに関与する可能性が示唆された。また、サルモネラ酵素の活性部位が阻害剤NeuAc2enと複合体を形成させることにより調査されたが、ウイルス酵素の活性部位と比較したとき、類似する特徴は次の通りであった。すなわち、3つのArg-37, -246, -309

はシアル酸のカルボキシル基を安定化させ、Glu-361はこの3つのArgのひとつの位置を安定にする。Tyr-342は下方からシアル酸に近接し、シアル酸のN-アセチル基が入る疎水性ポケットはMet-99, Try-121, Try-128およびLeu-175から構成される。Glu-231はプロトンを供給する役目をなす。図2に示すように、ウイルス酵素にも、これらに対応するア

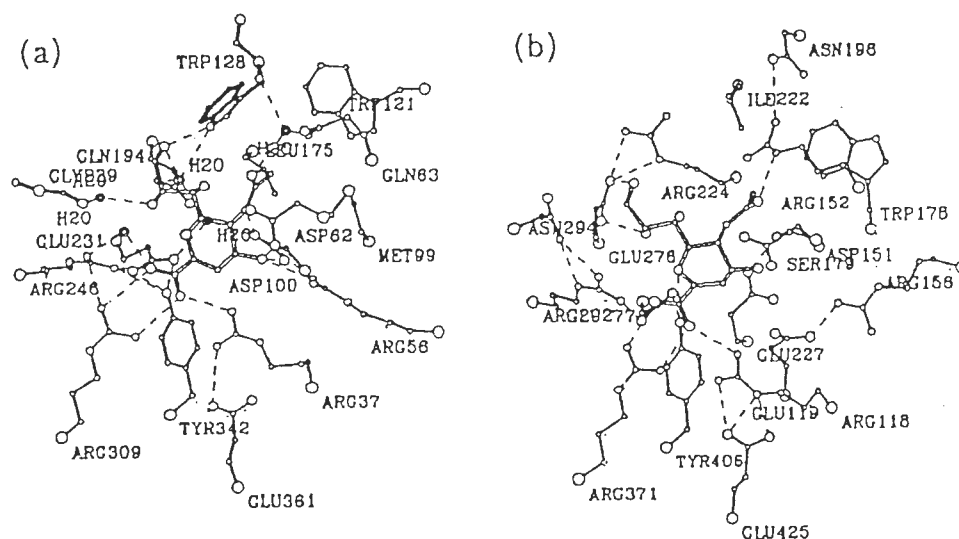


図2 シアリダーゼ活性部位の立体構造 (文献10より改変)
NeuAc2enと*S. typhimurium* (a)及びインフルエンザウイルスN9(b)シアリダーゼの結合状態を活性部位の上方から示したもの。

ミノ酸残基がすべて保存されているのである。一方、ウイルス酵素と相違する点を調べると、それは両者の基質特異性の違いを説明するものであった。ウイルス酵素では、グルタミン残基がシアル酸の8および9番目の酸素原子と2個の強い水素結合を形成するが、サルモネラ酵素ではTry-128が9-Oと弱く水素結合するだけである。また、サルモネラ酵素ではAsp-100およびAsp-56が4-Oと強く水素結合し、Asp-62が弱い水素結合を形成するのに対し、ウイルス酵素では、Asp-151がシアル酸の4-Oと弱い水素結合を作る。細菌酵素では水解されない($\alpha 2 \rightarrow 3$)N-アセチル-4-O-アセチルノイラミンラクトースがウイルス酵素で基質となるのはこの構造上の相違によるらしい。

両酵素間でみられた高次構造上の共通性は、アミノ酸配列による二次構造の予測結果などによって、動物シアリダーゼをも含めたすべてのシアリダーゼに保存されている特徴であることが推察され、各シアリダーゼ間の触媒作用の相違も活性部位を構成するアミノ酸のトポロジーの違いに因ることを示唆している。

3. シアリダーゼ活性阻害剤

シアリダーゼ活性阻害剤は、その効果の違いによって動物シアリダーゼと微生物シアリダーゼを区別する。例えば、長谷川らが合成したGM3のアナログGSC-9はインフルエンザウイルス酵素を強く阻害する⁽¹³⁾が、ラットシアリダーゼには効果がなく、シアスタチンBも *Clostridium perfringens* 酵素を完全に阻害する濃度で、ラット酵素を阻害しなかった⁽¹⁴⁾。また、NeuAc2enは細菌やウイルスシアリダーゼの強力な阻害剤であるが、ラット膜結合酵素(リソゾーム膜や形質膜のシアリダーゼ)では10~100倍の高濃度を必要とした⁽¹⁴⁾。

インフルエンザウイルス感染に対する治療薬開発を目的として、非常に強力なシアリダーゼ阻害剤が、ウイルスシアリダーゼのX線解析による結果を基盤にして最近デザインされた。von Itzsteinら⁽¹⁵⁾による4-グアニジノ-NeuAc2enの合成である。シアリダーゼ活性部位とNeuAc2enの4つの誘導体との結合についてコンピューター検索すると、NeuAc2enの4番目の水素基をアミノ基やグアニジル基で置換したものでは、両者の結合力がより増強することがわかった。とくにグアニジル基の置換体ではGlu-119とGlu-227の2個のカルボキシル基がそれらと塩架橋を形成し、Glu-119とのみ架橋形成する4-アミノ体より高い親和性を示す。結晶構造に基づいてデザインされたこれらのNeuAc2en誘導体を用いて実際に阻害活性を調べると、4-メチルウンベリフェリル-N-アセチルノイラミン酸を基質として、非常に強い阻害活性が観察された。NeuAc2enの K_i は $10^{-5} \sim 10^{-6} \text{M}$ であるが、その4-アミノ体では $5 \times 10^{-8} \text{M}$ 、4-グアニジル体では $10^{-9} \sim 10^{-10} \text{M}$ であった。しかし、この薬剤は動物や細菌のシアリダーゼ活性の阻害には、より高濃度を必要とするので、ウイルスシアリダーゼへの選択性が高いことが明らかとなった。さらに、これらの誘導体によってウイルスの複製が阻害されることが証明された。インフルエンザAおよびB型ウイルスの培養細胞における IC_{50} (50%プラク形成阻止濃度)は、それぞれ $0.014 \mu\text{M}$ および $0.005 \mu\text{M}$ であり、培養細胞でのウイルスの複製を劇的に阻害した。従来のシアリダーゼ阻害剤は、動物モデル実験において効果がないことが知られていた。それは急速に循環系から消失するためであった。しかし、4-グアニジル体をインフルエンザ感染マウスに鼻腔内投与すると、ウイルスの増殖を低濃度で抑制し、しかもその濃度はウイルス蛋白(M2)のイオンチャネル機能をブロックするといわれるアマンタジンの有効濃度の1/100以下であった。この薬剤のインフルエンザウイルス感染に対する治療薬として有効性が今後大いに期待される。

4. シアリダーゼ遺伝子の起源

構造解析結果を基にして、シアリダーゼ遺伝子の起源について推察してみよう。シアリダーゼは棘皮動物から哺乳動物に至るまで動物界に広く分布する。そのほかに、動物宿主に常在したり、そこで病原性を現わす種々のウイルスや細菌にも見いだされる。ところが、植物や他のほとんどの後生動物にはシアリダーゼもその基質となるシアロ複合糖質も存在しない。シアリダーゼ活性を持つ病原微生物においてもそれ自身シアル酸を合成せず、シアロ複合糖質を持たないものが多い。微生物間におけるシアリダーゼの分布もまた特異的である。同種属の細菌間でさえシアリダーゼが規則性をもって見いだされるわけではなく、性状もかなり違っていることもある。例えば、サルモネラの亜属 I の200株のうち、LT2株だけがシアリダーゼ陽性であったり⁽¹⁾、*Micromonospora*の約26%だけが陽性であるという⁽¹⁶⁾。

このようなシアリダーゼ遺伝子の生物界における特異な分布状態を考えると、この遺伝子の起源に関して種々の仮説が提出される。そのひとつは、シアリダーゼ間の酵素学的性状の多様性と一次構造との相同性の低さに立脚した多系統発生説である。他は、前述したように、活性部位を構成するアミノ酸残基の共通性や、二次および三次構造の高い類似性を基盤とした単一系統発生説である。後者は、シアリダーゼの起源がひとつで、それが高等動物にあり、微生物は動物宿主から獲得した遺伝情報によりシアリダーゼを発現させている可能性を示す。この観点から、シアリダーゼスーパーファミリーの存在も提唱されている⁽¹⁷⁾。そして細菌間のシアリダーゼの不規則な分布は、シアリダーゼ遺伝子がファージを介して細菌間に水平伝播されたと推察されている。その証拠に、*Cl. perfringens* のシアリダーゼ遺伝子はクロモゾーム上でファージ接着部分に位置しているし⁽¹⁸⁾、*S. typhimurium* シアリダーゼ遺伝子の3'側の配列はプロファージとの結合の可能性を示唆している⁽¹⁾。これらの仮説の信憑性は、高等動物シアリダーゼ遺伝子の構造解析のいっそうの進展によって決定されるのはいうまでもない。

おわりに

微生物シアリダーゼの結晶構造解析に関する最近の進展により、シアリダーゼ分子の高次構造の共通性が明らかにされ、それは広く動物シアリダーゼにもあてはまる可能性がでてきた。そして、これらの結果を基にして、シアリダーゼ遺伝子のスーパーファミリー説も提唱されてきている。結晶構造解析はシアリダーゼ研究の進歩に大きく貢献している。

しかし、シアリダーゼの構造や機能にはいまだ不明な点が多い。とくにシアリダーゼの機能については、微生物においてすらいまだはっきりしない。動物シアリダーゼについても、構造解析が始まったばかりである。われわれがこれまで同定してきた4種のラットシアリダーゼは、細胞内局在や基質特異性などの酵素学的性状が異なっている。各々の分子の高次構造については微生物のそれと共通性が高いことは予測できるが、局在や基質特異性の違いを表わす構造は如何なるものであろうか。これらの構造解析は機能研究にも繋がる。動物シアリダーゼの構造解析が緊急の課題である。

参考文献

- 1) Hoyer, L.L., Hamilton, A. C., Steenbergen, S. M. and Vimir, E. R. (1992) *Mol. Microbiol.* 6, 873-884.
- 2) Miyagi, T., Konno, K., Emori, Y., Kawasaki, H., Suzuki, K., Yasui, A. and Tsuiki, S. (1993) *J. Biol. Chem.* 268, 26435-26440.
- 3) Roggentin, P., Rothe, B., Kaper, J. B., Galen, J., Lawrisuk, L., Vimir, E. R. and Schauer, R. (1989) *Glycoconjugate J.* 6, 349-353.
- 4) Roggentin, T., Kleineidam, R. G., Schauer, R. and Roggentin, P. (1992) *Glycoconjugate J.* 9, 235-240.
- 5) Schauer R., Kleineidam, R. G. and Roggentin, P. (1993) *Abstracts Int. Sialidase Workshop* 17.
- 6) Warner, T. G., Chang, J., Ferrari, J., Harris, R., McNerney, T., Bennett, G., Burnier, J. and Sliwkowski, M. B. (1993) *Glycobiology* 3, 455-463.
- 7) Warner, T. (1994) *Abstracts Int. Sialidase Workshop*, 7.
- 8) Jorgensen, E. D., Collins, P. L. and Lomedico, P. T. (1987) *Virology* 156, 12-24.
- 9) Warner, T. G., Harris, R., McDowell, R. and Vimir, E. R. (1992) *Biochem. J.* 285, 957-964.
- 10) Crennell, S. J., Garman, E. F., Laver, W. G., Vimir, E. G. and Taylor, G. L. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 9852-9856.
- 11) Varghese, J. N., Laver, W. G. and Colman, P. M. (1983) *Nature* 303,

35-41.

- 12) Colman, P. M., Varghese, J. N. and Laver, W. G. (1983) *Nature* 303, 41-44.
- 13) Suzuki, Y., Sato, K., Kiso, M. and Hasegawa, A. (1990) *Glycoconjugate J.* 7, 349-356.
- 14) Miyagi, T., Hata, K., Hasegawa, A. and Aoyagi, T. (1993) *Glycoconjugate J.* 10, 45-49.
- 15) von Itzstein, M., Wu, W.-Y., Kok, G. B., Pegg, M. S., Dyason, J. C., Jin, B., Phan, T. V., Smythe, M. L., White, H. F., Oliver, S. W., Colman, P. M., Varghese, J. N., Ryan, D. M., Wood, J. M., Bethell, R. C., Hotham, V. J., Cameron, J. M. and Penn, C. R. (1993) *Nature* 363, 418-423.
- 16) Aisaka, K. and Uwajima, T. (1987) *FEMS Microbiol. Lett.* 44, 289-291.
- 17) Roggentin, P., Schauer, R., Hoyer, L. L. and Vimir, E. R. (1993) *Mol. Microbiol.* 9, 915-921.
- 18) Canard, B. and Cole S. T. (1990) *FEMS Lett.* 66, 323-326.

宮城県立がんセンター・研究所・生化学

宮城妙子、秦 敬子、
和田 正

ガングリオシドの機能と発現機構の解明を目的として、ガングリオシドを水解するシアリダーゼの研究を進めてきた。細胞の増殖や癌化で活性上昇する形質膜性シアリダーゼについては、高度精製の試みと、その性状解析を行い、中性 pH で働き神経筋組織に多く含まれる細胞質性シアリダーゼについては、先にクローン化した cDNA を導入することにより、この酵素の機能を検索した。

動物シアリダーゼは、糖蛋白やガングリオシドの生理的な異化分解を開始するばかりでなく、分子のコンフォメーションや認識機構に影響を与えて、重要な生理現象に関与していることが推察される。われわれはこれまで、ラットやウシ組織を主酵素源として、動物シアリダーゼの分離・精製を進め、ガングリオシドを水解する3種のシアリダーゼを同定した。それらは、形質膜、細胞質、リソゾーム膜にそれぞれ局在しており、基質特異性や至適 pH などの酵素学的性状や免疫学的性状が異なるシアリダーゼである。このうち、細胞内でガングリオシドの主局在場所である形質膜に見いだされるシアリダーゼと、ガングリオシドに富む神経筋組織に高発現する細胞質性シアリダーゼに着目して研究を進めた。これらは、ガングリオシド異化分解の担い手と言うよりは、むしろ、シアル酸の脱離を通じてガングリオシド分子の機能調節に与っている可能性が考えられる。この二つの酵素に関するわれわれの研究結果を紹介する。

1. 形質膜性シアリダーゼ

1) 活性分布

ラット脳の形質膜性シアリダーゼに対する抗血清を用いて、ラット組織分布や他の動物種における分布を調べた。ラットでは脳や肝のほかに、心筋や赤血球に多く含まれ、ヒト肝やウシ脳にも同様の酵素が検出された。形質膜には他のグリコシダーゼがほとんど存在しないことから、ここでシアル酸のみが脱離される意義はきわめて興味深い。

2) 活性動態

ラット腹腔マクロファージを OK-432 で活性化すると、ガングリオシド・シアリダーゼ活性が特異に消長すること、それは膜抗原アシアロ GM1 の出現に先行し、この抗原発現の原動力となっていることが推定された。一方、細胞の癌化時には、活性上昇傾向が認められた。すなわち、肝の癌化、あるいは、マウス上皮由来 JB6 細胞の TPA による悪性形質転換より、形質膜シアリダーゼが活性上昇した。

さらに、ヒト卵巣類上皮由来の A 4 3 1 細胞で E G F による細胞増殖誘導時のガングリオシド・シアリダーゼの活性変化を調査している。以上のように、形質膜シアリダーゼは表層ガングリオシドの修飾を介して重要な細胞現象を制御している可能性が強く示唆された。

3) 精製と性状

ラット脳を酵素源として精製を進めたが、高度精製には至らなかったため、免疫学的に交叉性を示し、組織重量当たりで活性の高いウシ脳酵素の完全精製をめざした。ウシ脳ではシナプトソーム膜に局在することを確認したが、大量精製を目的としたため、顆粒画分を出発材料とした。Triton X-100 とデオキシコール酸で可溶化後、D E - セルロース、オクチルーセファロース、ヘパリン-セファロース、セファクリル S - 2 0 0、R C A - アガロース、M o n o - Q のカラムクロマトグラフィーをつないで、顆粒画分から約 2 万倍の精製標品を得た。S D S - P A G E で完全には酵素蛋白バンドの確認ができなかったため、さらに 2 種のアフィニティカラムを採用して酵素蛋白の同定を進めている。本酵素が S H - 酵素であることが明らかとなったのでひとつはチオールセファロース、他方は G M 3 誘導体をリガンドとしたカラムである。

最終標品の密度勾配法による分子量の算定結果は 6.5 万であった。また、この酵素は R C A - レクチンに吸着することから、ガラクトース残基をもつ糖鎖を含むことがわかった。基質特異性を調べると、表に示すように、ガングリオシドをほぼ特異的に水解し、他の多くのシアリダーゼと異なって、糖蛋白やオリゴ糖には働かなかった。 $\alpha 2-6$ シアリル結合の分解は、 $\alpha 2-3$ 結合の約 $1/3$ の速度であった。G M 3 の糖部分に相当する $\alpha 2-3$ シアリルラクトースには働かず、セラミド部分が不可欠であることがわかったため、セラミドの脂肪酸やスフィンゴシン部分に修飾を加えた誘導体を基質として調べた。脂肪酸の炭素数を減らしたものでも水解されたが、スフィンゴシンを変化させると、大きく影響することがわかった。また、本酵素は $C u^{2+}$ (1 mM) などの重金属イオンや 4 - ヒドロキシマーキュリー安息香酸 (10 μ M) によって、強く阻害されたが、この点はリソソーム膜のシアリダーゼと対比される特徴である。活性には表面活性剤を必要とし、0.1% Triton X 100 存在下で最大活性が得られた。D T T にも活性化および安定化作用がある。G M 3 に対する K_m は 100 - 150 μ M であった。

2. 細胞質性シアリダーゼ

先に、本酵素活性に富むラット骨格筋から均一精製標品を得て、そのペプチドシークエンスを基に、細胞質性シアリダーゼの c D N A を単離した。一次構造解析の結果、これまで報告されている微生物シアリダーゼの構造とは有意の相同性は認められなかったが、図に示すように、そのコンセンサス配列 (Ser-X-Asp-X-Gly-X-Thr-Try) がこの動物シアリダーゼに含まれていることがわかった。また、 β シート構造の繰返しや高含量のシステインの存在は、シアリダーゼの高次構造が種を越えて保存されていることを示唆している。

本酵素の機能を遺伝子導入によって調べた。翻訳領域を含む cDNA を発現ベクター pSVsport (GIBCO-BRL) にリポフェクチン法によって導入し、Geneticin 耐性株を単離した。対象とした細胞は、ラット絨毛芽細胞 3Y1 と、筋原細胞 L6 である。細胞の増殖状態やガングリオシドの発現状態について、遺伝子導入前後で比較検討している。

謝辞：合成ガングリオシドを供与していただいた岐阜大農学部の高谷川明先生に感謝申し上げます。

表. ウシ脳ガングリオシド・シアリダーゼの基質特異性

基質	相対的分解速度 (%)
ガングリオシド：	
GM3	100
GD1a	95
GM2	10
合成ガングリオシド：	
GSC-17 ($\alpha 2-3$)	110
GSC-61 ($\alpha 2-6$)	44
オロソムコイド	2
フェツイン	0
グリコフォリン	3
ヒツジ顎下腺ムチン	3
ウシ顎下腺ムチン	0
シアリルラクトース	2
4MUシアル酸	15

図. ラット細胞質性シアリダーゼの一次構造
(網かけ部分は微生物シアリダーゼで見いだされたコンセンサス配列)

```

METCPVLQKETLFHTEVYAYRIPALLYLKKQKTLLAFAEK
RASRTDEHAELIVLRRGSYNGATNHVKHQPEEVVTQAQLE
GHRSMNPCPLYDKQTKTLFLFFIAVPGRVSEQHQQLQTRVN
VTRLCRVTSTDTGKNNSPVQDLTETTIGSTHQDWATFAVG
PGHCLQLRNRAGSLLPAYAYRKLHPVHKPTPFACFIK
DAGHTNELGNFVSENSLECVAEVGTGAHRVVYLNARSAFI
GARVQAQSPNDGLDFQDNQVVS KLVEPPHGCHGSVVAFHS
PTSKPDCLRHVAAYTHPTDSRNRTNLGVYLNQTPLDPTAW
SEPTLLATGTCAYSDLQIWGLGPDGSPQFGCLYESGNYDE
IIFLMFTLKQAFPTVHGAQ

```

文献

- 1) Miyagi, T., Sagawa, J., Konno, K., Handa, S. and Tsuiki, S. (1990) J. Biochem., 107, 787-793.
- 2) Miyagi, T., Sagawa, J. Konno, K. and Tsuiki, S. (1990) J. Biochem. 107, 794-798.
- 3) Miyagi, T., Sagawa, J. Kuroki, K., Matsuya, Y. and Tsuiki, S. (1990) Jpn. J. Cancer Res. 81, 1286-1292.
- 4) Miyagi, T., Hata, K., Konno, K. and Tsuiki, S. (1992) Tohoku J. Exp. Med. 168, 223-229.
- 5) Miyagi, T., Hata, K., Hasegawa, A. and Aoyagi, T. (1993) Glycoconjugate J. 10, 45-49
- 6) Miyagi, T., Konno, K., Emori, Y., Kawasaki, H., Suzuki, K., Yasui, A. and Tsuiki, S. (1993) J. Biol. Chem. 268, 26435-26440.

V-4

アルキル化剤，特にニトロソウレア

涌井 昭*

Key words アルキル化剤，ニトロソウレア，鎖間架橋，O⁶-ALG，MGMT

はじめに

アルキル化剤とは

アルキル化剤とはある化合物にアルキル基を導入することができる極めて反応性に富んだ一群の化合物をいう。生体内におけるアルキル基の受容体には種々あるが，アルキル化剤の細胞毒性は特に DNA が標的になったときに発現する。

アルキル化剤の細胞毒性は一般には分子内にアルキル基 1 個を有する単機能性アルキル化剤 (monofunctional alkylating agents) に比べて，2 個あるいはそれ以上のアルキル基を有する 2 機能性あるいは多機能性アルキル化剤 (bi- or polyfunctional alkylating agents) で強く発現する。したがって，臨床的に抗癌剤として有用なアルキル化剤は後者に属しているものが多い。

現在，癌の化学療法剤として臨床で用いられているアルキル化剤には，構造の上から次の 6 種類がある。

- ① nitrogen mustard 系アルキル化剤
- ② ethylenimine (aziridine) 系アルキル化剤
- ③ alkyl sulfonate 系アルキル化剤
- ④ triazene および hydrazine 系アルキル化剤
- ⑤ epoxide 系アルキル化剤
- ⑥ nitrosourea 系アルキル化剤

このうち，①～④に属しているアルキル化剤については，それらの使用法，使用量，適応症などを一括して表に示し，本稿においては⑥について述べる。

ニトロソウレア製剤開発の沿革・経過

1. 開発の端緒

ニトロソウレア (nitrosourea; NU) 系抗癌剤の開発は，1954 年，MNNG (methyl-nitroso-nitrosoguanidine) がマウス白血病に抗癌活性を示したことに端を発し，まず CNU {1-(2-chloroethyl)-1-nitrosourea} と MNC (1-methyl-1-nitrosourea) が合成された。これらの NUs は MNNG に比べて抗癌活性が強いうえに脳内に移植された腫瘍に対しても有効であったことから，血液-脳関門を通過しうる抗癌剤として注目されるようになり，NUs の開発が一躍活発になった。

2. 沿革，経過

① そこで，MNU を原形とした NUs の開発が進められ，N₁ を 2-chloroethyl 基に，N₃ を 2-chloroethyl 基や cycloaliphatic 基などに置換したときに強い抗癌活性が得られることがわかり，種々検討の結果 BCNU, CCNU および methyl CCNU が選出された。この 3NUs についてはそれぞれ広汎な臨床検討が行われた結果，米国においては前 2 者の臨床使用が承認された。

② これらの NUs はいずれも脂溶性であるが，1964 年，streptomyces acromogenes から分離された streptozotocin は，グルコースの C-2 に MNU が付いた化学構造を有する天然に得られた水溶性 NU であることが明らかにされた。本剤にはこれまでの脂溶性 NUs の容量規制毒性 (DLT) である骨髓毒性はみられない。このことから糖鎖を有する chloroethyl 系 NU の開発が進められ chlorozotocin が米国において合成された (1974 年)。わが国においてもグルコースの C-1 に

*宮城県立がんセンター

〔〒 981-12 名取市愛島塩手字野田山 47-1〕

表 アルキル化剤の使用法・使用量・適応症

(1) nitrogen mustard 系アルキル化剤		
薬剤名	使用法・使用量	適応症
nitrogen mustard N-oxide (ナイトロミン)	静注・体腔内：1 mg/kg/日，連日，計 500 mg 以上 経口：50 mg/日，連日	悪性リンパ腫，肺癌(扁平上皮癌)，慢 性骨髄性白血病，Wilms 腫瘍，絨毛上皮 腫。今日他のアルキル化剤が用いられ ることが多い。
chlorambucil (ロイケラン)	経口：0.1～0.2 mg/kg/日，連日，3～6 週	慢性リンパ性白血病が本来の適応。ほ かに卵巣癌，悪性リンパ腫(ことに Hodgkin 病，リンパ肉腫)，慢性骨髄性 白血病，真性赤血球増多症，Walden- strom's macroglobulinemia，多発性骨髄 腫，子宮頸癌，膀胱癌，乳癌，Kaposi's sarcoma，結合組織肉腫。
melfalan, phenylalanine mustard (アルケラン)	経口：①0.25 mg/kg/日，4 日連続，6 週ごと反復，②0.15 mg/kg/日，7 日 投与後 0.05 mg/kg/日以下で維持，② 0.05～0.1 mg/kg/日，連日(多用)	多発性骨髄腫が第一の適応。ほかに seminoma，卵巣癌，乳癌，悪性黒色腫， 肺癌，悪性リンパ腫，急性白血病，Ewing 肉腫に多少有効，他の睾丸腫瘍，胆管 細胞性肝癌に特に有効。
cyclophosphamide (エンドキサン)	静注：30～50 mg/kg/日，間歇投与 (17～21 日間隔)。 静注，経口：①2～7.5 mg/kg/日，連日 (多用)，②10 mg/kg/日，しばしば 10 日連日(小児の腫瘍)，体腔内，腫瘍 内注も可	多用される。悪性リンパ腫(ことに細胞 肉腫)，多発性骨髄腫，乳癌，肺癌(小 細胞性未分化癌)，seminoma，絨毛上皮 腫，消化器癌，性器およびその他の癌， 急性慢性白血病，小児固型腫瘍，真性 赤血球増多症。
ifosfamide (イホマイド)	静注：①200～500 mg/日，連日，②50 ～60 mg/kg/日，3 日連日，休薬後反 復，③60～90～150 mg/kg，1 回大量 投与，④180～240 mg/kg，2～4 日に 分割，大量投与	悪性リンパ腫，肺癌(小細胞性未分化 癌)，卵巣癌，乳癌，seminoma，悪性黒 色腫，腎癌にも効あり。スペクトラム は cyclophosphamide に似る。
(2) ethylenimine (aziridine) 系アルキル化剤		
triethylene thiophosphoramide, thiotepa (テスパミン)	静注，筋注，体腔内，経口：①5～10 mg/ 日，連日，②50～75 mg を 5～7 日 に分割投与，1～2 週おいて 5～15 mg/週	Hodgkin 病，リンパ肉腫，慢性白血病， など。ほかに卵巣癌，乳癌にも多少有 効。真性赤血球増多症，膀胱癌で膀胱 内注入。
carboquone (エスキノン)	静注，体腔内：①1 mg/日，連日，②4 ～6 mg/週を 2～3 日に分割投与，経 口：1～1.5 mg/日，連日	肺癌(ことに扁平上皮癌)，慢性骨髄性 白血病，悪性リンパ腫，卵巣癌，semi- noma，胃癌，腸癌などの一般癌および 肉腫。
mitomycin C (マイトマイシン)	静注：①2 mg/日，連日，②4～6 mg/日， 週 2 回，③16 mg/日，2 週 1 回 体腔内，動注も可	一般悪性腫瘍(消化器癌，子宮癌，頭頸 部癌，など)。悪性リンパ腫，慢性骨髄 性白血病。本邦で多用される。

chloroethyl NU が付いた GANU や MCNU，さら
に担体がマルトースで NU の masked com-
pound (prodrug) ともいうべき TA-077 および
その他の NUs が相次いで合成された。1974 年，

わが国で合成された ACNU は水溶性であるが，
生体内では脂溶性薬剤の挙動を示す NU である。
現在，わが国で臨床使用が認可されているのは
ACNU と MCNU の 2 剤であり，BCNU，CCNU

表 つづき

(3) alkyl sulfonata 系アルキル化剤		
薬剤名	使用法・使用量	適応症
busulfan (マブリン)	経口：4～6 mg/日，連日。白血球 1 万以下で中止，5 万以上で再投与または白血球 1～2 万で，減量，維持投与(慢性骨髄性白血病で)	慢性骨髄性白血病に最多用。真性赤血球増多症
864T, improsulfan tosilate (プロテクトン)	経口：①30～90 mg/日，連日，分 3 (寛解導入)，②20～60 mg/日，連日，1～分 3 (寛解維持)	慢性骨髄性白血病
(4) triazene 系および hydrazine 系アルキル化剤		
dacarbazine (Deticene*)	静注：①4.5 mg/kg/日，10 日連日，28 日間隔で反復，②250 mg/m ² /日，5 日連日，21 日間隔で反復	悪性黒色腫に，単独または併用で今日最も有望視。ほかに肺癌，大腸癌，乳癌。
procarbazine (ナツラン)	経口：50～100 mg/m ² /日，連日 1 週間，次いで 125～150 mg/m ² /日で維持，連日，または 50～100 mg/日より増量，1 週間後より 150～300 mg/日，連日	悪性リンパ腫(ことに Hodgkin 病)が第一の適応で，vincristine，cyclophosphamide 耐性のものにも有効。ほかに悪性黒色腫，肺癌(小細胞性未分化癌)，中皮腫，睾丸の Embryonal cell ca.，卵巣癌，膀胱癌，神経芽細胞腫，多発性骨髄腫。

*外国の商品名

のほか streptozotocin は米国において臨床使用が認められている。

化学構造上の特徴

NUs の化学構造上の特徴は分子中に、

- ① ニトロソ基 (–NO)
- ② アルキル基 (R–CH–)
- ③ カルバモイル基 (R–N–CO–)

を有していることである(図 1, 2)。

奏効機序

NUs の抗癌作用には次の 2 つの機序が関与していると考えられている。

1. アルキル化

chloroethyl 系 NUs の場合は、図 3 のように、分解の過程で生じた carbonium ion が DNA の一方の鎖の核酸塩基 guanine の主に 6 位の酸素がアルキル化して O⁶-ethylguanine (O⁶-EtG) が形成されて Cl[–] が遊離し、次いでゆっくりとした二次反応で O⁶-EtG が cytosine との間に ethylen を介した鎖間架橋 (cross-link) を形成する。NUs

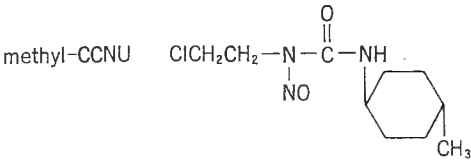
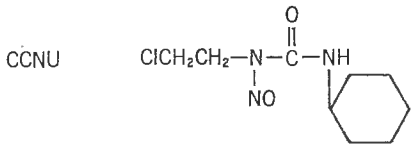
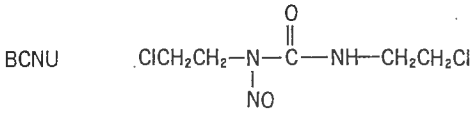


図 1 脂溶性ニトロソウレアの構造式

で重要なことは、CCNU や水溶性 NU のような単機能性のものでも DNA 中に鎖間架橋を形成しうることである。

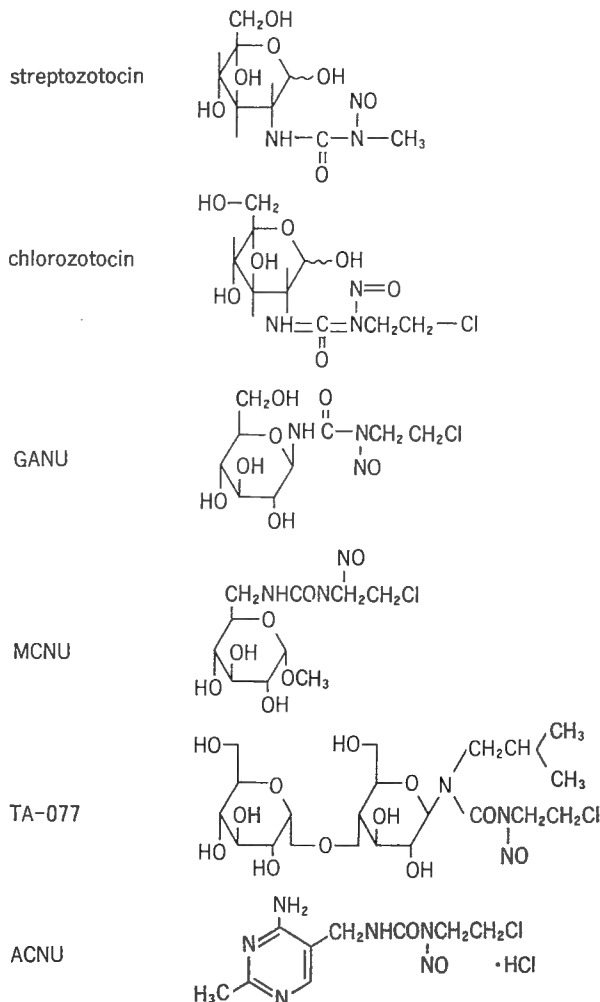


図2 水溶性ニトロソウレアの構造式

2. カルバモイル化

この反応はもっぱら蛋白質で起こる。図3のように、NUsの分解により生じた isocyanate が主に lysine の ϵ -amino 基と反応することによる。しかし、この反応は毒性の発現にはある程度相関しているが、抗癌活性の発現にかかわる主要因子ではないと考えられている。

3. ACNU と MCNU の作用機序

著者らが検討した成績では、ACNU の作用はゆっくりと DNA をアルキル化することによる DNA の低分子化と、DNA-蛋白複合体障害とが相俟って起こる DNA および RNA 合成障害、さらに蛋白質合成障害により発見するものと考えられた。

MCNU は DNA の1本鎖を切断するが、不定期 DNA 合成がみられるにもかかわらず切断され

た DNA の再結合がみられなかったことから ligation の障害も起こると考えられる。また、MCNU には水溶性 NUs では一般にみられない rRNA のプロセッシング阻害も認められている。

4. 感受性と細胞周期

NUs は一般には non-cycle phase specific な抗癌剤であるが、特に G_1 -S 移行期、早期および中期 S 期の細胞に対し感受性が高い。

分類

脂溶性と水溶性ニトロソウレアがある (図1, 2)。

1. 脂溶性

1) BCNU

化学名: 1, 3-bis (2-chloroethyl)-1-nitrosourea

一般名: carmustine

商品名: BiCNU (注射剤, Bristol-Myers Squibb)

2) CCNU

化学名: 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea

一般名: lomustine

商品名: CeeNU (カプセル剤, Bristol-Myers Squibb)

2. 水溶性

1) streptozotocin

化学名: 2-(3-methyl-3-nitrosourea)-D-glucopyranose

一般名: streptozocin

商品名: Zanosar (注射剤, Upjohn)

2) ACNU

化学名: 1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea hydrochloride

一般名: nimustine hydrochloride

商品名: ニドラン (注射剤, 三共)

3) MCNU

化学名: 1-(2-chloroethyl)-3-(methyl α -D-glucopyranos-6-yl)-3-nitrosourea

一般名: ranimustine

商品名: サイメリン (注射剤, 東京田辺)

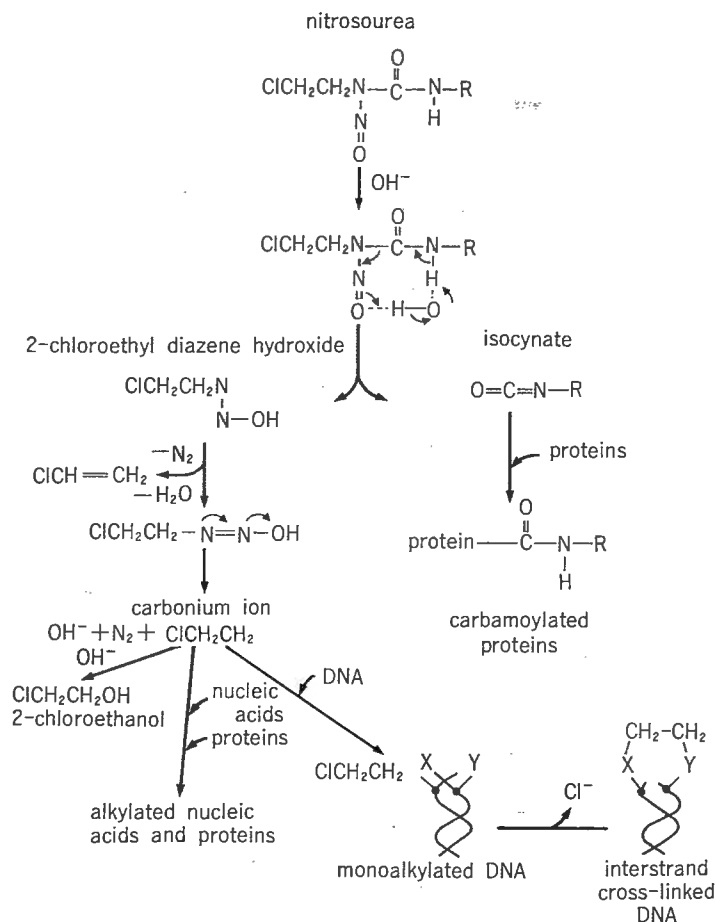


図3 ニトロソウレアの分解と作用機作

上記のなかでわが国において臨床使用が認可されているのは ACNU および MCNU のみであるので、以後の記載はこの2剤を中心にし、他の NUs については参考程度にとどめる。

適応症

1. ACNU

脳腫瘍、消化器癌(胃癌、肝癌、結腸・直腸癌)、肺癌、悪性リンパ腫、慢性白血病

2. MCNU

膠芽腫、骨髄腫、悪性リンパ腫、慢性骨髄性白血病、真性多血症、本態性血小板増多症

3. BCNU

脳腫瘍、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫、肺癌

4. CCNU

脳腫瘍、悪性リンパ腫、悪性黒色腫、腎癌、肺癌

5. streptozotocin

悪性黒色腫、カルチノイド、Zollinger-Ellison 症候群、ホジキンリンパ腫、結腸癌、肝癌、膵癌

投与方法(経路、用法・用量、併用投与)

1. ACNU

本剤は通常 5 mg/ml となるように注射用蒸留水に溶解し、下記用量を静脈内または動脈内に投与する。

① 1 回量 2~3 mg/kg を 4~6 週ごとに反復投与する。

② 1 回量 2 mg/kg を 1 週間隔で 2~3 回投与し、4~6 週ごとに反復する。

2. MCNU

本剤は通常 6~8 週の間隔で、

① 1 回量 50~90 mg/m² を生理的食塩水または 5%ブドウ糖液 100~200 ml に溶解し、30~90 分で点滴静注するか、

② 同量の MCNU を 10~20 ml の生理的食塩水に溶解し、30~60 秒かけてゆっくりと静注する。

本剤は溶液状態では分解が比較的速く進行するので、溶解後 90 分以内に適用する必要がある。

3. BCNU

本剤は 1 日量 75~100 mg/m² を 2 日間あるいは 200 mg/m² を 1 日間静注 (30 分以内) し、6 週ごとに反復する。

4. CCNU

一般には食後 3~4 時間に 130 mg/m² を 1 日量として 6 週ごとに経口投与する。

5. streptozotocin

下記用量を 1 時間の点滴静注あるいは持続静注あるいは肝動脈内持続投与する。

① 週 1 回 500~1500 mg/m² を 4 週以上投与する。

② 1 日量 500 mg/m² を 5 日間投与し、6 週ごとに反復する。

〔注 1〕NUs の投与間隔：NUs 投与による血小板減少は投与後 3~4 週、白血球減少は 4~5 週で最低になり、それぞれ 1~3 週で回復するパターンをとることが多いことから、次回投与までの間隔は一般に 6~8 週を必要とするが、個人差があるので、投与後の末梢血液所見の推移をみながら慎重に決定する。

6. 併用投与

1) ACNU との併用

脳腫瘍：vincristine (VCR) + 放射線

消化器癌：5-FU + mitomycin C, 5-FU + adriamycin (ADR)

肺癌：VCR, cyclophosphamide (CPM), carboplatin, methotrexate (MTX), ADR + vindesine (VDS)

骨髄腫：CPM + melphalan (L-PAM) + prednisolone (Ps)

急性白血病：ADR + MTX + Ps

2) MCNU との併用

骨髄腫：L-PAM + procarbazine (PCZ) + Ps, VDS + L-PAM + Ps, CPM + PCZ + Ps

慢性白血病：VDS + 6-MP + allopurinol + Ps

悪性リンパ腫：CPM + VCR + ADR + Ps

臨床成績

国内で実施された ACNU および MCNU の臨床試験成績 (奏効率) は以下のとおりである。

1. ACNU 適応癌腫の奏効率

脳腫瘍；38.3% (31/81, 著効 8.7%, 膠芽腫 32.3%), 胃癌；20.9% (24/115), 肝癌；23.5% (4/17), 結腸・直腸癌；28.0% (7/25), 肺癌；24.4% (31/127, 腺癌 16.7%, 小細胞癌 37.5%, 著効 15.0%), 悪性リンパ腫；39.5% (17/43, ホジキン病 66.7%, 著効 11.1%), 慢性白血病；75.0% (27/36, 骨髄性 74.3%)

2. MCNU 適応癌腫の奏効率

膠芽腫；35.7% (5/14, 著効 14.3%), 骨髄腫；22.0% (9/41, 著効 2.4%), 悪性リンパ腫；24.2% (8/33, 著効 12.1%), 慢性骨髄性白血病；86.7% (65/75, 著効 78.7%), 同急性転化；27.3% (3/11, 著効 18.2%) 真性多血症；89.7% (26/29, 著効 20.7%), 本態性血小板増多症；88.9% (16/18, 著効 66.7%)

副作用

ACNU および MCNU 投与により報告された副作用は下記のとおりである。

1. ACNU の副作用

白血球減少 (31.5%), 血小板減少 (30.0%), 悪心・嘔吐 (22.3%), 食欲不振 (12.5%), 赤血球減少 (4.6%), GOT 上昇 (3.6%), GPT 上昇 (3.5%) など

2. MCNU の副作用

血小板減少 (34.0%), 白血球減少 (27.7%), 悪心・嘔吐 (12.3%), 赤血球減少 (6.1%), GPT 上昇 (6.4%), GOT 上昇 (5.2%) などのほか 2% 以下の頻度であるが BUN, クレアチニンおよび ALP の上昇がみられている。最近、間質性肺炎の報告あり。

3. BCNU, CCNU および streptozotocin の副作用

1) BCNU

悪心・嘔吐、骨髄抑制のほか顔面紅潮、肝障害、めまいや運動失調などの中枢神経障害、まれに 6 カ月以降に発生する肺線維症

2) CCNU

悪心・嘔吐，骨髓抑制のほか口内炎，脱毛，肝・腎障害もまれにみられる。

3) streptozotocin

悪心・嘔吐，下痢，腎障害，低血糖など

〔注2〕 NUs による悪心・嘔吐は一般に投与1～6時間後に発現する。

投与における注意点

副作用の項で述べたように NUs 投与にあたっては以下の点に特に注意する必要がある。

① 遅延性の骨髓抑制などの副作用が起これるので，投与後は1週ごとに血液，肝・腎機能検査を行う。

② 骨髓抑制のある患者，本剤に対し過敏症の既往歴のある患者には投与しないこと。

③ 肝，腎障害のある患者には慎重に投与すること。

④ 静脈内投与時薬剤が血管外に漏れると注射部位に疼痛，腫脹を起こすので注意すること。

NUs のこれから

NUs の開発は一応の段階に達したと考えられるので，今後は肺癌，胃癌，結腸・直腸癌，他剤に耐性となった骨髓腫などに対する有効な併用療法の開発，骨髓移植の際の大量投与などが検討される必要があろう。

最近の話題

最近，細胞死の一形態であるアポトーシス (apoptosis) との関係で NUs を含むアルキル化剤が注目されているが，これは既述のように

DNA に鎖間架橋が形成されることによる。DNA に鎖間架橋が形成されるためには，O⁶-alkyl guanine (O⁶-ALG) の生成が必要である。

したがって，O⁶-ALG の修復が起こればアルキル化剤に対する耐性が発現する。

O⁶-methyl guanine-DNA-methyl transferase (MGMT) は O⁶-ALG からアルキル基を奪い，これを酸素分子に含まれる cystine 残基に移すことにより，O⁶-ALG をもとの guanine に修復する酵素であり，これにより自らは失活する。

最近，この酵素の遺伝子がクローニングされた。最近の報告によれば，ヒト腫瘍株の20%に O⁶-methyl guanine の修復がみられず，MGMT 活性が欠如しているという。このような MGMT 活性が欠如している株では ACNU に高感受性を示すこと，MGMT 遺伝子の転写が抑制されていることが明らかにされている。したがって，この遺伝子の発現を抑制することが可能であれば，アルキル化剤，特に NUs に対する癌細胞の感受性を高めることができると考えられるので，その機構の解明が待たれる。

なお，MGMT は発癌物質による DNA 障害の修復にも関与しているので，これによる修復機構は発癌と制癌の両面にかかわりあいをもつことになる。

文 献

- 1) 涌井 昭：最新医学 36：1047-1055，1981
- 2) Knobf MKT, et al：Cancer Chemotherapy, Treatment and Care, GK Hall Medical Pub, Boston, 1984, pp 60-66
- 3) 池永満生：癌と化学療法 21：596-601，1994

〈特 集〉

スキルス胃癌の化学療法

スキルス胃癌の
診断と治療

涌井 昭*

要旨 スキルス胃癌は Borrmann 4型を呈することが多く、診断時、すでに切除不能のことがしばしばであるので、全身性の化学療法が治療上中心的役割を果たさざるを得ないことが多い。しかし、現状においてスキルス胃癌に特異的に作用する抗癌剤は開発されていない。

単剤では 5-FU およびその誘導体, MMC, anthracyclines, CQ, ACNU などが比較的有效な薬剤としてあげられているが、最近では CDDP が注目されるようになった。これらの単剤の効果を高めるため、胃癌の化学療法においては 5-FU+MMC, UFT+MMC, UFT+CDDP, MTX・5-FU, FAM, FAP, EAP レジメンなどが開発され、さらに、5-FU+LV, IFN+5-FU などのレジメンも検討されつつあるが、スキルス胃癌に対して期待し得るレジメンは CDDP と 5-FU (その誘導体) の併用および MTX・5-FU レジメン、さらにそれらをベースにした併用レジメンなどであろう。

〔癌と化学療法 21(14): 2398-2406, 1994〕

はじめに

スキルス胃癌とは Borrmann 4型あるいは linitis plastica 型胃癌にみられるように、胃粘膜には著明な腫瘤形成、潰瘍形成などはなく、病巣が非限局性、び漫性に進展していくもので、典型的には胃壁全体が硬化、肥厚し、時には著明な狭窄を来すなどの特性を示す一群の胃癌をいう。組織学的には大部分が未分化型の腺癌で、癌細胞はび漫性ないし散在性に浸潤し、間質に著しい線維組織の増生を伴っているのが特徴である。

このような特異の進展様式から、この群の胃癌の早期診断は現在でもなお難しく、stage IVで発見されることが多い。また、このような例では腹膜播種、リンパ節転移、骨転移などを伴うことも多い。したがって、この群の胃癌にとって化学療法は治療の最初からかわり合いをもたざるを得ない治療法の一つである。

* 宮城県立がんセンター

別刷請求先：〒981-12 名取市愛島塩手字野田山 47-1
宮城県立がんセンター 涌井 昭

しかし現時点においては、スキルス胃癌に対し特異的に作用する抗癌剤はないので、本疾患に対する化学療法も、胃癌一般に対する化学療法の枠組みの中で考えてゆかなければならない。

したがって、本稿においては胃癌に対し現行で有効とされている化学療法、あるいは期待される化学療法について述べる中で、スキルス胃癌の化学療法を考えてゆきたい。

I. 胃癌に対する抗癌剤の選択

現在、胃癌に対し効果があるとされている抗癌剤には 5-FU および tegafur, UFT, carmofur (HCFU), doxifluridine (5'-DFUR) などの誘導体, mitomycin C (MMC), adriamycin (ADR) およびその誘導体 epirubicin, cisplatin (CDDP) などがあるが、そのほかにも carboquone (CQ), nimustine (ACNU) などのアルキル化剤をあげることができる。

1983 年、栗原ら¹⁾が行った全国 108 施設に対するアンケート調査では、スキルス胃癌に対し単剤で用いられている抗癌剤としては内科系、外科系

とも 5-FU, MMC, tegafur が上位 3 位を占めていた。そのほか, ADR, HCFU, CQ, ACNU なども用いられていたが, PSK, OK-432 は外科系での使用比率が高い傾向にあった。

現在, 抗癌剤の単剤使用は, 今後さらに治療が望まれる performance status が良好な患者に対する第 2, 第 3 ラインの治療として考えるのが一般的である。

II. 併用療法

前述の栗原ら¹⁾のアンケート調査によれば, スキルス胃癌に対し内科系で用いられている 85 件の併用療法の中で最も多用されていたのは 5-FU + MMC (22 %, 19/85) であった。次いで MM C + 5-FU + ara-C (13 %), tegafur + MMC (8 %), 5-FU + ADR + MMC (8 %) の順であったが, 外科系の報告でもほぼ同じ順位, 同じ比率であったという。単剤を含めこれらの各治療レジメンで治療された症例中, 各施設判定で無効とされた症例の 50 % 生存期間はわずか 2.9 か月にすぎなかったが, 有効と判定された 71 例のそれは 8.5 か月で明らかに延長していた。また, 有効例中原発巣に対し X 線上あるいは内視鏡上効果があったとされた 39 例の 50 % 生存期間は 10.5 か月で, 1 年生存率も 36 % であったことから, 化学療法で他覚的效果が得られるような症例においては延命効果もみられると考えられている。

栗原ら (進行胃癌治療研究同好会)²⁾ が実施した切除不能進行胃癌に対する 5'-DFUR + ACNU (A 法) と 5'-DFUR + ACNU + MMC (B 法) の比較試験の報告では, スキルス胃癌に対する総合効果は A 法 0 % (0/10), B 法 16.7 % (2/12), 非スキルス胃癌に対しては A 法 15.4 % (4/26), B 法 33.3 % (6/20) で, スキルス胃癌に対する奏効率は低かったが, 50 % 生存期間は両群間に差はみられなかった。

1. FAM 療法

5-FU + ADR + MMC (FAM) 療法は 1970 年代後半に Macdonald らにより胃癌に対する治療レジメンとして導入されたものである (表 1)。

1980 年の最初の報告では³⁾, 62 例の進行胃癌に対する PR 率は 42 %, 奏効期間の中央値 9 か

表 1 Dosage schedules of selected regimens¹⁰⁾ for gastric cancer

Drugs	Dose/m ² (mg)	Day
FAMTX		
Fluorouracil	1,500	1
Methotrexate	1,500	1
Doxorubicin	30	15
Repeat cycle on day 29		
EAP		
Etoposide	125	4,5,6
Doxorubicin	20	1,7
Cisplatin	40	2,8
Repeat cycle on day 29		
EAP		
Fluorouracil	300	1-5
Doxorubicin	40	1
Cisplatin	60	1
Repeat cycle every 5 weeks		
FAM		
Fluorouracil	600	1,8,29,36
Doxorubicin	30	1,29
Mitomycin C	10	1
Repeat cycle every 8 weeks		
ELF		
Etoposide	120	1-3
Fluorouracil	500	1-3
Leucovorin	300	1-3
Repeat cycle every 3-4 weeks		

月, PR 例の生存期間の中央値は 12.5 か月 (全例の中央値 5.5 か月) で, 特に低分化型腺癌 (スキルス胃癌の記載はない) の PR 率は 68 % (17/25) と高率であったことから, 本レジメンの効果が検討された。しかし, その後の報告をみると, 本レジメンの種々の変法により治療された症例を含んだ 656 例に対する累積奏効率は 30 % (CR 2 %), 生存期間の中央値 6 ~ 9 か月⁴⁾, また, 310 例に対する奏効率は 28 % となっており⁴⁾, わが国における検討でも奏効率は 21 %, 26.1 % などで, 毒性も強く期待されたほどの成績は得られていない。

筆者ら⁵⁾が angiotensin II による昇圧を併用 (昇圧癌化学療法) し ADR, 5-FU, MMC の 3 剤併用レジメンで治療した進行胃癌例の成績では, 完全例 54 例に対する奏効率は 35 % で CR

5例, PR 14例が得られている。これを非切除未治療例に限ってみると、奏効率は52% (13/25)で、CRの5例はいずれもこの未治療群で得られた。この5例のCR例中4例が低分化型腺癌であった。なおこの25例中CRの3例, PRの4例, MRの3例の計10例が治療後手術されて詳細な組織学的検討がなされたが、これらの所見および経時的に施行された生検材料の組織所見から化学療法による癌の治癒過程をうかがい知ることができた。

2. UFTM療法

須賀ら⁶⁾はUFTとMMCを併用したUFTM療法をスキルス胃癌の治療に用い21例中14例、66.7%に効果を認めた。治療開始からの50%生存期間は全症例で8.4か月、有効例で11か月と報告されている。これに対し、前治療のない進行胃癌を対象にして13施設の共同研究で実施されたtegafur+MMCとUFT+MMCの比較試験において、各レジメンの奏効率はtegafur+MMC 7.8% (7/90), UFT+MMC 25.3% (20/79)で、後者で有意に高率であったが、生存日数には差はみられなかったと報告されている⁷⁾。

3 CDDP併用レジメン

CDDPは胃癌に対し単独で19%程度の奏効率を示すこと、5-FU, MMC, ADRなどと交叉耐性を示さないこと、特に胃癌の治療に多用されている5-FUとは*in vitro*で相乗効果を示すことなどの知見に基づいて、胃癌に対する治療レジメンとして前記の各薬剤などと併用され、治療成績の向上に寄与しつつある。

CDDPと5-FUを併用すると相乗効果が得られる機序に関し、最初5-FUによる前処理で細胞がCDDPに感受性の高いG₁期にarrestされるためと考えられていた。しかし、両剤の併用効果を上記の機序のみで説明するには無理があったことから、さらに検討が進められた。その結果、CDDPは細胞膜に働いてmethionine (Met.)の取り込みを障害するため、細胞内Met.プールが減少しhomocysteineからのMet.合成が亢進するので、それと共役している5-CH₃-FH₄→FH₄ (tetrahydrofolate) 反応が促進し、N⁵, N¹⁰-CH₂-

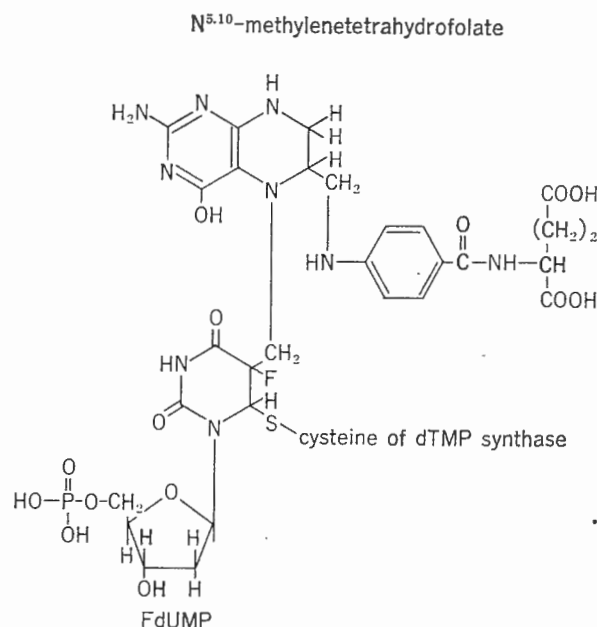


図1 Interaction of FdUMP with thymidylate synthase

FH₄の生成が増加してthymidylate synthase (TS)およびFdUMPとのternary complex (図1)形成の亢進とそれの安定化に寄与する可能性が、Scanlonら⁸⁾により示されている。すなわち、CDDPは5-FUのmodulatorであると同時に、effectorとしても作用するとの考え方である(biochemical dual modulation)。最近、ヒト結腸癌細胞を用いて両剤の相互作用について検討した成績は、この併用効果は5-FUがCDDPによるDNA障害の修復を阻害することによって得られることを示唆している⁹⁾。いずれにしても、この併用効果は上述の機序がかかわり合って得られるものと考えられる。このことはCDDPと5-FUの併用効果は両剤のかなり幅広い投与スケジュールおよび投与タイミングにおいても得られることを示すものである。

このような背景において、FAMレジメンのMMCをCDDPに代えたFAPレジメン(表1)の効果が検討された。234例に対する累積全奏効率は34% (CR 5%)で、生存期間の中央値は6~13か月であった¹⁰⁾。筆者ら¹¹⁾もこの3剤併用(5-FU 350 mg/m², 第1~5日, CDDP 70 mg/m² 第1日, ADR 25 mg/m² 第5日, 3週ごと)の進行胃癌に対する効果を多施設共同研

究で検討したが、奏効率は33%（組織型別には差なし）、全例の50%生存期間は5か月であった。

栗原が厚生省がん研究助成金、胃癌内科グループで実施した切除不能胃癌に対する5'-DFUR+CDDP療法（5'-DFUR 1,400 mg/m²/days 1～4/W, CDDP 80 mg/m²/day 5/3 W）、進行胃癌治療研究同好会が第3次研究として実施した5'-DFUR+CDDP+MMC療法および東京がん化学療法研究会胃癌グループで実施中の5'-DFUR+CDDP vs 5'-DFUR+CDDP+MMC療法の成績がまとめられている。それによると、これらの各レジメンによる治療の累積奏効率はスキルス胃癌12.9%（4/31）、非スキルス胃癌44.7%（34/70）で非スキルス胃癌で高率であったが、50%生存期間はスキルス胃癌268日、非スキルス胃癌264日で両者間に差はみられていない¹²⁾。しかし、このスキルス胃癌における268日という50%生存期間は先の進行胃癌治療研究同好会の第2次研究でのスキルス胃癌の50%生存期間154日²⁾に比べ延長傾向にあったことから、CDDPの導入がスキルス胃癌患者に延命をもたらしていると考えている。

須賀ら¹³⁾はUFTMのMMCをCDDPに代えたUFT+CDDP療法（UFT 400 mg/m² po/d, CDDP 100 mg/m²（2回目以降80 mg/m²）24 hrs. cont. infusion/4W）により進行胃癌症例を治療し75%（15/20）という奏効率を得た。これをスキルス胃癌に限ってみると、奏効率（第12版胃癌取り扱い規約による拡大率50%以上）は69%（9/13）で、腹水に対しても8例中7例に効果がみられている。

etoposideの胃癌治療薬としての評価はまちまちであるが、奏効率12%（3/25）との報告もある。しかし、CDDPとの併用は相乗効果を示し、かつ、多剤耐性克服に対する有用性を示唆する実験成績もみられることなどから、種々の癌腫に対する治療レジメンとして用いられてきた。その中で、胃癌に対して行われた第Ⅱ相試験での奏効率は18%（14/79）（CDDP 60 mg/m², days 1, 29, その後6週ごと、etoposide 100 mg/m², days 3, 5, 7, 31, 33, 35）¹⁰⁾、28.3%（13/46）（etoposide 130 mg/m², 3日間, CDDP 45 mg/m², days 2,

表2 胃癌に対するEAP療法の成績¹⁶⁾

報告者	患者数	奏効率			毒性死 (%)
		CR+PR	CR	PR	
Preusser <i>et al</i>	67	64	21	43	0
Wilke <i>et al</i>	33	70	21	49	0
Katz <i>et al</i>	29	72	12	60	2(7)
Taguchi	31	45	0	45	2(6)
Taal <i>et al</i>	26	15	4	11	3(12)
Sparano <i>et al</i>	10	13	0	13	2(20)
Kelsen <i>et al</i>	30	20	0	20	4(13)
Lemer <i>et al</i>	36	33	8	25	4(11)

3, cont. infusion, 4週ごと)¹⁴⁾で併用効果はそれほどではない。

1989年、Preusserら¹⁵⁾は進行胃癌に対し etoposideとCDDPにADRを加えたEAPレジメン（表1）がCR21%（14/67）を含む奏効率64%（43/67）を示し、奏効期間の中央値は7か月（CR例16か月）、全例の生存期間の中央値は9か月（奏効例12か月、CR例17か月）であったと報告した。また、同じグループのWilkeらの報告でも70%（23/33）という高い奏効率が得られている。これらの成績はこれまでの胃癌の化学療法ではみられない優れたものであったので、EAPは胃癌治療レジメンとして一躍注目されるようになった。しかし、これまでに報告された成績をみると、表2¹⁶⁾のように、Katzらの72%の奏効率を除き他の報告の奏効率は13～45%であり、治療関連死もPreusserらのグループ以外の報告では6～20%にみられているので、本レジメンを胃癌の標準的治療とするには問題がある。より詳細な薬理学的検討が望まれる。

EAPレジメンは特に高齢者（65歳以上）に対し重篤な毒性を示すことがあるので、Wilkeら¹⁷⁾は65歳以上の進行胃癌患者を対象にしたELFレジメン（表1）を考案した。5-FU, etoposideは胃癌に対しそれぞれ活性があり、骨髄毒性はあるが蓄積性はなく、効果は相乗的で交叉耐性がみられないこと、また、leucovorin (LV)は体内でN⁵, N¹⁰-CH₂-FH₄となってTSとFdUMPとのternary complex（図1）形成を促進するとともにこれを安定化するので、5-FU

活性を modulate し 5-FU 効果の増強に資すること、などが ELF レジメン開発の基盤となっている。65 歳以上あるいは心疾患を有する 51 例の進行胃癌例に対するこのレジメンの奏効率は 53 % (CR 12 %, 限局例 70 %, 遠隔転移例 49 %) と高率で、重篤な副作用もみられていない¹⁷⁾。したがって、本レジメンは高リスク症例には適切な治療レジメンとなり得るかもしれないが、これを確認した組織型別効果も明らかにするには、より多くの症例を対象とした第Ⅱ相、第Ⅲ相試験を実施する必要がある。なお、5-FU+LV の効果に関し、わが国で LV 500 mg/m², 5-FU 600 mg/m² を毎週投与する方法により実施された第Ⅱ相試験における奏効率は、5-FU の bolus 投与で 31.8 % (7/22), 30 分の点滴投与で 22.2 % (2/9) であった¹⁸⁾。これを Borrmann 4 型胃癌に限ってみると、奏効率は前者 33.3 % (2/6), 後者 20 % (1/5) であった。また、MTX・5-FU+CDDP+LV レジメンで 88 % (10/12, CR 50 %) という奏効率が Bruckner ら¹⁹⁾により報告されているので、確認の必要がある。

4. MTX・5-FU 療法

methotrexate (MTX) は 5-FU の代表的な modulator である。MTX による前処理でプリンの *de novo* 合成が阻害されるような細胞では、細胞内 PRPP (phosphoribosyl pyrophosphate) プールが増大し、5-FU のリン酸化が亢進して RNA への取り込みが増加しその機能を障害する。筆者ら^{20,21)}の検討では、FUTP を取り込んだ rRNA において、28 SrRNA へのプロセシングの阻害が認められるが、MTX 前処理によりこの阻害はさらに強められ、5-FU 耐性細胞株でも 28 S, 32 S に相当するピークはみられない。特に興味があったのは、耐性株では 5-FU の RNA への取り込みはみられなかったが、MTX 前処理により 5-FU の RNA への取り込みがみられるようになり、5-FU 感受性株を 5-FU で処理した時にみられるパターンと同じ rRNA パターンを示したことである。また、MTX 前処理では RNA への ³H-5-FU (FUTP) の取り込みのみならず、酸可溶性画分や ternary complex 中の放射活性の増加もみられる。これらの検討成績から、

われわれは MTX による 5-FU の modulation 効果は、MTX による細胞内 PRPP プールの増大がもたらす 5-FU の RNA 代謝および機能の障害増強と FdUMP の生成増加に伴う TS 活性阻害の増強によって発現するものと考えている。この二つの機序のいずれが主役を演ずるかについては、なお、議論のあるところであるが、いずれにしても、標的細胞の代謝プールのいかに決定因子として重要であろう。そのほか MTX によりもたらされる増大した dihydrofolate (FH₂) プールから生成される FH₂ polyglutamate (または MTX polyglutamate) がより強固な ternary complex を形成することもこの併用効果の発現に関与している可能性がある。

本併用の進行胃癌に対する第Ⅱ相試験が多施設共同で MTX 30 mg/m² (A 法), 100 mg/m² (B 法), 300 mg/m² (C 法) をそれぞれ投与し、1～3 時間後に 5-FU 600 mg/m² を 1 時間以内の点滴静注で投与する三つの方法 (LV は 10 mg/m²/回を静注または経口で MTX 投与 24 時間後 A 法では 1 回, B 法ではその後も 6 時間ごとに投与) により実施されたが、奏効率は A 法 23.2 % (13/56, CR1), B 法 40.5 % (15/37, CR1), C 法 0 % (0/3) であった²²⁾。組織型別には低分化型に対し A 法 15 %, B 法 50 % で B 法で高い奏効率が得られ、Borrmann 4 型に対しても B 法 53 %, A 法 31 % であった (表 3)。これらの成績は、本併用特に B 法は Borrmann 4 型を含む低分化型胃癌に対する治療レジメンとして有用であることを示唆するものである。

赤沢ら²³⁾は MTX 100 mg/m², 5-FU 800 mg/m² 週 1 回の投与でスキルス胃癌に対し 50 % (8/16 CR1), 非スキルス胃癌に対し 44 % (6/16) という奏効率を得ているが、特にスキルス胃癌の 50 % 生存期間は 318 日で、非スキルス胃癌の 156 日に比べて有意の延長が認められたと報じている。

小西ら²⁴⁾もほぼ同様な投与スケジュールで切除不能あるいは術後再発胃癌に対する効果を検討し、27 % (9/33) の奏効率を得ているが、PR の 9 例はいずれも低分化型腺癌で、低分化型胃癌に限ってみると奏効率は 35 % (9/26) であったと報告している。この成績から、小西ら²⁵⁾は Borrmann

4型を中心に低分化型進行胃癌を対象に本併用による術後補助療法の成績を検討しているが、Borrmann 4型胃癌の治癒切除例の累積生存率（1年100%，2年76.5%，4年45%）は、MMCおよびフッ化ピリミジン系薬剤による同教室のBorrmann 4型に対する治癒切除例の累積生存率（1年71.4%，2年49.5%，4年36.7%）に比べて良好な成績が得られつつあるという。

表 3 MTX/5-FU 交代療法 phase II study (胃癌): 組織型効果¹⁸⁾

	A 法 (MTX 30mg/m ²)	B 法 (MTX 100mg/m ²)
分化型	7/28 (25%)	3/12 (25%)
低分化型	4/27 (15%)	12/24 (50%)
他	0/1	0/1
Borr. 4 型	4/13 (31%)	9/17 (53%)

須田ら²⁶⁾は絶対的非治癒症例を対象にしてMTX・5-FU群とMMC+フッ化ピリミジン(MF)群の生存期間を比較し、両群の生存曲線は2.5%の危険率でMTX・5-FU群が良好であったとしている。また、これらの症例をBorrmann 1～2群と3～4群に分け、前記2治療群の生存率を比較したところ、Borrmann 1～2群では治療群間に差はみられなかったが、3～4群におけるMF群(n=57)の1, 3年生存率はそれぞれ35.4%, 3.1%であったのに対し、MTX・5-FU群(n=40)ではそれぞれ50.3%, 16.4%で両群間に有意差(p=0.025)を認めた。さらに、各治療群の生存率を組織型別に検討し、分化型の1, 3年生存率はMF群(n=23)42.9%, 6.4%, MTX・5-FU群(n=10)64.9%, 19.3%であったが(症例数の関係か有意差なし)、未分化型の1, 3年生存率はMF群(n=43)30.3%, 3.8%であ

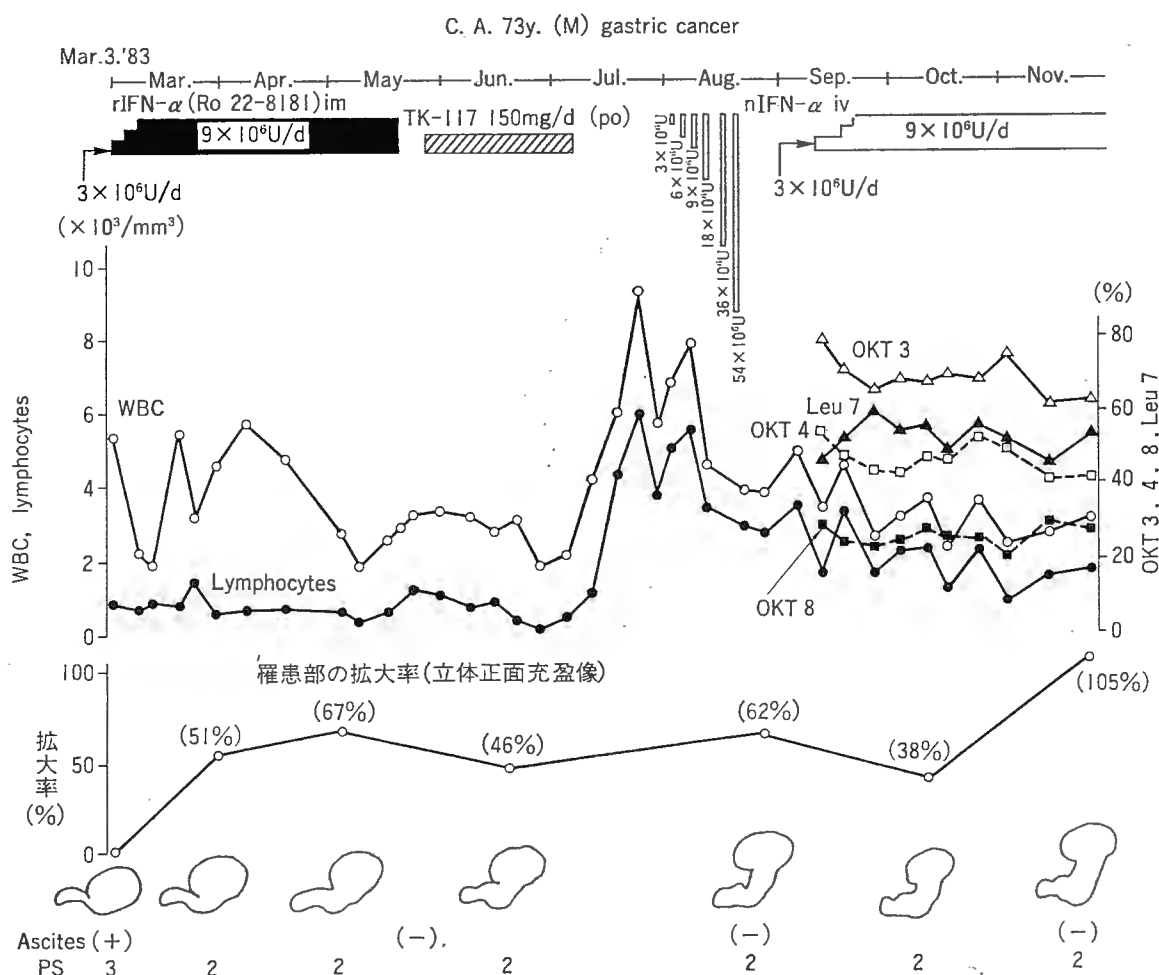


図 2 Interferon によるスキルス胃癌例の治療経過³¹⁾

ったのに対し、MTX・5-FU 群(n=28) 42.6 %, 15.8 %で有意に高率であったという結果を得た。

これらの結果は、MTX・5-FU 療法はこれまで一般に行われていた MF 療法に比べてスキルス胃癌に有効であることを示しているといつてよいであろう。

MTX・5-FU に他の抗癌剤を併用したレジメンには前述の MTX・5-FU+CDDP+LV のほかに Klein らが提唱した FAMTX (表1) がある。Klein ら²⁷⁾は100例の評価可能症例に対する奏効率は59 % (CR 12 %) で、5年以上生存した症例は6 %みられたと報告している。Kelsen ら²⁸⁾は自験例30例を含む364例に対する累積奏効率が41 %で、治療関連死が3~4 %と低率であったことや、EAP レジメンとの比較試験で奏効率 (FAMTX 33 %, EAP 20 %) には差がみられなかったが、FAMTX で CR が3例得られ治療死もみられなかった (EAP 13 %) ことから、本レジメンは EAP よりこの点で優れているとしている。

5. Interferon (IFN) と 5-FU の併用

サイトカインが抗癌剤作用を modulate し、効果を増強させることが実験的に明らかにされているが、特に IFN と 5-FU の併用は大腸癌に対して42 %という高い奏効率を示したことが Wadler ら²⁹⁾により報告されてから、治療レジメンとして注目されるようになった。Wadler らの方法は5-FU は750 mg/m² を5日間持続静注投与し、1週間の休薬後、同量を週1回投与するが、IFN (rIFN α -2a) は9 $\times$ 10⁶U/d を初日から週3回、8週間皮下投与するものである。胃癌に対しては Wadler の方法を用いた Pazdur ら³⁰⁾の報告があるが、奏効率は25 %であった。

IFN・5-FU レジメンがスキルス胃癌に対しどの程度の効果を示すかは現状では不明であるが、ここに記載したのは、著者ら³¹⁾が多施設共同で実施していた各種 IFN の第II相試験において、登録した6例の胃癌例中2例のスキルス胃癌のみが IFN に反応した経験をもったからである。

1例は図2に示したように、胃X線上罹患部の拡大率は rIFN- α の投与で4週後54 %, 8週後67 %となり、その後投与された FUDR の mask-

ed compound TK-117 中止4週間後から、再び nIFN- α (Namalva 由来) を投与した。投与開始前治療前に対し46 %であった罹患部の拡大率は62 %となり、さらに105 %に達し、拡大率100 %以上の状態が4週以上持続し、PR に相当する効果 (胃癌取扱い規約第11版) が得られた。他の1例は rIFN- γ による治療で内視鏡所見および生検組織所見に改善がみられ、比較的良好な経過をたどった例である。スキルス胃癌に対する IFN の効果は症例を重ねて確認する必要があるが、このような症例が得られたことは、IFN がこの型の胃癌に対し何らかの作用を有することを示唆するものであろう。したがって、胃癌に対する IFN・5-FU の評価は対象をスキルス胃癌に限定して行うべきであると考えている。今後の検討が待たれる。

おわりに

以上、スキルス胃癌に対する化学療法の現況を胃癌一般に対する化学療法の枠組の中で概述した。現在、スキルス胃癌に対する治療レジメンとして期待し得るのは、CDDP と 5-FU (その誘導体) の併用および MTX・5-FU を基幹としたものであるが、本稿で取り上げたレジメンやその変法レジメンの中から有効性が確認されるものがあるかもしれない。昨年、これまで案として取扱われていたC病変に対する化学療法の効果判定基準が、若干の修正 (拡大率100 %以上 $\rightarrow$ 50 %以上) の上、正式の基準として取り上げられたので、今後はこの基準 (第12版胃癌取扱い規約) に従って効果が判定されることになることを付記しておく。

文 献

- 1) 栗原 稔, 泉 嗣彦, 佐々木容三・他: Borrmann 4型胃癌の内科的治療の現状と問題点. 癌と化学療法 10: 2468-2477, 1983.
- 2) 栗原 稔, 福山悦男, 中野貞生・他: QOL からみた固形癌化学療法. KARKINOS 4: 551-559, 1991.
- 3) Macdonald, J. S., Schein, P. S., Woolly, P. V. et al: 5-fluorouracil, doxorubicin, and mitomycin-C (FAM) combination chemotherapy for advanced gastric cancer. *Ann. Intern. Med.* 93: 533-536, 1980.
- 4) Preusser, P., Achtermath, W., Wilke, H. et al: Chemotherapy of gastric cancer. *Cancer Treat.*

- Rev. 15 : 257-277, 1988.
- 5) 涌井 昭 : 癌化学療法の変遷. 臨床薬理 23 : 359-364, 1992.
 - 6) 須賀昭二, 木村禰代二, 横山泰久・他 : 胃スキルス
の臨床像と化学療法の問題点. 癌と化学療法 10 :
2478-2484, 1983.
 - 7) 栗原 稔, 前田征洋, 由崎直人・他 : びまん性浸潤
性胃癌 (C病変) の PR 基準について. *Oncolo-*
gia 26 : 304-310, 1993.
 - 8) Scanlon, K. J., Newman, E. M., Lu, Y. *et al* :
Biochemical basis for cisplatin and 5-fluoroura-
cil synergism in human ovarian carcinoma cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83 : 8923-8925,
1986.
 - 9) Johnston, P. and Allegra, C. : The interaction
of 5-fluorouracil and cisplatin in human colon
carcinoma cells. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*
31 : 421, 1990.
 - 10) Alexander, H. R., Kelsen, D. P. and Tepper,
J. E. : Cancer of the stomach. In: Cancer, prin-
ciples & practice of oncology, Vol. 1, 4th edi-
tion (ed. by Divita, Jr. V. T., Hellman, S.,
Rosenberg, S. A.), J. B. Lippincott, Philadelphia,
1993, pp. 818-848.
 - 11) 菊地金男, 涌井 昭, 清水弘之・他 (東北 CDDP
研究会) : 進行胃癌に対する 5-FU, ADM 併用療
法と 5-FU, ADM, CDDP 併用療法との無作為比
較対照臨床試験. 癌と化学療法 17 (PART 1) :
655-662, 1990.
 - 12) 小泉和三郎, 近藤一英, 西元寺克禮・他 : 胃スキル
スの診断・治療の現状, 化学療法, 進行癌. *KAR-*
KINOS 7 : 529-536, 1994.
 - 13) 須賀昭二, 斉藤英彦, 木村禰代二・他 : 胃癌の化学
療法—UFT/CDDP 療法. 癌の臨床 37 : 929-939,
1991.
 - 14) Elliott, T., Moertel, C., Wieand, H. *et al* : A
phase II study of the combination of etoposide
and cisplatin in the therapy of advanced gastric
cancer. *Cancer* 65 : 1491-1494, 1990.
 - 15) Preusser, P., Wilke, H., Achtermath, W. *et al* :
Phase II study with the combination etoposide,
doxorubicin, and cisplatin in advanced measur-
able gastric cancer. *J. Clin. Oncol.* 7 : 1310-1317,
1989.
 - 16) Lerner, A., Gonin, R., Steele, G. D. *et al* :
Etoposide, doxorubicin, and cisplatin chemothe-
rapy for advanced gastric adenocarcinoma : Re-
sults of a phase II trial. *J. Clin. Oncol.* 10 : 536-
540, 1992.
 - 17) Wilke, H., Preusser, P., Funk, U. *et al* : New
developments in the treatment of gastric carci-
noma. *Semin. Oncol.* 17 : 61-70, 1990.
 - 18) 佐々木常雄, 太田和雄, 坂田 優・他 : 多施設共同
研究による大量 Leucovorin・5-FU 併用療法の進行
胃癌および結腸・直腸癌に対する Phase II Study.
癌と化学療法 17 : 2361-2368, 1990.
 - 19) Bruckner, H. W., Sung, M. W., Chesser, M.
et al : Treatment of advanced gastric cancer
with methotrexate (MTX), 5-fluorouracil (5-
FU), leucovorin (LV), cisplatin (DDP). *Proc.*
Am. Assoc. Cancer Res. 29 : 208, 1988.
 - 20) Kanamaru, R., Kakuta, H., Sato, T. *et al* : The
inhibitory effects of 5-fluorouracil on the metab-
olism of preribosomal and ribosomal RNA in
L 1210 cells *in vitro*. *Cancer Chemother. Phar-*
macol. 17 : 43-46, 1986.
 - 21) Kanamaru, R., Kakuta, H., Sato, T. *et al* : Se-
quential chemotherapy with methotrexate and 5-
fluorouracil : Mechanism of synergistic effect. *Sci.*
Rep. Res. Inst. Tohoku Uni.-C. 23 (Nos. 1-4) :
1-8, 1986.
 - 22) 村上 稔, 太田和雄, 宮崎 保・他 : 多施設共同研
究によるメソトレキセート・5-FU 交代療法の進行
胃癌および結腸・直腸癌に対する Phase II Study.
癌と化学療法 14 : 2482-2490, 1987.
 - 23) 赤沢修吾, 吉田清一 : スキルス胃癌に対する MTX/
5-FU 時間差投与法の治療成績とチミジル酸合成酵
素. 化学の領域 4 : 688-695, 1988.
 - 24) 小西敏郎, 三山健司, 平田 泰・他 : MTX/5-FU
時間差投与法の基礎と臨床. *Oncologia* 25 : 257-
262, 1992.
 - 25) 小西敏郎, 真船健一, 平石 守・他 : Methotrexate/
5-FU 時間差投与法による Borrmann 4型胃癌
の新しい術後補助療法. 外科診療 32 : 581-586,
1990.
 - 26) 須田雍夫, 陳 光永, 赤沢修吾・他 : 胃癌における
Methotrexate-5-FU 時間差投与法—絶対非治癒切
除例, 絶対治癒切除後再発胃癌例および Neoadju-
vant chemotherapy としての使用例に対する治療
成績. 日癌治療会誌 26 : 623-631, 1991.
 - 27) Klein, H. O., Wickramanayake, P. and Farrokh,
G. : 5-FU, adriamycin and methotrexate —a
combination protocol (FAMTX) for treatment
of metastasized stomach cancer. *Proc. Am. Soc.*
Clin. Oncol. 5 : 84, 1986.
 - 28) Kelsen, D., Atiq, O. T., Saltz, L. *et al* :
FAMTX versus etoposide, doxorubicin, and
cisplatin : A random assignment trial in gastric
cancer. *J. Clin. Oncol.* 10 : 541-548, 1992.
 - 29) Wadler, S., Schwartz, E. L., Goldman, M. *et*
al : Fluorouracil and recombinant alpha-2a-inter-
feron : An active regimen against advanced
colorectal carcinoma. *J. Clin. Oncol.* 7 : 1769-
1775, 1989.
 - 30) Pazdur, R., Ajani, J. A., Winn, R. *et al* : A
phase II trial of 5-fluorouracil and recombinant
alpha-2a-interferon in previously untreated meta-
static gastric carcinoma. *Cancer* 69 : 878-882,
1992.
 - 31) 三田地泰司, 神部真理子, 朝村光雄・他 : 悪性腫瘍
に対する各種インターフェロンの第 I 相・第 II 相試
験. 日癌治療会誌 23 : 32-42, 1988.

Summary

[*Jpn J Cancer Chemother* 21(14) : 2398-2406,
October, 1994]

**CHEMOTHERAPY FOR SCIRRHOUS GASTRIC
CANCER**

Akira Wakui

Miyagi Cancer Center

Cancer chemotherapy plays a central role in the treatment of recurrent or unresectable scirrhous gastric cancers classified mainly as Borrmann type 4. Though we have no specifically effective drugs for scirrhous gastric cancer, 5-FU and its derivative, MMC, anthracyclines, CDDP, CQ and ACNU are known to

be relatively effective single agents against this tumor.

In an attempt to enhance the effect of single agents, several combined chemotherapy regimens have been devised and tested. These regimens included 5-FU+MMC, UFT+MMC, UFT+CDDP, MTX·5-FU, FAM, FAP, EAP and ELF regimen. At present, combined therapies using 5-FU and MTX or CDDP may be the most attractive of these combined regimens.

Key words: Scirrhous gastric cancer, Borrmann type 4, Chemotherapy, MTX·5-FU regimen

Address request for reprints to: Dr. Akira Wakui, Miyagi Cancer Center, 47-1 Nodayama, Medeshima-shiode, Natori 981-12, Japan

講演

病院経営における放射線科

～管理者の立場から～

宮城県がんセンター 副院長 浅川 洋

平成5年10月・仙台市

ご紹介いただきました宮城県立がんセンターの浅川でございます。最近、テレビ、新聞で大変有名になっている病院でございます。

まあ余談ではありますが、私は放射線科の医者です。すでに35年以上やっております。病院の中で放射線科というのはどうあるべきかということ、を年中考えているわけではございませんが、時々考えることがございます。今日は技師さんが多くお集まりになっているようでありますが、放射線科の技師さんというのが必ずしも恵まれた場にあるとは私自身思っておりません。そういうことも合わせて、常日頃考えていることを少しお話しさせていただきます。主題と若干ずれることを予めおわびいたします。

それからもう1つは、私はご紹介いただきましたように、東北大学の付属病院と、現在のがんセンターは、実は成人病センターが26年ほど続きまして、今年隣にがんセンターを建てて、成人病センターがなくなったということでございますので、私は2つの病院、国立と県立と、いわば親方日の丸の病院でしか働いたことがありません。まあ赤字はしょうがないと、そう考えているものですから、今日の経済性ということになりますといささか心許ない感じがいたします。

ただやはり理想は理想であるべきでありまして、その中でできるだけ経済性を考えていくというのが本来の姿であります。先程医療には二面性がある、理想的な医療と、それから経済性と相反する2つのことがあるという話でございましたが、私はどうしてもやはり良心的な医療をやりたいと考えておりますので、本日の話がどれだけお役に立つかわかりません。しかし逆に考えてみます

表1 放射線科の役割

- | |
|------------------|
| 1. 診療材料、機器の選定と管理 |
| 2. 適正な画像の提供と診断 |
| 3. 適正な放射線治療 |
| 4. 被曝線量の管理 |

と、そういう経済性をあまり考えない人の話を聞くと、ここが間違っているのではないか、あそこを直せば多分儲かるだろうというようなアイデアを与えるのにはかえって便利なんじゃないかと、そうも思っております。

私は放射線科の役割を表1のように考えております。第1は診療材料、それから放射線機器の選定、ここで購入を除いておりますのは、最近汚職が大変盛んでありまして、どうも我々が買うのではなくて、買うのは別なところで買っていただきたいという意味で購入は除いております。それからそれらの保守管理、これが一つの大きな問題だろうと思います。

それから第2番目に、適正な画像の提供と診断です。私自身は放射線科の医者でありますので、全ての画像診断というのは本来放射線科でやるべきであると、そう考えておりますが、放射線科医のいない病院ではこの診断はできないことになります。技師さんだけであれば適正な診療の診断に役に立つ、そして最少限の被曝できちっとした写真を提供するというのが、非常に大きな課題になるだろうと思っております。それからこの画像の方には核医学も超音波もすべて入っております。

それから第3番目は適正な放射線治療であります。最後に放射線科としてやらなければならないのは、医療従事者はもちろんでありますけれど

も、その他に患者さん、それから一般住民というところまで含めて、被曝線量を管理することであります。

それから、ここでは落としてありますけれども、放射線による医療というものを地域の方々にPRする、いわゆる情報を提供する、あるいは技師さん自身を再教育をする、再教育という言葉が悪ければ生涯教育の一環として教育の場を提供するといってもいいだろうと思うんですが、情報の提供と教育研修の業務も5番目に当然入るだろう。これも放射線科の一つの役割であると考えております。

そこでこの役割を全うするためにはどういうことをすればいいかということですが、第1に働く場を確立するきちとした組織を作らなければならない、これが適正な組織であります。

第2には、必要にしてかつ十分な人員が配置されてなければならない。とかく機械は入れたけれども人は入らない、機械は遊んでいる、あるいは機械は入れたけれどもそれを使える人がいない。これは医者も同じであります、技師さんだけを責めるわけでは決してございませんが、そういう適正な人員の配置がなければならない。

第3には、適正な装置、それから設備を設置しなければならないということでもあります。これはあとでまた繰り返します。

それから第4には、適正な放射線診療をしなければならない。私はこれが今日の医療では一番問題になるところではないかと思っています、あとでちょっと詳しくお話をいたします。それからこれは私どもではどうにもならないのですが、私も日本医学放射線学会の健康保健委員を数年間務めたことがあります、放射線医学会から点数を上げてくれということをいくらいっても上げてくれないというようなことがあります、非常に不合理な診療点数を使わざるを得ないという状況にあると私は考えております。これが第5の問題であります。良心的な診療をして黒字にはならなくてもいいから赤字にならない、トントンにいくというのが私は最もいい診療点数なんだろうと、そう考えております。

そこで最後に放射線科の組織の問題に若干触れさせていただきます。放射線科の構成というの

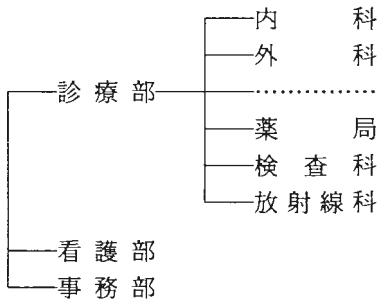
は、1つは医者がいなければなりません。それから技師がいなければなりませんし、看護婦もいなければなりません。それからもう1つは事務職員がいるわけであります。

本来は放射線診療業務は全て放射線科の医者でやるべきであろうと私は考えておりますが、後でも申しますが、放射線科の医者というのは非常に少ない、なり手がいないという状況でございます。したがって放射線診療に携わる医者というのは、現時点では現実には内科のお医者さんも、外科のお医者さんも入るでしょうし、いろんな方が入るんだろうと思います。それから技師というのは、診療放射線技師が中心であります、これに最近は医学物理士というんでしょうか、そういう方も入るでありましょうし、臨床工学技士というんでしょうか、そういう職種の人でも放射線科にいるならばの方がよりベターであると思っております。

それから看護婦さんは、まあ小さいところでは外来の人がチョコチョコと片手間にやる、それから全然いないというようなところもあるかと思いますが、1つの単位として専門の看護婦さんが配置されてしかるべきであろうと私は考えております。それから当然これだけでやるわけにはいきませんので、事務職員が当然入ってきます。

結論的に申し上げますと、この4者が1つのチームを作るわけであります。誰が偉い、誰が偉くないということではございませんで、1つの親しさを感じる、そういうチームワークを作りたいというのが、私自身放射線科医でありまして、常に考えているところであります。そしてそこでお互いに横に連絡をしあって、1つのシステムを作って、そしてスムーズに放射線診療をやっていけばいいのだろうと思っております。

表2 組織図 (1)



そこでちょっと他の病院の組織を見てまいりました。この病院では表2に示すようになぜか事務部と看護部というのは独立しているんですね。ここに診療部がありまして、その中に放射線科があります。おそらくこういうところは検査科、放射線科というのは技師さんはいるけれども医者はいないという形態だろうと思います。なぜ放射線部、検査部が独立しないのかと私は不思議に思います。

少し病院が大きくなりますと表3のように薬剤部と検査部は独立しているんですが、放射線部というのは独立しておりません。本来ここは診療科としての放射線科ですから放射線科の医者が入るところでありまして、技師さんの入るところではないのであります。

さらにもう少し大きくなりますと、表4のような形態がありまして、中央放射線室と中央臨床検査室、部でもいいですが、こういう名前のものがやっと独立して出てまいります。それじゃあこの親方は誰がやっているんだと、こう聞きますと、やはりここは医者がやっている。その下に技師がはりついているという形態だということであります。私はもう10年ぐらい前からこういう形

表3 組織図(2)

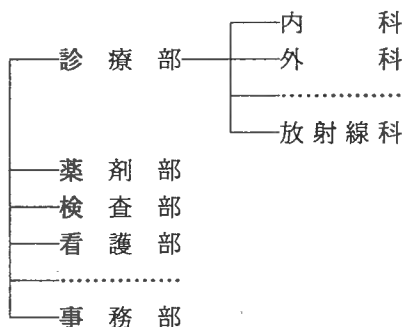


表4 組織図(3)

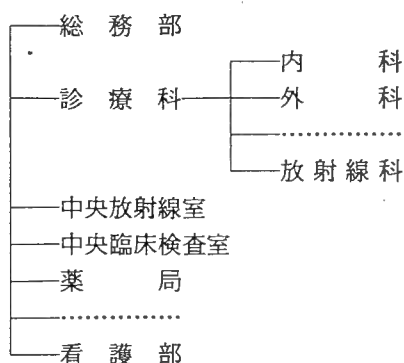
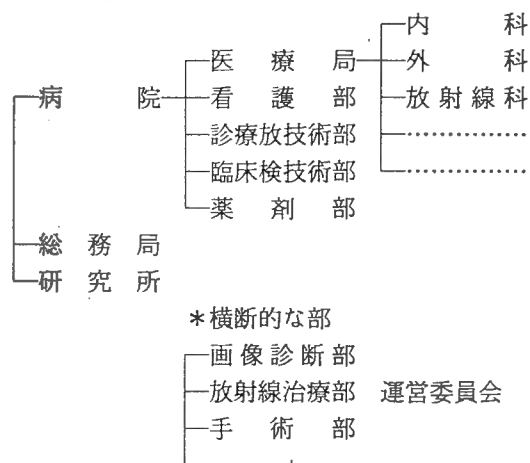


表5 組織図(4)



態はおかしいんだということを県当局に申し出まして、こういう組織は作らなくてくれということをいっていたわけではありますが、宮城県立がんセンターになりましてから次のような組織図になりました。

表5は私どものところのものでございます。医療局は医者集団であります。点線で書いてありますが、内科、外科、眼科とか診療科がいっぱい並ぶわけです。その他に技師さんの職務、そういうものを管理運営する診療放射線技術部というものを作りました。それからもう1つ臨床検査技師さんの集まる臨床検査技術部というのを作りました。その他に薬剤部、看護部というのを作りました。こういう形態になるとすべて独立のものでありますから、対等でありまして、要するに自分のところは自分で管理するという体系ができたわけです。この技術部に対しては医者は全く入っておりません。

そこで病院で実際に診療する場合にはどうなるかといいますかと、画像診断部であるとか、放射線治療部であるとか、手術部であるとか、こういうところは横断的な診療の場であります。

画像診断部というのを例にとりますと、この画像診断部には放射線科の医者がもちろん中心になりますが、内科の医者も入る、外科の医者も入る、循環器の医者も入る、泌尿器の医者も入るという、医者のチームが1つできます。それは1つの診断行為を行うモダリティによってチームを組めばいいということであります。

そこで放射線技術部から技師の部長さんの考え

表 6 放射線科医の配置

人 数	施 設 数
5	1
2	6
1	4
非 常 勤	10

で、画像診断部の A という部門は A が最も最適であるとするならば、A がここに派遣される、それから B はこの部門に派遣されるというようなことを考えていきます。さらに看護部門も同じであります、ここに入っていく。薬のことで必要があれば薬剤部もここに入ってきてもいいということで、運営委員会というのを作ってキチッとした診療のプログラムを作ってやればいいと私は思っておりますし、現実に私の所では今こういう形態が機能しているところであります。要するに私がいいたいことは、各職種の部というのはやはり対等に独立すべきであるというのが私の主張であります。

次に適正な配置に入らせていただきます。表 6 は宮城県における放射線科医の配置でございます。大学病院と大学で運営している研究所は除いております。1 施設に 5 人の放射線科医がいる施設が 1 施設、それから複数でいる、2 人いるというのが 6 施設です。1 人しかいないというのが 4 施設です。

それから非常勤で 1 週間に 1 日、あるいは 2 日、放射線科医が勤務している施設が 10 あります。したがって、僅かに常勤の施設は 10% ぐらいで、あとの 90% では放射線診療はやっているけれども、放射線科の医者は関与してないということになります。それから非常勤の 10% は、これは本当に放射線診療をやるために行っているのか、悪口をいうと金稼ぎに行っているのか分かりませんが、とにかくそういう形態であり、本当に放射線の診療というのがうまくいっているのかどうか、非常に心許ない限りであります。

ところがそれじゃあ 100 の病院で全部雇うからといわれた時に、医者 の 供給源は現在 は大学でありますけれども、大学に 100 人よこせといっても、大学にも 20 人位しかいないわけですから、理想と現実 は非常にかけ離れておりますので、なか

なかうまくいかなないのであります。

それじゃあどうしたらいいかといいますと、放射線科医のいない施設では、放射線の診療というのはどうしたらいいのか、どうあるべきなのかということを他の病院の放射線科の医師と連携をとって、そしていろいろなアドバイスを受けていただきたいと思います。それからもう 1 つ、今日は医者はいないのかもしれませんが、他科の医者はひとつ放射線診療というものをよく理解する努力、そして放射線診療の場に溶け込む努力をすべきであるというのが私のいいたいことであります。

次に放射線の治療の場合の医者の嘆きを少しお話しいたします。というのは私は放射線治療を専門としておりますが、まず一切診断を放射線科の治療医というのはしないんですね。そして直接患者さんが来ないんです。これが今の放射線科の医療では非常に問題なんです。鼻血が出ますと患者さんは先ず耳鼻科に行く。子宮から出血しますと患者さんは婦人科に行く。ものが通らなくなると患者さんは消化器内科に行く。その行った場で耳鼻科のお医者さん、婦人科のお医者さん、消化器のお医者さんが放射線治療に理解がないと放射線治療を選ばない。何でもかんでも治りもしないのに切ってしまう。大変困ることが起こっているわけであります。

それから放射線の治療の対象というのはがんのみであります。それから老人が多いのであります。私の受け持っている患者さんは平均年齢が 70 歳を越えているという実情でありまして、目は見えない、耳は聞こえない、さっぱり歩けない、そういう障害者ばかりというとな怒られますが、まあ私もやがてなるんですが、そういう患者さんばかり診ている、こういう状態ではどうにもならないということですね。

それから先程からいっているように、放射線治療施設が少ない、こういう嘆きがあるわけですが、この辺のところはやはり放射線科を経営するうえでぜひ改良していかなければならない点であると私自身も反省しているところであります。

次に、宮城県における調査結果を申し上げます。この調査は、技師が勤務している 100 施設に

表7 技師の配置

病床数	技 師 数							計
	1	2	3	4	5	6-10	11~	
20未満	2	3						5
20-99	16	7	1	1	1	1		27
100-199	6	9	5	7	1	1	1	30
200-299	1	1	1	2	1	3		9
300-399				1	2	5	1	9
400-499			1	1		3	1	6
500以上						1	4	5
計	25	20	8	12	5	14	7	91

アンケート調査をいたしました。91施設から回答が寄せられました。極めて高率な回答率であると思いますが、皆様にこの席を借りてお礼申し上げます。

先ず技師さんの数を91施設で調べてみました。表7に示しますように、ベッド数と技師の数の関係が出ております。ベッド数が増えると技師さんの数も多いということが一目瞭然だろうと思います。私の病院は今308床でございますので、人によっては贅沢だといわれるかもしれません。ところがある特殊の病院ではこんなにベッド数は少ないんですが、やはり十数人の技師さんのいるところがございます。大体10人以下というところが多いんでしょうかね。

問題は、これが本当に適正な数なのか、私は足りないんじゃないかと思います。定員を決めるのにはどうやって決めるかというと、ベッドの数で決めるのではなくて、その病院の診療の機能、装置の台数、それから検査件数、そういうものからきちっと決めるべきだと思います。最も大切なのは私は個々の病院の診察の機能を明確にするというところが非常に大切なんだろうと思います。たとえば核医学だけをやる病院を建てるのであれば、そこに核医学に非常に堪能な技師さんを数多く集める。そのかわりその地区の他の病院では核医学は一切やらない、そういうような機能の分化といいますか、診療機能を各病院でもっていった、協力体制をとるというようなことも必要なんだろうと、そう考えております。そこでその次に放射線機械の配置を調べてみました(表8)。一般撮影装置の台数、この一般撮影装置というのは極めて漠然としています。これも当たり前のことで

表8 一般撮影装置

病床数	台 数						計
	0	1	2	3	4	5~	
20未満		4	1				5
20-99		23	3		1		27
100-199		17	10	3			30
200-299	1	2	4	2			9
300-399			4	3	2		9
400-499			3	2	1		6
500以上				1		4	5
計	1	46	25	11	4	4	91

500床以上の病院というのは非常に台数が多くなっております。しかしどういうわけか300床近くもある病院で一般撮影装置が1台もないという、これは精神科の病院ではござませんので、こういう病院もあるんだという実情をご理解いただきたいと思います。これでは適正な機械の配置とはとてもいえないだろうと思います。

それからX線テレビの配置を調べました(表9)。X線テレビには循環器専用のテレビもありますし、消化器用もありますし、一般型もありますし、何でもいいわけですが、テレビシステムがついているものの台数を調べてみました。テレビは1台という施設は非常に多いんですね。私の病院は10台以上ですが、各撮影装置にテレビシステムを組み込んでいますので台数が増えているだけであります。X線テレビを購入する場合には、どういう機能のテレビが必要であるかを決め、それに即した機能のものを入れるという方が私はいいんじゃないかと思います。万能型のテレビを入れるとお互い使いづらいわけですから、病院の性格、機能をもとに、これに即した機種と台

表9 X線TV

病床数	台 数							計
	0	1	2	3	4	5-6	10以上	
20未満		4	1					5
20-99	1	20	6					27
100-199		13	11	2	4			30
200-299		3	3		3			9
300-399				4	1	3	1	9
400-499			2		1	3		6
500以上				1		4		5
計	1	40	23	7	9	19	1	91

表 10 C T

病 床 数	台 数					計
	0	1	2	3	4	
20 未 満	3	2				5
20 - 99	11	16				27
100 - 199	6	23			1	30
200 - 299	2	7				9
300 - 399		7	1	1		9
400 - 499		5	1			6
500 以上		1	3	1		5
計	27	61	5	2	1	91

数を適正に配置すべきであろうと思っております。

表 10 は CT の配置であります。CT は 1 台がすでに 61 施設に入っています。4 台持っているという施設があるんですね。非常に小さい病院でもどんどん CT を入れている。これもやはり適正な配置といえるのかどうか、CT がないと医療ができないというのは大きな間違いだろうと私は思うんですね。CT は撮った、診断はできない、ぶんなげておく、逆にいうと CT を入れたから 1 日 20 人撮らなきゃいけない、こんなのは本末転倒だろうと私自身は思っております。

隣の病院で入れたからうちも入れなくちゃならない、隣は 200 床あって CT があって、うちは 300 床あって CT がいないから購入しなければならない、そんな馬鹿なことはないだろうと思います。やはりあくまでも本当に必要なのかどうか、購入したらば病院としてどういう利益があるのか充分検討したうえで購入すべきであると思います。さらに、病院の機能に応じた CT を選定すべきでありまして、CT だからというので性能などは全く関係ない、CT であればよい、これもまた困ったものだと私は思っております。

表 11 は MR の配置であります。MR も実に 20 台入っているんですね。本当に宮城県に MR が 20 台必要なんでしょうか、MR と普通の X 線 CT と比べて考えた時に、MR でなければ診断できないというのはどれだけあるのだろうか。あるいは MR を入れますと必ず X 線 CT と MRCT と両方撮るんですね、本当に撮らなきゃいけないんだろうか、その辺のところが一番問題なんじゃないか、隣の病院で入れたから俺のところも入れると

表 11 M R

病 床 数	台 数			計
	0	1	2	
20 未 満	5			5
20 - 99	22	4	1	27
100 - 199	26	3	1	30
200 - 299	8	1		9
300 - 399	8	1		9
400 - 499	4	2		6
500 以上		5		5
計	73	16	2	91

表 12 ガンマカメラ

病 床 数	台 数			計
	0	1	2	
20 未 満	5			5
20 - 99	25	2		27
100 - 199	27	3		30
200 - 299	7	2		9
300 - 399	6	3		9
400 - 499	3	3		6
500 以上		4	1	5
計	73	17	1	91

いう態度が本当に正しいのだろうか、そうではないんだろうと私は思います。ですから決して適正に配置されているのではないだろうと、そう考えております。

表 12 はガンマカメラの配置ですが、MR より少ないんですね。入っていないところはそれじゃあ核医学の診断というのは要らないのかといいますと、私は核医学というのはほとんどやったことがありますので、どの程度の診断能力があるかということについてはお話しできないんですが、やはり必要なものは必要であります。核医学でなければ診断ができない、あるいは核医学で診断したためによりよき医療ができるというような疾患があると思うんです。1 つの施設に適正の装置、人員を配置する。そこでそういう疾患にはきちっとした検査をする、診断ができるような画像を提供し、その画像をきちんと診断できるようなシステムを確立する、その施設を地域の中で協同利用するというのが繰り返しになりますが私の持論であります。

表 13 放射線治療装置

A. 治療装置	
⁶⁰ Co 遠隔照射装置	3
直線加速器	6
ガンマユニット	1
小線源治療装置	1
B. 関連機器	
X 線シミュレータ	4
治療用 CT	1
計画装置	6

最後に放射線治療のことを申し上げます。放射線治療の機械は表 13 のような機械が宮城県に、大学を除いて入っております。それから関連機器は B のようなものが入っております。放射線治療機器を入れると必ずシミュレーターというのを入れないと、きちとした放射線治療というのはできるはずがないんです。10 施設の中で 4 施設しかシミュレーターが入ってない。そうするとあとの 6 施設というのは非常に名人芸の医者がいれば別ですが、そういう名人芸を発揮できない医者のところではいいかげんな放射線治療をやっているのではないかな。そんなことも考えられるわけです。

それからもう 1 つ問題なのは、X 線シミュレーター、治療用 CT、それから治療計画装置、高価な装置ですが、こういうものを入れましてもこれは診療費としては全然金が入ってこない、シミュレーターを例にとりますと X 線撮影をするわけですから、撮影料は入ります、しかし年間 X 線シミュレーターでとるのは多くて 1,000、少ない病院では 100 でありますから、それしか金が入ってこない。何千万という機械を入れて、1,000 人しか撮らない、あるいは 100 人しか撮らない、病院の経営からいえばこんなものは要らない、おそらく買ってくれないんじゃないかと思えます。

これからはこの治療用 CT といって何億円もするようなものを入れなきゃあならないということになります。これもまたお金は入ってこないんですね。年間 500 人しか撮りませんと、何億円という CT を維持していく費用にもならないということになります。

関連機器に対する、診療費として支払われるのは先に述べました撮影料、診断料の他に、放射線治療管理料というのが 2 万円、1 患者について 1

回だけ支払われます。そんなものではとてもペイしない。機械を買ってもらう時には必ず購入の時に年間何人使って、どれだけ金が入ってくるんだということを必ず書いて申請するのが多くの病院の決まりだろうと思うんですが、関連機器は金の収入に全然関係しない、ですからおそろくなかなか買ってもらえない。これが多くの病院の実情だと思うんです。

正確な精度の高い放射線治療を行うためには、放射線治療機を入れたら必ず関連機器を購入するのが私は病院の義務だと思っております。だから極端なことをいいますと、宮城県であればきちとした地域計画をたてて、放射線治療機器は多くの病院に入れないようにしたらいいんじゃないか、10 施設なんかいらない、3 施設でもいい、そのかわりその 3 施設には治療用 CT も入れる、計画装置も入れる、必要なものはすべて入れる、施設は少なくともいいだろうということをいいたいわけです。

次に適正な放射線診療ということをちょっとお話したいと思います。今肺がんの診断から治療までの診療の流れを考えてみたいと思います。まず胸部の撮影をします。それから断層撮影をします。最近しないところもありますが、そして CT を撮影します。そうするとここで肺がんの疑い、確定診断まで至らないんですが、疑診が出てまいります。その次に細胞診をやったり、喀痰の細胞診、気管支鏡検査をやったり、直接生検をやって病理学的な検査で確定をする、こういうことであります。

この気管支鏡検査というのは、気管支鏡のできる医者がいないとできないわけです。そういう施設でないとできないわけです。それで患者の流れでいきますと、この疑診までつけると確定のできる病院に紹介を行うわけです。私がここで繰り返していいたいことは医療に無駄が多いということです。確定のできる病院に疑診までの病院から移りますと、その病院には CT が入っている、あるいは MR が入っているというので、また初めからやり直すんですね。また胸部写真を撮って CT を撮ってという、そうすると患者さんの医療費というのは 2 倍になるわけです。

私はそれを解決するためには、この疑診までし

かできない施設、これはなにもこういう施設が低級だということではないのでありまして、ホームドクター的なことをやればいいわけでありまして、地域に直結した医療をやればいいわけですから、胸部写真で肺がんが疑われたらそれ以上の検査をせずに、気管支鏡のできる施設に紹介すればいいと思うのです。

また、先程いいました診断に耐え得る立派な理想的な画像が1次病院で撮れているなら、紹介された病院ではX線検査はやらなくともいいのではないかと思います。そうしますと肺がんだけについていいますと、この診断をする病院ではCTを撮らないということになります。要するに私がいいたいのはダブった検査が非常に多いということであります。

今度は確診がつきますと、ここで呼吸器外科医がいないと肺がんの手術はできないわけです。そうしますとどうするかというと、次に最終的に治療のできる病院に回します。そうするとこの病院で何をやるかというと、また最初から写真を撮るわけです。同じ疾患であって、同じ肺がんが疑われて、確定をした患者さんというのは胸部の写真を5回も6回も撮られる、挙句の果てにCTを2回も3回も撮られる、そして結論は同じである。その他に今度は血管撮影をやったり、USをやったり、頭のCTをやったり、骨転移があるかどうかというのを調べたり、いろんなことをやる。その他に肺機能をやったりして、手術ができるのか、放射線治療がいいのか、治らないから化学療法をやるのかというように分けていくわけです。要するに検査の繰り返しというのが最も悪いわけです。私はここで極論ですけれども、地域に直結したプライマリーの診療だけであるならば、それに必要な装置だけでいいんじゃないかとも思うわけです。

それから2次医療をやるならば2次医療に必要な装置でいいのではないか。3次医療は3次医療のものだけ入れればいいんじゃないか、お金を大変節約できるのではないか、病院が節約できると同時に、患者さんに対するお金の負担というものも非常に軽減できるわけであります。これをやるためには上下関係というようなことではなくて、真の意味での医療というものを考えて、病院と診療

所、いわゆる病診連携、それから病院と病院との連携、病病連携、そういう連携をきちっと決めてやれば解決がつくんじゃないか。今後地域の医療体制というのを見直さないとうにもならない、機械を入れたから金をとれということではどうにもならないだろうというのが私の考えであります。

そこで少し今度は金の方を考えたいと思います。全国のがんセンター協議会といって、がんセンター（あるいは成人病センター）と名前がついている20施設ばかりが入っている協議会がございます。この協議会でもやはり赤字は困るから、経営努力すると同時に、診療報酬の点数の決め方がおかしいから、そこで保険部会というものを作って厚生省に答申しようではないかということになりました。そこで私は高額医療機器の収支を計算をいたしました。

1つの機器の支出を計算する場合にはその計算法がいろんな論文に出ております。

1つの機器を購入し、これを稼働させるためには表14のような費用がかかるわけです。ところが機器を入れた時にその土地代を計算しているという論文は全くございませんでした。それから建築費を入れているところもございませんでした。普通入れているのは機器の購入費ですね、それから保守点検費、それから材料費、それから人件費、これは入れているんですね。人件費も技師さんの月給だけ計算しているというところが多いので、本当は医者も看護婦も入るわけです。私は土地代も計算しようと思ったんですが、東京の築地のがんセンターのようなところは何億とするというよ

表14 放射線機器の収支

支	出
×	1. 土地代
	2. 建築費
	3. 機器（関連機器を含む）購入費
	4. 保守、消耗品費
	5. 材料（フィルム、薬剤）費
	6. 人件費
×	7. 電気、空調費
収	入
	撮影料、診断料
	治療料、放管理料

表 15 全がん協加盟施設

		黒	字	赤	字
C	T	9		7	
M	R	1		7	
リニアック		9		9	
小線源		0		16	

うなことをいわれますととても計算はできませんので、これは除かせていただきました。

それから電気料とか空調費というのは、全館暖房とか全館空調をやっておりますので、1部屋ごとの値をとっても出せないというので、これも除かせていただきました。×印を除いて全部計算をいたしました。収入は保険点数で計算いたしました。そしてこういう根拠で計算をするということ年全国のがんセンター、成人病センターに出しまして、お前のところの購入費はいくらだ、保守費はいくらだということを1990年の段階で調べました(表15)。

全癌協加盟施設、CTは調査施設16施設でございますが、7施設が赤字であります。MRはこの時点では回答は8施設だったのですが、その中で7施設が赤字であります。リニアックは半分が赤字であります。小線源治療装置は16施設全部赤字です。これに土地代を入れまして、電気空調費を入れますと当然全部赤字になります。

なぜこうなるのかといいますと、がんセンターというようなところは、親方日の丸であるというのが一番の欠点なんです、CTを撮るにしても1人当りのスライス数が非常に多い。1日の撮影件数が少なくなる。件数が少なければ、収入も少ない。撮影件数を多くしないと収入が増えないような保険点数なのです。

それから、がんセンターのような病院で赤字の要因になっているのは、フル装備の非常に高性能の機器を入れるわけであります。たとえばCTであります、3,000万円のCTであっても3億円のCTであっても、1件撮ると収入は同じであります。診断性能は全く評価されない。まあ医者 of 性能も評価されないんですが、そういう欠点があります。

それから治療にいたしましても、2回照射しても、1日に朝晩とかけても1回しか請求できない。それから肺がんであって、骨に転移があつて、

骨にかけて、原発巣にかけても1回しか請求できない、そういう不合理な点がいっぱいあるわけです。現場の我々の力が弱いということだと思うんですが、そういう点を加味してきちとした装置の性能、あるいは診療の内容、そういうものを加味して保険点数を合理的に決めていかなければとても黒字にはならんだろうと私は考えております。

私が申し上げたいことは、一番大切なことは、個々の病院の診療機能を明確にする、そしてその診療機能にふさわしい、放射線科でいえば、放射線の装置を入れる、そしてその装置に必要な十分の人的な配置をする、そして決して無駄な機器は入れない、隣で入れたから俺も入れるというようなことはやめる。そして病院と診療所、あるいは病院と病院との連携というのを充分にとって、必要な機器はフルに使う。ある病院でCTを入れて隣で入れなかったら1日10人でやめるのではなくて、20人でも30人でも撮ったらどうだ、もちろん撮るには時間的制限はあるんですが、そういうことを考えていかなければいけない。それと同時に放射線の診療というのを適正に行つて、先程いいましたように医療の無駄、ダブった検査を繰り返すというようなことはやめていくべきだろう、そう思っているのが本日の結論であります。ご静聴ありがとうございました。

質疑応答

質問 先程放射線技師の適正化ということをおっしゃいましたが、どういうふうな、一般撮影装置が1台に対して1人とか、そういう基準を先生はお持ちなのかどうか、それをお聞きしたいんですが。

浅川 大変無責任なんですが、持ってないんですが、本来からいうと、1つのモダリティに1人の技師が必要だと、そう思っています。けれども先程いいましたようにAで機器を10台入れると俺のところも10台必要だといって、実際フル稼働してない機器が結構病院ではあるのではないかと。そういう場合に稼働してないところに1人つけるというのは大変無駄であります。ですから私はまずその病院では診療はこういう形態で、この部門の診療をやるんだ、そして診療の限界はここ

にするというようなことを、各病院で明確にするのが第一であって、それに必要な台数をきちっと計算して入れて、そして入れたらばその台数に必要な人数を張りつけてフルに使われたらどうだということをいいたいわけです。

質問 いろんな大きな装置をたくさん使われていて、装置の保守管理の費用の捻出などはどのようになさったら一番いいとお考えでしょうか。

浅川 私は保守契約というのは必要欠くべからざるものだと思っております。私の病院も県立病院なんですが、保守契約費というのは必ずしも明確ではないんです。リニアックならリニアックを入れますと、1年目はただですが、2年目から保守契約をしなきゃあならない、そうすると予算をなかなかくれないこともあって、その時にはしょうがないから壊れたら直すという形でやっているんです。やはり私は全国的に機器を管理されている技師さんが中心になって、まあこういう会ではないと思うんですが、CTでこういう機能のCT、たとえば購入価格はバラバラかもしれませんが、2億円のCTであれば保守契約費は年間に何千万円かかるんだ、それから3千万円のCTであれば保守契約費はこうなんだということを、こういう研究会で全国的にきちっとした値を出すべきだろう。そしてそれをきちっと予算化してもらおうというのがやはり必要なんじゃないか。そういうふうに考えています。じゃあ現実にはうちの病院ですいているかという、必ずしもそうではありません。新しいがんセンターでは、今年発足したんですが、来年度からは保守契約費は充分につけてほしいということはいっております。

そしてその保守が完全であれば、今高額医療機器のみならず、起債で買う場合は耐用年限というのは6年ですが、特殊な機器を除いては10年ぐらい私は使えるんだらうと、そう考えていますが、場合によると15年使えるのもあると思います。そういう機器ほど使っていないからだといわれればそれまでですが使用年数、使用頻度などを考慮して、機器の性能維持に必要なさらにバージョンアップに必要な費用というようなものを全部含めた保守管理費、こういうものをやっぱりバラバラではなくて、権威のある、こういう放射線研究

会のようなところで作られたらいかがなんでしょうか。我々は放射線科の医者ですが、そういうご要望があれば、私などは喜んでご協力はいたします。回答にはなりませんけれども。

質問 施設に適正な設備の配置ということになり突っ込んだご意見をお聞きしまして感銘いたしました。というのは私どもの病院というのは2次病院ぐらいですね、治療までできるものもあるとできないものもあるというぐらいの規模の病院なんですが、診療所なり小さな医院から送られてくる、いわゆるレントゲンの写真であっても、カメラの写真であっても、どうしてもとてもそのまま診療に使えるようなものではないというようなことで、どうしてもうちの病院の中ではさらに検査を進めるということをしないと治療に進んでいかない、こういう現状があるんです。

そういうような行動は先生がおっしゃったことの中の保険の制度の中にあるんじゃないかと思うんですね。1つは現在の保険制度というのは出来高払ですね、大変失礼な話ですが、どんなヘボ医者でもレントゲンの検査をすれば同じ点数です。先生のところのような大病院で高度な医療の知識をもったドクターが診療に当たっても同じ点数というようなことがそういうことをさせる原因ではないかというふうに私は考えますので、医療費の改定の内容がございますね、そういうものの中に実はこれは大変問題になるかと思うんですが、まずは医師会の反対ということがあってできないんじゃないかというような気がするんですが、やはり診療報酬はランク別に分けるべきじゃないか、そういうことによって医療費の総枠を押さえることができるんじゃないかというようなことをいえるのはやはり大きな病院会の組織である、この病院会がそういう口火を切るべきじゃないか。やはり診療報酬面から規制をしていく、そういうことによって総医療費の枠を少しでも少なくするということができるんじゃないかと思うんです。そういうような内容も込めた要望書があったらどうかなと思って発言いたしました。そのへんについてお話し願えたらと思います。

浅川 私もヤブ医者なんですが、私が診療しても、それから昨日国家試験を通った人が診療して

も同じであるというのは、老眼になった私にとっては大変不本意なんです、まあそれと同じように、装置でも今いいましたように診療に役立つ、放射線科に関係しますと、診療に役立つ画像を提供するというにあると思うんですが、ぼけた写真を撮ってもきちっとした写真を撮っても同じである、自動現像機を使わないでジャブジャブとやって現像しても自動現像機を使って現像しても金は同じである、要するに医療者の技術、あるいは機器の性能、そういうものは全く関係なく診療点数は定められているんですね。そこに私は一番の大きな問題があるだろうと思うんです。ですからやはり今あなたがおっしゃったように、診療点数の改定の時には出来高払ではなくて改正すべきであるということは私自身も心から賛成であります。

それから我々病院の方からいいますと、私は3次医療をやる病院に勤めているのでこういうことをいうのかも知れませんが、どの病院でも

本当にCTが必要なのか、どの病院でも本当にCTが必要なのか、どの病院でもMRが必要なのかということも、やはり考える必要があるだろうと思います。それは病院間、あるいは診療所と病院の連携がうまくいけば解決することも可能だと思っています。日本では開業されている先生を中心としたそういう医療制度そのものにも大きい問題があるんじゃないか。機器を一たん入れてしまうと、それでお金を儲けなきゃいけない、そういう考え方がある、そこに大きい問題があるんだろうと私は考えています。

ですから病院のこの放射線研究会の方で、こういう点がまずくて、こういう点から見て医療費を上げるべきだというようなことは、先程いいましたことなども、あれは私の持論でありますから、皆さんに押しつけることは決していたしませんけれども、こういう考え方もあるんだということをご考慮のうえでいろいろご検討をいただければ大変ありがたいと、そう思っております。

〔原 著〕

超音波地域集検発見肝細胞癌の予後と肝細胞癌の1.5次予防 を目的とした老人保健法の基本健康診査に対する2次検診

小野寺博義・鶴飼 克明*・池田 卓**

Outcomes of patients with Hepatocellular Carcinoma Detected in Mass Survey and New Screening System Using the Results of Health Check According to the Geriatric Health Law.

Hiroyoshi ONODERA, Katsuaki UKAI*, Takashi IKEDA**

*Department of Internal Medicine, Miyagi Cancer Center Hospital.

**Cancer Detection Center of Miyagi Cancer Society.

I はじめに

肝細胞癌の予防の基本は肝炎ウィルスへの感染を防ぐ1次予防である。しかし、既に感染している肝細胞癌のハイリスク群においては2次予防のみならず1.5次予防も重要であり、そのためには地域医療との密接な連携が大切であることを報告^{1)~3)}してきた。

本稿では、宮城県対がん協会が実施してきた肝胆膵超音波地域集検で発見された肝細胞癌の予後について報告する。また、宮城県立がんセンターなどが肝炎多発地区で実施した肝細胞癌の1.5次予防をも目的とした老人保健法の基本健康診査に対する2次検診について前回報告³⁾後の結果について追加報告し、且つインターフェロン(以下IFNと記す)による肝細胞癌の1.5次予防の可能性についても考察する。

II 対象と方法

1) 超音波地域集検で発見された肝細胞癌症例の予後

1981年4月から1993年3月までに宮城県下の8町において、男3,501人、女3,740人の合計7,241人に対

して、宮城県対がん協会が実施した超音波地域集検で発見された肝細胞癌は19例である。集検方法の詳細は既に報告⁴⁾したが、肝疾患の危険因子保有者を優先して、1次検診で肝機能検査と超音波検査を併用して実施した。

2) 肝炎多発地区における基本健康診査に対する2次検診

宮城県立がんセンター、管轄保健所、A町およびA町医師会が共同で実施した。対象は1990, 1991, 1992年の宮城県A町における老人保健法の基本健康診査でGOT, GPTの一方または両者が51IU/l以上であった610例のなかで、2次検診を希望した298例である(表1)。これらの症例について肝機能、HBs抗原(RIA法)、HCV抗体(EIA法)を調べるとともに超音波検査を実施した。

HCV抗体は、1990年および1991年はEIA法第1世代で測定し、その陰性者をEIA法第2世代で再測定した。1992年はEIA法第2世代で測定した。結果は3年分を合計して記載した。肝炎ウィルス陽性率は四つの行政区域(A地区, O地区, W地区, Y地区)ごとに集計した。

検診システムについては既に報告³⁾した。有意差の検定には χ^2 検定を用い、危険率5%以下の場合を有意差ありとした。

また対照として、1992年の宮城県対がん協会の人

*宮城県立がんセンター 内科

**宮城県対がん協会がん検診センター

間ドック受検者で、肝疾患既往歴がなく肝機能正常なA町の住民125例（O地区73例, Y地区52例）に対してHBs抗体（RIA法）とHCV抗体（EIA法第2世代）を測定した。

3) IFNによる肝細胞癌1.5次予防の可能性

宮城県立がんセンターでIFN治療を受けたC型慢性活動性肝炎患者41例と地元医師会員の医療施設で治療を受けた10例の合計51例について治療効果を調査した。いずれも投与終了後6カ月以上経過し、治療効果判定可能な症例である。また、IFN投与中の症例も含めて62例についてC型肝炎ウィルスのgenotypeを調べた。

III 結果

1) 超音波地域集検で発見された肝細胞癌症例の予後

初回受検時に発見された9例（表2）は1993年11月30日の時点で既に全例死亡しており、最長生存期間は75カ月であった。5年生存率は22.2%であった。初回受検時に肝機能異常を発見されて経過観察となり、経過観察中に発見された肝細胞癌症例10例（表3）のうち8例は1993年11月30日の時点で死亡しており、最長生存は72カ月（生存中）であった。5年生存率は20.0%であった。

2) 肝炎多発地区における基本健康診査に対する2次検診

超音波検査を実施した2次検診受検者274例中181例（66.1%）で所見が認められた（表4）。肝細胞癌が一例（stage IVA）発見された。そのほか肝疾患は

表1 A町における年齢別の基本健康診査受診者数と2次検診受検者数 1990～1992

年齢階級	人 (1992.8.5.)	健康診査 受診者数	G O T G P T 異常例数*	2次検診 受検者数
30～39	3, 946	89	6	3
40～49	5, 035	1, 252	84	39
50～59	3, 877	1, 468	158	87
60～69	3, 907	2, 195	255	127
70歳以上	3, 279	1, 418	107	42
合 計	20, 044	6, 422	610	298

* : GOTあるいはGPTが5IU/1以上

脂肪肝90例（32.8%）、肝嚢胞26例（9.5%）、慢性肝炎12例（4.4%）、肝硬変6例（2.2%）、肝血管腫4例（1.5%）が発見された。

A町におけるHBs抗原陽性率（表5）は、A地区2.4%、O地区2.5%、W地区3.5%、Y地区4.0%で、有意差はなかった。一方、人間ドック群ではHBs抗原陽性者はO地区の一例のみで、2次検診群との間に有意差はなかった。

A町におけるHCV抗体陽性率（表6）はA地区72.9%、O地区60.8%、W地区17.2%、Y地区23.7%で、A地区とO地区では他の2地区に比べて有意に高率であった。一方、人間ドック群でのHCV抗体陽性率はO地区8.2%、Y地区5.8%であり両地区間に有意差はなかった。しかし、O地区の2次検診群と人間ドック群との間、Y地区の2次検診群と人間ドック群との間には有意差がみられた。

3) IFNによる肝細胞癌1.5次予防の可能性

IFNの治療効果はA町全体では著効45.1%、有効37.3%、不変13.7%、悪化3.9%であり、特に治療症例の多いA地区ではそれぞれ35.0%、40.0%、25.0%、0%で、同じくO地区ではそれぞれ47.6%、33.3%、9.5%、9.5%であった（表7）。また、HCV-RNA

表2 超音波地域集検で発見された肝細胞癌（初回受検時発見例）

No.	年齢・性	大きさ (cm) と区域	生存月数・転帰*
1	48 女	4.1 (S8), 4.0 (S5)	9 死亡
2	62 女	4.3 (S5), 2.0 (S8)	21 死亡
3	69 男	2.9 (S6)	36 死亡
4	69 女	7.0 (S7)	36 死亡
5	62 男	8.0 (S4), 3.0 (S3), 2.0 (S7)	37 死亡
6	67 男	4.5 (S5)	47 死亡
7	61 男	1.7 (S8), 1.4 (S7), 1.2 (S8) 1.0 (S6), 0.9 (S6)	53 死亡
8	59 男	3.8 (S8)	73 死亡
9	69 男	1.5 (S7)	75 死亡

* : 1993.11.30.

表3 超音波地域集検で拾い上げた肝機能異常者の経過観察中に発見された肝細胞癌

No.	年齢・性	大きさ (cm) と区域	生存月数・転帰*
1	55 男	9.3 (S6+7), 3.6 (S1), 1.0 (S3), 1.0 (S3), 1.0 (S4)	8 死亡
2	62 男	2.0 (S8)	9 死亡
3	67 男	4.5 (S6)	10 死亡
4	72 女	7.5 (S6)	16 死亡
5	54 男	2.6 (S7), 1.0 (S5), 0.6 (S3)	17 死亡
6	64 男	2.3 (S2)	20 死亡
7	68 男	1.0 (S5), 0.8 (S5), 0.8 (S6)	33 死亡
8	57 男	6.0 (S2+3), 6.0 (S5), 1.9 (S8), 1.0 (S2), 1.0 (S8)	34 死亡
9	57 女	1.5 (S8)	53 生存
10	65 男	3.5 (S4)	72 生存

平均経過観察期間: 11.1 ± 8.4 か月
(Mean ± SD)

* : 1993.11.30.

表4 2次検診における超音波検査所見 1990～1992, n=274

超音波所見	例数	%	超音波所見	例数	%
異常なし	93	33.9	脾嚢胞	1	0.4
肝細胞癌	1	0.4	慢性脾炎	1	0.4
肝腫瘍	1	0.4	主膵管拡張	1	0.4
脂肪肝	90	32.8	腎嚢胞	11	4.0
肝嚢胞	26	9.5	水腎症	3	1.1
慢性肝炎	12	4.4	脾腫	1	0.4
肝硬変	6	2.2	副脾	1	0.4
肝血管腫	4	1.5	子宮筋腫	1	0.4
肝内結石	3	1.1			
胆嚢結石	28	10.2			
胆嚢ポリープ	23	8.4			
総胆管拡張	2	0.7			

表5 A町における地区別 HBs 抗原陽性数

地 区	2次検診群 (肝機能異常群)		人間ドック群 (肝機能正常群)	
	症例数	陽性者数	症例数	陽性者数
A 地 区	85	2 (2. 4)	—	—
O 地 区	79	2 (2. 5)	73	1 (1. 4)
W 地 区	58	2 (3. 5)	—	—
Y 地 区	76	3 (4. 0)	52	0
合 計	298	9 (3. 0)	125	1 (0. 8)

() : %

表7 A町のインターフェロン治療症例における
効果判定

治療効果判定	A町合計 (n=51)	A地区 (n=20)	O地区 (n=21)
	症例数 (%)	症例数 (%)	症例数 (%)
著 効	23 (45. 1)	7 (35. 0)	10 (47. 6)
有 効	19 (37. 3)	8 (40. 0)	7 (33. 3)
不 変	7 (13. 7)	5 (25. 0)	2 (9. 5)
悪 化	2 (3. 9)	0	2 (9. 5)

表8 A町のインターフェロン治療症例
における投与終了6カ月後までの
HCV-RNA の変化

HCV-RNAの変化 投与前 終了時 6ヵ月後			症例数	%
+	—	—		
+	—	—	9	26. 5
+	NT	—	4	11. 8
+	+	—	1	2. 9
+	—	+	5	14. 7
+	NT	+	5	14. 7
+	+	+	10	29. 4

NT : 測定せず

表6 A町における地区別 HCV 抗体陽性数

地 区	2次検診群 (肝機能異常群)		人間ドック群 (肝機能正常群)	
	症例数	陽性者数	症例数	陽性者数
A 地 区	85	62 ① (72. 9)	—	—
O 地 区	79	48 ② (60. 8)	73	6 ⑤ (8. 2)
W 地 区	58	10 ③ (17. 2)	—	—
Y 地 区	76	18 ④ (23. 7)	52	3 ⑥ (5. 8)
合 計	298	138 (46. 3)	125	9 (7. 2)

① vs. ③, p<0. 005 ; ① vs. ④, p<0. 005 ; ② vs. ③, p<0. 005
② vs. ④, p<0. 005 ; ② vs. ⑤, p<0. 005 ; ④ vs. ⑥, p<0. 005

() : %

(PCR 法) を経時的に測定できた34例のうち14例 (41.2%) では、投与終了6ヵ月後に HCV-RNA が陰性であった (表8)。

A地区の33例における genotype の分布は、II型60.6%, III型36.4%, II+III型3.0%で、IV型はなか

った (表9)。O地区の29例ではII型34.5%, III型13.8%, IV型44.8%, II+IV型3.4%, III+IV型3.4%であった。両地区における genotype の分布には有意差が認められた。

IV 考 察

肝細胞癌とC型肝炎の関連⁵⁾が知られており、近年増加傾向にある肝細胞癌患者の多くがHCV抗体陽性例である⁶⁾ことから、C型肝炎ウィルスへの感染を

表 9 A 町の A 地区と O 地区における
HCV-RNA genotype の分布

HCV-RNA genotype	A 地区 (n=33) 症例数 (%)	O 地区 (n=29) 症例数 (%)
II	20 (60.6)	10 (34.5)
III	12 (36.4)	4 (13.8)
IV	0	13 (44.8)
II + III	1 (3.0)	0
II + IV	0	1 (3.4)
III + IV	0	1 (3.4)

(χ^2 検定, $p < 0.001$)

防ぐ 1 次予防が重要である。既に全国の赤十字血液センターでは HCV 抗体のスクリーニングが実施されており、わが国における輸血後 C 型肝炎の発生率は激減している⁷⁾。一方、広島県の供血者での HCV 抗体陽性率は、年齢とともに高くなり、男女とも 55 歳以上では 5～8% を示している⁸⁾。また、島根県の男性では 7.2%、女性では 6.6% が HCV 抗体陽性であるとの報告⁹⁾もある。したがって、肝癌集検ではこれらの HCV 抗体陽性者を効率よく拾い上げて、2 次予防や 1.5 次予防のシステムに組み込む必要がある。

肝細胞癌の 2 次予防の効果はどうであろうか。確かに、集検発見肝癌の予後は病院発見肝癌の予後に比べて良好^{1), 10)~13)}であり、逐年検診では small liver cancer の発見頻度が高く¹⁴⁾、初回受検時発見群よりは経過観察時発見群の方が予後が良い¹¹⁾と報告されている。しかし、集検発見肝癌の生存率をみると、平田ら¹⁵⁾は 5 年生存率が 13.1%、有山ら¹⁶⁾は 2 年生存率が 33.3%、美馬ら¹⁷⁾は治療群での 5 年生存率が 28.6% と報告している。三原らの報告¹³⁾では手術例での 5 年生存率は 60.6% であったが、肝動脈塞栓術や超音波映像下エタノール注入療法症例での 4 年生存率は 24.7% であった。一方、福本ら¹²⁾の全国 16 施設での集検発見肝癌の予後調査では、根治手術例の 5 年生存率は 68.4% であったが、全症例の 4 年生存率は 37.8% であった。

超音波により経過観察を 2～3 か月ごとに実施すれば、腫瘍径 2 cm 前後で早期に発見することが可能^{18), 19)}である。腫瘍径が 3 cm 以下の症例²⁰⁾や stage I の症例^{21), 22)}の予後は他に比べて良好なことが報告されている。全国的な集計²³⁾によれば、腫瘍径 0～2 cm の症例の 5 年生存率は 60.5% であるものの、7 年

生存率は約 40% にすぎない。以上のように、現時点ではわれわれの成績および文献の成績からみると、肝細胞癌における 2 次予防による死亡率減少効果については満足すべきものはないと思われる。

そこで、肝細胞癌のハイリスク群を拾い上げて肝細胞癌への進展を防ぐ 1.5 次予防が注目される。近年、ハイリスク群設定のために老人保健法の基本健康診査を利用する試み^{24), 25)}がなされている。すなわち、基本健康診査での肝機能異常者に対して肝炎ウィルスを調べ、超音波検査を実施するシステムである。基本健康診査は受診率が高く^{24), 25)}、別に肝癌検診としての体系を組む必要がない点が有利であり²⁵⁾、肝癌発見率や費用効果からみても他の集検方法より優れている²⁴⁾と報告されている。

われわれの宮城県 A 町での試みは、2 次検診受検者が 300 人弱と小さな規模であったが、効率よく肝細胞癌のハイリスク群、すなわち HCV 抗体陽性者の拾い上げが可能であった。また、2 次検診の超音波検査は肝機能異常者の中の肝炎ウィルス陰性の脂肪肝を除外するのに有用であった。一方、問題点としては肝機能正常者の中に存在する HCV 抗体陽性者が拾い上げられないことである。肝機能異常者の HCV 抗体陽性率と肝機能正常者の HCV 抗体陽性率についてのわれわれの検討では、同じ A 町の住民ではあるが全く別の集団を対象としているため正確な比較はできないが、肝機能正常者の中にも 7.2% の HCV 抗体陽性者が含まれていた。

GPT 正常な HCV 抗体陽性者の約 75% に慢性肝炎の組織所見がみられる^{6), 26)}ことから、肝細胞癌の 1.5 次予防を目的とするのであれば肝機能正常な HCV 抗体陽性者も拾い上げる必要があるであろうか。熊田²⁷⁾によると、C 型肝炎の自然経過はトランスアミラーゼの高さと組織学的進行度は相関し、正常値群には悪化例がない。また、GPT が正常な HCV 抗体陽性者の 30～35% は一年の観察期間中に発症が確認されている^{8), 28)}。河村ら²⁵⁾は HCV 抗体陽性者を 4 年間観察し、肝機能が 4 年間を通して正常である者が 58.5% みられたものの、4 年間とも肝機能異常であった者は 7.6% と低率であったとしている。以上の報告は、肝機能異常者に対して 2 次検診で HCV 抗体を調べたとしても、基本健康診査を毎年受検する逐年検診により、肝機能正常な HCV 抗体陽性者を拾い上げることが可能であることを示すものである。また、集検効率や費用を考えた場合には、基本健康診査での肝機能異常者に対して 2 次検診で肝炎ウィルスを調

べることは妥当なことと思われる。

宮城県A町においては, IFN 治療著効例が45.1%で, 投与終了後6カ月でHCV-RNAが陰性化した症例が41.2%であった。C型肝炎ウィルスと発癌のメカニズムは不明ではあるがウィルスが陰性化することで肝癌の発生がなくなるものとすれば, IFN 治療によりHCV抗体陽性者の約40%で癌の発生が予防されると考えられる。A町のgenotypeについては既に報告²⁹⁾したが, O地区ではIFNの治療効果が期待できるgenotypeのIII型とIV型が合わせて58.6%と全国的な割合(約28%)^{20), 30)}よりも極端に多く, A地区でもIII型が36.4%とやや多いことから, IFNによる肝細胞癌の1.5次予防の効果が期待される。

老人保健法による基本健康診査での肝機能異常者から拾い上げたHCV抗体陽性者に対して, 積極的にIFN治療を実施することにより肝細胞癌の発生が減少することが期待されるが, 今後IFN治療群における肝細胞癌の罹患率を検討する必要がある。

V まとめ

現時点では, 肝細胞癌における2次予防による死亡率減少効果については満足すべきものはないと思われる。

老人保健法による基本健康診査での肝機能異常者に対して, 2次検診で肝炎ウィルス測定と超音波検査を実施することにより効率的に肝細胞癌のハイリスク群を拾い上げることが可能である。

HCV抗体陽性者に対しては積極的にIFN治療を実施することにより, 肝細胞癌の1.5次予防効果が期待される。

本稿の内容は第31回日本消化器集団検診学会秋季大会(1993年9月, 神戸)で報告した。

IFN治療症例についての調査にご協力して頂いた, 医師会員諸氏に深謝いたします。

本研究の一部は, 平成5年度厚生省がん研究助成金「C型肝炎と肝細胞がんに関する研究」および第2回「黒川利雄がん研究基金」の助成を受けた。

文 献

- 1) 小野寺博義他: 腹部超音波スクリーニングによる肝胆膵疾患集検の適性化に関する検討 (VII), 日消集検誌: 85, 40, 1989.
- 2) 小野寺博義他: 腹部超音波スクリーニングによる肝胆膵疾患集検の適性化に関する検討 (VIII), 日消集検誌: 94, 92, 1992.
- 3) 小野寺博義他: 医療システム構築による肝癌検診体系の確立に関する研究, 日消集検誌: 31(3), 38, 1993.
- 4) 小野寺博義他: 腹部超音波スクリーニングによる肝胆膵疾患集検の適性化に関する検討 (I), 日消集検誌: 72, 28, 1986.
- 5) Kiyosawa, K., et al.: Interrelationship of Blood Transfusion, Non-A, Non-B Hepatitis and Hepatocellular Carcinoma: Analysis by Detection of Antibody to Hepatitis C Virus. Hepatology: 12, 671, 1990.
- 6) 鶴浦雅志他: C型肝炎の臨床, 最新医学: 48, 2212, 1993.
- 7) Japanese Red Cross non-A non-B hepatitis research group: Effect of screening for hepatitis C virus antibody and hepatitis B virus core antibody on incidence of post transfusion hepatitis. Lancet: 338, 1040, 1991.
- 8) 田中純子他: HCV感染の疫学, クリニカ: 20, 251, 1993.
- 9) 島田宜浩他: 肝癌検診システムの完成を目指して, 日消集検誌: 92, 53, 1991.
- 10) 山崎秀男他: 新しい肝検診システムとその発見癌の予後, 日消集検誌: 84, 192, 1989.
- 11) 森瀬公友他: 肝機能スクリーニング方式による集検発見肝癌の予後, 日消集検誌: 84, 199, 1989.
- 12) 福本四郎他: 集検発見肝癌とその予後, 日消集検誌: 85, 71, 1989.
- 13) 三原修一他: 肝細胞癌検診の現況とシステム化, 日消集検誌: 31(1), 70, 1993.
- 14) 依田芳起他: 効率的な肝臓の超音波検診, 日消集検誌: 31(2), 38, 1993.
- 15) 平田健一郎他: 超音波を主体とした肝癌集検, 日消集検誌: 81, 48, 1988.
- 16) 有山重美他: 集検発見肝癌の検討, 日消集検誌: 84, 203, 1989.
- 17) 美馬聰昭他: 肝癌検診における発見肝癌の長期予後, 日消集検誌: 84, 212, 1989.
- 18) 真島康雄: 超音波断層法による肝細胞癌の発育速度とその臨床的意義, 肝臓: 25, 754, 1984.
- 19) 栗岡成人他: 肝癌高危険群の定期的スクリーニング, 日消集検誌: 72, 34, 1986.
- 20) 福田守道: 肝癌集検, 日消集検誌: 31(2), 80,

- 1993.
- 21) Tanaka, J., et al. : Clinicopathological features of malignancy in hepatocellular carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol*: 23 (suppl), S96, 1989.
- 22) Onodera, H., et al. : Outcomes of 116 patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol*: 33(suppl), S103, 1994.
- 23) 日本肝癌研究会: 原発性肝癌に関する追跡調査—第9報—, *肝臓*: 32, 1138, 1991.
- 24) 新沢陽英他: 老人保健法に基づく基本健康診査を利用した肝癌超音波集団検診の意義および事後管理の重要性について, *日消集検誌*: 31(2), 32, 1993.
- 25) 河村奨他: 地域肝癌 high risk group 検診〜第2報〜, *日消集検誌*: 31(4), 18, 1993.
- 26) 日野邦彦他: HCV 無症性キャリア, *クリニカ*: 20, 276, 1993.
- 27) 熊田博光他: 肝炎ウィルスキャリアの自然経過, *CLINICIAN*: 39, 6, 1992.
- 28) 飯野四郎他: HCV キャリアの自然経過, 治療: 75, 41, 1993.
- 29) 鶴飼克明他: C型肝炎多発地区での HCV-RNA genotype の測定-地区に於ける分布の多様性, *日消誌* (投稿中)
- 30) 岡本宏明: C型肝炎ウィルスの遺伝子型の検出とその意義, *肝胆膵*: 25, 995, 1992.

〔原 著〕

肝細胞癌の拾い上げ過程における腫瘍マーカーの役割

小野寺博義・鶴飼 克明*・池田 卓**

The Role of α -fetoprotein and PIVKA-II in the Screening of Hepatocellular Carcinoma.

Hiroyoshi ONODERA, Katsuaki UKAI*, Takashi IKEDA**

*Department of Internal Medicine, Miyagi Cancer Center Hospital.

**Cancer Detection Center of Miyagi Cancer Society.

はじめに

超音波検査は無侵襲で簡単に実施可能であり、腫瘍そのものを描出できることから肝胆膵疾患のスクリーニングに広く用いられている。一方、肝細胞癌を拾い上げる手段としては、超音波検査のほかに α フエトプロテイン(以下AFPと記す)やPIVKA-IIなどの腫瘍マーカーが挙げられる。

本稿では、宮城県対がん協会が実施した肝胆膵超音波地域集検でのAFP定性の結果について検討するとともに、宮城県立がんセンター肝臓外来でのAFPとPIVKA-IIの測定結果から、肝細胞癌の拾い上げにおける腫瘍マーカーの役割について報告する。

対象と方法

1. 肝胆膵超音波地域集検でのAFP測定

宮城県対がん協会では1981年から1992年までに男3,501人、女3,740人の合計7,241人(表1)に対して肝胆膵超音波地域集検を実施し、一次検診でAFP定性(RPHA法)も実施した。集検システムは既に報告¹⁾したが、40歳から69歳までの全住民に調査票を配布し、肝疾患の既往歴、肝疾患の家族歴、常習性飲酒、輸血歴の肝疾患の危険因子を保有する住民を優先的に集検対象とした。一次検診ではAFPのほかに、

HBs抗原定性と肝機能検査を実施し、その結果が判明してから超音波検査を実施した。今回はカルテを見直して、AFP陽性者の超音波所見、その後の経過観察の結果などを調査し、AFPと超音波検査の診断精度などについて検討した。

2. 肝細胞癌症例におけるAFPとPIVKA-II

宮城県立がんセンターの肝細胞癌92例でAFP(EIA法、カットオフ値20ng/ml)とPIVKA-II(ELISA法、カットオフ値0.06AU/ml)を測定し、腫瘍の大きさとの関係関係について検討した。

3. 慢性肝疾患患者の経過観察におけるAFPとPIVKA-IIの変動

対象は宮城県立がんセンターの肝臓外来通院中の慢性肝疾患患者181例(表2)である。その内訳は慢性肝炎が112例で、B型11例、C型95例、B+C型4例、非B非C型2例である。肝硬変は69例で、B型4例、C型55例、B+C型1例、非B非C型9例である。経過観察期間は6か月未満が28例、6か月以上1年未満が44例、1年以上2年未満が28例、2年以上3年未満が33例、3年以上4年未満が31例、4年以上が17例であった。AFPの測定間隔は慢性肝炎で 95.0 ± 91.7 日(平均値 $\pm$ 標準偏差)、肝硬変で 76.7 ± 68.4 日、PIVKA-IIは慢性肝炎で 90.0 ± 82.9 日、肝硬変で 77.1 ± 69.0 日、超音波検査は慢性肝炎で 138.2 ± 91.9 日、肝硬変で 118.3 ± 88.8 日であった。

経過観察中の腫瘍マーカーの変化については、初回測定時陰性であったものが陽性化した場合、初回測定時より同じレベルで陽性が持続するか次第に上

*宮城県立がんセンター 内科

**宮城県対がん協会がん検診センター

昇する変化を観察した場合に「変化あり」とした。経過観察中陰性が持続した場合、あるいは初回測定時は陽性であったが二回目の測定で陰性化していた場合には「変化なし」とした。

経過観察中に発生した肝細胞癌症例を調査し、各々の診断精度を検討した。AFPとPIVKA-IIのカットオフ値は前述のとおりである。

結 果

1. 肝胆膵超音波地域集検での AFP 測定

表 1 宮城県対がん協会の肝胆膵超音波地域集検受検者数

1981～1992			
年 齢	男	女	合 計
20～29	7	3	10
30～39	94	61	155
40～49	806	938	1,744
50～59	1,382	1,672	3,054
60～69	1,160	1,027	2,187
70～79	50	39	89
80～89	2	0	2
合 計	3,501	3,740	7,241

表 2 経過観察時に腫瘍マーカーも測定した慢性肝疾患患者の年齢階級別・性別対象症例数

年 齢	男	女	合 計
20～29	1	0	1
30～39	5	2	7
40～49	9	9	18
50～59	31	27	58
60～69	32	35	67
70～79	12	16	28
80～89	0	2	2
合 計	90	91	181

表 3 宮城県対がん協会の超音波地域集検における AFP 陽性例一覧

No.	年齢・性	肝疾患危険因子*	肝機能異常	HBs抗原	超音波所見	備 考
1	44 F	—	—	—	慢性肝疾患異常なし	
2	64 M	酒	—	—	慢性肝疾患	
3	59 F	既	+	—	慢性肝疾患	
4	52 M	既・家	+	—	脾腫	3年後に肝細胞癌
5	67 M	既・酒	+	+	肝細胞癌	肝細胞癌の診断確定
6	45 M	既・家・酒	+	—	異常なし	
7	64 M	既	+	—	肝腫瘍	精査で異常なし
8	55 M	既	+	—	肝細胞癌	肝細胞癌の診断確定
9	57 M	既・血	+	—	異常なし	
10	47 F	既	+	—	肝細胞癌	肝細胞癌の診断確定
11	51 F	既・家	+	—	肝硬変	
12	57 M	—	+	+	慢性肝疾患	
13	62 M	既	+	—	肝細胞癌	肝細胞癌の診断確定
14	61 F	—	+	—	異常なし	
15	51 F	既	+	—	肝硬変	
16	49 F	—	—	—	異常なし	再検でAFP陰性
17	62 F	既	+	—	肝細胞癌	肝細胞癌の診断確定

* 既：肝疾患既往歴、家：肝疾患家族歴、酒：常習性飲酒、血：輸血歴

表 4 超音波地域集検における AFP の診断精度

	肝細胞癌あり	肝細胞癌なし	合計
A F P 陽性	5	12	17
A F P 陰性	4	7220	7224
合 計	9	7232	7241

感度 55.6%, 特異度 99.8%
陽性反応適中度 29.4%, 陰性反応適中度 99.9%
偽陰性 44.4%, 偽陽性 0.17%

表 5 超音波地域集検における超音波検査の肝細胞癌診断精度

	肝細胞癌あり	肝細胞癌なし	合計
超音波検査 肝細胞癌あり	8	46	54*
超音波検査 肝細胞癌なし	1	7186	7187
合 計	9	7232	7241

感度 88.9%, 特異度 99.4%
陽性反応適中度 14.8%, 陰性反応適中度 99.9%
偽陰性 11.1%, 偽陽性 0.6%

*：超音波所見上悪性腫瘍を否定できなかった症例、典型的な血管腫は除く。

表 6 宮城県立がんセンターの肝細胞癌症例における腫瘍最大径と AFP, PIVKA-II 陽性率

腫瘍マーカー	単結節症例における腫瘍最大径 (cm) 別の陽性率			多結節症例における陽性率
	2.0以下	2.1~5.0	5.1以上	
AFP陽性率 n=92	60.0% (9/15)	47.8% (11/23)	69.6% (16/23) [x ² 検定 NS]	90.3% (28/31)
PIVKA-II陽性率 n=92	20.0% (3/15)	43.5% (10/23)	78.3% (18/23) [x ² 検定 p<0.005]	80.6% (25/31)

() 内は症例数

表 7 肝臓外来において慢性肝疾患の経過観察で発見された肝細胞癌一覧

No.	年齢・性	肝細胞癌存在部位と大きさ (cm)	PIVKA-II の変化	AFP の変化	超音波検査での 腫瘍の発見
1	72 M	S6 1.0	無	有	可
2	75 M	S6 1.1	無	無	可
3	57 M	S5 1.1	有	有	不可
4	68 F	S6 1.6	無	有	可
5	76 F	S2 1.6	無	無	可
6	71 M	S3 1.8	有	無	可
7	66 M	S8 1.8	無	有	可
8	69 M	S2 1.9	無	有	可
9	66 M	S5 2.0	有	有	可
10	73 F	S2 2.4	無	有	可
11	66 F	S6 4.3	有	有	不可
12	75 M	S7 2.0	有	有	可
		S8 1.7			
13	78 M	S7 7.0 娘結節多数	有	有	可

表 8 AFP で経過観察した場合の肝細胞癌の診断精度

	肝細胞癌あり	肝細胞癌なし	合計
AFPの変化あり	10	39	49
AFPの変化なし	3	129	132
合計	13	168	181

感度 76.9%, 特異度 76.8%
陽性反応適中度 20.4%, 陰性反応適中度 97.7%
偽陰性 23.1%, 偽陽性 23.2%

は88.9%であった(表5)。

2. 肝細胞癌症例における AFP と PIVKA-II

腫瘍最大径別の陽性率は, AFP では2.0cm 以下で60.0%, 2.1~5.0cm で47.8%, 5.1cm 以上で69.6%であり, 大きさ別の有意差はなかった。PIVKA-II は2.0cm 以下で20.0%, 2.1~5.0cm で43.5%, 5.1cm 以上で78.3%であり, 大きくなるにつれて有意に陽性率が高値となった(表6)。

3. 慢性肝疾患患者の経過観察における AFP と PIVKA-II の変動

経過観察中に発見された肝細胞癌は13例であった(表7)。単結節で2cm以下の症例が9例であったが,

表 9 PIVKA-II で経過観察した場合の肝細胞癌の診断精度

	肝細胞癌あり	肝細胞癌なし	合計
PIVKA-IIの変化あり	6	2	8
PIVKA-IIの変化なし	7	166	173
合計	13	168	181

感度 46.2%, 特異度 98.8%
陽性反応適中度 75.0%, 陰性反応適中度 96.0%
偽陰性 53.8%, 偽陽性 1.2%

多結節の症例も2例みられた。超音波検査で腫瘍を描出できず, 腫瘍マーカーが発見の契機となった例が2例みられた。

経過観察中に AFP が「変化あり」と判定されたのは49例で, そのうち10例が肝細胞癌であった。したがって, AFP の診断精度は感度76.9%, 特異度76.8%であった(表8)。同じく PIVKA-II が「変化あり」と判定された8例のうち6例が肝細胞癌であった。したがって, PIVKA-II の診断精度は感度46.2%, 特異度98.8%であった(表9)。AFP と PIVKA-II を並行して検査した場合の診断精度を計算すると, 感度84.6%, 特異度76.2%であった(表10)。

表10 PIVKA-IIとAFPを併用して経過観察した場合の肝細胞癌の診断精度

	肝細胞癌あり	肝細胞癌なし	合計
腫瘍マーカーの変化あり	11	40	51
腫瘍マーカーの変化なし	2	128	130
合計	13	168	181

感度 84.6%, 特異度 76.2%
陽性反応適中度 21.6%, 陰性反応適中度 98.5%
偽陰性 15.4%, 偽陽性 23.8%

表11 超音波検査で経過観察した場合の肝細胞癌の診断精度

	肝細胞癌あり	肝細胞癌なし	合計
超音波検査肝腫瘍あり	11	6	17
超音波検査肝腫瘍なし	2	162	164
合計	13	168	181

感度 84.6%, 特異度 96.4%
陽性反応適中度 64.7%, 陰性反応適中度 98.8%
偽陰性 15.4%, 偽陽性 3.6%

経過観察中に超音波検査で肝細胞癌を疑わせる所見が出現したのは17例で、そのうち11例が肝細胞癌であった。したがって、経過観察における超音波検査の肝細胞癌診断精度は感度84.6%、特異度96.4%であった(表11)。

考 察

肝癌集検においてAFPを測定した場合、一次検診受検者の中でのAFP陽性率は0.053%²⁾、肝機能異常者では1.5%³⁾との報告がある。また、集検で発見された肝細胞癌症例における陽性率は51.6~79.5%と報告³⁻⁶⁾されている。一方、AFPは小肝癌での陽性率が低く^{4,7)}、肝癌の早期診断が困難であることも指摘されている。

宮城県対がん協会が実施した肝胆膵超音波地域集検でのAFP陽性率は0.23%と低く、AFPの肝細胞癌診断では感度が55.6%で超音波検査の88.9%に比較して低値であった。また、宮城県立がんセンターの肝細胞癌症例の検討でも、腫瘍径2.0cm以下の症例でのAFP陽性率は60.0%にすぎなかった。以上の結果より、早期発見、早期治療が目的の肝癌集検の一次検診では、感度が高く小さな肝細胞癌も描出可能な超音波検査を用いるべきであり、一次検診の受検者全員に対してAFPを測定する必要はないと考える。肝細胞癌に特異的な腫瘍マーカーであるPIVKA-IIについてみても良好な予後が期待される腫瘍径2cm以下の症例での陽性率はAFPよりも低く、一次検

診に用いるには不適當であろう。

われわれはこれまでの報告⁸⁾で、肝細胞癌を目的とした集検では、単に肝細胞癌の発見のみならず、肝細胞癌のハイリスク群をも拾い上げて経過観察を実施し、ハイリスク群における肝細胞癌の早期発見や肝細胞癌の1.5次予防も大切であることを述べてきた。特に近年はC型の慢性活動性肝炎に対するインターフェロン治療が行われており、HCV-RNAが陰性化することで肝細胞癌の発生がなくなるものとすれば、インターフェロン治療を受けた者の約40%で肝細胞癌の1.5次予防が可能であることになる⁹⁾。しかしHCVに感染してからの期間が長い症例ではインターフェロン治療開始前から肝細胞癌が潜在している可能性があり、実際にどの程度予防できるかは今後の検討が必要である。次に、このような肝細胞癌のハイリスク群の経過観察での腫瘍マーカーの有用性について検討した。

宮城県立がんセンター肝臓外来の慢性肝疾患患者の経過観察での検討では、AFPはPIVKA-IIより感度が良好で、地域集検での感度よりも良好である。感度の良い検査は疾患のある患者をほとんど見逃さないから、ハイリスク群の経過観察において発生する肝細胞癌を発見する場合には有用である。また、一般に並行した複数の検査では感度と陰性反応適中度が高くなり、特異度と陽性反応適中度は低下し、偽陽性は多くなり疾患のない人を患者とすることが多くなるが、疾患は見逃されにくくなる。AFPとPIVKA-IIを併用した場合でも同様の現象がみられ、両者の併用により感度は84.6%と超音波検査と同じ値となった。したがって、AFPとPIVKA-IIを併用することで見逃しを減らすことができ、超音波検査に匹敵する感度が得られる。

しかし、AFPとPIVKA-IIの併用により超音波検査と同じ感度が得られたとはいっても、慢性肝疾患という肝細胞癌のハイリスク群での経過観察では、特異度にも優れており、かつ腫瘍そのものを描出することができる超音波検査を第一選択とすべきであることは言うまでもない。しかし、今回の検討で、超音波検査で腫瘍が描出されず腫瘍マーカーが発見の契機となった症例があり、また平田ら¹⁰⁾も集検で発見された肝細胞癌43例中3例は超音波検査での偽陰性例でAFPにより拾い上げたと報告している。したがって、見逃しが許されない慢性肝疾患患者の経過観察では超音波検査を中心としながらも、腫瘍マーカー(AFPとPIVKA-IIのコンビネーションアッセ

イ)を併用することで見逃しをなくすることが可能であると考えられる。

まとめ

腫瘍マーカーは超音波検査に比べて感度の点で劣り, 小さな肝細胞癌での陽性率が低いことから, 一次検診で受検者全員に対して測定するには問題がある。

肝細胞癌のハイリスク群の経過観察では, 超音波検査で発見されず腫瘍マーカーが発見の契機となる症例もあることから, 両者の併用により見逃しをなくすることができる。

本論文の主旨は, 第33回日本消化器集団検診学会総会のシンポジウムで発表した。

文 献

- 1) 小野寺博義, 他: 腹部スクリーニングによる肝胆膵疾患集検の適性化に関する検討 (I) 一効率的な肝疾患の拾い上げについて。日消集検誌, 72: 28, 1986。
- 2) 森瀬公友, 他: 肝機能スクリーニング方式肝集検。日消集検誌, 74: 29, 1987。
- 3) 新沢陽英, 他: 老人保健法に基づく基本健康診査を利用した肝癌超音波集団検診の意義および事後管理の重要性について日消集検誌, 31(2): 32, 1993。
- 4) 栗岡成人, 他: 肝癌高危険群の定期的スクリーニング。日消集検誌, 72: 34, 1986。
- 5) 池田敏, 他: 地域集検における肝臓集検のあり方 (II)。日消集検誌, 81: 65, 1988。
- 6) 廣瀬雄一: 腹部超音波検診によって発見された肝細胞癌の臨床的特徴。日消集検誌, 94: 77, 1992。
- 7) 橋本悦子, 他: 臨床疫学面よりみた肝集検のあり方について。日消集検誌, 68: 40, 1985。
- 8) 小野寺博義, 他: 腹部スクリーニングによる肝胆膵疾患集検の適性化に関する検討 (VII) 一集検発見肝細胞癌と病院発見肝細胞癌の比較一。日消集検誌, 85: 40, 1989。
- 9) 小野寺博義, 他: 超音波地域集検発見肝細胞癌の予後と肝細胞癌の1.5次予防を目的とした老人保健法の基本健康診査に対する2次検診。日消集検誌, 32(4): 96, 1994。
- 10) 平田健一郎, 他: 超音波を主体とした肝癌集検。日消集検誌, 81: 48, 1988。

〔原 著〕

肝胆膵超音波地域集検における偽陰性例と 一次スクリーニングの精度

小野寺博義*・千田 信之**・深尾 彰***・高野 昭****
池田 卓*****

Test Sensitivity of Ultrasonic Mass Survey for Liver, Biliary Tract and Pancreatic Diseases.

Hiroyoshi ONODERA*, Nobuyuki CHIDA**, Akira FUKAO***, Akira TAKANO****
Takashi IKEDA*****

*Department of Internal Medicine, Miyagi Cancer Center Hospital.

**Third Department of Internal Medicine, Tohoku University School of Medicine.

***Department of Public Health, Tohoku University School of Medicine.

****Miyagi Cancer Registry.

*****Cancer Detection Center of Miyagi Cancer Society.

はじめに

宮城県対がん協会では肝胆膵超音波地域集検のパイロットスタディを1981年から開始した。この検診においては超音波画像の記録にはビデオテープを用いてダブルチェックを実施している。その精度については以前に報告¹⁾したが、がん登録との照合による偽陰性例の把握は実施していなかった。今回はがん登録との照合により超音波地域集検について評価を加えたので報告する。

対象と方法

宮城県対がん協会が実施している肝胆膵超音波地域集検受検者は、1981年度から1987年度の間に7,022

人であった(表1)。集検のシステムは既に報告²⁾したが、40歳から69歳までの肝疾患危険因子を保有する住民を優先して対象とし、一次スクリーニングで超音波検査と肝機能検査(AST, ALT), α -フェトブロテイン(AFP)定性, HBs抗原定性を実施し、初回受検時に異常のなかったものは次年度以降の対象から除外した。ダブルチェックは一日の検査終了後に検査担当医間でビデオテープを交換し、当日の検査分について集検会場でビデオを倍速再生して、カルテの記述を参照しながら実施した。

今回は超音波集検の受検者台帳の記録と、宮城県新生物レジストリーに肝臓、胆嚢、膵臓、腎臓のがんとして登録されているリスト(罹患者リストは1990年まで、死亡者リストは1991年までの登録分)と照合して集検受検後にがんと診断された受検者をチェックした。初回受検時から1年以内に登録されたがん患者、初回受検した次の年度の経過観察で発見されたがん患者(次年度の経過観察の日程の関係で1年を越えている場合も含めた)を偽陰性例とした。

*宮城県立がんセンター 内科

**東北大学 第3内科

***同 公衆衛生

****宮城県新生物レジストリー

*****宮城県対がん協会がん検診センター

表 1 受検年度別の肝胆膵超音波地域集
検受検者数 1981～1987

年 度	男	女	合 計
1981	147	189	336
1982	444	313	757
1983	301	419	720
1984	677	563	1,240
1985	794	920	1,714
1986	771	846	1,617
1987	283	355	638
合 計	3,417	3,605	7,022

表 2 初回受検時に発見されたがん症例の集検時超
音波診断

最終診断（発見症例数）	超音波所見（症例数）
肝細胞がん（9例）	肝細胞がん（8例）
	肝硬変，右腎描出不可（1例）*
肝細胞腺がん（1例）	肝細胞（悪性疑い）（1例）
胆嚢がん（2例）	胆嚢隆起性病変（1例）
	胆石，総胆管拡張（1例）*
膵がん（1例）	膵がん（1例）
悪性膵ラ島腫瘍（1例）	膵嚢胞性腫瘍（1例）
腎がん（5例）	腎腫瘍（4例）
	後腹膜腫瘍（1例）

*：腫瘍が描出されなかった症例

表 3 初回受検時以降に診断されたがん症例数とがん発見までの期間

集検受検時から がん発見までの 期間（月）	肝および肝内胆管			胆嚢および肝外胆管			
	肝，原発	肝内胆管	原発統発不明	胆 嚢	乳 頭 部	膵臓	腎臓
～ 12	0	0	0	0	0	1*	0
13～ 24	1	0	0	2**	0	0	0
25～ 36	1	1	0	0	0	2	1
37～ 48	4	0	0	0	0	1	0
49～ 60	0	1	1	1	0	2	1
61～ 72	3	0	0	0	1	2	0
73～ 84	2	0	0	1	0	0	1
85～ 96	1	0	1	0	0	1	1
97～108	0	0	0	1	0	0	0
109～120	0	0	0	1	0	0	0
合 計	12	2	2	6	1	9	4

膵臓ではラ島腫瘍はなし，腎臓では腎盂のがんはなし
*：偽陰性例，**：1年以上経過しているが，2例中1例は定義上偽陰性例。

表 4 初回受検時における肝胆膵腎がん有病者の
内訳

初回受検時発見がん	19例
受検後一年以内に診断されたがん	2例
次年度経過観察時発見がん	1例（胆嚢がん）
がん登録よりのがん	1例（膵がん）
合 計	21例

表 5 腫瘍像が描出されがんを疑った超音波検
査所見

肝癌を否定できずに拾い上げた肝腫瘍 （典型的な血管腫を除く）	52例
最大径10mm以上の胆嚢隆起性病変	13
膵がん，膵腫瘍	19
腎がん，腎腫瘍	31
脾腫瘍	3
副腎腫瘍	6
後腹膜腫瘍	1
腹部腫瘍	6
合 計	131例

結 果

初回受検時の超音波検査で腫瘍像が描出されて，その後の精検で診断が確定した肝胆膵腎原発の悪性腫瘍は17例で，肝細胞がん8例，腎細胞がん5例，肝細胞腺がん，胆嚢がん，膵臓がん，悪性膵ラ島腫瘍がそれぞれ1例であった（表2）。この17例は全て超音波検査時点で発見されており，ダブルチェック時に拾い上げられた例はなかった。初回受検時の超音波検査で腫瘍像は描出されなかったが，一次スクリーニングで精検の指示がだされ，その精検の結果診断された悪性腫瘍は肝細胞がん1例と胆嚢がん1例であった（表2）。肝細胞がんの1例¹⁾では，超音波検査で肝硬変の所見があり，また右腎臓が描出で

きなかったために精検としてCTを実施，肝細胞がんが発見された。ビデオの見直しで肝臓に腫瘍が指摘できるのにもかかわらず，集検時のダブルチェックで見逃されていた。胆嚢がんの1例は，超音波検査で胆石，胆嚢萎縮，総胆管拡張を指摘されて手術を実施，病理組織検査で胆嚢がんと診断された。

がん登録との記録照合でチェックされた，集検受検後にがん²⁾と診断された症例は，原発性の肝がん12例，肝内胆管がん2例，原発か統発か不明の肝がん2例，胆嚢がん6例，乳頭部がん1例，膵がん9例，腎臓がん4例の合計36例であった（表3）。この36例

中 2 例が偽陰性例であった。その内訳は次年度の経過観察時に発見された胆嚢がん 1 例、がん登録よりの膵がん 1 例である。したがって、集検初回受検時点での肝胆膵腎のがん有病者とみなされる者は 21 例である(表 4)。偽陰性の胆嚢がん症例では、初回受検時に腎石灰化があり経過観察となり、次年度の経過観察時の超音波検査で胆嚢底部に約 2 cm の隆起性

病変が発見された。偽陰性の膵がんでは、初回受検時に腎腫瘍を疑われて CT を実施したが、膵臓も含めて上腹部に異常がなかった症例で、集検受検後 9 カ月で心窩部痛が出現して近医受診、超音波検査で膵頭部に約 2.5cm の低エコーレベルの腫瘤像が発見された。

次に、肝胆膵集検におけるスクリーニング検査の診断精度について検討する。超音波検査で肝臓、胆嚢、膵臓、腎臓、副腎、脾臓に腫瘤像、あるいは上腹部に由来臓器不明の腫瘤像を描出しているのは表 5 に示したように 131 例(表 5)であり、これを一次スクリーニング陽性と考えて計算(計算 1)する。この場合には、がん有病者 21 例中 4 例では超音波検査で腫瘍が描出されなかったことになり、スクリーニング検査(超音波検査)の診断精度は感度 81.0%、特異度 98.4%と計算される(表 6)。発見頻度の高い肝細胞がんのみについて精度を求めてみると、超音波検査で肝腫瘍を描出した症例(典型的な肝血管腫

表 6 超音波集検における 1 次スクリーニングの診断精度(計算 1)

超音波検査	が ん		合計
	あり	なし	
腫瘍あり	17	114	131
腫瘍なし	4	6887	6891
合 計	21	7001	7022
感度	17/21		=81.0%
特異度	6887/7001		=98.4
偽陰性率	1-感度		=19.0
偽陽性率	1-特異度		=1.6
陽性反応適中度	17/131		=13.0
陰性反応適中度	6887/6891		=99.9

表 7 超音波集検における 1 次スクリーニングの診断精度(肝細胞癌のみについての計算)

一次スクリーニング	が ん		合計
	あり	なし	
陽 性	8	44	52
陰 性	1	6969	6970
合 計	9	7013	7022
感度	8/9		=88.9%
特異度	6969/7013		=99.4
偽陰性率	1-感度		=11.1
偽陽性率	1-特異度		=0.6
陽性反応適中度	8/52		=2.6
陰性反応適中度	6969/6970		=99.9

表 8 超音波検査で腫瘤像は描出されないが、がんの存在を考えて拾い上げると考えられる超音波所見

肝硬変	32 例
肝内胆管拡張	8
最大径 10mm 以下で典型的なコレステロールポリープの所見でない胆嚢隆起性病変	10
胆嚢壁肥厚	27
胆嚢腫大	13
総胆管拡張	201
主膵管拡張	52
合 計	343 例

表 9 超音波集検における 1 次スクリーニングの診断精度(計算 2)

超音波検査 (一次スクリーニング)	が ん		合計
	あり	なし	
所見あり	19	455	474
所見なし	2	6546	6548
合 計	21	7001	7022
感度	19/21		=90.5%
特異度	6546/7001		=93.5
偽陰性率	1-感度		=9.5
偽陽性率	1-特異度		=6.5
陽性反応適中度	19/474		=4.0
陰性反応適中度	6546/6548		=99.9

表 10 超音波集検における 1 次スクリーニングの診断精度(計算 3)

一次スクリーニング	が ん		合計
	あり	なし	
陽 性	19	703	722
陰 性	2	6298	6300
合 計	21	7001	7022
感度	19/21		=90.5%
特異度	6298/7001		=90.0
偽陰性率	1-感度		=9.5
偽陽性率	1-特異度		=10.0
陽性反応適中度	19/722		=2.6
陰性反応適中度	6298/6300		=99.9

の所見を呈した例を除く)は52例であったから、感度88.9%, 特異度99.4%と計算される(表7)。

しかし、超音波検査ではさまざまな所見が発見されるので一次スクリーニング検査陽性をどのように考えるかが問題である。超音波検査で腫瘤像が描出されなくても、表8に示したようにがんの存在を考えて拾い上げるべきと思われる所見があったのは343例であった。この343例と前述の超音波検査で腫瘤が描出された131例を合わせた474例を一次スクリーニング検査陽性と考えて計算(計算2)する。この場合には、がん有病者のうち偽陰性例を除く19例は一次スクリーニング陽性ということになり、感度90.5%, 特異度93.5%と計算される(表9)。この場合、肝細胞がんのみについて計算すると、感度100%となる。

一方、われわれの地域集検の一次スクリーニングで精検の指示が出されたのは722例であった。一次スクリーニングでは超音波検査と血液検査を併用しているので、この場合は超音波検査では異常がなく血液検査が異常であった例も含まれる。この722例を一次スクリーニング検査陽性と考えて計算(計算3)する。この場合にも、がん有病者のうち偽陰性例を除く19例は一次スクリーニング陽性ということになり、感度90.5%, 特異度90.0%と計算される(表10)。この場合も、肝細胞がんのみについて計算すると、感度100%となる。

考 察

今回の検討では、がん登録との照合を実施し、がん有病者21例中2例が偽陰性例であった。精検時に発見された肝細胞がんの1例では後日のビデオの見直しで肝臓に腫瘤像を指摘できたが、集検時のダブルチェックで見逃されていた。一方、超音波検査の時点で発見された悪性腫瘍17例のなかで、ダブルチェック時に拾い上げられた例はなかった。すなわち、ビデオテープを用いたダブルチェックシステムは悪性腫瘍の拾い上げに影響を与えなかったといえる。

この原因としては、肝胆膵のがんの集検での発見頻度が極めて低い(集検での発見率は肝細胞がんが0.02%, 胆嚢がんと膵臓がんが0.003%)³⁾ことから、十分な検討が行えるほどの症例数ではないことが挙げられる。もう一つの原因としては、われわれのシステムでは超音波診断装置1台に2名の医師を配置し、検査時に1名は後方で画面を見ており、この時点で同時性ダブルチェックを実施しているといえる

ことである。したがって、検査後にビデオテープを見直しても重要な診断の訂正がなかったものと考えられる。

以前、ダブルチェックを実施している地域集検の方がダブルチェックを実施していない施設集検(施設集検では超音波診断装置に医師は1名)より感度が優れていると報告¹⁾したが、これはダブルチェックが有効であったのではなく、診断装置1台に医師2名を配置したことが有効であったとも考えられる。したがって、1台の診断装置に2名の検者を配置する場合には、敢えてダブルチェックをする必要はないと思われる。

集検システムの精度はスクリーニング検査の精度のほかに、精検受診率、精検の精度、事後管理的確さなどにより変動する^{4),5)}。検診体系の中で生じるさまざまな事象を考慮したのが検診のプログラムの精度である。プログラム感度はスクリーニング検査の感度、精検受診率と精検の感度の3つの積で表される⁴⁾ので、スクリーニング検査の感度よりは低値となる。超音波集検では胃集検や大腸集検のように精検方法が限定されておらず、DIC, ERCP, EUS, CT, MR, 超音波映像下生検、血管造影など精度の異なる種々の精検方法が存在し、その評価が難しい。また以下に述べるように一次スクリーニング陽性をどのように考えるかで精検受検者数が異なる。

超音波検査では多数のがん以外の所見が発見される。一次スクリーニング陽性者数を把握する上では、これらの所見をどこまでがんと関連づけて考えて検者が精検の指示を出しているかが問題であろう。例えば、主膵管拡張、総胆管拡張などは精検の指示が出た場合にはがんをも念頭に置いている場合が多いと思われる。しかし、嚢胞や胆石などでは精検の指示が出たからといっても必ずしもがんを考えてのことは限らないであろう。また、例えば数mmの肝腫瘍や10mm以下の胆嚢隆起性病変などでは、がんを疑っても直ちに精検をせずに短期間経過観察とする場合もあり、経過観察症例の一部も計算に入れる必要がある。

われわれは精度を評価するにあたって、カルテ見直しにより精検や経過観察の理由を判断し、一次スクリーニング陽性者数を明確にしようと試みたが、遡及的に判断するのは困難であった。そこで、3通りの場合を考えて一次スクリーニング検査の精度についてのみ検討した。また、診断精度は個々の臓器ごとに検討すべきであるが、臓器別に検討するには

各臓器のがんの頻度が低く発見数も少ないことから、超音波集検として一括して検討した。

結果に示した計算1と計算2は一次スクリーニングの精度というより超音波検査の精度といえる。われわれのシステムでは一次スクリーニングで超音波検査と血液検査を併用していることから、計算3が实际的であるが、前述のような理由で必ずしも的確に評価しているとは限らないであろう。また、計算1は一次スクリーニング陽性の範囲を狭く考えた場合、計算3は一次スクリーニング陽性の範囲を広く考えた場合といえる。

今回の計算では、超音波検査の感度は肝細胞がんに限って計算すると更に高値であった。肝細胞がんが高いのは、肝臓が他の臓器と違って腸管ガスの影響を受けにくく、マイクロコンベックス探触子の開発などで超音波検査上の死角が少なくなったなどの超音波装置の進歩によると思われるが、発見頻度が少なく症例を蓄積して検討する必要があるだろう。

まとめ

1) 一台の超音波診断装置に熟練した検者二名を配置し、一名が後方で超音波画像を見ている場合には、敢えてダブルチェックを実施する必要はないと考えられた。

2) がん登録との記録照合によると、肝胆膵超音波地域集検受検者7,022人の中で、初回受検時のがん有病者は21例で、偽陰性例は2例であった。

3) 要精検者は722人で、この数値を用いて計算す

ると一次スクリーニング検査の感度90.5%、特異度90.0%であった。

謝辞：本研究を行うにあたって、御協力をいただいた宮城県対がん協会の庄司淳子、菊池晴美、新開由美の各氏と、宮城県新生物レジストリーの奥野ヨシ氏に深謝します。

本論文の主旨は、第33回日本消化器集団検診学会総会のワークショップおよび第3回超音波集検研究会のシンポジウムで発表した。

文 献

- 1) 小野寺博義, 他：腹部超音波スクリーニングによる肝胆膵疾患集検の適性化に関する検討 (V) —ビデオ再生によるダブルチェックの有用性について—。日消集検誌：81, 78, 1988.
- 2) 小野寺博義, 他：腹部超音波スクリーニングによる肝胆膵疾患集検の適性化に関する検討 (I) —効率的な肝疾患の拾い上げについて—。日消集検誌：72, 28, 1986.
- 3) 山田達哉, 他：平成3年度消化器集団検診全国集計。日消集検誌：32(2), 54, 1994.
- 4) 深尾 彰, 他：がん登録を用いた胃集検の精度の評価。日消集検誌：97, 59, 1992.
- 5) 有末太郎, 他：大腸集検システムの構築。日消集検誌：92, 67, 1991.

研究と実験

エンドトキシンによる肝障害発生機序の解明

Pathogenesis of endotoxin induced liver damage

大内 清昭

Kiyooki Ouchi

はじめに

エンドトキシン血症により惹起された播種性血管内凝固症候群、多臓器障害において肝は最大の target organ であり、また消化器手術後の腹腔内膿瘍、膿胸合併例では高頻度に黄疸を中心とした肝機能障害を発症する¹⁾²⁾。エンドトキシンによる肝障害発症の原因として、肝類洞血流障害や活性化された肝マクロファージより産生されるアラキドン酸カスケード産物、血小板活性化因子 (PAF)、TNF などの mediator の関与などが報告されている³⁾。

今回、著者らはその機序に活性酸素の関与を考え、membrane lipid の特異的主要成分の脂質過酸化物である phosphatidylcholine hydroperoxide (PCOOH) を中心に測定することにより、エンドトキシンの肝障害発症機序について in vivo および in vitro で検討した。脂質過酸化物の定量はチオバルビツール酸法によるマロンジアルデヒド量にての測定が一般的であったが、特異性に欠けるためその定量性には問題が残されている。過酸化反応は疎水性環境で起こりやすく、特に不飽和化合物と反応しやすいため、生体膜のリン脂質が最も障害をうけやすい。そこで、生体膜リン脂質の80%以上の構成成分である phosphatidylcholine を分画し、その過酸化物である PCOOH を定量した。

ラット腹膜炎モデルを用いた in vivo 実験

SD 系雄性ラットの盲腸を結紮穿刺し腹膜炎を導入した(腹膜炎群)。また radical scavenger である superox-

ide dismutase (SOD) 90,000 単位および catalase 50,000 単位/kg を腹膜炎導入前、導入後 3 時間毎24時間まで皮下投与した群を作成した(治療群)。これら両群に対して 12, 24 時間後に採血、採肝し以下の項目を測定した。血中エンドトキシン濃度はトキシカラー法により、肝アデニンヌクレオチドは高速液体クロマトグラフィーにより測定し、Atkinson⁴⁾の式により energy charge を求めた。肝 PCOOH は宮澤ら⁵⁾の方法に準じ、肝をクロロホルム・メタノール処理により lipid を抽出後、高速液体クロマトグラフィー・chemiluminescence 分析装置により、肝組織血流量はレザードプラー血流計を用い測定した。

腹膜炎導入24, 48時間後のラット生存率はそれぞれ腹膜炎群80, 20%, 治療群100, 80%と後者で良好であった。血中エンドトキシン濃度は腹膜炎導入24時間後に 0.21 pg/ml より 20 pg/ml 前後に増加し、治療群との間に差は認められなかった(図1)。

一方、肝でのエネルギー産生と消費のバランスの指標である energy charge は、腹膜炎群で前値の平均0.86より24時間後には0.73へと低下し、肝エネルギー代謝の破綻がみられた。それに対し治療群では24時間後0.79と低下は有意に抑制された。腹膜炎群での肝 PCOOH 濃度は、前値の平均741 pmol/mg 肝より24時間後には 2,628 pmol/mg 肝と著明に増加し、脂質過酸化の亢進がみられた。一方、治療群では24時間後でも 884 pmol/mg 肝と増加は認められなかった。肝血流量は両群ともに有意の変化はみられなかった。

ラット腹膜炎モデルにおいて、血中エンドトキシンの

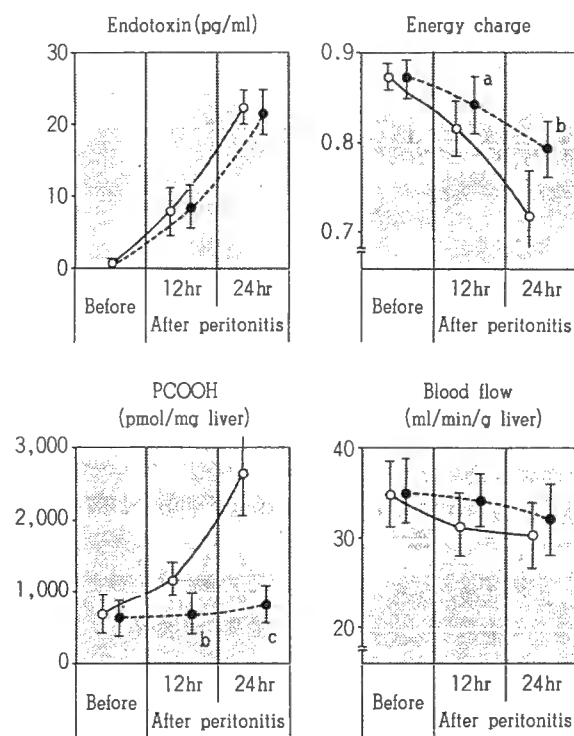


図1 腹膜炎導入後の測定項目の変化。

○: 腹膜炎群, ●: 治療群

a: $p < 0.05$, b: $p < 0.005$, c: $p < 0.001$

増加に伴い肝エネルギー代謝障害が惹起された。川崎⁶⁾はマウスにエンドトキシンを投与したところ肝 ATP レベルおよび glutathione, α -tocopherol の減少に伴い過酸化脂質濃度は著増し、これらの反応は CoQ₁₀, α -tocopherol 投与により抑制されたことから、エンドトキシンによる細胞障害の一部は過酸化脂質生成によると指摘している。本研究においても肝障害の機序として肝組織血流量の低下は考えにくく、肝 PCOOH の増加を認めたことより、活性酸素による膜脂質過酸化障害が重要と考えられた。このことは、radical scavenger の投与により PCOOH の増加は著しく抑制され、肝エネルギー代謝および生存率の改善がみられたことよりも確認された。

Kupffer 細胞の役割についての in vitro 実験

SD 雄性ラットの肝を 0.05% collagenase 液で灌流後細切して肝細胞を採取した。また、低速遠心により肝細胞を除去し、非実質細胞のうち dish への接着能のあるもののみを Kupffer 細胞として採取した。肝細胞を 5×10^5 個/ml で plating したものを肝細胞単独培養群、肝細胞と Kupffer 細胞とを細胞比 1:4 で plating したものを混合培養群とした。

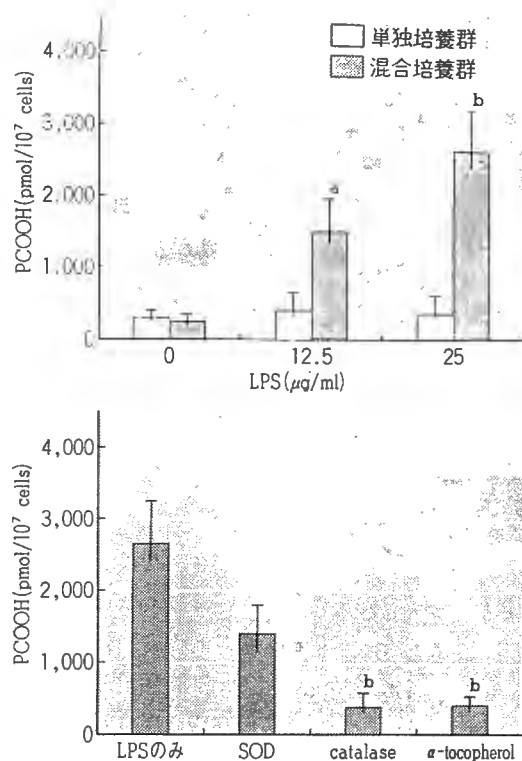


図2 肝細胞単独培養群と混合培養群におけるエンドトキシン負荷時の PCOOH 濃度 (上段) および治療群における PCOOH 濃度 (下段)。

a: $p < 0.05$, b: $p < 0.005$

培養開始 1 時間後に無血清培地に交換し、その際生食水 20 μ l (コントロール) または E. coli エンドトキシン 12.5, 25 μ g/ml を添加し、24 時間培養後上清の transaminase 値および cell scraper を用いて採取した肝細胞のみを pellet として得、前述の方法にて PCOOH を測定した。また、エンドトキシン 25 μ g/ml を添加した混合培養群に対し、catalase 30,000 U/ml, SOD 3,000 U/ml, α -tocopherol 100 μ g/ml をさらに添加し同様の検索を行った (治療群)。

培養上清の GOT 値はコントロール、エンドトキシン 12.5, 25 μ g/ml 添加で、単独培養群ではそれぞれ 13.6 ± 1.9 , 15.0 ± 2.9 , 14.1 ± 1.6 IU/l と変化はみられなかったが、混合培養群では 19.5 ± 4.7 , 44.5 ± 10.0 ($p < 0.005$), 22.0 ± 3.2 IU/l ($p < 0.05$) とエンドトキシン添加混合培養群で有意の高値を示した。GPT 値も同様であった。また、治療群における GOT 値はエンドトキシン添加のみでは

22.0±3.2 IU/lであったのに対し、SOD 添加では12.2±1.3 (p<0.005), catalase では15.8±2.4 (p<0.05), α -tocopherol では13.6±1.4 IU/l (p<0.005) と有意の低下が認められた。肝細胞 PCOOH 濃度は単独培養群ではエンドトキシン添加の有無に拘らず変化はみられなかったのに対し、混合培養群にエンドトキシンを添加した時のみ有意の増加を認めた(図2)。また、エンドトキシン 25 μ g/ml のみ添加時の PCOOH 濃度に比較し、SOD 添加では低下傾向を、catalase, α -tocopherol 添加では有意の低下を認めた。

本研究により、エンドトキシンによる初代培養肝細胞

の PCOOH および上清中の transaminase の増加は肝細胞単独培養群ではみられず、Kupffer 細胞との混合培養群にのみ認められることが明らかにされた。この PCOOH および transaminase の増加は radical scavenger の投与により抑制されたことより、肝細胞障害には活性酸素による膜脂質過酸化反応が重要と考えられた。また、培養肝細胞の膜脂質過酸化反応に、エンドトキシンにより活性化された Kupffer 細胞が関与していることが示唆された。Arthur ら⁷⁾も同様にエンドトキシンにより活性化された肝マクロファージより生成された活性酸素が肝細胞障害を惹起する可能性を指摘している。

文 献

- 1) Miller DJ, Keeton GR, Webber BL et al: Jaundice in severe bacterial infection, *Gastroenterology* 71: 94-97, 1976
- 2) Banks JG, Foulis AK, Ledingham I et al: Liver function in septic shock, *J Clin Pathol* 35: 1249-1252, 1982
- 3) 西川浩平: エンドトキシンショックのメディエータ, 代謝26: 453-463, 1989
- 4) Atkinson DE: The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameters: Interaction with feedback modifiers, *Biochemistry* 7: 4030-4034, 1968
- 5) Miyazawa T: Determination of phospholipid hydroperoxide in human blood plasma by a chemiluminescence-HPLC assay, *Free radical Biol Med* 7: 209-217, 1989
- 6) 川崎 尚: 臓器虚血障害の保護, 代謝24: 389-399, 1987
- 7) Arthur MJP, Bentley IS, Tanner AR et al: Oxygen-derived free radicals promote hepatic injury in the rat, *Gastroenterology* 89: 1114-1122, 1985

トピックス 第2回乳癌学会から

表5 世代別組織型分布

組織型	1900～1920年生	1940～1960年生
非浸潤癌	4 (4.3)	6 (4.5)
乳頭腺管癌	29 (31.1)	43 (32.1)
充実腺管癌	34 (36.6)	49 (36.6)
硬癌	22 (23.7)	29 (21.6)
特殊型	4 (4.3)	7 (5.2)
計	93 (100%)	134 (100%)

一方で、集団検診の普及や画像診断の導入などにより非触知乳癌や早期乳癌症例も確実に増加してきている。これらの影響は当然日本人乳癌の組織分布にも現われてくるものと考えられる。今回の検討では、通常型における乳癌組織型分布の欧米化、すなわち、硬癌の割合の増加や乳頭腺管癌の割合の減少という傾向は認められず、むしろその逆になる結果となった。これは生物学的な乳癌の組織型の変化よりもむしろ臨床的要因、すなわち、診断能の発達によるものと考えられ

た。つまり、T0乳癌の増加は非浸潤癌や乳頭腺管癌症例の増加につながり、小さな癌の増加は、優勢型で硬癌に分類されてくるいわゆる乳頭腺管癌くずれの硬癌などの割合を減らしてゆく原因となっているものと考えられた。

まとめ

乳癌組織分布の変遷には臨床的な診断能の向上による影響が大きく、今後、非浸潤癌の割合は増加、乳頭腺管癌の割合は増加(減少しない)、硬癌の割合は減少(増加しない)が示唆された。

- 1) 坂元吾偉：日本人乳癌の特性と未来. 乳癌の臨床 2：327-388, 1987
- 2) 乳癌研究会編：臨床・病理乳癌取り扱い規約.
- 3) 坂元吾偉：乳癌の病理組織学的所見の変遷. *Breast Cancer Today* 9(2)：2-7, 1993

終末期医療の勲章

山室 誠

宮城県立がんセンター麻酔科

昨年4月に宮城県立がんセンターに赴任しましたが、がんの患者さんの痛みの治療ほどペインクリニックの医者を必要とする分野は、他にはないように思っています。

がんの終末期になると、患者さんは死期を察知するのか、それとも闘病生活からの疲れからか、「先生、これ以上はもういいよ。疲れたから、眠らせてくれ!」と言われることがあります。あるいは家族から「安らかに眠るように死なせたい」と言う強い希望が出される場合もあります。

このような時には、私はケタミン・ドルミカムの持続静注投与を用いてきました。最初は痛みの治療のため、あるいは夜間の十分な睡眠を確保するためでしたが、臨終期には死の恐怖も手伝うのか、患者さんから「眠っていると何も考えなくていいから、あの薬を!」と言って、日中もしばしば希望されるようになりました。こうして臨終を迎えられた患者さんの家族からは「お陰様で、苦しまずに、安らかに亡くなることができました」と感謝されました。その言葉には、決して儀礼とは思われない心情があったように思えました。そこで私は、終末期の眠りをターミナル・ケアでは必要不可欠な医療技術の一つと考えていました。

ある会で終末期医療に携わる欧米の方々と話す機会がありました。彼らは私の終末期医療における眠りに対して真っ向から反対しました。

「臨終まで意識を正常に保ち、最後に『Good Bye!』あるいは『Thank you!』を聞くのが、ター

ミナル・ケアを行う者の勲章ではないのですかと。

元淀川キリスト教病院ホスピス長の柏木先生は、日本人の終末期の心理は、キュープラー・ロス先生が「死の瞬間」に書かれたような課程を取らずに、あきらめ(諦観)によって支配される場合が多いと言っておられます。

この諦めを根底にしている日本人は、息を引き取る寸前まで話をし、ガクッと首を折るような死に方よりは、眠るように安らかに死にたいと言う希望が強いように思われます。特に家族の方は後者を強く希望されます。

しかし、臨終における願望の相違を、欧米と日本の文化的な差として葬り去るのではなく、「さよなら」を聞くことを誇りにする医療として捉え直す必要があるように思われるのです。

臨終で「さよなら」を聞くためには、臨終に至る最期の最後まで、あらゆる苦痛を取り去る医療(緩和医療)が十分に行われねばなりません。それを、ただ文化的な違いとしか考えなかったもので、「さよなら」を聞くまでに行われていた十分な緩和医療の大切さに気が付かなかったのではないのでしょうか。

患者さんの眠りたいと言う希望、そして家族の眠らせたいと言う願いが、日本文化の言わせる言葉ではなく、終末期の緩和医療の不備が言わせる言葉であると認識するならば、臨終で言われる患者さんからの「さよなら」や「ありがとう」は、緩和医療の成就の証であり、それは終末期医療に携わる者にとっては勲章以外の何物でもありません。

しかし、私の行っていた「眠り」は、たとえ患者さんや家族に如何に感謝されようとも、勲章にはならないのではないのでしょうか。

Editorial

The honor in terminal care

Makoto Yamamuro (Department of Anesthesiology, Miyagi Cancer Center)

ペインクリニック20年における苦い経験

山 室

誠*

昭和45年に東北大学を卒業後、直ぐに麻酔科に入局して、手術の麻酔、ICUの研修を経て、47年頃からペインクリニックを始めました。

当時、ペインクリニック担当の先生はおらず、今は絶版となったBoniccaの「The management of pain」が唯一の頼りでした。

星状神経節ブロック(SGB)も、7cmのブロック針に延長チューブを用いて、穴あき覆布を掛けて行っていました。覆布で顔の表情も見えなかったのも、動脈内誤入に気づかず、痙攣発作を起こし、患者とともに私までが、失神、失禁したことは臨床麻酔学会で報告した通りです。

SGBが、こんな調子ですからtrouble続きで、症例報告会の常連となり、岩月賢一教授から「また君かね!」と老眼鏡越しに睨まれるし、同僚からは「accidenter」、他科から「trouble maker」と言う不名誉な渾名をもらうようになりました。

今回、新井先生から失敗例について話して欲しいと言われ、昔の辛い渾名を思い出しました。しかし「自験例によるペインクリニックの合併症」の題で教科書を書けば売れると言われた私ですから、僥倖ながらお引き受けしました。

多くの苦い経験がありますが、今日は特に印象に残っている症例や危険な合併症について話させていただきます。

§ 神経ブロックの手技について

1. 星状神経節ブロック(SGB)

1) くも膜下腔誤入: くも膜下への注入などの重大な合併症は非常に稀なのですが、起きてはならない時に限って起きるものです。足が不自由な患者のために良かれと思って病室でSGBを行ったら、その時に限ってくも膜下腔注入になりました。しかも病棟のスタッフが救急蘇生に慣れていなかったために、最悪の事態を覚悟した経験があります。慣れたSGBでも、安易に考えずペインクリニックの慣れた外来診療室で行うのを原則として、それ以外の場所で行う時には、たとえ研修生でも同伴すべきです。

2) 遅発性反回神経麻痺: ブロック後30分して、部屋を出る時には普通に発声していたのですが、1時間ほどしてから完全に声が出なくなりました。涙ながらに筆談でデパートの店員に訴えたために、救急患者として大騒ぎになった症例や、逆に気軽に考えて飲食したため誤飲性肺炎を起こし、入院した患者もありました。

頻回に起こる副作用ですが、詳しい説明と注意が必要と思われます。

3) 血腫: ブロック中に血液の逆流を見るのは珍しくありません。これに気づかず局麻薬を注入すると動脈の場合は1ml以下でも痙攣が誘発されることがあります。しかし、もっと恐ろしいのが血腫です。

頸部の腫脹が認められる時点で、たとえ呼吸困難等の症状が認められなくても、気管の偏位が認められます。軟骨のない背側か

ら気管が血腫に圧迫されると、簡単に気道狭窄を来します。この時点での気管内挿管は大変難しいので、首の位置によって呼吸困難が増強するようなら、躊躇せず気管内挿管し気道を確保すべきです。

診断には通常CT検査が用いられますが、緊急時には頸部の単純左右X-P像で十分に判定できます。

血管に対する損傷は完全に穿刺したほうが安全で、血管が裂けたり輪切りにされた場合の方が危険だと思われます。私は動脈損傷の殆どが針先の「ささくれ」にあると考えています。ブロック後の針先を顕微鏡で見ると良く判りますが、25-24Gの針は骨にあたると先端が切り口の反対方向に曲がり、指先で触れても引っかかるようになります。この「ささくれ」が動脈壁を切るのではないのでしょうか。骨表面に針先をあてる時にはソフトに、再刺入時には針を交換するなどの配慮が必要になると思われます。

4) 上腕神経叢麻痺: 嘔声や出血に比べれば稀ですが、上腕神経叢麻痺も発生します。完全に回復するまで待つべきですが、2-3時間かかることもあり、通常はある程度回復した時点で帰します。

この時に荷物は必ずブロック側に持つように指導します。と言うのは、帰りがけに健側の上肢に荷物を持って階段で転び、とっさにブロック側の腕を付いたのですが筋力低下のために身体を支えきれず大怪我をした症例を経験しているからです。

5) まとめ: 問題となるSGBによる事故の殆どが診療室の中ではなく、退室あるいは病院を離れた後に起こっています。そのために場合によっては生命の危険を伴う緊急事態となります。報告されている症例は危機一髪の所で救命に成功していますが、不幸な転機をとられた例もあると聞いております。したがって救急時の対応を考えて、SGBの適応を「市内の患者のみ」と言うように限定している施設もあります。

2. 硬膜外ブロック

昨年(1992)の11月で、硬膜外ブロックのカテーテル留置が10,000例になりました。そこで副作用も多かったと思うのですが、思い出されるのは2つくらいです。

1) くも膜下ブロック: 1週間以上も持続硬膜外ブロックを継続していた症例で、いつものように局麻薬を注入したところ急激な血圧低下から意識消失、心停止が発生しました。蘇生後、カテーテルから吸引テストをしますと脳脊髄液が引けました。硬膜外腔にあったカテーテルの先端が、突然くも膜下腔に迷入したとしか考えられません。

最近、ディスプレイの注入器で連続硬膜外ブロックを行っていた症例が、急に歩行不能となり、吸引テストで脳脊髄液が引けたことがあります。いずれも放射線療法の領域に一致して挿入されたカテーテルでした。したがってカテーテル留置例といえども、局麻薬の注入前に、連続注入例では定期的な吸引テストが必

* 宮城県立がんセンター麻酔科

要と思われます。

2) カテーテルの切断：カテーテル抜去時に切断した経験をお持ちの方も多いと思いますが、余計なことをせずそのまま留置しておく事も考慮すべきです。と言うのは、切断カテーテルの抜去手術は非常に大変で、就任間もない天羽先生と2時間以上も悪戦苦闘した経験があるからです。

抜けにくい場合には、面倒でもカテーテル挿入時の体位に戻して抜くのが最善策だと思います。

3. 三叉神経ブロック

microvascular decompression 手術が主流になり、ペインクリニックでは顔面神経ブロックと共に減少しているブロックの1つです。

三叉神経ブロックは出血・視力障害など副作用の多いブロックですが、幸いなことに手技の失敗によって大きな副作用を経験した記憶はありません。もちろんブロックが成功せず、アルコールを注入できたのは10例目以降だったように思います。

三叉神経痛では誤診による trouble が問題でした。上顎癌を三叉神経痛と誤診してブロックを行い、患者さんは痛みがないので放置していたため手術の時期を失したと耳鼻科からひどく叱られた記憶があります。

新井先生が「症例から学ぶ頭痛・顔面痛」と言う名著を出版されたので、このような trouble は解決されると思われます。

4. 腹腔神経叢ブロック

腹腔神経叢ブロックは、薬剤による癌性疼痛の治療法を提唱する WHO も外科的除痛法の筆頭に上げている非常に優れた方法で、自験例で200例を越えました。しかし癌自体の急変や適応の時期に問題があった症例を除いて、本ブロック後に4例が死亡しております。

1) 出血：針の刺入路に沿って腎動脈があるので、これを損傷する危険があります。実際に腎動脈を裂いたための出血死が、非公式の集まりでは報告されていますので、ブロック後は出血を念頭に置くべきです。

私が経験した症例は腎動脈ではありませんが、後腹膜腔への出血が原因と思われる死亡でした。ブロック直後からショックレベルの低血圧があり、昇圧薬の持続投与を行っていました。夜中に血圧低下が著しいとの電話があった時にも、交感神経の遮断による低血圧と決めつけて昇圧薬の増量を指示しただけでした。明け方近くに心停止の連絡が入り、急速駆けつけて蘇生できましたが、意識が回復しないまま亡くなりました。

病理解剖の結果、後腹膜腔に300ml程度の出血が認められましたが、出血部位は不明でした。致命的な出血量とは考えられませんが、全身状態も悪化しておりましたし、ブロックによる交感神経系の抑制との相乗効果で心停止に至ったと思われます。

2) 低血圧：1例は、重篤な低血圧が1週間以上も持続し、昇圧薬の持続投与から離脱できぬまま死亡しました。病理解剖でも死亡原因をはっきりさせることはできませんでした。しかし私にとって辛かったのは、非常に激しい腹部・背部痛のわりには癌の進展は軽微だったことです。そして腹腔神経叢ブロックではなく、オピオイドなどで対処していたら、より長い予後が期待できたと思われた事でした。

他の1例は、ブロック後の低血圧に対して昇圧薬の持続投与を行って、血圧の回復に従い投与量を減らしている時期に、急激な血圧上昇が見られ、不穏状態から意識が消失して、亡くなられま

した。十分な除痛が得られ全身状態も良好だったので、最初は昇圧薬の大量注入を疑いましたが薬液の残量より否定されました。79歳と高齢だったこともあり、家族は速やかに事態を了解してくれましたが、解剖の承諾は得られず死因の探求はできませんでした。元の主治医である内科医は、従来あった動脈硬化症と臨床症状から脳出血と診断しました。

3) 起立性低血圧：ブロック後起立性低血圧が見られ、昇圧薬の内服を行っていました。深夜、排尿のために起きて転倒し、スチームの角に頭をぶつけて倒れているのを家族によって発見され、救急車で運ばれて来ましたが、既に死亡しておりました。

4) 麻酔導入時の心停止：ブロック後、1年して消化管のバイパス手術を目的に全身麻酔を行いました。日常生活では起立性低血圧などはなかったのですが、ラボナール投与後に急激な低血圧から心停止になりました。すぐに蘇生して事なきを得ました。

腹腔神経叢ブロック後は一見何でもないように見えても血圧には十分過ぎるほどの注意が必要と思われます。

8. 経皮的コルドトミー

WHO が腹腔神経叢ブロックに次いで推奨する癌性疼痛の外科的治療法です。技術的にはかなり難しいブロックで、睡眠時無呼吸、下肢の筋力低下・異常感覚などの副作用を経験しております。しかし、本会に出席されている長橋先生が大変良い成績を上げられており、私の苦い経験は単に技術的な未熟さに起因すると思われるので、詳細は割愛させていただきます。

1) 無痛性の穿孔性腹膜炎：両側の経皮的コルドトミーにより第4胸髄以下が無感覚になり、癌性疼痛は完全に消失しました。この患者が急死しました。癌による死亡と考えていたのですが、病理解剖の結果、胃壁に親指が入り出す位の穴が開いており、死因は穿孔性腹膜炎と診断されました。死亡前に腹部の膨満には気づいていたのですが、痛みもないので腹水あるいは腫瘍の進展と考え、特に検査はしませんでした。

病理解剖を見ながら「ひどい腹膜炎を起こしているのに！痛みがないと言うのは患者にとってこんなにも楽なことなんですねー」と内科の主治医が感激していました。しかし「痛みが診断上重要な因子になるのは稀だから、まず除痛を！」と言うペインクリニックの教えも、術者の技量によることを痛感しました。

神経の伝達を遮断して除痛したからには、痛みが本来持つ生体防御機構を医者が代行しなければなりません。手術時の全身麻酔は、疼痛を始め手術の侵襲をなくすだけではなく、麻酔によって消失する生体防御機構を補うからこそ麻酔科医と言えるのだと思います。いくら癌の痛みを治療しても、無感覚による欠点を補えないのなら経皮的コルドトミーを行うべきではないと反省させられました。

§ 研究活動について

研究活動と言える程のものではないのですが、これまで星状神経節ブロックと腹腔神経叢ブロック時の針先の位置とブロック効果について幾つかの報告をしてきました。しかしこれについても苦い思いで修正せざるを得なくなりました。

1) 腹腔神経叢ブロック：「ブロック針の先端が横隔膜を貫いて腹側に位置した場合には腹腔神経叢がブロックされ、横隔膜の背側に位置した場合には内臓神経が遮断されるはずである。しかるに従来の腹腔神経叢ブロックの手技を検討すると針先は横隔膜の背側に位置するので、内臓神経ブロックと言うべきである」と

言うのが、私の主張でした。2つの手技を比較するとブロック効果は、横隔膜の背側に針先を位置させる方法の方が良いのです。背側に位置した針先から注入された薬液は、殆どの場合 retrocrural space に広がりますが、時に大動脈裂孔を通して腹腔神経叢が存在する横隔膜の腹側にも広がる場合もあります。したがって、臨床的には従来通り、針先が横隔膜の背側にあってもブロック効果から見れば腹腔神経叢ブロックと考えて何等問題はないと言えます。

2) 星状神経節ブロックの針先と効果：星状神経節ブロックの針先の位置とブロック効果は学位論文で、その要旨は「第6頸椎横突起に針を刺入する C6-SGB は、上肢に至る交感神経の遮断効果が認められないので、本来の星状神経節ブロックとは異なる頸部交感神経幹ブロックにすぎない」と言うものでした。しかし、これは誤りで、C6-SGB は立派な星状神経節ブロックでした。

何故、こんな間違いが起きたのか？。これを説明するのに、結果的には10年の歳月が必要でした。

C6-SGB の手技は第6頸椎横突起前結節 (Chassaignac's tubercle) を押さえた指の内側ぎりぎりに針を刺入し、針先が骨表面にあたった位置で局麻薬を注入する方法です。この方法を、指が太い術者あるいは指の内側（掌側）で第6頸椎横突起前結節を押さえる習慣のある術者が行いますと、針先は C6 横突起基部に位置します。しかし、指が細い術者あるいは爪の先で第6頸椎横突起結節を押さえる習慣のある術者が行いますと、針先は C6 前結節上に位置するようになります。

星状神経節ブロック時の局麻薬の広がりについて、造影剤を用いて X-P あるいは CT によって検討しますと、針先が頸長筋内に位置して、局麻薬が頸長筋内あるいはこの筋肉に沿って広がると上胸部にまで達するので、頸部・上胸部交感神経の遮断効果が得られますが、局麻薬の広がりが頸長筋のみですと上胸部にまで広がらないので上胸部交感神経は遮断されません。

C7 横突起基部には頸長筋しかないのです、ここで行われる星状神経節ブロック（若杉の方法）では、局麻薬は頸長筋に沿って広がります。しかし、C6 部位では頸長筋と頭長筋の双方が存在します。針先が浅い場合には頭長筋に沿って、針先が深い場合には頸長筋に沿って局麻薬が広がります。

私の手技による C6-SGB では針先は C6 前結節上に位置するので「C6-SGB は上肢への交感神経遮断効果のない手技である」と言う結論が出てしまいました。しかし C6 横突起基部に針先が位置する手技であれば、立派な星状神経節ブロックになります。

§ 患者との対応について

ペインクリニックでは患者との対応一つで人の生命を左右する場合があります。この傾向は難治性疼痛患者、特に癌性疼痛患者において明瞭ですが、癌性疼痛については別項で扱わせていただきます。

難治性疼痛患者3例の自殺を経験しました。

1. 胆嚢摘出後症候群

ペインクリニックを始めて僅か3カ月目でした。胆石手術後の痛みで、胆嚢摘出後症候群と言われ多くの病院を訪ね歩いたのですが、何処でも治療法がないと言われてきました。患者さんの気持ちを察すると、「今度東北大学にペインクリニックなる疼痛専門の部門が出来たそうだから、最後の望みかけて行ってみるべー」と来てみれば、インターンみたいな若造が出てきて、ろくに診察

もせず話を聞いただけで「そんな偉い先生方が診ても治せない病気を、僕が治せるわけがないでしょう」と見放された。「大学病院の痛みの専門科でも駄目かや!」と絶望し、その足で、あてつけのように胆石の手術を行った A 病院の屋上から飛び降りてしまいました。しかも、この事実を私が知ったのは数年も後でした。

当時の私の気持ちには嘘はなかったと思います。しかし患者の気持ちを全く理解せず、自分の思いだけをぶつけてしまった結果です。独学の悲劇と言えばそれまでですが、たとえ神経ブロックの技術は未熟であっても先輩の先生に相談していたら、この不幸はなかったでしょう。

若い時にはペインクリニックの先生しかオーベンと思いませんでした。20年過ぎた今、全ての先輩が、時には後輩までもがペインクリニックにおいても良き指導者と思えるようになりました。

2. 帯状疱疹後神経痛

2例は帯状疱疹後神経痛の患者です。しかも1例は3年前です。胆嚢摘出後症候群の患者のように若さを弁解には用いられません。その時点で考えられる限りの治療を行ったのですが、納得できなかったのだと思います。

いずれの患者も急性期の治療は他施設だったので、私に多少のあきらめがあったことは否認めません。しかしペインクリニックの先生の殆どが帯状疱疹後神経痛患者の自殺を経験されていますので、必ずしも私の personality だけの問題ではないのかも知れません。

難治性疼痛に対して硬膜外腔電気刺激法、DREZ など新しい治療法が開発されました。しかし今後、治療法が進歩しても現在のようなペインクリニックの体制では難治性疼痛には十分に対応することはできないように思われます。

ペインクリニック科としての独立が望ましいと思われませんが、今後とも麻酔科医として手術の麻酔と兼務で痛みを扱うのなら、対象疾患をしぼって「神経ブロック・クリニック」とするか、あるいは Bonnica が提唱するような多くの科によって構成されるペインクリニック部門の一員として参加するなどの対策が考慮される時期が来たと考えられます。

§ 癌性疼痛について

癌性疼痛の治療は苦い思い出ばかりで、これだけでもたっぷり1時間かかるくらいですが、今日はペインクリニック一般から癌性疼痛にのめり込むようになった象徴的なエピソードを話させていただきます。

1. 誰がターミナル・ケアの適応を決めるのか。

患者は54歳の胃癌の男性で、単身赴任先で試験開腹に終わり、本人の希望で帰仙しました。某病院の外科よりターミナル・ケアとして、主訴である腹痛の治療を目的に当科に紹介されてきました。噴門部閉塞があり、栄養は IVH で補給できるのですが、唾液が通過しないために常に口腔が溢れ、患者にとっては腹痛に劣らぬほど辛い症状でした。腹腔神経叢ブロックを目的に持続硬膜外ブロックを行い、唾液分泌にはトリプタノールの副作用である口渇を利用して対処しました。

葛西院長の新規入院患者回診後に主治医である私が呼ばれました。いろいろ注意されましたが、要は「ターミナル・ケアが必要な状態か否かを、主治医としてどのように診断したのか」と言う詰問でした。しかし、それ以上にショックだったのは、院長に「SCC は?」と聞かれ、冗談ではなく咄嗟に「どうして筋弛緩薬

の話が出るのだろう？」と思ったことです。恥ずかしい話ですが、この時まで SCC が腫瘍マーカーであることを知らなかったのです。

痛みのことばかり聞いていた私には遠慮して口にしなかったのですが、葛西院長には「もう一度ワインとステーキを口にしたい」と訴えました。腹腔神経叢ブロックは延期され、院長の執刀でバイパス手術が行われました。手術後に、患者が最も喜んだのは唾液が溢れなくなったことでした。さらに腹痛も緩和され、一ヶ月後にはワインとステーキが吻合部を通過しました。

腹痛の増強のために腹腔神経叢ブロックやモルヒネの投与が必要とするターミナル・ケアに入ったのは3カ月も後でした。

2. 神経破壊薬によるブロックが著効だったために外泊も不可能

60歳の女性の肛門部痛に対してフェノールグリセリンによるサドルブロックを行いました。神経破壊薬による神経ブロックを行う時点では肛門部痛は癌によると考えられたのですが、結果的には放射線療法によるもので、その後の治療により在宅医療が可能までに改善しました。しかしサドルブロックのために肛門括約筋麻痺がありオムツが取れない状態でした。

在宅医療の話をしめすと、旧家の奥様であった患者はまなじりを吊り上げて「オムツの状態で帰れとは、私に死ね！と言うのと同じです」と言い、面会すら拒むようになりました。

回診の度に愚痴をこぼされ、やがて病室の入り口で「変わりないですね」と声を掛けるだけのドア回診になってしまいました。私が手を抜いた分だけ看護婦に風当たりが強くなり、婦長からも叱られました。

3. Retro-peritoneal Frbrosis

68歳の米国の宣教師の方でしたが、夜も眠れない程の下腹部・腰部痛に苦しんでおりました。あちこちの病院を訪ねましたが痛みは治まらず、葛西院長の「うちにはペインクリニックがあるから」と言う話にすがって当院に入院されました。多くの病院で麻薬拮抗性鎮痛薬の注射が行われ、NSAIDs の使用も頻回で続発性の胃潰瘍を併発していました。

非常に激しい痛みだったので、まず硬膜外ブロックのカテーテルを留置し、2%カルボカイン 8 ml を注入しました。十分な知覚麻痺領域が得られたにもかかわらず、痛みは半分程度にまでしか減少しませんでした。

モルヒネの硬膜外投与も併用しましたが、数時間毎に用いる NSAIDs を減らすことは出来ません。しかも胃潰瘍による上腹部の痛みと混在することもあると、痛みの部位が移動し、一時は真剣に心身症を疑いました。しかし、最も強い痛みは上腹部から背中に抜ける痛みとの判断から腹腔神経叢ブロックの目的で、CT を撮影しました。

進行した癌患者でも横隔膜の背側にまで癌の浸潤が及ぶことは稀なのですが、写真を見た第1印象が「この患者の retoro crural space は白いぞ！しかも横隔膜が外側に膨らんでいるように見える」でした。

腹腔神経叢ブロックの可能性を含めて、放射線部長に相談しますと、写真を見るなり「retro-peritoneal fibrosis じゃないですか、かなり痛がっているでしょう？」と言われました。

そこで特効薬であるステロイドを投与しますと、24時間後には半分に、3日目には完全に痛みは消失しました。試験開腹にて横隔膜背側の組織を採取し、Malignant Lymphoma と診断されま

した。化学療法と放射線療法により開腹され帰国しました。帰国に先立ち挨拶に来られた時にもプレドニン錠剤にキスしながら「この薬は神様が下さったものです」と目を細めていました。

三叉神経痛に鎮痛剤ではなく、抗テンカン薬を処方することを知らぬペインクリニックの医者はおりません。それなのに、癌性疼痛の治療を口にしながら、病名や病態も特効薬も知らぬまま、漫然と硬膜外ブロック・モルヒネを用い、効果が不明だと心身症を疑いました。

4. まとめ

3つのエピソードから学ぶべきことは多々ありますが、ICU で呼吸管理を依頼されて、呼吸だけを診ることが不可能なのと同じように、癌の痛みだけを診ることはできません。他科の患者として痛みの治療のみを依頼されても、主治医になったつもりで改めて診断し、その上で痛みの治療方針を立て、行った治療には最後まで責任を持つことが不可欠ではないでしょうか。

麻酔科医による癌性疼痛の治療についてアンケート調査を行ったことがありますが、他科の医師・看護婦からの評価は厳しい結果が出ました。

まとめますと「麻酔科医の痛みの治療は長期的な follow がないので feed back がないまま、その場限りで漫然と治療している」と言う批判です。

ペインクリニックに限らず、各科の医者も自分の領域の手段がなくなった時点でターミナル・ケアと考えるようになります。しかしペインクリニックの医者は、登場する時期がたまたま終末期に一致するだけで本質的には何等変わらないと思われます。だから肝心な時に「ペインクリニックの適応にはなりません」と言うような残酷な返事ができるのではないのでしょうか。

群馬の小笠原先生は神経ブロック直後の笑顔がずっと続いていると思って、癌性疼痛について retrospective に看護日誌を調べた結果「そこには、患者の呻きと、看護婦の悲鳴しかなかった」と報告しております。

麻酔科入院の患者、麻酔科が主治医になっている患者に関しては、看護婦の批判は比較的穏やかです。そしてカルテを見直しても穏やかな批判を裏付けるだけの細やかな治療が行われています。その理由は主治医として患者の全経過に責任を持って、痛みの治療を Total care の一部として位置付けて行っているからではないのでしょうか。

§ 癌の告知について

ある日の夜の回診時に患者と共に窓から外を眺めながら雑談をしていたのですが、いつの間にかドアを閉めて、ドアの前に立ち塞がって告知を迫りました。

咄嗟のことなので混乱しましたが、家族からは「知らせないで下さい」と言われていましたので、何とか取り繕うとしました。しかし、患者の厳しい追及をかわしきれず、病名と予後について話しました。予後についてはマニュアル通り具体的な数字は出さず、私と同年輩だったので「私よりは、かなり短いのでは？」と答えました。不十分な答えなので具体的な数字を聞いて来るのを恐れ、あれこれ答えを模索していました。しかし、長い沈黙の後に「先生が私のような立場になったら、何をなさいますか？」と聞かれました。今思うと、予後について具体的な数字を追求せず、しかも長い沈黙の後に発せられた質問、すなわち考え抜いた結果の言葉でしたから、その重みを受けて私も十分に考えてから答え

るべきだったのです。しかし予期せぬ告知で混乱していたことも手伝って、「いやー、私はそう言う経験がないので、何も考えたことはありません」と答えていました。答えながら、何と酷いことを言っているのだらうと狼狽したことを、今でも憶えております。

彼はドアを開けて、ベットの方に歩みながら「自分では何も考えたことがないのに、患者には癌と話されるのですね」と言って、ベットに横たわり毛布を破ってしまいました。私は、呆然と立ち尽くし、やがて深々と頭を下げて、すこすこ退室するしかありませんでした。

翌日、奥様からは「主人が勝手に告知を強要したんですから…」と労ってくれましたが、患者はそれ以後私とは一言も話さなくなりました。

そして、それから1週間後に退院の希望が出されました。

御主人が亡くなられた後で、奥様から御主人の日記の抜粋とともに手紙が届けられました。「最も辛い時期に見捨てられた」と感じていたようです。

先生には程遠い問題であっても、御自分の問題として御家族やお仕事をどうなさるのか真剣に考えて御返答下さったら、立場や環境は異なっても同じ年頃でしたから、いろいろな意味で支えになっていただけたように思います」と書かれていました。

§ 最 後 に

まともなペインクリニックの研修を受けることもなく、20年もの間ペインクリニックをやったのは諸先輩の御指導の賜でした。その中で最もお世話になったのは順天堂大学の宮崎東洋先生でした。

治療中、困ると宮崎先生に電話をして御指導を仰ぎました。患者に針を刺したまま順天堂に電話し、針を修正してはまた電話で相談すると言う有り様でした。その間、受話器を持ったまま診療されていた宮崎先生も大変ですが、電話料金もかなりの額になり、事務から岩月教授に泣きが入りました。その時教授は「金の事でガタガタ言うな！大切な投資だ」と言って、文句を一蹴して下さいそうです（その時の電話代が原因で NTT 病院に赴任した

わけではありませんが）。

しかし、最大の恩師は、今日お話しした、私のために辛い思いをされた患者です。今日の話を開かれた皆様が、私と同じ失敗をなさらないで済むなら、辛い思いをした患者たちも許してくれるような気がしてつまらない話をしました。御静聴を感謝し、終わりとさせていただきます。

本論文は第3回中国・四国ペインクリニック研究会（於：岡山）の特別講演をまとめたものである。

引 用 文 献

- 1) Bonica JJ: The management of pain. Philadelphia, Lea & Febiger, 1963+Nasimul Ahsan.
- 2) 山室 誠：SGB による間代性の全身痙攣。日本臨床麻酔学会誌 5：31-35, 1985
- 3) 山室 誠：天羽敬祐・監修；図説痛みの治療入門。中外医学社、東京、1984
- 4) 山室 誠、兼子忠延：第6および第7 頸椎横突起を指標とする星状神経節ブロックの皮角検討。麻酔 27：376-380, 1987
- 5) 江場克夫：第6 頸椎横突起を指標とする星状神経節ブロックの検討。ペインクリニック 12：329-338, 1991
- 6) 山室 誠、江場克夫、他：第6 頸椎横突起を指標とする星状神経節ブロックの検討—ブロック手技の検討—。ペインクリニック 12：507-512, 1991
- 7) Carron H, Litwiller R: Stellate ganglion block. Anesth & Analg 54: 567-570, 1975
- 8) 山室 誠：腹腔神経叢ブロック。ペインクリニック 10：324-329, 1989
- 9) 山室 誠：腹腔神経叢ブロックの実際。ペインクリニック 10：S96-105, 1989
- 10) Alia Choudhry, Alexander Berger: Retroperitoneal Fibrosis. AFP 41: 17751781, 1990
- 22) 小笠原一夫：末期患者の痛み。看護技術 34：33-36, 1988

—1994年8月22日 受—

ABSTRACT

The Bitter Experiences in Pain Clinic for 20 years

Makoto Yamamuro

Department of Anesthesia, Miyagi Cancer Center, Miyagi, Japan

The writing is a part of special lecture in the 3rd Pain Conference of Chugoku, Sikoku.

Several cases or experiences was reported.

They were fatal accidents or instructive experiences in treatment of my Pain Clinic for 20 years.

Malignant Triton Tumor の1例

*¹宮城県立がんセンター頭頸科

*²宮城県立がんセンター病理

*³宮城県立がんセンター脳外科

西 條 茂*¹ 横 山 純 吉*¹ 立 野 紘 雄*²
片 倉 隆 一*³

論文要旨

鼻腔に原発した極めて稀な Malignant Triton Tumor (M. T. T と略) の1例を報告した。症例は鼻出血、鼻閉を主訴とした74歳女性で、鼻腔腫瘍摘出術を受け、その病理組織学的検索により M. T. T と確診された。その組織学的所見は、Malignant schwannoma を基盤として一部に横紋筋芽細胞が確認され、Masson が1932年に提唱した M. T. T に一致するものであった。この症例は局所再発を2回繰り返し、今回は、鼻腔より前頭蓋窩へ進展するものであったが、脳外科と協同で腫瘍を摘出できた。M. T. T は、一般に悪性度が高く予後不良であるが、この例では組織学的に低悪性度であり、今までの鼻・副鼻腔領域の M. T. T 報告例と同様の所見であった。

Key words: 副・鼻腔領域 (Malignant Triton Tumor Sino-Nasal area), 悪性神経鞘腫 (Malignant Schwannoma), 横紋筋 (Striated Muscle)

はじめに

Malignant Triton Tumor (以下 M. T. T と略) とは、軟部腫瘍の一種であり、組織学的には malignant schwannoma with rhabdomyoblastic differentiation と定義されている。この M. T. T の名称は、1932年 Masson¹⁾ が最初に記載したものであり、Locatelli²⁾ の “Triton” salamander (genus triturus) イモリにおける神経移植実験からこの名称を引用している。この実験とは、イモリの背部へ座骨神経を移植すると、神経および筋肉への分化と発育を誘導することができることを報告したものである。

さてこの腫瘍の頭頸部領域における報告例は極めて稀で、1990年 Bhatt³⁾ らによれば、頭頸部領域での報告例は10例のうち2例の鼻・副鼻腔原発を報告しているにすぎない。

今回、鼻出血を主訴とした74歳の女性で、鼻腔に腫瘍があり、その生検にて当初、線維肉腫と診断されたが、手術摘出標本にて M. T. T と病理組織学的に確診を得た症例を経験したので、報告する。

症 例

K. K 74歳 女性

主訴：左鼻出血と鼻閉

別刷請求先：

〒981-12 宮城県名取市愛島塩手宇野田山47の1

宮城県立がんセンター頭頸科

西 條 茂

既往歴：幼小児期に外傷により、健側である

右眼失明

現病歴：1990年6月、左鼻出血と鼻閉あり。鼻腔腫瘍を指摘され某病院へ紹介された。CT にて左鼻腔側壁に骨欠損が認められて悪性腫瘍が疑われたため鼻腔より生検。線維肉腫の診断を受け、手術のため某病院へ転院。画像診断にて左鼻腔から篩骨洞におよぶ腫瘍があり、1990年7月に左デンケル氏手術に準じて腫瘍摘出。

この手術摘出標本にて M. T. T を示唆された。その後、経過良好であったが、1992年2月に篩骨洞天蓋に再発し、1992年3月11日に再発腫瘍摘出。

1993年12月になり、脳梗塞による歩行障害が出現。このときの CT にて鼻腔より前頭蓋窩へ進展する腫瘍がみつけれ、治療目的のため当科へ紹介となる。

所 見

左鼻腔内には、前頭蓋窩より突出するように、ほぼ球形、やや赤味を帯びた表面平滑な弾性硬の腫瘍あり(写真1)。

易出血性はない。左眼球運動は正常で視野欠損なし。

MRI 所見

鼻腔から左前頭蓋底内側部および頭蓋内に連続して進展する腫瘍が認められ、腫瘍はやや不整な類円形を呈している。この腫瘍の背側部には大きな嚢胞が認められる。内部は均一。

腫瘍は Gd にて enhance 効果著明でありその T1 強調画像を示す(写真2)。

なお1990年7月の初回治療時における CT 所見では



写真 1



写真 4



写真 2

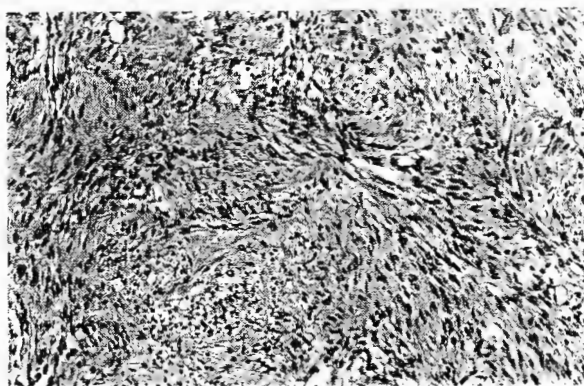


写真 5



写真 3



写真 6

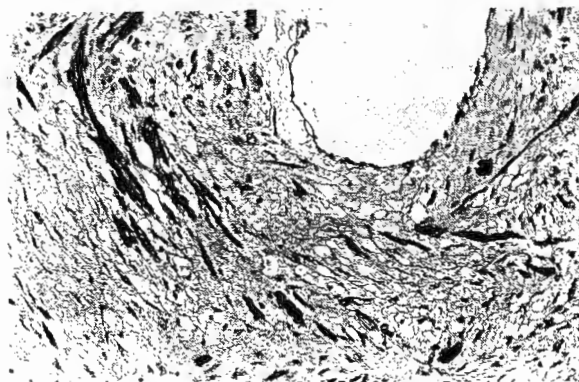


写真 7

左鼻腔より篩骨洞に及ぶ腫瘍陰影が認められ、一部上顎洞内側壁に骨破壊が認められる（写真3）。

眼窩内側壁の骨破壊は軽度である。

経 過

1994年1月に全身麻酔下に脳外科と協同で手術施行。手術はまず脳外科により Bifrontal osteoplastic craniotomy を施行した。前頭洞には腫瘍による閉塞

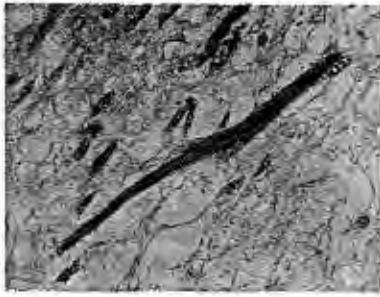


写真 8

のため膿汁が貯留、また洞内への腫瘍浸潤もみられた。前頭部の脳硬膜は非常に薄く腫瘍の一部が癒着していたため、その周辺にて脳硬膜を切開。腫瘍は鼻腔より前頭蓋窩を破り、前頭葉へもぐり込んでいた。この腫瘍は被包を有しており、前頭葉に一部切開をおいて摘出した。背側の嚢胞も開放、ついで鼻腔側の腫瘍へ剥離をすすめ、腫瘍が貫通している前頭蓋底の骨欠損部を拡大し、腫瘍を摘出した(写真4)。ここで、顔面に皮切をおき、鼻腔側より残存腫瘍を切除し前頭蓋底を大きく開放した。この骨欠損部を自家骨により充填。人工硬膜を欠損した脳硬膜部位にあて、縫合。その外側には、galea flap を挿入し、フィブリンのりで補填した。術後の経過は良好で術後4日目より経口摂取開始。腫瘍による脳圧亢進症状の寛解がみられた。

病理組織学的所見

写真5は、鼻腔内より摘出した標本のH-E染色像。紡錘形細胞が束状に配列、錯走し、その中にはねじれ、波状を呈する細長核もみられ、Schwann細胞由来を考えさせる。collagen線維の介在も多い。写真6は、横紋筋芽細胞への分化を呈していた領域を含む、Elastica-Masson染色の低倍像である。写真の左下方に横紋筋芽細胞の小集簇巣を認める。右上には腫瘍に接していた非腫瘍性の上皮細胞(円柱絨毛上皮)に被われた嚢胞壁の一部がみられる。

写真7は、写真5での横紋筋芽細胞群の一部の拡大像で、筋線維束を多量に含む腫瘍細胞の胞体は実際のEM染色上では赤色に強染しており、rhabdomyoblastic differentiationを示していない腫瘍細胞と容易に対比される。写真8は、横紋筋芽細胞小集簇巣部位のPTAH(phosphotungstic acid hematoxyline)染色像で、実にきれいな横紋がその細胞群の中には認められ、正常の横紋筋(細胞)と区別が困難な程に分化していた。

なお免疫染色にて横紋筋芽細胞はmyoglobin陽性、desmin陽性。神経原性肉腫部はvimentin陽性であった。

以上の病理所見より、紡錘形の腫瘍細胞が波状の束状

配列と渦巻き状の配列をなし、fineなfilamentの産生と合わせ末梢神経由来の腫瘍を示唆。細胞の異形性は軽く、mitosisも極く僅かしかなく、cellularityが少し高いこと以外には悪性とは考え難い像を呈しており、臨床所見と一致するようなlow grade malignancyを考えさせる腫瘍である。

この腫瘍内に小さなfocusであるが、腫瘍細胞の胞体が好酸性で、myofibrilの性状を呈し横紋が認められrhabdomyoblastic differentiationを来していることが特徴としてあげられる。

本腫瘍は、low grade malignancyではあるが、Massonの提唱したM. T. Tに一致する。

なお、腫瘍の背側に存在した嚢胞壁は、絨毛上皮が認められ、鼻腔または副鼻腔の上皮と推察され、本腫瘍の増大とともに頭蓋内へ取り込まれたものと考えられた。

考 察

広義においてTriton Tumorとは、神経と横紋筋の両者を有する新生物を含んでおり⁴⁾、例えば、Neuromuscular hamartoma (Benign triton tumor)⁵⁾や、神経原性の腫瘍に横紋筋肉腫、メラノサイトなどを含んだectomesenchymoma⁶⁾もTriton Tumorの範疇に含まれる。

この腫瘍の成因に関してMassonは二つの仮説を呈示している。一つ目の説は、Locatteliの実験に基づいていて、神経腫におけるSchwann cellが、運動神経の影響下に横紋筋組織へと分化誘導されるという考えである。二つ目の説は、Schwann cellそのものが、横紋筋へと分化できるという考えである。現在では後者の仮説が有力と考えられている。その理由として、眼球における虹彩筋の発育や髄芽上皮腫における横紋筋肉腫の存在の報告例などが、後者の仮説を支持している。

さて、このM. T. Tは極めて稀な腫瘍であるが、1985年Brooksら⁸⁾は、それまでの報告例27例と自験例9例を合わせた36例につきレックリングハウゼン病との関連を述べている。その報告によれば、70%の症例はレックリングハウゼン病との合併例であり、若年男性で、頭頸部に多く発症するとしている。他の30%は、レックリングハウゼン病との合併はなく高齢、女性に多く、発症部位も体幹が多いと報告している。今回、われわれの報告例は、レックリングハウゼン病の合併のない症例であったが、今までに鼻・副鼻腔領域のM. T. Tを報告した、Shajrawi⁹⁾、Bhattら³⁾の計2例もレックリングハウゼン病のない症例であった。

このM. T. Tは神経原性の腫瘍であるが、今回のわれわれの症例では、その発生したと思われる神経は特定できなかった。鼻・副鼻腔領域における神経鞘腫は、

この領域における腫瘍の3%以下であり、しかもその大半が、良性の腫瘍である。したがって悪性神経鞘腫も少なく Robitaille¹⁰⁾ の報告にあるように、鼻腔においては、局所に分布する小さな神経の割に鼻腔が広く、原発した神経を固定するのは困難なためかもしれない。

診断は、病理組織的所見が最も重要であり、通常のH-E染色にて Malignant schwannoma の存在。そして横紋筋(芽)細胞への分化を確認することである。特に横紋筋(芽)細胞の存在をみるには、PTAH 染色や、免疫組織学的検索が重要であり^{8,11)} ミオグロビン染色などによる確認が大切である。

予後に関しては、Woodruffら¹²⁾ は、M. T. T は非常に悪性度が高く、局所再発は43%、遠隔転移は48%にみられたと報告している。しかし Guccion¹³⁾ らは M. T. T の予後は Malignant schwannoma と大差なしとしている。

レックリングハウゼン病の有無も、M. T. T の予後には関与しない¹⁴⁾。

結局 M. T. T の予後と左右するのは、M. T. T の組織における rhabdomyoblastic elements により決まるのかもしれない¹²⁾。

鼻・副鼻腔領域に限れば、Shajrawi⁹⁾、Bhattら³⁾ の報告例は2例とも low grade malignancy である。今回のわれわれの報告例も、局所再発は繰り返すものの、遠隔転移はいまのところなく、組織学的に、mitosis も少なく、ごく一部に横紋筋への分化がみられるのみである。予後を決める因子は、組織所見によるのかもしれない。

治療に関しては、大きく切除することがすすめられている^{8,14)}。今回の報告例では、健側の右眼が失明していることもあり、最初の手術において、多少縮小手術になったかもしれない、局所再発を繰り返したのであろう。

放射線治療に対する反応は、明らかではないが、神経原性であれば、あまり効果は期待できない。一時的に縮小したという報告¹⁴⁾もあるが、Sordilloら¹⁶⁾ の報告のように、Malignant schwannoma への放射線治療における有効率14%近くが、M. T. T における放射線治療の有効率と思われる。したがって、放射線は M. T. T に対しては、限られた症例に施行されるべきであろう。

化学療法に関しては、Buck¹⁴⁾、Raneyら¹⁶⁾ は VCR, Act-D, CPA にて一時的な腫瘍の縮小を報告している。

いずれにしろ、治療は、軟部組織の肉腫に準ずるのがよいようである。

文 献

1) Masson P. : Recklinghausen's Neurofibromatosis. Sensory Neuromas and Motor Neuromas. Libman

Anniversary Vol. 2 New York. International Press 798-802, 1932.

- 2) Locatelli P. : Formation de Membres Surnuméraires. C. R. Assoc des Anatomistes. 20e Reunion Turin 279-282, 1925. 1)より引用
- 3) Bhatt S. Graeme-Cook F. et al : Malignant triton tumor of the head and neck. Otolaryngol Head neck Surg 105 : 73-742, 1991.
- 4) Enzinger FM. Weiss SW. : Malignant schwannoma with rhabdomyoblastic differentiations (malignant triton tumor), Soft tissue tumors. C. V. Louis 1988, 795-796.
- 5) Markel S. Enzinger F. : Neuromuscular hamartoma : A benign "Triton tumor" composed of mature neural and striated muscle elements, Cancer 49 : 140-144, 1982.
- 6) Karcioğlu Z. Someren A. et al : Ectomesenchymoma ; A malignant tumor of migratory neural crest (ectomesenchyme) remnants showing ganglionic, schwannian, melanocytic and rhabdomyoblastic differentiation. Cancer 39 : 2486-2496, 1979.
- 7) Zimmerman LE. Font RL. et al : Rhabdomyosarcomatous differentiation in malignant intraocular medulloepitheliomas. Cancer 49 : 140-144, 1982.
- 8) Brooks J S. Freeman M. et al : Malignant "Triton" Tumors : Natural history and immunohistochemistry of nine new cases with literature review Cancer 55 : 2543-2549, 1985.
- 9) Shajrawi I. Podoshin L. et al : Malignant Triton Tumor of the nose and paranasal sinuses : a case study. Hum Pathol 20 : 811-814, 1989.
- 10) Robitaille Y. Seemayer TA. et al : Peripheral nerve tumors involving paranasal sinuses ; A case report and review of the literature. Cancer 35 : 1254-1258, 1975.
- 11) Taxy JB. Battifora H. et al : Electron microscopy in the diagnosis of malignant schwannoma. Cancer 48 : 1381-1391, 1981.
- 12) Woodruff JM. Chernik NL. et al : Peripheral nerve tumors with rhabdomyosarcomatous differentiation (malignant "Triton" tumors) Cancer 32 : 426-439, 1973.
- 13) Guccion J. Enzinger F. : Malignant schwannoma associated with Von Recklinghausen's neurofibromatosis. Virchows Arch [A] 383 : 43-57, 1979.
- 14) Buck BE. Mahboubis. et al : Congenital neurogenous sarcoma with rhabdomyosarcomatous differentiation. J Pediatr Surg 12 : 581-582, 1979.
- 15) Dewit L. Albus-Lutter CE. et al : Malignant schwannoma with a rhabdomyoblastic Component, a so-called triton tumor, a clinicopathologic study Cancer 58 : 1350-1356, 1980.
- 16) Sordillo PP. Helson L. et al : Malignant Schwannoma. Clinical characteristics, survival and response to therapy. Cancer 47 : 2503-2509, 1981.
- 17) Raney RB. Jr. : Malignant Schwannoma of "Triton" type. Med Pediatr Oncol 5 : 99-103, 1978.

MALIGNANT TRITON TUMOR

— A CASE REPORT —

Shigeru SAIJO*¹, Junkichi YOKOYAMA*¹, Hiroo TATENO*²
and Ryuichi KATAKURA*³

Miyagi Cancer Center, *¹Division of Head and Neck Surgery,
*²Pathology and *³Neurosurgery

A case of malignant triton tumor originated in the nasal cavity is described.

The case of 74 year old female is presented to us with a mass in the nasal cavity extended into anterior cranial fossa. This tumor was resected and the histological examination of this tumor revealed the malignant schwannoma with rhabdomyoblastic differentiation.

Since 1932, this type of tumor have been termed malignant triton tumor by Masson.

Although malignant triton tumor is a rare, usually aggressive sarcoma, the tumor in this case have behaved as a slow growing, locally aggressive, low grade malignancy schwannoma for 4 years.

To the best of our knowledge, only two cases of malignant triton tumor located in the sinonasal area are reported. Both of the cases shows low grade malignancy and this finding is corresponds with our third case.

子宮頸部腺癌

宮城県立がんセンター婦人科 田 勢 亨



はじめに

近年、子宮頸癌は世界的に減少傾向にあるが、子宮頸部腺癌に関しては1970年代から特に若い女性に増加傾向がみられ、社会的関心を集めている。子宮頸部腺癌は前癌病変が明らかではなく、さらに細胞異型に乏しいため、細胞診による早期発見が困難である。また、子宮頸部腺癌は、子宮頸部扁平上皮癌に比べると、容易にリンパ節転移を起こしやすく放射線感受性が低いため、難治性であり予後が不良で臨床的にも問題となっている。子宮頸部腺癌は、疫学上、扁平上皮癌と組織発生が異なるとされてきた。しかし、子宮頸部腺癌にもヒトパピローマウイルス Human papillomavirus、HPVが高率に同定され、その癌化過程におけるHPVの関与が明らかとなりつつある。ここでは、子宮頸部腺癌の臨床について述べてみたい。

病因因子

子宮頸部腺癌の危険因子は、子宮頸部扁平上皮癌よりは子宮内膜癌の危険因子により近いとされてきた。米国では、1970年代より35才以下の若い女性に子宮頸部腺癌が増えてきている。その理由として経口避妊薬の使用や性感染症の増加が考えられた。現在、エストロゲンについては、癌化過程における作用は直接的なものではなく補助因子としての作用が推測されている。ヘルペスウイルス2型は、子宮頸部腺癌の病因因子として疑われたが、その働きは明らかではない。HPVは、子宮頸部扁平上皮癌およびその前癌病変である異形成の核内に高率に認められ、癌化物質としての働きが注目されている。HPVは子宮頸部腺癌にも高率に認められ、扁平上皮癌の場合と同様にその癌化への関与が強く疑われている^{1, 2, 3, 4}。HPVは現在70種以上が報告されているが、扁平上皮癌にはHPV16型が、腺癌にはHPV18型が多くみられる(図1、2)。

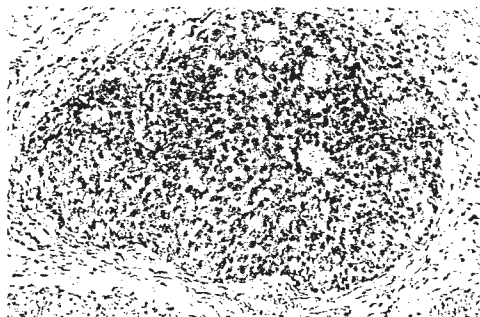


図1、子宮頸部扁平上皮癌におけるHPV16 DNAの同定

In situ hybridization により、HPV16 DNAが銀粒子として扁平上皮癌の核上にのみ認められる。



図2、子宮頸部腺癌におけるHPV16 DNAの同定

In situ hybridization により、HPV18 DNAが銀粒子として腺癌の核上にのみ認められる。

診 断

子宮頸部腺癌の初期病変では、症状がないために診断が遅れやすい。病変が進行すると患者の70-80%に不正性器出血がみられるようになる。子宮頸部細胞診はスクリーニングに有用であるが、扁平上皮系病変と比べると腺系病変は細胞異型に乏しくて見逃され易く、最高40%以上の偽陰性率が報告されている。偽陰性と偽陽性の原因のほとんどは、細胞の採取法の誤り(sampling error)と診断法の誤り(screening error)である。頸管内細胞診を付け加えることによって、偽陰性率を下げることができる。細胞診で子宮頸部腺癌と診断された場合、頸管内搔爬や組織診で癌の診断が困難なことがしばしばある。子宮頸部腺癌の大部分は、頸管高位や裂溝の頸管腺深部に病巣があるために、コルポスコピーでは病巣の診断が付きにくいのも一因である。そのため子宮頸部腺癌が疑われて病変が見つからない場合には、子宮頸部円錐切除診が必要となることもある。

前癌病変

子宮頸部腺癌の前癌病変については、現在ほとんどにもわかっていない。子宮頸部腺癌の関連病変として腺異形成があり、「細胞異型と構造異型は上皮内腺癌に類似するがその程度はより少ない」と定義されている。腺異形成は報告者によって2また3段階に分けられているが、組織学的診断基準は統一されておらず、また、腺異形成から上皮内腺癌または浸潤腺癌へ進行したという明らかな証拠はない。さらに、隣接する腺

癌にみられるHPVが腺異形成では見られないということ、腺癌への進行は腺異形成を経て起こるものではないということの根拠にするものもある’。

上皮内腺癌

上皮内腺癌は、1894年に Hauser によってその概念が提示され、1953年に Friedell & McKay によって最初に報告された。その後の報告により、上皮内腺癌から浸潤腺癌への進行や上皮内腺癌と浸潤腺癌との細胞診上の類似性については、広く受け入れられたものとなっている。大部分の上皮内腺癌は、細胞診の異常によって診断される。即ち、背景はきれいで異型腺細胞に柵状配列・ロゼット形成などの立体構造がみられ、核は同等に腫大し細胞質縁での突出がみられる。核の過染性は中等度であり、細網状～細顆粒状のクロマチンが均等に分布する⁵。組織診では、腺癌としての形態学的特徴をもつ細胞が被覆上皮及び頸管腺の構造を保ったまま、それらの上皮を置換しながら増殖するが、間質浸潤はみられない。上皮内腺癌の50%以上に扁平上皮異形成または癌の共存がみられる。また、浸潤腺癌の約半数に扁平上皮癌の共存が見られる。これらのことは、腺系および扁平上皮系病変は共通の病因因子をもち、さらに同一細胞から発生することも考えられるという理論を支持している。

微小浸潤腺癌

子宮頸部扁平上皮癌と同様に、子宮頸部上皮内腺癌は微小浸潤腺癌を経て明瞭な浸潤腺癌へ進行することが考えられる。しかし、微小浸潤腺癌の国際的統一診断基準はなく、報告者によって異なる。そのため、現時点では上皮内腺癌と早期浸潤腺癌を診断名として用い、微小浸潤腺癌という診断を行うべきではないと主張するものもある。わが国では、微小浸潤腺癌は「既存頸管腺領域内に限局する腺癌で、上皮内腺癌の一部に芽出 budding をみとめ、その輪郭が滑らかなもの」と規定され、Ia 期に分類されている。芽出の輪郭が乱れ平滑さを欠く場合や明らかな間質浸潤のある場合、脈管侵襲の認められる場合は明瞭な浸潤腺癌とみなし、Ib 期に分類される。著しい外向性増殖を示す乳頭状腺癌や頸管腺領域を超えた悪性腺腫 adenoma malignum もIb 期とされる。Ia 期かIb 期かの判定が困難な例はIb 期に分類される。

浸潤腺癌およびその亜型

子宮頸部腺癌は、組織学的に内頸部型腺癌、類内膜腺癌、明細胞腺癌、腺様嚢胞癌に分類される。内頸部型腺癌は最も高頻度にみられ、腺構造および細胞の分化程度により高分化型、中分化型、低分化型に分類される。内

頸部型腺癌の亜型である粘液性腺癌と漿液性腺癌は予後不良なため分けて考えられ、また分化度分類も行わない。

子宮頸部腺癌と子宮内膜癌の鑑別

子宮頸部腺癌と子宮内膜癌は治療方法および予後が異なるので、その鑑別は重要である。一般には、腫瘍が子宮頸部または体部のどちらに多くみられるかによって診断されるが、等しい場合には腺異形成または上皮内腺癌がみられる場合に子宮頸部原発とする。粘液染色では、子宮頸部腺癌は腸上皮粘液染色陽性であり、子宮内膜癌は胃上皮粘液染色陽性で腸上皮粘液染色陰性である。CEA染色が両者の鑑別に有用との報告があるが、モノクローナル抗体を用いたCEA染色では両者に差異を認めていない。

治療および予後

上皮内腺癌に推奨されている治療は、子宮摘出である。妊孕性温存の必要がある場合には、円錐切除をおこない摘出標本の辺縁に病変がなく採り切れていることの確認が必要である。さらに頸管内搔爬をして残存病巣のないことも確認しておく。Ib 期以上の浸潤腺癌では、広汎子宮全摘術および骨盤リンパ節郭清がおこなわれる。より進行した腺癌では化学療法施行後、手術または放射線治療がおこなわれる。子宮頸部腺癌の予後は臨床進行期と相関し、5 年生存率はIb 期76.8%、II 期55.0%、III 期23.2%、IV 期9.5%となっている(表1)。組織型、組織分化度、浸潤深度、リンパ浸潤などの組織学的因子も予後に関与するとされる。子宮頸部腺癌I 期では扁平上皮癌との間に有意差はないものの、II 期以上ではリンパ節転移の頻度が扁平上皮癌に比べて有意に高く、従って腺癌の方が予後不良となっている。子宮頸部腺癌の放射線感受性が扁平上皮癌に比べると低いことも、腺癌の予後が扁平上皮癌に比べて悪い一因となっている。最近、低線量率線源による腔内照射により扁平上皮癌と同等の治療成績が得られたという報告がみられる。

表 1、子宮頸癌の臨床進行期別および組織型別 5 年生存率(婦人科腫瘍委員会第32回治療年報:1994)

臨床進行期	組織型	5 年生存率
I b	扁平上皮癌	79.9%
	腺癌	76.8%
II	扁平上皮癌	66.6%
	腺癌	55.0%
III	扁平上皮癌	41.8%
	腺癌	23.2%
IV	扁平上皮癌	13.4%
	腺癌	9.5%

ま と め

子宮頸部腺癌は、35才以下の若い女性に増加傾向がみられ、その組織発生にはHPVが関与している。初期子宮頸部腺癌は症状がないため、その早期発見には細胞診や組織診に対する理解が大切である。微小浸潤腺癌は、概念的には理解できるもののその定義については問題が多い。子宮頸部腺癌の予後は、臨床進行期と最も良く相関するが、子宮頸部腺癌は扁平上皮癌に比べてリンパ節転移を起こしやすく、放射線抵抗性を示すものも多く予後不良となっている。予後の改善には、手術療法とともに放射線療法や化学療法などを駆使した集学的治療が必要である。

文 献

1. Tase T., et al. Human Papillomavirus Types and Localization in Adenocarcinoma and Adenosquamous Carcinoma of the Uterine Cervix: A Study by In Situ DNA Hybridization. Cancer Res., 48:993-998, 1988.
2. Tase T., et al. Prevalence of Human Papillomavirus Type 18 DNA in Adenocarcinoma and Adenosquamous Carcinoma of the Uterine Cervix Occuring in Japan. Tohoku J. exp. Med. 156:47-53, 1988.
3. Tase T., et al. Human Papillomavirus DNA in Adenocarcinoma In Situ, Microinvasive Adenocarcinoma of the Uterine Cervix, and Coexisting Cervical Squamous Intraepithelial Neoplasia. Int. J. Gynecol. Pathol., 8:8-17, 1989.
4. Tase T., et al. Human Papillomavirus DNA in Glandular Dysplasia and Microglandular Hyperplasia: Presumed Precursors of Adenocarcinoma of the Uterine Cervix. Obstet. Gynecol., 73:1005-1008, 1989.
5. 田勢 亨、他：初期子宮頸部腺癌の細胞像、日臨細胞誌、32:914-920, 1993.



尿 路 結 石 症 の 病 態

宮城県立がんセンター 部長 桑 原 正 明

はじめに 尿路結石症は人類の疾患の中でその存在が確認された最古の疾患として知られている。これは 7000 年前のエジプトのミイラの骨盤内に結石が発見されたことによるが、この結石は膀胱結石であったと考えられる¹⁾。膀胱結石は近代医学が発展するまで尿路結石症とほとんど同義であり、中世においては“旅する結石摘出者 (traveling lithotomist)”の活躍するところとなった。このような結石摘出術は近代外科の先駆けともなったが、それはまた長い間、“切って取る”手術の代名詞でもあった。1980 年に出現した衝撃波体外結石破碎法 (ESWL)²⁾はそれまでの外科的な結石摘出術を過去のものとし、結石症の医療における意義も大きな変化を遂げた。ここではこうした結石療法の変化を踏まえて、今日的な結石症の病態を中心に述べてみたい。

I. 症 状

結石症の三主徴として古くから、疼痛、血尿、結石排出、が知られている。しかし、現在では、疼痛や血尿の自覚症状で来院する患者に加え、健康診断や検診で血尿を指摘されたり、他臓器の検査で偶然に結石が発見されて泌尿器科を受診する患者が増加している。この背景には画像診断として超音波や CT 検査が積極的に施行されるようになったことがあげられる。その結果、これまでのレントゲン検査では診断困難であった小結石やレントゲン陰性結石なども容易に見できるようになり、体内の結石種類も判定できるようになってきた³⁾。こうしたことから結石症の症状も以前と比べ様相が異なってきている。

著者が最近調査した結石症患者の主訴と結石部位を表 1 に示す。主訴では疼痛が 47 例、47% と多いが肉眼的血尿は 16% にすぎず、検診で血

表 1. 尿路結石症の主訴と結石部位

患者数	100	(男: 63 名 女: 37 名)
平均年齢	46 歳	(男 45.4 歳, 女 46.8 歳)
主訴	肉眼的血尿	16 例
	疼痛	47
	検診で血尿指摘	11
	他科検査で発見	22
	発熱	1
	その他	3
結石部位	腎	59 例
	尿管	39
	膀胱	1
	尿道	1

尿を指摘されて受診した患者は 11%, 他科検査で結石を指摘されて受診した患者は 22% で、双方を併せると 33% と、およそ 1/3 の患者は自覚症状がなく、いわば偶然に結石が発見されたことになる。

疼痛は急速な尿閉塞より腎盂、腎杯が拡張し、腎被膜緊張することにより発生するとされてい

表 2. 結石による水腎の程度 (IVP) と血尿程度 (尿沈渣) との関係

水腎の程度	症例数	血尿程度		
		高度 (RBC>30/hpf)	軽度 (3-30/hpf)	なし
非描出腎	12	0 (0%)	6 (50%)	6 (50%)
高度水腎	12	7 (58)	2 (17)	3 (25)
中程度水腎	20	9 (45)	6 (30)	5 (25)
軽度水腎	22	14 (64)	5 (23)	3 (13)
水腎なし	34	13 (38)	10 (29)	11 (33)
計	100	43 (43)	29 (29)	28 (28)

る。したがって、慢性的な不完全閉塞では疼痛がないことが多く、この場合、自覚症状がないままに腎不全となることがあるので注意する必要がある。

血尿は結石や腎疾患に加えて尿路悪性疾患の初期症候であり、泌尿器科的な症状としての意義は大きい。先の調査で初診時の血尿を尿沈渣 (顕微鏡的血尿) からみると血尿陽性は 72% で、血尿なしは 28% であった。ここではむしろ、結石患者の約 1/3 は血尿なしであったことに注意する必要がある。

結石症における血尿の発生機序は結石による尿路上皮の機械的な損傷あるいは尿の鬱滞による水腎の発生に関連する。表 2 に静脈性 (排泄性) 腎盂造影 (IVP) 上の水腎程度と血尿との関連を示す。水腎の程度と血尿の程度はおおよそ相関する結果であったが、もっとも血尿をきたし易いのは軽度水腎で、少ないのは非描出腎 (non-visualizing kidney) であった。非描出腎が尿の完全通過障害に起因することを考えれば、血尿の少ないことも納得できる結果である。腎機能の観点から見ると逆に、血尿がない場合の方が注意を要することになる。

II. 発症の原因と病態

尿路結石を成分別にみると碳酸カルシウム、磷酸カルシウム、磷酸マグネシウム-アンモニウム、尿酸、シスチンの 5 種類に大別される。結石は単一成分、あるいは、これらの混合成分から成るが、いずれの結石であっても、結石形成の第一段階は尿に溶解している物質が過飽和状

態を経て析出することである。この過程は溶液中の物理化学現象として理解することができるが、実際の尿は他種類の有機物を含有する複雑な混合溶液であり、結石となるには、さらに析出物が凝集、成長しなければならない。

結石発生についてはこれまで様々な発生機序が提唱されてきたが、現在は、1) 過飽和-結晶化説、2) マトリックス説、3) 結晶化阻止物質説、4) エピタキシー説、が有力である⁴⁾。

これらを簡単に要約すれば、1) は溶質の過飽和-析出を重視した説であり、シスチンや尿酸結石の発生機序として理解し易い。2) は結石に含まれる蛋白質様物質 (結石乾燥重量の約 3% を占める尿ムコ蛋白が主成分) が結石生成の主要因子であるとするもの、3) は、尿中で溶質が過飽和の状態にあっても容易に析出に至らない理由として、これを尿中のインヒビター (無機物質あるいは糖蛋白、低分子ペプチドなど) に求め、これらのインヒビターが欠如した場合に結石が発生するとした。4) は、尿中に最初に形成される結晶の表面構造に特異的な結晶構造を有する物質が次々と結晶化することによって結石が生成されるとした説である。尿酸結晶を核とするカルシウム結石の発生がその例としてあげられている。2), 3), 4) は主にカルシウム含有結石の発生機序を説明したものであるが、これらの説は独立の完結した理論というよりも、それぞれの理論の不備を補いあった理論と考え方が理解しやすい。

III. 結石の合併症

結石症はいわゆる良性疾患であり、それ事態は生命に関わるような疾患ではない。臨床的にはむしろその合併症が問題となる。

1. 尿路通過障害

尿路通過障害が発生すると腎ろ過率 (GFR) の減少および腎血漿流量 (RPF) の減少が起こる。閉塞が短期間 (2~3 週以内) に解除されれば可逆的に回復するが、閉塞が遷延すると腎実質の線維化が起こり、腎機能は不可逆的に低下する。こうした尿路通過障害による一連の変化は結石以外によっても同様である。結石による尿路閉塞は通常は片側であるので対側腎が正常であれば総腎機能としては問題はないが、腎が一個の場合や両側性結石の場合には尿毒症の発生に注意しなければならない。

2. 腎盂腎炎

尿は細菌にとっては一種の培地であり、尿が流れている状態は感染尿がドレナージされていると考えてよい。しかし、尿路閉塞では尿路感染症は重篤化し、膿腎から菌血症、さらに敗血症となる危険性が高い。尿路感染症では起病菌の 90% はグラム陰性桿菌であり、エンドトキシンショックが誘発されることが少なくない。その死亡率は現在でも 30% 内外であり、膿腎の状態になれば、なんらかの手段で早急に腎盂尿をドレナージすることが必要である。

3. 尿路上皮癌

腎結石に腎盂癌 (扁平上皮癌) の合併が多いことは昔から知られている⁵⁾。これは結石による慢性的な刺激によると考えられ、膀胱結石では膀胱癌が発生することがある。尿路上皮癌の発見には尿細胞診が有力であるが、結石症ではしばしば偽陽性を呈することが知られている。最近、中津らの尿路結石症患者 1032 名の尿細胞

診結果⁶⁾では細胞診陽性例は 0.5% で、このうち 1 例が腎盂癌であり偽陽性の 1 例、陰性の 2 例に腎盂癌を合併していた。これらはすべて珊瑚状結石による水腎合併例であり、水腎を伴う結石例における細胞診の重要性を指摘している。血尿があれば結石が明らかな場合でも尿細胞診が必要な由縁である。

おわりに

尿路結石症は切らずに治せる疾患となったが、現在でも再発性結石に苦しむ患者は少なくない。結石症の真の意味での克服には発生予防が必要であるが、その前提となる発生機序の明快な解明が待たれる。

文 献

- 1) Riches, E.: The history of lithotomy and lithotripsy. Ann. R. Coll. Surg. Engl., 43: 185, 1968
- 2) Chaussy, Ch., Brendel, W. and Schmiedt, E.: Extracorporeally induced destruction of kidney stones by shock waves. Lancet, 2, 1265, 1980
- 3) Kuwahara, M. et al.: Computed tomography and composition of renal calculi. Urol. Res., 12: 111, 1984
- 4) Drach, W. G.: Urinary lithiasis: Etiology, diagnosis, and medical management. In Campbell's Urology, 6th Ed., vol. 3, pp. 2093, Edits., Walsh, P. C., Retik, A. B., Stamey, T. A. and Vaughan, E. D., W. B. Saunders Comp., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1992
- 5) Gahagan, H. O. and Reed, W. K.: Squamous cell carcinoma of the renal pelvis; Review of the literature. J. Urol., 62: 139, 1949
- 6) 中津裕臣, ほか.: 尿路結石における尿細胞診. 日泌尿会誌, 82: 1281, 1991

VX2 移植膀胱癌への水中衝撃波の影響

—透過型電子顕微鏡による観察—

東北大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 折笠精一教授)

斎藤 敏典* 折笠 精一 星 宣次 鈴木 謙一
庵谷 尚正 田口 勝行 白井 修一 稲葉 康雄

宮城県立がんセンター (部長: 桑原正明)

桑 原 正 明

ULTRASTRUCTURAL CONSEQUENCE OF SHOCK WAVE EXPOSURE ON VX2 CANCER IMPLANTED TO THE URINARY BLADDER

Toshinori Saitoh, Seiichi Orikasa, Senji Hoshi, Kenichi Suzuki, Naomasa Ioritani,
Katsuyuki Taguchi, Shuuichi Shirai and Yasuo Inaba

Department of Urology, Tohoku University School of Medicine

(Director: Prof. S. Orikasa)

Masa-aki Kuwahara

Miyagi Cancer Center

(Director: Masa-aki Kuwahara)

In order to clarify the ultrastructural consequence of the VX2 cancer cell exposed to underwater shock waves. The VX2 cancer implanted to the urinary bladder of rabbit was received the shock waves (1000 shots, 100 MPa, 5/sec.) generated by the piezo-ceramics. Damage to the cancer cell were manifested by the three kind of findings: the one was the cell junction failure which caused the isolated cells; the second was the destruction of organelle which seemed to form the vacuole in cytoplasm; and the last finding was the emergence of moth eaten appearance in the exposed cell. We conclude that underwater shock wave exposure induces lethal injury in VX2 implanted cancer.

Key words: underwater shock wave, neoplasms, ultrastructure

要旨: VX2癌細胞の水中衝撃波による影響を細胞レベルで明らかにするために, VX2癌細胞を家兎の膀胱に移植し, ピエゾ素子より発生させた衝撃波を照射した(1,000shots, 100MPa, 5/sec). 照射後の細胞では大きく3つの変化が観察された. 1つは孤立細胞を惹起した細胞間接合の破綻であり, 2つめには破壊された細胞内小器官が形成したと思われる空胞が観察されたことであった. 3つめには虫喰い像を伴った被照射細胞も観察された. これらの結果より, VX2移植膀胱癌細胞においては, 水中衝撃波照射は致命的な損傷を惹起するものと考えられた.

キーワード: 水中衝撃波, 新生物, 超微細構造

緒 言

我々は従来より, 水中衝撃波照射による腎組織への影響を報告してきた^{1)~3)}. また, 当教室の星らは VX2

移植膀胱癌を用いて, 水中衝撃波による殺細胞効果について報告してきた⁴⁾⁵⁾. これらの検討より衝撃波照射による癌治療は, 現在行われている治療と比較して less invasive surgery と位置付け得る, 新しい治療法として期待できるものと思われた. 今回, 星らと同じ移植膀胱癌モデルにおける水中衝撃波の影響を, 透過

*現 クリニック斎藤泌尿器科(〒983 仙台市宮城野区鶴ヶ谷2-8-7)

型電子顕微鏡により観察したので報告する。

対象と方法

2. 1. 実験装置

衝撃波の発生源にはピエゾ素子を用いた。24枚のピエゾ素子を直径30cmの半球面に扇型凹面状に緻密に貼り、その中央部には超音波診断装置の探触子を設置した。高電圧駆動回路から高電圧パルス波をピエゾ素子に印加し、衝撃波を発生させた。衝撃波の最大圧力は約100MPaであり、その圧力の半値巾は $1 \times 1 \times 20$ mmである。衝撃波発生装置の焦点方向前方には半球状の膜型 Applicator が取り付けられており、その内部には脱気水が満たしてある。すなわち、ピエゾ素子より発生した衝撃波は、Applicator 内の脱気水、Applicator 膜、生体へと伝播し、移植膀胱腫瘍に収束する。この腫瘍への衝撃波照射は、すべてリアルタイム超音波画像で監視しながら行った。

2. 2. 実験方法

実験には約3kgの日本白色家兎雄3羽を用いた。腫瘍の移植は、ペントバルビタール静脈麻酔下に膀胱を切開、膀胱後型に生理食塩水に溶解した VX2 癌細胞浮遊液を約 1×10^7 個注入することにより行った。約12日後静脈麻酔下に超音波断層法により移植腫瘍生育の確認を行った。その後、約100MPa、5/secの衝撃波を1,000回照射した。照射終了後、直ちに膀胱を摘出し、被照射部の癌組織を2.5%グルタルアルデヒド(緩衝液:0.1M カコジル酸ナトリウム)内に浸して、約1mm³に細切、同液にて浸透固定した。1%オスミウム酸にて再固定後、段階アルコール系にて脱水、エポンに包埋した。そして50nmの超薄切片を作製し、ウラン鉛染色後、日本電子 JEM100C にて観察した。さらにコントロールとして、衝撃波照射を行わない VX2 移植膀胱癌担癌家兎を作製し、この癌組織も同様の方法で固定観察した。

結 果

3. 1. 肉眼的所見

超音波断層法により確認された移植膀胱癌は、肉眼的には隆起性病変として観察された。衝撃波照射後の腫瘍表面には点状の小さな出血がみられ、その部を標本とし以下の所見を得た。

3. 2. 光学顕微鏡による所見 (図1)

照射後の組織には間質性出血が認められ、一部溶血もみられた。観察された範囲での癌組織は細胞間隙が開大し、凝固壊死に陥っていた。これらの変化は被照射部の中心近くで著しく観察された。細胞は核崩壊や

Fig. 1 The VX2 cancer immediately after the exposure showed coagulative necrosis with interstitial hemorrhage (H & E, $\times 100$).

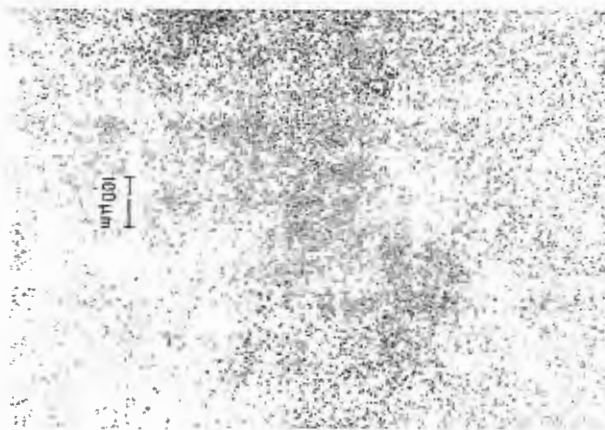


Fig. 2 The VX2 cancer cells without exposure were seen ($\times 1,201$).

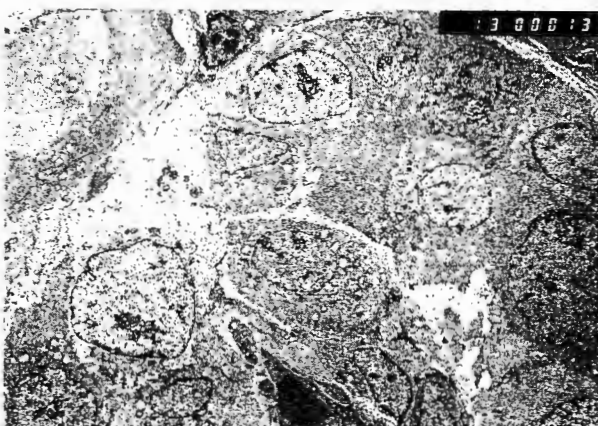
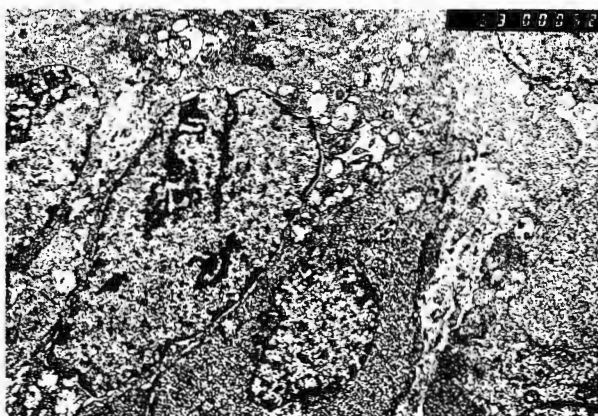


Fig. 3 The VX2 cancer cell without exposure was noticed ($\times 3,050$).



核融解を伴っており、均一な好酸性の細胞質を呈する細胞として観察された。

Fig. 4 After the exposure, the failure of cell junction induced the cellular isolation ($\times 1,201$).

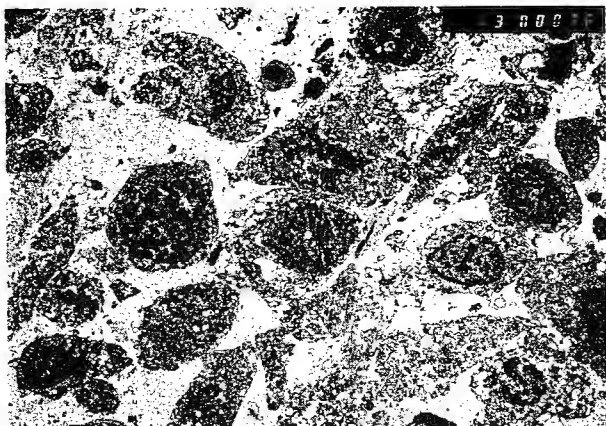
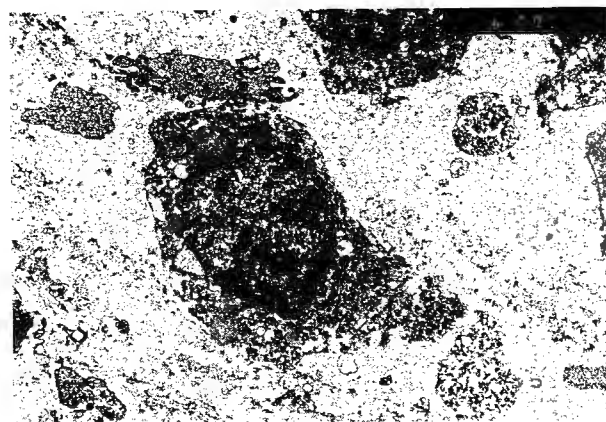


Fig. 5 The exposed cells contained vacuoles in the cytoplasm ($\times 2,403$).

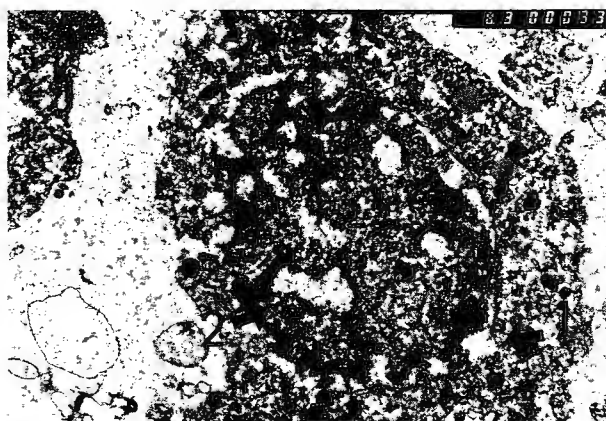


3. 3. 電子顕微鏡による所見

衝撃波非照射のコントロール（図2，3）と比較して，特に衝撃波照射による変化の著しい部位で以下の所見を得た。

腫瘍細胞の間隙は開大し，そこには赤血球や，破壊された細胞内小器官とみられる debris が観察された。腫瘍の組織構築は著しく破壊され，腫瘍細胞は各々孤立して存在していた（図4）。また細胞内の変化として，細胞膜の破壊や，細胞内小器官自体の判別が困難な程度までの細胞内小器官の損傷が観察された。さらに，細胞質内には多数の空胞が存在し，その空胞内容の電子透過性も種々であった（図5）。この空胞は，限界膜周囲にリボゾームを伴っているものと伴っていないものが観察された。また，限界膜を伴っていない虫喰い像を主に核内に認めた（図6矢印1，2）。核膜の断裂を伴った虫喰い像も観察された（図6矢印1）。

Fig. 6 The exposed cell showed “moth-eaten appearance” in the nucleus. Arrow 1 indicates the round type, and arrow 2 exhibits the cigar type ($\times 7,670$).



考 察

生体への衝撃波の影響について，当教室では1985年より種々の報告を行ってきた^{6)~10)}。一方，1987年に Russo らは衝撃波照射による抗腫瘍効果を発表し¹¹⁾，その後，種々な衝撃波発生装置と培養浮遊細胞を用いた検討が報告されている¹²⁾¹³⁾。これらのうち，最も衝撃波の影響が少なかったとする報告でも，ミトコンドリアの腫脹等なんらかの変化は報告されている。当教室では星らが，家兎の移植膀胱癌モデルへの衝撃波の影響について検討してきた⁴⁾⁵⁾。このモデルに用いられた VX2癌は Shope virus により発生する未分化な扁平上皮癌であるが¹⁴⁾，光学顕微鏡により衝撃波被照射部では壊死に陥ることが観察された。今回我々は，同じモデルにおける衝撃波の影響を電子顕微鏡を用いて検討した。

照射後の組織では細胞間接合の破綻が観察された。その原因として細胞接着装置を含めた細胞膜の破壊が考えられた。すなわち，衝撃波は圧力波，膨張波，剪断応力，microjet, cavitation 等様々な現象を惹起するといわれているが，これら衝撃波に伴う剪断応力や micro-jet が細胞間隙の開大を惹起したのと思われる。孤立した細胞はほぼ全て壊死に陥っており，水中衝撃波照射による殺細胞効果を示唆するものであると考えられた。事実，田中らは透過型電子顕微鏡を用いた観察で，BBN 誘発膀胱癌モデルの膀胱内 BCG (Bacillus Calmette Guerin) 注入後の変化として癌細胞間隙の開大を報告しており¹⁵⁾，本実験においても同様の所見が得られたことは，衝撃波照射による殺細胞

効果を強く示唆しているものと考えられた。

細胞内小器官でも種々の程度の損傷が観察された。すなわち、ミトコンドリアのクリスタの消失程度から、細胞内小器官の判別自体が困難なものまでの広い範囲での損傷である。この中で、リポゾームを伴っている空胞は、変性した粗面小胞体であると思われた。この空胞内容の染色性は中等度かつ均一であることより、粗面小胞体内の生成途中のアミノ酸等であると類推された。また、リポゾームの伴わない中等度染色性の空胞は、ゴルジ装置や滑面小胞体等の膜型細胞内小器官であると考えられた。損傷を受けた細胞内小器官は debris として細胞外にも観察された。このことは細胞膜の損傷の発生も示唆している。

また、虫喰い像を伴った被照射細胞も観察された。この虫喰い像は主に核内に存在し、濃縮クロマチンを辺縁の一部に伴うことが多かった。この非染色性の虫喰い像は限界膜を伴っておらず、明らかに空胞とは異なっていた。この発生機序については衝撃波の性質上、様々な物理化学的現象が関与しているものと考えられた。核膜の断裂を伴った虫喰い像（図6矢印1）もみられたことから、何等かの flow が細胞内を貫通した可能性があると思われた。図6において、flow が写真面と垂直方向に発生した場合、ほぼ円形の虫喰い像となり（矢印1）、平行に近い場合は矢印2のような葉巻型に観察されたものと思われた。なお、矢印1で示す虫喰い像の直径は約0.6 μ mであった。この発生機序を含めた詳細な医学的、物理学的解明については、今後の検討を待たねばならない。

さらに、このような flow の存在する可能性が高ければ、衝撃波により抗癌剤の細胞内到達性が高められると考えられ、その薬理学的効果を増強されるものと考えられた。すなわち、衝撃波による癌治療は他の治療法と併用することにより、非常に効果的なものになる可能性が示唆された¹⁶⁾¹⁷⁾。一方、衝撃波照射による癌の浸潤転移促進の危険性については、今回の実験結果からは不明であったが、星らはその危険性は少ないと述べていることも付け加えておきたい³⁾。

現在、less invasive といえる癌治療法として温熱療法や、ガンマナイフを用いた治療が行われている。温熱療法では、血管壁の断裂と局所血流の減少が、抗腫瘍効果をもたらすと報告されている¹⁸⁾。一方のガンマナイフは、1回に高線量の放射線を照射する治療法である¹⁹⁾。この組織学上の変化は、急性期の血管内皮細胞の変性と、慢性期における血管内腔の閉塞であると報

告されている。以上の2つの治療法は組織学的には局所の血流障害による抗腫瘍効果をもたらしているが、庵谷らは衝撃波照射による非可逆性の血流障害を報告しており²⁾、さらに衝撃波照射では血流障害より早く発生する殺細胞効果も得られることから³⁾、温熱療法やガンマナイフと同等以上の治療効果を期待することができる。

水中衝撃波の癌治療応用への課題は、適切な領域に、適切な種類の衝撃波を、適切な回数照射することと、壊死に陥った組織のドレナージである。そのためには殺細胞効果において最も効果的な衝撃波の種類の追求や照射方法の検討が必要である。そしてMRIのように詳細に腫瘍の状態が把握でき、さらにリアルタイムで腫瘍を観察できる照準装置を搭載した衝撃波照射装置の開発が必要であると考えている。

本論文の要旨は第81回泌尿器科学会総会（於京都）において発表した。

文 献

- 1) 折笠精一：体外衝撃波碎石術と水中衝撃波の生体に及ぼす影響。日泌尿会誌，82，1027—1044，1991。
- 2) Ioritani, N., Orikasa, S., Kuwahara, M., Kambe, K., Taguchi, K., Saitoh, T., Shirai, S. and Arai, M.: The Correct Targeting Rate in ESWL Treatment Measured by An Anti-Miss-Shot Controled Device. Jpn. J. Endourol., 3, 179—186, 1990.
- 3) 斎藤敏典，折笠精一，庵谷尚正，神部廣一，桑原正明，田口勝行，白井修一，目時利林他：衝撃波照射による腎組織損傷—超微細構造からの観察—。日泌尿会誌，83，23—32，1992。
- 4) Hoshi, S., Orikasa, S., Kuwahara, M., Yoshikawa, K., Saitoh, S., Ohyama, C., Satoh, M., Kawamura, S. and Nose, M.: The Effect of High-Energy Underwater Shock Waves on Implanted Urinary Bladder Cancer in Rabbits. Jpn. J. Cancer. Res., 81, 317—319, 1990.
- 5) Hoshi, S., Orikasa, S., Kuwahara, M., Yoshikawa, K., Saitoh, S., Ohyama, C., Satoh, M. and Nose, M.: High Energy Underwater Shock Wave Treatment on Implanted Urinary Bladder Cancer in Rabbits. J. Urol., 146, 439—443, 1991.
- 6) Kambe, K., Kuwahara, M., Orikasa, S. and Takayama, K.: Mechanism of fragmentation of urinary stones by underwater shock wave. Urol. Int., 43, 275—281, 1988.
- 7) 桑原正明，黒須清一，神戸廣一，景山鎮一，折笠精

- 一, 高山和喜: 水中衝撃波のフォーカシングに関する研究. 体外からの腎, 尿管結石破碎を目的として, 日泌尿会誌, 76, 174—182, 1985.
- 8) Kuwahara, M., Kageyama, S., Kambe, K., Kurosui, S., Ioritani, N., Orikasa S. and Takayama, K.: Clinical application of extracorporeal shock wave lithotripsy using microexplosions. *J. Urol.*, 137, 837—840, 1987.
 - 9) 黒須清一, 庵谷尚正, 神部廣一, 景山鎮一, 桑原正明: 爆薬を用いた体外腎結石破碎. 日泌尿会誌, 78, 1252—1259, 1987.
 - 10) 神戸廣一, 桑原正明, 景山鎮一, 黒須清一, 庵谷尚正, 田口勝行, 斎藤敏典, 折笠精一, 伊勢和久, 光川史郎: 爆薬による体外腎結石破碎. 日泌尿会誌, 79, 1011—1018, 1988.
 - 11) Russo, P., Mies, C., Huryk, R., Heston, W. D. W. and Fair, W.R.: Histopathologic and Ultrastructural Correlates of Tumor Growth Suppression by High Energy Shock waves. *J. Urol.*, 137, 338—341, 1987.
 - 12) Bäuner, T., Brümmer, F. and Hülser, D.F.: Histopathology of shock wave treated tumor cell suspensions and multicell tumor spheroids. *Ultrasound in Med. & Biol.*, 15, 451—460, 1989.
 - 13) Kohri, K., Uemura, T., Iguchi, M. and Kurita, T.: Effect of high energy shock waves on tumor cells. *Urol. Res.*, 18, 101—105, 1990.
 - 14) Nemoto, R., Mori, H., Iwata, K., Kato T. and Harada, M.: A Model of Malignant Urinary Bladder Tumor in Rabbits. *Tohoku J. exp. Med.*, 134, 257—263, 1981.
 - 15) 田中 聡, 工藤試治, モーリック・アスラフ・ウッドイン, 工藤達也, 古川利有, 鈴木唯司: BBN 誘発ラットの BCG および Adriamycin 膀胱内注入療法による組織変化. 日泌尿会誌, 83, 368—373, 1992.
 - 16) Hoshi, S., Orikasa, S., Kuwahara, M., Suzuki, K., Shirai, S., Yoshikawa, K. and Nose, M.: Shock Wave and THP-Adriamycin for Treatment of Rabbit's Bladder Cancer. *Jpn. J. Cancer Res.*, 83, 248—250, 1992.
 - 17) 鈴木謙一, 折笠精一, 星 宣次, 桑原正明, 吉川和行, 大山 力, 佐藤 信, 川村貞文: 高エネルギー水中衝撃破による家兎 VX2 膀胱癌の治療—衝撃波と THP-ADM 併用後の THP-ADM 組織内濃度について—. 日泌尿会誌, 投稿中.
 - 18) Badylak, F.S., Babbs, F.C., Skojac, M.T., Voorhees, D.W. and Richwadson, C.R.: Hyperthermia-induced Vascular Injury in Normal and Neoplastic Tissue. *Cancer.*, 56, 991—1000, 1985.
 - 19) 河本俊介, 佐々木富男, 松谷雅生, 高倉公朋, 寺原敦朗: Gamma knife による定位的放射線照射療法. 脳神経, 44: 205—217, 1992.

(1994年3月14日受付, 6月16日受理)

新しい体外衝撃波碎石装置 YACHIYODA SZ-5000 の臨床経験

東北大学医学部泌尿器科学教室 (主任 折笠精一教授)

斎藤敏典*・折笠精一・庵谷尚正

田口勝行・白井修一・稲葉康雄

宮城県立がんセンター泌尿器科 (部長 桑原正明)

桑 原 正 明

INITIAL EXPERIENCE USING A NEW TYPE OF EXTRACORPOREAL LITHOTRIPTOR: YACHIYODA SZ-5000

TOSHINORI SAITOH, SEIICHI ORIKASA,
NAOMASA IORITANI, KATSUYUKI TAGUCHI,
SHUUICHI SHIRAI AND YASUO INABA

Department of Urology (Director: Prof. S. Orikasa),
Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan

MASA-AKI KUWAHARA

Department of Urology (Chief: M. Kuwahara),
Miyagi Cancer Center, Natori, Japan

The results of a clinical trial of a new type of extracorporeal lithotripter (YACHIYODA SZ-5000), whose energy source is microexplosion, are presented. This machine contains a water bag applicator and both an ultrasound imaging system and an X-ray fluoroscopy unit. Thirty-six patients with urinary tract stones (average size was 18 mm) were treated with this machine at the Department of Urology, Tohoku University School of Medicine. The average number of shock waves was 531.6 and the average number of treatments was 1.6 times for each patient. All cases were treated with an analgesic only. The X-ray film obtained three months after ESWL treatment showed that 22 cases (61%) had no residual stone or stone fragments of less than 4mm. However, the success rate of the cases with stones smaller than 20mm was 76%. After the procedure, mild hematuria was observed in all cases and only one case had a subcapsular hematoma, which was managed conservatively and successfully. Other significant complications were not observed. These results suggest that YACHIYODA SZ-5000 is a safe and effective extracorporeal lithotripter. (Nishinohon J. Urol. 56: 1168-1172, 1994)

key words: extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL), microexplosion, water bag type applicator

キーワード: 体外衝撃波碎石術, 微小爆発, 膜型アプリケーションター

緒 言

1985 年以来, 我々は水中微小爆発を用いた体外衝撃波碎石装置の開発について報告してきた^{1,2)}。また, 1988 年には国産初の体外衝撃波碎石装置 (YACHIYODA SZ-1) の臨床成績を報告した³⁾。SZ-1 の最大の特徴は衝撃波

発生源に微小爆発を用いており, 少ない照射数で治療できることである。衝撃波による生体損傷は被照射数に依存するという報告があり⁴⁾, 可能な限り少ない照射数で治療することが副作用軽減のために大切であると考えられる。そこで, 八千代田工業 (株) と共に, SZ-1 の利点を生かし, 欠点を除くべく YACHIYODA SZ-5000 を開発し, その臨床試験を行ったので報告する。

* 現 クリニック斎藤泌尿器科

対 象 と 方 法

対象は1991年9月から1992年12月まで東北大学医学部附属病院泌尿器科を受診した36名である (Table 1)。本治療法が治験段階であることを説明し、さらに本治療法の特徴や合併症についても説明し、治療同意を得て治療した。

体外衝撃波碎石装置 SZ-5000 (Fig. 1)

本装置は東北大学医学部泌尿器科学教室と八千代田工業により共同研究、開発されたものであり、SZ-1に以下の改良点を加えられている。

1) 膜型アプリーケーターを採用したドライタイプである。

Table 1 Characteristics of treated patients and stones
male: 24, female: 12
average age: 49.3 years old
average stone size: 16.7mm

location \ size (mm)	10 $\geq$	10-20	20 $\leq$
calix	10	6	1
pelvis	2	4	9
PUJ	0	3	1

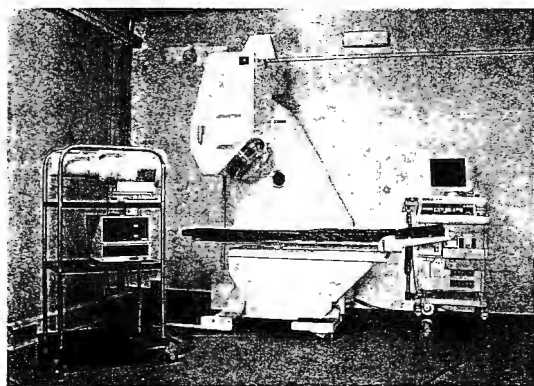


Fig. 1 A new tub-less type lithotripter: SZ-5000

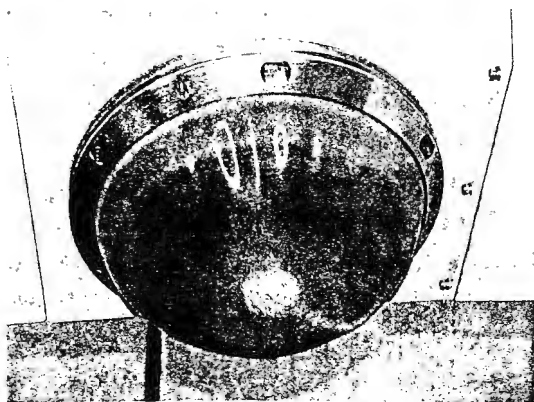


Fig. 2 The applicator of SZ 5000 contains an ultrasound probe.

2) 照準には超音波断層装置とレントゲン透視装置を併用することができる。

3) 胆石の治療も可能である。

衝撃波発生源として10 mgのアジ化銀を電氣的に起爆させ衝撃波を得ている。発生した衝撃波は、回転楕円体のリフレクターにより第2焦点に収束され、そこで約50 MPaの圧力を発生する。最高圧力領域の半値巾は12 $\times$ 7 $\times$ 70 mmである。爆薬とリフレクターおよび照準用の超音波探触子は、固定式の膜型アプリーケーター中に設置されている (Fig. 2)。治療には治療台を頭部高位に45度傾斜させ、アプリーケーターと腎背部の体表面を密着させて衝撃波を照射する。照準装置としては、超音波断層装置と共にレントゲン透視装置 (患者の左側 $\rightarrow$ 右側方向のみ) が併用できる。

治療方法

治療は原則として外来で行い、無麻酔で施行した。治療前日の夕食より市販の低残渣食とし、当日朝にグリセリン浣腸を施行させ、その後昼食のみ絶食とした。前投薬として、術前30分にdiclofenac sodium座剤50 mgを用いた。乳酸リンゲル液にて血管確保後、患者を治療台上で腹臥位に固定した。そのままの体位で治療台を頭部高位に45度傾斜させ、アプリーケーター膜と患者の腎背部を密着させた。アプリーケーターは固定式であるため、超音波画像とレントゲン透視像を観察しながら、治療台を動かし結石の照準を行った。衝撃波は呼吸同期下 (呼吸時) に、心電図と同期させ照射した。なお、今回は臨床治験であるため1回の治療における最大照射回数を500とし、治療回数は4回までとした。碎石不十分のときは1 $\sim$ 3週間後に2回め以降の治療を行った。治療終了後1時間程、血尿の程度等を観察し、その後帰宅させた。治療翌日、3日め、1週間めに受診させ、KUB、超音波検査、血液検査等を含めた診察を行った。治療は最初の1例を除き全て外来で行った。

結 果

I. 碎石成績

結石径別による症例数とその結果をTable 2に、また結石部位別による症例数とその結果をTable 3に示した。結石径別にみても、10 mm以下の症例では平均照射数465.4、平均治療回数1.6回であった。また、結石径が10 $\sim$ 20 mmでは平均照射数388.4、平均治療回数1.4回であり、20 mmを越えた症例については平均照射数773.2、平均治療回数2.0回であった。治療効果は学会の評価基準に従い、治療後3カ月で判定した。治療後残石なし (Tx-0)、もしくは4 mm以下の残石となったも

Table 2 Stone sizes and results

Stone size (mm)	No. of pts.	Results Tx-0	Tx-1	Tx-2	Tx-3	Average no. of shots	Average no. of treatments
10 $\geq$	12	8	2	2	0	465.4	1.6
10-20	13	7	2	4	0	388.4	1.4
20 $\leq$	11	2	1	8	0	773.2	2.0

Table 3 Location of stones and results

Stone location	No. of pts.	Results Tx-0	Tx-1	Tx-2	Tx-3	Average no. of shots	Average no. of treatments
Calix	17	9	3	5	0	470.5	1.6
Pelvis	15	6	1	8	0	544.5	1.6
PUJ	4	2	1	1	0	743.3	2.0

Table 4 Changes in laboratory data and the results of paired t-test (mean $\pm$ SD^{a,c})

		pretreatment	1st day	3rd day	7th day
RBC $\times 10^4$	(/mm ³)	4.86 $\pm$ 0.67	4.56 $\pm$ 0.49 ^{0.001}	4.61 $\pm$ 0.56	4.75 $\pm$ 0.72 ^{0.01}
WBC $\times 10^3$	(/mm ³)	7.13 $\pm$ 2.31	7.13 $\pm$ 1.67	6.63 $\pm$ 2.07	6.77 $\pm$ 3.55
Hb	(g/dl)	14.92 $\pm$ 1.59	14.03 $\pm$ 1.22 ^{0.001}	14.05 $\pm$ 1.54	14.46 $\pm$ 1.66 ^{0.001}
Ht	(%)	44.49 $\pm$ 4.47	42.07 $\pm$ 3.66 ^{0.01}	42.17 $\pm$ 4.49 ^{0.05}	43.33 $\pm$ 4.85 ^{0.01}
Plt $\times 10^3$	(/mm ³)	255.31 $\pm$ 63.24	229.91 $\pm$ 55.57	253.64 $\pm$ 72.75	254.22 $\pm$ 77.61
GOT	(IU/l)	27.75 $\pm$ 11.78	21.57 $\pm$ 6.15	28.00 $\pm$ 8.18	28.50 $\pm$ 14.09
GPT	(IU/l)	26.07 $\pm$ 14.43	23.83 $\pm$ 13.45	31.70 $\pm$ 18.76	27.00 $\pm$ 18.63
γ -GTP	(IU/l)	54.63 $\pm$ 76.31	51.91 $\pm$ 70.75	69.90 $\pm$ 113.27	53.00 $\pm$ 75.07
ALP	(IU/l)	100.46 $\pm$ 35.67	87.18 $\pm$ 35.22	81.89 $\pm$ 26.38	99.00 $\pm$ 34.21
T-BIL	(mg/dl)	0.86 $\pm$ 0.39	0.91 $\pm$ 0.44	0.62 $\pm$ 0.14	0.69 $\pm$ 0.36
LDH	(IU/l)	368.82 $\pm$ 46.78	363.17 $\pm$ 41.02	370.60 $\pm$ 47.18	386.46 $\pm$ 44.37 ^{0.02}
Na	(mEq/l)	143.57 $\pm$ 2.13	143.83 $\pm$ 2.39	143.30 $\pm$ 0.82	143.68 $\pm$ 1.42
K	(mEq/l)	4.30 $\pm$ 0.40	4.27 $\pm$ 0.25	4.30 $\pm$ 0.17	4.30 $\pm$ 0.27
Cl	(mEq/l)	106.04 $\pm$ 2.28	107.70 $\pm$ 2.10	107.90 $\pm$ 3.11	105.71 $\pm$ 2.94
Ca	(mg/l)	9.31 $\pm$ 0.49	9.17 $\pm$ 0.48 ^{0.05}	9.38 $\pm$ 0.70	9.40 $\pm$ 0.39
IP	(mg/l)	3.10 $\pm$ 0.59	2.84 $\pm$ 0.58 ^{0.05}	3.10 $\pm$ 0.27	3.10 $\pm$ 0.47
UA	(mg/l)	5.79 $\pm$ 1.33	5.68 $\pm$ 1.25	5.62 $\pm$ 1.02	5.72 $\pm$ 1.22
BUN	(mg/l)	15.04 $\pm$ 3.50	16.39 $\pm$ 5.40	15.20 $\pm$ 4.83	15.75 $\pm$ 4.17
Cr	(mg/l)	0.73 $\pm$ 0.16	0.77 $\pm$ 0.13 ^{0.05}	0.85 $\pm$ 0.20	0.76 $\pm$ 0.16

の (Tx-1) を有効と判断すると 36 症例中 22 症例 (61.1%) で有効となった。今回は結石径の平均が 16.7 mm と大きかったが、その中で 20 mm 以下の症例では 25 症例中 19 症例 (76.0%) で有効となった。

II. 副作用

治療前後の血液検査の結果を Table 4 に示した。これらについて各々 paired t-test を行ったところ、術後の赤血球数等に軽度低下が認められたが、肝機能、腎機能等に変化は認められなかった。他に全例で軽度の血尿を認めたが、治療を要したものはなかった。また、1 例で腎被膜下血腫が発生したが経過観察のみで軽快している。この症例は 2 回めまでの治療では特記すべき副作用はみられなかったが、3 回めの治療中 110 shots の衝撃波照射数で腎被膜下血腫が発生した。他に 2 回めの治療中に

不整脈が出現したために、一旦治療を延期した症例と、2 回めの治療中に痛みに耐えきれず、治療を中止した症例が 1 例ずつあった。肺、消化器等の合併症はみられなかった。

考 察

SZ-5000 の特徴について

体外衝撃波碎石術は 1980 年 Chaussy らにより臨床応用が報告されて以来⁵⁾、国内でも複数の治療機が開発、発表されてきた^{6,7,8)}。以下、我々が臨床試験を行った YA-CHIYODA SZ-5000 の特徴について順に述べたい。

まず、SZ-1 と同様に微小爆薬を衝撃波源として採用したことにより、強力な碎石力を得ることができた。今回の 1 症例あたりの平均照射回数は 531.6 shots であっ

た。この値は、他の衝撃波源を採用した碎石装置の約 10～20%であった。このように少ない照射数で治療可能であることは、副作用の軽減に十分に貢献しているものと考えられる。また、今回から爆薬のパッケージ化を採用し、さらに安全な治療が行えるようになった。

次にドライタイプとなったことにより、装置の小型化が可能となった。また、浴槽型碎石装置での水圧による血圧の変動も軽減することができた。そして何よりも、患者への対応が浴槽型の装置より迅速となり、患者自身の不安感も軽減することができた。

治療中は肺損傷を防止するために、患者は腹臥位のまま治療台と共に頭部高位に 45 度挙上されるようにした。これにより腎が下降し、腎と肺が離れるように工夫されている。このため、今回の臨床経験では肺における合併症は 1 例もみられなかった。しかし、この体位では患者の上腕部が心臓より高く挙上されることが多く、血圧測定が低めに測定されてしまう傾向があり、今後さらに改善していきたい。

今回衝撃波照射の照準には、レントゲン透視装置の他に超音波診断装置も採用した。これによりレントゲン陰性結石の治療が可能となり、治療中における腎や結石の状態についてもリアルタイムで観察可能となった。この超音波探触子は、アプリーケーター内のリフレクター焦点方向前方に設置しており、アプリーケーター内で一定方向に移動および回転可能である。

今回の臨床治療では、アプリーケーター内の超音波探触子による画質が、アプリーケーター膜により大きく影響されるものと予め予想されていた。そのため、2 種類のアプリーケーター膜を用意し臨床試験を行った。臨床治療前半の症例に用いた膜では、十分に鮮明な超音波画像を得られず、照準にかなりの時間を要した。また十分に細かく碎石しないまま治療を終了した症例もみられた。しかし、後半に用いた膜では十分な画像が得られ、照準時間も 10 分以内とほぼ満足いくものとなった。

一方、照準用のレントゲン透視装置は透視方向が一定方向であり、かつ腎結石の陰影が脊椎の椎体と重なり不鮮明となることが多く、今後改良の余地があると思われた。

本装置は、腎結石の他に胆石の治療も可能となっている⁹⁾。近年、胆石の治療として腹腔鏡下胆嚢摘出術が広く行われているが、純コレステロール結石の多い欧米では衝撃波による治療も広く行われており、本邦でも胆石の体外衝撃波碎石術は健康保険の適応となっている。新しく体外衝撃波碎石装置の導入を考えている医療施設においては、複数の疾患に対応できる SZ-5000 は候補装置の一つになると考えられている。

治療結果について

今回は臨床試験であるため、1 回最大照射回数を SZ-1 の臨床治療と同様に 500 shots とした。しかし、今回治療した症例の平均結石径が 16.7 mm と大きかったためもあり、完全排石もしくは 4 mm 以下の残石となった有効症例は 61%であった。この値は SZ-1 の有効率 91.1%と比較するとかなり低い値であった。この原因の一つとして、前述のごとく臨床治療の前半で用いた膜では良好な超音波画像が得られなかったことが挙げられる。2 つめの原因としてアプリーケーター膜そのものによる衝撃波の伝播効率の低下、3 つめにはアプリーケーター膜と体表の密着が不十分であるための、衝撃波の伝播効率の低下等が考えられた。これらはアプリーケーター膜の性状の改良や第 2 焦点の焦点深度の再検討による密着体表面積の増加により改善されるものと考えている。一方、結石径が 20 mm 以下の症例では有効率 76.0%であり、ほぼ満足のいくものであった。

強力な碎石力をもつ本装置では、大結石も直ちに破碎され大きな破碎片となる症例も多かった。これらの破碎片が尿管結石となり、他の衝撃波碎石装置や尿管鏡による治療を追加した症例も 7 例みられ、今後この点については改善する必要があると思われた。

副作用では末梢血液中の赤血球数の低下を軽度認めたが、肝腎機能には異常を認めなかった。腎被膜下血腫と不整脈も各々 1 例ずつみられたが、重篤なものではなかった。

結 語

YACHIYODA SZ-5000 は強力な碎石力を有する安全な体外衝撃波碎石装置であると考えられた。

文 献

- 1) Kambe, K. et al.: Underwater shock wave focusing: An application to extracorporeal lithotripsy. Proc. 15th Symposium on Shock Wave and Shock Tube. pp. 641-647, 1985.
- 2) Kuwahara, M. et al.: Extracorporeal stone disintegration using chemical explosive pellets as an energy source of underwater shock waves. J. Urol. 135: 814-817, 1986.
- 3) 神部廣一・他: 爆薬による体外腎結石破碎: 東北大学における 198 例の臨床経験. 日泌尿会誌. 79: 1011-1018, 1988.
- 4) Ioritani, N. et al.: The correct targeting rate in ESWL treatment measured by an antimiss shot controle device. Jpn. J. Endourol. 3: 179-186, 1990.
- 5) Chaussy, C. et al.: Extracorporeally induced

- destruction of kidney stones by shock waves. Lancet 2: 1265-1268, 1980.
- 6) Kuwahara, M. et al.: Extracorporeal stone disintegration using chemical explosive pellets as an energy source of underwater shock waves. J. Urol. 135: 814-817, 1986.
- 7) 黒須清一・他：爆薬を用いた体外腎結石破碎。水中衝撃波の生体におよぼす影響。日泌尿会誌。78: 1252-1259, 1987.
- 8) 田口勝行・他：誤照射防止装置付きピエゾ型碎石装置を用いた体外衝撃波結石破碎術の経験。日泌尿会誌。82: 1105-1110, 1991.
- 9) 北山 修・他：胆嚢結石症における ESWL の役割について。平成4年度衝撃波シンポジウム講演論文集。pp. 147-150, 1993.
- (1994年4月27日受理)
-

集束強力超音波による局所加熱 - 正常及び癌組織の実験的検討 -

○庵谷尚正^{*}、白井修一^{*}、田口勝行^{*}、折笠精一^{*}、相田聡^{**}、
藤本克彦^{**}、桑原正明^{***}^{*}東北大・医・泌尿器科、^{**}東芝研究開発センター、^{***}宮城県立癌センターBiological Effects of High-Intensity Focused Ultrasound on Normal and
Tumor Tissue of Experimental AnimalsN. Ioritani^{*}, S. Shirai^{*}, K. Taguchi^{*}, S. Orikasa^{*}, S. Aida^{*}, K. Fujimoto^{**}, M. Kuwahara^{***}^{*}Dept. Urology, Tohoku Univ. School of Medicine ^{**}Toshiba R & D Center ^{***}Miyagi Prefectural Cancer Center

我々はこれまで衝撃波の生体作用を検討し、その組織侵襲性を用いて衝撃波の癌治療への応用実験を試み、抗癌剤との併用で制癌効果が増強されることを明らかにしてきた。これらの研究にはピエゾ素子を衝撃波源に用いたが、ほぼ同様の構成で素子に連続波を負荷することにより、焦点部の組織を加熱することが可能である。今回は集束強力超音波による局所加熱による癌治療システムを作製するために、1)正常生体組織内の温度分布、および2)正常及び3)癌組織の組織学的変化を検討することを目的とした。

【方法】

1. 実験装置： 超音波源は曲率半径120mm、直径100mm、1.65MHz球殻状のピエゾ素子を用いた。この素子の駆動にはASTECH LG-55パワーアンプを用いた。最大出力400W駆動した時の焦点部の強度は4.2kW/cm²である。素子前面はウレタン膜で覆い、内部を脱気冷却水で灌流した。焦点部の観察および照準には超音波診断装置を用い、5MHzの超音波プローブ超音波源の外側に固定した。組織内の温度分布は0.5mmの熱電対3本を18G注射針を通して2mm間隔に刺入し測定した。

2. 正常生体組織に対する加熱実験 静脈麻酔した雑種成犬(n=7)及び日本白色家兎(n=9)の大腿筋層、腎、膀胱、前立腺等に対して400Wで3～15秒照射した。腎は呼吸性移動の影響を除去するため、体外に脱転して照射した。焦点の深度は筋及び腎で約20mm、膀胱で50mm程度であった。各組織は照射終了後、麻酔下に摘出し組織学的に検討した。

3. マウス担癌モデルに対する加熱 C3H/He雌マウス(n=5)の背部に実験膀胱腫瘍MBTIIを移植し、7日後に400W、5秒間ずつ腫瘍全体を加熱し、2日毎に腫瘍体積を計測して非加熱マウス(n=5)と比較した。

【結果】

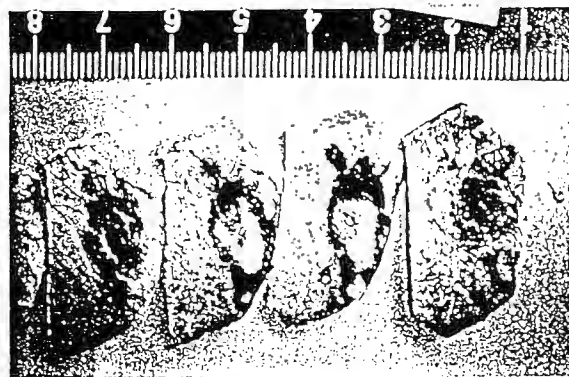
1. 温度上昇及び温度分布

各臓器で温度の上昇及び分布はほぼ同様のパターンを示した。筋では照射開始2.5±2.1秒後に最大温度88.2±15.5℃、腎では2.6±2.3秒後に88.3±19.0℃に達した。到達温度の最大値は123℃で到達時間の最小値は1秒であった。筋層内最大温度に達するとそれ以

上超音波を照射しても温度上昇は見られず下降した。空間分布は体表面で70℃前後となるが体内に入ると焦点部付近までは体温よりやや高い程度に下降する。最大温度の半値幅は深度方向15mm、横方向3mmであった。

2. 正常組織の組織学的変化

筋、腎組織ともに約15×6mmの楕円体へ楔型の凝固壊死巣と、その周囲に幅0.5～1mmのより強い変化を呈する輪状の壊死巣を認めた。更に外周の組織には光顕上変化は認められず、これら3層の境界は明瞭であった。筋、腎ともに焦点部位外の出血はほとんどなかった。超音波射入部の皮膚は強い凝固壊死を呈していた。膀胱組織では全層にわたる凝固壊死が認められたが、正常部との境界は明瞭であった。



Longitudinal sections of canine muscle layer.

3. マウス担癌モデルに対する加熱

加熱群のうち3匹に著明な腫瘍体積の縮小を認めた。3匹中2匹では腫瘍は痂皮状となり、3週間後にも腫瘍増殖を認めなかった。

【考察】

壊死巣の周囲に輪状の強い変化が見られるのは、焦点部が熱変性により音響的性質が変化するためと考えられるが、今後検討予定である。担癌モデルで縮小が認められなかったマウスは腫瘍に正確に照準されていなかった可能性が高く、超音波プローブ内部に組み込んだ装置を製作し検討する予定である。

特集

脊髄疾患の画像診断

脊髄・脊椎の先天奇形

松本 恒* 高橋昭喜* 栗原紀子*

脊髄、脊椎先天奇形の放射線診断について概説した。これらの奇形を発生学的な見地から、4つのカテゴリーに分類した。すなわち、1) 神経胚形成の異常、2) canalization, 退行性分化の異常、3) 脊索形成の異常、4) 成因不明の異常、である。脊髄空洞症については別個に取り扱った。我々の施設で経験した、代表的な9例の脊椎、脊髄奇形を呈示した。

はじめに

脊髄・脊椎の先天奇形は生直後に臨床的に明らかなものから、成人になり顕在化するものまでのスペクトルは広い。磁気共鳴診断(MRI)が登場してからは、それが無侵襲性であることと相俟って、脊髄、脊椎の診断はきわめて容易かつ正確になった。それに伴い、この部位の奇形の発見の頻度も増してきている。

本稿では、脊髄・脊椎奇形について、その概略を述べる。その際、先天奇形の成因、病態の理解を容易にするため発生学的な事項についても若干触れてみたい。また、我々の施設で経験したいくつかの症例を、特にMRIを中心として呈示する。なお、術語の使用にあたっては日本語を優先にし、英語を併記したが、日本語が十分馴染んでいないものに関しては英語のみの使用とした。

1. 脊髄・脊椎の先天奇形の分類

脊髄・脊椎の先天奇形の分類には特に確立されたものはないが、本稿では読者の理解のために、Naidich T¹⁾に倣い、発生学的立場を軸として分類する(表)。ただし、この分類においては、それぞれの疾患は独立して見られるのではなく、互い

表 脊髄の発生過程から見た奇形の分類

- | |
|---|
| 1) 神経胚形成(neurulation)の異常 |
| 2) 神経管形成(canalization), 退行性分化(retrogressive differentiation)の異常 |
| 3) 脊索(notochord)の発育異常 |
| 4) 成因不明の異常 |

の奇形を伴いながら存在するのが普通である。また、脊髄空洞症のみは項を改めて解説する。

2. 脊髄・脊椎の発生からみた奇形の考え方

きわめて大雑把に言えば、脊髄については、胎生約3週目に、外胚葉神経板(neural plate ectoderm)が出現し、それが次第に成長し、神経胚形成(neurulation)を経て神経管(neural tube)形成、皮膚外胚葉との分離(dysjunction)過程を経て形成される(図1)。同じ時期に原始腸管、神経管から離れた脊索は中胚葉成分を取り込みながら、髄膜、脊椎を形成する²⁾。これらの過程のいずれの時期にも形成異常が起りうるものであり、脊髄・脊椎奇形の原因となる。また、脊髄・脊椎奇形は相互に影響し合うことになる。

* Matsumoto K., Takahashi S., Kurihara N. 東北大学医学部放射線科

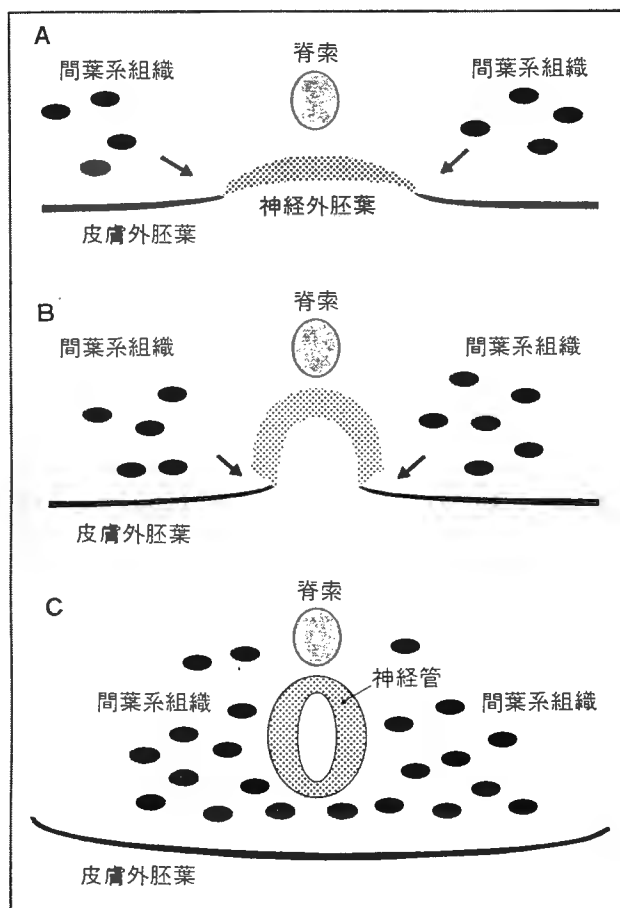


図1 脊髄の発生を示した模式図 神経外胚葉は成長とともにくびれ(B), ついに神経管を形成して皮膚外胚葉と分離する(C).

3. 疾患の解説

脊髄形成は胎生学的に二つの過程よりなる。一つは、神経胚形成(neurulation)と呼ぶ延髄から腰髄膨大部までの形成であり、他は神経管形成(canalization)および退行性分化(retrogressive differentiation)と呼ばれる脊髄円錐から終糸までの形成である。したがって、脊髄奇形にもこれら二つの成因がある。一方、脊椎は脊索(notochord)から分化してくるが、脊髄・脊椎奇形は互いに影響し合っており、両者が合併する場合が多い。

1) 神経胚形成(neurulation)の異常

a. 脊椎癒合不全(spinal dysraphism)

脊椎癒合不全(spinal dysraphism)は脊椎の骨性癒合不全である。これには大きく分けて嚢胞性二分脊椎(spina bifida aperta/cystica)と潜在性二分脊椎(occult spinal dysraphism)とがある。

二分脊椎には、前方、後方いずれもあるが、特



図2 生直後、女児 脊髄髄膜瘤 A: MRI, T1 強調矢状断像(SE 500/15) 脊髄, および髄膜は腰仙椎背側欠損部から突出し, 皮膚外へ膨隆している(→). 瘤は皮膚に覆われていない.

別に示さない場合は後方癒合不全を指す。嚢胞性二分脊椎は脊椎後方成分の大きな欠損のあるものを指し、脊柱管内容物の逸脱を伴う。好発部位としては、腰椎部に最も多く、次いで腰仙部、仙椎部の順である³⁾。一方、潜在性二分脊椎は椎弓のわずかな欠損はあるが、脊柱管内容物の逸脱を伴わない。仙椎部、腰椎部、頸椎部の順の頻度で見られる。

脊椎癒合不全は骨構造の異常であるが、さまざまな脊髄形成異常に伴ってみられる。以下、代表的なものを挙げる。

b. 髄膜瘤(meningocele) (図2)

本症は spina bifida aperta の最も単純な型である。背側正中中部で脊椎欠損部からの硬膜、クモ膜の膨隆をみる。好発部位は腰椎または仙椎部である。稀に頸椎部に見られることもある⁴⁾。後述する Chiari II 型奇形を伴うことが多い。

c. 脊髄瘤(myelocoele)と脊髄髄膜瘤(myelomeningocele)

脊髄瘤は脊髄神経組織が脊椎欠損部から背部に露出している状態であり、脊髄髄膜瘤は腹側クモ膜下腔の拡張とともに脊髄が背側に露出したものである。両者ともに神経胚形成の局所的な形成不全によるものである。神経管は中心管が形成されないで扁平なまま(脊髄原基: placode)となっており、両外側で皮膚と癒合している。したがって、被覆する皮膚はこの脊髄原基外側端までは見られるが、正中部は皮膚による被覆がなく、脊髄原基が露出している。神経根は、腹側神経根、背側神経根ともにこの脊髄原基の腹側から出ている。軟クモ膜(piaarachnoid membrane)は1枚の共通膜となっており、神経組織と結合している場合には軟膜、離れている場合にはクモ膜と呼ぶ。硬膜はクモ膜の外側に存在するが、軟クモ膜、硬膜ともに背側に回ると欠損している。脊髄原基および髄膜はいずれも皮膚に結合しているため、脊髄は基本的に係留されており、可動性はない。なお、神経管が形成されないために皮膚の外胚葉は神経組織と分離せず、そのため間葉組織が神経板の背側に回り込むことができない。その結果、脊椎の後弓(posterior arch)が形成されず、代わりに腹側、外側に異常な格好で骨形成が行われ、後方二分脊椎を来す。椎弓および椎弓根は二分脊椎の部で外側に翻転し、横突起は前方を向く。

脊椎骨構造の異常は通常、単純X線写真で十分であるが、CTはさらに詳細な情報を与えてくれる。MRIは瘤自体の診断に不可欠である。この場合、髄膜瘤との鑑別のために、瘤内の神経組織の有無に注意すべきである⁵⁾。

脊髄髄膜瘤の症例では頸髄、脳幹、小脳の異常を伴うが、この一連の奇形をChiari II型奇形と呼ぶ。本症の場合、後頭蓋窩は小さく、典型的には脳幹、第四脳室、小脳虫部、小脳扁桃が後頭蓋窩から逸脱して頸椎脊柱管内に陥入し、小脳はテント上に膨隆する(towering cerebellum)。また、環椎前後径は相対的に狭く、延髄・頸髄を圧迫する。脊髄には後述するように、空洞症が高頻度に見られる。Chiari II型奇形においては、頸髄の下垂があるため神経根は頭側方向に登るようにして神経

孔に至る。延髄は頸髄の後方に位置し、頸髄との移行部で後下方への屈曲を形成する(cervicomedullary kinking)。小脳扁桃、虫部も種々の程度で脊柱管内に下垂し、逸脱した延髄の後方に位置する(cerebellar peg)。下垂した延髄、小脳は環椎リングで締めつけられ、神経組織の切れ込み形成、線維化を来す。延髄の頸部脊柱管内への逸脱の程度は、脊髄髄膜瘤の長軸方向の長さと同程度である。延髄や第四脳室の逸脱が全く見られず、頸髄のみが下方偏位を示すようなごく軽度の変化の場合もあり、これは腰仙部の脊髄髄膜瘤にのみ見られる。

d. 半脊髄瘤(hemimyelocele)

これは後述するdiastematomyeliaで見られるもので、分割された脊髄の半側のみに脊髄瘤があるものをいう。

e. 背側皮膚洞(dorsal dermal sinus) (図3)

先天性皮膚洞は上皮で覆われた導管であり、皮膚と脊髄または髄膜を連絡している。通常は直径10 mm以下の細い管状構造であり、壁は皮膚組織と膠原線維で成っている。脊髄クモ膜下腔とは、脳脊髄液を介して交通している。本症は、神経外胚葉と皮膚外胚葉との分離が不完全であるために起るものである。出現部位は腰仙部に最も多く、次いで後頭部、胸椎部の順に見られる⁶⁾。開口部は剛毛または血管腫に覆われた皮膚の小さな陥凹として見られる。後述する係留脊髄、脊髄脂肪腫を伴うことがある。

症例の半数以上の例で、洞は脊柱管内に入り込み、髄膜、あるいは脊髄実質に移行する。また、終糸、神経根に終る例もあるという⁷⁾。CT、MRIでは脊柱管外の皮膚導管は描出できるが、クモ膜下腔の構造については同定困難である。CT myelographyでは、当該部が陰影欠損となって描出される。鑑別を要するものに、仙骨部毛髪嚢胞(sacral <pilonidal> sinus)がある。毛髪嚢胞は皮膚洞とはほぼ同じであるが常に肛門に近く低位にあり、脊柱管とは交通せず無症候性である。

f. 脊髄脂肪腫(spinal lipoma) (図4)

正常例にみられる硬膜外脂肪組織とは異なる脂肪腫が、脊髄奇形と合併して現れることがある。これを脊髄脂肪腫(spinal lipoma)と総称し、1) 脂

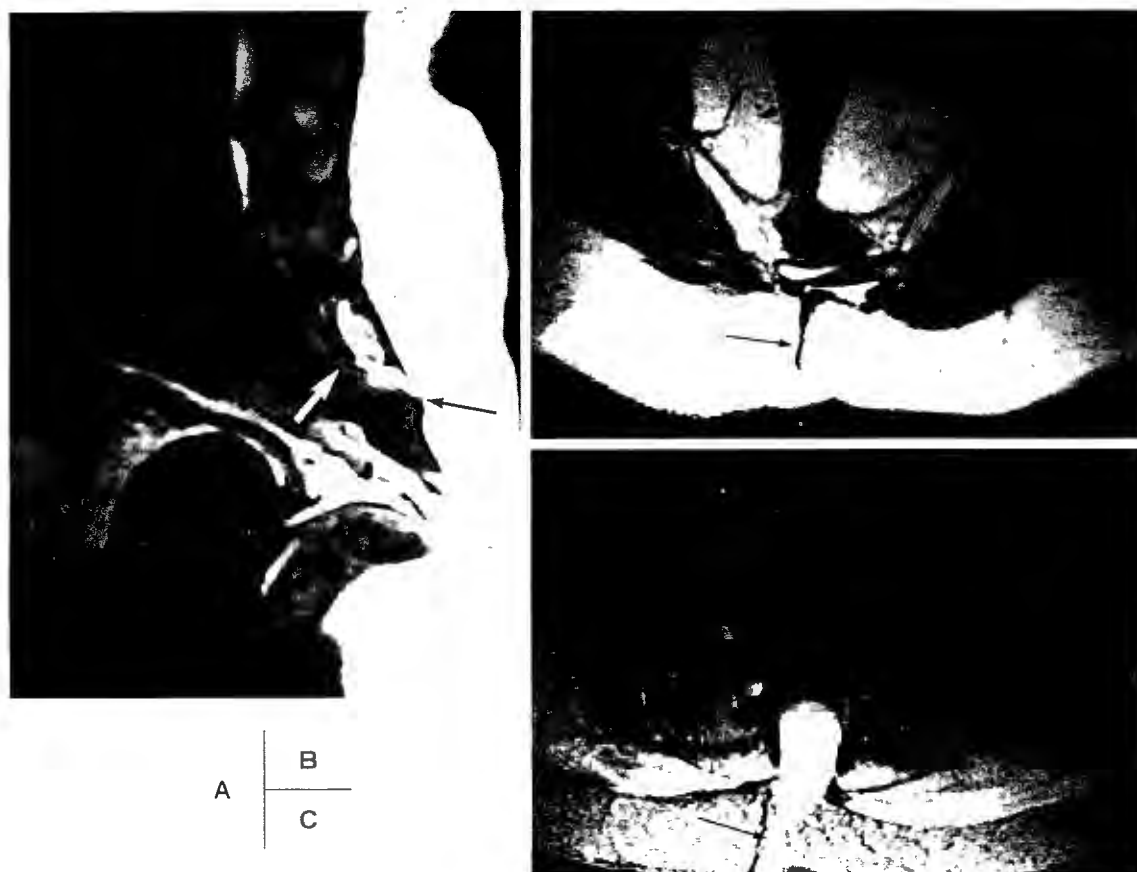


図3 32歳, 女性 背側皮膚洞 A: MRI, T1 強調矢状断像(SE 500/15) 下位仙椎レベル背側では脊椎癒合不全があり, 欠損部からテント状に硬膜が突出している(→)。また, 脊髄は係留されている(→)。この断面では皮膚洞としては捉えられない。 B: T1 強調横断断像 前記欠損部から皮下脂肪内にかけて斜めに走る皮膚洞が見られる(→)。当該部皮膚はやや陥凹している。 C: T2 強調横断断像(SE 2500/90) 皮膚洞は高信号を呈しており(→), 内容が液状であることを示唆している。

肪脊髄(髄膜)瘤(lipomyelo- <meningo- > cele), 2) 硬膜内脂肪腫(intradural subpial lipoma), 3) 終糸線維脂肪腫(fibrolipoma of the filum terminale)の3種に分類する。このうち1)が最も多い。1), 2)の脊髄脂肪腫の成因としては, 神経外胚葉と皮膚外胚葉との早期分離が考えられている。すなわち, これら外胚葉の分離が早過ぎると, いまだ管形成の起っていない脊髄原基背側に間葉組織が入り込み, それが脂肪組織に分化し, 脂肪腫になるという⁸⁾。

1) は脂肪腫を伴った脊髄髄膜瘤であるので, 当然のことながら spina bifida aperta が存在する。本症は脊髄(髄膜)瘤に類似しているが, 脂肪腫が付着している点, 正常皮膚で覆われている点が異なる。腰仙部正中に皮膚で覆われた腫瘤を形成し, 血管腫など種々の皮膚異常を伴う。成因の類似性

から, 皮膚洞(dermal sinus)と共存することが多い。また, 脊髄は脂肪腫によって係留されている。背側部で硬膜の形成不全があり, ちょうど脊髄後根の背側で神経原基に付着している。神経原基背側部と脂肪腫は髄膜を介さず直接接することになる。脂肪脊髄瘤は髄膜瘤成分がほとんどない場合をいい, 脂肪脊髄髄膜瘤は髄膜瘤成分が大きいものをいう。脂肪腫自体の大きさはさまざまであり, それによって脊髄の変形も起ってくる。

2) 硬膜内脂肪腫は, 胸椎部に最も高頻度に見られる。本脂肪腫では脊髄背側に裂隙があり, それを埋めるように軟膜下に脂肪腫が存在するために, 脊髄背側部に位置していることが常である。硬膜内脂肪腫の場合にも, 潜在性二分脊椎を始めとして高頻度に種々の脊椎異常が見られる。3)に関しては次項で述べる。

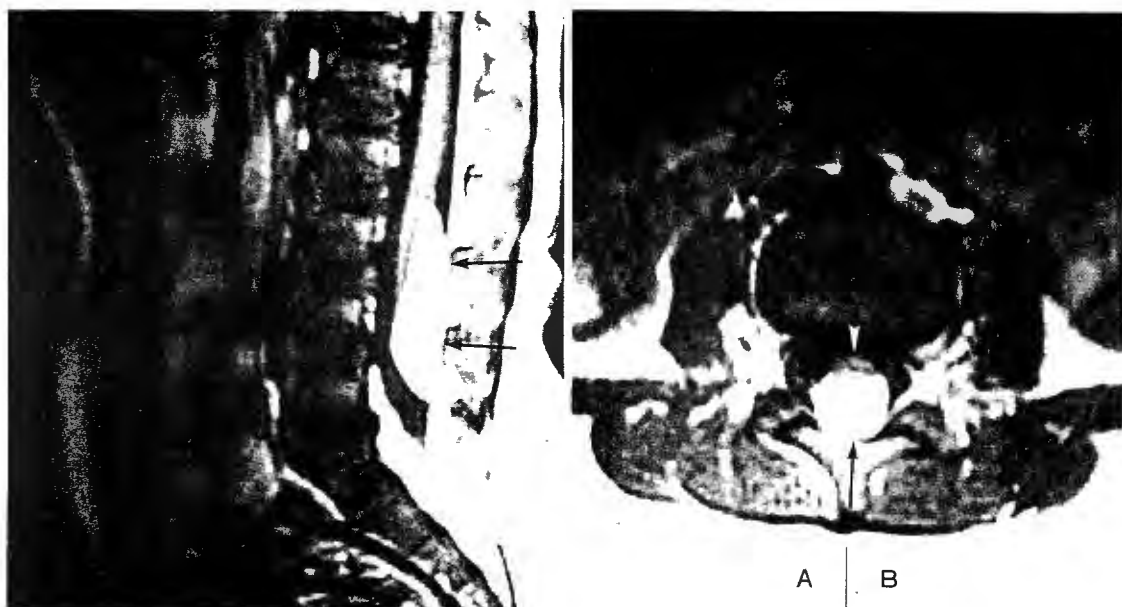


図4 1歳, 女児 脊髄脂肪腫 A: MRI, T1 強調矢状断像(SE 500/15) 脊柱管後方には脊髄に接し, 大きな脂肪腫が見られる(→)。 B: T1 強調横断像 脂肪腫(→)は扁平化した脊髄(脊髄原基, ▴)後面に接していることがわかる。

脊髄脂肪腫の診断には MRI が不可欠である。T1 強調像では脂肪腫が強い高信号領域として捉えられ, 脊髄, 終糸, 硬膜嚢との関係も明瞭に描出され, 神経根との関係も把握できる場合がある。

2) 管形成(canalization)と退行性分化(retrogressive differentiation)の異常

脊髄遠位部は管形成(canalization), 退行性分化(retrogressive differentiation)と呼ばれる過程を経て形成される。この際, 神経管末端部と脊索末端部とが癒合し, 細胞集簇塊を作る。この塊は伸長し, 内部に複数の空泡を持つようになり, やがてこの空泡が合体し中心管と連絡するようになる。これが管形成である。このようにしてできた脊髄遠位部の最頭側が脊髄円錐となる。脊髄円錐以下の部分は, 退行性分化と呼ばれる過程を経て終糸となる。管形成過程で脊髄円錐遠位部または終糸近位部に局所的な腔の拡張が見られることがあるが, これを終末室(terminal ventricle)と呼ぶ⁹⁾。

a. 係留脊髄(tethered cord) (図5)

脊髄下端は胎生早期には尾骨レベルまで存在するが, 脊髄下部の退行性分化と脊柱の発達により相対的に上昇し, 出生時には L_{2/3} レベルに位置する。生後数か月で正常成人の L_{1/2} レベルとなるのが

普通である。したがって, 小児でも脊髄円錐が L₃ より下方に位置する場合は, 係留脊髄を考慮しなければならない。

係留脊髄の発生学的説明としては, 仙椎部脊髄の退行性分化不全が挙げられる。正常では 32 体節部より尾側の神経管は退縮し, 終糸を形成するのであるが, 係留脊髄ではこの分化がうまくいかず, 仙椎自身も成長しない。係留脊髄に伴い脊椎異常も見られるが, そのうち潜在性二分脊椎はほとんどの症例で見られる。終糸は脂肪腫を伴うことが多い。症状は思春期成長期の骨格系の発達に伴って現れやすく, 患者は歩行障害, 膀胱機能低下, 下肢感覚障害, 背部痛などの症状を訴える。これらの症状は脊髄末端部の牽引による血流障害によるものと考えられている。

放射線診断上のポイントは, 脊髄円錐部の低位置の確認と随伴する骨構造異常, 髄膜異常の指摘である。MRI は脊髄円錐部の同定に不可欠であり, 特に T1 強調像が有用である。また, 矢状断像で脊髄円錐と馬尾の区別が困難な場合には横断像が有用である。外科的に係留を解除することによって症状の進行が抑えられ, しばしば臨床的な改善が得られる場合もある。



図5 25歳、女性 係留脊髄 A：MRI, T1強調矢状断像(SE 500/15) 脊髄は緊張性に伸展しており(→), 脊髄円錐と終糸との境界が画然としていない。末端では脂肪腫が付着している(→)。 B：T1強調横断像 脂肪腫の直上のレベル。脊柱管下方に位置する係留脊髄(→)が見られる。また、脊髄後方に見られる高信号域(▶)は正常の硬膜外脂肪である。

b. 終糸の線維性脂肪腫(fibrolipoma of the filum terminale)

本症は時に、正常例にも見られ、硬膜内または硬膜外の終糸に線維脂肪腫を伴ったものである。

c. 緊張性終糸症候群(tight filum terminale)

短く肥厚した終糸と低位置にある脊髄円錐が本症の特徴である。定義上は終糸は2mmを越える太さのもので、ほかに脊髄係留を起す原因のないものをいう¹⁰⁾。本症にはほとんど常に潜在性二分脊椎が合併しており、また、終糸の脂肪腫、嚢胞が見られることもある。

d. 脊髄嚢胞瘤(myelocystocele)

本症は、脊髄およびクモ膜下腔とともに拡張した中心管成分が二分脊椎の欠損部から逸脱している稀な奇形である。神経管は閉じており、正常皮膚が覆っている。脊髄はhydromyeliaを呈しており、末端部ではhydromyeliaが拡張し、内腔を上皮細胞で覆われた(髄膜瘤とは非交通性の)嚢胞を形成している。

e. 馬尾退行症候群(syndrome of caudal regression)と仙椎形成不全(sacral agenesis) (図6)

管形成や退行性分化が不完全であったり、退行が過剰であると、腰仙椎の部分的あるいは広汎な欠損が起る。馬尾退行症候群は胸腰仙椎の部分的欠損に後腹膜腔臓器(鎖肛など)、泌尿生殖器の形成異常を伴う一連の症候群である。仙椎形成不全は腰椎から仙骨部までの種々の程度の形成不全と種々の関節形成により4型に分けられるが、ここではその詳細には触れない。脊柱管は狭小化して最下端の椎骨上で終り、脊髄は遠部位で途絶するようにして、あるいは丸みを帯びて終る。半数では、脊髄の(前角細胞を含めた)腹側部の形成がより強く侵される。殿筋など周囲の筋肉も低形成である。

f. 前方仙椎髄膜瘤(anterior sacral meningocele) (図7)

前方仙椎髄膜瘤は、脳脊髄液で満たされたクモ膜および硬膜の憩室である。骨盤腔中へ仙椎、尾骨の局所的欠損を通してヘルニア嚢が骨盤腔に突出する。このため便秘を主症状とすることが多く、

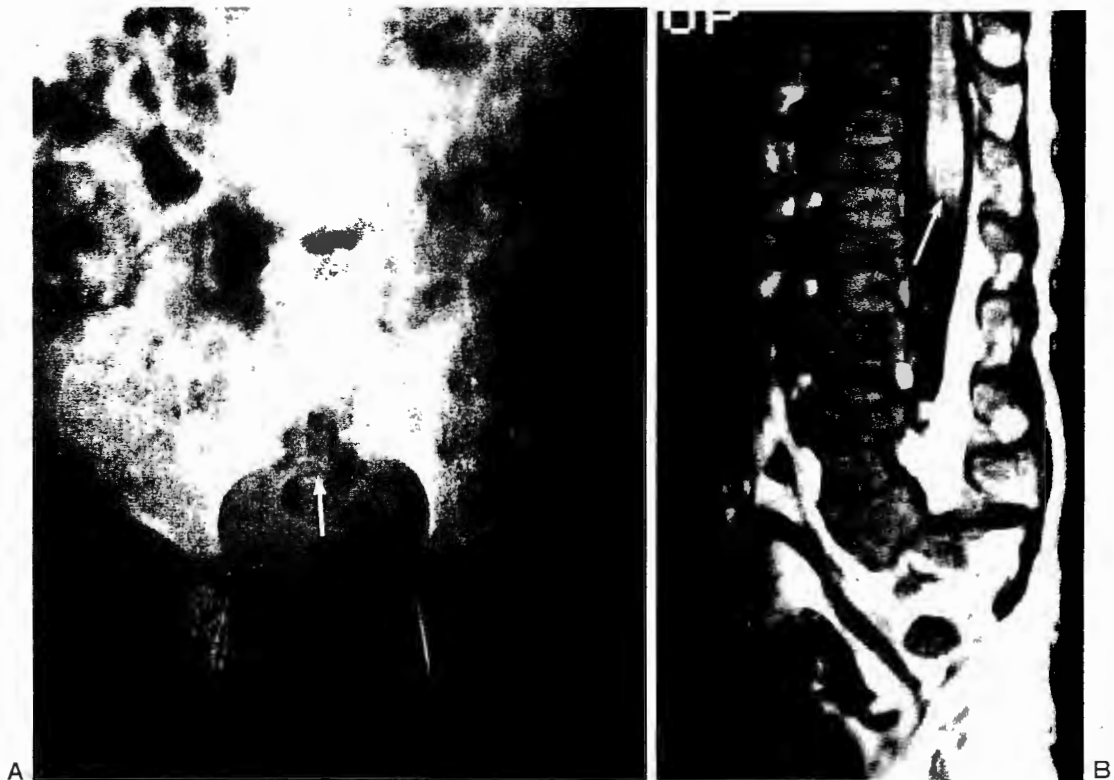


図6 生直後，女児 仙椎無形成を伴った馬尾退行症候群 A：単純X線正面像 仙椎の形成が全く見られない(→)。 B：MRI, T1 強調矢状断像(SE 500/15) 脊髓は腰椎高位で途絶し，腹側部の形成が不良である(→)。馬尾の形成はきわめて貧弱である。

そのほか月経不順，尿失禁，頭痛などを起す。頭痛は立位時に髄液が嚢内を充満することによる低圧性頭痛である。骨盤内腫瘍を不注意に穿刺することにより，髄膜炎を来すことがある。本症は単独で，または神経線維腫症1型，Marfan 症候群の一症候として見られる。脊髓自身は低位置にあり，係留，脊髓脂肪腫，dermoid がみられることがある。瘤の大きさはさまざまで単房性，多房性ともに起りうる。瘤内には神経根が見られることもある。

3) 脊索の異常

a. 分割脊索症候群(split notochord syndrome)

本症は腸管から背部皮膚に通ずる脊索管(notochordal canal <Kovalevsky 管>)，または脊索副管の退行不全に起因すると考えられる脊索の分離あるいは偏在を来す一連の疾患群である。著明なものでは腸管膜から椎前組織，脊椎，脊柱管，髄膜，脊髓，椎弓，棘突起を貫いて，裂開した皮膚に至る腸管瘻(enteric fistula)による連絡が見られる。背部最終端部は最終的には閉じてしまい，憩室，嚢，線維性索状構造物，あるいは洞形成が前

記の種々の部位に部分的に残存しうる。また，体軸方向でも頸部から尾骨のいかなるレベルにも起りうる。

脊椎の異常としては蝶形脊椎(butterfly vertebrae)，半脊椎(hemivertebra)，脊椎癒合症(block vertebra)，脊椎離開症，前方，後方二分脊椎などの骨異常がみられる。そのほか，腸管嚢(enterocele)が脊椎，脊椎周囲，脊柱管内に見られ，特に脊柱管内に遺残する腸管嚢を神経腸管嚢(neurenteric cyst)といい，頸胸椎移行部に好発する。神経腸管嚢は蝶形脊椎などを介して縦隔や腹腔内の嚢胞と交通したり，索状物により連続する場合もある。

b. 分裂脊髓症，割髄症(diastematomyelia)

(図8)

分裂脊髓症は脊髓(または終糸)が脊柱管内で骨棘や線維性中隔下部などによって局所的に二分された状態をいう。女性に多く，胸椎から上部腰椎にかけて見られることが多い。随伴する脊髓・脊椎奇形としては，脂肪腫，(脊髓)髄膜瘤，係留脊髓，皮膚洞，脊柱側弯症が挙げられ，背部皮膚に

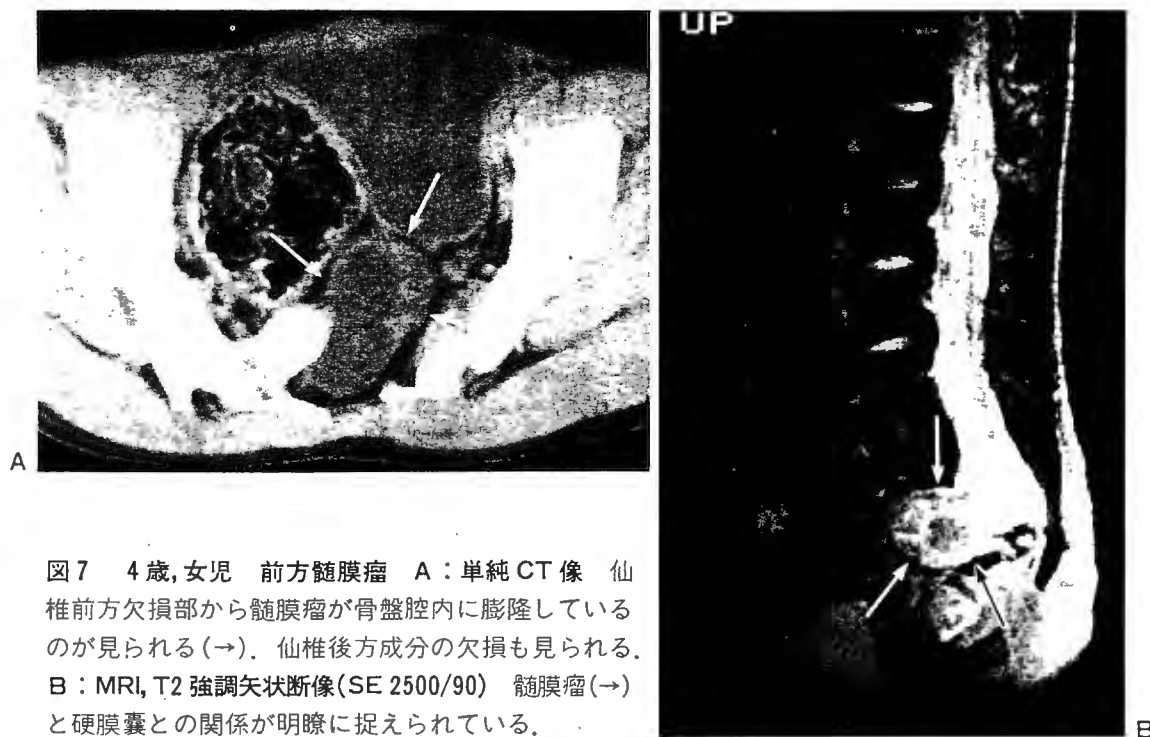


図7 4歳, 女児 前方髄膜瘤 A: 単純CT像 仙椎前方欠損部から髄膜瘤が骨盤腔内に膨隆しているのが見られる(→)。仙椎後方成分の欠損も見られる。B: MRI, T2強調矢状断像(SE 2500/90) 髄膜瘤(→)と硬膜嚢との関係が明瞭に捉えられている。

毛髪の生えた血管腫があることが多い。

本症の発生学的説明としていくつかの仮説が挙げられているが、そのうち Bremer の“persistent accessory neurenteric canal” 理論¹¹⁾が受け入れられやすい。この説によれば、脊索が完成する胎生5週までに正常の神経腸管瘻(neurenteric canal)は退行消失する。この神経腸管瘻と同類の連絡管(accessory neurenteric canal)が羊膜腔と卵黄嚢との間に形成されるが、これが退行消失しないで残存すると脊髄正中離開症を来す。

本疾患は二型に分類される。半数例では単一のクモ膜腔内に二分した脊髄がある型であり、残りの半数ではクモ膜下腔、硬膜下腔も骨棘や線維性中隔下部などによって二分されて、その内部におのおの分裂脊髄が存在する型である。単純X線写真やCTで放射線診断上のポイントは脊柱管内に存在する骨性棘を見出すことであるが、この骨棘がないことも多いので注意が必要である¹²⁾。骨棘が存在する場合には中隔の尾側端にあることが多い。MRIでは脊髄の離開が直接観察できる。また、分裂部上位の脊髄にはしばしば hydromyelia が存在する。

4) 成因不明の異常

a. 単純性髄膜瘤(simple meningocele)

本症は硬膜、クモ膜、クモ膜下腔が背部皮下に

突出した髄膜瘤である。被覆する皮膚は原則として正常であり、瘤内に神経根は含まない。脊髄円錐は正常位または低位にある。神経根や終糸はヘルニア嚢内に見られることもある。骨構造の異常を呈することは少ないが、棘突起の欠損、二分脊椎が見られることがある。

b. 側方髄膜瘤(lateral meningocele) (図9)

本症は、神経線維腫症に伴うものが最も多い。瘤は椎間孔からクモ膜、硬膜が憩室様に突出したものであり、胸膜外、傍脊椎溝に位置する。通常は胸椎上部(Th_{5/6})、側弯凸側(通常右)に見られる。当然のことながら、椎間孔は拡大している。また、脊柱管も拡大し、椎弓、椎体の凹凸が見られる。腰部の側方髄膜瘤は稀とされている。

5) 脊髄空洞症(syringomyelia) (図10)

脊髄空洞症は、厳密には脊髄中心管とは別の嚢胞性(通常は軸方向に長い)構造を有する状態を指す。しかし、画像診断上は空洞症と中心管拡大を意味する hydromyelia とを鑑別するのはほとんど不可能であるので、ここでは特殊な場合を除いて両者を区別しないで記載する。また、空洞症が下部脳幹に見られる場合を syringobulbia と称する。脊髄は全体として正常、腫大、萎縮のいずれの形態をもとりうる。本症は独立した疾患単位ではな

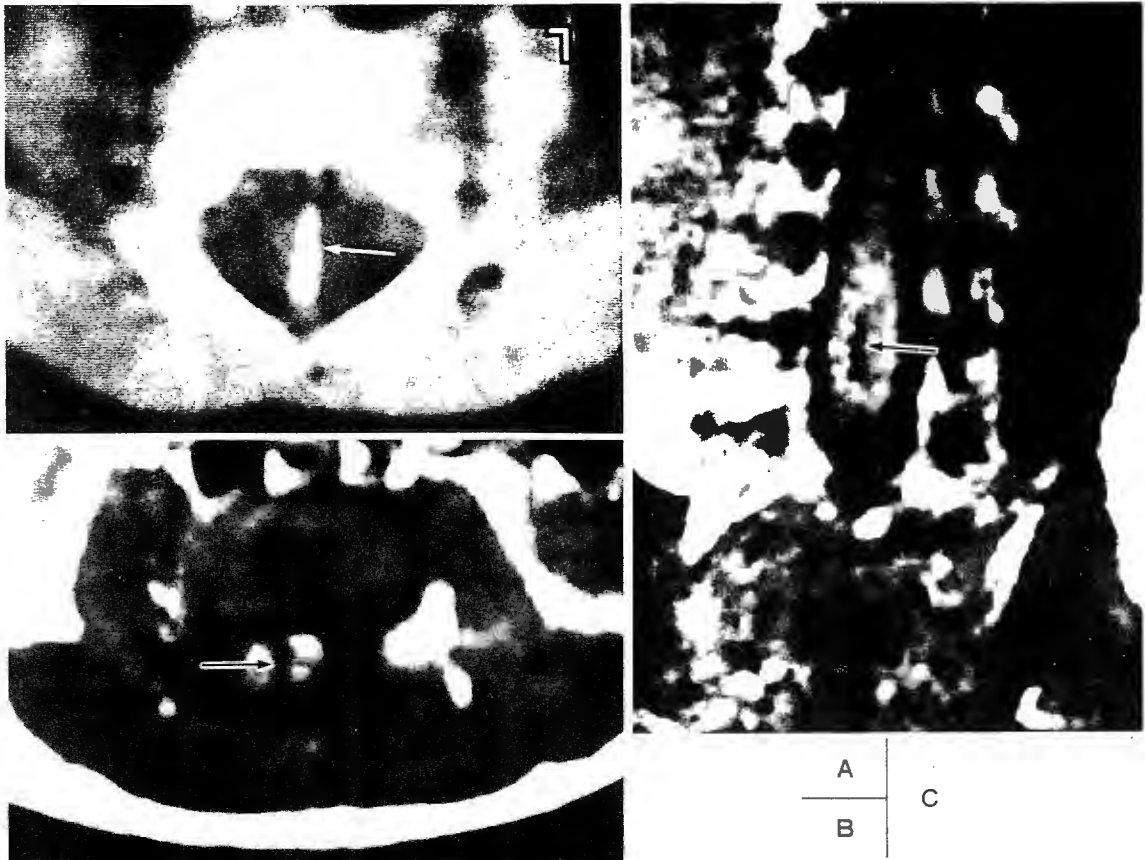


図8 生直後，女児 diastematomyelia A：単純CT像 脊柱管のほぼ正中部に骨性の棘状構造(→)が認められ，脊髓を矢状方向に分割している印象を与える． B：MRI，T1強調横断像(SE 500/15) L_{4/5}レベル．係留された脊髓は正中部で分割されていることがわかる(→)． C：T1強調冠状断像 脊髓が正中部で分割されているのが明瞭である(→)．



図9 26歳，女性 neurofibromatosis type 1に伴う側方髄膜瘤 A：MRI，T1強調冠状断像(SE 1000/15) 強い側弯症があり，右椎間孔から膨隆した巨大な髄膜瘤が見られる． B：T1強調横断断像 瘤は右肺を圧迫し，瘤に接する肺は圧迫性無気肺に陥っている(→)．瘤内に神経組織は見られず，脊髓は脊柱管内におさまっている．

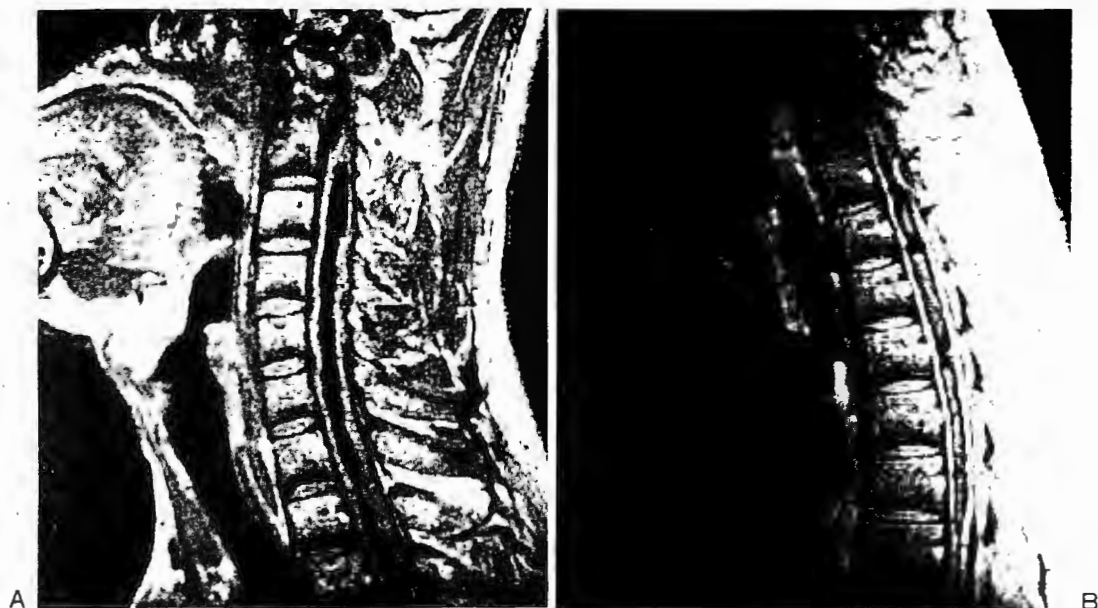


図10 28歳，男性 Chiari I型奇形に伴った脊髓空洞症 A：MRI，T1 強調矢状断像(SE 1300/20) B：造影 T1 強調像 空洞の範囲は広く，頸髄(A)から胸髄(B)にわたっている。このような場合も含めて，脊髓腫瘍に伴う空洞との鑑別が必要である。

く，先天性，外傷性，炎症性，腫瘍に伴うものなどさまざまであり，先天性の脊髓空洞症は前述のように種々の脊髓・脊椎の先天奇形に伴う。

a. 空洞形成の機序

空洞の成因に関するメカニズムには，以下の諸説がある。

① Gardner 説

胎生期の第四脳室出口の形成不全のために，水頭症と脊髓中心管の拡大 hydromyelia が起る。水頭症の結果，小脳，脳幹の下方偏位が起り，Chiari 奇形を来す。hydromyelia は中心管上衣層の破綻により空洞症となる。

② Williams 説

Chiari I 型奇形などの大後頭孔部狭窄がある場合には，同部クモ膜下腔の髄液の流れが障害されて頭蓋内と脊柱管内圧に圧較差を生じ，脳室系から中心管内に髄液の流入が起る。逆に，脊柱管内静脈圧によって脊髓クモ膜下腔の圧が高まった場合には，大後頭孔の狭窄により (check-valve メカニズムで) 髄液が頭蓋内脳室に還流しにくいために空洞を形成する。①，②は交通性脊髓空洞症を，なかでも②は水頭症のない例を説明できる。

③ Aboulker 説

通常，非交通性である成人の空洞症も説明でき

る。先天性あるいは後天性によって生じた大後頭孔の狭窄により，髄内毛細管からも産生される脊柱管内の髄液は停滞し，髄内に染み込んでいく。一方では，硬膜外からの静脈圧によって脊髓クモ膜下腔の圧が高まり，また他方では，大後頭孔の狭窄により脳脊髄液が頭蓋内に還流しにくく，脊髓実質と髄外の脳脊髄液との圧較差が大きくなる。したがって，脳脊髄液は髄内の細胞外腔へさらに侵入し，慢性的な浮腫を来す。髄液は主に脊髓の後外側の後根の entry zone より後角に沿って侵入し，脊髓内にできた小間隙が融合して空洞を形成する。

④ Ball and Dayan 説

基本的には③と同一であるが，拡張した Virchow-Robin spaces が脊髓内への髄液の侵入に大きな役割を果たしている。外傷，クモ膜炎，腫瘍などのクモ膜下腔のブロックの際に起る空洞症の説明に都合がよい。

b. 脊髓空洞症の分類とその概説

Barnett らは，脊髓空洞症をその原因により，1) 交通性 (communicating：第四脳室と脊髓中心管の交通があるもの)，2) 特発性 (idiopathic)，3) 外傷後 (posttraumatic)，4) クモ膜炎後 (postarachnoiditis)，5) 腫瘍性 (tumoral)，の 5 型に分類して

いる。

① 交通性空洞症 (communicating syringomyelia)

脊髓空洞症の大半(60~90%)が交通性といわれ、Chiari 奇形、頭蓋脊椎移行部の骨奇形に合併して起る。Chiari 奇形の半数以上に脊髓空洞症が見られる。Chiari I 型奇形では頸部脊柱管内への小脳扁桃および下部脳幹の下垂を来すが(第四脳室の下垂はなく)、成人にみられ、Chiari II 型のように脊髓膜瘤を伴うことはない(図 10)。軽度ないし中程度の水頭症のほか、しばしば頭蓋脊椎移行部の骨奇形(頭蓋底陥入、C₁ assimilation, Klippel-Feil 病、C₁ ring の骨形成不全など)を合併する。

脊髓空洞症の MRI 所見としては、髄内の嚢胞性構造とともに脊髓の信号強度の変化が挙げられる。空洞に接する(特に空洞上下端の)脊髓神経組織の変性(myelomalacia)については十分な知見が得られていないが、gliosis が主体であると考えられている。空洞は通常、脊髓背側部に位置し、単房性であることも多房性であることもある。多くの場合、空洞の存在、範囲の診断には MRI、T1 強調像のみでよい。空洞は T1 強調像で脊髓よりも低信号として見られるが、myelomalacia 部分との鑑別が困難であることがあり、そのような場合にはスピン密度強調像が有用である。T2 強調像では空洞、脊髓変性のほかに空洞内髄液の“流動性”を観察できることがある。空洞内髄液に流動性が強い場合には、その信号強度は周囲クモ膜下腔の髄液よりも低信号になる。この“流動性”については、gradient(field)echo 法による cine MRI を用い、空洞内の状態をダイナミックに捉えることができる。腫瘍に伴う空洞症を除外するために造影剤投与後の T1 強調像が必要な場合がある。

CT では脊髓造影を施行した後の経時的变化を捉えることが肝要で、嚢胞性構造内に造影剤貯留が見られれば空洞症が確認できる。ただし、造影剤貯留があっても腫瘍性空洞症の可能性を否定できず、また造影剤が嚢胞内に見られなくても空洞症を否定することはできない。

② 特発性空洞症 (idiopathic syringomyelia)

種々の奇形、外傷、感染症、腫瘍などの原因が特定できない空洞症であるが、画像所見は交通性

空洞症と異なる点はない。特に造影 T1 強調像によって小さな脊髓腫瘍を除外しなければならない。

③ 外傷後空洞症 (posttraumatic syringomyelia)

胸椎、腰椎部の外傷後に比較的多い、稀な遅発性の(受傷 1~15 年後に出現)合併症で、外傷が高度なほど発現が早い。進行性背部痛、またはくしゃみ、体動に伴う突然の背部痛で発症し、受傷部の上位の解離性知覚障害、運動障害の悪化などを来す。

外傷後空洞症の発生に二つの機序が考えられている。1) 受傷時の血管損傷による myelomalacia が壊死巣の清掃過程を経て空洞化し、それが上下に広がる。外傷部の中心管後方で、受傷時に動脈性および静脈性虚血に陥りやすい後角基部に好発し、受傷数か月で形成される。2) 水力学的機転による空洞形成が別の考え方である。対麻痺の患者などで、体動時の努力の度に繰り返される Valsalva maneuver によって脊柱管内圧が上昇し、空洞形成が促進される。外傷部位の線維化、癒着性クモ膜炎によって尾側には内圧上昇がブロックされるため、受傷部の頭側に空洞が進展しやすいといわれる。MRI や CT myelography によって外傷による骨変化、myelomalacia、空洞形成が描出される。ただし、CT myelography では、完全な空洞となっていない myelomalacia の部分にも造影剤貯留が見られる場合もあるといわれる。

④ クモ膜炎後空洞症 (postarachnoiditis syringomyelia)

クモ膜下出血、髄膜炎、結核性脊椎炎、外傷、手術、(特に油性造影剤による)脊髓造影などによるクモ膜炎や特発性のクモ膜炎に脊髓空洞症が起る。クモ膜下腔には癒着による髄液循環障害と、それによる水力学的機転によって空洞が形成される。空洞はクモ膜炎を来した部位よりも尾側に起る。クモ膜炎そのものを MRI で評価するのは難しい。嚢胞形成による脊髓への圧迫、脊髓のクモ膜・硬膜への不規則な癒着による脊髓の変形、神経根の走行の乱れが評価できる可能性はある。CT myelography では、馬尾神経や神経根の走行の乱れ、単房、多房性のクモ膜下腔の嚢胞が明瞭に描出される。

⑤ 腫瘍性空洞症(tumoral syringomyelia)

すべての脊髄腫瘍に空洞症が合併しうが、特に下部頸椎～上部胸椎を中心とする髄内腫瘍に多い。脊髄上衣腫では半数近くに空洞症がみられ、glioma では頻度は低くなる。血管芽腫でも高頻度に(約 50%)空洞症を認める。転移性腫瘍、硬膜内髄外腫瘍、硬膜外腫瘍でも例外的に空洞症が見られることが報告されている。腫瘍内部の壊死に起因する腫瘍嚢胞はしばしば脊髄前角域にみられ、内容液は高蛋白濃度で、壁に腫瘍成分や壁在結節がみられる。通常の空洞は脊髄背側部に起る。その大部分は腫瘍の頭側に形成されて頸髄に見られることが多いが、時に尾側にも進展して脊髄全体に及ぶこともある。

CT では腫瘍嚢胞は脊髄実質と等吸収に近く、CT myelography でも造影剤貯留が見られない。

腫瘍嚢胞は内容液に拍動性がないため、MRI, T2 強調像では空洞に比較してより高信号に見られるという。造影 T1 強調像では腫瘍の充実成分が描出されることが多いので、原因の明らかでない空洞症では造影 T1 強調像の撮像を考慮する必要がある。

おわりに

以上、広いスペクトルにわたる脊髄・脊椎の先天奇形について、現時点で考えられている発生学的機序に基づく分類に沿った概説を行い、MRI 画像を中心に代表的な症例を呈示した。今後の研究によって、さらにこれらの疾患の概念が変遷してくる可能性があるが、技術的進歩の著しい MRI などの画像診断がこれに大きく寄与することが期待される。

■文献

- 1) Naidich T, Zimmerman R, McLone D, et al : Congenital malformation of the spine and spinal cord. In Manelfe C (ed) : Imaging of the spine and spinal cord, Raven Press, New York, p.621-703, 1992.
- 2) Langman J : Medical embryology. 4th ed, Williams & Wilkins, Baltimore, London, 1981.
- 3) Friede, RL : Developmental neuropathology. Springer-Verlag, New York, 1975.
- 4) Friede RL : Developmental neuropathology. Springer-Verlag, New York, 1975.
- 5) Enzmann DR, DeLaPaz RL, Rubin JB : Magnetic resonance of the spine. CV Mosby, St Louis, 1990.
- 6) Wright RL : Congenital dermal sinuses. Prog Neurol Surg 4 : 175-192, 1971.
- 7) Schwarz HG : Congenital tumors of the spinal cord in infants. Ann Surg 136 : 183-192, 1952.
- 8) Naidich TP, Fernbach SK, McLone DG, et al : Sonography of the caudal spine and back : congenital anomalies in children. AJNR 5 : 221-234, 1984.
- 9) Kernohan JW : The ventriculus terminalis : its growth and development. J Comparative Neurology 38 : 107-125, 1924.
- 10) Grrysperdt GL : Myelographic assessment of occult forms of spinal dysraphism. Acta Radiol (Diagn) 1 : 702-717, 1963.
- 11) Bremer JL : Dorsal intestinal fistula : Accessory neurenteric canal : diastematomyelia. Arch

Pathol 54 : 132-138, 1940.

- 12) Kurihara N, Takahashi S, Ogawa A : CT and MR findings in diastematomyelia, with embryogenetic consideration. Radiation Medicine 10 : 73-77, 1992.

Summary

Imaging of Congenital Malformations of the Spine and Spinal Cord

Ko Matsumoto*, Shoki Takahashi*, Noriko Kurihara*

Imaging of congenital malformations of the spine and spinal cord is discussed with special reference to their causative embryogenesis. Those malformations are classified into four major categories, i. e., disorders of 1) neurulation, 2) canalization and retrogressive differentiation, 3) notochord formation and 4) unknown causes. Syringomyelia was treated as a separate category. Images of nine representative malformations seen at the authors' institute are presented. It is stressed that embryogenetic knowledge helps radiologists better understand MR and CT images of congenital anomalies of the spine and spinal cord.

* Department of Radiology, Tohoku University School of Medicine

症例報告

非ケトーシス型高グリシン血症の頭部 MR imaging 新生児期発症の2例

三井英明¹⁾ 高橋昭喜¹⁾ 日向野修一¹⁾ 松本恒¹⁾ 島貫義久¹⁾ 石橋忠司¹⁾ 坂本澄彦¹⁾ 多田啓也²⁾

1) 東北大学医学部放射線科 2) 同小児科

MR Imaging Findings of Nonketotic Hyperglycinemia 2 Cases of Neonatal Onset

Hideaki Mitsui¹⁾, Shyoki Takahashi¹⁾, Shyuichi Higano¹⁾, Ko Matsumoto¹⁾, Yoshihisa Shimanuki¹⁾, Chuji Ishibashi¹⁾,
Kiyohiko Sakamoto¹⁾ and Keiya Tada²⁾

Department of Radiology¹⁾, and Pediatrics²⁾, Tohoku University School of Medicine

Key words : *Non-ketotic hyper-glycinemia, Delayed myelination, Hypoplasia of corpus callosum, MR imaging* Research Code No. : 209. 2

Received Mar. 15, 1993 ; revision accepted Jan. 11, 1994

Summary

We presented MR (magnetic resonance) images findings of the brain in nonketotic hyperglycinemia (NKH) from 2 patients of neonatal onset. MR finding in our cases of NKH are compatible with the pathological alterations described in the literature ; MR images revealed delayed myelination of the cerebral white matter and hypoplasia of the corpus callosum. The latter finding particularly seemed to be relatively characteristic to NKH. MR examination is the imaging modality of choice for this disease because it can demonstrate the degree of myelination, and development of the corpus callosum particularly on sagittal section.

[症例1] K. S. 男児

1985年10月6日、妊娠40週正常分娩で出生した。出生時より哺乳力が悪く、血清と髄液中のグリシンが著明な高値を示した。当院小児科での肝生検でグリシン開裂酵素活性がなく、本症と確定した。3歳時の頭部CTでは軽度の脳萎縮を認めた。同時期の頭部MRIでは脳萎縮に加えT2強調横断像で両側側脳室周囲の白質が高信号を示し、髄鞘化の遅延が疑われた。(Fig. 1 A, B, C) T1強調矢状断像では脳梁がとくに体部から膨大部にかけ年齢(3歳)に比べ菲薄化し、低形成と考えられた。(Fig. 1D)その後痙攣、呼吸障害が出現し1990年4月15日(4歳6カ月)急性呼吸不全で死亡した。

[症例2] N. T. 男児

1988年7月3日、妊娠37週で双胎の第一子として出生した。出生時より活動性の低下、低緊張、呼吸障害が出現し、脳波異常(suppression-burst pattern)を示した。血清、髄液および尿中グリシンが著明に高く本症が疑われた。2カ月後より痙攣も出現し、翌年

2月(生後8カ月)に当院小児科に転入院した。生後8カ月の頭部MRI 2強調横断像で脳幹、中小脳脚、内包後脚、視床後外側域、放線冠、中心前回、中心後回等の髄鞘化の遅延が認められ、生後3カ月未満程度であった。また、軽度に脳萎縮も認められた。この症例でもT1強調矢状断像にて、脳梁の体部、膨大部に低形成を認めた。肝生検でNKHと確定し、同年4月(生後10カ月)に前医に再転院した。(なお本患者の兄および双子の第二子も同様な症状で死亡した。)

考察

高グリシン血症は有機酸代謝異常に続発するケトーシス型と、常染色体劣性遺伝の原発性非ケトーシス型(non-ketotic hyperglycinemia : NKH)に分けられる^{1)~3)}。NKHは肝および脳ミトコンドリア内のグリシン開裂系酵素の欠損が原因で⁴⁾⁵⁾、血中、尿中、髄液中のグリシンが著明に高く、痙攣、無呼吸発作、筋力低下、意識障害等の中枢神経症状や、重度の精神運動発達障害をきたす先天代謝異常症である。本報告の2例のMRIでは髄鞘化の遅延と脳梁の低形成が認めら

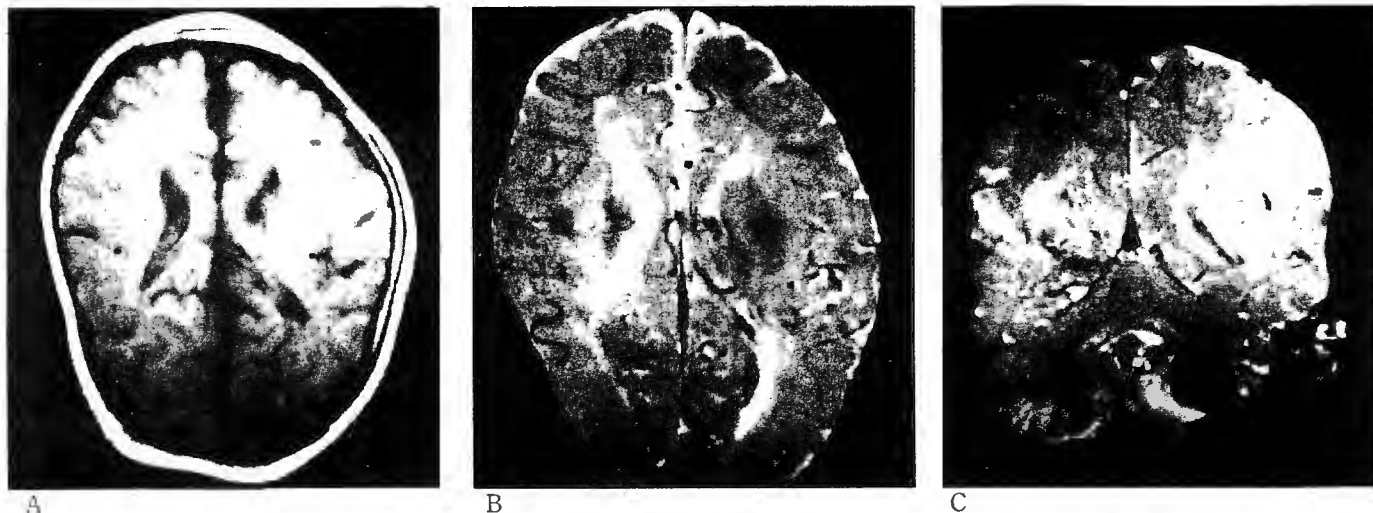
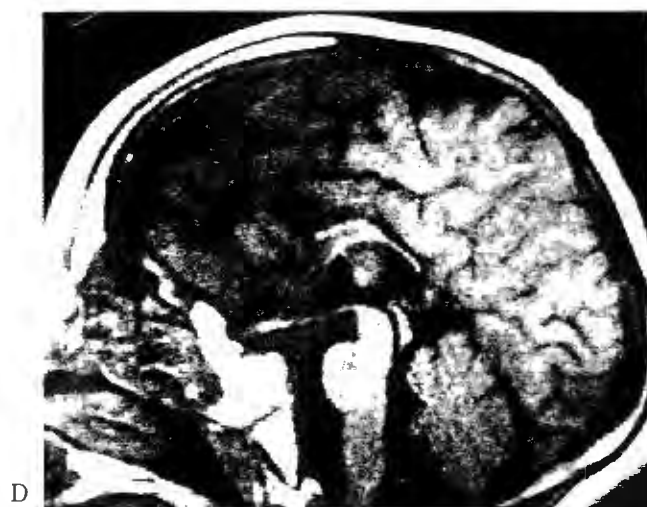


Fig. MR images of Case 1 obtained at 3 years of age.
 A; Axial T1-weighted MR image (TR/TE: 2500/20 msec.) shows cerebral atrophy for the patient's age (3y. o.).
 B; Axial T2-weighted MR image (500/90) shows cerebral atrophy and increased signal intensity of the deep white matter suggesting delayed myelination. However, the decreased signal intensity within the subcortical white matter reflects normal progression of myelination.
 C; Coronal T2-weighted MR image (2500/90). While cerebellar white matter appears hypointense indicating normal myelination, parietooccipital white matter appear to be hyperintense.
 D; Sagittal T1-weighted MR image (500/20) shows that the entire corpus callosum is abnormally thin.



れた。NKHのMRIは、Pressら⁶⁾による報告があるにすぎないが、我々の症例もほぼ同様であった。本症の病理報告としても、左右対称性の脳白質量の低下、海綿様変化を伴った髄鞘化の遅延、脳梁の低形成^{7),8)}などがあり本報告の2例のMRIはこれらと合致して

いた。NKHの確定は生検酵素診断だが、MRI T2強調像は髄鞘化の程度を信号強度に反映し、その評価に役立つ。また、脳梁の低形成は本症に比較的特徴的と考えられるが、MRI矢状断像でよく評価できる。以上よりMRIはNKHの補助診断に有用と考えられた。

References

- 1) Childs B, Nyhan WL: Idiopathic hyperglycemia and hyperglyciuria. *Pediatrics* 27: 522, 1961
- 2) Tada K, Hayasaka K: Nonketotic hyperglycemia: Clinical and biochemical aspects, *Eur J Pediatr* 146: 221, 1987
- 3) Tada K: Nonketotic hyperglycinemia: Clinical and metabolic aspects. *Enzyme* 38: 27, 1987
- 4) 多田啓也ほか: 非ケトーシス型高グリシン血症の兄弟例. *小児科* 33: 213-217, 1992
- 5) 多田啓也ほか: 非ケトーシス型高グリシン血症 (グ

リシン脳症) の病因究明と新しい診断法の開発. 前川喜平, 今村 栄 (編); *小児科の進歩* 11, 診断と治療社, pp 206-213, 1991

6) Gary A Press, et al: Abnormalities of the Brain in Nonketotic Hyperglycinemia: MR Manifestations. *AJNR* 10: 315-321, 1989

7) 多田啓也ほか: 遺伝性疾患高グリシン血症の病態解析と出生前診断への応用. *日本臨床* 41: 1865-1877, 1988

8) Schulman, R M et al: The neuropathology of nonketotic and ketotic hyperglycinemia. Three cases. *Neurology* 28: 1239, 1978

原 著

銀染色の中皮細胞同定への応用

宮城県立がんセンター¹⁾, 東北大学医学部放射線科²⁾

小室 邦子¹⁾ 小野寺博義¹⁾ 武田鐵太郎¹⁾ 大沼真喜子¹⁾
 村田 孝次¹⁾ 松田 堯¹⁾ 中村 克宏¹⁾ 立野 紘雄¹⁾
 佐藤 郁郎¹⁾ 山田 章吾²⁾

体腔液細胞診において、細胞集塊内の結合組織の存在が中皮細胞の同定に役立つと思われたので報告する。

対象は大腸癌症例の腹水 24 例。内訳は、細胞診陰性であった 16 例（術中採取 13 例，穿刺採取 3 例）と陽性の 8 例（術中採取 4 例，穿刺採取 4 例）である。形態的に中皮細胞と判定できる上皮様中皮細胞集塊 55 個と明らかな癌細胞集塊 87 個について、Papanicolaou 染色標本脱色後，銀染色を施行し細胞集塊内の線維性結合組織の有無を観察した。

中皮細胞集塊では，55 個中 37 個（67.3%）に線維性結合組織を認めた。術中採取に限らず穿刺採取でも高率に線維性結合組織を認めた。癌細胞集塊では，濃染のため判定不能な集塊が 32 個（36.8%）あったが，残りの集塊 55 個（63.2%）には，明らかな線維はみられなかった。また，いずれの集塊でも細胞集塊辺縁が黒く縁どりされたように染まるものが少数みられた。

癌細胞か中皮細胞か問題となるような異型細胞集塊の内部に線維性結合組織を認めるとき，中皮細胞である確率がきわめて高く，癌細胞との鑑別に応用できる所見と思われた。

Key words : Ascites—Silver stain—Mesothelial cells—Fiber connective tissue

I. はじめに

体腔液細胞診においては，Papanicolaou 染色

The availability of silver stain to distinguish mesothelial cells from adenocarcinoma cells in ascites

Kuniko KOMURO¹⁾, C.T., I.A.C., Hiroyoshi ONODERA¹⁾, M.D., Tetsutaro TAKEDA¹⁾, M.D., F.I.A.C., Makiko ONUMA¹⁾, C.T., C.M.I.A.C., Takatsugi MURATA¹⁾, C.T., I.A.C., Takashi MATSUDA¹⁾, M.D., Katsuhiko NAKAMURA¹⁾, M.D., Hiroo TATEN¹⁾, M.D., Ikuro SATO¹⁾, M.D., Shogo YAMADA²⁾, M.D.

¹⁾Miyagi Cancer Center

²⁾Department of Radiology, Tohoku University School of Medicine

論文別刷請求先 ☎ 981-12 宮城県名取市愛島塩手字野田山 47 の 1 宮城県立がんセンター 小室邦子

平成 5 年 12 月 1 日受付

平成 6 年 4 月 22 日受理

(Pap. 染色) や May-Gruenwald・Giemsa 染色 (M・G・G 染色) 標本の細胞形態からだけでは，中皮細胞と癌細胞の鑑別の困難な場合がある。細胞同定のために免疫細胞化学的方法など種々の試みがなされている¹⁻⁷⁾。今回，われわれは，銀染色で染まる線維性結合組織に着目し，中皮細胞と癌細胞の鑑別におけるその有用性を検討したので報告する。

II. 対象と方法

対象は宮城県立がんセンターで，1984 年 1 月から 1992 年 12 月までの間に経験した大腸癌症例のうち，Pap. 染色標本上に上皮細胞と類似の中皮細胞の集塊を認めたもの，および癌細胞陽性であった 24 例の腹水である。この 24 例の腹水のうち細胞診が陽性であったのは 8 例で，手術中に採取したものが 4 例，腹腔

表 1 対象とした大腸癌症例の腹水細胞診

採取方法	細胞診	
	陽性	陰性
術中採取 17例	4	13
穿刺採取 7例	4	3

表 2 中皮細胞集塊および癌細胞集塊における線維性結合組織の有無

集塊の細胞診断	線維性結合組織		
	集塊内にあり	なし	判定不能
中皮細胞集塊 (n=55)	37 (67.3%)	18 (32.7%)	0 (0%)
癌細胞集塊 (n=87)	0 (0%)	55 (63.2%)	32 (36.8%)

(χ^2 検定, $p<0.005$)

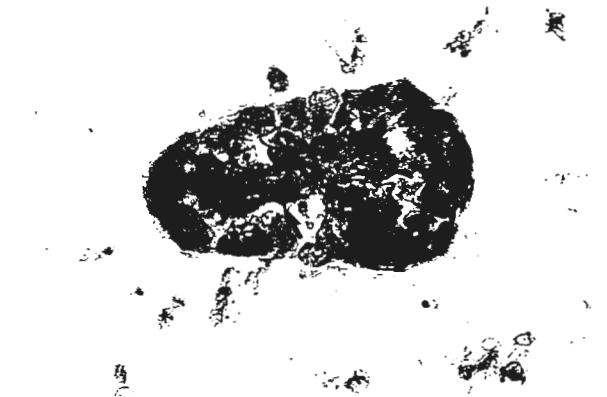


写真 1 印環細胞主体の低分化腺癌例の腹水に出現した中皮細胞集塊。集塊内に線維性結合組織を認める（術中採取。銀染色，対物 100 倍）

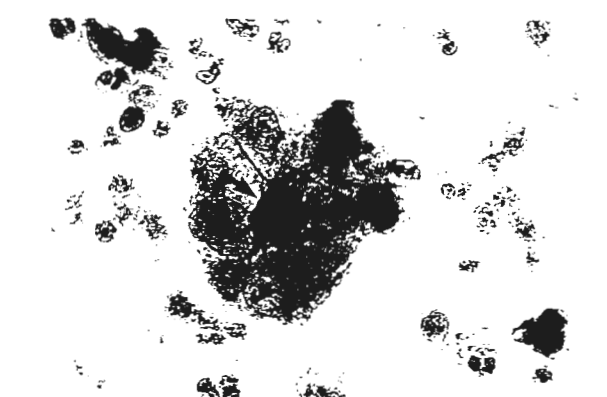


写真 2 中皮細胞集塊。集塊中央から四方に広がる線維を認める（穿刺採取。銀染色，対物 100 倍）



写真 3 集塊辺縁の一部濃染した縁取りを認める中皮細胞（術中採取。銀染色，対物 100 倍）

穿刺により採取したものが 4 例である。細胞診が陰性であったのは 16 例で、手術中に採取したものが 13 例、腹腔穿刺により採取したものが 3 例である（表 1）。

これらの症例の標本において、細胞診で明らかに中皮細胞と診断できる集塊 55 個および、明らかに癌細胞と診断できる集塊 87 個について、銀染色で染まる細胞集塊内の線維性結合組織の有無を観察した。なお、銀染色は、AgNORs の観察が主目的とされる

AgNORs 法を用いた。Pap. 染色標本の形態を観察後脱色し蒸留水で水洗，コロイド銀液で室温 60 分，水洗後 5% チオ硫酸ナトリウム溶液にて 5 分定着，流水水洗，脱水，透徹，封入した。

III. 結 果

観察の結果を表 2 に示した。細胞診で中皮細胞と診断した細胞集塊内に線維性結合組織を認めたのは、55 個中 37 個（67.3%）であった（写真 1, 2）。集塊内に線維性結合組織を認めなかった 18 個中 3 個では集塊辺縁の一部が黒く縁どりされて観察された（写真 3）。

細胞診で癌細胞と診断した細胞集塊では濃く染まりすぎたり，あるいは重積が著明で線維性結合組織の存在の有無を判定できない集塊が 87 個中 32 個（36.8%）みられた。しかし，残りの集塊 55 個では，集塊内に線維性結合組織は認められなかった（写真 4～6）。中皮細胞における頻度との間に有意差（ χ^2 検定, $p<0.005$ ）が認められた。

中皮細胞について採取方法別にみると，術中採取では 32 個中 19 個（59.4%），穿刺採取では 23 個中 18 個（78.2%）に線維性結合組織が観察され（表 3），採



写真 4 高分化腺癌例の腹水でみられた癌細胞集塊。重積が著しいが、微動ハンドルを動かして観察しても集塊中央に線維性結合組織は認めない（術中採取。銀染色，対物 20 倍）

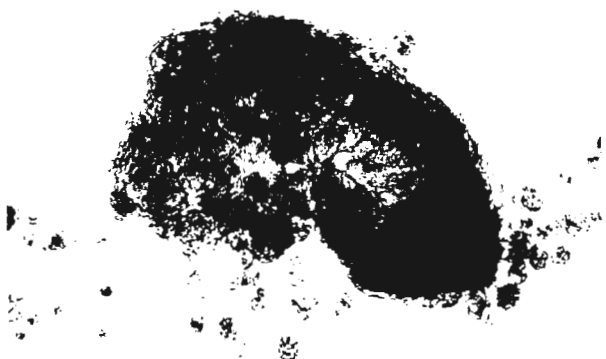


写真 5 中分化腺癌例の腹水にみられた癌細胞集塊。線維性結合組織は明らかでない（術中採取。銀染色，対物 40 倍）

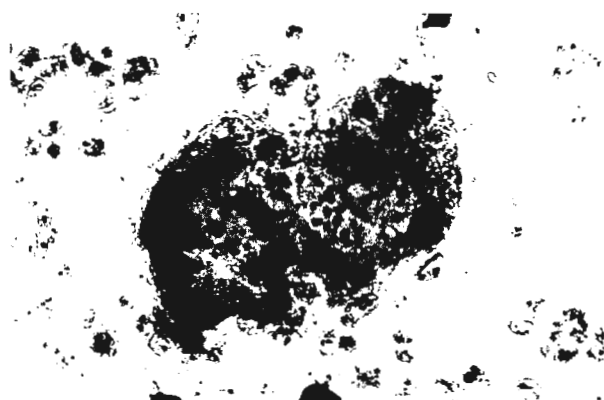


写真 6 中分化腺癌例の腹水にみられた癌細胞集塊。線維性結合組織は認めない（術中採取。銀染色，対物 100 倍）

表 3 採取方法別による中皮細胞集塊と線維性結合組織

採取方法	線維性結合組織	
	集塊内にあり	なし
術中採取 (n=32)	19 (59.4%)	13 (40.6%)
穿刺採取 (n=23)	18 (78.3%)	5 (21.7%)

(χ^2 検定, NS)

取法の違いによる有意差はなかった。

なお、穿刺採取で線維性結合組織が観察された中皮細胞集塊 18 個は、すべて抗癌剤を腹腔内に投与していた症例で認められたものであった。

IV. 考 察

体腔液細胞診においては中皮細胞や食細胞と癌細胞との鑑別がしばしば問題となる。大腸癌の多くは分化度の高い腺癌であり、体腔液中に出現する高分化な癌細胞は、特に中皮細胞との鑑別に苦慮するところである。その鑑別のために免疫化学的検索などさまざまな試みがなされ報告¹⁻⁷⁾されている。

椎名ら⁷⁾は、CEA (carcinoembryonic antigen) 染色は腺癌細胞では 73.3% で陽性であるのに対して中皮細胞では CEA は全く検出されなかったことから、両者の鑑別に有効であるとしている。一方、松井ら⁶⁾

は CEA および BFP (basic fetoprotein) の二種類を用いることが両者の鑑別に有用であるとしているが、安井ら²⁾は CEA と EMA (epithelial membrane antigen) の組み合わせがよいとしている。

伊藤ら⁵⁾は細胞骨格蛋白と腫瘍マーカーを多数検討し、中皮細胞は keratin, vimentin と CA 125 に高率に陽性を示し、desmin, S-100 蛋白, EMA, CEA, AFP (alpha-fetoprotein), CA 19-9 (carbohydrate antigen 19-9) に陰性であったと報告している。

難波⁴⁾は、EMA が癌細胞のマーカーとして優れており、LeuM 3 は組織球、マクロファージの検出に適しており、中皮細胞の検出には CA 125 が適当で、この三種類の染色を行うと鑑別は原則的に可能であるとしている。

広井ら³⁾は免疫細胞化学とレクチン結合性を検討し、反応性中皮細胞では CEA, SucWGA (succinylated wheat germ agglutinin), RCA-1 (ricinus communis-1), HPA (helix pomatia) は全例陰性であり、腺癌細胞との鑑別に有用であるとしている。

また、伊藤ら¹⁾は中皮細胞とは反応しないといわれるモノクローナル抗体 Ber-EP 4 を用いて、特に体腔液中の卵巢癌細胞と中皮細胞との鑑別に有用であると

している。

以上のように、中皮細胞と癌細胞の鑑別に関してはさまざまな染色方法が試みられているが、いずれの方法をもってしても完全に鑑別が可能というものではない。難波⁴⁾が指摘しているように、癌細胞は形態学的にほとんどの症例で十分な異型性を備えており、Pap. 染色や M・M・G 染色で 90% の症例が鑑別可能で、残りの症例において相補的に免疫化学染色などを実施すべきものであろう。

一方、銀染色を用いて、核内の silverbinding nucleolar organizer regions (AgNORs) を検討することにより、良性、悪性の鑑別が可能であるとの報告がある。すなわち、NORs は rRNA 遺伝子を持った核内 DNA loop であり、その個数は細胞の活動性を反映するので悪性細胞では核内の AgNORs の個数の増加が報告⁸⁻¹²⁾されている。須甲¹³⁾らは、体腔液細胞診において AgNORs を検討し、核内 AgNORs の平均個数が 3 個以上のときに悪性である可能性が高いと報告している。

今回われわれは、銀染色の AgNORs 法を用いて NORs の観察中に、細胞集塊内の線維性結合組織と思われる部分が染色されていることに着目し、その有無を検討した。癌細胞集塊では判定不能例が 36.8% みられ、この判定不能例の中に結合組織を含んでいる集塊が全くないとはいいい切れず、今後検討を重ねる必要がある。しかし、われわれの今回の結果では癌細胞集塊に結合組織は認められなかったのに対して、中皮細胞集塊では 67.3% で観察された。このように中皮細胞が線維性結合組織を伴って体腔液中に出現することについては報告¹⁴⁻¹⁶⁾がみられる。佐々木¹⁴⁾は従来報告されていた“cell ball”が中皮細胞とその直下の線維性結合組織を含めたものであり、その機序は漿膜が手術操作によって分断されたために出現したものであるとしている。

われわれが中皮細胞の集塊内に確認した線維性結合組織についても、手術中に採取された検体については手術操作により中皮細胞がその直下の線維性結合組織も含めて分断され出現したものと考えられる。腹腔穿刺により採取した検体については穿刺針による漿膜の切断も考えられるが、これらの検体で線維性結合組織を含む中皮細胞集塊が認められたのは抗癌剤の腹腔内投与を実施されていた症例の腹水であることから、次のような理由も考えられる。すなわち、抗癌剤の腹腔内投与により漿膜組織が間葉細胞増殖型の反応¹⁷⁾ (制癌剤の

体腔内注入後 3~7 日の間に線維芽細胞様細胞がびまん性に増殖してくる反応)を示し、これが中皮細胞とともに剝離して出現したとする考えである。また、漿膜組織が広範囲に癌組織で置き換えられた場合、反応性の変化を起こし¹⁸⁾結合組織は中皮細胞とともに剝離脱落するとも考えられる。

癌細胞集塊内に結合組織を認めないことについては、腫瘍細胞が増殖する場合には間質系の組織を含まずに、癌細胞のみが分裂を繰り返して集塊を形成するのが癌の特徴であることから理解できよう。

なお集塊辺縁の一部の縁取りについては、標本作成過程のアーチファクト、細胞表面の surface coat を染めている可能性、基底膜なども考えられ、間質成分と特定することは困難であった。しかし、癌細胞の染色性とは異なることから、両者を鑑別するのには有用な所見であると思われた。

V. ま と め

体腔液、特に手術中に採取された検体や抗癌剤の体腔内投与により治療されている症例の検体においては、中皮細胞か癌細胞かの判定が困難である場合には、銀染色により細胞集塊内の線維性結合組織の有無を観察することが、両者の鑑別に有用であると考えられた。

Summary

We studied the ability of silver staining to distinguish reactive mesothelial cell clusters from adenocarcinoma cell clusters in ascites. We silver stained cytological smears of ascites from 24 patients with colon cancer, sixteen of which were class II and eight of which were class V. We observed 55 cell clusters which were cytologically diagnosed as mesothelial cells and 87 cell clusters which were cytologically diagnosed as adenocarcinoma cells.

In 37 out of 55 (67.3%) cell clusters of mesothelial cells, clearly-defined silver-stained areas were observed in the center of the clusters. Although it was impossible to evaluate whether or not silver-stained areas existed in 32 out of 87 (36.8%) cell clusters of adenocarcinoma because of excessive staining, no silver-stained area was observed in the remainder (63.2%) of the adenocarcinoma cell clusters. In some adenocarcinoma cell clusters, linear silver-stained areas were observed along the peripheries of the clusters.

We consider the silver-stained area to consist of fibrous connective tissue.

In conclusion, silver staining can be used to differentiate between mesothelial cell clusters and adenocarcinoma cell clusters in ascites.

文 献

- 1) 伊藤 仁・他：モノクローナル抗体 Ber-EP 4 (“epithelial antigen”) の体腔液細胞診への応用, 日臨細胞誌, 31 : 599~603, 1992.
- 2) 安井 洋・他：酵素抗体法による体腔液中の癌および上皮細胞の鑑別, 日臨細胞誌, 30 : 1007~1012, 1991.
- 3) 広井禎之・他：反応性中皮, 悪性胸膜中皮腫および肺腺癌における複合糖質の細胞化学, 日臨細胞誌, 30 : 697~702, 1991.
- 4) 難波紘二：細胞診における免疫細胞化学の応用—とくに体腔液を中心として, 日臨細胞誌, 9 : 17~22, 1988.
- 5) 伊藤 仁・他：中皮細胞の免疫細胞化学的検討, 日臨細胞誌, 26 : 581~584, 1987.
- 6) 松井武寿・他：胸, 腹水細胞診への酵素抗体法の応用, 日臨細胞誌, 25 : 997~1002, 1986.
- 7) 椎名義雄・他：体腔液細胞診におけるCarcinoembryonic antigen (CEA) 検出の診断的意義, 日臨細胞誌, 25 : 37~44, 1986.
- 8) Egan, M., et al. : Evaluation of nucleolar organiser regions in pulmonary pathology, Thorax, 45 : 225~232, 1990.
- 9) Leong, AS-Y., et al. : Silver staining of nucleolar organizer regions in malignant melanomas and melanotic naevi, Human Pathology, 20 : 257~262, 1989.
- 10) Ayres, J., et al. : Differentiation of malignant from normal and reactive mesothelial cells by the argyrophil technique for nucleolar organizer region associated proteins, Thorax, 43 : 366~370, 1988.
- 11) Crocker, J., et al. : Nucleolar organizer regions in small cell carcinoma of the bronchus, Thorax, 42 : 972~975, 1987.
- 12) Crocker, J., et al. : Nucleolar organizer regions in lymphomas, Journal of pathology, 151 : 111~118, 1987.
- 13) 須甲憲明・他：体腔液細胞診における AgNORs の診断的意義, 日臨細胞誌, 30 : 1002~1006, 1991.
- 14) 佐々木政臣・他：術中腹腔洗浄液にみられる “cell balls” 様細胞集塊の免疫細胞化学的検索, 日臨細胞誌, 31 : 931~936, 1992.
- 15) Schwinn, C.P., et al. : Culdocentesis, pp. 216~227, Tutorials of Cytology, Chicago, Illinois, 1990.
- 16) 山岸紀美江・他：肺癌と術中細胞診, 日本臨床病理学会, 特 87 : 151~163, 1990.
- 17) 海老原善郎・他：中皮組織の病理形態学—体腔の剥離細胞所見との関連について—, 日臨細胞誌, 24 : 1~12, 1985.
- 18) 矢谷隆一, 坂本穆彦：細胞診を学ぶ人のために, pp. 238~254, 医学書院, 1990.

原 著

膀胱癌診断における圧挫細胞診の有用性について

宮城県立がんセンター

小室 邦子 佐藤 郁郎 武田鐵太郎 小野寺博義
 大沼真喜子 村田 孝次 植木 美幸 阿部 美和
 桑原 正明 立野 紘雄

異型度や浸潤度の異なる膀胱癌 10 症例について、膀胱鏡下生検を行い、同一病変からの採取材料を薄切標本と圧挫細胞診に供して、その診断能を比較検討した。その結果、

- 1) 組織診では薄切標本作製中に膀胱粘膜が剥落したことによる判定不能例が認められた。こうした例では生検圧挫法が癌の検出力において優れていると考えられた。
- 2) 組織学的異型度の判定では、両者は同等であった。
- 3) 生検圧挫法においても浸潤の有無を判定することは可能であると思われた。

以上より、圧挫法の診断能は薄切標本に匹敵するものであり、検出力の点では組織診よりも圧挫法がよい成績であった。

生検圧挫法では間質浸潤の観察も可能であって、有力な術前情報を提供するものとして、今後の臨床応用が期待される。

Key words : Urinary bladder—Squash method—Transitional cell carcinoma—Cytodiagnosis

I. はじめに

泌尿器科領域の細胞診は主に尿中の剝離細胞を観察するもので、これまで膀胱の非浸潤癌、浸潤癌の存在診断や膀胱癌術後の再発チェックなどに重要な役割を果たしてきたことはいままでもない。

A cytodiagnostic study of urinary bladder carcinomas by squash method

Kuniko KOMURO, C.T., I.A.C., Ikuro SATO, M.D., Tetsutaro TAKEDA, M.D., F.I.A.C., Hiroyoshi ONODERA, M.D., Makiko ONUMA, C.T., C.M.I.A.C., Takatsugi MURATA, C.T., I.A.C., Miyuki UEKI, C.T., Miwa ABE, C.T., Masaaki KUWAHARA, M.D., Hiroo TATENNO, M.D.

Miyagi Cancer Center

論文別刷請求先 ☎ 981-12 宮城県名取市愛島塩手字野田山
 47 の 1 宮城県立がんセンター病理検査部 小室邦子

平成 6 年 6 月 24 日受付

平成 6 年 9 月 9 日受理

しかし、尿中剝離細胞診だけでは、膀胱癌の診断精度一特に異型度の低い腫瘍で陽性率が低く、逆に偽陽性率が高いことが指摘されていることも事実で、そのため、尿細胞診はあくまでも生検組織診の補助的な診断法と考えている臨床家は少なくないであろう。

われわれの施設では、診断の sensitivity と specificity を上げるため、膀胱鏡下に採取された検体を圧挫細胞診で観察しているが、その判定に際して、① 存在診断（癌・非癌の診断）、② grade 診断（異型度の診断）、③ stage 診断（浸潤の有無の診断）のいずれについても有効と思われる成績を得たので、代表的な症例の組織像と対比しながら、圧挫細胞診の診断的意義について報告する。

II. 対象および方法

対象としては、平成 6 年 2 月から 6 月までの間に、

表 1

症例	年齢・性	尿中剝離細胞診	圧挫細胞診	生検組織診	膀胱鏡所見	画像診断による 臨床病期
1	71 歳・男	陽性	陽性 grade 3	Reexamination	ca. <i>in situ</i>	T ₁
2	80 歳・女	陽性	陽性 grade 2	grade 2	乳頭状・非乳頭状 多発性	T ₂
3	76 歳・女	陽性	陽性 grade 2	grade 2-3	乳頭状・非乳頭状 多発性	T ₃
4	45 歳・男	施行せず	陽性 grade 0-1	grade 2	非乳頭状	T ₃
5	82 歳・男	陽性	陽性 grade 2-3	grade 2=3	乳頭状 多発性	T ₂
6	68 歳・男	陽性	陽性 grade 2-3	grade 3>2	乳頭状 多発性	T ₃
7	43 歳・男	陰性	陽性 grade 2	grade 2>3	乳頭状 多発性	T ₁
8	58 歳・男	陽性	陽性 grade 2	grade 2	乳頭状 多発性	T ₃
9	70 歳・男	陽性	陽性 grade 2	grade 2	乳頭状	T ₁
10	67 歳・男	陽性	陽性 grade 2	grade 1	乳頭状	T ₁

当院泌尿器科において膀胱鏡下に cold punch biopsy を施行された膀胱癌 10 症例である。

同一腫瘍から 2 個の組織片を採取し、1 個はホルマリン固定後、パラフィン包埋の永久標本 (H-E 染色) を作製するとともに、もう 1 個から圧挫標本作製し、組織診断と細胞診断に供した。

圧挫標本の作製は生検された組織片を 2 枚のスライドガラスに挟み、押しつぶした後、左右に引き延ばし、ただちに 95% エタノール固定し Papanicolaou 染色 (Pap. 染色) を施した。

圧挫標本作製した目的は上皮成分、間質成分の両方を観察し、浸潤の有無を明らかにすることであって、間質からの情報がほとんど得られない捺印スタンプによる細胞診断は目的外とした。なお、組織学的 grading は、膀胱癌取り扱い規約に準じた。

III. 結 果

膀胱鏡所見および画像診断による臨床病期、尿中剝離細胞診所見、生検圧挫細胞所見、生検組織診の結果をまとめて表 1 に示した。

生検組織診では、10 例中 9 例が移行上皮癌と診断されたが、上皮内癌の 1 例が、細胞の変性と剝離により再検とされた。圧挫細胞診では、全例陽性であった。

癌の粘膜下浸潤の有無については、生検で浸潤とされた 2 例ともに、圧挫細胞診でも浸潤が示唆された。以下、異型度や進行度の異なる代表的な 4 症例を供覧する。

症例 1: 71 歳, 男性

尿細胞診: 高度異型の悪性細胞が主として孤立性に多数認められた。比較的大型の細胞が多いが、大小不同も著しく、核は濃染から淡染、核形不整、核縁肥厚もみられた (grade 3, TCC)。

膀胱鏡所見: 粘膜の発赤から ca. *in situ* が示唆された。

圧挫細胞所見: 濃染核、散在傾向の強い大型異型細胞の小集塊が多数認められた (写真 1)。

組織像: 大部分の粘膜細胞は剝離し、基底膜に一層の細胞がみられるのみである (写真 2)。標本作製時にかなりの細胞が失われていることは明らかである。組織学的 grading は細胞異型、構造異型双方を加味して決定されるべきものであるが、この検体からは構造異型の判定は困難で、細胞の大小不同性などにより grade 3, TCC が強く疑われる。非乳頭状、上皮内移行上皮癌 (stage pTis) と思われるが、抗癌剤や BCG の膀胱内注入でも類似の膨化・変性所見を示すことがあり、修練を積んだ病理医にとっても組織学的な decoy cell との鑑別に難渋することは少なくない。実



写真 1 症例 1 の圧挫細胞像。疎な細胞間結合を示す集塊が認められる。多層性の乳頭状腫瘍とは明らかに異なる腫瘍であることを窺わせる。非乳頭状・上皮内移行上皮癌 (Pap. 染色, $\times 40$)



写真 2 症例 1 の生検組織像。非乳頭状・上皮内移行上皮癌 (grade 3) 疑 (H-E 染色, $\times 20$)



写真 3 症例 2 の圧挫細胞像。きわめて多数の腫瘍細胞が主として散在性にみられ、細胞の剝離傾向が著しい TCC と考えられる。一部に重積集塊も混在している。乳頭状・非浸潤性移行上皮癌 (Pap. 染色, $\times 10$)



写真 4 症例 2 (写真 3) ←矢印の拡大像。重積集塊として観察された部位には、著明な線維血管茎がみられ、癌診断の一助となる (Pap. 染色, $\times 20$)

際、この症例は、組織診にて判定保留 (tentative)・要再検とされた。

症例 2: 80 歳, 女性

尿細胞診: 大型化し、核の濃染あるいは淡染する多様性に富んだ異型移行上皮細胞が、主として散在性に多数出現。集塊としてみられるものでも結合性低下が著しい (grade 3, TCC)。

膀胱鏡所見: 乳頭状あるいは非乳頭状の腫瘍が多発性にみられた。左側壁から後壁にかかる約 2 cm 大の乳頭状・広基性病変から生検した。

圧挫細胞診: 比較的均一な細胞が結合性低下を示すシート状集塊として多数出現していた。ところどころに、上皮成分と間質成分の双方を含む乳頭状集塊が認められた。上皮細胞は重積が著明で軽度の核腫大を示し、grade 2, TCC と考えられる。

また、間質はいわゆる fibrovascular core (線維血管茎) となっていて、間質への浸潤性発育はみられない (写真 3~5)。

組織診: urothelium は多層化し、乳頭状の配列をとっている。間質には拡張した血管群がみられる (写真 6)。非浸潤性乳頭状癌 (grade 2) と診断された。

症例 3: 76 歳, 女性

尿細胞診: 濃染核を持った腫瘍細胞が孤立性に散見された (grade 2, TCC)。

膀胱鏡所見: 膀胱のほとんどが乳頭状あるいは非乳頭状の広基性腫瘍により占拠されている。非乳頭状、1 cm 大の広基性病変から検体を採取。

圧挫細胞診: 間質内に濃染核を持つ異型細胞集塊が認められる。このことから浸潤性に発育する非乳頭状癌と判定される (写真 7~9)。

組織診: 浸潤性に発育する TCC である。浸潤部位は強い細胞異型を示し grade 2~3 に相当する (写真 10)。

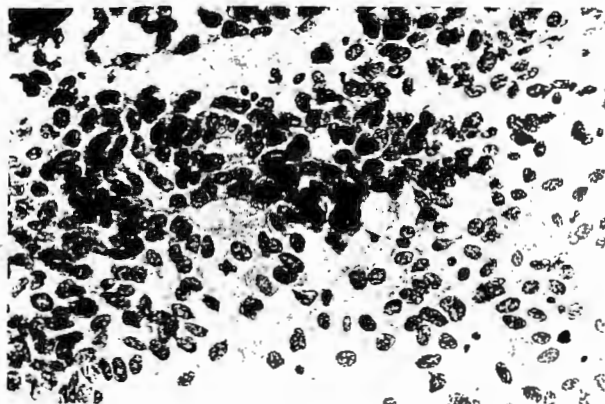


写真 5 症例 2 (写真 3) ⇐ 矢印の拡大像。乳頭状集塊の結合性が低下し徐々に散在性となっていくようすが窺える (Pap. 染色, ×40)



写真 7 症例 3 の圧挫細胞像。左上は腫瘍細胞層、右下は間質層。間質成分がみられることが生検圧挫標本の特徴である。非乳頭状・浸潤型移行上皮癌 (Pap. 染色, ×10)

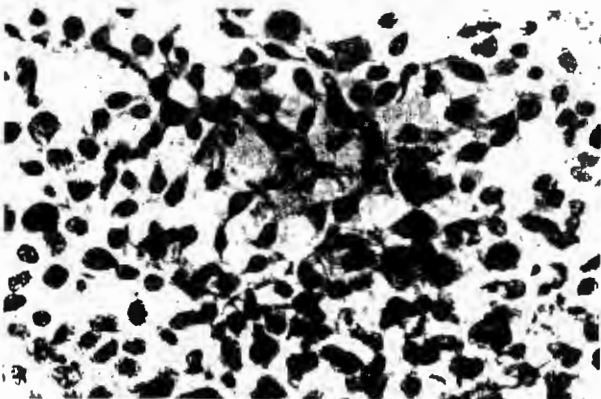


写真 9 症例 3 (写真 7) ⇐ 矢印の拡大像。粘膜細胞層としての極性・方向性を失った多彩な細胞像を示す腫瘍細胞 (Pap. 染色, ×40)

症例 4: 45 歳, 男性

尿細胞診: 施行せず。

膀胱鏡所見: 右尿管口近傍に非乳頭状で 2 cm 大の

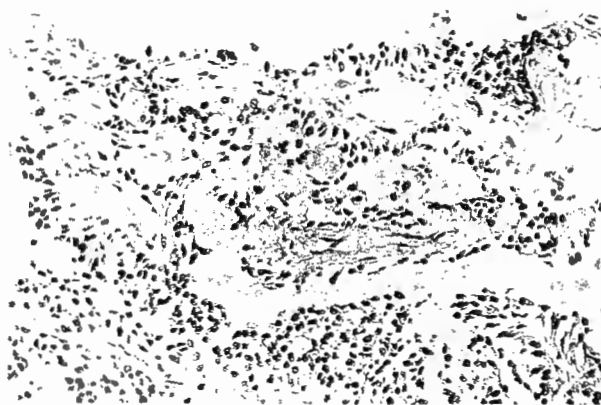


写真 6 症例 2 の生検組織像。乳頭状移行上皮癌 (grade 2) (H-E 染色, ×20)

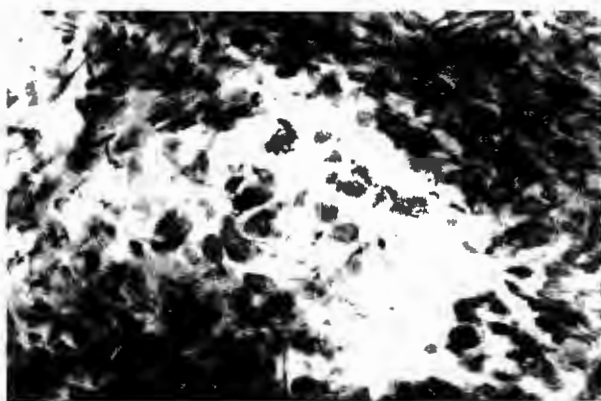


写真 8 症例 3 (写真 7) ⇐ 矢印の拡大像。間質内の紡錘型細胞や線維成分にまじり、類円形の腫瘍細胞が混在。間質内に浸潤した癌細胞集塊を示唆する像である (Pap. 染色, ×40)

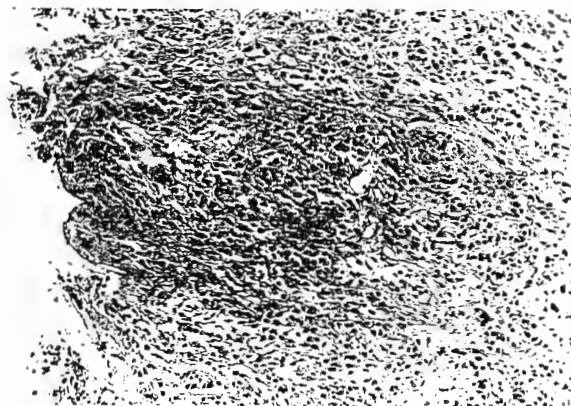


写真 10 症例 3 の生検組織像。非乳頭状・浸潤型移行上皮癌 (grade 2-3) (H-E 染色, ×12.5)

広基性腫瘍を認める。

圧挫細胞診: 比較的小型均一の異型軽度な癌細胞が間質細胞と複雑に入り組んでみられた。浸潤癌と判定されるゆえんである。核クロマチンは概して繊細だが、

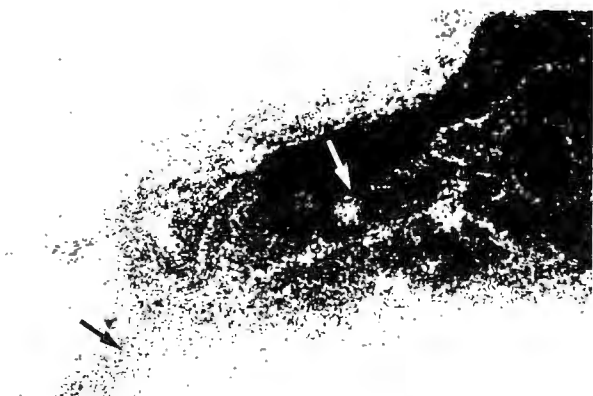


写真 11 症例 4 の圧挫細胞像。大きな細胞集塊とその周囲に散在するシート状の上皮細胞。非乳頭状・浸潤型移行上皮癌 (Pap. 染色, ×10)

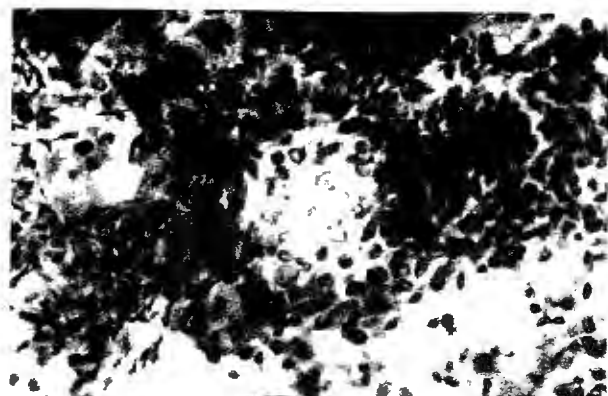


写真 12 症例 4 (写真 11) ←矢印の拡大像。微動ハンドルを動かし観察することにより、癌細胞の間質内浸潤像であるとの診断は可能である (Pap. 染色, ×40)

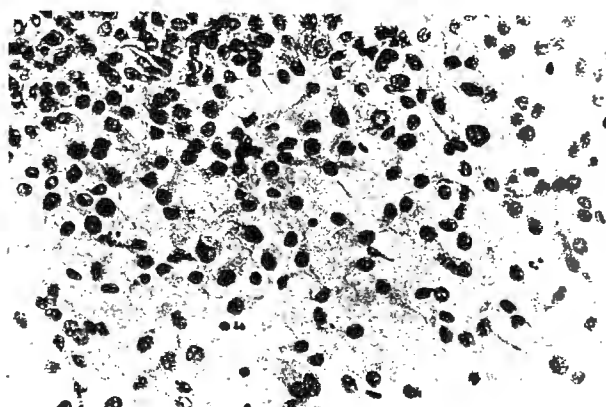


写真 13 症例 4 (写真 11) ←矢印の拡大像。小型類円核を持つ異型軽度な腫瘍細胞 (Pap. 染色, ×40)



写真 14 症例 4 の生検組織像。非乳頭状・浸潤型移行上皮癌 (grade 2) (H-E 染色, ×15)

ところどころで核小体が明瞭となり核分裂像も散見された (写真 11~13)。

組織診：すでに浸潤性発育を開始した grade 2, TCC と判定された。核内空胞の存在も目立った所見である (写真 14)。

IV. 考 察

尿中剝離細胞診は非侵襲的で、何度でも繰り返し検査が可能なので安価なため、膀胱癌のスクリーニング法としての地位を確立している¹⁻³⁾。とはいっても、それだけで浸潤の有無を判定するには不十分で、あくまでも補助的診断法⁴⁾とみなされている。

そのため、われわれの施設では、尿細胞診に替わる膀胱癌患者の予後を推測する方法として、癌・非癌の判定や増殖形態の推定に加えて浸潤の有無の予測が可能なものを模索しそれに注力してきた。

圧挫標本による細胞診を診断に応用することは、

1930 年頃より始められている⁵⁾にもかかわらず、いまだ一般化しておらず、われわれが調べた限り脳腫瘍での報告はあるが^{6,7)}膀胱癌への応用の報告はなされていない。

膀胱鏡下に得られた生検圧挫細胞診に関する評価は未解決の課題として残されていたのだが、今回、われわれが検討した生検圧挫法は組織診断の弱点をカバーし、診断の精度を向上させるものであった。以下に、若干の考察を加えてみたい。

1. 癌の存在診断について (症例 1)

膀胱癌の確定診断は、主として膀胱鏡下生検によって行われていて、尿中剝離細胞診はその副次的な診断法として位置付けられている。しかし、生検診断も絶対的なものではなく、生検組織から標本作成中に urothelium が剝離し判定不能となることもしばしば経験されるところである。

三浦の報告 (ホルマリン・カーボワックス法)⁸⁾で

は、膀胱癌に限らずすべての固形癌の固定液中に大量の癌細胞が剥落していることが証明されており、薄切標本では、作成過程において、すでに診断に役立つ情報をかなり喪失していることが最大の欠点である。

採取される癌細胞の多寡は細胞診もさることながら、組織診にとっても重要な診断情報になっている。われわれの経験した症例1のように組織切片で細胞が少数しか観察できないような臨床例に対しては、圧挫標本の細胞診を同時に行うことによって、診断精度を高めることが期待できるが、特に膀胱癌では細胞が剥離しやすいので生検圧挫法は有用と考える。

2. grade 診断について (症例2)

尿細胞診では、剥離細胞が尿浸透圧などの影響を受けるため細胞は萎縮、膨化などの変性が加わることは避けられず、しかも、その程度は検体によりさまざまで、膀胱癌のgrade診断に関しては判定基準が明確にはなり得ない。尿中剥離細胞からのgrade診断にとって不確実さはつきもので限界があることを素直に認めざるを得ないところである。

一方、組織標本は数 μ に薄切された二次元からの情報として評価されることから、圧挫細胞による立体的な観察とはおのずから異型度の判定が異なってくる可能性もあると思われる。

症例2ですでに供覧してきたように、圧挫細胞は尿中剥離細胞より組織学的異型度を忠実に反映するものであり、しかも、圧挫細胞のみでも詳細な細胞形態や増殖のパターン、間質の状態など、ときに薄切標本から得られる情報以上のものを得ることができるとこの症例から理解される。

3. stage 診断について (症例3, 4)

浸潤の有無の術前診断は、手術方針の決定や患者の予後に対して有力な情報を提供するものとしてわれわれに要請されたもので、時代の要請ともいえる。

剥離細胞診でもその細胞異型度が組織診における浸潤度を反映しているとの報告⁹⁾もあるが、症例4のように、異型性に乏しい浸潤癌も少なくない。gradeが高くなれば浸潤発育の危険性が増すことはその相関関係から容易に予測し得るが、膀胱癌の場合、たとえば非乳頭状・非浸潤性の上皮内癌 (stage pTis) が高度異型を示すこと¹⁰⁾から、浸潤の有無を判定するには浸潤像を実際にとらえるほかないと考えられる。

われわれが経験した症例で生検で確認された浸潤癌2例中、いずれも圧挫細胞診で間質への浸潤が示唆された。例数が少なく、このことから、ただちに圧挫細胞

診は浸潤の判定に有用であると結論づけることは無理であり、今後、より多くの症例をきめ細かく検索する必要があると思われるが、少なくとも2例中2例において正診を得たことを強調しておきたい。

V. ま と め

圧挫標本のみでも組織診断に匹敵する詳細な細胞形態、増殖のパターンを観察することができたが、特に膀胱癌の存在診断にとって圧挫細胞診が有用であった。また、圧挫細胞による浸潤性発育の有無の判定に関しては、組織診と比較しても遜色のないものであることが確認された。

圧挫細胞診を膀胱癌の診断に応用することは簡便であるにもかかわらず、いまだ一般化しているとはいえない。しかし、本研究により、膀胱癌において圧挫細胞診の臨床応用の実用的意義は大きいと思われる。この観点から、今後は生検組織診と圧挫細胞診両方の長所を活かして膀胱癌の診断に相補的に利用されるべきと考える。臨床医の生検圧挫細胞診に対する理解を喚起したいところである。

稿を終えるにあたり貴重な症例を提供して頂きました宮城県立がんセンター泌尿器科の栃木達夫博士に深謝致します

Summary

In order to find useful diagnostic methods for urinary bladder malignancy, the squash cytodiagnosis was compared with histopathological examination of paraffin-embedded sections.

Biopsy specimens were obtained cystoscopically from 10 patients with transitional cell carcinoma (TCC) in various stages with and without invasion of the suburothelial layers of the bladder (2 invasive cancers/ 8 non-invasive cancers). Histological examination of the urinary bladder cancer in one of 10 patients with TCCs, was misleading due to a loss of the urothelial layers, probably during specimen processing. In the squash smear in this case, however, a sufficient number of clusters and individual cells were observed to make a histopathological diagnosis.

In both of the patients with invasive carcinoma, evaluation of invasiveness was possible by squash smears based on the presence of atypical cells among the interstitial cells, but, impossible on the basis of exfoliated cells in voided urine

sediment or imprint smears of biopsy material.

The squash method is not new, but clinical application to carcinomas arising in the urinary bladder had not been assessed. The results of our study suggest that squash cytodiagnosis can be useful and convenient for detection of bladder carcinomas, including evaluation of invasion/extension of carcinomas and grading of cellular/structural atypia.

We conclude that squash cytodiagnosis should be used to complement histopathological examination in urinary bladder cancer patients.

文 献

- 1) Esposti, P.L., Moberger, G., Zajicek, J.: The Cytologic Diagnosis of Transitional Cell Tumors of the Urinary Bladder and its Histologic Basis. *Acta Cytol.* 1970; 14(3): 145~155.
- 2) Esposti, P.L., Zajicek, J.: Grading of Transitional Cell Neoplasms of the Urinary Bladder from Smears of Bladder Washings. *Acta Cytol.* 1972; 16(6): 529~537.
- 3) Kern, W.H.: The Cytology of Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Bladder. *Acta Cytol.* 1975; 19(5): 420~428.
- 4) 日本泌尿器科学会日本病理学会編: 泌尿器科病理膀胱癌取り扱い規約. 東京: 金原出版, 1980.
- 5) Eisenhardt, L., Cushing, H.: Diagnosis of intracranial tumors by supravital technique. *Am. J. Path.* 1930; 6: 541~552.
- 6) 小林省二, 三木 洋, 大森正樹・ほか: 圧挫標本細胞診による脳腫瘍の診断—特に髄膜腫, 神経鞘腫, 星状膠細胞腫について—. *日臨細胞誌* 1989; 28: 378~383.
- 7) Kobayashi, S.: Meningioma, Neurilemmoma and Astrocytoma Specimens Obtained with the Squash Method for Cytodiagnosis. *Acta Cytol.* 1993; 37: 913~922.
- 8) 三浦敏也, 手塚文明: 10%ホルマリン固定された臓器を除いた残りの固定液の細胞診への応用. *日臨細胞誌* 1991; 30: 409.
- 9) 福井 巖, 横川正之, 大和田文雄・ほか: 尿細胞診の検討(第1報)膀胱腫瘍の新しい細胞診判定基準と組織学的背景. *日臨細胞誌* 1985; 24: 144~149.
- 10) 山田 喬, 横川正之, 稲田俊雄・ほか: 膀胱上皮内および早期浸潤癌の剝離細胞診とその病理組織学的背景. *日臨細胞誌* 1977; 16: 32~42.

症 例

腎癌と併存した腎好酸性細胞腫の1例

宮城県立がんセンター

大沼眞喜子 佐藤 郁郎 武田鐵太郎 小室 邦子
村田 孝次 植木 美幸 阿部 美和 立野 紘雄

腎細胞癌と同一腎内に併存した腎好酸性細胞腫について細胞所見を対比し報告した。症例は42歳、女性、自覚症状はなく、人間ドックの超音波検査で右腎の腹側と背側に2個の独立した腫瘤を指摘され、精査のため入院。画像診断(CT, MRI, 血管造影)より腎癌が疑われ手術が施行された。右腎腹側の腫瘤は大きさ 2.8×2.8 cmで、断面は暗赤色~褐色、中心部は黒く出血性、病理組織診断は腎好酸性細胞腫であった。断面擦過で顆粒状の豊富な胞体をもった細胞がシート状で結合性のゆるい集塊として、または孤在性・散在性にみられた。核は直径約 $8 \mu\text{m}$ で小型、類円形を基本とし、2核のものも散見された。顕著なクロマチン増量はみられず、小さな核小体が1~2個認められた。背側の腫瘤は大きさ 1.5×1.5 cmで断面黄白色、腎癌・淡明細胞亜型と最終診断された。断面擦過で得られた細胞の胞体は明るく核は $5 \sim 10 \mu\text{m}$ と小型であるが、大小不同がみられ、類円形のものが多く観察された。

Key words : Renal oncocytoma—Renal cell carcinoma—Cytology—Kidney—Case report

I. はじめに

腎好酸性細胞腫は、好酸性顆粒状の細胞質を特徴とする比較的まれな腎良性腫瘍で、1976年、Kleinらにより本疾患の最初の報告以来、その質的診断やclinical entityに関する議論がなされてきた。最近、われわれは画像診断が発見の端緒となり、外科的に摘出さ

れた腎細胞癌と同一腎内に併存した腎好酸性細胞腫を経験したので、画像診断所見とあわせてその細胞像、特に腎細胞癌との対比、鑑別について報告する。

II. 症 例

症 例：42歳、女性

主 訴：なし(無症状)

家族歴：特記事項なし

既往歴：虫垂炎にて虫垂切除(20歳)

現病歴：平成5年9月、人間ドックの腹部超音波検査(以下USと略す)にて右腎に2個の分離した充実性腫瘤の存在が疑われ、精査のため入院

入院時現症：身長154 cm、体重48 kg。腹部は平坦、軟で腫瘤は触知しない。

臨床検査成績：血液生化学検査はいずれも正常範囲で、尿検査にも血尿などは認められなかった。

画像診断所見：① US所見：右腎腹側と背側にそ

Comparative cytological evaluation of renal oncocytoma and renal cell carcinoma in the same kidney

Makiko ONUMA, C.T., C.M.I.A.C., Ikuro SATO, M.D., Tetsutaro TAKEDA, M.D., F.I.A.C., Kuniko KOMURO, C.T., I.A.C., Takatugi MURATA, C.T., I.A.C., Miyuki UEKI, C.T., Miwa ABE, C.T., Hiroo TATENNO, M.D.

Division of Pathology, Miyagi Prefectural Cancer Research Center

論文別刷請求先 ☎ 981-12 宮城県名取市愛島塩手字野田山47の1 宮城県立がんセンター 大沼眞喜子

平成6年4月28日受付

平成6年7月1日受理



写真 1 MRI, T₂強調画像。右腎の腹側と背側に2個の腫瘍がみられる

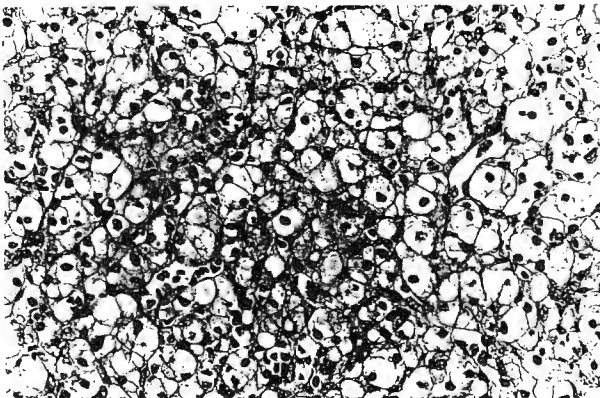


写真 3 組織像。腎癌・淡明細胞亜型 (H-E 染色, 対物 20 倍)

それぞれ直径 2.8 cm, 2.9 cm のほぼ同径の境界明瞭な腫瘍がみられる。両腫瘍とも被包を有し、内部エコーは中心部が高エコーレベル、辺縁部が等エコーレベルでエコーレベルに差は認められない。② CT・MRI 所見；単純 CT (コンピュータ断層写真) ではほぼ周囲の腎組織と比べて等吸収値を示し、MRI (核磁気共鳴画像) にて高信号域として描出されている (写真 1)。CT, MRI とも 2 個の腫瘍の差は認められない。造影剤による増強効果はいずれの腫瘍も陽性であった。③ 血管造影；両者とも hypervascular tumor として描出されるが、背側腫瘍がより hypervascularity を呈している。穿刺吸引細胞診は行われなかったが、以上の結果より、腎悪性腫瘍 (腎細胞癌疑い) と診断し、当院泌尿器科へ転科、腎摘出術を施行された。手術所見では、胃被膜への浸潤や所属リンパ節への転移はみられなかった。

摘出標本：いずれの腫瘍も周囲腎組織との境界は鮮明で、大きさは腹側 2.8×2.8 cm, 背側 1.5×1.5 cm であった。腹側の腫瘍は被膜でおおわれ、断面は暗赤

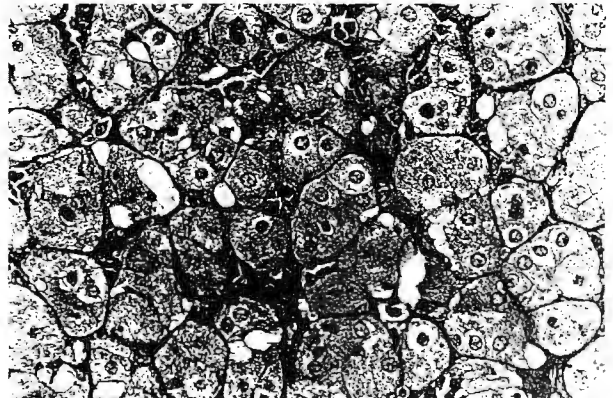


写真 2 組織像。腎好酸性細胞腫 (H-E 染色, 対物 20 倍)

色～褐色、中心部は黒く出血を伴っていた。背側の腫瘍は白色の被膜で被包化され、断面黄白色であった。2 個とも壊死傾向はみられず、腹側の腫瘍は光沢を有していた。

III. 病理組織所見

腹側腫瘍：豊富な好酸性顆粒状の細胞質を示し、腎 Oncocytoma と診断された。中心部は出血帯となり、明らかな Central scar の形成はみられなかった (写真 2)。また、周囲腎組織 (非腫瘍部) において尿細管の tubular adenoma あるいは oxyphilic change は観察されなかった。

背側腫瘍：腎癌取扱い規約の通常型・淡明細胞亜型と最終診断された。顆粒型細胞の混在はほとんど認められず、腹側腫瘍に比べ血管は密に分布していた (写真 3)。

電顕所見：Oncocytoma では、腫大したミトコンドリアが細胞質内に充満している。好酸性顆粒が、ミトコンドリアの著明な増多に起因することが理解される。なお、脂肪滴は観察されなかった (写真 4)。逆に、Clear cell carcinoma では、ミトコンドリア数の減少を認めた (写真 5)。

IV. 細胞所見

手術摘出標本の割面を擦過し、得られた細胞像を述べる。

腎好酸性細胞腫：細胞は散在性ないし集塊状で、腫瘍の中心部からの標本では背景に多数の赤血球を認めた。集塊状のものは、一部に不均等重積はあるが、概して、シート状で結合性がゆるく、辺縁は散在傾向が

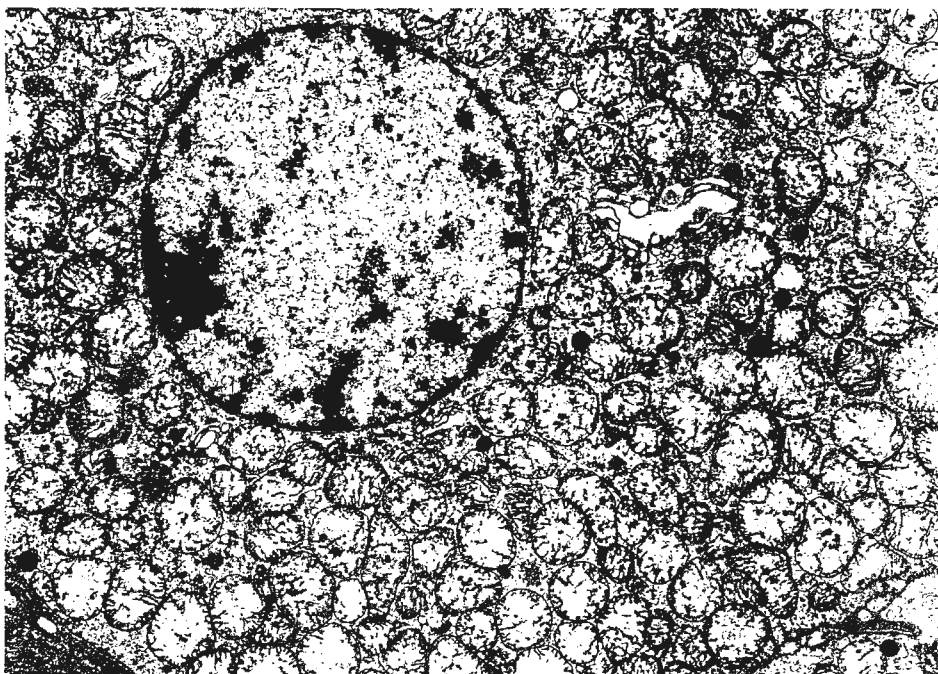


写真 4 電顕像。腎好酸性細胞腫。腫大したミトコンドリアが胞体内に充満している (5000 倍)

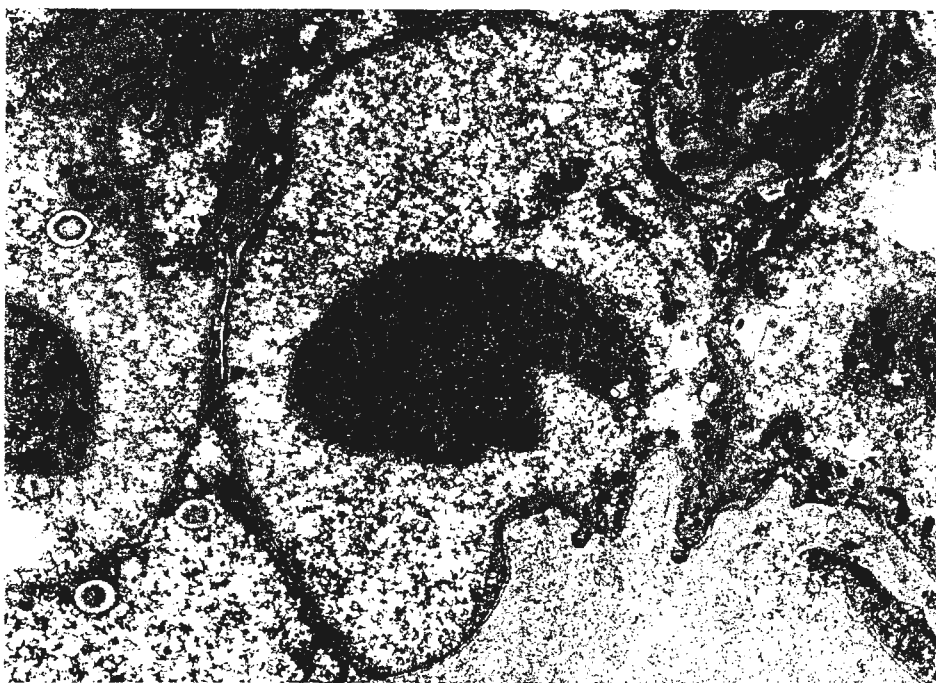


写真 5 電顕像。腎癌・淡明細胞亜型 (5000 倍)

強かった。細胞質は豊富で、厚く粗顆粒状、Papanicolaou 染色ではライトグリーン、May-Grünwald-Giemsa 染色ではやや好酸性の色調を呈した。核は類円形を基本とし、一部に $10\mu\text{m}$ 前後の軽

度大型化を示すものもみられたが、大部分は $8\mu\text{m}$ くらいの小型核として観察され、核縁肥厚はなかった。N/C 比は小であった。核は中心性で、単核が多いが、2 核の細胞も散見された。顕著なクロマチン増量はみ

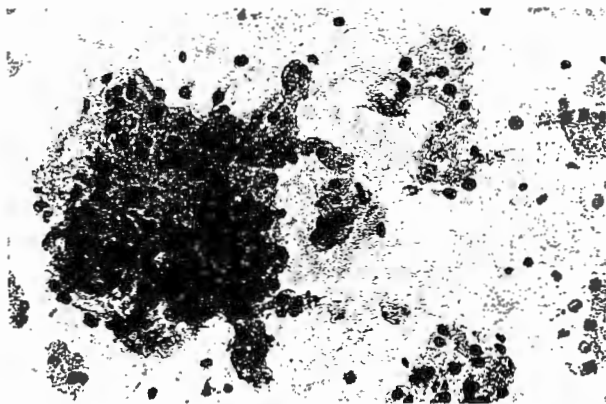


写真 6 腎好酸性細胞腫。不均等重積のある集塊や散在細胞がみられる (Pap. 染色, 対物 20 倍)

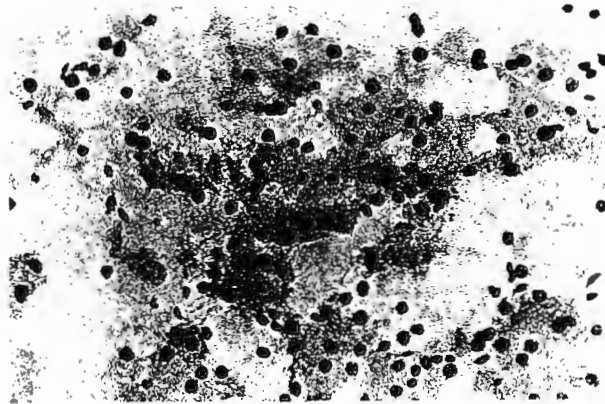


写真 7 腎好酸性細胞腫。細胞の結合性はゆるく、辺縁は散在傾向が強い (Pap. 染色, 対物 20 倍)

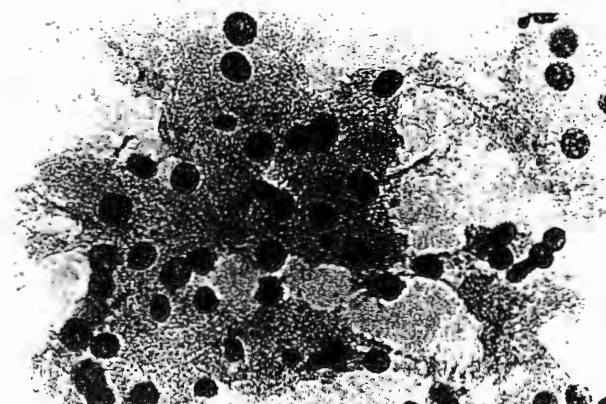


写真 8 腎好酸性細胞腫。胞体は豊富で顆粒状、円～類円形の小型核が主体であった (Pap. 染色, 対物 40 倍)



写真 9 腎癌・淡明細胞型。小型核の癌細胞が不規則に配列した集塊でみられる。胞体は明るい (Pap. 染色, 対物 40 倍)

られず、 $1\mu\text{m}$ 程度の核小体を 1~2 個認めた (写真 6~8)。

腎癌・淡明細胞型：壊死物質のみられないきれいな背景に不規則配列、不均等集積のある細胞集塊として観察され、散在性のものは少なかった。細胞質は明るく豊富で、レース状・微細顆粒状を呈した。核は $5\sim 10\mu\text{m}$ と小型だが、大小不同がみられ、類円形のものが多かった (写真 9)。

V. 考 察

好酸性顆粒状の細胞質をもつ腎腫瘍は従来、腎癌・顆粒細胞型に分類されてきたが、1976 年、Klein¹⁾が、これらが巨大であっても良性の経過をとる 1 つの clinical entity として独立性を提唱した。Oncocytoma は Jaffé の命名²⁾によるものだが、腎よりも唾液腺、甲状腺、副甲状腺に高頻度に発生し、それぞれ Warthin tumor, Hürthle cell tumor, Oxy-

philic tumor と呼ばれ、そのほとんどが良性とみなされ、転移は例外的にしかおこらない。腎の Oncocytoma について、Klein ら¹⁾は良性と報告しているが、腎被膜への進展、脈管侵襲やリンパ節転移をきたす例も報告³⁾され、最近の文献では low potential malignancy である点が強調されている。

腎 Oncocytoma の発生頻度について、かつては稀有な疾患と報告されていて、無症状で随伴症状を欠き、剖検により偶然発見されるものが多かったが、US, CT, MRI など近年の画像診断の進歩に伴い多数の報告がなされるようになった。現在約 500 症例の報告がある。また本症例のように腎 Oncocytoma は高率に腎細胞癌と合併するのが特徴的で、腎細胞癌からみると 14/350 (4%, Ganzen⁴⁾), 14/263 (5.3%, Merino⁵⁾) が Oncocytoma を合併、一方 Oncocytoma からみると 10/31 (32%, Licht⁶⁾) が腎細胞癌を併存したという報告がみられる。

腎 Oncocytoma の発生原因はいまだ不明であって、発生母地としては近位尿細管由来の tubular adenoma との関連から当初は近位尿細管上皮由来が有力とされていたが、最近の segment-specific epithelial marker を用いた検討では、集合管～遠位尿細管抗原を有していることが判明し、母地細胞の解明は本症の発生原因を推測する上で、非常に興味深いものがある。

臨床的にみると、腎癌は腎全摘、リンパ節廓清を必要とするが、腎 Oncocytoma に対しては腎部分切除などの縮小腎温存手術が模索されている。そのため、腎癌、特に顆粒細胞亜型と Oncocytoma の鑑別が診断上重要になってくる。画像診断上、CT では low density mass との報告や、相反して high density とする報告があり、血管造影でも hypovascular の報告もあれば筆者らの経験した症例のように hypervascular を呈するものもみられ、両者の鑑別は必ずしも容易ではないとされる。そのため、術前診断を目的とした穿刺吸引細胞診による腎癌との鑑別に期待が寄せられている。

本症例は典型的な Oncocytoma と腎癌・淡明細胞亜型との合併だったので、両者の鑑別はそれほど困難ではなかったが、鑑別診断上重要と思われる腎癌・顆粒細胞亜型との相違について文献的に考察すると、Merino⁵⁾ は、Oncocytoma と顆粒細胞型腎癌の鑑別において、細胞像以外にも壊死の存在、核分裂像、乳頭状の増殖、淡明細胞の混在が重要であるとし、吸引細胞診が術前の質的診断に非常に有用であったことを述べている⁷⁻⁹⁾。しかし、多くの論文では腎癌・顆粒細胞亜型と Oncocytoma を1つの連続した明らかな境界のない疾患群としてとらえ、両方の特徴を合わせもつ腫瘍の存在が細胞診による鑑別を一層困難なものにしていると記している¹⁰⁾。現在のところ、両者の鑑別は常に可能であるとは限らず、術前に信頼性の高い診断をするためには上皮マーカーや腫瘍関連抗原¹¹⁾の検索などを細胞診に積極的に応用する以外にないと考えられる。

VI. おわりに

悪性度の著しく異なる腎の Oncocytoma と Clear cell carcinoma の同時発生例について、その細胞像や鑑別点について報告した。画像診断上、両者の鑑別は容易ではなく、超音波ガイド下吸引細胞診に術前診断

の期待が寄せられる。

稿を終えるにあたり、貴重な症例を提供していただいた宮城県立がんセンター泌尿器科・桑原正明博士に深謝します。

Summary

A case of renal oncocytoma and renal cell carcinoma within the same kidney is reported with emphasis on comparison of their cytological features.

Two separate tumor masses within the diseased kidney of an asymptomatic 42-year-old woman were detected by chance during an US survey as part of a health check-up. Both lesions appeared as homogeneous masses on US, isodensity areas on X-CT, high-signal areas on NMR imaging and hypervascular masses on conventional angiography. We failed to differentiate between the two based on this preoperative information. However, because of suspicion of bifocal renal cell carcinoma, the patient was subjected to radical nephrectomy with para-aortic lymphadenectomy.

Grossly, the first mass was encapsulated, well-circumscribed, tan-brown in color and 28×28 mm in size, with a hemorrhagic area, but without apparent necrosis, while the second was a firm, rounded 15×15 mm mass, yellow to white in color, with no areas of hemorrhage or necrosis. The final diagnosis of the former was renal oncocytoma, an uncommon, benign neoplasm arising in the kidney, while the diagnosis of the latter was renal cell carcinoma, subvariety clear.

Imprint cytology was carried out on a cross section of the surgical specimen. Smears of the first tumor showed the presence of characteristic eosinophilic cells with abundant granular cytoplasm, while smears of the second revealed clusters of clear cells. These findings were pathognomonic for renal oncocytoma and renal cell carcinoma, respectively. Thus, it was possible to successfully make a differential diagnosis between the two using cytological criteria.

Cytomorphologically, renal oncocytoma took the form of single cells or small loose-connected clusters with round-oval nuclei, without prominent nucleoli, in abundant eosinophilic granular cytoplasm. Some of the cells were bi-nucleated, however there was no evidence of mitotic activity, papillary configuration of the clusters or necrosis of the background. Nuclear size in the renal oncocytoma was 8 μ m, and the nuclei were approximately uniform in diameter. Slight but not negligible nuclear pleomorphism, ranging in size from 5 to 10 μ m, was seen in the renal cell carcinoma. Therefore, we anticipate that cytological analysis of fine needle aspiration smears may become useful and available for preoper-

ative diagnosis and differentiation between renal cell carcinoma and oncocytoma.

文 献

- 1) Klein, M.J., Valensi, Q.J. : Proximal tubular adenomas of kidney with so-called oncocytic features : A Clinicopathologic study of 13 cases of a rarely reported neoplasm, *Cancer*, 38 : 906~914, 1976.
- 2) Jeffé R.H. : Adenolymphoma (oncocytoma) of parotid gland, *Am.J.Cancer*, 16 : 1415~1423, 1932.
- 3) Hamperl, H. : Benign and malignant oncocytoma, *Cancer*, 15 : 1019~1027, 1962.
- 4) Ganzen, T.N., et al. : Oncocytoma of the kidneys, *Ark-Patol.*, 50(10) : 13~20, 1988.
- 5) Merino, M.J., Livolsi, V.A. : Oncocytomas of the kidney, *Cancer*, 50 : 1852~1856, 1982.
- 6) Licht, M.R., et al. : Renal oncocytoma : clinical and biological correlates, *J-Uro.* 1, 150(5 Pt 1) : 1380~1383, 1993.
- 7) Rodriguez, C.A., et al. : Renal oncocytoma : Preoperative Diagnosis by Aspiration Biopsy, *Acta Cytol.*, 24 : 355~359, 1980.
- 8) Alanen, K.A., et al. : Aspiration Biopsy Cytology of Renal Oncocytoma, *Acta Cytol.*, 29 : 859~862, 1985.
- 9) Gupta, R.K., et al. : Preoperative Diagnosis of Bilateral Renal Oncocytoma by Needle Aspiration Cytology, *Acta Cytol.*, 35 : 742~745, 1991.
- 10) Garcia, B.M., et al. : Fine needle aspiration diagnosis of renal oncocytoma. A mathematical morphologic approach, *Anal-Quant-Cytol-Histol.*, 15(3) : 220~226, 1993.
- 11) Cohen, C., et al. : Histogenesis of renal cell carcinoma and renal oncocytoma. An immunohistochemical study, *Cancer*, 62(9) : 1946~1951, 1988.

宮城県立がんセンター における画像情報管理 システムの活用の現況

宮城県立がんセンター 診療放射線技術部
千葉 俊雄 早川 博文



PACSを利用しての呼吸器科外来での診療

●はじめに

インテリジェント化を目指した宮城県立がんセンター（院長・浅川洋）は平成5年5月に発足し、同時に当院独自の「総合情報システム」（NEC）がスタートした。同システムはオーダリング、部門別業務、データベース、PACSの各システム及びネットワーク（各種LAN）で構築されている。放射線部門では、画像情報システム（PACS）を導入し、HIS（hospital information system）とRIS（Radiology information system）とを結合し、レポートシステムを組み込んだ総合画像診断の実現に向けて試験的に運用を開始した。

●放射線部門の画像検査機器の概要

放射線部門の検査機器は、FCR 3台（FCR7501・1台、FCR9000・2台）とFCRと直結した胸部撮影・外科撮影・断層撮影・泌尿器科撮影装置、CT 3台（シーメンス：Somatom plus-s、SomatomDR3、島津：CTS-20）、MRI（東芝：MRT-200Super）、DSA（東芝：DFP-2000A）、X線テレビ装置 4台（東芝：ジャイロ装置、2方向テレビ装置、近接型装置、日立：Medix TV-250CR）、RI装置（島津：ZLC-7500、7000）、超音波装置 2台等が主たるものである。

●画像情報管理システムの構成

図1はPACS（NEPACS・NEC）の概要である。画像系ホスト（MS4120A）、HIS用ホスト（ACOS・3600/6）はターミナルを介してそれぞれの基幹LANに接続される。PACSは現在FCR、CT、MRI、DSAと接続されている。PACSと接続されていない装置はフィルム入力端末（FIT）

から入力している。又全画像は磁気ディスク及び光ディスクへ蓄積する。画像用のデータベースとして集合型光ディスクを利用する。画像表示端末（走査線1066×1024本、表示マトリクス1536×1024）は現在、画像読影室に2台、呼吸器科外来、整形外科外来、放射線科病棟に各1台設置されている。

●画像情報管理システムの特徴

このシステムの特徴をまとめると、①患者の基本情報、診療予約、オーダ情報等を病院情報システムからPACSに転送し、情報の重複入力、入力ミス、データベース間の矛盾を排除する。②画像データベースに関する情報を病院情報システムで管理し、情報の共有化、データベースの一元管理を行う。③病院情報システムに存在する種々の情報を有効活用し、あらかじめ必要とされる画像を選択し、アクセス効率に優れた磁気ディスクに事前転送する。④画像を効率よく検索・参照するため、あらかじめ必要とされる画像を自動的にあるいは半自動的に画像端末まで出力する。

●画像情報管理システムの活用とその実績

現在、放射線部門で発生するすべての画像をPACSに入力している。その中でデジタル化されている装置は画像入力インターフェースを介してPACSと接続している。画像入力インターフェースは業界標準インターフェースMIPS-89を基本とした。ただし、FCRのインターフェースは通信速度の速いDR11-Wを採用した。

PACSと接続されていない装置（胃、大腸、RI、CT 1台）はフィルム入力端末（FIT）から入力

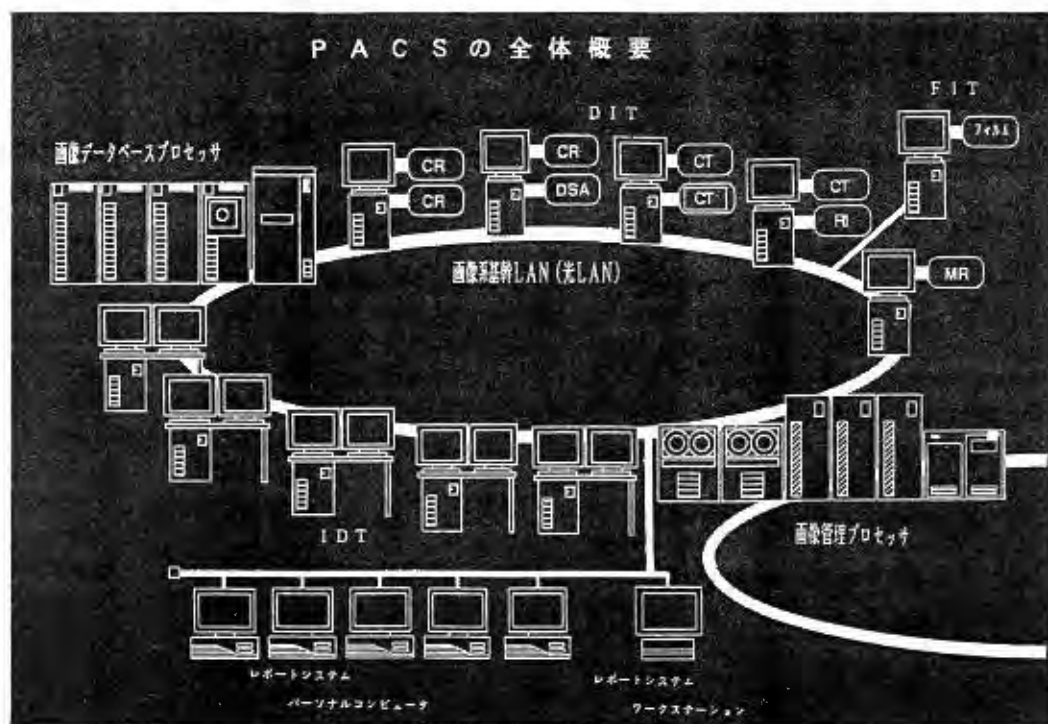
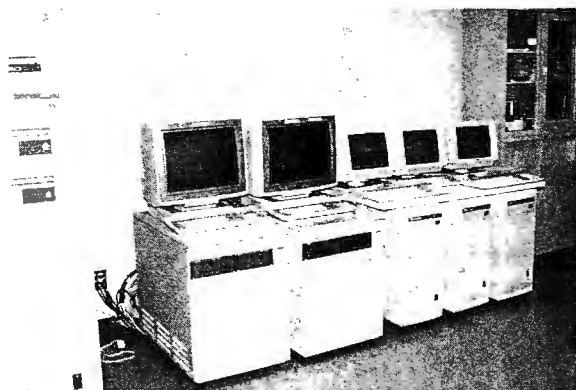


図 1 画像情報

FCRのインターフェース



画像読影室でのCRT診断



している。また院内・外のコピー用フィルム画像をFITより入力し、レーザーカメラでコピーを行っている。各装置の画像圧縮はFCR1/10、CT・MR・DSA1/3 とし、画像端末の表示画像は非可逆圧縮を行っている。画像転送はDSA（1画像）、FCR（1画像・2分割）、CT・MR（9分割）である。これら全画像を集合型光ディスクに保存している。全画像の読影は、原則として放射線科で行い、読影結果をレポートシステムに入力している。読影に際しては、CR画像の大部分はCRT読影で、その他の画像はフィルム読影である。

●まとめ

PACSの概要と現状を述べた。画像情報管理システムを運用して一年経過したが、現時点では解

決すべきいろいろの問題がある。病院にとってPACSの最大の関心事はCRT診断によるフィルムレスであるが、画像枚数の多い検査では画像検索スピード、操作性等に問題があり、従来のフィルムによる観察に比較して手間がかかりすぎる。またレポートシステムが開発途上のため、現システムではマウスやキーボードの操作が煩雑であるため診断医の負担が多くなっているのが現状である。経済性においても法規制によるフィルムとの二重管理の問題がある。更に画像表示端末の設置も必要とする全部門に広げなければならない。今後改善、改良を図るべき点を検討し、当センターにふさわしいPACSの完成を待ちたいと思っている。

ACADEMIC REPORT

慢性肝疾患における ^{99m}Tc -GSA の有用性

島倉 満男

宮城県立がんセンター診療放射線技術部
診療放射線技師

渡辺 信二

〃

荒 ふみ子

〃

千葉 俊雄

〃

早川 博文

〃

鵜飼 克明

宮城県立がんセンター内科 医師

松本 恒

宮城県立がんセンター放射線科 医師

Usefulness of ^{99m}Tc -GSA in
Chronic Liver Disease

Mituo Shimakura

Shinji Watanabe

Fumiko Ara

Toshio Chiba

Hirofumi Hayakawa

Katuaki Ukai

Kou Matumoto

Key words : ^{99m}Tc -GSA, liver
function, LFEI, LHL_{15}

要 旨

慢性肝炎および肝硬変を対象として肝機能診断用放射性医薬品ガラクトシル人血清アルブミンジエチレントリアミン五酢酸テクネチウム(^{99m}Tc -GSA)を使用し、 ^{99m}Tc -GSA投与15分後における(肝臓)/(心臓+肝臓)= LHL_{15} に他のいくつかの血液生化学の肝機能指標を加味して liver function evaluation index (LFEI) = (LHL_{15}) $\times$ (%PT) $\times$ (ChE) $\times$ (AST/ALT)/(T-Bil) $\times 10^4$ という新肝機能指標を考案した。LFEIは肝硬変の臨床病期分類を良好に反映するものであった。

はじめに

ガラクトシル人血清アルブミンジエチレントリアミン五酢酸テクネチウム(^{99m}Tc -GSA)は、哺乳類の肝細胞にのみ存在するアシアロ糖タンパク受容体に親和性を有する肝疾患診断用の放射性医薬品である。これから得られる受容体指標は、肝疾患患者の病態や予後、さらに既存の血液生化学検査成績とよく相関することが示された^{1)~8)}。さらに、 ^{99m}Tc -GSAの肝摂取率指標(LHL_{15})は肝障害度を反映することが示された。しかし、 LHL_{15} 単独では慢性肝炎、肝硬変の評価の場合、臨床病期の分類でⅠ期とⅡ期、あるいはⅡ期とⅢ期との重なりがみられ、 LHL_{15} と臨床病期間に整

合性の欠けるさらいがある。この問題を解決する目的で、今回慢性肝炎および肝硬変を対象として LHL_{15} をもとに考案した新しい肝機能指標で肝障害の評価を試みた。

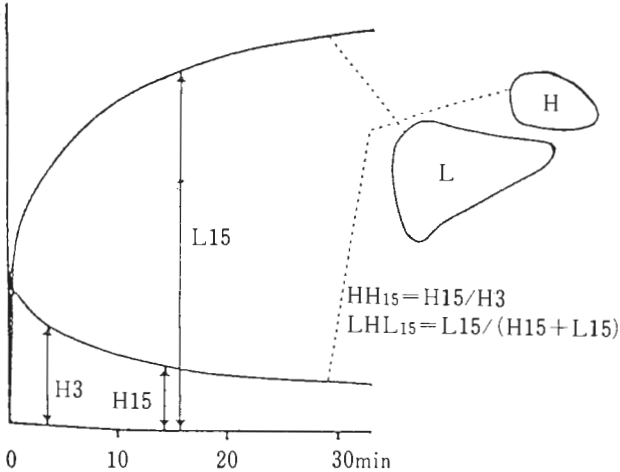
対 象

対象は1993年3月から1994年5月までの期間に宮城県立がんセンターで治療を受けた慢性肝炎13例(HCC2例)、肝硬変27例(HCC19例)の計40例であった。慢性肝炎は組織学的に診断されたものであり、肝硬変は臨床画像上または組織学的に診断されたものである。これらの患者における肝機能障害の重症度を、日本肝癌研究会の臨床病期の判定基準⁹⁾に従い、Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ期の3群に分類

Table 1 clinical stage of liver dysfunction

clinical stage	I	II	III
serum bilirubin (mg/dl)	<2.0	2.0~3.0	>3.0
serum albumin (g/dl)	>3.5	3.0~3.5	<3.0
prothrombin time (%)	>80	80~50	<50
ICGR ₁₅ (%)	>15	15~40	>40
ascites	none	controllable	uncontrollable

日本肝癌研究会臨床病期判定基準



H : heart ROI, L : liver ROI, H3 : counts in the heart ROI at 3 min, H15 : counts in the heart ROI at 15min, L15 : counts in the liver ROI at 15min

Fig.1 definition of HH15 and LHL15

した。すなわち Table 1 に示すとおり、5つの観察項目（血清総ビリルビン、血清アルブミン、プロトロンビン時間、ICG 15分血中停滞率、腹水制御）をそれぞれ3段階に分類し、2項目以上が該当したクラス（該当したクラスが複数の場合には重症側）を患者の重症度とした。なお、臨床病期分類は肝硬変、肝癌を対象としたものであるが、慢性肝炎がどのように関係しているのかを知る目的で慢性肝炎も臨床病期分類にあてはめて処理した。肝硬変27例は、代償期14例（HCC 12例）、非代償期13例（HCC 7例）であった。代償期と非代償期の分類は臨床像と肝不全に伴う症状（腹水、浮腫、黄疸、肝性脳症）とで行った。

方 法

^{99m}Tc-GSA（185MBq）を生食20mlで肘静脈から急速静注し、投与直後から30分まで1フレーム1分でコンピュータ（島津シンチパック7000）にデータを収集した。心室全体および肝臓全体に関心領域を設定し、時間-放射能曲線を作成した。関心領域内のカウントから薬剤の血中消失の指標として、3分後に対する15分後の心臓のカウント比を求めた（HH₁₅）。また、肝集積の指標として15分後における心臓+肝臓に対する肝臓のカウント比（LHL₁₅）を求めた（Fig. 1）。^{99m}Tc-GSA検査で得られたLHL₁₅と血液生化学検査の肝機能指標であるプロトロンビン濃度（%PT）、コリンエ

ステラーゼ（Ch E）、AST/ALT比、総ビリルビンを用いて下記の式より得られる新しい肝機能指標 liver function evaluation index（LFEI）を考案した。

$$LFEI = (LHL_{15}) \times (\% PT) \times (Ch E) \times (AST/ALT)/(T-Bil) \times 10^4$$

そしてLFEIが、臨床病期分類および肝硬変の代償・非代償期分類とどう関係するかを検討した。なお、臨床病期間および代償・非代償期間の有意差検定にはt検定を用いた。

結 果

- (1)LFEIと臨床病期分類での比較では、Ⅰ期（28.6±19.0）とⅡ期（4.7±2.6）間ではP<0.01、Ⅱ期とⅢ期（1.2±1.4）間ではP<0.01とそれぞれ有意差があり、強い分離を示した（Table 2, Fig. 2）。
- (2)LFEIと臨床像、肝不全追随症状での分類の比較では、慢性肝炎（27.0±20）と代償性肝硬変（6.4±6.0）間ではP<0.01と有意差があったが、代償性肝硬変と非代償性肝硬変（2.6±

Table 2 correlation of LFEI with the clinical stage

clinical stage	n	mean $\pm$ SD	p
I	13	28.6 $\pm$ 19.0	p < 0.01
II	20	4.7 $\pm$ 2.6	
III	7	1.2 $\pm$ 1.4	p < 0.01

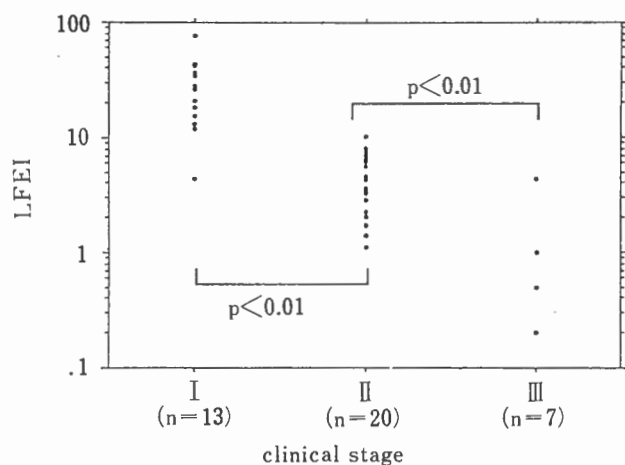


Fig.2 correlation of LFEI with the clinical stage.

Table 3 correlation of LFEI with chronic hepatitis, compensated and decompensated liver cirrhosis

	n	mean $\pm$ SD	p
chronic hepatitis	13	27.0 $\pm$ 20	< 0.01
compensated liver cirrhosis	14	6.4 $\pm$ 6.0	
decompensated liver cirrhosis	13	2.58 $\pm$ 3.0	< 0.05

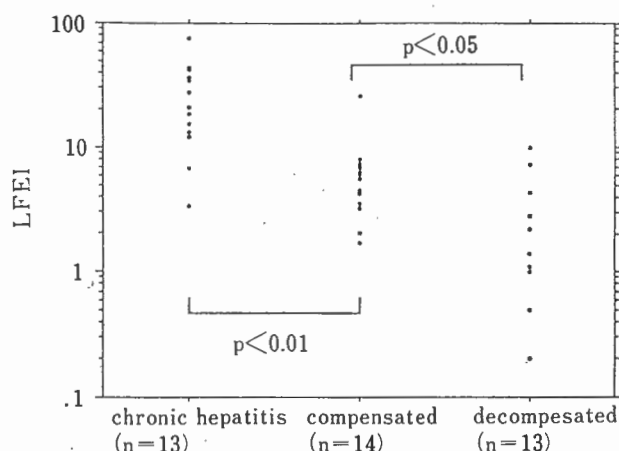


Fig.3 LFEI patients with chronic hepatitis, compensated and decompensated with liver cirrhosis

3.0) でも $P < 0.05$ と有意差があった (Table 3, Fig. 3)。

考 察

現在、肝細胞癌の手術適応の決定は、最終的には、人的能力や設備など、その施設条件に左右されることが多いが、その前段階としての肝機能予備能が重要な判断基準となる。当施設では、肝機能障害の重症度評価に日本肝癌研究会の臨床病期の判定基準を主に使用しているが、臨床病期の腹水項目のⅡ期とⅢ期を分類するとき、腹水の治療効果の有無が目安となっている。しかし、“腹水量”とか“薬物による腹水のコントロール値”のような客観的指標であればよいのだが、そうではない指標に一考を要するものがある。また、ビリルビン値やICGR₁₅などは、閉塞性黄疸の有無にも左右され、肝実質由来のものかどうかの判断に

慎重を要すること多い。^{99m}Tc-GSA から得られる LHL₁₅ (肝摂取指標)、HH₁₅ (血中消失指標) は、慢性肝疾患群 (慢性肝炎、肝硬変) で既存の肝機能指標とよく相関し、肝疾患の重症度を反映することが示された^{1)~4), 6), 8)}。しかし、LHL₁₅ および HH₁₅ は単にある時点における ^{99m}Tc-GSA の肝集積または血中残存を評価しているのみで、肝集積曲線に含まれる情報を十分に代表しているとはいえない。一方、他の血液生化学指標も単独では、すべての肝機能を反映するものとはならない。そのため、両者を結びつけて臨床病期を分離するような新しい肝機能指標 LFEI を考案した。LFEI の考案計算式作成にあたっては“臨床病期が大きく分離”することを目的に、LHL₁₅、HH₁₅、%PT、コリンエステラーゼ、総ビリルビン、AST/ALT 比、プロトロンビン時間、ALP、LDH、総プロテイン、 γ -GPT、ZTT、総コレステロール、トリ

グリセリド, BUN, クレアチニン, AST, ALT の任意組み合わせで, 試行錯誤の末にみつけたものである。現在, 臨床的に肝予備能の評価に, もっともひろく行われている ICG 検査を選択の対象から除いたのは, ICG 検査が採血と試薬の注入のため頻回の血管穿刺を必要とし, 採血時間を厳密にしなければならないなど, 検者, 被検者双方にとってその負担が大きく, さらに肝移送の過程でビリルビンと競合を示し, 黄疸例での検査の施行に慎重にならざるを得ない理由で, 当施設では ICG 検査施行例が少なかったためである。臨床病期分類で鳥塚ら¹⁾や小須田ら⁶⁾での LHL₁₅指標単独ではⅠ期とⅡ期あるいはⅡ期とⅢ期の重なりがあるが, LFEI は, それぞれ, ほぼ明瞭に分離できた。しかし, 臨床像および肝不全追隨症状で分類した代償性肝硬変と非代償性肝硬変との比較では重なりがみられた。以上のことから, 少なくとも LFEI は肝硬変の臨床病期分類に代わりうる指標となるものと思われる。

ま と め

- (1)LFEI は臨床病期を強く反映していた。
- (2)LFEI は代償性, 非代償性肝硬変の分離が弱かった。

参考文献

- 1) 鳥塚莞爾, 河 相吉, 工藤正俊・他:新しい肝機能イメージング剤 ^{99m}Tc-GSA の第 2 相臨床試験. 核医学, 29, 85~95, 1992.
- 2) 鳥塚莞爾, 河 相吉, 工藤正俊・他:新しい肝機能イメージング剤 ^{99m}Tc-GSA の第 3 相臨床試験. 核医学, 29, 159~181, 1992.
- 3) 河 相吉, 小島通真, 田中敬正・他:曲線回帰法を用いた ^{99m}Tc-DTPA- galactosyl human serum albumin; 血中停滞率による肝機能評価. 肝臓, 32, 905~911, 1991.
- 4) 河 相吉, 中西佳子, 小島通真・他:^{99m}Tc-DTPA- galactosyl human serum albumin を用いたアジアロ糖タンパク受容体肝シンチグラフィの臨床応用. 日本医学放射線学会雑誌, 51, 1489~1497, 1991.
- 5) 福井弘幸, 柏木 徹, 笠原彰紀・他:^{99m}Tc-Galactosyl Human Serum Albumin 肝シンチグラフィを用いた肝機能評価の有用性の検討. 核医学, 28, 1333~1341, 1991.
- 6) 小須田 茂, 塩山靖和, 鈴木謙三・他:^{99m}Tc-GSA による慢性肝疾患と肝動脈塞栓術前後の肝機能評価. 核医学, 28, 1385~1392, 1991.
- 7) 工藤正俊, 池窪勝治, 藤堂彰男・他:^{99m}Tc-GSA レセプターイメージングによる肝機能評価, 急性肝障害における検討. 日本消化器病学会雑誌, 89, 616~626, 1992.
- 8) 佐々木雅之, 吉開友則, 一矢有一・他:^{99m}Tc-Galactosyl Human Serum Albumin による慢性肝疾患の肝機能評価. RADIOISOTOPES, 41, 157~160, 1992.
- 9) 日本肝癌研究会・編:原発性肝癌取扱い規約 (2 版), 東京, 金原出版, 1989.

Requirement of zinc for tumor cell proliferation

XVI International
Cancer Congress
1994

New Delhi, India
30 Oct. - 5 Nov. 1994

S. UJIE, H. KIKUCHI, A. WAKUI and T. SAITO *

Miyagi Cancer Center Institute, Natori (J)

** Kyoundo Tokyo Hospital, Tokyo (J)*

SUMMARY

It has been believed that zinc is essential for the tumor cell proliferation. However the mean tumor zinc content is often lower than normal tissue in patients. Is zinc essential for tumor cell proliferation at all? Zinc distribution in tumor was determined in resected human tumor tissue. Zinc content of the most part of tumor was lower than normal tissue. But in the marginal area of tumor, zinc value was relatively high. If, in this high zinc area, tumor cell were proliferous, low mean zinc content of tumor should be compatible with zinc requirement of tumor cells for proliferation.

INTRODUCTION

Zinc is believed to be essential for the proliferation of tumor cells. In dietary zinc deficient rats bearing Yoshida Sarcoma (YS), prolongation of G2M phase in YS cells and inhibition of YS tumor growth were observed. Nevertheless, the zinc content of tumor tissue is not always high. In our recent research, mean zinc content of gastric and colonic cancer tissue in patients was significantly smaller than respective normal tissue. In this study, the causes of low zinc value of the tumors that are due to require zinc and contain rich zinc for proliferation is discussed.

MATERIALS AND METHODS

1) The rats transplanted YS subcutaneously (sc) were fed by zinc deficient diet (Zn:0.7ppm) in order to investigate the influences of zinc on tumor growth.

2) Cell cycle time and each phase time in the cell cycle of YS cells which were transplanted to the rats intraperitoneally (ip) fed by zinc deficient diet were determined by autoradiograph.

3) ^{65}Zn uptake of YS tumor transplanted to the rats was determined in 4, 5, 6, 7 days after transplantation. ^{65}Zn uptake was measured by γ -counter after tumor excision. ^{65}Zn (carrier free, New England Nuclear Corp) was administered to the rats ($2.5 \mu\text{Ci}/\text{rat}$) (ip) before one hour of tumor excision.

4) Zinc content in cancer tissue of resected materials of patients are determined by atomic absorption spectrophotometer for solid sample (Shimazu SM-30) after freeze-drying.

RESULTS AND DISCUSSION

1) Inhibition of tumor growth by dietary zinc deficiency.

The data of YS tumor growth transplanted to the rats are shown in Fig. 1. No difference in tumor growth was found between the control group and weight matched group. The body weight of rats in the weight matched group was kept in same weight as zinc deficient group rats by dietary low calorie. The

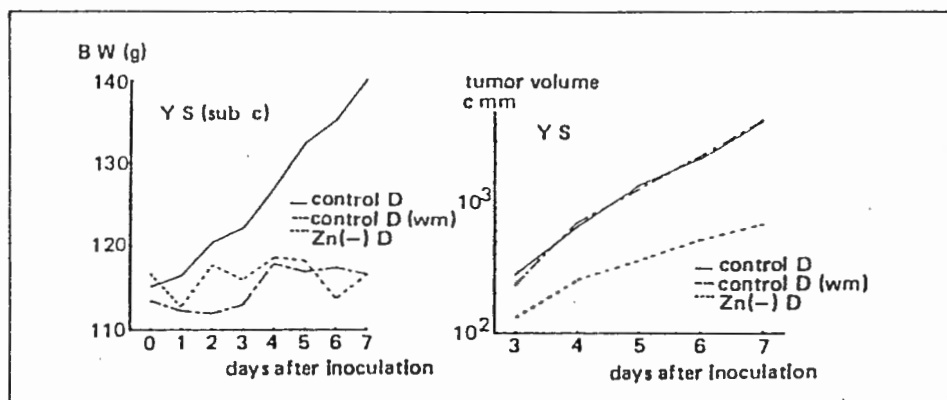


Fig. 1. Carcass growth rate (left) and tumor growth rate (right). Tumor growth was markedly inhibited by dietary zinc deficiency and no difference in tumor growth was observed between the control group and weight-matched group.

mean weight of tumor in both group was about 5.3g on the 7th day after transplantation. Significant inhibition of tumor growth was observed in the group of rats fed by zinc deficient diet. The mean tumor weight in this group was about 1.1g on the 7th day after transplantation. Thus the inhibition of tumor growth is not related to the inhibition of growth of the host but depends on zinc deficiency.

2) Prolongation of tumor cell cycle time by zinc deficiency.

Table 1 shows the cell cycle time and each phase time of YS cells which were transplanted to the rats (ip) fed by zinc deficient or control diet. In YS cells which were transplanted to the rats fed by zinc deficient diet, prolongation of G2M phase was observed. Then, it is suggested that the prolongation of cell cycle time is a cause of inhibition of tumor growth in zinc deficient rats bearing YS.

Table 1.
Cell cycle time and each
phase time of YS cells
which were transplanted to
the rats (ip) fed by zinc
deficient or control diet.

	Control. D	Zn. def. D
T_C (h)	15.06	18.98
T_{G_1} (*)	3.34	3.81
T_S (*)	10.51	11.03
T_{G_2} (*)	0.50	1.00
T_M (*)	0.71	3.14
CV (%)	49.52	43.89
CVc	36.34	27.93

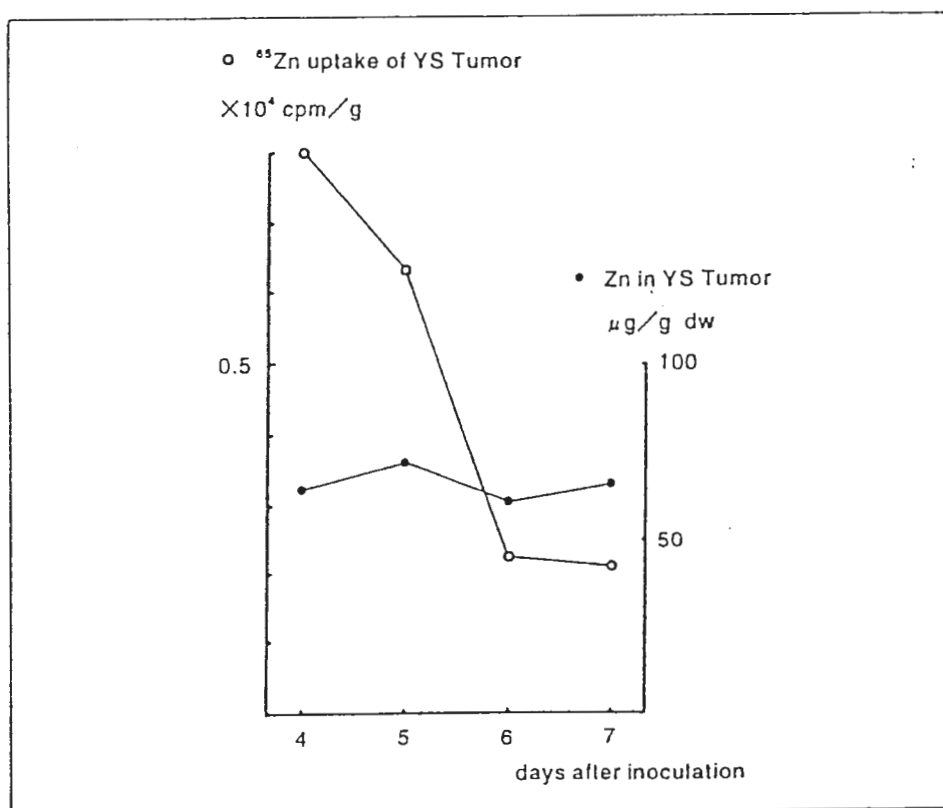


Fig. 2.
 ^{65}Zn uptake and mean zinc
content of YS tumor transplanted
to the rats s.c. from 4th day
to the 7th day after transplantation.

3) ^{65}Zn uptake of YS tumor.
 ^{65}Zn uptake and mean zinc content of YS tumor transplanted to the rats (sc) are shown in Fig. 2. In early stage, 4 - 5 days after transplantation, ^{65}Zn uptake of tumor was very active. Thereafter, in later stage, 6 - 7 days after transplantation, lowering of ^{65}Zn uptake was observed. But mean zinc content of YS tumor did not change markedly from the 4th day to the 7th day after transplantation. These results suggest as follows: only a few limited number of tumor cells in YS tumor incorporate the ^{65}Zn and the proportions of the active zinc-metabolizing tumor cells in YS tumor decrease relatively along with tumor growth in 6 - 7 days after transplantation. Therefore, ^{65}Zn uptake of YS tumor (cpm/g) decrease in later stage. Because of small proportion of the active zinc-metabolizing tumor cells in YS tumor, mean zinc content of YS tumor do not change markedly from the 4th day to the 7th day after YS transplantation.

4) Zinc content of cancer tissue of patients.

Case I; Gastric cancer, Borr II, Sig - por, T2.
Zinc content of normal gastric tissue is as follows: mucosa - $79.13\ \mu\text{g/g}$ dry weight, submucosa - $21.57\ \mu\text{g/g}$ dry weight, muscularis propria - $120.74\ \mu\text{g/g}$. Zinc content of cancer tissue is shown

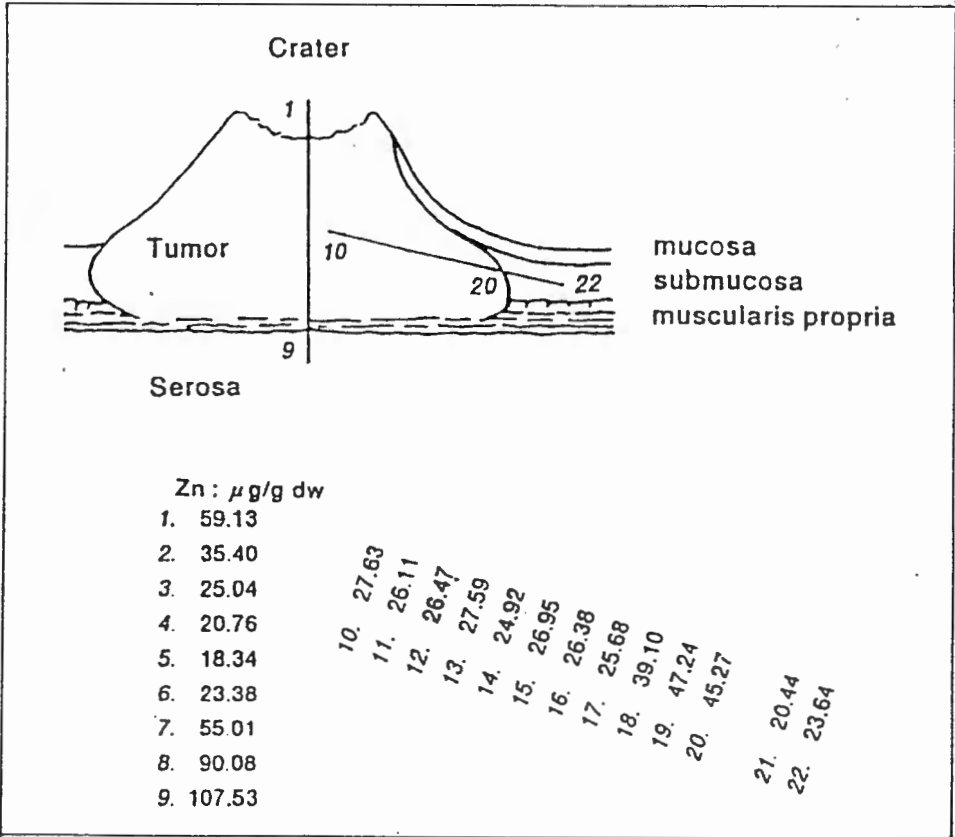


Fig. 3.
Zinc content of gastric cancer of patient. The samples were cut off from the tumor continuously.

in Fig. 3. 22 pieces of samples, about 1mg each, were cut off from tumor tissue continuously and zinc content was determined. Zinc content of the most part of tumor was under 30 $\mu\text{g/g}$ dry weight. But marginal part of the tumor (sample No18 - 20) showed relatively high zinc value. It was supposed that the high zinc value in marginal part of tumor was related to the good nutritional condition of this part.

Case II; Rectal Cancer, Mod, T4.

Zinc content of normal mucosal tissue and submucosal tissue of the rectum were 105.53 $\mu\text{g/g}$ dry weight and 37.7 $\mu\text{g/g}$ dry weight respectively. Zinc content of rectal cancer tissue is shown in Fig. 4. Zinc content of the most part of tumor was 50 - 70 $\mu\text{g/g}$ dry weight. But marginal part of tumor (sample No43 - 48) showed relatively high value in zinc (90 - 126 $\mu\text{g/g}$ dry weight). It was unavoidable in the conventional method by ashing, zinc content of tumor tissue is determined as the mean value of tumor, because it requires a large quantity of tumor tissue for determination of zinc. But in measurement of zinc by atomic absorption spectrophotometer for solid sample (Shimazu SM-30), zinc content of tumor tissue was determined with only 1mg sample, then, zinc distribution in tumor was investigated clearly in detail. Thus, in the cases of gastric or rectal cancer, the tumor tissues showed lower mean zinc level than

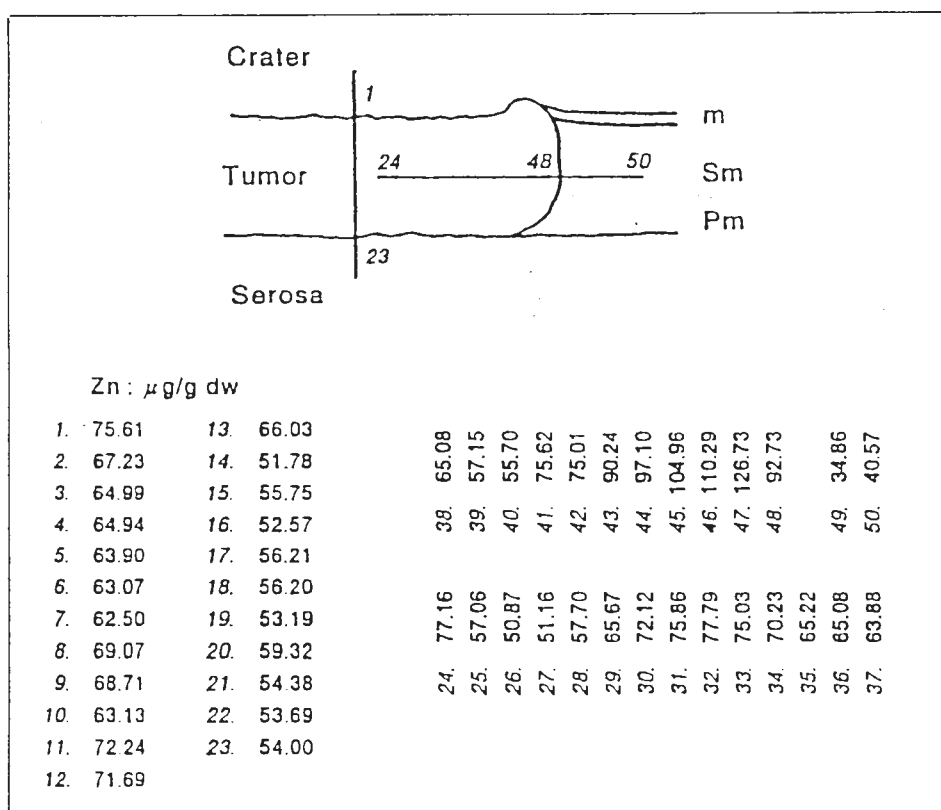


Fig. 4.
Zinc content of rectal
cancer of patient.
The samples were cut off
from the tumor continuously.

normal tissue. However there were cases that show relatively high zinc value in marginal part of tumor. If in the high zinc marginal area, tumor cells were actively proliferous, low mean zinc content of tumor should be compatible with zinc requirement of tumor cells for proliferation. Further study and the proof of active tumor cell proliferation in the high zinc area may be required.

VI-5 シアリダーゼ

(i) 動物シアリダーゼ

a) 活性測定

シアリダーゼ (EC 3.2.1.18) は、糖蛋白質、糖脂質、オリゴ糖などの末端に結合しているシアル酸を遊離する加水分解酵素で、エキソ型の α -グリコシダーゼである。シアリダーゼ活性の測定法には実に多くの方法があるが、酵素の純度や活性の程度、アッセイの目的などにより最適の方法を選択すべきである。動物シアリダーゼには、ウイルスのシアリダーゼにみられるような Ca^{2+} による著明な活性化はなく、 K^+ 、 Na^+ 、 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} などむしろ阻害的に働く。反応系には、精製酵素の場合ウシ血清アルブミン (0.2 mg 程度) を添加したり、ガングリオシドが基質の場合には Triton X-100, Triton CF-54, 胆汁酸などの界面活性剤 (0.1~0.2%) を加えて最大活性を得るようにする。ここでは、ガングリオシド基質使用時の主な測定法をあげる。

過ヨウ素酸-チオバルビツール酸法

遊離するシアル酸を定量する方法で、基質の種類を問わず使用できるが、デオキシリボース、ショ糖、過酸化脂質などの呈色物質が干渉する。これらが懸念されるときは AG1-X 2 (酢酸あるいはギ酸型) のミニカラムによる前処理が必要となる。Warren の原法 (Warren, 1959) の改良法 (Aminoff, 1961) が感度が高い*。

シアル酸標識基質を使用する方法

ガングリオシドのシアル酸の標識には化学反応あるいは酵素反応を利用する。前者は限定過ヨウ素酸酸化 (Veh *et al.*, 1977) 後またはメチルエステル化 (Handa & Nakamura, 1984) 後に NaB^3H_4 で還元するもので、シアル酸の構造変化を伴う。後者には、*N*-アセチル ^3H マンノサミンをラットなどに注入して標識されたガングリオシドを組織から分離する方法 (Kolodny *et al.*,

* 試薬の調製、実験法の詳細については、次項「細菌、ウイルスおよび原虫のシアリダーゼ」の活性測定法を参照されたい。(宮城妙子、宮城県立がんセンター)

1970)と、*in vitro* でシアリルトランスフェラーゼ反応によってシアル酸を導入する方法 (Tallman *et al.*, 1977) があるが、これらにはシアル酸残基を修飾せずに標識できる利点がある。シアリダーゼ反応 (反応液0.1 ml) には調製した GM3 などのガングリオシドを 5~10 nmol 使用する。30~60 分間インキュベートした後、5% トリクロロ酢酸-1% タングストリン酸 1 ml とウシ血清アルブミン 2 mg を加え、10 分間冷却後遠心し、遊離シアル酸を含む上清に Ultima XR (Packard 社) などのシンチレーターを加え、液体シンチレーションカウンターで計測する。

セラミド部分標識基質を使用する方法

セラミド部分の標識には、不飽和二重結合を PdCl_2 存在下で KB^3H_4 で直接接触還元する Schwarzmenn の方法 (Schwarzmenn, 1978) が繁用されている。調製した $[\text{}^3\text{H}]$ ガングリオシド基質を酵素と反応後、C18 逆相カラムや DEAE-Sepharose CL-6B などのミニカラムによって生成物と未反応ガングリオシドを分離する。 $[\text{}^3\text{H}]$ GD1a を基質としたシアリダーゼ活性測定例 (Scheel *et al.*, 1982) を以下に紹介する。10 nmol $[\text{}^3\text{H}]$ GD1a (10 Ci/mol) を反応液 0.1 ml に基質として添加して反応させた後、0.75 ml の DEAE-Sepharose CL-6B (酢酸型) カラムにかけ、生成物を分画する。反応産物 GM1 は 15 mM 酢酸アンモニウムを含むメタノール液 4 ml で溶出され、未反応 GD1a は 100 mM 酢酸アンモニウムを含むメタノール液 4 ml で溶出されてくる。放射能を Ultima XR (Packard 社) と混合後、計測する。

b) 種類と性状

シアリダーゼは、インフルエンザウイルスの赤血球凝集反応の研究が発端となって発見され、ウイルス、細菌、放線菌などの微生物や動物に広く分布している。これらのうちウイルスや細菌からは高純度のシアリダーゼが得られ、構造や性状も詳しく調べられているものが多い。しかしながら、動物シアリダーゼは微量で膜結合性であったり、著しく不安定であったりして、精製標品が得がたい。細胞内ではリソゾームのほかに細胞質、形質膜、Golgi 体に活性が見出されていたが、これらシアリダーゼ活性の相互間の異同も不明であった。最近のラットシアリダーゼ研究の進展によって、分離・精製を通じて少なくとも表 VI-4 のような 4 種のシアリダーゼが存在することがわかった。これらはリソ

ゾーム内腔性, リソゾーム膜性, 形質膜性, および細胞質性シアリダーゼであって, 細胞内局在のみでなく, 至適 pH や基質特異性も相違し, 免疫学的にも互いに区別される. リソゾーム内腔性シアリダーゼ (Miyagi & Tsuiki, 1984) は酸性 pH で 4-メチルウンベリフェリルシアル酸などの合成基質や糖ペプチド, オリゴ糖などの低分子基質にのみ作用するが, 各種界面活性剤存在下でもガングリオシドを分解せず, ガングリオシドに働くのは他の 3 種である. 細胞質性シアリダーゼ (Miyagi & Tsuiki, 1985) は中性付近で, オリゴ糖, 糖蛋白質, ガングリオシドのすべてに作用するが, GM1 や GM2 を基質としない点では膜シアリダーゼと異なる. 膜シアリダーゼ I, II (Miyagi *et al.*, 1990 a) はガングリオシドに優先的に働き, その主局在はそれぞれ形質膜, リソゾーム膜で, 可溶化には Triton X-100 とデオキシコール酸が必要である. I がガングリオシドにはほぼ特異的に働くのに対し, II は 4-メチルウンベリフェリルシアル酸, オリゴ糖, 糖蛋白質をも加水分解する. 両者は反応動力的にも相違し, GM3 に対する K_m は I が $125 \mu\text{M}$, II が $22 \mu\text{M}$, GM2 に対する K_m はそれぞれ $252 \mu\text{M}$, $71 \mu\text{M}$ で, II が GM2 を効率良く分解する. リソゾーム内腔性シアリダーゼや形質膜性シアリダーゼなど, 基質の非糖部分が分解速度に大きい影響を与える

表 VI-4 ラットシアリダーゼ 4 分子種の比較

	膜シアリダーゼ I	膜シアリダーゼ II	リソゾーム内腔 性シアリダーゼ	細胞質性シア リダーゼ
局 在	形質膜	リソゾーム膜	リソゾーム内腔	細胞質
至適 pH	5.0	4.8	4.7	6.5
基質特異性:				
4MU-シアル酸	—	+	+	+
シアリルラクトース	—	+	+	+
オロソムコイド	—	±	—	+
グリコホリン	—	+	—	—
ガングリオシド				
GD1a	+	+	—	+
GM3	+	+	—	+
GM2	+	+	—	—
阻 害				
Neu5Ac-2en(0.1 mM)	—	—	±	+
Cu ²⁺ (1 mM)	+	—	—	+
癌性変化	上昇	低下	上昇または低下	低下

4MU: 4-メチルウンベリフェリル

というような厳しい基質特異性は微生物シアリダーゼには認められていない。また、4種のシアリダーゼは活性阻害剤によっても区別できる (Miyagi *et al.*, 1993)。N-アセチルノイラミン酸 (Neu5Ac, 2 mM) や 2-デオキシ-2,3-デヒドロ-N-アセチルノイラミン酸 (Neu5Ac-2en, 0.1 mM) によってリソゾーム内腔性および細胞質性シアリダーゼは活性阻害を受けるが、膜性シアリダーゼはこの濃度ではほとんど影響を受けない。ところが、 Cu^{2+} (0.5 mM) などの重金属イオンや 4-ヒドロキシメルクリ安息香酸 (10 μM) は細胞質性シアリダーゼや形質膜性シアリダーゼを阻害するが、2つのリソゾームシアリダーゼを阻害することはない。一方、細菌シアリダーゼの阻害剤である 4-ニトロフェニルオキサミン酸やシアスタチン B, ウイルスシアリダーゼの強力な阻害剤である GM3 誘導体 [Neu5Ac α (2-S-6) Gal β 1 $\rightarrow$ 4Glc β 1 $\rightarrow$ 1Cer] (Suzuki *et al.*, 1990) は動物シアリダーゼのいずれにも影響を与えない。抗膜シアリダーゼ I 抗体による免疫沈降試験により、I は赤血球ゴースト (Sagawa *et al.*, 1990), 肝形質膜 (Miyagi *et al.*, 1990b), 脳シナプトソーム膜 (Miyagi *et al.*, 1990 a) に多く含まれ、免疫学的に類似酵素がマウス肝, 脳はもとより, ヒト肝やウシ脳にも広く分布することがわかった。

c) 分離・精製

動物シアリダーゼのうち、これまで高度精製過程が報告されているのは、ラット心筋 (Tallman & Brady, 1973), ラット肝 (Miyagi & Tsuiki, 1985), ラット骨格筋 (Miyagi *et al.*, 1990b), ヒト白血球 (Schauer & Wember, 1984), ヒト胎盤 (Hiraiwa *et al.*, 1988; van der Horst *et al.*, 1989) からのシアリダーゼである。これらはヒト白血球酵素を除いてガングリオシドを基質とする。特にガングリオシドに優先的に働くのは膜局在のシアリダーゼであるが、可溶化され活性を保持したまま均一にまで精製された例はまだない。ここでは前述のラット脳膜シアリダーゼ I と免疫学的に交差し、酵素学的性状も類似するウシ脳シナプトソーム膜シアリダーゼの部分精製法 (Hata *et al.*, 1993) について記述する。この酵素はラット膜シアリダーゼ I と同様、ガングリオシドを特異的に基質とするので、糖蛋白質の混在している試料中のガングリオシドのみからシアル酸を除去するなど、試薬としての有用性も高い。

操作はすべて 4°C で行う。シナプトソームの調製は Eichberg らの方法 (Eich-

berg *et al.*, 1964) に従う。−80°C に凍結保存してあるウシ脳 50 g に 9 倍量の 0.32 M ショ糖-1 mM EDTA を加え、テフロンホモジナイザーでホモジナイズする。1,000×g, 10 分間遠心後、上清を 17,500×g, 60 分間遠心して沈渣 P₂ を得る。これを 0.32 M ショ糖-1 mM EDTA (2 g 組織当たり 1 ml) に懸濁し、その 5 ml を日立 SW-27 S 用の遠心管の 1.2 M ショ糖-1 mM EDTA (10 ml), 0.8 M ショ糖-1 mM EDTA (10 ml) を積層した上にのせ、52,000×g, 2 時間遠心する。シナプトソームを含む画分は 1.2 M ショ糖液層の上部にバンドとなって集まるので、これをパスツールピペットで注意深く吸いとる。この画分をショ糖最終濃度が 0.32 M となるように 1 mM EDTA で希釈し、100,000×g, 1 時間遠心する。得られた沈渣 P₂B 画分を 20 mM リン酸緩衝液-1 mM EDTA-0.1% Triton X-100 (緩衝液 A) に懸濁して 47.5 ml とし、10% デオキシコール酸 2.5 ml を加えてホモジナイズする。100,000×g, 60 分間遠心後の上清を可溶化膜シアリダーゼ画分とする。これを緩衝液 A で平衡化した DE-52 カラム (2.5×10 cm) にかけて、洗浄後、0.2 M NaCl を含む緩衝液 A で溶出分取する。ガングリオシドを基質としてシアリダーゼ活性を測定した後、活性画分を緩衝液 A で平衡化した Octyl-Sepharose カラム (2.5×4 cm) にかけて、0.1~0.4% Triton X-100 の直線濃度勾配 (300 ml) で 10 ml ずつ分取、溶出する。次に活性画分を 0.25 M NaCl を含む緩衝液 A で平衡化したヘパリン-Sepharose カラム (1.5×1.5 cm) にかけて同じ緩衝液で洗浄後、0.25~1.0 M NaCl の直線濃度勾配 (150 ml) で 3 ml ずつ分取、溶出する。0.7 M NaCl 付近に活性画分が溶出する。脱塩の必要があれば、活性画分を限外濾過 (アミコン YM 10 など) で濃縮後、0.15 M NaCl を含む緩衝液 A で平衡化した Sephadex G-25 カラム (1.5×30 cm) でゲル濾過する。活性はすべて 0.2% Triton X-100 の存在下で測定する。シナプトソーム画分から約 500 倍の純度の標品が得られる。さらに純度の高い標品を得たいときには、精製過程が進むにつれて非常に不安定になるので、Neu5Ac-2en などのシアリダーゼ特異的阻害剤などを安定化剤として添加すると回収率が上がる人が多い。

d) 動物シアリダーゼの cDNA クローニング

酵素蛋白質の cDNA クローニングには、精製酵素標品の部分アミノ酸配列に基づくオリゴヌクレオチドをプローブとしてハイブリダイゼーションによって

目的のクローンを探す方法と、大腸菌や動物細胞を宿主とした発現クローニングによる方法が一般的に用いられている。動物シアリダーゼは微量でかつ不安定であるため、プローブ作製のための情報源である精製標品が得がたく、グリコシダーゼの中ではとりわけ分子生物学的研究が遅れていた。しかし、ウイルス、細菌、寄生虫などの微生物シアリダーゼについては、酵素蛋白質標品のペプチドシーケンシングや遺伝子クローニングにより、いくつかの1次構造がすでに明らかになっている。

ラットの4種のシアリダーゼ(表 VI-4 参照)のうち、均一標品を得ることができた細胞質性シアリダーゼについて、最近その cDNA が単離され、1次構造が決定された (Miyagi *et al.*, 1993)。ここでは、動物シアリダーゼの最初のクローニング例であるラット細胞質性シアリダーゼの cDNA クローニング法について紹介する。

細胞質性シアリダーゼ活性の組織分布を調べると、骨格筋が最も高く、次に脳が高い活性を有することがわかった (Dairaku *et al.*, 1986)。これらと免疫学的に完全に交差する肝酵素の精製法 (Miyagi & Tsuiki, 1985) に準じて、骨格筋 (約 3 kg) を酵素源として精製した (Miyagi *et al.*, 1990b)。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動上で均一バンドを示す標品約 100 μ g が得られたが、このうち 60 μ g を抗体作製に、残りはトリプシンあるいはエンドリジルペプチダーゼ消化し、部分アミノ酸配列の決定に供した。表 VI-5 に示すように9種のペプチド配列が明らかとなったが、得られたアミノ酸配列が途中切れていて利用できる領域が短かったり、コドンの縮重の多いアミノ酸の組み合わせがほとんどであった。

最初の試みとして、ペプチド E2 の N 末端側 6 個のアミノ酸配列に基づいた合成オリゴヌクレオチドをプローブとして、ラット骨格筋 λ gt 10 cDNA ライブラリーをスクリーニングした。ライブラリー作製のための cDNA については、プローブ作製に利用したアミノ酸配列のすぐ下流の配列に基づいてオリゴヌクレオチドを作製し、これをプライマーとして合成した。シアリダーゼ特異的な配列に富んでいる cDNA ライブラリーであるので、mRNA 含量の低さをカバーする有効な手法と考えられたが、得られた陽性クローンはすべて偽陽性であった。後になってわかったことであるが、この失敗の原因はアミノ酸配列

表 VI-5 ラット骨格筋細胞質シアリダーゼから得られたペプチドのアミノ酸配列 (Miyagi *et al.*, 1993 b)

ペプチド	アミノ酸配列
T 1	**HPVHKPTPFAF**
T 2	*QAQSPN**L*FQ**
T 3	VVYLNAR
T 4	AGSLLVPAYAYR
E 1	*ASRTDE*AELIVL**A(S)YN
E 2	(E)TLFFT(T)EVYAY*(I)P
E 3	(A)QPEEVA
E 4	TLLAFAE***
E 5	(Q)AFPTV**(A)Q*

T 1～T 4 はトリプシン処理, E 1～E 5 はエンドリジルペプチダーゼ処理で得られたもの, *印は決定できなかったアミノ酸残基, 括弧内は不確定のアミノ酸残基を示し, アンダーラインは塩基配列からの結果と一致しないアミノ酸残基を示す。

の誤読であった。次に、骨格筋酵素に対する抗体をプローブとして、ラット骨格筋 λ gt11 cDNA ライブラリーをスクリーニングした。10⁶ 個の組換えファージをスクリーニングし、2 個の陽性プラークを得たが、それらには表 VI-5 に示されているどのペプチド配列も含まれていなかった。ベクターにコードされる β -ガラクトシダーゼとの融合蛋白質がつくられる頻度は、ベクターへの cDNA の挿入方向とコドンのフレームが適合することが必要で 1/6 となるため、発現の低いシアリダーゼの場合はさらに数多くの組換え体をスクリーニングすべきであった。第 3 の試みは、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によって増幅した cDNA 断片をプローブとして cDNA ライブラリーをスクリーニングする方法で、これがクローニングを可能にした。なお、一般的な手法は Sambrook らの解説に従った (Sambrook *et al.*, 1989)。

PCR による cDNA 断片の増幅

はじめに、プライマー作製のために、対応するコドン数の少ないアミノ酸を多く含み、しかも比較的長い配列を有するペプチド T1, E1, E2 が選択された。この配列をもとにセンス、アンチセンス鎖の計 6 種の混合プライマー (表 VI-6) をつくり、骨格筋 mRNA から調製した cDNA を鋳型として PCR を

表 VI-6 PCR 反応に用いられたオリゴヌクレオチドプライマー
(Miyagi *et al.*, 1993 b)

1 S	5'-AGIACIGACGAAIIIGCIGAAGCTIATIGTICT-3' C T G GT T
1 AS	5'-AAIACIATIAACTCIGCHICTCATCIGT-3' G GT T G
2 S	5'-ACICTITTTCTTCACIACIGAAGTITACGC-3' T T G T
2 AS	5'-TAIGCATAIACCTTCIGTIGTAAAAAA-3' G C G G
3 S	5'-CACCIGTICACAAACCIACICCITTCGC-3' T T G T
3 AS	5'-AAIGCAAAGGIGTIGGCTTATGIACIGG-3' G T G
4 AS	5'- ⁴⁸⁸ AGGAAGAGGGTCTTTGTTTG-3'
5 AS	5'- ⁴⁷³ GTTTGCTTGTCATACAAGGGA-3'
6 AS	5'- ⁷⁴⁰ AGCTTCCGGTAGGCATAAGC-3'
7 S	5'- ⁵⁰ GGTTAGCAGCTGAAGGTTGTCA-3'

1, 2, 3 はペプチド E 1, E 2, T1 の配列をもとにそれぞれ合成され, 4~7 は分離された cDNA の塩基配列をもとに合成された。

行った。PCR におけるプライマーは非特異的なアニーリングを少なくするため、約 30 mer の長さをもつ縮重の程度の低いプライマーを設計した。すなわち、コドンの縮重が 3 以上であるアミノ酸はコドンの 3 番目のヌクレオチドをデオキシイノシンに置き換え、縮重が 2 の場合は 70% 以上の使用頻度の高いコドンを選択した (Moreman, 1989)。さらに、適切なアミノ酸の配列があっても、途中に確定できないアミノ酸を含む場合は、そのアミノ酸のトリプレットコドンのすべての位置をデオキシイノシンで置換した。

鋳型 DNA は、次のように調製した。5 μ g の骨格筋 poly(A)⁺ RNA, 200 ユニットの Moloney murine leukemia virus 逆転写酵素 (GIBCO BRL 社), 50 mM Tris-塩酸 (pH 8.3), 40 mM KCl, 6 mM MgCl₂, 1 mM 各 dNTP, 1 mM ジチオスレイトール (DTT), 100 pmol ランダムヘキサヌクレオチドプライマーを含む 100 μ l の反応液を、42°C で 90~120 分間インキュベート後、フェノール-クロロホルム-イソアミルアルコール (25:24:1, v/v) で抽出、Sephadex G-50 カラム (Nick カラム, Pharmacia 社) で脱塩した。

この鋳型 DNA と前述のプライマーを用いて PCR 反応を行う。その反応溶

液 (50 μ l) の組成は, 50 mM KCl, 10 mM Tris-塩酸 (pH 8.3), 1.5 mM $MgCl_2$, 0.01% ゼラチン, 0.2 mM 各 dNTP, 0.5 μ M プライマー, 50 ng 鋳型 DNA, 1.5 ユニット Taq ポリメラーゼを含み, ミネラル油 50 μ l を重層後, 反応を開始した. 94°C (0.5 min) $\rightarrow$ 50°C (1 min) $\rightarrow$ 72°C (2 min) のインキュベーションを 30~40 サイクル行った後, 70°C で 10 分間インキュベートした. 得られた PCR 産物をアガロース電気泳動にかけ, 増幅された DNA の検定, 目的の DNA 断片の抽出を行った. この DNA をリン酸化し, 平滑断端にしてサブクローニング後, 塩基配列を決定した.

この結果, 6 つの反応のうち 2 つの反応 (プライマー 2S-1AS と 3S-1AS の組み合わせ) で 450 bp およびそれと重複する 550 bp の cDNA がそれぞれ増幅された. この塩基配列から演繹されるアミノ酸配列には, プライマー作製に使用しなかった 3 種のペプチド (E3, E4, T5) のアミノ酸配列が含まれていた.

完全長 cDNA の単離

PCR 法によって得られた cDNA (図 VI-10, PSD1) をマルチプライム法 (ランダムプライマー-DNA 標識キット, タカラ酒造) で ^{32}P -標識し, これをプロ-

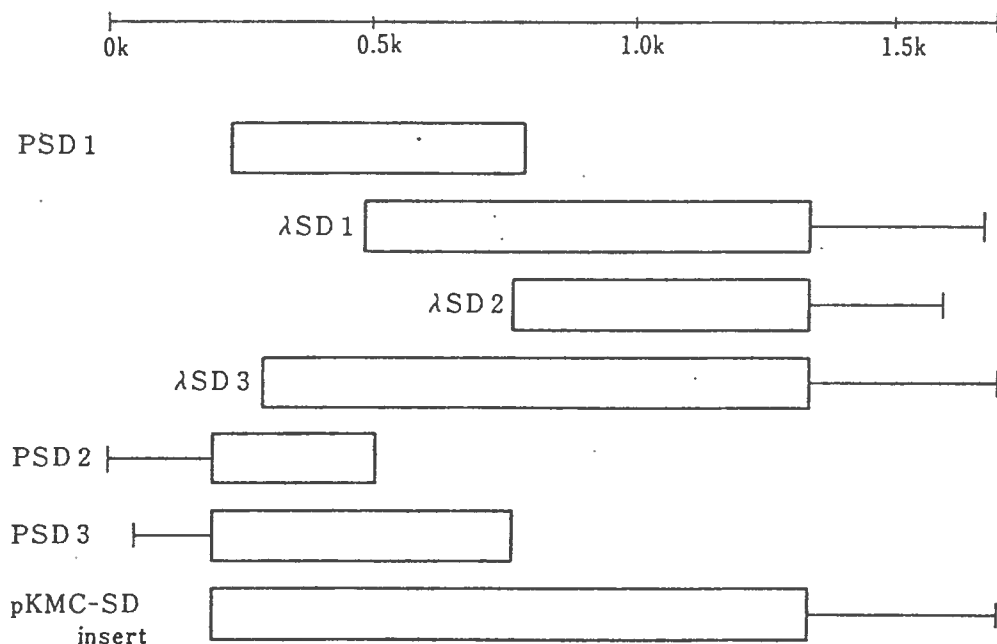


図 VI-10 PCR 法および cDNA ライブラリースクリーニング法によって分離された cDNA クローン (Miyagi *et al.*, 1993 b).

PSD は PCR により, λSD はライブラリースクリーニングによる. pKMC-SD は PSD 3 と λSD 3 をつなぎ合わせたもの. は翻訳領域.

ブとして、ハイブリダイゼーションによってラット骨格筋 λ gt 10 cDNA ライブラリーをスクリーニングした。使用したライブラリーは、Sambrook ら (Sambrook *et al.*, 1989) の記載に従って、oligo(dT) をプライマーとして合成された cDNA を用いて作製した。2 $\times$ 10⁶ 個のブランクから 3 個の陽性ブランク (図 VI-10, λ SD 1~3) を得た。これらは 3' 側に AATAAA 配列を含んでいたが、すべて 5' 末端を欠失していたので、Frohman ら (Frohman *et al.*, 1977) の “RACE (rapid amplification of cDNA end) 法” に従い、5' 末端の PCR による増幅を試みた。プライマーとして、(dT)₁₇ アダプター (5'-GACTCG-AGTCGACATCGATTTTTTTTTTTTTTTTTTTT-3'), アダプター (5'-GACTCGAGTCGACATCG-3'), 細胞質性シアリダーゼに特異的な 2 つのオリゴヌクレオチド (表 VI-6, 4AS, 5AS) プライマーを合成した。プライマー 4AS を用いて poly(A)⁺ RNA (1 μ g) の逆転写反応によって鋳型 DNA を合成し、その 1/10 量をアダプター (10 pmol) および 4AS プライマー (25 pmol) とともに PCR 反応に供した。反応産物の 2 μ l をアダプタープライマー (25 pmol) とプライマー 5AS (25 pmol) によって、アニーリング温度を 55°C として再増幅した。この cDNA (図 VI-10, PSD 2) と先の cDNA (PSD 1) の両者をカバーする cDNA (PSD 3) を、6AS-および 7AS-オリゴヌクレオチドをプライマーとして PCR 増幅し、翻訳領域を発現ベクター pkk 233-2 (Pharmacia 社) 上で λ SD 3 とつなぎ合わせた (pKMC-SD)。

大腸菌による活性発現

pKMC-SD からの 1.4 kb cDNA (翻訳領域と 3' 側非翻訳領域の一部を含む) が *Nco* I と *Bam* HI 切断部位で、ファージ T7 プロモーター支配下にある発現ベクター pET 3 d (Novagen 社) にサブクローニングされた。また、pKMC-SD 挿入の翻訳領域が、*Bam* HI と *Eco* RI の切断部位を導入したプライマーを用いて PCR 増幅され、グルタチオン-S-トランスフェラーゼとの融合蛋白質を発現する pGEX-2 T (Pharmacia 社) に組み込まれた。イソプロピルチオ- β -D-グリコシド誘導後の大腸菌を集め、超音波処理によって細胞を破碎し、ホモジネートでシアリダーゼ活性を測定した。宿主細胞それ自体でも、ベクターのみを含む細胞でも、まったくシアリダーゼ活性は検出されなかったが、cDNA を含む組換え体ではどちらの発現ベクターを使用した場合でも明らかにシアリダーゼ

METCPVLQKETLFHTEVYAYRIPALLYLKKQKTLLAFAEKRASRTDEHAELIVL
 RRGSYNGATNHVKWQPEEVVTQAQLEGHRSMNPCPLYDKQTKTLFLFFIAVPG
 RVSEQHQLQTRVNVTRLCRVTSTDYGMNWSVPVQDLTETTIGSTHQDWATFAV
 GPGHCLQLRNRAGSLLVPAAYRKLHPVHKPTPFACFISLDHGHTWELGNFVSE
 NSLECQVAEVGTGAHRVVYLNARSFIGARVQAQSPNDGLDFQDNQVVSKLVEPPH
 GCHGSVVAFHSPSTSKPDCLRHVAAYTHPTDSRNRTNLGVYLNQTPLDPTAWSEP
 TLLATGTCAYSDDLQIWGLGPDGSPQFGCLYESGNYDEIIFLMFTLKQAFPTVHGAQ

図 VI-11 ラット骨格筋細胞質シアリダーゼのアミノ酸配列。

アンダーラインを付した領域は、微生物シアリダーゼのコンセンサス配列に対応する配列を表す。

活性が出現した。この活性は至適 pH や基質特異性など酵素学的性状は骨格筋酵素と類似しており、さらに抗骨格筋酵素抗体によって完全に免疫沈降した。単離された cDNA が細胞質性シアリダーゼをコードすることが、①塩基配列から演繹されるアミノ酸配列に精製酵素から得られた 9 種のペプチド配列がすべて含まれること、②大腸菌によって活性が発現されたこと、③発現されたシアリダーゼ活性が抗骨格筋酵素抗体によって完全に免疫沈降すること、の 3 点によって確認された。

細胞質シアリダーゼの 1 次構造

塩基配列の解析から、得られた cDNA は 1,675 bp で 379 個のアミノ酸残基をコードすることがわかった (図 VI-11)。算出される分子量は 42,381 となり、骨格筋からの精製酵素の SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターンより得られた分子量とほぼ一致した。この cDNA をプローブとしてラット骨格筋 poly(A)⁺ RNA を用いてノーザンブロット解析すると、約 1.8 kb 付近に主要なバンドが観察された。このことは、単離された cDNA がほぼ全長を含むことを示している。N-グリコシド糖鎖の結合可能部位が 4 個所存在するが、骨格筋酵素は各種レクチンに結合しないことから、実際には糖鎖の付加はないものと考えられる。1 次構造についてこれまでに報告されている微生物シアリダーゼのものと比較すると、1 次構造全体については有意の相同性がなく、領域を限局して解析しても 19% 以下の相同性しか示さなかった。しかし、Roggentin ら (Roggentin *et al.*, 1989) がいくつかの細菌シアリダーゼの 1 次構造の比較によって提唱している Ser-X-Asp-X-Gly-X-Thr-Trp という微生物シアリダーゼのコンセンサス配列が 2 個含まれていた。また、システインや β シート

構造が多いことも微生物シアリダーゼと類似する点である。

単離された cDNA を利用し、いまだ不明の細胞質性シアリダーゼの生理機能や発現機構などの解明が次の課題である。細胞質性シアリダーゼ活性がなぜ骨格筋や脳に高いのか、この酵素の生理的局在は本当に細胞質であるのか、癌化や分化で活性変化を示すのはどのような機構によるのか、など解決せねばならない問題は多い。cDNA の細胞導入や cDNA をプローブとしたゲノム DNA クローニングなどを行うことによってこれらは次第に解決されていくであろう。一方、2つのリソゾーム性シアリダーゼや形質膜性シアリダーゼなど、他の動物シアリダーゼの構造解明も急務とされる。4種のシアリダーゼの基質特異性や細胞内局在の相違がいかなる構造の相違に由来するのか大変興味深い。

(宮城妙子)

(ii) 細菌、ウイルスおよび原虫のシアリダーゼ

現在までに多くの細菌、ウイルスおよび原虫のシアリダーゼ (EC 3.2.1.18) が精製され、その遺伝子がクローニングされている(鈴木, 1993)。特にインフルエンザウイルスのシアリダーゼは分子生物学的研究が進み、遺伝子の site-directed mutagenesis による酵素活性発現の調節 (Air *et al.*, 1990)、X 線結晶解析による 3 次元構造およびシアル酸との結合様式が明らかにされつつある (Varghese *et al.*, 1983; Air & Laver, 1989; Varghese & Colman, 1991; Burmeister *et al.*, 1992; 鈴木, 1992)。また、シアリダーゼの新しい阻害剤 (Suzuki *et al.*, 1990; Itzstein *et al.*, 1993) やシアリダーゼの抗体を用いた *Clostridium* 感染を診断する応用も報告され (Roggentin *et al.*, 1991)、今後ますます進展する分野であると考えられる。

ここでは、細菌、ウイルスおよび原虫 (*Trypanosoma cruzi*) のシアリダーゼ活性測定法について述べる。

a) 反応および特異性

主として非還元末端にあるシアル酸を加水分解してアシアロ誘導体とする。
 $\text{Sia}^* \alpha 2 \rightarrow 3(6) \text{Gal} \beta 1-$, $\text{Sia} \alpha 2 \rightarrow 3(6) \text{GalNAc} \beta 1-$, $\text{Sia} \alpha 2 \rightarrow 8 \text{Sia} \alpha 2 \rightarrow 3$

* Sia: N-アセチルノイラミン酸 (Neu 5 Ac, 分子量 309.3) または N-グリコリルノイラミン酸 (Neu 5 Gc, 分子量 325.3)

2. 鑑別上の注意

1. の各項で記したような典型、非典型所見を考慮に入れながら、肝占拠性病変の鑑別を行うべきであるが、良悪性の判定、癌と肉腫の判別、癌原発巣の推定、いずれにおいても、その鑑別困難例が多く存在することを認識する必要がある。

肝細胞癌における幅の狭い鮮明な辺縁低エコー帯・内部モザイクパターン、胆管細胞癌における不鮮明な境界・末梢側肝内胆管拡張、血管腫における辺縁低エコー帯欠如・内部不規則低エコー域、などは転移巣との鑑別のポイントとなるものであるが絶対的なものでないのは前記のとおりである。

3. 見落とし原因となりやすい条件

筆者が経験し手術で確認した肝転移見落とし例を検討すると、以下の条件がその要因と考えられた⁸⁾。

1) 部位：左右両葉最外側と右葉穹窿部が死角となりやすい⁹⁾。現用装置では腹壁多重アーチファクトを回避しえず、肝表面の平皿状転移の拾い上げも困難である。

2) 数・大きさ：少数の転移が見落とされやすいわけではない。むしろ散在性微小多発転移や、時には1~2 cm 大の転移巣が肝内全体を占めている場合に、かえって的確に診断しにくいことがある。

3) 原発巣：消化器領域では消化管原発に比して、膵胆道系原発の肝転移に見落とし頻度が高い傾向がみられる。

4) その他：肝内胆管拡張、肝日本住血吸虫症、肝脂肪浸潤は、いずれも小さな転移巣を超音波画像上でマスクしてしまう傾向があるため、見落としの条件として留意する必要がある。

4. 肝転移に対する超音波診断の意味

通常の経腹壁走査による超音波検査の肝転移診断率は85%前後と考えられ、悪性腫瘍の術前検査として、あるいは術後経過追及の一環として行われている。原発巣手術の適応、術式選択にとって必要な情報となるほか、術後には早期の再発発見によって、より効果的な治療を開始する一助となりうるものである。さらに肝転移に対して内科的

治療を行う場合、その効果判定は主として超音波検査が受け持つこととなる。

これ以外に、肝転移を対象に術中超音波検査が行われる。原発巣手術時には、触診に代わって肝転移の有無の検索が行われる。また転移巣が切除の適応にかなうものであれば、原発巣手術と同時性、異時性のいずれでも超音波ガイド肝切除を目的として術中超音波検査を行う¹⁰⁾。

肝転移の超音波診断は、単に癌末期状態の確認という否定的な側面のみならず、以上のような積極的側面をも有するものである。

●文献

- 1) 木本英三：超音波医学。和賀井敏夫、松尾裕英編、永井書店、1985、pp 183-184。
- 2) 秋本 伸：エコー法の現況、肝疾患—限局性（癌）。Medicina 22(12)：2272-2277、1985。
- 3) 江崎正則、中澤三郎、内藤靖夫、他：肝占拠性病変超音波像の臨床病理学的研究。日消病会誌 81(9)：2012-2024、1984。
- 4) 秋本 伸：小肝癌超音波像の組織学的背景。映像情報 13(20)：1343-1347、1981。
- 5) 熊田 卓、中野 哲、北村公男、他：肝悪性腫瘍の囊胞変性について—超音波検査およびCTによる研究—。日消病会誌 80(3)：837-843、1983。
- 6) 大藤正雄、大野孝則、土屋幸浩、他：消化器超音波診断学。大藤正雄編、医学書院、1985、pp 81-85。
- 7) 秋本 伸：腹部超音波の臨床、肝限局性疾患。臨床医 10(2)：194-199、1984。
- 8) 秋本 伸、由里樹生、済陽高穂、他：肝転移超音波診断の検討—とくに誤診例を中心に—。日超医論文集 40：123-124、1982。
- 9) Suramo I, Päävänsalo M and Pamilo M: Unidentified liver metastases at ultrasonography or computed tomography. Acta Radiol Diag 25: 385-389, 1984。
- 10) Hamano K, Akimoto S, Yuri T, et al: Intraoperative ultrasonography: an aid to hepatectomy for liver metastases from colorectal cancer. J Exp Clin Cancer Res 3(2)：143-147、1984。

(秋本 伸)

D. 良性腫瘍および類似疾患

1. 肝嚢胞

類円形を呈する。壁が一部不整な例もある。内部無エコーと後方エコーの増強を示す(図6-28)。腎嚢胞の合併例も多い(40歳以上の成人では10.2%¹¹⁾)。内腔に突出する乳頭状の部分や厚さが不均

一な隔壁がある例では、嚢胞腺腫や嚢胞腺癌との鑑別が必要で、超音波誘導下穿刺細胞診や、内容液の CEA 値測定が有用²⁾である。

2. 肝膿瘍

不均質な内部エコーを有するもの、嚢胞性パタ

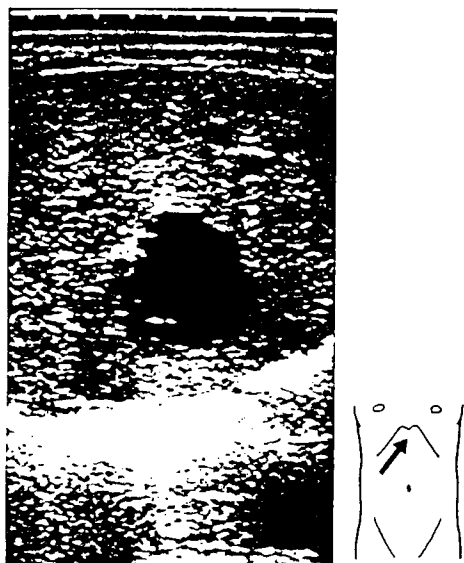


図 6-28 肝嚢胞

類円形で壁が一部不整である。内部無エコー、後方エコーの増強を示す。(リニア走査, 3.5 MHz)

ーンを示すもの(図 6-29a)まで所見は多彩であり、経時的に変化する。ガス産生膿瘍では内部に高エコー部分がみられ、音響陰影を有する場合もある(図 6-29b)。通常は発熱、白血球増多など臨床症状が鑑別の手がかりとなる。鑑別困難な場合は、超音波誘導下穿刺での膿汁の確認や、細胞診により鑑別可能である。

3. 血管腫

内部エコーレベルは、周囲肝より高エコーのもの 77.3%，低エコー 16.0%，高および低エコーが混在するもの 4.0%，そして同エコーのものが 2.7%である。2.0 cm 以下の病変では 96.2%が高エコーを示す(図 6-30a)。

内部エコーは 68.0%で均質である。2.0 cm 以下の病変の 96.2%が均質であるが、5.1 cm 以上の病変では 44.4%である。Tumor in tumor の所見は 1.3%にみられる。2.1 cm 以上の病変の 16.3%に血管と思われる管状構造を認める。

境界は 86.7%で明瞭である。高いレベルの縁どリエコー (strong marginal echo, 以下 SME) が 21.3%にみられる(図 6-30b)。明瞭な辺縁低エコー帯を有する例はほとんどない。外側陰影は 2.7%，後方エコーの増強は 22.7%にみられる。

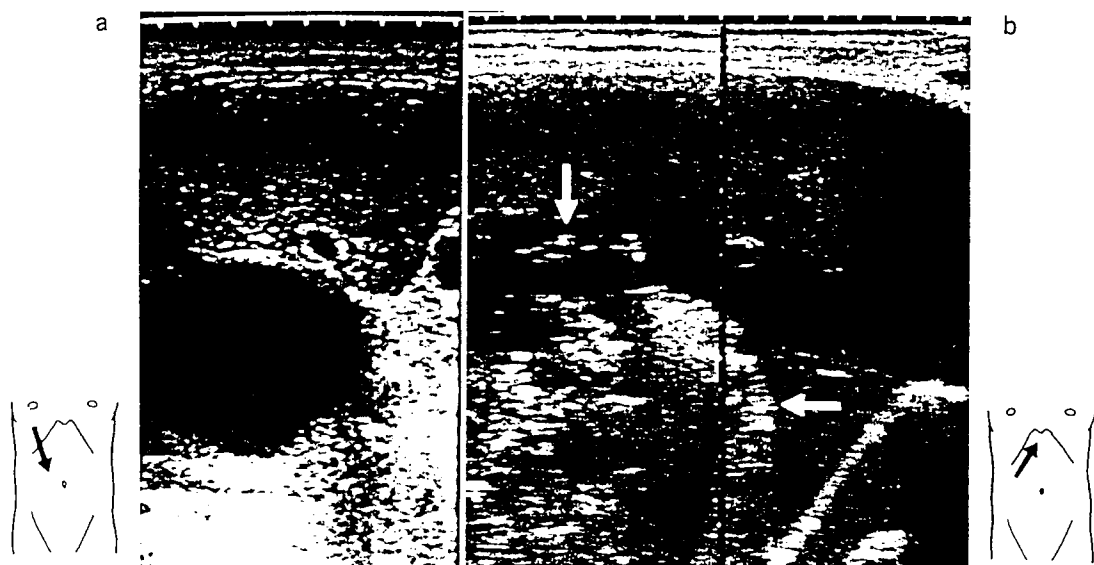


図 6-29 肝膿瘍

- a) 嚢胞性パターンを示し、内部無エコーの、肝右葉後区域の肝膿瘍 (リニア走査, 3.5 MHz)
- b) 肝右葉後区域に産生されたガスを反映すると思われる高エコーの部分(矢印)を有する腫瘤を認める (リニア走査, 3.5 MHz)

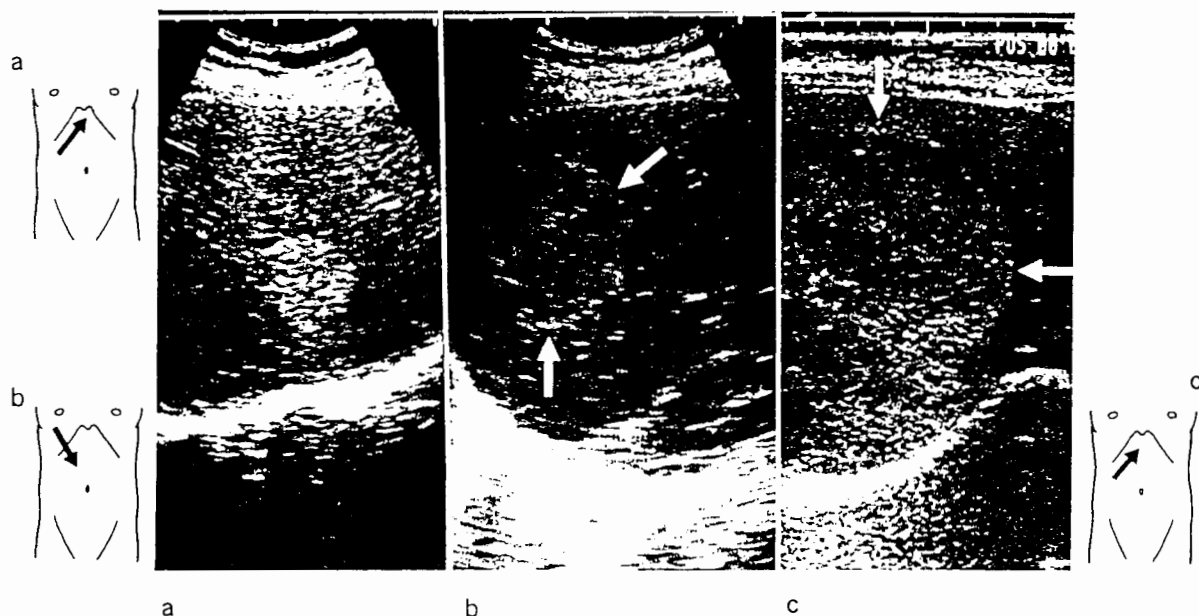


図 6-30 肝血管腫

- a) 肝右葉前区に存在。境界明瞭で内部均質，高エコーレベルを示す。この所見は血管腫の 53.3% にみられ，特に 2.0 cm 以下の病変では 92.3% にみられる。本症例では後方エコーの増強がみられる。(コンベックス走査，3.5 MHz)
- b) 肝右葉前区に存在。周囲肝よりやや高いエコーレベルを呈し，内部はほぼ均質である。境界は明瞭で高いレベルの縁どりエコー (strong marginal echo) を有する (矢印)。後方エコーの増強を認める。(コンベックス走査，3.5 MHz)
- c) 肝右葉に存在。境界明瞭でやや高エコーレベル，内部不均質である (矢印)。後方エコーの増強を認める。(リニア走査，3.5 MHz)

また，肝細胞癌の超音波所見と比較し，血管腫に有意に多い所見は，高エコーレベル，内部エコーの均質性，境界の明瞭さ，SME そして内部の管状構造である。

以上の所見を総合的にみると，境界明瞭で内部均質，高エコーレベルを示すもの (図 6-30a) が 53.3% にみられ，特に 2.0 cm 以下の病変では 92.3% を占める。次いで境界明瞭で内部均質，低エコーレベルを示し SME を伴うものが 12.0% であり，この 2 つが典型的所見³⁾である。また経過観察中に所見が変化する例⁴⁾がある。

鑑別上注意を要するものに，小さな腫瘍で高エコーを示す転移性肝癌や，脂肪変性を伴う肝細胞癌⁵⁾がある。また大きな腫瘍で内部エコー不均質な場合 (図 6-30c) も，悪性腫瘍との鑑別が困難である。

4. 再生結節

肝硬変症にみられる再生結節は通常数 mm と小さいが，時に 2~3 cm になることもあり，超音

波診断上問題となる。多くは低エコーの結節として描出されるが，同じく低エコーを示す小肝細胞癌との鑑別は困難である。

5. Focal nodular hyperplasia

本邦報告例の集計⁶⁾では，エコーレベルは，低エコー 50.0%，高エコー 37.5%，同エコー 12.5% である。内部エコーは均質である。境界は 87.5% で明瞭である (図 6-31)。また，central scar により中心部が高エコーを呈する例もある。

6. 肝細胞腺腫

境界は明瞭で低エコーレベルを呈するものが多い (図 6-32) が，種々のエコーレベルの報告がある。

7. 孤立性結核腫

強い前壁エコー，明瞭な後壁エコーそして音響陰影が特徴とされる⁷⁾。



図 6-31 Focal nodular hyperplasia

肝左葉に類円形の腫瘤を認める。境界は明瞭、内部エコーレベルは、周囲肝と同じで均質である。(矢印：腫瘤、PV：門脈)
(リニア走査, 3.5 MHz) [臨床放射線 30(8)：917~920, 1985, 金原出版より転載]

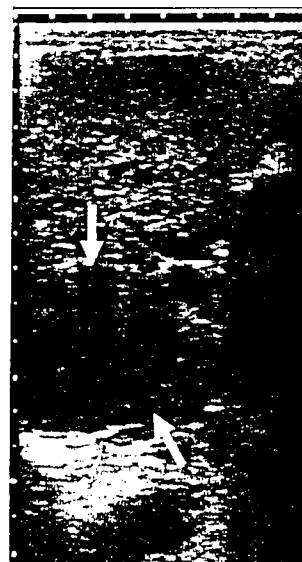


図 6-32 肝細胞腺腫

肝右葉後区域に境界明瞭で内部均質、低エコーレベルの腫瘤を認める (矢印)。
(リニア走査, 3.5 MHz)

レベルを呈する。

9. 肝包虫症

蜂巣状を示すもの、充実性の所見を示すもの、あるいは大きな単発の嚢胞を形成するものなどがある。穿刺は禁忌である。

●文献

- 1) 小野寺博義, 千田信之, 及川正道, 他：超音波集検における肝嚢胞保有率。日超医論文集 48：445-446, 1986.
- 2) 小野寺博義, 及川正道, 阿部真秀, 他：超音波集検で発見された肝嚢胞腺腫の 1 例。超音波医学 13：78-82, 1986.
- 3) Onodera H, Ohta K, Oikawa M, et al：Correlation of the real-time ultrasonographic appearance of hepatic hemangiomas with angiography. J Clin Ultrasound 11：421-425, 1983.
- 4) 矢島義昭, 小野寺博義, 及川正道, 他：経過中エコーレベルが変化した肝血管腫の 1 例。臨放 28：891-893, 1983.
- 5) 小野寺博義, 及川正道, 阿部真秀, 他：超音波検査で高エコーレベルを呈した小肝細胞癌の 1 例。腹部画像診断 3：477-481, 1983.
- 6) 小野寺博義, 平川秀紀, 及川正道, 他：肝の focal nodular hyperplasia の 1 例。臨放 30：917-920, 1985.
- 7) 渡辺五朗, 鈴木正敏, 小野由雅, 他：きわめて稀な孤立性肝結核腫の一例—超音波および CT 所見。日超医論文集 42：81-82, 1983.

(小野寺博義)

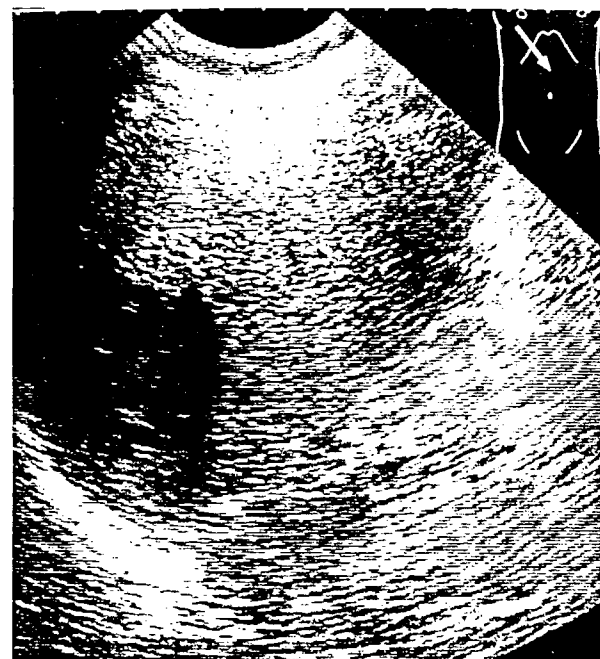


図 6-33 Inflammatory pseudotumor

肝右葉後区域に境界明瞭で内部不均質、低エコーレベルの腫瘤を認める。(コンベックス走査, 3.5 MHz)

8. Inflammatory pseudotumor

病理組織学的に、形質細胞、線維芽細胞などの種々の炎症性細胞の浸潤を伴う結合組織の増殖を特徴とする。低エコーレベル (図 6-33) や高エコー

I. 症 候 論

黄 疸

Jaundice, Icterus

大内清昭*

1. 黄疸の分類

黄疸とはヘモグロビンの代謝産物であるビリルビンの血中濃度が増加し、皮膚、粘膜またはその他の組織が黄染した状態である。黄疸の分類には表 1 のごとく、ビリルビン代謝異常が病態の主体をなす溶血性黄疸と体質性黄疸、胆汁の排泄障害がその病態の主体をなす閉塞性黄疸と肝内胆汁うっ滞、およびその中間型の病態を示す肝細胞性黄疸があげられる。

消化器外科領域では主として閉塞性黄疸に遭遇することが多く、その多くは外科的治療の対象となることから、本稿では閉塞性黄疸を中心に言及する。閉塞性黄疸の原因疾患としては表 2 に示すごとく、①炎症性、②腫瘍性、③先天性、④その他などがあげられる。

2. 閉塞性黄疸の病態

閉塞性黄疸では肝障害および腎障害は徐々に進行し、急性潰瘍が生じやすく、血液凝固障害による出血傾向と相まって、いったん合併症が発生すると治療に難渋する。閉塞性黄疸の臓器障害度は胆道閉塞の程度および期間に影響される。

胆汁の有菌率は急性化膿性胆管炎 100 %、急性胆管炎 86 %、総胆管結石 44 %、悪性閉

表 1 黄疸の分類

- 1. 溶血性
- 2. 体質性
- 3. 肝細胞性
- 4. 閉塞性
- 5. 肝内胆汁うっ滞

表 2 閉塞性黄疸の原因

- 1. 炎症性
 - a. 胆石症
 - b. 急性胆嚢炎
 - c. 膵炎
 - d. 胆管狭窄：術後、外傷性
- 2. 腫瘍性
 - a. 胆管癌、胆嚢癌、乳頭部癌、膵癌、十二指腸癌
 - b. 胆管周囲リンパ節転移
 - c. 肝癌
- 3. 先天性
 - a. 胆道閉鎖症
 - b. 胆道拡張症
- 4. その他
 - a. 傍乳頭憩室
 - b. 異物 (hemobilia, 寄生虫など)

塞性黄疸 18 %との報告がみられる。胆道造影や洗浄に際する軽度の加圧で cholangio-venous reflux により悪寒戦慄、頻脈、呼吸促進などを伴うエンドトキシン血症を呈する

*Kiyoaki OUCHI : 宮城県立がんセンター Miyagi Cancer Center

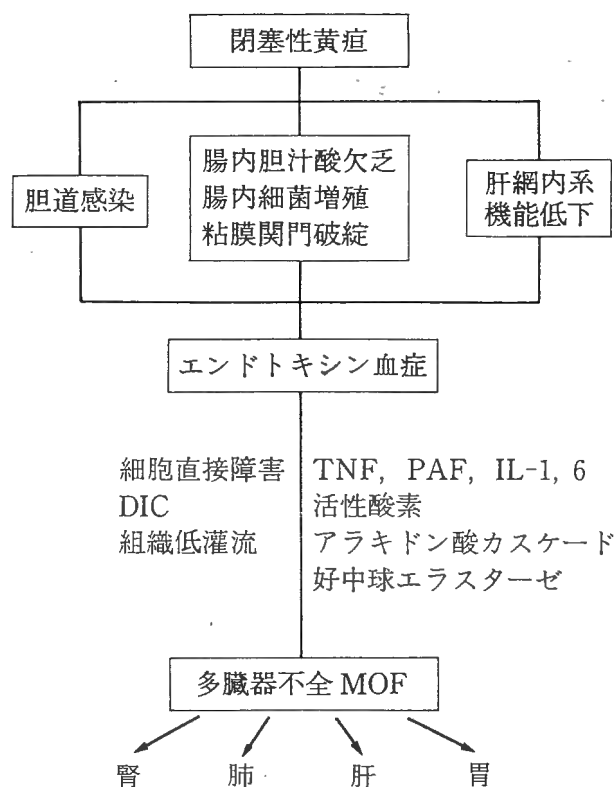


図1 閉塞性黄疸と多臓器不全

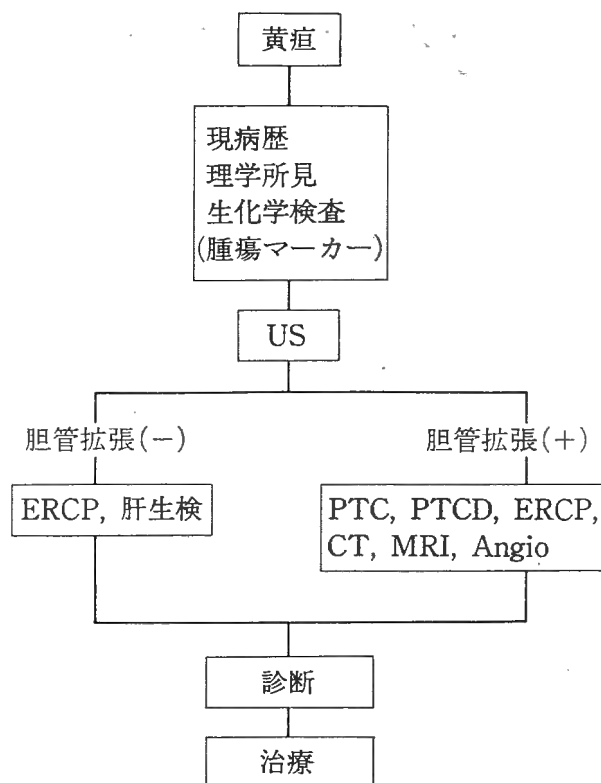


図2 黄疸の診断フローチャート

ことも多い。また、腸管内胆汁酸の欠乏により腸内細菌が増殖し、エンドトキシンの産生が亢進すること、mucosal barrierの破綻によりエンドトキシンの門脈血中への移行が容易になること、肝網内系機能低下により肝でのエンドトキシンのクリアランスが低下することなどに起因し、閉塞性黄疸では容易にエンドトキシン血症を呈する(図1)。

エンドトキシンによる組織障害性は、血管内皮細胞に対するような直接作用も指摘されているが、多くはchemical mediatorを介した間接作用で説明される。エンドトキシンにより補体、凝固線溶系は活性化され、血管内血液凝固症候群 disseminated intravascular coagulation(DIC)へ移行し、微小血栓形成による組織循環障害が惹起される。また最近、エンドトキシンにより活性化されたマクロファージ、好中球、血管内皮細胞などにより産生されるサイトカイン、活性酸素、プロテアーゼ、プロスタグランジンなどのmediatorによる重要臓器障害が注目されている。

閉塞性黄疸は多臓器不全 multiple organ failure(MOF)の準備状態にあるといっても過言ではなく、ひとたび術後合併症などを発症すると容易にMOFを招来し、それに血中エンドトキシンの増加が関与しているものと考えられる。

3. 診断の進め方

黄疸の診断フローチャートを図2に示す。まず問診において、既往歴や黄疸出現の様相や程度、黄疸以外の臨床症状を十分に聴取すべきである。すなわち、輸血や肝障害の既往、薬剤服用の有無などが重要である。閉塞性黄疸のうち総胆管結石では炎症の消長や胆石の嵌頓の程度により異なるが、黄疸は一般に間欠的であり、持続的な完全閉塞をきたすことは少ない。また、黄疸・発熱・疼痛よりなるCharcot 3徴を伴うことが多い。急性化膿性胆管炎ではさらにショック・意識障害を伴うReynolds 5徴を呈する。これに対し、腫瘍性

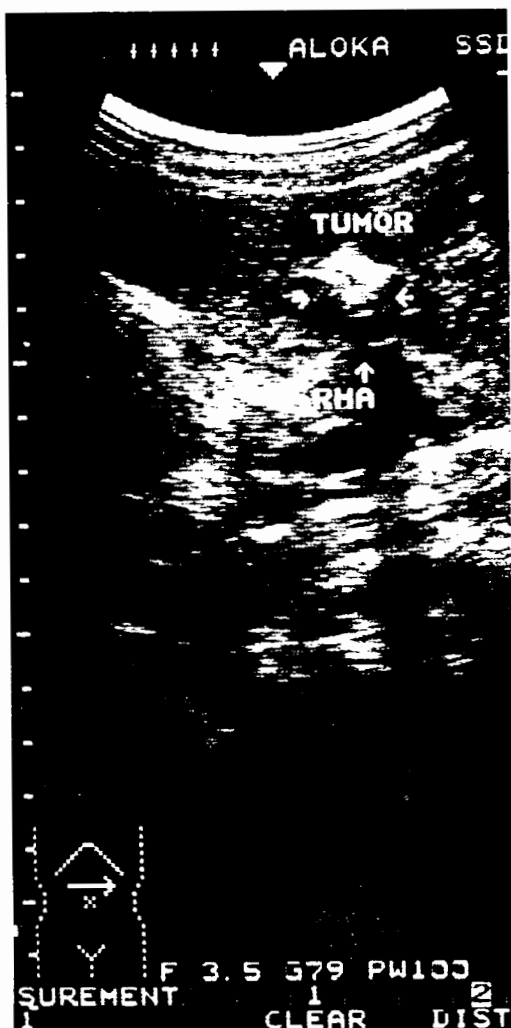


図3 肝門部胆管癌症例

症例1(F.K., 67歳, 男性)の超音波像。三管合流部より肝門側, 肝動脈右枝(RHA)に接して iso~hypoechoic を呈する径18mmの腫瘤陰影を認める。

病変では黄疸は持続的な漸増傾向を呈し, 灰白色便となることが多い。しかし, Vater 乳頭部癌の場合は, 癌腫の壊死性脱落のために黄疸の消長がみられる場合があり注意を要する。閉塞性黄疸では一般に肝腫大は軽度ないし中等度のことが多く, 肝外胆管の三管合流部以下の癌腫による閉塞では, しばしば無痛性の腫大した胆嚢を触知する (Courvoisier's sign)。

肝機能検査では総ビリルビン値内での直接型の占める割合が高く, ALP, LAP, γ -GTP などの胆道系酵素値の上昇が認められるが, 血清トランスアミナーゼ値は肝炎ほど



図4 症例1のPTC像
肝門部胆管の完全閉塞を認める。

高値にはならず, 多くは250 IU/l 以下である。悪性腫瘍では CEA, CA 19-9, CA 50, CA 125, Du-PAN 2 などの腫瘍マーカーが参考となる。現在 CA 19-9 が最も有用と考えられているが, 閉塞性黄疸のみで高値を呈するので, 黄疸の消失をまってその推移を検討することが必要である。

閉塞性黄疸とその他の黄疸をきたす疾患との鑑別診断には各種画像診断法が不可欠であるが, 胆管拡張の確認には最も簡便, 迅速でかつ正確な超音波検査 (US) が第一選択となる。肝内胆管の拡張を伴い, 肝外胆管径が7mm 以上で疑診となり, 10mm 以上あれば閉塞性黄疸と確診される。また, 拡張した胆管を末梢側へと連続して描出して, 閉塞部位および性状の同定が可能である (図3)。

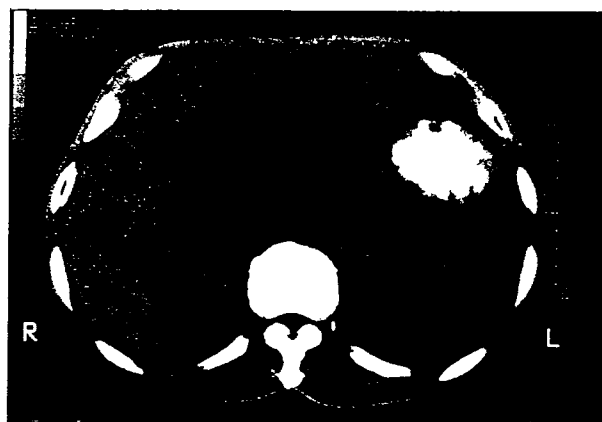
経皮的胆道造影法 (PTC) は最近超音波ガイド下穿刺法が主流となってきた。超音波所見と PTC での胆管閉塞像を検討することにより, 結石かまたは腫瘍による閉塞かをほぼ確実に診断しうる (図4)。胆管閉塞例では引き続き胆道ドレナージ (PTCD) に移行できること, 胆汁採取が容易であり, 数回にわたる胆汁の細胞診や経皮経肝胆道鏡検査 (PTCS) 下での腫瘍生検も可能となる。また, PTCS 下で胆管癌に対する胆管腔内照射療法や, 肝内結石症に対する内視鏡的切石にも利用でき, 切除不能例や開腹困難な poor risk 患者に対する治療法にも応用可能である。



図5 症例1のPTCおよびERC像

内視鏡的逆行性膵胆道造影(ERCP)は胆道穿刺法に比較して非侵襲的であること、十二指腸内腔および乳頭部の観察が可能であること、膵管造影も同時に得られることなどにより、胆道精査法の第一選択としている報告も多い。とくに胆道の閉塞性病変や小結石の診断、肝内結石の診断などに優れている。PTCと本法を重ねて施行することにより胆道閉塞の範囲を描出することが可能である(図5)。本法の手技により内視鏡的逆行性胆道ドレナージ法を行うことも可能である。

X線CT、磁気共鳴映像法(MRI)は肝内胆管の拡張程度を全体像として把握するのに有用である(図6)。閉塞を起こす病変と他臓器との関係や、腫瘍性病変では浸潤の程度、肝転移、リンパ節腫大の有無などの検索には、胆道ドレナージ後の肝内胆管の拡張と肝腫大が軽減した時期での再検が必要である(図7, 8)。上腸間膜動脈からの造影剤注入による門脈造影下CTでは、門脈浸潤や肝転移の有無に関するより詳細な情報を得ることが可能で

図6 症例1の入院時CT像
肝内胆管の著明な拡張を認める。図7 症例1の胆道ドレナージ術後の造影CT像
肝門部に腫瘤陰影(↓)と膵尾側に膵嚢胞像(*)を認める。図8 症例1のT₁強調MRI像
肝門部に腫瘤陰影(↓)と膵尾側に膵嚢胞像(*)を認める。

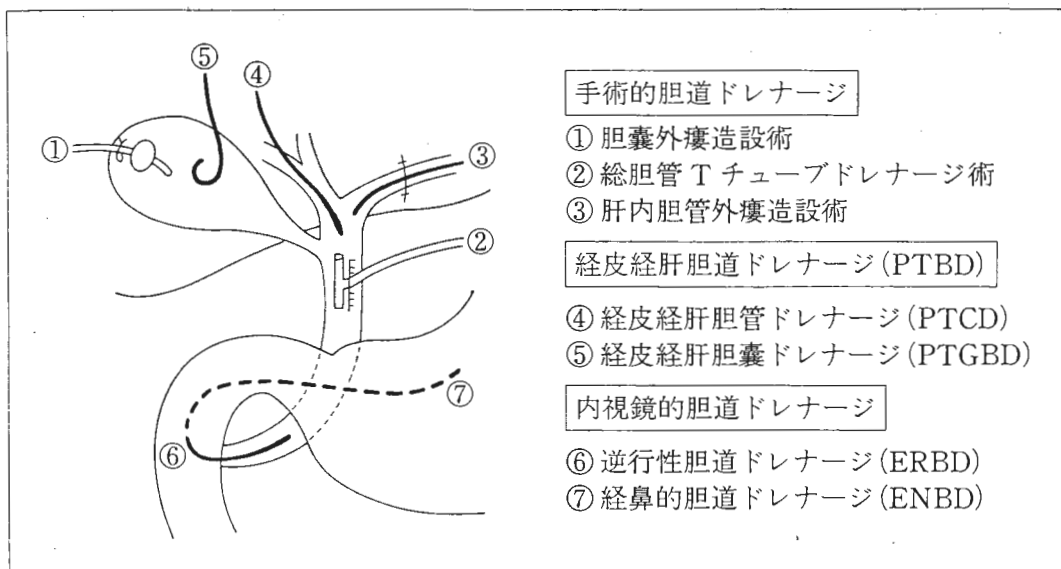


図9 胆道ドレナージ法

ある。

腹部血管造影は術前検査として必須であり、主要動脈や門脈浸潤の有無と程度、肝転移の診断など切除可能性と手術術式の決定に不可欠である。

4. 治 療

閉塞性黄疸に伴う病態の治療として、低栄養状態に対する積極的な栄養管理、電解質異常の是正などを行うべきである。また、ビタミン K の吸収障害による凝固障害およびそれに基づく二次止血の障害に対するビタミン K の投与、消化管出血予防のための粘膜保護剤、 H_2 -receptor antagonist の投与が必要である。

血清総ビリルビン値が 10 mg/dl 以上の高度黄疸例や、重症胆管炎合併例では胆道ドレナージによる減黄、胆管炎の鎮静化をはかるべきである。欧米では胆道ドレナージ術での合併症が多く、入院期間が長期となることから、根治手術前の胆道ドレナージの意義に関して否定的な意見が多い。一方、わが国では術前胆道ドレナージをルーチンに行っているところが多く、ビリルビン値が 5 mg/dl 前後に減黄されたところで根治手術を施行するの

表3 ドレナージ術後の減黄効果を左右する因子

1. 胆道閉塞期間
2. 胆道閉塞部位
3. 胆管炎合併
4. ドレナージ術前総ビリルビン値

が一般的である。

胆道ドレナージ法には、① 手術的、② 経皮経肝的、③ 内視鏡的の3経路が挙げられる(図9)。手術的胆道ドレナージ術には胆嚢外瘻造設術、総胆管切開・T チューブドレナージ術、肝内胆管外瘻造設術が含まれ、ドレナージ効果は確実であるが、侵襲の点から経皮経肝的、または内視鏡的ドレナージ術の適応外症例や、胆汁性腹膜炎合併例などに適応は限定される。一般的には侵襲の少ない経皮経肝的または内視鏡的ドレナージ術が第一選択となる。

経皮経肝胆道ドレナージ術(PTBD)は近年超音波ガイド下に施行されるようになり、穿刺成功率の向上とともに合併症も激減した。本法は胆管ドレナージ法(PTCD)と胆嚢ドレナージ法(PTGBD)に大別される。後者は下部胆管閉塞例や急性胆嚢炎併存例などが適応と

表 4 術式別術後黄疸発生数(術前肝機能正常例)

術 式	手術例	術後黄疸例 (%)	血清ビリルビン(mg/dl)		
			～5	～10	10～
胃垂全摘	164	13(7.9)	11	2	
胃全摘・噴門側胃切除	82	11(13.4)	8	1	2
胆 摘	141	6(4.3)	5	1	
総胆管切開 T ドレナージ	63	7(11.1)	7		
大腸切除	125	11(8.8)	11		
直腸切断	28	3(10.7)	2		1
その他	477	32(6.7)	23	5	4
計	1080	83(7.7)	67	9	7

(大内清昭ほか：術後黄疸. 日本臨牀 46(増刊 肝胆疾患(下))：1058, 1988.)

なるが、一般的には前者が選択される。前者では瘻管の形成を待って結石例に対する内視鏡(PTCS)下切石法や、切除不能癌腫例に対する胆汁の十二指腸への流出を目的とした胆道内瘻化や胆腔内照射療法などが可能となる。また、肝門部胆管癌で左右肝内胆管の交通が分断されている症例では、少なくとも1本ずつ左右肝内胆管にドレナージチューブを挿入すべきである。

高度の腹水や出血傾向合併例、肝内胆管非拡張例では内視鏡的逆行性胆道ドレナージ術(ERBD)を、場合により経鼻的ドレナージ術(ENBD)を選択すべきである。本法にはPTBD穿刺に伴う出血や腹腔内胆汁漏出などの合併症の危険はないが、手技的には十分な習熟を要し、肝門側の閉塞に対しては施行困難なことが多い。

胆道ドレナージ術後の減黄効果に影響する因子は表3に示すごとくであり、胆道閉塞期間が長期にわたり肝障害が高度なもの、閉塞部位が肝側のもの、胆管炎を合併するもの、ドレナージ前のビリルビン値が異常高値を示すものほどドレナージ術後の減黄効果は不良

である。減黄不良例に対して減黄期間の短縮を目的に、血漿交換療法を行っている施設もみられる。

5. 術 後 黄 疸

表4に東北大学第一外科における3年間の手術例(肝疾患合併例、肝切除例を除く)での総ビリルビン2mg/dl以上の術後黄疸発生例を示す。手術侵襲に応じて黄疸の発生頻度が高くなる傾向がみられた。黄疸は83例(7.7%)にみられ、うち67例(80.7%)はビリルビン5mg/dl以下の軽度黄疸例であった。手術侵襲、麻酔剤、輸血、薬剤などの輻輳した誘因が考えられる。

一方、術後2週目以後に黄疸のピークを認める症例では、黄疸は中等度ないし高度であり、膿瘍などの感染症、肝炎との関連が示唆されるものが多数を占める。とくに重症感染症に中・高度黄疸を合併した症例の予後は不良であり、局所のドレナージとともに血漿交換療法などを積極的に施行すべきである。

職 員 名 簿

職員名簿

平成7年3月31日現在

職 名	氏 名	職 名	氏 名
総 長	涌 井 昭	【企画情報室】	
【総 務 局】		企画情報室長（兼）	佐々木 勝 典
総 務 局 長	門 澤 勝 三	企画情報室長補佐	古 川 光 男
総 務 局 次 長	佐々木 勝 典	兼企画情報係長	
【総 務 室】		主 査	吉 岡 宗 子
総 務 室 長	松 木 親 夫	主 事	石 川 一 利
総務室長補佐	佐々木 隆 雄	非常勤嘱託	長谷川 洋 子
兼総務係長		【病 院】	
主 査	坂 本 節 子	院 長	浅 川 洋
主 事	高 野 由 紀	副 院 長	武 田 鐵 太 郎
〃	鈴 木 幸 正	【医 療 局】	
技 師（運）	高 橋 正 志	医 療 局 長	中 野 昇
経 理 係 主 事	西 條 昇 平	医 療 部 長	粉 川 嗣 敏
〃	菊 地 正 志	〃	松 田 堯
〃	堀 喜 昭	〃	桑 原 正 明
【医 事 室】		〃	小 田 和 浩 一
医 事 室 長	高 橋 貞 義	〃	高 橋 通 宏
医事室長補佐	菅 井 宏	〃	大 内 清 昭
兼医事係長		〃	富 澤 信 夫
主 事	佐 藤 圭 子	〃	山 室 誠
技 師（庁務）	引 地 清 次	主 任 医 長	西 條 茂
〃	今 野 正 男	〃	小 池 加 保 兒
非常勤嘱託	引 地 て る 子	〃	小 犬 丸 貞 裕
上 席 技 術 主 幹	鹿 又 み ゑ	〃	片 倉 隆 一
栄養指導係長		〃	鈴 木 裕
技 術 主 幹	遊 佐 ひ で よ	〃	岡 部 健
		〃	大 方 俊 樹
		〃	栃 木 達 夫
		〃	松 本 恒
		〃	佐 藤 智

職 名	氏 名	職 名	氏 名
主 任 医 長	小 野 寺 博 義	技 師	齋 藤 玲 子
"	田 勢 享	"	氏 家 恭 子
"	本 島 正	"	村 田 孝 次
"	菅 原 暢	"	石 川 和 浩
"	村 上 享	"	山 田 豊 子
"	小 野 日 出 鷹	"	阿 部 美 和
"	小 藤 谷 恒 明	"	阿 植 木 美 幸
"	菱 沼 民 生	"	岡 本 本 優 子
医 長	杉 山 公 利	"	野 池 道 子
"	桑 島 一 郎	技 師 (試)	山 田 千 代 子
"	神 山 泰 彦	【診療放射線技術部】	
"	鵜 飼 克 明	診療放射線技術部長	早 川 博 文
"	萱 場 佳 郎	診療放射線科長	早 千 葉 俊 雄
"	鈴 木 洋 一	技 術 主 査	島 倉 満 男
技 師	中 嶋 美 佳	"	荒 本 田 悦 子
"	佐々木 明 徳	"	今 渡 辺 信 二
"	高 橋 功 史	技 師	渡 渡 金 小 熊
"	田 子 悟 彦	"	小 熊 小 野
"	岩 渕 崇 彦	"	
"	大 越 潤 一	"	
"	三 国 子 久 美	"	
"	地 子 山 純 吉	"	
臨 床 工 学 技 士	齋 谷 藤 口 美 和	【薬 剤 部】	
理 学 療 法 士		薬 剤 部 長	莊 司 良 子
【臨床検査技術部】		薬 剤 科 長	石 川 木 幹 子
臨床検査技術部長	白 井 克 彦	技 術 主 査	鈴 高 小 齊 鈴
兼臨床検査科長		"	村 坂 藤 木
技 術 主 査	小 室 邦 子	技 師	
"	佐 藤 裕 美 子	"	
"	岡 崎 妙 子	"	
"	長 谷 と み よ	"	
"	大 沼 真 喜 子		
"	近 野 寿 美 枝		

職 名	氏 名	職 名	氏 名
【看護部】		技 師	大 槻 玲
総看護婦長	瀬 川 幸 子	”	村 上 則 子
主任看護婦長	高 橋 美 佐 子	”	大 槻 尚 子
”	足 沢 孝 子	”	日 下 加 代 子
		”	斎 藤 尚 美 子
外 来 1		”	齊 藤 恭 子
看護婦長	曾 我 ふ く 子	”	及 川 真 紀 子
技術主査	相 澤 ミ ヨ	”	赤 間 由 佳 子
”	今 野 テ ツ 子	”	阿 部 恭 子
”	布 田 基 子	”	片 岡 こ と
技 師	亀 山 実 穂 子		
”	阿 部 京 子	3 階東病棟	
”	及 川 恵 子	看護婦長	富 田 き よ 子
”	塙 ゆ か り	技術主査	富 芦 名 容 子
”	大 友 美 佐 子	”	高 橋 玲 子
”	平 山 淳 子	技 師	石 原 和 枝 子
”	菱 沼 和 子	”	鈴 木 由 美 子
”	森 谷 恭 子	”	千 葉 由 香 里
”	岡 崎 節 子	”	佐 藤 る み 子
		”	木 村 枝 利 子
外 来 2		”	丸 山 知 子
看護婦長	今 野 と し 子	”	相 原 智 子
技術主査	鈴 木 ミ ツ 子	”	大 場 政 子
”	鈴 木 や す 子	”	齊 藤 三 恵 子
”	玉 井 喜 代 子	”	大 村 悦 子
技 師	二階堂 せい 子	”	平 間 文 枝 子
”	菅 野 小 百 合 子	”	佐 藤 香 織 子
”	森 下 榮 子	”	高 橋 温 子
”	伊 藤 孝 子	”	大 杉 規 子
		”	佐々木 律 子
手術室		”	佐 藤 真 由 美 子
看護婦長	高 橋 勝 子	”	山 内 宗 子
技術主査	河 東 田 ヤ ス 子	”	今 野 陽 子
”	小 山 美 千 代 弘		
技 師	大 槻 正 弘		

職 名	氏 名	職 名	氏 名
3 階西病棟		技 師	
看 護 婦 長	平 岡 玲 子	星 久 美 子	原 田 一 美
技 術 主 査	石 川 和 子	宮 前 久 美	星 前 久 美
技	沼 邊 百 合 子	高 橋 美 和	高 橋 美 和
"	三 浦 由 美 子	後 藤 夕 子	後 藤 夕 子
"	鈴 木 裕 恵	猪 又 恵 美	猪 又 恵 美
"	佐々木 頼 子	長 田 歳 子	猪 又 田 歳 子
"	南 條 あ け み	大 友 か づ え	長 田 友 か づ え
"	岩 渕 恵 美 子	三 浦 祐 子	大 友 浦 祐 子
"	阿 部 宏 子		
"	柴 田 修 子	4 階西病棟	
"	熊 谷 有 希 恵	看 護 婦 長	星 久 美 子
"	千 葉 る り 子	技 術 主 査	星 船 迫 好 子
"	高 橋 さ と み	技	後 藤 け い 子
"	小 寺 美 由 紀	"	星 久 美 子
"	小 原 美 智	"	秋 村 順 子
"	高 田 智 美	"	大 久 加 代 子
"	金 田 幸	"	大 菊 地 裕 希 子
"	木戸 浦 由 美	"	浅 野 か お り
"	白 井 佳 代 子	"	佐 藤 千 玲 賀 子
"	高 橋 節 子	"	高 山 明 美 子
"	佐 藤 と し 子	"	守 場 美 代 子
		"	大 須 藤 洋 子
4 階東病棟		"	氏 家 由 希 子
看 護 婦 長	太 田 き み 子	"	清 水 い く み 紀
技 術 主 査	目 黒 裕 子	"	引 地 美 由 紀
技	安 藤 順 藤 子	"	秋 山 和 恵 子
"	吉 田 弘 子	"	大 今 理 た け 子
"	齋 藤 喜 美 子	"	高 子 よ し 子
"	小 佐 藤 真 由 美		
"	菅 原 美 幸	5 階東病棟	
"	小 野 由 美 子	看 護 婦 長	菊 池 か づ 子
"	伊 藤 浩 子	技 術 主 査	高 橋 幸 子
"	庄 司 聖 子		

職名	氏名	職名	氏名
技師	森 曉 美	技師	遠 藤 美 雪
"	齋 藤 た か 子	"	小 泉 浩 美
"	波 谷 幸 江	"	菊 地 ま さ 子
"	岩 倉 成 美	"	佐 藤 よ し 子
"	森 亮 子	"	佐 藤 多 津 子
"	菊 地 宏 子		
"	本 名 小 穂 里	H C U	
"	鈴 木 有 里	看護婦長	庄 司 咲 子
"	鈴 木 里 枝	技術主査	我 妻 和 子
"	横 山 和 子	"	鈴 木 久 美 子
"	菅 原 浩 江	技師	星 関 七 佳 枝
"	星 美 穂 美	"	関 野 田 美 穂
"	丸 子 恵 代 子	"	和 田 藤 ひ ろ み
"	榊 田 香 由 香 子	"	加 藤 子 利 美 子
"	門 脇 幸 睦 子	"	高 氏 家 祐 奈 子
"	千 伊 藤 子	"	武 木 島 祐 子
"	高 橋 和 子	"	熊 者 谷 直 美
"		"	菊 今 地 野 義 弘
5 階西病棟		"	下 相 沢 英 子
看護婦長	兼 平 礼 子	"	折 居 陽 ヨ 子
技師	片 田 光 子		
"	井 上 な み 江		
"	三 浦 哲 子		
"	松 本 智 代 美	研 究 所	
"	鈴 木 晴 ひ ろ え	研 究 所 長 (兼)	涌 井 昭
"	荒 木 ひ る 紀 子		
"	星 塚 美 江	【免疫学部】	
"	飯 塚 千 代 美	免 疫 学 部 長	海 老 名 卓 三 郎
"	武 藤 佳 奈 子	技 師	小 鎌 直 子
"	津 久 井 淳 子		
"	佐 々 木 香 織	【病理学部】	
"	千 葉 か ほ る	病 理 学 部 長	立 野 紘 雄
"	可 沼 峰 子	上 席 主 任 研 究 員	佐 藤 郁 郎

職名	氏名	職名	氏名
【薬物療法学部】		【生化学部】	
薬物療法学部長	氏家重紀	生化学部長	宮城妙子
研究員	菊池寛昭	研究員	和田正
技師	伊藤友美		

編 集 後 記

平成6年度宮城県立がんセンター年報・第2号をお届けします。本センターは宮城県における癌制圧拠点施設の必要性の高まりから、成人病センターを全面改築することによって誕生しました。目指すところは、「人にやさしく、変化に柔軟に対応できる病院（インテリジェント ホスピタル）」であります（前知事のセンター発足にあたる挨拶より）。年報を概観しますと、センターが前年よりも一段と充実してることを知ることができ、頼もしく思われます。成長するということは、別の観点から見れば変化する、ということでもあります。さらなる発展のためにはこうした変化に、まさしく柔軟に対応する能力が欠かせません。硬直化は変化に対応できず、やがて矛盾が噴き出します。年報の発行を機会に一年を振り返り、もう一度、将来を展望してみることも必要でしょう。世界中が大きな変化に対応できず、右往左往している現状にありますが、今、待たれるのは確固とした信念を持ち、しかも柔軟な考えをもったインテリジェント パースンであることに間違いはないようです。

（桑 原）

平成6年度年報 第2号 編集委員

桑 原 正 明 （医 療 局）・委員長
海老名 卓三郎 （研 究 所）・副委員長
石 川 潔 （薬 剤 部）
大 内 清 昭 （医 療 局）
小野寺 博 義 （医 療 局）
鹿 又 み ゑ （栄養指導室）
白 井 克 彦 （臨床検査部）
千 葉 俊 雄 （診療放射線部）
富 田 きよ子 （婦 長 室）
吉 田 紀 雄 （医 事 室）
古 川 光 男 （企画情報室）
庄 司 糸 子 （企画情報室）

宮城県立がんセンター年報

第 2 号

平成7年10月発行

発 行 〒981-12

宮城県名取市愛島塩手字野田山47-1

宮城県立がんセンター

TEL 022 (384) 3151

編集者 宮城県立がんセンター年報編集委員会

印刷所 田 端 印 刷 株 式 会 社

